自 然 科 学 研 究 機 構

生理学研究所年報

第40巻

2019

（2018年度業務報告書）

はじめに

生理学研究所年報第 40 巻をここに刊行し、2018（平成 30）年度における大学共同利用機関としての生理学研究所の事業活動、研究成果を報告させていただきます。

生理学研究所は、1977 年 5 月に開設され、2004 年 4 月の法人化により大学共同利用機関法人自然科学研究機構を構成する研究機関となり現在に至っています。その間、生理学研究所は、「人体基礎生理学の研究と研究者育成のための大学共同利用機関」としての役割を果してきました。2018 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（170 件；法人化以前の約２倍）の共同研究・共同利用実験を行い、成果をあげたと思います。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す。今後とも皆様方のご支援・ご鞭撻を心よりお願い申しあげます。

2019 年 10 月

生理学研究所　所長　鍋　倉　淳　一

生理学研究所年報

〔　目　　次　〕

職　員（2018 年度）…… i

研究活動報告

目次 …… 3
分子細胞生理研究領域 …… 10
生体機能調節研究領域 …… 19
基盤神経科学研究領域 …… 28
システム脳科学研究領域 …… 35
個 別 研 究 …… 51
研究連携センター …… 56
脳機能計測・支援センター …… 59
行動・代謝分子解析センター …… 64
動物実験センター …… 69
生命創成探究センター …… 73
技　術　課 …… 75

研 究 発 表

a．発 表 論 文 …… 89
b．学 会 発 表 …… 105

一般共同研究報告 …… 135

計画共同研究報告 …… 167

超高圧電子顕微鏡共同利用実験報告 …… 211

生体機能イメージング共同利用実験報告 …… 219

研究会報告 …… 247

特別プロジェクト …… 493

各種シンポジウム

2018（平成 30）年度生理研国際シンポジウム …… 497

トレーニングコース

第 29 回生理科学実験技術トレーニングコース …… 503

セミナー報告 …… 507

大学院特別講義 …… 527

職員（2018年度）

所　　長　井　本　敬　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
大学院生　ANDRIANI, Rizki Tsari
〃　平　澤　輝　一（2018.4.1～）
〃　LIU, Chang（2018.4.1～）
技術支援員　内　藤　知津江

分子神経生理研究部門

教教（兼任）　大　野　伸　彦（2018.4.1～2019.3.31）

生体膜研究部門

教　　授　深　田　正　紀
准　教　授　深　田　優　子
助　　教　横　井　紀　彦
特任助教　平　田　哲　也（～2019.3.31）
NIPS リサーチフェロー　宮　崎　裕　理（2018.10.1～2019.3.31）
大学院生　宮　崎　裕　理（～2018.9.30）
特別共同利用機関研究員　平　野　瑶　子
技術支援員　鈴　木　由　美
〃　渡　邊　聖　愛
〃　古　川　佐千子

神経発達・再生機構研究部門

客員教授　澤　本　和　延

【生体機能調節研究領域】

細胞構造研究部門

教　　授　古　瀬　幹　夫
准　教　授　泉　　裕　士
助　　教　大　谷　哲　久
特任助教　菅　原　太　一
技術支援員　渡　邊　美　香
〃　古　瀬　京　子
技術支援員　鈴　木　則　子（2018.10.16～2019.3.31）
〃　今　井　篤　子
〃　服　部　宣　子（2018.1～）

細胞生理研究部門

教　　授　富　永　真　琴
准　教　授　曽我部　隆　彰
特任准教授　岡　田　俊　昭（～2019.3.31）
助　　教　鈴　木　喜　郎（～2019.2.28）
〃　齋　藤　　茂
特任助教　高　山　靖　規（～2019.3.31）
NIPS リサーチフェロー　DEROUICHE, Sandra（～2019.3.31）
研　究　員　宇治澤　知　代（～2019.3.31）
〃　ISLAM, Md. Rafiqul
〃　齋　藤　くれあ
〃　李　　天　邦（2018.10.1～）
〃　YARI KAMRANI, Yousef（2018.10.1～2019.3.31）
大学院生　山野井　　遊（～2018.9.30）
〃　李　　天　邦（～2018.9.30）
〃　馮　　暁　娜
〃　邓　　香　梅（2018.10.1～）
〃　NGUYEN, Thi Hong Dung
技術支援員　福　岡　慶　子
〃　重　本　久　実
〃　橋　本　照　美
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（～2018.8.31）
新分野創成センター（プラズマバイオロジー）特任助教　田　中　智　弘（2018.11.1～）
NIPS リサーチフェロー　田　中　智　弘（～2018.10.31）
特別共同利用研究員　藤　本　泰　之（～2018.9.30）
大学院生　小　田　紗矢香
〃　下　田　　翔
技術支援員　藤　森　仁　美
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
准 教 授　中　島　健一朗
助　　教　近　藤　邦　生
特 任 助 教　菊　地　晶　裕（2018.5.1～）
特別共同利用研究員　傅　　欧
特別協力研究員　堀　尾　修　平（2018.4.1～）
特別訪問研究員　田　中　義　将（2018.10.1～）
大 学 院 生　RASHID, Misbah（2018.10.1～）
技術支援員　林　　めぐみ
〃　佐　藤　香　織
〃　藤　原　香菜子（2018.9.1～）

【基盤神経科学研究領域】

神経シグナル研究部門

助　　教　佐　竹　伸一郎（～2018.9.30）
〃　山　肩　葉　子（～2018.9.30）

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　AGAHARI, Fransiscus Adrian（2018.10.1～）
研　究　員　AGAHARI, Fransiscus Adrian（～2018.9.30）
〃　ALSAYED, Alsayed Abdelhamid Mohamed
日本学術振興会特別研究員　孫　　在　隣
大 学 院 生　任　　翔　壎
技術支援員　犬　塚　小百合
〃　北　　啓　子
〃　兵　藤　智栄美
〃　渡　邉　晴　子
〃　江　川　尚　美
〃　市　川　裕　美（2018.7.16～）

生体恒常性発達研究部門

教　　授　鍋　倉　淳　一
外国人客員教授　YEN, Chen Tung（2018.4.2～2018.5.31）
准 教 授　鳴　島　　円
特任准教授　揚　妻　正　和
助　　教　江　藤　　圭
特 任 助 教　堀　内　　浩
研　究　員　竹　田　育　子
〃　CHEUNG, Dennis Lawrence（2018.10.12～）
特別訪問研究員　中　村　佳　代
〃　YEH, Han-Yuan（2018.4.1～2019.3.31）
特別共同利用研究員　吉　原　康　平（2018.4.1～2019.3.31）
〃　佐　藤　　彩（2018.4.1～）
大 学 院 生　春　若　航一路
〃　植　木　彰　彦（～2019.3.31）
技術支援員　大　場　多津子
〃　市　橋　結　貴（2018.10.31～）
〃　石　田　順　子
〃　小　林　知　子
事務支援員　小　林　文　絵
〃　永　田　みづほ

視覚情報処理研究部門

教　　授　吉　村　由美子
助　　教　石　川　理　子
助　　教　林　　健　二
特 任 助 教　木　村　梨　絵
〃　米　田　泰　輔（2018.5.1～）
大 学 院 生　山　本　真理子
〃　唐　木　智　充
〃　呉　　嘉　豪（2018.4.1～）
技術支援員　石　神　久美子
〃　大　村　幸　恵
事務支援員　比　賀　昌　子（～2018.3.31，2018.10.1～）

【システム脳科学研究領域】

感覚認知情報研究部門

助　　教　郷　田　直　一（～2019.3.31）
〃　横　井　　功（～2019.3.31）

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
〃　戸　松　彩　花（2018.9.1～）

助　教	吉田正俊
〃	二宮太平
〃	則武厚
NIPS リサーチフェロー	植松明子
大学院生	新居桂陽
〃	西原陽子（～2018.9.30）
特任専門員	柴田あゆみ
技術支援員	高田和子（2018.10.16～）
〃	山西ユミ
〃	鈴木あき子（～2018.5.31）
〃	城地智子（2018.5.16～）

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
NIPS リサーチフェロー	DWI WAHYU, Indriani
研究員	纐纈大輔
〃	長谷川拓
大学院生	WONGMASSANG, Woranan
〃	POLYAKOVA, Zlata
〃	NONDHALEE, Pimpimon（2018.10.1～）
技術支援員	磯谷ひとみ
〃	粟村香奈子
〃	鈴木規子
〃	宮本香奈（2018.10.1～）

統合生理研究部門

教　授	柿木隆介（～2019.3.31）
特任准教授	木田哲夫（～2019.3.31）
助教（併任）	坂本貴和子（～2019.3.31）
技術支援員	廣岡裕子（2018.5.1～2019.3.31）

心理生理学研究部門

教　授	定藤規弘
客員教授	LE BIHAN, Denis
准教授	福永雅喜
助　教	小池耕彦
特任助教	菅原翔
〃	中川恵理
NIPS リサーチフェロー	濱野友希（2018.4.1～）
研究員	山本哲也
研究員	宮田紘平
〃	角谷基文（～2019.3.31）
〃	SINGH, Balbir（～2019.3.31）
大学院生	吉本隆明
〃	丸山修紀（2018.4.1～）
〃	南條啓孝（2018.4.1～）
〃	小山雄太郎（2018.10.1～）
特任専門員	木村玲子
技術支援員	竹中邦子（2018.10.1～）
〃	岩瀬恵

神経ダイナミクス研究部門

教　授	北城圭一（2018.10.1～）

【個別研究】

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

個別研究（山肩研究室）

助　教	山肩葉子（2018.10.1～）

個別研究（佐竹研究室）

助　教	佐竹伸一郎（2018.10.1～）

【研究連携センター】

センター長（併任）　久保義弘

共同利用研究推進室

教　授（併任）	久保義弘
助　教（併任）	坂本貴和子（～2019.3.31）

学術研究支援室

客員教授	狩野方伸
〃	高田昌彦
特任准教授（併任）	丸山めぐみ
特任専門員	林愛
事務支援員	土井優
〃	太田美穂子（～2019.3.31）

NBR事業推進室

教　授（併任）	南部篤
特任助教	東濃篤徳（～2019.3.31）
技術支援員	野口京子（2019.1.4～）
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	富　田　雅　人
〃	香　山　容　子
〃	向中野　信一（2019.2.1～）
大 学 院 生	角　田　　潤
技術支援員	山　田　幸　子
〃	加　藤　三津子
〃	斎　藤　善　平（～2018.12.31）
〃	池　田　　充（2018.12.1～2019.3.31）
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（2018.4.1～）
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

生体機能情報解析室

教　　授（併任）	定　藤　規　弘
准　教　授	近　添　淳　一
研　究　員	PHAM, Quang Trung（2018.5.22～）
技術支援員	丹　羽　開　紀
〃	和　田　　周（2018.8.1～2018.9.19）
〃	石　崎　龍之介（2018.8.1～）
〃	加　藤　征　広（2018.9.1～）

【行動・代謝分子解析センター】

センター長（併任）　吉　村　由美子（2018.4.1～）

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
助　　教	小　林　俊　寛
研　究　員	後　藤　哲　平（～2019.3.31）
〃	及　川　真　実（2018.7.1～2018.8.24）
技術支援員	山　内　恵　子
〃	橋　本　　恵
〃	寺　田　玲　子（2018.4.1～2019.3.31）
〃	吉　田　史　香（2019.2.16～）

代謝生理解析室

教　　授（併任）	箕　越　靖　彦
助　　教（併任）	鈴　木　喜　郎（～2019.2.28）

【情報処理発信センター】

センター長（併任）　深　田　正　紀

アーカイブ室

医学生理学教育開発室

教　　授（併任）　富　永　真　琴

ネットワーク管理室

【安全衛生管理室】

教　　授（併任）　柿　木　隆　介（～2019.3.31）

【研究力強化戦略室】

教　　授（併任）	鍋　倉　淳　一
〃　　（併任）	深　田　正　紀
〃　　（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
特任准教授	丸　山　めぐみ
助　　教	坂　本　貴和子（～2019.3.31）
特任専門員	内　山　千保美
〃	岡　安　友　美
事務支援員	安　井　亜　紀（2018.10.1～）

【動物実験センター】

センター長（併任）　箕　越　靖　彦
特任教授（併任）　浦　野　　徹
助　　教　　王　　振　吉
技術支援員　　水　野　みどり
〃　　松　永　ゆう子
〃　　不　退　久　恵
〃　　岩　瀬　悦　子
〃　　小　林　明　子
〃　　亀　岡　一　乃（～2018.7.31）
〃　　浦　川　裕　乃
〃　　本　多　千　佳
事務支援員　　水　谷　絵里子

【動物実験コーディネータ室】

研　究　員　　山　根　　到
事務支援員　　内　藤　真　琴

【生命創成探究センター】（生理学研究所関連）

創成研究領域

温度生物学研究グループ

細胞生理研究部門（兼務）

（ｉ頁の細胞生理研究部門を参照）

心循環ダイナミズム創発研究グループ

心循環シグナル研究部門（兼務）

（ｉ頁の心循環シグナル研究部門を参照）

生命システム構築研究グループ

特任准教授　　佐　藤　幸　治（2018.4.1～）
技術支援員　　住　田　明日香（2018.4.1～2018.12.31）

【技　術　課】

課　　長　　大河原　　浩

研究領域技術班

課長補佐（班長）　戸　川　森　雄

分子細胞生理研究系　技術係

係　　長　　佐　治　俊　幸
主　　任　　山　本　友　美
係　　員　　稲　橋　宏　樹
係　　員　　加　納　雄一朗

生体機能調節研究領域　技術係

係　　長　　永　田　　治
主　　任　　石　原　博　美

基盤神経科学研究領域　技術係

係　　長　　山　口　　登
主　　任　　髙　木　正　浩

システム脳科学研究領域　技術係

係　　長　　竹　島　康　行（～2019.2.16）
主　　任　　髙　橋　直　樹

研究施設技術班

班　　長　　吉　村　伸　明

研究連携　技術係

係　　長　　吉　友　美　樹（2018.4.1～）

脳機能計測･支援　技術係

係　　長　　伊　藤　嘉　邦
主　　任　　山　田　　元（2018.4.1～）

情報処理･発信　技術係

係　　長　　佐　藤　茂　基（2018.4.1～）
主　　任　　村　田　安　永

動物実験　技術係

係　　長　　廣　江　　猛
主　　任　　窪　田　美津子
〃　　神　谷　絵　美
〃　　山　中　　緑（2018.4.1～）

行動･代謝分子解析　技術係

係　　長　　齊　藤　久美子
主　　任　　三　寶　　誠

研究基盤　技術係

係　　長　　福　田　直　美（2018.4.1～）
主　　任　　森　　将　浩

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　　粟　村　香奈子
〃　　池　田　　充（2018.12.1～2019.3.31）
〃　　石　神　久美子
〃　　磯　谷　ひとみ
〃　　市　川　　修
〃　　犬　塚　小百合
〃　　岩　瀬　悦　子

技術支援員	岩瀬　恵
〃	浦川　裕乃
〃	大西　皆子
〃	大場　多津子
〃	小原　正裕
〃	加藤　三津子
〃	亀岡　一乃（～2018.7.31）
〃	小林　明子
〃	斎藤　善平（～2018.12.31）
〃	城地　智子（2018.5.16～）
〃	鈴木　あき子（～2018.5.31）
〃	鈴木　則子（～2018.10.15）
〃	鈴木　由美
〃	内藤　知津江
〃	新関　奈央子
〃	林　めぐみ
〃	廣岡　裕子（2018.5.1～）
〃	福岡　慶子
〃	藤森　仁美
技術支援員	不退　久恵
〃	本多　千佳
〃	松永　ゆう子
〃	水野　みどり
〃	山田　幸子
〃	渡邊　美香
事務支援員	岩瀬　千春（～2018.9.30）
〃	小澤　祐子（2018.9.1～）
〃	小林　文絵
〃	坂本　愛
〃	佐藤　明子（2018.10.1～）
〃	柴田　利江（2018.7.1～）
〃	芝村　賞子
〃	杉山　朋美
〃	高松　香（2018.10.1～）
〃	長尾　法子
〃	水谷　絵里子
〃	安井　亜紀（2018.10.1～）

【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 ･･･ 10
概　要
Prrt3 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，服部聡子，宮川　剛）
mGlu2 と 5-HT2AR の相互作用により変化するシグナル伝達の解析
（立山充博，久保義弘）
Two-pore Na^+ channel 3（TPC3）の持つホスホイノシチド依存的な膜電位感受性調節機構の解明
（下村拓史，久保義弘）
非鎮静性抗ヒスタミン薬による GIRK チャネルの活性阻害機構の解明
（陳　以珊（I-Shan Chen），劉　暢（Chang Liu），立山充博，久保義弘，Izhar Karbat, Eitan Reuveny，上杉志成）
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）
Voltage Clamp Fluorometry 法を用いた Two-pore Na^+ channel 3（TPC3）の膜電位依存性制御機構の解析
（平澤輝一，下村拓史，久保義弘）
多機能タンパク質 Sigma-1 受容体の，イオンチャネルに対する作用の解析
（劉　暢（Chang Liu），陳　以珊（I-Shan Cheng），久保義弘）
SLC26A7 のコードする膜タンパク質およびその変異体の機能解析
（石井　順，有益　優，菅間　博，鈴木敦詞，田中達之，青山幸平，齋藤伸治，矢澤卓也，木村　徹，水野晴夫，立山充博，陳　以珊，久保義弘）
生体膜研究部門 ･･･ 14
概　要
LGI1-ADAM22 複合体の分子構造基盤の解明
（宮崎裕理，横井紀彦，深田優子，深田正紀，山形敦史，深井周也，三賓　誠，後藤哲平，平林真澄）
ADAM22 の蛋白質量の生理的意義の解明
（横井紀彦，深田優子，深田正紀，三賓　誠，後藤哲平，平林真澄）
ADAM22-PSD95 結合の生理的意義の解明
（平野瑶子，稲橋宏樹，深田正紀，深田優子，三賓　誠，後藤哲平，平林真澄）
PSD-95 の脱パルミトイル化酵素 ABHD17 の性状解析
（平田哲也，稲橋宏樹，深田優子，深田正紀，三賓　誠，後藤哲平，平林真澄）
ネコで辺縁系脳炎を引き起こす自己抗体の抗原の同定
（長谷川大輔，横井紀彦，深田優子，深田正紀）
抗 mGluR1 抗体陽性小脳性運動失調症の症例報告
（吉倉延亮，木村暁夫，横井紀彦，深田優子，深田正紀）
神経発達・再生機構研究部門 ･･･ 17
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 ･･･ 19
概　要
タイトジャンクションの構造と機能の分子機構
（大谷哲久，古瀬幹夫）

ショウジョウバエ腸管の恒常性における上皮バリア機能の役割
（泉　裕士，古瀬幹夫）
トリセルラータイトジャンクション形成の分子機構
（菅原太一，永田　治，古瀬幹夫）
トリセルラータイトジャンクション構成分子の集積機構
（菅原太一，深田優子，小田裕香子，深田正紀，古瀬幹夫）
細胞生理研究部門 …… 20
概　要
ヒアリ TRPA チャネルの遺伝子クローニングと機能解析
（Tianbang Li，富永真琴）
TRPV4, アノクタミン 1 機能連関と唾液・涙分泌
（Sandra Derouiche，高山靖規，富永真琴）
Myotube 形成と piezo1 チャネル
（高山靖規，富永真琴）
TRPV6 変異とヒト新生児一過性副甲状腺機能亢進症
（鈴木喜郎，富永真琴）
カンジタ感染症における不快情動を惹起する分子メカニズムの解明
（高山靖規，富永真琴）
心循環シグナル研究部門 …… 23
概　要
TRPC5-eNOS 共役による心肥大制御機構の解明
（Caroline Sunggip，下田　翔，小田紗矢香，西田基宏）
ドキソルビシン心筋症を仲介する TRPC3-Nox2 複合体を阻害する既承認薬の同定
（島内　司，西山和宏，冨田拓郎，西田基宏）
低用量の環境化学物質曝露によるミトコンドリア過剰分裂と心疾患リスク増加の分子機構
（西村明幸，下田　翔，田中智弘，外山喬士，西田基宏）
高濃度 ATP 曝露による心筋萎縮のメカニズム
（Sudi Suhaini，田中智弘，小田紗矢香，冨田拓郎，西田基宏）
生殖・内分泌系発達機構研究部門 …… 26
概　要
視床下部室傍核 AMPK 活性型 CRH ニューロンによる炭水化物嗜好性調節機構
（岡本士毅，佐藤達也，Sanda Kyaw，戸田知得，齊藤久美子，Nur Farehan Asgar，横田繁史，箕越靖彦，立山充博，小林憲太，志内哲也，影山春秋，前島裕子，中田正範，Udval Sedbazar，Boyang Zhang，矢田俊彦，松尾　崇，中里雅光，平子哲志，Fabienne Foufelle，Pascal Ferre，益崎裕章，塩田清二，Barbara B. Kahn）
AMPK が骨格筋 C2C12 細胞のミトコンドリア，エネルギー代謝関連遺伝子に及ぼす調節作用
（岡本士毅，Nur Farehan Asgar，横田繁史，齊藤久美子，箕越靖彦）

基盤神経科学研究領域

大脳神経回路研究部門 …… 28
概　要
ATUMtome 用の新開発電解銅箔テープ
（窪田芳之，畑田小百合，江川尚美，北　啓子，孫　在隣，川口泰雄，芝田晋介）
皮質オシレーション活動の運動学習における役割
（大塚　岳，川口泰雄）
前頭皮質サブレイヤーに依存した錐体細胞と GABA 作動性細胞の結合様式
（森島美絵子，川口泰雄）
学習に伴う大脳皮質運動野での回路特異的な可塑的変化
（孫　在隣，窪田芳之，川口泰雄）
前頭葉皮質浅層の回路におけるソマトスタチン抑制性細胞の特徴
（Fransiscus Adrian Agahari，川口泰雄）
生体恒常性発達研究部門 …… 30
概　要
In Vivo 多光子顕微鏡を用いグリアによる大脳皮質神経回路再編機構の解析

（堀内　浩，春若航一郎，揚妻正和，鍋倉淳一）
慢性疼痛モデルマウスにおける大脳皮質神経回路再編
（竹田育子，金　善光，石川達也，江藤　圭，鍋倉淳一）
細胞内 Cl^- 制御分子 KCC2 の発現制御と生体機能
（中村佳代，Dennis Cheung，Andrew Moorhouse，鍋倉淳一）
感覚情報処理回路の発達およびその制御機構の解明
（鳴島　円，植木彰彦）
イオンイメージングセンサーの脳内埋め込み技術の構築
（堀内　浩，石田順子，鍋倉淳一）
視覚情報処理研究部門 ･･････ 32
概　要
マウス一次視覚野 2/3 層における Fast spiking 抑制性細胞－錐体細胞間結合の発達
（山本真理子，吉村由美子）
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）
大脳皮質視覚野の異なる神経細胞タイプからの繰り返しイメージング法の確立
（米田泰輔，吉村由美子）

システム脳科学研究領域

認知行動発達機構研究部門 ･･････ 35
概　要
ヒト精神疾患・高次認知機能解明のための霊長類モデル動物の開発
（郷　康広）
他者との運動同期指向性を指標とした社会性形成の神経基盤解明
（戸松彩花）
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，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と脳活動の計測
（吉田正俊）
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，則武　厚，磯田昌岐）
社会的コンテキストにおける報酬情報処理の神経機構
（則武　厚，二宮太平，磯田昌岐）
自発的行動による学習促進の神経基盤
（植松明子，磯田昌岐）
生体システム研究部門 ･･････ 38
概　要
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）
喪失四肢の脳内表現
（Pimpimon Nondhalee，畑中伸彦，南部　篤）
パーキンソン病のモデルサルにおける大脳皮質－大脳基底核経路の情報伝達異常
（知見聡美，南部　篤）
パーキンソン病モデルサルにおける淡蒼球神経活動の相互相関
（Woranan Wongmassang，長谷川　拓，知見聡美，南部　篤）
大脳皮質–線条体路が制御する神経生理機能の解明
（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が制御する運動機能と大脳基底核の神経活動の解明
（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，吉岡　望，知見聡美，竹林浩秀，南部　篤）
ゾニサミドが L-DOPA 誘発性ジスキネジアに与える影響の解析
（佐野裕美，南部　篤）

L-DOPA 誘発性ジスキネジアの病態生理学的解析
（Dwi Wahyu Indriani，佐野裕美，知見聡美，南部　篤）
マーモセット前頭皮質の神経生理学的マッピング
（纐纈大輔，南部　篤）
視床下核による運動制御：マカクザル視床下核の化学遺伝学的抑制による運動異常
（長谷川　拓，知見聡美，小林憲太，南部　篤）
統合生理研究部門 …… 42
概　要
心理生理学研究部門 …… 44
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，濱野友希，Denis Le Bihan，定藤規弘，Jongho Lee，Hyeong-Geol Shin）
精神神経疾患の多施設横断的脳 MRI 研究
（福永雅喜，越山太輔，岡田直大，根本清貴，橋本亮太）
アイコンタクトの神経基盤の解明：Hyperscanning EEG-fMRI を用いて
（小池耕彦，中川恵理，角谷基文，定藤規弘）
視点共有の神経基盤：Hyperscanning fMRI を用いて
（Angela Zhang，小池耕彦，宮田紘平，定藤規弘）
会話を通した情報共有の神経基盤
（小池耕彦，角谷基文，丸山修紀，廣谷雅子，定藤規弘）
「共同注意」の神経基盤の解明
（小池耕彦，田邊宏樹，吉岡　歩，角谷基文，中川恵理，定藤規弘）
「やる気」と運動を結ぶ神経基盤
（菅原　翔，中山義久，濱野友希，山本哲也，福永雅喜，定藤規弘，西村幸男）
第二言語文産出時の意味的および文法的符号化の神経基盤　統語的プライミングを用いた fMRI 実験による検討
（中川恵理，小池耕彦，角谷基文，島田浩二，牧田　快，　吉田晴世，横川博一，定藤規弘）
自己の行動に随伴した社会的な承認・拒否反応の神経基盤
（中川恵理，角谷基文，小池耕彦，定藤規弘）
HCP 準拠の課題 fMRI データ解析の汎用パイプライン構築とその追跡眼球運動課題への応用
（山本哲也，福永雅喜，定藤規弘）
模倣による意図の共有に関わる神経基盤
（宮田紘平，小池耕彦，中川恵理，原田宗子，角谷基文，山本哲也，定藤規弘）
自閉スペクトラム症者における自他随伴性処理の神経基盤の検討
（角谷基文，岡本悠子，小池耕彦，谷川　翼，岡沢秀彦，小坂浩隆，定藤規弘）
運動学習での一次運動野の統合的役割
（濱野友希，菅原　翔，福永雅喜，定藤規弘）
多ボクセルパターン解析で明らかになった前頭眼窩皮質（OFC）における味覚体験の表象
（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）
7T MRI を用いたヒト淡蒼球内部構造の描出: 3T MRI との比較
（丸山修紀，福永雅喜，定藤規弘）
社会的相互作用を伴う意思決定の神経基盤
（南條啓孝，宮田紘平，小池耕彦，定藤規弘）
Semi-model free analysis of whole brain activities captures temporal changes of cognitive processes
（Yutaro Koyama，Junichi Chikazoe，Koji Jimura，Norihiro Sadato）

個別研究

個別研究（大橋研究室） …… 51
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） …… 51
概　要
棘皮動物卵受精時の膜電流変化と Ca 変化についての比較生理学的研究

（毛利達磨）
イトマキヒトデ卵母細胞の卵成熟時のカルシウム遊離機構の発達と膜電流変化の研究
（毛利達磨，経塚敬一郎）
エダアシクラゲの受精時および卵成熟時の成熟ホルモンによる電位変化と細胞内カルシウム変化
（毛利達磨，出口竜一）
個別研究（山肩研究室）…… 53
概　要
海馬記憶と扁桃体記憶へのカルモジュリンキナーゼ IIα 活性の関与の違い
（山肩葉子，柳川右千夫，井本敬二）
個別研究（佐竹研究室）…… 54
概　要
Roscovitine のシナプス前促通作用：分子的基盤の検討
（佐竹伸一郎）
Atp1a3$^{+/-}$ の病態解析：EAAT 機能の神経－グリア補償作用
（佐竹伸一郎，池田啓子，川上　潔）

研究連携センター…… 56
概　要

共同利用研究推進室…… 56
概　要
学術研究支援室…… 57
概　要
NBR 事業推進室…… 57
概　要

脳機能計測・支援センター

形態情報解析室…… 59
概　要
ナトリウムイオン輸送性 V-ATPase の構造をゼルニケ位相差クライオ電子顕微鏡で解析
（角田　潤，ソン・チホン，村田和義，飯野亮太，薬師寺 Lica Fabiana，村田武士，上野博史，高木淳一）
ウイルスキャプシドができる様子を位相差クライオ電子顕微鏡で解析
村田和義，中道優介，堤　研太，宮崎直幸，東浦彰史，成田宏隆，中川敦史
多光子顕微鏡室…… 60
概　要
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，江藤　圭，恩田麻紀，佐藤愛子，大場多津子，鍋倉淳一，村越秀治）
親水性を大きく改善した蛍光タンパク質の開発
（村越秀治，小杉貴洋）
分子間相互作用検出のための色素蛍光タンパク質の開発
（村越秀治，堀内　浩，恩田麻紀，佐藤愛子，鍋倉淳一）
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…… 62
概　要
人工知能と神経基盤の相互参照アプローチによる視覚－価値変換機構の解明
（Quang Trung Pham，吉本隆明，丹羽開紀，高橋春香，内山隆太郎，定藤規弘，近添淳一）
局所脳活動からの全脳活動の解読
（Balbir Singh，平山淳一郎，山本哲也，定藤規弘，近添淳一）
味覚の神経基盤
（近添淳一，Daniel Lee，Nikolaus Kriegeskorte，Adam K. Anderson）
Study on the Neural Basis of Vision-to-Value Conversion using fMRI and Artificial Neural Network
（Pham Quang Trung，Junichi Chikazoe, Takaaki Yoshimoto, Haruki Niwa, and Norihito Sadato）

行動・代謝分子解析センター

ウィルスベクター開発室 …… 64
概　要
ウィルスベクターの提供による共同研究の推進
（小林憲太）
脳機能解析に有用なウィルスベクターシステムの開発
（小林憲太，佐野裕美，南部　篤）
線条体-黒質投射ニューロンによる運動調節機構の分子メカニズム解析
（小林憲太，佐野裕美，黒田啓介，貝淵弘三，南部　篤）
遺伝子改変動物作製室 …… 65
概　要
前核注入時の Cas9 nuclease デリバリー様式がラット胚盤胞の変異モザイク発生頻度に及ぼす影響
（平林真澄）
代謝生理解析室 …… 65
概　要
唾液腺腺房細胞における温度感受性 TRPV4 チャネルの役割
（柴崎貢志，Sandra Derouiche，富永真琴）
カンジタ感染症における不快情動を惹起する分子メカニズムの解明
（丸山健太，審良静男，高山靖規，富永真琴）
タンパク質ポリイオウ鎖による心筋ミトコンドリア品質管理
（赤池孝章，熊谷嘉人，西村明幸，田中智弘，西田基宏）
心筋細胞の NO 依存的心肥大抑制におけるプリン作動性 P2Y2 受容体の役割
（Caroline Sunggip，Supachoke Mangmool，下田　翔，小田紗矢香，西田基宏）
ジストニア様症状を呈する遺伝子組換えマウスの生理学的解析
（堀江正男，吉岡　望，竹林浩秀，佐野裕美，知見聡美，南部　篤）

動物実験センター …… 69

概　要
管理運営
研　究
教　育
社会貢献

生命創成探究センター

生命システム構築研究グループ …… 73
概　要
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）

技術課 …… 75

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（統合生理研究部門）
（大河原　浩，永田　治，竹島康行）
(2) 磁気共鳴装置（心理生理学研究部門）
（伊藤嘉邦）

②脳機能計測･支援センター

(1) 形態情報解析室
（山田　元，斎藤善平，池田　充，加藤三津子，山田幸子）

(2) 電子顕微鏡室（生理研・基生研共通施設）
（山田　元，小原正裕）

(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
（廣江　猛，窪田美津子，神谷絵美，山中　緑）

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

今年度，これまでに引き続き，神経機能素子の遺伝子の単離，変異体やキメラ分子の作成，タンデムリピートコンストラクトの高効率作成，tag の付加，非天然蛍光アミノ酸の導入等を進め，卵母細胞，HEK293 細胞等の遺伝子発現系における機能発現の再構成を行った。また，2 電極膜電位固定法，パッチクランプ等の電気生理学的手法, 細胞内 Ca^{2+}イメージング･全反射照明下での FRET 計測・一分子イメージング・蛍光非天然アミノ酸を用いた膜電位固定下蛍光変化測定等の光生理学的手法，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 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）
服部聡子，宮川　剛（藤田医科大学総合医科学研究所システム医科学研究部門）

我々は，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，KOMP Repository (UC Davis) 由来の targeted ES 細胞を用いて 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，生存した場合でも明らかに体が小さかった。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観察した。しかし，その後の DNA microarray 解析により近傍遺伝子の発現レベルの大きな変化が認められたため，KO ホモマウスの高い致死性および KO ヘテロマウスの行動異常が，Prrt3 遺伝子の KO によるものか確定できなかった。そこで，Prrt3 遺伝子の Exon 2,3 を除くようデザインした flox マウスを作成し, Actβ-Cre マウスとの交配により，新たに KO ホモマウスを得た。Flox マウス由来の KO ホモマウスは，高い致死性を示さず，体が小さいこともなく，また近傍遺伝子の発現レベルの大きな変化も認められなかった。KO ホモマウスの Prrt3 タンパク質の完全欠失は, Western blot 法及び免疫組織化学的解析により確認された。この KO ホモマウスとコントロール群の flox マウスを用いて，網羅的行動解析を行った。Barnes maze テスト中の, 学習から 1 カ月後のプローブテストにおいて，ターゲットホール付近に滞在する時間に異常は見られなかったが，ターゲットホールに初めて到達するまでの，時間，エラーの数，移動距離が，いずれも優位に高い値を示した。この結果から，正しい位置の記憶そのものの長期保持はできるものの，そこに至る道順の記憶の長期保持に異常があることが推察された。

mGlu2 と 5-HT2AR の相互作用により変化するシグナル伝達の解析

立山充博，久保義弘

近年，Gq 共役型セロトニン受容体 2A (5-HT2AR)と Gi/o 共役型代謝型グルタミン酸受容体 2 型（mGlu2）が複合体を形成することで，それぞれのシグナル伝達効率などが変化し，高次脳機能に影響を与えるという報告がなされた。しかしながら，5-HT2AR と mGlu2 の相互作用については共通の見解が得られていない。そこで，我々はこれらの相互作用について, HEK293T 細胞発現系を用いて検討した。先ず，5-HT2AR-Gq シグナル経路活性化を，セロトニン投与による PIP_2 結合ドメイン付加蛍光タンパク質の細胞膜から細胞質への移動として解析した結果，mGlu2 との共発現により 5-HT2AR-Gq 経路の活性化が抑制されること，さらにグルタミン酸の投与によりこの抑制がなくなることが明らかとなった。一方，mGlu2-Gi/o 経路活性化を G タンパク質依存性カリウム（GIRK）チャネルの活性化を指標に解析したところ，mGlu2-GIRK チャネル活性化が 5-HT2AR の共発現により抑制を受けることが明らかとなった。また，この抑制は, セロトニンの有無に依存しなかった。以上の結果は，5-HT2AR と mGlu2 の相互作用により各シグナル伝達様式が変化することを示すものである。この相互作用が mGlu2 と 5-HT2AR に特有なものか否かを明らかとするために，mGlu2 と他の Gq 共役型受容体との相互作用について検討を進めている。

Two-pore Na^+ channel 3（TPC3）の持つホスホイノシチド依存的な膜電位感受性調節機構の解明

下村拓史，久保義弘

Two-pore Na^+ channel (TPC) は，膜電位依存性カチオンチャネルファミリーに共通する基本単位を同一分子中に 2 つ有するという，特徴的な分子構造を持っている。この 2 つのドメイン（I，II）のうちドメイン I はホスホイノシチド（PI）感受性に，ドメイン II は電位感受性に重要であるとされている。TPC ファミリーの中でも TPC3 は，ツメガエル卵母細胞を用いた測定系において，長時間の脱分極刺激に依存して電流量が緩慢に増大する induction という特性を持つ。我々は，この特性が TPC3 の電位依存性の変化に起因することを明らかにした。ツメガエル卵母細胞は, 長期脱分極刺激によって PI の 1 種である $PI(3,4)P_2$ 濃度を増加させるシステムを内在する。$PI(3,4)P_2$ 特異的な蛍光センサーである F-TAPP を用いて，蛍光強度変化と TPC3 電流の増減を比較したところ明確な相関が見られた。この結果は, $PI(3,4)P_2$ により TPC3 が制御されていることを強く示唆する。また，これまでの変異体実験によりドメイン I の複数の正の荷電残基群が $PI(3,4)P_2$ 結合領域を構成することを示唆する結果を得ていたが, これ以外にもドメイン I の Tyr293 および Arg297 と，ドメイン II の Glu665 からなる相互作用も induction に重要であることを明らかにした。この相互作用は，$PI(3,4)P_2$ 結合領域自体というよりも，ドメイン I への $PI(3,4)P_2$ 結合によって引き起こされる構造変化を，ドメイン II とリンクする役割を持つと想定される。すなわち，ドメイン I への $PI(3,4)P_2$ 結合は, Tyr293, Arg297, Glu665 からなるドメイン間相互作用によってドメイン II に影響を与え，ドメイン II の主たる役割である電位依存性を調節すると考えられる。本研究の結果に基づき，induction の実体である $PI(3,4)P_2$ 依存的な電位感受性調節メカニズムについての分子モデルを提唱した。

非鎮静性抗ヒスタミン薬による GIRK チャネルの活性阻害機構の解明

陳　以珊 (I-Shan Chen)，劉　暢 (Chang Liu)，立山充博，久保義弘
Izhar Karbat, Eitan Reuveny（Department of Biomolecular Sciences, Weizmann Institute of Science）
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）

G タンパク質依存性カリウム（GIRK）チャネルは神経興奮性・心拍・膵島ホルモン分泌の調節において重要な分子である。我々はこれまでに，GIRK チャネルの活性に影響する複数の小分子を見出した。その中のひとつは，非鎮静性抗ヒスタミン薬 Terfenadine (TER) である。TER は hERG チャネルの活性を阻害し，不整脈を誘発する可能性があることが報告されているが，TER による GIRK チャネルの影響に関する報告は未だない。本研究では，電気生理実験及び分子ドッキング法を用いて，非鎮静性抗ヒスタミン薬による GIRK チャネル活性の変化とその制御作用の鍵を握る部域の解析を行った。その結果, TER を含む複数の非鎮静性抗ヒスタミン薬が GIRK チャネル（特に GIRK1）の電流を阻害することが明らかとなった。ドッキングシミュレーション及び変異体を用いた電気生理学的解析により TER 作用部位の同定を試みた結果，GIRK1 のポア領域の Pore helix の中央部，イオン選択性フィルターの背後に位置する Phe137 がこの薬による活性阻害作用に重要であることが明らかとなった。さらに，GIRK1 の Phe137 に対応する GIRK2 の Ser148 の変異体を用いた解析を行った結果，この位置のアミノ酸残基の側鎖の大きさが阻害作用の効果を決めることを突き止めた。また，GIRK1 の Phe137 は，イオン選択性や膜電位依存的活性化にも寄与すること, TER の結合と PIP_2 の結合には競合が見られることが明らかになった。本研究の結果から，TER による GIRK チャネルの新規活性阻害機構の鍵を握る部域は，Pore helix 上に位置する Phe137 であることが示唆された。

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

Rizki Tsari Andriani，久保義弘

ATP 受容体チャネル P2X2 は，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。本研究では，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 96 カ所に，一つに一つずつ蛍光ラベルを導入し，網羅的解析を行った。多くの箇所で ATP 依存性の蛍光強度の変化が観察されたが，膜電位依存性の蛍光強度の変化は第 2 膜貫通部位に位置する Ala337 もしくは Ile341 に Anap を導入した変異体のみで観察された。さらに，その変化は, small molecule kinase (SIK) の inhibitor である HG-9-91-01 の事前投与によりメラニン色素を増加させ, 卵母細胞の背景蛍光の減弱させることにより，より顕著に観察された。

Ala337Anap，Ile341Anap の示した膜電位変化に伴う蛍光強度の変化は迅速で，かつ，リニアな膜電位依存性を示した。この変化は, P2X2 タンパク質の膜電位依存的構造変化というより, Ala337 近傍に局所的に強い電場が集中していて，その膜電位そのものに従う蛍光強度変化，すなわち Anap の electrochromic effect による蛍光変化が観察されたものと推察された。

構造解析の結果から, 第 1 膜貫通部位の Phe44 が, ATP 投与に伴って, Ala337 近傍に swing in することが明らかになっている。Ala337 および Phe44 を種々のアミノ酸残基に置き換えた変異体の解析結果から，両者の相互作用が活性化構造の安定化に重要であることが示された。以上の結果から，ATP 存在下での，強い局所電場内に位置する Ala337 と Phe44 の相互作用が，膜電位依存的ゲーティングの分子基盤である可能性が示唆された。

Voltage Clamp Fluorometry 法を用いた Two-pore Na^+ channel 3（TPC3）の膜電位依存性制御機構の解析

平澤輝一，下村拓史，久保義弘

膜電位依存性カチオンチャネルは 4 番目の膜貫通ヘリックス （S4） に複数の正の荷電残基を有しており，これにより膜電位変化に応じた S4 の構造変化が可能になる。Two-pore Na^+ channel (TPC) はサブユニット内に 2 つの異なる S4 を持つ。本研究では，この 2 つの S4 のそれぞれが膜電位感知の際にどのようなダイナミクスを示すのかを明らかにし，各 S4 の電位感知における役割を解明することを目的とした。対象として TPC ファミリー3（TPC3）を用い，ツメガエル卵母細胞を発現系とした Voltage Clamp Fluorometry 法 (VCF) による実験を行った。VCF では 2 つの S4 の一方のみを蛍光ラベルした TPC3 を解析した。これにより TPC3 電流と，TPC3 の各 S4 の構造変化に由来する蛍光変化を同時に捉え，TPC3 の活性化における各 S4 のダイナミクスを解明することを試みた。まず 2 番目の S4 の細胞外側に位置する S506 や Q507 を Cys へと変異させて Cys 修飾性の蛍光試薬によりラベルし，VCF を行った。その結果，膜電位変化に依存した蛍光強度変化，つまり 2 番目の S4 の構造変化を検出することに成功した。また同様の領域に非天然蛍光アミノ酸を導入して VCF を行った場合でも，構造変化が検出された。現在，より強い蛍光強度変化を再現よく検出するため，測定条件の最適化を進めるとともに，1 番目の S4 に関する実験も行っている。

多機能タンパク質 Sigma-1 受容体の，イオンチャネルに対する作用の解析

劉　暢（Chang Liu），陳　以珊（I-Shan Cheng），久保義弘

Sigma1 受容体 (Sigma-1R) は，主として Endoplasmic Reticulum 膜 (ERM) のミトコンドリアと向き合った部域 (MAM) に局在し, ERM 上の IP3 受容体と共働して，ミトコンドリアと ER の間隙部位等の Ca^{2+}動態に寄与すること，リガンドの結合により MAM から移動し，ERM 上の STIM1 および形質膜 (PM) 上の Orai1 と共働して ER への Ca^{2+}の取り込みを調節すること等が知られている多機能タンパク質である。そのトポロジーについて，N 末端，C 末端ともに ER 内側に位置する 2 回膜貫通型構造を有すると想定されていたが，その後，N 末端が ER 内側に位置する 1 回膜貫通型で，大部分を占める C 末端は ER 外側に位置することを示唆する構造データが示され，未だ決着を見ていない。また，Sigma-1R は，PM 上の NMDA 受容体チャネルや hERG K^+チャネル等のトラフィッキングや機能を修飾することが報告されているが，網羅的解析は行われていない。本研究では，アフリカツメガエル卵母細胞を発現系として用いて，様々なイオンチャネルに対する Sigma-1R の共発現の作用を解析し，またその相互作用の構造基盤を明らかにすることを目的とする。

hERG チャネル以外の膜電位依存性 K^+チャネルについて，Sigma-1R の共発現の作用を電気生理学的に解析したところ，Kv1.2 と Kv2.1 で顕著な電流抑制作用が見られたのに対し Kv1.3 では抑制作用は見られなかった。G タンパク質結合型 K^+チャネルについては, GIRK1/2 ヘテロ多量体，GIRK1/4 ヘテロ多量体で顕著な抑制作用が見られたのに対し, GIRK2 ホモ多量体, GIRK4 ホモ多量体では，抑制作用は見られなかった。細胞内局在の変化による可能性と機能修飾による可能性が想定されるので，両方を視野に解析を進めている。

SLC26A7 のコードする膜タンパク質およびその変異体の機能解析

石井　順，有益　優，菅間　博（杏林大学医学部病理学）
鈴木敦詞，田中達之，青山幸平，齋藤伸治（名古屋市立大学大学院医学研究科新生児・小児医学分野）
矢澤卓也（獨協医科大学病理学）
木村　徹（杏林大学医学部薬理学）
水野晴夫（国際医療福祉大学医学部小児医学）
立山充博，陳　以珊，久保義弘

名古屋市立大学大学院医学研究科新生児・小児医学分野の研究により，甲状腺腫を伴う先天性甲状腺機能低下症の患者の SLC26A7 遺伝子に変異があることが明らかとなった。SLC26A7 遺伝子のコードするタンパク質の機能は不明であったが，陰イオントランスポーターである SLC26A4（Pendrin）と同じグループに属することや，陰イオンであるヨウ素が甲状腺ホルモンの合成に必要不可欠な元素であることから，SLC26A7 遺伝子のコードするタンパク質がヨウ素イオンの輸送に関わることが想定された。そこで，我々は，HEK293T 細胞を用い野生型および変異体 SLC26A7 の遺伝子導入を行い，電気生理学的手法および光生理学的手法により機能解析を行った。その結果，野生型 SLC26A7 は塩素及びヨウ素を輸送するトランスポーターとして機能する膜タンパク質の遺伝子であり，その変異体はこの機能を消失させることが明らかとなった。この結果は，SLC26A7 遺伝子異常が先天性甲状腺機能低下症を招く機構の一因であることを示すものである。

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分子機構，さらには脳病態におけるその破綻機構について研究を行っている。具体的には，脳の速い興奮性シナプス伝達の大部分を司る AMPA 型グルタミン酸受容体（AMPA 受容体）の制御機構に着目している。我々はこれまでに，特異性と定量性を重視した生化学的手法に基づいて，AMPA 受容体制御分子として，てんかん関連リガンド-受容体である LGI1-ADAM22 複合体を見出した。また，AMPA 受容体のシナプスにおける足場蛋白質 PSD-95 のパルミトイル化脂質修飾酵素 ZDHHC 蛋白質，脱パルミトイル化修飾酵素 ABHD17 を独自に見出してきた。そして，パルミトイル化酵素ライブラリースクリーニング法やパルミトイル化修飾の定量的解析法などの新しい実験手法を開発し，超解像イメージング，マウス遺伝学，電気生理学などを組み合わせて，これら AMPA 受容体制御分子の生理機能と病態機構を先導的に明らかにしてきた。現在，これら AMPA 受容体制御分子がどのようにしてシナプス形成，成熟，可塑性を制御しているのか，さらにはマウス・ヒトの記憶，学習，認知機能を制御するのかを明らかにすることを目指し，研究を展開している。

LGI1-ADAM22 複合体の分子構造基盤の解明

宮崎裕理，横井紀彦，深田優子，深田正紀
山形敦史，深井周也（東京大学定量生命科学研究所）
三實　誠，後藤哲平，平林真澄（遺伝子改変動物作製室）

我々はこれまでに神経分泌蛋白質 LGI1 が膜蛋白質 ADAM22 を介して PSD-95 と結合し，AMPA 受容体機能を制御することを見出してきた。また，LGI1 変異による分泌不全や ADAM22 との結合不全が，てんかん発症の分子病態機構であることを報告してきた。しかし，LGI1–ADAM22 複合体の構造基盤は明らかではなかった。今回，東京大学の深井周也博士らのグループとの共同研究により，LGI1–ADAM22 複合体の立体構造を X 線結晶構造解析，低温電子顕微鏡，X 線小角散乱や多角度光散乱を組み合わせて明らかにした。その結果，LGI1–ADAM22 複合体が LGI1–LGI1 間の相互作用を介して，ヘテロ 4 量体として存在することを見出した。興味深いことに，この LGI1–LGI1 間の相互作用を担っているアミノ酸の変異（Arg474Gln）はヒトでてんかんを発症する。我々は平林博士のグループとの共同研究により，この LGI1 変異を有するてんかんモデルマウスを作製した。そして，この変異マウス脳内で実際に LGI1–LGI1 間の結合がこの破綻し，ADAM23-LGI1-LGI1-ADAM22 の 4 量体形成が損なわれていることを見出した。今回の結果から LGI1 がホモ 2 量体を形成することが脳機能に必須であること，そして，LGI1 がシナプス前部/後部にそれぞれ存在する ADAM22 ファミリー蛋白質を橋渡しする可能性が強く示唆された。2018 年度は，以上の成果を論文として発表した。（Yamagata A*, Miyazaki Y*, Yokoi N, et al, Nat. Commun. 2018,1546）

ADAM22 の蛋白質量の生理的意義の解明

横井紀彦，深田優子，深田正紀
三實　誠，後藤哲平，平林真澄（遺伝子改変動物作製室）

てんかんは神経細胞間のシナプス伝達の異常な興奮によって誘引されると考えられているが，その異常な興奮が何を原因とするかは未だに不明である。我々はこれまでに，神経分泌蛋白質 LGI1 の欠損や変異によって，膜蛋白質 ADAM22 と結合する LGI1 の量が減少すると，てんかんが引き起こされることを報告してきた。一方，ADAM22 の減少とてんかんとの関係は明らかでなかった。最近，我々はマウス脳内での ADAM22 の主要なリン酸化サイトを同定した。そして，このリン酸化欠損変異体のノックイン（KI）マウスを平林博士のグループとの共同研究により作製したところ，この KI マウス脳内で ADAM22 の蛋白質量が減少していることを見出した。そこで，このリン酸化欠損による ADAM22 の減少がマウスに与える影響を検討した。2018 年度はこのリン酸化欠損による ADAM22 の減少が神経細胞のどこで起きるかを免疫化学的手法を用いて調べた。また，この ADAM22 の減少とマウスの生存の関連から，生存に必要な ADAM22 の蛋白質量を見出した。

ADAM22-PSD95 結合の生理的意義の解明

平野瑶子，稲橋宏樹，深田正紀，深田優子
三寳　誠，後藤哲平，平林真澄（遺伝子改変動物作製室）

これまでに，我々はカリフォルニア大学サンフランシスコ校の Nicoll 博士との共同研究にて，ADAM22 コンディショナルノックアウトマウスを用いた分子置換，及び，その海馬スライスを用いた電気生理学的解析により，ADAM22 と足場蛋白質 PSD-95 の結合が AMPA 受容体の機能発現に必須であることを明らかにした（Lovero K, Fukata Y et al, PNAS 2015）。そこで，ADAM22 と PSD-95 の結合がマウスの脳機能の発現において，必須であるか否かを調べる。2018 年度は，ADAM22 と PSD-95 の結合が阻害されるような ADAM22 変異マウスを平林博士のグループとの共同研究により作製し，その表現型を生化学的手法や組織化学的手法を駆使して検討している。

PSD-95 の脱パルミトイル化酵素 ABHD17 の性状解析

平田哲也，稲橋宏樹，深田優子，深田正紀
三寳　誠，後藤哲平，平林真澄（遺伝子改変動物作製室）

足場蛋白質 PSD-95 は，興奮性シナプスのシナプス後肥厚部（post synaptic density, PSD）に濃縮し，AMPA 受容体や NMDA 受容体，Neuroligin など，様々なシナプス膜タンパク質を裏打ちすることにより，シナプス伝達やシナプス形成の中核的な役割を果たす。PSD-95 が PSD に局在，濃縮するためには，パルミトイル化脂質修飾が必要不可欠である。パルミトイル化修飾はリン酸化修飾と同様に，可逆反応であり外界刺激に依存して制御される。最近，我々は PSD-95 脱パルミトイル化酵素として α/β-hydrolase domain-containing protein（ABHD）17A，17B，17C を同定した（Yokoi N*, Fukata Y* et al, J Neurosci 2016）。しかし，ABHD17 酵素の基質特異性，活性制御機構，細胞内局在，生理機能については未だ不明である。そこで，2018 年度は ABHD17 にタグを挿入したノックインマウスを平林博士のグループとの共同研究により作製し，このマウスを用いて ABHD17 の性状解析を進めた。

ネコで辺縁系脳炎を引き起こす自己抗体の抗原の同定

長谷川大輔（日本獣医生命科学大学獣医学科）
横井紀彦，深田優子，深田正紀

自己免疫性神経疾患は，なんらかの原因で自身の神経細胞が有する蛋白質に対する自己抗体が生じ，神経細胞の機能が障害されて発症する。辺縁系脳炎では亜急性に近時記憶障害や痙攣，見当識障害をきたす。我々の研究室では以前に，てんかん関連蛋白質である LGI1 に対する自己抗体価と辺縁系脳炎発症との間に極めて高い相関があることを見出している。同時に，抗 DCC（Deleted in colorectal cancer）抗体も自己免疫性神経疾患の発症に関連があることを見出していた（Ohkawa et al, J Neurosci 2013）。今回，日本獣医生命科学大学の長谷川博士のグループによって，てんかん発作重責状態を伴うネコが調べられた結果，辺縁系脳炎の可能性が考えられた。我々はそのネコ血清中に含まれる自己抗体の抗原を免疫沈降法によって精製し，質量分析解析によって調べた。その結果，DCC がそのネコが有する自己抗体の抗原の一つと同定され，このネコのてんかん発作が抗 DCC 抗体を原因とする可能性が示された。（Hasegawa D et al. J. Vet. Intern. Med. 2019, 33, 1440-1445）

抗 mGluR1 抗体陽性小脳性運動失調症の症例報告

吉倉延亮，木村暁夫（岐阜大学大学院医学研究科）
横井紀彦，深田優子，深田正紀

抗 mGluR1 抗体陽性小脳性運動失調症は，代謝型グルタミン酸受容体 1 型に対する自己抗体が関連する自己免疫性小脳失調症である。既報告例は 20 以下であり，きわめてまれな疾患と考えられている。我々は木村暁夫博士との共同研究で，培養細胞を用いて，血清中の抗 mGluR1 抗体を検出する手法を確立した。この手法を用いて，木村博士らは新たに抗 mGluR1 抗体陽性小脳性運動失調症の 2 症例を見出し，その患者の長期経過観察に関する症例報告を行った。（Yoshikura N et al. J. Neuroimmunol. 2018, 319, 63-67）

神経発達・再生機構研究部門

【概要】

近年の研究で，生後の脳においても神経幹細胞が存在し，恒常的に新生ニューロンやグリア細胞が産生されていることが明らかになった。この神経新生機構は，生理的条件下では，脳の発達や恒常性の維持に関与する。一方，脳外傷や脳梗塞などにより脳が損傷を受けると，このメカニズムが活性化して，傷害で失われたニューロンの一部を再生させる。本研究部門では，生後脳における新生ニューロンやグリア細胞の産生・移動・成熟メカニズムについて研究を進めている[1,2]。また，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の回復を賦活化する操作技術の開発[3,4,5]も進めている。これらの研究において，生理学研究所の他の研究部門の協力を得て，二光子顕微鏡を用いたニューロン再生の生体イメージング（鍋倉淳一教授と共同）や連続ブロック表面走査型電子顕微鏡を用いた新生ニューロンの微細形態解析（古瀬幹夫教授，大野伸彦教授と共同），再生ニューロンの電気生理学的特性の解析（南部篤教授，川口泰雄教授と共同）を実施している。さらに，ゼブラフィッシュや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し，その制御機構の共通性，多様性を解析している。本研究部門では，上記の研究を通じて，生後脳におけるニューロンやグリア細胞の新生メカニズムとその意義を解明し，様々な中枢神経系疾患に対する新たな治療法の開発に貢献することを目指している。

1. Fujikake et al., *J Neurosci* (2018) **38**: 4598-4609
2. Sawada et al., *EMBO J* (2018) **37**: e97404
3. Fujioka et al., *EBioMedicine* (2017) **16**: 195-203
4. Jinnou et al., *Cell Stem Cell* (2018) **22**: 128-137
5. Kaneko et al., *Science Adv* (2018) **4**: eaav0618

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

成体脳の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細胞塊を形成し，目的地に向かって高速で移動する。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。さらに，新生ニューロンは目的地に到着すると適切な場所で移動を停止して分化を開始する。しかし，新生ニューロンの接着様式や移動停止を制御するメカニズムは不明である。

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，脳梗塞後に傷害部へ移動する新生ニューロンと傷害で活性化したアストロサイトの接着面の微細形態を 3 次元的に解析した[5]。得られた結果から，新生ニューロンと足場細胞との接着や足場細胞の形態の制御が，成体脳における効率の良い細胞移動において重要であることが示唆された。

5. Kaneko et al., *Science Adv* (2018) **4**: eaav0618

多光子顕微鏡を用いた嗅球ニューロンのターンオーバーを制御する微小環境の可視化解析

荻野　崇，澤田雅人，澤本和延

成体嗅球では，脳室下帯で産生された新生ニューロンが付加される一方，古い嗅球ニューロンは細胞死により除去されており，ニューロンがターンオーバーによって常に入れ替わることで神経回路及び嗅覚機能を維持している。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長期生体イメージング法を確立し，嗅覚入力によるニューロン再生の時空間的制御機構の存在を見出した。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再生における血管及びミクログリアの役割に着目し，多光子顕微鏡を用いて，血流及びミクログリアの動態及びニューロンの移動・再生の関係を解析した。また，ミクログリアがニューロン再生に果たす役割を解析した。さらに，生体における局所脳血流を調節する実験系を構築している。得られた知見は，嗅球ニューロンの再生過程が血流及びミクログリアによって調節される可能性を示唆している。

生体機能調節研究領域

細胞構造研究部門

【概要】

体の様々な器官を構成する上皮は，二つの空間を隔てつつ選択的な物質輸送を行うことにより各器官の液性環境の恒常性を維持している。細胞構造研究部門では，この上皮の本質的な役割に寄与する上皮のバリア機能と透過性制御のしくみを理解するために，細胞間隙における物質透過を制御する細胞間結合の分子構築と機能の解明を進めている。研究の対象はタイトジャンクション（密着結合），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，腸管上皮のバリア機能を研究するモデルとなるためのショウジョウバエのセプテートジャンクションである。自ら同定した細胞間結合の構成分子の機能解析を足がかりに，分子細胞生物学，電子顕微鏡形態学と生理学的手法を組み合わせて研究を行っている。2018 年は前年に引き続き，ゲノム編集を利用した関連分子の培養細胞における機能欠失実験により，従来の RNA 干渉ではわからなかった新しい知見が得られつつある。また，トリセルラータイトジャンクションに関する研究において，生理研で研究室を開始してから初めて遺伝子改変マウスの作出を開始した。10 月より総研大 5 年一貫制博士課程大学院生として Thanh Phuong Nguyen が研究室に加わった。

タイトジャンクションの構造と機能の分子機構

大谷哲久，古瀬幹夫

タイトジャンクション（TJ）の構造と機能にはクローディンファミリー分子群が中心的な役割を果たすと考えられているが，クローディン以外の分子群がどのように寄与しているかはまだ十分に理解されていない。私たちは培養上皮細胞として広く用いられている MDCK 細胞においてゲノム編集を用いてクローディン分子群を欠損する細胞株を樹立した。その結果，クローディン欠損細胞においては TJ のストランド構造が消失し，電解質などの低分子に対するバリアが破綻していた。しかし，クローディン欠損細胞においては隣接する細胞同士の細胞膜は近接し，タンパク質などの高分子に対するバリアは残存していた。これらの結果は，クローディンは TJ のストランド構造の形成と低分子に対するバリア機能には必須であるが，細胞膜同士の近接および高分子に対するバリア機能にはクローディン以外の分子も寄与することを強く示唆しており，その実体の解明に着手した。

ショウジョウバエ腸管の恒常性における上皮バリア機能の役割

泉　裕士，古瀬幹夫

腸管上皮のバリア機能は個体の生存に必須であるが，その機能低下が腸管恒常性にもたらす影響については依然として不明な点が多い。我々はこれまでに，ショウジョウバエの腸管上皮において細胞間隙の漏れを制限する細胞間結合であるスムースセプテートジャンクション(sSJ)の構成分子群を同定し，これらの欠損が幼虫及び成虫において腸管上皮のバリア機能の破綻と致死を引き起こすこと，sSJ 構成分子が欠損した成虫では腸管上皮細胞の異常な蓄積による管腔の閉塞が起こることを明らかにした。2018 年は，腸管上皮細胞の異常な蓄

積には，哺乳類の炎症性サイトカイン IL-6 に相当するショウジョウバエ Unpaired が関与していることを明らかにした。この結果は，ショウジョウバエ成虫の腸管において，上皮バリア機能によるサイトカインの適切な発現制御が，腸管上皮の構築と機能の恒常性に重要であることを示唆する。

トリセルラータイトジャンクション形成の分子機構

菅原太一，永田　治，古瀬幹夫

3 つの上皮細胞の角が接する領域(3 細胞結合部位: TC)には，トリセルラータイトジャンクション(tTJ)と呼ばれる細胞間結合が存在し，TC における物質透過を制限することにより上皮のバリア機能に寄与する。tTJ の形成機構を理解するために，私たちは tTJ の構成膜タンパク質であるアンギュリン-1 をゲノム編集によりノックアウトした上皮培養細胞を樹立し，その表現型を解析してきた。2018 年は，tTJ 上皮シートに水平な超薄切片において tTJ の構造を電子顕微鏡レベルで観察・評価した。対照の正常上皮細胞の TC では tTJ と判断できる 3 細胞間の膜密着構造が観察された。ところが，アンギュリン-1 ノックアウト細胞ではその密着構造がみられず，3 細胞間に明らかな隙間が観察され，上皮バリア機能が低下していた。以上より，アンギュリン-1 は TC における 3 細胞間の膜密着構造形成に必須の役割を果たすことがはじめて明らかになった。

トリセルラータイトジャンクション構成分子の集積機構

菅原太一，深田優子，小田裕香子（京都大学），深田正紀，古瀬幹夫

トリセルラータイトジャンクション(tTJ)が 3 細胞結合部位（TC）に特異的に形成されるメカニズムを解明するために，tTJ を構成する膜タンパク質であるアンギュリン 1 の TC への集積機構を培養上皮細胞で解析した。アンギュリンファミリーはアンギュリン-1, -2, -3 の 3 つのサブタイプから成るが，いずれも細胞膜および細胞膜直下の細胞質領域に合わせて 13 個のシステイン残基をもつ。APEGS 法によって調べた結果，アンギュリン- 1 のこれらシステインはパルミトイル化による脂質修飾を高度に受けていた。さらに，これらのシステインを 3 つだけセリンに置換したアンギュリン- 1 変異体は TC に局在化できなかった。以上より，パルミトイル化による高度な脂質修飾がアンギュリン 1 の TC への局在を制御することが示唆された。

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

ヒアリ TRPA チャネルの遺伝子クローニングと機能解析

Tianbang Li，富永真琴

ヒアリ TRPA チャネル遺伝子をクローニングして, Ca-imaging 法を用いて機能解析を行った [1]。ヒアリ TRPA はヒアリのアンテナ，脚に強く発現していた。機能解析では，冷刺激では活性化せず，高温刺激で活性化し，以前に報告したミツバチ TRPA と同様に熱センサーとして機能することが明らかとなった。温度グレーディエントのある床上での温度嗜好性を見る実験を行った。15 度から 35 度の温度グレーディエントでキイロショウジョウバエは 25-28 度を好み，30 度以上の場所には滞在しない。TRPA1 を欠失したキイロショウジョウバエはより高い温度に滞在するようになり, TRPA1 をレスキューすると野生型と同じような温度嗜好性を示すようになる。TRPA1 を欠失したキイロショウジョウバエにヒアリ TRPA を発現させると，野生型キイロショウジョウバエと同じような温度嗜好性を示すようになることから，ヒアリ TRPA が個体レベルでも温度を感知して高温忌避行動をもたらすものと考えられた。Ca-imaging 法による解析で, cinnamaldehyde, β-citronellao, β-caryophyllene にヒアリ TRP 活性化能があることがわかり, 行動実験でもヒアリがこれらの化合物を忌避することが確認された。これらの化合物はミツバチ TRPA を活性化しないことから，生息環境が異なることで異なる刺激で活性化するように進化したと考えられる。新たなヒアリ忌避剤の開発につながるものと期待される。（中国 Xi’an Jiaotong-Liverpool 大学 門脇博士との共同研究）

1) Wang X, Li T, Kashio M, Xu Y, Tominaga M, Kadowaki T. HsTRPA of the red imported fire ant, Solenopsis invicta HsTRPA functions as a nocisensor and uncovers the evolutionary plasticity of HsTRPA channels. eNeuro 5: e0327, 2018.

TRPV4，アノクタミン１機能連関と唾液・涙分泌

Sandra Derouiche，高山靖規，富永真琴

TRPV4 と Ca^{2+}活性化 Cl^-チャネルのアノクタミン１が機能連関してマウス脳脈絡叢上皮細胞からの脳脊髄液分泌に関与することを以前に報告しているが，同様のメカニズムがマウス唾液腺腺房細胞・涙腺腺房細胞からの唾液・涙分泌にも関わることを明らかにした [2]。マウス唾液腺および涙腺で TRPV4 とアノクタミン１が複合体を形成することを生化学的に確認した。唾液腺腺房細胞は TRPV4 刺激薬で容積減少を起こした。TRPV4 を介して流入した Ca^{2+}がアノクタミン１を活性化し, Cl^-流出から水流出が起こったものと考えられた。電気生理学的にも TRPV4 を介した陽イオン電流とそれに引き続く Cl^-電流の２相性の電流応答が確認できた。TRPV4 は IP3 type2 との複合体を形成することがわかり，ER 膜と形質膜が近接して，TRPV4，アノクタミン１，水チャネル, IP3 type2 の大きな複合体を形成することが明らかとなった。野生型マウス唾液腺からのカルバコールによる唾液分泌は TRPV4 阻害剤で抑制され，TRPV4 欠損唾液腺からの唾液分泌は有意に少なかった。行動観察で，TRPV4 欠

損マウスは野生型マウスと比較して有意に高頻度の飲水行動が観察された。マウス唾液腺からカルバコールによる唾液分泌は温度依存的に増大した。マウス涙腺からの涙分泌もアノクタミン１阻害剤で有意に抑制され，TRPV4 欠損マウスでは涙分泌が有意に少なかった。よって，TRPV4 とアノクタミン１の機能連関は唾液分泌・波団分泌に強く関わっていると結論された。

2) Derouiche S, Takayama Y, Murakami M, Tominaga M. TRPV4 heats ups ANO1-dependent exocrine gland fluid secretion. FASEB J. 32: 1841-1854, 2018.

Myotube 形成と piezo1 チャネル

高山靖規，富永真琴

筋芽細胞の融合と合包体の伸張は筋管形成に必須であるが，その分子メカニズムは明らかになっていない。筋管形成では形質膜（脂質二重膜）の内側のフォスファチジルセリンが一過的に外側に動いて筋芽細胞の融合を促進する。Piezo1 を発現しない筋芽細胞は正常な融合と合包体の伸張を起こさなかった。また，Piezo1 を発現させた HEK293 細胞での機械刺激で活性化された電流が細胞外から投与したフォスファチジルセリンによって減弱した。さらに，ATP11A と CDC50A の膜リン脂質 flippase によるフォスファチジルセリンの内側への translocation に piezo1 活性化が必要なことが判明した。Piezo1 活性化によって流入した Ca^{2+}が RhoA/ROCK を活性化して actomyosin の重合を促進して極性をもった合包体の伸張過程を制御しているものと結論した [3)]。筋芽細胞膜でのフォスファチジルセリンの flip-flop が piezo1 活性化の分子スイッチとして機能して筋管形成をコントロールしていると考えられる。（京都大学 梅田博士との共同研究）

3) Tsuchiya M, Hara Y, Okuda M, Itoh K, Nishioka R, Shiomi A, Nagao K, Mori M, Mori Y, Ikenouchi J, Suzuki R, Tanaka M, Ohwada T, Aoki J, Kanagawa M, Toda T, Nagata Y, Matsuda R, Takayama Y, Tominaga M, Umeda M. Cell surface flip-flop of phosphatidylserine is critical for PIEZO1-mediated myotube formation. Nat. Commun. 9: 2049, 2018.

TRPV6 変異とヒト新生児一過性副甲状腺機能亢進症

鈴木喜郎，富永真琴

新生児一過性副甲状腺機能亢進症の発症要因が複雑だが，一つに母親からの胎児への胎盤を介した Ca^{2+}輸送不全が挙げられている。多くは生後数ヶ月で正常になる。上皮細胞で Ca^{2+}選択性チャネルとして機能する TRPV6 変異が 6 症例（日本を含む数カ国の患児）に関わることを発見した [4)]。その変異は TRPV6 の様々なドメインで見いだされた。TRPV6 の形質膜発現に影響を与える例が複数あり，ヒト TRPV6 に発見された変異を導入した細胞でのパッチクランプ法による TRPV6 電流解析では，著しい電流の減少が観察された。よって，新生児一過性副甲状腺機能亢進症は，母親から胎児への Ca^{2+}輸送を阻害する TRPV6 の変異で起こる常染色体劣性遺伝疾患であると推定された。（日本及びアメリカの複数の大学および病院との共同研究）

4) Suzuki Y, Chitayat D, Sawada H, Deardorff MA, McLaughlin HM, Begtrup A, Millar K, Harrington J, Chong K, Roifman M, Grand K, Tominaga M, Takada F, Shuster S, Obara M, Mutoh H, Kushima R, Nishimura G. TRPV6 variants interfere with maternal-fetal calcium transport through the placenta and cause transient neonatal hyperparathyroidism. Am. J. Hum. Gent. 102: 1104-1114, 2018.

カンジタ感染症における不快情動を惹起する分子メカニズムの解明

高山靖規，富永真琴

真菌の一種である *Candida albicans* は，我々の皮膚や膣に生息する常在真菌であり，通常は人体に害を及ぼすことはないが，抗癌剤/抗菌薬/ステロイドなどの投与によって免疫系と細菌叢の恒常性が攪乱されると，*Candida albicans* は病原性の高い状態に変化して増殖をはじめ，口腔粘膜・外耳道・陰部・手足の指間部にしつこい痛みとかゆみを伴った発疹をひきおこす場合がある。しかし，*Candida albicans* による日和見感染で生じる不快情動のメカニズムは明らかにされていなかった。遺伝子改変マウスを駆使した行動生理学的手法を用いて，*Candida albicans* を構成する多糖類の一種である β-glucan により皮膚の上皮細胞が刺激されて ATP 分泌顆粒の放出が促され，そして放出された ATP が末梢の痛覚神経を刺激することで痛みやかゆみを発生させていることを見いだした。*Candida* 膣炎などによって惹起される不快情動を抑制ための新たな治療標的の可能性を見出した[5]。（大阪大学 審良博士・丸山博士との共同研究）

5) Maruyama K, Takayama Y, Yamanoi Yu, Yokawa T, Kondo T, Ishibashi K, Ranjan Sahoo B, Takemura N, Mori Y, Kanemaru H, Kumagai Y, Martino M.M., Yoshioka Y, Nishijo H, Tanaka H, Sasaki A, Ohno N, Iwakura Y, Moriyama Y, Nomura M, Akira S, Tominaga M. The ATP transporter VNUT mediates induction of Dectin-1-triggered *Candida* nociception. iScience 6: 306-318, 2018.

心循環シグナル研究部門

【概要】

全身の血液循環恒常性は，心筋・平滑筋・骨格筋などの筋肉細胞によって支えられている。当部門では，筋肉の柔軟性や老化を制御する分子機構を病態特異的なタンパク質間相互作用の視点から明らかにし，それを基軸に健康長寿につながる創薬戦略の構築を目指した研究を行っている。今年度は，国際連携共同研究により，TRPC チャネルタンパク質による心肥大抑制や心筋萎縮の新たな機構を見出した。また，心筋早期老化の初期段階におこるミトコンドリア過剰分裂に着目し，病態時にミトコンドリアー細胞骨格相互作用が強まる機構を明らかにした。以下に各課題の概要を示す。

TRPC5-eNOS 共役による心肥大制御機構の解明

Caroline Sunggip，下田　翔，小田紗矢香，西田基宏

心筋細胞における Ca^{2+}依存性転写因子 NFAT (nuclear factor of activated T cells)の活性化は心肥大を起こすことが知られている。ノルアドレナリン，アンジオテンシン II，エンドセリン 1 など様々なリガンド刺激で NFAT が活性化され，心肥大が誘発されることが報告されている一方で，NFAT を最も強く活性化するアデノシン 5'−三リン酸（ATP）は心肥大を全く誘発しない。その機序として，プリン作動性 P2Y2 受容体の下流で TRPC5 チャネルの活性化を介した一酸化窒素（NO）の産生増加が関与することを見出した。TRPC5 は内皮型 NO 合成酵素（eNOS）と機能共役することで，ATP 刺激による NFAT 依存的な心肥大誘導シグナルを負に制御することが明らかとなった（図１）。

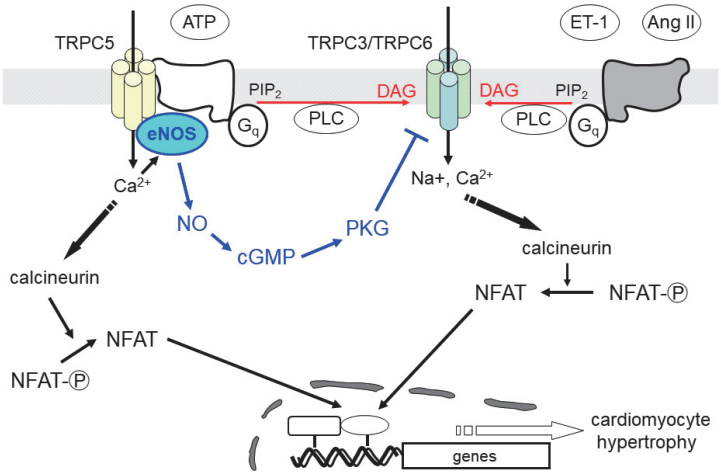


図1　TRPC5-eNOS共役による心肥大の負の制御機構

ドキソルビシン心筋症を仲介する TRPC3-Nox2 複合体を阻害する既承認薬の同定

島内　司，西山和宏，冨田拓郎，西田基宏

ドキソルビシン（DOX）は様々な悪性腫瘍に有効な抗腫瘍薬である一方で，重篤な心毒性（心筋萎縮）を誘発する。昨年，DOX 誘発性の心不全が TRPC3-Nox2 機能連関により仲介されることを報告した（JCI insight, 2017）。TRPC3 と Nox2 はマクロファージに多く発現していることから，Raw264.7 細胞株のドキソルビシン誘発性細胞死を指標に，1270 種類の既承認薬の中から TRPC3-Nox2 機能共役を抑制する化合物の探索を行ったところ，イブジラスト（商品名ケタス，適応疾患：気管支喘息）を新たに同定した。イブジラストはドキソルビシン投与によるマウスの体重量および組織重量の低下や酸化ストレス障害を有意に抑制した。以上の結果は，TRPC3-Nox2 複合体が抗がん剤投与による筋組織萎縮の原因となり，薬理学的にこれを抑制することが全身毒性を軽減する新たな治療戦略となる可能性を示している（図２）。

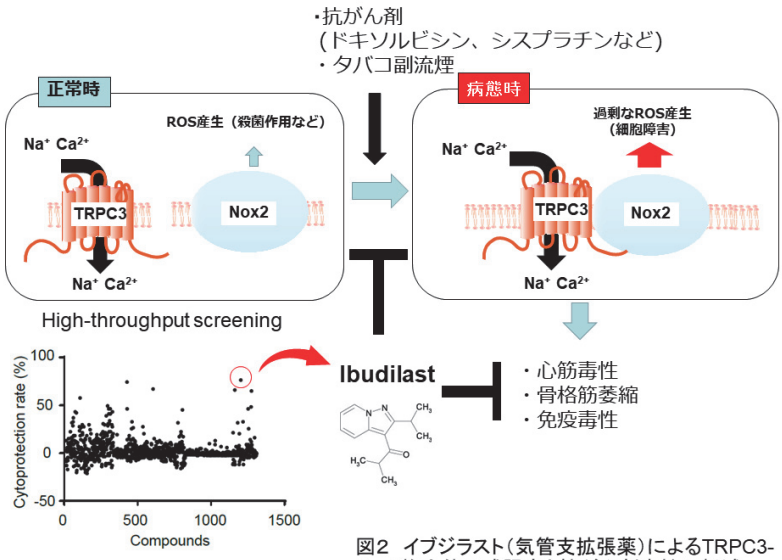


図2　イブジラスト（気管支拡張薬）によるTRPC3-Nox2複合体形成阻害と抗がん剤毒性の軽減

低用量の環境化学物質曝露によるミトコンドリア過剰分裂と心疾患リスク増加の分子機構

西村明幸，下田　翔，田中智弘，外山喬士，西田基宏

有機水銀は水俣病の原因として非常によく知られている環境親電子物質である。一方，普段我々が口にする食事や大気中にも微量の環境親電子物質が含まれている。神経障害を発症しない微量のメチル水銀を曝露させたマウスに大動脈狭窄を行ったところ，マウスの生存率が劇的に低下した。メチル水銀曝露マウス心臓では，ミトコンドリアが著しく分裂しており，これは Drp1-filamin 相互作用阻害剤であるシルニジピンを投与することで抑制された。メチル水銀は Drp1 の C 端側に存在する Cys624 のポリイオウ鎖からイオウを奪い取ることで filamin との相互作用を増強させることも明らかとなり，環境親電子センサーとしてのタンパク質ポリイオウ鎖の新たな役割が示された（図３）。

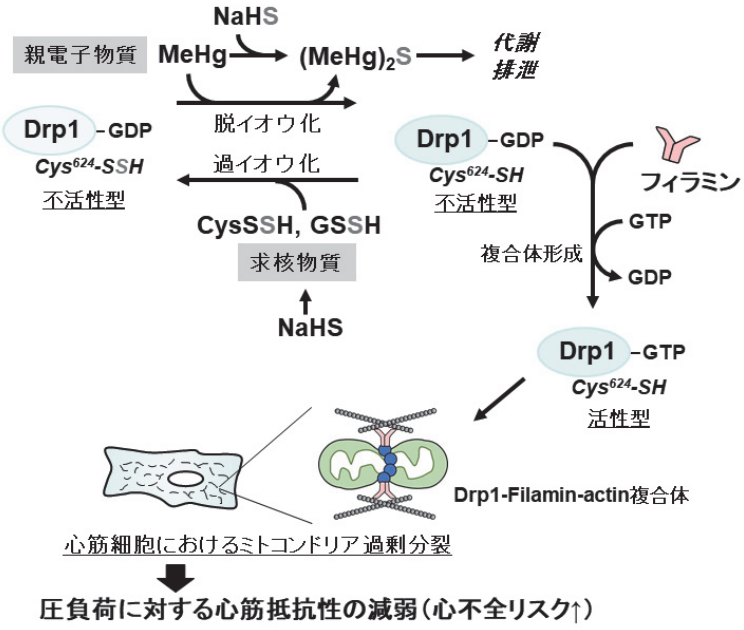


図3　タンパク質ポリイオウ鎖によるミトコンドリア品質管理と心筋のストレス抵抗性制御

高濃度 ATP 曝露による心筋萎縮のメカニズム

Sudi Suhaini，田中智弘，小田紗矢香，冨田拓郎，西田基宏

筋萎縮はサルコペニアやフレイルに見られる主症状であり，その予防・治療戦略の構築が求められている。ラット新生児心筋細胞に高濃度の ATP 刺激を行うと心筋は萎縮する。その機構に TRPC3-Nox2 複合体の活性化が関与することを見出した。高濃度 ATP 曝露により P2Y2 受容体を介して TRPC3-Nox2 複合体が活性化され，活性酸素生成に依存して筋萎縮マーカータンパク質 MAFbx の発現が増加することを見出した。グルコース除去や栄養飢餓を施した際に起こる ATP 放出によっても，P2Y2 受容体-TRPC3-Nox2 複合体が活性化され，心筋萎縮が起こることも明らかとなった（図４）。

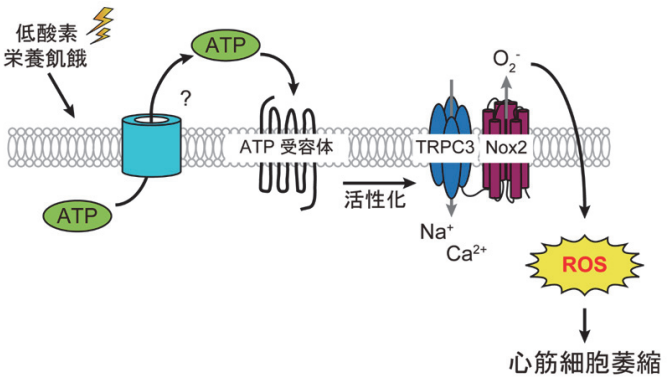


図4　細胞外ATPはTRPC3-Nox2複合体形成による過剰なROSの産生により心筋細胞の萎縮を引き起こす

生殖・内分泌系発達機構研究部門

【概要】

本研究部門は，視床下部による摂食行動の調節と末梢組織における代謝調節機構の解明を目指して研究を行っている。視床下部は，摂食行動（エネルギー摂取）とエネルギー消費機構（栄養代謝）を巧みに調節することによって生体エネルギーを一定に保つ重要な働きを担う。しかし，近年，この調節機構の異常が肥満，糖尿病，高血圧など，生活習慣病の発症と密接に関連することが明らかとなってきた。当部門では，視床下部における生体エネルギー代謝の調節機構を分子レベルで解明し，その分子機構を通して生活習慣病など様々な疾患の原因・治療法を明らかにしたいと考えている。本年度実施した主たる研究課題は次の通りである。１）視床下部室傍核 AMPK 活性型 CRH ニューロンによる炭水化物嗜好性調節機構，２）AMPK が骨格筋 C2C12 細胞のミトコンドリア，エネルギー代謝関連遺伝子に及ぼす調節作用。

視床下部室傍核 AMPK 活性型 CRH ニューロンによる炭水化物嗜好性調節機構

岡本士毅，佐藤達也，Sanda Kyaw，戸田知得，齊藤久美子，Nur Farehan Asgar，横田繁史，箕越靖彦
立山充博（生理学研究所　神経機能素子）
小林憲太（生理学研究所　ウイルスベクター開発室）
志内哲也（徳島大学），影山春秋（桐生大学）
前島裕子，中田正範，Udval Sedbazar，Boyang Zhang，矢田俊彦（自治医科大学）
松尾　崇，中里雅光（宮崎大学），平子哲志（人間総合科学大学）
Fabienne Foufelle，Pascal Ferre（INSERM, Centre de Recherche des Cordeliers）
益崎裕章（琉球大学），塩田清二（星薬科大学），Barbara B. Kahn（ハーバード大学）

食物に含まれる炭水化物，脂肪，蛋白質は，３大栄養素と呼ばれる。これらの栄養素は，体内での役割が異なるため，我々は食物を食べ分けることによって，これらの栄養素を必要に応じて食物から摂取する。しかし，動

物が，どのようなメカニズムによって食物を選択し，摂取するかはほとんど分かっていない。我々は，今回，視床下部室傍核 CRH (corticotropin-releasing hormone) ニューロンの中に AMPK (AMP-activated protein kinase) によって活性化されるニューロンが存在し，このニューロンが活性化すると，炭水化物の選択が増加することを見出した。

我々は，まず，視床下部室傍核ニューロンにウイルスを用いて活性型 AMPK を選択的に発現させると，高脂肪食よりも高炭水化物食を多く選択することを見出した。その作用は，CPT1c (carnitine transferase 1c) の発現を室傍核で抑制すると完全に抑制された。マウスやラットを絶食後に再摂食させると炭水化物の摂取が増加することが知られている。また，我々は，マウスを絶食すると室傍核において AMPK 活性が増加することを報告している。そこで，マウスを 1 日絶食した後に再摂食させたところ，炭水化物食を多く選択・摂取することを見出した。また，室傍核に AMPK 或いは CPT1c の shRNA をウイルスを用いて発現させたところ，絶食後の再摂食における炭水化物の摂取が抑制され，高脂肪食のみを摂取した。

そこで，我々は，視床下部室傍核のどのニューロンが炭水化物の嗜好性を制御しているかを調べた。その結果，マウスを 1 日絶食させると，室傍核では一部の CRH ニューロンにおいて AMPK が選択的に活性化することを見出した。CRH に対する shRNA を室傍核に選択的に発現させると，絶食後の再摂食における高炭水化物食の摂取が完全に抑制され，高脂肪食のみを摂取した。また，CRH ニューロンを DREADD 法（Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drug）によって選択的に活性化または抑制すると，各々の実験において，高炭水化物食の選択が増加あるいは抑制された。そこで，室傍核 CRH ニューロンに選択的に AMPK，CPT1c の shRNA を発現させた。その結果，高炭水化物食の選択が低下し，絶食後の再摂食においても高脂肪食のみを選択した。室傍核 CRH ニューロンに選択的に活性型 AMPK を発現させると，高炭水化物食の選択が増加した。さらに，室傍核から CRH ニューロンを単離し，単離した CRH ニューロンの AMPK を薬物によって活性化したところ，細胞内のカルシウム濃度が増加した。しかし，AMPK 或いは CPT1c に対する shRNA を発現させた CRH ニューロンでは，AMPK 活性化剤を作用させても細胞内カルシウムは上昇しなかった。

以上の実験結果から，視床下部室傍核 CRH ニューロンの中に AMPK によって活性化されるニューロンが存在し，このニューロンが活性化すると，炭水化物の選択が増加することが明らかとなった。

AMPK が骨格筋 C2C12 細胞のミトコンドリア，エネルギー代謝関連遺伝子に及ぼす調節作用

岡本士毅，Nur Farehan Asgar，横田繁史，齊藤久美子，箕越靖彦

AMPK (AMP-activated protein kinase)は，α，β，γ サブユニットの三量体によって構成されている。α サブユニットは酵素活性に必要な触媒部位を持ち，α1 と α2 がある。α1 と α2 の発現は，各組織，細胞，発達過程によって異なるため，α1 と α2 サブユニットを持つ AMPK（AMPKα1 と AMPKα2）は，各々異なる生理的作用を持つと考えられる。しかし，その作用の違いはよく分かっていない。

本研究では，AMPKα1 と AMPKα2 による骨格筋細胞での働きを明らかにすることを目的に，骨格筋の培養細胞株 C2C12 細胞に，α1，α2 サブユニット或いはその両方を抑制する shRNA（short hairpin RNA）を発現させ，遺伝子発現，代謝，細胞の大きさに及ぼす効果を調べた。その結果，AMPKα2 は，PGC (peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator)-1α1，PGC-1α4，筋肉クレアチンキナーゼなど，ミトコンドリア合成，エネルギー産生，骨格筋細胞の肥大を促進する遺伝子発現を促進することを見出した。その結果，ミトコンドリア量，細胞の大きさも増加した。さらに，ミトコンドリア合成に重要な転写調節因子 PGC-1α1 の発現促進作用は，AMPKα2 が活性化すると，AMPKα2 の一部が核移行することによることを見出した。

基盤神経科学研究領域

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，他の皮質領野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 作動性細胞と皮質下構造へ投射する錐体細胞のニューロン構成を明らかにした。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，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とを見つけた。これらを基に，前頭皮質機能に本質的な基本構造（標準回路）を，外部入出力と関連させて抽出する解析を続けている。本年度は以下の 3 つの研究を進めた。(1) 皮質シナプス結合の大規模定量解析のための光顕・走査型電顕電顕相関の技術を発展させた。(2) 2 種類の運動学習パラダイムを使って局所振動と学習形成の関係と，学習に伴うスパイン再編様式を明らかにした。(3) GABA 作動性ソマスタチン細胞のシナプス結合が，その発火サブタイプや抑制支配する錐体細胞投射サブタイプで異なることを明らかにした。

ATUMtome 用の新開発電解銅箔テープ

窪田芳之，畑田小百合，江川尚美，北　啓子，孫　在隣，川口泰雄
芝田晋介（慶應義塾大学医学部）

テープに連続超薄切片を自動回収するシステム ATUMtome は，連続超薄切片を簡単でしかも確実に回収する事を可能にするウルトラミクロトームである。回収した連続超薄切片を，走査型電子顕微鏡(SEM)を利用し自動撮影を行えば，大規模連続 EM 画像を効率的に撮影することができる。我々は, SEM 画像の安定取得のため，高い導電性を持つテープの開発を行い，carbon nanotube (CNT)-coated テープを見いだし, 2018 年に論文報告した。CNT テープの導電性は非常に高く, 表面も均一で起伏がほとんどない。脳組織切片の連続 SEM 撮影で，シナプス観察に耐える非常に高解像度の EM 画像を撮影することができる理想的なテープである。しかし，CNT テープの開発は満足のいくレベルには未だ達せず供給は十分ではないし，既存のものはとても高価である。そこで，ATUMtome-SEM に適したテープを安価に提供することを目的に検討を進めたところ，電解銅箔テープを見出した。電解銅箔テープは，導電性が高く，表面に凹凸がほぼなく，1-2 keV 程度の加速電圧での撮影では銅箔からのシグナルノイズもないため，高解像度の電顕写真の撮影に適していることを認めた。

皮質オシレーション活動の運動学習における役割

大塚　岳，川口泰雄

大脳皮質の錐体細胞は投射先に対応して分化しており，皮質内局所回路においてサブネットワークを形成している。運動学習形成における皮質錐体細胞サブタイプの機能的役割について検討した。回転カゴを用いた運動学習中のラットの一次運動野から慢性記録を行い，局所電場位を解析した結果，学習中にオシレーション活動が皮質において発生していた。このオシレーション活動は特定の皮質錐体細胞サブタイプの神経活動に依存しており，チャネルロドプシンを用いて神経活動を活性化させると増強し，また，アーケロドプシンを用いて抑制すると抑制された。運動学習中に錐体細胞サブタイプ選択的に神経活動を光操作した結果，学習中に発生するオシレーション活動に関与する錐体細胞サブタイプに依存して学習形成が影響を受けた。これらの結果は，特定の皮質錐体細胞サブタイプがオシレーション活動の発生に関与しており，運動学習形成に重要な役割を担っていることを示唆する。

前頭皮質サブレイヤーに依存した錐体細胞と GABA 作動性細胞の結合様式

森島美絵子，川口泰雄

前頭皮質 5 層における興奮性－抑制性回路を理解するために，錐体細胞の投射サブタイプ（橋核投射細胞）と，GABA 作動性細胞サブタイプ（ソマトスタチン陽性 LTS 細胞）の間のシナプス伝達特性を明らかにしてきた。本年度は，橋核投射細胞と LTS 細胞の結合性が，出力先が異なる 5 層サブレイヤー(5a, 5b)に依存して異なるのかについて調べた。5a 層の橋核投射細胞から LTS 細胞への興奮性結合確率は 5b 層の橋核投射細胞から LTS 細胞と比較して有意に高かった。一方で LTS 細胞から橋核投射細胞への抑制性結合確率はサブレイヤー間で差は見られなかった。これらの結果から，前頭皮質で視床に投射する 5a 層橋核投射細胞と LTS 細胞は相互に結合する一方，脊髄に投射する 5b 層橋核投射細胞と LTS 細胞では主に一方向性抑制になることが分かり，サブレイヤー依存的に興奮－抑制回路が作られていることが明らかになった。

学習に伴う大脳皮質運動野での回路特異的な可塑的変化

孫　在隣，窪田芳之，川口泰雄

動物が巧緻運動を実現するためには，中枢神経系において最適な運動制御が行われる必要がある。動物はその最適な運動制御を運動学習により獲得するが，その学習過程において大脳皮質運動野では新しい神経回路が形成される。我々は第 5 層錐体細胞が蛍光標識された遺伝子改変マウスを用い，生体 2 光子顕微鏡観察により新生シナプスを同定した。さらに免疫組織化学による詳細な形態学的解析を行ったところ，運動学習により入力タイプに依存したシナプス結合の再編が起き，この形態変化は学習効率と有意に相関することがわかった。この学習による変化は学習初期に特に大きく現れていた。一方で，学習後期では学習初期でみられる神経回路変化とは異なる特異的な動態を示すことが判明した。これらのことから，運動技能の獲得とその維持は異なる神経回路の動的変化を必要とすることが示唆された。

前頭葉皮質浅層の回路におけるソマトスタチン抑制性細胞の特徴

Fransiscus Adrian Agahari，川口泰雄

ソマトスタチンを発現する(SOM)抑制性細胞が多様な生理学的機能に深く関わることは近年の研究で証明された。しかし，大脳皮質の様々な領野を繋ぐ第 2/3 層において SOM 細胞がどの様なパターンでシナプス結合を作り小回路を形成するかはまだよく理解されていない。これを解明するため，我々はマウス第二次運動野(M2)の第 2/3 層 SOM 細胞の電気生理及び形態的な特徴を調べた。活動電位の発火様式に基づき SOM 細胞は二つのクラスターに分けられ，各クラスターの細胞は異なる樹状突起及び軸索の伸ばし方を示すことが判明した。また，ペア記録の手法を用い，対側皮質投射の第 2/3 層錐体細胞とのシナプス結合を調べた結果，抑制性シナプスが一つのクラスターから優先的に作られることが判明した。よって，回路における結合パターンは SOM 細胞サブタイプの発火様式に依存することが示唆された。

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

2) 細胞内 Cl イオンくみ出し分子 KCC2 に関して，運動学習への関与を検討している。

3) 新規イメージングおよび操作技術の構築を JST・クレスト研究（2 課題）の分担研究を遂行している。一つはイオンイメージングセンサーのマウス生体脳内埋め込み技術の構築と脳活動の記録技術の構築について 2014 年度から参画している。また，脳内の神経細胞・グリア細胞の光による高精度の 4 次元時空間制御の技術の構築について 2017 年度から参画している。

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

人事として，特別共同利用研究員として佐藤彩氏が滋賀医科大学医学研究科から，吉原康平氏が九州大学薬学研究院から研究室に参画した。

また，オーストラリア・ニューサウスウエールズ大学医学研究科から Dennis Cheung 氏が研究員として研究室に加わった。ロシア（サンクトペテルブルグ）実験医学研究所，台湾大学生命科学科から大学院生を 2～6 カ月受け入れた。NIPS インターンシップにより中国浙江大学から大学院生を受け入れた。

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

堀内　浩，春若航一郎，揚妻正和，鍋倉淳一

大脳皮質神経回路の長期再編の可視化とシナプス再編に対するグリア細胞の関与を検討するために，2 光子励起顕微鏡を用いてグリア細胞と神経細胞を生体脳内で監察を行った。前年度までに報告した，ミクログリアにシナプス監視や未熟期におけるミクログリアによるシナプス形成の結果をうけて，ミクログリアによるシナ

プス接触がシナプス伝達に及ぼす影響について，覚醒下マウスの大脳皮質運動野を観察した。正常マウスの大脳皮質運動野では，ミクログリアがシナプスに接触すると，シナプス後部のカルシウム上昇頻度の増加が観察され，接触中はシナプス伝達が亢進していることが判明した。一方で，リポサッカライド（LPS）を全身投与してミクログリアを活性化させると，ミクログリアの接触時におけるシナプス伝達の亢進は消失した。さらに，正常では近接する神経細胞の同期活動が観察されたが，LPS 投与および遺伝子発現操作によりミクログリアを除去するとこの同期活動の消失が観察された。さらに，行動実験にミクログリアを活性化させると運動学習能がていかすることが判明した。この結果から，ミクログリアはシナプスに接触し，シナプス伝達の促進により神経活動の亢進を引き起こし，隣接する局所神経回路活動の同期性を高め，運動学習能を更新させていることが判明した。

慢性疼痛モデルマウスにおける大脳皮質神経回路再編

竹田育子，金　善光（Kyung Hee Univeristy 韓国），石川達也（金沢大学），江藤　圭，鍋倉淳一

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

末梢感覚神経の部分傷害後に末梢感覚神経の過剰活動と痛覚過敏が持続する。痛覚過敏形成時に限定して，大脳皮質錐体細胞のシナプスの新生・消失が更新し，その後ターンオーバー率は傷害前の値に戻るが感覚過敏は長期にわたり持続する。慢性疼痛時には，大脳皮質感覚野細胞の活動の増強が観察された。これらから，慢性疼痛時における大脳皮質感覚野における回路再編による過剰応答回路の形成が持続する慢性疼痛発症の一因である可能性が示唆される。さらに，大脳皮質神経回路再編時には，アストロサイトにおける５型代謝型グルタミン酸受容体の再発現によりその活動が亢進していることが判明した。

これらの結果・報告，昨年度までに報告した，慢性疼痛モデルマウスにおいて，損傷した末梢神経と反対側大脳皮質体性感覚野での神経回路長期再編とアストロサイト活性化に続き，損傷した末梢神経と同側体性感覚野においてもアストロサイトが活性化していること，しかし同部位においては神経回路再編はみられないことに基づき，その原因について検討を行った。結果として，同側体性感覚野においては，活性が亢進している対側感覚野からの脳梁を介する投射が抑制性神経細胞に入力し，同部位の活動を抑制しているため，アストロサイトの活動が亢進しても，神経回路の再編が起こらない可能性が示唆された。実際に同側体性感覚野に GABA 受容体阻害薬を投与し同部位の活動を高めると，同部位でにおいて神経回路再編が起こり，傷害・非傷害両側の痛覚に対する閾値が低下した。このことは，ミラーイメージ痛の発症メカニズムの一つと考えられる。

これらの知見に基づいて，慢性疼痛の慢性期（維持期）にアストロサイトを再活性化し，神経回路の可塑性を再度更新させ，異常痛覚を除去する試みを開始した。

細胞内 Cl^- 制御分子 KCC2 の発現制御と生体機能

中村佳代，
Dennis Cheung，Andrew Moorhouse（共に 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。また KCC2 はシナプス形成にも関連している。当研究室で作成したドキシサイクリンにより KCC2 発現をコントロール可能なマウス用いて

1）KCC2 過剰発現マウスでは，ロタロット運動試験において，正常マウスに比較し，運動学習能力が更新していること判明した。大脳皮質運動野における運動学習中のシナプス再編について，2 光子励起顕微鏡による生体イメージングを用いて検討した。正常マウスでは運動負荷 2−3 日目にシナプスターンオーバーが更新したのに対し，KCC2 過剰発現マウスでは，運動負荷初日にシナプス再編が更新していた。この結果から，KCC2 を過剰発現させることにより，シナプス再編（回路可塑性）が起こりやすい状態になっていることが，運動学習能を更新させている可能性が示唆された。

2) 痙攣の慢性化における GABA 機能の低下について，オーストラリア国連邦 New South Wales 大学 Andrew Moorhouse 博士と共同研究を行った。KCC2 過剰発現マウスでは癲癇の慢性化が減弱することを，行動実験および電気生理学的手法を用いた生体脳活動の長期記録により明らかにした。この結果から痙攣の繰り返しにより KCC2 の発現低下による細胞内 Cl^-イオン濃度の上昇に起因する抑制姓 GABA 機能の低下が起こり, 興奮―抑制のバランスの破綻が過剰興奮が惹起されやすい状態を ts 食っていることが判明した。

感覚情報処理回路の発達およびその制御機構の解明

鳴島　円，植木彰彦

発達期における神経回路の再編とそのメカニズムについて検討を再開するために，視覚情報による恐怖回避行動に関連するマウス上丘をターゲットとして，両側眼からの入力プロファイルと視覚情報処理の発達変化について，および同部位におけるミクログリアの形態的発達変化について検討を開始した。

イオンイメージングセンサーの脳内埋め込み技術の構築

堀内　浩，石田順子，鍋倉淳一

JST・戦略的創造研究推進事業（代表 : 豊橋技術科学大学 : 澤田和明教授，非標識神経伝達物質イメージングセンサーによる細胞活動可視化システム構築と脳機能の時空間解析）の分担研究として，豊橋技術大学で開発したイオンイメージングセンサーの脳内埋め込み技術の構築と行っており，大脳皮質内における pH の不均一性などの予備結果が得られつつある。

視覚情報処理研究部門

【概要】

本研究部門では，大脳皮質で行われている情報処理の基盤となる神経回路の動作特性やその発達メカニズムを明らかにすることを目指して研究を行っている。具体的には，ラットやマウスの大脳皮質を対象として，1) 大脳皮質一次視覚野と中心とした神経回路特性と視覚反応の対応関係, 2) 発達期視覚野のシナプス可塑性と視覚反応可塑性メカニズム, 3) シナプスの結合特異性とその発達メカニズム, 4) 視覚誘発性の行動課題を担う大脳皮質神経活動の解析を行っている。本年度は，視覚野スライス標本の複数の細胞からパッチクランプを行うこと

により，2/3 層錐体細胞と fast-spiking タイプの抑制性細胞間のシナプス結合の発達メカニズムについての新たな知見を得た。また，低コントラスト刺激を用いた視覚弁別課題中に選択的にみられる一次視覚野細胞の反応特性の神経機構についても進展があった。新たな実験手法としては，２光子イメージング法と組織透明化法を組み合わせて，大脳皮質視覚野の多細胞からの視覚反応を，細胞タイプを踏まえて計測する技術を確立した。また，人事としては 4 月より呉嘉豪 大学院生が，5 月より米田泰輔 特任助教が加わった。以下に本年度に行った研究内容の中で，3 テーマについての要約を記載する。

マウス一次視覚野 2/3 層における Fast spiking 抑制性細胞－錐体細胞間結合の発達

山本真理子，吉村由美子

大脳皮質一次視覚野において, Fast-spiking (FS) の発火様式をもつ抑制性神経細胞と錐体細胞の神経結合の発達過程を明らかにするために，様々な発達段階にあるマウスより視覚野切片標本を作製し，2/3 層の FS 細胞と錐体細胞のペアからの同時ホールセル記録により，神経結合を解析した。開眼前には FS 細胞から錐体細胞に一方向性結合するペアの抑制性シナプス後電流 (IPSC) と双方向性結合するペアの IPSC の振幅に差はなかったが，発達に伴い，双方向性結合ペアの IPSC が選択的に増大した。興奮性シナプス後電流 (EPSC) でも同様の変化がみられた。シナプス可塑性に重要な NMDA 受容体の GluN1 サブユニットを視覚野で欠損すると，双方向性結合ペア特異的な IPSC の増大が消失した。一方，双方向性結合特異的な EPSC の増大には欠損の影響がなかったことから，抑制性結合強度の調節に GluN1 が関与することが示唆された。

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，外部の刺激が多少あやふやでも，知覚・認知し，特定の運動を出力できる。本研究では，ラットに縦縞／横縞でレバーを押す／引くという課題を，高コントラストと低コントラストの刺激を用いて行わせた。この時の一次視覚野深層の発火活動をマルチユニット記録し，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を観察した。さらに，この細胞は低コントラストの視覚弁別に機能していると示唆された。本年度は，この反応性の創出を検討した。まず，低コントラスト優位な細胞は，興奮性の上昇が観察され，低コントラストでも強い視覚応答になる原因の一つと考えられた。次に，高コントラストの刺激提示時に，一次視覚野で β 帯域のオシレーションが強く生じ，この帯域の位相に，抑制性細胞は，より強くロックして発火し，抑制性の影響力の増大が示唆された。このように，興奮と抑制の働きで，低コントラスト優位な反応性が生まれると考えられた。

大脳皮質視覚野の異なる神経細胞タイプからの繰り返しイメージング法の確立

米田泰輔，吉村由美子

大脳皮質の神経回路は多様な神経細胞タイプによって構成される。皮質回路の機能形成には生後初期の経験が重要であるが，それぞれの細胞タイプに固有の機能形成機構があるのか，それとも共通のメカニズムがあるの

かはわかっていない。我々は慢性２光子イメージング法と組織透明化法を組み合わせることで，視覚皮質の異なる細胞タイプで繰り返し機能解析を行う方法を確立した。今後はこの方法を用いて，個々の細胞タイプで機能形成のダイナミクスを追跡する。

システム脳科学研究領域

認知行動発達機構研究部門

【概要】

当部門では，マカクザルをモデル動物として社会的認知機能の神経機構の解明を目指す研究（社会脳研究）と，マーモセットをモデル動物として視覚サリエンスの神経機構の解明を目指す研究（サリエンス研究）をおこなった。社会脳研究では二頭の動物を同時に用いた行動課題を開発し，複数の脳領域から神経活動の多点同時計測をおこなって，自己および他者の行動情報処理の神経機構を単一神経細胞レベルから大域的ネットワークレベルまでの異なる粒度で解析した。また，運動の自他間同期現象や他者の顔・視線情報処理の神経機構の解明を目指す研究にも，それぞれ着手した。サリエンス研究では，自由視課題遂行中の動物の視線解析を進めるとともに，薬理学的介入によって生じるサリエンスの変容を解析することで，統合失調症の病態モデルとしての有用性を検討した。

主な研究成果としては，自他の報酬処理における内側前頭前野とドーパミン作動性中脳核の機能差および機能連関を明らかにした則武厚らの成果が Nature Neuroscience 誌に発表された。

人事面では，2018 年 9 月 1 日より戸松彩花が特任准教授として着任した。

各研究テーマにおける当該年の成果は以下のとおりである。

ヒト精神疾患・高次認知機能解明のための霊長類モデル動物の開発

郷　康広

ヒト精神・神経疾患の霊長類モデル動物の開発のために，マカクザルとマーモセットを対象とした実験的認知ゲノミクス研究を行った。ヒト精神・神経疾患関連遺伝子（約 500 遺伝子）を解析対象とし，マカクザル 831 個体，マーモセット 1328 個体を対象とした遺伝子機能喪失変異保有個体の同定を行った結果，マカクザルでは 53 遺伝子，マーモセットでは 142 遺伝子おいて，精神・神経疾患との関連性が非常に高い遺伝子において稀な（集団アリル頻度 5%以下）遺伝子機能喪失変異を持つ可能性のある個体を同定した。

また，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解析を行った。マクロレベルとして大脳左右半球 7 領域の発達 5 段階，メゾレベルとして大脳新皮質 6 領野の各神経層および皮質下 14 神経核領域，ミクロレベルとして前頭葉における単一細胞発現解析を行い，各階層における薬理学的自閉症マーモセットモデルと野生型の比較遺伝子発現解析を行った。

他者との運動同期指向性を指標とした社会性形成の神経基盤解明

戸松彩花

我々の身体運動は個体の脳・神経系内に閉じておらず，視覚刺激・聴覚刺激・物理的拘束条件などを含む身体外の環境から影響を受ける。特にリズミカルな運動では，場のリズムへの同調や，動作者同士が互いにリズムを引き寄せあう現象（Keller et al., 2014）が知られており，本研究ではこれを同期指向性と名付ける。この同期指向性

は，「集団」ひいては「社会」の形成に大変重要と考えられるが，その神経実態は未解明である。いかなる神経ネットワークが自己と他者のリズムの違いを検出し，同期するように仕向けるのだろうか。この疑問に答えるための第一段階として，ヒト以外の霊長類によるリズム同期現象の再現を行った。現状では二ホンザル 2 頭にセルフペースの片手往復運動を，指示に従い「速く」もしくは「遅く」行うよう訓練した。この課題運動中のサルにリズミカルな音の呈示を行ったところ，「音」のみには同調しないことが示された。今後はリズミカルな視覚刺激の呈示および，ビデオによる他者の観察，２頭を向かい合わせての運動実施と段階を踏んで進め，同期指向性を確認する。その後，同期指向性に関わる脳領域の情報の流れを同定する予定である。

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，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】これまでに 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。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，3 頭の損傷動物では 3T の MR マシン(Siemens Allegra)による 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急性期には半球内で，慢性期には半球間で低下していることを示唆する結果を得た。さらに 1 頭の健常動物では 7T の MR マシンを用いた resting-state fMRI 法による計測に成功した。以上の結果から，右上側頭回の損傷によって，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。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下していった。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高かった。さらに視覚特徴ごとのサリエンシーを計算して同じ解析を行うと，（輝度や色のサリエンシーではなく）傾きのサリエン

シーが統合失調症患者において特異的に影響を受けていることが明らかになった。また，サリエンシー計算論モデルをベイズ統計的に拡張したベイジアン・サプライズを用いた解析から，空間的サリエンシーだけでなく，時間的サプライズにも影響が及んでいることが示唆された。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と脳活動の計測

吉田正俊

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頭部固定下での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った。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。さらに頭部固定した条件において自由視課題中の視線計測を両眼で行い，より正確で安定したデータの取得に成功した。またさらにケタミンの麻酔用量以下での注入（2.5mg/mg）による統合失調症の薬理モデルにおいて，サッケードの振幅が低下することを 2 頭の動物で見出した。さらに同じ個体で聴覚野に埋め込んだ 4ch 銀ボール電極による計測結果から聴覚性ミスマッチ陰性電位を計測して，deviance detection の要素がケタミン注入（2.5mg/mg）によって低下することを見出した。以上のことはマーモセットへのケタミン注入が統合失調症の動物モデルとして有効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動作情報処理の神経機構

二宮太平，則武　厚，磯田昌岐

自己と他者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（リアル条件）または眼前のディスプレイにビデオ再生した他個体や棒のような物体（ビデオ条件）と，交互に行動選択タスクを遂行するサルから記録した神経活動の解析を進めた。記録対象部位は，いわゆる社会脳ネットワークのノードである腹側運動前野(PMv)および内側前頭皮質(MFC)とした。

単一神経細胞活動を解析した結果，PMv においては自己と他者いずれの動作時にも活動する神経細胞が最も多かったのに対して，MFC においては他者の動作時に活動する神経細胞が最も多かった。局所電場電位を対象に Granger causality 解析をおこなった結果，リアル条件では PMv→MFC の情報の流れが多く，ビデオ条件の場合は MFC→PMv の情報の流れが多いことが明らかになった。以上の結果は，PMv と MFC が他者の動作情報処理において異なる役割を担っており，相手のタイプに応じて適応的に相互作用していることを示唆する。

社会的コンテキストにおける報酬情報処理の神経機構

則武　厚，二宮太平，磯田昌岐

社会的コンテキストにおける報酬情報処理の神経機構を明らかにするため，サル 2 頭を対面させ，自他の報酬確率を操作した社会的古典的条件づけ下におけるサルの神経活動記録実験を行った。これまで焦点を当ててきたドーパミン作動性中脳核と内側前頭前野に加え，視床下部外側野を含む 3 領域の単一神経細胞活動および局所電場電位の多点同時記録を実施し，データ解析を行った。その結果, (1) 視床下部外側野における自他の報酬情報処理様式は，ドーパミン作動性中脳核と内側前頭前野における自他の報酬情報処理様式を併せ持つこと，(2) 視床下部外側野は内側前頭前野からトップダウンの信号を多く受けることが明らかとなった。今後さらに解析を進め，3 領域間における神経情報の流れおよびその内容の解明を目指す。ドーパミン作動性中脳核と内側前頭前野における自他の報酬情報表現と領域間の情報流に関する結果をまとめ，Nature Neuroscience 誌に発表した。

自発的行動による学習促進の神経基盤

植松明子，磯田昌岐

近年，教育現場では能動的学習が注目されている。自ら行動して学んだ場合には，受け身で学んだ場合と比べて学習効率が高いことが知られている。しかし，このような学習促進効果の神経基盤はいまだ明らかではない。本研究では，複雑な学習課題遂行が可能なサルを対象として，学習促進機序を明らかにすることを試みた。サルにはフラクタル図形を用いた学習課題をトレーニングし，自発的学習条件と非自発的学習条件における学習効率の比較を行った。また，各試行におけるサルの自発的な行動選択を明らかにするため，自発的行動下におけるサル脳内の単一神経細胞活動並びに局所フィールド電位の解析を行った。

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，ジスキネジアに見られるように，随意運動が著しく障害される。本研究部門においては，げっ歯類，霊長類（マーモセット，マカクサル，サバンナモンキー）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。

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いう，非常に複雑な回路になっている。また，視床下核は大脳基底核の出力核である淡蒼球内節ニューロンへグルタミン酸作動性の強い興奮性入力を送っている。そのため視床下核の活動は大脳基底核の活動に大きな影響を与えると考えられている。これまでわれわれは，淡蒼球の内節と外節における，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。２０１８年度は３種類の課題（Go 課題, No-go および Stop 課題）を遂行中のニホンザル視床下核の活動を大脳皮質からのグルタミン酸作動性興奮性入力，および淡蒼球外節からの GABA 作動性抑制性入力に，選択的シナプス伝達遮断薬の局所微量注入法によって分離して記録することに成功した。次年度はさらなるデータの収集と解析を行う予定である。

喪失四肢の脳内表現

Pimpimon Nondhalee，畑中伸彦，南部　篤

大脳皮質の一次運動野（MI）や一次体性感覚野（SI）には，明確な四肢や体幹の体部位再現がある。これまで，動物の四肢がアクシデントにより喪失した場合，MI や SI の喪失された四肢の体部位再現領域では可塑的な変化が生じ，他の体部位の感覚運動コーディネーションに参加するように変化することが知られている。そして，大脳基底核は，大脳皮質から入力を受け，内部の情報処理ののち，視床を介して大脳皮質へ出力するループ回路を形成しており，MI は大脳基底核の入力核の一つである線条体に投射を送っていることがよく知られている。しかし，その MI から線条体への投射が，四肢が喪失された時に，可塑性を示した大脳皮質と同様に他の体部位の感覚運動コーディネーションに参加するようになるのか，体部位の欠損に応じた無応答の領域が出来るのかは全くの不明である。２０１８年度，若年時に片腕を事故により喪失した青年期のニホンザルを入手し，喪失腕の線条体での体部位再現について調べるため，チェアートレーニング及び電気生理学的実験の準備を進めた。次年度は MI および線条体ニューロンの体部位再現を確認し，トレーサーを注入することで，体部位を超えた入力があるか検討する予定である。

パーキンソン病のモデルサルにおける大脳皮質－大脳基底核経路の情報伝達異常

知見聡美，南部　篤

パーキンソン病の病態を調べるため，ドーパミン選択的神経毒 MPTP を用いて作製したモデルサルの神経活動を記録した。大脳基底核出力部である淡蒼球内節（GPi）の自発発火頻度に変化は生じなかったが，大脳皮質運動野に電気刺激を加えて応答を調べたところ，正常状態では早い興奮－抑制－遅い興奮という３相性の応答が観察されたが，パーキンソン病の状態では抑制が著しく減弱し，多くのニューロンが早い興奮－遅い興奮という２相性の応答を示した。GPi は GABA 作動性の抑制性ニューロンで構成されており，常時高頻度で発火して投

射先の視床と大質を抑制している。正常な状態では大脳皮質が興奮すると「直接路」を介する入力により GPi が一時的に抑制され，脱抑制によって視床と大脳皮質の活動を増大させて運動を起こすが，パーキンソン病では「直接路」を介する情報伝達が減弱して GPi が十分に抑制されないため，視床に対する抑制を解除できず無動や寡動が生じると考えられる。

パーキンソン病モデルサルにおける淡蒼球神経活動の相互相関

Woranan Wongmassang，長谷川　拓，知見聡美，南部　篤

２頭のパーキンソン病モデルサルを作製し，淡蒼球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。パーキンソン病サルで運動時の神経活動を調べた報告はないので，軽度の症状を示したサルには運動課題を遂行させ，運動中の神経活動を記録した。運動パフォーマンスは低下はしていたが，淡蒼球のニューロンは，正常サルと同様に相互相関を示さず活動していることがわかった。一方，重度の症状を示したサルは運動課題の遂行が困難だったため，安静時に記録を行ったところ，多くの淡蒼球ニューロン同士が β 帯域の同期活動を示していた。記録を行いながら L-dopa を投与して症状が改善された時に記録を行ってみると，淡蒼球で観察された β 帯域の同期活動が減少していた。これらの結果から 1) 淡蒼球における独立した神経活動は随意運動の遂行に必須であること, 2) 淡蒼球における β 帯域の同期活動がパーキンソン病の症状発現に関与していることが示唆された。

大脳皮質–線条体路が制御する神経生理機能の解明

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

アデノ随伴ウイルス（AAV）ベクターと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）を利用して 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 2（ChR2）をマウスの大脳皮質－線条体路に発現させた。このマウスの大脳皮質に光刺激したときの応答を，淡蒼球外節あるいは黒質網様部から記録した。これまでに，大脳皮質を電気刺激すると淡蒼球外節や黒質網様部において，興奮－抑制－興奮という三相性の応答が認められることが知られており，大脳皮質－線条体路の興奮誘導により，抑制－興奮という二相性の応答が主に得られると予測していた。ところが，抑制－興奮という二相性の応答が認められたものの，主に興奮－抑制－興奮という三相性の応答も得られた。早い興奮は大脳皮質－視床下核路を経由した応答であると考えられており, ChR2 の発現を確認したところ, 視床下核にも ChR2 陽性の神経終末が観察できた。大脳皮質－視床下核路の側枝が線条体にも投射していることが示唆された。

線条体投射ニューロンが制御する運動機能と大脳基底核の神経活動の解明

佐野裕美，田中謙二（慶應義塾大学），南部　篤

線条体には直接路ニューロンと間接路ニューロンの 2 種類の投射ニューロンが存在し，直接路ニューロンの興奮は運動の開始や促進に，間接路ニューロンの興奮は運動の終了や抑制に関与していると考えられている。直接

路ニューロンと間接路ニューロンの両方に光駆動性イオンチャネルであるチャネルロドプシン 2 を発現する遺伝子組換えマウス（PDE10A2-tTA::tetO-ChR2 マウス）の線条体に光照射すると，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。そこで，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直接路ニューロン，遅い興奮は間接路ニューロンを介すると考えられることから，線条体投射ニューロンが同時に興奮した場合，直接路の作用が間接路の作用を上回ると考えられた。

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（鹿児島大学），吉岡　望（新潟大学），知見聡美，竹林浩秀（新潟大学），南部　篤

Dystonin-a アイソフォームを末梢神経のみで欠損する P0-Cre::Dst マウスや神経堤細胞から分化した細胞のみで欠損する wint1-Cre::Dst では，歩行時の体幹捻転など典型的なジストニアの表現型は認められないものの，下肢で軽度なジストニア様の表現型が認められる。このマウスの筋電図を下肢から記録したところ，持続的な筋収縮や伸筋と屈筋が同時に収縮するといったジストニアの筋収縮の特徴は認められなかった。今後，後肢の運動異常の原因を解明するため，大脳基底核や小脳から神経活動を記録する計画である。

ゾニサミドが L-DOPA 誘発性ジスキネジアに与える影響の解析

佐野裕美，南部　篤

ゾニサミドは抗てんかん薬として使用されてきた薬剤であるが，パーキンソン病の運動障害も改善することから，現在では抗パーキンソン病薬としても使用されている。パーキンソン病の治療には，一般的に L-DOPA が使われるが，長期間の使用はジスキネジア呼ばれる不随意運動を誘発する。L-DOPA 誘発性ジスキネジアに対するゾニサミドの効果を解析するため，パーキンソン病モデルマウスに L-DOPA あるいは L-DOPA とゾニサミドを連日投与してジスキネジアに与える影響を解析した。その結果，ゾニサミドはジスキネジアを増悪させなかったがジスキネジアの出現時間を延長させた。また，大脳基底核の出力核である黒質網様部から神経活動を記録したところ，ゾニサミドは自発発火頻度を低下させ，さらに，大脳皮質運動野を電気刺激したときに認められる応答を正常に近づけていた。これらの効果から，ゾニサミドは L-DOPA の作用時間を延長し，さらには L-DOPA 誘発性ジスキネジアを軽減するように作用している可能性が考えられた。

L-DOPA 誘発性ジスキネジアの病態生理学的解析

Dwi Wahyu Indriani，佐野裕美，知見聡美，南部　篤

パーキンソン病は黒質緻密部のドパミンニューロンの脱落に起因し，無動や寡動などの重度な運動障害を示すが，ドパミンの前駆体である L-DOPA の投与により運動障害が改善する。しかし，長期間の L-DOPA の投与によりジスキネジアと呼ばれる不随意運動が出現する。この L-DOPA 誘発性ジスキネジアの病態生理学的解析を行うため，パーキンソン病モデルマウスに L-DOPA を連日投与してジスキネジアを誘発した。L-DOPA 投与後のジ

スキネジアが顕著に出現しているとき（on）と L-DOPA 投与後から数時間以上経過してジスキネジアがほとんど認められないとき（off）において，大脳基底核の出力核である黒質網様部から神経活動を記録した。その結果，大脳皮質運動野を電気刺激したときに認められる興奮−抑制−興奮という三相性の応答のうち，on では抑制が増強して遅い興奮が減弱していた。この応答の変化が不随意運動の出現に関していると考えられた。

マーモセット前頭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を用い，皮質内微小電気刺激（ICMS）と末梢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－体性感覚関連領野の神経生理学的皮質マッピングを行い，一次運動野（M1），運動前野，一次感覚野（S1）の詳細な体部位再現マップ，また ICMS によって急速眼球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。更に前頭連合野の神経生理学的な機能マッピングを目指した。前頭連合野のマッピングをするためには，記憶処理過程に関わるニューロン活動を記録しなければならず，記憶課題遂行中のマーモセットからニューロン活動を記録する必要がある。そこで，マーモセットにチェアー・トレーニングを行なった後に，タッチパネルを用いて，遅延期間を伴う記憶課題である遅延見本合わせ課題を習得させた。今後は，記憶課題遂行中のマーモセットの前頭連合野から細胞活動記録を行う予定である。

視床下核による運動制御：マカクザル視床下核の化学遺伝学的抑制による運動異常

長谷川　拓，知見聡美，小林憲太（ウイルスベクター開発室），南部　篤

本研究では DREADD (Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drugs) を用い，大脳基底核の視床下核 (STN) の活動を可逆的に抑制し，運動異常を誘導させ，淡蒼球内節(GPi) 及び外節 (GPe) において電気生理学的な解析を行った。

ニホンザルの STN に hM4Di 受容体を発現させ，Clozapine N-oxide (CNO) または新規 DREADD リガンドによって神経活動を抑制したところ，反対側の上肢による運動が不安定になった。

行動課題中に GPe と GPi から単一神経細胞記録を行ったところ，STN の抑制によって平均発火頻度は GPi では変化しなかったが神経発火列の変動が上昇した。

この結果は，GPi の動的な神経発火の制御が運動実行に重要であることを示す。また，STN が大脳基底核の出力を規則化させ，安定な運動を実行するメカニズムが予想される。

統合生理研究部門

【概要】

2018 年も他施設との共同研究が順調に進みました。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，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。

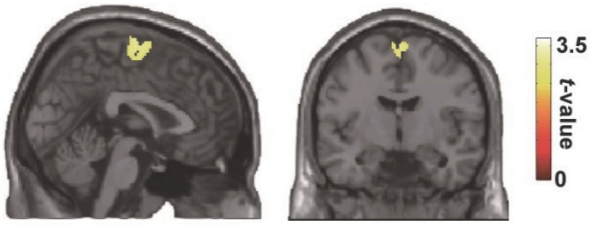
代表的な研究を２つ紹介します。

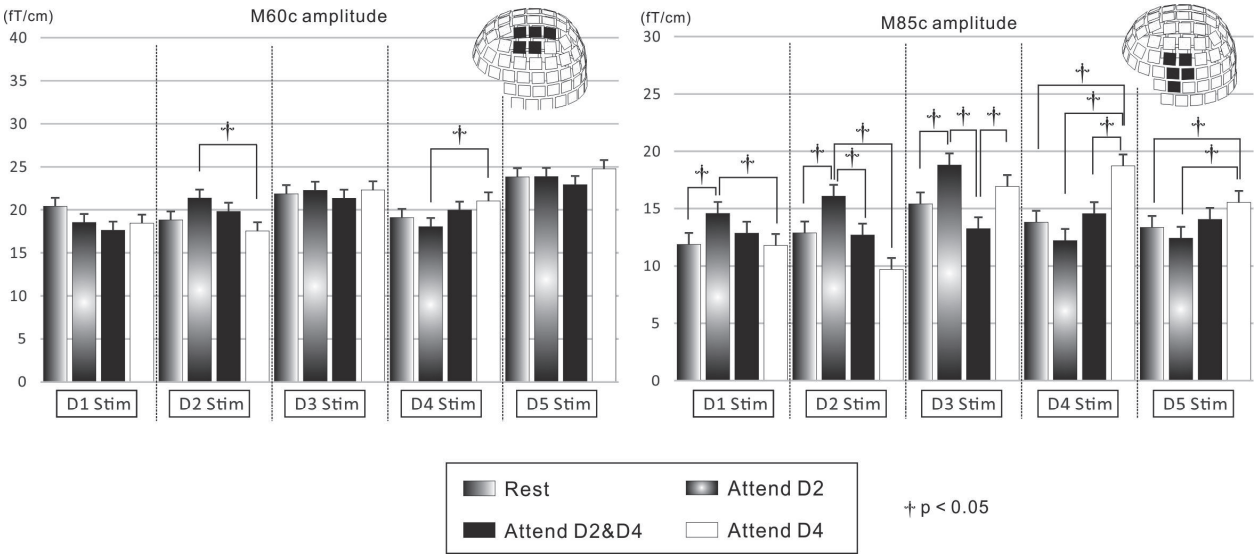
Kida T, Tanaka E, Kakigi R (2018) Adaptive flexibility of the within-hand attentional gradient in touch: an MEG study. NeuroImage 179:373-384. doi: 10.1016/j.neuroimage.2018.06.063.　名古屋大学との共同研究

注意は環境中から必要な情報を選択するための働きおよび仕組みである。本研究では，手指に（触覚性）注意を向けた際の注意効果の手内分布様式について脳磁図を用いて検証した。右手 5 本の指にランダム順で触覚刺激を与え，これに対する脳磁場応答を計測した。その結果，1 本の指に注意を向けたときに起こる促通性の効果は隣接指に及ぶ効果がわずかに認められること（注意勾配），非隣接の 2 本の指に注意を向けたときには，この注意勾配が消失すること，また中間にある，課題に関係しない指に抑制的な効果が生じることが明らかとなった。以上より，触覚性注意の脳活動への影響の手内分布は注意の向け方によって柔軟に切り替わることが示唆された。

Iwasaki M, Noguchi Y, Kakigi, R (2018) Neural correlates of time distortion in a pre-action period. Hum Brain Mapp 40(3):804-817. doi: 10.1002/hbm.24413　神戸大学文学部との共同研究

近年の心理学研究により，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。本研究では脳磁図の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，下図）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。





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。言語・非言語性のコミュニケーションを含む人間の社会行動の神経基盤を明らかにするため，3 テスラ MRI 2 台を用いて，社会的相互作用時の 2 個体同時脳機能計測を行い，共同注意を始めとする共同作業の神経基盤をあきらかにしつつある。さらに，サルの神経科学とヒトのイメージング研究の協調的，相補的な推進を図るため，ヒト用超高磁場 7 TMRI をプラットフォームとして用いることにより，解剖と機能（感覚，行動・運動制御，意思決定，社会性，機能回復・可塑性）の種間相同性を明らかにすることを目指す。

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，濱野友希，Denis Le Bihan，定藤規弘
Jongho Lee，Hyeong-Geol Shin（Seoul National University, South Korea）

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) をもたらし，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 装置による脳拡散強調画像計測技術の開発，検討を実施した。本研究では，生体組織の特徴を定量的に表現する組織パラメーターとして，MRI で計測される水分子の拡散係数から新たに S-Index を考案し，皮質灰白質に適用した。一方，磁化率も生体組織の特徴を表す磁気共鳴パラメーターである。磁化率画像への 7 テスラ MRI の適用は，従来法では困難であった皮質内ミエリン密度分布や鉄沈着に由来する微細構造描出に有用である。Jongho Lee 博士との共同研究により，ミエリン密度と鉄沈着を分離同定する新規計測法を開発し，皮質灰白質計測に応用した。本研究成果は Neuroimage 誌に掲載された。

精神神経疾患の多施設横断的脳 MRI 研究

福永雅喜，越山太輔（東京大学大学院･医学系研究科）
岡田直大（東京大学大学院･医学系研究科），根本清貴（筑波大学･医学医療系臨床医学域）
橋本亮太（国立精神･神経医療研究センター･精神保健研究所）

統合失調症の神経基盤は，未だ不明な部分が多い。これまで大脳皮質下構造に注目し，健常者，統合失調症患者の体積変化の片側性，記憶機能および認知社会機能との関連性を報告した。今年度は，大脳白質の神経線維束に焦点をおき，拡散テンソル MRI 計測による各種拡散パラメーターと，認知機能の関連性について検討した。統合失調症患者 149 名および健常者 602 名を対象に，同一 MRI 装置にて拡散テンソル画像を収集し，WAIS-III および UPSA-B による認知検査を施行した。その結果，患者群では，健常者より脳梁および右放線冠前部にて有意な Fractional anisotoropy (FA) の低下，Radial diffusivity (RD) の上昇がみられ，それらは，認知検査の社会性機能を示す下位項目と関連することを明らかにした。

アイコンタクトの神経基盤の解明：Hyperscanning EEG-fMRI を用いて

小池耕彦，中川恵理，角谷基文，定藤規弘

アイコンタクトとは単に他者の目の映像をみるという行動ではなく, 実時間での情報交換により自他の行動が影響を与え合うことにより, 意図や注意の共有へと繋がる共同作業である。Hyperscanning fMRI を用いた研究により, リアルタイムでのアイコンタクト条件では, 録画された目を見つめる対照条件と比較して, 参加者の瞬目のタイミングは他者のそれに強く影響を受け，また小脳半球，前部帯状回の脳活動が高まること，加えて前部帯状回-島皮質の機能的結合かの増強が明らかとなった。アイコンタクトの神経基盤の詳細を解明するため, 現在, Hyperscanning EEG-fMRI 計測を開始した。解析の途上ではあるが，α 帯域(8-12Hz)における EEG のパワー, および 2 者間での脳活動相関に違いがある可能性が示されている。

視点共有の神経基盤：Hyperscanning fMRI を用いて

Angela Zhang（McGill University），小池耕彦，宮田紘平，定藤規弘

映画視聴課題を用いた多くの先行研究で，2 者が同一の映画を見ている際には，脳活動が被験者間で相関することが繰り返し報告されている。また最近の研究によれば，脳活動相関の強さは被験者が友人である場合に強くなり，これは友人の間では物事の見方が類似していることによると解釈されている。本研究では，2 者が会話を介して情報を共有する過程の脳活動を同時記録できる Hyperscanning fMRI の方法と映画視聴課題の方法を組み合わせた全く新しい実験パラダイムを用いて，会話を介して 2 者が相手の視点を共有することにより，映画視聴中の 2 者間脳活動相関が変化するかを検討している。

会話を通した情報共有の神経基盤

小池耕彦，角谷基文，丸山修紀，廣谷雅子（カールトン大学），定藤規弘

我々は会話を介して，外界の情報を他者と共有している。会話には自他で情報をリアルタイムで交換するという相互作用性があり，自分が発話するもしくは他者の発話を聴取するという個人のプロセスに還元することは難しい。会話における情報共有のメカニズムを理解するためには，会話中の 2 者の脳活動を同時に記録し，2 者の脳活動相関を解析して情報共有の神経基盤を明らかにする必要がある。我々は，会話を介したゲームをおこなっている 2 者の脳活動を Hyperscanning fMRI を用いて記録する実験をおこなった。β 系列相関解析と呼ばれる方法で解析をした結果，視覚野の脳活動が 2 者間で相関を示すことが明らかとなった。この脳活動相関は，会話を介して共有した情報に基づいて，2 者が視覚的注意を協力して動かす過程に関連するものだと考えられる。

「共同注意」の神経基盤の解明

小池耕彦，田邊宏樹（名古屋大学大学院・情報学研究科），
吉岡　歩（名古屋大学大学院・情報学研究科），角谷基文，中川恵理，定藤規弘

共同注意は，狭義には，アイコンタクトの後に一者が視線を動かし他者がそれを追従することで，2 者がともにある物体上で注意を共有する現象である。共同注意は発達の初期段階で現れること，また自閉症のバイオマーカーになるなど，そのメカニズムは社会的な能力の基盤となっていると考えられる。我々は一般的な意味での共同注意だけではなく，会話を介した共同注意，自他の好みに注意を向ける共同注意など，より広い意味で注意を共有する「共同注意」のメカニズムを解明する一連の実験をおこなっている。これらの実験で得られたデータに対して，β 系列相関解析と呼ばれる方法で 2 者間での脳活動の関連性を解析した結果，注意を同じ対象に向けるプロセスに対応して，視覚野，島皮質，頭頂葉の活動が 2 者間で相関していることが明らかになった。

「やる気」と運動を結ぶ神経基盤

菅原　翔，中山義久（東京都医学総合研究所），濱野友希，
山本哲也，福永雅喜，定藤規弘，西村幸男（東京都医学総合研究所）

外的報酬が誘導する「やる気」が，運動成果を促進することが報告されている。中脳は報酬の処理において重要な役割を担っているが，「やる気」による運動成果促進に寄与するかは分かっていない。そこで，期待報酬量を変えてやる気を操作し，直後の把持動作に与える効果を調べ，その効果を媒介する神経基盤を機能的 MRI によって検討した。

結果として，期待報酬量が増えるほど直後の把持動作の反応速度と最大把持力は向上した。動作実行前の準備期間中，一次運動野だけでなく，中脳の腹側被蓋野/黒質緻密部 (VTA/SNc)も賦活していた。さらに，一次運動野の準備活動量は直後の動作時の反応速度と最大把持力の両方を予測する一方，中脳の活動量は最大把持力のみを予測することが明らかとなった。これらの知見から，報酬が引き起こす「やる気」は，中脳と一次運動野の準備活動を増大させることで，運動成果の向上に寄与することが明らかとなった。

第二言語文産出時の意味的および文法的符号化の神経基盤
統語的プライミングを用いた fMRI 実験による検討

中川恵理，小池耕彦，角谷基文，島田浩二（福井大学），牧田　快（福井大学），
吉田晴世（大阪教育大学），横川博一（神戸大学），定藤規弘

二者間での物の受け渡し場面は，英語で二重目的語構文(D)か前置詞を用いる構文(P)で表現できる。P と D は意味が同じにも関わらず英語母語話者とは異なり日本人は P を選好する傾向がある。P と比べ D の産出は統語処理負荷が高いという仮説を検証するため，統語的プライミング効果を利用した fMRI 実験を行った。その結果，D は P よりも反応時間が長く誤答も多かった。対応する神経基盤として言語性ワーキングメモリ負荷の増大に

より活動する左下前頭回を含む前頭から頭頂にかけての領域と両側の小脳が同定された。本結果は統語処理にかかるワーキングメモリ負荷が大きいため D の発話が困難であることを示している。また，P または D を非構文の後に産出するよりも構文（P または D）の後に産出する方が誤答が減るというプライミング効果がみられ，後頭から頭頂領域での活動が対応していた。これらは P・D に共通である意味処理に関連する領域であることを示唆している。

自己の行動に随伴した社会的な承認・拒否反応の神経基盤

中川恵理，角谷基文，小池耕彦，定藤規弘

自己の行動に随伴した他者のポジティブな音声反応は嬉しいと感じられ，内側前頭前野(mPFC)が活動するが，視覚的な反応やネガティブな反応でも同様かは自明ではない。承認や拒否といった社会的な信号は mPFC と初期視覚野(V1)を含む神経ネットワークにより評価されているという仮説を検証するため fMRI 実験を行なった。被験者は文字提示される疑似英単語を音読後，英語教員による視覚的な反応を観察し気分を評定した。反応は三種類（ポジティブ/ネガティブ/無反応）あり，統制条件として他者が音読する条件を設けた。実験の結果，ポジティブ反応は気分評定値を上げネガティブ反応は下げること，自己が関与するときにこの効果は増強され，mPFC が活動することが示された。発話者が自他いずれの場合も拒否と比べて承認は右 V1，承認と比べて拒否は左 V1 を賦活させた。さらに mPFC から左 V1 への結合はネガティブ反応，右 V1 への結合はポジティブ反応により増強することが明らかになった

HCP 準拠の課題 fMRI データ解析の汎用パイプライン構築とその追跡眼球運動課題への応用

山本哲也，福永雅喜，定藤規弘

Washington University in St. Louis を中心とする Human Connectome Project（HCP）が提供する HCP Pipelines は，コホート研究向けに構築された前処理・解析ツールであり，我々が日常的に行う汎用的な課題 fMRI データの統計解析には対応していない。本研究では，個人・集団統計解析用の汎用パイプラインを新たに構築し，これを追跡眼球運動課題中の fMRI データに適用した。被験者には，追跡眼球運動とサッケードを交互に行ってもらい，各眼球運動に関連する脳領域の特定を試みた。サッケードでは，前頭眼野で有意な活動が見られたのに対し，追跡眼球運動では，これより僅かに内側の領域で有意な活動が見られた。撮像から統計解析に至るまで，一貫して HCP ベースの手法に則ることで，位置精度向上の恩恵を受けた結果が得られた。このことは今後の様々な課題 fMRI 実験における有用性を示唆している。

模倣による意図の共有に関わる神経基盤

宮田紘平，小池耕彦，中川恵理，原田宗子（広島大学），角谷基文，山本哲也，定藤規弘

模倣はコミュニケーションの一形態であり，2 者が模倣する・模倣されるという異なる役割を通して，同じ行為を行い，行為に付随した意図の共有を行う。本研究では表情の模倣課題を用いて，模倣による意図の共有に関

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（fMRI）装置にそれぞれ入り，ビデオシステムを通して，うれしい顔，かなしい顔，口を開けた顔の表情模倣を行った。その結果，模倣・被模倣はそれぞれ特異的な心理作用によって異なる神経活動を示すが，右下頭頂小葉の活動がペア特異的に同期することを明らかにした。この右下頭頂小葉の活動の同期は表情を作る際の動きの速さが類似しているペアほど高かったことから，行為意図の共有を反映していることが示唆された。

自閉スペクトラム症者における自他随伴性処理の神経基盤の検討

角谷基文，岡本悠子（福井大学），小池耕彦，谷川　翼，岡沢秀彦（福井大学），
小坂浩隆（福井大学），定藤規弘

近年の研究で，ASD 者における他者との関わりへのモチベーションの低さが，社会的相互作用における様々な質的障害の原因であるとの仮説が提案されているが，なぜモチベーションが低いのかは不明である。ASD 者は自己に関連する刺激への反応が弱いことが知られており，自身の行動に随伴する外的刺激を処理する過程に問題があり，他者の反応が報酬となっていない可能性がある。本研究では，ASD 者が社会的相互作用へのモチベーションが低い理由を検討することを目的に，成人の定型発達者と ASD 者を対象に，自他の随伴性課題を用いた fMRI 実験を実施した。結果，定型発達者と比較して，ASD 者は自分の行為に随伴する他者の行為（社会的随伴性）に伴って生成される嬉しさが減弱していることが示された。さらに，ASD 者は，内側前頭前野における自身の行動に関連する他者の反応の処理が減衰していることが示された。以上の結果から，ASD 者は社会的随伴性処理障害により，他者の反応から感じる嬉しさは弱いことが実験的に明らかになった。

運動学習での一次運動野の統合的役割

濱野友希，菅原　翔，福永雅喜，定藤規弘

一次運動野 (M1) は運動学習において重要である。これまでの研究で，練習モードに応じて記憶痕跡が異なる脳領域に生成されることを示した。M1 はこれらの異なる記憶を統合していると予想されるが，明らかになっていない。本研究では，運動実行と記憶想起を切り分けるため，実行前の準備段階に注目した。もし M1 が記憶想起時の統合に関与するならば，どのモードで実行する場合も共通して M1 の準備活動が学習を通じて強まると考えた。この仮説を検証するため，最大速度モードと一定速度モードの練習を含む系列運動学習中に，7 テスラ装置による機能的 MRI 計測を行なった。各モードの開始合図に伴う活動上昇を，準備活動として評価した。結果として，右 M1 では最大速度モードと一定速度モードに共通した準備活動増加が示された。本研究の結果は，練習モードに応じた異なる運動記憶が，想起時に M1 で統合されることを示唆している。

多ボクセルパターン解析で明らかになった前頭眼窩皮質(OFC)における味覚体験の表象

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

前頭眼窩皮質(Orbitofrontal cortex: OFC)において,対象の同一性 object identity や主観的価値 subjective value といった次元の異なる情報が統合されていることが知られているが, これらの multidimensional representation がどのように相互に作用しているかを統合的に調べた研究はなされていない。

私たちは空腹時・満腹時双方に，128 種類の食品画像の価値を評価しているときの脳活動を測定する fMRI 実験を行った。多ボクセルパターン解析の結果, lateral OFC では,食品の視覚刺激を個別に表象しているが,その表象は栄養状態の変化の影響を受けることが分かった。さらに,その神経表象の変化は栄養状態の変化による主観的価値の変化だけでは説明できないことがわかった。以上から,OFC が主観的価値だけでなく個別の味覚体験を表象していることを示唆された。

7T MRI を用いたヒト淡蒼球内部構造の描出: 3T MRI との比較

丸山修紀，福永雅喜，定藤規弘

淡蒼球 (Globus Pallidus: GP) は MML (Medial Medullary Lamina) により外節(external GP: GPe) と内節 (internal GP: GPi) に分けられ，GPi は AML (Accessory Medullary Lamina) により GPie と GPii に分けられる。パーキンソン病に対する脳深部刺激療法 (Deep Brain Stimulation: DBS) は，GPi を対象とするが，GPii への正確な電極留置が治療効果を左右する。これまで GPi の位置は，術前のプロトン密度強調画像 (PDWI) や T2 強調画像 (T2WI) が指標とされてきた。しかし，従来の 3T MRI では，GPi は確認できるものの，その内部構造の同定は容易でない。一方，7T MRI は信号雑音比およびコントラスト雑音比の向上により，脳微細構造を実用的な時間で描出できる。そこで 3T と 7T で MML と AML の描出能について比較した。

倫理審査委員会の承認後，同意を得た健常ボランティア 11 名 (男性 5 名，女性 6 名，平均 21.5 歳) を対象とした。7T MRI 装置 (MAGNETOM 7T，Siemens) および 3T MRI 装置 (MAGNETOM Verio，Siemens)，32 チャネル受信コイルを用いて，GP の内部構造の描出に必要な $0.5\times0.5\times0.8\ mm^3$ の PDWI と T2WI を得た。MML と AML の視認性は定性的に評価した。また自作プログラムを用いて Raw データから受信コイルの感度不均一を考慮した定量的感度画像を得た。GP の長軸に垂直方向の信号強度プロファイルから MML に対する GPe と GPie および AML に対する GPie と GPii の 4 ヶ所のコントラスト比を算出し，2 要因の分散分析を行った。

3T は僅かに MML を描出したが，AML はほとんど視認できなかった。7T では MML と AML を明瞭に視認できた。7T の T2WI は 4 ヶ所すべてで 7T の PDWI と 3T よりも 10%以上高いコントラスト比を示した (p <0.05)。

7T MRI の応用によって，従来よりも精度の高い GPii 同定が期待される。

社会的相互作用を伴う意思決定の神経基盤

南條啓孝，宮田紘平，小池耕彦，定藤規弘

我々の意思決定は 他者との相互作用を通して向上することが知られている。 このことは, 知覚弁別課題を用いて, 他者との会話を用いた相互作用のもとで一つの意思決定する条件, および単独で意思決定する条件の差異により行動学的な所見から検討されてきた。 しかしながら, なぜ相互作用が知覚認知能力の向上に寄与するかについては理解が進んでいない。 本研究では, 社会的相互作用がヒトの意思決定機能を向上させる神経基盤を検討するために, 行動実験からそのメカニズムを検討した。

具体的には, 知覚弁別課題を 2 者で行い, 他者の判断を知ることのできる2者条件と, 自身の判断しか知ることのできない 1 者条件を設定した。結果として, 他者の判断を得ることにより自身の判断はより正確な判断へと変更されることが明らかになった。今後，hyperscanning fMRI を用いて, 他者情報統合による意思決定の神経基盤を明らかにする予定である。

Semi-model free analysis of whole brain activities captures temporal changes of cognitive processes

Yutaro Koyama[1,2], Junichi Chikazoe[1], Koji Jimura[3], Norihiro Sadato[1,2]
([1] National Institute for Physiological Sciences
[2] The Graduate University for Advanced Studies (SOKENDAI)
[3] Department of Biosciences and Informatics, Keio University)

The present method explored the activation mechanism of the neural networks in the time domain during the performance of the complex tasks, by modeling the whole brain activity as the linear combination of parallel computation of multiple neural networks at a given time.

We first created 3 network templates (i.e. auditory, arithmetic, and finger-tapping) corresponding to cognitive processes recruited in the task. Without explicitly using timing information we decomposed the whole brain activity with the 3 functional network templates. As expected from the content of the task, in each trial, the auditory network was firstly activated, followed by the activation of the arithmetic network. Consistent with behavioral results, the estimated activation of the finger-tapping network was time-locked to response timing at each trial. Moreover, we could recover the order of these 3 cognitive processes without using timing information a priori.

These results demonstrate that the proposed method can capture the temporal transitions of the cognitive processes which cannot be measured by conventional time domain analysis.

個別研究

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。細胞内分子の輸送選別が，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確立を進めた。本年度はこれまでに開発を進めてきた細胞のポピュレーションの変化をとらえたシグナル応答の定量的検出法の信頼性をさらに確保するための改良を進めた。蓄積したデータの解析により,定量性の障害になっていると考えられる問題点を明らかにし，それを回避する新たなアイディアにより実験を再設計し，改善を確認した。

個別研究（毛利研究室）

【概要】

有性生殖をする多くの生物は雄性配偶子（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，受精を行う。それは個体発生という重要な現象への引金である。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，いまだ不明である。受精時の卵内の Ca^{2+}増加は普遍的な現象として知られている。哺乳類，鳥類，一部の爬虫類では卵

内 Ca^{2+} 変化は精子が持ち込む因子，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，しかし，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。今年度も，数種のウニ卵の受精時，イトマキヒトデ卵母細胞の未成熟，成熟途中，成熟完了時について，またエダアシクラゲの卵成熟時の電気生理学とイメージングにより，膜電流と卵内 Ca^{2+} 変化の関係について研究を行った。

棘皮動物卵受精時の膜電流変化と Ca 変化についての比較生理学的研究

毛利達磨

大西洋産のウニ *L.variegatus* の受精時の脱分極変化を電位固定法で測定すると膜電流が得られる。その膜電流変化のパターンは 3 つに分類される。一つは精子が進入する場合(activation current(AC)と呼ばれる)で，最初の小さな内向き電流 I_{on}，続いて肩の電流(I_{sm})，そしてピーク電流 I_p となり不活性化して外向き電流に変わる。もう２つは精子が進入しない場合であり，一つは I_{on} が起こった後，少し引き続き内向き電流が流れるが，すぐに静止レベルに戻る反応（sperm transient(ST)）と静止レベルに戻った後再び正常受精時と同様な内向き電流が流れる(modified AC)パターンである。しかし，日本産のウニヒトデでどのような膜電流変化が起こるのかまたそれに伴う細胞内 Ca 変化はどのようなものか明白でなかった。受精時電位固定下の生殖時期の異なる日本産のウニとヒトデの内，バフンウニ（1 月～4 月），タコノマクラ（7 月～8 月），アカウニ（11 月～12 月），イトマキヒトデ（5 月～7 月，9 月～11 月）の 4 種の活性電流についてイメージングと組み合わせて測定実験を実施した。電位−20 mV や−30 mV の電位だけでなく−80 mV までの電位で固定した時の活性電流を測定しデータを増やした。ウニの種によって同じ電位固定下でもかなり電流の大きさやパターンが *L.variegatus* とは異なることがわかった。代表的なウニヒトデの−20mV 電位固定時の活性電流のピークの大きさは単位面積当たりの密度電流で示すとアカウニ＞バフンウニ≧タコノマクラ＞イトマキヒトデの順であった。しかし，精子―卵融合を意味する I_{on} についてはバフンウニ＞タコノマクラ≧アカウニ＞イトマキヒトデの順であった。このことは種によるチャンネル数の違いと融合の仕方の違いを示唆した。I_{sm} を示すのはアカウニのみであった。深い負膜電位固定下での電流変化はイトマキヒトデ以外のウニでは *L.variegatus* と同様に ST を起こす傾向が強いこと，またその時の Ca_i 変化が-20mV 固定下に比べて早まることがわかった。今後，精子侵入と細胞内アクチン細胞骨格との関係，アクチン重合阻害剤存在下の活性電流の測定も含めた比較生理学的内容の論文にしたい。

イトマキヒトデ卵母細胞の卵成熟時のカルシウム遊離機構の発達と膜電流変化の研究

毛利達磨，経塚敬一郎（東北大学大学大学生命科学研究科）

イトマキヒトデ卵母細胞は卵成熟ホルモン 1-methyl adenine(1-MA)添加後，約 70 分で成熟する。イトマキヒトデ成熟卵(MO)の受精時の膜電流変化は他のウニに比べて小さいが，I_{sm} は示さず一様に下向きの電流パターンを示した。，イトマキヒトデの成熟途上卵（PMO,1-MA 添加後 15 分）の媒精では細胞内 Ca と膜電流変化が呼応して振動する現象が高い確率で起こることを発見した。一般的に細胞の Ca 遊離機構としては IP_3，cADPR，NAADP の 3 種類の自然リガンドを二次伝達物質とする機構が存在することが知られている。ヒトデ卵は NAADP による Ca 遊離機構が最初に卵成熟前に発達し，IP_3 による Ca 遊離機構は卵成熟時に徐々に発達すると報告された(Takahashi I and Kyozuka K 2016 Zygote doi:10.1017/S0967199416000186)。IP_3 の阻害剤ヘパリンを注射したところ，成熟途上卵でも抑制されることがわかった。このことは成熟途上卵媒精時にも IP_3 の Ca 遊離機構が働いていることを示唆する。成

熟卵（MO）と PMO の媒精時細胞内 Ca 増加を比較すると PMO ではピーク値はあまり変わらないが，ゆっくりと増加し振動する現象を示した。上記 Ca 振動と IP_3 による Ca 遊離機構の発達についてもう少し考察しぜひ論文にしたい。

エダアシクラゲの受精時および卵成熟時の成熟ホルモンによる電位変化と細胞内カルシウム変化

毛利達磨，出口竜一（宮城教育大学）

エダアシクラゲの卵成熟はあるペプチドホルモンによって誘導されることが知られている。しかし，その時の電位変化や細胞内 Ca 変化については知られていなかった。合成されたペプチドホルモン RPRPa を添加したところ膜電位の変化はなかった。このことは正コントロールとして高 K 溶液添加により脱分極が起こることから確認されたで。また，電位依存性色素 FluoVolt によるイメージングでも同様の結果を得た。今後は細胞内 Ca 変化についてもホルモン添加時受精時両方での実験を予定している。

個別研究（山肩研究室）

【概要】

脳の高次機能，中でも学習・記憶に関わる分子メカニズムの解明は，記憶の異常を伴う脳疾患や老化による脳機能低下の予防・治療に欠かせない。当研究室では，その過程で重要な役割を果たす脳内の蛋白質リン酸化酵素，Ca^{2+}/カルモジュリン依存性プロテインキナーゼ II（CaMKII）に重点を置いて，研究を進めている。CaMKII は，神経細胞間の情報伝達の場であるシナプスの後部に特に多く存在し，学習・記憶の基本現象とされるシナプスの長期増強（LTP）に不可欠の分子と考えられている。私達は，このキナーゼの酵素活性をなくした遺伝子改変マウスを作製し，生化学・細胞生物学・組織化学・電気生理学・行動科学など様々な手法を用いて解析することにより，このキナーゼの生体内での役割を解明しようとしている。本年度は，以下の課題を中心に研究を行った。

海馬記憶と扁桃体記憶へのカルモジュリンキナーゼ IIα 活性の関与の違い

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（CaMKII）は，脳に多く存在する蛋白質リン酸化酵素で，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アイソフォーム，CaMKIIα は，その中心的な役割を果たす。一方，記憶には複数の種類があり，脳内の異なる部位が担っているが，それぞれに対する CaMKIIα の関与の違いはよくわかっていない。そこで，我々の作製した不活性型の CaMKIIα ノックインマウスを用いて様々な学習・記憶行動課題を調べたところ，CaMKIIα のキナーゼ活性は，空間認識記憶を初めとする海馬依存性記憶の獲得には必須であるのに対し，扁桃体依存性記憶の形成には必ずしも必須ではないことが判明した。また，反復トレーニングの実験結果から，CaMKIIα 活性が PTSD などで見られる恐怖反応の全般化を抑制する因子として働く可能性が示唆された。

個別研究（佐竹研究室）

【概要】

三者間シナプス（tripartite synapse：シナプス前細胞，シナプス後細胞，両者を被覆するグリア細胞の三者構造）の概念に基づき，脳・中枢神経系における情報処理の仕組みを解き明かそうとしている。また，遺伝子改変病態モデル動物の解析から，脳神経疾患の発症機序を解明するとともに，新規治療法の開発を目指している（共同研究）。

今年度は，抗がん剤候補物質 roscovitine（Cdk5 阻害薬，Ca_v2 チャネル作用薬）が小脳 GABA 作動性シナプス伝達におよぼす影響を観察し，GABA 含有シナプス小胞体の開口放出機構について追究した。また，急速発症性ジストニアパーキンソニズム (RPD)，小児交互性片麻痺 (AHC) ならびに CAPOS 症候群の病態モデル動物 *Atp1a3*$^{+/-}$（Na,K-ATPase α3 サブユニット遺伝子ヘテロ欠損マウス）の小脳において，興奮性アミノ酸輸送体 (excitatory amino acid transporter, EAAT) の機能を検討した。EAAT は，Na,K-ATPase により作られた細胞膜内外の Na^+/K^+濃度勾配を利用して，神経細胞からシナプス間隙に放出された興奮性伝達物質グルタミン酸 (Glu) の回収 (recycling) を仲介する二次能動輸送体である。*Atp1a3*$^{+/-}$では，神経細胞とグリア細胞の Glu 回収能が野生型と大きく異なることを発見した。

Roscovitine のシナプス前促通作用：分子的基盤の検討

佐竹伸一郎

Roscovitine には，小脳顆粒細胞－分子層介在神経間 Glu 作動性シナプスにおいて，シナプス小胞体の多重性放出を促進させる作用がある (Satake and Imoto, 2014)。また roscovitine は，小脳分子層介在神経－プルキンエ細胞間 GABA 作動性シナプスにて記録した，抑制性シナプス後電流 (IPSC) の振幅と減衰時間 (τ_{decay}) をシナプス前性機構により増大させることを見出している。

Roscovitine の IPSC 振幅・減衰時間増大作用に多重性放出が関与しているか否かを検討した。Roscovitine (30 μM) の先行投与により，高速解離性の $GABA_A$ 受容体競合阻害薬 TPMPA (100 μM) による IPSC 振幅阻害作用は著しく減弱した。また roscovitine の IPSC 減衰時間延長作用も，TPMPA と dextran (40 kDa, 5% w/v) により強く阻害された。これらの結果は，roscovitine の作用により促進した，GABA 含有シナプス小胞体の多重性放出に伴い，①シナプス間隙の GABA 濃度が高まることにより IPSC の振幅が増大したこと，②シナプス間隙から拡散した GABA が低濃度でシナプス外 $GABA_A$ 受容体を活性化することにより IPSC の減衰時間が延長したことを示唆している。

Atp1a3$^{+/-}$ の病態解析：EAAT 機能の神経－グリア補償作用

佐竹伸一郎
池田啓子（国際医療福祉大学），川上　潔（自治医科大学）

光解除性グルタミン酸 (RuBi-Glu) の遊離（光照射時間：5 ms）に伴い記録される EAAT 電流 (photo-uncaging evoked transporter current, PTC) と EAAT の Glu 輸送モデル（代替アクセスモデル）に基づき，記録細胞の Glu 輸送行程を評価する実験系を確立した。この評価系を RDP/AHC/CAPOS 病態モデルマウス *Atp1a3*$^{+/-}$ 小脳に適用し，①プルキンエ細胞にて誘発した PTC の振幅が野生型の約 1/2 に減弱していること，逆に②バーグマングリア（アストロサイトの一種）の PTC は振幅が約 2 倍に増強していることを発見した。*Atp1a3*$^{+/-}$ では，プルキンエ

細胞の Glu 回収能が減弱しており，その減弱分をグリア細胞が EAAT の機能を亢進させることにより補償していると考えられる。

この神経－グリア補償機構の分子的基盤を明らかにするため，小脳細胞膜画分における EAAT と Na,K-ATPase のタンパク質含有量を免疫ブロット法により比較した。*Atp1a3*$^{+/-}$ では，EAAT4 と Na,K-ATPase α3 サブユニット（いずれもプルキンエ細胞に特異的に発現するサブタイプ）のタンパク質含有量が野生型の約 1/2 に減少していた。一方，EAAT1（グリア細胞特異的サブタイプ）の含有量は野生型の約 2 倍に増えていた。*Atp1a3*$^{+/-}$ において観察された，プルキンエ細胞の PTC 減弱とグリア細胞の PTC 増強は，それぞれ EAAT4 タンパク質の含有量減少と EAAT1 タンパク質の含有量増大に起因すると結論した。引き続き，EAAT と Na,K-ATPase の各サブタイプ間の機能的連関や神経－グリア補償機構がジストニアや片麻痺の病態において担う役割を追究している。

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。2017 年度から NeuroSpin（フランス原子力・代替エネルギー庁）の元 Director である Denis Le Bihan 博士が外国人客員教授として研究室の P.I.を務め, 7T- MRI を用いたヒト脳イメージングの研究，特に拡散強調画像の新規撮像法および解析法の開発に取り組んでいる。

共同利用研究推進室

【概要】

共同利用研究推進室は，全国の他大学や研究機関に所属する研究者が生理学研究所においてスムーズに共同研究を円滑に遂行することができるようサポートする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は作成，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。

2018 年度は，2 件の所外開催の研究会（玉川大学・9 月 7 日- 8 日・「ヒト脳イメージング研究会」；名古屋市立大学・10 月 17 日- 18 日・「神経発達・再生研究会」）を実施した。また，2019 年 3 月 28 日- 31 日に，神戸コンベンションセンターで開催された第 9 回アジア・オセアニア生理学会連合 2019 年大会においてブース展示を実施し，共同利用研究の周知活動を行った。

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 3 つの事業の運営を進めている。

・先端バイオイメージング支援プラットフォーム（ABiS）

2016 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，前年度と同様にオフィシャルウェブサイトにおいて，ABiS の支援内容，公募情報，会議や研究集会の案内，トレーニング開催情報，支援による成果発表等を随時発信するとともに，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。また，初年度に構築した応募・審査・成果報告を一貫して行えるオンライン申請システムの改修を行った。2019 年 2 月 17 日～18 日には，66th NIBB Conference/ABiS International Symposium “Cutting Edge Techniques of Bioimaging” を開催し，バイオイメージング分野の最先端の技術，特に超解像イメージングとライブセルイメージング研究に関する最新成果を共有し，今後のバイオイメージング分野の展開を議論した。

・「次世代脳」プロジェクト

2016 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み「次世代脳」プロジェクトが立ち上がり，本室はその事務局を務めている。本プロジェクトは，全国の脳科学研究者を横断的に束ね，若手育成を主眼においたシンポジウムの企画，ウェブサイト運営やメーリングリストによる関連情報発信を行い，脳科学コミュニティを支える取組を進めている。今年度は，2018 年 12 月 12 日～14 日に第 3 回冬のシンポジウムを実施した。

・戦略的国際脳科学研究推進プログラム（国際脳）

世界の国家的プロジェクトとの連携を強化し，我が国の，ひいては世界の脳科学研究の飛躍的な発展に貢献することを目的として，AMED 事業として「国際脳」が今年度 6 月より開始された。また，11 月には，本プログラムを機動的かつ円滑に運営し，戦略的な国際展開に資する成果創出の加速，さらには日本の脳科学研究における国際的なハブとなる研究推進支援を実施する中核的組織として，生理学研究所が採択され，本室はその事務局を務めることとなった。今年度は，支援体制を構築し，ウェブサイト運用を開始するなどの業務を行った。

NBR事業推進室

【概要】

文部科学省補助事業ナショナルバイオリソースプロジェクト（NBRP）「ニホンザル」は 2002 年に発足し，自然科学研究機構生理学研究所が代表機関となって京都大学霊長類研究所（分担機関）と共同推進してきた。2017 年度からの第 4 期 NBRP「ニホンザル」は京都大学霊長類研究所を代表機関，自然科学研究機構生理学研究所を分担機関とする新体制で本事業を推進している。ニホンザルは優れた認知能力を持ち，我が国の高次脳機能研究に不可欠なモデル動物である。NBRP「ニホンザル」は病原微生物学的にも安全かつ付加価値の高い実験用動物として繁殖育成し，国内の研究者を対象に安定して提供する事を目的としている。事業推進の柱として 2018 年度は以下４つの業務を行った。

（１）研究用ニホンザルの繁殖・育成体制の整備

ニホンザル繁殖事業の集約のために，年間８０～９０頭を生産して年間７０頭を出荷する体制へ移行し，生理学研究所外部委託施設ではサル繁殖事業の停止を続けている。生理学研究所外部委託施設では 2018 年度末時点で繁殖母群１８６頭，育成仔ザル９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３０件９７頭の応募があり，３０件９６頭が採択・提供された。提供先機関は理化学研究所，関西医科大学，大阪大学，自然科学研究機構，北海道大学，放射線医学総合研究所，山梨大学，玉川大学，京都大学，獨協医科大学，近畿大学，東北大学，福岡大学，新潟大学，産業技術総合研究所である。

（３）研究用ニホンザルの組織試料提供の実施

NBRP「ニホンザル」事業がより広く周知されるに伴い，血液等の組織試料を要望する研究者からの問い合わせが増えたため，提供組織試料の確保や輸送方法など解決すべき課題は多くあるが，2014 年度から組織試料の提供を試験的に開始し，引き続き 2018 年度も組織試料の提供を行った。今年度応募数は４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，サル提供に伴う提供検討委員会での審議の採否について２回，および年度の総括のための１回の計３回であった。提供検討委員会はリソース提供応募書類を審議するために７回（うち４回はメール会議）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。今年度は京都大学（4/17），大阪市（7/25），東京都日本橋（9/5）にて計３回開催した。

４）母群検討委員会

生理学研究所外部委託施設の繁殖母群について話し合うために，生理学研究所所長の諮問機関として設置された。今年度の母群検討委員会は生理学研究所にて５月と８月に開催された。

（その他の活動）

国立研究開発法人日本医療研究開発機構基盤技術整備プログラムに採択され，ニホンザル B ウイルス DNA 検査法の開発を京都大学霊長類研究所と共同で実施している。

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細胞性試料の立体形態観察と，ウイルス粒子，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。2018 年度は，巨大ウイルス粒子の複製過程の観察から神経回路網の観察にいたるさまざまな細胞性試料の三次元形態研究について，合計 5 課題が採択され実施された。また，Cryo-PCTEM では，可溶性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，神経細胞の立体形態解析などの共同研究が合計 14 課題が行われた。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。

ナトリウムイオン輸送性 V-ATPase の構造をゼルニケ位相差クライオ電子顕微鏡で解析

角田　潤，ソン・チホン，村田和義
飯野亮太（分子科学研究所）
薬師寺 Lica Fabiana，村田武士（千葉大学）
上野博史（東京大学），高木淳一（大阪大学）

Eh V-ATPase は，腸内連鎖球菌（*Enterococcus hirae*）の細胞膜に存在する V-ATPase で，ナトリウムイオンを選択的に細胞外に排出することが知られている。本研究では，ゼルニケ位相差クライオ電子顕微鏡を使って, 細胞膜から可溶化された *Eh* V-ATPase の粒子像を可視化することに世界で初めて成功した。そして，この粒子像から単粒子解析という方法で立体再構成し，*Eh* V-ATPase の全体構造を得ることができた。本解析の結果, *Eh* V-ATPase の ATPase である V_1 ドメインから伸びる回転子がイオンポンプである V_o ドメインに中心から外れて（Off-axis）結合していることがわかった。また，抗体によって回転子の回転を固定した構造の解析から, このタンパク質の連続した３つの構造状態のうちの２番目の構造も明らかにすることができた。

Tsunoda J, Song C, Imai FL, Takagi J, Ueno H, Murata T, Iino R, Murata K* (2018) Off-axis rotor in *Enterococcus hirae* V-ATPase visualized by Zernike phase plate single-particle cryo-electron microscopy. Sci Rep 8, 15632.

ウイルスキャプシドができる様子を位相差クライオ電子顕微鏡で解析

村田和義
中道優介，堤　研太，宮崎直幸，東浦彰史，成田宏隆，中川敦史（大阪大学蛋白質研究所）

本共同研究では，レオウイルス科ウイルスの１つイネ萎縮ウイルス（Rice Dwarf Virus: RDV）を用いて，本ウイルスがパターンの異なる多層のキャプシドを形成する様子を遺伝子組換え技術と位相差クライオ電子顕微

鏡により明らかにした。

本研究では，外殻を形成するタンパク質に遺伝子組換え技術を用いて緑色蛍光タンパク質（GFP）を結合し，これを用いてウイルス粒子を形成させた。結果，GFP が立体的に邪魔をして不完全な外殻を持つ RDV 粒子を作ることができた。これを位相差クライオ電子顕微鏡で解析したところ，RDV の外殻は，内殻の特定の領域（３回軸上）にだけ結合することがわかった。このことから，RDV の外殻タンパク質は, 最初に内殻の３回軸上に結合し，これを元にパズルのピースを組み合わせるように順次挿入されて行くことがわかった。

Nakamichi Y, Miyazaki N, Tsutsumi K, Higashiura A, Narita H, Shimizu T, Uehara-Ichiki T, Omura T, Murata K, Nakagawa A (2018) An assembly intermediate structure of Rice dwarf virus reveals a hierarchical outer capsid shell assembly mechanism. Structure 27(3), 439-448.

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。

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，江藤　圭，恩田麻紀，佐藤愛子，大場多津子，鍋倉淳一，村越秀治

本研究では，単一シナプスレベルで光によって長期増強が惹起可能な新規光応答性分子の開発を行っている。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進めている。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。昨年度までに，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したところ, 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。今年度は，Cdc42 の活性因子の探索を行い，いくつかの分子に候補を絞り込んだ。今後は，候補分子をノックダウンして機能を調べると共に，光応答性 CaMKII の活性化によりシナプス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。

親水性を大きく改善した蛍光タンパク質の開発

村越秀治，小杉貴洋

蛍光タンパク質を細胞に発現させることで分子局在をモニターすることができる。一方で，蛍光タンパク質が細胞内タンパク質に非特的に結合することによって，細胞機能を阻害することが知られている。そこで本研究では，細胞内タンパク質との非特異的結合を減少させた蛍光タンパク質の開発を進めている。EGFP を鋳型にして，側鎖が表面にあるアミノ酸をより親水性のものに置換することによって，非特異的結合を減らした新規蛍光タンパク質の開発を進めている。

分子間相互作用検出のための色素蛍光タンパク質の開発

村越秀治，堀内　浩，恩田麻紀，佐藤愛子，鍋倉淳一

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（Nakahata et al. 2016）。本研究では，さらに高感度でアーティファクトの少ない蛍光プローブの開発を行っている。具体的には，色素タンパク質である Ultramarine を鋳型にして，ランダム変異導入法を行うことにより，細胞内発現量を改善した色素タンパク質を開発している。現在までのところ, 全長 230 アミノ酸の内, 23 ヶ所に変異を導入することにより，HeLa 細胞内での発現量を 2 から 3 倍に増加させることに成功し, ShadowR と名付けた。また，ShadowR を mRuby2 または mScaret と組み合わせることにより，FRET センサーとして使用できることを確認した。今後は，各種 FRET プローブに mRuby2-ShadowR, mScarlet-ShadowR のペアを適用し, 詳細な解析を行う予定である。

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。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（（Murakoshi et al. 2017））。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。

人工知能と神経基盤の相互参照アプローチによる視覚－価値変換機構の解明

Quang Trung Pham，吉本隆明，丹羽開紀，高橋春香，内山隆太郎，定藤規弘，近添淳一

生物の行動は主観的価値によって規定されている。外界の情報は感覚器を介して捉えられ，脳内で抽象的価値情報に変換された後，価値に基づく意思決定を経て適切な行動が選択される。ヒトを対象とした機能的 MRI 研究により，前頭眼窩野や側坐核，線条体が価値処理に関わることが明らかにされているが，感覚情報からどのような過程を経て価値の情報が生じるかは明らかにされていない。本研究においては，価値処理領域として既に同定されている領域間で価値の情報表現構造を比較するのみでなく，未知の価値処理領域をモデルの情報構造との対応から明らかにした。具体的には，深層学習により多層ニューラルネットワークに画像情報と価値の対応を学習させ，構築された階層構造から脳内の価値情報の階層構造を推測し，その結果，視覚と価値の中間的情報が前頭葉内側部で表現されることを明らかにした。

局所脳活動からの全脳活動の解読

Balbir Singh，平山淳一郎，山本哲也，定藤規弘，近添淳一

近年の脳機能画像研究の進歩により，同一の脳領域が複数の脳機能に関与することが示されており，このことから単一脳領域の活動の有無に基づいて，被験者の認知状態を推測する逆推論は困難であることが指摘されている（Poldrack 2006）。一方で，全脳のネットワーク・レベルの活動を用いた場合には，高精度の逆推論が可能であることが示されており（Yarkoni et al., 2011），これらの結果から，脳活動と脳機能の関係は多対多の対応であることが示唆されている。本研究においては「同一の脳領域であっても異なるネットワークに関与するときは，結合の違いを反映して，局所の脳活動パターンが変化するのではないか」という仮説をおき，これを検証した。具体的には，安静時の脳活動データにおいて，局所の脳活動と全脳の脳活動のパターンの対応を機械学習的手法で学習することにより，局所の脳活動から全脳の情報を解読に成功した。

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，Nature Communications 誌に投稿，受諾された。

Study on the Neural Basis of Vision-to-Value Conversion using fMRI and Artificial Neural Network

Pham Quang Trung，Junichi Chikazoe, Takaaki Yoshimoto, Haruki Niwa, and Norihito Sadato

Subjective evaluation is one of the most important cognitive activities by which an individual can choose the best case among many. The input for evaluation could be derived from sensory information such as visions, audition, somatosensation, etc. While the visual information is well-known to be processed at the visual cortex, recent works (Chikazoe et al., 2014) have revealed that the subjective values are represented in the orbitofrontal cortex. The neural basis of the pathway which connects these cortex together remains largely unknown. In this study, we investigate how visual information is processed into values by using functional MRI and Artificial Neural Networks. We found that the vision-to-value conversion in human brain may rather occur along the dorsal pathway than in the ventral pathway. We also demonstrate that the individually optimized ANN, in combination with fMRI is useful for modeling such kind of processing.

行動・代謝分子解析センター

ウィルスベクター開発室

【概要】

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

ウィルスベクターの提供による共同研究の推進

小林憲太

今年度は，国内外の研究室からの要望に応じて，延べ 214 件のウィルスベクターの提供を行い，共同研究を推進した。これらの共同研究の中には，すでに今年度に論文として発表されたものや投稿中のものが含まれており，引き続き活発な共同研究が進められている。

脳機能解析に有用なウィルスベクターシステムの開発

小林憲太，佐野裕美，南部　篤

より効率良く逆行性に遺伝子を導入出来る AAV ベクターシステムの開発を行なっている。本システムは，神経路選択性がほとんどないと考えられるため，多様な神経路への適用が期待される。

線条体-黒質投射ニューロンによる運動調節機構の分子メカニズム解析

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

独自に開発した二重ベクター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 (D1R-MSN PKA マウス) を作製した。D1R-MSN PKA マウスでは，特徴的な随意運動の変化が認められる。現在，行動生理学的・電気生理学的な実験を進めており，随意運動変化との相関を解析している。本研究によって，線条体-黒質投射ニューロンによる運動調節機構が分子レベルで明らかになる。

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する。実験小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，RNA 誘導型ヌクレアーゼ (CRISPR/Cas9) を利用してゲノム配列の任意の場所を削除・置換・挿入するゲノム編集技術が開発され，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。この CRISPR/Cas9 システムはゲノム配列を指定する guide RNA，並びにそれと複合体を形成する Cas9 nuclease を前核に注入するだけでゲノム変異を導入できるために急速に普及したが，細胞毎に塩基の欠損・挿入のタイプがモザイクになりやすいといった問題点も指摘されている。ここでは，ラットゲノムの編集において Cas9 nuclease のデリバリー様式 (プラスミド DNA，mRNA，またはタンパク質) が変異導入胚のモザイク発生に及ぼす影響について紹介する。

前核注入時の Cas9 nuclease デリバリー様式が ラット胚盤胞の変異モザイク発生頻度に及ぼす影響

平林真澄

ラットから採取した受精卵の前核に Foxn1 遺伝子をターゲットにした guide RNA と Cas9 nuclease を注入した。このとき Cas9 nuclease は，オールインワンベクター pX330，mRNA，Nuclease タンパク質のいずれかの形によってデリバリーした。まず「切断導入率」について，前核注入後 3 時間目の 1 細胞期胚では，プラスミド DNA 群，mRNA 群，タンパク質群でそれぞれ，0，0，10%だったが，19 時間目にはそれぞれ，0，23，75%になった。「胚盤胞発生率」は mRNA 群 (47%) が最も高く，タンパク質群 (14%)，プラスミド DNA 群 (5%) がそれに続いた。次に前核注入翌日の午前中に偽妊娠雌の卵管へ移植し，3 日後に子宮から回収した胚盤胞の遺伝子型解析に基づく「変異モザイク胚盤胞率」は，プラスミド DNA 群 (75%)，mRNA 群 (45%)，タンパク質群 (9%) の順で低くなった。一方「ヘミホモ変異型＋ホモ変異型胚盤胞率」は，プラスミド DNA 群 (25%)，mRNA 群 (28%)，タンパク質群 (82%) の順で高くなった。以上の結果より，Cas9 nuclease をタンパク質の形で前核にデリバリーすれば 2 細胞期胚へ分割する頃にはゲノム編集が起こり，移植後の個体発生率の低下が懸念されたとしてもモザイク発生を極力減らして変異導入ラット個体を作製できることが明らかになった。

代謝生理解析室

【概要】

研究所内外が作成，保有する遺伝子改変マウス及びラットの代謝，生理機能を詳しく解析し，標的遺伝子の機能と行動変異のメカニズムを明らかにすることを目的に開設された。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）。

唾液腺腺房細胞における温度感受性 TRPV4 チャネルの役割

柴崎貢志（群馬大学大学院医学研究科）
Sandra Derouiche，富永真琴（生理学研究所細胞生理研究部門）

TRPV4 と Ca^{2+}活性化 Cl^-チャネルのアノクタミン１が機能連関してマウス脳脈絡叢上皮細胞からの脳脊髄液分泌に関与することを以前に報告しているが，同様のメカニズムがマウス唾液腺腺房細胞・涙腺腺房細胞からの唾液・涙分泌にも関わることを明らかにした [2)]。マウス唾液腺および涙腺で TRPV4 とアノクタミン１が複合体を形成することを生化学的に確認した。唾液腺腺房細胞は TRPV4 刺激薬で容積減少を起こした。TRPV4 を介して流入した Ca^{2+}がアノクタミン１を活性化し，Cl^-流出から水流出が起こったものと考えられた。電気生理学的にも TRPV4 を介した陽イオン電流とそれに引き続く Cl^-電流の２相性の電流応答が確認できた。TRPV4 は IP3 type2 との複合体を形成することがわかり，ER 膜と形質膜が近接して，TRPV4，アノクタミン１，水チャネル，IP3 type2 の大きな複合体を形成することが明らかとなった。野生型マウス唾液腺からのカルバコールによる唾液分泌は TRPV4 阻害剤で抑制され，TRPV4 欠損唾液腺からの唾液分泌は有意に少なかった。行動観察で，TRPV4 欠損マウスは野生型マウスと比較して有意に高頻度の飲水行動が観察された。マウス唾液腺からカルバコールによる唾液分泌は温度依存的に増大した。マウス涙腺からの涙分泌もアノクタミン１阻害剤で有意に抑制され，TRPV4 欠損マウスでは涙分泌が有意に少なかった。よって，TRPV4 とアノクタミン１の機能連関は唾液分泌・波団分泌に強く関わっていると結論された。

カンジタ感染症における不快情動を惹起する分子メカニズムの解明

丸山健太，審良静男（大阪大学大学院医学系研究科）
高山靖規，富永真琴（生理学研究所細胞生理研究部門）

真菌の一種である Candida albicans は，我々の皮膚や膣に生息する常在真菌であり，通常は人体に害を及ぼすことはないが，抗癌剤/抗菌薬/ステロイドなどの投与によって免疫系と細菌叢の恒常性が攪乱されると，Candida albicans は病原性の高い状態に変化して増殖をはじめ，口腔粘膜・外耳道・陰部・手足の指間部にしつこい痛みとかゆみを伴った発疹をひきおこす場合がある。しかし，Candida albicans による日和見感染で生じる不快情動のメカニズムは明らかにされていなかった。遺伝子改変マウスを駆使した行動生理学的手法を用いて，Candida albicans を構成する多糖類の一種である β-glucan により皮膚の上皮細胞が刺激されて ATP 分泌顆粒の放出が促され，そして放出された ATP が末梢の痛覚神経を刺激することで痛みやかゆみを発生させていることを見いだした。Candida 膣炎などによって惹起される不快情動を抑制ための新たな治療標的の可能性を見出した。

タンパク質ポリイオウ鎖による心筋ミトコンドリア品質管理

赤池孝章（東北大学大学院医学研究科）
熊谷嘉人（筑波大学医学医療系）
西村明幸，田中智弘，西田基宏（生命創成探究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（Cys）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 Cys し，抗酸化に貢献している。これら活性イオウ種は，ミトコンドリア tRNA 合成酵素（CARS2）によって Cys を基質に生成され，Cys よりも高効率で翻訳時にタンパク質に組み込まれることを昨年見出した（Nature Commun., 2017）。本年度は，タンパク質中の Cys ポリイオウ鎖の役割を解析した。親電子性の強い環境化学物質（有機水銀）を低濃度曝露させたマウスにおいて，dynamin-related protein 1 (Drp1)の活性化を伴うミトコンドリア過剰分裂が観察された。このメカニズムとして，メチル水銀（MeHg）が Drp1 タンパク質の C 末端側の Cys ポリイオウ鎖と選択的に化学反応し，脱イオウ化することで Drp1 活性を増加させることがマウス心臓レベルで明らかとなった。MeHg 曝露そのものによる心筋傷害は見られなかったものの，MeHg 曝露心筋細胞に機械的伸展刺激を加えることで顕著な細胞死が誘導された。一方，我々はジヒドロピリジン系 Ca^{2+} 拮抗薬シルニジピンが低酸素や高血糖ストレスにより誘発されるミトコンドリア分裂や心筋早期老化を抑制すること，そのメカニズムとして，アクチン結合タンパク質フィラミンが Drp1 のグアニンヌクレオチド交換因子として働くことを見出した（Science Signal., 2018）。シルニジピン処置は MeHg 曝露による Drp1 活性化も顕著に抑制した。以上の結果から，Drp1 の Cys ポリイオウ鎖（活性イオウ）はフィラミンとの親和性を低下させることで Drp1 活性を負に制御している可能性が示された（Science Signal., 2019）。

心筋細胞の NO 依存的心肥大抑制におけるプリン作動性 P2Y2 受容体の役割

Caroline Sunggip（マレーシア Sabah 大学医学部）
Supachoke Mangmool（タイ Mahidol 大学薬学部）
下田　翔，小田紗矢香，西田基宏（生命創成探究センター心循環シグナル研究部門）

Ca^{2+}依存性転写因子 nuclear factor of activated T cells (NFAT)は心肥大を誘導する転写因子として知られている。細胞外 ATP は心筋細胞の NFAT を最も強く活性化するリガンドであるものの，ATP 刺激は心筋細胞肥大を全く誘導しない。我々は，ATP 刺激による NFAT 活性化のパターンが他のリガンド刺激と比べて一過的であることに着目した。その結果，ATP は心筋細胞内の一酸化窒素（NO）合成量を増加させることで，NFAT 転写活性を負に制御し，結果的に心肥大シグナルを抑制することを新たに見出した。ATP はプリン作動性 P2Y2 受容体を介して TRPC5 チャネルを活性化し，TRPC5 を介する Ca^{2+} 流入が内皮型 NO 合成酵素（eNOS）を活性化することで NO 生成を増加させること，TRPC5 のノックダウンや eNOS 阻害によって ATP 刺激による NFAT 活性化が長く持続することも明らかになった。以上より，心筋細胞における TRPC5-eNOS 共役系が ATP/P2Y2 受容体刺激によって活性化され，心肥大を負に制御するシグナルとして働く可能性が初めて示された（Front. Pharmacol., 2018）。

ジストニア様症状を呈する遺伝子組換えマウスの生理学的解析

堀江正男（鹿児島大学）
吉岡　望，竹林浩秀（新潟大学）
佐野裕美，知見聡美，南部　篤

Dystonin-a アイソフォームを欠損するジストニン欠損マウスでは，上肢の捻転，下肢の伸展，歩行時の体幹捻転が認められる。筋電図を計測したところ，伸筋と屈筋が同時に収縮するなど典型的なジストニアの筋電図を示した。Dystonin-a アイソフォームを末梢神経のみで欠損する P0-Cre::Dst マウスを作製したところ，歩行時の体幹捻転など典型的なジストニアの表現型は認められないものの，下肢の伸展という軽度なジストニア様の表現型が認められた。そこで，下肢の筋電図を計測したところ，ジストニアに特徴的な筋収縮は認められなかった。これらのことから，Dystonin-a アイソフォームの中枢神経における欠損が，ジストニア症状に関与していると考えられる。

動物実験センター

【概要】

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

第一の管理運営は，主に微生物コントロール，空調設備等の補修管理及び動物施設だよりの発行について行った。微生物コントロールについては，齧歯類微生物自家検査一本化の実施に向けての移行を進め，その他に，サル類の微生物検査に向けての整備などを進めた。空調設備等の補修管理については，従来から実施している明大寺及び山手の両施設における修理作業の他に，2019 年度の改修・増築工事開始に向けての準備作業を行った。さらに，改修・増築棟に設置する備品に関しての概算要求について立案し採択された。動物施設だよりは２回発行した。

第二の研究は，高脂肪食誘発性肥満マーモセットを用いた脳内炎症機構の解明，マウス飼育ケージ内漏水事故早期発見対策，及びマウス胚操作・融解移植の偽妊娠マウス作製向上に向けた取り組みについて行った。

第三の教育は，センターの利用者を対象に，山手及び明大寺両地区においてそれぞれごとに，利用者講習会及び実務講習を開催した。

第四の社会貢献は，研究所外では各種学協会等での理事長，理事，委員等の役割を担っての活動，動物愛護管理法改正及び外部検証に関連する活動，日本実験動物学会主催の人材育成事業，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 2,472 匹，ラット 22 匹，魚類 18,039 匹，両生類 113 匹，サル類 37 匹であった。登録者数 120 名であった。

山手地区動物種別の飼育数は，マウス 3,712 匹，ラット 286 匹，魚類 4,644 匹，両生類 430 匹であった。年間入館者数は 10,248 人（延べ），登録者数 118 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，13 部門（生理研 12 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，11 部門（生理研 7 部門，生命創成探究センター2 部門，基生研 1 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について，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），山手地区の利用部門数は 4 部門（生理研 1 部門，生命創成探究センター3 部門）が水槽を利用していた。

3．微生物学的品質管理

(1) 齧歯類の微生物モニタリング項目

センター内及びセンター外（センターの外部にある部門に設置されている飼育室）で飼育しているマウス，ラットを対象に，微生物モニタリングを年に 4 回の割合で定期的に行った。検査項目はウイルス感染症：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) 齧歯類の微生物モニタリング検査体制

齧歯類の微生物モニタリング検査については，これまでは３ヶ月に一回の割合で実験動物中央研究所 ICLAS モニタリングセンター（以下「ICLAS」と略す）に外部委託してきたが，今後は検査結果早期入手・検査諸経費削減・汚染事故発生時早期対応を目的にして，センターにおいて自家検査ができる体制を構築することとした。自家検査はセンターの獣医師 1 名と技術職員 1 名の 2 名体制で行うこととし，あらかじめ ICLAS で研修を受けた。これまで，同じ検体について外部委託検査と自家検査の両者を行って得られた成績を比較検討し，その結果両者の間に違いがないことを確認した上で，2017 年 12 月より自家検査のみに切り替え，本年度は年度当初から一本化した。なお，自家検査による成績の正確性を維持することを目的として，今後も ICLAS での研修を定期的に行うことを計画している。

(3) 微生物モニタリングの件数

本年度はそのほとんどを自家検査に移行させたが，た

だし検査試薬が入手できない検査項目，糞便を試料とした MHV 検査及び自家検査の対象としていない検査項目については，これまでと同様に外注委託検査を行った。自家検査で行った件数については，明大寺地区ではマウス 92 件とラット 10 件，山手地区ではマウス 131 件とラット 40 件であった。外部委託検査で行った件数については，明大寺・山手両地区合わせて，マウスリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス 222 件，ラットハンタウイルス 50 件，MHV21 件，マウスノロウイルス 1 件，マウスヘリコバクター1 件であった。

4. サル類の検疫体制

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した。今年度，ニホンザル 21 頭及びミドリザル 4 頭の検疫検査を実施した。サルの定期的健康診断について，全頭（46 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。

5. マウス受精卵凍結胚操作・融解・クリーンアップ実績

げっ歯類の授受について，動物輸送件数は年間でのべ 75 件の導入と 94 件の供与があった。このうちの一部について凍結保存やクリーンアップを行った。すなわち，受精卵凍結保存は 32 件，クリーンアップ兼受精卵凍結保存は 3 件，融解・移植は 11 件，それぞれ実施した。

6. 老朽化した空調設備等の主な修理内容

(1) 明大寺地区

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 のエチレンオキサシガス（EOG）滅菌装置のガス漏れ警報があったため，点検及び配管つまり除去を行った。

3) 動物棟 I・地下 B18 室天井排気口より多量の水漏れがあった。ダクト内からの漏水と考えられた。

4) 動物棟 I の空調機チラー修理を行った。

5) 動物棟 II（新館）の屋上冷却塔補給水等バルブ破損のため，取替工事を行った。

6) 動物棟 II の 233 室及び 234 室のサル飼育ケージ給水配管破損，ケージの破損について修理した。

(2) 山手地区

1) 1 号館 A-4 階熱源室に設置されている RI 棟・AN 棟及び 1 号館 B 棟用の蒸気ボイラー1 号機故障のためガス遮断用のアクチェーター交換を行った。

2) 1 号館 A-4 階熱源室に設置されている RI 棟・AN 棟及び 1 号館 B 棟用の蒸気ボイラー2 号機故障のためガス供給用のアクチェーター交換を行った。

3) オートクレーブ 3 台の検査前整備及び性能検査を行った。

4) エチレンオキサシガス（EOG）滅菌装置温度不安定及び配管ガス漏れのため配管取り換え工事を行った。

5) 1 号館 2 階避難路の扉にサムターンとサムターンカバー設置工事を行った。

山手の施設は 2001 年に竣工し，その後 17 年を経過しており，最近は空調設備等の経年劣化による不具合が増えているため，今後は施設の改修等の抜本的な対策が必要である。

7. 改修・増築工事関連

1980 年に竣工し，その後 39 年を経過した明大寺地区の動物棟 I の老朽化に対応するため，改修・増築工事に関する概算要求を行い，採択された。そこで本年度は，2019 年度からの本格的な改修・増築に向けて以下の準備を行った。

(1) 動物棟 I の閉鎖前

施設を撤収するにあたって，動物棟 I と渡り廊下でつながる動物棟 II に齧歯類の飼育スペースを確保した。飼育中の齧歯類が飼育されている飼育ラックに，梱包用のビニールシートを巻き付けて外側を噴霧消毒し，動物棟 II に移動後，移動先の飼育ラックにケージを移して，飼育を再開した。

(2) 動物棟 I の閉鎖後

大型オートクレーブ 2 台（うち 1 台は EOG 兼用機），ケージ洗浄機 1 台を解体廃棄した。中型オートクレーブ 1 台は再利用 のため撤去後保管した。動物棟 II に仮洗浄室

を設置。シンクの移転および配管接続までの間，洗浄機能が失われている期間は，インナーケージを使用。その後，簡易型ブラシ洗浄機を購入し，ケージを洗浄を行った。

(3) 主なスケジュール

2018 年

5 月　設計事務所との顔合わせ

5 月　設計事務所による現地調査

6 月　設計事務所より最初の図面引き渡し

7～9 月　マウス・ラットを複数回動物棟 II へ移動

10 月　中型オートクレーブ撤去・一時保管

11 月　居室・実験室移転

12 月　ケージ洗浄機，オートクレーブ 2 台撤去廃棄

12 月　諸元表及び設計図面の最終確認

2019 年

3 月　建築工事業者が青木あすなろ建設㈱に決定

(4) 諸元表及び建築・設備図面作成時のポイント

1) 改修増築区域に SPF マウス・ラットを維持するためのバリアシステム構築

①クリーン廊下→飼育室→セミクリーン廊下への一方向性を採用

②マイクロアイソレーションシステムの導入

③自動給水システムの導入

2) conventional 動物，特にサル類の飼育区域を完全分離（含動線）

3) 改修工事期間中の利用方法等に関する説明会の開催（動物棟 II でのマウス・ラット飼育について）

8. 改修・増築棟の備品の概算要求

改修・増築棟の備品の概算要求については，「平成 31 年度国立大学法人先端研究等施設整備費補助金」の遺伝子改変モデル動物研究基盤設備及び「平成 31 年度機能強化経費」の遺伝子改変モデル動物の表現型解析を飛躍的に高める先端技術の開発と共同利用・共同研究を推進する為の研究環境基盤の構築事業が採択された。

9. 動物施設だよりの発行

センターに関連する業務内容等を研究所内の関係者に周知徹底するために，「動物施設だより」の第 3 号（2018 年 5 月）と第 4 号（2019 年 1 月）を発刊した。その内容は，トピックス，スケジュール，お知らせ，空調機等の保守管理等，利用者講習会受講者数等の各種実績等である。

【研究】

1. 高脂肪食誘発性肥満マーモセットを用いた脳内炎症機構の解明

本研究では「小型霊長類マーモセットに高脂肪食を与え，それによって起こる脳内炎症の発症機序を調べると共に，肥満と代謝異常に及ぼす影響に関する研究」について，生殖・内分泌発達機構研究部門との共同研究を実施している。

2. マウス飼育ケージ内漏水事故早期発見対策

他大学等から新たにセンターに導入するマウスについては，1 週間の微生物学的検査等で陰性を確認後に一般飼育室へ移動するが，この間に給水瓶の漏水事故が発生し，発見が遅れると死亡事故につながる可能性がある。そこで，市販のおむつ尿漏れ感知センサー（スマートシッター：三和株式会社）に着目し，この商品が漏水事故早期発見に利用できるか検討した。（ポスター発表：乾　守裕，廣江　猛，吉村伸明，王　振吉，浦野　徹：おむつ尿漏れ感知センサーを利用したマウス飼育ケージ内漏水事故早期発見対策，第 52 回日本実験動物技術者協会総会，2018.10.5，熊本.）

3. マウス胚操作・融解移植の偽妊娠マウス作製向上に向けた取り組み

改修・増築工事に関連して，凍結胚で保存した系統を個体にするための融解移植が重要な事業となる。そこで，偽妊娠マウス作製向上の一環として，雄マウス精管結紮手術で傷口を留めるオートクリップ（日本ベクトン・ディッキソン株式会社）について検討した。（口頭発表：藤田涼太郎，太田里美，大麻孝志，加納恵梨，窪田美津子，廣江　猛，乾　守裕，王　振吉，浦野　徹：偽妊娠マウス作製向上に向けた取り組み，第 52 回日本実験動物技術者協会総会，2018.10.5，熊本.）

【教育】

1. 利用者講習会

明大寺地区と山手地区において初めてセンターを利用するユーザーを対象にして，明大寺利用者講習会及び山手利用者講習会を 2 カ月に 1 回の割合で実施開催した。明大寺利用者講習受講者数は 19 名，山手利用者講習者数は 20 名，山手実務講習受講者数は 20 名であった。

2. 実技講習

2015 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。マウス・ラットを中心として，雌雄判別，保定方法，投与方法（経口，腹腔，尾静脈投与），解剖等，ユーザーへの実技講習会を年 2 回で行った。受講者数は合計 6 名であった。

3．生理研トレーニングコース

生理研トレーニングコース「遺伝子改変マウスの基本的手技と学習･記憶行動解析入門」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。

4．動物実験委員会主催講習会・特別講義

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 37 名であった。自然科学研究機構動物実験教育訓練講習会特別講義の「動物実験施設における緊急時の対応」について講義を行った。受講者は合計 162 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，日本実験動物医学専門医協会，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，台湾・亜州大学において，名誉教授，客員教授，客員准教授として活動した。

2．動物愛護管理法改正及び外部検証に関連する活動

動物の愛護及び管理に関する法律の改正を巡って，国会議員への説明及び行政との打合せを行った。さらに，日本医学会連合，国立大学協会，全国医学部長病院長会議，日本神経科学会等の研究者サイド，及び国立大学法人動物実験施設協議会，公私立大学実験動物施設協議会，厚労省関係研究機関動物実験施設協議会等の実験動物管理者サイドとの打合せを行った。

3．日本実験動物学会主催の人材育成事業

日本実験動物学会が主催する人材育成事業に関して中心的な役割を担った。人材育成事業とは，主催：日本実験動物学会, 事業主: 日本医療研究開発機構（AMED），事業名：ナショナルバイオリソースプロジェクト・情報センター整備プログラム「外部検証促進のための人材育成」事業（2016～2020 年度），後援：文部科学省として展開しているものである。

4．行政との情報交換

文部科学省，農林水産省，環境省，内閣府等との間で情報交換を行った。

生命創成探究センター

生命システム構築研究グループ

【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嗅覚受容体と結合する。しかし培養細胞で再構成した嗅覚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

哺乳類培養細胞を用いた嗅覚受容体の再構成系では，匂い刺激は匂い物質の水溶液を用いて行われる。しかしこの手法では，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，水溶液での匂い刺激で測定される濃度閾値はおよそ nM レベルであり，嗅覚の高感受性を説明するには不十分であることから，生体の特性を再現できる遺伝子再構成系が求められていた。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，受容体表面の薄層液厚を計測しながら匂い応答を測定する技術開発を進めている。今後，開発した装置を用いて，匂い認識における気液界面の影響や嗅粘液の役割を明らかにするとともに，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

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，生体と同様の機能を持った腸管上皮細胞のモデル器官として注目されている。しかし物質透過性の低い細胞外マトリックスゲルの内部で培養するため，オルガノイドに対する薬物刺激は限定的であり，その利用は分子生物学的な手法に留められ，薬物刺激に対する動的な反応は測定できていない。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，Fura-2 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。現在，DNA マイクロアレイによる遺伝子発現解析を実施し，オルガノイドの物理化学的なシグナル受容に関わる遺伝子群の解析を進めるとともに，腸管以外のオルガノイドについても，カルシウムイメージング法の開発に取り組んでいる。

技術課

大河原　浩

【概要】

今年度，動物実験センターの技術職員体制を強化するため，動物取扱等スキルを持った技術職員として山中緑係員を採用した。また，ネットワークおよび情報セキュリティ技術強化のため，技術職員の採用に向けた活動を行った。

年度末，竹島康行係長が急病により急逝したため，担当業務の整理と今後の対応について検討した。

技術課組織の強化と指導体制の見直し，研究支援体制の充実を図るため，吉友美樹主任，佐藤茂基主任，福田直美主任の 3 名を係長に，山田元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マイコンの回路工作とプログラミング』の 2 コースを企画し，前コースに 3 名，後コースに 1 名の受講者を受け入れ，指導した。

② 生理学技術研究会の開催

全国の大学等技術職員の技術連携と交流を目的に第 41 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 2019 年 2 月 14 日－15 日の 2 日間にわたり開催した。会では，口演発表が 25 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 50 題あり，研修講演として『電子顕微鏡による研究・実験技術・研究環境』（臼田信光，藤田医科大学 医学部解剖Ⅱ教授）を行った。これらの報告を『生理学技術研究会報告（第 41 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 15 回の報告会（2019 年 2 月 15 日）を 13 演題で行った。この報告を『生理学技術研究会報告（第 41 号）』にまとめた。

④ 自然科学研究機構技術研究会の参加

自然科学研究機構技術職員の技術紹介と技術連携・異分野連携を目的に，第 13 回を核融合科学研究所で開催した（2018 年 6 月 7－8 日）。会では，「管理」をテーマにポスター＆フラッシュトークが 16 演題，各研究所最新動向と技術トピックスが 4 演題あり，詳細は『第 13 回自然科学研究機構技術研究会 報告書（Web 掲載）』としてまとめた。

また，自然科学研究機構「3D プリンタ」技術交流会を核融合科学研究所で開催し，2 名が参加した。

⑤ 東海・北陸地区国立大学法人等技術職員研修等の受講と参加

東海北陸地区大学等の技術職員の技術交流と技術向上を目的に，毎年当番校により東海・北陸地区国立大学法人等技術職員研修が行われており，本年は生物・生命コースと電気・電子コースが実施されたが受講者はなかった。また，東海・北陸地区技術職員合同研修に係わる技術職員代表者会議（豊橋，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 44 回国立大学法人動物実験施設協議会総会（北海道，1 名），微生物モニタリング研修（神奈川，1 名），第 52 回日本実験動物技術者協会総会（熊本，2 名），マーモセット飼育研修会（愛知，1 名），電子顕微鏡生物試料固定包埋講習会（東京，1 名），FAOPS2019・第 96 回日本生理学会大会（神戸，1 名），平成 30 年度東海地区国立大学法人等係長研修（名古屋，1 名），高エネルギー加速器研究機構技術職員シンポジウム（茨城，1 名）などに参加し，業務の研究技術力および支援力の強化を図った。

⑥ 放送大学利用による専門技術研修の受講

研究の高度化と多様化に対応するため，放送大学を利用した技術職員の研修を推進している。今年度は，運動と健康の科目を選択し，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 2 課題の採択を得た。

(1) 永田 治：理科第 2 分野（行動のしくみ）に活用する体験型実験教材の開発
(2) 齊藤 久美子：SGLT を介したグルコースの動態解析－非 RI 標識 α-メチルグルコシドを用いた解析

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。今年度も，その編集を技術係員が行い，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。なお，業務報告会には，基礎生物学研究所 三輪朋樹技術課長に聴講をお願いし，意見を求めることとした。

⑨ 安全衛生技能講習等の受講と参加

研究所の安全衛生を課業務として充実するために，第 14 回労働安全衛生に関する情報交換会（核融合研，2 名），平成 30 年度 東海・北陸地区 国立大学・研究所 環境安全衛生協議会（福井大学，1 名，名古屋大学，1 名），衛生管理者講習会（岡崎，2 名），安全講習会（名古屋大学，2 名），衛生工学衛生管理者講習会（名古屋，1 名），平成 30 年度局所排気装置等定期自主検査者講習会（名古屋大，1 名），一般高圧ガス取扱講習会（名古屋大，1 名）を受講した。

また，防火防災体制を強化するため，自衛消防講習（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（2 中学校，13 名）の職場体験を受入れ，遺伝子改変動物作製室，電子顕微鏡室，機器研究試作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（統合生理研究部門）

大河原　浩，永田　治，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，計測装置を良好な状態に保っている。

ガントリーの傾き具合によりヘリウム蒸発量が増加する問題が発生したが，しばらく様子を見ることとなった。センサーの一部が不安定になり，また，実験チェア周辺で水漏れを起こしたが，修理し問題なく使えており，実験計画に支障を来すことは無かった。

なお，HP-UX は旧計測システムのデータを保存した媒体を利用できるように，一部の運用を続けている。

2018 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	
2018 年　4 月	30	10	0	10	50	10	10	SQC ボード交換
5 月	31	10	0	12	57	11	11	
6 月	30	9	2	13	68	13	10	定期点検，SQC ボード交換
7 月	31	10	0	17	81	17	13	
8 月	31	8	2	18	86	19	19	定期点検
9 月	30	12	0	15	83	16	13	
10 月	31	9	2	16	80	16	16	センサー不調対応
11 月	30	9	4	12	71	11	11	実験椅子修理
12 月	31	12	4	10	67	10	10	定期点検，実験椅子修正
2019 年　1 月	31	12	8	0	0	0	0	ハードサイクル
2 月	28	9	7	9	75	9	6	センサー修理
3 月	31	11	3	14	82	16	6	定期点検，室ドア修理
	365	121	32	146	69	148	125	（稼働率は平均値）

*利用日数は装置を実験計測に使用した日数であり，保守作業などの使用は含んでいない。
*稼働率 ＝ 使用日数／（日数－（休日数＋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（心理生理学研究部門）

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，システム脳科学研究領域心理生理学部研究部門と脳機能計測・支援センター生体機能情報解析室の研究活動報告および生体機能イメージング共同利用実験報告に記載されている。

磁気共鳴装置は，独シーメンス社の３T-MRI 装置３台と 7 T-MRI 装置 1 台の計 4 台が共同利用実験装置として設置されている。その内訳は，2000 年度に導入された３T-MRI の Allegra と 2010 年度に導入された 2 台の 3T-MRI Verio で構成された世界初の Dual fMRI 実験装置および 2015 年度に導入された 7T-MRI である。7T-MRI 装置は，3T-MRI に比べてより高解像度で脳の断層画像の撮影を行うことが可能であり，脳機能画像計測においても新たな研究領域への貢献が期待されている。

各 MRI 装置の保守は, 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 等を含む実験装置の保守や更新に関しては，実験計画の空き時間を利用して技術職員が行っている。

今年度は，故障のため Verio-B のグラディエントコイルの交換作業を行った。また，7T-MRI の冷却系統に異常が発生していたが，メーカーによる調査と作業によって解消した。また，磁気共鳴装置棟の空調設備に異常が発生していたが，原因が判明し調整作業により解消した。

その他，前年度に引き続き 7T-MRI で得られる大量のデータの解析に対応するために，データ解析用 PC クラスタおよびメイニ―コア PC で利用する大容量ファイルサーバ・システムの増設と解析環境の整備を行った。

また，Dual fMRI 実験装置において被験者の顔を撮影するカメラがこれまで白黒であった物をカラーの物に変更した。これにより，よりリアルな対面コミュニケーション実験を行える環境を整備することができた。

それぞれの MRI 装置ごとの稼働率を表に示す。なお，Dual fMRI 実験装置を構成する 2 台の Verio は単体でも実験に使用できるため，便宜上 Verio-A，Verio-B として個々の稼働率を算出している。 Allegra は老朽化のため，2018 年 6 月 20 日に超電動マグネットを消磁する作業を行い，活動を停止した。

2018 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	
2018 年 4 月	30	10	0	20	0	0	0	
5 月	31	10	0	21	0	0	0	
6 月	30	16	2	12	0	0	0	6/20 消磁
計	91	36	2	53	0	0	0	

Verio-A

年　月	日数	休日	保守	使用可能日数	稼働率（%）	使用日		備考
						所内	所外	
2018 年 4 月	30	10	3	17	0	0	0	
5 月	31	10	1	20	40	0	8	
6 月	30	9	2	19	47	0	9	
7 月	31	10	1	20	15	0	3	定期点検
8 月	31	8	0	23	30	0	7	
9 月	30	12	1	17	35	0	6	
10 月	31	9	4	18	17	0	3	
11 月	30	9	2	19	26	0	5	定期点検
12 月	31	12	0	19	26	0	5	
2019 年 1 月	31	12	1	18	39	0	7	
2 月	28	9	1	18	83	0	15	
3 月	31	11	2	18	61	1	10	定期点検
計	365	121	18	226	35	1	78	

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	
2018 年　4 月	30	10	2	18	17	0	3	
5 月	31	10	2	19	47	0	9	定期点検
6 月	30	9	2	19	32	0	6	
7 月	31	10	1	20	35	0	7	
8 月	31	8	0	23	35	0	8	
9 月	30	12	1	17	41	0	7	定期点検
10 月	31	9	3	19	21	0	4	
11 月	30	9	2	19	53	1	9	
12 月	31	12	2	17	47	2	6	
2019 年　1 月	31	12	1	18	33	0	6	定期点検
2 月	28	9	0	19	79	0	15	
3 月	31	11	5	15	13	0	2	グラディエントコイル交換のため消磁
計	365	121	21	223	38	3	82	

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	
2018 年 4 月	30	10	3	17	79	9	4.5	
5 月	31	10	1	20	68	2	11.5	定期点検，液体ヘリウム補給
6 月	30	9	5	16	56	4	5	液体ヘリウム補給，マグネット調査
7 月	31	10	1	20	45	3	6	
8 月	31	8	3	20	25	1	4	定期点検
9 月	30	12	1	17	53	2	7	
10 月	31	9	3	19	68	5	8	
11 月	30	9	1	20	55	2	9	定期点検
12 月	31	12	0	19	53	5	5	
2019 年 1 月	31	12	1	18	67	2	10	
2 月	28	9	1	18	83	6	9	定期保守
3 月	31	11	3	17	71	6	6	
計	365	121	23	221	60	47	85	

②脳機能計測･支援センター

(1) 形態情報解析室

山田　元，斎藤善平，池田　充，加藤三津子，山田幸子

【超高圧電子顕微鏡に関する状況】

今年度における超高圧電子顕微鏡共同利用実験の成果等は，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。技術課としては，従来同様，機器の真空値の調査，目視による機器の状態の日常点検を行った。また，利用者が居なくても定期的に機器を立ちあげ，機器が正常に稼働できることの確認を行った。さらに，専門業者によるクレーン等の設備点検や経時劣化による設備交換，停電時の対応のサポートなども随時行った。

超高圧電子顕微鏡関連のトラブルとしては，電子顕微鏡本体が従来通りの分解能が得られない，CCD カメラの動作不能，冷却水を循環させるチラーの故障，停電復帰時の様々な問題などがあった。しかし，それぞれのトラブルに対して対応を行い，以降は順調に稼働をすることが出来ている。

最後に長年利用されてきた超高圧電子顕微鏡であるが，メーカーのサポート人材の高齢化，供給部品の欠乏などの理由からメーカーサポートが打ち切られることとなった。また，電顕に利用されている部品の内部に PCB（ポリ塩化ビフェニル）が使用されている可能性が指摘された。これらの事情に対して今後機器のサポートをどのように行っていくかが大きな課題となると思われる。

【クライオ位相差電子顕微鏡に関する状況】

今年度におけるクライオ位相差電子顕微鏡に関しては，従来と同様に試料作製や機器のトラブル対応などのサポートを行った。

クライオ位相差電子顕微鏡には，昨年度から引き続き位相差像観察用位相板ホルダーに関連した問題が起こった。トラブル解消のため，旧位相板ホルダーへの交換を行ったが，改善の効果は十分に得られず，現在も対応中である。しかし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。

(2) 電子顕微鏡室（生理研・基生研共通施設）

山田　元，小原正裕

【概要】

今年度の電子顕微鏡室の活動の概要は以下の通りである。

山手地区においては，ほとんどの機器が問題なく稼働している。

しかし，自動連続測定を開始した走査型電子顕微鏡 ΣIGMA に関しては，多くのトラブルが発生した。当該走査型電子顕微鏡は電子顕微鏡本体部分と自動連続測定用の装置の二つの部分から成り立つ。電子顕微鏡本体部分に関しては，得られる画像に本来存在しない影が乗ってしまい，正確な画像が得られなくなってしまう，真空の調整を行う電磁弁の一部が不具合を起こし，十分な真空度を得ることができなくなった，等のトラブルが発生した。自動連続測定用装置に関しては，自動測定中に電子線の発生が停止させる命令が送られてしまい，撮影が途中で停止してしまう，観察中の画像送信の信号が停止してしまい，撮影の途中で画像が得られなくなる，等のトラブルが発生した。電子顕微鏡本体部分のトラブルに関しては部品交換等の対応により改善されたが，自動連続測定用装置に関連するトラブルに関しては，メーカーによる複数回の調査，部品交換等が行われたものの，現状根本的な解決には至っていない。これらの対応に関しては現在も継続している。

明大寺地区においては，透過型電子顕微鏡 JEM-1010 が複数回トラブルを起こした。大きなトラブルとしては電顕接合部に設置されている O-リングが劣化し，機器の使用に必要なレベルの真空度まで達することができなくなるといったトラブル，施設の循環水が停止し，エラーを感知した電顕が緊急停止したことに起因するチラー並びに電顕本体の故障といったトラブルがあった。O-リングの劣化によるトラブルは機器の経年劣化と関連していると指摘されており，機器の更新等を含めた対策の必要性が痛感された。機器そのものは現在は，順調に稼働している。

その他の機器に関しては小さなトラブルが発生したが，技術職員によるメンテナンスによって現在はそれらすべてが解消されている。

両地区にまたがる事項としては，パソコンのオペレーティングシステムのサポート終了に対応するためにサポート対象外になるパソコンの更新，データサーバーの更新対象の検討等を開始した。

更に入室者の事故防止や事件発生抑止を目的として，電子顕微鏡室内に複数台の Web カメラを設置した。加えてこれらのカメラの運用に関する規則を作成し，その規則に基づいた運用を開始している。

【活動】

電子顕微鏡試料作製のための環境整備は本年度も引き続き行い，周辺機器の充実，更新，消耗品の充実などを行った。その他，電子顕微鏡試料の作製講習会，電顕ならびにその周辺機器利用講習会，近隣中学の学生を対象とした職場体験を連年通り，明大寺，山手の両地区で複数回実施した。

また，本年度は明大寺電子顕微鏡室において機構間の特別相互巡視が実施され，複数の不備（耐震方法，ケーブルの配線方法，人の躓き防止対策等）が指摘された。これらを全て改善し，かつ山手地区の電子顕微鏡室に対しても同様の対策を行った。

更に，以前設置した機器の緊急停止アラームに対応して迅速な機器の復帰作業を複数回実施することができた。しかし，夜間や休日の対応に関してはどうしても遅れ，緊急対応が難しいのが現状である。これらの状況に対する対応方法の検討が今後の課題である。

【研究内容一覧表】

本年度も例年通り，多くの利用申請を頂いた。

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

以下，電子顕微鏡室利用者の代表的な研究課題を掲載する。

2018 年度　電子顕微鏡室利用者の代表的な研究課題一覧

研究機関・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
	心循環シグナル	慢性疾患モデルマウスにおけるミトコンドリア形態評価
		マウス心筋および下肢骨格筋の病態形成時におけるオルガネラ形態の経時変化観察のため
	細胞構造	上皮細胞における微絨毛の観察
		上皮細胞における細胞間接着複合体の形成と機能の解析
		Tight junction の観察
基礎生物学研究所	環境光生物学	藻類における光合成関連タンパク質複合体の解析
		タンパク質複合体をネガティブ染色法を用いて観察する
	構造多様学	鱗翅目昆虫胚の形態観察
		多細胞系の形態形成機構―チョウ目昆虫の翅の形態形成―
	細胞動態研究部門	ゼニゴケ葉状体および精子の微細構造の観察
	光学解析室	植物の遺伝子産物の細胞内局在の解明
その他	水産研究・教育機構瀬戸内海区水産研究所	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	アミロイド線維の構造解析

(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 6 名，基生研 14 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, 利用頻度が低下したため分子研へ移管した。

なお，機器研究試作室の今年度の利用状況は，以下の通りである。

2018 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	83	細胞構造	13	視覚情報処理	11	生体システム	7
技術課	3	生殖・内分泌系発達機構	3	形態情報解析室	2	感覚認知情報	2
心理生理学	2	大脳神経回路論	2	遺伝子改変動物作製室	1	細胞生理	1

基生研							
光学解析室	5	多様性生物	3	定量生物	3	環境光生物	2
共生システム	2	神経生理	2	人工気象室	1	生物進化	1
生物機構情報分析室	1						

機器研究試作室　利用人数表

月	生理研		基生研		合計	
	利用人数	利用時間(h)	利用人数	利用時間(h)	利用人数	利用時間(h)
4	10	26	0	0	10	26
5	10	17	0	0	10	17
6	22	49	1	1	23	50
7	9	18	7	26	16	44
8	11	20	2	9	13	29
9	11	19	4	14	15	33
10	7	7	2	4	9	11
11	16	27	4	6	20	33
12	13	25	0	0	13	25
1	3	3	1	1	4	4
2	10	26	1	2	11	28
3	8	15	0	0	8	15
合計	130	478	22	126	152	604
前年度実績	*165*	*369*	*30*	*81*	*195*	*450*

機器研究試作室　利用機器表（件数）

機器＼月	フライス	ボール盤	横切盤	コンタマシン	旋盤	ベルトグラインダ	切断機	その他
4	7	0	1	3	5	0	0	1
5	7	1	0	1	4	0	0	2
6	10	7	7	7	6	2	0	3
7	9	7	6	8	6	4	0	1
8	4	3	2	2	3	0	0	0
9	12	7	12	10	2	0	1	3
10	6	3	2	3	2	0	0	1
11	7	2	6	0	11	1	1	2
12	4	4	5	2	6	0	0	3
1	1	0	2	0	1	0	0	0
2	3	4	5	5	2	0	0	2
3	3	4	2	2	2	0	0	2
合計	73	42	50	43	50	7	2	20
前年度実績	*117*	*74*	*56*	*65*	*44*	*11*	*16*	*20*

機器研究試作室　依頼製作品例

機械工作	恒温ガス雰囲気チェンバー	クライオチューブ冷却アルミブロック	注射針カッター
電気工作	リッキングカウンター	顕微鏡ステージ恒温チェンバー	インターバルタイマー
レーザー加工	電子回路ケースパネル	恒温ガス雰囲気チェンバー	PP ケース　穴あけ

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行くためには，所内 LAN の管理，整備や情報セキュリティの確保も重要である。このような現状をふまえたうえで，岡崎情報ネットワーク管理室や機構 CSIRT（両組織に当室の技術職員 1 名が併任）とも連携しながら，施設整備を進めている。

生体情報解析システムは，数値計算，データ解析，可視化，数式処理，統計解析，電子回路設計などの多くのアプリケーションを備えている。これらのアプリケーションは，ネットワーク認証により各部門施設の PC 上で利用可能である。登録者は 93 名で，研究推進のために活用されている。

岡崎情報ネットワークは，MAC アドレス認証の動的 VLAN 機能を有する 1000BASE-T ネットワークの提供を基とし，利便性の向上と情報セキュリティの確保を両立している。また，同様の認証機能，あるいは Web 認証機能を持つ無線 LAN，並びに eduroam は，構内全域で利用可能である。

セキュリティインシデントは，今年度も自然科学機構内外で発生している。これに対応するため機構 CSIRT が組織されており，発生予防，対策，監視等を行うと共に，発生時及び発生後の対応を行っている。また今年度は，情報セキュリティ対応強化のため，外部業者によるセキュリティインシデントに関する高度サポートの導入，ログ管理解析基盤の導入，脆弱性管理システムの導入，岡崎 3 機関 CSIRT 運営経費の新規配分，岡崎情報ネットワーク管理室員の増員，運用ルールの変更を要求し，承認された。来年度から，これら情報セキュリティ対応強化を順次進めて行くこととなった。

生理学研究所のネットワーク利用状況は，メール登録者が 372 名。WWW 登録者が 103 名。LAN の端末数が 1,814 台。所外からのメール受信数は 2,600 通／日，所外へのメール発信数は 1,900 通／日であった。WWW は 5,400 IP／日の端末から 23,000 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

廣江　猛，窪田美津子，神谷絵美，山中　緑

【概要】

齧歯類の授受件数は昨年度と比べ，導入および搬出とも増加した。マウス受精卵凍結・クリーンアップ事業では，昨年と比べ，クリーンアップ件数と融解件数は減少したが，凍結件数は増加した。

齧歯類の微生物統御では，昨年度明大寺地区生理研研究棟部門飼養保管室において *Clostridium piliforme*（Tyzzer 菌）を検出したため，引き続き感染症対策を実施し，2018/7/13 に終息した。

動物の延べ飼育数は，マウスでは明大寺動物棟 1 改修・増築工事準備のため飼養保管室の一部閉鎖，山手 1 部門

の閉鎖のため減少した。ラットは Tyzzer 菌対応のため減少した。マカクサルは例年通り，マーモセットは増加した。

施設整備面において，齧歯類微生物モニタリングを引き続き実施した。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。また，マカクサルでは導入時に検疫を行い，1 回/年の全個体の定期検診を引き続き行った。マーモセットでは，体調不良個体について，血液や糞便の検査・治療を引き続き実施した。

明大寺の動物棟 I は，建設されてから 39 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おり，動物棟 1 の機能改善および機能高度化を目的に，増築・改修することになった。

今回の改修工事に向けて以下の 3 点を重視した。

1. 改修増築区域に SPF マウス・ラットを維持するためのバリアシステム構築
   a) クリーン廊下→飼育室→セミクリーン廊下への一方向性を採用
   b) マイクロアイソレーションシステムの導入
   c) 自動給水システムの導入
2. CV の動物，特にサル類の飼育区域・動線を完全分離
3. 改修工事期間中の利用方法等に関する説明会開催

また改修増築に関わる導入備品に関する概算要求を行った。

山手の施設は 17 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 75 件の導入と 94 件の供与があった。全体として昨年より増加した。他機関からの導入が大きく増加し，3 機関内の供給，供与も増加した。海外からの導入は減少したが，海外への供与は増加した。導入，供与ともにマウス凍結胚での授受が増加している。また，授受の条件や書類内容の確認，利用者へのアドバイスなどに時間を多く費やしている。

②受精卵凍結・クリーンアップ事業

受精卵凍結保存は 32 件，クリーンアップ兼受精卵凍結保存は 3 件，融解・移植は 11 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，マウス凍結胚による系統の導入を 5 件，マウス凍結精子による系統の導入を 1 件行った。

③齧歯類微生物検査事業

昨年度に引き続き，神谷技術職員による自家検査を行った。

明大寺の部門飼育室齧歯類感染事故 Tyzzer 対策において，自家検査で ELISA および IFA による確認検査を実施した。

神谷技術職員が 2018/8/14~16 に ICLAS モニタリングセンターで微生物モニタリングの研修を受講した。

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，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動物実験センター改組準備

動物実験センターを運営部門とし，先端モデル動物作製室，モデル動物表現型解析室からなる動物資源共同利用研究センターとしての改組準備を行った。

⑥改修工事に伴う施設・設備整備

導入備品に関する概算要求を立案した。

改修・増築が決まったことにより，大型機器類の撤去・廃棄及び保管，備品の移動・廃棄及び保管を行った。

改修・増築にあたり，図面の立案，各部屋の仕様，導入予定機材などの諸元表を作成した。

岡崎統合事務センター（施設課，調達課，財務課）との打合わせを 6 回，設計事務所との打ち合わせを 6 回行った。

改修工事期間中は，動物棟 2 のみでの運営を行う必要があり以下のことを行った。

・洗浄室閉鎖の為，一時的なインナーケージの利用，動物棟 2 手術室を洗浄室に改装，ブラシ洗浄機の導入。

・動線確保のため，動物棟 2 の 1F 検疫室前室にパーティションの設置。

・3F 洗浄室を給水瓶作製室に変更

・洗浄能力低下に伴い，洗浄方法の見直し，床換え期

間の見直し

・動物棟 1 から動物棟 2 へ動物の移動

・改修を行う動物棟 1 の什器，備品などの物品を，動物棟 2 や生理研研究棟へ移動

・生理研棟へ移動した居室の整備

・動物棟 2 利用方法等に関する説明会開催

【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，13 部門（生理研 12 部門，共通研究施設 1 部門）であった。

利用者講習会を各月開催しており，受講者は 19 名であった。

動物のべ飼育数は，昨年度と比べ，マウスは増加し，ラットは減少した。サルは昨年と比べほぼ変わらず，マーモセットは，昨年と比べ増加した。

② 齧歯類微生物モニタリングについて

マウス，ラット飼養保管室で，3 ヶ月に 1 度の微生物モニタリング検査を実施した。

（1）Tyzzer 菌感染事故 : 2018/1 の定期検査において，生理研部門飼養保管室 311 室ラット室で Tyzzer 菌が検出された件の対応について昨年度報告したが，2018/7/13 に終息した。

（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，改修に伴う閉鎖（2018/8）まで問題無く運用出来た。

③ 施設整備について

動物棟 1 の改修・増築に伴い，備品導入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 1＞

（1）ヒートポンプユニットの故障修理

（2）ケージウォッシャーポンプから水漏れ修理

（3）NAS の HD 故障修理

（4）オートクレーブ配管蒸気漏れ，改修のため使用停止

（5）館内蒸気配管からの蒸気漏れ，改修のため応急処置

（6）EOG 滅菌機故障，配管詰まり除去

（7）空調機は経年劣化のため真夏及び真冬の時期に自動運転での安定した運転ができず，バイパスをあけるなどマニュアル運転を実施した。夏季に空調ファンブレードが折れる故障により室温が上昇したため，改修のための動物の移動作業を前倒しで行った。

＜動物棟 2＞

（1）屋上冷却塔補給水等バルブ破損修理

（2）1 階機械室のドアノブの修理

（3）雨漏りのため，外壁目地シール工事

（4）サルケージ修理

（5）1 階機械室の室内給気・排気ファン故障修理

（6）屋上冷却水ポンプ故障修理

（7）吸収式冷温水機の整備

【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，11 部門（生理研 7 部門，生命創成探究センター2 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。利用者講習受講者は 20 名，実務講習会受講者は 20 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。

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 9 名が受講した。

④主な工事及び修理について

（1）貫流蒸気ボイラー2 号機故障修理，山手 1 号館 A 棟（RI・AN）山手 1 号館 B 棟用

（2）吸収冷温水発生機故障修理，山手 1 号館 A/B 棟

（3）貫流蒸気ボイラー1 号機故障修理，山手 1 号館 A 棟（RI・AN）山手 1 号館 B 棟用

（4）山手地区入退室管理システム電気錠交換修理，山手 1 号館 A1 階受理室電気錠

（5）山手 1 号館 A 棟南側壁雨水浸入修理

（6）噴霧ポンプ故障，山手 1 号館 A 棟 AN 全熱交換器 (HEA-1A・A)給水ユニット

（7）オートクレーブ 3 号機，高圧蒸気滅菌器 SF-180W

リミットスイッチ交換修理

(8) オートクレーブ 2 号機，内缶給蒸用モーターバルブ交換

(9) 山手 1 号館 A 棟排気ファン FE-12A 軸受取替工事

(10) ケージ洗浄機漏水修理

(11) 2F 避難路用扉サムターンとカバー設置

(12) 山手 1 号館 A 4 階熱源機械室ボイラー1 号機（山手 1 号館 A・B 共通）ボイラー逆止弁フランジ蒸気漏れ修理

(13) EOG 滅菌ガス配管修繕工事

【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，生命創成探究センター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

山手 1 階水生動物室恒温飼育室用エアコン交換作業を行った。

陸生動物　部門別・動物種別搬入数（2018 年度）

動物種 / 部門	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		6						12	
生体膜								345	53
神経シグナル								4	15
生体システム	208	23					20	36	
認知行動発達						6	6		
大脳神経回路論								88	36
生殖内分泌系	197							46	
生体恒常性発達	150							41	
多光子顕微鏡室	12	52							
動物実験センター	98	12						316	49
視覚情報処理	583	70						306	
細胞生理	23							233	
遺伝子改変動物作製室								586	480
心循環シグナル								499	34
IBBP								39	113
細胞構造								46	
合計	1271	163				6	26*	2597	780

*26 頭中ニホンザル 22 頭，ミドリザル 4 頭

【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 90
生体膜研究部門 90
神経発達・再生機構研究部門 90
細胞構造研究部門 91
細胞生理研究部門 91
心循環シグナル研究部門 92
生殖・内分泌系発達機構研究部門 93
大脳神経回路論研究部門 93
生体恒常性発達研究部門 94
視覚情報処理研究部門 95
感覚認知情報研究部門 95
認知行動発達機構研究部門 95
生体システム研究部門 96
統合生理研究部門 97
心理生理学研究部門 98
形態情報解析室 100
多光子顕微鏡室 101
生体機能情報解析室 101
ウィルスベクター開発室 102
遺伝子改変動物作製室 103
個別研究（山肩研究室） 103

発　表　論　文

《神経機能素子研究部門》

1). 英文原著論文

1. Oda M, Kubo Y, Saitoh O (2018) Sensitivity of Takifugu TRPA1 to thermal stimulations analyzed in oocytes expression system. Neuroreport 29 (4): 280-285. doi: 10.1097/WNR.0000000000000939.
2. Tsukamoto H, Higashi M, Motoki H, Watanabe H, Ganser C, Nakajo K, Kubo Y, Uchihashi T, Furutani Y (2018) Structural properties determining low K^+ affinity of the selectivity filter in the TWIK1 K^+ channel. J Biol Chem 293(18): 6969-6984. doi: 10.1074/jbc.RA118.001817.
3. Aoki I, Tateyama M, Shimomura T, Ihara K, Kubo Y, Nakano S, Mori I (2018) SLO potassium channels antagonize premature decision making in *C. elegans*. Commun Biol 1:123. doi: 10.1038/s42003-018-0124-5.
4. Kume S, Shimomura T, Tateyama M, Kubo Y (2018) Two mutations at different positions in the CNBH domain of the hERG channel accelerate deactivation and impair the interaction with the EAG domain. J Physiol 596(19): 4629--4650. doi: 10.1113/JP276208.
5. Tateyama M, Kubo Y (2018) $G_{i/o}$-coupled muscarinic receptors co-localize with GIRK channel for efficient channel activation. PLoS One 13(9): e0204447. doi: 10.1371/journal.pone.0204447.

2) 英文総説（査読あり）

1. Chen IS, Kubo Y (2018) Ivermectin and its target molecules: shared and unique modulation mechanisms of ion channels and receptors by ivermectin. J Physiol 596(10): 1833-1845. doi: 10.1113/JP275236.

《生体膜研究部門》

1) 英文原著論文

1. Yamagata A*, Miyazaki Y*, Yokoi N, Shigematsu H, Sato Y, Goto-Ito S, Maeda A, Goto T, Sanbo M, Hirabayashi M, Shirouzu M, Fukata Y, Fukata M**, Fukai S** (2018) Structural basis of epilepsy-related ligand-receptor complex LGI1-ADAM22. Nat Commun 9:1546. doi: 10.1038/s41467-018-03947-w. (*, equally contributed; **, corresponding authors)
2. Yoshikura N, Kimura A, Fukata M, Fukata Y, Yokoi N, Harada N, Hayashi Y, Inuzuka T, Shimohata T (2018) Long-term clinical follow-up of a patient with non-paraneoplastic cerebellar ataxia associated with anti-mGluR1 autoantibodies. J Neuroimmunol 319:63-67. doi: 10.1016/j.jneuroim.2018.04.001.

2) 研究関係著作

1. 平田哲也，深田優子，深田正紀（2018）パルミトイル化修飾酵素を軸とした神経機能研究．生化学 90(2): 125-137. doi:10.14952/SEIKAGAKU.2018.900125.

《神経発達・再生機構研究部門》

1) 英文原著論文

1. Kaneko N, Herranz-Perez V*, Otsuka T*, Sano H*, Ohno N*, Omata T, Nguyen HB, Thai TQ, Nambu A, Kawaguchi Y, Garcia-Verdugo JM, Sawamoto K （2018）* These authors contributed equally to this work. New neurons use Slit-Robo signaling to migrate through the glial meshwork and approach a lesion for functional regeneration. Sci Adv 4(12):eaav0618. doi: 10.1126/sciadv.aav0618.
2. Sato Y, Kiyozumi D, Futaki S, Nakano I, Shimono C, Kaneko N, Ikawa M, Okabe M, Sawamoto K, Sekiguchi

K（2018）Ventricular-subventricular zone fractones are speckled basement membranes that function as a neural stem cell niche. Mol Biol Cell 30(1):56-68. doi: 10.1091/mbc.E18-05-0286.

3. Aoyagi Y, Hibi T, Kimori Y, Sawada M, Kawakami R, Sawamoto K, Nemoto T（2018）Heterogeneous distribution of doublecortin-expressing cells surrounding the rostral migratory stream in the juvenile mouse. J Comp Neurol 526(16):2631-2646. doi: 10.1002/cne.24521.
4. Minegishi T, Uesugi Y, Kaneko N, Yoshida W, Sawamoto K, Inagaki N（2018）Shootin1b Mediates a Mechanical Clutch to Produce Force for Neuronal Migration. Cell Rep 25(3):624-639.e6. doi: 10.1016/j.celrep.2018.09.068.
5. Fujikake K, Sawada M, Hikita T, Seto Y, Kaneko N, Herranz-Perez V, Homma N, Osaga S, Yanagawa Y, Akaike T, Garcia-Verdugo JM, Hattori M, Sobue K, Sawamoto K (The first two authors equally contributed to this work)（2018）Detachment of chain-forming new neurons by Fyn-mediated control of cell-cell adhesion in the postnatal brain. J Neurosci 38 (19):4598-4609. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1960-17.2018.

2) 総説

1. Hayashi Y, Jinnou H, Sawamoto K, Hitoshi S (2018) Adult neurogenesis and its role in brain injury and psychiatric diseases. J Neurochem 147(5):584-594. doi: 10.1111/jnc.14557
2. Kaneko N, Sawamoto K (2018) Go with the Flow: Cerebrospinal Fluid Flow Regulates Neural Stem Cell Proliferation. Cell Stem Cell 22(6):783-784. doi: 10.1016/j.stem.2018.05.015.

3) 著書

1. 齋藤志朗，金子奈穂子，澤本和延（2019）内在性のニューロン再生過程における新生ニューロンの移動制御機構．生体の科学 70(1)：63-67.

《細胞構造研究部門》

1) 英文原著論文

1. Tsuchiya Y, Mii Y, Okada K, Furuse M, Okubo T, Takada S (2018) Ripply3 is required for the maintenance of epithelial sheets in the morphogenesis of pharyngeal pouches. Dev Growth Differ. 60(2):87-96. doi: 10.1111/dgd.12425.
2. Castro Dias M, Coisne C, Lazarevic I, Baden P, Hata M, Iwamoto N, Miguel Ferreira Francisco, D, Vanlandewijck M, He L, Baier FA, Stroka D, Bruggmann R, Lyck R, Enzmann G, Deutsch U, Betsholtz C, Tsukita Sh, Furuse M, Engelhardt B (2019) Claudin-3-deficient C57BL/6J mice display intact brain barrier. Sci Rep 9(1):203. doi: 10.1038/s41598-018-36731-3.

《細胞生理研究部門》

1) 英文原著論文

1. Matsumoto K, Yamaba R, Inoue K, Utsumi D, Tsukahara T, Amagase K, Tominaga M, Kato S (2018) TRPV4 regulates vascular endothelial permeability during colonic inflammation in dextran sulphate sodium-induced murine colitis. Br J Pharmacol 157(1): 84-99. doi: 10.1111/bph.14072.
2. Majikina A, Takahashi K, Saito S, Tominaga M, Ohta T (2918) Involvement of nociceptive transient receptor potential channels in repellent action of pulegone. Biochem Pharmacol 151: 89-95. doi: 10.1016/j.bcp.2018.02.032.
3. Wang X, Li T, Kashio M, Xu Y, Tominaga M, Kadowaki T (2918) The red imported fire ant, Solenopsis invicta HsTRPA functions as a nocisensor and uncovers the evolutionary plasticity of HsTRPA channels. eNeuro 5: e0327. doi: 10.1523/ENEURO.0327-17.
4. Utsumi D, Matsumoto K, Tsukahara T, Amagase K, Tominaga M, Kato S (2018) Transient receptor potential vanilloid 1 and transient receptor potential ankyrin 1 contribute to the progression of colonic inflammation in dextran sulfate sodium-induced colitis in mice: Links to calcitonin gene-related peptide and substance P. J Pharmacol

Sci 136:121-132. doi: 10.1016/j.jphs. 2017.12.012.

5. Tsuchiya M, Hara Y, Okuda M, Itoh K, Nishioka R, Shiomi A, Nagao K, Mori M, Mori Y, Ikenouchi J, Suzuki R, Tanaka M, Ohwada T, Aoki J, Kanagawa M, Toda T, Nagata Y, Matsuda R, Takayama Y, Tominaga M, Umeda M (2018) Cell surface flip-flop of phosphatidylserine is critical for PIEZO1-mediated myotube formation. Nat Commun 9: 2049. doi: 10.1038/s41467-018-04436-w.
6. Suzuki Y, Chitayat D, Sawada H, Deardorff MA, McLaughlin HM, Begtrup A, Millar K, Harrington J, Chong K, Roifman M, Grand K, Tominaga M, Takada F, Shuster S, Obara M, Mutoh H, Kushima R, Nishimura G (2018) TRPV6 variants interfere with maternal-fetal calcium transport through the placenta and cause transient neonatal hyperthyroidism. Am J Hum Gent 102: 1104-1114. doi: 10.1016/j.ajhg.2018.04.006.
7. Maruyama K, Takayama Y, Yamanoi Yu, Yokawa T, Kondo T, Ishibashi K, Ranjan Sahoo B, Takemura N, Mori Y, Kanemaru H, Kumagai Y, Martino M.M., Yoshioka Y, Nishijo H, Tanaka H, Sasaki A, Ohno N, Iwakura Y, Moriyama Y, Nomura M, Akira S, Tominaga M (2018) The ATP transporter VNUT mediates induction of Dectin-1-triggered Candida nociception. iScience 6: 306-318. doi: 10.1016/j.isci.2018.08.007.
8. Akashi HD, Chen PJ, Akiyama T, Terai Y, Wakakuwa M, Takayama Y, Tominaga M, Arikawa K (2018) Physiological responses of ionotropic histamine receptors, PxHCLA and PxHCLB, to neurotransmitter candidates in a butterfly, *Papilio xuthus*. J Exp Biol [Epub 2018 Oct 29]. doi: 10.1242/jeb.183129.
9. Kita T, Uchida K, Kato K, Suzuki Y, Tominaga M, Yamazaki J (2019) FK506 (tacrolimus) causes pain sensation through the activation of transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) channels. J Physiol Sci 69(2):305-316. doi: 10.1007/s12576-018-0647-z.
10. Akashi H, Saito S, Diaz AC, Makino T, Tominaga M, Kawata M. Compariosons of behavioral and TRPA1 heat sensitivities in three sympatric Cuban Anolis lizards. Mol. Eco. 27: 2234-2242, 2018. Doi. Org/10.1111/mec.14572

2) 英文総説（査読あり）

1. Uchida K, Sun W, Yamazaki J, Tominaga M (2018) Role of thermo-sensitive transient receptor potential channels in brown adipose tissue. Biol Pharm Bull 41: 1135-1144. doi: 10.1248/bpb.b18-00063.

3) 研究関係著作

1. 富永真琴 (2018) TRP チャネルと痒み. 臨床免疫・アレルギー科 69 (4): 362-369.
2. 富永真琴 (2018) 侵害受容器. 日本医師会雑誌 147, 特別号(1) わかりやすい感覚器疾患 2018, 82-83.
3. 山野井遊, 富永真琴 (2018) 痒みのメカニズム:分子機構と TRP チャネル. 神経内科 89 (1): 1-7.

《心循環シグナル研究部門》

1) 英文原著論文

1. Masuda K, Tsutsuki H, Kasamatsu S, Ida T, Takata T, Sugiura K, Nishida M, Watanabe Y, Sawa T, Akaike T, Ihara H (2018) Involvement of nitric oxide/reactive oxygen species signaling via 8-nitro-cGMP formation in 1-methyl-4-phenylpyridinium ion-induced neurotoxicity in PC12 cells and rat cerebellar granule neurons. Biochem Biophys Res Commun 495(3):2165-2170. doi: 10.1016/j.bbrc.2017.12.088.
2. Sunggip C, Shimoda K, Oda S, Tanaka T, Nishiyama K, Mangmool S, Nishimura A, Numaga-Tomita A, Nishida M (2018) TRPC5-eNOS axis negatively regulates ATP-induced cardiomyocyte hypertrophy. Front Pharmacol 9:523. doi: 10.3389/fphar.2018.00523.
3. Nishimura A, Shimauchi T, Tanaka T, Shimoda K, Toyama T, Kitajima N, Ishikawa T, Shindo N, Numaga-Tomita T, Yasuda S, Sato Y, Kuwahara K, Kumagai Y, Akaike T, Ide T, Ojida A, Mori Y, Nishida M (2018) Hypoxia-induced interaction of filamin with Drp1 causes mitochondrial hyperfission-associated myocardial senescence. Science Signaling 11(556): eaat5185. doi: 10.1126/scisignal.aat5185.
4. Parichatikanond W, Nishimura A, Nishida M, Mangmool S (2018) Prolonged stimulation of β2-adrenergic receptor with β2-agonists impairs insulin actions in H9c2 cells. J

Pharmacol Sci 138(3):184-191.
doi: 10.1016/j.jphs.2018.09.007.

5. Ihara H, Kakihana Y, Yamakage A, Kai K, Shibata T, Nishida M, Yamada KI, Uchida K (2019) 2-Oxo-histidine-containing dipeptides are functional oxidation products. J Biol Chem 294(4):1279-1289. doi: 10.1074/jbc.RA118.006111.

2) 英文総説

1. Sawa T, Ono K, Tsutsuki H, Zhang T, Ida T, Nishida M, Akaike T (2018) Reactive Cysteine Persulphides: Occurrence, Biosynthesis, Antioxidant Activity, Methodologies, and Bacterial Persulphide Signalling. Adv Microb Physiol 72:1-28. doi: 10.1016/bs.ampbs.2018.01.002.
2. Numaga-Tomita T, Oda S, Nishiyama K, Tanaka T, Nishimura A, Nishida M (2019) TRPC channels in exercise-mimetic therapy. Pflügers Archiv Eur J Physiol 471(3):507-517. doi: 10.1007/s00424-018-2211-3.

3) 研究関係著作

1. 西村明幸, 西田基宏 (2018) 活性イオウによる心筋早期老化制御. DOJIN NEWS 165: 1-5.
2. 西田基宏, 西村明幸, 西山和宏, 田中智弘 (2018) 活性イオウによるミトコンドリア品質管理と心疾患リスク制御. 硫酸と工業 71(5): 65-72.
3. 小田紗矢香, 下田翔, 冨田拓郎, 西田基宏 (2018) アントラサイクリンによる心筋傷害のメカニズム UPDATE. 循環器内科 83(6): 554-559.
4. 西田基宏, 西村明幸, 下田翔 (2018) 活性イオウによるミトコンドリア機能制御. 実験医学 36(5): 663-668.
5. 小田紗矢香, 冨田拓郎, 西田基宏 (2018) 運動模倣薬の新たなストラテジー. YAKUGAKU ZASSHI 138(10): 1257-1262.
6. 西田基宏, 西村明幸, 西山和宏 (2018) 心臓リモデリングを制御する G タンパク質／受容体シグナリング. 日本臨牀増刊「心不全 (第 2 版) 上巻－最新の基礎・臨床研究の進歩－」 76(9).

4) その他

1. 宮本理人, 西田基宏 (2018 年 10 月) 食事, 運動, 睡眠～生活習慣から薬物治療と創薬を考える～. YAKUGAKU ZASSHI (特集号前書き) 138(10): 1255-1256.

《生殖・内分泌系発達機構研究部門》

1) 英文原著論文

1. Okamoto S, Sato T, Tateyama M, Kageyama H, Maejima Y, Nakata M, Hirako S, Matsuo T, Kyaw S, Shiuchi T, Toda C, Sedbazar U, Saito K, Asgar NF, Zhang B, Yokota S, Kobayashi K, Foufelle F, Ferré P, Nakazato M, Masuzaki H, Shioda S, Yada T, Kahn BB, Minokoshi Y (2018) Activation of AMPK-regulated CRH neurons in the PVH is sufficient and necessary to induce dietary preference for carbohydrate over fat. Cell Rep 22: 706-721. doi: 10.1016/j.celrep.2017.11.102.
2. Ikegami R, Shimizu I, Sato T, Yoshida Y, Hayashi Y, Suda M, Katsuumi G, Li J, Wakasugi T, Minokoshi Y, Okamoto S, Hinoi E, Nielsen S, Jespersen NZ, Scheele C, Soga T, Minamino T (2018) Gamma-aminobutyric acid signaling in brown adipose tissue promotes systemic metabolic derangement in obesity. Cell Rep 24: 2827-2837. doi: 10.1016/j.celrep.2018.08.024.

2) 研究関係著作

1. 箕越靖彦 (2018) 中枢神経系による摂食・代謝調節機構. CLINICAL CALCIUM 28(1):45-55.
2. 箕越靖彦, 岡本士毅 (2018) 炭水化物嗜好性促進ニューロンの発見とその活性化機構の解明. Diabetes Journal 46(4):183-186.

《大脳神経回路論研究部門》

1) 英文原著論文

1. Kubota Y, Sohn J, Hatada S, Schurr M, Straehle J, Gour A, Neujahr R, Miki T, Mikula S, Kawaguchi Y (2018) A carbon nanotube tape for serial-section electron

microscopy of brain ultrastructure. Nature Commun 9:437. doi.org/10.1038/s41467-017-02768-7.
2. Choy JMC, Agahari FA, Li L, Stricker C (2018) Noradrenaline increases mEPSC frequency in pyramidal cells in layer II of rat barrel cortex via calcium release from presynaptic stores. Front Cell Neurosci 12:213. doi.org/10.3389/fncel.2018.00213.
3. Tanaka YH, Tanaka YR, Kondo M, Terada S, Kawaguchi Y, Matsuzaki M (2018) Thalamocortical axonal activity in motor cortex exhibits layer-specific dynamics during motor learning. Neuron 100:1-15. doi.org/10.1016/j.neuron.2018.08.016.
4. Kaneko N, Herranz-Pérez V, Otsuka T, Sano H, Ohno N, Omata T, Nguyen HB, Thai TQ, Nambu A, Kawaguchi Y, García-Verdugo JM, Sawamoto K (2018) New neurons use Slit-Robo signaling to migrate through the glial meshwork and approach a lesion for functional regeneration. Sci Adv 4:eaav0618. doi: 10.1126/sciadv.aav0618.

2) 英文総説（査読あり）
1. Baker A, Kalmbach B, Morishima M, Kim J, Juavinett A, Li N, Dembrow N (2018) Specialized subpopulations of deep-layer pyramidal neurons in the neocortex: bridging cellular properties to functional consequences. J Neurosci 38:5441-5455. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0150-18.2018.
2. Kubota Y, Sohn J, Kawaguchi Y (2018) Large volume electron microscopy and neural microcircuit analysis. Front Neural Circuits 12:98. doi: 10.3389/fncir.2018.00098.

3) 研究関係著作
1. 窪田芳之 (2018) 各種電子顕微鏡による連続画像撮影."ライフサイエンス顕微鏡学ハンドブック"（山科正平・高田邦昭 責任編集; 牛木辰男・臼倉治郎・岡部繁男・高松哲郎・寺川進・藤本豊士 編）朝倉書店. pp 287-294.
2. 窪田芳之, 川口泰雄 (2018) 電子顕微鏡を使った革新的脳組織解析法 ーコネクトーム研究. 実験医学 36: 158-164.

《生体恒常性発達研究部門》

1) 英文原著論文
1. Shen J, Xu G, Zhu R, Yuan J, Ishii Y, Hamashima T, Matsushima T, Yamamoto S, Takatsuru Y, Nabekura J, Sasahara M (2018) PDGFR-β restores blood-brain barrier functions in a mouse model of focal cerebral ischemia. J Cereb Blood Flow Metab. [Epub 2018 Apr 9]. doi: 10.1177/0271678X18769515.
2. Ishikawa T, Eto K, Kim SK, Wake H, Takeda I, Horiuchi H, Moorhouse AJ, Ishibashi H, Nabekura J (2018) Cortical astrocytes prime the induction of spine plasticity and mirror image pain. Pain 159(8):1592-1606. doi: 10.1097/j.pain.0000000000001248.
3. Takeda A, Shinozaki Y, Kashiwagi K, Ohno N, Eto K, Wake H, Nabekura J, Koizumi S (2018) Microglia mediate non-cell-autonomous cell death of retinal ganglion cells. Glia 66(11):2366-2384. doi: 10.1002/glia.23475.
4. Akiyoshi R, Wake H, Kato D, Horiuchi H, Ono R, Ikegami A, Haruwaka K, Omori T, Tachibana Y, Moorhouse AJ, Nabekura J (2018) Microglia Enhance Synapse Activity to Promote Local Network Synchronization. eNeuro. 5(5): ENEURO.0088-18.2018. doi: 10.1523/ENEURO.0088-18.2018.

2) 英文総説
1. Kato D, Eto K, Nabekura J, Wake H (2018) Activity-dependent functions of non-electrical glial cells. J Biochem 163(6):457-464. doi: 10.1093/jb/mvy023.

3) 研究関係著作
1. 中畑義久, 鍋倉淳一 (2018) 第６章 抑制性神経伝達とその分子基盤. "脳神経化学 ― 脳はいま化学の言葉でどこまで語れるか―" (森泰生, 尾藤晴彦 編) , 化学同人, pp 55-64.

《視覚情報処理研究部門》

1) 英文原著論文

1. Ishikawa AW, Komatsu Y, Yoshimura Y (2018) Experience-Dependent Development of Feature-Selective Synchronization in the Primary Visual Cortex. J Neurosci 38(36):7852-7869. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0027-18.2018.
2. Murabe N, Mori T, Fukuda S, Isoo N, Ohno T, Mizukami H, Ozawa K, Yoshimura Y, Sakurai M (2018) Higher primate-like direct corticomotoneuronal connections are transiently formed in a juvenile subprimate mammal. Sci Rep 8(1):16536. doi: 10.1038/s41598-018-34961-z.

《感覚認知情報研究部門》

1) 英文原著論文

1. Yokoi I, Tachibana A, Minamimoto T, Goda N, Komatsu H (2018) Dependence of behavioral performance on material category in an object grasping task with monkeys. J Neurophys 120(2):553-63. doi: 10.1152/jn.00748.2017.
2. Watanabe M, Michida N, Kishi A, Nishikawa K, Goda N, Komatsu H, Nouzawa T (2019) Global structures of automotive interiors revealed by algorithms of the visual brain. Design Studies 62:100-128. doi: 10.1016/j.destud.2018.10.004.
3. Shimokawa T, Nishio A, Sato M, Kawato M, Komatsu H (2019) Computational model for human 3D shape perception from a single specular image. Front Comput Neurosci 13:10. doi: 10.3389/fncom.2019.00010.

2) 英文総説（査読あり）

1. Komatsu H, Goda N (2018) Neural mechanisms of material perception: Quest on Shitsukan. Neuroscience 392:329-347. doi: 10.1016/j.neuroscience.2018.09.001.

3) 研究関係著作

1. 郷田直一 (2018) 質感認知の神経基盤を探る．日本画像学会誌 57(2):197-206. doi: 10.11370/isj.57.197.

《認知行動発達機構研究部門》

1) 英文原著論文

1. Tian X, Yoshida M, Hafed ZM (2018) Dynamics of fixational eye position and microsaccades during spatial cueing: the case of express microsaccades. J Neurophysiol 119: 1962-1980. doi: 10.1152/jn.00752.2017.
2. Nakagawa H, Ninomiya T, Yamashita T, Takada M (2018) Treatment with the neutralizing antibody against repulsive guidance molecule-a promotes recovery from impaired manual dexterity in a primate model of spinal cord injury. Cereb Cortex 2019 Feb1;29(2):561-572. doi: 10.1093/cercor/bhx338.
3. Noritake A, Ninomiya T, Isoda M (2018) Social reward monitoring and valuation in the macaque brain. Nat Neurosci 21: 1452-1462. doi: 10.1038/s41593-018-0229-7.
4. Iritani S, Torii Y, Habuchi C, Sekiguchi H, Fujishiro H, Yoshida M, Go Y, Iriki A, Isoda M, Ozaki N (2018) The neuropathological investigation of the brain in a monkey model of autism spectrum disorder with ABCA13 deletion. Int J Dev Neurosci 71: 130-139. doi: 10.1016/j.ijdevneu.2018.09.002.
5. Xu C, Li Q, Efimova O, Liu He, Tatsumoto S, Stepanova V, Oishi T, Udono T, Yamaguchi K, Shigenobu S, Kakita A, Nawa H, Khaitovich P, Go Y (2018) Human-specific features of spatial gene expression and regulation in eight brain regions. Genome Res (28:1097-1110). doi: 10.1101/gr.231357.117.
6. Ishishita S, Takahashi M, Yamaguchi K, Kinoshita K, Nakano M, Nunome M, Kitahara S, Tatsumoto S, Go Y, Shigenobu S, Matsuda Y (2018) Nonsense mutation in PMEL is associated with yellowish plumage colour

phenotype in Japanese quail. Sci Rep 8: 16732. doi: 10.1038/s41598-018-34827-4.

7. Matsumura K, Imai H, Go Y, Kusuhara M, Yamaguchi K, Shirai T, Ohshima K (2018) Transcriptional activation of a chimeric retrogene PIPSL in a hominoid ancestor. Gene 678: 318-323. doi: 10.1016/j.gene.2018.08.033.
8. Noritake A, Nakamura K (2018) Encoding prediction signals during appetitive and aversive Pavlovian conditioning in the primate lateral hypothalamus. J Neurophysiol 2019 Feb 1;121(2):396-417. doi: 10.1152/jn.00247.2018.

2) 英文総説

1. Hikosaka O, Kim HF, Amita H, Yasuda M, Isoda M, Tachibana Y, Yoshida A (2018) Direct and indirect pathways for choosing objects and actions. Eur J Neurosci 2019 Mar;49(5):637-645. doi: 10.1111/ejn.13876.
2. Ninomiya T, Noritake A, Ullsperger M, Isoda M (2018) Performance monitoring in the medial frontal cortex and related neural networks: From monitoring self actions to understanding others' actions. Neurosci Res 137: 1-10. doi: 10.1016/j.neures.2018.04.004.
3. Isoda M, Noritake A, Ninomiya T (2018) Development of social systems neuroscience using macaques. Proc Jap Acad, Ser B, Phys Biol Sci 94: 305-323. doi: 10.2183/pjab.94.020.

3) 研究関係著作

1. 郷康広，藤山秋佐夫，阿形清和，松沢哲郎 (2018) チンパンジー親子トリオのゲノム解析．科学 (岩波書店) 2018 年 2 月 122-123. ASIN:B0791XV7LJ.
2. 郷康広 (2018) ヒトとチンパンジーの脳の違いを発見．科学 (岩波書店) 2018 年 11 月 1084-1085. ASIN:B07J35Q9HN
3. 磯田昌岐 (2018) 社会的認知機能のシステム的理解．ブレインサイエンスレビュー (in press).
4. 磯田昌岐 (2018) 社会的認知機能の生理学的理解に向けて．日本神経精神薬理学雑誌 (in press).
5. 吉田正俊，田口茂 (2018) 自由エネルギー原理と視覚的意識．日本神経回路学会誌 25(3): 53-70.

4) その他

1. 郷康広 (2018) 第 18 章 ゲノムの進化 [分担翻訳]．"ゲノム 第 4 版" (監訳：石川冬木，中山潤一)，メディカル・サイエンス・インターナショナル， pp 443-477.

《生体システム研究部門》

1) 英文原著論文

1. Wakabayashi M, Koketsu D, Kondo H, Sato S, Ohara K, Polyakova Z, Chiken S, Hatanaka N, Nambu A (2018) Development of stereotaxic recording system for awake marmosets (*Callithrix jacchus*). Neurosci Res 135:37-45. doi: 10.1016/j.neures.2018.01.001.
2. Ebina T, Masamizu Y, Tanaka YR, Watakabe A, Hirakawa R, Hirayama Y, Hira R, Terada S, Koketsu D, Hikosaka K, Mizukami H, Nambu A, Sasaki E, Yamamori Y, Matsuzaki M (2018) Two-photon imaging of neuronal activity in motor cortex of marmosets during upper-limb movement tasks. Nat Commun 9:1879. doi: 10.1038/s41467-018-04286-6.
3. Inoue K, Miyachi S, Nishi K, Okado H, Nagai Y, Minamimoto T, Nambu A, Takada M (2019) Recruitment of calbindin into nigral dopamine neurons protects against drug-induced parkinsonism. Mov Disord 34(2):200-209. doi: 10.1002/mds.107.
4. Nonomura S, Nishizawa K, Sakai Y, Kawaguchi Y, Kato S, Uchigashima M, Watanabe M, Yamanaka K, Enomoto K, Chiken S, Sano H, Soma S, Yoshida J, Samejima K, Ogawa M, Kobayashi K, Nambu A, Isomura Y, Kimura M (2018) Monitoring and updating of action selection for goal-directed behavior through the striatal direct and indirect pathways. Neuron 99(6):1302-1314.e5. doi: 10.1016/j.neuron.2018.08.002.
5. Osanai Y, Shimizu T, Mori T, Hatanaka N, Kimori Y, Kobayashi K, Yoshimura Y, Nambu A, Ikenaka K (2018) Length of myelin internodes of individual oligodendrocytes are controlled by microenvironment influenced by normal and input-deprived axonal activities in sensory deprived mouse models. Glia 66: 2514-2525. doi: 10.1002/glia.23502.
6. Okada Y, Sumioka T, Ichikawa K, Sano H, Nambu A, Kobayashi K, Uchida K, Suzuki Y, Tominaga M, Reinach PS, Hirai SI, Jester JV, Miyajima M, Shirai K, Iwanishi H, Kao WW, Liu CY, and Saika S (2018) Sensory nerve

supports epithelial stem cell function in healing of corneal epithelium in mice: the role of trigeminal nerve transient receptor potential vanilloid 4. Lab Invest; 99(2):210-230. doi: 10.1038/s41374-018-0118-4.

7. Kaneko N, Herranz-Pérez V, Otsuka T, Sano H, Ohno N, Omata T, Nguyen HB, Thai TQ, Nambu A, Kawaguchi Y, García-Verdugo JM, Sawamoto K（2018）New neurons use Slit-Robo signaling to migrate through the glial meshwork and approach a lesion for functional regeneration. Sci Adv 4(12)：eaav0618. doi: 10.1126/sciadv.aav0618.

《統合生理研究部門》

1) 英文原著論文

1. Yokota H, Mizuguchi N, Kakigi R, Nakata H (2018) Modulation of corticospinal excitability during positive and negative motor imageries. Neurosci Lett 672:1-5. doi: 10.1016/j.neulet.2018.02.036.
2. Hari R, Baillet S, Barnes G, Burgess R, Forss N, Gross J, Hämäläinen M, Jensen O, Kakigi R, Mauguiére F, Nakasato N, Puce A, Romani G-L, Schnitzler A, Taulu S (2018) IFCN-endorsed practical guidelines for clinical magnetoencephalography (MEG). Clin Neurophysiol 129(8):1720-1747. doi: 10.1016/j.clinph.2018.03.042.
3. Kida T, Tanaka E, Kakigi R (2018) Adaptive flexibility of the within-hand attentional gradient in touch: an MEG study. NeuroImage 179:373-384. doi: 10.1016/j.neuroimage.2018.06.063.
4. Inui K, Takeuchi N, Sugiyama S, Motomura E, Nishihara M (2018) GABAergic mechanisms involved in the prepulse inhibition of auditory evoked cortical responses in humans. PLoS One 13:e0190481. doi: 10.1371/journal.pone.0190481.
5. Takeuchi N, Sugiyama S, Inui K, Kanemoto K, Nishihara M (2018) Long-latency suppression of auditory and somatosensory change-related cortical responses. PLoS One 13(6):e0199614. doi: 10.1371/journal.pone.0199614.
6. Suzuki M, Kumagai N, Inui K, Kakigi R (2018) Effects of color lenses on visual evoked magnetic fields following bright light. PLoS One 13(8):e0201804. doi: 10.1371/journal.pone.0201804.
7. Sugiyama S, Takeuchi N, Inui K, Nishihara M, Shioiri T (2018) Effect of acceleration of auditory inputs on the primary somatosensory cortex in humans. Sci Rep 8(1):12883. doi: 10.1038/s41598-018-31319-3.
8. Motomura E, Inui K, Nishihara M, Tanahashi M, Kakigi R, Okada M (2018) Prepulse inhibition of the auditory off-response: A magnetoencephalographic study. Clin EEG Neurosci 49(3):152-158. doi: 10.1177/1550059417708914.
9. Iwasaki M, Noguchi Y, Kakigi R (2018) Two-stage processing of aesthetic information in the human brain revealed by neural adaptation paradigm. Brain Topogr 31(6):1001-1013. doi: 10.1007/s10548-018-0654-7.
10. Iwasaki M, Noguchi Y, Kakigi, R (2019) Neural correlates of time distortion in a pre-action period. Hum Brain Mapp 40(3):804-817. doi: 10.1002/hbm.24413.
11. Mizukami H, Kakigi R, Nakata H (2019) Effects of stimulus intensity and auditory white noise on human somatosensory cognitive processing: A study using event-related potentials. Exp Brain Res 237(2):521-530. doi: 10.1007/s00221-018-5443-8.
12. Ichikawa H, Nakato E, Igarashi Y, Okada M, Kanazawa S, Yamaguchi MK, Kakigi R (2019) A longitudinal study of infant view-invariant face processing during the first 3 to 8 months of life. NeuroImage 186:817-824. doi: 10.1016/j.neuroimage.2018.11.031.

2) 研究関係著作

1. 柿木隆介 (2018) ヒトの怒りの脳科学. 体育の科学 67(8): 525-529.
2. 柿木隆介 (2018) 触覚 ④ 中枢神経. 日本医師会雑誌 147・特別号(1)「わかりやすい感覚器疾患」, S80-81.
3. 望月秀紀, 柿木隆介 (2018) 痒みを想像すると痒くなるメカニズム. 神経内科 89(1): 62-68.
4. 坂本貴和子, 柿木隆介 (2018) 咀嚼が脳に与える影響. 矯正歯科 39: 52-60.

《心理生理学研究部門》

1) 英文原著論文

1. Hashimoto N, Ito YM, Okada N, Yamamori H, Yasuda Y, Fujimoto M, Kudo N, Takemura A, Son S, Narita H, Yamamoto M, Tha KK, Katsuki A, Ohi K, Yamashita F, Koike S, Takahashi T, Nemoto K, Fukunaga M, Onitsuka T, Watanabe Y, Yamasue H, Suzuki M, Kasai K, Kusumi I, Hashimoto R; COCORO (2018) The effect of duration of illness and antipsychotics on subcortical volumes in schizophrenia: Analysis of 778 subjects. Neuroimage Clin 17:563-569. doi: 10.1016/j.nicl.2017.11.004.
2. Kawamichi H, Sugawara SK, Hamano YH, Kitada R, Nakagawa E, Kochiyama T, Sadato N (2018) Neural correlates underlying change in state self-esteem. Sci Rep 8(1):1798. doi: 10.1038/s41598-018-20074-0.
3. Kelly S, Jahanshad N, Zalesky A, Kochunov P, Agartz I, Alloza C, Andreassen OA, Arango C, Banaj N, Bouix S, Bousman CA, Brouwer RM, Bruggemann J, Bustillo J, Cahn W, Calhoun V, Cannon D, Carr V, Catts S, Chen J, Chen JX, Chen X, Chiapponi C, Cho KK, Ciullo V, Corvin AS, Crespo-Facorro B, Cropley V, De Rossi P, Diaz-Caneja CM, Dickie EW, Ehrlich S, Fan FM, Faskowitz J, Fatouros-Bergman H, Flyckt L, Ford JM, Fouche JP, Fukunaga M, Gill M, Glahn DC, Gollub R, Goudzwaard ED, Guo H, Gur RE, Gur RC, Gurholt TP, Hashimoto R, Hatton SN, Henskens FA, Hibar DP, Hickie IB, Hong LE, Horacek J, Howells FM, Hulshoff Pol HE, Hyde CL, Isaev D, Jablensky A, Jansen PR, Janssen J, Jönsson EG, Jung LA, Kahn RS, Kikinis Z, Liu K, Klauser P, Knöchel C, Kubicki M, Lagopoulos J, Langen C, Lawrie S, Lenroot RK, Lim KO, Lopez-Jaramillo C, Lyall A, Magnotta V, Mandl RCW, Mathalon DH, McCarley RW, McCarthy-Jones S, McDonald C, McEwen S, McIntosh A, Melicher T, Mesholam-Gately RI, Michie PT, Mowry B, Mueller BA, Newell DT, O'Donnell P, Oertel-Knöchel V, Oestreich L, Paciga SA, Pantelis C, Pasternak O, Pearlson G, Pellicano GR, Pereira A, Pineda Zapata J, Piras F, Potkin SG, Preda A, Rasser PE, Roalf DR, Roiz R, Roos A, Rotenberg D, Satterthwaite TD, Savadjiev P, Schall U, Scott RJ, Seal ML, Seidman LJ, Shannon Weickert C, Whelan CD, Shenton ME, Kwon JS, Spalletta G, Spaniel F, Sprooten E, Stäblein M, Stein DJ, Sundram S, Tan Y, Tan S, Tang S, Temmingh HS, Westlye LT, Tønnesen S, Tordesillas-Gutierrez D, Doan NT, Vaidya J, van Haren NEM, Vargas CD, Vecchio D, Velakoulis D, Voineskos A, Voyvodic JQ, Wang Z, Wan P, Wei D, Weickert TW, Whalley H, White T, Whitford TJ, Wojcik JD, Xiang H, Xie Z, Yamamori H, Yang F, Yao N, Zhang G, Zhao J, van Erp TGM, Turner J, Thompson PM, Donohoe G (2018) Widespread white matter microstructural differences in schizophrenia across 4322 individuals: results from the ENIGMA Schizophrenia DTI Working Group. Mol Psychiatry, 23(5):1261-1269. doi: 10.1038/mp.2017.170.
4. Kochiyama T, Ogihara N, Tanabe HC, Kondo O, Amano H, Hasegawa K, Suzuki H, Ponce de León MS, Zollikofer CPE, Bastir M, Stringer C, Sadato N, Akazawa T (2018) Reconstructing the Neanderthal brain using computational anatomy. Sci Rep 8(1):6296. doi: 10.1038/s41598-018-24331-0.
5. Koshiyama D, Fukunaga M, Okada N, Morita K, Nemoto K, Yamashita F, Yamamori H, Yasuda Y, Fujimoto M, Kelly S, Jahanshad N, Kudo N, Azechi H, Watanabe Y, Donohoe G, Thompson PM, Kasai K, Hashimoto R (2018) Role of frontal white matter and corpus callosum on social function in schizophrenia. Schizophr Res 202:180-187. doi: 10.1016/j.schres.2018.07.009.
6. Koshiyama D, Fukunaga M, Okada N, Yamashita F, Yamamori H, Yasuda Y, Fujimoto M, Ohi K, Fujino H, Watanabe Y, Kasai K, Hashimoto R (2018) Role of subcortical structures on cognitive and social function in schizophrenia. Sci Rep 8(1):1183. doi: 10.1038/s41598-017-18950-2.
7. Koshiyama D, Fukunaga M, Okada N, Yamashita F, Yamamori H, Yasuda Y, Fujimoto M, Ohi K, Fujino H, Watanabe Y, Kasai K, Hashimoto R (2018) Subcortical association with memory performance in schizophrenia: a structural magnetic resonance imaging study. Transl Psychiatry 8(1):20. doi: 10.1038/s41398-017-0069-3.
8. Kudo N, Yamamori H, Ishima T, Nemoto K, Yasuda Y, Fujimoto M, Azechi H, Niitsu T, Numata S, Ikeda M, Iyo

M, Ohmori T, Fukunaga M, Watanabe Y, Hashimoto K, Hashimoto R (2018) Plasma levels of soluble tumor necrosis factor receptor 2 (sTNFR2) are associated with hippocampal volume and cognitive performance in patients with schizophrenia. Int J Neuropsychopharmacol 21(7):631-639. doi: 10.1093/ijnp/pyy013.

9. Miyata K, Varlet M, Miura A, Kudo K, Keller PE (2018) Interpersonal visual interaction induces local and global stabilisation of rhythmic coordination. Neurosci Lett, 682:132-136. doi: 10.1016/j.neulet.2018.07.024.
10. Nakamura NH, Fukunaga M, Oku Y (2018) Respiratory modulation of cognitive performance during the retrieval process. PLoS One 13(9):e0204021. doi: 10.1371/journal.pone.0204021.
11. Nakamura T, Matsui T, Utsumi A, Yamazaki M, Makita K, Harada T, Tanabe HC, Sadato N (2018) The role of the amygdala in incongruity resolution: the case of humor comprehension. Soc Neurosci 13(5):553-565. doi: 10.1080/17470919.2017.1365760.
12. Okamoto Y, Kitada R, Miyahara M, Kochiyama T, Naruse H, Sadato N, Okazawa H, Kosaka H (2018) Altered perspective-dependent brain activation while viewing hands and associated imitation difficulties in individuals with autism spectrum disorder. Neuroimage Clin 19:384-395. doi: 10.1016/j.nicl.2018.04.030.
13. Rajaei N, Aoki N, Takahashi HK, Miyaoka T, Kochiyama T, Ohka M, Sadato N, Kitada R (2018) Brain networks underlying conscious tactile perception of textures as revealed using the velvet hand illusion. Hum Brain Mapp 39(12):4787-4801. doi: 10.1002/hbm.24323.
14. Sakai H, Ando T, Sadato N, Uchiyama Y (2018) Speed-related activation in the mesolimbic dopamine system during the observation of driver-view videos. Sci Rep 8(1):711. doi: 10.1038/s41598-017-18792-y.
15. Sasaki A, Okamoto Y, Kochiyama T, Kitada R, Sadato N (2018) Distinct sensitivities of the lateral prefrontal cortex and extrastriate body area to contingency between executed and observed actions. Cortex 108:234-251. doi:doi.org/10.1016/j.cortex.2018.08.003.
16. Sugawara SK, Koike T, Kawamichi H, Makita K, Hamano YH, Takahashi HK, Nakagawa E, Sadato N (2018) Qualitative differences in offline improvement of procedural memory by daytime napping and overnight sleep: an fMRI study. Neurosci Res 132:37-45. doi: 10.1016/j.neures.2017.09.006.
17. Sumiya M, Igarashi K, Miyahara M (2018) Emotions surrounding friendships of adolescents with autism spectrum disorder in Japan: A qualitative interview study. PLoS One 13(2): e0191538. doi: 10.1371/journal.pone.0191538.
18. van Erp TGM, Walton E, Hibar DP, Schmaal L, Jiang W, Glahn DC, Pearlson GD, Yao N, Fukunaga M, Hashimoto R, Okada N, Yamamori H, Bustillo JR, Clark VP, Agartz I, Mueller BA, Cahn W, de Zwarte SMC, Hulshoff Pol HE, Kahn RS, Ophoff RA, van Haren NEM, Andreassen OA, Dale AM, Doan NT, Gurholt TP, Hartberg CB, Haukvik UK, Jørgensen KN, Lagerberg TV, Melle I, Westlye LT, Gruber O, Kraemer B, Richter A, Zilles D, Calhoun VD, Crespo-Facorro B, Roiz-Santiañez R, Tordesillas-Gutiérrez D, Loughland C, Carr VJ, Catts S, Cropley VL, Fullerton JM, Green MJ, Henskens FA, Jablensky A, Lenroot RK, Mowry BJ, Michie PT, Pantelis C, Quidé Y, Schall U, Scott RJ, Cairns MJ, Seal M, Tooney PA, Rasser PE, Cooper G, Shannon Weickert C, Weickert TW, Morris DW, Hong E, Kochunov P, Beard LM, Gur RE, Gur RC, Satterthwaite TD, Wolf DH, Belger A, Brown GG, Ford JM, Macciardi F, Mathalon DH, O'Leary DS, Potkin SG, Preda A, Voyvodic J, Lim KO, McEwen S, Yang F, Tan Y, Tan S, Wang Z, Fan F, Chen J, Xiang H, Tang S, Guo H, Wan P, Wei D, Bockholt HJ, Ehrlich S, Wolthusen RPF, King MD, Shoemaker JM, Sponheim SR, De Haan L, Koenders L, Machielsen MW, van Amelsvoort T, Veltman DJ, Assogna F, Banaj N, de Rossi P, Iorio M, Piras F, Spalletta G, McKenna PJ, Pomarol-Clotet E, Salvador R, Corvin A, Donohoe G, Kelly S, Whelan CD, Dickie EW, Rotenberg D, Voineskos AN, Ciufolini S, Radua J, Dazzan P, Murray R, Reis Marques T, Simmons A, Borgwardt S, Egloff L, Harrisberger F, Riecher-Rössler A, Smieskova R, Alpert KI, Wang L, Jönsson EG, Koops S, Sommer IEC, Bertolino A, Bonvino A, Di Giorgio A, Neilson E, Mayer AR, Stephen JM, Kwon JS, Yun JY, Cannon DM, McDonald C, Lebedeva I, Tomyshev AS, Akhadov T, Kaleda V, Fatouros-Bergman H, Flyckt L; Karolinska

Schizophrenia Project, Busatto GF, Rosa PGP, Serpa MH, Zanetti MV, Hoschl C, Skoch A, Spaniel F, Tomecek D, Hagenaars SP, McIntosh AM, Whalley HC, Lawrie SM, Knöchel C, Oertel-Knöchel V, Stäblein M, Howells FM, Stein DJ, Temmingh HS, Uhlmann A, Lopez-Jaramillo C, Dima D, McMahon A, Faskowitz JI, Gutman BA, Jahanshad N, Thompson PM, Turner JA (2018) Cortical brain abnormalities in 4474 individuals with schizophrenia and 5098 control subjects via the Enhancing Neuro Imaging Genetics Through Meta Analysis (ENIGMA) Consortium. Biol Psychiatry, 84(9):644-654. doi: 10.1016/j.biopsych.2018.04.023.

19. Walton E, Hibar DP, van Erp TGM, Potkin SG, Roiz-Santiañez R, Crespo-Facorro B, Suarez-Pinilla P, van Haren NEM, de Zwarte SMC, Kahn RS, Cahn W, Doan NT, Jørgensen KN, Gurholt TP, Agartz I, Andreassen OA, Westlye LT, Melle I, Berg AO, Morch-Johnsen L, Færden A, Flyckt L, Fatouros-Bergman H; Karolinska Schizophrenia Project Consortium (KaSP), Jönsson EG, Hashimoto R, Yamamori H, Fukunaga M, Jahanshad N, De Rossi P, Piras F, Banaj N, Spalletta G, Gur RE, Gur RC, Wolf DH, Satterthwaite TD, Beard LM, Sommer IE, Koops S, Gruber O, Richter A, Krämer B, Kelly S, Donohoe G, McDonald C, Cannon DM, Corvin A, Gill M, Di Giorgio A, Bertolino A, Lawrie S, Nickson T, Whalley HC, Neilson E, Calhoun VD, Thompson PM, Turner JA, Ehrlich S; Karolinska Schizophrenia Project consortium (KaSP) (2018) Prefrontal cortical thinning links to negative symptoms in schizophrenia via the ENIGMA consortium. Psychol Med., 48(1):82-94. doi: 10.1017/S0033291717001283.

20. Kawamichi H, Sugawara SK, Hamano YH, Makita K, Kochiyama T, Kikuchi Y, Ogino Y, Saito S, Sadato N (2018) Prosocial behavior toward estranged persons modulates the interaction between midline cortical structures and the reward system. Social Neuroscience doi: 10.1080/17470919.2018.1553797. (in press)

2) 研究関係著作

1. 中村晋之介，宍戸恵美子，福村直博 (2018) サッケード発生パターンに基づくなぞり運動中の手と眼球の協調制御の解析．電子情報通信学会技術研究報告 117(508)151-156.
2. 定藤規弘，福永雅喜 (2018) ヒト脳研究における MRI の意義-7TMRI の展望を含めて．Bio Clinica 33(14):6-10.
3. 菅原翔 (2018）運動技能に与える声掛けの効果．体育の科学，68(4): 253-256.

《形態情報解析室》

1) 英文原著論文

1. Nakamichi Y, Miyazaki N, Tsutsumi K, Higashiura A, Narita H, Shimizu T, Uehara-Ichiki T, Omura T, Murata K, Nakagawa A (2019) An assembly intermediate structure of Rice dwarf virus reveals a hierarchical outer capsid shell assembly mechanism. Structure 27(3):439-448.e3. doi: 10.1016/j.str.2018.10.029.
2. Ando J, Nakamura A, Visootsat A, Yamamoto M, Song C, Murata K, Iino R (2018) Single-nanoparticle tracking with angstrom localization precision and microsecond time resolution. Biophys J 115:2413-2427. doi: https://doi.org/10.1016/j.bpj.2018.11.016.
3. Tsunoda J, Song C, Imai FL, Takagi J, Ueno H, Murata T, Iino R, Murata K (2018) Off-axis rotor in *Enterococcus hirae* V-ATPase visualized by Zernike phase plate single-particle cryo-electron microscopy. Sci Rep 8: 15632. doi:10.1038/s41598-018-33977.
4. Kim YJ, Lee YJ, Kim HJ, Kim HS, Kang M-S, Lee S-K, Park MK, Murata K, Kim HL, Seo YR (2018) A molecular mechanism of nickel (II): reduction of nucleotide excision repair activity by structural and functional disruption of p53. Carcinogenesis 39: 1157-1164. doi:10.1093/carcin/bgy118.
5. Asare KK, Sakaguchi M, Lucky AB, Asada M, Miyazaki S, Katakai Y, Kawai S, Song S, Murata K, Yahata K, Kaneko O (2018) The Plasmodium knowlesi MAHRP2 ortholog localizes to structures connecting Sinton Mulligan's clefts in the infected erythrocyte. Parasitology International 67:481-492. doi: https://doi.org/10.1016/j.parint.2018.04.005.
6. Watanabe T,Song C, Murata K, Kureha T, Suzuki D (2018)

Seeded Emulsion Polymerization of Styrene in the Presence of Water-Swollen Hydrogel Microspheres. Langmuir 34(29): 8571-8580. doi:10.1021/acs.langmuir.8b01047.

7. Murata K, Kaneko Y (2018) Visualization of DNA Compaction in Cyanobacteria by High-voltage Cryo-electron Tomography. J Visual Exper 137: e57197. doi:10.3791/57197.
8. Uchihashi T, Watanabe Y, Nakazaki Y, Yamasaki T, Watanabe H, Maruno T, Ishii K, Uchiyama S, Song C, Murata K, Iino R, Ando T (2018) Dynamic Structural States of ClpB Involved in Its Disaggregation Function. Nature Commun 9: 2147. doi:10.1038/s41467-018-04587-w.
9. Kobayashi N, Inano K, Sasahara K, Sato T, Miyazawa K, Fukuma T, Hecht M, Song C, Murata K, Arai R (2018) Self-Assembling Supramolecular Nanostructures Constructed from de Novo Extender Protein Nanobuilding Blocks. Synthetic Biology 7: 1381-1394. doi:10.1021/acssynbio.8b00007.
10. Okamoto K, Miyazaki N, Reddy HKN., Hantke MF, Maia FRNC, Larsson DSD, Abergel C, Claverie JM, Hajdu J, Murata K, Svenda M (2018) Cryo-EM structure of a Marseilleviridae virus particle reveals a large internal microassembly. Virology 516: 239-245. doi:10.1016/j.virol.2018.01.021

2) 研究関係著作

1. 村田和義 (2018) 空間フィルタリング --- 実空間での画像処理. 実験医学増刊 ``生きてるものは全部観る！ イメージングの選び方・使い方 100＋" 36(20): 3550, 羊土社.
2. 村田和義 (2018) 周波数フィルタリング ---逆空間での画像処理. 実験医学増刊 "生きてるものは全部観る！ イメージングの選び方・使い方 100＋" 36(20): 3552, 羊土社.
3. 岡本健太，村田和義 (2018) 巨大ウイルスの構造解析：クライオ電子顕微鏡の新たな挑戦. 実験医学 36(8): 1344-1348, 羊土社.
4. 宋 致宏, 村田 和義 (2018) クライオ電子顕微鏡によるタンパク質の動的構造解析. J Comput Chem Japan 17(1): 38-45. doi: https://doi.org/10.2477/jccj.2018-0007.
5. 村田和義 (2018) 超高圧電子顕微鏡. "ライフサイエンス顕微鏡学ハンドブック" (山科正平・高田邦昭 責任編集), pp.150-154,　朝倉書店. ISBN978-4-254-31094-8.

3) その他

1. 村田和義, 金子康子 (2018) シアノバクテリアが分裂時に示す DNA 凝集構造を低温超高圧電顕トモグラフィーで解析. ゲノム微生物学会ニュースレター 18, P. 1.

《多光子顕微鏡室》

1) 英文原著論文

1. Chen Xi, Shibata AC, Hendi A, Kurashina M., Fortes E, Weilinger N, MacVicar B, Murakoshi H, Mizumoto K (2018) Rap2 and TNIK control Plexin-dependent tiled synaptic innervation in C. elegans. eLife 7:e38801. doi: 10.7554/eLife.38801.

2) 研究関係著作

1. 村越秀治 (2018) 光応答性 CaMKII 阻害ペプチドの開発とシナプス可塑性研究への応用. CLINICAL CALCIUM 28(3): 414--419. doi: CliCa1803414419.
2. 村越秀治 (2018) 共焦点レーザー走査顕微鏡 vi. FLIM-② 周波数ドメイン. "生きてるものは全部観る！ イメージングの選び方・使い方 100＋" (原田慶恵, 永井健治 編), 実験医学増刊,　羊土社, pp. 57-58.

《生体機能情報解析室》

1) 英文原著論文

1. Chikazoe J, Lee DH, Kriegeskorte N, Anderson AK (2019) Distinct representations of basic taste qualities in human gustatory cortex. Nat Commun 10(1):1048. doi: 10.1038/s41467-019-08857-z.

《ウィルスベクター開発室》

1) 英文原著論文

1. Yoshida E, Terada SI, Tanaka YH, Kobayashi K, Ohkura M, Nakai J, Matsuzaki M (2018) In vivo wide-field calcium imaging of mouse thalamocortical synapses with an 8K ultra-high-definition camera. Sci Rep 8:8324. doi: 10.1038/s41598-018-26566-3.
2. Ren Q, Ma M, Yang J, Nonaka R, Yamaguchi A, Ishikawa KI, Kobayashi K, Murayama S, Hwang SH, Saiki S, Akamatsu W, Hattori N, Hammock BD, Hashimoto K (2018) Soluble epoxide hydrolase plays a key role in the pathogenesis of Parkinson's disease. Proc Natl Acad Sci USA 115:E5815-E5823. doi: 10.1073/pnas.1802179115.
3. Nakano Y, Karube F, Hirai Y, Kobayashi K, Hioki H, Okamoto S, Kameda H, Fujiyama F (2018) Parvalbumin-producing striatal interneurons receive excitatory inputs onto proximal dendrites from the motor thalamus in male mice. J Neurosci Res 96:1186-1207. doi: 10.1002/jnr.24214.
4. Osanai Y, Shimizu T, Mori T, Hatanaka N, Kimori Y, Kobayashi K, Koyama S, Yoshimura Y, Nambu A, Ikenaka K (2018) Length of myelin internodes of individual oligodendrocytes is controlled by microenvironment influenced by normal and input-deprived axonal activities in sensory deprived mouse models. Glia 66:2514-2525. doi: 10.1002/glia.23502.
5. Kunisawa K, Shimizu T, Kushima I, Aleksic B, Mori D, Osanai Y, Kobayashi K, Taylor AM, Bhat MA, Hayashi A, Baba H, Ozaki N, Ikenaka K (2018) Dysregulation of schizophrenia-related aquaporin 3 through disruption of paranode influences neuronal viability. J Neurochem 147:395-408. doi: 10.1111/jnc.14553.
6. Terada SI, Kobayashi K, Ohkura M, Nakai J, Matsuzaki M (2018) Super-wide-field two-photon imaging with a micro-optical device moving in post-objective space. Nat Commun 9:3550. doi: 10.1038/s41467-018-06058-8.
7. Okubo Y, Kanemaru K, Suzuki J, Kobayashi K, Hirose K, Iino M (2019) Inositol 1,4,5-trisphosphate receptor type 2-independent Ca^{2+} release from the endoplasmic reticulum in astrocytes. Glia 67:113-124. doi: 10.1002/glia.23531.
8. Nomura K, Hiyama TY, Sakuta H, Matsuda T, Lin C-H, Kobayashi K, Kobayashi K, Kuwaki T, Takahashi K, Matsui S, Noda M (2019) [Na^+] increases in body fluids sensed by central Na_x induce sympathetically mediated blood pressure elevations via H^+-dependent activation of ASIC1a. Neuron 101:60-75. doi: 10.1016/j.neuron.2018.11.017.
9. Kato S, Sugawara M, Kobayashi K, Kimura K, Inoue KI, Takada M, Kobayashi K (2019) Enhancement of the transduction efficiency of a lentiviral vector for neuron-specific retrograde gene delivery through the point mutation of fusion glycoprotein type E. J Neurosci Methods 311:147-155. doi: 10.1016/j.jneumeth.2018.10.023.
10. Kinoshita M, Kato R, Isa K, Kobayashi K, Kobayashi K, Onoe H, Isa T (2019) Dissecting the circuit for blindsight to reveal the critical role of pulvinar and superior colliculus. Nat Commun 10:135. doi: 10.1038/s41467-018-08058-0.
11. Okada Y, Sumioka T, Ichikawa K, Sano H, Nambu A, Kobayashi K, Uchida K, Suzuki Y, Tominaga M, Reinach PS, Hirai SI, Jester JV, Miyajima M, Shirai K, Iwanishi H, Kao WW, Liu CY, Saika S (2019) Sensory nerve supports epithelial stem cell function in healing of corneal epithelium in mice: the role of trigeminal nerve transient receptor potential vanilloid 4. Lab Invest 99:210-230. doi: 10.1038/s41374-018-0118-4.
12. Katada Y, Kobayashi K, Tsubota K, Kurihara T (2019) Evaluation of AAV-DJ vector for retinal gene therapy. PeerJ 7:e6317. doi: 10.7717/peerj.6317.
13. Hirata Y, Nomura K, Senga Y, Okada Y, Kobayashi K, Okamoto S, Minokoshi Y, Imamura M, Takeda S, Hosooka T, Ogawa W (2019) Hyperglycemia induces skeletal muscle atrophy via a WWP1/KLF15 axis. JCI Insight 4. pii:124952. doi: 10.1172/jci.insight.124952.
14. Murata K, Kinoshita T, Fukazawa Y, Kobayashi K, Yamanaka A, Hikida T, Manabe H, Yamaguchi M (2019) Opposing Roles of Dopamine Receptor D1- and D2-Expressing Neurons in the Anteromedial Olfactory Tubercle in Acquisition of Place Preference in Mice. Front Behav Neurosci 13:50. doi: 10.3389/fnbeh.2019.00050.

2) 英文総説

1. Kobayashi K, Kato S, Kobayashi K (2018) Genetic manipulation of specific neural circuits by use of a viral

vector system. J Neural Transm (Vienna) 125:67-75. 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. Yamaguchi T, Sato H, Kobayashi T, Kato-Itoh M, Goto T, Hara H, Mizuno N, Yanagida A, Umino A, Hamanaka S, Suchy F, Masaki H, Ota Y, Hirabayashi M, Nakauchi H (2018) An interspecies barrier to tetraploid complementation and chimera formation. Sci Rep 8:15289. doi: 10.1038/s41598-018-33690-7.
2. Hamanaka S, Umino A, Sato H, Hayama T, Yanagida A, Mizuno N, Kobayashi T, Kasai M, Suchy FP, Yamazaki S, Masaki H, Yamaguchi T, Nakauchi H (2018) Generation of vascular endothelial cells and hematopoietic cells by blastocyst complementation. Stem Cell Reports 11:988-997. doi: 10.1016/j.stemcr.2018.08.015.
3. Hackett JA, Huang Y, Günesdogan U, Gretarsson KA, Kobayashi T, Surani MA (2018) Tracing the transitions from pluripotency to germ cell fate with CRISPR screening. Nat Commun 9:4292. doi: 10.1038/s41467-018-06230-0.
4. Cheetham SW, Gruhn WH, van den Ameele J, Krautz R, Southall TD, Kobayashi T, Surani MA, Brand AH (2018) Targeted DamID reveals differential binding of mammalian pluripotency factors. Development 145: dev170209. doi: 10.1242/dev.170209.
5. Oldani G, Peloso A, Vijgen S, Wilson EM, Slits F, Gex Q, Morel P, Delaune V, Orci LA, Yamaguchi T, Kobayashi T, Rubbia-Brandt L, Nakauchi H, Lacotte S, Toso C (2018) Chimeric liver transplantation reveals interspecific graft remodelling. J Hepatol 69:1025-1036. doi: 10.1016/j.jhep.2018.07.008.

《個別研究（山肩研究室》

1) 英文原著論文

1. Yamagata Y, Yanagawa Y, Imoto K (2018) Differential involvement of kinase activity of Ca^{2+}/calmodulin-dependent protein kinase IIα in hippocampus- and amygdala-dependent memory revealed by kinase-dead knock-in mouse. eNeuro 5(4): e0133-18.2018 1-15. doi: 10.1523/ENEURO.0133-18.2018.

b.　学会発表

〔　目　　次　〕

神経機能素子研究部門 106
生体膜研究部門 106
神経発達・再生機構研究部門 107
細胞構造研究部門 108
細胞生理研究部門 109
心循環シグナル研究部門 111
生殖･内分泌系発達機構研究部門 114
大脳神経回路論研究部門 116
生体恒常性発達研究部門 117
視覚情報処理研究部門 118
認知行動発達機構研究部門 119
生体システム研究部門 121
統合生理研究部門 124
心理生理学研究部門 124
個別研究（毛利研究室 128
個別研究（山肩研究室） 128
個別研究（佐竹研究室） 128
形態情報解析室 129
多光子顕微鏡室 130
生体機能情報解析室 131
遺伝子改変動物作製室 131
動物実験センター 132
生命システム構築研究グループ 132

学　会　発　表

《神経機能素子研究部門》

1. I-Shan Chen, Michihiro Tateyama, Yuko Fukata, Motonari Uesugi, Yoshihiro Kubo (2018・2・19) Effects and activation mechanisms of ivermectin on G-protein-gated inwardly rectifying potassium channels. The 62nd Annual Meeting of the Biophysical Society San Francisco, USA)
2. 立山充博，久保義弘（2018・3・28）Functional interaction of metabotropic glutamate receptor mGlu2 with Gq-coupled monoamine receptors. 第 95 回日本生理学会大会（高松）
3. 下村拓史，久保義弘（2018・3・28）Modulation of the voltage dependence by phosphoinositides in Two-Pore Na^+ Channel 3 (TPC3). 第 95 回日本生理学会大会　（高松）
4. 粂慎一郎，立山充博，久保義弘（2018・3・28）FRET analyses of the effect of Phe860Glu mutation on the interaction between the N- and C-terminal cytoplasmic domains in hERG channel. 第 95 回日本生理学会大会（高松）
5. 陳以珊，久保義弘（2018・3・29）Novel regulation mechanisms of the GIRK channel activity by small molecules. 第 95 回 日本生理学会大会（高松）
6. Rizki Tsari Andriani, Yoshihiro Kubo（2018・3・29）Analyses of the structural rearrangements of P2X2 receptor by voltage-clamp fluorometry using fUAA fluorophore–quencher pairing. 第 95 回日本生理学会大会（高松）
7. I-Shan Chen, Michihiro Tateyama, Yuko Fukata, Motonari Uesugi, Yoshihiro Kubo（2018・7・5) Activation and potentiation of GIRK channel activity by ivermectin. The 18th World Congress of the Basic and Clinical Pharmacology (Kyoto)
8. 浅野麻己子, 安田隆ノ介, 久保義弘, 齊藤修（2018・9・25）メダカの 2 種の TRPV1 の刺激応答性の解析　第 91 回日本生化学会（京都）
9. 下村拓史，久保義弘（2018・11・17）Two-Pore Na^+ channel 3 にみられる長期脱分極刺激依存的な活性亢進の分子メカニズムについての解析．第 65 回中部日本生理学会大会（名古屋）

《生体膜研究部門》

1. Fukata Y（招待講演）（2018・7・27）Epilepsy-related ligand/receptor LGI1 and ADAM22 trans-synaptically regulate excitatory synaptic strength. 第 41 回日本神経科学大会（神戸）
2. Yamagata A，Miyazaki Y，Shigematsu H，Shirouzu M，Fukata Y，Fukata M，Fukai S（2018・9・17）Structural basis of epilepsy-related ligand-receptor complex LGI1-ADAM22. 日本生物物理学会第 56 回年会（岡山）
3. 吉倉延亮，安井敬三，木村暁夫，横井紀彦，深田優子，深田正紀，下畑享良（2018・9・21）抗 mGluR1 抗体陽性小脳性運動失調症 2 症例の臨床像の検討．第 30 回日本神経免疫学会学術集会（郡山）
4. Miyazaki Y, Yamagata A, Yokoi N, Fukata Y, Fukai S，Fukata M（2018・9・29）構造解析に基づくてんかん関連リガンド・受容体 LGI1-ADAM22 複合体の結合様式及び生理的役割の解明．第 8 回生理研・名大医合同シンポジウム（名古屋）
5. Miyazaki Y，Yamagata A，Yokoi N，Fukata Y，Fukai S，Fukata M（2018・10・22）Epilepsy-related ligand/receptor，LGI1-ADAM22 complex，functions as trans-synaptic machinery for physiological brain activity. Joint academic activities of McGill University and Natl Inst Physiol Sci（岡崎）
6. Miyazaki Y, Yamagata A, Yokoi N, Fukata Y, Fukai

S，Fukata M（2018・11・3）Binding mode and physiological role of epilepsy-related ligand/receptor LGI1−ADAM22 complex based on structural analysis．Neuroscience 2018（San Diego）

7. 山形敦史，宮崎裕理，深田優子，深田正紀，深井周也（2018・11・28）てんかんの原因となる蛋白質複合体 LGI1-ADAM22 の構造基盤．第 41 回日本分子生物学会年会（横浜）

8. Fukata Y，Yokoi N，Hirata T，Miyazaki Y，Hirano Y，Fukata M（2018・12・9）Synapse maturation regulated by palmitate cycling on PSD-95 and trans-synaptic LGI1 and ADAM22．2018 ASCB | EMBO Annual Meeting（San Diego）

《神経発達・再生機構研究部門》

1. Kaneko N, Herranz-Perez V, Otsuka T, Sano H, Ohno N, Omata T, Nguyen HB, Thai TQ, Garcia-Verdugo JM, Sawamoto K（2019・3・30）Enhanced neuronal migration through activated glia promotes post- stroke neuronal regeneration．第 9 回アジア・オセアニア生理学会連合大会＆第 96 回日本生理学会合同大会（兵庫県神戸市）

2. 岩田英敏，金子奈穂子，大竹杏佳，戸室幸太郎，柴田帝式，村上英樹，澤本和延（2019・3・21）脳梗塞部位への新生ニューロンの移動を支持する足場としての血管の形態解析．第 18 回日本再生医療学会総会（兵庫県神戸市）

3. 金子奈穂子，澤本和延（2019・3・21）新生ニューロンの移動・分布の制御による脳梗塞後の神経再生の促進．第 18 回日本再生医療学会総会（兵庫県神戸市）

4. Ogino T, Sawada M, Agetsuma M, Inada H, Nabekura J, Sawamoto K（2019・2・17-18）Blood vessel-guided neuronal migration in the adult olfactory bulb．The 66th NIBB Conference / ABiS International Symposium（愛知県岡崎市）

5. 澤本和延（2019・2・10）Neuronal migration: strategies for development, maintenance and repair of the postnatal brain．Japan-UK Neuroscience Symposium 2019（千葉県木更津市）

6. 松本真実，澤田雅人，金子奈穂子，Huy Bang Nguyen，Truc Quynh Thai，大野伸彦，澤本和延（2019・2・2）成体脳内を移動する新生ニューロンの三次元微細構造．第 15 回成体脳ニューロン新生懇談会（大阪府大阪市）

7. 金子奈穂子，澤本和延（2019・1・26）脳梗塞部へのニューロンの移動と血管・アストロサイト．第 3 回 Neuro-vascular 研究会（静岡県浜松市）

8. Sawada M, Sawamoto K（2018・11・29）Morphological changes and migration termination in newborn neurons controlled by Sema3E-PlexinD1 signaling．The 3rd NCU&HALLYM International Joint Symposium 2018（愛知県名古屋市）

9. 澤本和延（2018・11・29）生後脳における新生ニューロンの移動機構と意義．第 41 回日本分子生物学会年会（神奈川県横浜市）

10. 金子奈穂子，澤本和延（2018・11・29）成体脳における新生ニューロンの傷害部への移動制御機構とニューロン再生．第 41 回日本分子生物学会年会（神奈川県横浜市）

11. 澤本和延（2018・11・17-18）神経再生過程におけるニューロンの移動．第 40 回神経組織培養研究会（静岡県熱海市）

12. Sawada M, Ohno N, Kawaguchi M, Huang SH, Hikita T, Sakurai Y, Nguyen HB, Thai TQ, Ishido Y, Yoshida Y, Nakagawa H, Uemura A, Sawamoto K（2018・11・3）Morphological changes and migration termination of newborn neurons controlled by PlexinD1 signaling. Neuroscience 2018（アメリカ合衆国サンディエゴ）

13. 澤本和延 (2018・9・24) 生後脳組織の維持・再生における新生ニューロンの移動機構と意義．第 91 回日本生化学会大会（京都府京都市）

14. Kaneko N, Ishizaki T, Tamura A, Higuchi K, Tsukita S, Sawamoto K (2018・9・7) Ezrin controls morphology and proliferation of neural stem cells in the postnatal ventricular-subventricular zone. 第 40 回日本生物学

的精神医学会・第 61 回日本神経化学会大会 合同年会（兵庫県神戸市）

15. Sawada M, Fujikake K, Kaneko N, Herranz-Perez V, Homma N, Yanagawa Y, Garcia-Verdugo JM, Hattori M, Sawamoto K (2018･9･7) Reelin-Dab1 signaling controls detachment of chain-forming new neurons by regulating cell-cell adhesion. 第 40 回日本生物学的精神医学会・第 61 回日本神経化学会大会 合同年会（兵庫県神戸市）
16. Otake K, Iwata H, Shibata T, Kaneko N, Sawamoto K (2018･9･7) The role of newly-generated astrocytes and blood vessels in scaffold formation for neuroblasts migrating toward the injured region after ischemic stroke. 第 40 回日本生物学的精神医学会・第 61 回日本神経化学会大会 合同年会（兵庫県神戸市）
17. 澤本和延 (2018・9・7) 脳の発達・再生過程における新生ニューロンの移動の足場. 第 40 回日本生物学的精神医学会・第 61 回日本神経化学会大会 合同年会（兵庫県神戸市）
18. 澤本和延 (2018･9･6) Endogenous and artificial scaffolds for neuronal migration and regeneration in the injured brain. 第 5 回国際組織工学・再生医療学会 世界会議 2018-京都（5thTERMIS-WC）（京都府京都市）
19. Sawada M, Sawamoto K (2018･8･30-31) Mechanisms for the proper migration and positioning of newborn neurons in postnatal brain circuits. The 21st Annual Meeting of the Korean Society for Brain and Neural Sciences (KSBNS) Annual Meeting（韓国ソウル）
20. Akter M, Kaneko N, Sawamoto K (2018･7･26) A transient postnatal peak of neurogenesis supports neuronal migration to the non-human primate neocortex. 第 41 回日本神経科学大会（兵庫県神戸市）
21. Sawada M, Ohno N, Kawaguchi M, Huang SH, Hikita T, Sakurai Y, Nguyen HB, Thai TQ, Ishido Y, Yoshida Y, Nakagawa H, Uemura A, Sawamoto K (2018･7･26) PlexinD1 signaling controls morphological changes and migration termination in newborn neurons. 第 41 回日本神経科学大会（兵庫県神戸市）
22. Sawamoto K (2018･6･20-23) Scaffolds for brain development, maintenance and repair. The 5th Eastern Asia Dermatology（中国雲南省昆明）
23. 神農英雄，澤田雅人，川瀬恒哉，金子奈穂子，Vicente Herranz-Perez，宮本拓哉，川上巧，宮田卓樹，田畑泰彦，赤池敏弘，Jose Manuel Garcia-Verdugo，味岡逸樹，齋藤伸治，澤本和延 (2018・6・18) 放射状グリアを足場にした新生児期脳傷害後のニューロン再生. 第 162 回名古屋市立大学医学会例会（愛知県名古屋市）
24. Sawada M, Ohno N, Kawaguchi M, Huang SH, Hikita T, Sakurai Y, Nguyen HB, Thai TQ, Ishido Y, Yoshida Y, Nakagawa H, Uemura A, Sawamoto K (2018・6・8-10) PlexinD1 signaling controls morphological changes and migration termination in newborn neurons. 日韓神経発生学共同シンポジウム 2018（韓国済州島）

《細胞構造研究部門》

1. Sugawara T, Furuse M. (2018.2.16) Role of angulin-1 in tricellular tight junction formation in epithelial cells. 第 10 回 NAGOYA グローバルリトリート（大府）
2. Izumi Y, Furuse M. (2018.6.8) Molecular dissection of septate junctions in the Drosophila midgut. 第 70 回日本細胞生物学会大会・第 51 回日本発生生物学会大会合同大会シンポジウム（東京）
3. Otani T, Tokuda S, Furuse M. (2018.6.8) ZO family proteins regulate epithelial polarity independent of Tight Junction strand assembly. 第 70 回日本細胞生物学会大会・第 51 回日本発生生物学会大会合同大会（東京）
4. Sugawara T, Furuse M. (2018.6.8) Angulin-1 regulates vertical elongation of tricellular tight junction by interacting with ZO-1. 第 70 回日本細胞生物学会大会・第 51 回日本発生生物学会大会合同大会（東京）
5. 大谷哲久，古瀬幹夫（2018.9.7）上皮バリアと上皮極性形成における密着結合の役割. 2018 年度

生理研研究会「体内環境の維持機構における上皮膜輸送の多角的・統合的理解」（岡崎）

6. Izumi Y., Furuse M. (2018.9.12) The role of the epithelial barrier function in Drosophila gut homeostasis. “The 13th Japanese Drosophila Research Conference” (Kyoto)
7. 大谷哲久，徳田深作，古瀬幹夫 (2018.9.18) 上皮バリアと上皮極性形成における密着結合の役割. 第 8 回生理研・名古屋大学医学部合同シンポジウム（名古屋）
8. Sugawara T, Furuse M. (2018.9.29) Interaction between the C-terminus of angulin-1 and ZO-1 is required for vertical extension of tricellular tight junctions. 第 8 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. Otani T, Tokuda S, Furuse M（2018.12.10）ZO family proteins regulate epithelial polarity independent of Tight Junction strand assembly. ASCB EMBO 2018 meeting（San Diego, USA）

《細胞生理研究部門》

1. 富永真琴（2018.2.17）Physiological significance of the functional interaction between thermosensitive TRP channels and calcium-activated chloride channel. 第 10 回名古屋グローバルリトリート（大府）
2. 鈴木喜郎（2018.2.17）胎児・新生児期のカルシウム・マグネシウム・リン酸代謝について－小児内分泌疾患への関与. TTT-Meeting（東京）
3. 富永真琴（2018.3.25）温度感受性 TRP チャンネルの生理機能－灸の効果メカニズムの可能性－. 予防医療臨床研究会（東京）
4. 鈴木喜郎（2018.3.28）マウス表皮最表層における TRPV3 の機能的発現. 第 95 回日本生理学会大会（高松）
5. Derouiche Sandra （2018.3.28） Involvement of thermosensitive TRP channels in temperature-dependent microglia movement. 第 95 回日本生理学会大会（高松）
6. Li Tianbang（2018.3.28）Characterization of TRPA1 channel from disease vector mosquitoes. 第 95 回日本生理学会大会（高松）
7. 山野井遊（2018.3.28）創傷治癒におけるケラチノサイト TRPV3-ANO1 相互作用の役割. 第 95 回日本生理学会大会（高松）
8. Kurganov Erkin（2018.3.28）Temperature dependent gating of TRPA1 in lipid bilayers. 第 95 回日本生理学会大会（高松）
9. 高山靖規（2018.3.29）TRP チャネルと ANO1 を標的とした 4-イソプロピルシクロヘキサノールによる疼痛および掻痒の緩和. 第 95 回日本生理学会大会（高松）
10. Feng Xiaona（2018.3.29）TRPV4 is functionally expressed in cultured mouse Schwann cells. 第 95 回日本生理学会大会（高松）
11. 齋藤茂（2018.3.29）脊椎動物における温度受容機構の進化：表皮で発現する温度受容体の比較解析. 第 123 回日本解剖学会総会全国学術集会 (武蔵野)
12. Sokabe Takaaki（2018.4.11-4.15）A unique switch in thermal preference in Drosophila larvae depends on rhodopsins/lipases/TRPA1 signal pathway. 59th Annual Drosophila Research Conference（Philadelphia, USA）
13. Derouiche Sandra（2018.4.20）TRPV4 heats ups ANO1dependent exocrine gland fluid secretion. 7th Oxdative Stress, Calcium Signaling and TRP Channel World Congress（Alanya, Turkey）
14. Tominaga Makoto（2018.4.22）Structure and Function of TRPA1. 7th Oxdative Stress, Calcium Signaling and TRP Channel World Congress（Alanya, Turkey）
15. 富永真琴（2018.5.12）食品成分の物理化学センシングと生理機能.　第 72 回日本栄養・食糧学会大会（岡山）
16. 富永真琴（2018.5.16）温度感受性 TRP チャネルと生理機能.第 65 回日本実験動物学会総会（富山）
17. 富永真琴（2018.6.9）カルシウム透過性の高い温度感受性 TRP チャネルの生理機能. 第 63 回低温生物工学会大会（さいたま）

18. 高山靖規（2018.6.15）炎症における TRPV1-ANO1 相互作用の役割. 第 40 回日本疼痛学会（長崎）
19. 富永真琴（2018.6.30）温度感受性 TRP チャネルの生理機能 ―マウスの行動解析を通して―. 第 27 回行動薬理若手研究者の集い（岡崎）
20. Tominaga Makoto（2018.7.3）Functional Interaction between Ca^{2+}-permeable TRP channels and Ca^{2+}-activated chloride channel, anoctamin 1. WCP2018Kyoto (19th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology)（京都）
21. Derouiche Sandra（2018.7.3）TRPV4 heats ups ANO1dependent exocrine gland fluid secretion. WCP2018Kyoto (19th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology)（京都）
22. Saito Shigeru（2018.7.9）Evolutionary changes in the thermosensory system contributed to the acquisition of heat tolerance in Buergeria japonica tadpoles inhabiting hot springs. SMBE2018（横浜）
23. Ujisawa Tomoyo（2018.7.10）Simultaneous measurement of thermosensitive TRP channels activity and intracellular temperature. 11th FENS Forum of Neuroscience（Berlin, Germany）
24. Takayama Yasunori（2018.7.14）Pain enhancing mechanism through TRPV1-ANO1 interaction and its pharmacological control. The 1st International Symposium on channelopathy and drug discovery（Beijing, China）
25. 鈴木喜郎（2018.7.20）Ca2+輸送を担うイオンチャネル TRPV6 の機能と異常. 第 3 回イオンチャネル研究会～チャネルフェニックス～（福井）
26. 鈴木喜郎（2018.7.21）TRPV6 はヒト胎盤における母子間カルシウム輸送の分子実体である. 第 13 回トランスポーター研究会（福岡）
27. 齋藤茂（2018.8.23）リュウキュウカジカガエルの高温耐性獲得に関連した温度受容システムの進化的変化. 日本進化学会第 20 回大会（東京）
28. 富永真琴（2018.8.31）温度生物学 TRP チャネルの生理機能と構造. 日本ハイパーサーミア学会第 35 回大会（福井）
29. 富永真琴（2018.9.7）温度感受性 TRP チャネルと口腔内生理機能. 第 60 回歯科基礎医学会学術大会（福岡）
30. Sokabe Takaaki（2018.9.12）Rhodopsins, lipases and trpA1 channel contribute to a unique switch in the thermal preference in Drosophila melanogaster larvae. The 13th Drosophila Research Conference (JDRC13)（Kyoto）
31. Yamanoi Yu（2018.9.13）TRPV3-ANO1 interaction positively regulates wound healing in keratinocytes. WCP2018(World Congress on Pain)（Boston, USA）
32. Takayama Yasunori（2018.9.13）Interaction between TRP channels and ANO1/TMEM16A in acute and inflammatory pain conditions. WCP2018(World Congress on Pain)（Boston, USA）
33. Tominaga Makoto（2018.9.15）TRP Channels and Nociception. WCP2018(World Congress on Pain)（Boston, USA）
34. 高山靖規（2018.9.29）炎症における疼痛閾値低下の分子メカニズム.第 8 回生理研・名大合同シンポジウム（名古屋）
35. 鈴木喜郎（2018.9.29）TRPV6 遺伝子変異による骨疾患を伴う新生児期副甲状腺機能亢進症の発症. 第 8 回生理研・名大合同シンポジウム（名古屋）
36. Suzuki Yoshiro（2018.10.2-10.4）TRPV6 is involved in the maternal-fetal calcium transport in human placenta. 日本薬物動態学会第 33 回年会/2018MDO 国際合同学会（金沢）
37. Li Tianbang（2018.10.3）Characterization of TRPA1 from disease vector mosquitoes. 13th International Conference of Neurons and Brain Diseases（Taipei, Taiwan）
38. Tominaga Makoto（2018.10.4）TRP channels and itch. 13th International Conference of Neurons and Brain Diseases（Taipei, Taiwan）
39. 富永真琴（2018.10.19）TRP チャネルによるスパイス成分の感知. 第 40 回日本アーユルヴェーダ学会金沢研究総会（金沢）
40. 富永真琴（2018.10.25）温度受容の分子メカニズム. 第 71 回日本自律神経学会総会（さいたま）
41. Tominaga Makoto（2018.11.9）Structure and Function of Thermosensitive TRP Channels. ICFD2018(15th International Conference on Flow Dynamics)（Sendai）
42. Feng Xiaona（2019.11.16）TRPV4 is functionally expressed in cultured mouse Schwann cells. 第 65

回中部日本生理学会（名古屋）

43. 富永真琴（2019.11.17）ＴＲＰチャネルと痒み．難治性“かゆみ”の発症機構解明と予防・治療法開発の研究基盤構築・第 4 回学術シンポジウム（東京）

44. Tominaga Makoto（2018.12.2）TRP channels and evolution. ISMNTOP2018(The 17th International Symposium on Molecular and Neural Mechanisms of Taste and Olfactory Perception)（Fukuoka）

45. Derouiche Sandra（2018.12.12）Involvement of the thermosensitive TRP channels in temperature-dependent microglia movement. フランス語による科学シンポジウム（J-FR 2018）（東京）

46. 富永真琴（2018.12.16）神経生理学から視た痒みの実態日本アレルギー学会　第 5 回総合アレルギー講習会（大阪）

《心循環シグナル研究部門》

1. Motohiro Nishida. Cardiovascular Aging Regulated by Heterodimerization of Angiotensin AT1 Receptor with Purinergic P2Y6 Receptor. Angiotensin Gordon Research Conference 2018. Ventura (CA, USA). February 18-23 (2018).
2. Motohiro Nishida. TRPC channels in cardiac plasticity. 2018 Annual Spring Scientific Conference of the Korean Society of Cardiology (Daejeon, Korea). April 21 (2018).
3. Motohiro Nishida. Mitochondrial metabolic regulation by reactive sulfide species. IUBMB (Seoul, Korea). June 5 (2018).
4. Motohiro Nishida. TRPC3 channels as a key regulator of cardiac plasticity. The 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (WCP2018, Kyoto). July 2 (2018).
5. Motohiro Nishida. Mitochondrial quality control and its metabolic regulation by reactive persulfide species. the International Conference of the Korean Society for Molecular and Cellular Biology (KSMCB2018, Seoul, Korea). Sep. 18 (2018).
6. Motohiro Nishida. New strategies of drug repositioning for the maintenance of mitochondrial quality. Symposium in Inje University ‘Interactions. Dynamic rescue of affected mitochondria (Dream)’ (Inje University, Busan, Korea). Dec. 10-12 (2018).
7. Motohiro Nishida. Mitochondrial metabolic regulation by RSS. Cardiovascular and Metabolic Week (CVMW) 2018 (東京，東京コンベンションホール). Dec. 7-8 (2018).　シンポジウム
8. Motohiro Nishida (Jan. 6-7, 2018) Drug repositioning of cilnidipine, a dyhydropyridine- derivative calcium channel blocker. The 1st JCS Council Forum on Basic CardioVascular Reseach (BCVR)（東京，品川国際ホール）ポスター発表
9. 西田基宏（2018 年 2 月 10 日）心不全リスクを制御するレドックスシグナル．日本酸化ストレス学会東海支部　第 6 回学術集会（静岡，静岡市産学交流センター）教育講演
10. 西田基宏（2018 年 3 月 9 日）心筋恒常性のレドックス制御．第 15 回レドックス・ライフイノベーションシンポジウム（東京，東京大学農学部）招待講演
11. 西田基宏（2018 年 3 月 30 日）活性イオウによる心筋ミトコンドリア品質管理のレドックス制御．第 95 回日本生理学会大会（香川，サンポートホール高松）シンポジウム
12. 西田基宏（2018 年 3 月 29 日）心不全治療の新たな標的としてのイオウ代謝．第 95 回日本生理学会大会（香川，サンポートホール高松）シンポジウム
13. 西田基宏（2018 年 5 月 18 日）活性イオウによる Drp1 多量体化を介した心筋リモデリング制御．第 71 回日本酸化ストレス学会／第 18 回日本 NO 学会合同学術集会（京都，京都ホテルオークラ）シンポジウム
14. 西田基宏（2018 年 7 月 19 日）活性イオウによるミトコンドリア品質管理の二面的制御．第 45 回日本毒性学会学術年会（大阪，大阪国際会議場）シンポジウム

15. 西田基宏（2018 年 7 月 21 日）Ca^{2+}チャネル研究から見えてきたドラッグ・リポジショニング．第 17 回九州脳・高血圧・循環制御研究会（福岡・ホテル日航福岡）特別講演
16. 西田基宏（2018 年 8 月 11 日）TRPC3/C6 チャネルタンパク質による筋柔軟性制御．第 4 回日本筋学会学術集会（岡山，川崎医科大学）シンポジウム
17. 西田基宏（2018 年 8 月 17 日）タンパク質中の活性イオウによるミトコンドリア品質管理制御．第 72 回日本細菌学会東北支部総会（仙台，東北大学星陵キャンパス）シンポジウム
18. 西田基宏（2018 年 9 月 14 日）レドックスシグナルから考えるプラズマ生物学．第一回プラズマバイオコンソーシアムワークショップ（福岡・九州大学伊都キャンパス）シンポジウム
19. 西田基宏（2018 年 9 月 24 日）酸素由来活性種によるタンパク質多量体化とその意義．第 91 回日本生化学会大会（京都，京都国際会館）シンポジウム
20. Motohiro Nishida (2018 年 10 月 12 日) TRPC channels in cardiac plasticity. 第 22 回日本心不全学会（東京，京王プラザホテル）シンポジウム
21. 西田基宏（2018 年 10 月 22 日）GPCR/G タンパク質のレドックス修飾に着目した創薬．レドックス・ライフイノベーション第 170 委員会／日本におけるケミカルバイオロジーの新展開第 189 委員会合同シンポジウム（東京，東京大学弥生講堂）招待講演
22. 西田基宏（2018 年 11 月 17 日）Ca^{2+}チャネル研究から見えてきたドラッグ・リポジショニング．第 35 回日本薬学会九州支部大会（福岡，九州大学薬学部）ランチョンセミナー
23. 西田基宏（2018 年 11 月 18 日）心臓にコミットする：心臓を鍛えるのに，いい薬はありませんか？．第 71 回日本薬理学会西南部会・市民公開講座「薬物治療の疑問に答える４つの話」（福岡，福岡朝日ビル）招待講演
24. 西田基宏（2018 年 12 月 16 日）Ca^{2+}チャネル研究から見えてきたドラッグ・リポジショニング．Advans 研究会 2018（東京，ホテルグランドパレス）招待講演
25. 冨田拓郎，島内　司，小田紗矢香，西村明幸，西田基宏（2018 年 1 月 30 日）TRPC6 リン酸化による下肢虚血後の血管成熟制御　新学術領域「酸素生物学・ダイイングコード」合同若手会議　（宮城　岩沼屋）ポスター発表
26. 冨田拓郎，島内司，小田紗矢香，西村明幸，西田基宏（2018 年 3 月 28 日）TRPC タンパク質のチャネル活性非依存的な役割とその病態生理学的意義　日本薬学会第 138 年会（金沢　大原学園金沢校）シンポジウム口演
27. 冨田拓郎，島内　司，北島直幸，小田紗矢香，西村明幸，西田基宏　（2018 年 3 月 29 日）病的心臓リモデリングにおける TRPC3-Nox2 の機能連関の重要性の解明　第 95 回日本生理学会大会（香川　サンポートホール高松）ポスター発表
28. 冨田拓郎，島内　司，小田紗矢香，西村明幸，西田基宏 Improvement of peripheral circulation after hindlimb ischemia by TRPC channel inhibition（2018 年 5 月 24 日）TRP 研究会 2018（愛知　岡崎コンファレンスセンター）
29. 冨田拓郎，島内　司，小田紗矢香，西村明幸，西田基宏（2018 年 5 月 19 日）　NO 依存的 TRPC6 リン酸化による下肢虚血後の血管成熟制御　第 18 回日本 NO 学会合同学術集会（京都，京都ホテルオークラ）
30. 冨田拓郎，島内　司，小田紗矢香，西村明幸，西田基宏（2018 年 9 月 29 日）Inhibition of TRPC6 promotes capillary arterialization during post-ischemic blood flow recovery　生理研・名大医合同シンポウム（愛知　名古屋大学医学部付属病院）
31. 冨田拓郎，島内　司，小田紗矢香，西田基宏（2018 年 12 月 5 日）Inhibition of TRPC6 promotes capillary arterialization during post-ischemic blood flow recovery　第 49 回生理研国際シンポジウム（愛知岡崎コンファレンスセンター）
32. 西村明幸，田中智弘，西山和宏，西田基宏（2018 年 3 月 28 日）活性イオウによるミトコンドリア品質管理．日本薬学会 第 138 年会（金沢，ANA クラウンプラザホテル金沢）シンポジウム
33. 西村明幸，田中智弘，冨田拓郎，西田基宏（2018 年 3 月 28 日）メチル水銀による心毒性と活性イオウ分子種による制御．日本薬学会 第 138 年会

（金沢，ANA クラウンプラザホテル金沢）シンポジウム

34. 西村明幸，島内司，田中智弘，冨田拓郎，西田基宏（2018 年 5 月 18 日）Drp1-Filamin A 相互作用による心筋ミトコンドリアの品質管理機構．第 71 回日本酸化ストレス学会／第 18 回日本 NO 学会合同学術集会（京都，京都ホテルオークラ）YIA シンポジウム
35. 西村明幸，田中智弘，冨田拓郎，西田基宏（2018 年 9 月 26 日）親電子物質と活性イオウによる心筋ミトコンドリアの品質管理．第 91 回日本生化学会大会（京都，京都国際会館）シンポジウム
36. 西村明幸，島内司，田中智弘，下田翔，冨田拓郎，西田基宏（2018 年 11 月 2 日）ミトコンドリアーアクチン細胞骨格連携による心筋細胞の早期老化機構．心血管膜輸送研究会 2018（愛知，岡崎コンファレンスセンター）口頭発表
37. 西村明幸，西山和宏，田中智弘，冨田拓郎，西田基宏（2018 年 11 月 17 日）メチル水銀による心毒性と活性イオウ分子種による制御．メタルバイオサイエンス研究会 2018（宮城，仙台市戦災復興記念館）ポスター発表
38. 西村明幸，田中智弘，下田翔，冨田拓郎，西田基宏（2018 年 11 月 18 日）Drp1-Filamin A 複合体によるミトコンドリア過剰分裂を介した心筋細胞の早期老化機構．第 35 回日本薬学会九州支部大会（福岡，九州大学）口頭発表
39. 下田翔，Caroline Sunggip，西村明幸，田中智弘，冨田拓郎，西山和宏，西田基宏（2018 年 3 月 10 日）プリン作動性 P2Y6 受容体の多量体化とその生理的意義．第 138 回日本薬理学会関東部会（東京，慶應義塾大学）口頭発表
40. Kakeru Shimoda, Caroline Sunggip, Akiyuki Nishimura, Tomohiro Tanaka, Takuro Numaga-Tomita, Kazuhiro Nishiyama, Motohiro Nishida (Jul. 3, 2018) P2Y6 receptor exacerbates pressure overload-induced heart failure in mice. The 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (WCP2018) (Kyoto, Kyoto International Conference Center) Poster Presentation
41. 下田翔，西村明幸，田中智弘，西山和宏，津田誠，黒瀬等，西田基宏（2018 年 9 月 2 日）G タンパク質共役型受容体の親電子修飾を介したアティピカルな機能制御とその病態生理的意義．第 17 回次世代を担う若手ファーマ・バイオフォーラム 2018（熊本，熊本大学）口頭発表
42. Kakeru Shimoda, Akiyuki Nishimura, Tsukasa Shimauchi, Tomohiro Tanaka, Takuro Numaga-Tomita, Motohiro Nishida (Sep. 22, 2018) Cilnidipine improves heart failure after myocardial infarction by suppressing mitochondrial fission. 第 2 回日本循環器学会基礎研究フォーラム（奈良，奈良春日野国際フォーラム甍～I・RA・KA～）ポスター発表
43. 小田紗矢香，冨田拓郎，西村明幸，西田基宏（2018 年 3 月 10 日）高血糖マウス心臓における TRPC6 発現増加の生理的意義．第 138 回日本薬理学会関東部会（東京，慶應義塾大学）口頭発表
44. 小田紗矢香，冨田拓郎，西村明幸，西田基宏（2018 年 4 月 26 日）心リモデリングにおける活性酸素の産生と TRPC3/6 チャネルの役割.生理学研究所研究会「生命のエネルギー獲得戦略における多様性と共通原理の理解にむけて」(愛知，岡崎コンファレンスセンター)ポスター発表
45. 小田紗矢香，冨田拓郎，西村明幸，西田基宏（2018 年 5 月 24 日）心リモデリングにおける活性酸素の産生と TRPC3/6 チャネルの役割.生理学研究所研究会「TRP チャネル～免疫・炎症応答の重要な媒介分子～」(愛知，岡崎コンファレンスセンター)ポスター発表
46. Sayaka Oda, Takuro Numaga-Tomita, Akiyuki Nishimura, Motohiro Nishida (Jul. 3, 2018) Physiological role of TRPC6 upregulation in hyperglycemic rodent heart. The 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (WCP2018) (Kyoto, Kyoto International Conference Center) Poster Presentation
47. 小田紗矢香，Supachoke Mangmool，冨田拓郎，西村明幸，黒瀬等，西田基宏（2018 年 9 月 1 日）心臓における脂質活性化型 TRPC6 チャネルの生理的役割．第 17 回次世代を担う若手ファーマ・バイオフォーラム 2018（熊本，熊本大学）口頭発表
48. Sayaka Oda, Takuro Numaga-Tomita, Akiyuki Nishimura, Motohiro Nishida (Sep. 22, 2018) Physiological role of TRPC6 upregulation in

hyperglycemic rodent hearts. 第 2 回日本循環器学会基礎研究フォーラム（奈良，奈良春日野国際フォーラム甍～I・RA・KA～）ポスター発表

49. Sayaka Oda, Takuro Numaga-Tomita, Akiyuki Nishimura, Motohiro Nishida (Dec. 7, 2018) Physiological role of TRPC6 upregulation in hyperglycemic rodent hearts. The 49th NIPS International Symposium（愛知，岡崎コンファレンスセンター）ポスター発表
50. 西山和宏，赤司壮一郎，冨田拓郎，藤本泰之，田中智弘，西村明幸，東泰孝，西田基宏（2018 年 11 月 17 日）新規 TRPC3-Nox2 複合体阻害剤の探索および効果の検証．第 71 回日本薬理学会西南部会（福岡，九州大学）口頭発表
51. 西山和宏，赤司壮一郎，冨田拓郎，藤本泰之，田中智弘，西村明幸，東泰孝，西田基宏（2018 年 11 月 18 日）抗がん剤の副作用を軽減する新規 TRPC3-Nox2 複合体阻害薬の探索．第 35 回日本薬学会九州支部大会（福岡，九州大学）口頭発表
52. Tomohiro Tanaka, Akiyuki Nishimura, Okiru Komine, Koji Yamanaka and Motohiro Nishida（2018 年 2 月 16 日）The role of actin-binding protein Filamin A in neurodegenerative disease by modulating mitochondrial fission. 第 10 回 NAGOYA グローバルリトリート（愛知，あいち健康プラザ）ポスター発表
53. Tomohiro Tanaka, Akiyuki Nishimura, Okiru Komine, Koji Yamanaka and Motohiro Nishida（2018 年 7 月 10 日）Pathology-dependent mitochondria-cytoskeleton interaction in amyotrophic lateral sclerosis (ALS). ExCELLS Frontier Bioorganization Forum 2018（愛知生理学研究所・山手地区）ポスター発表および口頭発表
54. Tomohiro Tanaka, Akiyuki Nishimura, Okiru Komine, Koji Yamanaka and Motohiro Nishida（2018 年 9 月 29 日）The role of actin-binding protein Filamin A in neurodegenerative disease by modulating mitochondrial fission. 第 8 回生理研・名大医合同シンポウム（愛知　名古屋大学医学部付属病院）ポスター発表
55. Tomohiro Tanaka, Akiyuki Nishimura, Okiru Komine, Koji Yamanaka and Motohiro Nishida（2018 年 11 月 1 日）The role of actin-binding protein Filamin A in neurodegenerative disease by modulating mitochondrial fission. 心血管膜輸送研究会 2018（愛知，岡崎コンファレンスセンター）ポスター発表
56. 田中智弘，西村明幸，西田基宏（2018 年 12 月 5 日）メチル水銀による心不全リスク増加の分子機構と予防治療薬の同定 環境省「重金属等による健康影響に関する総合的研究」メチル水銀研究ミーティング（東京　ワイム貸会議室 四谷三丁目）口頭発表

《生殖･内分泌系発達機構研究部門》

1. 箕越靖彦（2018.1.18）脂肪と炭水化物の食べ分けを決定するニューロンの発見 － 代謝恒常性・栄養応答を制御する脳内機構を求めて －．自然科学研究機構教育研究評議会（第 55 回）（東京）
2. 箕越靖彦（2018.1.26）栄養応答システムを構成するマウス神経回路網の網羅的解析と動的制御機構の解明．新学術創成研究機構 革新的統合バイオ研究コア 栄養・代謝研究ワークショップ（金沢）
3. 箕越靖彦（2018.1.29）脂肪と炭水化物の食べ分けを決定するニューロンの発見 － 肥満とストレスとの関連について －．生理学研究所講演会（岡崎市医師会）（岡崎）
4. 中島健一朗，傅欧，岩井優，三坂巧（2018.2.23-24）視床下部による味覚の制御-絶食に伴う感覚の変化．第 32 回日本糖尿病・肥満動物学会年次学術集会（名古屋）
5. 近藤邦生（2018.2.27-3.1）新規ウイルスによる光神経回路解析法を用いた摂食神経回路の解明．さきがけ「生命機能メカニズム解明のための光操作技術」第 3 回領域会議（奈良）
6. Yasuhiko Minokoshi（2018.2.28-3.1）Hypothalamic control of glucose metabolism in skeletal muscle. ARIHHP-NIPS Joint Workshop “Human High

Performance-oriented Sports Neuroscience by Integrating Basic Neuroscience”（つくば）

7. 箕越靖彦（2018.3.6-7）脂肪と炭水化物の食べ分けを決定するニューロンを発見 － 視床下部 AMP キナーゼによる炭水化物嗜好性の制御機構 －．第 7 回新潟脳研-霊長研-生理研合同シンポジウム（岡崎）
8. 箕越靖彦（2018.3.12）AMP キナーゼによる炭水化物嗜好性制御機構．生理学研究所プロジェクト「機能タンパク質の構造と機能のダイナミクスと，それに基づく細胞・生体システム作動機構の研究拠点の形成」（岡崎）
9. 傅欧, 岩井優, 三坂巧, 中島健一朗（2018.3.15-18）空腹による味覚感受性変化を制御する外側視床下部神経の解析．日本農芸化学会 2018 年度大会（名古屋）
10. 中島健一朗（2018.4.16）これからの味覚研究―より広く．食品ニューテクノロジー研究会（東京）
11. 近藤邦生，Lu Z，Olson D，Lowell B，Buck L（2018.4.26-28）内分泌系を制御する脳中枢神経回路のウイルストレーサーを用いた解析．第 91 回日本内分泌学会学術総会（宮崎）
12. 中島健一朗（2018.5.24-26）脳内で摂食を制御する仕組み：空腹による味覚感受性の調節．第 61 回日本糖尿病学会年次学術集会（東京）
13. 井川寛章，菊地晶裕，御簾博文，石井清朗（2018.5.24-26）インスリン受容体基質 1(IRS-1) の栄養依存性タンパク発現変動における選択的オートファジー受容体 p62 介在性オートファジーの役割．第 61 回日本糖尿病学会年次学術集会（東京）
14. 堀尾修平，山形聡，小林憲太，加藤成樹，崎村健司，上山敬司，小林和人，箕越靖彦，井桶敬一（2018.6.2-3）CRH ニューロンと摂食調節．生理学研究所研究会「第 3 回食欲・食嗜好の分子・神経基盤研究会（食欲・食嗜好性研究会）」（岡崎）
15. 傅欧，三坂巧，中島健一朗（2018.6.2-3）空腹に伴う味覚の調節を担う視床下部神経回路の同定．生理学研究所研究会「第 3 回食欲・食嗜好の分子・神経基盤研究会（食欲・食嗜好性研究会）」（岡崎）
16. 中島健一朗（2018.6.16-17）視床下部による生理状態依存的な味覚調節機能の解明．Research PlaNet 2018（東京）
17. 箕越靖彦（2018.6.23）AMP キナーゼによる摂食・代謝調節機構．第 3 回愛知糖尿病・内分泌研究会（名古屋）
18. 中島健一朗（2018.7.7-8）Hypothalamic neural circuits modulating gustatory sensation．DESIRE Conference　2018（東京）
19. 箕越靖彦（2018.7.14-15）視床下部室傍核 CRH ニューロンによる AMPK を介した炭水化物嗜好性制御機構．The 5th Diabetes Research Innovation Symposium 2018（京都）
20. 堀尾修平，山形聡，小林憲太，加藤成樹，内田克也，崎村健司，上山敬司，小林和人，箕越靖彦，井桶敬一（2018.8.2-4）Corticotropin-releasing factor (CRH) ニューロンによる摂食調節. 第 36 回内分泌代謝学サマーセミナー（宮城）
21. 近藤邦生，Lu Z，Olson D，Lowell B，Buck L（208.8.9-10）単シナプス性と多シナプス性のウイルストレーサーを用いた，恐怖とストレスに関わる CRH ニューロンを制御する神経回路の解析. 学会名第 2 回 NIPS-ARIHHP 共同ワークショップ・「ヒューマン・ハイ・パフォーマンスの実現を目指した次世代健康スポーツ科学と神経科学の融合・統合」（岡崎）
22. 箕越靖彦（2018.8.25）命守る　食欲の不思議．NHK カルチャー（名古屋）
23. 近藤邦生（2018.8.27-29）新規ウイルスによる光神経回路解析法を用いた摂食神経回路の解明．さきがけ「生命機能メカニズム解明のための光操作技術」第 4 回領域会議（東京）
24. Ou Fu，Yu Iwai，Takumi Misaka，Yasuhiko Minokoshi，Ken-ichiro Nakajima（2018.9.25-28）HYPOTHALAMIC NEURONAL CIRCUTTS REGULATING HUNGER INDUCED TASTE MODIFICATION ．The 2018 Cold Spring Harbor Asia Conference（淡路）
25. Yasuhiko Minokoshi（2018.9.30-10.3）Activation of AMPK-regulated CRH neurons in the PVH induces dietary selection for carbohydrate over fat．AMPK Meeting “AMPK from Mechanisms to New

Therapies”（Ontario, Canada）

26. 箕越靖彦（2018.10.7-8）視床下部腹内側核によるエネルギー・糖代謝調節機構．第 39 回日本肥満学会（神戸）
27. 菊地晶裕，御簾博文，井川寛章，篁俊成（2018.10.7-8）新規な肥満関連ヘパトカイン inhibin b E の同定と機能解析．第 39 回日本肥満学会（神戸）
28. 与那嶺正人，岡本士毅，ミルマンジャスミン，難波豊隆，箕越靖彦，益崎裕章（2018.10.7-8）食餌性肥満後に減量させたマウスにおける絶食後の食餌嗜好性変化に関わる脳内分子メカニズムの解明．第 39 回日本肥満学会（神戸）
29. 中島健一朗，傅 欧，岩井 優，成川真隆，箕越靖彦，三坂 功（2018.10.7-8）Hypothalamic neuronal circuits regulating hunger-induced taste modification. APDO SYMPOSIUM 2018（神戸）
30. Yasuhiko Minokoshi（2018.10.11-13）Activation of AMPK in CRH neurons in the paraventricular hypothalamus induces food preference for carbohydrate over fat. 2018 International Congress of Diabetes and Metabolism（Seoul, Korea）
31. 近藤邦生（2018.10.15）「食べる」と「太る」をあやつる脳．中学生のためのサイエンスセミナー（岡崎）
32. 箕越靖彦（2018.10.17）炭水化物嗜好性を制御する視床下部ニューロンの発見とその病態生理学的意義. 第 41 回高知県内分泌代謝研究会（高知）
33. 傅欧，三坂功，箕越靖彦，中島健一朗（2018.10.27-28）空腹に伴う味覚の調節を担う視床下部神経回路の同定. 第 45 回日本神経内分泌学会（東京）
34. Ou Fu, Yu Iwai, Takumi Misaka, Yasuhiko Minokoshi, Ken-ichiro Nakajima（2018.11.3-6）HYPOTHALAMIC NEURONAL CIRCUTTS REGULATING HUNGER INDUCED TASTE MODIFICATION . NEUROSCIENCE 2018（San Diego, USA）
35. 近藤邦生, Lu Z, Buck L（2018.11.30-12.2）Olfactory neural circuits involved in physiological changes. 第 17 回国際シンポジウム「味覚嗅覚の分子神経機構」（ISMNTOP/YRUF/AISCRIB2018）（福岡）

《大脳神経回路論研究部門》

1. 森島美絵子 (2018.2.20) 神経科学における階層性.「自然科学における階層と全体」シンポジウム（名古屋）
2. 大塚岳 (2018.3.14) 皮質回路におけるオシレーション活動と運動学習. 2017 年度第 3 回大脳基底核機能研究会（蒲郡）
3. Kawaguchi Y (2018.3.25) Local recurrent subnetworks correlated with long-distance projections in frontal cortex. International symposium on Brain Information Dynamics 2018（京都）
4. Ueta Y, Kawaguchi Y (2018.3.30) Ipsilateral and contralateral corticocortical projection-dependent subcircuits in layer 2/3 of rat frontal cortex. 第 95 回日本生理学会大会（高松）
5. Tanaka YH, Tanaka YR, Kondo M, Terada S, Kawaguchi Y, Matsuzaki M (2018.3.30) Dynamics of thalamocortical activities during motor execution and learning. 第 95 回日本生理学会大会（高松）
6. 川口泰雄 (2018.5.21) Cortical circuit components and connectivity, a personal history. 第 21 回 CiNet Monthly Seminar（吹田）
7. Kubota Y (2018.5.31) A carbon nanotube tape for serial- section electron microscopy of brain ultrastructure. 日本顕微鏡学会第 74 回学術講演会（久留米）
8. Morishima M, Kawaguchi Y (2018.7.5) Sublayer-dependent interaction between GABAergic and pyramidal cells in layer 5 of the rat frontal cortex. Joint symposium of 10th Optogenetics Research Conference and Second International Symposium on Brain Information Dynamics 2018（東京）
9. Morishima M, Kawaguchi Y (2018.7.26) Layer 5a and 5b dependent inhibitory connections in the rat frontal cortex. 第 41 回日本神経科学大会（神戸）
10. Tanaka YH, Tanaka YR, Kondo M, Terada S, Kawaguchi Y, Matsuzaki M (2018.7.26) Emerging

dynamics of thalamocortical ensemble activity through learning of self-initiated lever pull. 第 41 回日本神経科学大会（神戸）

11. Hatanaka Y, Kawasaki T, KohnoT, Hattori M, Sakakibara A, Kawaguchi Y, Hirata T (2018.7.27) SemaphorinA6 on radial glia cell and PlexinA2/A4 on neuron are required for proper positioning of superficial layer neurons in the cerebral cortex. 第 41 回日本神経科学大会（神戸）
12. Nonomura S, Kato S, Iguchi Y, Nishizawa K, Sakai Y, Kawaguchi Y, Nambu A, Watanabe M, Kobayashi K, Isomura Y, Kimura M (2018.7.27) Identification of indirect pathway neurons and dopaminergic innervation in the rat dorsomedial striatum. 第 41 回日本神経科学大会（神戸）
13. Kawaguchi Y (2018.7.28) Cortical neuron types and their synaptic connections. 第 41 回日本神経科学大会（神戸）
14. Kubota Y (2018.7.28) A carbon nanotube tape for serial- section electron microscopy of brain ultrastructure. 第 41 回日本神経科学大会（神戸）
15. 川口泰雄 (2018.9.29) 新皮質パルブアルブミン細胞とソマトスタチン細胞のシナプス構築. 第 8 回名古屋大学医学系研究科・生理学研究所合同シンポジウム（名古屋）
16. Kubota Y, Sohn J, Kawaguchi Y (2018.9.29) A carbon nanotube tape for serial-section electron microscopy of brain ultrastructure. 第 8 回名古屋大学医学系研究科・生理学研究所合同シンポジウム（名古屋）

《生体恒常性発達研究部門》

1. Nabekura Junichi（2018.01.20） 大脳皮質神経回路再編とグリア細胞-生体イメージングと細胞操作-. 第 64 回　脳の医学生物学研究会（名古屋市）
2. Nabekura Junichi（2018.02.16） Remodeling of Cortical Neuronal Circuits - Neuron-glia Interaction in vivo-. The 23rd international Iranian Congress of Physiology and Pharmacology（Chabahar, Iran）
3. Nabekura Junichi（2018.02.23） 大脳皮質の神経回路長期再編：２光子励起顕微鏡を用いたグリア細胞による制御の解明. In vivo imaging セミナー（藤沢市）
4. Nabekura Junichi（2018.03.12） 神経細胞特異的 K^+-Cl^- 共役担体（KCC2）による病態制御；神経傷害と癲癇.「機能タンパク質の構造と機能のダイナミクスと，それに基づく細胞・生体システム作動機構の研究拠点の形成」シンポジウム（愛知県岡崎市）
5. Nabekura Junichi（2018.03.19） Microglia-induced Cortical Synapses in Development. The 3rd international conference dedicated to microglia physiology and function（Heidelberg, Germany）
6. Nabekura Junichi（2018.03.23） Remodeling of Cortical Synapses in vivo: Neuron-Glia Interactions. Bordeaux Neurocampus seminar（Bordeaux, France）
7. Narushima M（2018.03.28） Activation of the metabotropic glutamate receptor subtype 1 is necessary for visual experience-dependent maintenance of synaptic connectivity in the dorsal lateral geniculate nucleus. 第 95 回日本生理学会大会（高松市）
8. 春若航一路，鍋倉淳一，和氣弘明（2018.03.29）「Microglia sense systemic immune status to modify activity of neuronal circuit」「免疫状態依存的なミクログリアによる神経回路活動の制御」. 第 95 回日本生理学会大会（高松市）
9. Masakazu Agetsuma, Jordan P. Hamm, Kentaro Tao, Shigeyoshi Fujisawa, and Rafael Yuste（2018.03.29） Parvalbumin-Positive Interneurons Regulate Population Coding in Cortex. 第 95 回日本生理学会大会（高松市）
10. Kei Eto, Junichi Nabekura（2018.03.29） Coding of cutaneous temperature in excitatory and inhibitory neurons of the primary somatosensory cortex. 第 95 回日本生理学会大会（高松市）
11. Hiroshi Horiuchi, Junko Ishida, Yusuke Nakamura,

Masakazu Agetsuma, Hiroaki Wake, Kazuaki Sawada, Junichi Nabekura（2018.03.30） pH imaging in the brain using high-resolution ion image sensor. 第 95 回日本生理学会大会（高松市）

12. 鍋倉淳一（2018.04.26） Remodeling of Cortical Neuronal Circuits in vivo: Neurons-Glia Interaction. 2018 Symposium on Functional Interactions among Glia and Neurons（Hangzhou, China）
13. 揚妻 正和（2018.06.07） 光学的アプローチによる大脳皮質情報処理機構の解明①.第 769 回　生医研セミナー（福岡市）
14. 揚妻 正和（2018.06.28） Optical methods to read and manipulate neural circuits. 脳科学の基礎と研究法（岡崎市）
15. 揚妻 正和（2018.07.04） 光と機械学習による恐怖記憶情報処理機構の解明. 「脳情報動態を規定する多領野連関と並列処理」第 2 回領域会議（東京）
16. 揚妻 正和（2018.07.11） 大脳皮質情報処理と情動記憶制御のメカニズムを「光」で読み解く.「脳科学研究の展開 IV-a：先端脳科学（１単位）」の指定講演会（札幌市）
17. Masakazu Agetsuma, Yoshiyuki Arai, Atsushi Kasai, Hitoshi Hashimoto, and Takeharu Nagai（2018.07.27） Population coding of fear memory in medial prefrontal cortex. 第 41 回日本神経科学大会（神戸市）
18. 鍋倉淳一（2018.08.09） 大脳皮質の神経回路再編：グリアーシナプス連関. 第 2 回　ヒューマン・ハイ・パフォーマンスの実現を目指した次世代健康スポーツ科学と神経科学の融合・統合ワークショップ（岡崎市）
19. 石田順子，堀内　浩，揚妻正和，澤田和明，鍋倉淳一（2018.09.29） 電荷転送型 pH イメージセンサを用いた脳内 pH イメージング. 第 8 回生理研・名大医合同シンポジウム（名古屋市）
20. Masakazu Agetsuma（2018.10.04） Two photon brain activity imaging to uncover in vivo prefrontal computation underlying fear memory. NIPS-CIN symposium（ドイツ,Tübingen）
21. Masakazu Agetsuma, Yoshiyuki Arai, Atsushi Kasai, Hitoshi Hashimoto, and Takeharu Nagai（2018.11.06） Information coding of fear memory in medial prefrontal cortex. Neuroscience 2018（サンディエゴ, 米国）
22. 鍋倉淳一（2018.10.23） Remodeling of Cortical Circuits in vivo: synapse-glia interaction. McGill Univ-NIPS Joint Meeting（岡崎市）
23. 鍋倉淳一（2018.11.21） Remodeling of Cortical Neuronal Circuits: Neurons-Glia Interaction . Max Planck Florida Institute Lecture（フロリダ,米国）
24. 鍋倉淳一（2018.11.29）Brain Imaging in vivo . 14th Laser Ceramics Symposium, Special Lecture （岡崎市）
25. 揚妻正和（2018.12.11）光学的アプローチによる大脳皮質情報処理機構②～恐怖記憶を制御する仕組み～. 生医研セミナー（福岡市）

《視覚情報処理研究部門》

1. 木村梨絵 (2018.3.7) 低コントラストの視覚弁別に関わるラット一次視覚野の神経活動. 第 7 回新潟脳研-霊長研-生理研合同シンポジウム（岡崎）
2. Yoshimura Y (2018.3.28) The roles of visual experience in the maturation of secondary visual cortex. The 95th Annual Meeting of the Physiological Society Meeting (Takamatsu)
3. Kimura R, Yoshimura Y (2018.7.5) Learning changes dependence of neuronal responses on the contrast of visual stimuli in rat primary visual cortex. Joint symposium of 10th Optogenetics Research Conference and Second International Symposium on Brain Information Dynamics 2018 (Tokyo)
4. Kimura R, Yoshimura Y (2018.7.26) Involvement of neurons preferring low-contrast visual stimuli in an orientation discrimination task in rat primary visual cortex. The 41st Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society (Kobe)
5. 木村梨絵, 吉村由美子 (2018.9.6) 方位弁別課題遂行時のラット一次視覚野における低コントラ

スト優位な神経活動. 視覚科学フォーラム 2018 第 22 回研究会（大阪府茨木市）

6. Yoshimura Y (2018.9.27) The roles of visual experience in the maturation of neural responses in the visual cortex. Cold Spring Harbor Asia “Latest Advances in Development & Function of Neuronal Circuits” (Awaji)
7. Kimura R, Yoshimura Y (2018.9.29) Low-contrast preferred spiking activity in rat primary visual cortex during an orientation discrimination task. 第8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. Tarusawa E, Sanbo M, Hirabayashi M, Yagi T, Yoshimura Y (2018.11.6) Clustered protocadherins-regulated high reciprocal connectivity between clonal cortical neurons are selectively modified by short sensory deprivation in mouse barrel cortex. Neuro2018 (San Diego, USA)
9. Hayashi K (2018.12.20) Gap junctions in postnatal excitatory neurons regulate spine density and response reliability. NIG Symposium : Circuit construction in the mammalian brain (Mishima)

《認知行動発達機構研究部門》

1. 吉田正俊（2018 年 1 月 18 日）Free-viewing for schizophrenia research in humans and marmosets. 第 7 回日本マーモセット研究会国際シンポジム（京都府京都市）
2. 郷康広，佐々木哲也，中垣慶子，小賀智文，辰本将司，石川裕恵，臼井千夏，一戸紀孝（2018 年 1 月 18 日）自閉症モデルマーモセット脳における時空間遺伝子発現解析．第 7 回日本マーモセット研究会国際シンポジム（京都府京都市）
3. 吉田正俊（2018 年 1 月 19 日）マイクロサッカード，視覚的注意，盲視．日本視覚学会 2018 年冬季大会（東京都新宿区）
4. 植松明子（2018 年 2 月 16 日）Effects of electrical stimulation of the cerebellar dentate nucleus during temporal prediction．第 10 回 NAGOYA グローバルリトリート（愛知県東浦町）
5. 磯田昌岐（2018 年 2 月 23 日）社会システム神経科学からみた皮質-皮質下ネットワーク及び皮質間ネットワークをめぐる諸問題の解決に向けて．平成 29 年度京都大学霊長類研究所共同利用研究会（愛知県犬山市）
6. 郷康広（2018 年 2 月 24 日）霊長類における精神・神経疾患関連遺伝子解析と認知ゲノミクスの展望．平成 29 年度京都大学霊長類研究所共同利用研究会（愛知県犬山市）
7. 植松明子（2018 年 3 月 6 日）小脳の高次機能への関与. 第 7 回新潟脳研-霊長研-生理研合同シンポジウム（愛知県岡崎市）
8. 則武厚（2018 年 3 月 7 日）サル大脳皮質・皮質下回路における自己および他者の報酬情報表現. 第 7 回新潟脳研-霊長研-生理研合同シンポジウム（愛知県岡崎市）
9. 則武厚（2018 年 3 月 14 日）自己および他者の報酬情報の脳内表現－サル中脳ドーパミン細胞の神経応答．2017 年度第 3 回大脳基底核機能研究会（愛知県蒲郡市）
10. 郷康広（2018 年 3 月 24 日）Cognitive Genomics in Primates. International symposium on Genomics and Cell Biology of Primates（愛知県犬山市）
11. 吉田正俊（2018 年 6 月 3 日）フリービューイング眼球運動のサリエンシー解析. 第 15 回 IGC 第 11 回 COCORO 合同会議（第 11 回脳表現型の分子メカニズム研究会）（東京都）
12. Yasuhiro Go (2018 年 7 月 9 日) The evolutionary trajectory of spatial transcriptome and epigenome in primate brains. Society for Molecular Biology and Evolution (SMBE) 2018（神奈川県横浜市）
13. 郷康広，辰本将司，石川裕恵（2018 年 7 月 14 日）合成ロングリードを用いた霊長類の新規ゲノム配列決定．第 34 回日本霊長類学会大会（東京都練馬区）
14. 郷康広（2018 年 7 月 15 日）ゲノムを通して我が身を知る―ヒトとサルの間にあるもの―．第 34 回日本霊長類学会大会公開シンポジウム（東京

都練馬区）

15. 吉田正俊（2018 年 7 月 21 日）意識の神経相関．第 27 回日本意識障害学会（大阪府豊中市）
16. 二宮太平，則武厚，磯田昌岐（2018 年 7 月 26 日）マカクザル社会脳ネットワークにおける自他行動モニタリング中の神経活動．第 41 回日本神経科学大会（兵庫県神戸市）
17. 則武厚，二宮太平，磯田昌岐（2018 年 7 月 26 日）マカクザル吻側内側被蓋核細胞における社会的報酬信号．第 41 回日本神経科学大会（兵庫県神戸市）
18. 吉田正俊（2018 年 7 月 26 日）マーモセット統合失調症モデルにおける mismatch negativity (MMN)と視線の同時計測. 第 41 回日本神経科学大会（兵庫県神戸市）
19. 中谷仁，豊田太，郷康広，堀家慎一，小山なつ，等誠司，内匠透，加藤智子，遠山育夫，椎野顯彦，森川茂廣，犬伏俊郎，田中秀和（2018 年 7 月 28 日）染色体 15q11-13 領域に部分重複を持つマウスは重篤な発生学的異常を伴った．第 41 回日本神経科学大会（兵庫県神戸市）
20. Ninomiya T, Noritake A, Isoda M（2018 年 8 月 9 日）Social action monitoring in macaque mirror and mentalizing systems. 第 2 回 NIPS-ARIHHP　共同ワークショップ　ヒューマン・ハイ・パフォーマンスの実現を目指した次世代健康スポーツ科学と神経科学の融合・統合（愛知県岡崎市）
21. Noritake A, Ninomiya T, Isoda M（2018 年 8 月 9 日）Social reward signals of dopamine neurons in the midbrain and neurons in the rostromedial tegmental nucleus of macaques. 第 2 回 NIPS-ARIHHP　共同ワークショップ　ヒューマン・ハイ・パフォーマンスの実現を目指した次世代健康スポーツ科学と神経科学の融合・統合（愛知県岡崎市）
22. Isoda M（2018 年 8 月 10 日）Social action monitoring in the macaque medial frontal cortex．第 2 回 NIPS-ARIHHP　共同ワークショップ　ヒューマン・ハイ・パフォーマンスの実現を目指した次世代健康スポーツ科学と神経科学の融合・統合（愛知県岡崎市）
23. 吉田正俊（2018 年 9 月 5 日）統合失調症患者の視線と視覚サリエンシー．視覚科学フォーラム第 22 回研究会 2018（大阪府茨木市）
24. 吉田正俊（2018 年 9 月 6 日）統合失調症における視覚顕著性．第 40 回日本生物学的精神医学会（兵庫県神戸市）
25. 磯田昌岐（2018 年 9 月 13 日）自己と他者の報酬情報処理にかかわるマカクザルの皮質・皮質下ネットワーク．玉川大学共同利用研究会「世界や社会と相互作用して生きるヒトや動物の視覚ー生理学，心理学，計算論」（東京都町田市）
26. 郷康広（2018 年 9 月 25 日）10XGenomics 社 Chromium を用いたゲノム・トランスクリプトーム解析．第 213 回農林交流センターワークショップ．次世代シーケンサーのデータ解析技術公開講座（茨城県つくば市）
27. 吉田正俊（2018 年 9 月 29 日）見えると気がつくとはどう違うか : 盲視と半側空間無視の動物モデルの研究からの知見．学会名第 19 回認知神経リハビリテーション学会学術集会（大阪府門真市）
28. 則武厚，二宮太平，磯田昌岐（2018 年 9 月 29 日）マカクザル中脳ドーパミン細胞と吻側内側被蓋核細胞における社会的報酬信号. 第 8 回生理研・名大医合同シンポジウム（愛知県名古屋市）
29. 磯田昌岐（2018 年 9 月 30 日）Developing a systems neuroscience of self and others using macaques．日仏シンポジウム（奈良県奈良市）
30. Yasuhiro Go (2019 年 10 月 2 日) The evolutionary trajectory of spatial transcriptome and epigenome in primate brains. The 46th Naito Conference on Mechanisms of Evolution and Biodiversity（北海道札幌市）
31. Ninomiya T（2018.10.5）Neural Activities During Action Monitoring in the Mirror and the Mentalizing Systems of the Macaque Brain．The 8th NIPS/CIN Joint Symposium（Tuebingen, Germany）
32. Isoda M（2018.10.5）Contrasting Neuronal Activity in the Dopaminergic Midbrain Nuclei and the Medial Prefrontal Cortex During Social Reward Monitoring and Evaluation. The 8th NIPS/CIN Joint Symposium（Tuebingen, Germany）
33. Yasuhiro Go（2018.10.22）Dissecting the genetic diversity of Japanese’s marmoset colonies. Care, use and welfare of marmosets as animal models for gene

editing-based biomedical research, A Roundtable of Science and Welfare in Laboratory Animal Use Workshop（Washington DC, USA）

34. Isoda M（2018.11.2）Cortico-subcortical networks underlying social reward valuation. Society for Social Neuroscience 2018 Anuual Meeting（San Diego，USA)
35. Noritake A, Ninomiya T, Isoda M（2018.11.3）Social reward signals in the medial prefrontal cortex and the lateral hypothalamus of the macaque. SfN2018（San Diego，USA）
36. Yoshida M, Hafed ZM（2018.11.5）Yoshida M, Hafed ZM. SfN2018（San Diego, USA）
37. Ninomiya T, Noritake A, Isoda M（2018.11.7）Social action monitoring in the mirror and the mentalizing systems of the macaque brain. SfN2018（San Diego, USA）
38. Tomatsu S, Kim G, Kubota S, Seki K（2018 年 12 月 5 日）Presynaptic inhibition of muscle afferent in awake, behaving monkeys: task- and modality-dependent modulation. EmboSS 2018（大阪府豊中市）

《生体システム研究部門》

1. 南部　篤（2018.1.6）ネットワーク異常としてのパーキンソン病. 第 6 回ニューロカンファレンス和歌山（和歌山）
2. 南部　篤（2018.1.7）淡蒼球の機能解剖について. 革新脳臨床 G 分科会（東京）
3. 纐纈大輔，南部　篤（2018.1.17）マーモセットを用いた電気生理学的研究. マーモセット研究会（京都）
4. Satomi Chiken (2018.1.24) Dopaminergic transmission maintains dynamic activity changes in the basal ganglia to control appropriate movements. Stockholm-Okazaki Workshop on "Multi-scale dynamics of basal ganglia in brain function and dysfunction" (Stockholm, Sweden)
5. Hiromi Sano (2018.1.24) Information flow for motor control by striatal projection neurons. Stockholm-Okazaki Workshop on "Multi-scale dynamics of basal ganglia in brain function and dysfunction" (Stockholm, Sweden)
6. Dwi Wahyu Indriani, Hiromi Sano, Satomi Chiken, Atsushi Nambu (2018.1.24) Aberrant signaling of basal ganglia circuitry induces dyskinesia after chronic L-dopa administration in 6-hydroxydopamine mice. "Multi-scale dynamics of basal ganglia in brain function and dysfunction" (Stockholm, Sweden)
7. Hasegawa T, Chiken S, Kobayashi K, Nambu A.（2018.1.24）Deciphering the functional role of the STN using the DREADD technology. "Multi-scale dynamics of basal ganglia in brain function and dysfunction" (Stockholm, Sweden)
8. Atsushi Nambu (2018.1.25) Pathophysiology of dystonia. Stockholm-Okazaki Workshop on "Multi-scale dynamics of basal ganglia in brain function and dysfunction" (Stockholm, Sweden)
9. 南部　篤（2018.2.24）大脳皮質―大脳基底核投射について. 平成 29 年度京都大学霊長類研究所共同利用研究会「先端技術の導入による霊長類脳科学の進展と新たな概念の創出」（犬山）
10. 長谷川拓，知見聡美，小林憲太，南部　篤（2018.3.14）大脳基底核による運動制御：マカクザル視床下核の化学遺伝学的な活動制御. 2017 年度第 3 回大脳基底核機能研究会（蒲郡）
11. 知見聡美（2018.3.15）大脳基底核と小脳による視床－大脳皮質投射の活動制御メカニズム. 2017 年度第 3 回大脳基底核機能研究会（蒲郡）
12. 佐野裕美（2018.3.15）大脳皮質―線条体路の興奮誘導に対する大脳基底核の応答. 2017 年度第 3 回大脳基底核機能研究会（蒲郡）
13. 纐纈大輔，南部　篤（2018.3.15）マーモセットの線条体ドーパミン D1，D2 受容体の選択的ノックダウン法を用いた大脳基底核神経回路の機能解析. 2017 年度第 3 回大脳基底核機能研究会（蒲郡）
14. Atsushi Nambu（2018.2.26） Parkinson’s disease as a network disorder. The 4th CiNet Conference, Neural

oscillation and functional connectivity: from anatomy to perception（大阪）

15. Taku Hasegawa, Satomi Chiken, Kenta Kobayashi, Atsushi Nambu（2018.3.28）The chemogenetic suppression of the primate subthalamic nucleus induces abnormal involuntary movements. 第 95 回日本生理学会大会（高松）
16. Zlata Polyakova, Nobuhiko Hatanaka, Satomi Chiken, Atsushi Nambu (2018.3.28) Cortical control of monkey subthalamic nucleus. 第 95 回日本生理学会大会（高松）
17. Hiromi Sano, Atsushi Nambu（2018.3.30）Physiological roles of striatal projection neurons revealed by optogenetics. 第 95 回日本生理学会大会（高松）
18. 南部　篤（2018.6.22）大脳皮質―大脳基底核投射について. 第１回大脳基底核機能研究会（大磯）
19. Sano H, Tanaka KF, Nambu A (2018.7.8) Neuronal responses and movements induced by concurrent activation of striatonigral and striatopallidal neurons. FENS2018 (Berlin, Germany)
20. Indriani Dwi Wahyu, Sano H, Chiken S, Nambu A (2018.7.8) Modulation of basal ganglia pathways after chronic L-dopa treatment in Parkinson`s disease. 11th FENS forum of neuroscience (Berlin, Germany)
21. Chiken S, Sano H, Kobayashi K, Nambu A (2018. 7.9) Cerebellar control of thalamocortical activity. FENS Forum 2018 (Berlin, Germany)
22. Nambu A (2018.7.26) Cortico-basal ganglia loop and movement disorders. 第４１回日本神経科学大会（神戸）
23. Indriani Dwi Wahyu, Sano H, Chiken S, Nambu A (2018.7.28) Chronic L-dopa treatment alters basal ganglia signaling in Parkinson’s disease model mice. 第４１回日本神経科学大会（神戸）
24. Sano N, Nakayama Y, Hoshi E, Chiken S, Nambu A, Nishimura Y (2018.7.26) Cerebellar outputs modulate neuronal activity in the primary motor cortex during movement execution in macaque monkeys. 第４１回日本神経科学大会（神戸）
25. Sasaoka T, Sato A, Chiken S, Okubo T, Abe M, Kawamura M, Saito N, Oda K, Sakuma T, Uchiyama S, Abe M, Tanaka M, Yamamoto Y, Jimbo Y, Sato T, Fujisawa N, Sakimura K, Nambu A (2018.7.26) Elucidation of motor control mechanism using genetically mice harboring tetracycline regulated expression on D1/D2 dopamine receptors. 第４１回日本神経科学大会（神戸）
26. Polyakova Z, Hatanaka N, Chiken S, Nambu A (2018.7.26) Cortical control of monkey subthalamic nucleus by the hyperdirect and indirect pathways. 第４１回日本神経科学大会（神戸）
27. Nonomura S, Kato S, Iguchi Y, Nishizawa K, Sakai Y, Kawaguchi Y, Nambu A, Watanabe M, Kobayashi K, Isomura Y, Kimura M (2019.7.27) Identification of indirect pathway neurons and dopaminergic innervation in the rat dorsal striatum. 第４１回日本神経科学大会（神戸）
28. Endo K, Ishigaki S, Watanabe H, Masamizu Y, Hatanaka N, Hata J, Watakabe A, Matsuzaki M, Nambu A, Okano H, Yamamori T, Katsuno M, Sobue G (2018.7.28) Silencing of FUS in common marmoset caudate induces shortening of fiber tracts accompanied with glial inflammation. 第４１回日本神経科学大会（神戸）
29. Chiken S (2018.7.31) Optogenetic manipulation of basal ganglia and cerebellar outflow to the thalmo-cortical system in macaque monkeys. Monitoring and manipulating brain function in non-human primates （千葉）
30. Hasegawa T (2018.8.1) Deciphering the functional role of the subthalamic nucleus using the DREADD technology. Monitoring and manipulating brain function in non-human primates（千葉）
31. 南部　篤（2018.8.10）大脳基底核による運動制御. 第２回 NIPS-ARIHHP Joint Workshop Human High Performance-oriented Sports Neuroscience by Integrating Basic Neuroscience（岡崎）
32. Chiken S, Sano H, Kobayashi K, Nambu A (2018.8.9) Basal ganglia and cerebellar control of thalamocortical activity. 第２回 NIPS-ARIHHP Joint Workshop Human High Performance-oriented Sports Neuroscience by Integrating Basic Neuroscience（岡崎）

33. 長谷川拓, 知見聡美, 小林憲太, 南部篤（2018.8.25）大脳基底核による運動制御：マカクザル視床下核の化学遺伝学的な活動制御. 第 33 回日本大脳基底核研究会（東京）
34. 知見聡美，南部篤（2018.8.26）モデルマウスの神経活動からジストニアの病態生理を探る. 第 33 回日本大脳基底核研究会（東京）
35. Polyakova Z, Hatanaka N, Chiken S, Nambu A (2018. 9.29) The role of hyperdirect and indirect pathways in the formation of cortically induced bi-phasic response in monkey subthalamic nucleus. 8th National Institute of Physiology - Nagoya University Graduate School of Medicine Joint symposium（名古屋）
36. Chiken S (2018.10.4) How do the basal ganglia and cerebellum control thalamocortical activity? 8th Joint CIN-NIPS Symposium (Tuebingen, Germany)
37. Nambu A (2018.10.5) "Inhibitory center-excitatory surround" organization of the basal ganglia revealed by optogenetic stimulation. 8th Joint CIN-NIPS Symposium (Tuebingen, Germany)
38. Nambu A (2018.10.19) Parkinson’s disease as a network disorder. Symposio Cajal 2018 (Madrid, Spain)
39. Polyakova Z, Hatanaka N, Chiken S, Nambu A (2018. 10.22) The impact of glutamatergic and GABAergic inputs to the subthalamic nucleus activity in monkey. McGill University and Natl Inst Physiol Sci Joint symposium (岡崎)
40. Nambu A (2018.10.29) Parkinson’s disease as a network disorder. XXXVI Annual Meeting of Indian Academy of Neuroscience (Varanasi, India)
41. Endo K, Ishigaki S, Hatanaka N, Hata J, Watanabe H, Katsuno M, Nambu A, Okano H, Yamamori T, Sobue G (2018.11.4) Silencing of FUS in the caudate nucleus of non-human primates induces disruption of its fiber bundles. Neuroscience 2018 (San Diego, USA)
42. Sano N, Nakayama Y, Hoshi E, Chiken S, Nambu A, Nishimura Y (2018.11.5) Cerebellar outputs contribute to the activity of the primary motor cortex during arm-reaching movement in macaque monkeys. Neuroscience 2018 (San Diego, USA)
43. Hasegawa T, Chiken S, Kobayashi K, Nambu A (2018. 11.7) The chemogenetic suppression of the primate subthalamic nucleus impairs voluntary movements by disturbing the firing pattern in the internal segment of the globus pallidus. Neuroscience 2018 (San Diego, USA)
44. Polyakova Z, Hatanaka N, Chiken S, Kita H, Nambu A (2018.11.7) The impact of glutamatergic and GABAergic inputs to the subthalamic nucleus activity in monkey. Neuroscience 2018 (San Diego, USA)
45. Polyakova Z, Hatanaka N, Chiken S, Nambu A (2018.11.24) Glutamatergic and GABAergic controls of the subthalamic nucleus activity in monkeys. 30th Annual Basal Ganglia Function Research Association meeting（会津若松）
46. Polyakova Z, Hatanaka N, Chiken S, Nambu A (2018.11.26) The role of hyperdirect and indirect pathways in the formation of cortically induced bi-phasic response in monkey subthalamic nucleus. Life Science Retreat 2018（河口湖）
47. Woranan Wongmassang (2018.11.30) Correlated activity in the globus pallidus of normal and MPTP-treated Parkinson's disease monkeys. 生理学研究所研究会「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）
48. Nambu A, Chiken S (2018.11.28) Na pump dysfunction may cause dystonia by enhancing cortico-striato-pallidal neurotransmission. 第４１回日本分子生物学会年会（横浜）
49. Hasegawa T, Chiken S, Kobayashi K, Nambu A.（2018.12.13）Deciphering the functional role of the subthalamic nucleus using the DREADD technology. Genetic technologies for systems neuroscience in non-human primates（Bethesda, MD, USA）

《統合生理研究部門》

1. 柿木隆介（2018.3.6）神経イメージング手法を用いたヒト顔認知機構の解明，第 7 回新潟脳研―霊長研―生理研合同シンポジウム，生理学研究所（岡崎）
2. Kakigi R (2018.5.4) Asian perspective. 31st International Congress of Clinical Neurophysiology, (Washington DC, USA)
3. Kakigi R (2018.5.5) Itch perception in humans. 31st International Congress of Clinical Neurophysiology, (Washington DC, USA)
4. Kida T, Tanaka E, Kakigi R (2018.8.26-30) Network dynamics of the human brain underlying attention. The 21th International Conference on Biomagnetism (Biomag2018), (Philadelphia, USA)
5. Kida T, Tanaka E, Kakigi R (2018.8.26-30) Network dynamics of the human brain underlying attention. The 21th International Conference on Biomagnetism (Biomag2018), (Philadelphia, USA)
6. 木田哲夫（2018.6.16）注意の脳磁図研究，第 33 回日本生体磁気学会大会　シンポジウム「感覚運動機能における脳磁図の現状と展望」（広島）
7. 木田哲夫，田中絵実，柿木隆介（2018.9.29）触覚性注意の手内分布の適応的柔軟性：脳磁図研究，第 8 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，名古屋大学鶴舞キャンパス（名古屋）

《心理生理学研究部門》

1. 定藤規弘，福永雅喜，山本哲也，菅原 翔（2018.1.7）7T MRI を用いたヒト神経回路解明にむけた画像取得・解析技術の研究開発．革新脳第２回分科会（東京）．
2. 福永雅喜（2018.1.20）Task fMRI 概論．第 3 回 ABiS 脳画像解析チュートリアル（東京）．
3. Sumiya M, Okamoto Y, Koike T, Tanigawa T, Kimura Y, Okazawa H, Kosaka H, Sadato N (2018.2.12) People with autism spectrum disorder experience less pleasure through social action-outcome contigency. Interactive Eye Gaze (London, United Kingdom).
4. Yoshimoto T, Chikazoe J, Okazaki S, Sumiya M, Takahashi HK, Nakagawa E, Koike T, Kitada R, Okamoto S, Nakata M, kosaka H, Yada T, Sadato N (2018.2.16) Abstractness of object representation in orbitofrontal cortex. NAGOYA Global Retreat (Aichi, Japan).
5. Sugawara SK, Fukunaga M, Glasser MF, Yamamoto T, Hamano YH, Sadato N (2018.2.22) The relationship between digit areas and myelin distribution in human primary somatosensory cortex. ISMRM Japanese Chapter 2018（和光，埼玉）．優秀ポスター賞受賞
6. Sadato N (2018.2.28) The motor engram as a dynamic change of the cortical network during early sequence learning: an fMRI study. Human High Performance- oriented Sports Neuroscience by Integrating Basic Neuroscience (Tsukuba, Japan).
7. Sugawara SK, Fukunaga M, Yamamoto T, Hamano YH, Sadato N (2018.2.28) The relationship between finger areas and myelin distribution in human S1. Human High Performance-oriented Sports Neuroscience by Integrating Basic Neuroscience (Tsukuba, Japan).
8. 山本哲也，菅原翔，濱野友希，福永雅喜，定藤規弘（2018.3.2）HCP パイプラインによる 7T fMRI の時空間双方向のアーチファクト低減の効果に関する検討．第 20 回日本ヒト脳機能マッピング学会（横浜，神奈川）．第 12 回若手奨励賞受賞
9. 三浦健一郎，山本哲也，福永雅喜，定藤規弘（2018.3.2）fMRI を用いたヒト眼球運動ネットワークの同定．第 13 回空間認知と運動制御研究会学術集会（京都，京都）．
10. 宮田紘平，大星有美，小池耕彦，定藤規弘（2018.3.3）自己の感情を伴う状況想起には前帯状回皮質の賦活が関与する．第 20 回日本ヒト脳

機能マッピング学会（横浜，神奈川）.

11. 菅原翔, 福永雅喜, Matthew F. Glasser, 山本哲也, 濱野友希，定藤規弘 (2018.3.6) The association between finger areas and myelin distribution in human S1. 第 7 回新潟脳研-霊長研-生理研合同シンポジウム （岡崎，愛知）.
12. Sumiya M, Okamoto Y, Koike T, Tanigawa T, Kimura Y, Okazawa H, Kosaka H, Sadato N (2018.3.17) People with autism spectrum disorder experience less pleasure through social action- outcome contigency. 第 10 回脳科学若手の会（東京）.
13. 福永雅喜（2018.3.17）高磁場 MRI の現状と課題～7T MRI の使用経験から～. 日本磁気共鳴医学会 第 23 回安全性講演会「MRI 安全性の考え方」（東京）.
14. Yoshimoto T, Chikazoe J, Sadato N (2018.5.10) Adaptive identity representations in the orbitofrontal cortex revealed by multivoxelpattern analysis. The Joint Research Area Meeting Scientific Research on Innovative Areas: “Artificial Intelligence and Brain Science” and “Adaptive Circuit Shift” (Okinawa, Japan).
15. Suzuki K, Suzuki Y, Fukunaga M, Sakata H, Nakada T (2018.5.14) Entropy-Based Functional Magnetic Resonance Imaging. Entropy 2018: From Physics to Information Sciences and Geometry (Barcelona, Spain).
16. Kasai C, Sumiya M, Koike T, Yoshimoto T, Aoki N,Sadato N (2018.6.17) Neural underpinning of the Japanese case particle processing on non-native speakers. OHBM 2018 Annual Meeting (Suntec City, Singapore).
17. Miyata K, Oboshi Y, Koike T, and Sadato N (2018.6. 19-21) The imagination of self-relevant emotional events activates rostral anterior cingulate cortex. OHBM 2018 Annual Meeting (Suntec City, Singapore).
18. Nakagawa E, Koike T, Sumiya M and Sadato N (2018.6.19-21) The neural correlates of semantic and grammatical encoding during sentence production in a second language: evidence from a fMRI study using syntactic priming. OHBM 2018 Annual Meeting (Suntec City, Singapore).
19. Sumiya M, Koike T, Nakagawa E, Sadato N (2018. 6.19) Neural bases of social feedback contingent on own performance. OHBM 2018 Annual Meeting (Suntec City, Singapore).
20. Jingu Lee, Hwang T, Nam Y, Jang J, Kim W, Oh SH, Fukunaga M, Jongho Lee (2018.6.20) Applications of magnetic susceptibility source separation: multiple sclerosis lesions and line of Gennari. Joint Annual Meeting ISMRM-ESMRMB 2018 (Paris, France).
21. Li TQ, Wang Y, Fukunaga M (2018.6.20) Detection of BOLD Response in the limbic system to non-invasive stimulation of autonomic nervous system with SMS at 7T. Joint Annual Meeting ISMRM-ESMRMB 2018 (Paris, France).
22. Shin HG, Oh SH, Fukunaga M, Lee D, Nam Y, Ji S, Jung W, Lee J (2018.6.20) A Sequence for High Quality Gradient Echo Myelin Water Imaging (GRE- MWI) at 3T and 7T. Joint Annual Meeting ISMRM- ESMRMB 2018 (Paris, France).
23. Sugawara SK, Fukunaga M, Glasser MF, Yamamoto T, Hamano YH, Sadato N (2018.6.21) The relationship between digit areas and myelin distribution in human primary somatosensory cortex. OHBM 2018 Annual Meeting (Suntec City, Singapore).
24. Nakagawa E, Koike T, Sumiya M and Sadato N (2018.6.22) The neural correlates of semantic and grammatical encoding during sentence production in a second language: evidence from a fMRI study using syntactic priming. BrainConnects 2018 (Nanyang avenue, Singapore).
25. Sugawara SK, Fukunaga M, Glasser MF, Yamamoto T, Hamano YH, Sadato N (2018.6.22) Myelin distribution reflects digit representations in human S1: 7T-MRI study. BrainConnects 2018 (Nanyang avenue, Singapore).
26. Sumiya M, Koike T, Nakagawa E, Sadato N (2018.6. 22) Neural bases of social feedback contingent on own performance. BrainConnects2018 (Nanyang avenue, Singapore).
27. 惠飛須俊彦，福永雅喜，村瀬智一，梅田雅宏（2018.6.30）安静時 fMRI を用いた脳卒中回復期の functional connectivity（第 2 報）.第 55 回日本

リハビリテーション医学会学術集会（福岡，福岡）．

28. Sugawara SK, Fukunaga M, Hamano YH, Yoshimoto T, Sadato N (2018.7.11) Motor engram is encoded in dormant neuronal network. FENS2018 (Berlin, Germany).
29. 中村望，福永雅喜，越久仁敬（2018.7.26）呼吸は想起時の認知パフォーマンスを制御する．第 41 回日本神経科学大会（神戸，兵庫）．
30. 當山峰道，福永雅喜，山口玲欧奈，山本哲也，定藤規弘，伊佐正（2018.7.26）麻酔下サル安静時 fMRI の再現性検討．第 41 回日本神経科学大会（神戸，兵庫）．
31. 橋本直樹，越山太輔，岡田直大，成田尚，福永雅喜，山本真江里，香月あすか，嶋田貴充，柴崎千代，佐藤仁哉，原田健一郎，大井一高，山森英長，鬼塚俊明，伊藤陽一，岡本泰昌，松尾幸治，吉村玲児，笠井清登，尾崎紀夫，久住一郎，橋本亮太，COCORO（2018.7.27）双極性障害患者の皮質下脳体積とリチウム，抗精神病薬投与の関係の検討．第 15 回日本うつ病学会総会（東京）．
32. Koike T (2018.7.28) Neural basis of integrating self with others: Hyperscanning neuroimaging studies. 第 41 回日本神経科学大会（神戸，兵庫）．
33. 宮田紘平，小池耕彦，中川恵理，原田宗子，角谷基文，定藤規弘（2018.8.8）被模倣に伴う快感情には前帯状皮質吻側部が関与する．第５回 COI 夏の研究会（浜松，静岡）．
34. Sugawara SK, Fukunaga M, Glasser MF, Yamamoto T, Hamano YH, Sadato N (2018.8.9) Myelin distribution reflects digit representations in human S1: 7T-MRI study. NIPS-ARIHHP 共同ワークショップ（岡崎，愛知）．
35. Sumiya M, Nakagawa E,　Koike T, Sadato N (2018. 8.9) Neural bases of social feedback contingent on own performance. ヒューマン・ハイ・パフォーマンスの実現を目指した次世代健康スポーツ科学と神経科学の融合・統合. (岡崎).
36. Miyata K, Koike T, Nakagawa E, Harada T, Sumiya M and Sadato N (2018.8.9) Neural correlates underlying the recognition of being imitated. 第２回 NIPS- ARIHHP 共同ワークショップ，ヒューマンハイパフォーマンスの実現を目指した次世代健康スポーツ科学と神経科学の融合・統合（岡崎，愛知）．
37. Koike T (2018.8.10) Neural basis of integrating self with others: Hyperscanning neuroimaging studies. 第二回 NIPS-ARIHHP 共同ワークショップ（岡崎，愛知）．
38. Fukunaga M (2018.8.16) Imaging brain microstructure and function with ultra high field MRI. USC Imaging Genetics Center seminar (California, U.S.A).
39. 菅原翔，福永雅喜，Glasser MF，山本哲也，濱野友希，定藤規弘（2018.8.19）感覚運動皮質における手指領域とミエリン密度分布の関連性．第 12 回 Motor Control 研究会（東京）．
40. 丸山修紀，福永雅喜，菅原翔，定藤規弘 (2018.8.19) 超高磁場 7 テスラ MRI 装置を用いた個人脳計測における皮質下微細構造の同定．第 12 回 Motor Control 研究会（東京）．
41. Koike T (2018.8.22) Neural basis of integrating self with others: Hyperscanning neuroimaging studies. 人と人の間にあること：協調と競合の対人間ダイナミクス（東京）．
42. Koike T (2018.9.7) Shared neural activation as index of social interaction. The 12th ICME International Conference on Complex Medical Engineering (Shimane, Japan).
43. 越山太輔，福永雅喜，岡田直大，山下典生，山森英長，安田由華，藤本美智子，大井一高，藤野陽生，渡邉嘉之，笠井清登，橋本亮太（2018.9.7）統合失調症の皮質下体積と認知・社会機能の相関解析．シンポジウム 本邦における精神疾患の脳画像研究 up-to-date．第 40 回日本生物学的精神医学会（神戸，兵庫）．
44. Miyata K, Yamamoto T, Koike T, Sugawara SK, Fukunaga M, Sadato N (2018.9.7) Neural correlates with temporal pediction during auditory-motor synchronization. 第 2 回ヒト脳イメージング研究会（東京）．
45. Sugawara SK, Fukunaga M, Hamano YH, Yoshimoto T, Sadato N (2018.9.8) Motor engram is encoded in dormant neuronal network. 第 2 回ヒト

脳イメージング研究会（東京）.

46. Yamamoto T, Miura K, Fukunaga M & Sadato N (2018.9.8) Homology of functional cortical areas related to pursuit eye movements and heavily myelinated regions in each human individual. 第 46 回日本磁気共鳴医学会大会（金沢，石川）.
47. Sugawara SK, Fukunaga M, Glasser MF, Yamamoto T, Hamano YH, Sadato N (2018.9.13) The relationship between digit areas and myelin distribution in human primary somatosensory cortex. BrainStorming2018 (神戸，兵庫).
48. Nakagawa E, Koike T, Sumiya M Shimada K, Makita K, Yoshida H, Yokokawa H, and Sadato N (2018.9.29) The neural correlates of semantic and grammatical encoding during sentence production in a second language: evidence from a fMRI study using syntactic priming. 第 8 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）.
49. Sumiya M, Nakagawa E, Koike T, Sadato N (2018.9.29) Neural bases of social feedback contingent on own performance. 第 8 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）.
50. Fukunaga M (2018.10.1) Brain microstructure and function using ultra high field MRI. MPI Human Cognitive and Brain Sciences Department of Neurophysics, Special Seminar (Leipzig, Germany).
51. Sugawara SK (2018.10.2) Motor skills and its interaction with a reward. Seminar (Paris, France).
52. Sugawara SK (2018.10.4) Motor skills and its interaction with a reward. 8th Joint CIN/NIPS Symposium (Tubingen, Germany).
53. Fukunaga M, Tohyama T, Yamaguchi R, Yamamoto T, Yoshida M, Isa T, Sadato N (2018.10.5) Resting state fMRI analysis of anesthetized monkey brain. CIN-NIPS Symposium 2018 (Tubingen, Germany).
54. 定藤規弘（2018.10.26）交感神経活動の脳内ネットワーク．第 71 回日本自律神経学会総会（さいたま，埼玉）.
55. Nakamura NH, Fukunaga M, Oku Y (2018.11.4) Respiratory modulation of cognitive performance during the retrieval process. Neuroscience 2018 (San Diego, U.S.A).
56. 定藤規弘（2018.11.4）脳科学と進化ーサピエンスからネアンデルタールまでー．総合研究大学院大学創立 30 周年記念シンポジウム「人類はどこへ向かうのか」（東京）.
57. Sato H, Numata T, Asa Y, Koike T, Miyata K, Nakagawa E, Sumiya M, Sadato N (2018.11.4) An fMRI investigation on the positive consequences of being imitated by a virtual non-human agent. Neuroscience 2018 (San Diego, U.S.A).
58. 菅原翔（2018.11.5）「睡眠」と「褒め」による記憶の定着促進．応用脳科学コンソーシアム（東京）.
59. Ogino Y, Kawamichi H, Takizawa D, Sugawara SK, Hamano YH, Fukunaga M, Watanabe Y, Toyoda K, Abe O, Sadato N, Saito S, Furui S (2018.11.6) Enhanced functional connectivity correlated with weight-loss at pre-match period in professional boxers. Neuroscience 2018 (San Diego,U.S.A).
60. 大西隆，根本清貴，山下典生，山森英長，安田由華，藤本美智子，工藤紀子，畦地裕統，渡邊嘉之，福永雅喜，橋本亮太（2018.11.14）統合失調症におけるネットワーク障害:グラフ理論による解析．28 回日本臨床精神神経薬理学会（東京）.
61. 定藤規弘，菅原翔，山本哲也，福永雅喜（2018.11.23）7TMRI を用いたヒト神経回路解析．革新脳第二回分科会（東京）.
62. Maruyama S, Fukunaga M, Sadato N （2018.11.27）Visualization of external and internal globus pallidus at 7T MRI. SOKENDAI Life Science Retreat 2018 (Yamanashi, Japan) .
63. Shishido E, Koike T, Okazaki S, Itoh Y, Imoto K, Sadato N, Ozaki N and Fukumura N (2018.12.6) Prediction of hand speed by eye movement when humans trace a line. The 49th NIPS International Symposium (Okazaki, Japan).
64. Sugawara SK, Nakayama Y, Fukunaga M, Yamamoto T, Sadato N, Nihimura Y (2018.12.13) VTA-M1 pathway controbutes to human motivated motor output. 次世代脳プロジェクト冬のシンポジウム 2018（東京）.

65. Sugawara SK, Fukunaga M, Hamano YH, Yoshimoto T, Sadato N (2018.12.22) Motor engram is encoded in dormant neuronal network. 3rd Annual meeting of ISMRM Japanese Chapter (Nagoya, Japan).

《個別研究（毛利研究室》

1. 毛利達磨,（2018・9 月・13 日）棘皮動物卵受精時の膜電流変化と細胞内 Ca 変化 Changes in the membrane current and intracellular Ca^{2+} at fertilization. 日本動物学会第 88 回大会 シンポジウム　棘皮動物を用いたアプローチによる卵成熟と初期発生の仕組みの理解　―これまでの知見と今後の展開―（札幌）　胆振地方地震のため中止 紙上開催
2. 毛利達磨,（2018・12 月・8 日）ウニ，ヒトデの受精時の膜の電気的反応と細胞内 Ca 変化　平成 30 年度日本動物学会中部支部大会　名古屋大学大学院理学研究科菅嶋臨海実験所公開シンポジウム　2020 年代の海洋生物学の展望　生態行動学・進化分類学から海洋天然物化学まで（名古屋）

《個別研究（山肩研究室）》

1. Yamagata Y, Yanagawa Y, Imoto K (2018.7.27) Differential involvement of calmodulin kinase IIα in hippocampus- and amygdala-dependent memory - Analysis using the kinase-dead knock-in mouse. 第 41 回日本神経科学大会（神戸）
2. 山肩葉子, 柳川右千夫, 井本敬二（2018.9.29）海馬記憶と扁桃体記憶は，カルモジュリンキナーゼ IIα 活性によって異なる制御を受けている．第 8 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）
3. Yamagata Y, Yanagawa Y, Imoto K (2018.11.5) Involvement of calmodulin kinase IIalpha in hippocampus- vs. amygdala-dependent memory revealed by kinase-dead knock-in mouse. Neuroscience 2018（San Diego, CA, USA）
4. Yamagata Y, Yanagawa Y, Imoto K (2018.12.6-8) Differential contribution of calmodulin kinase II alpha in hippocampus- and amygdala-dependent memory. The 49th NIPS International Symposium "Ion channels: looking back, seeing ahead"（岡崎）

《個別研究（佐竹研究室）》

1. 佐竹伸一郎, 井本敬二 (2018.7.26-29) エタノールが小脳プルキンエ細胞のグルタミン酸輸送体電流におよぼす影響. 第 41 回日本神経科学大会（神戸）
2. 池田啓子，佐竹伸一郎，南部 篤，知見聡美，川上潔 (2018.8.25-26) Na ポンプ遺伝子異常を原因とするジストニアの病態生理 ― モデル動物の解析から．第 33 回日本大脳基底核研究会シンポジウム『ジストニア，ジストニア？，ジストニア！：基礎と臨床からみた病態と治療』（東京）
3. 佐竹伸一郎, 川上 潔, 井本敬二, 池田啓子 (2018.9.29) ジストニア病態モデルマウス *Atp1a3*$^{+/-}$ における小脳長期抑圧の消失．第 8 回生理研・名大医合同シンポジウム（名古屋）
4. Ikeda K, Satake S, Onimaru H, Kawakami K, Imoto K (2018.10.13-14) Sodium pump and secondary active transporters. 7th Symposium on ATP1A3 in Disease（Chicago, IL）
5. 佐竹伸一郎，川上 潔，井本敬二，池田啓子 (2018.11.28) *Atp1a3* ハプロ不全に伴うニューロン型グルタミン酸輸送体の機能減弱：グリア細胞による補償とその生理的影響．第 41 回日本分

子生物学会年会ワークショップ『Na ポンプ遺伝子変異を原因とする神経疾患の病態生理の理解を目指して』（横浜）

6. Satake S, Kawakami K, Imoto K, Ikeda K (2018. 12.5-8) Impaired cerebellar long-term depression (LTD) in dystonia-model mice *Atp1a3*$^{+/-}$. 第 49 回生理研国際シンポジウム『Ion channels: looking back, seeing ahead』（岡崎）

《形態情報解析室》

1. 村田 和義，ソン チホン，戸高 玲子，芳賀 圭，藤本 陽，横山 勝，宮崎 直幸，岩崎 憲治，片山 和彦（2018.5.29-31）マウスノロウイルスキャプシドのクライオ電子顕微鏡単粒子構造解析. 日本顕微鏡学会第 74 回学術講演会（久留米）
2. 永谷 幸則，富田 雅人，新井 善博，村田 和義（2018.5.29-31）収束レーザーの局所的電場加速による完全非接触の位相差 TEM 法の開発. 日本顕微鏡学会第 74 回学術講演会（久留米）
3. 宮崎 直幸，内山 淳平，松崎 茂展，村田 和義，岩崎 憲治（2018.5.29-31）クライオ電子顕微鏡による黄色ブドウ球菌ファージ S13’の近原子分解能単粒子解析. 日本顕微鏡学会第 74 回学術講演会（久留米）
4. 堤 研太，中道 優介，宮崎 直幸，東浦 彰史，成田 宏隆，清水 巧，一木 珠樹，大村 敏博，村田 和義，中川 敦史（2018.5.29-31）クライオ電顕によるイネ萎縮ウイルスの階層的な外殻キャプシド構造構築機構の解明. 日本顕微鏡学会第 74 回学術講演会（久留米）
5. 香山 容子，ソン チホン，武村 政春，村田 和義（2018.5.29-31）クライオ電子顕微鏡による新規巨大ウイルス Medusavirus の単粒子構造解析. 日本顕微鏡学会第 74 回学術講演会（久留米）
6. 角田 潤，ソン チホン，薬師寺 Lica Fabiana，村田武士，上野 博史，宮崎 直幸，岩崎 憲治，高木 淳一，飯野 亮太，村田 和義（2018.5.29-31）位相差クライオ電子顕微鏡による腸球菌 V-ATPase の単粒子構造解析. 日本顕微鏡学会第 74 回学術講演会（久留米）
7. 臼田 信光，大野 伸彦，深澤 元晶，村田 和義，野田 亨（2018.5.29-31）SBF-SEM による肝細胞内ゴルジ装置の立体構造観察. 日本顕微鏡学会第 74 回学術講演会（久留米）
8. 富田 雅人，永谷 幸則，新井 善博，村田 和義（2018.5.29-31）フレネルゾーンプレートを用いた位相コントラストＳＴＥＭの試み. 日本顕微鏡学会第 74 回学術講演会（久留米）
9. Chihong Song, Reiko Todaka, Kei Haga, Akira, Fujimoto, Masaru Yokoyama, Naoyuki Miyazaki, Kenji Iwasaki, Kazuhiko Katayama, Kazuyoshi Murata（2018.5.29-31）Capsid structure of Murine Norovirus S7 revealed by cryo-electron microscopy. 日本顕微鏡学会第 74 回学術講演会（久留米）
10. Hiroyuki Ogata, Genki Yoshikawa, Romain Blanc-Mathieu, Chihong Song, Yoko Kayama, Tomohiro Mochizuki, Kazuyoshi Murata, Masaharu Takemurata（2018.6.17-21）A Giant Virus From a Freshwater Environment With a Full Set of Histone Genes. Aquatic Virus Workshop 9（Nebraska, USA）
11. 小林 直也，稲野 紘一，笹原 健嗣，佐藤 高彰，宮澤 佳甫，福間 剛士，HECHT Michael H., SONG Chihong, 村田 和義，新井 亮一（2018.6.26-28）蛋白質ナノブロック ePN-Blocks による自己集合超分子ナノ構造の創製と解析. 第 18 回日本蛋白質科学会年会（新潟）
12. Masaharu Takemura, Genki Yoshikawa, Keita Aoki, Tomohiro Mochizuki, Romain Blanc-Mathieu, Chihong Song, Kazuyoshi Murata, Hiroyuki Ogata（2018.7.11-13）Molecular phylogenetic analysis of Acanthamoeba castellanii medusavirus Acanthamoeba castellanii medusavirus. 日本微生物生態学会第 32 回大会（沖縄）
13. 小林 直也，稲野 紘一，笹原 健嗣，佐藤 高彰，宮澤 佳甫，福間 剛士，HECHT Michael, SONG Chihong, 村田 和義，新井 亮一（2018.7.11-13）デノボタンパク質ナノブロック ePN-Blocks による自己集合超分子ナノ構造の創製と解析. 第 70

回日本生物工学会大会（大阪）

14. Kazuyoshi Murata（2018.9.5）Zernike cryo-EM and High-voltage cryo-ET at Okazaki. ASCEM Grand Opening Symposium and Workshop （ Taipei, Taiwan）
15. 角田 潤 , ソン チホン, 薬師寺 Lica Fabiana, 村田 武士, 上野 博史, 宮崎 直幸，岩崎 憲治，高木 淳一, 飯野 亮太, 村田 和義（2018.9.15-17）位相差クライオ電子顕微鏡単粒子解析法を用いた腸球菌 V-ATPase の構造解析. 日本生物物理学会第 56 回年会（岡山）
16. ソン チホン，戸高 玲子，三木 元博，芳賀 慧，藤本 陽，横山 勝，宮崎 直幸，岩崎 憲治，片山 和彦，村田 和義（2018.9.15-17）マウスノロウイルス MNV-S7 のクライオ電顕単粒子構造解析. 日本生物物理学会第 56 回年会（岡山）
17. Naoyuki Miyazaki, Jumpei Uchiyama, Shigenobu Matsuzaki, Kazuyoshi Murata, Kenji Iwasaki（2018. 9. 15-17）The near-atomic resolution cryo-EM structure of the infectious Staphylococcus bacteriophage S13'. 日本生物物理学会第 56 回年会（岡山）
18. 吉川 元貴，Romain Blanc-Mathieu，望月 智弘，Chihong Song，村田 和義，緒方 博之，武村 政春（2018.10.27）アカントアメーバに感染する新規ウイルス Medusavirus のゲノム解析. 環境ウイルス研究集会（京都）
19. 上尾 達也, 竹市 裕介, 宮崎 直幸, 村田 和義, 泰山 浩司, 井上 加奈子, 久保 英夫, 梶村 直子, 高野 城, 大森 敏明, 北條 賢, 髙屋 英知, 栗原 聡, 尾﨑 まみこ（2018.10-29-31）昆虫嗅覚感覚子内の受容突起ネットワークの実態と作動性の数理シミュレーション. 日本味と匂学会第 52 回大会（大宮）
20. 小林 直也, 稲野 紘一, 笹原 健嗣, 佐藤 高彰, 宮澤 佳甫, 福間 剛士, HECHT Michael, ソン チホン, 村田 和義, 新井 亮一（2018.11.16）タンパク質ナノブロック ePN-Blocks による超分子ナノ構造複合体の創製と解析. 酵素工学研究会第 80 回講演会（東京）
21. Yusuke Takeichi, Tatsuya Uebi, Naoyuki Miyazaki, Kazuyoshi Murata, Kouji Yasuyama, Kanako Inoue, Hideo Kubo, Naoko Kajimura, Jo Takano, Toshiaki Omori, Mamiko Ozaki（2018.11.22-25）Putative Neural Network within an Olfactory Sensory Unit for Nestmate and Non-nestmate Discrimination in the Japanese Carpenter Ant: The Ultrastructures and Mathematical Simulation. 日本比較生理生化学会第 40 回大会（神戸）
22. 小林 直也, 稲野 紘一, 笹原 健嗣, 佐藤 高彰, 宮澤 佳甫, 福間 剛士, HECHT Michael, SONG Chihong, 村田 和義, 新井 亮一（2018.11.28-30）人工タンパク質ナノブロック ePN-Blocks による自己集合超分子ナノ構造の創製と解析. 第 41 回日本分子生物学会年会（横浜）
23. 内橋 貴之, 渡辺 洋平, 内山 進, 村田 和義, 飯野 亮太,（2018.11.28-30）高速 AFM・ネイティブ質量分析・超遠心分析・電子顕微鏡の複合解析で明らかにする分子シャペロン ClpB の多量体構造とダイナミクス. 第 41 回日本分子生物学会年会（横浜）
24. 広瀬 侑, Chihong Song, 渡辺 麻衣, 村田 和義, 池内 昌彦, 浴 俊彦（2019.3.6）ゲノム情報に基づくシアノバクテリアの光合成アンテナ調節の進化の解析. 第 13 回日本ゲノム微生物学会年会（東京）
25. 村田 和義（2019.3.28）クライオ電子顕微鏡によるウイルス粒子構造およびその感染機構の構造解析. 第 124 回日本解剖学会総会・全国学術集会（新潟）

《多光子顕微鏡室》

1. 柴田明裕，村越秀治 (2018.3.6) Development of a genetically encoded photo-activatable CaMKII and its application to the study of synaptic plasticity. 第 7 回 新潟脳研－霊長研－生理研合同シンポジウム（愛知）
2. 村越秀治 (2018.6.8) Optical manipulation and

imaging of signaling molecules in dendritic spines of neurons. 第 70 回日本細胞生物学会第 51 回日本発生生物学会合同学会（東京）

3. 柴田明裕，村越秀治 (2018.6.30) 蛍光寿命イメージングと光応答性プローブを用いたシナプス可塑性研究．第 27 回　神経行動薬理若手研究者の集い（愛知）
4. 柴田明裕，村越秀治 (2018.9.29)　Development of a genetically encoded photo-activatable CaMKII for the study of synaptic plasticity．第 8 回生理研・名大合同シンポジウム（愛知）
5. 村越秀治　(2018.11.20) 光らない蛍光タンパク質で細胞内生化学反応を見る．第 3 回ルミノジェネティクス研究会　(宮城)

《生体機能情報解析室》

1. 近添淳一，Quang Trung Pham，吉本隆明，丹羽開紀, 定藤規弘 (2018.9.29) 深層学習と機能的 MRI の融合により明らかにされた視覚価値変換処理の神経基盤．第 8 回生理研・名大医合同シンポジウム（名古屋，愛知）．
2. Chikazoe J, Pham QT, Yoshimoto T, Niwa H, Sadato N (2018.10.5) How and where is vision transformed to value?: A combinatory study of fMRI and deep learning. CIN-NIPS Symposium 2018 (Tubingen, Germany).
3. 近添淳一，Quang Trung Pham，吉本隆明，丹羽開紀，定藤規弘（2018.12.13）深層学習と機能的 MRI の融合により明らかにされた視覚価値変換処理の神経基盤．次世代脳プロジェクト冬のシンポジウム 2018（東京）．

《遺伝子改変動物作製室》

1. Goto T, Hirabayashi M, Watanabe Y, Sanbo M, Tomita K, Maeda K-I, Inoue N, Tsukamura H, Uenoyama Y. (2018.3.18) Testosterone supplementation restores spermatogenesis and the fertilization ability of sperms in Kiss1 knockout male mice. The 100th Annual Meeting of the Endocrine Society's (Chicago, IL, USA)
2. 長江 麻佑子, 余郷 享子, 後藤 哲平, 三宝 誠, 平林 真澄, 井上 直子, 束村 博子, 前多 敬一郎, 上野山 賀久. (2018.3.28) GnRH パルスおよびサージジェネレーターの同定を目的とした Kiss1-floxed ラットの作出. 第 124 回日本畜産学会 (東京)
3. 後藤 哲平, 余郷 享子, 保地 眞一, 平林 真澄. (2018.5.16) 前核注入時の Cas9 nuclease デリバリー様式がラット胚盤胞の変異モザイク発生頻度に及ぼす影響. 第 65 回日本実験動物学会 (富山)
4. 小林 俊寛. (2018.7.13) 多能性幹細胞とモデル動物を用いてヒト生殖細胞の起源を探る. 第 34 回日本霊長類学会大会 (東京)
5. 小林 俊寛. (2018.9.13) ヒト初期発生，とくに生殖細胞への運命決定機構の解明に向けた複合的アプローチ. 第 111 回日本繁殖生物学会 (上田)
6. 滝澤 明子, 後藤 哲平, Nadiya Sosonkina, Jozef Lazar, Howard Jacob, Melinda Dwinell, 平林 真澄. (2018.9.14) 未診断患者における MAPK1 遺伝子の模倣変異を有するラットモデルの作製. 第 111 回日本繁殖生物学会 (上田)
7. 長江 麻佑子, 後藤 哲平, 余郷 享子, 三宝 誠, 平林 真澄, 小林 憲太, 井上 直子, 束村 博子, 前多 敬一郎, 上野山 賀久. (2018.9.15) 弓状核特異的 Kiss1 KO ラットを用いた GnRH パルス発生機構の同定. 第 111 回日本繁殖生物学会 (上田)
8. 知念 照一朗, 山中 貴寛, 平林 真澄, 保地 眞一. (2018.9.15) ナイロンメッシュデバイスで一度に大量のウシ成熟未受精卵をガラス化保存できるか？ 第 111 回日本繁殖生物学会 (上田)
9. 山中 貴寛, 中山 研祐, 平林 真澄, 保地 眞一.

(2018.10.25) ガラス化保存したラット膵島の蘇生率に及ぼすレスベラトロールの影響. Cryopreservation Conference 2018 (岡崎)

10. 小林 俊寛. (2018.11.16) 動物の幹細胞・初期胚を用いた臓器再生と初期発生研究. 第 88 回信州実験動物研究会勉強会 (松本)

11. 増田 風子, 足澤 悦子, 梅田 茉奈, 林 哲太郎, 三宝 誠, 平林 真澄, 二階堂 愛, 八木 健. (2018.11.28) 大脳皮質神経細胞を用いた Patch-Seq 法によるクラスター型プロトカドヘリン発現パターンと細胞系譜依存的シナプス結合パターンの解析. 第 41 回日本分子生物学会 (横浜)

《動物実験センター》

1. 浦野　徹（2018.4）日本実験動物学会が主催する動物実験に関する外部検証事業を巡って。日本実験動物技術者協会東海北陸支部・東海実験動物研究会共催第 2 回（平成 30 年度）春期大会（名古屋）
2. 浦野　徹（2018.5）動物実験，3,000 人の市民意識調査の結果より～わたしたちにできること～，動物実験の必要性を広く国民に理解して戴くために。第 65 回日本実験動物学会総会（富山）
3. 浦野　徹（2018.7）外部検証プログラムの理念・目的・概要，外部検証促進のための人材育成プログラム教育講習会（平成 30 年度）。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）
4. 浦野　徹（2018.7）ライフサイエンス研究と動物実験の規制の経緯と考え方。国立研究開発法人科学技術振興機構研究開発戦略センター特別講義（東京）
5. 浦野　徹（2018.9）: 外部検証プログラムの理念・目的・概要，外部検証促進のための人材育成プログラム教育講習会（平成 30 年度）。公益社団法人日本実験動物学会主催，文部科学省後援（仙台）
6. 藤田涼太郎，太田里美，大麻孝志，加納恵梨，窪田美津子，廣江猛，乾守裕，王振吉，浦野徹（2018.10）偽妊娠マウス作製向上に向けた取り組み。第 52 回実験動物技術者協会総会（熊本）
7. 乾守裕，廣江猛，吉村伸明，王振吉，浦野徹（2018.10）おむつ尿漏れ感知センサーを利用したマウス飼育ケージ内漏水事故早期発見対策。第 52 回実験動物技術者協会総会（熊本）
8. 王　振吉（2019.2）動物実験施設における緊急時の対策。自然科学研究機構動物実験教育委訓練講習会特別講義（愛知）

《生命システム構築研究グループ》

1. Iwatsuki K., Imai H., Ninomiya Y., Jiang P., Sato K., Yamane T., and Oishi Y. (2018.9.5~2018.9.8) Generation of a taste organoid from non-human primate. (XXVIIIth Annual Meeting of the European Chemoreception Research Organization (Würzburg, Germany)
2. 佐藤　幸治（2018.10.30~2018.11.1）気液界面を構成するマイクロスケール液相中での匂い物質移動計測．第３５回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム（札幌）

【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 ･･･ 136
2.　陸上進出に伴う環境変化と動物のもつ体性感覚受容の仕組み･･･ 136
3.　Ca チャネルのカルモジュリンによる調節機構 ･･･ 137
4.　原発性アルドステロン症における腎障害機序の解明･･･ 138
5.　バリア蛋白質による Na 輸送調節機構の解明 ･･･ 138
6.　タイトジャンクション形成と負荷張力との関係の形態学的解析･･･ 139
7.　細胞境界の湾曲構造形成のメカニズムの解明･･･ 139
8.　軟骨魚類の温度受容体 TRP ファミリーの機能解析･･･ 140
9.　皮膚表皮バリア形成における生理学的解析･･･ 141
10.　脳の冷温度感受性 TRPM8 チャネルによる体温調節機構 ･･･ 142
11.　温度生物学を用いた難治性てんかんへの新規治療法の確立･･･ 142
12.　TRPV4 の味細胞における温度感受性への関与 ･･･ 143
13.　筋組織におけるイオウ呼吸の生理的意義の解明･･･ 144
14.　真核生物における RNA 分解制御機構の解明 ･･･ 144
15.　マウス心筋前駆細胞 ACMs の起源および生理的意義の解明 ･･･ 145
16.　ドキソルビシン心筋症に対するアルブミン・チオレドキシン融合体の有用性評価･･･ 146
17.　皮質興奮性神経細胞サブタイプと分化時期の関係解析･･･ 146
18.　AMPA 型グルタミン酸受容体のシナプス内発現様式のシナプス可塑性における意義の解析 ･･･ 147
19.　海馬抑制性神経細胞の入力コネクトーム解析･･･ 147
20.　視線制御に関与するニューロン・神経回路特性･･･ 148
21.　細胞系譜依存的シナプス形成における NMDA 受容体の役割を解明する･･･ 149
22.　大脳皮質視覚野における反応選択性を担う分子機構･･･ 149
23.　顔を手がかりとした他者の情動理解における上丘の役割の解明･･･ 150
24.　ヒト・サル間トランスレータブルタスクの開発と応用･･･ 150
25.　We-mode の神経基盤の解明 ･･･ 151
26.　グリピカン（GPC）5 の細胞内機能解析 ･･･ 152
27.　ジストニアパーキンソニズム等神経疾患病態モデルマウスを用いた神経機能の解析 ･･･ 152
28.　辺縁皮質刺激に対する大脳基底核ニューロン応答･･･ 153
29.　不随意運動発生のメカニズムの解析･･･ 154
30.　神経麻痺性角膜症に対する TRP チャネルと標的とした治療 ･･･ 154
31.　チック症の病態メカニズム解析･･･ 155
32.　前頭皮質 6 層錐体細胞の局所回路における標的選択性･･･ 155
33.　睡眠調節におけるグリア細胞の役割：星状細胞突起のシナプスでの構造的可塑性の分析･･･ 156
34.　ノロウイルスの高分解能構造解析･･･ 156
35.　クライオ電子顕微鏡によるウルトラファインバブル細胞内取り込み機構の解明･･･ 157
36.　真核生物の繊毛構築のための輸送機構の構造学的解明･･･ 157
37.　新規蚊媒介性ウイルスの三次元構造解析･･･ 158
38.　Using Zernike phase plate cryo-EM(ZEM) to facilitate the study of RNA polymerase Ⅲ complexes and telomerase ･･･ 158
39.　臓器欠損ラット胚盤胞へ注入したウシ ICM 細胞の臓器再生能力･･･ 160
40.　ドーパミンが規定する細胞膜興奮性制御の分子基盤解明･･･ 160
41.　新生児黄疸モデルマウスの脳神経の発達についての研究･･･ 161
42.　2 型糖尿病性上皮障害における SGLT 阻害剤の薬理作用 ･･･ 161
43.　蚊の唾液の鎮痛効果に関する研究･･･ 162
44.　フィコビリソームの構造と光調節の多様性の解析･･･ 163
45.　霊長類 iPS 細胞を用いた生殖細胞の分化誘導と遺伝子発現解析･･･ 163

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）
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性神経毒は Na と K チャネル毒の二つに大別される。いずれも他の生物毒にはない特異な作用機構を示すことから，イオンチャネル研究のための貴重な薬理学的試薬として, 有効利用されている。また医薬品の分野では，カリブ海産の *Stichodactyla helianthus* から単離された K チャネル毒 Sh K をモデルに多発性硬化症の治療薬が開発されている。その一方で，代表者はこれまでに，従来の分類に当てはまらない一次構造を有したペプチド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，これまでに単離した新規ペプチド毒の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いる。

本年度は，サワガニに麻痺活性（反転させても起き上がれなくなる状態）を示した二つの新規ペプチド毒（ヒダベリイソギンチャク近縁種由来の Toxin I，ムラサキハナギンチャク由来の Cf I）の作用機構の解明を目的として，毒成分の精製を行った。

毒成分の精製は，試料をホモジナイズし，その一部を 5 倍量の水で抽出して粗抽出液とした。粗抽出液をサワガニに対する致死や麻痺といった毒性を指標にして，サイズ排除クロマトグラフィー（Sephadex G-50）および逆相 HPLC（TSKgel ODS-120T）に順次供して，目的物を精製した。

ヒダベリイソギンチャクの近縁種から精製した Toxin I は，溶血活性を示すペプチド毒として，30 年ほど前にヒダベリイソギンチャク *Metridium senile* から単離された metridin と，ほぼ同一の配列をしている。Metridin は，単離後の詳細な研究は行われず，溶血活性以外の報告はないが，大変興味深いことに，前述の医薬品のモデル分子となった Sh K と相同性を有している。しかしながら，Sh K において K チャネル毒性の発現に重要とされているアミノ酸残基を一部欠いているなど，従来のイソギンチャクの K チャネル毒とは明らかに系統が異なる配列であり，その作用機構の解明が望まれる。

一方，ムラサキハナギンチャク由来の Cf I は，非常に多くの生物種から単離されている増殖因子 granulin と高い相同性を有している。Granulin ファミリーは増殖因子としての機能以外にも，抗菌活性やトロンビン阻害活性など多様な生理活性を有することで知られているが，これまでに毒として機能している報告はない。

現在，精製した毒成分について，アフリカツメガエルの卵母細胞に発現させた Kv1.2, 1.3, 1.4, 2.1, 3.4, hERG, Kir に対する作用を 2 本刺し膜電位固定法によって解析している。

2. 陸上進出に伴う環境変化と動物のもつ体性感覚受容の仕組み

齊藤　修，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）

本研究では，外界侵害刺激の主要センサーである TRPV1 及び TRPA1 が，動物の陸生化に伴いどう機能変化したかを明らかにする。これまでの 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。また，有尾両生類アホロートルの TRPA1 の研究では, 41℃付近に閾値をもつ高温応答性が検出され，魚類 TRPA1 の「閾値が不明瞭な緩徐な高温活性化」は，有尾両生類から陸上動物型に変化したと考えらえれた。一方，アホロートルは 16℃-20℃の水温に適応している為，この TRPA1 の高温閾値は比較的高く, 水温適応には TRPV1 が機能しているのかもしれないと考えられ，本年はアホロートル TRPV1 の単離・機能解析をまず試みた。

アホロートルの EST データベースに見出された TRPV1 様配列を頼りにアホロートル全長 cDNA を単離し，配列

を決定した。しかし，取得された配列は，分子系統的にはTRPV2に近くTRPV1ではないと考えられた。そこで，次に既知の各動物のTRPV1間の保存アミノ酸配列（膜貫通部）を元にSeebacherら(2007)が設計したプライマーを用いた混合プライマーPCR により，更にアホロートルTRPV1(axTRPV1)を探索した。そして，前述のTRPV2とは異なる新たな分子の全長cDNAを単離した。配列決定の結果，このaxTRPV1 cDNAは典型的なTRPV1をコードし，そのアミノ酸配列は，ニシツメガエルTRPV1に高い相同性（71%）を示した。よって，やはり魚類に存在しないTRPV2は両生類以上でTRPV1から分岐したと考えられた。次にこのcDNAをカエル発現ベクターに組み込み機能解析を試みた。結果，axTRPV1のcapsaicin，2-APB，酸に対する応答が検出された。特に，capsaicinに対する感度は，ラットより低いが，ニシツメガエルより高いと考えられた。また，温度応答性について解析すると，顕著な高温応答性を示し，約31℃に明確な閾値をもつことが明らかになった。この閾値温度は，これまで報告されたTRPV1の高温閾値で最も低いものであり，アホロートルの低温適応性によく一致すると考えられた。

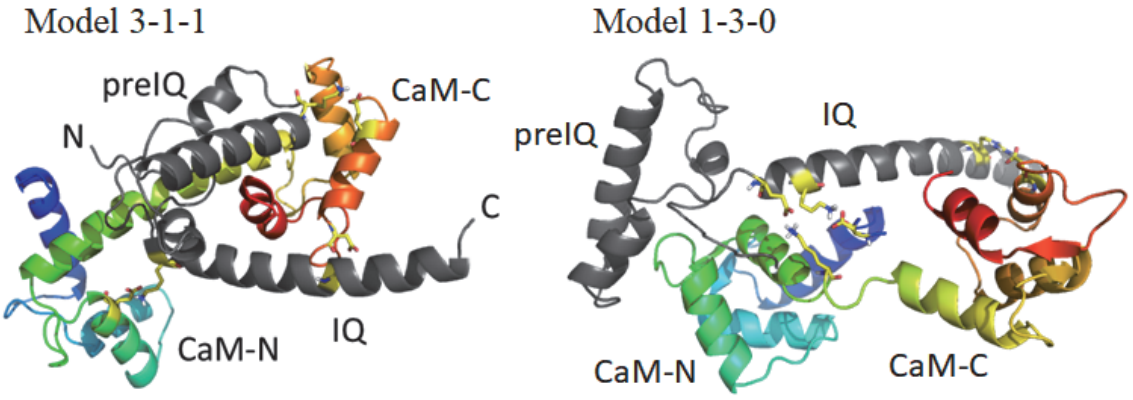
また，昨年に引き続き魚類 TRPV1 の機能解析を行った。これまでの研究で，メダカの2種のTRPV1（olTRPV1aとb）の内，olTRPV1bが浸透圧応答性を示すことが分かっていた。即ち，両生類以上でTRPV1から分岐したTRPV2の浸透圧応答性が魚類のメダカのTRPV1には備わっていると考えられた。そこで，ゼブラフィッシュのTRPV1にも浸透圧応答性があるかを検討した。結果，メダカ同様の浸透圧応答性が検出され，TRPV2 を持たない魚類TRPV1の共通の性質と考えられた。

3. Ca チャネルのカルモジュリンによる調節機構

亀山正樹，徐　建軍，蓑部悦子，高　青華（鹿児島大学大学院医歯学総合研究科）
久保義弘，立山充博，下村拓史（生理学研究所神経機能素子研究部門）

Cav1.2型Caチャネルとカルモジュリン（CaM）の結合を，分子構造シミュレーションプログラムを用いて検討した。使用したプログラムは，I-TASSER, ClusPro, FastContact, PyMol，Igor Proなどであった。

先ず，CaチャネルのC末部にあるCaM結合領域preIQ-IQのペプチドの構造モデルをI-TASSERで４つ選び，また，CaMの構造をProtein Data Bankから５つ取得し，４x５通りのドッキングシミュレーションをClusProで行い，高いscoreの結合モデルをそれぞれで３つ選び，合計60通りのモデルを得た。さらに，それらのモデルにおけるアミノ酸レベルでの相互作用をFastContactで解析し，結合エネルギーの低い組み合わせ11モデルを得た。この中から，preIQやIQペプチドとCaMの結合を蛍光偏光法により調べた過去の報告（Evans et al., 2011）を参照して，最も可能性の高いと思われる結合モデル２つを得た。そのモデルは，preIQ-IQペプチドのIQ部分とCaMのN末部およびC末部がparallelに結合する様式であった（図参照）。

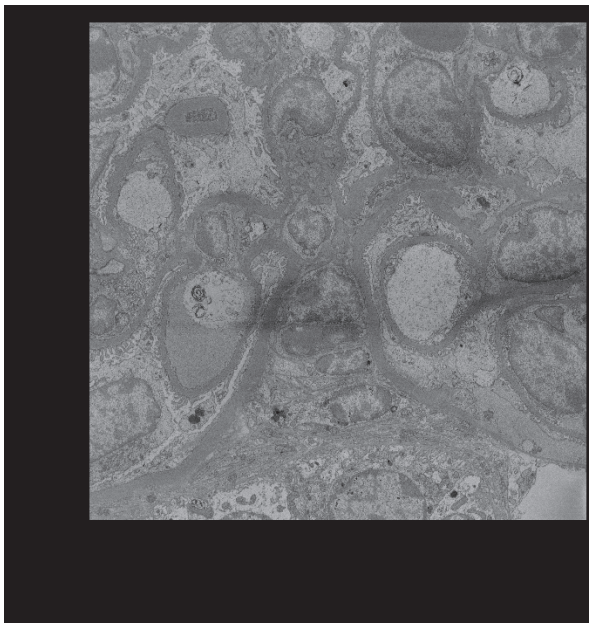


4. 原発性アルドステロン症における腎障害機序の解明

笹野公伸（東北大学大学院医学系研究科病理診断学分野）
大野伸彦（自治医科大学解剖学講座組織学部門，生理学研究所分子細胞生理研究領域）
高木孝士（昭和大学医学部解剖学講座顕微解剖学部門）
山﨑有人（東北大学大学院医学系研究科病理診断学分野）
尾形博子（東北大学病理診断学分野）

原発性アルドステロン症（PA）は全高血圧の 5-10%を占める最も頻度が高い内分泌疾患であり，心血管障害の合併頻度は本態性高血圧症より極めて高い。本研究計画は PA 症例に対し副腎摘除術施行時に鏡視下腎生検を施行し，先端電子顕微鏡を用いて，アルドステロンの腎障害の詳細な障害部位，機序を解明する事を目的としている。実際に成人 PA 症例において副腎摘除術施行時に採取された腎生検組織および副腎組織を透過型電子顕微鏡（TEM）による超微形態学的な通常観察用の試料と 3 次元的超微形態学的解析用の試料に分け，生理学研究所のミクロトーム組込み型走査電子顕微鏡(SBF-SEM)により連続切片画像取得と 3 次元再構築を行い，腎糸球体構成細胞（特に内皮細胞）および尿細管細胞におけるミトコンドリアの形状や体積，尿細管間質におけるマトリックス産生，副腎においてはミトコンドリアや小胞体の形状等について 3 次元的超微形態解析を行う事を目的としている。本年度は 3 回の来所にて，ヒト組織を扱う前段階の先行研究としてマウスより採取した諸臓器の組織を用いて，3D SBF-SEM の観察に最適化な試料作製および撮像方法につき実施，検討した。

マウスより採取した腎組織を浸漬固定し, ブラックカーボンを含むエポン樹脂に包埋後, 3D SBF-SEM にて観察を行った。特に糸球体に着目し，血管極周囲の領域を描出し観察した。その際に撮像した代表写真 1 枚を添付資料として提出する。本研究計画は引き続き継続する予定であり，同様の試料作製過程を用いて，ヒト腎組織では血管極の硝子化の観察，糸球体の肥大等の観察を行う予定である。副腎組織についてはミトコンドリアの形状を画像解析ソフト（Microscopy Image Browser）によるセグメンテーション化の後，行う予定である。



5. バリア蛋白質による Na 輸送調節機構の解明

石塚典子（静岡県立大学食品栄養科学部）
古瀬幹夫（生理学研究所）

タイト結合（TJ）は上皮細胞同士が最も密に結合した部位であり，物質の透過を制限するバリア機能や，傍細胞経路のイオンなどの選択的透過性に寄与している。2 細胞間の接着に関してはクロージンファミリーが同定され，TJ の主要な構成タンパク質であることが示されている。クロージンファミリーは 20 を超えるメンバーで構成され，多くの上皮細胞では複数のタイプのクロージンが発現している。TJ では複数のクロージンが複雑に組み合わさっ

てイオン透過性やバリア機能を調節していると考えられているが，個々のクロージンの役割については明らかにされていない。本研究では，内因性のクロージンを欠損させた細胞に，クロージン 2, 3, 7, 10b, 15 を単独で発現させ，それぞれのイオン透過性を検討した。クロージン 2, 10b または 15 を発現させた細胞では Cl^-透過性より Na^+透過性が高く，クロージン 2, 10b, 15 が陽イオン選択性を持つことが示唆された。クロージン 3 または 7 を発現させた細胞では Na^+および Cl^-の透過性は共に低く，クロージン 3, 7 がバリア機能を担っている可能性が示された。今後，他のクロージンや，２つ以上の組み合わせについても検討していきたいと考えている。

また，3 つの細胞が合わさる部分（トリセルラーTJ：tTJ）の調節機構については tTJ に特異的に発現するタンパク質として LSR が同定されているが，未だその生理機能に関しては不明な点が多い。予備的検討において，LSR の腸管特異的ノックアウト（cKO）マウスでは野生型と比較して，小腸上部での栄養素吸収の低下や，TJ の Na 透過性の低下が観察されている。これらの LSR 欠損による変化は，Na^+/H^+交換輸送体（NHE3）や Na 依存性栄養素吸収輸送体など栄養素吸収細胞に存在するいくつかの輸送体が影響している可能性が高い。そこで，マウス小腸を用いて NHE3 の免疫組織染色を試みたが，現時点で明瞭な染色像が得られていない。引き続き染色条件などを検討していく予定である。

6. タイトジャンクション形成と負荷張力との関係の形態学的解析

米村重信（徳島大学・大学院医歯薬学研究部）

電子顕微鏡観察試料として凍結割断レプリカを作製をする共同研究であったが，試料調製に必要な凍結割断装置が故障したため，期間内に実施できなかった。担当部門教授より，同じ装置で凍結割断レプリカを作製している文部科学省科学研究費助成事業・新学術領域研究（学術研究支援基盤形成）先端技術基盤支援プログラム「先端バイオイメージング支援プラットフォーム」の電子顕微鏡支援（福井大学）の紹介を受け，応募のうえ採択されたので，同プラットフォームにて実験を行った。

7. 細胞境界の湾曲構造形成のメカニズムの解明

三浦　岳，杉原　圭（九州大学）

上皮細胞のシートは細胞間接着装置によって細胞が密に結合することで形作られる。この際，腎尿細管など一部の細胞では，細胞接着装置に特徴的な湾曲が見られることがある。この様な湾曲構造は上皮を介した物質輸送の調節に用いられていると考えられているが，その生成メカニズムは明らかではない。本研究では，細胞生物学的手法と数理モデリングを組み合わせて，細胞境界の湾曲構造形成のメカニズムを解明することを目的とする。

まず，古瀬研究室で所有する ZO1-EGFP を発現する MDCK 細胞で，湾曲構造形成のダイナミクスの観察を行った。細胞培養系で生じる湾曲構造は基本的にはオーバーハングが存在しないので一次元とみなすことができ，周期構造というよりもさまざまな周波数成分が混合したパターンだった。また，固定したパターンが生じるのではなく，生体由来の揺らぎで変形を続けるダイナミックな構造であることも明らかになった（図 a,b）。さらにフーリエ変換で周波数特性を見ると，両対数グラフで波数と周波数成分の振幅の間で傾き 1 の直線になることがわかった（図 c）。

さらに，このようなパターンを生じるモデルとして Edwards-Wilkinson 方程式

$$\frac{\partial h}{\partial t} = d\frac{\partial^2 h}{\partial x^2} + \eta(x,t)$$

を用い，ダイナミクスを再現した。この方程式は，各時

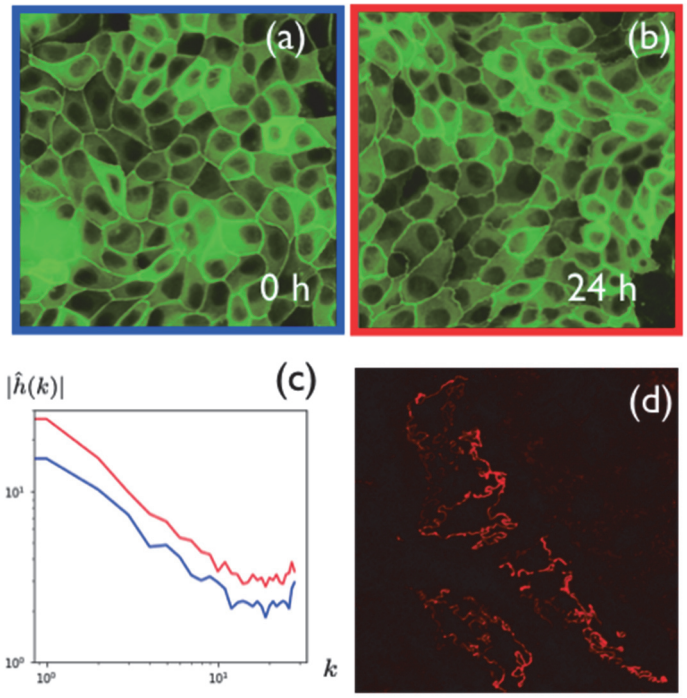
刻に入るノイズが継続的に膜を変形させるが，膜が長さを元に戻そうとすることで変形が緩和されるような系である。さらに Edwards-Wilkinson 方程式から生成されるパターンの周波数の標本平均の周波数特性は，観察された特性と同等であることを数理解析で示した。

生体内の腎尿細管では細胞境界はもっと極端な湾曲を示す（図 d）。このメカニズムを探るため，まずマウスの各発達段階の腎臓の免疫染色を行なった。これは杉原が生理研の古瀬研究室を訪問して技術指導を受け，九州大学内でマウスの胎児を用いてデータ取得を行なっている。

また，このようなオーバーハングがあるような系では単純に高さ関数で一次元の系とみなすことができない。そこで，弧長 s と局所曲率 κ を用いた Edwards-Wilkinson 方程式と同等の支配方程式

$$\frac{\partial \kappa}{\partial t} = d\frac{\partial^2 \kappa}{\partial s^2} - \frac{\partial^2 \eta}{\partial s^2} + d\kappa^3 - \kappa^2 \eta$$

を導出した。現在，数値的にこの支配方程式の周波数特性を調べている。



8. 軟骨魚類の温度受容体 TRP ファミリーの機能解析

小竹純可，勝　義直（北海道大学大学院理学研究院）
齋藤　茂・富永真琴（生理学研究所／生命創成探究センター）

温度受容体である TRP ファミリーは無脊椎動物から脊椎動物まで幅広く発現しており，生体内の恒常性維持に重要な機能を発揮すると同時に，ヒトでは疾患とも関連があることが分かっている。しかし，脊椎動物の進化に際して TRP ファミリー遺伝子がどのように出現したのか，どのように生理機能を獲得するようになったのか，種間による感受する温度の差異はどのようになっているのか，などの分子進化メカニズムはいまだ不明である。私たちの研究グループは，昨年度の共同研究において軟骨魚類であるゾウギンザメの TRPV 1 と TRPV3 の機能を調べ，カプサイシンなどの化学物質による応答を明らかにした。今年度は，ゾウギンザメの TRPV1，TRPV3，TRPV4 の機能解析をさらに進めた。まず TRPV1 では，活性化温度閾値をアレニウスプロットを用いて解析した。その結果，

ゾウギンザメ TRPV1 の活性化温度は31.4℃であることが判明した。次に TRPV4 の解析を行った。ゾウギンザメの TRPV4 は，TRPV4 のアゴニストである GSK1016790A に応答することがわかった。さらに温度感受性を調べたところ，哺乳類では TRPV4 は暖かい温度域で活性化することが報告されているが，ゾウギンザメ TRPV4 は熱刺激には応答しなかった。TRP ファミリーの中には低温刺激で活性化する TRPM8 のようなタイプが存在することから低温刺激の影響を調べてみた。その結果，低温刺激に対して活性化するというこれまで TRPV4 では報告されていない興味深い特性を明らかにした。TRPV1 の解析と同様に活性化温度閾値を調べたところ，20.4℃を示すことが判明した。さらに TRPV3 の解析を行った。昨年度は明確な活性化温度領域を見出せなかったが，今年度の解析により，ゾウギンザメの TRPV3 は熱刺激により活性化することが判明し，活性化温度閾値は 42.2℃であることを明らかにした。また，TRPV3 はアゴニストであるユーカリプトールに応答するが，熱刺激後にユーカリプトールで処理するとその応答が大幅に増強されることがわかった。

今回，軟骨魚類の TRP ファミリーの解析を行い，温度や化学物質に対する応答に関する興味深い成果を上げることができた。この成果は，軟骨魚類 TRP ファミリーの解析の世界に先駆けた成果であるとともに TRP ファミリー遺伝子の分子進化の解明にとって重要な成果であると考えている。

9. 皮膚表皮バリア形成における生理学的解析

松井　毅（国立大学法人理化学研究所 生命医科学研究センター 皮膚恒常性研究チーム）
鈴木喜郎，富永真琴（生理学研究所／生命創成探究センター）

陸上生物の皮膚の表面は，表皮組織と呼ばれる重層扁平上皮組織に覆われている。表皮は基底層，有棘層，顆粒層，角質層の主に 4 層から構成され，最上層の死細胞からなる角質層によって気相-液相バリアが形成されている。このバリアによって，私達は，陸上気相環境での生育が可能になり，個体内の恒常性が保たれている。しかしながら角質層がどのようなメカニズムで細胞死が起き，どのように形成されていくのかは依然として不明の部分が多い。

そこで，in vitro において，1 細胞レベルでその細胞死（角質化）を解析できる系を構築し，その分子メカニズムを明らかにすることを試みている。これまで，マウス表皮顆粒層の分離法，培養法を開発し，顆粒層初代培養細胞の性状解析を行ってきた。

分離した顆粒層細胞は，通常のアポトーシスではないため，細胞膜の破綻をモニターできる核 DNA 染色試薬の DRAQ7 を用いて観察した所，細胞死が起きるためには，培地中のカルシウムイオン濃度が高いことが必要であることが明らかとなった。このことは，これまで報告されてきた，ケラチノサイトの分化が高カルシウイオン濃度で誘導されること，表皮上層ではカルシウムイオン濃度が高く維持されていることと一致する。また，これまで塩基性物質として染色されていた顆粒層細胞内におけるアモルファスなケラチン繊維の集合体であるケラトヒアリン顆粒が光学顕微鏡下で観察された。化学固定によりこの構造がどのぐらい保存されているのか，どのようにこれら構造が消失し，角質層内の高密度ケラチンネットワークが形成されるのかが，高解像度で観察できることが明らかとなった。

さらに，これらの in vitro における角化解析を制御する細胞膜上の因子を明らかにするためにパッチクランプ法による膜電流測定系にさらに温度変化を加えた解析もことが可能になり，どのような温度感受性 TRP チャネルが細胞内カルシウムイオン変化に関わるのかを解析中である。

10. 脳の冷温度感受性 TRPM8 チャネルによる体温調節機構

Erkin Kurganov, Seiji Miyata（Kyoto Institute of Technology, Department of Applied Biology）
Makoto Tominaga（National Institute for Physiological Sciences, Division of Cell Signaling）

Temperature sensation is vital for animals to adapt various conditions. Although thermosensation through periphery nerve endings has been well studied, brain temperature sensing is poorly understood. Recent studies have shown that warm-sensitive neurons are present in the preoptic area (POA) that express transient receptor potential melastatin 2 (TRPM2) ion channel in the hypothalamus activated by increasing brain temperature. However, less is known about cold-sensitive neurons in the brain. We found the presence TRPM8-expressing neurons by immunohistochemistry using a GFP antibody in the several regions of the hypothalamus including medial preoptic nucleus (MPA), lateral septal nucleus (LS), and axonal terminalis of the median eminence (ME) of the transgenic TRPM8GFP mouse brain. We also found that TRPM8-expressing neurons are both inhibitory and excitatory neurons. These findings show that TRPM8 is expressed in the hypothalamus and functions as a cold sensor in the brain.

11. 温度生物学を用いた難治性てんかんへの新規治療法の確立

藤山雄一，森　尚昌，森山博史，鈴木倫保
（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）
鈴木喜郎，富永真琴（生理学研究所／生命創成探究センター）

両研究室ではこれまでに，難治性てんかん患者に対する局所脳冷却の抗てんかん作用を報告してきた。しかしながら脳温度制御による抗てんかん作用を薬剤で代替した研究は極めて少ない。そこで今年度は先行研究で有効であった冷却温度 15℃で活性化する Transient Receptor Potential (TRP) チャネルのうち，TRPM8 チャネルの活性化が抗てんかん作用を有するかペニシリン G (PG) 誘発てんかんモデルを用いて検討した。

S.D.系雄性ラットの皮質に PG を注入し，皮質焦点型てんかんモデルを作製した。TRPM8 および TRPA1 作動薬であるイシリンを PG 注入 90 分後に投与し，ECoG および皮質温度を 4 時間記録した。PG により誘発されたてんかん様異常脳波のスパイク振幅，持続時間，発火頻度および各周波数帯別パワー（デルタ，シータ，アルファ，ベータ波）を解析し，イシリンの効果を評価した。また，TRPM8 拮抗薬である AMTB はイシリン注入直前に注入し，TRPM8 単独の抗てんかん作用を検討した。その結果イシリンは皮質温度を変化させることなく用量依存的にてんかん様異常脳波を抑制した。特に，3 mM のイシリン投与は PG 誘発性てんかん様異常脳波のスパイク振幅，持続時間，発火頻度をいずれも抑制し，てんかん様異常脳波により増加した各周波数帯別パワーを基礎律動レベルまで抑制した。これらのイシリンの効果は TRPM8 拮抗薬である AMTB 投与によって消失した。TRPM8 作動薬は新規抗てんかん薬の候補となる可能性を示した。今後，TRP チャネルを介した分子メカニズムを明らかにし，将来の臨床では冷却と薬物治療の両輪での治療を目指していく。

12. TRPV4 の味細胞における温度感受性への関与

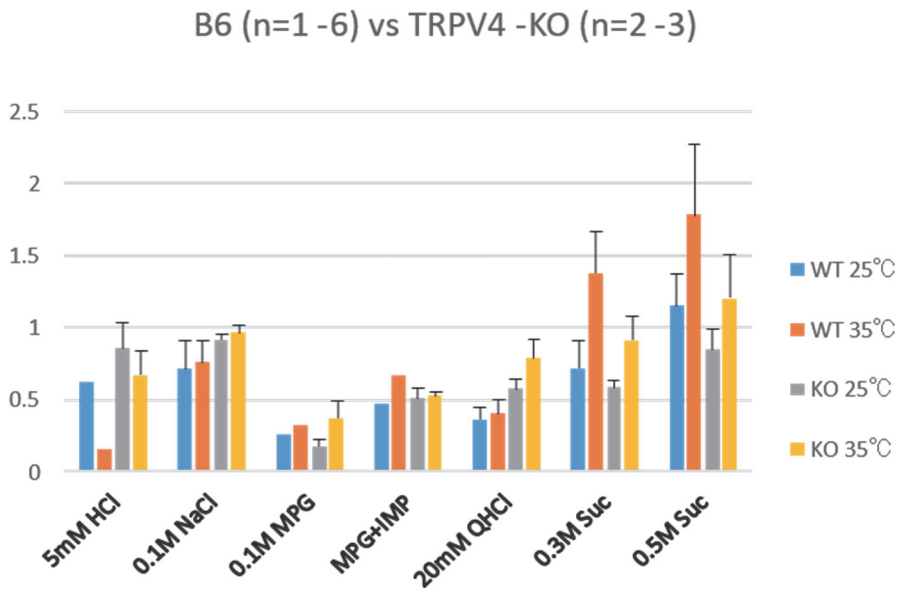
中野（安松）啓子，岩田周介，二ノ宮裕三
（九州大学／五感応用デバイス研究開発センター）
富永真琴（生理学研究所／生命創成探究センター）

【目的】温度は味覚に強い影響を及ぼす。甘味，うま味, 苦味を受容する味細胞には TRPM5 が発現し, 約 35℃をピークに細胞興奮性を変化させ，味応答の温度変化をもたらす。しかし，温度変化は甘味応答で最も顕著にみられることから，新たな分子の関与の可能性も示唆されていた。最近，類似の温度特性を持つ TRPV4 の阻害剤が甘味温度変化に影響を可能性が示唆され，TRPV4 の関与の可能性が浮上した。そこで本研究では，TRPV4-KO マウスの鼓索神経応答記録によって TRPV4 の味細胞における温度感受性への関与を検討した。

【方法】通法に従い麻酔下で TRPV4-KO マウスおよびその正常型マウスの右側鼓索神経を露出し，全神経線維束応答はインテグレーターを経由してコンピュータ PowerLab 上に記録した。試験溶液（味刺激）には 5 mM HCl, 0.1 M NaCl, 0.1 M monopotassium glutamate (MPG) , MPG と 0.5 mM IMP との混合液，0.02 M quinine HCl, 0.3 M, 0.5M sucrose について，それぞれ 25℃，35℃に調整した水溶液を舌に与えた。

【結果】現在のところ TRPV4-KO マウス 2－3 匹，その正常型マウスである C57BL/6 マウス（B6）1－6 匹の全神経線維束応答記録を得た。図に示すように，B6 マウスと比べて TRPV4-KO マウスで応答が減少している試験溶液は，MPG+IMP と，0.3 M, 0.5 M sucrose で，特に 35℃溶液を比較すると，減少は著しい。現在のところ統計的な有意差は無いが，例数が増えると有意差が出る可能性はある。上記以外の溶液では減少傾向はみられなかった。

【考察】現在までの結果から sucrose および MPG+IMP のみに特異的に TRPV4 が関与する可能性が示唆された。Sucrose のような甘味溶液は T1R2+T1R3 によって受容され，MPG+IMP は T1R1+T1R3 によって受容されることが過去に報告されており，T1Rs 特異的な応答に TRPV4 が関与する可能性が考えられる。今後の課題としては T1Rs 発現細胞では TRPM5 及び TRPM4 と TRPV4 が相互に関与する可能性があるため，TRP チャネル間の相互関係を明らかにし, そこから TRPV4 のみの機能を明らかにする必要があると思われる。



13. 筋組織におけるイオウ呼吸の生理的意義の解明

赤池孝章（東北大学大学院医学系研究科），澤　智裕（熊本大学大学院生命科学研究部）
守田匡伸（東北大学大学院医学系研究科），居原　秀（大阪府立大学理学部）

我々は，活性酸素や，活性酸素に由来する親電子性の高い物質（親電子物質）の代謝・消去に働く内因性求核物質として，活性イオウ分子種（Cys パースルフィドなど）の存在を世界に先駆けて発見し，その主たる生成酵素がミトコンドリア型 Cys tRNA synthetase (CARS2)であることを見出した。本研究では，CARS2 由来の活性イオウ種が心臓のストレス抵抗性に及ぼす効果を西田研究室との共同研究により解析した。

CARS2 欠損 HEK293T 細胞株において，ミトコンドリア長の短縮および数の減少が観察されたことから，心臓におけるミトコンドリア品質管理における活性イオウの役割を解析した。水俣病の原因であるメチル水銀を，神経毒性を発症しない低濃度で 1 週間マウスに曝露させると，マウス心室筋のミトコンドリアが過剰に分裂していることがわかった。そこで，ミトコンドリア分裂促進 GTP 結合タンパク質 dynamin-related protein 1 (Drp1)の Cys ポリイオウ量を我々が開発したケミカルバイオロジー技術を用いて計測したところ，MeHg 曝露により心筋 Drp1 のポリイオウ量が有意に減弱することを見出した。これに伴って Drp1 活性が有意に増加し，結果的にミトコンドリア分裂が促進することも明らかにした。低濃度の MeHg を曝露し続けたマウスは行動や心機能に全く異常を示さなかったものの，大動脈狭窄による圧負荷を施した後の生存率が著しく悪化し，かろうじて生き残ったマウスの心機能も著しく低下することがわかった。以上より，Drp1 ポリイオウ鎖のイオウ枯渇によるミトコンドリア過剰分裂が心筋のストレス抵抗性を減弱させる要因となる可能性を示した（Nishimura et al., Science Signal., 2019）。

さらに，Drp1 ポリイオウ鎖の枯渇により Drp1 活性が上昇する機構についても検討した。西田研究室との共同研究により，虚血（低酸素）ストレス下において，Drp1 は細胞骨格アクチン結合タンパク質フィラミンと相互作用すること，フィラミンが Drp1 のグアニンヌクレオチド交換因子（GEF）として機能することで Drp1 活性を増加させることを見出した（Nishimura et al., Science Signal., 2018）。そこで，MeHg 曝露心筋細胞における Drp1 とフィラミン相互作用を調べたところ，Drp1 ポリイオウ鎖のイオウ枯渇に伴ってフィラミンとの相互作用が増強することが明らかとなった。以上の結果は，タンパク質 Cys パースルフィドが心筋のストレス抵抗性を制御する重要因子となることを強く示唆している。

14. 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）

先に我々は，mRNA の 3’末端ポリ A 鎖短縮化を介したジェネラルな mRNA 分解機構，および急速なポリ A 鎖短縮がもたらす特定の mRNA における分解調節機構を明らかにしてきた。さらに，細胞質においておこるポリ A 鎖伸長が特定の mRNA 発現調節に寄与することを見出した。転写と共役しておこるポリ A 鎖伸長に機能する正準ポリ 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 ポリメラーゼが多種知られている。非正準ポリ A ポリメラーゼが細胞質ポリ A 鎖伸長の役割を担うと想定されるが，その詳細については不明な点が多く残されている。

非正準ポリ A ポリメラーゼとして PAPD 7 種（PAPD1～7）が知られていたが，ごく最近 FAM46 が新たにポリ A ポリメラーゼの酵素活性をもつことが報告された。FAM46 はヌクレオチド転移酵素ファミリーに属しており，FAM46A, B, C, D の 4 種が知られている。まず，蛍光免疫染色により細胞内局在を解析したところ，いずれも細胞質に局在していた。MS2 融合 FAM46 発現ベクターを作製し，mRNA の 3’非翻訳領域 MS2 結合 RNA 配列に FAM46 を繋留したときのポリ A 鎖長について解析した。

FAM46A～D いずれの繋留においても顕著なポリ A 鎖長の伸長が観察され，この伸長はヌクレオチド転移酵素活性中心の変異により完全に抑制された。以上の結果から，FAM46 は細胞質において標的 mRNA 特異的にポリ A 鎖を伸長するポリ A ポリメラーゼであることが明らかとなった。

次に，PAPD1～7 および FAM46A～D の相互作用因子を，LC-MS を用いたショットガンシークエンスおよび特異的抗体を用いた検出により同定した。PAPD および FAM46 の両者において，LARP ファミリータンパク質をはじめとした RNA 結合タンパク質，およびポリ A 鎖結合タンパク質 PABPC1 との特異的な相互作用が認められた。PAPD と FAM46 は mRNA の 3’末端ポリ A 鎖近傍において，は PABPC1 とともに複合体を形成し，ポリ A 鎖伸長に機能すると示唆される。

各ポリ A ポリメラーゼが標的とする mRNA，およびこれらを識別するマシナリーを明らかにすることにより，細胞質ポリ A 鎖伸長の生理的意義が解明されると期待される。

15. マウス心筋前駆細胞 ACMs の起源および生理的意義の解明

尾松万里子（滋賀医科大学　医学部医学科　生理学講座　細胞機能生理学部門）
西田基宏（生理学研究所　生体機能調節機能領域　心循環シグナル研究部門）

哺乳類心臓には心筋前駆細胞が存在することが知られているが，心筋組織が傷害を受けた際に組織修復を行う可能性は低いと考えられている。我々は，マウスの心臓から単離した培養細胞群の中に拍動する新規の細胞を見出し， Atypically-shaped cardiomyocytes (ACMs)と命名した。この細胞の機能解析を進めてきた結果，ACMs は終生にわたって心臓に存在する心筋前駆細胞の一種であると考えられた。ACMs は心室組織に存在するにも関わらず，健常な心室筋細胞には発現していないタンパク質である「心房性ナトリウム利尿ペプチド（ANP）」を発現していることに注目し， ANP を細胞マーカーとして ACMs の心臓における局在・起源を調べ，その生理的意義を明らかにすることを本研究の目的とした。

今回, ANP 発現細胞を GFP で標識するため, ヒト ANP プロモーター下流に AcGFP を連結したアデノ随伴ウイルスベクター（ANP-AcGFP）を作製した。このベクターを 1 週齢のマウスに腹腔内投与（1.0×10^{10} vg/個体）し，10 週齢以降を ANP-AcGFP マウスとした。また, コントロールとして，ニワトリ cTnT（cardiac troponin T）プロモーター下流に AcGFP を連結した cTnT-AcGFP ベクターを作製した。

ANP-AcGFP マウスの心臓を灌流固定して組織切片を作製し蛍光顕微鏡を用いて観察したところ，GFP シグナルは心房組織においてのみ観察され，心室組織では見られなかったことから, GFP は ANP 発現細胞に特異的に発現していることが確認された。次に，ANP-AcGFP マウスの心臓を酵素液で灌流し，心室筋組織から細胞を単離して半固形培地中で培養した。培養 9 日目には，自発的に拍動する細胞（ACMs）が観察された。培養 2 週間以降に細胞を固定し， GFP あるいは ANP が ACMs に発現しているかを免疫染色によって調べた。ACM の同定は収縮タンパク質である α-アクチニン（ACTN）抗体との共染色によって行った。その結果，GFP 陽性および ANP 陽性細胞はそれぞれ ACTN を発現する ACMs であることが明らかになった。これらのことから，今回作製した ANP-AcGFP マウスは，ACMs の同定およびトレーシングに有効であることがわかった。

16. ドキソルビシン心筋症に対するアルブミン・チオレドキシン融合体の有用性評価

渡邊博志（熊本大学 薬学部 薬剤学分野）
西田健人（熊本大学大学院 薬学教育部 薬剤学分野）

ドキソルビシン(DOX)の重篤な副作用として心毒性が知られており，その発生機序については酸化ストレスの関与が示されてきた。そこで我々は，内因的な抗酸化・抗炎症タンパク質であるチオレドキシン(Trx)をアルブミン(HSA)と遺伝子工学的に融合し，Trx の血中滞留性を延長した HSA-Trx 融合体による治療介入を試みた。

前年度における検討では，C57BL/6J マウスへの DOX (15 mg/kg, i.p.)単回投与により心筋症を誘発し，DOX 投与から 14 日後までに HSA-Trx (200 or 400 nmol/kg, i.v.)を隔日投与することで，HSA-Trx の治療効果を心機能及び酸化ストレスの観点から評価した。その結果, HSA-Trx 投与群において, DOX 誘発の体重及び心重量減少の抑制傾向が見られたものの，統計学的有意差を示すには至らなかった。また，心臓中 MDA (酸化ストレスマーカー)を定量した結果, DOX 投与群において有意な酸化ストレスの上昇は観察されなかった。

そこで，本年度においては，別の観点から HSA-Trx の有効性を評価した。具体的には，DOX (20 or 25 mg, i.p.) 処置したマウスの生存率について，HSA-Trx 投与の有無での比較検討を行なった。その結果，HSA-Trx 投与による生存率の改善効果は認められなかった。

上記の結果について, DOX による障害が過度であるため，HSA-Trx の治療効果が認められなかったと考察し，続いて, DOX 誘発心筋症で観察される心臓線維化を治療効果の指標として検討した。マウスに DOX(15 mg/kg, i.p.)を単回投与し, 14 日後において摘出した心臓に対し Sirius red 染色を施したところ，DOX 投与による心筋間質の線維化が確認された。来年度以降は，DOX 誘発心臓線維化の分子機構についても精査するとともに，HSA-Trx による治療効果を検討する予定である。

17. 皮質興奮性神経細胞サブタイプと分化時期の関係解析

畠中由美子（大阪大学生命機能研究科）
榊原　明（中部大学生命健康科学部）

多様性に富む大脳皮質興奮性ニューロンは，いずれも皮質脳室帯の神経幹細胞から生じる。それぞれのサブタイプは異なる時期に生じるので，その決定には分化時期が重要であると考えられている。一方, 幹細胞からニューロンが生まれる分化様式には２つの経路がある。すなわち，幹細胞から直接神経細胞に分化するものと，中間神経前駆細胞を介して間接的に分化するものである。これら２つの経路と分化時期，並びにニューロンのサブタイプ決定との関係は未解明である。本研究では，分化時期依存的に興奮性ニューロンを標識し，産生されるニューロンのサブタイプを解析することで，多様性を生み出す基本法則を明らかにすることを目的としている。本年度は，直接神経細胞に分化する細胞と，中間神経前駆細胞を介して分化するニューロンが皮質の神経細胞の構成にどの様に関わってくるかを調べるため，その標識法を検討した。まず Neurogenin2 遺伝子のプロモーター下に CreERT2 を挿入したトランスジェニックマウス（幹細胞から神経細胞へ分化が運命付けられた細胞で CreERT2 を発現する。遺伝学研究所 平田たつみ教授より供与）と Cre 依存的に組換えを起こすレポーターマウス Ai14 を交配した。皮質ニューロンが生じる時期に少量の薬剤を投与し，時期特異的に細胞を標識した。この時，２つの分化様式で生じるニューロンを区別するため，チミジンアナログの EdU を複数回投与し，EdU 陰性の直接分化神経細胞と，EdU 陽性の間接分化細胞を標識する条件を決めることが出来た。この標識方法と，標識された神経細胞の層分布，分子タイプ，またその形態解析を組み合わせることにより，２つの分化様式と細胞サブタイプ間にどの様な関係があるかを解析することが可能になった。

18. AMPA 型グルタミン酸受容体のシナプス内発現様式のシナプス可塑性における意義の解析

深澤有吾，黒田一樹（福井大学学術研究院医学系部門）

AMPA 型グルタミン酸受容体（AMPAR）は中枢神経系の興奮性シナプス伝達の主要なシナプス後電位応答の形成を担う分子であり, そのシナプス内発現の制御機構は, 脳の情報処理と学習・記憶の基盤であるシナプス可塑性の発現に密接に関与している。本研究者らは AMPAR のシナプス内分布が, シナプス前後細胞の組合せ依存的に, 均一型とモザイク型の 2 種類の様式で発現することを見出した。特にモザイク型発現分布は，海馬や小脳皮質，大脳皮質などの学習・記憶との関連性が高い脳領域のシナプス結合で観察されたことから，シナプス可塑性との関係が示唆されたが，この 2 種類の発現様式を制御する分子メカニズムやモザイク型 AMPAR 発現分布の生理的意義は不明である。そこで本研究では，生理学研究所の種々の実験リソースを活用して，シナプス可塑性におけるモザイク型 AMPAR シナプス内分布の機能的意義を明らかにすることを目的としている。

本年度は，昨年度までに確立した脳内超微細構造を収束イオンビーム搭載型高解像度走査型電子顕微鏡（FIB-SEM・名古屋大学医学部）により撮影後，三次元再構築し，この再構築像より各シナプス内機能ドメインの構造情報を定量的に取得し，シナプス結合構造の構造情報評価を行う解析系を用いて，生理学研究所・神経シグナル研究部門の山肩葉子博士が作出したシナプス可塑性異常を示すCaMKIIα遺伝子の点変異マウスの海馬内シナプス結合の連続電子顕微鏡像を調べた。その結果，シナプス前膨大部の体積や含有シナプス小胞の数，樹状突起スパインの体積やシナプス後肥厚部（PSD）の面積の相対比は野生型のシナプスと有意な違いが無いことを示す知見が得られた。従って，シナプス結合の構造異常を伴わなくてもシナプス可塑性の異常は起こりうることが示唆された。今後は，本遺伝子改変マウスの AMPAR のシナプス内局在を解析し，超微形態情報と受容体発現分布情報を統合することで，シナプス機能と可塑的調節における AMPAR 発現様式の機能的意義を明らかにすると共に，シナプス可塑性異常を示す他の遺伝子変異マウスの解析を行う予定である。

19. 海馬抑制性神経細胞の入力コネクトーム解析

宮下俊雄（帝京大学　医学部）
冨岡良平（熊本大学大学院　生命科学研究部）

海馬と後部帯状皮質(Retrosplenial cortex; RSP)には二次元空間で頭の向きをコードする head direction 細胞が存在するなど，空間記憶や場所認知への関わりが知られている。しかし，これらの脳領域間には興奮性神経結合はなく，海馬-後部帯状皮質 GABA ニューロン(HRGN)由来の抑制性結合を中心とした神経回路が構築されている。本研究は HRGN へシナプス入力を持つ細胞（前シナプス細胞）を同定することで，海馬と RSP 間の神経回路の詳細を明らかにする事を目標とした。

前シナプス細胞の同定は，HRGN へ感染させた膜タンパク(RG)欠損偽型狂犬病ウィルスベクター(Psuedo Rabies Virus; PRV)の越シナプス感染により行った。

まず Cre 依存的な組み換えにより TVA-mCherry 及び RG を発現する逆行性ウィルスベクター(AAV2-retro)をマウス RSP へ微量注入により共感染させ，海馬 CA1 の HRGN に TVA-mCherry と RG を発現させた。 PRV は TVA 発現細胞にのみ感染する。そこで AAV2-retro ベクターの注入後 3-4 週間待ち，HRGN に十分量の TVA-mCherry と RG を発現させたのち，GFP をレポーター遺伝子として持つ PRV を海馬 CA1 へ注入し，HRGN の前シナプスニューロンを越シナプス的に標識した。

実験には抑制性神経細胞特異的に TVA-mCherry 及び RG を発現させるために Vgat-ires-Cre マウスを使用した。9 匹のマウスを使い 6 匹は RSP に AAV2-retro を注入し，

3 匹は異なる投射性抑制性細胞を対照実験とするために聴覚野へ注入した。

RSP にウィルス感染を受けた 6 匹の内 2 匹は TVA-mCherry の発現が確認されず，PRV の海馬への注入後には GFP の標識細胞も確認できなかった。残る 4 匹は海馬において TVA-mCherry を発現する HRGN が確認でき，これらの内のいくつかに GFP の発現が認められた事より，実験上のスターター細胞を確認できた。

これらのサンプルでは，海馬 CA1 錐体細胞や非錐体細胞に GFP の発現が確認され，海馬外では嗅内野や中隔核などいわゆる海馬へ神経投射を持つ領域に標識細胞が確認されたことから，スターター細胞である HRGN 細胞にシナプス結合を持つ細胞を標識することができたと考えている。現在これらの標本より，GFP 標識細胞の詳細（細胞型や脳内での分布）を解析中である。

また，今回の実験では，GFP の陽性細胞が RSP の第 5 層錐体細胞（本来は海馬へ投射を持たない）にも確認されたことから，HRGN 以外にも意図しない PRV の感染が示唆された。現在，異所的なスターター細胞の同定を進めている。また，これらより今後の実験手技（特にウィルス注入時）に改善が必要であると考えられた。

20. 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）

視覚を適切に働かせるには視線を保持することで視覚対象を網膜上で静止させる必要がある。視線保持には脳幹の神経積分器（NI）と呼ばれる脳領域（舌下神経前位核（PHN），カハール間質核（INC））が重要であり，水平系は PHN が，垂直系は INC が関与している。NI についてはこれまでモデルを用いた理論的研究はあるものの，その実体については十分な知見が得られていない。我々は，NI のニューロン・ネットワーク基盤を明らかにすべく，NI の機能に重要であると考えられている NI から前庭小脳への神経ネットワークについて研究を行っている。これまでの我々の研究により，PHN から前庭小脳へは直接投射しているが，INC からは前庭小脳に直接には投射していないことを示唆する知見を得た。INC へは PHN からの神経連絡が密にあることなどから，我々は，INC から前提小脳への神経連絡は直接の投射ではなく，PHN や内側前庭神経核（MVN）を介した投射が生じているのではないかという仮説を立てた。本年度はこの可能性を検証することを目的とした。生後 7 週齢の Long-Evans ラットにイソフルラン吸入麻酔を施し，ガラス電極を用いて前庭小脳（小節・虫部垂）に AAV6（AAV6-EF1a-GFP-2A-TVA，AAV6-CAG-SADcvsG，このウイルスに感染したニューロンは GFP の黄緑蛍光を発する）を注入した。4 週間後に麻酔下において同じラットの PHN や MVN に Rabies ウイルス（EnvA-RABVΔG-RFP，このウイルスに感染したニューロンは RFP の赤色蛍光を発する）を注入した。5 日の生存期間の後，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，PHN と MVN において GFP と RFP を共発現するニューロンが観察され，INC において RFP 陽性ニューロンが観察された。この結果から，前庭小脳に投射している PHN もしくは MVN のニューロン（GFP を発する）に単シナプス結合する入力細胞は，RFP を発する INC のニューロンであることが明らかになった。この結果は我々の仮説を支持する結果であった。

今回 AAV6 を用いたが，十分な数の GFP を発する起始細胞（starter cell）を観察することができなかった。このことは，AAV6 は軸索終末からの感染が弱かった可能性が考えられる。そこで，今後は AAV6 よりも感染力が強いとされる AAV2-retro を用いて，今回得られた結果を再検討するとともに，多くの starter cell を同定しすることでその分布などを明らかにすることを目標とする。

21. 細胞系譜依存的シナプス形成における NMDA 受容体の役割を解明する

足澤悦子，八木　健（大阪大学大学院生命機能研究科）
吉村由美子（生理学研究所）

マウスバレル皮質の興奮性神経細胞間に形成される双方向性シナプス結合は, 細胞系譜に依存して形成される。また細胞系譜依存的な双方向性シナプス結合は，ヒゲからの感覚入力依存的であることが明らかになった。本研究課題では，細胞系譜依存的な双方向性シナプス結合の形成にNMDA受容体が必要かどうかを検証することを目的とした。マウスの大脳皮質形成は胎生期 9 日ごろ始まり，単一の神経幹細胞から大脳皮質にカラム状に分布する約600個の神経細胞が分化する。細胞系譜の可視化は, 蛍光タンパクを発現する iPS 細胞を野生型マウスの胚盤胞に移植することで可能になる。本研究課題では, NMDA 受容体欠損の影響を調べるためにNR1欠損マウスから緑色蛍光タンパクを発現する iPS 細胞を樹立し，野生型マウスの胚盤胞へ移植することでキメラマウスを作製した。ヒゲからの感覚入力依存的に双方向性結合が形成される生後 15-16 日齢のキメラマウスから大脳皮質を含む急性脳スライス標本を作製し，GFP を発現する大脳皮質バレル野４層の星状細胞からダブルホールセル記録を行った。その結果，NR1 を欠損した星状細胞間において細胞系譜依存的な双方向性結合が有意に減少していることが明らかになった。また，野生型キメラマウスにおける解析で明らかになっていた生後 15-16 日齢から生後 18-20 日齢にかけて起こる一方向性結合の減少が NMDA 受容体依存的であるかどうかを検証した。その結果，NR1 を欠損した星状細胞間において細胞系譜依存的な一方向性結合の減少は観察されなかった。この一方向性結合の減少はヒゲからの入力依存的であることが明らかになっているため，感覚入力による活動依存的に NMDA 受容体が活性化し，シナプス除去を引き起こしていることが示唆された。

今後は，NMDA 受容体を介した細胞系譜依存的双方向性結合形成および一方向性結合減少の分子メカニズムの解明を目指す。

22. 大脳皮質視覚野における反応選択性を担う分子機構

山本亘彦（大阪大学）

大脳皮質視覚野において個々のニューロンは特定の視覚刺激に選択的に反応する。この反応選択性は神経回路網によって生み出され，その回路網の形成は発生プログラムによる自律的・先天的要因と視覚環境に由来する神経活動依存的な後天的要因によって制御されると考えられている。いずれの場合も特定の遺伝子発現調節が鍵になる。すなわち，同じ反応選択性を有する細胞に共通の遺伝子発現が生ずることが想定される。本研究ではこの仮説を検証するために，神経活動によって励起される遺伝子プロモーター下に蛍光タンパク質の遺伝子を配置したベクターを視覚野細胞に遺伝子導入することにより，同じ視覚刺激に応答する細胞集団を標識し，その細胞集団特有に発現する遺伝子を解析した。

まず，神経活動に応答する最初期遺伝子 Arc プロモーター下に蛍光タンパク質Venusの遺伝子を置いたベクター（アデノ随伴ウィルス）をラット大脳視覚領に導入した。このラットを縦縞（または横縞）のみの視覚環境に短時間曝した後に，視覚領より大脳皮質切片を切り出し，急性切片標本を作製した。これらの実験では遺伝子導入および切片作成時はイソフルラン麻酔を行い，動物の苦痛を軽減するように留意した。縦縞（あるいは横縞）刺激に反応したニューロンと反応しなかったニューロン，すなわち Venus 陽性細胞と陰性細胞を蛍光顕微鏡下で識別し，ガラスピペットにより一つずつ採取した。得られた Venus 陽性と陰性細胞それぞれから SMART-seq を用いて，シングルセルレベルで mRNA の抽出，逆転写，PCR 増幅を行なった後，次世代シーケンサーによるトランスクリプトーム解析（RNA-seq）を行った。得られた Venus 陽性と陰性細胞（いずれも約 10 個ずつ）における遺伝子発現の差異を統計的に調べた結果，Venus 陽性細胞で有

意に発現が上昇する遺伝子が多数見出された。この中には，細胞外に放出され軸索や樹状突起形成に関することが知られている遺伝子も含まれ，回路形成との関連性が示唆された。さらに，得られた候補遺伝子の発現を発達期大脳皮質及びRNA-seqのために細胞を採取した急性スライス標本で In situ hybridization によって検証し，候補分子の発現様式を研究しているところである。

23. 顔を手がかりとした他者の情動理解における上丘の役割の解明

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

中脳の上丘は，視覚情報処理と眼球運動制御の中枢とされ，多くの研究がなされている。上丘は 7 層の層構造を持ち，主に浅層ニューロンが視覚入力を受け，その情報が中間層～深層の出力ニューロンに伝えられ，運動出力信号が脳幹のサッケードジェネレータに送られると考えられている。従来の研究では，比較的単純な視覚刺激（例えばスポット光）を用いて上丘ニューロンの応答特性を解析する方法が主流であった。一方で，上丘は，顔の低空間周波数成分を手がかりに，他者の情動理解にも関与することが示唆されているがその神経機構は明らかにされていない。上丘の浅層ニューロンにより受容された顔情報が辺縁系（扁桃体や黒質緻密部）に送られ，生態学的価値判断が素早くなされたのちに，対象となった顔を見る・見ないかの行動が上丘の中間層・深層ニューロンを介して実行されるという仮説を検証する実験を行っている。

サルにまず単純な 12 方向への視覚誘導性サッケードと固視の訓練を行い，その上で様々な顔情報を持つ指標に対するサッケードの訓練を行っている。今後，上丘からのニューロン活動記録のための電気生理実験を行うため，準備を行っている。具体的には，上丘浅層，主に II 層のニューロンでの視覚入力の空間周波数特性を解析する。さらに visual map 上での near-foveal region と extra foveal region での反応の違いを検討する。それらのデータをもとに，異なるサルの顔を提示して，各細胞がどのように反応するかを調べ，反応の強い部分が同定できたら，その部を化学的にブロックして，サルの顔に対する反応時間を解析し，上丘の関与があることを明らかにする。上丘は様々な脳部位から入力を受けるが，他者の情動理解の神経機構に関する入力が具体的に脳のどこからあるのかを見出し，他者の情動理解における上丘を中心とした神経機構を明らかにしたいと考えている。

24. ヒト・サル間トランスレータブルタスクの開発と応用

宮崎美智子（大妻女子大学社会情報学部）
鮫島和行（玉川大学脳科学研究所）

研究の概要

ヒトの赤ちゃん研究で広く用いられている，自己理解発達や他者理解発達の重要なマイルストーンを評価する認知行動タスクを基軸として，サルが遂行可能なタスクにトランスレートすることを目的とした。本年度は 2 度の関連施設の見学を通じてタスク開発のヒントを模索し，2回の全体会合を設けてディスカッションを重ねてきた。トランスレータブルタスクの具体的な開発にまで到達することは難しかったが，タスク開発の重要性を改めて認識することができた。タスク開発に至るまでには，互いの研究アプローチの共通点，相違点をふまえながら，ヒト同士，サル同士の社会的相互作用の特性や発達的変遷についてより深く理解するための情報共有を続けていくことが不可欠であると分かった。

１．ヒト同士のかかわりを教育・療育する現場の見学

成人期発達障害者を対象としたデイケア･プログラム，

自閉症スペクトラム児のペアレントトレーニングの見学をした。コミュニケーションに問題を抱えることの多い発達障害者と定型発達者とのやりとり，発達障害者同士のやりとりに触れ，相互再帰性の構築について考える機会を得た。

２．タスク開発に向けたディスカッション

タスク開発に向けたディスカッションでは，相互再帰性構築のカギとなる要因として，アイコンタクトならびに身体同調や社会的随伴性に着眼し，特にヒトの発達研究から，これらの役割についてのレビューをベースとしたディスカッションを行った。近年の，特に社会性の発達研究では，乳幼児のみを対象とするのではなく，乳幼児にかかわるヒトも含めた 2 者間の関係性そのものを研究対象とするアプローチが増えてきている（Reddy, 2008 など）。実験状況をうまく設定することで，たとえば二者間の身体同調が社会性を向上させる証拠などが得られるようになってきた（Cirelli, Einarson, & Trainor, 2014; Rabinowitch & Meltzoff, 2017）。しかしながら，サル同士のやり取りにおいては, 身体同調の役割は未知数であり，身体同期が重要であるとの前提に立つヒト乳幼児とは乖離がある。暗黙の前提を再考するところからのタスク開発が必要である。この意味で，ヒト・サル間トランスレータブルタスク開発に向けては，時間をかけた双方の知識の共有が不可欠であった。

25. We-mode の神経基盤の解明

関　和彦（国立精神・神経医療研究センター）
戸松彩花（国立精神・神経医療研究センター/生理学研究所）

We-mode とは，個体間の相互作用の中に生じる認知モードで，個々の個体のみにはその由来を還元できないものと定義される（Gallotti and Frith, 2013）。例えるならば，複数の音（＝個々の活動）により生じる和音の「響き」が We-mode を観測したものにあたると表現できるかもしれない。従来の研究の枠組みに留まらず，新しい評価次元を提供する視点として，これからの社会認知科学を構築するために必要不可欠といえる。

我々は, この We-mode を成立させる神経基盤を明らかにするため，運動リズムの引き込み現象に着目した新しい実験系を，ニホンザルをモデル動物として立ち上げることを本年度の目標とした。

まず，サルの運動を誘発し，計測するスライドレバーを作成した。レバーは約 30cm の直線レール上を移動し，その位置情報は光学式距離計で測定する。レールの両端に取り付けた LED の点灯により, 運動課題を指示することができる。

次にサルの行動トレーニングを行った。サルは身体の前に置かれたスライドレバーを右手で握り，リズミカルに左右に動かす。動かすべき方向やスピードは，LED の点滅と色で指示される。正しいスピードで既定数往復すると報酬が与えられる。2018 年度末現在，2 頭のサルが個々にレバー課題を遂行することができる。今後はこの 2 頭の個々の運動リズムに，相互作用の影響がどのように出現するかを，同時課題遂行や行動中のサルのビデオ呈示などを用いて検討していく。

相互作用の検討の一部として，外部から聴覚的に与えられるリズムの影響を検討した。セルフペースでレバー課題を行うサルに，一定頻度のメトロノーム音（0.6 - 1.5 Hz）を呈示したところ，運動スピードへの顕著な影響は見られなかった。先行研究ではヒト外霊長類はヒトよりも外的リズムへの同期欲求が低いことが報告されており（Zarco e al, 2009）これを支持する結果と言える。ただし，運動の継続時間や運動ペースなど，まだまだの余地があると考えている。

26. グリピカン（GPC）5 の細胞内機能解析

赤木謙一，物部容子，竹内昌男（医薬基盤・健康・栄養研究所）

本研究は不死化細胞の各ステージにおける細胞分裂と遺伝子発現の相関を明らかにする事を目的とする。研究対象としている細胞は，ヒト間葉系幹細胞を不死化した UE6E7T-3 細胞（U3-A）である。また，これを長期継代培養する過程で作出された U3-B,U3-C, 及び U3-DT 細胞である。この内，継代最終ステージの U3-DT 細胞はサルコーマの性質を獲得していた。これまでの研究によって U3 細胞の遺伝子発現解析をしたところ，Glypican 5 (GPC5) 遺伝子の発現が U3-A に比べて U3-DT ではおよそ 10 倍以上増加することがわかった。U3 細胞の A, B, C, DT を培養していると細胞分裂速度が著しく異なっていたという我々の観察からは, GPC5 は細胞増殖をサポートする機能を持つ事を示唆する。

GPC5 は細胞表面に存在する約 540 アミノ酸から成る GPI アンカー型膜蛋白質であり，C 末端に構成成分としてコンドロイチンを含む 3 本の糖鎖を有している。GPC5 が属する Glypican ファミリーは 6 種類の分子から構成され, コンパクトな立体構造形成に必要な 14 個のシステイン残基や糖化ホスファチジルイノシトール（GPI）と共有結合して細胞膜に繋留している COOH 末端構造が存在する。このファミリーは細胞膜上に分布し，また細胞種特異的に発現している。

U3-DT 細胞のがん化と GPC5 発現量増加の相関を解明するため, (1) U3 細胞における digital PCR を用いた GPC5 遺伝子のコピー数解析，(2) U3 細胞における GPC5 遺伝子のプロモーター領域のシーケンス解析を実施した。(1) の結果から，培養初期の U3-A 細胞と U3-DT 細胞間でコピー数変化が生じていないことが確認された。また，(2) のプロモーター領域のシーケンスでは, GPC5 の exon1 に 9 塩基の欠損が見られた。

次に GPC5 の転写因子の発現に着目し，これらの遺伝子発現解析のためにリアルタイム PCR 系を構築した。我々が用いている U3 細胞系列では転写因子の遺伝子発現が U3-C 期および U3-DT 期で高値であることから，GPC5 遺伝子発現の上昇にこの 2 つの遺伝子の関与を予想した。現在，転写因子と GPC5 の遺伝子発現の相関について解析を進めている。今後は各遺伝子を siRNA にてノックダウンすることにより GPC5 の発現がどのような影響を受けるのか検証する予定である。

27. ジストニアパーキンソニズム等神経疾患病態モデルマウスを用いた神経機能の解析

池田啓子（国際医療福祉大学医学部・生理学）
川上　潔（自治医科大学・細胞生物研究部）
知見聡美，南部　篤（生体システム研究部門），佐竹伸一郎（個別研究）

急性発症型ジストニアパーキンソニズム（RDP，遺伝性ジストニア DYT12）や小児交互性片麻痺（AHC）は，Na ポンプ（Na,K-ATPase）α3 サブユニット遺伝子 *ATP1A3* の変異により発症する。これら神経疾患の病態生理をα3 サブユニット遺伝子ヘテロ欠損マウス *Atp1a3*$^{+/-}$を用いて検討した。小脳スライス標本を用いた電気生理実験により，このマウス（生後 2 週齢）では小脳平行線維－プルキンエ細胞間興奮性シナプスにおいて, mGluR1 依存性の長期抑圧（LTD）が消失していることを発見した。

小脳 LTD の形成は，グルタミン酸輸送体（excitatory amino acid transporter, EAAT）による制御を受けることが知られている。EAAT は，Na ポンプが細胞膜内外に形成する Na^+/K^+濃度勾配を利用してグルタミン酸（Glu）を運ぶ二次能動輸送体で，シナプス間隙の Glu を回収して神経伝達を終結させるとともに, Glu のシナプス外漏出を制限する役割を持つ。こうした特性に基づき, 光解除性 Glu の光照射に伴い記録される電流（PTC）を用いて，小脳細胞の EAAT 機能の評価を行った。*Atp1a3*$^{+/-}$では，α3 サブユニット陽性細胞であるプルキンエ細胞において，PTC が野生型よりも顕著に減弱していた。一方, *Atp1a3*$^{+/-}$のア

ストロサイト（バーグマングリア）では，PTC は増強していた。*Atp1a3*$^{+/-}$では，プルキンエ細胞の Glu 回収能が減弱しており，その減弱をグリア細胞が補償していると考えられる。この神経－グリア補償機構の分子的基盤を明らかにするため, 2 週齢マウス小脳膜分画の Na ポンプと EAAT のタンパク質含有量をウエスタンブロット法にて比較し，PTC 振幅の変異と EAAT 発現量の間に高い相関性があることを見出した。

こうした結果から *Atp1a3*$^{+/-}$の LTD 消失は, グリア細胞において過剰に亢進した EAAT の作用により，平行線維 Glu のシナプス外拡散と傍シナプス性 mGluR1 の活性化が阻害されたことが原因であると結論した。ジストニアの病態基盤に，EAAT 発現量の変化に伴う情報処理システムの変異があることを強く示唆している。現在，生体脳に投与した EAAT 阻害薬が運動機能におよぼす影響を観察することにより，EAAT の機能変異とジストニア病態の関係を評価する実験系の構築を進めている。

28. 辺縁皮質刺激に対する大脳基底核ニューロン応答

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

視床下核刺激療法（STN-DBS）はパーキンソン病に対する有効な治療法と確立しているが，強迫性障害などの精神疾患に対しても効果が期待されている。大脳皮質－基底核回路における辺縁系ループがその効果に関与していることが示唆されている。トレーサーを用いた解剖学的研究により，辺縁皮質から視床下核（STN）への直接投射（ハイパー直接路）が示されている（Haynes ら, 2013）。本研究は神経生理学的な手法により，辺縁系ループの特性を明らかにすることを目的としている。

ニホンザルを用いて覚醒下にSTN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前辺縁皮質それぞれの電気刺激に対する応答により STN ニューロンを分類し，各群の自発発射，応答パターン，STN 内の分布について検討した。

結果として，計 190 個の STN ニューロンと記録した。①一次運動野の刺激に応答するニューロンは 47 個, ②補足運動野のそれは 36 個，③前辺縁皮質は 50 個，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記録されなかった。残りの 77 個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。STN 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。

STN の最内側部に辺縁系領域が存在する結果は，Haynes らの解剖学的研究結果と合致した。また，ラットによる神経生理学的研究では, 辺縁皮質から STN の内側領域へのハイパー直接路および間接路の存在が示されており（Maurice ら, 1998），霊長類においても同様の結果が得られ, STN-DBS の精神疾患への応用に関する重要な知見と考えられた。

29. 不随意運動発生のメカニズムの解析

竹林浩秀，吉岡　望（新潟大学），堀江正男（鹿児島大学）
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，細胞骨格制御因子をコードする *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捻転運動などのジストニア様症状や小脳失調などの運動障害を示す。我々が作製した遺伝子トラップ *Dst* アリール（Dst^{Gt} アリール）においては，*Dst-a* と *Dst-b* の２つのアイソフォームが遺伝子トラップにより欠失する。Dst^{Gt} ホモマウスは，*dt* マウスと同様に運動症状を示す。筋肉に発現していることが知られている *Dst-b* の運動症状の発症への関与を調べるために，*Dst-b* 特異的エクソンに停止コドンを導入した変異マウスを作成した。この *Dst-b* KO マウスにおいて，運動症状はほとんど観察されないことが判明した。つまり，*dt* マウスの運動症状は，*Dst-a* が異常になることにより生じることが示された。*Dst-b* KO マウスについて，詳細な組織学的，生化学的な解析を継続している。

さらに，Dst^{Gt} マウスを用いて，Cre 組換えシステムによるコンディショナルノックアウト（cKO）実験を行った。P0-Cre アリールを用いた P0-Cre; *Dst* cKO マウスでは，主に末梢神経系のミエリン形成細胞であるシュワン細胞で組換えが起こり，小脳失調様の神経症状が観察された。本マウスについて，組織学的な解析と後肢の筋電図解析を行ない，論文化を進めている。さらに，Wnt1-Cre アリールを用いた Wnt1-Cre; *Dst* cKO では，P0-Cre; *Dst* cKO マウスより早い発生段階での Cre 組換えが起こり，末梢神経系の神経細胞やシュワン細胞で *Dst* の欠失が起こり，感覚神経細胞変性が観察された。さらに，捻転運動様の運動障害が生じることが明らかとなった。その詳細について，組織学的，生理学的解析を行なっている。

30. 神経麻痺性角膜症に対する TRP チャネルと標的とした治療

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

神経麻痺性角膜症は，三叉神経第一枝領域が障害され角膜知覚が低下した症例で角膜上皮障害と角膜創傷治癒遅延が惹起される疾患である。難治性であり研究的治療方法が提唱されるものの，一般には対症療法のみで，根治的な治療法がない。病態解明と新規治療戦略の確立の目的で，三叉神経節や角膜に分布する感覚神経終末（一部，角膜上皮にも）に存在し，知覚に関与する各種 Transient receptor potential (T R P) チャネルシグナルの神経麻痺性角膜症の病態への関与を検討した。

マウス三叉神経を障害し神経麻痺性角膜症の動物モデルを作製した。方法は，ケタミン麻酔下で無痛的に頭蓋外から 20G のジアテルミー電極を挿入し，三叉神経第１枝を凝固した。角膜知覚については経時的にエアージェット刺激で瞬目反応の低下の有無で確認した。障害３ヶ月後，TRPV4 の AAV ウイルスベクターを，ケタミン麻酔下の定位脳手術で，頭蓋外から三叉神経第１枝に微量注入装置を用いて注入した。コントロールとしては，蛍光タンパクのみの AAV ウイルスベクターを同様の方法で注入した。AAV ウイルスベクター注入４週間後にケタミン麻酔下で直径 2 mm の上皮欠損を作成し，遺伝子導入された各種 TRP チャネルを角膜で強制発現したものとコントロール群で比較した上で，上皮欠損修復時の角膜混濁の状態，上皮欠損の治癒速度，炎症性サイトカインの発現などを検討した。

その結果は，Okada Y, Sumioka T, Ichikawa K, Sano H, Nambu A, Kobayashi K, Uchida K, Suzuki Y, Tominaga M, Reinach PS, Hirai SI, Jester JV, Miyajima M, Shirai K, Iwanishi H, Kao WW, Liu CY, Saika S. Sensory nerve supports epithelial stem cell function in healing of corneal epithelium in mice: the role of trigeminal nerve transient receptor potential vanilloid 4. Lab Invest. 2019 ;99(2):210-230. で報告した。

31. チック症の病態メカニズム解析

橘　吉寿（神戸大学大学院医学研究科システム生理学分野）
兎田幸司（早稲田大学高等研究所）
知見聡美，南部　篤（生体システム研究部門）

チックとは，反復性の動作を示す運動チックと，奇声を発する・下品な言葉を連発する音声チックから成る。しかしながら，チックの病態生理に関しては，未だ明らかでない。本研究では，大脳基底核の線条体における異常興奮がチックの本態であるという仮説を立て，GABA 受容体拮抗薬を線条体に注入することでマウスチックモデルを作製する。そのマウスを用いて，オプトジェネティクスによる大脳皮質-大脳基底核回路の神経活動操作が，チック症状を改善するかどうか検証することでチック症の病態に迫る。

研究の背景としては，線条体の神経活動増加が，黒質網様部の活動低下を引き起こし，結果，視床・運動野の活動増加がチック症を引き起こすという作業仮説を立てている。そこで，イソフルレン麻酔下にて，線条体に順行性ウイルスベクターを注入し，投射先である黒質網様部の軸索終末にアーキロドプシンを発現させる。発現期間を経た後，覚醒下にて線条体にビキュキュリンを投与し，症状が出現したマウスの黒質網様部において，線条体からの軸索終末を光照射することで，線条体黒質網様部路の神経伝達を遮断する。これにより，チック症状が改善するかどうか行動学的に解析する。

共同研究初年度の本年は，電気生理学実験ならびに行動実験を行うための実験室のセットアップを行った。また，これまで報告されているサル・ラットと同様に，マウス線条体への GABA 受容体拮抗薬投与により，チック症状を誘発すること，一次運動野からの自発脳波記録に成功している。さらに，ウイルス注入による光刺激実験もスタートさせている。

32. 前頭皮質 6 層錐体細胞の局所回路における標的選択性

苅部冬紀（同志社大学研究開発推進機構）

前頭皮質の第 6 層細胞には視床投射細胞が存在する。これまでの共同研究で，電気生理学的には視床投射細胞の興奮性局所結合の頻度が極めて少ないことを見出した。しかしながら，過去の形態学的な研究ではこれと矛盾する結果も報告されている。そこで本年度は，窪田ら（Kubota et al., 2018）によって改良が進められた ATUM-SEM 法と組織処理方法を用いて電顕標本を作製し，6 層視床投射細胞のシナプス結合に関する研究に着手した。In vitro スライス標本を用いて 3 個の視床投射細胞にバイオサイチンを注入し，固定後，蛍光ストレプトアビジンを用いて細胞を可視化した。光学顕微鏡と電子顕微鏡の像を相関させるための指標として，DAPI による核染色と蛍光レクチンによる血管染色を並行して行った。共焦点顕微鏡を用いて蛍光スタック画像を撮影した後，電顕用組織処理後に樹脂包埋し，約 0.2 x 0.5 mm の広範囲の組織を切り出し，35 nm 厚の連続切片を作製し，走査型電子顕微鏡（SEM）観察した。6 層と 5 層下部を中心に画像撮影し，解析を進めている。

Kubota Y, Sohn J, Hatada S, Schurr M, Straehle J, Gour A, Neujahr R, Miki T, Mikula S, Kawaguchi Y. (2018) Nature Communications, 9: 437. DOI:10.1038/s41467-017-02768-7.

33. 睡眠調節におけるグリア細胞の役割：星状細胞突起のシナプスでの構造的可塑性の分析

仙波和惠，Samuel Deurveilher，Chantalle Briggs（Dalhousie 大学, Department of Medical Neuroscience，カナダ）
倉本恵梨子（鹿児島大学大学院歯学総合研究科）
窪田芳之（生理学研究所大脳神経回路論研究部門）

睡眠覚醒のサイクルの維持には，視床下部の神経細胞が重要な役割を演じている。我々は，星状膠細胞（astrocyte）が，視床下部の覚醒促進細胞（オレキシン（OX）細胞）への興奮性入力の強度を，睡眠状況（断眠/安眠）によってダイナミックに調節している事を明らかにした（Briggs, Hirasawa & Semba, J Neurosci 2018）。本研究では，睡眠状況によって，星状膠細胞突起とシナプス間隙の間の構造的な関係が，どのように変化するか（接着と撤収）を，電子顕微鏡で解析する。６時間の断眠，もしくは安眠させたラット（各グループ３匹）を灌流固定した後，視床下部の切片を作成済みである。

昨年度の研究では，OX 細胞上への個々のシナプスについて，興奮性であるか抑制性であるかを免疫組織化学法で同定する必要性が出てきたので，今年度は新しい切片を使い OX のほかに VGluT1/2 と VGAT を加えて四重染色し，レーザー共焦点顕微鏡で観察した。OX 細胞の細胞体へのシナプスは大部分が興奮性であるという報告があるが，我々のデータは抑制性の入力もかなりあることを示唆しており，電顕レベルでの確認を進めている。

また，電顕観察用のエポン包埋に先立つ重金属染色方法を改良することによって，より優れた超構造画像を獲得できるようになり，特に微細で複雑な形態が特徴である星状膠細胞の観察と分析がやりやすくなった。そうして得られた資料で，昨年と同じく ATUM-SEM 法を使い取得した連続電顕画像データセットを４つの OX 細胞について獲得し，３次元再構築を行った。昨年度に解析した２つの OX 細胞でも観察されたが，星状膠細胞は半分以上のシナプス間隙に接近して位置していることが確認できた。距離の数量化を進める予定である。また同じ星状膠細胞突起が OX 細胞の複数のシナプス間隙に接近しているのが普通であり，OX 陰性の樹状突起のシナプス間隙にも接近している。星状膠細胞の細胞体，また突起同士の直接のコンタクトも頻繁である。

これらの観察は，星状膠細胞が OX 細胞への入力の調節に重要な役割を演じていることを示唆する。今後，さらに細胞の数を増やし，睡眠条件の違いがもたらす OX 細胞上の興奮性と抑制性シナプスと星状膠細胞突起との関係を質的また数量的に調べる予定である。

34. ノロウイルスの高分解能構造解析

片山和彦，戸高玲子（北里大学北里生命科学研究所・感染制御科学府ウイルス感染制御学 I）
村田和義，ソン･チホン（生理学研究所）

ノロウイルスやロタウイルスに代表されるウイルス感染による下痢症は，世界中で毎年数百万人規模の感染者を出し，大きな社会問題となっている。特にノロウイルスは，未解決なウイルス学的問題が多く残っている。それは，ノロウイルスの感染，病原性発現機構を研究するためのモデル動物，効率良くウイルスを増殖させる培養細胞がほとんど無いことに起因する。

本研究では，唯一培養細胞で安定して増殖させることが可能なマウスノロウイルス（MNV）に，を用いて，その高分解能三次元構造をクライオ電顕により解析した。また，バキュロウイルス発現システムを用いてウイルス様中空粒子（Virus Like Particle: VLP）を作製して，構造解析を行い，感染性粒子と比較検討することにより，ノロウイルスの粒子構造（エクステリア，インテリア）を明らかにする。

MNV を株化培養細胞 RAW264.7（以下 RAW）に感染させ，培養上清に放出されてくる感染性 MNV 粒子を精製した。一方，MNV ゲノムの Virus capsid protein をコードする領域をバキュロウイルスベクターに組み込み，昆虫細胞で発現させ MNV-VLP を得た。精製した MNV,

MNV-VLP を生理学研究所に運び，クライオ電顕によって詳細に解析を行った。MNV は，5.2 Åの分解能の三次元構造を得た。MNV は P ドメインのヒンジ部分が折りたたまれ，隣接する P ドメイン同士が P2 ドメインで互いに手をつないだように固定されている形状を取っていることが明らかになった。

今回得られた P ドメインの構造は，RAW 細胞の MNV 粒子を細胞内に取り込むレセプターとして機能する分子，CD300lf, CD300ld の結合部位がウイルス粒子表面において多く露出しており，そのアクセスしやすさが，感染感受性に寄与していると考えられた。

35. クライオ電子顕微鏡によるウルトラファインバブル細胞内取り込み機構の解明

矢倉富子（愛知医科大学　医学部）

近年，1 μm 以下の微細気泡『ウルトラファインバブル（UFB）』が持つ生理活性作用が注目されており，基礎生物学分野への応用が期待されている。UFB の細胞への作用機序として，UFB が細胞内に取り込まれることが想定されているが，その根拠は示されていない。申請者らは，細胞培養液中に 100 nm 以下の酸素および一酸化炭素 UFB を作製し，UFB が培養細胞へ与える影響を調査した。その結果，UFB が細胞の活性に影響を与えることが分かってきた。そこで，クライオ電子顕微鏡を用いて UFB が実際に細胞内に取り込まれているかどうかを形態学的に明らかにする目的で，本共同研究を開始した。今回，UFB をクライオ電子顕微鏡下で観察できるか検証するため，サンプルを氷包埋して観察したが，氷中に泡状の構造は全くみられなかった。

可能性としては，１）試料作製（凍結）時にガスが抜ける，２）電子線を照射した瞬間に抜ける，３）ガスと溶液のコントラストに差がつかないためなどが考えられた。そこで，今後の方針としてまずこの問題を解決するために下記の対策を考えた。

１）の場合，リポソームに封入されたガスであれば残る可能性があるので，細胞膜と同じリン脂質からなるリポソームを作製し，UFB がリポソーム内に入るかどうか位相差電子顕微鏡，クライオ電子顕微鏡を用いて観察する。

２）の場合，低温ステージを持った顕微鏡下で，ガスの有無の検証を行う。しかしながら，電子線を照射した瞬間に UFB が破壊されてしまう可能性がある。

３）の場合，位相差電顕を用いて観察する。

今後，上記結論より UFB が細胞に取り込まれるかを形態学的に観察することを目標に更なる検討を重ね段階的に研究を進めていく予定である。

36. 真核生物の繊毛構築のための輸送機構の構造学的解明

今井　洋，中桐侑平，昆　隆英（大阪大学大学院・理学研究科）
ソン チホン，村田和義（生理学研究所）

ヒトを含めた真核生物の繊毛は，精子の遊泳や体軸の左右相称性の決定に重要な働きをしている。繊毛を構成するタンパク質の欠損が起こると，不妊症を含めて様々な繊毛病が引き起こされることが知られている。

繊毛が運動することにより，繊毛が生えている細胞上に水流が作られるが，その動力源は，ダイニンと呼ばれるタンパク質である。私たちは，ごく最近共同研究により，繊毛に存在する新規のダイニンのサブユニットを発見した．このサブユニットが欠損すると，運動の調節に異常をきたすことがわかった。そこで，このサブユニットが繊毛のどこでどのような機能をしているかを構造生物学的に明らかにする目的で，構造解析を行った．

実験材料には，分子遺伝学の手法が確立しているモデル生物である緑藻の *Chlamydomonas reinhardtii* を使用した。*Chlamydomonas* の細胞体には繊毛が生えている。この繊毛中に存在する私たちが見つけた新規のダイニンサ

ブユニットに，分子遺伝学的方法で，ビオチンラベルした。その繊毛を単離して，細胞膜を取り除き，ストレプトアビジンとビオチンを付与することで，ラベルを大きく認識しやすくした。

この繊毛を急速凍結した。その試料を生理学研究所の JEM2200FS クライオ電子顕微鏡を用いて，繊毛の連続傾斜画像を撮影した。コンピュータを用いて，これらの連続傾斜画像から繊毛の３次元再構成を行った。さらに，その一部を切り出して，平均化（サブトモグラムの平均化）を行った。

その結果，新規のダイニンサブユニットの位置が世界で初めて明らかとなった。その位置から機能も推測できると考えている。将来，本研究で解明される結果が繊毛病の分子メカニズムの理解につながることが期待される。現在，論文として投稿するために，準備を進めている。

37. 新規蚊媒介性ウイルスの三次元構造解析

岡本健太（ウプサラ大学）
Chihong Song，村田和義（自然科学研究機構　生理学研究所）
井上真吾，坂口美亜子，森田公一（熱帯医学研究所　長崎大学）

蚊は，吸血により多種多様な動物に感染するウイルスを媒介することが古くから知られてきた。しかし，吸血は蚊の持つ一面でしかなく，多くの蚊は植物から栄養を摂取している。植物と蚊の環境中における関わりは重要であると考えられるものの，蚊が植物ウイルスを媒介しているかは，いまだよく知られていない。そのような中で，私たちはフィリピンでの現地調査から蚊に感染する新規ウイルスを分離した。分離した新規ウイルスは，これまで報告されてきた植物ウイルスと非常に近縁の遺伝子配列と粒子構造を持つことが明らかとなった。分離されたウイルスは Tanay virus (TANAV)と名付けられ，現在はネギウイルス科に属するウイルスとして登録されている。TANAV は，楕円状のコア構造と突起構造よりなるエンベロープウイルスという非常に特徴的な粒子構造を持っていた。生理研との共同研究の成果から，その楕円構造は，螺旋状ウイルスに共通する点があるのではないかと仮説を立てた。その仮説を裏付けるように，一定の条件下では突起構造が外れ，楕円構造の一部は螺旋ウイルスのようなシリンダー状の構造を形成した。また， 別の条件下では，ウイルスのエンベロープの再構築がおこり，長いチューブ状の構造が形成された。この再構築されたチューブ構造は，多くの螺旋状の植物ウイルスが持つ構造を彷彿させた。

私たちは現在，細胞内部のウイルス中間体を電子顕微鏡で解析している。このような解析は，突起のついた楕円構造という複雑な粒子構造を大量に形成する機構や，私たちが発見したチューブ状の粒子構造の生理的役割といったウイルスの新奇な面を解き明かすことに繋がる。また，本研究を通して，植物ウイルスが，蚊を経由して，どのように蚊に感染するウイルスに進化したかというテーマに一石を投じることができると期待している。

38. Using Zernike phase plate cryo-EM(ZEM) to facilitate the study of RNA polymerase Ⅲ complexes and telomerase

Hsin-hung Lin，Rob S.-H. Huang，Wei-hau Chang（Institute of Chemistry, Academia Sinica, Taipei, Taiwan）
Chihong Song，Kazuyoshi Murata（National Institute for Physiological Sciences）

It has remained unclear whether or not a data set is composed of two macromolecules of similar size but

different morphology can be separated using con-current 2D classification technique and whether or not ZEM enhancement is essential. To address this important issue, we mixed RNA polymerase II (13 nm in diameter) and apo-ferritn (13 nm in diameter) and collected cryo-EM images without Zernike phase plate. Here, we shows RNA polymerase II can be separated from apo-ferrin in the CEM cryo-EM images using 2D classification on RELION. In addition, we use apo-ferritin as benchmark to show the resolution of FS2200 with DDD can reach 1.5 X Nyquist frequency.

RNA polymerase II is a 12-subnit enzyme complex and it has a size of ~16 nm in its longest dimension. Conventional purification of RNA polymerase requires subjecting it to a gel filtration column, which is often calibrated by molecular weight markers including apo-ferritin. Due to that apo-ferritin has similar size to RNA polymerase II, it can contaminate the fraction of RNA polymerase II. As a result, EM images of RNA polymerase II may contain apo-ferritin particles. In such case, a microscopy researcher would need to hand-pick RNA polymerase II particles from the image while rejecting the apo-ferritin based on their apparent distinction in morphology, which consumes valuable time of a researcher when not automated.

Nowadays in the standard flow of cryo-EM processing, all particles are automatically selected. We then ask a question—whether or not the selected particle images that contain mixture of RNA polymerase II and apo-ferritin can segregate into different groups during the process of 2D classification using standard processing algorithm like RELION? To this end, we deliberately mixed purified RNA polymerase II with apo-ferritin, collected the cryo-EM movie-micrographs with a direct electron camera (DE-20) on FS2200 (Fig. 1) without the aid of phase plate, and subject the data to RELION using various masks (Fig. 1).

Our results (Fig. 1) show RNA polymerase II and apo-ferritin segregate into different groups using either 14 nm mask or 20 nm mask but better results of RNA polymerase II were obtained by 20 nm. Using the coordinates generated by 2D classification, the obscure RNA polymerase II in the raw images can be circled (Fig. 2). This work suggests it is possible to isolate a particular particle group through 2D classification. In addition, apo-ferritin can reach to 4.5 Å (Fig. 2).

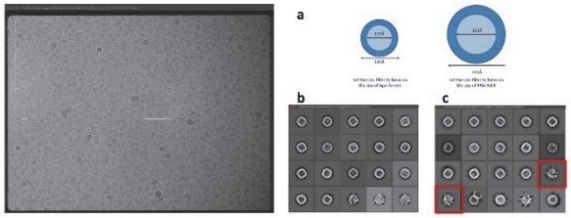


Figure 1. **Left Panel:** cryo-EM image from FS2200 CEM that contains a mixture of apo-ferritin particles (12 nm) and RNA polymerase II particles (16 nm) but it is hard to separate using manual picking-up. **Right Panel:** Strategy of isolating pol II from the images. (a) testing 14 nm filter for apo-ferritin and 20 nm large filter for pol II. (b) 2D classification results using 14 nm filter. (c) 2D classification results using 20 nm filter where 2D averages of pol II are clear as boxed in red.

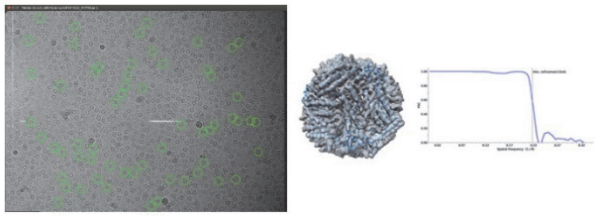


Figure 2. **Left Panel:** Re-boxing pol II using the coordinates generated by 20 nm filter-2D class average. The result, indicated by green circles in the micrograph, shows pol II particles can be isolated the 20 nm filter that contain a mixture through 2D classification. There are a total of 60 of them in this micrograph. **Right Panel:** Single particle reconstruction of apo-ferritin of the apo-ferritin particles isolated from the mixture has reached 4.5 Angstrom resolution (1.5X Nyquist) where alpha helices are clear. Pol II reconstruction is not available due to scarcity of the particles.

Reference:

1. Scheres S.H. J Struct Biol. 180, 519-530 (2012).

39. 臓器欠損ラット胚盤胞へ注入したウシ ICM 細胞の臓器再生能力

保地眞一（信州大学繊維学部）
平林真澄（生理学研究所）

我々は，目的臓器の形成に不可欠な遺伝子をノックアウト (KO) した胚盤胞に胚性幹 (ES) 細胞を顕微注入すれば，出生後ラット生体内における目的臓器が ES 細胞由来となる「胚盤胞補完法」の有効性を報告してきた。膵臓形成のマスター遺伝子である Pdx1 を KO することを通し，マウスとラット間の異種胚盤胞補完システムが機能することも実証されている。Sall1 遺伝子の KO ラット体内にマウス ES 細胞由来の腎臓を作製したというプレスリリースも今年 2 月に行った。しかし，進化分類学的な距離がさらに遠い動物種間で「胚盤胞補完法」が機能するか，まったくわかっていない。また，ヒト臓器再生のための異種ホスト動物としてはブタだけが脚光を浴びているが，様々な発生工学的技術の完成度がブタ以上に進捗しており，妊娠期間に限ってみるとヒトにかなり近いウシがいつブタの代替候補動物種になってきても不思議なことではない。そこで，体外受精 (IVF) によって作製したウシ胚盤胞から内部細胞塊 (ICM) 細胞を単離し，ES 細胞株を作製することを試みた。IVF 由来ウシ胚盤胞の作製から免疫手術による ICM の単離とそれらのガラス化保存までは信州大学繊維学部 (長野県上田市) で行った。孵化胚盤胞にまで胚発生が進んでしまうと，免疫手術による ICM 単離がうまく機能しなかったが，拡張胚盤胞であれば ICM を確実に単離できた。ガラス化保存後の ICM を生理学研究所 (愛知県岡崎市) に輸送し，マウスで報告のある ES 細胞株樹立用の複数の培養条件に乗せた。しかし培養条件に関わらず，1〜2 回の継代培養を超えて維持・未分化確認ができたコロニーを獲得するには至らなかった。異種胚盤胞補完法によりブタ体内でヒト臓器を作製しようという試みが今春から稼働しようとしている (報道による)。しかしながら，ウシで同じシステムを試験できるよう条件を整える重要性は何ら変わっておらず，これからも継続的な挑戦が望まれる。

40. ドーパミンが規定する細胞膜興奮性制御の分子基盤解明

貝淵弘三，坪井大輔（名古屋大学大学院医学系研究科）

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。近年，研究代表者らは快情動学習過程においてドーパミンが，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，神経活動を調節することを見出した（Nagai et al., Neuron, 89(3), 2016)。ドーパミンにより細胞興奮性を制御していることが明らかになったが，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。これまでに研究代表者らは D1R を通じた MAPK 活性化が Kv7/KCNQ-family K+チャネルサブユニットをリン酸化すること，そして，そのリン酸化が KCNQ2/3 ヘテロチャネルの open probability を可変させることを見出していた。これらの結果は, MAPK シグナル伝達が KCNQ チャネルの活性化を制御することを示していた。

本共同研究では, D1R シグナル伝達が関わる線条体神経細胞の膜興奮性の分子基盤を解明するべく, マウス線条体での KCNQ チャネル制御における PKA/Rap1/MAPK シグナル伝達の役割に着目した。具体的には，急性線条体スライス標本を用いたパッチクランプ解析で Kv7/KCNQ チャネルが主成分とされる低い閾値を持つ電位依存性のカリウム電流（M 電流）に対する薬理学的解析を行った。前年度において D1R 作動薬（SKF-81297）刺激は M 電流を抑制する一方で，D2R 作動薬(Quinpirole)は M 電流に影響を及ぼさなかった。本年度では，D1R 作動薬による M 電流抑制効果を定量的に示した。また抗リン酸化 KCNQ2 抗体を用いた線条体スライスのイムノブロット解析から, 電位依存的な KCNQ2 チャネル開口を制御する 2 か所の KCNQ2 リン酸化部位について, D1R 作動薬刺激が当該リン酸化を亢進させることを見出した。この結果は，線条体において D1R シグナル伝達は KCNQ2 のリン酸化を介して M 電流

を制御することを示唆した。さらに線条体の神経サブタイプ特異的にドーパミンによる M 電流調節機構を解明するため，時期空間的な発現制御できるアデノ随伴ウイルスベクターを構築した。

41. 新生児黄疸モデルマウスの脳神経の発達についての研究

丸尾良浩，佐藤　彩（滋賀医科大学医学部小児科学講座）

新生児高ビリルビン血症を起こす humanized UGT1A1 mouse を用いて，新生児高ビリルビン血症がどのように脳の発達に影響を及ぼすかを，生化学的マーカーの測定と組織的な所見をあわせて検討する。本研究では申請者および研究協力者のカリフォルニア大学サンディエゴ校（UCSD）Tukey 教授が作成した３種類の humanized UGT1A1 mouse を使用する。humanized UGT1A1 mouse [Alb UGT1A1*1wt/Ugt1−/−，Alb UGT1A1*1Δ71/Ugt1−/−，TG(UGT1A1*1)Ugt1−/−]の肝臓に特異的にヒト UGT1A1 の野生型と p.G71R 変異をもつマウスを利用する予定であったが，マウスの肝臓での UGT1A1 の発現量が少ないため，本研究には向かないことがわかり，現在別のヒト化 UGT1A マウス（UGT1A1*28wt/Ugt1-/-）を利用するために滋賀医科大学倫理員会に研究の申請を行なっている。このマウスは新生児高ビリルビン血症と同様に生後二週間の間に高ビリルビン血症を来たし，約 10%のマウスに核黄疸が引き起こされる。研究の手法にていての検討を研究代表者が生理学研究所を訪問し鍋倉教授と打ち合わせを行なった。今後，新生児期の高ビリルビン血症が脳神経の発達にどのように影響を与えるかを，２光子顕微鏡を用いて観察・検討する。

新生児期の高ビリルビン血症を起こす臨床メカニズムについては，ヒトの新生児高ビリルビン血症，母乳栄養に関連した遷延性黄疸の臨床症例の UGT1A1 の遺伝子解析を進め新規遺伝子変異を同定した（c.241G>A, p.V81M）。現在 in vitro の発現系を用い臨床像との関係を解析を進めている。

42. 2 型糖尿病性上皮障害における SGLT 阻害剤の薬理作用

齊藤　成（藤田医科大学　医学部　解剖学講座 II）

2 型糖尿病性上皮障害により生じる血管周囲を取り巻く上皮細胞と血管内皮細胞との３次元的接着構造の病態変化を可視化した上で，SGLT 阻害剤(Phlorizin)の上皮細胞修復過程の薬理作用を検討している。2 型糖尿病モデル動物 (C57BL/6J マウス : 高脂肪食 VS 標準食) に SGLT 阻害剤(Phlorizin) を投与し，代謝関連臓器 (肝臓・膵臓) の SBF-SEM 電顕サンプルを作製した。4 週齢から高脂肪食(High-Fat-Diet)もしくは標準食(Standard Diet)を与え，8 週齢，12 週齢，20 週齢にて，Phlorizin 投与群，Vehicle 投与群，薬剤非投与群に分け，灌流固定もしくは浸漬固定を行なった。固定組織に導電性染色(rOTO 法)とウラン・鉛ブロック染色を施し，Quetol-812 Epoxy resin 包埋した(一部，導電性 Ketjen Black 含む)。本年度は，SBF-SEM を用いて，肝臓と膵臓(20 週齢 C57BL/6J マウス : 標準食)の連続断面 SEM 像を取得した。1. 肝臓では，肝細胞の突起と灌流圧で伸展した類洞血管との接着は緩やかであり，その間に形成されるディッセ腔が認められた。類洞分岐部に血管内皮細胞の核があり，類洞に沿って内皮細胞の突起は広がっていた。灌流圧の影響下においても，肝臓細胞間の毛細胆管にある junctional complex は保たれていた。2. 膵臓では，二つのランゲルハンス島の内分泌細胞とも，α 細胞と β 細胞を顆粒の特異形状より，分別可能であった。diffuse 型では，外分泌腺様のクラスター構造(ATLANTIS)にチモーゲン様顆粒が認められ, 内分泌細胞では δ 顆粒と PP 顆粒が多く認められた。浸漬固定に比べ，灌流圧によりランゲルハンス島の有窓性毛細血管は拡張し，一部の上皮細胞間隙が生じたため，内分泌細胞と内皮細胞との比較的密な接着構造が明瞭に観察できた

[1]。今後は，高脂肪食負荷+クロドロン酸投与 C57BL/6J マウス群での SGLT 阻害剤(Phlorizin)投与の影響を明らかするために，代謝関連臓器 (腎臓・肝臓・膵臓)，脳神経組織 (海馬)の上皮細胞突起と血管周囲との接着構造データの取得を予定している。

[1] Saitoh S. Electron Microscopy-Novel Microscopy Trends. IntechOpen. 2018.

43. 蚊の唾液の鎮痛効果に関する研究

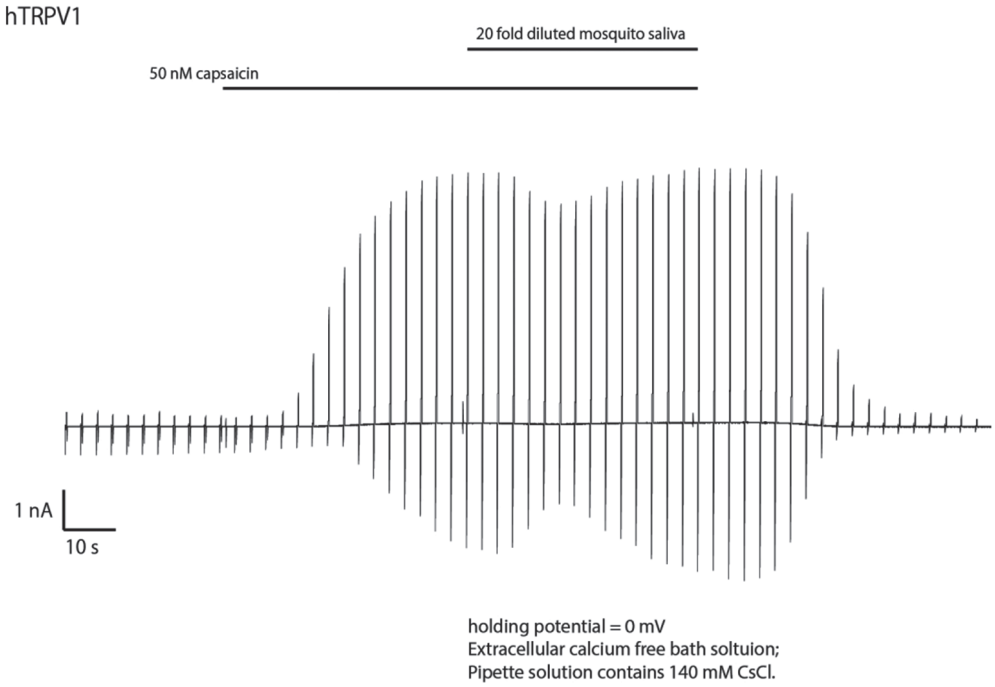
酒井裕也（関西大学　戦略基盤プロジェクト）
青柳誠司（関西大学　システム理工学部）
高山靖規，富永真琴（生理学研究所／生命創成探究センター）

人間が蚊に刺されても痛くないのは，針が細く皮膚の痛点を避けやすいことと，唾液に麻酔効果があることと言われている。しかしながら後者に関しては，唾液の中に血液凝固を阻害する物質があり，このため間接的に発痛物質の産生が抑制されることが明らかになっているが，唾液が直接的に痛覚神経を麻酔させるかどうかは解明されていない。痛みを受容するチャネルの 1 つである TRPV1 を発現した細胞に唾液を投与し，その際の神経活動を捉えて評価することで，この問題の解明に挑んだ。

2018 年 12 月 3 日～2018 年 12 月 7 日の日程で生理学研究所・温度生物学グループにて，蚊の唾液溶液を投与した際に生じる TRPV1 強制発現 HEK293 細胞の活性化電流をパッチクランプ法で測定した。サンプルは大日本除虫菊株式会社より提供された蚊を使用した。溶液の調整方法は唾液腺とともに摘出した頭部を 50 匹分使用,0.9%生理食塩水中にてホモジナイズ，遠心分離機にて 15,000 rpm，15 分間遠心分離した。ここで得られた上清溶液を唾液溶液とした。

結果として，100 μM capsaicin が引き起こす活性化電流に対して，蚊の唾液溶液がこれを抑制することが確認できた（参照 d-143d01）。この唾液溶液を 10 倍・20 倍希釈し，追加実験を行った。結果として，同様の抑制効果が得られた。

TRPV1 チャネルの活動を抑制する候補物質を選定し，この候補物質を用いて同様の実験を行った。50 μM capsaicin が引き起こす活性化電流に対して，この物質がこれを抑制することが確認できた。今後はこの物質が蚊の唾液中に含まれるかどうかを，質量分析等の手法を用いて確認する予定である。



44. フィコビリソームの構造と光調節の多様性の解析

広瀬　侑（豊橋技術科学大学 大学院工学研究科）

シアノバクテリアは，酸素発生型の光合成を行う原核生物であり，光合成のアンテナとしてフィコビリソームと呼ばれる集光タンパク質複合体を持つ。フィコビリソームの構成タンパク質が環境中の光の波長によって調節される現象は「補色順化」と呼ばれ，緑色光を吸収するフィコエリスリンおよび赤色光を吸収するフィコシアニンの量比が調節されるタイプの存在が知られていた。我々は，GenBank データベースに登録された約 1300 株のシアノバクテリアのゲノム情報を探索し，黄緑色光を吸収するフィコエリスロシアニンが調節されるタイプの補色順化遺伝子クラスターを有するシアノバクテリアの一群を見出した。それらの一群の中から，*Leptolyngbya* sp. PCC 6404 の細胞を順化させてフィコビリソームを単離し，透過型電子顕微鏡による観察を行った。その結果，半円型のフィコビリソームにおけるフィコエリスロシアニンの波長依存的な着脱と，ロッド型のフィコビリソームの合成の制御の存在を明らかにした。

RefSeq データベースに登録された 445 株のシアノバクテリアのゲノム情報を精査したところ，補色順化は，２種類の光受容体（CcaS および RcaE）と，それによって制御される３種類のフィコビリソーム成分（フィコエリスリン，フィコエリスロシアニン，ロッド型フィコビリソーム）の組み合わせによって８タイプに分類された。遺伝子系統解析により，これらの補色順化の進化における遺伝子水平伝播の関与を明らかにした。また，フィコエリスロシアニン調節型の補色順化の出現は約２４億年前のヘテロシスト能の獲得よりも早く，進化の過程で一度だけ生じたことが示唆された。一方，ロッド型フィコビリソーム調節型の補色順化の獲得は複数回起こったことが示唆された。

<参考文献>

Hirose Y, Chihong S, Watanabe M, Yonekawa C, Murata K, Ikeuchi M, Eki T. Diverse Chromatic Acclimation Processes Regulating Phycoerythrocyanin and Rod-Shaped Phycobilisome in Cyanobacteria. (2019) Mol Plant. 12(5), 715-725.

45. 霊長類 iPS 細胞を用いた生殖細胞の分化誘導と遺伝子発現解析

今村公紀，岡田佐和子（京都大学霊長類研究所ゲノム細胞研究部門ゲノム進化分野）
平林真澄，小林俊寛（生理学研究所）

霊長類 iPS 細胞の生殖細胞分化誘導は，ヒト発生進化の生物学的基盤の解明や希少霊長類の保全・繁殖の観点から重要である。本研究では，当研究室で樹立した非ヒト霊長類 iPS 細胞を対象に，生理学研究所遺伝子改変動物作製室の始原生殖細胞（PGC）分化誘導技術と設備を利用することで，霊長類 PGC の分化誘導と遺伝子発現解析に取り組む。本研究は霊長類研究所の「共同利用・共同研究」として進めてきたものであり，2018 年度より両研究所の双方向的な共同研究とすることでプロジェクトの深化を図る。

これまでに，所内対応者である小林俊寛先生によって PGC 特異的に発現する NANOS3 遺伝子座に tdTomato レポーターをノックインしたチンパンジーiPS 細胞が作製されていた。そこで，まずはこのチンパンジーiPS 細胞を用い，生理学研究所にて小林先生のご指導の下，PGC 分化誘導を行い tdTomato 陽性細胞の出現を確認した。そこで，次にニホンザル iPS 細胞を用いた PGC 分化誘導に取り組んだ。チンパンジーiPS 細胞の手法に基づき，分化誘導前後の培養条件を検討しつつ実験を行ったところ，免疫染色およびフローサイトメトリーにて PGC 分化を認めることができた。しかし，チンパンジーと比較して PGC 分化の効率は非常に低く，また結果が安定しないことから，今後は培養条件の最適化に取り組む必要があると考えられる。

【 計画共同研究報告 】

計画共同研究報告

〔 目　　次 〕

1. 動物の脳内光受容タンパク質 Opn3 の機能制御メカニズムの解明とその応用への展開 169
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 169
3. 髄鞘のシナプス結合制御機構の解明による新規治療アプローチの開発 170
4. 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 170
5. SBF-SEM を用いた髄鞘の軸索機能調節機序の解析 171
6. 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 172
7. SBF-SEM を利用した骨格筋の酸化ストレスによるミトコンドリアの構造変化の解析 172
8. 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 173
9. 組織化学的手法を応用した細胞超微形態の三次元構造観察 174
10. 神経幹細胞からニューロン，グリア細胞への分化過程の形態学的解析 175
11. 社会ストレスによる脳組織の超微細な細胞生物学的変化とその機序・役割の解明 175
12. 細胞分化・老化過程を 3 次元構造解析するための技術開発 176
13. 減数分裂におけるミトコンドリアの動態と酸化ストレスによる影響の解明 177
14. 海産環形動物の環境感知能力から探る環境適応メカニズム 177
15. 温度感受性 TRP チャネルの細胞応答と調節メカニズムの解明 178
16. グリア細胞に発現する温度感受性分子の探索と機能解析 179
17. TRP チャネルの温度依存的活性化における細胞膜脂質の関与 179
18. 膜機能タンパク質温度感受性 TRP チャネルが細胞間接着や細胞移動・増殖に及ぼす影響 180
19. 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 181
20. 摂食調節ペプチドによるエネルギー代謝調節機構の解明 181
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グリア細胞及び血管の機能解析 182
22. ホログラフィック計測・刺激による高次脳機能操作 182
23. Transgenic (TG)マウス（Arc::EGFP-CapZ）を用いた記憶研究 184
24. 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 185
25. 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 185
26. 光刺激法を用いた大脳基底核神経回路機能の解析 186
27. 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 186
28. HIV-1 Gag MA-Env 複合体のクライオ電子顕微鏡解析 188
29. バクテリア DNA 凝集構造の位相差電子顕微鏡による観察 188
30. イネ萎縮ウイルスの構造構築機構の解明 189
31. 昆虫脚間接部弾性器官へのアドヘレンスジャンクションの三次元構造解析 190
32. Major vault protein により構成される原生生物のオルガネラ kinetocyst の分子構築 190
33. SBF-SEM を用いた痒みを伝達するシナプスの三次元構造解析 191
34. 睡眠関連因子シグナル伝達のイメージング 192
35. 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 192
36. マウス大脳皮質広範囲に GCaMP を発現させるウイルスベクターの開発とそのインジェクション方法の構築 193
37. 光計測と光刺激を用いた脳機能作動原理の研究 194

38. 大脳皮質運動野から脊髄および大脳基底核へ投射する神経経路の機能解明 194
39. 目的指向型行動における腹側海馬－腹側線条体回路の役割の解明 194
40. 前シナプス分子基盤による神経回路形成・維持機構の解析 195
41. アデノ随伴ウイルス遺伝子導入を用いた神経発生および恒常性維持の分子メカニズム解析 195
42. 神経路特異的標識を用いた視床下部外側野に投射するマウス嗅皮質亜領域の機能と神経接続の解析 196
43. 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 197
44. ウィルスベクターを用いた恒常性維持及び血圧制御神経回路の解析 197
45. 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研究 198
46. 皮質・基底核・視床回路を解析する研究 198
47. 内側手綱核－脚間核－腹側海馬回路の生理的役割 199
48. 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 200
49. 摂食と生殖を制御するエネルギーセンサー細胞とその神経経路の同定 200
50. ヒト型 SIRPa を発現するヒト化モデルラットの作製 201
51. 生理学的アプローチによるクラスター型プロトカドヘリン(Pcdh)の視覚神経回路形成の機能解明 201
52. 神経幹細胞の未分化性維持に関わる遺伝子の機能解析 202
53. 機能的な神経回路形成における神経細胞の個性化の役割 203
54. 海馬神経回路の左右非対称性を維持するメカニズム 203
55. 電位依存性カルシウムチャネル alpha2delta サブユニットの局在とシナプス形成における役割 204
56. 小脳運動学習を制御する GABA 作動性神経回路の可塑性 204
57. 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 205
58. 哺乳類の生殖機能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 206
59. SBF-SEM を用いた小型甲殻類の比較形態学 207
60. 求心性迷走神経活動による延髄孤束核神経活動変化の *in vivo* イメージング 207

1. 動物の脳内光受容タンパク質 Opn3 の機能制御メカニズムの解明とその応用への展開

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）
*2018 年 10 月に名古屋工業大学に異動

多くの動物は，眼以外にも光を受容する器官を持ち，それらの光受容器官は行動リズムなどを制御している。申請者は，生理研久保研究室との共同研究から，環形動物ゴカイ幼生の脳で機能する光受容タンパク質 Opn3 が，紫外光を感知するはたらきを持つことを見出した(Tsukamoto et al., *J. Biol. Chem.*, 2017)。Opn3 は昆虫など他の無脊椎動物のみならず，ヒト・マウスなど哺乳類の脳内にも存在することが知られている（が，哺乳類の脳が直接光を感知しているかは不明）。

これまでに，ゴカイの Opn3 では，発色団分子レチナール（ビタミン A の誘導体）結合部位近傍に存在する Lys-94 残基を，アミノ酸側鎖の極性の小さい Thr 残基などに置換すると可視光受容体になる，すなわち Lys-94 残基は，ゴカイ Opn3 が紫外光センサーとしてはたらくために必須な役割を果たしていることを見出していた。このゴカイ Opn3 が紫外光を受容する分子メカニズムをさらに詳細に検討するために，Opn3 とレチナールとの相互作用について，赤外分光法を用いて野生型と Lys94Thr 変異体で比較解析し，両者では実際に発色団-タンパク質間相互作用に違いがあることを見出した。

私たちが，ゴカイ Opn3 が紫外光受容体であることを報告するまでに解析された昆虫や魚類の Opn3 はすべて可視光受容体であった。ゴカイのゲノム解析を進めることにより，ゴカイがもう一つ別の Opn3 遺伝子を持つことがわかった。そこでこの（別の）Opn3 についても解析を進め，これは他の Opn3 と同様に可視光（青緑色）を受容することを見出すとともに，ゴカイの成体が捕食者（魚）の影を感知し，忌避行動（頭部を引っ込める）を起こすために用いていることを明らかにした(Ayers et al., *BMC Biol*., 2018)。

ゴカイの持つ２種類の Opn3 は異なる色を受容するとともに，光受容した活性状態がさらに光を受容すると，もとの状態に戻る（不活性化する）特徴を持つ。そこで，光刺激によってシグナル伝達をオン・オフできる光操作ツールとして，ゴカイ Opn3 を利用することにも現在取り組んでいる。

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。

2018 年度は，一昨年度より継続して行っているラット海馬初代培養神経細胞を用いた免疫染色により，59 名の小脳失調を主症状とする自己免疫性脳炎患者の血清および髄液中より，新たに神経細胞膜表面抗原を認識する自己抗体の検出を行った。その結果，ニューロンの膜表面抗原に対する自己抗体の存在が示唆された症例が 9 例，グリア細胞の膜表面抗原に対する自己抗体の存在が示唆された症例を 11 例認めた。今後，この抗体陽性患者の血清を

用いて免疫沈降法と質量分析により新規抗原蛋白の同定を行う予定である。また，同じ患者血清を用い cell based assay により抗 mGluR1 抗体を測定したところ，昨年度報告（Yoshikura N, Kimura A, Fukata M et al. J Neuroimmunol. 2018; 319:63-67）した患者に加え，新たに 1 名の陽性患者を同定し，治療介入へとつなげることができた。

3. 髄鞘のシナプス結合制御機構の解明による新規治療アプローチの開発

大野伸彦（自治医科大学医学部解剖学講座組織学部門）
Huy Bang Nguyen，Truc Quynh Thai，Sui Yang（山梨大学解剖学講座構造生物学教室）

最近の研究から，灰白質における樹状突起と軸索間のシナプス結合の減少が，脱髄疾患において神経症状の進行に深く関わる可能性が示唆された。本研究では脱髄によって引き起こされる軸索終末部のシナプス結合の変化とそのメカニズムを明らかにすることで，髄鞘による神経細胞間のネットワーク（コネクトーム）制御機構の解明と，シナプスの機能と可塑性を保持する新たな治療戦略の開発の端緒を築くことを目標とした。今年度は PLP4e マウスを用いて, 脱髄による軸索終末への影響と，それに伴うオルガネラ動態の変化について，解析を行った。SBF-SEM による観察結果から，PLP4e マウスの小脳白質では 3 ヶ月齢から 5 ヶ月齢にかけて慢性進行性の脱髄が起こることがわかった。この脱髄の進行に伴って，小脳皮質における登上線維-プルキンエ細胞間の vGluT2 陽性シナプス終末の減少が起こることが分かった。SBF-SEM による 3 次元再構築とオルガネラの定量解析の結果, このシナプス終末の減少は残存終末の synaptic bouton の体積増加と，内部のミトコンドリアの体積増加を伴っており，残存終末のシナプス伝達の変化が起こっている可能性が示唆された。また，免疫組織化学的検討の結果から, シナプス終末の減少と同時に登上線維-プルキンエ細胞シナプスの結合に関わる登上線維の C1ql1 の発現低下がみられるデータが得られた。以上から，慢性脱髄モデルにおいて，シナプス終末の減少とともに，残存シナプス終末の形態変化とオルガネラ動態変化が惹起されること，そしてシナプスオーガナイザー分子の発現の変化が関わる可能性が示唆された。これらの結果の一部を原著論文として発表した[Nguyen et al. Med Mol Morphol 2018]。

4. 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（自治医科大学　医学部　解剖学講座　組織学部門）
志茂　聡（健康科学大学　健康科学部　作業療法学科）
青木友浩（国立循環器病研究センター研究所　分子薬理部　創薬基盤研究室）
安部倉　友（京都大学　脳神経外科）
岡　美栄子（東京女子医科大学　脳神経外科）

脳動脈瘤はくも膜下出血の原因疾患であるが，破裂を予防する薬物治療は存在しない。そのため，脳動脈瘤の病態制御機構の解明による新規薬物治療開発が社会的に重要である。ここで，中膜に存在する平滑筋細胞は細胞外基質の分泌により血管壁の強度を維持するための中心的な細胞である。一方で，脳動脈瘤病変において中膜平滑筋細胞が形態変化を起こし脱落していることが病理学的特徴とされており，そのために血管壁の強度低下が生じ病変の進展や破裂をもたらしていることが推測される。従って，脳動脈瘤病変部の中膜平滑筋細胞の

脱落の経時的推移とそれを制御する分子機構を明らかとすることは，将来的にそれらの機構を標的とした脳動脈瘤破裂予防のための新規の薬物治療法の創出につながる可能性がある。

このような背景をもって，まず病態形成伸展過程における中膜平滑筋細胞の変形や脱落の経時的推移を検討することを計画した。しかし，ヒトにおいて脳動脈瘤病変部全体の標本を採取することは不可能である事や病変個々の疾患背景の多様性や病期の多様性により解析が困難である事から，先に樹立した脳動脈瘤ラットモデルを使用した。脳動脈瘤ラットモデルでは，高塩分食負荷による高血圧誘導と片側総頚動脈結紮により対側の脳血管分岐部に負荷される血流ストレスを増加させる事によって，ほぼ全例で総頚動脈結紮側と対側の脳血管分岐部に脳動脈瘤の誘導が可能である。また，誘導された病変は上記の外科的介入の術後 30 日前後で内弾性板の断裂と中膜平滑筋細胞の脱落がほぼ完成し，ヒトの進行した脳動脈瘤と一致する病理学的特徴を観察することが出来る。

今回，脳動脈瘤ラットモデルに誘発された各病期（脳動脈瘤形成前，脳動脈瘤発生初期，脳動脈瘤進展過程，進行した脳動脈瘤病変の完成後）の脳動脈瘤病変を摘出し，それらから作製した組織切片に対してミクロトーム組み込み型走査電子顕微鏡を用いて超微細構造の観察を行った。その結果，病変部の中膜平滑筋細胞は脳動脈瘤形成前と比較し表面積は変化せず容積が進行性に減少し最終的に 30%減少した。また，細胞の長径は脳動脈瘤の病期を通して変化がなく，一方で短径は経時的に減少し最終的に 55%減少した。すなわち，紡錘形であった中膜平滑筋細胞は徐々に扁平化した。また，中膜平滑筋細胞数は脳動脈瘤発生初期から経時的に一貫して減少し続け，減少率は最終 80%に達することが確認された。

5. 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）

高等動物の神経系では，多くの軸索が髄鞘によって覆われている。髄鞘は神経軸索の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，軸索径や軸索輸送の調節など様々な面から軸索の機能調節に重要であると考えられる。本研究では，先端電子顕微鏡技術である SBF-SEM 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した。

髄鞘関連遺伝子改変動物の中枢神経系と末梢神経系のそれぞれの髄鞘と軸索について SBF-SEM により取得した画像について，本年度は解析を行った。髄鞘関連遺伝子改変動物として硫酸化糖脂質スルファチド欠損（Cerebroside sulfotransferase: CST 欠損）マウスの小脳および坐骨神経の髄鞘の形態を解析した。

CST 欠損マウスは，髄鞘のランビエ絞輪隣接部分(paranode)の髄鞘・軸索間結合(paranodal axo-glial junction: PNJ)の形成不全を有し，4 週令頃より震えや運動障害が見られ加齢とともに症状は進行する。このマウスでは PNJ の形成不全だけでなく加齢によりミエリンの異常な膨化が生じることが明らかになった。膨化したミエリンと軸索について，立体解析を行い大きさなどの計測が進行中である。末梢神経についても画像解析中である。一方，髄鞘関連遺伝子改変動物として，新規の P0 タンパク質関連遺伝子改変動物を解析した。

髄鞘関連遺伝子改変動物や脱髄モデル動物の神経系を SBF-SEM を用いて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。

6. 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）
村松　憲（杏林大学保健学部理学療法学科）
大野伸彦（自治医科大学医学部解剖学講座組織学部門）

肥満を成因の一つとする 2 型糖尿病は，下痢や便秘など様々な自律神経障害を呈し，患者の QOL を低下させる。これらの発症機序として，食後の高血糖やインスリン抵抗性にともなう酸化ストレスなど，様々な要因により引き起こされていること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。本研究では，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，筋層間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 次元的再構築による解析をおこない，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を目的とした。

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肥満 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)を用いた。麻酔下で小腸を採取し, OTO 法によるブロック染色をおこない樹脂包埋した。その後，SBF-SEM を用いて Z 軸方向に 50-70nm 間隔で連続断層像を取得した。

SBF-SEM による 3 次元超微形態解析では, 通常食群は軸索の Varicosity に多数のシナプス集積を認め，軸索からは複数の側枝の形成を認めた。高脂肪食群では軸索はらせん状となり，軸索の Varicosity 内のシナプス集積はほとんどみられなかった。高脂肪食群フロリジン投与後は, Varicosity 内のシナプス集積とともに軸索に多数の側枝の形成を認めた。一方，軸索内のミトコンドリアの体積，表面積および短径は 3 群間で有意な変化はみられなかった。免疫組織化学的解析では, 通常食群の筋層間神経叢内および筋層間の軸索に沿って，顆粒状の Synaptophysin 陽性像を豊富に認めた。一方，高脂肪食群では筋層間神経叢内の陽性像は減弱していた。しかし，高脂肪食群フロリジン投与後は，顆粒状の Synaptophysin 陽性像を筋層間神経叢内に多く認めた。

高脂肪食摂取により，耐糖能異常が引き起こされた前糖尿病状態において, 軸索の形態変化および Varicosity のシナプス動態の異常を惹起すること。さらに，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。今後は解析データを増やしていくとともに，画像解析方法の効率化を進めていく予定である。

7. SBF-SEM を利用した骨格筋の酸化ストレスによるミトコンドリアの構造変化の解析

渡邉敬文（信州大学学術研究院農学系）
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（自治医科大学医学部組織学部門）

近年の鶏肉産業では過度に成長した肉用鶏(ブロイラー)の胸肉に炎症が起こる事例が多く報告されている。現在までにこの異常は骨格筋の酸化ストレスから起こることが有力な仮説となっている。昨年度までの基礎研究では胸肉の多くを占め嫌気的代謝能の高い速筋であるⅡb 型筋線維と，好気的代謝能の高い遅筋であるⅠ型筋線維のミトコンドリアを 3 次元的に解析した。Ⅱb 型筋線維では小型のミトコンドリアが多く存在し，一方でⅠ型筋線維では遅筋は太く直線状のミトコンドリアが筋原線維と平行して観察された。脂質滴は筋節の構成単位となるＺ線に沿って規則的にミトコンドリアに埋め込まれていた。これによって，骨格筋は筋線維のタイプによってミトコンドリアの形態を変化させていることが明らかにされ，本年度は酸化ストレスにより炎症を起こした胸肉のミトコンドリアの解析を行う予定であった。しかしながら，申請者の所属変更による研究設備の移設

ための実験開始の遅延に加えて，飼育実験中の 9 月 6 日に北海道で発生した地震による 2 日間の停電のため，実験を途中で中止する事態となった。また，その後の復旧作業のために SBF-SEM 観察に供するサンプルの採取は実施出来なかった。そのため，昨年度までに SBF-SEM 観察を行っていたⅠ型とⅡ型の中間型とされるⅡa 型筋線維のミトコンドリアの 3 次元構造解析を行った。

3 次元立体構築像から，ⅡA 型筋線維のミトコンドリアはⅠ型筋線維で観られる形態を呈するミトコンドリアとⅡB 型筋線維で観られる形態を呈するミトコンドリアが混在していた。昨年度までの成果と比較すると，筋線維に占めるミトコンドリアの体積率と 1 個あたりのミトコンドリアの体積はⅠ型筋線維，ⅡA 型筋線維，ⅡB 型筋線維の順で値が高かった。脂質滴はⅠ型筋線維よりも存在量は少なかったが，同じ速筋に分類されるⅡB 型筋線維とは異なり存在を認めた。過剰な脂質滴は筋収縮を阻害すると報告されており，ⅡA 型筋線維は瞬発力を維持するために脂質滴を減らしていると考えられる。以上から，収縮特性および代謝特性においてⅠ型とⅡB 型の中間型を示すⅡA 型筋線維は，ミトコンドリアと脂質滴の形態特性からも両者の中間型であることが証明された。

8. 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，川瀬恒哉
（名古屋市立大学大学院医学研究科再生医学分野）
大野伸彦（自治医科大学医学部解剖学講座組織学部門・生理学研究所超微形態研究部門）
古瀬幹夫（生理学研究所細胞構造研究部門）

側脳室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，先導突起と呼ばれる短い突起を前方に伸ばして高速で嗅球に移動する。これらは嗅球で成熟し，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 新生ニューロンの一次繊毛の解析

SBF-SEM・3 次元再構築法を用いて，嗅球へ移動中の新生ニューロンに存在する一次繊毛の細胞内での形状・位置，それらの移動相との関係を定量的に解析した。

② 移動する新生ニューロン間の接着の解析

新生ニューロンは，嗅球や傷害部へ移動の際に，細長い細胞塊を形成し，互いを足場としている。新生ニューロン同士の接着状態と移動相との関係を SBF-SEM・3 次元再構築法により定量的に解析した。

③ 新生ニューロンと活性化アストロサイトの接触の解析

脳梗塞で活性化したアストロサイトによる新生ニューロンの被覆，新生ニューロンとの接触によるアストロサイト表面の微細構造の変化を SBF-SEM・3 次元再構築法を用いて明らかにし，この成果に関する論文発表を行った（Kaneko et al, ***Science Advances***, 2018）。

④ 出生時イベントによる脳室下帯の構造変化

出生時イベントがその後の脳室下帯の細胞構築に与える影響を SBF-SEM・3 次元再構築法により解析した。

9. 組織化学的手法を応用した細胞超微形態の三次元構造観察

臼田信光，深澤元晶，野田　亨（藤田医科大学 医学部）
宮川　剛，中尾章人（藤田医科大学 総合医科学研究所）
大野伸彦（自治医科大学 医学部）

SBF-SEM 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，超高圧電顕の併用により，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。Golgi 装置について，肝細胞などの種々の組織を材料として，還元オスミウム法 （ZIO）法を行い，超高圧電顕観察と SBF-SEM 観察を行ってきた。ferricyanide osmium (FO) 法を施した胃底腺壁細胞の細胞内分泌細管と肝細胞の形質膜, alkaline phosphatase (Alpase) 染色を施した小腸粘膜上皮細胞の観察を行った。

【材料と方法】ラット胃，十二指腸，肝組織をグルタルアルデヒド固定し材料とした。ZIO 法では，Zn, I, Os を含む染色液で，FO 法では，Ferricyanide 添加 Osmium 液で，Alpase 染色では，Mayahara 法によりクエン酸鉛液で染色した。樹脂包埋後，0.1 μm 厚の超薄切片を通常電顕で，1-3 μm 厚で作製した厚切り切片を 1250M を用い，加速電圧 1000kV で観察した。

【結果】昨年報告した肝細胞の ZIO 法による染色と同様に，膵臓外分泌細胞でも電子密度高く Golgi 装置が観察された。膵臓外分泌細胞の ZIO 法で染色した Golgi 装置を示す。図 1 では通常電顕観察，図 2 では超高圧電顕観察所見を示す。FO 法によれば，細胞内分泌細管や形質膜が，Mayahara 法によれば，細胞膜や小胞体が明瞭に染色された（図省略）。これらについて今後 SBF-SEM 観察を行う。

【結論】SBF-SEM では反射電子を観察するが，その量は原子番号に依存する。つまり，重金属を利用すれば，はっきりした画像が得られる。ZIO 法に加え，FO 法と Mayahara 法では高いコントラストの画像が得られ，通常電顕と超高圧電顕の双方で使用することができる。SBF-SEM でも使用可能と予想している。超高圧電顕では構造の詳細が描画可能で, SBF-SEM においては細胞全体像が描画可能であるので，両機器の長所を活かした併用が大きな効果があると考える。

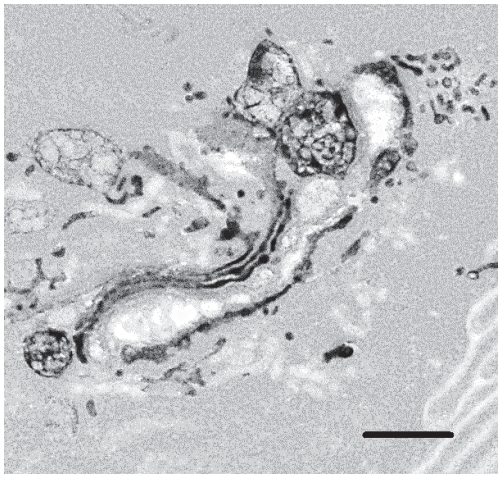


図 1：ZIO 法を施した膵臓外分泌細胞の Golgi 装置の通常電顕観察写真（0.1 μm 切片，バー：0.5 μm）。

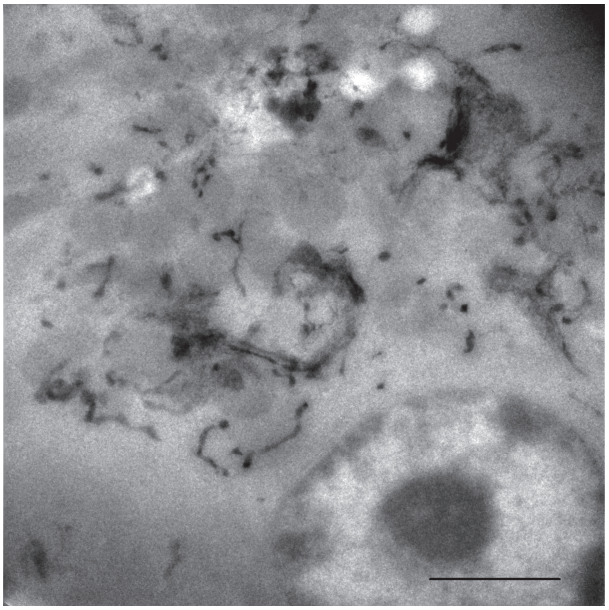


図 2：同標本の超高圧電顕写真（3 μm 切片，バー：3 μm）。

10. 神経幹細胞からニューロン，グリア細胞への分化過程の形態学的解析

後藤仁志，小野勝彦（京都府立医科大学大学院　神経発生生物学）
大野伸彦（自治医科大学　医学部解剖学講座組織学部門）

発生期の神経幹細胞は，分裂をしながら適切な時期に神経細胞やグリア細胞へと分化する。その過程において，それぞれの細胞に特徴的な細胞内小器官などが発達すると考えられる。本研究では，発達期のそれぞれの細胞に特徴的な微細構造を解析する目的で, SBF-SEM を使った微細形態の三次元再構築を行った。

グリコーゲンは，これまでに電子顕微鏡観察における発生期の神経幹細胞のマーカーとして用いられていた。これまでに，発生期におけるグリコーゲン代謝の生理的意義を解析しているが，このグリコーゲン顆粒の神経幹細胞における細胞内分布を明らかにするため，E15.5 日齢の C57/BL6 胎仔マウスの大脳皮質をモデルとし，脳室層の神経幹細胞を生理学研究所電子顕微鏡室の SBF-SEM で撮像した。また，グリコーゲン合成の遺伝子を欠く Gyg 欠損マウスの同時期の脳を同様の手法にて撮像した。野生型マウス脳の SBF-SEM による撮像では，画像一枚あたり，40 nm の厚さで切った切片を観察した。グリコーゲン顆粒は数 10 nm であることが報告されているため，複数枚の画像にわたって観察されない顆粒状の構造物がグリコーゲンと同定した。また，このような構造物は，Gyg 欠損マウスの顕微鏡像では頻繁に認められなかったことから，野生型マウスで観察された顆粒状の構造物がグリコーゲンであることが示唆された。このような構造物を Microscopy Image Browser ソフトウェアを用いてセグメンテーションを行い，Amira ソフトウェアで三次元構築を行った。その結果，脳室層の細胞体近傍では，細胞質に比較的均一に分布していることが観察された。神経幹細胞は，細胞内に神経幹細胞は細胞体が脳室内にあり，そこから長い突起を表層まで伸ばしている。SBF-SEM を用いて，E15.5 日齢の神経幹細胞の全体構造を撮像することは難しいことから，今後大脳皮質表層部分にフォーカスして同様の解析を行う予定である。

また，神経幹細胞からグリア細胞系へと分化する細胞の微細形態を解析する目的で，マウス P4 視神経の SBF-SEM による撮像・セグメンテーションを行った。この時期の視神経には，視神経の軸索近傍にオリゴデンドロサイト前駆細胞や，アストロサイト，ミクログリアが含まれている。オリゴデンドロサイトはアストロサイトと比較して，細胞体から比較的分岐の少ない突起を有していることなど，それぞれの細胞種に特異的な細胞内微細構造を見出している。今後，より発生段階の進んだ視神経を同様の方法によって観察し，その構造を解析したいと考えている。

11. 社会ストレスによる脳組織の超微細な細胞生物学的変化とその機序・役割の解明

永井裕崇，古屋敷智之（神戸大学大学院医学研究科薬理学分野）
大野伸彦（自治医科大学医学部組織学部門）
古瀬幹夫（生理学研究所細胞構造研究部門）

社会や環境から受ける心理的ストレスは，短期的には適応的変化を引き起こすが長期的には精神疾患の発症リスクとなる。これまで，短期的なストレスがドパミン D1 受容体を介して神経突起やスパインの造成とストレス抵抗性の増強を引き起こすこと，ならびに長期的なストレスがミクログリア活性化やミクログリア由来の炎症関連分子の活性化を介して神経突起の退縮と情動変容を引き起こすことが示されてきた。このように，ストレス抵抗性の増強や減弱に応じて，前頭前皮質神経細胞の樹状突起やスパインの形態は大きく変化する。この形態変化には細胞内小器官やグリア細胞が重要と考えられるが，これらのストレス病態における関与は殆ど不明である。本研究は三次元電子顕微鏡を用いることにより神経細胞とグリア細胞並びにその細胞内小器官を同時

に可視化し，ストレス病態における組織細胞生物学的変化の実態解明を目的とする。

本研究では，観察対象の C57BL/6 マウスをより体格の大きく攻撃性の高い ICR マウスに 1 日 10 分間暴露する社会挫折ストレスモデルを用いる。平成 29 年度，30 年度を通じて単回もしくは反復（10 回）のストレスに供したマウスの脳を回収し，SBEM (Serial block-face electron microscopy)により前頭前皮質第 II/III 層の連続電顕画像を取得してきた。平成 30 年度には画像解析のワークフローを確立し，これまで，樹状突起とスパイン，シナプス並びにシナプス周囲のグリア細胞，スパインや軸索付属の細胞内小器官の三次元再構成を行ってきた。その結果，単回の社会挫折ストレスがミクログリアによる軸索の囲い込み面積を増大させる一方で，反復の社会挫折ストレスは増大させないことが分かった。一方で，ミクログリア突起中における神経構成要素（軸索，スパイン，シナプス）の貪食については，コントロール群，単回ストレス群，反復ストレス群について群間の有意な差は認められなかった。これらの知見は，ストレス急性期においてはミクログリア―軸索相互作用が亢進すること，そしてストレス慢性期においてはその相互作用亢進が減衰することを示唆する。加えて，樹状突起スパインの形態解析も進行中であり，一定量の結果が得られ次第盲検を解除して統計学的な解析に供する予定である。

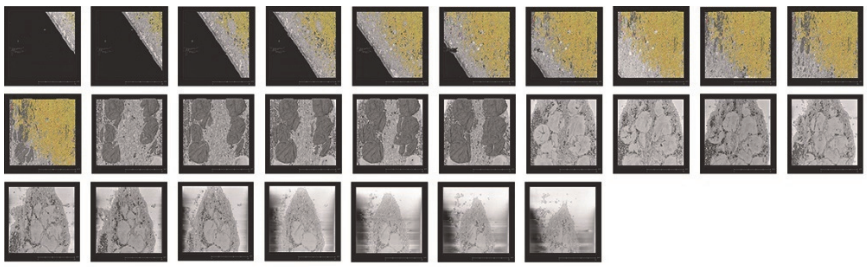
12. 細胞分化・老化過程を 3 次元構造解析するための技術開発

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（自治医科大学医学部解剖学講座組織学部門）
齊藤　成（藤田医科大学医学部解剖学講座 II）

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。

筋細胞分化過程における細胞立体構造の変化に注目した。具体的には特異的分化マーカー/ qPCR を用いての生化学的な確認，先端光学顕微鏡を用いてのタイムラプス解析を元にその時期を把握しながら，先端電子顕微鏡計測を行う必要性を感じ，単相の細胞を分化誘導する事により生じる立体的な変化も加味しながら分化細胞間や未分化の細胞との相互作用をより効率的に計測するため，試料の形状と計測時間との関係にも注目した。C2C12 未分化細胞は単層細胞であるが，分化誘導に従い，核の多核化と細胞質の広がりと厚みの増大を伴うが，その可視化，定量化も容易になってきた。細胞内の構造情報としては分化に伴い積極的にミトコンドリア間の連携が行われている様子も光顕/電顕観察両者から明らかとなり，両顕微鏡の特徴を生かしながら研究を進める系も立ち上がりつつある。これは分化のみならず，発生，老化過程にむけて微細構造解析を行う重要な基礎技術開発である。次に，分化過程に伴う核や細胞内小器官の形や密度，相互作用だけで無く，細胞接着面の構造情報を得るため，接着面側の未加工試料での計測が必要であるが，多少計測の困難さを伴ったものの，ほぼ系も立ち上がり，後は分化ステージの異なる細胞情報を増やす段階に来ている。現在，得られた連続 SEM 像から Amira を用いて分化過程の観察・３D モデル作成の解析を行っている（図：分化誘導 5 日目の C2C12 細胞）。一方，従来より問題視とされている樹脂に起因するチャージアップ等は連続二次元画像取得には影響を与えるが，染色方法，コーティングやアースの取り方の工夫でかなり軽減された。

本年度は 2 回，齊藤先生に，計測の支援をして頂けたのは非常に有り難いことであったが，昨年同様，やはり，二台の SBF-SEM の装置の何らかのトラブルがあると，計測試料数を増やすことに困難さは否めず，異なる分化ステージの構造情報の違いを明らかにする様な研究課題にはもう少し時間がかかりそうである。さらにダイアモンドナイフの切削間隔では構造情報が欠損する可能性に関しては組み合わせるべき新たな計測技術開発の必要性を感じる。



C2C12分化誘導5日目の連続SEM像とミトコンドリア・核のSurfaceモデル(40 nm間隔で計測し、10枚ごとに図に示す)
ミトコンドリア(黄)、核(チャコールグレー) スケールバーは25 μm

13. 減数分裂におけるミトコンドリアの動態と酸化ストレスによる影響の解明

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（自治医科大学医学部・解剖学講座組織学部門）
齊藤　成（藤田医科大学医学部・解剖学Ⅱ）

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）からなる複雑な過程である。減数分裂では，染色体数と DNA 量が半減する。この時，細胞小器官の挙動については，よく分っていない。細胞小器官の中で，特に，ミトコンドリアに着目した。ミトコンドリアは，分裂と融合を繰り返し，好気的なエネルギー産生や細胞死を制御し，その機能障害により雄性不妊を引き起こす。本研究では，減数分裂前後の造精細胞のミトコンドリアの挙動を SBF-SEM を用いて三次元微細構造レベルで明らかにすることを目的とした。

Wistar ラット精巣を細切し，固定後に炭素粒子を含むエポン樹脂に包埋した。SBF-SEM を用いて，電子顕微鏡レベルの連続画像を取得した。画像解析ソフト ImageJ を用いて画像変換後，Microscopy Image Browser を使って得られた連続画像から造精細胞の核とミトコンドリアを画像セグメンテーションして抽出した。さらに，画像解析ソフト Amira を用いて画像セグメンテーションした造精細胞の三次元再構築像を作成した。

ラット精巣を SBF-SEM で観察して精細管について 40 nm ごとの連続画像を得た。得られた連続画像より，シナプトネマ構造をマーカーに精母細胞と先体をマーカーに精子細胞を同定し，5 個の精母細胞と 10 個の精子細胞を解析した。三次元再構築像を作成した結果，精母細胞と精子細胞のミトコンドリア数は，それぞれ 425.4±155.7 個と 428.1±25.0 個で両者に差はなかった。しかし，精母細胞では，ミトコンドリア数にバラつきが大きいことが分かった。また，ミトコンドリアは，精母細胞では細胞質全体に分布するが，精子細胞では辺縁部に多く分布した。

ラット精巣において，1 個の精母細胞と 1 個の精子細胞のミトコンドリア数に違いがないので，減数分裂により 1 個の精母細胞から 4 個の精子細胞が形成されるが，ミトコンドリア数は約 430 個になり，ミトコンドリア総数が制御されていることが示唆された。

14. 海産環形動物の環境感知能力から探る環境適応メカニズム

荻野哲也，豊原治彦（京都大学大学院農学研究科）
鈴木喜郎，富永真琴（生理学研究所／生命創成探究センター）

海産環形動物はほぼすべての海底環境に適応し，その範囲は深海熱水噴出孔や貧酸素環境といった非常に過酷な環境にも及ぶ。生息域の拡大には生理学的，行動学的な適応が重要となるが，これらの適応に先んじて環境を正確に把握するセンサー分子の感知範囲の変化が起こることが予想される。そこで本研究では海産環形動物の優れた環境

適応能力を解明することを目的とし，深海熱水噴出孔環境に適応したマリアナイトエラゴカイ(*Paralvinella hessleri*)及び貧酸素環境に適応したイトゴカイ（*Capitella teleta*)の 2 種を対象に，環境感知センサーとしての寄与が予想される TRP チャネルの機能解明を試みた。

海産環形動物の TRP チャネルの機能を解明するために，マリアナイトエラゴカイからは TRPA (PhTRPA) 及び TRPV-like (PhTRPV-like) を，イトゴカイからは TRPAbasal 2 種(CtTRPAbasal) をクローニングし，アフリカツメガエル卵母細胞発現系における電気生理学的手法を用いてこれらの TRP チャネルを活性化させる刺激の探索を試みた。熱刺激や冷刺激などの温度刺激，AITC やカプサイシンなどの化学刺激及び低酸素に曝露したが，これらの TRP チャネルの活性化に起因する電流は観察されなかった。そこで HEK293T 細胞発現系におけるカルシウムイメージング法を用いて海産環形動物の TRP チャネルを活性化させる刺激の探索を試みたが，上記の刺激に対する TRP チャネルの活性化は観察されなかった。上記発現系において海産環形動物の TRP チャネルの活性化が確認できなかった理由として，TRP チャネルの細胞膜への移行が起こっていないことが予想された。そこで海産環形動物の TRP チャネルが HEK293T 細胞発現系において膜移行しているかを調べるために，N 末端に myc tag を付与した海産環形動物の TRP チャネルを HEK293T 細胞にトランスフェクションし，その局在を抗 myc 抗体を利用したウエスタンブロット及び蛍光免疫染色によって調べた。その結果，海産環形動物の TRP チャネルは HEK293T 細胞において発現することが確認されたものの，膜移行していないことが明らかとなった。

以上の結果から，海産環形動物の TRP チャネルは HEK293T 細胞内に発現させても膜移行が起こらず機能解析ができないことが明らかとなった。さらにアフリカツメガエル卵母細胞においても活性化による電流が観察されなかったことから膜移行が達成されていない可能性が予想された。未だ解明されていない海産環形動物の TRP チャネルの機能を明らかにするためには，膜移行が達成できるホスト及びコンストラクトのさらなる検討が必要である。

15. 温度感受性 TRP チャネルの細胞応答と調節メカニズムの解明

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

動物の行動を制御するために，現在様々な忌避剤が用いられている。忌避剤の作用機序には神経毒作用による動物の生体恒常性の破綻などがあるが，土壌や食品への残留による環境への悪影響を与えるものも多い。それ故，ヒトに対する影響が最小限で，かつ環境毒性が少ない忌避剤の利用が望まれる。忌避剤はしばしば動物に対して不快感や侵害作用（痛み）を引き起こす。Pulegone はペニーロイヤルミントに含まれる精油成分であり鳥類忌避剤として用いられているが，その分子標的は明らかにされていない。知覚神経には種々の侵害受容性 TRP チャネルが発現していることが知られているため，研究では，ニワトリ知覚神経に対する pulegone の作用について検討した。

ニワトリ知覚神経細胞，ニワトリ及びマウス由来 TRP チャネルを異所性発現させた細胞を用いて蛍光イメージング法による細胞内 Ca^{2+}濃度（$[Ca^{2+}]_i$）測定を行った。また，ホールセルパッチクランプ法により pulegone によって誘導される電流を測定した。更に，ニワトリ足底内への pulegone 投与による行動変化について検討した。

Pulegone はニワトリ知覚神経細胞において濃度依存性に$[Ca^{2+}]_i$ を増加させ，その反応は低濃度から$[Ca^{2+}]_i$ 増加が起こるタイプと高濃度から起こる二つのタイプに分類された。TRP チャネル選択的アゴニストとアンタゴニストを用いた解析によって，前者には TRPM8，後者には TRPM8 に加えて TRPA1 チャネルが関与していることが分かった。このことは各種 TRP 遺伝子発現細胞を用いた実験によって確かめられた。高濃度の pulegone はニワトリ TRPM8 を抑制したがニワトリ TRPA1 を抑制しなかった。一方，マウス TRPM8，TRPA1 とも pulegone により抑制され，その効果には動物種差があることが分かった。Pulegone をニワトリ足底内に投与すると疼痛関連行動が引き起こされ，その行動は TRPA1 アンタゴニストの前

投与によって抑制された。

以上の結果から，pulegone による忌避作用の分子標的は TRPA1 であることが示された。更に，pulegone はマウスとは異なり，ニワトリ TRPA1 を抑制しなかったことから鳥類に優位な忌避剤であることが示唆された。本研究は TRP チャネルの機能における動物種間差のメカニズムの解明に加えて，新たな忌避剤の探索に有用な情報を提供すると考えられる。

16. グリア細胞に発現する温度感受性分子の探索と機能解析

西本れい，松岡義和（岡山大学病院集中治療部）
森松博史（岡山大学大学院医歯薬総合研究科）
デルーチ サンドラ，富永真琴（生理学研究所／生命創成探究センター）

本共同研究の目的は, 低体温療法の脳保護作用の分子基盤を明らかにするため, 中枢神経系のグリア細胞ミクログリアに発現する温度感受性分子を探索し, 同定することである。本研究計画開始までに，マウスミクログリアの動きに温度依存性があること, マウスミクログリアにはいくつかの温度感受性 TRP チャネルかが発現することを既に見出していた。共同研究では，候補の温度感受性 TRP チャネルがミクログリアの温度依存的な動きに関与するのか否か，以下のように実験を行い，いくつかの結果を得た。はじめに，候補のうちの一つである TRPM4 の活性化阻害剤として市販される 9-phenanthrol の作用選択性について，パッチクランプ法で検討したところ, 他の温度感受性イオンチャネルの活性も抑制することかがわかった。次に，TRPM4 活性化のミクログリアの動きへの関与を検討するため，遺伝子ノックダウンを行った。初代培養マウスミクログリアに対して RNA 干渉法によるノックダウンを行い，タイムラプスイメージングを用いてミクログリアの動きを観察した結果，コントロールと差がなかった。これに関しては，RNA 干渉法の手技自体がミクログリアの状態に悪影響を及ぼしている可能性が考えられ, 他の方法を検討することとした。一方，個体レベルでミクログリアの動きの温度依存性について検討するため, 生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門鍋倉淳一教授の協力のもと, ミクログリア特異的 EGFP 発現マウスを用いて, 麻酔下のマウスの脳温度を変化させながらミクログリアの動きを 2 光子励起顕微鏡で観察できる実験条件を確立し, 異なる温度条件でのミクログリアの動きを観察した。 結果，ミクログリアの突起の動きに温度依存性があることを見出し，in vitro で得られた結果が個体レベルでも同様であることが確認できた。

17. TRP チャネルの温度依存的活性化における細胞膜脂質の関与

内田邦敏（福岡歯科大学 細胞分子生物学講座）
山崎　純（日本大学　生物資源科学部）
富永真琴（生理学研究所／生命創成探究センター）

いくつかの TRP チャネルは多刺激受容体として機能し，細胞内外環境をセンスして情報を電気信号に変換している。TRP チャネルのうち 11 は温度センサーとしても機能していることが明らかになりつつあるが，これら温度依存性を持ったチャネルが温度によって活性化されるメカニズムは明らかにされていない。本計画研究は，TRP チャネルと細胞膜脂質との相互作用に焦点を当て，TRP チャネルの温度依存的活性化メカニズムを明らかにすることを目的として行った。

温度感受性 TRP チャネルの細胞内局在並びに温度変化に対する局在の変化について検討した。これまでチャンバーヒーターを用いて温度を室温から 40 度以上まで上昇させても温度感受性 TRP チャネルの局在に変化はみられなかった。今回 IR レーザーを用いた速い（ミリ秒）

温度上昇に対する変化を検討した。EGFP タグを付加した TRPV1，TRPM3，TRPM5 並びに TRPM8 チャネルを HEK293T 細胞に強制発現させ，共焦点レーザー走査顕微鏡（オリンパス製）を用いて観察した結果，室温から 45 度までの速い温度変化に対してもこれらチャネルの局在は変化しなかった。

GCaMP8 ならびに TRPV1 を HEK293 細胞に強制発現させ，IR レーザー照射によって TRPV1 チャネルが活性化されるかを検討した結果，45 度まで上昇するレーザー刺激によって TRPV1 チャネル活性化に伴う細胞内カルシウム濃度上昇がみられた。膜局在型の GCaMP8 ならびに TRPV1 を強制発現させた HEK293 細胞においては，より弱い IR レーザー刺激でもカルシウム濃度上昇が観察された。

インジェクションによって導入する細胞内温度プローブである FPT を HEK293 細胞にインジェクションし，蛍光強度変化を観察した結果，HEK293 細胞では蛍光強度変化を指標とした細胞内温度計測は難しいことがわかった。今後，膜透過型及び FPT 以外の温度プローブを検討する予定である。

18. 膜機能タンパク質温度感受性 TRP チャネルが細胞間接着や細胞移動・増殖に及ぼす影響

吉本怜子，曹　愛琳，本田裕子，城戸瑞穂（佐賀大学医学部）
高山靖規，富永真琴（生命創成探究センター）

上皮は生体と外界との境界を規定し，動的なバリアとして生体の恒常性を維持している。近年，消化管や皮膚疾患に上皮バリアの破綻が関連することが明らかにされており，バリア制御への期待は高い。口腔は身体の他の部位に比べ幅広い温度変化に常にさらされているが，それら刺激に適応しながら，粘膜形態を整え，上皮細胞同士の結合を変化させている。さらに損傷を生じることも少なくないが治癒が速いことが知られている。私たちは，温度感受性の陽イオン透過性イオンチャネル transient receptor potential チャネル群が口腔粘膜上皮バリアの維持，および，口腔で認められる速やかな治癒にどのように関わっているのかを明らかにする目的で体温近傍の温度で活性化される TRP vanilloid 4 (TRPV4)を対象として研究を行った。

実験には，野生型 C57BL/6 マウスならびに TRPV4 遺伝子欠失マウスを用いた。マウス口腔粘膜には TRPV4 は発現が認められ，上皮組織の分布は部位により発現様式が異なっていた。口蓋粘膜では，特に基底細胞層に顕著に発現していた。マウス口腔上皮の初代培養をにおける TRPV4 発現は，細胞膜表面およびアクチンと関連性を示し，細胞間の結合への関与が確認された。細胞外のカルシウム濃度を変化させることで口腔上皮細胞は細胞間の接着が促進し，上皮シートを形成した。野生型マウスの細胞のカルシウム存在下での温かい温度刺激は口腔上皮細胞の細胞間の接着を形成し E-cadherin 発現が線状になる一方で，温度が低いものでは点状あるいは破線状の発現様式を示した。TRPV4 欠失マウスから得られた細胞は温かい温度刺激を加えても野生型で見られる線状の細胞間の E-cadherin の染色様式はほとんどみられなかった。

TRPV4 遺伝子欠失の細胞の増殖や移動への影響も調べた。TRPV4 遺伝子欠失マウスでは，野生型マウスに比べ細胞増殖マーカーの発現細胞の数が多く，細胞増殖が活発であることが示唆された。さらに，培養細胞では細胞移動が野生型に比べ促進していた。個体レベルでの影響を知ることを目的として創傷治癒モデルを作製し，治癒の状態を比較したところ，TRPV4 遺伝子欠失マウスでは野生型マウスに比べ治癒が早まっていることを示すことができた。

以上のことから，TRPV4 が口腔上皮の細胞の増殖や移動に関わり，それらはアクトミオシンを介した細胞間の結合の制御に依る可能性が示唆された。

19. 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，西山和宏（九州大学大学院薬学研究院）
後藤拓実，前田翔也（九州大学薬学部）

G タンパク質共役型受容体（GPCR）は最も創薬標的になりやすいタンパク質の一つである。プリン作動性 P2Y6 受容体（P2Y6R）は大動脈狭窄（TAC）による圧負荷で誘発される心臓リモデリングを仲介する，いわば機械的伸展（メカニカルストレス）感受性をもつ GPCR である可能性が示されている。西田研究室との共同研究で P2Y6R 欠損マウスに圧負荷を施したところ，圧負荷による突然死とその後の心機能低下（心不全）が著しく増悪することが明らかになった。ところが，P2Y6R の唯一の阻害剤である MRS2578 処置マウスでは TAC による心臓リモデリングが抑制される。そこで，MRS2578 の化学特性に着目し，P2Y6R の求核性と MRS2578 の薬理作用との関係を調べたところ, MRS2578 はイソチオシアネート（ITC）基の親電子反応を介して P2Y6R タンパク質と共有結合し，P2Y6R の多量体形成および内在化を促進することが明らかになった。ITC を有する食品成分（スルフォラファンやアリルイソチオシアネートなど）もまた P2Y6R に作用し, P2Y6R の内在化及びタンパク分解を起こすことが分かってきた。ITC 化合物による P2Y6R 内在化は G タンパク質にも β アレスチンにも依存しなかった。P2Y6R の 14 個のシステイン残基をセリンに置換した変異体遺伝子を作成した解析の結果，細胞内第 3 ループにある 220 番目のシステイン（C220）が ITC の標的となることが明らかとなった。P2Y6R (C220S) 変異体を発現させた心筋細胞株に機械伸展刺激を行ったところ，ITC 化合物による P2Y6R 抑制効果は完全に消失した。この結果を基に, 心筋細胞特異的に P2Y6R を発現させるアデノ随伴ウィルスベクターを作成し，P2Y6R 欠損マウスの心筋特異的に P2Y6R（野生型および C220S 変異体）を発現させる系を確立させた。In vivo での検証は年度内に間に合わなかったものの，in vitro 研究により得られた知見は，P2Y6R のシステイン求核性が P2Y6R 品質管理に関与するものの，機械伸展感受性には関与しないことを強く示唆するものであり，ITC をはじめとする親電子性をもつ既承認薬が P2Y6R の C220 を標的とする新たなコバレントドラッグとなる可能性を支持するものである。

20. 摂食調節ペプチドによるエネルギー代謝調節機構の解明

塩田清二（星薬科大学・先端生命科学研究所），竹ノ谷文子（星薬科大学薬学部運動生理学研究室）
平林敬浩（星薬科大学・先端生命科学研究所），平子哲史（人間総合科学大学 人間科学部）
和田亘弘（東京大学大学院医学研究科），箕越靖彦（自然科学研究機構生理学研究所生）

ガラニン様ペプチド（GALP）は，1999 年大瀧らによってブタ視床下部から単離同定された抗肥満作用を有する神経ペプチドである。GALP の発見以降，その生理作用についての様々な研究がなされており，マウスにおいて，GALP 投与により摂食量と体重の減少を引き起こすなど，GALP の抗肥満効果が報告されている。GALP を脳室内に投与するとその直後に呼吸商が低下することを見出した。これは脂質代謝が亢進していることを示唆する結果であり, GALP の新しい生理作用として注目し，C57BL/6 マウスに GALP を脳室内投与後の脂質代謝に与える影響を調べた。その結果，脳室内投与後およそ 1 時間後から呼吸商が GALP 群で Vehicle 群と比較し有意に減少した。また，肝臓中の脂肪酸酸化に関与する遺伝子発現は GALP 群で有意に増加した。また，脂肪組織中の脂肪分解に関与する HSL，ATGL の遺伝子発現が増加した。GALP 投与によりみられた呼吸商の減少は，交感神経遮断により消失した。加えて，肝臓および脂肪組織での遺伝子発現の変化も交感神経遮断によって消失した。これらの結果から，GALP は摂食調節作用に加え，肝臓および脂肪組織での脂質代謝を改善することで抗肥満作用を示している事が示唆された。また，GALP による脂質代謝亢進作用は交感神経を介していることが明ら

かとなった。このように，GALP は投与直後には，呼吸商の減少が認められているが，投与 16 時間後には呼吸商は上昇し, Vehicle 群と比較しても高値を示すことを見出した。これは，エネルギーとして使われる栄養素が脂質から糖質へと変化していることを示唆する結果である。そこで，投与 16 時間後の糖代謝への影響をしらべた。体重に両群間で有意な差はなかったが，投与から解剖までの摂食量は GALP 群で減少した。また，血糖値に有意な差はみられなかったが，血中中性脂肪値は GALP 群で減少した。肝臓の糖新生に関連する G6Pase 遺伝子発現は GALP 群で減少した。一方で解糖系の酵素である GK は GALP 群で増加する傾向がみられた。脂質代謝に関連する遺伝子発現には有意な差がみられなかった。骨格筋の遺伝子発現も調べたが，量群間で有意な差はなられなかった。本研究から，GALP 投与により肝臓での解糖系が亢進し，糖新生が抑制させることが示唆された。GALP 投与直後に脂質代謝が亢進することを報告しているが, GALP 投与 16 時間後では脂質代謝ではなく糖代謝を亢進し，GALP はエネルギー基質優先性を変化させ，脂質優位性のエネルギー代謝制御機構を担うことが明らかとなった。

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グリア細胞及び血管の機能解析

澤本和延，澤田雅人，荻野　崇（名古屋市立大学大学院医学研究科再生医学分野）
鍋倉淳一，揚妻正和（生理学研究所生体恒常性発達研究部門）

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，古い抑制性介在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神経回路の構造や機能を維持している。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を制御するメカニズムは十分に研究されてこなかった。我々は，生理学研究所生体恒常性発達研究部門との計画共同研究により，多光子顕微鏡を用いた嗅球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明らかにした。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細胞との関係に着目し，確立した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が生じる微小環境とその制御機構を生きた動物で解析することを目的とした。

本年度は，多光子顕微鏡を用いたニューロンと血管・血流の同時生体イメージング法を用いて，嗅球における新生ニューロンの移動と血管および血流の関係を詳細に解析した。また，生体で嗅球血管の血流を局所的に調節する実験系を検討した。以上の実験結果から，成体脳におけるニューロンの移動および成熟過程は，血管および周囲の微小環境によって調節されていることが示唆された。

22. ホログラフィック計測・刺激による高次脳機能操作

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）

学習・記憶・情動などの高次脳機能は様々な脳領域における個々の神経細胞が時空間的に整然と発火することによって，叙述的な神経細胞集団活動（＝神経回路活動）を創出することで効率的に発現する。近年，これらの高次脳機能に伴う神経・グリア細胞集団の活動が 2 光子顕微鏡をはじめとした新規光学技術によって検出さ

れるようになり，高次脳機能の発現に必要な機能的要素が明らかとなってきた。私たちは 2 光子励起レーザー顕微鏡によって，動物を生きたままで中枢神経系の神経・グリア細胞の構造・機能を可視化し，これまで中枢神経系の免疫細胞であるミクログリアが生理的環境においては絶えず，その突起を動かすことでシナプスを監視していること，障害脳ではシナプス除去に関与することを明らかにした(Wake et al., ***J. Neurosci***, 2009)。またミクログリアが発達早期においてシナプス形成に関与すること(Miyamoto, Wake, Nabekura et al., ***Nature Commun***, 2016)や，正常脳において，ミクログリアがシナプスに接触することによって，シナプス活動を増加させ，局所神経回路活動の協調性を制御している(Akiyoshi, Wake et al., ***eNeuro***, 2018)ことも明らかした。また最近，ミクログリアが血液脳関門の透過性に寄与することも見出し(Haruwaka et al., submitted)，総括的にミクログリアの生理機能を明らかにし，その病態への寄与を提案してきた(Wake et al., ***Trends in Neurosci***, 2013, Miyamoto, Wake* et al., ***Front Cell Neurosci***, 2013)。このようなグリア機能が明らかになるにつれ，１．さらなる新規グリア機能の探索およびこれらを神経細胞とともに高精度に操作し，高次脳機能を制御する課題が提起される。そこで，本研究ではまずミクログリアの血液脳関門制御について明らかにするとともに，神経細胞—グリア細胞を高精度に制御する顕微鏡（ホログラフィー顕微鏡）の開発を進めた。

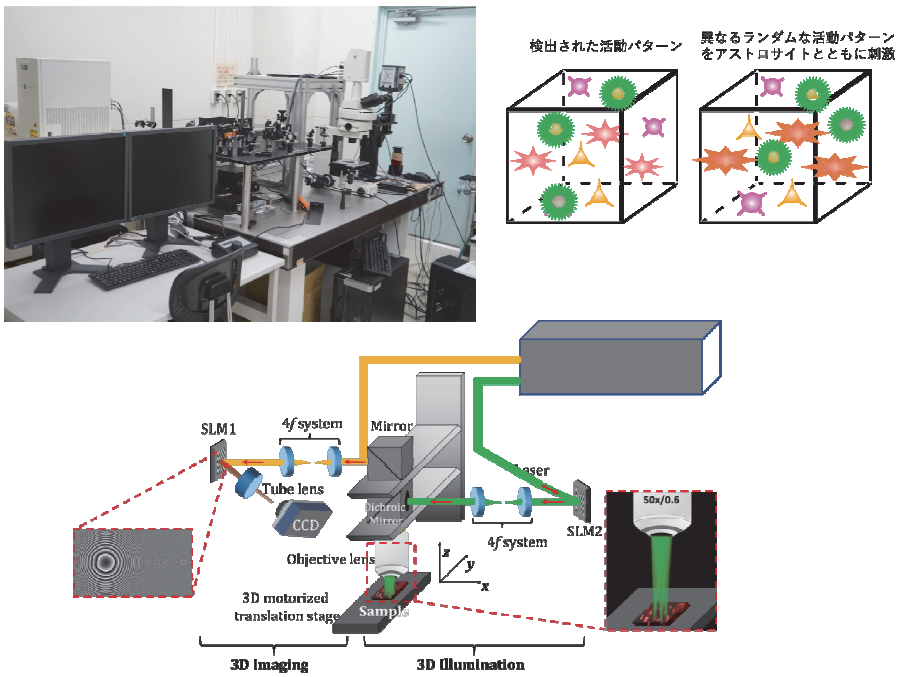
（１）ミクログリアによる血液脳関門の制御

ミクログリアは中枢神経系唯一の免疫細胞である。本研究では自己免疫性疾患である全身性エリテマトーデスモデルマウス（MRL/lpr）およびリポ多糖類（LPS）の腹腔内投与モデルを用いて，全身炎症時の血液脳関門の透過性の変化およびそのミクログリアの関与を検証した。まず, 2 光子顕微鏡を用いた生体イメージングによって LPS 投与前後におけるミクログリアの動態を同一個体の同一部位を，連日イメージングを行った。ミクログリアは LPS 投与一日後より血管周囲に遊走し，血管に接触するようになった。このような変化と血液脳関門の透過性の変化を追跡するために異なる分子量のデキストランを連日注入したマウスで，同様に連日イメージングを行った。血液脳関門の透過性を LPS 投与 4 日後から増加を認めた。そこで，血液脳関門の透過性に対するミクログリアの関与を検証するために遺伝的にテトラサイクリン依存的にミクログリアを除去するマウスを用いて，ミクログリアを除去し，LPS 投与後の血液脳関門の透過性の変化を検証したところ，LPS 投与後早期では透過性が上昇し，後期では減少した。その為ミクログリアは早期では血液脳関門に対して保護的に後期では障害的に働くことがわかった。そのメカニズムを検索するべく MRL/lpr マウスにおいて遺伝子発現の網羅的解析を行ったところ，Claudin5 および CD68 が大きく変化していることがわかった。これらの分子を免疫染色したところ血管に接触するミクログリアに Claudin5 は早期に，CD68 は後期相に上昇してくることがわかった。また CD68 および Iba1 と AQP4 が共局在することからミクログリアがアストロサイトのエンドフィートを貪食していることが示唆された。

ミクログリアの活性化に対して保護的に作用するミノサイクリンを同時に投与するとこれらの貪食活性が失われ，血液脳関門の透過性の増加が抑制されることがわかった。以上のことからミクログリアは全身炎症において血液脳関門の透過性を制御する因子であることが新たにわかった。

（２）ホログラフィック顕微鏡の開発

多様な外界の環境を適切に検出（表現，coding）するために，脳では低次レベルの情報が統合されて高次レベルの情報が構成される。こういった感覚情報処理には神経細胞の活動が高い時間分解能で順序立てて行われるとともに, その分布が空間的に精密である必要がある(Chen *et al.,* 2015)。そこで本課題では 3 次元高速ホログラム光刺激システムを構築し，これを用いて誘導された連続的な神経細胞の集団的活動が感覚機能を再現することを検証する。さらにグリア細胞と神経細胞の同時多点刺激を用いて神経回路再編を誘導することで行う高次脳機能操作を *in vitro* から *in vivo* まで階層的に検証することで明らかにすることに取り組んでいる。本研究では 2 光子顕微鏡にホログラフィック刺激系を加えた顕微鏡の構築に成功しており，それによる脳切片の刺激にも成功している。今後さらに生物応用を進めていく。



23. Transgenic (TG)マウス（Arc::EGFP-CapZ）を用いた記憶研究

鍋倉淳一（生体恒常性発達機構研究部門）
山田麻紀，久保山和哉（徳島文理大学・香川薬学部）

【目的】

近年，記憶を保持する神経細胞は一部（数%程度）であるという説が主流になっており，その少数の記憶担当細胞/スパインを緑色蛍光タンパク質 EGFP によって可視化できれば，記憶現象を観測する新しい窓になると期待できる。その目的のため，LTP を起こしたスパインに増加する CapZ を EGFP と融合し，活動依存に発現できる ArcPromoter によって発現誘導させるようにしたトランスジェニックマウス（Arc::EGFP-CapZ，略称 AiCE-TG）を作成した。本共同研究では，多光子顕微鏡を用いた生体イメージング法を活用し，学習タスクによる EGFP 蛍光の経時変化を AiCE-TG 脳内で解析することを目的とした。

【実験計画・方法】

記憶が成立する刺激の入力によって AiCE-TG の脳に起きる変化を，EGFP-CapZ の蛍光変化の形で捉えることをめざした。移動縞模様での視覚刺激を与え，刺激前後で EGFP-CapZ 蛍光の経時変化を観察できた。そこで固定脳切片での実験を組み合わせ，片眼だけに視覚刺激入力し 20 分後に固定し，同一脳切片内で左右の片眼視領域を比較した。

【結果】

スパインを，F-actin と結合する phalloidin（蛍光標識）で定義し各スパインにおける EGFP-CapZ の蛍光を比較したところ，EGFP-CapZ の蛍光が非常に高いスパイン（top100）での蛍光の積算値に左右差があることから，上位の少数の集団での蛍光上昇を，刺激のある側に観察できたことになる。現在までに，視覚野の他，感覚野でも，同様の実験データを得ている。

【考察】

連合学習を必ずしも誘起しない新奇刺激だけで LTP 誘起時と同様の EGFP-CapZ のシナプスへの集積が，ごく少数の皮質スパインで起こる，ということが考察できた。これは分子変化という点で一種の刺激依存可塑性ともいえ，新しい種類の可塑性を見つけることができた可能性がある。

【展望】

スパインの変化については現状の生体内顕微鏡観察では測定誤差が大きいために変化の概要を捉えるにと

どまったものの発見の契機になった。将来的には，体動の除去などの技術向上を取り入れて，再度生体内観察を行うことで，説得力のあるデータを得ることを展望する。

24. 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

渡辺秀典，虫明　元（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）
小林憲太（ウィルスベクター開発室）

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。

アデノ随伴ウィルスベクタによってサル一次運動野に光感受性遺伝子（チャネルロドプシン）を注入し，その光感受性タンパクを発現させた（ニホンザル，4 頭）。麻酔下（キシラジン，ケタミン）における一次運動野への光刺激によって上肢の筋活動並びに運動を惹起した。光刺激による運動惹起が観測される期間は，ベクタ注入後 3 週間から 5 週間のグループ（2 頭）と 3 週間から 2 か月以上のグループ（2 頭）に大別された。グループ間に実験手技・動物種，またグループ間の個体性別に差はない。現在，組織染色を調査中である。

本結果は非ヒト霊長類について運動を惹起するほどの光感受性タンパクの高効率発現の成功を世界に先駆けて報告した。当ベクタの使用によって一次運動野の周期的な神経活動の修飾による運動制御機構の解明が期待される。また当ベクタを改良による細胞種特異的な光タンパク発現，経路依存的神経活動制御，遺伝子発現制御システムの導入は，非ヒト霊長類を使った神経情報表現の解明について，非常に有効な実験手法を与える。

25. 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（東京工業大学 生命理工学院）
知見聡美，南部　篤（生体システム研究部門）

黒質線条体系ドーパミンニューロンは，運動機能の調節に深く関わっていることが知られており，その機能変化は運動機能異常を伴う疾患を引き起こす。ドーパミンの生合成は, チロシンの水酸化により L-dopa を合成するチロシン水酸化酵素（TH）が律速段階を担っている。TH の反応は, 補酵素としてテトラヒドロビオプテリン（BH4）を必要とするため, 細胞内 BH4 の欠乏はドーパミン合成量の低下をもたらす。

黒質線条体系ドーパミンニューロンが変性するパーキンソン病では，筋強剛，寡動，振戦を主徴とするパーキンソニズムを呈する。一方，BH4 生合成第一段階の GTP シクロヒドロラーゼ I の変異により引き起こされる線条体のドーパミン欠乏では，不随意運動であるジストニアが主徴となる。なぜ同じ線条体のドーパミン欠乏であるにも関わらず，ジストニアとパーキンソニズムという症状の違いが現れるのか，そのメカニズムについては明らかとなっていない。そこで，本研究ではビオプテリンの部分欠乏マウスモデルを用いて，ジストニアとパーキンソニズムの発症機構の違いを検討することを目的としている。

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 に低下している。成獣の *Spr*-KO マウスの脳内ドーパミン・ノルアドレナリン・セロトニン量は，野生型の 10%以下に低下しており運動量が少なく，加齢とともに前肢の震えが

現れる。これまでの解析から，*Spr*-KO マウスでは，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が明らかとなった。また，淡蒼球内節や外節におけるニューロンの自発発火のパターンについても検討し，野生型と比べて異常な神経活動が *Spr*-KO マウスで増加していることを見出した。

Spr-KO マウスの脳内では，3 つのモノアミンが全て欠乏しているため，症状の発症機構に関する解釈を複雑にしている。そのため，今年度はニューロン特異的な遺伝子破壊を行うために，条件付き *Spr*-KO マウスの作製を進めた。今後，条件付き *Spr*-KO マウスを用いて特異的に遺伝子破壊を行った際に，上述の三相性の電位変化がどのように変化するか解析する。

26. 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）
知見聡美，南部　篤（生体システム研究部門）

大脳基底核における局所神経回路機構解析を目的として，線条体の中型有棘ニューロン（medium spiny neurons, MSNs）からアセチルコリン性介在ニューロン（cholinergic interneurons, CINs）への GABA 性抑制性シナプス伝達機構およびムスカリン性アセチルコリン受容体を介する修飾機構の解析を，光遺伝学手法を用いて行なった。MSNs のみにチャネルロドプシン 2 を発現した遺伝子改変マウスの脳スライス標本上の CINs からホールセル記録を行ない，MSNs に光刺激を与えて GABA 性抑制性シナプス後電流（IPSCs）を誘発した。光刺激によって誘発された IPSCs はムスカリン性アセチルコリン受容体アゴニストによって濃度依存的に抑制され，この抑制は，ムスカリン受容体 M1 サブタイプアンタゴニストによって拮抗された。CINs 内の G タンパクカスケードを遮断しても IPSCs 抑制は影響を受けなかった。また, paired-pulse ratio および coefficient of variance に対する M1 受容体アゴニストの作用から，MSNs からの GABA 性シナプス終末に存在する M1 受容体活性化によって，CINs への GABA 遊離がシナプス前性に抑制されることが示唆される（論文投稿準備中）。さらに, 前脳基底核の parvalbumin 含有 GABA 性ニューロンのみにチャネルロドプシン 2 を発現させたマウスを導入して, 同ニューロンからアセチルコリン性投射ニューロンへの GABA 性シナプス伝達を同定した（2019 年度へ継続）。

27. 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，齊藤奈英，小田佳奈子，阿部　学，田井中一貴，崎村建司（新潟大学脳研究所）
鍋島曜子，鍋島陽一（先端医療研究センター）
知見聡美，南部　篤（生体システム研究部門）

大脳基底核の入力部位である線条体は，大脳皮質からグルタミン酸作動性入力を受け取り，黒質からドーパミン作動性入力を受け取る。線条体は運動学習において中心的な役割を果たす。皮質-線条体ニューロン伝達の有効性は，運動エラー信号を伝えるドーパミン作動性入力によって調節される。このシナプス可塑性は運動学習の基本的なメカニズムであると考えられている。パーキンソン病（PD）では，線条体へのドーパミン作動性投射が失われ，皮質-線条体神経伝達の障害が PD の症状を引き起こすと考えられている。 L-ドーパ治療は PD の標準治療の 1 つであるが，PD の L-ドーパの長期治療はジスキネジアを誘発することが知られている。これはジスキネジアの皮質-線条体神経伝達において可塑性変化が起こることを示している。したがって，運動制御における線条

体の機能を理解するためには，線条体へのグルタミン酸作動性入力とドーパミン作動性入力の間の相互作用およびシナプス可塑性に対するその影響を分析することが重要である。線条体投射神経はドーパミン D1 受容体(D1R)を発現する直接路神経とドーパミン D2 受容体(D2R)を発現する間接路神経に分類される。NMDA 受容体(NMDAR)はシナプス可塑性に重要な役割を持ち，通常は Mg^{2+}ブロックにより不活性であるが，脱分極は Mg^{2+}ブロックを解除し，NMDAR を介した Ca^{2+}流入によりシナプス可塑性を誘発する。皮質-線条体神経伝達の可塑性に対するドーパミン作動性入力の効果を分析するために，我々は間接路特異的に活性化 NMDAR を発現する遺伝子改変マウスを作製した。GluN 2A サブユニットの第二膜貫通領域における 595 番目の Asn 残基は Mg^{2+}ブロックに重要である。我々が開発した，組織特異的に目的遺伝子に突然変異を導入する方法（図 1 , Hayashi *et al., Mol. Brain* 2014）を応用して，D2R 遺伝子の制御下で Cre を発現するマウス（図２）との複合変異マウスでは，Cre-loxP 組換えにより GluN2A サブユニット選択的に Asn 残基から Gln 残基へのアミノ酸置換（N595Q）が導入される。２つの loxP 部位間の野生型配列が Cre の作用によって欠失された場合にのみ，変異型配列が発現される（図１）。N595Q 変異は NMDAR の Mg^{2+}ブロック特性を低下させた。本変異マウスを全脳イメージング技術と自発運動活動と学習と記憶に関する行動テストにより解析を行った。

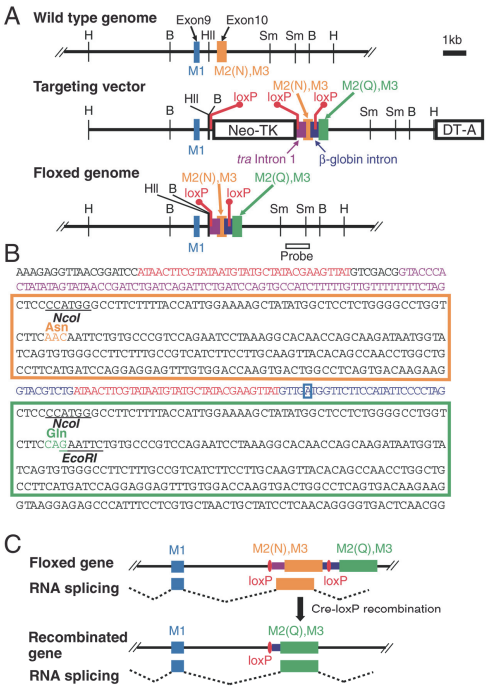


図1 GluN2A遺伝子の標的操作 (A)上：野生型GluN2A遺伝子座、中：野生型および変異エクソン10を含むターゲティングベクター、人工イントロン、および3つのloxP配列。下：Floxed GluN2A遺伝子。(B)人工エクソン-イントロン配列を示す。loxP配列(赤色)，野生型エクソン10(橙色)と変異エクソン10(緑色)，Fruit fly tra遺伝子イントロン1配列(紫色)，マウスβ-グロビンイントロンのsplice donor及びacceptor(青色)。青い四角で示すアデノシンは分岐部位を表す。(C) GluN2Aのコンディショナルアミノ酸置換の概略。

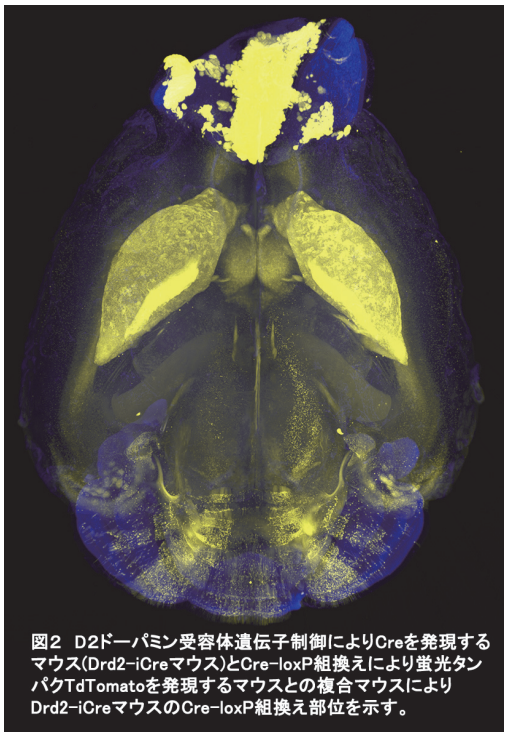


図2　D2ドーパミン受容体遺伝子制御によりCreを発現するマウス(Drd2-iCreマウス)とCre-loxP組換えにより蛍光タンパクTdTomatoを発現するマウスとの複合マウスによりDrd2-iCreマウスのCre-loxP組換え部位を示す。

28. HIV-1 Gag MA-Env 複合体のクライオ電子顕微鏡解析

湯本史明（高エネルギー加速器研究機構・物質構造科学研究所・構造生物学研究センター）
立石　大，島垣和功，大塚雅巳（熊本大学大学院・薬学教育部・生体機能分子合成学分野）
藤田美歌子（熊本大学大学院・薬学教育部・創薬研究センター）
宋　致弘，村田和義（生理学研究所）

HIV-1 Gag タンパク質は，イノシトールリン脂質である PIP_2 を結合し，ミリストイル基と共に細胞膜に結合し，膜表面から膜内を貫通する ENV タンパク質と相互作用していることが知られている。また，この Gag の膜結合にかかわる領域はマトリックス（MA）と呼ばれている。我々はこれまでに MA を対象として PIP_2 アナログや IP_6 との複合体の結晶化に取り組み，PIP_2 アナログ複合体については結晶化に成功し，さらに IP_6 複合体においては結晶構造を決定し，MA-IP_6 相互作用の詳細を明らかにしてきた。今後の HIV-1 に対する創薬を考えた際に，MA と ENV との相互作用界面はそのターゲットとなりうると予想され，それ故に相互作用の分子機構の解明は創薬における重要なステップであると考えられる。そこで，今回我々は HIV-1 Gag MA-ENV 複合体についてクライオ電子顕微鏡実験を計画した。

ENV タンパク質はこれまでに X 線やクライオ電顕解析によって，三量体として詳細な立体構造解析が行われてきているものの，Gag タンパク質や MA との複合体構造の解析例はない。この ENV について MA との複合体としてのクライオ電顕解析を見据え，分子の N 末端に位置する MA 領域を含みながらもより分子量が大きい GagΔp6（Gag 全長分子に近い Gag からその C 末端側の p6 と呼ばれる領域を除いた分子）が今後のクライオ電顕解析に適するのではないかと考え，GagΔp6 タンパク質として大量調製を行った。発現宿主としては大腸菌を用い，GagΔp6 分子およびミリストイル化酵素をコードするプラスミドを用いて両タンパク質を共発現させることによって，ミリストイル化 GagΔp6 タンパク質を調製した。精製には，Ni アフィニティーカラムおよびゲルろ過クロマトグラフィーを用い，単一成分としてのサンプルを得ることができた。そこで，目的タンパク質を構成する一要素として，試しに生理学研究所においてネガティブ染色電子顕微鏡観察を行ったが，分子量が 5 万程度と小さすぎるために，単一分子として観察することは困難であった。今後は Env タンパク質の調製系の確立に注力し，ミリストイル化 GagΔp6 タンパク質との再構成を行うことによって本複合体を調製し，ネガティブ染色電子顕微鏡解析並びにクライオ電子顕微鏡実験を行いたいと考えている。

29. バクテリア DNA 凝集構造の位相差電子顕微鏡による観察

金子康子（埼玉大学教育学部）
林　真子，ゴーシュ･イリカ（埼玉大学理工学研究科）
村田和義（生理学研究所）

桿状のシアノバクテリア *Synechococcus elongatus* PCC7942 を明暗周期下で培養し，規則的に植え次を繰り返すことで細胞分裂周期を同調させることができる。この系を用いて，細胞分裂に先駆けて DNA が凝集構造をとること，この時ポリリン酸体が対となって配置し，チラコイド膜の形状が変化すること等を明らかにしてきた。本研究では，さらに新規に合成された DNA とポリリン酸体，Rubisco の集合体であるカルボキシソーム，チラコイド膜，細胞膜をそれぞれ蛍光染色などにより蛍光顕微鏡下で可視化し，細胞分裂時の挙動と相互関係を明らかにしたうえで，正確な微細構造を位相差電子顕微鏡観察によって明らかにすることを目指す。

今年度は，活発に分裂増殖している細胞の培養液に EdU を加えて新規に合成された DNA に取り込ませたの

ちクリック反応を利用して蛍光標識させること，ポリリン酸体を高濃度 DAPI により蛍光染色すること，カルボキシソームを蛍光色素でラベルした抗 Rubisco 抗体で標識することを検討した結果，これらすべての細胞構造を同時に蛍光顕微鏡下で追跡することが可能となった。さらに DNA 凝集時の細胞を押しつぶすことにより細胞膜を破壊し，凝集した DNA と付随する構造を取り出すことができるようになった。これにより次のような興味深い知見が得られた。１）新規に合成される DNA はポリリン酸体に隣接していることが多い，２）カルボキシソームとポリリン酸体も隣接していることが多い，３）DNA 凝集時にはポリリン酸体は対となって存在することがある，４）DNA 凝集時に細胞膜を破壊するとチラコイド膜が DNA を覆い，DNA と同様の波打つような構造をとる，５）DNA 凝集時に通常は多角形のカルボキシソームが細長い棒状の構造をとることがある。３）４）はこれまでに超高圧電子顕微鏡を用いたクライオ電顕トモグラフィーによって明らかになった DNA 凝集時の細胞構造の特徴を支持する結果である。

今後は，新規に合成された DNA や他の細胞構造を蛍光標識した細胞の状態を観察し適切な時期に急速凍結し，位相差電子顕微鏡観察により詳細な微細構造や構造相互の関りを解明していく予定である。急速凍結した細胞をグリッドごと観察した後，位相差電子顕微鏡観察を行う CLEM 法も試みたい。

30. 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，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（RDV）は，正二十面体対称をもつ直径約 70 nm の球状粒子であり，ウイルスゲノムを内包するキャプシドは２重殻構造を有している。その内殻および外殻キャプシドは，それぞれ分子量 116K の P3 タンパク質 120 コピーと分子量 46K の P8 タンパク質が３量体を形成し，その３量体 260 コピーから構成されている。このように多数のタンパク質がどのように互いを認識し，感染性をもつ正確なウイルス粒子が形成されるのかというのは，基礎科学的に非常に興味深い問題であるうえに，ウイルスの構造構築過程を阻害することができれば，抗ウイルス剤の創製にも繋がる。我々は，これまでに X 線結晶構造解析により，RDV の２重殻キャプシドの原子構造を決定し，キャプシド内部でのタンパク質間相互作用を詳細に明らかにしてきた。そして，そのタンパク質間相互作用に基づいて，粒子の階層的なキャプシド構築モデルを提唱した。本研究では，その構造構築モデルを実験的に確かめるために，RDV キャプシドのタンパク質間相互作用を阻害するような変異体タンパク質を作製し，その粒子形成中間体の構造を生理研にあるゼルニケ位相差クライオ電子顕微鏡を用いて調べた。その結果，外殻タンパク質 P8 の３量体間相互作用を阻害する変異体を用いると，外殻タンパク質は，正二十面体対称の３回軸のところにのみ結合することが判明した。すなわち，RDV の外殻タンパク質は，内殻粒子の３回軸の場所を認識し，そこにまず結合し，それ以外の外殻タンパク質は，外殻タンパク質間の相互作用によりウイルス粒子へ結合し，最終的に２重殻のキャプシドが構築されることが分かった。本研究による成果は，Structure 誌において発表した[1]。

[1] Nakamichi Y, Miyazaki N, Tsutsumi K, Higashiura A, Narita H, Murata K, Nakagawa A. An assembly intermediate structure of Rice dwarf virus reveals a hierarchical outer capsid shell assembly mechanism. (2019) Structure 27: 439-448.

31. 昆虫脚間接部弾性器官へのアドヘレンスジャンクションの三次元構造解析

小田広樹（株式会社生命誌研究館）
西口茂孝（オリンパス株式会社）

アドヘレンスジャンクション（AJ）は多細胞動物の上皮細胞に広く観察される細胞間接着構造であるが，その接着構造において細胞間の連結を担うと考えられるクラシカルカドヘリンの一次構造は動物系統によって大きく異なる。本研究は，昆虫の AJ で細胞膜間の連結を担う分子の構造情報を得ることを目的とし，ツヤケシオオゴミムシダマシ成体の脚関節部にある弾性器官に存在する AJ 様構造の三次元構造解析を行った。弾性器官には特定の領域に比較的幅広く特定の配向で AJ 様構造が密集していることが知られており，再現性よく AJ 様構造を頭出しできることがこの材料を使う最大のメリットである。

弾性器官を含む組織を解剖して取り出し，グルタルアルデヒドで固定し，樹脂に包埋した。そこから AJ 様構造が密集した領域を含むように 80 nm と 500 nm の厚さの切片を作製し，それぞれを用いて超高圧電子顕微鏡（H-1250M）で電子線トモグラフィーによる三次元構造解析を行った。500 nm 厚の切片では AJ 様構造を鮮明に捉えることができなかったが，80 nm 厚の切片では AJ 様構造を鮮明に可視化することができた。AJ 様構造において並置する細胞膜間の距離を計測すると約 27-33 nm であった。この距離は，昆虫の一般の上皮細胞で知られている AJ での細胞膜間距離と同等であった。特筆すべきは，細胞膜間の中間領域付近に電子密の高い領域が現れる傾向が見られ，脊椎動物のデスモソームに類似した特徴を示したことである。しかし，その電子密度の高い領域は比較的幅広く，規則性が乏しく，デスモソームで見られているような繊細な線としては観察されなかった。AJ 様構造の細胞膜の細胞質側には約 20 nm の厚みで裏打ちが発達している様子も観察された。また，切片断面に対して垂直方向に伸びる微小管と見られる線維構造が束状に観察された。各線維の直径は約 20-25 nm であった。以上の観察データは，AJ 様構造の細胞膜間の連結を担う個々の分子の形態情報を取得するまでには至らなかったが，今後，クラシカルカドヘリンの単粒子解析や原子間力顕微鏡による分子形態解析などを組み合わせることによって，互いに補完し合う有用なデータになるものと考えられる。

32. Major vault protein により構成される原生生物のオルガネラ kinetocyst の分子構築

洲崎敏伸，小林真弓，林　文夫（神戸大学理学研究科）
森垣憲一，谷本泰士（神戸大学バイオシグナル総合研究センター）
村田和義，ソン チホン（生理学研究所）

ヴォールト（vault）は機能未知の巨大リボ核酸・タンパク質複合体である。その分子構築に関してはクライオ電子顕微鏡法等を用いた多くの研究があるが，Vault の生物学的機能に関してはほとんどわかっていない。本研究は，Vault の構成分子である Major vault protein (MVP)を構成要素としている原生生物の分泌性オルガネラで，餌の捕獲に関与する kinetocyst の分子構築をクライオ電顕解析により明らかにすることを目的とした。また，同時に実施している質量分析法により MVP と相互作用する分子の同定と併せて，Vault の原始的機能とその進化の道筋を明らかにしたい。

申請者らは最近，原生生物 *Raphidiophrys contractilis* にも MVP が存在し，それが餌の捕食に際して細胞外に分泌されることを報告した（Bhadra et al., 2017）。さらに，この生物の MVP は，餌生物の体表に存在する β-1,3 グルカン分子に強い結合性を示すことと，*R. contractilis* の細胞内には Vault 構造は認められないことがわかった。*R. contractilis* が餌を捕食する際には，分泌性のオルガネラである kinetocyst が細胞外にその内容物を放出することが知られている。したがって，MVP は kinetocyst に存

在することが想定されていたが，その局在性についてはわかっていなかった。Kinetocyst は複雑な形態をしたオルガネラであり，そのサイズも形状も，Vault とはまったく異なっている。そこで本研究では，kinetocyst の微細立体構造の解明を行い, kinetocyst を構成する構造の分泌前後の形態変化とその役割について解析を行った。具体的には，以下の観察を行った。① intact な状態と分泌後の kinetocyst の微細立体構造を解析するため, 凍結置換固定した生きた細胞の厚切り樹脂切片を作製し，超高圧電顕でトモグラフィー観察を行った。② kinetocyst における MVP の局在を免疫電顕法ににより解析した。その結果，MVP は kinetocyst の「jacket」と呼ばれる周辺領域に局在することがわかった。③ kinetocyst を単離し，クライオ電顕トモグラフィー解析を行った。その結果，kinetocyst の「jacket」構造は，少なくとも 4 種類の異なったフィラメントから構成されるネットワーク構造であることがわかった。

33. SBF-SEM を用いた痒みを伝達するシナプスの三次元構造解析

高浪景子（情報システム研究機構・国立遺伝学研究所）
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）

知覚の伝達とその修飾にニューロトランスミッター以外にペプチドホルモンが関与することが報告されているが，脊髄レベルで知覚を伝達するシナプス構造の詳細は不明であった。。我々は知覚の中でも痒み感覚を伝達するペプチドホルモン gastrin-releasing peptide (GRP) (Sun and Chen, 2007, *Nature*)に着目し，GRP 陽性ニューロンは脊髄後角最表層に線維を投射すること，透過型免疫電子顕微鏡解析では GRP 含有神経終末は明調性小胞や有芯性小胞を多く含有することを明らかにした (Takanami *et al*., *Journal of Comparative Neurology*, 2014)。また連続ブロック表面走査型三次元電子顕微鏡を用いた解析では，GRP 免疫陽性終末が連続したバリコシティを構成し，各バリコシティに多数のシナプスが形成されていることを見出した。ここで，知覚が受容され求心性に伝達されると，遠心性に運動神経系および自律神経系が活性化され行動の表出がおこる。この行動制御機構の形態解析を目指し，視床下部からの遠心性神経投射がみられる脊髄領域に着目し，その神経終末部に対する神経終末構造とペプチド動態解析を行った。ラット脊髄急性スライスを作製し，高カリウム刺激により神経終末から神経伝達分子の開口放出を誘導した結果，ターゲットとする大型の有芯性小胞を含む軸索のバリコシティ構造において，有芯性小胞の細胞膜への融合が観察された。さらに有芯性小胞の空間動態を調べるために，刺激後の細胞膜と有芯性小胞の距離を解析した結果，細胞膜からの距離が近いほど（~100 nm）有芯性小胞数が多く，距離が遠いほど有芯性小胞数の少なく，刺激が有芯性小胞の細胞膜への融合および放出を促すことが示唆された。また，連続ブロック表面走査型電子顕微鏡では，脊髄へ遠心性に投射するニューロンの軸索において，ペプチドが軸索終末だけでなく，軸索途中の連なったバリコシティ構造においても存在することが示唆された。しかし，このバリコシティ構造の周囲にはシナプス構造があまり観察されなかった。以上から，同じ脊髄においても，求心性の知覚神経系と遠心性の神経系においてペプチド含有神経終末のシナプス構造に相違がみられた。

34. 睡眠関連因子シグナル伝達のイメージング

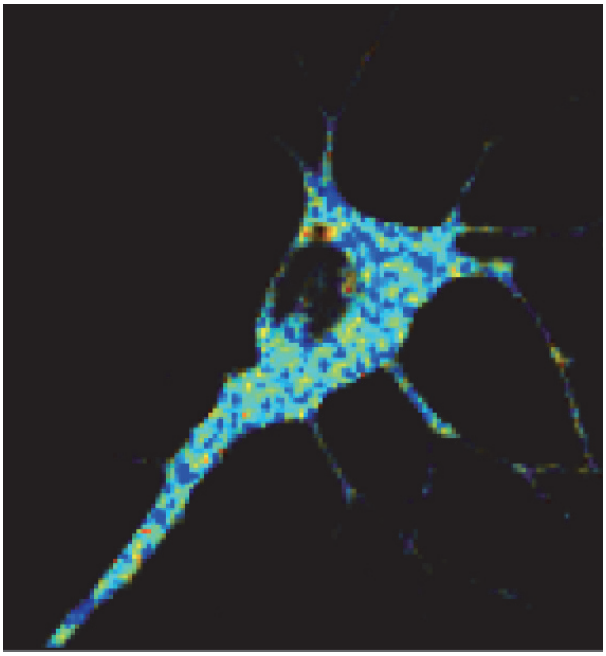
上田壮志（筑波大学 国際統合睡眠医科学研究機構）
村越秀治（生理学研究所脳機能計測・支援センター多光子顕微鏡室）
柴田明裕（生理学研究所脳機能計測・支援センター多光子顕微鏡室）

睡眠は哺乳動物に見られる普遍的な生理現象であり，その機能は代謝，情動，記憶，ひいては生命の維持にまで及ぶ。しかし，睡眠という現象自体の生物学的理解は驚くべきほど進んでいない。特に睡眠を内的に誘発する「眠気」という概念に関しては，ほぼ未知の状態である。大規模な遺伝子変異マウスによるスクリーニングによって，常時眠気を呈するマウス家系が樹立され，新規睡眠因子 salt-inducible kinase 3 (SIK3)が近年同定された。しかし, SIK3 の活性が脳や睡眠と具体的にどう関わるかは不明である。このような問題に対する最も直背的なアプローチは，その活性の可視化である。本研究では，この SIK3 活性のニューロンにおけるライブイメージングを行った。

まず, SIK3 活性をモニターする蛍光プローブを開発した。京都大学松田道行先生にご協力いただき，FRET (Fluorescence resonance energy transfer，蛍光共鳴エネルギー移動)型の蛍光プローブ Eevee-SIK を作製した。Eevee-SIK は SIK3 の基質配列を含み，SIK3 によってリン酸化されると FRET 効率が上昇するというデザインである。これにより，SIK3 活性の上下を FRET で検出することが可能になった。Eevee-SIK の性能確認は本研究の前に in vitro で実施した。本研究では，生理学研究所の村越秀治先生と柴田明裕先生に協力していただき，Eevee-SIK をニューロンに発現して，ニューロンにおける SIK3 動態の解析を行った。

手法は，幼若マウスから海馬を取り出し，培養スライスを作製した。培養開始から 7 日後に，遺伝子銃を用いて，Eevee-SIK を含むプラスミドをニューロンに取り込ませた。そこから 3 日後に，２光子 FLIM (Fluorescence Lifetime Imaging Microscopy，蛍光寿命顕微法)を用いてライブイメージングを行った（下図，海馬錐体細胞において蛍光寿命の時定数を色で視覚化）。

ニューロンの興奮性や cAMP を上昇させる薬理実験を行った。それらによって蛍光寿命に変化が見られた。これは SIK3 活性がニューロン内でも様々な刺激に応じて変化することを示唆する。今後，生化学的な実験を併用してこの現象を確かなものにしていく。



35. 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）

脊椎動物の神経軸索は，生体内に存在する軸索誘引因子および軸索反発因子によって，適切なターゲットまで辿り着くことが知られている。この 20 年あまりの間に，さまざまな分子が軸索を誘引・反発することが明らかと

なってきたが，多くの神経回路においては，未だにその回路形成を担う分子実体は不明である。私たちはマイクロアレイとバイオインフォマティクスを併用した解析を推し進め，2 つの新規長鎖遺伝子がコードする分泌型蛋白質（mF1 および mF2 と命名）が，高等脊椎動物の神経発生に何らかの重要な役割を果たしていることを見出してきた。これらの分子の中枢および末梢神経系における機能の解明が本研究の目的である。

今年度は，バイオインフォマティクスによって，各々の分子のドメイン構造を決定した。次にその機能部位を明らかにするために，部位特異的変異導入法を用いて解析した。その結果，mF1 では β プロペラドメイン部分に脊髄神経節の軸索に対する伸長活性がみられる一方で，mF2 ではトロンボスポンジンタイプ I モチーフ部分に，同軸索の伸長を抑制する活性がみられる結果が得られた。しかしながら，使用する神経節の年齢および種によって異なる結果も得られており，今後さらなる検討が必要である。また，アデノ随伴ウイルスベクター（AAV）を用いた解析では，その発現分布を蛍光実体顕微鏡および共焦点顕微鏡で継時的に観察・評価してきた。用いる AAV の血清型によって分布と導入効率に大きな差があるため，現在，使用する AAV の系統および導入条件による発現分布を精査し，最適な条件を検討中である。

36. マウス大脳皮質広範囲に GCaMP を発現させるウイルスベクターの開発とそのインジェクション方法の構築

太田桂輔（理化学研究所脳神経科学研究センター）
小林憲太（生理学研究所ウィルスベクター開発室）

理化学研究所 触知覚生理学研究チーム（チームリーダー 村山正宜）ではマウス大脳皮質から広域に Ca^{2+}イメージングを行う 2 光子励起顕微鏡を開発している。広域に 2 光子励起させる代償として，単位面積当たりの励起光滞留時間が短くなってしまう。結果，SN 比の高い蛍光変化の記録が困難となる。この問題を克服する 1 つの方法として，明るい蛍光を発する GCaMP を広範囲に高発現させることが挙げられる。

本共同研究では，マウス大脳皮質に広範囲に GCaMP を発現させるウイルスベクターを開発し，その注入方法を構築すること，そしてウイルスの最適な量・濃度も探索することを目的とした。具体的に以下のウイルスと注入方法を検討した。

1. VSV-G-hSyn1-GCaMP または VSV-G-CaMKII-GCaMP の胎児(E14-E16)脳室への注入
2. AAV-Syn-GCaMP の生後 1 日齢脳室への注入
3. AAV-Syn-GCaMP の成体大脳皮質への多点注入
4. AAV-PHP.eB-Syn-GCaMP の成体マウス後眼窩静脈叢への注入

ウイルス注入からおよそ 4 週間後，頭蓋骨越しに蛍光イメージングを行い，蛍光量から GCaMP 発現範囲や発現量を評価した。GCaMP が広範囲に高発現していたマウスを選び，二光子観察を行った。必要に応じて，二光子観察後にマウスの脳切片を作製し，蛍光顕微鏡観察により発現範囲を評価した。結果，広域 2 光子顕微鏡に観察において最適な条件（Ca^{2+} センサー，セロタイプ，注入すべてきウイルス粒子数，注入方法など）を見つけることに成功した。今後は，確立したウイルス注入方法を使って観察サンプルを作製し，広域 2 光子顕微鏡を用いた神経活動記録を遂行していく。

37. 光計測と光刺激を用いた脳機能作動原理の研究

松崎政紀，正水芳人（東京大学大学院医学系研究科）
小林憲太（生理学研究所・ウィルスベクター開発室）

霊長類マーモセットと齧歯類マウスを用いて，脳の作動原理の解明を目的とする。このために，光計測して行動時の神経細胞の活動を明らかにし，かつその活動を制御することによる行動・細胞活動変化を調べ，その経路を同定して，活動と行動の因果関係を明らかにする必要がある。光計測には蛍光カルシウムセンサー等を，活動制御にはチャネルロドプシン等を用いる。遺伝子を導入のために，アデノ随伴ウィルスベクターを用いる。

2018 年度は，本研究で作製したアデノ随伴ウィルスベクターを用いた研究で，2 報論文報告した。具体的には，8K スーパーハイビジョンカメラを脳神経活動の計測に世界で初めて応用し，大きさ 0.5 μm 程度の軸索終末と呼ばれるシナプス構造における神経活動を，既存手法より 25 倍広い視野かつ 2 倍高速に撮影することに成功した（Yoshida, Terada *et al.*, *Scientific Reports*, 2018）。また顕微鏡の視野を高速に移動させる小型光学装置を新たに開発し，脳神経細胞の活動計測に用いることで異なった領野における神経活動をほぼ同時かつ大規模に計測することにも成功した（Terada *et al.*, *Nature Communications*, 2018）。

38. 大脳皮質運動野から脊髄および大脳基底核へ投射する神経経路の機能解明

西村幸男（公益財団法人東京都医学総合研究所脳機能再建プロジェクト）

霊長類の大脳皮質運動野は，代表的な一次運動野以外にも複数の高次運動野が存在し，いずれも皮質脊髄路ならびに大脳基底核ループ回路を形成している。これらの領野はいずれも随意運動制御に重要な役割を果たすことが分かっているが，それぞれの皮質脊髄路ならびに大脳基底核ループ回路の機能的役割は分かっていない。そこで本研究提案では，上述の神経経路に対する機能的役割について，ウイルスベクターを利用した遺伝子導入技術を用いて明らかにする。そのための具体的な下位目標として，本年度は（1）霊長類の皮質脊髄路に対して十分に発現する逆行性アデノ随伴ウイルス（AAV2-retro） ベクターの開発；（2）霊長類の脊髄に対する遺伝子導入法の確立を設定した。

ウイルスベクターは貴研究所ウイルスベクター開発室から逆行性ウイルスベクターを提供して頂いた。このウイルスベクターをマカクザル脊髄 C6-C7 髄節内へ微量注入し，大脳皮質運動野のニューロンに対し十分に蛍光タンパク質（EGFP）を発現させられるかどうか検証した。その結果，大脳皮質運動野において逆行性にラベルされた細胞体が確認され，提供して頂いたウイルスベクターは，霊長類の皮質脊髄路において十分な逆行性の遺伝子導入ができることが明らかとなった。一方で，注入実験から 10 日後に，被実験動物が片麻痺の症状を呈した。手術の手技に問題がなかったかどうか等，注入実験に対して検討課題が残った。今後，逆行性ウイルスベクターを用いた遺伝子導入法の手技を確立し，行動・生理学実験へ展開していく。

39. 目的指向型行動における腹側海馬－腹側線条体回路の役割の解明

田中謙二（慶應義塾大学医学部精神・神経科学教室）

腹側海馬（vHP）は意欲・恐怖・不安といった情動機能に関与することが知られている。我々はこれまでに腹側海馬は腹側線条体に密な投射をしていることを見出している。腹側線条体は目的指向型行動の遂行に重要な領

域であることが知られているが，腹側海馬−腹側線条体回路の目的指向型行動の遂行における役割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）を用いて腹側海馬から腹側線条体へ投射する経路を確認する。次いでその描出された経路を光操作することによって当該経路の目的指向型行動の遂行における役割を明らかにすることを目的した。

腹側海馬－腹側線条体回路における目的指向型行動の役割を明らかにするために，以下２つの実験を行った。

① CamK2-Cre マウスの腹側海馬に AAV_{DJ} CAG-DIO-ChR2/EYFP を注入し，行動実験中に腹側線条体を光照射して目的指向型行動の変化を観察した。

② CamK2-Cre マウスの腹側海馬に AAV_2 retroEf1a-DIO-ChR2/EYFP を注入し，行動実験中に腹側海馬を光照射して目的指向型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った。行動中の腹側海馬-腹側線条体神経路の光活性化によりが意欲行動が低下することを明らかにすることが出来た。

40. 前シナプス分子基盤による神経回路形成・維持機構の解析

萩原　明，大塚稔久（山梨大学大学院総合研究部・医学域）
小林憲太（生理学研究所・ウイルスベクター開発室）

神経回路の活動を支えるシナプス伝達において，シナプス開口放出部の形成並びに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，光情報を感知し視覚情報を脳へと伝達する網膜において，開口放出関連タンパク質(CAZ タンパク質)による分子メカニズムから神経回路網の形成や維持機構の解明を目指すこととした。本研究の成果は Journal of Cell Biology (2018)に「Cytomatrix proteins CAST and ELKS regulate retinal photoreceptor development and maintenance」として報告した。

目に入力した光情報は網膜・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。この視細胞のシナプスはリボンシナプスと呼ばれる特徴的な構造を有し，CAZ タンパク質として同定された CAST/ELKS ファミリーが局在していることがわかっている。このうち，ELKS は発生時期から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。一方，網膜の層構造が十分に構築された 4 週齢以上の ELKS fl マウスに，視細胞特異的に Cre を発現させる AAV5 型のウィルス（AAV5-CAGGS-Cre）を発現させたところ視細胞が変性しシナプスが消失することがわかった。また，視細胞の変性はアポトーシスを誘導し，視細胞層の脱落が起こることを明らかにした。この視細胞の変性は，Cre ウィルスと CAST を発現させるウィルス（AAV5-CAGGS-CAST-IRES-Venus）を同時に感染させることで阻害されることが確認され，CAST/ELKS ファミリーが視細胞の維持に重要な役割を担っていることがわかった。これらのことから，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。

41. アデノ随伴ウイルス遺伝子導入を用いた神経発生および恒常性維持の分子メカニズム解析

備前典久，矢野真人，吉岡　望，落合（森）由紀子，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ことを目的に，アデノ随伴ウィルス

（AAV）を用いた外来遺伝子発現解析に取り組んでいる。今年度は以下の 2 つの実験を行った。

1 つ目の実験として，AAV-CAG-EGFP を腹腔内に投与することによりマウスの末梢神経系に感染させて脊髄内を走行する感覚神経線維を可視化することを試みた。実際に，脊髄内の中枢枝および末梢枝を可視化できることがわかった。

2 つ目の実験として，前年に引き続き我々の先行研究からオリゴデンドロサイト（OL）の分化を促進することが示唆されている因子（OIF）の AAV による強制発現実験を行った。今年度は特にオリゴデンドロサイト前駆細胞（OPC）への影響について検討した。OIF と GFP を発現する AAV（AAV5-OIF-IRES-GFP）とコントロール AAV（AAV5-IRES-GFP）を作製し，それぞれの AAV を成体マウス脳梁内に注入したところ，Olig2/GFP 共陽性率に著しい変化は見られなかった。一方，OPC で強く発現している PDGFRα/GFP 共陽性率は顕著に増加した。これらの結果と前年度までの結果を踏まえると，OIF は OPC の増殖から OL 分化誘導までの一連の過程を制御することを示唆している。今後は脱髄モデルマウスを用いて OIF による OL 分化誘導を検証するとともに，OIF による OL 分化促進作用の分子機構についても解析する。

42. 神経路特異的標識を用いた視床下部外側野に投射するマウス嗅皮質亜領域の機能と神経接続の解析

村田航志（福井大学 学術研究院医学系部門 医学領域 脳形態機能学分野）

匂いの感覚は食欲など多様な生理･行動反応を引き起こす。匂いの情報は嗅球を介して嗅皮質と総称される広大な脳領野に送られるが，嗅皮質の機能と神経接続はまだよくわかっていない。最近我々は，視床下部外側野に軸索投射するニューロン群が嗅皮質内の亜領域に存在することを発見した。この嗅皮質亜領域の神経接続様式と摂食行動における機能を明らかにすることを本研究の目的とする。

コレラ毒素 B サブユニットのマウス視床下部外側野への注入実験により，嗅皮質領域内にクラスター状に神経細胞が標識された。グルタミン酸デカルボキシラーゼの mRNA とコレラ毒素 B サブユニットとの共標識で，視床下部外側野に投射する細胞が GABA 作動性であることが示唆された。我々はこの神経細胞集団が分布する領域を ventral olfactory nucleus (VON)と名付けた。

VON ニューロンの形態を観察するために，逆行性に感染する EGFP を発現誘導するアデノ随伴ウイルスを視床下部外側野に注入した。VON ニューロンの樹状突起は脳底部の表面へと伸び，樹状突起上にスパインを有することが確認された。また VON ニューロンのスパインは，嗅球投射ニューロンの軸索とコンタクトする様子が共焦点レーザー顕微鏡を用いて観察された。

VON ニューロンへの入力経路を包括的に評価するために，改変型狂犬病ウイルス(SAD-deltaG-EGFP+EnvA)を用いた逆行性経シナプス標識を行った。Cre 組換え酵素を搭載した高頻度逆行性レンチウィルスベクターを視床下部外側野に注入し，VON には Cre 依存的に改変型狂犬病ウイルスへの受容体および rabies glycoprotein を発現するアデノ随伴ウィルスベクターを注入した。その後，EGFP を発現誘導する改変型狂犬病ウイルスを VON に注入し，VON ニューロンから逆行性標識を行った。嗅球のほか，前嗅核，梨状皮質，テニアテクタ，嗅結節，眼窩前頭皮質，内側前頭前皮質，対角帯に EGFP 標識された細胞が観察された。VON は末梢からの嗅覚入力に加えて，トップダウン性の入力を統合し，視床下部外側野へ GABA 性出力をする脳領野であることが示唆された。

43. 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）

脳卒中後の麻痺側上肢に対する集中的なリハビリテーションは損傷後の中枢神経回路の再編を促進し，それにより運動機能回復を増進すると考えられている。しかしながら，どの神経回路がどのようなタイミングで機能回復に寄与するかについては不明な点が多く残っている。

我々は内包出血モデルラットを用いた検討を行い，麻痺肢への集中的なリハビリテーションにより出血同側の皮質赤核路が増加し，同経路が集中リハによる運動機能回復と因果関係を有していることを示してきた(Ishida et al., J Neurosci. 2016)。この結果を踏まえ，本年度には皮質赤核路と皮質網様体路の機能的な相互関係を明らかにすべく，両経路を個別に機能遮断し，その影響を確認する検討を行った。

方法として，Wistar 系雄性ラットに対し，出血同側の赤核および網様体にレンチウィルスベクター (FuG-E-TRE-EGFP.eTeNT / FuG-E-MSCV-Cre) を，運動野にアデノ随伴ウイルスベクター (AAV-DJ-CMV-rtTAV16 / AAV-DJ-EF1a-DIO-hM4D(Gi)-mCherry) を注入し，それぞれ doxycycline および clozapine-N-oxide の投与により個別に機能を遮断できるような系を確立した。同モデルを用い，内包出血および集中リハ後に各経路を選択的に遮断し，運動機能（リーチ機能）の変化を確認した。

その結果，集中使用後に皮質赤核路を遮断すると改善したリーチ機能が再度悪化したが，皮質網様体路の遮断では機能の変化はみられなかった。興味深いことに，皮質赤核路を遮断した状態で集中使用を実施した場合では，リーチ機能の改善が生じ，且つ網様体において軸索分枝が有意に増加した。この皮質赤核路を継続的に遮断した動物において，追加で皮質網様体路を遮断したところ，リーチ機能の有意な低下が確認された。

以上の結果から，皮質赤核路が遮断されている場合は速やかに皮質網様体路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。

44. ウィルスベクターを用いた恒常性維持及び血圧制御神経回路の解析

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）

ウィルスベクターを用いて体液 Na^+濃度上昇に伴う血圧上昇のメカニズムを解析した(Neuron 2019)。野生型(WT)マウスに過剰に食塩を与えると，体液 Na^+濃度が上昇し(～10 mM)，血圧が上昇する。しかし，Na^+レベルセンサーNa_x の遺伝子欠損マウス(*Na_x*-KO マウス)では，体液の Na^+濃度が同程度上昇しているにも関わらず，血圧の上昇が起きなかった。次に，高張 Na^+溶液を脳室に注入し，脳脊髄液の Na^+濃度を選択的に上昇させた。WT マウスでは交感神経の活性化と血圧上昇が起きたのに対し，*Na_x*-KO マウスでは観察されなかった。さらに，脳室周囲器官の一つである終板脈管器官(OVLT)の破壊により，WT マウスの応答が失われ，OVLT の Na_x による Na^+感知が Na^+依存的な血圧上昇に重要と考えらえた。

OVLT から視床下部室傍核(PVN; 血圧制御に関わる交感神経中枢)に神経結合を持つニューロン［OVLT(→PVN) ニューロン］を同定し，Na_x を発現するグリア細胞に隣接していることを見出した。逆行性ウィルス HiRet を用いて光感受性タンパク質 ChR2 を OVLT(→PVN) ニューロンに発現した。この細胞を選択的に光活性化させると血圧が上昇し，この応答は交感神経活動の阻害剤により消失した。反対に，このニューロンの活動を光抑制すると，高張 Na^+溶液の脳室注入による血圧上昇が抑えられた。

Na_x が活性化すると嫌気的解糖の活性化を通じて乳酸産生が誘導される。生じた乳酸イオンと H^+は，モノカルボン酸トランスポーター(MCT)によって細胞外に放出される。急性脳スライスを作成し，細胞外 Na^+濃度の上昇に対する応答を解析したところ, OVLT のグリア細胞の周囲において H^+濃度が上昇するとともに，OVLT(→PVN）ニューロンの活動が亢進していた。OVLT(→PVN）ニューロンには H^+感受性イオンチャンネル ASIC1 が発現していた。薬理学的解析から, ASIC1a が Na^+による OVLT(→PVN）ニューロンの活性化や交感神経を介した血圧上昇を担っていることがわかった。

以上の解析から, 食塩の過剰摂取による血圧上昇の新しいメカニズムが明らかになった。

45. 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研究

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・脊髄損傷後の機能回復過程では，大規模な神経回路再編が起きるが，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鍵となる。我々は，ウイルスベクターによる経路選択的な機能操作法を用いて, マカクザルを用いた頸髄部分損傷後の手指の機能回復機構や一次視覚野損傷後の視覚運動変換機構の回復過程を研究してきた。本研究の目的は, ウイルスベクターを用いた霊長類での回路操作技術をさらに改良するため, 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作製し, げっ歯類やマカクザルおよびマーモセットにおいて効果を検証する研究を推進することである。

今年度, これまでの共同利用研究で進めてきた盲視サルを用いた研究で, 上丘から視床枕に至る経路の操作によりサルの眼球運動が障害されることを明らかにした研究が Nature Communication に掲載された（Kinoshita M et al., 2019）。

一方，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，この経路の役割を明らかにする実験を進めている。そのため，チャネルロドプシン R（ChR2）を導入したサルの VTA を光刺激しながら皮質前頭前野の脳波を計測し，自発活動の変化が記録できた領野においてマイクロダイアリシス法によりドーパミンの放出の変化を測定することに成功した。さらに，ラットを用いたオプシンの比較検討から ChR2 より ChrimsonR の方が良い結果が得られることが分かったので，サルでも ChrimsonR の注入実験を開始した。また，AAV の血清型については，サル皮質で炎症や感染効率を検討し，血清Ⅰ型とⅡ型の混合タイプの使用を開始した。

一方，マーモセットの眼球運動系についてもウイルス注入実験を進め，眼球運動中の前頭前野の神経細胞の活動を n Voke システムにて広範囲に記録する実験を行った。その最初のステップとして実績のある複数のウイルスベクターを比較する中で，tet-off 系によって増強された GCaMP6f が最適であることが分かった。そしてその条件によって眼球運動中の前頭前野の多数の神経細胞活動の記録を数日間にわたり眼球運動の記録と同時に行うことに成功した。また，マーモセットの上丘への投射経路解析実験についても，さらに頭数を増やし，解析を進め，学会発表を行い，論文化を進めている。

46. 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）

げっ歯類の線条体背外側部は運動機能と関わりが深い部位であり，大脳皮質の運動野及び運動視床である VA/VL 核から興奮性シナプス入力を受ける。今回我々は，線条体背外側部のパルブアルブミン発現ニューロン (PV

ニューロン)が，これらの部位からどのような興奮性入力を受けているのかを解析した。まず，パルブアルブミンのプロモーター配下に myrGFP-LDLRct 遺伝子を導入したトランスジェニックマウス (PV-FGL マウス) を用いて，PV ニューロンの樹状突起を隅々まで可視化した。次に，このマウスの大脳皮質二次運動野と視床 VA/VL 核に, tdTomat を発言する順行性 AAVdj ウィルストレーサーを注入し，両部位からの軸索終末を可視化し, プレシナプスマーカー, ポストシナプスマーカーとともに共焦点顕微鏡下で三次元的に入力様式を解析した。この結果，線条体の PV ニューロンは視床からは樹状突起の近位に, 大脳皮質からは樹状突起の全体に投射を受けるという傾向をもつことが明らかになった。PV ニューロンの樹状突起における膜電位伝導が受動的であると仮定すれば, 視床の近位樹状突起への投射は，PV ニューロンに対して driver としての働きを持つ可能性が考えられ，対称的に，大脳皮質からの均一な投射分布は，PV ニューロン樹状突起の局所的な興奮/抑制のバランスを調整する modulator の役割を有する可能性を示している。

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，研究の目的，方法，解釈ともに共同して推敲し，研究成果は，共著としてとして国際誌に論文発表した（Nakano, Karube, Hirai, Kobayashi, Hioki, Okamoto, Kameda, Fujiyama. Parvalbumin-producing striatal interneurons receive excitatory inputs onto proximal dendrites from the motor thalamus in male mice. J Neurosci Res, 2018. doi: 10.1002/jnr.24214）。

47. 内側手綱核－脚間核－腹側海馬回路の生理的役割

重本隆一（IST Austria）

内側手綱核－脚間核－腹側海馬回路は動機付け，不安，恐怖などの情動の調節に重要な役割を持っていることが知られているが, 回路を構成する神経細胞タイプやそれらの投射がそれぞれどのような解剖学的, 機能的特徴を持っているのかやそれぞれの生理的役割については，よく分かっていない。本研究では，この回路のうち内側手綱核腹側から脚間核の中心部への投射, および内側手綱核背側から脚間核外側核への投射について, それらの機能を調べた。内側手綱核腹側にはアセチルコリン作動性の神経細胞が豊富に存在し，Choline acetyltransferase-Cre マウスに channelrhodopsin を発現させる Adeno-associated virus を内側手綱核に注入することによって, アセチルコリン作動性の投射を選択的に光刺激した。その結果，この投射は R-type カルシウムチャネルによって主に制御されるグルタミン酸作動性神経伝達を持ち, Baclofen による GABAB 受容体刺激によって小胞放出が強く促進されることが分かった。内側手綱核背側から脚間核外側核への投射についても，substance P を発現する神経細胞が豊富に存在するため Tac 1 Cre マウスを同様に用いて実験したところ，同様に R-type カルシウムチャネルによって主に制御されるグルタミン酸作動性神経伝達を持つことがわかったが, 内側手綱核腹側からの投射とは逆に GABAB 受容体刺激によって小胞放出が抑制された。この GABAB 受容体刺激に対する逆の反応性の原因を調べるために, 脚間核の中心部と外側部で免疫染色性が異なる KCTD12b に注目した。KCTD は GABAB 受容体の Axillary subunit と考えらており，GABAB 受容体反応のキネティックスを変化させるほか, カルシウムチャネルに直接結合し機能を制御する可能性もある。KCTD subunit のうち，KCTD8, KCTD12, KCTD12b が内側手綱核には強く発現しているが，KCTD8 と KCTD12 は脚間核の中心部と外側部で同様の免疫染色性が認められる。これら３種の KCTD subunit のノックアウトマウスで内側手綱核－脚間核投射のシナプス反応を調べたところ，いずれも GABAB 受容体刺激による促進抑制作用には変化が認められなかった。今後は，これらの double KO mouse を用いてさらに実験を進める。

48. 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，そのメカニズムには未解明な部分が多い。

申請者らは最近「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）を見出した。本知見は，小脳抑制性インターニューロン数の制御における Pcdh 発現調節の重要性を示唆する。本研究では本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）Pcdh 発現制御メカニズムの解析，（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，昨年度までに完成した Pcdh 発現レポーターマウスを用いて，Pcdh 発現制御メカニズムの解明を進めた。これまでに，セルソーターによる Pcdh 発現陽性細胞の分取条件を確立できた。今後は Pcdh 発現陽性細胞におけるエピゲノム解析を行う。

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ている。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，その小脳抑制性インターニューロン数を調べている。今年度は成熟した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。本結果は成熟したプルキンエ細胞における Pcdh-g は小脳抑制性インターニューロン数の制御に関わらない ことを示唆する。今後は未熟なプルキンエ細胞などにお いて Pcdh-g を欠損させたマウスを作製し，影響を調べる。現在は，Ptf1a プロモーター制御下に Cre を発現するマウスを導入中である。

49. 摂食と生殖を制御するエネルギーセンサー細胞とその神経経路の同定

佐藤真梨萌，松田二子（東京大学農学生命科学研究科 獣医学専攻）
平林真澄（生理学研究所）

後脳にはグルコース濃度の低下を感知し，摂食ならびに生殖機能を制御するグルコースセンシング機構が存在する。これまで，その制御には後脳の上衣細胞をはじめ，カテコールアミンニューロン，室傍核の CRH ニューロン，弓状核の NPY ニューロンが関与していることが明らかとなっている。私たちは，上衣細胞がグルコースセンサー細胞として機能し，ほかの神経細胞の活動を制御することでグルコース濃度が低下した際の生理機能を制御していると考えている。

本研究では，後脳のグルコースセンシング機構の神経伝達経路を同定することを目的とした。シナプスを越えて伝達されるタンパク質であるコムギ胚凝集素（WGA）を発現する CAG-STOP floxed-WGA-2A-GFP マウスを作出し，生殖機能を制御する弓状核のキスペプチンニューロンに WGA を発現させ，その脳内局在を観察した。

CAG-STOP floxed-WGA-2A-GFP マウスは，目的の遺伝子配列をマウス受精卵の雄性前核へマイクロインジェクションすることで作出した。目的の遺伝子配列は，CAG プロモーター遺伝子を含むプラスミドを購入し，そこへ WGA-2A-GFP の遺伝子配列を挿入して作製した。その結果，21 系統の F0 ファウンダーマウスを得た。これら 21 系統の F1 雄個体と弓状核のキスペプチンニュー

ロンに Cre 酵素を発現するマウスを交配して獲得したダブルトランスジェニックマウスにおける WGA の脳内局在を免疫組織化学染色で解析したところ，21 系統中，4 系統において弓状核での WGA の発現が確認された。特に WGA 発現細胞数が多かった 1 系統では，弓状核だけではなく, 室傍核, 後脳の C1 領域においても多くの WGA 発現細胞が確認された。さらに，後脳の上衣細胞でも WGA の発現が見られた。

以上から，上衣細胞と生殖機能を制御しているキスペプチンニューロンの間に神経伝達経路が存在することが示唆された。今後は，本研究で作出した CAG-STOP floxed-WGA-2A-GFP マウスの後脳の上衣細胞に Cre 酵素を発現させ，上衣細胞を起点とした神経伝達経路を同定する。

50. ヒト型 SIRPa を発現するヒト化モデルラットの作製

濱仲早苗，山口智之（東京大学医科学研究所）
平林真澄，後藤哲平（生理学研究所）

ヒト細胞に対するマクロファージの貪食能が寛容となる変異型 *SIRPa* を持つ免疫不全マウス（*NOD/Scid*, *NSG*（*NOD/ Scid/ IL2rgKO*））では，ヒトの造血幹細胞，組織（幹）細胞等が高効率で生着することから，これらマウスを用いたヒト細胞の機能解析等の研究が広く行われている。ラットマクロファージの貪食能がヒト細胞に対して寛容となるモデルラットが作成されれば, マウスよりも大型のげっ歯類のヒト組織細胞生着モデルとして汎用性が高くなると思われる。そこで本研究では，ヒト型 SIRPa（hSIRPa）を発現するヒト化モデルラットの作成を目指した。

2017 年度は，CRISPR/Cas9 システムを用いて，ラット *ROSA* 遺伝子座へ BAC による *hSIRPa* 遺伝子をノックインし hSIRPa 発現 Tg ラットの作製を行った。ファウンダー（F0）では，ラット *ROSA* 遺伝子座にはノックインしていなかったが，BAC/*hSIRPa* 遺伝子が導入されてマクロファージが hSIRPa を発現する Tg ラットが得られた。しかし，得られた hSIRPa 発現 Tg ラットは，不妊であったため，自然交配では次世代を得ることが出来なかった。そこで，2018 年度は，導入遺伝子ベクターを変更し，ラット *SIRPa* 遺伝子座下流に *hSIRPa*-cDNA 遺伝子を連結したベクターを構築し, CRISPR/Cas9 システムを用いてラット *SIRPa* 遺伝子座に上記ベクターをノックインすることで, hSIRPa 発現 Tg ラットの作製を試みた。その結果，ラット *SIRPa* 遺伝子座に *hSIRPa*-cDNA 遺伝子をノックインした Tg ラットの作製に成功し，ラットのマクロファージにおける hSIRPa の発現を確認した。現在, 次世代の交配を行っている。今後は，ヒト造血幹細胞などの移植を行い，生着率並びに機能を評価する予定である。

51. 生理学的アプローチによるクラスター型プロトカドヘリン(Pcdh)の視覚神経回路形成の機能解明

大木研一，上村允人（東京大学大学院医学系研究科 統合生理学）
平林真澄，三宝　誠（生理学研究所）

マウスの 1 次視覚野では視覚情報の様々な方位に反応する神経細胞（方位選択性細胞）が空間的にランダムに存在しているが, 細胞系譜が同一の神経細胞（姉妹細胞）間では選択方位の類似度が高い。この姉妹細胞間でより相互シナプス結合の割合が高いことが明らかになっており, これによって方位選択性の類似性が形成されていると考えられる。私たちは相互シナプス結合の分子メカニズムとしてクラスター型プロトカドヘリン（Pcdh）に注目している。Pcdh は 58 分子存在し，大脳皮質発達時期の姉妹細胞で特定のサブセットの組み合わせとして発現していることが

示唆されており, これが姉妹細胞間での相互シナプス結合を形成し, その結果類似の傾きに反応する特異性が生まれていると考えられる。

これを証明するために，Pcdh 遺伝子をすべて欠損したマウスの線維芽細胞（PcdhKO）を単離して iPS を作製，PcdhKO_iPS を野生型マウス桑実胚に 4-8 細胞注入して発生させて iPS 細胞由来の PcdhKO 神経細胞を二光子カルシウムイメージングにて機能評価している。先ずは，「iPS 由来」の神経細胞が，正常に視覚情報処理に機能するか確認する必要があった。そこで Pcdh を欠損していないが GFP を全身で発現するマウス胚から iPS を樹立させた。この iPS は GFP を恒常的に発現しており，同様に野生型マウスとのキメラマウスを作製し，二光子顕微鏡で GFP 陽性細胞のカルシウムイメージングを行った。

その結果，GFP 陰性（宿主細胞）と GFP 陽性細胞で視覚刺激に応答する細胞の割合が，それぞれ 0.51±0.06，0.48±0.06（n=8（マウス個体数）），そのうち方位選択性を持つ割合が 0.73±0.02，0.77±0.03 で優位な差がなかった。さらに方位選択性度合いの指標である gOSI は 0.56±0.02，0.54±0.03 と優位な差はなかった。このことは，iPS 由来細胞が正常に視覚野神経細胞に分化し，視覚情報処理回路に正常に組み込まれていることを示している。この結果より，以下に述べる iPS 由来の PCHDKO 細胞でみられる機能変化は PCDH 欠損によるものであると結論づけれる。同様な手法で, 今までに iPS 由来 PCHDKO 細胞の視覚応答，方位選択性細胞の割合，gOSI が正常であることは確認済みである。しかし iPS 由来 PCHDKO の３固体中の娘細胞間で, 野生型でみられる方位選択性の類似が失われていた。今年度はさらに個体数を増やし，合計７固体で方位選択性の類似が失われていたことを確認した。このことから PCHD が相互シナプス結合を介して方位選択性の類似を形成すると確定できた。

52. 神経幹細胞の未分化性維持に関わる遺伝子の機能解析

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，性質を大きく変え, 生後は quiescent で未分化な細胞として維持される。神経幹細胞の未分化性維持の分子機構に関与すると因子として，α1,3-フコース転移酵素 Fut10 および，ヒストン H2B に対する E3 ユビキチンリガーゼ Rnf20 を同定した。本研究では，Rnf20 および Fut10 の機能解析を行うために，これら遺伝子のコンディッショナルノックアウト（cKO）マウスを作製することを計画した。

常法通り，Fut10 および Rnf20 遺伝子に対するターゲッティングベクターを直鎖化し，ベクター部分を削除して ES 細胞にトランスフェクションした。ターゲッティングに成功している ES 細胞を選別して，マウス胚盤胞に注入することにより得たキメラマウスを滋賀医科大学に移送し，遺伝子型の判定や次世代への継代の有無を検証した。

Fut10 cKO マウスに関しては，Germ line transmission に成功したので, 仔マウスをユビキタスに Cre を発現するマウスと交配し，Fut10 ノックアウト（KO）マウスを得た。Fut10 KO マウスは正常に発生・発達し，生殖能も正常であった。現在，Fut10 KO マウスの表現型を詳細に調べるとともに，脳に発現するもう１つの α1,3-フコース転移酵素である Fut9 KO マウスと交配して, 脳の構築や機能の解析を行っている。また，Fut10 KO や Fut9::Fut10 double KO マウスの胚盤胞から ES 細胞を樹立し，幹細胞の未分化性維持の解析も平行して進めている。

一方，Rnf20 cKO マウス作製に関しては，キメラマウス作製までは成功したが, Germ line transmission しなかったため，2019 年度に再度作製を行う予定である。

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。

53. 機能的な神経回路形成における神経細胞の個性化の役割

八木　健，平山晃斉，足澤悦子，杉元啓悟（大阪大学）
平林真澄，三宝　誠，山内奈央子（生理学研究所）

神経細胞に発現する細胞接着分子, クラスター型プロトカドヘリン（c-Pcdh）は，マウスでは 58 種類の遺伝子からなり，α（14 種類），β（22 種類），γ（22 種類）の 3 つクラスターを形成している。一つの神経細胞には各クラスターから数種類の c-Pcdh アイソフォームがランダムな組み合わせで発現していることから, 個々の神経細胞の個性化に関わることが示唆されている。この c-Pcdh タンパク質は, 各アイソフォームがホモフィリックに結合する性質を持ち, 発現する種類が細胞間で一致した場合に細胞接着活性を示す。これまでにいくつかの c-Pcdh 欠損マウスが作製され, 解析により神経回路形成異常が示されてきたが, 機能的役割や多様性の意義は未だ不明な点が多い。本共同研究では，c-Pcdh の多様性を遺伝子操作により改変した様々なマウスを作製, 解析することにより，神経回路形成における神経細胞の個性化の役割を明らかにすることを目的とする。

本年度は，既に作製している Pcdhα と Pcdhβ 欠損マウスにおいて Pcdhγ の一部の遺伝子をコンディショナルに欠損させるマウスの作製をおこなった。まず，ΔPcdhαβ 欠損マウスの PcdhγA1 の上流に loxP 配列を挿入したマウスから凍結精子を作製し, C57BL/6 マウスの卵と人工授精をおこなった。受精卵に対して，ΔPcdhαβ 作製のために用いた loxP 配列に in/del を入れるための gRNA，PcdhγA12 の下流を切断するための gRNA と切断部位に loxP 配列を挿入するための ssODN，および CRISPR/Cas9 タンパク質をインジェクションした。46 匹のマウスが生まれ, ΔPcdhαβ 作製のため用いた loxP 配列に deletion が認められる個体, PcdhγA12 の下流に loxP 配列が挿入されている個体が得られた。また, ΔPcdhαβ 作製のため用いた loxP 配列に deletion が認められ, かつ PcdhγA12 の下流に loxP 配列が挿入されている個体も数匹得ることができた。現在，これらの遺伝子改変マウスを C57BL/6 マウスと交配して，改変した配列が遺伝されることを確かめている。

54. 海馬神経回路の左右非対称性を維持するメカニズム

伊藤　功（九州大学）
平林真澄，三宝　誠（生理学研究所）

我々は，海馬神経回路について入力側依存性左右差が存在することを発見した（Kawakami et al., 2003）。その後, この左右差を失っている遺伝子変異マウス, iv mutant, beta2 microglobulin (b2m) KO, PirB KO マウスの 3 種類を見出し報告した。このうち iv mutant マウスにおける左右差の消失は，発生初期の node における Left-right dynein の機能欠損によるものと考えられるが, b2m や PirB については成熟脳においても発現が認められる。海馬錐体細胞間のシナプス結合は，成熟期においても可塑性が高く, 常にシナプスの新生や除去が起こっている。そのような状況下で入力側依存性左右差が継続的に存在することは，成熟期においてもシナプス結合の左右差を維持する機構が存在することを示している。しかし，b2m の働きによって細胞膜に輸送される MHC class I 分子，およびその受容体である PirB が左右差の維持に関わっているのかどうか，関わっているとするとプレシナプスとポストシナプスのどちら側でそれぞれが働いているのか，は不明である。本研究では，成熟期の PirB KO マウス脳における PirB のレスキュー，PirB flox マウス脳における Cre 発現ウィルスによる細胞レベルでのノックアウト，および FLAG タグを付加した PirB ノックインマウスを用いて, PirB の成熟脳における局在と機能を調べている。本年度は，PirB のポスト側神経細胞におけるレスキューによって左右差が回復することを見出した。さらに, PirB flox マウスで細胞レベルでのノックアウトマウスの標本を作製して左右差を現在解析中である。レスキュー実験

の結果から考えると，ポスト側神経細胞において PirB をノックアウトした場合に左右差が失われることが予測できる。ただプレ側でノックアウトした場合の変化についても興味深い。またタグ化した PirB を免疫電子顕微鏡法によって検出することで，PirB がプレ，ポストのどちら側に存在するかを直接証明できることが期待される。

55. 電位依存性カルシウムチャネル alpha2delta サブユニットの局在とシナプス形成における役割

重本隆一（IST Austria）
平林真澄，三宝　誠（生理学研究所）

電位依存性カルシウムチャネルは，神経終末の小胞放出部位において，活動電位による伝達物質放出を引き起こすトリガーとして機能する。我々は，P/Q-type カルシウムチャネルが神経終末のアクティブゾーン内でナノサイズのクラスターを形成していることを報告したが，チャネルを形成する alpha1 subunit の局在には，alpha2delta subunit が必須であること，alpha2delta はシナプス形成にも関わっていることが報告されている。しかし，抗体が得にくい事，シナプス間隙に抗体がアクセスしにくいことなどから，alpha2delta subunit の局在は直接証明されていない。そこで，本研究では我々が開発した電顕タグを用いた reaction tag system によって，alpha2delta subunit の電子顕微鏡的局在をすることを目的とする。二種類のタグ hD2-tag, DC tag を小脳に強く発現している alpha2delta2 subunit に付加したノックインマウスを作成し，金標識プローブによってこれらのタグを検出することを試みる。約 20 アミノ酸からなる hD2-tag および DCtag を alpha2delta2 subunit に挿入したノックインマウスを CRISPR/cas9 法によって作成した。現在これらのマウスについて遺伝子配列を解析中であるが，一部のマウスに小脳失調とみられるフェノタイプが観察された。これは，CRISPR/cas9 法によって副産物として生じた alpha2delta2 subunit ノックアウトによって起こっている可能性もあるが，タグ挿入による機能障害の可能性もある。後者の場合は，挿入部位を変えて再びノックインをトライするか，in vitro の系を用いてまず機能障害のない挿入部位を決める必要があると考えている。

56. 小脳運動学習を制御する GABA 作動性神経回路の可塑性

重本隆一（IST Austria）
平林真澄，三宝　誠（生理学研究所）

小脳運動学習にはプルキンエ細胞の活動を制御する平行線維からの興奮性シナプスと分子層に存在するインターニューロンからの抑制性シナプスの可塑性が関わっており両者のバランスが重要と考えられる。我々は，生理的な運動学習の単純なモデルとして水平性視機性眼球運動の適応現象を用い，平行線維からの興奮性シナプスが長期記憶形成とともに減少することを見出した。本研究では，インターニューロンからの抑制性シナプスの可塑性が長期記憶形成にどのように関わっているのか，を調べることが目的である。このために，抑制性シナプスの数や密度を正確に計測すること，抑制性シナプスにおける GABAA 受容体の数や密度，シナプスサイズを形成すること，機能的にプレシナプスからの伝達物質放出やポスト側に反応性にどのような可塑的変化が起こるかを観察することが必要となる。そこでシナプスを可視化して計測するためにタグを GABAA 受容体 gamma2 subunit に挿入したトランスジェニックマウスを作成した。また，学習後のインターニューロンからの抑制性シナプスの機能を，急性スライス標本を用いた電気生理学的方法によって解析した。その結果，水平性眼球運動をコントロールする flocculus において，長期学習成立後に抑制性シナプスの数が有意に増加すること，ポス

トの GABAA 反応には変化がないこと，運動学習直後にはプレの放出頻度が増加するが，長期学習成立後はコントロールレベルに復帰すること，などを見出した。プレの放出頻度の増加は，放出確率の増加あるいは，プレのインターニューロンの興奮性の上昇によると考えらえるので，さらに検討を進める。また今後は，運動学習後のタイムコースを詳細に検討し，平行線維からの興奮性シナプスの可塑性のタイムコースとの対応を調べる。それによって両者のバランスがどのように制御されているのかを明らかにしていきたい。

57．3 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(藤田医科大学 医学部 解剖学講座 II)
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）

目的） 炎症に起因する糸球体基底膜（GBM）の断裂は血尿や蛋白尿を来し，硬化病変や腎障害へと進展する重要な病変である．従来の透過電顕においても GBM 断裂の報告は散見されるが，その立体的構造の把握には限界があった。本研究では，serial block-face scanning electron microscopy（SBF-SEM）をヒト腎生検材料に応用して，GBM 断裂部位における糸球体構成細胞間の３次元的超微形態構造の解析をおこない，糸球体病変の進行機序解明を目指した。

方法） ヒト腎疾患７２症例を透過電顕により撮影し，その中から１４症例の糸球体腎炎を抽出して SBE-SEM の材料とした。腎生検試料は 2.5%グルタールアルデヒド･リン酸緩衝液で浸漬固定後，還元オスミウム-チオカルボヒドラジド法により，導電性樹脂に包埋した。SBF-SEM により 500 枚の連続切片画像を取得し，GBM 断裂部位を中心に糸球体構成細胞を色づけした後，立体構成（Segmentation）により構成細胞と細胞外マトリックスとの三次元的超微形態耕造を観察した。

結果） 活動性ループス腎炎の２症例中１症例と IgA 腎症６症例中の２症例において，足細胞の細胞突起が糸球体基底膜を貫きメサンギウム基質に嵌入し，メサンギウム間入の部位にてメサンギウム細胞に点接触することが確認され，その密度は 110 個/3,700 μm^3 であった（図 1，文献 1）。さらに IgA 腎症においては，前述の病変が確認されたが（図 2），その他に，メサンギウム細胞側から細胞突起が GBM を貫通してボウマン嚢腔内に突出し，足細胞と点接触する所見も見られた（図 3）。別の領域では，足細胞の細胞突起が GBM を貫通した後，内皮細胞に接触する所見も見られた（文献 2，3）。上記の GBM 断裂の傷害機序を示唆する現場は確認されていない。

考察） GBM の断裂部を超微形態レベルで三次元的に観察した報告例は非常に少なく，また本報告例のように GBM 断裂部への嵌入細胞の由来が，足細胞とメサンギウム細胞で異なるという知見は，世界で初めての報告なる。さらに，GBM の介入によって本来接触がない足細胞とメサンギウム細胞あるいは内皮細胞間に点接触が観察されたことは，細胞間接触により，メサンギウム細胞増殖やメサンギウム基質の増生が足細胞に誘導される可能性が示唆される。 また，足細胞と内皮細胞と直接接触は，足細胞の VEGF(血管内皮細胞増殖因子)による内皮細胞の保護作用が paracrine を介さず誘導される可能性が示唆された。

文献

1. Takaki T, Ohno N, Saitoh S, Nagai M, Joh K. Podocyte contacts on mesangial cells at mesangial interposition of lupus nephritis: A three-dimensional analysis by serial block-face scanning electron microscopy. Clin Exp Nephrol. 2019 in print
2. Nagai M, Saitoh S, Takaki T, Ohno N, Joh K. three-dimensional analyses on IgA nephropathy by serial block-face scanning electron microscopy. The 66th NIBB Conference ABiS International Symposium 2019/2/17 Okazaki, Aichi, Japan

3. Nagai M, Saitoh S, Takaki T, Ohno N, Joh K. Cytoplasmic Penetration and Intercellular Contact through Disrupted Glomerular Basement Membrane: Three-Dimensional Analyses on IgA Nephropathy by Serial Block-Face Scanning Electron Microscopy. Kidney Int, submitted

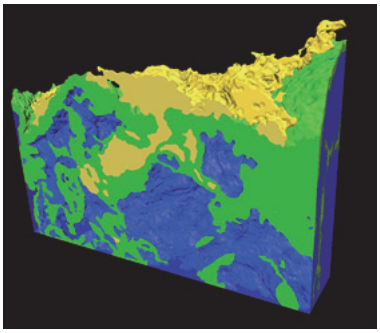


図 1（黄：足細胞，緑：GBM，青：メサンギウム）

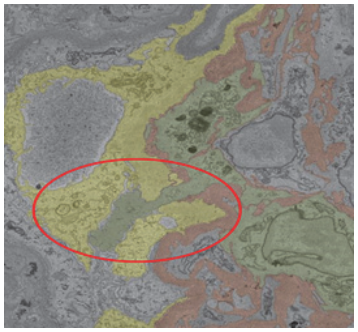


図 2（黄：足細胞，茶：GBM，緑：メサンギウム）

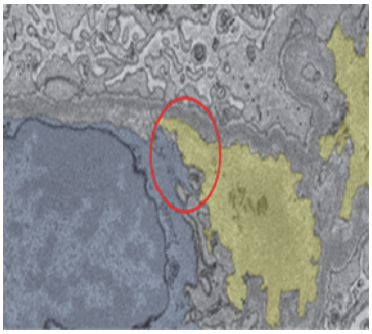


図 3（黄:足細胞，灰：内皮）

58. 哺乳類の生殖機能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

束村博子，上野山賀久，井上直子，長江麻佑子（名古屋大学大学院生命農学研究科）
平林真澄，後藤哲平（生理学研究所）

本研究では，ラットなどの神経内分泌学研究に重要な実験動物の遺伝子改変モデルを作製し，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哺乳類の生殖機能を制御する脳内メカニズムの解明を目指している。キスペプチンは性腺刺激ホルモン放出ホルモン（GnRH）分泌を制御する神経ペプチドであり，卵胞発育と排卵という生殖のふたつの重要なイベントを制御する。視床下部の弓状核に位置するキスペプチンニューロン群が卵胞発育を制御し，前腹側室周囲核に位置するキスペプチンニューロン群が排卵を制御するという仮説に基づいて，2 群のキスペプチンニューロンの生理的役割を明らかにする目的で，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生殖機能の評価を行った。また，キスペプチンニューロン可視化ラットの作出を目的として，*Kiss1*-Cre ラットの作製を進めた。

一昨年に作製した *Kiss1*-floxed ラットの弓状核に，Cre リコンビナーゼを発現するアデノ随伴ウイルスベクターを投与し，弓状核特異的 *Kiss1* ノックアウトラットを作製した。その結果，生殖機能の指標となる血中黄体形成ホルモン濃度の顕著な低下を認め，弓状核キスペプチンニューロン群が卵胞発育を制御する GnRH のパルス状分泌を制御する中枢であることを強く示唆した。

また，*Kiss1*-Cre ラットの作製を目的とし，エレクトロポレーション法によりターゲティングベクターを導入した ES 細胞株 17 株のスクリーニングを実施した。PCR によるスクリーニングにより，相同組み換え ES 細胞候補 1 株を選抜した。サザンブロットの結果，候補株には，野生型 ES

細胞も混在する可能性が示されたため，相同組み換え ES 細胞候補株を再度培養・クローン化した後，改めてスクリーニングを実施することとした。

59. 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）
Chihong Song，村田和義（生理学研究所）

本研究は，小型甲殻類の形態学に SBF-SEM を用いてアプローチすることにより，これまで観察が困難とされてきたメゾスケールの構造を三次元的に把握する。そして，複数の分類群に属する種を用いて形態発生の三次元解析を横断的に行い，異なった形が発生する仕組みの間にある類似性と差異を明確に把握する。この発生比較により，進化の過程で新しい形態が出現するメカニズムについて議論することを最終的な目的とする。

本年度の成果としては, SBF-SEM で小型甲殻類の超微形態を解析し，比較形態学的手法により深海性カイアシ類 Heterorhabdidae における毒腺配置の進化プロセスを解明した。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。SBF-SEM を用いて得られた三次元構造から，毒腺配置を Imaris を用いて画像解析を行い，その詳細な三次元モデルを作成して，形態要素同士の相同性を推定した。その結果，Heterorhabdidae において毒腺及び筋肉の相同性は保たれているにもかかわらず，Heterorhabdus 属のみにおいて毒線の特殊化に関連した特異な新規筋肉が発達していること，また他の属に見られない毒搾出に特化した筋肉配置が見られることが明らかになり，Heterorhabdus 属における毒腺の機能的特殊性が示唆された。

Kaji K, Song C, Murata K, Nonaka S, Ogawa K, Kondo Y, Ohtsuka S, Palmer R (2019) Evolutionary transformation of mouthparts from particle-feeding to piercing carnivory in Viper copepods: 3D analyses of a key innovation using advanced imaging techniques, Frontiers in Zoology16:35.

60. 求心性迷走神経活動による延髄孤束核神経活動変化の *in vivo* イメージング

関口正幸，竹内絵理，國石　洋（国立精神・神経医療研究センター神経研究所）
鍋倉淳一，揚妻正和（生理学研究所）

求心性迷走神経による末梢→脳情報伝達は, 特に内臓情報が脳に伝達される神経システムとして重要である。しかし, 求心性迷走神経中枢端とその投射脳部位のひとつである延髄孤束核ニューロン間のシナプス伝達は *in vivo* でイメージングされたことがなく，末梢・脳連関を理解する上で重要な課題となっている。本研究は，この課題を 2 光子顕微鏡による *in vivo* イメージングで解き明かすことを目的とする。

この目的のために，C57BL/6J マウスを用い，カルシウムセンサータンパク質 GCaMP6 を孤束核（を中心とする脳幹部位）に発現させた（AAV-GCaMP6 の局所投与）。このマウスに 2 光子顕微鏡観察用ウインドウを装着した。このウインドウはプリズムを経由して小脳直下にある孤束核を顕微鏡観察できるように工夫したものである（小脳は切除せず）。現在までの検討で，孤束核と考えられる脳部位に蛍光シグナルを発する細胞を観察することに成功している。

一方，末梢で迷走神経を刺激するために，麻酔下，マウス頚部迷走神経を露出し電気刺激用金属電極を装着する手法を開発した。装着部位は速硬化シリコンにて固

定保護絶縁した。

以上 2018 年の検討で，研究目的を達成するための準備はほぼ整った。今後，孤束核でのカルシウムシグナルを観察しながら迷走神経の電気刺激を行い，孤束核ニューロンのカルシウム変動を解析する実験を行う。一部の実験においては，摂食抑制ペプチドの静脈内投与や食物成分の経口投与などの刺激による孤束核ニューロンの応答を調べることも計画している。

【超高圧電子顕微鏡共同利用実験報告】

超高圧電子顕微鏡共同利用実験報告

〔　目　　次　〕

1. 巨大ウイルスのウイルス工場形成過程の三次元構造解析 212
2. 植物寄生性線虫の感染部位の微細構造解析 212
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 213
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 214
5. 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 215

1. 巨大ウイルスのウイルス工場形成過程の三次元構造解析

武村政春（東京理科大学理学部第一部）
岡本健太（ウプサラ大学 BMC）
村田和義（生理学研究所）

昨今，「巨大ウイルス」と呼ばれるウイルスの分離が世界中から報告され，日本でも申請者により *Tokyovirus*，*Medusavirus* などの巨大ウイルスを各種水環境から発見・分離することに成功している。多くの巨大ウイルスは「ウイルス工場」と呼ばれる宿主細胞内構造体を形成するが，最近分離された *Medusavirus* は新科に属することが示唆されており，ウイルス工場ならびに粒子形成過程に関して不明な点が多い。そこで，ミクロン厚切片の観察が可能な超高圧電子顕微鏡を用いてトモグラフィー解析を行うことにより，ウイルス工場形成過程の三次元構造解析を行うことが極めて有用であると考えた。2017 年度の共同研究により，*Medusavirus* はその DNA を宿主であるアカントアメーバ細胞の細胞核で複製した後，細胞質で大量に合成したカプシド内にパッケージングすることが示唆されていたが，その詳細なメカニズムは明らかでなかった。そこで，そのメカニズムを解明することを目的として，上記解析を行うこととした。

東京理科大学において *Medusavirus* を感染させたアカントアメーバ細胞を調製し，感染後経時的にアカントアメーバ細胞を化学固定して樹脂に包埋し，生理学研究所において適当な厚さの切片に薄切し，電子顕微鏡解析に供した。

その結果，細胞内で合成されつつある *Medusavirus* 粒子には，形状の異なる４種類のステージ（あるいはタイプ）が存在することが明らかとなった。その４種類とは，内部に DNA がパッケージングされた状態（F: Full），DNA の一部がパッケージングされた状態（FI: Full-Intermediate），DNA ではない何らかの物質が内部に存在する状態（EI: Empty-Intermediate），そして内部が空の状態（E: Empty）であることが示唆された。アカントアメーバ細胞内では，感染後時間でこれら４種類の存在割合はやや異なるものの，ウイルス粒子合成・DNA 複製が行われると考えられる時間帯（10 h～24 h）では，ほぼ EI 粒子が全体の 60 % 以上を占めること，感染能力があると考えられる F 粒子は，感染後 20h に最もその存在割合が多くなること（それでも全体の 20%程度）が明らかとなった。さらに，培養液に放出された *Medusavirus* 粒子にも，この４種類の粒子が存在することも明らかとなった。これらのことから，細胞核内で複製された *Medusavirus* DNA は，細胞質で合成された多数のカプシドのうち一部にのみパッケージングされ，放出されていることが示唆された。

2. 植物寄生性線虫の感染部位の微細構造解析

古賀博則（石川県立大学生物資源環境科学部）
ソン･チホン，村田和義（生理学研究所）

１．はじめに

ダイズシストセンチュウは古くから「忌（嫌）地病」などと呼ばれてきたダイズ病害の原因線虫で，国内外で甚大な被害を引き起こしている。本線虫はマメ科植物の根に侵入し，成熟すると，200～400 個の卵を内蔵するレモン型（長さ約 0.5 mm）のシストを形成する。本線虫は根内に侵入後，シンシチウム（融合細胞）の形成を誘導し，シンシチウムからのみ養水分を吸収する。シンシチウムは卵が必要とする養分を供給するため，特殊な微細構造をしていると考えられ，昨年度は電界放射形走査電子顕微鏡観察と超高圧電子顕微鏡による三次元的解析を行った。その結果，シンシチウム内には，数種類の滑面小胞体からなる巧妙で複雑な構造が存在することがわかった。根に寄生したシストセンチュウは，生育に必要な脂質やステロールをシンシチウムから吸餌することが知られている。これらの生合成は主に滑面小胞体で行われる。そこで，本年度は脂質やステロールの生成物に焦点をおいて，超高圧電子顕微鏡によるトモグラフィー解析を行った。

２．試料と方法

ダイズシストセンチュウを接種した 1～50 日後のダイズ根を，ホルマリン・グルタルアルデヒドで前固定し，zinc iodine-四酸化オスミウムで後固定して，樹脂に包埋した。そこから 500 nm の厚切り切片を作製して，ウラン・鉛による電子染色後の超高圧電顕で観察した。トモグラフィー解析では，±60°の範囲で 2°毎に傾斜して撮影した 61 枚の画像を用いてシンシチウムを含む領域を立体再構成した。

３．結　果

本研究の結果，球状の構造体が管状の滑面小胞体や扁平状の滑面小胞体の間に多数認められた。この球状の構造体は形態的にも細胞壁とは明らかに異なり，表面が滑らかな構造をしているように見えた。これらの特徴や滑面小胞体が脂質やステロ-ルを形成する場であることから，この球状構造体は脂質あるいはステロ-ルである可能性が高い。オスミウム浸軟法（細胞内容物を除去して膜系のみ固定する方法）を用いて電界放射形走査電子顕微鏡で観察する方法では，この球状構造体は観察されなかったことから，この構造体はシンシチウム内のどの部位あるいはオルガネラとも結合していないことが示唆された。今後，電顕組織化学などの方法により，この球状構造体の特性について，さらに解明する必要がある。

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，野田　亨，深沢元晶，前田真男（藤田医科大学 医学部）

超高圧電顕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。Golgi 装置について，昨年度は肝細胞を材料として還元オスミウム法（ZIO）法を行い，超高圧電顕観察と SBF-SEM 観察を行った。本年度は同法を他の細胞の観察に適用した。さらに，ferricyanide osmium (FO) 法を施した胃底腺壁細胞の細胞内分泌細管と肝細胞の形質膜，alkaline phosphatase (Alpase) 染色を施した小腸粘膜上皮細胞の観察を行った。

【材料と方法】ラット胃，十二指腸，肝組織をグルタルアルデヒド固定し材料とした。ZIO 法では Zn, I, Os を含む染色液で，FO 法では Ferricyanide 添加 Osmium 液で，Alpase 染色では Mayahara 法によりクエン酸鉛液で染色した。樹脂包埋後，0.1 μm 厚の超薄切片を通常電顕で，1-3 μm 厚で作製した厚切り切片を 1250M を用い加速電圧 1000kV で観察した。

【結果】ZIO 法については，小腸粘膜上皮細胞の Golgi 装置が電子密度高く観察された（図省略）。FO 法によると，胃の壁細胞の細胞内分泌細管が電子密度高く観察された（図省略）。肝細胞では，毛細胆管微絨毛を含む形質膜が電子密度高く観察された（図 1）。Mayahara 法では，小腸粘膜上皮細胞の形質膜が電子密度高く観察された（図 2）。

【結論】超高圧観察において，加速電圧が大きいので厚い切片が観察可能であるが，一方，像のコントラストは低くなる。電顕組織化学で用いた，Zn, I, Os, Pb などの原子番号の大きな重金属は，弾性散乱の程度が大きいのではっきりした強度コントラストが得られる。ZIO 法，FO 法，Mayahara 法のいずれも画像のコントラストが高ので，通常電顕と超高圧電顕の双方で使用することができ，さらに SBF-SEM の観察に使用可能と予想している。

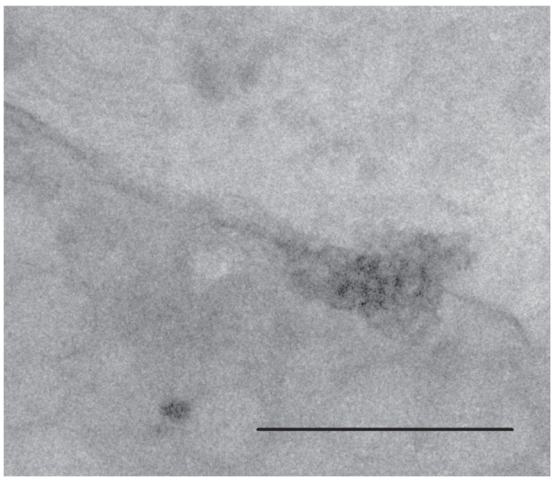


図 1：FO 法を施した肝細胞形質膜の超高圧電顕写真（切片厚 3 μm，バー：0.5 μm）。

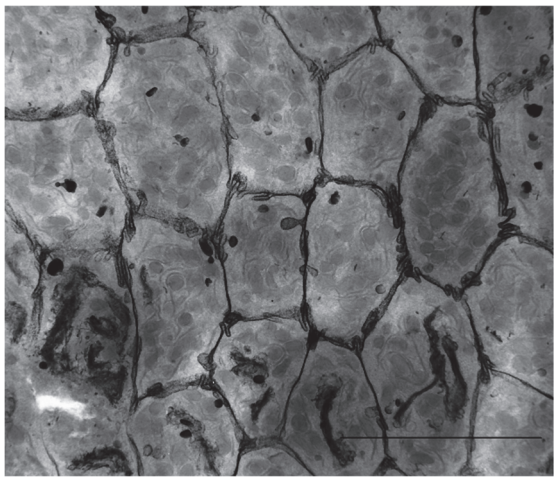


図 2：Mayahara 法を施した小腸粘膜上皮細胞の超高圧電顕写真（切片厚 1 μm，バー：5 μm）。

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）

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，大脳皮質視覚野ニューロンでのギャップ結合の微細形態や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・錐体細胞間の電気シナプスを電気生理学実験で解析し，ギャップ結合による接触形態を対応させて解析した。また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，ギャップ結合の存在の有無・その位置や微細形態を調べ，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と考えられる。

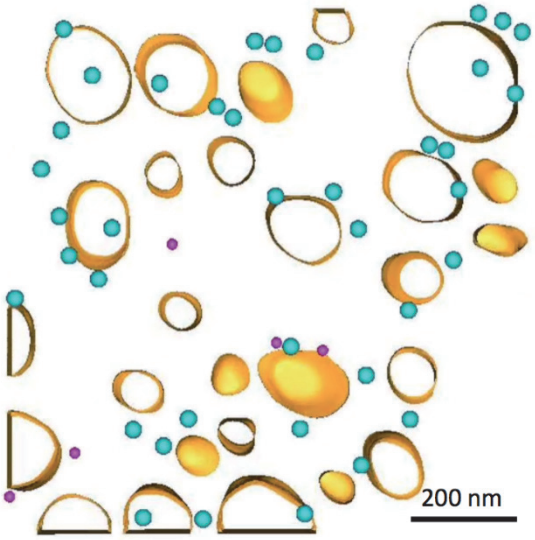
今回，電気シナプスを解析した生後間もない（P5）ラット視覚野の錐体細胞を蛍光色素 Lucifer Yellow で細胞内染色した。また，灌流固定したコモンマーモセットから摘出した網膜と脳組織を用いて，網膜と大脳皮質視覚野ニューロンにおけるギャップ結合の微細形態を超高圧電子顕微鏡で解析した。ギャップ結合細胞間チャネルの形態構造を観察するために，幼弱ラットの脳標本およびコモンマーモセットの網膜と脳組織をエポン樹脂に包埋し，厚さ 1 μm から 2 μm 切片を作成し，1,000 kV の加速電圧で超高圧電子顕微鏡を用いて観察した。超高圧電子顕微鏡の試料ステージの傾斜によって 2°づつ±60°で撮影し，IMOD プログラムを用いてその立体再構成を行って，幼弱ラットの錐体細胞およびコモンマーモセットのニューロンの形態と細胞間の接触構造を解析した。幼弱ラットでは，隣り合う視覚野ニューロンの形態が超高圧電子顕微鏡で観察され，解剖学的にギャップ結合に似た細胞間の接触形態が観察された。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，幼弱ラットの錐体細胞間およびコモンマーモセットの視覚野ニューロン間の接触部には，connexin36 免疫陽性のギャップ結合斑 puncta が観察された。以上の結果から，幼弱ラット視覚野の錐体細胞同士はギャップ結合・電気シナプスを形成していることが明らかになった。ギャップ結合を形成しているコモンマーモセットの視覚野ニューロンの細胞種は不明であるが，今後，さらにコモンマーモセットの視覚野ニューロンのギャップ結合斑 puncta を超高圧電子顕微鏡で調べ，幼弱ラット視覚野の錐体細胞間のギャップ結合・電気シナプスの構造・機能と比較することによって，視覚野でのコモンマーモセットのギャップ結合の機能を調べて行きたい。

5. 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

坂本浩隆，川上奈津子，高浪景子（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 次元的に解析した。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した。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（2017 年度報告書）。そこで今年度は，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，低温電顕観察を行なった。その結果，安定して分泌顆粒の観察をすることはできたが，CD38 に特異的な免疫陽性反応は観察されなかった。そこで，今回，従来の包埋後免疫電顕を行った切片を用いて，トモグラフィー法により CD38 の膜配位を解析する目的で予備実験を行った。その結果，従来の超薄切片（70 nm）を用いたため，分泌顆粒の外径が判断しがたく，膜配位の決定までには至らなかった（図参照）。次回は準超薄切片（100-200 nm）で試すことで，CD38 の膜配位を決定付けられる可能性を示唆した。今後は効率的な解析を行うための条件検討を引続き実施していく予定である。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：　ラット下垂体後葉の二重免疫電顕像からのトモグラフィー解析。分泌顆粒（黄色）の膜構造に，オキシトシンニューロフィジン（15 nm; シアン），および CD38（10 nm; マジェンタ）に対する免疫陽性反応が関連していることを示唆した。

【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. 情動制御における内側前頭皮質機能の解明 220
2. 顔から笑いを抽出する脳内メカニズムを反映する脳活動の特性 220
3. 呼吸誘発性脳血流変化による体性感覚認知への影響 220
4. 知覚・記憶・注意とその相互作用に関する脳磁場信号の計測 221
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 221
6. dual-fMRI を用いた社会的交流における受容行動の神経基盤 222
7. 7 テスラ MRI 装置における 8 チャネル並列送信技術の開発 222
8. 語用論的解釈の神経基盤 ― 発話における意図的不調和の処理過程に着目して 223
9. 社会的報酬および罰が運動パフォーマンスに及ぼす影響の神経機構の解明 224
10. 表情と音声による視聴覚情動知覚の文化差を生み出す神経基盤 225
11. ぬれ感覚の脳内形成機構 226
12. 赤ちゃん型ロボットとの触れ合いによって惹起される神経基盤の解明 227
13. 磁気共鳴画像を用いた，日本人英語学習者・外国人日本語学習者の第二言語習得メカニズムの探求 228
14. 7T fMRI を用いた協力の神経基盤としての右頭頂側頭接合部の役割の解明 228
15. 脳波・機能的 MRI 同時計測法を用いた睡眠覚醒機構の解明 229
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 7TMRI による解析 229
17. 経済実験と非侵襲脳活動イメージングによる言語が社会効用に与える影響の解明 230
18. 課題正解率を変える呼吸と脳活動の相互作用の解明 231
19. ヒト聴覚野における雑音下の音信号処理 231
20. MEG を利用した聴覚時空間的脳活動の検討 232
21. 多義性効果と意味密度効果の脳波・脳磁場計測を用いた検証 233
22. 末梢神経線維の選択刺激法の確立と脳反応の計測 233
23. 片側高度感音難聴患者における聴覚誘発脳磁場反応の周波数特性 234
24. 音圧変化に対する自動脳応答 234
25. 時間，空間，音声の知覚に共通するチャンネル間処理の解明 235
26. クロスモーダルな感覚情報の脳内表現様式の解明 236
27. 3 次元シネ位相コントラスト磁気共鳴法の基礎的検討 236
28. 眼球運動の機能的ネットワークの解析 238
29. 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 239
30. MRI を用いた大脳基底核新経路の検証 240
31. 創造的修辞表現生成に関わる神経ネットワーク・認知メカニズムの解明 240
32. 主観的時間経験に依存した経済的意思決定における衝動性・自己制御の調節機構 241
33. 脳磁図による運動視知覚の神経基盤の解明 242
34. 役割分担を伴う協調行動時の２者間に見られる脳活動ダイナミクスの解析 242
35. 非ヒト霊長類を用いた安静時脳機能結合パターンの操作と理解 243

1. 情動制御における内側前頭皮質機能の解明

筒井健一郎（東北大学・大学院生命科学研究科）

本研究では, 脳の情動制御機構を明らかにすることを目的として, 反復経頭蓋磁気刺激（rTMS）を用いて内側前頭皮質を中心とした脳の諸領域の神経活動を抑制あるいは促進させることで生じるサルの行動や気分･情動の変化を定量的に調べるとともに，硬膜下皮質表面電位（ECoG）や単一ニューロン活動等の電気生理学的計測をを行っている。2 頭のサルを向かい合わせ，前方のボード上に置かれたエサを取り合うという競合的エサ取り課題を行わせた。一方のサルの内側前頭皮質の腹側部を含む領域に抑制性低頻度 rTMS を施すと，サルは消極的になり，相手に近い位置にあるボード上のエサを取る割合が低下することが明らかとなった。また，促進性高頻度 rTMS を前頭前野背外側部に施すと，サルは積極的になり，相手に近い位置にあるボード上のエサを取る割合が増加した。今後は，サル脳の MRI 構造画像を撮像し，ECoG 計測用のシート電極を埋める位置を正確に決め, 内側前頭皮質や背外側前頭前野を中心とした, 情動制御に関わる諸領域における神経活動の計測を行う予定である。

2. 顔から笑いを抽出する脳内メカニズムを反映する脳活動の特性

三木研作（日本赤十字豊田看護大学）

以前行った研究において（Miki et al., 2011. Clinical Neurophysiology），健常成人では笑った顔への変化に対して特異的な情報処理過程が存在することが示唆された。

昨年度は, 脳波を用いて, 接客業に携わっている人と接客業に携わったことのない人を比較し, 表情を認知するメカニズムの違いを顔認知に特有な脳波成分である N170 に関して検討した。

今年度は，初期視覚野の活動を反映した刺激提示後 100 ミリ秒後にみられる脳波成分に関して，検討を行った。被験者は，接客業に携わったことのない人 19 名であった。用いた画像は, 無表情の顔, 笑った顔, 怒った顔を用いた。

初期視覚野の活動を反映した画像提示後 100 ミリ秒後にみられた脳活動の頂点潜時（刺激提示後，活動の振幅が最大になるまでの時間）において，条件間で有意な差はみられなかった。活動の大きさ（最大振幅）に関しては，笑った顔に対して一番大きく，怒った顔が一番小さい傾向にあった。

今後は，経頭蓋電気刺激法（tDCS）や経頭蓋静磁場刺激（tSMS）を行うことで，表情認知メカニズムを直接的に変容させることにより，そのメカニズムの特性を検討していく予定である。

3. 呼吸誘発性脳血流変化による体性感覚認知への影響

中田大貴（奈良女子大学），芝﨑　学（奈良女子大学），柿木隆介

脳血流量は血中炭酸ガス分圧に非常に高い反応性を有し，血中炭酸ガス分圧が増加すると脳血流量は増加し，血中炭酸ガス分圧が低下すると脳血流量も低下する。そのため本実験では換気と呼気ガスを調節し, 血中炭酸ガス分圧を変化させて脳血流量を増減させ, その際の体性感覚認知に関わる一次体性感覚野（SI）と二次体性感覚野（SII）の神経活動動態を検討した。実験は，自発的呼吸時の呼吸間隔を基準として, メトロノームで調整した Control Breathing（CB）, 脳血流量が減少するように呼吸法を指導した Rapid Breathing（RB）を行った。その際に実験条件として，①CB で大気ガスを吸気する Normocapnia CB 条件（Norm CB 条件），②RB で大気ガスを吸気する Normocapnia RB 条件

（Norm RB 条件），③CB でダグラスバッグ入った高炭酸ガス（5％二酸化炭素と 21%の酸素，残りは窒素によるバランス）を吸気する Hypercapnia CB 条件（Hyper CB 条件），④RB で高炭酸ガスを吸気する Hypercapnia RB 条件（Hyper RB 条件），以上の 4 条件を設定した。それぞれの条件において，左手正中神経刺激を刺激間隔 3 秒とし，計 80 回加算平均した。被験者は一般成人とし，本実験で 16 名の計測を行った。2019 年度は本実験データの解析を行う。

4. 知覚・記憶・注意とその相互作用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）

2018 年度は主に知覚と注意に注目し，以下に挙げる 2 つの実験を行った。

1. 時間知覚の歪みを引き起こす神経メカニズム

近年の心理学研究により，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。本研究では脳磁図の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（後頭葉）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（Iwasaki, Noguchi, & Kakigi, 2019 *Human Brain Mapping* 40:804-817.）。

2. 視覚認知と注意に関わる脳内リズムの変調

脳律動信号はその周波数帯域によってアルファー波（8–12 Hz）・ベータ波（13–30 Hz）などに分けられる。多くの研究はそれらの振幅変化，または複数領域間の位相同期に注目して心的機能との関連を調べてきた。対して本研究では，新たにそれらの「リズム（テンポ・振動周波数）」の変化を調べた。その結果，知覚や注意に伴う微細な（マイクロ秒単位の）リズム変化が存在することを発見した。たとえば被験者が右視野に注意を払っているときは，対側である左半球の後頭葉・頭頂葉でベータ波の振動が僅かに速くなった。反対に左視野に注意を払っているときは，同様の変化が右後頭葉・頭頂葉に見られた。これらの結果は (1) 神経活動に伴う脳内リズムの上昇が様々な心的機能の発現に関わること，(2) そのリズム変調に中心的役割を果たしているのがベータ波であること，を示唆する（Noguchi, Xia, & Kakigi 2019 *NeuroImage* 191: 225–233）。

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）

二人以上の集団が一つのゴールのためにお互いの行為を統合する共同運動課題は，身体を介した直接的な個人間コミュニケーションの典型例である。そこでは，巧みな協応により個々の能力以上のパフォーマンスが生成されうる一方，理論的には決して効率的とはいえない社会的相互作用も生じる。これらの現象は心理物理実験やゲーム理論において示されてきたが，その神経的基盤はいまだ明らかにされていない。特に，社会性の影響が顕著になることが示唆されている 3 名以上での共同課題時における神経活動の研究例はほぼ皆無である。本研究では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（Abe et al., NeuroImage 2019）。この力調整課題にさらに 1 名加えて 3 名とした場合, より複雑かつ高次の社会性が要求され, その神経基盤の詳細を検討することが可能となると考えられる。そこで，本年度は昨年度に引き続き 2 台の 3T-fMRI スキャナと 1 台の 7T-fMRI スキャナを同時に用いる実験環境の構築を進め，かつ実験課題の精査と検証を行った。

3 台の fMRI スキャナおよび視覚刺激の同時使用に関しては, 延長 USB ケーブルによる別棟間の直接接続を前提とした実験系の構築を進めている。実験課題に関しては，課題間で視覚刺激や課題困難度の差が生じることが問題となっていたが，三人課題の構成や視覚フィードバックを変える等の工夫を加えて予備実験を進めた。その結果，「三人の平均値を標的値に一致させる」という課題自体は同じでも，個々の力のフィードバックの提示を変えることでパフォーマンスが大きく修飾されることが示唆された。2019 年度は 3 台の fMRI 接続環境を整備した上で上述の実験課題を適用し，三人同時の脳活動計測を実施する予定である。

6. dual-fMRI を用いた社会的交流における受容行動の神経基盤

荻野祐一，川道拓東（群馬大学大学院 医学系研究科）
菅原　翔（生理学研究所 心理生理学研究部門）

他者との社会的関わりにおいて相手を受容する態度をとることは，二者の間の社会的紐帯を醸成し，相手の行動変容・意識変容につながる重要な行動である。我々は MRI を用いた実験的研究により, 受容行動の一つである傾聴を受けることで, 腹側線条体の活動増強と話した体験談の印象がポジティブな変容が起こること（Kawamichi et al., 2015 Soc Neurosci）を示してきた。ここで，受容行動は二者間の関わりにより遂行されるものであり, 受容行動遂行中の二者の脳活動を同時に計測することの価値は非常に高い。

生理学研究所の dual fMRI を用いて，受容行動の一つである援助行動が，印象の良くない人を対象とした場合には，その動因が自己イメージの改善に伴い，precuneus と報酬系の機能的結合性の増強として示されることを確認した（Kawamichi et al., in press）。さらには，dual-fMRI 内での二者間の受容行動を表出する課題を課した。受容行動表出に伴い親密度が向上することを確認した。今後，その神経基盤に関する解析を遂行し, 論文化を加速する。

7. 7 テスラ MRI 装置における 8 チャネル並列送信技術の開発

R. Allen Waggoner，Shubham Gupta，Kenichi Ueno，Topi Tanskanen，Keiji Tanaka
（RIKEN - Center for Brain Science）

The construction of the 8-channel transmit/receive array was completed at RIKEN during FY2017. Testing of the array was somewhat delayed, while waiting for Siemens to deliver the coil file password. Once the password delivered (during FY2018), a coil file could be created, which allowed the array to be recognized by the 7 Tesla Siemens scanner. With this completed, we were able to begin phantom tests on the scanner, to ensure that the array was tuned properly in the scanner, that individual elements of the array were adequately isolated from each other, and that images could be made using the array.

Figure 1, shows the S-Matrix, calculated from data collected by the scanner during the prescan. The S-Matrix shows

adequate decoupling for the array to safely be used.

Figure 2, show test images acquire with the 8-channel transmit/receive array. The images were acquired transmitting on one channel and receiving on all, illustrating the very complex transmit B1 fields. The image in the center is the sum-of-squares of the outer 8 images, show overall good performance. It should be possible to improve the overall homogeneity of the images through B1-shimming.

These results show that the basic performance of the array is good, so we are ready to begin testing parallel transmit (pTx) protocols, such as B1-shimming, focused excitation, and simultaneous z-shimming. Simultaneously with those efforts, we are working on implementing a temperature imaging pulse sequence for use as part of a pTx safety protocol. However, final implementation of the temperature imaging protocol will require IDEA programing libraries for pTx from Siemens. Once we have demonstrated to the Ethical Committee that subject safety can be ensured when using the array, The array can be used for fMRI studies.

S-Matrix for the 8-Channel Transmit/Receive Array
"Reflected" Power in dB

	1	2	3	4	5	6	7	8
1	-23.29	-14.23	-11.80	-22.30	-19.57	-21.48	-26.12	-15.71
2	-15.50	-21.09	-17.71	-14.00	-22.69	-21.91	-27.62	-27.35
3	-12.85	-17.32	-26.66	-17.38	-16.00	-23.96	-20.95	-22.65
4	-22.52	-13.25	-16.83	-28.82	-16.75	-16.02	-24.34	-19.14
5	-20.30	-22.19	-15.90	-17.22	-24.74	-16.24	-14.10	-23.68
6	-21.93	-21.13	-23.34	-16.17	-15.91	-23.55	-17.41	-12.20
7	-26.17	-26.84	-20.13	-24.13	-13.40	-17.09	-24.42	-14.40
8	-15.46	-25.51	-21.87	-18.64	-22.79	-11.60	-14.14	-28.07

Figure 1. Confirming adequate decoupling is very important for parallel transmit arrays. With single channel coils, it is necessary to confirm that the coil is tuned to the resonant frequency of the scanner, to ensure that the power delivered to the coil is transmitted to the object being imaged rather than being reflected back toward the RF amplifier, potentially damaging the amplifier. While confirming the proper tuning of each array element is also important for parallel transmit arrays, this alone is not sufficient to ensure that the RF amplifiers won't be damaged. If individual elements of the array couple too strongly with each other, RF power transmitted by one coil will be absorbed by the other coils to which it is coupled, rather than being absorbed by the object being imaged. Thus even if all of the elements are well tuned, RF amplifiers could be damaged, if the individual coils are not sufficiently decoupled. The scanner acquires the necessary data to determine the S-Matrix (coupling matrix) during the prescan.

The diagonal of the S-Matrix shows the reflected power as a fraction of the forward power, in decibels (dB), just as for a single channel coil. The off-diagonal elements show the relative power loss between coils, i.e. the amount of coupling.

If the amount of coupling between the channels is too high, placing the amplifiers at risk, the scanner software will not permit scanning. The amount of decoupling shown in this matrix is better than at least one of the pTx arrays that Siemens offers.

Images Made When Transmitting on One Coil and Receiving in All
Sum-of-Squares Image in the Center

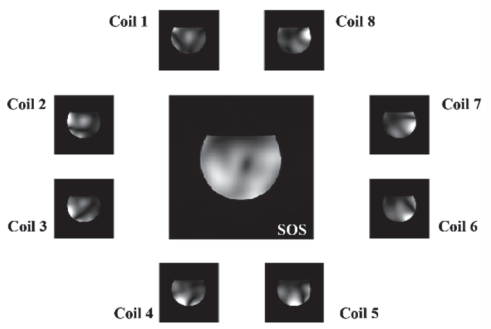


Figure 2. Evaluation images made with a saline phantom specially built for testing this array. The outer images were made by transmitting on one coil in the array and then receiving on all 8 coils. The outer images show typical transmit B1 profiles for surface coils at 7 Tesla. The SOS image is essentially a CP-mode image. More uniform images will be attainable with B1-shimming.

8. 語用論的解釈の神経基盤 ― 発話における意図的不調和の処理過程に着目して

松井智子（東京学芸大学国際教育センター）
内海　彰（電気通信大学大学院情報理工学研究科総合情報学専攻）
中村太戯留（武蔵野大学データサイエンス学部(教養教育)）

語用論的解釈においては，話し手の発話において「何が語られたか」(発話の意味)に加えて，「どう語られたか」(発話者の意味)を，聞き手が把握する必要がある。特に，発話解釈の前提となる文脈情報との間に何らかの不調和を感知した際には，発話の意味ないし発話者の意味を調節することで不調和を解消し，直接的には語られていない意味(言外

の意味)を，聞き手は構成可能となる。

皮肉の解釈においては発話者の意味の調節が，比喩の解釈においては発話の意味の調節が，それぞれ重要な役割を果たすと考えられている(深谷&田中, 1996)。本研究では，その神経基盤の検証を目的とし，(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」を進めている。

(A)皮肉に関して，本年度はイメージングデータの解析と，解析結果の検討を実施した。韻律を有する皮肉発話の構成要素としては，文脈情報，発話内容，そして発話韻律の３つが関与し，①文脈情報と発話内容の不調和の効果として内側前頭前野前方，②文脈情報と発話韻律の不調和の効果として内側前頭前野後方と両側島皮質，そして③発話内容と発話韻律の不調和の効果はなしという結果であった。これを前課題(松井他, 2016)の結果と比較すると，①の賦活は前課題では認められず，本課題で刺激の難易度を難しくした効果と考えられた。②の賦活パターンは前課題では③の不調和の効果として賦活しており，行動データの結果を考慮すると，皮肉かどうかを尋ねた回答方法において天井効果が生じていた可能性が考えられた。また，語用論的には①は何が語られたかの把握との関係が，②ないし③はどう語られたかの把握との関係が考えられる。一方，イメージング研究では①は心の理論との関係が(Spotorno 他, 2012; 内山他, 2012)，②ないし③は顕著性ネットワークとの関係が(松井他, 2016)示唆されている。これらを総合すると，皮肉理解において「心の理論による何が語られたかの不調和感知」と「顕著性ネットワークによるどう語られたかの不調和感知」が協働している可能性が示唆される。

来年度は，これらの論文化を進めるとともに，(A)と(B)の関係性の検討を進める予定である。

引用文献

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.

Spotorno, N., Koun, E., Prado, J., Van Der Henst, J.-B., & Noveck, I. A. (2012). Neural evidence that utterance-processing entails mentalizing: the case of irony. *NeuroImage*, *63*(1), 25–39.

Uchiyama, H. T., Saito, D. N., Tanabe, H. C., Harada, T., Seki, A., Ohno, K., Koeda, T. & Sadato, N. (2012). Distinction between the literal and intended meanings of sentences: A functional magnetic resonance imaging study of metaphor and sarcasm. *Cortex*, *48*, 563–583.

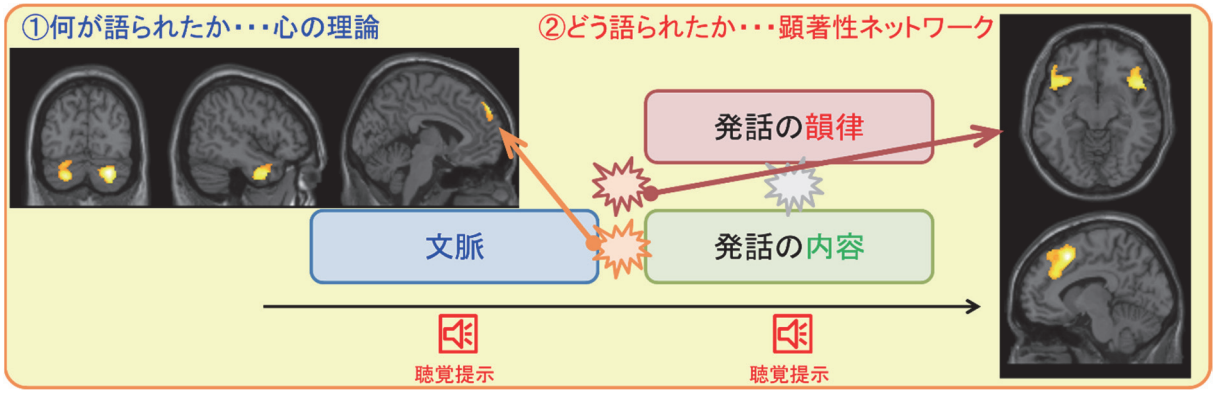


図１：韻律を有する皮肉理解において二種類の不調和感知の機制が関与する可能性

9. 社会的報酬および罰が運動パフォーマンスに及ぼす影響の神経機構の解明

中山義久，西村幸男，鈴木迪諒（東京都医学総合研究所）
犬飼佳吾（明治学院大学）

スポーツや勉強の場面で，意欲に満ち溢れている時には高いパフォーマンスを出せ，よい結果を得ることができるということを多くの人が経験している。また，リハビリテーションの現場でも，意欲を持ち頑張ることで運

動機能回復が早くなることが経験的に知られている。さらに，意欲を司る脳部位である側坐核が運動を生み出す運動野に直接的に働きかけ，この系が運動の生成に重要であることが神経科学の分野でわかってきた。しかし，精神状態とパフォーマンスとの間の因果関係を説明する神経科学的根拠については未だ不明である。そこで本研究では，意欲や社会的要因によって左右される精神状態とそれにより制御される身体運動制御機構の神経基盤を解明することを目的とする。

前年度までに実施した金銭報酬を伴う社会的介入を用いた実験において，金銭報酬を得るまたは失う状況で，意欲や報酬に関与する脳領域が活動しそれらが運動野の活動に影響を与え，高い運動パフォーマンスを生成するメカニズムの一端を示した。しかし，運動の実行と結果のフィードバックの要素を時間的に切り分けることが不十分であった。本年度は実験課題を改良し，運動実行と金銭報酬の獲得のプロセスを独立に検討できる課題を作成し，fMRI 実験を実施した。合図の提示から決められた時間よりも早く握れば 500 円または 50 円を得られる条件（獲得条件）と，反応時間によらず金銭の増減が生じない条件（コントロール条件）を設定した。各試行の最初に視覚刺激によって，当該試行がどの条件であるかを指示した。

実験には 27 名が参加した。前年度までに得られた結果を追認した上で，運動実行時に対側の運動野と中脳領域が活動すること，また早く握れたというフィードバックを受けた時に側坐核が活動すること確認した。

さらに，運動パフォーマンスを生成するメカニズムの認知的な側面に着目した研究も進めている。たとえば赤信号を見てブレーキをかけるという場面では，自動車を運転する場合とバイクを運転する場合では具体的な運動は異なる。このように運動を選択し実行するための「目的」に着目し，行動目的を運動情報に変換するメカニズムを 7 テスラ MRI により検討する実験を実施した。実験には 29 名（今年度 12 名）が参加した。解析の結果，目的を決定する時や動作に変換する時点で，運動前野や縁上回が活動するという結果を得ている。

10. 表情と音声による視聴覚情動知覚の文化差を生み出す神経基盤

田中章浩（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）

他者の情動の適切な知覚は，円滑な社会的コミュニケーションにおいて非常に重要である。Tanaka et al. (2010, Psychol Sci) は顔と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きた。

1) 2017 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）を呈示し，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／聴覚単独呈示の条件も設けた。

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くのかを明らかにするため，一次聴覚野（BA17）／一次聴覚野（BA41）を関心領域とした ROI 解析を実施した。具体的には, 要因計画を文化（日／蘭）×注意課題（顔／声），従属変数を Effect size から算出された一致性効果（一致条件時の正答率から不一致条件時の正答率を引いた値）とする分析であった。主要な結果は，以下の 2 点であった。第一に，BA17 においては，文化によらず顔課題時の活動は顔と声の情動価が不一致な場合よりも一致している場合に大きかった。第二

に, BA17 の左右どちらにおいても, 顔課題時の Effect size の差分値である一致性効果は，日本人よりもオランダ人の方が大きいという文化差がみられた（Figure 1）。また，BA17 と BA41 それぞれにおける脳活動の一致性効果と行動指標の一致性効果の相関を検討したところ，オランダ人では BA17 と正の相関が，日本人では BA41 と負の相関がみられた。

2）2018 年度の研究成果

2018 年度は，文化差を生み出す神経基盤について詳細な知見を得るため，課題によらず無視すべき情報の影響を抑制する際に文化共通で活動する領域を明らかにする目的でコンジャンクション解析を実施した。解析の結果，情報の抑制では IFG（Inferior frontal gyrus）が文化共通で活動することが示された（Figure 2）。

これらの結果から, 文化および課題によらず, ターゲットと一致しない課題非関連情報の抑制には IFG が共通の基盤として機能しており，日本人では聴覚野，オランダ人では視覚野において感覚入力の抑制をおこなっていることが示唆された。

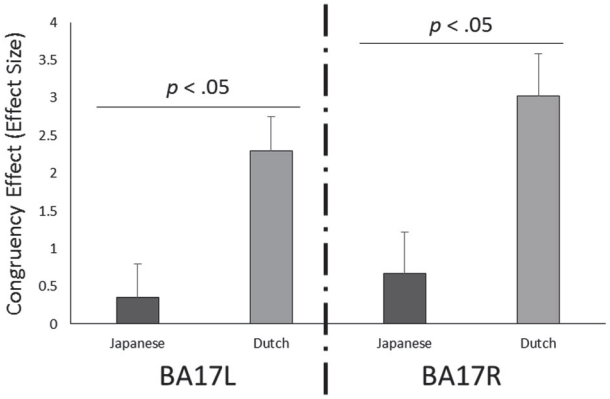


Figure 1. 一次視覚野（BA17）における顔注意課題時の活動の文化差

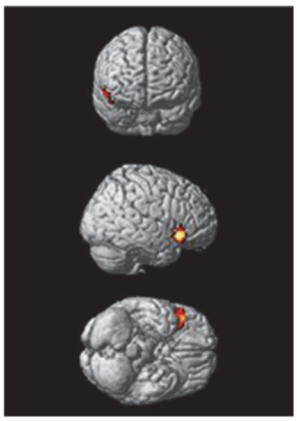


Figure 2. 不一致刺激の抑制時に日蘭および課題共通で関与する領域

11. ぬれ感覚の脳内形成機構

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）
菅原　翔，定藤規弘（生理学研究所 心理生理学研究部門）

“湿度”や“皮膚表面の濡れ”は，ヒトの体温調節に大きな影響を与える因子であり，衣服素材の開発や室内環境設計などの応用面からも重要な研究対象である。湿度や皮膚表面の濡れは，“蒸れ感”，“濡れ感”として我々の意識にのぼり，温熱的な不快感につながる。しかし, ヒトの濡れセンサーはないと考えられ中枢への触覚, 温冷刺激により形成されると予想されている。この検証には，機能的脳画像法(fMRI)を用いることが適していると考えられる。①濡れ感に関わる脳部位を同定し，②温冷感と圧覚の２つの異なる感覚から形成されると推察される濡れ感を，脳内情報伝達解析により明らかにする。さらに，③濡れ感により温熱的不快感が生じるメカニズムを明らかにすることを目指した。

2. 方法

実験 1. 健常成人被験者 30 名を対象。Sweeney & Branson（Text Res J 1990）による濡れ感の分解パラダイムおよび事象関連デザインを用い，濡れ感に関わる脳部位同定のための予備的実験を行なった。25cm^2 の綿シートに５段階の量の水を含ませ，前腕被毛部に 5 秒間貼付し，その後 15 秒の間に濡れているか，濡れていないかを申告させた。被験者には，同じ含水量のガーゼをランダムに５回触れさせた。

実験 2. 実験 1 で用いた綿シートに十分量の水を含ませ（80 μl/cm^2），20°C, 25°C, 30°C, 35°C, 40°C のいずれかの温度刺激（現有するペルチエ素子を）を同時に加えた。

被験者は濡れ感，温度感覚の強さを 0-10 のスケールで申告した。被験者には，同じ温度刺激をランダムに５回加えた。以上の結果をもとに fMRI による濡れ感の責任領域の同定をめざした。

3. 結果

実験 1. 被験者が濡れていると申告した場合を正解（１），濡れていないと申告した場合を不正解（０）とすると，含水量と正答率の関係は比例関係になった。

実験 2. 同一含水量のガーゼを触れた場合，30°C 以下の刺激では，温度に反比例して濡れ感が強くなった。一方，30°C 以上の刺激では濡れ感の変化が見られなくなった。

以上の実験を MRI 装置の中で行なったが，明確な再現性が得られなかった。一番の理由は，装置内が低温であるため皮膚温度の低下により，濡れ感が減弱したこと，体位の影響が予想された。現在，刺激部位，全身皮膚の温度管理の方法を検討し本年度中に当初の目的を完遂する予定である。

12. 赤ちゃん型ロボットとの触れ合いによって惹起される神経基盤の解明

加藤健治

（国立研究開発法人国立長寿医療研究センター　健康長寿支援ロボットセンター　ロボット臨床評価研究室）

我が国では，超高齢社会の到来とともに，高齢者における独居者数や認知症患者数の急増が大きな社会的問題となっている。現在，独居世帯数も 160 万を超えており，高齢者の社会的孤立が，コミュニケーション量の低下や，心理的・社会的フレイルの要因，更には，認知症発症リスクの増加に繋がることが示唆されている。近年では，高齢者の社会的孤立に対するコミュニケーション支援を目的としたロボットの活用が提言されている。国立長寿医療研究センターにおいても，乳幼児の声・表情を表出し触れ合うことのできる赤ちゃん型コミュニケーション支援ロボットに注目し，高齢者への効果実証を検討している。

赤ちゃん型ロボットのコンセプトは，乳幼児の声・表情を受け取って“可愛がりたい”“世話をしてあげたい”という感情を創出することにある。しかしながら，乳幼児との触れ合いを通じて高齢者が惹起される心理脳神経基盤については，まだ明らかになっていない。

本研究の目的は，中高年層を対象にして，機能的核磁気共鳴法（functional Magnetic Resonance Imaging: fMRI）を用いて，乳幼児の様々な声や表情によって惹起される心理反応と全脳血流応答を検討することである。その中でも特に，乳幼児の笑い・喜びの声や表情を受け取った時に惹起される快感情と中脳辺縁系の応答に注目し，高齢者における心理脳神経基盤の特徴について明らかにすることを目的とする。

本年度では，乳幼児の声によって惹起される心理反応と全脳血流応答を計測することを目的として，音声刺激サンプルの作成および実験システムの構築を行った。初めに，fMRI で提示する音声刺激は，国立情報学研究所が提供する「乳幼児の縦断的な音声データベース」を基に，乳幼児（男女各 3 名）におけるまだ言語を習得していない出生後 6 カ月から 18 カ月までの縦断的音声を対象として選定した。それらを基に，笑い声，機嫌の良い声，機嫌の悪い声，泣き声のセグメントを抽出し，各種類でセグメントを統合することで各ファイル 20-26 秒間のサンプルを作成した。次に，fMRI 実験環境下においては，MRI 対応のヘッドフォンやスクリーンを通じて，予め選別した乳幼児の音声ファイル（笑い声: n=8，機嫌の良い声: n=17，機嫌の悪い声: n=12，泣き声: n=13）の計 50 音声サンプルを被験者に提示し，惹起される快不快度を行動指標として記録できる実験システムを構築した。今後は，構築した実験系を基に，高齢者を対象とした fMRI 計測を実施したい。

13. 磁気共鳴画像を用いた，日本人英語学習者・外国人日本語学習者の第二言語習得メカニズムの探求

笠井千勢（岐阜大学）
定藤規弘，小池耕彦，角谷基文，吉本隆明（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）

本研究は，第二言語がどのように脳内で処理されるか脳画像を用いて調査することが目的である。母語である第一言語が処理される過程と，母語以外の言語が処理される過程を脳画像を用いて比較することで，処理に関与する領域，及び処理に関わる認知負荷を調査することで言語習得のメカニズムを探求した。

被験者に日本語母語話者と日本語学習者を採用し，日本語の文章に見合った正しい助詞を解答するタスクを課し，両グループの正答率，解答速度，神経基盤を比較検証した。一般に「て・に・を・は」と呼ばれる助詞は，日本語学習において最も習得が困難な文法要素として知られており，高い日本語能力を保持する学習者においても日本語母語話者とは異なる助詞を使用することが報告されている。

先行研究から，言語処理には left inferior frontal gyrus (LIFG) の関与が報告されている。また, LIFG 内の left pars opercularis (LPO) が統語処理を担い，left inferior frontal sulcus (LIFS) が verbal working memory (VWM) を含む認知的な処理に関与することも報告されている。私たちは，学習者が助詞を選択できない背景には，数多くある助詞の中から文脈に適した正しい助詞を選び出すにあたり認知に大きな負荷がかかっていると仮定した。

結果，学習者は母語話者に比べ正答率が低く，解答速度も遅かった。つまり，日本語母語話者にとって助詞の産出は難しいものではない一方，学習者にとっては，ひらがな一文字を産出することが非常に困難であることが明らかになった。神経基盤は，両グループとも LPO の関与が認められ，助詞を産出するにあたり，母語話者も学習者も統語処理を行うことが明らかになった。一方，学習者グループに特化して活動する領域は IFS であった。この領域は, LPO の統語処理を VWM を使ってアシストすることが知られており，学習者が付加的な記憶リソースを駆使して助詞を産出していることが明らかになった。これらの発見により，母語話者も学習者も同じ神経基盤を使って統語処理を行うが，学習者は文法ルールを見つけ出したり，すでに学習した内容に参照しながら答えを見つけ出す作業を行っていることが明らかになった。

14. 7T fMRI を用いた協力の神経基盤としての右頭頂側頭接合部の役割の解明

高橋英彦（東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科 精神行動医科学）
早瀬允人（京都大学大学院 医学研究科 脳病態生理学講座 精神医学教室）

人間の社会的行動のひとつに，他者との協力によって目標の達成を図る協力行動が挙げられる。この協力行動を計測するための課題が，身体を介した個人間でのやりとりを通じて目的遂行を行う共同運動課題である。この課題においては, 連続的に変化する他者の行動を知覚し, 自身の行動へと変換する仮定が重要となる。先行研究により，相手の行動を自身の行動過程に取り込む程度の高い実験参加者は，共同運動課題中の右 Temporo-Parietal Junction（TPJ）の前部の活動が高いことが示されている。右 TPJ は機能的に複数の下位領域に分割されることが知られており，下位領域ごとの役割の検討のためには，7 テスラ MRI 装置による高空間解像度での脳活動の解析が有効と考えられる。本研究では 7 テスラ MRI を用いて, 参加者の右 TPJ 前部の活動が，相手との協力度合いを変調する機能と関連しているかを検討する。

方法として，複数名の把持力の平均を一つの目標値に合わせる共同把持力調整課題(Abe ら, 投稿中)を用いる。参加者の 1 人は MRI 内で課題を行い, その間の脳活動を記録する。他の参加者は MRI 外で実験に参加する。実験中に，他者から受ける影響量（他者との協力程度）を時

間的に変動させ, 協力程度と脳活動の関係性を検討する。他者との協力度合いはノイズ寄与率(Okazaki ら,2015)を用いて定量化する。統制条件として，個人の把持力を目標値に一致させる課題をおこなわせる。実験では７テスラ MRI を用いて脳機能画像を，また３テスラ MRI を用いて脳構造画像を得る。取得した脳画像データは HCP パイプラインを用いて解析を行う。

本年度は予備実験を実施し，7 テスラ MRI における実験課題および機器の動作の確認と，実験条件および撮像プロトコルの検討を行った。予備実験の結果，実験参加者が３人の場合，課題中のふるまいのコントロールが困難であることが判明した。課題における参加者の寄与率を変化させる別の方法として，ノイズを減らすようなコンピュータプログラムを課題に加える手法が考えられる。今後，こちらの方法を検討してゆく予定である。

15. 脳波・機能的 MRI 同時計測法を用いた睡眠覚醒機構の解明

石井　徹，麻生俊彦（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で脳に何が起きているのか」は神経科学領域に残された課題の一つである。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不明な部分が多く，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 fMRI の同時計測手法を用い，覚醒と睡眠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を募集し，午睡実験を行った。3TMRI(Siemen 社 verio)及び脳波計測装置(BrainAmp) を用い自然睡眠中の脳活動計測を 1 時間連続で行った。覚醒と睡眠 NREM stage1 の遷移に焦点を当て，視察脳波判定により stage shift が確認できた時点で被験者に覚醒を誘導する方法を用いた。脳波解析では，周波数解析及び(AASM 基準に基づく)睡眠段階視察判定を行った。fMRI は 1) 睡眠覚醒段階に基づくブロックデザイン解析 2) dynamic fMRI 解析を行った。

本年度 12 名の撮像を追加しこれまでに計 29 名(女性 16 名，平均 21.7±3.1 歳)の撮像を行い，うち 15 名について preliminary なグループ解析を終えた。

脳波視察による睡眠覚醒段階判定と周波数解析による α-power の変動には高い関連性がみられた。stage W と NREM stage1 における脳賦活の比較では，後者において視床および基底核領域に有意な賦活低下がみられた(α=0.05, corrected)。視床を seed とした機能的結合性解析では，入眠期に視床と皮質領域との結合性が低下していた。一方で，入眠期において Default Mode Network を含む皮質間の結合性には有意な変化を認めなかった。入眠期には，睡眠覚醒中枢の相互作用的な活動変化とそれに伴う動的な脳内ネットワーク変化が起きていると考えられる。特に，感覚を統合する視床と大脳皮質間における機能的結合性の低下が意識レベルの変化に寄与していることが示唆される。

今後対象者数を増やし, 脳幹や視床下部も含めた入眠期のネットワーク変化について解析を進める予定としている。

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 7TMRI による解析

伊佐　正，岡田知久，川崎敏生（京都大学大学院医学研究科），山口玲欧奈（京都大学高等研究院）
當山峰道（ニューカッスル大学神経科学研究所），福永雅喜，定藤規弘（生理学研究所心理生理学研究部門）

我々のマカクザルを対象とした先行研究から，皮質脊髄路を損傷した後の手指の巧緻運動機能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や側坐核などの辺縁系が機能回復に関わっていることが明らかに

なった（Nishimura et al. Science 2007; Sawada et al. Science 2015; Zenas et al. Cerebral Cortex 2018）。回復過程における各脳領域の活動は明らかになったが，脳の大規模回路の動作にどのような変化が起きているのかは未だ不明である。本研究では大規模回路の結合特性の変化を解析することで，機能回復過程における大規模回路の再編のメカニズムを明らかにすることを目的とした。実験ではマカクザルを対象とし，第 6/7 頚髄間で亜半切を行い，皮質脊髄路に損傷を受けたモデル動物を作成した。その後，機能回復過程の各段階で麻酔下における安静時 MRI データを取得した。

本研究は 2016 年度からの継続課題である。2016 年度では 2 頭の損傷モデル動物を作成した。7T MRI のコイル導入が遅れたため 3T MRI（Allegra, SIEMENS）を用いて，損傷後 4 ヶ月間の安静時 MRI データを記録した。2017 年度では，さらに 4 頭を追加して実験を行った。

2018 年度は，主に記録した MRI データを基に全脳網羅的に結合特性がどのように変化しているかを解析した。ROI を抽出し，各 ROI 間の BOLD 信号の相関係数を脳領域の結合特性として評価した。その結果，手指の巧緻運動機能が回復し始める直前に，損傷反対側の背側運動前野の後方部（F2）と各脳領域間の結合性が高くなることが示された。特に，損傷反対側の F2 と両側の腹側運動前野の後方部（F4）との結合特性が高かった。今後はさらに進めることで，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. 経済実験と非侵襲脳活動イメージングによる言語が社会効用に与える影響の解明

山田克宣（近畿大学　経済学部経済学科）
鈴木真介（東北大学　新領域創成研究部）
田中沙織（国際電気通信基礎技術研究所　数理知能研究室）

本研究は，人間の意思決定の基礎となる選好の形成について検証する。近年，行動経済学の分野で，言語が選好の形成に影響を与えるという仮説が注目され，行動実験が開始されている。“三大選好”のひとつとされる社会効用に注目し，使用言語の文法的特徴が選好の形成に与える影響の神経基盤を識別する。使用言語と選好形成の因果関係を生み出す神経基盤を理解することで，人間の社会・経済活動をより本質的に理解し，より良い政策提言に資することを目的とする。

その目的にむけて，本年度は行動実験データの解析と，fMRI 実験に向けた実験パラダイムの調整を行った。まず行動実験については経済学で頻繁に用いられる独裁者ゲームを改変し，「選択を行う際，主語（わたし）が意識にあるかないかの違いが，社会効用のパラメターを変化させる」という仮説を検証する。そのメカニズムは，「わたし」という第一主語を意識することで自己に対する意識が強調され，転じてそれが社会効用に影響する（向社会的ではなくなる）というものと，同じ様に「わたし」という第一主語を意識する一方でそれが自己の責任感を喚起し，より向社会的になるという２つの背反するものが考えられる。

行動実験では，そのどちらが日本社会においてより支配的であるか，2000 人の被験者を用いたインターネット実験で分析した。被験者はランダムに 2 つのうち 1 つの実験条件にアサインされた。1 つ目の実験条件は，独裁者ゲームの刺激提示の際に「わたしは〇〇円受け取る」という説明箇所の「わたし」が表示されるケースであり，もう 1 つの実験条件では「わたし」が省略される。日本語は主語の省略が文法的に許容される言語であり，今回の実験ではその特徴をいかしている。

結果として，現在の日本においては「わたし」を意識することで「より向社会的になる」ということが判明した。そのメカニズムを追加的に検証した結果，予想していたとおり責任感が喚起されていることが判明した。

この行動実験は被験者間実験のデザインであったが，fMRI 実験にむけては被験者内デザインに改変する必要がある。プレテストとして行動実験とほぼ同じデザインのタスクを 20 名の被験者に対して行ったところ，タスクの繰り返し回数が多すぎるという問題から，これまでの結果を複製することができなかった。今後，fMRI 実験用に最適なデザインを開発することが課題となる。

18. 課題正解率を変える呼吸と脳活動の相互作用の解明

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，さまざまな作業や課題遂行の成績を向上させる一方，乱れた呼吸など，呼吸の仕方によっては，課題の成績を低下させる作用があることが考えられている。事実，これまでの研究で，呼吸と同期する脳活動によって認知活動が変わることが示唆されている。

2018 年，我々は呼吸活動が直接，認知パフォーマンスを変えることを示した研究成果を国際科学誌 PLoS ONE に発表した [1]。この研究では，健常被験者を対象に，呼吸を計測しながら，図形の形・色・数・位置を記憶して想起する見本合わせ再認課題を実施した。その結果，呼息から吸息へと切り替わるタイミング，EI 転移期が記憶想起プロセスに重なったとき，反応時間が約 0.5 秒延長し，課題の正解率が 21 %低下することを発見した。一方，吸息から呼息へと切り替わる IE 転移期では，そのような結果は示されなかった。これより，呼吸のタイミングによっては記憶したことが正確に思い出せないなど，記憶の低下に呼吸が直接影響を及ぼしていることが明らかになった。

この成果を踏まえて，このような呼吸効果における脳内メカニズムを明らかにするために，2017 年秋より fMRI 予備実験を開始した。2018 年夏より，本格的に fMRI 撮像下で健常被験者を用いて見本合わせ再認課題を実施，現在 fMRI 画像データの解析中である。これまでのところ，EI 転移期において，ある特異的な大脳皮質の注意ネットワークの関与が示されつつある。これらの成果は，課題の成績低下を引き起こす呼吸の切り替え EI 転移期の認知神経基盤について明らかにされることが期待できる。

さらに，呼吸と同期変動するものとして，瞳孔径がある。瞳孔径は，また認知プロセスに関連して変動することが知られている。そこで我々は，健常成人被験者を対象に，呼吸と心電図と瞳孔径を同時計測し，見本合わせ再認課題を実施した。記憶想起プロセスの直前において，心拍間隔と瞳孔径は，呼吸との同期活動を示した一方，想起プロセスにおいては，心拍間隔の呼吸への同期活動は維持されたが，瞳孔径は呼吸との同期活動は消失した。以上より，瞳孔径における課題に関連した認知プロセス制御は，呼吸に依存した自律神経制御より優位に立つことが示唆された。この成果は，国際科学誌 Respiratory Physiology and Neurobiology に掲載された [2]。

---

1. Nakamura NH, Fukunaga M, Oku Y. PLoS ONE 13:e0204021, 2018b.
2. Nkamaura NH, Fukunaga M, Oku Y. Respiratory Physiology and Neurobiology. In press, 2018a.

19. ヒト聴覚野における雑音下の音信号処理

岡本秀彦（国際医療福祉大学医学部）

本研究では，経頭蓋電気刺激により聴覚誘発脳磁界反応に変化があるかを調べる実験の準備を行った。提案代表者はこれまで音刺激によって誘発される聴性誘発脳磁界反応が，注意などの内的要因と音波の物理特性によってどのように変化するかを検証してきた。本研究では，雑音下におけるターゲット音聴取の神経機構を検証することを目的に，静寂下及び雑音下に刺激音を呈示し脳磁場計測を行った。静寂下と雑音下の脳活動を比較するためには，測定時に音を発生しない脳磁場計測が有用である。また，雑音により惹起された脳活動とターゲット音により惹起された脳活動を分離するためには，高い時間分解能を生かして脳磁計で得られた波形を加算平均することが重要となる。

本研究では，音声言語のうち特に子音の知覚に重要な役割を果たしていると考えられている周波数変調音と，母音を主に構成している定常音が，雑音下と静寂下にお

いてヒト聴覚野においてどのような神経活動を惹起するかを脳磁場測定することで検証した。

被験者は健常成人 17 名とし, 雑音下または静寂下に周波数変調音と純音を呈示して, 惹起された聴性誘発脳磁界反応を, 生理学研究所に設置された全頭型 306ch 生体磁気計測装置（Elekta Neuromag 社 製 Vector View システム）を用いて計測した。刺激音や雑音としては 90 dB 以内の音（日常生活音レベル）を使用しており，被験者から音が大きい等の苦情はなかった。被験者には脳磁場計測中，字幕映画を見てもらい音刺激には注意が向かない状態で脳磁場を計測した。本研究による健康被害等は発生しなかった。現在脳磁場データを解析し，その結果をまとめて国際誌に発表するのう準備を整えている状況である。

Okamoto, H. (2018). "Manipulation of Auditory Inputs as Rehabilitation Therapy for Maladaptive Auditory Cortical Reorganization." Neural Plast 2018: 2546250.

Okamoto, H., Kakigi, R. (2018). "Diagnosis of subjective tinnitus." Brain and Nerve 70(4): 467-471.

20. MEG を利用した聴覚時空間的脳活動の検討

田中慶太（東京電機大学 理工学部）
根本　幾（東京電機大学 システムデザイン工学部）

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能に優れた 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, 和音を AM 変調(20 Hz 変調周波数した刺激を用い，聴性定常応答（ASSR）を測定した。その結果，三和音では，増三和音，減三和音，短三和音，超三和音の順で ASSR の振幅が大きかった。和声進行に関しては，変調をせずに，300 ms 以降の波形の緩やかな変化に特徴が現れるようなので，それに注目して計測している。
2. MEG 被験者（20-40 歳，健常者）15 名程度。多声部で多義的な旋律を，高声部と低声部を別の周波数で AM 変調した刺激を用いて，聴性定常応答を測定し，その結果，同じ刺激でも聞こえる旋律を人為的に変化させると，高低声部の ASSR の振幅の比率が変化した。旋律の認識機構に関連するものと思われる。
3. MEG 被験者（20-24 歳，健常者）16 名。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聴覚野の脳活動を検討した。その結果，非錯聴者において，聴覚野の応答に関して，右半球優位性と対側優位性が確認された。一方錯聴者では見られなかったことから，オクターブ錯聴には，右聴覚野の関与と注意機構との関連を示唆する。
4. MEG 被験者（20-25 歳，健常者）15 名。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となり，左の聴覚野の活動が大きくなった。
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する。

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。

21. 多義性効果と意味密度効果の脳波・脳磁場計測を用いた検証

日野泰志（早稲田大学文学学術院），橘　光貴（早稲田大学大学院文学研究科）
吉原将大（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）

提示された文字列に対する語－非語判断を求める語彙判断課題では，多義語に対する“語”反応の方が一義語に対する反応よりも速い(e.g., Jastrzembski, 1981; Kellas, Ferraro, & Simpson, 1988; Millis & Button, 1989; Rubenstein, Garfield, & Millikan, 1970; Hino & Lupker, 1996; Hino, Lupker & Pexman, 2002; Hino, Pexman & Lupker, 2006)。また，類似の意味を持つ意味隣接語が多い語に対する“語”反応は，意味隣接語が少ない語に対する反応よりも速い(e.g., Buchanan, Westbury & Burguess, 2001)。

Haro, Demestre, Boada & Ferre (2017) は，語彙判断課題において，多義語に対する N400 の振幅が，一義語に対する N400 よりも大きかったと報告している。一方，Zunini, Renoult, & Taler (2017) の語彙判断課題では，意味隣接語が多い語に対する N400 の方が，意味隣接語が少ない語に対する N400 よりも振幅が小さかった。このように，それぞれの語種に対する反応速度と N400 の振幅との間の関係をみると，N400 の振幅は，語の意味活性化の量や処理速度に依存するわけではないようである。

Kutas & Hillyard (1980) によれば，活性化された意味間の不一致の程度が高い程，N400 の振幅は大きくなる。したがって，多義語は複数の関連のない意味を同時に活性化するため，N400 の振幅が大きくなる可能性が高い。また，語を読む際，意味隣接語に加えて，形態隣接語（形態類似語）の意味活性化も仮定すれば(e.g., Forster & Hector, 2002; Hino, Lupker & Taylor, 2012; Kusunose, Hino & Lupker, 2016; Rodd, 2004)，意味隣接語が多い語は，関連する意味をより多く活性化するため，相対的には，活性化された意味間の不一致の程度が小さくなり，N400 の振幅も小さくなったと解釈できる。

この解釈が正しいなら，ある語を読む際には，その初期段階では，形態隣接語や意味隣接語の意味も活性化され，その中から提示された語に対する正しい意味が選択されるというプロセスが介在するようである。さらに，このプロセスでは，活性化された意味間の不一致の程度が評価され，不一致の程度が高いほど，N400 の振幅が大きくなるものと思われる。

この仮説が正しいなら，N400 の振幅は，語が持つ形態－意味対応の一貫性の程度に依存するはずである。あるターゲット語が持つ形態隣接語の中に，ターゲット語とは関連のない意味を持つ語が多く含まれる程，活性化される意味間の不一致は高く，N400 の振幅は大きくなるはずである。そこで，本研究では，Hino, Miyamura & Lupker (2011) のデータもとに，語の形態－意味対応の一貫性を操作した刺激セットを作成し，語彙判断課題を実施した。

実験の結果，行動データには，形態－意味対応の一貫性効果は観察されなかったものの，N400 の振幅は，形態－意味対応の一貫性が低い程，大きくなる傾向にあった。

22. 末梢神経線維の選択刺激法の確立と脳反応の計測

和坂俊昭（名古屋工業大学）

痛覚とは皮膚感覚の一種であり，機械的，化学的，その他異常に強い刺激によって生じ，強い不快感を伴う感覚である。痛覚の受容器は，身体のほとんど全ての部位にみられる自由神経終末であり，痛覚情報は神経線維の直径が太い有髄の Aδ 線維と細い無髄の C 線維によって中枢へと伝えられる。電気刺激を用いて痛覚に関する研究を行う際，閾値の違いから Aδ 線維と C 線維を皮膚の上から選択的に刺激することは困難であるため，それぞれの神経線維に対する刺激閾値やそれに関連する脳反応について明らかにされていない点が多い。そこで本研究では，末梢神経（Aδ 線維）を刺激できる表皮電気刺激法を用いて，電気刺激の通電パターンを操作することで，痛覚をつかさどる C 線維と Aδ 線維を選択的に刺激する方法を確立し，脳の活動特性を明らかにすることを目的としている。

被験者の右手の手背部に表皮電気刺激法で用いる刺激電極を貼付し，電気刺激を提示して末梢神経を刺激した。

刺激用電極は直経が 1 ㎜の外筒とその中心にある尖部から構成されており，尖部の先が表皮内で留まるようになっている。通電パターンについては，6 条件のパルス幅（60，100，200，400，800，1600 μ 秒）の単発の矩形波であり, 尖部を陰極, 外筒を陽極として電流を提示し，各条件における Aδ 繊維の痛み閾値を計測した。

通電波形のパルス幅が 60 μ 秒の条件では，痛みの閾値は最も高く, パルス幅が長くなるにつれて痛みの閾値は低下した。また，パルス幅が 800 μ 秒と 1600 μ 秒では閾値に差はみられなかった。これらの結果から。6 条件における痛み閾値について S-D 曲線（強さ-時間曲線）を計算し，神経モデルを作成するための基礎的なデータを得た。

C 線維の刺激については，単発の矩形波では選択的に刺激することが出来ないため，2 連発の矩形波を用いて選択的に刺激できる条件を調べ，予備的な結果を得ている。次年度以降も継続して検討して行く予定である。

23. 片側高度感音難聴患者における聴覚誘発脳磁場反応の周波数特性

高橋真理子，関谷健一（名古屋市立大学）
岡本秀彦（国際医療福祉大学）

本研究課題の目的は, 片側高度感音難聴患者では健聴耳の周波数特異性が向上しているのではないか, という仮説を検証することである。聴力が両耳とも正常な場合，雑音下では左右の耳から入った音情報を統合することで, 雑音下の音の聞き取り能力を向上させている。しかしながら，片側高度感音難聴患者ではそれが不可能であるため, 脳の可塑性変化により健聴耳の周波数特異性を代償的に向上させることで対応しているのではないかと考えている。この為我々は脳磁計を用いて片側高度難聴の患者に対し, 健聴耳のマクロレベルでの周波数特異性を他覚的に計測した。

刺激音として日常生活で重要な役割を果たしている 1000 Hz の純音を用いて，マスキング音として 1000 Hz 周辺の周波数帯域を広域雑音より除去することで作成した周波数帯域除去雑音を用いた。刺激音を単独，または周波数帯域除去雑音を背景音として提示した時に誘発される脳磁場を測定した。対象となる被験者は名古屋市立大学病院や近隣の耳鼻咽喉科から紹介していただいている。まだ被験者数は限られるものの, 刺激音により惹起された聴覚誘発脳磁場反応の振幅は周波数帯域除去雑音の影響を受けにくかったという結果が出ている。この結果は先行研究同様, 健聴耳マクロレベルでの周波数特異性が高いことを示している（Sekiya et al., 2017）。実験中の被験者の様子はカメラとマイクで常にモニターしており, 本年度の計測にあたって問題は発生していない。

本年度以降は年齢に関しては条件を緩めて被験者数を募ったが該当する被験者が少なかったため実際の計測を予定数施行できなかった。そのため次年度は同研究の被験者検索を継続しながら，刺激音の周波数や刺激間隔，回数を変更して過去に計測した被験者で再計測し論文報告可能な研究計画を検討する。

Sekiya et al., Broadened population-level frequency tuning in the auditory cortex of tinnitus patients. J Neurophysiol. 2017, 117:1379-1384

24. 音圧変化に対する自動脳応答

元村英史（三重大学・医学部附属病院精神科神経科）

周期的な音刺激を呈示することによって周期性の脳活動である聴性定常反応（auditory steady state response: ASSR）が誘発される。この音刺激に突然の音刺激変化を加えることによって，ASSR の位相に速化がみられ，位相は再び定常状態に戻ることはすでに報告されています。ASSR の一過性の位相変化とともに，突然の音特性変化から約 50～250 ms 遅れて後期活動（変化関連脳活動）が検出されます。本研究では，健常者を対象とし，全頭型脳磁図計

（Vectroview, ELEKTA Neuromag）を用い，突然の音圧変化により誘発される ASSR の一過性の位相変化と代表的な変化関連脳活動の Change-N1m に及ぼす音圧変化の影響を検討した。

1 ms クリック音の 40-Hz 連発音からなる 1000 ms の音刺激を用い，刺激開始後 500 ms で音圧を変化（±5, ±10, ±15 Hz）させた逸脱刺激と変化なしの標準刺激をインサートイヤホンから等頻度でランダム呈示した。オフラインフィルター（ASSR: 35-45 Hz, Change-N1m: 1-35 Hz）を用い，ASSR の位相変化と Change-N1m の振幅と頂点潜時を測定した。音圧の増減にかかわらず，物理的変化量が大きいほど ASSR の位相変化は大きく，Change-N1m 振幅は増加し，その潜時は延長しました。つまり，ASSR の位相の一過性変化や変化関連脳活動の振幅/潜時は呈示される音刺激の音圧変化量に依存すると考えられる。変化関連脳活動同様に，ASSR の位相変化は鋭敏かつ定量性の高い変化応答の指標となる可能性がある。定常に回復する一過性の ASSR の位相のずれを音終了まで続く音圧増加だけでは説明することはできない。上行性聴覚神経路とは別に，変化に応答して ASSR を速化させる独立した神経回路の存在が考えられる。引き続き，2 つの脳応答に着目し，聴覚変化探知メカニズムの解明を目指したい。

25. 時間，空間，音声の知覚に共通するチャンネル間処理の解明

森　周司，廣瀬信之（九州大学大学院システム情報科学研究院情報学部門）
田村俊介（九州大学大学院システム情報科学府情報学専攻）

本研究課題の目的は，ヒト聴覚の時間情報処理の一つである「チャンネル間処理」の脳内メカニズムを解明することである。本年度は，昨年度からの継続で，周波数間無音検出課題遂行時の聴取者の聴覚誘発脳磁場反応を計測した。周波数間無音検出課題は，周波数が異なる２音の間に挿入された無音を検出する課題であり，２音の周波数が同一の場合と比べ，無音検出閾値が非常に長くなる。その原因として，無音の先行音と後続音が異なる周波数チャンネルにより処理されること，即ちチャンネル間処理にあると考えられる。本研究課題では，同一の無音長でも聴取者の検出判断（「無音あり」と「無音なし」）が異なることに着目した。「無音あり」の判断時には「無音なし」とは異なる脳活動が基底にあると仮定し，二つの判断に関連する脳活動の相違からチャンネル間処理の脳内メカニズムを探ることとした。

聴取者は 20～57 歳の 10 名（女性 6，男性 4）で，125～8000 Hz の範囲で聴力が正常であった。刺激は，先行音 3200 Hz，後続音 800 Hz でともに 85 dB，300 ms の純音で，その間に 50 ms の無音区間を挿入した。右耳への単耳呈示であった。先行音呈示開始から 1000 ms 後に，前方スクリーンに「Yes」（無音あり）「No」（無音なし）が左右にランダムに呈示され，聴取者は手元のボタン押しで答えた。刺激は 4 セッションに分けて合計 240 回呈示された。また，聴取者の判断の偏りを防ぐために無音長 0 ms と 100 ms の刺激も少数回呈示された。

刺激条件毎に信号源解析を行ったところ，どの刺激条件においても，先行音（3200 Hz）の開始から 100 ms 付近ではパラベルト領域，後続音（800 Hz）の開始から 100 ms 付近では一次聴覚野の活動が最も強くなることが分かった。

無音長 50 ms の刺激で「無音あり」と「なし」の判断がともに 80 回を超えた聴取者 4 名で，それぞれの判断での脳活動を比較した。その結果，4 名中 1 名で先行音のオフセットへの反応が「無音あり」のみで見られた。これ以外の反応，及び他 3 名については判断の違いによる脳磁場反応の相違は観察されなかった。

本年度は，脳磁図計測装置の故障などもあり計測対象の聴取者数を十分に確保できず，予測されたような検出判断による脳活動の相違を明らかにするに至らなかった。次の研究課題でも本研究を継続する予定である。

26. 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，衞藤祥太（電気通信大学 情報理工学研究科）
神谷之康（京都大学情報学研究科）
北田　亮（Nanyang Technological University School of Humanities and Social Sciences）
角谷基文，福永雅喜，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。

2018 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。これまでに実施した，示指，中指，薬指の三指先端部に時空間パターンを厳密に制御した運動線分刺激を提示した際の脳活動計測実験のデータ追加解析と論文化のためのデータ解析を中心として研究を進めた。具体的に実施した解析内容は昨年度から概ね継続しており，単変量解析に基づく脳活動部位同定に加え，マルチボクセルパターン解析，サーチライト解析，表現類似度解析などの多変量解析を実施した。こうした多側面からの解析手法を用いた検討を重ねた結果，論文公刊に向けた準備が概ね最終段階にはいりつつある。

これらに加え，本研究の発展として，視覚野－体性感覚野間の双方向的相互作用を検出するために実験設計の検討，脳機能画像計測における時空間分解能向上のための実験設計の検討，および超高磁場 fMRI を用いた体性感覚野撮像実験のための準備を新たに進めた。

27. 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（名古屋大学脳とこころの研究センター）
福永雅喜（自然科学研究機構生理学研究所）
田嶋駿亮，MAJUWANA GAMAGE Roshani（名古屋大学大学院医学系研究科）
小森芳秋（シーメンスヘルスケア株式会社）

1. 背景･目的

脳動脈瘤の発生，成長，破裂には血流動態が関係していると報告されており，磁気共鳴流体解析（magnetic resonance fluid dynamics, MRFD）や計算流体解析（computational fluid dynamics, CFD）を使用して，脳動脈瘤を対象とした血流動態解析の研究が行われている。脳血管の様な細い血管を対象に MRFD を行う場合，3 次元位相コントラスト磁気共鳴法（3-dimentional phase contrast magnetic resonance, 3D PC MR）を高空間分解能で撮像する必要があると報告されている。7 テスラ（tesla, T）MR 装置を利用することで高信号雑音比（signal to noise ratio, SNR）かつ高空間分解能の 3D PC MR を撮像でき，細い血管を対象とした高精度の MRFD を行える可能性がある。本研究の目的は，3T MR 装置と 7T MR 装置で撮像したヒト脳動脈瘤モデルとヒト健常ボランティアの 3D PC MR から MRFD を行い，得られた解析結果を基準の CFD と比較し，7T MR 装置の高空間分解能 MRFD の精度は 3T MR 装置の MRFD よりも優れているか否かを検討することである。

2. 方法

ヒト脳動脈瘤モデルとヒト健常ボランティア 10 名を対象に 3T MR 装置と 7T MR 装置で MR 撮像を行った。得られた MR 画像から MRFD を行い，MRFD で作成した

血管形状を基に CFD を行った。各 MR 装置での MRFD から得られた血流動態を基準である CFD から得られた血流動態と比較した。ヒト脳動脈瘤モデルの検討では定性評価と定量評価を行い，ヒト健常ボランティアの検討では定量評価を行った。定性評価の項目は 3 次元血流速度ベクトル図，定量評価の項目は血流速度ベクトルの大きさの相関係数 R，血流速度ベクトルの角度類似指数（angular similarity index, ASI），血流速度ベクトルの強度類似指数（magnitude similarity index, MSI）を使用した。

3. 結果･考察

脳動脈瘤モデルの検討において，3T MR 装置で得られた MRFD の 3 次元速度ベクトル図では血管壁近傍にノイズ様のベクトルが認められたが，7T MR 装置の MRFD では認められず CFD と類似した結果を示した（図 1）。脳動脈瘤モデルの検討とヒト健常ボランティアの検討において，相関係数 R，ASI，MSI の何れも 7T MR 装置の結果は 3T MR 装置の結果に比して高値を示した。ヒト健常ボランティアの検討の ASI と MSI の統計解析では, 3T MR 装置の結果と 7T MR 装置の結果の間で有意差が認められた（図 2）。

4. 結語

7T MR 装置を使用した高空間分解能 MRFD の精度は 3T MR 装置よりも優れていることが確かめられた。超高磁場 MR 装置による高 SNR の撮像によって，7T MR 装置を使用した細い血管を対象にした 3D PC MR の優位性が示唆された。

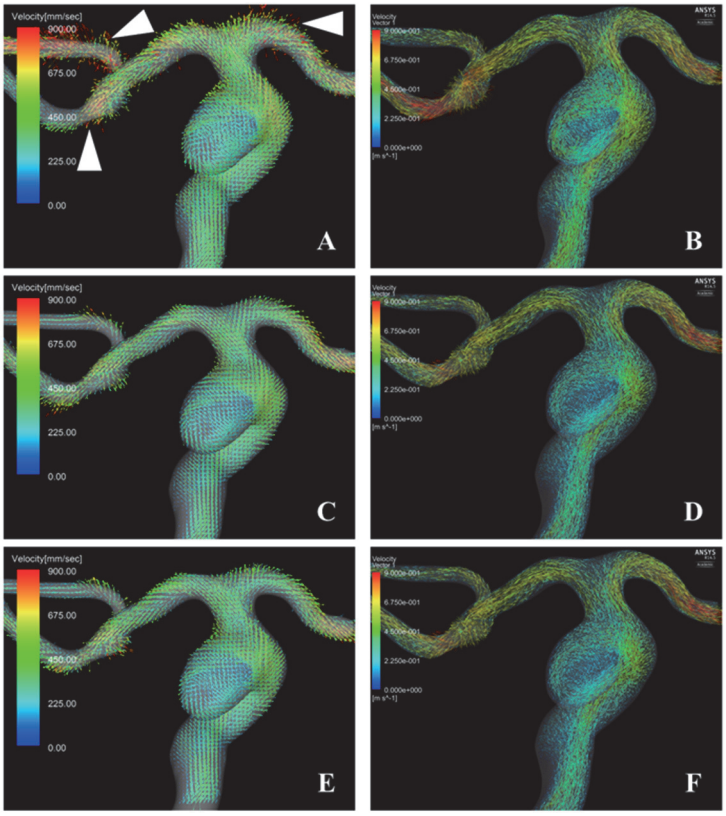


図1. 各撮像条件のMRFDとCFDの3次元血流速度ベクトル図
A, 3T_0.50mmのMRFD; B, 3T_0.50mmのCFD; C, 7T_0.50mmのMRFD; D, 7T_0.50mmのCFD; E, 7T_0.35mmのMRFD; F, 7T_0.35mmのCFD
各撮像条件で得られたMRFDの内頸動脈や脳動脈瘤の血流速度ベクトルはCFDに類似している。3T_0.50mmのMRFDでは前大脳動脈や中大脳動脈の血管壁近傍にノイズ様のベクトルが描出され、CFDとは異なる血流速度ベクトルが描出されている(A, 矢頭)。

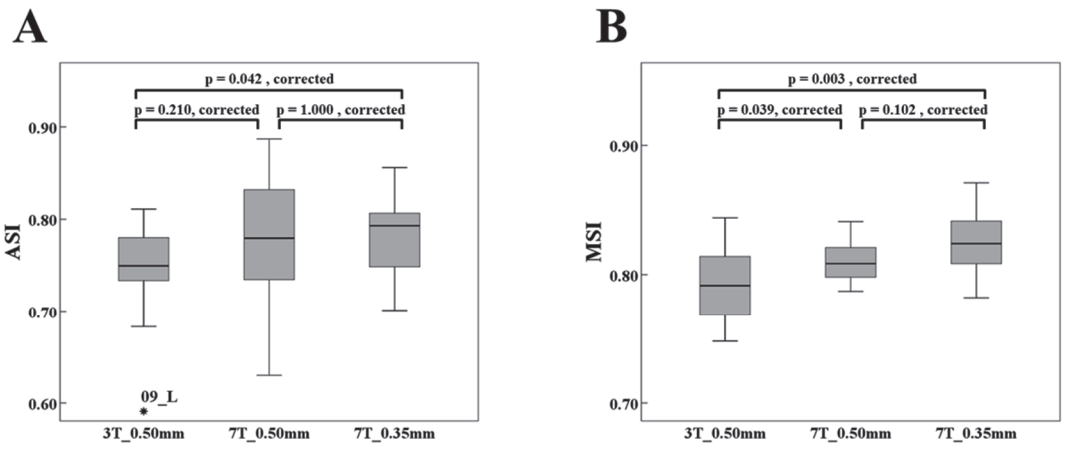


図2. ヒト健常ボランティアに対する各撮像条件のMRFDとCFDのASIとMSI

A, ASI; B, MSI

ASIは3T_0.50mmと7T_0.35mmの比較で有意差を示し、MSIは3T_0.50mmと7T_0.50mmの比較と3T_0.50mmと7T_0.35mmの比較で有意差を示している。7T MR装置を使用した3D PC MRは、高空間分解能の撮像であっても十分なSNRを確保することができ、脳血管程度の細い血管でも精度良く解析を行えたため、CFDの結果に類似したMRFDの結果が得られたと考えられた。

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，定藤規弘（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の古くからの研究対象であり，動物を用いた研究で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。神経疾患や精神疾患に付随して眼球運動の異常が認められることも多く，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 fMRI を用いて，ヒトの眼球運動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。

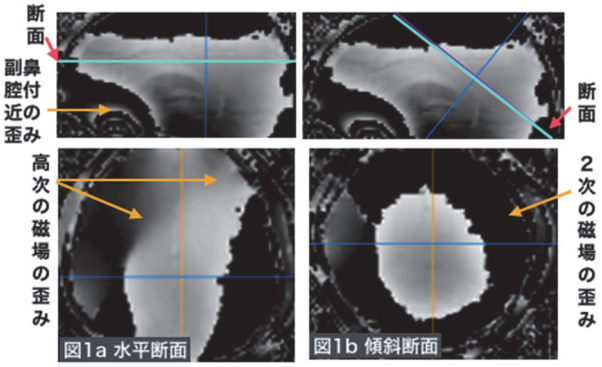
本年度は，追跡眼球運動に関わる脳領域と高髄鞘化領域の相同性について検討した。感覚と運動に関わる大脳の各一次領野といくつかの高次領野には髄鞘化が進んだ領域がある。Glasser と Van Essen（2011）はサッケード関連領野と高髄鞘化領域の相同性を指摘している。本研究では，追跡眼球運動の関連領野にもこの相同性があるかについて調べるために，3T MRI を用いて実験を行った。被験者(14 名)はスクリーン上の視標を見るように指示され，静止した視標の固視と動く視標の追跡を交互に行った。マルチバンド技術を用いた高時空間解像度 fMRI により，課題遂行中の脳活動を全脳で取得した。また，髄鞘密度マップ生成のために T1/T2 強調画像も別取得した。全ての撮像は Human Connectome Project（HCP）Protocol に準拠し，前処理を含めたデータの解析には HCP Pipelines を用いた。個人解析では，眼球運動に関連した脳活動が MT+野，前頭眼野，運動前眼野，頭頂間溝に沿った複数領域で得られた。グループ解析では，Multimodal Surface Matching を用いて脳画像のアライメントを行い，個人解析の結果と同様，MT+野，前頭眼野，運動前眼野，補足眼野，頭頂間溝に沿った領域に有意な賦活が確認された。髄鞘密度マップとの比較で，これらの領域は高髄鞘化領域と重複する傾向見られた。サッケードに関わる脳領域との比較では似た脳領域に賦活が見られたが，追跡眼球運動時のほうが MT+野の賦活がより強く，範囲がやや広い傾向があった。

今後，被験者を増やして結果の再現性を確かめる。また，機能的ネットワークを構成するか否か，パフォーマンスと賦活の関係，日常の場面での眼球運動との関係等について詳細に明らかにする計画である。

29. 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，樋口敏宏，河合裕子，村瀬智一（明治国際医療大学・医学教育研究センター）
服部憲明（社会医療法人大道会 森之宮病院神経リハビリテーション研究部）
浦山慎一（京都大学・学際融合教 青研究推進センター）

超高磁場 MRI の利点は，高感度とケミカルシフト分解能が優れている点にある。低濃度の脳内アミノ酸を計測する MR スペトル(MRS)法は，この２つの点で有利である。生体の領域選択の MRS では傾斜磁場を利用している。この傾斜磁場とケミカルシフトは同じ原理に基づく。このため，ケミカルシフトによるスペクトルの広がりの分だけ，選択領域がずれる。このケミカルシフトの一ずれを解決する方法として，位相エンコードで選択領域を分割するケミカルシフトイメージング(chemical shift imaging: CSI)法がある。CSI 法では単一領域の選択 MRS で行う領域より広い領域が観測対象となる。そこで磁場の均一度を高めるシム調整の困難さが次の問題となっていた。シム調整は MRI の磁場の X, Y, Z の３軸に対して１次，２次，３次の関数で調整される。このため，3 次元(3D)で位相画像を計測し，高次の歪みを持つ領域(図 1-a)を避け，２次以下の磁場歪みを持つ断面を測定断面に設定した(図 1-b)。被験者毎に 3D 位相画像を計測し断面を決定したが，概ね同一断面で計測可能だった。CSI は TR を 4s の PRESS 法で計測し LCModel による代謝物情報が得られた。グラディエントエコーCSI シーケンスの作成など測定時間の短縮を図ることが今後の課題と考えられた。



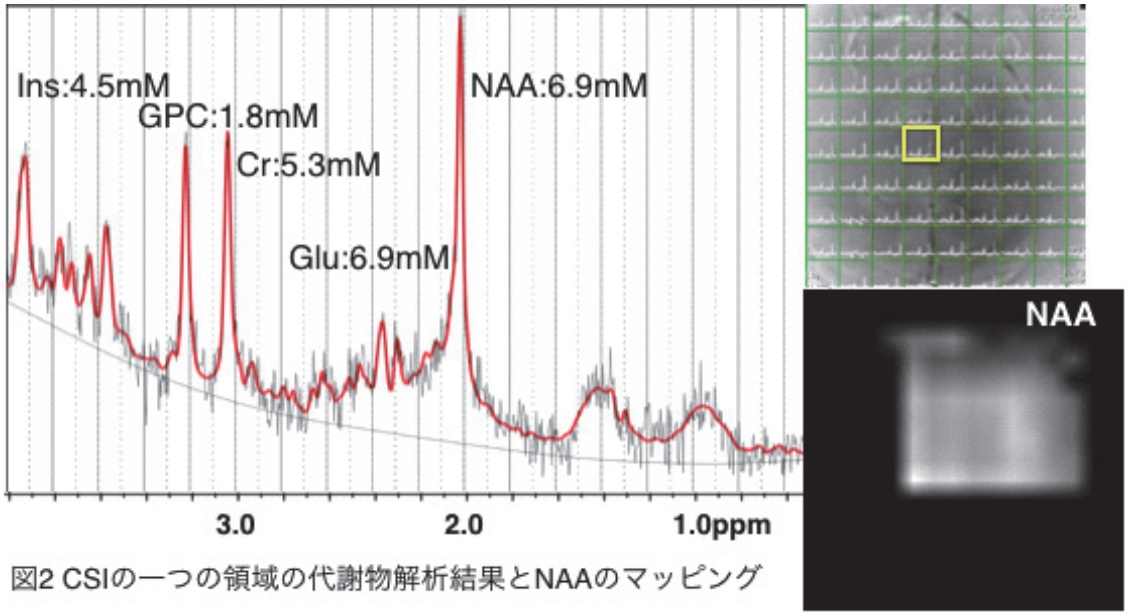


図2 CSIの一つの領域の代謝物解析結果とNAAのマッピング

30. MRI を用いた大脳基底核新経路の検証

吉田篤司
（理化学研究所生命機能科学研究センター・脳コネクトミクスイメージングチーム・基礎科学特別研究員）

大脳基底核はルールに従った運動の制御に関与するとされている一方で，学習を通して獲得する認知機能にも関与するとされている。大脳基底核はこれまでの解剖学的研究で大脳皮質や視床，脳幹など脳内の多くの部位と連結があることが明らかにされ，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間接路の一部とされる淡蒼球外節から神経活動記録を行い，淡蒼球外節には 2 つの種類の神経細胞が存在すること，更に 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 の経路を含めた 4 つの経路がどのような機能に関与しているのかを明らかにすることを目的に，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）を行った。

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（フラクタル図形）を用意し，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。それに対して，別のブロックでは事前にルールを明示し（赤色の四角なら congruent 課題，緑色の四角なら incongruent 課題, 青い四角なら NoGo 課題），学習を必要としない課題を用いた。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 6 名の被験者で行い，ブロック間の比較を行ったところ，運動を行う前の視覚刺激の提示期間にてフラクタル図形を提示した学習ブロックにて後頭葉領域の強い賦活化を認めた。このことから学習の有無にかかわらず用いる図形により賦活化の差が生じる可能性が考えられたため，学習不要ブロックにおいても同様にフラクタル画像を用いることとし，被験者には実験前に学習不要ブロックにて，それぞれのフラクタル画像がどの課題を意味しているかのルールを教えることとした。今年度は修正した課題を用いた fMRI 実験を 10 名の被験者で行った。今後更に被験者での実験を行い，十分な被験者数でのデータが習得できた段階で解析を行う。

31. 創造的修辞表現生成に関わる神経ネットワーク・認知メカニズムの解明

寺井あすか（公立はこだて未来大学）
地村弘二（慶應義塾大学）
吉本隆明（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）
近添淳一（生理学研究所生体機能情報解析室）
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）

人は外的刺激に対して，内的表象を形成することで新たな意味を創発する。例えば，雲の形から動物・人間の顔などを思い浮かべるといった，視覚刺激や聴覚刺激に対しよく知ったパターンを知覚するパレイドリア現象（Hadjikhani et al. 2009）が報告されている。このように外界からの刺激に対して「新たな意味」を見出す現象として，画像刺激に対し異なる概念を用いた表現を生成する「修辞表現（比喩）生成」を対象とし，視覚刺激からの新たな意味の創造としての修辞表現生成過程の神経メカニズムを明らかにすることを目的とする。

本研究課題は 2017 年度共同利用実験（課題番号:628）の継続研究であり, 昨年度に引き続き被験者 14 名にて画像説明課題を用いた実験を実施した。画像説明課題では，画像（抽象的図形：カラー12 種，モノクロ 4 種）を被験者に提示し，被験者自身がボタンを押すことで画像を時計・反時計回りに画像を回転させながら，自由に口頭で

提示された画像の説明を行ってもらい，課題遂行中の被験者の発話を全て録音するとともに，脳血流を MRI（Verio 3T）を用いて測定した。画像説明課題は 8 セッションからなっており，各セッションは 6 分 52 秒とし，2 種類の刺激を各 3 分間提示した。multibandEPI のスキャンパラメータは，マルチバンドファクターを 8 とし，マトリクスサイズ 96 x 96，スライス厚 2 mm，平面解像度 2 mm，繰り返し時間 0.8 秒，エコー時間 30 ミリ秒，フリップ角 50 度で 72 枚の撮像を行った。さらに，事後課題としてインタビューを行い，課題遂行中に被験者により生成された説明が提示された画像のどの部分に対するものかについて明らかにした。

今後, 被験者により生成された説明を提示された画像の色・形等に関する説明（字義通り説明）と他の概念を用いた説明（修辞的説明）に分類し，発話オンセット数秒前～発話オンセットを対象とした時系列分析を行うことで, 修辞的表現生成過程の神経ネットワークの時間動態を明らかにするとともに, 第三者評価により修辞的説明の創造性の評価を行うことで, 創造的修辞表現生成にかかわる神経ネットワークの解明を目指したいと考えている。

32. 主観的時間経験に依存した経済的意思決定における衝動性・自己制御の調節機構

地村弘二（慶應義塾大学理工学部）
田中大輝（慶應義塾大学大学院理工学研究科）
新滝玲子（慶應義塾大学理工学部）

遅延する報酬の価値は, 遅延時間が長くなるほど減少することが，ヒト・非ヒト霊長類・げっ歯類・鳥類で観察されている（遅延割引）。しかし，遅延時間の経験が，遅延割引とどのように関係あるかはほとんど知られていない。そこで本研究では, 遅延時間の主観的な経験を操作することにより, 遅延割引の形成がどのように変化するかを調べることを目的とし, 非ヒト動物で用いられてきた行動課題をヒト実験に適用して, 課題遂行中の脳活動を機能的 MRI で撮像した。

ヒト被験者は，まず，2 種類の数十秒遅延する液体報酬を経験した。遅延時間中，色がついたタイルが提示され，一方の条件ではタイルの色が周期的に変化し（変化条件），もう一方の条件ではタイルの色が固定されていた（静止条件）。変化条件の変化の速度は，低・中・高の 3 段階とした。遅延時間終了後，被験者は報酬であるジュースを飲んだ。そののち，経験した 2 種類の報酬のどちらか好きな方を選び（自由選択），同様に遅延報酬を得た。

遅延時間は，まず 2 条件で等しい状況で選択を行った。そして，選択に依存して，静止条件の遅延時間を変化させて，変化条件と均衡する遅延時間を求めた。

一方で, 変化条件と静止条件のどちらで主観的に時間が長く感じるかを調べるために, 遅延時間後に報酬が得られない状況下で，どちらの時間が長く感じるかを答えた（時間評定）。報酬条件と同様に，答えに依存して静止条件の時間を変化させ，2 つの条件での均衡点（主観的時間）を求めた。

機能的 MRI の撮像にはマルチバンド加速 EPI 法を用いて，TR = 0.8 秒，空間解像度は 2 x 2 x 2 mm とした。

時間評定では，変化条件の主観的時間は，静止条件よりも短く, より高速で色が変化する条件で短かった。さらに，変化条件の主観的時間が短い被験者では, 変化条件の遅延報酬の主観的価値が大きかった。このことは，変化条件で時間が短く感じている被験者ほど, 変化条件の遅延報酬をより選ぶ傾向があることを示唆している。

本実験は機能的 MRI を高速で撮像しながら被験者が液体を消費するという実験であり, 画像の前処理では頭の動きや液体消費に関連したアーチファクトについて慎重な配慮が求められる。そこで，一般線形モデルの残差を用いたアーチファクト除去手続きを確立した。現在は一般線形モデルと行動経済学モデルを用いた脳活動抽出のための一般線形モデル解析を行っている。

33. 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（国際医療福祉大学医学部）

仮現運動観察時の脳磁界活動(MEG)を取得して，運動知覚と，空間視経路および物体視経路の賦活の関係について検討することを目的とした。一般に，運動知覚は空間視経路の賦活によって成立すると示唆されているが，物体視経路も充分に賦活されるような運動刺激を提示することで，空間視経路と物体視経路の両者の賦活の程度を評価できると予測した。そのため，本研究では，両眼立体視が成立する 3 次元的に知覚される刺激(3D 刺激)と平面的な刺激(2D 刺激)とを比較検討した。

8 名の実験参加者に対して，偏光方式により 3D 刺激，あるいは 2D 刺激として知覚される条件，および，その両条件下において，仮現運動による運動感が明瞭に得られる最適条件と，運動感が全く生じない同時条件を設けて刺激を観察させ MEG を取得した。306 チャンネル全頭型脳磁計(Elekta Neuromag-306, Helsinki)から 204 点の計測データを使用し，最小 2 乗ノルム解により両大脳半球に 38 領野の信号源を設定して電流量を算出した。

これらの 38 領野から，左右半球の下・中・上後頭回，下・上頭頂小葉，中心後回，中心前回，下・中・上側頭回，下前頭葉眼窩部，下前頭葉弁蓋部，中前頭回，上前頭回背側部の各部位別に，立体視(2D/3D)×見え(同時/最適 1/最適 2)×半球(L/R)×時間(10 区間)の分散分析を行った。その結果，立体視と見えの主効果はいずれの分析においても有意とはならなかったが，上後頭回において見えと半球の 1 次の交互作用が有意($p < .05$)であり，立体視と半球の 1 次の交互作用($p = .056$)，立体視と半球(L/R)と時間の 2 次の交互作用が有意傾向($p = .075$)であった。また，上前頭回背側部において，見えと時間の 1 次の交互作用($p < .05$)，見えと半球の 1 次の交互作用($p < .05$)，見えと半球と時間の 2 次の交互作用が有意($p < .05$)であった。その他に，立体視または見えの効果に関わる有意な結果が得られた部位をあげると，中心後回，中心前回，中側頭回，下前頭葉弁蓋部，上前頭回背側部において見えと時間の交互作用が有意であった($p < .05$)。

以上の結果は，運動感の違いが，すでに一次視覚野において区別されることを示唆している。両眼立体視の効果は今回，明確には得られなかったが，さらに部位間の比較を詳細に行う必要があると考えられる。

34. 役割分担を伴う協調行動時の２者間に見られる脳活動ダイナミクスの解析

高橋宗良，藤井貴之，石原　暢，田中大貴，高岸治人，松田哲也（玉川大学 脳科学研究所）

本研究は，2 者が役割を分担し，協調して課題に取り組む際に，①自身と相手の行動と課題がそれぞれの脳内でどのように表現され，また②両者の脳活動がどのように相互作用することが，協調行動のパフォーマンスに影響するのか，さらに③両者がどのような脳活動の特性を持っていることが，良好なパフォーマンスを予測するのか，を 2 者同時の機能的 MRI 計測実験を通して明らかにすることを目指し，実験環境のセットアップと予備的データの取得を目的とした。

実験は当初，健常成人を対象とした２者同時の機能的 MRI 計測を行い，2 ペア（4 名）からの予備的データを取得する予定でいたが，実験直前にハイパースキャン用 MRI スキャナの 1 台が故障し運用不可能となったため，脳活動データの計測は 1 名ずつ行い，1 名は MRI スキャナ内で実験課題を実行し，相手役となるもう 1 名は別室（制御室）にてスキャナ外で課題を実行することとした。

実験課題にはサイモン課題（Simon, 1969）を 2 名で役割分担して行う Joint Simon 課題（Sebanz et al., 2003）を用いた。この課題では，被験者はそれぞれにボタン押し（GO-NOGO）反応を要求される異なる視覚刺激（例 : 被験者 A は青，被験者 B は緑）が割り当てられ，画面上の固視点の左右にランダムに提示される視覚刺激に適切に

反応することを要求された。2 名が隣り合わせで着席して行う従来の実験条件では，自分寄りの位置に呈示された GO 刺激に対する反応時間は相手寄りに呈示された場合の反応時間よりも早くなる（Joint Simon 効果）。本研究では 2 者が完全に別室に隔離された状態で課題を遂行する必要があったが，4 名中 3 名の被験者において Joint Simon 効果を確認した。事前の教示と訓練試行の工夫によりさらに頑健な効果が測定できるように，引き続き実験手続きの改善を目指していく。また，2 名の被験者に対しての実験内容の説明，パーソナリティ等に関する質問紙への回答，MRI 室までの誘導動線の確認など次年度の本格的なデータ収集に向けて必要な周辺情報を確認することができた。

35. 非ヒト霊長類を用いた安静時脳機能結合パターンの操作と理解

南本敬史（量子科学技術研究開発機構・放射線医学総合研究所・脳機能イメージング）

ヒトを対象とした機能イメージング解析から，複数の脳領域間の機能的結合やそのパターンが，特定の認知・情動機能や精神・神経疾患における症状と対応することが示されていが，その背景となる生理学的な情報伝達様式との関連・因果性についてはいまだ不明である。本研究は，ヒトに近い脳構造をもつマカクザルの特定の脳回路を操作した際に生じる機能結合の変容を明らかにすることで，機能結合の生理学的実態を明らかにすることを目指す。そのために，化学遺伝学的手法により既知の脳回路を操作することができるマカクザルを対象とした機能 MRI 計測を実施する。第一弾としてヒトうつ病の病態回路仮説の一つとされる外側手綱核(LHb)の過活動を引き起こすモデルを作出し，機能結合の変容を明らかにすることを目指す。

1 頭のマカクザルの両側の LHb に神経細胞特異的に hM3Dq を発現させるウイルスベクターを注入した。十分に DREADD が発現すると考えられる 45 日以降に DREADD 選択的 PET リガンド[^{11}C]C22b を用いた PET 撮像を行い，LHb での hM3Dq 発現が結合能の上昇として確認できた。このサルに DREADD アゴニストを全身投与することで，発現領域の神経活動が亢進することを [^{18}F]FDG-PET により確認した。

2019 年度からの生理研における共同実験実施に向け，所属機関である量子科学技術研究開発機構（量子研），実施機関である生理研それぞれの機関での動物実験計画申請，遺伝子組換え実験申請，ならびに遺伝子組換え実験室設置承認などの申請を行い，一部（生理研・遺伝子組換え実験申請審議中）を除き承認を受けた。今後，全ての計画の承認をまって，サルを量子研から生理研に移送し，機能 MRI 撮像を実施する予定である。

【研　究　会　報　告】

研究会報告

〔　目　　次　〕

１．シグナル動態の可視化と操作に基づく多階層機能解析の新展開
（代表者：大久保洋平　2018 年 9 月 27 日－9 月 28 日）…… 249
２．生体コモンスペース研究会
（代表者：高井まどか　2018 年 7 月 12 日－7 月 13 日）…… 259
３．オルガネラ膜ナノドメインの機能と動態
（代表者：清水重臣　2018 年 7 月 5 日－7 月 6 日）…… 269
４．体内環境の維持機構における上皮膜輸送の多角的・総合的理解
（代表者：林　久由　2018 年 9 月 6 日－9 月 7 日）…… 277
５．神経発達・再生研究会
（代表者：澤本和延　2018 年 10 月 17 日－10 月 18 日）…… 288
６．生体サバイバル戦略としての痛みの機構と意義
（代表者：加藤総夫　2018 年 12 月 13 日－12 月 14 日）…… 301
７．温熱生理研究会
（代表者：山下　均　2018 年 8 月 23 日－8 月 24 日）…… 317
８．感覚免疫学研究会
（代表者：丸山健太　2018 年 6 月 7 日－6 月 8 日）…… 329
９．生命のエネルギー獲得戦略における多様性と共通原理の理解にむけて
（代表者：本橋ほづみ　2018 年 4 月 26 日－4 月 27 日）…… 338
10．心臓・血管系の頑健性と精緻な制御を支える分子基盤の統合的解明
（代表者：赤羽悟美　2018 年 11 月 1 日－11 月 2 日）…… 357
11．TRP channel conference～免疫・炎症応答の重要な媒介分子～
（代表者：白川久志　2018 年 5 月 24 日－5 月 25 日）…… 384
12．食欲・食嗜好の分子・神経基盤研究会（食欲・食嗜好研究会）
（代表者：佐々木　努　2018 年 6 月 2 日－6 月 3 日）…… 399
13．運動器／代謝系連関による生体機能制御とその変容の仕組み
（代表者：世話人：山内敏正　2018 年 9 月 22 日－9 月 23 日）…… 412
14．大脳皮質回路の機能原理を探る
（代表者：礒村宜和　2018 年 9 月 6 日－9 月 7 日）…… 423
15．記憶・学習の基盤機構と回路研究の新展開へのアプローチ
（代表者：大川宜昭　2018 年 9 月 19 日－9 月 20 日）…… 427
16．情動の神経回路機構とその破綻
（代表者：疋田貴俊　2018 年 9 月 18 日－9 月 19 日）…… 436
17．神経回路の構築から機能発現に至る統合的理解
（代表者：橋本浩一　2018 年 12 月 4 日－12 月 5 日）…… 444
18．認知神経科学の先端　知覚学習と運動学習
（代表者：柴田和久　2018 年 9 月 21 日－9 月 22 日）…… 450
19．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　2018 年 11 月 30 日－12 月 1 日）…… 455

20. 第 8 回社会神経科学研究会
（代表者：高橋宗良　2018 年 11 月 29 日－11 月 30 日）…… 464
21. 第 2 回ヒト脳イメージング研究会
（代表者：松田哲也　2018 年 9 月 7 日－9 月 8 日）…… 469
22. クライオ電子顕微鏡によるタンパク質の高分解能単粒子構造解析
（代表者：岩崎憲治　2018 年 11 月 14 日－11 月 15 日）…… 478
23. 脳磁図を用いたヒト脳神経活動の計測
（代表者：岡本秀彦　2019 年 2 月 10 日－2 月 11 日）…… 484

１．シグナル動態の可視化と操作に基づく多階層機能解析の新展開

2018 年 9 月 27 日－9 月 28 日

代表・世話人：大久保洋平（東京大学大学院医学系研究科細胞分子薬理学）

所内対応者：久保義弘（生理学研究所神経機能素子研究部門）

（１）アストロサイトにおける IP_3 受容体 2 型非依存性 Ca^{2+} 放出

○大久保洋平[1]，金丸和典[2]，廣瀬謙造[1]，飯野正光[2]

（[1]東京大学大学院医学系研究科細胞分子薬理学，[2]日本大学医学部細胞分子薬理学部門）

（２）活性化アストロサイトにおける Ca^{2+} シグナルの病態生理学的意義

○繁冨英治[1]，齋藤光象[1,2]，小泉修一[1]

（[1]山梨大学大学院総合研究部薬理学，[2]京都府立医科大学神経内科学）

（３）A bimodal Ca^{2+} indicator toward spatiotemporally-scalable imaging

○Israt Farhana, Kazushi Suzuki, Tomoki Matsuda, Takeharu Nagai

（大阪大学産業科学研究所生体分子機能科学）

（４）角化細胞の増殖における力依存的な接触阻害と，皮膚腫瘍におけるその破綻

○平田宏聡，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ラボ）

（５）マウス表皮角化細胞の細胞質カルシウムイオン濃度の生体内観察

○村田光麻，本田哲也，大日輝記，椛島健治

（京都大学大学院医学研究科皮膚科学）

（６）膵β細胞カルシウムシグナルの生体内イメージング解析

○金丸和典，太向　勇，飯野正光（日本大学医学部細胞分子薬理学部門）

（７）Photoswitchable indicators towards nanoscopic calcium imaging

○Kai Lu, Tomoki Matsuda, Tetsuichi Wazawa, Satsuki Fujiwara, Takeharu Nagai

（大阪大学産業科学研究所生体分子機能科学）

（８）全脳血管ネットワーク可視化のための血管鋳造法および組織透明化手法の開発

○宮脇健行[1,2]，洲崎悦生[2]，山口　瞬[3]，上田泰己[2]，池谷裕二[1]

（[1]東京大学大学院医学系研究科システムズ薬理学，[2]東京大学大学院薬学系研究科薬品作用学，

[3].岐阜大学大学院医学系研究科高次神経形態学）

（９）活性酸素シグナルによる小脳シナプス機能制御

○柿澤　昌[1]，遠藤昌吾[2]

（[1]京都大学大学院薬学研究科生体分子認識学，

[2]東京都健康長寿医療センター研究所老化脳神経科学研究チーム記憶神経科学）

（10）興奮性・抑制性シナプス伝達物質小胞再充填

○高橋智幸（沖縄科学技術大学院大学）

（11）「シンギュラリティ生物学」概説

○永井健治（大阪大学産業科学研究所生体分子機能科学）

（12）実空間や情報空間の「形」を観る方法の開発

○中村直俊（京都大学大学院医学研究科ゲノム医学センター統計遺伝学）

（13）Data-driven systems neuroscience by CUBIC-Cloud

○真野智之 [1,2]，上田泰己 [2,3,4]
（[1] 東京大学大学院情報理工学系研究科システム情報学，
[2] 東京大学ニューロインテリジェンス国際研究機構(WPI-IRCN)，
[3] 東京大学大学院医学系研究科システムズ薬理学，
[4] 理化学研究所生命機能科学研究センター）

（14）G 蛋白質制御内向き整流性 K^+ (Kir) チャネル作用薬の“論理的”設計

○稲野辺　厚，倉智嘉久（大阪大学大学院医学系研究科分子・細胞薬理学）

（15）小胞体内 Ca^{2+}濃度測定を利用した 1 型リアノジン受容体（RyR1）阻害薬探索システムの開発

○村山　尚（順天堂大学医学部薬理学教室）

（16）チャネル機能が見える：KcsA チャネルのイオン透過と新しい張力感受性モダリティ

岩本真幸，炭竈享司，浦久保博一，○老木成稔（福井大学医学部分子生理）

【参加者名】

高橋智幸（沖縄科学技術大学院大学），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ラボ），平田宏聡（名古屋大学大学院医学系研究科メカノバイオロジーラボ），山澤徳志子（東京慈恵会医科大学），齋藤光象（京都府立医科大学），永井健治（大阪大学産業科学研究所），Lu Kai（大阪大学産業科学研究所），Nadim Hossain（大阪大学産業科学研究所），Vu Cong（大阪大学産業科学研究所），Israt Farhana（大阪大学産業科学研究所），繁冨英治（山梨大学），田中雅彬（山梨大学），村田光麻（京都大学），老木成稔（福井大学），浦久保博一（福井大学），飯野正光（日本大学），太向　勇（日本大学），金丸和典（日本大学），廣瀬謙造（東京大学），大久保洋平（東京大学），村山　尚（順天堂大学），柿澤　昌（京都大学），大出晃士（東京大学），宮脇健行（東京大学），真野智之（東京大学），稲野辺厚（大阪大学），倉智嘉久（大阪大学），中村直俊（京都大学），森　泰生（京都大学），坂口怜子（京都大学），中尾章人（京都大学），内山　誠（京都大学），栗田祐希（京都大学），佐竹伸一郎（生理学研究所），村越秀治（生理学研究所），久保義弘（生理学研究所），立山充博（生理学研究所），下村拓史（生理学研究所），陳　以珊（生理学研究所），Andriani Rizki Tsari（生理学研究所），平澤輝一（生理学研究所），Liu Chang（生理学研究所）

【概要】

シグナル分子が示す多様な時間的・空間的動態により，種々の生体機能が発現される。よって分子の羅列ではなく，シグナル動態解析に基づいた機能解析が生命現象の理解には不可欠である。細胞内カルシウム動態解析を端緒とするシグナル動態可視化研究においては，近年様々なシグナル現象・分子の可視化を可能にするプローブが開発され，研究対象が急速に拡大しつつある。また並行して，二光子顕微鏡や超解像顕微鏡などをはじめとする光学技術の発展も顕著であり，時空間的に多階層の高品質データを得ることが可能になっている。さらに光遺伝学をはじめとする操作法は，シグナル動態と機能の間の因果性について直接検証を可能にする強力なツールとして，活発な応用が進められている。以上に加えて，高効率発現を可能とするトランスジェニックマウスやウイルスベクターは近年の研究の屋台骨を成していると言え，遺伝子編集技術は研究にさらなる効率化と自由度をもたらすと期待される。

以上の現状を改めて鑑み，分子・細胞・個体の多階層に渡り，シグナル動態解析に基づいた機能解析について，「今できること」そして「今後やるべきこと」を自身の研究成果をもとに討議し，各々の参加者に対して今後の研究戦略立案の端緒を提供し，当該研究分野のさらなる発展を目指して，昨年度に続き本研究会を開催した。上記目標を達成するために，シグナル動態可視化法，その他の分子動態解析法，シグナル動態操作法，新規光学技術，個体レベルの機能解析などに携わる多様な分野に渡る 16 名の講演者を全国から迎え，総勢 41 名の参加者により活発な討議を行なった。学部生，修士・博士課程の

大学院生の参加もあり，若手の積極的な討議も見られた。また特に異なる階層・分野の研究者の間で建設的な討議が行われ，今後の生体機能解析研究の新展開に資する研究会となった。

（1）アストロサイトにおける IP_3 受容体 2 型非依存性 Ca^{2+} 放出

○大久保洋平 [1]，金丸和典 [2]，廣瀬謙造 [1]，飯野正光 [2]
（[1] 東京大学大学院医学系研究科細胞分子薬理学，[2] 日本大学医学部細胞分子薬理学部門）

細胞内 Ca^{2+} シグナリング，特に小胞体からの Ca^{2+} 放出は，アストロサイト機能の制御に重要であると考えられている。IP_3 受容体 2 型（IP_3R2）のノックアウトマウスにおいては，アストロサイトの Ca^{2+} シグナリングがほぼ完全に失われると報告されており，それゆえにアストロサイト Ca^{2+} シグナリングの機能的意義を検証するために広く用いられてきた。いくつかの報告では IP_3R2 ノックアウトマウスの表現型が見出されているが，他の報告では異常は観察されず，アストロサイト Ca^{2+} シグナリングの機能的意義に関して論争を引き起こしていた。この問題に取り組むために，我々は独自の Ca^{2+} イメージング技術を用いることで，「IP_3R2 ノックアウトマウスのアストロサイトにおいて小胞体からの Ca^{2+} 放出が欠失する」というそもそもの仮定を再評価した。大脳皮質および海馬のアストロサイトにおいて，小胞体内腔 Ca^{2+} プローブ G-CEPIA1*er* を発現させ，自発的および刺激誘発性 Ca^{2+} 放出を高感度かつ直接的に可視化した。IP_3R2 欠失アストロサイトにノルアドレナリンを投与することで，野生型に比べて減弱してはいるが有意な Ca^{2+} 放出を見出した。この IP_3R2 非依存性 Ca^{2+} 放出は，わずかな細胞質 Ca^{2+} 上昇を惹起するに留まったが，ミトコンドリアにおいては顕著な Ca^{2+} 上昇を惹起した。以上の結果により，IP_3R2 ノックアウトマウスのアストロサイトにおいても小胞体からの Ca^{2+} 放出は保持されており，その Ca^{2+} 放出は小胞体近傍の Ca^{2+} 濃度を上昇させるのに十分であることが示された。

（2）活性化アストロサイトにおける Ca^{2+} シグナルの病態生理学的意義

○繁冨英治 [1]，齋藤光象 [1,2]，小泉修一 [1]
（[1] 山梨大学大学院総合研究部薬理学，[2] 京都府立医科大学神経内科学）

アストロサイトは電気生理学的に「静的」であるが Ca^{2+} シグナルを介して活動する。アストロサイトは非常に反応性の高い細胞で，組織障害や炎症などに応答し，形態学的及び分子生物学的に劇的な変化を示して反応性アストロサイトに転換される。反応性アストロサイトでは Ca^{2+} シグナルにも劇的な変化があり，病態時には健常時には見られない，高振幅，高頻度，長持続時間といった特徴を示す，いわゆる「異常な」Ca^{2+} シグナルが出現する。この異常な Ca^{2+} シグナルは様々な中枢神経疾患モデルで観察されるが，その病態生理学的意義及び神経活動に与える影響には不明な点が多い。アレキサンダー病は，アストロサイトパチーと考えられる希少疾患で，アストロサイトに発現するタンパク質 GFAP 遺伝子異常を主要な原因として起こり，病理組織では反応性アストロサイトが観察される。我々は，アレキサンダー病モデルマウスの反応性アストロサイトにおいて，広範囲に拡がる特徴的な Ca^{2+} シグナルを見出した（Saito et al., Glia 2018）。この異常 Ca^{2+} シグナルの頻度は，GFAP 発現レベルで評価される病態進行度と強い相関を示した。更に，異常 Ca^{2+} シグナルを消失させると，病態が軽減されたことから，異常 Ca^{2+} シグナルはアレキサンダー病病態の原因となる可能性が示された。

（3）A bimodal Ca^{2+} indicator toward spatiotemporally-scalable imaging

○Israt Farhana, Kazushi Suzuki, Tomoki Matsuda, Takeharu Nagai
（大阪大学産業科学研究所生体分子機能科学）

For decades, Genetically Encoded Ca^{2+} indicators (GECIs), have been developing for the purpose of visualizing intracellular Ca^{2+} dynamics. Fluorescence imaging possesses high spatial and temporal resolution for microscale imaging within single cells. However, whole body imaging for long term has obstacles by fluorescent indicators as it requires external light illumination, which can cause photobleaching, phototoxicity, and autofluorescence. Bioluminescence imaging that doesn't require any external illumination overcame these restraints and suitable for long term macroscopic imaging. However, typically bioluminescence is dimmer than fluorescence, and therefore spatiotemporal resolution is limited. To address these, I developed a fluorescence- and bioluminescence-based GECI (FB-GECI) by combining a single fluorescent protein based Ca^{2+} indicator and a split luciferase so that the fusion protein retains the optimized properties of fluorescent sensor and enables reporting of Ca^{2+} dependent signal change in bioluminescent mode as well. This novel designed bimodal indicator enables Ca^{2+} imaging in the same specimen in both fluorescent and bioluminescent mode by the single indicator. The applicability of FB-GECI for studying Ca^{2+} dynamics in dual readout in live cells was tested in HeLa cells, rat pituitary tumor (GH3) cells and dissociated rat hippocampal neurons. FB-GECI would allow spatiotemporally-scalable Ca^{2+} imaging in the same specimen through the microscale short term imaging by fluorescent mode and macroscale long term imaging by bioluminescent mode, extending the spatiotemporal window over the range where conventional monomodal indicators can operate.

（4）角化細胞の増殖における力依存的な接触阻害と，皮膚腫瘍におけるその破綻

○平田宏聡，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ラボ）

上皮組織の恒常性を維持するには上皮細胞数の適切な制御が不可欠である。その主要なしくみとして細胞稠密化で引き起こされる増殖の抑制（接触阻害）が古くから知られており，その破綻はがん細胞の典型的な特徴の一つである。上皮細胞の接触阻害においては，まず隣接する細胞に発現する E-カドヘリン同士の結合が必要である。E-カドヘリンは，細胞質側でカテニン複合体を介してアクチン細胞骨格と結合し，アドヘレンスジャンクション（AJ）と呼ばれる細胞間接着超分子構造を形成する。最近我々は，皮膚の上皮細胞である角化細胞を用いて，アクチン細胞骨格から AJ に作用する引張力が接触阻害に必須であることを見出した。即ち，ミオシン活性やアクチン-AJ 結合を阻害すると，細胞稠密化に伴う増殖抑制が消失し，逆に，ミオシンの活性化因子である RhoA の恒常的活性化や，磁気ビーズを用いた AJ への引張力の負荷により，稠密状態での角化細胞の増殖は低下した。次に，マウスの皮膚化学発がんモデルを用いて，力依存的な増殖抑制と皮膚がんとの関係を調べた。その結果，表皮腫瘍では正常表皮に比べてミオシンの活性が大幅に低下しており，皮膚がん組織では力による増殖抑制機構が破綻していることが示唆された。また，培養表皮がん細胞の増殖が RhoA の活性化により抑制された。以上の結果から，人為的に皮膚がん組織の力発生を制御してがん細胞の増殖を抑制する，という新たな治療法の可能性が出てきた。

（5）マウス表皮角化細胞の細胞質カルシウムイオン濃度の生体内観察

○村田光麻，本田哲也，大日輝記，椛島健治
（京都大学大学院医学研究科皮膚科学）

皮膚は種々の刺激から生体を保護すると同時に, 水分を保持する為の重要なバリアである。その機能は主に，角化細胞が積み重なって構築する表皮が担い, 特に最表層を覆う角層が重要である。しかし，角化細胞が，角層を構成する角層細胞に分化するメカニズムは, 十分には解明されていない。数理モデル・培養細胞を用いた実験・皮膚の生理学的観察などの複数の手法から, 表皮細胞内のカルシウムイオン濃度は, このメカニズムの重要な要素であると予想されてきたが，その生体内での挙動は不明であった。そこで我々は, カルシウムイオン濃度のマウス生体内イメージングを行った。その結果，表皮角化細胞が角層細胞への分化の直前の 1 時間程度，個々の細胞単位で，細胞内カルシウムイオン濃度を上昇させることを見出した。また，表皮の最下層の角化細胞は秒単位でカルシウムイオン濃度を上昇させ，3 つの異なった時空間的なパターンを取ることも見出した。現在のところ，これらの現象の生理的な意義は不明であるが, 表皮の恒常性維持メカニズムの解明の手がかりとなることが期待された。

（6）膵 β 細胞カルシウムシグナルの生体内イメージング解析

○金丸和典，太向　勇，飯野正光（日本大学医学部細胞分子薬理学部門）

膵 β 細胞から分泌されるインスリンは血糖値調節に不可欠であり，その分泌は細胞内 Ca^{2+}シグナルにより制御されている。これまでの研究では，インスリノーマ細胞株や単離 β 細胞あるいは単離ランゲルハンス島（islet）を用いた Ca^{2+}シグナル解析が行われてきた。しかし，これらの標本は，自律神経系による制御や血流によるホルモン・血糖・脂肪酸などの供給が絶えず行われている生体内環境とは大きく異なるため，生体内における β 細胞の Ca^{2+}シグナルを忠実に反映していない可能性がある。また，血中インスリン濃度の周期的な上昇には，β 細胞間さらには islet 間で同期した Ca^{2+}オシレーションが重要である可能性が示唆されており，2 型糖尿病ではこれが破綻すると言われている。しかし，実際の生体内でこのような Ca^{2+}シグナルが存在するかは示されていない。そこで本研究では，高感度 Ca^{2+}インジケータータンパク質である yellow cameleon-Nano50（YC-Nano50）を β 細胞特異的に発現する遺伝子改変マウスを作成した。このマウスを用いた Ca^{2+}イメージング解析により，生体内の β 細胞で同期した Ca^{2+}オシレーションが起こることなどが解明できつつある。この手法を用いたさらなる解析は，インスリン分泌メカニズムの理解を深め, β 細胞の生理・病態機能のさらなる解明に貢献することが期待された。

（7）Photoswitchable indicators towards nanoscopic calcium imaging

○Kai Lu, Tomoki Matsuda, Tetsuichi Wazawa, Satsuki Fujiwara, Takeharu Nagai
（大阪大学産業科学研究所生体分子機能科学）

In super-resolution fluorescence microscopy, blinking fluorophores are often exploited to resolve subcellular structures at nanoscale. Using photoswitchable protein Skylan or SPOON, we developed genetically encoded indicators capable of diffraction-unlimited calcium imaging in mammalian cells. Our indicators constructs contain photoswitchable fluorescent protein fused with constitutional red fluorescent protein (RFP) via a minimal calcium binding domain. Upon calcium binding,

Förster resonance energy transfer (FRET) became detectable upon closing of distance between the photoswitching donor and its RFP acceptor. To observe nanoscopic calcium dynamics, we worked against low temporal resolution of localization-based super-resolution techniques. Conventional single-molecule localization microscopy (SMLM) sacrifices imaging speed to gain extra spatial resolution. To capture fast calcium transients, we acquired raw image data at higher density compared to SMLM, with substantially more fluorescent molecules in their 'on' status. By image reconstruction with algorithm based on radial fluctuations, super-resolution calcium time-lapses were obtained with temporal resolution in the order of only a few seconds. Because of ratiometric response of the indicators, genuine calcium responses were readily distinguishable from drifting artifacts or subcellular structure reorganization, which is particularly important for faithful report of calcium at nanoscale. Our approach balanced imaging speed with enhanced spatial resolution; hence revealed the possibility to investigate calcium signaling in unprecedented details.

（8）全脳血管ネットワーク可視化のための血管鋳造法および組織透明化手法の開発

○宮脇健行[1,2]，洲崎悦生[2]，山口　瞬[3]，上田泰己[2]，池谷裕二[1]
（[1]東京大学大学院医学系研究科システムズ薬理学，
[2]東京大学大学院薬学系研究科薬品作用学，
[3].岐阜大学大学院医学系研究科高次神経形態学）

脳血管は３次元状に広がる栄養源の供給網である。この供給網が，どの脳領域で，どのように張り巡らされているかを知ることは，脳の栄養供給様式を理解するための基礎となりうる。ただし，直径数 μm しかない微小血管については，このような知見は殆ど存在しない。これは，一般的な薄層切片では血管の結合関係を捉えられないこと，また 3D で血管を観察するための既存手法は，擬陰性率, SN 比, 標本調製の所要時間, 周囲分子の保存, コスト等において問題を抱えていることが原因である。

そこで本研究では，これらの問題を克服する一連の新規手法を開発した。本手法の特色は以下の３つである。

①血液脳幹門を通過しない新規の蛍光架橋剤を合成した。

②上記化合物・アクリルアミド・温度依存的な重合開始剤を低温で心臓から灌流して全身の血管に行き渡らせた後，温度を上昇させて重合を開始することにより，細い血管でも詰まらず，かつ周囲の分子を架橋する血管鋳造法を開発した。

③胆汁酸塩を動物組織透明化のための界面活性剤として初めて用いた。

本手法は，低偽陰性率，高 SN 比，周囲分子保存という優れた特性を持つにも関わらず，標本調製の所要時間は 10 日間と比較的短く, 低コストで導入が可能である。これらの特徴より，本手法は脳血管網の繋がり方を研究する分野の発展に貢献することが期待された。

（9）活性酸素シグナルによる小脳シナプス機能制御

○柿澤　昌[1]，遠藤昌吾[2]
（[1]京都大学大学院薬学研究科生体分子認識学，
[2]東京都健康長寿医療センター研究所老化脳神経科学研究チーム記憶神経科学）

活性酸素種（ROS）や一酸化窒素（NO）などのレドックスシグナル分子は，生活習慣病や老化などの原因因子とされ注目を集めている。特に ROS は脳における神経変性疾患等との関連から盛んに研究が進められている。一方で，NADPH オキシダーゼ（Nox）などの ROS の産生酵素の発現が脳でも確認されるなど，活性酸素シグナ

ルの脳における生理的役割を示唆する知見も得られつつある。しかし，ROS の脳高次機能への関与は多くの点が不明である。

演者らはこれまで，Ca^{2+}放出チャネルの一種，1 型リアノジン受容体のS-ニトロシル化修飾を介した活性化（NO 依存的 Ca^{2+}放出; NO-induced Ca^{2+} release (NICR)）と小脳平行線維シナプスの長期増強及び小脳依存的運動学習の消去学習への関与を示してきた。小脳平行線維シナプスでは長期抑圧（LTD）が小脳依存的運動学習の記銘過程の細胞レベルでの基盤とされているが，シナプスの可塑的変化の「長期化」のメカニズムには不明な点が少なくない。そこで我々は，活性酸素シグナル系分子の安定性に着目し小脳 LTD への関与について調べた。本発表では，この活性酸素シグナル系の小脳 LTD への関与について，電気生理学・薬理学・イメージング法を用いた研究成果を紹介した。

（10）興奮性・抑制性シナプス伝達物質小胞再充填

○高橋智幸（沖縄科学技術大学院大学）

脳のはたらきは，神経回路を伝播する活動電位によってもたらされ，神経回路のダイナミックな開閉はシナプス伝達強度の増減によって決定される。シナプス伝達強度は，シナプス小胞のリサイクリング再利用によって維持されており，再利用に要する時間は，興奮性シナプスで 30-40 秒（室温）と推定されている。小胞への伝達物質再充填は，きわめて速いため小胞再利用は，エンドサイトーシスによって律速されるとの考えが行きわたっており，この観点から，高速エンドサイトーシス(eg, K&R, UFE)の存在が脚光を浴びている。一方，単離小胞分画への伝達物質の充填には glutamate, GABA 共，5-10 分を要することが長年，知られている。伝達物質は神経末端細胞内に数 mM 常在しており，エンドサイトーシス後，小胞は神経末端内の伝達物質を取り込んで 10 倍以上に濃縮してから再利用される。スライスの実験で，神経末端内の伝達物質をホールセルピペット内液で洗い流すと，小胞内への伝達物質再充填が行われず，既に充填されている小胞の伝達物質もリークして失われるため，シナプス応答が刺激回数と時間に依存して減弱する。一方，末端内にピペット内から高濃度の伝達物質を負荷すると，シナプス応答が通常レベルを越えて増強することから，末端内と小胞内の伝達物質濃度間には動的均衡が保たれており，通常，開口放出される小胞内伝達物質によって後シナプス受容体は飽和していないと推定される（1）。この特性を利用して，興奮性，抑制性シナプスにおける伝達物質の小胞充填時間を直接測定したところ，室温で，グルタミン酸の充填時定数は 15 秒(2)，GABA の充填時定数は 80 秒(3)，Q_{10} は共に 2.5 であった。抑制性シナプスにおける小胞再利用時間を知るために，高頻度刺激(10, 50 Hz)によってシナプス応答を減弱させ，低頻度刺激（0.1 Hz）に戻して，応答の回復時間を測定したところ，回復時定数は，GABA の再充填時定数とほぼ一致した。さらに，前シナプス内に 1-10 mM の GABA を負荷して回復時間を測定すると，GABA の小胞再充填時定数とほぼ一致する濃度依存性が認められた(3)。抑制性シナプス前末端では，伝達物質の小胞再充填ステップが小胞の再利用を律速すると結論された。

(1) Ishikawa T, Sahara Y, Takahashi T (2002) A single packet of transmitter does not saturate postsynaptic glutamate receptors. Neuron 34, 613-621.
(2) Hori T, Takahashi T (2012) Kinetics of synaptic vesicle refilling with neurotransmitter glutamate. Neuron 76, 511-517.
(3) Yamashita M, Kawaguchi S, Hori T, Takahashi T (2018) Vesicular GABA uptake can be rate limiting for recovery of IPSCs from synaptic depression. Cell Rep 22, 3134-3141.

（11）「シンギュラリティ生物学」概説

○永井健治（大阪大学産業科学研究所生体分子機能科学）

ビッグバンのように無から有が創出される特異点や，人工知能がヒトの知能を凌駕する技術的特異点はシンギュラリティと呼ばれている。有機スープからの生命誕生，進化，感染爆発など生物科学においても，不連続なシンギュラリティ現象は広く存在している。ここでは極めて稀にしか起こらない少数要素のイベントが核となり，多要素システム全体の働きに不連続な変化をもたらす可能性が示唆されているものの，シンギュラリティ現象が生起される作用機序はほとんど明らかにされていない。本研究会では，生命現象におけるシンギュラリティにアプローチするため，どのような研究手法や科学的思考が必要かについて，本年度発足した文部科学省科学研究費助成事業新学術領域研究「シンギュラリティ生物学」（2018 年度−2022 年度）の取り組みを中心に概説した。

（12）実空間や情報空間の「形」を観る方法の開発

○中村直俊（京都大学大学院医学研究科ゲノム医学センター統計遺伝学）

多様性を示す様々なサンプル間の差異の程度とその支配要因を調べることは，生命科学にとって重要な課題である。私たちは，サンプルを実空間または情報空間の中の「形」としてとらえ，形の差を定量化することによってサンプル間の多様性を可視化する方法を開発している。本発表では，マルチカラーFACS サンプルの多様性の解析，細胞の 3 次元の運動軌跡の解析を題材に，開発手法の適用可能性を議論する。

マルチカラーFACS サンプルについては，データ分布の特性を反映した距離を導入することで，サンプル間のデータ分布の異同を定量し，多次元尺度構成法によって表現型を可視化することができる（LAVENDER 法）。滋賀県長浜市の 301 人から得られた，季節性インフルエンザワクチン投与前後の末梢血リンパ球の FACS データにこの方法を適用したところ，時間経過に伴う免疫状態の変化の軸（時間軸）と，個人差による免疫状態の違いの軸（個人軸）を分離同定することができた。異なる日のサンプル間で，個人軸の値には明確な正の相関があり，この個人軸が，ワクチン接種によってあまり変化しない，ベースラインの免疫状態を表現していることが示唆された。さらに，臨床検査データやトランスクリプトームデータとの比較によって，この軸が好中球数/リンパ球数比の大小とよく相関することも明らかとなった。

同様の手法を免疫細胞の 3 次元の運動解析に適用することで，組織中の細胞の不均一性についての議論を行うことができる。発表時間の許す範囲で，このトピックについても触れた。

（13）Data-driven systems neuroscience by CUBIC-Cloud

○真野智之 [1,2]，上田泰己 [2,3,4]
([1] 東京大学大学院情報理工学系研究科システム情報学,
[2] 東京大学ニューロインテリジェンス国際研究機構(WPI-IRCN),
[3] 東京大学大学院医学系研究科システムズ薬理学,
[4] 理化学研究所生命機能科学研究センター)

Whole-brain analysis empowered by tissue clearing methods has transformed the landscape of neuroscience by offering data-driven approaches to systematically identify responsible cells. In the first part, we presented our recent work on the construction of the single-cell-resolution mouse brain atlas (CUBIC-Atlas). High-resolution light sheet fluorescence microscopy (LSFM) combined with tissue expansion enabled us to perform whole brain sub-cellular resolution imaging, from which tens of millions of cells were digitally identified and reconstructed. Based on this novel technique, we proposed a new approach to describe a whole tissue as an ensemble of cell points, or point cloud. Because cell is the basic unit of living system, point cloud is a biologically natural and minimum representation of the whole tissue, as opposed to conventional raster representation. To further extend this scheme, we have recently built CUBIC-Cloud, an open-source computational framework to analyze, visualize and share whole brain data assembled as a point cloud. CUBIC-Cloud offers a unified and seamless analysis pipeline to detect cells, perform registration and systematically search for biologically significant traits from whole brain data. CUBIC-Cloud also offers a web browser-based software to visualize and interact with whole brain data, and publish the data for the global research community as a micro-scale cloud database. Finally, we demonstrated the capability of CUBIC-Cloud by (1) profiling cellular distribution with cell-type specific markers, (2) investigating neuronal activity change using c-Fos marker under external perturbation and (3) analyzing the brain-wide projection using viral tracers.

（14）G 蛋白質制御内向き整流性 K^+(Kir)チャネル作用薬の“論理的”設計

○稲野辺　厚，倉智嘉久（大阪大学大学院医学系研究科分子・細胞薬理学）

G 蛋白質制御 Kir チャネルは，興奮性細胞の電気的活動を抑制性に制御する。近年，同ファミリーメンバー Kir3.2，Kir3.4 で生じた de novo，体細胞変異がそれぞれ Keppen-Lubinsky 症候群類似疾患, 原発性アルドステロン症を惹起することが報告されている。両変異アミノ酸はイオン選択性フィルター周辺に位置し，変異はチャネルのイオン選択性を低下させる。この分子病因の解決手段として，チャネル活性阻害薬が想定された。我々は以前 Kir3.2 阻害薬として静菌薬プロフラビンを同定した。本薬物は central cavity との相互作用を基盤とする従来型の阻害様式を示した。しかしながら，本薬物の部分構造の化学的性質は，チャネル阻害薬の探索には，知識ベースの情報科学的アプローチで十分であることを示唆した。同領域と薬物との結合特異性は低い。そのため，高い特異性を示す化合物の特定には，従来とは異なる手法が必要だった。我々は，高分解能で取得した Kir3.2 の部分構造中に非蛋白質性電子密度を見出した。その形に基づいて特定したモデル化合物はチャネル活性を阻害した。これらを踏まえて，電子密度の周辺領域に結合する分子を *in silico* で検索し，1.2 万種の化合物ライブラリーから，チャネル活性を明瞭に修飾する低分子化合物を同定した。本発表では，この同定過程と特徴的な活性修飾様式について紹介した。

（15）小胞体内 Ca^{2+}濃度測定を利用した 1 型リアノジン受容体（RyR1）阻害薬探索システムの開発

○村山　尚（順天堂大学医学部薬理学教室）

1 型リアノジン受容体（RyR1）は骨格筋筋小胞体の Ca^{2+} 遊離チャネルで，その遺伝子変異は Ca^{2+}誘発性 Ca^{2+}遊離（CICR）を亢進して，悪性高熱症やセントラルコア病等の筋疾患を引き起こす。したがって，亢進した CICR を阻害する薬物はこれらの疾患の治療薬となり得る。現在，RyR1 阻害薬であるダントロレンが悪性高熱症治療薬として使用されているが，溶解性や副作用等の問題が多くセントラルコア病には適応がないため，新しい RyR1 阻害薬の開発が望まれている。われわれは，HEK293 細胞に疾患変異を有する RyR1 を発現させると，その CICR 活性に逆比例して小胞体内 Ca^{2+}濃度が低下することを見出した。これを利用して，蛍光 Ca^{2+}インジケータで小胞体内 Ca^{2+}濃度を測定する RyR1 阻害薬探索システムを開発した。既知化合物ライブラリ（1,535 化合物）を用いたスクリーニングにより，既存の RyR1 阻害薬であるダントロレンと新規の 3 化合物が同定された。このうち，キノロン系抗菌薬のオキソリン酸は心筋型サブタイプの RyR2 には作用せず，RyR1 特異的な阻害効果を有していた。本手法は小胞体内 Ca^{2+}濃度をモニターするため特異性が高く RyR1 阻害薬を効率的に探索することが可能であり，RyR1 関連筋疾患治療薬の開発を加速することが期待された。

（16）チャネル機能が見える：KcsA チャネルのイオン透過と新しい張力感受性モダリティ

岩本真幸，炭竈享司，浦久保博一，○老木成稔（福井大学医学部分子生理）

チャネルの分子レベルでの機能であるイオン選択透過性から膜内での機能発現について様々な研究がなされてきた。単一チャネル電流は一分子測定のパイオニアであるがその先には一イオン測定がある。実験的な測定はむつかしいが，分子動力学シミュレーションで計算機内にチャネル膜システムを構築し，高い時間・空間分解能で捉えることが行われてきた。膨大な計算がなされてきたが，私達は event-oriented 解析法という新しい見方を導入することにより，イオン透過過程の未解決問題を解決した。一方，実験的には可視化という言葉には何らかのプローブの使用を前提としているように思える。しかし新しいプローブを導入しなくてもシステム自体をプローブとすることができる。ここでは膜の物性が目に見える形で表現されており，これを表面化学の原理で“読み解く”ことによってチャネルに負荷されている膜張力を測定する方法について説明し，それによって明らかになった新しいチャネルのモダリティについて紹介した。

２．生体コモンスペース研究会

2018 年 7 月 12 日－7 月 13 日

代表・世話人：高井まどか（東京大学大学院工学系研究科 バイオエンジニアリング専攻）

所内対応者：久保義弘（生理学研究所 神経機能素子研究部門）

（１）材料界面における親水性高分子鎖の構造とバクテリア接着

○高井まどか，野口　礼，陸　州

（東京大学大学院工学系研究科バイオエンジニアリング専攻）

（２）細胞が分泌する電子の定量的評価

石木健吾，齋藤真希，○椎木　弘

（大阪府立大学 大学院工学研究科応用化学分野 分子認識化学研究グループ）

（３）ダイヤモンド電極の機能化と電気化学検出への応用

○近藤剛史（東京理科大学理工学部先端化学科）

（４）胃酸分泌細胞の頂端膜間微小スペースの構造および構成分子の解明

○藤井拓人[1]，高橋康史[2]，周　縁殊[2]，清水貴浩[1]，永森收志[3]，酒井秀紀[1]

（[1]富山大学大学院医学薬学研究部（薬学）　薬物生理学，

[2]金沢大学理工研究域 電子情報学系

[3]奈良県立医科大学生体分子不均衡制御学共同研究講座）

（５）高速走査型イオンコンダクタンス顕微鏡を用いた膜透過性ペプチドによる細胞膜ダイナミクスの解明

○井田大貴[1]，高橋康史[2,3]，村山　知[4]，熊谷明哉[1,5]，珠玖　仁[6]，

福間剛士[2]，二木史朗[4]，末永智一[1,5]

（[1]東北大学大学院環境科学研究科，[2]金沢大学ナノ生命科学研究所，[3]JST さきがけ，

[4]京都大学化学研究所，[5]東北大学材料科学高等研究所，[6]東北大学大学院工学研究科）

（６）膜貫通ペプチドのスクランブラーゼ活性に対する中央残基の親水性度と疎水性配列長の影響の評価

○中尾裕之[1]，中尾千尋[1]，池田恵介[1]，齋藤大明[2]，長尾秀実[3]，中野　実[1]

（[1]富山大学大学院医学薬学研究部生体界面化学研究室，

[2]理化学研究所生命システム研究センター計算分子設計研究グループ，

[3]金沢大学大学院自然科学研究科計算バイオ科学研究室）

（７）動きベクトル解析によるヒト iPS 細胞由来心筋細胞のモーションイメージング

○黒川洵子，山口賢彦，坂本多穂（静岡県立大学薬学部生体情報分子解析学分野）

（８）腎有機カチオントランスポーターOCT2 の機能バイオマーカー候補としての内因性基質探索

○三宅健之[1]，水野忠快[1]，望月達貴[1]，木村美由紀[2]，松木俊二[2]，

入江　伸[2]，家入一郎[3]，前田和哉[1]，楠原洋之[1]

（[1]東京大学大学院 薬学系研究科 分子薬物動態学教室，

[2]医療法人相生会 福岡みらい病院 臨床研究センター，

[3]九州大学大学院 薬学府 薬物動態学分野）

（９）ジャイアントリポソームを用いた RNA 検出系

津金麻実子[1,2]，○鈴木宏明[1]

（[1]中央大学理工学部精密機械工学科，[2]日本学術振興会）

（10）Nanofluidics for NanoBioChem Integration at Femtoliter, Attoliter, and Single-Molecule Scales

○許　岩（XU Yan）（大阪府立大学大学院工学研究科 物質・化学系専攻 化学工学分野）

（11）固液界面の構造評価と機能制御　- エネルギー変換とソフト界面を意識して -

○魚崎浩平（国立研究開発法人 物質・材料研究機構）

（12）マイクロ流路内のイオン輸送に関する局所電場計測

○土井謙太郎，浅野直暉，二戸郁賀，川野聡恭

（大阪大学大学院基礎工学研究科機能創成専攻）

（13）イオン濃度と静止膜電位に関する理論的研究体

川口一朋，○長尾秀実（金沢大学理工研究域数物科学系）

（14）再構成チャネル—膜系からコモンスペースを考える

岩本真幸，○老木成稔（福井大学・学術研究院医学系部門・分子生理学領域）

（15）日本人型シスチン尿症の治療を目指した基礎研究

○Pattama Wiriyasermkul，永森收志（奈良県立医科大学・生体分子不均衡制御学共同研究講座）

（16）改良型レーザ干渉法による内耳ナノ振動計測と分析

○太田　岳[1,2]，崔　森悦[2,3]，任　書晃[1,2]，日比野　浩[1,2]

（[1]新潟大学大学院医歯学総合研究科分子生理学分野，

[2]AMED-CREST AMED，[3]新潟大学工学部工学科）

（17）次世代型糖鎖抗体の作成と生体コモンスペース研究への応用

○三善英知，鎌田佳宏（大阪大学大学院医学系研究科 機能診断科学講座）

【参加者名】

高井まどか（東京大学），魚崎浩平（国立研究開発法人・物質・材料研究機構），三善英知（大阪大学），椎木　弘（大阪府立大学），齊藤真希（大阪府立大学），珠玖　仁（東北大学），井田大貴（東北大学），高橋康史（金沢大学），周　縁殊（金沢大学），宮本貴史（金沢大学），東　宏樹（金沢大学），檜山武史（基礎生物学研究所），許　岩（大阪府立大学），日比野浩（新潟大学），任　書晃（新潟大学），緒方元気（新潟大学），太田　岳（新潟大学），澤村晴志朗（新潟大学），近藤剛史（東京理科大学），東條敏史（東京理科大学），松永智広（東京理科大学），小倉一真（東京理科大学），鈴木美咲（東京理科大学），黒川洵子（静岡県立大学），山口賢彦（静岡県立大学），坂本多穂（静岡県立大学），前田和哉（東京大学），三宅健之（東京大学），中尾裕之（富山大学），老木成稔（福井大学），岩本真幸（福井大学），矢野啓太（福井大学），鈴木宏明（中央大学），永森收志（奈良県立医科大学），Wiriyasermkul Pattama（奈良県立医科大学），土井謙太郎（大阪大学），酒井秀紀（富山大学），藤井拓人（富山大学），伊藤雅方（東邦大学），村上慎吾（中央大学），長尾秀実（金沢大学），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），Andriani Rizki Tsari（生理学研究所），平澤輝一（生理学研究所），Liu Chang（生理学研究所）

【概要】

脳や心臓をはじめとしたヒトのそれぞれの臓器は，多様な細胞集団から成り立つ。個々の集団は，働きの異なる細胞同士のコミュニケーションにより正常に機能する。生命活動に不可欠なこの交信は，イオンや小分子・ペプチドなどの生理活性物質が，複数の細胞に取り囲まれる細胞外空間，すなわち「コモンスペース」を満たす水溶液中を行き来することによる。しかし，コモンスペースは，サブマイクロからナノレベルと間隔が微小であり，形状も複雑なため，その中の物質動態や構造，さらに両者の相関の理解は不十分である。よって，この微小空間と細胞集団・臓器の活動との関連にも未だ不明な点が多い。以上の課題の解決には，最先端の理工学技術に基づいてこの微小場を標的にした計測方法を開発し，生きた試料に活用する必要がある。本研究会では，このような先端技術を開発・活用して生体界面を観測する理工学者，独自のモデルを用いて生体界面の現象を in vivo, in vitro や in silico で解析する理工学・理論科学・生物学者，そしてこれらの科学者と協働して生体界面を研究する

医・生物・薬学者を集めて議論する。またこの研究会をきっかけとして共同研究を実施し「コモンスペース」の構造や動態を明らかにしていき，世界初の学際領域を開拓する。

（1）材料界面における親水性高分子鎖の構造とバクテリア接着

○高井まどか，野口　礼，陸　州
（東京大学大学院工学系研究科バイオエンジニアリング専攻）

医療の分野において，埋込型デバイスの感染を防ぐことは重要な課題である。水周り設備においても，表面に防汚性を付与することが材料の長期安定性を付加する上で必須となっている。タンパク質や細胞，バクテリアという生体物質の付着を防ぐ表面は，親水的かつ中性電荷を有することが知られている。本研究では，双性イオン型ポリマーを親水基として有するブロック型のリン脂質ポリマーを開発し，ポリマーで修飾した表面は大気中でも水中でも高い親水性を示すよう設計した。リン脂質ポリマーの親水性セグメントとシランカップリング基を含む疎水性セグメントをブロック化した構造に特徴がある。親水基のポリマー鎖長の異なる 3 種のブロックコポリマーを合成し，そのポリマー修飾表面物性，タンパク質やバクテリアの防汚性および修飾したポリマー膜の耐久性を評価した。親水性の高分子鎖長が長いブロックコポリマーで被覆した表面ではタンパク質およびバクテリアの接着が効果的に抑制された。また，バクテリアの接着は，高分子の形態だけでなく培養液の対流，さらには栄養素という因子に大きく左右されることが分かった。

（2）細胞が分泌する電子の定量的評価

石木健吾，齋藤真希，○椎木　弘
（大阪府立大学 大学院工学研究科応用化学分野 分子認識化学研究グループ）

シトクロム *c* は酸化還元酵素であり，生体内の電子伝達において重要な役割を果たしている。金属還元細菌 *Shewanella oneidensis* は，細胞膜に多数のシトクロム *c*（CymA や MtrA など）を配置し，独自の電子伝達経路を有する。そのため，有機物を消費して生じた電子を細胞膜外に存在する電子受容体に供給することができる。電子受容体として金属イオンを用いると，細胞表面に金属ナノ粒子が生成する。このため，環境浄化や金属回収，微生物燃料電池などに有用であり，最も注目される微生物資源の一つである。*S. oneidensis* の金属イオン還元反応は，金属種とシトクロム *c* の標準電極電位で決定されるだけでなく，生菌率や代謝活性，周囲環境などにも強く依存する。このことから，単一細胞の金属イオン還元能の定性および定量的な評価は，微生物資源を有効利用する上で重要な指標となる。本研究では，単一細胞における金属ナノ粒子生成過程を追跡し，金属イオン還元能の定性的な評価を行った。金属イオンの還元に伴い溶液の電位が変化することに着目し，単一細胞の分泌する電子の定量的な評価を行った。

（3）ダイヤモンド電極の機能化と電気化学検出への応用

○近藤剛史（東京理科大学理工学部先端化学科）

導電性ボロンドープダイヤモンド（BDD）電極は，物理的・化学的に極めて安定，生体親和性に優れる，広い電位窓を示す，バックグラウンド電流が小さいといった優れた特性を有するため，高感度電気化学分析に適した電極材料として知られている。一方，ダイヤモンド表面はプラズマ処理や化学的・光化学的手法により表面改質・修飾が可能であり，目的に特化した機能性を付与することができる。本研究では，SF_6 プラズマ処理による BDD 表面のフッ素化および電子線グラフト重合法を用いた BDD 表面への機能性分子の導入を検討した。SF_6 プラズマ処理により作製したフッ素終端 BDD 電極表面は，100°以上の接触角を示す疎水性であった。+1.5 V vs. Ag/AgCl などの高電位でも水の電気分解による酸素発生が起きにくく，有機物の定電位電解検出に有用であることがわかった。電子線グラフト重合法では，電子線照射により生成した BDD 表面上のラジカルとビニルフェロセンとの反応による，C-C 共有結合を介した単分子層形成が示唆された。本方法では，あらゆるビニル化合物をモノマーとして幅広く利用できるため，様々な末端官能基を有する修飾表面の創製に有用であると期待される。

（4）胃酸分泌細胞の頂端膜間微小スペースの構造および構成分子の解明

○藤井拓人 [1]，高橋康史 [2]，周　縁殊 [2]，清水貴浩 [1]，永森收志 [3]，酒井秀紀 [1]
（[1] 富山大学大学院医学薬学研究部（薬学）薬物生理学，[2] 金沢大学理工研究域 電子情報学系
[3] 奈良県立医科大学生体分子不均衡制御学共同研究講座）

胃酸分泌細胞は，酸分泌刺激により細胞内の細管小胞が互いに融合し頂端膜につながることで，管腔側の表面形状が劇的に変化する。また，頂端膜と細管小胞では，胃プロトンポンプ（H^+,K^+-ATPase）と共役する機能分子（Cl^- 輸送体，K^+輸送体，ポンプ調節分子）がそれぞれ異なっており，両膜のダイナミクスにより形成される管腔側の微小スペースの構造や構成分子は非常に複雑である。我々は，ラット胃から胃酸分泌細胞を単離し，H^+,K^+-ATPase 分子が管腔側の外液に露出した初代培養細胞を構築した。pH 感受性色素 BCECF を用いた管腔側溶液の pH イメージングにより，作製した細胞の頂端膜表面が酸性化されており，この酸性化が酸分泌刺激剤で亢進，H^+,K^+-ATPase 阻害剤で抑制されることを明らかにした。また，走査型イオンコンダクタンス顕微鏡（SICM）を用いた微小スペースの構造解析を行い，酸分泌刺激時の頂端膜表面が，非刺激時に比べてより大きな凹凸構造（μm レベルの陥入構造）を呈することを可視化した。従って，この細胞は，酸分泌刺激に応じた頂端膜間微小スペースの構造変化能および酸分泌調節機能を保持していることが示唆された。さらに，頂端膜間微小スペースの構成分子としてモルフォゲンである Sonic hedgehog（Shh）を新たに見出し，Shh が H^+,K^+-ATPase 活性を負に制御することを明らかにした。

（5）高速走査型イオンコンダクタンス顕微鏡を用いた膜透過性ペプチドによる細胞膜ダイナミクスの解明

○井田大貴[1]，高橋康史[2,3]，村山　知[4]，熊谷明哉[1,5]，
珠玖　仁[6]，福間剛士[2]，二木史朗[4]，末永智一[1,5]
（[1]東北大学大学院環境科学研究科，[2]金沢大学ナノ生命科学研究所，[3]JST さきがけ，
[4]京都大学化学研究所，[5]東北大学材料科学高等研究所，[6]東北大学大学院工学研究科）

HIV 由来の TAT ペプチドやオクタアルギニンペプチドなどの側鎖にアルギニンを多く含む膜透過性ペプチドは，不透過性分子を細胞内に高効率で導入できるツールとして利用されている。膜透過性ペプチドの取り込みには，小さなブレブ形成を伴う直接的な細胞膜透過や局所的な膜曲率変化による膜透過の促進など，微小領域での膜形状変化との関係が示されているが，ペプチドの取り込みをリアルタイムに観察しながら，流入点のナノスケール形状変化とリンクできる手法が存在しなかった。

我々は，非侵襲で形状測定可能な高速走査型イオンコンダクタンス顕微鏡（SICM）を用い，膜透過性ペプチドの取り込みを促進する試薬の添加による細胞膜のリモデリングと脂質のパッキングの緩みを観察した。また，R8 の流入点でも脂質のパッキングの緩みを観察し，細胞膜脂質の緩みが膜透過性ペプチドの取り込みに寄与することを明らかにした。続いて，高速 SICM と共焦点レーザー顕微鏡を融合し，膜界面での標識ペプチド動態と，細胞内への取り込みに起因する形態変化の同時観察を可能にした。本システムにより，マクロピノサイトーシスによるペプチド取り込みや，膜透過性ペプチドの流入点で形成されるコブを可視化し，ペプチドの内在化の機構の解明に迫る知見を獲得した。

（6）膜貫通ペプチドのスクランブラーゼ活性に対する中央残基の親水性度と疎水性配列長の影響の評価

○中尾裕之[1]，中尾千尋[1]，池田恵介[1]，齋藤大明[2]，長尾秀実[3]，中野　実[1]
（[1]富山大学大学院医学薬学研究部生体界面化学研究室，
[2]理化学研究所生命システム研究センター計算分子設計研究グループ，
[3]金沢大学大学院自然科学研究科計算バイオ科学研究室）

生体膜において，リン脂質のフリップフロップ（二層間の移動）は，各オルガネラ膜で様々な速度に制御され，シグナル伝達や膜のホメオスタシスに寄与している。しかし，フリップフロップを双方向に促進するタンパク質（スクランブラーゼ）は，細胞膜において数分子が同定されているのみであり，そのスクランブリング機構も未だ不明である。今回，我々は膜タンパク質の膜貫通領域に着目し，配列中央の残基や疎水性配列の長さを様々に変えたモデル膜貫通ペプチドを合成した。これらのペプチドのスクランブラーゼ活性を評価することで，フリップフロップを促進する因子の解明を試みた。中央残基の親水性度が高くなるにつれて，ペプチドのスクランブラーゼ活性は上昇した。また，疎水性配列長が 17 残基のペプチドでは高い活性が見られたのに対して，21，25 残基のペプチドはフリップフロップを促進しなかったことから，ペプチドの長さが膜厚よりも短い negative mismatch の場合にフリップフロップが促進されることが示唆された。興味深いことに，疎水性配列長が 19 残基のペプチドは，mismatch がないにもかかわらず，フリップフロップを促進するとともに膜透過性を亢進させた。MD シミュレーションから，19 残基のペプチドでは，両末端の Lys 残基と中央の Gln 残基がヘリックスの同じ側に位置することが示された。親水性アミノ酸残基がヘリックスの同じ側に位置することで，特徴的な活性が見られたのではないかと推察される。

（7）動きベクトル解析によるヒト iPS 細胞由来心筋細胞のモーションイメージング

○黒川洵子，山口賢彦，坂本多穂（静岡県立大学薬学部生体情報分子解析学分野）

ヒト iPS 細胞由来心筋細胞は，心毒性評価への創薬応用が検討されている。評価対象には心室性不整脈および心機能低下（心不全）があり，いずれも深刻な有害事象である。不整脈毒性の評価系は細胞外電位記録に収束してきたが，収縮機能を解析する実験系は確立されていない。我々は，これまでに，拍動心筋表面の超高速ビデオカメラ画像から動きベクトルを計算し，ヒト iPS 細胞由来心筋細胞の収縮特性を解析するというモーションイメージング法を開発した。本法では，非侵襲的に in vitro でハイスループットに収縮速度と弛緩速度を分けて解析できる。マウス心臓から急性単離した心筋細胞およびヒト iPS 細胞由来心筋細胞（iCell-CM, CDIJ）から得られた動画解析は，SI8000 Sony セル動作画像システム（Sony Corporation）を用いて行った。動きベクトルの波形の差から，心臓組織の違いによる薬理学的作用の違いが見られた。以上より，今回，細胞表面の動きベクトル解析から細胞特性を予測することに成功した。心筋収縮に対する薬物評価システムの基盤となる結果が得られた。

（8）腎有機カチオントランスポーターOCT2 の機能バイオマーカー候補としての内因性基質探索

○三宅健之 [1]，水野忠快 [1]，望月達貴 [1]，木村美由紀 [2]，松木俊二 [2]，
入江　伸 [2]，家入一郎 [3]，前田和哉 [1]，楠原洋之 [1]
（[1] 東京大学大学院 薬学系研究科 分子薬物動態学教室，
[2] 医療法人相生会 福岡みらい病院 臨床研究センター，
[3] 九州大学大学院 薬学府 薬物動態学分野）

トランスポーターの機能変動により，薬物応答性および副作用の発現リスクは変動し得る。その主因である薬物間相互作用の発生リスクは，トランスポーターが生体内で輸送している一部の内在性代謝物を機能プローブとして利用することで，プローブ薬物を投与することなく，より早期にヒト in vivo で予測・評価できる可能性がある。我々は，カルニチンやコリン等の栄養素の最終代謝物である Trimethylamine N-oxide を腎有機カチオントランスポーターOCT2 の新規内在性基質として同定した（Miyake T et al., 2017）。また最近，N1-methyladenosine とよばれる修飾核酸の血漿中濃度がヒト OCT2 の遺伝子多型と相関することが明らかとなった（Yee SW et al., 2016）。これらの化合物について，OCT2 機能プローブとしての有用性を検討するため，まず健常人 15 名より血液・尿検体を収集し，両化合物の血漿中濃度の個人間・日内変動や，腎クリアランスに対する尿細管分泌の寄与を評価した。また，OCT2 の安定発現細胞を用いた取り込み試験，ならびに野生型マウスおよび Oct1/2 ダブルノックアウトマウスを用いた in vivo 静脈内投与試験を行い，両化合物の尿細管分泌において OCT2 が主要な役割を担うことを実験動物レベルで確認した。

（9）ジャイアントリポソームを用いた RNA 検出系

津金麻実子 [1,2]，○鈴木宏明 [1]
（[1] 中央大学理工学部精密機械工学科，[2] 日本学術振興会）

細胞膜と同じリン脂質より調製した人工脂質膜小胞であるジャイアントユニラメラベシクル（GUV）内で RT-PCR による RNA の検出を検討した。

TaqMan プローブ法で遺伝子増幅を検出する市販の RT-PCR キットと細胞から抽出した total RNA および合成 mRNA を用いて RT-PCR 反応液を調製し，この反応液を内封する GUV を W/O エマルション界面通過法により作製した。GUV をリアルタイム PCR 装置で RT-PCR を行い，目的遺伝子の増幅は TaqMan プローブの蛍光物質（FAM）に由来する GUV 内の蛍光強度を検出することで確認した（図 1）。

RT-PCR による温度昇降サイクル後，共焦点レーザー顕微鏡により内部で FAM の蛍光強度が増大した GUV が観察された。フローサイトメーターによる解析では，直径 5-10 μm の GUV 内に mRNA が 10～100 コピー内封されていれば検出可能であった。

また，GUV は同じ膜構造を有する細胞などとの融合により，検出対象物質を直接 GUV 内に回収できる可能性がある。そこで，RT-PCR 酵素または total RNA を含む RT-PCR 反応液内封 GUV を調製し，この 2 種類の GUV を電気融合させた。その後，RT-PCR を行ったところ，蛍光顕微鏡により GUV 内で FAM が検出できた。

以上のことから，GUV は RT-PCR による RNA 検出において有用なバイオリアクターであることが示唆された。

（1） M. Tsugane and H. Suzuki, Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction in Giant Unilamellar Vesicles, Scientific Reports, 8, 9214, 2018.

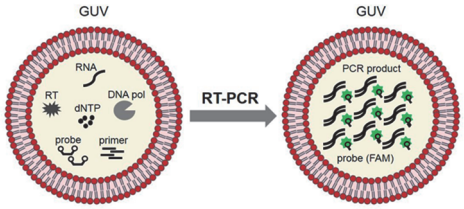


図 1 GUV 内 RT-PCR 法の模式図(1)

（10）Nanofluidics for NanoBioChem Integration at Femtoliter, Attoliter, and Single-Molecule Scales

○許　岩（XU Yan）
（大阪府立大学大学院工学研究科 物質・化学系専攻 化学工学分野）

A significant growth of research in nanofluidics is achieved over the past decade, but the field is still facing considerable challenges toward the transition from the current physics-centered stage to the next application-oriented stage. To conquer these challenges, we established a technology called nano-in-nano integration, which allows the integration of a variety of functional (eg., fluidic, electrical, optical, thermal, magnetic, chemical and biological) components in tiny nanofluidic channels. The nano-in-nano integration technology opens up a new arena to exploit chemistry, biology, materials science, and process engineering at femtoliter, attoliter, single-nanoparticle, and single-molecule scales through nanofluidics.

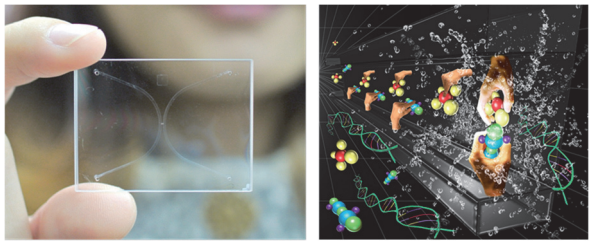


Figure 1. Nano-in-Nano integration allows the use of nanofluidic devices (left) to exploit chemistry, biology, and materials science at femtoliter, attoliter, and single molecule scales (right).

（11）固液界面の構造評価と機能制御
ー エネルギー変換とソフト界面を意識して ー

○魚崎浩平（国立研究開発法人 物質・材料研究機構）

化学反応の多くは物質の表面や界面で起こる。特に，固液界面では電極反応，腐食，結晶成長さらに生体反応といった基礎，応用の両面で重要なプロセスが起こっており，古くから注目されていた。また，多くの材料の特性は表面の分子構造に大きく影響され，しかも接触する環境によってもダイナミックに変化する。したがって，界面における反応の機構や界面特性を理解するためには，その場，実時間での界面幾何・電子・分子構造の決定が不可欠である。しかしこれは，測定対象となる表面における原子・分子の絶対数が極めて少なく（10^{15} 個/cm^2 以下）固体，液体のバルクに大量に存在する原子・分子の妨害を受けること，また超真空(UHV)下での表面構造決定に有効な電子線をプローブとする計測技術が反応気体中や溶液中などでは利用できないことから，非常に困難である。

われわれは表界面選択的な手法である走査プローブ顕微鏡，放射光を用いる表面Ｘ線散乱・Ｘ線吸収微細構造，非線形分光法などを駆使し，電気化学的エネルギー変換反応に関わる固液界面構造を原子，分子レベルで決定し，機構解明さらには反応の高効率化につなげるとともに，生体を初めとするソフト界面の構造決定，特に界面の反応性，機能発現において大きな役割を果たす事が知られている界面の水の構造決定を行い，界面水の役割についての知見を得た。

文献：魚崎浩平，*応用物理*，**82**(2012)104.

（12）マイクロ流路内のイオン輸送に関する局所電場計測

○土井謙太郎，浅野直暉，二戸郁賀，川野聡恭
（大阪大学大学院基礎工学研究科機能創成専攻）

マイクロ流路内部の電場とイオン濃度場を明らかにすることは，イオン電流やそこに生じる流動場の制御性向上につながる。我々は，マイクロ流路を用いた物質輸送について，電気浸透流や電気流体力学流れによる速度制御を目指し，流路デバイスの開発と局所的な濃度場の計測を行ってきた。電気浸透流や電気流体力学流れは，いずれも流路内部で局所的な分極が生じる場に，外部より電場を印加することで流体が駆動される現象である。陰陽イオンの分離により，電荷担体の選択性を向上させることで流体に及ぼす外力に指向性を与えることが可能となる。流路壁面の帯電やイオン選択性を有する界面（イオン交換膜）を用いることで，固液界面における電気二重層を形成し，液中に分散するイオンが外部電場により指向性を持ったイオン電流を生成する。本研究では，流路内部の狭小部に電場を集中させ，微小ガラス電極を用いて流路狭小部の電気伝導度を計測することによりイオン濃度を解析した。電解質の種類や濃度依存性について，実験結果と理論値との一致を確認した。

（13）イオン濃度と静止膜電位に関する理論的研究体

川口一朋，○長尾秀実（金沢大学理工研究域数物科学系）

我々はこれまでに，1-palmitoyl-2-oreoil-phosphatidylcholine (POPC) 純粋膜および，1-palmitoyl-2-oreoil-phosphatidylserine (POPS) 純粋膜に対して，イオンによる構造，物性の変化について全原子分子動力学（MD）シミュレーションを用いて解析してきた。中性の phosphatidylcholine (PC) を頭部に持つ脂質に対して，-1 の電荷のある phosphatidylserine (PS) を

頭部に持つ脂質によって構成される脂質二重膜は，その物性が大きく変化する。例えば，DOPC 二重膜よりも DOPS 二重膜の方が膜厚は大きくなり，膜面積は小さくなることがわかっている。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ということもわかっている。DOPS の方が曲げ弾性率が高いことも明らかになっている。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ことがわかっている。

本研究では細胞内外でのイオン分布と膜電位の関係を明らかにすることを目的とし，理論および MD シミュレーションを用いて静止膜電位が生じている状況下での膜，水，イオン物性を解析した。静止膜電位が生じている状況下では，膜物性は，変化がないものの，膜界面付近での水分子の配向はわずかながら変化があることが分かった。

（14）再構成チャネル—膜系からコモンスペースを考える

岩本真幸，○老木成稔
（福井大学・学術研究院医学系部門・分子生理学領域）

生体膜はその化学的・物理的特性を変えてチャネル機能に影響を及ぼすが，その分子機構を捉えるには生体膜は複雑すぎる。私たちは人工的に脂質 2 重膜を構築しチャネルを埋め込むことで，生体膜を模倣したチャネル－膜系（再構成チャネル－膜系）を実験のプラットフォームとしている。膜の化学的・物理的環境を変化させチャネルにどのような影響を与えるかを単一分子レベルで解析することが目的である。まず膜形成とチャネル発現について説明し，さらにこのシステムで化学的・物理的操作を行う方法とその結果を紹介したい。脂質平面膜は最近になって water-in-oil 液滴法として大きな進歩を遂げた。私たちが開発した contact bubble bilayer（CBB）法は従来の方法の欠点を補い，低バックグラウンドノイズの測定ができるだけでなく，膜への力学的操作も可能である。このような膜系にチャネルを組み込むために，液滴内で in vitro 転写・翻訳を行い，翻訳されたチャネルが直ちに脂質 2 重膜に埋め込まれる系を開発した。翻訳されたチャネル蛋白質は大部分モノマーで膜界面に存在するが，転写・翻訳開始後 10 数分で一個目のチャネル機能が観察された。一方，CBB で膜張力を測定する方法を開発し，発現されたチャネルが膜張力により機能変化する新しい modality を明らかにした。

（15）日本人型シスチン尿症の治療を目指した基礎研究

○Pattama Wiriyasermkul，永森收志
（奈良県立医科大学・生体分子不均衡制御学共同研究講座）

遺伝性疾患であるシスチン尿症は，腎近位尿細管管腔側のヘテロ二量体型シスチントランスポーター，輸送体本体 $b^{0,+}$AT（SLC7A9）と補助因子 rBAT（SLC3A1）どちらかの変異によって生じる。トランスポーターの機能が失われることで，シスチン及び塩基性アミノ酸の再吸収不全が発生し，溶解度の低いシスチンが多発性結石を形成し，重篤な腎機能障害が惹起する。シスチン尿症の日本人患者の約８割が $b^{0,+}$AT の P482L 変異を保持しているが，この変異は日本人に特有であり，欧米ではほとんど報告されていない。この P482L 変異が $b^{0,+}$AT の機能消失を起こす原因は不明であった。我々は，P482L 変異型 $b^{0,+}$AT が基質結合活性を保持しているものの，輸送機能を欠失していることを明らかにし，さらに P482L を含む周辺配列のオリゴペプチド添加により，P482L 変異体の輸送機能が回復することを確認した。この結果は，遺伝性疾患である日本人型シスチン尿症の低・中分子化合物の投与による治療の可能性を示す。

（16）改良型レーザ干渉法による内耳ナノ振動計測と分析

○太田　岳[1,2]，崔　森悦[2,3]，任　書晃[1,2]，日比野　浩[1,2]
（[1]新潟大学大学院医歯学総合研究科分子生理学分野，
[2]AMED-CREST AMED，[3]新潟大学工学部工学科）

内耳蝸牛では，音刺激により，有毛細胞を含む感覚上皮帯にナノレベルの正弦波振動が生ずる。この物理的刺激は，有毛細胞の感覚毛にあるチャネルを介した内リンパ液からのイオン流入により，電気信号へ変換される。感覚上皮帯の振動振幅は，音が弱いほど増幅される。この非線形応答は，有毛細胞の感覚毛と細胞体の能動運動に依る。それ以外の上皮帯の動作は，方法論の限界により明らかでない。本研究では，この組織の振動が「中心の位置ずれ」を起こすこと，この事象が聴力に必須な有毛細胞の機能と共役することを示す。自作した改良型レーザ干渉計は，モルモットを音刺激した際，典型的な上皮帯の正弦波振動を検出した。同時に，振動の中心位置が内リンパ液側に移動した。この変位は，７０デシベル以上の音で約 6 nm まで増大したが，弱い刺激や動物の死後には同定できなかった。位置ずれは，細胞体，あるいは感覚毛の運動を阻害しても消失した。無音時のチャネルの開口確率は，感覚毛の運動に影響される。シミュレーションで，これを 0.5 から 0.2 にすると，上皮帯の位置ずれの実験値が再現された。この条件は，無刺激下の有毛細胞の膜電位を過分極させる。一方，音入力により膜電位は正弦的に振る舞うが，その中心点は位置ずれが増えるとともに徐々に脱分極する。以上より，上皮帯の非典型的な動き，すなわち位置ずれは，生体内で有毛細胞の興奮性のダイナミックレンジを広げている。

（17）次世代型糖鎖抗体の作成と生体コモンスペース研究への応用

○三善英知，鎌田佳宏
（大阪大学大学院医学系研究科 機能診断科学講座）

糖鎖はタンパク質翻訳後修飾に関わる重要な生体分子で，タンパク質の 50-60%に付加する。がん化に伴って糖鎖構造が変化するため，臨床的には腫瘍マーカーなどに応用されている。特異的な糖鎖を認識するプローベとしては，これまで種々のレクチンや糖鎖のみを認識する抗体（CA19-9 やシアリルルイス X など）が用いられてきた。数年前から私たちは，糖鎖とペプチドを同時に認識する抗体の作成に挑戦し，フコシル化ハプトグロビンや Mac-2binding protein（Mac-2bp）に対する新たな糖鎖抗体の作成に成功した。フコシル化ハプトグロビンに対する糖鎖抗体 10-7GmAb を用いた ELISA で測定すると，血中 10-7G 値は大腸がんの肝転移患者で上昇し，転移したがんの周囲の肝臓で強染色されたが，正常の肝臓では全く染色されなかった。一方，Mac-2bp に対する糖鎖抗体は，がん及びがん周囲のマクロファージにのみ強く染色された。肝臓の類洞やグリソン鞘，肝転移巣周囲の微小構造は，細胞間コミュニケーションを調整するコモンスペースと言える。これまでのレクチンでは解析できなかった種々の疑問を，次世代型糖鎖抗体は解決できる強力なツールとして期待される。

３．オルガネラ膜ナノドメインの機能と動態

2018 年 7 月 5 日－7 月 6 日

代表・世話人：清水重臣　（東京医科歯科大学難治疾患研究所）

所内対応者：深田正紀　（生理学研究所生体膜研究部門）

（１）ミトコンドリア・小胞体コンタクトサイトの数を制御するメカニズム

田村　康（山形大学理学部）

（２）細胞膜リン脂質の非対称的分布とフリッパーゼ

瀬川勝盛（大阪大学免疫学フロンティア研究センター）

（３）Dickkopf1-CKAP を介する新規がんシグナル経路による細胞増殖機構

菊池　章（大阪大学大学院医学系研究科）

（４）生細胞内 GPCR 動態の可視化と制御

小澤岳昌（東京大学大学院理学系研究科）

（５）生命現象の光操作技術の創出

佐藤守俊（東京大学大学院総合文化研究科）

（６）シナプスで機能するグルタミン酸受容体の可視化および活性制御

清中茂樹（京都大学大学院工学研究科）

（７）新規オートファジーにおけるトランスゴルジ膜の挙動

清水重臣（東京医科歯科大学難治疾患研究所）

（８）イノシトールリン脂質・PI(4)P の新しい生理機能：膜接触部位形成と脂質交換輸送制御

中津　史（新潟大学大学院医歯学総合研究科）

（９）膜電位感受性イノシトールリン脂質ホスファターゼの動作原理とその応用

岡村康司（大阪大学大学院医学系研究科）

（10）ユニークな脂肪酸組成をもつリン脂質分子種がつくる神経細胞膜機能ドメイン

本家孝一（高知大学教育研究部）

（11）自然免疫分子 STING の活性化機構と内在性阻害分子の同定

田口友彦（東北大学大学院生命科学研究科）

（12）Turn-ON 蛍光アフィニティーラベル化法

袖岡幹子（理化学研究所）

（13）ライブイメージングと最新化学に基づく新たながん医療技術の創製

浦野泰照（東京大学大学院医学系研究科）

【参加者名】

田村　康（山形大学），瀬川勝盛（大阪大学），菊池　章（大阪大学），小澤岳昌（東京大学），佐藤守俊（東京大学），清中茂樹（京都大学），清水重臣（東京医科歯科大学），中津　史（新潟大学），岡村康司（大阪大学），本家孝一（高知大学），田口友彦（東北大学大学院），袖岡幹子（理化学研究所），浦野泰照（東京大学），深田正紀（生理学研究所），深田優子（生理学研究所），横井紀彦（生理学研究所），平田哲也（生理学研究所），稲橋宏樹（生理学研究所），宮崎裕理（生理学研究所），平野瑶子（生理学研究所），平澤輝一（生理学研究所），桜井　一（東京医科歯科大学），荒川聡子（東京医科歯科大学），仁部洋一（東京医科歯科大学），安藤嘉倫（分子学研究所），谷中綾子（基礎生物学研究所），本田怜奈（分子学研究所），神垣あかね（基礎生物学研究所），法月拓也（基礎生物学研究所），毛利達磨（生理学研究所），泉　裕士（生理学研究所），河合寿子（基礎生物

学研究所），曽我部隆彰（生理学研究所），青木一洋（ExCELLS），野中茂紀（基礎生物学研究所），東島眞一（ExCELLS），柴田明裕（生理学研究所），宍戸恵美子（生理学研究所）

【概要】

近年, ミトコンドリアや小胞体などのオルガネラ膜上に複数の膜ナノドメイン（限局された機能領域）が存在していること，これらの膜ナノドメインを介して，細胞死，カルシウム制御, 脂質代謝など重要な細胞機能が実行されていることが明らかにされつつある。一方で，膜ナノドメインの実態（構造，形成機構，動態）はほとんど明らかにされておらず, これを明らかにすることによってオルガネラの理解にパラダイムシフトをもたらすことができる。

そこで本研究会では, 種々のオルガネラ膜ナノドメインの研究者と, これを解析するためのケミカルバイオロジー／イメージング技術を有する研究者を集め, 最新の研究成果を発表して頂く。さらに，膜ナノドメインの実態を明らかにするための熟した議論を行う。これにより，オルガネラ膜ナノドメインの実態解明の新展開を模索したい。

（1）ミトコンドリア・小胞体コンタクトサイトの数を制御するメカニズム

田村　康（山形大学理学部）

出芽酵母のミトコンドリアと小胞体は，ERMES（ER-Mitochondria Encounter Structure）複合体を介して直接結合することがわかっている。さらに最近の研究により，ERMES 複合体は, 自身が形成するミトコンドリア・小胞体間コンタクトサイトにおいて，リン脂質の輸送を直接仲介し，リン脂質生合成に重要な役割を果たすことが明らかとなった。

ERMES 複合体構成因子を GFP 融合タンパク質として発現させると，一細胞あたり 5 個程度のドット状のシグナルとして検出される。この観察結果は, ERMES によるミトコンドリア・小胞体間コンタクトサイトが一細胞あたり一定数に制御されていることを示唆する。しかしながら，このようなオルガネラ間コンタクトサイトの数の制御機構に関しては全く明らかになっていない。

本研究では，ミトコンドリア・小胞体間コンタクトサイトの数を制御する因子はミトコンドリア外膜に存在すると考え，それを検証した。具体的には，約 50 種類のミトコンドリア外膜タンパク質欠損酵母株において, ミトコンドリア・小胞体間コンタクトサイトを可視化し，その数や形状が変化する遺伝子破壊株を探索した。その結果，ミトコンドリアの融合分裂が，ミトコンドリア・小胞体間コンタクトサイトの数の制御に関与することを見出したので報告する。さらに，小胞体ストレス誘導時にミトコンドリア・小胞体間コンタクトサイトの数が顕著に増加することも見出した。ツニカマイシンや DTT で細胞を処理すると，ERMES ドッドの数が 5 個程度から 10 個程度まで急激に増加する。ERMES の温度感受性変異株が，野生型に比べ強いツニカマイシン感受性を示すことからも, ミトコンドリア・小胞体間コンタクトサイトの数の制御は，生理的に重要であることが示唆された。

本公演では，これらの知見を元に，最新のミトコンドリア・小胞体間コンタクトサイト動態について議論したい。

（2）細胞膜リン脂質の非対称的分布とフリッパーゼ

瀬川勝盛（大阪大学免疫学フロンティア研究センター 免疫・生化学分野）

細胞膜を構成するリン脂質は非対称に分布する。すなわち，アミノリン脂質であるホスファチジルセリン(PS)やホスファチジルエタノールアミン(PE)は細胞質に面する内層に限局し，ホスファチジルコリンやスフィンゴミエリンは主に外層に存在する。細胞膜リン脂質の非対称的分布は，真核細胞で保存された根幹的な現象であり，

脂質二重膜の物性やシグナル伝達，細胞の形態に重要な役割を担うと考えられている。一方，細胞は様々な局面で，細胞膜リン脂質の非対称性を崩壊させる。アポトーシス細胞のクリアランスはその代表例であり，死細胞は内層の PS を“eat me”シグナルとして速やかに細胞表面へ露出することでマクロファージに認識・貪食される。生体膜におけるリン脂質の非対称的分布の樹立・維持には, PS と PE を特異的に外層から内層へ一方向に移層(フリップ)するフリッパーゼが重要な機能を担う。我々はこれまでに，P4 型 ATPase ファミリーに属する ATP11A と ATP11C が哺乳類細胞の細胞膜で機能するフリッパーゼであることを示してきた。ATP11A と ATP11C はヒト，マウスで全身性に発現し，β-サブユニットである CDC50A と結合することで安定な複合体を形成し，細胞膜の PS と PE をフリップする。実際, ATP11A と ATP11C を二重欠損した細胞は，細胞膜におけるフリッパーゼ活性がほぼ完全に消失する。一方, ATP11A と ATP11C は，分子中央部にカスパーゼ 3 の認識配列を持ち，アポトーシス時にカスパーゼにより切断・不活性化される。カスパーゼ認識配列に変異を導入した ATP11A や ATP11C を発現した細胞は，アポトーシス時に PS を露出せず，マクロファージに貪食されない。以上より，ATP11A と ATP11C が哺乳類細胞の細胞膜で機能する主要なフリッパーゼであり，カスパーゼによる切断・不活性化はアポトーシス細胞の PS 露出に必須であることが明らかとなった。また，細胞膜フリッパーゼは，ヒトやマウスの生体においても重要な機能をもつことが明らかになっている。例えば，ATP11C 欠損マウスは，B 細胞欠損症，胆汁うっ滞，貧血，難産と多様かつ重篤な表現系を示す。本研究会では，細胞膜フリッパーゼのリン脂質移層機構とその生理機能について議論したい。

（3）Dickkopf1-CKAP を介する新規がんシグナル経路による細胞増殖機構

菊池　章（大阪大学医学系研究科 分子病態生化学）

Dickkopf1(DKK1)は Wnt シグナルの抑制因子として見出され，胎生期における適切な形態形成を行うための必須の分子である。出生後の機能は明確ではないが，種々のがん組織において高発現し，がんの悪性化に関与していることが知られている。しかし，DKK1 がどのようなメカニズムにより，がん細胞増殖を促進するかは長年にわたって不明であった。

私共は，細胞膜上で DKK1 と結合するタンパク質を網羅的に探索して，DKK1 の新規受容体として Cytoskeleton-associated protein 4 (CKAP4)を同定した。CKAP4 は小胞体に局在する II 型 1 回膜貫通タンパク質として同定されていたが，細胞膜にも存在した。CKAP4 は細胞質領域の Cys100 がパルミチン酸化を受けており，細胞膜上のリピッドラフト画分に局在した。DKK1 が CKAP4 に結合すると，CKAP4 はリピッドラフト画分内で PI3 キナーゼと複合体を形成して，AKT を活性化した。その後，CKAP4 は脱パルミチン酸化され，非リピッドラフト画分に移動し，クラスリン依存性にエンドサイトーシスされた。このパルミチン酸化を介する CKAP4 のリピッドラフト分画への局在は，DKK1 によるがん細胞の増殖に必須であった。

本研究会では，細胞膜マイクロドメイン内での CKAP4 のパルミチン酸化のターンオーバーによる Dickkopf1-CKAP シグナル制御について紹介するとともに，抗 CKAP4 抗体を用いた新規のがん治療戦略についても討論したい。

（4）生細胞内 GPCR 動態の可視化と制御

小澤岳昌（東京大学大学院理学系研究科化学専攻）

細胞膜7回膜貫通型のGタンパク質共役型受容体（GPCR）は，細胞外からの情報を細胞内に伝達する重要な役割を果たしている。GPCR が特定の分子を認識すると，G タンパク質および β アレスチンなどの細胞内シグナル伝達分子と相互作用し，様々な生理現象を誘導する。GPCR のリガンド特異性は高く，疾患に幅広く関与していることから，基礎研究のみならず創薬の標的やセンサーの開発など，分野横断的に興味が持たれている。

我々は，GPCR と β アレスチンとの相互作用を，独自に開発した 2 分割ルシフェラーゼの再構成により発光検出する技術を開発した。GPCR-β アレスチン間の相互作用を，様々な GPCR に対してリガンド濃度依存的な応答を検証した。またその相互作用について時間依存性を測定したところ，GPCR の種類により細胞内での解離速度に大きな相違があることが解った。そこで，GPCR と β アレスチンとの相互作用を，オプトジェネティクスの技術を用いて，人為的に光操作する評価系を開発した。GPCR-β アレスチン間相互作用を外部光により惹起すると，エンドソームからリソソームへの輸送が確認された。また GPCR は時間依存的にエンドソームから細胞膜へリサイクリングする現象がみられた。

本講演では，GPCR の 1 分子観察技術も含め，新たな解析法のいくつかを紹介する予定である。

（5）生命現象の光操作技術の創出

佐藤守俊（東京大学大学院総合文化研究科）

蛍光タンパク質の実用化を契機として，1990 年代以降，光を使ったバイオイメージング技術は世界中の研究室で利用されるようになった。しかし，ライフサイエンスにおける光技術の将来は，必ずしもバイオイメージングに限定されない。例えば，光を使って生命現象を「見る」だけでなく，細胞内シグナル伝達を光で操作できるようになれば，代謝，分泌，細胞増殖，細胞分化，細胞死等の生命機能を自由自在にコントロールできるようになるかもしれない。ゲノムの塩基配列を光で自由自在に書き換えたり，遺伝子のはたらきを自由自在に制御できるようになったらどうだろう？光が得意とする高い時間・空間制御能をもってすれば，狙った time window のみで，狙った生体部位のみで，様々な生命機能や疾患をコントロールできるかもしれない。

このような生命現象の光操作を実現するために，まず重要と考えて最初に取り組んだのは，「操り人形」で言えばヒモとか棒に相当する，汎用性の高い基盤ツールの開発である。この目的のために，アカパンカビが有する光受容体に様々なプロテインエンジニアリングを施して光スイッチタンパク質の“Magnet システム”を開発した。さらにゲノムエンジニアリングツールの CRISPR-Cas9 システムや Cre-loxP システムと Magnet システムを組み合わせ，ゲノムを光刺激で自由自在に操作する技術を開発した。本講演では，生命現象の光操作について我々の最近の成果を紹介し，今後の展開について議論したい。

（6）シナプスで機能するグルタミン酸受容体の可視化および活性制御

清中茂樹，浜地　格（京都大学大学院工学研究科 合成・生物化学専攻）

中枢神経において，グルタミン酸は記憶や学習に必須な興奮性神経伝達物質である。最近の超解像顕微鏡による蛍光可視化により，ポストシナプスにおいてグルタミン酸受容体はナノドメインを形成していることが明らかにされつつある。グルタミン酸受容体は，イオンチャネル型と代謝型に大別され，約 25 種類のサブタイプが知られる。記憶や学習においては，各受容体サブタイプが固有の機能を有するため，その生理機能解明に向けたサブタイプ特異的な可視化方法や活性化方法の開発が求められている。

受容体の可視化に関しては，ごく最近，我々はアフィニティーラベル化の一種であるリガンド指向性化学により, 神経細胞に内在する AMPA 型グルタミン酸受容体（AMPA 受容体）の可視化に成功した。この際に用いる有機小分子であるラベル化剤は高い組織浸透性を有しているために, 脳組織深部の内在性 AMPA 受容体が可視化できた 1)。また，我々の手法で内在性 AMPA 受容体の拡散に関して評価してみたところ，GFP 融合体として過剰発現させた GFP-AMPA 受容体とはその動態が異なり，本手法の有用性を確認できた。また，受容体ケミカルラベルを応用したリガンドバイオセンサーの構築にも成功している 2, 3)。

グルタミン酸受容体の特異的に活性化に関しては，配位化学と遺伝子工学を組み合わせた新たな化学遺伝学法（配位ケモジェネティクス法）を考案した。この手法では，グルタミン酸結合部位近傍に新たな配位サイトとして 2 ヶ所のヒスチジン変異導入を行う。新たに導入したヒスチジンは，Pd^{2+}錯体に対する二座配位子として機能し，Pd^{2+}錯体の添加によりグルタミン酸結合部位の構造を活性化状態へと惹起することを期待した。実際にこの手法を用いることで，イオンチャネル型受容体である AMPA 受容体および G タンパク質共役型（代謝型）グルタミン酸受容体（mGluR）サブタイプの特異的な活性化に成功した 4)。

本講演では，上記研究およびその研究展開について紹介したい。

1) Wakayama S., *Kiyonaka S.(co-1st author), Arai I., Kakegawa W., Matsuda S., Ibata K., Nemoto Y.L., Kusumi A., Yuzaki M., *Hamachi I. Nat. Commun. 8, 14850 (2017)
2) Yamaura K., *Kiyonaka S., Numata T., Inoue R., *Hamachi I. Nat. Chem. Biol. 12, 822-830 (2016)
3) *Kiyonaka S., Sakamoto S., Wakayama S., Morikawa Y., Tsujikawa M., *Hamachi I. ACS Chem. Biol. (in press)
4) *Kiyonaka S., Kubota R., Michibata Y., Sakakura M., Takahashi H., Numata T., Inoue R., Yuzaki M., *Hamachi I. Nat. Chem. 8, 958-967 (2016)

（7）新規オートファジーにおけるトランスゴルジ膜の挙動

清水重臣（東京医科歯科大学 難治疾患研究所 病態細胞生物）

オートファジーは，リソソームを利用し自己構成成分を大規模に分解する細胞機能である。従来，オートファジーの実行には，Atg5,Atg7,LC3 などの分子が必要であると考えられてきた。しかしながら，私たちは，Atg5 や Atg7 に依存しない新規オートファジーの存在を発見し，その生体における役割を明らかにしつつある。この新規オートファジーは, Atg5 依存的オートファジーと同様に, 酵母から哺乳動物細胞まで保存されており，私たちの体を構成する全ての細胞が有している。両方のオートファジーは，分解する基質を異にしているため，その生体での役割は異なっている。具体的には，新規オートファジーは，赤血球のミトコンドリア分解に関わっている他，神経細胞などの恒常性維持に必要不可欠な役割を果たしている。

新規オートファジーの実行過程を詳細に解析したところ，オートファジー膜の由来がトランスゴルジ膜であること，その際に，ゴルジ体のミニスタック化，トランスゴルジ膜の伸張，メディアルゴルジ膜と解離，球体化

と非常に特徴的な形態を示すことを見いだした。本講演では，トランスゴルジ膜の挙動と新規オートファジー実行メカニズムに関して最新の知見を紹介する。

（8）イノシトールリン脂質・PI(4)P の新しい生理機能：膜接触部位形成と脂質交換輸送制御

中津　史（新潟大学大学院医歯学総合研究科 分子細胞機能学分野）

近年，細胞膜やオルガネラ膜などの生体膜は，互いに近接・接触することで物質や情報を交換・共有しながら細胞機能を維持していることがわかってきた。生体膜同士が接触する領域は“membrane contact site（膜接触部位）”と呼ばれ，2 つの膜がわずか 10-30nm の距離で近接している。中でも小胞体は，細胞内全体に広く分布することで，ほとんどのオルガネラ膜や細胞膜と膜接触部位を形成していることがわかってきた。私たちは，細胞膜におけるイノシトールリン脂質・PI(4)P の産生機構および生理機能の解析から，細胞膜 PI(4)P は小胞体―細胞膜接触部位の形成を促進し，その膜接触部位において脂質の交換輸送を制御すること等を明らかにしてきた。本シンポジウムでは，イノシトールリン脂質・PI(4)P の新しい生理機能である膜接触部位形成と脂質交換輸送制御について，最近得られた知見を交えてご紹介したい。

（9）膜電位感受性イノシトールリン脂質ホスファターゼの動作原理とその応用

岡村康司（大阪大学大学院医学系研究科 統合生理学教室）

電位依存性ホスファターゼ VSP は，膜電位センサーとイノシトールリン脂質ホスファターゼを併せ持ち，膜の脱分極により酵素活性を示す。電位依存性イオンチャネルでは電位センサーの構造変化が最終的にイオン透過路である膜内構造を制御するのに対し，VSP では細胞質領域の構造を変化させることが特徴的であるが，その詳細な分子機構は明らかではなかった。我々はこれまでに電気生理学的手法，光学的手法，構造生物学を組み合わせ，細胞質領域が脂質と相互作用する機構に着目してその動作原理を解析してきた。

最近我々は，PTEN にも保存される，新たな膜相互作用領域を同定し，これが膜と相互作用することで電位依存的酵素活性を制御することを見出した。この領域に変異を導入すると正常なタンパク質よりも電位依存的酵素活性が強い enhanced VSP を作成することに成功した。本講演では，新たな脂質相互作用部位による VSP の活性制御の仕組みと，enhanced VSP を応用して行った他の膜タンパク質のイノシトールリン脂質依存性について紹介したい。

（10）ユニークな脂肪酸組成をもつリン脂質分子種がつくる神経細胞膜機能ドメイン

本家孝一（高知大学医学部生化学講座）

神経細胞の細胞膜は，前シナプス領域，後シナプス領域，軸索内の複数の領域，細胞体領域など機能の異なる複数の領域（膜ドメイン）を持つ。こうした膜ドメインが固有の機能を担うためには，それに対応する機能性膜タンパク質を局在させておく必要がある。一方，膜タンパク質はリン脂質二重層でできた細胞膜平面上を自由に側方移動することが可能であり，どのように特定の膜ドメインが維持されているのかは依然謎である。

最近我々は，通常とは逆配置の sn-1 位に不飽和脂肪酸を，sn-2 位に飽和脂肪酸を持つホスファチジルコリン（1-オレオイル-2-パルミトイル-PC : OPPC）を認識する単クローン抗体の作製に成功し，OPPC が PC12 細胞の神経突起先端部やシナプス部位の細胞膜に局在することを見出した。さらに，この OPPC 膜ドメインの形成が，ドパミントランスポーターや G タンパク質 Gαo の同領域への局在化の前提になっていることを明らかにした。このことから，我々は，神経突起先端部でリン脂質リモデリングにより OPPC が作られ，この結果，突起先端部に OPPC 濃度の高い膜ドメインが形成され，この脂質組成の違いを認識してドパミントランスポーター等の一部の機能性膜タンパク質が先端部に局在するようになるという仮説を立てた。

（11）自然免疫分子 STING の活性化機構と内在性阻害分子の同定

田口友彦（東北大学大学院生命科学研究科 細胞小器官疾患学分野）

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，DNA ウイルスの感染などにより細胞質に出現する DNA に応答し，炎症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 は小胞体局在性の 4 回膜貫通タンパク質であるが，細胞質 DNA の出現に応じて核近傍のオルガネラに輸送されることが示されていた。しかしながら，その細胞内局在変化の意義は不明であった。

最近我々は，STING の活性化が，刺激を受容する小胞体ではなく，小胞体から脱出して運搬された先のゴルジ体で起こっていることを明らかにした。さらに，その活性化のメカニズムとして，ゴルジ体で起こる STING Cys88/91 のパルミトイル化修飾が必須であることを見出した。また，STING の変異により STING が恒常的に活性化してしまう炎症性疾患（SAVI: STING-associated vasculopathy with onset in infancy）が知られているが，その変異型 STING は無刺激状況でも小胞体局在を失っていること，C88/91S 変異を導入することでその活性が抑制されることなども見出した。

本講演では，STING の活性化機構に関する最新の知見を紹介するとともに，最近我々が同定した，STING のパルミトイル化修飾を阻害することで STING の活性化を抑制する内在性分子について紹介する。

【参考文献】

1. Mukai, K. et al. Activation of STING requires palmitoylation at the Golgi. Nat Commun 7, 11932 (2016).

（12）Turn-ON 蛍光アフィニティーラベル化法

袖岡幹子（理化学研究所）

酵素阻害剤や受容体リガンドなどの低分子化合物は，生物学研究の重要なツールとなっている。そのような鍵となる化合物の標的タンパク質に対する選択性や結合部位を明らかにする事は，研究の出発点としてたいへん重要である。しかし標的が膜タンパク質の場合は，既存の方法ではなかなかうまくいかない場合も多い。また，標的タンパク質の細胞内局在を知る事や，複合体を形成する相手のタンパク質の同定は，そのタンパク質の機能解明の為の重要な知見となる。生きた細胞中で自然な状態の標的タンパク質を選択的にラベルできるアフィニティーラベル化法は，上記の目的の為の重要な手法と考えられる。本講演では，我々が開発した NBD (nitrobenzoxadiazole) ユニットを用いた新しい Turn-ON 型の蛍光アフィニティーラベル化法ならびにそのミトコンドリア膜タンパク質複合体解析への応用について紹介する。

（13）ライブイメージングと最新化学に基づく新たながん医療技術の創製

浦野泰照（東京大学大学院薬学系研究科・医学系研究科，AMED-CREST）

蛍光イメージング技法は，生きている細胞や動物体内における各種生体応答を，リアルタイムかつ高感度に捉えることが可能であるため，現代の医学・生物学領域研究に必須の手法となっている。筆者らはこれまでに，蛍光プローブを含む様々な光駆動性化学プローブの論理的精密設計を可能とする全く新たな分子設計法を確立し，特定の活性酸素種や，様々なレポーター酵素，生体関連酵素活性を高感度に検出可能な蛍光プローブの開発に成功してきたが(Kenmoku S, et al., J. Am. Chem. Soc. 2007; Kamiya M, et al., J. Am. Chem. Soc. 2011; Sakabe M, et al., J. Am. Chem. Soc. 2013)，本リアルタイム可視化技術は臨床技術としても極めて大きな可能性を秘めている。

現在においても，微小がん部位を外科・内視鏡手術中に発見することは困難であり，がんの取り残しが臨床上の大きな問題となっている。筆者らはこれまでに，がん細胞に取り込まれることで初めて蛍光を発する抗体プローブ類の開発に成功してきた（Urano Y, et al., Nat. Med. 2009）。さらに最近多くのがん細胞でその発現が亢進しているとの報告のある γ－グルタミルトランスペプチダーゼ(GGT)や β－ガラクトシダーゼ活性を高感度に検出する有機小分子蛍光プローブ(gGlu-HMRG, HMRef-βGal)の開発にも成功し，蛍光内視鏡下でがんモデルマウス体内のがんが疑われる部位に噴霧することで，肉眼では識別困難な 1 mm 以下の微小がん部位を，数十秒～数分で明確に検出できることを明らかにした(Urano Y, et al., Sci. Transl. Med. 2011; Asanuma D, et al., Nat. Commun. 2015)。このような迅速酵素活性ライブイメージングは世界初の成果であり，外科手術新鮮臨床検体へと適用することで，患者個々のがん部位が持つ特徴的な酵素活性の可視化解析を遂行可能である。そこで多くの外科医と共同研究を開始し, 例えばヒト乳がんの GGT 活性は高く, gGlu-HMRG の局所散布により，高い感度，特異度で切除断端遺残微小がんの術中迅速検出が可能であることが明らかとなった(Ueo H, Shinden Y, et al., Sci. Rep. 2015; Shinden Y, Ueo H, et al., Sci. Rep. 2016)。

さらに筆者らは，上述の分子設計法に則り，種々のアミノペプチダーゼ活性に対応する数百種類の蛍光プローブから成るプローブライブラリーを作製した。このライブラリーを新鮮臨床検体に適用し，がん部位と非がん部位での活性差を直接スクリーニングする新たなアプローチにより，例えば食道がんではある特定のアミノペプチダーゼ活性が顕著に上昇していることを見いだした。本活性を検出するプローブの活用により，ルゴール染色技法と比較して同等以上の正診率でのイメージングが可能であることなどが明らかとなり，臨床応用への期待が大いに高まっている(Onoyama H, et al., Sci. Rep. 2016)。以上のように，有機小分子蛍光プローブの活用によるライブイメージング技法は，外科・内視鏡手術において精確な外科的治療を実現させるために大きな威力を発揮することが期待される。

本講演では上記の蛍光プローブに加えて，がん細胞などの特定細胞でのみ光増感能が回復する光増感プローブの開発(Chiba M, et al., Angew. Chem. Int. Ed. 2017)と，これに基づく高選択的がん光線力学療法や，生細胞内のグルタチオン濃度を可逆的・定量的に検出可能なプローブ(Umezawa K, et al., Nat. Chem. 2017)なども併せて紹介する予定である。

以上のように有機小分子ベースの光駆動性プローブは，生物学領域研究においては全く新たな生理活性物質の可視化を実現する画期的な研究ツールとして，医療領域においては外科・内視鏡手術における精確な外科的治療や高選択的光線力学療法を実現させるものであり，今後のさらなる発展が大いに期待される。

４．体内環境の維持機構における上皮膜輸送の多角的・総合的理解

2018 年 9 月 6 日－9 月 7 日

代表・世話人：林　久由（静岡県立大学）

所内対応者：古瀬幹夫（生理学研究所）

（１）尿酸排出トランスポーターABCG2 による血清尿酸値制御

高田龍平（東京大学）

（２）新規多機能性有機溶質トランスポーターMFOST の機能解析

安西尚彦（千葉大学）

（３）腸管上皮における異物排出トランスポーターの食物質による制御

薩　秀夫（前橋工科大学）

（４）薬剤性血小板減少症の病態生理についての電気生理学的検討

風間逸郎（宮城大学）

（５）薬物の腸管吸収過程における粘液層の寄与とその分子メカニズムについて

岸本久直（東京薬科大学）

（６）食事性リンが腸管上皮細胞と腸内環境に及ぼす影響

織田奈央子（徳島大学）

（７）消化管における亜鉛吸収調節機構

神戸大朋（京都大学）

（８）上皮幹細胞スフェロイド培養の基礎と応用

三好弘之（京都大学）

（９）日本人 CF 患者から同定された変異型 CFTR の特性解析

中尾香菜子（国際医療福祉大学）

(10) ユビキチンリガーゼによる塩素イオンチャネル CFTR の形質膜品質管理機構

沖米田　司（関西学院大学）

(11) 上皮型ナトリウムチャネル（ENaC）の細胞内 trafficking 制御における protease および protein tyrosine kinase (PTK)の関与。

丸中良典（京都工場保健会）

(12) 生体膜マイクロチップを利用した膜輸送の高感度解析

渡邉力也（東京大学）

(13) CARS 顕微鏡を用いた経上皮膜水拡散現象の研究

相馬義郎（国際医療福祉大学）

(14) 細胞内 HCO_3^-/CO_2 緩衝系のコンピュータ・シミュレーション

山口　誠（名古屋大学）

(15) 上皮バリアと上皮極性形成における密着結合の役割

大谷哲久（生理学研究所）

(16) マウス腸管における三細胞タイト結合タンパク質アンギュリン 1 の役割の検討

杉岡汐里（静岡県立大学）

(17) TRPV6 遺伝子変異による母子間カルシウム輸送障害に起因した新生児期副甲状腺機能亢進症の発症

鈴木喜郎（生理学研究所）

（18）遺伝性低マグネシウム血症におけるクローディン-16 の異常局在に対するプリマキンの効果

五十里　彰（岐阜薬科大学）

（19）TMEM16F のチャネルゲーティングによるリン脂質輸送の制御

清水貴浩（富山大学）

（20）嗜好性塩味と忌避性塩味の脳内コーディング様式

杉田　誠（広島大学）

【参加者名】

林　久由（静岡県立大学），安西尚彦（千葉大学），風間逸郎（宮城大学），渡邉力也（東京大学），丸中良典（京都工場保健会），丸中理恵（京都府立医科大学），神戸大朋（京都大学），高田龍平（東京大学），織田奈央子（徳島大学），竹谷　豊（徳島大学），石黒　洋（名古屋大学），石塚典子（静岡県立大学），酒井秀紀（富山大学），清水貴浩（富山大学），五十里　彰（岐阜薬科大学），三好弘之（京都大学），鈴木喜郎（生理学研究所），岸本久直（東京薬科大学），宮崎歌織（東京薬科大学），中尾香菜子（国際医療福祉大学），相馬義郎（国際医療福祉大学），沖米田司（関西学院大学），薩秀夫（前橋工科大学），Wendy Hempstock（静岡県立大学），杉岡汐里（静岡県立大学），野村奈央（名古屋大学），谷口いつか（名古屋大学），Liu Libin（名古屋大学），杉田　誠（広島大学），樋口万佑子（名古屋大学），山口　誠（名古屋大学），中村千紗都（静岡県立大学），桑原裕子（京都府立医科大学），桑原厚和（立命館大学），北村健一郎（山梨大学），福安智哉（名古屋大学），伊久美直毅（静岡県立大学），古瀬幹夫（生理学研究所），泉　裕士（生理学研究所），大谷哲久（生理学研究所），菅原太一（生理学研究所）

【概要】

上皮膜の体内環境維持機構を，総合的に理解するための新たなストラテジーの構築のためには，多角的視点による，異なる科学分野を包摂した，総合的な取り組みが重要である。これら上皮膜に関する研究者は，生理学分野のみならず，薬学，栄養学，工学，理学ななどに属し，異なる科学分野で，異なる視点から研究を行なっている。本研究会では，上皮膜輸送に関する研究を行なっているバックグラウンドの異なる研究者を招聘し，発表していただき，これら研究者間の新たな交流の場を設け，上皮膜輸送の統合的な理解に向けたストラテジーを考案することを目的とした。昨年度の参加者に加え，今年度，新たに参加していただいた多くの研究者により，最新の研究成果を発表していただいた。これらの発表は，良い刺激となり，活発な討論が行われた。また，昨年度より多くの大学院生の参加もあり，懇親会では大学院生と研究者との直接的な交流の場を与えることができた。これらのことは，本研究会が当初目指した上皮膜輸送の統合的な理解に向けた研究の次への進歩に繋がる新たなストラテジーを考案するために一定の役割を果たすことができたと考えられる。

（1）尿酸排出トランスポーターABCG2 による血清尿酸値制御

高田龍平，豊田　優，山梨義英，山本武人，鈴木洋史（東京大学 医学部附属病院 薬剤部）

痛風や尿路結石の病態発症に深く関わるとともに，動脈硬化症，腎疾患やパーキンソン病などとの関連性にも注目が集まっている尿酸について，トランスポーターによる全身動態制御を中心に，私達はさまざまな研究を行ってきました。

まず，新規尿酸トランスポーターとして ABCG2/BCRP を見出し，ABCG2 が ATP 依存的に尿酸を細胞外に排出することを *in vitro* 実験により示しました。また，日本人に高頻度に見られる *ABCG2* 遺伝子の機能半減型または機能欠損型遺伝子多型を持つヒトは血清尿酸値が高値

であること，両多型の組み合わせにより見積もられるABCG2 機能が低いヒトほど痛風発症リスクが高いことを，ヒト血液検体を用いた解析により見出しました。

さらに，ABCG2 が消化管から糞中への尿酸排出を担うこと，ABCG2 の機能低下による高尿酸血症が消化管への尿酸排泄の低下によることを，*Abcg2* ノックアウトマウスを用いた *in vivo* 実験および臨床サンプルを用いた解析により示しました。これらの結果から，ABCG2 の機能低下により生じる“腎外排泄低下型”高尿酸血症という，新たな高尿酸血症の病態分類を提案することができました。本講演においては，個別化医療や予防医学への応用が期待されているこれら一連の研究成果について，薬物治療や尿毒素輸送，慢性腎不全との関連性 [4]など，最新の知見を交えて紹介する予定です。

（2）Functional Characterization of a novel Multi-Functional Organic Solute Transporter (MFOST)

Naohiko Anzai[1,2]，Promsuk Jutabha[2]，Motoshi Ouchi[2]
（[1]Department of Pharmacology, Chiba University Graduate School of Medicine,
[2]Department of Pharmacology and Toxicology, Dokkyo Medical University School of Medicine）

An orphan transporter of the 16th solute carrier family (SLC16) member, named monocarboxylate transporter 9 (MCT9), has amino acid sequence only 30-35% identity to its family members and distinguishes from MCT1 to 4. MCT9 has been suggested to be involved in the onset of hyperuricemia or gout by genome-wide association studies (GWAS). Since experimental data about MCT9 function has not been reported yet except carnitine efflux, we tried to clarify its physiological roles. The quantitative RT-PCR (qRT-PCR) against human tissue cDNAs revealed that the mRNA expression of MCT9 is quite higher in kidney than other tissues. In situ hybridization showed its high expression in renal proximal convoluted tubule and collecting duct. *Xenopus* oocyte expressing MCT9 demonstrated the [^{14}C] urate transport in Na^+-, Cl^-- and voltage-independent manner and the [^{14}C] β-hydroxybutyrate transport in Na^+-and Cl^-- dependent manner. MCT9-mediated β-hydroxybutyrate transport was inhibited by several organic anionic drugs while MCT9-mediated urate transport was not. Thus, since MCT9 mediates the transport of carnitine, urate as well as β-hydroxybutyrate differently, we have to call this clone Multi-Functional Organic Solute Transporter (MFOST).

（3）腸管上皮における異物排出トランスポーターの食物質による制御

薩　秀夫（前橋工科大学生物工学科）

腸管の最前線に位置する腸管上皮細胞は，栄養素をはじめとする食品成分の吸収といった重要な機能を担う一方で，食品中に混入する外来異物・有害物質などの侵入を防ぐバリアーの機能を有している。腸管上皮バリアーは，タイトジャンクションを介した単層構造による物理的バリアーや腸管免疫系に加え，解毒排出系を介した生物的バリアーが知られる。これは，腸管上皮細胞内に侵入した環境汚染物質・発がん物質など脂溶性の高い生体異物を第Ⅰ相解毒排出酵素によって酸化・還元し，さらに第Ⅱ相解毒排出酵素によって抱合化した後，第Ⅲ相解毒排出酵素である異物排出トランスポーターによって細胞外に排出する，といった一連の解毒排出システムである。演者らは食品成分によって腸管上皮バリアー機能を増強し生体防御能を高めることを目的として，特に第Ⅲ相である異物排出トランスポーターに注目して研究を進めた。その結果，いくつかの食品成分が異物排出トランスポーターを活性化することを見出した。本研究会では，食品成分が腸管上皮における異物排出トランスポーターの発現・活性を，特に核内受容体など転写因子を介して制御する例について報告する。

（4）薬剤性血小板減少症の病態生理についての電気生理学的検討

風間逸郎（宮城大学 看護学群）

アレルギー反応の際に肥満細胞がヒスタミンなどを放出する過程(エキソサイトーシス)は，電気的細胞膜容量（membrane capacitance; Cm）の継時的な増加として検出できる。われわれはこれまで，ラット腹膜由来肥満細胞に対し，本電気生理学的手法を用いることにより，抗アレルギー薬などが有する“肥満細胞安定化作用”について明らかにしてきた。

肥満細胞と同様，骨髄巨核球における血小板産生過程も，電気的細胞膜容量測定法による解析が可能である。そこでわれわれは，ラット骨髄由来巨核球に対し，本電気生理学的手法を用いることにより，これまで免疫学的な破壊機序により血小板減少をきたすとされてきた，非ステロイド性抗炎症薬や抗精神病薬（サリチル酸，Chlorpromazine）が，巨核球での血小板産生過程そのものを抑制することによっても，薬剤性の血小板減少症を引き起こすメカニズムを明らかにした。

（5）薬物の腸管吸収過程における粘液層の寄与とその分子メカニズムについて

岸本久直，井上勝央（東京薬科大学 薬物動態制御学教室）

薬物の腸管吸収性は，分子サイズや脂溶性，*pKa*，電荷などの薬物固有の物理化学的要因に加え，腸管粘膜近傍に存在する水溶性の粘液層や，上皮細胞膜に局在する排出型トランスポーターなどの生理学的要因によって制御されている。なかでも粘液層は腸管上皮細胞の管腔側表面を覆う水溶性粘液多糖からなり，腸管上皮近傍において非攪拌水層を形成し，薬物吸収時の障壁となることが古くから指摘されてきた。医薬品化合物の多くが脂溶性であることを考慮すると，ヒト腸管での薬物の吸収挙動を高精度に予測するためには，粘液層の生理学的性質と薬物吸収との関係性について理解を深める必要がある。

粘液層の主要な構成成分としてムコ多糖タンパク質である mucin が知られており，現在，約 20 種類ほどが同定されている。しかし，様々な分子種がヒト腸管において発現していることが知られているにも関わらず，薬物吸収と mucin との関連性について分子レベルで検討した報告は無く，その寄与率は未だ明らかにされていない。

そこで本研究では，mucin 分子の中でも上部消化管に高発現しており，巨大な細胞外ドメインを有している MUC1 に着目した。薬物の吸収過程に対する MUC1 の機能を明らかにすることを目的として検討した結果，薬物の膜透過性に対して MUC1 が重要な制御因子となる可能性を示唆する知見が得られたため，その内容について報告する。

（6）食事性リンが腸管上皮細胞及び腸内環境に及ぼす影響

織田奈央子[1]，杉原康平[1]，池田美萌[1]，亀井優輝[1]，吉本亜由美[2]，上番増喬[2]，増田真志[1]，奥村仙示[1]，竹谷　豊[1]
（[1]徳島大学大学院医歯薬学研究部 臨床食管理学分野，[2]徳島大学大学院医歯薬学研究部 予防環境栄養学分野）

【目的】我々はこれまでに，食事からのリン過剰摂取がデキストラン硫酸ナトリウム（DSS）誘発性の大腸炎モデル動物の病態を悪化させることを見出した。本研究では，リン過剰摂取が大腸炎を悪化させる機序として，腸内細菌叢の変化に着目し検討を行った。

【方法】5 週齢雄性 C57BL/6J マウスにリン濃度を 0.4 %に調整したコントロール食（CP 群）と，1.2 %に調整した高リン食（HP 群）をペアフィーディングで投与した。試験

食投与 8 週後，糞便を回収し DNA 抽出を行い，16S rRNA の V3 - V4 領域を PCR で増幅後，MiSeq 次世代シークエンサー（NGS）を用いて腸内細菌叢の解析を行った。
【結果】試験食投与 8 週後，血中リン濃度は 2 群間で有意差はみられなかったが，尿中リン排泄量は HP 群で有意に上昇した。NGS 解析の結果を基に主成分分析およびクラスター解析を行うと，CP 群と HP 群では腸内細菌叢の組成が大きく変化することが示された。線形判別分析の結果では，HP 群で Erysipelotrichaceae 科細菌の増加，Clostridia 科細菌の減少が確認された。また，α 多様性の指標である Chao1，PD whole tree，observed OTU を検討した結果，HP 群で多様性が低下することが示された。さらに，HP 群では大腸組織におけるタイトジャンクション構成タンパク質である occludin の mRNA 発現の有意な低下，ZO-1，claudin1 の発現低下の傾向がみられた。
【結論】本研究により，高リン食は腸内細菌叢の組成を変化させ多様性を低下させること，また腸管上皮細胞におけるタイトジャンクションにも影響を及ぼす可能性が示唆された。

（7）消化管における亜鉛吸収調節機構

神戸大朋（京都大学大学院生命科学研究科）

消化管上皮細胞において，食事由来の亜鉛の取り込みに必須の役割を果たす亜鉛トランスポーターとして ZIP4 と ZNT1 が知られる。ZIP4 は上皮細胞アピカル膜から細胞内に亜鉛を取り込み，バソラテラル膜に局在する ZNT1 が血液中へ亜鉛を放出する。ZIP4 の発現は，亜鉛欠乏時にのみ上皮細胞アピカル膜での発現が増加するようタンパク質レベルで厳密に制御されており，亜鉛濃度が上昇すると速やかにエンドサイトーシスされて細胞内に取り込まれ，分解される。さらに，著しい亜鉛欠乏状態に陥ると，ZIP4 の細胞外領域が切断除去（プロセシング）され，残った膜貫通領域部分は，再びアピカル膜に蓄積するという現象が観察される。一方，ZNT1 の発現制御に関しては，これまで，亜鉛濃度に応じた転写レベルでの制御が中心であると考えられていたが，我々は ZNT1 がタンパク質レベルにおいてもダイナミックな制御を受けていることを突き止めた。ZNT1 は，ZIP4 とは逆に亜鉛欠乏下では膜表面からエンドサイトーシスされて細胞内に取り込まれ，分解を受けるが，余剰の亜鉛の存在下では，細胞膜への局在が促進される。この ZIP4 と ZNT1 の亜鉛依存的な発現制御が，消化管からの亜鉛吸収量の調節に重要であると考えられる。本発表では，ZIP4 や ZNT1 の亜鉛レベルに応じた発現制御についての解析結果について紹介し，その意義について議論したい。

（8）消上皮幹細胞スフェロイド培養の基礎と応用

三好弘之（京都大学産官学連携本部）

近年，内胚葉由来組織から分離した上皮細胞をマトリゲル中で立体培養するオルガノイド培養が広く普及し，正常上皮細胞の機能を in vitro で研究できるようになった。しかし，上皮幹細胞の自己複製に必須である Wnt，R-spondin，Noggin の精製された組換えタンパクは，大変高価であるにもかかわらず活性が不十分であった。私達はより効率の良い培養法を開発するため，Wnt3a を発現する L-Wnt3a 細胞に R-spondin 3 と Noggin の発現ベクターを導入して L-WRN 細胞を樹立した。

L-WRN 細胞の培養上清には，これらの 3 因子が活性の高い状態で含まれており，50% L-WRN 培養上清で培養した上皮細胞はマトリゲル中で幹細胞の割合が高い「スフェロイド」を形成する。培養液は比較的安価（約 3 万円/L）であり，幹細胞スフェロイドは一般的な細胞培養と同様の操作で継代・保存することができる。また，レンチウイルスによる遺伝子導入も容易である。

組織固有の機能を調べるためには幹細胞を適切に分化させる必要がある。例えば，トリプシン処理した腸上皮幹細胞スフェロイドをトランスウェル上に高密度で播種し，5% L-WRN 培養上清で培養することにより，幹細胞は吸収上皮細胞へ分化する。この単層培養系は腸管での物質輸送を忠実に再現する優れたモデルである。本発表では本培養法の様々な活用法について議論したい。

（9）日本人 CF 患者から同定された変異型 CFTR の特性解析

中尾香菜子 [1]，中莖みゆき [2]，石黒　洋 [2]，相馬義郎 [1]
（[1] 国際医療福祉大学･薬学部薬学科･分子病態治療学分野，[2] 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 を原因遺伝子とする常染色体劣性遺伝性疾患で, 欧米人に最も多い遺伝病である。一方でアジア人種には，極めて稀な疾患であり，日本における頻度は，出生 60 万人に 1 人程度である。しかしながら，日本人 CF 患者では，欧米人で頻度の高い病因性の CFTR 変異（e.g. ΔF508）は検出されず，データベースに未登録あるいは欧米人では稀な変異が検出されている。欧米人とは異なった変異の様相を示すことから，日本人はじめアジア圏に特化した CFTR 研究は喫緊の課題である。

興味深いことに，日本人型 CFTR 変異の中でも，大規模欠損体 CFTR-Δ（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。さらにこの変異は，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。

本研究会では，国内 CF 患者から同定されたアミノ酸置換を伴う CFTR 遺伝子変異に着目し，それらが CFTR タンパク質の発現，局在，機能に与える影響を in vitro の実験系で検証した結果について報告する。

（10）ユビキチンリガーゼによる塩素イオンチャネル CFTR の形質膜品質管理機構

沖米田司，酒井了平，小野裕司，中島千雅子，福田亮介（関西学院大学 理工学部 生命医化学科
）

CFTR は上皮細胞のアピカル膜に発現する塩素イオンチャネルであり, その遺伝子変異は白色人種で頻度が高い嚢胞性線維症（Cystic Fibrosis, CF）の原因となる。最も多い CFTR 変異体ΔF508-CFTR は塩素イオンチャネル機能を有するが, フォールディング異常により小胞体でユビキチン化を受け，プロテアソーム分解を受ける。その結果，ΔF508-CFTR は形質膜にほとんど発現せず，CFTR 機能欠損により CF を引き起こす。近年，ΔF508-CFTR の形質膜発現を促進する CF 治療薬（Orkambi®）が上市されたが，その有効性は非常に低い。その一因はΔF508-CFTR の形質膜不安定性であるため，CF 治療薬の有効性改善にはΔF508-CFTR の形質膜不安定性を改善する CFTR stabilizer が必要である。

我々は網羅的 siRNA 表現型スクリーニングにより，ΔF508-CFTR の形質膜不安定化に関与する分子シャペロン介在性ユビキチンリガーゼ CHIP（Okiyoneda T et al, Science 2010）とシャペロン非依存的に機能するユビキチンリガーゼ RFFL を同定した（Okiyoneda T et al, Dev Cell 2018）。特に，RFFL は構造異常を持つ CFTR を直接認識し，K63 連結型ポリユビキチン化を促進することで，ΔF508-CFTR のエンドサイトーシス及びリソソーム分解を促進する。RFFL ノックダウンはΔF508-CFTR の形質膜安定性を改善し，CF 治療薬による形質膜ΔF508-CFTR のチャネル機能を改善した。RFFL ノックアウトマウスは健常であることから，RFFL 阻害薬は CF 治療薬の有効性を高める CFTR stabilizer になる可能性がある。現在，我々は CFTR-RFFL 相互作用を簡便に定量する評価系の確立を行っており，今後，CFTR-RFFL 相互作用阻害薬を探索する予定である。

（11）上皮型ナトリウムチャネル（ENaC）の細胞内 trafficking 制御における protease および protein tyrosine kinase (PTK) の関与

丸中良典[1,2,3]，丸中理恵[3]（[1]一般財団法人 京都工場保健会 臨床生理学研究所，
[2]立命館大学 創薬科学研究センター，[3]京都府立医大 院 医細胞生理学）

血液量制御の重要因子である腎集合管上皮細胞管腔側膜上 ENaC 発現数は細胞内 trafficking 速度依存的に調節されている。本研究においては，ENaC の trafficking 速度定数の protease および PTK 依存性を検証した。

４つの細胞内存在部位の ENaC 数を連立微分方程式にて表し，Cardano の式を用いて一般解を得た後，腎集合管上皮 A6 細胞での短絡 Na^+電流値に対してこの一般解をフィットさせ，trafficking の速度定数（Insertion rate (K_I); Endocytotic rate (K_E); Recycling rate (K_R); Degradation rate (K_D)）を決定した。

低浸透圧刺激により ENaC の管腔側膜上への移動が促進された。細胞外に投与した protease 阻害剤により，K_I および K_R が低下したが，E_E あるいは R_D は変化しなかった。一方，PTK 阻害剤により，K_I および K_R は低下し，K_D は増大したが，R_E は変化しなかった。これらの結果より，ENaC のリサイクルは protease および PTK 依存的に上昇し，その結果 ENaC の管腔側膜滞在総時間ならびにタンパク寿命の protease および PTK 依存的に増大していることが明らかとなった。また，ENaC の degradation は PTK 依存的に抑制されているが，１回あたりの管腔側膜滞在時間は protease および PTK 非依存的であることも判明した。

（12）生体膜マイクロチップを利用した膜輸送の高感度解析

渡邉力也（東京大学大学院工学系研究科応用化学専攻）

マイクロチップを利用したバイオ分析は，従来の生化学計測の感度や効率を大幅に高めるだけでなく，digital PCR，次世代 DNA シークエンサーに代表される革新的な分析装置へと応用発展している。元来，マイクロチップによる生化学分析は，取り扱いのしやすさから，主として水溶性の生体分子を標的としてきたが，生理的および薬理的な重要性を考えると，膜タンパク質に代表される脂好性の生体分子への汎用性の拡張は必要不可欠であると考えられている。この背景をうけ，近年，私たちは，生体膜が高度に集積化されたマイクロチップを開発し，イオンや脂質などの膜輸送を高感度に検出する技術基盤を確立した。本演題では，マイクロチップの最新の開発動向を交えながら，それらが実現する膜輸送研究の近未来像を呈示したいと考えている。

（13）CARS 顕微鏡を用いた経上皮膜水拡散現象の研究

相馬義郎（慶應義塾大学・医/先導研究センター，国際医療福祉大学・薬）

Coherent Anti-Stokes Raman Scattering (CARS) は，非線形ラマン散乱の一種で，試料に対して，その差分が試料のラマン活性振動数 ω_R に等しい振動数を持つ 2 種類の極短パルスレーザー光を入射すると，試料分子との相互作用によってコヒーレントな CARS 光が放出される現象である。各物質の ω_R は，その物質が持つ共有結合の固有振動数に強く依存するため，O-H 結合の固有振動数に合わせる（O-H モード）と水分子からの CARS 光の放出が観察される。しかしながら，重水 D_2O では O-D 結合の固有振動数が，O-H 結合のそれとは異なるため CARS 光は発生しない。

上皮由来細胞を BD マトリゲル中で培養して形成させ

た 1 層の細胞で構成された嚢胞を，O-H モードで撮影しながら，H_2O で作られた灌流液と D_2O で作られた同組成の灌流液を高速に切り替えることにより，嚢胞上皮の経上皮的な水の拡散現象がリアルタイムに可視化できる。さらに，膵導管などの管腔組織の内外を H_2O と D_2O で非対称に二重灌流することにより，経上皮的水拡散現象を定常的な状態で捉えることも可能である。これらの水拡散の可視化データから，コンピュータシミュレーションを用いて，水の経上皮拡散動態の定量的理解を進めている。本研究会では，最近の研究成果について報告する。

（14）細胞内の HCO_3^-/CO_2 緩衝系のコンピュータ・シミュレーション

山口　誠[1]，Steward Martin[2]，山本明子[1]，石黒　洋[1]
（[1]名古屋大学健康栄養医学，[2]マンチェスター大学ライフサイエンス）

HCO_3^-/CO_2 緩衝系は細胞内で生じる主な緩衝系の一つである。本研究では，MATLAB/Simulink で作成した膵導管上皮細胞のイオン輸送の数理モデルを用いて，CO_2 存在下/非存在下（HEPES 緩衝液中）で生じる細胞内 pH（pH_c）変化を解析した。HCO_3^-/CO_2 緩衝系のみで構成された数理モデルを作成し，その際，$CO_2 \Leftrightarrow H_2CO_3$ および $H_2CO_3 \Leftrightarrow HCO_3^-$ の反応の平衡定数($pK_a = 2.3, 3.8$)を設定した。その結果，net での HCO_3^-/CO_2 緩衝の pK_a は 6.1 となり実験値と同等になった。

細胞内を CO_2 非存在下において，carbon anhydorase (CA) 非存在下における緩衝速度および緩衝速度を x 10-10^4 にしたときの pH_c 変化をシミュレーションした。また，HCO_3^-/CO_2 緩衝系反応速度を CA 非存在下の 100 倍に設定し，細胞膜 CO_2 透過性を 0.25 から 2 倍し，同条件においての pH_c 変化をシミュレーションした。

本シミュレーションによって CA 存在下での HCO_3^-/CO_2 緩衝系における pH_c への影響を解析することができた。

（15）上皮バリアと上皮極性形成における密着結合の役割

大谷哲久（生理学研究所・細胞構造研究部門）

密着結合（Tight Junctions: TJ）は上皮バリアと傍細胞輸送の制御に中心的な役割を果たすことが知られている。また，TJ は上皮細胞の細胞膜を頂端部側と側基底部側に区画化して上皮極性を維持する役割があると考えられてきたが，TJ の上皮極性における役割についてはこれまで相反する見解が呈されており，現在に至るまでその役割は確立していない。我々は，上皮極性における TJ の役割を解明するために，裏打ちタンパク質である ZO-1/2，および膜タンパク質である Claudin ファミリー分子群を欠損する上皮細胞を作成した。これらの細胞では TJ のストランド構造が欠損したが，ZO-1/2 を欠損すると細胞間隙が大きく広がったのに対し，Claudin ファミリー分子群を欠損した細胞においては隣接細胞同士の細胞膜が近接する様子が認められた。また，ZO-1/2 を欠損すると上皮バリアが完全に破綻したのに対し，Claudin ファミリー分子群を欠損すると電解質に対するバリア機能は完全に破綻したが，より大きな分子の拡散は分子量依存的にある程度制限された。さらに，ZO-1/2 を欠損すると上皮極性が破綻したのに対し，Claudin ファミリー分子群を欠損しても上皮極性に異常は認められなかった。これらの結果から，①TJ のストランド構造は電解質の拡散障壁には必須であるものの，より大きな分子の拡散は細胞膜同士の近接により一定程度妨げられること，②ZO-1/2 は TJ のストランド構造の形成とは独立に上皮極性を制御すること，が明らかとなった。

（16）マウス腸管における三細胞タイト結合タンパク質アンギュリン１の役割の検討

杉岡汐里[1]，中山美智子[1]，石塚典子[1]，古瀬幹夫[2]，林　久由[1]
（[1]静岡県大・大学院・薬食・生理，[2]生理研・細胞構造）

腸管上皮は外界からの選択的な栄養素吸収機能と同時に，異物の侵入を防ぐバリア機能が必要である。上皮膜のバリア機能はタイト結合で担われており，クローディンがジッパーのように二枚の細胞膜を繋いで細胞間隙を閉じている。しかし，三枚の細胞膜が接する三細胞結合部では，特殊な三細胞タイト結合が必要である。近年，この三細胞タイト結合部に局在するタンパク質として Angulin-1/LSR（Ang-1）が同定された。培養上皮細胞で Ang-1 をノックダウンすると経上皮の電気抵抗が低下し，Ang-1 はバリア機能に関与することが示されている。しかし，Ang-1 が腸管バリア機能に関与するかは検討されていない。本研究では腸管特異的 Ang-1 欠損(Ang-1 cKO)マウスを用い，消化管における Ang-1 の役割を解明することを目的とした。ユッシングチャンバー法を用い，経上皮のイオンおよびマンニトールの透過性を測定した。Ang-1 cKO マウスでは，マンニトールの透過性の増大は観察されなかった。しかし，細胞間隙の Na^+の選択的透過性の低下が観察された。更に，Ang-1 cKO マウスでは，Na^+依存性栄養素吸収活性が抑制されていた。以上より，三細胞結合部に発現している Ang-1 は，二細胞タイト結合部のイオン透過性ならびに経細胞性の Na^+依存性栄養素輸送を間接的に調節している可能性が示唆された。

（17）TRPV6 遺伝子変異による母子間カルシウム輸送障害に起因した新生児期副甲状腺機能亢進症の発症

鈴木喜郎[1,2]，デイヴィッド・チタヤト[3]，澤田浩武[4]，西村　玄[5]，富永真琴[1,2]
（[1]生理学研究所・細胞生理，[2]総研大・生理科学，[3]トロント大学病院，[4]宮崎大学医学部，[5]埼玉医科大学病院）

TRPV6 は非常に高いカルシウム(Ca^{2+})選択性を持つ TRP チャネルであり，小腸などの輸送上皮において Ca^{2+}輸送に関与し，体全体の Ca^{2+}恒常性維持に重要と考えられている。私達は KO マウスの解析によって，TRPV6 が胎盤において胎仔の骨形成のための母子間 Ca^{2+}輸送を担うことを報告してきた。今回私達は，骨石灰化不全を伴う新生児期副甲状腺機能亢進症の患者において TRPV6 遺伝子に変異を見出した。見出された変異の多くは複合ヘテロ接合という遺伝形態を取っていた。遺伝子変異の生理的意義をパッチクランプ法，細胞内 Ca^{2+}イメージングおよびビオチン化実験により解析した結果，１）細胞膜への局在，２）チャネルタンパク質の安定性，３）細胞内 Ca^{2+}依存性チャネル不活性化，に関与する少なくとも３つのタイプの変異が存在することが明らかになった。また，これらミスセンス変異以外にもスプライシング異常を伴うイントロン変異も同定された。以上のことから TRPV6 は胎児の骨石灰化のための胎盤 Ca^{2+}輸送を担い，その生理機能はマウスからヒトに至るまで保存されていることが示唆された。骨石灰化不全を伴う新生児期副甲状腺機能亢進症は TRPV6 遺伝子の変異により生じる遺伝性疾患であることが明らかになった。

（18）遺伝性低マグネシウム血症におけるクローディン-16 の異常局在に対するプリマキンの効果

五十里　彰（岐阜薬科大学 薬学部 生化学研究室）

生体内のマグネシウム濃度は，腎臓のヘンレ上行脚に発現するクローディン-16（CLDN16）によって厳密に調節される。CLDN16 は 4 回膜貫通型のタンパク質で，タイトジャンクション（TJ）に分布し，カチオン透過性のポアを形成する。家族性低マグネシウム血症患者で CLDN16 の遺伝子変異が数十種類同定され，大部分の変異タンパク質が細胞内に異常局在することが報告された。しかし，CLDN16 の異常局在を改善する薬剤は未開発である。本研究では，マラリア治療薬のプリマキンを用いて，CLDN16 変異体の細胞局在と機能に対する効果を検討した。細胞外ループに変異がある D97S を MDCK 細胞に発現させたところ，細胞内でエンドソームマーカーの Rab7 と共局在した。エンドサイトーシス阻害剤の処理により, TJ における D97S の分布量が増加したため，細胞膜上での D97S の安定性が低下していることが示唆された。プリマキン処理により，TJ における D97S の分布量が増加し，上皮膜間マグネシウム透過性が亢進した。しかし，細胞膜や細胞内に変異がある G198D，S235P，Y277X では，異常局在が改善しなかった。以上より，細胞外ループに変異を有する遺伝性低マグネシウム血症患者の治療にプリマキンが有用であると考えられる。

（19）TMEM16F のチャネルゲーティングによるリン脂質輸送の制御

清水貴浩，鍋島彰太，小澤茂喜，藤井拓人，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，これまでに細胞内遊離 Ca^{2+}濃度（$[Ca^{2+}]_i$）に依存して細胞膜リン脂質の非対称性を崩壊するスクランブラーゼとしてだけでなく, $[Ca^{2+}]_i$ 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が知られている。本研究では，ヒト TMEM16F の野生型および各種変異体における 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，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を用いて検討した。その結果，subunit cavity 内の電荷を持ったアミノ酸残基が TMEM16F の両機能に必要不可欠であることが明らかとなった。また CaCC のテール電流解析により，スクランブラーゼ活性が亢進する TMEM16F 変異体はチャネル開閉の頻度が高いと考えられた。したがって，TMEM16F を介したイオン/リン脂質輸送は subunit cavity を介して生じること, また TMEM16F のチャネルゲーティングによる構造変化がリン脂質転移を制御している可能性が示唆された。

（20）嗜好性塩味と忌避性塩味の脳内コーディング様式

山本州代，杉田　誠（広島大学大学院医歯薬保健学研究科・口腔生理学研究室）

低濃度 Na^+による口腔内味刺激は上皮性 Na^+チャネル（ENaC）を発現する味細胞で受容され，嗜好性行動を生じさせる。一方，高濃度 Na^+による味刺激は，苦味受容味細胞および酸味受容味細胞を活性化し，忌避性行動を生じさせることが報告された。本研究では，脳内での嗜好性塩味・忌避性塩味のコーディング様式を苦味と対比することにより探究した。苦味受容味細胞に経ニューロン性トレーサー（WGA-DsRed）を発現するマウスを用い，WGA-DsRed を受け取る苦味経路ニューロンを可視化し，それらのニューロンが苦味情報以外に低濃度塩味もし

くは高濃度塩味情報も伝導するかを，各種味刺激後の最初期遺伝子 c-fos の発現誘導を指標に解析した。延髄孤束核と橋結合腕傍核 medial 側において，WGA-DsRed 標識ニューロン中で c-fos を発現誘導するニューロンの割合は低濃度塩味刺激時と苦味刺激時で同程度に観察され，高濃度塩味刺激時の割合は少なかった。苦味情報を受け取り処理する橋結合腕傍核 medial 側の WGA-DsRed 標識ニューロンの一部は，延髄孤束核ですでに統合された低濃度塩味情報を受け取ることが示唆された。橋結合腕傍核 external lateral 側において WGA-DsRed 標識ニューロン中で c-fos を発現誘導するニューロンの割合は苦味，低濃度塩味および高濃度塩味刺激時でともに近い値を示し，高濃度塩味情報は本ニューロンで統合される可能性が考えられた。

５．神経発達・再生研究会

2018 年 10 月 17 日－10 月 18 日

代表・世話人：澤本和延（名古屋市立大学）

所内対応者：古瀬幹夫（生理学研究所）

（１）神経幹細胞制御による脳形態形成の改変

大塚俊之（京都大学）

（２）フェレットを用いた大脳皮質形成機構の解析

河崎洋志（金沢大学）

（３）Tsukushi を介した神経幹細胞ニッチ制御と水頭症の連関

太田訓正（熊本大学）

（４）転写因子 ND1 によるミクログリアからニューロンへの直接分化転換メカニズムの解明

中島欽一（九州大学）

（５）シュワン細胞に内包された神経分化能とその可塑性

榎本秀樹（神戸大学）

（６）幹細胞システムを用いた神経系の再生医療と病態解析研究

岡野栄之（慶應義塾大学）

（７）大脳皮質発生におけるリーリンシグナルの機能

廣田ゆき（慶應義塾大学）

（８）脳の発達・再生における新生ニューロンの移動

澤本和延（名古屋市立大学）

（９）グリア瘢痕制御による中枢神経の再生

岡田誠治（九州大学）

(10) 特異的切断によるリーリン機能制御機構

荻野ひまり（名古屋市立大学）

(11) クラスター型プロトカドヘリンに依存した大脳皮質クローン細胞間の双方向性結合形成は感覚体験により規定される

足澤悦子（大阪大学）

(12) 代謝型グルタミン酸受容体１型による成熟型シナプス結合パタンの維持

鳴島　円（生理学研究所）

(13) 小児難治性てんかん新規原因遺伝子の病態生理解析

浜田奈々子（愛知県コロニー発達障害研究所）

(14) 哺乳動物成長円錐の分子基盤をどう理解するか？

五十嵐道弘（新潟大学）

(15) 小脳回路における軸索束依存的な樹状突起形成メカニズム

藤島和人（京都大学）

(16) 神経発達を担うアクチン足場蛋白質の選択的スプライシングの時空間制御

生沼　泉（兵庫県立大学）

(17) 内包出血後の集中リハビリ過程にみられる皮質－脳幹路による代償作用

石田章真（名古屋市立大学）

(18) 創薬スクリーニングシーズと PQQ による ECM リモデリングと神経再生

笹倉寛之（愛知医科大学医学部）

（19）末梢神経損傷におけるヒト iPS 細胞由来運動神経前駆細胞を用いた運動機能再建

丹羽智史（愛知医科大学）

（20）神経損傷をスイッチとして働く分子 DINE が関わる神経再生現象

桐生寿美子（名古屋大学）

（21）神経回路形成因子 LOTUS による脳内環境制御：神経再生医療技術への展開

竹居光太郎（横浜市立大学）

（22）中枢神経障害と神経-生体システム連関

山下俊英（大阪大学）

（23）iPS 細胞を用いたパーキンソン病治療

高橋　淳（京都大学 iPS 細胞研究所）

【参加者名】

大塚俊之（京都大学），河崎洋志（金沢大学），太田訓正（熊本大学），中島欽一（九州大学），榎本秀樹（神戸大学），岡野栄之（慶應義塾大学），廣田ゆき（慶應義塾大学），澤本和延（名古屋市立大学），岡田誠治（九州大学），荻野ひまり（名古屋市立大学），足澤悦子（大阪大学），鳴島　円（生理学研究所），浜田奈々子（愛知県コロニー発達障害研究所），五十嵐道弘（新潟大学），藤島和人（京都大学），生沼　泉（兵庫県立大学），石田章真（名古屋市立大学），笹倉寛之（愛知医科大学医学部），丹羽智史（愛知医科大学），桐生寿美子（名古屋大学），竹居光太郎（横浜市立大学），山下俊英（大阪大学），高橋　淳（京都大学 iPS 細胞研究所），青山峰芳（名古屋市立大学），赤津裕康（名古屋市立大学），揚妻正和（生理学研究所），浅田　楓（兵庫県立大学），池野正史（愛知医科大学），石井圭介（名古屋市立大学），石黒雅江（名古屋市立大学），伊藤　晃（名古屋市立大学），伊藤ありさ（名古屋大学），井藤晴香（京都大学霊長類研究所），稲波千尋（名古屋市立大学），井原敦思（名古屋市立大学），今泉祐治（名古屋市立大学），井本敬二（生理学研究所），井本健太（名古屋市立大学），岩田英敏（名古屋市立大学），上野裕則（愛知教育大学），植村明嘉（名古屋市立大学），梅本銀河（名古屋市立大学），榎戸　靖（愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所），大石久史（名古屋市立大学），大嶋智葉（名古屋市立大学），大浜大揮（兵庫県立大学），大森翔太（名古屋市立大学），岡田洋平（愛知医科大学），岡戸晴生（東京都医学総合研究所），岡本麻友美（名古屋大学），荻野晋太郎（名古屋市立大学），荻野　崇（名古屋市立大学），奥川英介（名古屋市立大学），加古まり（名古屋市立大学），加瀬義高（慶應義塾大学），加藤美幸（名古屋市立大学），加藤由真（名古屋市立大学），加藤洋一（名古屋市立大学），金子奈穂子（名古屋市立大学），川口綾乃（名古屋大学），河下映里（京都薬科大学），川瀬恒哉（名古屋市立大学），喜多泰之（名古屋市立大学），熊本奈都子（名古屋市立大学），粂　和彦（名古屋市立大学），高　天翔（名古屋市立大学），河野孝夫（名古屋市立大学），興梠勝成（名古屋市立大学），郡健二郎（名古屋市立大学），五軒矢桜（名古屋市立大学），小寺知輝（名古屋大学），齋藤加奈子（名古屋大学），齋藤瑳智子（名古屋市立大学），齋藤志朗（名古屋市立大学），澤田雅人（名古屋市立大学），重信奉文（名古屋市立大学），嶋田逸誠（名古屋市立大学），鄭　且均（名古屋市立大学），周　春雨（名古屋市立大学），上用祐士（名古屋市立大学），白川茉由（名古屋市立大学），白木幸彦（名古屋市立大学），白根道子（名古屋市立大学），神農英雄（名古屋市立大学），鈴木俊章（名古屋大学），鄒　鶴（名古屋市立大学），武内恒成（愛知医科大学），多田敬典（国立長寿医療研究センター），田中正彦（名古屋市立大学），田畑秀典（愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所），築地仁美（名古屋市立大学），徳永暁憲（福井大学），冨田　淳（名古屋市立大学），鳥内皐暉（名古屋市立大学），中井慎也（名古屋市立大学），仲井理沙子（京都大学霊長類研究所），中尾洋介（名古屋市立大学），中島徳彦（名古屋市立大学），中島鼓美（名古屋市立大学），中津海洋一（名古屋市立大学），永田浩一（愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所），成瀬美結（名古屋市立大学），野田万理子（愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所），橋本真耶佳（名古屋市立大学），服部光治（名古屋市立大学），服部祐季（名古屋大学），羽鳥聖七（名古屋市立大学），

濱口文人（名古屋市立大学），原　大樹（名古屋大学），飛田秀樹（名古屋市立大学），福富妃菜（名古屋市立大学），藤永拓実（名古屋市立大学），古瀬幹夫（生理学研究所），古田美穂（愛知教育大学），北條寛典（神戸薬科大学），松田　純（ウエイブフロント㈲），松本真実（名古屋市立大学），水上智晴（名古屋市立大学），道川　誠（名古屋市立大学），三本里奈（名古屋市立大学），宮田卓樹（名古屋大学），宮本啓補（名古屋市立大学），元田善文（名古屋市立大学），安井孝周（名古屋市立大学），安川　力（名古屋市立大学），山影祐子（名古屋市立大学），山岸　覚（浜松医科大学），山口翔（名古屋市立大学），山崎久朗（名古屋市立大学），山下新菜（宮崎大学），山下依子（名古屋市立大学），葉　珂（名古屋大学），吉崎嘉一（愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所），吉村由美子（生理学研究所），Mariyam Akter（名古屋市立大学），Md Sadequl Islam（名古屋市立大学）

【概要】

近年の研究により，生後の脳にも幹細胞が存在し，継続的に新しいニューロンが産生されていることが明らかになってきた。生後脳において生まれる新生ニューロンは，脳の発達や恒常性の維持に必要であり，脳の生理機能にも関わっている。様々な脳疾患においてニューロン新生の異常が生じることも報告されている。さらに，このようなニューロン新生のメカニズムを操作することによる再生医療の可能性も期待されている。我が国において，神経発達・再生の研究は，それ以外にも様々な分野で進められているが，研究分野が細分化しており，異分野交流の機会が十分とは言えない。本研究会では，中枢神経系と末梢神経系，生理的な発生・発達と傷害後の再生，基本的メカニズムと臨床応用など，別々に進められている分野の研究者が一堂に会して最新の研究成果を発表・議論し，交流を深めるとともに，神経発達・再生研究における今後の課題や研究の方向性について，情報・意見交換を行った。

（1）神経幹細胞制御による脳形態形成の改変

大塚俊之（京都大学ウイルス・再生医科学研究所生命システム研究部門増殖制御システム分野）

哺乳動物の脳（特に大脳新皮質）は進化の過程で表面積を増大させ，滑脳 (lissencephaly) から皺脳 (gyrencephaly) へと形態的に変遷してきた。この進化過程は発生初期における脳室周囲帯 (ventricular zone (VZ)) の神経幹細胞 (apical progenitor; apical radial glial cell (aRGC)) の増加とともに，発生中後期における basal progenitor の増加によってもたらされた。basal progenitor は inner subventricular zone (ISVZ) で増殖する神経前駆細胞 (intermediate progenitor cell (IP)) と，outer subventricular zone (OSVZ) で増殖する新しいタイプの神経幹細胞 (basal radial glial cell (bRGC)) で構成される。初期の神経幹細胞 (aRGC) の増加には，神経幹細胞からのニューロン分化を抑制し，対称分裂（神経幹細胞増殖期）から非対称分裂（ニューロン産生期）への移行タイミングを遅らせるメカニズムが働いていると考えられるが，初期の神経幹細胞 (aRGC) から中後期の神経幹細胞 (bRGC) への移行と，basal progenitor の増加をもたらすメカニズムについては，まだ十分に解明されていない。

我々はこれまでに，ニューロン分化を抑制し神経幹細胞を維持する働きを持つ転写因子 Hes の機能解析を進めるとともに，マウス発生過程における神経幹細胞の経時的変化を解析してきた。その過程で，対称分裂から非対称分裂への移行タイミングやニューロン・グリア分化の移行タイミングを制御する数種の因子を明らかにした。また，神経幹細胞/前駆細胞における遺伝子発現を任意に制御可能なトランスジェニックマウスの作製により，Hes1 の強制発現および Shh シグナルの増強を誘導することで，神経幹細胞の増加と大脳新皮質の表面積の顕著な増大を認める個体が得られた。今後更に bRGC の増加とニューロン（特に浅層ニューロン）の増加をもたらす因子およびメカニズムの同定により，哺乳動物の大脳新皮質の進化メカニズムの解明に繋げる研究を進める。

（2）フェレットを用いた大脳皮質形成機構の解析

河崎洋志（金沢大学医学系脳神経医学分野）

ヒトなどの高等哺乳動物の大脳皮質の表面にはシワ（脳回）が存在する。脳回の存在により大脳皮質の表面積が増加し，より多くの神経細胞を持つことが可能になったと考えられている。また脳回異常疾患である多小脳回症や滑脳症では重篤な脳機能障害を来すことから，脳回は機能的に重要だと考えられているが，その形成機構はほとんど明らかにされていない。その理由としてマウスの脳には脳回がないため，マウスを用いた解析が困難であるという点が挙げられる。そこで我々は，発達した脳をもつ哺乳動物フェレットに着目し，フェレットに分子遺伝学的技術を導入することにより脳回形成機構および脳回異常疾患の解析を進めている。フェレットへ子宮内エレクトロポレーション法を応用することにより，フェレット大脳皮質への遺伝子導入を確立した。さらに，CRISPR/Cas9 を組み合わせることにより，フェレット大脳皮質での遺伝子ノックアウト法が可能となった。今回はこれらの技術を用いて明らかになってきた脳回の形成機構について紹介したい。我々のフェレットを用いた技術は脳回のみならず，高等哺乳動物特有の様々な脳神経構築の解析に有用と考えられる。

（3）Tsukushi を介した神経幹細胞ニッチ制御と水頭症の連関

太田訓正（熊本大学大学院生命科学研究部）

Tsukushi は，我々が単離・命名した分子量約 40kDa の分泌型タンパク質である。マウス脳において，Tsukushi は側脳室下帯の神経幹・前駆細胞から構成される脳神経ニッチ領域を包むように，周皮細胞（血管）と上衣細胞（神経）に発現している。Tsukushi KO マウスの脳では，脳神経ニッチを構成する細胞群の制御が乱れ，ヒト水頭症に類似した側脳室拡大が生後から観察される。そこで，出生直後に Tsukushi タンパク質を側脳室に投与したところ，脳室の拡大が抑制された。また，Tsukushi KO マウスは歩行困難を伴うことも明らかになっている。さらには，原因が明らかになっていない水頭症患者の Tsukushi 遺伝子配列解析を行った結果，Tsukushi タンパク質内でアミノ酸置換を起こす変異が 4 カ所確認された（Riyadh et al., in preparation ; PCT/JP2017/038203）。以上の結果から，水頭症患者は変異型 Tsukushi タンパク質を脳内で産生し，脳神経ニッチの制御が乱れ，発症に至ることが予測される。今後は，Tsukushi KO マウスを用いて，水頭症発症と脳神経ニッチ制御の連関を分子レベルで明らかにしたい。

（4）転写因子 ND1 によるミクログリアからニューロンへの直接分化転換メカニズムの解明

中島欽一（九州大学大学院医学研究院応用幹細胞医科学部門基盤幹細胞学分野）

近年，神経疾患の病態解明や治療を目的として，転写因子遺伝子を導入することにより体細胞を直接ニューロンへと分化転換する方法が開発された。しかし，遺伝子発現のオン・オフを決定する根本的な仕組み，エピゲノム動態の詳細は十分に分かっていない。我々は今回，転写因子 NeuroD1(ND1)の強制発現によるミクログリアからニューロンへの直接分化転換を基にして，エピゲノム変化に着目した直接分化転換のメカニズム解明を目指した。これまでに ND1 は，ミクログリアのヒストンバイバレント修飾(H3K27me3 と H3K4me3 を同時にもつ)領域に結合し，ニューロン特異的遺伝子群の発現を上昇させ，ミクログリア特異的遺伝子群に対しては H3K4me3 修飾を減少させ，H3K27me3 修飾を増加させることで，その発現を抑制することがわかった。さらに，ND1 発現

ウィルスをマウス線条体に注入することにより，生体内でもミクログリアからニューロンへの直接分化転換が可能であることも明らかとなった。本講演では，これらのメカニズムとともに，その応用の可能性についても議論したい。

（5）シュワン細胞に内包された神経分化能とその可塑性

榎本秀樹（神戸大学大学院医学研究科神経分化・再生分野）

腸管神経系は生体内で最大の末梢神経系であり，腸管の運動・分泌・血流を制御して生命維持に必須の役割を担っている。Le Douarin による神経堤細胞の運命マッピング解析以来，腸管神経系を構成する細胞群の全ては迷走および仙骨神経堤由来の神経前駆細胞から派生すると考えられてきた。しかし，我々は最近，遺伝学的細胞標識を行った結果，外来神経線維に沿って腸管壁に侵入するシュワン細胞の一部が神経細胞に系譜転換していることを見出し，シュワン細胞が腸管神経細胞の新たな細胞起源であることを突き止めた。本講演では，シュワン細胞由来神経形成の生物学的意義と，病態や神経傷害などの環境変化への応答性について最新の知見を紹介する。

（6）幹細胞システムを用いた神経系の再生医療と病態解析研究

岡野栄之（慶應義塾大学医学部）

成体由来の体細胞に少数の転写因子の遺伝子を導入するだけで，多能性をもつ人工多能性幹細胞(=iPS 細胞)を作成することが可能となり，再生医療研究や疾患研究において大きな期待を集めている。私達は，マウスおよびヒト iPS 細胞由来の神経前駆細胞をマウスおよびサルの脊髄損傷モデルへ移植することにより，適切な iPS 細胞株を用いることにより，長期間に渡り腫瘍原性なく，機能回復を誘導することに成功した。今後 CiRA から提供予定の臨床グレードのヒト iPS 細胞ストックを用いて，腫瘍原性を始めとした安全性の検証を含め，どのように臨床の現場へ応用していくかの道筋をお話する。

一方 iPS 細胞技術のもう一つの応用例として疾患モデル研究があげられる。一方，ヒトの精神・神経疾患の研究が困難である理由として，①疾患モデルマウスが必ずしもヒトの病態を反映しない，②ゲノムでの遺伝子変異と表現型の因果関係を証明することが難しいことがある，③剖検脳の解析だけでは，疾患の onset において in vivo で何が起きているかを知ることが困難である，④疾患感受性細胞（脳の細胞）への accessibility が低い，⑤病態の中核を構成する神経回路が，同定されていない事が多いなどの事が挙げられる。我々は，これらの点を克服するために，iPS 細胞技術を用いた解決を試みている。これ迄我々は，40 以上の精神・神経疾患患者より iPS 細胞を樹立し，病態を解析している。これらは，①小児神経疾患，②感覚器疾患，③精神疾患，④晩発性の神経変性疾患に分類出来る。本日は，ALS，アルツハイマー病，パーキンソン病などを中心に病態解析，創薬研究の成果について概説したい。

（7）大脳皮質発生におけるリーリンシグナルの機能

廣田ゆき，仲嶋一範（慶應義塾大学医学部解剖学）

哺乳類の大脳皮質は整然とした 6 層構造を持つ。この構造は発生期の高度に制御されたニューロン移動によって形成される。大脳皮質ではニューロンの約 70%が興奮性ニューロンであり，発生過程においてこれらのニューロンは外套の脳室に面した脳室帯，あるいはそのすぐ上部にある脳室下帯で産生される。その後，ニューロンは放射状に脳表面へ向かって移動し皮質板を形成して，最終的に機能する場所へと配置する。この移動過程において，ニューロンは複数の異なる移動様式を示し，これらの移動過程が妨げられると，滑脳症などの神経疾患を引き起こす。巨大細胞外タンパク質であるリーリンは主に大脳皮質の表層にある辺縁帯に含まれるカハールレチウス細胞から分泌され，大脳皮質の層形成に重要な機能を果たしている。リーリンシグナルは分泌されたリーリンが細胞表面にある受容体 ApoER2 と VLDLR に結合することによってシグナル伝達が開始され，続いて細胞内でアダプター分子である Dab1 のリン酸化が引き起こされる。これまでの研究でリーリンシグナルがニューロン移動プロセスのうちの複数のステップを制御し，移動を促進することが明らかになってきた。一方, ApoER2 および VLDLR のノックアウトマウスでは辺縁帯直下に到達したニューロンが正常に移動を終了せず一部が辺縁帯内部に進入することから，リーリンシグナルはニューロンの正常な移動の停止に必要であると考えられるが，その詳細なメカニズムは明らかになっていない。ニューロン移動の正常な停止は層構造の形成に必須であることから，その点に着目して現在解析を進めているので紹介したい。

（8）脳の発達・再生における新生ニューロンの移動

澤本和延（名古屋市立大学大学院医学研究科再生医学分野／生理学研究所神経発達・再生機構研究部門）

生後の脳においてもニューロンが継続的に産生されており，脳の発達・維持に加えて，脳疾患の病態や再生過程にも関わっていることが明らかになりつつある。ニューロンは幹細胞が局在する特定の場所で産生された後，必要な場所へ向かって移動する。例えば側脳室外側壁で産生されるニューロンは，前方へ向かって長距離を移動し，嗅球へ到達する。この過程においては，新生ニューロンが鎖状の集団を形成し，隣接した細胞とゆるやかな接着を維持しながら，アストロサイトのトンネル内を進む。目的地に接近すると集団から離れて単独移動となり，突起を伸長しながら徐々にスピードを落として停止する。脳が傷害を受けると，移動方向を変えて傷害部位へ到達する。成体脳梗塞においては，ニューロンはアストロサイトの突起をかき分けながら，ラミニン―インテグリンシグナルにより血管を足場として移動する。新生仔脳傷害においては，N-カドヘリンを介して残存する放射状グリア細胞の突起に接着しながら移動する。これらの分子を含有する人工足場を用いて細胞移動を促進することで，脳機能を回復させることができる。本研究会では，これら生後脳において新生ニューロンが移動するしくみとその意義について，最新の知見を紹介する。

（9）グリア瘢痕制御による中枢神経の再生

岡田誠司（九州大学生体防御医学研究所病態生理学分野）

哺乳類末梢神経は損傷を受けても再生し機能的にも回復が認められるが，中枢神経は殆ど再生しない。これは，両者に於ける神経軸索の再生反応の違いによるものではなく，環境の違い，すなわち中枢神経に於いてのみ損傷周囲に形成されるグリア瘢痕によるものと言われている。グリア瘢痕は，中枢神経系細胞の 75 %を占めるアストロサイトが形態変化を生じ形成されるもので，軸索再生の物理的なバリアとなるのみならず，コンドロイチン硫酸プロテオグリカンなどの軸索伸長阻害因子を分泌し化学的にも神経再生反応を阻害する。グリア瘢痕が形成されないアホロートルやヤツメウナギ等の一部の動物では，脳外傷や脊髄損傷後も旺盛な軸索伸長が認められ機能的な回復が得られることを鑑みても，グリア瘢痕が中枢神経の再生阻害に与える影響は大きいと言える。これまでグリア瘢痕が形成されるメカニズムは明らかではなかったが，我々は瘢痕形成メカニズムが環境依存性であることを証明した。また，瘢痕形成を抑制することで，脊髄損傷後の再生反応が改善することを報告している。本講演ではこれまでに明らかになった知見とともに，グリア瘢痕に焦点を当てた中枢神経再生戦略について概説したい。

（10）特異的切断によるリーリン機能制御機構

荻野ひまり（名古屋市立大学大学院薬学研究科病態生化学分野）

分泌タンパク質リーリンは，胎生脳では神経細胞層構造形成や樹状突起形成，成体脳では神経可塑性やシナプス形成に必須の分子である。近年，リーリンの機能低下が精神神経疾患の発症や増悪化に関与することが多数報告されている。リーリンは受容体への結合を介して細胞内タンパク質 Dab1 のリン酸化を誘導し，その下流で様々な現象を制御する。リーリンは特異的な切断により不活化されるので，この反応を触媒する酵素の阻害剤は精神神経疾患の治療薬になると期待される。我々は，マウス大脳皮質神経細胞の培養上清からリーリン切断活性を指標に部分精製することにより，分泌型メタロプロテアーゼ ADAMTS-3 を同定した。ADAMTS-3 は大脳皮質，海馬，小脳等に発現し，ADAMTS-3 欠損マウスの大脳皮質や海馬ではリーリンの切断産物量および Dab1 量が減少することを見出した。リン酸化 Dab1 は速やかに分解されることから, Dab1 量の減少はリーリン機能の上昇を意味している。すなわち ADAMTS-3 は脳でリーリン不活化を担うことが明らかとなった。また, ADAMTS-3 欠損マウス大脳皮質の深層神経細胞樹状突起の分岐増加と伸長が観察された。

一方，プロテアーゼ側の欠損マウスを用いる手法では, リーリン以外の基質に対する影響を排除することが困難である。そのため，リーリンの切断部位に変異を導入した非切断型リーリンノックイン（PADV-KI）マウスを作製した。PADV-KI マウスの脳ではリーリン切断産物量および Dab1 量の顕著な減少がみられた。現在，PADV-KI マウスの解析を進めるとともに, アルツハイマー病態型モデルマウスと交配することにより，リーリン切断の生理的意義の解明と，リーリン切断抑制がアルツハイマー病態へ及ぼす効果の解明を目指している。

（11）クラスター型プロトカドヘリンに依存した大脳皮質クローン細胞間の双方向性結合形成は感覚体験により規定される

足澤悦子（大阪大学大学院生命機能研究科心生物学研究室／生理学研究所視覚情報処理部門）
八木　健（大阪大学大学院生命機能研究科心生物学研究室）
吉村由美子（生理学研究所視覚情報処理部門）

The specificity of neural connections in the sensory cortex is fundamental for the proper processing of sensory information. We previously have shown that high reciprocal connections between clonal cortical neurons are established and the reciprocity is regulated by clustered protocadherins in mouse barrel cortex layer 4 (Tarusawa et al., 2016). In this study, we analyzed the effect of sensory experience on the establishment of the cell-lineage-dependent reciprocal connections. To visualize clonal neurons, we generated chimeric mice by injecting one induced pluripotent stem cell (iPS cell) marked with GFP into a blastocyst. We conducted dual whole-cell recordings from presumed clonal neuron pairs or non-clonal neuron pairs within a layer 4 barrel at postnatal day 9 (P9)-P20.

The proportion of reciprocally connected pairs increased significantly in clonal pairs, but not in non-clonal pairs, from P9 to P20. Whisker trimming from P13 prevented almost completely the increase in the reciprocity in clonal pairs, while it did not affect the reciprocity in non-clonal pairs.

These results suggest that the sensory inputs are required for the establishment of cell-lineage-dependent reciprocal connections based on clustered protocadherin function.

（12）代謝型グルタミン酸受容体１型による成熟型シナプス結合パタンの維持

鳴島　円（生理学研究所生体恒常性発達研究部門）

発達期における中神経系の神経回路網形成は，①シナプス形成と強化②余剰シナプスの除去③成熟型シナプス結合の維持，の三段階に分けられる。視覚系の網膜―外側膝状体シナプスは暗室飼育により結合パタンが幼若型へと退行するため，視覚経験依存的なシナプス維持機構の存在が示唆されていたが，その分子メカニズムはほとんど明らかでなかった。本研究では，代謝型グルタミン酸受容体１型（mGluR1）のノックアウトマウスで正常な網膜―外側膝状体シナプス形成と余剰シナプスの除去後に，成熟型シナプス結合パタンが維持されず，幼若型の結合パタンに退行することを明らかにした。また野生型マウスで暗室飼育中に mGluR1 賦活薬を投与するとシナプス結合が維持されることから，mGluR1 が視覚経験依存的なシナプス維持機構に中心的な役割を果たすことが示唆された。

（13）小児難治性てんかん新規原因遺伝子の病態生理解析

浜田奈々子（愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所神経制御学部）

Phactr1 はアクチンおよび脱リン酸化酵素(PP1)と結合する蛋白質で，シナプス機能や樹状突起・軸索の形態維持に関与すると考えられている。ウエスト症候群（小児難治性てんかん）患者から Phactr1 の２種類の新規ミスセンス変異が同定されたため，Phactr1 の大脳皮質形成における病態機能解析を行った。変異 Phactr1 はアクチンとの結合能が著しく低下していた。また，ドミナントネガティブ機能を有し，変異体の発現は形態異常を伴った

神経細胞移動障害を引き起こした。また，RNAi による Phactr1 発現抑制により，樹状突起形成阻害やシナプス機能障害が観察された。一連の異常がウエスト症候群の病態背景となっている可能性が示された。

（14）哺乳動物成長円錐の分子基盤をどう理解するか？

五十嵐道弘（新潟大学医歯学系神経生化学）

神経回路形成という過程を経て，ヒトでも出生時には「脳」という「容器」自体は既に出来上がっている。成長円錐(growth cone)は発達期の神経細胞突起（主に軸索）の先端に形成される運動性に富んだ構造であり，これが移動して特定の経路をたどり，標的神経細胞を認識するとそこで停止してシナプス構造が作られる。このような成長円錐の機能は，成熟脳においても adult neurogenesis に伴う可塑的シナプス形成や，損傷脳で生ずる神経回路再編時にも必要とされ，脳の発生・可塑性・再生の全てにわたってその分子基盤が関わっている。成長円錐の分子基盤を哺乳動物脳で包括的に理解すべく，プロテオミクスを適応した結果(PNAS 2009; Neurosci Res 2014)，線虫・ショウジョウバエとは全く異なる分子基盤が浮かび上がってきた。今回はその基盤に立脚した，新たなアプローチの結果を紹介する。

1) 神経細胞の極性形成：成長円錐から軸索が形成される過程，すなわち神経細胞の極性形成のプロセスは非常に多数のシグナル伝達経路が示唆されるが，その要となる分子群は脂質ラフトに集合し，それらは膜タンパク質のパルミトイル化に基づいていることを見出した(J Neurosci 37: 4406 ['17]; J Biol Chem 292: 20936 ['17])。脂質ラフトの重要について論ずる。

2) 超解像度顕微鏡による膜動態の解析：成長円錐では細胞骨格の重合と，膜面積の拡大という２つの事象が協調して起こることで神経成長が可能になると想定される。従って，細胞骨格（アクチン繊維，微小管）と膜成分（小胞，膜）との関連性が可視化できなければ，軸索再生などの問題にはチャレンジできない。演者は SIM 型超解像顕微鏡を用いて，成長円錐先端のアクチン繊維の束化と連動する，クラスリン非依存性のエンドサイトーシスを発見した。この動きはＺ軸方向に存在し，従来のクラスリン依存性の動きとは全く分子機構も空間的位置も異なり，この動きを阻害すると神経成長が抑制された。また脂質ラフトはこのような動きに支配された(Cell Rep 18：2203 ['17])。この結果は神経成長の膜動態が多様性を持って，細胞骨格に関係することを初めて示した結果である。

3) リン酸化プロテオミクスからの神経成長シグナリングの解析；リン酸化はシグナル伝達の中心的な機構であるが，神経成長の実働部隊の蛋白質ではほとんどわかっていない。この包括的なプロファイリングのため，成長円錐のリン酸化プロテオミクスを行って，約 2000 種類の蛋白質に関する約 6,000 箇所のリン酸化部位を同定した。この in vivo リン酸化情報はこれまでの in vitro リン酸化情報とは量的・質的に大きく異なっており，プロリン指向性 (proline-directed) リン酸化が顕著であった。バイオインフォマティクスと阻害剤実験より，JNK (c-jun N-terminus kinase)であることが見いだされた。最も頻度の高いのは，神経成長の古典的マーカーである GAP-43 のリン酸化であり，その特異抗体で伸長軸索，再生軸索は常にこのリン酸化を伴っていることを見出した(iScience 4: 190 ['18])。種々のリン酸化部位は新規の神経成長・再生の分子マーカーとなる可能性を追跡している。

（15）小脳回路における軸索束依存的な樹状突起形成メカニズム

藤島和人（京都大学 KUIAS-iCeMS）

小脳プルキンエ細胞の樹状突起は直交する約十数万本の平行線維とシナプス結合する。その分岐は非常に複雑であるにも関わらず，交差が殆どなく，単一平面上に投射する。この平面かつ空間充填的な分岐形成は，効率

的なシナプス結合への関与が予想され，正常な小脳回路の形成に重要だと考えられる。

本演題では平面性獲得および空間充填的パターン形成という二つの異なった樹状突起形態形成に注目する。特に細胞骨格制御がフィロポディア動態を介して二つの異なる樹状突起形成パターンを調整する仕組みを議論する。

（16）神経発達を担うアクチン足場蛋白質の選択的スプライシングの時空間制御

生沼　泉（兵庫県立大学理学部）

我々はこれまでに，低分子量 G 蛋白質の 1 つ R-Ras の活性が様々な外界因子の駆動で共通に制御され，R-Ras の軸索内での活性制御が軸索の動的形態制御において普遍的役割を果たしていることが明らかにしている。また, R-Ras の結合分子として, PI3-kinase (J. Cell Biol., 2006, J. Biol. Chem., 2007) やアクチン抗キャッピングタンパク質 Ena/VASP のリガンドタンパク質である Lamellipodin (J. Neurosci., 2012)，そしてアクチン足場蛋白質である afadin を同定した (MBoC., 2012)。そのうち，afadin は，初代培養大脳皮質神経細胞において, その C 末端の F-actin 結合ドメインを介し, 軸索分枝形成を担う。さらに最近の誌上成果で，afadin の選択的スプライシングが，培養神経細胞の発達過程で変化しており，さらに，短いバリアント(S 体) が長いバリアント(L 体) に対してドミナントネガティブ体として働くことで，L 体の細胞膜での集積によるアクチン重合足場形成を阻害するという報告をした (MBoC., 2015)。今回,「発達過程のマウス大脳皮質内で afadin の選択的スプライシングが時空間的に制御されることが，的確な脳梁軸索の投射を担っている」という，セントラルドグマレベルで規定される大脳皮質神経回路構築の新奇制御システムを報告する。

（17）内包出血後の集中リハビリ過程にみられる皮質－脳幹路による代償作用

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）

我々は内包出血ラットを用い，1 週間麻痺肢を集中使用させ, その後の運動機能および中枢神経回路の変化を確認した。その結果，内包出血後の集中リハビリにより皮質赤核路の軸索の有意な増加が確認された。この皮質赤核路にレンチウイルスベクター（NeuRet-TRE-EGFP.eTeNT）およびアデノ随伴ウイルスベクター（AAVdj-CaMKII-rtTAV16）を注入し, ドキシサイクリンを投与することで選択的に機能遮断し，運動機能の変化を観察した。その結果，リハビリ終了後に皮質赤核路を遮断すると, 改善した運動機能の有意に低下がみられ, 同経路がリハビリによる機能回復に対し因果関係を有する事が示唆された。しかしながら，リハビリ開始と同時に皮質赤核路を遮断した場合は, リハビリによる運動機能の改善は阻害されなかった。かつ，これらの個体では皮質赤核路に代わり皮質網様体路の著明な増加を認めた。この結果を受け，皮質網様体路に対してもウイルスベクター（NeuRet-MSCV-Cre／AAVdj-Flex-DIO-hM4D-mCherry）を注入し，Clozapine-N-Oxide の投与により機能の遮断を試みた。その結果，内包出血および集中リハビリ後において, 皮質網様体路単独の遮断では著明な影響を認めなかったが, 上記のように皮質赤核路を予め継続的に遮断した後に皮質網様体路を遮断すると, 改善した運動機能の有意な低下がみられた。これらの結果は，皮質-脳幹路系のダイナミックな代償作用を示唆するものと考える。

（18）創薬スクリーニングシーズと PQQ による ECM リモデリングと神経再生

笹倉寛之（愛知医科大学医学部細胞生物学）

細胞外マトリックス（ECM）は，神経系をはじめとする様々な組織・器官の発生や形態形成，その維持に重要な機能を担う。しかしながら，ECM リモデリングの制御機構に関しては不明な点が多い。

糖鎖とコラーゲンは ECM を構成する主要な分子であり，軸索の伸張や組織の修復・維持に重要な役割をはたしている。糖鎖としてはコンドロイチン硫酸(CS)は脊髄損傷からの神経修復において軸索の阻害因子として働き，CS の発現を阻害すると脊髄損傷が劇的に回復する(Takeuchi et.al:Nature Commun 2013)。そのため CS の発現を制御する化合物は, ECM リモデリングを解明する上で, また脊髄損傷・組織修復といった実用的な面で重要なツールとなる。われわれは天然物有機化合物ライブラリーからの創薬スクリーニングを行い CS の発現を変動する化合物を，さらにはＣＳ発現抑制をするシーズ創薬を見出した。

このうち CS 発現を上昇させるヒット化合物の一つとして補酵素であるピロロキノリンキノン(PQQ)を見出した。われわれはこの PQQ が線虫の寿命を延長することを発見し，その作用機序を明らかにした(Sasakura et al:JCS　2017)。PQQ は細胞膜に局在する活性酸素合成酵素デュアルオキシデース(DUOX)を活性化し，これがシグナルとなり生体防御応答を強化することで，ホルメシス効果で線虫の寿命が延長された。さらに DUOX から産生される活性酸素はまた ECM のコラーゲンのクロスリンクに必須であることを見出している。これらの解析から，レドックス制御とＥＣＭの関連，ＣＳの発現機構とともに，糖鎖やコラーゲンを介した ECM リモデリングによる神経機能解析を進めている。本演題では，脊髄損傷治療を目指した CS 発現を制御する化合物スクリーニング，低濃度活性酸素による ECM リモデリングに関して議論したい。

（19）末梢神経損傷におけるヒト iPS 細胞由来運動神経前駆細胞を用いた運動機能再建

丹羽智史（愛知医科大学医学部内科学講座／名古屋大学大学院医学系研究科手の外科学）

我々は，脱神経化された骨格筋に対し，運動神経前駆細胞の末梢神経内移植による運動機能再建を試みてきた。本研究では，ヒト iPS 細胞由来運動神経前駆細胞（hiPSC-MNPCs）を末梢神経損傷モデルラットへ移植し，移植神経による筋の再支配と運動機能の再建に関して評価を行った。

8 週齢 Nude rat の坐骨神経を結紮切離し，末梢神経損傷モデルを作成した。1 週後に ffLuc（fusion protein of venus and luciferase）を定常発現する hiPSC-MNPCs を切断神経遠位断端に移植し，12 週後に評価を行った。

In vivo bioluminescent imaging では，移植細胞の生着および経時的変化を確認することができた。Surgical control 群に比し，前脛骨筋の萎縮は抑制され，神経断端の電気刺激にて機能的な収縮を認めた。組織学的には，末梢神経内に移植細胞の生着を認め，神経筋接合部までヒト特異的抗体で染色される神経突起の伸長を認めた。

ヒト iPS 細胞由来のニューロンによる神経筋接合部の形成を確認でき，電気刺激による機能的な筋収縮を得ることができた。運動機能再建治療に加え，神経・筋病態の機能的解析や，ヒト化モデルとして創薬研究への応用も期待される。

（20）神経損傷をスイッチとして働く分子 DINE が関わる神経再生現象

桐生寿美子（名古屋大学大学院医学系研究科）

末梢神経再生に関わる遺伝子探索から単離同定した分子DINE(Damage induced neuronal endopeptidase)は中枢・末梢神経損傷に鋭敏に発現応答するユニークな特徴を有する。私たちは神経再生の鍵を握る分子としてこれまでこの分子に注目してきた。DINE は神経細胞型膜一回貫通型メタロプロテアーゼであり，アミロイドβ分解酵素 neprilysin とファミリーを形成することからペプチド分解・生成に関わると考えられる。ここ数年間で DINE が胎児期末梢運動神経の軸索分岐を促すこと，中枢神経再生を促すこと，DINE 遺伝子変異が神経原性のヒト先天性関節拘縮症の原因となることが次第に明らかになってきた。さらに最近，皮膚など組織損傷によりそこに豊富に分布する末梢知覚神経が損傷されると，損傷知覚神経で発現誘導された DINE により損傷環境ニッチが神経制御され組織修復が促進する可能性も示唆されており今回その一部も紹介したい。

（21）神経回路形成因子 LOTUS による脳内環境制御：神経再生医療技術への展開

竹居光太郎（横浜市立大学大学院生命医科学研究科）

嗅覚情報の２次伝導路である嗅索（LOT）の神経回路形成因子として LOT usher substance（LOTUS）を同定した。LOTUS は中枢神経系の再生を困難にする主要因として挙げられる Nogo 受容体-1（NgR1）に対する拮抗物質として機能する。成体脳では LOTUS は広範囲に豊富に発現しているが，損傷や疾患によってその発現量が激減することが判明した。LOTUS 過剰発現マウスを作製して神経損傷モデル動物における検討を行ったところ，過剰発現マウスでは脊髄損傷や脳梗塞後の機能回復が顕著に誘起された。次に，精製 LOTUS タンパク質を損傷患部に投与したところ，神経損傷後の機能回復が有意に認められた。これらより，LOTUS の補填は神経損傷後の機能回復に奏功すると考えられた。LOTUS の生理機能を利用した再生医療技術の構築を目指している。

（22）中枢神経障害と神経ー生体システム連関

山下俊英（大阪大学大学院医学系研究科分子神経科学・創薬神経科学）

脳・脊髄などの中枢神経は，いったん損傷すると回復が困難となる。この原因として，中枢神経の再生力が低いことに加えて，神経回路の再生を抑制する機構が存在していることなどがあげられる。近年，中枢神経の神経細胞の軸索の周りを取り巻く髄鞘の中に，軸索の再生を阻害する因子が複数あることが特定され，これらの因子が損傷した神経回路の再生を阻止すると考えられている。一方で，中枢神経の不完全損傷の場合には，ある程度の機能の回復が長い期間のうちに自然にもたらされることがある。実際に成体においても脳および脊髄で代償的な回路網の再形成が起こっていることが示されている。例えば，脳損傷後に中脳や上部脊髄など様々な場所で，損傷を免れた軸索から側枝の形成がおこり，新たな回路が形成される。最近の研究により，この代償性神経回路の形成現象とメカニズムが明らかになってきている。さらに中枢神経障害の病態形成と機能回復の過程には，神経系のみならず脈管系，免疫系などの生体システムに時空間的変化をきたし，病態が形成される。特に，脈管系と免疫系は，中枢神経回路障害と機能回復の過程に重要な役割を演じている。本講演では，生体システムのダイナミクスの観点から神経回路障害を捉え，一連の反応の機構と意義について考察したい。

（23）iPS 細胞を用いたパーキンソン病治療

高橋　淳（京都大学 iPS 細胞研究所）

近年幹細胞を用いた神経再生医療が現実味を帯びてきており，パーキンソン病はその対象疾患のひとつと考えられている。我々は臨床応用に向けて，マウスフィーダー細胞を使わずラミニンフラグメントを用いて大量の神経誘導を行う技術を開発した。また，コリンという floor plate の特異的表面マーカーを用いて，ドパミン神経前駆細胞のみを選別するセルソーティング技術の開発を行った。これにより，ドパミン神経細胞の純度が高まり不必要な増殖性細胞（未分化 iPS 細胞や初期神経幹細胞など）を取り除くことができ，有効かつ安全なドパミン神経前駆細胞を安定して作製することが可能になった。さらにこの方法で作製したヒト iPS 細胞由来ドパミン神経前駆細胞をカニクイザルのパーキンソン病モデルに移植し，その有効性と安全性を確認した。細胞移植を受けたカニクイザルは自動運動の量が増加し，パーキンソン病症状の改善がみられた。また PET 解析では移植細胞が脳内でドパミンを合成していることが確認された。さらに最大 2 年間の経過観察で腫瘍形成はみられず，脳切片の組織学的解析でも悪性化所見は認められなかった。我々はこれらの結果に基づいて治験を行うべく患者募集を開始した。本講演ではこれらの iPS 細胞を用いたパーキンソン病治療の現状について紹介する。

６．生体サバイバル戦略としての痛みの機構と意義

2018 年 12 月 13 日－12 月 14 日

代表世話人：加藤総夫（東京慈恵会医科大学）

所内対応者：富永真琴（生命創成探究センター/生理学研究所）

（１）【特別講演】情動を支える自律神経機能と内受容感覚

梅田　聡（慶應義塾大学文学部心理学研究室）

（２）末梢性動脈疾患に伴う虚血性疼痛のメカニズムの解明

堀　紀代美，中村恒夫，白石　昌，奥田洋明，石川達也，尾崎紀之

（金沢大学医薬保健研究域医学系機能解剖学分野）

（３）新規痛み関連分子 Tmem45b の解析

谷奥　匡，吉田朱里，川股知之（和歌山県立医科大学麻酔科学教室）

（４）薬物筋注による鎮痛機構の解析

那須輝顕 [1]，村瀬詩織 [2]，内村佳子 [1]，水村和枝 [1,3]

（[1] 中部大学生命健康科学部，[2] バイオリサーチセンター㈱，[3] 日本大学歯学部生理学講座)

（５）種々のスフィンゴ糖脂質による痛み及び痒み行動への影響

渡辺　俊 [1,2]，森田元樹 [1,2]，野村夏実 [1,2]，須釜　哲 [1,2]，阿部茉莉絵 [1,2]，田辺光男 [1,2]

（[1] 北里大学薬学部 薬理学教室，[2] 北里大学薬学部附属医薬研究施設）

（６）ショウジョウバエ侵害受容における神経ペプチド性の下降性抑制機構

及川　泉 [1]，近藤　周 [2]，柏原秋穂 [1]，谷本　拓 [3]，古久保−徳永克男 [4]，本庄　賢 [4]

（[1] 筑波大学生命環境科学研究科，[2] 国立遺伝学研究所無脊椎動物遺伝研究室，

[3] 東北大学生命科学研究科，[4] 筑波大学生命環境系）

（７）脳内 n-3 系脂肪酸—脂肪酸受容体シグナルを介したストレス誘導性慢性疼痛形成機序の解明

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）

（８）Exercise-induced hypoalgesia の脳メカニズム －mesocortico-limbic system の役割－

上　勝也，仙波恵美子

（[1] 和歌山県立医科大学医学部 リハビリテーション医学，

[2] 大阪行岡医療大学医療学部理学療法学科）

（９）鎮痛を生じる痛みではない経験が慢性痛を変える-幻肢痛に対する催眠を通して-

水谷みゆき（愛知医科大学 学際的痛みセンター）

（10）オレキシン A による成熟ラット脊髄膠様質ニューロンのシナプス伝達の修飾

– オレキシン B やオキシトシンの作用との比較

王　翀 [1]，熊本栄一 [1]，藤田亜美 [1,2]

（[1] 佐賀大学医学部 生体構造機能学講座，[2] 福岡歯科大学 機能生物化学講座）

（11）神経障害性疼痛における長鎖非コード RNA Neat1 の作動機構の探索

坂井　敦 [1]，丸山基世 [1,2]，福永津嵩 [3,4]，浜田道昭 [3,5,6]，岡田尚巳 [7]，鈴木秀典 [1]

（日本医科大学 [1] 薬理学，[2] 実験動物管理室，[7] 分子遺伝医学，[3] 早稲田大学理工学術院，

[4] 東京大学情報理工学系研究科，[5] 産総研 - 早稲田 CBBD-OIL，[6] 日本医科大学）

（12）痛覚を介した炎症と骨格の制御機構

丸山健太 [1]，高山靖規 [2]，富永真琴 [2]

（[1] 大阪大学免疫学フロンティア研究センター，[2] 生理学研究所細胞生理研究部門）

（13）がん化学療法誘発性末梢神経障害におけるシュワン細胞の役割と治療標的としての可能性

中川貴之，今井哲司，荻原孝史，小柳円花，松本真有奈，岩満優輝，松原和夫
（京都大学医学部附属病院薬剤部）

（14）化学療法誘発性末梢神経障害の原因物質としての HMGB1 の役割：
臨床データ解析と基礎研究を駆使したアプローチ

川畑篤史（近畿大学 薬学部 病態薬理学研究室）

（15）FK506（タクロリムス）は TRPA1 チャネル活性化によって痛みを引き起こす

内田邦敏[1]，喜多　知[1]，加藤健一[1]，鈴木喜郎[2]，富永真琴[2]，山﨑　純[1]
（[1]福岡歯科大学 細胞分子生物学講座，[2]生理学研究所 細胞生理研究部門）

（16）蚊の唾液成分が動物の反射行動に与える影響の検討

駒走仁哉[1]，酒井裕也[1]，青柳誠司[1]，鈴木昌人[1]，高橋智一[1]，細見亮太[1]，福永健治[1]，
歌　大介[2]，安東嗣修[2]，高澤知規[3]，引土知幸[4]，川尻由美[4]，中山幸治[4]
（[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，
[3]群馬大学医学部附属病院，[4]大日本除虫菊㈱）

（17）幼少期ストレス負荷マウスの脳内各種オピオイド受容体およびオピオイドペプチドの発現変化

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）

（18）電気生理学的解析法を用いた蚊の唾液成分による機械的痛み刺激に対する効果の検討

北田博之[1]，酒井裕也[1]，青柳誠司[1]，鈴木昌人[1]，高橋智一[1]，細見亮太[1]，福永健治[1]，
歌　大介[2]，安東嗣修[2]，高澤知規[3]，引土知幸[4]，川尻由美[4]，中山幸治[4]
（[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，
[3]群馬大学医学部附属病院，[4]大日本除虫菊㈱）

（19）帯状疱疹関連痛に対する methylcobalamin の効果と作用機序の解明

菊川　孝，歌　大介，久米利明，安東嗣修
（富山大学医学薬学研究部薬学研究科）

（20）Oxaliplatin 誘発末梢神経障害性機械的 allodynia に対する aucubin の効果

前坂未紀[1]，當銘一文[2]，小松かつ子[2]，歌　大介[1]，久米利明[1]，安東嗣修[1]
（[1]富山大学大学院医学薬学研究部応用薬理学研究室,
[2]富山大学和漢医薬学総合研究所生薬資源科学分野）

（21）脳卒中後疼痛モデルマウスにおける orexin-A 投与の影響

松浦　渉，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）

（22）AIM-MRI を用いた慢性疼痛時のマウスの脳活動の可視化

稲波千尋[1]，谷平大樹[2]，菊田里美[2,3]，粂　和彦[1]，小山内　実[2]，大澤匡弘[1]
（[1]名古屋市立大学大学院薬学研究科神経薬理学分野,
[2]東北大学大学院医学系研究科医用画像工学分野,
[3]京都大学霊長類研究所統合脳システム分野）

（23）ミラーイメージペイン発症における大脳皮質一次体性感覚野の役割

石川達也[1,2]，江藤　圭[2]，尾﨑紀之[1]，鍋倉淳一[2]
[1]金沢大学医薬保健研究域医学系 機能解剖学，[2]生理学研究所生体恒常性発達研究部門）

（24）新生ラット摘出脳幹-脊髄-前肢付き標本を用いた痛み-呼吸促進反応の解析

荒田晶子[1]，外村宗達[1,2]，野口光一[2]
（[1]兵庫医科大学 生理学・生体機能部門，[2]兵庫医科大学 解剖学・神経科学部門）

（25）線維筋痛症モデルラット脊髄後角細胞における侵害情報伝達の電気生理学的解

歌　大介[1]，坪島功幸[2]，田口　徹[3]
（[1]富山大学大学院医学薬学研究部応用薬理学研究室,
[2]富山大学大学院医学薬学研究部システム情動科学講座,
[3]新潟医療福祉大学リハビリテーション学部理学療法学科）

（26）マクロファージにおいてパクリタキセルにより誘発される内因性 H_2S に依存した HMGB1 遊離：化学療法誘発性末梢神経障害への関与

堂本莉紗，山口一樹，関口富美子，坪田真帆，川畑篤史
（近畿大学 薬学部 病態薬理学研究室）

【参加者名】

南　雅文（北海道大学），本庄　賢（筑波大学），梅田聡（慶應義塾大学），加藤総夫・杉村弥恵・高橋由香里・奥田崇雄（東京慈恵会医科大学），坂井　敦・丸山基世（日本医科大学），田辺光男・渡辺　俊（北里大学），歌　大介・菊川　孝・丹保宗一郎・前坂未紀（富山大学），尾崎紀之・奥田洋明・石川達也・堀　紀代美（金沢大学），稲波千尋・大森翔太・岩城杏奈・上田莉奈・渡邉僚介・山﨑久朗（名古屋市立大学），入江克雅（名古屋大学），那須輝顕（中部大学），水谷みゆき（愛知医科大学），小山なつ（滋賀医科大学），中川貴之（京都大学），松田　愛（京都府立医科大学），仙波恵美子（大阪行岡医療大学），丸山健太（大阪大学），青柳誠司・北田博之・駒走仁哉（関西大学），川畑篤史・堂本莉紗（近畿大学），川股知之・上　勝也・谷奥　匡・吉田朱里（和歌山県立医科大学），中本賀寿夫・松浦　渉・相澤風花（神戸学院大学），荒田晶子（兵庫医科大学），宮地孝明・龍野耕一（岡山大学），津田　誠・兼久賢章（九州大学），内田邦敏（福岡歯科大学），熊本栄一（佐賀大学），増井邦晴（丸石製薬㈱），佐藤風太（大塚製薬㈱），渡邉修造・佐藤　琢（ラクオリア創薬㈱），坂本裕樹（ライオン㈱），黒田博之・塩見喜弘（ゼリア新薬工業㈱），富永真琴・柿木隆介・鍋倉淳一・曽我部隆彰・鈴木喜郎・齋藤　茂・高山靖規・Derouiche Sandra・宇治澤知代・李天邦・Feng Xiaona・Nguyen Thi Hong Dung・Dong Mingyi・Yari Kamrani Yousef・Deng Xiangmei（生理学研究所）

【概要】

痛みは，生存戦略の中でも最も根源的機能である。組織損傷や炎症の検出・伝達機構の詳細が近年の分子生理学・神経解剖学研究によって解明されてきたが，そのシステムとしての全体像の理解はまだ進んでいない。本研究会では，痛み研究の課題を（１）侵害受容情報の検出と局所処理，（２）侵害受容信号の脳内処理機構，（３）行動プログラム最適化機構，（４）痛み神経可塑性機構作動原理，（５）病的な痛みの形成とその改善・緩和しうるか，（６）その他，にわけ，それぞれに関する演題を募集するとともにプログラム編成した。

口演 13 演題，ポスター発表 12 題および特別講演 1 題の発表が行われた。口演を 1 発表当たり 30 分とし，十分な背景説明とデータの意味・解釈の説明，そして討議を行い個々の研究成果のより深い理解の共有を目指した。ポスター発表も含め，必要があれば未発表データの提示もお願いし，参加者には守秘義務を要請した。一般演題では，末梢動脈閉塞による虚血性疼痛機構，新規痛み関連分子 Tmem45b，薬物筋注による鎮痛機構，痛み・痒みにおけるスフィンゴ糖脂質の関与，ショウジョウバエ神経ペプチド性下行性疼痛制御系，脳内脂肪酸とストレス誘導性疼痛，運動による鎮痛における辺縁系の関与，催眠による鎮痛の機構と臨床，オレキシン受容体の脊髄機能，長鎖非コード RNA Neat1 の神経障害性疼痛における役割，疼痛炎症骨格連関，化学療法誘発末梢神経障害におけるグリア細胞あるいは HMGB1 の役割，などに関する口演発表が行われ活発に討論された。また特別講演として梅田　聡教授に身体内環境の監視中枢としての島皮質の意義を中心に自律神経機能に関する脳機能画像研究のエッセンスをお話しいただいた。痛みという生物機能を理解するために重要な研究成果が多く披歴され，多面的・多角的な発表討論が繰り広げられ，この分野の生物科学における重要性とその広がりが確認された。

（1）情動を支える自律神経機能と内受容感覚

梅田　聡（慶應義塾大学文学部心理学研究室）

近年，情動の神経基盤を探る研究が急速に増えており，「情動神経科学（affective neuroscience）」という一学問領域として確立されるまでに至っている。この発展に伴い，情動のさまざまな心理学的・神経科学的な側面に関する理解が進んだのは事実である。しかしながら，研究が発展するにつれ，あらためて見えてきた点もある。それは，情動のメカニズムを理解するために，脳神経活動をターゲットにしていただけでは不十分であり，自律神経が仲介する身体活動の影響を十分に考慮することが必要であるという点である。情動における身体機能については，William James が 1884 年に「情動とは何か」というタイトルの論文を発表して以来，多くの心理学者や哲学者がその重要性を主張してきた。しかしながら，情動の基礎的な神経基盤に関する理解が進む一方で，自身の身体内部状態の感覚である内受容感覚（interoception）に関する認識が不十分であったため，情動の生起メカニズムの全体像の把握には至っていなかった。

近年，内受容感覚の中枢的機能を持つ島皮質と自律神経中枢との関連性を示すさまざまな研究成果が発表され，情動の主観的感覚を生み出す神経基盤に関する理解が飛躍的に進んでいる。そして，どのようなメカニズムによって情動が体験されるのか，不安やうつなどの精神症状はいかにして引き起こされるのかなど，因果関係を含めたメカニズム解明が進められている。

本講演では，自律神経活動と内受容感覚という切り口から，行動表出としての情動（emotion）と，主観的体験としての感情（feeling）が異なる神経基盤を持つことを示す数々の研究成果についてまとめ，「脳－こころ－身体」の三者関係のダイナミクスのなかで，情動や感情，およびそれらと関連する精神症状がどのように生起するかについて触れる。具体的には，健常者および自律神経障害を対象とした MRI を用いた脳画像研究や，局所脳損傷を伴う症例に対する神経心理学研究などのアプローチによる成果について述べ，それらの研究結果から，情動に関する理論の妥当性について検討する。また，近年，取り組んでいる頭痛と内受容感覚の関連性についても触れる。

（2）末梢性動脈疾患に伴う虚血性疼痛のメカニズムの解明

堀　紀代美，中村恒夫，白石昌武，奥田洋明，石川達也，尾崎紀之
（金沢大学医薬保健研究域医学系機能解剖学分野）

末梢性動脈疾患（peripheral arterial disease: PAD）は下肢の動脈が閉塞しておこる組織の虚血を主病態とし，軽症期には手足の冷感や，一定距離の歩行で下肢の筋に痛みが出現する間歇性跛行が見られ，進行時には安静時にも疼痛が起こり，身体的・精神的な苦痛をもたらす。しかし，その機序については四肢末梢における慢性的な虚血性疼痛を示す適切な動物モデルがないため，ほとんど明らかにされていない。我々はラットの左総腸骨動脈および左腸腰動脈を結紮することで下肢の血流を阻害した PAD モデルラットを作成し，慢性的な筋の痛覚過敏や間歇性跛行，さらに皮膚の冷痛覚過敏が見られることを見出した。このモデルラットを用いて，イオンチャネルや神経成長因子（nerve growth factor: NGF）受容体の拮抗薬を使用した行動薬理学的検討および後根神経節におけるイオンチャネルや NGF の受容体の発現についての免疫組織化学的検討を行い，下肢の虚血に起因する筋の痛覚過敏や皮膚の冷痛覚過敏に対するイオンチャネルおよび NGF の関与を調べたので報告する。

（3）新規痛み関連分子 Tmem45b の解析

谷奥　匡，吉田朱里，川股知之（和歌山県立医科大学麻酔科学教室）

末梢神経において熱性痛覚過敏の感知に重要な分子として TRPV1 が同定され広く解析が行われている。一方で機械性痛覚過敏の受容・伝達メカニズムは未知のままである。我々は，末梢神経において IB4 結合神経を選択的に脱落したマウスを作製し機能解析を行った。そして IB4 結合神経が，生理的な状態では痛み感知に関与しないが，炎症や皮膚切開によって惹起される機械性痛覚過敏の発生・維持に選択的に寄与することを見出した。そこで，IB4 結合神経上に炎症や皮膚切開によって惹起される機械性痛覚過敏の発生に重要な痛み関連分子が発現すると仮説した。遺伝子網羅解析から IB4 結合神経に特異的に発現する分子の１つとして Tmem45b を見出した。次に，Tmem45b の臓器発現解析を行った結果，Tmem45b は中枢神経ではなく末梢神経選択的に発現することを明らかにした。次に末梢神経での発現分布解析にて Tmem45b が IB4 神経選択的に発現することを確認した。さらに，Tmem45b ノックアウトマウスを用いて各種痛みモデルにおける Tmem45b の役割を検討したので報告する。

（4）薬物筋注による鎮痛機構の解析

那須輝顕 [1]，村瀬詩織 [2]，内村佳子 [1]，水村和枝 [1,3]
（[1] 中部大学生命健康科学部，[2] バイオリサーチセンター㈱，[3] 日本大学歯学部生理学講座）

慢性の筋性疼痛の鎮痛のために局所麻酔薬のリドカイン（Lido）やノイロトロピン（以下 NTP と略す）などの筋注が良く使われている。これらの筋注による鎮痛機構は局所麻酔作用や，全身性投与による機構と同様に説明されているが，実験的にはほとんど解析されていない。我々は線維筋痛症モデル動物である繰り返し寒冷ストレス(RCS)モデル動物（ラット）を用いて，その持続性筋痛覚過敏に対して Lido と NTP の筋注の鎮痛効果，末梢 TRP チャネルの関与の有無，中枢性機構について解析した。

Lido 0.32mg/Kg，NTP 0.4NU を腓腹筋に筋注した結果，RCS によって低下した筋圧痛閾値は回復した。この効果は反対側においても観察された。さらに，遠隔の筋に注入しても同様の効果が見られた。次に末梢 TRP チャネルの関与を確認するために TRP チャネルの非選択的, 選択的アンタゴニストを筋注部位に投与し，Lido と NTP の鎮痛効果を検討した。その結果，いずれの場合も投与側だけでなく反対側においても鎮痛効果は抑制された。

さらに中枢神経系で鎮痛に関与する受容体の拮抗薬を髄腔内投与したところ（naloxone は腹腔内投与），その鎮痛効果は抑制された。

上記の結果から Lido と NTP の筋注によって末梢 TRP チャネルが活性化され，その求心性入力によって内因性鎮痛系が活性化されて鎮痛が起きていると考えられる。

（5）種々のスフィンゴ糖脂質による痛み及び痒み行動への影響

渡辺　俊 [1,2]，森田元樹 [1,2]，野村夏実 [1,2]，須釜　哲 [1,2]，阿部茉莉絵 [1,2]，田辺光男 [1,2]
（[1] 北里大学薬学部 薬理学教室，[2] 北里大学薬学部附属医薬研究施設）

生体膜を構成する脂質二重層は様々な親水基を有する脂質から構成されている。糖脂質は極めて多様な糖鎖を親水基として有しているが，ほ乳類においてはそのほとんどがスフィンゴ脂質に属し，シアル酸を含有するタ

イプの糖脂質（ガングリオシド）は神経保護作用などがよく知られている。我々はこれまでの研究で特定のタイプのスフィンゴ糖脂質が痛みの増強に関与していることを解析してきた。そこで，炎症性疼痛モデルマウスから得られた脊髄および DRG において糖脂質合成に関わるいくつかの糖転移酵素の発現量を測定したところ，その発現パターンは炎症後の日数に応じて大きく変化していた。炎症後一日目に脊髄において発現量が上昇する糖転移酵素のひとつから合成されるスルファチド（硫化糖脂質であり，ミエリンに多量に存在する）は痛みへの関与が知られていないため，脊髄髄腔内投与したところ機械的アロディニアが引き起こされた。また，一方で足底投与により痛みを引き起こさないタイプのガングリオシドにより，クロロキンによる掻痒行動が増強される現象も観察された。

以上のように，糖脂質の構造の違いにより，感覚の伝達においてそれぞれ異なる機能を果たしていることが次第に明らかになってきた。今後は，これらの糖脂質がどのように慢性的な痛みや痒みが生じる際に制御されているか検討を行っていきたい。

（6）ショウジョウバエ侵害受容における神経ペプチド性の下降性抑制機構

及川　泉[1]，近藤　周[2]，柏原秋穂[1]，谷本　拓[3]，古久保−徳永克男[4]，本庄　賢[4]
（[1]筑波大学生命環境科学研究科，[2]国立遺伝学研究所無脊椎動物遺伝研究室，
[3]東北大学生命科学研究科，[4]筑波大学生命環境系）

侵害受容（Nociception）は組織を損傷する，またはその可能性がある刺激の情報処理に関わる神経プロセスであり，動物の生存に必須の感覚機能である。侵害受容はヒトにおける痛みの知覚にもつながることから，その調節メカニズムの細胞分子レベルでの理解は重要である。ショウジョウバエ（Drosophila melanogaster）は卓越した遺伝学的実験ツールが利用可能なモデル動物として，高次脳機能を含む様々な生命現象の分子メカニズム解明に大きく貢献し，近年では侵害受容の研究においても利用が進んでいる。

我々は，ショウジョウバエを用いた侵害受容調節性の神経ペプチドの探索と機能解析の中から，ショウジョウバエの侵害受容において下降性抑制制御機構として機能する可能性が高い神経ペプチドシグナル系を見出し，現在その詳しい侵害受容制御メカニズムの解明を進めている。ショウジョウバエ侵害受容の先行研究においては，これまでに中枢性の侵害受容制御メカニズムの報告はない。本研究は，ショウジョウバエの微小な脳にも，ヒトの疼痛制御に類似した中枢性の侵害受容制御機構が備わっていることを示すものであると考えられる。

（7）脳内 n-3 系脂肪酸—脂肪酸受容体シグナルを介したストレス誘導性慢性疼痛形成機序の解明

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）

不安や抑うつは，痛みの増悪および慢性化に関与するとされている。近年，慢性疼痛や情動機能障害時に，脳内の脂質環境が変化することが報告されているが，その全容は未だ明らかとされていない。そこで我々は，反復社会的敗北ストレス（RSDS）誘導性の慢性疼痛モデルマウスを作製し，慢性疼痛の形成に対する脳内の n-3 系脂肪酸—脂肪酸受容体シグナルの関与について検討した。

RSDS を暴露したマウスは，非暴露群と比較して，後肢足底部の切開によって惹起した術後の機械的痛覚閾値の低下を有意に持続させたことから慢性疼痛を形成することが示された。N-3 系脂肪酸の欠乏やその受容体である GPR40/FFAR1 の阻害および欠損マウスへの RSDS 暴露は，慢性疼痛の持続期間のさらなる延長をもたらした。一方，脂肪酸の供給源の一つである脳内リン脂質は，RSDS 暴露によって顕著に低下し，GPR40/FFAR1 のアゴニストである DHA の反復経口投与は，RSDS 暴露誘導性慢性疼痛の

形成を抑制した。

以上の結果から，ストレス暴露に伴う n-3 系脂肪酸の脳内動態の変化が，脂肪酸受容体シグナルの機能不全を介して慢性疼痛形成機序に関与する可能性が示唆された。

（8）Exercise-induced hypoalgesia の脳メカニズム －mesocortico-limbic system の役割－

上　勝也，仙波恵美子
（[1] 和歌山県立医科大学医学部 リハビリテーション医学，[2] 大阪行岡医療大学医療学部理学療法学科）

ほとんど身体を動かさない生活習慣は慢性痛のリスクファクターとなるのに対して，継続的な有酸素運動は慢性痛の改善・予防に有効である。神経障害性疼痛（NPP）モデル動物に運動を負荷すると疼痛行動が改善され（exercise-induced hypoalgesia: EIH），これには神経系の様々なレベルでの鎮痛メカニズムが提唱されている。私達は，自発運動(VE)が NPP によって抑制されていた外側腹側被蓋野(latVTA)ドパミン(DA)ニューロンの活性化を促すとともに，側坐核(NAc)lateral Shell の GABA 作動性ニューロンの活性化も高めることを示した。さらに VE による latVTA-DA ニューロンの活性化には，背外側被蓋核(LDT)の cholinergic(ACh)および glutamatergic(Glu)ニューロンと視床下部外側部(LHA)の orexin ニューロンが関与することも明らかにしている。痛みの慢性化には，脳報酬系に扁桃体(Amyg)を含めた mesocortico-limbic system の機能低下が関与することから NPP モデルマウスの VE に対する Amyg の応答について検討した結果，NPP に伴い生じた Amyg 中心核(CeA)の興奮は VE により抑制され，これはとくに外側外包核(CeC)で顕著であった。また VE は Amyg 内側基底核(medBA)における Glu ニューロンの活性化を促し，さらに runner mice の NAc に注入した retrobeads red(RBR)は medBA に優位に取り込まれ，RBR 陽性ニューロンの約 75 %が VE により活性化されることがわかった。これらの結果は，VE に伴う外側脚傍核-CeC 経路の抑制および latVTA-NAc lat Shell 経路と medBA-NAc 経路の活性化を介した mesocortico-limbic system の機能の改善が EIH に重要な役割を果たすことを示唆した。

（9）鎮痛を生じる痛みではない経験が慢性痛を変える －幻肢痛に対する催眠を通して－

水谷みゆき（愛知医科大学 学際的痛みセンター）

侵害刺激を受けた時の痛みは危険から本人を守るための防衛反応である。高次脳機能が備わったヒトにおいては，侵害刺激に対する反応は侵害刺激だけでなく，それが生じる状況も含めた思考や象徴機能，感情などの内的機能の影響下に生じる情動反応となり，情動経験として記憶される。過去の記憶はさらに現在の経験に影響を与え，ヒトの痛みは単なる防衛反応を超えた個人的な意味をもった痛み経験である。ただし個人的情動経験であっても，身体と分かちがたい痛みそのものである。

難治性慢性痛の中には，神経ブロックや NSAID s によっては十分な鎮痛が得られず，侵害受容刺激が痛みの主因としては認められず，心理社会的な要因の影響を考えざるを得ない病態もある。このような慢性痛の治療に対して，神経系の活動を抑制する薬物療法や，身体の柔軟性と機能を高める運動療法，認知行動療法がおこなわれている。認知行動療法は，慢性痛の問題を痛みに対する反応であるとみなし，痛みを維持させやすい身体状態を改善するために非適応的な考えや行動を修正する。しかし本論では，痛み（痛み経験）そのものを治療対象とする立場から検討を加えた。

急性痛でも患者の不安が非常に高い場合などでは，投薬の増量を要したり，鎮静を要するなど，安全性の高い鎮痛が困難な場合がみられる。情動としての痛みが，痛み経験として瞬間瞬間に成立していることについては，

急性痛と慢性痛で違いはない。慢性痛でも急性痛と同様にこの瞬間の痛み経験があるが，その経験が持続し，変化し難い情動状態となっていることが急性痛と異なる点であると考えられる。

上記のような痛み経験の成立と保持は，神経系の機能としてみた場合，経験の成立と，経験が保持される記憶や条件付けの機能と対応していると考えられる。実際に難治な慢性痛患者には痛みについての反芻思考がみられ，常に痛みを感じ続けている。そうした患者も臨床催眠を用いた意識集中状態において，痛みではない経験を得ることができる。そのような催眠鎮痛が有効であるためには，導入手続きなどに条件が認められた。

幻肢痛と幻肢痛をもった患者に対する催眠の内容と効果の検討を通して，慢性痛の本質，その改善や緩和機序について論じた。

（10）オレキシン A による成熟ラット脊髄膠様質ニューロンのシナプス伝達の修飾 ーオレキシン B やオキシトシンの作用との比較

王　翀[1]，熊本栄一[1]，藤田亜美[1,2]
（[1]佐賀大学医学部 生体構造機能学講座，[2]福岡歯科大学 機能生物化学講座）

オレキシン A は，オレキシン B やオキシトシンと同様，脊髄後角で鎮痛に働く視床下部由来のペプチドである。我々は以前，痛み伝達制御に重要な役割を果たす脊髄膠様質ニューロンにおいて，（1）オレキシン B によるオレキシン 2 受容体の活性化により，神経終末から起こるグルタミン酸の自発放出増加と膜の脱分極が誘起され，その結果，GABA ではなくグリシンを介する自発性の抑制性シナプス伝達が促進されること，また，（2）オキシトシンによるオキシトシン受容体の活性化により，膜の脱分極が誘起され，その結果，GABA やグリシンを介する自発性の抑制性シナプス伝達が促進されることを報告した。今回，成熟ラット脊髄横断薄切片の膠様質ニューロンにパッチクランプ法を適用し，オレキシン A が自発性の興奮性や抑制性のシナプス伝達に及ぼす作用を調べた。その結果，オレキシン A はオレキシン 1 受容体の活性化により，（1）オレキシン B やオキシトシンと同程度の効率で神経終末から起こるグルタミン酸の自発放出を増加させること，（2）オレキシン B より 4 倍位高い効率で膜を脱分極させること，（3）GABA やグリシンを介する自発性の抑制性シナプス伝達を促進させることが明らかになった。以上より，オレキシン A，オレキシン B およびオキシトシンによる膠様質ニューロンのシナプス伝達の修飾，つまりそれらの鎮痛作用機序に共通点や相違点があることが明らかになった。

（11）神経障害性疼痛における長鎖非コード RNA Neat1 の作動機構の探索

坂井　敦[1]，丸山基世[1,2]，福永津嵩[3,4]，浜田道昭[3,5,6]，岡田尚巳[7]，鈴木秀典[1]
（日本医科大学[1]薬理学，[2]実験動物管理室，[7]分子遺伝医学，[3]早稲田大学理工学術院，
[4]東京大学情報理工学系研究科，[5]産総研 - 早稲田 CBBD-OIL，[6]日本医科大学）

長鎖非コード RNA（lncRNA）は機能性 RNA として様々な生命機能に関わることが報告されてきている。lncRNA はコード遺伝子以上に豊富な種類が，特に神経系において存在することが知られているが，疼痛疾患における lncRNA の役割はあまり明らかになっていない。本研究では神経障害性疼痛モデルラットにおける lncRNA の関与を検討した。RNA シーケンスにより脊髄後根神経節において複数の lncRNA が発現変化することが明らかになった。中でも，最も高い発現が見られ，神経障害性疼痛下で発現上昇した Neat1 の機能解析を行っ

た。In situ ハイブリダイゼーション法により，Neat1 は一次感覚神経の核内に主に発現していることが明らかになった。AAV ベクターを用いて一次感覚神経特異的に Neat1 を発現低下させることにより，神経障害性疼痛が緩和された。さらに，Neat1 の発現抑制は神経傷害による遺伝子発現変化の多くを抑制することが RNA シーケンスにより明らかとなった。Neat1 の作動分子メカニズムを探索するために，Neat1 と結合する mRNA やタンパク質を RNA-RNA 相互作用予測ツールである RIblast や標識 Neat1 のプルダウンにより探索し，Neat1 が神経機能や炎症反応へ関与する可能性を見出した。以上より，Neat1 による遺伝子発現調節が神経障害性疼痛に関与することが示唆された。

（12）痛覚を介した炎症と骨格の制御機構

丸山健太 [1]，高山靖規 [2]，富永真琴 [2]
（[1] 大阪大学免疫学フロンティア研究センター，[2] 生理学研究所細胞生理研究部門）

本邦では骨折などを背景とする要介護度 3 以上の患者数が 200 万を突破しており，その殆どが寝たきりに近い毎日をおくっている。長期臥床は肺炎や尿路感染のリスクを増大させるのみならず，いわゆる褥瘡とよばれる皮膚の炎症を伴った損傷を誘発する。また褥瘡を放置すると，潰瘍深度は容易に骨にまで到達し骨髄炎を生じうる。こうした皮膚や筋骨格系のトラブルは高齢化の進展とともに増加しており，これに伴って老年医療における主訴の 7 割以上が疼痛で占められるという事態が発生している。それ故，骨破壊・感染炎症・痛みの三者を適切にマネジメントするための治療標的同定は，QOL の低下に苦しむ老年社会に福音をもたらしうる。演者らは，遺伝子改変動物を用いた骨代謝と炎症を同時に制御する因子を探索するなかで，これまで知られていなかった複数の骨自然免疫系制御因子の同定に成功してきた。また，遺伝学的に痛覚神経を除去した無痛マウスの表現型解析をすすめる過程で，骨代謝系・自然免疫系・痛覚神経系は個々の系が独立に機能している訳ではなく，外部環境への適応を目的とした相互作用や機能重複による巧みな恒常性維持機構をビルトインしていることを明らかにしつつある。本講演では，「骨-自然免疫-痛覚トライアングル系」ともいうべき生理システムを分子レベルで俯瞰的に解き明かすことを通じて新たな医療の創発を目指している我々の試みを紹介したい。

（13）がん化学療法誘発性末梢神経障害におけるシュワン細胞の役割と治療標的としての可能性

中川貴之，今井哲司，荻原孝史，小柳円花，松本真有奈，岩満優輝，松原和夫
（京都大学医学部附属病院薬剤部）

一部の抗がん剤（白金製剤，微小管阻害薬など）は，副作用として高率にしびれ，感覚障害や痛みを症状とする末梢神経障害（CIPN）を誘発するが，今なお有効な予防法/治療法は確立されておらず，がん治療成績に影響を与えることもある。これまで，CIPN は抗がん剤による感覚神経毒性が主な原因と考えられてきたが，我々は末梢神経に髄鞘を形成するシュワン細胞に着目して検討を行ってきた。これまでに，抗がん剤が感覚神経に毒性を引き起こすより低濃度からシュワン細胞に直接障害を与えること，白金製剤（オキサリプラチン，シスプラチンなど）はシュワン細胞にミトコンドリア障害を惹起することにより細胞障害を引き起こすのに対し，微小管阻害薬（パクリタキセルなど）は，成熟シュワン細胞を脱分化させることを明らかにしてきた。さらに，パクリタキセルを処置することにより脱分化した培養シュワン細胞からガレクチン-3 の産生が亢進，分泌されること，また，パクリタキセルを反復処置したマウスの坐骨神経および血中でも検出された。さらに，ガレクチン-3 がマ

クロファージ遊走能を示すこと，ガレクチン-3 遺伝子欠損マウスでは，機械過敏応答や坐骨神経へのマクロファージの集積が抑制されることを見出した。我々は現在，シュワン細胞を分化させる薬物を既承認医薬品/化合物ライブラリーからスクリーニングしており，複数の有望な薬物を同定している。

（14）化学療法誘発性末梢神経障害の原因物質としての HMGB1 の役割：臨床データ解析と基礎研究を駆使したアプローチ

川畑篤史（近畿大学 薬学部 病態薬理学研究室）

我々は，DAMPs の１つである HMGB1 が化学療法誘発性末梢神経障害（CIPN）の発症に関与すること，また thromomodulin（TM）の細胞外ドメインからなる TM alfa (TMa)が HMGB1 不活性化作用を介して CIPN の発症を抑制することを報告している。今回は，TMa が thrombin (IIa)による HMGB1 分解を促進することから，TMa の CIPN 予防効果に及ぼす抗凝固薬の影響を調べた。また，臨床データの解析により CIPN のリスク因子を同定し，基礎研究によってそのメカニズムを検討した。マウスにおいてオキサリプラチン（OHP）投与により誘起される CIPN は，抗 HMGB1 中和抗体（AB）あるいは TMa の前投与により阻止された。TMa の CIPN 予防効果は IIa の酵素活性あるいは産生を阻害する抗凝固薬で抑制された。単独効果を示さない低用量の OHP 投与後，抗凝固薬を反復投与することで血中 HMGB1 濃度が上昇し CIPN が誘起された。生長会府中病院の OHP 投与患者の CIPN に関する臨床データ解析により，肝障害がリスク因子として同定された。そこで，マウスにおいて肝障害が HMGB1 依存的に OHP を増悪させることを証明した。以上より，HMGB1 を不活性化する TM/IIa 系は CIPN の発症を抑制的に制御すること，また肝障害によって HMGB1 依存的に CIPN が増悪することが示唆された。

（15）FK506（タクロリムス）は TRPA1 チャネル活性化によって痛みを引き起こす

内田邦敏[1]，喜多　知[1]，加藤健一[1]，鈴木喜郎[2]，富永真琴[2]，山﨑　純[1]
（[1]福岡歯科大学 細胞分子生物学講座，[2]生理学研究所 細胞生理研究部門）

免疫抑制剤の一つである FK506（タクロリムス）はアトピー性皮膚炎の治療にも塗布剤として用いられるが，一方で灼熱感，痛み，痒みなどの副作用を引き起こすことが知られている。本研究は，感覚神経や上皮細胞に発現する TRP チャネルに着目し，FK506 の副作用が生じるメカニズムを明らかにすることを目的とした。HEK293 細胞に TRP チャネルを強制発現させ，カルシウムイメージング法並びにパッチクランプ法を用いて検討を行った結果，FK506 は TRPA1 チャネルを活性化することがわかった。単離したマウス後根神経節細胞においても，TRPA1 チャネル活性化に伴う細胞内カルシウム濃度上昇が観察された。また，マウス後肢足底部に投与すると痛み関連行動が観察された。一方，マウス背部に皮内投与し痒み関連行動を観察した結果，痒み行動は観察されなかった。以上の結果より，FK506 は TRPA1 チャネルを活性化することで痛みを引き起こすことが示唆された。

（16）蚊の唾液成分が動物の反射行動に与える影響の検討

駒走仁哉[1]，酒井裕也[1]，青柳誠司[1]，鈴木昌人[1]，高橋智一[1]，細見亮太[1]，福永健治[1]，
歌　大介[2]，安東嗣修[2]，高澤知規[3]，引土知幸[4]，川尻由美[4]，中山幸治[4]
（[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，
[3]群馬大学医学部附属病院，[4]大日本除虫菊㈱）

蚊の唾液成分が直接動物の感覚神経に対し影響を与えるかどうかは現在のところ明らかとなっていない。そこで，生体の脊髄反射を利用し唾液成分の神経に対する効果について検討を試みた。

アカイエカ（Culex pipiens pallens）50 匹の唾液腺を含む頭部を生理食塩水 800 μL 中にてホモジナイズ，その後遠心分離し，上清 300 μL を唾液溶液とした。アフリカツメガエル（Xenopus laevis）の上頭骨部分を全て取り除き，露出した脊髄に，0.65％生理食塩水，唾液溶液，5 mM スペルミン（蚊の唾液に含まれ，TRP チャネルとの関連が報告されている），1 mM スペルミジン（同），アピラーゼ（血液の抗凝固作用が知られている）各 3 μl を滴下した後に，肢の皮膚表面に，0.5 M 塩酸を染みこませた濾紙を貼り付け，反射行動を解析した。その結果，生理食塩水（n＝3），スペルミン（n＝8），アピラーゼ（n＝3）の滴下では脊髄反射に影響を与えなかったが，唾液溶液（n＝6/8），スペルミジン（n＝2/8）の滴下では脊髄反射が抑制された。

次に脊椎を含む胴体部分も切除して下肢部のみとし，坐骨神経に唾液溶液を滴下し同様の実験を行った。その結果，唾液溶液は濃度依存的に反射を抑制した。以上のことから，蚊の唾液が僅かな濃度でも神経に何らかの作用をし，反射行動を抑制することが確認できた。

（17）幼少期ストレス負荷マウスの脳内各種オピオイド受容体およびオピオイドペプチドの発現変化

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）

我々はこれまでに，幼少期に母子分離・社会隔離ストレス（MSSI）を負荷したマウスは，成熟期に情動障害を引き起こし，神経障害性疼痛を増悪させることを報告している。この痛みの増悪機構には，内因性の疼痛制御を担う各種オピオイド受容体やオピオイドペプチドの発現変容によって惹起されていることが示唆されるが，詳細は不明である。そこで本研究は，MSSI ストレス負荷マウスの脳内各領域におけるオピオイド受容体とオピオイドペプチドの変化について検討を加えた。MSSI ストレスの負荷には，母子分離と隔離飼育ストレスを組み合わせたモデルを用いた。具体的には，生後 2 週目から 3 週目の間に，1 日 6 時間仔マウスを別々のケージに移し，母子分離を行い，生後 3 週目以降は単独で飼育した。mRNA 発現変化は，リアルタイム PCR を用いて解析した。生後 10 週目において，MSSI ストレス負荷マウスの中脳水道周囲灰白質（PAG）領域の各種オピオイド受容体（μ, δ および κ）の mRNA は，コントロール群と比較して有意に低下した。その他の領域においては，変化は認められなかった。各種オピオイドペプチド（POMC, PENK および PDYN）の mRNA は，両群間で変化は認められなかった。以上の結果から，MSSI ストレスによって惹起される成熟期における神経障害性疼痛の増悪機構には，PAG 領域の各種オピオイド受容体の発現低下が関与している可能性が示された。

（18）電気生理学的解析法を用いた蚊の唾液成分による機械的痛み刺激に対する効果の検討

北田博之[1]，酒井裕也[1]，青柳誠司[1]，鈴木昌人[1]，高橋智一[1]，細見亮太[1]，福永健治[1]，
歌　大介[2]，安東嗣修[2]，高澤知規[3]，引土知幸[4]，川尻由美[4]，中山幸治[4]
（[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，
[3]群馬大学医学部附属病院，[4]大日本除虫菊㈱）

蚊の口針は細く, 皮膚の痛覚神経に当たる確率を小さくしている。一方ダニやヒルは痛覚神経を抑制する唾液を最初に注入した後, 太い口器で吸血することが知られている。しかし, 蚊の唾液に神経を直接抑制する効果があるかは現在わかっていない。そこで本稿では, 成熟ラット脊髄後角表層ニューロンから in vivo 細胞外記録を行い，蚊の唾液抽出物を投与した際, 皮膚受容野への機械的痛み刺激に対していかなる影響を及ぼすか解析を試みた。

アカイエカ（Culex pipiens pallens）50 匹の唾液腺を含む頭部を，生理食塩水 800 μL 中にてホモジナイズ，その後遠心分離し，上清 300 μL を唾液抽出溶液とした（唾液溶液）．脊髄後角表層から記録を行い，皮膚受容野へ 0.9% 生理食塩水，唾液溶液，0.5 %リドカインを各 50 μL 投与し，フォンフライフィラメント（vFF）で皮膚受容野を刺激した際に誘起される発火頻度を解析したところ, 薬物投与前の vFF 誘発発火頻度に対して唾液溶液（n＝7），0.5 % リドカイン（n = 7）投与により vFF 誘発発火頻度が有意に抑制された。

これらの結果から，唾液には弱いながら機械的痛み刺激を抑制する効果があると考えられた。

（19）帯状疱疹関連痛に対する methylcobalamin の効果と作用機序の解明

菊川　孝，歌　大介，久米利明，安東嗣修
（富山大学医学薬学研究部薬学研究科）

帯状疱疹関連痛（帯状疱疹痛，帯状疱疹後神経痛 <PHN>）の疼痛コントロールは既存の鎮痛薬では難しく, 新規鎮痛薬の探索が求められている。Methylcobalamin（MeCbl）はビタミン B12 の類似体であり，末梢神経障害の疼痛緩和に用いられている。そこで，本研究では，帯状疱疹モデルマウスを用いて MeCbl の帯状疱疹関連痛に対する効果を検討し，更に疼痛抑制機序の解明を試みた。

帯状疱疹モデルマウスは，単純ヘルペスウイルス 1 型を後肢大腿部に経皮接種し作製した。疼痛は，後肢足蹠への絵筆による撫で刺激に対する後肢の動作（振り動作, 舐め動作など）をスコア化することで評価した。

ウイルス接種後 5 日目から帯状の皮疹が生じ，また疼痛（帯状疱疹痛）は皮疹発生より前から認められた。更に, その疼痛は, 皮疹治癒後も慢性的に持続した（PHN）。帯状疱疹痛は，MeCbl の単回投与により抑制された。またウイルス接種後 5 日目からの MeCbl の連続投与は，PHN の発症を抑制した。帯状疱疹モデルマウスの後肢足蹠の皮膚では，一次求心性線維の減少が観察され，ウイルス接種後 5 日目からの MeCbl の連続投与により, その修復が促進された。

以上の結果より，MeCbl には「急性鎮痛効果」と皮疹発生時からの連続投与による「PHN 予防効果」があり，損傷した一次求心性線維の修復促進が MeCbl による PHN の発症予防に一部関与することが示唆される。

（20）Oxaliplatin 誘発末梢神経障害性機械的 allodynia に対する aucubin の効果

前坂未紀[1]，當銘一文[2]，小松かつ子[2]，歌　大介[1]，久米利明[1]，安東嗣修[1]
（[1]富山大学大学院医学薬学研究部応用薬理学研究室，
[2]富山大学和漢医薬学総合研究所生薬資源科学分野）

抗がん薬 oxaliplatin は主に大腸がんに用いられる。その一方で，副作用として末梢神経障害（特に allodynia などの不快な異常感覚）を生じ，がん患者の QOL の低下に加え，抗がん薬投与の休薬へと繋がることから臨床上問題となっている。しかしながら，このような末梢神経障害性の不快な異常感覚に対する有用な薬物はほとんどない。我々は，これまでに生薬車前子の含有成分である aucubin がマウスの paclitaxel 誘発機械的 allodynia の増悪を抑制することを見出した。そこで本研究では oxaliplatin 誘発末梢神経障害への aucubin の効果とその作用機序を検討した。

Aucubin の連続腹腔内投与は，oxaliplatin 誘発機械的 allodynia の増悪を抑制した。末梢神経障害性疼痛の脊髄におけるミクログリア及びアストロサイトの活性化が重要な役割を担っていることが知られている。Oxaliplatin は，脊髄において活性化ミクログリアを増加しなかったが，活性化アストロサイトを増加させた。この活性化アストロサイトの増加は, aucubin の連続投与により抑制された。以上の結果より，aucubin は oxaliplatin による活性化アストロサイトの増加を抑制することで機械的 allodynia の増悪を制御すると示唆される。

（21）脳卒中後疼痛モデルマウスにおける orexin-A 投与の影響

松浦　渉，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）

脳卒中後疼痛（central post-stroke pain: CPSP）は，脳卒中後に生じる難治性の合併症として知られているが，詳細な機序は解明されていない。近年，脳卒中後に神経ペプチドの一つである orexin が減少することが知られている。この orexin は痛みを抑制するとの報告もある。本研究において，CPSP モデルマウスにおける orexin-A 投与の影響を検討した。5 週齢の ddY 系雄性マウスを用いた。全脳虚血モデルマウスは 30 分間の両側総頸動脈結紮（bilateral carotid arteries occlusion: BCAO）によって作製した。マウス後肢の機械的刺激に対する逃避行動回数は von Frey test を用いて評価した。BCAO 3 日後によって認められた逃避行動回数の増加は，orexin-A を脳室内投与することによって有意に抑制された。この抑制効果は，アドレナリン α2 受容体およびセロトニン 5-HT1A 受容体アンタゴニストを脊髄腔内投与することによって拮抗された。Orexin-A 投与後神経活性化マーカーの c-Fos 発現増加が青斑核および縫線核において示された。これらの結果から，orexin-A は，下行性疼痛制御系を介して CPSP を抑制することが示唆された。

（22）AIM-MRI を用いた慢性疼痛時のマウスの脳活動の可視化

稲波千尋[1]，谷平大樹[2]，菊田里美[2 3]，粂　和彦[1]，小山内　実[2]，大澤匡弘[1]
（[1]名古屋市立大学大学院薬学研究科神経薬理学分野，
[2]東北大学大学院医学系研究科医用画像工学分野，
[3]京都大学霊長類研究所統合脳システム分野）

【背景】慢性疼痛時には脳内の神経回路機能が影響を受け，その機能が変化することが予想されるが，その詳細は未だ明らかになっていない。また，げっ歯類を用いた慢性疼痛モデルの脳イメージングでは，麻酔下の動物を用いるものがほとんどである。そこで本研究では，覚醒・無拘束・無刺激下の脳活動を測定することができる quantitative Activation-induced manganese-enhanced MRI（qAIM-MRI）を用いて慢性疼痛時のマウスの脳活動を解析した。

【方法】6 週齢の C57BL/6J マウスを用い，慢性疼痛としては spared nerve injury（SNI）による神経障害性疼痛モデルを用いた。SNI 手術 2 週間後に MnCl2（0.2 mmol/kg , i.p.）を 24 時間おきに 2 回投与した。投与 48 時間後に 1-3 %イソフルラン麻酔下で MRI 撮影を行った。

【結果】神経障害群マウスでは，手術 2 週間後に，辺縁系に属する扁桃体中心核，側坐核，線条体，淡蒼球，視床後外側腹側核，海馬 CA3，中隔の神経活動が擬似手術群と比較して有意に上昇した。また，一次体性感覚と一次運動野の複合領域，二次体性感覚野，二次運動野，梨状皮質，島皮質の各脳領域においても神経活動の上昇が見られた。

【考察】覚醒下，無拘束・無刺激下の神経障害性疼痛モデルマウスにおいて，体性感覚の認知に関わる脳領域ならびに情動に関わる領域が活性化することが示された。これは，慢性疼痛の緩和には，体性感覚を処理する脳領域の調節のみならず情動に関わる脳領域の調節が必要であることを示唆する。

（23）ミラーイメージペイン発症における大脳皮質一次体性感覚野の役割

石川達也[1,2]，江藤　圭[2]，尾﨑紀之[1]，鍋倉淳一[2]
（[1]金沢大学医薬保健研究域医学系 機能解剖学，[2]生理学研究所生体恒常性発達研究部門）

慢性疼痛患者の一部にミラーイメージペインといわれる患肢と対側の健常な領域においても慢性疼痛の症状が現れることがある。これまでの報告で，ミラーイメージペインの発症には脊髄のアストロサイトや後根神経節のサテライトセルの関与が示唆されているものの，障害側と同側の S1(ipsi-S1) における神経細胞やグリア細胞が関与しているかは不明であった。そこで，本研究では坐骨神経を結紮したモデルマウスを用い，ipsi-S1 における神経細胞やアストロサイトの活動を in vivo 2 光子 Ca^{2+}imaging 法により観察した。

その結果，ipsi-S1 における 1 層抑制性神経細胞とアストロサイトの活動亢進が確認された一方で，興奮性神経細胞の活動は減弱していた。これは慢性疼痛時 ipsi-S1 における興奮性神経細胞は抑制性神経細胞による過剰抑制を受けていることが示唆された。この抑制活動亢進がミラーイメージペイン発症に関連するか検証するため，GABAA 受容体のアンタゴニストである gabazine を投与したところ，5 層錐体細胞の樹状突起スパインの形成・消失（神経回路再編亢進を示唆する現象）が増加し，患肢と対側の後肢（健常肢）で痛覚閾値の低下が認められた。さらに，この閾値の低下はアストロサイトの活性化を薬理学的に抑制すると生じなかった。以上の結果から，ipsi-S1 において興奮性神経細胞及びアストロサイトの活動亢進による神経回路再編がミラーイメージペインを発症する基盤となり得ると示唆された。

（24）新生ラット摘出脳幹−脊髄−前肢付き標本を用いた痛み-呼吸促進反応の解析

荒田晶子[1]，外村宗達[1,2]，野口光一[2]
（[1]兵庫医科大学 生理学・生体機能部門，[2]兵庫医科大学 解剖学・神経科学部門）

本研究では，痛みがあると呼吸が速くなるような行動を摘出橋‐延髄‐脊髄標本に前肢を付けた標本を用いることにより，実験的に再現しようと試みた。摘出脳ブロック標本に前肢を付けた状態で取り出し，横隔神経につながる第 4 頚髄前根から呼吸リズムの指標として吸息性活動を記録した。標本の前肢に痛み物質であるカプサイシン（２％）を注入すると，呼吸は促進された。この促進は橋を除いた標本では現れないので，橋が関与するものと思われた。次に，この標本を電位感受性色素で染色し，第 8 頚髄後根（感覚入力）を刺激して，橋のどの部分が反応するかを調べたところ，橋の背外測の腕傍核付近に光学的反応が認められた。そこからパッチクランプ法によりニューロンを記録した結果，非呼吸性ニューロンや吸息性，I-E ニューロンが記録され，その約半数は第 8 頚髄後根刺激に応答した。また，カプサイシン注入によっても発火が促進される非呼吸性ニューロンや吸息性ニューロンが見つかったが，その中で，吸息性ニューロンとして振舞っていたものが侵害刺激入力により，電位が上昇し吸息－呼息切り替え(I-E)ニューロンに変化したので，侵害刺激は腕傍核の吸息性ニューロンを I-E ニューロンに変化させることによって，呼吸を能動的に終止させることを繰り返し行うことによって，呼吸促進を引き起こしていることが推察された。

（25）線維筋痛症モデルラット脊髄後角細胞における侵害情報伝達の電気生理学的解析

歌　大介[1]，坪島功幸[2]，田口　徹[3]
（[1]富山大学大学院医学薬学研究部応用薬理学研究室，
[2]富山大学大学院医学薬学研究部システム情動科学講座，
[3]新潟医療福祉大学リハビリテーション学部理学療法学科）

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 モデル動物を用いた行動薬理解析より鎮痛効果を示す薬物がいくつか報告されているが，その神経機構，特に，脊髄機構は不明な点が多い。我々はこれまでに，レセルピン投与による FM モデルを用い，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）による機械刺激により誘起される発火解析を行い，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を明らかにしてきた。しかし，脊髄後角細胞でのシナプス伝達機構の変容に関する詳細は未解明である。そこで本研究では，in vivo パッチクランプ法により脊髄後角表層細胞から記録を行い，自発性興奮性シナプス後電流（sEPSCs）および抑制性シナプス後電流（sIPSCs）の解析を行った。その結果，FM モデルでは sEPSCs の発生頻度及び振幅が溶媒投与対照群に比べ有意に増加していた。一方，sIPSCs の発生頻度及び振幅は FM モデルで有意に低下していた。これらの結果から，興奮性シナプス応答が増大し，抑制性シナプス応答が減弱した FM モデルの脊髄後角では，末梢からの機械入力を十分に抑制できず，より強い痛みシグナルを上位中枢に伝えていると考えられた。

（26）マクロファージにおいてパクリタキセルにより誘発される内因性 H2S に依存した HMGB1 遊離：化学療法誘発性末梢神経障害への関与

堂本莉紗，山口一樹，関口富美子，坪田真帆，川畑篤史
（近畿大学 薬学部 病態薬理学研究室）

我々は，抗がん剤パクリタキセル（PCT）誘起末梢神経障害に，cystathionine γ-lyase（CSE）によって産生される気体メディエーターの硫化水素（H2S）と，マクロファージ（Mφ）由来 high mobility group box 1（HMGB1）が関与することを報告している。今回は，PCT により誘起される Mφ からの HMGB1 遊離への CSE/H2S 系の関与を解析し，PCT 誘起末梢神経障害における H2S 系と HMGB1 系のクロストークの役割を検討した。Mφ 様 RAW264.7 細胞は CSE を発現しており, PCT 刺激により誘起される HMGB1 の細胞外放出は CSE 阻害薬である D,L-propargylglycine（PPG）あるいは β-cyano-L-alanine（BCA）によって抑制された。また，H2S ドナーである Na2S は，30-100 μM で RAW264.7 細胞からの HMGB1 遊離を誘起した。マウスに PCT を反復投与し，von Frey 法で後肢足底における機械的侵害受容閾値を測定したところ, アロディニアが検出され, これは PPG あるいは BCA で抑制された。また，PCT 処置マウスでは坐骨神経において CSE を発現する Mφ の集積が認められた。以上より，マウスにおける PCT 誘起末梢神経障害には CSE/H2S 系に依存した Mφ からの HMGB1 遊離が関与することが示唆された。

７．温熱生理研究会

2018 年 8 月 23 日－8 月 24 日
代表世話人：山下　均（中部大学）
所内対応者：富永真琴（生命創成探究センター/生理学研究所）

（１）Characterization of TRPA1 from disease vector mosquitoes

Tianbang LI[1,2,3]，Claire T. SAITO[2,3]，Shigeru SAITO[1,2,3] and Makoto TOMINAGA[1,2,3]
（[1] Department of Physiological Sciences, SOKENDAI,
[2] Division of Cell Signaling, National Institute for Physiological Sciences (NIPS) ,
[3] Thermal biology group, Exploratory Research Center on Life and Living Systems (ExCELLS) ）

（２）休眠マウスの転写開始点解析から得られる休眠特異的遺伝子発現

砂川玄志郎，髙橋政代
（理化学研究所生命機能科学研究センター網膜再生医療研究開発プロジェクト）

（３）恒温植物の呼吸調節機構に関する研究

梅川　結 [1, 2]，伊藤菊一 [2, 3]
（[1] 秋田県総合食品研究センター食品機能グループ，
[2] 岩手大学農学部，[3] 岩手大学次世代アグリイノベーション研究センター）

（４）温めた心筋細胞に備わる収縮リズム恒常性とその分子機構の考察

新谷正嶺 [1]，樋口秀男 [2]，鷲尾　巧 [3]
（[1] 中部大学生命健康科学部生命医科学科，[2] 東京大学理学部 物理学科，
[3] 東京大学大学院新領域創成科学研究科人間環境学専攻）

（５）ノルアドレナリンβ作用による褐色脂肪細胞ミトコンドリアー滑面小胞体－細胞外カルシウム連関

早戸亮太郎 [1]，日暮陽子 [1]，久場雅子 [1]，長井宏樹 [1]，山下　均 [2]，久場健司 [1]
（[1] 名古屋学芸大学管理栄養学部管理栄養学科，[2] 中部大学生命健康科学部生命医科学科）

（６）GLP-1 の自律神経反射を介したアドレナリン分泌促進と体熱産生作用：食事誘発性熱産生機構としての可能性

岩﨑有作 [1]，小沢一世 [2]，仙度光麻 [2]，谷田守 [3]，矢田俊彦 [4]
（[1] 京都府立大学大学院生命環境科学研究科，
[2] 自治医科大学，[3] 金沢医科大学，[4] 関西電力医学研究所）

（７）CREG 1 による褐色脂肪化メカニズムの解明

楠堂達也 [1]，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）

（８）脂肪組織特異的 CREG1-Tg マウスを利用した CREG1 の褐色脂肪化における生理機能の検討

橋本理尋 [1]，遠藤優貴 [1]，楠堂達也 [2]，竹内　環 [1]，山下　均 [1]
（[1] 中部大学生命健康科学部，[2] 帝塚山学院大学人間科学部）

（９）体熱産生機能を有する黒ショウガ成分の食品機能性に関する研究

紺谷靖英 [1]，寺原典彦 [1]，山下　均 [2]（[1] 南九州大学 健康栄養学部，[2] 中部大学 生命健康科学部）

（10）食餌脂肪酸摂取による褐色脂肪組織活性化機構の検討

後藤　剛 [1,2]，Kim Minji[1]，古園智也 [1]，内田邦敏 [3,4]，岸野重信 [1]，高橋春弥 [1]，
高橋信之 [1,2]，狩野百合子 [5]，山崎　純 [4]，小川　順 [1,2]，富永真琴 [3]，河田照雄 [1,2]
（[1] 京都大学大学院 農学研究科，[2] 京都大学 学際融合教育研究推進センター，
[3] 生理学研究所 細胞生理研究部門，[4] 福岡歯科大学細胞分子生物学講座，[5] 神戸女子大学家政学部）

（11）赤外線サーモグラフィ法を用いた非侵襲的なヒト褐色脂肪組織の評価法の確立

二連木晋輔[1]，若林　斉[2]，松下真美[3]，同道正行[1]，鈴木新一[2]，橋本　健[4]，
鋤納　心[1]，菅沼彰子[1]，河口八重子[1]，斉藤昌之[5]，坂根直樹[1]
（[1]京都医療センター予防医学研究室，[2]北海道大学大学院工学研究院，
[3]天使大学看護栄養学部，[4]㈱D-eyes，[5]北海道大学）

（12）TRPM8 チャネル活性化による薬剤誘発てんかん様異常脳波の抑制効果

森山博史[1]，野村貞宏[1,3]，木田裕之[2]，井上貴雄[1]，井本浩哉[1,3]，
丸田雄一[1]，藤山雄一[1]，土師康平[1]，美津島　大[2]，鈴木倫保[1]
（[1]山口大学大学院医学系研究科脳神経外科学講座，
[2]山口大学大学院医学系研究科神経生理学講座，
[3]山口大学医学部附属病院てんかんセンター）

（13）末梢炎症による発熱と痛覚過敏を評価できるマウスモデルの確立

北川大夢[1]，伊吹京秀[2]，松村　潔[1]
（[1]大阪工業大学 工学研究科，[2]京都府立医科大学 麻酔科）

（14）高温感受性一次感覚ニューロンの同定に向けた免疫組織化学的解析

片野坂公明（中部大学 生命健康科学部生命医科学科）

（15）雌ラットにおいてエストロゲンがシナモアルデヒド刺激時の体温調節反応へ与える影響

小柳菜央，渥美小優季，内田有希
（奈良女子大学生活環境学部心身健康学科生活健康学コース女性環境科学研究室）

（16）体表の温度入力がマウスの自発的運動に及ぼす影響

増田雄太[1]，永島　計[2]
（[1]早稲田大学 人間科学研究科，[2]早稲田大学 人間科学学術院）

（17）パッチ型センサによる暑熱下運動時の深部体温推定法の検討

時澤　健[1]，岡　龍雄[1]，土基博史[2]，志牟田　亨[2]
（[1]独立行政法人 労働安全衛生総合研究所，[2]㈱ 村田製作所）

（18）心拍周期測定による中学生の運動時における温熱負荷の評価

加藤一聖，永島　計，丸井朱里，増田雄太（早稲田大学 人間科学研究科）

（19）局所寒冷刺激時の皮膚血管反応と体温変動に及ぼす肥満度の影響

丸井朱里，永島　計
（早稲田大学人間科学学術院体温・体液研究室）

【参加者名】

梅川　結（秋田県総合食品研究センター），永島　計・丸井朱里・増田雄太・加藤一聖・藤木麻由香・唐木幸音・伊東花歩・篠宮　諒・星野　茜・宮坂智子（早稲田大学），時澤　健（労働安全衛生総合研究所），山下　均・片野坂公明・橋本理尋・新谷正嶺（中部大学），中村和弘・片岡直也（名古屋大学），早戸亮太郎（名古屋学芸大学），後藤　剛（京都大学），二連木晋輔（京都医療センター），岩崎有作（京都府立大学），松村　潔・北川大夢（大阪工業大学），内田有希・小柳菜央（奈良女子大学），楠堂達也（帝塚山学院大学），砂川玄志郎（理化学研究所），森山博史（山口大学），紺谷靖英（南九州大学），富永真琴・曽我部隆彰・鈴木喜郎・高山靖規・Derouiche Sandra・宇治澤知代・李　天邦・山野井　遊・Feng Xiaona・Nguyen Thi Hong Dung・Mingyi Dong（生命創成探究センター/生理学研究所），Xiangmei Deng（South China Agricultural University）

【概要】

2018 年度の温熱生理研究会（代表 中部大学・山下 均（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。

Li らは蚊の解析からチャネル活性の異なる TRPA1 バリアントを同定し，3 種類の新規アゴニストについて報告した。梅川らは恒温植物ザゼンソウの体温制御として，呼吸調節による新規メカニズムを示した。新谷らは温度が心筋の収縮リズムの恒常性に寄与していることを示した。早戸らは褐色脂肪ミトコンドリアにおける熱産生とカルシウムサイクリングの連関を，岩崎らは食事誘発性熱産生における GLP-1 の働きについてアドレナリン分泌を促進する新規経路を明らかにした。楠堂と橋本らは CREG1 が褐色脂肪分化を促進する新規内分泌因子であり，食事誘発性肥満を改善することを示した。紺谷らは黒ショウガに含有されるポリフェノールが脂肪分解を伴う体熱産生を促進することを，後藤らは魚油由来の脂肪酸が TRPV1 を介して褐色脂肪機能を亢進し抗肥満作用を示すことを報告した。二連木らはサーモグラフィーを用いたヒト褐色脂肪評価法の開発について報告した。

森山らは TRPM8 作動薬のてんかん改善薬としての可能性を示した。北川らはマウスに zymosann を投与する炎症誘発による発熱・痛覚過敏モデルを考案した。片野坂は 50 ℃以上の高温を感受するが TRPV1 や V2 とは異なる一次感覚ニューロンの存在を報告した。小柳らは卵巣摘出ラットのエストロゲンによる行動性体温調節に与えるシナモンアルデヒドの影響について述べた。増田らはマウスを用いて暑熱環境下における自発運動と体温変化に関する研究結果を示した。また，熱中症リスク管理への応用を目的として，時澤らは開発中の小型パッチ型センサーについての評価結果を，加藤らは装着型センサーを用いて運動時の男子中学生を評価した結果を報告した。丸井らは局所寒冷刺激による寒冷血管拡張反応に及ぼす肥満度の影響には性差が見られることを報告した。いずれの報告においても有意義な議論がなされ，懇親会においても議論が継続された。

（1）Characterization of TRPA1 from disease vector mosquitoes

Tianbang LI[1,2,3]，Claire T. SAITO[2,3]，Shigeru SAITO[1,2,3] and Makoto TOMINAGA[1,2,3]

（[1] Department of Physiological Sciences, SOKENDAI,

[2] Division of Cell Signaling, National Institute for Physiological Sciences (NIPS)，

[3] Thermal biology group, Exploratory Research Center on Life and Living Systems (ExCELLS)）

Mosquitoes have long been recognized as crucial vectors for transmission of malaria and other epidemic diseases in tropical and subtropical areas. Transient receptor potential channel, subfamily A, member 1 (TRPA1) channel of mosquito plays an important role in nociception. However, physiological characteristics of mosquito TRPA1 have not been systematically studied. Here, TRPA1 from Anopheles gambiae (Ag), Anopheles stephensi (As), Aedes aegypti (Aa) and Culex pipiens pallens (Cp) were investigated. Responses of mosquito TRPA1 to heat or chemical stimuli were examined with calcium imaging and whole-cell patch-clamp recording. Multiple TRPA1 channels have been cloned from disease vector mosquitoes, and several TRPA1 variants were identified. 14 amino acids were shown to be added at the N-terminus of TRPA1B, which profoundly affected channel activity. Mosquito TRPA1 thermosensitivity was found to vary, and CpTRPA1 was found to have a lower temperature threshold for heat-evoked activation. Chemosensitivity of TRPA1 channels revealed differences not only between variants but also among orthologues. Finally, we discovered three novel mosquito TRPA1 agonists. Better understanding of functional properties of mosquito TRPA1 may inspire the design of control methods for mosquito-borne diseases.

（2）休眠マウスの転写開始点解析から得られる休眠特異的遺伝子発現

砂川玄志郎，髙橋政代
（理化学研究所生命機能科学研究センター網膜再生医療研究開発プロジェクト）

マウスは基礎代謝を正常時の 30%程度まで低下させる「休眠」という状態に入ることで，飢餓などの危機的状況を乗り越えることができる。休眠は能動的低代謝と呼ばれる現象のひとつで全身の基礎代謝が低下し，結果的に体温も正常時と比較して著しく低下する。しかし，末梢組織の低代謝がどのように維持され，低温耐性を得ているかわかっていない。そこで，末梢組織の低代謝メカニズムを理解するために，様々な代謝状態にあるマウスの筋肉の RNA 発現を調べ，休眠中の筋肉でどのような転写が特異的に行われているか調べた。特に，本研究では CAGE-seq という転写開始地点を網羅的に調べる手法を用いてプロモーター毎の転写量の定量を試みた。休眠の可逆性と必要環境の 2 つ特徴に注目し，様々な代謝状態においたマウスの筋肉を解析したところ，休眠中に特異的に上昇する mRNA を 226 個, 休眠中に特異的に低下する mRNA を 61 個，合計で 287 個の休眠特異的なプロモーターを同定した。さらに，断休眠，つまり，マウスは休眠に入りたいが入れない状態を生成し筋肉のmRNA を調べたところ, 休眠特異的プロモーターにも含まれていた Atf3 という転写因子の発現が増えていることかわかった。この転写因子のモチーフは休眠特異的プロモーターにエンリッチされていることもわかった。今後は，休眠特異的プロモーターを摂動させることで，休眠表現型がどのように変化するか検証をしていきたい。

（3）恒温植物の呼吸調節機構に関する研究

梅川　結[1,2]，伊藤菊一[2,3]
（[1]秋田県総合食品研究センター食品機能グループ，
[2]岩手大学農学部，[3]岩手大学次世代アグリイノベーション研究センター）

一般に植物の体温は外気温と共に変動するが, ある種の植物は開花期特異的な恒温性を示すことが知られている。例えば，早春の寒冷環境下で開花するザゼンソウは，氷点下を含む外気温の変動においても, 肉穂花序と呼称される花器の温度を 23 ℃内外に維持できる（Seymour et al., 2009）。このような植物の恒温性は, 発熱器官温度と逆相関を示す呼吸調節により達成されることが報告されていたが（Seymour et al., 2010），その分子基盤は長い間不明のままであった。本研究においては，ザゼンソウ肉穂花序の呼吸調節機構を明らかにすることを目的に, 肉穂花序の呼吸反応に関する活性化エネルギー（Eo）の温度応答性を解析した。その結果，Eo が温度に対して動的に変動し，本植物の恒温性が観察される呼吸調節範囲において負の値を示すことが明らかになった（Umekawa et al., 2016）。今回の発表においては, 負の活性化エネルギーという概念がもたらした, 細胞レベルで行われるザゼンソウの体温制御メカニズムについて紹介するとともに, ザゼンソウ以外の恒温植物に関する一連の解析の結果についても報告したい。

Seymour, R. S., Ito, Y., Onda, Y. & Ito, K., Biology Letters: 5, 568-570 (2009).
Seymour, R. S., Lindshau, G. & Ito, K., Planta: 231, 1291-1300 (2010).
Umekawa, Y., Seymour, R. S. & Ito, K., Scientific Reports: 6, 24830 (2016).

（4）温めた心筋細胞に備わる収縮リズム恒常性とその分子機構の考察

新谷正嶺[1]，樋口秀男[2]，鷲尾　巧[3]
（[1]中部大学生命健康科学部生命医科学科，
[2]東京大学理学部 物理学科，
[3]東京大学大学院新領域創成科学研究科人間環境学専攻）

心臓は，確率的にしか振舞えないタンパク質ナノ分子モーターの化学力学反応を一生涯休まず続く頑強な心拍リズムに変換し，我々の生命活動を支える重要な臓器である。心拍リズムの破綻は速やかな死につながるため，その仕組みには試行錯誤と淘汰の果ての叡智が詰まっていることが示唆されるが，その仕組みはまだ十分に分かっていない。

近年我々は，温めた心筋細胞は心拍に近い周期の収縮リズムを生み出すことを発見した。この発見により，筋節(サルコメア)には遅いカルシウム濃度への応答性を保持しつつ，収縮リズムを一定に保つというリズムの恒常性のような性質を備えていることが明らかとなった。さらに，分子の化学力学反応に基づくシミュレーションで現象の再現を試みると，心臓モデルの心拍効率を良くする効果のある，新たな分子挙動の仮定を置かなければ現象の再現が出来ないことが明らかとなった。収縮リズムを生み出す心筋細胞の温度範囲が深部体温の領域であること，発生する収縮リズムの周期が心拍数に近いことから，ここで捉えた収縮リズムは，心拍を支える仕組みであると考えられる。

（5）ノルアドレナリンβ作用による褐色脂肪細胞ミトコンドリアー滑面小胞体ー細胞外カルシウム連関

早戸亮太郎[1]，日暮陽子[1]，久場雅子[1]，長井宏樹[1]，山下　均[2]，久場健司[1]
（[1]名古屋学芸大学管理栄養学部管理栄養学科，
[2]中部大学生命健康科学部生命医科学科）

褐色脂肪組織(BAT)は熱産生器官である。寒冷暴露により交感神経からノルアドレナリン(NA)が放出されると，BAT ではα受容体およびβ受容体が活性化される。前者は IP3 を生産し，滑面小胞体(ER)からの Ca^{2+}遊離と細胞外 Ca^{2+}流入の活性化により，速い大きな細胞内 Ca^{2+}濃度上昇を引き起こす。後者は，脱共役タンパク(UCP1)の活性化を介して強力な熱産生を促す。しかし，ミトコンドリアでの脱共役と ER からの Ca^{2+}遊離がどのように相互作用しているか，不明であった。

本研究により，β作用が 3 相性の持続的な細胞内 Ca^{2+}濃度上昇を起こし，第 1 相は脱共役によるミトコンドリアからの Ca^{2+}遊離，第 2 と第 3 相はこれによる ER からの Ca^{2+}遊離と細胞外 Ca^{2+}流入により生じる事が，細胞外 Ca^{2+}の除去，ミトコンドリア膜電位とミトコンドリア内 Ca^{2+}の測定，UCP1 ノックアウトの効果からわかった。さらに，ミトコンドリアから ER への Ca^{2+}連関は，IP3 受容体を介する Ca^{2+}誘起性 Ca^{2+}遊離（CICR）によることが，PLC 阻害剤の効果から明らかになった。以上の結果から，ミトコンドリアから ER への IP3 依存性の CICR，それに続く細胞外 Ca^{2+}流入により，BAT での持続的な Ca^{2+}濃度上昇を来たし，Ca^{2+}依存性 NADH 脱水素酵素の活性化を介して，長時間の熱産生が維持されることが示唆された。

（6）GLP-1 の自律神経反射を介したアドレナリン分泌促進と体熱産生作用：食事誘発性熱産生機構としての可能性

岩﨑有作 [1]，小沢一世 [2]，仙度光麻 [2]，谷田　守 [3]，矢田俊彦 [4]
（[1] 京都府立大学大学院生命環境科学研究科，
[2] 自治医科大学，[3] 金沢医科大学，[4] 関西電力医学研究所）

食事誘発性熱産生（diet-induced thermogenesis: DIT）の作用機序について，未だ不明な点が多い。一方，腸の内分泌細胞で産生される Glucagon-like peptide (GLP-1)は食後に分泌が亢進し，食後高血糖抑制（インスリン分泌促進）及び満腹感創出に寄与することで重要な食後生理作用を誘導する。DIT も主要な食後生理作用であるが，GLP-1 のエネルギー代謝亢進/熱産生作用への関与については明らかでない。本研究では，食後に分泌される内因性 GLP-1 および添加 GLP-1 について，エネルギー代謝亢進/熱産生作用, および, その機序として感覚神経-副腎交感神経反射とアドレナリンの関与を検討した。

麻酔下のラットに GLP-1 を静脈内投与すると，投与直後よりアドレナリン分泌が亢進し，酸素消費量と体温（直腸温，褐色脂肪組織温度）が上昇した。GLP-1 によるエネルギー代謝亢進及び体温上昇は，β ブロッカー（propranolol）の前処置により著しく抑制された。GLP-1 によるアドレナリン分泌促進作用は，カプサイシンによる感覚神経除神経，及び副腎交感神経外科的切断によってほぼ消失した。従って，薬理的投与法による GLP-1 は＜感覚神経-脳-交感神経＞軸を介して副腎からのアドレナリン分泌を促進し，エネルギー代謝亢進及び体温上昇を誘導していることが示された。液体食を無麻酔下のマウスへ投与すると，食後 1 時間の血中 GLP-1，アドレナリン，直腸温が上昇した。この食後熱産生は，propranolol の前処置で有意に抑制された。さらに，GLP-1 受容体欠損マウスに液体食を与えると，食後 1 時間の血中 GLP-1 は上昇するものの，血中アドレナリン値と直腸温には全く変化が観られなかった。以上より，食後の内因性 GLP-1 が，食後アドレナリン分泌と体温上昇に寄与していることが示唆された。

（7）CREG１による褐色脂肪化メカニズムの解明

楠堂達也 [1]，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，褐色脂肪組織がヒトにおいても存在することが示され，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 Cellular Repressor of E1A-stimulated genes 1 (CREG1)が細胞レベルにおいても動物レベルにおいても褐色脂肪化因子として働くことを発見し，2016, 2017 年度の同研究会で報告した。しかしながら，CREG1 が褐色脂肪化を促進するメカニズムについては未解明であった。今回の発表では，CREG1 による褐色脂肪化メカニズムについての研究結果について報告する。

褐色脂肪分化における CREG1 の役割を明らかにするために，褐色脂肪分化誘導カクテルのサブトラクション実験を行った。その結果，CREG1 タンパク質の培地への添加は甲状腺ホルモン（T3）の作用を代償した。褐色脂肪マーカーである UCP1 のプロモーターを用いたレーターアッセイにおいて，CREG1 は T3 と同程度に UCP1 プロモーター活性を上昇させた。また，CREG1 は甲状腺ホルモン受容体と協調して UCP1 プロモーター活性を上昇させることが示された。以上より，CREG1 は甲状腺ホルモン系に作用し褐色脂肪化を促進しているのではないかと考えられた。

（8）脂肪組織特異的 CREG1-Tg マウスを利用した CREG1 の褐色脂肪化における生理機能の検討

橋本理尋 [1]，遠藤優貴 [1]，楠堂達也 [2]，竹内　環 [1]，山下　均 [1]
（[1] 中部大学生命健康科学部, [2] 帝塚山学院大学人間科学部）

医療が発展した日本では, 生活習慣病罹患率の増加が社会問題となっており, 生活習慣病態の改善に関わる研究の推進が望まれている。最近の研究により，中性脂肪の燃焼により熱産生を行う褐色脂肪の分化誘導促進が肥満の予防・改善に効果的であることが明らかとされてきた。我々は褐色脂肪の分化誘導に関連する因子として分泌糖タンパク質である Cellular Repressor of E1A-stimulated genes 1(CREG1) を同定した。しかしながら，多様な細胞が存在する褐色脂肪組織（BAT）における CREG1 の局在や発現レベルに関する知見は得られておらず, 加えて哺乳類が熱産生を必要とする生育温度環境（23℃）と，熱産生を必要としない中立温度環境（30℃）で飼育したマウスの BAT における CREG1 の発現変化や生理機能との関連についても報告がない。本研究では，CREG1 の生理機能を解明するため, 脂肪組織特異的 CREG1 トランスジェニック（Tg）マウスを作成して解析を行い，CREG1 が褐色脂肪化の促進に寄与していることを明らかとした。加えて，CREG1-Tg マウスの生理学的検査を実施し, 興味深い結果を得た。また，CREG1 の組織内局在と褐色脂肪化との関連ついて解明するため，23℃と 30℃環境下で飼育したマウスの BAT について組織学的解析を実施し，得られた新規の知見について報告した。

（9）体熱産生機能を有する黒ショウガ成分の食品機能性に関する研究

紺谷靖英 [1]，寺原典彦 [1]，山下　均 [2]
（[1] 南九州大学健康栄養学部, [2] 中部大学生命健康科学部）

［目的］黒ショウガ（Kaempferia parviflora, Kp）は熱帯アジア原産のショウガ科の植物で，その根茎に黒紫色色素を含み，体熱産生などの多様な機能性を有することが知られている。我々は，この黒ショウガ成分の体熱産生と脂肪分解作用との関連性について検討した。

［方法］Kp から抽出したポリフェノール類の同定は ESI-TOF/MS などの機器分析法により行った。培養細胞に対する Kp 抽出物の脂肪分解効果は脂肪細胞に分化させた 3T3-L1 細胞の中性脂肪，培養上清の遊離グリセロールと遊離脂肪酸を測定した。実験動物に対する影響は Kp 添加食を 3 ヶ月間与え，その間の体重変化などを測定した。

［結果と考察］Kp から抽出した成分を同定した結果，親水性画分にペオニジン 3-ルチノサイドなどが同定された。また，脂溶性画分には 12 種類以上の紫外吸収成分が含まれていた。いずれも既知のアントシアニンおよびメトキシフラボンであった。3T3-L1 細胞への効果を検討した結果，細胞内の中性脂肪量は有意に減少し，放出される遊離グリセロールと遊離脂肪酸は著しく増加した。同様に，食餌誘導性肥満マウスに対しても体重増加の抑制と体脂肪量の減少が認められた。以上のことから，Kp に含まれるポリフェノール類は脂肪分解作用をともなった体熱産生機能の食品機能性を有することが示唆された。

（10）食餌脂肪酸摂取による褐色脂肪組織活性化機構の検討

後藤　剛[1,2]，Kim Minji[1]，古園智也[1]，内田邦敏[3,4]，岸野重信[1]，高橋春弥[1]，
高橋信之[1,2]，狩野百合子[5]，山崎　純[4]，小川　順[1,2]，富永真琴[3]，河田照雄[1,2]
（[1]京都大学大学院 農学研究科，[2]京都大学 学際融合教育研究推進センター，
[3]生理学研究所 細胞生理研究部門，[4]福岡歯科大学細胞分子生物学講座，[5]神戸女子大学家政学部）

【背景・目的】魚油摂取は，褐色脂肪組織の熱産生に重要な脱共役タンパク質 1（UCP1）の発現亢進を惹起することがげっ歯類において報告されている。本研究では，魚油をはじめとする食餌油脂中の脂肪酸の摂取が褐色脂肪組織の熱産生機能に与える影響について明らかにするため，検討を行った。

【方法・結果】マウスに魚油を混餌投与したところ，高脂肪食誘導性肥満の抑制効果が認められた。魚油摂取群では尿中カテコラミン量の増加，脂肪組織における UCP1 発現増加が認められ，交感神経活性化に伴う褐色脂肪組織機能の活性化が示唆された。野生型マウスで認められた魚油摂取による UCP1 発現上昇は TRPV1 欠損マウスでは認められなかった。種々の食用油脂の中でも魚油投与が UCP1 発現上昇を強く惹起し，魚油に特徴的な脂肪酸 EPA 投与によって，UCP1 発現量が増加した。そこで，TRPV1 活性化作用を有する脂肪酸について検討したところ，リノール酸の腸内細菌代謝産物である，10-oxo-12(Z)-octadecenoic acid (KetoA)b が TRPV1 活性化作用を示すことを見出した。 KetoA 摂取は，野生型マウスにおいて，抗肥満作用，褐色脂肪組織活性化作用などの作用を示したが，TRPV1 欠損マウスではこれらの効果は認められなかった。

【結論】EPA や KetoA といった特定の脂肪酸は TRPV1 機能を介して褐色脂肪組織機能亢進を惹起することで抗肥満作用を示すことが示唆された。

（11）赤外線サーモグラフィ法を用いた非侵襲的なヒト褐色脂肪組織の評価法の確立

二連木晋輔[1]，若林　斉[2]，松下真美[3]，同道正行[1]，鈴木新一[2]，
橋本　健[4]，鋤納　心[1]，菅沼彰子[1]，河口八重子[1]，斉藤昌之[5]，坂根直樹[1]
（[1]京都医療センター予防医学研究室，[2]北海道大学大学院工学研究院，
[3]天使大学看護栄養学部，[4]㈱ D-eyes，[5]北海道大学）

背景：ヒト褐色脂肪組織(BAT)は体脂肪や耐糖能に寄与することが示唆されており，生活習慣病予防のターゲットとして注目されている。しかしヒト BAT の標準的評価法である FDG-PET/CT は，被曝，2 時間の寒冷負荷が必要，機器が高価など制限が多く，ヒト BAT の評価法の代替法の考案が期待されている。赤外線サーモグラフィ（IRT）は，非侵襲的かつ簡便に皮膚温を評価できる。BAT は寒冷時などに非ふるえ熱産生を起こす特徴を有するため，BAT 近傍部（鎖骨上窩）の皮膚温度が BAT 活性の指標になる可能性がある。そこで，IRT 法によるヒト BAT 活性評価の妥当性を検討した。

方法：FDG-PET/CT 測定済みの 24 名の成人男性を対象に常温（27℃），水浸漬（両腕を 19℃の水に 5 分），寒冷曝露（薄着で室温 19℃，2 時間）で，サーモカメラによる皮膚温度（鎖骨上窩，対照部位として鎖骨下）を測定し，%鎖骨上窩の温度（[鎖骨上窩―鎖骨下]／鎖骨下×100%）を算出した。その後，相関分析，ROC 解析により，FDG-PET/CT 法との対応関係を調べた。

結果：IRT 法と FDG-PET/CT 法との関連性は，2 時間の寒冷曝露後（r＝0.76）で，常温（r＝0.10）や水浸漬後（r＝0.40）と比較して高かった。また IRT 法による 2 時間の寒冷負荷後の的中率は 85.4%であった。寒冷曝露による皮膚温度変化は 20 分でプラトーに達しており，長時間の曝露は必ずしも必要ないことが明らかとなった。

結論：IRT 法が BAT 活性評価のための FDG-PET/CT 法の代替法になるかもしれない。

（12）TRPM8 チャネル活性化による薬剤誘発てんかん様異常脳波の抑制効果

森山博史[1]，野村貞宏[1,3]，木田裕之[2]，井上貴雄[1]，井本浩哉[1,3]，
丸田雄一[1]，藤山雄一[1]，土師康平[1]，美津島　大[2]，鈴木倫保[1]
（[1]山口大学大学院医学系研究科脳神経外科学講座，
[2]山口大学大学院医学系研究科神経生理学講座，
[3]山口大学医学部附属病院てんかんセンター）

【目的】局所脳冷却（15℃）は正常機能を維持したままてんかん異常脳波のみを抑制する。その作用機序は Transient Receptor Potential(TRP)チャネルを含めた分子基盤により明らかになりつつあるが，脳温度制御による抗てんかん作用を薬剤で代替するという着想に基づく研究は極めて少ない。そこで，本研究では冷却温度 15℃で活性化する TRP チャネルのうち TRPM8 チャネルを対象に，ペニシリン G (PG) 誘発てんかんモデルを用いて，抗てんかん作用を検討した。

【対象・方法】10―11 週齢の S.D.系雄性ラットの皮質に PG を 400 単位注入し，皮質焦点性てんかんモデルを作製した。TRPM8 および TRPA1 作動薬であるイシリンを PG 注入 90 分後に注入し，ECoG および皮質温度を 4 時間記録した。てんかん様異常脳波のスパイク振幅，持続時間，発火頻度および各周波数帯パワー（デルタ，シータ，アルファ，ベータ波）を解析し，イシリンの効果を評価した。また，TRPM8 拮抗薬である AMTB をイシリン注入直前に注入し, TRPM8 単独の抗てんかん作用を検討した。

【結果】イシリンは皮質温度を変化させることなく用量依存的にてんかん様異常脳波を抑制した。特に，3 mM のイシリン投与はてんかん様異常脳波のスパイク振幅，持続時間，発火頻度をいずれも抑制し，てんかん様異常脳波により増加した各周波数帯別パワーを基礎律動レベルまで抑制した。これらのイシリンによる抑制効果は TRPM8 拮抗薬である AMTB 投与によって消失した。

【結論】TRPM8 作動薬は新規抗てんかん薬の候補となる可能性を示した。

（13）末梢炎症による発熱と痛覚過敏を評価できるマウスモデルの確立

北川大夢[1]，伊吹京秀[2]，松村　潔[1]
（[1]大阪工業大学 工学研究科，[2]京都府立医科大学 麻酔科）

【目的】炎症には発熱と痛覚過敏が伴う。これら両反応には中枢で産生された prostaglandin E2(PGE2)が共通のメディエーターとして関わっている。PGE2 はアラキドン酸(AA)を初発物質として産生される。発熱時の AA 供給には，従来から考えられていた phospholipase A2 ではなく，monoacylglycerol lipase(MGL)が関わっているという説が 2015 年に発表された。本研究では，PGE2 依存性の発熱と痛覚過敏の両方を評価できるマウスモデルを確立し，MGL の関与を検討する基盤とした。

【方法】マウスの後肢足底部皮下に，酵母細胞壁の多糖質である zymosan を投与し，自由行動下における深部体温の記録, および脳内 cyclooxygenase-2(COX-2)と PGE2 の測定を行った。

【結果】zymosan 投与で後肢は腫脹し，明期の体温上昇が認められた。zymosan 投与後，脳内の COX-2 量，PGE2 量が上昇していた。免疫染色により，COX-2 の脳血管内皮細胞での発現が認められた。このことから，zymosan 投与による発熱に, 脳内 AA カスケードが関わっていることが確認できた。以上の結果から，zymosan 皮下投与は末梢炎症によるマウス発熱･痛覚過敏モデルとして有用であることが示された。今後，このモデルで MGL の発熱・痛覚過敏への関与を検討する。

（14）高温感受性一次感覚ニューロンの同定に向けた免疫組織化学的解析

片野坂公明（中部大学 生命健康科学部生命医科学科）

これまで，一次感覚ニューロンに発現する高温受容体分子が複数報告されており，温度感覚や痛覚への関与が示唆されている。しかしながら，50℃以上の高温による熱性疼痛に関わる温度受容・情報変換の詳細は明らかではない。本研究では，侵害受容性の一次感覚ニューロンにみられる神経活動依存的な ERK (Extracellular signal-regulated kinase) 分子のリン酸化反応を利用して，50℃以上の高温に感受性を有する一次感覚ニューロンの同定を試みた。さらに免疫二重染色を用いた同細胞での発現分子の解析により，50℃以上の高温受容に関わるニューロンのタイプを調べた。50℃以上の熱刺激により pERK（リン酸化 ERK）陽性を示す一次感覚ニューロンは，約 43℃を閾値とする熱受容体 TRPV1(Transient receptor potential vanilloid 1) の欠損マウスにおいても観察されたことから，TRPV1 に依存しない高温感受性ニューロンの存在が示唆された。また，その多くは CGRP(calcitonin gene-related peptide) 陽性のペプチド作動性ニューロンであり，Isolectin B4 に陰性のタイプのニューロンであった。一方，50℃の熱に感受性をもつことが知られている TRPV2 の欠損マウスにおいても，高温感受性 pERK 陽性細胞の割合は正常マウスと同レベルであった。加えて，培養一次感覚ニューロンでのホールセルパッチクランプ記録により 50℃以上の閾値で活性化電流を生じた細胞は，すべてが抗 TRPV2 抗体に陰性であった。以上の結果から，TRPV1 および V2 に依存しない高温感受性一次感覚ニューロンの存在が示唆された。

（15）雌ラットにおいてエストロゲンがシナモアルデヒド刺激時の体温調節反応へ与える影響

小柳菜央，渥美小優季，内田有希
（奈良女子大学生活環境学部心身健康学科生活健康学コース女性環境科学研究室）

【目的】本研究は，雌ラットにおいてエストロゲン（E_2）がシナモン抽出物のシナモアルデヒド(CA)刺激時の体温調節反応に与える影響について調べることを目的とした。

【方法】9 週齢の Wistar 雌ラットを麻酔下で卵巣摘出し，E_2（22.3 mg）含有（E_2(+)）または非含有（E_2(−)）のシリコンチューブを留置した（E_2(+)群，E_2(−)群，各群 n=9）。ラットの体幹に 30%CA または対照としてエタノール（vehicle）を塗布し，環境温 16℃の寒冷暴露または対照として環境温 27℃の室温暴露を 2 時間行った。

【結果】環境温 27℃時の腹腔温変化量は，E_2(−)群では CA 塗布の方が vehicle 塗布より有意に低く，環境温 16℃時の場合 E_2(+)群では CA 塗布の方が vehicle 塗布よりも有意に高かった。環境温 27℃，16℃時の尾部皮膚温変化量は，E_2(−)，E_2(+)両群で CA 塗布の方が vehicle 塗布より有意に低かった。環境温 27℃時の尾隠し行動時間は，E_2(+)群において CA 塗布が vehicle 塗布よりも有意に短く，環境温 16℃時では，E_2(−)，E_2(+)両群において CA 塗布が vehicle 塗布より有意に短かった。

【結論】E_2の有無に関わらず，CA 塗布には尾部皮膚温を低下させる作用があることが明らかとなった。雌ラットにおいて E_2は CA 塗布時の体温調節反応に影響しないと推測された。

（16）体表の温度入力がマウスの自発的運動に及ぼす影響

増田雄太[1]，永島　計[2]
（[1]早稲田大学 人間科学研究科，[2]早稲田大学 人間科学学術院）

暑熱環境下ではヒトの自発的運動の強度が低下する。この機序として深部体温上昇や，それに伴う循環動態の変化以外にも，皮膚からの温度入力に起因する疲労感が重要であると考えられている。しかし，ヒトの温熱的疲労感を定量的に評価することは難しく，個体差も大きい。そこで，マウスによる暑熱下，自発運動モデルを作成し，評価を行ったので報告する。

7 週齢 C57BL/6J 雄マウス 8 匹を対象とした。マウスの腹腔内に温度と活動量が測定可能な IC チップ型デバイスを留置した。マウスは，環境温 25℃で個別飼育とし，半閉鎖型ケージ内に水平型ランニングホイールをおき，自由運動をさせた回転数を連続測定した。酸素消費量を間接カロリーメトリ法にて測定した。測定環境に慣れた後に，暗期（19:00-6:59）の 19:00-1:00 のみを環境温 33℃とする Hot 試行および，環境温 25℃のままとする Control 試行をそれぞれ 2 日間行った。負荷条件はランダムとした。暗期のデータのみを解析対象とし，対応のある 2 元配置分散分析で統計処理を行った。

輪回し運動の回転数は 19:30-1:30 間に Hot 試行で有意に低下し(Hot:14±30 vs Control:273±201 回 @23:00)，活動回数は 20:00-0:30 間で有意に低下した。腹腔内温は 20:30-1:30 間に Hot 条件で有意に低く(Hot:36.9±0.4 vs Control:37.9±0.8 ℃ @23:00)，3:30-4:30 間に Hot 条件で有意に高値を示した(Hot:38.0±0.2 vs Control:36.4±1.0 ℃ @23:00)。

マウスは，腹腔内温の上昇を伴わず，環境温度に依存した自発的運動の低下が認められた。この結果は，皮膚からの温度入力に起因するヒトの運動疲労モデルとして使用できる可能性を示唆している。

（17）パッチ型センサによる暑熱下運動時の深部体温推定法の検討

時澤　健[1]，岡　龍雄[1]，土基博史[2]，志牟田　亨[2]
（[1]独立行政法人 労働安全衛生総合研究所，[2]㈱ 村田製作所）

労働現場の熱中症による死傷者は減少する傾向にない。近年，生体情報のリアルタイムモニタリングによる危険予知システムが現実味を帯びてきたが，深部体温を非侵襲的かつウェアラブルに測定する技術は確立されていない。本研究では，パッチ型で皮膚表面の熱流束データを用い，双熱流法の原理を応用して深部体温を推定し，侵襲的な測定による深部体温と比較すること目的とした。

健常成人男性を対象に，室温 35℃（相対湿度 50%）において，5 km/h の歩行を 1 時間行った。食道温(Te)を侵襲測定としてモニターし，パッチ型センサを左鎖骨下 3cm に貼り付けた。パッチ内のデータ（2 点の熱流束，4 点の温度）から最適なアルゴリズムを決定し推定深部体温(Tp)を求めた。

1 時間の運動により Te は 37.1±0.1℃(平均値±標準偏差)から 38.0±0.3℃まで，Tp は 37.3±0.2℃から 37.9±0.2℃まで上昇した。運動時 5 分毎にプロットした Te と Tp の誤差は 0.04±0.18℃であった。

非侵襲的に深部体温を推定する研究は，有線型で前額において熱流補償法の原理から推定する方法や，心拍数，皮膚温，活動量から推定する方法も近年改良が進んでいる。これらと比較して本研究による推定値の誤差はほぼ同等であったが，シンプルなウェアラブル機器として優れており，作業に支障のない形態での熱中症リスク管理システムに貢献する可能性がある。

（18）心拍周期測定による中学生の運動時における温熱負荷の評価

加藤一聖，永島　計，丸井朱里，増田雄太
（早稲田大学 人間科学研究科）

体温調節機構をはじめとする自律神経機能は，発達段階である小中学生においては未発達であることが知られている。そのため熱中症などの体温障害リスクは成人と比較し高く，その機序も異なると考えられる。しかし，研究は実験室内にとどまり，実際の運動現場での社会活動や季節変動を加味した影響は不明である。本研究では暑熱順化と環境温度の変化による運動時の温熱負荷を中心とした生体負荷への影響を定量化することを目的とした。

健康な男子中学生 18 名を対象として実験を行った。装着型の心電，加速度，温度センサ（myBeat, ユニオンツール㈱；Smartfit, KURABO 社）を用いて運動中の心拍数，RR 間隔，衣服内温度，体動を連続評価した。装着型センサを用いて運動中の活動量，心拍数変化を連続測定した。環境評価として WBGT(wet bulb globe temperature) を使用した。測定期間は 2018 年 5 月下旬から，10 月までの予定とする。運動前後の体重測定により運動中の水分補給を，アンケートにより疲労度と口渇感を評価した。運動強度，継続時間，休息，飲水量については介入を行わないものとした。

本研究会では，現時点での解析結果について報告する。

（19）局所寒冷刺激時の皮膚血管反応と体温変動に及ぼす肥満度の影響

丸井朱里，永島　計
（早稲田大学人間科学学術院体温・体液研究室）

末梢への局所寒冷刺激により局所末梢で観察される血管収縮後に発現する血管拡張反応は，寒冷血管拡張（CIVD）反応と呼ばれる。CIVD 反応は耐寒性の一指標に用いられており，加齢，性別，基礎代謝量など多数の影響因子が報告されている。本研究では青年男女において，局所寒冷刺激時における皮膚血管反応と体温変動に肥満度が影響するか調べた。

被験者は男子大学生 39 人，女子大学生 48 人とした。群は，日本肥満学会で定義される「痩せ」である BMI が 18.5 未満を Low 群（男性 5 人：LM 群，女性 10 人：LF 群），同基準により「標準」とされる BMI が 18.5 以上 22.0 以下を Normal 群（男性 34 人：NM 群，女性 38 人：NF 群）とした。CIVD 反応は，約 3℃の冷水に第 3 指第二関節まで 30 分間浸す際の皮膚温を測定することで検討した。また，実験中の腋窩温度，温度・痛み感覚スコアを測定した。さらに冷え性に関するアンケートを実施した。

LF 群は実験を通して，皮膚温が NF 群よりも低かった。一方で LM 群は実験を通して，皮膚温が NM 群より高かった。実験中の腋窩温は，LF 群が実験を通して NF 群よりも高かったが，男性では BMI による差は見られなかった。温度感覚，痛み感覚については男女ともに BMI による差は見られなかった。冷えに対する自覚は，男女ともに Normal 群よりも Low 群で高かった。

本研究より，痩せ型の女性は CIVD 反応が低く，一方で痩せ型の男性は CIVD 反応が高かったことから，局所寒冷刺激時の肥満度による影響には性差が見られることが示唆された。

８．感覚免疫学研究会

2018 年 6 月 7 日－6 月 8 日

代表世話人：丸山健太（大阪大学 免疫学フロンティア研究センター）

所内対応者：富永真琴（生命創成探究センター/生理学研究所）

（１）感覚・免疫連関における体温センサーTRPM2 の生理的意義

加塩麻紀子 [1]，曽我部隆彰 [2, 3]，富永真琴 [2, 3]

([1] 愛知医科大学生理学講座

[2] 生理学研究所 細胞生理研究部門

[3] 生命創成探究センター温度生物学研究グループ)

（２）Light Sensitivity of Brown Adipose Tissue

佐藤真理 [1,2]

([1] 北海道大学大学院歯学研究院口腔分子生化学教室,

[2] 国立研究開発法人科学技術振興機構さきがけ)

（３）実験的自己免疫性脳脊髄炎におけるカテプシン E がもたらす免疫感覚異常

原田ゆか, 林　良憲

(九州大学大学院歯学研究院口腔機能分子科学)

（４）神経成長因子依存性ニューロンからみた「痛みと炎症とストレスシステム」

犬童康弘（熊本大学医学部附属病院・小児科）

（５）T 細胞活性化に起因するメタボロームシフトを介した情動行動変化

宮島倫生 [1]，章　白浩 [1,2]，杉浦悠毅 [3]，園村和弘 [4]，マッテオ・グェッリーニ [1]，

筒井裕美 [1]，茶本健司 [2]，本多久楽々 [3]，疋田貴俊 [5]，秦　鴻雁 [1]，佐貫理佳子 [6]，

古川貴久 [6]，石濱　泰 [7]，松田文彦 [4]，末松　誠 [3]，本庶　佑 [2]，シドニア・ファガラサン [1]

([1] 理化学研究所生命医科学研究センター粘膜免疫研究チーム,

[2] 京都大学大学院医学研究科免疫ゲノム医学講座 [3] 慶應義塾大学医学部 医化学教室,

[4] 京都大学大学院医学研究科疾患ゲノム疫学,

[5] 大阪大学 蛋白研究所蛋白質高次機能学研究部門高次脳機能学研究室,

[6] 大阪大学蛋白研究所蛋白質高次機能学研究部門分子発生学研究室,

[7] 京都大学大学院薬学研究科プロテオミクス研究室)

（６）炎症に伴う造血幹細胞の機能変容

滝澤　仁（熊本大学 国際先端医学研究機構）

（７）エクソソームによる脳内炎症とその病態

華山力成（金沢大学 ナノ生命科学研究所／医学系免疫学）

（８）多感覚情報提示と生体システム

鳴海拓志（東京大学大学院情報理工学系研究科 / JST さきがけ）

（９）The Response and Function of Natural Killer Cells after Peripheral Nerve Injury

Seog Bae OH

(Department of Neurobiology and Physiology School of Dentistry,

Department of Brain and Cognitive Sciences College of Natural Sciences,

Seoul National University, Seoul, Republic of Korea)

（10）脊髄損傷による自律神経回路の再編と免疫抑制

上野将紀（新潟大学脳研究所システム脳病態学）

（11）先天的恐怖誘導性危機応答モードによる生命保護

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）

（12）リソソーム局在型アミノ酸トランスポーターに依存した炎症制御機構

反町典子，小林俊彦

（国立研究開発法人国立国際医療研究センター研究所 分子炎症制御プロジェクト）

（13）アストロサイト性シナプス再編

小泉　修一[1]，壇上　洋右[1]，鍋倉　淳一[2]

（[1]山梨大学大学院総合研究部医学域 薬理，

[2]生理学研究所生体恒常性発達研究部門）

（14）吸血節足動物の分子生物学

嘉糠洋陸[1,2]

（[1]東京慈恵会医科大学熱帯医学講座，[2]同　衛生動物学研究センター）

【参加者名】

佐藤真理（北海道大学），嘉糠洋陸（東京慈恵会医科大学），鳴海拓志（東京大学），反町典子（国際医療研究センター研究所），宮島倫生（理化学研究所），上野将紀（新潟大学），華山力成（金沢大学），小泉修一（山梨大学），加塩麻紀子（愛知医科大学），北山尚美・中嶋千紗（京都大学），小早川　高（関西医科大学），藤田郁尚・丸山健太・平賀慎一郎・岡畑智香・渥美友紀子・杉澤恵利香（大阪大学），林　良憲（九州大学），城戸瑞穂（佐賀大学），犬童康弘・滝澤　仁（熊本大学），渡邉　紀・荒木大作（花王㈱），神谷明裕（小野薬品工業㈱），富永真琴・曽我部隆彰・鈴木喜郎・齋藤　茂・李　天邦・山野井　遊・高山靖規・Derouiche Sandra・宇治澤知代・山野井　遊・馮　曉娜・Nguyen Thi Hong Dung（生理学研究所）

【概要】

侵害受容系は，個体に組織障害や感染の勃発を不快な感覚の惹起を通じて自覚させることで，危険からの回避や安静を促している。それ故，痛覚や痒みといった感覚は広義の生体防御系の一部をなしているとする見方が可能である。近年，侵害受容システムが一種の内分泌臓器のように働くことで免疫細胞の活性を調節していることや，侵害受容システムが免疫系と共通する異物認識受容体を用いて侵害受容をおこなっているとする発見が相次ぎ，神経学者と免疫学者が互いに協力することで新たな知の領域が創発される可能性が高まってきた。そこで，本研究会ではこうした萌芽的学際領域を「感覚免疫学」と命名することで本邦の研究者コミュニティーにおける認知度を高め，同時に，これまで交流が殆どなかった侵害受容システムと免疫システムの研究者らの出会いの場を提供することで，感覚系と免疫系双方に影響される諸疾患の解決にむけた共同研究をはぐくむことを目指す。第 2 回目となる本年度は，「感覚」の概念を痛みや痒みに限定することなく，視覚・聴覚・味覚・嗅覚にまで拡張し，「五感」をキーワードに独創的な研究を展開している研究者らと免疫学の研究者らを招待することで領域のさらなる発展的拡張を目指した。その結果，集会の学際性は昨年度よりもさらに高まり，疼痛生理学・脳生理学・香り学・バーチャルリアリティ学・小児科学・熱帯医学といった多彩な領域で活躍する気鋭の科学者らが免疫学的議論に参加するという前代未聞の言論空間の醸成に成功した。また本年度は，感覚免疫学領域の国際的研究ネットワーク構築のための布石を打つ目的で，講師陣の一人に痛覚神経-免疫細胞相互連関をテーマに研究を展開されているソウル国立大学の Oh 博士を招聘し，最新のデータをもとに英語による活発な議論を展開していただいた。このように本会は第 1 回目の昨年度と比べてより学際色・国際色豊かな研究会に「進化」し，今後の共同研究を見据えた活発な参加者同士の交流をはかることができたものと考えている。

（1）感覚・免疫連関における体温センサーTRPM2 の生理的意義

加塩麻紀子 [1]，曽我部隆彰 [2, 3]，富永真琴 [2,3]
（[1] 愛知医科大学生理学講座，[2] 生理学研究所 細胞生理研究部門，
[3] 生命創成探究センター温度生物学研究グループ）

TRPM2 は温度感受性を有する非選択性陽イオンチャネルであり，種々の組織に広範に発現する。TRPM2 は免疫細胞にも発現し，免疫能の調節や炎症の増悪に関わることが報告されている。

我々は，レドックスシグナルにより TRPM2 の活性化温度閾値が低下することにより TRPM2 のチャネル活性が体温下で調節されること，その結果として TRPM2 活性がマクロファージの異物貪食能を温度依存性に増大させることを見出した。これまで感覚神経における TRPM2 の機能については報告が限られていたが，近年 TRPM2 が感覚神経に発現し非侵害性の温度受容に関わることが報告された。

感覚神経 TRPM2 の痛覚への寄与は現在のところ不明であるが，免疫細胞から遊離される炎症性メディエーターが感覚神経の痛覚刺激に対する反応性を増強し，同じく TRPM2 を発現する脊髄ミクログリアの活性化が炎症性疼痛，神経因性疼痛を増悪させる。したがって，感覚・免疫連関において感覚神経と免疫細胞の両者における TRPM2 機能の生理学的および病態生理学的意義が示唆される。

（2）Light Sensitivity of Brown Adipose Tissue

佐藤真理 [1, 2]
（[1] 北海道大学大学院歯学研究院口腔分子生化学教室，
[2] 国立研究開発法人科学技術振興機構さきがけ）

光は太古より地球を照らし，その光の中で生命は進化をとげた。私たちは現在，光の感覚器として視覚を持つが，視覚の獲得以前にも私たちの遠い先祖は他のやり方で光を感知していたはずである。原始的なその光感知システムが進化のメモリーとして私たちの体に残されている可能性はないだろうか？私たちとは全く違う進化をとげた植物は光を利用した光合成という代謝システムを現在まで保持している。我々ヒトを含む哺乳類は光による代謝システムを獲得もしくは現在まで保存しなかったが，生命維持の根幹を成す代謝システムに，未知の光感受システムが備わっている可能性を演者は考えた。

興味深いことに，脂肪組織には光受容体のひとつである Opsin3 が高発現しており，Opsin3 ノックアウトマウスは褐色脂肪の機能異常による易肥満傾向を示す。褐色脂肪は，取り込んだ糖や脂肪をため込まずに使って燃やしてエネルギーにするいわゆる善玉の脂肪である。この，褐色脂肪細胞を用いた in vitro 実験から，Opsin3 を介した光刺激はおそらく GPCR シグナルを介して ①細胞内への糖取り込みを増強すること ②糖と脂肪を利用したミトコンドリアのエネルギー産生を増強すること ③細胞内の脂肪分解能を増強すること，がこれまでの実験から分かってきている。

おそらく私たちの体には，褐色脂肪の光応答システムによって全身代謝を制御する未知の機構が備わっている。

（3）実験的自己免疫性脳脊髄炎におけるカテプシン E がもたらす免疫感覚異常

原田ゆか，林　良憲
（九州大学大学院歯学研究院口腔機能分子科学）

多発性硬化症（MS）は運動機能障害を主症状とし，寛解と再発を繰り返す中枢神経系の進行性の炎症性疾患である。患者の大半に生じる異常疼痛は QOL を低下させる要因の一つとして考えられるが，MS の疼痛メカニズムの詳細は未だ不明である。そこで，MS の動物モデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎（EAE）を用いて疼痛メカニズムを検討した。Myelin oligodendrocyte glycoprotein35-55(MOG35-55)により誘導される疼痛はプロテアーゼの一種であるカテプシン E を欠損したマウスで抑制された。疼痛に重要として考えられている脊髄後角でのミクログリア活性化および T 細胞の浸潤は，EAE 性の疼痛では認められなかった。一方，疼痛時に生じた変化として脊髄後根神経節(DRG)での好中球の集積であり，この集積した好中球にのみカテプシン E の発現が認められた。そこで，マウスの好中球を除去したところ，EAE 性の疼痛が抑制されると共に DRG で発現誘導されたカテプシン E が消失した。好中球でのカテプシン E の発現誘導は in vitro での MOG35-55 による刺激で速やかに生じた。また，MOG35-55 で刺激した好中球を正常マウスに移入することで速やかに疼痛が生じ，この現象は好中球のカテプシン E に依存していた。好中球により生じる痛みはカテプシン E 依存的に好中球から分泌されるエラスターゼに起因しており，好中球エラスターゼの選択的阻害剤であるシベレスタットにより疼痛が有意に抑制された。以上のことから，好中球のカテプシン E は MS 患者の疼痛治療ターゲットとなりうると考えられた。

（4）神経成長因子依存性ニューロンからみた「痛みと炎症とストレスシステム」

犬童康弘（熊本大学医学部附属病院・小児科）

神経成長因子（NGF）はニューロンの分化と生存を維持する神経栄養因子のひとつとして分離同定されたが，炎症メディエーターとして炎症性疼痛にも関与する。先天性無痛無汗症は温覚・痛覚と発汗機能を欠如し精神遅滞を伴う常染色体劣性遺伝の疾患で，その原因はチロシンキナーゼ型神経成長因子受容体（TrkA）をコードする遺伝子 NTRK1 の機能喪失性変異である。患者では NGF に依存するニューロンの生存・維持が障害される結果，NGF 依存性ニューロンが特異的に欠損する。末梢神経系の NGF 依存性ニューロンは，NGF 依存性一次求心性ニューロンと交感神経節後ニューロンである。前者は種々の刺激に反応するポリモーダル受容器で，身体の内部に関するあらゆる情報をモニターして，その情報を絶えず脳に伝える「内感覚」に重要なはたらきをする。一方，後者は内感覚により脳に伝えられる身体内部についての情報をもとに，自律神経系のひとつとして生体の恒常性維持に寄与する。先天性無痛無汗症の病態解析により，末梢神経系の NGF 依存性ニューロンのはたらきについて新たな洞察が得られた。これらのニューロンは，脳と免疫系と内分泌系のクロストークに介在することで，痛みと炎症に加えて，恒常性維持などの多彩な生体機能の調節に関与している。また，脳と身体の相互作用に介在することで，ストレス反応に加えて，情動や感情などの心的活動でも重要な役割をはたしている。

（5）T 細胞活性化に起因するメタボロームシフトを介した情動行動変化

宮島倫生 [1]，章　白浩 [1,2]，杉浦悠毅 [3]，園村和弘 [4]，マッテオ・グェッリーニ [1]，
筒井裕美 [1]，茶本健司 [2]，本多久楽々 [3]，疋田貴俊 [5]，秦　鴻雁 [1]，佐貫理佳子 [6]，
古川貴久 [6]，石濱　泰 [7]，松田文彦 [4]，末松　誠 [3]，本庶　佑 [2]，シドニア・ファガラサン [1]，
（[1] 理化学研究所生命医科学研究センター粘膜免疫研究チーム，
[2] 京都大学大学院医学研究科免疫ゲノム医学講座 [3] 慶應義塾大学医学部 医化学教室，
[4] 京都大学大学院医学研究科疾患ゲノム疫学，
[5] 大阪大学 蛋白研究所蛋白質高次機能学研究部門高次脳機能学研究室，
[6] 大阪大学蛋白研究所蛋白質高次機能学研究部門分子発生学研究室，
[7] 京都大学大学院薬学研究科プロテオミクス研究室）

T 細胞は活性化により細胞内の代謝経路を再編成するが，細胞外部の代謝プロファイルに及ぼす影響についてはほとんど明らかにされていなかった。

本研究において T 細胞活性化モデルである PD-1 欠損マウスを解析した結果, PD-1 欠損マウスではアミノ酸減少により特徴づけられる血清メタボローム変化が認められ，その変化は T 細胞依存的であることが示された。この血清中のアミノ酸減少と対応して PD-1 欠損マウスではリンパ節中のアミノ酸量が増加していた。さらに PD-1 欠損マウスのリンパ節では T 細胞が増殖・活性化しており，活性化 T 細胞ではアミノ酸トランスポーターの発現上昇やアミノ酸の細胞内取り込み量の増加が認められた。次に PD-1 欠損マウスの脳内アミノ酸濃度および神経伝達物質濃度を測定した結果, PD-1 欠損マウスの脳内では血清と同様にトリプトファンおよびチロシン濃度が低下していたことに加え，セロトニンおよびドーパミン濃度も低下していた。また PD-1 欠損マウスの不安様行動や恐怖反応を解析した結果, PD-1 欠損マウスでは不安様行動および恐怖反応が亢進していることが示された。

以上の結果から，T 細胞の活性化はその細胞内へのアミノ酸取り込みを上昇させるというメカニズムにより全身性のアミノ酸減少を引き起こし，そのことが脳内神経伝達物質濃度の低下につながり不安様行動や恐怖反応を亢進させることが示された。

（6）炎症に伴う造血幹細胞の機能変容

滝澤　仁（熊本大学 国際先端医学研究機構）

造血幹細胞は骨髄に存在し，自己複製能と多分化能という幹細胞特性を維持しながら生涯を通じて血液産生に寄与している。定常状態において日常的に行われる大量の血液産生は非常にゆっくりと分裂する造血幹細胞よりも増殖が早く分化方向が規定されている造血前駆細胞によって賄われていると考えられている。一方，感染や炎症などの造血負荷（ストレス）がかかる際には末梢組織においてより多くの成熟血液・免疫細胞が活性化・消費されることから，造血幹細胞も分化して血液産生の需要を満たすことが予想される。しかしながら，骨髄にいる造血幹細胞がどのように末梢での造血需要シグナルを探知し血液産生に反映させるのか，また，その造血幹細胞の活性化が最終的に造血幹細胞の機能に与える影響などについては明らかとなっていない。

本講演では，グラム陰性菌感染や腸炎モデルを用いて，細菌感染が造血制御に与える影響とその制御様式，造血幹細胞の機能制御と機能変容のメカニズムに関する知見を紹介した。さらには造血ストレスと老化との関係性，白血病などの造血器腫瘍の発症・進展に繋がる可能性についても議論した。

（7）エクソソームによる脳内炎症とその病態

華山力成（金沢大学 ナノ生命科学研究所／医学系免疫学）

エクソソームは直径 30-100nm の細胞外膜小胞で，分泌細胞由来の蛋白質や mRNA, microRNA などを内包し，これらの分子を介して標的細胞の機能を制御すると考えられている。中でも神経細胞由来のエクソソームは神経変性疾患や脳内炎症発症への関与が注目されているが，実際に我々は Ca^{2+}刺激によって神経細胞から放出促進されたエクソソームがグリア細胞に取り込まれると，グリア細胞に補体成分 C3 の発現を誘導することによって，不要なシナプスの貪食除去を促進することを見出した（Sci Rep. 5, 7989, 2015）。一方，未刺激の神経細胞由来エクソソームには，このような活性が認められないことから，我々は Ca^{2+}刺激によってエクソソームの構成分子に変化が生じると考え，エクソソームに内包化される分子群を網羅的に同定した。更に，このエクソソームがグリア細胞に取り込まれると，炎症や蛋白質分解に関与する様々な遺伝子群の発現を誘導する事を見出した。そこで本講演では，これらの過程を制御する分子機構とその異常によって引き起こされる病態について報告する。

（8）多感覚情報提示と生体システム

鳴海拓志（東京大学大学院情報理工学系研究科 / JST さきがけ）

バーチャルリアリティ（VR）分野では視聴覚に留まらず触覚，嗅覚，味覚など幅広い感覚情報を提示する技術の研究がなされてきた．なかでも，昨今特に注目を集めているのが，感覚間の相互作用であるクロスモーダル現象を利用して，限られた感覚刺激提示から多様な五感を提示するクロスモーダルインタフェースである．本講演では，見た目と香りの変化から食味を変化させる「メタクッキー」，食品の見かけのサイズを変化させることで摂食量に影響を与える「拡張満腹感」など，VR 分野での研究を中心に触覚，味覚，嗅覚，空間知覚等に働きかけるクロスモーダルインタフェースの事例が紹介された．身体所有感に関わる最も有名な錯覚現象の一つであるラバーハンドイリュージョンが示すように，多感覚の連合刺激は人の身体表象を変化させ，さらにそうした身体表象の変化は人の生理状態や行動をも変化させる．これを踏まえ，実際とは異なる表情をリアルタイムにフィードバックすることで感情に影響を与える「扇情的な鏡」など，クロスモーダルインタフェースによる感覚・知覚の変化が人間の行動や情動，思考様式等に与える影響について検討した事例についても紹介され，感覚に働きかける工学的技術と感覚免疫学との相互作用の可能性について議論がなされた。

（9）The Response and Function of Natural Killer Cells after Peripheral Nerve Injury

Seog Bae OH（Department of Neurobiology and Physiology School of Dentistry,
Department of Brain and Cognitive Sciences College of Natural Sciences,
Seoul National University, Seoul, Republic of Korea）

Peripheral nerve injury in mammals induces sequences of neuro-immune signaling events in which damaged axons degenerate to ultimately allow axon regeneration of nerve. Peripheral nerve injury also frequently produces pain hypersensitivity as a maladaptive response from nerve injury. Natural Killer (NK) cells are known to be among the population of infiltrating immune cells after nerve injury in rodents, and several clinical reports provide circumstantial evidence for the

involvement of NK cells in various peripheral neuropathies. We thus examined the response and functional consequence of NK cells in the context of peripheral nerve injury such as sciatic nerve transection and crush from the adult mice.

We found the upregulation of retinoic acid early transcript 1 (Raet1) in adult DRG neurons and transport of RAE1 protein to the damaged site of the nerve after peripheral nerve injury, recruitment of activated NK cells to the injured nerve and NKG2D-mediated degeneration of sensory neuron axons. These results suggest that cytotoxic NK cells may constitute a novel cellular trigger for local axon degeneration of sensory neurons after peripheral nerve. This work provides new insights into non-autonomous triggers of axon degeneration and suggests a possible therapeutic intervention in painful neuropathy through the modulation of NK cell function.

（10）脊髄損傷による自律神経回路の再編と免疫抑制

上野将紀（新潟大学脳研究所システム脳病態学）

脊髄損傷は，運動や感覚機能に重篤な障害をもたらしますが，一方で死亡要因は，感染症が第一位となっています。感染症は，免疫機能の低下により発症すると考えられますが，脊髄の障害で免疫機能が低下する原因は不明のままでした。脊髄損傷では，上位の脳部位と末梢をつなぐ自律神経回路もしばしば障害され，交感神経の過剰な活性化を特徴とする自律神経過反射と呼ばれる症状をもたらします。私たちは，マウスの脊髄損傷モデルにおいて，免疫機能の低下が，自律神経過反射に伴い引き起こされることを見いだしました（Ueno et al., Nat Neurosci 2016）。損傷により一度神経回路が破綻すると，免疫器官と接続する交感神経回路の接続が変化して再編し，過剰に活性化してしまうことがわかりました。さらにこの回路の活性化は，免疫器官の免疫細胞数の減少をもたらしていました。本研究から，脊髄の障害後に，神経回路が変化して免疫機能を低下させる神経原性の新たな病態メカニズムが明らかになりました。免疫系に対する神経回路の役割を正しく理解し，その活動を効果的に制御できるようになれば，免疫機能の改善を促すための新たな治療法の開発に結びつくと期待されます。

（11）先天的恐怖誘導性危機応答モードによる生命保護

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）

恐怖は危険を察知した脳により誘発される情動で個体を保護する行動や生理応答を誘発する。低体温療法は脳梗塞や心筋梗塞などの虚血再灌流障害に対する治療効果を持つ。恐怖刺激が低体温や低代謝を誘導し危機に陥った個体の生存確率を高めることは合目的であるが，このような現象は未解明である。私たちはマウスに極めて強力な先天的恐怖情動を誘発する人工匂い分子「チアゾリン類恐怖臭」を開発した。チアゾリン類恐怖臭により誘発した先天的恐怖は，後天的恐怖とは異なり，強力な体温と心拍数の低下，酸素消費量の抑制などを含む冬眠や仮死状態に類似した生理応答を誘発した。さらに，低酸素条件における活性酸素の発生を抑制することで，虚血再灌流障害や低酸素に対する強力な抵抗性が獲得されることが判明した。チアゾリン類恐怖臭の呈示により，代謝経路に存在する複数の酵素が速やかに修飾され，その結果，活性酸素の発生源となる TCA サイクルの活動が抑制された。これらの生理応答や代謝変動を担う遺伝子や神経経路を，フォワードジェネティクススクリーニング，薬剤投与スクリーニング，全脳活性化マッピングなどの手法を用い同定した。チアゾリン類恐怖臭による先天的恐怖刺激は危機応答モードと呼ぶべき特殊な代謝状態を脳の指令により誘導することで危機に陥った個体の生存確率を上昇させるという，これまで想定されていなかったモデルを提案する。

（12）リソソーム局在型アミノ酸トランスポーターに依存した炎症制御機構

反町典子，小林俊彦
（国立研究開発法人国立国際医療研究センター研究所 分子炎症制御プロジェクト）

炎症は，免疫難病やアレルギーのみならず，がん，生活習慣病，循環器疾患など，多くの疾患病態の形成に大きな役割を果たしており，炎症応答の制御が病態改善に直結する。私たちは，炎症応答の新規制御機構の解明と治療標的分子の同定を目的として，複数の炎症シグナルが集約するエンドリソソームシステムに着目し，この小胞制御機構から新しい炎症制御のメカニズムを明らかにした。

免疫細胞に優先して発現する Solute carrier family member 15A4 (SLC15A4)は，12 回膜貫通プロトン共役型アミノ酸トランスポーターで, エンドリソソームに局在してヒスチジンやヒスチジン含有ペプチドを小胞内内腔から細胞質へと輸送している。私たちは，この分子の機能喪失によって全身性エリテマトーデス(SLE)および腸炎モデル疾患の病態が著しく改善することを見いだし, そのメカニズムとして，SLC15A4 の機能喪失によって小胞内のプロトンやアミノ酸といった物質環境が撹乱され, それによって小胞で媒介される Toll 様受容体やサイトカイン受容体を介した複数の炎症シグナルが遮断され, 炎症応答が軽減するためであることを明らかにした。

また SLC15A4 の機能は免疫細胞の分泌リソソームの生合成と分泌機能に重要であること，免疫系および中枢神経系のヒスタミン恒常性に関わることを見いだしている。本会では，アミノ酸トランスポーターが担うエンドリソソーム制御が免役応答制御に果たす役割の重要性についてこれまで得られた知見をまとめ，疾患治療標的としてのアミノ酸トランスポーターの可能性について述べる。

（13）アストロサイト性シナプス再編

小泉修一[1]，壇上洋右[1]，鍋倉淳一[2]
（[1]山梨大学大学院総合研究部医学域 薬理，
[2]生理学研究所生体恒常性発達研究部門）

これまでに座骨神経を部分結紮(Partial Sciatic nerve ligation; PSL)による神経障害性疼痛モデルマウスを用いた研究により, 一次体性感覚野 (S1) アストロサイトが（1）Ca^{2+}興奮性亢進，（2）シナプス新生分子 thrombospondin-1(TSP-1) 産生放出，という性質を有したシナプス再編型に変化することで，（3）無秩序なシナプス再編，さらに触覚回路と痛覚回路混線によりアロディニアが惹起されること，を明らかにしてきた。本研究では，この一連の応答における mGluR5 の重要性を明らかとした。mGluR5 は，生後発達初期にはアストロサイトに豊富に存在しているが，発達に従って発現が低下し，成熟脳にはほぼ発現が無い。しかし PSL 術により，疼痛形成初期に成熟脳 S1 アストロサイトで発現が亢進した。そこで，mGluR5 をアストロサイト特異的にノックダウンしたマウスを作成した（astro-mGluR5-KD）。PSL により惹起される上記一連の応答, つまり Ca^{2+}興奮性亢進, 各種シナプス新生分子産生, メカニカルアロディニアのすべては，astro-mGluR5-KD では消失した。このように，一連のアストロサイト性シナプス再編のトリガーが mGluR5 であることを明らかとした。

（14）吸血節足動物の分子生物学

嘉糠洋陸 [1,2]
（[1] 東京慈恵会医科大学熱帯医学講座，[2] 同　衛生動物学研究センター）

血を吸うムシは，案外身近である。蚊を代表に，マダニ，シラミ，ノミ，ブユなど，吸血行為によって獲得した血液を自身の生存または産卵時の栄養として必要とする節足動物種が存在する。一般には吸血をしないハエやカメムシにおいても，特定の種（ツェツェバエやサシガメ等）はその食餌を血液に限定している。吸血は，収斂進化の結果と捉えることができる。細部は異なれ，吸血対象動物の認識，吸血を効率よく進める口器形態と生理機能，血液の消化と吸収，卵形成の惹起など，一連のメカニズムは吸血節足動物間で驚くほど類似している。しかし時に，これらの吸血節足動物は，血液の中に含まれる微生物を取り込み，媒介する。それらの微生物は，ウイルス，リケッチア，細菌，原虫，蠕虫と多岐に渡り，動物に疾患を引き起こすものは病原体と呼ばれる。マラリア・ジカ熱・日本脳炎・フィラリア・日本紅斑熱，ライム病など，節足動物が媒介する感染症は，依然として世界で猛威を振るっている。しかし，この吸血節足動物を介した病原体のライフサイクルは，遙か昔から保存されてきたものであり，その媒体である節足動物自身も含めて多様な生命現象の宝庫である。

我々は，ハマダラカ，ヤブカ，マダニ，ノミ，サシガメなどを研究対象に，病原体に対する防御応答，吸血宿主認識メカニズム，共生微生物との相互作用，越冬様式とその生態など，幅広く研究を進めている。これらのオーセンティックな吸血生物を軸に据えた，我々の最新の知見を紹介したい。

９．生命のエネルギー獲得戦略における多様性と共通原理の理解にむけて

2018 年 4 月 26 日－4 月 27 日

代表・世話人：本橋ほづみ（東北大学加齢医学研究所）
所内対応者：西田基宏（生理学研究所）

（１）窒素固定と光合成の“酸素パラドクス”とその統御機構
藤田祐一（名古屋大学 大学院生命農学研究科）

（２）システインのパースルフィド化を介した硫化水素・活性イオウ分子種の細胞内認識
増田真二（東京工業大学 バイオ研究基盤支援総合センター）

（３）多様な電子受容体を用いた微生物のエネルギー獲得戦略
天知誠吾（千葉大学 大学院園芸学研究科）

（４）不飽和脂肪酸代謝の進化によるトゲウオの新規ニッチ進出
北野　潤（国立遺伝学研究所 集団遺伝研究系）

（５）哺乳類の冬眠を可能とする生体状態とは？
山口良文（北海道大学 低温科学研究所）

（６）ゼブラフィッシュを用いたレドックス研究
小林麻己人（筑波大学 医学医療系）

（７）アミノアシル tRNA 合成酵素の新規機能の探索と機能制御機構の解明
若杉桂輔（東京大学 大学院総合文化研究科）

（８）小胞体ジスルフィド還元酵素 ERdj5 の還元ドナーの探索
潮田　亮（京都産業大学 総合生命科学部）

（９）細胞内温度センサーが可視化したオルガネラ内温度動態
坂口怜子（京都大学 工学研究科）

（10）環境中親電子物質エクスポソームと防御応答・適応
熊谷嘉人（筑波大学 医学医療系）

（11）グラム陰性菌ペリプラズムのシステインおよび活性イオウによるレドックス調節機構
澤　智裕（熊本大学 大学院生命科学研究部）

（12）活性パースルフィド：生物種普遍的な代謝経路と生理機能の解明に向けて
西村　明（東北大学 大学院医学系研究科）

（13）転写因子 NRF2 によるストレス応答と代謝制御
本橋ほづみ（東北大学 加齢医学研究所）

（14）薬理学的アプローチから一酸化窒素による DNA メチル化制御・遺伝子発現を探る
上原　孝（岡山大学 大学院医歯薬学総合研究科）

（15）ミトコンドリア局在プロテインホスファターゼ PGAM5 による核タンパク質のリン酸化制御機構
武田弘資（長崎大学 大学院医歯薬学総合研究科）

（16）tRNA 硫黄修飾によるミトコンドリア機能制御機構
魏　范研（熊本大学 大学院生命科学研究部）

（17）酵素活性の網羅的解析（enzymomics）による疾患関連タンパク質の探索
小松　徹（東京大学 大学院薬学系研究科）

（18）ERp18 の亜鉛依存的な活性制御機構の解明
堤　智香（京都産業大学 大学院生命科学研究科）

（19）小胞体還元酵素 ERdj5 の欠損はミトコンドリアの断裂を引き起こす
山下龍志（京都産業大学 総合生命科学部）
（20）細胞内シグナル伝達におけるリン酸化の認識機構の抗体をモデルとした解析
河出来時（東京大学 工学系研究科）
（21）活性イオウ分子によるカドミウムのイオウ付加体の生成を介した毒性防御
新開泰弘（筑波大学 医学医療系）
（22）caspase-1 活性を指標とした単一細胞パイロトーシス可視化プローブの開発
川口充康（名古屋市立大学 大学院薬学研究科）
（23）心リモデリングにおける活性酸素の産生と TRPC3/6 チャネルの役割
小田紗矢香（生命創成探究センター）
（24）システイニル tRNA 合成酵素によるパースルフィド合成制御機構の解明
井田智章（東北大学 大学院医学系研究科）
（25）ミトコンドリア/イオウ呼吸選択的 sulfide-quinone reductase（SQR:硫化水素キノン還元酵素）欠損マウスの開発
守田匡伸（東北大学 大学院医学系研究科）
（26）病原細菌の産生する活性パースルフィドによるオートファジー不全と生体防御異常
松永哲郎（東北大学 大学院医学系研究科）
（27）KEAP1-NRF2 制御系の活性化はアルツハイマー病様病態を改善する
松丸大輔（東北大学 加齢医学研究所）
（28）β-Galactosidase および可視光による二段階制御型 NO ドナーの合成と機能評価
岡　由実奈（名古屋市立大学 薬学部薬学科）
（29）ミトコンドリア関連蛋白質 Prohibitin-2 の物性解析
千吉良　岳（東京大学 工学系研究科）
（30）リボゾーム結合因子 GCN1L1 による DRG2 を介した細胞増殖制御機構
山嵜博未（弘前大学 大学院医学研究科）
（31）酸化イミダゾールジペプチドの検出
垣花優希（大阪府立大学 大学院理学系研究科）
（32）レドックス制御型カルモデュリン依存性酵素の意義
渡邊泰男（昭和薬科大学 医療薬学系）
（33）In vivo がん治療効果イメージングを志向した可逆的 glutathione 蛍光プローブの開発
西堀純平（東京大学 大学院薬学系研究科）
（34）有機小分子蛍光プローブを用いた SAM 検出系の開発とスクリーニング系への応用
荻原洲介（東京大学 大学院薬学系研究科）

【参加者名】

山口良文（北海道大学），中木戸　誠（東京大学），熊谷嘉人（筑波大学），本橋ほづみ（東北大学），若杉桂輔（東京大学），潮田　亮（京都産業大学），堤　智香（京都産業大学），武田弘資（長崎大学），山下龍志（京都産業大学），小林麻己人（筑波大学），北野　潤（国立遺伝学研究所），魏　范研（熊本大学），富澤一仁（熊本大学），葛西秋宅（弘前大学），伊東　健（弘前大学），坂口怜子（京都大学），澤　智裕（熊本大学），吉田浩平（東京大学），天知誠吾（千葉大学），上原　孝（岡山大学），小田紗矢香（生理学研究所），下田　翔（総合研究大学院大学），渡邊泰男（昭和薬科大学），藤本泰之（生理学研究所），河出来時（東京大学），田中智弘（生理学研究所），後藤拓実（九州大学），西山和宏（九州大学），前田翔也（九州大学），増田真二（東京工業大学），内田浩二（東京大学），西村明幸（生理学研究所），森　泰生（京都大学），井田智章（東北大学），

守田匡伸（東北大学），松永哲郎（東北大学），西村　明（東北大学），赤池孝章（東北大学），千吉良　岳（東京大学），新開泰弘（筑波大学），冨田拓郎（生命創成探求センター），居原　秀（大阪府立大学），田中アキラ（大阪府立大学），村上英二郎（大阪府立大学），北村大志（東北大学），垣花優希（大阪府立大学），小松徹（東京大学），西堀純平（東京大学），荻原洲介（東京大学），藤田祐一（名古屋大学），家田直弥（名古屋市立大学），中川秀彦（名古屋市立大学），岡　由実奈（名古屋市立大学），松丸大輔（東北大学），西田基宏（生理学研究所），川口充康（名古屋市立大学）

【概要】

エンタルピー増大に向かう自然界にあって，生物は常に自由エネルギーを取り込み，生体システムの秩序を保ち生命を維持している。こうした生物が営むエネルギー代謝では，多くの場合，酸化還元電位の差分に由来する自由エネルギーが利用されており，安定的なエネルギー獲得のためにはレドックス恒常性の維持が重要である。主な生物種ごとのゲノム解読がほぼ完了し，そこにコードされる遺伝子とその産物（タンパク質や non-coding RNA）の全貌が明らかになった現在，依然として多くの謎が残されているのが代謝物とその動態である。エネルギー代謝の主役ともいえるミトコンドリアを例にとってみても，電子伝達系に共役したイオウ代謝機構，プロトン勾配の形成機構，鉄-イオウクラスターの産生・制御機構など，不明な点が数多く残されている。本研究会では，生物種ごとの多様なエネルギー獲得戦略を理解するともに，生物種横断的解析から得られる新たな代謝物とその代謝経路の解明，その新たな生物学的意義の理解を目指して議論を深めることを目指した。また，エネルギー代謝に派生するレドックス制御がもたらすタンパク質修飾や核酸修飾の解明と，ゲノムに規定された遺伝情報創発における意義の理解を目指し，共同研究の推進を図ることを目的とした。

（1）窒素固定と光合成の“酸素パラドクス”とその統御機構

藤田祐一（名古屋大学 大学院生命農学研究科）

窒素固定とは空気中の窒素分子を，多くの生物が利用可能なアンモニアに変換する過程である。窒素固定を触媒する酵素ニトロゲナーゼは，その活性中心となる金属クラスターが酸素によって速やかに破壊されてしまうため，好気環境で生育する窒素固定生物は細胞内を嫌気的に保つ多様な分子機構を有する。シアノバクテリアは，植物と同じように酸素を発生する光合成を行う原核生物であり，その約半数の種は窒素固定能を有する。これら窒素固定性シアノバクテリアでは，酸素に脆弱なニトロゲナーゼが酸素を発生する光合成と併存するという“酸素パラドクス”が何らかの分子機構により統御されている。私たちは，窒素固定性シアノバクテリア *Leptolyngbya boryana* を材料としてこの課題に取り組んできた。これまでの研究で，ニトロゲナーゼの構造遺伝子および関連遺伝子群はゲノムの一領域（約 20 kb）に集積しており，転写制御タンパク質 CnfR によって転写が活性化されることを明らかにした。さらに，これら *nif* 遺伝子群（26 遺伝子）と *cnfR* を非窒素固定性シアノバクテリア *Synechocystis* sp. PCC 6803 のゲノムに導入し，窒素固定能を付与できるかどうかを検討した。得られた形質転換体 CN1 は低いが有意なニトロゲナーゼ活性を示したことから，CN1 は今後植物への窒素固定能付与に向けたプラットフォームとなる。

（2）システインのパースルフィド化を介した硫化水素・活性イオウ分子種の細胞内認識

増田真二（東京工業大学 バイオ研究基盤支援総合センター）

近年, 哺乳動物細胞の生理活性を制御する新しい気体メディエーターとして硫化水素（H_2S）が発見された。一方, 最近の研究では，活性イオウ分子種（RSS）と呼ばれるポリサルファアーを含む分子が実際のシグナル伝達分子の実体として機能しており，H_2S は単に RSS の代謝物にすぎないことも提唱されている。原核生物や真核細胞，哺乳動物組織から，グルタチオンパースルフィド（GSSH）などの RSS が一定量検出されたことから，RSS がすべての生物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。しかしながら，細胞が硫化水素もしくは RSS をどのように認識するかはよくわかっていなかった。

我々は，硫化水素を電子源に光合成を行う紅色細菌から，H_2S センサータンパク質の同定を試みた。この菌において，硫化水素の酸化を担う酵素 SQR の発現は，硫化水素に強く依存することがわかっていた。そこで *sqr* 遺伝子の発現制御を欠損した変異体スクリーニングを行ったところ, 硫化水素依存的に転写を制御する因子 SqrR（*sqr* repressor）の同定に成功した。SqrR は，特定の DNA 配列に結合する転写レプレッサーであった。SqrR に GSSH を処理すると，保存された 2 つのシステイン残基間に分子内テトラスルフィド結合を形成し，結果として DNA 結合の親和性が低下した。このことから，特定のシステイン残基のポリスルフィド化が，RSS を感知するために重要であることがわかった。

（3）多様な電子受容体を用いた微生物のエネルギー獲得戦略

天知誠吾（千葉大学 大学院園芸学研究科）

生物の共通祖先（LUCA）が行っていた呼吸様式がどのようなものであったかは不明だが, 原始地球の還元的な環境で酸素を電子受容体として用いていたとは考えにくい。一方, 現在でも多くの原核生物が窒素酸化物, 硫黄酸化物, 金属（メタロイド）酸化物などを電子受容体とした嫌気呼吸能を保持している。この過程において，complex iron-sulfur molybdoenzyme family（CISM ファミリー）と呼ばれる一群の酵素がしばしば必須の役割を演じている。CISM は Mo 因子と[Fe-S]クラスターを含む複合体で，電子伝達鎖のキノンプールから最終電子受容体への電子授受に寄与する。我々はこれまで，ヒ素呼吸を行う嫌気性細菌について研究を行い，ヒ素存在下では CISM（Respiratory arsenate reductase: Arr）のみならず，抗酸化酵素，ストレス応答, folding 関連タンパク質, 分子シャペロンなども発現上昇することを明らかにした。またゲノム上に Arr 遺伝子を持たないヒ素呼吸細菌では，硫黄還元に関与する CISM（Ttr）がヒ素還元を行う可能性が示唆され, ヒ素と硫黄代謝の共進化に興味が持たれた。さらに，我々が世界に先駆けて分離したヨウ素呼吸細菌では，新規な CISM（Idr）がヨウ素の還元に関与すると予想された。以上のことから，嫌気性微生物は種々の電子受容体に適応して CISM を進化させてきたことが推測された。

（4）不飽和脂肪酸代謝の進化によるトゲウオの新規ニッチ進出

北野　潤（国立遺伝学研究所 集団遺伝研究系）

新しい空白ニッチへの侵入は，その後の適応放散を誘導する場合がある。トゲウオは，淡水域に進出することで適応放散を遂げた。しかし，新規ニッ チへ侵入できた分類群もあれば，できなかった分類群も存在する。これら，新規ニッチへの適応進化の違いを生み出す原因となる遺伝基盤について，異なる塩分適応能や異なる代謝能

力をもつイトヨエコタイプを用いて研究した。その結果，不飽和脂肪酸代謝の進化が重要であることを見出し，鍵となる遺伝子を同定したのでその成果を報告する。

（5）哺乳類の冬眠を可能とする生体状態とは？

山口良文（北海道大学 低温科学研究所）

冬眠は，寒冷・飢餓などの過酷な環境を，能動的に代謝を抑制し低体温状態で乗り切る生命現象である。ヒトをはじめ，外界温度に依存せず体温を一定に維持する恒温性を獲得した哺乳類の多くは低体温耐性がなく冬眠できないが，クマやリス，ハムスターなど，一部の哺乳類は冬眠可能な冬眠動物である。冬眠動物が示す低体温耐性，貯蔵脂肪の効率的な燃焼機構，廃用筋萎縮耐性などの性質は，医学創薬への応用も期待される興味深いものであるが，その分子機構は未だ殆ど不明である。

私たちは，冬眠を可能とするこれらの性質の分子機構解明を目指し，遺伝的に比較的均一な動物の入手が可能な冬眠動物シリアンハムスターを用い研究を行っている。シリアンハムスターは，長期間の短日寒冷刺激により冬眠可能状態へとリモデリングされる。私たちは安定した冬眠誘導系を樹立することにより，このリモデリング過程では基礎体温と体重セットポイントの変更が生じることを明らかにした（Chayama, et al., R.Soc. Open Sci., 2016）。さらに詳細な組織学的解析および網羅的遺伝子発現解析等を行うことにより，冬眠可能な個体では，白色脂肪における脂質代謝能の亢進，骨格筋の筋繊維変化，低体温応答の変化等が生じることを同定した。これらの組織変化は，冬眠期に生じる脂質代謝への全身性代謝のシフトとも共役するため，冬眠可能状態の構成因子であると考えられた。

（6）ゼブラフィッシュを用いたレドックス研究

小林麻己人（筑波大学 医学医療系）

近年，古典的代謝学がオミックス技術とモデル動物の進展により動的な現象を扱う研究分野に変わってきた。我々はレドックス恒常性が環境変化や疾患といった外的内的ストレスの中でどう維持されるかをモデル動物ゼブラフィッシュを用いて個体レベルで研究している。Keap1-Nrf2 経路は酸化ストレスに応答してレドックス関連遺伝子を発動させ，細胞内レドックス恒常性を維持する転写応答型制御機構である。我々は Keap1-Nrf2 経路によるレドックス恒常性維持機構の生理的意義解明を目的に，Nrf2 とその抑制分子である Keap1 の遺伝子欠損ゼブラフィッシュを作製し解析を行った。その結果，Nrf2 欠損幼魚は酸化ストレスや重金属の暴露に弱く，また Keap1 の遺伝子破壊幼魚は逆に強いことがわかった。このことは生体におけるレドックス恒常性維持の大切さと，その制御における Keap1-Nrf2 経路の重要性及び脊椎動物間での進化的保存性を示している。我々はさらにゼブラフィッシュの利点を活かし，Keap1-Nrf2 経路に関わる新たな機能や制御発見を目的に順方向遺伝学スクリーンを行った。その結果，小胞体ストレスを自然発症する突然変異体の単離に成功し，Keap1-Nrf2 経路が小胞体ストレスにも応答しその緩和に働く機構であることを実証した。本発表ではレドックス研究におけるゼブラフィッシュの有用性を紹介したい。

（7）アミノアシル tRNA 合成酵素の新規機能の探索と機能制御機構の解明

○若杉桂輔（東京大学 大学院総合文化研究科／東京大学 大学院理学系研究科）
横沢　匠（東京大学 大学院理学系研究科）
宮ノ腰美希（東京大学 大学院総合文化研究科）

1. サイトカイン, 血管新生制御因子として働くアミノアシル tRNA 合成酵素

アミノアシル tRNA 合成酵素は tRNA にアミノ酸を結合させる（アミノアシル化）反応を触媒する酵素である。ヒトのチロシル tRNA 合成酵素（TyrRS）がこの触媒機能に加え細胞外でサイトカインや血管新生促進因子として働くこと，ヒトのトリプトファニル tRNA 合成酵素(TrpRS)は血管新生抑制因子として働くことを発見した。

2. 酸化ストレス下で生じる解離したヘムにより機能制御を受けるアミノアシル tRNA 合成酵素

ヒト TrpRS は１：１の割合でヘムあるいは亜鉛イオンと結合し，結合に伴いアミノアシル化活性が著しく上昇することを明らかにした。

3. 細胞外からのアミノ酸の取り込みを制御するアミノアシル tRNA 合成酵素

トリプトファン（Trp）が細胞内に取り込まれ，細胞外の Trp が枯渇すると T 細胞が機能不全に陥り，免疫寛容が起こる。がん細胞におけるインドールアミン-2,3-ジオキシゲナーゼ（IDO1）の発現増加，または，インターフェロン-γ（IFN-γ）処理によって，Trp に対する親和性・特異性が非常に高い新規な細胞内への Trp 輸送が起こることが報告されている。我々は，この新たな Trp 輸送に TrpRS が直接関わっていることを最近明らかにした。

（8）小胞体ジスルフィド還元酵素 ERdj5 の還元ドナーの探索

潮田　亮（京都産業大学 総合生命科学部／京都産業大学 タンパク質動態研究所）

小胞体はリボソームから合成された分泌・膜タンパク質のフォールディングの場であり，このフォールディング機構は小胞体に局在する分子シャペロンや酸化還元酵素群によって巧みに制御されている。また，小胞体の酸化還元環境はサイトゾルと比較して酸化的であり，この環境はジスルフィド結合形成にとって有利であることが知られている。

我々の下で発見した ERdj5 は小胞体内腔で初めて見つかったジスルフィド還元酵素であり，小胞体恒常性維持機構の一つである小胞体関連分解に関わる（R. Ushioda *et al*., ***Science*** 2008）。また，小胞体はタンパク質品質管理の場としてだけではなく，カルシウムの貯蔵庫としての役割を果たすことが知られており，その恒常性維持は小胞体の機能にとって重要である。我々は ERdj5 が SERCA2b の小胞体内腔側のジスルフィド結合を還元し，SERCA2b のポンプ機能を活性化することによって小胞体内のカルシウム濃度を高濃度に維持する機構を明らかにした（R. Ushioda *et al*., ***PNAS*** 2016）。このように，これまで注目されてこなかった小胞体でのジスルフィド還元反応は小胞体内腔の恒常性維持に関わる重要な反応と言える。しかし，酸化的な環境下である小胞体内腔で ERdj5 へどのように還元力が供給されるのかは未解明のままであり，小胞体レドックス分野において最重要研究課題とされている。今回，ERdj5 との相互作用タンパク質を質量分析で解析し，これらの候補タンパク質から，非常に巧妙な ERdj5 の還元メカニズムを明らかにした。

（9）細胞内温度センサーが可視化したオルガネラ内温度動態

○坂口怜子（京都大学 物質-細胞統合システム拠点）
清中茂樹（京都大学 工学研究科）
森　泰生（京都大学 物質-細胞統合システム拠点／京都大学 工学研究科）

内温性動物は，体温を一定に保つために，外気温の変化に応じて体内の熱産生を制御する機構を持っている。哺乳類の熱産生に関しては，特定の細胞内小器官からの熱産生が提唱されているが，これを直接的に評価する方法が不充分であったことから，熱産生の定量的な議論や実際の体温変化への寄与はほとんど理解されていなかった。

当研究室では，サルモネラ菌由来の温度感知タンパク質である TlpA と GFP を融合した，細胞内および細胞内小器官の温度計測を可能とする温度センサータンパク質(tsGFP)を開発した。tsGFP は 37℃付近の温度変化を鋭敏に感知し，これを蛍光の変化として検出することができた。tsGFP はタンパク質ベースなので，遺伝子を導入するだけで非侵襲的に生細胞内・組織内で発現させることが可能であり，さらに細胞内小器官局在シグナル配列を付与することで，各細胞内小器官における熱産生の可視化にも成功した。

HeLa 細胞の核内においてトポイソメラーゼ II を阻害した場合の温度を，核局在型 tsGFP を使って計測したところ，核内温度が上昇する細胞が見受けられた。この変化は，細胞周期を揃えた状態でさらに顕著に観察された。この結果から，細胞周期の S 期に活発に起きているトポイソメラーゼ II による DNA の切断・再結合が薬剤によって阻害された場合，ATP のエネルギーが熱として放出され，核内温度上昇が起きることが示唆された。

（10）環境中親電子物質エクスポソームと防御応答・適応

熊谷嘉人（筑波大学 医学医療系）

2005 年に国際がん研究機関の所長である Christopher Wild は，がん発症の 10%程度は宿主因子が関係し，それ以外は食生活，生活環境，ライフスタイル等の後天的な環境因子に関連することに立脚して，エクスポソーム（ヒトが生涯における環境曝露の総体）という概念を提案した。その結果，世界中でエクスポソーム研究は環境曝露と病気との関連を知る手段のひとつとして注目されてきた。我々は日常生活において，様々な環境中親電子物質に複合曝露されており，その曝露用量や曝露時間は生活環境，食生活やライフスタイルに依存する。環境中親電子物質はタンパク質の求核置換基に共有結合することから，生じるタンパク質付加体が環境応答や適応に関係するのではないかと考えた。

我々は当該物質の個別曝露実験を行った結果，用量が低い場合にはセンサータンパク質のシステイン残基を特異的に化学修飾してレドックスシグナルは活性化され，用量が高い場合には本シグナルは破綻して細胞毒性を生じることを明らかにした。さらに，レドックス分野で賑わい始めた活性イオウ分子は，イオウ付加体の形成を介して環境中親電子物質の生体影響を制御することも示唆された。本シンポジウムでは，これまで得られた研究成果を紹介し，環境中親電子物質エクスポソーム研究の重要性を言及する。

（11）グラム陰性菌ペリプラズムのシステインおよび活性イオウによるレドックス調節機構

小野勝彦，○澤　智裕（熊本大学 大学院生命科学研究部）

グラム陰性菌のペリプラズムは，細胞膜と細胞外膜の間の空間であり，その中にペプチドグリカンからなる薄い細胞壁を含んでいる。β ラクタム系抗菌剤は，ペプチドグリカンの合成に関わる penicillin binding protein に結合し，その酵素活性の阻害を介して細胞壁を傷害し，その結果，殺菌作用が発現する。いまから７０年以上まえに，β ラクタム剤の一種であるペニシリンがシステインとの反応によって抗菌活性を消失すること（Nature 157: 838, 1946），その機構として，システインのチオール基が求核的に付加反応し，β ラクタム構造の開環を引き起こすことが示唆されていた（Biochem. Pharmacol., 3: 89, 1960）。我々は質量分析ならびに核磁気共鳴法を用いてこのβラクタムとシステインの反応を解析し，これまでに示唆されている機構が起こっていることを確認した。さらにβラクタムとシステインとの反応から生じる付加体について，タンデム質量分析による高感度定量法を確立した。それを用いて，実際の生菌とβラクタムとの反応において，菌体内から同様の付加体の検出に成功した。さらに興味深いことに，システインパースルフィドと β ラクタムの反応から，SH 基が付加した開環誘導体が生成し，それがβラクタム処理した菌体からも検出された。ペリプラズムのシステイン維持に関わるといわれているトランスポーターの欠損株を用いて，β ラクタムに対する感受性を解析したところ，fliY 欠損株で有意にβラクタムに対する感受性が亢進していた。以上の結果から，グラム陰性菌のペリプラズムでは，システインやシステインパースルフィドが，環境中から菌体内へ侵入してくる親電子に対して防御的に働いている可能性が示唆された。グラム陰性菌のペリプラズムと細胞膜は電子伝達系を介したエネルギー代謝に重要な構造である。今回の結果から，ペリプラズム中にシステインパースルフィドが存在する可能性が示唆されたことから，レドックスに依存したエネルギー代謝への関連についても検討を進めたい。

（12）活性パースルフィド：生物種普遍的な代謝経路と生理機能の解明に向けて

○西村　明，井田智章，守田匡伸，松永哲郎（東北大学 大学院医学系研究科）
高木博史（奈良先端科学技術大学院大学）
本橋ほづみ（東北大学 加齢医学研究所）
赤池孝章（東北大学 大学院医学系研究科）

我々はシステインパースルフィド（CysSSH）を含む活性パースルフィド分子が生体内で多量に存在し，抗酸化活性や親電子シグナル制御機能を発揮していることを見出してきた。しかし，活性パースルフィドの代謝や生理機能については未だ不明な点が多い。最近我々は，タンパク質パースルフィド合成機構を解析するなかで，翻訳関連酵素：cysteinyl-tRNA synthetase（CARS）がシステインからピリドキサールリン酸依存的に CysSSH を産生することを発見した。大腸菌，酵母および哺乳類（マウス・ヒト）組換え CARS や CARS 欠損・変異細胞およびマウスを用いた解析から，CARS による CysSSH 産生経路は生物種普遍的に発現されていることがわかった。さらに，活性パースルフィドの生理機能を解明するために，モデル生物である出芽酵母において，CysSSH 生成が低下した CARS 変異株を作製したところ，この変異株は，野生株に比べて寿命が有意に減少していた。また，低下した寿命は活性パースルフィドドナーの添加によりほぼ完全に回復した。このことから，CARS によって産生される活性パースルフィドは寿命制御因子であることが示唆された。今後，パースルフィドによるレドックス・エネルギー代謝機構を解明することで，老化・寿命制御機構や各種疾患病態の理解と老化制御および疾病の予防・治療法の開発に寄与できるものと期待される。

（13）転写因子 NRF2 によるストレス応答と代謝制御

本橋ほづみ（東北大学 加齢医学研究所）

KEAP1-NRF2 制御系は，生体における酸化ストレス応答において中心的な役割を果たしている。転写因子 NRF2 の重要性は，*Nrf2* 欠損マウスを用いた解析や，ヒトにおける NRF2 遺伝子の一塩基多型の報告から明らかにされている。そして，NRF2 の活性化は生体の抗酸化機能を強化することで，加齢関連疾患の予防や改善に有効であるとして，NRF2 誘導剤の開発がすすめられている。一方，ヒトの様々ながんにおいて KEAP1-NRF2 制御系が破綻し，NRF2 が恒常的に活性化していることも明らかになった。恒常的な NRF2 の活性化により，がん細胞は薬剤・放射線抵抗性を獲得する。実際，NRF2 陽性の肺がん患者の予後は不良であり，NRF2 は独立予後因子であることも確認された。さらに，我々は，恒常的に安定化した NRF2 がグルコースとグルタミンの代謝を改変することにより増殖に有利な代謝環境を実現していることを明らかにした。こうした NRF2 の機能は，増殖している細胞では特に増強されることがわかった。すなわち，NRF2 は細胞のストレス応答に加えて，増殖シグナルの存在下では細胞増殖を促進することが明らかになった。さらに最近，NRF2 はミトコンドリア機能を強化する作用も有するが，そのメカニズムの一つとしてミトコンドリアにおけるイオウ代謝の改変が重要である可能性を見いだした。がん細胞において過剰に活性化している NRF2 は，ストレス応答の鍵因子として治療抵抗性を賦与し，代謝の改変を通して細胞増殖・腫瘍形成を強力に促進するものと考えられる。

（14）薬理学的アプローチから一酸化窒素による DNA メチル化制御・遺伝子発現を探る

上原　孝（岡山大学 大学院医歯薬学総合研究科）

DNA メチル基転移酵素 (DNMT) は DNA に含まれるシトシン残基の 5 位炭素にメチル基を転移するエピゲノム制御酵素の一つである。近年，DNA メチル化修飾パターンの異常が神経変性疾患やがんなどの病態形成に関与することが報告されている。

私たちは一酸化窒素 (NO) が DNMT のシステイン残基を *S*-ニトロシル化 (SNO 化) することで酵素活性を負に制御することを明らかにした。また，*in silico* スクリーニングを実施し，DNMT の SNO 化のみを特異的に阻害する化合物の単離に成功した。そこで，本化合物をプローブとし，NO による遺伝子発現機構の詳細に迫ることを計画した。

NO によって発現が上昇する遺伝子を網羅的に探索し，その中，5’上流に CpG アイランドを含むものをピックアップした。当該領域におけるシトシン残基メチル化の有無をバイサルファイトシークエンス法から解析した。その結果，NO 刺激に伴って，CpG アイランド全体に渡るシトシン残基の脱メチル化は観察されず，むしろ特異的な部位が影響されることがわかった。興味深いことに，この脱メチル化は本化合物処理によって有意に抑制され，遺伝子発現も著しく減弱した。

上記の結果から，DNMT はレドックスによって活性が調節されており，またゲノム DNA 上の特異的シトシンを修飾することで遺伝子転写を間接的に制御している可能性が推定された。

（15）ミトコンドリア局在プロテインホスファターゼ PGAM5 による核タンパク質のリン酸化制御機構

山口文音，石川　颯，横関雅史，堀川幸一郎，柴田健太郎，○武田弘資
（長崎大学 大学院医歯薬学総合研究科）

ミトコンドリア局在プロテインホスファターゼ PGAM5 は，その N 末端側に存在する膜貫通ドメインを介してミトコンドリアの内膜に局在しているが，さまざまな細胞傷害性ストレスによって引き起こされるミトコンドリアの膜電位低下，すなわち機能低下にともなって膜貫通ドメイン内で切断されることが明らかになっている。今回我々は，ミトコンドリアの機能低下によって引き起こされるミトコンドリア選択的な分解機構であるマイトファジーにおける PGAM5 の挙動と役割を解析した。その結果，マイトファジー初期に起こるミトコンドリアの外膜破壊にともなって切断型 PGAM5 がミトコンドリア外に放出されることが分かった。また，PGAM5 の結合分子として同定した核タンパク質 SRm160/SRRM1 が，定常状態においては高度にリン酸化されているが，マイトファジーの進行とともに脱リン酸化されること，さらに PGAM5 の発現抑制によってその脱リン酸化が低下することが分かった。よって，ミトコンドリアの機能低下にともなって切断された PGAM5 の一部が核に移動し，核タンパク質のリン酸化を制御することで，ミトコンドリアの機能低下に応じた細胞応答を制御することが示唆された。

（16）tRNA 硫黄修飾によるミトコンドリア機能制御機構

○魏　范研，富澤一仁（熊本大学 大学院生命科学研究部）

すべての生体分子は何らかの化学修飾をうけている。タンパク質の翻訳後修飾や DNA のエピジェネティクス修飾に関する研究が円熟期を迎えている現在，RNA に存在する化学修飾は世界的に注目され，RNA 修飾を主体とする Epitranscriptomics なる研究領域が黎明を迎えている。RNA 修飾はすべての生物の RNA に存在し，その種類が 100 以上にも上るが，大多数の修飾の分子機能が不明である。

RNA 修飾のうち，tRNA の 34 位に存在する硫黄修飾（s^2）は，原始的な高度好熱菌にも存在するほどその起源が古い。s^2 修飾は進化的に保存されており，哺乳動物ではミトコンドリア tRNA に見出されている。我々は，ミトコンドリア tRNA に存在する s^2 修飾の分子機能を明らかにした。ミトコンドリア DNA は２２種類の mt-tRNA をコードし，１３種類の電子伝達系タンパク質を産生する。s^2 修飾は，２２種類の mt-tRNA のうちわずか３種類の mt-tRNA に存在するが，ミトコンドリアならびに個体機能への影響が甚大であった。s^2 修飾はミトコンドリアに局在する Mtu1 という酵素によって行われる。Mtu1 欠損マウスを作成し検討したところ，全身性 Mtu1 欠損マウスは胎生８日以前に死亡していた。一方，心筋特異的 Mtu1 欠損マウスは生まれるが，著しい心機能の低下により６週齢までにすべて死亡した。ミトコンドリアでのタンパク質翻訳を解析したところ，Mtu1 欠損細胞におけるミトコンドリアタンパク質翻訳が正常細胞と比べて 20% 以下までに低下し，ミトコンドリアの機能が劇的に低下した。これらの結果から，硫黄は tRNA 修飾の一部としてタンパク質翻訳を制御することで，ミトコンドリア機能に不可欠であることがわかった。

（17）酵素活性の網羅的解析（enzymomics）による疾患関連タンパク質の探索

○小松　徹，市橋裕樹，小名木　淳，長野哲雄（東京大学 大学院薬学系研究科）
浦野泰照（東京大学 大学院薬学系研究科／東京大学 大学院医学系研究科／AMED-CREST）

生体内には常に数千種類を超える酵素が発現しており，特定の酵素のはたらきの異常が病気の進行と関連する例が数多く報告されています。特定の疾患と関わる酵素の機能を理解することは，病気の診断，薬の開発に直結する非常に重要なものですが，その機能は生体内の種々の要因によって動的に制御されており，いまだに，「疾患との関わりが見出されていない」，「疾患との関わりが示唆されているがそのメカニズムが明らかにされていない」，「疾患との関わり，メカニズムが理解されているが，その機能を制御する手法が確立されていない」といった酵素は数多く存在します。演者らは，酵素の動的機能の理解を可能とするケミカルバイオロジーの研究ツールを開発し，疾患と関連する酵素を「探す」「視る」「操る」ことを目的とした研究を進めて参りました。本講演では，疾患と関連する酵素活性の変化を網羅的に探索する手法（enzymomics）の開発に関わる演者らの取り組みについてご紹介させていただきたいと思います。

（18）ERp18 の亜鉛依存的な活性制御機構の解明

○堤　智香，上垣日育（京都産業大学 大学院生命科学研究科）
潮田　亮，永田和宏（京都産業大学 大学院生命科学研究科／京都産業大学 タンパク質動態研究所）

小胞体は分泌タンパク質，膜タンパク質のフォールディングの場とされ，リボソームから合成された新生鎖が小胞体に挿入されると，分子シャペロンや酸化還元酵素によって介助され，成熟タンパク質へとフォールディングされる。タンパク質の成熟におけるジスルフィド結合形成は，PDI ファミリーに属する酸化酵素群によって触媒される。新生鎖から受け取った電子は PDI から Ero1 を経て，最終的に分子状酸素に受け渡され，過酸化水素（H_2O_2）を産生する。この H_2O_2 の過剰産生は，DNA，タンパク質や脂質を酸化し，酸化ストレスを惹起させる。酸化ストレスは神経変性疾患のような重篤な疾患の発症につながることが知られ，細胞内での詳細な除去メカニズムの解明が期待されている。

小胞体内腔に局在するチオレドキシン様タンパク質 ERp18 はジスルフィド還元活性を有しており，活性中心に亜鉛イオンが結合すること，また亜鉛結合に伴う構造変化を新たに見出した。興味深いことに，この亜鉛結合依存的な構造変化によって，ERp18 は還元活性を失い，H_2O_2 除去活性を獲得することが明らかになった。亜鉛イオン依存的な構造変化によって異なる 2 つの酵素活性が切り替わることは，分子メカニズムとしても興味深く，未だ詳細が不明な小胞体内腔の亜鉛イオンの役割と，レドックス制御を介した小胞体恒常性維持機構の解明に繋がると考えている。

（19）小胞体還元酵素 ERdj5 の欠損はミトコンドリアの断裂を引き起こす

○山下龍志（京都産業大学 総合生命科学部）
潮田　亮，永田和宏（京都産業大学 総合生命科学部／京都産業大学・タンパク質動態研究所）

当研究室では，小胞体内腔に局在する還元酵素 ERdj5 を同定し（Ushioda *et al*. ***Science*** 2008），ERdj5 がジスルフィド還元活性依存的に小胞体膜に局在するカルシウムポンプ SERCA2b のポンプ活性を促進することで，小

胞体およびサイトゾルのカルシウム恒常性維持に寄与することを明らかにした（Ushioda *et al*. ***PNAS*** 2016）。

以前の報告より，線虫の筋細胞において，ERdj5 欠損によるミトコンドリアの断裂が観察された（Munoz-Lobato F *et al*. ***ARS*** 2014）。しかし，小胞体に局在する ERdj5 の欠損が異なるオルガネラであるミトコンドリアの形態になぜ影響を与えるのかは未だ不明である。我々は，ERdj5 を欠損したマウス胎児線維芽細胞におけるミトコンドリア形態を観察し，ERdj5 の欠損が哺乳類細胞においても同様にミトコンドリアの断裂を引き起こすことを明らかにした。

サイトゾルに存在する GTPase である Drp1 はカルシウム依存的脱リン酸化酵素カルシニューリンにより活性化し，ミトコンドリア上で重合することで，ミトコンドリア断裂を引き起こす。我々は，ERdj5 欠損によるサイトゾルのカルシウム恒常性破綻と Drp1 の活性化に着目し，ERdj5 欠損によるミトコンドリア断裂メカニズムを明らかにした。

（20）細胞内シグナル伝達におけるリン酸化の認識機構の抗体をモデルとした解析

○河出来時，黒田大祐，中木戸　誠（東京大学 工学系研究科）
津本浩平（東京大学 工学系研究科／東京大学 医科学研究所）

細胞内の膨大なシグナル伝達は主にタンパク質間相互作用により行われており，そのタンパク質達の活性化/不活性化のスイッチの大部分は ATP を通貨としたリン酸化により制御されている。近年，多くのリン酸化が関わるシグナル伝達経路が発見されている一方で，タンパク質のリン酸化が生体内ではどのように認識され，どのように下流のタンパク質と結合するのかについては未知の領域が多い。我々は，Akt の Ser473 のリン酸化ペプチドを高いリン酸基選択能で認識する抗体をモデルとし，その認識機構を熱力学的解析と結晶構造解析，分子動力学計算により解析した。熱力学的解析の結果，リン酸基の有無によって 3000 倍もの親和性の違いが生じた。結合における自由エネルギー変化量の差は 8.5 kcal/mol にまで及び，１つのリン酸基の着脱で極めて大きな（ATP1 分子の消費以上の）結合エネルギー差を終状態の違いにより創出しうることが示された。また，そのエンタルピー変化量は 30 kcal/mol であり，エンタルピー駆動型の結合であることが示された。更に，結晶構造解析とその構造を元にした分子動力学計算（MD シミュレーション）により，リン酸基の認識は極めて動的であり，塩基性側鎖の水素結合と塩橋が大きな役割を果たすと同時に，多くのセリン残基と溶液中の水分子が交互に水素結合を形成する複雑な機構であることが示された。

（21）活性イオウ分子によるカドミウムのイオウ付加体の生成を介した毒性防御

○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）

カドミウム（Cd）は親電子性を有し，低濃度ではセンサー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経路の活性化を引き起こし，高濃度では非特異的なタンパク質の化学修飾により毒性を発揮する。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，ポリスルフィドのモデルとして Na_2S_4 を用いて，Cd の肝毒性に対する活性イオウ分子の役割を明らかにすることを目的とした。マウス初代肝細胞において，Cd の曝露によって引き起こされた HSP70 および MT の誘導および細胞毒性は，Na_2S_4 の処理によって抑制された。ESI-MS にて解析したところ，Cd と Na_2S_4 の反応生成物として，硫化カドミウム（CdS）およびチオ硫酸カドミウム（CdS_2O_3）がそれぞれ検出された。そこで CdS および CdS_2O_3 の細胞毒性を $CdCl_2$ と比較したところ，CdS は殆ど毒性を示さず HSP70 や MT も誘導しなかったが，

CdS_2O_3 の細胞毒性は Cd と殆ど変わらなかった。インビボにおいて，Cd 投与による肝毒性は Na_2S_4 の処理によって抑制され，CdS の曝露では肝毒性は殆ど認められなかった。以上より，ポリスルフィドは Cd によるストレス応答タンパク質の誘導や肝毒性の惹起を負に制御する働きがあることを明らかにした。Cd のイオウ付加体に関しては，CdS および CdS_2O_3 の生成がみられたが，前者は安定な付加体であるのに対して後者は不安定な付加体であるために，少なくとも CdS が Cd の解毒に寄与することが示唆された。

【文献】Akiyama M et al. *Chem Res Toxicol* 2017.

（22）caspase-1 活性を指標とした単一細胞パイロトーシス可視化プローブの開発

○川口充康，山田　輝，家田直弥，中川秀彦（名古屋市立大学 大学院薬学研究科）

アポトーシスを始めとする「制御された細胞死」の中でも近年，炎症性細胞死パイロトーシスに注目が集まっている。本研究ではパイロトーシス発生時にのみ活性化することが知られている caspase-1 活性を利用してパイロトーシスの単一細胞可視化蛍光プローブの開発を目指した。パイロトーシスの実行をモニター可能となれば，パイロトーシスを阻害する小分子のスクリーニングが容易に実行可能となり，フォワードケミカルジェネティクスのアプローチによりパイロトーシス実行に関わる未知の分子の探索・同定を行えると期待した。

caspase-1 は YVAD 配列を特異的に認識し，アスパラギン酸の C 末端側を切断することが知られている。そこで，蛍光団と消光団を YVAD 配列で結合させた FRET 型蛍光プローブを設計・合成した。蛍光団として水溶性の高い TAMRA を用いることで，パイロトーシスが実行され膜構造が壊れて初めて蛍光プローブが細胞内に取り込まれることを期待した。これによりパイロトーシスへの特異性を付与できると考えた。

合成した蛍光プローブは *in vitro* で caspase-1 による蛍光上昇が見られ，また細胞系でもパイロトーシス誘導条件にて蛍光上昇が見られた。一方，その蛍光上昇は caspase-1 阻害剤添加によって抑制されたことから，単一細胞内でパイロトーシスを検出可能であることが示唆された。

（23）心リモデリングにおける活性酸素の産生と TRPC3/6 チャネルの役割

○小田紗矢香，冨田拓郎，西村明幸（生命創成探究センター（生理学研究所）／総合研究大学院大学）
西田基宏（生命創成探究センター（生理学研究所）／総合研究大学院大学／九州大学 大学院薬学研究院）

心臓は，一過的なストレスに対しては可逆的な形態変化により適応できるが，慢性的なストレスによる構造変化は不可逆的であり，最終的に機能不全に陥る。この不可逆的な心リモデリングには，異常な Ca^{2+} シグナルと活性酸素種（ROS）の産生が関与することが知られていたが，その分子機構は明らかにされていなかった。我々は最近，機械的ストレスにより惹起される心リモデリングに, transient receptor potential canonical (TRPC) 3 と NADPH oxidase (Nox) 2 の機能連関が関与することを明らかにした。しかし，TRPC3 と類似した構造および活性化機構をもつ, TRPC6 の TRPC3-Nox2 機能連関における役割は不明であった。本研究で我々は，高血糖ストレスに曝されたマウス心臓および初代ラット心筋細胞で，TRPC6 と Nox2 の発現量の間に逆相関の関係を見出した。1 型糖尿病を発症した TRPC6 欠損マウスでは，野生型と比較し心機能の顕著な低下および尿・心臓における酸化ストレスの増加が観察された。HEK293 細胞に TRPC3/6 両者を Nox2 と共発現させると，TRPC3/6-Nox2 三者複合体が形成され，TRPC3 による Nox2 の発現上昇が抑制された。以上から，TRPC6 は TRPC3-Nox2 機能連関を負に制御し，過剰な酸化ストレスの上昇を防ぐ役割を有することが示唆された。

（24）システイニル tRNA 合成酵素によるパースルフィド合成制御機構の解明

○井田智章，西村　明，守田匡伸，松永哲郎（東北大学 大学院医学系研究科）
澤　智裕（熊本大学 大学院生命科学研究部），居原　秀（大阪府立大学 大学院理学系研究科）
藤井重元（東北大学 大学院医学系研究科），本橋ほづみ（東北大学 加齢医学研究所）
赤池孝章（東北大学 大学院医学系研究科）

【目的】最近，強力な抗酸化活性を発揮するシステインパースルフィド（CysSSH）やその代謝関連化合物がミトコンドリアにおけるエネルギー産生に深く関与していることがわかってきた。我々はタンパク質ポリスルフィド化機構を解析するなかで，cysteinyl-tRNA synthetase（CARS）がシステインを基質に pyridoxal phosphate（PLP）依存的に CysSSH を合成することを示した。しかし，その合成制御機構については未だ不明な点が多い。そこで，CARS による CysSSH 合成制御機構について LC-MS/MS により解析した。

【方法・結果・考察】CARS の PLP 結合サイトである KIIK モチーフ周辺のアミノ酸配列は，種横断的によく保存されている。そこで，大腸菌 CARS（EcCARS）の KIIK 周辺アミノ酸を変異した EcCARS の CysSSH 合成活性を解析した結果，EcCARS(D71I)変異体の CysSSH 合成活性が顕著に増加し，KIIK 周辺アミノ酸により制御されることが示された。また，CysSSH 産生に伴うプロダクト解析より，アラニンとセリンの生成が確認された。さらに，EcCARS 基質特異性を解析した結果，システインだけでなく，ホモシステインやグルタチオン，３-メルカプトピルビン酸を基質に各種パースルフィド合成活性を有することが示された。一方，これまで PLP 依存的酵素反応に必須とされてきた基質のアミノ基が修飾された N-アセチルシステインを基質にそのパースルフィドを合成することが分かった。CARS によるパースルフィド合成は，既存の PLP 依存的酵素反応機構では説明できない新たな酵素反応機構であることが示唆された。

（25）ミトコンドリア/イオウ呼吸選択的 sulfide-quinone reductase（SQR:硫化水素キノン還元酵素）欠損マウスの開発

○守田匡伸，松永哲郎，井田智章，西村　明，藤井重元（東北大学 大学院医学系研究科）
本橋ほづみ（東北大学 加齢医学研究所）
赤池孝章（東北大学 大学院医学系研究科）

硫化水素の代謝には sulfide-quinone reductase (SQR)の関与が想定されているが，その代謝メカニズムや生理的機能は不明である。本研究では CRISPR/Cas9 システムにより SQR ゲノム編集マウスを作製し，SQR の硫化水素解毒とイオウ呼吸機能の解明を試みた。SQR タンパク質はミトコンドリアに局在していることから，CRISPR/Cas9 システムを用いて微細な塩基配列改変を行い，SQR のミトコンドリア局在が阻害された SQR 機能不全マウスを作製した。このマウスは生後 3 週間以降より成長遅延を示し，生後 2 ヶ月以内に死亡した。SQR 機能不全マウスにおいて SQR タンパク質の発現及び細胞内局在を調べたところ，本来と異なる位置から翻訳が開始する定型外翻訳により，SQR のミトコンドリア移行シグナルが欠損し，SQR のミトコンドリア局在が損なわれていることが示された。さらに不死化 MEF を用いたミトコンドリア膜電位解析により，SQR 機能不全 MEF ではイオウ代謝に依存した膜電位形成，すなわち電子伝達系機能が顕著に損なわれていることが分かった。以上より，SQR の細胞内局在を変化させることで，細胞質において SQR の硫化水素解毒代謝機能は維持したままでミトコンドリアの電子伝達系への電子・プロトン供給機能は阻害され，イオウ呼吸が選択的に抑制されたエネルギー代謝異常マウスの開発に成功した。

（26）病原細菌の産生する活性パースルフィドによるオートファジー不全と生体防御異常

○松永哲郎，藤井重元，西村　明，井田智章（東北大学 大学院医学系研究科）
小野勝彦，津々木博康，澤　智裕（熊本大学 大学院生命科学研究部）
赤池孝章（東北大学 大学院医学系研究科）

システインパースルフィドに代表される活性パースルフィドの細菌の代謝経路と病原性における役割は不明な点が多い。我々はこれまで，細菌感染や炎症病態で生成する 8-ニトロ-cGMP が，翻訳後修飾 *S*-グアニル化を介して様々なレドックスシグナル伝達に関与することを明らかにした。本研究では，細菌の産生する活性パースルフィド産生の宿主細胞のオートファジー誘導と生体防御反応（細胞内殺菌）に与える影響を検討した。サルモネラ（*Salmonella typhimurium*）のイオウ代謝酵素欠損株を構築し，野生株およびイオウ代謝酵素欠損株における各種イオウ代謝物の産生動態を質量分析装置により解析した。その結果，野生株に比較してイオウ代謝酵素欠損株において活性パースルフィド産生量の有意な減少を認めた。さらに，マウスマクロファージにサルモネラの野生株および各種パースルフィド産生低下変異株を感染させ，オートファジー誘導と細胞内増殖を解析したところ，細菌由来の活性パースルフィドが 8-ニトロ-cGMP による S-グアニル化を介するオートファジーを抑制し，マクロファージ内の細菌増殖を促進することが分かった。以上より，病原細菌サルモネラが産生する活性パースルフィドは，オートファジー誘導の不全をもたらし，細菌の宿主細胞内生存と生体防御異常をもたらすことで病原性を発揮していることが示唆された。

（27）KEAP1-NRF2 制御系の活性化はアルツハイマー病様病態を改善する

○松丸大輔，領家梨恵（東北大学 加齢医学研究所）
齋藤律水，三枝大輔（東北大学 東北メディカル・メガバンク機構）
川島隆太（東北大学 加齢医学研究所）
山本雅之，宇留野　晃（東北大学 東北メディカル・メガバンク機構／東北大学 大学院医学系研究科）
本橋ほづみ（東北大学 加齢医学研究所）

世界中で約 2400 万人の認知症患者がいると推定されているが，その大部分はアルツハイマー病（Alzheimer's disease: AD）を患っていると考えられている。病態の発現にはアミロイドβ(Aβ)ペプチドの蓄積を引き金とし，タウの蓄積，神経変性・神経細胞死に至る病理カスケード（アミロイドカスケード仮説）が提唱されており，低レベルかつ慢性の酸化・炎症・代謝ストレスを伴うことが報告されている。本研究では，酸化ストレス応答において重要な役割を担っている KEAP1-NRF2 制御系が AD 病態に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。AD 病態モデルとしてヒト化変異 APP ノックインマウスを採用し，全身で NRF2 が活性化している *Keap1* ノックダウンマウスとの複合遺伝子改変マウスを作製することにより AD 様病態とストレス応答との関わりを遺伝学的に解析した。まず，11 ヶ月齢の WT，$App^{NL\text{-}G\text{-}F/NL\text{-}G\text{-}F}$（$App^{NLGF}$），$App^{NLGF}$; *Keap1* knock-down（$App^{NLGF}$; $Keap1^{KD}$）マウスの脳を組織学的に解析した。App^{NLGF} マウスでは Aβ の沈着と，沈着部位に凝集する貪食細胞が観察された。全身性に NRF2 が活性化状態である App^{NLGF}; $Keap1^{KD}$ マウスでは，貪食細胞の凝集を伴わない Aβ 沈着が一部で観察された。次に，酸化ストレスマーカーである 8-OHdG の免疫組織化学解析を行った。App^{NLGF} マウスで WT マウスより 8-OHdG 陽性細胞が多かったが，App^{NLGF}; $Keap1^{KD}$ マウスは App^{NLGF} マウスに比較して WT マウスに近い傾向を示した。さらに，これらのマウスの脳組織を用いて遺伝子発現解析を行なった。炎症性サイトカインである *Il-1b*，*Il-6* 遺伝子の発現は App^{NLGF} マウスに比較して App^{NLGF}; $Keap1^{KD}$ マウスで低下していた。以上の

結果は，*App*^{NLGF}; *Keap1*^{KD} マウスでは，組織学的にも遺伝子発現の観点からも *App*^{NLGF} マウスの AD 様病態が改善したことを示している。したがって，KEAP1-NRF2 制御系の活性化は，AD の予防・治療において有効な戦略の一つになるものと期待される。

（28）β-Galactosidase および可視光による二段階制御型 NO ドナーの合成と機能評価

○岡　由実奈（名古屋市立大学 薬学部）
家田直弥，山内彩樺，川口充康，中川秀彦（名古屋市立大学 大学院薬学研究科）

NO（一酸化窒素; nitric oxide）は生体内で NO 合成酵素によって生合成されるガス状メディエータであり，血管弛緩をはじめとする様々な生理機能に関与している。NO は，その濃度によって示す生理活性が異なることが示唆されており，高濃度では DNA 損傷などを誘発し，細胞毒性，アポトーシスを起こすことが知られている。NO の生理作用を調べる際には NO を放出する化合物 (NO ドナー) が用いられており，その中でも光制御 NO ドナーは NO の放出を時空間制御することが可能である。

当研究室では可視光に応答して NO を放出する独自の光制御 NO ドナーを開発し，NO の作用を可視光で時空間制御できることを示した。細胞種やオルガネラ，組織特異的な NO 作用の研究および治療を目指す場合，より精密な制御を行えることが望ましい。そこで本研究では，光制御 NO ドナーに別の制御因子として酵素反応制御を加えた二段階制御型 NO ドナーの合成，機能評価を行った。

当研究室で独自に開発された光制御 NO ドナーである NO-Rosa5 および NORD-1 に，β-galactose をエーテル結合させた化合物 NO-Rosa-Gal および NORD-Gal を合成した。合成した化合物は β-galactosidase の酵素反応によって活性化体になることを HPLC で確認した。この結果から，NO-Rosa-Gal と NORD-Gal は生体内でより精密な制御が可能な二段階制御型 NO ドナーになりうることが示唆された。

（29）ミトコンドリア関連蛋白質 Prohibitin-2 の物性解析

○千吉良　岳（東京大学 大学院工学系研究科）
長門石　曉（東京大学 大学院工学系研究科／東京大学 医科学研究所）
片桐豊雅（徳島大学 先端酵素学研究所）
津本浩平（東京大学 大学院工学系研究科／東京大学 医科学研究所）

Prohibitin-2 (PHB2) はミトコンドリアをはじめとして核や細胞質など様々な局在を示し，シグナリングや老化，癌化など多様な細胞プロセスに関わる蛋白質として知られている。こうした性質から治療標的として有望視されているにも関わらず，蛋白質としての物性解析などといった基礎的な研究はほとんど進んでいない。本研究では，多角度光散乱(MALS)や円偏光二色性(CD)や示差走査熱量計(DSC)といった光学および熱的な手法を用いて，様々な溶液条件下における PHB2 の安定性や会合状態などのキャラクタライズを行い，その多機能性の起源の解明を試みた。CD スペクトル測定の結果，界面活性剤やグリセロールの存在は PHB2 の二次構造を変化させないが，界面活性剤は二次構造の熱安定性(T_m)を低下させ，逆にグリセロールは二次構造を大きく安定化することが明らかとなった。一方，三次構造の熱安定性の影響が大きく現れる DSC 測定では，界面活性剤，グリセロールともに T_m が上昇した。さらに，PHB2 は溶液中で単量体から四量体まで様々な会合状態をとることが MALS 測定から明らかとなった。これらの結果から，PHB2 は溶液環境により自身のフォールディングや会合状態を変化させることで，様々な機能を発揮している可能性が示唆された。

（30）リボゾーム結合因子 GCN1L1 による DRG2 を介した細胞増殖制御機構

○山嵜博未，葛西秋宅，三村純正，伊東　健（弘前大学 大学院医学研究科）

タンパク質合成は 1 ペプチド結合形成に 5 ATP を要し, mTORC 経路や eIF2α のリン酸化により制御される。eIF2α のリン酸化酵素は高等動物で 4 種存在し，各々が特異的ストレス下での翻訳抑制に関与する。GCN2 はアミノ酸飢餓誘導性の eIF2α リン酸化酵素である。GCN1 はこの反応に必須である一方で RWDBD（RWD 結合ドメイン）を持ち，GCN2，IMPACT，DFRP2 などの種々の RWD タンパク質に結合する。近年，線虫 GCN1 は GCN2 非依存性の新たなアポトーシス制御因子として報告された。そこで，哺乳動物 GCN1 ホモログ GCN1L1 の RWDBD 欠失マウス（GCN1L1 $^{\Delta RWDBD}$ マウス）を作成し解析すると，成長遅延を呈して出生直後に死亡した。DFRP2 と複合体を形成する G タンパク質である DRG2 の発現低下細胞は p21 の発現誘導を伴う G2/M arrest を起こすことが報告されている。GCN1L1 $^{\Delta RWDBD}$ マウス由来の胎児期繊維芽細胞で解析すると，DRG2 タンパク質量低下を伴う G2/M arrest を起こしていた。以上のことから，GCN1L1 は DRG2 の調節を介して細胞増殖制御に関与するものと考えられた。DRG2 はエンドサイトーシスを介したトランスフェリンの取り込みにも関与しており，GCN1L1 は微量栄養素摂取やタンパク質合成を統合的に制御する因子である可能性が考えられた。

（31）酸化イミダゾールジペプチドの検出

○垣花優希，山陰　茜（大阪府立大学 大学院理学系研究科）
柴田貴広（名古屋大学 大学院生命農学研究科）
内田浩二（東京大学 大学院農学生命科学研究科）
居原　秀（大阪府立大学 大学院理学系研究科）

イミダゾールジペプチド（IDPs）はヒスチジンを含むジペプチドである。IDPs は抗酸化能を有することが知られているが，分子メカニズムは明らかとなっていない。本研究では，その分子メカニズムの解明を目的とした。マウス筋肉でのアダクトーム解析により，イミダゾール基に酸素が付加した酸化 IDPs が生体内に存在することを明らかにした。次に，マウス臓器中の酸化 IDPs を LC-MS/MS を用いた安定同位体希釈法により定量解析した。その結果, 酸化 IDPs はマウスの様々な臓器で数 pmol/mg protein 程度で存在していることが明らかとなった。

続いて，IDPs の抗酸化能と酸化 IDPs の関係を調べるため，敗血症関連脳症モデルマウスの脳での 酸化 IDPs の動態解析を行なった。酸化 IDPs は LPS 投与後 8 時間で増加していた。この結果から酸化 IDPs は酸化ストレスに依存して増加することが明らかとなった。

さらに，酸化 IDPs 産生のより詳細なメカニズムを解析するため，カルノシン合成酵素（CARNS）を過剰発現させた SH-SY5Y 細胞を作製した。この細胞に過酸化水素（H_2O_2）を処理し，細胞毒性及び酸化 IDPs を評価した。CARNS 発現 SH-SY5Y 細胞は control 細胞と比較し H_2O_2 による毒性が減少していた。また，酸化 IDPs は増加していた。これらの結果より，IDPs の抗酸化能には酸化 IDPs が関与していることが示唆された。

以上の結果より，生体内で IDPs の酸化が起こっており，酸化 IDPs は酸化ストレスに依存して産生することが明らかとなった。

（32）レドックス制御型カルモデュリン依存性酵素の意義

荒木笙馬，高田　剛，土屋幸弘，○渡邊泰男（昭和薬科大学 医療薬学系）

細胞内 Ca^{2+}の上昇はカルシウム結合タンパク質によって仲介される。なかでも，カルモデュリン（CaM）は多機能なカルシウム情報伝達を担う分子であり，Ca^{2+}/CaM 複合体により活性化される CaM 依存性酵素には，タンパク質リン酸化酵素の CaM キナーゼ（CaMK）群や含硫アミノ酸代謝酵素のシスタチオニン-γ-リアーゼ（CSE）が含まれる。我々は，直接的・間接的に活性イオウシグナルが細胞における CaM 依存性酵素調節に寄与することを明らかにした。システインヒドロパースルフィド（CysSSH）や活性イオウ供与体 Na_2S_4 は, CaMKI, CaMKII，CaMKIV ならびに CSE 活性を分子，細胞レベルで阻害した。これらの活性阻害は，部位特異的なシステインチオール基（Cys-SH）の可逆的レドックス制御をうけていた。さらに，それぞれのレドックス制御には，1）CaMKI は不可逆的な親電子物質攻撃に可逆性を与えること，2) CaMKIV は小胞体ストレスに応答すること，3) CSE は自己活性制御としての意義があった。このように，CaM 依存性酵素は，Ca^{2+}/CaM 複合体結合と部位特異的リン酸化修飾に加えて，活性イオウ分子による特定の Cys-SH の可逆的なレドックス制御をうけているものと考えられる。

（33）In vivo がん治療効果イメージングを志向した可逆的 glutathione 蛍光プローブの開発

○西堀純平（東京大学 大学院薬学系研究科）
神谷真子（東京大学 大学院医学系研究科／JST さきがけ）
梅澤啓太郎（東京大学 大学院薬学系研究科）
浦野　泰照（東京大学 大学院薬学系研究科／東京大学 大学院医学系研究科／AMED-CREST）

【目的】Glutathione(GSH)は細胞内に 0.5-10 mM 程度の濃度で存在し，がんにおいては化学療法・放射線療法への抵抗性の一因であると考えられている。当研究室では近年，生細胞内の GSH 濃度の定量が可能であり，高い時間分解能でこの濃度変化を可逆的にイメージングできる FRET 型小分子蛍光プローブを報告した(*Nat. Chem.* **9**, 279-286 (2017))。本研究では，このプローブを *in vivo* において有効に機能するようにその分子構造を改変･最適化し，種々の化学療法によるがん細胞内 GSH 濃度変化を *in vivo* でリアルタイムイメージングすることを目指した。

【方法・結果】既報の FRET 型プローブは acceptor 側が生細胞内 GSH 濃度に最適化された解離平衡を形成するため，本研究では平衡定数への影響を避け donor 側の骨格を改善するアプローチを行った。その結果，ローダミン 123，フルオレセインに代表される緑色蛍光色素を donor に用いることで，蛍光波長の分離および dynamic range の点でより *in vivo* イメージングに適したプローブとして機能することが示された。さらに酵素反応を利用した設計と組み合わせることで，卵巣がん腹膜播種モデルマウスにおいて，既報のプローブを投与するよりもより正確なイメージング結果が得られることが示唆された。現在本プローブの可逆性が *in vivo* においても保証されるか検討を行っている。

（34）有機小分子蛍光プローブを用いた SAM 検出系の開発とスクリーニング系への応用

○荻原洲介，小松　徹（東京大学 大学院薬学系研究科）
浦野泰照（東京大学 大学院薬学系研究科／東京大学 大学院医学系研究科／AMED-CREST）

（目的）SAM（S-adenosylmethionine）は，メチル基転移反応の主要なメチル基ドナーであり，細胞内の SAM 濃度がメチル基転移反応速度を決定し，細胞内の DNA，タンパク質のメチル化状態を直接的に制御していると考えられている。細胞内の SAM 濃度の変化は癌などの 疾患の成り立ちにも関与していることが示唆されており，その分子機構を詳細に調べることは，その治療法の開発に重要な意義を持つと考えられる。そこで本研究では，生細胞の SAM 濃度の変化を高感度かつハイスループットに検出する実験系を開発することで，生細胞レベルで SAM 濃度を制御する化合物の探索を実現するスクリーニング系を開発することを目指した。

（方法・結果）当研究室では，SAM を補酵素に持つ酵素 PIMT（Protein L-isoaspartyl methyltransferase）の活性を，Caspase-3 の Coupled Assay により蛍光検出する FRET 型蛍光プローブ ISOp-2 の開発に成功している（Kimura et al., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**）。演者は，本蛍光プローブの蛍光上昇が, SAM を量論的に消費して起こることに着目し，これを SAM の検出系に利用できると考えた。しかしながら，ISOp-2 は SAM 非依存下での加水分解が起こり，低濃度の SAM の検出に十分な S/N を得ることが難しかったため, SAM 非依存下での加水分解を大幅に抑えて S/N を向上させるプローブの構造最適化をおこない，目的に適う蛍光プローブの開発に成功した。本検出系を用いることで，培養した細胞を可溶化後，酵素およびプローブの添加のみによって細胞内に存在している SAM の迅速な蛍光検出が可能となることが期待される。

10. 心臓・血管系の頑健性と精緻な制御を支える分子基盤の統合的解明

2018 年 11 月 1 日－11 月 2 日

代表・世話人：赤羽悟美（東邦大学医学部生理学講座統合生理学分野）

所内対応者：西田基宏（生理学研究所生体情報研究系心循環シグナル研究部門）

（１）Insights into Mechanisms for Initiation of Human Atrial Rhythm Disturbances: Action Potential Duration Alternans

Haibo Ni[1,2]，Henggui Zhang[1]，Eleonora Grandi[2]，Sanjiv M. Narayan[3]，and ○Wayne R. Giles[4]

([1]Biological Physics Group, School of Physics & Astronomy, The University of Manchester,

[2]Dept. of Pharmacology, University of California, Davis,

[3]Cardiovascular Institute, Stanford University，[4]Faculty of Medicine, University of Calgary, Canada)

（２）電位依存性ホスファターゼ VSP：14 年を経て見えたこと，見えないこと

○岡村康司 [1]，河合喬文 [1]，川鍋　陽 [1]，筒井秀和 [2]，坂田宗平 [4]，佐々木雄彦 [3]

([1] 大阪大学医学系研究科統合生理学，[2] 北陸先端科学技術大学院大学，

[3] 東京医科歯科大学病態生理化学分野，[4] 大阪医科大学生理学)

（３）マウス心筋前駆細胞における細胞質分裂を伴わない不規則な核分裂の検討

○尾松万里子，福永　諒，松浦　博（滋賀医科大学生理学講座細胞機能生理学部門）

（４）肺動脈高血圧・右心不全の病態形成における TRPM7 チャネルの役割

○倉原　琳 [1]，Lixia Yue[2]，Jianlin Feng[2]，平石敬三 [1]，井上隆司 [1]

([1] 福岡大学医学部生理学，[2] コネチカット大学医学部細胞生物学)

（５）プロスタグランディン E-EP4 シグナルによる大動脈瘤進行の分子機序

○横山詩子，廣見太郎，石川義弘（横浜市立大学医学部循環制御医学）

（６）内因性ミオシンホスファターゼ阻害タンパク質 CPI-17 による血管収縮制御

Qunhui Yang[1]，Wataru Fujii[2]，Shigeru Kakuta[3]，Noriyuki Kaji[1]，Hiroshi Ozaki[4]，○Masatoshi Hori[1]

([1] 東京大学・院・農学生命科学研究科・獣医薬理学，[2] 動物遺伝学，[3] 実験動物，

[4] 岡山理科大・獣医・獣医薬理学)

（７）創傷治癒における血管新生の蛍光ライブイメージング

弓削進弥，野一色千景，○福原茂朋（日本医科大・先端医学研究所・病態解析学部門）

（８）Na/Ca 交換体の Ca 依存性膜局在制御機構の生理学的役割

○田頭秀章 [1]，喜多紗斗美 [1,2]，岩本隆宏 [1]（[1] 福岡大・医・薬理学，[2] 徳島文理大・薬・薬理学）

（９）構造活性相関解析から見えてきた 2 型リアノジン受容体チャネルの制御機構

○村山　尚 [1]，小川治夫 [2]，呉林なごみ [1]，大野聖子 [3]，堀江　稔 [4]，櫻井　隆 [1]

([1] 順天堂大・医・薬理学，[2] 東京大・定量生命科学研究所，

[3] 国立循環器病センター分子生物学部，[4] 滋賀医科大・医・呼吸循環器内科)

（10）心血管系の L 型 Ca2+チャネル CaV1.2 サブユニットの細胞内 C 末端の翻訳後修飾の機能的意義

○山田充彦，柏原俊英，郭　暁光，中田　勉，川岸裕幸（信州大・医・分子薬理学）

（11）カルモジュリンの CaV1.2 型 Ca チャネルへの結合の分子シミュレーション

○亀山正樹，蓑部悦子，徐　建軍，高　青華（鹿児島大・院・医歯学総合研究科）

（12）マウス洞房結節細胞の自動能におけるミトコンドリア Na/Ca 交換(NCLX)の寄与

○竹田有加里，竹内綾子，松岡　達（福井大・院・医学系部門・形態機能医科学・統合生理学）

（13）モルモット肺静脈心筋の電気生理学的・薬理学的性質

○行方衣由紀，濵口正悟，田中　光（東邦大・薬・薬物学）

（14）ラット心房細動モデルにおけるリーク電流活性化剤の抗不整脈効果

○岡本洋介，安藤賀子，加藤和子，高橋優維，高木大地，尾野恭一
（秋田大・院・医学系研究科・細胞生理学室）

（15）QT 延長症候群の心室筋における早期後脱分極の発生機序：ヒト心室筋細胞モデルによる非線形力学的解析

○倉田康孝，津元国親（金沢医科大・医・生理学Ⅱ）

（16）神経ペプチドによるインフルエンザ重症化の制御機構

○今井由美子[1]，市田　悠[1]，星崎みどり[1]，久場敬司[2]，吉村明彦[3]
（[1]国立医基盤研究所，[2]秋田大・院・医学系研究科，
[3]慶応大・院・医学系研究科）

（17）ミトコンドリアーアクチン細胞骨格連携による心筋細胞の早期老化機構

○西村明幸[1]，島内　司[2]，田中智弘[2]，下田　翔[2]，冨田拓郎[2]，西田基宏[1,2]
（[1]九州大・院・薬学研究院・創薬育薬研究施設統括室，
[2]生理学研究所（生命創成探究センター）・心循環シグナル研究部門）

（18）心筋ストレスが誘導する心組織の形態機能変化

○草刈洋一郎，西岡成知，谷端　淳，南沢　享（東京慈恵会医科大・細胞生理学）

（19）脂肪心筋症と心房細動　— GLP-1 受容体作動薬の役割 —

○弘瀬雅教[1]，佐藤さつき[1]，衣斐美歩[1]，石田菜々絵[1]，鈴木仁弥[2]
（[1]岩手医科大・薬・病態薬理学，[2]福井大・医・内科学）

（20）カフェインによる肝星細胞の活性化・脱活性化制御を介した肝線維化改善の可能性

○山口桃生，森下智也，齊藤真也，石川智久（静岡県立大・薬・薬理学分野）

（21）画像解析によるヒト iPS 細胞由来心筋細胞を用いた薬剤評価

○黒川洵子，山口賢彦，坂本多穂（静岡県立大・薬・生体情報分子解析学）

（22）ヒト iPS 細胞由来心筋細胞を利用した医薬品の左室機能毒性の評価

○内藤篤彦[1]，伊藤正道[2]，杉山　篤[1]
（[1]東邦大・医・薬理学，[2]東京大・医学部附属病院循環器内科）

（23）微生物由来のアンジオテンシン変換酵素２（ACE2）様酵素による心臓リモデリング・機能不全の改善

○久場敬司[1]，佐藤輝紀[1,2]，湊　隆文[1]，韮　澤悟[3]，小澤　諒[1]，山口智和[1]，
中原和彦[3]，渡邊博之[2]，今井由美子[4]，高橋砂織[5]
（[1]秋田大・院・医学系研究科・分子機能学・代謝機能学，[2]秋田大・院・医学系研究科・循環器内科学講座，
[3]国際農林水産業研究センター・生物資源・利用領域，
[4]医薬基盤・健康・栄養研・感染病態制御ワクチンプロジェクト，
[5]秋田県総合食品研究センター）

（24）RyR2 阻害薬の探索と心筋細胞に対するそれらの効果

○呉林なごみ[1]，村山　尚[1]，田村真衣[1]，森　修一[2]，湯浅磨里[2]，影近弘之[2]，
鈴木純二[3]，金丸和典[4]，飯野正光[4]，森本幸生[5]，櫻井　隆[1]
（[1]順天堂大・医・薬理，[2]東京医科歯科大・生材研，[3]カリフォルニア大，
[4]日本大・医・細胞分子薬理，[5]国際医療福祉大学・理学療法科）

（25）糖尿病性心筋症早期ステージにおける HFpEF の分子機序

○三上義礼[1]，伊藤雅方[1]，濵口正悟[2]，村上慎吾[1,3]，冨田太一郎[1]，
大島大輔[1]，行方衣由紀[2]，田中　光[2]，赤羽悟美[1]
（[1]東邦大・医・生理学・統合生理，[2]東邦大・薬・薬物学，
[3]中央大・理工・電気電子情報通信工学科）

（26）APJ リガンド ELABELA による ACE 制御を介した心不全改善作用

○佐藤輝紀[1,2]，山口智和[1]，門脇歩美[1]，渡邊博之[2]，今井由美子[3]，久場敬司[1]
（[1]秋田大・院・医学系研究科・分子機能学・代謝機能学，
[2]秋田大・院・医学系研究科・循環器内科学，[3]医薬基盤・健康・栄養研究所）

（27）心筋梗塞におけるプロトン感知性受容体 GPCR(GPR4)の役割解析

○伊藤峻太，萩原　柾，渡　健治，長坂明臣，仲矢道雄，黒瀬　等
（九州大・院・薬学研究院・薬効安全性学分野）

（28）新規 TRPC3-Nox2 複合体阻害剤の探索および抗がん剤副作用軽減効果の検証

○藤本泰之[1]，西山和宏[2]，赤司壮一郎[3]，冨田拓郎[4,5]，田中智弘[4]，西村明幸[2]，西田基宏[2,4,5]
（[1]大阪府立大・院・生命環境科学研究科・獣医応用薬理学，
[2]九州大・院・薬学研究院・創薬育薬研究施設統括室，[3]九州大・院・薬学研究院・生命物理化学，
[4]生命創成探究センター（生理学研究所）心循環ダイナミズム創発研究グループ，
[5]総合研究大学院大学）

（29）TRPM7 ドミナントネガティブ変異体導入マウスの特性解析

○喜多　知[1]，田頭秀章[1]，沼田朋大[2]，喜多紗斗美[1,3]，岩本隆宏[1]
（[1]福岡大・医・薬理学，[2]福岡大・医・生理学，[3]徳島文理大・薬・薬理学）

（30）肝細胞における脂質転移タンパク質と PC 産生酵素による脂肪滴形成促進機構

○伊藤雅方，冨田太一郎，三上義礼，大島大輔，赤羽悟美（東邦大・医・生理学・統合生理学）

（31）肺動脈性肺高血圧症における PDGF 誘発性 Ca2+感受性受容体の発現制御機構の解明

○山村　彩，Md Junayed Nayeem，高橋理恵，林　寿来，佐藤元彦（愛知医科大・医・生理学）

（32）血管平滑筋における興奮-転写連関に対するカベオラの役割

○小澤拓海，鈴木良明，今泉祐治，山村寿男（名古屋市立大・院・薬学研究科・細胞分子薬効解析学）

（33）骨格筋形成における筋芽細胞融合のシグナルの解明

○山口君空，冨田太一郎，三上義礼，伊藤雅方，大島大輔，赤羽悟美（東邦大・医・生理学・統合生理学）

（34）血管平滑筋細胞の形質転換に伴うジャンクトフィリンの機能的な役割の変化

○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・院・薬学研究科・細胞分子薬効解析学，[2]京都大・院・薬学研究科・生体分子認識学）

（35）G-CaMP6 トランスジェニックマウスを用いた in vivo カルシウムイメージングによる腸管神経系の機能解析

○茂木優貴[1,2]，佐藤正晃[1,2,3]，堀口和秀[4]，大倉正道[1,2,5]，安藤恵子[1,2,3]，池谷裕二[6,7]，
房前裕順[8]，本郷良泳[8]，鈴木　稔[8]，小川公一[8]，高木　都[9]，中井淳一[1,2,3,10]
（[1]埼玉大・院・理工学研究科，[2]埼玉大・脳末梢科学研究センター，
[3]理化学研究所 脳神経科学研究センター，[4]福井大・医，[5]九州保健福祉大・薬，
[6]東京大・院・薬学系研究科，[7]情報通信研究機構・脳情報通信センター，[8]塩野義製薬 ㈱，
[9]奈良県立医科大・医，[10]理化学研究所・革新知能統合研究センター）

（36）血管平滑筋細胞において Mitofusin2 はミトコンドリア機能維持に寄与する

○稲垣　奏，鈴木良明，今泉祐治，山村寿男（名古屋市立大・院・薬学研究科・細胞分子薬効解析学）

（37）ミトコンドリア Na+-Ca2+交換の電気生理学的測定

○モハメド・モイヌル・イスラム，竹内綾子，松岡達
（福井大・院・医学系部門・形態機能医科学・統合生理学）

（38）カルシウムパラドックスによる心筋拘縮　－ラット灌流心における心筋カルシウム動態と細胞構造の解析－

万井弘基，○田中秀央（京都府立医科大・院・医学研究科・細胞分子機能病理学）

（39）動きベクトル解析を用いたヒト iPS 細胞由来心筋細胞の収縮－弛緩に対する薬剤作用解析

○中川桃夏，鈴木結衣，佐野優介，山口賢彦，坂本多穂，黒川洵子
（静岡県立大・薬・生体情報分子解析学）

（40）薬物誘発性不整脈の trigger への L 型カルシウムチャネル電位依存性変化の影響

○木村　暁，村上慎吾（中央大・理工・電気電子情報通信工学科）

（41）hERG チャネルの活性化に対する合成エストロゲンの作用

○杉本真太朗[1]，田村文弥[2]，家田真樹[3]，坂本多穂[1]，黒川洵子[1]
（[1]静岡県立大・薬，[2]慶應大・医，[3]筑波大・医）

（42）脳微小血管内皮細胞における TMEM16A の生理機能への寄与

○鈴木貴久，安本美貴，鈴木良明，今泉祐治，山村寿男
（名古屋市立大・院・薬学研究科・細胞分子薬効解析学）

（43）新生内膜過形成モデルにおける IL-19 の新規調節機構の解明

○東　泰孝（大阪府立大・院・獣医・薬理）

（44）低酸素ストレス時の脳微小血管内皮細胞は，HIF-1α-Dynamin2-Kir2.1 経路を介して細胞増殖を異常亢進させる

○山村英斗[1]，鈴木良明[1]，山村寿男[1]，浅井清文[2]，Giles Wayne3，今泉祐治[1]
（[1]名古屋市立大・院・薬学研究科・細胞分子薬効解析学，
[2]名古屋市立大・院・医学研究科・分子神経生物学，[3]カルガリー大学・運動生理学）

【参加者名】

赤羽悟美（東邦大学医学部生理学講座統合生理学分野），東　泰孝（大阪府立大学大学院生命環境科学研究科獣医学専攻応用薬理学教室），石川智久（静岡県立大学薬学部薬理学分野），伊藤峻太（九州大学薬学研究院薬効安全性学分野），伊藤雅方（東邦大学 医学部生理学講座統合生理学分野），稲垣　奏（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），今井由美子（国立医薬基盤研究所感染病態制御ワクチンプロジェクト），植村明嘉（名古屋市立大学大学院医学研究科網膜血管生物学寄附講座），大島大輔（東邦大学医学部生理学講座統合生理学分野），大野聖子（国立循環器病研究センター分子生物学部），岡村康司（大阪大学医学系研究科統合生理学教室），岡本洋介（秋田大学大学院医学系研究科医学系研究科細胞生理学講座），小澤拓海（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），小田紗矢香（生理学研究所生体情報研究系心循環シグナル部門），尾松万里子（滋賀医科大学医学部生理学講座・細胞機能生理学部門），片山大樹（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），亀山正樹（鹿児島大学大学院医歯学総合研究科神経筋生理学），川岸裕幸（信州大学バイオメディカル研究所医学部分子薬理学教室），川崎桂輔（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），喜多紗斗美（徳島文理大学薬学部薬理学），喜多　知（福岡大学医学部薬理学），木村　暁（中央大学理工学部電気電子情報工学科生体情報工学研究室），木村彩瑛（静岡県立大学薬学部薬学科生体情報分子解析学分野），草刈洋一郎（東京慈恵会医科大学細胞生理学講座），久場敬司（秋田大学医学系研究科分子機能学・代謝機能学講座），倉田康孝（金沢医科大学医学部・生理学II），倉智嘉久（大阪大学大学院 医学系研究科分子細胞薬理学教室），倉原　琳（福岡大学医学部生理学），呉林なごみ（順天堂大学医学部薬理学講座），黒川洵子（静岡県立大学薬学部生体情報分子解析学分野），黒川竜紀（大分大学医学部病態生理学講座），黒瀬等（九州大学大学院薬学研究院薬効安全性学分野），高　青華（鹿児島大学医歯学総合研究科衛生学健康増進医学），後藤拓実（九州大学薬学部創薬育薬研究施設統括室），佐伯尚紀（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），佐野優介（静岡県立大学薬学部生体情報分子解析学），佐藤輝紀（秋田大学大学院医学系研究科分子機能学・代謝機能学講座），佐藤元彦（愛知医科大学医学部生理学講座），澤井優輝（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），下田　翔（総合研究大学院大学生命科学研究科心循環シグナル部門），徐　建軍（鹿児島大学医歯学総合研究科神経筋生理学），神藤秀基（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），杉本真太朗（静岡県立大学薬学科生体情報分子解析学），鈴木貴久（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），鈴木良明（名古屋市立大学大学院薬学研究科細胞分子薬効解析学分野），園田桂子（国立循環器病研究センター分子生物学部），鷹野　誠（久留米大学医学部生理学講座統合自律機能部門），田頭秀章（福岡大学医学部薬理学），竹内綾子（福井大学学術研究院医学系部門医学領域形態機能医科学講座統合生理学分野），竹田有加里（福井大学学術研究院医学系部門 医学領域形態機能医科学講座統合生理学分野），楯野真也（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），田中智弘（生理学研究所生体情報研究系心循環シグナル部門），田中秀央（京都府立医科大学大学院医学研究科細胞分子機能病理学），津元国親（金沢医科大学医学部生理学 II），鄭　有人（東邦大学医学部眼科学講座），冨田太一郎（東邦大学医学部生理学講座統合生理学分野），冨田拓郎（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），内藤篤彦（東邦大学医学部薬理学講座），中井淳一（埼玉大学理工学研究科中井研究室），中川桃夏（静岡県立大学薬学部生体情報分子解析学），行方衣由紀（東邦大学薬学部薬物学教室），西谷（中村）友重（国立循環器病研究センター研究所分子生理部），西田基宏（生理学研究所生体情報研究系心循環シグナル部門），西村明幸（生理学研究所生体情報研究系心循環シグナル部門），西山和宏（九州大学大学院薬学研究院創薬育薬研究施設統括室），野田さゆり（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），弘瀬雅教（岩手医科大学 薬学部分子細胞薬理学講座），福原茂朋（日本医科大学先端医学研究所病態解析学部門），藤本泰之（大阪府立大学生命環境科学研究科応用薬理学研究室），堀　正敏（東京大学大学院農学生命科学研究科獣医薬理学研究室），前田和輝（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），前田翔也（九州大学薬学部創薬育薬研究施設統括室），松岡　達（福井大学学術研究院医学系部門医学領域形態機能医科学講座統合生理学分野），三浦　岳（九州大学大学院医学研究院生体制御学講座系統解剖学分野），三上義礼（東邦大学医学部生理学講座統合生理学分野），三島寛貴（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），南沢享（東京慈恵会医科大学細胞生理学講座），蓑部悦子（鹿児島大学大学院医歯学総合研究科神経筋生理学），村上慎吾（中央大学理工学部電気電子情報通信工学科生体情報工学研究室），村山　尚（順天堂大学医学部薬理学講座），茂木優貴（埼玉大学大学院理工学研究科脳末梢科学研究センター），Mohammed Moinul Islam（福井大学学術研究院医学系部門医学領域形態機能医科学講座統合生理学分野），山口君空（東邦大学医学部生理学講座統合生理学分），山口桃生（静岡県立大学薬学部薬理学分野），山崎大樹（国立医薬品食品衛生研究所薬理部），山田充彦（信州大学医学部分子薬理学教室），山村　彩（愛知医科大学医学部生理学講座），山村寿男（名古屋市立大学大学院薬学研究科細胞分子薬効解析学分野），山村英斗（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），横山詩子（横浜市立大学医学部循環制御医学），Wayne Giles（University of Calgary, Faculties of Kinesiology and Medicine）

【概要】

本研究の目的は，心臓・血管系の制御メカニズムの研究者が一堂に集結し，学会の壁を越えた異分野融合により心臓・血管系の統合的理解を深め，さらにベテラン研究者と若手や学生が交流する機会を提供することにより，次世代を担う研究者の育成に貢献することである。

特別講演 2 題，一般口演 21 題，ポスター発表 21 題を含むプログラムを以下の通り構成した。

11 月 1 日

【Session 1】

血管新生およびリモデリングの分子基盤

【Session 2】

細胞内カルシウムシグナル制御機構

【Session 3】

心臓電気活動の制御システムと破綻機構

【特別講演Ⅰ】

【Session 4】

ポスター討論会

11 月 2 日

【Session 5】

ストレス応答と心機能破綻のメカニズム

【Session 6】

受容体シグナル伝達と新規治療標的

【特別講演Ⅱ】

研究会には，ポスドク・大学院生・学部学生 20 名を含む約 91 名が参加した。

特別講演 I では，カルガリー大学・Giles 先生より，心房細動の基礎メカニズムとしての一過性外向き K^+チャネル電流（K_v4.3 チャネルを介する I_{to}）の役割について，電気生理学と数理モデルの融合により解明したご研究についてご講演頂いた。特別講演 II では，大阪大学・岡村康司先生より，電位依存性ホスファターゼ VSP の発見に至った経緯から最先端の研究成果までとともに生理学研究者としての歩みも含めてご講演頂いた。これらの講演は，本研究会に参加した研究者，とりわけ若手研究者や大学院・学部学生にとって，多くの刺激と示唆に富む内容であった。

一般口演（発表 15 分＋質疑応答 5 分）では，各発表者ともレベルの高い最新の研究成果を発表し，活発な質疑応答が行われた。また，前回に引き続き今回も【Session 4】をポスター討論会に宛て，いずれのポスターにおいても，熱気あふれる質疑応答が行われていた。

上記の通り，本研究の目的を達成し，無事に終了した。

（1）Insights into Mechanisms for Initiation of Human Atrial Rhythm Disturbances: Action Potential Duration Alternans

Haibo Ni1,[2]，Henggui Zhang[1]，Eleonora Grandi[2]，Sanjiv M. Narayan[3], and ○Wayne R. Giles[4]
（[1]Biological Physics Group, School of Physics & Astronomy, The University of Manchester,
[2]Dept. of Pharmacology, University of California, Davis,
[3]Cardiovascular Institute, Stanford University,
[4]Faculty of Medicine, University of Calgary, Canada）

Efforts to identify the mechanisms responsible for the initiation and maintenance of human atrial fibrillation (AF) often focus on changes in components of the atrial 'substrate', including its electrophysiological properties and/or structural elements. We have used experimentally validated mathematical models of the human atrial myocyte action potential (AP), in normal sinus rhythm (SR) and in the setting of chronic AF, in attempts to evaluate significant contributions of the Ca2+-independent transient outward K+ current, Ito, to electrophysiological instability and AF initiation. Initially this study explored whether changes in the recovery or restitution of the action potential duration (APD), and/or its dynamic stability (alternans) can be modulated by Ito. Recent reports have identified disease-dependent spatial differences in the expression levels of the K+ channel α-subunits that underlie Ito in the left atrium. Accordingly, we evaluated the functional consequences of this by deleting 50% of the native Ito current, Kv4.3; and replacing this K+ conductance with Kv1.4. Significant changes in the short-term stability of the human atrial AP waveform were observed following this K+ channel alpha subunit isoform switch. These included: (i) appearance of discontinuities in the initial slope of the APD restitution curves, and (ii) development of APD alternans. This pattern of in silico results resembles some of the changes observed in high resolution clinical electrophysiological studies of AF initiation. Important insights into the underlying mechanisms for these changes can be obtained by considering differences in known biophysical properties (reactivation kinetics) of Kv1.4 versus those of Kv4.3. The molecular properties of atrial K+ isoforms, changing expression levels of K+ channels during progressive disease development, and the re-emergence of a neonatal or foetal gene program should be considered in ongoing work directed toward optimal clinical diagnosis and management of AF.

（2）電位依存性ホスファターゼ VSP：14 年を経て見えたこと，見えないこと

○岡村康司[1]，河合喬文[1]，川鍋　陽[1]，筒井秀和[2]，坂田宗平[4]，佐々木雄彦[3]
（[1]大阪大学医学系研究科統合生理学，[2]北陸先端科学技術大学院大学，
[3]東京医科歯科大学病態生理化学分野，[4]大阪医科大学生理学）

電位依存性ホスファターゼ VSP は，カタユウレイボヤゲノムの探索において 2004 年にイオンチャネルと関連する分子として偶然見つけられ，単細胞真核生物からヒトに到るまで保存されることがわかっている膜タンパク質分子である。電位依存性イオンチャネルと同様な電位センサーをもち，細胞質側にがん抑制遺伝子 PTEN と相同なホスファターゼ構造をもつ。脱分極によりイノシトールリン脂質 PI(4,5)P2 の 5 位のリン酸を脱リン酸化する酵素活性を有する。

この分子は，生理機能の記載から分子実体に辿り着く，というこれまでの生理学的研究の本流とは異なり，ゲノムの網羅的な解析から想定外な構造をもつ分子として見いだされたため，膜電位で直接化学変化が生じる現象の理解よりも，その分子機能の新奇性が着目され，動作原理の究明が最も盛んに行われてきた。また電位センサーを細胞内領域と切り離して単独で発現させても電位センサーとして高発現し，monomeric voltage sensor として，改変による特性の変更が行いやすいことから，膜電位プローブの材料として用いられてきた。しかしその一方，生体内で生理機能の理解は大きく遅れ，更には VSP が生体内の細胞でどのような膜電位変化で駆動されるかは未解明である。

本演題では，発現系細胞での機能解析による分子の動作原理に関する知見を紹介するとともに，最近得られているノックアウトマウスの表現型，VSP の分子ツールとしての応用例を紹介する。時間があればこれらを通して見えてきたあらたな問題についても議論を行いたい。

（3）マウス心筋前駆細胞における細胞質分裂を伴わない不規則な核分裂の検討

○尾松万里子，福永　諒，松浦　博（滋賀医科大学生理学講座細胞機能生理学部門）

Atypically-shaped cardiomyocytes（ACMs）は，幹細胞抗原 Sca-1 陰性のマウス心室組織由来の心筋前駆細胞であり，自発的に拍動心筋細胞に成長する。この拍動細胞のほとんどは多核であるが，増殖は確認されていない。今回，ACMs の核について高解像度顕微鏡を用いて調べたところ，不規則な分裂に起因すると思われる核形不整，クラスター化，DNA bridges による複数核の連結など，通常の細胞核では見られない特徴が観察された。免疫染色により，クラスター状の核にも核ラミナを構成する Lamin B がそれぞれに発現していること，多くの核において細胞周期マーカーであるサイクリン D1 および YAP タンパク質が発現していることが明らかになった。しかし，60 日以上の長期培養においても核分裂の後に細胞質分裂は認められなかった。これらのことから，核の異常分裂が，心筋前駆細胞における細胞分裂・増殖を妨げる要因の 1 つとなっている可能性が示唆された。

（4）肺動脈高血圧・右心不全の病態形成における TRPM7 チャネルの役割

○倉原　琳[1]，Lixia Yue[2]，Jianlin Feng[2]，平石敬三[1]，井上隆司[1]
（[1]福岡大学医学部生理学，[2]コネチカット大学医学部細胞生物学）

TRPM7 (Transient receptor potential melastatin- 7) チャネルは Ca2+，Mg2+の持続流入経路として，心血管のリモデリングに深く関わることが知られているが, TRPM7 チャネルが肺動脈・右心室リモデリングの病態形成に果たす役割は未だ不明である。

我々は，野生型及び TRPM7 ノックアウトマウスを用いて, 肺動脈高血圧モデル・右心圧負荷モデルを作成し, 肺動脈・右心室（RV）の形態・機能の変化および線維化について比較検討を行った。モノクロタリンピロール投与で肺動脈肺高血圧症を誘発した場合，野生型マウスに比し, TRPM7 ノックアウトマウスでは RV 機能の低下が著しく改善されていた。一方，肺動脈縮窄術(PAC: Pulmonary artery constriction)で作成した急性 RV 圧負荷モデルでは, TRPM7 ノックアウトマウスの方が野生型に比し，右室肥大や線維化の程度が有意に抑制された。これらの結果から，肺動脈高血圧及び急性圧負荷で誘発した右心不全のいずれの病態においても, TRPM7 チャネルが重要な役割を果たしていることがわかった。更にこれらの分子メカニズムを探索することを目的として，TRPM7 アンタゴニストによる内皮間葉転換や肺動脈平滑筋細胞異常増殖の抑制について検討を行った。

本研究の結果は，肺動脈高血圧や右心不全の際に見られる心血管リモデリングに TRPM7 チャネルの活性化が強く関与していることを示唆している。

（5）プロスタグランディン E-EP4 シグナルによる大動脈瘤進行の分子機序

○横山詩子，廣見太郎，石川義弘（横浜市立大学医学部循環制御医学）

腹部大動脈瘤は進行性の致死性疾患であり, プロスタグランディン E（PGE）の産生が病変部で亢進していることが知られている。我々は先行研究において, PGE 受容体である EP4 が腹部大動脈瘤の発症を促すことを示してきたが，その分子機序は明らかではない。そこで我々は，Cre-loxP システムを用いて平滑筋細胞選択的に EP4 が過大発現する遺伝子改変マウス（EP4 TG マウス）を作製して，EP4 シグナルの大動脈瘤発症の機序を検討した。EP4 TG マウスは，アンジオテンシン II を浸透圧ポンプにより持続投与したところ, ほぼ２週間で全例がマクロファージの浸潤を伴う大動脈瘤の破裂で死亡したが, 野生型マウスでは大動脈瘤の発症は認められなかった。平滑筋特異的 EP4 欠損マウスと ApoE のダブル欠損マウスでは，ApoE 欠損マウスで認められるアンジオテンシン II による大動脈瘤の発症が有意に減少した。平滑筋細胞では EP4 によりインターロイキン６（IL-6）が顕著に産生され，EP4 TG マウスに発症する大動脈瘤は抗 IL-6 受容体抗体により有意に抑制された。各種阻害薬を用いた実験から, IL-6 の産生には，EP4-プロテインキナーゼ A－TAK1/NFkB が関与することが示唆された。これらの結果より，平滑筋細胞に EP4 が過大発現することが, IL-6 を介してマクロファージを活性化させて大動脈瘤を進行させることが示唆された。

（6）内因性ミオシンホスファターゼ阻害タンパク質 CPI-17 による血管収縮制御

Qunhui Yang[1]，Wataru Fujii[2]，Shigeru Kakuta[3]，Noriyuki Kaji[1]，Hiroshi Ozaki[4]，〇Masatoshi Hori[1]
（[1] 東京大学・院・農学生命科学研究科・獣医薬理学，[2] 動物遺伝学，[3] 実験動物，
[4] 岡山理科大・獣医・獣医薬理学）

背景：　血管平滑筋の収縮はミオシン軽鎖キナーゼ（MLCK）とミオシンホスファターゼ（MLCPPase）の活性バランスで制御される。MLCPPase の活性はさらに PKC/CPI-17 経路により負に制御されている。しかし，PKC/CPI-17 経路が生理的な血管収縮や血圧変動に関与するかは不明であった。【目的】本研究では，CPI-17 欠損マウス（KO）と PKC によるリン酸化を受けない CPI-17[T38A]ノックインマウス（TA）を作出し，大動脈血管平滑筋の収縮性並びに血圧に対する影響について野生型マウス（WT）と比較検討した。

結果：　KO，TA および WT の大動脈標本における高濃度カリウム収縮はいずれも同等であり，ミオシンのリン酸化量にも相違はなかった。一方，ノルアドレナリン収縮は KO と TA で WT にくらべて有意に小さく，ミオシンのリン酸化量の低下も伴っていた。また，KO と TA の間で有意な差はなかった。PDBu による血管収縮増加作用は KO と TA では完全に消失した。テレメトリーシステムによる正常血圧測定において，KO と TA は WT にくらべておよそ 10mHg 有意に低く，TA と KO の間で有意な差はなかった。

考察：　CPI-17 は正常な血管収縮制御に一部関与し，CPI-17 の欠損は正常血圧を有意に低下させることが示唆された。また，CPI-17 は T38 のリン酸化により活性制御されることが示された。

（7）創傷治癒における血管新生の蛍光ライブイメージング

弓削進弥，野一色千景，〇福原茂朋（日本医科大・先端医学研究所・病態解析学部門）

組織が虚血状態に陥ると，血管新生が誘導され，機能的な血管網を構築することでそれを解消する。今回，我々は，創傷治癒における血管新生の制御機構を明らかにするため，ゼブラフィッシュ成魚の創傷治癒に伴う血管新生の蛍光ライブイメージング解析を行った。内皮細胞とペリサイトを蛍光蛋白質で標識した成魚を利用し，正常皮膚の血管を観察した。真皮を走行する毛細血管では，内皮細胞２つに対し，１つのペリサイトが被覆しており，これら細胞は数ヶ月にわたってほとんど移動せず，静止期にあることが分かった。しかし，皮膚に損傷を加えると，内皮細胞は迅速に活性化し，非損傷血管からの出芽に加え，損傷血管の伸長が活発に起こり，血管新生が誘導された。そこで，一本の毛細血管を切断し，修復過程における内皮細胞・ペリサイト動態を経時的に観察した。損傷後 3 日程度で損傷血管は修復したが，その後も内皮細胞は増殖を続け，血管の過形成を誘導した。その後，損傷後 14 日をピークに内皮細胞が減少し，血管が正常化した。一方，ペリサイトは損傷血管が修復し血流再開後に数が急激に増加し，損傷前の 1.5 倍程度まで増え，蛇行した血管を被覆していたが，その後血管の正常化に伴って減少した。以上の結果から，創傷治癒における血管新生では，内皮細胞・ペリサイトの活性化状態は厳密に制御されており，それにより損傷血管が修復されることが示唆された。

（8）Na/Ca 交換体の Ca 依存性膜局在制御機構の生理学的役割

○田頭秀章[1]，喜多紗斗美[1,2]，岩本隆宏[1]（[1]福岡大・医・薬理学，[2]徳島文理大・薬・薬理学）

1 型 Na+/Ca2+交換体（NCX1）は，心筋，平滑筋，神経，腎尿細管などに多く発現し，様々な細胞内 Ca2+シグナルにおいて重要な役割を果たしている。我々は，NCX1 細胞内ドメインがアダプター蛋白質複合体因子（AP 因子）と Ca2+濃度依存性に相互作用することを見出した。NCX1 細胞内ドメインは活性制御に関わる領域であり，Ca2+依存性不活性化に関与する Ca2+結合部位（CBD1，CBD2）が存在している。近年の NCX1 細胞内ドメインの三次元構造解析により，CBD1 に Ca2+が結合すると細胞内ドメインが大きく構造変化することが示されている。興味深いことに，AP 因子の結合部位はこの CBD1 領域内に位置していた。AP 因子との相互作用の生理学的役割を解析するため，AP 因子との結合能を欠損した NCX 1 変異体を構築した。野生型 NCX1 を MDCK 細胞に遺伝子導入すると，主に細胞内小胞に存在し，一部細胞膜に発現するが，この NCX1 変異体の遺伝子導入では主に細胞膜に局在した。この結果より，AP 因子との相互作用は NCX1 の細胞膜から細胞内小胞への輸送（エンドサイトーシス）に関与すると考えられた。さらに最近，この NCX1 変異体を導入した遺伝子改変マウスを作製し，in vivo 機能解析を実施した。

（9）構造活性相関解析から見えてきた 2 型リアノジン受容体チャネルの制御機構

○村山　尚[1]，小川治夫[2]，呉林なごみ[1]，大野聖子[3]，堀江稔[4]，櫻井　隆[1]
（[1]順天堂大・医・薬理学，[2]東京大・定量生命科学研究所，
[3]国立循環器病センター分子生物学部，[4]滋賀医科大・医・呼吸循環器内科）

２型リアノジン受容体（RyR2）は心筋筋小胞体における Ca2+放出チャネルであり，心筋収縮に不可欠である。RyR2 チャネルは Ca2+によって活性化されるが，Ca2+の結合部位については長い間不明であった。最近，RyR1 の近原子分解能構造から活性化リガンドである Ca2+，ATP，カフェインの結合部位が推定された（Georges et al., 2016）。われわれはリガンドによるチャネル活性化機構を知るため，推定された Ca2+およびカフェイン結合部位にさまざまな変異を導入した RyR2 を HEK293 細胞に発現して，その表現型を調べた。その結果，推定された Ca2+およびカフェイン結合部位が正しいことを証明した。驚くべきことに，カフェインの結合は Ca2+結合部位の構造に影響を与えて Ca2+感受性を増大しており，たった一つのトリプトファン残基がスイッチの役割を果たしていることが明らかとなった。RyR2 の遺伝子変異はカテコラミン誘発性多型性心室頻拍（CPVT）をはじめとした様々な催不整脈性心疾患を引き起こすが，カフェイン結合部位近傍に存在する 3 種類の CPVT 変異はいずれもカフェイン結合部位へ影響を与えて Ca2+感受性を増大していた。本成果は Ca2+結合という RyR2 活性化の最初の段階を解明したものであり，今後，同様な手法によりチャネル制御の全貌が明らかになることが期待される。

（10）心血管系の L 型 Ca2+チャネル CaV1.2 サブユニットの細胞内 C 末端の翻訳後修飾の機能的意義

○山田充彦，柏原俊英，郭　暁光，中田　勉，川岸裕幸（信州大・医・分子薬理学）

緒言：　種々の液性因子は，L 型 Ca2+チャネル（LTCC）を制御して心血管系の機能を調節する。LTCC の主サブユニット CaV1.2 の細胞内 C 末端は，翻訳後中央付近で切断され，近位および遠位 C 末端（PCT と DCT）に分かれる。その後，DCT は PCT に再結合して LTCC を自己抑制する（切断型 CaV1.2）。また，翻訳後修飾されて

いない CaV1.2（全長型 CaV1.2）も，内因性 DCT により自己抑制を受ける。β アドレナリン受容体による心筋細胞の LTCC の活性化には，切断型 CaV1.2 が関与すると言われている。そこで本研究では，CaV1.2 の C 末端の翻訳後修飾の機能的意義を検討した。

方法と結果：　ウェスタンブロットで，心筋細胞と収縮型血管平滑筋細胞では全長型と切断型 CaV1.2 が共存したが，増殖型血管平滑筋細胞では，ほとんどが全長型 CaV1.2 であった。幼若心筋細胞の AT1 受容体→β アレスチン 2→c-Src≦p27KIP≦カゼインキナーゼ（CK）2 という陽性変力作用を仲介する経路では，CK2 は切断型 CaV1.2 のみを活性化した。一方，増殖型血管平滑筋細胞の PDGF→c-Src という遊走誘発経路では，c -Src は全長型 CaV1.2 のみを活性化した。

結論：　全長型 CaV1.2 と切断型 CaV1.2 は機能的に異なり，細胞形質に応じて発現調節され，異なる生理的役割を担うことが明らかとなった。

（11）カルモジュリンの CaV1.2 型 Ca チャネルへの結合の分子シミュレーション

○亀山正樹，蓑部悦子，徐　建軍，高　青華（鹿児島大・院・医歯学総合研究科）

Cav1.2 型 Ca チャネルの Ca 依存性増強（CDF）と Ca 依存性不活性化（CDI）の調節機構には，カルモジュリン（CaM）が関与することが知られているが，CaM のチャネルへの結合の分子モデルは複数あって，統一していない。我々は，２分子の CaM がチャネルに結合して，それぞれ CDF と CDI に関与するという２分子モデルを提唱している。本研究では，Cav1.2 型 Ca チャネルへの Ca2+-free CaM (apoCaM) 及び Ca2+/CaM の結合の分子モデルをコンピュータシミュレーションで検討した。Ca2+/CaM ２分子がそれぞれチャネルの C 末 tail の preIQ 領域と IQ 領域に結合するモデル（Asmara ら, J Pharmacol Sci 2010; Evans ら, Biophys Chem 2011; Minobe ら, JBC 2011）や発表されている Cav1.2 型 Ca チャネルの preIQ-IQ ペプチドと Ca2+/CaM の結晶構造（Fallon ら, PNAS 2009; Kim ら, EMBO J 2010），クライオ電顕法による Cav1.1 型 Ca チャネルの構造（Wu ら, Science 2015; Nature 2016）などを参考に CaM の preIQ-IQ ペプチドへの結合の分子モデルを作成，解析した。

（12）マウス洞房結節細胞の自動能におけるミトコンドリア Na/Ca 交換（NCLX）の寄与

○竹田有加里，竹内綾子，松岡　達（福井大・院・医学系部門・形態機能医科学・統合生理学）

洞房結節細胞の自動能は，細胞膜イオンチャネルの協調作用により発現する。一方，2000 年頃に家兎洞房結節細胞で筋小胞体リアノジン受容体を介する local Ca release (LCR)が細胞膜 Na/Ca 交換を活性化して自動能を制御する機構が提唱された。さらに，我々は心房筋由来培養細胞(HL-1)の自動能に，ミトコンドリア Na/Ca 交換(NCLX)が関与することを報告した。しかし，洞房結節細胞の自動能に対する NCLX の関与は明らかでない。本研究では，単離マウス洞房結節細胞を用いて NCLX の寄与を検討した。ほとんどすべての洞房結節細胞において LCR が観察され，Ca トランジエントから LCR 発生までの時間（LCR period）と Ca トランジエントの周期長（CaCL）の間には，正の相関が認められた。NCLX 阻害薬 CGP-37157 は，LCR および Ca トランジエントの振幅を減少させ, LCR period を延長させると共に CaCL を延長した。一方, イソプロテレノールによる β 受容体刺激では, LCR および Ca トランジエントの振幅が増加し，LCR period が短縮すると共に CaCL は短縮した。CGP-37157 投与後の β 受容体刺激では，CaCL の短縮の程度が減弱した。マウス洞房結節細胞の自動能に LCR が関与し，ミトコンドリア NCLX は筋小胞体 Ca 含量を調整することで，自動能発生に寄与すると考えられた。

（13）モルモット肺静脈心筋の電気生理学的・薬理学的性質

○行方衣由紀，濵口正悟，田中　光（東邦大・薬・薬物学）

肺静脈の起始部には心房筋から連続する心筋細胞層が存在する。心房細動の引き金となる心房性期外収縮の約 90%が肺静脈起源であると報告されたこともあり，肺静脈心筋がいかなる性質を有するのか注目されている。我々はモルモット肺静脈心筋で電気的自発活動を記録した。また肺静脈心筋の活動電位は左心房筋と比較して静止膜電位が浅く，これは内向き整流性 K+電流密度が小さいことに起因することが判明した。すなわち肺静脈心筋は再分極力が弱く，脱分極およびそれに続く自発活動の発生を許容しやすい性質を有すると考えられた。また我々は自発活動の発生頻度が細胞内 Ca2+濃度を上昇させる処置によって増大することを見出した。検討の結果，筋小胞体からの放出により細胞質の局所で増加した Ca2+が Na+/Ca2+交換機構により細胞外にくみ出される際に内向き電流が生じ，これが肺静脈心筋の自発活動の源となる，という仮説に到達した。この機序以外にも，Na+チャネルを介した持続性の電流成分である late INa が自発活動の発生に関与しており，新規の創薬標的となることも示唆された。さらに，肺静脈自発活動の発生は神経伝達物質や病態によっても影響されることを示す知見も得ている。このように肺静脈自動能に関与する分子や病態との関連が明らかになれば，肺静脈選択的な治療薬の開発に繋がると期待される。

（14）ラット心房細動モデルにおけるリーク電流活性化剤の抗不整脈効果

○岡本洋介，安藤賀子，加藤和子，高橋優維，高木大地，尾野恭一
（秋田大・院・医学系研究科・細胞生理学室）

最も頻度高い不整脈である心房細動に対する抗不整脈薬の有効率が約 30%と低い。我々はこれまで，心房細動治療のための新規治療標的となる分子を探索するため，肺静脈における心房細動トリガーの分子機構をいくつか解明してきた。しかし，肺静脈の異所性興奮を抑制する実験用薬剤は，選択性，薬力，あるいは副作用などの点で臨床応用可能なものではなかった。今回，我々は，ラット心房細動モデルを作成し，に心房細動を抑制する有望な薬剤シーズをスクリーニングし，その後，その薬剤の薬理作用を実験するという戦略をとった。心房細動モデル作製には，経静脈的に右心房へ挿入したカテーテル電極により，250 Hz で 24 時間ペーシングした。整であった RR 間隔が 10 時間以内にばらつきはじめ，変動係数が 0.1 を超える状態が 4 時間以上続く場合を心房細動モデルとした。このモデルでは，血清中の炎症性サイトカインは上昇し，心房の Ca チャネルは減少していた。また，リーク電流活性化剤を投与すると，1 時間以内に除細動された。パッチクランプ法により，単離肺静脈心筋，心房筋，心室筋において，この薬剤よって活性化されるリーク電流が観察された。また，この活性化剤はそれぞれの心筋細胞の静止膜電位を深くし，活動電時間を短縮した。リーク電流活性化剤は過剰な電気的興奮を抑制することで，心房細動を除細動していることが示唆された。

（15）QT 延長症候群の心室筋における早期後脱分極の発生機序：ヒト心室筋細胞モデルによる非線形力学的解析

○倉田康孝，津元国親（金沢医科大・医・生理学Ⅱ）

目的：　QT 延長症候群（LQTS）の心室に発生する早期後脱分極（EAD）は突然死の原因となる。本研究では，ヒト心室筋細胞モデルに生じる分岐現象を解析し，EAD 発生機序を非線形力学的観点から検証した。

方法：ヒト心室筋細胞の電気現象を記述する数理モデル（Kurata 2005 他）を用い，モデルシステムの平衡点・ダイナミクスとその安定性のパラメータ依存性変化を表す「分岐図」を作成して，分岐パターンと EAD 出現との関連を解析した。

結果：　1）遅延整流 K+チャネル電流の速い成分（IKr）抑制または L 型 Ca2+チャネル電流（ICaL）増強により脱分極領域での平衡点の安定化（ホップ分岐）が生じ，ホップ分岐点近傍で EAD が出現した。2）LQTS モデル細胞での EAD 出現閾値は正常細胞より低く，脱分極領域でのホップ分岐点のシフトが関連していると考えられた。3）遅延整流 K+チャネル電流の遅い成分（IKs）の活性化ゲート変数（遅いサブシステム）が増加すると速いサブシステムにおける平衡点の不安定化（ホップ分岐）が生じ，分岐点の近傍で EAD が生じた。

総括：　EAD 出現は心筋細胞に生じる分岐現象に深く関連している。EAD の多くは ICaL の再活性化によって生じ，IKs の遅い活性化に伴う速いサブシステムの平衡点不安定化によって消失（再分極）する。従って，EAD 抑制には ICaL 抑制，IKs 活性化促進が極めて有効と考えられた。

（16）神経ペプチドによるインフルエンザ重症化の制御機構

○今井由美子[1]，市田　悠[1]，星崎みどり[1]，久場敬司[2]，吉村明彦[3]
（[1]国立医基盤研究所，[2]秋田大・院・医学系研究科，[3]慶応大・院・医学系研究科）

交感神経および副交感神経による自律神経系と免疫系とのクロストークは，宿主感染防御において重要なプロセスである。交感神経系の活性化は，カテコールアミン（CA）ならびに神経ペプチド Y（NPY）の放出をもたらす。また，交感神経由来の CA だけでなく，貪食細胞由来 CA も肺の炎症を調節することが報告されている。今回我々は，インフルエンザウイルスに感染した肺の貪食細胞では，NPY が新規に合成され，その受容体 Y1R の発現が増加することを見い出した。また，貪食細胞特異的な Npy または Y1r の欠損は，過剰なウイルス複製および肺の炎症を特徴とする重症インフルエンザの病態を大幅に改善させた。メカニズムとして，感染に伴った貪食細胞における NPY-Y1R の活性化はサイトカインシグナルの調整因子である SOCS3 の発現を誘導し，これが抗ウイルス・インターフェロン応答の阻害と炎症性サイトカイン産生促進を引き起こし，インフルエンザの病態を増悪させることを見出した。従って，貪食細胞における NPY-Y1R-SOCS3 経路は，ウイルス感染に対する自然免疫応答の精密な調整経路として作用する可能性があり，これは致命的なインフルエンザウイルス感染症の新規治療標的となり得ることが示唆された。

（17）ミトコンドリアーアクチン細胞骨格連携による心筋細胞の早期老化機構

○西村明幸[1]，島内　司[2]，田中智弘[2]，下田　翔[2]，冨田拓郎[2]，西田基宏[1,2]
（[1]九州大・院・薬学研究院・創薬育薬研究施設統括室，
[2]生理学研究所（生命創成探究センター）・心循環シグナル研究部門）

交感神経および副交感神経による自律神経系と免疫系とのクロストークは，宿主感染防御において重要なプロセスである。交感神経系の活性化は，カテコールアミン（CA）ならびに神経ペプチドY（NPY）の放出をもたらす。また，交感神経由来の CA だけでなく，貪食細胞由来 CA も肺の炎症を調節することが報告されている。今回我々は，インフルエンザウイルスに感染した肺の貪食細胞では, NPY が新規に合成され, その受容体 Y1R の発現が増加することを見い出した。また，貪食細胞特異的な Npy または Y1r の欠損は, 過剰なウイルス複製および肺の炎症を特徴とする重症インフルエンザの病態を大幅に改善させた。メカニズムとして，感染に伴った貪食細胞における NPY-Y1R の活性化はサイトカインシグナルの調整因子である SOCS3 の発現を誘導し，これが抗ウイルス・インターフェロン応答の阻害と炎症性サイトカイン産生促進を引き起こし，インフルエンザの病態を増悪させることを見出した。従って，貪食細胞における NPY-Y1R-SOCS3 経路は，ウイルス感染に対する自然免疫応答の精密な調整経路として作用する可能性があり，これは致命的なインフルエンザウイルス感染症の新規治療標的となり得ることが示唆された。

（18）心筋ストレスが誘導する心組織の形態機能変化

○草刈洋一郎，西岡成知，谷端　淳，南沢　享（東京慈恵会医科大・細胞生理学）

心筋に過剰なストレス（過負荷）がかかった場合，機能低下や不可逆的な形態変化が起こり，心不全を発症する。これまで我々は心筋に様々な負荷（圧負荷，容量負荷，虚血負荷）を与えて，その機能的・形態的変化を報告してきた。ラットの右室圧負荷で心筋線維化が発症すると，収縮力は低下し細胞内 Ca トランジェントが増大する。組織レベルの観察では，筋細胞は概ね保持されているが，線維芽細胞が起点となる線維化で細胞間連関が遮断され，収縮の精緻な同期性が破綻していた。容量負荷モデルであるラット右室乳頭筋過伸展では，発生張力が著しく減弱する。電子顕微鏡で微細構造を観察したところ，過伸展では筋原線維構造は保たれていたが，ミトコンドリア内部の空胞化が見られた。ランゲンドルフ虚血再灌流モデルでは，40 分虚血後に再灌流し，発生心内圧が顕著に低下したが，ビタミン B1 事前投与によって再灌流時の収縮力が保護されていた。虚血後の心臓を電子顕微鏡で観察したところ，虚血心筋では分裂した小さいミトコンドリアが増加していたが，ビタミン B1 事前投与ではその数が少なく観察され，虚血傷害からのミトコンドリア分裂抑制効果が示唆された。以上，階層が異なる形態変化から，収縮装置である心筋細胞や筋原線維はストレスに対して頑健性を保つ一方で，線維芽細胞やミトコンドリアなどがストレスに誘導された形態変化をきたすと考えられた。

（19）脂肪心筋症と心房細動　— GLP-1 受容体作動薬の役割 —

○弘瀬雅教[1]，佐藤さつき[1]，衣斐美歩[1]，石田菜々絵[1]，鈴木仁弥[2]
（[1]岩手医科大・薬・病態薬理学，[2]福井大・医・内科学）

緒言：これまでの基礎的臨床的研究から，糖尿病は心房細動発症の独立した危険因子であり，また脂肪心筋症を起こすことも知られているが，脂肪心筋症が心房細動発症に関与しているかは不明である。我々は perilipin 2 を心臓に強発現したマウス(PLIN2-TG)において脂肪心筋症が引き起こされることを見出している。一方，臨床研究から glucagon-like peptide-1　(GLP-1) 受容体作動薬が，心疾患治療に有効なことが示されている。今回，PLIN2-TG マウスにおける心房細動発生とデュラグルチドの心房細動抑制効果について検討した。

方法：デュラグルチド (0.5 mg/kg) を背部皮下に４日毎で８週間投与した。体表面心電図記録下に食道に挿入した刺激電極により高頻度電気刺激 (S1S1 = 20 ミリ秒) を 15 秒間おこない心房細動の誘発をおこなった。心房内興奮波伝導の変化及び connexin43 の心房内空間分布について検討した。

結果 : 高頻度電気刺激は, PLIN2-TG マウスにおいてコントロールマウスと比較して心房細動誘発頻度の増加と心房細動持続時間の延長があった。デュラグルチド投与は，PLIN2-TG マウスにおける心房細動誘発頻度と心房細動持続時間を有意に改善した。PLIN2-TG マウス心房ではコントロールマウス心房と比較して興奮波伝導の遅延があり, connexi43 の空間分布にも異常が認められた。

結論：PLIN2-TG マウス心房では，興奮波伝導遅延と connexin43 の空間的分布に異常があり，心房細動の発生と持続時間が有意に増強されていた。デュラグルチドの投与は，脂肪心筋症の心房細動の発生を有意に抑制する。

（20）カフェインによる肝星細胞の活性化・脱活性化制御を介した肝線維化改善の可能性

○山口桃生，森下智也，齊藤真也，石川智久（静岡県立大・薬・薬理学分野）

肝非実質細胞の一つである肝星細胞（Hepatic stellate cell: HSC）は, 生理的条件下では星状の細胞突起を持ち，細胞内にビタミン A を含む油滴を有している。肝障害時に活性化され，コラーゲンを産生・分泌する筋線維芽細胞様の形態を示す。そのため，活性型 HSC は肝線維化の責任細胞であり，HSC の活性化抑制は，肝線維化の予防に繋がると考えられている。また現状，進行した肝線維化の治療は難しいとされるが，静止型 HSC がコラーゲンなどの細胞外基質を分解する matrix metalloproteinase（MMP）を分泌することから, 活性型 HSC を静止型 HSC へと脱活性化できれば，肝線維化も治療可能であると考えられる。我々はマウスより単離した HSC を初代培養し，caffeine がその活性化を抑制すること，さらに一度活性化した活性型 HSC を静止型 HSC へ脱活性化させることを見出した。Caffeine は濃度依存的に HSC の活性化を抑制し 10 mM でほぼ最大であった。活性化抑制の作用機序として，caffeine は cAMP を介することなく，アデノシン受容体阻害作用を介し, Akt1 を抑制することで HSC の活性化を抑制していることが示された。また，脱活性化の作用機序は，活性化抑制とは異なり，アデノシン受容体阻害作用を介さずに, Akt1 を抑制することで活性型 HSC を脱活性化していることが示唆された。以上のことから，カフェインには HSC の活性化・脱活性化制御を介することで，肝線維化を改善する可能性があることが見出された。

（21）画像解析によるヒト iPS 細胞由来心筋細胞を用いた薬剤評価

○黒川洵子，山口賢彦，坂本多穂（静岡県立大・薬・生体情報分子解析学）

ヒト iPS 細胞由来心筋細胞は，心毒性評価への創薬応用が検討されている。評価対象には心室性不整脈および心機能低下（心不全）があり，いずれも深刻な有害事象である。不整脈毒性の評価系は細胞外電位記録に収束してきたが，収縮機能を解析する実験系は確立されていない。我々は，これまでに，拍動心筋表面の超高速ビデオカメラ画像から動きベクトルを計算し，ヒト iPS 細胞由来心筋細胞の収縮特性を解析するというモーションイメージング法を開発した。本法では，非侵襲的に in vitro でハイスループットに収縮速度と弛緩速度を分けて解析できる。マウス心臓から急性単離した心筋細胞およびヒト iPS 細胞由来心筋細胞(iCell-CM, CDIJ)から得られた動画解析は，SI8000 Sony セル動作画像システム(Sony Corporation)を用いて行った。動きベクトルの波形の差から，心臓組織の違いによる薬理学的作用の違いが見られた。以上より，今回，細胞表面の動きベクトル解析から細胞特性を予測することに成功した。心筋収縮に対する薬物評価システムの基盤となる結果が得られた。

（22）ヒト iPS 細胞由来心筋細胞を利用した医薬品の左室機能毒性の評価

○内藤篤彦[1]，伊藤正道[2]，杉山　篤[1]（[1]東邦大・医・薬理学，[2]東京大・医学部附属病院循環器内科）

医薬品の開発中止理由として心臓に対する毒性は最も大きな割合を占めている。薬物の催不整脈性を評価する手法は確立されている一方で，心臓の左室機能を障害するような毒性（左室機能毒性）を評価するための手法は十分に確立されていない。特に近年，抗がん薬の左室機能毒性ががん治療において大きな問題となっており，左室機能毒性を予測する評価系の確立が望まれている。本研究では，線状にパターン培養したヒト iPS 細胞由来心筋細胞（iPS 心筋）を動きベクトル解析で評価する実験系の左室機能毒性評価における有用性を検討した。シート状に培養した iPS 心筋と異なり，線状に培養した iPS 心筋は収縮速度および総動き量が収縮頻度と正の相関を示した。複数の分子標的抗がん薬およびドキソルビシンの影響を評価したところ，分子標的抗がん薬による影響の多くは急性期に出現し，その後は正常化傾向を示したが，ドキソルビシンは慢性期のみに強く iPS 心筋の動きを障害した。分子標的抗がん薬がヒト iPS 心筋の動きに与える影響は概して軽度であったが，VEGFR 阻害薬の一種であるスニチニブは他の分子標的抗がん薬よりも強い左室機能毒性を示した。これらの観察結果は臨床で認められる所見と一致しており，確立した評価系が薬物の心機能毒性の評価に有用であることが示された。

（23）微生物由来のアンジオテンシン変換酵素２（ACE2）様酵素による心臓リモデリング・機能不全の改善

○久場敬司[1]，佐藤輝紀[1,2]，湊　隆文[1]，韮澤　悟[3]，小澤　諒[1]，山口智和[1]，
中原和彦[3]，渡邊博之[2]，今井由美子[4]，高橋砂織[5]
（[1]秋田大・院・医学系研究科・分子機能学・代謝機能学，[2]秋田大・院・医学系研究科・循環器内科学講座，
[3]国際農林水産業研究センター・生物資源・利用領域，
[4]医薬基盤・健康・栄養研・感染病態制御ワクチンプロジェクト，[5]秋田県総合食品研究センター）

アンジオテンシン変換酵素２（ACE2）はレニン－アンジオテンシン系における負の調節因子として，アンジオテンシンⅡをアンジオテンシン 1-7 に変換することにより心不全など循環器疾患の病態改善に寄与する。私達はこれ

までに ACE2 が急性呼吸窮迫症候群（ARDS）に対する肺保護作用を発揮することを明らかにし, 現在ヒト組み換え ACE2 蛋白の ARDS に対する臨床試験が行われている。今回私達は，新規の微生物由来カルボキシペプチダーゼ（BD-X）が ACE2 とよく似た立体構造をもつことを見出したことから，BD-X のマウス心不全モデルのリモデリングと機能不全に対する作用を検討した。大腸菌のタンパク質発現システムを用いて，組み換え BD-X タンパク質（rBD-X）を調製した。rBD-X は in vitro において組み換え ACE2 蛋白と同様の比活性でアンジオテンシン II をアンジオテンシン 1-7 に変換した。マウスに rBD-X を投与したところ, 血漿中のアンジオテンシン II 濃度が低下し，アンジオテンシン II 持続投与によって誘導される血圧上昇，心肥大，線維化が抑制された。さらに rBD-X は，TAC 圧負荷によって引き起こされる心肥大，線維化，心機能低下を有意に改善した。以上の結果から，BD-X は in vitro ならびに in vivo において ACE2 と同様のカルボキシペプチダーゼとして機能することが分かり, 循環器疾患の新規治療薬となる可能性が考えられた。また，BD-X と ACE2 は収斂進化の産物であることから, 収斂進化の分子探索を活用した機能的酵素の‘ジェネリック’蛋白製剤の開発が有効である可能性が示唆された。

（24）RyR2 阻害薬の探索と心筋細胞に対するそれらの効果

○呉林なごみ [1]，村山　尚 [1]，田村真衣 [1]，森　修一 [2]，湯浅磨里 [2]，影近弘之 [2]，
鈴木純二 [3]，金丸和典 [4]，飯野正光 [4]，森本幸生 [5]，櫻井　隆 [1]
（[1] 順天堂大・医・薬理，[2] 東京医科歯科大・生材研，[3] カリフォルニア大，
[4] 日本大・医・細胞分子薬理，[5] 国際医療福祉大学・理学療法科）

２型リアノジン受容体（RyR2）は筋小胞体上の Ca2+遊離チャネルで, 心筋の興奮収縮連関に重要な役割を果たしている。RyR2 のリン酸化やアミノ酸変異による活性亢進は自発的 Ca2+遊離を惹起し，不整脈を誘発する事が報告されている。したがって RyR2 を抑制する薬物は抗不整脈効果が期待されるが, これまで RyR2 の特異的阻害薬はまだ報告されていない。最近我々は，HEK293 細胞の小胞体 Ca2+モニタリングを利用した大規模スクリーニングにより RyR2 阻害薬を探索し，4 種類の化合物を見出した。今回, 非心筋および心筋細胞に対するそれらの化合物の効果を調べたので報告する。RyR2 発現 HEK293 に作用させたところ，4 種類の薬物は RyR2 による自発的な Ca2+オシレーションを可逆的あるいは不可逆的に停止させた。次にこれらの化合物を拡張型心筋症（DCM）モデルマウス（Tnnt2 ΔK210）の心筋に作用させた。この DCM マウス心筋は RyR2 リン酸化の亢進や Ca2+スパークの増加が見られ，Ca2+トランジエント後に自発活動が起こりやすい。4 種類の化合物のうち 1 種類は，活動電位の発生自体を抑制し使用できないことが分かった。残りの３種類の化合物は Ca2+トランジエント後の自発活動を減少させることが出来た。以上よりこれらの化合物は RyR2 の活性化が関与する不整脈を改善させる可能性が示唆された。

（25）糖尿病性心筋症早期ステージにおける HFpEF の分子機序

○三上義礼 [1]，伊藤雅方 [1]，濵口正悟 [2]，村上慎吾 [1,3]，冨田太一郎 [1]，
大島大輔 [1]，行方衣由紀 [2]，田中　光 [2]，赤羽悟美 [1]
（[1] 東邦大・医・生理学・統合生理，[2] 東邦大・薬・薬物学，[3] 中央大・理工・電気電子情報通信工学科）

糖尿病性心筋症の特徴的所見として，早期における左室拡張障害が挙げられる。心筋細胞 Ca2+シグナル制御の破綻が原因のひとつと考えられているが，分子機序は不明である。そこで，左室拡張障害に関わる Ca2+シグナル異常の分子機序解明を目的として，ストレプトゾトシン（STZ）誘発糖尿病モデルマウスを用いて解析を行った。

心エコー解析から STZ 投与４週後のマウス（STZ-4W）は駆出率が保たれた左室拡張不全に起因した心不全（HFpEF）の病態を呈していた。STZ-4W 群の心室筋ではホスホランバン（PLN）-Ser16 の基底状態におけるリン酸化レベルが低下していた。PLN-Ser16 は PKA リン酸化部位として知られているが，STZ-4W 群心室筋においてβAR の発現および応答の低下は認められなかった。STZ 投与１週後からインスリンを持続投与したところ，血糖値が回復すると共に PLN リン酸化レベルも回復した。STZ-4W 群の摘出心室筋において弛緩時間の延長が認められたのに対し，インスリン投与群ではコントロールレベルまで回復した。さらに，初代培養心筋細胞において PLN リン酸化レベルはインスリンおよび PKG に依存していた。

以上の結果より，糖尿病性心筋症早期において，インスリン・シグナルの欠乏が PLN-Ser16 のリン酸化レベルの低下と Ca2+再取り込みの遅延を来すことによって HFpEF の病態を招くことを明らかにした。

（26）APJ リガンド ELABELA による ACE 制御を介した心不全改善作用

○佐藤輝紀[1,2]，山口智和[1]，門脇歩美[1]，渡邊博之[2]，今井由美子[3]，久場敬司[1]
（[1]秋田大・院・医学系研究科・分子機能学・代謝機能学，
[2]秋田大・院・医学系研究科・循環器内科学，[3]医薬基盤・健康・栄養研究所）

Apelin-APJ システムは心臓において強力な陽性変力作用，心保護的作用に加えて血管新生の誘導など多彩な生理作用が報告されている(Circ Res 2007)。また，Apelin は ACE2 の基質であることが知られてきたが，私達はこれまでに心機能調節において Apelin が ACE2 の陽性調節因子であることを報告してきた(JCI 2013)。最近，Apelin 以外の新規 APJ リガンド ELABELA (Toddler/Apela, 以下 ELA)が同定され，ゼブラフィッシュにおいて心臓発生に重要な役割を担うことが相次いで示された(Dev Cell 2013, Science 2014)。そこで私達は ELA の生理的な意義を解明すべく，野生型マウスに ELA ペプチド投与実験を行った。野生型マウスのベースラインにおいては心収縮能や心体重比に有意な変化を認めなかったが，横行大動脈縮窄術(TAC)による圧負荷モデルにおいては，Vehicle 群に比較して ELA 投与群では有意に心肥大や線維化が抑制された。また，APJ KO マウスを用いて同様の TAC 実験を行った結果，APJ KO マウスにおいては，ELA による心保護効果を認めなかった。つまり，ELA は APJ 受容体依存的に心保護効果を発揮していることが分かった。ELA を投与したマウスの心臓において，アンジオテンシン変換酵素(ACE)の発現が有意に抑制されていたことから，ACE あるいは ACE2 のプロモーターのレポーターアッセイを行ったところ，Apelin とは異なり，ELA は濃度依存性に ACE の転写活性を抑制した。一方で，ACE2 の転写活性への影響は小さかった。ELA は FoxM1 転写因子の発現抑制を介して，ACE の発現を抑制することが分かった。さらに，レニン-アンジオテンシン系と ELA-APJ 軸の相互作用を探索するため，アンジオテンシン II (Ang II)と ELA の同時投与実験を行ったところ，Ang II 投与にて誘導される心肥大や血圧の上昇は，ELA によって有意に抑制された。それらの心肥大抑制効果は単離心筋細胞レベルでも再現されていた。以上の結果から，ELA は ACE を転写性に制御し，RAS 系の亢進を抑制することで心保護効果を発揮することが分かった。

（27）心筋梗塞におけるプロトン感知性受容体 GPCR(GPR4) の役割解析

○伊藤峻太，萩原　柾，渡　健治，長坂明臣，仲矢道雄，黒瀬　等
（九州大・院・薬学研究院・薬効安全性学分野）

心筋梗塞が起こると梗塞部位における pH が低下することが知られているが，心筋梗塞後の病態にどのような影響を及ぼしているかについては不明な点が多い。そこで, pH の低下により活性化するプロトン感知性 GPCR である GPR4 に着目し，心筋梗塞時における pH 低下の生理的意義を解析した。

GPR4 が心筋梗塞後の病態に与える影響を調べるため，マウス心臓における GPR4 発現細胞を検証したところ，血管内皮細胞に高発現していることが明らかになった。血管内皮細胞は細胞接着分子を発現することで，炎症の発端となる白血球の浸潤を促し，炎症を増悪させることが知られている。そこで，野生型(WT)マウスと GPR4 欠損(KO)マウスに心筋梗塞処置を施し，細胞接着分子の発現量を比較したところ，GPR4KO マウスでは発現が顕著に抑制されていた。実際に，GPR4KO マウスでは好中球の浸潤量やサイトカイン発現量が顕著に減少しており，心筋梗塞後の炎症応答が減弱していることが明らかになった。続いて，GPR4 に起因する炎症応答の違いが，実際に心筋梗塞後の病態に与える影響を検証した。その結果，GPR4KO マウスでは心機能が改善しており，線維化についても有意に抑制されていることを見出した。

本研究により，心筋梗塞時に低下する pH は GPR4 を活性化させ，細胞接着分子の発現を増加させることで，炎症応答の発端となることを見出した。その結果，好中球の浸潤をはじめとする炎症応答が引き起こされ，病態の悪化へとつながることが明らかになった。

（28）新規 TRPC3-Nox2 複合体阻害剤の探索および抗がん剤副作用軽減効果の検証

○藤本泰之 [1]，西山和宏 [2]，赤司壮一郎 [3]，冨田拓郎 [4,5]，田中智弘 [4]，西村明幸 [2]，西田基宏 [2,4,5]
([1] 大阪府立大・院・生命環境科学研究科・獣医応用薬理学,
[2] 九州大・院・薬学研究院・創薬育薬研究施設統括室，[3] 九州大・院・薬学研究院・生命物理化学,
[4] 生命創成探究センター（生理学研究所）心循環ダイナミズム創発研究グループ，[5] 総合研究大学院大学)

抗がん剤を用いた化学療法は，全身性のがんに対して有効な治療法であるが，抗がん剤の長期投与は副作用として正常組織の機能不全を引き起こし，抗がん剤治療継続の障害となる。ドキソルビシンをはじめとするアントラサイクリン系薬剤は，広いスペクトルムにより多様ながんに有効である一方で，心筋・骨格筋の萎縮や腎障害，免疫機能の低下などの副作用により，高容量での使用が制限される。副作用の中でもドキソルビシンの累積投与に伴う心筋症の発症リスクの増加が治療継続の制限となることが少なくない。当研究グループではこれまでにドキソルビシン投与による心筋毒性発症機序として，Transient receptor potential canonical 3（TRPC3）と活性酸素種（ROS）生成酵素である NADPH oxidase 2 （Nox2）の複合体形成を介した ROS 産生が病態形成に重要であり，TRPC3-Nox2 複合体形成阻害がドキソルビシン心筋症の新規治療標的となる可能性を見出した。そこで，本研究では TRPC3-Nox2 複合体形成阻害を介した抗がん剤毒性軽減薬の探索を目的とし，既承認薬ライブラリーを用いたスクリーニング系の構築およびヒット化合物の有効性の検証を行った。独自のスクリーニング系により既承認薬ライブラリー1280 種類の化合物の中から心筋細胞毒性を抑制する化合物 17 種類を見出した。さらにヒット化合物の中から細胞毒性に対する保護作用が高く，骨格筋細胞および免疫系細胞に対する毒性も抑制する既承認薬 X を同定した。この既承認薬 X はドキソルビシンのがん細胞に対する抗がん作用を阻害せず，またシスプラチンなどの他の抗がん剤による細胞毒性も有意に抑制した。以上のことから，既承認薬 X は抗がん剤の抗がん作用を阻害することなく全身性の副作用を軽減する新規治療薬としての応用が期待される。

（29）TRPM7 ドミナントネガティブ変異体導入マウスの特性解析

○喜多　知[1]，田頭秀章[1]，沼田朋大[2]，喜多紗斗美[1,3]，岩本隆宏[1]
（[1]福岡大・医・薬理学，[2]福岡大・医・生理学，[3]徳島文理大・薬・薬理学）

マグネシウムイオン（Mg2+）は生体機能の調節・維持に必須の 2 価カチオンであり，Mg2+制御異常は心血管病など様々な疾患に関係することが知られている。近年，Mg2+輸送体･チャネルの候補分子が種々報告されているが，これらの生理学的役割や病態学的意義については未だ不明な点が多い。我々は，Mg2+透過性の非選択性陽イオンチャネル TRPM7 の Mg2+制御機能を in vivo 解析する目的で, TRPM7 のドミナントネガティブ変異体を遺伝子導入したトランスジェニックマウス（TRPM7DN-Tg）を作製した。構築したドミナントネガティブ変異体の野生型 TRPM7 に対する機能抑制効果は，HEK293 細胞共発現系を用いた whole-cell patch clamp 法により確認した。腎尿細管特異的な TRPM7DN-Tg では, 尿中 Mg2+排泄量の増加および血中 Mg2+濃度の低下が認められた。また，TRPM7DN-Tg の摘出大動脈標本では, アゴニスト刺激時の血管収縮反応の減弱が観察された。一方，TRPM7DN-Tg に高マグネシウム食を 4 週間摂取させると, この血管収縮反応の減弱は正常化された。これらの結果は，TRPM7 が生理学的に重要な Mg2+制御機能を有することを支持している。

（30）肝細胞における脂質転移タンパク質と PC 産生酵素による脂肪滴形成促進機構

○伊藤雅方，冨田太一郎，三上義礼，大島大輔，赤羽悟美
（東邦大・医・生理学・統合生理学）

STARD10（Steroidogenic acute regulatory protein- related lipid transfer domain containing 10）は in vitro の実験でホスファチジルコリン（PC）等のリン脂質を脂質膜間で転移させる活性を有することが報告されている。NASH 発症過程における STARD10 の役割を明らかにすることを目的として，Stard10 遺伝子欠損マウス（Stard10-/-）にコリン欠乏食負荷を行い NASH の誘導を行い，検討した。その結果，Stard10-/-において野生型（WT）マウスに比べて肝臓への脂肪蓄積が有意に低下し，脂肪滴の直径も小さかった。炎症や線維化のマーカー遺伝子の発現を解析したところ，Stard10-/-マウスではそれらの遺伝子発現上昇が WT マウスに比べて有意に抑制されていた。また，NASH モデルマウスの肝臓において, リゾ PC から PC を産生する酵素である LPCAT1（lysophosphatidylcholine acyl- transferase 1）の発現が上昇していた。肝臓の脂肪滴画分に LPCAT1 及び STARD10 が検出され，両者の脂肪滴における共局在が示唆された。そこで，NASH 発症過程において STARD10 が LPCAT1 と協調して脂肪滴形成を促進するという仮説を立て，その検証を行った。マウス肝癌由来 Hepa1-6 細胞は内在性の Stard10 を発現するが LPCAT1 を発現していない。Hepa1-6 細胞に Stard10 と LPCAT1 を強制発現させたところ，両者は脂肪滴表面において共局在し, pull-down 実験により相互作用することが確認された。Hepa1-6 細胞に LPCAT1 を強制発現させたところ，小さい脂肪滴（直径 0.2 μm^2 以下）の割合が増加した。さらに STARD10 の強制発現により大きい脂肪滴（直径 0.6 μm^2 以上）の形成が促進された。

以上の結果より，STARD10 が LPCAT1 と協調して脂肪滴形成を促進し，NASH を誘導することが示された。

（31）肺動脈性肺高血圧症における PDGF 誘発性 Ca2+感受性受容体の発現制御機構の解明

○山村　彩，Md Junayed Nayeem，高橋理恵，林　寿来，佐藤元彦（愛知医科大・医・生理学）

肺高血圧症分類の第 1 群であり，最も典型的な臨床像を示す肺動脈性肺高血圧症（難病）の主な原因は，肺動脈平滑筋の攣縮と肺血管リモデリングの亢進である。我々は，細胞外 Ca2+濃度を感知する Ca2+感受性受容体（CaSR）の発現増加および機能増強が，肺動脈性肺高血圧症の肺血管リモデリングに関与していることを明らかにした。しかし，CaSR の発現増加に関与する分子機構は，依然として不明である。本研究では，肺動脈性肺高血圧症において，血中濃度が増加する血小板由来成長因子（PDGF）に着目し，CaSR の発現を制御するシグナル経路の解明を目指した。正常ヒト肺動脈平滑筋細胞（Normal-PASMCs）を血小板由来成長因子（PDGF）で刺激すると，CaSR の発現増加が認められた。特発性肺動脈性肺高血圧症患者由来の肺動脈平滑筋細胞（IPAH-PASMCs）における PDGF 受容体の発現を解析した結果，PDGFα 受容体と PDGFβ 受容体が高発現し，その下流リン酸化シグナルの持続的な活性化が認められた。さらに，IPAH-PASMCs において，PDGF 受容体を siRNA 法によりノックダウンすると，CaSR の発現が抑制された。また，PDGF 受容体の阻害薬であるイマニチブ投与によっても，PDGF 誘導性 CaSR 発現亢進が抑制された。以上の結果，肺血管リモデリングを亢進させる CaSR の発現調節機構に PDGF シグナルが関与していることが示唆された。

（32）血管平滑筋における興奮-転写連関に対するカベオラの役割

○小澤拓海，鈴木良明，今泉祐治，山村寿男（名古屋市立大・院・薬学研究科・細胞分子薬効解析学）

背景：　平滑筋において，カベオリン（cav）1 は細胞膜上にカベオラという窪み構造を形成する。cav1 は電位依存性 Ca2+チャネルやリアノジン受容体などの分子群を集積させてカベオラ内に Ca2+マイクロドメインを作り出し，興奮-収縮連関に寄与する。また，電位依存性 Ca2+チャネルを介した Ca2+流入は CREB などの転写因子の活性化（興奮-転写連関）により，遺伝子発現を誘導することが知られている。この興奮-転写連関におけるカベオラ構造の役割は不明である。

目的：　平滑筋におけるカベオラ構造と興奮-転写連関の関係を明らかにすることを目的とした。

結果：　マウス腸間膜動脈平滑筋の組織標本に対して脱分極刺激（60 mM KCl）を与えた際の，リン酸化 CREB 陽性細胞数を測定した。その結果，カベオラ構造が欠損した cav1-KO マウス由来組織，およびメチル β シクロデキストリンによりカベオラ構造を破壊した組織において，リン酸化 CREB の核移行が減少することが明らかとなった。さらにテトラカインによってリアノジン受容体を阻害した場合もリン酸化 CREB の核移行が減少した。

考察：　カベオラ構造内での Ca2+マイクロドメイン形成が，血管平滑筋細胞における興奮-転写連関において重要な役割を担うことが示唆された。本機構は血管構造の維持やリモデリングに関係すると推測される。

（33）骨格筋形成における筋芽細胞融合のシグナルの解明

○山口君空，冨田太一郎，三上義礼，伊藤雅方，大島大輔，赤羽悟美（東邦大・医・生理学・統合生理学）

背景および目的：　骨格筋の発生と再生の過程では，単核の筋芽細胞が細胞融合することで多核の長い筋線維が生じる。近年，筋芽細胞の融合を担う分子（融合因子）が同定されたが，その制御メカニズムは未だ不明で

ある。そこで，融合因子制御の細胞内シグナルを明らかにすることを目的として本研究を遂行した。

方法：　マウス筋芽細胞 C2C12 株を用いた筋分化モデル系を構築し，遺伝子発現および細胞形態をそれぞれ qRT-PCR 法，western-blot 法および calcein-hoechst 蛍光染色法により解析した。遺伝子欠損株は CRISPR/Cas9 法を用いて作製した。

結果および考察：　C2C12 細胞株に筋分化誘導刺激を行うと，その 24 時間後以降に融合因子(Myomaker, Minion)の mRNA 発現増加を認めた。筋形成に関わる各 MAP キナーゼの阻害薬を用いて検討した結果，特に p38MAPK 活性に依存して融合因子の mRNA 発現量および多核細胞の割合が増加することを見出した。しかし一方で, p38 阻害条件下でも細胞形態の伸長および cTnT の発現増加を生じており，細胞融合とは独立に，一定の細胞分化が進行することが示唆された。実際，Minion の発現を欠損する細胞株を作製し筋分化誘導刺激を行ったところ，細胞融合は有意に抑制されたが，cTnT の発現は WT 株と同様に生じていた。したがって，細胞融合は p38 依存的な融合因子の遺伝子発現を介して, cTnT 発現や細胞伸長などの分化制御とは独立の経路で制御されることが明らかとなった。

（34）血管平滑筋細胞の形質転換に伴うジャンクトフィリンの機能的な役割の変化

○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・院・薬学研究科・細胞分子薬効解析学，
[2]京都大・院・薬学研究科・生体分子認識学）

収縮型の血管平滑筋細胞では，筋小胞体（SR）膜上のリアノジン受容体を介した自発 Ca2+放出が, 近傍の細胞膜（PM）上の BKCa チャネルを活性化させることにより膜電位を過分極させ，筋緊張を負に制御する。我々は，PM-SR 膜間を架橋する構造タンパク質・ジャンクトフィリン 2（JP2）が，この機構を効率化するシグナルドメイン（Ca2+マイクロドメイン）を形成することを報告してきた。平滑筋は収縮型から合成型へと形質転換することで細胞増殖が亢進することが知られており，様々な病態に関与する。本研究では，ラット由来の大動脈平滑筋細胞を培養して誘導した合成型血管平滑筋細胞を用いて，平滑筋の形質転換に伴う JP2 の機能的な役割の変化を解析した。リアルタイム PCR 法により，合成型平滑筋における JP2 の mRNA 発現量が収縮型と比較して有意に増加した。siRNA によって合成型平滑筋の JP2 をノックダウンすると，ストア作動性 Ca2+流入が有意に減少した。さらに JP2 をノックダウンした合成型平滑筋は，コントロールと比較して細胞増殖が有意に抑制された。以上より，JP2 は合成型平滑筋において，細胞増殖を導く Ca2+マイクロドメインを形成することが示唆された。すなわち，収縮型から合成型への形質転換に伴い，血管平滑筋細胞において JP2 が担う機能的な役割が変化することが明らかとなった。

（35）G-CaMP6 トランスジェニックマウスを用いた in vivo カルシウムイメージングによる腸管神経系の機能解析

○茂木優貴[1,2]，佐藤正晃[1,2,3]，堀口和秀[4]，大倉正道[1,2,5]，安藤恵子[1,2,3]，池谷裕二[6,7]，
房前裕順[8]，本郷良泳[8]，鈴木　稔[8]，小川公一[8]，高木　都[9]，中井淳一[1,2,3,10]
（[1]埼玉大・院・理工学研究科，[2]埼玉大・脳末梢科学研究センター，
[3]理化学研究所 脳神経科学研究センター，[4]福井大・医，
[5]九州保健福祉大・薬，[6]東京大・院・薬学系研究科，
[7]情報通信研究機構・脳情報通信センター，[8]塩野義製薬 ㈱，
[9]奈良県立医科大・医，[10]理化学研究所・革新知能統合研究センター）

腸管神経系(ENS)は，約 1 億個の神経細胞が網目状のネットワークを形成しており，蠕動運動や分泌などの腸管の機能を自律的に制御することができる。従来の ENS のカルシウムイメージングの多くは動物から単離した標本を用いて行われているが, ENS と中枢神経系（CNS）との間には感覚神経と自律神経を介した双方向性の連絡があることから，摘出標本を用いたイメージングから in vivo での ENS の機能を推定して理解することには限界がある。今回我々は，ENS で蛍光カルシウムセンサータンパク質 G-CaMP6 と赤色蛍光タンパク質 mCherry を共発現する新しいトランスジェニックマウス系統を用いて, 生きたマウスにおける ENS の活動を共焦点または二光子レーザー顕微鏡でイメージングする新しい方法を確立した。この方法を用いて我々は，ウレタン麻酔下の筋層間神経叢の自発活動，およびセロトニン局所投与によるその神経活動頻度の変化には，神経細胞のサイズと解剖学的位置によって違いがあることを見いだした。生体内の血管・神経走行を維持したまま ENS の活動を高解像度でイメージングできる本手法は, 今後の ENS の疾患研究における極めて有用な手法になると考えられる。

（36）血管平滑筋細胞において Mitofusin2 はミトコンドリア機能維持に寄与する

○稲垣　奏，鈴木良明，今泉祐治，山村寿男
（名古屋市立大・院・薬学研究科・細胞分子薬効解析学）

血管平滑筋細胞の Ca2+動態において, ミトコンドリアの Ca2+取り込み能が重要であることが知られている。しかし, ミトコンドリアへの Ca2+取り込みを担うミトコンドリア Ca2+単輸送体（MCU）は Ca2+親和性が非常に低い。そこで我々はミトコンドリアと細胞内 Ca2+貯蔵部位である小胞体（ER）とを繋ぐ Mitofusin2（Mfn2）に着目し，血管平滑筋細胞における Mfn2 の ER-ミトコンドリア Ca2+シグナルへの関与およびその生理的意義について解析した。

ラット胸部大動脈より平滑筋細胞を単離し，Mfn2 siRNA を用いて Mfn2 をノックダウンした。この細胞のミトコンドリアおよび SR をそれぞれ可視化し，共局在率を解析した結果, Mfn2 ノックダウンにより共局在率が有意に低下した。続いて，ミトコンドリア内 Ca2+濃度測定試薬 Rhod-2 を負荷し，ミトコンドリア内 Ca2+解析を行った結果，Mfn2 のノックダウンにより，ミトコンドリア Ca2+取り込みピーク値の低下およびピークまでの時間の延長が認められた。続いて，ミトコンドリア内 ATP 量の変化を解析したところ, Mfn2 ノックダウンによりミトコンドリア内 ATP 量が減少することが示された。

以上から，血管平滑筋細胞において Mfn2 は，SR-ミトコンドリア間の距離を調節することにより Ca2+シグナルを制御し，これがミトコンドリア機能の維持に重要であることが示唆された。

（37）ミトコンドリア Na+-Ca2+交換の電気生理学的測定

○モハメド・モイヌル・イスラム，竹内綾子，松岡　達
（福井大・院・医学系部門・形態機能医科学・統合生理学）

ミトコンドリアマトリクス Ca2+は，ミトコンドリア Ca2+ユニポータ（MCU）を介する流入と，ミトコンドリア Na+-Ca2+交換，あるいはミトコンドリア H+-Ca2+交換を介する流出のバランスで決定される。我々は，ミトコンドリア膜電位感受性色素を用いた解析によって，ミトコンドリア Na+-Ca2+交換が起電性であることを報告した（Kim and Matsuoka, J Physiol, 2008）。しかし，その詳細な特性を明らかにするには，電気生理学的解析が必須である。本研究では，ミトコンドリア Na+-Ca2+交換電流の検出を目的として，単離ミトコンドリアを用いて検討を行った。

マウス心臓ならびに腎臓からミトコンドリアを単離し，低浸透圧処理によってミトコンドリア外膜を除去したミトプラストを調製した。ホールミトプラストパッチクランプ実験では，ミトコンドリア外側への 1 mM Ca2+の添加により，内向き MCU 電流が記録された。一方，インサイドアウトパッチを作成し，ピペット内 1 μM Ca2+存在下でミトコンドリアの内側に Na+を添加したところ，逆向き Na+-Ca2+交換電流に相当する外向き電流の記録に成功した。

（38）カルシウムパラドックスによる心筋拘縮
－ラット灌流心における心筋カルシウム動態と細胞構造の解析－

万井弘基，○田中秀央（京都府立医科大・院・医学研究科・細胞分子機能病理学）

心筋 Ca2+パラドックス（以下 CaP）は，心臓を無 Ca2+液で灌流した後の Ca2+の再灌流により，Ca2+過負荷と心筋拘縮が生じる虚血・再灌流傷害モデルであるが，経時的変化の観察が困難なことからその発症機序は不明である。本研究では Ca2+蛍光指示薬 fluo3/AM と RH-237 を負荷したラット摘出潅流心にリアルタイム共焦点レーザ顕微鏡を適用し，CaP 傷害心における心筋 Ca2+動態と細胞形態を可視化・解析した。

Ca2+除去液灌流では，緩徐な細胞内伝播を示す Ca2+波が散発，細胞の間隙が開大した。続く Ca2+の再灌流では，高頻度の Ca2+波が発生，細胞は短縮し拘縮した。Ca2+再灌流による Ca2+波と拘縮はともに Ni2+や薬理学的な機械的収縮の阻害で抑止された。サポニンにより細胞内を Ca2+過負荷におくと，同様の Ca2+波が発生したが拘縮は認めなかった。免疫組織化学上，Ca2+除去により β-dystroglycan の発現が減弱し N-cadhrein の細胞間解離を認めた。

以上より CaP は，Ca2+除去による細胞間および細胞・細胞外基質間結合の破綻と，これに引き続く Ca2+再灌流による細胞内への Ca2+流入があいまって心筋細胞を拘縮させることが明らかになった。CaP による細胞内 Ca2+流入に β-dystroglycan の関与が推測される。

（39）動きベクトル解析を用いたヒト iPS 細胞由来心筋細胞の収縮－弛緩に対する薬剤作用解析

○中川桃夏，鈴木結衣，佐野優介，山口賢彦，坂本多穂，黒川洵子
（静岡県立大・薬・生体情報分子解析学）

目的：　薬剤誘発性の心室性不整脈および心機能低下は深刻な有害事象である。非臨床安全性 in vitro 試験では非心臓系細胞が用いられるが，ヒトへの外挿性を高めるために，ヒト iPS 細胞由来心筋細胞の使用が検討されて

いる。現在市販のヒト iPS 細胞由来心筋は電気的に均一の性質を示さないことが報告されているが，収縮機能については統一した見解はない。そこで本研究では心房型，心室筋型のマーカーごとに収縮特性が異なるか，そして薬剤作用が異なるかについて検討した。

方法：　マウス急性単離心筋細胞，またはヒト iPS 細胞由来心筋細胞（iCell-CM）を用いた。動画解析は，SI8000 Sony セル動作画像システムを用いて行った。その後，iCell-CM は，MLC2a 抗体と MLC2v 抗体を用いた免疫染色により心筋型を識別した。

結果および考察：　マウス心室筋細胞において，イソプロテレノールは，変形距離だけではなく収縮-弛緩速度を増加させ，収縮-弛緩時間を減少させた。ベラパミルは，変形距離と収縮-弛緩速度を減少させた。一方，心房筋細胞においては，上記薬剤の反応はともに検出されなかった。iCell-CM においても同様の結果が得られたことから，ヒト iPS 細胞由来心筋細胞を用いて心筋型を識別した薬剤評価法としての開発が期待されると考えられた。

（40）薬物誘発性不整脈の trigger への L 型カルシウムチャネル電位依存性変化の影響

○木村　暁，村上慎吾（中央大・理工・電気電子情報通信工学科）

薬物開発や臨床において大きな問題である薬物誘発性不整脈の機序は，薬物による活動電位延長という substrate と early afterdepolarization (EAD) という trigger で説明されてきた。従来は薬物の遅延整流性カリウム電流(IKr)の阻害特性と活動電位延長作用を確認して危険性を予測してきたが，それらの特性を持つ薬物の間でも薬物誘発性不整脈の危険性は大きく異なることが分かってきた。そこで我々は IKr を阻害する薬物が L 型カルシウム電流(ICaL)にも作用することにより，同じ活動電位延長時に trigger の発生する危険性の違いが生じる可能性を検討した。ヒト心室筋細胞モデルである O'Hara Rudy モデルを用い，IKr，ICaL に様々な作用を与える薬物のシミュレーションを行った。その結果，EAD 発生の危険性の違いは，ICaL の活性化特性への薬物作用の違いで説明できることが明らかになった。この検討により，薬物誘発性不整脈の危険性予測には，IKr を阻害する薬物では ICaL に対する薬物作用も確認する必要性があることが示唆された。

（41）hERG チャネルの活性化に対する合成エストロゲンの作用

○杉本真太朗[1]，田村文弥[2]，家田真樹[3]，坂本多穂[1]，黒川洵子[1]
([1]静岡県立大・薬，[2]慶應大・医，[3]筑波大・医)

目的：　心電図 QT 間隔延長を伴う薬剤誘発性の不整脈は薬物クラスによらず発症するため予測が難しく，QT 延長毒性として，医薬品開発における安全性試験の対象となっている。

この QT 延長毒性には性差があり，我々は性ホルモンが関与する分子機構を報告してきた。一部のエストロゲン類が関わる機構として，エストロゲンが有する芳香環が hERG チャネルの薬物結合部位に相互作用し，選択的 hERG 阻害剤 E-4031 の反応を増大することを見出した。現在，乳癌治療薬や経口避妊薬など多くのエストロゲン製剤が医薬品として使用されていることから，安全性管理の上で問題になることが危惧されるものの QT 延長毒性との関連は不明である。そこで，今回，経口避妊薬として多く用いられている合成エストロゲンであるエチニルエストラジオール（EE2）に注目し，hERG チャネルに対する作用を検討した。

方法：　hERG チャネルを安定発現させたヒト胎児腎由来（HEK293）細胞を，ステロイドを除去した条件で培養し，マニュアルパッチクランプ法によって，室温にて hERG 電流を測定した。エストロゲン類および E-4031 は

細胞外から投与した。

結果・考察：　細胞外より EE2 を単独で与えたところ，hERG チャネルの tail 電流値に対する作用は見られなかった。E-4031 に阻害作用を安定させた後，細胞外から EE2 を与えたところ，hERG 電流が増大し，活性化曲線を左にシフトさせた。以上より，EE2 は，E-4031 による hERG 阻害作用及び QT 延長作用を減弱することが示唆された。

（42）脳微小血管内皮細胞における TMEM16A の生理機能への寄与

○鈴木貴久，安本美貴，鈴木良明，今泉祐治，山村寿男
（名古屋市立大・院・薬学研究科・細胞分子薬効解析学）

目的：　血液脳関門は，循環血液中から脳への物質移行を制限し，脳の恒常性維持に寄与するが，その実体は脳微小血管内皮細胞（BCECs）である。しかし，血液脳関門の恒常的な機能を維持する分子基盤については殆ど不明であった。本研究では，BCECs のような非興奮性細胞において，基本的な生理機能を担当する Cl−チャネルのうち，細胞内 Ca2+濃度によって活性が制御される Ca2+活性化 Cl−（ClCa）チャネルに着目した。現在，ClCa チャネルの分子実体として TMEM16 ファミリーに属する TMEM16A に着目し，その細胞増殖機構への寄与について解析した。

方法：　ウシ脳血管内皮細胞株 t-BBEC117 細胞を用い，定量的 PCR 法，免疫染色法，電気生理学的手法，MTT 法により，TMEM16A の発現及び機能を解析した。

結果：　TMEM16 遺伝子群の発現を解析した結果，TMEM16A，F，K の mRNA 発現が認められた。その中で，ClCa チャネルとして報告されている TMEM16A に着目し，解析を進めた。電気生理学的な解析において ClCa 電流が観察され，その電流は siTMEM16A の添加により有意に抑制された。また，t-BBEC117 細胞に 100 μM ニフルミ酸および 10 μM T16Ainh-A01 を投与した結果，過分極が引き起こされたため，静止膜電位の形成に ClCa チャネルが寄与することが明らかになった。さらに，細胞増殖に対する ClCa チャネルの寄与を検討したところ，細胞増殖は阻害薬および siTMEM16A の添加によって抑制された。

結論：　TMEM16A で構成される ClCa チャネルが，BCECs において機能発現することが明らかとなり，細胞増殖に関与することが示唆された。

（43）新生内膜過形成モデルにおける IL-19 の新規調節機構の解明

○東　泰孝（大阪府立大・院・獣医・薬理）

インターロイキン（IL）-19 は IL-10 ファミリーに分類されるサイトカインである。IL-19 の主な産生細胞はマクロファージおよび B 細胞などの免疫細胞であるが，ケラチノサイトならびに上皮細胞などの非免疫細胞からも産生される。しかしながら，血管における IL-19 の関与の可能性についてはこれまで明らかにされてこなかった。そこで本研究では，IL-19 遺伝子欠損マウス（IL-19KO）を用いて頸動脈結紮に伴う新生内膜形成について検討した。IL-19KO の結紮した頸動脈は，野生型マウス（WT）と比較して有意に高い新生内膜/内膜比を示した。増加した新生内膜のメカニズムを明らかにするために，血管平滑筋細胞を用いてさらに解析を実施した。IL-19 KO 由来血管平滑筋細胞（VSMC）は WT 由来 VSMC より増殖速度が有意に速かった。次に，IL-19 KO 由来 VSMC の遊走速度も WT 由来 VSMC と比べて有意に速くなっていた。 さらに，IL-19 KO 由来 VSMC の IL-1β および TNF-α 産生能も WT 由来 VSMC と比較して有意に増加していた。以上の結果より，IL-19 は血管平滑筋の重要な調節因子であり，IL-19 は血管再狭窄の調節に保護的な役割を担う可能性が示唆された。

（44）低酸素ストレス時の脳微小血管内皮細胞は，HIF-1α-Dynamin2-Kir2.1 経路を介して細胞増殖を異常亢進させる

○山村英斗[1]，鈴木良明[1]，山村寿男[1]，浅井清文[2]，Giles Wayne3，今泉祐治[1]
（[1]名古屋市立大・院・薬学研究科・細胞分子薬効解析学，
[2]名古屋市立大・院・医学研究科・分子神経生物学，[3]カルガリー大学・運動生理学）

背景：　脳虚血時，脳微小血管内皮細胞（BCECs）が，細胞内 Ca2+濃度（[Ca2+]i）上昇と異常な細胞増殖亢進を介し，自身のバリア機能を損なわせることで，血液脳関門の破綻を引き起こすことが報告されている。しかし，低酸素ストレスによる[Ca2+]i 上昇に関与する K+チャネルについては未解明である。本研究では，低酸素培養した BCECs における[Ca2+]i 変化とそれに続く細胞増殖亢進に対する K+チャネル，特に Kir2.1 の寄与の解明を目的とした。

結果：　ウシ脳微小血管内皮細胞株 t-BBEC117 細胞を，低酸素条件下（4～5% O2）で 72 時間培養したところ，Kir2.1 の活性が上昇した。低酸素培養は，Kir2.1 の mRNA 量を変化させずに，タンパク質発現及び電流密度を上昇させた。次に，タンパク質の細胞内局在を制御する分子 Dynamin2 の発現を調べたところ，低酸素培養により mRNA 及びタンパク質発現が上昇した。Dynamin 阻害薬により，低酸素培養による Kir2.1 細胞膜発現及び電流密度上昇が有意に抑制された。さらに，低酸素培養による HIF-1α タンパク質の発現低下が，Dynamin2 の発現上昇とそれに続く Kir2.1 の細胞膜での発現上昇を引き起こした。Kir2.1 の発現上昇が，BCECs の細胞外からの Ca2+流入の増大と，それに続く細胞増殖の異常亢進に寄与することが明らかとなった。

11. TRP channel conference～免疫・炎症応答の重要な媒介分子～

2018 年 5 月 24 日－5 月 25 日

代表・世話人：白川久志（京都大学 大学院薬学研究科 生体機能解析学）
所内対応者：西田基宏（生命創成探究センター（生理学研究所）
心循環ダイナミズム創発研究グループ）

（１）TGFβ-1 シグナルを介した線維芽細胞の筋線維芽細胞への分化における TRPV2 の役割

内田邦敏[1]，石井太郎[2]，八田光世[2]，山﨑　純[3]
([1]福岡歯科大学 細胞分子生物学講座 分子機能制御学,
[2]福岡歯科大学 成長発達歯学講座 矯正歯科学分野，[3]日本大学生物資源科学部獣医学科)

（２）成長円錐内の高温部位が TRPV2 メカノセンサー機能を亢進させ発生期の神経回路形成を促進している

杉尾翔太[1]，織田麻衣[1]，岩田裕子[2]，岡部弘基[3]，小野勝彦[4]，石崎泰樹[1]，柴崎貢志[1]
([1]群馬大学医学研究科 分子細胞生物，[2]国立循環器病センター臨床研究部
[3]東京大学 薬学研究科　合成化学，[4]京都府立医科大学 神経発生)

（３）心筋症・心不全治療を目指した Ca^{2+}透過チャネル TRPV2 阻害薬の開発

岩田裕子[1]，片山義三[2]，奥野恭史[3]，若林繁夫[4]，松村　剛[5]，北風政史[1,6]
([1]国立循環器病研究センター 臨床研究部,
[2]安全試験センター (現在　日産化学 生物学科学研究所 医薬研究部) ,
[3]京都大学 医学研究科　ビッグデータ医科学，[4]大阪医科大学 薬理学,
[5]国立病院機構刀根山病院 神経内科，[6]国立循環器病研究センター 心臓血管内科)

（４）オリゴデンドロサイト前駆細胞における TRP チャネルの機能的発現と炎症時の役割

大橋佳奈[1]，出屋敷綾音[1]，永安一樹[1]，柴崎貢志[2]，白川久志[1]，金子周司[1]
([1]京都大学 薬学研究科 生体機能解析学，[2]群馬大学 医学研究科 分子細胞生物)

（５）TRPC1/C4 を介した細胞機能変化と炎症刺激

棚橋大介，伊藤友哉，村田優紀，竹澤秋穂，鈴木裕可，村木由起子，波多野紀行，村木克彦
(愛知学院大学 薬学部 細胞薬理学)

（６）TRPC6 リン酸化による下肢虚血後の血管成熟制御

冨田（沼賀）拓郎[1]，島内　司[2]，小田紗矢香[1]，西村明幸[1]，西田基宏[1,3]
([1]生命創成探究センター（生理学研究所）心循環ダイナミズム創発研究グループ,
[2]九州大学 医学研究院 麻酔・蘇生学，[3]九州大学 薬学研究院 創薬育薬研究施設統括室)

（７）Calmodulin bridging mechanism underlies negative feedback regulation of TRPC6 in podocyte cells

Onur K. Polat[1]，Masatoshi Uno[2,4]，Tran Nam Ha[3]，Hidehito Tochio[4],
Masahiro Shirakawa[2]，Masayuki X. Mori[1]，Yasuo Mori[1]
([1]Department of Synthetic and Biological Chemistry, Molecular Biology Lab, Graduate School of Engineering,
Kyoto University，[2]Department of Molecular Engineering, Graduate School of Engineering, Kyoto University,
[3]Laboratory of Environmental Systems Biology, Graduate School of Global Environmental Studies, Kyoto University,
[4]Department of Biophysics, Graduate School of Science, Kyoto University)

（８）Ca^{2+}を介したリソソームとエクソソームの開口放出機構とその病態

華山力成（金沢大学 ナノ生命科学研究所／医学系免疫学）

（９）脳疾患における TRPV4 チャネルの関与の解明

小山隆太[1]，星　雄高[1]，岡部弘基[2]，柴崎貢志[3]，船津高志[2]，松木則夫[1]，池谷裕二[1]
（[1]東京大学 薬学研究科 薬品作用学，[2]東京大学 薬学研究科 生体分析化学，
[3]群馬大学 医学研究科 分子細胞生物）

（10）マウス味覚感受性における TRPV4 チャネルの関与

松本健次郎[1]，大石晃弘[2]，辻　雅裕[1]，長澤一樹[2]，富永真琴[3]，加藤伸一[1]
（[1]京都薬科大学 薬物治療学，[2]京都薬科大学 衛生化学，[3]生命創成探究センター 細胞生理）

（11）口腔粘膜の痛みと TRPV4 発現

吉本怜子[1,2,3]，合島怜央奈[4]，大山順子[5]，吉住潤子[6]，清島　保[2]，城戸瑞穂[1,2]
（[1]佐賀大学 医学部 組織神経解剖，[2]九州大学 歯学研究科 口腔病理，
[3]九州大学 歯学研究科 歯周病学，[4]佐賀大学 医学部 組織神経解剖）

（12）TRPV6 はヒト胎盤における母子間 Ca^{2+}輸送に関与する

鈴木喜郎[1,2]，デイビット チタヤト[3]，澤田浩武[4]，西村　玄[5]，富永真琴[1,2]
（[1]生命創成探究センター（生理学研究所）温度生物学，[2]総研大 生理科学，
[3]トロント大学病院，[4]宮崎大学 医学部，[5]都立小児総合医療センター）

（13）TRPM2 チャネルを介した腫瘍関連マクロファージの機能制御

植田誉志史，山田優司，黒木隆平，森　泰生（京都大学 工学研究科 合成・生物化学）

（14）TRPA1 は組織障害による急性炎症の進展を促進する

桑木共之[1]，長谷川麻衣子[2]，向原桂香[2]，山田知嗣[2]，上村裕一[2]
（[1]鹿児島大学 医歯学総合研究科 統合分子生理学，[2]鹿児島大学 医歯学総合研究科 侵襲制御学）

（15）Characterization of TRPA1 from disease vector mosquitoes

Tianbang LI[1,2,3]，Claire T. SAITO[2,3]，Shigeru SAITO[1,2,3]，Makoto TOMINAGA[1,2,3]
([1]Department of Physiological Sciences, SOKENDAI,
[2]Division of Cell Signaling, National Institute for Physiological Sciences (NIPS),
[3]Thermal biology group, Exploratory Research Center on Life and Living Systems (ExCELLS))

（16）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と STIM/ORAI サブタイプ

宮津　基，高井　章（旭川医科大学 生理学講座・自律機能分野）

（17）鳥類忌避剤 Pulegone による侵害受容性 TRP チャネル活性化

眞境名　梓[1]，高橋賢次[1]，斎藤　茂[1]，富永真琴[2]，太田利男[1]
（[1]鳥取大学 農学部 獣医薬理，[2]生命創成探究センター 細胞生理）

（18）X 線 1 分子追跡法と X 線輝点明滅法による TRPV1 の作動機構解析

藤村章子[1]，三尾和弘[1]，倉持昌弘[2]，池崎圭吾[2]，松原　賢[2]，関口博史[3]，久保　泰[1]，佐々木裕次[2]
（[1]産総研先端オペランド計測 OIL，[2]東京大学 新領域創成科学研究科，
[3]高輝度光科学研究センター SPring-8）

（19）心リモデリングにおける活性酸素の産生と TRPC3/6 チャネルの役割

小田紗矢香[1,2]，冨田拓郎[1,2]，西村明幸[1,2]，西田基宏[1,2,3]
（[1]生命創成探究センター（生理学研究所）心循環ダイナミズム創発研究部門，
[2]総合研究大学院大学，[3]九州大学 薬学研究院 創薬育薬研究施設統括室）

（20）マウス慢性脳低灌流モデルにおける TRPM2 の病態生理学的役割

宮之原遵[1]，抱　将史[1]，永安一樹[1]，森　泰生[2]，白川久志[1]，金子周司[1]
（[1]京都大学 薬学研究科 生体機能解析，[2]京都大学 工学研究科 合成・生物化学）

（21）スフィンゴシン-1-リン酸誘発アストロサイト活性化機構における TRPC6 を介した Ca^{2+}シグナリングの寄与

白川久志，勝本るみ，藤田沙也香，永安一樹，金子周司
（京都大学 薬学研究科 生体機能解析）

（22）TRPM4 channel is involved in cellular damage caused by simulated ischemia-reperfusion injury: study of human iPSC-derived cardiomyocytes

Chen Wang，Heng Wei，Keiji Naruse，Ken Takahashi
（Department of Cardiovascular Physiology, Graduate School of Medicine, Dentistry, and Pharmaceutical Sciences, Okayama University）

【参加者名】

伊藤　理（愛知医科大学），岩田裕子（国立循環器病研究センター），植田誉志史（京都大学大学院），宇治澤知代（生命創成探求センター），内田邦敏（福岡歯科大学），大神信孝（名古屋大学大学院），太田利男（鳥取大学），大橋佳奈（京都大学），岡田泰昌（独立行政法人国立病院機構村山医療センター），岡本浩明（小林製薬 ㈱），越阪部奈緒美（芝浦工業大学），押野玲奈（名古屋大学大学院医学系研究科），小田紗矢香（生理学研究所），抱　将史（京都大学），金子周司（京都大学），上村雄一郎（小野薬品工業 ㈱），城戸瑞穂（佐賀大学），Nguyen Thi Hong Dung（生理学研究所），栗田祐希（京都大学），黒木隆平（京都大学）桑木共之（鹿児島大学），桑田沙織（京都大学），小谷拓史（京都大学），後藤拓実（九州大学），小山隆太（東京大学），齋藤　茂（生理学研究所）佐藤幸治（生命創成探究センター），柴崎貢志（群馬大学大学院），下田　翔（総合研究大学院大学），白川久志（京都大学），鈴木喜郎（生命創成探究センター），曽我部隆彰（生理学研究所），高井　章（旭川医科大学），高根俊輔（小林製薬 ㈱），高山靖規（生命創成探求センター），田中智弘（生理学研究所），Derouiche Sandra（National Institute for Physiological Sciences），戸堀翔太（京都大学），冨田拓郎（生命創成探究センター），富永真琴（生理学研究所），中川靖幸（京都大学），永田　龍（大阪大学），成瀬恵治（岡山大学），西田基宏（生理学研究所），西村明幸（生理学研究所），西山和宏（九州大学），萩原周平（日産化学工業 ㈱），華山力成（金沢大学），桧山武史（基礎生物学研究所），平澤輝一（生物学研究所），FENG XZAONA（生物学研究所），福士勇人（独立行政法人国立病院機構村山医療センター），福田陽大（芝浦工業大学），藤田沙也香（京都大学），藤村章子（産業技術総合研究所），藤本泰之（生理学研究所），He Tingchao（名古屋大学大学院医学系研究科），ポラットオノー（Kyoto University Graduate School of Engineering）前田翔也（九州大学），増満えみ（医薬品医療機器総合機構），松村宏治（大阪大学大学院），松本健次郎（京都薬科大学），三尾和弘（産業技術総合研究所），宮津　基（旭川医科大学），村木克彦（愛知学院大学），森　泰生（京都大学），森　誠之（京都大学），森内健史（京都大学），森嶋美沙（京都大学），山野井　遊（生理学研究所），吉本怜子（九州大学），李　天邦（生理学研究所），王　晨（岡山大学）

【概要】

２０１８年５月２４日及び２５日に研究会が行われた。２２題の発表があり，そのうち１５題は口頭発表形式で，７題はポスター発表形式で行った。特別講演の２題は本年のテーマである「免疫・炎症応答の重要名媒介分子」に関する内容であり，一般講演については TRPC チャネルについて６題，TRPV チャネルについて８題，TRPM チャネルについて４題，TRPA チャネルについて３題であった。毎年，新しい TRP チャネル研究者が集うことから，このチャネル研究の広さをあらためて実感するとともに，さらに本年は免疫応答に関するスペシャリストを招きご講演いただくことで，お互いの研究内容についての有意義な討論・情報交換が行われた。具体的には，初日は福岡歯科大の内田（以下敬称略）が繊維芽細胞の分化における TRPV2 の役割を，群馬大の柴崎が発生器の神経回路における TRPV2 の役割を，国立循環器病センターの岩田が心筋症の病態に対する TRPV2 阻害薬の開発経緯を発表した。続いて，京都大の大橋がオリゴデンドロサイト前駆細胞の機能における TRPV4 の役割を，愛知学院大の村木がヒト滑膜線維芽細胞における TRPC1/C4 の重要性を，生命創成探究センター（生理学

研究所）の冨田が血管成熟制御機構における TRPC6 リン酸化の意義を，京都大の Polat がポドサイトにおける TRPC6 の制御機構を発表した。

特別講演では，金沢大学 ナノ生命科学研究所／医学系免疫学の華山力成が，リソソームの開口放出を促進する myoferlin に関する知見と，エクソソームがグリア細胞に取り込まれた結果発症する神経変性に関する知見を発表した。次いで，東京大学薬学研究科の小山隆太が，脳浮腫およびてんかんにおける TRPV4 の役割について概説し，どちらも脳内の局所温度上昇が TRPV4 の開口に関与することを明らかにした。

翌日は，京都薬科大の松本が味覚の感受における TRPV4，佐賀大の城戸が口腔粘膜における TRPV4，生命創成探究センター（生理学研究所）の鈴木が胎児の骨形成における TRPV6 の生理学的または病態生理学的役割について発表した。続いて京都大の植田が腫瘍関連マクロファージにおける TRPM2 の役割を，鹿児島大の桑木が急性炎症の進展における TRPA1 の役割を，福岡大の倉原がクローン病における TRPA1 の役割を，Exploratory Research Center on Life and Living Systems (ExCELLS)の Li が蚊の TRPA1 に関する知見をそれぞれ発表した。

２日間通したポスター発表では，旭川医大の高井がウシ毛様体平滑筋におけるカチオンチャネルの役割を，鳥取大の太田が鳥類忌避剤 Pulegone の作用点としての TRPA1 の役割を，産総研の藤村がカプサイシンおよび熱刺激に対する TRPV1 の作動機構を，生命創成探究センター（生理学研究所）の小田が心臓リモデリングにおける TRPC3/6-Nox2 三者複合体の意義を報告した。さらに京都大の抱は慢性脳低灌流に伴う認知機能障害における TRPM2 の役割を，京都大の白川は S1P 誘発アストロサイト活性化機構における TRPC6 の役割を，岡山大の Wang は心筋細胞の虚血性傷害における TRPM4 の役割を報告した。いずれもレベルの高い発表であり，日本における TRP チャネル研究のさらなる発展を確信した。

（1）TGFβ-1 シグナルを介した線維芽細胞の筋線維芽細胞への分化における TRPV2 の役割

内田邦敏[1]，石井太郎[2]，八田光世[2]，山﨑　純[3]
（[1]福岡歯科大学 細胞分子生物学講座 分子機能制御学，
[2]福岡歯科大学 成長発達歯学講座 矯正歯科学分野，[3]日本大学生物資源科学部獣医学科）

TGF-β1 を介した線維芽細胞から筋線維芽細胞への分化が創傷治癒時の瘢痕収縮に関与することが知られている。本研究は，線維芽細胞から筋線維芽細胞への分化並びに瘢痕収縮における TRPV2 チャネルの役割を明らかにすることを目的とした。創傷治癒時に起きるケラチノサイトの重層化と皮膚の収縮を再現したモデルとして，ラット真皮由来線維芽細胞をコラーゲンゲル中に包埋し，表皮より単離したケラチノサイトをゲル上に播種した三次元培養モデルを使用した。その結果，ゲル収縮並びに筋線維芽細胞のマーカーである α-SMA 発現量の増加は，TRPV2 阻害薬の処置により抑制された。ケラチノサイトを播種していないコラーゲンゲルにおいても，TGF-β1 処置によるゲル収縮が TRPV2 阻害薬によって抑制された。また，TGF-β1 処置により線維芽細胞の TRPV2 発現量が増大した。さらに，創傷を加えた皮膚組織において，創傷部位周囲にみられる α-SMA 陽性細胞に TRPV2 チャネルの発現が認められた，以上の結果より，線維芽細胞に発現する TRPV2 チャネルが創傷治癒モデルの収縮に関与することが明らかとなった。

（2）成長円錐内の高温部位が TRPV2 メカノセンサー機能を亢進させ発生期の神経回路形成を促進している

杉尾翔太[1]，織田麻衣[1]，岩田裕子[2]　岡部弘基[3]，小野勝彦[4]，石崎泰樹[1]，柴崎貢志[1]
（[1]群馬大学医学研究科 分子細胞生物，[2]国立循環器病センター，
[3]東京大学 薬学研究科　合成化学，[4]京都府立医科大学 神経発生）

TRPV2 は 52 ℃以上の侵害熱刺激を感知する熱センサーとしてクローニングされた非選択的カチオンチャネルである（Nature, 1999）。クローニング後，長い間，侵害熱に対する痛み受容に関わる分子と考えられてきた。

ところが，我々は，胎仔期の脊髄運動神経・DRG 感覚神経において TRPV2 が既に発現していることを見いだした。子宮内の胎仔が 52℃以上の熱刺激に暴露されることは通常あり得ない。このため，生体内に新規の TRPV2 リガンドが存在する可能性が考察された。解析を進めたところ，末梢（皮膚・筋肉など）に向けて非常に長い軸索を伸長している時に細胞膜にかかる膜伸展刺激で TRPV2 が活性化し，軸索伸長を促進させていることを突き止めた（J Neurosci, 2010）。さらに，TRPV2 が膜伸展刺激を感知し，軸索伸長を促進させる分子基盤を同定した（J Physiol Sci, 2016; FASEB J, 2017）。最近，伸長中の軸索内部に細胞質と比較し 2℃程度高いホットスポットが存在すること，体温よりも約 2℃高いこのホットスポット温度が TRPV2 の機械刺激感受性を亢進させていることを発見した。これらの知見と神経回路形成の関連性について in vivo にて検証した。

（3）心筋症・心不全治療を目指した Ca^{2+}透過チャネル TRPV2 阻害薬の開発

岩田裕子[1]，片山義三[2]，奥野恭史[3]，若林繁夫[4]，松村　剛[5]，北風政史[1,6]
（[1]国立循環器病研究センター 臨床研究部，
[2]安全試験センター (現在　日産化学 生物学科学研究所 医薬研究部)，
[3]京都大学 医学研究科　ビッグデータ医科学，[4]大阪医科大学 薬理学，
[5]国立病院機構刀根山病院 神経内科　[6]国立循環器病研究センター 心臓血管内科）

我々は，１）拡張型心筋症の発症･進展には TRPV2 の細胞膜発現と活性化による持続的な細胞内 Ca^{2+}濃度上昇が重要な役割を果たしていること，２）拡張型心筋症動物モデルにて TRPV2 の不活化により心機能低下及び生命予後の改善がもたらされること，を明らかにしてきた。しかしながら，これまで，TRPV2 特異的阻害剤がなかったため，TRPV2 阻害の病態への効果は不明であった。今回我々は，TRPV2 活性制御剤新規スクリーニング法により，既存薬トラニラストが TRPV2 阻害作用を有することを見出した。また進行期筋ジストロフィーを有する心不全患者を対象としたパイロット試験において，トラニラスト服用により心不全マーカーである血漿 BNP レベル低下と末梢血単核球表面の TRPV2 発現が低下したことから，トラニラストが TRPV2 阻害効果を介して心不全の病態を改善する可能性が示された。さらに，トラニラストをリード化合物とし，相互作用予測に基づくインシリコによる類似化合物の探索及び市販化合物を用いた阻害薬探索により，トラニラストより低濃度で TRPV2 を阻害する新規化合物においても，心筋症モデル動物の心筋線維化抑制効果および心機能低下抑制作用が確認できた。以上のことより，新規 TRPV2 特異的阻害薬の開発はヒト心筋症・心不全治療において有望であることが示された。

（4）オリゴデンドロサイト前駆細胞における TRP チャネルの機能的発現と炎症時の役割

大橋佳奈[1]，出屋敷綾音[1]，永安一樹[1]，柴崎貢志[2]，白川久志[1]，金子周司[1]
（[1]京都大学 薬学研究科 生体機能解析学，
[2]群馬大学 医学研究科 分子細胞生物）

髄鞘形成細胞であるオリゴデンドロサイト（OL）は，オリゴデンドロサイト前駆細胞（OPC）から分化する。OPC の増殖・遊走・分化の制御は，髄鞘機能不全を伴う疾患治療に重要と考えられているため，本研究では OPC における TRPV4 と TRPM3 の機能的発現について検討した。

TRPV4 は脳内においてニューロンやグリア細胞の他，OPC においても in situ hybridization により発現が認められた。ホールセルパッチクランプ法及び細胞内 Ca^{2+}イメージング法を用いた検討において，ラット初代培養 OPC に TRPV4 選択的アゴニストである GSK1016790A を投与することにより特異的な細胞応答が惹起されることが明らかとなった。さらに，TRPV4 刺激により Ca^{2+}シグナリングと PKC 経路を介して OPC の増殖が促進することも示された。

TRPM3 も同様に OPC において発現が認められ，TRPM3 アゴニストである pregnenolone sulfate 投与により，培養 OPC において Ca^{2+}応答が惹起された。エンドセリン-1 を脳実質に注入することにより作製した局所脳梗塞モデルにおいて，傷害部位で増殖する OPC に TRPM3 が強く発現していた。さらに培養 OPC への TNFα処置により TRPM3 発現量が増大することも明らかになり，TRPM3 は炎症病態において OPC の細胞機能に関与する可能性も示された。

（5）TRPC1/C4 を介した細胞機能変化と炎症刺激

棚橋大介，伊藤友哉，村田優紀，竹澤秋穂，鈴木裕可，村木由起子，波多野紀行，村木克彦
（愛知学院大学 薬学部 細胞薬理学）

(-) englerin A (EA)は TRPC4（C4）や TRPC5（C5）の各ホモマ，TRPC1/TRPC4（C1/C4）や TRPC1/TRPC5（C1/C5）の各ヘテロマのアゴニストとして，一部のがん細胞において細胞死を誘導する。一方，Pico145 はこれらのイオンチャネルを強力に阻害することが報告されている。そこで EA および Pico145 を用いて，C1/C4 の活性化を介した細胞機能の変化について検討した。C1/C4 が発現する synovial sarcoma SW982 細胞（SW）がん細胞に EA を投与すると，カチオン電流の活性化や細胞死が引き起こされたが，10 nM Pico145 はこれらの反応を完全に抑制した。EA による細胞死は，細胞外 Ca^{2+}を減少させてもほとんど変化しなかった。一方，Na^{+}負荷を誘導するウアバイン存在下で，EA による細胞死は増強された。さらに Na^{+}イオノフォアのグラミシジンは Pico145 抵抗性の細胞死を誘導した。

ヒト滑膜線維芽細胞（SF）を用いて，EA の分子標的について検討したところ，SF では C1 および C4 の遺伝子発現が認められ，EA は Pico145 感受性の細胞内 Ca 濃度の上昇やカチオン電流の活性化を引き起こした。また SF を TNF-αや IL-1αで 24 時間処理すると EA の反応性が有意に減少した。

以上のことから，SW や SF において，C1/C4 は細胞機能を制御する可能性があることが示唆された。また炎症刺激で C1/C4 は機能抑制されると考えられる。

（6）TRPC6 リン酸化による下肢虚血後の血管成熟制御

冨田（沼賀）拓郎[1]，島内　司[2]，小田紗矢香[1]，西村明幸[1]，西田基宏[1,3]
（[1]生命創成探究センター（生理学研究所）心循環ダイナミズム創発研究部門，
[2]九州大学 医学研究院 麻酔・蘇生学，[3]九州大学 薬学研究院 創薬育薬研究施設統括室）

下肢における動脈閉塞後の組織保護のためには，バイパス経路となる血管の形成が重要であり，主に虚血に応答した血管新生と成熟によって制御される。末梢循環障害の治療薬として使用される PDE3 阻害薬シロスタゾールは，非選択的陽イオンチャネルである TRPC6 をリン酸化することで抑制し血管拡張を引き起こすことが知られている。これまでに我々は，大腿動脈を結紮したマウス下肢虚血モデルを用いて，TRPC6 チャネルが下肢虚血後の血流回復の負の制御因子であることを明らかにした。TRPC6 の欠損は，血管新生には影響を与えず，血管成熟を亢進させることにより虚血後の血流回復を促進した。血管平滑筋において，TRPC6 の欠損は血管平滑筋の増殖には影響せずに transforming growth factor β (TGF β)による分化を亢進した。血管平滑筋の分化に伴い TRPC6 の活性は抑制された。これは TRPC6 のリン酸化を介すると示唆された。in vitro で下肢虚血を模倣した酸素・グルコース飢餓（OGD）を細胞に与えると TGF β による血管平滑筋の分化が強く抑制されたが，TRPC6 欠損細胞において，OGD の影響は見られなかった。以上の結果から，血管平滑筋において TRPC6 のリン酸化は下肢虚血時に阻害され，血管成熟が抑制されることにより末梢血流の回復が妨げられると示唆された。

（7）Calmodulin bridging mechanism underlies negative feedback regulation of TRPC6 in podocyte cells

Onur K. Polat[1]，Masatoshi Uno[2,4]，Tran Nam Ha[3]，Hidehito Tochio[4]，
Masahiro Shirakawa[2]，Masayuki X. Mori[1]，Yasuo Mori[1]
（[1]Department of Synthetic and Biological Chemistry, Molecular Biology Lab, Graduate School of Engineering, Kyoto University，[2]Department of Molecular Engineering, Graduate School of Engineering, Kyoto University，
[3]Laboratory of Environmental Systems Biology, Graduate School of Global Environmental Studies, Kyoto University，
[4]Department of Biophysics, Graduate School of Science, Kyoto University）

Focal segmental glomerulosclerosis (FSGS) is an important cause for the end-stage kidney diseases,and are linked to TRPC6 gain-of-function mutations. Therefore, inhibitory regulation of this channel could have a profound influence on the progression of FSGS. Ca^{2+}-dependent inactivation (CDI) mediated by calmodulin (CaM) is critical for regulating TRPC6 channel activity, however, its underlying mechanisms and contribution to FSGS are yet unveiled. Lobe specific mutations of CaM equally impaired CDI. Stoichiometric experiments revealed a 1:2 binding of CaM to CBDs of TRPC6. These results collectively suggested that CDI is explainable by the close proximity of two CBDs due to a 'bridge' mechanism via each CaM lobe binding to CBD. Furthermore, with crosslinking experiments we found that the coiled-coil segment adjacent to the CBD of TRPC6 dimerized and contributed to maintaining the proximal distance of two CBD's. Deletion of the coiled-coil segment caused a severe delay of CDI proving its necessity. FSGS mutants found in coiled-coil also significantly delayed CDI similarly to the coiled-coil deletion mutant. Thus our results provide a mechanistic insight into CDI which is orchestrated by the assembly of CaM-CBD complex and coiled-coil segment of TRPC6 channels.

（8）Ca^{2+}を介したリソソームとエクソソームの開口放出機構とその病態

華山力成（金沢大学 ナノ生命科学研究所／医学系免疫学）

リソソームの一部は細胞膜と融合し，内部の加水分解酵素を細胞外へと開口放出する。特にマクロファージによる放出は他者融解と呼ばれ，癌細胞を融解する生体防御機構として知られているが，逆に放出が過剰になると，周囲の健常な細胞を融解し，様々な病態を引き起こす。私達は，この過程を促進する分子 myoferlin を同定した。この分子は細胞質側にある 7 つのC2 ドメインを介して Ca^{2+}依存的に細胞膜のリン脂質と結合し，リソソームの開口放出を促進することが判明した。そこで，私達は myoferlin 欠損マウスを樹立し，リソソーム開口放出の生理的・病理的意義を解析した。

一方，エクソソームは，分泌細胞由来の蛋白質や RNA などを内包し，これらの分子を介して標的細胞の機能を制御する。私達は，Ca^{2+}刺激により神経細胞から放出されたエクソソームがグリア細胞に取り込まれると，グリア細胞に補体成分 C3 の発現を誘導することで，不要なシナプスの貪食除去を促進することを見出した。一方，未刺激の神経細胞由来エクソソームには，このような活性がないことから，Ca^{2+}刺激によりエクソソームの構成分子に変化が生じると考え，エクソソームに内包化される分子群を網羅的に同定した。更に，このエクソソームがグリア細胞に取り込まれると，炎症や蛋白質分解に関与する様々な遺伝子群の発現を誘導する事を判明した為，神経変性発症との関連を検討した。

（9）脳疾患における TRPV4 チャネルの関与の解明

小山隆太[1]，星　雄高[1]，岡部弘基[2]，柴崎貢志[3]，船津高志[2]，松木則夫[1]，池谷裕二[1]
（[1]東京大学 薬学研究科 薬品作用学，[2]東京大学 薬学研究科 生体分析化学，
[3]群馬大学 医学研究科 分子細胞生物）

本講演では，①脳浮腫，②てんかん，③うつ病における TRPV4 の関与について，我々が得た知見を紹介する。

①脳浮腫は，細胞内外に水分が貯留し，脳が膨張して生じる。そのメカニズムを，虚血性脳浮腫の in vitro モデルを確立して検証した。蛍光性温度プローブの利用により，虚血処置群では細胞内温度が上昇することが明らかになった。さらに，虚血処置による脳浮腫は，TRPV4 チャネルの阻害によって抑制された（Hoshi et al., J Neurosci, in press）。

②てんかんは，小児期のけいれんが一因となる。そのメカニズムを，マウス熱性けいれんモデルを用いて検証した。けいれん後，マイクログリアは抑制性シナプスを貪食し，海馬神経回路の興奮性を上昇させた。さらに，そのメカニズムとして，脳温上昇に伴う TRPV4 活性化の関与が示唆された。

③うつ病は，社会性ストレスが一因となる。そのメカニズムを，マウス社会性ストレスモデルを用いて検証した。社会性ストレスは，被ストレスマウスの長期的体温上昇及び，うつ様行動を誘起した。さらに，TRPV4KO マウスでは，うつ様行動の発症が抑制された。

以上のように，我々は各種脳疾患において TRPV4 が関与することを示してきた。今後は，より詳細な細胞生物学的メカニズムを検証し，これを基にした創薬の可能性を探求する。

（10）マウス味覚感受性における TRPV4 チャネルの関与

松本健次郎[1]，大石晃弘[2]，辻　雅裕[1]，長澤一樹[2]，富永真琴[3]，加藤伸一[1]
（[1]京都薬科大学 薬物治療学，[2]京都薬科大学 衛生化学，[3]生命創成探究センター 細胞生理）

【背景・目的】味覚は，生命活動の維持に必要不可欠な感覚の 1 つである。TRPV4 は，皮膚，消化管に加えて舌にも発現することが示唆されている。しかし，味覚機能に対する TRPV4 の役割については明らかになっていない。本研究では，マウス舌における TRPV4 の発現局在と味覚感受性との関連について検討を行った。

【方法】実験動物には 8～10 週齢の TRPV4 欠損マウス (TRPV4KO) 及び野生型 C57BL/6J 雄性マウス (WT) を使用した。味覚感受性は brief-access test 及び two-bottle test により行動学的に評価した。TRPV4 及び各種味受容体の発現は免疫組織染色及びリアルタイム PCR により解析した。さらに，味蕾における Ki67 陽性細胞数は免疫染色により，また β カテニン発現量はウエスタンブロッティングにより定量した。

【結果・考察】マウス消化管において TRPV4 は，食道，胃，小腸及び大腸に比較して，舌で最も強く発現していることが明らかとなった。TRPV4 は，味蕾の基底細胞に発現していることが観察された。Brief access test 及び two-bottle test において，TRPV4KO は WT と比較して，酸味溶液に対する感受性が有意に低かった。また，TRPV4KO の味蕾内における，Ⅲ型味細胞マーカーの免疫活性及び mRNA 発現量は WT と比較し有意に低かったが，Ⅰ型，Ⅱ型マーカーのそれらは変化なかった。さらに，TRPV4KO では，味蕾における Ki67 陽性細胞数及び β カテニン発現量が WT と比較し有意に低下した。

【結論】TRPV4 は，マウスの味蕾基底細胞に発現し，酸味受容細胞である III 型味細胞への分化及び増殖に関与することが示唆された。

（11）口腔粘膜の痛みと TRPV4 発現

吉本怜子[1,2,3]，合島怜央奈[4]，大山順子[5]，吉住潤子[6]，清島　保[2]，城戸瑞穂[1,2]
（[1]佐賀大学 医学部 組織神経解剖，[2]九州大学 歯学研究科 口腔病理，
[3]九州大学 歯学研究科 歯周病学，[4]佐賀大学 医学部 組織神経解剖）

口腔粘膜の痛みや不快感を訴える患者は増加しているが，十分な対応が難しい。我々は口腔の痛みの訴えが上皮の器質的な変化と関連するとの仮説を立て，口腔の痛みや乾燥感を主訴とし，口唇腺生検組織を得やすいシェーグレン症候群に着目した。対照群として粘液嚢胞切除組織を用いた。

口腔の痛みを訴えた患者群では口唇粘膜上皮内に多数の炎症性細胞が浸潤していた。これらは対照群の患者組織ではほとんど認められなかった。また，炎症性細胞の浸潤が著しい部位は，上皮が水腫様変性を呈していた。次に，上皮のバリア機能との関連を明らかにするため，細胞間接着分子群を免疫組織学的に観察した。正常像を呈する上皮部位では細胞間接着分子群は網目状の発現を呈した一方，変性部位では不明瞭かつ不連続な発現を呈した。さらに，皮膚角化細胞の細胞間接着を制御する transient receptor potential vanilloid 4 (TRPV4) との関連を調べた。TRPV4 は非変性部位では有棘層に顕著な発現を認めた一方，変性部位では発現が減弱し，一部の基底層に散在的な発現を認めた。

シェーグレン症候群では，腺組織の変性が主な標的とされているが，口腔粘膜上皮の変性や，上皮細胞間接着の低下，炎症性細胞浸潤などの病態をも認められた。さらに，こうした粘膜の変化は痛みの訴えとの関連を示唆していた。

（12）TRPV6 はヒト胎盤における母子間 Ca^{2+}輸送に関与する

鈴木喜郎 [1,2]，デイビット チタヤト [3]，澤田浩武 [4]，西村　玄 [5]，富永真琴 [1,2]
（[1] 生命創成探究センター（生理学研究所）温度生物学，[2] 総研大 生理科学，
[3] トロント大学病院，[4] 宮崎大学 医学部，[5] 都立小児総合医療センター）

TRPV6 は例外的に非常に高いカルシウム（Ca^{2+}）選択性を持つ TRP チャネルであり，小腸などの輸送上皮において Ca^{2+}輸送に関与し，体全体の Ca^{2+}恒常性維持に重要と考えられている。私達はこれまでに KO マウスにおける解析によって，TRPV6 が胎盤において胎仔の骨形成のための母子間 Ca^{2+}輸送を担うことを報告してきた。今回私達は，骨形成不全を伴う新生児期副甲状腺機能亢進症の患者において TRPV6 遺伝子に変異を見出した。見出された変異の多くは複合ヘテロ接合という遺伝形態を取っていた。生理的意義をパッチクランプ法，細胞内 Ca^{2+}イメージングおよびビオチン化実験により解析した結果，１）細胞膜への局在，２）チャネルタンパク質の安定性，３）細胞内 Ca^{2+}依存性チャネル不活性化，に関与する少なくとも３つのタイプの変異が存在することが明らかになった。また，これらミスセンス変異以外にもスプライシング異常を伴うイントロン変異も同定された。以上のことから TRPV6 は胎児の骨形成のための胎盤 Ca^{2+}輸送に関与し，その生理機能はマウスからヒトに至るまで保存されていることが示唆された。骨形成不全を伴う新生児期副甲状腺機能亢進症は TRPV6 遺伝子の変異により生じる遺伝性疾患であり，そのメカニズムは複雑であることが明らかになった。

（13）TRPM2 チャネルを介した腫瘍関連マクロファージの機能制御

植田誉志史 山田優司，黒木隆平，森　泰生
（京都大学 工学研究科 合成･化学専攻分子生物化学）

腫瘍の近傍には多数のマクロファージ（umor-associated macrophage: TAM）集積することが知られ，血管新生の促進や抗腫瘍免疫の抑制など，様々な機構による腫瘍の増悪への関与が示唆されている。このようながん細胞と腫瘍関連細胞によって形成される「がん微小環境」には比較的高濃度の活性酸素種が存在すると考えられている。我々は過去に，活性酸素種感受性の TRPM2 チャネルがマクロファージに豊富に発現しており，その活性化が炎症性サイトカインを含めた様々な因子の発現を誘導することを報告した。そこで本研究では，TAM における TRPM2 チャネルの活性化が，がんの増悪や，がん微小環境の形成に与える影響について検討した。メラノーマ細胞株の皮下担癌モデルにおいて，TRPM2 ノックアウトマウスでは腫瘍の増殖が抑制され，生存期間の延長が見られたことから，TRPM2 の発現は腫瘍増悪に働くものと考えられた。組織化学的には TRPM2 ノックアウトマウスの腫瘍では血管形成の異常が見られ，血液循環の不足が見られた。興味深いことに，TRPM2 ノックアウトにより TAM は強い M2 型マクロファージの性質を示し，転写因子 Stat3 の活性化と，血管内皮細胞増殖因子の産生が亢進していた。分子的に TRPM2 と Stat3 は過酸化水素依存的な相互作用を示したことから，TRPM2-Stat3 複合体形成が Stat3 の活性を制御し，TAM の機能制御に働いている可能性が見出された。

（14）TRPA1 は組織障害による急性炎症の進展を促進する

桑木共之 [1]，長谷川麻衣子 [2]，向原桂香 [2]，山田知嗣 [2]，上村裕一 [2]
（[1]鹿児島大学 医歯学総合研究科 統合分子生理学，
[2]鹿児島大学 医歯学総合研究科 侵襲制御学）

気道内の知覚神経，すなわち三叉神経と迷走神経に存在する TRPA1 は吸気中の酸素濃度変化による全身の呼吸調節に深く関与していることを前回報告した。いっぽう，炎症性反応は一般に代謝の活性化によって局所では低酸素を生じることが知られているので，これも TRPA1 を活性化する可能性がある。そこで今回は，炎症反応における TRPA1 の役割を解明することを目的とした。

足底への外科的侵襲による組織障害モデルマウスを使用して，炎症反応の進展を術後 1〜7 日間に渉り調べた。組織障害の翌日において TRPA1 欠損マウスでは壊死組織の除去に関わる多形核好中球の組織への遊走が有意に減弱しており，そのメディエーターである IL-1 の発現も減少していた。また病原体除去に関わる M1 型マクロファージの増加が遅延し，M1 から組織修復に関わる M2 に表現型を転換させる役割を担う HO-1 の発現も減弱し，その結果術後 7 日目において M2 マクロファージ数が有意な低値を示した。

すなわち，TRPA1 は組織酸素濃度変化や起炎性物質を検出して炎症反応の進展を促進的に制御しているものと考えられた。TRPA1 は全身性には高酸素呼吸抑制を介して炎症反応の惹起を予防するが，炎症反応の原因が生じてしまった後では局所低酸素をトリガーとして炎症反応を促進するという，実に都合の良い二面性を有した酸素センサーであると考えられた。

（15）Characterization of TRPA1 from disease vector mosquitoes

Tianbang LI [1,2,3]，Claire T. SAITO [2,3]，Shigeru SAITO [1,2,3]，Makoto TOMINAGA [1,2,]
([1]Department of Physiological Sciences, SOKENDAI,
[2]Division of Cell Signaling, National Institute for Physiological Sciences (NIPS) ,
[3]Thermal biology group, Exploratory Research Center on Life and Living Systems (ExCELLS))

Mosquitoes have long been recognized as crucial vectors for transmission of malaria and other epidemic diseases in tropical and subtropical areas. Transient receptor potential channel, subfamily A, member 1 (TRPA1) channel of mosquito plays an important role in nociception. However, physiological characteristics of mosquito TRPA1 have not been systematically studied. Here, TRPA1 from Anopheles gambiae (Ag), Anopheles stephensi (As), Aedes aegypti (Aa) and Culex pipiens pallens (Cp) were investigated. Responses of mosquito TRPA1 to heat or chemical stimuli were examined with calcium imaging and whole-cell patch-clamp recording. Multiple TRPA1 channels have been cloned from disease vector mosquitoes, and several TRPA1 variants were identified. 14 amino acids were shown to be added at the N-terminus of TRPA1B, which profoundly affected channel activity. Mosquito TRPA1 thermosensitivity was found to vary, and CpTRPA1 was found to have a lower temperature threshold for heat-evoked activation. Chemosensitivity of TRPA1 channels revealed differences not only between variants but also among orthologues. Finally, we discovered three novel mosquito TRPA1 agonists. Better understanding of functional properties of mosquito TRPA1 may inspire the design of control methods for mosquito-borne diseases.

（16）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と STIM/ORAI サブタイプ

宮津　基，高井　章（旭川医科大学 生理学講座・自律機能分野）

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，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）が存在し，膜表面の M3 型ムスカリン受容体刺激に応じて開口する。そのうち，いわゆる store-operated Ca^{2+} channel 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，生理学的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。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には STIM1，STIM2，ORAI1，ORAI2 および ORAI3 が発現していることを確認している。 siRNA 法による実験をおこなったところ，STIM1/ORAI2（または ORAI3）と NSCCS との関連を示唆する知見が得られた。

（17）鳥類忌避剤 Pulegone による侵害受容性 TRP チャネル活性化

眞境名　梓 [1]，高橋賢次 [1]，斎藤　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] 生命創成探究センター 温度生物学）

忌避剤はしばしば動物に対して不快感や侵害作用(痛み)を引き起こす。Pulegone はペニーロイヤルミントに含まれる精油成分であり鳥類忌避剤として用いられているが，その分子標的は明らかにされていない。知覚神経には種々の侵害受容性 TRP チャネルが発現していることが知られている。そこで本研究では，ニワトリ知覚ニューロンに対する pulegone の作用について検討した。Pulegone は，ニワトリ背根神経節(DRG)ニューロンにおいて，濃度依存性に $[Ca^{2+}]_i$ を増加させ，その反応は用いた濃度により二つのタイプに分類された。TRP チャネル選択的アゴニストとアンタゴニストを用いた薬理学的解析により，低濃度 Plulegone は TRPM8 を，高濃度では TRPM8 に加えて TRPA1 チャネルを活性化させることが分かった。このことは，avianTRP 遺伝子発現細胞を用いた実験によって確かめられた。更に，高濃度 pulegone は avianTRPM8 を抑制したが，avianTRPA1 を抑制しなかった。Pulegone をニワトリ足底内に投与すると疼痛関連行動が引き起こされ，その行動は TRPA1 アンタゴニストによって抑制された。以上の結果から，pulegone による鳥類忌避作用の分子標的は TRPA1 であることが示唆された。本研究は新たな忌避剤の探索に有用な情報を提供すると考えられる。

（18）X 線 1 分子追跡法と X 線輝点明滅法による TRPV1 の作動機構解析

藤村章子 [1]，三尾和弘 [1]，倉持昌弘 [2]，池崎圭吾 [2]，松原　賢 [2]，関口博史 [3]，久保　泰 [1]，佐々木裕次 [2]
（[1] 産総研先端オペランド計測 OIL，[2] 東京大学 新領域創成科学研究科，
[3] 高輝度光科学研究センター SPring-8）

カプサイシンおよび熱刺激に対する TRPV1 の作動機構解明を目的に，Spring-8 白色 X 線を用いた X 線 1 分子追跡法（DXT: Diffracted X-ray Tracking）と，新規に開発した単色 X 線輝点明滅法（Lab-DXB）を用いて 1 分子動態解明を試みた。DXT ではタンパク質を金ナノ結晶で標識し，回折スポットの運動を 3 次元（傾斜(θ)，回転(χ)，時間(t)）リアルタイム分析を行った。χ 軸ブラウン運動は，カプサイシン用量依存的に増強され，回転方向については異方性回転運動として検出された。熱刺激に関しては，野生型（WT）と熱応答性を欠損したトリプルミュータント（TRI: N629K/N653T/Y654T）の運動比較の結果，WT の χ 値は TRI と比較して有意に高いことが確認できた。さらに 50 ℃，Δt=2.0msec における χ は，WT はマイナス（－）側に，TRI はプラス（＋）側に確率分布の偏りが確認できた。カプサイシン刺激では，プラス（＋）への偏りが観測されており，分子応答の観点からはカプサイシンと温度刺激では異なる挙動が示された。実験室装置での分子運動解析を目的に，ピクセル輝度の自己相関係数から分子揺らぎを導出する，単色 X 線輝点明滅法（Lab-DXB: 輝点明滅法）を開発した。現在 100 ms 程度のデータ取得まで可能で，細胞表面分子の計測も可能なため，新しいス創薬クリーニング装置としても期待できる。Lab-DXB を用いて，一過性発現させた TRPV1 のカプサイシン応答データの取得にも成功した。

（19）心リモデリングにおける活性酸素の産生と TRPC3/6 チャネルの役割

小田紗矢香 [1,2]，冨田拓郎 [1,2]，西村明幸 [1,2]，西田基宏 [1,2,3]
（[1] 生命創成探究センター（生理学研究所）心循環ダイナミズム創発研究部門，
[2] 総合研究大学院大学，[3] 九州大学 薬学研究院 創薬育薬研究施設統括室）

心臓は，一過的なストレスに対しては可逆的な形態変化により適応できるが，慢性的なストレスによる構造変化は不可逆的であり，最終的に機能不全に陥る。この不可逆的な心リモデリングには，異常な Ca^{2+}シグナルと活性酸素種（ROS）の産生が関与することが知られていたが，その分子機構は明らかにされていなかった。我々は最近，機械的ストレスにより惹起される心リモデリングに, transient receptor potential canonical (TRPC) 3 と NADPH oxidase (Nox) 2 の機能連関が関与することを明らかにした。しかし，TRPC3 と類似した構造および活性化機構をもつ, TRPC6 の TRPC3-Nox2 機能連関における役割は不明であった。本研究で我々は，高血糖ストレスに曝されたマウス心臓および初代ラット心筋細胞で，TRPC6 と Nox2 の発現量の間に逆相関の関係を見出した。1 型糖尿病を発症した TRPC6 欠損マウスでは，野生型と比較し心機能の顕著な低下および尿・心臓における酸化ストレスの増加が観察された。HEK293 細胞に TRPC3/6 両者を Nox2 と共発現させると，TRPC3/6-Nox2 三者複合体が形成され，TRPC3 による Nox2 の発現上昇が抑制された。以上から，TRPC6 は TRPC3-Nox2 機能連関を負に制御し，過剰な酸化ストレスの上昇を防ぐ役割を有することが示唆された。

（20）マウス慢性脳低灌流モデルにおける TRPM2 の病態生理学的役割

宮之原遵[1]，抱　将史[1]，永安一樹[1]，森　泰生[2]，白川　久志[1]，金子周司[1]
（[1]京都大学 薬学研究科 生体機能解析学，
[2]京都大学 工学研究科 合成･生物化学）

慢性的な脳低灌流状態は，加齢や動脈硬化，極度のストレスなどにより生じ，そのような酸素/栄養供給不全が継続することで認知機能障害を伴う中枢神経疾患の発症リスクが高まることが知られているが，その病態メカニズムには不明な点が多い。そこで本研究では，脳や免疫担当細胞に豊富に発現する TRPM2 に着目し，その病態生理学的役割について検討を行った。マウス慢性脳低灌流モデルは，微小金属コイル装着による両側総頚動脈狭窄 (BCAS) を行うことにより作成した。BCAS 処置 28 日後において血液脳関門の軽度な破綻および ROS 産生が観察されたが，海馬病変は認められなかった。一方，白質傷害および認知機能障害が野生型マウスで惹起され，それらは TRPM2 遺伝子欠損マウスでは顕著に抑制されていた。さらに，白質脳梁部における Iba1 陽性細胞も減少していた。そこでミクログリアおよびマクロファージの阻害薬であるミノサイクリンを投与したところ，対照群と比較して認知機能障害は抑制された。また，末梢骨髄を GFP 標識したキメラマウスにおいて BCAS 処置を行ったところ，脳梁部に集積した Iba1 領域は GFP を共発現しなかったことから，Iba1 陽性細胞は末梢由来ではなく，脳常在性のミクログリアであることが示唆された。以上の結果から，ミクログリアに発現する TRPM2 が慢性脳低灌流に伴う認知機能障害の病態に関与することが明らかとなった。

（21）スフィンゴシン-1-リン酸誘発アストロサイト活性化機構における TRPC6 を介した Ca^{2+}シグナリングの寄与

白川久志，勝本るみ，藤田沙也香，永安一樹，金子周司
（京都大学 薬学研究科 生体機能解析学）

スフィンゴシン-1-リン酸 (S1P)は血中に豊富に存在する生理活性脂質であり，$S1P_1$-$S1P_5$ の特異的な GPCR を介して標的細胞の増殖，生存，遊走，サイトカイン産生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+}応答があるが，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かった。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。以上の結果より，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+}シグナリングにより CXCL1 の産生・遊離が促進されると考えられる。

（22）TRPM4 channel is involved in cellular damage caused by simulated ischemia-reperfusion injury: study of human iPSC-derived cardiomyocytes

Chen Wang，Heng Wei，Keiji Naruse，Ken Takahashi
（Department of Cardiovascular Physiology, Graduate School of Medicine, Dentistry, and Pharmaceutical Sciences, Okayama University）

The transient receptor potential melastatin-4 (TRPM4) is a subtype of TRP channel. We previously reported that TRPM4 channel was participated in myocardial ischemia-reperfusion (I/R) injury using rats. In this study, we investigated possible involvement of TRPM4 channel in I/R injury in human by cardiomyocytes derived from human induced pluripotent stem cells (hiPSC-CMs). Application of 22 h-hypoxia (2%-oxygen) followed by 2 h-reoxygenation, which mimicked I/R injury, caused declined cellular viability and myocardial contractility of hiPSC-CMs detected by MTT assay and contractility analysis. Exposure to 750 μM-hydrogen peroxide, which is another simulated condition of I/R, resulted in similar damage of hiPSC-CMs. However, pretreatment with 9-Phenonthrol, a specific blocker of TRPM4 channel, effectively protected the hiPSC-CMs from the damage caused by the simulated I/R injuries. These results suggested that TRPM4 channel may be involved in the pathogenesis of cardiac I/R injury also in human.

12. 食欲・食嗜好の分子・神経基盤研究会（食欲・食嗜好研究会）

2018 年 6 月 2 日－6 月 3 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）霊長類の食嗜好と味覚受容体

今井啓雄（京都大学霊長類研究所）

（２）霊長類味蕾・消化管オルガノイドを用いた栄養センサー細胞の解析

岩槻　健（東京農業大学）

（３）求心性迷走神経を介した摂食亢進作用機序の解明を目指して

岩崎有作（京都府立大学）

（４）Appetite control in *C. elegans*

Young-Jai You（名古屋大学）

（５）Hypothalamic neuronal circuits regulating hunger-induced taste modification

傅　欧（東京大学）

（６）脂質と摂食

酒寄信幸（福島県立医科大学）

（７）食行動の学習と嗅覚

築田靖崇（高知大学）

（８）脂肪酸伸長酵素 Elovl6 と嗅覚役割

志村拓哉（筑波大学）

（９）若年女性における口腔内脂肪酸感受性および脂肪酸受容体の月経周期性変化における女性ホルモンの影響

山内優歩（奈良女子大学）

(10) ビタミン C 欠乏についての報告

安尾敏明（朝日大学）

(11) 混合味溶液の識別と神経

山村知暉（朝日大学）

(12) Translational tool としてのスクロース嗜好性テスト

山中　創（京都大学霊長類研究所）

(13) 中脳辺縁系ニューロンの GABAB 受容体シグナルによる高脂肪食摂取調節機構の解明

恒川　卓（名古屋大学）

(14) 味覚性･嗅覚性新奇恐怖の表出と扁桃体

篠原恵介（大阪大学）

(15) 味覚嫌悪反応の神経基盤の解明に向けて

田中大介（東京医科歯科大学）

(16) エストロゲンによる糖溶液嗜好性の変化とエネルギー摂取調節

飯田久瑠美（奈良女子大学）

(17) CRF ニューロンと摂食調節

堀尾修平（生理学研究所）

(18) SIRT1 とアルコール嗜好性

松居　翔（群馬大学）

（19）脳における血中 LPS 感知

森田-竹村　晶子（奈良県立医科大学）

（20）生育温度による食嗜好性変動の検証

末武綾子（東京海洋大学）

（21）ゼブラフィッシュにおける食欲関連因子に関する研究

林風咲子（東京海洋大学）

（22）視床下部分泌性小タンパク質 NPGL によるエネルギー代謝調節作用

浮穴和義（広島大学）

（23）食嗜好に関与する日本人ゲノムワイド関連解析

五十嵐麻希（東京大学）

（24）無意識の視覚的食刺激に伴う脳活動と日常の食行動との関係

高田勝子（大阪市立大学）

【参加者名】

Sohyun Ahn（名古屋大学），Young You（名古屋大学），青柳守紘（ハウス食品グループ本社㈱），飯田久瑠美（奈良女子大学），五十嵐麻希（東京大学），池田弘子（星薬科大学），石田梨佳（大阪市立大学），糸井川壮大（京都大学），伊藤禎浩（名古屋大学），稲葉明彦（東京農業大学），今井啓雄（京都大学），岩崎有作（京都府立大学），岩槻　健（東京農業大学），植田大暉（星薬科大学），上田修平（名古屋大学），浮穴和義（広島大学），牛田一成（中部大学），浦田朋実（東北大学），大栗弾宏（サントリー食品インターナショナル㈱），郭　婷婷（名古屋市立大学），傅　欧（東京大学），加藤直樹（アサヒグループホールディングス㈱），亀本佳世子（帝京大学），鴨井享宏（ハウス食品グループ本社），小堀雄貴（高砂香料工業㈱），近藤高史（味の素㈱），酒寄信幸（福島県立医科大学），硲　哲崇（朝日大学），佐々木　努（群馬大学），佐藤貴弘（久留米大学），篠原恵介（大阪大学），柴田諒祐（日本製粉㈱），清水愼太郎（ハウス食品㈱），志村拓哉（筑波大学），新谷隆史（基礎生物学研究所），末武綾子（東京海洋大学），杉山摩利子（名古屋大学），鈴木未宇（八千代病院），鈴木亮子（基礎生物学研究所），髙木博史（名古屋大学），高田勝子（大阪市立大学），鷹股　亮（奈良女子大学），滝　啓吾（名古屋大学），田中大介（東京医科歯科大学），田中　都（名古屋大学），谷田亮太（至学館大学），築田靖崇（高知大学），恒川　卓（名古屋大学），中島久和（京都府立医科大学），長阪玲子（東京海洋大学），中澤和雄（豊橋技術科学大学），中村文哉（アサヒグループホールディングス㈱），中村明朗（長谷川香料㈱），成川真隆（東京大学），野木康子（味の素㈱），服部里奈（八千代病院），林　風咲子（東京海洋大学），林　美紗（京都大学），坂野僚一（名古屋大学），檜山武史（基礎生物学研究所），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），藤原万櫻（名古屋大学），牧野芽以（名古屋大学），益田勝吉（サントリーグローバルイノベーションセンタ㈱），松居　翔（群馬大学），松坂　賢（筑波大学），松村成暢（京都大学），丸山弘明（サッポロホールディングス㈱），溝口　暁（名古屋大学），宮本崇史（筑波大学），宮本理人（徳島大学），村上太郎（至学館大学），森　紀之（同志社女子大学），森田-竹村晶子（奈良県立医科大学），森本恵子（奈良女子大学），柳沼裕史（名古屋大学），安尾敏明（朝日大学），八十島安伸（大阪大学），山内優歩（奈良女子大学），山口正洋（高知大学），山岸愛実（星薬科大学），山下敦子（岡山大学），山中　創（京都大学），山村知暉（朝日大学），吉川貴仁（大阪市立大学），米持奈央美（星薬科大学），菊地晶裕（生理学研究所），近藤邦生（生理学研究所），中島健一朗（生理学研究所），堀尾修平（生理学研究所），箕越靖彦（生理学研究所）

【概要】

「食欲・食嗜好」をテーマに，多分野からの研究者を集めた学際的な研究会として，第３回食欲・食嗜好の分子・神経基盤研究会が 6/2-3 に岡崎カンファレンスセンターで開催された。

分野横断的に集まった参加者（合計 92 名。アカデミア 76 名，産業界 13 名，その他 3 名）が，unpublished data を中心とした 24 演題（11 の口頭発表と 13 のポスター発表）に対して様々な観点から議論を行った。十分に討論時間を確保し，通常の学会よりも多くの質疑応答が活発になされた。また，参加者全員にプロフィールを作成してもらい，事前配布を行った。その結果，発表者以外の強みとニーズのマッチングが可能となった。

本年度は，サルやヒトさらには魚類などを対象とする研究者も参加・発表を行った。これまでの研究会では，げっ歯類でのメカニズム解析にやや偏重していたが，より広い生物学領域への発展を期待させる演題となった。

各セッション間の休憩時間を十分に確保（各 30 分）し，演者への追加質問や，参加者間の情報交換などに活用された。特に，ポスターボードをコーヒーブレイク会場に設置し，休憩時間にもディスカッションが続く仕掛けが奏功し，発表・ブレイクの両方の時間帯に活発なディスカッションが展開された。

印象としては，若い研究者の参加が増えており，「学術領域の派閥を感じない，自由で，若い研究者が生き生きと発表できる環境」の提供に成功した。演題も完全に公募にしながら，会を重ねるごとに研究会の質が向上していることが伺われた。

参加をオープンにし，毎回新しい切り口の研究者が流入する存在意義の非常に高い会になってきている。また，質・量ともに新たな学術領域の創生の礎となる研究会に発展してきた。来年度は研究会と学術領域をさらに発展させるべく，改善策を準備したい。

（1）霊長類の食嗜好と味覚受容体

○今井啓雄 [1]，Laurentia Purba [2]，西　栄美子 [1]，Kanthi Widayati [2]，橋戸南美 [1,3]，
早川卓志 [1]，糸井川壮大 [1]，林　美紗 [1]，Bambang Suryobroto [2]
（[1] 京都大学霊長類研究所，[2] ボゴール農科大学，[3] 現　中部大学）

我々は，様々な霊長類を対象に味覚受容体機能のヒトとの相違点・類似点を明らかにすることにより，種特異的な食性の進化や，その知見のヒトへの応用の可能性を検討している。その結果，生息地域や食性の異なる霊長類はそれぞれ異なる味覚を持つことが明らかになってきた(1-4)。具体的には，ニホンザルはある苦味に対してはヒトよりも鈍感である（1）が，ある甘味に対しては逆に敏感である（2）ことを示した。また，葉食に特化した霊長類はある苦味に対しても（3）甘味に対してもほとんど応答を示さない。これらの結果は，味覚受容体の機能が進化の過程で変化し，食性に影響を与えていることを示している。味覚受容体の機能変異は地域特異的にも起こり（5），食文化にも影響を与えうる。さらに舌以外に発現している味覚受容体について，モデルとなり得るマーモセット等（6）の最近の知見を共有し，その機能についても議論を深めたい。

（2）霊長類味蕾・消化管オルガノイドを用いた栄養センサー細胞の解析

○岩槻　健 [1]，今井啓雄 [2]
（[1] 東京農業大学，[2] 京都大学霊長類研究所）

消化管や味蕾には栄養素や味を感じるセンサー細胞が存在し，効率よく栄養素を取り込みエネルギー源の獲得に役立っている。しかしながら，消化管上皮細胞や味細胞を in vitro において培養することは困難であったことから，センサー細胞についての基礎的理解が遅れていた。

我々はこれまでに，げっ歯類において味細胞や消化管の３次元培養系であるオルガノイド培養系を導入し，これらの細胞や組織の機能について in vitro にて解析している。最近では，霊長類にて消化管および味蕾オルガノイドを作製することに成功した。栄養センサー研究で霊

長類を扱うメリットは大きく，これまでげっ歯類では解析し得なかったうま味物質やアスパルテームなどの甘味料の解析が可能となっている。また，げっ歯類には存在しないホルモンもあり，霊長類由来の細胞を扱うことで霊長類独特の研究が期待されている。

本研究会では，霊長類オルガノイドを使い，味細胞の味物質への応答実験や消化管内分泌細胞への分化誘導系構築について紹介する。また，実際にオルガノイドを作製・維持する際の課題などについても議論したい。

（3）求心性迷走神経を介した摂食亢進作用機序の解明を目指して

○岩崎有作[1,2]，仙度光麻[2]，矢田俊彦[2,3]
（[1]京都府立大学，[2]自治医科大学，[3]関西電力医学研究所）

これまでは過食・肥満・糖尿病の予防，改善研究が多くされてきた。一方，食欲不振も大きな健康問題を惹起する初期段階であり，この改善は重要であるが，現段階で有効な治療薬は無い。本研究は，求心性迷走神経を介した摂食亢進機構の解明し，摂食不振治療に対する介入点としての求心性迷走神経の意義を明らかとすることを長期的目的とする。

香辛料には経験的に食欲増進作用があるとされているが，その科学的根拠は乏しい。我々は，多くの香辛料に共通に含まれる Transient Receptor Potential A1 (TRPA1) アゴニストをマウスに経口投与すると摂食量を亢進させることを発見した。ニンニクに含まれる TRPA1 アゴニストのジアリルトリスルフィド（DATS）の経口投与は，求心性迷走神経内の pERK1/2（活性化マーカー）発現を上昇させ，摂食を亢進させた。この摂食亢進は求心性迷走神経遮断により消失した。DATS の求心性迷走神経への直接作用を単離シングルニューロンの細胞内 Ca^{2+}濃度測定で検討すると，DATS は満腹ホルモン（コレシストキニンやオキシトシン）に応答するニューロンサブクラスとは異なる新規サブクラスを活性化した。以上より，求心性迷走神経には食欲亢進系の求心性迷走神経新規サブクラスが存在すること，そして，TRPA1 アゴニストによるこの神経サブクラスの活性化が摂食量を増加させることが示唆された。

（4）Appetite control in *C. elegans*

Young-Jai You（名古屋大学）

Feeding is essential to all animals so the fundamental aspects of feeding behavior and its regulation have to be conserved. Many animals change their feeding behavior based on the past experiences and nutritional or developmental needs. Hungry animals leave safety to seek food. Satiated animals stop seeking food and often rest. They avoid food that had made them sick before. Animals control feeding behavior by integrating multiple internal and external cues. Misregulation of this process causes several disorders from anorexia to obesity.

We study the feeding circuitry and molecular mechanisms by which multiple cues are integrated and the proper feeding behavior is chosen, using the simple yet powerful genetic model C. elegans. We have previously showed that C. elegans exhibits conserved hunger and satiety behaviors. Also we found that when food is present, a pair of head sensory neuron is activated and promotes satiety quiescence via the canonical TGFβ pathway and cGMP pathway, identifying the neural component of feeding circuitry. Satiety also depends on fat metabolism mediated by the SREBP-SCD pathway potentially via nuclear receptors, suggesting the input from fat to feeding circuitry.

In addition, we found that an aversive cue suppresses the sensation of a nutrient cue. The aversive cues are important for animals' survival. Indeed, amygdala of mammalian brain projects significant input to hypothalamus, suggesting that the

feeding circuitry not only integrates inputs of metabolic demand but also of the safety of the food. We are currently investigating the neuro-molecular mechanisms by which aversive cues override metabolic demands. This branch of research will provide an insight into another fundamental question of how a brain makes a decision when conflicting cues are present.

（5）Hypothalamic neuronal circuits regulating hunger-induced taste modification

○傅　欧[1,2]，三坂　巧[1]，中島健一朗[2]
（[1]東京大学，[2]生理学研究所）

味覚は食物の価値の判断基準として機能する。この基準は一定ではなく栄養状態に応じて変化することが報告されているものの，その調節機構は不明である。そこで本研究では，空腹に伴う味覚の変化を制御する神経メカニズムの解明を行った。

まず，マウスにおける空腹時の味覚感受性を測定したところ，通常時と比べ甘味感度が高まり，苦味感度が低下することがわかった。

視床下部弓状核に存在するアグーチ関連ペプチド産生神経（AgRP 神経）は空腹時に興奮し，脳内の様々な部位に抑制性の入力を与えることで摂食を誘引する。そこで，光遺伝学を用いた AgRP 神経の経路選択的な活性化を行い，味覚感受性を評価した。その結果，外側視床下部（LH）への投射経路の活性化が生理的な空腹状態で見られた味覚の変化を引き起こすことが明らかになった。

免疫組織学的解析により AgRP 神経が LH のグルタミン酸作動性神経(Vglut2 神経)への接続が示唆されたことから，DREADD を用いた抑制実験により Vglut2LH 神経の味覚への影響を評価した。その結果，この神経を抑制すると空腹時と同様の味覚の変化が誘導された。

次に Vglut2LH 神経の投射先を検証したところ，外側中隔核(LSI)，背側前核(AD)，外側手綱核(LHb)が主要部位であった。そこで，DREADD を用いた経路選択的な抑制実験を行ったところ，甘味は LSI 特異的に，苦味は LHb 特異的に調節された。

以上より，空腹時に生じる味覚の変化は AgRP 神経を起点に，Vglut2LH 神経を介して味ごとに異なる経路で調節をうけることが明らかになった。

（6）脂質と摂食

○酒寄信幸[1,2]，小林和人[1]
（[1]福島県立医科大学，[2]日本学術振興会特別研究員）

現代社会における肥満人口の増加は著しく，その重要な要因としてジャンクフードなどの嗜好品を快楽のために過剰摂取してしまうことが挙げられる。しかしどのような生活環境によって嗜好品の摂取が制御されるかについては解明が遅れており，地球規模で増加する肥満の原因たる環境因子の同定は社会的急務である。

多価不飽和脂肪酸（PUFA）は主要な脂質の一つであり，n-6 と n-3 に分類される。現代の多くの国々では n-6 PUFA を豊富に含む調理油の摂取増加や n-3 PUFA を豊富に含む魚類の摂取不足が見られ，高 n-6/低 n-3 食が拡大している。興味深いことに，肥満人口の増加と食の高 n-6/低 n-3 化との間には正の相関があり，高 n-6/低 n-3 食摂取が肥満を増加させる一因である可能性が示唆されている。

本研究では，肥満の増加と高 n-6/低 n-3 食の拡大との因果関係を解明するため，マウスにコントロール飼料または高 n-6/低 n-3 飼料を投与し，高嗜好性飼料に対する摂餌行動，および摂餌行動の神経基盤として腹側被蓋野におけるドパミン作動性ニューロンに着目し組織学的解析などを行っている。研究会では我々の最新データを発表したい。

（7）食行動の学習と嗅覚

築田靖崇（高知大）

食行動と嗅覚には密接な関係があり，食べ物の匂いは食行動を誘導する。嗅覚に関わる脳領域の中で，“嗅結節”は匂いのモチベーション行動の学習に寄与していると考えられる。匂いと報酬を結びつけて学習させるとマウスはその匂いに誘引され，嗅結節の前内側ドメインが活性化される。匂いと侵害刺激を結びつけて学習させるとマウスはその匂いを忌避し，嗅結節の外側ドメインが活性化される。

新生仔の離乳は食行動の発達および新たな食べ物の学習の典型であり，マウスでは生後 2-4 週の間に行われる。そして嗅結節の構造的機能的発達も，離乳期と同時期に起こる。そこで，嗅結節の発達が離乳にどのような役割をもつのかを検討した。嗅結節はドーパミンの投射を受けており，その受容体には１型と２型が存在する。食行動など匂いに対する誘引時には前内側ドメインのドーパミン受容体１型発現ニューロン（D1 ニューロン）が活性化されるため，D1 ニューロンに Cre recombinase を発現するマウスと Cre 依存的にトキシンを発現するウイルスを用いて，生後 2-4 週の離乳期において嗅結節前内側ドメインの D1 ニューロンの細胞除去を行った。生後４週目に母親から離して餌（ペレット）のみを与えたところ，ペレットの摂食行動を示し体重も増加したがコントロールマウスに比較して体重の増加率の低下傾向が見られた。このことから，離乳期における嗅結節の発達は新たな食べ物の摂食行動を適切に調節していることが示唆された。

（8）脂肪酸伸長酵素 Elovl6 の嗅覚における役割

○志村拓哉，松坂　賢，大野　博，宮本崇史，島野　仁（筑波大学）

【目的】脂肪酸伸長酵素 Elovl6 は炭素数（C）12-16 までの飽和・一価不飽和脂肪酸を基質とし，C18 のステアリン酸およびバクセン酸を合成する。我々は，Elovl6 欠損マウスはショ糖嗜好性が亢進することを見出し，一昨年度の本研究会で報告した。本研究では，ニューロン特異的 Elovl6 欠損 (NKO) マウスを用いて，食の嗜好性を形成する上で重要な嗅覚における Elovl6 の役割を解析した。

【方法】 NKO マウスおよびコントロールマウスの嗅球の切片を作製し，嗅球介在ニューロンのマーカーである tyrosine hydroxylase (TH)，calbindin (CB)，parvalbumin (PV)の免疫染色を行った。また，NKO マウスおよびコントロールマウスに対して嗅覚テストとして餌探索試験，嗅覚検出試験，嗅覚識別試験を行った。

【結果】 NKO マウスではコントロールマウスと比べて嗅球 PV 陽性介在ニューロンの減少が認められた。NKO マウスは匂いの識別能力に異常は認められなかったが，匂い対する検知能力が低下した。

【結語】本研究の結果から，Elovl6 は嗅球 PV 陽性介在ニューロンの維持に重要であり，脳における Elovl6 の減少が嗅覚機能の低下を引き起こす可能性が示唆された。ショ糖嗜好性と嗅覚の関連についても議論したい。

（9）若年女性における口腔内脂肪酸感受性および脂肪酸受容体の月経周期性変化における女性ホルモンの影響

○山内優歩，水上友里，上島恭子，鷹股　亮，森本恵子（奈良女子大学）

目的：女性ホルモンは摂食量に影響を与える。近年，口腔内脂肪酸受容体の存在が明らかとなり，脂肪酸の口腔内感受性や脂肪嗜好性との関係が注目されている。そこで本研究では，健康な若年女性を対象に，口腔内脂肪

酸閾値，脂肪嗜好性，脂質摂取量，口腔内脂肪酸受容体における月経周期性変化および血中女性ホルモン濃度との関係を検討した。方法：月経周期が規則的な女子大学生を対象に，月経期，排卵前期，黄体中期，黄体後期の４期に実験を行った。オレイン酸を用いた全口腔法・３肢強制選択法により，脂肪酸検知閾値を測定した。また，食物油添加スープを用いた脂肪嗜好性の評価，自由摂食による脂質摂取量の測定，実験日前後の食事調査を実施した。加えて，血漿エストロゲン・プロゲステロン濃度，頬粘膜の脂肪酸受容体およびエストロゲン受容体(ER)α・β の mRNA レベルを分析した。

結果：口腔内のオレイン酸閾値は月経期，黄体後期に比べて排卵前期で低値を示し，感受性が増加するという月経周期性変化が認められた。また，頬粘膜の脂肪酸受容体 mRNA レベルにおいても月経周期性変化が見られ，ERαmRNA レベルとの間に相関関係が認められた。

結語：若年女性においてエストロゲンは口腔内における脂肪酸受容体発現を介して，脂肪酸の味の感受性に影響を与える可能性が示唆された。

（10）ビタミンＣ欠乏についての報告

○安尾敏明，山村知暉，諏訪部　武，硲　哲崇（朝日大学）

超高齢社会を迎えた近年，介護の現場で，高齢者の微量栄養素不足が問題となってきており，味覚や食に対する嗜好性が微量栄養素の充足度にどのように影響を与えているのか解明し，その理解に基づく新たな手段を確立することが急務となっている。しかしながら，微量栄養素の必要量は微量であるため，どのように動物はこれらの栄養素を検知し摂取しているのか大きな謎となっている。発表者らはこれまでビタミンなどの微量必須栄養素を欠乏した動物が，当該物質をどのように検知し，充足させているのかに興味を持ち，行動学的及び神経科学的研究を行ってきた。

本発表では，微量栄養素の欠乏が末梢味覚器の味覚受容機構に影響を与えているのかどうか，また，そのことが原因で欠乏微量栄養素の摂取行動に影響を及ぼすのかどうかを明らかにするために，ビタミンＣ欠乏動物を用いて，鼓索神経応答解析，茸状乳頭味細胞における味覚関連分子等の遺伝子発現量解析及び行動学的解析（48 時間二瓶選択法による嗜好率の測定）を行ったので，その成果を報告したい。

（11）混合味溶液の識別と神経

○山村知暉，安尾敏明，諏訪部　武，硲　哲崇（朝日大学）

我々ヒトを初めとした動物が通常摂取しているのは，単一の味溶液ではなく，様々な味質の味溶液を含有した複合体であるはずである。しかしながら，動物が，混合味溶液を与えられた時，それを含有物の単なる混合味質と認識するのか，あるいは，含有物の性質を残さないまったくユニークな味であると認識するのかについては，過去にもいくつかの報告があり一致した見解をみない。そこで，我々は，昨年度の本会において，嗜好性の異なる複数の混合味溶液をラットに呈示した時，それらに対する嗜好性が，単体味溶液が呈示された場合と比べて，どう変化するのかを調べるとともに，その混合味溶液中の含有物をどの程度まで識別できるのか，さらには，混合味溶液に含まれる含有物の濃度変化が含有物の識別にどう関与するのかについて行動学的手法を用いて検討した実験結果を紹介した。本年度は，前回の報告では十分に説明できなかった，味覚嫌悪条件づけの手法を用いる限り，非条件づけ群も，リック数が少ないため識別性の検討が困難である嫌悪性の高い味溶液の識別性をより明白にするために，我々が近年開発した手法を用いて行った実験結果を紹介するとともに，混合味溶液含有物の識別に味覚神経（鼓索神経および舌咽神経）がどう関与しているかも検討を試みたので発表したい。

（12）Translational tool としてのスクロース嗜好性テスト

山中　創（京都大学霊長類研究所）

うつ病は高い生涯罹患率を有し，いまだその病因は不明である。明確な検査方法がなく，精神障害の診断基準は主に変容した行動タイプを基にしている。そのため，そのモデル動物の face validity（表面妥当性）評価には症状と共通性の高い translational tool を用いる必要がある。認知機能検査，イメージング法が translational tool として知られているが，いずれも DSM などの診断基準には含まれていない。また，効率的なうつ病の表面妥当性評価には，解剖学的および生理学的にヒトに近縁な霊長類の使用が必要不可欠である。しかし，診断基準に準じた霊長類を対象とした行動評価方法はほとんど報告されてない。スクロース嗜好性テスト（SPT）はうつ病の診断基準の一つである「喜びの喪失」を反映した快感喪失行動を調べるもので，げっ歯類を中心に実施されている。本研究では SPT の霊長類への応用を検討することを目的とし，アカゲザルとマーモセットを対象にいくつかの実験を実施した。最初に，スクロース濃度－反応曲線を作製し，濃度による摂取量や割合の違いを明確にした。さらに，SPT の有効性を確認するために，薬剤惹起性うつ病モデルを用いて薬物投与に反応する個体が同定された。このようなことから，本テストは霊長類モデルにおけるうつ様行動の表面妥当性を評価する可能性を持っている。

（13）中脳辺縁系ニューロンの $GABA_B$ 受容体シグナルによる高脂肪食摂取調節機構の解明

○恒川　卓，坂野僚一，柳沼裕史，滝　啓吾，溝口　暁，杉山摩利子，高木博史，伊藤禎浩，有馬　寛
（名古屋大学）

【背景】報酬系に基づく摂食行動調節では中脳腹側被蓋野から線条体・側坐核へ投射するドーパミンニューロンが中心的な役割を果たす。高脂肪食（HFD）の摂取は脳内報酬系の機能異常を来し過食の要因となることが報告されている。我々はこれまでに GABAB 受容体アゴニストの baclofen が抗肥満作用を示すことを動物実験および肥満患者の臨床試験で明らかにしたが，詳細な機序については未解明である。

【目的】HFD 摂取における中脳辺縁系ニューロンの GABAB 受容体シグナルの役割を明らかにする。

【方法】Cre-loxP システムを用いてドーパミンニューロン特異的 GABAB 受容体欠損マウス（DKO）および線条体ニューロン特異的 GABAB 受容体欠損マウス（SKO）を作成して，HFD を投与し野生型マウス（WT）と摂食量および体重について比較検討した。

【結果】HFD の継続投与による体重および摂食量の増加，もしくは baclofen 投与による摂食量および体重の減少は，WT と DKO もしくは SKO マウス間で有意差を認めなかった。一方，HFD の間欠投与において SKO は WT と比較して HFD 摂取量が増加した。また，baclofen 投与は WT で HFD 摂取量を減少させたが，DKO および SKO では摂取量を減少させなかった。

【結語】中脳辺縁系ニューロンの GABAB 受容体シグナルは報酬系による HFD の摂食行動を抑制する可能性が示唆された。

（14）味覚性･嗅覚性新奇恐怖の表出と扁桃体

○篠原恵介，八十島安伸（大阪大学）

動物は初めて経験する飲食物が生得的に好ましい味であってもその摂取を控える傾向にある。この現象は食物新奇恐怖と呼ばれる。本研究では，ラットを対象に神経活動を一時的に抑制する GABAA 受容体作動薬ムシモールの扁桃体基底外側核 (BLA) への脳内投与が食物の味や匂いに対する新奇恐怖に与える影響を検討した。実験では，味溶液として 0.5%サッカリン溶液，匂い溶液として 0.15%ベンズアルデヒド溶液を用いた。18 時間絶水下のラットに蒸留水を 20 分間呈示する飲水訓練を行い，飲水量が安定した後に，蒸留水の代わりに味溶液を呈示するテストを実施した。呈示の直前に両側 BLA 内にムシモール，または生理食塩水を投与した。その結果，生理食塩水を投与した統制群では飲水訓練最終日での飲水量と比べて味溶液摂取量は少なく，味覚性新奇恐怖を示した。一方，ムシモール投与群ではそのような味溶液摂取量の減少は見られず，飲水訓練最終日の飲水量と同程度の摂取量であった。その後，同様の手続きで匂い溶液を呈示したところ，統制群では初回呈示時の摂取量が飲水レベルを下回っており，嗅覚性新奇恐怖を示した。しかし，味溶液と異なり，呈示直前のムシモール投与による摂取量の変化は示されなかった。これらの結果は，味覚性新奇恐怖の表出には BLA の働きが関与する一方で，嗅覚性新奇恐怖の表出には BLA とは異なる脳領域が関与する可能性を示唆している。

（15）味覚嫌悪反応の神経基盤の解明に向けて

○田中大介，李　樹生，迎　栞，田邊　勉（東京医科歯科大学）

摂食により引き起こされる主観的な不快体験の強度は，口腔顔面などの動きを元に判定される味覚嫌悪反応の強度と高い相関を示すことが明らかになっている。味覚嫌悪反応の神経基盤を明らかにするために，まず，最初期遺伝子の一つである c-fos の発現を指標として，生得的な嫌悪反応を誘導するキニーネ刺激，および獲得嫌悪反応を誘導する，サッカリンに対する味覚嫌悪学習後のサッカリン刺激，の両方の刺激で特異的に活動する脳領域を探した。結果，拡張扁桃体の一部である前交連後脚介在核 (The interstitial nucleus of the posterior limb of the anterior commissure; IPAC)では，両方の刺激で特異的に c-fos 陽性細胞が有意に増加することが明らかになった。

一般に，注目している特定の神経細胞について，その入出力先や回路および行動レベルでの機能を調べる上で，それら神経細胞の特異的な操作を可能にする遺伝学的アクセス方法を確立することが重要である。我々は次に，IPAC の c-fos 陽性細胞への遺伝学的なアクセスを目指し，c-fos-CreERT2 マウスを用いて，それら c-fos 陽性細胞で特異的に遺伝子組換え反応を誘導することを試みた。結果，キニーネ刺激により IPAC で有意に組換わり細胞を誘導することが出来た。今後，これら細胞の入出力先や機能を調べていきたい。

（16）エストロゲンによる糖溶液嗜好性の変化とエネルギー摂取調節

○飯田久瑠美，金森好美，近藤沙也加，西村友里，鷹股　亮（奈良女子大学）

エストロゲンは，摂食量（摂取エネルギー量）を減少させる一方, スクロース溶液摂取を増加させる。本研究では，エストロゲンによる快楽性糖摂取促進がエネルギー摂取調節へ及ぼす影響と，その作用機序の解明を目的とした。

卵巣摘出したラットに，estradiol（E2 群）またはコレステロール（Veh 群）処置後，水と各種糖溶液の 2 ボトルを

提示し, 各溶液の摂取量, 摂食量, 体重を測定した。次に, メスラットの実験 1 と同様の処置後，皮下に μ オピオイド受容体拮抗薬のナルトレキソン塩酸塩（NTX）を 14 日間持続投与し，水と 10%スクロース溶液の 2 ボトル選択テストを行った。最終日に，2 時間のスクロース溶液自由摂取後, 灌流固定を行い, 側坐核の c-Fos 発現を観察した。

E2 群は Veh 群と比べ，グルコース，スクロース溶液摂取量が有意に多く, これらの溶液を与えた時にはエストロゲンの総摂取エネルギー量抑制作用が消失した。NTX 投与により, エストロゲンのスクロース摂取量の促進効果は消失し, スクロース摂取時の総摂取エネルギー量は Veh 群と比べ E2 群で少なくなり，体重増加量も小さくなった。また，E2 群でのみ，NTX 投与により糖溶液摂取後の側坐核での c-Fos 発現が抑制された。以上より，エストロゲンは快楽性糖摂取を促進し, 糖摂取増加によりエストロゲンの摂食（エネルギー摂取）抑制作用は消失する。この作用に μ オピオイド受容体が関与する可能性が示唆された。

（17）CRF ニューロンと摂食調節

○堀尾修平 [1]，山形　聡 [2]，小林憲太 [1]，加藤成樹 [3]，崎村建司 [4]，上山敬司 [5]，
小林和人 [3]，箕越靖彦 [1]，井樋慶一 [6]
（[1] 生理学研究所，[2] 弘前大学，[3] 福島県立医科大学，[4] 新潟大学，[5] 和歌山県立医科大学，[6] 東北大学）

脳内の CRF ニューロンが摂食調節に関与することが従来から示唆されている。CRF ニューロンの存在部位として，視床下部室傍核，扁桃体中心核，分界条状核などが知られている。今回，これらの CRF ニューロンの投射部位を下記の方法により明らかにする。第 1 に, CRF-Cre マウスの室傍核などに，Cre 依存性に GFP と WGA を発現するウイルスベクターを注入し，投射 2 次ニューロンを WGA 発現により調べる。第 2 に，それらの投射部位に Cre 依存性に GFP を発現する逆行性ウイルスベクターを注入し, 脳内における GFP 発現ニューロンの分布を調べる。これらのニューロンは，特定の脳部位に投射する CRF ニューロンと考えられる。第 3 に，投射部位に Cre 依存性に機能分子（テタヌストキシン）を発現する逆行性ウイルスベクターを注入し，CRF ニューロン存在部位にその発現を調節する因子を発現させるためのウイルスベクターを注入する。その結果，特定の CRF ニューロンにのみ機能分子が発現するため，そのニューロンの生理機能を調べることが可能になる。このような方法を用いて，CRF ニューロンの投射経路とその生理機能を明らかにすることが可能である。

（18）SIRT1 とアルコール嗜好性

○松居　翔，佐々木　努，河野大輔，橋本博美，小林雅樹，北村忠弘（群馬大学）

【背景】我々は，SIRT1 が FGF21-オキシトシン系を促進し，炭水化物嗜好性を抑制することを解明した。アルコール嗜好性も, 炭水化物嗜好性と同様に FGF21 の制御を受けることが報告されている。そこで本研究では，SIRT1 によるアルコール嗜好性制御機構の解析を行った。

【方法】神経特異的 SIRT1 過剰発現 (NS-OE) マウスを作製し，アルコール嗜好性試験 (水 vs. 4%，8%，16% エタノール) を行った。次に，オキシトシンニューロン特異的 SIRT1 過剰発現 (OS-OE) およびノックアウト (OS-KO) マウスを作製し, アルコール嗜好性試験 (水 vs. 4%，8%，16%エタノール) を行った。また，SIRT1 活性化作用を持つレスベラトロールを C57BL/6 マウスに与え (1 週間，2 週間)，アルコール嗜好性試験 (水 vs. 8% エタノール) を行った。

【結果】NS-OE マウスは，4%，8%，16%エタノールに対する嗜好性の低下を示した。OS-OE マウスは，8%，16%エタノールに対する嗜好性の低下を示した。他方，OS-KO マウスは，4%，16%エタノールに対する嗜好性の

上昇を示した。また, 2 週間のレスベラトロール摂取は, マウスの 8%エタノールに対する嗜好性を低下させた。

【結論】SIRT1 は，オキシトシンを介してアルコール嗜好性を低下させる可能性が示唆された。

（19）脳における血中 LPS 感知

○森田-竹村 晶子[1]，中原一貴[1]，長谷川-石井 さなえ[2]，石西綾美[1]，
辰巳晃子[1]，奥田洋明[3]，田中達英[1]，和中明生[1]
（[1]奈良県立医科大学，[2]杏林大学, [3]金沢大学）

エンドトキシンが血中に入ると，発熱や摂食量および飲水量の低下といった，様々な脳を介した疾病行動が生じるが，エンドトキシンの投与によりその後のエンドトキシンに対する疾病行動が減弱する現象「エンドトキシン耐性」のメカニズムは不明である。脳の中でも血液脳関門を持たず，摂食飲水制御に関与するといわれている脳弓下器官は，エンドトキシン LPS の受容体を持ち，血中の LPS に対していち早く炎症性サイトカイン IL-β を産生することから LPS を感知する脳部位の一つと考えられている。さらに，同部位特異的に IL-1β 受容体を阻害すると発熱が起きないことが分かっている。本研究では，エンドトキシン耐性時にこの脳弓下器官における LPS 下流のシグナリングが下方制御されているという仮説を立てて検証した。末梢では，LPS 前投与で二度目の LPS に対するマクロファージの IL-1β 発現が低下することから，脳弓下器官のマクロファージ・ミクログリアに着目した。マウスに LPS を投与すると，脳弓下器官の血管周囲マクロファージ様細胞に IL-1β の高い発現が認められた。このマクロファージ様細胞は末梢由来であった。一方，LPS 投与後の摂餌量及び飲水量低下といった疾病行動が減弱し，エンドトキシン耐性の確立が確認できたマウスでは，2 度目の LPS 投与後，脳弓下器官における IL-1β 発現が低下した。以上の結果を総合すると，エンドトキシン耐性マウスでは，脳弓下器官の末梢由来マクロファージによる IL-1β 発現低下が，疾病行動の減弱に繋がっている可能性がある。

（20）生育温度による食嗜好性変動の検証

○末武綾子，中地はづき，長阪玲子（東京海洋大学）

一昨年の本研究会において，我々は生育温度の変化がマウスの嗜好性に影響を及ぼすこと，その原因として末梢ホルモンであるレプチンが関与している可能性を報告した。今回は生育温度の変化による嗜好性の変動がどのようなメカニズムで引き起こされるかを詳細に検討するために，生育温度の異なるマウスに飲水テストを供し，嗜好性の変動を確認した。

マウスを低温 (10℃) 及び高温 (30℃) 条件下で 4 日間馴化飼育した後に，高ショ糖水 (HS) 及び高脂質水 (HF) を用いて二瓶選択試験を 3 日間実施した。選択試験開始 10 分後及び 120 分後に摂水量の測定を行った。

その結果，生育温度の違いによって 120 分後の嗜好性に有意な違いがあることが明らかになった。また，この嗜好は 10 分では確認されなかったことから，生育温度の変化による嗜好性の違いは口腔内の嗜好性によるものではないということが示唆された。

この研究結果は先に示した中地らの研究結果を裏付けるものとなったことに加え，生育温度の変化によっておこる嗜好性変動には口腔内の嗜好性ではなく，栄養吸収後の短期的なシグナル伝達経路が関与することを示唆した。今後は生育温度による嗜好性変動メカニズムについて詳細な検討を重ねる予定である。

（21）ゼブラフィッシュにおける食欲関連因子に関する研究

○林　風咲子，末武綾子，石川雄樹，長阪玲子
（東京海洋大学）

味覚受容並びに嗜好性制御機構の研究は近年益々盛んになっている。これらは哺乳類を基盤とした知見であり，魚類の嗜好性制御メカニズムについてはほとんど着目されておらず解明がなされていない。そのため発表者らは哺乳類に加え魚類も対象として味覚・嗜好性制御に関する研究を行っている。これまでに発表者らは，ゼブラフィッシュの髭において種々の味覚受容体が発現し，その発現パターンが口腔内の味覚受容体発現と類似しているものであること，マウスと同様，絶食状態のゼブラフィッシュにおいて味覚受容体発現量が有意に増加することを明らかにした。現在，マウスにおいて絶食により炭水化物の嗜好性を司るシグナル伝達に作用することが既に明らかとなっている。しかし，魚類においては，摂食状態が嗜好性に及ぼす影響について未だ不明である。そこで発表者らは，魚類において摂食状態が食嗜好性に与える影響を解明するために，ゼブラフィッシュを用いて，絶食及び飽食状態における視床下部の摂食関連因子の発現量の変化を調べた。10 匹のゼブラフィッシュを 2 群に分け，10 日間の絶食飼育または飽食飼育を行った。飼育後に脳視床下部を採取し，リアルタイム PCR で嗜好性制御への関与が考えられる摂食関連因子の mRNA 発現量を確認した。その結果，絶食群では飽食群と比較し全ての因子において mRNA の発現量減少が確認され，マウスで報告されているものとは異なる知見が得られたことから，魚類は哺乳類とは異なる嗜好性制御機構を有している可能性が示唆された。

（22）視床下部分泌性小タンパク質 NPGL によるエネルギー代謝調節作用

○浮穴和義，斎藤鷹也，鹿野健史朗，古満芽久美，岩越栄子
（広島大学）

我々は最近，鳥類や哺乳類において脳の視床下部に特異的に発現し，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新規遺伝子を発見している。この小タンパク質を C 末端部分のアミノ酸配列（Gly-Leu-NH2）から Neurosecretory protein GL（NPGL）と命名した。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。ラット（Wistar）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ったところ，脂肪組織における de novo 脂肪合成が亢進することで脂肪蓄積が生じることがわかった。さらに，マクロ栄養素飼料給餌条件下で NPGL を脳室内投与したところ，炭水化物摂取を増加させる効果が認められた。

本研究では，マウス（C57BL/6J）を用いて NPGL の生理作用の探索を行った。

2 週間の NPGL を脳室内へ慢性投与を行ったところ，摂食量に顕著な影響はないにも関わらず，脂肪量と体重が有意に増加した。呼吸商と活動量を測定したところ，NPGL 投与によりエネルギー消費と活動量が低下することが明らかになった。また，脂肪組織における de novo 脂肪合成が亢進していた。最後に，マクロ栄養素飼料給餌実験では，特定の栄養素に対する嗜好性は無いものの，トータルの摂食量が増加した。

以上の解析から，ラットとマウスともに，NPGL には脂肪蓄積を促す作用があることが示された。

（23）食嗜好に関与する日本人ゲノムワイド関連解析

○五十嵐麻希[1,2]，野川　駿[3]，川舩かおる[3]，八谷剛史[4]，高橋祥子[3]，斉藤憲司[1,3]，賈　慧娟[1]，加藤久典[1]
（[1]東京大，[2]成育医療研究センター，[3]ジーンクエスト，[4]ゲノムアナリティクスジャパン）

［背景・目的］日本人は，世界でも有数の魚消費国である。これまでに，魚摂取頻度に関する日本人ゲノムワイド関連解析（GWAS）は行われていない。よって本研究は，魚摂取頻度に影響を与える遺伝子座の同定と，その特徴を明らかにすることを目的とした。

［方法］健常日本人 12,247 人を対象として，唾液試料よりゲノム DNA を抽出し，一塩基多型（SNP）アレイによる遺伝型のタイピングを行った。また，Web アンケート調査により，魚の摂取頻度・居住地域・性別・年齢・飲酒量と飲酒頻度データを取集した。対象者を居住地域別に 8 群に分け，PLINK を用いた GWAS 解析およびメタ解析を行い，P＜5.0×10-8 を有意水準として SNP を探索した。抽出した SNP について，飲酒量または飲酒頻度を共変量に加えた関連解析と，年齢・性別による層別化解析を行った。

［結果・考察］メタ解析の結果，12q24.12 領域上にある ACAD10 遺伝子の rs11066015 が，魚の摂取頻度と関連のある SNP として同定された (P = 3.3×10-11)。12q24.12 領域は連鎖不均衡が強く，rs11066015 はアルコール代謝に関わる ALDH2 遺伝子の rs671 と強く連鎖している。飲酒習慣で調整した関連解析において，rs11066015 と魚摂取頻度との関連は有意水準に達しなかった。rs11066015 の効果は，アルコール嗜好性の高い男性で女性よりも，高年齢群で低年齢群よりも強かった。以上の成績は，rs11066015 がアルコール嗜好性を介して魚の食嗜好に影響することを示唆する。本研究は，遺伝型によって魚に対する食嗜好が変わることを初めて明らかとした。

（24）無意識の視覚的食刺激に伴う脳活動と日常の食行動との関係

○高田勝子[1,2]，吉川貴仁[1]，石井　聡[1]
（[1]大阪市立大学，[2]奈良学園大学）

【目的】日常生活において，ヒトは度々自覚なく無意識で行動の意思決定を行っていると言われており，肥満や低栄養といった現代人の健康問題を考える上で，食行動における無意識の認知過程を解明することは重要と思われる。そこで，本研究では，本人が自覚しない形で食品の写真を提示したときに生じる脳・自律神経の活動と日常の食行動との関係を検討することとした。

【対象】健康な若年男性 20 名。

【方法】バックワードマスキング法を用い，食品の写真とその写真から作成したモザイク画像を意識に上らない形で提示し，そのさいに生じる脳活動を脳磁図法で計測した。一方，心電図から心拍変動の周波数解析を行うことで，自律神経活動の評価を行った。さらに，これらの神経活動と，質問紙で調べた日常の食行動との関係を検討した。

【結果】心拍変動の解析により，食品写真の提示により交感神経活動（低周波成分パワー/高周波成分パワー比，LF/HF 比）の増加を認め，その増加は日常の食に対する認知的抑制（我慢）の程度と負の相関を示した。また，脳磁図解析により，食品写真の提示により生じた下前頭回及び島皮質における α 帯域のパワー値の増加は，それぞれ交感神経活動及び日常の食に対する認知的抑制の程度と関連していた。

【結論】視覚的な食刺激に応じて，本人の自覚とは関係なく生じる脳や自律神経系の働きは，ヒトの日常の食行動のパターンに関連している可能性が示唆された。

13. 運動器／代謝系連関による生体機能制御とその変容の仕組み

2018 年 9 月 22 日－9 月 23 日

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）クロトーマウスにおけるインクレチン産生と糖代謝制御

稲田明理（先端医療研究センター）

（２）重症病態における代謝動態の解析

堤　理恵（徳島大学）

（３）高齢者のサルコペニア・フレイルとホルモン

小川純人（東京大学）

（４）骨格筋再生におけるアディポネクチン・T-カドヘリンの役割についての検討

田中紀實（大阪大学）

（５）新規開発測定系を用いた血中グルカゴン変動の再検証

小林雅樹（群馬大学）

（６）グルカゴン応答性メチル化酵素を介した代謝調節機構の解明

松川隼也（国立国際医療研究センター研究所）

（７）脂肪肝再生過程における ATF3 の役割

稲葉有香（金沢大学）

（８）SGLT2 阻害薬は NASH モデルマウスの肝線維化と肝臓癌の発生を抑制する

柴　久美子（東京医科歯科大学）

（９）運動によるエネルギー代謝調節メカニズムの解明

岩部真人（東京大学）

(10) 骨リモデリングの制御機構

中島友紀（東京医科歯科大学）

(11) 細胞膜上性ステロイドホルモン受容体を介した代謝機能制御

大植隆司（東京農工大学）

(12) 自己免疫疾患発症におけるコレステロール代謝異常の意義

伊藤綾香（名古屋大学）

(13) 昼寝の体温を制御する GPCR

土居雅夫（京都大学）

(14) 視床下部における新規食事性肥満関連分子 SerpinA3 の同定

田中智洋（名古屋市立大学）

(15) 内因性 GLP-1 の＜求心性迷走神経→脳＞軸を介した摂食抑制，インスリン分泌促進，インスリン感受性亢進作用

岩崎有作（京都府立大学）

(16) 糖尿病による糖代謝異常が中枢機能に与える影響と精神障害への関与

池田弘子（星薬科大学）

(17) 糖尿病における運動によるアストロサイト保護効果

岸　拓弥（九州大学）

(18) 摂食概日リズムの形成機構と代謝制御

矢田俊彦（関西電力医学研究所）

【参加者名】

山内敏正，小川純人，岩部真人，岩部美紀，傳　欧（東京大学），岡本士毅，與那嶺正人（琉球大学大学院），岸　拓弥（九州大学），椎村祐樹（久留米大学），阪上浩，志内哲也，堤　理恵（徳島大学大学院），矢田俊彦（関西電力医学研究所），喜多俊文，田中紀實（大阪大学），土居雅夫（京都大学大学院），岩崎有作（京都府立大学），井上　啓，渡邉一史，稲葉有香（金沢大学），田中智洋，小山博之，青谷大介（名古屋市立大学），田中　都，伊藤綾香（名古屋大学），松本道宏，松川隼也（国立国際医療研究センター研究所），池田弘子，米持奈央美，植田大暉，山岸愛実（星薬科大学），稲田明理（先端医療センター），山田哲也，中島友紀，柴　久美子，小宮　力，辻本和峰（東京医科歯科大学），大植隆司，渡辺啓太（東京農工大学），小林雅樹（群馬大学），佐藤幸治（生命創成探究センター），箕越靖彦，中島健一朗，近藤邦生，菊地晶裕（生理学研究所）

【概要】

超高齢社会の日本において人々が健康で心豊かな生活をおくるためには，肥満症や糖尿病等の代謝疾患のみならず，新たな展開として，サルコペニアや骨粗鬆症，フレイル等の運動器系疾患の原因解明とその対策が必須である。運動器系と糖・脂質・エネルギー代謝系の連関による生体恒常性維持機構を明らかにするためには，幅広い領域を跨ぐ学際的研究が必要である。具体的には，脳神経系，脂肪組織，肝臓，骨格筋，膵島，心血管系，腎臓，消化管，骨，免疫系といった領域での学際的研究が求められる。

本研究会では，様々な研究分野を横断した筋骨格系，内分泌系，神経系，免疫系等の専門家が一堂に会し，最新の技術とデータを共有し，新たな展開として運動器系と代謝系の統合的な連関システムに主軸をおいて考え，生命現象を理解するだけでなく，超高齢社会の我が国において，健康寿命の延伸に寄与することを目的とした。また，臓器相関と腸内細菌メタゲノムも含めた多層的オミックス，栄養学，運動生理学，加齢・老化，時計遺伝子等といった多分野連携共同研究のネットワークの形成も視野に入れ，本研究会を開催した。

運動器／代謝系連関に関わる若手・女性研究者の教育と人材育成にも取り組み，10 名の若手研究者，6 名の女性研究者に発表をお願いした。具体的な発表は，病態・老化・長寿における代謝制御（稲田・堤・小川等），ホルモンにおける代謝調節（田中・小林・松川等），肝臓・運動器における代謝制御（稲葉・柴・岩部・中島等），受容体を介する代謝制御（大植・伊藤・土居等），中枢・神経における代謝制御（田中・岩崎・池田・岸・矢田等）について行った。

本研究会は，最新の技術とデータの共有，自由・活発な発表・議論が行われ，知見・研究技術・人的交流を深めることができ，運動器/代謝系連関による糖・脂質・エネルギー代謝研究における有機的共同研究の推進に繋がるものとなった。

（1）クロトーマウスにおけるインクレチン産生と糖代謝制御

稲田明理（先端医療研究センター老化機構研究部門）

α-Klotho 遺伝子欠損マウス（α-Klotho KO マウス）は骨密度の低下，肺気腫，皮膚の加齢化などの多彩な老化類似症状を早期に示し短命であることが知られている。また，血中の活性型ビタミン D 濃度が顕著に亢進しているが，ビタミン D 前駆体を含まない餌による飼育や α-Klotho と 1α-hydroxylase のダブル欠損マウスなど，ビタミン D の亢進を抑制すると老化類似症状は顕著に改善することから，ビタミン D の過剰亢進が老化類似症状の発症に関わる重要な要因の一つであると考えられている。

私たちはこの α-Klotho KO マウスを解析して，週齢が進むにつれて血糖値が低下し極度の低血糖になることを突き止めた。KO マウスは常に餌を食べているにも関わらず血糖レベルを正常範囲に維持することができず，また血糖降下ホルモンである血中インスリン，インクレチン濃度も慢性的に高値を示していたことから，糖代謝調節の障害が起こっていると推定された。そこで，糖負

荷試験を試みたところ，KO マウス，野生型マウス共に糖負荷により血糖値は上昇するが，KO マウスでは，野生型に比して速やかに血糖値が低下することが判明し，更に，この速やかな血糖値の低下にインクレチンの過剰生産と分泌促進, 並びに 1,25(OH)$_2$D の機能亢進が関わっていることを示唆する結果を得た。

（2）重症病態における代謝動態の解析

堤　理恵，山本智子，阪上　浩（徳島大学大学院医歯薬学研究部代謝栄養学分野）

【背景】我々はこれまでに重症病態において代謝破綻が生じ，エネルギー代謝は抑制されることを報告してきた。本研究では，マウス，培養細胞，ヒト血液を用いてその機序を検討した。

【方法】マウスは８週齢 C57BL/6 マウス，mTOR$^{+/-}$マウスを用い，LPS 投与により敗血症モデルとした。安静時エネルギー代謝は Oxymax 等流量システムによる測定を行った。代謝動態は血液，筋肉，肝臓を用いてメタボローム解析，qPCR および ELISA により解析した。細胞は HepG2 細胞，C_2C_{12} 細胞を用いた。ヒトは徳島大学病院 ICU に入室した重症患者（APACHEII26.1）を対象とし，入室後 1,3,5,7 日の血液のメタボローム解析を行った。

【結果および考察】マウスの血液および筋肉において LPS 濃度依存的に ATP 産生およびエネルギー消費量は減少し，解糖系の亢進，乳酸値の上昇が認められた。上流の機序として PHD2 誘導による HIF1α の上昇による乳酸値，PDK4 活性の上昇，PDH の抑制が示唆された。肝臓では代謝変動が認められなかった。mTOR$^{+/-}$マウスにおいては敗血症を誘導してもエネルギー消費量の低下が認められなかった。重症患者においても，健常人と比較して解糖系亢進，乳酸値の上昇が認められた。さらに生存例のみで血中遊離アミノ酸が 3 日目に上昇したのに対し，死亡例では変化を示さなかった。mTOR+/-マウスにおいて代謝抑制が生じないことから，遊離アミノ酸の放出が PHD2-HIF1α-Lactate 産生シグナルを誘導し，これが侵襲時の生命維持に重要な役割を果たすと考えた。

（3）高齢者のサルコペニア・フレイルとホルモン

小川純人（東京大学大学院医学系研究科加齢医学）

高齢者のフレイルは，「高齢期に生理的予備能が低下することでストレスに対する脆弱性が亢進し，生活機能障害，要介護状態，死亡等の転帰に陥りやすい状態」と理解され，要介護リスクの増大に加えて ADL/QOL や生命予後にも大きな影響を及ぼすことが知られている。このため，超高齢社会を迎えたわが国において高齢者における早期からの介護予防やフレイル対策は重要と考えられる。近年，こうしたフレイルの重要かつ中核的な要素として，骨格筋を中心に筋量や筋力の低下を特徴とするサルコペニアが注目されるようになってきており，日本人を含むサルコペニアの診断基準や診療ガイドラインが発表されるに至っている。

また，これまでの研究から，フレイル・サルコペニアの発症や進行には，加齢に伴うビタミン D や性ホルモンの動態変化をはじめとする，種々の要因が関与していることが明らかになってきている。特に男性ホルモンであるアンドロゲンレベルの低下は，男性更年期障害（Late-onset Hypogonadism）の要因であることに加えて，フレイル・サルコペニアや老年疾患・動脈硬化などとも関連を有する可能性が次第に明らかになってきている。今回，高齢者のサルコペニア・フレイルとその対策に向けて，加齢に伴うホルモン動態の変化，ならびにホルモン補充を含めた薬物療法や運動・栄養介入をはじめとした多面的なアプローチとその可能性について紹介したい。

（4）骨格筋再生におけるアディポネクチン・T-カドヘリンの役割についての検討

田中紀實（大阪大学大学院医学系研究科内分泌代謝内科学）

【背景・目的】アディポネクチン(APN)は GPI アンカー型蛋白 T-カドヘリン(T-cad)を介して心筋・血管・骨格筋に主に集積し心筋・血管においては保護作用を有する。一方，骨格筋における T-cad/APN の役割は明らかではなく，本研究では筋再生モデルを用いて T-cad/APN の役割を明らかにすることを目的とした。

【方法】①：C57B6J マウス雄(WT マウス)においてアンギオテンシンⅡ(AⅡ)負荷下 APN を強制発現させ CTX 注入 7 日後の前脛骨筋の HE 染色像を解析した。APN ノックアウト(AKO)マウス，T-cad ノックアウト(TKO)マウスにおいても同様の実験を行った。②：CTX 注入 7 日目の筋組織における APN の局在を免疫染色で調べた。③：C2C12 細胞の分化誘導前,誘導 2 日後,4 日後に APN を添加して APN の免疫染色を行った。

【結果】①：WT マウス，AKO マウスにおいて APN は再生筋の筋線維断面積を増加させ，また壊死組織面積を有意に減少させた。一方で T-cad KO マウスでは対照群と APN 群に有意な差を認めなかった。②：APN は正常筋においては細胞周囲に局在するが，再生筋においては細胞内部への局在も認めた。③：C2C12 細胞において分化誘導後の筋管細胞に APN は強く集積し細胞内へも局在した。

【結語】筋再生において APN は T-cad を介して骨格筋に集積し，筋再生を促進させた。

（5）新規開発測定系を用いた血中グルカゴン変動の再検証

小林雅樹（群馬大学生体調節研究所代謝シグナル解析分野）

血糖調節機構におけるグルカゴンの役割への関心の高まりとともに，従来のグルカゴン C 末端抗体による競合法イムノアッセイには反応特異性に大きな問題があることが広く知られるようになった。そのため，最近ではグルカゴン C 末端および N 末端抗体を用いて反応特異性を高めたサンドイッチ ELISA が使用されているが，抗体による非特異的な反応を完全に除外することができず，測定結果の信頼性評価が困難であった。そこで私たちはイムノアッセイに代わる測定系として質量分析装置を用いたグルカゴン測定系を新たに開発した。質量分析装置を用いた既存のイムノアッセイの信頼性評価の結果，サンドイッチ ELISA は簡便であり有用な測定系ではあるが，症例によっては質量分析装置と測定結果が大きく乖離することが明らかになった。そのため血中グルカゴンの変動の解析は，質量分析装置による十分な検討の下で行う必要がある。様々な状況下における血中グルカゴン濃度の変化について再検証を行った結果，糖尿病におけるグルカゴン分泌亢進が改めて確認された一方で，「膵α細胞は低血糖を感知するとグルカゴンを分泌し，肝グリコーゲン分解をさせ血糖値を増加させる，インスリンに拮抗的な血糖調節ホルモン」という一義的な考えでは説明がつかない幾つかの現象も認められた。今後はグルカゴンの分泌動態については血糖調節以外の生理作用も含めた解釈が必要になると考えられる。

（6）グルカゴン応答性メチル化酵素を介した代謝調節機構の解明

松川隼也 [1]，酒井真志人 [2]，満島勝 [1]，長沼孝雄 [1]，赤星志織 [1,3]，八木孝 [1]，
矢野宏行 [1,4]，春日雅人 [5,6]，松本道宏 [1]
（[1] 国立国際医療研究センター研究所糖尿病研究センター分子代謝制御研究部，
[2] カリフォルニア大学サンディエゴ校医学部細胞分子医学分野，
[3] 横浜市立大学医学部，[4] 日本医科大学生体機能制御学，
[5] 国立国際医療研究センター，[6] 朝日生命成人病研究所）

肝糖新生の病的亢進は NAFLD と並ぶインスリン抵抗性の肝病態であり，これにはグルカゴン作用の増強による肝糖新生系酵素 G6Pase，PEPCK の遺伝子転写の活性化が深く関与する。我々はこれまでに，絶食時 2 型糖尿病の肝臓においてアセチル化酵素 GCN5，転写調節分子 CITED2，PKA を含むシグナル伝達モジュールが，グルカゴンによる糖新生系酵素の転写誘導に必須であること，本モジュールの抑制により糖尿病モデルマウスの高血糖が改善されることを報告した。そのため本モジュールの標的因子は糖尿病・NASH 肝ガンの治療標的となる可能性がある。本発表では，本モジュールの標的因子であるグルカゴン応答性メチル化酵素 SETX について報告を行なう。

マウスの肝臓における SETX のノックダウンにより，糖新生系酵素の遺伝子発現が低下し，肝糖新生の抑制が認められた。糖新生系酵素の転写活性化に必須な転写コアクチベーターPGC-1α，転写因子 FoxO1 の脱アセチル化は SETX により促進された。 興味深いことに，同時に p53 の脱アセチル化も促進した。PGC-1α，FoxO1，p53 は GCN5/p300/CBP によるアセチル化，SIRT1 による脱アセチル化を介した活性調節を受ける。SETX はメチル化酵素活性依存的に SIRT1 を活性化するとともに，p300/CBP の発現を抑制することで，PGC-1α，FoxO1 を活性化し，p53 を不活化していた。p53 は肝腫瘍形成にも関与することが知られている。慢性的なグルカゴン作用の亢進による SETX の発現増加が肝腫瘍形成へ与える影響も現在検討中であり，合わせて報告する。

（7）脂肪肝再生過程における ATF3 の役割

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，脂肪肝再生障害の要因として，統合的ストレス応答(ISR)に伴う肝細胞死誘導が重要な役割を担うことを明らかにしている。特に，重度脂肪肝では，壊死を伴う細胞死を誘導し，重篤な肝再生障害を引き起こす。本研究では，脂肪肝再生過程における細胞死様式選択メカニズムの解明を行った。

マウス脂肪肝への 70%切除術を行い，切除後再生過程を検討した。細胞死様式の検討は，TUNEL・活性型カスパーゼ３蛍光二重染色により行った。重度脂肪肝の再生過程では，TUNEL 陽性の死細胞の中に，活性型カスパーゼ３陽性のアポトーシスと，陰性のネクロプトーシスの二つの細胞死様式を認めた。対照と比較し，重度脂肪肝では，ISR の増強に伴い，ISR 関連転写因子 ATF3 発現が惹起され，ネクロプトーシス誘導因子 RIPK3 発現，カスパーゼ 3 活性が増加した。重度脂肪肝で惹起された ATF3 に着目し，ATF3 ノックアウトマウス（A-KO）の脂肪肝再生過程を検討した。A-KO 群では，野生型と比し，カスパーゼ３活性は同程度であったが，RIPK3 発現が抑制され，脂肪肝再生が改善された。また，A-KO は，TUNEL 陽性・活性型カスパーゼ３陰性のネクロプトーシスを有意に減少させた。

脂肪肝再生過程に惹起されるネクロプトーシスが，重篤な再生障害を引き起こすこと，そのメカニズムとして ATF3 が重要な役割を担うことを見出した。

（8）SGLT2 阻害薬は NASH モデルマウスの肝線維化と肝臓癌の発生を抑制する

柴　久美子（東京医科歯科大学医学部附属病院糖尿病・内分泌・代謝内科）

【目的】肥満，インスリン抵抗性を呈する NASH モデルマウスのメラノコルチン 4 型受容体（MC4R）欠損マウスを用いて，SGLT2 阻害薬カナグリフロジン（Cana）の肝線維化及び肝臓癌の予防効果を検討した。

【方法】8 週齢雄性 MC4R 欠損マウスに高脂肪高蔗糖食を 20 または 52 週間給餌し，同時に Cana（0.03%w/w）を混餌投与した。

【結果】20 週間投与では，Cana により摂餌量と体重が増加したが，血糖値は低下した。精巣周囲脂肪組織重量及び脂肪細胞サイズは Cana により増加したが，肝中性脂肪含有量及び血清 ALT 値は Cana により低下した。Cana により肝臓の新規脂肪合成酵素 *Acc*，*Scd* 及び線維化関連遺伝子 *Col1a1*，*Timp1* の発現が減少し，組織学的にも炎症と肝線維化が抑制された。52 週間投与では Cana により血清 ALT 値が低下し，組織学的に肝線維化が抑制され，肝腫瘍数が減少した。精巣周囲脂肪組織のメタボローム解析では，還元型グルタチオン（GSH）の増加と酸化型グルタチオン（GSSG）の減少を認めた。

【考察・結語】Cana は NASH マウスの脂肪肝，炎症，線維化及び癌の発生を抑制した。Cana により脂肪細胞のエネルギー蓄積能が増加し，肝臓への異所性脂肪蓄積が減少したことにより肝病変の進展が抑制されたことが機序の一つと考えられた。

（9）運動によるエネルギー代謝調節メカニズムの解明

岩部真人，岩部美紀，山内敏正，門脇　孝（東京大学大学院医学系研究科糖尿病・代謝内科）

肥満や２型糖尿病に対して運動が有効な予防法・治療法であることは広く知られているが，その詳細なメカニズムは十分に解明されていない。

今回，運動によって活性化されるカルシウムシグナルの代謝への影響の検討とその過程で同定した新規マイオカインを介した運動によるエネルギー代謝調節メカニズムの解明を行った。

カルシウムシグナルの鍵分子である CaMKK の２つのアイソフォームが欠損した CaMKKα･CaMKKβ ダブル欠損マウス（CaMKKs 欠損マウス）は有酸素運動によりインスリン抵抗性が改善しなかった。そこで CaMKKs 欠損マウスの骨格筋の遺伝子発現を網羅的に解析し，運動により CaMKK シグナル依存的に発現が増加する新規マイオカイン Exercise-induced protein derived from muscle 1（EXPM1）を同定した。野生型マウスでは運動により酸素消費量の増加，体温上昇，体重減少が起こったが，EXPM1 欠損マウスではいずれも起こらなかった。また，野生型マウスの白色脂肪組織では運動によりミトコンドリア関連遺伝子等の発現が上昇したが，EXPM1 欠損マウスでは変化がなかった。さらに野生型マウスでは運動により糖･脂質代謝が改善したが，EXPM1 欠損マウスでは改善しなかった。

EXPM1 が運動による白色脂肪組織のベージュ化に関与し糖・脂質・エネルギー代謝を調節していることが分かった。

（10）骨リモデリングの制御機構

中島友紀 [1,2]（[1] 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教授，
[2] 日本医療研究開発機構 AMED-CREST 研究開発代表者）

骨は破壊と形成のバランスにより常に新しく作り替えられており，この再構築は“骨リモデリング”と呼ばれ，強靭な骨組織の維持のみならず，生命維持に必須なミネラルの代謝器官である骨を巧妙に制御している。骨リモデリングは，骨を構成する細胞，破骨細胞，骨芽細胞，骨細胞の細胞間コミュニケーションによって厳密に制御されており，この破綻が様々な骨疾患に繋がる。破骨細胞と骨芽細胞が骨表面で機能する一方で，骨に埋没した骨細胞は，力学的刺激やホルモンなどを感知し応答することで骨リモデリングを制御している。破骨細胞分化決定因子 RANKL は，細胞分化メカニズムの解明と治療標的の同定という両方の意味で注目を集めているが，骨組織において，どの様な細胞が破骨細胞の分化を支持しているかは不明であった。我々は骨に埋め込まれた骨細胞が強力に RANKL を発現し破骨細胞の分化を支持していることを明らかにした。さらに，RANKL シグナルを制御する新たな骨リモデリング制御因子 Semaphorin3A も同定した。現在，RANKL は骨研究領域にとどまらず，リンパ節形成，乳癌の発生や骨転移，自己免疫疾患に至る様々な生命システムで重要な役割を担っていることが明らかになり，その多彩な機能が注目を集めている。また，骨の大多数を占める骨細胞が様々な生体制御システムと連関していることが近年明らかになり，これまで運動器として捉えられてきた骨が，多臓器と連関する内分泌器官としても注目されている。

（11）細胞膜上性ステロイドホルモン受容体を介した代謝機能制御

大植隆司（東京農工大学大学院農学研究院応用生命化学専攻）

性ステロイドホルモンは，性機能への関与だけではなく，母性行動，攻撃行動や情動，摂食，リズム，睡眠，そして記憶や学習を含む高次脳機能に至るまで多彩な機能に関与していることが明らかになってきた。性ステロイドホルモンの有するこれらの機能には，核内受容体を介した genomic effects では説明のできない即時性の反応が多数関与していることが示唆されるが，その詳細なメカニズムは未だ不明である。一方，ステロイドを含む脂質リガンドがその脂質特性にも関わらず細胞膜上にも受容体が存在し，その受容体が生体にとって重要な機能を有することが示唆されている。そこで，我々は近年発見された女性ホルモン・プロゲステロンの細胞膜上受容体である mPR(membrane progesterone receptor)および MAPR(membrane-associated progesterone receptor)ファミリーに着目し，性ステロイドホルモンによる即時性の応答機構とそれに基づく代謝機能制御機構の解明に取組んでいる。特に mPRs は，それぞれ組織特異的に高発現していることから，プロゲステロンの示すエネルギー代謝調節を含めた多彩な機能発現に寄与している可能性が推察される。本講演では，現在我々が得られている知見を紹介するとともに，細胞膜上性ステロイドホルモン受容体を介した代謝機能制御の可能性について考察したい。

（12）自己免疫疾患発症におけるコレステロール代謝異常の意義

伊藤綾香[1,2]，Cynthia Hong[2]，Peter Tontonoz[2]，菅波孝祥[1]
（[1]名古屋大学環境医学研究所分子代謝医学分野，
[2] Department of Pathology and Laboratory Medicine, Howard Hughes Medical Institute,
University of California, Los Angeles）

核内受容体 LXR（liver X receptor）は，コレステロール，脂肪酸およびリン脂質の代謝を制御する転写因子であり，免疫応答を制御することも知られている。我々は最近，LXR による抗炎症性作用が脂質代謝制御を介した二次作用であることを報告した（*eLife* 4: e08009, 2015）。LXR を欠損するマウスは加齢に伴い，全身性エリテマトーデス（SLE）様の自己免疫疾患を発症するが（*Immunity* 21: 245-258, 2009），我々は，若年であっても高コレステロール食を負荷することによって，あるいは高コレステロール血症モデルマウスと交配することによって，SLE 様の病態発症が促進されることを見出した。その分子機構として，抗原提示細胞内のコレステロールの蓄積が，（１）抗原取込み能の亢進，（２）サイトカイン産生増加，（３）抗原提示を介した T 細胞の増殖をもたらすことにより，自己応答性 B 細胞の増殖と自己抗体の産生を促進することを明らかにした（*Immunity* 45: 1311-1326, 2016）。一方，HDL を構成する Apo-A1 を長期的に過剰発現させ，コレステロール逆輸送を促進することにより，抗原提示細胞内のコレステロール蓄積が減少し，病態発症が抑制された。以上の結果は，細胞内の脂質蓄積が免疫細胞機能および全身の自己免疫応答に寄与すること，さらに，コレステロール逆輸送の促進が自己免疫疾患の治療標的になる可能性を示唆している。

（13）昼寝の体温を制御する GPCR

土居雅夫（京都大学大学院薬学研究科医薬創成情報科学講座）

体温には明瞭な日内リズムがあり，基礎代謝や睡眠覚醒の日内制御に深く寄与することが知られている。我々は最近，この体温の日内リズムを制御する仕組みに G 蛋白質共役型受容体の一つであるカルシトニン受容体が重要な役割を担うことを明らかにし，それがマウスとハエのどちらの生物種でも共通にみられる進化的に保存された仕組みであることを明らかにした。

（Goda & Doi et al., Genes Dev, 2018）

恒温動物は，恒温といっても，それは四六時中体温が一定であるということではない。ヒトもマウスも体温には顕著な日周リズムがあり，一日の中でも活発な活動期に合わせて上昇し，休息期には低下する。外気にも左右されはするが，恒温動物には自律的に体温の日周リズムを生み出す仕組みがある。

一方，小型の変温動物であるハエは，外気温に影響されるため，自らが至適な温度環境へ移動し，体温を変化させる。一日の中でも活発な活動期には高い温度環境を好み，休息期には低い温度を好む。このような温度選択リズムによってハエは体温のリズムを生む。

こうしてみると，マウスとハエとでは恒温動物と変温動物の違いはあるものの，一日の時間帯に応じて体温を上げ下げするという点では共通することがわかる。我々は今回，マウスとハエにおいてカルシトニン受容体がともに脳内の中枢時計を構成するニューロンに発現し，そのミュータントでは通常活動期にみられる体温の経時的変化が消失することを見出した。

（14）視床下部における新規食事性肥満関連分子 SerpinA3 の同定

田中智洋 [1]，金子賢太朗 [2]，園山拓洋 [3]，雲財　知 [3]，鍋島陽一 [2]，中尾一和 [3]
([1] 名古屋市立大学医学研究科消化器・代謝内科学,
[2] 神戸医療産業都市推進機構先端医療研究センター,
[3] 京都大学医学研究科メディカルイノベーションセンター)

高脂肪食による肥満の病態では，主要な摂食抑制ホルモンであるレプチンの視床下部での作用が減弱し，肥満の増悪と代謝異常の発症に関与すると考えられている。われわれはレプチン抵抗性を惹起する新規分子の同定を目指し，レプチン抵抗性と相関した視床下部発現動態を示す遺伝子を探索した。高脂肪食によるレプチン抵抗性肥満マウス，標準食への切替によるレプチン感受性回復マウス，レプチン感受性肥満 ob/ob マウスの視床下部各神経核の網羅的遺伝子発現解析を行い，セリンプロテアーゼインヒビターファミリーの SerpinA3 を同定した。

SerpinA3 は, 脳内では弓状核の主に POMC ニューロンに特異的に発現し，レプチン抵抗性と発現量が正相関を示した。炎症や創傷治癒における意義の報告はあるが，脳内での機能は不明であった。リコンビナント SerpinA3 は BV-2 マイクログリア細胞株を活性化するとともに，レプチン応答性 GT1-7 細胞株や視床下部器官培養系においてレプチン依存性 Stat3 のリン酸化を抑制した。さらに SerpinA3 の脳室内投与はレプチンによる摂食抑制作用や体重減少作用を阻害した。

以上より高脂肪食で弓状核特異的に誘導される SerpinA3 がレプチン応答性細胞とマイクログリアの両者に作用しレプチン抵抗性の原因となる可能性が示唆され，今後の分子機序の解明が待たれる。

（15）内因性 GLP-1 の＜求心性迷走神経→脳＞軸を介した摂食抑制，インスリン分泌促進，インスリン感受性亢進作用

岩﨑有作 [1]，矢田俊彦 [2]
([1] 京都府立大学大学院生命環境科学研究科,
[2] 関西電力医学研究所統合生理学研究センター)

【目的】希少糖 D-Allulose (Allu)は，砂糖の約 7 割の甘味でありながら熱量は 0 kcal である。近年我々は，Allu が GLP-1 を選択的に分泌促進させる「GLP-1 リリーサー」であることを見出した。本研究では，Allu の内因性 GLP-1 分泌促進による摂食抑制，糖代謝改善，肥満改善作用とその作用機序を検討した。

【方法・結果】Allu による内因性 GLP-1 分泌促進は，腸や肝臓，門脈に分布する求心性迷走神経を活性化し，神経情報として脳に情報を伝達し，摂食量を抑制し，さらに耐糖能を向上させた。Allu の耐糖能向上作用には，既存の GLP-1 作用であるインスリン分泌の亢進に加え，インスリン感受性亢進と肝糖産生抑制が深く関与した。高脂肪食による肥満・糖尿病マウス（DIO マウス）において，Allu 単回投与は健常マウスより強い摂食抑制作用を誘導した。さらに，Allu の単独投与は，DIO マウスの高血糖を，インスリン分泌を変化させずに改善した。従って，内因性 GLP-1 の＜求心性迷走神経→脳＞軸の活性化は，低血糖を起こさず，血糖依存的なインスリン感受性亢進による高血糖改善作用を誘導することが示された。明期開始時に Allu を連日経口投与すると，DIO マウスの過食，食リズム異常，肥満，糖尿病は改善した。この作用は暗期開始時の Allu 投与では観られず, Allu の時間治療学的効果が示された。

【結語】Allu による GLP-1 分泌促進は，既存の GLP-1 受容体作動薬より優れて点が多く, 新規肥満症/糖尿病の予防/治療薬としての開発が期待される。

（16）糖尿病による糖代謝異常が中枢機能に与える影響と精神障害への関与

池田弘子，山岸愛実，米持奈央美，亀井淳三（星薬科大学薬物治療学研究室）

糖尿病患者では，認知症やうつ病など精神疾患の罹患率が高いことが報告され，糖尿病は中枢神経機能に影響を及ぼす可能性が指摘されている。しかし，その機序は明らかになっていない。演者らはこれまでに，1 型糖尿病モデルの streptozotocin (STZ) 誘発糖尿病マウスでは恐怖条件付け試験において恐怖記憶の増強を示すことを明らかにした。恐怖記憶には，扁桃体や海馬のグルタミン酸神経が重要な役割を果たすことが知られる。そこで，STZ 誘発糖尿病マウスの扁桃体および海馬のグルタミン酸神経機能の変化について検討した結果，STZ 誘発糖尿病マウスではいずれの脳部位においてもグルタミン酸神経機能が亢進しており，これが恐怖記憶の増強をひき起こすことが明らかになった。一方，脳内では，glucose はアストロサイトにおいて L-lactate に代謝され，神経はその L-lactate を代謝することでエネルギーを得ることが報告されている。また，L-lactate からグルタミン酸が合成されることも報告されている。糖尿病時には血中の glucose 濃度が高いため, 脳内での L-lactate 産生が亢進し，これが中枢神経機能を変化させることが推測される。演者らは現在，STZ 誘発糖尿病マウスを用いて，脳内の L-lactate 量の変化と恐怖記憶との関連について研究を進めており，本発表にてその内容を紹介したいと考えている。

（17）糖尿病における運動によるアストロサイト保護効果

岸　拓弥（九州大学循環器病未来医療研究センター循環器疾患リスク予測共同研究部門）

【背景】糖尿病合併心不全の治療において運動が推奨されている。一方，我々は脳を中枢とする臓器連関循環動的恒常性不全が心不全で，その原因としてアストロサイト機能不全による圧受容器反射不全を報告してきた。そこで今回，糖尿病におけるアストロサイト異常が運動により保護されるという仮説を検証した。

【方法】２型糖尿病モデルとして Zucker Diabetic Fatty (ZDF)-fatty ラットを，対照群は ZDF-lean ラットを用いた。運動はトレッドミルトレーニングを２週間行い，血糖値・インスリン値の測定と，アストロサイトの評価に加え，血行動態評価と圧受容器反射中枢弓・末梢弓のオープンループ解析を行った。

【結果】運動により，ZDF-fatty ラットはコントロールに比し，血糖値・インスリン値低下・左室拡張末期圧低下・心拍出量増加・末梢血管抵抗低下を認め，容量負荷に対する左房圧上昇も低下した。ZDF-fatty ラットで減少していたアストロサイトは運動により抗酸化因子の Nrf2 とともに増加した。圧受容器反射は ZDF-fatty ラットで中枢弓の高血圧・交感神経活性化側にセットポイントのシフトに加え感受性の過剰亢進を認め，運動により改善を認めた。

【考察】運動により，糖尿病におけるアストロサイトの Nrf2 異常を伴う機能不全・圧受容器反射異常・容量不耐性が全て改善する可能性が示唆された。

（18）摂食概日リズムの形成機構と代謝制御

矢田俊彦[1,2]，岩崎有作[3]，中田正範[4]
（[1]関西電力医学研究所統合生理学研究センター，[2]神戸大学・神戸 BT センター，
[3]京都府立大学大学院生命環境科研究科動物機能学，[4]和歌山県立医科大学 第 2 生理学）

ヒトは主として明期に食事をし，げっ歯類（マウス・ラット）は暗期に摂餌する。この摂食概日リズムの誘導因子として，食事と光が重要である(1,2)。

肥満マウスは明期選択的な過食（摂食概日リズム障害）を呈する。明期の視床下部室傍核 Nesfatin-1 と Oxt の発現が障害されており，明期にこれらを脳内に補充すると，過食･肥満が改善する。明期過食と肥満の一因は Nesfatin-1 と Oxt のリズムの消失にあり，その再建は治療につながる（1,2）。ヒトの場合は，正しい時間帯の食事と光刺激の生活習慣が，健常な摂食概日リズムの維持，肥満改善に繋がる。しかし，現代社会の 24 時間営業店，スマホ，シフトワークの影響で，その実践は容易でなく，介入手段が求められている。

自然界に微量存在する希少糖の D-Allulose（アルロース）はゼロカロリー甘味糖である。高脂肪食飼育マウスに，アルロースを明期に 1 日 1 回 10 日間投与すると，明期過食（摂食リズム障害）が著明に改善し，代謝障害（耐糖能障害，高インスリン血症，内臓肥満，脂肪肝）も改善する（3）。これらの効果は GLP-1R 欠損マウスでは観察されず，求心性迷走神経遮断により消失する。

摂食概日リズムの維持と改善には，GLP-1，求心性迷走神経，視床下部神経が重要な役割を果たしており，アルロースは有効な介入手段となる。

1. Nakata M, Yada T et al. Endocrinol 157:2322, 2016.
2. Santoso P, Yada T et al. Am J Physiol (E) Feb 7, 2017.
3. Iwasaki Y, Yada T et al. Nat Comm 9(1):113, 2018.

14. 大脳皮質回路の機能原理を探る

2018 年 9 月 6 日－9 月 7 日

代表・世話人：礒村宜和（玉川大学脳科学研究所）
所内対応者：川口泰雄（生理学研究所大脳神経回路論研究部門）

（１）大脳皮質の興奮性神経細胞の多様性と分化・回路形成メカニズム
下郡智美（理化学研究所脳神経科学研究センター）

（２）全脳全細胞解析の実現
上田泰己（東京大学医学系研究科／理化学研究所）

（３）Brain-Computer Interface の臨床応用と大脳皮質機能の解明
柳澤琢史（大阪大学高等共創研究院）

（４）行動タイミングの決定に関わる前頭皮質の神経活動
村上誠祥（山梨大学大学院総合研究部）

（５）海馬における時間情報と空間情報の表現
藤澤茂義（理化学研究所脳神経科学研究センター）

【参加者名】

重松直樹（熊本大学大学院生命科学研究部），苅部冬紀（同志社大学脳科学研究科），坪　泰宏，瀧下冬馬，保手濱秀介，三澤　準，森川翔太郎（立命館大学情報理工学部），柳澤琢史（大阪大学高等共創研究院），畠中由美子（大阪大学大学院生命機能研究科），田中琢真（滋賀大学データサイエンス学部），山口真広（名古屋大学大学院創薬科学研究科），侯　旭濱（新潟大学医歯学総合研究科），村上誠祥（山梨大学大学院総合研究部），礒村宜和（玉川大学脳科学研究所），川端政則（玉川大学脳科学研究科），深井朋樹，藤澤茂義，下郡智美，平井大地（理化学研究所脳神経科学研究センター），上田泰己（東京大学大学院医学系研究科／理化学研究所），小野宏晃，田中康代，長谷川亮太（東京大学大学院医学系研究科），小島久幸（東京医科歯科大学），植田禎史（東京女子医科大学医学部），山下晶子（日本大学医学部），酒井雅子（㈱エクォス・リサーチ），椙岡拓己（基礎生物学研究所），郷　康広，戸松彩花，菊地晶裕，山肩葉子，木村梨絵，堀尾修平，植松明子，唐木智充，新居桂陽，川口泰雄，窪田芳之，大塚　岳，森島美絵子，孫　在隣，Agahari Fransiscus Adrian，任　翔壎（生理学研究所）

【概要】

本研究会は，大脳皮質を中心に大脳基底核や視床や扁桃体などを含めた機能的な神経回路の作動原理の解明に迫ることを目指している。今回は，大脳皮質を巡るさまざまな研究分野で活躍する講演者 5 名に，最新の研究成果と将来展望をわかりやすく発表してもらい，時間をかけて建設的に討論することを心がけてプログラムを企画した。第１日目，まず下郡智美先生（理化学研究所脳神経科学研究センター）が体性感覚野ヒゲ領域の第４層細胞の樹状突起形成を担う分子機構の研究を発表し，上田泰己先生（東京大学医学系研究科／理化学研究所）は睡眠脳波に関与する各イオンチャンネルのノックアウト・マウスを極めて効率よく作成することにより睡眠の分子機構に斬り込む研究を発表した。柳澤琢史先生（大阪大学高等共創研究院）は皮質脳波をデコーディングすることによりＡＬＳ患者などの意思伝達を実現する臨床研究を発表し，幻肢痛の治療法開発の試みも紹介した。第２日目，米国・ポルトガルの研究生活より戻られた村上誠祥先生（現山梨大学大学院総合研究部）が，報酬を得るために行動タイミングを決定する仕組みとして二次運動野と内側前頭前野の細胞活動の特徴に関する研究を発表した。最後に藤澤茂義先生（理化学研究所脳神経科学研究センター）は，海馬の最新知見を概説した後に，海馬の場所細胞が表現する認知地図には他者の位置情報も符号化できること，非空間情報（音・匂い）

についてもシータ波に対する位相前進の形で過去-現在-未来を表現できることを示す研究を発表した。いずれの講演も１時間の枠を大幅に超過するほど議論が盛り上がり，大脳皮質回路の機能原理の解明を目指す若い世代の研究者が自由な発想を醸成する有意義な機会になったと考えている。

（1）大脳皮質の興奮性神経細胞の多様性と分化・回路形成メカニズム

下郡智美（理化学研究所脳神経科学研究センター）

大脳皮質には多種多様な神経細胞が混在していることが知られている。多様な細胞種は時期場所特異的に生まれ，最終目的地まで移動した後に正しい神経回路形成を行う事が知られている。例えば抑制性神経細胞は終脳腹側の基底原基内のどの場所から生まれたかによって，形態・機能・分子マーカーの異なる抑制性神経細胞が産生される。この後，抑制性神経細胞は tangential migration によって大脳皮質に移動し，大脳皮質内に分散して配置し局所回路を形成する。一方，興奮性神経細胞は胎児期の脳室帯から産生され，radial migration によってそれぞれの層に配置される。興奮性神経細胞にも形態的に異なる２種類の細胞が少なくとも存在しており，錐体細胞(pyramidal neuron)と有棘星状細胞(spiny stellate neuron)と呼ばれるが，これらはいつどこで，どのようにして分化するのか明らかにされてない。さらに，これらの異なる形態をもつ神経細胞がどのようにして特異的な神経回路に組み込まれていくのかも不明な部分が多い。今回は，我々の研究室で明らかにした大脳皮質の興奮性神経細胞の分化と回路形成の分子メカニズムを中心に紹介した。

（2）全脳全細胞解析の実現

上田泰己（東京大学医学系研究科／理化学研究所）

細胞から個体の階層におけるシステム科学的アプローチを実現するために，我々は成体組織を丸ごと透明化し１細胞解像度で観察できる技術の開発に取り組んだ。我々が開発した CUBIC 法は，脂質や血液を豊富に含む組織をアミノアルコールによる脱脂除去・色素除去作用により透明化することで，マウス成体全身の透明化を世界で初めて実現した。その後，高解像度のライトシート顕微鏡の開発に取り組み，取得した 10TB を超えるイメージを GPU で高速に処理し，臓器に含まれる数千万個以上の細胞を全て解析する全細胞解析を世界で初めて実現した。全細胞解析で得られた標準臓器に，各条件でのデータをマップし，同一領域の細胞活動を直接比較する手法の開発にも成功している。講演では，脳や各種臓器を用いた全細胞解析が，解剖学・生理学・薬理学・病理学などの医学の各分野に対して今後なしうる貢献について議論した。

参考文献

1. Susaki et al. Cell, 157(3): 726-39, (2014).
2. Tainaka et al. Cell, 159(6):911-24(2014).
3. Kubota et al, Cell Rep. 20(1):236-250 (2017).
4. Nojima et al, Scientific Reports, 9269 (2017).
5. Murakami et al, Nature Neuroscience, 21, 625-637 (2018).

（3）Brain-Computer Interface の臨床応用と大脳皮質機能の解明

柳澤琢史（大阪大学高等共創研究院）

脳活動パターンから様々な知覚認知内容・想起内容・運動状態などを機械学習によって推定する脳情報解読技術（Neural Decoding）は，脳とコンピュータを直接つなぐブレイン-コンピュータ・インターフェイス(Brain-Computer Interface, BCI)を実現した。我々は，人の頭蓋内脳表面に電極を留置して高精度な脳信号（皮質脳波）を計測することで，病気で体が全く動かない患者でも，運動を意図するだけでロボットや PC を制御し，意思伝達ができることを示してきた。特に，筋萎縮性側索硬化症（ALS）により目と口以外は全く体が動かない患者に，皮質脳波を用いた BCI を適用する臨床研究を行い，10 秒に 1 文字程度の速さで PC に文字を入力し意思伝達できることを示した。しかし，このような患者さんは表情も作れず，文字だけで伝えられる思いには限界がある。そこで我々は，視覚情報などのより高次元の脳情報を neural decoding で読み解き，これを人が制御することで多様な情報伝達を行う新しい技術の開発を進めている。さらに，BCI を制御する訓練を介して，脳活動に可塑的変化を誘導し，幻肢痛の病態を解明し治療法開発に応用した。BCI による意思伝達技術とニューロモジュレーションについて概説した。

（4）行動タイミングの決定に関わる前頭皮質の神経活動

村上誠祥（山梨大学大学院総合研究部）

行動の選択・決定においては，どのような行動をとるのか決定するとともに，いつ行動を起こすのか，「行動のタイミング」も決定する必要がある。遅延報酬課題においてラットが待つのを自発的にあきらめる行動に着目し，電気生理学と薬理学的手法を用いて脳がこの行動のタイミングをどのように決定しているかを調べた。特に，前頭葉の異なる脳領域，内側前頭前皮質と二次運動皮質，が行動タイミングの決定にどのように関与しているのかを調べた。まず薬理学的にこれらの領域を不活性化すると，どちらの領域でも行動のタイミングに変化が見られたことから，これらの領域の行動タイミングへの関与が示唆された。さらに電気生理学的に行動のタイミングがどのように表現されているかを調べたところ，二次運動皮質では試行ごとに大きくばらつく行動のタイミングと相関のある信号が観測されたのに対し，内側前頭前皮質ではそのような信号はほぼ見られなかった。そのかわりに内側前頭前皮質では過去の試行の報酬に影響されてゆっくりと変動する行動タイミングのバイアスと相関のある神経活動が観測された。このことから内側前頭前皮質では過去の経験に従っておおよその行動のタイミングを決定し，その下流の二次運動皮質でさらに試行ごとのばらつきの成分が付加されて最終的な行動のタイミングが決定されるというモデルが示唆された。

（5）海馬における時間情報と空間情報の表現

藤澤茂義（理化学研究所脳神経科学研究センター）

海馬は，経験した出来事についての記憶である「エピソード記憶」の形成を担っていることが知られている。海馬がどのような神経回路メカニズムによってエピソード記憶を形成しているのかは未だ解明されていないが，海馬には空間における自らの位置を表現することのできる場所細胞が存在することをふまえて，空間情報・時間情報処理の観点から海馬の生理学的機能を明らかにする研究が進んでいる。今回の講演では，本研究室に

おいて得られた最近の研究結果について詳細に議論する。一つ目の研究として，海馬において非空間的な出来事の内容と順序の情報がどのように符号化されているかを明らかにする研究を行い，その結果，海馬には出来事を表現する「イベント細胞」が存在することを発見し，その出来事の順序情報が海馬シータ波（7-11Hz）上の発火位相により符号化されていることを解明した。二つ目の研究として，ラットが他者を観察しているときに，その観察対象である他者が空間のどこの場所にいるのかを認識するメカニズムを明らかにする研究を行い，その結果，海馬には他者の位置を表現する場所細胞が存在することを発見した。これらの研究結果を通じて，海馬におけるエピソード記憶形成のメカニズムについて考察していく。

15. 記憶・学習の基盤機構と回路研究の新展開へのアプローチ

2018 年 9 月 19 日－9 月 20 日

代表・世話人：大川宜昭（富山大学大学院医学薬学研究部）

所内対応者：鍋倉淳一（生体恒常性発達研究部門）

「記憶の変遷・その分子機構へ」：

（１）mRNA 輸送制御因子 RNG105/caprin1 による長期記憶形成メカニズム

椎名伸之（基礎生物学研究所）

（２）神経シナプスにおけるエピトランスクリプトームの内容と機能

王　丹（京都大学・iCeMS）

（３）演恐怖記憶想起後の記憶フェーズ移行のメカニズム

福島穂高（東京農業大学）

（４）皮質領域における遠隔記憶の細胞・分子機構

金　亮（東京大学）

「記憶プロセスのリアルタイム観察」：

（５）仮想空間内における課題遂行中ゼブラフィッシュ終脳神経活動イメージングにより明らかになった意思決定機構

鳥越万紀夫（理化学研究所 CBS）

（６）海馬における記憶情報表現：安定性と不安定性のあいだ

佐藤正晃（埼玉大学）

（７）海馬記憶エングラムからの記憶解読　－海馬記憶エングラムは経験の脳内表象へのインデックスである－

田中和正（理化学研究所 CBS）

（８）大脳皮質神経細胞集団による恐怖記憶の情報処理機構

揚妻正和（生理学研究所）

特別講演：

（９）エピソード記憶を司る神経回路

北村貴司（UT Southwestern）

「睡眠関連回路の記憶への関与」：

（10）恐怖記憶の形成および表出におけるオレキシンの役割

征矢晋吾（筑波大学・IIIS）

（11）レム睡眠の操作が可能なマウスを用いた睡眠の質が記憶や情動に及ぼす影響の解明

林　悠（筑波大学・IIIS）

（12）内側中核アセチルコリン作動性神経による睡眠と記憶の制御

山中章弘（名古屋大学）

「新たな介入法による学習・記憶の理解」

（13）学習過程における「意欲」の変動メカニズムの解明

牧野健一（東京大学）

（14）Posterior parietal cortex による記憶連合制御

鈴木章円（富山大学）

（15）ヒスタミン神経系の操作による記憶の回復

野村　洋（北海道大学）

【参加者名】

田中和正（理化学研究所・脳神経科学研究センター・神経回路・行動生理学研究チーム），林　悠（筑波大学・国際統合睡眠医科学研究機構（WPI-IIIS）），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），奥野浩行（鹿児島大学・医歯学総合研究科・生化学・分子生物学），南　雅文（北海道大学・薬学研究院・薬理学研究室），喜田　聡（東京農業大学・生命科学部バイオサイエンス学科），大川宜昭（富山大学・大学院医学薬学研究部（医学）・生化学講座），金　亮（東京大学大学院・医学系研究科・神経生化学教室），牧野健一（東京大学・大学院薬学系研究科・薬品作用学教室），山中章弘（名古屋大学・環境医学研究所・神経系分野２），小林曉吾（大阪大学大学院・医学系研究科・分子行動神経科学講座），椎名伸之（基礎生物学研究所・細胞生物学領域・神経細胞生物学研究室），上野耕平（公益財団法人東京都医学総合研究所・認知症・高次脳機能研究分野・学習記憶プロジェクト），野村　洋（北海道大学・大学院薬学研究院・薬理学研究室），八木　健（大阪大学・生命機能研究科・），阿部こなみ（東京理科大学・理工学研究科 応用生物科学科専攻・古市研究室），佐野良威（東京理科大学・理工学部 応用生物科学科），大石直哉（富山大学大学院・医学薬学研究部・生化学講座），石井千晶（東京理科大学大学院・理工学研究科 応用生物科学専攻・古市研究室），人羅(今村) 菜津子（北海道大学大学院・薬学研究院・薬理学研究室），大田絢斗（大阪大学 蛋白質研究所・大学院医学系研究科 医学専攻博士課程・高次脳機能学研究室），疋田貴俊（大阪大学・蛋白質研究所・高次脳機能学研究室），揚妻正和（生理学研究所・生体恒常性発達研究部門），佐藤正晃（埼玉大学・脳末梢科学研究センター），田川義晃（鹿児島大学大学院・医歯学総合研究科・神経筋生理学分野），小林琢磨（理化学研究所・脳神経科学研究センター・意思決定回路動態研究チーム），征矢晋吾（筑波大学・国際統合睡眠医科学研究機構），木下雅恵（理化学研究所・神経科学研究センター・意思決定回路動態研究チーム），伊藤教道（名古屋大学医学部附属病院・薬剤部），北村貴司（University of Texas Southwestern Medical Center・Department of Psychiatry and Department of Neuroscience・Kitamura lab），浅井裕貴（富山大学・医学薬学研究部・生化学講座），鈴木章円（富山大学大学院・医学薬学研究部(医学)・生化学講座），岡本　仁（理化学研究所・脳神経科学研究センター・意思決定回路動態研究チーム），Ghandour Khaled（University of Toyama・Innovative life sciences・Biochemisrty, Inokuchi laboratory），Abdou Kareem（University of Toyama・Department of Biochemistry・Inokuchi lab），鳥越万紀夫（理化学研究所・脳神経科学研究センター・意思決定回路動態研究チーム），片山和希（大阪大学 タンパク質研究所・理学研究科・疋田研究室），芹田龍郎（東京農業大学・バイオサイエンス学科・動物分子生物学研究室），石川理絵（東京農業大学・生命科学部バイオサイエンス学科・動物分子生物学研究室），福島穂高（東京農業大学・生命科学部バイオサイエンス学科・動物分子生物学研究室），王　丹（京都大学・高等研究院 物質－細胞統合システム拠点・王丹グループ），山口隆司（大阪大学・蛋白質研究所・高次脳機能学研究室），近藤邦生（生理学研究所・生殖・内分泌系発達機構研究部門），堀尾修平（自然科学研究機構 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），林　康紀（京都大学大学院・医学研究科・システム神経薬理学），山田大輔（東京理科大学・薬学部薬学科・薬理学研究室），大橋りえ（基礎生物学研究所・神経細胞生物学研究室），尾藤晴彦（東京大学・大学院医学系研究科・神経生化学分野），伊澤俊太郎（名古屋大学・環境医学研究所・神経系分野２），小島太郎（㈱ルシール・大阪営業所），山肩葉子（生理学研究所・神経シグナル研究部門），村山正宜（理化学研究所・脳神経科学研究センター・触知覚生理学研究トーム），河村菜々実（大阪大学・生命機能研究科・八木研究室），鍋倉淳一（生理学研究所・生体恒常性発達），鳴島　円（生理学研究所・生体恒常性発達），江藤　圭（生理学研究所・生体恒常性発達），堀内　浩（生理学研究所・生体恒常性発達），竹田育子（生理学研究所・生体恒常性発達），佐藤　彩（生理学研究所・生体恒常性発達），吉原康平（生理学研究所・生体恒常性発達），森川 穂高（生理学研究所・生体恒常性発達），Yeh Han-Yuan（生理学研究所・生体恒常性発達），Synchikova Anna（生理学研究所・生体恒常性発達），下田藍丸（国立研究開発法人 理化学研究所・脳神経科学研究センター・神経回路・行動生理学チーム），水田恒太郎（京都大学・医学研究科・システム神経薬理学），金子涼輔（群馬大学・医学系研究科・附属生物資源センター），戸松彩花（生理学研究所・システム脳科学研究領域・認知行動発達機

構研究部門），佐竹 伸一郎（生理学研究所神経シグナル），郷 康広（EXCELLS 認知ゲノム），村越秀治（生理学研究所多光子顕微鏡室），植松明子（生理学研究所認知行動発達研究部門），木村梨絵（生理学研究所視覚情報処理研究部門）

【概要】

本研究会では，各階層の記憶研究者が一堂に集まり，現在の記憶研究で特に注視されている 4 つのテーマに関するセッションを，新進気鋭の若手研究者の講演によって構成するという試みにより，各テーマに十分に集中し情報を共有することを目指した。1 つめのセッションでは，「記憶の変遷・その分子機構へ」と題し，4 人の研究者に獲得，固定化，消去，再固定化，遠隔記憶形成という記憶の時間的変遷の各ポイントにおける分子機構や，mRNA の神経細胞内分布を制御する新規修飾機構と認知機能との関連という既存の概念を越えた新しい知見を紹介いただいた。2 つめのセッションでは，「記憶プロセスのリアルタイム観察」と題し，Ca^{2+}イメージングや光遺伝学と生理学の融合といった最新技術の適用で明らかとなった，記憶の脳内表現様式を 4 人の研究者に紹介いただいた。また近年，睡眠による記憶情報処理過程での重要な役割が示唆されていることから，日本の睡眠研究をリードする 3 人の研究者に，「睡眠関連回路の記憶への関与」について研究結果を紹介いただいた。そして，4 つめのセッションでは，「新たな介入法による学習・記憶の理解」と題し，学習効率に寄与する意欲や，PTSD の治療法に繋がる恐怖の連合記憶の人為的解離，そして，思い出せなくなった記憶の回復といった，QOL の向上に繋がる研究成果を紹介いただいた。さらに，テキサス大学から北村貴司博士においでいただき，博士がこれまでに明らかにしてきたエピソード記憶の構成に必要な「場所」「時間」「人物」情報を処理する各神経回路に関して情報の詰まった特別講演をいただいた。

このように，記憶研究の最先端の情報をお互いに共有・補完することができたとともに，学生から研究室を主宰する先生方まで幅広い層の参加者の交流の機会になったと感じている。この研究会が契機となり，日本発の画期的な記憶研究の新展開に繋がることを期待する。

（1）mRNA 輸送制御因子 RNG105/caprin1 による長期記憶形成メカニズム

椎名伸之 [1,2,3]

（[1] 基礎生物学研究所，[2] 生命創成探究センター（ExCELLS），[3] 総合研究大学院大学）

長期記憶形成には，脳におけるタンパク質合成が必要である。しかし，それに関与するメカニズムは十分に理解されていない。我々は，RNG105（別名 caprin1）の機能が長期記憶の形成に必須であることを見出した。RNG105 は，神経樹状突起への mRNA 輸送および後シナプス（スパイン）近傍における局所的翻訳に関与する「RNA 顆粒」を構成する主要な RNA 結合タンパク質である。大脳および海馬で RNG105 を欠損したマウスは，数分間の短期記憶は形成したが，数日から数週間にわたる長期記憶の形成には重大な欠陥を示した。さらに，RNG105 の欠損は，AMPA 受容体の樹状突起表面発現調節因子をコードする mRNA 群の樹状突起局在を低下させた。この mRNA 樹状突起局在低下は，樹状突起における AMPA 受容体表面発現低下およびシナプス伝達（EPSP）の低下と一致した。以上の結果から，RNG105 は，mRNA 樹状突起局在の重要な制御因子として機能し，長期記憶形成に必須の役割を果たすことが明らかになった。

（2）神経シナプスにおけるエピトランスクリプトームの内容と機能

王　丹（京都大学 高等研究院 物質–細胞システム拠点）

ニューロエピジェネティック装置の制御と機能は過去 30 年の間に確立された分野であり，脳の発達障害，老化の制御や，認知機能，精神・神経疾患の病因解明および予防，診断，治療法の開発あらゆる神経科学分野にわたって，脳研究に大きなインパクトを与えた。エピジェネティック装置のターゲットはゲノム DNA とクロマチン構造である。一方，RNA をターゲットとした化学修飾は自然界に 150 種類以上存在し，2017 年にはその全貌を表す「エピトランスクリプトーム」という研究分野が提唱された。化学修飾は mRNA のプロセッシング/スプライシング，局在，安定性，分解，または翻訳を制御し，個体発生，癌，免疫，肥満など多くの生命分野に寄与することが明らかになったが，脳の高次機能における役割は明らかではない。筆者は「mRNA メチル化修飾による細胞遺伝情報『地方分権型』制御メカニズム」を提唱し，シナプスに局在するメチル化アデノシン塩基(m6A)をもつ mRNA および lncRNA をゲノムワイドで解析したエピトランスクリプトームの初期草案（initial draft）を発表した（Nat Neurosci, 2018）。この初期草案には，ヒト神経発達および精神疾患に関与する数千もの転写物が記載されており，その詳細な機能メカニズムは不明なままである。

（3）恐怖記憶想起後の記憶フェーズ移行のメカニズム

福島穂高（東京農業大学生命科学部バイオサイエンス学科）

恐怖記憶が想起されると，恐怖反応を維持／強化する再固定化が誘導される。一方，持続的に，または繰り返し恐怖記憶が想起されると，恐怖反応の表出を抑制する消去が誘導される。このように，恐怖記憶が想起されると，恐怖反応が強化あるいは減弱される。従って，想起後の記憶フェーズの解明は恐怖記憶を原因とする心的外傷後ストレス障害 (PTSD) の治療方法開発に有効である。しかし，これまでの研究では再固定化と消去が別々に解析されているため，再固定化から消去へスイッチする機構は分かっていない。我々は恐怖条件付け文脈学習課題及び受動的回避反応課題を用いて，想起後の記憶フェーズについて解析を進めている。受動的回避反応課題では，明箱と暗箱に分かれた装置を用いて，マウスが明箱から暗箱へ移動後に暗箱内で電気ショックを与える。この翌日にマウスを明箱に再暴露すると再固定化／強化が誘導され，明箱から暗箱へ移動後に，暗箱に 10 分間滞在させると消去が誘導された。興味深いことに，暗箱に 1 分間のみ滞在させた場合では，再固定化も消去も誘導されず，再固定化から消去への移行段階となることが示唆された。本発表では，恐怖記憶想起後に再固定化をキャンセルし，消去を開始する機構について紹介する。

（4）皮質領域における遠隔記憶の細胞・分子機構

金　亮（東京大学・大学院医学系研究科・神経生化学分野・特任助教）

長期記憶形成には二つのプロセスが存在する。まず記憶は，可塑的変化を介して急速に海馬に獲得され，その後，新規遺伝子発現及びタンパク質合成を介したプロセスを経て一時的に貯蔵される(細胞レベルの固定化)。その後「システムレベルの固定化」と呼ばれるプロセスにより，時間と共に，海馬-皮質間相互作用を介して皮質内に徐々に移行し，長期的に貯蔵される。これまでに，細胞レベルの固定化の細胞・分子機構については多く研究

がなされてきたが，システムレベルの固定化のメカニズムについては，未だ不明な点が多いのが現状である。本研究では，システムレベルの固定化の細胞・分子機構を明らかにするため，活動した神経細胞群を，時期・空間特異的に標識・操作可能な新規遺伝子改変動物を作成した。これを用いて，文脈依存的恐怖条件付け記憶獲得時に，海馬で形成される「エングラム」と独立して，皮質領域において「プロトエングラム」が形成され，このプロトエングラムがエングラムへと転換されることにより，海馬から皮質領域へ記憶が転送されることが明らかとなった。さらに，プロトエングラムからエングラムへの転換を制御する分子メカニズムの解明から，細胞レベルの固定化に関与するプロセスが，システムレベルの固定化にも寄与する可能性が示唆された。これらの結果は，遠隔記憶形成における時空間ダイナミクスを規定する細胞・分子機構の一端を明らかにするものである。

（5）仮想空間内における課題遂行中ゼブラフィッシュ終脳神経活動イメージングにより明らかになった意思決定機構

鳥越万紀夫 [1]，Tanvir Islam[1]，柿沼久哉 [1]，Chi Chung Alan Fung[2]，磯村拓哉 [3]，
島崎秀昭 [3]，青木田鶴 [1]，豊泉太郎 [3]，深井朋樹 [2]，岡本　仁 [1]
（[1] 理化学研究所・脳神経科学研究センター・意思決定回路動態研究チーム，
[2] 理化学研究所・脳神経科学研究センター・神経情報・脳計算研究チーム，
[3] 理化学研究所・脳神経科学研究センター・数理脳科学研究チーム）

状況に応じた最適な行動選択を行うことは生物生存にとって必要不可欠である。

本研究ではこの実態を明らかにするため，ゼブラフィッシュ成魚をモデル動物とし，学習中の神経活動を捉えるため，仮想空間 (VR) - 2 光子 Ca^{2+} イメージングシステムを構築した。成魚は課題学習能力と行動選択に寄与する神経回路を有しており，小さな脳であるため複数の脳領域からの神経活動を捉えることができる。また魚の動きに反応して景色が動く VR 内において嫌悪刺激を用いた能動回避・受動回避学習を行わせた。さらに学習成立後，魚の動きを VR に反映しない環境下に置くことで予測に対する誤差をコードしている神経細胞を明らかにしようと試みた。

解析の結果，能動回避学習において誤差をコードする 3 つの神経細胞群を同定した。これらは 1：景色が後ろに動くという予測に対する誤差，2：ゴールに到達するという予測に対する誤差，3：予測したゴールの色に対する誤差であった。これら神経細胞群は魚がゴールに到達する過程で活動が下がる。以上の結果は，魚は学習によって脳内に目標を達成するために継時的に変化する最適な感覚情報の予測を確立し，予測と現実状態との誤差を最小化するために最適な行動選択を行うことが示唆された。

（6）海馬における記憶情報表現：安定性と不安定性のあいだ

佐藤正晃（埼玉大学／理化学研究所）

学習や経験の後に「記憶」として脳内に蓄えられる情報は，一定の期間安定に保持される必要があると同時に，将来のさらなる学習に対応して柔軟に変化することができなければならない。このような２つの相反する性質は，記憶の形成に重要な役割を果たす海馬の神経回路においてどのように実現されているのであろうか。近年，海馬の生理学的な研究に積極的に導入されているカルシウムイメージングは，特定の細胞の存在とその解剖学的位置を画像上で知ることができること，およびある一定の領域に存在する細胞の活動を高密度かつほぼ網羅的に記録できるなどの利点から，細胞活動の長期的変化を追跡する研究に適している。本講演では，頭部固定下のバーチャルリアリティ環境にお

いて空間学習するマウスの海馬 CA1 野の場所細胞地図の形成と可塑性を，二光子レーザー顕微鏡を用いたカルシウムイメージングで解析した我々の知見を紹介し，海馬における記憶情報の表現様式について議論したい。

（7）海馬記憶エングラムからの記憶解読
－海馬記憶エングラムは経験の脳内表象へのインデックスである－

田中和正（理化学研究所 脳神経科学研究センター 神経回路・行動生理学研究チーム）

エピソード記憶は海馬の神経細胞群が担っている。近年，記憶エングラムの光遺伝学的操作によって，これら神経細胞が記憶の想起に必要かつ十分であることが示されてきた。しかしながら，これらエングラムの活動パターンや，記憶における具体的な役割については全くの未知である。我々は，文脈記憶の記銘時に海馬 CA1 における場所細胞の一部が記憶エングラムとなることを見出した。さらに記憶想起時の記憶エングラムの活動を解析したところ，予想とは逆にこれらの細胞は場所受容野を完全に再配置させており，記銘時に表現していた空間情報は全く保持していなかった。一方で，記憶エングラムの活動量自体は経験している文脈のアイデンティティを正確に反映していた。これらの結果は，海馬内の神経細胞群に正確な空間情報を担う一群と，それとは独立して文脈アイデンティティの表象として機能する一群がいることを示している。これらの結果から，記憶エングラムがエピソード記憶のインデックスとして機能しているとする仮説を提唱する。

（8）大脳皮質神経細胞集団による恐怖記憶の情報処理機構

揚妻正和（自然科学研究機構 生理学研究所 生体恒常性発達研究部門）

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，「神経細胞集団」としての活動を包括的に理解することが必要である。これまでの研究により，大脳皮質での情報処理においては，神経細胞集団は全体として非常に精密に制御されなければならないことが強く示唆されている。

集団としての制御の実態を把握する上では，単一神経細胞分解能で多数の神経から活動を記録する必要があるが，従来は技術的な制約により困難であった。そこで我々は 2 光子神経活動イメージング技術によりそれを克服し，大脳皮質での神経集団による情報コーディング（population coding）の基盤について明らかにしてきた。

今回の発表では，この技術を用いて進めてきた「前頭前皮質による恐怖記憶制御」に関する内容を中心にお話しさせて頂きたい。

（9）エピソード記憶を司る神経回路

北村貴司（Takashi Kitamura）
（テキサス大学サウスウェスタン医学センター精神神経部門・神経科学部門，助教授（Assistant Professor））

本セミナーでは, 海馬と密接に神経連絡のある大脳嗅内皮質に注目し，エピソード記憶の重要な要素である，“場所”“時間”と“人物”の情報を符号化する神経回路の同定に関して講演する。光遺伝学，ウイルス感染による遺伝

子操作，細胞種特異的な分子マーカーの同定，パッチクランプなどを組み合わせた，分子回路遺伝学的手法を駆使し，2014 年に，私たちのグループは，大脳嗅内皮質－海馬間で全く新しい抑制性神経回路を発見した。げっ歯類の大脳嗅内皮質 II 層で球状セルクラスターを形成している神経細胞群を発見し，これをアイランドセルと命名した。アイランドセルは，神経軸索を海馬 CA1 野に直接投射し，CA1 野 SL 層に位置する抑制性神経細胞とシナプスを作り，大脳嗅内皮質―海馬の神経回路内で Feedforward inhibition 回路として働く。光遺伝学を用いて学習中の動物のアイランドセルの活動を特異的に操作することによって，アイランドセルが動物の行動のタイミングを制御することを明らかにした。自由行動下のマウスの大脳嗅内皮質 II 層から，細胞種特異的にカルシウムイメージングを行い，特定の「場所」の情報を符合化する神経細胞群，オーシャンセルを同定した。一方で，同じ II 層に位置するアイランドセルは特定の場所に反応しせず，むしろ。タイミングを符号化することが分かった 。「人物」の情報は，腹側の海馬にコードされていた。また，大脳嗅内皮質 Va 層 の細胞は，直接，前頭前皮質へ投射し，その投射は遠隔記憶の形成に関与した。以上より，エピソード記憶の構成に必要な「場所」「時間」「人物」の情報は，大脳嗅内皮質，海馬の異なる細胞種によって別々に符合化されていることが明らかとなった。

（10）恐怖記憶の形成および表出におけるオレキシンの役割」

征矢晋吾（筑波大学 国際統合睡眠医科学研究機構）

顕著な情動刺激は視床下部外側野に存在するオレキシンニューロンを賦活し，状況に応じた行動を継続するために覚醒の維持や自律神経応答の亢進が観察されるが，恐怖反応におけるオレキシンの役割は不明である。手がかり依存的恐怖条件付けを行なった後，想起テスト直前に OX1R 拮抗薬を投与した結果，テストにおける恐怖反応は著しく減弱した。さらに，薬理遺伝学を用いて OX1R が豊富に発現する青斑核のノルアドレナリンニューロン（LC-NA ニューロン）特異的に hM4Di を発現させ，CNO 投与により抑制した結果，手がかりに対する恐怖反応は著しく減弱した。一方，LC に投射するオレキシンニューロン，または，扁桃体外側部（LA）に投射する LC-NA ニューロン特異的に ChR2 を発現させ，手がかり依存的な恐怖条件付けを行った後，類似の仕様の異なるケージで光刺激を行った。その結果，手がかりを提示しないにも関わらず顕著な恐怖反応の増加が見られた。この現象はホームケージでは観察されないことから，オレキシンによる刺激をうけた NA ニューロンは，下流の LA ニューロンに働きかけ，予め成立していた恐怖記憶を汎化させ，恐怖の応答を強めることが明らかになった。これらの結果から，睡眠覚醒の制御に関わるオレキシンは OX1R を介して扁桃体に入力する LC-NA ニューロンを調節し，恐怖反応の表出に重要な役割を果たすことが示唆された。

（11）レム睡眠の操作が可能なマウスを用いた睡眠の質が記憶や情動に及ぼす影響の解明

林　悠（筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構（WPI-IIIS））

私たち哺乳類の睡眠は，一晩の間に 2 種類のステージ，すなわちノンレム睡眠とレム睡眠を行き来する。レム睡眠は睡眠全体の 15 ％程度にしか満たないが，この間，寝ているにも関わらず脳は活発に活動し，鮮明な夢が生み出される。このような独特な生理状態が何のためにあるかは，脳科学の大きな謎であった。私たちはレム睡眠の役割の解明を目指し，マウスにおいて，レム睡眠制御細胞を同定し，その活動を遺伝学的に操作することで，レム睡眠を人為的に増やしたり減らしたりすることに取り組んできた。これまでに，マウスのレム睡眠を一時的に阻害または増加した際の影響を解析した結果，レム睡眠にはシナプス可塑性や記憶の定着を促す徐波とい

う神経活動を促す効果があることが明らかとなった。さらに最近では，レム睡眠を長期的に減少または増加させた遺伝子組換えマウスの作製にも成功した。これらのマウスの行動などを調べることにより，レム睡眠が個体レベルで記憶や情動に果たす役割が明らかになると期待される。

（12）内側中核アセチルコリン作動性神経による睡眠と記憶の制御

山中章弘（名古屋大学環境医学研究所）

アセチルコリン作動性神経は，脳内に広く分布しているが，前脳基底核周辺に存在するものと，脳幹部に存在するものの 2 つに大別できる。前者は，注意，記憶，学習などに関わっていると考えられており，後者は睡眠覚醒調節に関わっているとされている。しかし，その生理的役割については十分分かっていない。今回我々は，前脳基底核のアセチルコリン作動性神経のうち，内側中核のアセチルコリン作動性神経が，睡眠覚醒と記憶の制御に関わっていることを明らかにした。アセチルコリン作動性神経特異的に Cre リコンビナーゼを発現する ChAT-Cre マウスとアデノ随伴ウイルスベクターを用いて，内側中核のアセチルコリン作動性特異的に様々な遺伝子を発現させ，その機能を解析した。順行性標識によって，投射先を調べたところ，内側中核のアセチルコリン作動性神経は海馬だけに投射していることが分かった。カルシウムイメージングを用いた活動記録によって，これらの神経が覚醒時とレム睡眠時に活動することが明らかになった。また，この神経を脱落させると，レム睡眠時間の短縮と，記憶形成と保持の向上が認められた。逆に，薬理遺伝学にて活性化させるとレム睡眠時間の増加と，記憶形成の抑制・消去が生じた。これらのことから，内側中核のアセチルコリン作動性神経が，睡眠覚醒調節と記憶の制御に関わっていることが明らかになった。

（13）学習過程における「意欲」の変動メカニズムの解明

牧野健一，池谷裕二（東京大学大学院薬学系研究科薬品作用学教室）

私たちは，困難な問題に直面したとき，その問題解決への難渋ゆえに，途端に「意欲」を失ってしまうことがある。「意欲」に関わる脳領域の 1 つとして，前帯状皮質 (ACC) が知られている。例えば，マウス ACC を薬理学的に不活性化することで，物理的な障壁を乗り越える意欲が減少することが報告されている (Walton, Rushworth, J Neurosci, 2003; Schweimer, Hauber, Learn Mem, 2006)。

しかし，その一方で，課題遂行中の意欲の逐次的な変動に伴った ACC における神経回路動態に関しては，ほとんど知られていない。そこで，本研究では，上記命題を解明することを目的として，学習過程におけるラットの意欲の変化を捉えるため，ノーズポーク試験における新規ルール学習の行動試験系を構築した。さらに，試験中の ACC の活動を薬理学的に不活性化し，意欲変動の観察を行った。

これらの実験から，ACC の活動がタスク参加への意欲の発揮に必要であること，さらには課題の失敗後における意欲の減退を防ぐため，すなわち，意欲を保持するために ACC の活動が重要である可能性が示唆された。これらの結果を基に，意欲の変動を引き起こす ACC の神経回路動態の解明へ挑む。

（14）Posterior parietal cortex による記憶連合制御

鈴木章円（富山大学大学院 医学薬学研究部(医学) 生化学講座）

恐怖条件付け文脈学習課題(Contextual fear conditioning test)では，条件刺激 (CS) と無条件刺激 (US) が提示されると両者の間に連合が生じ，恐怖連合 (CS-US) 記憶が形成されるが，その連合メカニズムは不明な点が多い。

このような背景のもと, 我々は恐怖条件付け文脈学習課題をベースとした CPFE (Context Pre-exposure Facilitation Effect) 課題を用いて，連合を解析する新規行動実験系を確立した。そして，刺激後の経過時間依存的に局在が変化する Arc RNA の特性を利用した生化学的手法を組み合わせ，CS-US 連合に応答する脳領域を網羅的に検索した結果，大脳皮質の 1 領域である頭頂連合野 (Posterior Parietal Cortex; PPC) を発見した。さらに我々は CS 記憶，US 記憶および CS-US 連合記憶をそれぞれ評価する新規行動実験系を確立し，各記憶に対する PPC 領域の役割を評価した結果，PPC 領域は CS-US 連合を特異的に制御する脳領域であることを発見した。

最後に，PPC の活動を人為的に調節することで連合を制御できるか否かを検討した結果, PPC の活動を調節することで, 人工的な CS-US 連合記憶の創出(過誤記憶の創出)や一度形成された恐怖連合記憶の解離にも成功した。以上の結果から, PPC は連合を特異的に制御する領域であり，その活性を人為的に調節することで連合を制御することができることが示唆された。

（15）ヒスタミン神経系の操作による記憶の回復

野村　洋（北海道大学 大学院薬学研究院 薬理学研究室）

時間が経過して思い出せなくなった記憶も, 脳内に痕跡として残っており，自発的に蘇ることがある。しかし，このように忘れてしまった記憶の想起を薬物によって促進させる方法は確立されていない。脳内ヒスタミン神経系は注意や覚醒と共に記憶・学習に関与する。ヒスタミン H3 受容体はヒスタミンやその他の神経伝達物質の放出を抑制するため，ヒスタミン H3 受容体逆アゴニストはヒスタミン放出を増強させる。そこで私たちは，ヒスタミン H3 受容体逆アゴニストの投与によって, 思い出せなくなった記憶を回復させられるのではないかと考え検証した。新規物体認識記憶のテスト前にヒスタミン H3 受容体逆アゴニスト thioperamide もしくは betahistine をマウスに投与すると，嗅周皮質の H2 受容体を介して，思い出せなくなった記憶を思い出せるようになった。ヒスタミンは嗅周皮質ニューロンの自発活動を増大させ, 学習時に活動した嗅周皮質ニューロンの再活性化を引き起こした。また, betahistine はヒトの記憶想起を改善し, 特にプラセボ投与時の成績が悪い被験者において想起改善が大きく認められた。以上の結果から，ヒスタミン H3 受容体逆アゴニストは，ヒスタミン放出の脱抑制を介して嗅周皮質における記憶痕跡を活性化し, 思い出せなくなった記憶を回復させると考えられる。

16. 情動の神経回路機構とその破綻

2018 年 9 月 18 日－9 月 19 日

代表・世話人：疋田貴俊（大阪大学蛋白質研究所 高次脳機能学研究室）

所内対応者：鍋倉淳一（生理学研究所生体恒常性発達）

（１）大脳基底核から情動の神経回路機構とその破綻を考える

疋田貴俊（大阪大学・蛋白質研究所）

（２）中脳ドーパミンニューロンの報酬コンテクストに依存した信号モード変化

松本英之（大阪市立大学大学院医学研究科神経生理学）

（３）精神疾患発病脆弱性に関わる脳内分子・神経メカニズム

内田周作（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）

（４）うつ病の神経回路 ～fMRI を用いた診断・治療法開発の試み～

岡田　剛（広島大学・医歯薬保健学研究科・精神神経医科学）

（５）マウス反復社会挫折ストレスによる脳内炎症様反応を介した情動変容の誘導。

北岡志保（神戸大学大学院 医学研究科 薬理学分野）

（６）侵害受容扁桃体における神経ペプチド CGRP の役割

高橋由香里（東京慈恵会医科大学・神経科学研究部）

（７）扁桃体中心核分子マーカーを手掛かりとした情動制御機構の解明

竹本さやか（名古屋大学・環境医学研究所）

（８）情動行動と脂質栄養

竹内絵理（国立精神・神経医療研究センター）

（９）手綱核・脚間核経路による社会的闘争制御のシナプス機構

木下雅恵（理化学研究所・CBS）

（10）適応的な攻撃行動の破綻に関わる神経回路としての背側縫線核の役割

高橋阿貴（筑波大学 人間系 行動神経内分泌学）

（11）神経発達症モデルマウスの作成とその神経回路の解析

久保　健一郎（慶應義塾大学・医学部・解剖学）

（12）自発神経活動による大脳神経回路の形成機構

田川義晃（鹿児島大学大学院医歯学総合研究科・神経筋生理学）

（13）マウスのフェロモンによる性行動制御の神経回路基盤

宮道和成（理化学研究所生命機能科学研究センター）

【参加者名】

古屋敷智之（神戸大学大学院・医学研究科・薬理学分野），南　雅文（北海道大学・薬学研究院・薬理学研究室），谷口将之（神戸大学・医学研究科・薬理学分野），永井裕崇（神戸大学大学院・医学研究科・薬理学分野），秋山 智志（神戸大学大学院・医学研究科・薬理学教室），國石　洋（国立精神・神経医療センター・精神保健研究所・精神薬理研究部），高橋阿貴（筑波大学・人間系・行動神経内分泌学研究室），宮道和成（理化学研究所・生命機能科学研究センター・比較コネクトミクス研究チーム），永井　碧（神戸大学・医学研究科・薬理学教室），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），坂手里彩（神戸大学大学院・医学研究科・薬理学研究室），山本　亮（金沢医科大学・生理学１），小林曉吾（大阪大学大学院・医学系研究科・分子行動神経科学講座），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），内田周作（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・SK プロジェクト），上野耕平（公益財団法人東京都医学総合研究所・認知症・高次脳機能研究分野・学習記憶プロジェクト），久保健一郎（慶應義塾大学・医学部・解剖学），岡田　剛（広島大学・医歯薬保健学研究科・精神神経医科学），疋田貴俊（大阪大学・蛋白質研究所・高次脳機能学研究室），人羅（今村）菜津子（北海道大学大学院・薬学研究院・薬理学研究室），大田絢斗（大阪大学 蛋白質研究所・大学院医学系研究科 医学専攻博士課程・高次脳機能学研究室），山口隆司（大阪大学・蛋白質研究所・高次脳機能学研究室），瓜生　藍（神戸大学大学院・医学研究科・薬理学分野研究室），松本英之（大阪市立大学・大学院医学研究科・神経生理学），揚妻正和（生理学研究所・生体恒常性発達研究部門・生体恒常性発達研究部門），木下雅恵（理化学研究所・脳神経科学研究センター・意思決定回路動態研究チーム），宇木　遥（北海道大学・薬学部・薬理学研究室），田川義晃（鹿児島大学大学院・医歯学総合研究科・神経筋生理学分野），櫻井航輝（大阪大学・蛋白質研究所・高次脳機能学研究室（疋田研究室）），岡本　仁（理化学研究所・脳神経科学研究センター・意思決定回路動態研究チーム），関口正幸（国立精神・神経医療研究センター神経研究所・疾病研究第 4 部・第二研究室），鳥越万紀夫（理化学研究所・脳神経科学研究センター・意思決定回路動態研究チーム），片山和希（大阪大学 蛋白質研究所・理学研究科・疋田研究室），大川宜昭（富山大学・大学院医学薬学研究部（医学）・生化学講座），米谷匡史（大塚製薬・医薬品事業部・中枢神経疾患研究所），北岡志保（神戸大学大学院・医学研究科・薬理学分野），竹本さやか（名古屋大学・環境医学研究所・神経系分野I），上田修平（名古屋大学・環境医学研究所・神経系分野I），藤原万櫻（名古屋大学・環境医学研究所・神経系分野I），本岡弓佳（神戸大学・医学研究科・薬理学研究室），聶　翔（神戸大学大学院・医学研究科・薬理学研究室），高橋由香里（東京慈恵会医科大学・総合医科学研究センター・神経科学研究部），加藤総夫（東京慈恵会医科大学・神経科学研究部），近藤邦生（生理学研究所・生殖・内分泌系発達機構研究部門），菅森義真（ウエイブフロント有限会社・光学事業部 光学機器課），堀尾修平（自然科学研究機構 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），酒井雅子（㈱エクォス・リサーチ・三河安城研究室・三河安城研究室），Wang Dan Ohtan（京都大学・高等研究院 物質－細胞統合システム拠点・王丹研究室），笠井淳司（大阪大学・大学院薬学研究科・神経薬理学分野），富田健太（愛知大学・文学部心理学科・関義正研究室），山肩葉子（生理学研究所・神経シグナル研究部門・神経シグナル研究部門），村山正宜（理化学研究所・脳神経科学研究センター・触知覚生理学研究チーム），河村菜々実（大阪大学・生命機能研究科・八木研究室），早坂直人（名古屋大学 環境医学研究所・神経系分野２），鍋倉淳一（生理学研究所・生体恒常性発達），鳴島 円（生理学研究所・生体恒常性発達），江藤　圭（生理学研究所・生体恒常性発達），堀内　浩（生理学研究所・生体恒常性発達），竹田育子（生理学研究所・生体恒常性発達），佐藤　彩（生理学研究所・生体恒常性発達），吉原康平（生理学研究所・生体恒常性発達），森川 穂高（生理学研究所・生体恒常性発達），Yeh Han-Yuan（生理学研究所・生体恒常性発達），Synchikova Anna（生理学研究所・生体恒常性発達），戸松彩花（生理学研究所・システム脳科学研究領域・認知行動発達機構研究部門），則武　厚（生理学研究所・認知行動発達），植松明子（生理学研究所・認知行動発達），吉田凪子（生理学研究所・認知行動発達），大塚　岳（生理学研究所・大脳神経回路論），呉嘉豪（生理学研究所・視覚情報・），木村梨絵（生理学研究所・視覚情報），後藤哲平（生理学研究所・遺伝子改変動物作製室）

【概要】

ヒトや動物の情動は社会生活を営む上で必須な行動の一つであり，情動の異常はうつ病など多くの精神疾患で見られ，不自由な日常生活の一因となっている。しかしながら，精神疾患における異常な情動の発生メカニズムや病態生理は未解明のままである。そこで，本研究会「情動の神経回路機構とその破綻」では，精神疾患における異常な情動・行動を情動の神経回路機構の破綻として捉えることで，新たな視点で精神疾患病態を考えると共に，あらためて情動の神経回路機構を理解することを目的とした。特に，臨床医学・医療と基礎研究のトランスレーショナル領域の強化を目指すために，臨床医療に従事している医学研究者とメカニズム解明を目指す基

礎医学者との討論を行った。また，最新の神経回路研究法を開発して独自に研究を進めている若手神経回路研究者に情動研究・精神疾患病態研究に参加してもらうきっかけとなるよう，幅広い研究者に参加をしていただいた。これらによって，情動と精神疾患のメカニズム解明に向けて，神経回路機構を含む新たな視点から共同研究を進めるきっかけとなった。

（1）大脳基底核から情動の神経回路機構とその破綻を考える

疋田貴俊（大阪大学蛋白質研究所高次脳機能学研究室）

ヒトや動物の情動は社会生活を営む上で必須な行動の一つであり，情動の異常はうつ病など多くの精神疾患で見られ，不自由な日常生活の一因となっている。しかしながら，精神疾患における異常な情動の発生メカニズムや病態生理は未解明のままである。私たちは，これまで大脳基底核神経回路に着目して，情動の脳内基盤と精神疾患病態を研究してきている。特に報酬・忌避行動における大脳基底核神経回路制御機構を解析し，直接路は報酬行動に，間接路は忌避行動にそれぞれ重要であることを示してきた。さらに，パブロフ型条件付け学習行動や逆転学習行動などにおいて，直接路と間接路がそれぞれ別々の役割を担っていることが分かった。精神疾患でみられる情動行動の異常の背景に，これらの神経回路機構の破綻を想定し，精神疾患モデルマウスでみられる神経回路病態の解析をすすめている。

（2）中脳ドーパミンニューロンの報酬コンテクストに依存した信号モード変化

松本英之（大阪市立大学大学院医学研究科神経生理学）

ドーパミンは報酬や罰からの学習に重要な役割を果たすと考えられている。中脳ドーパミンニューロンは，実際に得られる報酬の価値と，予測された報酬の価値の誤差を計算し，報酬の「予測誤差」を信号していると考えられる。しかし，ドーパミンニューロンが罰の情報をどのように統合するのか，現在大きな議論になっている。これまでの結果が一貫しないのは，ドーパミンニューロンの活動を実験中に確実に同定することが難しかったことが理由の一つに考えられる。そこで本研究では，ドーパミンニューロンを確実に同定するため，電気生理学とオプトジェネティクスを組み合わせた細胞同定技術を利用した。その上で，ドーパミンニューロンが罰情報をどのようにコードするのか，さまざまな「匂いと価値の連合学習課題（古典的条件付け課題）」を用いて調べた。報酬を得られる頻度が低い課題では，ドーパミンニューロンは嫌悪に対して抑制性応答を示し，報酬と嫌悪を一次元の価値軸に統合してコードし，さらに報酬と嫌悪の両方に対する予測誤差信号を示した。一方で，（一般的に用いられるような）報酬の頻度が高い課題では，ドーパミンニューロンは嫌悪刺激に対して短潜時の興奮性応答を示し，これが嫌悪の負の価値に対する活動の抑制を見えにくくしていることがわかった。以上のことは，ドーパミンニューロンが報酬コンテクストに応じて信号モードを変化させている可能性を示唆している。

（3）精神疾患発病脆弱性に関わる脳内分子・神経メカニズム

内田周作（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）

うつ病の発症・病態メカニズムは未だに不明であるが，慢性ストレスによる脳神経細胞の構造的･機能的変化に起因する神経ネットワーク変容といった神経可塑性障害仮説が提唱されている。神経可塑性には脳内の遺伝子発現調節機構が重要な役割を担っている。うつ病患者や慢性ストレスを負荷したうつモデルマウスの脳内では，様々な遺伝子の発現異常が認められており，脳内ストレス適応機構における遺伝子発現制御の重要性が伺える。一方，ストレスフルなライフイベントを経験したすべての人がうつ病を発症するわけではなく，むしろ大多数の人はストレスに適応して精神的安定性を維持することができる。また，うつ病患者における女性比率の高さや死後脳における遺伝子発現パターンには性差が認められる。しかしながら，うつ病の発症・病態メカニズムにおける個体差・性差構築のメカニズムは不明である。この問題が解決できれば，ストレス性精神疾患の発症・病態メカニズムの解明，新たな予防法・治療法の確立，個別化医療・性差医療への展開が期待できる。本発表では，精神疾患の発症リスクとなるストレス脆弱性の個体差・性差構築の分子基盤として，内側前頭前皮質におけるヒストン脱メチル化酵素を介したエピジェネティックな遺伝子発現制御が重要な役割を担っていること，神経基盤として内側前頭前皮質を起点とした神経ネットワークのストレス対処行動に対する役割に関する知見を紹介したい。

（4）うつ病の神経回路～fMRI を用いた診断・治療法開発の試み～

岡田　剛（広島大学・医歯薬保健学研究科・精神神経医科学）

うつ病は抑うつ気分や興味･喜びの喪失をはじめとした様々な症状により構成される異種性の高い症候群で，治療反応性や経過も一律ではないが，うつ病患者の個々の治療を決定するための生物学的な検査法はいまだ確立されていない。うつ病の症候を特定の機能を持つ個別の神経回路の機能障害として捉え，脳機能を検査することで，うつ病の層別化や病態に対応した治療法の開発ができる可能性がある。脳機能を測定する方法はいくつかあり，それぞれ一長一短あるが，機能的磁気共鳴画像法（functional magnetic resonance imaging: fMRI）は，非侵襲性に加えて，空間分解脳が非常に高く，病態と関連した神経回路を特定しやすいことから，精神疾患の病態研究においても著しく普及し多くの研究成果が報告されている。うつ病の病態に関しても，情動や認知機能の基盤となる神経回路における機能的変化が明らかになりつつある。また近年では，機械学習法を用いて，　脳活動あるいは脳機能的結合結合のパターンをうつ病診断のバイオマーカーに取り入れようという試みも行われている。本発表では，うつ病の fMRI 研究のこれまでの知見をわれわれの研究結果も含めて概説し，うつ病の病態について考察するとともに，客観的診断法や治療法の開発などの臨床応用へ向けてわれわれが行っている取組とその予備的な結果を紹介する。

（5）マウス反復社会挫折ストレスによる脳内炎症様反応を介した情動変容の誘導

北岡志保（神戸大学大学院 医学研究科　薬理学分野）

適度なストレスは交感神経系や神経内分泌系を活性化し，生命維持にとって有利に働く。しかし，過度なストレスやストレスの遷延化は認知機能の低下や抑うつ･不安亢進といった情動変容を誘導し，精神疾患のリスク因子となる。既存の抗うつ薬の多くはモノアミンを標的とし，一部のうつ病患者には効果がないため，新たな分子標的の開発

が期待されている。最近，我々を含む複数のグループが反復ストレスによるミクログリアの活性化を報告している。これに合致して，うつ病患者の PET イメージングでミクログリアの活性化が示唆され，うつ病とミクログリアとの関連が注目されている。しかし，ストレスによるミクログリア活性化のメカニズムや，ミクログリアの活性化と情動変容との因果関係は不明であった。

我々は，マウスに繰り返しストレスを与える反復社会挫折ストレスモデルを用い，反復ストレスによる中脳皮質ドパミン系の抑制が情動変容を誘導することを示した。そこで，反復ストレスによる情動変容に重要である内側前頭前皮質に着目し，反復ストレスにより内側前頭前皮質で発現誘導される分子を調べた結果，Toll 様受容体（TLR）の内因性リガンドとして報告されている遺伝子の発現上昇を見出した。本研究会では，ストレスによる情動変容における TLR の役割と脳内炎症様反応の分子実体を紹介するとともに，ストレスによる末梢の炎症様反応についても最新の知見を紹介する。

（6）侵害受容扁桃体における神経ペプチド CGRP の役割

高橋由香里，加藤総夫（東京慈恵会医科大学・神経科学研究部）

末梢由来の侵害受容情報を扁桃体中心核（CeA）に伝えることによって侵害受容系と情動系をつなぐ腕傍核（LPB）- CeA 興奮性シナプスは，種々の疼痛モデルで顕著な伝達増強を示す（Veinante et al., 2013）。LPB でのカルシトニン遺伝子関連ペプチド（CGRP）発現，CeA での CGRP 結合部位・受容体発現，ならびに，CGRP 含有終末と CeA ニューロンとのシナプス形成（Dong et al, 2010）などから，CGRP が LPB - CeA シナプス伝達を制御する可能性がある(Palmiter, 2018)。そこで，CeA を介した痛み情動発現における CGRP の機能的意義を検討した。１）CGRP（500 nM）は LPB - CeA シナプス NMDA 受容体電流を PKA 依存的に増大させる（Okutu et al, 2017）。２）炎症性疼痛モデルの LPB - CeA シナプス伝達増強は，CGRP 欠損マウスでは生じない（Shinohara et al, 2017）。３）炎症性異所性痛覚過敏モデル CeA の CGRP1 受容体の薬理学的抑制は，痛覚過敏を有意かつ一過性に緩和する（Sugimoto et al, in prep）。これらの事実より，扁桃体中心核の内因性 CGRP は侵害受容関連の可塑的変化と疼痛行動を調節することが示唆された。

（7）扁桃体中心核分子マーカーを手掛かりとした情動制御機構の解明

竹本さやか（名古屋大学・環境医学研究所・神経系分野 I）

扁桃体中心核（CeA）は，扁桃体の出力核として機能し，脳幹や視床下部等に投射することで情動反応を引き起こす。CeA は更に，CEl（lateral subdivision）と，CEm（medial subdivision）に分けられる。近年，分子マーカーの同定（PKCd やソマトスタチンなど）が進み，分子マーカー知見に基づく CeA 局所回路研究が急速に推進されつつある。我々は独自に，カルシウム依存性タンパク質リン酸化酵素 CaMKIγ/CLICK-III が，CEl に発現する分子マーカーであることを見出し，その機能解明を推進してきた。これまでに培養神経細胞を用いて本酵素が BDNF 依存的な樹状突起伸展を制御することを報告した。一方で，CeA における生理機能は長年不明である。独自に作出した本酵素のノックアウトマウスは，恐怖記憶や社会行動などの非常に限定された情動行動において顕著な異常を示し，本酵素発現細胞によって構成される神経回路が，恐怖記憶行動や社会行動といった情動行動に関わる脳内情報処理を担う可能性が示唆された。更に，CaMKIγ の脳内発現領域を詳細に検討したところ，扁桃体中心核に加え，分界条床核の特定神経亜核にも発現が多いことを見出した。興味深いことに同亜核において，他の CEl 分子マーカーも発現が多いことが分かり，現在両領域の機能的類似性や解剖学的類似性の検討を進めている。

（8）情動行動と脂質栄養

竹内絵理，関口正幸（国立精神・神経医療研究センター 神経研究所）

私どもの研究室では比較的長期間に渡る特定栄養素の摂取が行動に与える影響とそのメカニズムを調べている。そのなかで，ω3 多価不飽和脂肪酸リッチな餌（高ω3 餌）で 1 ヶ月以上飼育されたマウスについては，①恐怖条件付けでの「すくみ行動」時間短縮，②強制水泳での無動時間短縮，を見出しており，同餌継続摂取はある種の情動行動に影響を与えることが示唆された。これら情動行動への影響は，不安症やうつにおいて指摘されている血球膜 ω3 多価不飽和脂肪酸量と精神症状スコアの逆相関に関係している可能性も考えられる。

これまでに本会では主に上記①について報告してきたが，今回は②を中心に最近のデータを紹介したい。②すなわち強制水泳での無動時間短縮は，高 ω3 餌継続摂取による腹側被蓋野チロシン水酸化酵素免疫染色性の増大，ならびに側坐核におけるドーパミン代謝回転亢進を伴い（ノルアドレナリンやセロトニンに関しては変化なし），D_1 あるいは D_2 ドーパミン受容体ブロッカー側坐核内投与により完全に消失した。従って，②の作用には中脳辺縁系ドーパミン神経が関与することが考えられた。なお，側坐核への D_2 ブロッカー投与は①には全く影響しないことから，①と②は異なる脳内メカニズムを介して表出することも示唆された。発表ではさらに最新のデータについても紹介したい。

（9）手綱核・脚間核経路による社会的闘争制御のシナプス機構

木下雅恵，周　銘翊，岡本　仁（理化学研究所・CBS）

多くの社会性生物において，複数回の闘争行動を行っても，その勝敗結果は最初の闘争の勝敗結果と一致する現象が見られる。我々のこれまでの研究で，ゼブラフィッシュの闘争行動における敗者では手綱核から腹側脚間核への神経伝達が増強されていることを発見した。本研究ではスライス標本を用いた電気生理学的手法により，この神経伝達増強を引き起こす分子機構について調べた。AMPA 受容体を介したシナプス後電流を腹側脚間核ニューロンから記録すると，敗者の標本で GluA1 サブユニットを介した電流が増加していることがわかった。さらに，サイレントシナプスの解析から，手綱核からの入力に対して反応性の高いニューロンが敗者の標本に増えていることも示され，GluA1 の動員によって手綱核から腹側脚間核への神経伝達が増強される仕組みが示された。また，シナプス後電流の記録前にスライス標本をニコチン処理すると，GluA1 を介した電流が増加し，その効果は α7 ニコチン性アセチルコリン受容体を介したものであることが示された。以上のことから，闘争行動の敗者の腹側脚間核では，アセチルコリンによって制御される GluA1 の動員によって，手綱核からの神経伝達増強が生じることが示された。またこの神経伝達増強が，敗者が次の闘争でも敗者となる現象の神経基盤であることが示唆される。

（10）適応的な攻撃行動の破綻に関わる神経回路としての背側縫線核の役割

高橋阿貴（筑波大学 人間系 行動神経内分泌学研究室）

多くの動物にとって攻撃行動は，なわばりや交尾相手などの資源を獲得し守るために重要な役割を持つ。その一方で，怪我を負うリスクなども伴うことから，適切なレベルに抑制することも必要となる。このようなバランスが破綻して，攻撃行動が過剰になるとそれはもはや適応的な行動とはいえず，人間社会でもこのような過剰な

攻撃行動（暴力）は大きな社会問題となっている。私たちは，そもそも適応的な攻撃行動が，どのような神経回路の働きの変化によって，過剰な攻撃行動になってしまうかを明らかにするために，マウスを用いて研究を行っている。セロトニンは攻撃行動に関わる神経伝達物質として最もよく研究されており，主に背側縫線核（DRN）において産生される。DRN への興奮性・抑制性入力がどのように攻撃行動を制御するかを解析した結果，グルタミン酸を雄マウスの DRN へ局所投与すると攻撃行動が増加することが明らかとなった。また，雄マウスが攻撃行動を行っている最中に DRN 内のグルタミン酸放出量が増加し，それは過剰な攻撃行動の際には更に高い放出を示した。このことから，DRN へのグルタミン酸入力が雄マウスの攻撃行動のレベルの決定に関与することが示された。DRN には様々な脳領域から興奮性の投射が行われており，いずれの脳領域から DRN への興奮性の神経投射が攻撃行動に関与しているかについて，これまでの研究から明らかになってきたことを紹介したい。

（11）神経発達症モデルマウスの作成とその神経回路の解析

久保健一郎[1]，出口貴美子[1,2]，石井一裕[1]，井上　健[2]，仲嶋一範[1]
（[1]慶應義塾大学・医学部・解剖学，[2]国立精神・神経センター・神経研・疾病二部）

精神・神経疾患の病態の一つとして，脳内の神経回路における変化が想定されているが，その実体と病的意義は依然不明のままである。一方，近年，自閉スペクトラム症の死後脳研究において，脳内の神経回路形成の基盤となる，脳の細胞構築の変化が相次いでいる。加えて，我々は最近，認知機能低下や自閉スペクトラム症をはじめとする神経発達症（発達障害）を高頻度で生じる，超早産児における虚血性脳障害においても，脳の細胞構築に変化が生じていることを見出した。そこで，マウスを用いて超早産児における虚血性脳障害のモデルを作成したところ，脳の神経細胞配置と神経回路に変化が生じ，マウスの生育後に認知機能低下が観察された。このような神経細胞の配置に生じた変化がどのような影響をもたらすのか，マウスにおいて子宮内電気穿孔法によって人為的に神経細胞の配置を変化させたところ，その後に形成される神経回路にも変化が生じることを見出した。このような細胞構築の変化に伴って生じる神経回路の変化が，情動にも影響を及ぼし，神経発達症の病態に関わる可能性が想定される。

（12）自発神経活動による大脳神経回路の形成機構

田川義晃（鹿児島大学大学院医歯学総合研究科・神経筋生理学分野）

脳にはおよそ 1011 個の神経細胞，1014 個のシナプスがあるといわれる。脳の発達期，このような膨大な数の配線はどのようなメカニズムで行われるのであろうか。脳の発達には氏（遺伝）と育ち（環境）が重要であり，これは神経回路形成の文脈では，ゲノム情報に基づく遺伝プログラムと環境からの神経入力と考えられるが，神経回路配線に重要なのはその２つだけであろうか。私たちはマウスの大脳を用いた研究から，長距離神経回路と局所神経回路の両方に発達期の神経細胞自身の活動（自発的神経活動）が必須であることを明らかにしてきた。左右の大脳をつなぐ長距離神経回路である脳梁軸索投射は，発達期の神経活動抑制により形成が阻害され，特定の時期の神経活動回復により再形成されることを明らかにした。また，視覚野でみられる方位選択性の初期形成は神経活動抑制により影響を受けないが，後期の再構成の過程に自発神経活動が重要な役割を果たすことを示した。さらに，大脳の６層構造構築の基盤となる細胞移動の過程にも，神経細胞自身の自発活動が深く関わることを示した。脳神経系は膜電位変化を使って情報を伝えるが，回路形成後だけでなく，回路構造を作るとき

から自らの神経活動を使っていることが示唆される。主に感覚系・運動系神経回路で明らかにされてきたこれらの回路形成機構は，情動など高次脳機能を担う回路の形成過程でも働くと考えられる。

（13）マウスのフェロモンによる性行動制御の神経回路基盤

宮道和成（理化学研究所生命機能科学研究センター）

マウスにおいて性行動は鋤鼻器官の受容するフェロモンによって調整されることが知られているが，その作用の神経基盤はよく分かっていなかった。本研究は，雌マウスの性行動に対して拮抗的に作用する二種類のフェロモンをモデルに，その作用機構の一端を明らかにした。雄マウスが涙液に分泌する ESP1 は雌マウスの性受け入れ行動を促進するのに対し，幼若マウスの分泌する ESP22 はこれを抑制する。遺伝子変異マウスを用いた研究から，末梢の鋤鼻器官において，ESP1 と ESP22 はそれぞれ異なる特異的なフェロモン受容体によって検出されることが明らかとなった。フェロモン情報の三次ニューロンが位置する内側扁桃体において, ESP1 と ESP22 は異なる神経集団を活性化し，前者のシグナルは視床下部の腹内側核，後者のシグナルは分界条床核に優先的に送られていた。これに呼応する知見として，内側扁桃体の薬理遺伝学的阻害は ESP1 と ESP22 の双方の機能を障害したのに対し，腹内側核の阻害は ESP1，分界条床核の阻害は ESP22 の機能を選択的に障害した。このように，異なるフェロモンはそれぞれ専用の受容体を介して，異なる辺縁系の神経回路を駆動することで，雌マウスの性行動を促進ないし抑制という反対の方向に調整する。各フェロモン受容体の下流に固有の神経回路が対応するメカニズムは未解明の課題である。

17. 神経回路の構築から機能発現に至る統合的理解

2018 年 12 月 4 日－12 月 5 日

代表・世話人：橋本浩一（広島大学大学院医歯薬保健学研究科）
所内対応者：吉村由美子（視覚情報処理研究部門）

（1）音源定位回路におけるシナプス分布の入力周波数依存的制御
山田　玲（名古屋大学医学系研究科）

（2）CRMP2 結合化合物による脳損傷後の運動機能回復促進
實木　亨（横浜市立大学医学部）

（3）哺乳類生体脳でのゲノム編集技術の開発と応用
三國貴康（新潟大学脳研究所）

（4）オルガネラ Ca^{2+}ダイナミクスの光操作
八尾　寛（東北大学生命科学研究科）

（5）細胞系譜に依存した皮質内神経結合の形成には生後の感覚体験が必要である
吉村由美子（自然科学研究機構生理学研究所）

（6）フェレットとマウスを用いた大脳皮質の形成機構の解析
河崎洋志（金沢大学医学系研究科）

（7）ミクログリア依存的な生後発達期神経回路再編成の解析
橋本浩一（広島大学医歯薬保健学研究科）

（8）海馬苔状線維における後脱分極の発生機構とシナプス前部への Ca^{2+}流入に与える影響
大浦峻介（北海道大学大学院医学院）

（9）2 ステップ放出モデルを用いたシナプス小胞放出キネティクスの理解
三木崇史（同志社大学脳科学研究科）

（10）発達期小脳のシナプス刈り込みにおける活動の役割
上阪直史（東京大学医学系研究科）

【参加者名】

神谷温之（北海道大学），大浦峻介（北海道大学），八尾　寛（東北大学），上阪直史（東京大学），中村行宏（東京慈恵会医科大学），實木　葵（東京女子医科大学），入江智彦（国立医薬品食品衛生研究所），實木　亨（横浜市立大学），三國貴康（新潟大学脳研究所），河崎洋志（金沢大学），山田　玲（名古屋大学），林　康紀（京都大学），本田直樹（京都大学），堀　哲也（同志社大学），三木崇史（同志社大学），杉村岳俊（奈良県立医科大学），橋本浩一（広島大学），久保怜香（広島大学），松岡利典（広島大学），菅森義真（ウエイブフロント㈲），鳴島　円（生理学研究所），山肩葉子（生理学研究所），佐竹伸一郎（生理学研究所），大塚　岳（生理学研究所），森島美絵子（生理学研究所），堀尾修平（生理学研究所），植松明子（生理学研究所），佐藤　彩（生理学研究所），石川理子（生理学研究所），林　健二（生理学研究所），木村梨絵（生理学研究所），米田泰輔（生理学研究所），山本真理子（生理学研究所），唐木智充（生理学研究所），呉　嘉豪（生理学研究所），吉村由美子（生理学研究所）

【概要】

神経系では，多種多様なニューロンの分化から回路形成，回路の中での信号処理や神経機能発現，病態に至るまで様々な段階での研究が行われている。ともすれば各分野に偏りがちな研究を，脳の機能の観点から俯瞰した広い研究につなげるためには，それらの研究領域間での階層を横断した情報交換が欠かせない。本研究会は，神経回

路の構築や機能について最先端の研究に携わる研究者が一堂に会することにより，分野をまたいだ最新の知見の情報交換を行うことを目的として企画された。研究会は，2018 年 12 月 4 日，5 日に生理学研究所で開催された。国内研究者 36 名が参加し，招待講演者による講演 4 題と，公募による一般演題の口頭発表 6 題が行われ，活発な議論が行われた。大脳・小脳の機能的な神経システムの発達について，細胞・回路レベルから脳回・脳溝にいたる幅広い階層における研究の発表があった。また脳機能回復促進のための新たな薬理学的介入法や新たな細胞内 Ca^{2+}動態操作法の開発，シナプス前終末で起こる後脱分極の機能意義やシナプス伝達時のシナプス小胞の動態，細胞の形状とイオンチャネルの分布が信号処理に与える影響，ゲノム編集を用いた最新のイメージング手法の開発について最新の研究報告が行われた。十分な持ち時間を用意したこともあり，これらの研究発表について活発な議論が行われ，分野や領域を超えた研究者間での意見交換や交流という当初の目的は十分達せられたと思われる。また今回は座長を大学院生や若手の研究者に依頼し，将来のための経験を積んでもらう機会とした。ただ本年度は参加者が例年に比べて少なく，開催時期や実施方法を再検討する必要があると感じられた。このため，研究会後に吉村世話人を中心として世話人会の間でメール審議を行い，多くの参加者が見込まれる時期や実施方法などについて再検討を行った。来年度は更なる盛会が期待される。

（1）音源定位回路におけるシナプス分布の入力周波数依存的制御

山田　玲（名古屋大学医学系研究科細胞生理学）

トリ層状核（NL）神経細胞は両耳からのシナプス入力の同時検出器として働くことで両耳間時差検出を行い，音源定位に関わる神経核である。音情報は様々な周波数成分を含んでおり，NL においては周波数ごとの同時検出が行われる。細胞構造上の特徴として，担当する周波数が低くなるほど樹状突起は長くなり，低周波数領域の細胞（Low-CF 細胞）は他の細胞と比較して１０倍以上にも及ぶ長い樹状突起を持つが，その機能的意義は未だ明らかになっていない。そこで Low-CF 細胞の樹状突起におけるシナプス分布を，caged グルタミン酸を用いた局所刺激によって解析したところ，シナプス入力は樹状突起遠位部に集中していることが分かった。さらに Low-CF 細胞において細胞体に届く電位を計測したところ，このような遠位部への入力は細胞体へ伝わる過程で大きく減衰することが分かった。この減衰は入力強度依存的であり，その過程には入力部位局所での脱分極が関与していることも示唆された。シミュレーションを用いて検討したところ，局所脱分極によるシナプス電流の減少とカリウム電流の増加が大きな減衰を引き起こすことが分かった。さらにこのようなシナプス分布による減衰が同時検出に与える影響を調べることで，周波数領域ごとに樹状突起形態が異なることの機能的意義について検討した。

（2）CRMP2 結合化合物による脳損傷後の運動機能回復促進

實木　亨（横浜市立大学医学部 生理学）

脳損傷は重篤な麻痺を引き起こし，患者の生活の質は大きく損なわれる。脳損傷後の運動障害の回復は残存する脳領域の皮質運動マップの再編成を介した代償的神経可塑性の結果であると考えられる。今回我々は経験依存的 AMPA 受容体のシナプス移行の促進がリハビリテーション依存的な運動皮質の再構成および脳損傷後の運動機能回復の加速をもたらし得るのではないかと考えた。そこで薬理学的介入による AMPA 受容体のシナプス移行の促進を試みるため，神経保護作用と神経の形態変化をもたらす低分子化合物である edonerpic maleate について注目した。

持続的な前肢機能の低下を呈する脳損傷のモデルマウスにおいて，edonerpic の投与とリハビリテーションを併用することにより前肢機能の顕著な回復がみられ, edonerpic により回復したマウスは代償野の領域における AMPA 受容体を介したシナプス応答の増加についても観察された。さらにはその化合物のターゲットとなるタンパクとして CRMP2 が同定された。edonerpic の作用は CRMP２が仲介し，リハビリテーション依存的な AMPA 受容体のシナプス移行により大脳皮質運動野損傷後の機能回復を促進することが明らかになった。

（3）哺乳類生体脳でのゲノム編集技術の開発と応用

三國貴康（新潟大学脳研究所細胞病態学分野）

Rapid and precise genome editing using CRISPR-Cas systems is a powerful technology in various scientific fields. Especially, genome editing through homology-directed repair (HDR) provides a versatile approach to precisely introduce insertions, deletions or replacements in the genome. However, it has been considered to be difficult to induce HDR in postmitotic neurons, limiting the application of precise genome editing in the field of neuroscience. Here I present two strategies, SLENDR and vSLENDR, to induce HDR-mediated genome editing in mammalian brain *in vivo* (*Cell* 2016, *Neuron* 2017). Rapid and precise genome editing in the brain will allow for a wide range of applications in neuroscience research, such as high-throughput monitoring and manipulation of endogenous gene products in brain tissue.

References:

1) Mikuni et al., *Cell*. 2016; 165(7):1803-17.
2) Nishiyama* and Mikuni* et al., *Neuron*. 2017; 96(4):755-68.

（4）オルガネラ Ca^{2+}ダイナミクスの光操作

八尾　寛（東北大学大学院生命科学研究科）

骨格筋細胞の発達過程において, シナプス入力などの外部刺激が与えられることにより, 収縮能の獲得が促進される。我々は，先行研究において，光感受性カチオンチャネルのチャネルロドプシン(ChR)をマウス筋芽細胞(C2C12)に導入し, 筋管細胞に青緑色光刺激を与えることでサルコメア構造の発達が促進されること, そして周期的リズムを有するパルス刺激が効率的に成熟した筋細胞への分化を亢進すること, Ca^{2+}の再分配に依存していることを明らかにした(Asano et al., 2015, 2017)。すなわち，Ca^{2+}がサルコメアの規則的構造の形成を促進することが示唆される。しかし，これが細胞外からの Ca^{2+}流入によるのか細胞内ストアからの Ca^{2+}放出によるのかは, 未解決の問題である。これを解明するにあたり，細胞内 Ca^{2+}ストアである小胞体に局在する Ca^{2+}選択的チャネルロドプシンを開発し，細胞外からの Ca^{2+}流入をともなわずに，細胞内 Ca^{2+}動態を光操作することにより, 細胞生理機能へ介入した(Asano et al., 2018)。本方法論は，Ca^{2+}ストアを介する細胞内 Ca^{2+}ダイナミクスがシナプス可塑性を制御するという仮説の検証を促進することが見込まれる(Yawo et al., 2013)。

Asano T, Ishizuka T, Morishima K, Yawo H. Optogenetic induction of contractile ability in immature C2C12 myotubes. Sci Rep. 2015 Feb 9;5:8317. doi: 10.1038/srep08317.

Asano T, Ishizuka T, Yawo H. Myogenic Maturation by Optical-Training in Cultured Skeletal Muscle Cells. Methods Mol Biol. 2017;1668:135-145. doi: 10.1007/978-1-4939-7283-8_10.

Asano T, Igarashi H, Ishizuka T, Yawo H. Organelle Optogenetics: Direct Manipulation of Intracellular Ca^{2+} Dynamics by Light. Front Neurosci. 2018 Aug 17;12:561. doi: 10.3389/fnins.2018.00561.

Yawo H, Asano T, Sakai S, Ishizuka T. Optogenetic manipulation of neural and non-neural functions. Dev Growth Differ. 2013 May;55(4):474-90. doi: 10.1111/dgd.12053.

（5）細胞系譜に依存した皮質内神経結合の形成には生後の感覚体験が必要である

吉村由美子（自然科学研究機構生理学研究所）

In sensory cortex, specific neuronal connections are initially established before sensory experience, and then the connections are individually refined through early sensory experience. Clonal excitatory neurons arising from the same single progenitor cell are preferentially connected in the postnatal cortex. In this study, we examined the effect of sensory experience on the establishment of the cell-lineage-dependent neural connections between layer 4 spiny stellate cells in mouse barrel cortex.

In normal development, there was no significant difference in the connection probability (the number of detected connections/the number of tested connections) between clonal and non-clonal pairs at P9-11. The probability increased significantly from P9-11 to P15-16 and then decreased only in clonal pairs, resulting in the same connection probability in clonal and non-clonal pairs at P18-20. Sensory deprivation from P13 completely prevented the temporal increase in the connection probability in clonal pairs. However, we found no significant differences in the connection probability in non-clonal pairs between normal and deprived mice at any age. Therefore, cell-lineage-specific neural connections seem selectively modified by sensory experience.

We next analyzed the reciprocity, the proportion of reciprocally connected pairs among connected pairs. The reciprocity was not significantly different between clonal and non-clonal neuron pairs in P9-11 normal mice. Then the reciprocity continued to increase significantly in clonal pairs until P18-20, whereas it showed only an insignificant increase in non-clonal pairs during that period. Sensory deprivation prevented almost completely the increase in the reciprocity in clonal pairs, while it did not affect the reciprocity in non-clonal pairs. These results suggest that the establishment of reciprocal excitatory connections in layer 4 neurons depends on early sensory experience in addition to cell lineage.

（6）フェレットとマウスを用いた大脳皮質の形成機構の解析

河崎洋志（金沢大学医学系 脳神経医学研究分野）

ヒトなどの高等哺乳動物の大脳皮質の表面にはシワ（脳回）が存在する。脳回の存在により大脳皮質の表面積が増加し，より多くの神経細胞を持つことが可能になったと考えられている。また脳回異常疾患である多小脳回症や滑脳症では重篤な脳機能障害を来すことから，脳回は機能的に重要だと考えられているが，その形成機構および脳回異常疾患の病態はほとんど明らかにされていない。その理由としてマウスの脳には脳回がなく，マウスを用いた解析が困難であるという点が挙げられる。そこで我々は，発達した脳をもつ哺乳動物フェレットに着目し，フェレットに分子遺伝学的技術を導入することにより脳回形成機構および脳回異常疾患の解析を進めている。子宮内エレクトロポレーション法を応用することにより，フェレット大脳皮質への遺伝子導入が可能となった。さらに CRISPR/Cas9 を組み合わせることにより，フェレット大脳皮質での遺伝子ノックアウトも可能とした。今回はこれらの技術を用いて明らかになってきた脳回の形成機構について紹介したい。我々のフェレットを用いた技術は脳回のみならず，高等哺乳動物特有のさまざまな脳神経構築の解析にも有用と考えられる。

（7）ミクログリア依存的な生後発達期神経回路再編成の解析

橋本浩一 [1]，中山寿子 [1,2]
（[1] 広島大学医歯薬保健学研究科神経生理学，[2] 東京女子医科大学生理学）

誕生直後のマウス小脳では 1 個のプルキンエ細胞は複数本の登上線維からシナプス入力を受けているが，生後発達の過程で 1 本のみを残して刈り込まれる。この過程におけるミクログリアの関与を明らかにするため，生後発達期小脳でミクログリア密度が大幅に低下したミクログリア特異的 Csf1r ノックアウトマウス（Csf1r-cKO）を作成した。Csf1r-cKO においては，生後 10 日以降の登上線維の刈り込みが顕著に障害されていた。刈り込みにおける貪食の関与を解析するため，登上線維とミクログリアを共染色する実験を行った。ミクログリアが登上線維を貪食しているのであれば内部に登上線維の断片が観察されるはずであるが，そのような断片はほとんど観察されなかった。登上線維の刈り込みが正常に起こるためには，プルキンエ細胞への抑制性シナプスの正常な発達が必須であるため，Csf1r-cKO の抑制性シナプス伝達を解析した所，顕著な低下が見られることが分かった。さらに，Csf1r-cKO の登上線維の刈り込みの障害は，抑制性シナプス伝達を増強するジアゼパムの投与により回復した。これらの結果は，ミクログリアは発達期小脳において抑制性シナプス伝達の成熟を促すことを示唆する。このミクログリア依存的な抑制性シナプス成熟が，プルキンエ細胞に内在する抑制性シナプスに依存した登上線維刈り込みのプロセスを間接的に活性化すると考えられた。

（8）海馬苔状線維における後脱分極の発生機構とシナプス前部への Ca^{2+}流入に与える影響

大浦峻介，神谷温之（北海道大学）

軸索の活動電位に引き続く後脱分極は，数十から数百ミリ秒ほど持続する緩徐な脱分極応答である。本研究では，中枢軸索において例外的に大型の軸索終末を有する海馬苔状線維終末から軸索活動電位の直接記録を行い，これまで詳細が解明されていなかった後脱分極の発生機構について検討した。更に，後脱分極がシナプス前部への Ca^{2+}流入に与える影響についても検討を行った。

海馬苔状線維の起始細胞である顆粒細胞層を細胞外刺激すると，軸索活動電位に引き続いて後脱分極が記録された。薬理学的な解析から，電位依存性 Na^{+}チャネルおよび K^{+}チャネルによって後脱分極が制御されていると考えられた。一方で，電位依存性 Na^{+}・K^{+}チャネルを阻害しても後脱分極が残存することから，これらに加えて軸索細胞膜の容量性放電による成分が後脱分極の発生に関与すると推定した。

次に，後脱分極がシナプス伝達に与える影響を推定するために，軸索終末への Ca^{2+}流入量について検討を行った。二発刺激時の活動電位をコマンド電位として与えると Ca^{2+}流入量は軽度増加することが示された。一方で，後脱分極を抑止したコマンド電位を与えた際には，Ca^{2+}流入量に増加を認めなかった。これらの結果から，後脱分極は Ca^{2+}流入量を活動依存的に増加させると考えられた。

（9）2 ステップ放出モデルを用いたシナプス小胞放出キネティクスの理解

三木崇史（同志社大学脳科学研究科シナプス分子機能部門）

シナプス小胞放出は活動電位に同期して起こる速い放出とその後持続的におこる遅い放出がある。このように放出は複数の成分からなり複雑な神経回路構築に寄与している。しかしながらこれら異なる放出に関して統

一的理解には至っていなかった。今回の発表では，小脳平行線維－抑制性神経細胞シナプスの小胞放出キネティクスについて我々が最近提唱した 2 ステップモデル（Miki et al 2016）を用いて検討した結果を紹介した。2 ステップモデルでは，小胞が放出されるまでに補充サイト，放出サイトを経由する。連続刺激時の放出キネティクスを３つの成分（速い放出，遅い放出，非同期性放出）に分けた。この放出キネティクスを説明するため，Ca シミュレーションと組み合わせた小胞動員・放出モデル（2 ステップモデル）のシミュレーションを行った。パラメータは 1,2,8 回刺激実験で得たデータを元に決定した。またモデルの有効性を，測定条件（Ca 濃度，刺激頻度など）の異なる実験結果とモデルとの比較で確認した。連続刺激時のシミュレーション結果から，放出の速い成分は 2 ステップモデルの放出サイトに位置する小胞の放出から成り，遅い成分は補充サイトから放出サイトを経て放出される 2 ステップ放出から成ることが示唆された。

（10）発達期小脳のシナプス刈り込みにおける活動の役割

上阪直史，高　至輝，狩野方伸（東京大学大学院医学系研究科神経生理学）

生まれたばかりの動物の神経系にはシナプスが過剰に存在しており，その密度は成熟脳の 2 倍程度にのぼる。しかしこの時期のシナプスは機能的に未熟であり，脳機能も未熟な状態にある。成長につれて，必要なシナプスは強められて成熟し，不必要なシナプスは弱められて除去されることで，成熟した機能的神経回路が完成する（シナプスの刈り込み）。シナプス刈り込みは動物が生後の発達期の経験や環境に適応できるように，脳の神経回路を調節するという重要な意義があると考えられる。さらに，シナプス刈り込みは精神神経疾患の病態解明の点からも極めて高い注目を集めている。

小脳の登上線維とプルキンエ細胞シナプスは，シナプス刈り込みの代表的なモデルであり，シナプス刈り込みのメカニズムが比較的良く調べられている。これまでの研究により，シナプス後細胞であるプルキンエ細胞の神経活動が登上線維−プルキンエ細胞シナプスの刈り込みに必須であることがわかっている。また，プルキンエ細胞以外の細胞ではバスケット細胞（抑制性神経細胞）の活動が登上線維シナプスの刈り込みに重要であることが見出されている。しかし，プルキンエ細胞とバスケット細胞以外の細胞の活動がシナプス刈り込みに関わるかは謎である。私たちはこれらの問題に取り組んでおり，本研究会では活動依存的な登上線維シナプスの刈り込みのメカニズムに関して我々の最近の成果を紹介し，議論した。

18. 認知神経科学の先端　知覚学習と運動学習

2018 年 9 月 21 日－9 月 22 日

代表：柴田和久（名古屋大学大学院情報学研究科）

所内対応者：磯田昌岐（認知行動発達）

世話人：吉田正俊（認知行動発達）

（１）Pain: a precision signal for reinforcement learning and control

Ben Seymour（情報通信研究機構(NICT)）

（２）Nonlinearity of neuroplastic adaptation of the sensorimotor system through musical training

古屋晋一（Sony CSL）

（３）興奮と抑制の比率が知覚学習の安定性を制御する

柴田和久（名古屋大学・大学院環境学研究科）

（４）The active inference in decision making by adult zebrafish revealed by in-vivo imaging of the telencephalic neural activities in the closed-loop virtual reality environment

岡本　仁（理化学研究所脳神経科学研究センター ）

（５）Balancing brain plasticity/stability across the lifespan

Takao Hensch（Harvard University）

（６）Learning in the mouse cortex

牧野浩史（Nanyang Technological University）

（７）The science of brain-machine interface in primates

Junichi Ushiba（Keio University）

【参加者名】

Takao Hensch（Harvard University），牧野浩史（Nanyang Technological University），牛場潤一（慶応義塾大学），古屋晋一（Sony CSL），Ben Seymour（NICT），吉田正俊（生理学研究所），樋口洋子（名古屋大学），柴田和久（名古屋大学），村山正宜（理研 CBS），近藤崇弘（慶応義塾大学），可部泰生（東京大学），Masako Isokawa（University of Texas Rio Grande Valley），木村　慧（京都大学霊長類研究所），楢井雄己（同志社大学），木村梨絵（生理学研究所），富田健太（愛知大学），早川美歩（名古屋大学），比嘉康敬（宝塚リハビリテーション病院），水田直道（宝塚リハビリテーション病院），吉井誉揮（奈良先端科学技術大学院大学），穴井　達（奈良先端科学技術大学院大学），池田圭佑（奈良先端科学技術大学院大学），王　凱（NEC 中央研究所/大阪大学 NBIC 協働研究所），林　正道（大阪大学），岡本　仁（理化学研究所），小林琢磨（理化学研究所），鳥越万紀夫（理化学研究所），蓮井成仁（宝塚リハビリテーション病院），藤本　岳（京都大学），植野仙経（京都大学），金沢星慶（東京大学），武井智彦（京都大学），黒田勇幹（電気通信大学），豊巻敦人（北海道大学），酒井誠一郎（東京都医学総合研究所），木本雄大（上智大学），中村幸太郎（東京大学），渋江遼平（NTT コミュニケーション科学基礎研究所），新居桂陽（生理学研究所），河村章史（平成医療短期大学），酒井雅子（㈱エクォス・リサーチ），植松明子（生理学研究所），郷田直一（生理学研究所），則武　厚（生理学研究所），大鶴直史（新潟医療福祉大学），窪田芳之（生理学研究所），雨宮薫（NICT CiNet），上田彩子（理研 CBS），木内隆裕（森ノ宮医療大学），大平英樹（名古屋大学），遠山朝子（名古屋大学），吉田凪子（新潟大学），戸松彩花（生理学研究所），磯田昌岐（生理学研究所），鈴木友美子（名古屋大学），堺　浩之（豊田中央研究所），木田哲夫（生理学研究所），浦口真喜（名古屋大学），丸山修紀（生理学研究所），福永雅喜（生理学研究所），米田泰輔（生理学研究所），東島恵美子（名古屋大学），二宮太平（生理学研究所），山本真理子（生理学研究所），鮫島和行（玉川大学）

【概要】

人間の心の仕組みを，脳を起点にして明らかにすることを目指す認知神経科学は，神経生理学，心理物理学，脳機能イメージング，計算論的神経科学といったさまざまな discipline からなる学際的領域である。このような学際的領域を発展させるためには 1) 専門分野を超えた共同研究（情報交換）の促進と 2) 研究者の層の厚みを増すこととが不可欠である。本研究会では，知覚学習と運動学習をキーワードに 1) 共通するテーマに関連する神経生理学，心理物理学，脳機能イメージング，計算論的神経科学，神経心理学，発達心理学といったさまざまな研究領域から，2) アクティブに研究成果を出している実際上の研究実施者を中心にして人選を行った。各発表では分野ごとのイントロダクションに重点を置き，議論の時間を多く取ることによって，特定のテーマについて様々な角度から議論を深めるワークショップの形態を取った。この結果，本研究会は講演者 7 名，ポスター発表者 13 名，参加者 65 名の参加のもとで盛況な会を開催することに成功した。このことによって，研究者間の意見交換のみならず，大学院生などの研究者の卵への教育的効果もあったのではないかと考える。

（1）Pain: a precision signal for reinforcement learning and control

Ben Seymour（情報通信研究機構 (NICT) ）

Since noxious stimulation usually leads to the perception of pain, pain has conventionally been thought of as sensory nociception. But in this view, the variability of pain and its sensitivity to a broad array of cognitive and motivational factors have led to a common perception that it is inherently imprecise and intangibly subjective. Here, we argue that this view is misdirected, primarily since it fails to place primacy on the evolved function of pain - to direct behaviour away from harm. Computational models of how the brain achieves this - notably the reinforcement learning model - offer a mechanistic and quantitative understanding of the pain system. These models formalise the distinction between nociception and pain, and show how pain directs learning and decision-making with long-term minimization of harm as the ultimate objective. Importantly, this provides an explanation as to why pain is tuned by multiple factors, including attention, emotion and controllability, and why it is necessarily supported by a distributed network of brain regions. The result is a new view of pain as a precise and objectifiable control signal, offering a fresh approach to studying central contributors to chronic pain, and revealing new targets for therapeutics such as neurofeedback.

（2）Nonlinearity of neuroplastic adaptation of the sensorimotor system through musical training

古屋晋一（Sony CSL）

Plasticity and meta-plasticity of the motor and sensory systems have gained attention by psychologists and neuroscientists over decades. To probe impacts of long-term training on the sensorimotor neuroplasticity, musicians provide a unique opportunity. In this talk, I start with introducing neuroplastic changes in the integration mechanism bridging between the motor, proprioceptive, and auditory systems, which was investigated by transcranial magnetic stimulation and electroencephalogram. Through combining the neurophysiological observations with sensorimotor skills that were assessed behaviorally, we attempted to understand functional roles of the neuroplastic changes in the sensorimotor integration. Along with this line of research, I will also briefly show our recent finding of modulation of auditory perception through specific motor actions by musicians, which can provide insights into functional roles of the internal forward

model. I will then move on to a negative side of neuroplasticity; maladaptive changes in the sensorimotor system through development of musicians' dystonia. This includes impairment of both the proprioceptive-motor integration and fine motor control as well as their underlying pathophysiology of the sensorimotor system that was identified through transcranial magnetic and direct-current stimulation and functional magnetic resonance imaging. Through my present talk, I'd like to shed light on a non-linear nature of neuroplasticity in terms of acquisition and loss of sensorimotor skills.

（3）興奮と抑制の比率が知覚学習の安定性を制御する

柴田和久（名古屋大学・大学院環境学研究科）

記憶の形成や技能の獲得は，脳の可塑的な変化によって実現されています。一方で，既存の記憶や技能を安定的に保持するために，脳は適度に安定的である必要もあります。可塑性と安定性のジレンマと呼ばれるこの古くて新しい問題を，脳はどのように解決しているのでしょうか。本トークでは，視覚知覚学習を例に，技能の安定性に視覚野の興奮と抑制の比率が関わることを示した一連の研究を紹介します。ひとつ目の研究（Shibata et al., Nat Neurosci, 2017）では，視覚訓練の直前，直後，数時間後に，磁気共鳴分光法（MRS）を用い，興奮性の神経修飾物質であるグルタミン酸と抑制性の神経修飾物質である GABA の濃度比率（興奮抑制比率）を測定しました。その結果，知覚学習が不安定な状態では視覚野の興奮抑制比率が高まり，安定的な状態ではその比率が低くなる，つまりより抑制的な状態になることがわかりました。ふたつ目の研究（Bang, Shibata et al., Nat Hum Behav, 2018）では，知覚学習の固定化が一度起こったあと，さらに再活性された状態の視覚野における興奮抑制比率を測定しました。一度固定された知覚学習が再活性によって再び不安定になると，視覚野の興奮性が上昇することがわかりました。このふたつの研究結果は，知覚学習の安定性は興奮抑制比率によって制御されていることを示唆しています。

（4）The active inference in decision making by adult zebrafish revealed by in-vivo imaging of the telencephalic neural activities in the closed-loop virtual reality environment

岡本　仁（理化学研究所脳神経科学研究センター）

Selecting a logical behavioral choice from the available options, i.e. decision making is essential for animals. Recently, adult zebrafish has drawn attention as a model animal for the study of decision making due to its capability of various adaptive behaviors1) and the conservation of the basic telencephalic structure2) which is contributing to the decision making. In the present study, we aimed at directly addressing this process by establishing the closed-loop virtual reality system for the head-tethered adult zebrafish with the 2-photon calcium imaging system. The adult zebrafish harboring G-CaMP7 in the excitatory neurons were trained to perform visual-based active and passive avoidance tasks and simultaneously the neural activities were imaged in the cellular level. Furthermore, after learning was once established in the closed-loop condition, we suddenly removed the visual feed-back to make the system open-loop. The Non-negative Matrix Factorization analysis revealed the one ensemble of neurons whose activities were suppressed by the recognized backward movement of the landscape, and the other ensemble suppressed by reaching the goal compartment. These ensembles recovered throughout the trials under the open-loop condition. These results suggest that these two ensembles encode the prediction

errors between the status represented by the real sensory inputs and the favorable status to successfully escape from the danger, i.e. visual inputs of the backward moving landscape and the red wall color of the goal compartment, and the behaviors are taken so that these errors become minimum. Our result supports that the adult zebrafish behaves in decision making based on the active inference in the free energy principle3), where agents take actions to suppress the prediction errors by trying to make the internal representation of the bottom-up sensory states match those of the top-down predictions, and demonstrate the strong conservation of the basic principle of decision making throughout the evolution.

（5）Balancing brain plasticity/stability across the lifespan

Takao Hensch（Harvard University）

Brain function is largely shaped by experience in early life. Our work has focused on the biological basis for such “critical periods,” identifying both “triggers” and “brakes” on plasticity. Strikingly, the maturation of particular inhibitory circuits is pivotal for the onset of these windows. Manipulations of this excitatory-inhibitory balance can accelerate or delay timing regardless of chronological age. Closure of critical periods in turn reflects an active process, rather than a purely passive loss of plasticity factors. Lifting these brakes allows the reopening of plastic windows later in life. Both the shifted onset and brain rejuvenation provide novel insight into the etiology of mental illnesses and potential therapeutic strategies for recovery of function in adulthood.

（6）Learning in the mouse cortex

牧野浩史（Nanyang Technological University）

The brain is considered to optimize an internal model of a constantly changing environment to minimize potential cost. To achieve this, the brain interacts with the environment through perception and action, where perception updates the brain’s internal states representing how sensation is caused, while action allows the animal to explore the environment. Learning is essentially an iterative process of perception and action through intricate interactions with the environment and involves changes in communication strategies across different brain areas, where signals carrying different information take distinct routes. Here I highlight recent findings of how different forms of learning can alter activity propagation in the mouse cortex. The experimental evidence with 2-photon and wide-field calcium imaging suggests that even distinct forms of learning such as sensory learning or motor learning converge onto the same principle of the brain operation, namely recruitment of top-down control. Such a universal mode of operation shaped by learning may facilitate the cost-minimization process by changing computations of the local circuitry dynamics.

（7）The science of brain-machine interface in primates

Junichi Ushiba（Keio University）

Brain-Machine Interface (BMI) is a technology that decodes natural neural information from a targeted sensorimotor-related brain area (NeuroImage 2018; Front Hum Neurosci 2017; J Neurophysiol 2013), and translates it into machine control signals. It has achieved telepathy-like machine control (BMC Neurosci 2010) or cyborg-like limb control, but also it achieves manipulation of the targeted neural activities via visual/somatosensory feedback (Front Neuroeng 2014; Clin Neurophysiol 2013). Retention of improved brain activity and motor behavior through BMI neural manipulation is feasible as medical application (Science 2017; Restor Neurol Neurosci 2016; Prog Brain Res 2016) for recovery from post-stroke hemiplegia (J Rehabil Med 2011), motor paralysis due to incomplete spinal cord injury, and dystonic writer's cramp (BMC Neurosci 2014). BMI also have a potential impact on the science in motor control and learning, since BMI can characterize the spatio-temporal feature of the sensorimotor processing in a computational fashion (Brain Topogr 2015; J Rehabil Med 2014). Also, manipulation of a targeted brain activity though BMI can tell causal relationship between the brain activity and behaviors (J Rehabil Med 2015; J Rehabil Med 2014). In order to solidify neurobiological evidences of neural decoding and manipulation of BMI, we have recently been taking an optogenetic approach of large-scale neural recordings from primary motor cortex (M1) (Cell Reports 2018). So far, we established stable recording of activating ~100 cortical neurons in the M1 Layer 5 from naturally behaving nonhuman primates, Common Marmoset. The result of neural decoding tells us that M1 cortical neurons encoded movement direction information a few seconds after the offset of arm reaching movement. This suggests that M1 is not a simple final path of motor signal output to the muscles, but is an important node of post-processing in the sensorimotor system. Successful decoding of movement direction (~90%) promises to establish volitional control of machine devices in a BMI fashion, without presence of actual movement. Neurobiological natures of motor learning and motor recovery will be discussed deeply with this advanced BMI technology in near future, and clinical application of BMI in humans will be further promoted by such neurobiological reasonings.

19. 行動を制御する神経ネットワーク機能の解明に向けて

2018 年 11 月 30 日－12 月 1 日
代表・世話人：松本正幸（筑波大学）
所内対応者：南部　篤（生体システム研究部門）

（１）環境に依存した行動選択の脳メカニズム
國松　淳（筑波大学）

（２）報酬と課題遂行に関係するサル脚橋被蓋核のニューロン活動
岡田研一（大阪大学）

（３）Neural dynamics of value-to-decision transformation in the primate orbitofrontal cortex and midbrain dopamine neurons
Mengxi Yun（筑波大学）

（４）Correlated activity in the globus pallidus of normal and MPTP-treated Parkinson's disease monkeys
Woranan Wongmassang（生理研学研究所）

（５）計時の神経機構
鈴木智貴（北海道大学大学院）

（６）一次体性感覚野は運動出力コピーを受け取っている
梅田達也（国立精神･神経医療研究センター）

（７）脳局所冷却法を用いたサル前頭-頭頂皮質におけるフィードバック運動制御メカニズムの解明
武井智彦（京都大学医学研究科･白眉センター）

（８）神経インターフェイスを介した大脳皮質―筋間の損傷神経再接続による運動機能再建とその皮質適応機構
加藤健治（国立長寿医療研究センター）

（９）Flexible neural representations of object motion in head- and world-centered coordinates in macaque areas VIP and MSTl
佐々木　亮（京都大学）

（10）小型霊長類における動作のマーカレス測定と化学遺伝学の実装
三村喬生（放射線医学総合研究所）

（11）行動選択および行動柔軟性の制御機構を担う神経基盤の機能解明
加藤成樹（福島県立医科大学）

【参加者名】

田中真樹（北海道大学），鈴木智貴（北海道大学），小林和人（福島県立医科大学），加藤成樹（福島県立医科大学），松本正幸（筑波大学），國松　淳（筑波大学），山田　洋（筑波大学），惲　夢曦（筑波大学），南本敬史（放射線医学総合研究所），三村喬生（放射線医学総合研究所），関　和彦（国立精神･神経医療研究センター），梅田達也（国立精神･神経医療研究センター），近藤崇弘（慶應義塾大学），加藤健治（長寿医療研究センター），高田昌彦（霊長類研究所），雨森賢一（霊長類研究所），田辺創思（霊長類研究所），木村　慧（霊長類研究所），オ ジョンミン（霊長類研究所），アンディ チェン（霊長類研究所），大塚友紀子（霊長類研究所），伊佐　正（京都大学），武井智彦（京都大学），佐々木　亮（京都大学），加藤利佳子（京都大学），岡田研一（大阪大学），加藤荘志（広島大学），磯田昌岐（生理学研究所），戸松彩花（生理学研究所），植松明子（生理学研究所），堀尾修平（生理学研究所），南部　篤（生理学研究所），畑中伸彦（生理学研究所），知見聡美（生理学研究所），佐野裕美（生理学研究所），纐纈大輔（生理学研究所），長谷川　拓（生理学研究所），Dwi ahyu Indriani（生理学研究所），Woranan Wongmassang（生理学研究所），Polyakova Zlata（生理学研究所），Nondhalee Pimpimon （生理学研究所）

【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）環境に依存した行動選択の脳メカニズム

國松　淳（筑波大学）

物体の価値は環境や状況によって変化するが，我々は経験や学習に基づいてそれを適切に判断し，行動を変化させることができる。従来の強化学習の考えでは，特定の刺激に対する反応で得た報酬をドーパミンがコードし，それを線条体にフィードバックしてグルタミン酸細胞のシナプス可塑性が変化しすることで学習が成立するとされてきた。しかし，このメカニズムだけでは，ひとつの状況での物体の価値しか学習することができず，環境に依存して価値判断を変化させることができない。それでは，環境（背景）の情報は脳内でどのように表現され，いかに物体と連合して学習されているのだろうか。これを調べるために，背景依存的物体選択課題を新たに考案した。この課題では，価値（報酬量）が異なる２つの物体が提示される，その価値は物体とともに提示される背景により変化する。サルは多くの報酬を得るために，背景によって選択する物体を変化させる必要がある。これまでの先行研究から，長期の学習に基づいた物体の価値判断に線条体（尾状核及び被殻）尾側部が関与していることがわかっており（Yamamoto et al., 2103；Hikosaka & Kunimatsu 2017），同部位が環境に依存した行動選択にも関与している可能性があり，これらの部位より単一神経活動記録並びに局所薬剤注入実験を行った。

まず，背景依存的物体選択課題遂行中のサルの線条体尾側部から，中型有棘ニューロンと抑制性介在ニューロンの活動を記録した。その結果，半数の中型有棘ニューロンは背景によって，物体への反応を変化させた。また，残りの半数は背景にかかわらず，多くの報酬を示す物体に大きな反応を示した。つまり，中型有棘ニューロンは背景と物体の価値の情報のそれぞをコードしていた。一方で，抑制性介在ニューロンは背景によって活動を変化させたが，どの物体に対しても同じように反応した。このことから，抑制性介在ニューロンは背景の情報のみを示すことが明らかとなった。つぎに，抑制性介在ニューロンが持つ背景情報が行動選択に影響を及ぼすかを調べるために，AMPA 型グルタミン酸受容体遮断薬（IEM-1460）を記録部位に微量注入し，抑制性介在ニューロンの活動を抑制した。その結果，学習後の背景依存的物体選択課題の遂行には影響はなかったが，新しい背景と物体を用いた背景依存的物体選択課題の学習が阻害された。一方で，物体の価値そのものの学習には変化がなかった。これは，抑制性介在ニューロンがもつ背景の情報が，背景と物体の連合学習に必須であることを示している。以上の結果から，環境に依存した行動選択の場合には，従来考えられてきたドーパミンに加え，抑制性介在ニューロンの入力が線条体内でのシナプス可塑性を変化させていることが示唆された。

（2）報酬と課題遂行に関係するサル脚橋被蓋核のニューロン活動

岡田　研一（大阪大学大学院生命機能研究科）

報酬に基づく行動選択・学習過程において，報酬予測誤差情報を表現する中脳の Dopamine neuron (DAN)が寄与していることが様々な研究により示されてきた。一方で, そういった報酬に関係した応答だけでなく, salient な刺激に対する DAN の応答も報告されてきた。

我々は，こうした多様な情報表現の源を調べるために，眼球運動課題遂行中のサルを用いて，DAN に対して興奮性の投射を持つ脳幹の脚橋被蓋核 (Pedunculopontine tegmental nucleus; PPTg)から単一ニューロン活動記録を行なってきた。報酬に関しては，DAN における誤差表現とは異なり，PPTg の一群のニューロンは実際に得られた報酬に対して報酬量に応じた一過性の応答を示した。また，DAN でみられる報酬を期待させる刺激に対する一過性の応答に対して，PPTg には刺激の呈示から実際に報酬が与えられるまでの課題遂行中に持続的な活動を示すニューロン群が存在した。こうした実報酬と報酬予測の情報は，DAN での報酬予測誤差の計算に必須と思われる。一方で，DAN で見られる新規刺激への応答と馴れによる応答の減弱については，PPTg でも同様のものがみられた。

また，DAN の変性が主な原因となるパーキンソン病において，PPTg への電気刺激（Deep brain stimulation; DBS）が治療効果を持つことが報告されている。さらに，パーキンソン病患者の PPTg から Local field potential (LFP) が記録されており，PPTg の LFP は歩行中に周期的な活動を示し, この周期的な活動の変化がパーキンソン病の治療状態と関係があることが示されている。こうした LFP 変化の単一神経基盤を明らかにするため，サル PPTg の単一神経活動と LFP の同時記録を試みた。ヒトでの歩行課題と同様に, 眼球運動課題遂行中のサル PPTg の LFP に低周波数帯 (13 – 25Hz) での活動上昇が見られた。さらにこの活動変化は, ドーパミンを含むモノアミンの阻害剤であるレセルピンの投与により消失した。この結果は，課題遂行に関与する PPTg の周期的な活動の変化が，パーキンソン症状や DBS 治療に関わっている可能性を示唆している。

（3）Neural dynamics of value-to-decision transformation in the primate orbitofrontal cortex and midbrain dopamine neurons

Mengxi Yun（筑波大学）

In economic choice behavior, animals first evaluate the value of an option and then decide to choose or not to choose that option. Although several cortical and subcortical areas are known to signal value information and contribute to decision-making, neural mechanisms that transform the value information into a decision command still remains unknown. Here, we hypothesize that the midbrain dopamine (DA) system, a subcortical neuromodulatory system, transmits the value information while the orbitofrontal cortex (OFC), a cortical center for reward processing, encodes the value information and transforms such value signal to a decision command. To test this hypothesis, we recorded single-unit activity from DA and OFC neurons in monkeys performing a value-based decision-making task. In this task, only one option was presented and the monkey was required to immediately decide to choose or not to choose it. Briefly, six visual stimuli were associated with different amounts of a liquid reward, and one of them was presented as an option. The monkey was required to decide to choose or not to choose that option within a limited time. After the decision, another stimulus was presented. If the monkey had chosen the former option, the animal obtained the reward associated with that option at the end of the trial. If the monkey had not chosen the former option, the animal obtained the reward associated with the latter stimulus. We recorded the activity of 96 DA neurons and 285 OFC neurons from two monkeys. Of these, many DA and OFC neurons encoded the value of the option, consistent with previous work. More surprisingly, we found that not only OFC neurons, but also DA

neurons represented whether the monkey would choose the option or not. We then examined the time course of such value and choice-related signals. Notably, we found the neural dynamics in both regions that encoded the value information shortly after the option presentation and then represented the choice-related signal, mimicking the time course of value-to-decision transformation. Such neural dynamics was even represented in individual DA and OFC neurons. Thus, against our initial hypothesis, these findings provide evidence suggesting that both DA and OFC neurons participate in the value-to-decision transformation.

（4）Correlated activity in the globus pallidus of normal and MPTP-treated Parkinson's disease monkeys

Woranan Wongmassang, Taku Hasegawa, Satomi Chiken, Atsushi Nambu（生理研学研究所）

Basal ganglia (BG) are a group of subcortical nuclei that play a crucial role in controlling voluntary movements and higher brain functions. In the BG, the external segment of the globus pallidus (GPe) sends its information to many nuclei in the BG and may control the whole BG activity, whereas the internal segment (GPi) functions as the BG output station and sends processed information to the thalamo-cortical projections and brainstem. The correlated GPe/GPi activity may converge in the single neuron of the target nuclei and induce large inhibitory effects and post-inhibitory rebounds through GABAergic projections. In this study, we examined correlation of GPe/GPi activity during task performance and Parkinson's disease (PD) state. (1) Two Japanese monkeys (Macaca fuscata) were trained to perform a hand-reaching task. The activity of GPe/GPi neurons was recorded during task performance using a multi-channel electrode with 16 equally spaced contacts by 150 μm. Some GPe-GPe and GPi-GPi pairs showed short-duration but significant correlated activity at specific event timings, although most pairs showed weak or no correlation. (2) We made a PD monkey by injecting 1-methyl-4-phelnyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP), dopaminergic neurotoxin. This model typically showed akinesia and rigidity, and intravenous injection of L-dopa, which is a standard drug for human patients, ameliorated these symptoms. We observed the spike correlations during resting state of three conditions, i.e., normal, PD, and PD treated with L-DOPA conditions. Both GPe-GPe and GPi-GPi neuronal pairs of a PD monkey showed the significant cross-correlations, and they were decreased after L-dopa treatment. Moreover, both GPe/GPi pairs showed significant decrease of cross-spectral density (CSD) of the beta (10-30Hz) range after L-dopa treatment.

These findings suggest that (1) while the majority of GPe/GPi activity is functionally independent, fractions of them transfer neuronal information to their target nuclei by correlated activity, and that (2) the synchronized GPe/GPi activity may induce large inhibition and post-inhibitory rebounds in the target nuclei and be related to PD symptoms.

（5）計時の神経機構

鈴木智貴（北海道大学大学院医学研究院神経生理学教室）

数百ミリ秒から数秒程度の時間知覚や行動制御は日常生活に不可欠である。こうした処理には前頭連合野，頭頂連合野，大脳基底核，小脳など多くの脳部位が関わることが知られているが，その神経機構の詳細は明らかにされていない。これを調べるために，私たちは手がかり刺激の提示から一定時間が経過した後にサッカードをおこなうようにニホンザルを訓練した（時間生成課題）。この課題を用いることで，線条体（尾状核）と小脳歯状核から神経活動を記録し，計時の最中に発火率を漸増させるニューロンが多数存在することを発見して

いる（Kunimatsu et al., 2018)。これらの時間経過は 2 つの領域で異なり，尾状核では指示された生成時間に応じて全体的な時間構造を変化させるのに対し，歯状核では試行ごとの潜時の違いをより反映していた。この研究成果をさらに発展させるために，同様の行動課題を用いた 2 つの研究をおこなった。

まず，固視点の色に応じて 3 種類の時間長を生成するようサルを訓練したうえで，線条体から local field potential (LFP)を記録した。すると，手がかり刺激に対する電位応答は時間長条件によって異なっていた。手がかり出現前から低周波数帯域(6-20 Hz)の活動には時間長依存的な変化が生じており，またこの成分はサッカードに先立ち時間依存的な変化を示していた。計時に先立ち，大脳皮質-大脳基底核システムにおいてネットワークレベルの変化が起こっている可能性がある。ただし，手がかり刺激出現前の活動変化は各時間長条件での試行ごとのサッカード潜時のばらつきを必ずしも反映しなかった。

一方，課題遂行中の瞳孔径の測定をおこなったところ，手掛かり刺激直前の瞳孔径と試行ごとのサッカード潜時の間に有意な負の相関を認めた。固視点の色に応じて 2 種類の異なった時間長の経過をサッカードで報告するように訓練すると，同じ条件内では瞳孔径とサッカード潜時の間に相関がみられたが，時間長条件が異なる場合はこの相関が成り立たず，同様の潜時であっても瞳孔径に差が認められた。これらのことから，瞳孔径との相関することがよく知られているノルアドレナリンシステムの活動等によって調節される脳状態が，主観的な時間経過の試行ごとの変動に関与していたことが示唆された。このように，計時が少なくとも 2 つの異なるプロセスにより構成される可能性が考えられる。

（6）一次体性感覚野は運動出力コピーを受け取っている

梅田達也（国立精神・神経医療研究センター モデル動物開発研究部）

自発的な運動では，体性感覚システムは，受動的に外界からの信号を受け取るだけでなく，運動中枢との相互作用を介して体性感覚情報を処理していると考えられている。しかしながら，体性感覚システムが自発運動中に運動中枢からどのように情報を受け取っているのかはっきりとわかっていなかった。

今回の研究では, 上肢到達運動を行っているサルの一次体性感覚野，運動野，末梢求心性神経，および前肢筋といった多領域から同時記録を行い, デコーディング手法を用いることで, 一次体性感覚野におけるシグナル統合の時間的および成分的プロファイルを明らかにした。一次体性感覚野は, まず運動開始前に一次運動野からの入力を連続的に受けていた。そして，運動が開始されると，末梢求心性神経からの感覚フィードバック信号を付加的に受けた。さらに，一次運動野よりやや遅れて，一次体性感覚野は運動前から筋活動についての情報をコードしていた。以上の結果は, 一次体性感覚野が運動出力情報のコピーを運動前から連続的に受け取っていることを示唆している。このことから, 体性感覚システムが文脈依存的にオンライン処理を行っていることが推察される。

（7）脳局所冷却法を用いたサル前頭-頭頂皮質におけるフィードバック運動制御メカニズムの解明

武井智彦（京都大学医学研究科白眉センター）

我々動物が運動を行う場合，時々刻々と変化する状況に対して適切な運動指令を作り出す必要があります。ここで大きな問題となるのが神経系に内在する信号伝達の時間遅れです。有髄線維が発達した哺乳類でも末梢受容器から中枢神経系までには数十ミリ秒のオーダーでの時間遅れがあり，反対に大脳皮質から筋肉へ運動指令が伝わるのにも同様の時間がかかります。この数十ミリ秒の遅れは，静的な環境では大きな問題になりませんが,

運動制御のように環境も身体も動的に変化する状況では致命的な影響を及ぼします。そこで重要とされているのが，末梢からの感覚フィードバックに依存するのではなく，自分の運動指令から運動の結果を予測し，その予測信号に基づいて運動を制御するという方策です。このような運動制御は「最適フィードバック制御」モデルとして定式化され，実際に動物の運動をよく説明すると示されてきました。しかし，現在までのところ実際にそのような計算処理がどのような神経基盤によって実現されているのかはほとんどわかっていません。

本研究では, 1) マカクザルの大脳皮質の局所的に冷却することで可逆的な機能脱落を起こし，サルのフィードバック運動制御にどのような障害がおこるのかを定量的に評価しました。さらに，それらの運動障害がどのような計算処理の不全によって生じたのかを調べるために，2)「最適フィードバック制御」に基づいたコンピュータ・シミュレーションを行い，各計算プロセスの脱落によってどのような運動障害が生じるのかを推定しました。行動課題としては，サルに 2 次元空間上のターゲットに手先位置を保持する課題をトレーニングし（姿勢保持課題），サルが姿勢を保持している最中にランダムなタイミングでサルの腕にトルク外乱を与えました。これにより，サルがどのように素早く（運動時間）かつ正確（終端誤差）にトルク外乱に対する運動応答を行うかを定量的に評価しました。

まず，運動前野背側部を冷却した場合，トルク外乱に対する応答の運動時間が長くなり，さらに終端誤差が増加することがわかりました。一方，頭頂葉 5 野を局所冷却すると，終端誤差は増加するのですが，運動時間は変化しませんでした。そこで，それぞれの冷却によってどのような計算プロセスが障害したのかを調べるために「最適フィードバック制御」モデルに基づいたシミュレーション結果と比較したところ，頭頂葉 5 野の冷却では感覚フィードバックや運動予測を統合して状態の推定を行う機能が低下したのに対して，運動前野背側部の冷却では推定された状態から最終的な運動指令を作り出す機能が低下したことが示唆されました。

従来，高次感覚野や高次運動野は随意運動の計画や企図に関わることが示されてきました。これに対して，本研究の結果は，これらの頭頂-前頭皮質は，運動実行中のオンラインフィードバック制御にも関わっていることが明らかとなりました。これらの領野における状態推定およびフィードバック運動制御機能が我々動物の巧みな運動制御を支えているものと考えられます。

（8）神経インターフェイスを介した大脳皮質—筋間の損傷神経再接続による運動機能再建とその皮質適応機構

加藤健治（国立研究開発法人国立長寿医療研究センター）

脳梗塞による運動機能障害は，大脳皮質と脊髄間を結ぶ下行路が切断されているために起こるが，その損傷領域の上位に位置する大脳皮質や，下位に位置する脊髄・末梢神経・筋のすべての機能が失っているわけではない。従って，機能の残存している大脳皮質より神経活動を記録し，損傷領域を超えて下位の神経構造へ，神経活動依存的な電気刺激を送る人工神経接続によって，失った随意運動機能を再建できる可能性がある。本研究では，その人工神経接続に対する適応能力および適応過程を明らかにする目的で，脳梗塞モデルサルにおける大脳皮質⇒筋間の人工神経接続に対する運動適応過程とその神経メカニズムについて検討した。三頭のサルのレンズ核線状体動脈或いは前脈絡叢動脈を結紮することにより脳梗塞モデルサルを作成し，大脳皮質の神経活動に依存した電気刺激を麻痺筋へ与えることによって大脳皮質⇒筋間の人工神経接続を施し，失った麻痺筋の随意運動機能を再建できるか検討した。大脳皮質⇒筋間の人工神経接続は，大脳皮質へ慢性留置したシート状電極より任意に 1 極を選択し，記録された脳活動より high-γ帯域（80-120 Hz)の特徴的な波形を人工神経接続への入力信号として検出し，その検出頻度に依存した電気刺激の強度と周波数を変調させることにより達成した。人工神経接続なしでは麻痺手の随意制御ができなかったが，人工神経接続中には，随意的に麻痺手の運動を制御することに成功した。さらに，一次運動野，運動前野，一次体性感覚野におけるいずれの脳活動を使っても，麻痺筋の随

意制御は可能であり，手首力制御タスクの成果は時間に伴って有意に向上した。その学習に関わる神経メカニズムを調べたところ，人工神経接続への入力信号を効果的に増加させることによって，自己学習できることがわかった。さらに，この入力信号の増加は，入力電極以外の領野を超えても起きており，学習後には，入力電極において最も増加させていることが明らかとなった。これらの結果は，脳梗塞サルであっても，自ら脳活動を大規模に再編成させて新規な大脳皮質⇒筋間の人工神経接続に対して自己適応し，失った手の随意制御を再建できることを示唆している。

（9）Flexible neural representations of object motion in head- and world-centered coordinates in macaque areas VIP and MSTl

R. SASAKI（京都大学）

Many activities involve interacting with objects that move in the environment. When a moving observer views a moving object, the retinal image velocity of the object is the vector sum of object motion in the world and self-motion. To estimate object motion in the world, one has to compensate for the effect of self-motion on the retinal image. Other times, we may need to judge how an object moves relative to our head/body, which does not require compensating for self-motion. Therefore, the brain must flexibly incorporate self-motion signals into computations of object motion.

We trained monkeys to report whether an object moves up-right or up-left during lateral self-motion. In the world coordinate task, the monkey judges whether the object moved to the left or right of vertical in the world; in the head coordinate task, the animal reports left or right relative to the head. The two tasks are randomly interleaved, as cued by the fixation point. Self-motion information was provided by optic flow or by a combination of optic flow and translation of a motion platform. Monkeys successfully switched between performing the two tasks, and performance in the world coordinate task was significantly better when both visual and vestibular self-motion signals were available. We recorded responses of macaque VIP and MSTl neurons during each task. Single-unit tuning curves show diverse results, with greater effects of task in VIP than MSTl. Given this heterogeneity, we tested whether population responses could account for the flexible reference frame transformations exhibited in behavior.

A linear decoder was trained to classify object motion as rightward or leftward relative to vertical. For the head-coordinate task, decoding either MSTl or VIP activity produces good performance, which is not surprising since self-motion signals are not required for this task condition. Results for the world-coordinate task, which requires self-motion signals, reveal clear differences between areas. For MSTl, decoder performance shows substantial biases due to self-motion. In contrast, decoding of VIP responses shows a pattern of results similar to behavior. Our results suggest that MSTl only partially integrates self-motion signals to represent object motion in world coordinates. In contrast, VIP responses appear to reflect the ability to flexibly represent object motion in different reference frames.

（10）小型霊長類における動作のマーカレス測定と化学遺伝学の実装

三村喬生，須原哲也，南本敬史（量子科学技術研究開発機構放射線医学総合研究所脳機能イメージング研究部）
松本惇平，西条寿夫（富山大学大学院医学薬学研究部システム情動科学）
井上謙一，高田昌彦（京都大学霊長類研究所神経科学研究部門統合脳システム分野）

コモンマーモセット(Callithrix jacchus)は，高い認知能力や家族性から，霊長類の社会性の神経基盤を調べる良いモデル動物として注目されている。社会性について関連が示唆される多くの神経領野について行動への影響を網羅的に調べるには，脳活動制御と行動解析の双方において汎用性と解像度の向上が求められる。

化学遺伝学のひとつ DREADDs(Designer receptors Exclusively Activated by Designer Drugs)は，人工的な外来性リガンドにより特異的に活性化される人工受容体である。これを特定の神経領域に導入すると，リガンドの全身投与により，一過的に神経活動を興奮または抑制させる事ができる。その特性から，刺激プローブの留置などを必要とせず，繰り返し数時間だけ特定の神経系を遠隔に操作し，行動への影響を調べることが可能となる。

また，社会性行動の評価として，個体間相互作用の時間発展をデータ駆動的に解析できる手法の開発が急務である。私たちは汎用性を高めるため，マーモセットの身体運動を高解像度で捉えるモーションキャプチャシステムを開発してきた。深度カメラの情報に基づき，物理演算と機械学習を組み込む事で，ボディマーカを用いずに身体部位(頭・胴・腰)および顔の向きを 3 次元的に抽出することに成功した。

発表では，このマーモセット実験系を利用し，ドーパミン神経の操作と行動への影響を調べた研究について紹介する。片側中脳黒質にウイルスベクターを局所注入することで興奮性 DREADD(hM3Dq)を導入した。DREADD に特異的に結合する新規トレーサ[11C]C22b を用いた PET により，注入領域の黒質緻密部及び，投射先である線条体での hM3Dq の発現を非侵襲的に可視化できた。さらに，DREADD アゴニスト C22b の全身投与により hM3Dq を活性化させることで，同側の線条体においてドーパミン放出量が上昇することが，ドーパミン D2 受容体選択的 PET リガンド[11C]Raclopride を用いたドーパミン機能 PET により確認できた。一過的なドーパミン賦活による影響は，覚醒下において，顕著な片側回転運動として確認された。開発したモーションキャプチャシステムを用い，この行動を測定・解析することで，空間的な体軸回転方向・顔方向の偏りがアゴニストの注入時点から徐々に顕在化していく時系列を定量的に評価することに成功した。

これらの結果から，DREADD と PET の融合技術と空間運動解析手法は，マーモセットの特定神経回路の遠隔操作と，その行動への影響評価に非常に有効であることが確認された。今後，2 匹の同時トラッキングへ拡張する予定であり，社会脳領域が個体間相互作用に与える影響をデータ・ドリブンに浮かび上がらせるものと期待している。

（11）行動選択および行動柔軟性の制御機構を担う神経基盤の機能解明
Neural circuitry functional analysis of behavioral selection and switching flexibility

加藤成樹（福島県立医科大学医学部生体機能研究部門）

自然界において，動物は状況に応じた適切な行動を選択することで，より多くの報酬を獲得したり，外敵から身を守ることができる。また，様々な環境の変化に対して迅速に行動を切り替える必要がある。これらの行動は，多くの脳領域を結び付ける複雑な神経ネットワークが相互作用することによって発現すると考えられているが，その仕組みはほとんどわかっていない。視床の髄板内核は，これまで主に痛覚を媒介し，感覚機能の制御に関わると考えられていた。一方で，脳幹から非常に密な投射を受け，運動の制御や認知機能に重要な役割を果たす大脳皮質をはじめとする大脳基底核ループとの強い結合関係があることから，我々は視床髄板内核が脳幹-大

脳皮質-大脳基底核を繋ぐネットワークの重要なハブとしての役割を果たしていると仮説をたてた。
本研究では，特定の神経回路レベルでの機能操作を行うため，ウイルスベクターとタンパク質製剤を用いた細胞標的法を開発し，またその応用として Cre-loxP システム，光遺伝学，化学遺伝学を組み合わせ，視床線条体路の除去および抑制を選択的に誘導した。この動物を用いて，弁別学習や逆転学習，ルール変更課題などによる選択行動を評価し，視床線条体路が学習や経験を介した行動の選択と状況に応じた適切な行動の切り替えに必須の役割を持つことを明らかにした。

20. 第 8 回社会神経科学研究会
『社会神経科学的アプローチによる精神疾患の社会性障害の理解』

2018 年 11 月 29 日－11 月 30 日

代表・世話人：高橋宗良（玉川大学脳科学研究所・特任准教授）

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）海馬における自己と他者の空間認識

藤澤茂義（理化学研究所脳神経科学研究センター）

（２）霊長類脳イメージングによるヒト社会性のなりたちとその障害の理解

横山ちひろ（理化学研究所生命機能科学研究センター）

（３）fNIRS を用いた乳幼児の視聴覚統合の脳内機構とその多様性の検討

氏家悠太（中央大学研究開発機構）

（４）神経ダイナミクスと社会性障害

北城圭一（生理学研究所神経ダイナミクス研究部門）

（５）超診断的な症状―脳関係および診断の影響

青木悠太（昭和大学発達障害医療研究所）

（６）安静時機能的結合による自閉スペクトラム症の神経基盤理解と臨床応用の展望

八幡憲明（量子科学技術研究開発機構放射線医学総合研究所）

【参加者名】

福永雅喜（生理学研究所 心理生理学研究部門），植松明子（生理学研究所 認知行動発達機構研究部門），高岸治人（玉川大学脳科学研究所），高橋あきら（静岡大学情報学部 高橋研究室），仁科国之（玉川大学脳科学研究科），加藤正晴（同志社大学 赤ちゃん学研究センター），楊　家家（岡山大学），糸魚川幸宏（ウィズダム・インク），寿秋露（玉川大学大学院 脳科学研究科），小林　盾（成蹊大学文学部 現代社会学科），本多結城子（生理学研究所 統合生理研究部門），小林　恵（愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所 機能発達学部），松永昌宏（愛知医科大学医学部 衛生学講座），酒井雅子（㈱エクォス・リサーチ 三河安城研究室），北野小百合（玉川大学脳科学研究所），松田哲也（玉川大学脳科学研究所），高橋宗良（玉川大学脳科学研究所），濱野友希（生理学研究所），福光甘斎（理化学研究所 脳神経科学研究センター 親和性社会行動研究チーム），菅原　翔（生理学研究所 心理生理学研究部門），中川恵理（生理学研究所 心理生理学研究部門），伊藤嘉邦（生理学研究所 心理生理学研究部門），吉本隆明（生理学研究所 心理生理学研究部門），丸山修紀（生理学研究所 心理生理学研究部門），近添淳一（生理学研究所 生体機能情報解析室），角谷基文（生理学研究所 心理生理学研究部門），定藤規弘（生理学研究所 心理生理学研究部門），南條啓孝（生理学研究所 心理生理学研究部門），三村喬生（量子科学技術研究開発機構 放射線医学総合研究所 脳機能イメージング研究部），小池耕彦（生理学研究所 心理生理学研究部門），山本哲也（生理学研究所 心理生理学研究部門），SINGH, Balbir（生理学研究所 心理生理学研究部門），Quang Trung, Pham（生理学研究所 生体機能情報解析室），小山雄太郎（生理学研究所 心理生理学研究部門），近藤崇弘（慶應義塾大学医学部 生理学教室），Adam Smith（名古屋大学 国際開発研究科），ヤマグチ マサヒロ（名古屋大学大学院創薬科学研究科 細胞薬効解析学分野），宮田紘平（生理学研究所 心理生理学研究部門），藤井貴之（玉川大学脳科学研究所 松田研究室），兵頭和樹（公益財団法人明治安田厚生事業団体力医学研究所），石原　暢（玉川大学脳科学研究所），鹿内友美（理化学研究所 CBS 脳リズム情報処理連携ユニット），宮崎　淳（玉川大学脳科学研究所 松田研究室），南本敬史（量子科学技術研究開発機構 放射線医学総合研究所 脳機能イメージング研究部），田中大貴（玉川大学脳科学研究所），島崎秀昭（京都大学大学院情報学研究科），高橋英之（大阪大学大学院基礎工学研究科），

藤澤茂義（理化学研究所 脳神経科学研究センター），氏家悠太（中央大学研究開発機構），北城圭一（生理学研究所），青木悠太（昭和大学発達障害医療研究所），則武　厚（生理学研究所 認知行動発達機構），八幡憲明（量子科学技術研究開発機構 放射線医学総合研究所），横山ちひろ（理化学研究所 生命機能科学研究センター），吉岡　歩（名古屋大学情報学研究科心理認知科学専攻 田邊研究室），稲山賢一（名古屋大学情報学研究科心理認知科学専攻 田邊宏樹研究室），佐藤　彩（生理学研究所 生体恒常性発達），戸松彩花（生理学研究所 認知行動発達機構），纐纈大輔（生理学研究所 生体システム），木村梨絵（生理学研究所 視覚情報処理），新居桂陽（生理学研究所 認知行動発達機構），郷田直一（生理学研究所 感覚認知情報），郷　康弘（EXCELLS 認知ゲノム）

【概要】

社会神経科学研究の方向性としては大きく，ヒトの社会性の生物学的な基盤の理解を通じて精神疾患等の社会性の障害の解明を目指す研究と，人文・社会科学系学問から得られた理論を神経科学的なアプローチを用いて証明する研究の２つがある。本研究会では前者のテーマについて，精神疾患のバイオマーカーとしての社会性の障害，さらにヒト・動物を用いた研究からその社会性の生物学的基盤を理解するためには今後どのような研究が必要かについて議論することを目的とした。また，日本においても近年ヒトの社会的こころに関する研究について継続的に議論できる機会を設ける必要性が指摘されている。そこで，本研究会ではヒトの社会的こころに関連する，既存の学問分野を超えた新しい視点での研究を行っている研究者による講演を企画し，今後の日本におけるこの分野の研究の方向性について議論した。

講演は動物を用いた基礎研究，ヒトを対象とする基礎研究，臨床研究の 3 つのセッションに分けて行い，各領域から気鋭の研究を展開する 6 名の先生方をお招きした他，指定討論者として社会神経科学を専門とされる先生方に加えて理論的神経科学や認知科学，ロボット工学などの領域で活躍される先生方を招聘し，各講演の内容の他にも社会性という概念そのものに関する討論も繰り広げられた。特に興味深かったのは，社会性を持つことの意義，社会性に関する疾患が淘汰されずに進化している意味，計算論的見地での社会性の実装可能性など，従来の社会神経科学に関する研究会とは異なる視点からの活発な議論が展開されたことである。いずれもヒトの社会性の生物学的基盤を理解し，疾患のメカニズム解明へとつなげていくためには極めて重要な示唆に富む議論であった。従来交流が希薄であった分野間においても非常に有意義な情報交換と問題意識の共有ができ，今後の日本における社会神経科学研究の発展が期待される会となった。

（1）海馬における自己と他者の空間認識

藤澤茂義（理化学研究所脳神経科学研究センター）

海馬には，自分が存在する空間において自らの位置を表現することのできる場所細胞が存在する。場所細胞は，例えばランドマークなど外部からの視覚情報が変化してもその活動パターンが保持されることから，海馬は外部情報から客観的な空間情報を内的に構成して認識地図を作成しているのではないかと考えられている。しかし，自分以外の他者や動物など，空間内で自由に移動している物体が，このように海馬で内的に構成された客観的空間地図上にどのように表現されるかは未だ明らかにされていない。今回，他者を観察する行動を行っているラットの海馬からニューロンの発火活動を大規模細胞外電気生理記録により観測することにより，他者の空間上の位置が海馬認識地図上でどのように表現されているかを明らかにする研究を行った。その結果，海馬において，自己の位置を表現する標準的な場所細胞に加え，他者の位置を表現するニューロンが存在することを確認した。この研究において，海馬は空間上の自己の場所情報だけではなく他者の場所情報も符号化できるということを解明し，海馬における認識地図がより客観的な情報を有していることを明らかにした。このことより，海馬は社会的環境におかれたときに他者の行動を認識するうえで重要な役割をもたらしていると考えられる。

（2）霊長類脳イメージングによるヒト社会性のなりたちとその障害の理解

横山ちひろ，林　拓也
（理化学研究所生命機能科学研究センター脳コネクトミクスイメージング研究チーム）

今，社会の中で生きる個人の多様性が注目されている。ヒトの社会行動の個体差は，脳機能の個体差に還元されると考えられる。一方，精神疾患分類においてスペクトラム（連続する表現型）の概念が一般化し，精神疾患の分類指標となるバイオマーカーとして脳ネットワークの同定が進んでいる。このような流れの背景には，特定の脳ネットワークの強弱，あるいはその組み合わせが脳機能を変化させ，その結果「社会性」のような行動表現型の差異が生まれるという考えがある。これを検証するためには，ヒトでは不可能な実験的介入や条件統制が可能な動物モデルが必要であろう。ヒトに近い脳構造，社会構造を持つ非ヒト霊長類の示す認知や社会行動の個体差は，ヒトの示すそれらの個体差と対比可能かもしれない。我々は，非ヒト霊長類の基本的な脳ネットワークを把握し，ヒトの脳ネットワークとの間にある相同性と特異性，双方の視点に注目したいと考えている。種間に相同な脳ネットワークやその行動関連性からは，精神疾患の動物モデルとしての有用性を提示することができる。種特異的な脳ネットワークやその行動関連性からは，進化の道筋をたどる糸口が見つかるかもしれない。本講演では，これまでに行ってきた非ヒト霊長類の行動－脳画像関連解析の結果を提示するとともに，今後ヒトの社会性障害の理解に繋げる試みを紹介したい。

（3）fNIRS を用いた乳幼児の視聴覚統合の脳内機構とその多様性の検討

氏家悠太（中央大学研究開発機構）
金沢　創（日本女子大学）
山口真美（中央大学）

ヒトやモノの認識では，視覚と聴覚からの情報を統合することで，情報が効率的に処理される場面が多くある。例えば，他者の発話を知覚する際，音声だけでなく発話者の口の動きの利用が知覚処理を促進する。物体の材質や状態の認識では，物体質感の視覚情報だけでなく聴覚情報も物体認識に有益な情報をもたらす。しかし，これらの知覚的側面の発達過程については明らかとなっておらず，さらには文化差や個人差といった多様性の背景となる環境要因や個人特性についても不明な点が多い。そこで発表者らは，乳児と成人を対象に，「物体認識」と「顔と音声」の視聴覚統合の発達と文化差，定型発達と非定型発達との違いについて，行動指標と機能的近赤外分光法（fNIRS）を用いて検討を進めてきた。

本発表では，fNIRS を用いて，乳児期の素材質感の視聴覚統合の発達過程を明らかにした近年の報告をはじめ，McGurk 効果を用いて，乳児期の顔と音声の視聴覚統合における環境要因の影響（他人種効果）を示した結果を報告する。さらに，現在進行中の研究として，McGurk 効果の文化差の背景となる，日本語圏と英語圏での話者への視線の違いの生起過程について，日本とカナダの乳児の眼球運動データを比較した結果の進捗についても報告する。

また，fNIRS の臨床研究への応用例として，発表者の所属機関（中央大学研究開発機構・代表壇一平太教授）が社会実装を進めている，注意欠陥多動性障害（Attention deficit hyper activity disorder：ADHD）の診断におけるバイオマーカー開発のプロジェクトで得られた研究成果についても紹介を行う。

（4）神経ダイナミクスと社会性障害

北城圭一（生理学研究所神経ダイナミクス研究部門・総合研究大学院大学生命科学研究科・
理化学研究所脳神経科学研究センター CBS―トヨタ連携センター）

我々の研究グループでは，ヒトの脳波レベルの神経活動の非線形ダイナミクスの機能的役割を計算論的な立場で研究している。非線形ダイナミクスには，振動，同期，ノイズ誘起現象等，多様なものがあるが，脳波や他の神経活動計測データの解析でこれらを定量化することが可能である。また我々は，非線形ダイナミクスがさまざまな脳機能の個人特性を説明することを実証している。社会性に関しては，これまでヒトとヒトとのコミュニケーション時の脳波の振動，同期ダイナミクスが自閉症スペクトラム障害の当事者では健常者と異なることを報告してきた。本発表では安静時のヒト脳波の自発活動の神経ダイナミクスの一特性であるメタスタビリティ（準安定性）の個人特性に着目し，メタスタビリティの特徴が自閉症傾向を予測できることを報告する。さらに，神経ダイナミクス研究が，社会性とその個人特性の研究にどのように貢献できるかの可能性について，多面的な議論をしたい。

（5）超診断的な症状―脳関係および診断の影響

青木悠太（昭和大学発達障害医療研究所）

発達障害には，自閉スペクトラム症（ASD）や注意欠如・多動症（ADHD）などがあります。ASD は社会コミュニケーションの障害，限局した興味などが特徴的です。一方で，ADHD はその名の通り，注意力の欠如や多動を特徴としています。治療法も ASD は認知行動療法的アプローチを取るのに対して，ADHD では薬物療法が中心となります。このように一見すると全く異なる二つの疾患ですが，実際には同一人物に二つの症状が見られたり，両診断が同居したりすることもしばしばあります。また，生物学的研究でも，遺伝子・脳画像など複数のレベルで両疾患に類似した異常が見られています。このような状況で，果たして二つの疾患は脳画像的に異なる疾患なのか，また，疾患ラベルと脳画像の関係はどのようなものか，検討した結果をご報告したいと思います。数ある脳画像のモダリティの中でも，思春期にかけても変化を見せる白質に特に着目して研究を進めております。当日，診断の白質に置ける影響，診断に関わらず見られる白質の変化をお話できれば幸いです。

（6）安静時機能的結合による自閉スペクトラム症の神経基盤理解と臨床応用の展望

八幡憲明（量子科学技術研究開発機構放射線医学総合研究所）

安静状態にある被検者の脳活動を機能的 MRI 等で記録し，脳領域間の機能的な結合関係（安静時機能的結合）を精査することで精神疾患を理解しようとする試みが近年脚光を浴びている。心理課題遂行に伴う脳賦活を評価するタイプの機能画像研究に比べ，安静状態にある脳活動のデータ収集は簡便に実行できるため，その適用対象は潜在的に広く，精神科臨床における診断ツールとしての応用が期待されている。また，従来の症候ベースの疾患分類に替わり，各種精神疾患を連続性のあるスペクトラムとして捉え直すための手段としての有用性も期待されている。

本講演では，この安静時機能的結合に基づいて疾患理解を目指したこれまでの取り組みを概観するとともに，問題点・克服すべき点を明らかにしつつ，今後の研究の

展望について検討する。過去の研究では，サンプル数や方法論上の制約から，報告された結果の一般性（汎化性）を確認することが困難であった。近年，複数施設が連携して多数例の患者・健常対照者データを集積し，大規模な画像研究を目指すプロジェクトが国内外で展開され始め，脳画像研究も新たな局面を迎えている。これまでより１～２桁多い母集団を対象に，より洗練された統計手法を適用することで，今後精神疾患に対する理解も飛躍的に深まる可能性がある。ここでは，演者が近年取り組んでいる，自閉スペクトラム症を対象とした安静時機能的結合ベースのバイオマーカー開発の試みを紹介しながら，多施設連携による大規模画像研究が今後の精神疾患研究に果たしうる役割について論じる。

21. 第 2 回ヒト脳イメージング研究会

2018 年 9 月 7 日－9 月 8 日

代表・世話人：松田哲也（玉川大学脳科学研究所・教授）

所内対応者：定藤 規弘（システム脳科学研究領域心理生理学研究部門・教授）

（１）Structure, Function, and Connectivity of Cerebral Cortexin Humans and Nonhuman Primates

David C Van Essen（Washington University in St.Louis）

（２）脳イメージングによる対人関係における相互再帰性の神経基盤の解明

定藤　規弘（生理学研究所システム脳科学研究領域）

（３）深層ニューラルネットワークと脳の相同性とその応用

神谷之康（京都大学情報学研究科 / ATR 脳情報研究所）

（４）Multi-modal parcellation of the human cerebral cortex

Matthew F. Glasser（Washington University in St.Louis）

（５）Computational neuroimaging and the cortical pathwaysfor seeing words

Brian A. Wandell（Stanford University）

（６）脳の自浄作用と自傷作用の可視化

樋口真人（量子科学技術研究開発機構放射線医学総合研究所）

（７）拡散 MRI による脳コネクトーム解析

下地啓五（東京都健康長寿医療センター病院）

（８）非ヒト霊長類脳分子コネクトーム解析の試み

横山ちひろ（理化学研究所生命機能科学研究センター）

（９）7 テスラ MRI によるヒト脳画像研究

岡田知久（京都大学大学院医学研究科）

（10）心が身体を動かす神経基盤

西村幸男　（東京都医学総合研究所脳機能再建プロジェクト）

（11）大規模脳画像データベースから見る脳の発達と加齢

瀧　靖之（東北大学加齢医学研究所）

（12）意思決定障害としての精神疾患の脳イメージング

高橋英彦（京都大学大学院医学研究科）

（13）社会的意思決定の脳計算と神経基盤

中原裕之(理化学研究所脳神経科学研究センター)

【参加者名】

樋口真人（量子科学技術研究開発機構 放射線医学総合研究所），下地啓五（東京都健康長寿医療センター病院），横山ちひろ（理化学研究所），岡田知久（京都大学），David Van Essen（Washington University in St.Louis），神谷之康（京都大学），西村幸男（東京都医学総合研究所），瀧　靖之（東北大学），高橋英彦（京都大学），中原裕之（理化学研究所），Matthew Glasser（Washington University in St.Louis），Brian Wandell（Stanford University），酒井邦嘉（東京大学），須原哲也（放射線医学総合研究所），花川隆（国立精神・神経医療研究センター），春野雅彦（CiNET），本田　学（国立精神・神経医療研究センター），松元健二（玉川大学），山田真希子（放射線医学総合研究所），四本裕子（東京大学），根本清貴（筑波大学），中原　潔（高知工科大学），高橋宗良（玉川大学），正木信夫（ATR），竹村浩昌（CiNET），阿部修士（京都大学こころの未来研究センター），田邊宏樹（名古屋大学大学院 情報学研究

科），飯高哲也（名古屋大学 脳とこころの研究センター），劉　国相（NICT），宮崎淳吾（キヤノン㈱），和田幹彦（法政大学法学部），可部泰生（東京大学 大学院情報理工学系研究科），生島高裕（数理先端技術研究所），Yutaro Koyama（慶應義塾大学青山研究室/生理学研究所定藤研究室），河西ひとみ（国立精神・神経医療研究センター），中村　望（兵庫医科大学 生理学生体機能），堺　浩之（豊田中央研究所 脳機能解析プログラム），荻野祐一（群馬大学附属病院），片岡洋樹（東北大学大学院医学系研究科），福嶋　誠（情報通信研究機構 脳情報通信融合研究センター），高橋　晃（静岡大学情報学部），松岡　究（奈良県立医科大学精神医学講座），平田武史（田辺三菱製薬㈱），Kazue Hirabayashi（㈱資生堂 グローバルイノベーションセンター），猪瀬智后（首都大学東京大学院脳機能解析科学分野），酒巻春日（京都大学大学院 医学研究科），中村元昭（昭和大学発達障害医療研究所），中川敦史（立教大学現代心理学部心理学科），中村杏奈（東京大学大学院教育学研究科臨床心理学コース），早瀬允人（京都大学　医学研究科），野村圭史（東京大学大学院総合文化研究科生命環境科学系），叶　尤奇（理化学研究所），Ning Ma（理化学研究所 脳神経科学研究センター），横井　惇（情報通信研究機構・脳情報通信融合研究センター），島　淳（京都大学大学院医学研究科臨床神経学），Tetsuo Koyama（西宮協立脳神経外科病院リハビリテーション科），Liu Tu（Jinan University），米田将基（慶應義塾大学医学部リハビリテーション医学教室），中村優子（東京大学 総合文化研究科），北脇真岐（大阪大学大学院　生命機能研究科，Joonas Autio（RIKEN BDR），伊藤兼敏（高砂香料工業㈱），西郡寛太郎（大日本住友製薬㈱基盤技術研究ユニット，理化学研究所生命機能科学研究センター脳コネクトミクスイメージング研究チーム），麻生俊彦（京都大学医学研究科 精神科神経科），江崎貴裕（JST さきがけ 社会情報基盤領域），小川昭利（順天堂大学医学部生理学第一講座），宮田紘平（生理学研究所システム脳科学研究領域心理生理学研究部門），菅原　翔（生理学研究所心理生理学研究部門），Adnan Shah（CiNet，NICT），金子文成（慶應義塾大学医学部リハビリテーション医学教室），吉田耕佑（日本医療科学大学 保健医療学部），Furukawa Koji（京都大学大学院医学研究科 臨床神経学），Walid Yassin（東京大学），Hiroto Yamaguchi（CiNet 西本グループ /大阪大学大学院生命機能研究科），山野恵美（理化学研究所 健康生き活き羅針盤リサーチコンプレックス推進プログラム），中村晋也（東北大学大学院生命科学研究科），森　数馬（情報通信研究機構・脳情報通信融合研究センタ-），渡部喬光（RIKEN Centre for Brain Scienc），伊藤佑起（計算神経科学研究室）村上恵太郎（東京大学理科一類），蓬田幸人（国立精神・神経医療研究センター 神経研究所疾病研究第三部），中山義久（東京都医学総合研究所 脳機能再建プロジェクト），高橋佳代（理研 生命機能科学研究センター），福田玄明（理化学研究所 脳神経科学研究センター），Ruedeerat Keerativittayayut（School of Information, Kochi University of Technology），青木隆太（高知工科大学），Kiyoshi Nakahara（Research Center for Brain Communication, Kochi University of Technology），石原　暢（玉川大学脳科学研究所），青木俊太郎（高知工科大学），岡本悠子（㈱国際電気通信基礎技術研究所），中井智也（情報通信研究機構・脳情報通信融合研究センター），保坂太志（東京大学総合文化研究科），北地雄（総合東京病院），三井賢治（理化学研究所生命機能科学研究センター脳コネクトミクスイメージングチーム），藤井貴之（玉川大学脳科学研究所），横川啓太（放射線医学総合研究所 脳機能イメージング研究部），西村正彦（琉球大学医学部脳神経外科），朶舟茂（筑波大学 人間総合科学研究科），中井文哉（奈良先端科学技術大学院大学情報科学研究科），雨宮　薫（NICT），岩﨑美帆（理化学研究所 生命機能科学研究センター），松浦正憲（花王㈱ 感性科学研究所），守屋洋紀（日本医科大学大学院　精神・行動医学），野並　新（東京大学総合文化研究科），Hui-Ning Wu（大阪大学大学院・生命機能研究科），Zhu Yinghan（東京大学進化認知科学研究センター），渡辺恭介（理化学研究所　生命機能科学研究センター），波多野真依（横浜市立大学大学院医学研究科生理学教室），Waki Nakajima（横浜市立大学医学部生理学），小西清貴（順天堂大学），Takeshi Asamizuya （東京大学大学院法学政治学研究科先端融合分野研究支援センター），Dinh Ha Duy Thuy（Human Brain Research Center, Kyoto University Graduate School of Medicine），丁ミンヨン（福井大学　子どものこころの発達研究センター），湯淺健一（脳情報通信融合研究センター 脳情報通信融合研究室），梅島奎立（東京大学 大学院総合文化研究科 相関基礎科学系），佐々木章宏（理化学研究所 生命機能科学研究センター），Alejandra Mejia Tobar（東京工業大学），Kenji Haruhana（理化学研究所　脳神経科学研究センター 認知機能表現研究チーム），兼子峰明（理化学研究所 脳神経科学研究センター マーモセット神経構造研究チーム），

東口大樹（国立精神・神経医療研究センター 脳病態統合イメージングセンター），林　正道（大阪大学国際医工情報センター臨床神経医工学寄附研究部門），Uksu，Choi（Center for Information and Neural Networks，NICT），田中大貴（玉川大学脳科学研究所），安達彩織（東京医科歯科大学医学部附属病院総合教育研修センター），Yasuhiro Mochizuki（理化学研究所 脳神経科学研究センター），Yasuhiro Mochizuki（理化学研究所 脳神経科学研究センター 学習理論・社会脳研究チーム），小野島隆之（理化学研究所 脳神経科学研究センター 脳リズム情報処理連携ユニット），牟田光孝（東京医科歯科大学　医歯学総合研究科），Edmond CHEN（Division of Cyclotron Nuclear Medicine，Cyclorton and Radioisotope Center，Tohoku University），田代　学（東北大学サイクロトロン・ラジオアイソトープセンター），奥畑志帆（京都大学　大学院工学研究科），岩田沙恵子（京都大学大学院 人間・環境学研究科），Aki Tsuchiyagaito（Laureate Institute for Brain Research），Goto Keisuke（首都大学東京大学院 人間健康科学研究科理学療法科学域），藤澤　和（玉川大学大学院），抜井正博（理化学研究所 イノベーション事業本部 企業共創部），Masato Takahashi（奈良県立医科大学精神医学講座），大星有美（浜松医科大学光尖端医学教育研究センターイノベーション光医学研究室），杉本　光（理化学研究所革新知能統合研究センター），松森嘉織好（玉川大学脳科学研究所），宮崎雅博（大阪医科大学），水野賀史（福井大学医学部附属病院子どものこころ診療部），Kaoru Tsumura（GE Healthcare Japan），Yasushi Kato（GE Healthcare Japan），川原　瞳（東京大学教養学部統合自然科学科認知行動科学），Yoshiki Yoshii（ATR），五月女康作（東京大学総合文化研究科進化認知科学研究センター），漆畑勇太（シーメンスヘルスケア㈱），北村能久（㈱エルエイシステムズ），中川恵理（生理学研究所心理生理学研究部門），Masahiko Haruno（NICT CiNet　脳情報通信工学研究室），吉岡歩（名古屋大学 情報学研究科），佐伯百合子（㈱資生堂 アドバンストリサーチセンター），Kelssy Kawata（Tokyo University），原澤寛浩（RIKEN 脳神経科学研究センター），高橋陽香（花王㈱ 感性科学研究所），Masahiro Morikawa（コニカミノルタ㈱），樫野昭雄（コニカミノルタ㈱），長谷川卓也（フジキンソフト㈱），時藤大典（フジキンソフト㈱），菊地秋人（SandBox Inc.），実吉綾子（帝京大学文学部心理学科），柴　玲子（東京大学 大学院総合文化研究科），北城圭一（理化学研究所・脳神経科学研究センター・CBS-トヨタ連携センター），Yao-Ying Lai（National Rehabilitation Center for Persons with Disabilities），馬　瓊（東北大学），Tomomi Mizuochi（国立障害者リハビリテーションセンター研究所高次脳機能障害研究室），竹田真己（高知工科大学総合研究所脳コミュニケーション研究センター），西村風芽（Sandbox inc），細井雄太（細井雄太），勝井将五（東京大学 教養学部 統合自然科学科），Hiroki Oishi（CiNet/ Osaka univ Amano lab），立山莉帆（ライオン㈱研究開発本部），篠崎　淳（札幌医科大学医学部），星野　翔（東京大学大学院総合文化研究科），内山仁志（島根県立大学 人間文化学部），Yoshihiro Misaka（㈱リコーメディカルイメージング研究室），井出亮太郎（筑波大学人間総合研究科臨床医学系），石川紘司（ヤクルト中央研究所 食品研究所），Takayasu Higo（京都大学大学院 医学研究科），船場美佐子（国立精神・神経医療研究センター精神保健研究所），長田貴宏（順天堂大学医学部生理学），Takahiko Koike（Department of System Neuroscience, National Institute for Physiological Sciences），山本雅裕（㈱東芝），濱野友希（生理学研究所 システム脳科学研究領域），Hironori Nakatani（東京大学 大学院総合文化研究科），郷田直一（生理学研究所 感覚認知情報研究部門），杉本裕樹（玉川大学大学院 脳科学研究科），関口　敦（国立精神・神経医療研究センター 精神保健研究所），柴田裕介（横浜市立大学 医学研究科），番　浩志（脳情報通信融合研究センター・脳情報通信融合研究室），石田和久（東京大学大学院医学系研究科），Arihito Nauchi（GE Healthcare），大野　玲（㈱地球快適化インスティテュート），丸山修紀（生理学研究所），柏瀬啓起（オムロン株㈱ ヒューマン S&C 研究室），祐伯敦史（立命館大学スポーツ健康科学部），田中政輝（順天堂大学大学院），荒毛将史（防衛医科大学校分子生体制御学講座），中西智也（東京大学大学院総合文化研究科），穴井　達（㈱国際電気通信基礎技術研究所 認知機構研究所），池田圭佑（㈱国際電気通信基礎技術研究所 認知機構研究所），和田一孝（京都大学大学院医学研究科），四本裕子（東京大学 総合文化），齋藤大輔（金沢大学 子どものこころの発達研究センター），吉村奈津江（東京工業大学 科学技術創成研究院），小川俊平（東京慈恵会医科大学），水野　敬（理化学研究所），菊池陽一（亀田総合病院），山口　涼（静岡大学 理学部生物化学科），飯島和樹（玉川大学 脳科学研究所），阿部十也（福島県立医科大学 脳疾患センター），荒船　晶（東京医科歯科大学 脳機能病態講座），南条啓

孝（生理学研究所 心理生理学研究部門），天野　薫（NICT CiNET），東　佑一朗（オムロン㈱ 技術知財本部），増田洋一郎（慈恵医大 眼科），片岡二郎（JT 医薬総合研究所研究企画部），峯　耕太郎（国立成育医療研究センター リハビリテーション科），大須利英子（早稲田大学 人間科学学術院），上原一将（理研 CBS トヨタ連携センター），臼田　升（東京大学・東京都医学総合研究所），座間拓郎（理研 脳リズム情報処理連携ユニット），堀口浩史（東京慈恵会医科大学 眼科），坂本志歩（NHK 大型企画開発センター），野村　英（キャノンメディカルシステムズ㈱），若林龍成（NEUMO），加藤淳子（東京大学 法学政治学），森口佑介（京都大学 教育学部），篠崎隆志（NICT CiNET），内海裕一（兵庫県立大学 工学研究科），高橋　愛（東京大学 法学政治学研究科），鮫島和行（玉川大学 脳科学研究所），渡邉啓律（山口大学 共同獣医），熊井　健（首都大学東京 大学院），小池康晴（東洋工業大学 科学技術創成研究院），相羽裕子（防衛省 防衛装備庁），星　朱香（キリン㈱ 基盤技術研究所），針尾紗彩（東京大学 前期教養学部），黄田育宏（NICT CiNET），菱田良平（福島県立医大 神経再生医療学講座），宮本靖貴（東京工業大学），須田晃充（順天堂大学 第一生理），高村恒人（中央大学 文学部），称津伸一（三井共同建設コンサルタント㈱），南條　均（順天堂大学）

【概要】

第 2 回ヒト脳イメージング研究会を，2018 年 9 月 7 日（金）から 8 日（土）の 2 日間，玉川大学（東京都町田市）において開催しました。MRI, PET, MEG 等のイメージング手法を用いてヒトの脳の構造，機能，分子機構の解明を目指した研究者が集まり，研究に関する議論，若手人材育成，学際的研究者交流を促すことを目的とし始められた研究会で，本年で 2 回目の開催となりました。本年度から，海外からの講演者をお呼びして，英語で講演，ディスカッションを行うセッションを設けました。特別講演には，米国 Human Connectome Project のリーダでもある David C Van Essen 教授をお迎えし，講演いただきました。

生理研からは，研究会運営に関する事務局の支援をいただき，研究会運営のノウハウを研究会事務局に移植することができました。今回，一般参加者 250 名，講師 13 名(うち海外からの講演者 3 名)の方に参加いただき，また一般演題発表も 67 演題登録があり，とても多くの方に参加いただきました。この規模の研究会を滞りなく運営できたのは，これまで運営実績をもつ生理学研究所の協力によるものです。生理学研究所のサポートに心より感謝いたします。

特別講演

（1）Structure, Function, and Connectivity of Cerebral Cortex in Humans and Nonhuman Primates

David C Van Essen[1)], Matthew F. Glasser[1),2)], and Chad J. Donahue[1)]

（[1)] Department of Neuroscience and [2)] Department of Radiology, Washington University School of Medicine）

The cerebral cortex is the dominant structure of the primate brain and is responsible for many sensory, motor, perceptual, cognitive, and emotional behaviors. Understanding how the cerebral cortex works' requires deciphering how various functions are mediated by complex networks involving billions of neurons organized into a mosaic of highly interconnected parcels (cortical areas). This lecture will summarize recent progress in analyzing cortical organization and function in humans and nonhuman primates, including macaque monkeys, chimpanzees and marmosets.

教育講演 1
（2）脳イメージングによる対人関係における相互再帰性の神経基盤の解明

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）

科学技術の加速度的な発展による社会環境の劇的な変化を特徴とする現代社会において，社会性を含むヒト高次脳機能の神経基盤を明らかにすることは，その問題の多くが関連する人間の精神や社会的行動の解明に必要かつ喫緊の研究であり，MRI を始めとするヒト生体イメージングが重要な役割を果たす。MRI は精神活動と脳構造を非侵襲的に対応付ける有力な手法であり，脳という制限条件を与えることにより，高次脳機能の心理モデルの構成と検証に寄与する。一方で，複数個体間の社会的相互行動は観察と関与を同時に含む相互再帰的な１個体に還元できない過程であり，２個体脳を１つの系として観察することが必要である。

今後，7T MRI を技術的な核として種間比較を行い，社会性の神経基盤，脳可塑性，そして精神・神経疾患における機能障害に重要な役割を果たしている大脳基底核の機能解剖に関する理解が飛躍的に進むことが期待される。

教育講演 2
（3）深層ニューラルネットワークと脳の相同性とその応用

神谷之康（京都大学情報学研究科 / ATR 脳情報研究所）

深層ニューラルネットワークは，脳の基本素子であるニューロンやシナプスの機能にヒントを得て作られた数理モデルであるが，汎用的な機械学習手法として神経科学を離れて研究されるようになり，コンピュータビジョンや自然言語処理などの応用分野において活用されている。ところが，最近になって再び，生物の脳との関連が注目されるようになった。画像認識においては，畳み込みと非線形演算からなる階層的ネットワークを大規模画像データを用いて最適化することで，各階層に異なるレベルの複雑さを持った特徴が自動的に抽出される。これらの特徴が，サルやヒトの視覚野に見られる特徴表現と定量的に対応づけられることが，近年の研究で明らかになった。われわれのグループでは，デコーディングの観点から脳と深層ニューラルネットワークの相同性に着目し，画像や心的イメージの脳情報表現の解明と応用技術の開発に取り組んでいる。本講演では，深層ニューラルネットワークの構造が生物の脳やニューロンのどのような機能にインスパイアされてデザインされたものであるかを議論した後，大規模自然画像データを用いた学習の結果獲得される人工ニューロンの情報表現の解析方法を解説する。これらの手法をベースにしてヒト視覚野の活動パターンを深層ニューラルネットワークの信号パターンに変換する技術と，それを活用したイメージの可視化法を紹介する。

国際シンポジウム
（4）Multi-modal parcellation of the human cerebral cortex

Matthew F. Glasser（Departments of Radiology and Neuroscience, Washington University in St. Louis）

For over a century making a map of the human cerebral cortex has been an objective of neuroscience. Understanding the specialized information processing units of cortex, the cortical areas, requires that they bedelineated in an accurate and reproducible way. Historically, cortical areas have been defined based on microstructural architecture, functional

properties, area-to-area connectivity, or within-area mesoscale organization—topography. Many of these studies were carried out using invasive techniques in post-mortem human tissues or in non-human primates. Here we capitalized on the high quality Human Connectome Project (HCP) MRI data that allows us to measure architecture (cortical thickness and T1-weighted/ T2-weighted myelinmaps), function (task-based functional MRI), connectivity (resting state functional MRI connectivity), and topography (resting state functional MRI visuotopic connectivity) non-invasively in living human subjects.

（5）Computational neuroimaging and the cortical pathways for seeing words

Brian A. Wandell（Stanford's Center for Cognitive and Neurobiological Imaging, Stanford University）

Reliable functional measurements can be made at the millimeter scale in individual subjects, significantly enhancing the value of these techniques for both scientific and clinical applications. One goal of visual and cognitive neuroscience is to build computable models that predict these functional responses. I am hopeful that combining quantitative measurements and computational models, supported by reproducible research tools, can provide a strong foundation for a human neuroscience that benefits society.

シンポジウム 1

（6）脳の自浄作用と自傷作用の可視化

樋口真人（量子科学技術研究開発機構放射線医学総合研究所）

脳活動の主体を担う神経細胞は，分裂増殖を行わない細胞であるために，長期に渡り構造的および機能的な健全性を保つために，脳内の他の細胞と連携しながら，老廃物を除去し続ける必要性があると考えられる。

すなわち，数年あるいは数十年にわたり，神経細胞が自己完結的に内部で老廃物を分解することは難しく，廃棄物として細胞外に放出している可能性が高い。このような廃棄物の処理機構がいかなるもので，処理機構の破綻が脳機能異常や疾患発症にどのように結びつくのかは，未解明な点が多い。我々は脳内の老廃物の代表格として，アルツハイマー病をはじめとする変性型認知症で沈着をきたすタウタンパクや α-シヌクレインに着目し，これらタンパクの沈着物を，生体脳でポジトロン断層撮影（PET）により可視化するイメージング剤の開発に取り組んできた。自浄作用に関わる硬膜内リンパ管や脈絡叢内のマクロファージの重要性は，ヒトの PET イメージングでも少しずつ示されつつある。さらに，神経細胞の廃棄物は凝集性タンパクに限らないことから，自浄作用の破綻や自傷作用の増強による神経細胞障害は，精神疾患を含む様々な病態の基盤となりうる。この観点に基づき，自浄と自傷の両面を詳細に解析するイメージング技術の開発と応用が進行中である。

（7）拡散 MRI による脳コネクトーム解析

下地啓五[1]，鎌形康司[2]，和田昭彦[2]，青木茂樹[2]
（[1]東京都健康長寿医療センター病院放射線診断科，[2]順天堂大学医学部放射線医学教室）

侵襲的アプローチと比較して MRI は空間分解能は低く，dMRI では領域間接続の有無や接続の強さは定量可能だが，接続の方向性は判別できないことにも注意が必要である。dMRI に限らず，fMRI，MEG，EEG などすべ

ての非侵襲的手法には独自の前提，制限，限界が存在するが，それぞれのモダリティの強みを組み合わせることで特定のモダリティに固有の不正確さを除外し，結果の信頼性を向上させることが期待できる。異なる手法を組み合わせるマルチモダリティー研究を行おうとする研究者にとって dMRI から構築されるコネクトームの妥当性，正確性および解釈に影響を与える既存の制限を認識することは重要である。本講演では以上のような観点から，dMRI を用いたコネクトーム解析で得られる定量値に影響を与えうる種々の dMRI 取得パラメータ，白質線維追跡アルゴリズムなど，複数の既存の異なる解析手法を紹介し，脳コネクトーム解明にむけた dMRI の可能性と限界について議論する材料を提示する。

（8）非ヒト霊長類脳分子コネクトーム解析の試み

横山ちひろ（理化学研究所 生命機能科学研究センター）

我々は，構造および機能 MRI 検査および PET 検査を実施すると同時に，社会行動評価として，視線感受性（マカクサル），パーソナリティ評定（マーモセット）の取得を開始した。MRI に関しては，構造および安静時能画像を取得し，HCP パイプラインに沿った画像処理により，皮質構造の特徴，安静時機能連結性を抽出する。PET に関しては，社会行動や意思決定を制御するとされているセロトニントランスポーターおよびドーパミン D2 受容体の特異的 PET トレーサーを用いて，MRI 構造画像との正確な位置合わせ，部分容積効果の補正を行い，皮質表面の結合活性マッピングを行う。このようにして得られたデータを用いた解析から，視線感受性の個体差やパーソナリティ特性の発現に関連する脳分子コネクトームを特定する試みについて紹介する。

（9）7 テスラ MRI によるヒト脳画像研究

岡田知久（京都大学大学院医学研究科）

7 テスラ(T)での MR イメージングは，臨床研究および神経科学画像研究の両方において活用されてきている。理論的には，SNR は B0 が増加するにつれて直線的に増加し，3T から 7T に増加すると 2.33 倍高くなる。3T での解像度 1 mm が 7T では同一 SNR で，2D で 0.65mm，3D で 0.75 mm まで高解像度化できる。ただし，静磁場強度（B0）と送信磁場分布（B1+）の不均一性により画質が劣化する問題がある。画像のコントラストは，組織間の位相差または感受性を含む T1，T2 および T2*緩和時間などの要因によって影響される。7T では T1 値は延長，T2 値・T2*値は短縮する。T1 値の延長は，細い動脈を対象とした MR アンギオグラフィや ASL での流入信号を描出する上で有利である。T2*の短縮は，鉄沈着やデオキシヘモグロビンによるコントラスト増強する。局所磁場の不均一計測は，B0 とエコー時間（TE）に比例して増加する。同一のコントラストに対して，7T ではより短い TE を使用でき，取得時間を短縮できる。しかし頭蓋骨の基部など，静磁場が不均一な部位において，信号欠落領域が拡大するという問題が生じる。技術的な困難はあるが，7T MRI はヒト脳の構造や病理変化を可視化・解析する研究で用いられ始めている。7T-MR では，従来よりも高い空間分解能・コントラストが得られる。これらにより，今後ヒト脳を対象とした研究が大いに進むものと期待される。

シンポジウム 2
（10）心が身体を動かす神経基盤

西村幸男（東京都医学総合研究所脳機能再建プロジェクト）

多くの人が意欲の高い時に競技スポーツなどの運動パフォーマンスで良い結果を残すことができた経験があるのではないだろうか。また，リハビリテーションの現場においても運動機能回復を促す上で患者の意欲を引き出すことが重要であることを示唆されてはいるが，意欲や情動が運動機能，さらに運動麻痺の回復に寄与する神経メカニズムや因果関係は未だ不明な点が多い。これまで意欲を制御するといわれている側坐核と腹側被蓋野からなる中脳辺縁系は，四肢の運動機能に直接の関係はないと思われてきた。我々は，このような心と身体を繋ぐ神経基盤を解明することを目指し，意欲に関与している中脳辺縁系の身体運動制御機構について研究している。本講演では，fMRI によるヒトの意欲操作の研究とサルでの中脳辺縁系の神経活動操作によって明らかになってきた，心が身体を動かす神経基盤について議論したい。

（11）大規模脳画像データベースから見る脳の発達と加齢

瀧　靖之
（東北大学スマート・エイジング学際重点研究センター
東北大学加齢医学研究所機能画像医学，東北大学東北メディカル・メガバンク機構）

我々はこれまで主に脳 MRI を中心とした, 5 歳〜80 歳までのおおよそ 3000 人の大規模な脳画像データベースを作成し，脳形態，脳機能，認知力と，遺伝要因，生活習慣要因などとの相関に関して種々の新知見を出してきた。脳形態，脳体積減少に影響を与える要因として，種々の動脈硬化に影響を与える要因が明らかになっている。動脈硬化性要因は，脳萎縮を加速させることが考えられるため，脳加齢を可能な限り抑えるには，動脈硬化性要因である高血圧，糖尿病，高脂血症などを管理することが重要である可能性が示唆される。このように，我々はこれまで，横断的，縦断的な脳画像データベースを作成し，脳画像からみた健常な脳発達及び加齢，更にどのような生活習慣が脳発達，加齢に影響を与えるかを明らかにしてきた。しかしながら，遺伝要因と生活習慣要因の相互作用がどのように脳発達や加齢に影響するかは未だ明らかになっていないことが多々あり，これらを明らかにすることが認知症等の脳疾病に対する一次予防において大変重要であると考えられる。

（12）意思決定障害としての精神疾患の脳イメージング

高橋英彦（京都大学大学院医学研究科脳病態生理学講座）

知に相当する伝統的な神経心理学は精神医学においても重要な領域ではあるが，神経内科や脳外科なども関与する。一方，情（情動，感情）や意（意志，意思決定，意識）といった問題の障害はより狭義の精神障害で認められることが多く，精神医学の中心的な問題と直結する。しかし，知に相当する伝統的な神経心理学と異なり，主観的な体験である情や意の問題は客観的な評価も難しく，脳科学のテーマに馴染まない面も多かった。しかし，fMRI を中心に非侵襲的脳イメージングの技術が一般的となり，心理学，経済学の研究者も参画し，学際的な情・意の脳画像研究が進展した。精神障害の伝統的な診断は生物学的（脳科学的）な指標に基づいておらず，本人の

陳述や表層的な行動観察に依存する。その結果，診断は症候群であり，生物学的にも均一ではない。昨今，発展してきた脳科学に基づいて，症候を理解し，精神疾患の再定義をしようとする動きもある。精神障害に認められる行動異常の背景には多かれ少なかれ，意思決定の異常が想定される。演者らは意思決定の障害を中間表現型として捉え，生物学的な研究と結びつけることを行ってきた。演者が取り組んできた健常者や精神疾患を対象にした自験例も含んで，これまでを振り返るとともに今後の展望についても触れる。

（13）社会的意思決定の脳計算と神経基盤

中原裕之（理化学研究所脳神経科学研究センター）

日常生活の大半を占める社会行動を理解することは，とりもなおさず「ヒト」を理解することです。社会行動は，他者の心や行動を推断できる社会知性の脳機能に支えられています。この社会性の脳機能を深く理解していくためには，その脳メカニズムの情報処理，すなわち脳計算にまで深く切り込んで研究をすすめていくことが必要です。私たちは，社会知性の脳計算論，いわば「心の脳計算論」を打ち立てるべく，脳の強化学習理論を土台にして，ヒト fMRI 実験を用いた脳計算論との融合研究を進めています。本講演では，他者の心のシミュレーション学習や他者報酬を意思決定に勘案する脳計算回路などの研究について触れさせていただきます。

22. クライオ電子顕微鏡によるタンパク質の高分解能単粒子構造解析 ～これであなたも高分解能～

2018 年 11 月 14 日－11 月 15 日

代表・世話人：岩崎憲治（筑波大学）

所内対応者：村田和義（生理学研究所）

（１）クライオ電子顕微鏡で高分解能構造を得るための基本的な事と試料調整法に関する Tips

菅野　亮（沖縄科学技術大学院大学）

（２）フレキシブルな螺旋複合体の単粒子解析　～エボラウイルスのコア構造～

杉田征彦（大阪大学）

（３）動く膜タンパク質の単粒子解析～ATP 合成酵素の構造解析～

岸川淳一（京都産業大学）

（４）Membrane protein sample preparation for single-particle cryo-EM and more

Christoph Gerle（大阪大学）

（５）単粒子解析における Tips

包　明久（東京大学）

（６）DNA-蛋白質複合体の単粒子解析

真柳浩太（九州大学）

（７）線維構造解析で高分解能！

成田哲博（名古屋大学）

（８）「その場」でのビジュアルプロテオミクスの実践

福田善之（東京大学）

（９）Cryo-EM with and without phase plates

Radostin Danev（東京大学）

【参加者名】

杉田征彦（大阪大学），岸川淳一（京都産業大学），菅野　亮（沖縄科学技術大学院大学），Christoph Gerle（大阪大学），真柳浩太（九州大学），成田哲博（名古屋大学），包　明久（東京大学），福田善之（東京大学），Radostin Danev（東京大学），千田俊哉（高エネルギー加速器研究機構），吉川雅英（東京大学），大嶋篤典（名古屋大学），重松秀樹（理化学研究所），岩崎憲治（筑波大学），光岡　薫（大阪大学），宮澤淳夫（兵庫県立大学），安永卓生（九州工業大学），Bruno Humbel（沖縄科学技術大学），山田等仁（京都産業大学），丸山　正（北里大学），加藤公児（岡山大学），秋田総理（岡山大学），Ray Burton Smith（基礎生物研究所），西口茂孝（オリンパス㈱），岡本健太（ウプサラ大学），今井　洋（大阪大学大学院），新川隆朗（㈱バイオネット研究所），古賀博則（石川県立大学），林　真子（埼玉大学），Ghosh Ilika（埼玉大学），小田広樹（JT 生命誌研究館），宮崎直幸（大阪大学），永山國昭（Life is small（同））， 鈴木邦道（慶應義塾大学），東浦彰史（広島大学），湯本史明（高エネルギー加速器研究機構），安達成彦（高エネルギー加速器研究機構），光岡　薫（大阪大学），ソンチホン（生理学研究所），角田　潤（生理学研究所），香山容子（生理学研究所），吉田　徹（京都産業大学），津下英明（京都産業大学），増田千明（日本医科大学），寿野良二（関西医科大学），藤田陽子（京都大学），胡上帆（京都大学），矢倉富子（愛知医科大学），山形敦史（東京大学），山下敦子（岡山大学），守屋俊夫（高エネルギー加速器研究機構），金子康子（埼玉大学），市原慶和（藤田医科大学大学院），千原あかね（所属機関無し），加藤貴之（大阪大学），東　陽介（分子科学研究所），前川あゆ美（沖縄プロテイントモグラフィー

㈱），亀井　朗（沖縄プロテイントモグラフィー㈱），大和田隆之（共同印刷㈱），馬見新秀一（㈱日立ハイテクノロジーズ），三瀬大海（㈱日立ハイテクノロジーズ），小瀬洋一（㈱日立ハイテクノロジーズ），佐藤岳志（㈱日立ハイテクノロジーズ），江口純一（㈱バイオネット研究所），細川史生（㈱バイオネット研究所），大橋正隆（㈱バイオネット研究所），大塚祐二（㈱東レリサーチセンター），石原あゆみ（ライカマイクロシステムズ㈱），伊藤喜子（ライカマイクロシステムズ㈱），田中晋太朗（ライカマイクロシステムズ㈱），西山隆太郎（ライカマイクロシステムズ㈱），葦原雅道（日本エフイー・アイ㈱），甲斐　翼（日本エフイー・アイ㈱），鎌田健司（エーザイ㈱），澄田裕美（田辺三菱製薬㈱），齋藤智浩（㈱住化分析センター），梶野勇希（オリックス・レンテック㈱），遠部貴広（オリックス・レンテック㈱），近藤信也（テガサイエンス㈱），伊野家浩司（㈱日本ローパー），河田孝雄（日経 BP 社），福村拓真（日本電子㈱），平井良治（日本電子㈱），前田次郎（日本電子㈱），大崎義則（日本電子㈱），高木啓路（日本電子㈱），西村伸一郎（KM バイオロジクス㈱），田中康太郎（㈱とめ研究所），新井善博（テラベース㈱），田林隆夫（テラベース㈱），高内幸一（㈱日本ローパー），高田律子（基礎生物研究所），遠藤正庸（日本電子㈱），平林　愛（京都大学），小藤加奈（名古屋市立大学），古賀理恵（分子科学研究所），菊地晶裕（生理学研究所），上野直人（基礎生物研究所），村田和義（生理学研究所），富田雅人（生理学研究所），山田　元（生理学研究所），斎藤善平（生理学研究所），河口美江（生理学研究所），山田幸子（生理学研究所），加藤三津子（生理学研究所），池田　充（生理学研究所）

【概要】

本会は，「クライオ電子顕微鏡によるタンパク質の高分解能単粒子構造解析～これであなたも高分解能～」をテーマにして開催致しました。107 名を超える参加者を得て，9 演題の口演と 23 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。研究現場から生まれる実践的な情報を共有し，活発な議論をすることを目的に特に第一部の口演ではまさに現場で活躍中の研究者に発表頂ました。「単なる洗練された結果のみを御紹介頂く」のではなく，「そこにどのような問題があったのか，どのよう失敗をしてそれをどうやって克服したか」など，“生”の現場のクライオ電子顕微鏡解析について論文や学会ではあまり聞くことができない，しかし重要な知見についての内容でした。ポスターを含めた夕方からのセッションでは，より深い詳細な議論と情報交換が行われました。

二日目は，第二部として基調講演およびクライオ電子顕微鏡関連施設紹介させて頂きました。ツイッターで紹介された 1.62 Å分解能のアポフェリチン構造を成し遂げた Radostin Danev 東大教授の御講演は圧巻でした。そして，国内にある様々な背景をもった電顕施設の紹介がなされ，その利用方法等について活発に議論がなされました。

一口にクライオ電子顕微鏡といっても，個々の研究者が遭遇する問題は特色があり，それぞれに応じた工夫が試みられており，なおかつ，「その方法を詳しく教えてください」と，閉会後も議論の続く有意義な会となりました。

（1）クライオ電子顕微鏡で高分解能構造を得るための基本的な事と試料調整法に関する Tips

菅野　亮，Malgorzata Hall，Bruno Humbel（沖縄科学技術大学院大学）

近年，クライオ電子顕微鏡法は大きく進歩しており，高分解能のタンパク質構造が続々と報告されている。特に直接電子検出器の発展は，単粒子解析法で到達できる分解能を大きく引き下げた。一方で，試料を氷包埋し，クライオ電子顕微鏡で観察可能な状態にする，いわゆる凍結グリッド作製の部分は，未だに観察対象のタンパク質の性質によって左右される面が大きく，安定しているとは言えない。今回，比較的短期間で高分解能の三次元再構成が可能であった例と，クライオでの解析が困難であった例をそれぞれ紹介し，どのような要因がクオリティに影響するのかを論じる。高分解能の構造解析としては，良く知られた分子シャペロンである GroEL の解析結果を示し，単粒子解析法を用いて高分解能の立体構造を得るためのプロトコルを説明する。また，解析が難しかったものとして，膵島ベー

タ細胞に発現する ATP 感受性カリウムイオンチャネルの解析の例などをもとに, 試料作製の段階でしばしば起こりうる問題や, 困難な試料を構造解析する際に有効かもしれない方法について紹介する。

（2）フレキシブルな螺旋複合体の単粒子解析 ～エボラウイルスのコア構造～

杉田征彦（大阪大学蛋白質研究所）

エボラウイルスはネガティヴ一本鎖のゲノム RNA を有する。ゲノム RNA はウイルス核タンパク質 (NP) 多量体と結合して，螺旋複合体を形成する。この NP−RNA 複合体はゲノム RNA の転写・複製の足場として働くほか，エボラウイルスのコア構造としてウイルス粒子形成においても中心的な役割を担う。したがって，ウイルス増殖および粒子形成機構の解明には，NP−RNA 複合体の形成機構を詳細に明らかにすることが重要である。しかし，NP 単量体の X 線結晶構造が報告されているのみで，NP−RNA 複合体の詳細な構造は不明だった。そこで本研究では，NP−RNA 複合体の高分解能構造を明らかにすることを目的とした。

生体分子の高分解能構造解析手法には，主に X 線結晶構造解析，NMR，クライオ電子顕微鏡法がある。エボラウイルスの NP−RNA 複合体は巨大な分子複合体であり, 非常に柔軟な構造をもつため，結晶構造解析や NMR による解析が困難である。そこで，本研究ではクライオ電子顕微鏡および単粒子画像解析法を用いて，近原子分解能で組換えエボラウイルス NP−RNA 複合体構造およびその形成機構を明らかにした。本講演では，クライオ電子顕微鏡法のための NP−RNA 複合体の試料調整法に重点をおいて発表する。

（3）動く膜タンパク質の単粒子解析 ～ATP 合成酵素の構造解析～

岸川淳一（京都産業大学総合生命科学部生命システム学科）

我々が研究対象とする液胞型 ATP 合成酵素（VoV1）は，親水性の V1 ドメインと膜内在性の Vo ドメインからなる（Fig.1）。V1 での ATP 合成/分解と Vo でのプロトンの輸送は，中心回転軸の回転によって共役しているため，回転分子モーターとも呼ばれる。これまで，生化学的手法や 1 分子観察のような生物学的手法を用いて, VoV1 の機能解析を行ってきた。しかし，VoV1 の機構を詳細に理解するためには，酵素全体の高分解能構造が必要であると考え，クライオ EM を用いた単粒子解析に着手した。

精製した好熱菌由来の VoV1 の界面活性剤を DDM から LMNG に置き換えることで，より鮮明な電子顕微鏡像を得ることが出来た。得られた画像から抽出した単粒子を使い，分類・解析を行うことで，3 つの回転状態が異なる構造を得た。得られた構造から，サブユニット同士の相互作用を明らかにし, 回転中のサブユニットの動きを再現することが出来た。

今回は, 動く膜タンパク質 VoV1 の単粒子解析を通して得た知見，特にグリッド作製について，を結果とともにご紹介したい。

（4）Membrane protein sample preparation for single-particle cryo-EM and more

Christoph Gerle（Institute for Protein Research, Osaka University）

Advances in electron detectors and image processing have caused a 'Resolution Revolution' in single particle cryo-EM and as a result transformed it into a powerful approach in structural biology. The non-necessity of growing crystals make single

particle cryo-EM especially attractive for structure determination of integral membrane proteins who's amphiphilic nature poses a severe challenge to the formation of well diffracting crystals. The presence of detergent, routinely used in the purification and handling of membrane proteins is not only detrimental to the formation of crystal contacts but also, though for completely different reasons, for specimen preparation in single particle cryo-EM. In my talk I would like to give a general introduction and some practical advise to grid preparation for single particle cryo-EM with a focus on the different strategies used in avoiding the "detergent problem" for single paticle cryo-EM of membrane proteins.

（5）単粒子解析における Tips

包　明久（東京大学）

東京大学吉川研究室では 2017 年 9 月より BINDS「構造解析ユニット」に参加し，数多くの構造解析支援をおこなっている。今年 4 月に Thermo Fisher Scientific 社のクライオ電子顕微鏡 Talos Arctica と Titan Krios を導入したことでより効率的なスクリーニングとデータ収集が可能となり，最近では徐々に近原子分解能で構造が解かれたターゲットが増えてきている。本シンポジウムでは，多くの支援を通して得られたデータ収集および解析の知見について紹介する。また，本会の趣旨からはやや外れるが，IgM の構造についてネガティブ染色によって得られた新たな知見についても紹介したい。

（6）DNA-蛋白質複合体の単粒子解析

真柳浩太（九州大学生体防御医学研究所）

我々はこれまで主に DNA の複製・修復・組換えや，転写に関わる超分子複合体の構造を単粒子解析を用いて解析してきた。これらの超分子複合体は，反応の各段階で構成因子の会合及び解離を適宜行うことで，適切に複合体を再編成させて，一連の反応を綿密に制御している。従ってその機構を理解するためには,個々の構成因子の結晶構造だけでは不十分であり，複合体全体の構造解析が必須であるが, DNA を含み且つこのように常に構造変化を伴う複合体の結晶化は容易ではない。「単粒子解析法」は，試料の結晶化の必要がなく，このような超分子複合体の立体構造解析に最適である。特に近年「電子直接検出カメラ」の開発により分解能が飛躍的に向上し，結晶構造解析と互角となっている。

FACT はヌクレオソーム中のヒストン H2A/H2B を引き抜くことでヌクレオソーム構造を破壊し，クロマチンのリモデリングを行う。近年，この反応を担う FACT の Mid ドメインとヒストンの結晶構造が２報発表されたが結果は一致せず，ヌクレオソーム全体との複合体の解析が待たれる状況であった。我々は収差補正機構を備えた最先端のクライオ電子顕微鏡，電子直接検出カメラ，位相板等を用いて Mid ドメインとヌクレオソームの構造解析を行った。対象となる粒子は１６万～２０万程度とやや小さいため，特に位相板の使用が効果的であった。立体構造解析の結果，FACT とヌクレオソームの反応の生成物であるヘキサソームの構造が得られた。更に，Mid の C 末端から伸びる天然変性領域である AID セグメントが DNA と置き換わる形でヌクレオソームに侵入する様子を捉えることに成功し，ヌクレオソームの不安定化の機構の一端を明らかにすることができた。

（7）線維構造解析で高分解能！

成田哲博（名古屋大学理学研究科構造生物学研究センター）

アクチン，微小管，中間径線維など細胞内には多くの線維構造があり，多くの役割を果たしている。このような線維構造は結晶化がほぼ不可能なため，古くからクライオ電子顕微鏡法のメインターゲットの 1 つである。線維結合蛋白質との結合状態の線維構造を含めると，数多くの重要な構造解析のターゲットが存在する。

線維構造は多くの場合，らせん対称性を持っている。Relion が ver2 になって，らせん対称性を持つ線維構造をサポートするようになった。しかし，relion で線維構造を解析するためには, ある程度正確ならせんパラメータや初期構造が必要であることが多い。このパラメータを決定するためには, 層線をベースにしたらせんパラメータの組み合わせの絞り込み, 絞り込んだパラメータから正しい物を選択し，初期構造を決定するプロセスが必要である。

私達は最近 3.8 Å分解能のコフィリン結合アクチン線維構造を発表し1, またバクテリアアクチンホモログ ParM の複数の構造を 3.5-4.2 Å分解能で決定，論文執筆中や原子座標モデル構築中である。まず，層線かららせんパラメータの組み合わせを絞り込み 2，それぞれの組み合わせから EOS3 による helical reconstruction を用いて初期構造を決定，その中から正しそうなものを選び，relion に渡す。また, 非常にらせんパラメータの決定が難しいものについてはクライオトモグラフィーも併用した。これらの構造解析を例に，実際に私達が行った手法を説明したい。

（8）「その場」でのビジュアルプロテオミクスの実践

福田善之（東京大学大学院医学系研究科）

クライオ電子顕微鏡を用いた生物試料の三次元構造解析法は 2 つある。1 つは単粒子解析法，もう 1 つはクライオ電子線トモグラフィーである。単粒子解析法は，精製したタンパク質の構造を近原子分解能で解析するのを目的として行う。この単粒子解析法では，Relion をはじめとした解析ソフトにより，画像解析における一連のワークフローが確立されている。一方，クライオ電子線トモグラフィーは，培養細胞や細胞小器官などの比較的大きい試料を対象として，その形態を解析するのに用いられる。近年，ボルタ位相板の使用により，細胞内のタンパク質複合体を直接可視化できることが示された。それにより，「その場」でのビジュアルプロテオミクスという，細胞内のタンパク質複合体を直接検出し，サブトモグラム平均化および構造の分類によって，その機能状態を解明するという方法が可能になった。この「その場」でのビジュアルプロテオミクスは，比較的新しい方法であり，世界的に見てもあまり行われてはいない。本発表では，「その場」でのビジュアルプロテオミクスの実例として，発表者のワークフローについて紹介する。

（9）Cryo-EM with and without phase plates

Radostin Danev（The University of Tokyo）
Maryam Khoshouei，Wolfgang Baumeister（Max Planck Institute of Biochemistry）

The Volta phase plate (VPP) is a remarkably simple device comprising a thin (~10 nm) amorphous carbon film positioned at the back focal plane of the objective lens. The film is continuously heated at ~250oC to prevent beam-induced contamination and enable the Volta potential effect. The strong central diffraction beam of unscattered electrons interacts with

the film and modifies its surface properties leading to the creation of a Volta potential difference (the outer potential just above the film surface) between the central spot and the surrounding areas. This in turn leads to a three-dimensional electrostatic potential distribution above and below the film which when integrated along the beam path results in a phase shift difference between the central beam and the scattered beams. The effect of the central diffraction beam on the film is cumulative, producing a phase shift which increases with the electron dose. The increase is not linear and slows down as the phase shift approaches ~$\pi/2$, which coincidently is the ideal phase shift for a phase plate.

Single particle applications of the VPP have already shown very encouraging results. The improved contrast was instrumental in the near-atomic cryo-EM structure determination of peroxiredoxin-3 (~250 kDa), the nucleosome (~200 kDa), a calcitonin class-B GPCR (~150 kDa), a human GLP-1 receptor–Gs complex (~150 kDa), a human adenosine A1 receptor–Gi complex (~150 kDa) and hemoglobin (64 kDa). The VPP and phase plates in general have the capability to extend the applicability of cryo-EM towards smaller particles and it is not unreasonable to expect that in the near future even structures under 50 kDa could be solved to near-atomic resolutions.

Despite its advantages, the VPP has some limitations. It is difficult to use and offers less flexibility in setting up the data acquisition. It also increases the chances of unsuccessful experiments because of its sensitivity to optical alignments and electrostatic charging of the sample. Furthermore, the 10 nm carbon film of the phase plate scatters some of the incident electrons resulting in ~15% information loss. To overcome those issues, a promising alternative is currently in development in the group of Prof. Holger Mueller at UC Berkeley – a laser-based phase plate. The laser phase plate is still in a very early prototype stage but has already demonstrated phase shift. If successfully developed, it will represent the next generation of phase plates for transmission electron microscopy.

23. 脳磁図を用いたヒト脳神経活動の計測

2019 年 2 月 10 日－2 月 11 日

代表・世話人：岡本秀彦（国際医療福祉大学医学部）

所内対応者：木田哲夫（統合生理研究部門）

（１）Neuropathic pain

實珠山　稔（名古屋大学大学院医学系研究科/脳とこころの研究センター）

（２）High Frequency Oscillations: The New Magnetoencephalography Frontier?

Jing Xiang（MEG Center, Cincinnati Children's Hospital Medical Center）

（３）Intra-epidermal electrical stimulation

乾　幸二（愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所・機能発達学部）

（４）Objective correlate of subjective pain perception

Yunhai Qiu（Shenzhen Institute of Advanced Technology, Chinese Academy of Sciences）

（５）Human neuroimaging studies of itch and scratch

Hideki Mochizuki（Department of Dermatology and Cutaneous Surgery & Miami Itch Center, Miller School of Medicine, University of Miami）

（６）Pain perception in humans

柿木隆介（生理学研究所・システム脳科学研究領域・統合生理研究部門）

（７）Action, perception, and prediction in music

Takako Fujioka（Center for Computer Research in Music and Acoustics, Stanford University）

（８）Effects of auditory impairments and auditory rehabilitation on the auditory evoked fields

岡本秀彦（国際医療福祉大学医学部医学科生理学）

（９）Neuroimaging Markers of Cognitive Reserve and Brain Aging

Lihong Wang（University of Connecticut School of Medicine）

（10）Mechanism of face perception in humans

三木研作（日本赤十字豊田看護大学）

（11）Sex difference of brain regional variance of functional network connectivity

金桶吉起（和歌山県立医科大学生理学第一講座）

【参加者名】

赤塚康介（久留米工業高等専門学校），乾　幸二（愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所），浦川智和（東京理科大学），大草知裕（名古屋短期大学），大鶴直史（新潟医療福祉大学），岡本秀彦（国際医療福祉大学医学部），尾島司郎（横浜国立大学），金桶吉起（和歌山県立医科大学），木田哲夫（生理学研究所），熊谷直也（東海光学㈱），軍司敦子（横浜国立大学），小崎瑞貴（東海光学㈱），小林　恵（愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所），下条素子（雪の聖母会聖マリアヘルスケアセンター），鈴木雅也（東海光学㈱），竹島康行（生理学研究所），田中絵実（名古屋大学），鶴原亜紀（航空医学実験隊），永田　永（生理学研究所），中川　慧（広島大学），中田大貴（奈良女子大学），仲渡江美（愛媛県立医療技術大学），中村みほ（岡崎市こども発達医療センター），西原真理（愛知医科大学医学部），野口泰基（神戸大学），橋本章子（帝京大学），平井真洋（自治医科大学），廣江総雄（㈱国際電気通信基礎技術研究所），廣岡裕子（生理学研究所），賓珠山稔（名古屋大学），本多結城子（広島大学），前田多章（甲南大学），松吉大輔（早稲田大学），三木研作（豊田赤十字看護大学），元村英史（三重大学），守田知代（大阪大学），森　将浩（生理学研究所），山代幸哉（新潟医療福祉大学），和坂俊昭（名古屋工業大学），Takako Fujioka

（Dept. of Mus., Stanford Univ.），Hideki Mochizuki（Miller Sch. of Med, Univ of Miami），Lihong Wang（Univ. of Connecticut, Sch. Of Med.），Jing Xiang（Cincinnati Children's Hosp. Med. Ctr.），Xioahong Wang（The First Aff. Hosp.of China Med Univ），Yunhai Qiu（Shenzhen Inst. of Adv. Tech., Chinese Acad. Of Sci），Binh Nguyen（Hanoi Med.Univ），Lam Khanh（Cent Mil Hosp 108），Tran Diep Tuan（Univ. of Med & Phar. at Ho Chi Minh City），田村洋平（古沢クリニック），Feng Xzaona（生理学研究所），元村美幸，北村吉宏（国立病院），照屋美香，中村和子，佐久間研司（さくまクリニック），関谷健一（安城厚生病院），Thiny Le，二橋尚志（小牧市民病院）

【概要】

近年の技術の発展に伴い，生きたヒトの脳活動を非侵襲的に計測することが可能となってきた。脳磁図はヒトの脳活動を，高い時間分解能と優れた空間分解能で計測することが可能なニューロイメージング技術である。被験者の安全性の観点から見ても，脳磁図は脳から生じた磁場を受動的に計測するだけなので，完全に非侵襲的で安全である。

得られた脳磁場の解析技術に関しての進歩はさらに目覚ましいものがあり，functional connectivity や frequency-coupling など新しい解析方法が次々に開発され様々な研究に導入されている。脳磁場の利用は従来心理学実験や医学の基礎研究が主であったが，近年では実際の臨床医学現場への応用やニューロマーケティングなど，これまでには見られなかった分野にまでその利用が広がっている。

このように脳磁図を用いた研究が大きく発展していく一方，脳磁場の計測条件や解析方法が多様で複雑になることで，研究者が適切にデータ処理をする難易度が高まっている。生理学研究所は本邦において極めて初期に脳磁計が導入された学術機関であり，これまでにも数多くの研究成果を報告している。また共同利用研究機関として，多くの大学や研究所・病院と連携して研究を推進する本邦における脳磁場研究の中心的な存在であり，研究会を通して最新の知見を共有することは非常に重要である。

本研究会において，国内外からの参加者が脳磁図を用いた様々な研究や解析方法を発表・質疑応答し，人的交流を深めることできた。本研究会の開催が脳磁図の理解とその利用を促す良い機会になり，本邦における今後の脳磁図研究の活性化に貢献できると期待している。

（1）Neuropathic pain

寶珠山　稔（名古屋大学大学院医学系研究科/脳とこころの研究センター）

疼痛を大脳神経活動から観察しようとする試みは疼痛刺激による促通的脳反応の研究に始まり，脳機能測定技術の進歩は，自覚的・持続的な慢性疼痛へアプローチする段階に近づいている。近年では，疼痛は末梢から脳に至る神経系全体の機能構築の始点から研究がなされてきている。四肢末梢の疾患や外傷による組織の損傷や病態により疼痛関連脳活動が惹起されるが，疼痛の持続や体内外の環境により疼痛情報処理を担う中枢神経側でも機能変化が生じる。特に可塑性（plasticity）に富む大脳皮質において機能再構築が旺盛に生じ，大脳皮質局所の機能変化および神経ネットワークを介した脳全体の機能変化が生じる。中枢神経の可塑的変化には，障害や病態に身体を適応させる方向に働く adaptive plasticity と，更に病態や機能障害を生じる mal-adaptation とが考えられるが，plasticity の方向が明らかとなっている状況はむしろ稀であり，治療や介入が困難となる場合がありうる。本演題では，全脳の神経活動観察に有利な脳磁場（magnetoencephalography, MEG）および汎用性のある脳波（electroencephalography, EEG）の計測から観察される疼痛関連の脳活動について，痛みによる誘発脳反応，安静時脳活動計測，脳活動から見た自覚的疼痛の検出と評価 等の結果から疼痛と大脳皮質での神経活動の関連について報告する。

（2）High Frequency Oscillations: The New Magnetoencephalography Frontier?

Jing Xiang（Director of MEG Research, MEG Center, Cincinnati Children's Hospital Medical Center）

Recent magnetoencephalography (MEG) success in localizing high-frequency brain signals (HFBS) opens a new window for the study of the brain. HFBS is commonly referred as high frequency oscillations (HFOs), which include high gamma, ripples, fast ripples and very high frequency oscillations (VHFOs). High gamma signals provide the unique capability to precisely localize functional brain areas. For many patients who have drug-resistant epilepsy, surgical resection of the region where seizure arise is often the only alternative therapy. However, the identification of this epileptogenic zone (EZ) is often imprecise. Pre-surgical localization of HFOs may result in these patients with intractable epilepsy being seizure free. In addition, high-gamma/HFOs also play important roles in many other disorders. For example, it has been shown that MEG HFOs can guide normalization of cortical excitability in migraine and reduce the incidence of migraine attacks. Although MEG detection of HFBS enables clinicians goes far beyond by merely using spikes for clinical applications, wide adoption of MEG is hindered by hardware limitation (e.g. cryogenically cooled, high costs). Recent studies have taken a giant step forward by building atomic magnetometers (AM). AM operates at a room temperature and is "wearable". Recent study has shown that AM detect high-gamma at single trial, which is better than that of the conventional SQUID based MEG sensors. Building on recent results, the presentation will discuss the future of MEG.

（3）ntra-epidermal electrical stimulation

乾　幸二（愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所・機能発達学部・部長）

2000 年に柿木研に赴任して，痛覚をテーマに選びました。電気刺激で選択的痛覚刺激ができないかと考えてこの研究を開始しました。C 線維選択的刺激がなんとかできるところまでくるのに 10 年ほどかかり，非常に長く楽しい道のりでしたが，現在では日本光電が刺激装置と電極を製造・販売しており，それなりに利用されるようになっています。今回の研究会では，表皮内電気刺激法の開発についてお話しします。この方法を使った研究成果についても少し紹介したいと思います。

（4）Objective correlate of subjective pain perception

Yunhai Qiu（Shenzhen Institute of Advanced Technology, Chinese Academy of Sciences）

The lateral pain system is mainly associated with the sensory-discriminative aspects (objective) of pain processing, whereas the medial pain system is thought to underlie the affective component of the pain and modulate responses (subjective). Here we aimed to investigate the objective correlate of subjective pain perception by using electroencephalographic (EEG) and functional magnetic resonance imaging responses (fMRI) to tonic muscle pain in healthy subjects.

We observed the enhancement changes of EEG gamma-band oscillatory activity to tonic muscle pain in frontal-central region in compare to innocuous conditions. Meanwhile, the positive relationship between the amplitude of gamma oscillations and pain intensity was also observed in frontal-central region (Qiu et al., 2016a). Therefore, we provide novel evidence for the encoding of frontal-central gamma oscillations in tonic pain processing. In the fMRI study, comparing with innocuous control condition, the tonic muscle pain activated brain regions related to the affective and cognitive dimensions of pain perception such as left anterior insular cortex and bilateral anterior and middle cingulate cortex. Besides, anterior insula exhibited increased functional connectivity with prefrontal cortex during tonic muscle pain, which might represent increased activities of attention and descending pain modulation (Qiu et al., unpublished data).

In further EEG study, the modulation effect of placebo treatment was captured when the pain perception evaluating period was included. The strong correlation between the placebo effect on reported pain perception and alpha amplitude suggest that alpha oscillations in frontal-central regions serve as a cortical oscillatory basis of the placebo effect on tonic muscle pain. These results provide important evidence for the investigation of objective indicators of the placebo effect (Qiu et al., 2016b).

（5）Human neuroimaging studies of itch and scratch

Hideki Mochizuki（Department of Dermatology and Cutaneous Surgery & Miami Itch Center, Miller School of Medicine, University of Miami）

Itch is an unpleasant sensation that triggers scratching response. Scratching the skin can cause the skin damage, which in turn aggravates itch. This phenomenon is called the vicious cycle of itch and scratch, and a significant problem in itch treatment. Therefore, there is a great need to better understand the cerebral mechanisms of itch and scratch for developing effective therapies to break or prevent the vicious cycle. The research article related to the cerebral mechanism of itch was first published in 1994. Since then several researchers have investigated this mechanism in healthy subjects and chronic itch patients using various neuroimaging techniques. These studies have demonstrated that multiple brain regions are involved in the process of itch perception, which includes the thalamus, somatosensory cortex, insula, cingulate cortex, basal ganglia, and parietal cortex. In particular, functional network composed of the anterior insula, basal ganglia and anterior cingulate cortex plays an important role in generating the desire to scratching. Meanwhile new methods to provoke the itch sensation was also developed. The development of electrical itch stimuli enabled to visualize temporal profile of neural activity related to itch in the order of milliseconds using magnetoencephalography (MEG). Our study using MEG found that itch selectively activates the pathway from the thalamus to the medial parietal cortex, suggesting that itch constitutes unique network in the brain. Scratching an itchy skin provokes the pleasurable sensation. This rewarding component is a bothersome problem for chronic itch patients, since it can reinforce scratching behavior. Our study using functional MRI found that enhanced activity in the motor

cortex and reward system in the brain is associated with pleasure-induced reinforcement of scratching. In the past decades, our knowledge about the cerebral mechanism behind the vicious cycle of itch and scratch has been significantly advanced.

（6）Pain perception in humans

柿木隆介（生理学研究所・システム脳科学研究領域・統合生理研究部門）

It is known that pain perception is affected by emotional changes and motion (movement). To evaluate the effects of motion on cortical activities evoked by noxious stimulation, we recorded pain SEF. The results suggest that activities in SI and SII-insula are modulated differently by movements. Inhibition in SI was mainly due to an interaction in SI between the signals ascending from the stimulated and moving hand. Inhibition in SII-insula was mainly due to particular brain activities related to motor execution and/or movement execution associated with a specific attention effect. In addition, since subjective pain rates showed a similar relationship with the amplitude changes of SII-insula, SII-insula is considered to play an important role in pain perception.

（7）Action, perception, and prediction in music

Takako Fujioka（Center for Computer Research in Music and Acoustics, Stanford University）

My talk will feature recent MEG and EEG studies for examining music processing, and, together with other findings, discuss how distributed neural systems work together in managing top-down and bottom-up timing prediction, ensemble coordination, and learning-induced neuroplasticity related to music.

I will start with bottom-up and top-down timing processing, where perception and prediction meet. It has been long known that passive listening of metronome-like isochronous stimuli involves auditory cortices for simple prediction of the stimulus interval and detection of changes. Recently, however, more studies are aimed at capturing natural neural dynamics that encode or predict time without such 'perturbation' approach.

We show that in addition to auditory cortices, various motor-related brain areas contribute to neural oscillatory power modulations in listening to isochronous stimulus, and that beta-band frequency of this modulation may explain benefits of auditory-sensorimotor training in clinical populations with movement impairments. Moreover, modulation patterns can encode stimulus intervals, metric hierarchies in perception and imagery, as well as anticipation of upcoming tempo change (e.g., accelerando and ritardando).

Action outcome prediction and error processing in music also comprise an essential part of the music, especially coordinating during ensemble performance. With our EEG hyperscanning (e.g., 2-person simultaneous recording) studies, we showed action monitoring and attention related to player's role asymmetry (similar vs. different musical roles) and agency (e.g., human vs. computer).

These processes all contribute to music-making activities which motivate individual’s participation. As such, neuroplastic changes with music training further coincided with those in the reward-related systems in naive subjects after one-month short-term piano training. In fact, the experience of playing a novel musical instrument as short as 30 minutes changes the auditory evoked response as well asthe beta-band desynchronization during listening to its sound. Similar changes likely underlie the enhancement of resting-state functional connectivity to motor cortex after stroke survivors were engaged for music-supported therapy in our recent randomized control trial. These cortical changes were accompanied with improved mood, social communication well-being, and musical rhythm perception. Uncovering the links between actions, perception, and prediction in music will contribute to our understanding of human musicality.

（8）Effects of auditory impairments and auditory rehabilitation on the auditory evoked fields

岡本秀彦（国際医療福祉大学医学部）

近年のニューロイメージング技術の発達により，非侵襲的にヒト脳活動を計測することが可能となってきた。特に脳磁図は高い時間分解能と空間分解能を有しており計測時に音を発生しないことから，聴覚野のヒト脳神経活動計測に広く用いられてきた。

ヒトの脳は動物の脳と同様，幼少期だけではなく成熟してからも周囲の環境や行動により可塑的に変化していくことが示されている。本来脳の可塑的変化は，環境にうまく適合できるよう適切な方向に進むことが多い。しかし場合によっては，不適切な方向に進むことで不快な症状等を引き起こすことがある。

発表者は聴覚野における脳の不適切な可塑性変化に注目し，聴覚障害と聴覚誘発脳活動にどのような関係があるかを研究してきた。また，脳の不適切な可塑性変化を適切な方向へとリハビリテーションで誘導することにより，聴覚障害を改善するよう試みている。

脳の不適切な可塑性変化により引き起こされる疾患は，直接的に生命を脅かすことはないが，生活の質を大きく毀損し，場合によっては自殺を引き起こすこともある。不適切な脳の可塑性変化によってもたらされた主観的な症状を，ニューロイメージングで客観的に可視化することでその発症メカニズムを解明していきたいと考える。また脳の不適切な可塑的変化を個人ごとに画像化し，その個人に最適化されたリハビリテーションを行うことで症状を和らげることは，これからますます重要になってくると考えている。

（9）Neuroimaging Markers of Cognitive Reserve and Brain Aging

Lihong Wang（University of Connecticut School of Medicine）

Neuroimaging studies suggest that older adults may compensate for declines in brain function and cognition through reorganization of neural resources. By combining fMRI and structural MRI, we developed a new method to semi-quantitatively measure neural compensatory capacity.We found that neural compensatory capacity was correlated with faster walking speed, and the latter was also correlated with working memory function. Our later study on one-month physical exercise training revealed that physical exercise improved walking speed, and increased working memory as well as cognitive reserve capacity through activating additional neural networks. We believe the new measure onneural compensatory capacity can be applied in broad lines of research related to neuroplasticity in older adults.

（10）Mechanism of face perception in humans

三木研作（日本赤十字豊田看護大学）

We have been studying the underlying mechanisms of face perception in humans using magneto- (MEG), electroencephalography (EEG) and near-infrared spectroscopy (NIRS) mainly including (1) the face inversion effect, (2) subliminal effects on face perception, and (3) development of face perception in infants and children.

Latencies with inverted faces relative to those with upright faces were longer in the right hemisphere and shorter in the left hemisphere. Since the activated regions under upright and those under inverted face stimuli did not show a significant difference, we consider that differences in processing upright versus inverted faces are attributable to temporal processing

differences rather than to processing of information by different brain regions.

We recently made a special light probe of NIRS for studying infants, and found that 5-months-infants could recognize upright face compared with inverted face and vegetable and 8-month-old infants could recognize the profile of face. In addition, we recently got interesting results about recognition of face expression as well as mothers' face recognition. The NIRS study for infants should add important information for a development of face processing in humans.

（11）Sex difference of brain regional variance of functional network connectivity

金桶吉起（和歌山県立医科大学生理学第一講座）

男女には性ホルモンや染色体など脳に影響する因子の明らかな違いがあるにも関わらず, 脳機能の性差には異論が多い。これは一つには教育や社会環境などが脳機能の発達に影響を与えること, また性差以上に個人差が大きいことが理由として考えられる。これまでの研究はある特徴について男女での平均値の差を検討してきたが, 多くの場合その差は統計学的に有意であってもごくわずかで個人差（分散）の大きさに比べると無視しても構わない程度である。ところが神経精神疾患の多くはその頻度や症状などに著名な男女差がみられ, その原因は一部しか解明されていない。我々は先の研究で, 性差は確かに脳機能ネットワークの構造に影響を与えることを示し, 男女の平均ネットワーク構造には著名な違いがあることを明らかにした。しかしやはり個人差は大きく, 例えば男に特徴的なネットワーク構造というようなものは見いだすことはできなかった。そこで今回我々は，個人差（variance, V）そのものについて検討を行った。すなわちある指標が２グループ間で平均値が同等であっても，例えば男のグループ内での V が女のグループの V より著しく小さければ，その指標は男の特徴と言えるであろう。例えば女のグループではある指標が１から１０までの値が標準偏差３の正規分布で分布するのに対して，男は５+/−0.5 の正規分布であったとしたら, 平均値は同じ５であるが, 男ではその指標５付近であることが特徴的と言える。右利き男女１００名ずつの安静時 fMRI データを用いて，6 mm voxel ごとの３つのネットワーク指標（regional global connectivity, degree centrality, eigenvector centrality）の個人差（coefficient of variance, CV）を検討した。すると，３つの指標すべてで男のグループで有意に CV が小さい部位両側の島皮質など５箇所, 女のグループで有意に小さい部位１箇所（右の海馬付近）を見出した。これらの部位の男女差の機能的意義について議論する。

【 特別プロジェクト 】

特別プロジェクト

〔　目　　次　〕

１．多種間比較に基づいた膜蛋白質生理機能の根本原理の解明 494

1. 多種間比較に基づいた膜蛋白質生理機能の根本原理の解明

岡村康司（大阪大学大学院医学系研究科）
小野富三人（大阪医科大学）

本研究では各種イオンチャネル・受容体・電位依存性酵素の機能を生物間で比較することでその動作原理の共通項を明らかにすることを目的とした。

ホヤの電位依存性 Na^+チャネル（NaV）をクローニングし，この電流を二本差し膜電位固定法，並びに cut open 膜電位固定法により記録した。また，哺乳類の NaV は β サブユニットを持つのに対し，ホヤは β サブユニットを持たないことから，その β サブユニット感受性について，ホヤと哺乳類の NaV 間で比較を行った。

電位依存性プロトンチャネル（Hv1/VSOP）については，哺乳類では好中球の活性酸素産生に寄与することが知られていた。我々はゼブラフィッシュの Hv1 が哺乳類のものとは電位依存性，亜鉛感受性に多少の違いを持つものの，活性酸素産生制御には同様に寄与していることを確認した（Ratanayotha et al, Am J Physiol, accepted）。

電位依存酵素 VSP については，哺乳類で近年精子での受精への寄与が認められ始めている（Kawai et al. in preparation）。そこで我々はゼブラフィッシュの VSP 欠損個体を作製し，その機能を検証した。その結果，ゼブラフィッシュでは VSP は受精に寄与しておらず，むしろ消化管で機能している可能性が示唆された。

加えて，ゼブラフィッシュの ROMK に着目し，その Ba^{2+}感受性に関する検証を行った。

【 各種シンポジウム 】

2018（平成 30）年度生理研国際シンポジウム

The 49th NIPS international Symposium
“Ion channels: looking back and seeing ahead”

“Ion channels: looking back, seeing ahead”と題した第 49 回生理研国際シンポジウムを，2018（平成 30）年 12 月 6 日 - 8 日に，岡崎コンファレンスセンターにて開催しました。オーガナイザーは井本敬二所長と森泰生教授（京都大学大学院工学研究科）で，久保義弘教授が事務局長を務めました。海外講演者 10 名と国内講演者 14 名による 24 題の講演と，57 題のポスター発表が行われました。参加者は，招待講演者を含め 164 名でした。

特別講演を 2 題設定しました。1 題は井本所長によるもので, シンポジウムの冒頭において, ”Ion channel wonderland” と題して，イオンチャネルの分子同定以前から今日までの研究の流れが解説されました。その上で，よりダイナミクスへと向かう研究等の今後の展望が示されました。もう一題の特別講演は，Jose Lopez-Barneo 教授（スペイン）によるもので，“Acute oxygen sensing” と題し，連綿と取り組んできた酸素感知の生理学から最先端の分子機構までの講演が行われました。

その他，Geoffrey Abbott 先生（米国）による，生理的神経伝達物質である GABA が KCNQ チャネルに直接作用するという講演，老木成稔教授（福井大学）による contact bubble bilayer 手法の開発とそれを駆使した成果の講演，岩田想教授（京都大学）による，結晶化したバクテリオロドプシンの構造変化の X 線自由電子レーザー照射による“動画”記録の講演，Alexander Sobolevsky 先生（米国）による，AMPA 型グルタミン酸受容体の多ステートの構造解析により得られた静止画像をつなげて動画を作成しその作動メカニズムに迫る講演等，多くの優れた講演が行われました。また，ポスターセッションも含め，活発な情報交換および質疑応答が行われました。

The 49th NIPS International Symposium
“Ion channels: looking back and seeing ahead”

The 49th NIPS International Symposium “Ion channels: looking back and seeing ahead” was held at Okazaki Conference Center from December 6th to 8th, 2018. Professor Keiji Imoto and Professor Yasuo Mori (Kyoto University) organized the symposium, and Professor Yoshihiro Kubo served as Secretary-General. Ten oversea and 14 domestic speakers gave presentations, and there were also 57 poster presentations. The number of participants were as many as 164.

Two special lectures were given. The first one was by Professor Imoto, entitled “Ion channel wonderland”. He overviewed the history of ion channel research so far and then introduced the perspectives including approaches toward the dynamic aspects. The second one was by Professor Jose Lopez-Barneo (Spain), entitled “Acute oxygen sensing”. He overviewed his achievements from oxygen sensing physiology to the cutting edge research of the molecular mechanisms.

All other lectures highly attracted the attention of audience. Dr Geoffrey Abbott (USA) presented his recent finding that GABA directly activates KCNQ channel. Professor Shigetoshi Oiki introduced contact bubble bilayer method, a cutting-edge approach for ion channel research, and obtained findings. Professor So Iwata presented “a movie” of structural rearrangements of crystalized bacteriorhodopsin obtained by analyses using X-ray free electron laser. Dr Alexander Sobolevsky (USA) presented dynamic images of AMPA receptor channel by combining the structure in multiple states to approach the functioning mechanisms. Active discussion and fruitful exchange of research information were done both in oral sessions and in poster sessions..

Program

December 6, 2018

Session 1: Special Lecture (Chair : Yasuo Mori)

Keiji Imoto (NIPS)

Ion channel wonderland

Session 2: Potassium channels & HCN channels (Chair : Shigetoshi Oiki)

Keiko Ishihara (Kurume Univ)

New insights into basic properties of the strong inward rectifier K^+ channel

Geoffrey Abbott (UC Irvine, USA)

Direct neurotransmitter activation of voltage-gated potassium channels

Baron Chanda (Univ Wisconsin-Madison, USA)

Molecular mechanisms of voltage- and ligandgating in HCN channels

Session 3: Membrane & membrane proteins (Chair : Emily Liman)

Yuji Hara (Kyoto Univ)

Cell surface flip-flop of phosphatidylserine is critical for PIEZO1-mediated myotube formation

Yasushi Okamura (Osaka Univ)

Mechanisms and physiological roles of voltage-sensing phosphatase

Session 4: Cutting-edge methodologies (Chair : Dan Minor)

Hiroshi Hibino (Niigata Univ)

A microsensing system for the *in vivo* real-time monitoring of local drug kinetics

Shigetoshi Oiki (Fukui Univ)

Renovating lipid bilayer systems for studying channel-membrane interplays

So Iwata (Kyoto Univ)

Molecular movie of bacteriorhodopsin captured by a femtosecond x-ray laser

December 7, 2018

Session 5: TRP channels (Chair : Michael Zhu)

Makoto Tominaga (NIPS)

Structure and function of thermosensitive TRP channels

Yasuo Mori (Kyoto Univ)

Changes in redox status activate TRP channels: underlying mechanisms and its significance

Session 6: Special lecture (Chair : Keiji Imoto)

José López-Barneo (Univ Seville, Spain)

Acute oxygen sensing: Mitochondria signaling to membrane ion channels

Session 7: Organella channels (Chair : José López-Barneo)

Ayako Takeuchi (Fukui Univ)

Roles of mitochondrial Ca^{2+} channels/transporters in cellular functions

Jian Yang (Columbia Univ, USA)

Structural basis of function and regulation of the endolysosomal calcium channel TRPML3

Session 8: Potassium channels (Chair : Geoffrey Abbott)

Yuji Furutani (Nagoya Inst Tech)

Infrared spectroscopy for analyzing ion-protein interactions of ion channels

Dan Minor (UCSF, USA)

Ion channel chemical biology: Driving a wedge into the heart of a temperature-sensitive ion channel

Guillaume Sandoz (Univ Cote d'Azur, France)

Heteromerization of K2P channels: from physiology to physiopathology

Session 9: Poster session with flash talks

December 8, 2018

Session 10: Sodium channels (Chair : Baron Chanda)

Tomoya Kubota (Osaka Univ)

Voltage-gated Na^+ channel -The structural function relationship and the channelopathy -

Takushi Shimomura (NIPS)

Molecular mechanisms of the depolarization-induced potentiation of two-pore Na^+ channel 3 (TPC3)

Session 11: New channels and taste perception (Chair : Yasushi Okamura)

Emily Liman (UCLA, USA)

Otopetrins encode proton-selective ion channels in the taste system

Akiyuki Taruno (Kyoto Pref Univ of Med)

CALHMs: Fast-activating voltage-gated ATP channels for rapid purinergic neurotransmission

Session 12: Ion channels in synaptic transmission (Chair : Jian Yang)

Alexander Sobolevsky (Columbia Univ, USA)

Structural mechanisms of gating in ionotropic glutamate receptors

Lu-Yang Wang (Univ Toronto, Canada)

Presynaptic ion channels and plasticity

Michael Zhu (Univ Texus Houston, USA)

Excitatory neurotransmission mediated by TRPC4 channels

【トレーニングコース】

第 29 回生理科学実験技術トレーニングコース

2018 年 7 月 30 日－8 月 3 日
担当：久保義弘（神経機能素子研究部門）

【概要】

生理科学実験技術トレーニングコースは，今年で 29 回目を迎え，7 月 30 日（月）より 8 月 3 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：久保義弘）。生理学研究所は，分子・細胞レベルから個体行動レベルまでの各階層にわたる研究の専門性を有し，また大型共同利用機器を保有している。これらの利点を生かして，生理科学･神経科学に関する多様な実験技術を普及させ，それらを使った研究レベルを向上させることが，このコースの目的である。本年度は，下記 19 コースの募集を行ったところ 174 名の応募があった。118 名の方々が採択され，下記のコースを受講された。受講者の約 5 割が大学院生で，他は学部学生と，大学や企業の研究者であった。本トレーニングコースは，日本生理学会の共催として実施した。実習指導には生理研の職員を中心として，他大学からの講師も含めて，約 80 人の研究者があたった。

【講演】

1. 「イオンチャネル・受容体の構造と機能の動的側面」
   久保義弘（生理学研究所 神経機能素子研究部門 教授）
2. 「ネットワーク異常としてのパーキンソン病」
   磯田昌岐（生理学研究所 認知行動発達機構研究部門 教授）

【紹介】

「生理学研究所の紹介」
　鍋倉淳一（生理学研究所 生体恒常性発達研究部門 教授）
「総合研究大学院大学の紹介と説明会の案内」
　古瀬幹夫（生理学研究所 細胞構造研究部門 教授）

【教育訓練】

「動物実験教育訓練：－生理学研究と動物実験－」
　山根　到（生理学研究所・動物実験コーディネーター）

【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. 心臓の圧受容・適応シグナル評価法
4. 2 光子顕微鏡による細胞内分子活性化の FRET イメージング
5. 培養細胞と組織凍結切片の蛍光免疫染色法
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
7. ウイルスベクターの作製と導入遺伝子の発現観察
8. ゲノム編集技術による遺伝子改変動物作製のための発生工学技術
9. 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
10. パッチクランプ法を用いた温度感受性 TRP チャネル解析

11. 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
12. 2 光子励起顕微鏡を用いた生体イメージング法
13. 脳特定部位内への薬物微量注入法と摂食行動解析入門
14. 覚醒下実験動物からの神経活動記録法入門
15. 霊長類を対象とした神経生理学的・神経解剖学的実験入門
16. 脳磁図によるヒト脳神経活動の可視化
17. SPM を用いたヒト脳の fMRI データ解析入門
18. 生体アンプ回路工作と機械工作入門
19. PIC マイコンの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/2018/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/2019/questionnaire/TC2018Q.pdf

【セミナー報告】

セミナー報告

1. Manipulation of behavioral performance by targeted activation of cortical ensembles in primary visual cortex

Luis Carrillo-Reid（PI in Functional Circuits Reprograming lab）

(2018.4.4)

Cortical ensembles in primary visual cortex are groups of neurons whose coordinated activity represents visual stimuli. The functional connectivity of these ensembles generates an internal representation of the surrounding world. In this way, learned behavioral tasks associated with visual stimuli could be based on the recalling of neuronal ensembles from primary visual cortex. However, whether it is possible to manipulate visually guided learned behaviors by the targeted activation of cortical ensembles in primary visual cortex remains unknown. In order to study the modulation of behavioral performance induced by the selective activation of cortical ensembles with single cell resolution we used simultaneous two-photon optogenetics and imaging of neuronal populations in awake head fixed mice performing a go/no-go task. We identified and targeted neurons with pattern completion capability belonging to cortical ensembles in primary visual cortex. The selective photoactivation of neurons belonging to cortical ensembles associated with the go signal positively modulated behavioral performance whereas the photoactivation of randomly selected neurons during the go signal negatively modulated behavioral performance. Our findings demonstrate the possibility to manipulate functional neuronal ensembles with single cell resolution and observe behavioral correlates of cortical microcircuit reconfiguration.

参考文献

- Carrillo-Reid L, Yang W, Miller JK, Peterka DS, Yuste R. (2017) Imaging and manipulating Neuronal ensembles. Ann Rev Biophys 46 (1).
- Carrillo-Reid L, Yang W, Bando Y, Peterka DS, Yuste R. (2016) Imprinting and recalling cortical ensembles. Science 353(6300): 691-4.
- Carrillo-Reid L, Miller JK, Hamm JP, Jackson J, Yuste R (2015) Endogenous sequential cortical activity evoked by visual stimuli. J Neurosci 35:8813-28.

2. Sensing and clearing the damage: structural insights into the regulation of PINK1 and Parkin

Jean-François Trempe（Assistant Professor, Department of Pharmacology & Therapeutics, McGill University, Montreal, Canada）

(2018.4.27)

Mutations in Parkin and PINK1 cause early-onset Parkinson's disease (PD). PINK1 is a kinase that acts as a sensor of mitochondrial damage and initiates Parkin-mediated quality control. Recruitment and activation of Parkin by PINK1 leads to the ubiquitination of outer mitochondrial membrane proteins and subsequent autophagic clearance of the damaged organelle[1]. Our lab has been elucidating the molecular mechanisms of this pathway using proteomics and structural biology tools. Parkin is basally a cytosolic ubiquitin ligase, which adopts an auto-inhibited conformation[2]. PINK1 phosphorylates ubiquitin[3], and the resulting phospho- ubiquitin acts as a receptor and activator for Parkin[4,5]. We recently discovered that PINK1 itself requires activation via auto-phosphorylation at a single serine, which enables ubiquitin recognition[6].

参考文献

1. Trempe, J. F. & Fon, E. A. Front Neurol 4, 38 (2013)
2. Trempe, J. F. et al. Science 340, 1451-1455 (2013)
3. Koyano, F. et al. Nature 510, 162-166 (2014)
4. Sauvé, V. et al. EMBO J 34, 2492-2505 (2015)
5. Tang, M. Y. et al. Nature Commun 8, 14697 (2017)
6. Rasool, S. et al. EMBO Rep 10.15252/embr.201744981 (2018)

3. 深層学習による病理画像のセグメンテーションとその改良

瀧　雅人（国立研究開発法人理化学研究所 数理創造プログラム）

(2018.5.8)

深層学習の進展により，さまざまなタスクの自動化が進んでいる。医療はデータが画像形式をとることが多く，そのため中でも深層学習の応用が飛躍的に進みつつある。本研究では，これまで病理医が行なっていた画像診断を高精度で自動化する手法について紹介する。U-Net と呼ばれるニューラルネットをベースに，深層学習技術をさまざまに組み合わせることで，中規模のデータでも高い性能が実現可能となる。具体例としては，乳がんの病理部位の顕微鏡画像から，ピクセル単位でガンの部位を特定する話を主に紹介する。この研究は村田正樹氏（東京大学医学系研究科）と小川典明氏（大阪大学医学部）との共同研究に基づく。

4. Unraveling the gating and pharmacology of GABAA and nicotinic acetylcholine receptors with pentameric concatemers

Marc Gielen（Permanent researcher, Channel Receptors Unit, CNRS- Institut Pasteur (Paris, France) ）

(2018.5.21)

Eukaryotic pentameric ligand-gated ion channels (pLGICs), such as the inhibitory GABAA receptors (GABAARs) and the nicotinic acetylcholine receptors (nAChRs), are neurotransmitter-gated ion channels mediating fast synaptic transmission in the nervous system. Classical pLGICs are heteromers of varying stoichiometries, often incorporating several copies of the neurotransmitter-binding subunits and additional accessory subunits. Recombinant expression of the receptors' subunits thus usually results in a mixture of heterogeneous receptor populations at the plasma membrane, complicating the analysis of their functional properties. To overcome this difficulty, I have built a series of concatemeric pLGICs, whereby all subunits are linked covalently together. This allows for the precise control of subunits' stochiometry. It also enables to introduce mutations in each subunit one by one, in order to examine the contribution of each individual subunit to the receptors' gating and pharmacology. I will illustrate the benefits of such strategy with two projects: 1) understanding the crosstalk between subunits during the desensitization of α1ß2γ2 GABAARs; and 2) unraveling the pharmacological properties of α5-containing nAChRs, which are key players in nicotine addiction.

参考文献

- Gielen M, Corringer PJ (2018) Journal of Physiology doi: 10.1113/JP275100.
- Gielen M, Thomas P, Smart TG (2015) Nature Communications 6:6829 doi: 10.1038/ncomms7829.
- Gielen M, Lumb MJ, Smart TG (2012) Journal of Neuroscience 32(17):5707-15.

5. 精子間で均一に刷り込まれるエピゲノムの同定と機能の理解

及川真実 (Wellcome Trust /Cancer Research UK Gurdon Institute, University of Cambridge)

(2018.5.29)

これまで，精子の役割は父親由来の DNA を受精後の胚に伝えることのみだと考えられてきた。近年では，精子の核にはエピゲノムと呼ばれる情報（DNA メチル化や, DNA をとりまくヒストンへのメチル化，ノンコーディング RNA など）も存在することがわかり，これらも受精後の胚に伝わると思われる現象が複数報告されている。しかし，その実体はほとんどわかっておらず, 特にヒストンへのメチル化やノンコーディング RNA に関する知見はまだ少ない。本研究では，精子核に存在するヒストンへのメチル化情報が，受精後の胚に伝わる可能性はどれくらいあるの

か？という問いを立てた。そして，もしこの情報が受精後の胚に伝わり，発生において機能的役割を持つならば，(1) ほぼ全ての精子において，ヒストンメチル化が均一に刷り込まれるゲノム領域が存在し，(2) そのゲノム領域あるいは周辺には，胚発生の支持や制御に関わる遺伝子が有意にコードされているのではないか？という仮説を立てた。本セミナーでは，アフリカツメガエルあるいはヒトの精子を用いて，この仮説を検証した結果について紹介したい。

6. Measuring functional reorganisation in the brain

Diego Vidaurre（大阪大学大学院生命機能研究科ダイナミックブレインネットワーク研究室）

(2018.6.4)

The brain needs to activate multiple networks in a temporally coordinated manner in order to perform cognitive tasks, and it needs to do so at different temporal scales, from the slowest cyrcadian cycles to fast subsecond rhythms. I propose a novel probabilistic framework to investigate brain functional reorganisation, capable to reliably access the dynamics contained in the signal even at the fastest time scales.

Using this approach we investigate several aspects of the intrinsic dynamics of the human brain. First, we found that the brain spontaneously transitions between different networks in a predictable manner and follows a hierarchical organization that is remarkably simple. Importantly, this organisation is specific to individuals, is heritable and significantly relates to behavior, in the form of intelligence and different subject psychological traits. Second, we investigate the spectral properties of the default mode network using MEG, which is revealed to be composed of two components, anterior and posterior, with very distinct temporal and spectral properties. These two separated components exhibit strong coherence with the posterior cingulate cortex, yet in very different frequency regimes. The operation of these large-scale cortical networks in very different frequency bands may reflect the different intrinsic timescales that they specialise in, consistent with evidence from spike count autocorrelograms from single neurons.

7. The rodent olfactory bulb granule cell - an alliance of independent inhibitory mini-neurons?

Veronica Egger（Regensburg University, Germany）

(2018.6.8)

The vertebrate olfactory bulb processes olfactory stimuli within a two-stage network, the first located within the glomerular input layer and the second in the external plexiform layer below. These subnetworks are bridged via the principal mitral and tufted cells; both strongly draw on dendrodendritic interactions, with the axonless inhibitory granule cells being the main players in the second stage. Granule cells are directing their sole output towards the long lateral dendrites of mitral and tufted cells via reciprocal dendrodendritic synapses.

In spite or because of this apparently reduced anatomy, granule cells are capable of various modes of dendritic signalling, including local sodium spikes within their large dendrodendritic spines and global Ca^{2+} and sodium spikes. To dissect the reciprocal microcircuit, we are using two-photon Ca^{2+} imaging and uncaging of glutamate in acute slices of juvenile rat olfactory bulbs in conjunction with whole cell recordings. I will briefly discuss mechanisms underlying the local postsynaptic spine signals and the subsequent release of GABA from the spine back onto the exciting mitral cell dendrite. As to the interaction between local and global signals, we are currently investigating coincidence detection within these excitable spines and summation of inputs from simultanously activated spines within the granule cell dendrite. These findings broaden our view on the functionality of olfactory bulb granule cells and their role in synaptic processing.

8. フリッパーゼによる生体膜脂質のダイナミクスの調節と生理的意義

申　惠媛（京都大学大学院薬学研究科）

(2018.6.20)

細胞膜やオルガネラ膜の脂質二重層は，サイトゾル側と細胞外側（または内腔側）においてリン脂質組成の非対称性を有し，動的秩序を保持している。このような非対称性は，二重層間におけるリン脂質のフリップ―フロップ運動によって調節されている。フリッパーゼの P4-ATPase は，P-type ATPase スーパーファミリーのサブファミリーである。他の P-type ATPase（Ca-ATPase, Na/K-pump, H/K-pump）が陽イオンを輸送するのに対して，P4-ATPase ははるかに大きいリン脂質を細胞外側（または内腔側）からサイトゾル側へと輸送（フリップ）することで，脂質二重層間の時空間的な脂質分布を調節する。酵母の遺伝学研究が先行するなか，動物細胞や組織における P4-ATPase の活性および生理的役割は不明であった。これまでに私たちは，初めてこれらの細胞内局在を決定し，細胞膜に局在する一部のフリッパーゼのフリップ活性および基質特異性を決定した。また，近年フリッパーゼによる細胞膜の脂質分布の変化が膜曲率を形成することを明らかにし，フリッパーゼの活性が膜ダイナミクスに関与することを示した。さらに，フリッパーゼ活性の異常が遺伝病の発症と関連があることを初めて示唆し，近年シグナル依存的なフリッパーゼの活性調節の分子メカニズムを明らかにした。本セミナーでは，最近私たちが見出した基質特異的なフリッパーゼの活性調節機構および細胞での機能を中心に紹介し，フリッパーゼの生理的意義について議論したい。

9. 新規光レーザー技術による非線形光学過程を用いたバイオイメージング

根本知己（北海道大学電子科学研究所）

(2018.6.20)

生命機能の分子的基盤や創発原理の真の理解のためには，複数の分子，超分子複合体のダイナミクスを，生理的な条件を保ったままで，リアルタイムで高い空間分解で可視化することが必須である。このため，近年，光レーザー技術の進捗に伴い，細胞や生体組織の非侵襲的なイメージングを実現するものとして，多光子励起過程や高次高調波発生などの，複数光子と分子との同時相互作用による非線形光学過程が，盛んに用いられるようになってきた。特に，2 光子顕微鏡法は生体組織深部での観察を可能とすることから，神経回路網や神経機能等の研究に広く用いられている。我々は，半導体レーザ，補償光学，ベクトルビーム等の技術を活用し生体 *in vivo* イメージングにおける深部到達性や空間分解能向上や超解像顕微鏡化を推進してきた。特に，新規半導体レーザー光源や補償光学を活用することで，麻酔下のマウス生体脳で世界最深部 1.6 mm の蛍光断層イメージングを実現し海馬歯状回ニューロンの観察に成功すると共に，海馬 CA1 錐体細胞のリアルタイム *in vivo* Ca^{2+}イメージングにも成功した。また，光渦，ベクトルビームなどの新規光ビームを用いて，新たにパルス式 2 光子 STED 顕微鏡を構築し，100 nm 以下の空間分解能を達成した。さらに多点走査型 2 光子顕微鏡の開発にも成功し，秒 100 フレームを超える超高速 *in vivo* イメージングも実現しており，多くの研究者に技術提供をしている。本セミナーでは，最近の進捗を紹介すると共に，本法の可能性について議論を行いたい。

10. 新多細胞システムの機能的理解にむけて～「観る」「摂動する」「つくる」の総力戦による取り組み

洲崎　悦（東京大学大学院医学系研究科）

(2018.6.20)

多細胞生物は多種多様な細胞が相互に結合・連絡をしながら機能するシステムである。個体レベルの生命機能や疾患のメカニズムは，このような多細胞からなる回路やシステム（多細胞システム）に実装されている。本講演では，このような多細胞システムを読み解くことを目指した我々の基盤技術開発とその適応例を紹介し議論したい。多細胞システムの機能と構造を包括的に「観る」技術として，細胞階層のオミクス解析（Cell-omics）のための“CUBIC”パイプラインを構築し，全脳スケールの活動状態分離と責任細胞同定，全脳 1 細胞解像度での回路解析などを実現した。また，多細胞システムを「摂動する」技術として，交配無しでマウス個体への高速・並列なトランスジーン導入を可能とする「次世代マウス遺伝学」を構築し，概日リズム制御機構への摂動による個体レベルのリズム変動を多数解析することに成功した。さらに，多細胞同期振動体の最小構成を合成生物学的手法で紐解くため，*in vitro* 視交叉上核分化系を構築し，概日振動を示す細胞塊の単離に成功した。これら最先端の基盤技術を基にした「多細胞システム生物学」実現にむけた取り組みは，今後幅広い生命科学・医学分野での知見の蓄積や応用へ貢献できると期待される。

11. Bidirectional signal exchanges and their mechanisms during joint attention interaction – an hyperscanning fMRI study

Gadi Goelman（Department of Medical Biophysics, Hadassah Hebrew University Medical Center）

(2018.7.4)

Social interactions are essential to our daily life. Here we test the hypothesis that social interactions, even a simple joint attention interaction (JA) in which one gets information from the other but does not need to respond, requires bidirectional communication. We further hypothesize that the two processes: feedforward (information from the ‘sender’ to the ‘receiver’) and feedback have different mechanisms. To test these hypotheses we apply a novel multivariate directed connectivity method on hyperscanning functional MRI data of human dyads during real-time JA interaction. The analysis enables obtaining directed functional connectivity within quadruplet networks at each time-frequency point along and after JA interaction. For a network of the right dorsal medial prefrontal cortex (dmPFC) and the right temporoparietal junction (TPJ) of both ‘sender’ and ‘receiver’ brains, five pathways were observed at different times and of different structures. Three pathways corresponded to feedforward and two to feedback processes. Construction of multiple quadruplet networks resulted with the following findings: (1) Feedforward process favorited high fMRI frequencies while feedback favorited low frequencies. (2) There were more feedforward pathways. (3) There were more pathways which included the dmPFC compared with pathways that included the TPJ. (4) Regional involvements in the different processes (feedforward, feedback, low and high frequency) at the sending and receiving brains were different. These findings suggest distinct mechanisms for the inability to understand social signals (impairment in social interaction) and the inability to return signals (impairment in social communication) thus could help in diagnose and follow-up of social impairment subjects.

12. 細胞間接着の動的な制御機構

東　智仁（福島県立医科大学 基礎病理学講座）

(2018.7.20)

上皮細胞は細胞シートを形成し，多細胞生物のからだの外側と内側や，異なるコンパートメントを区別することによって恒常性の維持に寄与しています。脊椎動物の細胞間接着装置は上皮細胞の頂端側に位置し，隣接する上皮細胞間を物理的に結びつける接着能を持つとともに，細胞間隙を通る溶質や水の移動を制限するバリア機能を担っています。従来，上皮細胞シートや細胞間接着装置は静的な構造体と考えられがちでしたが，実際の上皮細胞は細胞形態の変化や細胞同士の再配置を繰り返し，動的に再構成されています。それらは，細胞質分裂や発生過程の形態形成時に特に顕著に観察されます。しかし，上皮細胞が接着能とバリア機能を保持しつつ，細胞シート内での細胞形態変化や再配置を可能にする分子機構はこれまでほとんど知られていませんでした。

本セミナーでは，上皮細胞の接着構造が，細胞質分裂時に接着能とバリア機能を保ちつつ大きく変形して再構成される仕組み，細胞質分裂後に新しい三細胞間接着が形成される仕組みについて，アフリカツメガエル原腸胚のライブイメージングを通じて明らかになってきた事をお話ししたいと思います。また，細胞の形態変化に伴って細胞間接着に微細に生じるバリア機能の破綻を高感度に検出する系について未発表データを含めてご紹介できればと思います。

※このセミナーは日本語で行われます。

13. L 型 Ca チャネル（Cav1.2）の CaM による調節

亀山正樹（鹿児島大学大学院医歯学総合研究科・名誉教授）

(2018.8.29)

Cav1.2 型 Ca チャネルは，神経組織や心筋，平滑筋など全身に広く分布して，細胞機能に重要な役割を果たしている。同チャネルには，Ca 依存性増強（CDF）と Ca 依存性不活性化（CDI）という２つの Ca 依存性調節機構があり，その両者にカルモジュリン（CaM）が関与するが，その分子機構には色々なモデルが提案されている状況で，未だ統一見解がない。我々は，２分子の CaM がチャネルに結合して，それぞれがチャネル活性の増強と不活性化を起こすというモデル（２CaM 仮説）を提唱しているが，一般的に認められるに至っていない。本セミナーでは，これら Ca チャネルの CaM による調節研究の現状と展望を解説したい。

14. Acquisition and analysis strategies for high-spatiotemporal resolution human fMRI at ultra-high fields

Jonathan R. Polimeni（Assistant Professor of Radiology, Harvard Medical School）

(2018.9.11)

Accelerated image encoding and the increased sensitivity afforded by highly-parallel receive arrays and Ultra-High Field (≥7T) systems have recently enabled sub-second, sub-millimeter isotropic resolution studies of the functional architecture of the human brain with fMRI, the spatial and temporal accuracy of which is increasingly limited by the biological point-spread of the BOLD signal. In this presentation, I will review recent work investigating the limits of spatial and temporal accuracy of fMRI. I will present studies designed to characterize the specificity of the BOLD signal by combining subsecond or submillimeter isotropic voxels and a surface-based analysis approach that together allow the BOLD signal to be measured over large extents of the folded cortical surface.

With such small voxels and rapid sampling times, the characteristics of the BOLD signal become increasingly influenced by the details of the vascular anatomy and physiology.

I will present recent results from our laboratory showing cortical columnar imaging simultaneously over multiple visual cortical areas, and the detection of oscillations up to the delta-band frequencies in human visual cortex and sub-cortical regions using high spatiotemporal resolution EPI at 7 and 9.4 T. I will also survey recent methodological work into "high-performance accelerated EPI" aimed at increasing the imaging resolution and time-series signal-to-noise ratio for future high-resolution UHF fMRI studies.

15. Frequency modulated EEG corresponding to EMG under voluntary limb movement

Yasuto Tanaka（Director Neuromathematics Laboratory & Kwansei Gakuinn Univ.）

(2018.9.18)

Study of brain-machine interface (BMI) uses electroencephalography (EEG) to extract relevant signals of body movement. We aimed to correlate the motor command in EEG and muscle movement represented by electromyography (EMG) using a time series of each signal. Corresponding components of muscle movement to the brain wave spectrogram representing amotor command is sought through comparison of the EMG power envelope and the wavelet processed EEG. Results showed that the timing and peak of event-related EEG power corresponds to the EMG power envelope in high-gamma bandwidth (55 to 63 Hz) at the primary motor cortex (C3), indicative of phase modulated EEG-EMG connection. Furthermore, EEG poser at the beta wavelength (13~30Hz) exibited anti correlation with EMG.

Such timing and phase coincidence between EEG and EMG suggests event-related synchronization in the primary motor cortex serving as a motor command that initiates muscle activity.

16. Molecular mechanisms of the sense of touch, a tale of a whisker hair

Jianguo G. Gu（アラバマ大学バーミンガム校）

(2018.9.25)

The evolution of the sensory systems has let mammals develop complicated tactile end organs to enable sophisticated sensory tasks including social interaction, environmental exploration and tactile discrimination. The Merkel disc, a main type of tactile end organs consisting Merkel cells and Aβ-afferent endings, are highly abundant in fingertips, touch domes and whisker hair follicles of mammals. It has high tactile acuity for an object's physical features such as texture, shape and edges. Mechanisms underlying the tactile function of Merkel discs are obscured as how Merkel cells transmit tactile signals to Aβ-afferent endings leading to tactile sensations. Using the rodent whisker hair follicle as a model tactile sensory organ, our recent studies (Ikeda et al. Cell 157:664-75, 2014; Chang et al., PANS 113 E5491-500, 2016) have demonstrated that tactile signals are transduced via Piezo2 channels into Ca^{2+} action potentials on Merkel cells. The excitatory signals on Merkel cells are then transmitted by serotonin to evoke Aβ-afferent impulses to result in tactile behavioral responses. The involvement of Piezo2 and serotonin in tactile functions shall have implications in sensory disorders such as numbness and tactile allodynia.

17. マギル大学-生理研の合同シンポジウム

(2018.10.22)

マギル大-生理研の合同シンポを 10 月 22 日(月)- 23 日(火)，明大寺で開催します。

Young Investigators' Oral Session　(Myodaiji)

Oct. 22（Mon）

	Speaker	Presentation title
PM 4:00- 4:20	Stephanie (Sharif lab)	Understanding the molecular basis for the pain caused by lionfish venom
PM 4:20- 4:40	Taskushi Shimomura (Kubo lab)	Phosphoinositides modulate the voltage depndence in two-pore Na^+ channel 3
PM 4:40- 5:00	Hideji Murakoshi	Optogenetic manipulation and imaging of signaling molecules in dendritic spines of neurons
PM 5:00- 5:20	Yuri Miyazaki (Fukata lab)	Epilepsy-related ligand/receptor, LGI1—ADAM22 complex, functions as trans-synaptic machinery for physiological brain activity
PM 5:20- 5:40	Angela (Farivar lab)	A map of the prototypical spatial patterns of activation during movie viewing
PM 5:40- 6:00	Zlata Polyakova (Nambu lab)	The impact of glutamatergic and GABAergic inputs to the subthalamic nucleus activity in monkey
PM 6:00- 6:20	Chihong Song (Murata Lab)	Capsid structure of mouse norovirus revealed by cryo-electron microscopy

Symposium　(Myodaiji)

Oct. 23（Tue）

	Speaker	Presentation title
AM 9:00- 9:30	Junichi Nabekura	Remodeling of Cortical Circuits in vivo: synapse-glia interaction
AM 9:30- 10:00	Keith Murai	Astrocytes and brain circuit microenvironments
AM 10:00- 10:30	Stuart Trenholm	Novel methods for studying the functional connectivity of neuronal circuits
Coffee break		
AM 10: 45- 11:15	Yumiko Yoshimura	Experience-dependent development of visual functions in the primary visual cortex
AM 11:15- 11:45	Edward Ruthazer	A new paradigm for activity-dependent visual circuit refinement
AM 11:45- PM 0:15	Arjun Krishnaswamy	The assembly and function of motion selective circuits in the retina
Lunch		
PM 1:30- 2:00	Derek Bowie	Unraveling the complexities of the AMPA receptor signaling complex
PM 2:30- 3:00	Brian Chen	Direct observation of protein synthesis in single cells in vivo
PM 3:00- 3:30	Reza Sharif Naeini	TACAN is a novel ion channel responsible for pain sensing
PM 3:30- 4:00	Taihei Ninomiya (Isoda Lab)	Neural activities during action monitoring in macaque mirror and mentalizing systems
Coffee break		

	Speaker	Presentation title
PM 4:15- 4:45	Norihiro Sadato	Neural substrates of social interaction from hyperscanning 3T fMRI to inter-species comparisons with 7T MRI
PM 4:45- 5:15	Reza Farivar-Mohseni	Fundamental representations in the cortical visual areas
PM 5:15- 5:45	Keiichi Kitajo	Individual differences in neural dynamics and human behaviour
PM 5:45- 6:15	Sylvain Baillet	Perceptual and predictive mechanisms enabled by neural dynamics of brain systems

18. ２光子カルシウムイメージング法によって捉えられた，マウス運動課題中における視床・大脳皮質運動野間の情報伝達ダイナミクス

田中康代（東京大学大学院医学系研究科 機能生物学専攻 細胞分子生理学 特任助教）

(2018.10.26)

大脳基底核と小脳は運動学習においてそれぞれ非常に重要な役割を果たすが，それらが運動学習の際どのようなシグナルを大脳皮質に送るのかはわかっていない。大脳基底核と小脳からのシグナルは視床を通って大脳皮質へと送られる。我々は２光子顕微鏡によるカルシウムイメージング法を用いて，マウスが自発的にレバー引き課題を学習する際の，視床から１次運動野へ投射する視床皮質軸索のシナプス前部（軸索ブトン）の神経活動を計測した。レバー引き中の脳は揺れるためわずか数μmの軸索ブトンの活動を捉えるのは大変困難であるが，運動野に赤色蛍光タンパク質を同時に発現させ，さらに深さ方向を変えて３平面でイメージング画像を取得し，赤色蛍光輝度をもとにオフラインで３次元の揺れ補正を行った。その結果，揺れによるアーティファクトを最小限に抑えてイメージング画像を解析することに成功した。このようにして視床皮質軸索ブトン活動を運動野の１層と３層とでイメージングし，レバー引き中の活動を学習前後で比較した。その結果，１層に入力する軸索ブトンの活動はレバー引きの開始時と終了時に強くなり，３層に入力する軸索ブトンの活動はレバー引きの開始時のみに強くなることがわかった。また，レバー引き時の軸索ブトン活動は集団でシークエンス構造を示すことが分かり，その持続時間は１層の方が３層よりも長いことが示された。さらに，１層に入力する軸索ブトンの活動はレバーのキネマティクス，３層に入力する軸索ブトンの活動はレバー引きの成功率と関係していることが明らかになった。また，それぞれが大脳基底核あるいは小脳に強い影響を受けることがわかった。その一方で，どちらのシグナルを作り出すにも大脳基底核と小脳の両方の活動が必要であることも見出された。

19. Purinergic signalling at the lysosome:A novel form of Ca^{2+}-induced Ca^{2+} release

Ruth Murrell-Lagnado (Acting Director of Sussex Drug Discovery Centre, Reader in Neuroscience, School of Life Sciences, University of Sussex (Brighton, UK))

(2018.11.12)

We are interested in the role of the P2X4 purinergic receptor in lysosome physiology and Ca^{2+} signalling. These widely expressed receptors are targeted to endolysosomes where they mediate the release of Ca^{2+} in a manner dependent on luminal ATP and pH. Recently our interest has focused on the regulation of these receptors and their role in breast cancer progression. Lysosomal P2X4 receptors are activated downstream of Ca^{2+} signals evoked by plasma membrane P2X7 and H1-histamine receptors. These signals promote lysosome alkalinization which leads to an exaggerated rise in

Ca^{2+}. This novel form of Ca^{2+}-induced Ca^{2+} release regulates lysosome trafficking and fusion. Lysosome fusion with the plasma membrane and release of cathepsins enhances breast cancer cell invasiveness and metastases.

References:

Cao Q, Zhong XZ, Zou Y, Murrell-Lagnado R, Zhu MX, Dong XP (2015) Calcium release through P2X4 activates calmodulin to promote endolysosomal membrane fusion. J Cell Biol 209: 879-94.

Srivats S, Balasuriya D, Pasche M, Vistal G, Edwardson JM, Taylor CW, Murrell-Lagnado RD (2016) Sigma1 receptors inhibit store-operated Ca^{2+} entry by attenuating coupling of STIM1 to Orai1. J Cell Biol 213: 65-79.

20. Real-time closed-loop interventions of epileptic seizures

竹内雄一（セゲド大学（ハンガリー），名古屋市立大学）

(2018.12.10)

There are 50 million epileptic patients in the world and more than 30% of them are still suffering from drug-resistant refractory epilepsy; therefore, development of a new non-pharmaceutical therapy is needed. We have previously developed a closed-loop transcranial electrical stimulation (TES) technique to intervene absence (petit mal) seizures using rats (ref 1,2). Non-invasive and time-targeting natures of the closed-loop TES technique will diminish risks associated with intracranial electrode implantations and disturbance of normal brain functions, respectively.

We have also developed a new non-pharmaceutical technique for controlling secondary generalized grand-mal seizures of temporal lobe epilepsy (TLE) using a ‘proxy’ intervention strategy (ref 3). As seizure generator networks of TLE are widely distributed over bilateral hippocampi and para-hippocampal structures, direct interventions on these structures are difficult. Thus, we stimulated the medial septum (MS) to modulate highly-synchronous hippocampal oscillations in seizures of TLE because the MS has diffuse anatomical connections to the hippocampi and para-hippocampal structures bilaterally governing oscillatory activities there. We found that closed-loop MS electrical stimulation significantly alleviated electrographic and motor seizures of hippocampally-kindled freely-moving rats whereas open-loop MS stimulation did not. Cell-type specific optogenetic stimulation of MS neural populations revealed that phase-specific alternating excitations of MS glutamatergic and GABAergic neurons could underlie the MS-mediated anti-seizure effects. To promote clinical applications of these seizure intervention techniques, we have then developed a new TES technology to spatially target any brain regions: Intersectional Short Pulse (ISP) stimulation (ref 4). To focus intensity of electrical stimulation to an intracranial region, we placed multiple pairs of stimulus electrodes over the head of rats, cadavers, and healthy volunteers. We found that the focused electrical stimulation could successfully modulate neural activities in the focused brain region and oscillation patterns on electroencephalograms. Our seizure intervention techniques with non-invasive, time-, spatial-, and proxy-targeting natures would be useful to control refractory epilepsies.

References

1. Berényi A, Belluscio M, Mao D, and Buzsáki G. (2012) Closed-loop control of epilepsy by transcranial electrical stimulation. Science 337: 735–737.
2. Kozák G and Berényi A. (2017) Sustained efficacy of closed loop electrical stimulation for long-term treatment of absence epilepsy in rats. Sci Rep 7: 6300.
3. Takeuchi Y, Harangozó M, Pedraza L, Földi T, Kozák G, and Berényi A. (2018) Closed-loop stimulation of the medial septum alleviates temporal lobe epilepsy in rats. The 49th NIPS International Symposium, Dec5-8, 2018, Okazaki, Japan.
4. Vöröslakos M, Takeuchi Y, Brinyiczki K, Zombori T, Oliva A, Fernández-Ruiz A, Kozák G, Kincses ZT, Iványi B, Buzsáki G, and Berényi A. (2018) Direct effects of transcranial electric stimulation on brain circuits in rats and humans. Nat Commun 9: 483.

21. Hypothalamic control of mouse daily torpor / cell type-specific CRISPR gene editing in the adult brain
脳視床下部によるマウス日内休眠の制御 / マウス成体脳における細胞種特異的な遺伝子編集

山口裕嗣（スタンフォード大学，博士研究員）

(2018.12.12)

動物が示す能動的な低体温・低代謝状態を torpor (休眠)といい，冬季に torpor に入ることを冬眠という。torpor は鳥類，げっ歯類，霊長類を含めた恒温動物で幅広く保存された行動であるが，どのようにして動物が torpor に入るのかそのメカニズムは不明である。一方，モデル生物として広く用いられる C57BL/6 マウスを寒冷環境で絶食させると daily torpor (日内休眠)と呼ばれる一時的な torpor 状態に入る。本セミナーでは，C57BL/6 マウスにおいて daily torpor を制御する脳視床下部の神経回路に関する我々の新しいデータを紹介する。また本セミナーでは我々が立ち上げた CRISPR/Cas9 システムを利用してマウス成体脳で細胞種特異的に任意の遺伝子を効率よくノックアウトする技術についても紹介する。

参考文献

Yamaguchi, H., Hopf, W., Li, S, de Lecea, L. In vivo cell type-specific CRISPR knockdown of dopamine beta-hydroxylase reduces locus coeruleus evoked wakefulness. Nature Communications: in press, 2018

22. Understanding the molecular/cellular pathology and emerging strategies for Alzheimer disease

富田泰輔（東京大学大学院薬学系研究科機能病態学教室）

(2019.1.4)

Aggregated forms of amyloid-β peptide (Aβ) and tau are major components of senile plaques and neurofibrillary tangles, respectively, which are pathological hallmarks in the brains of Alzheimer disease (AD) patients. Several lines of evidence suggest that accumulation of Aβ induces the tau-mediated neuronal toxicity and symptomatic manifestations of AD. Thus, facilitation of the clearance of aggregated Aβ and tau has been highlighted as a plausible therapeutic for AD. In addition, genetic studies in AD implicate the pathological roles of glial cells, such as astrocytes and microglia. We recently identified kallikrein-related peptidase 7 (KLK7) as a novel aggregated Aβ-degrading enzyme secreted from astrocyte, suggesting that astrocyte is a cellular target in AD therapeutics. Moreover, we have developed a novel small compound called photooxygenation catalyst that facilitates the selective degradation of aggregated proteins in vivo. I will discuss with these novel approaches for anti-aggregated proteins against AD.

23. O–結合型糖鎖修飾の Notch シグナルにおける重要性～糖鎖による受容体の活性化制御とその異常による先天性疾患

竹内英之（名古屋大学大学院医学系研究科・機能分子制御学

(2019.1.4)

Notch シグナルは多細胞生物の発生過程や成体の幹細胞など，細胞の運命決定に非常に重要な役割を果たす。

近年の遺伝学および生化学的な研究によって，Notch 受容体自体の O-結合型糖鎖修飾 (O-フコース，O-グルコース，O-GlcNAc) が，巧妙にシグナルの調節に関わっていること，さらに，これらの O-結合型糖鎖修飾を担う糖転移酵素遺伝子の変異が，Dowling-Degos 病，肢帯型筋ジストロフィー，Adams-Oliver 症候群など様々なヒトの先天性疾患の原因となることが明らかとなってきた。

本講演では，O-結合型糖鎖修飾が Notch 受容体の活性化を制御する分子メカニズムに関する，生化学，構造生物学，そして，ケミカルバイオロジーツールを用いた最新の研究成果を紹介させて頂く。

24. ヒト胚遺伝子治療の最前線

葉山智工（横浜済生会南部病院・産婦人科，横浜市立大学附属市民総合医療センター・生殖医療センター）

(2019.1.8)

近年の CRISPR-Cas9 をはじめとする遺伝子工学の発展は，発生工学の技術進歩と相まって，従来，長い時間と多くの費用と動物の犠牲によってのみ実現した動物のゲノム編集(遺伝子改変)を，簡便・容易なものとした。このため重篤な遺伝病のヒト胚に対してゲノム編集を行うことが現実的な治療として考えられるようになってきた。

オレゴン州は研究用にヒト受精胚および卵子・精子を有償ドナーから購入することが許されている世界でも珍しい研究環境の州である。講演者は 2014 年より 2018 年までオレゴン健康科学大学 OHSU に籍を置き，OHSU 胚遺伝子治療センターの立ち上げ（2015 年 9 月開設），世界で最初のミトコンドリア病患者の核交換療法（2016 年 Nature），世界で最初の致死性遺伝病患者胚の CRISPR による遺伝子修復療法（2017 年 Nature）のプロジェクトに参加した。

本邦でも 2019 年度よりヒト胚に対してゲノム編集を行う基礎研究が解禁される方向となっているため(2018 年 11 月通達)，今後ますますこの研究分野は注目されるものと思われる。本講演ではオレゴンでの二つのプロジェクトの結果の紹介と，最近の他のグループの報告をする。そしてオレゴンでの後続プロジェクトと横浜で予定しているプロジェクトにも少し触れる予定である。

25. てんかん関連リガンド / 受容体，LGI1-ADAM22 によるシナプス架橋構造の発見と LGI ファミリーに関する研究

宮﨑裕理（生理学研究所 生体膜研究部門）

(2019.1.10)

LGI ファミリータンパク質（LGI1〜4）は，種々の脳神経疾患発症との関連が報告されている神経分泌タンパク質である。中でも LGI1 遺伝子の変異は，家族性のてんかん（Autosomal dominant lateral temporal lobe epilepsy, ADLTE）を誘発することが知られている。我々はこれまでに，ADLTE 患者が有する LGI1 遺伝子のてんかん原性変異は，LGI1 タンパク質の分泌不全や受容体分子 ADAM22，ADAM23 との結合不全を惹起することで，シナプス伝達異常を引き起こし，てんかんを誘発することを明らかにしてきた。一方で，本病態の全容解明に必要な LGI1-ADAM22（および ADAM23）複合体の分子構造基盤は明らかでなく，リガンド/受容体の結合がどのように正常なシナプス伝達に寄与しているかは不明であった。本セミナーでは，構造学的解析を基に明らかにした，LGI1-ADAM22（および ADAM23）高次複合体のシナプス架橋構造としての意義について紹介する。

また，LGI ファミリーの内，LGI3 は近年のヒト遺伝学的研究から，その変異が知的障害と関連することが報告され，高次脳機能における重要性が示唆されている。しかし LGI3 の生理的機能については十分に理解されていない。我々は LGI ファミリーと ADAM22 の結合特性を検討する過程で，LGI3 が ADAM22 とは結合せず，別の受容体分子と結合して機能する可能性を見出した。したがって，LGI3 の受容体分子や生理機能を理解することが，知的障害や関連する脳神経疾患の発症機序の解明に繋がると期待される。本セミナーでは，現在進行中である LGI3 に関する研究についても併せて紹介する。

26. From Brownian motion to brain connective network: An introduction for diffusion MRI from a technical perspective

Li-Wei Kuo（Institute of Biomedical Engineering and Nanomedicine, National Health Research Institutes, Miaoli, Taiwan）

(2019.1.18)

The complex structural organization of the white matter bundles in a living human brain can be depicted in great details with state-of-the-art diffusion MRI technique, presently the only neuroimaging modality capable of non-invasively mapping neuroanatomical architectures and structural connectivity at a macroscopic scale.

Furthermore, with the recent development of graph theoretical analysis, the topology of brain structural network can be measured and delineated in a quantitative manner. In this talk, I will introduce the theoretical background, technical consideration and computational analysis of diffusion MRI. Applications in neuroscience and clinical diagnosis will be also introduced.

27. 多角的非侵襲脳機能計測を用いた音楽家ジストニアの病態理解

上原一将（理化学研究所・脳神経科学研究センター・CBS-トヨタ連携センター・
脳リズム情報処理連携ユニット・基礎科学特別研究員）

(2019.1.23)

局所性ジストニアは脳神経系に起因する筋緊張亢進を伴う運動障害である。この中には，書字，キーボードタイピング，スポーツ動作など反復練習した動作あるいは巧緻性を伴う動作中に特異的に生じるものがある。動作の反復や長時間の練習を必要とする音楽家においてもピアノや金管楽器の演奏中に局所性ジストニア症状を呈する。しかしながら，その病態は未だ不明な点が多い。本セミナーでは課題 fMRI を用いて音楽家ジストニア患者の脳活動を明らかにし，ジストニア症状と脳活動の関連を明らかにした我々の研究を紹介する。また，TMS を用いて音楽家ジストニア患者の運動野皮質内抑制/促通機構の異常とジストニア症状の関係を示した我々の研究成果を紹介し議論を進める。これらに加え，現在進行中である非侵襲的脳刺激を用いた介入に関する研究や今後の展望について併せて紹介する。

参考文献

- Uehara K, Furuya S, Numazawa H, Kita K, Sakamoto T, Hanakawa T.　Distinct roles of brain activity and somatotopic representation in pathophysiology of focal dystonia. Human Brain Mapping. in press
- Furuya S*, Uehara K*, Sakamoto T, Hanakawa T. Aberrant cortical excitability explains the loss of hand dexterity in musician’s dystonia.　The Journal of Physiology. 596, 2397-2411, 2018 *Equal contribution to this work

28. ヒト脳ネットワークの推定と解析

福嶋　誠（情報通信研究機構・脳情報通信融合研究センター・特別研究員）

(2019.1.23)

本セミナーでは，複数の非侵襲脳計測モダリティの情報を統合してヒトの機能的脳ネットワークを推定する手法を開発した研究について，ならびに，ネットワーク分析の方法論を用いて fMRI の機能的脳ネットワークの時間変化を特徴づけた研究について紹介する。推定手法の開発では，状態空間モデリングと変分ベイズ法を応用することにより，脳磁図（MEG），fMRI，拡散 MRI データから分布電流源の活動強度と有向機能的結合を全脳

領野にわたって推定することを可能にした。時間変化の特徴づけでは, fMRI データから得られる安静時機能的脳ネットワークのモジュール構造の状態変化に着目し，状態間で機能的結合の大域的パターンがどのように変化するのかを明らかにするとともに，これらの状態変化が巨視的な脳活動のシミュレーションによってどれほど再現可能であるのかについても検証した。また発表の最後では，今後の研究の展望・方向性などについても紹介する。

＊本セミナーは日本語で行われます。

29. 神経振動の操作的研究　―認知機能との因果関係の理解へ向けて

岡崎由香（理化学研究所・脳神経科学研究センター・CBS-トヨタ連携センター・
脳リズム情報処理連携ユニット・研究員）

(2019.1.23)

認知機能と周波数特異的な神経振動との関連性が多数報告されているが，両者の因果的関係を解明する有力な手段として「神経振動の操作」が期待されている。今回の発表では MEG および TMS－EEG を用いた神経振動の操作的研究を紹介し，今後の展望について議論する。

まず α 波と注意機能との因果関係解明のため，MEG ニューロフィードバック手法によって注意課題時に発生する α 波パワーの半球間バランスを変調するように被検者を訓練し，その前後での視知覚閾値の変化を計測した。その結果，訓練後に α 波パワーが強くなった半球に対応する視野の知覚閾値が上昇した。次に自発神経振動を外部刺激により特定の周期に引き込むことを試みた。反復 TMS によって運動野と視覚野それぞれに θ, α, β リズムで刺激を行ったところ，領野ごとに異なる周波数引き込みが生じた。

これらの研究結果は神経振動が人為的に操作可能であり，その結果，認知活動が変化する事を示している。加えて，脳領野ごとの自然周波数や引き込み現象の存在は，脳活動を自然界に遍在する同期現象の一つとしてとらえ，非線形動力学の枠組みでその機構を理解することが可能であることを示唆している。

＊本セミナーは日本語で行われます。

30. マウス大脳皮質の広域カルシウムイメージングによる安静時脳活動の研究

松井鉄平（東京大学大学院医学系研究科統合生理学分野）

(2019.1.30)

安静時機能結合（resting-state functional connectivity）は非侵襲的な脳のネットワークの研究に広く使われるツールであり, 離れた脳部位における脳血流信号の相関により測られる。機能的結合の空間的なパターンは, 脳血流信号の背後にある神経活動の空間パターンを反映するものと考えられている。これまでの自発的神経活動の研究では, 大脳皮質全体を伝播する波のような活動から, 解剖学的に繋がった脳領野の瞬間的な同期発火まで, 様々な時空間パターンが見つかってきた。しかしながら，これらの様々なパターンが互いにどのような関係にあるのかは良く分かっていなかった。また，これら種々の時空間パターンが機能的結合に寄与するかどうかも不明であった。我々はこのような問題を解決するために, マウスの大脳皮質全体において, 神経活動由来のカルシウム信号と脳血流信号を高時空間解像度で同時記録する方法を開発した。本講演では, この技術を用いて得られた研究成果を中心にご紹介したい。まず我々は，二つの異なって見える活動パターン（大域的に伝播する活動の波と機能的結合の高い脳部位の瞬間的な同期活動）が実は互いに関係していることを発見した（Matsui et al., PNAS, 2016）。大域的な活動伝播の中では, それぞれが強い機能的結合で結ばれているような脳部位の組み合わせのうち, 異なる組み合わせが異なる瞬間において同期発火しており, このことは機能的結合の持つ空間的な情報は大域的な活動伝播の位相情報として埋め込まれていることを示唆する。更に最近の研究では，神経活動と脳血流のそれぞれで計測した安静時機能結合の動態

が良く対応していることを見いだした（Matsui et al., Cerebral Cortex, 2018）。時間がゆるせば，薬物投与による安静時機能結合の変化や, 安静時脳活動と感覚入力との相互作用についても触れたい。

31. 選択的回路遮断法による神経回路再編とリハビリテーション効果の検証

石田章真（名古屋市立大学大学院　脳神経生理学分野）

(2019.2.1)

脳損傷により障害される機能の再獲得には，中枢神経系の構造的・機能的再編が重要な要因となる。リハビリテーションは神経系の再編を促進すると考えられ，『リハー神経再編－機能回復』というドグマにおいて因果性および機序を明らかにすることは重要な課題であると考えられる。しかし，神経系の可塑的変化と運動機能の変化との間の因果性を直接的に証明した研究は未だ少数である。我々は内包出血モデルラットを用い，リハビリテーションとして麻痺肢を集中的に使用させ，中枢神経系に生じる可塑的変化を確認した。その結果，麻痺肢の集中使用により運動野の前肢マップの拡大および皮質赤核路の分枝が増加することを見出した。更にウイルスベクターを用いて経路選択的な機能遮断を行うことで，皮質赤核路がリハによる運動機能（リーチ動作）の回復に対し因果関係を有する事を証明した（“Ishida et al., J Neurosci., 2016”）。

最近の検討では，皮質赤核路を遮断するタイミングを変化させ，皮質脊髄路損傷後の代償における役割の経時的な変化を確認した。興味深い結果として，皮質赤核路が遮断された状態でリハを行うと，同経路に代わり皮質網様体路が増強されることが確認された。更に，これらの皮質脳幹路の機能を並列的に遮断することで，各経路の役割や相互作用などが明らかになってきた。上記の結果より，皮質脊髄路損傷後のリハビリテーションにおける神経回路のダイナミックな変化と機能代償における役割について報告する。

このセミナーは，日本語で講演をお願いしています。

32. 時を刻む脳　～生物時計中枢を司る神経回路の光イメージング解析～

榎木亮介（北海道大学 電子科学研究所 生命科学研究部門 光細胞生理研究分野 准教授）

(2019.2.4)

哺乳類の約 24 時間の概日リズムの中枢は，脳深部の視床下部に存在する視交叉上核に局在し，多様な特性を持つ約 2 万個の神経細胞が階層的なネットワークを形成しています。これまで私たちは，独自に開発した数日間の光イメージング計測法により，多数の神経細胞からカルシウムイオンや膜電位の概日リズムを捉え，視交叉上核の作動メカニズムを調べてきました。特に最近では，視交叉上核の主なリズム情報の出力先である室傍核および傍室傍核領域において，0.5−4 時間の周期で変動する細胞内カルシウムのウルトラディアンリズムを偶然見いだしました。本セミナーでは，これらの生物時計中枢の神経回路の光イメージング解析の試みのほか，現在進行中のマイクロ/ナノ加工技術を用いた単一神経細胞からの概日リズム計測の試みや，今後の研究の展望について紹介します。

参考文献

Wu Y#, Enoki RCA,#, Oda Y, Huang ZL, Honma KI, Honma S. Ultradian calcium rhythms in the paraventricular nucleus and subparaventricular zone in the hypothalamus. PNAS, 2018.

Enoki RCA, Oda Y, Mieda M, Ono D, Honma S, Honma KI. Synchronous circadian voltage rhythms with asynchronous calcium rhythms in the suprachiasmatic nucleus. PNAS, 2017.

Enoki R, Kuroda S, Ono D, Hasan MT, Ueda T, Honma S, Honma KI. Topological specificity and hierarchical network of the circadian calcium rhythm in the suprachiasmatic nucleus. PNAS. 2012 Dec 26;109(52):21498-503.

33. 広視野 2 光子顕微鏡を用いたマウス後部頭頂皮質の機能解剖

平　理一郎（University of California Santa Barbara, Bioengineering）

(2019.2.5)

マウスの後部頭頂皮質（頭頂連合野）には，意思決定，短期記憶，証拠累積，感覚運動変換，ナビゲーション，感覚情報の保持，運動履歴情報の保持，報酬履歴情報の保持，視覚聴覚体性感覚の統合，注意，姿勢知覚，など様々な高次機能があると報告されている。マウスの頭頂連合野を研究対象とすることでそうした高次機能の局所回路情報処理を詳細に調べることができると考えられている。ところが，マウスの 後部頭頂皮質 はアトラス上では 0.4 mm(AP) x 1 mm(ML) x 0.8 mm (DV)程度しかなく，これらの高次機能のすべてがこの内部で処理されているとは考えにくい。本研究は Spencer Smith 研で開発されたカスタム広視野 2 光子顕微鏡を用いたカルシウムイメージングによって，後部頭頂皮質周囲において様々な機能をマッピングすることを第一の目的として開始した。今回の発表では，広視野 2 光子イメージングの技術展開に関して簡単に紹介し，この方法を用いて取得できる数千細胞同時記録データをもとに後部頭頂皮質の機能的特徴に関して議論する。

34. 前脳基底核コリン作動性ニューロンへのシナプス伝達に対するセロトニンの作用

西條琢真（東京慈恵会医科大学　薬理学講座）

(2019.2.13)

前脳基底核は中枢神経系におけるコリン作動性ニューロンの起始核群として知られており，学習や記憶，注意，覚醒に関与し，認知症やアルツハイマー病といった神経変性疾患にも関連している。前脳基底核は脳幹の縫線核からセロトニン性線維の入力を受けているが，特に前脳基底核のシナプス伝達に対するセロトニンによる修飾機構は解明されていなかった。そこで，幼若ラットを用いて電気生理学的手法により，前脳基底核コリン作動性ニューロンへの抑制性シナプス伝達および興奮性シナプス伝達に対するセロトニンの作用，関与する受容体サブタイプおよび修飾のイオン機構について研究を行った。そして，前脳基底核コリン作動性ニューロンに対する GABA の放出がシナプス前終末に存在する 5-HT1B 受容体の活性化により抑制されること，この抑制作用はシナプス前終末への Ca^{2+}流入に非依存的であり，4-AP 感受性の K^{+}チャネルが関与していることを明らかにした。また，セロトニンが前脳基底核コリン作動性ニューロンへの興奮性シナプス伝達を抑制し，その抑制作用には 5-HT1A および 5-HT1B 受容体が関与していること，その抑制機序には P/Q 型 Ca^{2+}チャネルの関与や，シナプス後細胞の機構も関与していることが示唆された。

＊本セミナーは日本語で行われます。

35. Modulation of physiological processes by temperature through TRPV4 channel activity

Sandra Derouiche（生理学研究所 細胞生理研究部門 博士研究員）

(2019.3.1)

要旨なし

36. Optic ataxia: beyond the dorsal stream cliché

Yves Rossetti（Lyon Neuroscience Research Center・Professor）

(2019.3.6)

This talk will challenge the alleged double-dissociation between optic ataxia and visual agnosia or the use of optic ataxia to argue for a specific vision-for-action occipito- posterior parietal stream. Clinical cases reveal that perceptual deficits have been long shown to accompany ataxia. Importantly the term ataxia appears to be misleading as patients exhibit a combination of visual and non-visual perceptual deficits, attentional deficits and visuo-motor guidance deficits, which are confirmed by experimental approaches. Three major features of optic ataxia are described. A spatial feature whereby the deficits exhibited by patients appear to be specific to peripheral vision, akin to the field-effect.

Visuo-motor field examination allows to quantify this deficit and reveals that it consists of a highly reliable retinocentric hypometria. A temporal feature whereby these deficits are exacerbated under temporal constraints, i.e. when attending to dynamic stimuli. These two aspects cumulate in a situation where patients have to quickly respond to a target presented in peripheral vision that is experimentally displaced upon movement onset. In addition to the field-effect, a motor feature, also called hand-effect can be described in conditions where the hand is not visible. Spatial and temporal aspects as well as field- and hand-effects may rely on several posterior parietal modules that remain to be precisely identified both anatomically and functionally. It is concluded that optic ataxia is not a visuo-motor deficit and there is no dissociation between perception and action capacities in optic ataxia, hence a fortiori no double dissociation between optic ataxia and visual agnosia.

37. A novel role of tetrahydrobiopterin in cardiovascular system

Hyoung Kyu Kim（Cardiovascular and Metabolic Disease Center (CMDC). Inje University）

(2019.3.27)

Diabetic cardiomyopathy (DCM) is a major cause of mortality and morbidity in diabetes mellitus patients. Although tetrahydrobiopterin (BH4) shows therapeutic potential as an endogenous target in the cardiovascular system, its effect on myocardial cells and mitochondria in DCM and the underlying mechanism are unknown.

We tested whether BH4 deficiency is involved in DCM and if supplementation restores mitochondrial and heart function in late-stage DCM. The transcription of three BH4 synthesis-regulating genes was compared in cardiac tissues of patients with low or normal ejection fractions (EFs).

Forty-eight-week-old type 2 diabetic rats were divided into BH4 treatment and control groups. BH4 levels and the functions of heart and mitochondria were assessed in diabetic or control rats. Sepiapterin reductase knockout (Spr-/-) mice, a model of BH4 deficiency, were used to determine the mechanism of the therapeutic effect of BH4 on DCM.

Relative to control rats, diabetic rats, as well as Spr-/- mice, had cardiac contractility, hypertrophic remodeling, and mitochondrial dysfunction, which recovered with BH4 supplementation. BH4 directly bound to CaMKK2 and activated downstream pathways in cardiomyocytes.

BH4 is a novel therapeutic target for recovering the left ventricular contractility and structural remodeling in DCM via direct binding and activation of CaMKK2 signaling pathways.

38. Physiological role of AMPK alpha activity inhibitory protein in heart and mitochondria

Jin Han (Department of Physiology, College of Medicine, Inje University)

(2019.3.27)

Background and Purpose: Cereblon (CRBN) is an interacting protein with large-conductance calcium-activated potassium channels. A mutation of CRBN causes a mild type of mental retardation in humans. While, recent study suggested its novel function as AMPK inhibitor via direct interaction with AMPK a1 subunit. Disruption of CRBN gene enhanced hepatic AMPK activity and prevents high-fat diet induced obesity and insulin resistance in mice. The aim of study is to figure out the effect of CRBN KO in heart and its mitochondrial function.

Method and Results: Eight weeks of Control ($CRBN^{+/+}$) and CRBN KO ($CRBN^{-/-}$) models were examined their body weight, heart rate and heart/body ratio. In vivo cardiac functions of animals were assessed by echocardiography. To evaluate mitochondrial function of those animals, cardiac mitochondria of $CRBN^{+/+}$ and $CRBN^{-/-}$ were isolated then examined their ATP contents and ATP production rate, ROS production rate, oxygen consumption rate (OCR) and membrane potential ($\Delta\Psi m$).

As results, the body weight, heart weight and heart/body ration were not significantly different between $CRBN^{+/+}$ and $CRBN^{-/-}$ mice. Echocardiography showed enhanced cardiac contractility in $CRBN^{-/-}$ mice based on increased ejection fraction (%) and fractional shortening (%). In their mitochondria, basal ATP contents and substrate/ADP stimulated ATP production rate were significantly higher in $CRBN^{-/-}$ mice than $CRBN^{+/+}$. In addition, basal H2O2 level and rotenone induced ROS production rates were significantly lower in $CRBN^{-/-}$ mice than $CRBN^{+/+}$. CRBN KO mice showed higher single cell contractility with higher Ca^{2+} transient amplitude in isolated left ventricular cardiac myocytes.

Conclusion: Our results suggested that CRBN is an important mitochondrial functional regulator which link cytosol to mitochondrial energy metabolic signaling.

Keyword: Cereblon, cardiac contractility, mitochondrial energy metabolism.

【大学院特別講義】

大学院特別講義

1. 第 214 回（2018.4.18）
   演者：システム脳科学研究領域　生体システム研究部門　南部　篤　教授
   演題：大脳皮質―大脳基底核ループの機能と異常

2. 第 215 回（2018.5.9）
   演者：基盤神経科学研究領域　生体恒常性発達研究部門　鍋倉淳一　教授
   演題：神経回路の長期再編：ニューロン―グリア連関

3. 第 216 回（2018.6.13）
   演者：生体機能調節研究領域　細胞生理研究部門　曽我部隆彰　准教授
   演題：感覚受容の分子基盤と生理応答

4. 第 217 回（2018.7.25）
   演者：システム脳科学研究領域　統合生理研究部門　柿木隆介　教授
   演題：ヒトの顔認知機構の解明

5. 第 218 回（2018.8.8）
   演者：分子細胞生理研究領域　神経機能素子研究部門　立山充博　准教授
   演題：G タンパク質共役型受容体シグナリングの FRET 解析

6. 第 219 回（2018.10.31）
   演者：生体機能調節研究領域　細胞構造研究部門　古瀬幹夫　教授
   演題：上皮における傍細胞輸送の制御

7. 第 220 回（2018.11.14）
   演者：生体機能調節研究領域　心循環シグナル研究部門　西田基宏　教授
   演題：心臓の可塑性と機能リモデリング

8. 第 221 回（2018.12.5）
   演者：分子細胞生理研究領域　生体膜研究部門　深田正紀　教授
   演題：パルミトイル化サイクルによるシナプス機能制御

9. 第 222 回（2019.1.9）
   演者：行動・代謝分子解析センター　ウィルスベクター開発室　小林憲太　准教授
   演題：脳機能解析のための遺伝子操作技術

10. 第 223 回（2019.2.6）
    演者：システム脳科学研究領域　心理生理学研究部門　福永雅喜　准教授
    演題：超高磁場 MRI を用いた脳構造・機能の解析

生理学研究所年報　第４０巻

発　　行　　2019 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:https://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