自 然 科 学 研 究 機 構

生理学研究所年報

第41巻

2020

（2019年度業務報告書）

はじめに

生理学研究所年報第 41 巻をここに刊行し、2019（平成 31）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。2019 年度におきましても、コミュニティ研究者の皆様のご協力と、所員一同の努力によって、多数（166 件；法人化以前の約２倍）の共同研究・共同利用実験を行い、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。

2020 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（2019 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 …… 18
基盤神経科学研究領域 …… 25
システム脳科学研究領域 …… 34
個 別 研 究 …… 52
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 …… 63
動物資源共同利用研究センター …… 67
技　術　課 …… 71

研 究 発 表

ａ．発 表 論 文 …… 85
ｂ．学 会 発 表 …… 101

一般共同研究報告 …… 133

計画共同研究報告 …… 161

超高圧電子顕微鏡共同利用実験報告 …… 205

生体機能イメージング共同利用実験報告 …… 213

研究会報告 …… 241

国際研究集会 …… 407

各種シンポジウム

2019（令和元）年度生理研国際シンポジウム …… 437

トレーニングコース

第 30 回生理科学実験技術トレーニングコース …… 445

セミナー報告 …… 449

大学院特別講義 …… 463

職員（2019年度）

所　　長　鍋倉淳一（2019.4.1～）

【分子細胞生理研究領域】

神経機能素子研究部門

教　　授　久保義弘
准教授　立山充博
助　　教　下村拓史
特任助教　陳　以珊
NIPS リサーチフェロー　ANDRIANI, Rizki Tsari（2019.10.1～）
大学院生　ANDRIANI, Rizki Tsari（～2019.9.30）
〃　平澤輝一
〃　LIU, Chang
技術支援員　内藤知津江

生体膜研究部門

教　　授　深田正紀
准教授　深田優子
助　　教　横井紀彦
特任助教　宮崎裕理（2019.4.1～）
総研大生　江川孝彦（2019.4.1～）
技術支援員　鈴木由美
〃　渡邊聖愛
〃　古川佐千子
〃　原　早苗（2020.3.1～）

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（～2020.3.31）
大学院生　NGUYEN, Thanh Phong
技術支援員　渡邊美香
〃　古瀬京子
〃　今井篤子（～2019.7.31）
〃　服部宣子（～2019.7.31）

細胞生理研究部門

教　　授　富永真琴
准教授　曽我部隆彰
助　　教　齋藤　茂
特任助教　DEROUICHE, Sandra
研究員　MD. RAFIQUL, Islam（～2020.3.31）
〃　齋藤くれあ
〃　李　天邦（～2020.3.31）
〃　水藤拓人（2019.4.1～）
〃　馮　暁娜（2019.10.1～）
特任研究員　岡田俊昭（2019.4.1～2019.8.31）
日本学術振興会特別研究員　宇治澤知代（2019.4.1～）
特別共同利用研究員　笹島沙知子（2019.8.1～）
大学院生　馮　暁娜（～2019.9.30）
〃　邓　香梅
〃　NGUYEN, Thi Hong Dung
〃　DEVECI, Aykut（～2019.10.1）
〃　LEI, Jing（～2019.10.1）
技術支援員　福岡慶子
〃　重本久実（～2019.5.31）
〃　橋本照美
〃　岡田俊昭（2019.9.1～）
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（～2019.4.30）
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
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（～2020.3.31）

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
NIPS リサーチフェロー　傅　欧（2019.4.7～）

特別協力研究員	堀　尾　修　平
特別訪問研究員	田　中　義　将（～2019.9.30）
大 学 院 生	RASHID, Misbah
〃	RATTANAJEARAKUL, Nawarat（2019.10.1～）
技術支援員	林　　めぐみ
〃	佐　藤　香　織
〃	藤　原　香菜子（～2019.8.31）
〃	乙　部　晶　代（2019.12.2～）

超微形態研究部門

客 員 教 授	大　野　伸　彦（2019.4.1～）

【基盤神経科学研究領域】

大脳神経回路論研究部門

教　　授	川　口　泰　雄（～2020.3.31）
准　教　授	窪　田　芳　之
助　　教	大　塚　　岳
〃	森　島　美絵子（～2020.3.31）
NIPS リサーチフェロー	AGAHARI, Fransiscus Adrian（～2020.3.31）
研　究　員	ALSAYED, Alsayed Abdelhamid Mohamed（～2019.6.30）
〃	AHMED, Mohammed Youssef Saleh（2019.9.16～2020.2.29）
日本学術振興会特別研究員	孫　　在　隣（～2020.3.31）
大 学 院 生	任　　翔　壎（～2020.3.31）
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

生体恒常性発達研究部門

教　　授（併任）	鍋　倉　淳　一
准　教　授	鳴　島　　円
特任准教授	揚　妻　正　和
助　　教	江　藤　　圭（～2020.3.31）
特 任 助 教	堀　内　　浩
研　究　員	竹　田　育　子（～2020.3.31）
〃	CHEUNG, Dennis Lawrence（～2019.10.31）
特任研究員	CHEUNG, Dennis Lawrence（2019.11.1～）
特別訪問研究員	中　村　佳　代（～2020.3.31）
特別共同利用研究員	佐　藤　　彩
大 学 院 生	春　若　航一路（～2020.3.31）
技術支援員	大　場　多津子
〃	市　橋　結　貴
〃	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（～2019.5.31）
〃	林　　健　二
特 任 助 教	木　村　梨　絵
〃	米　田　泰　輔
大 学 院 生	山　本　真理子
〃	唐　木　智　充
〃	呉　　嘉　豪
技術支援員	石　神　久美子
〃	大　村　幸　恵
事務支援員	比　賀　昌　子

バイオフォトニクス研究部門

教　　授	根　本　知　己（2019.10.1～）
准　教　授	榎　木　亮　介（2019.9.1～）
助　　教	大　友　康　平（2019.12.1～）
特 任 助 教	堤　　元　佐（2019.10.1～）
〃	石　井　宏　和（2019.10.1～）
特別共同利用研究員	山　口　和　志（2019.11.1～）
〃	安　宅　光　倫（2019.11.1～）
〃	高　橋　泰　伽（2019.11.1～）
〃	廣　　蒼　太（2019.11.1～）
〃	中　田　開　人（2019.11.1～）
技術支援員	土　屋　加　奈（2019.11.1～）

【システム脳科学研究領域】

認知行動発達機構研究部門

教　　授	磯　田　昌　岐
特任准教授	郷　　康　広
〃	戸　松　彩　花
助　　教	吉　田　正　俊（～2019.12.31）

助　教	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
特任専門員	柴田あゆみ
〃	山西ユミ
技術支援員	高田和子
〃	城地智子

生体システム研究部門

教　授	南部篤
助　教	畑中伸彦
〃	知見聡美
〃	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
〃	西條琢真（2019.4.1～2020.3.31）
〃	WONGMASSANG, Woranan（2019.10.1～）
〃	POLYAKOVA, Zlata（2019.10.1～）
日本学術振興会特別研究員	菊田里美（2019.4.1～）
大学院生	WONGMASSANG, Woranan（～2019.9.30）
〃	POLYAKOVA, Zlata（～2019.9.30）
〃	NONDHALEE, Pimpimon
技術支援員	磯谷ひとみ
〃	粟村香奈子
〃	鈴木規子
〃	宮本香奈

神経ダイナミクス研究部門

教　授	北城圭一
助　教	上原一将（2019.5.1～）
〃	岡崎由香（2019.7.1～）
特任助教	横山寛（2019.8.1～）
技術支援員	佐藤明子（2019.6.16～）

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
〃	郷田直一（2019.4.1～）
特任助教	菅原翔（～2019.9.30）
〃	中川恵理
〃	山本哲也（2019.10.1～）
NIPS リサーチフェロー	濱野友希
研究員	山本哲也（～2019.9.30）
〃	宮田紘平（～2019.8.31）
大学院生	吉本隆明
〃	丸山修紀
〃	南條啓孝
〃	小山雄太郎
特任専門員	木村玲子
技術支援員	竹中邦子
〃	岩瀬恵

【個別研究】

個別研究（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（～2020.3.31）

個別研究（山肩研究室）

助　教	山肩葉子

個別研究（佐竹研究室）

助　教	佐竹伸一郎

【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

特任助教（併任）	西尾亜希子（2019.4.1～）

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

NBR事業推進室

教　授（併任）	南部篤
事務支援員	岡本友紀

流動連携研究室

国際連携研究室

【脳機能計測・支援センター】

センター長（併任）　磯　田　昌　岐（2019.4.1～）

形態情報解析室

准　教　授	村　田　和　義
研　究　員	富　田　雅　人（～2020.3.31）
〃	香　山　容　子
〃	向中野　信　一
〃	BURTON-SMITH, Ray（2019.4.1～）
大 学 院 生	角　田　　潤
〃	千　原　あかね（2019.4.1～）
〃	渡　邊　凌　人（2019.4.1～）
技術支援員	山　田　幸　子
〃	加　藤　三津子（～2019.8.31）
事務支援員	河　口　美　江

多光子顕微鏡室

准　教　授	村　越　秀　治
博士研究員	柴　田　明　裕
技術支援員	恩　田　麻　紀
〃	佐　藤　愛　子

電子顕微鏡室

教　　授（併任）	古　瀬　幹　夫
准　教　授（併任）	村　田　和　義
〃　　（併任）	窪　田　芳　之
特 任 助 教	宋　　到　弘
技術支援員	松　本　真　実（2019.8.1～2020.3.31）
〃	今　井　篤　子（2019.8.1～）
〃	服　部　宣　子（2019.8.1～）

生体機能情報解析室

教　　授（併任）	定　藤　規　弘
准　教　授	近　添　淳　一
研　究　員	PHAM, Quang Trung
技術支援員	丹　羽　開　紀
〃	石　崎　龍之介（～2019.8.30）
〃	加　藤　征　広（～2020.3.18）
〃	畔　柳　伊　吹（2019.5.16～）
〃	松　倉　柊　平（2019.7.1～2019.9.15）
〃	石　黒　太　志（2019.8.1～）
〃	西　山　翔　太（2019.9.1～）
〃	成　田　泰　基（2019.9.1～）

【行動・代謝分子解析センター】

センター長（併任）　富　永　真　琴（2019.4.1～）

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	及　川　真　実（2019.4.1～）
特別共同利用研究員	長　江　麻佑子（2019.4.1～）
〃	岩　月　研　祐（2019.8.1～）
技術支援員	山　内　恵　子
〃	橋　本　　恵（～2019.11.30）
〃	吉　田　史　香

代謝生理解析室

教　　授（併任）	箕　越　靖　彦

【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）	川　口　泰　雄（2019.4.1～2020.3.31）

【研究力強化戦略室】

教　　授（併任）	南　部　　篤（2019.4.1～）
〃　　（併任）	久　保　義　弘
〃　　（併任）	深　田　正　紀
〃　　（併任）	箕　越　靖　彦
教　　授（併任）	吉　村　由美子
特 任 教 授	浦　野　　徹
特任准教授	丸　山　めぐみ
特 任 助 教	西　尾　亜希子（2019.4.1～）
特任専門員	内　山　千保美
〃	岡　安　友　美
事務支援員	安　井　亜　紀

事務支援員　太　田　美穂子（2019.4.1～）

【動物資源共同利用研究センター】

センター長（併任）　箕　越　靖　彦
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
〃　浦　川　裕　乃
〃　本　多　千　佳
事務支援員　水　谷　絵里子（～2019.5.31）
〃　重　本　久　美（2019.7.1～）

【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（～2019.6.30）
〃　松　倉　さゆり（2019.11.5～）

【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）

【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

生体機能調節研究領域　技術係

係　長　福　田　直　美（2019.4.1～）
主　任　石　原　博　美
係　員　加　納　雄一朗（2019.4.1～）
〃　平　山　祐　哉（2020.3.1～）

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　佐　藤　茂　基（2019.4.1～）
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

脳機能計測･支援　技術係

係　長　伊　藤　嘉　邦
主　任　山　田　　元

情報処理･発信　技術係

主　任　村　田　安　永
係　員　稲　垣　茉利子（2019.4.1～）

動物実験　技術係

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

行動･代謝分子解析　技術係

係　長　齊　藤　久美子（～2019.9.30）
主　任　三　寶　　誠

研究基盤　技術係

係　長　永　田　　治（2019.4.1～）
主　任　森　　将　浩

研究力強化戦略室

特任専門員　内　山　千保美
特任専門員　岡　安　友　美

技術支援員・事務支援員

技術支援員　粟　村　香奈子
〃　石　神　久美子
〃　磯　谷　ひとみ
〃　市　川　　修
〃　犬　塚　小百合
〃　岩　瀬　悦　子
〃　岩　瀬　　恵
〃　浦　川　裕　乃

技術支援員	大　西　皆　子
〃	大　場　多津子
〃	小　原　正　裕
〃	加　藤　三津子（～2019.9.30）
〃	小　林　明　子
〃	佐　藤　明　子（2019.6.16～）
〃	城　地　智　子
〃	鈴　木　由　美
〃	土　屋　加　奈（2019.11.1～）
〃	内　藤　知津江
〃	新　関　奈央子
〃	林　　めぐみ
〃	廣　岡　裕　子（～2019.4.30）
〃	福　岡　慶　子
〃	藤　森　仁　美
〃	不　退　久　恵
〃	本　多　千　佳
技術支援員	松　永　ゆう子
〃	水　野　みどり
〃	山　田　幸　子
〃	渡　邊　美　香
事務支援員	小　澤　祐　子
〃	小　林　文　絵
〃	坂　本　　愛
〃	佐　藤　明　子（～2019.6.15）
〃	重　本　久　実（2019.7.1～）
〃	柴　田　利　江
〃	芝　村　賞　子
〃	杉　山　朋　美
〃	高　松　　香
〃	長　尾　法　子
〃	水　谷　絵里子（～2019.5.31）
〃	安　井　亜　紀

【研究活動報告】

研究活動報告

〔　目　　次　〕

分子細胞生理研究領域

神経機能素子研究部門 ····· 10
概　要
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）
2 ポア型カリウムチャネル THIK-2 の G タンパク質共役型受容体による活性化
（立山充博，久保義弘）
Two-pore Na^+ channel 3（TPC3）の 2 番目の膜電位センサードメインの機能解析
（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-ShanChen），劉　暢（ChangLiu），立山充博，久保義弘，Izhar Karbat，Eitan Reuveny，上杉志成）
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（ChangLiu），陳　以珊（I-ShanChen），山本友美，久保義弘，Ruth Murrell-Lagnado）
生体膜研究部門 ····· 13
概　要
ADAM22 を安定化させる分子機構の解明
（横井紀彦，深田優子，深田正紀）
ADAM22 と PSD-95 の結合の生理的意義の解明
（深田優子，平野瑶子，稲橋宏樹，深田正紀）
LGI ファミリー蛋白質の生化学的な機能分類
（宮崎裕理，深田優子，深田正紀）
PSD-95 の脱パルミトイル化酵素 ABHD17 の性状解析
（江川孝彦，宮崎裕理，深田優子，深田正紀）
HIV-1 の感染受容体 CCR5 のパルミトイル化修飾/阻害機構の解明
（Franck Perez，深田優子，深田正紀）
Peroxiredoxin-5 の脱パルミトイル化酵素，ABHD10 の同定
（Bryan C Dickinson，深田優子，深田正紀）
DKK1 受容体 CKAP4 と LRP6 のパルミトイル化による局在制御機構の解明
（菊池　章，深田優子，深田正紀）
自己免疫性辺縁系脳炎の患者に由来する抗 LGI1 モノクローナル抗体の評価
（Harald Prüss，深田優子，深田正紀）
神経発達・再生機構研究部門 ····· 16
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 ····· 18
概　要
上皮バリアの構築機構の解析
（大谷哲久，古瀬幹夫）

上皮細胞の細胞間接着構造の恒常性維持機構の解析
（Thanh Phuong Nguyen，大谷哲久，藤森俊彦，古瀬幹夫）
ショウジョウバエ腸管の恒常性における上皮細胞間隙バリアの役割
（泉　裕士，古瀬幹夫）
神経組織におけるトリセルラータイトジャンクションの役割
（菅原太一，加納雄一朗，古瀬幹夫，三竇　誠，後藤哲平，平林真澄）
細胞生理研究部門 …… 19
概　要
生息環境と連動した温度センサー分子の機能変化の解明
（齋藤　茂，富永真琴）
熱帯の蚊と温帯の蚊の TRPA1 の遺伝子クローニングと機能解析
（Tianbang Li，齋藤くれあ，齋藤　茂，富永真琴）
新規 TRPM3 バリアントの同定と機能解析
（福田直美，富永真琴）
心循環シグナル研究部門 …… 21
概　要
微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，西田基宏）
イブジラストによる TRPC3-Nox2 複合体形成阻害を介した筋萎縮抑制
（冨田拓郎，田中智弘，西田基宏，西山和宏）
栄養飢餓による心筋萎縮の分子メカニズム
（田中智弘，小田紗矢香，西田基宏，Suhaini Sudi，Caroline Sunggip）
TRPC6 チャネルによる平滑筋細胞の表現型調節機構
（冨田拓郎，西田基宏）
生殖・内分泌系発達機構研究部門 …… 23
概　要
甘味およびそれに伴う心地よさを選択的に伝える神経細胞の同定
（傅　欧，近藤邦生，箕越靖彦，中島健一朗，岩井　優，三坂　巧）
空腹に伴い味覚を調節する神経ネットワークの発見
（傅　欧，箕越靖彦，中島健一朗，石川理子，吉村由美子，岩井　優，成川真隆，石井健太郎，村田　健，東原和成，三坂　巧）
超微形態研究部門 …… 24
概　要
細胞小器官の動態の制御メカニズムとその役割
（大野伸彦）
髄鞘形成・機能・疾患の構造化と制御
（大野伸彦）

基盤神経科学研究領域

大脳神経回路論研究部門 …… 25
概　要
ラットの前頭皮質における視床前腹側核（VA）由来神経終末のシナプスターゲット構造
（窪田芳之，畑田小百合，江川尚美，北　啓子，市川裕美，孫　在隣，川口泰雄，倉本恵梨子）
皮質運動野におけるオシレーション活動
（大塚　岳，川口泰雄）
前頭皮質のソマトスタチン細胞への興奮性入力様式
（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）
前頭皮質 5 層錐体細胞の 1 層投射多様性
（任　翔壎，森島美絵子，川口泰雄）

生体恒常性発達研究部門 27
概　要
In Vivo 多光子顕微鏡を用いた大脳皮質神経回路再編機構の解析
（春若航一郎，堀内　浩、揚妻正和，和氣弘明，鍋倉淳一）
慢性疼痛モデルマウスにおける大脳皮質神経回路再編
（竹田育子，金　善光，江藤　圭，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）
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 28
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）
視覚皮質における細胞タイプ特異的な神経回路形成のダイナミクス
（米田泰輔，吉村由美子）
バイオフォトニクス研究部門 30
概　要
概日リズム中枢を司る神経回路の光イメージング解析
（榎木亮介，廣　蒼太，根本知己，金　尚宏，深田吉孝，本間研一，本間さと，江川　潔，繁富（栗林）香織，小林憲太）
二光子スピニングディスク共焦点顕微鏡の技術開発と生物学応用
（大友康平，中田開人，安宅光倫，石井宏和，堤　元佐，榎木亮介，根本知己，村田　隆，長谷部光泰，中村咲耶，泉　正範，上原亮太，木村　暁，木村幸太郎，中山博史）
生体組織表面形状と屈折率差の補正による二光子顕微鏡の深部可視化能向上
（山口和志，大友康平，堤　元佐，根本知己，小澤祐市，佐藤俊一，猪瀬朋子，雲林院宏，山本　啓，青木一洋）
高分子超薄膜の蛍光バイオイメージング応用
（髙橋泰伽, 大友康平, 石井宏和, 根本知己, 揚妻正和, 鍋倉淳一, 張　宏, 岡村陽介, 川上良介, Stéphane Bancelin, U. Valentin Nägerl）
高い二光子吸収断面積値を有する有機蛍光色素の探索
（大友康平，石井宏和，根本知己，喬　琳，有澤光弘，鈴木健之）
画像解析による新規超解像顕微鏡法 SRRF の適用条件検証
（堤　元佐，根本知己）
細胞質分裂を促進する新規カタニン係留機構の解明
（堤　元佐，大友康平，根本知己，佐々木武馬，小田祥久，村田　隆，長谷部光泰）
先端光技術を駆使した二光子高速超解像イメージング法の研究
（石井宏和，大友康平，堤　元佐，榎木亮介，根本知己，横山弘之，佐藤俊一，小澤祐市，田辺綾乃，栗原　誠，橋本信幸）

システム脳科学研究領域

認知行動発達機構研究部門 34
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，小松三佐子，山森哲雄，兼子峰明，岡野栄之）
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）
素材の多感覚的知覚の獲得に関与する神経機構
（横井　功）
他者への報酬は脳内でどのように処理されるのか
（植松明子，則武　厚，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）
大脳皮質から小脳への運動情報伝達機構
（知見聡美，Waranan Wongmassang，南部　篤）
光遺伝学によるサル一次運動野の活性化
（佐野裕美，知見聡美，小林憲太，深田優子，深田正紀，南部　篤，渡邊秀典，虫明　元）
大脳皮質から線条体への 2 種類の入力経路の解明
（佐野裕美，小林憲太，南部　篤，加藤成樹，小林和人）
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，知見聡美，南部　篤，吉岡　望，竹林浩秀，堀江正男）
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，長谷川　拓，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）
神経ダイナミクス研究部門 ･･･ 42
概　要
TMS-EEG 同時計測による視覚的注意のゲーティングダイナミクスの解明
（岡崎由香，水野佑治，北城圭一）
反復 TMS-EEG 同時計測による脳波引き込みダイナミクスの解明
（岡崎由香，中川佑美，水野佑治，花川　隆，北城圭一）
両手協調運動と大脳半球間の相互作用
（上原一将，北城圭一）
てんかん発作の階層的神経ダイナミクスと情報流
（横山　寛，松本理器，北野勝則，青柳富誌生，松橋眞生，菊池隆幸，國枝武治，池田昭夫，北城圭一）
線形時系列モデルのベイズ的逐次パラメタ推定による脳機能ネットワークの時系列推定
（横山　寛，北城圭一）
映像酔いと脳波ダイナミクスに関する研究
（Yue Wei，岡崎由香，　Richard H. Y. So，Winnie C. W. Chu，北城圭一）
情報理論的アプローチによる TMS-EEG データの有向情報流の検出
（Song Ye，北城圭一，北野勝則）
心理生理学研究部門 ･･･ 45
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，定藤規弘，楊　家家，于　英花，Laurentius Huber）
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，Paul M. Thompson，橋本亮太）

リアルタイムでのアイコンタクトの神経基盤：Dual fMRI および Dual 脳波-fMRI を用いた研究
（小池耕彦，中川恵理，角谷基文，定藤規弘）
共同注意から共感へ：Dual MRI を用いた研究
（小池耕彦，田邊宏樹，中川恵理，角谷基文，定藤規弘）
視覚的特徴共有の神経基盤：Dual MRI を用いた研究
（小池耕彦，田邊宏樹，中川恵理，角谷基文，定藤規弘）
脳機能種間比較に向けた非ヒト霊長類用 MRI 解析環境の開発
（郷田直一，福永雅喜，定藤規弘）
腹側中脳の運動準備活動と運動出力との関連性
（菅原　翔，中山義久，山本哲也，濱野友希，福永雅喜，定藤規弘，西村幸男）
最新ヒト脳機能マップとレガシーMRI データを結び付けるツールの構築に向けて
（山本哲也，福永雅喜，定藤規弘）
相互模倣に関わる神経基盤
（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）
聴覚運動協調における予測能力に関わる神経基盤
（宮田紘平，山本哲也，小池耕彦，菅原　翔，福永雅喜，定藤規弘）
自己と他者の視点からの感情的状況想起に関わる神経基盤
（宮田紘平，大星有美，小池耕彦，定藤規弘）
両手を使った手指系列運動学習の検討: 7 テスラ fMRI
（濱野友希，菅原　翔，福永雅喜，定藤規弘）
前頭眼窩皮質で表象される味覚体験
（吉本隆明，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，小坂浩隆，中田正範，矢田俊彦，近添淳一，定藤規弘）
7 テスラ MRI を用いたヒト脳内神経伝達物質の反復計測法の確立
（丸山修紀，福永雅喜，定藤規弘）
社会的意思決定における 2HBT1 効果
（南條啓孝，小池耕彦，宮田紘平，定藤規弘）
機能的自己符号化器による fMRI データからの認知機能の潜在ダイナミクス抽出
（小山雄太郎，加藤征広，平山淳一郎，地村弘二，近添淳一，定藤規弘）

個別研究

個別研究（大橋研究室）…… 52
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）…… 52
概　要
イトマキヒトデ卵母細胞の卵成熟時の膜電流変化と Ca 遊離機構の発達の研究
（毛利達磨，経塚敬一郎）
エダアシクラゲの受精時電位変化と細胞内 Ca 変化
（毛利達磨，出口竜一）
メダカ卵受精時の細胞内 Ca 変化の測定
（毛利達磨，春見達郎）
個別研究（山肩研究室）…… 54
概　要
加齢と海馬依存性記憶，カルモジュリンキナーゼ II 活性
（山肩葉子，柳川右千夫，井本敬二）
個別研究（佐竹研究室）…… 54
概　要
エタノールの EAAT 機能亢進作用：分子的基盤の検討
（佐竹伸一郎）

AHC/FHM2 病態モデル *Atp1a2*$^{+/-}$の扁桃体における抑制性シナプス伝達の増強
（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
新規巨大ウイルス「メドゥーサウイルス」の構造をクライオ電子顕微鏡で解析
（ソンチホン，香山容子，村田和義，武村政春，望月智弘，緒方博之）
光化学系 II-集光装置超複合体の立体構造を決定
（ソンチホン，村田和義，渡邉顕正，皆川　純，柳　振峰）

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，小杉貴洋，恩田麻紀，佐藤愛子，古賀信康，鍋倉淳一）

生体機能情報解析室 ····· 61
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
（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，地村弘二，山本哲也，定藤規弘，近添淳一）
Tracing the representational architecture of subjective valuation with fMRI-neural network correspondence mapping
（Trung Quang Pham，Takaaki Yoshimoto，Haruki Niwa，Haruka Takahashi，Ryutaro Uchiyama，Adam K Anderson，Norihito Sadato and Junichi Chikazoe）

行動・代謝分子解析センター

ウィルスベクター開発室 ····· 63
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 ····· 64
概　要

Prdm14-H2BVeunus ノックインラットを用いた始原生殖細胞の発生動態の解析
（小林俊寛，平林真澄）

代謝生理解析室 ･･ 64

概　要

Thermal gradient ring を用いた温度感受性 TRP チャネル欠損マウスの温度依存性行動の解析
（笹島沙知子，宇治澤知代，富永真琴）

プリン作動性 P2Y6 受容体による心循環機能制御
（津田　誠，齊藤秀俊，　Caroline Sunggip，下田　翔，西村明幸，田中智弘，西田基宏）

糖尿病では WWP1/KLF15 経路を介して骨格筋量が減少する
（平田　悠，野村和弘，岡田裕子，細岡哲也，小川　渉，小林憲太，今村道博，武田伸一，箕越靖彦，岡本士毅）

ジストニア様症状マウスの筋電図解析
（佐野裕美，知見聡美，南部　篤，吉岡　望，竹林浩秀，堀江正男）

動物資源共同利用研究センター ･･67

概　要

管理運営

研　究

教　育

社会貢献

技術課 ･･71

概　要
（大河原　浩）

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（旧統合生理研究部門）
（永田　治，髙橋直樹）

(2) 磁気共鳴装置（心理生理学研究部門）
（伊藤嘉邦，岩瀬　恵）

②脳機能計測･支援センター

(1) 形態情報解析室
（山田　元，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，稲垣茉利子）

④岡崎共通研究施設

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

分子細胞生理研究領域

神経機能素子研究部門

【概要】

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

今年度，これまでに引き続き，神経機能素子の変異体やキメラ分子の作成，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，HEK293T 細胞等の遺伝子発現系における機能発現の再構成を行った。また，2 電極膜電位固定法, パッチクランプ等の電気生理学的手法, 細胞内 Ca^{2+} イメージング・全反射照明下での FRET 計測・蛍光非天然アミノ酸を用いた膜電位固定下蛍光変化測定等の光生理学的手法により，その分子機能調節と構造機能連関の解析を行った。また，生理研内外の研究室との共同研究により，遺伝子改変マウスの作成と行動解析，免疫組織化学的解析，赤外分光による膜タンパク質の構造変化の解析等も行っている。以下に，今年度実施した研究課題とその内容の要約を記す。

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。

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。今後の方向性として，得られた Anap 変異体をさらに利用し，上記で提案した P2X2 受容体の複雑な膜電位依存的ゲーティングを開始する重要な残基ペアとしての Phe44 と Ala337 に焦点を当てた解析を行う。Tm (transient metal ion) FRET と呼ばれる手法は，Anap を蛍光のドナー，金属イオンをアクセプターとして，イオンチャネルの動的構造変化を解析するものである。 現在，システイン残基に結合する Cu^{2+}-TETAC をアクセプターとして利用する TmFRET 実験に適する変異体候補を同定するためのスクリーニングを進めている。

2 ポア型カリウムチャネル THIK-2 の G タンパク質共役型受容体による活性化

立山充博，久保義弘

THIK-2 は 4 つの膜貫通部位と 2 つのポア領域を有するカリウムチャネルであり，相同性の高い THIK-1 と同一グループに分類されている。我々は，THIK-1 が G タンパク質共役型受容体（GPCR）である Gi/o 共役型受容体により活性化することを報告し，さらに，Gq 共役型受容体によっても活性化されることを見出した。THIK-1 との相同性の高さにより，THIK-2 も GPCR による活性化を受ける可能性が考えられた。この点を検討するために，THIK-2 と GPCR を CHO 細胞に共発現させ，全細胞パッチクランプ法により電流を記録した。THIK-2 は細胞膜発現および基礎活性が低いことが知られており，実際，野生型 THIK-2 発現細胞では背景電流より大きな電流は記録されなかった。そこで，リテンションシグナルを有する細胞内 N 末端を削除したコンストラクト（ΔN-THIK-2）を用いたところ，背景電流より有意に大きい電流がみられた。ΔN-THIK-2 を Gi/o 共役型受容体 mGlu2 と共発現させると，受容体活性化によりカリウム電流は有意に増加し，この増加作用は Gi/o 阻害剤である百日咳毒素により阻害された。また，Gq 共役型 M1R との共発現細胞でも，ΔN-THIK-2 電流は M1R 刺激により増加し，この増加作用はホスホリパーゼ阻害剤 U73122 により消失した。これらの結果により，THIK-2 および THIK-1 が GPCR により機能制御を受けることが明らかとなった。

Two-pore Na^+ channel 3（TPC3）の 2 番目の膜電位センサードメインの機能解析

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（ドメイン I，II）という，特徴的な分子構造を持つ。この TPC ファミリーに属する TPC3 を研究対象として機能解析を行った。TPC3 のドメイン II において，膜電位センサーの実体である S4 ヘリックスのアミノ酸配列は，疎水性の高い膜貫通領域であるにも関わらず負電荷（Asp511）を持つなど，一般的な膜電位依存性カチオンチャネルにはあまり見られない特徴を有する。ドメイン II の S4 の細胞外側のアミノ酸残基をそれぞれシステインに変異させ，膜電位依存性への影響を調べたところ，この Asp511 を変化させたときに顕著に膜電位依存性が正電位側のシフトする，すなわちチャネルが開きにくくなることが分かった。この結果は，膜電位感知における Asp511 の重要性を示唆する。さらに，一連のシステイン変異体に対し Cd^{2+}を添加したところ，D511C 変異体の電位依存性はさらなるシフトを示し，その程度は他のシステイン変異体と比べて有意に大きなものであった。システインは，近接した位置にある負電荷を持つアミノ酸残基とともに Cd^{2+}の結合領域を形成するので，この結果は TPC3 に内在するいずれかの負電荷を持つ残基と Asp511 が極めて近接していること，特に閉状態で近接することを示している。また，Asp511 以外の残基へのシステイン導入によっても正あるいは負電位側への膜電位依存性のシフトが観察されたが，このシステイン導入位置とシフトの関係性は，膜電位依存性カチオンチャネルのモデルである Shaker K^+チャネルでの同様の研究結果とは大きく異なるものであった。以上の結果は，TPC3 の膜電位依存的活性化メカニズムのユニークさを示唆するものである。

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 PIP2 の結合には競合が見られることが明らかになった。

我々はさらに Pore helix の役割について解析を行った。その結果，Pore helix に位置する複数のアミノ酸残基かイオン選択性と膜電位依存的活性化に寄与することが明らかとなった。現在，Pore helix 領域とその近辺領域の変異体を用い，Pore 領域の構造変化と新規制御機構の解明に関する実験を行っている。

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) 3 はサブユニット内に 2 つの異なる S4 を持つが，主に 2 番目の S4 (2nd S4) が電位依存的な TPC3 の活性制御に重要である。また TPC3 はホスホイノシチド(PI)による活性制御も受ける。本研究では, 膜電位や PI によって 2nd S4 がどのような構造変化を示すのかを明らかにし，TPC3 の活性制御に関する理解を深めることを目的とする。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 2nd S4 の C 末端領域(Ser527) を蛍光ラベルした TPC3 を解析した。これにより TPC3 電流と，2nd S4 の構造変化に由来する蛍光強度変化を同時に捉えた。まず PI 存在下で VCF を行うと，膜電位変化に依存した明確な蛍光強度変化を検出することができた。続いて，PI の分解酵素を用いて PI の濃度を減少させて VCF を行い, PI 存在下での結果と比較したところ, TPC3 の示す電位依存的な蛍光強度変化が PI の濃度によって影響を受けることが示唆された。この結果は TPC3 の 2nd S4 の電位依存的な構造変化が，PI によって制御されることを示唆する。

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 Chen），山本友美，久保義弘
Ruth Murrell-Lagnado（School of Life Sciences, University of Sussex）

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。

まず, Sigma-1R の cRNA を注入した卵母細胞における Sigma-1R タンパク質の発現を, 免疫蛍光染色法により確認した。発現は，主として細胞内小器官の膜上に見られ，形質膜における強い集積は見られなかった。

Sigma-1R により電流量が変わるイオンチャネルをスクリーンする目的で，Kv1.1, Kv1.2, Kv1.3, Kv1.4, Kv1.5, Kv2.1, Kv2.2, TRPV1, Kir3.1/3.2, Kir3.1/3.4, Kir4.1 等の種々のイオンチャネル電流に対する Sigma-1R の共発現の作用の，2 電極膜電位固定法による電気生理学的解析を進めている。Kir3.1/3/2 および Kir3.1/3.4 については，Sigma-1R の共発現による電流の顕著な抑制が観察された。さらに，Sigma-1R のアゴニストである SKF10047，およびアンタゴニストである BD1047 の投与によるイオンチャネル電流の変化の解析，若年性筋萎縮性側索硬化症患者の家系において見られ Sigma-1R の構造安定性を失わせることが知られている E102Q 変異体の作用の野生型との比較解析も進めている。

生体膜研究部門

【概要】

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

ADAM22 を安定化させる分子機構の解明

横井紀彦，深田優子，深田正紀

てんかんは神経細胞間の異常なシナプス伝達や, 神経細胞の過剰興奮によって引き起こされると考えられているが，その原因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 の蛋白質量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）マウスを平林真澄博士（生理研・遺伝子改変動物作製室）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。2019 年度は，この ADAM22 の減少の原因を明らかにするため，ADAM22 へのリン酸化依存的な結合蛋白質を探索した。そして，今回同定した蛋白質と ADAM22 とのリン酸化依存的な結合が，ADAM22 を細胞内で安定化していることを突き止めた。さらに，ADAM22 の減少の程度と，てんかん発症との関連性を明らかにするため, ADAM22 を様々な量で発現する変異体マウス群の作製を進めた。

ADAM22 と PSD-95 の結合の生理的意義の解明

深田優子，平野瑶子，稲橋宏樹，深田正紀

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要であることを明らかにした。そこで，ADAM22 と PSD-95 の結合がマウスの脳機能において, どのような役割を担っているかを検討した。2019 年度は 2018 年度に続いて，PSD-95 との結合能を欠損させた ADAM22 変異マウスの表現型を生化学的, 組織化学的，電気生理学的，生理学的手法等を用いて検討した。

LGI ファミリー蛋白質の生化学的な機能分類

宮崎裕理，深田優子，深田正紀

てんかん原因遺伝子産物の LGI1 と同じファミリーに属する蛋白質として LGI2, LGI3, LGI4 が知られている。これら蛋白質は共通のドメイン構造を有するが，その生理機能は大きく異なると推測される。実際，LGI3 は，LGI1 欠損マウスで見られる“てんかん発作”を救済できない。そこで, 本研究では, LGI 分子種の機能の違いが, LGI ファミリーと LGI1 の受容体である ADAM22 との結合親和性の違いに起因するのではないかと考え，その可能性を検証した。また，LGI ファミリーと ADAM22 の結合に寄与するアミノ酸残基を LGI1-ADAM22 複合体の結晶構造を基に評価した。その結果，ADAM22 に対して，LGI1，4 が LGI12，3 よりも強く結合すること，そしてその結合に関与するアミノ酸配列を LGI1, 4 上に見出した。

PSD-95 の脱パルミトイル化酵素 ABHD17 の性状解析

江川孝彦，宮﨑裕理，深田優子，深田正紀

足場蛋白質 PSD-95 は，興奮性シナプス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。しかし，ABHD17 酵素の脳内発現，細胞内局在，基質特異性，活性制御機構，生理機能については未だ不明である。本研究では ABHD17 の性状解析を進めるため，ABHD17 にタグを挿入したノックインマウスを用いて，脳内局在や相互作用分子の探索を行った。

HIV-1 の感染受容体 CCR5 のパルミトイル化修飾/阻害機構の解明

Franck Perez（キュリー研究所，仏国）
深田優子，深田正紀

フランス･キュリー研究所の Perez 博士らのグループは，HIV-1（ヒト免疫不全ウイルス 1 型）の感染受容体として機能する CCR5 タンパク質（GPCR の 1 種）の細胞内輸送に関わる研究を行い，CCR5 タンパク質の輸送を阻害する低分子化合物を複数同定していた。一方，CCR5 の細胞膜への輸送にはパルミトイル化修飾が必要であることが知られていた。そこで，Perez 博士の依頼を受け，上述の低分子化合物の中で，CCR5 のパルミトイル化修飾を阻害するものが存在するかを検証し，cadmium chloride と zinc pyrithione がその阻害活性を有することを見出した。また，我々は CCR5 のパルミトイル化酵素をスクリーニングし，DHHC3 と 7 を同定し，cadmium chloride と zinc pyrithione が DHHC3 と 7 の酵素活性を抑制することを見出した。（Boncompain G et al. Science Advances 2019, 5, eaax0821）

Peroxiredoxin-5 の脱パルミトイル化酵素，ABHD10 の同定

Bryan C Dickinson（シカゴ大学，米国）
深田優子，深田正紀

我々はこれまでに，哺乳動物の脱パルミトイル化酵素を探索し, ABHD タンパク質ファミリーの一部（ABHD17 等）に脱パルミトイル化酵素活性が存在することを報告してきた。今回, Dickinson 博士との共同研究で, ABHD10 がミトコンドリアにおいて，Peroxiredoxin-5 の脱パルミトイル化酵素として機能することを明らかにした。今回の結果から，ABHD タンパク質ファミリーには，これまで脱パルミトイル化酵素活性を見出していた ABHD12，13，17 以外にも脱パルミトイル化酵素活性を示すものが存在することが分かり，今後の当該分野の発展が期待できると考えられる。（Cao Y et al. Nat Chem Biol 2019, 15, 1232–1240）

DKK1 受容体 CKAP4 と LRP6 のパルミトイル化による局在制御機構の解明

菊池　章（大阪大学大学院医学系研究科）
深田優子, 深田正紀

大阪大学の菊池章博士らは, これまでに分泌性糖蛋白質 DKK1 と膜蛋白質 CKAP4 との複合体が，がん細胞の増殖シグナルを促進することを見出していた。また，DKK1 受容体として，LRP6 も知られていた。この CKAP4 と LRP6 はともにパルミトイル化修飾を受けることが知られていたが, その機能的意義は明らかではなかった。今回, DKK1 受容体である CKAP4 と LRP6 がいずれもパルミトイル化依存的に脂質ラフトへ局在していること, そして DKK1 と結合することで受容体が脱パルミトイル化され, 脂質ラフトから排除されることが明らかとなった。このように，パルミトイル化を介した DKK1 のシグナル伝達機構の一端が示された。（Sada R et al. Sci Signaling 2019, 12, eaat9519）

自己免疫性辺縁系脳炎の患者に由来する抗 LGI1 モノクローナル抗体の評価

Harald Prüss（German Center for Neurodegenerative Diseases，独国）
深田優子，深田正紀

我々はこれまでに，神経分泌タンパク質 LGI1 に対する自己抗体（血清）が LGI1 とその受容体 ADAM22 の結合を阻害することにより自己免疫性辺縁系脳炎を引きおこすことを報告してきた。今回，Prüss 博士との共同研究により，患者 B 細胞から複数の LGI1 モノクロナール抗体を単離し，それらの性状解析を進めた。LGI1 モノクロナール抗体は，抗原エピトープにより 2 種類に分類され，いずれの部位に対する抗体も海馬スライスにおいて, 神経細胞の興奮性を増加することを見出した。（Kornau HC et al. Ann Neurol 2020, 87, 405-418）

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，マウスを用いて生後脳における新生ニューロンやグリア細胞の産生・移動・成熟メカニズム [1–3] および，脳傷害後のニューロン・グリア細胞の再生および脳機能の回復を賦活化する操作技術の開発 [4–6] を進めている。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 [7]。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，大野伸彦客員教授と共同），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。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. Matsumoto et al., *J Neurosci* (2019) 39: 9967-9988
4. Fujioka et al., *EBioMedicine* (2017) **16**: 195-203
5. Jinnou et al., *Cell Stem Cell* (2018) **22**: 128-137
6. Kaneko et al., *Science Adv* (2018) **4**: eaav0618
7. Akter et al., *Cereb Cortex* (2020) **30**: 4092-4109

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，新生ニューロンの移動維持・停止過程における接着様式や細胞内小器官の微細形態および制御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，移動する新生ニューロンの微細形態を 3 次元的に解析している。本年度は，嗅球へと移動する新生ニューロンの移動維持および移動停止過程において，一次繊毛の局在や形態を明らかにした[3]。また，新生ニューロン間の接着様式の微細形態を解析した。これらの結果は，新生ニューロンどうしの接着や細胞内小器官の制御が，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を示唆している。

3. Matsumoto et al., *J Neurosci* (2019) 39: 9967-9988

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

荻野　崇，澤田雅人，澤本和延

成体嗅球では，脳室下帯で産生された新生ニューロンが神経回路へ組み込まれる一方，古い嗅球ニューロンは細胞死により除去されており，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，生体恒常性発達研究部門との計画共同研究により，多光子顕微鏡を用いた嗅球ニューロンの長期生体イメージング法を確立し，ニューロン再生過程における嗅覚入力の役割を明らかにしてきた。しかし，ニューロン再生と周囲の微小環境との関係およびその制御機構は不明である。本研究ではニューロン再生における微小環境として血管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とニューロンの移動・再生の関係を解析している。本年度は，生体マウスにおいて嗅球の局所脳血流を調節する実験系を確立した。また，新生ニューロンの再生過程において，ミクログリアによる貪食の役割を解析した。以上の結果から，嗅球における新生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制御されることが示唆された。

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ショウジョウバエモデルで研究するためのセプテートジャンクションである。研究グループで同定してきた細胞間結合の構成分子の機能解析を中心に，分子細胞生物学，遺伝学，電子顕微鏡形態学と生理学的手法を組み合わせて研究を行っている。2019 年度は，前年度までに見出していたこれら細胞間結合の新しい機能のメカニズムを明らかにした。一つは，脊椎動物の上皮細胞の細胞間隙の透過バリアが，従来知られていたタイトジャンクションの低分子に対する透過バリアに加え，膜タンパク質 JAM-A が形成する高分子に対する透過バリアから構成されていることを示したことである。さらに，腸管バリア機能を支えるセプテートジャンクションが，腸幹細胞の増殖制御を介して腸管の恒常性を維持していることを見出した。また，個体におけるトリセルラータイトジャンクションの役割を解明するために，関連分子の遺伝子改変マウスの作出を進めた。

上皮バリアの構築機構の解析

大谷哲久，古瀬幹夫

クローディンファミリー分子群はタイトジャンクション（TJ）の構造と機能に中心的な役割を果たす膜タンパク質であるが，TJ を構成するクローディン以外の膜タンパク質が TJ の構造と機能における役割は十分に理解されていない。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ところ, クローディン欠損細胞においては電解質などの低分子に対するバリアは破綻したが, 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。クローディン欠損細胞からさらに JAM-A と呼ばれる膜タンパク質を欠損すると高分子に対するバリアも破綻した。さらに，JAM-A は隣接する細胞同士の細胞膜を近接させるのに重要であったことから, タンパク質などの高分子に対するバリアは JAM-A が形成する細胞膜同士の近接による分子ふるいによって構築されていることが示唆された。（Otani et al. J. Cell Biol. 218:3372-3396, 2019）

上皮細胞の細胞間接着構造の恒常性維持機構の解析

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

上皮組織は外界と直接接する組織であるため，様々なストレスにさらされるが，その際にどのようにして上皮恒常性が保たれるのかは十分に理解されていない。私たちは，タイトジャンクションの膜タンパク質であるクロ

ーディンファミリー分子群と JAM-A を欠損した細胞において細胞間接着構造が不安定化することを見出した。そこで，タイムラプスイメージングを用いて細胞間接着構造の動態を検討した結果，正常細胞においては常に連続的な細胞間接着構造が保たれたのに対し，クローディン・JAM-A 欠損細胞においては細胞が伸展した際に細胞間接着構造が破断する様子が認められた。これらの結果から，クローディンと JAM-A が力学的ストレスに対する細胞間接着構造の安定性に重要な役割を果たすことが示唆された。

ショウジョウバエ腸管の恒常性における上皮細胞間隙バリアの役割

泉　裕士，古瀬幹夫

腸管バリア機能は個体の生存に必須であるが, その破綻が腸管恒常性にもたらす影響については不明な点が多い。これまでに私たちは, ショウジョウバエの腸管上皮をモデルとして, 細胞間隙の透過バリアを形成する細胞間結合セプテートジャンクション（SJ）の構成分子の欠損が，腸管バリア機能の破綻のみならず上皮細胞の腫瘍化を引き起こすこと，この現象に哺乳類の炎症性サイトカイン IL-6 に相当する Upd が関与することを明らかにした。2019 年度は，この上皮細胞の腫瘍化が Ras-MAP キナーゼと Jak-STAT 経路の過剰活性化による腸幹細胞の増殖亢進に起因することを明らかにした。これらの結果は，ショウジョウバエの腸管恒常性の維持において SJ がサイトカインの発現をコントロールし, 幹細胞と上皮細胞の挙動を適切に制御する役割があることを示唆する。（Izumi et al. J. Cell Sci. 132(18). pii: jcs232108, 2019）

神経組織におけるトリセルラータイトジャンクションの役割

菅原太一，加納雄一朗，古瀬幹夫
三寳　誠，後藤哲平，平林真澄（遺伝子改変動物作製室）

3 つの上皮細胞の角が接する領域には，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する。tTJ は 3 細胞に挟まれる細胞間隙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と考えられているが，tTJ の個体における役割にはいまだ不明な点が多い。私たちは tTJ の構成膜タンパク質であるアンギュリンファミリー（アンギュリン 1, 2, 3）のうち, 神経組織に発現するアンギュリン 3 の役割を解明する目的で，平林博士のグループとの共同研究によりアンギュリン 3（ILDR2）遺伝子欠失マウスを 2 系統立した。同マウスは，神経上皮，網膜においてアンギュリン 3 の発現を失っているものの，成体まで成長することが確認されている。今後，アンギュリン 3 を発現する細胞におけるバリア機能の変化と病態に着目して解析を進める予定である。

細胞生理研究部門

【概要】

細胞は，それを取り巻く環境の大きな変化の中で，その環境情報を他のシグナルに変換し，細胞質・核や周囲の細胞に伝達することによって環境変化にダイナミックに対応しながら生存応答を行っている。細胞が存在する臓器・組織によって細胞が受け取る環境情報は異なり, 従って細胞が持っている環境情報を受信する機能も異なる。それらセンサー蛋白質は環境の変化に応じてダイナミックに感受性や発現等を変化させてセンシング機

構の変化からよりよい生存応答を導く機能を有している。これらのセンサー蛋白質は種々の化学的・物理的情報を受容し，センサー間の相互作用を行い，多くは最終的に核への情報統合を行う。そして，それは細胞の，組織の，さらには個体の環境適応をもたらす。したがって，これらの細胞環境情報センサーの分子システム連関を解明していくことは，個体適応の理解のための基本単位である「細胞の生存応答」を解明するうえで極めて重要である。この細胞外環境情報を感知するイオンチャネル型のセンサー蛋白質の構造機能解析，活性化制御機構の解析を通して細胞感覚の分子メカニズムの解明を目指している。特に，侵害刺激，温度刺激，機械刺激の受容機構について TRP チャネルに焦点をあてて解析を進めている。また，センサーは進化の過程で環境変化に応じてその機能や発現を変化させて適応してきたと考えられ，センサー蛋白質の進化解析によっていかに生物が環境変化に適応してきたかも解析している。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。

生息環境と連動した温度センサー分子の機能変化の解明

齋藤　茂，富永真琴

アフリカツメガエルとネッタイツメガエルだけでなく，涼しい環境に適応したキタアフリカツメガエルと暖かい環境に適応したミューラーツメガエルを新たに解析に加え 4 種の間で TRPV1 を比較した。その結果，涼しい環境に適応したキタアフリカツメガエルだけでなく，暖かい環境に適応したミューラーツメガエルも，涼しい環境に適応したアフリカツメガエルと同じ応答を示したことから, TRPV1 の繰り返しの高温刺激に対する温度応答特性の変化は生息地の温度環境とは必ずしも連動しないことが分った。一方で，TRPA1 の高温に対する反応を調べたところ，涼しい環境に生息する 2 種では高温の刺激に対する反応が大きく，暖かい環境に生息する 2 種のツメガエルの間では高温の刺激に対する反応が小さいことが明らかになった。この結果から，TRPA1 の反応特性の変化は，ツメガエルの生息地の温度環境への適応と関係していると考えられた。涼しい環境に生息する種は，高温に鋭敏に応答するために，高温センサーである TRPA1 の反応性が高くなるように進化の過程で特性が変化したと推測される。

1) Saito S, Saito TC, Nozawa M, Tominaga M. Elucidating the functional evolution of heat sensors among *Xenopus* species adapted to different thermal niches by ancestral sequence reconstruction. Molec. Eco. 28: 3561-3571, 2019.

熱帯の蚊と温帯の蚊の TRPA1 の遺伝子クローニングと機能解析

Tianbang Li，齋藤くれあ，齋藤　茂，富永真琴

熱帯域を中心に生息する 3 種の蚊（ガンビエハマダラカ・ステフェンシハマダラカ・ネッタイシマカ）と温帯域に生息する 1 種の蚊（アカイエカ）の TRPA1 の遺伝子クローニングを行い，機能解析を行った。いずれの蚊の TRPA1 も温度刺激に感受性を示したが，熱帯域に生息する蚊（ガンビエハマダラカ・ステフェンシハマダラカ・ネッタイシマカ）の TRPA1 が高温で活性化する温度は 28 度から 32 度で，温帯域に生息するアカイエカの TRPA1 の約 22 度と 10 度近い差があった。蚊に 22 度と 3 度の 2 つの温度の場所を選ばせる行動実験を行ったところ，アカイエカは 30 度を避けたが，ネッタイシマカは 2 つの温度を区別しなかった。蚊は進化の過程で温度センサーTRPA1 の機能を変化させて生息域の温度環境に適応してきたと考えられる。TRPA1 は多くの動物種で侵害刺激（痛み感覚を引き起こす刺激）のセンサーとして機能しており，熱帯域の蚊は TRPA1 の活性化温度閾値を高くして，暑い環境を不快と感じなくしてきたと想像できる。また，防虫剤として使われるシトロネラ油に

対する感受性を 4 種の蚊の TRPA1 で比較したところ，ガンビエハマダラカとステフェンシハマダラカに比べて，ネッタイシマカとアカイエカは感受性が高いことが分かった。さらに，多くの化学物質を TRPA1 に作用させたところ，TRPA1 の活性化させる化学物質を新たに 4 つ発見した。忌避剤開発につながるものと期待される。

1) Li T, Saito CT, Hikitsuchi T, Inoguchi Y, Mitsuishi H, Saito S, Tominaga M. Diverse sensitivities of TRPA1 from different mosquito species to thermal and chemical stimuli. Sci. Rep. 9(1):20200, 2019.

新規 TRPM3 バリアントの同定と機能解析

福田直美，富永真琴

温度感受性 TRPM3 チャネルは pregnenolone sulfate のような神経ステロイド，nifedipine や clotrimazole で活性化されれることが知られている。TRPM3 には多くの varinat が知られているが，異なる TRPM3 variant での機能比較は行われていない。マウス後根神経節から新たな TRPM3 variant subtype を遺伝子クローニングして TRPM3γ variants と命名した。マウス後根神経節では TRPM3γ の mRNA 発現は TRPM3α より強かった。HEK293 細胞を用いた Ca^{2+}-imaging では，TRPM3γ variants は pregnenolone sulfate と nifedipine そに感受性を示したが，反応性は小さかった。アフリカツメガエル卵母細胞を用いた解析では，TRPM3γ variant は熱刺激にも応答したが，電流は小さかった。このように，マウス感覚神経で新たに発見された TRPM3 variant は総じてその活性化が小さかったが，何らかの感覚機能に関わっているものと推測された。

（福岡歯科大学 内田邦敏博士との共同研究）

1) Uchida K, Fukuta N, Yamazaki J, Tominaga M. Identification and classification of a new TRPM3 variant (γ subtype). J. Physiol. Sci. 69 (4): 623-635, 2019.

心循環シグナル研究部門

【概要】

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，筋萎縮を仲介する TRPC3 チャネルタンパク質－活性酸素生成酵素（NADPH オキシダーゼ 2：Nox2）複合体が形成される上流の分子機構を明らかにした。また，環境中の微量金属摂取がもたらす健康被害リスク（心疾患）の原因として，心筋ミトコンドリア過剰分裂に着目し，その根底にミトコンドリア分裂促進 GTP 結合タンパク質 Drp1 のシステインポリイオウ鎖の脱イオウ化が Drp1-filamin 活性化複合体を形成する引き金となることを見出した。

微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，西田基宏

普段我々が口にする食事や大気中には微量の環境親電子物質が含まれており，その累積によって疾患発症リスクが増加する可能性が指摘されている。有機水銀は水俣病の原因としてよく知られている環境親電子物質の一つであり，普段我々が摂取するマグロや鯨にも微量の有機水銀が含まれている。神経障害を発症しない微量のメチル水銀を飲水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（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 Cys624 のポリイオウ鎖からイオウを奪い取ることで Drp1 の GTP/GDP 交換因子である filamin との相互作用を増強させた。以上より，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

イブジラストによる TRPC3-Nox2 複合体形成阻害を介した筋萎縮抑制

冨田拓郎，田中智弘，西田基宏
西山和宏（九州大学大学院薬学研究院）

ドキソルビシン（DOX）は様々な悪性腫瘍に有効な抗腫瘍作用を示す一方で，食欲不振や吐き気，運動不足によって廃用性筋萎縮様症状も起こしうる。TRPC3 と Nox2 がマクロファージに多く発現していることに着目し，Raw264.7 細胞株のドキソルビシン誘発性細胞死を指標に，1280 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。その結果，ヒットした 8 化合物のうち，イブジラスト（気管支拡張薬）が最も強く抑制することを見出した。イブジラストはドキソルビシン投与による TRPC3-Nox2 複合体形成とそれに伴う Nox2 タンパク質発現増加，酸化ストレス障害，マウス体重量・組織重量の低下を顕著に抑制した。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個体機能低下を軽減する新たな治療戦略となることを示唆している。

栄養飢餓による心筋萎縮の分子メカニズム

田中智弘，小田紗矢香，西田基宏
Suhaini Sudi，Caroline Sunggip（Sabah University，Malaysia）

筋肉の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。我々は ATP が P2Y2 受容体を介して TRPC3-Nox2 複合体形成を誘発し，活性酸素生成依存的に筋萎縮マーカータンパク質 MAFbx の発現を増加させることを見出した。生理的には，グルコースやアミノ酸除去，低酸素ストレスによって ATP が心筋細胞から放出され，遊離した ATP が P2Y2 受容体を介して TRPC3-Nox2 複合体形成を促進させることを明らかにした。

TRPC6 チャネルによる平滑筋細胞の表現型調節機構

冨田拓郎，西田基宏

平滑筋細胞は増殖型と収縮型の表現型を変換させることで血管恒常性を維持している。脂質活性化型 TRPC6 チャネルを欠損させた大動脈平滑筋細胞では，TGFβ 刺激による筋分化が誘導されやすくなることを見出した。その機序として，TRPC6 チャネルを介するカチオン流入が細胞膜電位の脱分極を誘導することで，TGFβ 刺激による PTEN の膜局在を負に制御し，結果として Akt を介する筋分化誘導が抑制されることを明らかにした。

生殖・内分泌系発達機構研究部門

【概要】

本研究部門は，視床下部による摂食行動の調節と末梢組織における代謝調節機構の解明を目指して研究を行っている。視床下部は，摂食行動（エネルギー摂取）とエネルギー消費機構（栄養代謝）を巧みに調節することによって生体エネルギーを一定に保つ重要な働きを担う。しかし，近年，この調節機構の異常が肥満，糖尿病，高血圧など，生活習慣病の発症と密接に関連することが明らかとなってきた。当部門では，視床下部における生体エネルギー代謝の調節機構を分子レベルで解明し，その分子機構を通して生活習慣病など様々な疾患の原因・治療法を明らかにしたいと考えている。本年度実施した主たる研究課題は次の通りである。1）甘味およびそれに伴う心地よさを選択的に伝える神経細胞の同定，2）空腹に伴い味覚を調節する神経ネットワークの発見。

甘味およびそれに伴う心地よさを選択的に伝える神経細胞の同定

傅　欧，近藤邦生，箕越靖彦，中島健一朗
岩井　優，三坂　巧（東京大学）

味覚は栄養豊富な好ましい食物を積極的に摂取し，有害な成分を忌避するなど，食物の価値の判断基準として機能する。近年，舌における味覚受容機構が解明されつつあるが，脳内メカニズムは不明な点が多い。そこで，本研究ではマウスをモデルに味覚情報伝達の重要な中継点である脳幹において，味覚伝達神経の探索を行った。転写因子 SatB2 が脳幹の味覚伝達神経の目印であることが示唆されたため，ウイルス導入によりこの神経細胞を除去したところ，他の味に対する反応は正常だったのに対し，甘味をほとんど感じられなくなった。一方，装着型微小顕微鏡を用いて味溶液摂取中の脳活動を計測したところ，この神経細胞は甘味に選択的に応答する事が明らかになった。またオプトジェネティクスにより，この神経を人工的に活性化すると純水でもまるで甘味溶液のように好んで摂取した。

以上の結果から，SatB2 発現神経は甘味およびそれに伴う心地よさを伝えている事が示された。

空腹に伴い味覚を調節する神経ネットワークの発見

傅　欧，箕越靖彦，中島健一朗，石川理子，吉村由美子（生理学研究所視覚情報処理）
岩井　優，成川真隆，石井健太郎，村田　健，東原和成，三坂　巧（東京大学）

空腹になると味の感じ方が変化することは知られているが，その原因はよくわかっていなかった。そこで本研究では視床下部弓状核に存在し，空腹時に活性化して摂食行動を誘導するアグーチ関連ペプチド産生神経（AgRP 神経）がこの変化に寄与するかを検証した。

空腹時のマウスは通常時よりも甘味を嗜好するのに対し，苦味には鈍くなった。そこで，オプトジェネティクスにより AgRP 神経を活性化させたところ，空腹時同様の味覚の変化が生じた。この変化は AgRP 神経の複数ある投射先のうち外側視床下部を活性化した場合のみ生じた。また，外側視床下部の神経も様々な脳部位に投射していることから，各経路の機能をさらに調べた。その結果，外側中隔核投射神経は甘味嗜好性を選択的に調節する一方，外側手綱核投射神経は苦味感度を選択的に調節した。

以上，空腹に伴う味覚の変化は AgRP 神経を起点に外側視床下部を介して好きな味と嫌いな味とで別々に制御されることが明らかになった。

超微形態研究部門

【概要】

本研究部門では，神経系の発達・機能維持・そして疾患を含む，様々な生命現象における機能の裏付けとなる「かたち」を捉える技術を開発・改良し，その変化と分子メカニズム，役割の関係を理解することを目標に，研究を行っている。その中核をなすのは電子顕微鏡をはじめとするイメージング技術であり，特に Serial block-face scanning electron microscopy (SBEM) による 3 次元微細構造解析では，多くの成果をあげている。また，導電性樹脂を初めて生物観察に応用するなど，SBEM の応用に資する技術開発を行っており，神経系だけでなく，腎臓や血管，ヒト病理組織などを対象として，国内外の多くの研究者との共同研究も行っている。

本研究部門の研究で特に注目しているのは，神経系を構成する様々な細胞の相互作用である。神経軸索の周囲に形成される髄鞘は，神経伝導速度を向上させるだけでなく，軸索の生存にも重要な役割を果たす。髄鞘の形成や異常が及ぼす形態学的・機能的変化とそのメカニズム，そしてそれらの制御を行うことによる治療的意義を明らかにしたいと考えている。特に，細胞の中で多くの役割をもつミトコンドリアの動態異常は，様々な疾患の病態生理に深く関わっている。髄鞘の形成や異常におけるミトコンドリアの関与の解明とその制御技術の開発を目指して研究を進めている。

細胞小器官の動態の制御メカニズムとその役割

大野伸彦

ミトコンドリアは輸送や分裂･融合などのダイナミクスによってその機能が調節されており, その異常は様々な疾患の病態生理に深く関わる。また，ミトコンドリアは小胞体などと相互作用(接着)し，お互いの機能的な調節に深く関わる。生体内におけるこれらのオルガネラ動態と相互作用の調節機構と役割は不明な点が多い。本研究では，髄鞘疾患における軸索のミトコンドリアの動態の変化と, それに伴う小胞体との接着の変化を, SBEM による 3 次元微細構造解析により明らかにした。その結果，慢性的な脱髄に伴ってミトコンドリアの集積と融合による体積増加が起こること，同時に小胞体との接着が増強されること，そして接着に関わる Mfn2 の発現増強が認められることが明らかになった。さらに Mfn2 の活性に重要な MITOL の神経特異的欠損により, 神経細胞内のミトコンドリアと小胞体の接着が抑制され, さらに酸化ストレスの増強が起こることも共同研究より明らかになった。

髄鞘形成・機能・疾患の構造化と制御

大野伸彦

神経細胞の軸索の周りに形成される髄鞘の病的な喪失や形成不全は, 様々な疾患に関連し, また最近の研究から，髄鞘は運動や生育環境などによって可塑的に形成･修飾され，学習や社会行動に影響することがわかってきている。髄鞘の形成や異常には多くの細胞間の相互作用が関わることから，これらの細胞の形態学的・機能的変化，そしてその制御方法について，明らかにすることは，脳の機能を理解する上で必須である。本年度は脳白質のオリゴデンドロサイトとその細胞が形成する髄鞘の微細構造を SBEM を用いて 3 次元再構築することで, それらの構造的な特性についての検討を行った。その結果，個々のオリゴデンドロサイトが髄鞘を形成する軸索や, その髄鞘の厚みには偏りが存在することが明らかになりつつある。これらの結果は，オリゴデンドロサイトが細胞単位で，白質内の特定の軸索を選択し, 異なる構造的な特徴を持つ髄鞘を形成していることを示唆している。

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特徴として，他の皮質領野および視床からの入力間の相互作用と，多様な脳部位への出力並列性がある。私たちは前頭皮質が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，さらにトップダウン経路の皮質間投射に強く関与することから，感覚系皮質とは異なる固有の局所回路を持つと考え，その錐体細胞と抑制性細胞のニューロン構成と，同定したサブタイプ間のシナプス結合法則を研究してきた。その過程で，基底核へ投射する錐体細胞のサブタイプによって，結合選択性・伝達特性が異なり，直接路・間接路に分かれる基底核の上流にも多様な機能経路があること，さらに基底核へ投射する細胞は皮質間投射にも関わり，サブタイプごとに投射領野が異なることを見つけた。これらを基に外部入出力と関連させて，前頭皮質機能に本質的な基本局所構造（標準回路）を抽出する努力を続けている。本年度は視床皮質投射の標的構造解析と，錐体細胞サブタイプにおける皮質間トップダウン投射の層選択性の違いを調べるとともに，この 2 種類の入力の運動学習過程での可塑的変化の違いを検討した。また，抑制性細胞が関与する皮質振動の運動学習への関与と，5 層抑制性細胞への視床・錐体細胞入力のサブレイヤーごとの違いについても調べた。

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

窪田芳之，畑田小百合，江川尚美，北　啓子，市川裕美，孫　在隣，川口泰雄
倉本恵梨子（鹿児島大学大学院 医歯学総合研究科）

ラットの視床の運動関連核（視床前腹側核(VA)）に蛍光蛋白 GFP 標識を可能にするウイルスベクター（AAV-palGFP）を微量感染させ，視床－皮質神経線維を標識した。GFP 標識された神経終末を，光顕－電顕相関法で，電顕画像データセットで同定するために，ランドマークとして血管と核を蛍光標識した。前頭皮質（第 2 次運動野）を組織処理し，樹脂に包埋した後，連続電顕切片を自動でテープに回収する Automated Tape Collecting Ultramicrotome (ATUMtome) を使って，1000 枚余の連続超薄切片を作成した。SEM 観察により大容量電顕画像データセットを獲得し，視床－皮質神経終末のターゲットの構造解析を行った。皮質 5 層の VA 神経終末のシナプス結合 48 個中 46 個が錐体細胞の樹状突起の棘突起，2 個が樹状突起，1 層では 14 個中 13 個が棘突起，1 個が樹状突起，4（2/3 層下部）層では 9 個の全シナプス結合が錐体細胞の棘突起をターゲットにシナプス支配していることを確認した。すなわち，VA 神経終末のターゲットはほぼ全て（96％）が棘突起であった。また，それらの大半のシナプス構造（神経終末や棘突起）はサイズが小さく，可塑的変化を起こす可能性をもつシナプス構造であることを確認した。

皮質運動野におけるオシレーション活動

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，局所回路においてサブネットワークを形成している。錐体細胞サブタイプの皮質ネットワーク活動における役割について光操作法を用いて検討した。その結果，チャネルロドプシンをサブタイプ選択的に発現させたラットの運動野スライス標本において，特定のサブタイプに依存して膜電位オシレーションが 5 層の細胞でみられた。回転カゴを用いた足場バーのパタン学習において，オシレーション活動の運動学習への寄与について検討した。一次運動野から細胞外記録を行い，局所電場電位を解析した結果，学習中

にオシレーション活動が発生していた。また，特定の錐体細胞サブタイプの活動を光操作するとオシレーション活動は影響を受け，学習形成が促進・抑制された。これらの結果は，特定の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。

前頭皮質のソマトスタチン細胞への興奮性入力様式

森島美絵子，川口泰雄

前頭皮質 5 層における興奮抑制連関を理解するために，錐体細胞の投射サブタイプと GABA 作動性細胞サブタイプ間の結合関係を解析してきた。その中で，投射サブタイプの一つである橋核投射細胞から，GABA 作動性のソマトスタチン陽性（SOM）細胞の一つである LTS 細胞への興奮性結合確率が，5 層サブレイヤー（5a，5b）の間で異なることを見つけた。皮質外部からの興奮性入力である視床軸索密度は 5a 層より 5b 層で高いため，視床からの興奮入力について，チャネルロドプシンを発現させた視床細胞軸索を光刺激して，サブレイヤー間で応答を比較した。その結果，SOM-LTS 細胞への視床入力はサブレイヤーによらずに弱い一方，SOM 細胞の中でも LTS を出さないもので強かった。前頭皮質 5 層の SOM-LTS 細胞は視床入力に比べて，主に橋核投射細胞からサブレイヤーに依存した興奮を受けることが分かった。

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

動物が特定の運動技能を習得する際，中枢神経系では神経回路の再編が行われる。大脳皮質内に存在する興奮性入力は，皮質錐体細胞由来の他に，皮質下の情報を仲介する視床からの入力が存在するが，それら 2 つが運動学習中にそれぞれが運動学習において果たす役割については不明である。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に前肢を用いた運動学習を行わせ，同時に生体 2 光子顕微鏡観察により運動皮質での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，皮質－皮質間結合と視床－皮質入力とで異なるシナプス動態を示していた。新しい皮質－皮質間結合は学習早期に一過性に出現するのに対し，新規の視床－皮質入力は学習後期にかけて長く維持されることがわかった。このことから，運動学習早期の技能獲得には一過性の皮質－皮質間結合が，獲得技能の維持には視床－皮質入力が重要であることが示唆された。

前頭皮質 5 層錐体細胞の 1 層投射多様性

任　翔壎，森島美絵子，川口泰雄

齧歯類 2 次運動野（M2）の 5 層錐体細胞は橋核投射細胞と，対側皮質に投射する終脳内投射細胞に大別される。両サブタイプとも皮質 1 層に軸索を送るが，その違いについては不明である。さらに終脳内投射細胞は発火様式，樹状突起の形態，発現分子などからサブタイプ内で多様性があることが知られており，1 層投射様式も多様であることが予想される。そこでサブタイプ選択的に軸索終末を蛍光標識することで，軸索分布をサブタイプごとに M2 局所，1 次運動野（M1），1 次体性感覚野（S1）の領野で観察した。橋核投射細胞の軸索はどの領野でも 1 層に多く分布していたのに対し，終脳内投射細胞は M2 では 1 層だけでなく 2/3 層にも分布し，M1 や S1 では 1 層に多く分布していた。これらのことから両サブタイプの 1 層投射様式は異なり，さらに終脳内投射細胞には投射領野・層選択性が異なるサブグループが存在する可能性が示唆された。

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) 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，江藤圭助教が年度末に北里大学医療衛生学部生理学・講師として転出した。春若航一郎（総研大大学院生）が学位（医学博士）取得後，米国 Mayo Clinic に研究員として渡米した。

In Vivo 多光子顕微鏡を用いた大脳皮質神経回路再編機構の解析

春若航一郎，堀内　浩，揚妻正和，和氣弘明（名古屋大学･医学研究科），鍋倉淳一

脳内免疫細胞であるミクログリアの生体内での機能評価をおこなうため，2 光子励起顕微鏡を用いてグリア細胞と神経細胞や脳内微小血管との相互作用の生体脳内観察を行った。今年度は，高確率で精神・神経症状を併発する全身性免疫疾患である全身性エリトマーシスのモデルマウスを用いて，脳内微小血管とミクログリア連関を検討した。ミクログリアは炎症性脳血管関門の破綻開始時には，血管内皮脆弱部位に集積し，その突起で微小血管を包括するとともに，脳血管関門破綻部位に侵入し，血液の脳内漏洩をブロックすることが判明した。一方で，炎症が増悪するとミクログリアは血管内皮，および血管周囲のアストロサイトが貪食を開始し，脳血管関門の破綻を促進することが判明した。このように，精神・神経症状を高率に併発する全身性エリトマーシスにおいて，脳内免疫細胞であるミクログリアの 2 面性が明らかになった（Haruwake, et al. Nature Comm, 2019）。

ミクログリアに関しては，同細胞内におけるカルシウム動態の時空間的解析を行っている。また，記憶・情動時における Prefrontal Cortex における神経回路活動の変化について，計算論手法を用いた解析も行っている。

慢性疼痛モデルマウスにおける大脳皮質神経回路再編

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

慢性疼痛持続期に DREADD システムを用いてアストロサイトを活性化し，さらに障害末梢神経活動のブロックを組み合わせると，長期に痛覚過敏が除去されることが行動実験で確認された。さらに，臨床応用を目指して，慢性痛覚モデルマウスに経頭蓋電気刺激によるアストロサイト活性化と障害末梢神経への局所麻酔薬投与によっても，痛覚過敏が長期的に除去されることが判明した。その脳内メカニズムの解明のため，マウス大脳皮質一次体性感覚野におけるシナプスの変化の長期観察を行った。その結果，末梢神経損傷後，痛覚過敏発症時に形成されたシナプスが有意に消失するが判明した。この結果から，過剰痛覚関連回路に回路再編が起こり，痛覚過敏が除去される可能性が示唆され，研究を継続している。

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

発達期における視覚関連神経回路の再編とそれによる行動変化の解明を目的として，敵対視覚情報による防衛行動である逃避行動とフリージングの切り替えメカニズムについて，これまで同行動との関連が報告されている上丘における関連神経細胞・回路の同定と，その神経回路の入出力特性について，行動実験および電気生理学的手法を用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，大脳皮質の情報処理の基盤となる神経回路の動作特性やその発達・可塑性メカニズムを明らかにすることを目指して研究を行っている。具体的には，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，抑制性ニューロンサブタイプを踏まえた，視覚野抑制性神経結合の発達についての解析を進めた。その一つとして，fast-spiking タイプの抑制性細胞と錐体細胞間のシナプス結合を調べ，その発達には抑制性細胞上に発現する，NMDA 受容体の必須サブユニット GluN1 が重要であることを見出した。また，視覚弁別課題学習後にみられる，一次視覚野ニューロンの抵コントラスト優位な反応の基盤となる神経回路を明らかにする研究を進めた。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 の発火様式をもつ抑制性神経細胞（FS 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，複数の発達段階のマウス視覚野切片標本 2/3 層の FS 細胞と錐体細胞のペアから同時ホールセル記録による結合解析を行った。FS 細胞→錐体細胞の抑制性結合および錐体細胞→FS 細胞の興奮性結合が，開眼直後から双方向に結合する細胞ペアで選択的に増強することを見出した。

また，これらの発達変化への NMDA 受容体の関与を検討した。NMDA 受容体の必須サブユニット GluN1 を抑制性細胞特異的に欠損したマウスでは，双方向性結合ペア選択的な結合強度の増大が興奮性結合では維持されたが，抑制性結合では減弱した。一方，錐体細胞特異的な GluN1 欠損マウスでは影響は見られなかった。抑制性細胞の GluN1 が FS 細胞-錐体細胞間の抑制性結合強度の調節に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，多少曖昧な刺激でも知覚・認知し，特定の運動を出力する。ラットに縦縞/横縞でレバーを押す/引くという課題を，低コントラストの刺激も混ぜて行わせ，一次視覚野深層の発火活動をマルチユニット記録した。低コントラストの視覚弁別に機能する，低コントラストで強く応答する細胞を見出し，さらに，この反応性は一次視覚野内の興奮と抑制のバランスで生まれると考えられた。本年度は，逆行性のトレーサーとして，糖タンパク質欠損型の狂犬病ウイルスを一次視覚野と運動野に投与して，多脳領野間の連携を解析した。視覚と運動の中間に位置して，トップダウンのソースになりうる領域として前帯状皮質を同定し，神経活動を記録した。

また，縦縞/横縞でレバーを押す/引くという課題の学習後に，視覚と運動の関係をシフトさせた。連続的にシフトさせると，ランダムなシフトの時よりも，行動のシフト耐性が強く観察され，再学習による柔軟性が示唆された。

視覚皮質における細胞タイプ特異的な神経回路形成のダイナミクス

米田泰輔，吉村由美子

大脳皮質の多様な細胞タイプが構成する神経回路は情報処理の基盤である。神経回路の機能成熟には生後初期の経験が重要であることが知られているが，経験依存的な回路形成機構の多くは依然として不明である。とりわけ細胞タイプに特異的な神経回路の機能形成ダイナミクスについてはほとんどわかっていない。

我々は慢性 2 光子カルシウムイメージング法と組織透明化法を組み合わせる事で，複数の細胞タイプで機能形成のダイナミクスを検証する方法を確立した。実験プロトコルの最適化により白質近傍を含む皮質全層からの機能計測が可能となった。また一次視覚野深層の細胞から視覚応答を計測した後に，細胞タイプマーカーを用いた三次元染色を行い，異なる細胞タイプの視覚応答選択性を評価した。

今後はこの方法を用いて，細胞タイプ特異的な神経回路形成のダイナミクスを明らかにする。

バイオフォトニクス研究部門

【概要】

本研究部門は，2019 年 10 月より，国立大学法人北海道大学電子科学研究所光細胞生理研究部門・大学院情報科学院情報科学専攻生体情報工学コースおよび北海道大学ニコンイメージングセンターより根本知己教授，榎木亮介准教授，大友康平助教，堤元佐特任助教（ニコンイメージングセンター），石井宏和特任助教が異動し発足した。本研究部門は，先端的な光レーザー技術を駆使した独自の非線形多光子イメージング法を開発し，非侵襲的な超深部・超解像のイメージングを用いて，脳・神経回路や生体リズムなどの生理機能の創発原理やその分子基盤の理解を目指している。特に生体機能や形態の高速 3 次元イメージングを実現するため多点走査型二光子顕微鏡を開発し，共同研究に供している。これにより細胞質分裂を促進するカタニンの係留機構に関する知見を得た。また，補償光学を用いた二光子顕微鏡の深部可視化能向上，高分子超薄膜の蛍光バイオイメージング応用，高い二光子吸収断面積値を有する有機蛍光色素の探索を実施した。一方，超解像イメージングについはて，二光子 STED 顕微鏡や画像解析ベースの方法論の研究開発を独自に推進した。また，概日リズム中枢を司る神経回路の光イメージング解析を推進した。

概日リズム中枢を司る神経回路の光イメージング解析

榎木亮介，廣　蒼太，根本知己
金　尚宏，深田吉孝（東京大学大学院理学系研究科），本間研一，本間さと（北海道大学大学院医学研究科）
江川　潔（北海道大学大学院医学研究科小児科学分野），繁富（栗林）香織（北海道大学高等教育推進機構）
小林憲太（行動･代謝分子解析センターウイルスベクター開発室）

哺乳類の概日リズムの中枢は, 視床下部領域にある視交叉上核に局在し, 脳の他の領域や全身の末梢臓器へリズム情報を伝え，睡眠覚醒サイクルやホルモン分泌，体温，行動リズムといった全身の約 24 時間の生理機能を調節する。視交叉上核は約２万個の神経細胞とそれを取り巻くグリア細胞から構成され, ネットワーク全体としては正確でロバストな概日リズムを示すと考えられている。

私たちはこれまでに長期間光イメージング計測法を確立し, 視交叉上核の神経細胞における細胞内カルシウムや膜電位の概日リズムを報告してきた。本年度は，微細加工技術を用いて作成したマイクロパターン基盤に, 物理的に孤立した単一神経細胞を培養する実験系を確立した。その結果, 視交叉上核の神経細胞は単一でも安定した概日リズムを刻むこと, またアストロサイトが神経細胞のリズムを不安定化することを見出した（Hirata Y*, Enoki R *et al., *Scientific Reports*, **9, 18271**, 2019）。

現在は様々な遺伝子コード型プローブを発現するアデノ随伴ウイルスを作成し, 細胞内塩素イオンや細胞内小器官のカルシウムイオン等を長期可視化する研究プロジェクトを遂行中である。

二光子スピニングディスク共焦点顕微鏡の技術開発と生物学応用

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

我々はこれまでにスピニングディスク共焦点スキャナを用いた高速二光子顕微鏡システムの開発に取り組んできた。二光子蛍光を観察する際，その励起領域は対物レンズの集光スポットに限局されるため，検出器に共焦点ピンホール

を前置せずとも光学断層像を取得することが可能である。一方で本システムは，ニポウディスクに配したピンホールを通過した蛍光のみを二次元検出器に結像する。共焦点効果は二光子顕微鏡像にも有効であり，構築システムは通常の二光子顕微鏡より 3 割程度高い光軸方向分解能を実現する。本特徴は三次元イメージングにおいて有用性を発揮することから，本年度も共同研究・共同利用を通じ，線虫，ゼブラフィッシュ，シロイヌナズナ，マウス等の様々な生体試料中の微細形態の三次元動態観察に供された。

また，本年度は複数励起光の高速切換照射，分光検出光学系，取得データへの線形スペクトル分離法の適用による高速多チャンネル観察を実現した。本法を哺乳類および植物培養細胞に適用し，細胞分裂の多色三次元タイムラプス観察を行った。その結果，正常な細胞分裂を止めること無く，個々の細胞内小器官の三次元的な挙動を可視化することに成功した（原著論文執筆中）。

生体組織表面形状と屈折率差の補正による二光子顕微鏡の深部可視化能向上

山口和志，大友康平，堤　元佐，根本知己
小澤祐市，佐藤俊一（東北大学多元物質科学研究所）
猪瀬朋子，雲林院宏（北海道大学電子科学研究所）
山本　啓，青木一洋（生命創成探究センター，基礎生物学研究所）

光学素子や試料に由来する光学収差は理想的な結像からのズレを引き起こし，しばしば光学顕微鏡観察の妨げとなる。我々はこれまでに，独自の透過型液晶技術を基盤とした補償光学法を開発し，二光子顕微鏡観察時の球面収差，非点収差，コマ収差の補正を実現してきた。近年，更なる応用として，試料の表面形状と屈折率差に由来する収差を補正する新たな方法論を考案した。まず，予め測定した試料表面形状に対し，光線追跡法を適用し，集光スポットの乱れを予測する。この情報を基に，励起光光路に外挿した空間光変調器により，波面の位相分布にフィードバックをかけることで，集光スポットを改善する。複雑な表面形状を有する生体試料の深部観察に本法を適用した結果，有意な解像度改善効果が認められた（原著論文執筆中）。また一方で，光線追跡計算や波面制御を行わない簡便な方法についての検討も行っており，観察試料と対物レンズ浸液の屈折率差を解消するのみで試料の深部可視化能が向上することも見出している（2020 年度 原著論文発表）。

高分子超薄膜の蛍光バイオイメージング応用

髙橋泰伽，大友康平，石井宏和，根本知己
揚妻正和，鍋倉淳一（生理学研究所生体恒常性発達研究部門）
張　宏，岡村陽介（東海大学工学部応用化学科），川上良介（愛媛大学医学部）
Stéphane Bancelin，U. Valentin Nägerl（Institute for Interdisciplinary Neuroscience, University of Bordeaux）

“どこにでも貼れる”というユニークな性質を有する高分子超薄膜について，顕微鏡観察試料の作成・調製法への応用を試みている。固定組織等の in vitro 試料の微細形態の観察には，しばしば高開口数の油浸対物レンズが用いられるが，これらのレンズは ~ 0.2 mm 厚のカバーガラス越しに良好な集光スポットを形成するように設計されている。今回，ガラスと同じ屈折率値に調整した透明化組織切片を約 100 nm 厚の高分子超薄膜ラッピングすることで，対物レンズの作動距離をカバーガラスの厚さの分だけ伸張させることに成功した。これにより，本来は 0.1 mm 程度の油浸対物レンズの作動距離をおよそ 3 倍に伸張し，試料表層から 0.3 mm 深部における微細形態の観察を可能とした（Zhang H et al., *PLoS ONE* **15(1)** e0227650, 2020）。他にも，高分子超薄膜技術を基盤とし，マウス脳の in vivo イメージング用の超広域の観察窓作成（原著論文投稿中），超解像イメージングにおける光学収差の低減（ボルドー大学共同研究）等の応用研究を展開している。

高い二光子吸収断面積値を有する有機蛍光色素の探索

大友康平，石井宏和，根本知己
喬　琳（北海道大学大学院保健科学研究院）
有澤光弘（大阪大学大学院薬学研究科）
鈴木健之（大阪大学産業科学研究所）

大半の蛍光バイオイメージング法においては，可視化対象を蛍光発色団で標識することが必要である。そのため，蛍光発色団を新規に創成する遺伝学，生物有機化学，材料科学等の技術貢献は重要である。我々はこれまでに，二光子顕微鏡や超解像顕微鏡観察に適した蛍光発色団について探索を行ってきた。その探索の過程で，大阪大学大学院薬学研究科の有澤光弘教授らが発見した新規骨格を基に合成した色素が，高い二光子吸収断面積値を有することを見出した（Avena RF et al., *ACS Omega*, **5(5)** 2473 - 2479 2020）。現在は，本色素をベースとした様々な類縁化合物を合成し，分子構造と二光子吸収断面積値の相関を精査するとともに，実用的な蛍光量子収率や高い誘導放出効率を両立する色素についてのスクリーニングを実施している。

画像解析による新規超解像顕微鏡法 SRRF の適用条件検証

堤　元佐，根本知己

Super Resolution Radial Fluctuation (SRRF) 法は, 2016 年にイギリスの研究グループによって報告された，画像解析による新規超解像顕微鏡法である（Gustafsson et al. *Nat. Commun.* 2016, **17**, 12471）。蛍光分子局在化法を基にしており，蛍光強度の空間・時間相関を解析することで，蛍光ピーク位置を決定する。既存の局在化法の 100 分の 1 程度の少数の連続取得画像から，100 ナノメートル以下の高い空間分解能の超解像顕微鏡像を構成できるのが特徴である。我々はこれまでに，落射蛍光顕微鏡，共焦点顕微鏡，多点走査型共焦点顕微鏡など種々の市販蛍光顕微鏡における SRRF 法の適用最適条件の検証を行っており，本手法に関して国内有数の知見を有している。本年度からは，低侵襲での超解像ライブイメージングに向けた二光子顕微鏡への SRRF 適用の検討を開始した。

2019 年 10 月には, 本研究で得られた SRRF 処理像が，国際顕微鏡画像コンテスト Nikon Small World 2019 （米 Nikon Instruments 社主催）において，Image of Distinction に選出された。

細胞質分裂を促進する新規カタニン係留機構の解明

堤　元佐，大友康平，根本知己
佐々木武馬，小田祥久（国立遺伝学研究所）
村田　隆，長谷部光泰（基礎生物学研究所）

植物細胞の分裂は細胞板の拡大によって細胞質が仕切られることで進行する。細胞板の拡大は，フラグモプラストという，数マイクロメートル長の微小管が細胞板形成面に対して垂直に並んだ構造によって，形成因子が細胞板辺縁部に輸送されることで誘導される。しかしながら，フラグモプラストにおける微小管の長さや配向の制御機構は不明であった。

国立遺伝研 佐々木博士，小田博士らは以前に，植物特異的に発現する微小管制御関連タンパク質として CORD1 (Cortical Microtubule Disoredering-1) を発見し，細胞壁の構造形成において重要な役割を果たすことを報告していた（Sasaki T et al. *Plant Cell*. 2017, **29**, 3123-3139）。その後，シロイヌナズナゲノムから見出された CORD1 のパラログである CORD4 タンパク質についての機能検討を進めた結果，同タンパク質がフラグモプラストの微小管制御に関わることが示唆された。本研究で我々は，

当部門で開発された二光子スピニングディスク共焦点顕微鏡を用いて，CORD4 および微小管を蛍光標識したタバコ BY-2 細胞の三次元経時観察を両博士とともに行った。可視化された分子の挙動を詳細に解析した結果，CORD4 は細胞板拡大に際してフラグモプラスト微小管の端に集積し，微小管切断活性をもつタンパク質カタニンを係留して，フラグモプラストの微小管の長さや角度を調節していることが明らかとなった。

本研究の成果は，2019 年 11 月に Current Biology 誌に掲載され（Sasaki T et al. *Curr. Biol.* 2019, **29**, 4060-4070），遺伝研および基生研からプレスリリースが発表された。

先端光技術を駆使した二光子高速超解像イメージング法の研究

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

本研究では，生体深部をサブ細胞スケールで観察できる二光子励起顕微鏡法を応用し，神経科学をはじめとした広範な研究分野の発展に資する高速超解像 in vivo 3D イメージング法の実現を目的とする。我々は東北大学横山教授，佐藤教授，小澤准教授と共同研究を行い，これまでに半導体制御による超短パルスレーザー光の発生，透過型液晶素子を用いた光波面補正といった独自の光学技術を開発・統合した超解像二光子励起誘導放出制御（STED）顕微鏡を開発してきた（Ishii et al., *Biomed. Opt. Express 2019*）。これにより，従来の二光子顕微鏡に比べて約 5 倍，70 nm の空間分解能を達成した。本年度は，更なる空間分解能の向上を目指し，飛翔時間計測型のサブナノ秒ゲート高感度蛍光検出器の導入を行った。また緑色蛍光プローブの超解像観察を念頭においた新規パルスレーザー光源系の開発に着手した。さらに，焦点面（xy 面）だけでなく，深さ方向（z 方向）に対しても高い空間分解能を与えることで, 空間的に等方な超解像 3D イメージング法の実現に向けた技術開発を行った。一方, 生体深部の in vivo イメージングにおいて，広範囲の 3 次元空間を高い時間分解能で可視化することは困難である。そこで，二光子励起発生領域が軸性方向に広がった光ニードルを作成して高速走査する事で，高速 3D イメージング法を可能とする技術開発を行った。以上の成果の一部に関して，解説を公刊した。

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，前年に引き続き，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）を遂行した。

社会脳研究では，対象とする社会的コンテクストを実験室内で再現するため，対面する二頭の動物を用いた行動課題を開発し，複数の標的脳領域から神経活動の多点同時計測をおこない，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神経ネットワークレベルまでの異なる粒度で解析した。また，自他間での随意運動の同期現象や，他者の顔・視線情報処理の神経機構の解明を目指す研究を展開した。

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，薬理学的介入で引き起こされるサリエンスの変調を詳細に解析することで，統合失調症の病態モデルとしての有用性を確認した。

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視床下部外側野の機能差および機能連関を明らかにし，PNAS 誌に発表した。

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のうち 1281 遺伝子を対象として，マーモセット 198 個体を対象とした遺伝子解析を行った結果，55 遺伝子において，集団アリル頻度 5 % 以下のまれな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シングルセル遺伝子発現解析を行った。特にシングルセル遺伝子発現解析においては，複数の興奮性および抑制性神経細胞，アストロサイト，オリゴデンドロサイト，ミクログリアなどのグリア細胞などの細胞種を同定し，それら細胞種ごとのバルプロ酸投与自閉症マーモセットにおける遺伝子発現動態の詳細な変化を明らかにした。

他者との運動同期指向性を指標とした社会性形成の神経基盤解明

戸松彩花

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[1]が知られており，本研究ではこれを同期指向性と呼ぶ。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に，ニホンザルにおける同期指向性の抽出を試みた。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」行うよう訓練したニホンザルに，6 種類の速度で往復運動を行うサルの動画を見せ，一緒に課題運動をさせたところ，動画のサルの運動速度につられて自己の運動速度が変化することを見出した。すなわち，ヒトで見られる同期指向性に類似した現象を再現することができた。一方，同じ速度でレバーのみが動く動画の提示では，その効果は小さかった。このため，抽象的な「リズム」ではなく，眼前の生物よりもたらされる「時間」の情報が，自己の運動に影響した可能性がある。この現象に関わる神経活動を記録するため，補足運動野にアクセスするチャンバーを設置し，現在神経活動を記録中である。今後は実験頭数を増やしてデータの普遍性を確認するとともに，動画ではなく生体同士での影響を検証し，二者双方の同期指向性による相乗効果を検討していきたい。

1. Keller PE et al., *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 19, 369 (2014).

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。今年度は 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，橋本亮太（国立精神・神経医療研究センター）

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より高かった。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。さらなる解析から，統合失調症では，低空間周波数成分の傾きサリエンシーが影響を受けていること，またさらに画像の局所のエントロピーへの視線誘引度が健常者と異なっていることなどを明らかにした。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
小松三佐子，山森哲雄，兼子峰明（理化学研究所）
岡野栄之（理化学研究所，慶應義塾大学）

Mismatch negativity (MMN) is a well-established brain marker of schizophrenia. The aim of the current study is to extend the previous findings by measuring local field potentials from entire cortical surfaces of a hemisphere of marmosets and by examining which parts of the cortical areas contain information about deviance detection during visual MMN. We implanted a 96-channel ECoG electrode epidurally to one of their hemispheres in three marmosets (Komatsu et. al. 2019). As visual stimuli, sinusoidal gratings with different orientations were presented 300 times (in 5 min), each with a 500-ms on period and a 500-ms off period. By comparing the response to the deviants in the odd-ball condition and the response to the deviants in the many-standards condition, we evaluated the component of deviance detection, which reflects surprises by unexpected stimuli. Significantly larger responses corresponding to deviance detection were found from various brain areas including V1, V2, V4, MT, V3/PPC, TPO/FST, and FEF. Thus, we succeeded in detecting the components of deviance detection in marmosets from various brain areas. Since most of them are overlapped with brain areas which are involved in visual salience (Veale et al 2017), our results suggest that brains engage in common computational processes in deviance detection and visual salience.

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

社会的認知機能に関わる代表的な脳領野として，腹側運動前野（PMv）および内側前頭皮質（MFC）が挙げられる。PMv-MFC 間の機能結合を因果的に検証するため，ウイルスベクター開発室の小林憲太准教授の協力を得て，特定神経路でのみ目的遺伝子を発現誘導できる二重ベクターシステムを用いた神経路選択的活動遮断実験をおこなった。PMv から MFC への神経路の活動を遮断した結果，他者の動作エラー情報を，次に自らがおこなう動作選択に利用することができなくなることが明らかになった。

また 2019 年中頃より，自閉スペクトラム症を含む精神障害との関連が指摘される，HTR2C 遺伝子に機能喪失型変異があるサルを対象として，社会的認知行動課題のトレーニングを開始した。正常個体に比べて学習遅延があることが確認できており，今後，神経活動の記録・解析をおこなう予定である。

社会的コンテキストにおける報酬情報処理の神経機構

則武　厚，二宮太平，磯田昌岐

自己および他者の報酬情報処理の神経機構を明らかにするため，前年度までに開発した社会的古典的条件づけをサルに対しておこない，神経活動を記録した。ドーパミン作動性中脳核（DA）および視床下部外側野（LH）の局所電場電位を同時記録して解析した結果，他者の報酬情報を踏まえて自己の報酬価値を主観的に評価する際の，LH から DA に向かう神経情報流が，逆方向の情報流よりも多いことが明らかとなった。さらに，自閉スペクトラム症に関連する遺伝子に変異を持つサルでは，遺伝子変異を持たないサルと比べ，社会的古典的条件づけ学習が顕著に遅延することが明らかとなった。今後，変異型個体と野生型個体で神経活動を比較し，社会的コンテキストにおける報酬情報処理の神経機構の解明と，病態モデルにおけるその変容の解明を目指す。

素材の多感覚的知覚の獲得に関与する神経機構

横井　功

我々はある素材からできた物体を眼で見るだけで光沢などの視覚的特徴だけでなく触れた時の温感などの触覚的特徴を知覚し，触れることなく対象の多感覚的特徴を知覚することが出来る。素材の多感覚的知覚に後部側頭葉（PIT）のニューロンがどのように関与しているかを明らかにするために，さまざまな素材の実物体を見ながら触れる行動課題をニホンザルに行わせ，視覚的および触覚的特徴を経験させた。経験の前後において素材画像に対する PIT ニューロンの反応を記録し，経験の影響を調べた。ほとんどのニューロンが素材画像について選択的反応を示し，多くのニューロンは複数の素材カテゴリについて選択性を示した。視触覚経験の前後において，素材カテゴリ選択性の強度には差がみられなかったが，素材カテゴリ間の関係性が変化していることが明らかになった。今後さらに解析を進め，視触覚経験の影響をニューロンレベルで明らかにすることを目指す。

他者への報酬は脳内でどのように処理されるのか

植松明子，則武　厚，磯田昌岐

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

実験では，対面した２頭のサルに対し，様々なコンテキストで，他者に報酬を与えるか，あるいは与えないかを判断させるタスクを開発した。タスク遂行中の神経活動を，大脳皮質および皮質下の諸領域から計測することで，他者の報酬に対する各領域の神経活動の変化や，領域間での神経情報流を詳しく解析することを目指している。現在，タスクトレーニングが完了し，標的脳領域の生理学的マッピングを実施している。

生体システム研究部門

【概要】

私達を含め動物は，日常生活において周りの状況に応じて最適な行動を選択し，あるいは自らの意志によって四肢を自由に動かすことにより様々な目的を達成している。このような随意運動を制御している脳の領域は，大脳皮質運動野と，その活動を支えている大脳基底核と小脳である。逆にこれらの領域に異常があると，パーキンソン病やジストニア，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出力を送っている。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。2019 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興奮性入力と，淡蒼球外節からの GABA 作動抑制性入力に，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。その結果，一次運動野や補足運動野から入力を受ける視床下核のニューロンに，Stop 課題に応じて活動を変化させるグループがあることが解った。次年度はさらなるデータ収集とまとめを行う予定である。

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。

2019 年度，われわれは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の，一次運動野および補足運動野，一次体性感覚野に対して皮質内微小刺激法を用いて電気生理学的にマッピングを行った。その結果，一次運動野は喪失部の体部位再現領域が縮小していたのに対し，補足運動野や一次体性感覚野では縮小は見られなかった。次年度は健側と喪失側の一次運動野上肢遠位部再現領域に神経トレーサーを注入することで，入出力の差を検討する予定である。

大脳皮質から小脳への運動情報伝達機構

知見聡美，Waranan Wongmassang，南部　篤

小脳は随意運動の制御に寄与しており, 変調を来すことにより, 筋力低下や企図振戦などの運動障害を生じることが知られている。小脳皮質は大脳皮質から橋核や下オリーブ核を介して運動情報の入力を受けている。小脳の出力部である小脳歯状核に入力を送るのは小脳皮質のプルキンエ細胞であるが，プルキンエ細胞は GABA 作動性の抑制性である。小脳歯状核は，小脳皮質に投射するグルタミン酸作動性の興奮性神経の軸索側枝による入力によって興奮すると考えられているが，軸索側枝は非常に細いため，小脳歯状核に十分な興奮性入力を送ることができるのか疑問がある。この問題を明らかにするため，ニホンザルの大脳皮質運動野に電気刺激を加えて小脳歯状核ニューロンの応答を記録したところ, プルキンエ細胞からの抑制性入力の後に強い興奮が生じていることがわかった。このことから, 抑制後のリバウンド興奮が小脳歯状核に運動情報を伝達している可能性が示唆された。

光遺伝学によるサル一次運動野の活性化

佐野裕美，知見聡美，小林憲太（ウィルスベクター開発室）
深田優子（生体膜研究部門），深田正紀（生体膜研究部門），南部　篤
渡邊秀典，虫明　元（東北大学）

光遺伝学は神経科学において必須の技術になっているが，非ヒト霊長類への応用は必ずしもうまく行っていなかった。今回，チャネルロドプシン 2（ChR2）と CAG プロモーターを組み込んだアデノ随伴ウイルスベクター（AAV-DJ）を，電気生理学的に同定したマカクサルの一次運動野上肢領域に注入した。ChR2 は注入部位周囲の神経細胞に強く発現していた。金属記録電極に光ファイバーを貼り合わせた電極（オプトロード）を刺入し青色レーザー光を照射したところ（皮質内微小光刺激），短時間の単発光刺激でも長く続く興奮が誘発されるなど，皮質の神経細胞が強く興奮した。これに加えて，皮質内微小光刺激は，通常の皮質内微小電気刺激と同程度に，上肢の運動や筋活動も誘発した。本実験は光遺伝学の非ヒト霊長類への応用に道を開くものである。

大脳皮質から線条体への 2 種類の入力経路の解明

佐野裕美，小林憲太（ウィルスベクター開発室），南部　篤
加藤成樹，小林和人（福島県立医科大学）

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-lox システムにより, 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，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。大脳皮質から線条体への入力には，従来の大脳皮質–線条体と大脳皮質–視床下核路の側枝の２種類があることが明らかとなった。

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，知見聡美，南部　篤
吉岡　望，竹林浩秀（新潟大学）
堀江正男（新潟県立看護大学）

Dystonin（*Dst*, ジストニン）はマウスの遺伝学的なジストニアの原因遺伝子であり，*Dst* を神経堤細胞から分化した細胞のみで欠損する Wnt1-Cre::Dst cKO マウスでは，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，下肢で捻転運動様の異常な運動が表現型として認められる。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に特徴な筋収縮は認められなかった。このマウスで *Dst* を欠損させた神経堤細胞から分化した細胞（Wnt1 系譜細胞）のみで逆に Dst を発現させた Wnt1-Cre::Dst cRescue マウスでは，Wnt1-Cre::Dst cKO マウスと比較すると運動機能は劇的に回復していた。このマウスの筋電図を下肢から記録したところ，ジストニアに特徴な筋収縮は認められなかった。これらの結果は，Wnt1 系譜細胞がジストニア様症状に関与することを示唆していると考えられた。今後，これらのマウスを使って後肢の運動異常の原因をさらに解明するため，大脳基底核や小脳から神経活動を記録する。

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上市されている。パーキンソン病の治療には，一般的にドパミンを補うように 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。臨床での使用経験から，ゾニサミドには L-DOPA 誘発性ジスキネジアを軽減させる可能性が指摘されており，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，投与量に依存してジスキネジアの出現時間を有意に延長させた。また，L-DOPA 投与のみで誘発したジスキネジアに対して，L-DOPA とゾニサミドを投与してジスキネジアを観察したところ，L-DOPA 投与のみで誘発したジスキネジアと有意な変化は認められなかった。これらの結果から，ゾニサミドの投与量を調節することで，L-DOPA の治療効果の増大を期待できると同時に，ジスキネジアへの影響が無い範囲にとどめられることが期待できる。

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，長谷川　拓，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 24 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。正常なマウスでは，大脳皮質運動野を電気刺激すると興奮−抑制−興奮という三相性の応答が認められるが，on では抑制が増強して遅い興奮が減弱していた。抑制は運動の開始や促進に，遅い興奮は運動の終了を制御していると考えられていることから，この応答の変化が不随意運動の出現に関与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，前頭連合野の神経生理学的な機能マッピングを行っている。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。場所記憶課題，形記憶課題，色記憶課題を行ったところ，課題の条件によるパフォーマンスの違いが見られた。現在，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い，前頭連合野の機能マップを作成している。

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（ウィ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，行動学的・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，受容体のリガンド Clozapine N-oxide (CNO) または Deschclozapine (DCZ) の投与によって神経活動を抑制したところ，反対側の上肢に不随意運動が見られ，到達運動が不安定になった。到達行動課題中に淡蒼球外節（GPe）と淡蒼球内接（GPi）から単一神経細胞記録を行ったところ，GPe ではポーズ（神経発火の一過性の休止）が顕著に増大し，GPi では発火列の変動（CV of ISI, Fano factor）が増大した。この不規則な発火が運動異常の原因となった可能性が示唆される。

以上の結果は，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。STN が大脳基底核の出力を規則化させ，安定な運動を可能にさせる神経メカニズムが予想される。

神経ダイナミクス研究部門

【概要】

神経ダイナミクス研究部門は 2018 年 10 月に開設され，脳情報処理における神経活動ダイナミクスの計算論的理解を目指している。具体的には神経活動にみられる振動，同期，ノイズ誘起ダイナミクス，準安定状態をはじめとする多様な非線形ダイナミクス関連の現象が知覚，認知，運動，社会性機能等の脳情報処理において果たす機能的役割の理解を試みている。

2019 年度は，認知課題時，安静時，もしくは，経頭蓋磁気刺激（transcranial magnetic stimulation: TMS）印加時のヒトの頭皮脳波（electroencephalography:EEG）計測実験データの解析を行った。また，脳機能ネットワークの過渡的な変化様相を明らかにする目的で，データ駆動的なアプローチによる時系列データ解析手法の開発を行った。さらに，てんかん患者の皮質脳波（electrocorticography: EcoG）の解析により，てんかん発作機構の解明を試みた。脳情報処理機構の理解を非線形動力学，情報理論，信号処理理論，複雑ネットワーク解析，統計的機械学習手法等の多面的な手法を組み合わせて今後も継続して試みたい。

また，2019 年度は共用の計算サーバを導入し，計算環境の整備を進めた。さらに脳波計測実験用の電磁シールドルームを導入し，脳波，脳刺激実験のセットアップを行った。全般的に部門の研究環境基盤の構築に成功したといえる。

TMS-EEG 同時計測による視覚的注意のゲーティングダイナミクスの解明

岡崎由香，水野佑治（理化学研究所），北城圭一

選択的注意のゲーティング機能に関する大域的なネットワークダイナミクスの解明を目指した。左右の視空間に提示される視覚刺激ターゲットに対して被験者が応答する視覚的注意課題を用いて，TMS-EEG 同時計測実験を行った。注意視野に対応した大脳皮質半球側の低次視覚野に単発 TMS を印加すると，非注意視野に対応する。

半球に比べて，低次視覚野から他領域への大域的な位相同期ネットワークがベータ波，ガンマ波帯域で過渡的により強く形成された。この結果は注意視野に対応する半球では低次視覚野から他の脳領域へのボトムアップ的なネットワークの有効結合が強くなっていることを示唆し，注意状態依存的なゲーティング機能がネットワークダイナミクスにより実現されていることが明らかになった。

Okazaki, et al. *Scientific Reports*, **10** 4959, 1-10, 2020

反復 TMS-EEG 同時計測による脳波引き込みダイナミクスの解明

岡崎由香，中川佑美（理化学研究所），水野佑治（理化学研究所），
花川　隆（国立精神･神経医療センター/京都大学），北城圭一

反復 TMS－EEG 同時計測によって脳波の位相ダイナミクスのデータ解析を行い，脳活動の周波数特異的な引き込みダイナミクスの定量化を試みた。5 Hz, 11 Hz, 23 Hz で 5 連発の反復 TMS，及び，単発の TMS を低次視覚野，あるいは，一次運動野に印加しながら同時に頭皮脳波の計測を行った。脳波位相ダイナミクスを解析した結果，視覚野刺激ではアルファ波帯域である 11Hz，運動野刺激ではベータ波帯域である 23Hz で，刺激終了後，短時間持続する位相引き込みを刺激脳領域の局所，大域的ネットワークで確認した。この結果は，刺激周波数が刺激領域の神経回路ネットワークの自然周波数に近い刺激だと効率的に位相引き込みが起きることを示唆している（Okazaki et al. 投稿中）。

両手協調運動と大脳半球間の相互作用

上原一将，北城圭一

利き手が非利き手よりも優れた運動能力を発揮することは多い。しかしながら，両手協調動作では非利き手は利き手動作の力学的変化を読み取り，利き手の動きを考慮して柔軟に対応するという優れた能力を有することが報告されている。我々は，利き手，非利き手それぞれを制御する左右大脳半球と脳梁を介して左右半球を結合する大脳半球間ネットワークに着目し，両手協調動作における非利き手の優越を支える脳内神経基盤について検証を進めている。本研究では時間解像度に優れ，神経活動ダイナミクスを非侵襲的に捉えることが可能な EEG を記録し，トランスファーエントロピー等の情報理論指標を解析に組み込み，因果性や情報流を考慮した神経メカニズムを明らかにする。 2019 年度は EEG 計測用に電磁シールドルームを部門内に設置し，計測環境を整備した（図）。これと並行して，両手協調課題計測装置の作成とその妥当性を検証するなど本実験に向けて準備を進めた。

図　ヒト頭皮脳波計測用の電磁シールドルーム環境（左）と active 電極による脳波計測風景（右）

てんかん発作の階層的神経ダイナミクスと情報流

横山　寛，松本理器（神戸大学），北野勝則（立命館大学），青柳富誌生（京都大学），
松橋眞生（京都大学），菊池隆幸（京都大学），國枝武治（愛媛大学），池田昭夫（京都大学），北城圭一

京都大学との共同研究により，てんかん発作時の神経活動ダイナミクスと情報流の定量化によって，てんかん発作メカニズムの神経ダイナミクス的観点での理解を目指した。具体的には患者から計測した ECoG データの解析により slow shift（1 Hz 以下），デルタ帯域（1-4 Hz），200Hz 以上の高周波振動(HFO)間の相互作用を定量化した。slow shift 位相―デルタ波振幅間，デルタ波位相―HFO 振幅間など，複数の周波数帯域をまたぐカップリングが発作時には発作間欠期に比べてより強く生じることがわかった。また，情報理論指標であるトランスファーエントロピーを用いることで，それらのカップリングの背景にある神経活動ダイナミクス上での情報流の可視化を試みた。共同研究機関の京都大学の先行研究によると slow shift は発作にやや先行して現れてグリアの活動に関連していると推測されることから，グリア，神経活動間の相互作用の異常がてんかん発作に関連していることが推測される。

線形時系列モデルのベイズ的逐次パラメタ推定による脳機能ネットワークの時系列推定

横山　寛，北城圭一

脳機能ネットワークの過渡的変化の背後にある神経基盤を明らかにするためには，データ駆動的なアプローチによる時系列解析手法の提案が必要不可欠である。そこで，我々は，線形時系列モデルによるネットワーク推定法とベイズ推論によるモデルパラメタの逐次推定法を組み合わせた新しい解析手法を提案し，脳機能ネットワークの時系列解析を進めている。本提案手法では，Vector autoregressive モデルのような変量間の相互的結合関係をパラメタに持つ時系列モデルを適用し，それらのパラメタを Prior として与えることで，ベイズ的に脳領域間のネットワーク構造を推定することができる。今後は，本提案手法を改良しつつ，実際のヒト脳機能計測データへの応用を検討する。

映像酔いと脳波ダイナミクスに関する研究

Yue Wei（The Hong Kong University of Science and Technology），岡崎由香，
Richard H. Y. So（The Hong Kong University of Science and Technology），
Winnie C. W. Chu（Prince of Wales Hospital, Hong Kong），北城圭一

香港科技大との共同研究で映像酔い（visually induced motion sickness）の脳波ダイナミクスに関する研究を行った。映像酔いをしやすいグループとしにくいグループを Motion Sickness Susceptibility Questionnaire (MSSQ) 質問紙を用いてグループ分けを行い，回転ドット刺激映像に対する誘発電位を比較したところ，映像酔いをしやすいグループではしにくいグループに比べて頭頂葉の N2 反応が大きかった。また，シータ波での右頭頂葉や前頭葉周りの位相同期ネットワークの形成が映像酔いをしやすいグループでは弱かった。映像酔いは視覚刺激に対する大域的な位相同期ネットワーク形成による脳情報処理と関連していることが明らかになった。

Wei et al. *NeuroImage* **202**, 116028, 1-12, 2019

情報理論的アプローチによる TMS-EEG データの有向情報流の検出

Song Ye（立命館大学），北城圭一，北野勝則（立命館大学）

立命館大学との共同研究で，単発 TMS-EEG のデータ解析により，刺激印加した低次視覚野領域から他の脳領域への有向情報流をモデルベーストの手法とモデルフリーの手法により定量化し，両手法の比較検討を行った。具体的にはベクトル自己回帰（vector autoregression: VAR）モデルと符号化トランスファーエントロピー（symbolic transfer entropy: STE）手法とを比較した。異なる実験セッションのデータの解析結果の再現性について検証し，モデルフリーの STE の方がモデルベーストの VAR モデル手法に比べて高い再現性をみせ，有向情報量をよりロバストに検出できることがわかった。

Ye et al. *Neuroscience Research* **156**, 197-205, 2019

心理生理学研究部門

【概要】

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

7 テスラ MR による高度脳計測基盤技術の開発

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

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。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。超高磁場による脳機能 MRI（fMRI）で，最も期待されるのは空間分解能の向上である。本研究では，Laurentius Huber 博士との共同研究により，空間的特異性の低下を招く脳表静脈からの影響を低減しつつ，大脳皮質レイヤーレベルの脳活動を観測可能にするサブミリメータースケールの fMRI の導入および初期検討を行った。手指対立運動および安静時の fMRI 計測では，それぞれ当該の脳領域に十分な信号変化が観測され，各種賦活課題実験への応用を開始した。

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，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）
Paul M. Thompson（University of Southern California, USA）
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）

精神科疾患群において，脳構造上の共通点と相違点は，病態生理を理解する上で重要な情報である。本研究では，国内 12 施設で収集された健常者，統合失調症（SZ），双極性障害（BP），自閉症スペクトラム障害（ASD），大うつ病性障害（MD）（各 1506, 696, 211, 126, 398 名の計 2037 名）の拡散強調 MRI 画像を用いて，白質神経束微細構造を比較するメガアナリシスを行った。健常者との比較では，SZ，BP，ASD は共通して脳梁に，SZ と BP は前庭や帯状体など大脳辺縁系に類似の変化がみられた。一方，MD では有意差が見られなかった。これらより，SZ と BP の病理学的特徴は類似しているが，MD の生物学的特徴は健常者に近いと思われた。これらの知見は，精神科疾患の病理学的特徴を明らかにするとともに，病態生理の理解に有用と思われた。

リアルタイムでのアイコンタクトの神経基盤：Dual fMRI および Dual 脳波-fMRI を用いた研究

小池耕彦，中川恵理
角谷基文（名古屋大学大学院･情報学研究科）
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二者が繋がれ，意図や注意の共有へと繋がる共同作業である。Dual fMRI を用いた研究により，アイコンタクト条件では，目の映像を単に見ている条件と比較して。二条件の存在に気が付かなかったにも関わらず，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ていることがわかった。また脳活動上では，小脳半球，前部帯状回，また島皮質などの活動パタンが，リアルタイムでのアイコンタクトに特徴的な変動を示した(Koike et al., 2019, eNeuro)。この結果を基に，より高い時間解像度および簡便な手法でアイコンタクトの神経基盤を描出することを目指して，Dual 脳波−fMRI 計測を開始した。MRI 撮像と干渉せずに脳波撮像ができる設定の検討をすすめた。同時計測されたデータのうち，fMRI データについて解析を進めた結果，先行研究（Koike et al., 2019）の結果が再現され，小脳や前部帯状回，および島皮質がリアルタイムでのアイコンタクトに特徴的な活動を示した。脳波データについては，機械学習を適用した結果，リアルタイムアイコンタクト条件と遅延映像視聴条件のデータを，弁別可能なことが明らかになった。現在，どのような脳波上の特徴が，二条件の違いを表象しているかを検討している。

共同注意から共感へ：Dual MRI を用いた研究

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

我々は共同注意の実験を発展させ，二者間での好みの共有が，どのような脳活動を引き起こすかを検討した。実験において，参加者 2 名は，キュー刺激により好みの共有をおこなう物体の情報を共有する（例：「桃！」「はい！」）。これは一般的な共同注意の中では，注意共有がおこなわれる物体上に視線を動かす行為に対応する。次いで参加者は，その物体についての好みを共有する（例：「好き！」「私も好き！」）。これは共同注意では，互いに同じものを見ていることを確認する過程に対応すると考えられる。このような課題を Dual MRI 装置を用いておこなっている最中の脳活動を記録した。その結果，先行して好みを言う条件，すなわち自分の好みに対する意見が相手によって肯定もしくは否定されるときに，偏桃体や線条体など，情動に関連するとされる脳領域の活動が惹起されることが明らかとなった。加えて，先行研究と同様に二者脳活動相関を計算したところ，右側頭回において有意な相関が観察された。

視覚的特徴共有の神経基盤：Dual MRI を用いた研究

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

一般的な共同注意においては, どの空間的な位置に共に視覚的注意を向けるかという情報が共有される。しかし視覚的注意は必ずしも空間位置に向けられるものではなく, 特定の視覚特徴（たとえば色）に対して向けられる場合もある。視覚的表象に対して向ける注意を二者間で共有した場合も, 一般的な共同注意と同様の神経基盤を利用しているのであろうか？我々は, どの視覚特徴に注意を向けるかを口頭で伝達しあい, 注意をその特徴上で共有する課題を実験参加者におこなってもらい，その際の脳活動を Dual MRI 装置で計測した。その結果, 口頭でコミュニケーションをおこなっているため, 課題関連の脳活動上昇は主に左半球の下前頭回を中心にみられるものの，先行研究（Tanabe et al., 2012; Koike et al., 2016, 2019）と同様に，二者間での脳活動相関は右半球の下前頭回や島皮質を中心にみられることが明らかとなった。

脳機能種間比較に向けた非ヒト霊長類用 MRI 解析環境の開発

郷田直一，福永雅喜，定藤規弘

非ヒト霊長（NHP）を対象とした MRI/fMRI は，より直接的な種間比較を可能とし，脳機能のより深い理解に寄与する重要な研究手法である。しかしながら，MRI/fMRI データの解析環境は一般にヒトのデータの処理に最適化されており, NHP データの解析には適さないものも多い。本研究では，公開されている NHP 用 HCP パイプライン開発版を元に，他の種々の解析プログラムを組み合わせ，マカクザルおよびマーモセット MRI/fMRI データ，特に超高磁場 7 テスラ MR 装置で収集したデータの処理に最適化した解析パイプラインを構築した。現在, 本研究所 7 テスラ MR 装置にて他部門と共同で計測したマカクザル構造 MRI，安静時 fMRI，拡散 MRI データ等へ実適用しつつ，修正，改良を進めている。

腹側中脳の運動準備活動と運動出力との関連性

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

ドーパミン含有細胞を含む腹側中脳は, 報酬関連情報を処理することがよく知られている。一方，最近の齧歯類研究では腹側中脳が運動の開始や方向に関する情報も表現することが報告されている。そこで，ヒト腹側中脳活動と把握運動との関連性を機能的 MRI を用いて検証した。運動の準備と実行を知らせる合図を時間間隔をあけて提示し，運動準備と運動実行に関与する神経活動を分離した。運動準備時の腹側中脳活動は, 後の反応時間とは相関しないが，最大握力と有意な相関を示した。運動実行時にも腹側中脳は賦活したが, 反応時間や最大握力といった運動パラメータとは関連しなかった。さらに，拡散強調画像に基づくトラクトグラフィーにより, 腹側中脳が一次運動野の

手領域と密な解剖学的結合を持つことを示した。よって，腹側中脳は運動準備段階で将来の運動出力を表現し，腹側中脳から一次運動野への投射を介して運動出力を修飾する役割を持つことが示唆される。

最新ヒト脳機能マップとレガシーMRI データを結び付けるツールの構築に向けて

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) は，新たな MRI データ解析プラットフォームや脳地図 HCP_MMP1.0 (HCP's Multimodal Parcellation, version 1.0) を公開している。これまでヒト脳機能イメージング研究で伝統的に用いられてきた Brodmann の脳地図や MNI (Montreal Neurological Institute) 座標ではなく，HCP_MMP1.0 の脳領域名や grayordinates に基づいた脳部位の報告を提案している。既存の報告方法からの脱却を図ることで，高精度な脳の位置情報の共有が研究間で容易になる一方，従来の研究結果との比較が困難になる問題を孕んでいる。そこで，本研究は HCP_MMP1.0 の 360 脳領域と MNI 座標の対応付けを可能にすべく，HCP プロトコルに準拠した 40 名のデータを用い，各領域の MNI 空間上での確率マップを生成した。各個人データの HCP_MMP1.0 テンプレートへの合わせ込みの鍵となる multimodal surface matching の過程で生成されるパラメーターを逆変換し，テンプレートの各個人への落とし込みを行うことで，各領域の確率の計算を可能にした。また，MNI 空間上の各位置での脳領域の一意性・不確定性の指標として，情報エントロピーを計算し，そのマップも生成した。今後，これらをデータベース化し，HCP_MMP1.0 と MNI 座標の対応関係を調べられるツールとして公開することを計画している。

相互模倣に関わる神経基盤

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

会話などのコミュニケーション中には，お互いの身振りや声色などを模倣することが知られており，この相互模倣は社会的結束を強める一つの要因となっている。この背景として，相互模倣を繰り返すことにより，2 者の脳活動の関係性が変化することが予想される。そこで本研究では，相互模倣を繰り返すことにより 2 人の脳活動の同期が強くなるという仮説を検証した。16 ペアの参加者は 2 台の MRI 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課題を行った。その結果，相互模倣を繰り返すことにより，後帯状回皮質で活動の同期が強くなっていくことが明らかとなった。この後帯状回皮質の活動同期の強化が社会的結束に関連すると考えられる。

聴覚運動協調における予測能力に関わる神経基盤

宮田紘平，山本哲也，小池耕彦，菅原　翔，福永雅喜，定藤規弘

聴覚リズムとの運動の協調（聴覚運動協調）は，音楽演奏やダンスに欠かせないものである。この協調を実現するためには，演奏者は次の拍を連続的に予測しなければならない。実際に，テンポ変化の予測能力が聴覚運動協調の安

定性に関係することが先行研究で報告されている。このような時間的な予測能力は, 様々な運動スキルにとって重要であるが，その神経機構は未だに不明である。そこで本研究は，時間的予測能力に関わる神経基盤を機能的 MRI 装置を用いて調べた。実験参加者には MRI 装置の中でメトロノームに合わせたタッピング課題を行ってもらった。行動解析の結果, 先行研究と同様に時間的予測能力が高い人はタッピングの正確性，安定性が高いという結果を得た。そして脳画像解析の結果, 予測能力が高い人ほど背側運動前野の活動が高いことが明らかとなった。

自己と他者の視点からの感情的状況想起に関わる神経基盤

宮田紘平
大星有美（浜松医科大学）
小池耕彦，定藤規弘

ヒトは他人の靴を履いて，他の人の感情的な経験を自分自身のものであるかのように思い描くことができる。この能力は「認知的共感」の基礎となるという点で重要である。本研究では，機能的 MRI 装置を用いて，自己と他者の視点から感情を伴う出来事を想起するための神経基盤について調べた。実験参加者には，幸，不幸，中立に分類された様々な人生の出来事とそれに伴うであろう感情を，自己または他者の視点から想像してもらった。その結果，自他の視点や感情に関係なく，出来事を思い描くことは，視覚野，左海馬，メンタライジングおよび言語ネットワークを活性化させた。また，自他に関わらず幸せな出来事の想起では右側一次視覚野（V1）が，不幸な出来事の想起では左側の V1 が強く活動していた。感情的な想起では内側前頭前野と後帯状回皮質の活動がみられ，特に自己の視点からの想起で内側前頭前野の活動が強いことが明らかとなった。

両手を使った手指系列運動学習の検討: 7 テスラ fMRI

濱野友希
菅原　翔（東京都医学総合研究所）
福永雅喜，定藤規弘

日常生活で必須である両手の協調動作は，片手動作の単なる足し合わせでは説明できない。しかし，両手動作を習得する学習過程においても，片手動作の学習にはない独自の神経基盤があるのかは十分にわかっていない。両手動作に特異的な現象として，空間座標系で対称な運動（並列動作）と自己座標系で対称な運動（鏡像動作）では，並列動作は鏡像動作からの変換過程を必要とするために難しいことが知られている。本研究では，並列動作と鏡像動作の学習過程においても，動作特異的な神経基盤が動員されるのかを検討する。現在，並列動作と鏡像動作による手指系列運動の学習中に 7 テスラ MRI による機能的 MRI 計測を実施している。途中経過ではあるが，並列動作は鏡像動作に比べて難しい一方，学習によるパフォーマンス変化には差がないことが示されている。今後は機能的 MRI データの解析を通じて神経基盤を明らかとする。

前頭眼窩皮質で表象される味覚体験

吉本隆明，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
小坂浩隆（福井大学），中田正範（自治医科大学），矢田俊彦（自治医科大学）
近添淳一，定藤規弘

前頭眼窩皮質において（orbitofrontal cortex:OFC）において, 対象の同一性や主観的価値のような次元の異なる情報を表象していることが個別に報告されているが, これらの神経表象を統合的に検討した研究は未だなかった。

私たちは空腹時・満腹時双方で 128 種類の食品画像の食べたさを評定しているときの神経活動を計測する functional MRI を用いたヒトを対象とした実験を行った。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影響を受けていることが分った。さらにその影響は主観的価値の変動では説明されないことが分った。私たちの研究では，OFC が従来報告された主観的価値ばかりでなく，個別の味覚体験を表象していることが示された。

7 テスラ MRI を用いたヒト脳内神経伝達物質の反復計測法の確立

丸山修紀，福永雅喜，定藤規弘

MR Spectroscopy (MRS) は神経伝達物質であるグルタミン酸や GABA を同時に計測できる。しかし，それらの信号強度は小さいため，従来は加算平均による計測時間の延長が問題であった。短時間の反復 MRS 計測には，7 テスラ MRI の高い感度が必須となるが, 大脳皮質のような脳周辺部の計測は，静磁場や送信磁場の不均一性の増強が問題となる。そこで，これらの神経伝達物質を再現性高く検出できる反復計測法の確立をめざした。一次運動野に関心領域を設定して MRS を連続 2 回計測し，グルタミン酸および GABA 濃度の変動係数を求めた。実験参加者ごとに静磁場と送信磁場の均一性を調整することで, 変動係数 5％ 以下の高い再現性を実現した。また，従来は困難であったグルタミン酸とグルタミンの分離が可能となり，濃度計測の精度が改善された。これらより，6 分の反復計測法を確立した。この経験をふまえ，MRS で得るグルタミン酸/GABA 濃度比と機能的 MRI を組み合わせた脳ネットワーク研究を進めている。

社会的意思決定における 2HBT1 効果

南條啓孝，小池耕彦，宮田紘平，定藤規弘

ヒトの社会的な行動決定は個人の決定より優れていると信じられている（Two heads better than one 2HBT1 現象）が，その神経基盤は明らかではない。社会的な行動決定においては，話し合いなど社会的相互作用を通じた合意により確信を共有することを通じて，確信が増強し，それに伴ってより良い判断ができると考えられているが，実際の行動決定においては，他者の判断だけが利用可能で，確信度が提示されていないことが多く，そのような場合に 2HBT1 現象が発生するか否かは不明である。これらのことから，2HBT1 現象を脳機能レベルで説明するためには，二者間で伝達される情報の内容と，それが確信形成に及ぼす影響を行動レベルで明らかにする必要がある。そこで，単に結果だけを共有する条件を持つ二肢強制選択法を用いた視覚弁別課題を考案し，2HBT1 現象を検証する行動実験を行った。本課題では，ペアで左右に示された物体のどちらが大きいかを２回判断させた。１回目の判断入力後，２回目の判断を行わせる際に，相手の判断を提示する場合（Dyad Condition）

と，相手の判断は無く自分の１回目の判断を再考させる場合（Solo Condition)を用意した。その結果, Solo Condition においては，２回目の方が１回目よりも弁別能が高く，Dyad Condition においては，その程度は有意に増強していた。Dyad Condition において相手の判断した情報をランダム情報に置換して提示すると，弁別能は低下した。本結果は，確信度そのものは交換されずとも，他者の判断を参照するのみで視覚弁別能が改善することを示している。この行動解析結果に基づいて，２個体同時計測 fMRI を用いた確信生成ならびに個体内･個体間確信増強の神経基盤を描出する計画である。

機能的自己符号化器による fMRI データからの認知機能の潜在ダイナミクス抽出

小山雄太郎，加藤征広，平山淳一郎，地村弘二，近添淳一，定藤規弘

機能的 MRI はヒト高次脳機能研究に不可欠な手法である。機能的 MRI は空間解像度に優れることから，従来認知機能の時間的変動を実験的に設定，あるいは仮定することによって認知機能を担う脳部位定位を行うという手法が取られてきた。一方で，近年機能的 MRI の時間的分解能が１秒以下に短縮され，認知機能の時間的解析に注目が集まっている。我々は，従来試みられてきた手法（Independent Component Analysis, Principal Component Analysis 等）の長所短所を詳細に吟味した上で，認知機能を担う脳部位を制約条件として認知機能の時間変化を解析する手法（functional autoencoder）を開発した。具体的には，認知機能の時間変化抽出を，全脳の 10^5 程度の領域における 10^3 点程度の時系列データの次元圧縮問題と捉え，機械学習における次元圧縮の手法である autoencoder に，認知機能の空間的情報を制約条件として取り込むことにより，高次の認知機能の時間的解析を試みた。現在までに，聴覚潜在変数からの音刺激タイミングの復号と，指運動潜在変数からのボタン押しタイミングの復号に成功している。また，このモデルのさらなる検証法と高次脳機能のダイナミクス解析へ適用する計画を提示した。

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で，特定の条件下でレポーターの導入効率をモニターする際の信頼性をさらに確保する必要があることがわかり，その方法を工夫し改善した。

個別研究（毛利研究室）

【概要】

ほとんどの生物は有性生殖と呼ばれる雄性配偶子（精子）と雌性配偶子（卵）の融合に伴う劇的で普遍的な活性化現象，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，受精機構の詳細は未だ謎に満ちている。どのように精子が卵に近づき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，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。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。さらに，魚類（メダカ）の受精時の Ca^{2+} 変化についても検討した。

イトマキヒトデ卵母細胞の卵成熟時の膜電流変化と Ca 遊離機構の発達の研究

毛利達磨
経塚敬一郎（東北大学大学大学生命科学研究科）

卵成熟ホルモンが既知のイトマキヒトデは卵成熟の研究にとって非常に有用な実験材料である。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。イトマキヒトデの成熟途上卵（PMO,1-MA 添加後 15 分）の媒精すると細胞内 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が，IP_3 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。さらに，昨年に加え，細胞骨格タンパク質アクチンと細胞内 Ca 動態の測定を行ったところ，アクチンの繊維状の分布がホルモン添加後 20 分以降では無くなっていくことが分かった。これらのことからアクチンの再構成により Ca 遊離機構も再構成されるということ，成熟途上卵媒精時にも IP_3 の Ca 遊離機構も働いていることが強く示唆された。上記 Ca 振動と IP_3 による Ca 遊離機構の発達について執筆し現在，論文投稿予定である。

エダアシクラゲの受精時電位変化と細胞内 Ca 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。前回の研究から卵成熟時には電位変化がないことが分かったが，受精時にはどうなるか今回挑戦した。 電位変化を取るために電極と細胞膜のシールがうまく行かず Ca との同時測定はできなかった。今後の検討が必要なことが分かった。

メダカ卵受精時の細胞内 Ca 変化の測定

毛利達磨
春見達郎（旭川医科大学解剖学教室）

魚類メダカの卵受精時の Ca 変化はおよそ 30 年前にエクオリンを用いて行われたことがあるが，現在の Ca 蛍光指示薬での結果は知られていない。エクオリンの Ca イオンに対する変化は線形ではないのでどのように変化するのかまた，魚類特有の卵門付近からの変化がどうなっているのか詳しく調べる目的で共同研究を開始した。その結果メダカ卵は機械的な圧縮に弱く受精が難しいこと，さらに，卵門付近から Ca の波は広がっていくこ

とを確認した。また，IP_3 の注射による Ca 変化は棘皮動物卵やマウス卵などとは異なり Ca 誘発性 Ca 遊離機構が存在することを示唆した。今後，Ca 増加は卵門のどのあたりの細胞質から起きるのかなど詳細研究の必要性が認識された。さらに，他の魚類についても研究を広げていきたい。

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。

加齢と海馬依存性記憶，カルモジュリンキナーゼ II 活性

山肩葉子
柳川右千夫（群馬大学）
井本敬二

Ca^{2+}/カルモジュリン依存性プロテインキナーゼ II（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，CaMKII α は，その中心的な役割を果たす。これまでの不活性型の CaMKII α ノックインマウスを用いた解析の結果，加齢に伴う記憶の低下に CaMKII 活性の低下が関与する可能性が示された。そこで，加齢と CaMKII 活性，海馬依存性記憶との関連を包括的に調べるために，様々な週齢のマウスを準備し，水迷路を用いて，海馬依存性の空間認識記憶をテストすると共に，それらマウス脳のサンプルを採取し，活性測定を行った。その結果，加齢と海馬依存性記憶，キナーゼ活性との間に一定の相関関係がある可能性を見出した。今後さらに詳しい解析を展開する予定である。

個別研究（佐竹研究室）

【概要】

エタノールがグルタミン酸輸送体（興奮性アミノ酸輸送体 excitatory amino acid transporter, EAAT）の機能亢進を引き起こす分子的基盤を追究し，Na ポンプ（Na,K-ATPase）ならびに protein kinase C (PKC) の関与を示唆する結果を得た。また，小児交互性片麻痺（AHC）/家族性片麻痺性片頭痛 2 型（FHM2）モデル動物（Na,K-ATPase α2 サブユニット遺伝子ヘテロ欠損マウス）*Atp1a2*$^{+/-}$の扁桃体において，抑制性シナプス伝達が選択的に亢進していることを発見した。

エタノールの EAAT 機能亢進作用：分子的基盤の検討

佐竹伸一郎

EAAT は，Na ポンプにより作り出される細胞膜間 Na^+/K^+勾配を利用して，神経細胞から放出された興奮性伝達物質グルタミン酸（Glu）の回収を担い，神経伝達を終結させるとともに，過剰 Glu の興奮毒性から神経細胞を保護する役割を持つ。これまでに，小脳プルキンエ細胞の EAAT は，生理的濃度のエタノールによりその Glu 輸送機能が亢進し，登上線維伝達物質 Glu のシナプス外拡散を抑制することを見出している。

光感受性 Glu の光遊離（光照射時間：500 ミリ秒）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，その細胞の Glu 輸送行程を評価することができる。この実験条件にて誘発した PTC は，一過性成分（$PTC_{transient}$）と持続性成分（PTC_{steady}）の二つに分けることができ，エタノール（50 mM）は PTC_{steady} の振幅を選択的に増大させることを発見した（$PTC_{transient}$ には無効）。エタノールには EAAT のターンオーバー（Glu 輸送行程の回転速度）を亢進させる作用があると考えられる。

エタノールが EAAT 機能を亢進させる作用の分子メカニズムを明らかにするため，Na ポンプと PKC に焦点を当てた薬理学的手法による検討を行った。Na ポンプ阻害薬 ouabain は PTC_{steady} の振幅を減弱させた（$PTC_{transient}$ には無効）。また，エタノールの PTC_{steady} 増強作用も ouabain により消失した。これらの結果は，①EAAT のターンオーバーが Na ポンプによる制御を受けていること，②エタノールの EAAT 機能増強作用が Na ポンプを介して引き起こされていることを示唆している。また，エタノールの PTC_{steady} 増強作用は PKC 阻害薬 GF109203X により消失した。一方，PKC 作用薬（ホルボールエステル）PMA に PTC_{steady} を増強する効果は認められなかった。エタノールが EAAT の機能を亢進させる作用に PKC 活性は必要であるものの，十分な要素ではないと考えられる。PKC は，エタノールから EAAT に至る機能制御機構の維持に関わるなど，補助的な位置付けにあると推定して更に検討を進めている。

AHC/FHM2 病態モデル *Atp1a2*$^{+/-}$の扁桃体における抑制性シナプス伝達の増強

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）

Atp1a2$^{+/-}$では，扁桃体ならびに梨状皮質において神経活動マーカー c-Fos の発現が増強している（Ikeda et al., 2003）。そこで，扁桃体領域を含む脳冠状断スライス標本を作製し，大型神経細胞（長径 >20 μm）より全細胞パッチクランプ記録を試みた。局所電気刺激により興奮性シナプス後電流（EPSC）ならびに抑制性シナプス後電流（IPSC）を誘発し，その振幅に刺激強度依存性を見出した。扁桃体の神経細胞は，複数の神経細胞から興奮性入力と抑制性入力を受けていることを示している。

EPSC の刺激強度依存曲線は，300 μA/100 μs の電気刺激で飽和し，野生型と *Atp1a2*$^{+/-}$の間で曲線に有意差は認められなかった。IPSC の刺激強度依存曲線も同様に 600 μA/100 μs で飽和したが，*Atp1a2*$^{+/-}$の IPSC 振幅は全ての刺激強度において野生型の約 2 倍に増強していた。*Atp1a2*$^{+/-}$では，抑制性シナプス伝達が選択的に亢進していると考えられる。しかし，IPSC のペアパルス比や微小 IPSC (miniature IPSC) に，野生型と *Atp1a2*$^{+/-}$の間で有意な差は観察されなかった。シナプス小胞体の放出確率や神経伝達物質の充填量，シナプス後部の GABA 受容体数に特筆すべき変異はないと結論した。引き続き，*Atp1a2*$^{+/-}$における抑制性シナプス伝達亢進の分子的基盤を解き明かすとともに，この表現型（扁桃体抑制性シナプス伝達の亢進）と病態（片麻痺/片頭痛）の関係を追究している。

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っている。具体的には，共同利用研究の実施希望者に対し対応できる研究手法や研究部門を紹介する等のいわば相談窓口としての役割を果たし，また機器設備や研究手法に関する要望の汲み上げも行っている。(2) 生理学研究所は基礎生物学研究所と共に，2016 年度より新学術領域研究「学術研究支援基盤形成」のひとつである「先端バイオイメージング支援プラットフォーム」事業を担当している。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っている。これは，多数の脳科学関連の新学術領域等の日本全国の脳科学研究者を横断的に束ねて毎年全体会合を行う，これまで「包括脳」が担ってきた役割を継承するものである。(3) 生理学研究所はこれまで中核機関として実験用サルの供給事業（NBR 事業）に取り組んできた。NBR 事業推進室は，この事業の担当部署を明確化し，これまでの脳機能計測・支援センターの霊長類モデル動物室を改変して設けられた。2017 年度に NBR 事業の中核機関が京都大学・霊長類研究所に移り，生理学研究所は協力して円滑な事業の推進に貢献している。2019 年度は，サルの供給は停止し，母群の維持を行った。(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。2019 年度は，応募が無く活動は行われなかった。(5) 国際連携研究室は，外国人客員教授が長期滞在して運営する 3 年の時限付き研究室で，国際連携研究の推進を目的としている。2017 年度から NeuroSpin（フランス原子力・代替エネルギー庁）の元 Director である Denis Le Bihan 博士が外国人客員教授として研究室の P.I.を務め，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総合案内窓口として，2016 年度に発足した。

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

共同利用研究推進室では，これらの最先端設備や研究技術を必要とする全国の大学や研究機関，企業に属する研究者と，生理学研究所を繋ぐことを第一の目的とし，関連学会や生理学研究所外で開催される研究会などへ研究所紹介のためのブース展示を行うなど，共同利用研究を周知，支援する活動の全般を担っている。2019 年度は，1 件の所外開催の研究会（大阪大学・9 月 30 日− 10 月 1 日・「イオンチャネルと生体膜のダイナミズム：構造生物学の先にあるもの」）を実施し，その中で生理学研究所の共同利用研究を紹介する講演を行った。

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。2020 年 2 月 14 日～15 日には，ABiS Symposium “Forefront and Future of Electron Microscopic Imaging～電子顕微鏡イメージングの最先端と未来～”を開催し，バイオイメージング分野の最先端の技術，特に電子顕微鏡を用いた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，2019 年 12 月 18 日～20 日に第 4 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，戦略的国際脳科学研究推進プログラム（国際脳）が 2018 年 6 月より開始された。また，同年 11 月には，事業を機動的かつ円滑に運営し，戦略的な国際展開に資する成果創出の加速，さらには日本の脳科学研究における国際的なハブとなる研究推進支援を実施する中核的組織として，生理学研究所が採択され，本室はその事務局を務めることとなった。今年度は，各研究課題の研究進捗管理および研究者間の交流促進のため，7 月と 10 月に進捗状況報告会を運営した。10 月には国際脳事業推進に関する方向性を議論・決定する国際脳プロジェクト推進会議も実施し，その運営業務を行った。

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 2019 年度は以下５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 2019 年度末時点で繁殖母群１７４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２０件８２頭の応募があり，２０件８２頭が採択，２０件５７頭が提供された。提供先機関は，国公立が９機関，私立大学が３機関，研究所が４機関，合計１６機関である。

（３）研究用ニホンザルの組織試料提供の実施

NBRP「ニホンザル」事業がより広く周知されるに伴い，血液等の組織試料を要望する研究者からの問い合わせが増えたため，提供組織試料の確保や輸送方法など解決すべき課題は多くあるが, 2014 年度から組織試料の提供を試験的に開始したが，今年度は本格的な体制づくりを実施した。

（４）プロジェクトの総合的推進

１）委員会等の実施

運営委員会を４回開催した。そのうち，提供に関する審議の採否について１回，年度の総括のための１回開催した。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５回開催した。

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。今年度は東京（4/17），大阪市（8/26）にて計２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８月に開催された。

（５）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た。

脳機能計測・支援センター

形態情報解析室

【概要】

形態情報解析室では, 医学生物学専用超高圧電子顕微鏡（Biomedical-HVEM），低温位相差電子顕微鏡（Cryo-PCTEM）, 連続ブロック表面走査型電子顕微鏡（SBF-SEM）などの特殊・先端電子顕微鏡機器を駆使して，生体組織や細菌などの細胞性試料の立体形態観察と，ウイルス粒子，タンパク質複合体などの無染色氷包埋試料による高分解能三次元構造解析などを行っている。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。2019 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 7 課題が採択され実施された。また，Cryo-PCTEM では，タンパク質複合体からウイルス粒子の高分解能単粒子構造解析，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 9 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。

新規巨大ウイルス「メドゥーサウイルス」の構造をクライオ電子顕微鏡で解析

ソンチホン，香山容子，村田和義
武村政春（東京理科大学）
望月智弘（東京工業大学）
緒方博之（京都大学）

日本国内の温泉副流水からアメーバに感染する新規巨大ウイルスを発見し，その宿主をシスト化するという性質から「メドゥーサウイルス」と名づけた。この巨大ウイルスは，全セットのヒストン遺伝子をゲノム内に保持しており，特異な粒子形態とゲノム組成から新たな「科」に属することが明らかになった。

メドゥーサウイルスは，真核生物が DNA を折り畳んで核内に収納するために必須な 5 種類のヒストンの遺伝子全セットを保持する初めてのウイルスであった。真核生物の DNA 関連遺伝子がウイルスに由来するという仮説が提唱されているが，本研究成果はそうした仮説を強く支持する結果であった。

本共同研究では，さらにメドゥーサウイルスの詳細な粒子構造をクライオ電子顕微鏡単粒子解析により明らかにした。結果，メドゥーサウイルスは T=304 の正二十面体キャプシド（殻）を持ち，表面は多数のスパイク状の突起で覆われていることが新たにわかった。

今後，ウイルスヒストンの役割などメドゥーサウイルスの形成および感染過程を分子レベルで解明することにより，巨大ウイルスと真核生物の太古以来の共進化誌が紐解かれるのではないかと期待される。

Yoshikawa G, Blanc-Mathieu R, Song C, Kayama Y, Mochizuki T, Murata K*, Ogata H*, Takemura M* (2019) Medusavirus, a novel large DNA virus discovered from hot spring water. *J Virol* **93**(8), e02130-18.

光化学系 II-集光装置超複合体の立体構造を決定

ソンチホン，村田和義
渡邉顕正，皆川　純（基礎生物学研究所）
柳　振峰（中国科学院）

植物や藻類は，太陽光エネルギーを集めて電気化学エネルギーに変換して利用することで二酸化炭素を固定し炭水化物を合成する（光合成反応）。その中心となるのは，光化学系 I，光化学系 II と呼ばれる二種の膜タンパク質色素超複合体である。光化学系 II は光エネルギーを電気化学エネルギーに変換するが，その際に水を酸化して酸素を発生することでも知られている。このように炭水化物や酸素の生産に必須な酵素なので，人間を含めた地球上の生物にとって光化学系 II は大変重要である。

本共同研究では，光化学系 II とこれに光エネルギーを与える集光装置の全体（超複合体）を緑藻のクラミドモナスから取り出して，その立体構造を解像度 2.7 Å でクライオ電子顕微鏡単粒子解析にて決定した。これにより，巨大集光マシンによって集められた光エネルギーの流れが解明された。

Sheng X, Watanabe A, Li A, Kim E, Song C, Murata K, Mr. Song D, Minagawa J, Liu Z (2019) Structural insight into light harvesting for photosystem II in green algae. *Nature Plants* **5**, 1320-1330.

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,

光応答性 CaMKII の活性化により増加する mRNA の同定を DNA マイクロアレイを用いて解析を進めた。今後は，マイクロアレイで同定した分子群をノックダウンして機能を調べる予定である。

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。今年度は親水性化したタンパク質（ssGFP）の結晶構造解析のための条件検討を行なった。

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，小杉貴洋，恩田麻紀，佐藤愛子，古賀信康，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，論文を出版した（Murakoshi et al. 2019）。

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

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する。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，翻って，脳内の階層構造から多層ニューラルネットのパラメータを決定する。

局所脳活動からの全脳活動の解読

Balbir Singh，平山淳一郎，地村弘二，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。

Tracing the representational architecture of subjective valuation with fMRI-neural network correspondence mapping

Trung Quang Pham，Takaaki Yoshimoto，Haruki Niwa，Haruka Takahashi，Ryutaro Uchiyama，
Adam K Anderson，Norihito Sadato and Junichi Chikazoe

Subjective valuation is one of the most important cognitive activities by which an individual can choose the best case among many. The input for valuation is usually derived from sensory information such as visions, audition, somatosensation, etc. It has been known that the visual information is processed at the visual cortex. Recent works from (Chikazoe et al., 2014) have revealed that the subjective values are represented at the orbitofrontal cortex. The neural basis of the pathway which connects these cortex together remains largely unknown. In this study, we investigate how sensory information (i.e., visions) is processed into values by using functional MRI and Artificial Neural Networks (ANN). We found that activities of visual areas are highly correlated with the shallow layers of the ANN, while the default mode network is correlated with the deeper layers. Moreover, the vision-to-value processing is also well-aligned with the principal gradient of cortical connectivity, suggesting that the default mode network plays a central role in this process.

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 203 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に取り組んだ。本システムは，トロピズムによる神経路選択性がほとんどないと考えられ，様々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】

目的遺伝子の機能を個体レベルで解析するため，あるいはヒト疾患をモデルとして再現するため，遺伝子改変動物は欠かすことができない。これまでに哺乳類では，マウスが遺伝子改変動物として汎用されてきた。しかしながら，脳機能をはじめとした生理学的な特徴にヒトとの乖離があることや体が小さすぎて外科的操作が困難であるなど，マウスモデルにはデメリットも存在する。これらの欠点を補うことができるラットは生理学研究に重宝されてきた実験小動物だが，胚性幹（ES）細胞の樹立が難しく，マウスのように遺伝子改変動物の作製を容易に行うことはできなかった。しかし近年，ラットにおける ES 細胞の樹立方法が確立され，CRISPR/Cas9 システムのような遺伝子編集技術も急速な発展を遂げたことにより，ラットでも自在に遺伝子改変動物を作製することが可能になった。今後，遺伝子改変ラットの需要がいっそう増えると考えられ，これまではマウスを用いて追究されてきた様々な生命現象をラットでも解析できるようになれば，諸現象の動物種を超えた保存性や種特異性の有無も明らかになると期待される。以下には当研究室が進める，始原生殖細胞（PGC）の発生動態を遺伝子改変ラットを用いて解析した研究結果について紹介する。

Prdm14-H2BVeunus ノックインラットを用いた始原生殖細胞の発生動態の解析

小林俊寛，平林真澄

すべての生殖細胞の源である始原生殖細胞（PGC）の発生動態は，ラットではほとんど明らかにされていない。そこでマウスにおいて PGC 特異的な発現を示し，生殖細胞の発生・分化に重要な役割を演じている *Prdm14* 遺伝子に着目し，その遺伝子座に蛍光遺伝子 *H2BVenus* をノックインした遺伝子改変ラットを作製した。*Prdm14* はラットでも PGC 特異的に発現しており，このレポーターラットの発生ステージが異なる胚を免疫染色することにより PGC の発生動態を明らかにできた。また，各発生ステージの PGC をトランスクリプトーム解析することにより発生に伴う遺伝子発現の詳細も明らかになり，マウスおよびヒトの PGC で報告されている遺伝子発現データとの比較により齧歯類間での高い保存性が鮮明になった。本研究はラットにおける PGC 発生に関する基本情報を提示するもので，ラット ES 細胞から PGC への分化誘導など，新たな発生工学技術の開発にも役立つと期待される。

代謝生理解析室

【概要】

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

Thermal gradient ring を用いた温度感受性 TRP チャネル欠損マウスの温度依存性行動の解析

笹島沙知子（愛知医科大学糖尿病内科）
宇治澤知代，富永真琴（生理学研究所細胞生理研究部門）

自由に動くことができる円形の Thermal gradient ring を用いて，野生型マウスと種々の温度感受性 TRP 欠損マウスの温度依存性行動を観察した。360 度の ring を半分ずつ 12 のゾーンに分け，滞在時間（Spent time），移動距離（Travel distance），移動速度（Moving speed）を検討した。

11.5 度から 43.6 度の gradient での滞在時間の解析で，野生型マウス，TRPM2 欠損マウス，TRPA1 欠損マウスは約 34 度に最もよく滞在した。他のマウス（TRPV1 欠損マウス，TRPV3 欠損マウス，TRPV4 欠損マウス，TRPM8 欠損マウス）はより低い温度を好んだ。TRPM8 欠損マウスは他のマウスと比べて 11.5 度から 14.4 度のゾーンの滞在時間が長かった。移動距離の解析では，野生型マウス，TRPM2 欠損マウス，TRPA1 欠損マウスは他のマウスに比べて移動距離が短かったが，thermal gradient がない条件でもこの 3 種類のマウスは移動距離が短く，温度感知との関係はないと考えられた。移動速度の解析では，野生型マウス，TRPM2 欠損マウス，TRPA1 欠損マウスは他のマウスに比べて 31.9 度から 37.7 度のゾーンで移動速度が小さかった。また，TRPM8 欠損マウスは他のマウスと比べて 11.5 度から 14.4 度のゾーンの移動速度が小さかった。TRPV1 欠損マウスは熱い温度ゾーンで入りやすかったが，TRPA1 欠損マウスは低温ゾーンでの行動に野生型マウスと差がなかった。Thermal gradient ring を用いて複数のパラメータ解析を行うことによって，温度感受性 TRP チャネルと温度依存性行動の関係を詳細に解析できるものと思われる。

プリン作動性 P2Y6 受容体による心循環機能制御

津田　誠，齊藤秀俊（九州大学大学院薬学研究院）
Caroline Sunggip（マレーシア Sabah 大学医学部）
下田　翔，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）

心筋のプリン作動性 P2Y6 受容体が圧負荷による線維化誘導に関わることを以前報告した。そこで，P2Y6 受容体欠損マウスに大動脈狭窄による圧負荷を施したところ，野生型マウスと比べて顕著な突然死と急性心不全が誘導されることがわかった。一方，心筋細胞特異的に P2Y6 受容体を発現させたマウスに圧負荷を施した場合においても，突然死率は増加しなかったものの，著しい線維化を伴う心機能低下（心不全）が観察された。P2Y6 受容体をノックダウンさせた心筋細胞に低浸透圧ストレスを加えたところ，心筋細胞の肥大化と細胞死が有意に抑制された。以上の結果から，心筋細胞の P2Y6 受容体は圧負荷による心筋リモデリング（心肥大や線維化）誘導の引き金となるものの，非心筋細胞の P2Y6 受容体はむしろ圧負荷に対して心筋保護的に働く可能性が示された。

糖尿病では WWP1/KLF15 経路を介して骨格筋量が減少する

平田　悠，野村和弘，岡田裕子，細岡哲也，小川　渉（神戸大学大学院医学研究科）
小林憲太（生理学研究所ウイルスベクター開発室）
今村道博，武田伸一（国立精神・神経医療研究センター神経研究所）
箕越靖彦，岡本士毅

高齢者では，筋肉の減少により活動能力が低下すると，様々な病気にかかりやすくなり，寿命の短縮にも繋がることが知られている。加齢による筋肉の減少と活動能力の低下は「サルコペニア」と呼ばれ，高齢者が増加し続ける我が国で，大きな問題となる健康障害の一つである。本研究では，糖尿病において高血糖が原因となり，骨格筋の WWP1 及び KLF15 を介して筋萎縮を引き起こすことを見出した。

マウスを実験的に糖尿病にすると，筋肉量の減少に伴って転写因子である KLF15 が骨格筋で増加した。筋肉選択的に KLF15 を無くしたマウスを作成すると，このマウスは糖尿病になっても筋肉量が減少しなかった。そのメカニズムを調べたところ，血糖値の上昇が KLF15 の分解を抑制し，KLF15 が筋肉で蓄積することが分かった。さらに KLF15 の分解制御に WWP1 が関与することを見出した。

WWP1 はユビキチンリガーゼと呼ばれるタンパクの仲間の一つである。ユビキチンが結合すると，ユビキチンが結合したタンパクの分解が速まる。通常の状態では，WWP1 が KLF15 にユビキチンを結合させることにより分解を促し，KLF15 の量を低く保つが，血糖値が上昇すると，WWP1 の量が少なくなり，KLF15 のユビキチンの結合が少なくなって，KLF15 の分解が抑制されると考えられる。

ジストニア様症状マウスの筋電図解析

佐野裕美，知見聡美，南部　篤
吉岡　望，竹林浩秀（新潟大学）
堀江正男（新潟県立看護大学）

Dystonin（*Dst*, ジストニン）はマウスの遺伝学的なジストニアの原因遺伝子である。神経堤細胞から分化した細胞のみで *Dst* を欠損する Wnt1-Cre::Dst cKO マウスでは，末梢神経系の神経細胞やシュワン細胞で *Dst* の欠損が起こり，下肢で捻転運動様の運動障害が認められる。このマウスの筋電図を下肢伸筋と屈筋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に特徴的な筋収縮は認められなかった。次に，神経堤細胞から分化した Wnt1 系譜細胞のみで *Dst* を発現する Wnt1-Cre::Dst cRescue マウスを作製したところ，運動機能は劇的に回復していた。このマウスの筋電図を下肢伸筋と屈筋から記録したところ，ジストニアに特徴的な筋収縮は認められなかった。これらの結果から，Wnt1 系譜細胞がジストニア様症状に関与することを示唆していると考えられる。

動物資源共同利用研究センター

【概要】

動物資源共同利用研究センター（以下「センター」と略す）は，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。センターは，2019 年 4 月に改組され，運営部門，先端モデル動物作製室，モデル動物表現型解析室の 3 部門からなることが決定している。本年度は，運営部門において以下の業務を推進した。

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改修・増築工事について行った。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，今年度の改修・増築工事に向けての業務を行った。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。大型物品の仕様書作成，入札を順次進めた。

第二の研究は，飼育管理方法等に関する研究について水漏れ感知機能付きマウスハウスの開発と実用性の検討，ミネラルオイルの保存方法とマウス体外受精卵死滅の関連性及び動物実験施設改修工事に対応した UV カットフィルムによる昆虫侵入防止について検討した。

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 1,760 匹，ラット 1 匹，魚類 10,817 匹，両生類 60 匹，サル類 28 匹であった。登録者数 112 名であった。

山手地区動物種別の飼育数は，マウス 2,676 匹，ラット 201 匹，魚類 4,716 匹，両生類 214 匹であった。年間入館者数は 10,010 人（延べ），登録者数 135 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，10 部門（生理研 9 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，10 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。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，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，2017 年 12 月より自家検査のみに切り替え，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。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

明大寺及び山手地区で飼育される実験動物の適正な微生物学的品質管理を目的として，前年度と同様に，マウス肝炎ウィルスを対象に搬入時には全てのマウスの検疫を，搬入後の飼育中の齧歯類動物については，自家検査により，定期的な微生物モニタリングを実施した。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 8 件，山手地区ではマウス 149 件とラット 32 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 241 件，ラットハンタウイルス 40 件，MHV8 件であった。

4. サル類の検疫体制

サル類実験動物の検疫検査と一般健康診断の実施を進めた。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 10 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（61 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 60 件の導入と 77 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 22 件，クリーンアップ兼受精卵凍結保存は 4 件，融解・移植は 18 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

明大寺動物棟 I（本館）は，2018 年 1 月に概算要求が採択され，2019 年 4 月から改修・増築工事を開始した。

1) 動物棟 II（新館）は，昨年度に引き続き冷温水発生器 2 台のうち，1 台を機能継続のためにオーバーホールを行った。
2) 動物棟 II（新館）の一般排水が詰まる事故が発生した。原因は経年劣化により配管の錆が詰まったためと考えられた。今後，動物棟 II（新館）の工事修理件数が増えることが予想されるため，計画的な整備更新を進める必要がある。
3) 構内サイン変更工事を行った。
4) ソフト酸化水生成装置修理を行った。
5) 貫流蒸気ボイラー薬注ポンプ故障のため，取替工事を行った。

(2) 山手地区

1) 山手地区の空調設備では，熱源に用いる蒸気ボイラーの点検時に不良箇所が見つかり修理を行った。
2) 機器設備では，高圧蒸気滅菌装置において，配管の蒸気漏れ，扉の不具合が発生したため，その都度対応を行った。
3) SPF バリア区域内の複数台の定風量装置の不具合があり，その都度対応を行った。
4) 1 号館貫流蒸気ボイラー故障のため部品取り換え工事を行った。
5) 1 号館 A 動物用給湯循環ラインポンプ取替修理を行った。
6) ケージ洗浄機蒸気配管部品交換修理を行った。

山手の施設は 2002 年に竣工し，その後 18 年を越えており，古くなった設備の経年劣化による不具合が増えることが予定されるため，今後も年次的な交換計画が必要である。

7. 改修・増築工事関連

1980 年に竣工し，その後 40 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。そこで昨年度からの本格的な改修・増築計画を行った。2018 年度に引き続き 4 月に動物棟 I（本館）の片付け作業，備品の移動・保管及び廃棄を行った。工事期間中に建築，設備，電気業者，施設課と 35 回の定例会議を実施し，定例会議以外にも個別に打ち合わせを実施した。改修・増築に伴い，動物棟 II（新館）で必要になった工事を行った。今回の改修・増築工事に向けて重視したポイント

(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）

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。今年度大型物品の仕様書作成，入札を順次進めた。

【研究】

1. 文部科学大臣表彰・科学技術賞の受賞

浦野は，業績名「外部検証体制の構築と実施による適正な動物実験の普及啓発」にて，令和２年度科学技術分野の文部科学大臣表彰・科学技術賞を受賞した。

2. 水漏れ感知機能付きマウスハウスの開発と実用性の検討

マウス飼育ケージ内漏水事故の発生要因は, 給水ノズル故障，パッキン劣化，動物の水遊び等が考えられる。漏水事故は動物の低体温を引き起こし, 発見が遅れると死亡事故につながる可能性がある。漏水事故の予測は困難であるため，現場では対応策として，毎日飼育点検作業時に確認や定期的に給水ノズルチェック等を行っている。今回漏水事故対策として, 水漏れ感知機能付きマウスハウスの開発を試み，漏水事故早期発見に利用できるか検討した。

3. ミネラルオイルの保存方法とマウス体外受精卵死滅の関連性

遺伝子改変マウスのクリーン化や万一の感染症に備え，バックアップのため体外受精を実施し，胚の凍結保存を進めている。凍結の過程において，体外受精を実施する際，培養液を蒸発や pH と浸透圧の安定のためミネラルオイルでカバーしている。ミネラルオイルにおいては保存状態によって劣化し，胚発生に影響するといわれており，過酸化物価 POV（Peroxide Value）を測定して判明している。今回はミネラルオイルの劣化に影響するといわれている UV 照射および保存温度に着目し，受精卵死滅の関連性を検討した。

4. 動物実験施設改修工事に対応した UV カットフィルムによる昆虫侵入防止

明大寺動物棟 I（本館）の改修・増築工事に伴い，工事期間中の動物棟 I の動物については，隣接する動物棟 II へ移動させて飼育することで対応した。そのため，工事期間中の入退館は，動物棟 II の出入口を使用することになった。ここは，夜になると館内の光に誘引された昆虫が，出入口ドアガラス外面に多数止まっているため，利用者の出入りと共に昆虫が館内に侵入する可能性が高かった。そこで，昆虫侵入防止を目的として，UV カットフィルムを出入口ドアのガラスに貼り付けると共に, UV カットフィルムの昆虫誘引阻止効果を調べた。

【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 9 名，山手利用者講習者数は 25 名，明大寺実務講習受講者数は 7 名，山手実務講習受講者数は 23 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。動物実験センター利用者で，マウスの取り扱いに不慣れな方及び動物実験初心者の方を対象にして，動物の福祉に配慮したマウスの正しい取り扱い方法と基本的な手技を習得するため, 3R の原則に基づく実技講習会を年 2 回で行った行った。難しい手技については，ぬいぐるみを用いたイメージトレーニングや動物手技訓練用モデルを活用し，動物への苦痛の軽減と参加者のスムーズな実技への移行が実現できた。講義内容は雌雄判別, 保定方法, 投与方法（経口，腹腔，尾静脈投与），解剖実習等である。受講者数は合計 5 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，山肩葉子助教と合同で実施した。参加者は合計 2 名であった。

4. 動物実験委員会主催講習会

動物実験委員会実験用霊長類専門委員会の「サル講習会」の講義内容は，サルの利用に関する規定，法律，ガイドライン，動物愛護管理法の改正，事故・感染予防及びヒトの健康診断とサルの血液検査，獣医学的管理と人獣共通感染症である。受講者は合計 42 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。特に，動物の愛護及び管理に関する法律の見直しに向けて，関係省庁との間で協議を重ねた。

5. 実験動物等の関係者への周知徹底

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

技術課

大河原　浩

【概要】

今年度，ネットワーク管理室の技術職員体制を強化するため，法人採用試験より技術職員として稲垣茉利子係員を採用した。また，部門先端研究技術を強化するため，平山祐哉係員を採用した。さらに，部門先端研究技術および霊長類動物関連技術を強化するため，技術職員の採用に向けた活動を行った。

今年度末，3 名の技術職員が定年退職となり，引き続き再雇用職員として活動するため，これまでの担当業務の整理を行った。

課の研究活動への寄与と貢献を一層進めるため下記の事業を実施した。

①生理科学実験技術トレーニングコースでの技術指導

生理学研究所が毎年主催し，実施している生理科学実験技術トレーニングコースで，『生体アンプ回路工作と機械工作入門』を企画し，3 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 42 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 2020 年 2 月 20 日－21 日の 2 日間にわたり開催した。会では，口演発表が 18 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 42 題あり，研修講演として『RNAi 法を用いた非モデル昆虫研究の新展開』（新美輝幸教授，基礎生物学研究所 進化発生研究部門）を行った。これらの報告を『生理学技術研究会報告（第 42 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 16 回の報告会（2020 年 2 月 21 日）を 11 演題で行った。この報告を『生理学技術研究会報告（第 42 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 14 回を基礎生物学研究所で開催した（2019 年 6 月 20－21 日）。会では，「データの取り扱い」を共通テーマにポスター発表が 16 演題，各研究所最新動向と技術トピックスが 5 演題あり，詳細は『第 14 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。

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，本年は物理・化学コースと情報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（岐阜，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 45 回国立大学法人動物実験施設協議会総会（大阪，1 名），微生物モニタリング研修（神奈川，1 名），第 1 回実験動物微生物統御若手の会つくば勉強会（茨城，1 名），令和元年度国立大学法人等情報化要員研修（東京，1 名），日本神経科学大会（新潟，1 名），令和元年度東海地区国立大学法人等係長研修（名古屋，2 名），東海地区国立大学法人等職員基礎研修（名古屋，1 名），2019 年度自然科学研究機構初任者研修（野辺山，2 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），第 25 回静岡大学技術報告会（静岡，2 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，受講はいなかった。

⑦科学研究費補助金（奨励研究）等の採択

業務を展開，推進していくための問題意識の養成，その解決のための計画および方法の企画能力の養成，さらにはその表現力と説明力の養成を通じて，業務上の技術力の総合的な向上を図ることを目的に標記の申請を行ったが，今回は採択者がいなかった。

⑧業務報告会とデータベース化事業の促進，および表彰制度の整備

課員の配属先研究部門での業務成果は，技術課業務報告会で報告され，情報の共有化が図られている。また，その成果は技術課主催の生理学技術研究会，配属先部門での学会発表により所外に発信されているが，より広く活用され，即時的に発信するために，優れた成果をデータベース化する事業を技術課が研究部門と進め，その一部を技術課ホームページで公開している。今年度も，その編集を技術係員が行い，その更新を進めた。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 15 回労働安全衛生に関する情報交換会（核融合研, 1 名），令和元年度東海・北陸地区 国立大学・研究所 環境安全衛生協議会（北陸先端科学技術大学院大学，1 名，名古屋，1 名），2019 年度安全講習会（名古屋大，1 名），2019 年度名古屋大学安全衛生講習会（名古屋大学, 2 名），令和元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），酸素欠乏・硫化水素危険作業主任者技能講習（豊川，1 名），危険物取扱者保安講習受講（名古屋，1 名）を受講した。また，防火防災体制を強化するため，防火防災再講習（豊田，1 名）を受講した

⑩岡崎 3 機関技術課長会と機構技術代表者会議の開催

岡崎 3 機関の三技術課長と事務センターの各課課長補佐を交え, 毎月 1 回, 岡崎 3 研究所の動向や今後の計画, 問題点などの意見交換を行った。また核融合科学研究所, 国立天文台も交え毎月 1 回，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（旧統合生理研究部門）

永田　治，髙橋直樹

【概要】

生体磁気計測装置（以下 MEG）は主に計測系と解析系から構成され, 全体を生理研主幹から切り離されたローカルエリアネットワークにより接続運用されている。現在システム全体は Linux により稼働しており，旧システムの HP-UX については稼働していないがデータ互換性確保のためハードウェア関連機材のみ維持保管されている。

MEG のシステム維持については設置業者による三ヶ月毎の定期点検により保守運用されているが，保守部品の調達サポートについて修理用性能部品保有期間を本年度で終了する旨の通知がされており，今後の安全性を含めた維持管理体制についての検討が必要である。

今年度の計測環境および SQUID センサ保守においては，以下の不具合について対応した。

1．被験者後頭部位置のセンサ（プラナーコイル 2ch およびマグネトメータ 1ch）にノイズ増加があり，昨年度のハードサイクルにおいても改善されていない。チューニングレベルには異常がないため，センサ基盤不良の可能性があるが，交換には再度ハードサイクルが必要。

2．LHe 充填時において上昇した蒸発量が，作業終了後においても長時間下降しない事象が発生し，原因特定にはハードサイクルなどの作業を伴うことから，計測には支障がないため運用観察としている。

3．計測室天井及び壁面に豪雨災害による浸水箇所を数か所確認した。データ収集処理装置の直上にも確認されているので，降雨時には注意を要する。

4．ガントリー位置変更スイッチに下降不能の不具合が発生し，修理対応した。

また，本年度においてはシステム環境における維持管理のため，以下の環境整備をおこなった。

１．安全衛生管理の観点から LHe 保管室の作業エリア確保と，酸素濃度計および室外警告灯の設置をおこなった。

２．ネットワークインシデント回避のためシステムログイン時の共通アカウントを廃止し，利用者単位で個人アカウントを発行することとした。

３．MEG システムの遠隔保守をおこなうため，専用光回線によるリモート環境を整備した。ネットワークとしては特定部署を対象とした閉鎖環境であるが，限定した許可端末のみを接続可とし，アンチウィルスソフトのインストールを必須とした。

今年度の生体磁気計測装置の稼働率を下表に示す。

2019 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	
2019 年 4 月	30	10	0	20	50	10	10	
5 月	31	12	0	19	47	9	9	
6 月	30	10	2	18	44	8	8	4～5 日定期点検
7 月	31	9	0	22	45	10	10	
8 月	31	10	0	21	48	10	10	
9 月	30	11	2	17	59	10	10	12～13 日定期点検
10 月	31	10	0	21	52	11	11	
11 月	30	10	0	20	65	13	13	
12 月	31	11	2	18	39	7	7	5～6 日定期点検
2020 年 1 月	31	12	0	19	63	12	12	
2 月	29	11	0	18	67	12	12	
3 月	31	10	2	19	53	10	10	12～13 日定期点検
	366	126	8	122	53	122	122	（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，岩瀬　恵

【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２台と７T-MRI装置１台の計３台が共同利用実験装置として設置されている。その内訳は，2010 年度に導入された 2 台の 3T-MRI Verio で構成された世界初の Dual fMRI 実験装置および 2015 年度に導入された 7T-MRI 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。

特記事項としては，頻繁に温度異常が起こって停止してしまうため Verio-B のグラディエントコイルの冷却系のクリーニング作業を 2019 年 10 月に行った。また，生理研棟の地下の MRI 実験装置室の空調設備の更新作業を 2020 年 3 月に行った。

また，Dual fMRI 実験装置用にノイズキャンセリング・ヘッドホンとノイズキャンセリング・マイクを各１台ず

つ設置した。予算の関係で，今年度は 1 台分しか導入することができなかったが，来年度も同様の装置の導入と設置を行い，よりリアルな対面コミュニケーション実験を行える実験環境の整備を進めていく予定である。

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。

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。

2019 年度磁気共鳴装置稼働率

Verio-A

年　月	日数	休日	保守	使用可能日数	稼働率（%）	使用日		備考
						所内	所外	
2019 年 4 月	30	9	2	19	21	1	3	
5 月	31	10	1	20	30	0	6	
6 月	30	10	1	19	58	0	11	
7 月	31	9	1	21	29	4	2	定期点検
8 月	31	10	1	20	65	0	13	
9 月	30	11	4	15	47	2	5	冷凍機メンテナンス（液体ヘリウム補充）
10 月	31	9	2	20	25	0	5	
11 月	30	10	3	17	18	0	3	定期点検
12 月	31	11	0	20	15	0	3	
2020 年 1 月	31	10	1	20	25	0	5	
2 月	29	11	1	17	62	0	10.5	
3 月	31	10	4	17	91	0	15.5	定期点検 空調機の更新
計	366	120	21	225	40	7	82	

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	
2019 年 4 月	30	9	2	19	5	1	0	
5 月	31	10	1	20	20	0	4	定期点検
6 月	30	10	1	19	58	0	11	
7 月	31	9	1	21	10	0	2	
8 月	31	10	1	20	50	1	9	
9 月	30	11	5	14	7	0	1	定期点検
10 月	31	9	2	20	40	4	4	冷却系のクリーニング
11 月	30	10	3	17	12	1	1	
12 月	31	11	0	20	5	0	1	
2020 年 1 月	31	10	1	20	20	1	3	定期点検
2 月	29	11	1	17	47	0	8	
3 月	31	10	3	18	72	0	13	空調機の更新
計	366	120	21	225	29	8	57	

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	
2019 年 4 月	30	9	0	21	48	2	8	
5 月	31	10	0	21	14	1	2	定期点検
6 月	30	10	4	16	63	4	6	
7 月	31	9	1	21	52	6	5	
8 月	31	10	4	17	53	2	7	定期点検
9 月	30	11	3	16	63	1	9	
10 月	31	9	5	17	65	1	10	
11 月	30	10	1	19	47	3	6	
12 月	31	11	4	16	50	3	5	定期点検（液体ヘリウム補充）
2020 年 1 月	31	10	2	19	74	4	10	
2 月	29	11	3	15	80	5	7	
3 月	31	10	6	15	77	1	10.5	定期点検
計	366	120	33	213	56	33	85.5	

②脳機能計測･支援センター

(1) 形態情報解析室

山田　元，山田幸子

【概要】

形態情報解析室には，位相差電子顕微鏡や超高圧電子顕微鏡などが設置されており，これらの装置は現在，研究者によって維持管理されている。技術職員および技術支援員は，実験試料作製をはじめとして，研究室の良好な研究環境を保つために，研究室内の毒劇物や機器などに関する安全衛生に関連する業務を行っている。今年度は，主に電子顕微鏡観察用のサンプルの作製作業，電子顕微鏡画像を利用した三次元再構築作業，並びに FIB 装置を用いた位相板作製作業等の活動を行った。

(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, 幾つかの機器にトラブルが発生した。しかし，技術職員による保守作業やメーカーによる修理対応によって現在は順調に稼働している。また，昨年度 3 次元再構築型走査型電子顕微鏡（SBF-SEM）のデータを蓄積するサーバーのサポート期間が終了したため, 後継となるサーバーの選定を行い，２台ある SBF-SEM の内，１台のサーバーの更新作業を行った。今までは Windows Server を搭載したサーバーを利用していたが，OS 等の自動更新の際に通信が不能となるなどの不具合を起こしたり, 停電時の対応が複雑になるなどの問題が多かったため, 新しいデータサーバーには NAS を採用することとした。現在はトラブルなく稼働中である。近日中にもう一台の SBF-SEM 用の NAS も導入し運用を行っていく予定である。また，電顕室所属の透過型電子顕微鏡のサポート期間の終了をメーカーより通知され, 以後の透過型電子顕微鏡の運用が大きな懸案となっていたが, 研究所内の他部門に所属する透過型電子顕微鏡（日立製 HT7700）を移管して頂くことができ問題が解決した。本機はこれまで保守契約に加入していなかったが，本年度，来年度にオーバーホールを行い, 再来年度以降に保守契約に加入して運用を行っ

ていく予定である。

明大寺地区においては,透過型電子顕微鏡 JEM-1010,ウルトラミクロトームが複数回トラブルを起越したが現在は正常に稼働している。

その他の機器に関しても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。

【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。

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。また，新しく移管された HT7700 に関しても同システムを導入した。しかし，夜間や休日に関してはどうしても対応が遅れ，緊急対応が難しいのが現状である。この点に関しては改善されていない。

【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。

2019 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	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	上皮バリア機能を担う細胞間接着装置の微細形態の観察
		透過型電子顕微鏡による密着結合を中心とした上皮細胞の形態学的解析
		走査型電子顕微鏡による上皮細胞頂端部の形態学的解析
	超微形態	共同研究およびイメージング支援事業の遂行
	形態情報解析	電子顕微鏡による３次元解析
基礎生物学研究所	環境光生物学	光化学系タンパク質の解析
		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
		チョウ目昆虫の翅の機能性構造
	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
	進化発生部門	昆虫翅（表皮組織，クチクラ組織）に見られる微細構造の観察と解析
	初期発生研究部門	マウス卵管上皮細胞において，繊毛の極性制御機構の解明
	光学解析室	植物等の微細構造の解析および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 5 名，基生研 7 名で，各コース共に半日の講習を行った。

7 月より分子科学研究所装置開発室の改修工事が実施され使用できなくなったため，分子科学研究所のスタッフの利用が多くあった。

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。

2019 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	64	生体システム	9	心理生理学	6	技術課	2
生殖・内分泌系発達機構	2	バイオフォトニクス	1				

基生研							
環境光生物	4	植物環境応答	4	時空間制御	2	生物機能情報分析室	2
分子発生学	2	技術課	1	個別研究（栂根）	1	生物進化	1

分子研							
装置開発	160	光分子第二	24	UVSOR	7		

機器研究試作室利用人数表

月	生理研		基生研		分子研		合計	
	利用人数	利用時間 (h)	利用人数	利用人数	利用人数	利用時間 (h)	利用人数	利用時間 (h)
4	18	51	0	0	0	0	18	51
5	8	8	0	0	0	0	8	8
6	13	29	5	13	0	0	18	42
7	2	6	6	21	9	31	17	58
8	5	7	0	0	1	2	6	9
9	9	16	3	3	3	10	15	29
10	13	26	0	0	14	47	27	73
11	4	8	2	2	32	125	38	135
12	4	5	0	0	28	103	32	108
1	3	6	0	0	29	125	32	131
2	4	5	0	0	36	124	40	129
3	3	10	1	1	40	142	44	153
合計	86	177	17	40	192	709	295	926
前年度実績	*130*	*478*	*22*	*126*	*0*	*0*	*152*	*604*

機器研究試作室　依頼製作品例

機械工作	小型強制水泳用プール	2ch リッキングユニット	3D 撮影用回転ステージ
電気工作	温度コントロール水槽	ステッピングモーター制御回路	刺激用電極
レーザー加工	電子回路ケースパネル	パッチクランプ用チェンバー	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，稲垣茉利子

【概要】

生理学研究所における当施設の利用形態は，生体情報解析システム（後述），情報サービス（e-mail, WWW 等），プログラム開発などに分類することができる。また，これらを円滑に運用して行くためには，所内 LAN の管理，整備や情報セキュリティの確保も重要である。このような現状をふまえたうえで，岡崎情報ネットワーク管理室や機構 CSIRT（両組織に当室の技術職員 1 名が併任）とも連携しながら，施設整備を進めている。ネットワーク管理室では 2019 年 4 月に新規卒業者 1 名を技術職員として採用した。コンピュータやネットワーク，情報セキュリティの技術者としての教育を行い，順次業務を分担して経験を重ねている。

生体情報解析システムは，数値計算，データ解析，可視化，数式処理，統計解析，電子回路設計などの多くのネットワークライセンス用アプリケーションを備えている。これらのアプリケーションは，ネットワーク認証により各部門施設の PC 上で利用可能である。登録者は 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。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利用，ログ管理解析基盤の運用，CSIRT 運営経費による研修への参加等を行っている。

生理学研究所のネットワーク利用状況は，メール登録者が 356 名。WWW 登録者が 107 名。LAN の端末数が 1,783 台。所外からのメール受信数は 2,500 通／日，所外へのメール発信数は 1,800 通／日であった。WWW は 5,900 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) 動物資源共同利用研究センター

廣江　猛，窪田美津子，神谷絵美，山中　緑

【概要】

4 月に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を行った。

齧歯類の授受件数は昨年度と比べ，導入および搬出とも減少した。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増加したが，凍結件数は減少した。今年度凍結件数が減少したのは，明大寺の齧歯類 SPF 化改修工事にあたり，昨年度全系統の胚凍結を推進したためと考えられる。

動物の延べ飼育数は，マウスで，山手が 1 部門増えたため増加した。ラットは減少した。マカクサルは増加し，マーモセットは減少した。

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 1 は，機能改善および機能高度化を目的に，増築・改修工事を行った。

今回の改修工事に向けて以下の 2 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

増築・改修工事では建築業者は昨年 3 月に決まっていたが，電気業者，設備業者が 7 月まで決まらず，急ぎ進めることとなった。増築・改修工事期間中は建物，設備，電気工事業者との打ち合わせを行った。また，今回の増築・改修工事に伴い，防火対策として動物棟 2 の窓ガラスを取り換える必要があり，その対応も余儀なくされた。

増築・改修棟に導入する飼育ラックや高圧蒸気滅菌機などの大型機器に関する平成 31 年度国立大学法人先端研究等施設整備費補助金が採択され，仕様書策定，入札を行った。

山手の施設は 18 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 60 件の導入と 77 件の供与があった。全体として昨年より減少した。他機関の導入と供与は減少し，3 機関内の導入と供与は増加した。海外からの導入は増加したが，海外への供与は減少した。また，授受の条件や書類内容の確認，利用者へのアドバイスなどに時間を多く費やしているが，一部書式を変更し，確認作業の軽減を模索している。

②受精卵凍結・クリーンアップ事業

受精卵凍結保存は 22 件，クリーンアップ兼受精卵凍結保存は 4 件，融解・移植は 18 件それぞれ実施した。昨年度と比較して凍結件数は減少したが，クリーンアップ，融解・移植件数は増加した。

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。

外部施設からのマウス導入にあたり，自家検査で PCR による MHV 検査を 8 件実施した。

今後マイクロアイソレーションラックの導入に伴い，PCR による微生物モニタリングの実施を視野に入れ，空調フィルター・粉塵を使用した *Helicobacter hepaticus* の PCR 検査の導入を試みた。

王助教と神谷技術職員が 2019/8/1 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，馴化，保定，経口投与法，一般的な飼育作業等を含め，動物資源共同利用研究センター利用者への実技講習を年 1 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動物資源共同利用研究センターへの改組

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

導入備品に関する仕様書の策定，入札をすすめた。昨年度に引き続き，備品の移動・廃棄及び保管を行った。

施設課，建築業者，設備業者，電気業者との定例打合わせを 35 回行った。

改修工事期間中は，動物棟 2 のみでの運営を行った。

【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，10 部門（生理研

9 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 9 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。サルは昨年と比べ増加し，マーモセットは，昨年と比べ減少した。

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。

③施設整備について

動物棟 1 の改修・増築に伴い，備品導入のため仕様書の作成および入札を進めた。

施設運用面では SPF 施設稼働に伴う人員配置の検討を行った。

④主な工事及び修理について

（1）動物棟 2 外部通用口機械錠取替工事
（2）微生物検査室薬用保冷庫修理
（3）動物棟 2 外部通用口ドアクローザー修理
（4）ソフト酸化水生成装置修理
（5）貫流蒸気ボイラ薬注ポンプ取替工事
（6）バイオフリーザー修理
（7）排水管つまり復旧工事
（8）多項目自動血球計数装置 pocH-100iV 修理
（9）構内サイン変更工事

【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，10 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 25 名，実務講習会受講者は 23 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 1 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 7 名が受講した。

④主な工事及び修理について

（1）構内サイン取替工事
（2）1F 飼育室感知器増設工事
（3）１号館 A 吸収式冷温水発生器漏洩復旧工事
（4）MilliQ リファレンス修理
（5）1 号館貫流蒸気ボイラー部品取替工事
（6）1 号館 A 動物用給湯循環ラインポンプ取替修理
（7）高圧蒸気滅菌器蒸気漏れ修理
（8）1 号館貫流蒸気ボイラー故障修理
（9）高圧蒸気滅菌器経年劣化部品交換修理
（10）ケージ洗浄機蒸気配管部品交換修理

【明大寺及び山手地区 水生動物室】

①施設の利用状況について

（1）明大寺地区では，生理研 1 部門，基生研 4 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

特に大きな工事及び修理はなかった。

陸生動物部門別・動物種別搬入数（2019 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									
生体膜	21							221	31
個別研究(佐竹・山肩)								1	8
生体システム	141	17				9	5	54	
認知行動発達						2	5		
大脳神経回路論								100	13
生殖内分泌系	188							70	
生体恒常性発達	135								
多光子顕微鏡室	48	43							
動物資源共同利用研究センター	96	8						278	32
視覚情報処理	288	24						130	
細胞生理								469	
遺伝子改変動物作製室								977	342
心循環シグナル								230	27
IBBP									
細胞構造								152	
バイオフォトニクス								5	
神経細胞生物学								43	
合計	917	92				11	10	2,730	453

【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 86
生体膜研究部門 86
神経発達・再生機構研究部門 87
細胞構造研究部門 87
細胞生理研究部門 87
心循環シグナル研究部門 89
生殖・内分泌系発達機構研究部門 89
超微形態研究部門 90
大脳神経回路論研究部門 91
生体恒常性発達研究部門 91
視覚情報処理研究部門 92
バイオフォトニクス研究部門 92
認知行動発達機構研究部門 92
生体システム研究部門 93
神経ダイナミクス研究部門 93
心理生理学研究部門 93
形態情報解析室 96
多光子顕微鏡室 97
生体機能情報解析室 97
ウィルスベクター開発室 97
遺伝子改変動物作製室 98
動物資源共同利用研究センター 99
旧 統合生理研究部門 99

発　表　論　文

《神経機能素子研究部門》

1)　英文原著論文

1. Oda M, Ogino H, Kubo Y, Saitoh O (2019) Functional properties of axolotl transient receptor potential ankyrin 1 revealed by the heterologous expression system. NeuroReport 30(5):323-330. doi:10.1097/WNR.0000000000001197.
2. Chen IS, Liu C, Tateyama M, Karbat I, Uesugi M, Reuveny E, Kubo Y (2019) Non-sedating antihistamines block G-protein-gated inwardly rectifying K^+ channels. Br J Pharmacol 176(17):3161-3179. doi:10.1111/bph. 14717.
3. Shimomura T, Kubo Y (2019) Phosphoinositides modulate the voltage dependence of two-pore channel 3. J Gen Physiol 151(8):986-1006. doi:10.1085/jgp. 201812285.
4. Ishii J, Suzuki A, Kimura T, Tateyama M, Tanaka T, Yazawa T, Arimasu Y, Chen IS, Aoyama K, Kubo Y, Saitoh S, Mizuno H, Kamma H (2019) Congenital goitrous hypothyroidism is caused by dysfunction of the iodide transporter SLC26A7. Commun Biol 2:270. doi:10.1038/s42003-019-0503-6.

2)　研究関係著作

1. 下村拓史 (2019) サソリ毒の持つ精巧な Na^+チャネル調節メカニズム．ファルマシア 55(9):888. doi:10.14894/faruawpsj.55.9_888.

《生体膜研究部門》

1)　英文原著論文

1. Kornau HC, Kreye J, Stumpf A, Fukata Y, Parthier D, Sammons RP, Imbrosci B, Kurpjuweit S, Kowski AB, Fukata M, Prüss H, Schmitz D (2020) Human CSF monoclonal LGI1 autoantibodies increase neuronal excitability. Ann Neurol 87(3):405-418. doi:10.1002/ana.25666.
2. Sada R, Kimura H, Fukata Y, Fukata M, Yamamoto H, Kikuchi A (2019) Dynamic palmitoylation determines microdomain localization of two DKK1 receptors, CKAP4 and LRP6, and regulates DKK1 signaling. Sci Signaling 12:eaat9519. doi:10.1126/scisignal.aat9519.
3. Cao Y, Qiu T, Kathayat R, Azizi SA, Fukata Y, Fukata M, Rice P, Dickinson BC (2019) ABHD10 is an S-depalmitoylase affecting redox homeostasis through peroxiredoxin-5. Nat Chem Biol 15:1232-1240. doi:10.1038/s41589-019-0399-y.
4. Boncompain G, Herit F, Tessier S, Lescure A, Del Nery E, Gestraud P, Staropoli I, Fukata Y, Fukata M, Brelot A, Niedergang F, Perez F (2019) Targeting CCR5 trafficking to inhibit HIV-1 infection. Science Advances 5:eaax0821. doi:10.1126/sciadv.aax0821.
5. Kanadome T, Yokoi N, Fukata Y, Fukata M (2019) Systematic Screening of Depalmitoylating Enzymes and Evaluation of Their Activities by the Acyl-PEGyl Exchange Gel-Shift (APEGS) Assay. Methods Mol Biol 2009:83-98. doi:10.1007/978-1-4939-9532-5_7.
6. Hasegawa D, Ohnishi Y, Koyama E, Matsunaga S, Ohtani S, Nakanishi A, Shiga T, Chambers JK, Uchida K, Yokoi N, Fukata Y, Fukata M (2019) Deleted in colorectal cancer (netrin-1 receptor) antibodies and limbic encephalitis in a cat with hippocampal necrosis. J Vet Intern Med 33:1440-1445. doi:10.1111/jvim.15492.

《神経発達・再生機構研究部門》

1) 英文原著論文

1. Matsumoto M, Sawada M, García-González D, Herranz-Pérez V, OginoT, Nguyen HB, Thai TQ, Narita K, Kumamoto N, Ugawa S, Saito Y, Takeda S, Kaneko N, Khodosevich K, Monyer H, García-Verdugo JM, Ohno N, Sawamoto K (2019) Dynamic changes in ultrastructure of the primary cilium in migrating neuroblasts in the postnatal brain. J Neurosci 39: 9967-9988. doi:10.1523/JNEUROSCI.1503-19.2019.

2) 英文総説

1. Fujioka T, Kaneko N, Sawamoto K (2019) Blood vessels as a scaffold for neuronal migration.Neurochem Int 126:69-73. doi:10.1016/j.neuint.2019.03.001.

3) 研究関係著作

1. 澤田雅人，澤本和延 (2019) 生後脳におけるニューロン移動の調節機構. 生化学 91:178-190.
2. 斎藤志朗，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: 63-67.
3. Sawada M, Sawamoto K. Neuronal migration in the postnatal brain (Chapter 21, pp 465-478). In: Anton ES (ed.) Comprehensive Developmental Neuroscience: Cellular migration and formation of neuronal connections. Elsevier. Published Date: 30 May 2020.
4. Meunier A, Sawamoto K, Spassky N. Ependyma (Chapter 42. pp1021-1036). In: Rubenstein JLR, Rakic P (ed.) Comprehensive Developmental Neuroscience: Patterning and Cell Type Specification in the Developing CNS and PNS. Elsevier. Available online: 5 June 2020.

《細胞構造研究部門》

1) 英文原著論文

1. Otani T, Nguyen TP, Tokuda S, Sugihara K, Sugawara T, Furuse K, Miura T, Ebnet K, Furuse M (2019) Claudins and JAM-A coordinately regulate tight junction formation and epithelial polarity. J Cell Biol 218:3372-3396. doi:10.1083/jcb.201812157.
2. Izumi Y, Furuse K, Furuse M (2019) Septate junctions regulate gut homeostasis through regulation of stem cell proliferation and enterocyte behavior in *Drosophila*. J Cell Sci 132(18):jcs232108. doi:10.1242/jcs.232108.
3. Nagaoka T, Furuse M, Ohtsuka T, Tsuchida K, Kishi M (2019) Vangl2 interaction plays a role in the proteasomal degradation of Prickle2. Sci Rep 9:2912. doi:10.1038/s41598-019-39642-z.

2) 研究関係著作

1. 大谷哲久，古瀬幹夫 (2019) 細胞間接着と上皮細胞極性. 医学のあゆみ 268:486-490.

3) その他

1. 古瀬幹夫 (2019) 月田承一郎 --徹底的に形態学を利用した分子生物学--. 生体の科学 70:380-381.

《細胞生理研究部門》

1) 英文原著論文

1. Shimada T, Takahashi K, Tominaga M, Ohta T (2019) Identification of molecular targets for toxic action by persulfate, an industrial sulfur compound. Neurotoxicology 72:29-37. doi:10.1016/j.neuro. 2019.02.003.
2. Hirata Y, Suzuki Y, Tominaga M, Oku Y (2019) TRPM8 channel is involved in the ventilatory response to CO_2 mediating hypercapnic Ca^{2+} responses. Respir Physiol Neurobiol 263:20-25. doi:10.1016/j.resp.2019.03.002.
3. Ota W, Nakane Y, Kashio M, Suzuki Y, Nakamura K, Mori

Y, Tominaga M, Yoshimura T (2019) Involvement of TRPM2 and TRPM8 in temperature-dependent temporal niche switching. Sci Rep 9 (1):3706. doi:10.1038/s41598-019-40067-x.

4. Uchida K, Fukuta N, Yamazaki J, Tominaga M (2019) Identification and classification of a new TRPM3 variant (g subtype). J Physiol Sci 69(4):623-635. doi:10.1007/s12576-019-00677-6.
5. Matsumoto K, Ohishi A, Iwatsuki K, Yamazaki K, Takayanagi S, Tsuji M, Aihara E, Utsumi D, Tsukahara T, Tominaga M, Nagasawa K, Kato S (2019) Transient receptor potential vanilloid 4 mediates sour taste sensing via type III taste cell differentiation. Sci Rep 9(1):6686. doi:10.1038/s41598-019-43254-y.
6. Saito S, Saito TC, Nozawa M, Tominaga M (2019) Elucidating the functional evolution of heat sensors among Xenopus species adapted to different thermal niches by ancestral sequence reconstruction. Molec Eco 28:3561-3571. doi:10.1111/mec.15170.
7. Araki K, Araki A, Honda D, Izumoto T, Hashizume A, Hijikata Y, Yamada S, Iguchi Y, Hara A,Ikumi K, Kawai K, Ishigaki S, Nakamichi Y, Tsunekawa S, Seino Y, Yamamoto A, Takayama Y, Hidaka S, Tominaga M, Ohara-Imaizumi M, Suzuki A, Ishiguro H, Enomoto A, Yoshida M, Arima H, Muramatsu S, Sobue G, Katsuno M (2019) TDP-43 1 regulates early-phase insulin secretion via Cav1.2-mediated exocytosis in islets. J Clin Invest 130:3578-3593. doi:10.1172/JCI124481.
8. Fricke TC, Echtermeyer F, Zielke J, de la Roche J, Filipovic MR, Claverol S, Herzog C, Tominaga M, Pumroy RA, Moiseenkova-Bell VY, Zygmunt PM, Leffler A, Eberhardt MJ (2019) Oxidation of methionine residues activates the high-threshold heat-sensitive ion channel TRPV2. Proc Natl Acad Sci USA 116(48):24359-24365. doi:10.1073/pnas.1904332116.
9. Li T, Saito CT, Hikitsuchi T, Inoguchi Y, Mitsuishi H, Saito S, Tominaga M (2019) Diverse sensitivities of TRPA1 from different mosquito species to thermal and chemical stimuli. Sci Rep 9(1):20200, 2019. doi:10.1038/s41598-019-56639-w.
10. Matsumoto K, Deguchi A, Motoyoshi A, Morita A, Maebashi U, Nakamoto T, Kawanishi S, Sueyoshi M, Nishimura K, Takata K, Tominaga M, Nakahara T, Kato S (2020) Role of transient receptor potential vanilloid 4 in the regulation of azoymethane/dextran sulphate sodium-induced colitis-associated cancer in mice. Eur J Pharmacol 867:172853. doi:10.1016/j.ejphar. 2019.172853.
11. Shibasaki K, Yamada K, Miwa H, Yanagawa Y, Suzuki M, Tominaga M, Ishizaki Y (2020) Temperature elevation in epileptogenic foci exacerbates epileptic discharge through TRPV4 activation. Lab Invest 100(2):274-284. doi:10.1038/s41374-019-0335-5.

2) 英文総説

1. Mihara H, Boudaka A, Tominaga M, Sugiyama T (2019) Transient Receptor Potential Vanilloid 4 Regulation of Adenosine Triphosphate Release by the Adenosine Triphosphate Transporter Vesicular Nucleotide Transporter, a Novel Therapeutic Target for Gastrointestinal Baroreception and Chronic Inflammation. Digestion 101 (1):1-6. doi:10.1159/ 000504021.
2. Takayama Y, Derouiche S, Maruyama K, Tominaga M (2019) Emerging Perspectives on Pain Management by Modulation of TRP Channels and ANO1. Int J Mol Sci 20(14):3411. doi:10.3390/ijms20143411.

3) 研究関係著作

1. 富永真琴 (2019) 痛みと侵害受容器. ペインクリニック 401(1):9-16.
2. 齋藤茂, 富永真琴 (2019) 温度センサーTRP チャネルの生息環境に応じた機能変化とその構造基盤. 生物物理 59(1):5-8.
3. 富永真琴 (2019) 温度を感じるメカニズム --TRP チャネルの関与. 脳神経外科 90(6):603-608.
4. 富永真琴, 曽我部隆彰 (2019) TRP チャネルによる昆虫の温度センシング. 昆虫と自然 54(11):30-33.
5. 富永真琴 (2019) TRP チャネルと温度受容. Clinical Neuroscience 37(12):1521-1523.

《心循環シグナル研究部門》

1)　英文原著論文

1. Numaga-Tomita T, Shimauchi T, Oda S, Tanaka T, Nishiyama K, Nishimura A, Birnbaumer L, Mori Y, Nishida M (2019) TRPC6 regulates phenotypic switching of vascular smooth muscle cells through plasma membrane potential-dependent coupling with PTEN. FASEB J 33(9):9785-9796. doi:10.1096/fj.201802811R.
2. Nishimura A, Shimoda K, Tanaka T, Toyama T, Nishiyama K, Shinkai Y, Numaga-Tomita T, Yamazaki D, Kanda Y, Akaike T, Kumagai Y, Nishida M (2019) Depolysulfidation of Drp1 induced by low-dose methylmercury exposure increases cardiac vulnerability to hemodynamic overload. Sci Signal 12(587):eaaw1920. doi:10.1126/scisignal.aaw1920.
3. Nishiyama K, Numaga-Tomita T, Fujimoto Y, Tanaka T, Toyama C, Nishimura A, Yamashita T, Matsunaga N, Koyanagi S, Azuma YT, Ibuki Y, Uchida K, Ohdo S, Nishida M (2019) Ibudilast attenuates doxorubicin-induced cytotoxicity by suppressing formation of TRPC3-Nox2 protein complex. Br J Pharmacol 176(18):3723-3738. doi:10.1111/bph.14777.
4. Sudi SB, Tanaka T, Oda S, Nishiyama K, Nishimura A, Sunggip C, Mangmool S, Numaga-Tomita T, Nishida M (2019) TRPC3-Nox2 axis mediates nutritional deficiency-induced cardiomyocyte atrophy. Sci Rep 9(1):9785. doi:10.1038/s41598-019-46252-2.

2)　英文総説

1. Tanaka T, Nishimura A, Nishiyama K, Goto T, Numaga-Tomita T, Nishida M (2020) Mitochondrial dynamics in exercise physiology. Pflügers Archiv 472(2):137-153. doi:10.1007/s00424-019-02258-3.
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. 西田基宏, 西山和宏, 田中智弘, 西村明幸 (2019) 酸化／還元ストレスと心臓. 臨床免疫・アレルギー科 72(1):29-35.
2. 西田基宏, 田中智弘, 西村明幸 (2019) ミトコンドリア品質管理と心筋老化制御. 実験医学 37(12):1959-1965.
3. 西田基宏, 小田紗矢香 (2019) TRPC3/C6 蛋白質シグナル複合体形成の病態生理的意義. 医学のあゆみ 270(10):897-902.

4)　その他

1. 西田基宏 (2019) エレクトロンバイオダイナミクスが支える生命の生存戦略 (特集号前書き). 月刊細胞 51(8):378-379.

《生殖・内分泌系発達機構研究部門》

1)　英文原著論文

1. Okamoto S, Asgar NF, Yokota S, Saito K, Minokoshi Y (2019) Role of the α2 subunit of AMP-activated protein kinase and its nuclear localization in mitochondria and energy metabolism-related gene expressions in C2C12 cells. Metabolism 90:52-68. doi:10.1016/j.metabol. 2018.10.003.
2. 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(4):e124952. doi:10.1172/jci.insight.124952.
3. Fu O, Iwai Y, Kondoh K, Misaka T, Minokoshi Y, Nakajima KI (2019) SatB2-expressing neurons in the parabrachial nucleus encode sweet taste. Cell Rep 27(6):1650-1656.e4. doi:10.1016/j.celrep.2019.04.040.
4. Fu O, Iwai Y, Narukawa M, Ishikawa AW, Ishii KK, Murata K, Yoshimura Y, Touhara K, Misaka T, Minokoshi Y, Nakajima KI (2019) Hypothalamic neuronal circuits regulating hunger-induced taste modification. Nat Commun 10(1):4560. doi:10.1038/s41467-019-12478-x.
5. Tanimura J, Nakagawa H, Tanaka T, Kikuchi A, Osada S, Tanaka Y, Tokuyama K, Takamura T (2019) The clinical

course and potential underlying mechanisms of everolimus-induced hyperglycemia. Endocr J 66(7):615-620. doi:10.1507/endocrj.EJ18-0542.

6. Hosokawa K, Mizumaki H, Elbadry MI, Saito C, Espinoza JL, Thi Thanh Dao A, Katagiri T, Harashima A, Kikuchi A, Kanai A, Matsui H, Inaba T, Taniwaki M, Yamamoto Y, Nakao S (2019) Clonal hematopoiesis by SLIT1-mutated hematopoietic stem cells due to a breakdown of the autocrine loop involving Slit1 in acquired aplastic anemia. Leukemia 33(11):2732-2766. doi:10.1038/s41375-019-0510-0.

2) 英文総説

1. Li J, Liu T, Dong Y, Kondoh K, Lu Z (2019) Trans-synaptic neural circuit-tracing with neurotropic viruses. Neurosci Bull 35(5):909-920. doi:10.1007/s12264-019-00374-9.

3) 研究関係著作

1. 箕越靖彦 (2019) 肥満症と中枢神経制御. 最新医学 74(1):32-42.
2. 箕越靖彦 (2019) 摂食の動的恒常性と臓器連関. 実験医学増刊 37(7):1160-1170.
3. 箕越靖彦 (2019) 視床下部 AMP キナーゼによる炭水化物嗜好性制御機構. 医学のあゆみ 269(12):901-908.
4. 菊地晶裕, 箕越靖彦, 篁俊成 (2019) ヘパトカインの体内動態測定法. 日本糖尿病・肥満動物学会ニュースレター 23(2):4.
5. 近藤邦生 (2019) 天敵のにおいによるマウスの恐怖応答をつかさどる神経回路. 生体の科学 70(1):68-71
6. 中島健一朗, 傅欧, 岩井優, 近藤邦生, 三坂巧, 箕越靖彦 (2019) マウス脳内で甘味とそれに伴う心地よさを選択的に伝える神経細胞の発見. AROMA RESEARCH 80(20):350-355
7. 中島健一朗 (2019) 甘味とその美味しさを選択的に伝える神経の発見. 理科通信サイエンスネット 66:10-13

《超微形態研究部門》

1) 英文原著論文

1. Thai TQ, Nguyen HB, Sui Y, Ikenaka K, Oda T, Ohno N. (2019) Interactions between mitochondria and endoplasmic reticulum in demyelinated axons. Med Mol Morphol 52:135-146. doi: 10.1007/s00795-018-0212-0.
2. Takaki T, Ohno N, Saitoh S, Nagai M, Joh K. (2019) Podocyte penetration of the glomerular basement membrane to contact on the mesangial cell at the lesion of mesangial interposition in lupus nephritis: a three-dimensional analysis by serial block-face scanning electron microscopy. Clin Exp Nephrol 23:773-781. doi: 10.1007/s10157-019-01701-0.
3. Haruwaka K, Ikegami A, Tachibana Y, Ohno N, Konishi H, Hashimoto A, Matsumoto M, Kato D, Ono R, Kiyama H, Moorhouse AJ, Nabekura J, Wake H. (2019) Dual microglia effects on blood brain barrier permeability induced by systemic inflammation. Nat Commun 10:5816. doi:10.1038/s41467-019-13812-z.
4. Matsumoto M, Sawada M, García-González D, Herranz-Pérez V, Ogino T, Bang Nguyen H, Quynh Thai T, Narita K, Kumamoto N, Ugawa S, Saito Y, Takeda S, Kaneko N, Khodosevich K, Monyer H, García-Verdugo JM, Ohno N, Sawamoto K. (2019) Dynamic Changes in Ultrastructure of the Primary Cilium in Migrating Neuroblasts in the Postnatal Brain. J Neurosci 39:9967-9988. doi:10.1523/ JNEUROSCI.1503-19.2019.

2) 英文総説

1. Sui Y, Nguyen HB, Thai TQ, Ikenaka K, Ohno N. (2019) Mitochondrial Dynamics in Physiology and Pathology of Myelinated Axons. Adv Exp Med Biol 1190:145-163. doi: 10.1007/978-981-32-9636-7_10.
2. Ohno N, Ikenaka K. (2019) Axonal and neuronal degeneration in myelin diseases. Neurosci Res 139:48-57. doi: 10.1016/j.neures.2018.08.013.

3) 研究関係著作

1. 大野伸彦. (2019) 電子顕微鏡ボリュームイメージングにおける試料作製・観察技術の最近の進歩. 顕微鏡 54:24-30. doi.org/10.11410/kenbikyo.54.1_24.
2. 大野伸彦. (2019) 電子顕微鏡による神経疾患の三次元形態学. 実験医学 37(12 増刊):167-173.
3. 大野伸彦. (2019) グリア細胞の 3 次元超微形態学. 実験医学 37(17 増刊):209-216.

《大脳神経回路論研究部門》

1) 英文原著論文

1. Morita M, Kawaguchi Y (2019) A dual role hypothesis of the cortico-basal-ganglia pathways:opponency and temporal difference through dopamine and adenosine. Front Neural Circuits 12:111. doi:10.3389/fncir. 2018.00111.
2. Ueta Y, Sohn J, Agahari FA, Im S, Hirai Y, Miyata M, Kawaguchi1 Y (2019) Ipsi- and contralateral corticocortical projection-dependent subcircuits in layer 2 of the rat frontal cortex. J Neurophysiol 122:1461-1472. doi:10.1152/jn.00333.2019.
3. Hatanaka Y, Kawasaki T, Abe T, Shioi G, Kohno T, Hattori M, Sakakibara A, Kawaguchi Y, Hirata T (2019) Semaphorin 6A-Plexin A2/A4 interactions with radial glia regulate migration termination of superficial layer cortical neurons. iScience 21:359-374. doi:10.1016/j.isci.2019.10.034.
4. Morita K, Im S, Kawaguchi Y (2019) Differential striatal axonal arborizations of the intratelencephalic and pyramidal-tract neurons:analysis of the data in the MouseLight database. Front Neural Circuits 13:71. doi:10.3389/fncir.2019.00071.
5. Urakubo H, Bullmann T, Kubota Y, Oba S, Ishii S (2019) UNI-EM:An environment for deep neural network-based automated segmentation of neuronal electron microscopic images. Sci Rep 9:19413. doi:10.1038/s41598-019-55431-0.

2) 英文総説

1. Kawaguchi Y, Otsuka T, Morishima M, Ushimaru M, Kubota Y (2019) Control of excitatory hierarchical circuits by parvalbumin-FS basket cells in layer 5 of the frontal cortex:insights for cortical oscillations. J Neurophysiol 121:2222-2236. doi:10.1152/jn.00778. 2018.

3) 研究関係著作

1. Kubota Y (2019) Editorial:electron-microscopy-based tools for imaging cellular circuits and organisms. Front Neural Circuits 13:64. doi:10.3389/fncir.2019.00064

《生体恒常性発達研究部門》

1) 英文原著論文

1. Kato D, Wake H, Lee PR, Tachibana Y, Ono R, Sugio S, Tsuji Y, Tanaka YH, Tanaka YR, Masamizu Y, Hira R, Moorhouse AJ, Tamamaki N, Ikenaka K, Matsukawa N, Fields RD, Nabekura J, Matsuzaki M (2020) Motor learning requires myelination to reduce asynchrony and spontaneity in neural activity. Glia 68(1):193-210. doi:10.1002/glia.23713.
2. Haruwaka K, Ikegami A, Tachibana Y, Ohno N, Konishi H, Hashimoto A, Matsumoto M, Kato D, Ono R, Kiyama H, Moorhouse AJ, Nabekura J, Wake H (2019) Dual microglia effects on blood brain barrier permeability induced by systemic inflammation. Nat Commun 10(1):5816. doi:10.1038/s41467-019-13812-z.

2) 英文総説

1. Wake H, Horiuchi H, Kato D, Moorhouse AJ, Nabekura J (2019) Physiological Implications of Microglia-Synapse Interactions. Methods Mol Biol 2034:69-80. doi: 10.1007/978-1-4939-9658-2_6.
2. Kato D, Ikegami A, Horiuchi H, Moorhouse AJ, Nabekura J, Wake H (2019) In Vivo Two-Photon Imaging of Microglial Synapse Contacts. Methods Mol Biol 2034:281-286. doi:10.1007/978-1-4939-9658-2_20.

《視覚情報処理研究部門》

1) 英文原著論文

1. Kozuka T, Omori Y, Watanabe S, Tarusawa E, Yamamoto H, Chaya T, Furuhashi M, Morita M, Sato T, Hirose S, Ohkawa Y, Yoshimura Y, Hikida T, Furukawa T (2019) miR-124 dosage regulates prefrontal cortex function by dopaminergic modulation. Sci Rep 9(1):3445. doi:10.1038/s41598-019-38910-2.

《バイオフォトニクス研究部門》

1) 英文原著論文

1. Zhang H, Yarinome K, Kawakami R, Otomo K, Nemoto T, Okamura K (2020) Nanosheet Wrapping-Assisted Coverslip-Free Imaging for Looking Deeper into a Tissue at High Resolution. PLoS One 15(1):e0227650. doi:10.1371/journal.pone.0227650.

《認知行動発達機構研究部門》

1) 英文原著論文

1. Kishida T, Go Y, Tatsumoto S, Tatsumi K, Kuraku S, Toda M (2019) Loss of olfaction in sea snakes provides new perspectives on the aquatic adaptation of amniotes. Proc Biol Sci 286:20191828. doi:10.1098/rspb.2019.1828.
2. Hirai H, Go Y, Hirai Y, Rakotoarisoa G, Pamungkas J, Baicharoen S, Jahan I, Sajuthi D, Tosi AJ (2019) Considerable synteny and sequence similarity of primate chromosomal region VIIq31. Cytogenet Genome Res 158:88-97. doi:10.1159/000500796.
3. Ninomiya T, Inoue K, Hoshi E, Takada M (2019) Layer specificity of inputs from supplementary motor area and dorsal premotor cortex to primary motor cortex in macaque monkeys. Sci Rep 9:18230. doi:10.1038/ s41598-019-54220-z.

2) 英文総説

1. Hikosaka O, Yasuda M, Nakamura K, Isoda M, Kim HF, Terao Y, Amita H, Maeda K (2019) Multiple neuronal circuits for variable object-action choices based on short- and long-term memories. Proc Natl Acad Sci USA 116(52):26313-26320. doi:10.1073/pnas.1902283116.

3) 研究関係著作

1. 植松明子，二宮太平，磯田昌岐 (2020) 社会行動. Clinical Neuroscience 38(2):161-164.
2. 則武厚，二宮太平，磯田昌岐 (2020) 他者の報酬が気になる神経機構. Clinical Neuroscience 38(3):378-380.

4) その他

1. 郷康広 (2019) 霊長類ゲノムとそのはたらきを読み解く. 生命誌ジャーナル (JT 生命誌館) 100:Research (https://www.brh.co.jp/publication/journal/100/research02/2.html)

《生体システム研究部門》

1)　英文原著論文

1. Sano H, Nambu A (2019) The effect of zonisamide on L-DOPA-induced dyskinesia in Parkinson's disease model mice. Neurochem Int 124:171-180. doi:10.1016/j.neuint. 2019.01.011.
2. Murakami J, Tachibana Y, Akiyama S, Kato T, Taniguchi A, NakajimaY, Shimoda M, Wake H, Kano Y, Takada M, Nambu A, Yoshida A (2019) Oral splint ameliorates tic symptoms in patients with Tourette syndrome. Mov Disord 34(10):1577-1578. doi:10.1002/mds.27819.
3. Ebina T, Obara K, Watakabe A, Masamizu Y, Terada S-I, Matoba R, Takaji M, Hatanaka N, Nambu A, Mizukami H, Yamamori T, Matsuzaki M (2019) Arm movements induced by noninvasive optogenetic stimulation of the motor cortex in the common marmoset. Proc Natl Acad Sci USA 116(45):22844-22850. doi:10.1073/pnas. 1903445116.

2)　研究関係著作

1. 南部篤 (2019) 大脳皮質と大脳基底核. "標準生理学第 9 版" (本間 研一 監修; 大森治紀, 大橋俊夫 総編集; 河合康明, 黒澤美枝子, 鯉淵典之, 伊佐正 編集), 医学書院, pp. 367-392.

《神経ダイナミクス研究部門》

1)　英文原著論文

1. Ueda K, Kitajo K, Yamaguchi Y, Nishiura Y (2019) Neural network model for path-finding problems with the self-recovery property. Phys Rev E 99:032207. doi:10.1103/PhysRevE.99.032207.
2. Glim S, Okazaki Y, Nakagawa Y, Mizuno Y, Hanakawa T, Kitajo K (2019), Phase-amplitude coupling of neural oscillations can be effectively probed with concurrent TMS-EEG. Neural Plast 2019:6263907. doi:10.1155/2019/6263907.
3. Wei Y, Okazaki YO, So RHY, Chu WCW, Kitajo K (2019) Motion sickness-susceptible participants exposed to coherent rotating dot patterns show excessive N2 amplitudes and impaired theta-band phase synchronization. NeuroImage 202:116028. doi:10.1016/ j.neuroimage.2019.116028.
4. Ye S, Kitajo K, Kitano K (2020) Information-theoretic approach to detect directional information flow in EEG signals induced by TMS. Neurosci Res 156, 197-205, doi:/10.1016/j.neures.2019.09.003.

《心理生理学研究部門》

1)　英文原著論文

1. Koike T, Sumiya M, Nakagawa E, Okazaki S, Sadato N (2019) What makes eye contact special? Neural substrates of on-line mutual eye-gaze:A hyperscanning fMRI Study. eNeuro 28:6(1). doi:10.1523/ENEURO.0284-18.2019.
2. Kitada R, Doizaki R, Kwon J, Tanigawa T, Nakagawa E, Kochiyama T, Kajimoto H, Sakamoto M, Sadato N (2019) Brain networks underlying tactile softness perception:A functional magnetic resonance imaging study. NeuroImage 197:156-166. doi:10.1016/ j.neuroimage.2019.04.044.
3. Abe MO, Koike T, Okazaki S, Sugawara SK, Takahashi K, Watanabe K, Sadato N (2019) Neural correlates of online cooperation during joint force production. NeuroImage 191:150-161. doi:10.1016/j.neuroimage. 2019.02.003.
4. Shin HG, Oh SH, Fukunaga M, Nam Y, Lee D, Jung W, Jo M, Ji S, Choi JY, Lee J (2019) Advances in gradient echo myelin water imaging at 3T and 7T. Neuroimage 188:835-844. doi:10.1016/j.neuroimage.2018.11.040.

5. Nakamura NH, Fukunaga M, Oku Y (2019) Respiratory fluctuations in pupil diameter are not maintained during cognitive tasks. Respir Physiol Neurobiol 265:68-75. doi:10.1016/j.resp.2018.07.005.
6. Morita K, Miura K, Fujimoto M, Yamamori H, Yasuda Y, Kudo N, Azechi H, Okada N, Koshiyama D, Shiino T, Fukunaga M, Watanabe Y, Ikeda M, Kasai K, Hashimoto R (2019) Eye-movement characteristics of schizophrenia and their association with cortical thickness. Psychiatry Clin Neurosci 73(8):508-509. doi:10.1111/pcn.12865.
7. Wong TY, Radua J, Pomarol-Clotet E, Salvador R, Albajes-Eizagirre A, Solanes A, Canales-Rodriguez EJ, Guerrero-Pedraza A, Sarro S, Kircher T, Nenadic I, Krug A, Grotegerd D, Dannlowski U, Borgwardt S, Riecher-Rössler A, Schmidt A, Andreou C, Huber CG, Turner J, Calhoun V, Jiang W, Clark S, Walton E, Spalletta G, Banaj N, Piras F, Ciullo V, Vecchio D, Lebedeva I, Tomyshev AS, Kaleda V, Klushnik T, Filho GB, Zanetti MV, Serpa MH, Penteado Rosa PG, Hashimoto R, Fukunaga M, Richter A, Krämer B, Gruber O, Voineskos AN, Dickie EW, Tomecek D, Skoch A, Spaniel F, Hoschl C, Bertolino A, Bonvino A, Di Giorgio A, Holleran L, Ciufolini S, Marques TR, Dazzan P, Murray R, Lamsma J, Cahn W, van Haren N, Díaz-Zuluaga AM, Pineda-Zapata JA, Vargas C, López-Jaramillo C, van Erp TGM, Gur RC, Nickl-Jockschat T (2019) An overlapping pattern of cerebral cortical thinning is associated with both positive symptoms and aggression in schizophrenia via the ENIGMA consortium. Psychol Med., 16:1-12. doi: 10.1017/S0033291719002149.
8. Writing Committee for the ENIGMA-CNV Working Group, van der Meer D, Sønderby IE, Kaufmann T, Walters GB, Abdellaoui A, Ames D, Amunts K, Andersson M, Armstrong NJ, Bernard M, Blackburn NB, Blangero J, Boomsma DI, Brodaty H, Brouwer RM, Bülow R, Cahn W, Calhoun VD, Caspers S, Cavalleri GL, Ching CRK, Cichon S, Ciufolini S, Corvin A, Crespo-Facorro B, Curran JE, Dalvie S, Dazzan P, de Geus EJC, de Zubicaray GI, de Zwarte SMC, Delanty N, den Braber A, Desrivieres S, Di Forti M, Doherty JL, Donohoe G, Ehrlich S, Eising E, Espeseth T, Fisher SE, Fladby T, Frei O, Frouin V, Fukunaga M, Gareau T, Glahn DC, Grabe HJ, Groenewold NA, Gústafsson Ó, Haavik J, Haberg AK, Hashimoto R, Hehir-Kwa JY, Hibar DP, Hillegers MHJ, Hoffmann P, Holleran L, Hottenga JJ, Hulshoff Pol HE, Ikeda M, Jacquemont S, Jahanshad N, Jockwitz C, Johansson S, Jönsson EG, Kikuchi M, Knowles EEM, Kwok JB, Le Hellard S, Linden DEJ, Liu J, Lundervold A, Lundervold AJ, Martin NG, Mather KA, Mathias SR, McMahon KL, McRae AF, Medland SE, Moberget T, Moreau C, Morris DW, Mühleisen TW, Murray RM, Nordvik JE, Nyberg L, Olde Loohuis LM, Ophoff RA, Owen MJ, Paus T, Pausova Z, Peralta JM, Pike B, Prieto C, Quinlan EB, Reinbold CS, Reis Marques T, Rucker JJH, Sachdev PS, Sando SB, Schofield PR, Schork AJ, Schumann G, Shin J, Shumskaya E, Silva AI, Sisodiya SM, Steen VM, Stein DJ, Strike LT, Tamnes CK, Teumer A, Thalamuthu A, Tordesillas-Gutiérrez D, Uhlmann A, Úlfarsson MÖ, van 't Ent D, van den Bree MBM, Vassos E, Wen W, Wittfeld K, Wright MJ, Zayats T, Dale AM, Djurovic S, Agartz I, Westlye LT, Stefánsson H, Stefánsson K, Thompson PM, Andreassen OA (2019) Association of Copy Number Variation of the 15q11.2 BP1-BP2 Region With Cortical and Subcortical Morphology and Cognition, JAMA Psychiatry, 1-11. doi:10.1001/jamapsychiatry.2019.3779.
9. Maruyama S, Fukunaga M, Fautz HP, Heidemann R, Sadato N (2019) Comparison of 3T and 7T MRI for the visualization of globus pallidus sub-segments. Sci Rep 9(1):18357. doi:10.1038/s41598-019-54880-x.
10. Hamano YH, Sugawara SK, Yoshimoto T, Sadato N (2020) The motor engram as a dynamic change of the cortical network during early sequence learning:An fMRI study. Neurosci Res 153:27-39 doi:10.1016/j.neures. 2019.03.004.
11. Sønderby IE, Gústafsson Ó, Doan NT, Hibar DP, Martin-Brevet S, Abdellaoui A, Ames D, Amunts K, Andersson M, Armstrong NJ, Bernard M, Blackburn N, Blangero J, Boomsma DI, Bralten J, Brattbak HR, Brodaty H, Brouwer RM, Bülow R, Calhoun V, Caspers S, Cavalleri G, Chen CH, Cichon S, Ciufolini S, Corvin A, Crespo-Facorro B, Curran JE, Dale AM, Dalvie S, Dazzan P, de Geus EJC, de Zubicaray GI, de Zwarte SMC, Delanty N, den Braber A, Desrivières S, Donohoe G, Draganski B, Ehrlich S, Espeseth T, Fisher SE, Franke B, Frouin V, Fukunaga M, Gareau T, Glahn DC, Grabe H, Groenewold NA, Haavik J, Håberg A, Hashimoto R, Hehir-Kwa JY, Heinz A,

Hillegers MHJ, Hoffmann P, Holleran L, Hottenga JJ, Hulshoff HE, Ikeda M, Jahanshad N, Jernigan T, Jockwitz C, Johansson S, Jonsdottir GA, Jönsson EG, Kahn R, Kaufmann T, Kelly S, Kikuchi M, Knowles EEM, Kolskår KK, Kwok JB, Hellard SL, Leu C, Liu J, Lundervold AJ, Lundervold A, Martin NG, Mather K, Mathias SR, McCormack M, McMahon KL, McRae A, Milaneschi Y, Moreau C, Morris D, Mothersill D, Mühleisen TW, Murray R, Nordvik JE, Nyberg L, Olde Loohuis LM, Ophoff R, Paus T, Pausova Z, Penninx B, Peralta JM, Pike B, Prieto C, Pudas S, Quinlan E, Quintana DS, Reinbold CS, Marques TR, Reymond A, Richard G, Rodriguez-Herreros B, Roiz-Santiañez R, Rokicki J, Rucker J, Sachdev P, Sanders AM, Sando SB, Schmaal L, Schofield PR, Schork AJ, Schumann G, Shin J, Shumskaya E, Sisodiya S, Steen VM, Stein DJ, Steinberg S, Strike L, Teumer A, Thalamuthu A, Tordesillas-Gutierrez D, Turner J, Ueland T, Uhlmann A, Ulfarsson MO, van 't Ent D, van der Meer D, van Haren NEM, Vaskinn A, Vassos E, Walters GB, Wang Y, Wen W, Whelan CD, Wittfeld K, Wright M, Yamamori H, Zayats T, Agartz I, Westlye LT, Jacquemont S, Djurovic S, Stefánsson H, Stefánsson K, Thompson P, Andreassen OA; 16p11.2 European Consortium, for the ENIGMA-CNV working group (2020) Dose response of the 16p11.2 distal copy number variant on intracranial volume and basal ganglia. Molecular Psychiatry,. doi: 10.1038/s41380-018-0118-1.

12. Koshiyama D, Fukunaga M, Okada N, Morita K, Nemoto K, Usui K, Yamamori H, Yasuda Y, Fujimoto M, Kudo N, Azechi H, Watanabe Y, Hashimoto N, Narita H, Kusumi I, Ohi K, Shimada T, Kataoka Y, Yamamoto M, Ozaki N, Okada G, Okamoto Y, Harada K, Matsuo K, Yamasue H, Abe O, Hashimoto R, Takahashi T, Hori T, Nakataki M, Onitsuka T, Holleran L, Jahanshad N, van Erp TGM, Turner J, Donohoe G, Thompson PM, Kasai K, Hashimoto R; COCORO (2020) White matter microstructural alterations across four major psychiatric disorders:mega-analysis study in 2937 individuals. Mol Psychiatry 25 : 883-895. doi:10.1038/s41380-019-0553-7.

13. Yasuda Y, Okada N, Nemoto K, Fukunaga M, Yamamori H, Ohi K, Koshiyama D, Kudo N, Shiino T, Morita S, Morita K, Azechi H, Fujimoto M, Miura K, Watanabe Y, Kasai K, Hashimoto R (2020) Brain morphological and functional features in cognitive subgroups of schizophrenia. Psychiatry Clin Neurosci 74 : 191-203 doi:10.1111/pcn.12963.

14. Nemoto K, Shimokawa T, Fukunaga M, Yamashita F, Tamura M, Yamamori H, Yasuda Y, Azechi H, Kudo N, Watanabe Y, Kido M, Takahashi T, Koike S, Okada N, Hirano Y, Onitsuka T, Yamasue H, Suzuki M, Kasai K, Hashimoto R, Arai T (2020) Differentiation of schizophrenia using structural MRI with consideration of scanner differences:A real-world multi-site study. Psychiatry Clin Neurosci 74：56-63 doi:10.1111/ pcn.12934.

15. Koike T, Tanabe HC, Adachi-Abe S, Okazaki S, Nakagawa E, Sasaki AT, Shimada K, Sugawara SK, Takahashi HK, Yoshihara K, Sadato N (2019) Role of the right anterior insular cortex in joint attention-related identification with a partner. So Cogn Affect Neurosci 14(10):1131-1145. doi:10.1093/scan/nsz087.

2) 英文総説

1. Shishido E, Ogawa S, Miyata S, Yamamoto M, Inada T, Ozaki N (2019) Application of eye trackers for understanding mental disorders:Cases for schizophrenia and autism spectrum disorder. Neuropsychopharmacol Rep 39(2):72-77. doi:10.1002/npr2.12046.

3) 研究関係著作

1. 定藤規弘，吉原一文 (2019) 交感神経活動の脳内ネットワーク．自律神経 56(2):76-79. doi:/10.32272/ ans.56.2_076.
2. 定藤規弘，福永雅喜 (2019) 超高磁場 MRI による脳機能イメージング--種間比較をめざして Functional neuroimaging by ultra-high-field MRI -towards cross-species comparisons. 医学のあゆみ 270(9):685-691.
3. 小池耕彦 (2019) ハイパースキャニング脳機能イメージング．バイオメカニズム学会誌 43(3):179-187.

4) その他

1. 定藤規弘 (2019) 第 3 章 子どもを「ほめ」て育てるということ一脳科学からのアプローチ. "子どもの未来をひらくエンパワーメント科学" (安梅勅江 編著), 日本評論社, pp. 68-97.
2. 赤尾旭彦，川端政則，小山雄太郎，長野祥大，速水琢，三須宏武，八木佐一郎，山下愛博 (2018) 2018 年度時限研究会実施報告脳科学若手の会第 10 回合宿「若手

脳研究者に向けたレクチャー&ワークショップ合宿～脳と人工知能の情報表現，データ解析からモデル構築まで～」．日本神経回路学会誌 25(2):38-42.

《形態情報解析室》

1) 英文原著論文

1. Furuta T, Bush NE, Yang AET, Ebara S, Miyazaki N, Murata K, Hirai D, Shibata K, Hartmann MJZ (2020) The cellular and mechanical basis for response characteristics of identified primary afferents in the rat vibrissal system. Current Biology 30(5):815-826.e5. doi:10.1016/ j.cub.2019.12.068.
2. Imachi H, Nobu MK, Nakahara N, Morono Y, Ogawara M, Takaki Y, Takano Y, Uematsu K, Ikuta T, Ito M, Matsui Y, Miyazaki M, Murata K, Saito Y, Sakai S, Song C, Tasumi E, Yamanaka Y, Yamaguchi T, Tamaki H, Takai K (2020) Isolation of an archaeon at the prokaryote-eukaryote interface. Nature 577(7791):519-525. doi:10.1038/s41586-019-1916-6.
3. Sheng X, Watanabe A, Li A, Kim E, Song C, Murata K, Mr. Song D, Minagawa J (2019) Structural insight into light harvesting for photosystem II in green algae. Nat Plants 5:1320-1333. doi:10.1038/s41477-019-0543-4.
4. Ando, J, Nakamura A, Yamamoto M, Song C, Murata K, Iino R (2019) Multi-color high-speed tracking of single biomolecules with silver, gold, silver-gold alloy nanoparticles. ACS Photonics 6(11):2870-2883. doi:10.1021/acsphotonics.9b00953.
5. Burton-Smith, RN, Watanabe A, Tokutsu R, Song C, Murata K, Minagawa J (2019) Structural determination of the large photosystem II-light harvesting complex II supercomplex of *Chlamydomonas reinhardtii* using non-ionic amphipol. J Biol Chem 2994:15003-15013. doi:10.1074/jbc.RA119.009341.
6. Kaji T, 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. Front Zool 16:35. doi:10.1186/s12983-019-0308-y.
7. Aoki K, Hagiwara R, Akashi M, Murata K, Ogata H, Takemura M (2019) Fifteen Marseilleviruses Newly Isolated from Three Water Samples in Japan Reveal a Local Diversity of *Marseilleviridae*. Front Microbiol 10:1152. doi:10.3389/fmicb.2019.01152.
8. Sekiguchi T, Satoh T, Kurimoto E, Song C, Kozai T, Watanabe H, Ishii K, Yagi H, Yanaka S, Uchiyama S, Uchihashi T, Murata K, Kato K (2019) Mutational and combinatorial control of self-assembling and disassembling of human proteasome α-subunits. Int J Mol Sci 20(9):2308. doi:10.3390/ijms20092308.
9. Hirose Y, Chihong S, Watanabe M, Yonekawa C, Murata K, Ikeuchi M, Eki T (2019) Diverse chromatic acclimation regulating phycoerythrocyanin and rod-shaped phycobilisome in cyanobacteria. Mol Plant 12(5):715-725. doi:10.1016/j.molp.2019.07.002.
10. Yoshikawa G, Blanc-Mathieu R, Song C, Kayama Y, Mochizuki T, Murata K, Ogata H, Takemura M (2019) Medusavirus, a novel large DNA virus discovered from hot spring water. J Virol 93(8):e02130-18. doi:10.1128/JVI.02130-18.
11. Kubota-Kawai H, Burton-Smith RN, Tokutsu R, Song C, Akimoto S, Yokono M, Ueno Y, Kim E, Watanabe A, Murata K, Minagawa J (2019) Ten antenna proteins are associated with the core in the supramolecular organization of the photosystem I supercomplex in *Chlamydomonas reinhardtii*. J Biol Chem 294(12):4304-4314. doi:10.1074/jbc.RA118.006536.

《多光子顕微鏡室》

1) 英文原著論文

1. Saneyoshi T, Matsuno H, Suzuki A, Murakoshi H, Hedrick NG, Agnello E, O'Connell R, Stratton MM, Yasuda R, Hayashi Y (2019) Reciprocal Activation within a Kinase-Effector Complex Underlying Persistence of Structural LTP.Neuron 102:1199-1210. doi:10.1016/j.neuron.2019.04.012.
2. Murakoshi H, Horiuchi H, Kosugi T, Onda M, Sato A, Koga N, and Nabekura J (2019) ShadowR: a novel chromoprotein with reduced non-specific binding and improved expression in living cells. Sci Rep 9:12072. doi:10.1038/s41598-019-48604-4.

《生体機能情報解析室》

1) 英文原著論文

1. Brooks JA, Chikazoe J, Sadato N, Freeman JB (2019) The neural representation of facial-emotion categories reflects conceptual structure. Proc Natl Acad Sci USA 116(32): 15861-15870. doi:10.1073/pnas.1816408116.

2) 英文総説

1. Todd RM, Miskovic V, Chikazoe J, Anderson AK(2020) Emotional Objectivity:Neural representations of emotions and their interaction with cognition. Annu Rev Psychol.Jan 4;71:25-48. doi:10.1146/annurev-psych-010419-051044.

《ウィルスベクター開発室》

1) 英文原著論文

1. 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.
2. 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.
3. Nomura K, Hiyama TY, Sakuta H, Matsuda T, Lin CH, 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.
4. 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.
5. 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.
6. 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.
7. Miyamoto H, Tatsukawa T, Shimohata A, Yamagata T, Suzuki T, Amano K, Mazaki E, Raveau M, Ogiwara I, Oba-Asaka A, Hensch TK, Itohara S, Sakimura K, Kobayashi K, Kobayashi K, Yamakawa K (2019) Impaired cortico-striatal excitatory transmission triggers epilepsy. Nat Commun 10:1917. doi:10.1038/s41467-019-09954-9.

8. Murata K, Kinoshita T, Fukazawa Y, Kobayashi K, Kobayashi K, Miyamichi K, Okuno H, Bito H, Sakurai Y, Yamaguchi M, Mori K, Manabe H (2019) GABAergic neurons in the olfactory cortex projecting to the lateral hypothalamus in mice. Sci Rep 9:7132. doi:10.1038/s41598-019-43580-1.
9. Hori T, Fukutome M, Maejima C, Matsushima H, Kobayashi K, Kitazawa S, Kitahara R, Kitano K, Kobayashi K, Moritoh S, Koike C (2019) Gene delivery to cone photoreceptors by subretinal injection of rAAV2/6 in the mouse retina. Biochem Biophys Res Commun 515:222-227. doi:10.1016/j.bbrc.2019.05.117.
10. Ishida A, Kobayashi K, Ueda Y, Shimizu T, Tajiri N, Isa T, Hida H (2019) Dynamic interaction between cortico-brainstem pathways during training-induced recovery in stroke model rats. J Neurosci 39:7306-7320. doi:10.1523/JNEUROSCI.0649-19.2019.
11. Sánchez-Valpuesta M, Suzuki Y, Shibata Y, Toji N, Ji Y, Afrin N, Asogwa CN, Kojima I, Mizuguchi D, Kojima S, Okanoya K, Okado H, Kobayashi K, Wada K (2019) Corticobasal ganglia projecting neurons are required for juvenile vocal learning but not for adult vocal plasticity in songbirds. Proc Natl Acad Sci USA 116:22833-22843. doi:10.1073/pnas.1913575116.
12. Karube F, Takahashi S, Kobayashi K, Fujiyama F (2019) Motor cortex can directly drive the globus pallidus neurons in a projection neuron type-dependent manner in the rat. eLife 8:e49511. doi:10.7554/eLife.49511.

《遺伝子改変動物作製室》

1) 英文原著論文

1. Chinen S, Yamanaka T, Nakayama K, Watanabe H, Akiyama Y, Hirabayashi M, Hochi S (2019) Nylon mesh cryodevice for bovine mature oocytes, easily removable excess vitrification solution. Cryobiology 90:96-99. doi:10.1016/j.cryobiol.2019.09.010.
2. Nakayama K, Yamanaka T, Tamada Y, Hirabayashi M, Hochi S (2019) Supplementary cryoprotective effect of carboxylated ϵ-poly-l-lysine during vitrification of rat pancreatic islets. Cryobiology 88:70-74. doi:10.1016/ j.cryobiol.2019.03.009.
3. Kazuki Y, Kobayashi K, Hirabayashi M, Abe S, Kajitani N, Kazuki K, Takehara S, Takiguchi M, Satoh D, Kuze J, Sakuma T, Kaneko T, Mashimo T, Osamura M, Hashimoto M, Wakatsuki R, Hirashima R, Fujiwara R, Deguchi T, Kurihara A, Tsukazaki Y, Senda N, Yamamoto T, Scheer N, Oshimura M (2019) Humanized UGT2 and CYP3A transchromosomic rats for improved prediction of human drug metabolism. Proc Natl Acad Sci USA 116:3072-3081. doi:10.1073/pnas.1808255116.
4. Goto T, Hara H, Sanbo M, Masaki H, Sato H, Yamaguchi T, Hochi S, Kobayashi T, Nakauchi H, Hirabayashi M (2019) Generation of pluripotent stem cell-derived mouse kidneys in *Sall1*-targeted anephric rats. Nat Commun 10:451. doi:10.1038/s41467-019-08394-9.
5. Gao X, Nowak-Imialek M, Chen X, Chen D, Herrmann D, Ruan D, Chen ACH, Eckersley-Maslin MA, Ahmad S, Lee YL, Kobayashi T, Ryan D, Zhong J, Zhu J, Wu J, Lan G, Petkov S, Yang J, Antunes L, Campos LS, Fu B, Wang S, Yong Y, Wang X, Xue SG, Ge L, Liu Z, Huang Y, Nie T, Li P, Wu D, Pei D, Zhang Y, Lu L, Yang F, Kimber SJ, Reik W, Zou X, Shang Z, Lai L, Surani A, Tam PPL, Ahmed A, Yeung WSB, Teichmann SA, Niemann H, Liu P (2019) Establishment of porcine and human expanded potential stem cells. Nat Cell Biol 21:687-699. doi: 10.1038/s41556-019-0333-2.

2) 英文総説

1. Hirabayashi M, Goto T, Hochi S (2019) Pluripotent stem cell-derived organogenesis in the rat model system. Transgenic Res 28:287-297. doi:10.1007/s11248-019-00161-2.

3) 研究関係著作

1. Hirabayashi M, Takizawa A, Hochi S (2019) Embryonic stem cells and gene manipulation in rat. Methods Mol Biol 2018:115-130. doi:10.1007/978-1-4939-9581-3_5.
2. Hirabayashi M, Hochi S (2019) Organ generation from

knockedout rat blastocysts complemented with pluripotent stem cells. Methods Mol Biol 1874:313-326. doi:10.1007/978-1-4939-8831-0_18.

4) その他

1. 平林真澄，保地眞一 (2019) 多能性幹細胞を用いた三次元臓器再生 --胚盤胞補完の齧歯類モデル--. BIO Clinica 11 月臨時増刊号 "iPS 再生医療の最前線 " 34:25-29.

《動物資源共同利用研究センター》

1) その他

1. 浦野　徹：適正な実験動物と適切な動物実験をめざして，資料集：動物実験のあり方を考える，動物との共生を考える連絡会発行, 24－34, 2019
2. 浦野　徹：動物愛護管理法見直しの現状分析と今後の方向性，実験動物関係教職員高度技術研修 2019「中型動物を用いた動物実験に関わる知識と技術の習得」テキスト, 14-19, 2019

《旧 統合生理研究部門》

1) 英文原著論文

1. Iwasaki M, Noguchi Y, Kakigi R (2019) Neural correlates of time distortion in a preaction period. Hum Brain Mapp 40(3):804-817. doi:10.1002/hbm.24413.
2. Ohbayashi W, Kakigi R, Nakata H (2019) Effects of white noise duration on somatosensory event-related potentials. Neuroreport 30(1):26-31. doi:10.1097/WNR.0000000000001157.
3. 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.
4. Noguchi Y, Xia Y, Kakigi R (2019) Desynchronizing to be faster? Perceptual- and attentional-modulation of brain rhythms at the sub-millisecond scale. Neuroimage 191:225-233. doi:10.1016/ j.neuroimage.2019.02.027.
5. Shibasaki M, Namba M, Kamijo YI, Ito T, Kakigi R, Nakata H (2019) Effects of repetitive exercise and thermal stress on human cognitive processing. Physiol Rep 7(4):e14003. doi:10.14814/phy2.14003.
6. Shironouchi F, Ohtaka C, Mizuguchi N, Kato K, Kakigi R, Nakata H (2019) Remote effects on corticospinal excitability during motor execution and motor imagery. Neurosci Lett 707:134284. doi:10.1016/j.neulet. 2019.134284.
7. Mochizuki H, Hernandez LE, Yosipovitch G, Sadato N, Kakigi R (2019) The functional network processing acute electrical itch stimuli in humans. Front Physiol 10:555. doi:10.3389/fphys.2019.00555.
8. Nakata H, Kobayashi F, Lawley JS, Kakigi R, Shibasaki M (2019) Effects of whole body skin cooling on human cognitive processing:a study using SEPs and ERPs. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 317(3):R432-R441. doi:10.1152/ajpregu.00087.2019.
9. Shimamura K, Inoue T, Ichikawa H, Nakato E, Sakuta Y, Kanazawa S, Yamaguchi MK, Kakigi R, Sakuta R (2019) Hemodynamic response to familiar faces in children with ADHD. Biopsychosoc Med 13:30. doi:10.1186/s13030-019-0172-1.
10. Kinukawa T, Takeuchi N, Sugiyama S, Nishihara M, Nishiwaki N, Inui K (2019) Properties of echoic memory revealed by auditory-evoked magnetic fields. Sci Rep 9(1):12260. doi:10.1038/s41598-019-48796-9.
11. Motomura E, Inui K, Kawano Y, Nishihara M, Okada M (2019) Effects of sound-pressure change on the 40 Hz auditory steady-state response and change-related cerebral response. Brain Sciences 9:203. doi:10.3390/brainsci9080203

12. Takeuchi N, Kinukawa T, Sugiyama S, Inui K, Kanemoto K, Nishihara M (2019) Suppression of somatosensory evoked cortical responses by noxious stimuli. Brain Topogr 32(5):783-793. doi:10.1007/s10548-019-00721-z.

13. Sugiyama S, Kinukawa T, Takeuchi N, Nishihara M, Shioiri T, Inui K (2019) Change-related acceleration effects on auditory steady-state response. Front Syst Neurosci 13:53. doi:10.3389/fnsys.2019.00053

b.　学会発表

〔　目　　次　〕

神経機能素子研究部門 102
生体膜研究部門 102
神経発達・再生機構研究部門 103
細胞構造研究部門 104
細胞生理研究部門 105
心循環シグナル研究部門 107
生殖・内分泌系発達機構研究部門 109
超微形態研究部門 111
大脳神経回路論研究部門 112
生体恒常性発達研究部門 113
視覚情報処理研究部門 115
バイオフォトニクス研究部門 115
認知行動発達機構研究部門 116
生体システム研究部門 118
神経ダイナミクス研究部門 120
心理生理学研究部門 122
個別研究（毛利研究室） 125
個別研究（山肩研究室） 125
個別研究（佐竹研究室） 125
形態情報解析室 126
多光子顕微鏡室 127
生体機能情報解析室 128
ウィルスベクター開発室 128
遺伝子改変動物作製室 129
動物資源共同利用研究センター 130

学　会　発　表

《神経機能素子研究部門》

1. Takushi Shimomura, Yoshihiro Kubo (2019･3･29) A key interaction for modulation of voltage dependence by phosphoinositides in Two-pore channel 3. The 9th FAOPS congress (Kobe, Japan)
2. Ki-ichi Hirazawa, Takushi Shimomura, Yoshihiro Kubo (2019･3･29) Analysis of dynamic structural rearrangements of Two-Pore Na^+ Channel 3 by voltage clamp fluorometry. The 9th FAOPS Congress (Kobe, Japan)
3. I-Shan Chen, Chang Liu, Yoshihiro Kubo (2019･3･30) Regulation mechanisms of G-protein-gated inwardly rectifying K^+ channel by small molecules. In Symposium “Cutting-edge approaches to long-lasting questions and novel aspects of inward rectifier K^+ channels” The 9th FAOPS Congress (Kobe, Japan)
4. Chang Liu, I-Shan Chen, Yoshihiro Kubo (2019･3･30) Effects of antihistamine drugs on G-protein-gated inwardly rectifying K^+ channels. The 9th FAOPS congress (Kobe, Japan)
5. Rizki Tsari Andriani, Yoshihiro Kubo (2019･3･30) Voltage-clamp fluorometry analyses of voltage- dependent gating of ATP receptor channel P2X2. The 9th FAOPS Congress (Kobe, Japan)
6. Michihiro Tateyama, Yoshihiro Kubo (2019・3・30) Metabotropic glutamate receptor mGlu2 regulates signaling via Gq-coupled serotonergic receptor. The 9th FAOPS Congress (Kobe, Japan)
7. Takushi Shimomura, Katsumasa Irie, Yuichiro Fujiwara (2019･3･31) Practical Approaches to Protein Structural Information. The 9th FAOPS congress (Kobe, Japan)
8. Yoshihiro Kubo (2019･6･17) Phosphoinositides modulate the voltage dependence of Two-pore Channel 3. The 7th International Ion Channel Conference (Hangzhou, China)
9. Rizki Tsari Andriani, Yoshihiro Kubo (2019･6･17) ATP- and voltage-dependent gating of P2X2 receptor analyzed by voltage-clamp fluorometry. The 7th International Ion Channel Conference (Hangzhou, China)
10. Yoshihiro Kubo (2019･6･20) Phosphoinositides modulate the voltage dependence in Two-Pore Na^+ Channel 3 (TPC3). The Ion Channel Modulation Symposium (Cambridge, UK).
11. Yoshihiro Kubo (2019･6･21) Phosphoinositides modulate the voltage dependence in Two-Pore Na^+ Channel 3 (TPC3). Seminar in University of Sussex, School of Life Sciences (Sussex, UK).
12. 立山充博，久保義弘（2019･10･4）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．第 66 回中部日本生理学会大会（新潟）

《生体膜研究部門》

1. Fukata Masaki (2019･5･15) Synapse maturation regulated by palmitate cycling on PSD-95 and trans-synaptic LGI1 and ADAM22. CFC seminar series Spring 2019 (Seoul, Korea)（招待講演）
2. Fukata Masaki (2019･7･4) The LGI1-ADAM22 protein complex in synaptic transmission and synaptic disorders. 2019 Korea-Yonsei-NIPS International Joint Symposium (Seoul, Korea)
3. Miyazaki Yuri, Yamagata Atsushi, Yokoi Norihiko, Fukata Yuko, Fukai Shuya, Fukata Masaki (2019･7･4) Binding mode and physiological role of epilepsy-related ligand/receptor LGI1-ADAM22 complex based on structural analysis. 2019 Korea-Yonsei-NIPS International Joint Symposium (Seoul, Korea)
4. Yokoi Norihiko, Fukata Yuko, Sanbo Makoto, Goto Teppei, Hirabayashi Masumi, Fukata Masaki (2019･7･25) Phosphorylation of ADAM22 regulates the amount of the anti-epileptic LGI1-ADAM22 complex in the brain. The 40th annual meeting of the Japan Neuroscience Society（新潟）

5. 宮﨑裕理，江川孝彦，横井紀彦，深田優子，深田正紀（2019･9･1）数理解析を目指したパルミトイル化シグナル伝達研究．新学術研究領域「数理解析に基づく生体シグナル伝達システムの統合的理解（数理シグナル）」第３回若手ワークショップ（愛媛県松山市）
6. 深田正紀（2019･9･19）シナプス成熟機構とその破綻による病態機構．第92回日本生化学会大会（横浜）（招待講演）
7. 横井紀彦，深田優子，三宝誠，後藤哲平，平林真澄，深田正紀（2019･9･28）Phosphorylation of ADAM22 stabilizes the anti-epileptic LGI1–ADAM22 complex in the brain．第9回 名古屋大学医学系研究科･生理学研究所合同シンポジウム（岡崎）
8. Fukata Yuko, Hirano Yoko, Inahashi Hiroki, Miyazaki Yuri, Yokoi Norihiko, Sanbo Makoto, Goto Teppei, Hirabayashi Masumi, Fukata Masaki (2019･10･19) Physiological roles of trans-synaptic LGI1-ADAM22-MAGUK complex. Neuroscience Meeting SfN 2019 (Chicago, USA)
9. Fukata Yuko (2019・11・7) Functions of trans-synaptic protein complex of epilepsy-related ligand-receptor, LGI1 and ADAM22. McGill-NIPS Joint Workshop (Montreal, Canada)
10. 横井紀彦，関谷敦志，平田哲也，深田優子，深田正紀（2019･11･25）S-アシル化修飾ゾーンと神経シナプス機能：S-アシル化修飾の化学量論的解析．第2回オルガネラゾーン 若手の会（東京）

《神経発達・再生機構研究部門》

1. 澤本和延（2019･12･20）Neuronal migration: strategies for development, maintenance and repair of the postnatal brain．Cell Biology, Developmental Biology, and Systems Biology Course Meeting（京都府京都市 京都大学）
2. 澤本和延（2019･12･3）生後脳におけるニューロン新生･再配置．第 42 回日本分子生物学会年会（福岡県福岡市）
3. Kaneko N, Sawamoto K, (2019･12･3) Controlling the positioning of new neurons for functional regeneration in the post-stroke brain．第 42 回日本分子生物学会年会（福岡県福岡市）
4. 澤本和延（2019･12･1）脳細胞の移動･再生メカニズムとその操作技術：医･理･工連携によるアプローチ．第３回医･理･工連携みらい会議（愛知県蒲郡市）
5. 松本真実，澤田雅人，Nguyen HB, Herranz-Perez V, Thai TQ，成田啓之，熊本奈都子，鵜川眞也，斎藤祐見子，竹田扇，金子奈穂子，Garcia-Verdugo JM，大野伸彦，澤本和延（2019･12･1）成体正常脳内を移動する新生ニューロンの三次元微細構造．第３回医･理･工連携みらい会議（愛知県蒲郡市）
6. 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 (2019･12･1) 光操作技術を用いた新生ニューロンの移動機構解析．第３回医･理･工連携みらい会議（愛知県蒲郡市）
7. 金子奈穂子，澤本和延（2019･12･1）脳梗塞後の脳内における新生ニューロンの移動制御と神経機能の再生．第３回医･理･工連携みらい会議（愛知県蒲郡市）
8. 荻野崇，澤田雅人，金子奈穂子，稲田浩之，鍋倉淳一，澤本和延（2019･12･1）Blood flow-guided Migration of Adult-born neurons in the Olfactory Bulb．第３回医･理･工連携みらい会議（愛知県蒲郡市）
9. 澤本和延（2019･11･27）新生児脳に内在する神経再生機構．第 64 回日本新生児生育医学会学術集会シンポジウム（鹿児島県鹿児島市）
10. 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 (2019･10･21) New neurons migrate through the glial meshwork using slit1 to approach the lesion for functional recovery. Soceity for Neuroscience Annual Meeting 2019（アメリカ合衆国シカゴ）
11. Fujikake K, Sawada M, Hikita T, Seto Y, Kakeko N, Herranz-Perez V, Dohi N, Homma NY., Osaga S, Yanagawa Y, Akaike T, Garcia-Verdugo JM, Hattori M, Sobue K, Sawamoto K（2019・10・20）Fyn controls detachment of chain-forming neuroblasts by regulating cell cell adhesion in the postnatal brain．Soceity for Neuroscience Annual Meeting 2019（アメリカ合衆国シカゴ）

12. 澤本和延（2019･10･17）脳の発達･再生におけるニューロン新生．名古屋市立大学脳神経科学研究所開設記念講演会（愛知県名古屋市）
13. 澤本和延（2019･9･19）神経再生過程における細胞形態･接着の制御．第 60 回日本組織細胞化学会総会･学術集会（兵庫県神戸市）
14. 澤本和延（2019･9･14）脳細胞の移動･再生を促進する足場．第２４回日本脳腫瘍の外科学会教育講演（静岡県浜松市）
15. Ogino T, Sawada M, Inada H, Kaneko N, Nabekura J, Sawamoto K（2019･9･6）Role of blood flow in neuronal migration in the adult olfactory bulb. NCU ライフサイエンス研究会（愛知県蒲郡市）
16. 澤田雅人, 澤本和延（2019･9･6）Microglial phagocytosis of dying neurons promotes neuronal regeneration in the adult brain. NCU ライフサイエンス研究会（愛知県蒲郡市）
17. 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 (2019･8･5 及び 6) New neurons reach and regenerate stroke-injured brain tissue by clearing a path through glia. ISN-ASN Meeting（カナダ モントリオール）
18. 齋藤瑳智子，齋藤志郎，岩田英敏，福冨妃菜，金子奈穂子，澤本和延（2019･7･25）坐骨神経傷害後のシュワン細胞遊走における Slit-Robo シグナルの機能．第 42 回日本神経科学大会 第 62 回日本神経化学会大会（新潟県新潟市）
19. 松本真実，澤田雅人, Nguyen HB, Herranz-Perez V, Thai TQ 成田啓之，熊本奈都子，鵜川眞也，斎藤祐見子，竹田扇，金子奈穂子, Garcia-Verdugo JM, 大野伸彦，澤本和延（2019･7･25）成体脳内を移動する新生ニューロンにおける一次繊毛の時空間的な動態．第 42 回日本神経科学大会 第 62 回日本神経化学会大会（新潟県新潟市）
20. 荻野崇，澤田雅人，稲田浩之，金子奈穂子，鍋倉淳一，澤本和延（2019･7･25）成体嗅球の新生ニューロン移動における血流の役割．第 42 回日本神経科学大会 第 62 回日本神経化学会大会（新潟県新潟市）
21. 澤本和延，神農英雄，金子奈穂子（2019･7･16）グリアの形態調節によるニューロンの移動･再生促進．第 40 回日本炎症･再生医学会シンポジウム（兵庫県神戸市）
22. 澤本和延（2019･6･14）若い嗅覚神経回路をキープする．第19回日本抗加齢医学会総会（神奈川県横浜市）
23. 澤本和延（2019･6･4）先端バイオイメージングから明らかになる神経再生過程の制御機構．新学術領域研究「学術研究支援基盤形成」（AbiS）生命科学 4 プラットフォーム説明会･成果シンポジウム（東京都千代田区）
24. 澤本和延（2019･5･30）新しい脳細胞を増やすには －最新科学による解明．第 22 回国際福祉健康産業展～ウェルフェア 2019 ～ （愛知県名古屋市）
25. 澤本和延（2019･5･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．第 17 回幹細胞シンポジウム（兵庫県淡路市）

《細胞構造研究部門》

1. 大谷哲久（2019.1.17, 18）密着結合のジオメトリー制御による傍細胞輸送効率の最適化．北海道大学電子科学研究所研究会「数理科学と生命科学の融合」（札幌）
2. Otani T. (2019.2.1 ～ 2019.2.2) Tight junctions and epithelial polarity. ExCELLS Retreat for Young Scientists 2018（西尾）
3. Furuse M, Otani T. (2019.3.6) A new perspective of the structure and function of tight junctions.第 8 回生理研−霊長研-新潟脳研合同シンポジウム（新潟）
4. Otani T, Tokuda S, Furuse M. (2019.3.30) ZO family proteins regulate epithelial polarity independent of Tight Junction strand assembly. 9th FAOPS Congress（神戸）
5. Tetsuhisa Otani, and Mikio Furuse (2019.5.15) Epithelial barrier homeostasis by cell competition. 52nd Annual meeting of the Japanese Society of Developmental Biologists（大阪）
6. Otani T. (2019.6.2～7) Genetic dissection of the structural and functional organization of tight junctions. Gordon Research Conference "Cell contact and adhesion" (Les Diablerets, Switzerland)

7. 古瀬幹夫，大谷哲久（2019.6.6）上皮細胞の細胞膜極性形成におけるタイトジャンクションの役割 生理研研究会「分泌研究の新展開：その普遍性と多様性」（岡崎）
8. 泉 裕士，古瀬幹夫（2019.6.24）多様な膜貫通タンパク質により構成されるショウジョウバエのセプテートジャンクション．第 19 回日本蛋白質化学会年会・第 71 回日本細胞生物学会大会合同年次大会（神戸）
9. Otani T, Nguyen TP, Furuse M. (2019.6.25, 26) Genetic dissection of tight junctions. 第 19 回日本蛋白質科学会年会・第 71 回日本発生生物学会大会 合同年次大会（神戸）
10. Sugawara T, Oda Y, Fukata Y, Higashi T, Fukata M, Furuse M. (2019.6.24) Assembly of angulin-1/LSR in vertices of three epithelial cells is determined by the cytoplasmic palmitoylation. 第 19 回日本蛋白質科学会年会・第 71 回日本細胞生物学会大会合同年次大会（神戸）
11. Sugawara T, Oda Y, Fukata Y, Higashi T, Fukata M, Furuse M. (2019.9.28) Assembly of angulin-1/LSR in vertices of three epithelial cells is determined by the cytoplasmic palmitoylation. 第 9 回名古屋大学医学系研究科・生理学研究所合同シンポジウム（岡崎）
12. 泉 裕士,古瀬幹夫（2019.9.28）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．第 9 回生理研・名古屋大学医学部合同シンポジウム（岡崎）

《細胞生理研究部門》

1. Nguyen Thi Hong Dung (2019.2.1) Identification of amino acids involved in the 4-isopropylcyclohexanol action on TRP channels. ExCELLS 若手交流リトリート（西尾）
2. Li Tianbang (2019.2.15) Characterization of TRPA1 from disease vector mosquitoes. 第 11 回 NAGOYA グローバルリトリート（東浦）
3. 曽我部隆彰 (2019.3.8) Receptors lipids and signaling molecules involved in temperature sensation in fruit flies. 第 8 回生理研−霊長研−新潟脳研合同シンポジウム（新潟）
4. Feng Xiaona (2019.3.8) TRPV4 is functionally expressed in cultured mouse Schuwann cells. 第 8 回生理研−霊長研−新潟脳研合同シンポジウム（新潟）
5. 富永真琴（2019.3.8）温度感受性 TRP チャネルの生理機能．第 40 回日本動物細胞工学会シンポジウム（東京）
6. 富永真琴（2019.3.16）温度生物学 TRP チャネルの生理機能と創薬ターゲットとしての意義．第 92 回日本薬理学会年会（大阪）
7. Tominaga Makoto (2019.3.29) Physiological significance of thermosensitive TRP channels. The 9th Federation of Asian and Oceanian Physiological Sciences (FAOPS2019)（神戸）
8. Suzuki Yoshiro (2019.3.29) TRPV6 mutation cause neonatal transient hyperparathyroidism. The 9th Federation of Asian and Oceanian Physiological Sciences (FAOPS2019)（神戸）
9. Saito Shigeru (2019.3.29) Thermosensory changes in heat resistant tadpoles of Ryukyu kajika frogs inhabiting hot springs. The 9th Federation of Asian and Oceanian Physiological Sciences (FAOPS2019)（神戸）
10. Derouiche Sandra (2019.3.29) Involvement of thermosensitive TRP channels in temperature-dependent microglia movement. The 9th Federation of Asian and Oceanian Physiological Sciences (FAOPS2019)（神戸）
11. Ujisawa Tomoyo (2019.3.29) Simultaneous intracellular temperature imaging during patch-clamp recording of TRPV1 activity. The 9th Federation of Asian and Oceanian Physiological Sciences (FAOPS2019)（神戸）
12. Li Tianbang (2019.3.29) Characterization of TRPA1 from disease vector mosquitoes. The 9th Federation of Asian and Oceanian Physiological Sciences (FAOPS2019)（神戸）
13. Feng Xiaona (2019.3.29) TRPV4 is functionally expressed in cultured mouse Schuwann cells. The 9th Federation of Asian and Oceanian Physiological Sciences (FAOPS2019)（神戸）
14. Nguyen Thi Hong Dung (2019.3.29) Identification of amino acids involved in the 4-isopropylcyclohexanol action on TRP channels. The 9th Federation of Asian and Oceanian Physiological Sciences (FAOPS2019)（神戸）

15. Dong Mingyi (2019.3.29) Functional interaction between TRPM8 and ANO1. The 9th Federation of Asian and Oceanian Physiological Sciences (FAOPS2019)（神戸）
16. Saito Claire (2019.3.29) Characterization of splicing variants of frog TRPA1 revealed divergence in their thermal property. The 9th Federation of Asian and Oceanian Physiological Sciences (FAOPS2019)（神戸）
17. Fujita Fumitaka (2019.3.29) Hypotonicity-induced cell swelling activates TRPA1. The 9th Federation of Asian and Oceanian Physiological Sciences (FAOPS2019)（神戸）
18. Yamanoi Yu (2019.3.29) Role of TRPV3-ANO1 interaction in keratinocyte wound healing. The 9th Federation of Asian and Oceanian Physiological Sciences (FAOPS2019)（神戸）
19. Takaishi Masayuki (2019.3.30) Inhibitory effect of a novel less-odorous TRPA1 antagonist. The 9th Federation of Asian and Oceanian Physiological Sciences (FAOPS2019)（神戸）
20. 富永真琴（2019.5.12）運動器疼痛メカニズム最前線：イオンチャネル TRP を中心として．第 92 回日本整形外科学会学術大会（横浜）
21. 富永真琴（2019.5.18）温度感受性 TRP チャネルの構造と機能．第 84 回日本温泉気候物理医学会総会･学術集会（岡山）
22. 富永真琴（2019.5.28）細胞の感覚センサーTRP チャネルについて．マンダム研究技術発表会（東京）
23. Tominaga Makoto (2019.6.18) Physiological Function of Thermosensitive TRP Channel. The 7th International Ion Channel Conference (Hangzhou, China)
24. Derouiche Sandra (2019.7.4) Functional interaction between thermosensitive TRPV4 and Anoctamin 1 contributes to physiological fluid secretions. Korea Univ., Yonsei Univ., NIPS International Joint Symposium (Seoul, Korea)
25. Feng Xiaona (2019.7.4) Physiological significance of TRPV4 channels in mouse Schwann cells. Korea Univ., Yonsei Univ., NIPS International Joint Symposium（Seoul, Korea）
26. Nguyen Thi Hong Dung (2019.7.4) Identification of amino acid involved in the agonistic effect of menthol on TRP channel. Korea Univ., Yonsei Univ., NIPS International Joint Symposium (Seoul, Korea)
27. Tominaga Makoto (2019.7.7) Physiological Function of Thermosensitive TRP Channel. Frontier Bioorganization Forum2019 (Seoul, Korea)
28. 齋藤茂（2019.8.7）脊椎動物の陸生適応に温度受容システムの変化は必要だったのか？：無尾両生類を用いたアプローチ．日本進化学会第 21 回札幌大会（札幌）
29. 齋藤くれあ（2019.8.8）高温センサーTRPA1 における両生類特異的なスプライシングバリアントの進化的な起源と機能的なゆらぎ. 日本進化学会第 21 回札幌大会（札幌）
30. 富永真琴 (2019.8.17) Thermosensitive TRP channels and bone diseases. 第 16 回 Bone Biology Forum（千葉）
31. 富永真琴（2019.8.24）温度感受性 TRP チャネルと脂肪細胞機能．第 24 回アディポサイエンス･シンポジウム（吹田）
32. 富永真琴（2019.8.25）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）
33. 齋藤茂（2019.9.14）リュウキュウカジカガエルの高温適応における温度受容システムの役割．日本動物学会第 90 回大会（大阪）
34. 富永真琴（2019.9.19）ファイトケミカルと温度感受性 TRP チャネル. 第 92 回日本生化学会大会（横浜）
35. Derouiche Sandra (2019.9.28) Involvement of thermosensitive TRP channels in temperature-dependent microglia movement. 第 9 回 名古屋大学医学系研究科･生理学研究所合同シンポジウム（岡崎）
36. Nguyen Thi Hong Dung (2019.10.4) Identification of amino acid involved in the agonistic effect of menthol on TRP channel. 第 66 回中部日本生理学会（新潟）
37. Tominaga Makoto (2019.10.23) Chemical Senses through TRP Channels. 2019 Monell Annual Meeting (Philadelphia, USA)
38. Tominaga Makoto (2019.11.3) Functional interaction between TRPV3 and anoctamin 1 in keratinocytes. The 18th International Symposium on Molecular and Neural Mechanisms of Taste and Olfactory Perception（福岡）
39. 富永真琴（2019.11.15）温度感受性 TRP チャネル．第 149 回温度計測部会講演会（東京）
40. 富永真琴（2019.12.4）温度生物学と TRP チャネル．第 14 回中部大学ライフサイエンスフォーラム（春日井）
41. Tominaga Makoto (2019.12.6) Mosquitoes and TRP channels. 2019 8th Asian Pain Symposium (Inchon, Korea)

《心循環シグナル研究部門》

1. 西田基宏（2019 年 1 月 23 日）「ミトコンドリア品質維持による心筋修復」DSANJ 講演会（AMED BINDS 事業拠点研究紹介）（大阪）シンポジウム講演
2. 西田基宏（2019 年 2 月 7～8 日）「GPCR のアティピカルな機能とその医療応用」心脈管作動物質学会（富山）シンポジウム講演
3. 西田基宏（2019 年 2 月 22 日）自然科学研究機構シンポジウム（研究最前線：環境適応を知る）「心臓の環境ストレス適応から健康長寿を考える」（東京）講演
4. Motohiro Nishida (2019 年 3 月 29 日)「Mitochondrial quality control and its metabolic regulation by reactive persulfide species」FAOPS2019（神戸）シンポジウム講演
5. 西田基宏（2019 年 5 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 21 回 KAMOGAWA Cardiovascular Conference（京都）特別講演 II
6. 西田基宏（2019 年 6 月 16 日）「活性イオウによるミトコンドリア分裂を介した心筋早期老化制御」第 19 回日本抗加齢医学会（横浜）シンポジウム講演
7. 西田基宏（2019 年 6 月 26 日）「環境化学物質による心疾患リスク増加の分子メカニズム」第 46 回日本毒性学会学術年会（徳島）シンポジウム講演
8. 西田基宏（2019 年 6 月 28 日）「心臓の可塑性を制御するレドックスシグナル伝達機構」日本酸化ストレス学会学術集会（札幌）特別講演
9. 西田基宏（2019 年 7 月 19 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」日本薬学会九州薬学連合（九重）招待講演
10. 西田基宏（2019 年 8 月 2 日）「タンパク質間相互作用に着目した心血管リモデリング制御と治療」（金沢大学）大学院講義･腎臓 UP-to-date セミナー　招待講演
11. 西田基宏（2019 年 8 月 5 日）NINS 企画「心臓から健康を学ぶ」（佐世保）長崎県立大学･高校出前講義
12. 西田基宏（2019 年 9 月 5 日）「活性イオウによる心筋の環境ストレス応答制御」日本比較免疫学会第 31 回学術集会／第 30 回日本生体防御学会学術集会シンポジウム講演
13. 西田基宏（2019 年 9 月 19 日）「システインパースルフィドを基盤とするミトコンドリア恒常性制御」第 92 回日本生化学会大会（横浜）　シンポジウム講演
14. 西田基宏（2019 年 11 月 15 日）「心筋恒常性を維持するレドックスエネルギー代謝」第 5 回　内分泌代謝シンポジウム（群馬）　シンポジウム講演
15. 西田基宏，田中智弘，Sudi Suhaini，小田紗矢香，西山和宏，西村明幸（2019 年 11 月 16 日）「心筋萎縮における TRPC3-Nox2 タンパク質複合体形成の役割」薬理学会西南部会（沖縄）　口頭発表
16. 西田基宏（2019 年 11 月 19 日）「タンパク質間相互作用を標的にしたドラッグ･リポジショニング」AMED 主催 BINDS 公開シンポジウム（東京）　招待講演
17. 冨田 拓郎，西村 明幸，西田 基宏（2019 年 3 月 14 日）「血管平滑筋の表現型スイッチにおける TRPC6 チャネルの重要性の解明」第 92 回薬理学会年会（大阪，大阪国際会議場）ポスター発表
18. Takuro Numaga-Tomita, James W Putney, Motohiro Nishida（2019 年 3 月 31 日）「Identification of receptor-activated Ca^{2+} influx in wound healing.」FAOPS2019（兵庫，神戸国際会議場）シンポジウム口演
19. 西村明幸，田中智弘，西山和宏，冨田拓郎，西田基宏（2019 年 3 月 16 日）「低用量メチル水銀曝露による Drp1 活性化は心臓の圧負荷脆弱性の原因となる」第 92 回薬理学会年会（大阪，大阪国際会議場）ポスター発表
20. Akiyuki Nishimura, Caroline Sunggip, Takuro Numaga-Tomita, Motohiro Nishida（2019 年 3 月 30 日）「Age-dependent dimer formation of AT1R and P2Y6R promotes angiotensin II-induced hypertension.」FAOPS2019（兵庫，神戸国際会議場）シンポジウム口演
21. 西村明幸，田中智弘，下田翔，西山和宏，西田基宏（2019 年 11 月 30 日）「ミトコンドリア分裂促進因子 Drp1 の脱イオウ化を介した心筋脆弱性機構」第 29 回日本循環薬理学会･第 55 回高血圧関連疾患モデル学会合同学会（香川，高松センタービル）口頭発表
22. Akiyuki Nishimura, Kakeru Shimoda, Tomohiro Tanaka, Kazuhiro Nishiyama, Motohiro Nishida (2019 年 12 月 7 日)「pathology-dependent aberrant interaction between mitochondria and actin cytoskeleton causes cardiac

fragility.」第 50 回生理研国際シンポジウム（愛知，岡崎コンファレンスホール）口頭発表

23. Akiyuki Nishimura, Tomohiro Tanaka, Kakeru Shimoda, Kazuhiro Nishiyama, Motohiro Nishida（2019 年 12 月 6 日）「Depolysulfidation of Drp1 increases cardiac vulnerability to hemodynamic overload.」第 50 回生理研国際シンポジウム（愛知，岡崎コンファレンスホール）ポスター発表
24. 西山和宏，冨田拓郎，藤本泰之，田中智弘，遠山千恵実，西村明幸，東泰孝，西田基宏（2019 年 3 月 15 日）「抗がん剤の副作用を軽減する新規 TRPC3-Nox2 複合体阻害薬の同定」第 92 回薬理学会年会（大阪，大阪国際会議場）YIA 口頭発表
25. Kazuhiro Nishiyama, Tomohiro Tanaka, Chiemi Toyama, Akiyuki Nishimura, Motohiro Nishida (2019 年 12 月 6 日)「Identification of a novel TRPC3-Nox2 complex inhibitor that attenuates anthracycline-induced cytotoxicity.」 第 50 回生理研国際シンポジウム（愛知，岡崎コンファレンスホール）ポスター発表
26. Daiki Tomokiyo, Takumi Goto, Akiyuki Nishimura, Kazuhiro Nishiyama, Tomohiro Tanaka, Motohiro Nishida (2019 年 12 月 6 日)「Cigarette sidestream smoke induces mitochondrial fission-associated myocardial early senescence.」第 50 回生理研国際シンポジウム（愛知，岡崎コンファレンスホール）ポスター発表
27. Kosuke Sakata, Kazuhiro Nishiyama, Tomohiro tanaka, Asuka Inoue, Junken Aoki, Akiyuki Nishimura, Motohiro Nishida (2019 年 12 月 6 日)「Identification of G protein-coupled receptors that induce ligand-independent calcium oscillations.」 第 50 回生理研国際シンポジウム（愛知，岡崎コンファレンスホール）ポスター発表
28. Tomohiro Tanaka（2019 年 2 月 1 日）「Pathology-dependent mitochondria-cytoskeleton interaction in amyotrophic lateral sclerosis (ALS)」第 1 回 ExCELLS 若手リトリート（岡崎）　口頭発表
29. 田中智弘（2019 年 2 月 9 日）「プラズマ照射によるレドックス制御とその生理･薬理的効果の解明」プラズマバイオコンソーシアム研究報告会（名古屋大学）口頭発表
30. Tomohiro Tanaka（2019 年 3 月 7 日）「Pathology-dependent Drp1-Filamin A interaction in amyotrophic lateral sclerosis (ALS)」第８回生理研−霊長研−新潟脳研合同シンポジウム（新潟大学）ポスター発表
31. 田中智弘（2019 年 3 月 15 日）「心筋梗塞におけるミトコンドリア−細胞骨格間相互作用の機能解明」第 92 回日本薬理学会年会（大阪）　口頭発表
32. Tomohiro Tanaka（2019 年 3 月 29 日）「Pathology-dependent mitochondria-cytoskeleton interaction in amyotrophic lateral sclerosis (ALS)」FAOPS2019（神戸）ポスター発表
33. Tomohiro Tanaka (2019 年 7 月 4 日）「TRPC3-Nox2 axis mediates nutritional deficiency-induced atrophy in cardiomyocytes」2019 Korea-Yonsei-NIPS International Joint Sympoisum (Korea) ポスター発表
34. 田中智弘（2019 年 9 月 28 日）「栄養飢餓は TRPC3-Nox2 タンパク質間相互作用を介して心筋萎縮を引き起こす」名大生理研合同シンポジウム（愛知）ポスター発表
35. 田中智弘（2019 年 11 月 18 日）「栄養飢餓は TRPC3-Nox2 タンパク質間相互作用を介して心筋萎縮を引き起こす」第２回 ExCELLS シンポジウム（愛知）ポスター発表
36. Tomohiro Tanaka（2019 年 12 月 5 日）「Pathology-dependent protein-protein interactions (PPIs) as a new therapeutic target of heart failure」The 50th NIPS International Symposium (Local Symposium)（愛知）口頭発表
37. Tomohiro Tanaka（2019 年 12 月 6 日）「TRPC3-Nox2 complex formation mediates nutritional deficiency-induced cardiomyocyte atrophy」The 50th NIPS International Symposium（愛知）ポスター発表
38. 下田翔（2019 年 3 月 14 日）「圧負荷誘導性心肥大における P2Y6 受容体シグナルの新奇制御機構」第 92 回日本薬理学会年会（大阪）　口頭発表
39. Kakeru Shimoda（2019 年 3 月 29 日）「P2Y6 receptor antagonist MRS2578 induces atypical signaling」FAOPS2019（神戸）　ポスター発表
40. Kakeru Shimoda（2019 年 7 月 4 日）「Atypical P2Y6 receptor signaling induced by its electrophilic antagonist MRS2578」2019 Korea-Yonsei-NIPS International Joint Symposium (Korea)　ポスター発表
41. Kakeru Shimoda（2019 年 12 月 6 日）「The role of P2Y6R in cardiovascular homeostasis」The 50th NIPS International Symposium（岡崎）ポスター発表

42. 小田紗矢香（2019 年 3 月 14 日）「TRPC3-Nox2 複合体が ATP 刺激によるラット心筋細胞萎縮を仲介する」第 92 回日本薬理学会年会（大阪）　口頭発表
43. 小田紗矢香（2019 年 3 月 21 日）「高血糖負荷マウス心臓における TRPC6 の生理的役割」日本薬学会第 139 年会（千葉）　学生シンポジウム発表
44. Sayaka Oda（2019 年 3 月 29 日）「Physiological role of TRPC6 upregulation in hyperglycemia-exposed mice hearts」FAOPS2019（神戸）　ポスター発表
45. 小田紗矢香（2019 年 11 月 18 日）「心臓の自律神経調節における TRPC6 チャネルの役割」第 2 回 ExCELLS シンポジウム（愛知）　ポスター発表
46. Sayaka Oda（2019 年 12 月 6 日）「The role of P2Y6R in cardiovascular homeostasis」The 50th NIPS International Symposium（愛知）ポスター発表
47. 小田紗矢香（2019 年 12 月 21 日）心臓における TRPC6 を介した交感神経制御メカニズムの解明」筋生理の集い（東京）　口頭発表

《生殖･内分泌系発達機構研究部門》

1. 中島健一朗（2019.1.22）脳による味覚や食欲の調節メカニズム．明治大学農学研究科･大学院ゲスト講師招聘講義（東京）
2. 近藤邦生（2019.1.30-2.2）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 5 回領域会議（福岡）
3. 近藤邦生，箕越靖彦（2019.2.15-16）Neural circuits from the brain to the peripheral organs that regulate glucose metabolism．第 11 回 NAGOYA グローバルリトリート（大府）
4. 中島健一朗（2019.3.7-8）Hypothalamic neuronal circuits regulating hunger-induced taste modification．第 8 回生理研･霊長類研･新潟大脳研合同シンポジウム（新潟）
5. 近藤邦生（2019.3.20-22）越シナプス性ウイルストレーサーにより明らかになった生理的反応を制御する神経回路. 日本薬学会 第 139 年会（2019 千葉）（千葉）
6. 中島健一朗（2019.3.23-24）視床下部を起点とした生理状態依存的な味覚調節機構の解析. 第 6 回 Medical Frontier Consortium Beyond the Organcentric Dogma（東京）
7. 中島健一朗，傅欧，岩井優，近藤邦生，箕越靖彦，三坂巧（2019.3.24-28）脳幹で甘味を伝達する神経の特定．日本農芸化学会 2019 年度大会（東京）
8. 傅欧，岩井優，三坂巧，箕越靖彦，中島健一朗（2019.3.24-28）空腹による味覚の嗜好･忌避性を制御する外側視床下部神経回路の解析．日本農芸化学会 2019 年度大会（東京）
9. Yasuhiko Minokoshi（2019.3.28-31）Hypothalamic control of glucose metabolism in skeletal muscle．9th FAOPS CONGRESS（神戸）
10. Akihiro Kikuchi, Hirofumi Misu, Hirobumi Igawa, Yasuhiko Minokoshi, Toshinari Takamura（2019.3.28-31）Identification and functional analysis of inhibin βE (INHBE) as a hepatokine．9th FAOPS CONGRESS（神戸）
11. Shuhei Horio, Satoshi Yamagata, Kenta Kobayashi, Shigeki Kato, Kenji Sakimura, Kazuto Kobayashi, Yasuhiko Minokoshi, Keiichi Itoi（2019.3.28-31）CRF circuit involved in the regulation of food intake．9th FAOPS CONGRESS（神戸）
12. 中島健一朗（2019.4.6）空腹に伴う味覚の調節を担う視床下部神経回路の特定．第 3 回 感覚器研究イニシアチブ･シンポジウム「感覚と脳−基礎から臨床へ−」（東京）
13. 近藤邦生（2019.4.22）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「量子生体」X「光操作」スコーピング会議（神戸）
14. 箕越靖彦（2019.5.23-25）Regulatory role of hypothalamic-sympathetic nervous system in glucose and energy metabolism. 第 62 回日本糖尿病学会年次学術集会（宮城）
15. 菊地晶裕，高山浩昭，柴和弘，御簾博文，篁俊成（2019.5.23-25）肥満関連ヘパトカイン LECT2 のマウスにおける血中半減期および体内動態．第 62 回日本糖尿病学会年次学術集会（宮城）

16. 箕越靖彦（2019.5.25-26）視床下部 AMPK による食物嗜好性調節機構．第 15 回 GPCR 研究会（東京）
17. 中島健一朗（2019.5.27-28）大豆に含まれるえぐ味・渋味成分の脳内受容機構の解明．不二たん白財団：一般研究　平成 30 年度第 22 期研究報告会（東京）
18. 近藤邦生（2019.6.1）脂質代謝を制御する視床下部からの神経回路の解析．公益財団法人小野医学研究財団，第 30 回研究成果発表会（大阪）
19. 近藤邦生（2019.6.15）糖代謝を制御する神経回路網のウイルストレーサーを用いた解析．第 4 回愛知糖尿病・内分泌研究会（名古屋）
20. 中島健一朗，傅欧，岩井優，近藤邦生，三坂巧，箕越靖彦（2019.6.29-30）Genetic identification of sweet taste neurons in the mouse brainstem. Diabetes and Insulin Resistance Conference 2019（東京）
21. 傅欧（2019.7.4-5）Hypothalamic neuronal circuits regulating hunger-induced taste modification．高麗大・延世大・生理研合同シンポジウム（Seoul, Korea）
22. Yasuhiko Minokoshi（2019.7.7-8）Discovery of AMPK-activated CRH neurons that induce dietary preference for carbohydrate over fat. NIPS International Workshop “Sensing food/nutrient/environment toward integrative metabolic regulation”（岡崎）
23. Ken-ichiro Nakajima, Ou Fu, Yu Iwai, Kunio Kondoh, Takumi Misaka, Yasuhiko Minokoshi（2019.7.7-8）Genetic identification of sweet taste neurons in the mouse brainstem. NIPS International Workshop “Sensing food/nutrient/environment toward integrative metabolic regulation”（岡崎）
24. Ou Fu, Yu Iwai, Masataka Narukawa, Takumi Misaka, Kentaro Ishii, Ken Murata, Kazushige Touhara, Ayako Ishikawa, Yumiko Yoshimura, Yasuhiko Minokoshi, Ken-ichiro Nakajima（2019.7.7-8）Hypothalamic neuronal circuits regulating hunger-induced taste modification. NIPS International Workshop “Sensing food/nutrient/environment toward integrative metabolic regulation”（岡崎）
25. 中島健一朗（2019.7.25）ファイバーフォトメトリー法を用いた脳幹塩味応答神経のイメージング解析と味の相互作用機構の定量的検証．公益財団法人ソルト・サイエンス研究財団，第 31 回平成 30 年度助成研究発表会（東京）
26. 中島健一朗，傅欧，岩井優，近藤邦生，三坂巧，箕越靖彦（2019.7.26-27）SatB2-expressing neurons in the parabrachial nucleus encodes sweet taste．NEURO 2019（新潟）
27. 傅欧，岩井優，成川真隆，三坂巧，石井健太郎，村田健，東原和成，石川理子，吉村由美子，中島健一朗，箕越靖彦（2019.8.24）空腹に伴う味覚嗜好・忌避性の調節を担う視床下部神経回路の同定．第 24 回アディポサイエンス・シンポジウム（大阪）
28. 傅欧，岩井優，近藤邦生，三坂巧，箕越靖彦，中島健一朗（2019.8.26-27）甘味およびそれに伴う心地よさを選択的に伝達する神経細胞の発見．生理学研究所研究会「第 4 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）
29. 近藤邦生，箕越靖彦（2019.8.26-27）脳から末梢組織へシグナルを伝達する神経回路の解析．生理学研究所研究会「第 4 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）
30. 森下雅大, 小野浩太, 恒岡洋右, 堀尾修平, 加藤成樹, 小林和人，塚原伸治（2019.9.2-4）マウスの内側視索前野に存在するカルビンディンニューロンの神経投射．第 31 回日本行動神経内分泌研究会（山梨）
31. 小野浩太，森下雅大，恒岡洋右，堀尾修平，加藤成樹，小林和人，塚原伸治（2019.9.2-4）マウスの分界条床核主核におけるカルビンディンニューロンの神経投射．第 31 回日本行動神経内分泌研究会（山梨）
32. 箕越靖彦（2019.9.7）食行動を分子レベルで理解する．生理学研究所オープンキャパス　ランチョンセミナー（岡崎）
33. 近藤邦生（2019.9.9-10）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 6 回領域会議（大阪）
34. 中島健一朗，傅欧，成川真隆，三坂巧，箕越靖彦（2019.9.12-14）視床下部摂食促進神経を起点とした生理状態依存的な味覚調節機構の解析．日本動物学会 第 90 回大阪大会（大阪）
35. Yasuhiko Minokoshi（2019.9.21-25）Discovery of AMPK-activated CRH neurons that induce dietary preference for carbohydrate over fat．The 10th IBRO World Congress of Neuroscience（Daegue, Korea）

36. 近藤邦生（2019.9.28）Analysis of neural circuits that transmit signals from brain to peripheral organs．第 9 回名古屋大学医学系研究科･生理学研究所合同シンポジウム（岡崎）
37. Ken-ichiro Nakajima, Ou Fu, Yuu Iwai, Kunio Kondoh, Takumi Misaka, Yasuhiko Minokoshi（2019.10.8-11）Genetic identification of sweet taste neurons in the mouse brainstem. The 48th NAITO CONFERENCE ON Integrated Sensory Sciences -Pain, Itch, Smell and Taste（札幌）
38. Yasuhiko Minokoshi, Shiki Okamoto（2019.10.26-27）Discovery of AMPK-activated CRH neurons that induce dietary preference for carbohydrate over fat. The 5th Meeting of the Japan Branch of International Neuropeptide Society（東京）
39. 平田悠，野村和弘，小林憲太，岡本士毅，箕越靖彦，今村道博，武田伸一，小田崇弘，福井友章，大江啓介，新倉隆宏，黒田良祐，細岡哲也，小川渉（2019.11.2-3）骨格筋量制御における KLF15 の機能解析．第 40 回日本肥満学会（東京）
40. 中島健一朗，傅欧，岩井優，近藤邦生，三坂功，箕越靖彦（2019.11.2-3）甘味及びそれに伴う心地よさを選択的に伝達する神経細胞の発見．第 40 回日本肥満学会（東京）
41. 近藤邦生，箕越靖彦（2019.11.2-3）視床下部腹内側核の長期的活性化による抗肥満作用．第 40 回日本肥満学会（東京）
42. 菊地昌裕，高山浩昭，柴和弘，御簾博文，箕越靖彦，篁俊成（2019.11.2-3）肝脂肪化を感知するヘパトカイン LECT2 のマウスにおける体内動態．第 40 回日本肥満学会（東京）
43. 中島健一朗（2019.11.7）摂食中枢･味覚伝達中枢の活動イメージングに基づくアルコールによる美味しさ増進効果の検証．公益財団法人アサヒグループ学術振興財団，生活科学部門 2018 年度研究助成研究報告会（東京）
44. Yasuhiko Minokoshi（2019.11.15-16）Discovery of AMPK-activated CRH neurons that induce dietary preference for carbohydrate over fat. The 9th Okazaki-Tübingen-Beijing Joint Symposium（岡崎）
45. Yasuhiko Minokoshi（2019.12.4-7）AMPK is the metabolic sensor that induces dietary preference for carbohydrate over fat. The 50th NIPS International Symposium.‘MIRACLES’ in Cardiovascular Physiology ~ Metabolism, Interactions, Regulation, Application, Chemical Biology, Longevity, Exercise and Signaling ~（岡崎）
46. Kunio Kondoh（2019.12.9-12）Hypothalamic Neural Circuits Mediating Homeostasis．中国科学院深圳先進技術研究院　脳認知･脳疾病研究所　第 186 回アカデミックセミナー（Shenzhen, China）

《超微形態研究部門》

1. Kato K, Shinohara Y, Ueki T, Ohno N (2019.11.29) Organelle detection from electron microscopic images by deep learning. 日本顕微鏡学会　第 62 回シンポジウム（さいたま市，埼玉県）
2. 大野 伸彦（2019.9.20）走査型電子顕微鏡による連続画像取得法を用いた神経疾患の 3 次元超微形態研究．第 51 回日本臨床分子形態学会総会･学術集会（久留米市，福岡県）
3. Thai TQ, Nguyen HB, Sui Y, Ikenaka K, Ohno N (2019.8.5) Volume electron microscopy of the white matter in the hereditary demyelinating disease model. 2019 ISN-ASN Meeting（Montreal, Quebec, Canada）
4. Ohno N, Tanaka T, Ikenaka K (2019.8.1) Ultrastructural 3D Reconstruction of the White Matter. ISN/ASN Satellite Meeting on Myelin Biology（Saint-Paulin, Quebec, Canada）
5. 大野 伸彦，田中 達英（2019.7.28）電子顕微鏡による有髄神経線維の大容量ボリュームイメージング．第 42 回日本神経科学大会（新潟市，新潟県）
6. 大野 伸彦（2019.3.29）髄鞘疾患における細胞内オルガネラ変化のスーパーイメージング．第 124 回日本解剖学会総会全国学術集会（新潟市，新潟県）

《大脳神経回路論研究部門》

1. Kubota Y (2019.2.15) Cortical neural microcircuit analysis with large volume electron microscopy. 第 5 回 Neuroscience Network in Kobe シンポジウム（神戸）
2. 窪田芳之 (2019.2.22) Google Cloud を用いた神経組織 SEM 連続断面データの解析例の実際. 日本顕微鏡学会「生体ボリュームイメージング研究会第 3 回研究会」（福岡）
3. Morishima M, Kawaguchi Y (2019.3.7) Sublayer-dependent inhibitory-excitatory connections in the layer 5 of rat frontal cortex. 第 8 回生理研－霊長研－新潟脳研合同シンポジウム（新潟）
4. Morishima M, Kawaguchi Y (2019.3.8) Sublayer-dependent inhibitory-excitatory connections in the layer 5 of rat frontal cortex. The 9th BRI International Symposium（新潟）
5. 窪田芳之 (2019.3.26) 脳組織の大容量電顕データセット画像取得法とその３次元再構築法の現状. 第 51 回神経解剖懇話会（新潟）
6. Kubota Y, Sohn J, Kuramoto E, Kawaguchi Y (2019.3.27) Thalamo-cortical target analysis in cortical motor cortex using large volume electron microscopy. 第 124 回日本解剖学会総会･全国学術集会（新潟）
7. Kubota Y, Sohn J, Kawaguchi Y (2019.3.29) Large volume electron microscopy and neural microcircuitanalysis. 9th FAOPS（神戸）
8. Morishima M, Kawaguchi Y (2019.3.30) Layer 5 sublayer-dependent excitatory-inhibitory connections in the rat frontal cortex. 9th FAOPS（神戸）
9. Tanaka YR, Tanaka YH, Kondo M, Terada S, Kawaguchi Y, Matsuzaki M (2019.3.30) Thalamocortical axon activity in motor cortex exhibits layer-specific dynamics during motor learning. 9th FAOPS（神戸）
10. Kubota Y, Sohn J, Kuramoto E, Kawaguchi Y (2019.4.1-2) Thalamo-cortical synaptic network in motor cortex analyzed with large volume electron microscopy. 2019 Gordon Research Conference Dendrites: Molecules, Structure and Function (Ventura, USA)
11. Kubota Y (2019.4.17) Thalamo-cortical synaptic network in motor cortex analyzed with large volume electron microscopy. Max Planck/HHMI Connectomics Conference Berlin 2019 (Berlin, Germany)
12. Kubota Y, Kawaguchi Y (2019.6.18) An electrodeposited copper tape for serial-section electron microscopy of neural ultrastructure with ATUM-SEM. 日本顕微鏡学会第 75 回学術講演会（名古屋）
13. Im S (2019.7.4) Organization of corticocortical projections from layer 5 to layer 1 in the frontal cortex. 2019 Korea-Yonsei-NIPS International Joint Symposium (Seoul, Korea)
14. Otsuka T, Kawaguchi Y (2019.7.25) The role of cortical pyramidal cell subtype dependent oscillatory activities in motor learning. 第 42 回日本神経科学大会（新潟）
15. Agahari FA, Kawaguchi Y (2019.7.25) Electrophysiological, morphological, and connection characteristics of layer 2/3 somatostatin cells in mouse frontal cortex. 第 42 回日本神経科学大会（新潟）
16. Morishima M, Kawaguchi Y (2019.7.26) Sublayer-dependent excitatory and inhibitory circuits in layer 5 of the rat frontal cortex. 第 42 回日本神経科学大会（新潟）
17. Sohn J, Kubota Y, Kawaguchi Y (2019.7.26) Corticocortical and thalamocortical remodeling in the cortical microcircuit during motor learning. 第42回日本神経科学大会(新潟)
18. Semba K, Chantalle B, Hatada S, Samuel D, Kubota Y (2019.7.26) Ultrastructural analysis of orexin neurons and associated perisynaptic astrocytes in the lateral hypothalamus. 第 42 回日本神経科学大会（新潟）
19. Kubota Y, Kawaguchi Y (2019.7.27) An electrodeposited copper foil tape for serial-section electron microscopy of brain ultrastructure with ATUM-SEM. 第 42 回日本神経科学大会（新潟）
20. Hou X, Morishima M, Matohara N, Sugi J, Sakimura K, Kawaguchi Y, Sugiyama S (2019.7.27) Coactosin functions as a morphological determinant in developing cortical interneurons. 第 42 回日本神経科学大会（新潟）
21. Tsuboi D, Nishioka T, Shimomura T, Otsuka T, Kubo Y, Kawaguchi Y, Kaibuchi K (2019.7.27) Molecular mechanism of KCNQ channels for reward behavior. 第 42 回日本神経科学大会（新潟）
22. 窪田芳之 (2019.9.2) カーボンナノチューブコート PET テープを使った神経組織の高解像度電子顕微

鏡撮影．第 9 回ナノカーボンバイオシンポジウム（名古屋）

23. Otsuka T, Kawaguchi Y (2019.9.11) Cortical oscillatory activities regulate motor learning formation. 第 11 回光操作研究会（名古屋）
24. 大塚岳, 川口泰雄 (2019.9.28) 皮質オシレーション活動による運動学習形成の制御．第 9 回名古屋大学医学系研究科･生理学研究所合同シンポジウム（岡崎）
25. Agahari FA, Kawaguchi Y (2019.9.28) Connection selectivity of somatostatin cell subtypes in layer 2/3 of frontal cortex. 第 9 回名古屋大学医学系研究科･生理学研究所合同シンポジウム（岡崎）
26. Sohn J, Kubota Y, Kawaguchi Y (2019.10.19) Circuit remodeling in the motor cortex during motor learning. 49th annual meeting of the Society for Neuroscience (Chicago, USA)
27. Kubota Y, Sohn J, Kuramoto E, Kawaguchi Y (2019.10.21) Thalamo cortical synaptic network in motor cortex analyzed with large volume electron microscopy. 49th annual meeting of the Society for Neuroscience (Chicago, USA)
28. Kubota Y (2019.11.7) Network plastic changes in the primary motor cortex as the basis of a new motor skill acquisition. McGill-NIPS Collaborative Workshop on Multi-Scale Imaging, Physiology, and Analysis 2019 (Montréal, Canada)
29. Kawaguchi Y (2019.11.15) Mapping learning-dependent structural changes in thalamocortical synapses. The 9th Okazaki-Tuebingen-Beijing Joint Symposium（岡崎）
30. Sohn J, Kubota Y, Kawaguchi Y (2019.11.15) Network plastic changes in the primary motor cortex as the basis of a new motor skill acquisition. The 9th Okazaki-Tuebingen-Beijing Joint Symposium（岡崎）
31. 窪田芳之 (2019.11.19) 神経組織の大容量電顕データセット作成と自動神経要素区分化アプリによる３次元再構築．第 39 回ナノテスティングシンポジウム（東京）
32. 窪田芳之, 川口泰雄 (2019.11.29) 神経組織の大容量電顕データセット作成とオートセグメンテーションによる 3 次元再構築．日本顕微鏡学会第 62 回シンポジウム（さいたま）

《生体恒常性発達研究部門》

1. 鍋倉淳一, (2019.01.11) 慢性疼痛発症に関わる大脳皮質回路の再編成．岡崎市医師会講演会,（岡崎市）
2. 江藤　圭, 揚妻　正和, 鳴島　円, デニス　チェン, 和氣　弘明, 鍋倉　淳一, (2019.01.16) Patterned optical photo-stimulation of neural populations and astrocytes using LCOS-spatial light modulator. 「光の特性を活用した生命機能の時空間制御技術の開発と応用」研究領域　第 4 回領域会議,（東京都）
3. 江藤　圭, 揚妻　正和, 鳴島　円, デニス　チェン, 和氣　弘明, 鍋倉　淳一, (2019.01.17) Patterned optical photo-stimulation of neural populations using LCOS-spatial light modulator. 「光の特性を活用した生命機能の時空間制御技術の開発と応用」研究領域第 3 回領域会議,（浜松市）
4. 揚妻　正和, (2019.03.02) 不安･恐怖関連神経回路における脳内情報処理基盤を「光」で読み解く．不安症学会,（岐阜市）
5. Horiuchi H, Agetsuma M, Ishida J, Nakamura Y, Sawada K, (2019.03.04) Development of novel CMOS-based ion image sensor for in vivo pH imaging of brain. 12th International workshop on approaches to single cell analysis,（スウェーデン, Uppsala, Uppsala）
6. Takeda I, Eto K, Nabekura J, (2019.03.07) The role of cortical astrocytes in neuropathic pain. 第 8 回生理研一霊長研一脳研合同シンポジウム,（新潟市）
7. Takeda I, Eto K, Nabekura J, (2019.03.08) The role of cortical astrocytes in neuropathic pain. The 9th BRI international symposium,（新潟市）
8. Eto K, Nabekura J, (2019.03.29) Thermosensory processing in excitatory and inhibitory neurons of the primary somatosensory cortex. FAOPS 2019,（神戸市）
9. Takeda I, Eto K, Nabekura J, (2019.03.29) Astrocytes are a novel target for treatment of the chronic pain. FAOPS 2019,（神戸市）
10. Horiuchi H, Agetsuma M, Ishida J, Sawada K, (2019.03.29) Proton imaging in the brain using CCD-type

ion image sensor. FAOPS 2019,（神戸市）

11. Narushima M, Yagasaki Y, Takeuchi Y, Miyata M, (2019.03.29) The mGluR1 contributes strengthening and maintenance of developing lemniscal synapses. FAOPS 2019,（神戸市）
12. Agetsuma M, Arai Y, Kasai A, Hashimoto H, Nagai T, (2019.03.30) Population coding of fear memory in prefrontal cortex. FAOPS 2019,（神戸市）
13. Ishida J, Horiuchi H, Agetsuma M, Sawada K, (2019.03.30) Topical pH change in the brain by visual stimulation revealed by CCD pH image sensor. FAOPS 2019,（神戸市）
14. 江藤　圭, 鍋倉　淳一, (2019.06.10) 生体イメージングを用いた神経回路再編成の研究．CREST 領域連携シンポジウム,（神戸市）
15. 江藤　圭, 鍋倉淳一, (2019.06.13) 体性感覚領野間相互作用の温度センシングにおける役割．温度生物学」第 8 回領域会議,（札幌市）
16. 揚妻 正和, (2019.06.27) 光による神経活動観察と操作．脳科学の基礎と研究法,（岡崎市）
17. Eto K, Nabekura J, (2019.07.04) Processing of cutaneous temperature in excitatory and inhibitory neurons of the primary somatosensory cortex. 2019 Korea-Yonsei-NIPS International Joint Symposium,（韓国，Seoul）
18. 揚妻 正和, (2019.07.04) 神経細胞集団による脳内情報処理メカニズムの解明．細胞構成研究会 2019,（南城市）
19. 鍋倉淳一, (2019.07.05) Glia research in Japan. 2019 Korea-Yonsei-NIPS International Joint Symposium,（韓国, ソウル市）
20. 鍋倉淳一, (2019.07.13) Remodeling of cortical neuronal circuits in vivo: neurons-glia interaction. 2019 2nd Jinling international frontier in brain science and pharmacy forum,（中国，南京市）
21. 鍋倉淳一, (2019.08.08) A window into the Brain: Plasticity of Neural Circuits after Injury – a key role for glia. Neuroscience, Mental Health & Addiction Special Seminar,（オーストラリア，シドニー市）
22. 鍋倉淳一,（2019.08.17）神経回路の再編とグリア；２光子励起顕微鏡による生体内観察．第 30 回霧島薬理フォーラム,（霧島市）
23. 揚妻 正和, (2019.08.25) 光と機械学習による恐怖記憶情報処理機構の解明．第 3 回　和光－精神神経懇話会,（つくば市）
24. 揚妻 正和, (2019.09.19) 光と機械学習による恐怖記憶コードの解読．第 795 回　生医研セミナー, (福岡)
25. 鍋倉淳一, (2019.09.21) Astrocyte Drive Cortical Synapse Remodeling in Chronic Pain. The 10th IBRO World Congress of Neurosciences,（韓国, テグ市）
26. Takeda I, Eto K, Nabekura J, (2019.09.28) Astrocytes are a novel target for treatment of chronic pain. 第 9 回 名大･生理研合同シンポジウム,（岡崎市）
27. 石田順子，堀内　浩，揚妻正和，Dennis Cheung，澤田和明，鍋倉淳一, (2019.09.28) 醒脳における神経活動依存的なプロトンダイナミクスを捉えるための新規 CMOS バイオイメージセンサの開発．第 9 回名大･生理研合同シンポジウム,（岡崎市）
28. 江藤　圭, 鍋倉　淳一, (2019.09.29) 一次体性感覚野の興奮性･抑制性神経細胞による皮膚温度処理機構．第 9 回名古屋大学医学系研究科･生理学研究所合同シンポジウム,（岡崎市）
29. "Agetsuma M, (2019.10.30) Optical methods to read and manipulate neural circuits. Special Lecture in Physiological Sciences Brain Science -,（岡崎市）
30. 鍋倉淳一, (2019.11.03) 大脳皮質神経回路の長期再編：グリア – ニューロン連関．第 29 回日本医療薬学会年会,（福岡市）
31. 鍋倉淳一, (2019.11.08) Remodeling of Neuronal Circuits: Glia-Synapse Interaction. McGill University Symposium ,（カナダ，モントリオール市）
32. Agetsuma M, (2019.11.15) Multimodal functional brain imaging in mice and cortical computation. Okazaki-Tuebingen-Beijing シンポジウム,（岡崎市）
33. Eto K, Ishikawa T, Ishibashi H, Nabekura J, (2019.12.05) Contribution of inter-regional regulation of primary somatosensory cortical functional change in chronic pain. 特別講演,（韓国，Seoul）
34. Eto K, Agetsuma M, Nabekura J, (2019.12.07) Processing of cutaneous temperature in excitatory and inhibitory neurons of the primary somatosensory cortex. 8th Asian Pain Symposium,（韓国, Songdo）
35. 鍋倉淳一, (2019.12.07) Astrocyte-induced rewiring of cortical somatosensory circuits removes allodynia. Asian Pain Symposium 2019,（韓国，仁川市）

36. 江藤圭, (2019.12.10-2019.12.11) 体性感覚−正常と病態−. 香川大学　生理学講義,（高松市）
37. 江藤　圭, 鍋倉淳一, (2019.12.17) 体性感覚領野間相互作用の温度センシングにおける役割. 「温度生物学」第 9 回領域会議第,（東京都）
38. 江藤　圭, 揚妻　正和，鳴島　円，Dennis Cheung, 鍋倉　淳一, (2019.12.22) グリア細胞による神経回路再編成．第 3 回 CREST シンポジウム,（赤穂）
39. 江藤　圭, 揚妻　正和，鳴島　円，Dennis Cheung, 鍋倉　淳一, (2019.12.25) グリア細胞による神経回路再編成．第 2 回 CREST シンポジウム,（西浦町）
40. Takeda I, Yoshihara K, Eto K, Nabekura J, (2019.12.6-12.7) Astrocytes are a novel target for treatment of chronic pain. 8ht Asian Pain Synposium,（韓国, Songdo）

《視覚情報処理研究部門》

1. Kimura R, Yoshimura Y (2019.2.9-11) Involvement of neurons preferring low-contrast visual stimuli in an orientation discrimination task in rat primary visual cortex. Japan-UK Neuroscience Symposium 2019（千葉県木更津市）
2. Kimura R, Yoshimura Y (2019.3.30) Involvement of V1 neurons preferring low-contrast stimuli in difficult orientation discrimination. 9th FAOPS (Kobe, Japan)
3. 木村梨絵，吉村由美子 (2019.7.25) 方位弁別時に機能する低コントラスト優位な一次視覚野細胞の生成メカニズム．第 42 回日本神経科学大会（新潟）
4. 山本真理子，岩里琢治，吉村由美子 (2019.7.26) マウス一次視覚野における Fast spiking 抑制性細胞－錐体細胞間結合の発達．第 42 回日本神経科学大会 (新潟)
5. Tarusawa E. Sanbo M, Hirabayashi T, Yagi Y, Yoshimura Y (2019.10.22) Establishment of clustered protocadherin-regulated high reciprocal connectivity between clonal cortical neurons requires sensory experience in mouse barrel cortex. Neuro2019 (Chicago, USA)
6. Kimura R, Yoshimura Y (2019.11.15) Involvement of low contrast-preferring neurons in an orientation discrimination task in rat primary visual cortex. The 9th Okazaki-Tuebingen-Beijing Joint Symposium, (Okazaki)

《バイオフォトニクス研究部門》

1. Enoki R, (2019.9.23) Visualizing Neuronal Circuits Controlling Circadian and Ultradian Rhythms in Mammals, The 6th International Symposium for Bioimaging（東京）
2. Hiro S, Yamada Y, Nemoto T, Enoki R, (2019.10.13) Optical imaging of nuclear and cytoplasmic circadian calcium rhythm in the master circadian clock（生物時計中枢における核−細胞質概日カルシウムリズムの光イメージング計測），第 26 回日本時間生物学会学術大会,（金沢）
3. 榎木亮介,（2019.10.13）概日/超短カルシウムリズムを制御する神経回路の可視化解析，第 26 回日本時間生物学会 シンポジウム「生物の多様な集団発振現象」,（金沢）
4. 根本知己,（2019.10.26）2 光子顕微鏡による生体イメージング,さきがけ「光極限」領域　第 8 回領域会議,（札幌）
5. Nemoto T, (2019.10.28) Multi-photon microscopy innovated by cutting-edge light technologies, The 2nd NIBB-Princeton Joint Symposium Imaging and Quantitative Biology,（岡崎）
6. Nemoto T, (2019.10.30) Multi-photon Microscopy Improved by Resonance with Novel Optical Laser and Material Technologies, Resonance Biology International Conference,（東京）
7. Ishii H, (2019.10.30) Two-photon pulsed STED nanoscopy utilizing electricallycontrollable components, Resonance Biology International Conference,（東京）
8. Yamaguchi K, Otomo K, Kozawa Y, Sato S, Nemoto T, (2019.10.30) In vivo visualization of dendritic spines in deep regions ofthe mouse prefrontal cortex with two-

photon excitation adaptive optical microscopy, Resonance Biology International Conference,（東京）

9. Takahashi T, Hong Zhang, Yarinome K, Kawakami R, Okamura Y, Nemoto T, (2019.10.30) In vivo two-photon deep and wide-field imaging utilizing novel fluoropolymer PEO-CYTOP nanosheet, Resonance Bio International Symposium, Resonance Biology International Conference,（東京）
10. 大友康平,（2019.11.5）生物イメージングのための多光子顕微技術開発，第 7 回糸状菌分子生物学研究会若手の会（北海道）
11. 高橋泰伽，張宏，川上良介，鎗野目健二，岡村陽介，根本知己,（2019.11.6）新規高分子超薄膜を用いたマウス生体脳の二光子イメージング法の改良，定量生物学の会 北海道キャラバン 2019,（札幌）
12. 鎌田恭史，大友康平，村田隆，比留間翔太，上原亮太，長谷部光泰，根本知己,（2019.11.6）励起光の高速切替が可能なマルチビームスキャ ン型 2 光子励起共焦点顕微鏡による多色 4D ライブイメージング法の開発，定量生物学の会 北海道キャラバン 2019,（札幌）
13. 山口和志,大友康平,小澤祐市,佐藤俊一,根本知己,（2019.11.6）空間光位相変調器を用いた収差補正によるマウス第二次運動野深部における樹状突起スパインの可視化，定量生物学の会 北海道キャラバン,（札幌）
14. 大友康平,（2019.11.6）レーザー走査型蛍光顕微鏡の基礎，光技術応用による機能向上，定量生物学の会 北海道キャラバン 2019（札幌）
15. Nemoto T, (2019.11.7) Multi-photon Microscopy Improved by Resonance with Novel Optical Laser and Material Technolog, McGill - NIPS Collaborative Workshop on Multi-Scale Imaging, Physiology, and Analysis 2019, (Montreal, Canada)
16. 榎木亮介,（2019.11.7）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～，異分野融合による次世代光生物学研究会（岡崎）
17. 根本知己,（2019.11.12）新規レーザー光技術を用いた 2 光子顕微鏡による細胞機能イメージング，高分子･ハイブリッド材料研究センター　2019 PHyM シンポジウム,（仙台）
18. 榎木亮介, (2019.12.1) ～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～，第 3 回医･理･工連携みらい会議（蒲郡）
19. Nemoto T, (2019.12.2) Novel Two-photon Microscopy Utilizing Novel Optical Laser and Material Technologies. Tohoku Forum for Creativity Thematic Program 2019 “Cancer - from Biology to Acceptance” International Symposium2: New Technology for Diagnosis and Therapeutics of Cancer,（仙台）
20. Nemoto T, (2019.12.4) Multi-Photon Microscopy Improved by Novel Optical Laser and Material Technologies. the 13th International Symposium of Nanomedicine（ISNM2019）,（神戸）
21. 堤元佐，根本知己, (2019.12.10~11) Application of novel image analysis method SRRF for deep and fast super resolution imaging, 大学共同利用期間法人若手コロキウム 2019,（掛川）
22. 根本知己,（2019.12.14）生命機能の可視化解析に向けた多光子イメージングの展開, The imaging frontier center symposium 2019,（千葉）
23. 榎木亮介,（2019.12.20）生物時計中枢神経回路の多機能イメージング解析，新学術領域オシロロジー領域会議（東京）
24. 大友康平,（2019.12.12）生命現象の可視化のための二光子顕微技術開発，日本分光学会 令和元年度 生細胞分光部会シンポジウム,（つくば）

《認知行動発達機構研究部門》

1. 郷康広（2019 年 2 月 7 日）マーモセットにおける遺伝的多様性解析および精神･神経疾患関連遺伝子解析. 第8回日本マーモセット研究会（東京都中央区）
2. 吉田正俊（2019 年 2 月 14 日）自由エネルギー原理の視覚. I-URIC 研究会「知性と認識の情報物理学」（愛知県岡崎市）
3. 新居桂陽（2019 年 2 月 19 日）Neuronal responses to real and cartoon faces with different gaze directions in the

macaque amygdala．第 11 回 NAGOYA グローバルリトリート（愛知県東浦町）

4. Isoda M（2019 年 3 月 7 日）Cortico-subcortical mechanisms underlying social reward monitoring and evaluation．第 8 回生理研-霊長研-新潟脳研合同シンポジウム（新潟県新潟市）
5. 磯田昌岐（2019 年 3 月 15 日）社会的な認知機能の神経メカニズムの解明．平成 30 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. 二宮太平（2019 年 3 月 16 日）サ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．平成 30 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. 郷康広（2019 年 3 月 16 日）脳・こころの個性・多様性理解にむけた比較認知ゲノム研究．平成 30 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）
8. Isoda M（2019 年 3 月 21 日）Cortico-subcortical mechanisms underlying social reward monitoring and evaluation in macaques. German-Japanese Workshop, New directions in systems neuroscience（Tübingen, Germany）
9. Tomatsu S, Kim G, Kubota S, Seki K（2019 年 3 月 29 日）Presynaptic inhibition of muscle afferent in awake, behaving monkeys: task-dependent modulation. FAOPS2019（兵庫県神戸市）
10. Yoshida M, Hafed Z（2019 年 4 月 24 日）Microsaccades in blindsight monkeys．NCM2019（富山県富山市）
11. 磯田昌岐（2019 年 5 月 17 日）脳のなかの自己と他者～霊長類動物を用いて社会的認知機能の神経機構を明らかにする～．愛知県弁護士会（愛知県岡崎市）
12. 吉田正俊（2019 年 5 月 28 日）自由エネルギー原理と視覚的意識．シンギュラリティサロン公開講演会（大阪府大阪市）
13. 吉田正俊（2019 年 6 月 8 日）自由エネルギー原理と視覚的意識．シンギュラリティサロン公開講演会（東京都千代田区）
14. 郷康広（2019 年 6 月 26 日）マーモセットにおける遺伝的多様性解析および精神・神経疾患関連遺伝子解析．日本医療研究開発機構（AMED）セミナー（東京都千代田区）
15. Noritake A.（2019 年 7 月 4 日）Social reward monitoring and valuation in cortico-subcortical networks of the macaque．2019 Korea Univ. -Yonsei Univ. -NIPS International Joint Symposium（Seoul, Korea）
16. 則武厚（2019 年 7 月 7 日）脳の中の自己と他者「隣の芝生が青く見える」脳の仕組み．第８回自然科学研究機構若手研究者賞記念講演（東京都港区）
17. 吉田正俊（2019 年 7 月 16 日）半側空間無視の動物モデルにおける皮質注意経路の機能的結合．生理研研究会「脳神経ダイナミクスの可視化と制御」（愛知県岡崎市）
18. 吉田正俊，兼子峰明，小松三佐子，岡野栄之，一戸紀孝（2019 年 7 月 26 日）ECoG 電極を用いた視覚性ミスマッチ陰性電位のマーモセット全大脳領域からの計測．第 42 回日本神経科学大会（新潟県新潟市）
19. 磯田昌岐（2019 年 7 月 26 日）マカクザルを用いた社会的認知機能の生理学的理解．第 42 回日本神経科学大会（新潟県新潟市）
20. 二宮太平，則武厚，磯田昌岐（2019 年 7 月 27 日）マカクザルのミラーシステムおよびメンタライジングシステムにおける自他行動モニタリング中の神経活動およびその相互作用．第 42 回日本神経科学大会（新潟県新潟市）
21. 則武厚（2019 年 8 月 5 日）霊長類の皮質―皮質下における自己と他者の報酬情報表現．生理研研究会「幼・小児の成長期における脳機能と運動の発達に関する多領域共同研究会」（愛知県岡崎市）
22. 郷康広，辰本将司，石川裕恵，平井啓久（2019 年 8 月 7 日）テナガザル 3 属の新規ゲノム配列決定とテナガザル科の大規模構造変化・核型進化解析．日本進化学会第 21 回大会（北海道札幌市）
23. 横井功（2019 年 8 月 19 日）ニホンザルは「素材」をどう知覚するか．NBRP ニホンザル第 15 回公開シンポジウム（東京都千代田区）
24. 吉田正俊（2019 年 8 月 20 日）自由エネルギー原理と視覚的意識．第 13 回生物学基礎論研究会（愛知県岡崎市）
25. 戸松彩花（2019 年 8 月 25 日）体性感覚の伝達ゲインは随意運動中に変動する．MC13 シンポジウム「感覚情報と運動制御」（東京都文京区）
26. 吉田正俊（2019 年 9 月 1 日）自由エネルギー原理と視覚的意識．生理研研究会「認知神経科学の先端 脳の理論から身体・世界へ」（愛知県岡崎市）

27. 則武厚（2019 年 9 月 14 日）脳の中の自己と他者 ―生理学的研究からみる私たちの性（さが）と脳の仕組み― . 大阪府立北野高校進路関連出張講義「知的世界への冒険」（大阪府大阪市）
28. Isoda M（2019 年 9 月 17 日）Neural basis of social reward monitoring and valuation. MCC2019（Berlin, Germany）
29. 則武厚，二宮太平，磯田昌岐（2019 年 9 月 26 日）Social reward signals in cortico-subcortical networks of the macaque. 生理研研究会「視覚･認知脳機能研究の先端」（愛知県岡崎市）
30. 吉田正俊（2019 年 9 月 26 日）Eye movements and visual salience in schizophrenia. 生理研研究会「視覚･認知脳機能研究の先端」（愛知県岡崎市）
31. 二宮太平（2019 年 9 月 27 日）ミラーシステムおよびメンタライジングシステムの神経活動およびその機能連関. 生理研研究会「視覚･認知脳機能研究の先端」（愛知県岡崎市）
32. Tomatsu S, Kim G, Kubota S, Seki K（2019 年 10 月 20 日）Presynaptic inhibition acts as a spatiotemporal dynamic filter of proprioceptive afferent input during voluntary movement. Neuroscience2019 （Chicago, USA）
33. Tomatsu S（2019 年 11 月 15 日）Dynamic filtering of somatosensory input for control of movement. The 9th Okazaki / Tuebingen / Beijing Joint Symposium（愛知県岡崎市）
34. Yokoi I（2019 年 11 月 15 日）Neuronal responses to material images in the inferior temporal cortex of the monkey. The 9th Okazaki / Tuebingen / Beijing Joint Symposium（愛知県岡崎市）
35. Noritake A, Ninomiya T, Isoda M（2019 年 11 月 15 日）Social reward monitoring and valuation in corticosubcortical networks of the macaque. The 9th Okazaki / Tuebingen / Beijing Joint Symposium（愛知県岡崎市）
36. Yoshida M（2019 年 11 月 18 日）Eye movements and visual salience in schizophrenia. International Symposium on Neural Oscillation 2019（京都府京都市）
37 磯田昌岐（2019 年 12 月 5 日）ニホンザルを用いた社会脳研究. 第 42 回日本分子生物学会の NBRP シンポジウム（福岡県福岡市）
38. 二宮太平（2019 年 12 月 14 日）自他行動モニタリングにおける社会脳ネットワークの機能解析. 生理研研究会「行動の多様性を支える神経基盤とその動作様式の解明」（愛知県岡崎市）
39. 則武厚，二宮太平，磯田昌岐（2019 年 12 月 19 日）報酬の主観的価値を生みだす神経メカニズム. 次世代脳プロジェクト　冬のシンポジウム 2019（東京都千代田区）

《生体システム研究部門》

1. Koketsu D, Nambu A (2019.1.29) Neurophysiological Studies of Motor-Related Areas in Awake Common Marmosets. International Symposium of Brain/MINDS ISBM2019（東京）
2. Koketsu D, Nambu A (2019.2.6) Memory Tasks for the Functional Mapping of Marmoset Prefrontal Cortex. マーモセット研究会（東京）
3. 南部　篤（2019.2.7）覚醒下マーモセットからの神経活動記録法. マーモセット研究会（東京）
4. 纐纈　大輔 (2019.2.8) 神経生理学実験のためのマーモセット馴化トレーニング，第６回予防衛生協会講習会（つくば）
5. Polyakova Z, Hatanaka N, Chiken S, Nambu A, (2019.02.15) Cortical control of subthalamic nucleus activity in awake monkeys. 11th Nagoya Global Retreat（名古屋）
6. Nambu A (2019.3.12) Parkinson’s disease as a network disorder. システム神経科学スプリングスクール 2019 (SNSS2019)（京都）
7. Hasegawa T, (2019.3.16) 視床下核による運動制御：マカクザル視床下核の化遺伝学的抑制による運動異常. 平成３０年度 京都大学霊長類研究所 共同利用研究会（犬山）
8. Sano H, Kobayashi K, Kato S, Chiken S, Kobayashi K, Nambu A, (2019.3.29) Physiological and anatomical organization of cortico-striatal inputs in the basal ganglia. The 9th FAOPS Congress（神戸）
9. 知見聡美 (2019.4.24) パーキンソン病のはなし－基

礎医学の視点から．安城シルバーカレッジ２１自然科学研究機構見学会（岡崎）

10. Chiken S, Sano H, Kobayashi K, Nambu A (2019.4.25−5.2) Optogenetic manipulation of basal ganglia outflow to the thalamocortical system in macaque monkeys. XIIIth IBAGS meeting (Biarritz, France)
11. Nambu A (2019.4.30) Pathophysiology of L-dopa-induced dyskinesia. XIIIth IBAGS meeting (Biarritz, France)
12. 知見聡美, 南部篤 (2019.6.1) モデル動物の神経活動から大脳基底核疾患の病態生理を探る．第 61 回小児神経学会学術集会（名古屋）
13. Nambu A (2019.6.6) Abnormal neural activities in the cortico-basal ganglia networks in animal models of PD. 5th World Parkinson Congress（京都）
14. Nambu A (2019.6.14) Basal ganglia functions and questions: which directions for the future? International DBS Experts Summit (Paris, France)
15. Nambu A (2019.6.24) Updates from Japan BRAIN/MINDS. 18th Biennial Meeting of the World Society for Stereotactic and Functional Neurosurgery, Pre-congress Workshop (New York, USA)
16. 知見聡美，南部篤 (2019.6.21) モデル動物の神経活動から大脳基底核の病態生理を探る．秋田パーキンソン病学術講演会（秋田）
17. Nambu A (2019.7.4) Parkinson’s disease as a network disorder. 2019 Korea-Yonsei-NIPS International Joint Symposium, (Soul, Korea)
18. Sano H, Kobayashi, K, Chiken S, Nambu A, (2019.7.4) Physiological and anatomical organization of cortico-striatal inputs in the basal ganglia. 2019 Korea-Yonsei-NIPS International Joint Symposium, (Soul, Korea)
19. Hasegawa T, Chiken S, Kobayashi K, Nambu A, (2019.7.24) Chemogenetics to decipher the functional role of the subthalamic nucleus in macaque monkeys. 42nd annual meeting of the Japan neuroscience, Satellite Symposium: Basal Ganglia in Health and Disease（新潟）
20. Dwi Wahyu Indriani (2019.7.24) Aberrant basal ganglia activity following chronic L-dopa therapy in parkinsonian mice. 42nd annual meeting of the Japan neuroscience, Satellite Symposium: Basal Ganglia in Health and Disease（新潟）
21. 知見聡美，南部篤 (2019.7.25) 大脳基底核の病態生理－モデル動物の神経活動から考える．第１３回パーキンソン病･運動障害疾患コングレス（東京）
22. Koketsu D, Nambu A (2019.7.25-26) Working memory tasks for functional mapping of the prefrontal cortex in common marmosets. 第４２回日本神経科学大会（新潟）
23. Polyakova Z, Hatanaka N, Chiken S, Nambu A, (2019.07.25-26) Glutamatergic and GABAergic inputs to monkey subthalamic nucleus and its activity during motor task performance, The 42nd Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society,（新潟）
24. Saito N, Hara S, Tainaka K, Sato A, Abe M, Kawamura M, Yamaguchi S, Chiken S, Ichinose H, Sakimura K, Nambu A, Sasaoka T (2019.7.26-27) Elucidation of motor control mechanism by dopamine using genetically modified mice harboring tetracycline regulated expression of dopamine D1 receptor. The 42nd Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society,（新潟）
25. Horie M, Yoshioka N, Kusumi S, Sano H, Ibrahim H, Iida-Watanabe I, Chiken S, Abe M, Sakimura K, Nambu A, Shibata M, Takebayashi H (2019.7.26-27) Disruption of Dystonin in Schwan cells results in peripheral neuropathy. The 42nd Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society（新潟）
26. Ebina T, Obara K, Masamizu Y, Terada S, Watakabe A, Matoba R, Hatanaka N, Nambu A, Mizukami H, Yamamori T, Matsuzaki M (2019.7.26-27) Upper-limb movements induced by optogenetic stimulation of the motor cortex in the common marmoset. The 42nd Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society（新潟）
27. Chiken S, Nambu A (2019.7.27) Abnormal information processing through the cortico-basal ganglia pathways is responsible for parkinsonian symptoms. Neuro 2019 Symposium “New understanding of functions of basal ganglia in health and disease”（新潟）
28. 南部篤（2019.8.25）基底核の障害でなぜすくみや安静時振戦が生じるのか。D 第 34 回日本大脳基底核研究会（米子）
29. 南部篤（2019.8.31）ネットワーク異常としてのパーキンソン病. 第 67 回脳の医学･生物学研究会（名古屋）
30. Hasegawa T, Chiken S, Kobayashi K, Nambu A, (2019.11.15) Chemogenetics to decipher the functional role of the subthalamic nucleus in macaque monkeys. The

9th Okazaki-Tübingen-Beijing Joint Symposium（岡崎）

31. Nambu A (2019.11.15) Optogenetic activation of the macaque motor cortex. The 9th Okazaki-Tübingen-Beijing Joint Symposium（岡崎）
32. Chiken S, Nambu A (2019.11.15) Dopaminergic transmission maintains dynamic activity changes in the basal ganglia to control appropriate movements. The 9th Okazaki-Tübingen-Beijing Joint Symposium（岡崎）
33. Sano H, Kobayashi K, Chiken S, Nambu A, (2019.11.15) Physiological and anatomical organization of cortico-striatal inputs in the basal ganglia. The 9th Okazaki-Tübingen-Beijing Joint Symposium（岡崎）
34. Indriani Dwi Wahyu ((2019.11.15) Aberrant basal ganglia activity in L-dopa-induced dyskinesia model mice. The 9th Okazaki-Tübingen-Beijing Joint Symposium（岡崎）
35. Wongmassang W, Hasegawa T, Chiken S, Nambu A, (2019.11.15) A firing rate model versus a correlated activity model for voluntary movements in the globus pallidus of normal and MPTP monkeys. The 9th Okazaki-Tübingen-Beijing Joint Symposium（岡崎）
36. Polyakova Z, Hatanaka N, Chiken S, Nambu A, (2019.11.15) Glutamatergic and GABAergic inputs to monkey subthalamic nucleus and its activity during motor task performance. The 9th Okazaki-Tübingen-Beijing Joint Symposium（岡崎）
37. Nondhalee P, Hatanaka N, Nambu A (2019.11.15-16) What happens in our brain if we lose our hand accidentally? The 9th Okazaki-Tübingen-Beijing Joint Symposium（岡崎）
38. Chiken S, Nambu A (2019.11.17) Abnormal information processing through the cortico-basal ganglia pathways is responsible for parkinsonian symptoms. Neural Oscillation Conference 2019（京都）
39. Nambu A Watanabe H, Sano H, Chiken S, Kobayashi K, Fukata Y, Fukata M, Mushiake H (2019.11.18-19) Optogenetic activation of the macaque motor cortex. Neural Oscillation Conference 2019（京都）
40. Sano H, Kobayashi K, Chiken S, Nambu A, (2019.11.18−19) Cortico-striatal contributions to the basal ganglia. Neural Oscillation Conference 2019（京都）
41. 南部　篤（2019.11.30）神経生理学から見たパーキンソン病．青森ドパミン研究会（青森）
42. 南部　篤（2019.12.11）　パーキンソン病におけるネットワーク異常. 奈良医療センター講演会（奈良）
43. 纐纈　大輔 (2019.12.13) 霊長類高次脳機能研究のためのマーモセット前頭皮質の機能マッピング，生理学研究所研究会（岡崎）
44. Nondhalee P, Hatanaka N, Nambu A (2019.12.15-16) What happens in our brain if we lose our hand accidentally? SOKENDAI life Science Retreat 2019（山梨）

《神経ダイナミクス研究部門》

1. Takumi Sase，Keiichi Kitajo（2019･1･22）Data-driven and data-assimilation approaches to individual human brain dynamics. 7th International Symposium on Data Assimilation（神戸）
2. Takayuki Onojima, Yuka Okazaki, Keiichi Kitajo（2019･2･25）A manipulative approach to the phase response function of EEG oscillations by transcranial magnetic stimulation. 3rd International Brain Stimulation Conference（Vancouver）
3. Takuro Zama, Keiichi Kitajo（2019･2･27）EEG recording during online modulation of brain activity by transcranial random noise stimulation. 3rd International Brain Stimulation Conference（Vancouver）
4. 北城圭一（招待講演）（2019･3･7）Variability in neural dynamics and human behavior. 第 8 回生理研－霊長研－脳研合同シンポジウム（新潟）
5. 北城圭一（招待講演）（2019･4･14）脳の神経リズムネットワークの機能と病態. 運動神経科学研究会. 第 15 回脳神経科学福岡セミナー（福岡）
6. Teiji Kawano, Noriaki Hattori, Yutaka Uno, Megumi Hatakenaka, Hajime Yagura, Hiroaki Fujimoto, Tomomi Yoshioka, Michiko Nagasako, Hironori Otomune, Hideki Mochizuki, Keiichi Kitajo, Ichiro Miyai（2019･5･23）Longitudinal change of EEG biomarker associates with post-stroke aphasia recovery. 第 60 回日本神経学会学術大会（大阪）

7. 蒔苗詩歌，河西哲子，北城圭一（2019・5・25）健常大学生の ASD 傾向による刺激の時空間的構造化の影響の違い．第 37 回日本生理心理学会（越谷）
8. 藤亮裕，河西哲子，北城圭一（2019・5・25）健常大学生の ADHD 傾向による刺激の時空間的構造化の影響の違い．第 37 回日本生理心理学会（越谷）
9. Teiji Kawano, Noriaki Hattori, Yutaka Uno, Megumi Hatakenaka, Hajime Yagura, Hiroaki Fujimoto, Tomomi Yoshioka, Michiko Nagasako, Hironori Otomune, Hideki Mochizuki, Keiichi Kitajo, Ichiro Miyai（2019・6・10）Phase Synchrony Index as a Biomarker for Functional Recovery after Stroke. 第 13 回国際リハビリテーション医学会世界会議（ISPRM2019）（神戸）
10. Takayuki Onojima, Yuka Okazaki, Keiichi Kitajo（2019・6・10） A model-based approach to estimating phase response curves of TMS-modulated EEG oscillations. The 25th Annual Meeting of the Organization for Human Brain Mapping（Rome）
11. Hiromichi Suetani，Keiichi Kitajo （2019・6・12）A manifold learning approach to inter-individual variations in human brain dynamics．The 25th Annual Meeting of the Organization for Human Brain Mapping（Rome）
12. Takuro Zama, Kaori Maeda, Keiichi Kitajo（2019・6・13）Online modulation of ongoing brain activity by transcranial random noise stimulation．The 25th Annual Meeting of the Organization for Human Brain Mapping（Rome）
13. 河野悌司，服部憲明，宇野裕，畠中めぐみ，矢倉一，藤本宏明，吉岡知美，長廻倫子，乙宗宏範，望月秀樹，北城圭一，宮井一郎（2019・6・14）脳卒中後の上肢運動機能回復に伴う脳波バイオマーカーの変化．第 56 回日本リハビリテーション医学会学術集会（神戸）
14. Keiichi Kitajo（招待講演）（2019・7・4）Non invasive brain stimulation techniques combined with concurrent recordings of EEG to study human brain dynamics．2019 Korea-Yonsei-NIPS International Joint Symposium（Seoul）
15. 座間拓郎，北城圭一（2019・7・16-17）Online modulation of ongoing brain activity by transcranial random noise stimulation．生理学研究所研究会「脳神経ダイナミクスの可視化と制御」（岡崎）
16. Yumi Shikauchi，Keiichi Kitajo （2019・7・28）Effects of Bayesian surprise on incidental memory encoding. Neuro2019（新潟市）
17. 横山 寛 （2019・8・20-21）情報工学的観点からの脳波ダイナミクスの理解 ～位相同期現象に反映される脳内ネットワークとメカニズム～．NINS サイトビジット 2019（土岐）
18. 上原一将（招待講演）（2019・8・24）非侵襲的脳刺激を用いた運動技能の操作．非侵襲的脳刺激を用いた運動技能の操作（東広島市）
19. Kazumasa Uehara, Hiroki Togo, Takashi Hanakawa, （招待講演）（2019・9・6）Inter-individual differences in neural control of motor rhythmicity revealed by task and resting-state fMRI. 第 3 回ヒト脳イメージング研究会（町田）
20. 横山 寛，松本理器，北野勝則，青柳富誌生，松橋眞生，菊池隆幸，國枝武治，池田昭夫，北城圭一（2019・9・6−7）Measuring cross frequency information transfer in epileptic seizures: an ECoG study．第 3 回ヒト脳イメージング研究会（町田）
21. 北城圭一（招待講演）（2019・9・15）脳の神経リズムネットワークの機能と病態．運動神経科学研究会第 16 回脳神経科学東京セミナー（東京）
22. 北城圭一（招待講演）（2019・9・25）脳のリズムネットワークと脳卒中病態との関連．医療法人穂翔会村田病院リハビリテーション部特別講演会（大阪 ）
23. 北城圭一（招待講演）（2019・9・28）非侵襲脳刺激によるヒトの脳リズム活動の機能解明．第 9 回名古屋大学医学系研究科・生理学研究所合同シンポジウム（岡崎）
24. 横山 寛，松本理器，北野勝則，青柳富誌生，松橋眞生，菊池隆幸，國枝武治，池田昭夫，北城圭一（2019・9・28） Changes in cross-frequency information transfer associated with epileptic seizures: real-world data of invasive EEG before epilepsy surgery．第 9 回 名古屋大学医学系研究科・生理学研究所合同シンポジウム（岡崎）
25. Keiichi Kitajo（招待講演）（2019・9・30）Probing Individual Differences in Human Neural Dynamics. International Workshop on Neurotechnology & AI at RIKEN AIP（東京）
26. Keiichi Kitajo（招待講演）（2019・10・15）Neural Dynamics．Brain Science Training at RIKEN CBS（和光）
27. Teiji Kawano, Noriaki Hattori, Yutaka Uno, Megumi Hatakenaka, Hajime Yagura, Hiroaki Fujimoto, Tomomi Yoshioka, Michiko Nagasako, Hironori Otomune,Hideaki Mochizuki, Keiichi Kitajo, Ichiro Miyai（2019・10・20）Electroencephalographic synchrony measure reflects

recovery of post-stroke aphasi. Society for Neuroscience 2019, Chicago（Chicago）

28. Kazumasa Uehara，Hiroki Togo，Takashi Hanakawa（2019・10・21）Task-evoked and spontaneous brain activity characterizes individual differences in a function dictating frequency-rhythmicity relationship. Society for Neuroscience 2019（Chicago）
29. Yuki Sasaoka, Yoichi Iwai, Daiki Futagi, Keiichi Kitajo, Katsunori Kitano（2019・10・21）Changes in electroencephalogram phase dynamics induced by transcranial magnetic stimulation. Society for Neuroscience 2019（Chicago）
30. Yumi Shikauchi, Keiichi Kitajo（2019・10・22）Bayesian surprise precedes successful memory encoding. Society for Neuroscience2019（Chicago）
31. 北城圭一（招待講演）（2019・10・30）てんかん発作の神経ダイナミクス.第 53 回日本てんかん学会学術集会 プレコングレスシンポジウム．第 2 回 Advanced ECoG/EEG Analysis in Epilepsy（AEEE）研究会（神戸）
32. Keiichi Kitajo（2019・11・7）Hierarchical neural dynamics in healthy and epileptic brains．NIPS-McGill collaborative workshop 2019（Montreal）
33. Yuka Okazaki, Yumi Nakagawa, Yuji Mizuno, Takashi Hanakawa, Keiich Kitajo（2019・11・15）Region specific entrainment by rTMS. The 9th Okazaki-Tuebingen-Beijing Joint Symposium（岡崎）
34. Keiichi Kitajo（招待講演）（2019・11・15）Probing individual brain dynamics in humans. The 9th Okazaki / Tübingen / Beijing Joint Symposium（岡崎）
35. Tetsuko Kasai, Shiika Makinae, Akihiro Fuji, Teishiro Imiya, Keiichi Kitajo（2019・11・15）Individual differences in early versus late selection for binding: The trait of autism-spectrum disorder varies the stage of attentional selection with temporal regularity. Psychonomic Society 60th Annual Meeting（Montreal）
36. Hiroshi Yokoyama, Riki Matsumoto, Katsunori Kitano, Toshio Aoyagi, Masao Matsuhashi, Takayuki Kikuchi, Takeharu Kunieda, Akio Ikeda, Keiichi Kitajo（2019・11・18-19）Information Theoretic Analysis of Epileptic Seizure in ECoG － Cross Frequency Coupling and Information Transfer－. Neural Oscillation Conference 2019: Towards Integrative Understanding of Human Nature（京都）
37. 北城圭一（2019・12・19）脳のリズム活動による情報処理．竜海中学出前授業（岡崎）

《心理生理学研究部門》

1. Sugawara SK, Nakayama Y, Fukunaga M, Yamamoto T, Sadato N*, Nihimura Y* (2019.1.9) VTA-M1 pathway controbutes to human motivated motor output．脳と心のメカニズム第 19 回冬のワークショップ（虻田郡，北海道）　*corresponding authors
2. 山本哲也，三浦健一郎，福永雅喜，定藤規弘（2019.1.31）追跡眼球運動に関わるヒト脳領域と高髄鞘化領域の個人･集団レベルでの相同性．日本視覚学会 2019 年冬季大会（横浜）
3. 定藤規弘（2019.2.2）対面による社会的相互作用に伴う脳を超えたネットワークの形成：二個体同時計測 fMRI 研究．第 35 回日本脳電磁図トポグラフィ研究会（札幌市，北海道）
4. Yamamoto T, Miura K, Fukunaga M, Sadato N (2019.2.15) Homology of functional cortical areas related to pursuit eye movements and heavily myelinated regions at individual and group levels in humans. The 11th NAGOYA Global Retreat (Aichi, Japan)
5. 福永雅喜（2019.3.9）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）
6. 福永雅喜，定藤規弘（2019.3.16）MRI による意図共有に関わる神経機構の探索．第 21 回日本ヒト脳機能マッピング学会シンポジウム４「ヒト脳研究における MRI の意義：社会脳･種間比較･コホート」（東京）
7. Maruyama S, Fukunaga M, Sadato N (2019.4.2) Visualization of subdivision of globus pallidus segments using 7T MRI: Comparison with 3T. ISMRM Workshop on Ultrahigh Field Magnetic Resonance (Croatia)
8. Sugawara SK, Nakayama Y, Hamano YH, Yamamoto T, Fukunaga M, Sadato N*, Nihimura Y* (2019.4.24) VTA is involved in both preparation and execution in

motivated motor output. NCM2019 (Toyama, Japan) *corresponding authors

9. Hamano YH, Sugawara SK, Yoshimoto T, and Sadato N (2019.4.24) The motor engramas a dynamic change of the cortical network during early sequence learning: an fMRI study. Society for the Neural Control of Movement（富山）
10. Le Bihan D, Yamamoto T, Fukunaga M, Okada T, Sadato N (2019.5.14) A model free, sparse acquisition approach Sindex to investigate brain tissue microstructure from diffusion MRI data in the human brain. ISMRM 27th Annual Meeting & Exhibition (Montreal, Canada)
11. 福永雅喜（2019.5.24）7 テスラ MRI が切り拓く脳可視化研究最前線．第６０回日本神経学会学術大会（大阪，大阪）
12. 福永雅喜（2019.6.1）FreeSurfer 解析における前処理の違いにおける結果の相違. 第 13 回 COCORO 合同会議（東京）
13. Nakayama Y, Sugawara SK, Fukunaga M, Hamano YH, Sadato N, Nishimura Y (2019.6.13) Involvement of the Dorsal Premotor Cortex in Goal-directed Motor Behavior. 25TH ANNUAL MEETING OF THE ORGANIZATION FOR HUMAN BRAIN MAPPING (Rome, Italy)
14. Sugawara SK, Nakayama Y, Fukunaga M, Yamamoto T, Sadato N, Nishimura Y (2019.6.13) VTA-M1 pathway contributes to human motivated motor outputs. 25TH ANNUAL MEETING OF THE ORGANIZATION FOR HUMAN BRAIN MAPPING (Rome, Italy)
15. 福永雅喜（2019.7.4）高磁場 MRI を用いたマーモセット･マカク･ヒトの種間比較に関する研究開発．2019 年度 AMED 脳と心の研究課 戦略的国際脳科学研究推進プログラム 研究進捗報告会（東京）
16. Miyata K, Koike T, Nakagawa E, Harada T, Sumiya M, Yamamoto T and Sadato N (2019.7.11) Two brains resonate with each other for sharing action in imitative interaction: A hyper-scanning fMRI study. Joint Action Meeting VIII (Genoa, Italy)
17. Fukunaga M (2019.7.27) Brain microstructure and function using ultra high field MRI. Neuro2019 (Niigata, Japan)
18. Nishimaki Y, Goda N, Kamachi MG (2014.7.19) Visual and tactile perception of the wind in the virtual reality environment. The 15th Asia-Pacific Conference on Vision (Osaka, Japan)
19. Koyama K, Chikazoe J, Jimura K, Sadato N (2019.9.1) fMRI 時系列の基底分解による Whole Brain Decomposition. 脳の自由エネルギー原理チュートリアル･ワークショップ（岡崎，愛知）
20. Koyama K, Chikazoe J, Jimura K, Sadato N (2019.9.2) fMRI 時系列の基底分解による Whole Brain Decomposition. 認知神経科学の先端（岡崎，愛知）
21. Hayashi T, Koike S, Okada T, Fukunaga M, Togo H, Miyazaki A, Ose T, Uematsu A, Saotome K, Matsuda T, Sadato N, Okamoto Y, Tanaka SC, Hanakawa T, Kasai K, Kawato M (2019.9.6) Harmonized brain MRI protocols/ preprocessing for Brain/MINDS-beyond. The 3rd Japanese Meeting for Human Brain Imaging (Machida,Japan)
22. Hamano Y, Sugawara SK, Fukunaga M, Sadato N (2019.9.6) M1 integrates the distinct motor engrams for motor sequence learning. The 3rd Japanese Meeting for Human Brain Imaging (Machida,Japan)
23. 松本純弥，福永雅喜，根本清貴，越山大輔，三浦健一郎，岡田直大，森田健太郎，山森英長，宇野洋太，安田由華，藤本美智子，工藤紀子，畦地裕統，渡邉嘉之，笠井清登，橋本亮太（2019.9.6）DTI による大脳白質の髄鞘化/成熟性の評価と社会機能の指標としての労働時間との関連．第 3 回ヒト脳イメージング研究会（町田，東京）
24. 森田健太郎，三浦健一郎，藤本美智子，山森英長，安田由華，工藤紀子，畦地裕統，岡田直大，越山太輔，福永雅喜，渡邉嘉之，笠井清登，池田学，橋本亮太（2019.9.6）統合失調症でみられる眼球運動特徴の神経基盤の検討．第 3 回ヒト脳イメージング研究会（町田，東京）
25. 山下典生，佐々木真理，武田航太，松田豪，上野育子，森太志，朴啓彰，福永雅喜，定藤規弘，帆秋伸彦（2019.9.6）3D ファントムを用いた頭部 MR 画像の幾何歪み･信号むらの同時補正法の開発．第 3 回ヒト脳イメージング研究会（町田，東京）
26. 小池進介，植松明子，岡田知久，福永雅喜，早乙女康作，東口大樹，宮崎淳，合瀬恭幸，定藤規弘，松田哲也，田中沙織，川人光男，岡本泰昌，花川隆，笠井清登，林拓也，国際脳 WG（2019.9.6）AMED「国際脳」調和プロトコル策定とトラベリングサブジェクトプロジェクト計画．第 3 回ヒト脳イメージング研究会（町田，東京）

27. Koyama K, Chikazoe J, Jimura K, Sadato N (2019.9.6) Semi-model free analysis of the whole brain activity captures temporal changes of cognitive processes. The 3rd Japanese Meeting for Human Brain Imaging (Machida, Japan)
28. 菅原翔（2019.9.11）報酬が運動能に及びす効果と神経基盤．シンポジウム 22: 動機づけが認知や運動に与える影響とその脳内機構．第 83 回日本心理学会年次大会（茨木，大阪）
29. 福永雅喜（2019.9.21）超高磁場 MRI による脳機能画像研究 Advanced functional neuroimaging with ultra high field MRI. 第 47 回日本磁気共鳴医学会大会（熊本，熊本）
30. 梅田雅宏，福永雅喜，定藤規弘，渡辺康晴，河合裕子，村瀬智一，樋口敏宏（2019.9.21）7T-MR 装置を用いた CSI による脳の代謝物計測．第 47 回日本磁気共鳴医学会大会（熊本，熊本）
31. 浦山慎一, 吉原雄二郎, 福永雅喜, 村井俊哉（2019.9.22）MRS を用いた健常者におけるグルタチオン濃度の日内変動．第 47 回日本磁気共鳴医学会大会（熊本，熊本）
32. 丸山修紀，福永雅喜，定藤規弘 (2019.9.21) 7T MRI を用いたヒト淡蒼球内部構造の描出: 3T MRI との比較．第 47 回日本磁気共鳴医学会（熊本，熊本）
33. Sadato N (2019.09.24) Understanding the neural basis of psychiatric disease and implications for stigma: Neuroethical issues of Brain/MINDS project of Japan. IBRO Neuroethics Luncheon "No longer Unthinkable: Why the 21st Century Neuroscientists needs Neuroethics" IBRO Congress (Daegu, South Korea)
34. Fukunaga M, Duyn J (2019.9.26) Origins of phase contrast in white matter. 5th INTERNATIONAL WORKSHOP ON MRI PHASE CONTRAST & QUANTITATIVE SUSCEPTIBILITY MAPPING (Seoul, Korea)
35. Koyama K, Chikazoe J, Jimura K, Sadato N (2019.9.26) Whole Brain Decomposition captures transient changes of cognitive processes. 視覚・認知脳機能研究の先端（岡崎市，愛知県）
36. Shin HG, Oh SH, Fukunaga M, Nam Y, Lee J (2019.9.27) A sequence for high quality Gradient Echo Myelin Water Imaging (GRE-MWI) at 3T and 7T. 5th INTERNATIONAL WORKSHOP ON MRI PHASE CONTRAST & QUANTITATIVE SUSCEPTIBILITY MAPPING (Seoul, Korea)
37. Shin HG, Lee J, Fukunaga M, Nam Y, Oh SH, Lee J (2019.9.27) Separating positive and negative susceptibility sources in QSM. 5th INTERNATIONAL WORKSHOP ON MRI PHASE CONTRAST & QUANTITATIVE SUSCEPTIBILITY MAPPING (Seoul, Korea)
38. Sadato N (2019.09.27) To what extent can human attributes be modelled? Global Neuroethics Summit 2019 (Daegu, South-Korea)
39. Koyama Y, Chikazoe J, Jimura K, Sadato N (2019.10.10) Semi-model free analysis of whole brain activity captures dynamics of cognitive processes. NTBS Workshop 2019 (Tokyo, Japan)
40. Fukunaga M (2019.10.11) International neuroimaging big data collaborations: ENIGMA and COCORO (Discussant). 6th Congress of Asian College of Neuropsychopharmacology (Fukuoka, Japan)
41. Hashimoto R, Uno Y, Matsumoto J, Sumiyoshi C, Morita K, Koshiyama D, Okada N, Fujino H, Ohi K, Fujimoto M, Yasuda Y, Yamamori H, Sumiyoshi T, Nemoto K, Fukunaga M, Miura K (2019.10.12) Overview of biotype in psychiatry. 6th Congress of Asian College of Neuropsychopharmacology (Fukuoka, Japan)
42. Matsumoto J, Fukunaga M, Nemoto K, Koshiyama D, Miura K, Uno Y, Okada N, Morita K, Yamamori H, Yasuda Y, Fujimoto M, Kudo N, Azechi H, Kasai K, Watanabe Y, Hashimoto R (2019.10.13) Maturity of cerebral white matter is associated with individual working hours indicating social function. 6th Congress of Asian College of Neuropsychopharmacology (Fukuoka, Japan)
43. Sadato N (2019.10.18) To what extent can human attributes be modelled? The 2019 International Neuroethics Society Annual Meeting (Chicago, USA)
44. Sadato N (2019.10.18) Across-brain networks emerged from face-to-face social interactions probed by hyperscanning fMRI: eye-contact, joint attention, and its memory. Society for Social Neuroscience 2019 Annual Meeting (Chicago, USA)
45. Harada T, Sugawara T, Fukunaga M, Sadato N, Kaureys S, Sakai H (2019.10.20) Morphological misalignment of vestibular organs predicts motion sickness susceptibility. Neuroscience 2019 (IL, U.S.A)

46. Hamano YH, Sugawara SK, Fukunaga M, Sadato N (2019.10.21) The integrative role of the M1 for the motor sequence learning. Neuroscience 2019 (IL, U.S.A)
47. Ebisu T, Fukunaga M, Murase T, Umeda M (2019.10.22) Functional connectivity measured with resting state functional magnetic resonance imaging as a biomarker of spatial neglect during recovery rehabilitation period of stroke. Neuroscience 2019 (IL, U.S.A)
48. Sadato N (2019.11.7) Across-brain networks emerged from face-to-face social interactions probed by hyperscanning fMRI: eye-contact, joint attention, and its memory. McGill University- NIPS Joint Symposium (Montreal, Canada)
49. Yamamoto T (2019.11.14) Toward better registration of 7T diffusion data to 3T structural data in HCP. Brain Storming on Primate Connectome 2019 (Kobe, Japan)
50. Koyama Y, Chikazoe J, Jimura K, Sadato N (2019.11.14) Paradigm free decomposition for whole brain dynamics. Brain Storming on Primate Connectome(HCP) (Kobe, Japan)
51. Sadato N (2019.11.15) Across-brain networks emerged from face-to-face social interactions probed by hyperscanning fMRI: eye-contact, joint attention, and its memory. Tübingen University- Beijin-University-NIPS Joint Symposium（岡崎）
52. Koyama Y, Chikazoe J, Jimura K, Sadato N (2019.11.21) Paradigm free decomposition for whole brain dynamics. 2019 年度生理研研究会第 9 回社会神経科学研究会（岡崎，愛知）
53. Maruyama S (2019.12.9) Ultra high field 7T MRI of microstructure, function and neurochemistry in human brain. 令和元年度生理研大学院生中間発表会（岡崎，愛知）※生理研大学院生 ポスター優秀賞受賞
54. Koyama Y, Chikazoe J, Jimura K, Sadato N (2019.12.19) Semi-model free analysis of whole brain activity captures dynamics of cognitive processes. 次世代脳プロジェクト冬のシンポジウム 2019（東京）＊若手優秀発表賞受賞

《個別研究（毛利研究室）》

1. 毛利達磨,（2019･2 月･20 日）ウニ･ヒトデ卵受精時の膜電流変化と Ca 変化　遺伝学研究所セミナー細胞の動的ふるまいから探る発生の仕組み ―これまでの知見と今後の展望―（三島）
2. 毛利達磨,（2019･9 月･14 日）ウニ卵受精時の表層 Ca フラッシュと開始膜電流 I_{on} の特性　日本動物学会第 90 回大会大阪大会（大阪）

《個別研究（山肩研究室）》

1. Yamagata Y, Yanagawa Y, Imoto K (2019.3.7-8) Kinase-dead knock-in mouse revealed differential involvement of kinase activity of Ca^{2+}/calmodulin-dependent protein kinase II alpha in hippocampus- and amygdala-dependent memory. 第 8 回生理研･霊長研･新潟脳研合同シンポジウム（新潟）
2. Yamagata Y, Yanagawa Y, Imoto K (2019.7.26) Aging, spatial memory and calmodulin kinase II activity. 第 42 回日本神経科学大会･第 62 回日本神経化学会大会（新潟）

《個別研究（佐竹研究室）》

1. 佐竹伸一郎, 川上 潔, 池田啓子 (2019.7.25-28) *Atp1a3* のハプロ不全は小脳プルキンエ細胞にグルタミン酸取り込み能の減弱を引き起こす：グリア細胞による補償とその影響. NEURO2019（第 42 回日本神経科学大会，第 62 回日本神経化学会大会）（新潟）
2. Kawakami K, Satake S, Ikeda K (2019.10.3-4) Weakened

glutamate uptake in cerebellar Purkinje cells in *Atp1a3* heterozygous knockout mice: glial compensation and its impacts on long-term depression. 8th Annual Symposium on ATP1A3 in Disease.（Reykjavik, Iceland）

《形態情報解析室》

1. 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）
2. 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）
3. 古賀 博則，ソン チホン，宮下 奈緒，梅本 紗恵子，鈴木 優里，東岱 孝司，村田 和義，洲崎 敏伸（2019.5.10-12）ダイズシストセンチュウによってダイズ根に誘導されたシンシチウムの高分解能走査電顕観察および超高圧電顕による三次元的解析．医学生物学電子顕微鏡技術学会第 35 回学術講演会（名古屋）
4. 広瀬 侑，Chihong Song，米川 千夏，渡辺 麻衣，村田 和義 ，池内 昌彦，浴 俊彦（2019.5.25-26）シアノバクテリアの補色順化の多様性の解明．第 10 回日本光合成学会年会（京都）
5. Kazuyoshi Murata（2019.5.30）Structural Dynamics of Viral Capsid revealed by cryo-Electron Microscopy（Okazaki）
6. 宮崎 直幸，内山 淳平，松崎 茂展，村田 和義，岩崎 憲治（2019.6.17-19）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 75 回学術講演会（名古屋）
7. 角田 潤，Ray Butron-Smith。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，山守 優，富井 健太郎，飯野 亮太，村田 和義（2019.6.17-19）腸球菌 V-ATPase の位相差クライオ電子顕微鏡による単粒子構造解析．日本顕微鏡学会第 75 回学術講演会（名古屋）
8. 香山 容子，Ray Burton-Smith，宋 致宏，新井 善博，加藤 貴之，村田 和義（2019.6.17-19）サイドエントリーホルダによるクライオ電子顕微鏡高分解能単粒子解析の試み．日本顕微鏡学会第 75 回学術講演会（名古屋）
9. 宋 致弘，戸高 玲子，横山 勝，宮崎 直幸，岩崎 憲治，片山 和彦，村田 和義（2019.6.17-19）クライオ電子顕微鏡により明らかになったノロウイルスの動的構造変化．日本顕微鏡学会第 75 回学術講演会（名古屋）
10. 富田 雅人，永谷 幸則，村田 和義，新井 善博，百生 敦（2019.6.17-19）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 75 回学術講演会（名古屋）
11. 永谷 幸則，富田 雅人，新井 善博，村田 和義，百生 敦（2019.6.17-19）FZP 位相差 STEM の画像処理．日本顕微鏡学会第 75 回学術講演会（名古屋）
12. 山田 博之，近松 絹代，青野 昭男，村田 和義，宮崎 直幸，香山 容子，藤原 永年，前田 伸司，御手洗 聡（2019.6.17-19）CryoTEM 観察による Mycobacteriacea 科の 5 属を構成する種の基礎形態情報の比較検討．日本顕微鏡学会第 75 回学術講演会（名古屋）
13. 山守 優，角田 潤，宋 致宏，Ray Burton-Smith，飯野 亮太，村田 和義，富井 健太郎（2019.6.24-26）Eh V-ATPase の全複合体構造解析に向けた電子顕微鏡密度マップからの原子モデル構築．第 19 回日本蛋白質科学会年会（神戸）
14. 宮崎 直幸，内山 淳平，松崎 茂展，村田 和義，岩崎 憲治（2019.6.24-26）黄色ブドウ球菌ファージ S13’のクライオ電顕単粒子解析．第 19 回日本蛋白質科学会年会（神戸）
15. 村田 和義（2019.8.2）クライオ電子顕微鏡によるバイオイメージング．第 20 回若手 NMR 研究会（蒲郡）
16. Yuu Hirose, Song Chihong, Mai Watanabe, Chinatsu Yonekawa, Kazuyoshi Murata, Masahiko Ikeuchi, Toshihiko Eki（2019.8.25）Diverse chromatic acclimation processes responding to green and red light in the cyanobacteria phylum. World Congress on Light and Life: Joint 17th International Congress on Photobiology & 18th Congress of the European Society for Photobiology（Spain）
17. Yu Yamamori, Jun Tsunoda, Ray Burton-Smith, Chihong Song, Ryouta Iino, Kazuyoshi Murata, Kentaro Tomii（2019.9.24）Full atomistic model building of EhV-

ATPase using homology modeling/molecular dynamics simulation based on the low resolution cryoEM map. 日本生物物理学会第 57 回年会（宮崎）

18. Chihong Song, Reiko Todaka, Masaru Yokoyama, Naoyuki Miyazaki, Kenji Iwasaki, Kazuhiko Katayama, Kazuyoshi Murata（2019.9.24）Dynamic Structural Change of Norovirus Revealed by Cryo-electron Microscopy. 日本生物物理学会第 57 回年会（宮崎）
19. Ryosuke Yamamoto, Yuuhei Nakagiri, Osamu Kutomi, Hiroshi Imai, Chihong Song, Kazuyoshi Murata, Ken-ichi Wakabayashi, Takashi Ishikawa, Kazuo Inaba, Takahide Kon（2019.9.24）新規繊毛ダイニン軽鎖 MOT7 の構造機能解析. 日本生物物理学会第 57 回年会（宮崎）
20. Raymond N. Burton-Smith, Jun Tsunoda, Yu Yamamori, Naoyuki Miyazaki, Fabiana L. Imai, Chihong Song, Kentaro Tomii, Kenji Iwasaki, Junichi Takagi, Hiroshi Ueno, Takeshi Murata, Ryota Iino, Kazuyoshi Murata（2019.9.24）The off-axis rotor of Enterococcus hirae V-type ATPase by Volta phase contrast cryo-EM. 日本生物物理学会第 57 回年会（宮崎）
21. Ryoka Ishiyama, Reiko Takai-Todaka, Kazuki Oikawa, Akira Nakanishi, Chihong Song, Kazuyoshi Murata, Kazuhiko Katayama（2019.10.29）Study of components of norovirus infectious particle for interior structure analysis. 第 67 回日本ウイルス学会学術集会（東京）
22. 村田 和義（2019.11.18）正二十面体巨大ウイルスの構造基盤と形態形成機構の解明. 第 2 回 ExCELLS シンポジウム（岡崎）
23. 富田 雅人，永谷 幸則，新井 善博，村田 和義，百生 敦（2019.11.26）フレネルゾーンプレートを用いた位相コントラスト STEM 法. 生理研研究会「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」～みんなのクライオ電顕～（岡崎）
24. Chihong Song, Reiko Todaka, Masaru Yokoyama, Naoyuki Miyazaki, Kenji Iwasaki, Kazuhiko Katayama and Kazuyoshi Murata（2019.11.26）Dynamic Structural Change of Norovirus Revealed by Cryo-electron Microscopy. 生理研研究会「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」～みんなのクライオ電顕～（岡崎）
25. 千原 あかね, ソン チホン, 岡本 健太, 武村 政春, 村田 和義（2019.11.26）トーキョーウイルスカプシドの構造解析. 生理研研究会「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」～みんなのクライオ電顕～（岡崎）
26. 渡邉 凌人，ソン チホン，香山 容子，武村 政春，村田 和義（2019.11.26）新規巨大ウイルス，メドゥーサウイルスの構造と成熟に関する研究. 生理研研究会「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」～みんなのクライオ電顕～（岡崎）
27. 香山 容子，ソン チホン, Ray Burton-Smith, 新井 善博，加藤 貴之，村田 和義（2019.11.26）サイドエントリーホルダによるクライオ電子顕微鏡高分解能単粒子解析の試み. 生理研研究会「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」～みんなのクライオ電顕～（岡崎）

《多光子顕微鏡室》

1. Hideji Murakoshi (2019.9.4) Optical manipulation and imaging of signaling molecules in dendritic spines of neurons. Current Trends and Future Directions of Synapse-Circuit Plasticity Research.（静岡）
2. 村越秀治 (2019.9.19) Optical manipulation and imaging of signaling molecules in dendritic spines of neurons. 第 60 回日本組織細胞化学会総会･学術集会（兵庫）
3. Hideji Murakoshi (2019.10.28) Optogenetic induction of synaptic plasticity at single synapses by photoactivatable CaMKII. Cold Spring Harbor Laboratory Meeting -CaMKII and its role as a self- tuning structural protein at the synapse.（New York）
4. Hideji Murakoshi (2019.12.6) Spatiotemporal manipulation and imaging of signaling molecules in neurons. The 50th NIPS International Symposium "MIRACLES in cardiovascular physiology".（愛知）
5. 村越秀治 (2019.12.11) シナプス内シグナル分子の光操作と分子活性イメージング. "Chemistry for

Neuroscience 2019" 研究会（静岡）

6. Hideji Murakoshi (2020.2.4) Optogenetic manipulation and imaging of signaling molecules in dendritic spines of neurons. UK-Japan Neuroscience Symposium.（Edinburgh）

《生体機能情報解析室》

1. Chikazoe J (2019.7.8) Object representations in the orbitofrontal cortex are sensitive to metabolic states. International Symposium on "Sensing food/nutrient/ environment toward integrative metabolic regulation" (Okazaki, Japan)
2. 近添淳一（2019.7.16) 脳局所の活動パターンに基づく全脳活動パターンの推定．生理研研究会「脳神経ダイナミクスの可視化と制御」（岡崎）
3. 近添淳一（2019.9.7）Whole-brain activity patterns decoded by regional fine-grained activity patterns. ヒト脳イメージング研究会（町田，東京）
4. Pham TQ, Chikazoe J, Yoshimoto T, Niwa H, Sadato N (2019.9.7) Novel insight into the neural basis of vision-value conversion in human brain. ヒト脳イメージング研究会（町田，東京）
5. Chikazoe J (2019.11.28) From object to value: Multivoxel pattern analysis reveals neural representations of the external environment in multiple domains. CiNet Seminar (Osaka, Japan)

《ウィルスベクター開発室》

1. Sano H, Kobayashi K, Kato S, Chiken S, Kobayashi K, Nambu A (2019.3.29) Physiological and anatomical organization of cortico-striatal inputs in the basal ganglia. The 9th FAOPS Congress (Kobe, Japan)
2. Daichi Hirai, Daisuke Miyamoto, Yasuhiro Oisi, Maya Odagawa, Chie Matsubara, Kanako Ueno, Kenta Kobayashi, Akiko Hayashi-Takagi, Masanori Murayama (2019.7.26) Dendritic mechanisms underlying perceptual memory consolidation during sleep. NEURO2019 (新潟)
3. Taisuke Kato, Yuka Koike, Sachiko Hirokawa, Kenta Kobayashi, Shoji Tsuji, Osamu Onodera (2019.7.26) Gene therapy for DRPLA model mice by AAV-delivered CRISPR / Cas9. NEURO2019 (新潟)
4. Masashi Fukutome, Tesshu Hori, Chisato Maejima, Kenta Kobayashi, Satoru Morito, Chieko Koike (2019.7.26) Differential infection pattern of AAVs in mouse retina. NEURO2019 (新潟)
5. Keisuke Ota, Yasuhiro Oisi, Takayuki Suzuki, Tsubasa Ito, Yoshiki Ito, Kenta Kobayashi, Midori Kobayashi, Maya Odagawa, Chie Matsubara, Junya Matsushita, Hiroyuki Hioki, Masamichi Ohkura, Junichi Nakai, Masafumi Oizumi, Atsushi Miyawaki, Toru Aonishi, Takahiro Ode, Masanori Murayama (2019.7.26) Identification of stimulus coding neurons using Cosmoscopy, a new wide-field two-photon microscopy. NEURO2019 (新潟)
6. Kaoru Isa, Thongchai Sooksawate, Sakura Ikeda, Kenta Kobayashi, Tadashi Isa (2019.7.27) Role of the pathway from deeper layer of superior colliculus to amygdala in control of defense-like responses. NEURO2019 (新潟)
7. Akimasa Ishida, Kenta Kobayashi, Yoshitomo Ueda, Takeshi Shimizu, Naoki Tajiri, Tadashi Isa, Hideki Hida (2019.7.27) Dynamic interaction between the cortico-rubral and the cortico-reticular tract in rehabilitation-induced functional recovery in internal capsule hemorrhage rats. NEURO2019 (新潟)
8. I. TERADA, K. KOBAYASHI, M. MATSUZAKI (2019.10.19) Neural dynamics in the mouse secondary and primary motor cortices during self-initiated and externally triggered movements. Neuroscience 2019 (Chicago, USA)
9. M. J. CASE, D. KLEINDIENST, K. KOBAYASHI, R. SHIGEMOTO (2019.10.20) Input-side dependent left-right asymmetry is critical for the formation of experience-dependent laterality in the hippocampus. Neuroscience

2019 (Chicago, USA)

10. M. FUKUTOME, T. HORI, C. MAEJIMA, H. MATSUSHIMA, K. KOBAYASHI, S. KITAZAWA, R. KITAHARA, K. KITANO, K. KOBAYASHI, S. MORITOH1, C. KOIKE (2019.10.22) Gene delivery to cone photoreceptors by subretinal injection of rAAV2/6 in the mouse retina. Neuroscience 2019 (Chicago, USA)
11. E. YOSHIDA, K. NAKAE, K. KOBAYASHI, S. ISHII, M. MATSUZAKI (2019.10.22) Value information that affects decision making is transmitted from the thalamus to the motor cortex. Neuroscience 2019 (Chicago, USA)

《遺伝子改変動物作製室》

1. 濱仲 早苗，後藤 哲平，平林 真澄，山口 智之，中内 啓光. (2019. 2. 16) 異種間キメラ動物における自己寛容破綻のメカニズムの解明．第 21 回日本異種移植研究会 (宜野湾)
2. 平林 真澄，後藤 哲平，三宝　誠，保地 眞一，中内 啓光，小林俊寛. (2019. 5. 15) Prdm14 遺伝子をノックアウトしたラット性腺の免疫組織学的解析. 第 66 回日本実験動物学会, (福岡)
3. 小林 俊寛，小林 久人，後藤 哲平，及川 真実，三宝 誠，中内 啓光，栗本 一基，平林 真澄. (2019. 5. 15) Prdm14 遺伝子座に H2BVeunus をノックインしたラットにおける始原生殖細胞発生の解析. 第 66 回日本実験動物学会 (福岡)
4. 中山 研祐, 山中 貴寛, 平林 真澄, 保地 眞一. (2019. 5. 15) ラット膵島のガラス化保存におけるカルボキシル化ポリ-L-リジンの凍害保護効果．第 66 回日本実験動物学会 (福岡)
5. Kobayashi T. (2019. 5. 31) Rabbit and porcine pluripotent stem cells. Cambridge-IMSUT mini-symposium (Tokyo)
6. Kobayashi T. (2019 7. 5) Generation of organs from pluripotent stem cells via blastocyst complementation. Korea-Yonsei-NIPS International Joint Symposium, (Seoul)
7. Yamanaka T, Nakayama K, Negishi J, Hirabayashi M, Hochi S. (2019. 7. 22) Size effect of rat pancreatic islets on cryotolerance and euglycemia post-transplantation. The 56th annual meeting of the society for cryobiology. (San Diego)
8. 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，東村 博子，上野山 賀久. (2019. 9. 3) 弓状核特異的 Kiss1 コンディショナルノックアウトラットを用いた GnRH パルスジェネレーターの同定．第 112 回日本繁殖生物学会, (札幌)
9. 佐藤 真梨萌，美辺 詩織，渡辺 雄貴，後藤 哲平，三宝 誠，平林 真澄，真方 文絵，東村 博子，松田二子. (2019. 9. 3) 低栄養による性腺刺激ホルモン分泌の抑制を担う神経伝達経路とグルコースセンサーの同定．第 112 回日本繁殖生物学会 (札幌)
10. 知念 照一朗，山中 貴寛，中山 研祐，平林 真澄，保地 眞一. (2019. 9. 3) ウシ成熟未受精卵のガラス化保存 : ナイロンメッシュデバイスの孔径，ならびに回復培養液中のレスベラトロールの影響．第 112 回日本繁殖生物学会 (札幌)
11. 中山 研祐，知念 照一朗，手島 淳輝，玉田 靖，平林 真澄，保地 眞一. (2019. 9. 4) ウシ成熟未受精卵子用の新規ガラス化デバイス, シルクフィブロインシート．第 112 回日本繁殖生物学会 (札幌)
12. 平林 真澄，後藤 哲平，三宝　誠，保地 眞一，中内 啓光，小林 俊寛. (2019. 9. 5) Prdm14 遺伝子ノックアウトによる生殖細胞欠損ラットの作製とその応用．第 112 回日本繁殖生物学会 (札幌)
13. 小林 俊寛. (2019. 9. 13) 胚発生過程を利用した目的臓器の再生．第 90 回日本動物学会 (大阪)
14. 小林 俊寛. (2019. 9. 20) 哺乳類の生殖細胞成立機構における保存性と多様性. 中部幹細胞クラブシンポジウム 2019 (名古屋)
15. Tarusawa E, Sanbo M, Hirabayashi M, Yagi T, Yoshimura Y. (2019. 10. 22) Establishment of clustered protocadherin-regulated high reciprocal connectivity between clonal cortical neurons requires sensory experience in mouse barrel cortex. The 49th annual meeting of Society for Neuroscience (Chicago)
16. 佐藤 真梨萌，美辺 詩織，渡辺 雄貴，後藤 哲平，三宝 誠，平林 真澄，井上 直子，上野山 賀久，真

方 文絵，東村 博子，松田 二子. (2019. 10. 25) 第 4 脳室の上衣細胞は視床下部と脳幹の神経細胞を介して低栄養時の生理機能を制御する．第 46 回日本神経内分泌学会 (東京)

17. 越間 萌花，山川 三穂，梶谷 尚世，香月 加奈子，岡 愛美，高山 悠，押村 光雄，平林 真澄，香月 康宏. (2019. 12. 3) ヒト/マウス人工染色体技術応用（10）：新規ダウン症候群モデルラットの作製．第 42 回日本分子生物学会年会 (福岡)
18. 阿部 智志，小林 カオル，平林 真澄，梶谷 尚世，香月 加奈子，久世 治朗，佐久間 哲史，金子 武人，真下 知士, 藤原 亮一, 墳崎 靖子, 千田 直人, 山本 卓，押村 光雄，香月 康宏. (2019. 12. 3) ヒト/マウス人工染色体技術応用（14）：ヒト薬物代謝予測のためのヒト化 UGT2 および CYP3A トランスクロモソミックラットの作製．第 42 回日本分子生物学会年会 (福岡)
19. 本間 貴裕，平山 晃斉，三宝 誠，平林 真澄，八木 健. (2019. 12. 5) 嗅神経回路形成におけるクラスター型プロトカドヘリンの機能解析．第 42 回日本分子生物学会年会 (福岡)

《動物資源共同利用研究センター》

1. Yeh H.-Y., Wang C.-C., Chi H.-H., Lee J.-C., Agetsuma M., Nabekura J. (2019.3) Visualizing the Interaction of Immune Cells and Peripheral Sensory Fibers in Mice Neuropathic Model. The 96th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan (Kobe)
2. 浦野　徹（2019.7）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第１回教育講習会（2019 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）
3. 浦野　徹（2019.9）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第２回教育講習会（2019 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（大阪）
4. 浦野　徹（2019.10）動物愛護管理法の改正，実験動物協同組合教育セミナー（東京）
5. 窪田美津子，廣江猛，神谷絵美，山中緑，伊藤昭光，王振吉，浦野徹（2019.10）動物実験施設の改修･増築について−移転準備作業と設計プラン−。第 53 回実験動物技術者協会総会（松山）
6. 廣江猛，窪田美津子，神谷絵美，山中緑，伊藤昭光，王振吉，浦野徹（2019.10）動物実験施設の改修･増築工事着工までの道のりと問題点。第 53 回実験動物技術者協会総会（松山）
7. 浦野　徹（2019.11）動物愛護管理法改正について，第 37 回九州実験動物研究会･第 39 回日本実験動物技術者協会九州支部研究発表会（久留米）
8. 浦野　徹（2019.11）動物愛護管理法改正及び外部検証について，日本実験動物学会維持会員懇談会（東京）
9. 浦野　徹（2019.11）動物愛護管理法見直しの現状分析と今後の方向性，実験動物関係教職員高度技術研修 2019，岡山大学自然生命科学研究支援センター･熊本大学生命資源研究支援センター主催（岡山）
10. 浦野　徹（2019.11）実験動物と動物実験に関わる法律等の改正が我が国の科学技術戦略に及ぼす影響，動物資源共同利用研究センター主催セミナー（岡崎）
11. 浦野　徹（2020.1）なぜ大学等で動物実験に関する外部検証を受けなければならないのか？，動物実験の外部検証･2020 年度の実施準備に向けた事前説明会，公益社団法人日本実験動物学会主催，文部科学省後援（東京）

【一般共同研究報告】

一般共同研究報告

〔 目　　次 〕

1.　心筋イオンチャネルの動作機構の解明 134
2.　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 134
3.　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 135
4.　細胞境界の湾曲構造形成のメカニズムの解明 136
5.　温度環境によって性が決まる爬虫類の温度受容機構解明 137
6.　体温センサーTRP チャネルによる代謝制御機構の解明 137
7.　蚊の唾液の鎮痛効果に関する研究 138
8.　昆虫からみた種間・種内相互関係を支える化学感覚受容体ないしチャンネル分子の探索 139
9.　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 139
10.　マウス心筋前駆細胞 ACMs の起源および生理的意義の解明 140
11.　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 140
12.　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 141
13.　皮質興奮性神経細胞サブタイプと分化時期の関係解析 142
14.　大脳皮質神経細胞の多様性とその機能 142
15.　海馬抑制性神経細胞の入力コネクトーム解析 143
16.　視線制御に関与するニューロン・神経回路特性 144
17.　細胞系譜依存的双方向性シナプス結合形成メカニズムの解明 144
18.　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 145
19.　サル局所電場電位の計算論的解析法による学習メカニズムの解明 145
20.　グリピカン（GPC）5 の細胞内機能解析 146
21.　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 147
22.　辺縁皮質刺激に応答する大脳基底核ニューロンの病態生理 147
23.　不随意運動発生のメカニズムの解析 148
24.　チック症の病態メカニズム解析 148
25.　神経麻痺性角膜症に対する TRPA1 を標的とした治療 149
26.　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 150
27.　前頭皮質 6 層錐体細胞のシナプス結合に関する電子顕微鏡による解析 150
28.　大脳皮質運動野における視床投射神経終末の標的神経構造の電顕による解析 151
29.　新規蚊媒介性ウイルスの三次元構造解析 151
30.　真核生物の繊毛構築のための輸送機構の構造学的解明 152
31.　イネ萎縮ウイルス（RDV）の構造構築機構の解明 152
32.　アルギン酸ゲル包埋したラット膵島のガラス化保存と糖尿病モデルへの移植 153
33.　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 154
34.　ラット・ウサギの発生エピゲノム比較解析 154
35.　ノロウイルスの高分解能構造解析 155
36.　タイトジャンクション分子の局在と機能の解析 156
37.　統合失調症モデルマウスの脳波ダイナミクス解析手法の開発（随時募集課題） 156

1. 心筋イオンチャネルの動作機構の解明

松村一輝，大澤匡範（慶應義塾大学薬学部）
下村拓史，久保義弘（生理学研究所）

ヒト心臓に発現する電位依存性 K^+イオンチャネル hERG は膜電位に応じて構造変化し，K^+の膜透過を制御することで，心臓の正常な機能に関わる。これまでに，膜電位のない状態での hERG の活性化状態の立体構造は報告されているが，膜電位存在下で生じる hERG の静止状態の立体構造は明らかとなっておらず，hERG の機能発現機構は不明である。そこで本研究では hERG の静止状態における電位センサードメイン（VSD）に結合し，hERG を阻害する gating modifier toxin（GMT）を利用して，hERG の機能および構造解析を行うことで，hERG の静止状態の構造を明らかにし，動作機構を解明することを目的とする。

我々はこれまでに，大腸菌を用いた組換えタンパク質発現系を利用し，この GMT の大量調製法を確立することに成功している。そこで，この GMT の 1 残基を他のアミノ酸に置換した変異体 15 種を調製し, GMT の hERG 阻害に関わるアミノ酸残基を同定することを目指した。hERG を安定発現したヒト胎児腎臓由来細胞株 HEK293 を用いたパッチクランプ法により, GMT の変異体添加時の hERG 電流を測定した。その結果，変異体 15 種のうち，4 種で hERG 阻害活性が有意に減少した。これらの変異体 4 種の変異導入したアミノ酸残基は，この GMT の分子表面上で局在しており，hERG 阻害に関わることが示唆された。

そこで，本共同研究では，hERG 変異体に対する GMT の阻害活性を電気生理学的に解析し, GMT の hERG の静止状態安定化による阻害メカニズムを明らかにすることを目指した。アフリカツメガエルの卵母細胞に hERG 野生型および，その変異体 21 種を発現させ，二本刺し膜電位固定法を行い, GMT の添加前後で hERG 電流を測定した。その結果，hERG 変異体 21 種のうち，5 種で GMT の阻害活性が有意に減少した。hERG 阻害活性が減少した変異部位は，既知の hERG 活性化状態の構造上では互いに離れた位置に存在した。これらのアミノ酸残基は hERG の静止状態で近づき，GMT の結合部位を形成することが示唆された。そこで現在，ペプチド性毒素が結合した hERG 静止状態の構造を明らかにすることを目指し，クライオ電子顕微鏡を用いた単粒子解析により複合体の構造決定に取り組んでいる。

2. 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には, Na チャネル毒と K チャネル毒があり，いずれも他の生物毒にはない特異な作用機構を有することから，貴重な薬理学的試薬や，多発性硬化症の治療薬（カリブ海産イソギンチャク由来の K チャネル毒 Sh K）として有効利用されている。その一方で，代表者はこれまでに，従来の分類には当てはまらない一次構造を有した新規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，単離した新規ペプチド毒の有効利用を目的として，それらの作用機構の解明を行っている。

本年度は，サワガニに麻痺活性を示したヒダベリイソギンチャク *Metridium* sp.由来の Toxin I とムラサキハナギンチャク由来の Cf I を二本刺し膜電位固定法による電気生理学的解析に供して，作用機構の解明を試みた。

Toxin I では，アフリカツメガエルの卵母細胞に発現させた Kv1.1, Kv1.2, Kv1.3, Kv1.4, Kv1.5, Kv2.1, Kv3.4, hERG, Kir2.1 への作用を解析したが，いずれのチャネルにも明確な阻害効果は認められなかった。陽性対象とした Sh K の合成品は既報の通り, Kv1.3 チャネルを阻害した。Toxin I は，80 年代にヒダベリイソギンチャク *Metridium senile*

から溶血毒として単離された metridin とほぼ同じ一次構造を有している（以下，図参照）。Metridin はその後の詳細な研究は行われず，溶血活性しか知られていないが，90 年代に単離された先述の Sh K と相同性を示しており，またイソギンチャクの K チャネル毒に共通して保存されている＊で示した残基の多くを保存している。しかしながら，その一部には変異が見られ，なかでも Kv1 チャネルとの結合に特に重要と考えられている四角く囲んだ KY の 2 残基が，Toxin I では KV となっており，イソギンチャクの標準的な K チャネル毒とは明らかに系統が異なっている。Toxin I が作用するチャネルは現時点では不明であるが，サワガニで観察された症状は，イソギンチャクの K チャネル毒での症状に類似しており，イオンチャネル毒と推定される。今後は作用するチャネルを特定するとともに，Sh K との構造活性相関も検討したい。

一方，ムラサキハナギンチャク由来の Cf I は，様々な生物から単離されている増殖因子 granulin と相同性が高い新規ペプチド毒で，今回はイソギンチャクの K チャネル毒の主要なターゲットである Kv1.2, Kv3.4 への作用を解析したが，阻害能を示さなかった。Cf I は，その新規性の高い配列から，イオンチャネル以外の神経部位に作用している可能性が高いことから，別の手法による解析を模索している。

Toxin Iと一致したアミノ酸残基には網掛けをし、Cys残基は黒地に白文字で示した。またイソギンチャクのKチャネル毒として保存されているアミノ酸残基には＊を付し、毒性の発現に特に重要と考えられている残基は四角く囲った。

図　Toxin IとMetridin, ShKとのアミノ酸配列の相同性

3. 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，西川　翔，堀　翔悟（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温度感知機能が変化したかを明らかにする。これまでの解析により，水中生活する魚類の TRPA1 と TRPV1 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 ではなく TRPV1 が水温適応に機能していると予想し，昨年アホロートル TRPV1 を単離し解析を行った。結果，約 31℃に明確な閾値をもつ顕著な高温応答性を示した。よって，TRPV1 についても有尾両生類から陸上動物型の閾値センサーに変化したと考えられ，又，その閾値温度は，アホロートルの低温適応性や高温忌避によく一致すると期待された。そこで，今年度は，アホロートルの実際の高温忌避行動，更に他の有尾両生類との応答の比較を行った。また，どの動物から侵害刺激センサーが高温閾値を持つ陸上動物型になったのか，今年度は肺魚に注目して研究を行った。

まず有尾両生類の高温忌避行動の解析では，低温適応しているアホロートルは，25℃の水温には応答がないが 33℃で顕著に活動度が上昇し忌避行動を示し，TRPV1 の高温閾値と極めてよく一致した。そこで更に，比較的高温を好むとされ 15℃−28℃で飼育されるイベリアトゲイモリを解析した。すると，33℃の水温でも忌避応答はな

く，39℃で活動度が上昇した。よって，TRPV1 の高温活性化閾値は，有尾両生類の生息地での温度適応に強く関わっていると考えられ，今後はイベリアトゲイモリ TRPV1 の解析も進めていきたい。

肺・肉鰭といった四肢動物の特徴を持ち，系統的には魚類と陸上動物の中間的な位置を占める肺魚に注目し，プロトプテルス･アネクテンス（Pa）を研究材料に TRPV1 の cDNA クローニングを試みた。ゲノム情報が取得出来なかった為，魚類の TRPV1 群の比較から種を越えて保存されたアミノ酸配列（AACTNQ，FTIGMGD）に対応した混合縮合プライマーを合成し，肺魚の脳の RNA を用いて RT-PCR を行った。結果，PaTRPV1 部分配列の増幅に成功し，これを基に Race 法により全長配列を決定した。すると，PaTRPV1 には N 端の長さの異なる二種のスプライス変異体が存在することが判明した。今後，これらの機能解析を進めていく。

4. 細胞境界の湾曲構造形成のメカニズムの解明

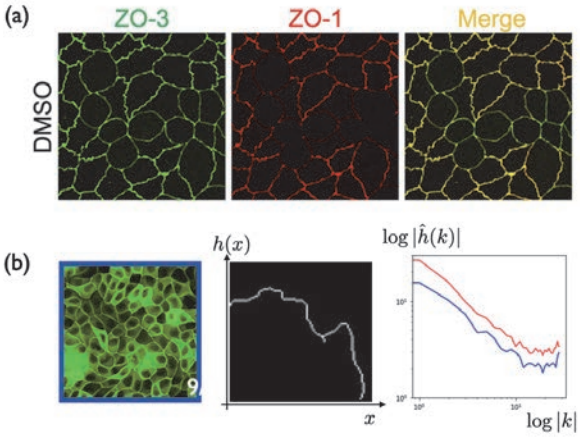
三浦　岳，杉原　圭（九州大学大学院医学研究院）
古瀬幹夫（生理学研究所）

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，細胞接着装置に特長的な湾曲が見られることがある（図(a), Tokuda 2014）。このような湾曲構造は上皮を貸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形成機構を解明することを目的とする。

本研究ではまず, 古瀬研究室で所有する ZO1-GFP を発現する MDCK 細胞株および免疫染色法を用いて, 湾曲構造形成の経時観察を行った。細胞接着装置を認識する抗体は若干染色プロトコルが特殊なため，技術習得のために古瀬研究室を訪問した。また，湾曲を引き起こす直接的な細胞骨格成分を免疫染色や EGFP 融合蛋白等で検出し，湾曲形成を引き起こす生物学的なメカニズムは細胞骨格による能動的な牽引や圧迫であることを推定した。

次に，前節で推定したメカニズムで形態形成が引き起こせるか確認するために数理モデル化を行い，数理モデルのダイナミクスと実際の経時観察結果を画像処理技術で定量的に比較することでモデル間の検証を行った。具体的には, 境界形状 $h(x)$ をフーリエ変換すると，各周波数の振幅 $h(k)$ が波数 k に反比例する結果が得られた（図(b)）。この周波数特性は，(1)細胞が確率的な入力で湾曲を形成しつつ，(2)細胞境界をできるだけ短くしようとするというモデルで再現できた。現在，細胞境界部分の物理的特性を計測して(1), (2) のパラメータを推定する試みを行なっている。

さらに，培養細胞で観察されるダイナミックな湾曲構造形成が生体内でも観察できるかどうか，基礎生物学研究所藤森研究室の所持する細胞境界可視化遺伝子改変マウス（R26-ZO1GFP）を用いてライブイメージングを行なった。現在の培養条件では細胞接着装置の構造がうまく維持できず分解されてしまうことが分かったため，引き続き条件検討を行っている。



5. 温度環境によって性が決まる爬虫類の温度受容機構解明

赤司寛志，宮川信一（東京理科大学 基礎工学部 生物工学科）

ワニやカメ類を含む爬虫類の性決定は温度環境に依存する。温度依存性分化のトリガーを明らかにすることは，その下流の細胞内イベントがどのように誘導されるかを理解するうえで大切である。本研究は，温度感受性 TRP チャネルに着目し，クサガメの生殖腺において特に発現量の高い TRPV4 及び TRPM8 の活性化温度域の測定，さらに各 TRP チャネル特異的なアゴニスト，アンタゴニストの卵へ添加実験による性転換確認実験から，TRPM8 及び TRPV4 の性決定への寄与を明らかにすることを目的とする。本年度は，①卵への薬剤添加実験を東京理科大学で行ない，②添加した薬剤の TRP チャネルに対する特異性確認実験や活性化温度域の測定を受入研究者である富永教授の研究室で行なった。

まず，クサガメ（*Mauremys reevesii*）卵への薬剤添加実験を実施した。WS12 と GSK1016790A はそれぞれ TRPM8 と TRPV4 のアゴニスト，AMTB と RN1734 はそれぞれ TRPM8 と TRPV4 のアンタゴニストとして報告されている。これらの薬剤をクサガメ卵に塗布し，組織学的手法及び遺伝子マーカーを用いた qPCR により性判別を実施した。WS12 及び RN を塗布した卵において，薬剤の溶媒である 100% EtOH を塗布したコントロール条件の卵に比べ，メスマーカー遺伝子の発現が有意に低下していた。したがって，MrTRPM8 及び MrTRPV4 の活性はメスマーカー遺伝子の発現を調節する可能性が考えられ，温度依存的に性が決定する機構を司るかもしれない。このことから，MrTRPM8 及び MrTRPV4 において，温度応答性や薬剤応答性を明らかにする必要がある。

そこで，本年度は，*in vitro* における MrTRPM8 および MrTRPV4 の生理学的解析を行なった。具体的には，HEK293 細胞を用いた電気生理学的解析（ホールセル・パッチクランプ法）によって，MrTRPM8 及び MrTRPV4 の活性化温度域と薬剤応答性を解析した。その結果，クサガメにおいても，WS12 と GSK はそれぞれ MrTRPM8 と MrTRPV4 を活性化し，AMTB は MrTRPM8 を阻害することを明らかにした。MrTRPM8 と MrTRPV4 の温度応答性，そして MrTRPV4 の WS12 に対する応答は確認中である。各 TRP を発現している細胞膜の安定性が熱刺激によって崩れているなどの可能性が考えられ，電気生理学的に安定した応答が計測できていない。過去にワニの TRPV4 についてホールセル・パッチクランプ法を試みた際にも同様の傾向が観察されたとの報告もある（未発表）。今後，*Xenopus* 卵母細胞を用いた二電極膜電位固定法を用いるなど，計測方法を変えることで，MrTRPM8 と MrTRPV4 の温度応答性や MrTRPV4 の WS12 に対する応答を明確にすることができるだろう。

6. 体温センサーTRP チャネルによる代謝制御機構の解明

加塩麻紀子（愛知医科大学・生理学講座）

TRPM2 は温度感受性を有する非選択性カチオンチャネルである。我々は，その体温下活性が細胞内の代謝状態を反映するレドックスシグナルにより調節されることを報告した。さらにその後，TRPM2 の体温調節における役割が報告され，TRPM2 と代謝との関連が強く示唆されている。同様に代謝調節に重要な働きを持つサーチュイン 1（SIRT1）は酵素活性に伴い TRPM2 の内因性リガンド O-acetyl-adenosine diphosphoribose（OAADPR）を産生することから，本研究では TRPM2 と SIRT1 の機能連関に注目して研究を遂行した。

TRPM2/SIRT1 共発現細胞を用いたホールセル電流測定により SIRT1 活性化剤（SRT1720）処置による TRPM2 活性化電流が認められ，共免疫沈降実験により TRPM2/SIRT1 間の物理的相互作用がプロテインキナーゼ C（PKC）活性

化剤（PMA）処置により増強することを明らかとなった。また，OAADPR と構造が類似する TRPM2 の内因性リガンド adenosine diphosphoribose（ADPR）による TRPM2 活性化電流も PMA 処置により有意に増加した。Phos-tag SDS-PAGE 法を用いたリン酸化タンパク検出により，TRPM2 のリン酸化部位として ADPR 結合部位の近傍に位置するスレオニン残基が候補として同定された。以上の結果より，PKC による TRPM2 のリン酸化は TRPM2/SIRT1 の物理的相互作用と OAADPR に対する感受性の増強の両者を介して，TRPM2/SIRT1 機能カップリングを効率化していることが示唆された。

本研究結果は，TRPM2 のリン酸化の生理的意義を示すとともに，代謝の異常が起因となる生活習慣病等の疾患に対し，TRPM2/SIRT1 をターゲットとした薬物治療の可能性を示唆するものである。

7. 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）
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である TRPV1，TRPA1 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。

昨年度に引き続き，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。サンプル溶液の作成は関西大学にて，大日本除虫菊株式会社より提供された蚊を使用して行った。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。これを用いて TRPV1 に対する唾液の抑制効果を確認した。

本年度はさらに TRPA1 についても蚊の唾液の抑制効果があることが確認できた。さらに高温によりこの効果が消失することにより，蚊の唾液に含まれる鎮痛成分がペプチドであることが確認できた。

また，節足動物である蚊ではなく，哺乳類の唾液にもこのような鎮痛効果があるのではないかと考え，このことをマウスの唾液を用いて確認することに成功した。さらに TRPV1, TRPA1 から先に連なる神経結節である DRG をマウスから取り出し，それに対する蚊の唾液の効果についても検討した。結果として，わずかな抑制が確認できたものの有意な程度ではなく，このさらなる確認は来年度以降の検討課題としたい。

最後に，カプサイシン，カプサイシンと唾液，AITC（ワサビの成分），AITC と唾液をマウスの後足に投与して，痛みに伴う足なめ動作の頻度を確認する行動実験を行った。これより頻度は唾液の投与により有意に低下することが確認できた。これは，人間をはじめとして動物が傷をなめることで痛みを低減することを意図しているという仮説と矛盾しない。来年度以降，この仮説についてさらに検証をしたい。また，昨年度蚊の唾液の中の TRP チャネルの活動を抑制する候補物質を選定したが，来年度以降は，これ以外の物質の探索も行いたい。

8. 昆虫からみた種間・種内相互関係を支える化学感覚受容体ないしチャンネル分子の探索

尾﨑まみこ（国立大学法人 神戸大学）

昆虫からみた種間・種内相互関係，特に１）「昆虫-植物間の化学防除戦略の攻防」と，２）「社会性昆虫の種間・種内・カースト内外の化学コミュニケーション」に注目した。１）の鍵となる，イソチオシアネートなどの二次代謝物と，２）の鍵となる，雄アリ物質を，TRPA1 チャンネル分子を発現させた培養細胞に投与して活性を調べることで，１）２）それぞれの分子的基礎研究の展開を目的として共同研究を実施した。

１）「昆虫-植物間の化学防除の攻防」

アブラナ科のモデル植物，シロイヌナズナ *Arabidopsis thaliana* は幼体に特殊な化学防除システムを発達させている。小胞体に由来する ER ボディと呼ばれる細胞内小器官に特有のβグルコシダーゼを格納し，液胞に基質となるグルコシノレートが溜めている。食害されて両者が混ざり合うとイソチオシアネートが生じる。私たちは，この生成物が味覚と嗅覚を通じてハエの食欲を減退させることを明らかにした。今回は，この時に生じる主要なイソチオシアネートであるエルシンを使って，キイロショウジョウバエ *Drosophila melanogaster* の TRPA1 チャネルの活性化を確認できた。この結果から，ハエの味神経ないし嗅神経においてイソチアネートにより TRPA1 が活性化されることで“不味い信号”が脳に送られると予想された。

２）「社会性 昆虫の種間・種内・カースト内外の化学コミュニケーション」

クロオオアリ *Camponotus japonicus* は，年に一度，初夏に結婚飛行を行う。その時には一帯の巣穴から，同期して雌雄の有翅虫が飛び立ち空中で集合し交尾するといわれている。私たちは，雄アリの頭部に多く含まれる匂い物質を抽出し，6-メチルサリチル酸メチルとアントラニル酸メチルの 2 成分を同定した。雄アリ，働きアリ，女王アリ，いずれの触角においても，これらの物質とその混合物に対する応答がみられたので，これらの物質は同種の各カーストに作用するフェロモンとして働くと考えられた。さらに，結婚飛行時に有翅虫の捕食者となりうるスズメを餌付けしてこれらの物質を塗った米粒を与えて調べてみると，有意に食欲が抑えられた。そこで，これら雄物質を使って，トリの TRPA1 チャネルの活性を調べたところ，用量依存的な活性化が見られた。一方，クロオオアリの TRPA1 は活性化されることはなかった。この結果から，これらの雄物質がトリの TRPA1 を活性化することによって，味神経ないし嗅神経を介し“不味い信号”が引き起こされることが示唆された。

9. 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）
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。

TRPM5 チャネルを HEK293T 細胞に強制発現させ，電気生理学的解析を行った。その結果，TRPM5 チャネルは負の膜電位において速い不活性化（~20 ms）が観察された。この電位依存的不活性化は膜貫通領域（TM）チャネルのポアを形成する TM5 と TM6 の間の pore helix 領域のアミノ酸をアラニンに置換すると有意に遅くなった。

TRPM5 チャネルは 35 度以上の温度刺激によって不可逆的な不活性化がおこるが，このメカニズムを検討するために以下の実験を行った。１）EGFP タグを付加した

TRPM5 を HEK293T 細胞に強制発現温度を室温から 45 度以上まで上昇させても TRPM5 チャネルの局在に変化はみられなかったことから，膜局在変化によって不活性化が起こる可能性は低いと考えられた。２）電位依存的不活性化に関与する pore helix のアミノ酸をアラニンに置換した変異体の温度依存性を観察した結果，これら変異体においても野生型と同様の温度依存的活性化並びに不活性化が観察された。この結果より，電位依存的不活性化 TRPM5 の温度依存的不活性化と電位依存的不活性化のメカニズムは異なることが示唆された。

精製した TRPM5 チャネルを人工的に調製した脂質二重膜に再構成し，電気生理学的解析を行った。温度依存的活性化並びに不活性化は人工再構成系でも観察された。今後，膜脂質と温度依存的活性化，不活性化との関連を検討する予定である。

10. 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）

哺乳類の心臓には，心筋細胞以外にも，内皮細胞，血管平滑筋細胞，心筋幹細胞あるいは前駆細胞に分類される種々の幹細胞など, 多くの種類の細胞が存在しており，マウスでは心臓を構成する全細胞における心筋細胞の割合は約 56%とされている。心臓内での心筋細胞の再生現象は，その速度や割合が非常に低いため，一度死滅した心筋組織が再生・修復されることはない。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あるいは未熟な心筋細胞の一種であると考えられた。ACMs は心室組織から単離されるにも関わらず，成体の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（pANP-GFP）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 pANP-GFP 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 pcTnT-GFP ベクターを作製した。pANP-GFP マウスの心臓から ACMs を調製したところ，拍動する細胞は, GFP と ANP を共発現していることが確認できた。pANP-GFP マウスの心臓を固定して得られた心房組織切片を蛍光顕微鏡を用いて観察すると，GFP 陽性細胞のみが ANP を発現していたことから，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，GFP シグナルを ACMs の細胞マーカーとして用いて心室組織内での分布を調べたところ，ACMs は心室筋の間隙に瀰漫性に存在していることが明らかになった。

11. 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（熊本大学大学院 生命科学研究部（薬学系）薬剤学分野）
野崎大翔（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（HAS）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。

マウスに Dox を週 3 回の頻度で腹腔内投与したところ，Dox 投与 4 週間後において，心筋萎縮の指標である心重量の低下や間質の線維化が観察されたことから，Dox 誘発心筋症を呈していることが確かめられた。本心筋症マウスに対して，病態形成が認められた Dox 投与 2 週後から，HSA-Trx を週 3 回の頻度で 2 週間に渡り静脈内投与したところ，病態群で観察された心重量の低下，間質の線維化や心筋障害マーカーの上昇が抑制され，心不全病態が改善していた。

Dox 誘発心筋症群で観察された心筋組織中の酸化ストレス（8-OhdG）や炎症性サイトカイン（IL-6, TNF-α）の増加は HSA-Trx 投与により抑制された。また，病態群で観察された心筋萎縮因子（Atrogin-1, Myostatin）の発現増大は HSA-Trx 投与により有意に抑制された。その際，病態群では心臓中の内因性 Trx の発現低下や MIF の発現亢進が認められたが，これらの変化は HSA-Trx の投与により健常レベルまで回復していた。加えて，心筋組織にけるマクロファージ M2 マーカーが HSA-Trx 投与により増加していた。従って，内因性 Trx の維持や MIF の発現抑制，並びにマクロファージの M2 化が病態改善に一部寄与する可能性が示された。ラット初代心筋細胞を用いた検討から，Dox（3 μM）添加後の心筋細胞萎縮や細胞内 ROS 産生の亢進は，HSA-Trx 投与により抑制された。

本研究では，HSA-Trx の抗酸化・抗炎症作用により，薬剤性心不全マウスの病態を改善することを実証した。

12. 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，村田航志（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・記憶の素過程であるシナプス可塑性現象に密接に関与している。申請者らはシナプス内 AMPAR 分布がシナプス結合の種類に応じて，均一分布とモザイク分布のどちらかの様式に分けられることを見出した（Fukazawa & Shigemoto 2012）。AMPAR のモザイク分布様式は，可塑性を示すことが生理学的解析で明らかになっている海馬や小脳皮質，大脳皮質のシナプスに見られたことから，AMPAR のシナプス内分布がシナプス可塑性やその起こりやすさを意味するメタ可塑性と密接に関係していることが予想された。そこで本研究では，AMPAR のシナプス内分布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を生理学研究所の種々の研究リソースを活用して明らかにすることを目的とした。

本年度は，シナプス可塑性異常を示す CaMKIIα 遺伝子の点突然変異マウス（神経シグナル研究部門・山肩葉子博士）や自閉症症状を呈する Neuroligin3（NLG3）点突然変異導入マウス（自閉症モデルマウス），及び，NLG3 遺伝子欠損マウス（信州大学・田淵克彦博士）の海馬 CA1 領域内シナプスの超微形態と AMPAR 発現を解析した。シナプスの構造解析は，収束イオンビーム搭載走査型電子顕微鏡（名古屋大学医学部）により撮影した連続電顕像からシナプス結合まるごとを三次元再構築する手法を確立し用いた。AMPAR のシナプス内発現解析は凍結割断レプリカ免疫標識法（SDS-FRL）を用いた。

現時点で研究目的に対する最終的な結論は得られていないが，三次元再構築によるシナプス結合前後全体の微細構造計測が新奇のシナプス構造異常を検出できることや微細構造計測情報と受容体標識密度情報とを統合することで，生体内で起きているシナプス伝達の機能的側面を推測する基盤が形成できた。今後は AMPAR のシナプス内発現解析を進めると共に，更に多くの可塑性異常マウスを解析し，AMPAR のシナプス内分布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を明らかにする予定である。

13. 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）

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に由来し，そのサブタイプ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，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の少なくとも２つがあることが知られている。しかし，これら２つの様式がニューロンのサブタイプ決定にどう関連するかは未解明である。本研究では，２つの様式から生まれる興奮性ニューロンを分化時期依存的に標識し，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。前年度までに *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 G2A と Ai14 レポーターマウスを交配し，これにタモキシフェンとチミジンアナログの EdU を投与することで，分化時期依存的に直接・間接分化ニューロンを標識する条件を決定した。本年度はこれを用いて，まず深層浅層におけるそれぞれの分化ニューロンの割合を比較した。すると，いずれの層のニューロン産生にも間接分化が関わるが，その割合は深層ニューロンの方が有意に高いことがわかった。一方，同一時期に標識された直接・間接分化ニューロンのサブタイプマーカーの発現に大きな差は見られなかった。さらに，間接分化を介して生じる娘ニューロン間の関係を調べるため，G2A マウスを MADM レポーターマウスと交配し，１つの中間神経前駆細胞から生じる姉妹ニューロンを調べた。深層ニューロンが生じる時期にタモキシフェンを投与し緑と赤の蛍光タンパク質でそれぞれ標識された娘細胞を解析すると，娘細胞の数は主として２つであること，これらペア間の初期投射やサブタイプマーカーはほぼ共通していることがわかった。以上のことから，間接分化様式は，深層ニューロンの産生に大きく寄与していること，さらに，分化様式が各層の皮質興奮性ニューロンの特定のサブタイプ数を制御するのに重要な役割を果たしていることが考えられた。

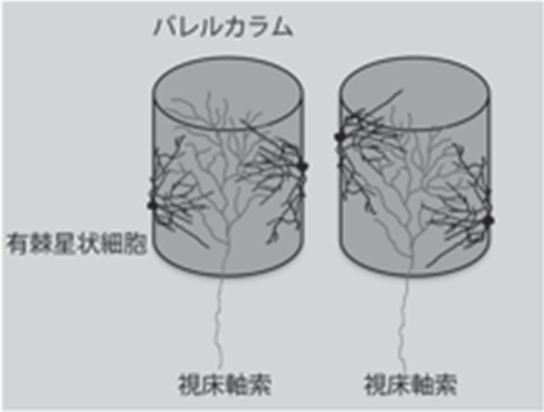
14. 大脳皮質神経細胞の多様性とその機能

下郡智美（理化学研究所 脳神経科学研究センター）
吉村由美子（視覚情報処理研究部門）

大脳皮質興奮性神経細胞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。しかし，興奮性神経細胞には多様性が存在するにもかかわらず，どのような機能の違いがあるのか明らかにされていない点が多い。このことからマウス大脳皮質体性感覚野に存在する２種類の形態の異なる神経細胞を用いて機能の違いを明らかにする目的で共同研究を行った。

マウス大脳皮質体性感覚野にはバレル皮質と呼ばれる特徴的な構造を持った神経回路が存在する。マウスやラットはヒゲを使った触覚情報を多く活用して生活しているため体性感覚野にヒゲと同じパターンの構造を持つ神経回路が存在する。これは１本のヒゲからの入力が脳幹，視床と中継された後，大脳皮質の第４層に投射され，その周りに細胞が取り囲むように集まり，筒状のクラスター（バレルカラム）を作ることから形成される構造である。これは視床の後腹側核からそれぞれのヒゲからの入力を担う視床軸索の束がヒゲの位置関係を保ったまま大脳皮質に投射し，その入力の多い方に皮質神経細胞（spiny stellate 細胞 : 有棘星状細胞）が樹状突起を向けた方向性を持つ。一方で，カラムとカラムの間の隙間には典型的な形態を持つ錐体細胞が位置しており，これらの錐体細胞は後腹側核からの入力を受けず，視床後核群の神経繊維の通り道を作っている（図１）。これら錐体細胞の入出力には明らかにされていない点が多く，このこともバレル皮質の真の機能が明らかにされてい

ない原因にもなっている。



正常なバレルカラムと有棘星状細胞の樹状突起

大脳皮質神経細胞にマウス子宮内遺伝子導入法を用いて蛍光タンパク質をコードする遺伝子をあらかじめ胎児期に導入しておく。生後に脳スライスを作成し，蛍光タンパクの発現から興奮性細胞の形態を確認した。細胞形態を確認した後で電気生理的に形態の異なる神経細胞同士の接続，機能を調べた。まず，有棘星状細胞の結合を調べた結果，カラム内での結合は多くみられるがカラムを超えた結合はほとんど見られなかった。次に錐体細胞の結合を確認したところ，有棘星状細胞では見られないようなカラム間での結合を見出すことができた。さらに，遺伝子改変マウスを用いて，強制的に錐体細胞が多く作られるバレル皮質でも多くのカラム間の結合を見出すことができた。これらの結果から，錐体細胞はカラムの間に位置することで，有棘星状細胞ではできないカラム間の連絡を行っていることが明かになった。

15. 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。

昨年度行った実験では，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ので, GFP をレポーター遺伝子として持つ PRV を海馬 CA1 へ注入する事で HRGN に感染させ，その前シナプスニューロンを越シナプス的に標識した。しかし，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，つまり意図しないスターター細胞の存在が示唆された。一つの原因として，PRV 注入の際にコンタミネーションが生じているとためと考えた。

本年度はこの様なスターター細胞のコンタミネーションを防ぐために, ウィルスベクターの注入法を変更した。まず GABA 陽性細胞に特異的に cre を発現する Vgat-cre マウス系統の海馬 CA1 に AAV-DJ ヴェクターを注入し TVA-GFP 及び RG を GABA 陽性細胞に発現させた。これにより RSP 第一層の HRGN 投射軸索が TVA-GFP 及び RG により標識される。そこへ mCherry をレポーターとして持つ PRV を RSP へ微量注入する事で HRGN に特異的に感染させた。PRV は海馬 CA1 の HRGN より越シナプス的にシナプス前細胞に感染し，それらを mCherry により標識した。

これらの動物より作製した組織標本より HRGN にシナプス結合を持つシナプス前細胞の分布を解析した。現在までに HRGN は両側の CA1 錐体細胞から強い入力を受けることが明らかになった。また，海馬外からは中隔

核，視床，嗅内野から，入力を受けることが明らかとなった。これらの細胞種や細胞特性については現在解析中である。

本実験のシナプス前細胞の脳内分布解析により HRPN は CA1 錐体細胞が持つ場所情報を抑制性シグナルとして RSP へ伝える可能性がある。また，その神経活動は広範な脳領域から修飾を受け，空間認知や空間記憶に関わると推測できる。

16. 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ため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。我々は視線保持の機序解明のため，NI のニューロン・ネットワーク基盤に関する研究を多角的に行っている。これまで我々は NI と前庭小脳（片葉，虫部垂と小節）との神経連絡に関して，PHN から前庭小脳へは直接の投射がみられる一方, INC からは PHN を介して間接的に前庭小脳へ投射している可能性を示唆する知見を得てきた。昨年は AAV6 を用いてこれを検証しようと試みたが，GFP を発する起始細胞（starter cell）が少数しか観察できなかった。そこで本年度は軸索終末からの逆行性感染を強めるために，AAV のセロタイプを AAV6 から AAV2-retro (AAV2-retro-EF1a-GFP-P2A-TVA，AAV2-retro-CA-SAD-cvsG) に変更して検証を試みた。生後 7 週齢の Long-Evans ラットにイソフルランを用いた十分な吸入麻酔を施し，外科的操作の後，ガラス電極を用いて虫部垂と小節に AAV2-retro を注入した。3 週間後，同じラットに再度イソフルランの吸入麻酔を施し，今度は PHN に Rabies ウイルス（EnvA-RVdG-RFP）を注入した。5 日の生存期間の後，かん流固定し，脳組織標本を作製した。蛍光顕微鏡観察の結果，PHN において GFP と RFP を共発現する starter cell が多数観察され，脳幹では INC，PHN および内側前庭神経核において RFP 陽性細胞が観察された。以上の結果は, INC ニューロンは前庭小脳に直接投射する PHN ニューロンに単シナプス結合することを示し，我々の仮説を支持するものであった。また，INC の RFP 陽性細胞の多くは吻側に見られたことから，主に吻側の INC のニューロンが PHN を介して前庭小脳と回路を形成している可能性も示唆された。今後は，INC から片葉への投射が PHN を介しているのかについて調べるとともに，全 RFP 陽性細胞数に対する各領野における RFP 陽性細胞数の割合を求めることによって, INC-PHN-前庭小脳の回路の特性を検討する。

17. 細胞系譜依存的双方向性シナプス結合形成メカニズムの解明

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，興奮性神経細胞の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，感覚入力の影響を受けることを明らかにした。本研究課題では，双方向性シナプス結合関係にある神経細胞が視床からの共通入力を受けているかどうかを検証し，双方向性シナプス結合の形成メカニズムを明らかにすることを目的とした。マウスの大脳皮質バレル野では，生後 9 日前後から皮質間シナプス形成が始まり，生後 20 日には双方向性結合形成が完成する。また，生後 13 日から数日間ヒゲからの感覚入力を遮断することで双方向性結合が減少することを見出した。双方向性結合

関係にある神経細胞が視床の中継細胞から共通入力を受けるかどうかを明らかにするため，視床からバレル皮質への神経投射が保たれた視床―皮質スライス標本作製の検討を行い，ホールセルパッチクランプおよび電気刺激により，視床中継細胞の軸索を電気刺激することで視床からの共通入力の有無を検証する系を立ちあげた。今後，レーザー光刺激法を用いて，視床を網羅的に刺激することでバレル皮質 4 層の興奮性神経細胞間結合関係と視床からの共通入力の有無を検証する。

18. 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，下等な動物から霊長類に至るまで，視覚を中心として，聴覚・体性感覚などの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。随意性急速眼球運動（サッケード）系において，中脳の上丘は，大脳前頭眼野から入力を受ける。上丘から入力を受けて働く脳幹のサッケードジェネレータは，無意識的・自動的に働くので，上丘は，意識と無意識をつなぐ重要な位置にあると言える。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。一方，Blind Sight として知られる現象において，大脳視覚野の障害後も，視標の存在が認識できないにもかかわらず，無意識下に視線あるいは手を視標に向けることが出来ることが知られる。近年の研究により，この視覚入力は，上丘を介して視床枕を経由して，いわゆる大脳背側系の空間識の経路が活動していることが明らかとなってきた。

単純な視標を出した時に行われるサッケードとは異なり，指標に意味を持たせることによって，生態学的な価値判断ののちに行われるサッケードがどのような神経回路を使って行われているかを調べるために研究を行っている。具体的には，自分の顔，他人の顔，様々な表情の顔，顔以外，など，種々の視標を見せて行われるサッケードを訓練する。通常のサッケードと比較して，潜時の違いを計測する。さらに，上丘，大脳 FEF，辺縁系（扁桃体や黒質緻密部）より神経活動の記録を行い，信号の流れを明らかにする。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，特に他者の視線に関する情報が脳内でどのように処理され，自己の行動にどのように反映されるのか，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。

これは，意識と無意識の融合及び切り替えがどのようなメカニズムで行われているかを解明することにも繋がると考える。

19. サル局所電場電位の計算論的解析法による学習メカニズムの解明

田中宏和（北陸先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科）
磯田昌岐（生理学研究所 認知行動発達機構研究部門）

本研究では，サルの複数の脳領域から同時記録された局所電場電位データに対し，計算論的信号解析法を用いて解析し，連合学習における情報伝達の脳内メカニズムを解明することを目的とする。具体的には，磯田らがこれまで構築してきた社会的古典的条件づけと呼ばれる実験課題において，サル内側前頭前野の神経細胞，視床下部外側野の神経細胞，そして中脳のドーパミン細胞から同時記録された神経活動データ（スパイクや局所電場電位）に対し，因

果性解析・ネットワーク解析といった最新の手法を適用する。また本研究独自の手法として，提案代表者（田中）が開発した課題関連成分分析（Tanaka et al. 2013, 2014）とその拡張した方法を用い, 動物の学習に伴う脳部位間の電位伝播の抽出を試みることを計画した。

本年度は, 共同研究の実施のため生理学研究所に田中が出張し, これまで磯田らが得た社会的古典的条件づけにおける神経活動データの結果と解析方法について共有した。また, 上述した解析手法を適用する妥当性を含む解析の方向性について議論した。まず田中が開発した課題関連成分分析を行った結果, 内側前頭前野における課題関連と考えられる局所電場電位成分の抽出に成功した。さらなる成分抽出を行うため, 高次元スパイクデータに対して次元縮約を目的として Canonical Polyadic Decomposition (CPD) を適用したところ, 内側前頭前野において磯田らがスパイク神経活動で認められた活動パターンが確認できた。これに加え, 課題関連と考えられる異なる活動パターンも抽出された。これらの結果は，従来の方法において捉えきれない脳内情報処理を反映している可能性を示唆している。次年度において, これらスパイクや局所電場電位から抽出された活動パターンがどのような機能を持ちうるのかその意義について議論し, さらに様々な情報抽出手法を適用して検証する予定である。また，視床下部外側野および中脳ドーパミン細胞の神経活動, そして 3 つの脳領域の神経活動にもその適用を広げ, 情報伝達の脳内メカニズム解明を目指す。

20. 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）

本研究はヒト間葉系幹細胞を不死化した UE6E7T-3（U3-A）細胞において，長期継代培養過程で作出された U3-B,U3-C, 及び U3-DT 細胞における遺伝子発現の相関を明らかにする事を目的とした。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おり，これまでの研究によって，Glypican 5 (GPC5) 遺伝子の発現が培養初期細胞 U3-A に比べておよそ 10 倍以上増加することを明らかにした。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 GPC1 から GPC6 の 6 種が知られている。これら Glypican ファミリーは線維芽細胞増殖因子（FGF）の活性調節に関与する報告がある。また我々の研究結果から, GPC5 は細胞増殖をサポートする機能を有する事を確認している。

細胞増殖能力が亢進した U3-DT 細胞における GPC5 発現量増加の原因を解明するために，培養ステージ毎の GPC5 遺伝子コピー数変化について Digital PCR を用いたコピー数解析，及び GPC5 遺伝子のプロモータ領域のシーケンス解析を行った。それらの結果からは GPC5 の発現量増加を説明できなった（2018 年度共同研究報告 d-126）。そこで，既報（Takeuchi et al., PLoS ONE 2015）において報告した次世代シーケンスデータ中において培養ステージによって増加した GPC5 の転写因子 SP3 及び TBL1XR1 に着目した。Sp3 は GPC4 プロモータの主要な活性化因子であるとの報告がある（Huaixing et al.,BBA 2004）。これらの遺伝子発現解析のために siRNA を用いた Sp3, TBL1XR1 の遺伝子発現ノックダウン実験を行った。SP3, TBL1XR1 を各々100 μM, 200 μM の濃度でノックダウンしたところ，100 μM では有意な GPC5 発現量抑制は生じなかったが, 200 μM においては 8 割程度の発現抑制が生じた。また，SP3 をノックダウンすると TBL1XR1 の発現量の減少が観察された。一方で，TBL1XR1 をノックダウンしたところ, SP3 の発現量の変動は小さいものであった。これらのことから，SP3 は TBL1XR1 の上流に位置し，TBL1XR1 の発現調整に重要な役割を持つと考えられた。遺伝子発現に関する転写因子の種類やその役割は複雑であるが，本研究に用いた 2 種の転写因子のノックダウンによる GPC5 の発現量減少から，Sp3, TBL1XR1 は GPC5 の発現量調整に関与していることが示唆された。

21. 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）
南部　篤，知見聡美（生体システム研究部門）
佐竹伸一郎（個別研究）

Na ポンプ（Na,K-ATPase）は α と ß で構成され，神経系には α2 と α3 が高発現している。近年，α2 と α3 サブユニットをコードする遺伝子変異が，ジストニア，パーキンソニズム，片頭痛，うつ病，てんかん等，様々な神経疾患でみつかっている。これら神経疾患の病態分子基盤をα2 サブユニット遺伝子ヘテロ欠損マウス *Atp1a2*$^{+/-}$を用いて電気生理学的手法にて検討した。私達は以前，*Atp1a2*$^{+/-}$では，神経活動マーカーc-Fos の発現が梨状野および扁桃体において増加していることを報告している（Ikeda et al., 2003）。今回は，*Atp1a2*$^{+/-}$より扁桃体の急性スライス標本を作製し，大型ニューロン（長径>20 μm）について，ホールセルパッチクランプ記録を行った。局所電気刺激による興奮性シナプス後電流（EPSC）ならびに抑制性シナプス後電流（IPSC）を誘発した。EPSC の電気刺激強度 - 振幅依存曲線は, 電気刺激 300 μA/100 μs で飽和し，曲線の形状についても野生型と *Atp1a2*$^{+/-}$の間で有意な差は認められなかった。IPSC の電気刺激強度 - 振幅依存曲線は，600 μA/100 μs で飽和したが，*Atp1a2*$^{+/-}$の IPSC 振幅は全ての刺激強度において野生型よりも有意に増強していることを見出した。この結果は, *Atp1a2*$^{+/-}$扁桃体ニューロンでは，抑制性シナプス伝達のみが選択的に亢進していることを示唆する。この抑制性伝達亢進の分子的基盤をさらに詳細に解析する目的で, IPSC のペアパルス比（PPF）ならびに微小 IPSC（tetrodotoxin-insensitive miniature IPSC）を比較した。しかし，いずれの要素にも野生型と *Atp1a2*$^{+/-}$の間で有意な差は認められなかった。シナプス小胞体の放出確率や神経伝達物質の充填量，シナプス後部の GABA 受容体数に特筆すべき変異は無いと結論した。今後は，免疫染色や生化学的実験を加え，*Atp1a2*$^{+/-}$における抑制性シナプス伝達亢進のメカニズムを追究するとともに，この表現型（扁桃体抑制性シナプス伝達の亢進）と神経疾患の病態との関係に焦点を当てて研究を進めていく予定である。

22. 辺縁皮質刺激に応答する大脳基底核ニューロンの病態生理

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

大脳皮質－基底核回路の基礎研究には，トレーサーや機能画像を用いた解剖学的アプローチとニューロン活動を記録する神経生理学的アプローチがある。本研究では，主として辺縁系ループに関わる視床下核（STN）ニューロン活動を記録することにより，その機能的役割について考えてみたい。

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 の最内側に辺縁系領域が存在し，辺縁系皮質から直接入力を受けるハイパー直接路が示唆される結果は，解剖学的研究結果と一致した。辺縁系はいわゆる情動に関わっており，自律神経を介する身体反応やそれに伴う感情（情動認識）を呼び起こす。辺縁系ループが喜びなどの快情動，不安や恐怖などの不快情動に関与する可能性が示唆される。

23. 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（新潟県立看護大学）
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，末梢の感覚神経変性に加えてジストニア様症状や運動失調を示す。*dt* マウスの原因遺伝子は，アクチン結合ドメインやチューブリン結合ドメインを有する細胞骨格制御因子をコードする *Dystonin* (*Dst*) 遺伝子である。我々が作製した遺伝子トラップアリール（Dst^{Gt} アリール）では，*Dst-a* と *Dst-b* の２つのアイソフォームが欠失する。一方，自然発生変異アリールの $Dst^{dt\text{-}23Rbrc}$ アリールでは，*Dst-a*, *Dst-b*, *Dst-e* すべてのアイソフォームに停止コドンが入っている。$Dst^{dt\text{-}23Rbrc}$ ホモマウスでは運動障害に加えて，皮膚に発現する *Dst-e* に変異があり, 皮膚のケラチノサイトのヘミデスモソームの構造に異常があることを電子顕微鏡観察により明らかにした。Dst^{Gt} ホモマウスの皮膚の電子顕微鏡像は正常であった（Disease Models & Mechanisms 2020）。

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* プロモーターにより Cre を発現する *P0-Cre*; *Dst* cKO マウスでは，末梢神経系のミエリン形成細胞であるシュワン細胞で *Dst* 変異が誘導され，遅発性の感覚性失調の症状が観察された。この *P0-Cre*; *Dst* cKO 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，論文投稿を行なった。さらに，*Wnt1-Cre* アリールを用いた *Wnt1-Cre*; *Dst* cKO マウスでは，*P0-Cre*; *Dst* cKO マウスより早い発生段階の神経堤細胞にて Cre 組換えが誘導され, 末梢神経系の感覚神経細胞やシュワン細胞で *Dst* の欠失が起こり, 感覚神経細胞の変性が観察された。この *Wnt1-Cre*; *Dst* cKO マウスでは，早発性の運動障害が生じることが明らかとなった。表現型の詳細な解析を，組織学的手法や生理学的手法を用いて行なっている。

24. チック症の病態メカニズム解析

橘　吉寿（神戸大学大学院医学研究科）
兎田幸司（慶應義塾大学文学部）
南部　篤，知見聡美（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・汚言を発する音声チックから成るが，その病態生理に関しては未だ明らかでない。本研究では，大脳基底核の線条体における異常興奮がチックの本態であるという仮説を立て，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ことを試みる。また，そのマウスを用いて，大脳皮質―大脳基底核回路の多細胞神経活動記録を行う。さらに，チックモデルマウスで観察された神経活動異常を基に，光遺伝学を用いた人工神経活動操作を行うことで症状改善をもたらすことが可能かどうかについても検証する。

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。共同研究 2 年目の本年は，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チック症モデルマウス作製法を確立した。GABA 受容体拮抗薬のなかでも，Gabazine や Picrotoxin に比べ，Bicuculline が安定して，チック症状を誘発することが明らかとなった。線条体への Bicuculline の少量注入は，線条体における体部位局在に一致した一過性の筋収縮を示すチック症状を誘発するが，さらに注入量を増加させると全身に拡がるてんかん様症状を引き起こした。また，症状発現に先行して，一次運動野の脳波活動ならびに該当体部位の筋電図活動の一過性上昇を観察した。さらに，このようなチック症モデルマウスを用いて，一次運動野の多細胞神経活動同時記録を行った結果，線条体薬物注入前に比べて，注入後は一次運動野神経細胞間の自発活動における相互相関の上昇をみとめた。線条体から一次運動野への直接投射は存在しないことから，Bicuculline 注入による線条体の過興奮は，黒質網様部から視床を介し，一次運動野の同期性発火を引き起こすことでチック症状を誘発すると考えられる。今後は，線条体過興奮チック症モデルマウスにおいて，黒質網様部における線条体からの軸索終末を，光遺伝学により人工的に神経活動操作する（活動抑制させる）ことで，チック症状が改善するかどうか行動学的に解析する。

25. 神経麻痺性角膜症に対する TRPA1 を標的とした治療

岡田由香，雑賀司珠也（和歌山県立医科大学）
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）

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 (TRP) チャネルシグナルの神経麻痺性角膜症の病態への関与を検討した。

マウス三叉神経第１枝をジアテルミー電極で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，３分間三叉神経第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。

以前の研究で，TRPV4 のウイルスベクターを用い，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，TRPV4 の障害三叉神経での過剰が神経麻痺性角膜症の治療に有効であったことがわかり，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。

TRPA1 AAV を用いた研究でも，上皮欠損の修復が改善されたことから，今後も検討を重ねる予定である。

26. 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）
太田啓介，尾上健太（久留米大学医学部･解剖学講座）
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。

新たに 4 匹目のラットについて，これまでと同じく 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た。３次元再構築による解析をすすめたところ，以前に観察したように，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を確認した。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た。星状膠細胞の細胞体や突起同士の直接のコンタクトも頻繁であった。これらの質的なデータに加えて，星状膠細胞とシナプス間隙の距離の数量的解析を進めている。

また，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ために，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画像を獲得し解析を進めた。5 つの OX 細胞について，そのシナプスのうち，50－70 %まで VGluT2 または VGAT で同定できたが，そのうち 60－75％ は VGAT＋であった。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いる。

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。

27. 前頭皮質 6 層錐体細胞のシナプス結合に関する電子顕微鏡による解析

苅部冬紀（同志社大学）

哺乳類の前頭皮質第 6 層錐体細胞の主要な投射先は視床である。その皮質局所回路におけるシナプス結合の標的を詳細に明らかにするため, 改変 ATUM 法と組織処理方法（Kubota et al., 2018）を用いて前年度に作製した電子顕微鏡標本の解析を行った。

in vitro スライス標本を用いて蛍光染色した近接する 3 個の視床投射細胞を含む 6 層脳領域から 35 nm 厚の連続超薄切片を作成し，それらの SEM 画像を取得した。現在までに画像を取得した領域は 600 x 150 x 7 μm^3 の範囲である。あらかじめ撮影しておいた蛍光顕微鏡画像と SEM 画像の対応を取ることで，視床投射細胞を同定し，その軸索を中心として，三次元的再構築を行った。

視床投射細胞の軸索神経終末が形成するシナプス後部の標的構造を同定し再構築した結果，一部のシナプスの標的構造は棘突起であった。また，それらの標的構造の棘突起密度から考察すると，錐体細胞の樹状突起であることが推測できた。

シナプス結合を電気生理学的手法により同定する手法では，6 層視床投射細胞からは GABA 作動性介在細胞へのシナプス結合が高頻度で見られるのに対し，6 層錐体

細胞（視床投射細胞と皮質内投射細胞から構成される）への投射はほぼ観察されなかった。現段階では，以下の二つの可能性が考えられる。（1）棘突起を持つ樹状突起へのシナプス結合は全体から見て低頻度である。（2）棘突起を持つ樹状突起への投射は, 細胞体から遠位であり, 細胞体に伝道する EPSP が極小である。この場合，電気生理学的検出感度を高める必要がある。

今後は，さらに多くのシナプス構造を再構築することにより，この二つの仮説を検証する。

28. 大脳皮質運動野における視床投射神経終末の標的神経構造の電顕による解析

倉本恵梨子（鹿児島大学大学院 医歯学総合研究科 歯科機能形態学）
窪田芳之，孫　在隣，畑田小百合，江川尚美，北　啓子，川口泰雄
（自然科学研究機構 生理学研究所 基盤神経科学研究領域 大脳神経回路論研究部門）

大脳皮質運動野は，運動性視床核の ventral anterior-ventral lateral nuclei (VA-VL), ventromedial nucleus (VM) を介して，大脳基底核と小脳からの情報を受け，統合することで適切な運動司令を脊髄へ出力する。大脳基底核の情報を伝える視床投射細胞の軸索は皮質 1 層に，一方，小脳の情報は中間層に主に分布することが明らかになっているが, そのシナプス結合の相手は不明である。本研究では，各視床核からの視床−皮質投射軸索終末が, 大脳皮質でどの神経組織にシナプス結合するかを, レーザー共焦点顕微鏡（LSM）と電子顕微鏡（EM）の相関解析法により検討した。

ペントバルビタールの腹腔内投与によりラットを麻酔し, 膜移行性シグナル付きの緑色蛍光タンパク（palGFP）を発現するアデノ随伴ウイルスベクター（AAV-palGFP）溶液を詰めたガラス針を視床核に刺入し, AAV を電気的に注入した。手術から 1 週間後にラットを灌流固定して脳を取り出し，ビブラトームにて厚さ 100 μm の切片を作製した。蛍光顕微鏡下で，AAV に感染して GFP を発現している神経細胞を含む切片を選出した。グルタミン酸脱炭酸酵素 67kD（GAD67）に対する抗体を用いて脳切片を蛍光免疫染色し, 運動性視床核の亜核 VA-VL, VM を区別し, GFP 陽性ニューロンが分布する亜核を同定した。大脳皮質の切片において GFP 陽性視床−皮質神経線維の局在を把握するため，赤色蛍光標識されたレクチンで血管壁を，DAPI（青色蛍光）で細胞核を対比染色し，LSM を用いて高倍率で連続フォーカス画像を撮影した。その後，大脳皮質の切片を EM 観察用に組織処理し，連続超薄切片を作製後, 走査型 EM で広範囲撮影を行い, EM 画像データセットを作製した。LSM と EM の画像データセットの相関観察解析により，GFP 陽性の視床−皮質投射軸索を同定し，三次元再構築によりシナプスターゲットの構造解析を行った。大脳基底核情報を受ける亜核からの皮質投射線維の再構築解析を実施した結果，軸索終末は比較的小さく，大脳皮質の錐体ニューロンのスパインに特異的にシナプス結合することが明らかになった。今後は VM ニューロン，VL ニューロンについて形態解析を行い，シナプス結合則の違いを解明したい。

29. 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）
ソン･チホン，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）

近年報告された蚊を宿主とするネギウイルス（Negeviridae）は，植物ウイルスと近縁のウイルス群である。ネギウイルスの構造は非常に特徴的であり, 楕円状のエンベロープ構造（ORF3 タンパク質）と突起構造（ORF2 タンパク質）からなっている。私たちは, 生理研との共同研究のもと, フィリピンで分離されたネギウイルスである Tanay virus

（TANAV）の詳細な構造解析に取り組んでいる。これまでのクライオ電子顕微鏡の単粒子解析から，TANAV の楕円状構造を三次元で解き明かすことに成功した。さらに，特定条件下では TANAV は，自身の構造を劇的に変化させることがわかってきた。その構造変化の生理的な役割を解明するために，クライオトモグラフィー法や対称性に基づいた構造平均化を用いて，構造変化を起こした TANAV の三次元構造決定を行った。これらの構造解析の結果から，TANAV 粒子がどのように形成され，また細胞内部で自身の遺伝子を放出するかという機構に関して，構造を基盤としたモデルを立てることができた。以上の結果は，“Structure and its transformation of elliptical nege-like Tanay virus”と題して，論文投稿を予定している。

ネギウイルスの突起構造を構成するタンパク質（ORF2）は，その近縁の植物ウイルスには存在していない。蚊に対しての感染能をネギウイルスが獲得したのは，ORF2 タンパク質を介した感染や遺伝子放出が鍵となっていると考えられる。本研究を通して，植物ウイルスが，蚊を宿主として適応する際に，どのように粒子構造をネギウイルスのように進化させる必要があったのかを示唆することができた。

30. 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，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）

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する。繊毛を構成するタンパク質の欠損により，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，共同研究により，繊毛中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。この繊毛中のどこに私たちが発見した新規ダイニンサブユニットがあるかを決めるために，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後に，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。現在，分子遺伝学的なデータと合わせた内容で，論文投稿の準備を進めている。

31. イネ萎縮ウイルス（RDV）の構造構築機構の解明

中川敦史（大阪大学蛋白質研究所），宮崎直幸（筑波大学生存ダイナミクス研究センター）
東浦彰史（広島大学医歯薬保健学研究科），村田和義（生理学研究所）

イネ萎縮ウイルス（RDV）は，レオウイルス科に属す正二十面体対称をもつ直径約 70 nm の球状粒子であり，12 本に分節した二本鎖 RNA からなるウイルスゲノムを有している。ゲノムを内包するキャプシドは，２重殻構造をしており，内殻は分子量 116K の P3 タンパク質 120 コピーから，そして外殻は分子量 46K の P8 タンパク質

780 コピーから構成されている。レオウイルス科のウイルスは，感染細胞の細胞質内にバイロプラズマと呼ばれる凝集体を形成し，その内部で複製をおこなうため，バイロプラズマがウイルスの正確な粒子形成において重要な役割を果たしていると考えられているが，その仕組は良く分かっていない。

RDV のバイロプラズマは, ウイルスタンパク質 Pns6, Pns11，Pns12 から構成されているが，特に Pns12 がバイロプラズマの主要成分であり，ウイルスの正確な粒子形成において重要な役割を担っていると考えられている。そこで, 我々は, バイロプラズマの実態を解明するため, Pns12 の構造解析をおこなった。Pns12 を大腸菌発現系により調製し，生理学研究所のゼルニケ位相差クライオ電子顕微鏡により，その構造を調べた。高コントラストで観察できる位相差クライオ電子顕微鏡を用いることにより，Pns12 がリング上の構造とそこから周囲に伸びる不定形の紐状の構造から構成されていることが判明した。Pns12 の C 末端領域は，X 線結晶構造解析により 9 量体のリング構造を形成することが明らかになっており，電子顕微鏡観察で見られたリング状構造と良く一致した。一方，X 線結晶構造解析において構造が決定できていない N 末端領域は，電子顕微鏡観察においてみられた，リング状の構造から外側に伸びる不定形の紐状の構造であると考えられた。さらに，Pns12 のオリゴマー同士は，その紐状構造体により，互いにゆるく結合している様子も捉えられた。これらの観察結果から，バイロプラズマの主要構成要素である Pns12 は，そのフレキシブルな N 末端領域で互いにゆるく結合することで，内部でウイルス粒子の形成が可能となる巨大なマトリックス構造を構築できているということが示唆された。

32. アルギン酸ゲル包埋したラット膵島のガラス化保存と糖尿病モデルへの移植

保地眞一（信州大学繊維学部）
平林真澄（生理学研究所）

複数の細胞種（α, β, δ, PP）から構成される膵島の超低温保存技術を確立できれば, インスリン投与が主流の 1 型糖尿病の治療法に膵島移植という選択肢を与える。インスリン離脱につながる移植用膵島の保存技術を確立することが本研究の究極の目的である。今年度，ラットの膵島で良好な保存成績が得られることを報告してきたガラス化保存法について，iPS 細胞や未受精卵・胚を含む様々な細胞種で凍害保護物質（CPA）としての効果が報告されているカルボキシル化ポリリジン（CPLL）をガラス化保存液に添加してみた。F_1 (Wistar × BN) 雄ラットの膵臓から単離した外径 101〜200-μm の膵島を 24 時間培養後，市販のクライオトップをデバイスに膵島 10 個単位で載せてガラス化保存した。加温後の膵島の生存率は FDA/PI 二重染色後の Image-J 解析で, インスリン分泌能は ELISA 測定に基づく刺激指標（SI: 20 mM グルコース刺激値を 3 mM グルコース刺激値で割ったもの）で比較した。新鮮対照膵島の生存率は 97 %，SI 値は 4.1 であった。実験 1 において，20 %ウシ胎児血清，細胞透過型 CPA の 30 %エチレングリコール（EG）と非透過型 CPA の 0.5 M シュクロースをベースに，CPLL を 10 %または 20 %の濃度で添加したものをガラス化保存液とした。その結果，CPLL を 20 %の濃度で添加すると生存率は有意に向上（74 vs 65 %）し，SI 値も 4 以上を保った。実験 2 では浸透圧ショック緩和につながる透過型 CPA 濃度の低減を目論み，20 %CPLL を含む上記ガラス化保存液から EG を 10 %または 20 %の濃度に減じたものを用いたが，生存率の低下（50〜64 %）は有意だった。実験 3 では，30 %EG，0.5 M シュクロース，20 %CPLL からなるガラス化保存液を用い，目開き 57-μm のナイロンメッシュを三角錐展開図様に加工したデバイスに膵島 50 個単位で載せてガラス化保存した。デバイス当たりの搭載膵島数を 5 倍に増加させても生存率 68 %，SI 値 3.7 という結果が得られ，実用可能な蘇生レベルを達成した。以上，ラット膵島のガラス化保存において 20 %CPLL の添加が有効なことを見出し，細胞毒性が懸念される DMSO を CPA として使用しないでも膵島を良好に蘇生させられるようにした。

33. 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，仲井理沙子，小塚大揮（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）
小林俊寛，平林真澄（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 細胞を用い，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んできた。2018 年度からは両研究所の双方向の共同利用研究とし，プロジェクトの深化を図っている。

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，これらのチンパンジーiPS 細胞を用いた PGC 分化誘導によって tdTomato 陽性細胞を分化誘導できることを確認してきた。また，ニホンザル iPS 細胞を用いた場合においても PGC 分化を確認してきた。本年度は，使用したチンパンジーiPS 細胞の特性解析に関する論文（Kitajima et al., Stem Cell Research, 2020; Lin et al., Differentiation, 2020）を発表することができたほか，PGC 分化研究について新聞記事としても取り上げられた。

34. ラット・ウサギの発生エピゲノム比較解析

小林久人（奈良県立医科大学）
小林俊寛，平林真澄（生理学研究所）

ラットはマウスと同様に実験動物として長い歴史があり，医学や生物学（特に生理学・行動学）の分野でモデル生物として用いられる。一方で，発生工学的技術の開発はマウスが圧倒的に先行しており，ヒトを念頭においた遺伝学・発生学分野における優れたモデル動物として主にマウスが利用されている。近年，ヒト・マウス初期発生過程における DNA メチル化，ヒストン修飾などのエピゲノム情報解析が数多く報告されており，各細胞系譜分岐の決定に重要なプロセスの詳細が明らかになりつつあるが，ヒト・マウス間にみられる発生機序の種間差の原因は不明な点が多い。そこで発生モデル動物としてのラットの価値を再評価し，胚発生・生殖細胞形成過程のエピゲノム情報についてラットを含む複数の哺乳動物種間の比較解析を行うことにより，哺乳動物発生過程におけるエピゲノムパターンの種間差をもたらす要因の特定を試みた。

我々は生殖細胞マーカーである PRDM14 遺伝子改変ラットを作製し，ラットにおける始原生殖細胞（PGC）の可視化･単離に成功した（図 1 上）（Development, 2020）。また回収した PGC のトランスクリプトーム（RNA-seq）マップ作製に成功し，公開されているマウス・ヒト PGC トランスクリプトームとの比較解析により，ラット PGC はマウス PGC とよく似た PGC 関連因子の発現パターンを示すことを明らかにした（図 1 左下）。またラット PGC では DNA メチル基転移酵素遺伝子（DNMTs）発現の顕著な低下も確認され，マウス・ヒトと同様に DNA 低メチル化状態にあると推測される（図 1 右下）。現在全ゲノムバイサルファイトシーケンス法によりゲノムワイドなメチル化状態のプロファイル化（DNA メチローム解析）を行っている。

また，マウス・ラット・ヒトに加え，チンパンジー・アカゲザルの卵子 DNA メチローム比較解析により，種特異的な母方ゲノム刷り込み領域の成立には内在性レトロウィルスが起因となる転写ユニットが関与することを明らかにした（Nature Communications, 2019）。

今後，試験管内再構築で誘導したラット PGC 様細胞（PGCLC）のトランスクリプトーム・エピゲノム解析を予定している。また，ラットゲノム刷り込み領域の全容を明らかにするため，2 系統間ハイブリット胚の多型別 RNA-seq および DNA メチローム解析を行う。

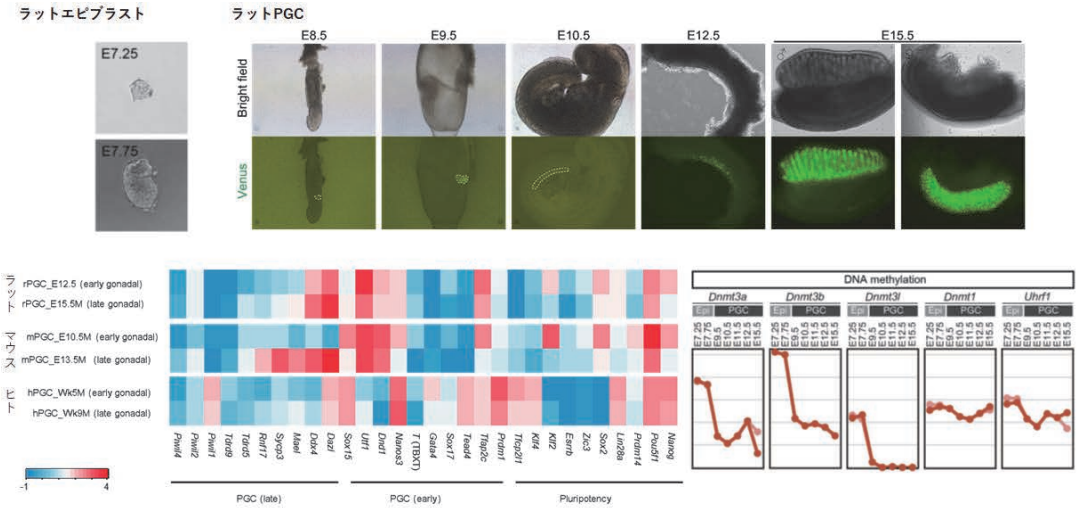


図１．ラット始原生殖細胞（PGC）の可視化およびトランスクリプトーム解析
（上）遺伝子改変ラットによりPGC（緑）を可視化。（左下）主要な生殖細胞・多能性マーカー発現パターン。（右下）DNAメチル化関連遺因子発現パターンをグラフ化。（Development, 2020より抜粋）

35. 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）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ている。また，バキュロウイルス発現システムを用いてウイルス様中空粒子（Virus Like Particle: VLP）を作製し，構造解析を行っている。感染性粒子と VLP の解析結果を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）を明らかにすることを試みている。

昨年度は, 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た形状を取っていることが明らかになった。

2019 年度は, これまでのデータを整理し, PLoS Pathogen に投稿し，アクセプトとなった。

2020 年度に向け，更に VLP の高解像度の画像取得を目指すとともに，感染性粒子とレセプター分子 CD300lf との結合部位を精密に特定することを試みる。また，懸案である内部構造解析も試みる。

36. タイトジャンクション分子の局在と機能の解析

東　智仁，齋藤　明
（福島県立医科大学）

タイトジャンクションは上皮細胞の細胞間の上極に位置し，液体や溶質の透過性を制御する事によって上皮のバリア機能の維持に寄与している。

本研究では，タイトジャンクションを構成する因子のうち，TAMP ファミリー，claudin ファミリー，JAM ファミリーの局在及び機能に関する解析を行うことを目的とした。このうち，claudin 及び JAM ファミリーについては，免疫電子顕微鏡法による局在の解析を行う事を当初の目的とし，蛍光免疫染色法によって固定・染色条件の検討を行い良好な条件を決定した。現在はいったん実験を停止しているが，今後再度共同研究を申請して局在・機能について検討を進めていく予定である。

TAMP ファミリーについては，イヌ腎臓上皮細胞である MDCK II 細胞を親株として，オクルディンノックアウト（KO）細胞，トリセルリン KO 細胞，オクルディン・トリセルリンダブル KO（dKO）細胞を樹立した。これらの細胞を用いて，経上皮電気抵抗法およびトレーサー透過法によって上皮バリア機能の検討を行い，オクルディン KO 細胞，トリセルリン KO 細胞ではバリア機能が保持されているのに対し，dKO 細胞ではバリア機能が低下している事を見出した。また，古瀬研究室の協力により，透過型電子顕微鏡法を用いて３種類の KO 細胞のいずれも，超薄切片上のタイトジャンクションの超微細形態に大きな変化が生じていない事を明らかにした。さらに，凍結割断レプリカ法によってタイトジャンクションを構成する紐状構造である TJ ストランドの形状を観察したところ，dKO 細胞に変化が生じている事を見出した。具体的には，野生型の細胞では TJ ストランドは互いに結びついて網目状のネットワークを作っているが，dKO 細胞ではその交点が減少し，ネットワークの複雑性が大きく低下していた。オクルディン KO 細胞及びトリセルリン KO 細胞では変化は見出されなかった。また，TJ ストランドネットワークを数理モデル化し，その複雑性が低下した場合の透過性に与える影響を検討したところ，モデル上でもバリア機能が低下する事が分かった。以上の結果より，TAMP ファミリーに属するオクルディンおよびトリセルリンの２分子は冗長性を持って TJ ストランドネットワークの端点の形成や維持に寄与していることが示され，また，そのことによって上皮バリアの向上に寄与している事が示唆された。

37. 統合失調症モデルマウスの脳波ダイナミクス解析手法の開発（随時募集課題）

那波宏之（新潟大学脳研究所分子神経生物学分野）
北城圭一（生理学研究所神経ダイナミクス研究部門）

統合失調症は，近年，その患者の脳波，MEG 研究から大脳皮質活動とその領域間結合性に異常が見出されている。本研究ではげっ歯類の統合失調症モデル動物から，大脳皮質の複数領域から硬膜上脳波やユニット記録を行い，その異常性を判別できる神経活動の解析方法を開発しモデル動物の妥当性を判定するとともに，本疾患の認知行動異常の生理学的基盤のヒントを得る。

モデル動物の作製，生理学データ収集は，新潟大学の動物実験倫理委員会の承認下で実施されたものを用いた。新生児の SD ラットに上皮成長因子 EGF を皮下に毎日 9 日間注射して，統合失調症の発達障害仮説に基づく動物モデルを作製した。その過程ではモデル動物の体重などに大きな身体変化は観察されなかった。これらの動物を 3 か月程度まで成長させ，聴覚皮質，視覚野，体性感覚野，前頭前野に硬膜上電極を設置し，脳波反応を計測した。刺激には 3 つの連続する音 10 Hz（80 dB 純音，0.5 sec），光 LED ライト（90 Lux，0.5 sec），感覚刺激；風（8 CFM，0.5 sec）の 3 種を用いた。予備的な解析におい

て，音刺激において，モデル動物の聴覚野電極では HIGH ガンマ帯の反応が出ること，感覚ゲーテイング能が低いことが観察されている。また，聴覚野との脳波 PHASE 結合性が，他の電極間で，その刺激間のベースライン時に亢進している事，逆に刺激応答性の事象関連電位の PHASE 結合性は低下していることが示唆されている。今後，より詳細な解析と追試をとおして，統合失調症モデルにおける皮質間の機能席結合性変化と認知機能障害の関係性を明らかにする計画である。

【計画共同研究報告】

計画共同研究報告

〔 目　　次 〕

1.　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 163
2.　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 164
3.　脳の左右を決定する新規遺伝子変異 164
4.　小脳をモデルとした抑制性ニューロンの「数」制御メカニズム 165
5.　人工染色体導入ヌードマウス iPS 細胞を利用した異種間胚盤胞補完 165
6.　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 166
7.　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 167
8.　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 167
9.　神経幹細胞の未分化性維持に関わる遺伝子の機能解析 168
10.　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 169
11.　脳の構造形成，機能化に関わる遺伝子の解析 170
12.　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 170
13.　プリン作動性受容体 P2Y6R を標的とした慢性炎症の新規治療法の開発 171
14.　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 171
15.　GLP-1 の＜求心性迷走神経→視床下部→遠心性交感神経＞軸を介した代謝調節機構の解明 172
16.　光刺激法を用いた大脳基底核神経回路機能の解析 172
17.　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（Spr-flox マウスの電気生理学的解析） 173
18.　成熟マウス淡蒼球におけるグリア型 GABA トランスポーターの機能解析 174
19.　髄鞘の神経伝達調節機構の 3 次元超微形態学的解析 174
20.　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 175
21.　2 型糖尿病性上皮障害における SGLT 阻害剤の薬理作用 175
22.　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 176
23.　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 177
24.　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 177
25.　Serial Block-Face 走査型電子顕微鏡を用いた腸管粘膜固有層内の細胞の三次元超微形態学的解析 178
26.　細胞分化過程を 3 次元構造解析するための技術開発 179
27.　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 180
28.　Using Zernike phase plate cryo-EM (ZEM) to study topoisomerases 180
29.　HIV-1 Gag MA-Env 複合体のクライオ電子顕微鏡解析 182
30.　バクテリア DNA 凝集構造の位相差電子顕微鏡による観察 183
31.　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 183
32.　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 184
33.　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 185
34.　ホログラフィック計測・操作による高次脳機能の創出 185
35.　線虫を用いたシナプス形成における CaMKII の機能解析 187
36.　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 187
37.　海馬シナプスにおける入力側依存性左右差の形成機構 188

38. マウス大脳皮質広範囲に GCaMP を発現させるウィ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‥ 188
39. 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‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥ 189
40. ウィルスベクターによる分子発現系を用いた慢性痛脳内可塑性メカニズムの解明‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥ 189
41. 光計測と光刺激を用いた脳機能作動原理の研究‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥ 190
42. 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‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥ 190
43. 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‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥ 191
44. アデノ随伴ウィ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‥‥‥‥‥‥‥‥ 191
45. 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‥‥‥‥ 192
46. 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‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥ 192
47. ウィルスベクターを用いたグリア細胞‐ニューロンシグナリングの解明‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥ 193
48. 報酬学習の神経回路機構解明に資する技術開発‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥ 193
49. ウィ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‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥ 194
50. 大脳基底核回路の解析‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥ 194
51. 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‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥ 195
52. 自己免疫性脳炎における自己抗体の標的蛋白質の同定‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥ 195
53. 動物の光受容タンパク質オプシンのダイナミックな機能変換メカニズムの解析‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥ 196
54. 多様な生物種を比較することによるイオンチャネルと受容体の機能解析‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥ 197
55. Ca チャネルのカルモジュリンによる調節機構‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥ 197
56. 新規の 7 回膜貫通型の温度受容体候補タンパク質の培養細胞における温度応答性ダイナミクス‥‥‥‥‥‥ 198
57. 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‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥ 198
58. 温度感受性 TRPV チャネルによる上皮細胞増殖と細胞移動制御機構解明‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥ 199
59. Serial block face SEM visualization of cytomixis in tobacco meiocytes‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥ 199
60. プロテアソーム関連タンパク質の超分子複合体の構造機能解析‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥ 200
61. 原索動物神経回路の三次元超微細形態学的解析‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥ 200
62. 大脳皮質ニューロンの微細構造の解析‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥‥ 201
63. 家族性中枢性尿崩症のバソプレシンニューロンにおける小胞体内凝集体形成機序の解明‥‥‥‥‥‥‥‥‥ 201
64. The Effects of Prenatal Bisphenol-A Exposure on Synaptic characteristics in the Hippocampus of the Rat Offspring‥‥ 202

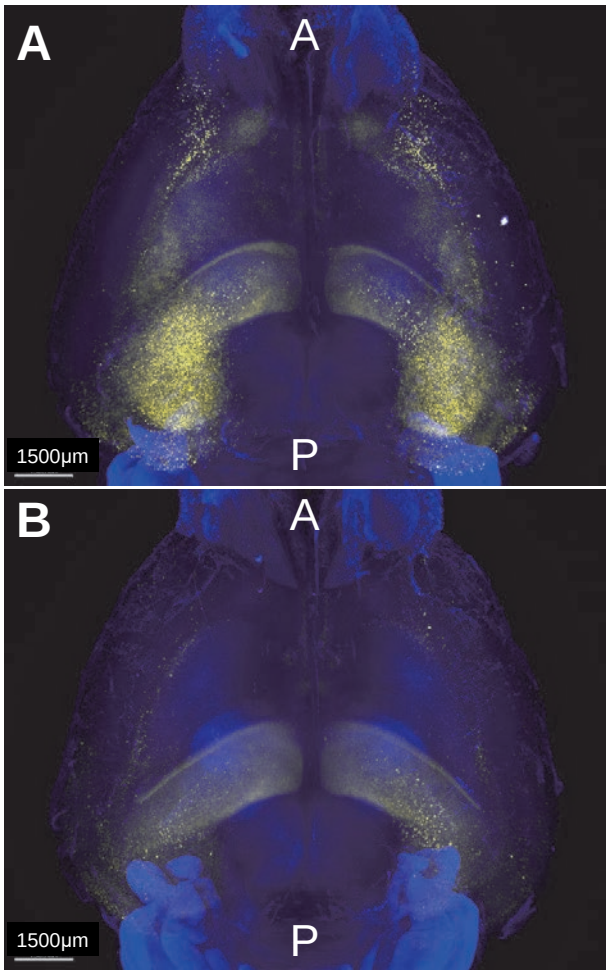
1. ドーパミン受容体遺伝子操作マウスを用いた運動制御機構の解析

笹岡俊邦，齊藤奈英，田井中一貴（新潟大学脳研究所）
Tom Macpherson，疋田貴俊（大阪大学），山口　瞬（岐阜大学）
知見聡美，南部　篤（生体システム研究部門）

ドーパミン（DA）伝達は，報酬記憶と嫌悪記憶の両方に関与している。D1 ドーパミン受容体（D1R）様受容体は, 海馬 CA1 のシナプス可塑性および嫌悪記憶課題に関連する長期記憶への関与が報告されている。D1R はまた, 長期増強現象の初期から後期への移行に必要な海馬 CA1 領域の最初期遺伝子（IEG）である Arc の誘導にも関与している。Arc の発現は，記憶形成中に活性化したニューロンの識別に有用である。他の IEG と異なり, Arc 発現誘導は行動課題に固有であり，さらに，Arc はシナプス後ニューロン分子と相互作用し，シナプス機能の調節により影響を及ぼす。神経活動依存性の Arc 発現の発生段階における出現は DA 伝達に依存している。前頭 DA 回路の活動の発揮には機能的な Arc を必要とし，Arc 発現様式は, 行動課題誘発神経信号における D1R を介した DA 伝達の指標として役立っている。

本研究では，Arc 発現制御により蛍光タンパク dVenus を高発現する Arc-dVenus マウスを使用し，D1R 発現を薬物投与で調節できる D1R ノックダウン(D1RKD)マウスとの複合マウスを作成し，嫌悪記憶の形成を解析し，併せて，全脳透明化による３次元高解像度解析法として田井中らが開発した CUBIC 法により，Arc 発現様式を dVenus の発現により解析した。

その結果，D1RKD マウスは D1R 欠損状態で，受動的回避試験の成績低下を示し，D1R を介した DA 伝達が嫌悪記憶の形成に重要であること，併せて，視覚・体性感覚および運動野を含む大脳皮質における，嫌悪刺激に続く Arc 発現が低下することを見出した。これらの結果は, D1R を介した DA 伝達が少なくとも部分的に大脳皮質ネットワーク内の神経活動を増加させて嫌悪記憶形成を促進することを示唆している。しかし大脳皮質に局所的に発現する D1R が嫌悪刺激に続く神経活動の増加の原因であったのか，それとも海馬を含む他の脳領域で発現する D1R が大脳皮質の活動を間接的に変化させたのかは不明である。今後, D1R の領域特異的欠損マウスを使用した解析や, c-Fos などの他の IEG に着目して嫌悪刺激により誘発される発現様式の解析は, 嫌悪記憶形成の基礎となる神経回路と分子機構の理解に有用と考えられる。以上の研究成果を論文に報告した（Saito et al., Neurosci. Res. in press）。



電気刺激後の Arc-dVenus D1RKD マウスの全脳 3D イメージングの水平断面図. (A) D1R 発現あり，電気刺激あり (B) D1R 欠損，電気刺激あり 黄色は dVenus シグナル, 青色は核染色 A: anterior, P: posterior

2. 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 ion channel を形成する alpha1 サブユニットの他に細胞外の alpha2delta とチャネル複合体を形成するが，active zone におけるこれらのサブユニット構成はよく知られていない。また我々は別の共同研究によって alpha2delta がシナプス形成に必須である事を示唆している（論文改定中）。本研究では，小脳で発現している alpha2delta2 にタグ配列を付加したノックインマウスを作成しシナプス局在および alpha1 サブユニットである Cav2.1 との共存を調べることが目的である。我々はタグ配列とこれに特異的に共有結合を形成する化学プローブを用いて任意の蛋白質を電子顕微鏡レベルで高感度に標識する方法を開発した（Tabata et al. *iScience*, 2019）。alpha2delta は，シナプス間隙に存在すると考えられることから抗体の浸透性の問題によって免疫組織学的方法では検出できないが，化学プローブは小分子であるためシナプス間隙まで浸透することが期待できる。そこで，alpha2delta2 にこのタグ配列を付加したノックインマウスを CRPSR/Ca 法により作成することを試みた。現在，予想通りの変異を示す産仔が複数得られており，今後 homozygous mouse を作成後に，化学プローブを用いて小脳皮質のシナプス終末 active zone において凍結割断 replica 法でサブユニット構成やシナプス形成時の発現の時系列を解析する。またこれとは別に，ventral medial habenula から interpeduncular nucleus への投射路において，alpha1 サブユニットの一つである Cav2.3 が特異的に発現し神経終末においてグルタミン酸放出に主にかかわっている神経回路を同定した。このシナプスは非常に特異な性質を持っており, そこでも alpha2delta との共存を調べる。またこの神経終末では他の多くの synpatophysin を発現する終末と異なる synaptoporin が特異的に発現している。そこで，CRPSR/Ca 法により synaptoporin knockout マウスを作成し，構造と機能の変化を調べる。こちらは，現在 2-cell stage にて凍結したところで, IST Austria で embryo transfer を行う。

3. 脳の左右を決定する新規遺伝子変異

重本隆一（IST Austria）
平林真澄，三宝　誠（生理学研究所）

我々は, マウスの海馬において入力側依存的な左右非対称性が存在することを発見し, さらに脳の両側が右のフェノタイプ, 逆に両側が左のフェノタイプを示す変異マウスを発見した。昨年度までの基生研共同利用研究によってこの左右のフェノタイプを決めると思われる遺伝子変異を同定したので, この変異を導入したノックインマウスを作成し, 予想通りの右および左のフェノタイプを示すことを証明する。同定した遺伝子変異（右のフェノタイプを左のフェノタイプに変化させる）を CRISPR/cas9 法を用いて C57BL6 マウス受精卵に導入し，Blastocyst の段階で凍結保存，それらを IST Austria に送付した。IST Austria にて凍結 Blastocyst を偽妊娠 C57BL6 マウスに戻すことを試みたが非常に効率が低く, ほとんど仔を得ることができなかった。そこで次に 2-cell stage にて凍結し，それらをドライシッパーにて送付，embryo transfer を試みたところ，効率的に産仔を得ることができた。現在，送付された 26 バイアルのうち 1 バイアルから得られた 11 匹について遺伝子解析を PCR で行ったが，期待された変異を持つ個体はまだ得られていない。さらに別のバイアルから embryo transfer を行ってさらに screening を進める。最初に得られた 11 匹について guide RNA による indel mutation が全く認められない場合は，新たな guide RNA を設計する必要がある。もし期待される変異を持つ産仔が得られた場合は, それらのマウスについて，左右入力 CA3-CA1 シナプスのサイズを測定することによって, フェノタイプを確認する。またこの遺伝子変異を持つ left isomerism iv mouse および

本来の right isomerism iv mouse について，行動の違いを調べるために，delayed nonmatching-to-position task を行ったところ（相模女子大学の後藤和宏先生との共同研究），preliminary な結果ではあるが，これら二つのグループの間に差がみられるようである。今後もその他の行動実験を用いて working memory と reference memory を調べる。

4. 小脳をモデルとした抑制性ニューロンの「数」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，三宝　誠（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。昨年度に確立した条件に従い，セルソーターにて Pcdh 発現陽性細胞を分取した。これら細胞における DNA メチル化状態を解析した結果，Pcdh 発現陽性細胞において DNA メチル化率が有意に低下しているゲノム DNA 領域を同定した。今後はこれら領域の機能解明を進める。

サブテーマ２では，どの細胞タイプにおける Pcdh-g が小脳抑制性ニューロン数の制御に関わるかを調べた。昨年度までに成熟プルキンエ細胞における Pcdhg は抑制性ニューロン数の制御には関わらないことが示唆された。今年度は胎生期以降の小脳の抑制性ニューロンにおける Pcdh-g の役割を調べた。そのため，PV-Cre マウスを用いて作製した，条件付き Pcdhg 欠損マウス小脳を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ニューロンは，インターニューロン数は約 50%減少し，プルキンエ細胞数は約 80%に減少していた。本結果は胎生期小脳における Pcdh-g は抑制性インターニューロンおよびプルキンエ細胞の数の制御への関与を示唆する。今後はどの Pcdh-g アイソフォームがこれら細胞数の制御に関わるかを調べる。

5. 人工染色体導入ヌードマウス iPS 細胞を利用した異種間胚盤胞補完

山口智之，水谷英二（東京大学医科学研究所 幹細胞治療部門）
平林真澄（生理学研究所）

Di-george 症候群は，22 番染色体が大きく欠損することで発症する重症の免疫不全症候群であり胸腺低形成，心奇形の症状を呈する。この胸腺低形成，免疫不全の症状のモデルとなるのが，ヌードマウスである。遺伝子治療では通常ウィルスベクターを用いた単一遺伝子の導入が行われるが，Di-george 症候群のように染色体の大規模欠損による疾患は単一遺伝子の導入では治療できない。また，臓器，組織の正常な機能を反映する為には，遺伝子の発現を制御するプロモーターは内在性のプロモーターを用いることが好ましい。そこで，本研究では

染色体の大規模欠損を遺伝子治療で補完するモデルを構築する為にマウスの Bacterial Artificial Chromosome（BAC）を搭載した人工染色体により遺伝子治療を施したヌードマウス iPS 細胞を利用した胚盤胞補完法によって胸腺を再生し，移植治療をすることを目的とした。

Nude の原因遺伝子である Foxn1 遺伝子が含まれるマウス 11 番染色体（78315885－78441677）の BAC を搭載した人工染色体（MAC）を導入した KSN Nude mouse iPS 細胞（Foxn1 iPSCs）と野生型マウス iPS 細胞を生理学研究所 遺伝子改変動物作製室で樹立した Foxn1 mutant rat の胚盤胞に注入し，異種間胚盤胞補完法による胸腺の作出を試みた。

その結果，Foxn1 homo mutant rat の末梢血には最終分化した T 細胞を検出することはできなかった。また，Foxn1 homo mutant rat を解剖したところ，胸腺の位置には血腫のみが観察され，胸腺の実質組織は検出できなかった。

Nude mouse を用いた同種胚盤胞補完では，上記と同じ細胞を用いて胸腺が作出され，末梢血中に最終分化した T 細胞も検出できたことから，今後も継続して異種間胚盤胞補完を行い試行回数を増やすことでラット体内でのマウス胸腺作出を目指したい。

6. 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

松田二子，佐藤真梨萌（東京大学 大学院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，低栄養状態を感知して，摂食を促進すると同時に，生殖機能を抑制する機構が存在する。これまでに，後脳において低栄養を感知しているのは，脳室壁上に並ぶ上衣細胞である可能性が示唆されてきた。本研究では，後脳の上衣細胞と摂食や生殖機能を制御する神経細胞間の神経経路を明らかにすることを目的とした。

神経経路を可視化するため，以下 2 種類の遺伝子組換えマウスを利用した：①全身性に Cre 存在下で越シナプス性トレーサーであるコムギ胚芽凝集素（WGA）を発現するマウス（*CAG*-STOP floxed-WGA-2A-GFP マウス）②生殖機能を司るキスペプチン（KP）ニューロンに Cre を発現するマウス（*Kiss1*-Cre マウス）。これらの遺伝子組換えマウスを交配することで, WGA を KP ニューロンに発現するマウスを作出した。交配して得られたマウスの凍結脳切片を用い，免疫組織化学染色（IHC）および *in situ* ハイブリダイゼーション法（ISH）により WGA の脳内局在を解析した。

WGA の IHC と各種マーカーの ISH もしくは IHC の二重染色において, 弓状核 KP ニューロンの 41.7±15.0 %, 弓状核ニューロペプチド Y（NPY）ニューロンの 29.8±5.4 %,室傍核副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン（CRH）ニューロンの 40.3±2.7 %，後脳上衣細胞の 16.0±1.2 %で WGA の発現が観察された。さらに，カテコールアミン（CA）ニューロンが局在する後脳の C1 領域にも多数の WGA 免疫陽性細胞が観察された。

弓状核 KP ニューロン由来の WGA が後脳上衣細胞でも観察されたことから，弓状核 KP ニューロンと後脳上衣細胞の間には神経経路が存在することが明らかとなった。さらに，摂食を司る弓状核 NPY ニューロンにも WGA が観察されたことから，弓状核 NPY ニューロンにも後脳上衣細胞からの低栄養シグナルが伝達されている可能性が示唆された。また，後脳による摂食と生殖機能の制御に必要とされる室傍核 CRH ニューロンや後脳 CA ニューロンの局在領域にも WGA が観察された。以上から，後脳上衣細胞からの低栄養シグナルは後脳 CA ニューロンと室傍核 CRH ニューロンを介して，弓状核の NPY ニューロンや KP ニューロンに伝達され, 摂食と生殖機能を制御している可能性が示唆された。

7. 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，村上知成（東京大学大学院医学系研究科 統合生理学）
上村允人（関西医科大学大学院医学部 生物学）
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，この分子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。

本研究では，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 を野生型マウス胚盤胞に 4-8 細胞注入して発生させて単一 iPS 細胞由来の PcdhKO 姉妹神経細胞群を二光子カルシウムイメージングにて機能評価することを目標とする。

まずは「iPS 由来」の神経細胞による影響を組織的と機能的に確認する必要がある。GFP を全身で発現するマウス胚から iPS を樹立させ，野生型マウスに注入することでキメラマウスを作製した。これにより iPS 由来の神経細胞が GFP を恒常的に発現している。今年度は単一 iPS 由来 GFP 陽性姉妹細胞が他の iPS 由来 GFP 陽性と十分に分離可能となる iPS 細胞注入条件を組織的に検討し，的確な注入条件を決定した。

さらに二光子顕微鏡で 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，さらにそのうち方位選択性を持つ割合に優位な差がなかった。また方位選択性度合いの指標である gOSI にも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られる。

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 7 個体中の娘細胞間で，野生型でみられる方位選択性の類似が失われていた。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。今年度はさらにコントロールとして単一野生型 iPS 由来姉妹細胞群で方位選択性が類似しているかを調べることを試みた。現在はこれまでの研究結果をまとめ，学会等での報告準備を行っている。

8. 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

東村博子，上野山賀久，井上直子，長江麻佑子，榎本悠希
（名古屋大学大学院生命農学研究科）
平林真澄（生理学研究所）

本研究では，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ィ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。弓状核特異的 *Kiss1* ノックアウトラットの実験結果を論文にまとめて現在，投稿中である。

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 細胞株を PCR とサザンブロットによりスクリーニングし，相同組み換え ES 細胞候補株を 1 株得た。この相同組み換え ES 細胞を用いてキメララットを作製し，交配により，*Kiss1*-Cre ラットの産仔を得ている段階である。

9. 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，三宝　誠（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，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 の機能解析を行うために，Rnf20 遺伝子のコンディッショナルノックアウトマウス（Rnf20 cKO）およびテトラサイクリン誘導型 Rnf20 遺伝子過剰発現マウス（TetOne-Rnf20 tg）を作製・解析することを計画した。

Rnf20 遺伝子に対するターゲッティングベクターから作製した 1 本鎖 DNA および CRISPR/Cas9 タンパク質，人工合成したガイド RNA を C57BL/6 マウス受精卵に注入するすることでキメラマウスを得た。次世代に伝わることも確認できたので，現在 Cre ドライバーマウスと交配して表現型解析を始めたところである。また，TetOne-Rnf20 tg マウスも，直鎖化したプラスミド DNA をマウス受精卵に注入することで作製に成功し，現在解析を進めているところである。トランスジェニックマウス脳から採取・培養した神経幹細胞に対して，培養液中にドキシサイクリンを添加することで Rnf20 遺伝子が過剰発現すること，さらにそれによって神経幹細胞の未分化性が変化することを見出した。今後は生体にドキシサイクリンを投与し，脳内での神経幹細胞維持に変化が起きるかどうか，検討して区予定である。

一方，やはり神経幹細胞の未分化性維持に係わる α1,3-フコース転移酵素 Fut10 の cKO マウス作製に関しては，２つ LoxP が正しく挿入されたマウスは作製できなかったものの，酵素活性部位を含むエクソン 4-6 が削除されたマウスを得ることができたので，Fut10 KO マウスとして解析を行う予定である。

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。

10. 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

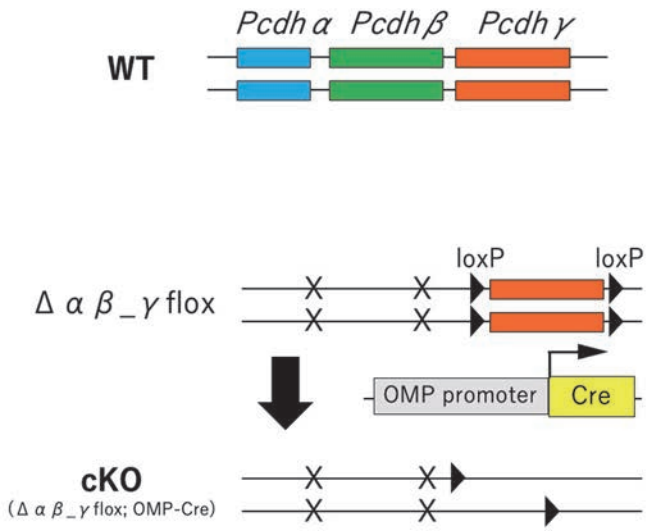
八木　健，足澤悦子，本間貴裕（大阪大学・大学院生命機能研究科）
平山晃斉（徳島大学・医学部）
平林真澄，三宝　誠（自然科学研究機構・生理学研究所）

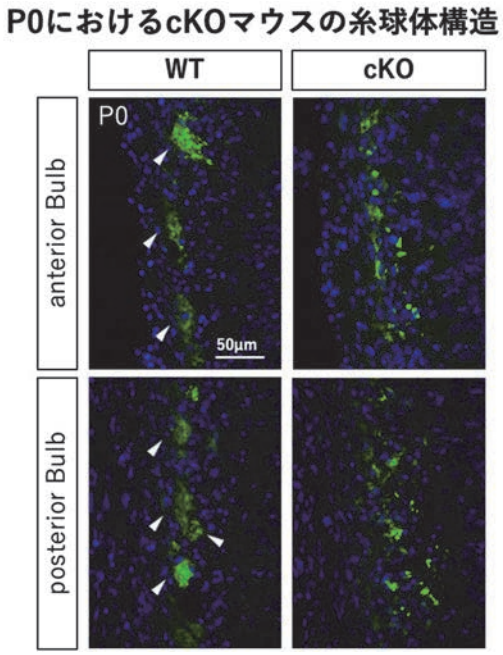
マウスで 58 種類の遺伝子からなる細胞接着分子クラスター型プロトカドヘリン（Pcdh）は個々の神経細胞で複数種類のアイソフォームを確率的に発現することで神経細胞の個性化に働くと考えられている。本研究では，Pcdh の多様性を遺伝子操作により改変した様々なマウスを作製，解析することにより，機能的神経回路の形成における神経細胞の個性化と神経回路形成における役割を明らかにすることを目的とする。

これまでに，γ コンディショナル欠損マウス（γ cKO）から α，β を欠損させた作製に成功している。2019 年度は，このマウスを用いて嗅神経投射における Pcdh ファミー全欠損マウスの解析を行った。その結果，生後の糸球体形成異常が顕著に認められた（図：矢頭が糸球体，cKO マウスでは糸球体が小さい）。Δ Pcdh α CRex1 のアレルに Pcdh α C2 に Indel を入れることにより，確率的な遺伝子発現を示す Pcdh α 遺伝子群の S グループが欠損し，Pcdh α C2 のタンパク質が発現できる遺伝子変換マウスの作製をおこなった。また，Δ Pcdh α β マウスを用いて，Pcdh γ A1 の上流と Pcdh γ A12 の下流に loxP を挿入したマウスの作製をおこない，コンディショナルに Pcdh γ 遺伝子群のうち，γ C3-γ C5 の遺伝子だけをもったマウスの作製をおこなった。これらのマウスについては掛け合わせを行い，現在，表現型の解析を行っている。

また，Pcdh γ C4 欠損マウスは誕生後に死亡することをこれまでに明らかにしてきた。本年度は，この Pcdh γ C4 のどの領域の機能が必要かを明らかにするために，CRISPR/Cas9 を用いて Pcdh γ C4 変異マウスの解析を行っている。

本研究での組換え動物の作製にあたり，実験動物の取り扱い等は生理学研究所および大阪大学の動物実験指針に従い，安楽死法（頸椎脱臼）や麻酔法（イソフルラン吸入）を適切に用いて苦痛の軽減に努めている。





11. 脳の構造形成，機能化に関わる遺伝子の解析

平山晃斉，梅嶋宏樹，冨田江一（徳島大学）
三宝　誠，平林真澄（生理学研究所）

CCCTC（CTCF）結合因子は，DNA に結合するタンパク質で高次クロマチン構造形成に関与して遺伝子発現を調節する。ヒトでは CTCF の遺伝子領域の変異が神経精神疾患と関連することが示唆されており，マウスを用いた実験では脳の発生発達に関わることがいくつか報告されている。申請者らによる研究により，マウス脳の特定の神経細胞で CTCF を欠損させると進行性の運動障害が認められること，組織科学的解析から特徴的な神経変性が認められること，多くの神経細胞が脱落していくことなどが明らかとなってきた。

神経変性により神経細胞が脱落していく分子メカニズムを明らかとするため，本年度は，新たな候補遺伝子を欠損するマウスの作製をおこなった。候補遺伝子は，*Ctcf* と同一染色体上にあるため，以下の方法で作製した。ホモの CTCF コンディショナルノックアウトマウスから採取した精子を C57BL/6 の卵と受精させ，マイクロマニピュレーターを用いて受精卵に目的の CRISPR/Cas9 を導入することにより loxP 配列で挟まれた *Ctcf* 遺伝子と同一染色体上にある別の遺伝子を欠失させるマウスの作製をおこなった。

産まれてきたマウスのうち４６匹を DNA シークエンス法により解析し，３５匹（７６％）に変異があることが認められた。そのうち，両方の染色体に同じ変異の入った個体が２匹認められた。１匹が１塩基欠失，もう１匹が７塩基欠失であった。どちらも，タンパク質の読み枠がずれて途中で終始コドンが入り，ナンセンス変異依存 mRNA 分解機構（NMD）により，機能的なタンパク質の合成ができなくなっていることが想定された。現在，この２系統を野生型の C57BL/6 マウスと交配して産まれてくる仔に変異が伝わることを確認し，新たな系統の樹立をおこなっている。

12. 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，in vitro 実験にて，単離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，2018 年度に引き続き検討を行った。

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，2018 年度より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，麻酔下マウスのミクログリアの動きを 2 光子励起顕微鏡で観察し，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。2019 年度，引き続き個体レベルの実験を計画し実行した。富永真琴教授が有する TRPM2 および TRPV4 遺伝子欠損マウスを用いてミクログリアの動きを観察したところ，以上の結果に加えて，TRPV4 遺伝子欠損マウスではミクログリアの突起にみられた温度依存性が消失していることがわかった。以上より，ミクログリアの動きには，TRPV4 が関与していることを示す結果が得られた。

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

西山和宏（九州大学大学院 薬学研究院 創薬育薬研究施設統括室）

［目的］

P2Y6 受容体（P2Y6R）は発現増加に伴い，高血圧などの慢性炎症のリスクを増加させることが報告されている。P2Y6R の阻害にはイソチオシアネート（ITC）基が重要であることが報告されているが，どのような機序により阻害されているかは明らかにされていない。本研究では, ITC が選択的に P2Y6R を阻害する分子機構解析を軸に, 慢性炎症におけるプリン非依存的な P2Y6R シグナリングの役割を明らかにする。

［方法］

マクロファージ細胞株である RAW264.7 細胞を用いて P2Y6R スクリーニング系を確立し，機能性食品成分の中の ITC が P2Y6R を阻害するかを検討した。ITC が P2Y6R の分子挙動にどのような影響を与えるかをウエスタンブロッティング法およびライブセルイメージングにより検討した。また，野生型マウス（WT）および P2Y6R 欠損マウス(P2Y6R KO)に対して大腸炎モデルを用いて，慢性炎症における P2Y6R の役割を明らかにした。

［結果］

食品中に含まれる代表的な ITC であるイベリンおよびスルフォラファンが P2Y6R を阻害することが明らかとなった。さらに，ITC により P2Y6R の内在化およびプロテアソーム系を介した分解が認められた。ITC による P2Y6R の分解は, P2Y6R の 220 番目のシステインをセリンに置換した変異体では認められなかった。また, P2Y6R KO は WT に比較して，大腸炎の進行が抑制された。

［結論］

イベリンやスルフォラファンなどの ITC が P2Y6R の 220 番目のシステインを標的として，細胞内への内在化を引き起こし, プロテアソーム系を介して P2Y6R を分解することが明らかになった。また，ITC が P2Y6R の分解を介して慢性炎症を抑制する可能性が示された。

今後は，P2Y6R のシステイン残基をセリンに置換した変異体遺伝子を発現させるアデノ随伴ウィルスベクターを用いて P2Y6R 欠損マウスに P2Y6 受容体（野生型および変異体）を発現させ，慢性炎症や ITC の感受性に対する検討を行う。また，アデノ随伴ウィルスベクターで十分に発現されない可能性を考慮し，システイン残基をセリンに置換した変異体マウス（P2Y6R C220S）を iGONAD 法（経卵管ゲノム編集）にて作製し，慢性炎症や ITC の感受性に対する検討も行う予定である。

14. 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 [1]，竹ノ谷文子 [2]，平林敬浩 [1]，平子哲史 [3]，和田亘弘 [4]，影山晴秋 [5]，箕越靖彦 [6]
([1] 星薬科大学 先端生命科学研究所，[2] 星薬科大学 薬学部運動生理学研究室，
[3] 人間総合科学大学 人間科学部，[4] 医薬基盤･健康･栄養研究所 臨床栄養研究部，
[5] 桐生大学 医療保健学部栄養学科，[6] 自然科学研究機構 生理学研究所)

ガラニン様ペプチド（GALP）は，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，マウスへの GALP 脳室内投与により摂食量と体重の減少を引き起こすなど, GALP による抗肥満効果が報告されている。我々は，脳室内投与された GALP が交感神経を介して肝臓での脂肪酸 β 酸化亢進および白色脂肪組織での脂肪分解を増加させる事を明らかとした。

これまで GALP は視床下部弓状核に局在していることが報告されているが, 白色脂肪組織や肝臓など末梢臓器にも発現していることが明らかとなった。さらに，人においても肥満患者の血中 GALP 濃度と中性脂肪濃度が正の相関を示すことが報告されている。すなわち，GALP は中枢のみならず末梢臓器，特に脂肪組織でも産生され，液性因子として脂質代謝に影響を与えていることが示唆されて

いる。しかし，これまでの GALP の研究は脳室内投与による中枢での作用の解析が中心であり，末梢組織で産生された血中 GALP についての機能解析はされていない。末梢臓器のなかでも肝臓は栄養素の代謝に中心的な働きをしている臓器の一つであり，GALP の室内投与においても大きな影響があったことから，本研究では絶食/再摂食後，肝臓中の GALP 遺伝子発現を測定した。肝臓での GALP 遺伝子発現を測定したところ，絶食/再摂食にり変化が認められなかった。視床下部の GALP 遺伝子発現は，絶食により減少し，レプチンを投与することにより増加することが明らかになっている。*ob/ob* および *db/db* マウスの GALP 発現量は野生型に比べて低値を示すことが報告されている一方で，*ob/ob* マウスに対してレプチンの補充療法を行うと GALP 発現量は野生型レベルまで回復すると報告されている。すなわち，視床下部においては，GALP 発現は絶食などの食事刺激やレプチンによって制御されていることが示唆されているが，肝臓においては，違う制御を受けていることが示唆された。

15. GLP-1 の＜求心性迷走神経→視床下部→遠心性交感神経＞軸を介した代謝調節機構の解明

岩﨑有作（京都府立大学大学院生命環境科学研究科）
近藤邦生，中島健一朗，箕越靖彦（自然科学研究機構生理学研究所）

Glucagon-like peptide-1（GLP-1）は，食後に分泌が亢進する消化管ホルモンの一種で，インスリン分泌促進作用（インクレチン）と摂食抑制作用が知られている。我々は，非代謝性の希少糖アルロースが 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発見した。栄養成分が GLP-1 分泌促進因子として知られていた。アルロースを用いることで，カロリーによる代謝変化を介さずに，腸から分泌された GLP-1 の生理的な作用を解析することが可能となった。そして，アルロースによる GLP-1 分泌促進がインスリン感受性とエネルギー代謝を亢進させることを新たに発見した。この GLP-1 の新作用が発見できた理由として，GLP-1 が局所ホルモンとして分泌臓器近くに分布する求心性迷走神経を活性化して，＜感覚神経・脳・自律神経を介した全身作用＞という特有な作用経路を活性化するからであろうと考えている。しかし，この末梢・中枢連関システムの作用及び機構については不明な点が多い。本研究では，GLP-1 の＜求心性迷走神経→視床下部→遠心性交感神経＞軸を介した代謝調節機構を解明することを長期的なテーマとし，本年度は GLP-1 の体熱産生作用（エネルギー代謝亢進作用）における副腎アドレナリンの関与を検証した。

アルロースの経口投与は，血中の GLP-1 濃度とアドレナリン濃度，直腸温を有意に増加させた。アルロースの直腸温上昇作用は，感覚神経障害マウス（カプサイシンによる脱感作）と GLP-1 受容体欠損マウスで消失した。また，非選択的 β アドレナリン受容体ブロッカー（propranolol）を野生型マウスに前処置すること，アルロースによる直腸温上昇作用は強く抑制された。β 受容体には 3 つのサブタイプが存在するが，サブタイプ X の選択的阻害剤はアルロースの直腸温上昇作用を阻害した。従って，アルロースによる腸 GLP-1 分泌促進は，少なくとも感覚神経とアドレナリン β 受容体を介して体熱産生を誘導していることが明らかとなった。今後は，体熱産生に関与する視床下部ニューロンの同定，自律神経遠心路の関与，副腎アドレナリンの関与，熱産生臓器とその熱産生機序の解明を目指す。

16. 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（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シナプス伝達修飾機構解明を目的として，光遺伝学手法を用いた電気生理学的解析を行なっ

た。線条体の中型有棘ニューロン（medium spiny neurons, 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アセチルコリン性介在ニューロン（cholinergic interneurons, CINs）からホールセル記録を行ない, MSNs に光刺激を与えて, MSNs から CINs への GABA 性抑制性シナプス後電流（IPSCs）を誘発した。光誘発性 IPSCs は，通常の電気刺激誘発性 IPSCs に比べて遅い時定数を有した。光誘発性 IPSCs および電気刺激誘発性 IPSCs は, ともに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，抑制効果の IC_{50} 値に有意差はなかった。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。抑制効果の IC_{50} 値は，マウスの生後発達過程で有意な変化を示さなかった。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た（Eur. J. Neurosci. Under revision）。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 性シナプス伝達を解析中である（2020 年度へ継続）。

17. 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（Spr-flox マウスの電気生理学的解析）

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）

テトラヒドロビオプテリン（BH4）は，ドーパミン・ノルアドレナリン・セロトニンなどモノアミン神経伝達物質の生合成酵素であるチロシン水酸化酵素，トリプトファン水酸化酵素の補酵素である。BH4 は，生体内でグアノシン三リン酸（GTP）から，３段階の酵素反応により生合成される。セピアプテリン還元酵素（SPR）は，BH4 生合成の第三段階に働く酵素である。

Spr-KO マウスは，BH4 の欠乏から脳内モノアミンが野生型の 10%以下に低下し，パーキンソン病患者でみられる振戦のような前肢の震えや，運動量の低下が観察された。さらに，これまでの共同研究の成果により，Spr-KO マウスは他のパーキンソン病モデル動物と同様に，大脳皮質運動野の電気刺激により淡蒼球内節で現れる三相性の電位変化（興奮→抑制→遅い興奮）のうち，抑制が弱くなっていることを明らかとした。

一方, 申請者らが以前作成した BH4 生合成第二段階酵素の KO マウスでは，前肢の震えは観察されず，運動量の低下も *Spr*-KO マウスより軽度で，パーキンソニズムというよりはジストニア類似の表現型を示した。どちらのマウスも BH4 欠乏に起因する脳内ドーパミンの減少により，運動機能障害が現れていると考えられるので，これらのマウスの表現型をさらに詳しく解析することで，パーキンソニズムの発症機構や，ジストニアとパーキンソニズムの病態メカニズムの違いの解明につながることが期待できる。

Spr-KO マウスは，ドーパミンだけでなく，ノルアドレナリンやセロトニンも高度に減少しており，運動障害に対するこれらのモノアミンの関与も考えられた。そこで，組織特異的・ニューロン特異的に遺伝子を破壊することができるように，loxP 配列を *Spr* 遺伝子のイントロン内に挿入した *Spr-flox* マウスを作製した。*Spr-flox* マウスと，中脳ドーパミンニューロンで DNA 組換え酵素 Cre を発現する DAT-*Cre* マウスを交配することにより, ドーパミンニューロンだけで *Spr* 遺伝子が破壊され，BH4 が生合成できないマウスを作製している。このマウス脳内ではドーパミンだけが減少し，ノルアドレナリン量やセロトニン量は変化しないと考えられる。今後，生化学的解析と組織学的解析から，脳内モノアミンニューロンの選択的変化を確認し，行動解析や電気生理学的解析を行っていく。

18. 成熟マウス淡蒼球におけるグリア型 GABA トランスポーターの機能解析

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

これまで我々は Olig2-CreER/GAP43-EGFP マウスにおいて自発運動を負荷すると基底核間接路に属する淡蒼球におけるアストロサイトの形態変化を誘導することができることを報告した（Tatsumi et al. Front. Cell. Neurosci. 10:165, 2016）。またこのアストロサイトは通常用いられている細胞マーカーである GFAP の発現が弱い特徴をもち, これは淡蒼球のみならず脳全体で同様の傾向を示した（Tatsumi et al. Front. Neuroanat. 12:8. 2018）。すなわち脳内には Olig2 陽性アストロサイト（以下 Olig-AS)と GFAP 陽性アストロサイト（以下 GFAP-AS)の 2 種類が存在することが明らかとなった。さらに淡蒼球ではこれら 2 種のアストロサイトが相互排他的な局在をとり，Olig2-AS は GABA 作動性シナプスにその微細突起を伸張することも明らかとした。これらの結果は Olig2-AS が淡蒼球における GABA 伝達を三つ組みシナプスの形で特異的に制御している可能性を強く示唆する。そこでこの仮説を検証する目的で，Olig2-CreER マウスの淡蒼球に Cre 依存的にグリア型 GABA トランスポーターである GAT-3 のショートヘアピン RNA を発現するアデノ随伴ウィルスベクター（以下 AAV-Flex-GAT-3shRNA)を注入し，Olig2-AS において GAT-3 の発現を落とした際にマウスの行動（主に運動機能）がどう変化するかを検証することを目的とした。この発現ベクターは細胞に感染した場合に GFP を Cre 依存的な組換えが起きた場合に tdTomato が発現することで個体内での感染効率, 組換え効率を判定することが出来るものである。予備的検討としてまず Olig2-CreER マウスではタモシキフェン依存的に Cre 酵素が活性化するのでウィルス注入後充分な時間を置いてからタモキシフェンを 1 週間経口投与し，その後マウスを固定，脳を取り出して淡蒼球における感染細胞の検討を行った。感染細胞（GFP 陽性）及び組換え細胞（Tomato 陽性）いずれも以前に我々がダブル TG マウスで検討した Olig2-AS の数よりもかなり少ないことがわかり, 現在培養アストロサイトを用いて感染効率の検定を行っている。

19. 髄鞘の神経伝達調節機構の 3 次元超微形態学的解析

大野伸彦（自治医科大学医学部解剖学講座組織学部門）

本研究では髄鞘を形成する個々のオリゴデンドロサイトとその形成された髄鞘の微細構造の多様性を, 新たに開発したオリゴデンドロサイトの髄鞘の同定法を駆使し，3 次元超微形態解析で明らかにすることを目標とした。灌流固定されたマウス脳梁と脊髄などの異なる種類･サイズの軸索が走行する白質領域からブロック染色および導電性樹脂包埋を行った試料を作製した。生理研のミクロトーム組み込み式走査型電子顕微鏡(SBF-SEM)を用いて複数の OL とその 髄鞘が含まれる領域から連続電子顕微鏡画像を取得した。その結果，OL は極性のある形態を示すことが多く，核に対して 1 方向に細胞質を豊富に有すること，その方向から太い突起を伸ばす傾向があることが明らかになった。また，一部の OL では，周囲に存在する軸索や他の OL が髄鞘を形成する軸索に比較して，有意に細い軸索に対して髄鞘を形成すること，また各 OL は似たような径の軸索に髄鞘を形成する場合でも, 形成される髄鞘の厚みが有意に異なることがわかった。さらに，OL が形成する髄鞘の厚みとその軸索の径は, ランビエ絞輪を挟んだ隣の絞輪間部の髄鞘の厚みと軸索の径と有意に相関することが分かった。以上から OL は従来考えられていたよりも極性のある形態を持っているとともに, 特定の形態学的特性のある軸索に選択的に, 類似した厚みの髄鞘を形成している可能性が示唆された。また，これまでに脳梁と脊髄から複数のデータセットが得られていることから, これらを用いて OL のセグメンテーションを継続するとともに，得られた所見の異なる個体間での共通性，特異性，および領域による OL の形態学的特性の違いについて，検討を継続する予定である。

20. 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，高血糖やインスリン抵抗性にともなう酸化ストレスなどにより，腸管の筋間神経叢や粘膜下神経叢に障害が引き起こされていることが示唆されているが，その病態や成因については未だ不明な点が多い。我々は，これまで連続ブロック表面走査型電子顕微鏡（SBF-SEM）を用いた解析により，前糖尿病期において筋間神経叢の軸索 Varicosity の減少，ミトコンドリア体積の増加を明らかにした。さらに，フロリジン投与が軸索に保護的に作用する可能性を明らかにした。本年度は，高脂肪食摂取下における吸収機構のメカニズムを解明することを目的として，筋間神経叢の軸索内におけるリソソーム形態解析を行った。さらに，比較検討のためストレプトゾトシン（STZ）誘発糖尿病モデルマウスの筋間神経叢の 3 次元的再構築を行った。

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試料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。さらに，4 週齢に STZ 腹腔投与を行い 20 週まで飼育された 1 型糖尿病モデルマウス（STZ 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行い樹脂包埋した。その後，SBF-SEM を用いて連続断層像を取得し，リソソーム数，表面積および体積を解析した。

軸索内リソソーム表面積および体積では高脂肪食群と通常食群に著明な変化は認めなかったが，リソソーム数では高脂肪食群で有意な減少を認めた。一方，高脂肪食群フロリジン投与後は，リソソーム数に有意な増加を認めた。これら各群のリソソーム数の変化は，Varicosity 数の変化と相関しており，軸索形態の維持に影響を与えていることが示唆された。STZ 群の 3 次元的再構築では，高脂肪食群と類似した軸索 Varicosity の減少とともに，一部の筋間神経叢では断片化した瘤状の軸索が確認された。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期において，軸索のリソソーム動態の異常を惹起すること，さらに STZ 群の解析により高脂肪食群で観察された軸索 Varicosity の減少が，軸索の断片化への前段階となっている可能性が示唆された。

これらの結果は，複数の学会においてポスターと口頭による発表を行い，現在国際誌へ投稿中である。

21. 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，深澤元晶（藤田医科大学 医学部 解剖学Ⅱ）

2 型糖尿病性上皮障害での上皮細胞の一次繊毛の変化に着目した。糸球体ネフロンと集合管での原尿の流量および流速を算定するために, 管腔径と一次繊毛の長さおよび彎曲を考慮した数理モデルの構築を進めた。数理モデル計算式については, 従来のレイノルズ流の数理モデル計算式を改変した。徳山大学福祉情報学部教授 鏡裕行博士と藤田医科大学疾患モデル教育研究サポートセンター講師 熊本海生航博士との別個の共同研究で進めた。野生型齧歯類の腎臓組織を用いて，免疫染色法（アセチル化チュブリンなど）とレーザー共焦点顕微鏡により一次繊毛長の画像取得条件を決めた。次に，SBF-SEM を利用して，齧歯類腎臓組織を用いた尿細管と集合管の上皮細胞の一次繊毛長を計測するために，組織サンプル処理方法および SBF-SEM 撮像方法について再検討した。SBF-SEM で一次繊毛の形態画像の取得を行う際に問題となる, 尿細管と集合管の管腔側でのチャージアップを軽減する方法として, ①導電性カーボンを含むエポキシ樹脂包埋を用いて管腔側のチャージアップを軽減し，②SBF-SEM 撮像の際の加速電

圧と電流値の大幅な設定変更を行った。導電性カーボンを含むエポキシ樹脂包埋を用いた場合，1.4～1.5 kV 130 pA 程度の比較的高い加速電圧において，一次繊毛の形態画像取得できた。加えて，SBF-SEM 撮像の際の加速電圧と電流値の大幅な設定変更を行った場合，1.0 kV～1.1 kV の低加速電圧条件に 170 pA～200 pA の極端な高電流条件を設定することで，チャージアップを軽減し，高分解能 5~6nm ピクセルサイズで，40 nm～50 nm 厚の連続画像取得に成功した。結果，従来用いていた rOTO 法＋ウラン・鉛を用いた重金属のブロック染色では，一次繊毛の糖鎖構造は強くコントラスが増強されるため，一次繊毛画像取得に有効であった。一方，一次繊毛の構造体のうち，微小管と基底小体の構造破壊が認められた。腎臓組織のグルタールアルデヒド固定後に 1％タンニン酸含有 0.1 M カコジレート緩衝液を加えて，微小管と基底小体の構造保持作用を持たせた上で，微小管の構造破壊を起こしやすい TCH と酢酸ウランを用いない固定法を検討した。通常の透過型電子顕微鏡を用いて，一次繊毛の構造体の保持状況について確認し，SBF-SEM 撮像を行った。1.0 kV～1.1 kV の低加速電圧条件に 170 pA～200 pA の極端な高電流条件を用いて，一次繊毛の構造体の保持した上で，高いコントラストの SBF-SEM 像が得られた。また，導電性カーボンを含まないエポキシ樹脂包埋を用いても，チャージアップが軽減された。

22. 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，岡田悠輝
（名古屋市立大学大学院医学研究科脳神経科学研究所神経発達・再生医学分野）
大野伸彦（自治医科大学医学部解剖学講座組織学部門・生理学研究所超微形態研究部門）
古瀬幹夫（生理学研究所細胞構造研究部門）

側脳室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，連続ブロック表面走査型電子顕微鏡（SBF-SEM）を用いて，新生ニューロンの移動時の微細形態の変化や周囲組織との接触・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

細胞表面に存在する一次繊毛は，細胞外からの様々な機械的・化学的刺激を受容する細胞小器官である。SBF-SEM および 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形態，細胞膜との関係を解析した。さらに，一次繊毛の形状と細胞内における局在，他の細胞内小器官の分布を詳細に解析し，新生ニューロンの移動相に対応してこれらが変化することを明らかにし，論文発表を行った（Matsumoto et al, J Neurosci, 2019）。

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 および 3 次元再構築法により定量的に解析した。

③ 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 および 3 次元再構築法により解析した。

23. 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繰り返しながら，分化細胞を産生する。分化した細胞は，その特徴的な細胞構造とともに，細胞の働きにとって重要な細胞内小器官の形態を示す。本研究では，発生段階の幹細胞や分化したグリア細胞がどのような細胞形態と細胞内構造の特徴を示すかを SBF-SEM による電子顕微鏡観察と 3 次元構築によって解析している。

後藤は，胎仔期の神経幹細胞におけるグリコーゲン顆粒に着目し，その細胞内での分布の微細構造を解析している。グリコーゲンは胎仔期の脳においては，神経幹細胞に多く含まれることが知られている。前年度までは，神経幹細胞の細胞体が存在する脳室層に着目して SBF-SEM による解析を行ってきた。抗グリコーゲン抗体による組織化学的染色を行うと皮質表層に強いシグナルが認められることから，今年度は，大脳皮質表面近傍に着目して SBF-SEM による解析を行った。しかし，観察に用いたサンプリングの染色状態が悪く，良好なシグナルが得られなかった。そのため，サンプリングの手順や試薬等を見直し，現在サンプリングを再度行っている。

小野は，生後の視神経をモデルとしてそこに存在する細胞の微細形態の構造解析を行っている。生後(P4)の視神経は，アストロサイト・オリゴデンドロサイト前駆細胞・ミクログリアから構成されている。SBF-SEM により撮像した画像を，Microscopy Image Browser ソフトウェアによってセグメンテーションを行い Amira ソフトウェア上で，3D 再構築や形態を解析するための動画を作製した。生後 4 日目の視神経は，アストロサイト・オリゴデンドロサイト前駆細胞・ミクログリアが存在しているが，それぞれの立体構造と特徴的な細胞内小器官が観察された。特にアストロサイトでは，特徴的な繊毛が認められている。今後，これらの特徴的な構造の三次元的なサイズや体積等を計測する予定である。

24. 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, 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。神経細胞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。これまで, 急性（1 日間）もしくは慢性（10 日間）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，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, 急性ストレス後にミクログリアによる軸索の囲い込み現象が亢進すること, そして慢性ストレス後にシナプスとアストロサイトの接触面積が減少することを見出した。これらの知見はストレスの時間経過に従い多様な神経グリア相互作用が生じ, 慢性ストレスによ

る情動変容の組織学的基盤を形成することを示しており，軸索―ミクログリア相互作用はストレス急性期における神経細胞によるミクログリア活性化機構を，シナプス―アストロサイト相互作用変化はストレス慢性期における前頭前皮質神経細胞の活動低下を担う可能性を示唆する。さらに現在はこれまでに引き続き樹状突起やシナプス，軸索の形態解析を継続中であり，十分なサンプル数が得られ次第盲検を解除して統計解析に供する予定である。

25. Serial Block-Face 走査型電子顕微鏡を用いた腸管粘膜固有層内の細胞の三次元超微形態学的解析

万谷洋平（神戸大学大学院･農学研究科･組織生理学教育研究分野）
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）

腸管粘膜固有層内には，間葉系細胞，免疫担当細胞を含めた種々の細胞が多数存在している。我々はこれまで Serial block-face 走査型電子顕微鏡（SBF-SEM）を用いて，ラット回腸粘膜固有層内の細胞の三次元的解析を行い，線維芽細胞様細胞（FBLC）や単核食細胞系列の細胞，好酸球の観察・分類への SBF-SEM の有用性を検証してきた（Arai *et al.*, 2020; Mantani *et al.*, 2019 他）。本研究では回腸で得たノウハウを腸管全長に応用し，腸管各領域の粘膜固有層における様々な細胞群の三次元的分類・観察を SBF-SEM を用いて実施することを目的とした。ラットの盲腸，上行結腸，下行結腸を樹脂包埋し，生理学研究所内にて金蒸着と SBF-SEM を用いた断層撮影を行った。得られた断層像から，とくに腸陰窩周囲の FBLC の三次元解析を行った。盲腸と下行結腸の腸陰窩周囲 FBLC を解析した結果，少数の上皮下 FBLC に加え，その固有層側に多数の FBLC が存在していた。この固有層側の FBLC の小胞体は盲腸では拡張していたが，下行結腸では小胞体の拡張する FBLC に加えて，拡張度の軽度な層板状の小胞体を有する FBLC が認められ，腸陰窩周囲の FBLC には部位差が存在することが示唆された。この結果を踏まえ，回腸の腸陰窩周囲 FBLC での発現が認められる CD34，血小板由来成長因子受容体 (PDGFR)α に対する免疫組織化学を行ったところ，大腸全長の粘膜固有層で $CD34^{+}PDGFR\alpha^{-}FBLC(CD34^{+}FBLC)$ および $CD34^{-}PDGFR\alpha^{+}FBLC$ $(PDGFR\alpha^{+}FBLC)$ が認められた。$CD34^{+}FBLC$ は盲腸，上行結腸では腸陰窩底部のみに，下行結腸では腸陰窩底部から側面にまで存在し，その数は大腸遠位に向かうほど増加した。いずれの部位でも $PDGFR\alpha^{+}FBLC$ は $CD34^{+}FBLC$ よりも常に上皮側で上皮下 FBLC として局在していた。

以上の結果から，$CD34^{+}FBLC$ および $PDGFR\alpha^{+}FBLC$ の少なくとも 2 種の FBLC がラット大腸全長の粘膜に存在しており，とくに腸陰窩周囲の FBLC の数や種類は部位によって異なることが示唆された（ABiS Symposium, 第 125 回日本解剖学会全国学術集会（誌面開催）にて公表）。

26. 細胞分化過程を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，生命機能科学研究センター）
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。筋細胞分化過程は qPCR を用いて生化学的な確認，レーザー顕微鏡を用いてのタイムラプス解析を踏まえてその時期を把握しながら，汎用性の TEM を用いて固定染色状況を確認した後，空間分解能が理論的には試料の厚さに影響を与えない SBF-SEM と三次元再構築法を用いて計測を行った。本来，単相の細胞を分化誘導する事により生じる立体的な配置での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，樹脂包埋方法ならびに加工技術の検討も合わせて行った。図 1 は分化誘導 5 日目の代表的な細胞内小器官の様子を示す。未分化の細胞と比べ，核の形の立体的な変化もあり，また，核の周りには多くのミトコンドリアが存在，オートファゴソームにより再構築されつつある課程やミトコンドリア間の連携も徐々に明らかになってきた。TEM や FIB-SEM においては 5 日目には既にサルコメア構造ははっきりと観察出来るが，残念ながら本 SBF-SEM 観察ではそこまではっきりとした像は取得出来なかった。しかし，比較的広範囲の 3D 微細構造モデル得ることが期待できる SBF-SEM はトランススケールな 3D モデル取得には必要な機器類であることは間違いない。また，3 月末の計測では特に樹脂に起因するチャージアップを試料作製，加工，蒸着そして計測パラメーターの検討から抑えることに成功し，ボクセルサイズｘｙｚが 5.5,5.5 10 nm で約 900 枚の安定な連続二次元画像を取得した。サルコメア構造もわずかであるが可視化出来るようになったと感じる。さらに，画像のゆがみや解像度を落とさないための工夫をしながらさらに SBF-SEM での観察視野をさらに広げるために 10 ％の Merge の部分を含む 2 x 2 のタイル張りの観察（一視野あた 8K x 8K を 4 枚ずつ）を Merlin，ΣIGMA-VP 両機共に行い，16K x 16K の情報を 40 nm の切削間隔では有るが，連続 400 枚以上を得る系を立ち上げた（図２）。この新たな広域観察の開発は細胞内のみならず組織内の 3D 構造情報取得への応用が期待出来る。

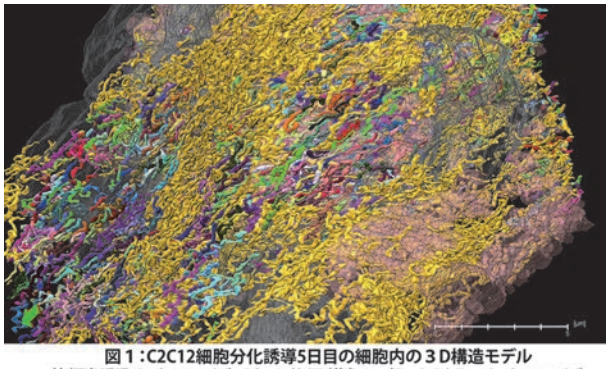


図１：C2C12細胞分化誘導5日目の細胞内の３D構造モデル
核（灰色透明：Surface model），ミトコンドリア（黄色＋一部マルチカラー：Surface model）、オートファゴソーム（桃色透明：Surface model）

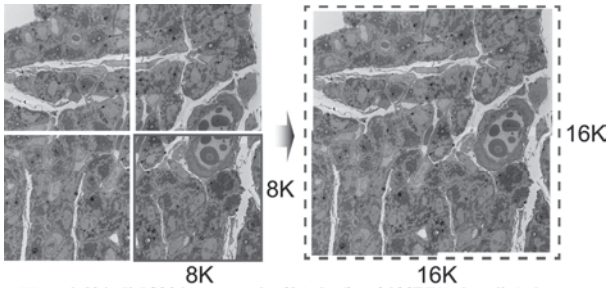


図２：心筋細胞試料を8K x 8Kを4枚したづつ連続撮影した画像からアライメントをかけ、得られた16Ｋx16Kサイズの１画像

27. 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･生体微細構築学講座）
大野伸彦（自治医科大学医学部･解剖学講座組織学部門）

精子形成は, 精祖細胞の有糸分裂, 精母細胞の減数分裂, 精子完成と呼ばれる精子細胞の形態変化からなる。減数分裂では，染色体数と DNA 量が半減するが，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。また，酸化ストレスはミトコンドリアを傷害し, ミトコンドリアの機能不全を引き起こす。本研究では，酸化ストレスの有無において, 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する。

Wistar ラットを用いて，虚血・再灌流による精子形成障害を生じた精巣と，対照として未処置の精巣を用いた。細切した精巣を, 固定後に炭素粒子を含むエポン樹脂に包埋し，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 Fiji を用いて画像を変換し，Microscopy Image Browser を使って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, 各細胞について 50 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指標に精母細胞を, 先体を指標に精子細胞を同定し，5 個の精母細胞と 5 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，虚血・再灌流の精巣においても, 精母細胞と精子細胞のミトコンドリア数に差はなかった。しかし，精母細胞のミトコンドリアでは，数のバラつきが大きかった。また，虚血・再灌流の精巣の精母細胞では, 形態に異常が見られるミトコンドリアの数が増加した。酸化ストレスがミトコンドリアの形態に対して障害を与える可能性が示唆された。

28. Using Zernike phase plate cryo-EM (ZEM) to study topoisomerases

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）

The potential advantage and disadvantage of ZEM contrast-enhanced cryo-EM on difficult samples such as membrane protein and antibody has not been clearly investigated. Here, we apply ZEM to a membrane protein, an antibody and its Fab fragment as well. The results show that we the density of membrane protein-detergent complex and Fab can be revealed in 2D class-average images when the data is pre-processed with suitable high-pass filters.

pMMO is a membrane protein that can convert methane to methanol in an ancient bacteria. Although its high-resolution structures were made available through X-crystal, the structure of its native state has been subjected to heated debate with issues ranging from the number of monomers in its functional state to how many copper ions it carry and where they are in the proteins. Since the size of pMMO is so small when it exists as a monomeric form, its existence can evade the detection by conventional cryo-EM. We thus subject the purified pMMO particles to ZEM observation. Based on the results of 2D classification enhanced by high-pass filtering (**Fig. 1**) show the pMMO stands out from the DDM background where the major form of pMMO likely an oligomer consistent with the trimer that was observed in X-ray crystal, suggesting the oligomer in X-ray crystal is unlikely a crystallization artifact.

In a separate study, we subject a therapeutic antibody with DDM and its Fab fragment without DDM to ZEM imaging and could clearly see them (**Figs. 2 & 3**). In conclusion, ZEM is a powerful observation tool for low-contrast or small particles. In addition, this study also reveals the issue of antibody

aggregation is mitigated in the presence of DDM.

Reference

1. Chang, W. *et al*. Zernike Phase Plate Cryoelectron Microscopy Facilitates Single Particle Analysis of Unstained Asymmetric Protein Complexes. *Structure* **18,** 17-27 (2010).

2. Scheres S.H. RELION: implementation of a Bayesian approach to cryo-EM structure determination. *J Struct Biol.* **180,** 519-530 (2012).

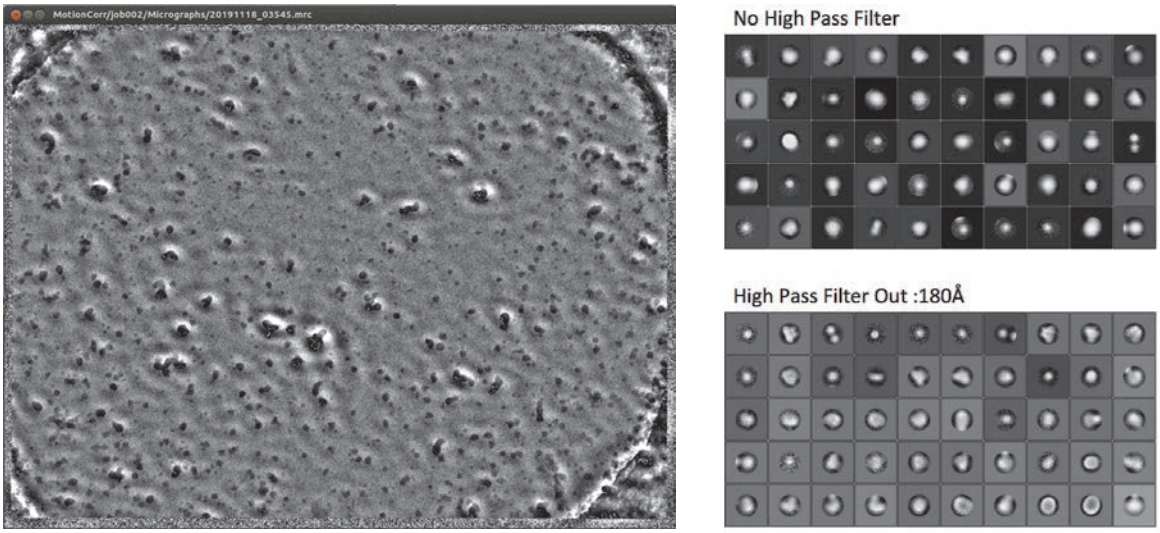


Figure 1. A ZEM image of pMMO particles (16 nm) and the 2D classification assisted by high-pass filtering.

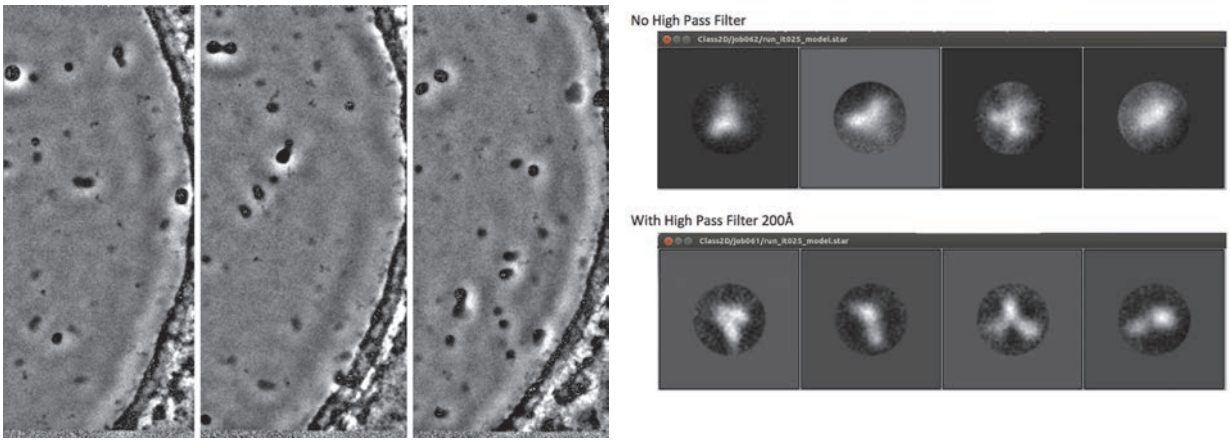
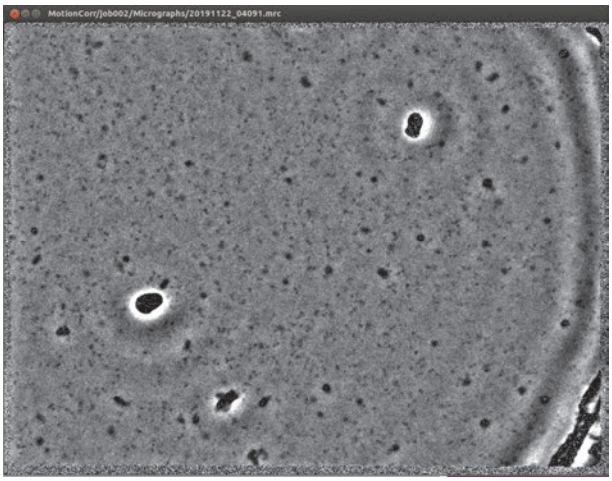


Figure 2. A ZEM image of Rituximab and the 2D classification assisted by high-pass filtering.



With High Pass Filter 200Å

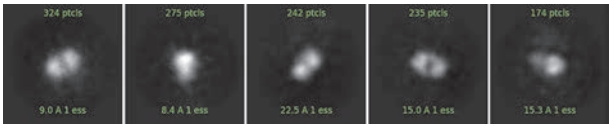


Figure 3. A ZEM image of the Fab of Rituximab and the 2D classification assisted by high-pass filtering.

29. HIV-1 Gag MA-Env 複合体のクライオ電子顕微鏡解析

田辺幹雄（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）
藤田美歌子（熊本大学 生命科学研究部）

<目標>

一時は不治の病と言われた HIV 感染症も，現在は適切な投薬を受ければ発症を抑制することが可能になってきた。しかし一旦 HIV に感染すると，潜伏感染細胞に潜むウィルスは抗 HIV 薬で除去することはできない。この感染細胞を除去し感染者体内 HIV を根絶することが，現在のエイズ治療の最大の目標である。HIV が細胞から放出される際に，HIV の Gag タンパク質が細胞膜に結合/集合する。これには Gag N 末端のマトリックス（MA）ドメインに付加したミリストイル基が細胞膜に挿入することや MA が細胞膜に存在するイノシトールリン脂質 PIP2 と結合することが重要である。熊本大学生命科学研究部の藤田特任教授らのグループは，この知見を基に PIP2 の誘導体 L-HIPPO を創製し，これを細胞内に導入すると Gag の膜結合が阻害され，細胞にアポトーシスが誘導されることを見出した（Tateishi ら Sci Rep, 2017）。HIV 潜伏感染細胞除去を目指す上で，Gag の膜結合/集合の様式やウィルス粒子への取込み際に形成される Gag と Env との複合体の構造情報を得ることは必須である。そこでこの複合体をクライオ電顕の単粒子解析を用いて構造解析を行うことを目標とした。

<結果と進捗>

それぞれミリストイル化 MA(Myr-MA)，Gag(Myr-Gag)，様々な変異体を大腸菌で発現させ，精製を試みた。Myr-MA は精製に成功し，高エネ機構，構造生物学研究センターが有する結晶化スクリーニングロボットを使って，蒸気拡散法，膜タンパク質への結晶化であるバイセル法，LCP 法を用いて結晶化を試みている。現在コロナウィルス感染症の蔓延により放射光施設が停止しているが，再稼働に伴いビームタイムを用いて X 線結晶解析を行う予定である。Gag と Env の複合体に関しては，現在の所クライオ電顕による単粒子解析に用いる安定した複合体が得られておらず解析にまでは至らなかった。並行して複合体が得られた際に，安定な膜タンパク質の複合体の解析にナノディスクの精製にも取り組み，汎用性の高い MSP1, MSP2, MSP1E3 の精製に成功した。残念ながら，当初の目標である MA と Env 複合体の単粒子解析にまでは至らなかったが，今後も安定的なタンパク複合体の生成に向けて取り組んでいく予定である。

30. 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[1]，ゴーシュ･イリカ[2]，アベイナヤカ･ダミタ[1]，ソン･チホン[3]，村田和義[3]
（[1]埼玉大学教育学部，[2]埼玉大学理工学研究科，[3]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，規則的に植え継ぎ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 が一時的に凝集構造をとること，この時ポリリン酸体が対になって配置し，チラコイド膜の形状が波打つように変形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顕微鏡下で可視化し，細胞分裂時の挙動を明らかにしたうえで，正確な微細構造と相互関係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している。

昨年度までに，新規に合成された DNA を EdU の添加とクリック反応により蛍光ラベルして可視化できるようになった。また高濃度の DAPI によるポリリン酸体の蛍光染色，抗 Rubisco 抗体によるカルボキシソームの蛍光染色が可能となり，これらの細胞内構造を同時に観察し細胞分裂前後の挙動を明らかにすることができた。

今年度は特に，カルボキシソームが培養条件や細胞周期によって，ほかの細胞内構造と関りながら変化する様子に注目した。蛍光標識したカルボキシソームは，細胞伸長期にはチラコイド膜に囲まれた細胞質部分全体に均等に分散して存在するが，細胞分裂期には中央部に整列し, DNA 凝集期には融合して棒状の構造をとる様子が観察できた。この時，Rubisco の局在を示す蛍光と DNA を示す蛍光はほぼ重なった。また，この時期にスライドガラスとカバーガラスに挟んだ状態で細胞を適度な強さで押して破壊することにより，カルボキシソームと DNA の複合体を遊離することができた。この構造を急速凍結してクライオ電子顕微鏡で観察したところ，特徴的な Rubisco の結晶構造を有した棒状のカルボキシソームの周囲に DNA を含むとみられる特徴的な構造が存在した。

さらに DNA の凝集構造を DNA の特定の構造部位に結合する DRAQ で処理したのち，DAB 存在下で赤色光照射することにより, DAB とオスミウムブラックの局在を超薄切片上で可視化することができた。この方法でも，細胞分裂時に細胞中央部に集積したカルボキシソームに隣接した DNA を含む特徴的な構造が存在する様子を確認することができた。

31. 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，北川　円（神戸大学理学研究科）
加藤貴之，坂本美織（大阪大学蛋白質研究所）
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。本研究では，単細胞真核生物 *Raphidiophrys contractilis* を用いて，vault の原始的機能と進化の道筋を明らかにすることを目的とした。特に，Major vault protein（MVP）が餌の捕獲に関与する分泌性オルガネラの構成分子である点に着目し，その分子構築をクライオ電顕解析により解析した。

申請者らは最近，原生生物 *R. 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。加えて，MVP は，直径が約 200 nm の，kinetocyst と呼ばれる餌の認識と捕獲のための分泌小胞の内部，特に「jacket 構造」と呼ばれる構造に局在することを見出した。そこで本研究では，kinetocyst を細胞から単離し，その微細構造についてクライオ電顕を用いたトモグラフィー解析を行った。そ

の結果，分泌後には kinetocyst の「jacket 構造」は，kinetocyst の中央に位置する 2 個のコア構造を中心として同心円状に約２倍に拡大し，96 個のユニット構造がはしご状に結合したリング状構造と，それに付随する多数のフィラメント構造へと変化していることを見出した。抗 MVP 抗体を用いた免疫電顕により，MVP はフィラメント構造に局在することもわかった。フィラメント構造を含む分泌後の kinetocyst は，直径が 600-700 nm にまで拡大していた。リング状構造を構成する個々のユニット構造からは，長さが約 50 nm の突起構造が出ていた。

kinetocyst の中央部には，細胞表層に対して垂直に位置する２つの直径約 50 nm の球状のコア構造が存在している。これらをクライオ電顕にてトモグラフィー解析を行ったところ，どちらのコア構造も，その表面は二重膜構造で覆われているように観察された。さらに，単離した kinetocyst を 0.1 % Tween-20 で処理したところ，細胞表層側に位置するコア構造（コア B）のみが時間と共に崩壊する様子が観察された。これらの結果は，少なくともコア B が生体膜で囲まれた膜小胞であることを示唆している。

32. 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，橋本興人
（国立精神･神経医療研究センター神経研究所疾病研究第 4 部）
山田大輔，藤川　諒，齋藤顕宜
（東京理科大学薬学部薬学科薬理学教室）
揚妻正和，鍋倉淳一（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を孤束核（を中心とする脳幹部位）に発現させた（AAV 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）。昨年度までの検討で，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 年度までの検討で研究目的達成のために準備・工夫・改良した手法を用い，2019 年度は実際に 2 光子顕微鏡にてマウス孤束核でカルシウムシグナルを観察しながら頚部迷走神経の電気刺激を行い，孤束核ニューロンの応答を調べた。これまでに，当該電気刺激に呼応したカルシウム応答撮像に 少数例の実験で成功しており，迷走神経の電気刺激による脳内ニューロンネットワークの駆動を捉えたものと考えている。現在観察例を増やすべく実験を進めている。

さらに一部の実験においては，電気刺激ではなく摂食抑制ペプチドの静脈内投与による孤束核ニューロンの応答を検討中である。

33. 多光子顕微鏡を用いた嗅球ニューロンのターンオーバーを制御するグリア細胞及び血管の機能解析

澤本和延，澤田雅人，荻野　崇
（名古屋市立大学大学院医学研究科脳神経科学研究所神経発達･再生医学分野）
鍋倉淳一，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，生きた動物で同一の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不明であった。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長期生体イメージング法を確立し，嗅球ニューロンのターンオーバーの時空間的制御における嗅覚入力の役割を明らかにしてきた。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，嗅球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嗅球ニューロンおよび血流の同時生体タイムラプスイメージング法を用いて，血管に沿った新生ニューロンの移動動態と血流の関係を解析した。また，長期生体イメージング法を用いて，新生ニューロンの成熟過程と血管・血流の関係を解析した。さらに，多光子顕微鏡下で嗅球における血管の血流を局所的に調節することができる実験系を確立した。これら実験の結果から，成体脳における血管に沿った新生ニューロンの移動および成熟過程が血流によって調節されている可能性が示唆された。

34. ホログラフィック計測・操作による高次脳機能の創出

和氣弘明（名古屋大学大学院医学研究科 機能形態学講座分子細胞学）
鍋倉淳一（自然科学研究機構 生理学研究所）

本課題では，ホログラフィ技術を搭載した計測･操作一体型の顕微鏡を開発し，２光子顕微鏡による高次脳機能を担う中枢神経系細胞活動の検出とその操作を目指す。

本年度は，１）２光子顕微鏡をホログラフィック刺激と一体化した顕微鏡の最適化，２）ホログラフィック３次元光刺激技術による細胞活動制御と，３次元蛍光ディジタルホログラフィシステムによる細胞応答観察の２つの一体化する条件検討，３）ディジタルホログラフィックを用いた神経科学的研究への応用を推進した。

ニコン C1 顕微鏡をベースとした２光子顕微鏡（特注品）にホログラフィック刺激が導入できる光学系の構築を行い，同時刺激ができるシステムを構築した（図１）。本顕微鏡では可変波長のレーザーによる２光子顕微鏡画像取得を固定波長（1040 nm）によるパターン刺激と同時に行うことが可能である。これを最適化するために作成する光スポット数，スポット位置に関わらず，均質な光刺激を行なうための位相最適化法を考案し，その有効性を実証した。さらに細胞刺激の為の刺激レーザー光の形状の最適化を行った。これまで，ドーナツ型の形状の刺激光（細胞刺激の際の表面積が大きい）を Gaussian 型の形状のものと比較した（Dr. Vincent R Daria Group Leader (Daria group / Neurophotonics), The Australian National University との共同研究）。その結果，パワーの低いドーナツ型の形状の刺激光で，Gaussian 型の形状の刺激光と同等の神経細胞応答が得られることをカルシウムイメージングおよび電気生理学的な検証で明らかにした（図１）。この最適化し

た刺激光を用いて，生体に応用した。

生体への応用にあたって，本年度はまず慢性疼痛モデルへの応用を試みた。慢性疼痛は，外傷や炎症などに起因しておこる疼痛で，薬剤抵抗性のものも多く社会的な問題となっている。本研究では２光子顕微鏡を用いた神経回路活動の可視化データを基にホログラフィック刺激を用いた細胞刺激によって回路動態を明らかにした。慢性疼痛形成過程の神経細胞の活動変化を単一細胞レベルで明らかにするために２光子顕微鏡を用いて同一細胞活動の変化を経時的に観察した。疼痛刺激に対する応答は，慢性疼痛モデルは正常群と比較して有意にその特性に変化はなく，刺激時の同期性の増加およびカルシウム活動の上昇を認めた。そこで刺激を伴わない自発活動の変化を検証したところ，同期性およびカルシウム活動の強度変化を認めた。これらは活動強度および同期性の低い神経細胞の同期性および活動強度が上昇することによって得られる結果だということがわかった。化学遺伝学的手法を用いて，これらの活動強度および同期性を人為的に増加させると動物に疼痛行動が認められることからこれらの要素が疼痛神経回路形成に重要であることがわかった。さらにこのような神経回路活動変化を引き起こす分子基盤として電位依存性カルシウムチャネル（Cav2.2）の発現上昇によるものであることを薬理学的手法を生体に応用することで明らかにした。またホログラフィック顕微鏡を用いて，神経細胞間の機能的結合の評価を行い，慢性疼痛モデルにおいて，神経細胞間の機能的結合が強化されていることによって，同期性及び活動強度が増加することがわかった。さらにこれは NMDA の受容体阻害剤によって抑制されることから，この機能的結合強度の増加が NMDA 依存的であることがわかった。さらに機械学習を用いて，疼痛を担う神経細胞を抽出し，これをホログラフィック刺激することによって痛み行動を引き起こすことができるか検証した（論文投稿中）（図２）。

また疑似感覚の誘導および異種感覚の可塑性を用いた感覚学習の人為的成立を行う為に，異種感覚の可塑的変化を S1→V2 の結合に着目し，この結合変化を明らかにし，さらに機械学習を用いてこれらの刺激の予測精度を測定することによって，視覚遮断モデルマウスと正常群において，視覚遮断モデルマウスの予測精度が高くなることを明らかにした。これらの動物行動における変化およびその操作を目指して，荒さの違うやすりの識別学習装置を作成し，これらの高次視覚野における神経細胞応答が視覚遮断モデルマウスで鋭敏になることおよびそのメカニズムを明らかにし，これを操作することを行っている。

図１．　刺激形状の最適化

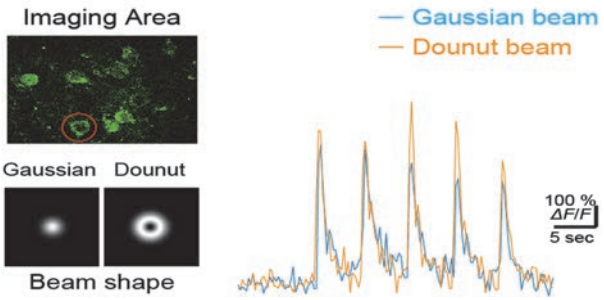
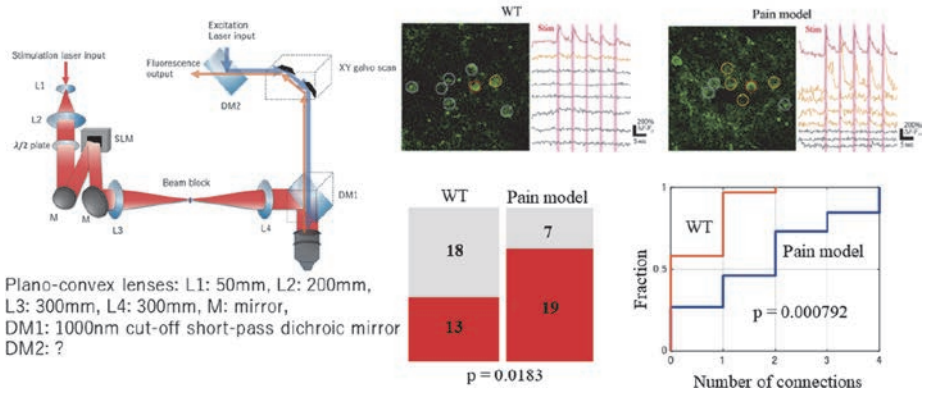


図２．

ホログラフィック刺激を用いた神経細胞間の機能的結合の評価



35. 線虫を用いたシナプス形成における CaMKII の機能解析

水本公大（ブリティッシュコロンビア大学）

目的

カルシウム依存的キナーゼである CaMKII は，シナプス可塑性やそれに伴う記憶などの高次脳機能に重要な役割を果たすことが知られている。シナプス可塑性を含む CamKII の後シナプスでの機能は解析が進む一方，前シナプスにおけるその役割はほとんど明らかになっていない。本研究では前シナプス形成における CaMKII の機能を，線虫の運動神経を用いて明らかにする事を目的とする。

結果

研究代表者の来日日程の調整が困難であったため本年度の共同研究を中止した。

36. 動物モデルへの双方向性計測操作による発振現象の理解

虫明　元，渡辺秀典（東北大学大学院 医学系研究科生体システム生理学分野）
南部　篤，知見聡美，佐野裕美（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）
深田正紀，深田優子（生体膜研究部門）

霊長類を動物モデルとして神経活動の発振現象の発生メカニズムとその機能的意義を理解することを目指した。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，光遺伝学的手法は有望視されている。一方で，同手法への非ヒト霊長類への適用については導入遺伝子の発現効率は低い。導入遺伝子の発現効率の指標として刺激による運動の即時誘導が用いられており，過去においてはニホンザルにおいて光刺激による眼球運動惹起の報告のみである。

本課題ではアデノ随伴ウィルスベクター（AAV-DJ-CAG-hChR2(H134R)/EYFP）をサル一次運動野に注入し，光感受性タンパク（チャネルロドプシン）を発現させた。一次運動野への光照射は上肢の筋活動並びに運動を誘導した。実験後に組織標本の EGFP を観察したところ，その蛍光シグナルはベクターの注入部位周辺で最も顕著であった。また被殻及び外側皮質脊髄路において軸索に EGFP 蛍光シグナルが観測されたのに対し，視床では標識される細胞はなかった。更に NeuN の発現している神経細胞は多数である（91.2 %）のに対し，パルブアルブミン（PV）陽性抑制性神経細胞，グリア線維性酸性タンパク質（GFAP）陽性グリア細胞での発現はわずかであった（PV, 15.9 %; GFAP, 1.9 %）。これらの蛍光標本の結果は，本実験で光刺激によって運動惹起させた一次運動野の細胞は，大脳基底核及び脊髄に投射する興奮性神経細胞が主であることを示唆する。

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示したものである。当ベクターの使用によって，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。また当ベクターを改良による細胞種特異的な光タンパク質発現，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。将来的には，光による脳深部刺激療法などヒトの病気治療へも応用されることが期待される。

37. 海馬シナプスにおける入力側依存性左右差の形成機構

重本隆一（IST Austria）

我々は海馬錐体細胞シナプスにおける左右非対称性がMHCclassI 輸送に必須のb2m 欠損マウスおよびMHCclassI 分子の受容体である PirB 欠損マウスで消失することを明らかにした。本研究では，CA1-CA3 シナプスにおいて，PirB をウィルスベクターによってプレ側あるいはポスト側の細胞でノックアウトする事により，シナプス結合のどちら側の PirB 発現が MHCclassI-PirB による認識と左右差の維持に必要であるかを明らかにすることが目的である。CA3 錐体細胞で PirB を欠損させるために，PirB の flox mouse の CA3 に Cre と EGFP を発現するアデノ随伴ウィルス（AAV）を注入し，EGFP が発現している神経終末が作る CA1 錐体神経細胞のシナプス形態を電子顕微鏡で計測した（presynaptic KO）。その結果，Cre を発現しない EGFP のみで標識された個体では，野生型と同様，右入力シナプスの方が左入力シナプスよりも大きく，perforated synapse の割合も約 2 倍であったのに対し，Cre を発現する個体では有意は左右差が消失していた。また PirB の flox mouse を CA1 特異的に Cre を発現させたドライバーマウスと交配し得られた conditional KO マウス（postsynaptic KO）でも，同様に左右差が消失していた。いずれの場合も，シナプスの大きさは野生型の左入力とほぼ同じであり，PirB null KO と同様である。従って，結論としては，シナプスのいずれの側でも PirB の発現が左右差の維持に必要である，ということが明らかになった。しかし，共同研究者によって得られている，PirB null KO を使った電気生理学による結果では，postsynaptic 側で PirB をレスキューした場合にのみ左右差が正常に戻ることが分かっている。今後は，この一見矛盾する結果を説明するために，3XFLAG タグを付加した tagged PirB knock-in mouse を用いて，PirB を直接可視化して電子顕微鏡でシナプス局在を調べる。

38. マウス大脳皮質広範囲に GCaMP を発現させるウィ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 を発現させるウィルスベクターを開発し，その注入方法を構築すること，そしてウィルスの最適な量・濃度も探索することを目的とした。2 年目となる本年度は，昨年度報告した発現方法に加えて，AAV（アデノ随伴ウィルス）を使った新たな発現方法を確立した。ウィ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。昨年度に実施した 4 種類の注入方法よりも広範囲，高発現かつ均一に GCaMP が発現していることを確認できた。GCaMP が特に広範囲に高発現していたマウスを選び，2 光子励起顕微鏡により観察した。自発活動と足刺激に対する神経応答を確認できた。さらに，2 光子顕微鏡による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注入領域と GCaMP が発現した領域を評価した。どちらの領域においても大脳皮質の層構造も崩れていないことが確認できた。現在は AAV のセロタイプ，注入する AAV 量，力価の最適化も済んでおり，今後は確立した新しいウィ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。

39. 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，石田裕昭（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。これらの領野は随意運動制御に重要な役割を果たすことがわかっているが，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わかっていない。そこで本研究提案では，ウィルスベクターを利用した遺伝子導入技術を用いて，上述の神経経路の機能的役割を明らかにする。これまでに貴研究所ウィルスベクター開発室から提供していただいた逆行性ウィルスベクターを脊髄へ注入し，大脳皮質運動関連領域に十分にベクターが発現することをマカクサルで確認している。2019 年度は hM3D を実装した逆行性ウィルスベクター（AAV2 retro-hSyn-hM3D(Gq)-mCherry）を提供していただき，これまでと同様に上肢筋を支配する運動ニューロンが豊富に存在する C6-7 頸髄内に微量注入した。注入から 2 ヶ月経過後，麻酔下で人工リガンドを全身投与(筋注)することで，運動野の皮質内微小電気刺激によって誘発される筋活動が増大する結果を複数回に渡って得ることができた。また，運動野の皮質内微小電気刺激よる誘発筋活動の増大は，人工リガンドの投与数分後から現れ始め，2 時間経過後も増大効果が確認できた。これらの結果らか，提供していただいた興奮性の DREADD を搭載した逆行性ウィルスベクターが感染細胞の興奮性増大に寄与していることを電気生理学的手法によって検証することができた。今後は覚醒下でのリガンド投与による行動への影響および解剖学的実験を行う予定である。

40. ウィルスベクターによる分子発現系を用いた慢性痛脳内可塑性メカニズムの解明

高橋由香里（東京慈恵会医科大学）

慢性痛の成立の背景には，脳内痛みネットワークのシナプス伝達の可塑的変化があることが示唆されており，そのメカニズム解明は喫緊の課題である。ウィルスベクターを用いた脳内への分子発現介入は，特定の経路の活性化，抑制，または標識を可能にし，特定神経核間のシナプス伝達解析，および，その経路の個体での役割の解明に必要不可欠な手法である。本研究では，化学遺伝学受容体 DREADD（designer receptors exclusively activated by designer drugs）をアデノ随伴ウィルス（AAV）ベクターで扁桃体中心核に局所的に発現させ，異所性疼痛行動における扁桃体中心核の役割の解明を目的とし，以下の解析を行った。

Cre リコンビナーゼ依存的に興奮性または抑制性 DREADD 受容体（hM3Dq または hM4Di）を発現させる AAV ベクターを，GABA 作動性ニューロン特異的に Cre リコンビナーゼを発現する VGAT-Cre ラット扁桃体中心核に局所微量投与した。AAV 投与 4 週間後以降に行動観察および電気生理実験を行った。人工 DREADD 受容体リガンド投与が及ぼす後肢足底機械性疼痛閾値への影響を評価した。（1）片側口唇部ホルマリン投与による炎症性疼痛モデルでの扁桃体中心核 GABA 作動性ニューロンの抑制，および，（2）非疼痛モデルでの扁桃体中心核 GABA 作動性ニューロンの興奮は，それぞれ，機械性疼痛閾値の有意な上昇，および，有意な低下を引き起こした。電気生理実験で hM3Dq または hM4Di 受容体発現ニューロンが，人工 DREADD 受容体リガンドによって，興奮，または，抑制されることを確認した。口唇部での炎症で誘発される後肢足底の痛覚過敏は，非炎症部位での異所性痛覚過敏であり，この結果から，扁桃体中心核の興奮が中枢性の疼痛制御を行う責任部位の一つであることが明らかになった。現在，この中枢性疼痛制御機構に対する各種中枢作用性鎮痛薬の効果の違いを検討している。加えて，痛みが慢性化する過程で扁桃体中心核の活動を同じく化学遺伝学的に抑制することにより，痛みの慢性化を抑制できるか検討中である。

41. 光計測と光刺激を用いた脳機能作動原理の研究

松崎政紀，寺田晋一郎（東京大学大学院医学系研究科）
小林憲太（生理学研究所･ウィルスベクター開発室）

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，光計測によって行動時の神経細胞の活動を明らかにし，かつその活動を制御することによる行動・細胞活動変化を調べ，その経路を同定し，活動と行動の因果関係を明らかにする必要がある。光計測には蛍光カルシウムセンサー等を，活動制御にはチャネルロドプシン等を用いる。遺伝子を導入のために，アデノ随伴ウィルスベクターを用いる。

本年度は，これまでの共同研究でその有用性を確認してきた赤色カルシウムセンサーを用いることで，複数脳領域の神経活動の同時測定や，緑色カルシウムセンサーと組み合わせることによるそれら複数領域から投射される情報の同時測定について進めた。具体的には，文脈や価値が変動する認知的運動課題を遂行しているマウスの前頭葉において，離れた視野をほぼ同時に観察可能な２光子顕微鏡を使用することや，高解像度の２光子顕微鏡で投射軸索をイメージングする手法を用いることでこれらを実現した。

また，こうした研究によって明らかとなった行動と神経活動の因果関係についてより詳しく明らかにするためには，光操作と神経活動の同時実現も重要である。実際，赤色カルシウムセンサーの励起波長（560 nm）は，光操作に用いるチャネルロドプシンの刺激波長（480 nm）と離れており，この目的に適している。しかし，通常２光子顕微鏡で用いる光検出器は光耐性が低く，同時使用には感度低下など制限があった。本年度はこの問題についても，顕微鏡システムを改良することで解決に目処を付けた。今後は，これら実験系を用い，回路レベルで脳機能作動原理について明らかにするとともに，マウスにおいて培われた手法をマーモセットへと適応していく。

42. 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）

我々はこれまでに腹側海馬（vHP）が意欲行動の持続を担うことを見出している。腹側海馬は意欲行動に関わりが深い腹側線条体に密な投射をしているが，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，目的指向型行動中に腹側海馬から腹側線条体へ投射する経路を光操作し，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。いずれの実験も AAV 感染が必須で，精製 AAV は生理学研究所から供給された。

①CamK2-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。

②CamK2-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。

以上の実験から，目的指向型行動中の腹側海馬-腹側線条体神経路の光活性化により意欲行動が低下することを明らかにすることが出来た。

43. 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･ウィ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，プレシナプスタンパク質 CAST/ELKS を中心とした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している。

2018 年に Journal of Cell Biology「Cytomatrix proteins CAST and ELKS regulate retinal photoreceptor development and maintenance」として報告した研究では，外界からの視覚情報を処理する網膜神経回路において CAST/ELKS の役割を明らかにした。受容した光情報を神経情報へと変換する網膜・視細胞は，リボンシナプスと呼ばれる特徴的な構造によって次の双極細胞へと情報を伝達している。先の解析では，このリボンシナプスに局在する CAZ タンパク質・CAST/ELKS ファミリーを欠損させると，網膜構造やリボンシナプスの微細構造が変性することを明らかにした。特に，本共同研究により作成した視細胞特異的に Cre を発現させる AAV5 型のウィルス（AAV5-CAGGS-Cre）を用い，網膜の層構造が構築された 4 週齢以上で ELKS を時期特異的に欠損させると視細胞が変性しシナプスが消失することがわかった。さらに本研究を CAST の時期特異的欠損にも応用させたところ，同様の変性がみられることがわかり，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てきた（2019 年・神経科学学会）。高齢になってから発症する網膜変性疾患では，視細胞の変性・脱落に伴う視機能の低下が知られており，本研究課題を発展させることで視細胞脱落の作用機序を明らかにし，治療法開発等へ応用することが期待される。

また今後は，中枢の神経回路へと解析を応用させるため，シナプスタンパク質の発現を制御する遺伝子改変マウスや光遺伝学ツールを発現させる AAV の開発を進めており，シナプス伝達によって制御される神経回路網の形成や維持機構のさらなる解明を進めていく。

44. アデノ随伴ウィ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，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。前年度に引き続き，今年度は以下の実験を行った。

1 つ目の実験では，昨年度 AAV-CAG-EGFP をマウスの末梢神経系から感染させ，脊髄内を走行する感覚神経線維を可視化する手法を確立したことを踏まえ，本年度は末梢神経系で神経変性が起こる *Dst* 遺伝子トラップマウスに AAV-CAG-Cre を感染させ，感覚神経線維における *Dst* 遺伝子を再発現したところ，*Dst* 遺伝子トラップマウスで見られる運動失調の症状が軽減し，感覚神経内のストレス応答遺伝子の顕著な発現抑制が確認された。

2 つ目の実験として，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 OIF による神経幹/前駆細胞から OL への分化作用について検討した。胎生 14.5 日目マウス胎仔終脳から単離した培養神経幹/前駆細胞に，OIF と GFP を発現する AAV（AAV5- OIF-IRES-GFP）またはレトロウィルス（pMY-OIF-IRES-GFP）を感染させた。OL 分化誘導条件下において，OL への分化を PDGFRα または CC-1 による免疫染色により検討したところ，両ウィルス感染条件共にコントロールと比較し，有意な OL 分化促進作用は認められなかった。一方，in situ hybridization および RT-PCR を用いて，

Plp や *Mbp* など複数の OL 関連遺伝子発現の亢進を確認した。よって以上の結果と前年度の報告から，OIF は OPC から OL への分化および成熟を促進するが，神経幹/前駆細胞から OL 系譜への運命決定能は持たない可能性が示唆された。今後は，OIF が標的とする OL 関連遺伝子の同定や他の OL 誘導因子との相互作用の有無を検討する。

45. 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 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。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腹嗅核（ventral olfactory nucleus, VON）と名付けた（Murata et al., Scientific Reports 2019）。

腹嗅核ニューロンの樹状突起は脳底部の表面へと伸び，樹状突起スパイン上で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。改変型狂犬病ウィルス（SAD-deltaG-EGFP+EnvA）を用いた逆行性経シナプス標識により，腹嗅核ニューロンへの入力経路を包括的にすると，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。

腹嗅核の行動反応･生理機能における役割を明らかにするために，薬理遺伝学実験を行った。逆行性に感染するアデノ随伴ウィルスベクターを視床下部外側野に注入することで腹嗅核に Cre 組換え酵素を発現させ，Cre 依存的に活性化型 DREADD (hM3Dq) を発現誘導するアデノ随伴ウィルスにより腹嗅核に hM3Dq を発現誘導した。Clozapine N-oxide の投与で腹嗅核ニューロンを活性化すると，動物の摂食量が増加する傾向がこれまでに観察されている。

46. 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）
小林憲太（自然科学研究機構 生理学研究所 ウィルスベクター開発室）

脳血管障害後の集中的なリハビリテーションは，損傷を受けた中枢神経系の可塑的変化を惹起し，運動機能の回復を導くと考えられているが，その詳細な機構は未だ不明な点が多い。より効果的な治療法の確立のためには，関連する因子及び神経回路の同定が不可欠である。本研究では脳出血モデルラットを用い，集中リハビリテーションに伴う中枢神経系の形態学的・機能的再編を解析し，作用機序を解明することを目的とした。

本研究では Wistar 系成体雄ラットを用い，ケタミン（70 mg/kg/body weight）およびキシラジン（10 mg/kg）による麻酔下にて内包部にコラゲナーゼを注入し内包出血モデルを作成した。出血後，イソフルラン麻酔下（濃度 1.5 %）にて非麻痺側前肢をギプス包帯により拘束し，麻痺側上肢の集中使用させる状態で 1 週間生活させた。本研究では，ウィルスベクター二重感染法による選択的機能阻害法を用い，皮質-赤核路および皮質-網様体路を選択的に神経遮断し，上肢の巧緻運動機能を評価した。実験終了後は，ケタミンおよびキシラジンの深麻酔

下にて経心的に灌流固定し，脳および脊髄を取出し，ウィルスベクター感染の確認，赤核および網様体におけるビオチンデキストラミンアミン（BDA）染色の組織学的解析を行った。

その結果，皮質赤核路の選択遮断状態下で脳出血後の麻痺則上肢集中使用（リハビリテーション）を行わせることによって，皮質網様体路が機能的に代償するようになることがあきらかになった。このことは，BDA 染色による神経突起の数の増加や電気生理学的な刺激応答性の確認実験から証明された。この実験結果は，Journal of Neuroscience 誌の 2019 年 9 月 11 日号に掲載された。

47. ウィルスベクターを用いたグリア細胞−ニューロンシグナリングの解明

檜山武史（岡山大学）
小林憲太（生理学研究所）

ウィルスベクターを用いて，新規 Na センサーの同定に成功した（Eur J Physiol. 2020）。脳の神経核の中で例外的に血液脳関門を持たない脳弓下器官（SFO）や終板脈管器官（OVLT）は，体液情報をモニターする脳の感覚器官である。SFO や OVLT に発現するセンサー分子を探索するため，RNA-Seq による網羅的遺伝子発現解析を行った。他の脳領域に比べ特に OVLT における発現が高かった Slc9a4（Na^+/H^+交換輸送体）について機能解析を行った。Slc9a4 は OVLT のアンジオテンシン II 受容体 AT1a 陽性のニューロンに発現していた。Slc9a4 をマウス神経芽細胞腫由来細胞の Neuro2a に発現したところ，細胞外 Na^+上昇に応答することがわかった。一方，浸透圧上昇には応答しなかった。

Slc9a4 の遺伝子座に *lacZ*（β ガラクトシダーゼ遺伝子）を挿入した Slc9a4 ノックインマウスを用いて，Slc9a4 の生体内での役割を検証した。Slc9a4 陽性細胞において lacZ 遺伝子を発現する $Slc9a4^{lacZ/+}$マウスから OVLT を含む急性脳スライスを作成した。β ガラクトシダーゼ発現細胞の蛍光標識薬である SPiDER-βGal によってスライス内の Slc9a4 陽性細胞を蛍光標識し，パッチクランプ法によって，その細胞から神経活動を記録した。その結果，Slc9a4 陽性細胞は，細胞外 Na 濃度上昇に応じて活性化すること，その活動上昇は Slc9a4 の阻害剤である EIPA によって抑えられることがわかった。さらに，アンジオテンシン II にも応答すること，アンジオテンシン II と Na^+上昇が重なることによって，さらに活動が高まることが明らかになった。

ウィルスベクターを用いて Slc9a4 を標的とする miRNA を OVLT に導入し，OVLT 特異的に Slc9a4 の発現をノックダウンしたマウスを作成した。脳室に高張食塩水を投与した際に誘発される飲水量を調べたところ，野生型マウスに比べて半減していた。

以上の解析から，Slc9a4 が口渇感の制御に関わる脳の Na センサーであることが明らかになった。

48. 報酬学習の神経回路機構解明に資する技術開発

小川正晃（京都大学）

（目的）

報酬学習を担ういわゆる報酬系と呼ばれる脳領域は，条件刺激と報酬の間の関係の学習に対応して活動するが，それらの活動が，実際に学習に果たす役割は，未解明である。そのような役割を解明するための鍵となるのは，時空間特異的に神経活動を操作し記録する手法の開発である。そこで本研究は，この目的に資する新規ウィルスベクターを開発する。

（計画）

麻酔下のラットの報酬系脳領域（前頭前野領域や基底核領域など）に，本共同研究によって作製する光感受性チャネル・ポンプ・カルシウムセンサーなどを発現する AAV ベクターを注入し，さらに活動計測・操作を行うための光を導入するための光ファイバーや神経活動記録

用の電極を埋め込み，条件刺激と報酬の間の関係を学習する行動中の神経活動の計測や操作に対する有用性を評価する。

（結果）

2019 年度は，本共同研究によって，８種類の AAV ベクターを作成した。各々のベクターについて順次，ラット脳に注入を行った。イメージング，光遺伝学法による行動制御などの目的のために最適となるウィルス濃度・量の検討を行い，それらが実際に発現することを確認した。さらに活動計測・操作を行うための光を導入するためのファイバーを埋め込み，行動中の神経活動の計測や操作に対する有用性を確認した。

49. ウィルスベクターを用いた経路選択的遺伝子操作による霊長類神経回路の機能解析

伊佐　正（京都大学大学院医学研究科）
小林憲太（ウィルスベクター開発室）

脳や脊髄に損傷を受けた後の機能回復過程では，大規模な神経回路の機能シフトが起きるが，その機構の解明には，神経回路機能を操作する研究手法が重要な役割を持つ。我々は，ウィルスベクターによる経路選択的な機能操作法を用いて，マカクザルを用いた頸髄部分損傷後の手指の機能回復機構や一次視覚野損傷後の眼球運動の視覚運動変換機構の回復過程を研究してきた。本研究では，このようなウィルスベクターを用いた霊長類での回路操作技術を改良するため，ウィルスベクター開発室と共同して様々な経路選択的ベクターツールを開発し，それをげっ歯類や非ヒト霊長類に遺伝子導入して効果を検証する研究の推進を目的とした。

以前から進めてきたベルギーのルーバンカトリック大学との共同研究では，ウィルスベクターを用いて腹側被蓋野（VTA）から側坐核への投射経路を選択的に阻害することでサルの認知行動課題中，強化学習には影響しないが動機付けには影響することを発見し，論文投稿中である。

昨年度から開始した 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，これらの経路の運動機能回復における役割を明らかにする実験では，1．ラットを用いて，VTA に順行性 AAV ベクター，皮質運動野に逆行性ウィルスベクターを注入して経路選択的にチャネルロドプシンやクリムゾン R を発現させ，その組織学的検索により二重感染に最適な組合せを明らかにして，論文を作成・投稿し，さらにこれらの投射細胞の特徴を，現在解析している。2．ラットの結果を受け，ニホンザル VTA にウィルス注入を行った実験では，順行性 AAV-CAG-FP の注入実験から組織化学的解析を進め，ニホンザルの皮質の広い範囲への投射とさらに特徴的な投射経路を発見し論文準備中である。この新しいデータに基づき，VTA にクリムゾン R 搭載 AAV ウィルスベクターを注入したニホンザルの腹外側前頭野を光刺激することにより，サルのリスク評価に基づく意思決定をコントロールすることができた。現在，この系でさらに追加実験を進めている。3．逆行性ウィルスベクターをマーモセット上丘に注入し，マーモセットの皮質における眼球運動関連領野の探索についても，論文化に向けたデータ取得を進め，このデータを元に，電気生理実験や回路操作実験を進めている。

50. 大脳基底核回路の解析

藤山文乃（同志社大学大学院 脳科学研究科）

大脳皮質運動野から淡蒼球外節（GP）への投射について詳細に解析した。視床下核と GP における一次運動野（M1）からの軸索終末密度を比較すると，GP では視床下核の約 50 %の密度であり，二次運動野（M2）からの投射では約 80 %であった。また，GP の内外側部では皮質終末が少なくなる傾向が見られ，カルビンディン陰性

の GP の中心部に多く存在した。

GP は，線条体へ投射する神経細胞と視床下核へ投射する神経細胞で構成される。スライス標本を使ったホールセル記録を行ったところ, チャネルロドプシンを導入した皮質終末を興奮させると，線条体へ投射する GP 細胞では, 記録した細胞の 8 割以上でシナプス電流が測定された。電流の振幅は皮質から視床下核へのシナプス入力と有意な差がなかった。一方，視床下核へ投射する GP 細胞では記録細胞の 3-5 割にしかシナプス電流が見られず, その振幅も小さかった。免疫染色の結果，皮質入力を受けていた線条体投射 GP 細胞の多くが，Forkhead box protein P2（FoxP2）を発現する arkypallidal neuron であった。以上の結果から，皮質運動野から GP への入力は GP の投射細胞タイプに依存しており，GP から線条体への抑制性投射を通して大脳基底核の働きに影響していることが示唆された。

この研究は, 生理学研究所 行動･代謝分子解析センターの小林憲太准教授との共同研究であり, 共著としてとして国際誌に論文発表した（*Karube F, Takahashi S, Kobayashi K, *Fujiyama F. *eLife* 12: e49511 (2019) ）。

51. 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）

神経軸索ガイダンス（神経回路形成）において中心的な役割を果たす分子は，神経軸索を誘引する分子と反発する分子であり，これまでの研究から，実際にさまざまな分子が軸索を誘引・反発することが明らかとなってきた。しかしながら，多くの神経回路においては，未だその多くが不明につき，全容の解明が待たれている。私たちはマイクロアレイとバイオインフォマティクスを併用した解析を推し進め，2 つの新規長鎖遺伝子がコードする分泌型蛋白質（mF1 と mF2）が，高等脊椎動物の神経発生に何らかの重要な役割を果たしていることを見出した。

今年度は，新規に開発した遺伝子機能予測法によって, 各遺伝子がどのような生命事象と相関性が高いか調べた。その結果を遺伝子ネットワーク・パスウェイ解析（ingenuity canonical pathways）にかけたところ，mF1 が神経軸索ガイダンス事象に対して高い相関性を示すことが明らかとなった。さらに，各発生段階のニワトリ胚の様々な部位にアデノ随伴ウィルス（AAV）ベクターを注入し，ウィルスベクターの分布と導入効率を調べつつある。このデータベースを完成させたのちには，mF1 と mF2 を導入した部位における神経系での変化の有無を解析する予定である。

52. 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（国立大学法人 岐阜大学大学院医学系研究科 脳神経内科学分野）
深田正紀（自然科学研究機構生理学研究所 分子細胞生理研究領域 生体膜研究部門）

病態に自己免疫学的機序が介在する自己免疫性脳炎は, 意識障害，痙攣発作，精神症状，小脳性運動失調など，多彩な神経症状を呈する疾患である。免疫療法を行うことにより, 症状の改善が得られるが, その診断に苦慮することが多い。時に，治療開始までに時間を要し，死に至ることや後遺症が問題となる。一方，自己免疫性脳炎患者では, 時に NMDA 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や，Hu などの神経細胞内抗原に対する自己抗体が検出されことがあり, これら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。その一方, 既知の自己抗体を有さない自己免疫性脳炎もあり，これらの症例では，未知の自己抗体の存在が示唆される。本研究は，既知の自己抗体を有さない自己免疫性脳炎患者を対象とし, 新たな自己抗体の標的抗原を同定

することを目的とした研究である。2019 年度，主に小脳性運動失調症を呈した自己免疫性脳炎患者 160 名を対象とし, ラット脳凍結切片を用いた免疫組織染色とラット海馬初代培養神経細胞を用いた免疫細胞染色により, 患者の血清･髄液中に存在する自己抗体のスクリーニングを行った。その後抗体陽性患者の血清を用いラット海馬初代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の同定を試みた。その結果，160 名中の 44 名の患者において未知の抗体の存在が疑われ，免疫沈降を行った。その結果，数名の患者において特異的と思われるバンドが検出された。その後の質量分析により, このうちの一つの抗原蛋白質として，Dynamin-1-like protein (DNM1L)を同定した。DNML1 は, ミトコンドリアおよびペルオキシゾーム分裂に関与することが知られている。小脳プルキンエ細胞に豊富に存在し，その遺伝子欠損により，正常な神経発達が欠如する Encephalopathy due to defective mitochondrial and peroxisomal fission 1 を呈することが報告されている。現在, 抗 DNM1L 抗体の特異性を検証するために，DNM1L の brain specific isoform である isoform 1 に対する自己抗体を検出することを目的とした cell based assay を構築し，さらに多数の患者髄液中で抗体の検索を行っている。

53. 動物の光受容タンパク質オプシンのダイナミックな機能変換メカニズムの解析

塚本寿夫（分子科学研究所）
久保義弘（生理学研究所）

多くの動物は，眼以外にも光を受容する器官を持ち，それらの器官で感知した光シグナルによって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オプシンが, 紫外光を感知するはたらきを持つことを見出していた（Tsukamoto et al., *J. Biol. Chem.*, 2017）。このオプシンは Opn3 ファミリーに属しており，Opn3 はヒト･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わかっていない）。

動物のオプシンは光感受性の G タンパク質共役受容体（GPCR）であり，光受容に伴い三量体 G タンパク質を活性化する。かつて環形動物などの無脊椎動物は，カルシウム応答を引き起こす Gq タイプの G タンパク質と共役するオプシンしか持たないと考えられていたが，Opn3 は Gi/o タイプの G タンパク質と共役することが知られていた。実際，ゴカイ Opn3 は紫外光受容に伴い Gi/o を活性化することも確認していた。

多くの神経細胞において，GPCR によって Gi/o が活性化されると, その βγ サブユニットが GIRK (Kir3) チャネルを活性化して K^+ 電流が増加することが知られている。現在オプトジェネティクス（光遺伝学）解析でよく用いられているチャネルロドプシンでは K^+ 電流を操作することが困難であるため，Opn3 は K^+ 電流の光操作ツールとして有用であると考えられた。

これらの知見に基づき，本年度は種々の無脊椎動物から見いだされた Opn3 ホモログを GIRK チャネルと共にアフリカツメガエルに発現させて，光刺激に伴う GIRK 電流の変化を電気生理学的に解析した。その結果，近縁な動物から見いだされた Opn3 においても，活性化される光の波長（色）や GIRK 電流のオン・オフキネティクスが異なることを見出した。すなわち Opn3 の機能特性は進化の過程でダイナミックに変化しており，その特性の違いを利用することで, K^+ 電流の光操作ツールとして利用できると考えられた。

54. 多様な生物種を比較することによるイオンチャネルと受容体の機能解析

岡村康司（大阪大学）
小野富三人（大阪医科大学），中條浩一（自治医科大学）
藤原祐一郎（香川大学），岡戸晴生（東京都医学総合研究所）

本研究は，各種イオンチャネルと受容体の機能を生物間で比較してその動作原理の共通項や多様性を明らかにすることを目的として行われた。本年度行われた研究は以下の通りである。

(1) 電位依存性ホスファターゼ（voltage-sensing phosphatase, VSP）について，ゼブラフィッシュで作製した VSP 欠損個体を用い，その発現部位と表現型をマウスのものと比較した。ゼブラフィッシュでは，VSP がマウスよりも腸管の一部に多く発現することを明らかにした。またこれをノックアウトすることでゼブラフィッシュの生存率が有意に低下することも明らかとなり，腸管での VSP 機能の重要性が示唆された。(2) ホヤ NaV を用いた発現系実験により，哺乳類の NaV との電気生理学的性質の比較を行った。ホヤの NaV は単独でも速いカイネティクスを示し，また哺乳類の β サブユニットと共発現を行ってもその性質に変化は生じなかった。また，今回同定された NaV は，ホヤにおいても実際に神経系で発現していることが明らかとなった。(3) ホヤ胚のグルタミン酸受容体およびその変異体の機能をツメガエル卵母細胞発現系を用いて得た結果を解析し考察した。(4) ゼブラフィッシュのアセチルコリン受容体を用いて速筋・遅筋特異的な nAChR 制御のメカニズムを明らかにした。

以上から，多様な生物種におけるイオンチャネル，受容体機能を比較することで，これらについて，種間で保存されている共通のメカニズム，ならびに種特異的な機能が見えつつある。今後は同様の研究を継続して行うことで，各イオンチャネル，受容体の機能についてその知識を動物種を越えて幅広く充実させ，これらを俯瞰して分析することで，新たな知見を見出したいと考えている。

55. 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 CaM の結合を分子構造シミュレーション法により検討した。特に今年度は，高 Ca^{2+}条件下での CaM（Ca^{2+}/CaM）の結合をシミュレートした。使用したプログラムは，I-TASSER，ClusPro，FastContact および PyMol であった。先ず，チャネルの N 末部と C 末部を Gly リンカーで繋いだペプチドを作成し，それに Ca^{2+}/CaM が架橋結合する構造をシミュレートして，結合エネルギーの低いモデル５つを得た。この内，４つは CaM の N-lobe と C-lobe がチャネルのそれぞれ N 末部と C 末部に結合しており，この parallel 結合の様式は Ben-Johny らの予想（J Gen Physiol, 2014）と一致していた。他の１つは，逆向きに（anti-parallel）に結合していた。

次に，チャネル C 末部の CaM 結合領域である preIQ と IQ のペプチド（preIQ-IQ ペプチド）に 2 分子の CaM が結合する構造をシミュレートした。PreIQ-IQ に先ず第一の CaM 分子を parallel に結合させ，その結合体を acceptor として第二の CaM を結合させた。その結果，第二の CaM も多くは parellel に結合する結果となった。

今後，結合に関与すると想定されたアミノ酸を変異させたチャネルの断片ペプチドと CaM の結合実験を pull-down 法により行う予定である。更に，同チャネル変異体を patch-clamp 法でも解析する。

56. 新規の 7 回膜貫通型の温度受容体候補タンパク質の培養細胞における温度応答性ダイナミクス

久原　篤（甲南大学 統合ニューロバイオロジー研究所／理工学部／大学院自然科学研究科）
富永真琴（生理学研究所 細胞生理研究部門）
大西康平（甲南大学 統合ニューロバイオロジー研究所／大学院自然科学研究科）

温度は生体反応に直接影響を及ぼす重要な感覚情報である。これまでに，温度情報が三量体 G タンパク質によって伝達されるケースを, 線虫 *C. elegans* で見つけたため, その上流の GPCR 型の未知の温度受容体の同定を目指した。約 1000 個の GPCR の RNAi から候補遺伝子が少数に絞り込まれた。さらに, カルシウムイメージング解析から, 1 つの GPCR が温度受容候補となったため, この GPCR が本当に温度受容体であるかを, 培養細胞による生理学解析で検証することを目的として解析を行った。

これまでに見つけた GPCR 型の新規の温度受容体候補遺伝子を，温度を受容しない味覚ニューロンで強制的に発現させたところ温度刺激に対して反応するようになったため，培養細胞において候補 GPCR を発現させ，再構成的に温度に応答するようになるかを，生理学研究所 富永 真琴 教授と曽我部 隆彰 准教授の御指導の下，共同研究として解析した。具体的には S2 細胞，Xenopus oocyte に，温度受容体候補 GPCR を発現させ，カルシウムイメージングや電気生理解析を行うことで，候補 GPCR が本当に温度受容体であるかを検証した。カルシウムイメージングや電気生理を行うにあたって，候補 GPCR の下流で機能することが見つかっている TRP チャネルや cGMP 依存性チャネルも同時に発現させることを試みた。解析の結果から上記の GPCR が温度に応答するかはさらなる検討が必要であったが，線虫では初めて複数の TRP チャネルコンプレックスが温かい温度もしくは高温に応答している結果が得られた。

57. 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，嶌田嵩久，高橋賢次（鳥取大学･農学部）
富永真琴（生理学研究所／生命創成探究センター）

過硫酸塩 Persulfate は強力な酸化作用を持つ硫黄化合物であり，工業用物質として広く用いられている。Persulfate は曝露により，職業病喘息や鼻炎，接触性皮膚炎などの疾患が引き起こされることが知られているが, その病態発生における分子基盤は明らかにされていない。近年，種々の侵害受容性 TRP チャネルが呼吸器症状や皮膚疾患に関与していることが報告されている。そこで本研究では，Persulfate が TRP チャネル活性に与える影響について検討した。野生型及び侵害受容性 TRP チャネル欠損$^{(-/-)}$マウスより分離した知覚神経細胞，マウス及びヒト TRP チャネル遺伝子を発現させた HEK293 細胞を用いて, Fura-2 による細胞内 Ca イメージング及び whole-cell パッチクランプ法による電流測定を行った。

野生型マウス知覚神経細胞において Persulfate (30 mM) は細胞内 Ca^{2+}濃度（$[Ca^{2+}]_I$ ）を増加させ，この反応は細胞外液の Ca^{2+}除去及び TRPA1 阻害薬によって抑制された。TRPA1$^{(-/-)}$ 知覚神経細胞では Persulfate（30 mM）による$[Ca^{2+}]_i$ 増加反応は消失していた。マウス TRPA1 発現 HEK 細胞（mTRPA1-HEK）において Persulfate は濃度依存性に$[Ca^{2+}]_i$ を増加させた。更に，マウス TRPV1 発現 HEK 細胞（mTRPV1-HEK）では Persulfate (100 mM) により$[Ca^{2+}]_i$ 増加反応が生じた。同様の反応は，ヒト TRPA1 及びヒト TRPV1 発現 HEK 細胞においても見られた。mTRPA1-HEK 及び mTRPV1-HEK では Persulfate により電流反応が生じ，その反応はそれぞれの阻害薬により抑制された。AITC 非感受性 TRPA1 ミュータントを発現させた HEK 細胞では Persulfate による$[Ca^{2+}]_i$増加反応は消失したが，Capsaicin 非感受性 TRPV1 ミュータントでは Persulfate による反応が変わらず生じた。

以上の成績により，Persulfate は TRPA1 チャネルを活性

化させること，さらに高濃度では TRPV1 チャネルも活性化させることが明らかとなった。そのため，Persulfate の曝露により生じる呼吸器障害や皮膚疾患の分子基盤に TRPA1 および TRPV1 チャネルが関与することが示唆された。それ故，これらのチャネルは過硫酸塩による障害に対する有望な治療標的となり得ると考えられた。

58. 温度感受性 TRPV チャネルによる上皮細胞増殖と細胞移動制御機構解明

城戸瑞穂，吉本怜子，西山めぐみ，本田裕子，内野加穂（佐賀大学医学部）

上皮は生体と外界との境界を規定し, 動的な生体防御を担っている。ゆえに，上皮の損傷に対して，常に速やかな治癒が求められる。上皮バリアの破綻は様々な疾患と関連することが明らかにされているが, その機構については不明な点が多い。口腔粘膜は温度変化や機械的な刺激など多様な刺激にさらされている一方で, 皮膚等に比べると速やかに治癒することが知られている。ゆえに，口腔粘膜の上皮の動態を明らかにすることが, 上皮の代謝の理解に繋がると考えられる。近年，皮膚バリア機能に温度感受性のカルシウム透過性イオンチャネル transient receptor potential vanilloid 4 (TRPV4) が関与すると報告されている。そこで, 本共同研究により, 私たちは口腔粘膜上皮の上皮細胞間接着の形成が温度ならびに TRPV4 により調節されることを確認してきた。

そこで, 本年は細胞移動が TRPV4 により調節されるとの仮説を立てて研究を行った。実験には野生型ならびに TRPV4 遺伝子欠失マウスより単離した口腔上皮初代培養細胞を用いた。口腔上皮細胞の移動を生細胞イメージングにより解析したところ，TRPV4 遺伝子欠失細胞では野生型細胞に比べ細胞の移動が速やかであった。また，Scratch wound による in vitro 創傷治癒アッセイでも同様の結果が得られた。一方，TRPV4 agonist 刺激では細胞移動は抑制された。細胞移動時には，actomyosin の発する張力がダイナミックに調節されていることから，scratch 先端の細胞における Actin および Myosin の局在を，特に力の発生に必要とされるリン酸化 Myosin に着目して免疫細胞化学により解析した。リン酸化 Myosin は，細胞が密な領域と比べて scratch 先端の細胞で強い局在を認めた。また，TRPV4 欠失細胞では野生型細胞に比べ多くのリン酸化 Myosin を含んでいた。

以上の結果より，TRPV4 が口腔上皮細胞の移動の制御に関与しており, actomyosin 系を介した制御機構が存在することが示唆された。

59. Serial block face SEM visualization of cytomixis in tobacco meiocytes

Sergey Mursalimov（Institute of Cytology and Genetics）
Nobuhiko Ohno（Jichi Medical University）
Mikio Furuse（National Institute for Physiological Sciences）

The project goal was to study the intercellular nuclear migration (cytomixis) in plant male meiosis using serial block face scanning electron microscopy (SBF-SEM). Tobacco plants were used as a model. The experimental material was prepared in the Institute of Cytology and Genetics, Novosibirsk (Russia) and then analyzed using Gatan 3view - Zeiss ΣIGMA/VP microscope in National Institute for Physiological Sciences, Okazaki (Japan). Fourteen samples taken from individual plants were used to study the intercellular nuclear migration in tobacco male meiosis by SBF-SEM. Using SBF-SEM, 4TB of raw data including about 10000 electron microscopic images were obtained. After analysis, three-dimensional models of the tobacco meiotic tissue were reconstructed using special software. This approach for the first time allows to study the real three-dimensional pictures of the intercellular nuclear migration in the intact cells with resolution at the electron microscopic level. The analysis revealed that the intercellular nuclear migration was so far extremely underestimated. It was found that more than 90 %

of male meiocytes involved in the nuclear migration in normal tobacco meiosis. For the first time the number of special cytomictic channels in plant meiocytes was estimated. At the beginning of meiosis every meiocyte has about one hundred channels suitable for nuclear migration. We found that the migrating nuclei never produce micronuclei, as it was assumed before. The majority of the migrating nuclei migrate towards to the neighboring cell nuclei in zygotene stage and make some kind of internuclear contact, after the crossing the cell wall. The migration frequency on the next meiotic stages drastically decrease. We consider the intercellular nuclear migration as a normal part of tobacco meiosis that has potential to form aneuploid and unreduced pollen. The goal of the project was fully achieved.

60. プロテアソーム関連タンパク質の超分子複合体の構造機能解析

矢木真穂（自然科学研究機構 生命創成探究センター）
佐藤匡史（名古屋市立大学 大学院薬学研究科）

真核生物のプロテアソーム（タンパク質分解装置）は，約 70 種類のサブユニットからなる巨大で複雑な超分子複合体である。これらのサブユニットは自発的には正しい集合体を形成せず，アッセンブリーシャペロンと呼ばれる幾つかのタンパク質の介助によって集合している。一方，古細菌プロテアソームは，真核生物由来のものと比較して極めて限定された種類のサブユニットから構成されており，それらがシャペロン非依存的に自己組織化して 4 次構造を形成することができるのが特徴である。本研究では，古細菌のシャペロン様タンパク質 PbaA とその結合パートナータンパク質 PF0014 に着目し立体構造解析を行った。

超分子質量分析の結果から, PbaA は単独においてはホモ 5 量体を形成しているが, PF0014 と相互作用することにより，10:10 のヘテロ 20 量体を形成することを見出した。加えて，中性子小角散乱と透過型電子顕微鏡を用いて, ダンベル状の複合体中における PbaA と PF0014 の相対配置を決定したところ, PbaA がダンベル構造の両端に位置し, PF0014 はその内側に結合していることが明らかとなった。その際，PbaA の C 末端の α ヘリックスは開いておりフレキシブルな状態であることが示唆された。そこで，PbaA の C 末端の α ヘリックスを欠失させた変異体を作成したところ, 予想通り, その C 末欠損型 PbaA においても PF0014 と複合体を形成した。そこで，クライオ電子顕微鏡を用いて, C 末欠損型 PbaA と PF0014 複合体の精密構造解析を行い，7.3 Å の分解能で複合体構造を決定することに成功した。さらに分子構造モデリングと組み合わせた解析により, PF0014 のダイマー構造が 5 本の柱を形成しており, 複合体の両端に位置する PbaA の 5 量体を連結していること，また中央には大きな空洞があることが判明した。

以上の結果より，PbaA-PF0014 複合体は古代ギリシャ建築の“tholos”のような特徴的なカゴ構造を形成していることが明らかとなった。

61. 原索動物神経回路の三次元超微細形態学的解析

岩﨑広英（群馬大学大学院医学系研究科機能形態学分野），古瀬幹夫（生理学研究所細胞構造研究部門）
大野伸彦（自治医科大学医学部解剖学講座組織学部門），西野敦雄（弘前大学農学生命科学部）

神経細胞はシナプスを介して他の神経細胞とネットワークを形成し，多様な高次脳機能を実現する。従って個々の神経細胞がどのように配線されているのかについて，その結合様式を網羅的に解析することは，高次脳機能がどのように実現されるのかについて細胞レベルで理解する上で重要な手がかりとなる。このような神経回路の結合様式の網羅的解析はコネクトーム解析と呼ばれ，近年精力的に世界的に展開されている。コネクト

ームが初めて解明されたのは線虫（C.elegans）であるが，これは細胞系譜が個体によらず一定であり，なおかつ神経系を構成する神経細胞の数が比較的少数であることが功を奏した。海産無脊椎動物の一種であるマボヤ（*Halocynthia rorezi*）の幼生も，線虫と同様に細胞系譜が一定であり，神経系を構成する神経細胞の数が比較的少数であることからコネクトーム解析に適している。そこで本研究ではマボヤ幼生のコネクトーム解析を目的とし，ブロック染色および樹脂包埋の後，生理学研究所のミクロトーム組み込み式走査型電子顕微鏡（SBF-SEM）による観察を行った。取得した電子顕微鏡像より神経細胞のセグメンテーションを行うことでマボヤ幼生の神経ネットワークの解明を目指す。今年度は，マボヤ幼生の SBF-SEM 観察用試料の作製を試みたが，セグメンテーションを行うのに充分な画質の像を得るには至らなかった。そこで今後は SBF-SEM での画像取得に耐えうる試料作製を目指し，固定条件や染色条件などの様々なステップにおいて条件検討を重ね，プロトコールの改良に取り組む予定である。セグメンテーションに耐えうる画像が取得できるような試料作製法が確立され次第，SBF-SEM による連続画像取得を実施し，マボヤ幼生の神経系の結合様式の解明を目指す。

62. 大脳皮質ニューロンの微細構造の解析

平林祐介（東京大学工学系研究科）

ニューロン間のシナプス結合は様々な情報を脳が統合的に判断する上で非常に重要な役割を果たしており，シナプス結合パターンや特性を明らかにすることは我々の高度な脳の機能を理解する上で必須である。しかし，それぞれのシナプスの性質の違いを決める分子基盤や細胞内小器官の違いについては多くが不明なままである。そこで本研究では個々のプレシナプスの投射先とプレシナプス内の微細構造を明らかにすることを目的とした。近年の連続切片電子顕微鏡技術の急速な発達により，高速でかつ定量的にシナプスを検出する事が可能になってきた。一方で，電子顕微鏡観察では全ての膜構造が網羅的に観察されるため，特定のニューロンのシナプスを観察するためには細胞体からシナプスまで軸索をトレースしシナプスを同定しなくてはならないが，このプロセスは非常に困難であった。そこで本研究計画においては目的のニューロンに peroxidase (dAPEX2)を発現し，その peroxidase により触媒される 3, 3’-diaminobenzidine (DAB) 染色を手掛かりとして目的ニューロンが形成するシナプスを SBF-SEM を用いて同定することを目指した。本年度はまず，SBF-SEM を用いたマウス大脳皮質の観察のために必要なサンプル調整の条件検討を行った。その結果，目的領野内で DAB 染色される細胞の割合，及び電子顕微鏡用の染色の条件，さらにサンプルを包埋するレジンの重合の条件などの最適化を行うことが出来た。本年度の共同研究により見出された条件を用い今後の共同研究により，初期の目的を達成することを目指す。

63. 家族性中枢性尿崩症のバソプレシンニューロンにおける小胞体内凝集体形成機序の解明

宮田　崇（名古屋大学医学部附属病院 糖尿病内分泌内科）
有馬　寛（名古屋大学大学院医学系研究科 糖尿病内分泌内科学）
大野伸彦（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）

家族性中枢性尿崩症（FNDI）は生後数か月から数年で緩徐に進行する尿崩症症状を呈する常染色体優性遺伝性疾患である。我々は FNDI モデルマウスを作出し，バソプレシン（AVP）ニューロンの小胞体（ER）の一部に変異

AVP 前駆体が封じ込められた区画（ERAC: Endoplasmic reticulum-associated compartment）が形成されることを見出した。蛍光免疫染色および免疫電子顕微鏡による解析により, ERAC は小胞体シャペロン BiP および隔離膜のマーカーである LC3 が発現する膜に囲まれており，また ERAC の内部にライソソームマーカーの発現が確認された。以上より，ERAC は ER との交通を有すること，さらに ERAC はオートライソソームの特徴を有する compartment であると考えられた。小胞体内に蓄積した変異 AVP 前駆体は ERAC に封じ込められ，ライソソームが ERAC に融合することで ER から隔離されることなく ER の内部で分解されている可能性が示唆された。本研究ではこの仮説をより明確に示すため，ERAC と ER の連続性，および ERAC とライソソームの構造的相関性について SBF-SEM を用いて 3 次元微細構造レベルで明らかにすることを目的とした。

3 ヶ月齢雄性 FNDI マウスを還流固定して取り出した脳を 100 um 厚の切片に冠状断で薄切した。AVP ニューロンが局在する視索上核を同定してトリミングし, 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 AVP ニューロンの ERAC と ER およびライソソームを画像セグメンテーションして抽出した。

ERAC は多くの小さい突起構造を持つことが分かり，これらの突起構造の一部は周囲の ER の一部に接続している様子が観察された。また，別の突起構造と細胞質に存在する Lysosome とが結合している像も確認された。以上から ERAC は周囲の ER と同時に細胞質の Lysosome に接続しうる構造と考えられた。

今後，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 ERAC に関しての三次元再構築像を作成する予定である。

64. The Effects of Prenatal Bisphenol-A Exposure on Synaptic characteristics in the Hippocampus of the Rat Offspring

Depicha Jindatip（Department of anatomy, Faculty of medicine, Chulalongkorn university, Thailand ／ Department of Anatomy, Jichi Medical University School of Medicine, Japan）

As bisphenol-A (BPA) can pass through the placenta and blood-brain barrier, it has been demonstrated that prenatal exposure to BPA causes aberrant neurological functions in the brain. Our previous study revealed a list of differentially expressed genes (DEGs) associated with synaptogenesis in hippocampus of pups maternally exposed to BPA. However, the effects of prenatal BPA exposure on the morphology of synapses in the hippocampus are still unclear. Our preliminary investigation using SBF-SEM and 3D reconstruction program at the National Institute for Physiological Sciences (NIPS) revealed a large amount of intercellular space and a small number of dendritic spines per dendrite in hippocampus from rat postnatal day 1. Moreover, these dendritic spines exhibited thin filopodia pattern rather than stable or mushroom-like spines resemble publications from Chen et al. 2014 and Miermans et al. 2017. Most of synaptic contacts appeared between axon and dendritic shaft or base of dendritic filopodia. A few synapses between axon and tip of dendritic filopodium were observed. Perhaps, the dendritic filopodia were not well developed as synaptic apparatus at this early postnatal day. However, since the tissue specimens used in this preliminary analysis were not well prepared and showed broken cell membranes and folded or indented nuclei. Therefore, we will try to improve our procedure for preparing new samples in our laboratory in Thailand, and plan additional collaboration in the future.

【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 206
2. 植物寄生性線虫の感染機構の微細構造解析 206
3. アリの敵・味方識別に関わる感覚子内微小ネットワークの三次元構造解析 −タスク適応的発達に注目して− 207
4. 超高圧電子顕微鏡による海底下アーキアの細胞構造解析 208
5. 超高圧電子顕微鏡を用いた細胞骨格・オルガネラ・細胞壁ダイナミクスの解析 208
6. 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 209
7. 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 210

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）
青木啓太（東京理科大学大学院理学研究科）
村田和義（生理学研究所）

【背景】申請者らが近年，温泉水より分離した新規巨大ウイルス Medusavirus は，宿主細胞核そのものをウイルス工場として複製することが示され，また新潟の淡水より分離したマルセイユウイルス科巨大ウイルス Hokutovirus は，宿主細胞に凝集体を形成させることが示されている。そこで，クライオ電子顕微鏡ならびに超高圧電子顕微鏡を用いた解析を行うことにより，これら巨大ウイルスの細胞核内ウイルス工場形成過程ならびに細胞凝集体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，研究を行うことにした。

【目的】申請者らが分離した Medusavirus に関して，宿主アカントアメーバ細胞内でのウイルス粒子形成過程の経時的な三次元解析を，また同じく申請者らが分離した Hokutovirus に関して，その宿主細胞凝集体形成過程の三次元解析を，それぞれ超高圧電子顕微鏡を用いて行い，Medusavirus ならびに Hokutovirus の生活環を解明することを目的とした。

【方法】東京理科大学において Medusavirus ならびに Hokutovirus を感染させたアカントアメーバ細胞を調製した。調製した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，超高圧電子顕微鏡解析に供した。Medusavirus については，放出粒子のクライオ電子顕微鏡解析を行った。

【結果】2018 年度の研究により，Medusavirus は，成熟粒子（Full）に加えて，DNA を一部含む粒子（Full-intermediate），空粒子（Empty），核酸以外で満たされた空粒子（Empty-intermediate）の 4 種類の粒子をアカントアメーバ細胞から放出させることがわかっていた。これら粒子をそれぞれ分類し，クライオ電子顕微鏡を用いた単粒子解析を行ったところ，それぞれ，20 Å 分解能前後のマップを得ることができた。本解析により，Medusavirus 粒子は，その内部が核酸で満たされることにより，カプシド直下の脂質二重層が収縮し，これに伴いカプシドのサイズも若干小さくなることがわかった。

Hokutovirus 感染により細胞凝集体を形成したアカントアメーバ細胞について超高圧電子顕微鏡解析を行ったところ，アカントアメーバ細胞の凝集体における細胞間隙には Hokutovirus 粒子そのものはほとんど検出されなかったことから，Hokutovirus 感染によるアカントアメーバの細胞表面分子の何らかの変化が，細胞凝集体形成に関与していることが示唆された。

2. 植物寄生性線虫の感染機構の微細構造解析

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ダイズ根に侵入後，Initial Syncytial Cell (ISC) に口針を挿入して一生そこから養水分を吸汁する。一方，ISC と隣接細胞との間の細胞壁の一部が溶解して，細胞融合が起きる。この細胞壁の溶解はさらに隣接細胞へと連鎖的に起き，数十個の融合細胞（シンシチウム）が形成される。これまで，オスミウム浸軟処理した試料の電界放射型走査電子顕微鏡観察および超高圧電子顕微鏡による三次元的解析の結果，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を明らかにしてきた。本年度は，シンシチウム内の細胞壁の溶解とその再利用部位に焦点を当てて，上記の２方法で観察および解析を行った。

２．試料と方法

ダイズに本線虫を接種後，下記の２方法でダイズ根を固定・染色後，電顕観察し，像の比較を行った。①オス

ミウム浸軟処理による電界放射型走査電顕観察，②ホルマリン・グルタルアルデヒド前固定後，zinc iodine-四酸化オスミウム後固定試料の樹脂包埋，500 nm 厚切り切片のウラン・鉛による電子染色後に，−60° から+60° まで 2° 毎傾斜して超高圧電子顕微鏡（H-1250M）で観察し，撮影した 61 枚の画像の 3D トモグラフィー作製。

３．結果および考察

オスミウム浸軟処理した試料の電界放射型走査電顕観察により，シンシチウム内の細胞壁の溶解が進行中であると考えられる部位は管状小胞体に覆われていた。超高圧電顕観察画像のトモグラフィー解析でも同様なことが示された。このことから，管状小胞体が細胞壁の溶解に密接に関わっていることが示唆された。

一方，根の道管に接したシンシチウム内の細胞壁には著しい肥厚が認められるとともに，細胞壁がシンシチウム内に枝状に突起し，部位によっては網目状となって，表面積を増やしていた。これらの細胞壁の突出部位の間隙には管状小胞体が多数観察された。これらの観察結果から，細胞壁の肥厚および突起構造の形成は，細胞壁の体積を増やすことにより，アポプラストのはたらきを高め，道管からより多くの水やミネラル等をシンシチウム内に取り込もうとしているものと考えられる。また，細胞壁の肥厚および突起構造の形成など細胞壁の生合成に管状小胞体が密接に関わっていることが示唆された。

3. アリの敵・味方識別に関わる感覚子内微小ネットワークの三次元構造解析 −タスク適応的発達に注目して−

泰山浩司（川崎医科大学･自然科学）
尾崎まみこ，上尾達也，竹市裕介（神戸大学大学院･理学研究科）
栗原　聡（應義塾大学大学院･理工学研究科）
宋　致宏，村田和義（生理学研究所･脳機能計測･支援センター）

アリは，敵・味方を触角の嗅覚器(錐状感覚子)で識別している。これまでに，クロオオアリ（*Camponotus japonicus*）成熟外勤働きアリにおいて，連続ブロック表面走査型電子顕微鏡（SBF-SEM）画像を基に，錐状感覚子の 3D 微細形態モデルを構築した（生理学研究所年報 第 37 巻 p.207−208, 2015）。長さ約 20 μm の錐状感覚子内には 100 余本の受容神経感覚突起があり，各突起には 1〜7 個の直径 1 μm 内外の瘤状構造が見られた。感覚子内の全瘤数の約 7 割が近接する 1〜11 個の感覚突起と接着し，約 1000 か所でギャップ結合と推測される神経間連絡によりネットワークを形成していることが示された。本研究は，さらに超高圧電子顕微鏡によるトモグラフィー解析で瘤状構造の三次元的解析を行いギャップ結合の存在を確認すること，働きアリのタスクに適応した感覚子内微小ネットワークの発達を調べるため，若齢内勤アリの錐状感覚子を SBF-SEM で観察して 3D モデルを構築し成熟外勤働きアリのそれと比較することを目的とする。

予備実験として，若齢内勤アリの錐状感覚子の微細構造を通常の電子顕微鏡を用いて観察した。羽化後 1〜3 日の若齢働きアリでは，同一個体でも錐状感覚子により受容神経の感覚突起の形態に違いが見られ，瘤状隆起が全く見られないものから，小型のほぼ球状の瘤（直径約 0.3〜0.6 μm）が感覚突起の長軸に沿って散見されるもの，瘤状構造が数珠状に密に列を成して連なるもの，さらに比較的大型の瘤状構造（直径約 0.6〜0.8 μm）が高頻度で他の感覚突起の瘤と接してみられるものが観察された。小型の瘤をもつ感覚突起からは直径 30〜40 nm のフィロポディア様細管構造が発出しているのが観察されたが，この細管の機能は不明である。比較的大型の瘤状構造が接している場合には，細胞質の嵌合と細胞膜間の密着が見られた。これらの観察から，羽化後数日間に錐状感覚子内の受容神経感覚突起の瘤状構造が多数形成され，取捨選択されつつ互いが接着し感覚子内微小ネットワークの原型が形成されていくと推測される。これらの予備実験の結果をもとに超高圧電子顕微鏡と SBF-SEM による三次元的解析を行う計画であったが，所属機関からの緊急の出張自粛要請のため実施することができなかった。

4. 超高圧電子顕微鏡による海底下アーキアの細胞構造解析

井町寛之，小河原美幸（海洋研究開発機構）
植松勝之（㈱ マリンワーク･ジャパン）
村田和義（生理学研究所）

提案代表者の井町は，真核生物誕生の鍵を握るとされているアスガルドアーキアの培養に世界で初めて成功した。このアーキアは海底堆積物から得たものであり，アスガルドアーキアの中のロキアーキオータ門に属している（ロキアーキオータ門は以前 Deep-Sea Archaeal Group と呼ばれていた）。以前のクライオ電子顕微鏡を使った観察から，この培養したアーキア（以降 MK-D1 株と呼ぶ）は膜小胞のような構造物を細胞外に生産している可能性があることを見出している。しかしながら，本膜小胞様構造物が，従来型の細胞内小胞であればその内部に構造物を有する可能性があるが，先のクライオ電子顕微鏡観察のみでは明瞭にすることができなかった。そこで，MK-D1 株を大量培養し，細胞を濃縮したサンプルを樹脂包埋して厚め（1 µm と 500 nm）に切った MK-D1 株サンプルを準備し，超高圧電子顕微鏡（Hitachi H-1250M）を利用することで，本膜小胞様構造物について詳細な観察を行った。観察した結果，細胞内小胞の内部には構造物のようなものは確認されなかったため，現時点では目に見える構造物はないと判断した。本観察結果を含めた成果は Nature（Imachi et al., 2020）に掲載された。

5. 超高圧電子顕微鏡を用いた細胞骨格・オルガネラ・細胞壁ダイナミクスの解析

唐原一郎（富山大学学術研究部理学系），山浦遼平（富山大学理学部）
竹内美由紀（東京大学大学院農学生命科学研究科）
峰雪芳宣（兵庫県立大学大学院生命理学研究科）
村田和義（生理学研究所）

筆者らは，植物の形態形成制御に関わる重要な要素である細胞骨格・オルガネラ・細胞壁ダイナミクスの解析に取り組んでいる。具体的には細胞壁形成時の細胞表層の微細構造や，種子の一次壁形態，重力環境が葉緑体構造に与える影響などを明らかにすることを目指し，微細構造の三次元観察を行っている。

はじめに，二次壁形成中樹木木部細胞の細胞表層の微細構造や細胞膜の形状について明らかにするため，ポプラ（*Populus alba*×*P. grandidentata*）木部を用いて細胞表層部の三次元解析を行った。加圧凍結・凍結置換固定したポプラ木部を樹脂包埋し，500 – 600 nm 厚の切片を作製した。超高圧電子顕微鏡（H-1250M，日立）を使用して傾斜画像を撮影し立体再構成を行った。再構成像では，細胞内に小胞や粗面小胞体などの膜構造が多数観察された。小胞は直径数十 nm 程度のものと 150 nm 以上のものに大別され，ダンベル状の小胞があることがわかった。一方，細胞膜については超薄切片像で観察された折りたたみ構造や細胞壁との間の膜状構造を解析するには至らなかった。今後は細胞膜についてより鮮明な像を得るための条件を検討したい。

次に，重力環境が葉緑体構造に与える影響について調べるため，国際宇宙ステーションにおける微小重力環境区，軌道上の人工 1 *G* 区，および地上 1 *G* 区で生育し軌道上で 2.5 % (v/v)glutaraldehyde を含む化学固定液中に保存されたヒメツリガネゴケ（*Physcomitrella patens* (Hedw.) Bruch & Schimp. subsp. *Patens*）の茎葉体試料を観察した。試料は二重オスミウムによる Ellisman らのプロトコルを一部修正して調製し，Spurr's 樹脂に包埋した。そこから 1 µm の厚さの切片を切り，金粒子の塗布とカーボンコートを施した後，加速電圧 1,000 kV での超高圧電子顕微鏡観察に供した。定量的な解析は今後であるが，宇宙試料では地上試料よりもデンプン粒の占める領域がより大きい可能性が示唆された。技術的な観点としては，発達したデンプン粒は葉緑体の他の領域と比べて大きな収縮が

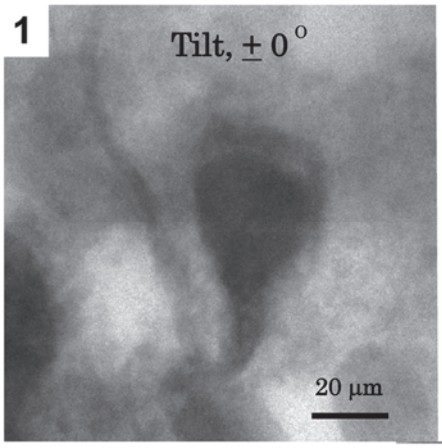
見られ，一部試料ではそこに金粒子が集まってしまう傾向が見られた。この収縮は試料調製の段階で起こった可能性が考えられ，調製法の改良が今後の課題として残される。

6. 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

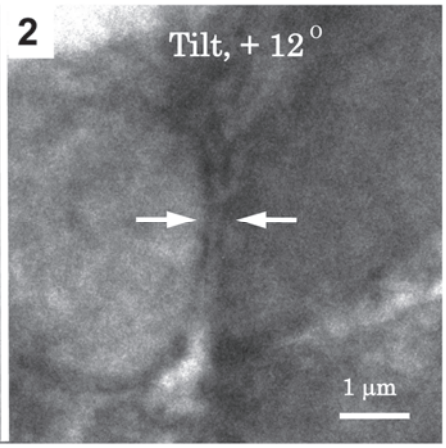
日髙　聰（藤田医科大学医学部生理学教室）

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。2019 年度は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。

今回，電気シナプスを解析した生後間もない（P5）ラット大脳皮質視覚野の錐体細胞を蛍光色素 Lucifer Yellow で細胞内染色し，視覚野・錐体細胞間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，Lucifer Yellow 染色したラットの脳標本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，視覚野の錐体細胞の形態と細胞間の接触構造を解析した。幼弱ラットでは，隣り合う錐体細胞群が同定され（図 1），超高圧電子顕微鏡で細胞間の接触部位を観察し，この部位は解剖学的にギャップ結合に似た接触形態であった（図 2）。また，ギャップ結合蛋白 connexin36 の細胞内ドメインに対する抗体（Hidaka et al., 2004, 2005; Hidaka, 2008, 2012, 2016）を利用して，抗体反応性を調べた結果，幼弱ラット視覚野の錐体細胞間の接触部には，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，生後間もない幼弱ラット大脳皮質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。しかしながら，この生後間もない頃に見られる大脳皮質の錐体細胞同士のギャップ結合・電気シナプスは，発生が進むに伴いやがて消失して行く事から，神経回路網形成の初期過程に出現している大脳皮質の錐体細胞同士のギャップ結合・電気シナプスの機能は非常に興味深い。現在，分子生物学的な手法も取り入れて，神経回路網形成における錐体細胞同士のギャップ結合・電気シナプスの機能的な役割を調べている。



（図 1）幼弱ラット（P5）の大脳皮質視覚野の錐体細胞の細胞体像



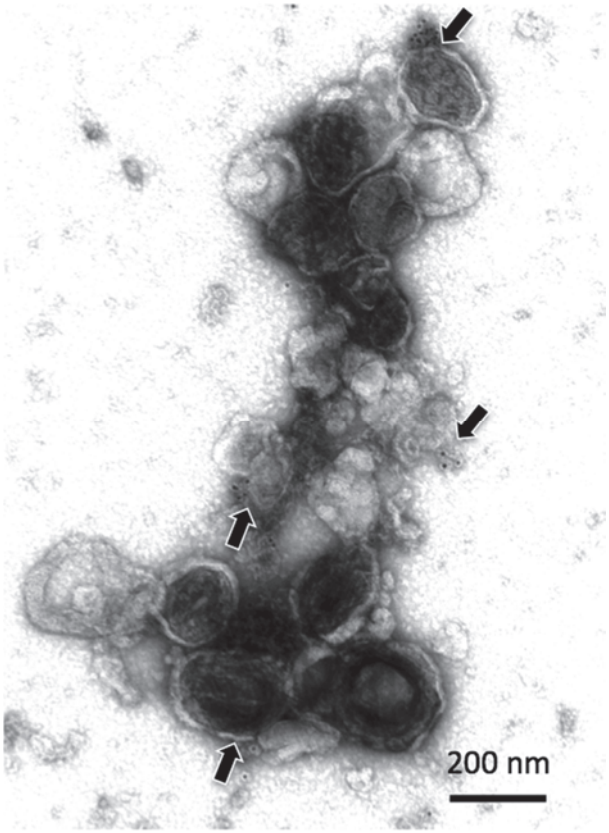
（図 2）幼弱ラット（P5）の大脳皮質視覚野の錐体細胞の樹状突起間で見つかった接触部位の形態。

7. 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，前嶋　翔（岡山大学・大学院自然科学研究科･理学部附属臨海実験所）
高浪景子（国立遺伝学研究所）
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，炭素コーティングしたフォルムバール膜へ分泌顆粒画分を塗布し，免疫電顕を行った。図は，CD38 に対する免疫染色（CD38 の C 末端部に対する抗体）を施した分泌顆粒画分像を示す。分泌顆粒の凝集が観察されるが，その中でも数個の分泌顆粒が CD38 に対する免疫陽性反応を示しているように考えられた（図参照）。今後は N 末抗体も用いて同様に解析して行く予定である。



図：ラット下垂体後葉サンプルから調整した分泌顆粒画分に対する CD38 免疫電顕像。CD38（10 nm）に対する免疫陽性反応を示す分泌顆粒がみられた（矢印）。ネガティブ染色。

【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. 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 214
2. 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 214
3. 経頭蓋電気刺激による聴覚誘発脳磁界の変調 215
4. dual-fMRI を用いた社会的交流における受容行動の神経基盤 215
5. 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 216
6. 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 217
7. MEG を利用した聴覚時空間的脳活動の検討 218
8. 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 218
9. ぬれ感覚の脳内形成機序の探索 219
10. 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 220
11. 脳磁図による運動視知覚の神経基盤の解明 220
12. 脳磁図を用いた片側良聴耳患者における周波数特異性の研究 221
13. 末梢神経線維の選択刺激法の確立と脳反応の計測 222
14. 各種刺激による顔認知メカニズムの変容 222
15. 感覚情報処理抑制系の機序解明と検査パラダイムの確立 223
16. 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 223
17. 聴覚後期活動と音源定位−音源の位置と移動方向に着目して 224
18. 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 224
19. 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 225
20. 脳波・機能的 MRI 同時計測法を用いた睡眠覚醒機構の解明 225
21. 呼吸誘発性脳血流変化による体性感覚認知への影響 226
22. 意図的な立毛生成の神経基盤および情動機能との相互作用の解明 226
23. 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 227
24. 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 228
25. 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と これを利用したヒト連合野の機能構築研究 228
26. 3 次元シネ位相コントラスト磁気共鳴法の基礎的検討 230
27. 眼球運動の機能的ネットワークの解析 231
28. 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 232
29. 呼吸による認知パフォーマンスと関連する脳活動の解明 233
30. 7 テスラ MRI によるヒト第一次体性感覚野の皮質内回路機構の解明 233
31. 意味の創発に関わる内的表象形成メカニズムの解明 234
32. 直接消費可能な遅延報酬を用いた意思決定に関わる認知制御機構 234
33. 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 235
34. 運動イメージの脳内表象の解明 236
35. Development and feasibility study of a single-channel microstrip transmission-line RF coil combining RF shielded PET detector module for a 7T MRI 236

1. 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。

5 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]DCZ を用いた PET 撮像を行い，４頭についてLHbでのhM3Dq発現が結合能の上昇として確認できた。これらのサルに 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。さらに行動課題を用いサルの意欲行動を定量し，アゴニスト投与時に意欲減退が生じることを２頭のサルで確認した。これらのサルを用いた機能 MRI 撮像を実施するのに先立ち，正常個体における麻酔下機能 MRI の撮像条件の検討を行った。撮像した画像を量子研で解析し，S/N 比やシグナルの均一性などをチェックした。今後はこれら機能 MRI 撮像条件の最適化を行った上で，化学遺伝学による回路操作条件での撮像を考慮した撮像プロトコルの検討を行う。

2. 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を目指してお互いの行為を統合する共同運動課題は，身体を介した直接的な個人間コミュニケーションの典型例である。そこでは，巧みな協応により個々の能力以上のパフォーマンスが生成されうる一方，理論的には決して効率的とはいえない社会的相互作用も生じる。これらの現象は心理物理実験やゲーム理論において示されてきたが，その神経的基盤はいまだ明らかにされていない。特に，社会性の影響が顕著になることが示唆されている３名以上での共同課題時における神経活動の研究例はほぼ皆無である。本研究では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，インターネット等のネットワーク接続ではタイミング遅延等の危険性が高いため，延長ケーブルによって異なる研究棟にあるスキャナ間を直接接続する実験系を構築した。その結果，問題なく視覚刺激の適用および fMRI データの取得が可能であることが確認された。また，従来の実験課題内容では実験参加者の負担が大きいことから，三人課題に焦点を絞ったプロトコルへの再調整を行った。これらの実験系構築により，三人同時の脳計測を年度末に実施することができ，現在このデータの解析を進めている。2020 年度はこの解析結果を基に実験系の微調整を行い，20 組前後の三人組を対象に本実験を実施する予定である。

3. 経頭蓋電気刺激による聴覚誘発脳磁界の変調

岡本秀彦（国際医療福祉大学医学部医学科）

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注意や日常生活における音環境や聴力の変化により，音刺激によって誘発される聴性誘発脳磁界反応が変化することを明らかにしてきた。そこで，本研究では音刺激によらない方法で聴覚野を刺激した場合に，聴性誘発脳磁界反応が変化するか否かを確かめる。

ヒト聴覚野脳活動は実際の音刺激によって誘発されるが，外部からの経頭蓋電気刺激によっても誘発することが可能である。本研究では，あらかじめ経頭蓋電気刺激にて広帯域雑音と同じパターンの電気刺激を聴覚野に与えておく，そして，その経頭蓋電気刺激の波形と合致する広帯域雑音刺激と，合致しない広帯域雑音によって惹起される聴性誘発反応を計測し，比較検討する予定である。

今年は研究代表者や研究協力者を被験者として実際にのべ 4 名を計測した。経頭蓋電気刺激では頭皮の刺激部位に痒みや痛みが出現することが報告されているが，この 4 例では経頭蓋電気刺激中にかすかにピリピリした刺激を感じることがある程度で，大きな副反応は認められなかった。また脳磁計にて聴性誘発脳磁界反応を計測する時も，副作用など被験者にとって不利益な事象は発生しなかった。

聴性誘発脳磁界反応では経頭蓋電気刺激の有無により差が認められたが，大きな差ではなかった。さらに多くの被験者で計測し，統計解析する必要があると考える。2020 年度は外部からも被験者を 15 人ほど募り，結果をまとめたいと考える。

4. 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（群馬大学大学院･麻酔神経科学）
川道拓東（群馬大学医学部附属病院･麻酔科蘇生科）
菅原　翔（東京都医学総合研究所･脳機能再建プロジェクト）

人間社会において，他者との社会的関わりで重要な行動の一つに困窮する他者に対して手を差し伸べる援助行動がある。我々は，共感が援助行動の動因となることを，fMRI を用いた実験的検討によって明らかにしてきた。しかしながら，ヒトは，共感することが難しい，親密でない他者に対しても援助することができる。そのような他者に対しては，indirect reciprocity の観点から自己イメージの向上が援助行動の動因となり，先行研究（Kawamichi et al., 2018）から楔前部に表象されると考える。

今年度，我々は，援助対象者の印象を実験的に操作して共感を生じにくくした上で，自己イメージの向上

が動因となる援助行動の神経基盤に関して実験的検討を行った。本実験においては，生理学研究所の 3T fMRI を利用して，cyberball 課題（参加者間でボール回し課題を行う）を応用した共同作業課題を被験者に課した。この課題参加前に，他の参加者のインタビュービデオを閲覧し，他の課題参加者に対する印象の形成（negative，および，neutral な印象）を誘導した。

結果として，neutral な印象，および，negative な印象の人，それぞれが，cyberball 課題から仲間はずれになった際に，援助行動が起こること（トス率の増加）を確認した。しかしながら，negative な印象の人に対するトス率は有意に少なく，negative な印象の人に対する援助行動時には楔前部が賦活することを確認した。

これらの結果は Soc Neurosci 誌に発表した。

5. 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，菅原　翔，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すことができ，よい結果を得られるということを多くの人が経験している。また，それはリハビリテーションの現場でも同様で，脳卒中や脊髄損傷患者がリハビリテーションに対する意欲を持ち，頑張ることで運動機能回復が早くなることが知られている。さらに，我々の研究で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，意欲による運動パフォーマンス生成に関する脳領域を明らかにするために，金銭報酬量を提示することにより意欲を制御し，その後，合図に対してバーを早く握る課題中に脳活動を記録する fMRI 実験を行った。その結果，期待する金銭報酬が高いほど運動準備段階での一次運動野と腹側中脳の活動が高く，これらの領域の脳活動は将来の運動パフォーマンスと関連することを示した。我々は腹側中脳の準備活動が運動パフォーマンスの決定に重要であると考え，今年度は金銭報酬がない状況下で fMRI 実験を実施した。

28 名の参加者を対象に，金銭報酬が存在しない条件で準備刺激の後で合図に対してバーを早く握る課題を実施した。結果は金銭報酬を伴う場合と同様，準備刺激に対して腹側中脳が強く賦活する場合に，握る際の最大握力が強いという関係を追認した。したがって，腹側中脳の活動の程度は将来の運動パフォーマンスの決定において主たる役割を担うことが示唆される。

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（ゴール）」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 名が参加した。解析の結果，目的を決定する時には運動前野と頭頂葉のネットワーク，運動が決まり準備する段階では運動前野と基底核のループ回路が活動するという結果が得られた。

6. 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)）

発話における意図的不調和は，語用論的解釈をするうえで重要な手掛かりとなる。発話者は，自分の期待とは異なる結果に直面した際に，失望，怒り，非難，羨望などのネガティブな感情を抱き，その感情を何らかの意図的不調和として表現する傾向を有する（内海, 2000）。

本研究では，(A)「皮肉における発話内容とプロソディの不調和処理の神経基盤を探る」課題を通して意図的不調和を感知する神経基盤の検証，そして(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」課題を通して意図的不調和を解消する神経基盤の検証の２つを推進している。

(A) 皮肉に関して，本年度はイメージングデータの解析結果の検討を実施した。皮肉理解に関する神経基盤の研究では（内山他, 2012; Spotorno 他, 2012），他者の心を推測する際に重要な役割を果たす内側前頭前野の前方などの関与が示唆されている。一方，不調和処理が皮肉理解において重要な役割を果たすならば（内海, 2000），文脈を伴わない「発話内容と発話韻律の不調和」も皮肉を生じうると考えられる（今泉他, 2008）。

そこで，2019 年度は，文脈を伴わない「発話内容と発話韻律の不調和」が皮肉を生じうるかどうかを検討するための行動実験を実施した。刺激は，2017 年度に実験し，2018 年度に検討をおこなった皮肉理解の課題で用いた刺激のうち，文脈がなくても皮肉として成立しうる発話内容を厳選した。発話内容は全てポジティブ内容であるが，発話韻律としては，ポジティブ韻律，ネガティブ韻律，そして棒読み韻律を用いた。実験参加者は，193 名で，字義（文字通りの意味）を 1，皮肉を 5 とする 5 件法で，回答してもらった。結果，ポジティブ内容とネガティブ韻律という不調和の際には必ずしも文脈情報がなくても皮肉が生じうることが確認された（図 1）。そのため，2018 年度の皮肉課題の解析で，発話韻律関連の不調和として賦活した内側前頭前野後方と両側島皮質は，何らかの意図的不調和の感知と関係している可能性が考えられた。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。

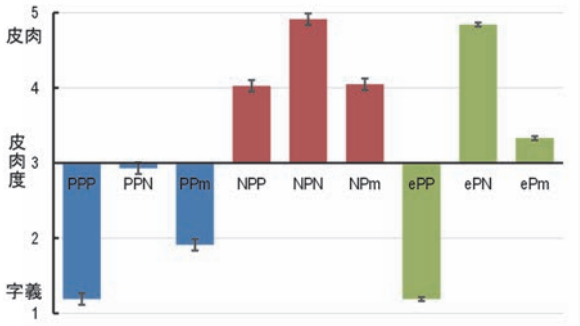


図 1　皮肉理解課題の皮肉度の結果：(青色) ポジティブ文脈，(赤色) ネガティブ文脈，(緑色) 文脈なし各文脈左からポジティブ韻律，ネガティブ韻律，棒読み韻律

引用文献

今泉敏,木下絵梨,&山崎和子.(2008).感情に関わる発話意図の理解機能. *高次脳機能研究*, **28** (3), 52–58.

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** (5), 563–583.

Utsumi, A. (2000). Verbal irony as implicit display of ironic environment: Distinguishing ironic utterances from nonirony. *Journal of Pragmatics*, **32** (12), 1777–1806.

7. 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，人が社会との相互作用を営む上で重要となる聴覚の高次聴覚機能に対して，時間及び空間分解能に優れた脳磁図（MEG）を利用し，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。

両耳分離聴タスクでは，左右の耳に同時に異なる刺激音（数字，有意味語，言語音など）を呈示する。このタスクでは，行動実験により右耳優位が報告されており，右耳優位性と言語能力との関連も報告されている。一方で，右耳優位と神経生理学的な報告は少ない。そこで本研究では，両耳分離聴タスクを用いて，左右に異なる二音節の言語音を同時に呈示したときの脳反応を MEG により計測し，その関連を明確にすることである。具体的には，聴性定常応答（ASSR）を用いて両耳に言語音を呈示することにより同側・対側反応を弁別し，両耳分離聴タスクに対する聴覚情報処理の様式を視覚化する。

実験参加者は，健常成人 13 名（うち女性 1 名，全員右利き）であり，聴覚正常であることを確認している。

両耳分離聴タスクで呈示する刺激音は，呈示時間は 330-503 ms の 48 種類の二音節の言語音(「アカ」，「イヌ」など)をそれぞれ 35 Hz と 45 Hz に振幅変調したものを使用した。振幅変調の変調度は 1.0 とし呈示音圧は 90 dB とした。実験参加者ごとに呈示の順番はランダムとし，また変調周波数と言語音の組み合わせによる影響を考慮した。実験は，Active と Passive 条件で実験を行った。Active 条件では，実験中に左右から知覚した言語音を無音区間で記入するように指示し各耳の正答率を求めた。Passive 条件では，実験中に無音で字幕なしの映像を呈示した。

行動実験の結果，左耳に比べて右耳の正答率が有意に高く，先行研究と同様に右耳優位が示された。脳磁図による ASSR の振幅は，Passive 条件に比べて Active 条件で統計的に有意に大きかった（$p<0.05$）。このことから 40 Hz 成分の ASSR は，聴覚情報の認知処理との関連を示唆する。また右耳優位のグループにおいて，右耳対する ASSR の振幅が，左耳に対する振幅に比べ有意に大きかった（$p<0.05$）。これらの結果より両耳分離聴における右耳優位に対する神経生理学的な関連を 40 Hz 成分の ASSR により明確にできることを示唆する。

8. 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）
木田哲夫（愛知県医療療育総合センター発達障害研究所）

語の意味活性化速度は，語が持つ形態－意味間の対応関係の性質に依存すると提案する研究者が存在するが（e.g., Azuma & Van Orden, 1997; Morelli & Amenta, 2018; Rodd, Gaskell & Marslen-Wilson, 2002; 2004），同時に，そうした提案に懐疑的な研究者も存在する（e.g., Klein & Murphy, 2001; 2002; Hino, Kusunose & Lupker, 2010; Hino, Pexman & Lupker, 2006; Pexman, Hino & Lupker, 2004）。

例えば，Azuma & Van Orden (1997) や Rodd et al. (2002) は，語彙判断課題において，意味間の関連性が高い多義語（polysemous words）の方が，意味間の関連性が低い多義語（homonyms）よりも反応時間が短くなることから，語の形態－意味対応の一貫性が高い程，意味活性化速度が高いと提案している。しかし，Hino 他（Hino et al., 2006, 2010; Pexman et al., 2004）は，語彙判断課題では，意味間の関連性の違いによる効果を観察できなかった上に，語彙判断課題において多義語と一義語に対する成績を比較

した多くの研究では，一義語よりも多義語に対する反応時間の方が短くなることが報告されていること（e.g., Hino & Lupker, 1996; Hino et al., 1998; 2002, 2006; Jastrzembski, 1981; Kellas, Ferraro, & Simpson, 1988; Millis & Button, 1989; Pexman & Lupker, 1999; Pexman et al., 2004; Rubenstein et al., 1970），関連性判断課題やカテゴリー判断課題など，意味活性化プロセスを，より直接的に反映すると考えられる課題では，多義語と一義語の間や意味間の関連性が高い多義語と低い多義語との間に成績差が観察されなかったことから，意味活性化速度が語の形態－意味対応の一貫性に依存するとする仮説に懐疑的である。

最近，Haro, Demestre, Boada & Ferre (2017) は，多義語と一義語を使った語彙判断課題を実施し，行動データと共に，事象関連電位の測定を試みたところ，N400 の振幅が，一義語よりも多義語に対して有意に大きくなることを報告している。さらに，語彙判断課題では，語が持つ形態類似語数の違いが N400 の振幅に効果を持つことも報告されている（e.g., Holocomb, Grainger & O'Rourke, 2002）。さらに，語を読む初期段階には，提示された語の意味ばかりでなく，その語と形態類似の別の語の意味も活性化される可能性が示唆されている（e.g., Forster & Hector, 2002; Hino, Lupker & Taylor, 2012; Kusunose, Hino & Lupker, 2016; Rodd, 2004）。これらの結果は，刺激語が与えられると，その形態類似語の意味も含めて複数の意味が同時に活性化し，活性化された意味間の不一致性の程度に N400 の振幅が依存する可能性を示唆する。そこで，本研究では，語の形態－意味間の対応関係の一貫性を操作した刺激セットを作成し，視覚刺激に対する語彙判断課題を実施し，行動データと共に，事象関連電位の測定を試みた。

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，中央 9 箇所の電極において，高一貫語に対する N400 の振幅は，低一貫語に対する振幅よりも有意に大きくなることを確認した。この結果は，語を読む際には，その形態類似語の意味も含めて複数の意味が同時に活性化されるが，やがて適切な意味のみが選択されるというプロセスが介在することを示唆するものと思われる。

9. ぬれ感覚の脳内形成機序の探索

永島　計（早稲田大学･人間科学学術院）
中田大貴（奈良女子大学･生活環境科学部）
菅原　翔（東京都医学総合研究所）
定藤規弘（生理学研究所･心理生理学研究部門）

1. はじめに

“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，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。本年度は行動実験による濡れ感形成のメカニズム探索と，MRI 装置内で再現可能な実験のパラダイムの作成で終了した。

2. 方法

実験 1. 接触物の含水量と濡れ感の関係の探索　健常成人 29 名を対象とした。温度による影響を除くため皮膚温度とほぼ同じに保った（30 °C）のペルチエ素子（3 cm 径）の上に 7 段階の含水量（0, 3.75, 7.50, 11.25, 15.00, 18.75, 22.50 μg/cm^2）の綿素材をおき，人差し指で触知させた。5 秒間の静止の後，濡れているか，濡れていないかを申告させた。同一含水量の触知をランダムに 5 回くりかえした。

実験 2. 実験 1 で用いた綿に十分量の水を含ませ（80 μl/cm^2），20 °C, 25 °C, 30 °C, 35 °C, 40 °C の温度刺激をペルチエ素子を用いて加えた。被験者は濡れ感，温度

の強さを 0–10 段階で申告した。同じ温度刺激をランダムに 5 回加えた。

実験 3. 実験 1, 2 のプロトコールを前腕もしくは前脛部被毛部でも行なった。また環境温度の影響を検証した。

3. 結果

実験 1. 含水量と濡れを感じる正答率は直線関係となり，8 μg/cm^2 の含水量で正答率が 50 %となると予想された。また 22.50 μg/cm^2 での正答率は 92 %であった。

実験 2. 30 °C 以上の刺激では，同じ濡れの強さを申告した。一方，30 °C 以下の温度刺激では，温度に反比例して濡れ感が強くなった。

実験 3. 実験 1, 2 の結果は，前腕被毛部，前脛部被毛部でも再現された。濡れ感は環境温度の影響を強く受け，一定の皮膚温度が保たれていないと消失する可能性があることが示唆された。

10. 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 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，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，どのような脳活動の特性が協調行動に影響するのかを 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的とした。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。この課題を 2 名が隣り合わせで着席して実施した場合，GO 刺激に対する反応時間が自分寄りの位置に呈示された場合に相手寄りに呈示された場合よりも早くなることが示されている（Joint Simon 効果）。

本研究では，健常成人（男性 12 名，女性 8 名）を対象とし，ペア相手の違い（友人/他人）と課題に協働的に取り組むか否か（JOINT/SOLO）を組み合わせた実験デザインで Joint Simon 課題中の 2 者同時の機能的 MRI 計測を行った。また，社会性やペア相手との関係性の影響を検討するための質問調査を実施した。

行動データについて，Joint Simon 効果を条件間で比較したところ，JOINT 条件＞SOLO 条件，他人条件＞友人条件という結果が示された。また，Joint Simon 効果は他者一般に対する信頼や共感性と負の相関を示したことから，Joint Simon 効果は協調しながらも他者性を強く意識する場合により顕著に現れることを示唆している。

次に，機能的 MRI 計測データについて GO 刺激が提示された際の脳活動を条件間で比較したところ，社会性に関係するとされる脳領域（e.g., Anterior Insula, right TPJ）の活動において，友人・JOINT 条件＞他人・JOINT 条件，友人・JOINT 条件＞友人・SOLO 条件，という結果が示された。これらの傾向は，Joint Simon 課題中の脳活動がペア相手との社会的関係性や課題の社会的構造を反映している可能性を示唆している。

今後，これらの脳領域の活動レベルについて，２者間の相互作用や，被験者の向社会性やペア相手に対する信頼度との関連についての詳細な検討を目指していく。

11. 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。本研究では，視覚刺激による運動感を伴う事態における MEG に加えて，聴覚刺激による運動感を誘導する事態，さらに視聴覚複合刺激による事態を検討した。

11 名の実験参加者に対して，視覚条件では，黒色背景に持続時間 66.8 ms の白色円刺激を，中央凝視点から

左右水平 5° 離れた位置に TV モニター上に提示した。聴覚条件では，視覚刺激とほぼ同位置に置かれたスピーカーから，白色ノイズ（77.4 dB）を，視覚刺激と同様な持続時間で提示した。視覚，聴覚条件とも，左右のどちらかの位置から刺激（S1）が提示され，その66.8 ms 後に凝視点の反対側に次の刺激（S2）が提示されることで最適な運動感が得られる最適条件と，左右の同じ位置に S1，S2 が同時に提示される同時条件とが設けられた。さらに，視覚聴覚複合条件では，視覚，聴覚の S1 刺激が同じ位置から提示される一致条件と，異なる位置から提示される不一致条件とが設定された。

MEG の計測は，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 領野から今回は，上･下後頭回，上･下頭頂小葉，上･中･下側頭回，上･中前頭回の結果について，以下のような初期的所見を得た。

視覚条件では，上･下後頭回において，約 220–300 ms にかけて最適条件の賦活量が多かった。

聴覚条件では，いずれの部位においても，明確な所見は得られなかった。

視覚聴覚複合事態では，下後頭回において約 300–430 ms の時間帯で一致，不一致条件ともに同時条件よりも賦活量が多かった。下側頭回では，約 300–370 ms の時間帯で不一致条件の賦活量が多かった。また，中側頭回右側では，約 60–120 ms，290–370 ms 帯で不一致条件の賦活量が多く，上側頭回右側では，60–120 ms の時間帯で不一致条件の賦活量が多く，290–370 ms では一致，不一致条件で賦活量が多かった。

聴覚刺激を用い場合には，運動に伴う明確な MEG 応答が示されなかったが，他の部位等も含めて，さらに詳細な解析を進める必要がある。

12. 脳磁図を用いた片側良聴耳患者における周波数特異性の研究

関谷健一（名古屋市立大学 大学院医学系研究科 研究員）

本研究課題の目的は，片側良聴耳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。一般的には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を予定した。

刺激音として日常生活で重要な役割を果たしている 1000Hz の純音を用いて，マスキング音として 1000Hz 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。しかしながら，本年度は現在来所できる回数が限られていること及び対象被験者が新たに得られなかった為予定数の実計測が出来なかった。そのため次年度の為に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作成した。

次年度は，来所回数を増やし，研究協力者追加も予定している。また可能であれば研究補助員を研究費で雇用することも検討中である。

Sekiya et al., Broadened population-level frequency tuning in the auditory cortex of tinnitus patients. J Neurophysiol. 2017, 117:1379-1384

13. 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）

ヒトが痛みを伝える神経経路は痛み刺激の入力により痛覚受容器が興奮し，脊髄内のシナプスを介して脊髄視床路を上行し，視床を経由して大脳皮質や大脳辺縁系へ投射している。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。これらの神経線維は電気刺激に対する閾値が異なるため，皮膚の上から Aδ 線維と C 線維を選択的に刺激することは困難であった。そのため，それぞれの神経線維に対して選択的に刺激を行い，刺激閾値やそれに関連する脳反応については明らかにされていない点が多い。そこで本研究では，直経が 1 ㎜の外筒とその中心にある尖部から構成されている同心円電極を皮膚の上に置く表皮電気刺激法を用いた。刺激電極の尖部の先は表皮内で留まるようになっているため，電極に提示する波形や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。

最初の実験として，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。また，パルス幅を 400 μ 秒に固定して，パルスの反復回数（単発から 10 連発）の違いによる加重効果を検討し，これらの結果から Aδ 線維に関する S−D 曲線（強さ−時間曲線）を計算して神経モデルを作成するための基礎的なデータを得た。また，脳波の潜時からも Aδ 線維が刺激されていることも確認した。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，電極への通電パターンを操作しながら，次年度以降も継続して検討して行く予定である。

14. 各種刺激による顔認知メカニズムの変容

三木研作（愛知医科大学看護学部）

本年度は，経頭蓋電気刺激のための先行実験として，マスキング刺激による刺激提示方法による実験を行った。この刺激方法は，ずっと物が動いている画像内に，ごく短い時間（約 16 ミリ秒）画像を提示しても，被験者には，その画像が知覚されない。ただし，画像自体の情報は，脳に伝わっているために脳活動は検出される。通常人間は表情認知を無意識におこなっていることから，今回はこの刺激方法で予備実験を行った。被験者は 20 名行い，現時点では，顔認知特異的成分である顔画像提示後約 170 ミリ秒にみられる N170 成分の検討を表情ごと（笑った顔，怒った顔，無表情の顔）に行っている。今後は，以前行った提示時間が長い（500 ミリ秒）実験と比較検討して，顔認知の特性を検討していく。また，もともとは経頭蓋電気刺激を用いて行う予定であったが，最近，安価でより有用性の高い経頭蓋静磁場刺激機器が発売され，そのどちらか，もしくは両方を用いて検討を進めていく予定である。

15. 感覚情報処理抑制系の機序解明と検査パラダイムの確立

乾　幸二，バヤスガランボルギル（愛知県医療療育総合センター発達障害研究所），
杉山俊介（岐阜大学），西原真理，竹内伸行（愛知医科大学），絹川友章（名古屋大学）

聴覚誘発脳磁場，脳電位を用いた抑制系評価パラダイムの確立に取り組んでいる。今年度は，短潜時抑制（10～60 ミリ秒）と長潜時抑制（500～700 ミリ秒）の計測パラダイムについて，35 人のデータを用いて再現性の評価を行った。いずれも良好な級内相関を示し，臨床検査として用いることができる可能性を支持した。現在いずれも投稿中である。

定常反応（steady state）を用い新奇パラダイムも検討した。一定周波数のオシレーション発現には，興奮と抑制が一定リズムで切り替わるメカニズムが必要であり，定常反応を用いた検査パラダイムによって，興奮と抑制のバランスを保つメカニズムや，そのメカニズムの異常を観察できる可能性がある。聴覚定常反応を用いた成果（Sugiyama et al. Front Syst Neurosci 2019; Front Integr Neurosci. 2019; Motomura et al. Brain Sci. 2019）を報告した。その他，感覚記憶関連のパラダイム（Kinukawa et el. Sci Rep 2019）や感覚系を越えた抑制（Takeuchi et al. Brain Topogr 2019）についても成果があった。異なるパラダイムで計測した抑制機能の相関についても今後検討したい。

16. 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）
定籐規弘，小池耕彦，角谷基文，吉本隆明（生理学研究所）

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。

現段階で調査が終了している被験者は，日本語母語話者と日本語学習者である。日本語の文脈に合う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助詞の誤用や，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。

調査の結果，学習者は母語話者に比べ正答率が低く，解答速度も遅いことが明らかになった。実験で使用した助詞はすべて平仮名一文字で解答できる助詞であった。日本語母語話者にとっては簡単なタスクであったが，学習者にとっては，平仮名一文字の助詞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。

17. 聴覚後期活動と音源定位-音源の位置と移動方向に着目して

元村英史（三重大学医学部附属病院精神科神経科）

ヒトは迫る危険をミリ秒単位の感覚情報処理でもって察知し，適切な行動をとらなければいけない。連続音の音特性を変化させると，100～180 ms の潜時で明瞭な脳活動の Change-N1(m) が誘発される。本研究では，両耳間時間差（inter-aural time difference: ITD）を用い，連続音の途中に挿入した ITD により誘発される Change-N1m に対する音源の移動開始位置と移動方向の影響を検討した。

1 ms のクリック連発音（100 Hz）の呈示開始時に 0.45 ms ITD を挿入すると，被験者は耳側に音源を認識し，呈示途中に ITD を挿入すると，音源の移動を認識する。右利き健常者を対象とし，全頭型脳磁図計を用い，4 つの音刺激条件（左側→正中，正中→右側，右側→正中，正中→左側）における Change-N1m 振幅を比較した。Change-N1m 振幅は右半球優位で，音源の移動開始位置にも有意な差がみられた。つまり，音源が正中に移動するよりも外側に移動する際に Change-N1m 振幅は高かった。更に音源の移動方向については，右半球に差がみられなかったが，左半球では時計まわりにおける Change-N1m 振幅が反時計回りよりも高かった。

聴覚変化応答における右半球優位性は多くの報告があるが，本研究においても Change-N1m の右半球優位性が確認された。我々は，これまで Change-N1m は物理的変化量に依存することを報告してきた。しかし，本研究では 4 つの音刺激条件の物理的変化量は変わらないにもかかわらず，音源の移動開始位置や移動方向において応答に差がみられた。防御反応につながる知覚探知において，音源の位置や移動は極めて重要な感覚情報である。本研究の結果から，音源定位に関わる複雑な情報処理が，音源移動から 100～180 ms 後の変化応答においてすでに重畳するのではないかと考える。

● Motomura E, Inui K, Kawano Y, Nishihara M, Okada M. Effects of Sound-Pressure Change on the 40 Hz Auditory Steady-State Response and Change-Related Cerebral Response. Brain Sci. 2019. 9: 203.

18. 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，他者との協力行動における TPJ の下位領域ごとの役割について検討を行う。

本年度は 8 ペア 16 名の被験者を対象に実験を実施した。実験当日は被験者来所後，研究に関する説明および同意取得を行った。その後，実験課題として，2 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，2019）を実施した。実験は 7 テスラ

MRI を用いて行い，各ペアのうち 1 名が MRI 内で，もう一方が MRI 外にて課題を遂行した。課題中，被験者は握力計を握り，画面に表示される目標ラインに合わせるように自身の握力を調整する操作を行った。目標のラインは各被験者の最大随意握力をもとに決定した。実験条件はペアの相手を人間が務める場合とコンピュータプログラムが務める場合を設定した。ペアの一方の脳画像計測が完了したのち，MRI の内と外で被験者が交代し，ペアのもう一方の被験者の脳画像計測を同様に行った。

MRI によって計測した脳画像は，定藤研究室のコンピュータを用いて HCP パイプラインに準じた前処理を行った。現在，前処理済データを用いて個人レベルでの統計解析を進めている。

19. 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）

本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 2019）。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。

本年度は昨年度に引き続き，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 を抽出した後，各 ROI 間の BOLD 信号の相関係数を各脳領域間の結合特性とした。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）と損傷同側の腹側運動前野の後方部（F4）との結合性が高くなることが示された。一方，回復が始まった後，個体ごとに回復過程が少し異なるので，それに合わせて各脳領域の結合特性を解析し，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。

20. 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。入眠期には脳波に多彩な変化が現れるのみならず，眼球運動，筋電図にも様々な変化がみられる。また，主観的には入眠時心像が出現しその内容も刻々と変化することが報告されている。これらは覚醒から睡眠への移行過程で生じる脳内の動的変化を反映していると考えられるが，入眠期におけるヒトの脳活動変化について詳細は未だ解明されていない。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 解析においては，1) スペクトラム解析に基づいた EEG 各帯域と BOLD の相関，睡眠段階判定をもとにした 2) ブロックデザイン解析, 3) 機能的結合性解析を行った。

これまでに計 33 名（女性 16 名，平均 21.5±3.2 歳）の撮像を行った。Alpha power-BOLD 間には視床の背内側領域を主体に有意な正相関，後頭葉を主体に負相関がみられた。stage W と NREM stage1 の比較では，NREM 期に視床および基底核領域に有意な脳賦活低下がみられた。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。

本結果はヒト脳内における睡眠覚醒中枢の動的変化を in vivo で捉えたものであり，両領域の相互作用的な活動変化とそれに伴う全脳レベルでのネットワーク変化に集約される。これまでの結果は，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入眠期の意識レベルの変化に寄与するという仮説を支持している。

21. 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），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と二次体性感覚野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 35 bpm で調整した Normal Breathing（NB），脳血流量が減少するように呼吸法を指導し，メトロノーム 80 bpm で調整した Rapid Breathing（RB）を行った。実験条件として，①NB 条件，②RB 条件，③NB 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 NB+Gas 条件，④RB で高炭酸ガスを吸気する RB+Gas 条件，の 4 条件を設定した。一般成人 13 名を対象とし，体性感覚認知に関わる神経活動は，生理学研究所にある脳磁場計測器（Neuromag 社製 Vectorview 306 チャンネル）を用いて記録した。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。実験の結果，一次体性感覚野付近を発生源とする M60 成分に関し，NB+Gas 条件・RB+Gas 条件は RB 条件よりも有意に振幅が増大した（それぞれ $p < 0.01$; $p < 0.001$）。M20 成分，M30 成分では条件間で振幅の有意差は認められなかった。また両側の二次体性感覚野を発生源とする神経活動に関しても，条件間で振幅の有意差は認められなかった。血中炭酸ガス分圧を増加させると M60 成分の振幅が増大したことから，M60 成分の発生に関わる神経活動は，脳血流量と関係する可能性が示唆された。

22. 意図的な立毛生成の神経基盤および情動機能との相互作用の解明

片平建史（関西学院大学理工学部）
川上　愛（大阪大学大学院文学研究科）

今年度の研究では，全体の研究計画のうち，意図的な立毛生成に関わる神経基盤の解明に向けた予備的な検討を進めた。具体的な実施項目は，1) 研究の前提となる意図的な立毛生成能力を保有する個人の特定，2) fMRI と立毛の同時計測を行うための実験系の構築，3) 意図的な立毛生成能力を持つ被験者を対象とした予備的なデータ

の取得であった。

年度の前半における研究では，前年度に実施したポータブル立毛計測機材による遠隔実験のデータ解析を実施し，意図的な立毛生成能力を保有する個人の特定を進めた。この結果，先述の能力を有した 9 名の個人を画像解析データに基づいて特定することに成功し，意図的な立毛の客観的証拠を集団レベルで初めて確認した成果として論文投稿中である。

年度後半の研究では，まず fMRI の撮像中に立毛の計測を行うための環境構築を進めた。高磁場対応の CCD カメラ（フィジオテック 12M）のデモ機を借り受け，3D プリンタによって自作したマウントを用いて MRI スキャナ（Siemens 社製 3T MRI MAGNETOM Verio）のボア内での立毛計測環境を構築した。この環境で fMRI の撮像と同時に映像記録を行い，立毛の客観的計測が可能であることを確認した。次に，年度前半に特定した意図的な立毛生成能力を有する個人のうち 4 名を被験者として，意図的な立毛の生成を実行する間の脳機能計測を行う予備的な実験を実施した。実験では，fMRI と立毛の同時計測環境において，立毛を意図的に生成するタスクブロックと安静状態を維持するレストブロックを 30 秒ずつ交互に繰り返すブロックデザインで機能画像の撮像と立毛の映像記録を行った。タスク 6 試行分を 1 セッションとし，各被験者は 3 セッション分の撮像を行った。また，構造画像および安静時機能画像の撮像もあわせて行った。今年度のデータ解析ではまず立毛の映像データの解析を先行して実施し，4 名の被験者全員において立毛の記録に成功していることを確認した。今後は機能画像データの解析を進め，意図的な立毛の実行に関わる脳活動（タスク vs. レスト），立毛の発現に関わる脳活動（立毛強度との相関）の同定を試みる。fMRI 計測時の立毛の客観的データはこれまで発表されておらず，上記の解析によって有益な知見が得られると期待される。今後の課題としてはデータの拡充が急務であり，意図的な立毛生成の能力を保有する個人の特定を進めるとともに，高磁場対応 CCD カメラの導入を実現して予備実験で確立した実験の規模を拡大する。

23. 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）

知覚や注意に関する心理課題を行っているとき，頭頂葉や後頭葉ではアルファー波（α 波，8 – 13 Hz）・ベータ波（β 波，13 – 30 Hz）のパワー値（振幅）が弱くなる。このことから α・β 波は抑制波と呼ばれ，課題の遂行に負の影響を与えると考えられてきた。ただし従来の研究は波形信号の縦の変化（振幅）を見ており，横の変化（リズム変化）は見ていなかった。今回，視覚性短期記憶課題を遂行中の被験者（健常成人）から α・β 波のリズムを記録・解析し，それらが視覚性短期記憶の負荷上昇（記憶しなければならない情報量の増加）に伴ってどのように変化するかを調べた。

各トライアルでは，様々な色をした四角形が複数，同時に提示された（記憶スクリーン）。提示時間は 150 ミリ秒であり，被験者は 1-6 個の四角形の色とその配置を，可能な限り正確に覚えるよう教示された。約 1 秒の固視点スクリーン（保持期間）の後，テストスクリーンが提示された。この画面は最初に提示された記憶スクリーンと全く同じ時もあれば（変化なしトライアル），四角形の色が 1 つだけ異なることもあり（変化ありトライアル），被験者はテストスクリーンを見ながら変化のあり・なしを二択で判断した。この課題の保持期間中の脳活動を，MEG（脳磁計）を用いて計測した。特に注目したのは，短期性視覚記憶と関係が深いとされる頭頂葉と前頭葉の活動であった。

その結果，課題の記憶負荷（記憶しなければならない四角形の数。1 – 6 個）を増やしていくと，頭頂葉の神経リズム（α・β 波）もそれに比例して速くなることが分かった。また頭頂葉だけではなく，前頭葉でも同様の反応が見られた。さらにこのリズム変化幅が大きい被験者ほど，記憶課題の成績が良い傾向が見られた。これらの結果は，α・β が抑制波ではなく，短期記憶の保持に促進的な役割を果たしている可能性を示唆する。これらの成果は英語論文としてまとめ，国際誌に投稿中である。

24. 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（九州大学大学院システム情報科学研究院情報学部門）

本研究は，ヒト聴覚の「チャンネル間処理」の脳内メカニズムを解明すると共に，この情報処理が時空間知覚や音声知覚に共通することを示す試みである。複数の周波数チャンネルに渡る「チャンネル間処理」は心理音響実験によってその存在が示されてきたが，その脳内機構は未解明なままである。そのため，聴覚野及びその周辺部における神経活動を捉える必要があり，時間および空間分解能に優れる MEG 計測はそれを可能にする。

研究方法としては，チャンネル間処理の代表的な研究手法である周波数間無音検出課題を用いる。この課題では，2 つの音刺激の間に無音区間を設けるが，無音前後の音の周波数を異なるものにする（例えば 1600 Hz と 800 Hz）。この課題を単耳聴にて聴取者に能動的に遂行させ，その際の聴覚野およびその周辺部での聴覚誘発脳磁場反応を観察する。実験参加者は，一般的な聴力検査において概ね 20 dB HL 以下の正常聴力を有する成人 20 名とする。実験では，無音区間を含む刺激と含まない刺激をランダムに呈示して聴取者に無音の有無を判断させ，その際の脳磁場反応を Elekta Neuromag で測定する。刺激呈示後 1～2 秒後に判断に応じてボタン押しを行なわせる。その結果を基にチャンネル間処理を特徴づける神経活動（振幅，潜時，持続時間，範囲・距離等）を同定する。同様の手法を用いて，両耳聴や音声知覚時の脳磁場反応を測定する。

以上の計画であったが，一昨年の担当技官の逝去により，計画していた MEG 計測が遂行不可能になった。MEG を用いる共同研究の遂行には技術的支援が必須であるが，上記によりその支援がなくなったためである。

25. 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とこれを利用したヒト連合野の機能構築研究

R. Allen Waggoner，Shubham Gupta，Topi Tanskanen，Kenichi Ueno，Keiji Tanaka
(RIKEN Center for Brain Science)

The work on the project in FY2019 focused on preliminary steps necessary to eventually be able to use the RIKEN-CBS 8-Channel transmit/receive array for high-resolution fMRI studies, in regions of the human brain that suffer from susceptibility artifacts.

A number of phantom studies have been performed with the 8-Channel transmit/receive array. These studies have several aims. First, to become familiar with the RF-shimming tools provided by Siemens. Second, to identify any additional parallel transmit (pTx) tools needed from Siemens. Third, to obtain IRB committee approval for human studies. As part of these efforts, we are working toward implementing pTx based temperature imaging on the NIPS 7T. Based on these studies, additional requests have been made to Siemens.

In parallel to the phantom pTx studies, we have also started human studies using the Nova Medical birdcage transmit coil and 32-channel receive array, with the aim of defining the protocol that will be used for the pTx studies.

Figure 1 shows example EPI images in the inferior temporal lobe, as well as an MPRAGE image of the same slice for comparison. These images demonstrate that the multi-shot EPI sequence, which we implemented on the system, reduces susceptibility related signal loss and distortion, however it does not eliminate these effects. This figure thus emphasizes the need for pTx techniques in addition to multi-shot EPI, to fully recover signal in regions suffering from susceptibility effects. Applying those techniques to fMRI studies at 7T, is the primary focus of the project.

Figure 1D shows typical multi-shot EPI motion artifacts, which indicates the special importance of motion suppression in multi-shot EPI. During FY2019 we designed and implemented a bite-bar mount system that will work with

either the Nova Medical birdcage transmit coil or the RIKEN-CBS 8-Channel transmit/receive array. Figure 2 shows the bite-bar mount attached to the Nova Medical birdcage transmit coil. NIPS ethical committee approval was obtained in FY2019 for using the bite-bar system with human subjects. We have started fMRI experiments using the bite-bar together with the multi-shot EPI.

These results show that we are making steady progress toward using pTx protocols, such as, focused excitation, and simultaneous z-shimming. Once we have demonstrated to the ethical committee that subject safety can be ensured when using the array, fMRI studies with pTx can be undertaken.

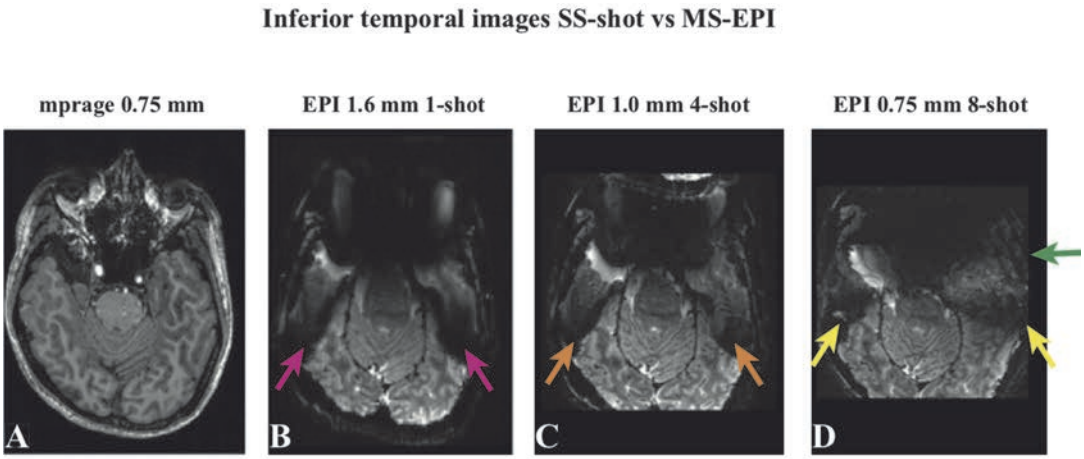


Figure 1. Comparison of inferior temporal lobe EPI images, acquired with different k-space trajectories. **A** is an MPRAGE image of the corresponding slice , for the same subject. **B** is a single-shot EPI image with 1.6mm isotropic voxels. There are severe susceptibility artifacts resulting in both signal loss and signal shift (see the red arrows). **C** shows a 4-shot EPI image of the same slice with 1.0mm isotropic voxels. The use of multi-shot has resulted in both more sharply defined gray-matter/white-matter boarders and reduced susceptibility artifacts (orange arrows). **D** shows an 8-shot image of the same slice at 0.75mm isotropic resolution. While the susceptibility artifacts (yellow arrows) are further reduced in this image, they are far from eliminated, demonstrating the need for parallel transmission techniques to fully recover the lost and misplaced signal. **D** also shows typical multi-shot motion artifacts (green arrow), illustrating the need for the use of a bite-bar when employing multi-shot EPI at high resolution. To address this problem, we have designed and implemented a bite-bar system which can be used with either the Nova Medical birdcage transmit coil, or the RIKEN-CBS transceive array coil (see Fig. 2).

RIKEN-CBS Bite-Bar Mount Attached to NIPS' Nova Medical Bird-Cage Transmit Coil

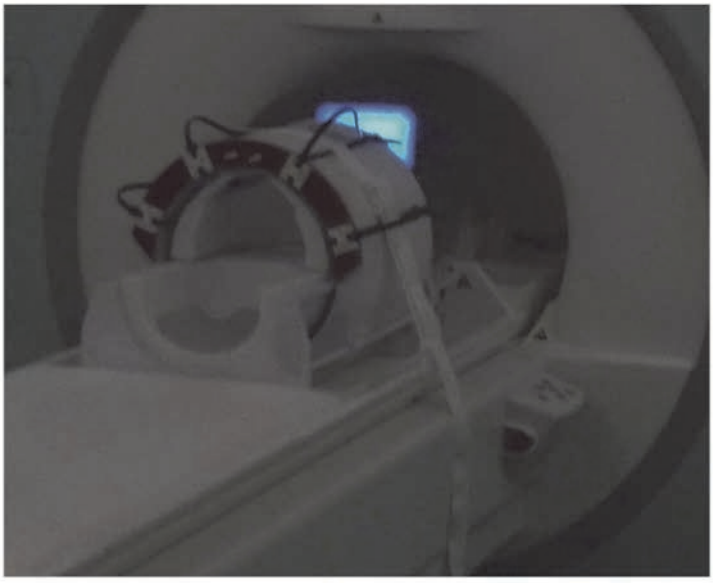


Figure 2. The bite-bar mount developed by RIKEN-CBS. The mount can be attached to either the Nova Medical Birdcage Transmit Coil or the RIKEN-CBS 8-Channel transceive array coil. The bite-bar has received approval for MRI experiments by the NIPS Ethical Committee.

26. 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）
小林大悟（名古屋大学 医学部保健学科）
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・破裂に血流動態が重要な因子であるため，磁気共鳴流体解析（MRFD）や計算流体解析（CFD）による血流動態解析研究が行われている。細い脳血管を対象にした MRFD では 3 次元位相コントラスト磁気共鳴法（3D PC MR）を高空間分解能で撮像する必要がある。3T MR 装置と比較し，細い血管を対象にした 7T MR 装置の非 ECG 同期 3D PC MR の優位性が本研究グループの前年度の先行研究で示唆された。しかし，7T MR 装置では R 波が突出する ECG が得られず，ECG 同期を行うことができなかった。この原因は，磁場流体力学効果（magnetohydrodynamics effect, MHDE）に起因すると考えられる。強磁場内で通電性流体の血液が流れると，ファラデーの電磁誘導により起電力が生じ，この影響が 3T よりも 7T MR 装置で顕著になったと考えられる。

本研究の目的は，7T MR 装置の MHDE が ECG 波形に与える影響ならびに最適な ECG 電極配置を検討し，ECG 同期 3D cine PC MR 画像から得られる MRFD 結果を CFD 結果と比較して ECG 同期高空間分解能 MRFD の精度を検討することである。

2. 方法

健常成人 8 名（平均 22.9 歳）を対象に生理学研究所の 7T MR 装置を用いて MHDE の影響を最小限に抑える最適な ECG 電極の貼り付け位置について検討した後に，voxel size 0.25×0.25×0.25 mm^3 の 3D cine PC MR と 3D TOF MRA を撮像した。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。MRFD 結果と基準の CFD 結果を用いて速度ベクトルの角度類似指数（angular similarity index, ASI）[1]，速度ベクトルの強度類似指数（magnitude similarity index, MSI）[1] を求め，先行研究の非 ECG 同期のそれらと比較した。

3. 結果・考察

上行大動脈に直行する配置を避ける（なるべく上行大動脈に沿って添付する）ECG 電極配置 により，MHDE に起因する ECG の波形の乱れを抑え，R 波を目立たせることができた（図 1, 2）。MHDE はフレミング右手の法則に従って，大血管の垂直方向に起電力が生じるためと考えられた。我々の 7T MR 装置での ECG 電極の配置方法は今までに報告がない。

細血管である前大脳動の ASI・MSI を先行研究で得られた非 ECG 同期 3D cine PC MR により得られた結果と比較した結果，ともに高値を示した（表 1）。3 次元血流速度ベクトル図の血流速度分布は概ね CFD に近くなると共に，経時的変化を捉えることができた。

4. 結論

7T MR 装置内では上行大動脈に沿うように電極配置にすることにより，最適な ECG 波形を得ることができた。7T MR 装置を使用した ECG 同期高空間分解能 MRFD の血流速度ベクトル精度は非 ECG 同期と同等の結果が得られ，7T MR 装置を使用した細血管を対象にした ECG 同期 3D cine PC MR の優位性が示唆された。

5. 文献

1) Berg P, et al. J Biomech Eng. 2014;136(4)

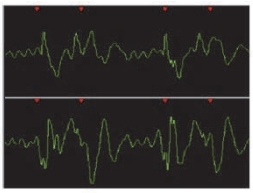


図 1. 通常の電極添付位置で良好に同期が掛からない場合の心電図波形

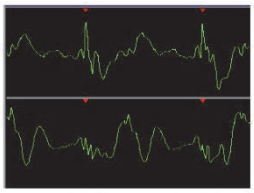


図 2. 通常と異なる電極添付位置で良好に同期が掛かる場合の心電図波形

表 1. 各血管径における ASI と MSI

	非心電図同期			心電図同期		
血管径（mm）	2.42	2.64	2.67	2.10	2.56	2.67
ASI	0.668	0.675	0.709	0.794	0.727	0.824
MSI	0.691	0.791	0.775	0.821	0.765	0.780

27. 眼球運動の機能的ネットワークの解析

三浦健一郎（国立精神･神経医療研究センター）
福永雅喜，山本哲也，定藤規弘（自然科学研究機構生理学研究所）

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起こることも多く，その神経機構の解明は病態メカニズムの理解を促進する重要な知見でもある。本研究では機能的 MRI (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，追跡眼球運動と視覚誘導性サッケード運動に関わる脳領域の違いについて検討した。前年度までの研究で，髄鞘密度マップとの比較により，追跡眼球運動および視覚誘導性サッケード運動で互いに似た脳領域に賦活が見られ，その領域が高髄鞘化領域と重複する傾向があることを報告している。本年度の研究では，これら異なる眼球運動の間の関連領域の差異について，より詳細に検討することを目的とし，3T MRI を用いて実験を行った。被験者はスクリーン上の視標を見るように教示され，静止した視標を固視する課題，滑らかに動く視標を眼で追跡する課題，跳躍的に動く視標を眼で追跡する課題を行った。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。T1/T2 強調画像も併せて取得した。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。各個人の fMRI データの解析から，眼球運動に関連した脳活動が MT+野，前頭眼野，運動前眼野，頭頂間溝およびその周辺の高髄鞘化領域に見られた。追跡眼球運動と視覚誘導性サッケード運動の比較では，MT+野において追跡眼球運動でより強い賦活が見られた。前頭眼野では視覚誘導性サッケード運動で強い賦活が見られ，その後方の領野

あるいは境界領域で追跡眼球運動に強い賦活ある傾向があった。頭頂間溝およびその周辺に追跡眼球運動のほうに強い賦活が見られる領域があった。この結果は，前頭眼野と頭頂間溝領域に異なる眼球運動に関わる，機能的に異なる領域があることを示唆する。

今後，被験者を増やして結果の再現性を確かめるとともにグループ解析を行う計画である。また，各眼球運動の構造・機能的コネクティビティ，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。

28. 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，村瀬智一，河合裕子（明治国際医療大学）
福永雅喜（生理学研究所）

現在，特定の領域を選択励起して得られるシングルボクセルの MRS を取得する方法（single voxcel spectroscopy : SVS）は，PRESS 法や STEAM 法は，傾斜磁場と狭帯域 RF の組み合わせにより信号取得のための励起領域を選択している。しかし，傾斜磁場の印可によるスペクトルのズレは，ケミカルシフトと区別ができないため，異なるケミカルシフトを持つピーク成分は異なる位置から得られるという chemical shit displacement (CSD) error と呼ばれる位置ずれが生じる。CSD error は，静磁場強度に比例して大きくなるため高磁場 MRS で問題となっている。この問題の解決方法の一つに，位相エンコード傾斜磁場パルスを用いるケミカルシフトスペクトロスコピックイメージング（CSI）法が利用できる。SVS 法では通常 2 cm 角などの小さな領域からスペクトルを取得する。一方，CSI は広い領域が選択される。CSD error は傾斜磁場の強さに依存するため，SVS でも CSI でもその CSD error の割合は同じになる。ファントム実験で得られた結果では NAA の 2 ppm の単一ピークとクレアチンの 3 ppm の単一ピークは 1 ppm 離れている。実験に用いたシーケンスでは，3T のファントム実験から 7T では 1 ppm で 22 %の CSD error があることが分かった。2 ppm の NAA と 4 ppm のクレアチンの別のピークでは CSD が 44 %となる。2 ppm を中心に領域を設定し，頭頂葉中心付近の灰白質を SVS で計測するとき，クレアチンの信号は白質を含む可能性が出てくる。一方，CSI ではスライス方向（15 mm）の CSD error は無視できないものの，平面内では，NAA もクレアチンも指定した灰白質からの信号を解析できる。さらに代謝物ピークをフィットして代謝物濃度を計算する LCModel を利用して SVS 法で計測された 7T の MRS はもちろん，CSI 法で得られた MRS でも神経アミノ酸のグルタミン酸やグルタミン酸はもちろん，GABA やグルタチオンなどの比較的低濃度代謝物も推定でき，代謝物分布が得られた。しかし，任意の断面の磁場均一度を調整することは現在のシム調整装置ではできない。このため，脳内で磁場均一度が調整可能な特定な断面を 3D 位相 MRI の計測結果から求めた。この結果，生理学研究所の 7T-MRI 装置（Magnetom 7T, Siemens）と 1Tx/32Rx ヘッドコイルを使用し，7 cm x 7 cm x 1.5 cm の領域に対して，7.5 x 7.5 x 15 mm^3 の空間分解能を持つ良好な CSI を計測に成功した。得られたデータは，LCModel を領した解析において，3T では直接観測が困難であった GABA や GSH のピークに対して，十分な信頼性フィット結果と，平面内 CSD error 問題を同時に解決できた。

29. 呼吸による認知パフォーマンスと関連する脳活動の解明

中村　望，越久仁敬（兵庫医科大学 生理学生体機能部門）
福永雅喜，定藤規弘（自然科学研究機構生理学研究所システム脳科学研究領域 心理生理学研究部門）

従来呼吸は，延髄の PreBötzinger complex から生じる律動的神経活動と上位脳によるトップダウン制御によってその活動を形成維持されることが知られている。しかし近年，呼吸の律動的活動が認知機能を司る上位脳に直接関与することが知られるようになった。それらの研究では，呼吸と同期する脳活動によって認知行動が変化することが示唆されている。

2018 年，我々は心理生理学的手法を用いて，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，研究成果を国際科学誌 PLoS ONE に発表した。この研究では，呼息期から吸息期へと切り替わるタイミング，EI 転移が記憶想起プロセスと重なったとき，反応時間が約 0.5 秒延長し，課題の正解率が 21%低下することが明らかになった。一方，吸息期から呼息期へと切り替わる IE 転移では，そのような結果は示されなかった。これにより，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，認知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。

これらの成果を踏まえて，呼吸の効果による脳活動の変化を明らかにするために，2018 年より，本格的に fMRI 実験を開始した。健常被験者を用いて見本合わせ再認課題を fMRI 撮像下で実施し，同時に呼吸活動についてもモニターした。前回の心理生理学実験のデータ解析から，想起プロセスが EI 転移の直前に完了するケース，すなわち EI 転移の直前にボタン押しを行っているケースが特に多いことが示されており，今回，その要因を明らかにするべく，EI 転移直前の脳活動の変化についても注目した。

3.5 秒に 1 回生じる呼吸の効果を fMRI 研究で明らかにすることは容易ではないが，興味深い結果が得られつつある。現在健常被験者 31 名の fMRI 撮像を終え，引き続き fMRI 画像データ解析中である。一般線型モデル GLM を用いた fMRI データ解析では，想起プロセスにおける EI 転移の効果を示すことができなかった。しかしながら，有限インパルス応答 FIR を用いた解析により，その効果を示すことができた。EI 転移の効果は，想起プロセスにおける前頭前皮質活動にみられ，想起プロセスが EI 転移の直前で完了する場合とは異なることが示された。引き続き，より詳細な解析を行っている。

30. 7 テスラ MRI によるヒト第一次体性感覚野の皮質内回路機構の解明

楊　家家（岡山大学大学院ヘルスシステム統合科学研究科）
于　英花（国立研究開発法人情報通信研究機構 脳情報通信融合研究センター）
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）

ヒトの脳は，感覚器官から入力された感覚信号と予測信号を比較し，両者のずれ（予測誤差）の計算に基づいて，知覚を能動的に創発していると考えられる。この過程を予測的符号化（Predictive coding）と呼ばれ，近年の脳神経科学分野では，この概念に基づいた研究が展開されている。一方，予測誤差は，感覚皮質各層の神経細胞で構成する局所神経回路により算出されると考えられているが，ヒトの大脳皮質層の活動を計測する技術は未熟で，その神経基盤も未だ謎である。本研究は，最新の 7 テスラ高空間分解能（レイヤー）fMRI 技術を用いて，触覚予測過程におけるヒトの第一次体性感覚野の各層で構成する局所神経回路の機能的役割の解明を目指している。

ヒト用 7 テスラ MRI システムの誕生により，従来困難の百ミクロン単位での大脳皮質層レベルの活動を計測するレイヤー fMRI 技術が促進されつつある。しかし，現在の技術的な制限により，全脳をカバーする撮像は困難であるため，申請者らは，注目領域に合わせて撮像範囲を縮小し，空間解像度を上げる戦略を取っている。本年

度では，片側体性感覚野をカバーできる撮像シークエンスを含めて，複数の撮像シークエンスの導入に成功した。また，予備実験として，申請者らの先行研究で行った「人差し指はいつに刺激されるか」の触覚予測タスクを実施し，撮像シークエンスのテストも完了した。次年度では，本研究の目標達成を目指して，健常若年者を被験者（30 名）とし，ヒト第一次体性感覚野の各層における触覚予測に関する脳活動を計測・検討する。

31. 意味の創発に関わる内的表象形成メカニズムの解明

寺井あすか（公立はこだて未来大学），地村弘二（慶應義塾大学）
吉本隆明（生理学研究所システム脳科学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領域心理生理学研究部門）

視覚刺激からの内的表象の形成・投影による新たな意味の創発に基づく言語表現としての「比喩生成」を対象とし，視覚刺激からの意味の創発に関わる神経メカニズムを明らかにすることを目指し，2017，2018 年に実施した画像説明課題とともに，映像の提示を行う映像鑑賞課題・one-back 課題を用いた MRI 実験を実施した。

2017，2018 年度に画像説明課題を用いた MRI 実験を被験者 32 名にて実施した。画像説明課題では，画像（ロールシャッハ的図形）を被験者に提示し，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。上記実験を踏まえ，画像説明課題における比喩生成時と比喩で用いられている概念の認識時における脳活動の比較を通じ，比喩生成における意味認識に関わる領域を明らかにすることを目的としている。

まず，searchlight hyperalignment 法を用いて各被験者の神経パターンを共通表彰スペースへと変換するモデルを学習するため，映像鑑賞課題として被験者に 51 分の映像を 4 分割した映像を自由に鑑賞してもらった（映像鑑賞課題）。さらに，意味の認識に関わる脳活動データを取得するため，2017，2018 年度に実施した画像説明課題において頻度高く回答された 8 種類の概念を対象とし，one-back 課題を実施した。両課題遂行時の脳結了を MRI(Verio3T) を用いて測定した。2017，2018年度に実施した画像説明課題実験の参加者3名に対し，映像鑑賞課題・one-back 課題を用いた実験を実施するとともに，新たな参加者 4 名に対し画像説明課題を用いた実験，映像鑑賞課題・one-back 課題を用いた実験を別日に実施した。

来年度は，画像説明課題実験，映像鑑賞課題・one-back 課題を用いた実験を別日に実施する形式にて追加実験を実施し被験者数を増やすことを予定している。さらに追加実験終了後，one-back 課題遂行時の各被験者の脳活動データを利用し，8 種類の概念（回答）を対象とした SVM モデルを作成した後，画像説明課題における対象概念生成時の脳活動データの classification accuracy を確認する予定である。さらに，画像説明課題遂行時の脳活動データを共通表彰スペースに変換したベクトルに対し，k-means clustering 分析を行い特定の意味認識に関連する領域の有無について検討する予定である。

32. 直接消費可能な遅延報酬を用いた意思決定に関わる認知制御機構

地村弘二，新滝玲子，田中大輝（慶應義塾大学）

報酬の価値は，獲得が遅延するときに割引かれる。一方で，知覚される遅延の長さは，遅延の経過中に起こる事象の主観的な経験に依存して変化する可能性がある。しかし，遅延報酬の経験中に知覚される遅延の長さが調節を受けたとき，その報酬価値がどのような影響をうけるかはよくわかっていない。本研究では，

ヒト被験者（N=27）が数十秒後に消費することができる液体報酬を待っているときに脳活動を測定した。解析では将来の報酬を待っている時の信号の時間変化の探索的解析が重要になるので，全脳を高い時空間解像度で撮像可能な多バンド加速型機能的 MRI を用いた（TR=0.8sec; 2mm isotropic voxel; MBF=8）。

遅延時間中，視覚的に提示されたパネルの色が連続的に変化し（動き遅延），その後，被験者は液体の報酬を消費した。パネルの色が変化しない静止遅延と比較して，動き遅延では，主観的な時間の長さが短くなり，色変化の周波数の増加によってバイアスが大きくなった。また，動き遅延の時間知覚のバイアスが大きい被験者は，動き遅延の報酬に大きな価値を示した。脳機能画像解析では，将来の報酬を待っているときの主観的価値と期待効用の 2 つの価値表象の時間動態を，将来の報酬獲得の期待時間の確率密度分布に基づいてモデル化し，ベイズ学習により試行ごとに更新した。そして，その 2 つの価値表象の時間動態は，動き遅延で知覚される主観的時間によって調節された。主観的価値と予測的効用の効果は，それぞれ腹側線条体と外側前頭前野における信号の時間変化に関連していた。しかし，被験者が将来の報酬を予想せずに遅延期間を経験した場合，このような報酬価値表象を反映するような信号は観察されなかった。これらの結果は，知覚された主観的な時間が前頭前野・腹側線条体の機構で表象される将来の報酬価値の動的な信号に関連していることを示唆している。

33. 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）
田中沙織（㈱ 国際電気通信基礎技術研究所）

本研究では，言葉遣いが我々の意思決定や行動を変えるかもしれないという社会言語学の仮説（Sapir-Whorf 仮説）に則り，主語を省略した話し方をしたときに経済的な意思決定がどの様に変化するのかを検証した。中国語や日本語の様に，主語を省略することが文法上許される言語，つまり pro-drop 言語，がある。それに関してこれまで社会言語学で通説となっていたのは，第一主語（私や我々）を省略して考えたり話したりすることで自己意識が低下し，より利他的になるとされていた。今回の研究の目的は，(1) 社会効用に関係するその通説をより厳密な推計戦略で検証することと，(2) もしその様な効果が確かめられたならば，その神経基盤を明らかにすること，の 2 点である。

(1) について，オンラインで 2,000 人の被験者を対象に RCT の枠組を用い，第一主語の有る・無しが独裁者ゲームにおける意思決定にどのような影響を与えるか，その因果関係を識別した。結果として，これまで主張されていた仮説とは逆に，第一主語を省略して考えたとき人々は他者に与える金額を減らす，すなわちより利己的になることが示された。本研究成果は Journal of the Economic Science Association 誌に“Pronoun Drop and Prosocial Behavior: Experimental Evidence from Japan”として 2020 年 2 月に出版された。
https://link.springer.com/article/10.1007/s40881-020-00083-4

(2) について，効果の方向性は逆であったものの，言葉遣いから意思決定という因果関係を伴った効果が識別されたので，その神経基盤を明らかにする試みを継続している。言語の意味理解は前頭前野が関わるとされ，社会効用に関する脳領域として線条体や背外側前頭前が報告されている。本研究ではこれら個別の脳活動を確認しつつ，領域間の脳活動の関係を調べることで，言語意味理解のプロセスを制御する脳活動がトリガーとなり，受け取った言語刺激の違いによって適応的に社会効用に関連した脳活動をコントロールする，上位の処理機構や神経メカニズムが存在するか検証する。これまで 20 人の被験者を対象に fMRI 実験を行い，現在のそのデータの解析中である。

34. 運動イメージの脳内表象の解明

水口暢章，土元翔平，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ロボットセンター）
菅原　翔（公益財団法人東京都医学総合研究所脳機能再建プロジェクト）
濱野友希，小山雄太郎，定藤規弘（自然科学研究機構生理学研究所心理生理学研究部門）

運動イメージはリハビリテーションやブレイン・コンピュータ・インターフェイス（BCI）を操作する際によく用いられ，その能力はトレーニング効果やBCI操作能と関連がある可能性が示されている。たとえ若年健常者であっても運動イメージ能力に個人差があることは広く受け入れられている事実であるが，運動イメージは主観的な体験であるため運動イメージ能力の定量方法は未だ確立していない。したがって，運動イメージ能力と関連する神経基盤を明らかにすることは意義があると考えられる。

先行研究でよく用いられる経頭蓋磁気刺激法（TMS）により誘発した運動誘発電位および fMRI による脳機能イメージングはそれぞれ確立された方法であり，各手法を用いた研究では再現性の高い結果が得られている。しかしながら，これまでの運動イメージ研究は主観的な質問紙の結果と運動誘発電位もしくは脳機能イメージング結果と比較しており，定量的な指標である運動誘発電位と脳機能イメージング結果を同一被験者で比較した論文は見当たらない。そこで本研究では，先行研究により運動イメージ能力と関連することが示唆されている運動誘発電位の振幅増大と脳機能イメージングで評価した脳内表象類似性（representation similarity）の程度との関連性を明らかにすることを目的とした。

被験者は一般健常成人とし，TMS 実験と fMRI 実験を別日に行う。運動課題は指タッピングとし，指タッピングの実行および運動イメージを行う。課題は視覚および聴覚キューによって開始・終了する。TMS 実験と fMRI 実験では課題中の筋活動を手指および前腕から記録する。

これまでに予備実験を含めて被験者 11 名からデータを取得した。本年度は予備実験によって実験プロトコルを決定した。現時点までの解析の結果，運動イメージによって運動誘発電位の振幅が増大することを確認しており，これは先行研究の結果と一致している。今後は引き続きデータを蓄積し，解析を行う予定である。

35. Development and feasibility study of a single-channel microstrip transmission-line RF coil combining RF shielded PET detector module for a 7T MRI

Md Shahadat Hossain Akram[1]，Sodai Takyu[1]，Fumihiko Nishikido[1]，Takayuki Obata[2]，Taiga Yamaya[1]
（国立研究開発法人 量子科学技術研究開発機構 放射線医学総合研究所
[1] 先進核医学基盤研究部 イメージング物理研究グループ
[2] 分子イメージング診断治療研究部 医工連携画像研究グループ）
Masaki Fukunaga（大学共同利用機関法人 自然科学研究機構 生理学研究所 システム脳科学研究領域
心理生理学研究部門）

January 29, 2020: Installing and performance check of a single channel microstrip transmission-line RF coil integrated with PET RF shield at the 7T MRI of NIPS:

Using the QST-NIRS President grant 2019-2020, a microstrip transmission-line RF coil was designed in 2019 that integrates PET detectors with the coil, to be used with the 7T MRI system at the National Institute for Physiological Sciences (NIPS), in Aichi, Japan. With the active support from Dr. Takayuki Obata of NIRS-QST, we previously (April 2019) had a meeting with Dr. Masaki Fukunaga of NIPS for this collaboration. The coil manufacturing was done by Takashima Seisakusho, KK, a Siemens certified coil and related circuit development company. It is required, at the beginning, to install the coil files and test the coil perfromance in the MRI system with the responsible coil manufacturing person of the coil devepment company. For this puspose, me (MSH Akram)

with Yoshihiko Kawabata-san of Takashima Seisakusho, KK, visited NIPS on 29th January 2020. We did our study with Dr. Masaki Fukunaga. The coil performed well with different study conditions.

February 2-4, 2020: MRI and PET detector performance study of the single channel microstrip transmission-line coil-PET system:

This time, we four researchers from the QST-NIRS visited to NIPS. They are, resepctively, Dr. Takayuki Obata, Group leader of the Applied MRI research group of NIRS, Dr. Fumihiko Nishikido (Senior researcher) and Dr. Sodai Takyu (Researcher) from our group, who are experts on PET development study and have strong experience on add-on PET study at NIRS, and me.

Two days earlier from the study dates, we sent PET and coil measurement systems to NIPS. The measurement systems included, PET data acquisition system, different power sources, data acquisition computers, oscilloscope, network analyzers, different coil related small tools, cables, etc. Since there are many different equipments involved in this study, I visited NIPS on 02 February, in a plan to receive and setup the equipements in the early morning on 03 February. Other researchers from NIRS joined on 03 February. With Dr. Fukunaga, we did study until 08:30 PM on that day. We again started our study next day (04 February) from 09:00 AM and continued till 03:30 PM. We packed all equipments on the same day to return to NIRS and started our journey to return Tokyo. We did many different studies within this time frame. There were good findings. However, we also found some challenges regarding RF noise. Detail results are shown in the attached figure. We plan to do further study at NIPS in near future. For that we plan to install noise reduction filter in the penetration panel of the 7T MRI system.

Conclusion: We performed comparative study for different experimental setups, for example, for only RF coil, for RF coil with PET detector shield box and detectors but without PET measurements, for simultaneous PET and MRI study, etc. The coil both with and without PET detector performed well and almost similar. We did not find any significant performance difference for both MRI and PET measurements between PET ON (taking data) and OFF (power off) conditions.

【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・世話人：大久保洋平　2019 年 9 月 19 日－9 月 20 日）…… 243
2. 生体コモンスペース研究会
（代表・世話人：高井まどか　2019 年 7 月 11 日－7 月 12 日）…… 250
3. イオンチャネルと生体膜のダイナミズム：構造生物学の先にあるもの
（代表・世話人：岡村康司　2019 年 9 月 30 日－10 月 1 日）…… 260
4. 2019 年 生理学研究所研究会研究の新展開：その普遍性と多様性
（代表・世話人：福田光則　2019 年 6 月 6 日－6 月 7 日）…… 279
5. 上皮膜・間質の機能連関と病態発現機構解明のためのストラテジー
（代表：風間逸郎　2019 年 9 月 5 日－9 月 6 日）…… 288
6. 温熱生理研究会
（代表世話人：山下　均　2019 年 8 月 22 日－8 月 23 日）…… 298
7. 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・世話人：山内敏正　2019 年 9 月 21 日－9 月 22 日…… 309
8. 食の「満足感」を担う分子・神経基盤研究会（食欲・食嗜好研究会）
（代表・世話人：佐々木　努　2019 年 8 月 26 日－8 月 27 日）…… 318
9. Neurobiology of Learning & Memory Meeting
（代表・世話人：JOSHUA, Johansen　2019 年 9 月 12 日－9 月 13 日）…… 333
10. 情動の生起と変容の多面的理解に向けて
（代表・世話人：竹本さやか　2019 年 9 月 11 日－9 月 12 日）…… 340
11. ミクロからマクロに至る脳の構造と機能のダイナミクス
（代表・世話人：河崎洋志　2019 年 11 月 7 日－11 月 8 日）…… 348
12. 認知神経科学の先端～脳の理論から身体・世界へ
（代表：島崎秀昭　2019 年 9 月 1 日－9 月 2 日）…… 356
13. 視覚・認知脳機能研究の先端
（代表：西本伸志　2019 年 9 月 26 日－9 月 27 日）…… 362
14. 脳神経ダイナミクスの可視化と制御
（代表・世話人：武見充晃　2019 年 7 月 16 日－7 月 17 日）…… 370
15. 力学系の視点からの脳・神経回路の理解
（代表・世話人：北野勝則　2019 年 11 月 28 日－11 月 29 日）…… 376
16. 幼・小児の成長期における脳機能と運動の発達に関する多領域共同研究
（代表・世話人：高草木薫　2019 年 8 月 5 日－8 月 6 日）…… 381
17. 行動の多様性を支える神経基盤とその動作様式の解明
（代表・世話人：関和彦　2019 年 12 月 13 日－12 月 14 日）…… 385

18．電気生理学的手法を用いたヒト脳神経活動の計測
（代表・世話人：岡本秀彦　2020 年 2 月 8 日）･･･ 392
19．第 9 回社会神経科学研究会 「社会科学的アプローチによるヒトの社会神経回路の理解」
（代表・世話人：高岸治人　2019 年 11 月 21 日－11 月 22 日）･･･ 397
20．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～みんなのクライオ電顕～
（代表・世話人：岩崎憲治　2019 年 11 月 26 日－11 月 27 日）･･･ 400

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

2019 年 9 月 19 日－9 月 20 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）内耳の感覚上皮帯を構成する外有毛細胞のナノ振動動態の同定

○任　書晃[1,2]，太田　岳[1,2]，崔　森悦[2,3]，日比野　浩[1,2]

（[1]新潟大学医学部分子生理学，[2]AMED-CREST,AMED，[3]新潟大学工学部電気電子）

（２）角化細胞の増殖における力依存的な接触阻害：細胞運動と Rac1 の関わり

○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）

（３）1 細胞スケールの熱で変動する細胞内カルシウム動態

○鈴木　団（大阪大学蛋白質研究所蛋白質ナノ科学）

（４）新規蛍光スイッチングプローブによるライブセル超解像イメージング法の開発

○並木繁行，浅沼大祐，大久保洋平，廣瀬謙造

（東京大学大学院医学系研究科細胞分子薬理学）

（５）A bioluminescence-based ratiometric water hardness indicator

○Md. Nadim Hossain[1], Ryuichi Ishida[2], Mitsuru Hattori[1,2], Tomoki Matsuda[1,2], Takeharu Nagai[1,2]

（[1]大阪大学大学院工学研究科，[2]大阪大学産業科学研究所生体分子機能科学）

（６）哺乳類 CaMKII リン酸化活性依存的な睡眠時間長制御

○大出晃士[1,2]，上田泰己[1,2]

（[1]東京大学大学院医学系研究科システムズ薬理学，

[2]理化学研究所生命機能科学研究センター合成生物学）

（７）シナプス前末端における細胞骨格タンパク質のはたらき

○高橋智幸（沖縄科学技術大学院大学）

（８）分子動力学計算とカルシウムイメージングによるリアノジン受容体制御機構の解析

○山澤徳志子（東京慈恵会医科大学分子生理学）

（９）HEK293 細胞発現系を用いた RyR2 疾患変異の Ca^{2+}遊離促進機構の解析と抗不整脈効果を目指した RyR2 阻害薬の探索

○呉林なごみ（順天堂大学医学部薬理学）

（10）O_2-dependent protein internalization underlies astrocytic sensing of acute hypoxia by restricting multimodal TRPA1 channel responses

○内山　誠，栗田祐希，福士勇人，岡田泰昌，森　泰生

（京都大学大学院工学研究科分子生物化学）

（11）レドックスシグナルによる小脳機能制御

○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）

【参加者名】

山澤徳志子（東京慈恵会医科大学），高橋智幸（沖縄科学技術大学院大学），鈴木　団（大阪大学蛋白質研究所），太田裕作（生命創成探究センター），任　書晃（新潟大学），大久保洋平（東京大学），並木繁行（東京大学），呉林なごみ（順天堂大学），曽我部正博（名古屋大学），平田宏聡（名古屋大学），森　泰生（京都大学），中尾章人（京都大学），内山　誠（京都大学），細越淳来（京都大学），松永佳大（京都大学），柿澤　昌（京都大学），倉智嘉久（大阪大学），大出晃士（東京大学），松田知己（大阪大学産業科学研究所），魯　慨（大阪大学産業科学研究所），Hossain Md. Nadim（大阪大学産業科学研究所），彭　雪（大阪大学産業科学研究所），榎木亮介（生命創成探究センター），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），Rizki Tsari Andriani（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」を討議し，それにより当該研究分野のさらなる発展を目指して，一昨年度，昨年度に続き最終年度として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 11 名の講演者を全国から迎え，総勢 31 名の参加者により活発な討議を行なった。大学院生の参加もあり，若手の積極的な討議が見られた。また異なる階層・分野の研究者の間で建設的な討議が行われ，さらに複数の研究室が新規に参画した。以上より，生体機能解析研究の新展開に資する，また今後のさらなる展開を期待させる研究会となった。

（1）内耳の感覚上皮帯を構成する外有毛細胞のナノ振動動態の同定

○任　書晃[1,2]，太田　岳[1,2]，崔　森悦[2,3]，日比野　浩[1,2]
（[1]新潟大学医学部分子生理学，[2]AMED-CREST,AMED，[3]新潟大学工学部電気電子）

物理刺激である音は，内耳蝸牛において電気信号へと変換され，脳へと伝達される。この変換は，音によってナノスケールで振動する感覚上皮帯で行われる。感覚上皮帯は，複数の細胞や組織により構成される。これらは，内・外有毛細胞，支持細胞，そして細胞外基質層などである。内有毛細胞は，求心性神経線維を活性化して，音情報を脳へと送る。一方，音受容の感度を調節する外有毛細胞は，感覚上皮帯の振動に合わせて自らの細胞体を伸縮させる。この動作は，フィードバック的に上皮帯の振動を修飾し，内有毛細胞の働きに影響することで，聴覚の高い鋭敏性や周波数特異性に寄与すると指摘されている。しかし，生体内での外有毛細胞の動態は未だ十分に明らかにされていない。そこで本研究では，この困難な課題を克服するため，イメージング振動計測装置を創製した。ここでは，市販の光干渉断層撮影（Optical Coherence Tomography: OCT）装置に，広い周波数スペク

トルと高出力を特徴とする特殊光源を導入し，計測系を蝸牛の生体内計測に最適化した。生きたモルモットを使った実験により，外有毛細胞の頂側と基底側の２点にて異なる振動様式が計測された。さらにこれらの結果から，外有毛細胞の伸縮動態を予測した。本研究の成果により，聴覚機能の成立の鍵となる感覚上皮帯振動の生物物理的メカニズムの一端が抽出された。

（2）角化細胞の増殖における力依存的な接触阻害：細胞運動と Rac1 の関わり

○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細胞数の適切な制御が不可欠であり，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）がある。互いに接触した上皮細胞はアドヘレンスジャンクション（AJ）と呼ばれる細胞間接着構造を形成するが，皮膚の上皮細胞である角化細胞を用いた結果から，接触阻害にはアクチン骨格から AJ に作用する引張力が必要であることを昨年報告した。本年は，接触阻害の発現過程における細胞動態をライブイメージングにより解析した。細胞同士が接触する高密度で細胞を播種し，細胞周期を Fucci プローブによりモニターすると，播種後約 30 時間までは増殖期（S 期から M 期）にある細胞の比率が時間とともに増加し，この間，葉状仮足が盛んに突出していた。Rac1 阻害剤により葉状仮足の形成を阻害すると S 期進入が抑制されたことから，葉状仮足の突出やそれに伴う細胞運動が細胞周期の進行に寄与することが示唆された。播種後約 30 時間以降は，細胞分裂による細胞密度の増加とともに Rac1 の活性が低下し，増殖期にある細胞の比率は減少した。以上の結果をまとめると，播種後約 30 時間をピークとする「Rac1-葉状仮足形成」を伴う増殖準備期（S 期）を経て，M 期（細胞分裂期）進入による細胞密度上昇に従って「RhoA-AJ 引張力上昇」による増殖抑制期に移行することで接触阻害が発現すると考えられた。

（3）1 細胞スケールの熱で変動する細胞内カルシウム動態

○鈴木　団
（大阪大学蛋白質研究所蛋白質ナノ科学）

細胞活動を適切に保つために，我々は体内の熱産生によって体温を維持する必要がある。これはシグナル分子の拡散から酵素活性など個々の事象の物理的・化学的過程に，温度依存性があるためである。それならば熱産生の活発なときの体内深部や，外気温にさらされる体表面近くのように，自発的な熱産生または外部からの熱刺激のいずれに対しても，一般に細胞は応答せざるをえないのではないだろうか。この可能性を 1 細胞レベルで検証するため，我々は特に比較的短時間の現象に着目して研究を行ってきた。細胞内の温度変化をイメージングする新規技術を開発し，1 細胞ごとに任意のタイミングと強度で熱刺激できる光学的手法と組み合わせることで，熱刺激に対する細胞，タンパク質の応答を光学顕微鏡下で計測してきた。これまでに異なる種類の細胞で様々な応答を見いだしてきたが，本会がカルシウム○○○の会であることにのっとり，熱でカルシウムチャネルとポンプのバランスが一過的に崩壊することで，細胞内カルシウム濃度が変動する現象を特に取り上げた（HFSP J.3(2) 117-123, 2009; *BIOPHYSICS* 10 109-119, 2014）。さらにもし熱産生→熱応答→熱産生とループする場合，暴走して重篤な疾患の原因となるかもしれない。そこで最近に研究を進めてきた，悪性高熱症の原因となる骨格筋 RyR1 の熱刺激応答についても議論した。

（4）新規蛍光スイッチングプローブによるライブセル超解像イメージング法の開発

○並木繁行，浅沼大祐，大久保洋平，廣瀬謙造
（東京大学大学院医学系研究科細胞分子薬理学）

近年，細胞内小器官や分子複合体などの細胞内のナノ構造体の細胞機能の制御・調節における役割が注目されている。微小なナノ構造体の可視化解析には，複数ある既存の超解像顕微鏡のモダリティの中でも最も高い空間解像度を有している単一分子局在化法が特に有望である。単一分子局在化法では解析対象分子に標識した蛍光分子を確率的かつまばらに明滅させて蛍光輝点の中心位置をマッピングする作業を数万枚の画像に対して繰り返し行うことで，20 nm 以下の空間分解能を持つ超解像イメージを得る。しかしながら，現行の単一分子局在化法では蛍光分子の明滅のために細胞毒性の高い還元剤を添加する必要があり，生細胞におけるナノ構造体の高精細な可視化解析には適用できない。本研究では生細胞での単一分子位置決定法を可能にするために，還元剤に頼らない蛍光明滅法として De-Quenching of Organic Dye Emission（De-QODE）システムを開発した。De-QODE システムでは，観察対象の分子に標識した蛍光分子の蛍光を蛍光消光団と抗蛍光消光団抗体を用いて ON/OFF スイッチングすることによって高速での蛍光明滅を実現した。De-QODE システムを用いて多様な分子や細胞内小器官の蛍光標識に成功し，生きた細胞での単一分子局在化法による超解像イメージングを可能にした。生体親和性の高い De-QODE システムによる超解像顕微鏡法は生細胞でのナノ構造体の可視化解析にブレークスルーをもたらすことが期待できる。

（5）A bioluminescence-based ratiometric water hardness indicator

○Md. Nadim Hossain[1], Ryuichi Ishida[2], Mitsuru Hattori[1,2], Tomoki Matsuda[1,2], Takeharu Nagai[1,2]
（[1] 大阪大学大学院工学研究科，[2] 大阪大学産業科学研究所生体分子機能科学）

Water hardness is defined as a sum of Ca^{2+} and Mg^{2+} concentrations in water, expressed as $CaCO_3$. As is well known, it affects the health of animals including humans and plants. Furthermore, it also causes serious scale deposition in water distribution pipes for the boiler and irrigation systems reducing their operation efficiency. Therefore, convenient methods to monitor water hardness through the Ca^{2+} and Mg^{2+} concentrations are highly demanded. Here, we reported a FRET-based genetically encoded ratiometric bioluminescent indicator called LOTUS-W. It is sensitive to Ca^{2+} (K_d = 2.1 mM) and Mg^{2+} (K_d = 4 mM) and enables detection of water hardness as bioluminescence color change from cyan to yellow. We also reported a smartphone camera-based system for rapid detection.

（6）哺乳類 CaMKII リン酸化活性依存的な睡眠時間長制御

○大出晃士 [1,2]，上田泰己 [1,2]
（[1.]東京大学大学院医学系研究科システムズ薬理学，
[2.]理化学研究所生命機能科学研究センター合成生物学）

睡眠覚醒サイクルは，およそ 24 時間の周期性を担う概日時計と，一定の必要睡眠時間を規定する睡眠恒常性によって制御されている。概日時計については，時間周期長を変異によって長短双方向に変化させることができる単一の遺伝子 *period* の発見が，フィードバック構造を基盤とするコア振動子構造を見出す端緒となった。一

方，必要睡眠時間を決める分子実体は未だ決定的なものは提示されていない。

必要睡眠時間の恒常的維持に関わるフィードバック制御の中核を担う分子実体があるとすれば，それは睡眠時間長を長短双方向に制御できることが期待される。我々は，この候補としてタンパク質リン酸化酵素である CaMKIIα/β に着目し，研究を進めてきた。12 量体を形成する CaMKIIα/β は Ca^{2+}/Calmodulin の結合により不活性状態から活性状態に構造変化し，これにより種々の基質タンパク質をリン酸化する。また，複数サイトの自己リン酸化を介して，CaMKIIα/β 自身のリン酸化活性を正負に制御することが知られている。我々は *Camk2/b* のノックアウトマウスがそれぞれ顕著な短眠型の表現型を示すことを見出し，これらの因子を睡眠誘導型のリン酸化酵素として報告した。本発表では，CaMKIIα/β リン酸化活性とマウス個体睡眠表現型の対応について，最新の結果を報告した。これを通して，哺乳類 CaMKII 活性が概日時計における *period* のように，睡眠時間を長短双方向に規定しうる因子であるか，ひいては睡眠時間制御についてコア振動体と呼びうる分子実体が存在するのか，という問いを念頭に，CaMKII 活性が睡眠時間を長短双方向に規定する因子であるか議論した。

（7）シナプス前末端における細胞骨格タンパク質のはたらき

〇高橋智幸
（沖縄科学技術大学院大学）

細胞骨格フィラメントは細胞の形態構造を維持するだけでなく，神経伝達において生理的役割を担う可能性が想定されているが，実態は明らかでない。共焦点顕微鏡と STED 顕微鏡を用いて calyx of Held を観察したところ, 軸索から終末端に侵入した微小管（microtubule, MT）の断片が末端内の随所に散在し，その一部はシナプス小胞と共局在することが明らかになった。次に，シナプス前末端における MT の機能的役割を知るために vinblastine を用いて MT を脱重合した。この条件下では EPSC の振幅，kinetics 共に変化はなく，脱分極性パルスによる Ca^{2+}流入，小胞開口数，endocytosis の時定数のいずれも変化しなかった。そこで，入力線維を高頻度で刺激して EPSC の短期抑圧（STD）を誘発し，STD からの回復時間を測定したところ，vinblastine 処理によって回復時間が著しく遷延することが見出された。STD からの回復時間は二重指数関数で表されるが，MT 脱重合処理は遅い時定数を特異的に遷延させた。MT の部分的脱重合が神経伝達に及ぼす影響を知るために, calyx 前末端と後細胞から活動電位（AP）を同時記録して，伝達追随性を評価した。高頻度連続刺激下，前末端 AP に対する後細胞 AP の追随性は，対照群では 100%であったが，vinblastine 処理群では，刺激開始後約 20 秒で後細胞 AP の脱落が起こり始め, 50 秒後には追随性が約 60%に低下した。以上の結果から，シナプス前末端の MT は小胞輸送による伝達物質の再利用を支えており，高頻度神経伝達を維持する役割を担っていると推論された。更に，同様の実験をアクチンに対して行い，MT とアクチンの役割を比較した。

（8）分子動力学計算とカルシウムイメージングによるリアノジン受容体制御機構の解析

〇山澤德志子
（東京慈恵会医科大学分子生理学）

筋小胞体膜にある 1 型リアノジン受容体（RyR1）は，Ca^{2+}誘発性 Ca^{2+}放出（Ca^{2+} - induced Ca^{2+} release, CICR）の特性を示し，悪性高熱症（MH）やセントラルコア病（CCD）等の筋疾患を引き起こすと考えられている 300 種類以上の点突然変異が同定されている。RyR1 遺伝子変異の大部分は，3 箇所の「ホットスポット」領域（領域 1 ; 35～614 番，領域 2 ; 2129～2458 番，領域 3 ; 4637～4973 番）に見出されているが，実際の病態表現型との

相関は不明な点が多い。そこで，領域 1 に属する N 末領域（NTD）の変異 RyR1 遺伝子をヒト胎児由来腎臓（HEK）細胞に導入して安定発現細胞株を作成し，CICR 活性を Ca^{2+}イメージングにより解析するとともに，分子動力学（MD）シミュレーションによりチャネルの動的構造を再現し，多様な表現型を示した RyR1 変異体の特性をチャネル立体構造の側面から検証した。これより NTD の 3 つのサブドメイン間に位置する突然変異体（R402C と R402H）の細胞質側の中心部構造が WT に比べて変化することが明らかになった。この理由として D61 と R402 の静電相互作用の消失により，サブドメインが旋回して，これが CICR 活性を亢進する可能性が明らかになった。今後機能解析と MD シミュレーションを併用することで，点突然変異が機能的変異を起こす分子内機構が同定されていけば，悪性高熱発症を予測する低侵襲な検査/治療の開発に繋がることが期待される。

（9）HEK293 細胞発現系を用いた RyR2 疾患変異の Ca^{2+}遊離促進機構の解析と抗不整脈効果を目指した RyR2 阻害薬の探索

○呉林なごみ
（順天堂大学医学部薬理学）

2 型リアノジン受容体（RyR2）は心筋の興奮収縮連関に重要な Ca^{2+}遊離チャネルである。一方で RyR2 の突然変異はカテコラミン誘発性多型性心室頻拍（CPVT）を始めとした様々な催不整脈性疾患を引き起こし，多くの場合は RyR2 からの Ca^{2+}遊離活性を亢進することが原因と考えられる。RyR2 の Ca^{2+}による制御機構には，細胞質側 Ca^{2+}による制御（Ca^{2+} induced Ca^{2+} release : CICR）と，小胞体内腔側 Ca^{2+}による制御（Store-overload induced Ca^{2+} release: SOICR）の 2 種類が提唱されているが，疾患変異がどちらの機構を促進するのかまだ決着がついていない。我々は RyR2 疾患変異の活性亢進が CICR の促進で説明できるかどうか，RyR2 発現 HEK293 細胞を用いた Ca^{2+}イメージングと[^{3}H]リアノジン結合により解析し，数理計算により検証した。さらに，上記の過程で確立した小胞体 Ca^{2+}測定法に基づく大規模スクリーニング法により，約 30,000 種類の化合物ライブラリから RyR2 阻害薬および活性化薬の探索を行った。ヒット化合物の一部については不整脈モデルマウス心筋細胞を用い Ca^{2+}動態に対する効果を検討した。一部の RyR2 阻害薬は Ca^{2+} wave の発生を抑制し抗不整脈作用を持つことが示された。

（10）O_2-dependent protein internalization underlies astrocytic sensing of acute hypoxia by restricting multimodal TRPA1 channel responses

○内山　誠，栗田祐希，福士勇人，岡田泰昌，森　泰生
（京都大学大学院工学研究科分子生物化学）

酸素消費量の高さから酸素欠乏に対して極めて脆弱ため，中枢神経系における酸素濃度は厳密に制御がなされなければならない。それにもかかわらず，中枢神経系における肝心の酸素センサー細胞の局在，また分子実体は未だ不明瞭である。以前の研究で我々は，末梢感覚神経において多環境ストレスセンサーとして知られる TRPA1 が高酸素，および低酸素センサーとして働く事を報告した（Takahashi et al., 2011, *Nat. Chem. Biol.*）。そこで我々は TRPA1 を分子基盤として酸素センサー細胞の探索を行った結果，呼吸中枢近傍に存在するアストロサイトが TRPA1 を用いる事で高い低酸素感受性を示すことが示唆された。非常に興味深い事に本アストロサイトにおける TRPA1 は，高酸素や AITC といった低酸素以外の TRPA1 応答性刺激に対して応答性を喪失していることが見出された。分子メカニズムの詳細な解析を行った結果，アストロサイトにおいて酸素濃度依存的な TRPA1

タンパク質の Trafficking が存在し，チャネル活性を抑制していることが明らかとなった。本発表ではこの偶発的に見つかった TRPA1 のユニークな環境感知メカニズムに焦点を合わせ報告した。

（11）レドックスシグナルによる小脳機能制御

○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）

シナプスにおける可塑的変化は，記憶・学習の細胞レベルでの基盤であるとされ，これまで，海馬シナプスでの長期増強（LTP）などを対象に，多くの研究がおこなわれてきた。小脳皮質においては，平行線維－プルキンエ細胞シナプスで見られる長期抑圧（LTD）が小脳依存的な運動学習の基盤となることが，これまでの非常に多くの研究により示されている。しかし，シナプス可塑性が記憶・学習の基礎過程であるためには，その変化が「長期化」することが必要であるが，小脳 LTD においては，その長期化のメカニズムは完全に解明されていない。

我々は，この小脳 LTD の長期化の分子機構の候補として，活性酸素(ROS)/8-nitro-cGMP シグナル系に着目した。ROS 自身は反応性が非常に高く分子としての寿命は短いが，一酸化窒素(NO)存在下で GTP より産生される 8-nitro-cGMP は，cGMP とは異なりホスホジエステラーゼによる分解を受けず，また S-グアニル化と言う比較的安定な化学修飾をタンパク質に施す。したがって，cGMP と比較して，より長期的にプロテインキナーゼ G を活性化することが可能であり，シナプスの可塑的変化及び記憶・学習の長期化への寄与が推測された。

本発表においては，ROS/8-nitro-cGMP シグナルの小脳 LTD 及び小脳依存的な運動協調・運動学習への関与を示すことを目的に行われた我々のこれまでの実験結果について，ROS/8-nitro-cGMP シグナル系の阻害が小脳 LTD 及びローターロッドテスト，視運動性眼球運動（OKR）に与える影響を中心に，紹介した。

2. 生体コモンスペース研究会

2019 年 7 月 11 日－7 月 12 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）Protein adsorption behavior on reduced graphene oxide and boron-doped diamond investigated by electrochemical impedance spectroscopy

○黄　依璇[1]，原　愛我[2]，寺島千晶[2]，藤嶋　昭[2]，高井まどか[1]

（[1]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]東京理科大学 光触媒国際研究センター）

（２）Fluorescent Polymer Nanoparticle to Enhance
Förster Resonance Energy Transfer (FRET) for Imaging Analysis of Protein-Specific Sialylation on Cell Surface

○趙　廷璧，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）

（３）スクリーン印刷ダイヤモンド電極の高機能化と生体関連物質の高感度検出

○松永智広，近藤剛史，東條敏史，湯浅　真

（京理科大学理工学部先端化学科）

（４）機能性マイクロビーズの開発

岩本晃太，Dung Q. Nguyen，○椎木　弘

（大阪府立大学大学院工学研究科 物質･化学系専攻応用化学分野）

（５）微小水滴センサの開発と結露検知への応用

○川喜多　仁

（物質･材料研究機構センサ･アクチュエータ研究開発センター）

（６）中性子散乱を用いた酵母脂質輸送タンパク質 Sec14 の機能評価

○中野　実，杉浦太一，中尾裕之，池田恵介

（富山大学大学院医学薬学研究部（薬学）生体界面化学研究室）

（７）胃酸分泌細胞の膜依存的な異なる酸分泌機能ユニット

○藤井拓人[1]，清水颯人[1]，清水貴浩[1]，高橋康史[2]，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）

（８）Function and structure of heterodimeric amino acid transporters

○Pattama Wiriyasermkul，永森收志

（奈良県立医科大学 生体分子不均衡制御学）

（９）拡散 MRI を利用した生体細胞膜水透過性定量測定の試み

○小畠隆行

（量研機構 放射線医学総合研究所）

（10）改良型イメージング振動計測装置による内耳感覚上皮帯のナノ振動の深度分布

○任　書晃[1]，太田　岳[1]，崔　森悦[2]，日比野　浩[1]

（[1]新潟大学大学院医歯学総合研究科分子生理学分野，

[2]新潟大学大学院自然科学系情報電子工学系列）

（11）iPS 細胞を利用した心毒性評価系の構築

○黒川洵子[1,2]，西田基宏[2,3]，山口賢彦[1,2]，三浦進司[4]，坂本多穂[1,2]
（[1]静岡県立大学薬学部生体情報分子解析学，[2] ExCELLS program，
[3]生理学研究所心循環シグナル研究部門，[4]静岡県立大学食品栄養科学部）

（12）疎水性イオンの過渡的電流による膜双極子電位の測定

松木悠佳[1]，山竹真理子[1]，岩本真幸[1]，○老木成稔[2]
（[1]福井大学医学部分子神経科学，[2]福井大学 高エネルギー医学研究センター）

（13）三次元培養系における細胞機能計測技術

○珠玖　仁[1]，梨本裕司[1,2]，伊野浩介[1]
（[1]東北大大学大学院工学研究科，[2]東北大学際科学フロンティア研究所）

（14）走査型プローブ顕微鏡による細胞膜表面の形状イメージング

○高橋康史[1,2]，東　宏樹[1]，周　縁殊[1]，福間　剛[1]
（[1]金沢大学ナノ生命科学研究所，[2]JST さきがけ）

（15）ナノ流体デバイスと光圧の融合によるナノ物質操作とその展開

○許　岩[1,2,3]，西岡賢史[1]，岸本龍典[4,5]，細川千絵[4]，川端利幸[1]，工藤　卓[5]
（[1]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，
[2]国立研究開発法人科学技術振興機構（JST）さきがけ，
[3]大阪府立大学 NanoSquare 拠点研究所，
[4]大阪市立大学大学院理学研究科物質分子系専攻，
[5]関西学院大学 理工学部 人間システム工学科）

【参加者名】

高井まどか（東京大学），川喜多　仁（物質・材料研究機構），小畠隆行（量研機構放射線医学総合研究所），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），村上慎吾（中央大学），木村　暁（中央大学），五味涼太（中央大学），野口秀典（物質・材料研究機構），許　岩（大阪府立大学），老木成稔（福井大学），珠玖　仁（東北大学），中野　実（富山大学），高橋康史（金沢大学），東　宏樹（金沢大学），波多野　亮（千葉大学），永森收志（奈良県立医科大学），Wiriyasermkul Pattama（奈良県立医科大学），近藤剛史（東京理科大学），松永智広（東京理科大学），西田光志（東京理科大学），渡部寛也（東京理科大学），大石勇太（東京理科大学），酒井秀紀（富山大学），藤井拓人（富山大学），田桑弘之（量研機構放射線医学総合研究所），HUANG, YIXUAN（東京大学），ZHAO, Tingbi（東京大学），椎木　弘（大阪府立大学），冨田太一郎（東邦大学），黒川洵子（静岡県立大学），坂本多穂（静岡県立大学），山口賢彦（静岡県立大学），日比千尋（静岡県立大学），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），Rizki Tsari Andriani（生理学研究所），平澤輝一（生理学研究所），LIU Chang（生理学研究所），Nahid Roohi（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，種類や機能の異なる多様な細胞集団から成り立つ。個々の細胞集団は，同種，異種細胞間でコミュニケーションを行い，これにより正常に機能する。生命活動に不可欠なこの細胞間の交信は，イオンや小分子・ペプチドなどの生理活性物質が担う。さらに交信を行う場所は，細胞に取り囲まれる細胞外の微小空間である。本研究会では，このコミュニケーションの場を「コモンスペース」と定義した。しかし，このコモンスペースは，サブマイクロメートルからナノメートルのスケールといった微小空間であり，さらに形状も複雑なため，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空間

の場を標的にしたナノ計測方法を開発し，生きた生体試料に活用してまず微小空間の物質動態を理解する必要がある。

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」の物質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）Protein adsorption behavior on reduced graphene oxide and boron-doped diamond investigated by electrochemical impedance spectroscopy

○黄　依璇[1]，原　愛我[2]，寺島千晶[2]，藤嶋　昭[2]，高井まどか[1]
（[1]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]東京理科大学 光触媒国際研究センター）

Among novel carbon materials, reduced graphene oxide (rGO) and boron-doped diamond (BDD) have emerged as attractive ones. Owing to the unique structural and electronic properties, rGO has been utilized in varies of electrochemical applications, such as sensor, fuel cell supports, supercapacitance. Moreover, it has not been until recently that rGO and BDD are explored as novel biocompatible materials. The rich functional groups on the rGO surface enable protein molecules to efficiently adsorb onto rGO surface from biological fluids. Contrary to rGO of sp^2-carbon, BDD of sp^3-carbon structure is expected to resist protein adsorption on BDD surface from biological fluids. We found rGO and BDD demonstrated special impedance response regarding protein adsorption compared with other materials. According to the results of electrochemical impedance spectroscopy (EIS), rGO showed two time constants (two semicircles in Nyquist plot) when exposed to model protein bovine serum albumin (BSA) solutions; BDD showed decreased impedance response when exposed to high concentration of BSA. They demonstrated special but different impedance response upon BSA adsorption. Based on fitting results of EIS data and hypothesis of protein adsorption, protein adsorption model on the interface of protein solution and carbon electrode surfaces have been established, which is applicable to rGO and BDD surface, and is further expected to be applicable to other carbon materials. Besides the in-depth understanding of protein adsorption behavior, this study also indicates a potential way to control the orientations of protein molecules on solid surface.[1]

[1] Huang, Y.; Hara, A.; Terashima, C.; Fujishima, A.; Takai, M., Protein adsorption behavior on reduced graphene oxide and boron-doped diamond investigated by electrochemical impedance spectroscopy. Carbon 2019, 152, 354-362.

（2）Fluorescent Polymer Nanoparticle to Enhance Förster Resonance Energy Transfer (FRET) for Imaging Analysis of Protein-Specific Sialylation on Cell Surface

○趙 廷璧，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）

Sialylation of proteins on cell surfaces is a kind of very important post-translational modification, affects the structure and functions of glycoprotein, adjusts related biological processes. Visualization of sialylation condition of specific proteins is significant for understanding their roles in disease development. But the over expression of sialic acid, complex microenvironment and probe status on cell surface all make it difficult to realizes and inhibit the imaging effect. In this strategy, we designed a dual labeling FRET system to realize the visualization of protein-specific sialylation with higher efficiency. We designed and

synthesized a kind of fluorescent polymer linked appropriate FRET donor molecules with hydrophilic, hydrophobic and reactive monomer units. After linking fluorescent dye, 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC) based polymer nanoparticles (NPs) were prepared using emulsion-evaporation method to build hydrophobic core, which loaded plenty of fluorescent dyes and avoided self-quenching. After connected the aptamer on the surface, the NPs were used as the FRET donor probe recognized to target protein on cell surface. Based on the polymer structure design, lots of fluorescent molecules can be easily loaded, and the several fold FRET signal was obtained directly without complicated way to turn on signal, which could lose the specificity. Moreover, MPC as a very effective biological anti-fouling monomer and with great hydrophilic, would expose outside of formed NPs to keep probe more stable on cellular environment. This strategy could provide a potential for investigating protein-specific glycosylation and researching the relation between dynamic glycans state and disease process.

（3）スクリーン印刷ダイヤモンド電極の高機能化と生体関連物質の高感度検出

○松永智広，近藤剛史，東條敏史，湯浅　真
（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）電極は高感度な電気化学測定が可能であり，タンパク質などによるファウリングが起きにくいため，尿中や血中の物質計測に適した電極材料である。スクリーン印刷ダイヤモンド電極は，BDD パウダー（BDDP）と樹脂バインダーを混合したインクを用いて作製され，高感度かつ使い捨て可能なセンサー電極への応用が期待される。本研究では，BDDP 表面終端のスクリーン印刷電極における電気化学検出特性への影響について調べた。シプロフロキサシンのリニアスイープボルタンメトリーによる電気化学検出では，水素終端 BDDP（H-BDDP）印刷電極よりも酸素終端 BDDP（O-BDDP）印刷電極を用いたほうが，明瞭な酸化ピークが得られ，検量線の傾き（検出感度）も大きかった。印刷電極表面の SEM 画像から，O-BDDP 印刷電極は H-BDDP 印刷電極よりも BDDP が多く露出していることがわかった。これにより，O-BDDP 印刷電極では H-BDDP 印刷電極よりも電解反応における電荷移動抵抗が小さくなり，検出感度が良好になったと考えられる。また，シプロフロキサシンと同じくピペラジンを有するレボフロキサシンの電気化学検出においても，O-BDDP 印刷電極のほうが良好な結果となった。

（4）機能性マイクロビーズの開発

岩本晃太，Dung Q. Nguyen ，○椎木　弘
（大阪府立大学大学院工学研究科物質･化学系専攻応用化学分野）

チオール基を介した単分子膜の自発的形成によって，金ナノ粒子で被覆したマイクロビーズ表面に機能性分子を導入することができる。分子修飾したビーズはマイクロサイズの反応場として機能する。本研究では，ビーズ表面での選択的な重合反応を利用した機能性ビーズの開発を行っている。分子インプリンティング法によりビーズ表面での分子鋳型形成を行い，その分子認識能を評価した。重合反応後のビーズを SEM 観察したところ，表面に均一なポリマー膜の形成が確認された。さらに，テンプレートの色素分子の蛍光が観察された。外部刺激による色素分子の吐き出しによって蛍光は消失した。このビーズを色素溶液に添加した後，ビーズから再び蛍光が観察され，色素分子の鋳型への色素の再結合が確認できた。

（5）微小水滴センサの開発と結露検知への応用

○川喜多　仁
（物質･材料研究機構センサ･アクチュエータ研究開発センター）

金属のサビ，ガラス表面の曇り，浴室やエアコン内のカビ，野菜や花き，果実の病害といった身の回りの様々な現象は結露との関係が深い場合がある。結露の抑制や対策のためには，その検知が重要であり，結露の程度を小さくするためには，初期・早期に検知できることが望ましい。物質・材料研究機構が取り組んでいる微量・微小な水を高精度・高速に検出可能なセンサ（モイスチャーセンサ）を用いることで，従来の技術よりも初期・早期に結露を検知できるようになり，さらに従来の技術では不可能であった結露の事前検知ができることが示唆された。このセンサでは，異種金属からなる１組の細線（アレー）を絶縁体の上に平行に配置し，アレーを跨ぐように水滴が接触すると，アレー間に自発（ガルバニ）作用により生じる電流を検出する。このセンサを利用することで，結露の抑制や対策に要するエネルギーやコストの削減，視界の確保やカビ・菌の繁殖抑制による安全や衛生の向上，金属のサビや食物へのカビの発生の防止による品質の向上が期待される。今後は，農業における結露由来のカビなどの病害の抑制，自動車における窓ガラスの曇りの防止，物流におけるコールドチェーンの確認などへの応用を検討している。他方，本センサの特徴を生かすことで，ドライアイやドライスキンの状態評価といった人体から蒸散される微量な水分を短時間で計測する医療用途への応用の可能性も探索している。

（6）中性子散乱を用いた酵母脂質輸送タンパク質 Sec14 の機能評価

○中野　実，杉浦太一，中尾裕之，池田恵介
（富山大学大学院医学薬学研究部（薬学）生体界面化学研究室）

生体内にはリン脂質やスフィンゴ脂質，ステロールなど数千を超える脂質種が存在し，それらが目的の場所に輸送されて機能を発揮する。生体内には様々な脂質輸送タンパク質が存在し，それらが特定の脂質を特定の場所に輸送することで生体膜の機能を動的に制御している。脂質輸送タンパク質の多くは２種類の輸送基質をもつ。これによりオルガネラ間の対向輸送を行ったり，輸送基質の代謝やリン酸化を制御したりしていると考えられているが，脂質の対向輸送を測定した例は少ない。

タンパク質の脂質輸送能の計測には，脂質にラベルを入れる必要があるが，ラベルによっては脂質の物性を大きく変化させ，タンパク質による認識を妨げてしまう可能性がある。とくに，脂質輸送タンパク質の多くは脂質頭部の違いを認識するため，頭部に修飾を入れることはできない。放射性同位体ラベルを用いればこれらの問題は解消されるが，輸送を計測する際，輸送元（ドナー）と輸送先（アクセプター）の粒子を分別する操作が必要となる。

本実験では，酵母の脂質輸送タンパク質である Sec14 の脂質輸送能を評価するため，中性子散乱を用いて脂質の移動（輸送）を検出した。この手法ではアシル鎖を重水素化した脂質を用いるため，タンパク質による認識に影響を与えない。またこの手法では，ドナーとアクセプターの分離操作は不要で，混合したまま測定を行うため，時間変化を追跡できるという特長をもつ。今回，本手法により，Sec14 を介したホスファチジルコリンとホスファチジルイノシトールの対向輸送を検出し，Sec14 による脂質輸送サイクルの物理化学的な特性を明らかにした。

（7）胃酸分泌細胞の膜依存的な異なる酸分泌機能ユニット

○藤井拓人 [1]，清水颯人 [1]，清水貴浩 [1]，高橋康史 [2]，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，酸分泌刺激時に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。頂端膜と細管小胞では，胃プロトンポンプ（H^+,K^+-ATPase）と機能共役する機能分子が異なっており，頂端膜と細管小胞により形成される管腔側微小スペースの構造や構成分子は非常に複雑であると考えられる。我々は，走査型イオンコンダクタンス顕微鏡を用いてラット胃酸分泌細胞の酸分泌刺激に伴う頂端膜微小スペースの動的変化をナノスケールレベルで可視化することに成功した（高橋研との共同研究）。また，ラット胃粘膜よりショ糖-Ficoll 密度勾配遠心を用いて調製した胃酸分泌細胞の頂端膜と細管小胞をそれぞれ高純度で含むベシクル（SAV と TV）において定量プロテオミクス解析を行い，両ベシクルに発現する膜タンパク質の網羅的探索を行った（永森研との共同研究）。両ベシクルにおける膜輸送タンパク質の発現プロファイルは大きく異なっており，SAV に高発現する K^+チャネル，Na^+/胆汁酸共輸送体およびグルコース輸送体，TV に高発現するグルタミン酸輸送体や Na^+/H^+交換輸送体が同定された。したがって頂端膜と細管小胞の酸分泌関連機能は異なっているものと考えられる。また細管小胞において，Cl^-輸送体や K^+輸送体が別々の小胞に局在することから，小胞機能の多様性が示唆される。

（8）Function and structure of heterodimeric amino acid transporters

○Pattama Wiriyasermkul，永森收志
（奈良県立医科大学 生体分子不均衡制御学）

Heterodimeric amino acid transporters (HATs) are plasma membrane amino acid transporter family that play important roles in various biological functions, for examples, amino acid homeostasis or renal reabsorption. Members of HATs are composed of two subunits, a transporter subunit (SLC7) and an auxiliary subunit (SLC3). One of HAT members, LAT1/SLC7A5-CD98hc/SLC3A2 is known as a cancer-specific transporter and an attractive target in cancer biology. In collaboration with Nureki lab at the Univ of Tokyo, we have recently solved LAT1-CD98hc structures by cryo-EM. To explore the function and structure of LAT1-CD98hc in depth, we have developed a reconstitution method of the purified heterodimer. Purified LAT1-CD98hc were produced at a large scale and reconstituted in a defined liposome composition. The transport properties and kinetics were well illustrated. Extensive studies on the function and structure of one HAT also provided us better understanding of other HATs, such as SLC7A9-SLC3A1 which are the cystinuria-causative genes. Furthermore, we performed coimmunoprecipitation-mass spectrometry (coIP-MS) and proximity-based labeling-MS (APEX-MS) to identify the heterodimer-associated proteins. The protein identified allowed us to build a network of nutrients signals which lead to unveil the important roles of LAT1. Our multi-disciplinary approaches shed light under HATs.

（9）拡散 MRI を利用した生体細胞膜水透過性定量測定の試み

○小畠隆行
（量研機構 放射線医学総合研究所）

拡散強調 MRI（DWI）はすでに広く臨床の場で使われており，その有用性に関しては議論の余地はない。近年，ハードウェア・画像解析の進歩により，強い拡散強調下で多くの方向に傾斜磁場をかけながら安定した画像を得ることが可能となっている。これらの MR 信号から生体内の水拡散を解析するモデルは多く報告されているが，細胞膜を壁と考えるモデルで水透過性を考慮に入れたものは少なく，また，その実証は簡単ではない。細胞膜の水透過性は，アクアポリン（AQP）の発現に大きく影響されるため，発現をあらかじめ制御した細胞での実験により，DWI に対する細胞膜水透過性の影響を確認することができる。また，水と重水の交換を観測できる coherent anti-Stokes Raman scattering imaging（CARS）で得られる 1 細胞での細胞内外の水交換時間と比較することで，DWI を用いた定量法の信頼性を確認することができる。本研究では，AQP4 発現・非発現細胞の DWI 信号から細胞内外水交換時間を取得し，CARS で観測された値と比較した。得られた交換時間は AQP4 発現・非発現細胞ともに CARS のほうが大きな値となったが，発現細胞のほうが小さな交換時間となる傾向は一致していた。CARS で得られる交換時間のほうが大きかった点に関しては，(a) MRI で検出できる水は比較的移動性に富むものなので交換の遅い水の信号を含んでいない，(b) APQ4 での交換が水より遅いといわれている重水の交換を見ている CARS での交換時間が長くなった，などの理由が考えられた。

（10）改良型イメージング振動計測装置による内耳感覚上皮帯のナノ振動の深度分布

○任　書晃[1]，太田　岳[1]，崔　森悦[2]，日比野　浩[1]
（[1]新潟大学大学院医歯学総合研究科 分子生理学分野，
[2]新潟大学大学院自然科学系 情報電子工学系列）

ヒトは 0.2 %の音の周波数の違いを認識でき，かつ，100 万倍もの音圧差を受容できる。これらの特性は，音刺激によって生ずる内耳感覚上皮帯のナノスケールの振動に由来する。感覚上皮帯は，複数の層構造，すなわち，有毛細胞層，支持細胞層，そして基底板から成る。しかし，それぞれの層における振動様式の詳細な違いは，聴覚の特徴に深く関連していると思われるが，技術的な課題のため，検出されていない。

本研究で我々は，in vivo で対象物の断層と振動を記録することができる新規イメージング振動計測装置を創製した。この装置は，医療でも用いられている光干渉断層撮影（Optical Coherence Tomography: OCT）を基礎とする。我々は，広い周波数スペクトルを特徴とするスーパーコンティニュウム光源を導入し，1.8 um の深部分解能を達成した。この改造により，生きたモルモットにおける上皮帯 4 層の振動振幅と位相を計測することができた。本研究で創出した装置は，感覚上皮体の真の動作を同定することで，蝸牛における生物力学的増幅機構成立の鍵となる力の伝達メカニズムが解明されると期待される。

（11）iPS 細胞を利用した心毒性評価系の構築

○黒川洵子 [1,2]，西田基宏 [2,3]，山口賢彦 [1,2]，三浦進司 [4]，坂本多穂 [1,2]
（[1] 静岡県立大学薬学部生体情報分子解析学，[2] ExCELLS program，
[3] 生理学研究所心循環シグナル研究部門，[4] 静岡県立大学食品栄養科学部）

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。我々は，in vitro 実験系の開発が遅れている収縮機能の解析法を構築することをめざし，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する手法を開発してきた。本法は非侵襲的かつ高解像度であることが特徴であり，様々なアプリケーションを可能とする。ヒト iPS 細胞由来心筋の細胞ごとのばらつきを収縮特性から解析したところ，心房・心室それぞれのマーカーに応じて，収縮プロファイルが異なることを見いだした。さらに，心筋タンパク質の発現の違いに応じて，薬理学的作用も違うことを検出した。今回，ヒト iPS 細胞由来心筋細胞をより成熟化させるために，細胞に微弱電気を印加した。その結果，微弱電流の印加により心筋細胞としての成熟化が進んだことが細胞免疫染色から示され，生体コモンスペースに影響したことが示唆された。なお，本研究は ExCELLS の共同研究として行われた。

（12）疎水性イオンの過渡的電流による膜双極子電位の測定

松木悠佳 [1]，山竹真理子 [1]，岩本真幸 [1]，○老木成稔 [2]
（[1] 福井大学医学部分子神経科学，
[2] 福井大学高エネルギー医学研究センター）

細胞膜電位は transmembrane potential を中心に議論されてきたが，それに加えて膜双極子電位（membrane dipole potential）が存在する。膜双極子電位はリン脂質分子の双極子（グリセロール骨格のカルボニル基など）が脂質 2 重膜の中で一定の配向を持つことで発生する膜内電位で，その値は膜中心部で数 100 mV に達すると言われている。電位依存性チャネルは実際には膜双極子電位を含めた膜内電位に応答するので，膜双極子電位の値を明らかにする必要がある。さらに最近では膜双極子電位を変化させる薬物の存在が明らかになり，膜双極子電位に注目が集まってきた。膜双極子電位は水溶液中に加えた疎水性イオン（tetraphenylphosphonium と tetraphyenylborate）が電圧ジャンプで過渡的電流を発生させることで捉える。本研究では Contact bubble bilayer 法を使うことによって，速い電圧固定と小さい静電膜容量という条件下で実験を行い，その結果を簡単なモデルで解析した。

（13）三次元培養系における細胞機能計測技術

○珠玖　仁 [1]，梨本裕司 [1,2]，伊野浩介 [1]
（[1] 東北大大学大学院工学研究科，[2] 東北大学際科学フロンティア研究所）

三次元培養法は，動物実験の代替法として，薬剤評価や毒性試験への利用に期待が集まっている。電気化学センサはリアルタイム計測や定量解析に適している。我々はプローブ型デバイス，チップ型デバイスを用いて，三次元培養系を対象とした電気化学的細胞計測技術を開発した。

走査型電気化学顕微鏡 SECM では，酸素濃度を記録しながら微小電極を走査することで，無侵襲的に測定対象近傍の酸素濃度分布を知ることができる。本手法を利用し，細胞外マトリクス（コラーゲン，マトリゲル）内で

三次元培養した細胞の機能評価を行った。ウェル全体の酸素消費速度を細胞数で除し，単一細胞あたりの酸素消費量を算出することで，正常細胞/腫瘍細胞の相違を判定した。[1,2]

Organ-on-a-chip は，マイクロ流体デバイス内で細胞や細胞外マトリクスを配置し，体内の力学環境を模した負荷を付与することでヒトの組織界面を再現する技術である。流路デバイスの上のヒト内皮細胞にガラスピペットを近接させることにより，細胞形状を走査型コンダクタンス顕微鏡 SICM により取得した。デバイス設計と計測系を工夫することにより，細胞間相互作用の評価が可能となる。

1) YS Torisawa et al., Biotechnol. Bioeng. 97, 615 (2007).
2) H. Shiku Anal. Sci. 35, 29 (2019).

（14）走査型プローブ顕微鏡による細胞膜表面の形状イメージング

○高橋康史[1,2]，東　宏樹[1]，周　縁殊[1]，福間　剛[1]
（[1]金沢大学ナノ生命科学研究所，[2]JST さきがけ）

細胞外分子や細胞膜タンパク質などを細胞内に取り込む機構であるエンドサイトーシスには，様々な経路が存在することが知られており，ウィルスの感染などと密接なかかわりがある。その一方で，エンドサイトーシスの際に生じるくぼみ（ピット）は，直径 100 nm ほどであり，光学顕微鏡の限界を超えたものである。電子顕微鏡によりスナップショットで捉えることはできるが，阻害剤などの薬効を理解するには，直接エンドサイトーシスを細胞上で可視化する技術が求められてきた。走査型イオンコンダクタンス顕微鏡（SICM）は，ナノピペットをプローブとしてイオン電流をフィードバックシグナルに利用することで，細胞表面の形状を非接触かつ非標識で可視化できる[1]。これまで細胞の連続計測を行い，生細胞のダイナミックな形状変化を可視化してきた[2]。本研究では，ナノピペットの微細化により，エンドサイトーシスの際の細胞表面形状変化を可視化した。

(1) Shevchuk, A. I.; Novak, P.; Taylor, M.; Diakonov, I. A.; Ziyadeh-Isleem, A.; Bitoun, M.; Guicheney, P.; Lab, M. J.; Gorelik, J.; Merrifield, C. J.; Klenerman, D.; Korchev, Y. E., J. Cell Biol. 2012, 197 (4), 499-508.
(2) Ida, H.; Takahashi, Y.; Kumatani, A.; Shiku, H.; Matsue, T., Anal. Chem. 2017, 89 (11), 6015-6020.

（15）ナノ流体デバイスと光圧の融合によるナノ物質操作とその展開

○許　岩[1,2,3]，西岡賢史[1]，岸本龍典[4,5]，細川千絵[4]，川端利幸[1]，工藤　卓[5]
（[1]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，
[2]国立研究開発法人科学技術振興機構（JST）さきがけ，
[3]大阪府立大学 NanoSquare 拠点研究所，
[4]大阪市立大学大学院理学研究科物質分子系専攻，
[5]関西学院大学 理工学部 人間システム工学科）

近年，化学・バイオ技術にオーダーシフト革命をもたらすナノ流体デバイス技術が注目されている。ナノ流体デバイス内の制御されたナノ流体環境は，物質の可能性を探求し，新しいマテリアルを創造するための前例のない新しい舞台となることが期待される[1]。この舞台において，マテリアルの機能をナノ流路におけるユニークなナノ流体の物理現象・効果と巧みに接合し，同時にマテリアルの特性に直接に影響を与えるナノ流路の極微小空間特徴を十分に活用することより様々な創造性をもたらす。

一方，微小粒子や物質の操作によく利用される光圧は，ナノ物質に働く力があまりに小さく，また環境との相互

作用とも拮抗してしまうため，流体環境において光圧だけではナノ粒子の精密操作，配置が困難である。我々は fL (10^{-15} L) ナノ流路内にさらに aL (10^{-18} L) ナノウェルを配置した Nano-in-Nano 構造を用いて，ナノ流体環境において個々のナノ粒子のブラウン運動を局所的に制限，抑制できる 3D ナノ空間ケージ効果を発見した。このような Nano-in-Nano 構造は，バルクでなかなか発揮しにくい小さい光圧の威力を容易に発揮できるような fL~aL 液相空間を提供できると考えられる。さらに，このナノ流体デバイスと光圧の融合によるナノ物質操作の手法を化学反応などへ展開した。

[1] Y. Xu, *Adv. Mater.*, 2018, 30, 1870019.

3. イオンチャネルと生体膜のダイナミズム：構造生物学の先にあるもの

2019 年 9 月 30 日－10 月 1 日

代表・世話人：岡村康司（大阪大学大学院医学系研究科･統合生理）

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）Two-pore Na^+ channel 3 における特徴的な電位依存的活性化メカニズム

○下村拓史，久保義弘（生理学研究所･神経機能素子研究部門）

（２）生体膜の特性が支えるイオンチャネル活性

○岩本真幸（福井大学 学術研究院医学系部門 分子神経科学分野）

（３）酸化感受性 TRP チャネル研究を通した脳内酸素感知機構の解明

○森　泰生（京都大学大学院 工学研究科 合成･生物化学専攻）

（４）視細胞ターミナルや嗅細胞線毛に局在する Ca 活性化 Cl チャネル

○倉橋　隆，竹内裕子（大阪大学大学院 生命機能研究科）

（５）マウス精子に存在する電位依存性ホスファターゼの機能

○河合喬文[1]，宮田治彦[2]，中西広樹[3]，坂田宗平[1,4]，渡辺雅彦[5]，
崎村建司[6]，藤本豊士[7]，佐々木雄彦[8]，伊川正人[2]，岡村康司[1]
([1]大阪大学大学院医学系研究科，[2]大阪大学微生物病研究所，[3]秋田大学生体情報研究センター，
[4]大阪医科大学，[5]北海道大学大学院医学系研究科，[6]新潟大学脳研究所，
[7]名古屋大学大学院医学系研究科，[8]東京医科歯科大学)

（６）ホヤの受精における CatSper の役割

木島大雅[1]，黒川大輔[1]，吉田　薫[2]，○吉田　学[1]
([1]東京大学大学院理学系研究科附属臨海実験所，[2]桐蔭横浜大学医用工学部･生命医工学科)

（７）イオンチャネル一分子研究の再構成膜系からのアプローチ

○老木成稔（福井大学 高エネルギー医学研究センター）

（８）X 線結晶学とクライオ電顕で得られた構造情報の解釈と上手な活用法
～胃プロトンポンプの構造解析を例として～

○阿部一啓（名古屋大学 細胞生理学研究センター／大学院創薬科学研究科）

（９）Mg^{2+}チャネル MgtE の構造と作動機構

○服部素之（復旦大学生命科学学院）

(10) チャネル機能の操作ツールとしての無脊椎動物光受容体

○塚本寿夫（分子科学研究所，JST さきがけ）

(11) 膜受容体の細胞内 1 分子動態から薬効を読み解く

○柳川正隆[1]，桑島佑太朗[1,2]，青柳良平[2]，有田　誠[2]，
阿部充宏[1]，廣島通夫[1,3]，上田昌宏[3]，佐甲靖志[1]
([1]理化学研究所開拓研究本部佐甲細胞情報研究室，[2]慶應義塾大学大学院薬学研究科，
[3]理化学研究所生命機能科学研究センター細胞シグナル動態研究チーム)

(12) グルタミン酸受容体動態解析のための新たなケミカルラベル化法の開発

○清中茂樹[1]，小島憲人[2]，浜地　格[2]
([1]名古屋大学大学院工学研究科生命分子工学専攻，
[2]京都大学大学院工学研究科合成・生物科学専攻)

（13）全反射顕微鏡を用いた AMPA 型グルタミン酸受容体の動態イメージング

○田中洋光，平野丈夫（京都大学大学院理学研究科 生物科学専攻）

（14）新規光・化学遺伝学的技術を用いた脳内記憶・学習回路制御

○掛川　渉，柚﨑通介（慶應義塾大学医学部生理学教室）

（15）聴覚の時間情報処理回路におけるイオンチャネルの発現制御

○久場博司，アクトル･ナルギス，安達良太（名古屋大学大学院医学系研究科細胞生理学）

ポスター発表者

（１）線毛内情報伝達分子の実時間可視化

○竹内裕子，倉橋　隆（大阪大学大学院生命機能）

（２）1 分子イメージングによる TRPV1 チャネル・脂質間相互作用の時空間動態解析

○桑島佑太朗[1,2]，柳川正隆[1]，阿部充宏[1]，青柳良平[2]，有田誠[2]，佐甲靖志[1]

([1] 理化学研究所開拓研究本部佐甲細胞情報研究室,

[2] 慶應義塾大学大学院薬学研究科代謝生理化学講座)

（３）トリ蝸牛神経核の周波数域に応じた Kv1.1 の発現は Ca^{2+}感受性の違いにより制御される

○安達良太，山田　玲，久場博司（名古屋大学大学院医学系研究科細胞生理学）

（４）機械受容イオンチャネル PIEZO1 の骨格筋再生における役割

○原　雄二，平野航太郎，高林征史，土谷正樹，梅田眞郷

（京都大学大学院工学研究科 合成･生物化学専攻）

（５）代謝型グルタミン酸受容体 mGlu2 によるセロトニン受容体 5-HT2aR シグナリングの制御

○立山充博，久保義弘（生理学研究所･神経機能素子研究部門）

（６）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[1]，劉　暢[1]，立山充博[1]，Izhar Karbat[2]，上杉志成[3]，Eitan Reuveny[2]，久保義弘[1]

([1] 生理学研究所 神経機能素子研究部門,

[2]Department of Biomolecular Sciences, Weizmann Institute of Science (Israel),

[3] 京都大学 物質－細胞統合システム拠点)

（７）Voltage Clamp Fluorometry 法を用いた Two-pore Na^+ channel 3（TPC3）の膜電位とホスホイノシチドに依存する動的構造変化の解析

○平澤輝一[1,2]，下村拓史[1,2]，久保義弘[1,2]

([1] 生理学研究所 神経機能素子研究部門,

[2] 総合研究大学院大学 生命科学研究科 生理科学専攻)

（８）ホヤ由来電位依存性ナトリウムチャネルの機能解析

○河合喬文[1]，江口夏生[1,2]，Måns Aspåker[1,3]，橋本真宜[1]，神野有香[1]，川鍋　陽[1]，岡村康司[1]

([1] 大阪大学大学院医学系研究科統合生理学,

[2] University of California Davis, California, USA,

[3]Uppsala University, Sweden)

（９）細胞内膜の膜電位を可視化する：貪食細胞の食胞膜電位計測法の確立

○大河内善史[1]，筒井秀和[2]，岡村康司[1]

([1] 大阪大学大学院医学系研究科統合生理学

[2] 北陸先端科学技術大学院大学)

（10）電位センサーのダイナミクスに着目した電位依存性ホスファターゼの動作原理解明

○水谷夏希，岡村康司（大阪大学大学院医学系研究科統合生理学）

（11）Microglial proton channel differently functions in brain region and age dependent manner

○Sharmin Akter[1]，河合喬文[1]，高雄啓三[2,3]，崎村建司[4]，宮川　剛[2,5]，岡村康司[1]
（[1]大阪大学大学院医学系研究科統合生理学，[2]生理学研究所行動様式解析室，
[3]富山大学生命科学先端研究支援ユニット，[4]新潟大脳研究所，
[5]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）

（12）Kir2.1 チャネル内向き整流性の細胞外 K^+濃度依存性のメカニズム

○柳（石原）圭子（久留米大学医学部･生理学講座･統合自律機能部門）

（13）Structural studies of PTEN involved in phosphoinositide metabolism

成田宏隆，崔　文青，神田直樹，松田　真，○中川敦史
（大阪大学蛋白質研究所 超分子構造解析学研究室）

（14）PI(4,5)P_2 制御ツールとしての電位依存性ホスファターゼの改良

○川鍋　陽*，水谷夏希，米澤智子，岡村康司
（大阪大学大学院医学系研究科統合生理学）
（*現所属：香川大学医学部分子生理学）

（15）ナトリウム・グルコース共輸送体の糖選択性に関わる分子構造基盤解析

○神鳥和代，藤原祐一郎（香川大学医学部分子生理学）

（16）ミオトニー症候群に伴う Nav1.4 C 末端の EF ハンド様モチーフ変異は，速い不活性化を障害する

○堀江里歩[1]，久保田智哉[1]，高　真守[2]，田中里江子[3]，
中村優一郎[1]，佐々木良元[4]，伊東秀文[2]，髙橋正紀[1]
（[1]大阪大学大学院医学系研究科 機能診断科学，[2]和歌山県立医科大学附属病院 脳神経内科，
[3]なないろこどもクリニック，[4]桑名市総合医療センター 脳神経内科）

（17）容積感受性陰イオンチャネル LRRC8D の構造解析

○糟谷　豪[1]，沼田朋大[2]，中村凌熙[3]，中根崇智[4]，横山武司[5]，西澤知宏[3]，草木迫司[3]，堂前　直[6]，
吉川雅英[7]，白水美香子[5]，Thomas Jentsch[8]，石谷隆一郎[3]，岡田泰伸[9,10]，濡木　理[3]
（[1]自治医科大学医学部，[2]福岡大学医学部，[3]東京大学大学院理学系研究科，
[4]MRC 分子生物学研究所，[5]理化学研究所生命機能科学研究センター，
[6]理化学研究所環境資源科学研究センター，[7]東京大学大学院医学系研究科，
[8]Max Delbrück センター分子医学，[9]京都府立医科大学大学院医学研究科，
[10]京都府立医科大学大学院医学研究科）

（18）日本人嚢胞線維症患者の CFTR 分子病態生理学

○相馬義郎，君島莉央，相馬光流，小林奈央，岩井翔吾
（国際医療福祉大学･薬･分子病態治療学分野/基礎医学研究センター）

（19）新しい選択性フィルター配列を有する原核生物由来膜電位感受性カルシウムチャネルの同定と機能解析

下村拓史[1,3]，米川佳樹[2]，名倉　仁[1]，立山充博[3]，藤吉好則[1,4]，○入江克雅[1,2]
（[1]名古屋大学細胞生理学研究センター，[2]名古屋大学大学院創薬科学研究科，
[3]生理学研究所神経機能素子研究部門，[4]㈱ CeSPIA）

（20）変異型 *I*KACh チャネルは徐脈性不整脈の治療標的となり得る

○山田憲明[1]，朝野仁裕[1]，稲野辺厚[2]，倉智嘉久[2]，坂田泰史[1]，高島成二[3]
（[1]大阪大学大学院医学系研究科循環器内科学
[2]大阪大学大学院医学系研究科分子･細胞薬理学
[3]大阪大学大学院医学系研究科医化学）

（21）腎糸球体硬化症に関わる TRPC6 変異体におけるフィードバック機構を基盤とした評価

ポラットオヌール[1]，井上隆司[2]，森　泰生[1]，○森　誠之[1,3]
（[1]京都大学工学研究科合成･生物化学専攻分子生物化学分野
[2]福岡大学医学部生理学，[3]産業医科大学医学部生体物質化学）

【参加者名】

Aktr Sharmin（大阪大学），安達良太（名古屋大学），阿部一啓（名古屋大学），荒谷剛史（大阪大学），入江克雅（名古屋大学），岩本真幸（福井大学），老木成稔（福井大学），大河内善史（大阪大学），岡村康司（大阪大学），掛川　渉（慶應義塾大学），糟谷　豪（自治医科大学），神鳥和代（香川大学），河合喬文（大阪大学），川鍋　陽（香川大学），清中茂樹（名古屋大学），久場博司（名古屋大学），久保田智哉（大阪大学），倉智嘉久（大阪大学），倉橋　隆（大阪大学），桑島佑太朗（理化学研究所），坂田宗平（大阪医科大学），佐甲靖志（理化学研究所），佐々木真理（大阪医科大学），重松秀樹（理科化学研究所），神野有香（大阪大学），杉本俊一（大阪大学），関口皓太（マルホ㈱），相馬義郎（国際医療福祉大学），高橋正紀（大阪大学），竹内裕子（大阪大学），田中洋光（京都大学），塚本寿夫（分子科学研究所），鳥本真奈美（大阪大学），中川敦史（大阪大学），中條浩一（自治医科大学），二階堂悠平（大阪大学），服部素之（復旦大学），林　美穂（大阪大学），原　雄二（京都大学），藤原祐一郎（香川大学），堀江里歩（大阪大学），松井美帆（大阪大学），松田　真（大阪大学），水谷夏希（大阪大学），森　泰生（京都大学），森　幸（マルホ㈱），森　誠之（産業医大），柳川正隆（理化学研究所），柳(石原)圭子（久留米大学），山田憲明（大阪大学），山本旭麻（大阪大学），好岡大輔（大阪大学），吉田　学（東京大学），吉田　薫（桐蔭横浜大学），三好智満（大阪大学），久野みゆき（大阪市立大学），稲野辺厚（大阪大学），李鍾國（大阪大学），久保義弘（生理学研究所），立山充博（生理学研究所），下村拓史（生理学研究所），陳　以珊（生理学研究所），平澤輝一（生理学研究所）

【概要】

本研究会は「イオンチャネルと生体膜のダイナミズム：構造生物学の先にあるもの」と題して，所外開催として大阪大学吹田キャンパスにある銀杏会館を使用し，イオンチャネル研究に携わった先端的な研究を行っている研究者を集めて二日間行われた。近年，構造生物学を初めとする様々な実験技術の向上により，これまで解析困難であった事象が次々と明らかになっている。一方で，一つ一つの研究分野が高度に専門化したために，「イオンチャネル」という一つの研究課題でさえ多方面から奥深いアプローチがなされるようになり，多くの研究者にとってこれらを集約して理解することが困難になってきた。本研究会ではこのような問題を少しでも解決するべく，生物物理学から神経生理学を含む幅広い分野の研究者を集め，お互いの分野の理解を少しでも深めたいという試みで行われた。とりわけ特別講演の京都大学・森泰生教授と，福井大学・老木成稔特命教授にはそれぞれ，神経生理学，生物物理学の最先端の発表を講演していただき，充実した内容となった。また，名古屋大学・阿部一啓准教授には教育講演に近いスタンスで，近年目覚ましい技術の向上を遂げたクライオ電顕について，X 線構造解析との比較でその利点について説明をして頂いた。この他にも，10 名以上の選りすぐりの研究者による口頭発表，並びに 20 演題を越えるポスター発表を行い，活発な議論が巻き起こった。特に今回の発表では若手の発表を積極的に推進し，次世代の活躍を期待させる発表が多く見られた。初日の夜には懇親会の場を設け，分野の異なる研究者たちがその垣根を越えて積極的に意見交換をする姿を頻繁に目にすることが出来た。以上，二日間という短い期間ではあったが，今後の「イオンチャネル」研究の発展を強く後押しする充実した研究会を開催することができた。

（1）Two-pore Na^+ channel 3 における特徴的な電位依存的活性化メカニズム

○下村拓史，久保義弘（生理学研究所･神経機能素子研究部門）

Two-pore Na^+ channel（TPC）は，電位センサードメイン（voltage sensor domain; VSD）とポアドメインからなる基本単位が 2 つ連結した分子構造を持ち，それゆえ２つの VSD（VSD1，VSD2）により制御される。我々は，*Xenopus tropicalis* 由来の TPC ファミリー3（XtTPC3）を対象として二電極膜電位固定法による解析を行い，2 つの VSD の機能を調べた。電位依存性に重要であるとされる 4 番目のヘリックス（S4）に存在する３つのアルギニンをそれぞれ中性化した変異を導入したところ，VSD1 への変異導入は電位依存性にほとんど影響しなかったのに対して，VSD2 の場合は大きな変化が見られた。従って，XtTPC3 においては VSD2 の方が VSD1 よりも電位依存性に主要な役割を果たしていると考えられる。また，VSD2-S4 の細胞外側には，TPC3 特異的に保存されている Asp511 がある。この Asp511 の負電荷を中性化する変異体では電位依存性が大きく正電位側にシフトしたことから，正電荷であるアルギニンだけでなく負電荷も電位依存的活性化に寄与していると考えられる。以上のような，一方の VSD が電位依存性に大きく寄与していることや，正電荷だけなく S4 上の負電荷も重要であることは，TPC3 特有の電位依存的活性化メカニズムを反映したものと考えられる。

（2）生体膜の特性が支えるイオンチャネル活性

○岩本真幸（福井大学 学術研究院医学系部門 分子神経科学分野）

イオンチャネル機能発現の足場となる生体膜では，多様な脂質が混在・流動している。この不均一で動的な脂質二重膜環境が，程度の差こそあれ，多くのイオンチャネルの活性に影響を及ぼしていると考えられる。しかし，生体膜の脂質二重膜環境を厳密に制御することは難しく，それがイオンチャネル活性に及ぼす影響について，分子レベルでの解明は進んでいない。こういった課題に対し，我々は独自の人工生体膜実験法，CBB 法を開発し，代表的カリウムイオンチャネル，KcsA チャネルを対象に研究を進めてきた。KcsA チャネルはリガンドの水素イオンが細胞内ドメインに結合することで活性化する。我々は，活性化した KcsA チャネルの開確率が，脂質二重膜の細胞内リーフレット組成や脂質二重膜張力によって大きく左右されることを，単一チャネルレベルで明らかにした。このような結果は，細胞種ごとに異なる脂質組成，および，生体膜に発生する膜張力の生理的役割を解明する糸口になる。KcsA チャネルで見つかった膜環境を感知する性質がイオンチャネルに普遍的であるか否か，今後明らかにしていきたい。

（3）酸化感受性 TRP チャネル研究を通した脳内酸素感知機構の解明

○森　泰生（京都大学大学院工学研究科合成･生物化学専攻）

脳は酸素の要求性が最も高い組織で低酸素状態に対して脆弱であるが脳内の酸素（O_2）感知機構は未だ解明されていなかった。酸化還元感受性 TRP チャネルの研究の進展の中でアストロサイトの低酸素応答を担う新たな機構を明らかにした。TRPA1 チャネルは高い酸化還元感受性とユニークな O_2 依存性を示す。アストロサイトは TRPA1 を介し，体内の比較的穏やかな低酸素環境を感知する高 O_2 感受性を示すこと，また正常 O_2 存在下や低酸素での TRPA1 活性化物質（CO_2，親電子・酸化物質等）に対して全く反応を示さないことがわかった。この感受性は次の機構により担われている。O_2 存在下では O_2 依存性のプロリンヒドロキシ酵素により水酸化された

TRPA1 タンパク質は E3 ユビキチンリガーゼ NEDD4-1 によるユビキチン化を受け表面膜から内膜系に移行される。しかし，低酸素ではこの機構が作動せず，TRPA1 タンパク質は表面膜に集積しCa^{2+}流入を引き起こすことにより ATP をアストロサイトから放出させ呼吸中枢神経回路を活性化させる。一方アストロサイト選択的に TRPA1 遺伝子を欠損させると，脳脊髄単離標本においては自律性の呼吸出力が強化された。TRPA1 チャネルが可逆的に O_2 依存的タンパク質内在化機構と連関することにより脊髄腹側呼吸中枢のアストロサイトに急性の低酸素に対する選択的応答を付与するという，新規 O_2 受容機構を明らかにした。

（4）視細胞ターミナルや嗅細胞線毛に局在する Ca 活性化 Cl チャネル

○倉橋　隆，竹内裕子（大阪大学大学院生 命機能研究科）

視覚・嗅覚の二種の感覚細胞は，それぞれ「光」「匂い」という全く異なる刺激を受容する感覚であるにもかかわらず，サイクリックヌクレオチドを利用する情報変換や線毛起源の構造などの点でいくつかの共通点がみられる。その一端に，両者には共にCa^{2+}感受性 Cl チャネルの存在が知られる。ただし，視細胞ではこのチャネルは神経ターミナルに局在し，感覚情報変換には直接関係しないと考えられるが，嗅細胞では情報変換の場である線毛に局在し，CNG チャネルと Ca^{2+}を介して機能的にカップルすることで浸透圧変化耐性や情報増幅などを行い，嗅覚情報変換に直接関与している。このClチャネルの分子的実体はANO2 (TMEM16B)であるとされ，徐々にチャネルの特性に関しても知見が集積しつつあるものの，いまだ未知の点が多い。その理由の一つはいずれの感覚細胞の場合においても，微細な構造部分にチャネルが局在し，パッチ電極のアクセスが困難な点にある。本発表では，native チャネルや ANO ファミリー発現チャネルの解析などから必要性が生じた微小生物構造体に対する電極の適用や微小チャネル電流記録などの試みから，チャネル研究の新たな方向性・可能性を紹介し，議論した。

（5）マウス精子に存在する電位依存性ホスファターゼの機能

○河合喬文[1]，宮田治彦[2]，中西広樹[3]，坂田宗平[1,4]，渡辺雅彦[5]，
崎村建司[6]，藤本豊士[7]，佐々木雄彦[8]，伊川正人[2]，岡村康司[1]
（[1]大阪大学大学院医学系研究科，[2]大阪大学微生物病研究所，[3]秋田大学生体情報研究センター，
[4]大阪医科大学，[5]北海道大学大学院医学系研究科，[6]新潟大学脳研究所，
[7]名古屋大学大学院医学系研究科，[8]東京医科歯科大学）

電位依存性ホスファターゼ（VSP）は電位センサードメインとホスファターゼドメインよりなり，膜電位依存的にイノシトールリン脂質への脱リン酸化活性を示す。VSP は精子で発現すると考えられているが，その生物学的機能は分かっていない。本研究では，マウス精子に着目し，VSP 遺伝子欠損マウスを用いた解析を行った。VSP を欠損した精子はイノシトールリン脂質のプロファイリングに異常を示し，このことから VSP が正常なマウスの精子においても機能していることが明らかとなった。VSP を欠損した精子は体外受精時に受精率が著しく低下し，これは受精能獲得時の運動能異常に起因していた。また，VSP 欠損精子ではカルシウムシグナルに異常が生じていることも明らかになった。さらにこのような異常なカルシウムシグナルシグナルの背景に VSP によるイオンチャネル制御機構が関与していること分かったので，本発表ではこれについても報告した。

（6）ホヤの受精における CatSper の役割

木島大雅[1]，黒川大輔[1]，吉田　薫[2]，○吉田　学[1]
（[1] 東京大学大学院理学系研究科附属臨海実験所，[2] 桐蔭横浜大学医用工学部・生命医工学科）

近年，精子の運動には CatSper と呼ばれる精子特異的な Ca^{2+}チャネルが重要な役割を担っていることがわかってきた。例えば，哺乳類では精子上で機能している Ca^{2+}チャネルは鞭毛に存在する CatSper のみであり，CatSper が精子内 Ca^{2+}調節の全てを担う最重要分子とされている。その一方で，CatSper は進化的にあまり保存されておらず，前口動物には存在しないばかりか，脊椎動物の中でも両生類や真骨魚類等には存在しない。その一方で後口動物であるウニやホヤには存在し，ウニにおいても精子走化性に関与することが示唆されている。

我々はこれまでカタユウレイボヤにおいて精子走化性の研究を行い，精子誘引物質が新奇のステロイド誘導体 SAAF であること，精子における SAAF の受容は，膜型 Ca^{2+}/ATPase（PMCA）が担うことを示し，ウニや哺乳類とは異なった精子内 Ca^{2+}調節機構があることを明らかとした。その一方で，カタユウレイボヤにおいても CatSper は存在するため，その機能についても明らかにする必要があると思われる。そこで，我々は CRISPR/Cas9 法を用いて *CatSper*3 KD カタユウレイボヤ（F_0 個体）を作出し，CatSper の機能について検討を行い，その成果について報告した。

（7）イオンチャネル一分子研究の再構成膜系からのアプローチ

○老木成稔（福井大学 高エネルギー医学研究センター）

イオンチャネルの本質的機能はイオン選択的透過とゲーティングであり，この機能を実現するために数 10 残基のペプチドから何千残基のチャネル蛋白質まで，様々な分子種が自然界に存在する。そしてチャネル機能の実現に不可欠な膜は，チャネルに対して化学的・物理的環境を提供し，複雑で巧妙な系を構成している。私達のアプローチはチャネル機能を実現するための最小構成要素を利用し，そこにある共通の原理をさぐることである。チャネル蛋白質で最も単純なものが KcsA カリウムチャネルであり，160 残基のアミノ酸残基数で高い K^+選択性と高い透過性，そして様々なゲート様式を示している。この 20 年間で一種類のチャネルに対して構造・機能に対する最も膨大な情報量が蓄積しており，これを基にチャネル分子機構の理解が深まってきた。私達は KcsA チャネルを対象に，チャネル機能発現の場である膜を新しい再構成膜法（Contact Bubble Bilayer）で実現することによって，生体膜の特徴を抽出し，チャネル－膜相互作用の様々な局面を探ってきた。KcsA チャネルはポスト構造時代のチャネルということができるが，その研究史をひもとくとその理解に紆余曲折がある。典型的なケーススタディとしていくつかの局面を紹介した。

（8）X 線結晶学とクライオ電顕で得られた構造情報の解釈と上手な活用法 ～胃プロトンポンプの構造解析を例として～

○阿部一啓（名古屋大学 細胞生理学研究センター／大学院創薬科学研究科）

タンパク質の構造解析のスタンダードともいえる X 線結晶構造解析は，これまで（これからも！）非常に多くのタンパク質の構造を高い分解能で決定してきている。これに加えて，近年のクライオ電顕単粒子解析の劇的な発展によって，これまで結晶学では構造決定の難しかった分子（複合体）の構造が次々と解析されている。まるで遺伝子配列を読むように，タンパク質の構造が決定される時代がすぐそこまで来ているといって過言で

はない。そのような局面でこそ，今も昔も変わらないことではあるが，『何が知りたいのか』という問いが重要であろう。構造解析は決して道の終りではないが，終点に辿り着くために『マップ』は欠かせない。構造情報を上手く活用していくことは，我々が真に理解したい生命現象を分子レベルで解き明かす大きな助けになるはずである。ここでは，胃プロトンポンプの構造解析の例を中心にして，得られた構造をどのように解釈していけばよいかを，できるだけわかりやすく解説した。また，クライオ電顕単粒子の構造と X 線の構造の類似点や相違点，問題点についても触れることで初心者にも分かり易い解説を行った。

（9）Mg^{2+}チャネル MgtE の構造と作動機構

○服部素之（復旦大学生命科学学院）

MgtE は，原核生物からヒトを含む真核生物まで保存された Mg^{2+}チャネルであり，生体内における Mg^{2+}恒常性において重要な役割を果たしている。

過去に報告された Mg^{2+}結合型の MgtE 全長構造および立体構造に基づく各種機能解析により「MgtE 細胞質ドメインへの Mg^{2+}結合により膜貫通ドメインにおけるイオン透過孔が閉状態へと固定される。この機構により MgtE は過剰な Mg^{2+}取り込みを防いでいる」という Mg^{2+}恒常性のためのネガティブフィードバック機構が明らかとなっていた。

しかしながら，Mg^{2+}非存在下における MgtE 全長の立体構造が未だ未知であるため，MgtE チャネル開閉機構の詳細は今なお明らかではない。

そこで，最近，発表者を含む研究グループは，Mg^{2+}非存在下における MgtE の立体構造についてクライオ電顕を用いた単粒子解析法により決定した。さらに我々は，このクライオ電顕構造と既知の Mg^{2+}結合型閉状態の MgtE 構造の比較，およびそれら構造情報に基づいた各種機構解析により，MgtE 膜貫通ドメインの開閉運動を明らかにした。本セミナーでは MgtE チャネルの構造生物学研究の歴史およびこれら最近の進展について発表した。

（10）チャネル機能の操作ツールとしての無脊椎動物光受容体

○塚本寿夫（分子科学研究所，JST さきがけ）

これまで種々の解析手法を組み合わせてイオンチャネルの機能特性や機能発現メカニズムが解明されてきた。すなわち，電気生理学解析によって，どのような刺激によってどのような電流応答が生じるのかが明らかにされ，生化学的解析や構造解析により，それらの応答がどのように生じているのかが明らかになった。さらに近年，イオンチャネルをツールとして利用することで細胞応答ひいては生命機能を人為的に操作する研究も行われている。とりわけ，微生物が持つ光駆動イオンチャネルであるチャネルロドプシンおよびその変異体・ホモログを神経細胞に発現させて，光で神経活動を制御する研究が進展している。

以上の状況をふまえて私は，哺乳類などの動物が持つイオンチャネルの機能を光で操作することをめざして研究を進めている。今回の発表では，無脊椎動物が持つ光受容タンパク質（オプシン）と哺乳類イオンチャネルについて，それぞれの分子特性やシグナル伝達特性を理解し活用することで，チャネル機能をどのように光操作できるのかについて議論した。

（11）膜受容体の細胞内 1 分子動態から薬効を読み解く

○柳川正隆[1]，桑島佑太朗[1,2]，青柳良平[2]，有田　誠[2]，
阿部充宏[1]，廣島通夫[1,3]，上田昌宏[3]，佐甲靖志[1]
（[1]理化学研究所開拓研究本部佐甲細胞情報研究室，[2]慶應義塾大学大学院薬学研究科，
[3]理化学研究所生命機能科学研究センター細胞シグナル動態研究チーム）

膜受容体は主要な薬の標的分子である。細胞中で膜受容体は均一ではなく多状態のアンサンブルとなっている。薬刺激に伴い受容体に構造変化・エフェクター分子との相互作用・リン酸化等の修飾・エンドサイトーシスなどが生じることが知られているが，複数の状態変化を同時に定量することは難しい。

本研究では，膜受容体（GPCR・TRP）の細胞膜中の 1 分子動態と機能状態の関係を全反射蛍光顕微鏡計測により解析した。その結果，多くの GPCR に共通して，アゴニスト依存的に拡散が遅い分子が増えることが明らかになった。さらに，S1PR1 をモデルとした詳細な解析からは，リガンドの複数の薬効を 1 計測で推定できることが分かった。また，TRPV1 受容体のカプサイシン刺激後の 1 分子動態変化を同様の手法で評価したところ，GPCR と同様に刺激依存的に拡散が遅くなることが分かった。しかしながら，カプサイシン濃度依存性はカルシウム流入と比較して一桁以上低く，TRPV1 チャネルが空間的に何らかのフィードフォワード制御を受けている可能性が示唆された。

（12）グルタミン酸受容体動態解析のための新たなケミカルラベル化法の開発

○清中茂樹[1]，小島憲人[2]，浜地　格[2]
（[1]名古屋大学大学院工学研究科生命分子工学専攻，
[2]京都大学大学院工学研究科合成･生物科学専攻）

中枢神経において，イオンチャネル型グルタミン酸の一種である AMPA 受容体は，シナプス可塑性に深く関わることが知られる。我々は，AMPA 受容体の神経細胞内での精密動態を解明するための有機化学的な方法論の開発を進めている。最近，リガンド指向性化学と名付けた小分子化合物を用いたケミカルラベル化法を用いることで，神経細胞に内在する AMPA 受容体の可視化を可能とすることに成功した（Wakayama et al, *Nat. Commun.* 2017）。小分子化合物（CAM2）を用いたこの手法では，脳スライスや培養神経細胞において内在的に発現する AMPA 受容体をケミカルラベル（蛍光可視化）することができる。しかし，ラベル化に 1－3 時間程度のインキュベート時間を必要とするため，シナプスの微小空間を考えると細胞表層の AMPA 受容体のみを選択的に可視化・解析できているかどうかを断言できない。そこで，CAM2 を改変した新たなラベル化方法の開発，およびそれを用いた AMPA 受容体の精密動態解析を進めた。本発表ではその進捗状況を報告した。

（13）全反射顕微鏡を用いた AMPA 型グルタミン酸受容体の動態イメージング

○田中洋光，平野丈夫（京都大学大学院理学研究科生物科学専攻）

中枢神経系の興奮性シナプス後膜では，イオンチャネル共役型の AMPA 型グルタミン酸受容体（AMPA 受容体）の数が，シナプス活動に依存した伝達効率の変化時に増減することが知られている。このシナプス伝達効率の変化は「シナプス可塑性」と呼ばれ，記憶・学習の基礎過程と考えられている。AMPA 受容体の数は，大別してエキソサイトーシス，エンドサイトーシス，側方移動の 3 種類の分子動態によって変化する。先行研究では，AMPA 受容体の側

方移動は, 量子ドット等を用いた可視化によって詳しく調べられてきた。その一方，シナプス後膜におけるエキソサイトーシスやエンドサイトーシスの変化を定量する研究は，これまでほとんど無かった。そこで本研究では，これらの現象をリアルタイムで可視化する実験系を新たに構築し，シナプス可塑性発現時における AMPA 受容体の動態変化を解析した。本講演では，最近の研究を中心に長期増強現象（long-term potentiation: LTP）や長期抑圧現象（long-term depression: LTD）の発現時に，AMPA 受容体の動態がどのように変化するのかを紹介した。また，アルツハイマー病の発症原因分子であるアミロイドベータの毒性に着目して，シナプス病変時における AMPA 受容体の動態異常化についても報告し，議論した。

（14）新規光・化学遺伝学的技術を用いた脳内記憶・学習回路制御

○掛川　渉，柚﨑通介（慶應義塾大学医学部生理学教室）

私たちの脳は約 1,000 億個もの神経細胞が「シナプス」を介して互いに結合し，記憶・学習をはじめとする高次脳機能に必須な神経回路を構築している。シナプスの形成過程や動作機構を明らかにすることは，記憶・学習を分子レベルで理解する上で重要な課題の 1 つであるが（掛川渉，柚﨑通介: *BRAIN and NERVE*, '18），複雑環境にある脳内において，特定のシナプスに対して選択的に介入しうる技術は，今も尚，発展途上にある。

私たちは最近，協調運動や運動記憶・学習をささえる小脳のシナプス回路を対象とし，シナプス伝達を担うグルタミン酸受容体の機能や動態を人為的に制御しうるまったく新しい化学遺伝学（Chemogenetics）および光遺伝学（Optogenetics）的技術を世界に先駆けて報告した（Kiyonaka et al., *Nat Chemistry*, '16; Kakegawa et al., *Neuron*, '18）。とりわけ，新規光遺伝学的技術（PhotonSABER）では，シナプス機能ばかりでなく，小脳依存的な運動記憶・学習の獲得過程にまで介入することにも成功した（Kakegawa et al., *Neuron*, '18）。これらの新規光・化学遺伝学的手法は，従来の技術では困難であった「脳内の特定のシナプス機能を人為的に操作しうる強力なツール」として用いられ，シナプス機能と個体レベルの事象との因果関係をより詳細に追究できるものと期待される。

（15）聴覚の時間情報処理回路におけるイオンチャネルの発現制御

〇久場博司，アクトル･ナルギス，安達良太
（名古屋大学大学院医学系研究科細胞生理学）

発達期の脳の感覚神経回路では，感覚入力によってイオンチャネルの発現量が適切に調節され，このことにより正確な回路動作が可能となる。我々は，トリ脳幹の聴覚神経回路を対象に，この入力依存的なイオンチャネルの発現制御原理の解明を目指している。この回路では，電位依存性カリウムチャネル（Kv1.1）の発現量が周波数域毎に異なり，高音域ほど高い。今回我々は，この回路での周波数域に応じた Kv1.1 発現の発達変化を調べ，以下の知見を得た。1) Kv1.1 発現は，聴覚入力が高まる時期に大きく増加し，その傾向は高音域で顕著である。2) この時期に聴覚入力を遮断すると，高音域での Kv1.1 の発現増加は抑制され，周波数域に応じた Kv1.1 の発現量の違いも減弱する。3) 一方，音刺激により聴覚入力を増加させても，低音域での Kv1.1 の発現に増加はみられない。これらの知見は，発達期の Kv1.1 の発現増加には聴覚入力が重要であり，さらに周波数域に応じた Kv1.1 の発現量の違いには，周波数域間での入力量の違いではなく，細胞特性の違い，すなわち Kv1.1 の入力依存的な発現効率の違いが関わることを示している。本発表では，上記に加え，この細胞毎にプログラムされた入力依存的な発現効率の分子基盤の解明に向けた最近の試みについても紹介した。

（ポスター発表者）

（1）線毛内情報伝達分子の実時間可視化

○竹内裕子，倉橋　隆（大阪大学大学院生命機能）

嗅細胞は線毛という微細構造にて化学情報を生体信号へ変換する。この情報変換にはCNGチャネルとCl (Ca)チャネルが共役して働き，共に線毛に高密度に発現している。両チャネルは線毛内のcAMPやCaにより開口し，同時に線毛内の Ca は順応を制御している。しかし，線毛内でのこれらの分子の挙動は殆ど知られていない。今回線毛内へパッチ電極から Fluo4 をロードし Ca 分子を可視化，同時にパッチ電極からチャネル活動を記録した。更にケージド cAMP を線毛内にロード，UV で局所的に線毛内 cAMP を上昇させた。つまり，cAMP 濃度は細胞のダイナミックレンジを超えることのない生理的範囲を確保した。刺激によって Ca は局所的に上昇し，同時にチャネル電流が記録された。Ca はチャネルの開口や閉口とほぼパラレルに変化したが，順応の時間経過とは異なっていた。つまり，Fluo4 は Cl(Ca) チャネルの Ca 応答を表現しているといえる。また，ここで見られる局所 Ca シグナルは線毛全体には拡散せず，一部位に留まることが示された。Fluo4 では見ることはできないが，電流記録では順応に係る Ca 拡散も制限されることも確認できた。これらの結果は，匂い 1 分子応答や嗅覚順応の時間経過をうまく説明し，また，これらの手法や知見は他の微小生体組織への応用発展が考えられる。

（2）1 分子イメージングによる TRPV1 チャネル・脂質間相互作用の時空間動態解析

○桑島佑太朗[1,2]，柳川正隆[1]，阿部充宏[1]，青柳良平[2]，有田誠[2]，佐甲靖志[1]
（[1]理化学研究所開拓研究本部佐甲細胞情報研究室，
[2]慶應義塾大学大学院薬学研究科代謝生理化学講座）

TRPV1 は，カプサイシンや熱，炎症性メディエーターといった様々な刺激に反応して活性化する侵害受容イオンチャネルである。TRPV1 の活性は PIP_2 をはじめとする膜リン脂質との相互作用によって調節を受けることもよく知られているが，生細胞膜上における TRPV1 と膜リン脂質の時空間的な組織化については明らかでない。

本研究では，全反射蛍光顕微鏡を用いて生細胞膜上に発現した TRPV1 チャネルの動態を経時的に解析した。その結果，カプサイシン刺激後，拡散の速い 4 量体の割合が減少し，静止した高次多量体の割合が増加することがわかった。拡散動態変化は，カルシウムイオン流入やエンドサイトーシスを引き起こす濃度よりも一桁以上低い濃度で観測された。さらに PIP_2 との共局在解析により，カプサイシン刺激後，TRPV1 と PIP_2 の親和性が低下することが示唆された。PIP_2 は TRPV1 の正の共同因子として知られることから，PIP_2 との空間的な分離は TRPV1 の一つの脱感作機構である可能性が考えられる。

（3）トリ蝸牛神経核の周波数域に応じた Kv1.1 の発現は Ca^{2+}感受性の違いにより制御される

○安達良太，山田　玲，久場博司（名古屋大学大学院医学系研究科細胞生理学）

ニワトリの蝸牛神経核である大細胞核は聴覚情報の伝達のために正確なタイミングでの発火が必要とされ，電位依存性 K^+（Kv）チャネル，Kv1.1 がその機能に重要な役を担っている。大細胞核は周波数局在構造を有し，Kv1.1 の遺伝子発現は高音域の細胞で多く，その電流は音入力の増大する孵化後に増加する。これらの知見から活動が Kv1.1 の発現に関わると考えられるが，領域毎に細胞の性質が異なる可能性も残る。そこで脳幹切片培養

を用いて，大細胞核の周波数局在構造形成のしくみを解明する目的で実験を行った。

高音域，低音域それぞれの細胞を含む切片を培養したが，どちらの細胞でも Kv1 電流は小さかった。ところが，高 K^+濃度培養では高音域の細胞で Kv1 電流が有意に増加した。この増加は電位依存性 Ca^{2+}チャネルの阻害により抑制された。Ca^{2+}イメージングの結果，脱分極に応じて領域に限らず細胞内 Ca^{2+}濃度が上昇した。これらの結果は大細胞核での Kv1.1 の発現調節が細胞毎の Ca^{2+}感受性の違いにより起こることを示唆しており，活動に対する異なる応答性が周波数局在構造を形成するのではないかと考えられる。さらに cAMP の関与を示す結果も得ており，これについても議論した。

（4）機械受容イオンチャネル PIEZO1 の骨格筋再生における役割

○原　雄二，平野航太郎，高林征史，土谷正樹，梅田眞郷
（京都大学大学院工学研究科 合成･生物化学専攻）

骨格筋を構成する筋線維は高い再生能を有しており，絶え間ない筋収縮･弛緩に伴う筋損傷に対して筋線維を再生することで筋恒常性を維持している。筋幹細胞（筋衛星細胞）は筋損傷時に膜伸展感知や液性因子等によりに活性化され，筋線維の新生をもたらすが，その過程の全容は未だ明らかではない。我々は，膜張力などの機械刺激に応じて活性化される PIEZO1 イオンチャネルが筋衛星細胞にて高発現することに着想を得て，本研究では筋衛星細胞特異的 *Piezo1* 欠損マウスの解析を通じ，PIEZO1 の骨格筋再生過程における機能解明を試みた。筋線維変性誘導後に筋衛星細胞に依存した再生過程を解析したところ，Piezo1 欠損マウスでは筋再生能が低下することを見出した。単離筋線維上の筋衛星細胞の挙動を観察したところ，Piezo1 欠損細胞の増殖能低下とともに，細胞質分裂の遅延が認められた。さらに内在性 PIEZO1 の C 末端に tdTomato タグが付加される *Piezo1-P1tdTomato* マウスを用いて PIEZO1 の動態解析を行ったところ，筋衛星細胞の細胞質分裂時において PIEZO1 の中央体への集積が観察された。以上，PIEZO1 は筋線維の再生過程において，筋衛星細胞の細胞質分裂に重要な役割を果たすと考えられる。

（5）代謝型グルタミン酸受容体 mGlu2 によるセロトニン受容体 5-HT2aR シグナリングの制御

○立山充博，久保義弘（生理学研究所･神経機能素子研究部門）

セロトニン受容体 5-HT2aR は Gq シグナル伝達経路を活性化することが知られているが，近年，5-HT2aR が Gi/o 共役型代謝型グルタミン酸受容体 2 型（mGlu2）と複合体を形成することで，各々のシグナル伝達の効率などを変化させ，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，受容体間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検討した。先ず，5-HT2aR-Gq シグナル経路活性化を PIP2 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を指標として解析したところ，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，この抑制がグルタミン酸投与により解除され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。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および伝達効率が変化することを示すものである。

（6）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 [1]，劉　暢 [1]，立山充博 [1]，Izhar Karbat[2]，上杉志成 [3]，Eitan Reuveny[2]，久保義弘 [1]
（[1] 生理学研究所 神経機能素子研究部門，
[2]Department of Biomolecular Sciences, Weizmann Institute of Science (Israel),
[3] 京都大学 物質－細胞統合システム拠点）

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 である。Terfenadine 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，Terfenadine 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，Terfenadine を含む複数の非鎮静性抗ヒスタミン薬が GIRK チャネルの電流を阻害することが明らかとなった。さらに，変異体を用いた解析により Terfenadine 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。また，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が明らかになった。本研究の成果は Pore helix による新規制御機構の理解につながるものである。

（7）Voltage Clamp Fluorometry 法を用いた Two-pore Na^+ channel 3（TPC3）の膜電位とホスホイノシチドに依存する動的構造変化の解析

○平澤輝一 [1,2]，下村拓史 [1,2]，久保義弘 [1,2]
（[1] 生理学研究所 神経機能素子研究部門，[2] 総合研究大学院大学 生命科学研究科 生理科学専攻）

Two-pore Na^+ channel 3 (TPC3) は電位依存性 Na^+チャネルであり，その単量体は 2 つのリピート（1st，2nd リピート）から成る。各リピートは電位感知ドメイン（VSD）とポアドメインを持つ。2 つの VSD のうち，主に 2nd VSD が電位感知を担っており，1st リピートにホスホイノシチド（PI）が結合すると TPC3 の電位感受性が亢進する。このメカニズムとして，1st リピートへの PI 結合が 2nd VSD の電位依存的な構造変化に影響を与えている可能性がある。本研究ではこの可能性を検証するために，Voltage Clamp Fluorometry (VCF) 法により，2nd VSD の動的構造変化と，PI 結合がそれに与える影響を解析した。2nd VSD 中の Ser527 を蛍光性非天然アミノ酸に変異させ VCF を行った結果，電位依存的な蛍光強度変化が検出された。これは 2nd VSD の構造変化を反映するものと考えられる。また，その蛍光変化の電位依存性が PI 結合の有無によって変化することが示唆された。

（8）ホヤ由来電位依存性ナトリウムチャネルの機能解析

○河合喬文 [1]，江口夏生 [1,2]，Måns Aspåker [1,3]，橋本真宜 [1]，神野有香 [1]，川鍋　陽 [1]，岡村康司 [1]
（[1] 大阪大学大学院医学系研究科統合生理学，
[2] University of California Davis, California, USA，[3]Uppsala University, Sweden）

電位依存性 Na^+チャネル（NaV）は神経や筋の興奮に必須のイオンチャネルである。哺乳類の全ての NaV は，進化上脊索動物の一つの NaV に由来している。また哺乳類の NaV では β サブユニットがその機能を修飾してい

るが，興味深いことに脊索動物の段階ではゲノム上に β サブユニットが存在せず，β サブユニットによる Na^+チャネルの活性制御は，脊椎動物の進化の過程で得られたものと考えられる。本研究ではカタユウレイボヤ（Ciona intestinalis）から Na^+チャネル CiNaV1 を同定し，アフリカツメガエル卵母細胞を用いて電流の測定に成功した。また，CiNaV1 に対するヒト β サブユニットによる作用も検証し，ラット NaV に対する作用との間に違いが認められたので，そのメカニズムについても考察した。

（9）細胞内膜の膜電位を可視化する：貪食細胞の食胞膜電位計測法の確立

○大河内善史[1]，筒井秀和[2]，岡村康司[1]
（[1]大阪大学大学院医学系研究科統合生理学，
[2]北陸先端科学技術大学院大学）

近年，細胞内小器官で機能するイオンチャネルが次々と発見され，その中には電位依存性イオンチャネルが存在することが明らかにされた。すなわち，細胞内小器官においても膜電位が変化している可能性が浮上した。しかしながら，細胞内小器官の膜電位が実際に変化するのかよく分かってない。また，細胞内小器官の膜電位の意義についても分かっていない。その理由の 1 つには，細胞内の膜電位を計測する方法が確立していないためである。

我々は，細胞内小器官の膜電位を計測する系を確立するために，食胞膜に着目した。食胞は免疫細胞の一種である貪食細胞が病原菌や死細胞を細胞内に取り込む過程で形成される小胞である。当研究室にて開発された膜電位感受性蛍光タンパク Merm2 をマクロファージ系の培養細胞 RAW264.7 に導入し，IgG でコートしたビーズを貪食させて，食胞膜における蛍光を観察した。Merm2 は細胞膜に局在し，食胞が形成された際には食胞にも局在した。この系を用いて，細胞膜と食胞膜それぞれの膜電位の変化を調べたところ，食胞膜電位は細胞膜電位よりも過分極していることが分かった。

（10）電位センサーのダイナミクスに着目した電位依存性ホスファターゼの動作原理解明

○水谷夏希，岡村康司（大阪大学大学院医学系研究科統合生理学）

電位依存性ホスファターゼ VSP は，膜電位の脱分極によって細胞膜上の $PI(4,5)P_2$ を脱リン酸化するユニークな分子であり，イオンチャネル等の $PI(4,5)P_2$ 感受性の解析ツールや膜電位プローブの材料などとして広く利用されてきた。しかしながら，VSP の電位センサーがどのように酵素活性を制御するかという基本動作原理はいまだ不明な点が多い。これまでに我々は膜電位を感知する S4 において，アミノ酸変異を導入することでゲート電流が観測されるにもかかわらず酵素活性が減弱する部位を見出しており，動作原理の解明に向けて電位センサードメイン（VSD）のアミノ酸変異体に注目している。本研究では VSD の変異体を解析することで，VSD の構造に生じる変化と酵素活性の関連性を明らかにすることが目的である。現在 VSD の変異に起因する次の 3 つの可能性を想定している。①S4 が十分に動かない，②S4 の動きのパターンが変化する，③S4 の変異によって局所の膜構造が変化する。今回はカタユウレイボヤ由来 VSP（Ci-VSP）の S4 に前述の変異を含めて網羅的に変異導入を行い，各変異体の S4 の動きと酵素活性を電気生理学的に解析した結果と共に酵素活性が減弱する理由を考察した。

（11）Microglial proton channel differently functions in brain region and age dependent manner

○Sharmin Akter[1]，河合喬文[1]，高雄啓三[2,3]，崎村建司[4]，宮川　剛[2,5]，岡村康司[1]
（[1]大阪大学大学院医学系研究科統合生理学，[2]生理学研究所行動様式解析室
[3]富山大学生命科学先端研究支援ユニット，[4]新潟大脳研究所
[5]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）

The recent studies reveal that the properties of microglia largely differ depending on aging as well as brain regions. We found that expression of microglial proton channel (VSOP/Hv1) encoding gene shows brain region-dependent heterogeneity with highest expression in striatum. Therefore, we studied the function of VSOP/Hv1 in different brain regions and its relationship with aging. In cortex, we observed the age-dependent importance of VSOP/Hv1 by analyzing oxidative stress, microglial morphology, and gene expression profile. Unexpectedly, however, the age-dependent importance of VSOP/Hv1 is less obvious in striatum. We also performed battery behavioral test of VSOP/Hv1-deficient mice both at young and aged stages. VSOP/Hv1-deficient mice specifically showed marked difference in light/dark transition test only in aged animals, indicating that anxiety may be altered in aged VSOP/Hv1 mice. The present study suggests that combination of brain region heterogeneity and animal aging govern the functional importance of VSOP/Hv1, and it may specifically regulate anxiety in aged animals.

（12）Kir2.1 チャネル内向き整流性の細胞外 K^+濃度依存性のメカニズム

○柳（石原）圭子（久留米大学医学部･生理学講座･統合自律機能部門）

固有心筋細胞の静止電位を決める内向き整流性カリウムチャネル（I_{K1}チャネル）は膜電位センサーを持たない２回膜貫通型の Kir2 サブユニットで構成される。生理学的に重要な性質であるチャネルの強い内向き整流性（外向き電流抑制）は，細胞内の有機陽イオンであるポリアミンが引き起こす電位依存性ブロックによるとされるが，その電位依存性は細胞外K^+濃度が変化するとK^+の平衡電位の変化分だけシフトする。これは細胞内陽イオンによる電位依存性ブロックと K^+輸送がカップルしていることを示唆するが，これまで細胞内K^+濃度は内向き整流性の電位依存性に大きく影響しないと報告されていることや，中心腔と細胞質領域の二か所に想定されているポリアミン結合部位を含む Kir2 チャネルの長いポア全体が果たして K^+選択的な構造をとっているかなど不明な点が多く，詳細なメカニズムは解明されていない。本研究では，細胞内K^+濃度とスペルミン（ポリアミン）によるブロックの関係について，細胞内 Na^+の効果を含めて解析を行った。その結果，細胞内陽イオンがK^+のみの場合にはポリアミンブロックは確かに K^+輸送とカップルしているが，カップリングは細胞内 Na^+によって一部置換可能であることが分かった。

（13）Structural studies of PTEN involved in phosphoinositide metabolism

成田宏隆，崔　文青，神田直樹，松田　真，○中川敦史
（大阪大学蛋白質研究所 超分子構造解析学研究室）

Phosphatidyl (3,4,5)-trisphosphate (PIP_3)は細胞膜を構成するリン脂質であり，セカンドメッセンジャーとして様々な細胞内シグナル伝達経路を活性化し細胞の増殖・生存など多様な情報伝達の役割を担う。PTEN は，PIP_3を

PI(4,5)P_2 へと代謝し，これらシグナル伝達経路を負に制御する酵素であり，その活性異常はある種の腫瘍と強い相関があることが知られている。一方で PTEN - PIP_3 複合体の立体構造情報はなく，PTEN が 3 位リン酸基を特異的に脱リン酸化する分子メカニズムは明らかになっていない。本研究では，PTEN と高い配列相同性と構造類似性をもつ電位依存性脱リン酸化酵素 VSP の酵素領域が，3 位と 5 位の脱リン酸化活性を有することに着目し，PTEN と VSP のキメラ酵素を作製し，脱リン酸化活性の変化から両酵素の基質特異性に関わる領域の特定を行った。本発表では，PTEN-PIP3 複合体構造解析の現状についても報告した。

（14）PI(4,5)P_2 制御ツールとしての電位依存性ホスファターゼの改良

○川鍋　陽*，水谷夏希，米澤智子，岡村康司
（大阪大学大学院医学系研究科統合生理学）
（ *現所属：香川大学医学部分子生理学）

細胞膜の構成成分であるイノシトールリン脂質は，リン酸化状態により 7 種類存在し，細胞内の情報伝達の役割も担う。その中でも形質膜に主要に存在する PI(4,5)P_2 は，膜貫通・可溶性を問わず多様なタンパク質の機能を直接制御することが知られている。その機能解析をする上で，細胞内の PI(4,5)P_2 レベルを積極的に操作することができるツールが従来から必要とされてきた。これまで培養細胞においては，ゼブラフィッシュ由来 VSP(Dr-VSP) がそのまま PI(4,5)P_2 制御に利用されてきた。最近われわれは, ホヤ由来 VSP(Ci-VSP) の研究より得られた知見から着想を得, Dr-VSP をより使いやすい強力なツールへと改良することに成功した。改良点は主に以下の２点である。①酵素活性の強化，②膜局在の改善。これらの改良を組み合わせることで見かけの酵素活性が上昇し，これまで評価できなかった PI(4,5)P_2 結合能が高いタンパク質の機能解析などに適用できると考えている。

（15）ナトリウム・グルコース共輸送体の糖選択性に関わる分子構造基盤解析

○神鳥和代，藤原祐一郎（香川大学医学部分子生理学）

ナトリウム・グルコース共輸送体（SGLT）は，体内で単糖をナトリウムとともに細胞内に取り込む膜タンパク質である。5 個のサブタイプのうち SGLT1 は小腸におけるグルコース，ガラクトースの吸収を担っている。また腎臓においてグルコースは主に SGLT2 により再吸収されることから，SGLT2 阻害薬は新しいタイプの糖尿病治療薬として期待されている。一方 SGLT は種々の癌細胞で発現が高く，グルコースの取り込み，細胞増殖を促進することから，癌の診断法・治療法開発のターゲットとしても注目されており，SGLT の分子レベルでの駆動機構を理解する必要性が高まっている。

本研究ではまず human SGLT1 の種々の単糖の選択性について，二本刺し膜電位固定法による電気生理学的手法を用いて解析した。さらに単糖輸送体のうち唯一結晶構造が報告されている，*Vibrio parahaemolyticus*（腸炎ビブリオ）由来ナトリウム・ガラクトース共輸送体（vSGLT）とガラクトースとの複合体の構造をテンプレートに，ホモロジーモデリングにより hSGLT1 の構造を作成した。この構造と，SGLT1～5 のアミノ酸配列と糖選択性の関係を基に，糖結合部位において糖選択性に関与するアミノ酸を予測した。それらのアミノ酸に変異を入れて種々の単糖の透過性を検討することにより，糖選択性の鍵となるアミノ酸を同定し，糖結合部位付近の立体構造に関する知見を得た。がいとう

（16）ミオトニー症候群に伴う Nav1.4 C 末端の EF ハンド様モチーフ変異は，速い不活性化を障害する

○堀江里歩[1]，久保田智哉[1]，高　真守[2]，田中里江子[3]，
中村優一郎[1]，佐々木良元[4]，伊東秀文[2]，髙橋正紀[1]
（[1]大阪大学大学院医学系研究科機能診断科学，[2]和歌山県立医科大学附属病院脳神経内科，
[3]なないろこどもクリニック，[4]桑名市総合医療センター脳神経内科）

骨格筋型電位依存性ナトリウムチャネル α サブユニット（Nav1.4）をコードする *SCN4A* 遺伝子の変異は，乳幼児突然死症候群（SIDS）を含む非ジストロフィー性ミオトニー症候群を引き起こす。 Nav1.4 は，4 つの相同のドメイン（DI-DIV）で構成されているが，近年 C 末端（CTerm）に位置する変異の症例が散見される。我々は新規変異 E1702del をもつミオトニー患者，既報変異 E1702K を有しミオトニー症状を呈する母娘例の２家系を経験した。E1702K の発端者である母親は繰り返す横紋筋融解を呈し，娘は乳幼児突然死症候群（SIDS）のリスクである喉頭痙攣による新生児仮死を呈した。また T1700_E1703del 変異も，ミオトニーの病原性変異として欧米で報告されている。本研究では E1702del，E1702K，T1700_E1703del の３つの CTerm 変異を培養細胞に発現させ，ホールセルパッチクランプ法により電流記録し，CTerm の機能について検討した。その結果，いずれの変異チャネルでも速い不活化の障害が確認できた。本研究の結果は Nav1.4 の CTerm がチャネルの速い不活化に重要な役割を果たすことを示し，その分子機構解明に貢献しうる。

（17）容積感受性陰イオンチャネル LRRC8D の構造解析

○糟谷　豪[1]，沼田朋大[2]，中村凌熙[3]，中根崇智[4]，横山武司[5]，西澤知宏[3]，草木迫司[3]，堂前　直[6]，
吉川雅英[7]，白水美香子[5]，Thomas Jentsch[8]，石谷隆一郎[3]，岡田泰伸[9,10]，濡木　理[3]
（[1]自治医科大学医学部，[2]福岡大学医学部，[3]東京大学大学院理学系研究科，
[4]MRC 分子生物学研究所，[5]理化学研究所生命機能科学研究センター，
[6]理化学研究所環境資源科学研究センター，[7]東京大学大学院医学系研究科，
[8]Max Delbrück センター分子医学，[9]京都府立医科大学大学院医学研究科，
[10]京都府立医科大学大学院医学研究科）

容積感受性陰イオンチャネル（Volume-regulated anion channel:VRAC）は細胞内への水分子の流入に伴う細胞膨張を感知して活性化し，Cl^-イオン等の浸透圧調節物質を細胞外へ放出する陰イオンチャネルである。LRRC8 (leucine-rich repeat-containing 8) は，VRAC の分子実体として近年同定された膜タンパク質で，5 種類（LRRC8A-E）あるアイソフォームが，ヘテロ 6 量体を形成し VRAC 活性を発揮するとされている。また，LRRC8 ヘテロ 6 量体を構成するアイソフォームの組み合わせのバリエーションが，VRAC の機能に多様性をもたらすと考えられている。今回，我々はヒト由来 LRRC8D ホモ 6 量体の立体構造を決定した。そして，構造情報に基づく電気生理解析から，LRRC8D は，イオンの透過孔のうちもっとも狭窄した部位が LRRC8A よりも広いこと，N 末端領域に LRRC8A には見られなかったヘリックスを 1 本有すること，の 2 つの特徴を持つことを明らかにした。

（18）日本人嚢胞線維症患者の CFTR 分子病態生理学

○相馬義郎，君島莉央，相馬光流，小林奈央，岩井翔吾
（国際医療福祉大学･薬･分子病態治療学分野/基礎医学研究センター）

嚢胞線維症 Cystic Fibrosis（CF）は，白人種における代表的な遺伝性疾患のひとつである。日本人を含む他人種においては，CF 患者の数は少ないが，白人種とは異なるタイプの CFTR 変異がみられる。

日本人に最も高頻度にみられる病因性変異はエクソン 16-17 b にわたる大規模欠損変異である（Nakakuki et al. J Hum Genet 2012）。16-17 b 欠損変異では，CFTR 蛋白における 970 番目に位置するグリシン（G970）から，1122 番目のトレオニン（T1122）までの 153 個のアミノ酸の欠損がフレームシフトなしに起こるため（Δ (G970-T1122) 変異），3 つの膜貫通ヘリックス TM9-11 および 4 番目の細胞内ループ ICL4 に相当する部分が失われる。このΔ(G970-T1122) 変異体では，蛋白は合成されるが，ゴルジ体での糖鎖修飾等の成熟過程が正常に行われず, 細胞膜での発現が阻害されて（class Ⅱ変異）いることが明らかになった（Wakabayashi-Nakao et al. JPS 2018）。

日本で同定された 21 種類の病因性 CFTR 変異のうち，蛋白が合成されない class I 変異が 1 種類, Δ (G970-T1122) 変異に加え，2 番および 3 番目に多い L441P と H1085R 変異を含む class Ⅱ変異が 11 種類，そして細胞膜への発現は正常であるが，チャネル機能が障害されている class Ⅲ/Ⅳ変異が 10 種類含まれていた。さらに，欧米で最も多くみられる class Ⅱ変異 ΔF508 の治療薬として開発された VX-809 (Lumacaftor) の，日本人特有の CFTR 変異への効果についても検討した。

（19）新しい選択性フィルター配列を有する原核生物由来膜電位感受性カルシウムチャネルの同定と機能解析

下村拓史 [1,3]，米川佳樹 [2]，名倉　仁 [1]，立山充博 [3]，藤吉好則 [1,4]，○入江克雅 [1,2]
（[1] 名古屋大学細胞生理学研究センター，[2] 名古屋大学大学院創薬科学研究科，
[3] 生理学研究所神経機能素子研究部門，[4] ㈱ CeSPIA）

膜電位感受性 Ca^{2+}チャネル（Cav）は電位依存性 Na^{+}チャネル（Nav）と立体構造が類似している。原核生物の Nav（BacNavs）は選択性フィルターへの負電荷の導入により Ca^{2+}選択性を得るが，天然の原核生物由来 Cav はいまだ同定されていなかった。

我々が同定した天然の原核生物 Cav である CavMr は選択性フィルターが変異体 Cav のものよりも少数の負電荷の配列で高い Ca^{2+}選択性を有する。対照的に，CavMr の類縁種である NavPp は，変異体 Cavs と同様の選択性フィルター配列をもちながら Na^{+}を主に透過し，選択性フィルターを CavMr の配列に置き換えた NavPp 変異体は高い Ca^{2+}選択性を示した。さらなる変異解析により，CavMr 選択性フィルターのグリシン残基が Ca^{2+}選択性の決定因子であることが明らかになった。この位置のグリシン残基は真核生物の Cavs のサブドメイン I と III の間でよく保存されており，普遍的に保存される Ca^{2+}選択性機構への新しい知見を与えるものである。

（20）変異型 *I*KACh チャネルは徐脈性不整脈の治療標的となり得る

○山田憲明 [1]，朝野仁裕 [1]，稲野辺厚 [2]，倉智嘉久 [2]，坂田泰史 [1]，高島成二 [3]
（[1] 大阪大学大学院医学系研究科循環器内科学，
[2] 大阪大学大学院医学系研究科分子･細胞薬理学，
[3] 大阪大学大学院医学系研究科医化学）

心臓の洞結節細胞は自発興奮機能（自動能）を有するが，この自動能の発生にはいくつかのイオンチャネルが重要な役割を果たしており，自律神経による心拍数制御に関与している。遺伝性不整脈を来たすイオンチャネル病において，分子レベルで発症機序を理解することができれば，そのイオンチャネルを分子標的とした薬物治療法の開発につながる。我々は，徐脈性不整脈の家系解析から，自動能を規定するイオンチャネルの 1 つであるアセチルコリン活性化カリウムチャネル（*I*KACh チャネル）をコードする *KCNJ3*（*GIRK1*）遺伝子の新規変異を同定した（c.247A>C, p.N83H）。電気生理学的実験において，変異型 *I*KACh チャネルはアセチルコリン非刺激時の basal current が既に大きく，変異の存在によるチャネルの異常活性化が考えられた。また，ゼブラフィッシュ疾患モデルを作製し，*I*KACh チャネル阻害剤が徐脈性不整脈に対する新規治療薬となり得ることを確認した。最近海外から，*I*KACh チャネルのもう片方のサブユニットをコードする *KCNJ5*（*GIRK4*）の遺伝子変異によっても，同様の徐脈性不整脈を来たすことが報告され，*I*KACh チャネルは治療標的として興味深い。

（21）腎糸球体硬化症に関わる TRPC6 変異体におけるフィードバック機構を基盤とした評価

ポラットオヌール [1]，井上隆司 [2]，森　泰生 [1]，○森　誠之 [1,3]
（[1] 京都大学工学研究科合成･生物化学専攻分子生物化学分野，
[2] 福岡大学医学部生理学，[3] 産業医科大学医学部生体物質化学）

巣状糸球体硬化症（Focal segmental glomerulosclerosis, FSGS）は，腎不全を引き起こす可能性のある代表的な病変である。以前から TRPC6 チャネルの変異が家族性 FSGS に関連していることが報告されていた。しかし変異が生じると何が起きているのか，詳細は不明であり原因究明が求められていた。今回我々は，TRPC6 の活性にブレーキをかける，Ca^{2+}依存的不活性化（Ca^{2+}-dependent inactivation:CDI）機構に関する分子的知見を得た。本知見をもとに FSGS 型の TRPC6 を解析したところ，解析した全ての FSGS 型 TRPC6 において分子構造体の異常を伴った CDI の破綻を認めた。更に CDI の破綻が，ポドサイト（腎糸球体上皮細胞）の細胞骨格異常を引き起こすことを確認した。これらの結果は TRPC6 の CDI 分子機構を明らかにすると共に，FSGS 発症原因の一つが TRPC6 の CDI 破綻であるという新規の概念を提唱するもので治療，診断へ向けた重要な手掛かりになると考えられた（Polat OK et al., JASN, 2019）。

4. 2019 年 生理学研究所研究会研究の新展開：その普遍性と多様性

2019 年 6 月 6 日－6 月 7 日

代表・世話人：福田光則（東北大学大学院生命科学研究科）
深田正紀（生理学研究所生体膜研究部門）

（1）細胞内輸送を介した神経成熟の分子機構
川内健史（先端医療研究センター）

（2）初期発生に向けたメンブレントラフィックによる細胞内リモデリングの分子メカニズム
佐藤　健（群馬大学生体調節研究所）

（3）ER exit site の形成と巨大分子分泌に関与する TANGO1 複合体の解析
齋藤康太（秋田大学大学院医学系研究科）

（4）メンブレンコンタクトの機能と制御
中津　史（新潟大学大学院医歯学総合研究科）

（5）リソソームとエクソソームの分泌機構とその生理的・病理的意義の解析
華山力成（金沢大学ナノ生命科学研究所）

（6）Src ファミリーキナーゼによるエクソソーム形成分泌制御
小根山千歳（愛知県がんセンター研究所）

（7）細胞の極性形成を司る細胞内極性輸送の分子機構の解明
原田彰宏（大阪大学医学系研究科）

（8）上皮細胞の細胞膜極性形成におけるタイトジャンクションの役割
古瀬幹夫（生理学研究所細胞構造研究部門）

（9）低分子量 G 蛋白質 Rab ファミリーによる分泌経路の制御
福田光則（東北大学大学院生命科学研究科）

（10）リン脂質フリッパーゼによる生体膜ダイナミックス
申　惠媛（京都大学大学院薬学研究科）

（11）自然免疫分子 STING の活性を厳密に制御する細胞内物質輸送
田口友彦（東北大学大学院生命科学研究科）

（12）シナプスにおけるエクソサイトーシス・エンドサイトーシスのライブイメージング
平野丈夫（京都大学大学院理学研究科）

（13）AMPA 型グルタミン酸受容体の精密動態を明らかにするためのケミカルラベル化法
清中茂樹（名古屋大学大学院工学研究科）

【参加者名】

川内健史（先端医療研究センター），佐藤　健（群馬大学），齋藤康太（秋田大学），中津　史（新潟大学），華山力成（金沢大学），小根山千歳（愛知県がんセンター研究所），原田彰宏（大阪大学），古瀬幹夫（生理学研究所），福田光則（東北大学），申　惠媛（京都大学），田口友彦（東北大学），平野丈夫（京都大学），清中茂樹（名古屋大学），深田正紀（生理学研究所），深田優子（生理学研究所），横井紀彦（生理学研究所），宮崎裕理（生理学研究所），稲橋宏樹（生理学研究所），江川孝彦（生理学研究所），田中洋光（京都大学），疋田智也（愛知県がんセンター研究所），法月拓也（基礎生物学研究所），本間悠太（東北大学），齋藤泰輝（名古屋市立大学），亀高　諭（名古屋大学），小島憲人（名古屋大学），三谷文美絵（愛知県がんセンター研究所），前島郁子（群馬大学），山内友恵（愛知県がんセンター研究所），亀高　愛（分子学研究所），中山　啓（基礎

生物学研究所），泉　裕士（生理学研究所），佐藤幸治（生命創生探求センター），森田美代（基礎生物学研究所），平澤輝一（生理学研究所），菅原太一（生理学研究所），高田慎治（基礎生物学研究所），青木玲奈（基礎生物学研究所），高田律子（基礎生物学研究所），西田基宏（生理学研究所），久保義弘（生理学研究所），吉村由美子（生理学研究所）

【概要】

細胞は細胞膜により外界から隔てられているため，独自の細胞内膜系を発達させ，細胞内外の物質のやり取りを可能にしている。特に，細胞外への物質の放出や細胞膜への膜蛋白質・脂質の輸送には，小胞体・ゴルジ体を経由する「分泌経路」が重要な役割を果たしている。近年，この古典的な分泌経路やシナプス小胞などの調節性分泌に加え，小胞体・ゴルジ体を経由しない非典型的な分泌やエクソソームに代表されるように小胞ごと放出を行う新形態の分泌の生理機能が注目を集めている。一方で，これらの分泌を支える分子機構の実態はほとんど明らかにされていない。また，古典的な分泌経路においても新たな輸送制御因子が同定されており，その制御機構の理解が深まりつつある。そこで本研究会では，種々の分泌形態を様々な角度から解析する研究者を一同に集め，最新の研究成果を発表して頂くと共に，分泌機構の普遍性・多様性とその共通原理について活発な議論を行う。

（1）細胞内輸送を介した神経成熟の分子機構

川内健史

（神戸医療産業都市推進機構先端医療研究センター老化機構研究部，慶應義塾大学医学部生理学教室）

神経細胞は軸索や樹状突起などいくつかのコンパートメントに分かれており，それぞれ異なる機能をもつ。このため，神経前駆細胞から成熟神経細胞へと変化する過程において，特定の膜タンパク質や脂質を細胞膜の局所へ輸送して集積させることが必要である。しかし，個体脳における神経成熟は多段階の形態変化を伴う複雑な過程であることから，それぞれの成熟段階における膜タンパク質や脂質の動態制御メカニズムについては，ほとんど分かっていなかった。発生期のマウス大脳皮質において，脳室近辺で誕生した神経前駆細胞は，まず複数の未成熟突起を伸長して多極性となるが，約 24 時間後には未成熟突起を退縮させ，１本の太い先導突起と軸索を形成することにより，双極性の形態へと変化する。分散培養した神経細胞は先導突起を形成せず，未成熟突起がそのまま樹状突起へと変化するのに対して，個体脳では，双極性の神経細胞が軟膜近くまで移動した後，先導突起が樹状突起へと成熟する。これまでに我々は，双極性神経細胞の移動には，低分子量 G タンパク質 Rab5 および Rab11 を介した細胞接着分子 N-カドヘリンのエンドサイトーシスと細胞膜へのリサイクリングが重要であることを報告した（Neuron 2010; Development 2014）。この結果から，神経成熟における膜タンパク質の細胞膜移行には，ゴルジ体からの分泌経路だけではなく，エンドサイトーシスを起点としたリサイクリング経路も必要であることが分かった。さらに我々は，in vivo 特異的な神経成熟過程である未成熟突起の刈り込みには，Caveolin-1 を介したクラスリン非依存性エンドサイトーシスが重要であること，このエンドサイトーシス経路は，未成熟突起の刈り込みとほぼ同時に起きる先導突起の伸長にも必要であることを明らかにした（iScience 2018 および未発表データ）。本シンポジウムでは，未成熟突起の形成と刈り込み，それに続く先導突起の形成について，細胞内輸送経路を介した細胞接着分子の動態制御に着目しつつ，その分子メカニズムを概説したい。

（2）初期発生に向けたメンブレントラフィックによる細胞内リモデリングの分子メカニズム

佐藤　健（群馬大学生体調節研究所）

受精は発生の出発点であり，精子と受精した卵母細胞はすべての細胞に分化しうる全能性を獲得し，接合子へと変化する。この際，染色体の構造や遺伝子の発現様式が大きく変化することはもちろん，細胞質やそこに存在するオルガネラなどの膜成分も劇的に変化し，減数分裂期の細胞から体細胞分裂である胚発生に向けた細胞内成分の変換が起こる。受精後には役割を果たした卵母細胞由来の一群の mRNA や細胞質タンパク質が選択的に分解されることが知られており，これらの現象は正常な胚発生に必須である。私達は線虫 C. elegans の生殖細胞を用いたライブイメージング解析により，受精に連動して細胞内膜成分も劇的に変換することを見出している。例えば，受精が完了すると卵母細胞由来の一群の細胞膜タンパク質が選択的にエンドサイトーシスされ，分解されることを見い出している（Sato et al, MBC, 2006, JCS, 2008; Development, 2014）。また，線虫初期胚において精子由来のミトコンドリアや膜成分が選択的にオートファジーにより分解されることがミトコンドリア DNA (mtDNA) の母性遺伝に重要であることを明らかにしている（Sato & Sato, Science, 2011, Sato et al., Nature Cell Biol. 2018）。さらに，受精卵において細胞内のユビキチンの動態がダイナミックに変化し，これらの分解プロセスを制御していることを見出している。本セミナーでは，このような初期発生におけるメンブレントラフィックの新たな生理機能とその分子メカニズムについて最新の研究成果を紹介する。

（3）ER exit site の形成と巨大分子分泌に関与する TANGO1 複合体の解析

齋藤康太（秋田大学大学院医学系研究科情報制御学･実験治療学講座）

小胞体で合成された分泌タンパク質は，小胞輸送によってゴルジ体へと運ばれ，様々な修飾がなされたのち，細胞膜から分泌される。小胞体からの分泌タンパク質の出芽は，小胞体上の特殊なドメインである ER exit site から COPII 被覆小胞によって担われる。ER exit site は哺乳細胞 1 細胞あたり数百個存在するが，細胞周期や栄養状態に応じて，その数や大きさ，局在が変化することが知られている。しかしながら，どのようにして ER exit site の形成が制御されているのか，詳しいメカニズムはほとんど明らかになっていない。

われわれはこれまでに巨大分子であるコラーゲンの分泌に必要な小胞体膜複合体（cTAGE5/TANGO1/Sec12）を単離・同定し，その機能解析を行ってきた。これまでの解析から，コラーゲンのような巨大分子の分泌には，ER exit site 近傍における Sar1 の効率的な活性化が必要であることが明らかになった。

最近われわれは，TANGO1 がコラーゲン分泌のみならず，ER exit site 形成時の局在規定因子としてはたらき，ER exit site の形成に必須であることを見出した。今回，TANGO1 がリン酸化修飾によって，その機能が制御されている可能性を見出したので，本研究会で報告したい。

（4）メンブレンコンタクトの機能と制御

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）

細胞内では様々な情報や物質が交換・共有されて細胞機能が発揮される。輸送小胞を介した細胞内物質輸送は，細胞膜やオルガネラ膜間でのコミュニケーションの一つである。しかし近年，これら生体膜は輸送小胞などを介さずに，直接，物質や情報をやりとりしていることが明らかになりつつある。

メンブレンコンタクト（membrane contact site）とは，細胞膜やオルガネラ膜が 10-30 nm の距離で近接した領域で，その存在自体は古くから形態学的に知られていたが，分子実体や機能の詳細は不明であった。しかし近年，メンブレンコンタクトは，脂質輸送・代謝，カルシウム制御，膜輸送，シグナリング，リン酸化など様々な重要な生理機能の場となっていることがわかってきた。

本研究会では，新たなオルガネラ間コミュニケーションの場として機能するメンブレンコンタクトに関して，特に我々が着目している脂質交換輸送とその生理機能に焦点を絞り，最近得られた知見も含めてご紹介したい。

（5）リソソームとエクソソームの分泌機構とその生理的・病理的意義の解析

華山力成（金沢大学ナノ生命科学研究所／医学系免疫学）

リソソームは小胞膜の内側にプロテアーゼなどの加水分解酵素を保有する細胞内小器官であり，細胞内消化の場として広く研究されている。リソソームの一部は分泌型リソソームとして細胞膜と融合し，リソソーム内の加水分解酵素や内容物を細胞外へと開口放出することが知られている。特にマクロファージや好中球などの炎症性細胞によるリソソーム酵素の放出は他者融解と呼ばれ，腫瘍細胞や細菌を融解して死滅させる生体防御機構の一つとして古くから報告されている。一方，リソソーム酵素の放出が過剰になると，周囲の健常な細胞を融解・死滅させ，様々な病態を引き起こすと考えられる。しかしながら，リソソームの開口放出を制御する分子機構はこれまで明らかではなく，他者融解が生体内でどのような生理的・病理的現象に関与するのかは殆ど解明されていない。私達は最近，この過程を促進する分子 myoferlin を同定した（J Immunol. 201: 3051, 2018）。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，エクソソームは直径 30-100 nm の分泌型膜小胞で，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，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解析した。

連絡先：hanayama@med.kanazawa-u.ac.jp

（6）Src ファミリーキナーゼによるエクソソーム形成分泌制御

小根山千歳（愛知県がんセンター研究所腫瘍制御学分野，JST さきがけ）

エクソソームはエンドソーム由来の分泌膜小胞であり，液性因子，細胞間接着に次ぐ第三の細胞間コミュニケーションシステムと考えられる。その分泌量や内包分子は，疾病によって変化することが知られ，診断への応用が注目されている。しかし，その変化をもたらす細胞内の制御メカニズムあるいはその破綻の様相についてはほとんど明らかにされていない。我々は，代表的な非受容体型チロシンキナーゼである c-Src がエンドソーム膜に存在し，SH3 ドメインを介して ESCRT 関連タンパク質 Alix と相互作用することで，エクソソーム形成を亢

進することを明らかにした。また，細胞のがん形質獲得に伴うエクソソーム分泌変化に，Src の膜での局在性に依存して発信される下流シグナルが寄与していることを見出した。興味深いことに，Src がん化細胞から分泌されたエクソソームをマウス線維芽細胞に添加すると，エクソソーム取り込み側の細胞において，自身の Src 活性が亢進するとともに形質転換した。つまり，あたかも Src シグナルがエクソソームを介して伝播しているような現象を見出している。本講演では，これらの知見に基づき，Src family tyrosine kinase によるエクソソーム形成分泌制御，およびその破綻とがん形質発現との関わりについて議論する。また，細胞のエクソソーム分泌を解析するために開発した技術とその応用についても紹介する。

（7）細胞の極性形成を司る細胞内極性輸送の分子機構の解明

原田彰宏（大阪大学 医学系研究科細胞生物学教室）

上皮細胞，神経細胞といった細胞は方向性（極性）を持ち，その極性がそれらの細胞の機能に重要な役割を果たす。しかし細胞極性の形成や維持に関わる分子機構には未だに不明の点が多い。我々は細胞極性に関わる遺伝子を欠損したマウスを網羅的に作製し, 低分子量 GTP 結合タンパクの Rab8, 11 が上皮細胞の極性の形成，特にその apical（頂上）面の微絨毛の形成や apical 面に局在する分子の輸送に関与することを明らかにした。しかし Rab8, 11 がどのような effector 分子と結合して apical 面への輸送に関与するか不明な点がまだ多い。そのため，我々はこれらの Rab の effector 分子の同定を試みた。

Rab8 については, EHBP1L1 という effector 分子を同定し，recycling endosome 上で，Rab8 と共に apical 面への輸送に関わる可能性を提示した。また，Rab11 については RELCH という新規の effector 分子を同定した。この分子は apical 面への輸送に関与する可能性は高くないが，細胞外から細胞内へ取り込まれたコレステロールが lysosome で遊離コレステロールとなって膜に組み込まれた後， recycling endosome から TGN への小胞輸送を介さず直接膜接触部位を介して輸送される際に重要な分子であることが示唆された。本研究によって Rab11 が小胞輸送のみならず，膜接触部位でのコレステロールの直接輸送にも重要ということが明らかとなった。

（8）上皮細胞の細胞膜極性形成におけるタイトジャンクションの役割

古瀬幹夫，大谷哲久（生理学研究所 細胞構造研究部門）

上皮のバリア機能に寄与する細胞間接着装置タイトジャンクション（TJ）は，上皮細胞の細胞膜極性の形成・維持にも重要な役割を果たすと考えられてきた。そのしくみとして, TJ が細胞膜の頂端側ドメインと基底膜側ドメインの境界で膜タンパク質・脂質の側方拡散を妨げる，いわゆる「フェンス機能」が古くから提唱されてきたが，その正否についてはいまだ議論がある。我々は，この問題にアプローチするために，安定した細胞極性をもつ培養上皮細胞において, TJ の中核構造を構成する膜タンパク質クローディンファミリー，あるいはその細胞質側に結合して TJ 形成に必要とされる ZO ファミリーを, ゲノム編集にもとづき多重欠失させた細胞を樹立した。解析の結果, ZO 欠失細胞では TJ が消失して細胞間隙が開き，細胞膜の極性が失われていた。一方，クローディン欠失細胞では，TJ の形態学的特徴である TJ ストランド構造が消失したものの，細胞膜の極性は正常であった。さらに興味深いことに, クローディン欠失細胞では一見 TJ に見間違える細胞膜の近接構造が依然保持されていた。これらの観察は, TJ の成り立ちに関する通説に再考が必要であること，クローディン欠失細胞で見出された細胞膜近接構造の解析が細胞膜極性形成における TJ の役割を知るための鍵を握ることを示している。

（9）低分子量 G 蛋白質 Rab ファミリーによる分泌経路の制御

福田光則（東北大学大学院 生命科学研究科･膜輸送機構解析分野）

細胞は，いわゆる「分泌経路（小胞体 → ゴルジ体 → 細胞膜を経由する小胞輸送経路）」を用いて様々な可溶性分子を細胞外に放出したり，細胞膜に膜蛋白質や脂質分子を輸送したりしている。この分泌経路の仕組みに関する研究は歴史が深く，2013 年度にはノーベル生理学・医学賞の対象ともなっている。一般的に，小胞体やゴルジ体から積み荷を含む小胞が出芽する際には，可溶性蛋白質と膜蛋白質は同じ輸送小胞に選別されると考えられており，多くの細胞生物学の教科書でもそのように記載されている。しかし，ゴルジ体からの小胞出芽の詳細な分子機構は未だ不明な点も多く，例えば，ゴルジ体から出芽する可溶性蛋白質の小胞と膜蛋白質の小胞が本当に同一であるかという問題も，これまで実験的には検証されていなかった。そこで私達は，すべての真核生物に保存された小胞輸送の制御因子である低分子量 G 蛋白質 Rab ファミリーに着目し，分泌経路の制御機構の解明に取り組んだ。

ヒトやマウスなどの哺乳類には, 58 種類もの Rab が共通して存在しており，約 40 種類のサブファミリー（Rab1~43）に分類されている。これらの Rab の分泌経路における役割を明らかにするため，まず腎臓上皮細胞由来の MCDK 細胞を用いて，CRISPR/Cas9 のゲノム編集技術により全ての Rab のノックアウト（KO）細胞株の樹立を試みた。その結果，致死になるためか得ることができなかった Rab1A/B-KO と Rab5A/B/C-KO 株を除き，全ての Rab サブファミリーの KO 細胞（例えば，Rab3-KO では Rab3A/B/C/D の 4 種類のアイソフォームを同時に KO）の作製に成功した。各種オルガネラマーカーの局在などを検討した結果，一部の KO 細胞でオルガネラの分布・サイズに異常が観察されたが，驚いたことに，いずれの KO 細胞でも頂底極性を有するほぼ正常な上皮細胞様の組織（2 次元モノレイヤー及び 3D シスト）を形成することが明らかになった。さらなる解析の結果，Rab6-KO 細胞では，3D シストにおいて細胞外マトリックス層が形成されず，その原因がラミニン，コラーゲンなどの可溶性蛋白質の分泌阻害に起因することが明らかになった。一方，細胞膜上の膜蛋白質の量については定常状態ではほとんど影響が見られなかった。これらの結果から，哺乳類細胞においては，ゴルジ体からの可溶性蛋白質を含む小胞の輸送は Rab6 に依存するが，膜蛋白質の細胞膜への輸送には別の仕組みが存在する可能性が強く示唆される（Homma et al. (2019) J. Cell Biol., in press）。

（10）リン脂質フリッパーゼによる生体膜ダイナミックス

申　惠媛（京都大学大学院薬学研究科）

生体膜の脂質二重層間においては脂質組成の非対称性が存在する。このような脂質二重層の非対称性は, ATP 依存的にリン脂質を細胞外からサイトゾル側へとフリップするフリッパーゼとその反対方向にリン脂質を輸送するフロッパーゼ，ATP 非依存的に二重層間のリン脂質をかき混ぜるスクランブラーゼによって調節されている。P4-ATPase は，フリッパーゼとして働く膜 10 回貫通型のタンパク質であり，P-type ATPase スーパーファミリーのサブファミリーである。多くの P-type ATPase（Ca-ATPase (SERCA), Na/K-pump, H/K-ATPase など）が陽イオンを輸送し膜内外のイオン濃度勾配を調節する役割を果たすのに対して，P4-ATPase はイオンよりはるかに大きいリン脂質を輸送する。これまでに，酵母の遺伝学的研究から P4-ATPase がメンブレントラフィックに関与することが示されていた。近年では私たちおよび他の研究から，多細胞生物においても P4-ATPase がメンブレントラフィック，細胞運動，細胞の形態変化に関与することが示唆された。メンブレントラフィックにおける小胞の形成においては膜の形態変化が必須であり様々なタンパク質が関与することが示されていた。一方で，膜の

曲率形成に脂質二重層間のリン脂質の組成変化が関与すると考えられていたが，P4-ATPase のフリップ活性が生体膜の曲率形成に関わるかどうかは不明であった。

これまでに私たちは，細胞膜に局在する P4-ATPase のうち，主に細胞膜の内葉に存在するホスファチジルセリンおよびホスファチジルエタノールアミンをフリップする ATP11A や ATP11C に加えて，細胞膜の外葉に多く存在するホスファチジルコリン（PC）をフリップする ATP8B1, ATP8B2, ATP10A を同定した。その中で，PC に対するフリップ活性が亢進すると細胞膜の形状が変化することを示唆した。さらに，膜曲率を認識し結合する BAR ドメインを利用した実験手法を用いて，ATP10A による PC フリップ活性の亢進が脂質二重層間のリン脂質量の変化をもたらすことで膜曲率を駆動することを示した。本発表では，局所における脂質二重層間のリン脂質量の変化による膜曲率の形成とメンブレントラフィックの関係について紹介し議論したい。

（11）自然免疫分子 STING の活性を厳密に制御する細胞内物質輸送

田口友彦，向井康治朗（東北大学大学院生命科学研究科 細胞小器官疾患学分野）

自然免疫は，侵入してきた病原体や異常になった自己の細胞をいち早く感知し，それを排除する仕組みであり，生体防御の最前線に位置している免疫応答である。最近，DNA ウイルスの感染などにより細胞質に持ち込まれるウイルス DNA に応答し，自然免疫応答を惹起するタンパク質 STING が同定された。STING は小胞体局在性の 4 回膜貫通タンパク質であるが，興味深いことに細胞質 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。

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（1-2）。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も明らかにした。また，デンマークの研究グループとの共同研究により，STING の Cys88/91 に共有結合することによってパルミトイル化反応を阻害してしまう内在性の STING 活性阻害分子（ニトロ化不飽和脂肪酸）を同定した（3）。

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明らかにした（1）。小胞体からの輸送と連動したゴルジ体でのパルミトイル化修飾が STING の活性化に重要であることが個体レベルでも示唆された。

上述したように，もともと STING 経路は DNA ウイルス感染応答経路として同定されたが，最近では自己由来 DNA を介した STING 経路の活性化が，老化や腫瘍免疫において重要な役割を果たすことが報告され，多いに注目されている。老化に伴う炎症を抑制するには STING 経路を阻害する必要があるが，腫瘍排除においては樹状細胞の STING 経路を活性化する必要があり，STING 経路の活性化・不活性化両面の分子機構を理解することは，重要な課題である。本講演では，STING の活性化・不活性化を制御する細胞内物質輸送経路についての最新の我々の知見を紹介し，議論させていただきたい。

【参考文献】

1. Mukai et al. *Nat Commun* **7**, 11932 (2016)
2. Taguchi and Mukai. *Curr. Opin. Cell Biol.* in press
3. Hansen et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 115, E7768-E7775 (2018)

（12）シナプスにおけるエクソサイトーシス・エンドサイトーシスのライブイメージング

平野丈夫（京都大学大学院理学研究科生物科学専攻生物物理学系）

神経細胞間での情報伝達を担うシナプスでは，シナプス前部に活動電位が到達すると，細胞内 Ca^{2+}濃度上昇を介して，すみやかにシナプス小胞のエクソサイトーシスが引き起こされ，その後シナプス小胞の再生に寄与するエンドサイトーシスが起こる。また，シナプス伝達効率はシナプスの使用状況等に依存して変化する可塑性を示すが，伝達効率が持続的に亢進する LTP（Long-Term Potentiation）に際しては受容体のエクソサイトーシス増加等が起こり，持続的な減弱である LTD（Long-Term Depression）に際しては受容体のエンドサイトーシスが亢進すると想定されてきた。

私たちの研究室では，こうしたシナプスでのエクソサイトーシス・エンドサイトーシスを高時空間分解能でリアルタイム可視化することをめざして，独自の実験系を確立した。それは，シナプス前膜または後膜をガラス面直上に形成させ，そこで受容体等膜タンパク質を蛍光標識し，全反射顕微鏡を用いて背景蛍光を低く抑えることにより，蛍光タンパク質シグナルの高 SN 比画像を取得する手法である。具体的には，シナプス形成誘導能を有するニューレキシンまたはニューロリジンでカバーガラスをコートし，その上に pH 感受性蛍光タンパク質である SEP を融合した AMPA 型グルタミン酸受容体等を発現させた海馬神経細胞を培養し，シナプス後膜またはシナプス前膜をガラス面上に形成させて蛍光観察を行った。その結果，シナプス内外での個々のエクソサイトーシスを観察でき，LTP 発現に際しては，各 AMPA 受容体サブタイプが異なるエクソサイトーシス制御を受けることが判明した。また，細胞外液を 0.1-0.2 ミリ秒で変化させる手法を用いることによって，エンドサイトーシスされた直後の細胞内小胞を検出することもできた。この方法を用いることによって，LTD 発現は AMPA 受容体のエンドサイトーシス亢進によるのではなく，エクソサイトーシス抑制により引き起こされることも明らかになった。シナプス前部では，シナプス小胞膜タンパク質であるシナプトフィジンに SEP を融合した分子の観察により，活動電位と良く同期したエクソサイトーシスはシナプス前膜の特定領域で起こりやすいこと，同期性の弱いエクソサイトーシスはそことは異なる領域で起こりやすいことが明らかになった。

（13）AMPA 型グルタミン酸受容体の精密動態を明らかにするためのケミカルラベル化法

清中茂樹（名古屋大学 大学院工学研究科 生命分子工学専攻）

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。グルタミン酸を認識して下流に情報を伝達す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，イオンチャネル型グルタミン酸受容体は主にポストシナプスに発現して早い興奮性神経伝達を司る。イオンチャネル型受容体の中でも，AMPA 型グルタミン酸受容体（AMPA 受容体）の動態変化は，記憶の分子メカニズムとして知られるシナプス可塑性に深く関わることが知られる。我々は，AMPA 受容体の神経細胞内での精密動態を解明するための有機化学的な方法論の開発を進めている。最近，リガンド指向性化学と名付けた小分子化合物を用いたケミカルラベル化法を用いることで, 神経細胞に内在する AMPA 受容体の可視化に成功した。その際には，有機小分子 CAM2 (chemical AMPAR modification 2) 試薬を用い，CAM2 試薬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 受容体を可視化できた。

前述した通り AMPA 受容体の細胞内動態は記憶学習と強く相関すると言われているため，その動態解析研究が活発に行われている。また，その動態を精密に解析するためには，膜表層など特定の細胞内環境の AMPA 受容体を厳密に可視化する必要がある。一方で，シナプスの微小空間を考えると, 我々が開発した CAM2 を用いたラベル化方法では，蛍光顕微鏡の限られた空間分解能

ゆえに，神経細胞・脳組織において細胞表層の AMPA 受容体のみを選択的に可視化できているかどうかを断言できない。そこで，CAM2 法を改変したラベル化方法を開発することで，蛍光顕微鏡の分解能では区別できない細胞内外の AMPA 受容体の動態解析を試みている。本発表では，CAM2 を改変した新たなラベル化方法，およびそれを用いた AMPA 受容体の動態解析への展開について報告する。

1) Wakayama S, Kiyonaka S*, Arai I, Kakegawa W, Matsuda S, Ibata K, Nemoto YL, Kusumi A, Yuzaki M, Hamachi I*. Chemical labeling for visualizing native AMPA receptors in live neurons. Nat. Commun. 8, 14850 (2017).

5. 上皮膜・間質の機能連関と病態発現機構解明のためのストラテジー

2019 年 9 月 5 日－9 月 6 日

代表：風間逸郎（宮城大学看護学群 専門基礎領域（医学））

世話人・所内対応者：古瀬幹夫（生理学研究所 細胞構造研究部門）

（１）TRPV1 チャネルの細胞内 ATP による制御メカニズム

清水貴浩（富山大学 大学院医学薬学研究部 薬物生理学研究室）

（２）炎症性腸疾患の線維化狭窄における消化管筋線維芽細胞 TRPA1 チャネルの役割

倉原　琳（香川大学 医学部 自律機能生理学）

（３）嚢胞性線維症および慢性呼吸器症状を有する患者の TPPP ファミリー遺伝子解析

樋口万佑子（名古屋大学 大学院医学系 健康栄養医学）

（４）日本人嚢胞線維症患者の分子病態生理学と治療学

相馬義郎（国際医療福祉大学 大学院薬学研究科 分子病態治療学分野･基礎医学研究センター）

（５）CFTR 相互作用分子解析に基づく気道上皮非感染性炎症応答機構の解明

福田亮介（関西学院大学 理工学部 生命医化学科 沖米田研究室）

（６）気道粘膜下腺からの Cl^-および HCO_3^-イオンの分泌調節機序の解明と病的分泌の制御

玉田　勉（東北大学 大学院医学系研究科 呼吸器内科学分野）

（７）Toll-like receptor 7 シグナルによる気道分泌抑制効果の細胞内機序解析と COPD 病態における関与の検討

蒲生俊一（東北大学 大学院医学系研究科 呼吸器内科学分野）

（８）骨髄巨核球の電気的細胞膜容量測定と慢性腎臓病における病的意義

風間逸郎（宮城大学 看護学群 専門基礎領域（医学））

（９）NKCC2 のエンドサイトーシスと電解質再吸収における Moesin の役割の解明

川口高徳（立命館大学 薬学部 分子生理学研究室）

（10）上皮―間葉の相互作用による腎臓オルガノイドの作製

高里　実（理化学研究所 生命機能科学研究センター ヒト器官形成研究チーム）

（11）尿酸排出トランスポーターABCG2 に関する生理学的・薬理学的研究

高田龍平（東京大学 医学部附属病院 薬剤部）

（12）Paracellular transport across tricellular tight junctions in the large intestine of ILDR1 knockout mice

Hempstock Wendy（静岡県立大学 薬食生命科学総合学府 生理学研究室）

（13）肺扁平上皮がん細胞におけるクローディンの異常発現と抗がん剤感受性の関係

五十里　彰（岐阜薬科大学 薬学部 生化学研究室）

（14）癌細胞内ナトリウムポンプを起点としたグルコース輸送体トラフィッキング制御機構

藤井拓人（富山大学 大学院医学薬学 薬物生理学研究室）

（15）腎臓の酸塩基調節機能：再考

河原克雅（仙台白百合女子大学 人間学部健康栄養学科）

（16）Effects of removing mucus on HCO_3^- and CO_2 transport in guinea-pig pancreatic duct

Liu Libin（名古屋大学 大学院医学系研究科 健康栄養医学）

（17）唾液腺からの Cl^-と水分泌の維持に関与する Na^+ -グルコース共輸送体活性

杉田　誠（広島大学 大学院医系科学研究科 口腔生理学研究室）

【参加者名】

風間逸郎（宮城大学看護学群専門基礎領域（医学）），玉田　勉（東北大学大学院医学系研究科呼吸器内科学分野），五十里　彰（岐阜薬科大学薬学部生化学研究室），安西尚彦（千葉大学大学院医学研究院薬理学），倉原　琳（香川大学医学部自律機能生理学），林　久由（静岡県立大学食品栄養科学部生理学研究室），Hempstock Wendy（静岡県立大学薬食生命科学総合学府生理学研究室），石塚典子（静岡県立大学食品栄養科学部生理学研究室），蒲生俊一（東北大学医学部大学院医学系研究科呼吸器内科学分野），高田龍平（東京大学医学部附属病院薬剤部），清水貴浩（富山大学大学院医学薬学研究部薬物生理学研究室），沖米田司（関西学院大学理工学部生命医化学科沖米田研究室），Liu Libin（名古屋大学大学院医学系研究科健康栄養医学），樋口万佑子（名古屋大学大学院医学系研究科健康栄養医学），石黒　洋（名古屋大学大学院医学系研究科健康栄養医学），福田亮介（関西学院大学理工学部生命医化学科沖米田研究室），相馬義郎（国際医療福祉大学薬学部薬学科･基礎医学研究センター分子病態治療学分野），酒井秀紀（富山大学大学院医学薬学研究部薬物生理学研究室），藤井拓人（富山大学大学院医学薬学研究部薬物生理学研究室），杉田　誠（広島大学大学院医系科学研究科口腔生理学研究室），河原克雅（仙台白百合女子大学人間学部健康栄養学科），丸中良典（京都工場保健会，立命館大学），川口高徳（立命館大学薬学部分子生理学研究室），高里　実（理化学研究所生命機能科学研究センターヒト器官形成研究チーム），矢崎友結（静岡県立大学食品栄養科学部生理学研究室），杉岡汐里（静岡県立大学食品栄養科学部生理学研究室），伊久美直毅（静岡県立大学薬食生命科学総合学府），中莖みゆき（名古屋大学医学系研究科健康栄養医学），浅野真司（立命館大学薬学部分子生理学研究室），斎藤大地（立命館大学薬学部分子生理学研究室），原田大毅（立命館大学薬学部分子生理学研究室），高橋昂平（立命館大学薬学部分子生理学研究室），栗原史弥（静岡県立大学），古瀬幹夫（生理学研究所細胞構造研究部門），泉　裕士（生理学研究所細胞構造研究部門），大谷哲久（生理学研究所細胞構造研究部門），菅原太一（生理学研究所細胞構造研究部門），平澤輝一（生理学研究所神経機能素子研究部門）

【概要】

本研究会では医学・薬学・歯学・栄養学などを専攻する研究者が集まり，とくに上皮膜のシグナルセンサーまたはジェネレーターとしての機能について，間質の細胞や因子との関連も含めながら，各々の研究成果を発表した。

まず，上皮膜が輸送体を介し，生体内部環境の恒常性を維持する例として，腎臓尿細管や膵外分泌腺，唾液腺，消化管に発現する各種トランスポーターの生理的意義についての報告がなされた。そして，上皮膜が間質由来のシグナルを感知するセンサーとして機能する例として，細胞の癌化におけるナトリウムポンプや細胞間接着因子の異常発現についての報告がなされた。また，上皮と間葉における直接的な相互作用の例として，発生・再生医学の分野から，ヒト iPS 細胞由来の腎臓オルガノイド作製についての報告がなされた。さらに，上皮膜に発現する輸送体の機能異常が，間質の細胞に向けてシグナルを発し，それが病態の発現に強く関与する例として，筋線維芽細胞 TRPA1 チャネルの発現亢進と炎症性腸疾患における線維化狭窄，Toll 様受容体を介した気道粘膜下腺の分泌調節と慢性閉塞性肺疾患の病態，気道上皮細胞 CFTR クロライドチャネルの遺伝子変異と嚢胞性線維症の発症，骨髄巨核球の電気生理現象と慢性腎臓病における造血機能との関連，についての報告がなされた。これらの研究成果では，疾患における新たな病態発現機構を解明するだけでなく，発現または機能異常の原因となった特定分子を標的とした新たな治療戦略をも導き出している。

本研究会を通し，分子・細胞生理学的な視点から上皮膜の機能を研究する者と，病態生理学的な視点からそれを研究する者とが，活発な討論を行うことができた。また，参加者総数 38 名中，大学院生 7 名，学部学生 4 名であり，発表 17 演題中 4 演題が大学院生（または医員）によるものであったことから，若手研究者にも発表と十分な議論の場を提供することができた。

（1）TRPV1 チャネルの細胞内 ATP による制御メカニズム

清水貴浩，柳瀬宣広，藤井拓人，榊原陽香，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）

消化管の感覚神経にも発現していることが知られている transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) は，トウガラシの辛味成分であるカプサイシン，熱，酸などの刺激により活性化する非選択性カチオンチャネルであり，消化管の生理機能を制御することが明らかになってきている。本研究では，ヒト TRPV1 を過剰発現している HEK293T 細胞にパッチクランプホールセル記録法を適用し，カプサイシン非存在下で観測される TRPV1 外向き電流に対する細胞内 ATP の影響について検討した。この TRPV1 外向き電流は，細胞内 ATP 濃度が上昇するにつれて増加した。ATP の非分解性アナログである AMP-PNP ではこの外向き電流がランダウンしたことから，TRPV1 チャネル活性の維持には ATP 加水分解が必要であることが示された。また TRPV1 チャネル活性には，イノシトールリン脂質シグナルが関与することが示唆された。さらに細胞内 ATP 濃度の上昇は，TRPV1 外向き電流の時間依存的な活性化も促進したことから，細胞内 ATP は TRPV1 チャネルの開閉機構を制御することが明らかとなった。TRPV1 は，虚血時に産生される酸性物質等により活性化し，内臓痛への関与も示唆されているが，今回の結果から，虚血に伴う細胞内 ATP 減少により，TRPV1 電流が負に調節される可能性が示唆された。

（2）炎症性腸疾患の線維化狭窄における消化管筋線維芽細胞 TRPA1 チャネルの役割

倉原　琳[1]，平石敬三[2]，胡　耀鵬[2]，古賀佳織[3]，鬼塚美樹[3]，井上隆司[2]，平野勝也[1]
（[1]香川大学医学部 自律機能生理学，
[2]福岡大学医学部 生理学，
[3]福岡大学医学部 病理学）

（研究背景・目的）

炎症性腸疾患の治療において，消化管線維化狭窄対する薬物治療法の開発は重要な課題である。炎症・線維化部位における線維芽細胞には TRPA1 チャネルが発現する。本研究では，炎症部位における組織線維化における TRPA1 の役割を明らかにし，これを標的とする消化管線維化狭窄治療法の有効性を検証した。

（方法）

クローン病患者の消化管生検標本および消化管筋線維芽細胞を用いて TRPA1 の発現を解析し，スクリーニングを行なった。Trpa1 ノックアウトマウスをゲノム編集により作製し，TNBS 慢性炎症・線維化モデルを作成し，消化管線維化に対して治療効果を検討した。

（結果）

クローン病患者の小腸・大腸の粘膜固有層の線維芽細胞に TRPA1 の発現を認め，線維化狭窄部位で発現が上昇した。大建中湯の成分（hydroxy α-sanshool, 6-shogaol），甘草，ローズマリー，セージおよびメースのエタノール抽出成分，甘草由来ステロイド，プレドニゾロン，メチルプレドニゾロン，ピルフェニドンが，筋線維芽細胞の TRPA1 チャネルを活性化し，コラーゲン合成を抑制した。大建中湯またはプレドニゾロンは，TNBS マウス消化管線維化を抑制した。

（結論）

消化管線維化部位に TRPA1 の発現が亢進し，その活性化が線維化を抑制する。TRPA1 を活性化し，抗線維化作用を示す化合物を，大建中湯，植物抽出成分，既存の抗線維化薬から見出した。

（3）嚢胞性線維症および慢性呼吸器症状を有する患者の TPPP ファミリー遺伝子解析

樋口万佑子，篠原恭介，中莖みゆき，山本明子，石黒　洋
（名古屋大学大学院医学系研究科健康栄養医学）

嚢胞性線維症（Cystic Fibrosis；CF）は，CFTR（CF transmembrane conductance regulator）Cl^- チャネルの機能が失われることにより発症する劣性遺伝性の難病である。全身の上皮膜のイオン・水輸送が障害されるが，気道では気道液（airway surface liquid）が過度に粘稠になって粘膜線毛輸送系が不調になることにより，感染を繰り返し気管支拡張症や慢性副鼻腔炎が生じる。

CF との鑑別が必要な疾患の一つに原発性線毛運動不全症（Primary Ciliary Dyskinesia；PCD）がある。PCD では，線毛の障害により，CF と同様に気管支拡張症や慢性副鼻腔炎を呈する。線毛の形成や運動には多くの分子が関わっているが，近年 TPPP が注目されている。

TPPP（tubulin polymerization promoting protein）ファミリーには，TPPP，TPPP2，TPPP3 の 3 つのパラログが存在する。当研究室は，全国の医療機関から依頼されて *CFTR* 遺伝子解析を行っているが，CF 様の呼吸器症状がありながら *CFTR* 遺伝子変異が検出されない患者がいる。そのため，本研究では，*CFTR* 遺伝子の両アレルに CF 原因変異が検出された患者 30 名，呼吸器症状があり *CFTR* 遺伝子変異が検出されなかった患者 34 名を対象として，TPPP，TPPP2，TPPP3 の遺伝子変異を検索した。検索範囲としては, エクソン及びその前後のイントロン部分のシーケンスを行った。合計 24 種類の SNV（single nucleotide variant）が見つかり，そのうち MAF（minor allele frequency）が低値であったものは 5 つであった。さらにその 5 つについて Mutation Taster (http://www.mutationtaster.org/）で調べた結果，疾病と関係があると予測されたものは 1 つであった。

（4）日本人嚢胞線維症患者の分子病態生理学と治療学

相馬義郎，君島莉央，相馬光流，小林奈央，岩井翔吾
（国際医療福祉大学･薬･分子病態治療学分野/基礎医学研究センター）

嚢胞線維症 Cystic Fibrosis (CF) は，白人種における代表的な遺伝性疾患のひとつである。日本人を含む他人種においては，CF 患者の数は少ないが，白人種とは異なるタイプの CFTR 変異がみられる。

日本人に最も高頻度にみられる病因性変異はエクソン 16-17 b にわたる大規模欠損変異である（Nakakuki et al. J Hum Genet 2012）。16-17 b 欠損変異では，CFTR 蛋白における 970 番目に位置するグリシン（G970）から，1122 番目のトレオニン（T1122）までの 153 個のアミノ酸の欠損がフレームシフトなしに起こるため（Δ(G970-T1122) 変異），3 つの膜貫通ヘリックス TM9-11 および 4 番目の細胞内ループ ICL4 に相当する部分が失われる。この Δ(G970-T1122) 変異体では，蛋白は合成されるが，ゴルジ体での糖鎖修飾等の成熟過程が正常に行われず，細胞膜での発現が阻害されて（class Ⅱ変異）いることが明らかになった（Wakabayashi-Nakao et al. JPS 2018）。

日本で同定された 21 種類の病因性 CFTR 変異のうち，蛋白が合成されない class I 変異が 1 種類, Δ(G970-T1122) 変異に加え，2 番および 3 番目に多い L441P と H1085R 変異を含む class Ⅱ変異が 11 種類，そして細胞膜への発現は正常であるが，チャネル機能が障害されている class Ⅲ/Ⅳ変異が 10 種類含まれていた。さらに，欧米で最も多くみられる class Ⅱ変異 ΔF508 の治療薬として開発された VX-809 (Lumacaftor) の，日本人特有の CFTR 変異への効果についても検討した。

（5）CFTR 相互作用分子解析に基づく気道上皮非感染性炎症応答機構の解明

福田亮介，沖米田　司（関西学院大学 理工学部 生命医化学科）

気道上皮細胞は感染や環境ストレスに対する生体バリアの最前線であり, 種々の炎症性疾患の発症に関わっている。CFTR は気道上皮細胞の形質膜上に発現する cAMP 依存性 Cl^-イオンチャネルであり，細胞外水分量や pH の調節に寄与する。CFTR の発現や機能の低下は呼吸器炎症病態を示す嚢胞性線維症（CF）や慢性閉塞性肺疾患（COPD）で認められ, 非感染性及び感染性の炎症応答を生じることから初期の病態形成と慢性化の両方に関与すると考えられる。そこで本研究では CFTR 相互作用分子に焦点を当て，CFTR 機能低下が非感染性炎症を誘導する機構を解明することを目的にした。CF 患者由来気道上皮細胞を用い，形質膜に輸送される正常な CFTR に特異的な相互作用分子群を BioID 法により探索した結果, 形質膜局在性の新規相互作用分子を 12 種同定した。その中でも受容体型チロシンキナーゼである Receptor X (RX) は CFTR の欠失に伴い誘導される IL-8 放出を正に調節していることが siRNA 及び阻害剤を用いた検討より示された。CFTR は隣接する細胞間における RX とそのリガンドのトランス相互作用を安定化すること，また，RX の形質膜からのターンオーバーを促進し, 炎症性シグナルを抑制することも示された。これらの結果より RX が CFTR 制御性の気道上皮非感染性炎症における新たな治療標的として同定された。

（6）気道粘膜下腺からの Cl^-および HCO_3^-イオンの分泌調節機序の解明と病的分泌の制御

玉田　勉（東北大学大学院医学系研究科呼吸器内科学分野）

慢性閉塞性肺疾患（COPD）や重症喘息などにおいて，慢性的に喀痰の多い症例は呼吸機能の経年的低下率が大きく，増悪頻度が有意に多く，予後不良であり，その対策は急務である。ヒト気道分泌の中心は気道粘膜下腺が担っており，迷走神経末端からのアセチルコリン（Ach）刺激の強弱で分泌量が調節されているものの, 病的状態における過剰分泌や質的異常の機序は未解明の部分が多い。

我々は, ヒトと機能的および構造的に類似した分泌腺を有する新鮮ブタ気管を用いて, 生理的環境下での気道粘膜下腺からの電解質分泌機序の解明と病的条件下での変化について検討を行った。パッチクランプ法を用いた Cl^-イオン電流による評価では，低濃度 ACh 刺激後に細胞内カルシウム Oscillation に伴いイオン電流が惹起され，このイオン電流の維持に細胞内一酸化窒素（NO）の適度な上昇が関与していることを明らかにした。過分泌を伴う COPD の気道では細菌の慢性的な定着が認められることが多いが, これらの細菌由来の成分のいくつかが分泌腺細胞表面に発現する Toll 様受容体（TLR）システムを介して分泌液の量的異常を引き起こすことも明らかにした。

気道粘膜腺からの HCO_3^-イオン分泌は, ①慢性炎症によって過剰に酸性に傾いた気道被覆液を中和し, ②気道被覆液 pH の緩衝能を高めて適度な pH を維持する，など気道粘膜の恒常性に寄与する。我々は，気道漿液腺由来培養細胞である Calu-3 細胞に Microelectrode 法を用いて，細胞膜電位測定と細胞内 pH の評価により，Isoproterenol など細胞内 cAMP を上昇させる刺激が CFTR からの HCO_3^-イオン分泌を惹起し，ACh などの細胞内カルシウムを上昇させる刺激がこの反応を Cl^-分泌にシフトさせることを明らかにした。

ブタ気管をミネラルオイルで被覆し，気管内腔に分泌される様子，いわゆる hillock formation を実態顕微鏡で可視化することにも成功し，生体内でも同様の調節機序が存在することを解明しつつある。現在 COPD 治療薬として広く使用されている長時間作用性抗コリン薬（LAMA）や 長時間作用性 β2 刺激薬（LABA）が気道分泌液に与える影響も検討している。

本研究会では我々がこれまで行ってきた気道粘膜下腺からの水分-電解質分泌調節機序に関する知見を紹介し，慢性気道炎症疾患の新たな治療戦略を考察する。

（7）Toll-like receptor 7 シグナルによる気道分泌抑制効果の細胞内機序解析と COPD 病態における関与の検討

蒲生俊一，玉田　勉（東北大学大学院医学系研究科呼吸器内科学分野）

（背景・目的）

Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) の中でも，慢性的に喀痰の多いタイプは増悪し易い事が知られている。また COPD や気管支喘息等の慢性気道炎症病態において，自然免疫の関与が注目されつつある。今回我々は，Toll-like receptor (TLR) 7 シグナルの生理的気道分泌に対する影響と COPD 気道での TLR7 発現の変化を検討した。

（方法）

食肉工場で得た屠殺後の新鮮ブタ気管と，当院での肺癌に対する手術検体から得たヒト気管を実験に用いた。ブタ・ヒト気管への免疫組織学的検討の他，ブタ気道については粘膜下腺を単離分散し，パッチクランプ法，細胞内 calcium (Ca^{2+}) アッセイを施行した。

（結果）

パッチクランプ法では，低濃度アセチルコリン（Ach）刺激による生理的水分・電解質分泌を反映する chloride (Cl^-)・potassium (K^+) 各イオン電流に対し，TLR7 リガンドが抑制効果を示した。細胞内 Ca^{2+}アッセイおよび sarco/endoplasmic reticulum Ca^{2+}-ATPase2 (SERCA2) 阻害薬を用いた薬理学的検討で，TLR7 リガンドが SERCA2 に直接作用し活性化させる事で，低濃度 ACh 刺激による生理的細胞内 Ca^{2+} 濃度 ($[Ca^{2+}]_i$) 上昇からの定常状態への回復を促進した。免疫組織学的検討では，気道粘膜下腺細胞で TLR7 と SERCA2 が近傍に発現し，かつ COPD 気道で TLR7 発現が低下していた。

（結論）

TLR7 シグナルは SERCA2 活性化を介し漿液性気道分泌を抑制した。COPD 増悪は多くの場合ウィルス感染を契機とし，気道過分泌の関与が知られている。正常気道では Rhinovirus，influenza virus 等を認識する TLR7 が気道過分泌を制御し得るものの，COPD 気道ではその発現低下から TLR7 機能不全を来し増悪に至る可能性が示唆された。

（8）骨髄巨核球の電気的細胞膜容量測定と慢性腎臓病における病的意義

風間逸郎（宮城大学看護学群 専門基礎領域（医学））

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（membrane capacitance; Cm）の経時的な増加として検出できる。われわれは先の研究で，ラット骨髄由来の巨核球に対し本電気生理学的手法を用いることにより，サリチル酸やクロルプロマジンなどの両親媒性の薬物が，Cm を有意に減少させることにより，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。

腎不全の病態下では血小板機能が低下するが，血小板産生能については知られていない。そこでわれわれは，腎不全モデルラット骨髄由来の巨核球に対して電気的細胞膜容量測定法を用いることにより，その血小板産生能について検討した。その結果，これらの巨核球では単位球面積当りの膜容量が有意に増加しており，Di-8-ANEPPS 染色の結果と併せ，血小板産生能が亢進しているためと考えられた。さらに，各組織における Thrombopoietin (TPO) の発現を，リアルタイム PCR 法により調べた結果，腎不全ラットでは，とくに肝臓と骨髄において発現が有意に増加していた。以上の結果より，腎不全病態下の骨髄における血小板産生能の亢進は，血小板機能低下に対する反応性変化であると考えられた。また，肝臓と骨髄における TPO 産生亢進は，腎臓での TPO 産生低下に対する代償性変化であると考えられた。

（9）NKCC2 のエンドサイトーシスと電解質再吸収における Moesin の役割の解明

川口高徳（立命館大薬学部）
波多野　亮（千葉大学大学院医学研究院）
浅野真司（立命館大薬学部）

$Na^+/K^+/2Cl^-$共輸送体 2（NKCC2）は腎尿細管の太いヘンレの上行脚の管腔膜上において電解質の再吸収を担う輸送体であり，遺伝的変異が電解質再吸収不全を特徴とする I 型 Bartter 症候群を引き起こすこと，ループ利尿薬の標的分子であることなどから生理的な重要性が高い。近年，腎尿細管において細胞骨格関連タンパク質 Moesin が NKCC2 と複合体を形成し，NKCC2 の細胞内小胞輸送に関与することが報告された。しかし，腎臓における Moesin の生理機能については未だ明らかとなっていない。本研究では，Moesin ノックアウト（MKO）マウスを用いて，Moesin 欠損時の NKCC2 のエンドサイトーシスへの影響と尿細管での再吸収に関わるフェノタイプを解析した。

その結果，MKO マウスでは，細胞膜上での NKCC2 の発現上昇が見られ，これに対応したフロセミド感受性の K^+輸送活性の上昇が観察された。また，MKO マウスでは，エンドサイトーシスの抑制，エンドサイトーシスに重要である脂質ラフトでの NKCC2 の発現レベルの低下が見られた。*in vivo* における解析では，MKO マウスは Na^+および Cl^-の尿中への排泄量が低下し，高 Cl^-血症を呈することが明らかとなった。

（10）上皮—間葉の相互作用による腎臓オルガノイドの作製

高里　実（理化学研究所 生命機能科学研究センター）

末期腎不全に対する有効な治療法が開発されない中，人工的な腎臓を作成し移植する手法の開発が期待されている。しかし，複雑な 3 次元構造を取る腎臓を人工的に構築するなど本当に可能なのであろうか。我々は 2015 年，自己組織化と呼ばれる細胞の天性の力を利用した自律的な 3 次元組織構築法を用いることで，ヒト iPS 細胞から腎臓オルガノイド（ミニ腎臓）を作成した。その誘導過程でヒト iPS 細胞は後部原始線条を経て，中間中胚葉から腎臓の 2 つの前駆細胞（上皮細胞と間葉細胞）を辿り，最終分化地点である腎臓組織へと変化する。この過程は，モデル動物から得られた腎臓発生の知見と合致するものである。腎臓オルガノイドは主要な腎臓組織（糸球体，近位尿細管，遠位尿細管，集合管，腎間質細胞，血管）を内包するだけでなく，再吸収機能など一部の腎臓機能も備えていた。これは，腎臓オルガノイドが腎毒性検査用途として，ある程度有用なプラットフォームになる可能性を示している。ただ，移植可能な一個の臓器を作るという目的に照らすと，腎臓オルガノイドは本物の腎臓とは形も大きさも成熟度も異なる未熟な組織であり，ヒト腎臓を代替できる程には本当の腎臓形成を模倣しているとは言えない。本講演では，腎臓オルガノイドの持つ特徴と，医療応用可能な腎臓を作成するために克服しなければならない課題について紹介し，腎臓再生医療の未来を展望する。

（11）尿酸排出トランスポーターABCG2 に関する生理学的・薬理学的研究

高田龍平，宮田大資，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。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，尿毒素輸送，慢性腎不全との関連性や薬物治療など，最新の知見を交えて紹介する予定です。

（12）Paracellular transport across tricellular tight junctions in the large intestine of ILDR1 knockout mice

Wendy Hempstock[1]，Shiori Sugioka[1]，Noriko Ishizuka[1]，Mikio Furuse[2]，Hisayoshi Hayashi[1]
（[1]Department of Food and Nutritional Science, University of Shizuoka,
[2]Department of Cellular Structure, National Institute of Physiological Sciences,
Department of Physiological Sciences, The Graduate University for Advanced Studies）

It has previously been reported that ILDR1 KO mice have water transport abnormalities in the kidney. Since ILDR1 is the main tTJ protein in the large intestine, the goal of this research was to examine the effect of ILDR1 KO on large intestinal paracellular transport. Using ILDR1 KO mice, urine, stool, and luminal contents were analyzed for Na^+ and K^+ content. Urine osmolality was also measured in normal and water restricted conditions. Paracellular ^{22}Na and ^{3}H-mannitol flux and water transport were measured. Expression of tTJ proteins was measured by real time RT-PCR and immunofluorescence of ILDR1 and the tTJ protein LSR was assessed. There was no change in ^{22}Na and ^{3}H-mannitol flux or water transport in KO mice. ILDR1 KO mice could concentrate urine, but after 24 hour water restriction, there was a significant difference in urine osmolality (2.6 ± 0.17 vs 3.7 ± 0.09 Osmol/Kg H_2O KO vs WT, p=0.003, independent t-test). Relative mRNA abundance of other tTJ proteins did not change, however immunofluorescence showed that in ILDR1 KO mice, LSR compensates for ILDR1 in the tTJ by changing its expression pattern, and likely as a result, paracellular transport is maintained.

（13）肺扁平上皮がん細胞におけるクローディンの異常発現と抗がん剤感受性の関係

五十里　彰（岐阜薬科大学 生命薬学大講座 生化学研究室）

細胞間接着分子であるクローディン（CLDN）の異常発現が，多くの固形がん組織で報告されているが，その発現制御機構や病態生理的意義は不明な点が多い。我々はヒト肺扁平上皮がん組織を用いて, CLDN1 と CLDN11 の発現量が増加することを見出した。そこで，ヒト肺扁平上皮がん由来 RERF-LC-AI 細胞を用いて，CLDN1・11 が抗がん剤感受性に及ぼす効果を検討した。二次元培養下で CLDN1･11 の発現をノックダウンしたところ，抗がん剤の cisplatin や doxorubicin（DXR）に対する感受性は有意に変化しなかった。トランスウェルに培養したところ，上皮膜間電気抵抗値は低い値を示したが，lucifer yellow（細胞間透過性蛍光マーカー）と DXR の透過性が抑制された。三次元培養下でスフェロイドを形成したところ，CLDN1･11 のノックダウンによって，DXR に対する感受性が亢進した。次に，CLDN1･11 の発現低下作用を有する化合物を探索した。数種類のフラボノイドの効果を検討し, chrysin が CLDN1･11 発現量を低下させることを見出した。Chrysin は Akt の阻害を介して，CLDN1･

11 発現量を低下させることが示唆された。肺扁平上皮がん細胞に高発現する CLDN1･11 は新たな治療標的になり，chrysin はアジュバント薬として有用であると考えられる。

（14）癌細胞内ナトリウムポンプを起点としたグルコース輸送体トラフィッキング制御機構

藤井拓人 [1]，大坪愛実 [1]，Nguyen Thi Tu Oanh[1]，加藤瑞希 [1]，清水貴浩 [1]，竹島　浩 [2]，酒井秀紀 [1]
（[1] 富山大学院薬 薬物生理学，[2] 京都大学院薬 生体分子認識学）

上皮において正常細胞のエネルギー代謝の恒常性維持には細胞膜を介したグルコース輸送が重要であるが，癌化により原形質膜においてグルコース輸送体 GLUT1 の発現が異常亢進することでエネルギー代謝の制御機構は大きく変化する。我々は，ナトリウムポンプ阻害剤の強心配糖体（ouabain，oleandrin，digoxin）が，ヒト肝癌由来 HepG2 細胞における GLUT1 発現レベルを濃度依存的（20-2000 nM）に減少させ，癌細胞内へのグルコース取込みを阻害することを見出した。強心配糖体は，HepG2 細胞の増殖に対しても同様の濃度依存性で抑制した。各種阻害剤を用いた実験を行い，強心配糖体が CaMKII を活性化することで，GLUT1 のエンドサイトーシスおよび分解が促進される一連の新規スキームが明らかとなった。また，[^{3}H]-ouabain を用いたトレーサー実験より ouabain が時間依存的に HepG2 細胞に取り込まれること，原形質膜のナトリウムポンプの ouabain に対する親和性がヒトに比べて著しく低いラット肝癌細胞（dRLH-84）を用いた実験より，強心配糖体の標的が原形質膜のナトリウムポンプではなく，癌細胞に異常発現する細胞内ナトリウムポンプであることが示唆された。本研究により，癌細胞内ナトリウムポンプを起点として GLUT1 のトラフィッキングを制御する新たな抗癌メカニズムが明らかとなった。

（15）腎臓の酸塩基調節機能：再考

安岡有紀子（北里大学医学部生理学）
野々口博史（北里大学メディカルセンター内科）
戸恒和人，関野　慎（宏人会中央クリニック）
河原克雅（北里大学医学部生理学，宏人会中央クリニック，仙台白百合女子大学）

健康なヒトの血漿 pH は，肺（呼吸）と腎臓（尿生成）が相互に補完し合う重炭酸イオン緩衝（HCO_3^- buffer）系で正常域内に維持されている。しかし，腎臓のセンサー機能が全身性（代謝性）アシドーシス（**MA**）を見逃し（Case 1），自らがアシドーシスの原因になる（高 Ca 血症性アルカリ尿分泌）（Case 2）。Case 1: TASK2* KO マウスは，血漿 pH と[HCO_3^-] が正常値以下（**MA**）でも，近位尿細管の代償的アンモニア産生と尿の酸性化がおきなかった。一方，低 Pi 食で飼育されたマウスは，血漿[Pi]は正常域内に維持されたが，高 Ca 血症（9.8 mg/dL）になった。さらに，**MA**（pH 7.32 (低 Pi 食) vs. 7.37 (標準食)）を示したが，逆説的なアルカリ尿（7.31±0.09** vs. 6.13）を排泄した。Pendrin** KO マウスを低 Pi 食で 6 日間飼育すると，通常食飼育マウスに比べ依然高 Ca 血症（9.0 mg/dL）を示した。この血漿データで酸性尿（pH 5.0）を排出し，血漿 pH は「正常~アルカリ化」した（pH 7.38）。これらの結果は，「腎臓が，必ずしも全身の血漿 pH 制御（正常域内維持）を第一義的に考えていないこと」を意味する。

*__TASK2__: TWIK-related acid sensitive K^+ (TASK) 2 channels; TWIK: tandem of P domains in a weak inwardly rectifying K^+ channel; Expressed in the basolateral membrane of the proximal tubule cells.

**__Pendrin__: Apical Cl^-/HCO_3^- exchanger (Pendrin); expressed in the kidney collecting ducts type B intercalated cells (IC-B).

（16）Effects of removing mucus on HCO_3^- and CO_2 transport in guinea-pig pancreatic duct

Libin Liu，Akiko Yamamoto，Itsuka Taniguchi，Nao Nomura，Miyuki Nakakuki，Hiroshi Ishiguro
（Department of Human Nutrition, Nagoya University Graduate School of Medicine）

Exocrine pancreas not only contains acinar and duct cells, but also a number of goblet cells. Goblet cells secrete high-molecular-weight glycoproteins, mucins. When mucins is secreted out of the cell and hydrated, mucins form mucus. The mucus layer is largely composed of glycoproteins, proteoglycans, lipids, electrolytes, and water. Thus, mucus exists on the luminal surface of pancreatic duct epithelial cells. However, the physiological role of mucus in pancreatic duct is largely unknown.

In the present study, we examined the effects of removing mucus on HCO_3^- and CO_2 transport in guinea-pig pancreatic duct cell. Interlobular pancreatic duct segments (diameter: 100-150 μm) were isolated and the lumen was microperfused separately from the bath. We tried to remove luminal mucus by applying N-acetyl-L-cysteine (acetylcysteine, 6 or 12 mg/ml) for 6 min to the luminal perfusate. Intracellular pH (pH_i) was measured in duct cells loaded with BCECF.

When ducts were luminally perfused with 125 mM HCO_3^- -5 % CO_2 solution, luminal application of acetylcysteine caused significant ($p<0.05$) pH_i increase by 0.14±0.017 (n=6).To examine HCO_3^- and CO_2 transport across the apical membrane, bath and lumen were first perfused with HCO_3^--CO_2 -free Hepes-buffered solution and the luminal perfusate was switched to 125 mM HCO_3^- -5 % CO_2 solution. pH_i rapidly decreased due to CO_2 diffusion into the cells and cells remained acidified. Initial pH_i decline was ~36 % faster ($p<0.05$) after luminal treatment with acetylcysteine (n=6). To examine HCO_3^- permeability of the apical membrane, duct cells were stimulated by forskolin (1 μM) and depolarized by applying 70 mM K^+ to the bath. When the luminal perfusate was switched to 125 mM HCO_3^-5 % CO_2 solution, pH_i transiently dropped and then steadily increased due to HCO_3^- entry cell via CFTR. The rate of pH_i increase was ~43 % faster ($p<0.05$) after treatment with acetylcysteine (n=6).

These data suggest that removal of luminal mucus enhances HCO_3^- and CO_2 permeability of the apical membrane in guinea-pig pancreatic duct cell.

（17）唾液腺からの Cl^-と水分泌の維持に関与する Na^+-グルコース共輸送体活性

杉田　誠[1]，竹安美彩[2]，村上知徳[1]，寺地桃未[1]，香西克之[2]
（[1]広島大学大学院医系科学研究科・口腔生理学研究室，
[2]広島大学大学院医系科学研究科・小児歯科学研究室）

糖尿病患者では唾液分泌量の減少がみられるが，減少機構には不明な点が多い。唾液腺腺房細胞では副交感神経性刺激により細胞内 Ca^{2+}濃度が上昇し，Ca^{2+}依存性 Cl^-チャネル（TMEM16A）が開口し腺腔側へ Cl^-が分泌され，水分泌を駆動する。基底側方膜の Na^+-K^+-$2Cl^-$共輸送体（NKCC）を介する細胞内への Cl^-取り込みが Cl^-分泌を持続させ，水分泌を維持する。本研究では摘出顎下腺の灌流標本での唾液分泌速度測定，および分離腺房細胞でのグラミシジン穿孔パッチクランプ解析を用い，carbachol 刺激により誘発される水分泌の細胞外グルコース濃度とグルコース輸送体活性への依存性とその機構を探究した。carbachol 刺激は顎下腺より持続的な水分泌を引き起こしたが，細胞外グルコース濃度を 2.5 mM より低下させた場合，および 5 mM より上昇させた場合には水分泌速度は減少した。Na^+-グルコース共輸送体 SGLT1 を阻害する phlorizin の投与により水分泌は抑制され，SGLT1 を介する細胞内へのグルコース輸送は水分泌を維持するためにリアルタイムで必要とされる。細胞外グルコース濃度の低下時と phlorizin 投与時，および逆にグルコース濃度を上昇させた際も，細胞内 Ca^{2+}濃度上昇は影響されず，水分泌速度が減少した。細胞外グルコース濃度の上昇時とは対照的に，グルコース濃度低下時には NKCC 依存的な TMEM16A を介する Cl^-分泌が抑制され，水分泌が抑制されることが示唆された。

6. 温熱生理研究会

2019 年 8 月 22 日－8 月 23 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）単離した脳血管/くも膜標本による炎症時のプロスタグランジン E_2 産生機構の解析

北川大夢[1]，伊吹京秀[2]，長瀬幹英[3]，岡村将汰[3]，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，[3]大阪工業大学 工学部）

（２）温熱刺激が骨格筋代謝に及ぼす影響

後藤亜由美[1]，江川達郎[2]，吉原利典[3]，柿木　亮[3]，都築孝允[3]，内藤久士[3]，林　達也[2]

（[1]中部大学 生命健康科学部，[2]京都大学 総合人間学部，[3]順天堂大学 スポーツ健康科学部）

（３）心臓のマルチスケールな構造に備わっている温度を活用する仕組みの研究

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）

（４）暑熱順化によるマウスの自発的運動量の変化

増田雄太，丸井朱里，加藤一聖，永島　計（早稲田大学 人間科学研究科 体温･体液研究室）

（５）生体信号採取による温熱負荷の評価法の検討

加藤一聖[1]，増田雄太[1]，丸井朱里[2]，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 体温・体液研究室）

（６）性周期が就寝中の胸部皮膚温度に及ぼす影響

丸井朱里，伊藤花歩，永島　計（早稲田大学 人間科学学術院 体温･体液研究室）

（７）Effect of menstrual cycle phase on skin temperature and thermal sensation in the feet during menthol application in young women

Yuki Uchida[1]，Chinami Tsunekawa[1]，Izumi Sato[1]，Keiko Morimoto[2]

（[1]Women’s Environmental Science Laboratory, Faculty of Human Life and Environment, Nara Women’s University,

[2]Faculty of Human Life and Environment, Nara Women’s University）

（８）Thermal Gradient Ring を用いたマウスの温度依存的行動解析

宇治澤知代[1]，DEROUICHE Sandra[1,2]，富永真琴[1,2]

（[1]生命創成探究センター 温度生物学研究グループ，[2]生理学研究所 細胞生理研究部門）

（９）ヒト褐色脂肪組織活性の日内変動

斉藤昌之[1]，松下真美[2]，二連木晋輔[3]，坂根直樹[3]，李　相逸[4]，若林　斉[4]

（[1]北海道大学，[2]天使大学 看護栄養学部栄養学科，

[3]京都医療センター 予防医学研究室，[4]北海道大学 工学研究院 環境人間工学研究室）

（10）介護者と利用者の視点から見た高齢者施設の夏期の温熱・におい環境について

横江　彩[1]，光田　恵[2]（[1]中部大学 工学部，[2]大同大学 工学部）

（11）褐色脂肪細胞およびベージュ細胞が持つ新たな可能性 ～尿路結石形成の抑制～

杉野輝明[1]，田中勇太郎[1]，海野　怜[1]，田口和己[1]，濵本周造[1]，安藤亮介[1]，

岡田淳志[1]，最上　徹[1]，郡　健二郎[1]，山下　均[2]，安井孝周[1]

（[1]名古屋市立大学大学院 医学研究科 腎･泌尿器科学分野

[2]中部大学 生命健康科学部 生命医科学科）

（12）CREG1 の病態生理学的役割の解明

山下　均[1]，橋本理尋[2]，竹内　環[1]，遠藤優貴[1]，後藤亜由美[1]，
片岡直也[3]，岡田只士[4]，向井貴子[5]，楠堂達也[5]
（[1]中部大学 生命健康科学部，[2]旭川医科大学 CARE，[3]名古屋大学大学院 医学研究科，
[4]富山県立大学 工学部，[5]帝塚山学院大学 人間科学部）

（13）ハムスターにおける褐色脂肪組織の生後発達と恒温性の獲得

岡松優子[1]，坪田あゆみ[1]，長屋一輝[1]，前　潤之助[1]，小林純子[2]，木村和弘[1]
（[1]北海道大学大学院 獣医学研究院，[2]北海道大学大学院 医学研究院）

（14）マウス Torpor の近交系での比較

吹田晃享[1,2]，砂川玄志郎[2]，森松博史[1]，高橋政代[2]
（[1]岡山大学大学院 医歯薬総合研究科 麻酔･蘇生学分野，
[2]理化学研究所 網膜再生医療研究開発プロジェクト）

（15）Cold-inducible RNA-binding protein の冬眠様選択的スプライシング調節機構の解明

堀井有希[1]，島岡弘樹[1]，堀井和広[1]，椎名貴彦[1]，志水泰武[1,2]
（[1]岐阜大学大学院 連合獣医学研究科 獣医生理学研究室
[2]岐阜大学 生命の鎖統合研究センター(G-CHAIN) ）

（16）マウス日内休眠を制御する神経回路の解析

山口裕嗣（名古屋大学 環境医学研究所 神経系分野 2）

（17）シリアンハムスターの脳内で産生される硫化水素の体温に及ぼす影響

渡邊正知，門田麻由子，田村　豊（福山大学 薬学部)

【参加者名】

斉藤昌之・岡松優子（北海道大学），永島　計・丸井朱里・加藤一聖・増田雄太（早稲田大学），松田真由美（国際医療福祉大学），志水泰武・堀井有希（岐阜大学），山下　均・横江　彩・新谷正嶺・後藤亜由美・遠藤優貴（中部大学），中村和弘・山口裕嗣（名古屋大学），杉野輝明（名古屋市立大学），中村　毅（小山田記念温泉病院），岩崎有作・大林健人（京都府立大学），内田有希（奈良女子大学），砂川玄志郎・吹田晃享（理化学研究所），眞野博彰（情報通信研究機構），松村　潔・北川大夢（大阪工業大学），渡邊正知（福山大学），中村康平（トヨタ紡織 ㈱ ），富永真琴・齋藤　茂・Derouiche Sandra・宇治澤知代・李　天邦・水藤拓人・Feng Xiaona・Nguyen Thi Hong Dung・鄧　香梅・Deveci Aykut・雷　晶・Boudaka Ammar（生理学研究所）

【概要】

2019 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１７題の研究成果発表と活発な討論が行われた。

北川はラット脳血管では炎症時 PGE2 産生における AA 供給にカナビノイド系が関わる可能性を示した。後藤はラット単離筋への温熱刺激は AMPK 活性化を介して糖取込を促進すること，新谷は温度依存的な自律振動特性が心拍を支える重要因子であること，増田は暑熱環境下における自発運動と体温変化に対する順化の影響を其々示した。また装着型センサーを用いて，加藤は暑熱下運動時の体温上昇と心血管系負荷との関連，丸井は就寝中の胸部皮膚温から性周期の基礎体温を推定できることを報告した。内田は若齢女性足指へのメントール塗布が皮膚温並び温度感覚に及ぼす影響を排卵期との関連から示した。宇治澤は circular thermal gradient 装置を用いて各種 TRP-KO マウスの温度感受性の違いを明らかにした。斎藤はサーモグラフィー褐色脂肪評価法により褐色脂肪活性の日内変動を報告した。横江は高齢者介護施設における温熱環境とにおいの関係について解析結果を報告した。杉野は褐色・ベージュ細胞の尿路結石抑制作用に関する知見を紹介し，山下は褐色脂肪化を促進する内分泌因子 CREG1 に関する成績を報告した。岡松はハムスター褐色脂肪組織の生後発達と恒温性獲得と

の関連を示した。吹田は２種類のマウス ES 細胞を用いて生育温度による増殖と糖消費速度の違いについて，堀井はハムスターの温度感受性 RNA 結合蛋白の遺伝子調節機構について報告した。また山口は視床下部視索前野の TRPM2 神経活性化が日内休眠の誘導に必要であること，渡邊はグリア細胞で産生される硫化水素がハムスターの休眠時体温を制御する可能性を報告した。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）単離した脳血管/くも膜標本による炎症時のプロスタグランジン E_2 産生機構の解析

北川大夢[1]，伊吹京秀[2]，長瀬幹英[3]，岡村将汰[3]，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，[3]大阪工業大学 工学部）

【目的】炎症時の発熱と痛覚過敏には, 脳内 Prostaglandin E_2 (PGE_2) が関わっている。炎症時の PGE_2 産生に用いられる Arachidonic acid (AA) の供給には，従来から考えられていた Phospholipase A_2 ではなく，カナビノイド分解酵素 Monoacylglycerol lipase (MGL) が関わるという説が 2015 年に発表された。一方私達はこれまでの研究から，炎症時の PGE_2 の産生の場は脳血管内皮細胞と考えている。しかし脳血管での PGE_2 産生にカナビノイド系が関わっているかは不明である。そこで本研究では単離脳血管の PGE_2 産生に対するカナビノイド系酵素阻害剤の効果を検討した。

【方法】雄ラットの後肢皮下に完全フロイントアジュバントを投与した。24 時間後にラット脳から脳血管/くも膜を単離し, 各種酵素阻害剤またはその溶媒存在下で培養した。培養液中に放出された PGE_2 を ELISA により測定した。

【結果・考察】単離培養を行なった脳血管/くも膜において，Cyclooxygenase-2 阻害では有意な PGE_2 量減少が見られた。しかしカナビノイド系酵素である Diacylglycerol lipase-α, β 及び MGL の阻害では有意な減少は確認できなかった。このことから, 少なくとも脳血管においては炎症時の AA 供給に, カナビノイド系が関わっている可能性は低い。

（2）温熱刺激が骨格筋代謝に及ぼす影響

後藤亜由美[1]，江川達郎[2]，吉原利典[3]，柿木　亮[3]，都築孝允[3]，内藤久士[3]，林　達也[2]
（[1]中部大学 生命健康科学部，[2]京都大学 総合人間学部，[3]順天堂大学 スポーツ健康科学部）

食生活の欧米化や運動不足などの生活習慣により，糖尿病有病者数は増加の一途を辿っている。さらに加齢は糖尿病の発症危険因子の一つであり，超高齢社会を迎えた我が国にとって糖尿病の予防・治療は解決すべき最重要課題である。これまでに，入浴や遠赤外線サウナなどの温熱刺激が糖尿病患者の血糖値を減少させること，さらにラット単離筋に温熱刺激を与えることで骨格筋糖輸送が亢進することが報告されている。したがって，生体への温熱刺激が骨格筋糖輸送を活性化させ，全身の糖代謝を改善することが考えられるものの，温熱刺激による骨格筋糖輸送活性の亢進メカニズムは不明である。そこで本研究では，温熱刺激が骨格筋代謝活性に及ぼす影響について詳細に検討し，糖尿病の治療や予防となる新規治療法への基礎資料を得ることを目的とした。in vitro におけるラット単離筋への短時間の温熱刺激は，骨格筋細胞内エネルギー低下に伴う 5’-AMP-activated protein kinase (AMPK) α の活性化を介した骨格筋糖輸送活性を促進した。さらに，in vivo における加齢マウスへの長期間の温熱刺激は，血中インスリン濃度を低下させることが明らかとなった。したがって本研究の結果は，温熱刺激が糖尿病など糖代謝疾患の治療や予防を目的とした新規治療法になる可能性を示唆することが考えられる。

（3）心臓のマルチスケールな構造に備わっている温度を活用する仕組みの研究

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）

近年，心臓から単離した，心筋の収縮ユニット（サルコメア）の構成単位である細いフィラメントとミオシン分子を用いた滑り運動評価の実験で，細いフィラメントとミオシンの相互作用，力発生の機構は，35 °C 以上の温度であれば，トロポニン，トロポミオシンが存在し，カルシウムイオンが不在の状況でも発生することを明らかにすることが出来た。心臓を収縮させるために連続して起こり続けるカルシウム濃度上昇による残留カルシウムの存在や，心臓の動きに伴うメカノレセプター（TRPV2 等）の開閉によるカルシウム流入の効果から，心臓は弛緩期にもカルシウム濃度が一定濃度残っており，完全な弛緩はしていないと指摘されていたが，深部体温の温かさが，さらに輪をかけて弛緩期の完全な弛緩を妨げる，収縮活性の維持を支えていることが示唆される。

そんな環境下で，心臓は如何にして速やかな弛緩を行い，頑強で持続的な心拍リズムを生み出すのか，我々は，発見した現象，温めた心筋細胞内のサルコメアが，細胞の自発的なカルシウム濃度変動に応答しつつも一定周期の収縮・弛緩を繰り返すようになる事実に注目し，ミオシン分子の化学力学反応に基づくマルチスケールな心拍シミュレーションモデルと実験事実の比較研究を行った。その結果，サルコメアに備わった温度依存で顕在化する自律振動特性が心拍を支える重要な因子であることを示唆する結果を得た。

（4）暑熱順化によるマウスの自発的運動量の変化

増田雄太，丸井朱里，加藤一聖，　永島　計
（早稲田大学 人間科学研究科 体温･体液研究室）

暑熱下での運動は体温の上昇をきたし，運動の自発的な停止の原因となる。この原因として，広義の運動疲労が関わっていると推測されている。ヒトでは，暑熱順化により運動時の心理的疲労感が低下することが報告されているが，定量的な解析はなされていない。本研究ではマウスを用いて暑熱順化に伴う広義の疲労感低下のメカニズム解明の一助とすることを目的とした。

C57BL/6J 雄マウス 12 匹を 25 °C の環境温で飼育し，ケージ内にランニングホイールをおき自発運動をさせた。最初に 1 日の暗期中 6 時間に 33 °C の暑熱暴露とする試行（Pre−33 °C），および環境温を変化させない試行（Pre−25 °C）を行い，自発運動の走行距離を測定した。両試行後に 33 °C の環境で 14 日間暑熱暴露し，暴露後に同様の試行（Post−33 °C，Post−25 °C）を行った。

暗期中の走行距離は Pre-33 °C 試行で有意な低値を示した（Pre−33 °C, 8.98±0.86 km vs Pre−25 °C, 13.68±1.18 km; Post−33 °C, 14.73±1.32 km; Post-25 °C, 14.50±0.66 km）。

暑熱暴露後に暑熱下における走行距離が上昇したことから，暑熱順化により環境温度の上昇に対する自発的運動の抑制が軽減することが示された。また，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マウスが使用できる可能性が示唆された。

（5）生体信号採取による温熱負荷の評価法の検討

加藤一聖[1]，増田雄太[1]，丸井朱里[2]，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 体温･体液研究室）

暑熱環境における運動は労作性熱中症の危険性を高める。熱中症の完全な予防には深部体温のモニタリングが望ましいが実際の運動現場においては難しい。我々はこれまでに運動の現場においてウェアラブル生体センサーを用いて体幹部加速度，心拍数の連続測定を行ってきている。これらのパラメータは湿球黒球温度（WBGT）により評価した環境条件によって変化することが示唆されたが，その生理学的なメカニズムは明らかでない部分が大きい。本研究では実験室内において運動現場での運動を模したトレッドミル運動により，これらのメカニズムを明らかにすることを目的とした。

健康な男性 10 名を対象として実験を行った。実験は人工気候室内にて暑熱条件（35 °C, 65 % RH），対照条件（25 °C, 30 % RH）においてトレッドミル走行運動を行った。運動は 6 - 8 分間の負荷漸増運動（4 - 10 km/h）と 2 分間の立位安静を交互に繰り返す 46 分間の間欠的運動を行った。運動中の直腸温度，心拍数および体幹部加速度を測定した。

暑熱条件において対照条件と比較して有意な直腸温度の上昇が見られた。また，暑熱条件において立位安静時の心拍数が対照条件と比較して高値を示した。この安静時心拍数の変化は，深部体温に上昇に伴ってみられ，原因として暑熱下での運動の継続による脱水に伴う心血管系への負荷の増大によるものと考えられる。

（6）性周期が就寝中の胸部皮膚温度に及ぼす影響

丸井朱里，伊藤花歩，永島　計
（早稲田大学 人間科学学術院 体温・体液研究室）

女性の体温は，女性ホルモンの作用により，約 1 ヶ月の性周期の中で排卵日を境に，低温期と高温期の二相に分かれる（基礎体温）。先行研究より，安静時の体幹部の皮膚温度は，直腸温度と有意に相関すると報告されている。また就寝中の女性では，体幹部である胸骨と乳房の皮膚温度が二相性を示すことが明らかになっているが，基礎体温と相関するかは明らかでない。そこで本研究では，性周期と就寝中の胸部皮膚温度に関連があるか検討した。

被験者は 20−34 歳，月経周期が比較的安定している健康な女性 26 名を対象とした。左胸下部に直径 1.5 cm の温度センサ付きロガーが固定された衣類を毎就寝時に装着し，就寝中に 15 分間隔で皮膚温度を測定した。毎起床後，市販の基礎体温計を用いて舌下温度を測定することで基礎体温とした。また，布団内部に温度ロガー1 つを固定させて 15 分毎に測定することで，各被験者の測定環境温度をモニタリングした。測定期間は，月経開始日から次の月経開始日までの約 1 ヶ月間とした。

被験者内において就寝中の胸部皮膚温度と起床後の舌下温度には有意な正の相関が認められた。さらに，低温期と高温期に 0.5 °C 程度の差がみられた被験者においては，同様の差が胸部皮膚温度でも確認された。本研究より，性周期は就寝中の胸部皮膚温度に影響を及ぼすことが示唆された。また，就寝中の胸部皮膚温度からも，基礎体温の推定が可能であると考えられた。

（7）Effect of menstrual cycle phase on skin temperature and thermal sensation in the feet during menthol application in young women

Yuki Uchida[1]，Chinami Tsunekawa[1]，Izumi Sato[1]，Keiko Morimoto[2]
（[1]Women’s Environmental Science Laboratory, Faculty of Human Life and Environment, Nara Women's University
[2]Faculty of Human Life and Environment, Nara Women’s University）

The feet are sensitive to cold stimulation. Menstrual cycle affected skin blood flow in the great toe during mild cooling of the sole in young women (Uchida et al., 2018, J Physiol Sci); however, it was not investigated the effect of menstrual cycle phase on skin temperature and thermal sensation in the feet via TRPM8 that is a peripheral cold receptor. Menthol was used as an agonist of TRPM8 in the present study. The aim of the present study was to investigate the effect of menstrual cycle on skin temperature and thermal sensation of the foot during menthol application in young women.

The skin temperature and partial cutaneous blood flow in the foot, tympanic temperature, blood pressure, heart rate, thermal sensation and pleasantness during the preovulatory, luteal, and menstrual phases during menthol application in young women using thermography, laser Doppler flowmetry, a digital blood pressure monitor, and VAS scale were examined at 25 °C.

After application of the 0.5% menthol solution to the right foot, the measurements were continued for 20 min. The skin temperature of the second and third right toes in the preovulatory phase were lower than that in the luteal phase. The skin temperature of the little right toe in the preovulatory phase was lower than that in the luteal and menstrual phases. No significant differences were observed in the skin temperature of the dorsum of right foot, cutaneous Laser-Doppler flow in the right great toe, tympanic temperature, blood pressure, heart rate, thermal sensation and pleasantness among the phases.

The menstrual cycle phase did not affect the skin temperature in the dorsum of the foot and thermal sensation, but it affected the skin temperature in some toes during menthol application.

（8）Thermal Gradient Ring を用いたマウスの温度依存的行動解析

宇治澤知代 [1]，DEROUICHE Sandra[1,2]，富永真琴 [1,2]
（[1] 生命創成探究センター 温度生物学研究グループ，[2] 生理学研究所 細胞生理研究部門）

生物は適した温度環境を選択し，極端に高い温度や低い温度を避けて生存している。温度感受性 TRP チャネルは，それ自体が温度を感知することが知られている。温度感受性 TRP チャネルには 10 の活性化温度閾値の異なるものが存在する。しかし，温度が引き起こす行動に，温度感受性 TRP チャネルがどのようにして関与しているのかは不明な点が残されている。マウスが不快に感じる温度に対する忌避行動テストや温度選択テストはこれまでにもいくつか報告されてきた。これらは two-temperature choice assay または linear temperature gradient assay として解析されてきた。しかし，これらの装置は温度勾配の分解能に欠け，装置の形状からマウスの端を好む性質などが結果に反映される可能性があった。今回，新しく circular thermal gradient 装置を用いた TRP チャネル欠損マウスの行動テストの結果を得た。Thermal Gradient Ring (TGR) 装置はより高い温度分解能を有し，より多くのデータを得ることができる。さらに装置が輪状なため，マウスが端を好んで移動する問題を排除できる。この装置を用いて TRP チャネル欠損マウスの温度選択性を解析し，TRP チャネルの温度行動への関与性を見出したい。

（9）ヒト褐色脂肪組織活性の日内変動

斉藤昌之[1]，松下真美[2]，二連木晋輔[3]，坂根直樹[3]，李　相逸[4]，若林　斉[4]
（[1]北海道大学，[2]天使大学 看護栄養学部 栄養学科，
[3]京都医療センター 予防医学研究室，[4]北海道大学 工学研究院 環境人間工学研究室）

目的：体温を始めとして多くの生理機能は，体内時計が環境因子に同調しながら日内変動し，その乱れが様々な疾病を誘発する。褐色脂肪組織（BAT）は，非震え熱産生活性によって体温やエネルギー代謝の自律的調節に関わっているが，その量や活性変動，特にヒトでの日内変動についてはほとんど知見が無い。本研究では，寒冷暴露時の BAT 熱産生（CIT）と体温応答の日内変動について検討した。

方法：健常成人男性 23 名を対象に朝 8～10 時と夜 7～9 時に 90 分間の寒冷暴露（27 °C→19 °C）を行い，CIT（呼気分析）と体表温（サーモグラフィ）の測定を行い，FDG-PET/CT で評価した BAT 活性と比較検討した。

結果と考察：CIT は朝夜共に BAT 高活性者の方が低活性者よりも高く，CIT に対する BAT の寄与が確認された。朝と夜で比較すると BAT 高活性者では朝の方が夜よりも高かったが，低活性者では有意差が無かった。鎖骨上窩部（BAT 部）と胸部（非 BAT 部）の体表温を比較すると前者の方が高く，その差は BAT 活性と正相関したが，寒冷暴露後の応答は朝の方が夜よりも大きかった。

これらの結果は, human calorimeter での結果（ヒト BAT が朝食後の熱産生や脂肪酸酸化に寄与する）とも一致しており，ヒト BAT の活性が日内変動し，朝の方が夜よりも高いことを示している。

（10）介護者と利用者の視点から見た高齢者施設の夏期の温熱・におい環境について

横江　彩[1]，光田　恵[2]（[1]中部大学 工学部，[2]大同大学 工学部）

１．はじめに

高齢者施設には，入所者である高齢者のみならず，介護者である若年者も滞在し，異なる生理・心理反応を有した高齢者と若年者が滞在しているが，双方に着目した研究は少ない。一方，高齢者介護環境のにおいについては，介護者からの改善要求が高く，対象となるにおいの種類は，「便臭」「尿臭」「体臭」である。においの発生は温熱環境と関係すると考えられるが，施設調査において，両者の測定結果の相互関係についての検討はなされていない。そこで本研究では，温熱環境とも影響すると考えられるにおい環境についても同時に調査を行い，におい環境の実態と温熱環境との相互関係についても調査を行った。

２．調査概要

対象施設は，愛知県春日井市にある施設 A（小規模特別養護老人ホーム）と施設 B（介護老人保健施設）であった。施設 A はユニット型ケア，施設 B は従来型のケアである。施設 A では家庭用エアコン，ビル用マルチエアコンを設置し，設定温度は外気温に応じて 26−28 °C とし，室内が 28 °C 以上になると ON にしていた。施設 B ではビル用マルチエアコンを設置し，設定温度は 27 °C とし常時運転していた。施設 A の換気回数は 2.6 回/h 程度，B では 1.9 回/h 程度であった。本調査は 2017 年夏期に行った。温熱環境は連続，一日計測を，におい環境は，一日計測のみ実施した。

３．結果

３．１ 高齢者と介護者双方の視点から

高齢者の活動量は約 1.0 [met]，介護者は 1.0~5.0 [met] の活動量を計測しているため，同じ温熱環境下では高齢者の PMV が低くなった。同じ場所にいる介護者と高齢者とでは活動量の低い高齢者にとっては温熱的に快適範囲である室内温熱環境であっても，活動量の高い介護者にとっては，「暑く」「不快」になる可能性があった。

３．２ 快適推奨範囲

高齢者に配慮した温熱環境評価基準値は，夏期には居間・食堂団欒室にて 25±2 [°C] と設定している。湿度は

建築物環境衛生管理基準に基づき 40~70 [%RH] を適切範囲とすると高齢者の推奨範囲を作成できた。成人に対しては，27±2 [°C]，同じく 40~70 [%RH] が快適推奨範囲である。施設 A および B の期間内温湿度の結果から施設 A は大幅に推奨範囲を超えていた。

３．３ 温熱環境とにおい環境との関係

発生源はにおい評価と臭気成分分析の結果から，定常的に汗臭と建材臭であると推定した。臭気発生量（OER），OER[㎥/h] ＝（臭気濃度）×（換気量[㎥/h]）を求めた結果，施設 A では 192,780 [㎥/h]，施設 B では 75,600 [㎥/h] となった。日本建築学会臭気規準から談話室では，臭気濃度 10 が推奨値であるため，必要換気量は，施設 A は 19,278 [㎥/h]，施設 B では 7,560 [㎥/h] が得られた。施設 A では現状の 2.6 回/h よりも 6.3 倍の換気量を必要とし，施設 B は現状の 1.9 回/h で必要換気量を満たした。

施設 A は温熱環境では大幅に推奨範囲を超えており，におい環境では現状の 6.3 倍の換気量を必要としていた。一方，施設 B では温熱環境は推奨範囲内にある部分があり，におい環境は必要換気量を満たしていた。つまり，温熱環境として厳しい状態であるとにおいの発生につながり，より換気量が必要となる。今後データの蓄積が必要であるが，温熱環境がある程度適切に保たれていれば 2 回/h 程度の換気回数で良いと考える。

（11）褐色脂肪細胞およびベージュ細胞が持つ新たな可能性 ～尿路結石形成の抑制～

杉野輝明 [1]，田中勇太郎 [1]，海野　怜 [1]，田口和己 [1]，濵本周造 [1]，安藤亮介 [1]，
岡田淳志 [1]，最上　徹 [1]，郡　健二郎 [1]，山下　均 [2]，安井孝周 [1]
（[1] 名古屋市立大学大学院 医学研究科 腎･泌尿器科学分野，
[2] 中部大学 生命健康科学部 生命医科学科）

背景：腎結石は血尿や腹痛などの症状を呈するが，時として腎不全に至ることもある。近年，腎結石とメタボリックシンドロームの深い関連が指摘されており，私たちは，抗肥満作用を持つ褐色脂肪細胞およびベージュ細胞が，腎結石形成を抑制する可能性があると考えた。

方法：研究 1：8 週齢雄 C57BL/6 マウスを，褐色脂肪組織の除去または Sham 手術を行う群に分けた（X-BAT, Sham）。術後 3 週目からグリオキシル酸（GOX）80 mg/kg を 6 日間腹腔内投与し，腎結石を形成させた。研究 2：7 週齢雄 C57BL/6 マウスを，生理食塩水または CL316243 を投与する群に分け，各々1.0 mg/kg を 12 日間腹腔内投与した（Control, CL）。投与 6 日目から GOX 80 mg/kg を並行して投与し，腎結石を形成させた。

結果：研究 1：X-BAT では Sham と比較して，腎結石形成量が有意に多く，腎の定量 PCR で炎症性マーカーの発現が高かった。研究 2：CL では，精巣上体・鼠蹊部脂肪におけるベージュ細胞への分化を認め，Control と比較して腎結石形成量が有意に少なく，腎の定量 PCR で炎症性マーカーの発現が低かった。

結論：褐色脂肪細胞およびベージュ細胞は，腎の抗炎症作用を通して結石形成を抑制する可能性がある。

（12）CREG1 の病態生理学的役割の解明

山下　均 [1]，橋本理尋 [2]，竹内　環 [1]，遠藤優貴 [1]，後藤亜由美 [1]，
片岡直也 [3]，岡田只士 [4]，向井貴子 [5]，楠堂達也 [5]
（[1] 中部大学 生命健康科学部，[2] 旭川医科大学 CARE，[3] 名古屋大学大学院 医学研究科，
[4] 富山県立大学 工学部，[5] 帝塚山学院大学 人間科学部）

我々は褐色脂肪細胞の分化を促進する新規因子として分泌糖タンパク質 Cellular Repressor of E1A-stimulated genes 1(CREG1)を同定した。現在までに CREG1 は，1）白色脂肪細胞の分化には影響しないが，褐色脂肪細胞の

分化をオートクリン/パラクリンに促進すること，２）Ucp1 ばかりでなく Fgf21 の mRNA 発現も促進すること，３）褐色脂肪分化において甲状腺ホルモン T3 の作用を代償すること，４）IGF2 受容体と RXRα と結合すること，５）動物実験においても CREG1 は白色脂肪組織の褐色脂肪化を促進し，食事誘導性肥満を改善することなどが明らかとなっている。しかしながら，褐色脂肪化を促進する作用メカニズムの詳細については未だ不明な点が多く, CREG1 のベージュ細胞の分化促進作用についても明らかではない。今回の発表では，これらの点について検討した成績を示し, CREG1 の病態生理学的役割について考察したい。

（13）ハムスターにおける褐色脂肪組織の生後発達と恒温性の獲得

岡松優子 [1]，坪田あゆみ [1]，長屋一輝 [1]，前　潤之助 [1]，小林純子 [2]，木村和弘 [1]
（[1] 北海道大学 大学院獣医学研究院，[2] 北海道大学 大学院医学研究院）

褐色脂肪組織は体温維持に重要な非震え熱産生の部位である。褐色脂肪組織による熱産生は新生児期の体温調節にも重要であるため，ほとんどの動物種は出生時に機能的な褐色脂肪組織を有している。しかし，冬眠動物であるハムスターにおける褐色脂肪組織の形成機構は独特で，出生時には褐色脂肪組織を持たず，出生後に形成される。本研究ではハムスターの褐色脂肪組織の生後発達機構について検討を行った。多くの動物種で褐色脂肪組織が存在する肩甲間の部位には，出生時には肉眼的に白色の脂肪組織が存在し，大型の脂肪滴を有する白色脂肪細胞で占められていた。生後 5 日目頃に組織の辺縁に小型で脂肪滴を持たない褐色脂肪細胞の前駆細胞が出現し，日齢とともにその数が増加した。14 日齢頃には前駆細胞が組織全体を占め，その後前駆細胞が褐色脂肪細胞へと分化して 16 日齢頃には褐色脂肪組織としての形成が完了した。完了と共にハムスターは室温 23 度において体温を維持できるようになった。組織形成過程は環境温度の影響を受けるものの，転換のタイミングには予めプログラムされた細胞自律的な制御機構が存在する可能性が示唆された。ハムスターは出生後に褐色脂肪組織が形成されると共に恒温性を獲得すると考えられた。

（14）マウス Torpor の近交系での比較

吹田晃享 [1,2]，砂川玄志郎 [2]，森松博史 [1]，高橋政代 [2]
（[1] 岡山大学大学院医歯薬総合研究科 麻酔･蘇生学分野
[2] 理化学研究所 網膜再生医療研究開発プロジェクト）

マウスは危機的状況（冬期や飢餓など）に陥ると能動的に基礎代謝を低下させる休眠を行う。休眠中は酸素消費が抑制され低体温となる。

近交系 C57BL/6J（以後 B6J）は餌なし外気温 20 °C の条件で 24 時間以内に休眠を効率よく誘導できた（Sunagawa et al., 2016）。B6J と遺伝子的に似ている C57BL/6N（以後 B6N）で同様に休眠中の酸素消費および体温を調べたところ, B6N の方が休眠時の体温が高く, 酸素消費の抑制が少ないことが分かった。

さらに，B6J と B6N 以外の近交系マウス 6 ストレインで比較した。休眠時の体温が外気温近くまで下がるストレイン（STM2）と，ほとんど体温が下がらないストレイン（MYS/Mz）が見つかった。

次にマウス ES 細胞を樹立し，細胞増殖や糖消費速度の生育温度による差の測定を試みた。まず B6J および STM2 由来のマウス ES 細胞が樹立できたため，2 種類のストレインで比較した。フィーダーフリーで培養維持し，3 種類の培養温（37 °C，34 °C，31 °C）へ移動し 2 日間培養した後に細胞数と培地中の糖濃度を測定した。得られたデータから，細胞の倍化時間及び糖の消費速度をハイパーパラメータ化し推定した。

見積もられたパラメータからは，倍化時間に関しては

B6J と STM2 で差が少なかったが，糖の消費速度に関してはSTM2 の方が B6J に比して温度による変化を受けにくい傾向があった。

（15）Cold-inducible RNA-binding protein の冬眠様選択的スプライシング調節機構の解明

堀井有希 [1]，島岡弘樹 [1]，堀井和広 [1]，椎名貴彦 [1]，志水泰武 [1,2]
（[1] 岐阜大学大学院 連合獣医学研究科 獣医生理学研究室
[2] 岐阜大学 生命の鎖統合研究センター(G-CHAIN)）

一部の哺乳動物は，低温環境下で体温を低下させる冬眠を行なう。冬眠時には，低体温による障害は起こらない。したがって，冬眠動物には低体温耐性メカニズムが存在していると考えられる。我々は，冬眠中のシリアンハムスターにおいて，低温耐性能と関連する cold-inducible RNA-binding protein (CIRP) の発現動態を明らかとした。RT-PCR 法を用いた結果，ハムスターの冬眠時には, CIRP 遺伝子の発現がスプライシングレベルで変化することが明らかとなった。そこで，非冬眠動物においても同様の選択的スプライシング調節が存在するかを検証した。マウスを麻酔下で冷却することにより強制的に低体温とし RT-PCR 法を行った。平常時の臓器では CIRP 遺伝子から複数のスプライシングバリアントが発現していた。一方，低温時には冬眠様のスプライシングパターンが観察された。この結果は，CIRP のスプライシングレベルでの調節は，冬眠時特有の機構ではないことを示唆する。また，無処置のマウスから採取した白血球を用い，温度低下の直接的な影響を in vitro で調べた。白血球を低温にすると冬眠様のスプライシングが認められたため，温度低下が直接的な要因であることが明らかとなった。

（16）マウス日内休眠を制御する神経回路の解析

山口裕嗣（名古屋大学 環境医学研究所 神経系分野 2)

ハムスターやリスは，冬季に基礎代謝を大きく低下させ冬眠する。動物が示す能動的な低体温・低代謝状態を torpor（休眠）というが，冬季に長期間に渡り torpor に入ることが冬眠の定義である。torpor は，げっ歯類，霊長類を含めた恒温動物で広く見られるが，どのようにして動物が torpor に入るのかそのメカニズムは全く不明である。一方，よく確立したモデル生物である C57BL/6J 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。我々は，C57BL/6J マウスの daily torpor をモデルとして，torpor を制御する神経回路の探索を行った。まずマウスに torpor を誘導した後，脳切片を活性化神経細胞のマーカーであるリン酸化 S6 に対する抗体で免疫染色した。その結果，torpor をおこしたマウスでは視床下部背内側部（DMH; dorsal medial hypothalamus）に強いシグナルがみられた。また DMH のリン酸化 S6 陽性細胞は主に VGAT 陽性の GABA 作動性神経であった。この DMH-GABA 作動性神経の脱分極を阻害すると寒冷環境で絶食させてもマウスは torpor に入らないことから，この神経の活性化が torpor の誘導に必須であることがわかった。次いで，DMH-GABA 作動性神経の投射先である視床下部視索前野（POA; preoptic area）の解析を行った。POA にある TRPM2 チャネル陽性細胞を活性化すると体温が下がることが知られている。この TRPM2 チャネル陽性細胞の活動を抑制されたマウスは，寒冷環境で絶食しても torpor を起こさないことから，POA-TRPM2 神経細胞の活性化が torpor の誘導に必須であることがわかった。

（17）シリアンハムスターの脳内で産生される硫化水素の体温に及ぼす影響

渡邊正知，門田麻由子，田村　豊（福山大学薬学部)

我々はこれまでに，シリアンハムスター（*Mesocricetus auratus*；以下ハムスター）の冬眠時体温制御には，中枢神経系におけるガストリン放出ペプチド，アデノシン，β エンドルフィン，甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン，およびオレキシンが関与することを明らかにしてきた。しかし，冬眠時体温制御における上記物質以外の関与はいまだ不明である。

硫化水素（H_2S）は脳内で産生され，神経調節物質として機能することが報告されている。さらに, マウスに H_2S を吸入させると，体温が低下して冬眠様の低活動状態が誘導されることも報告されている。そこで本研究では，ハムスターの体温に対する脳内で産生される H_2S の作用を検討した。

H_2S 合成酵素の一種であるシスタチオニン β 合成酵素（CBS）はグリア細胞に存在する。CBS 活性化剤の S-アデノシルメチオニン（SAM）を側脳室に投与したところ，用量依存性の体温低下が観察された。また，SAM の体温低下はCBS 阻害剤である O-(Carboxymethyl) hydroxylamine の前投与により抑制された。さらに SAM の投与により脳脊髄液中の H_2S 濃度が上昇することも確認された。一方，神経細胞に存在する H_2S 合成酵素を活性化しても体温低下は観察されなかった。

以上の知見より, CBS によりグリア細胞で産生される H_2S がハムスターの冬眠時体温を制御する可能性が示唆された。

7. 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

2019 年 9 月 21 日－9 月 22 日

代表・世話人：山内敏正（東京大学大学院医学系研究科 代謝･栄養病態学）

所内対応者：箕越靖彦（生理学研究所 生殖･内分泌系発達機構研究部門）

（１）食物由来中鎖脂肪酸によるグレリン抵抗性の誘導

青谷大介（名古屋市立大学大学院医学研究科 消化器代謝内科学）

（２）廃用性筋萎縮モデルにおける骨格筋・肝代謝動態の連関による生体機能制御

三島優奈（徳島大学大学院医歯薬学研究部 代謝栄養学分野）

（３）骨リモデリングの制御機構の解明

中島友紀（東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 分子情報伝達学）

（４）甘味とその美味しさを選択的に伝える神経細胞の発見

中島健一朗（生理学研究所 生殖･内分泌系発達機構研究部門）

（５）幹細胞治療におけるアディポネクチン及び T-カドヘリンの意義

中村勇斗（大阪大学内分泌･代謝内科学）

（６）食由来栄養シグナルと腸内環境を介した宿主エネルギー代謝制御

宮本潤基（東京農工大学大学院農学研究院）

（７）アルツハイマー病の体組成変化と認知機能に及ぼす効果

櫻井　孝（国立長寿医療研究センター･もの忘れセンター）

（８）絶食誘導性長鎖ノンコーディング RNA の代謝調節における機能の解明

長沼孝雄（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）

（９）バソプレッシンシグナルによる時差環境下での概日行動リズム制御

山口賀章（京都大学大学院薬学研究科 システムバイオロジー分野）

（10）人参養栄湯による食欲促進：抗フレイルのストラテジー

矢田俊彦（関西電力医学研究所統合生理学研究部）

（11）GLP-1 の自律神経反射を介した体熱産生作用

岩崎有作（京都府立大学大学院生命環境科学研究科）

（12）エネルギー代謝調節機構における転写因子 IRF7 の役割

黒田雅士（徳島大学大学院医歯薬学研究部 代謝栄養学分野）

（13）糖・エネルギー代謝調節における PTP1B の役割について

坂野僚一（名古屋大学大学院医学系研究科 健康社会医学専攻健康増進医学講座）

（14）糖尿病におけるグルカゴン分泌障害

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）

（15）悪性腫瘍の存在が精神機能に与える影響

池田弘子（星薬科大学薬物治療学研究室）

（16）高齢者疾患・フレイルとホルモン

小川純人（東京大学大学院医学系研究科 加齢医学）

【参加者名】

青谷大介（名古屋市立大学），池田弘子（星薬科大学），伊藤禎浩（名古屋大学），岩崎有作（京都府立大学），岩部真人（東京大学），岩部美紀（東京大学），植田大暉（星薬科大学），大林健人（京都府立大学），岡本士

毅（琉球大学），小川純人（東京大学），喜多俊文（大阪大学），北野(大植)隆司（東京農工大学），黒田雅士（徳島大学），小林雅樹（群馬大学），阪上　浩（徳島大学），櫻井　孝（国立長寿医療研究センター），清水天幸（京都府立大学），高木博史（名古屋大学医学部付属病院），滝　啓吾（名古屋大学），田中智洋（名古屋市立大学），堤　理恵（徳島大学），土居雅夫（京都大学），中島友紀（東京医科歯科大学），長沼孝雄（国立国際医療研究センター研究所），中村勇斗（大阪大学），坂野僚一（名古屋大学），古橋眞人（札幌医科大学），松本道宏（国立国際医療研究センター研究所），三島優奈(徳島大学), 三須宏武(理化学研究所/東京農工大学), 満島　勝（国立国際医療研究センター研究所），宮本潤基（東京農工大学），柳沼裕史（名古屋大学），矢田俊彦（関西電力医学研究所），山内敏正（東京大学），山岸愛実（星薬科大学），山口賀章（京都大学），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），傅　欧（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】

運動は，筋骨格系の形態と機能を制御するだけでなく，代謝をはじめ，脳神経系機能や免疫制御機能など様々な生命システムを制御し，老化をも制御する。そして，運動器から分泌される分子が，生体機能に関与する一方，破綻・異常が，逆に運動機能に影響を与える両方向的な関係が見出されているが，生体恒常性の制御機構としての俯瞰的理解は不十分である。

本研究会においては，筋骨格系，内分泌，神経，免疫等の専門家が一堂に会し，共同研究を推進することにより，生命現象を理解するだけでなく，超・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。本研究会を通し，多層的オミックス，栄養学，運動生理学，加齢・老化，時計遺伝子等を網羅する異分野連携共同研究のネットワーク形成の起点とすることを視野に入れ，本研究会を開催した。

代表世話人事務局を岩部美紀が担当し，運動器／代謝系連関に関わる若手研究者の教育と人材育成にも取り組み，大学院生を含む若手研究者 9 名に加え，各分野のトップランナーとして 7 名の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（三島・櫻井・池田・小川等），ホルモンにおける代謝調節（青谷・中村・小林等），エネルギー代謝制御（宮本・黒田・坂野等），肝臓・運動器における代謝制御（中島・長沼等），中枢・神経における代謝制御（中島・岩崎・矢田・山口等）について行った。

本研究会は，シンポジウム形式で行い，最新の技術とデータの共有，自由・活発な発表・議論が行われ，知見・研究技術・人的交流を深めることができ，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に関する有機的共同研究の推進に繋がるものとなった。

（1）食物由来中鎖脂肪酸によるグレリン抵抗性の誘導

○青谷大介 [1]，有安宏之 [2]，田中智洋 [1]
（[1] 名古屋市立大学 大学院医学研究科 消化器代謝内科学，
[2] 和歌山県立医科大学 糖尿病･内分泌代謝内科）

グレリンは，外来性に投与すると，GH 分泌促進作用，摂食促進作用など多彩な作用を発揮することが知られており，種々の消耗性疾患への臨床応用が期待されている。グレリンを臨床応用へ展開する上で, 基礎的検討を行うために，グレリン過剰産生マウスを作製し，摂食行動を解析した。Serum-Amyroid-P promoter を用いて des-acyl グレリンを過剰するマウスと Ghrelin-O-acyltransferase を過剰発現する 2 系統の Tg マウスを作製した。更にこれらのマウスを交配し, グレリンを過剰分泌するマウス（double Tg マウス）を作製した。double Tg マウスの血中グレリン濃度は, 標準食摂餌下では野生型に比較して約 2 倍に, 中鎖脂肪酸含有食摂餌下では約 10 倍にまで上昇していた。しかし Double Tg マウスの摂餌量は，標準食摂餌下，中鎖脂肪酸含有食摂餌下のいずれの条件下でも, 野生型と比較して有意な差は認めなかった。つぎに，マウスに浸透圧ポンプを用いてグレリンを持続的に皮下投与し, その血中濃度が

非投与時の約 10 倍になるように調整すると，有意な摂食量の増加を認めた。しかしながら，このマウスに中鎖脂肪酸を高濃度含有する餌を与えると，グレリンによる摂食促進作用はキャンセルされた。これらの検討から，グレリンの摂食促進作用に関して，食物由来中鎖脂肪酸はグレリン抵抗性を惹起することが示唆された。

（2）廃用性筋萎縮モデルにおける骨格筋・肝代謝動態の連関による生体機能制御

○三島優奈（徳島大学大学院 代謝栄養学分野）

【目的】骨格筋代謝動態は加齢や疾病により変化する。当研究室では代謝性疾患モデルの骨格筋において，病態発症に伴う糖代謝の低下と遊離アミノ酸濃度の上昇という筋萎縮過程の代謝変動を見出している。そこで本研究は，筋萎縮過程における骨格筋代謝動態を解明することを目的とした。

【方法・結果】10 週齢・雄・C57BL/6J マウスの後肢にギプス固定を施し，固定から 10H・1・3・5・7 日後に剖検を行った。筋湿重量は，ギプス固定 5 日後にヒラメ筋と腓腹筋において有意な減少を示した。（$p < 0.01$）骨格筋の糖取り込みは，ギプス固定 3 日後に一時的に増加し，5 日後に減少傾向，7 日後にヒラメ筋において有意に減少した。($p < 0.001$）GLUT1 や HIF1α，炎症性サイトカインの mRNA 発現はギプス固定により早期から増加傾向にあった。骨格筋および肝臓のメタボローム解析では，骨格筋において解糖系が亢進しており，5 日後においても持続していた。ギプス固定 3 日後に 3H-L-ロイシンを尾静脈投与したところ，骨格筋のロイシン取り込みは低下傾向にある一方，肝臓では増加傾向にあった。このとき骨格筋遊離アミノ酸濃度は上昇傾向にある一方，肝臓では低下傾向にあった。

【結論】不動化早期の骨格筋では糖代謝亢進による適応応答が生じる可能性が示唆された。ギプス固定後のエネルギー代謝には骨格筋と肝臓の臓器連関が行われている可能性が示唆された。

（3）骨リモデリングの制御機構の解明

○中島友紀（東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科分子情報伝達学，
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。

我々は，骨リモデリングの実態と破綻メカニズムの解明を目指ざし，力学的な環境変化に伴う *in silico* 実験と *in vivo* 実験の融合研究に取り組んだ。力学的負荷に伴い骨細胞が産生する Sclerostin の発現低下に加え，Igf1 が発現誘導されることで骨形成が促進されることを見出した（*Sci Rep* 2019）。

閉経に伴う骨粗鬆症において，骨細胞の細胞生命維持が病態発症の鍵となる。我々は，骨細胞の網羅解析から miRNA-Semaphorin3A アクシスが，骨細胞の生存シグナルを制御していることが明らかにした。さらに，この生存シグナルを制御するケミカルを同定し，骨疾患の新たな治療戦略を確立した（*Cell Metab* 2019）。

（4）甘味とその美味しさを選択的に伝える神経細胞の発見

○中島健一朗（生理学研究所 生殖･内分泌系発達機構研究部門）

摂食行動は，ヒトを含む動物にとって最も重要な本能の 1 つである。なかでも，味覚は，栄養豊富な食物を積極的に摂取し，有害な成分を忌避するなど，食物の価値を判断する際に大きな影響を与える。

味覚情報は，舌を起点に脳内の複数の中継点をリレーする事で認識されるが，近年，舌の上で味覚が伝わる仕組みについては味覚受容体の同定を起点に研究が大きく進展した。一方，脳内で味を伝えるメカニズムについては未だ不明な点が多い。

このため，本研究ではマウスをモデルに，味覚情報伝達の重要な中継点である脳幹において，味覚伝達神経の探索を行った。

過去に報告されている電気生理学と組織学の解析結果を照らし合わせて精査したところ，脳幹の中でも橋結合腕傍核（PBN）とよばれる部位に味刺激に応答する神経細胞が偏在しており，転写因子の一つである SatB2 を発現している可能性が示唆された。

そこで，この神経細胞の機能を細胞種選択的除去・*in vivo* カルシウムイメージング・オプトジェネティクスによる人工的な活性化など一連の実験により検証したところ，SatB2 発現神経は，甘味およびそれに伴う心地よさ（美味しさ）を選択的に伝える役割を担っている事が判明した。マウスの橋結合腕傍核において，味覚応答神経の存在が報告されてから 40 年以上経つが，哺乳類の脳内において味覚伝達神経の特定に成功したのは，本研究が初めてである。

（5）幹細胞治療におけるアディポネクチン及び T-カドヘリンの意義

○中村勇斗（大阪大学 内分泌･代謝内科学）

エクソソーム（Exo）は直径 30 – 100 nm の細胞分泌小胞であり，産生細胞の不要物排出を通じて細胞の機能維持に働くのみならず，様々な生理活性タンパクや核酸の細胞間伝達を媒介することで，細胞・組織・個体の恒常性維持に重要な役割を果たしている。中でも近年急速に臨床開発が進められている間葉系幹細胞（MSCs）移植療法の治療効果は，MSCs の産生する Exo の寄与も想定されており，心不全や糖尿病，移植片対宿主病など多彩な疾患に対して臨床的治療効果が示されている。しかしながら，現在これら幹細胞を用いた再生医療は初期段階であり，効果を最大化・標準化するための投与方法や培養方法の最適化など様々な検討が行われているものの，未だ有力な方法はない。

アディポネクチン（APN）は 3 量体，6 量体，及び 18 量体以上の多量体を形成して脂肪細胞から特異的かつ多量に分泌される善玉アディポサイトカインとして知られる。様々な臨床研究より活性分子種とされる多量体 APN は，GPI アンカー型膜蛋白 T-カドヘリン（T-cad）と K_D=1nM の高親和性に相互作用することで組織に集積し，心血管保護作用，骨格筋再生促進作用を発揮する。

最近，多量体 APN は細胞膜上の T-cad に結合することで，Exo 産生を促進し，その作用は個体の血中 Exo レベルをも規定することを報告した（Obata Y, Nakamura Y et al., 2018）。本研究では，APN/T-cad システムによる Exo 産生制御が間葉系幹細胞による治療効果に重要である可能性を検討した。

本研究は，①hMSCs の全身投与は圧負荷心不全モデルの心機能を改善すること，②hMSCs は APN による T-cad を介した Exo 産生能を有すること，③hMSCs の圧負荷心不全モデルへの治療効果の大部分は hMSCs の産生する Exo を介していること，④血中 APN を増加させるピオグリタゾンの併用は間葉系幹細胞治療の治療効果を増強することを明らかにした。

以上の結果は，脂肪細胞由来分泌因子 APN が再生医療の発展に直接的に寄与し得ることを示す。また肥満に伴う低 APN 血症が一因となる多くの疾患において，APN による全身の組織常在性 MSCs を介した Exo 産生機能の低下が病態形成に関与している可能性を示唆している。

（6）食由来栄養シグナルと腸内環境を介した宿主エネルギー代謝制御

○宮本潤基，木村郁夫（東京農工大学大学院農学研究院, AMED-CREST）

食事脂質中に豊富に含まれるリノール酸（ω6 脂肪酸）や α リノレン酸（ω3 脂肪酸）などの多価不飽和脂肪酸（PUFAs）は，我々が生命を維持するために重要な必須脂肪酸であるが, ω6 脂肪酸の過剰な摂取は肥満症や炎症性疾患などを惹起することも知られている。一方，このような PUFAs は, 細胞膜上の脂肪酸受容体に認識されることで，単なるエネルギー源としてだけではなく，生体におけるシグナル伝達分子としての役割を果たすことも明らかにされている。また，腸内細菌学の発展に伴い，腸内環境の変化が宿主の生体恒常性維持と密接に関与することが明らかにされており，我々は食事による栄養シグナルが宿主エネルギー代謝制御に及ぼす影響を，腸内環境と脂肪酸受容体の相互連関に着目して検討を行っている。我々は以前の研究で，腸内細菌によって食事脂質中の PUFAs から代謝された食事脂質由来腸内細菌代謝物が脂肪酸受容体を介して腸管バリア保護作用に寄与することを明らかにしている。さらに，近年の食の欧米化に伴う ω6/ω3 バランスの破綻が宿主エネルギー代謝と密接に関与することが示唆されているが，我々は独自に，栄養環境の違いと腸内細菌叢変化に着目し，食事脂質由来腸内細菌代謝物が宿主エネルギー代謝を制御していること明らかにした。本研究の成果は，食事–腸内環境–宿主の相互連関によるエネルギー代謝異常疾患に対する予防・治療薬の開発に寄与することが期待される。

（7）アルツハイマー病の体組成変化と認知機能に及ぼす効果

○櫻井　孝，杉本大貴，木村　藍（国立長寿医療研究センター･もの忘れセンター）

中年期の肥満は認知症リスクであるが，高齢者では逆に保護的に働く。アルツハイマー病（AD）では発症の 10 年前より体重減少がみられることが関連する可能性がある。そこで私どもは，AD の体組成変化と認知機能との関連について検討した。

国立長寿医療研究センターを受診した 60 歳以上の 4,235 名（認知機能健常（CN），軽度認知障害（MCI），AD を含む）を対象に，初診時の BMI, FFMI, FMI を測定した。男性 AD では，BMI,FEMI,FMI とも低値，女性では BMI,FMI が低値であった。次に，脳の局在機能と体組成との関連を調べるため，34 名の MCI・早期 AD 群（アミロイド PET 陽性），55 名の CN 群（アミロイド PET 陰性）において, FDG-PET によるブドウ糖代謝（rCGM）と BMI との関連を調べた。MCI・早期 AD 群では，BMI は前帯状皮質，内側前頭前皮質（MPFC），眼窩前頭皮質の rCGM と正の関連を示した。体組成との関連では, FMI は MPFC の rCGM と正の関連を示した。

さらに，2335 名の高齢者を対象として，体組成と認知機能の関連を後向き縦断観察で調査した（FFMI,FMI を 3 部位に分け，MMSE をアウトカム）。FMI 低値群と比べて，FMI 中間群，高値群では認知機能は高く維持されていた（年齢，性別，教育年数，APO E4 で調整後）。上記より, AD では脂肪量が保たれているほど rCGM, 認知機能もより高く維持されていることが示唆された。

（8）絶食誘導性長鎖ノンコーディング RNA の代謝調節における機能の解明

○長沼孝雄（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）

絶食応答は生体に必須のエネルギー代謝の恒常性維持機構であり，間欠的飢餓などによるその適度な亢進は寿命延伸に寄与する。一方，肝糖新生の亢進が糖尿病における高血糖をきたすように，その病的亢進は代謝性疾患の病因ともなることから，絶食応答の分子機構の解明は疾患治療法の開発および健康長寿の達成の鍵となる。

絶食応答は，これを担う代謝酵素群の遺伝子転写を介した制御を受けている。近年我々は，こうした遺伝子転写にアセチル化酵素 GCN5 と転写コレギュレーター CITED2 からなる核内シグナル伝達モジュールが必須であることを明らかにした。また近年，長鎖ノンコーディング RNA（lncRNA）が新たな代謝調節因子として注目を集めている。そこで本研究では，絶食時に本モジュールを介して発現が誘導される『絶食誘導性 lncRNA』を同定し，その代謝調節における役割の解明を試みた。

我々は，初代培養肝細胞におけるグルカゴン-cAMP 応答性と GCN5-CITED2 モジュール依存性，マウス肝臓における絶食応答性を指標として『絶食誘導性 lncRNA』の探索を行い，その 1 つとして核内局在を示し，ヒトオルソログの存在が推定される Lnc-FR1 を同定した。初代培養肝細胞における機能喪失／獲得実験から，Lnc-FR1 は糖新生系酵素遺伝子の転写を活性化し，糖新生の亢進に必須であることが明らかになった。現在，Lnc-FR1 が絶食時の肝細胞において糖新生を促進する分子メカニズムを明らかにしているところであり，それについても本発表で合わせて報告する。

（9）バソプレッシンシグナルによる時差環境下での概日行動リズム制御

○山口賀章（京都大学大学院薬学研究科 システムバイオロジー分野）

生体は，地球の自転に伴う明暗の環境変化を予測し適応するために，概日時計システムを獲得した。これにより，例えば起床前からコルチゾールを分泌して血糖値を上げ，起床時にすぐに活動できる。一方で，概日リズム異常は種々の病態を誘因するとされている。特に，シフトワークは疫学研究により生活習慣病のリスク要因となることが示され，近年注目されている。これは，慢性的な勤務時間のシフトに伴い，食事や睡眠時間は変動するが，概日リズムの位相はその恒常性から安定しているため，これらの時間が乖離することが要因とされている。しかしながら，概日リズムの恒常性の分子神経機構に関する研究はほとんどなく，根本的な対策はないのが現状である。

そこで私たちは，概日リズムの中枢である脳の視交叉上核（SCN）を対象とした研究を行い，SCN で高発現するバソプレッシンの受容体である V1a と V1b を共に欠損したダブルノックアウトマウスが，明暗の変動による時差症状を示さないことを見出した。また，これまでに，シフトワークの動物モデルとして，慢性時差環境下で老齢マウスの死亡率が増加するという報告があったが，私たちは，時差症状を示さない V1aV1b ダブルノックマウスでは，行動は常に明暗リズムと一致し，生存率は WT マウスと比べて有意に上昇することを示した。本研究は，シフトワーカーの病態に対する創薬を加速させるものと期待できる。

（10）人参養栄湯による食欲促進：抗フレイルのストラテジー

○矢田俊彦，王　磊（関西電力医学研究所 統合生理学研究部，神戸大学大学院医学研究科 システム生理学）

高齢者とがん患者は，しばしば，広範な心身機能の低下からなるフレイル症状を呈する。複雑なフレイル症状の機序には不明な点が多く，有効な予防・治療法が無い現状である。そこで，食欲不振に伴うアミノ酸，グルコースなどの低下が筋量や脳機能の低下を招くとの視点から，最上流の食欲不振に介入してフレイル改善を目指している。

マウスに抗がん剤シスプラチンを投与すると摂食量，体重が低下する。その際，漢方薬の人参養栄湯を経口投与すると，摂食量と体重の低下は顕著に改善した。摂食亢進に中心的役割を担う視床下部弓状核ニューロペプチド Y(NPY) ニューロンに対する作用を検討したところ，人参養栄湯は単離 NPY ニューロンに直接作用して活性化した。NPY ニューロンの 40 %は空腹ホルモンのグレリンにより活性化されるが，このグレリン応答性 NPY ニューロンを人参養栄湯は活性化したことから，人参養栄湯がグレリンと協働して摂食を亢進することが

示唆される。一方，グレリンに応答しないグレリン非応答性 NPY ニューロン（60 %）も存在するが，人参養栄湯はこれも活性化した。高齢者では，グレリンによる摂食亢進が障害されるが（グレリン抵抗性），人参養栄湯はグレリン非応答性 NPY ニューロンを活性化することにより食欲不振を改善する可能性がある。人参養栄湯は，NPY ニューロンを活性化して食欲不振を解除し，心身のフレイルの改善に繋がると考えられる。

（11）GLP-1 の自律神経反射を介した体熱産生作用

○岩﨑有作[1]，矢田俊彦[2,3]（[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，[3]神戸大学大学院医学研究科システム生理学）

【背景と目的】

腸ホルモン glucagon-like peptide (GLP-1) は，食後に分泌が亢進し，食後生理機能である食後高血糖抑制（インスリン分泌促進）や満腹感創出に寄与することが明らかにされている。一方，食後の体熱産生（食事誘発性熱産生）はよく知られている。しかし，GLP-1 のエネルギー消費，特に熱産生への関与については明らかでない。本研究では，GLP-1 の体温・エネルギー代謝調節作用，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。

【結果】

麻酔下ラットへの GLP-1 静脈内投与は，アドレナリン分泌を亢進させ，酸素消費量と体温を上昇させた。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）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の脱感作，及び副腎交感神経の外科的切断により著しく障害された。

意識下のマウスへ液体食を経口投与すると，血中 GLP-1，アドレナリン，直腸温は有意に上昇した。GLP-1 受容体欠損マウスに液体食を与えると，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みられなかった。

【結論】

外因性及び内因性 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唆された。

（12）エネルギー代謝調節機構における転写因子 IRF7 の役割

○黒田雅士（徳島大学 大学院医歯薬学研究部 代謝栄養学分野）

【背景】3T3-L1 脂肪細胞における DNA マイクロアレイおよび領域配列データベース GenomatixSuit©を用いたモチーフ解析によって脂肪細胞肥大化時の遺伝子発現に関与する転写因子を探索した。同定された転写因子 IRF7 (Interferon regulatory factor 7) の生理的役割について解析した。

【方法・結果】1）高脂肪食給餌下で IRF7 欠損マウスは野生型マウス比べて，体重増加や脂肪組織肥大，肝脂肪蓄積が顕著に抑制されていた。2）経口糖負荷試験による耐糖能評価の結果，高脂肪食給餌 IRF7 欠損マウスは野生型マウスと比べて血糖値および血中インスリン濃度の上昇が有意に抑制されていた。3）高脂肪食給餌 IRF7 欠損マウスでは酸素消費量の増加が観察された。4）皮下脂肪組織におけるミトコンドリア脱共役たんぱく質 UCP1 (uncoupling protein1) 遺伝子発現は高脂肪食給餌により減少するが，IRF7 欠損マウスでは UCP1 発現が維持されていた。5）IRF7 の過剰発現は培養ベージュ様培養脂肪細胞における UCP1 発現を優位に抑制した。

【考察】肥満によって発現誘導される転写因子 IRF7 はベージュ脂肪細胞の機能調節によるエネルギー代謝調節機構を介し，肥満におけるエネルギーバランスの崩壊に関与する可能性があることが示唆された。

（13）糖・エネルギー代謝調節における PTP1B の役割について

○坂野僚一（名古屋大学大学院医学系研究科 健康社会医学専攻健康増進医学講座，
健康スポーツ医学 / 名古屋大学総合保健体育科学センター）

Protein tyrosine phosphatase 1B（PTP1B）は全身に発現している分子量50kDaの酵素であり主に小胞体に局在している。げっ歯類において肥満の原因となる高脂肪食を摂取させると PTP1B の発現は増強することが知られている。PTP1B はレプチンおよびインスリン受容体シグナルを阻害する作用を有しており, 肥満に伴う PTP1B の発現増加はレプチンおよびインスリン抵抗性の原因となる。逆に PTP1B の発現を欠損させると両受容体シグナルが亢進することから高脂肪食摂取に伴う肥満形成に抵抗性を示し糖代謝は改善する。

肥満症の内科的治療法は確立しておらず抗肥満薬の開発は喫緊の課題となっている。2018 年の報告で，米国で施行された肥満を伴う 2 型糖尿病患者へ抗 PTP1B 薬を投与した第 2 相臨床試験の結果，有害な副作用を来すことなく患者の体重を有意に減らし血糖値の改善を認めた。

これまでの研究で，PTP1B は脳においてエネルギーバランス，肝臓において耐糖能，筋肉においてインスリン感受性を調節することが報告されている。本講演では，糖・エネルギー代謝調節において重要な役割を果たす PTP1B について，視床下部ニューロンおよびグリア細胞における役割を自験データに基づいて紹介し，さらに抗 PTP1B 薬がインスリン非依存性糖尿病のみならずインスリン依存性糖尿病の治療にも応用可能である知見を紹介する。

（14）糖尿病におけるグルカゴン分泌障害

○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）

糖尿病においては食後のインスリン分泌低下に加え，グルカゴン過剰分泌も生じるとされている。しかし，従来のグルカゴンイムノアッセイは精度が低く，血中グルカゴンの変化についてのデータついての信頼性は乏しいものであった。この問題を克服するため，申請者らはイムノアッセイに代わる測定法として質量分析装置を用いた高精度グルカゴン測定系を開発した。これによりグルカゴン測定系の精度評価，およびその評価に基づく信頼性の高いグルカゴン測定が可能となったため，糖尿病モデルマウスを用いたグルカゴン分泌動態の再検証を行っている。

そのなかで，摂食により糖尿病モデルマウスの血中グルカゴン濃度が顕著に増加することを改めて確認した。そこで，糖尿病病態における食後のグルカゴン過剰分泌の原因を栄養素によるグルカゴン分泌刺激と考え，糖尿病モデルマウスに対し各種栄養素を経口投与したところ，たんぱく質投与によりグルカゴン分泌が増加した。さらに分岐鎖アミノ酸（バリン，ロイシン，イソロイシン）の経口投与においても同様のグルカゴン過剰分泌が認められた。

これらの結果より, 膵α細胞の分岐鎖アミノ酸(食事中のたんぱく質に由来する) に対するグルカゴン分泌調節が糖尿病では障害され，これが食後のグルカゴン過剰分泌の一因である可能性が考えられる。

（15）悪性腫瘍の存在が精神機能に与える影響

○池田弘子（星薬科大学 薬物治療学研究室）

がん患者では，うつ病や適応障害といった精神疾患の罹患率が高いことが報告されている。一般的に，がん患者ではがんの告知や再発などが強いストレスとなり，精神疾患に繋がると考えられている。このような精神疾患は，それ自体が問題であるばかりでなく，がん治療を行う上でも障害となり，患者の QOL を低下させるのみならず，その予後にも影響を及ぼすと考えられている。悪性腫瘍やその周囲からはサイトカインなど様々な物質が産生され，これが異所性に働くことで全身に大きな影響を及ぼす可能性が指摘されている。一方，最近では炎症性サイトカインが精神疾患の発症に関わることも報告されている。これらのことを考えあわせると，がん患者における精神疾患は，単に精神的なストレスが原因になるだけでなく，悪性腫瘍関連物質により発症する可能性が考えられる。そこで私たちは，悪性腫瘍の存在が精神機能に与える影響を明らかにする目的で，脳に転移しない骨肉腫 AXT 細胞を移植した担がんマウスを用いて，悪性腫瘍の存在により末梢で増加したサイトカインが中枢機能に影響を及ぼすか検討した。その結果，末梢由来のサイトカインが中枢機能に影響を及ぼすことを示唆する結果が得られたため，その研究成果の詳細について紹介させて頂きたい。

（16）高齢者疾患・フレイルとホルモン

○小川純人（東京大学大学院医学系研究科加齢医学）

高齢者のフレイルは，加齢に伴う身体機能や認知機能の低下や臓器予備能の低下など，種々の要因によって生じると考えられ，要介護リスクの増大や QOL，生命予後にも大きな影響をおよぼすことが知られている。超高齢社会を迎えたわが国において，高齢者疾患の管理とともに，早期からの介護予防やフレイルの啓発・対策は重要と考えられる。

近年，フレイルの発症や進展に，加齢に伴う栄養不良やホルモン・液性因子の動態変化をはじめとする，様々な要因が関与している可能性が明らかになってきている。中でもアンドロゲンレベルの低下は，男性更年期障害（LOH: Late-onset Hypogonadism）の要因であることに加えて，フレイルや高齢者疾患・動脈硬化などとも関連性を有する可能性が次第に明らかになってきている。今回，高齢者疾患やフレイルの病態とその対策について，加齢に伴うホルモン動態や栄養状態の変化，およびホルモン補充やアミノ酸栄養をはじめとした薬物・非薬物（運動・栄養）療法とその可能性について紹介したい。

8. 食の「満足感」を担う分子・神経基盤研究会（食欲・食嗜好研究会）

2019 年 8 月 26 日－8 月 27 日

代表・世話人：佐々木　努（京都大学･大学院農学研究科）

所内対応者：箕越靖彦（生理学研究所）

（１）呼吸が味嗅覚統合に及ぼす影響

和田有史（立命館大学）

（２）「味」の正体 -味嗅覚統合の時間からのアプローチ

小早川　達（産業技術総合研究所）

（３）意識的および無意識的な視覚的食刺激に伴う神経活動

石田梨佳（大阪市立大学）

（４）嗅神経回路の形成メカニズム

中嶋　藍（東京大学）

（５）甘味およびそれに伴う心地よさを選択的に伝達する神経細胞の発見

中島健一朗（生理学研究所）

（６）脳から末梢組織へシグナルを伝達する神経回路の解析

近藤邦生（生理学研究所）

（７）食嗜好における大脳基底核神経回路機構の解析

疋田貴俊（大阪大学）

（８）動機づけ行動とオレキシン神経

溝口博之（名古屋大学）

（９）雌性 *Mecp2* ヘテロノックアウトマウスの高度肥満発症メカニズム

福原正太（京都府立医科大学）

(10) 発酵調味料の匂いは上肢運動機能を向上させる

箭野　豊（高知大学）

(11) 嗅結節の食行動への関与

村田航志（福井大学）

(12) 混合味溶液の識別

山村知暉（朝日大学）

(13) ビタミン C 欠乏と摂取行動

安尾敏明（朝日大学）

(14) カルシウムによる食欲抑制

五十嵐晶帆（北海道大学）

(15) ニューロペプチド Y 可視化発現マウスの作製と発現解析

中澤和雄（豊橋技術科学大学）

(16) フタホシコオロギの臓器連関が体内の栄養状態および摂食行動に与える影響

福村圭介（東京大学）

(17) 視床下部分泌性小タンパク質 NPGL による摂食調節作用

浮穴和義（広島大学）

(18) 脂質と摂食

酒寄信幸（福島県立医科大学）

（19）若年男女における舌への脂肪刺激が脂肪酸感受性および脂肪嗜好性に与える影響

山内優歩（奈良女子大学）

（20）FGF21-Oxytocin axis と糖質嗜好性

松居　翔（京都大学）

（21）FGF23-αKlotho 系と摂食調節

小森忠祐（和歌山県立医科大学）

（22）末梢オキシトシン投与による摂食抑制作用の脳内機構の解析

岩崎有作（京都府立大学）

（23）非栄養な食品因子による腸管ホルモン分泌

藍原祥子（神戸大学）

（24）霊長類オルガノイド研究の最前線

岩槻　健（東京農業大学）

（25）疫学研究から見た人の食選択

朝倉敬子（東邦大学）

（26）食に関連する 12q24 領域

五十嵐麻希（東京大学）

（27）環境温度による腸内細菌叢変動が及ぼす食嗜好制御機構の探索

宇賀神道彦（東京海洋大学）

（28）脂質嗜好性を担う臓器連関シグナルの探索

佐々木　努（京都大学）

【参加者名】

藍原祥子（神戸大学大学院），朝倉敬子（東邦大学），安藤貴史（フリーランス），五十嵐晶帆（北海道大学），五十嵐麻希（東京大学大学院），五十嵐美樹（東京農工大学），石田梨佳（大阪市立大学），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），上田修平（名古屋大学環境医学研究所），上原優子（あおぞら在宅クリニック），宇賀神道彦（東京海洋大学），浮穴和義（広島大学），應本　真（東京工業大学），大栗弾宏（サントリー食品インターナショナル㈱），大槻智也（京都大学大学院），岡　和（豊田中央研究所），岡　佳輝（雪印メグミルク㈱），加藤成樹（福島県立医科大学），金内則子（東都大学），河野通生（雪印メグミルク㈱），菊地晶裕（生理学研究所），菊池真和（㈱ロッテ），岸　さくら（ハウス食品㈱），河内花菜子（京都大学），小早川　達（産業技術総合研究所），小森忠祐（和歌山県立医科大学），小山博之（名古屋市立大学大学院），近藤高史（味の素㈱），近藤邦生（生理学研究所），酒寄信幸（福島県立医科大学），硲　哲崇（朝日大学），佐々木　努（京都大学），柴田諒祐（日本製粉㈱），清水愼太郎（ハウス食品㈱），清水彬礼（京都大学），志村拓哉（筑波大学），上瀧将史（日本たばこ産業㈱），白石郁美（味の素㈱），杉山宗太郎（京都大学），鈴木未宇（八千代病院），田中智洋（名古屋市立大学），田中　都（名古屋大学），田中義将（生理学研究所），谷口睦男（高知大学），十枝内厚次（至学館大学），豊原良和（高砂香料工業㈱），長阪玲子（東京海洋大学），中澤和雄（豊橋技術科学大学），中嶋　藍（東京大学），中島健一朗（生理学研究所），新田貴大（ハウス食品グループ本社㈱），根岸剛大（ハウス食品㈱），濵野初恵（富山県立大学），林　美紗（京都大学），疋田貴俊（大阪大学），比良　徹（北海道大学），傅　欧（生理学研究所），深澤朋子（早稲田大学），福島　篤（聖マリアンナ医科大学），福原正太（京都府立医科大学），福村圭介（東京大学大学院），藤井　徹（八千代病院），藤平杏子（早稲田大学大学院），堀尾修平（生理学研究所），松居　翔（京都大学），松田烈士（日本たばこ産業㈱），三坂　巧（東京大学），溝口博之（名古屋大学），箕越靖彦（生理学研究所），宮竹　将（㈱大塚製薬工場），宮本理人（徳島大学），村上太郎（至学館大学），村田航志（福井大学），森　紀之（同志社女子大学），森本恵子（奈良女子大学），八木崇志（名古屋

市立大学），安尾敏明（朝日大学），箭野　豊（土佐リハビリテーションカレッジ），山内優歩（奈良女子大学），山口正洋（高知大学），山下敦子（岡山大学），山村知暉（朝日大学大学院），吉川貴仁（大阪市立大学），和田有史（立命館大学），Yu Long（NIPS Internship）

【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 4 回食欲・食嗜好の分子・神経基盤研究会が 8/26-27 に岡崎カンファレンスセンターで開催された。今年から平日開催にしたにも関わらず，例年通りの規模の参加者が集まった。

分野横断的に集まった参加者（合計 89 名。アカデミア 68 名，産業界 16 名，その他 5 名）が，unpublished data を中心とした 28 演題（10 の口頭発表，7 の Short talk，および 11 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。

昨年度指摘された問題点への対策として，本年度から口頭発表を Oral と Short talk の 2 種類に分けた結果，より早期段階の研究に対する建設的なディスカッションが可能となった。

本年度は，認知科学や疫学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，生理学・生物学が中心だったが，生物学領域を含め，周辺領域を取り込んだ学際化への発展を期待させる構成となった。演題を公募しているが，会を重ねるごとに研究会の質が向上している。

各セッション間の休憩時間を十分に確保し，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。参加者全員が作成したプロフィールを事前共有したため，発表者以外の強みとニーズのマッチングも休憩時間の間に行われた。

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。特に産業界の研究者の参加が増えており，本会が産学連携を模索する良い機会と認知されてきたと感じられる。

本会は，質・量ともに学術領域の学際化と変革を担う研究会に発展してきた。来年度も，研究会と学術領域を発展させるために，改善策を準備したい。

（1）呼吸が味嗅覚統合に及ぼす影響

和田有史，天野祥吾（立命館大学），
鳴海拓志（東京大学）

本研究では，呼吸と味嗅覚統合の関連について検討した。実験では嗅覚刺激にはバニラエッセンスを，味覚刺激にはショ糖溶液を用いた。味覚刺激呈示では，溶液の入ったシリンジを参加者に持たせ，指示に合わせてプランジャーを押し込ませて溶液を飲ませ，味覚強度を評価させた。前鼻腔経路嗅覚刺激を味覚刺激呈示前に，後鼻腔経路嗅覚刺激を味覚刺激呈示後に嗅覚刺激を呈示する条件と，反対に，前鼻腔経路嗅覚刺激を味覚刺激呈示後に，後鼻腔経路嗅覚刺激を味覚刺激呈示前に嗅覚刺激を呈示する条件を設けた。また，両条件ともに前鼻腔経路では吸気，後鼻腔経路では呼気に合わせて嗅覚刺激を呈示した。その結果，ショ糖溶液に対する甘味強度は，味覚刺激後の後鼻腔経路経由で呈示したバニラ香によって増強されることが示された。加えて，嗅覚刺激呈示と味覚刺激呈示の順序を入れ替えた条件においては，嗅覚呈示経路によらず嗅覚刺激による味覚増強は観察されなかった。つまり，嗅覚刺激による味覚増強においては嗅覚呈示経路および味覚と嗅覚の時間的な順序が重要な要因であり，後鼻腔経路経由の嗅覚刺激を味覚刺激後に呈示することで味覚増強が引き起こされたのである。これは，呼吸という運動感覚との連動も味嗅覚によるフレーバーに関係することを示している。

（2）「味」の正体 −味嗅覚統合の時間からのアプローチ

小早川　達，後藤なおみ（産業技術総合研究所）

五感の中でも味覚，嗅覚は他の視覚，聴覚，触覚とは異なり，一般的なアプローチとして「好き・嫌い」「快・不快」の切り口から語られることが多い。しかしながら味嗅覚も感覚である以上，当然，知覚や認知の過程がある。

そこで本発表では多感覚統合の結果である「味」知覚について，味覚と嗅覚の統合の視点から次の二点について研究紹介を行う。

(1) 羊羹を用いた日独の食経験の有無による嗅覚情報の活用のされ方：

日本の実験参加者とドイツの実験参加者において鼻をつまんだ状態(嗅覚情報を遮断)で食した場合と，そうでない場合で五基本味に対する強さと気づきやすさの関係が異なることがわかり，その食品を知らなければ嗅覚情報を有効に使うことができないことが示唆された。

(2) 同時性判断課題を用いた味覚と嗅覚の統合過程の考察：

味覚と嗅覚を用いた同時性判断課題を行った。その結果，味覚・嗅覚が含まれる場合は物理感覚を組み合わせた場合と比較して時間分解能が低くなること，また味覚と嗅覚の組み合わせが日常的に経験している組み合わせはそうでない組み合わせと比較して有意に時間分解能が下がることがわかった。また味嗅覚の組み合わせにおいて「同時」と判断された場合は「同時ではない」と判断された場合と比較して味覚一次野の活動が有意に抑制されていることが事象関連電位の計測からわかった。

（3）意識的および無意識的な視覚的食刺激に伴う神経活動

石田梨佳，石井　聡，松尾貴司，中村千華，宇治正人，吉川貴仁（大阪市立大学）

〇背景

食品画像を意識に上らない様に提示した場合に, 交感神経活動の活発化や, 日常の食行動を反映した脳活動が生じることが報告されている。本研究では先行研究で用いたモザイク画像ではなく，食品ではない物体の画像（非食品画像）を対照とした場合も同様な結果が得られるか，食品画像を意識に上る（意識）条件と意識に上らない（無意識）条件で提示した時の脳活動に違いがあるかを検討した。

〇方法

健康成人男性 31 名を対象に，食品画像と非食品画像を各々意識条件と無意識条件で提示し，その間の脳磁図測定を実施した。各脳部位における θ（4-8 Hz），α（8-13 Hz），β（13-25 Hz），γ（25-58 Hz）帯域のパワー値の変化を検討した。無意識下画像提示にはバックワードマスキング法を用いた。心電図の測定を行い, RR 間隔の周波数解析により自律神経活動を評価した。

〇結果

無意識条件で食品画像提示により交感神経活動の増加を認めた。食品画像提示による脳活動は，両条件間で変化しなかった。無意識条件において，画像提示後 500-1000 ms で補足運動野における θ 帯域のパワー値が増加し，その程度は非食品画像に比して食品画像を提示した場合により大きかった。

〇考察

対照に物体を用いた場合にも交感神経系の活動の増加が生じることが確認された。また，補足運動野における脳活動が無意識下での食品画像処理に関わっていることが示唆された。

（4）嗅神経回路の形成メカニズム

中嶋　藍，伊原尚樹，池谷裕二，竹内春樹（東京大学）

神経活動は，成熟した脳においては神経ネットワーク中にある神経細胞同士が互いに情報をやりとりする手段として使われているが，発達期の脳においては正確なネットワークそのものを作るために使われている。しかし，電気パルスのオン・オフで表される神経活動がどのようにして神経細胞の複雑かつ精緻なネットワークを構築しているのかについては，「神経活動の同期性にしたがって神経回路形成が行なわれる」というヘブ則が提唱されている以外には長い間謎のままであった。我々は，嗅覚系をモデル系として嗅神経細胞(嗅細胞)の神経活動の観察を行い，接続先を同じくする嗅細胞の集団は同様の神経活動のパターンを示す一方で，接続先の異なる嗅細胞集団は異なる神経活動パターンを示すことを見出した。さらに人為的に神経活動パターンを操作することで，神経活動パターンが回路構築に関わる軸索選別分子の特異的な発現を制御して嗅神経回路の形成を指令していることを発見した。これらの結果から，嗅細胞の回路構築は，神経活動パターンという情報に基づいて行なわれることが明らかとなった。また，異なる神経活動パターンは，異なる軸索選別分子の発現を活性化したことから，多様な神経活動パターンによって個々の神経細胞の個性を反映した多様な「分子コード」を作り出すことで複雑かつ精緻な回路構築が可能にしていると考えられる。

（5）甘味およびそれに伴う心地よさを選択的に伝達する神経細胞の発見

傅　欧[1]，岩井　優[2]，近藤邦生[1]，三坂　巧[2]，箕越靖彦[1]，中島健一朗[1]
（[1]生理学研究所，[2]東京大学）

摂食は，ヒトや動物にとって最も重要な本能の 1 つである。なかでも，味覚は，栄養豊富な好ましい食物を積極的に摂取し，有害な成分を忌避するなど，食物の価値を判断する際に大きな影響を与える。

味覚の情報は，舌を起点に脳内の複数の中継点をリレーする事で認識されるが，近年，舌の上で味覚が伝わる仕組みについては研究が大きく進展した。一方，脳内で味を伝える神経メカニズムについては未だ不明な点が多い。

このため，本研究ではマウスをモデルに，味覚情報伝達の重要な中継点である脳幹において，味覚伝達神経の探索を行った。

過去に報告されている電気生理学と組織学の解析結果を照らし合わせて精査したところ，脳幹の中でも橋結合腕傍核（PBN）とよばれる部位に味刺激に応答する神経細胞が偏在しており，転写因子の一つである SatB2 を発現している可能性が示唆された。

そこで，この神経細胞の機能を細胞種選択的除去・in vivo カルシウムイメージングによる活動測定・オプトジェネティクスによる人工的な活性化などの実験により検証したところ，SatB2 発現神経は，他の味ではなく，甘味およびそれに伴う心地よさを選択的に伝える役割を担っている事が判明した。マウスの橋結合腕傍核において，味覚応答神経の存在が報告されてから 40 年以上経つが，哺乳類の脳内において味覚伝達神経の特定に成功したのは，本研究が初めてである。

（6）脳から末梢組織へシグナルを伝達する神経回路の解析

近藤邦生，箕越靖彦（生理学研究所）

ヒトを含む動物には，摂取したエネルギー量に応じてエネルギー消費量を制御し，体内のエネルギー量を一定に保つ，エネルギー恒常性の制御機構が存在する。エネルギー恒常性の制御は，我々が健康な食生活を営む上で必須である。脳は，体内のエネルギー状態を検知して，その状態に応じて各組織のエネルギー代謝を制御しており，エネルギー恒常性の制御に重要な役割を果たしている。脳の中では，視床下部の腹内側核などの領域が末梢組織のエネルギー代謝を制御することがわかっている。しかし，これらの脳領域からどのような神経回路を介して末梢組織へシグナルが伝えられ，エネルギー代謝が制御されるかはまだあまり解明されていない。

仮性狂犬病ウイルス Bartha 株は神経細胞に感染するとシナプス結合を介して上流の神経細胞に逆行的に輸送される。今回我々は，糖の産生と消費を行う末梢組織である骨格筋・褐色脂肪・肝臓に蛍光タンパク質を発現する仮性狂犬病ウイルスを感染させ，その後にウイルスが輸送される脳領域を解析することにより，これらの末梢組織を制御する脳領域を網羅的に同定した。その結果，延髄と視床下部の特定の領域が，脳内の情報を統合し末梢組織を制御する役割を果たすことを見出した。この結果をもとに，脳によるエネルギー代謝制御に関わる神経回路が明らかになることが期待される。

（7）食嗜好における大脳基底核神経回路機構の解析

疋田貴俊（大阪大学）

大脳基底核は運動や認知学習に重要な神経核であり，精神神経疾患病態に深く関連している。大脳基底核神経回路のうち，特に腹側被蓋野-側坐核-腹側淡蒼球と連なる神経回路は報酬回路として，食欲・食嗜好に重要な回路の一つである。側坐核から腹側淡蒼球に投射する神経回路は，構成する投射神経細胞に選択的に発現するドーパミン受容体の種類から D1 経路と D2 経路に大別される。私たちは，これまでに側坐核の D1 経路と D2 経路のそれぞれに特異的な可逆的神経伝達阻止法を用いて，D1 経路は報酬学習や薬物依存形成, D2 経路は忌避学習や学習柔軟性に重要であり，これらの経路選択はドーパミン入力により制御されていることを示してきた。また，腹側淡蒼球の特異的神経回路操作により，さらなる忌避学習の回路機構を示した。現在，側坐核の経路特異的な神経活動イメージングを試みており，食欲・食嗜好における大脳基底核神経回路機構を明らかにしていきたい。

（8）動機づけ行動とオレキシン神経

溝口博之（名古屋大学）

視床下部に起始核をもつオレキシン神経系は摂食・エネルギー代謝，学習・活動，情動，睡眠・覚醒といった複数の生理機能を制御する神経である。また，オレキシン神経はやる気の根幹をなすドーパミン神経を中心とした報酬回路システムを調節することが報告されている。これらの事から, オレキシン神経系の働きが報酬に対する動機づけ行動に影響することが想像できるが, オレキシン神経機能と動機づけ行動との関連性は十分に分かっていない。そこで本研究では，orexin-Cre ラットを用いて，食欲，報酬に対する動機づけ行動におけるオレキシン神経の機能的役割について行動科学的側面から検討した。実験にはギャンブル試験, タッチスクリーン式オペラント条件付け試験を用いて動機づけ行動を解析した。Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drugs (DREADD) テクノ

ロジーを用いることで，オレキシン神経活動を操作した。その結果, オレキシン神経の活性化は報酬に対する諦めない行動や行動選択に影響することを見つけた。

（9）雌性 Mecp2 ヘテロノックアウトマウスの高度肥満発症メカニズム

福原正太，中島久和（京都府立医科大学）

自閉症性発達障害の疾患の一つであるレット症候群は, 遺伝子の転写調節に中心的な役割を持つ Methyl-CpG binding protein 2 遺伝子（MeCP2）の遺伝学的異常に起因するが, レット症候群の軽症型が肥満を合併しやすいことが知られている。今回，レット症候群の肥満形成に関するメカニズムについて分子生物学的な検討を行った。4 週齢の野生型（WT）マウスあるいは Mecp2+/-マウスを，普通食（ND）か高脂肪食（HFD）で 12 週間飼育し，視床下部の摂食調節機構, 報酬系の食行動調節機構について分子生物学的に検討し, 視床下部における Agrp, Pomc の発現量, 報酬系におけるドパミンニューロン関連遺伝子の発現量をリアルタイム PCR 法やウェスタンブロット法で解析した。Mecp2+/-マウス+ND 群と WT マウス+ND 群の両群間で体重や摂餌量, 視床下部の摂食調節ペプチドの発現量に差はなかった。ドパミン報酬系の Th, Dat, D1R, D2R, Darpp32 mRNA の発現低下がみられた。一方，Mecp2+/-マウス+HFD 群は WT マウス+HFD 群と比較すると有意に体重と摂餌量，皮下・内臓脂肪の増加，血漿レプチンの増加を認めた。視床下部ではリン酸化 STAT3 が増加していたが，AgRP 蛋白の発現増加，POMC 蛋白の発現低下を認めた。また報酬系の Darpp32 mRNA の顕著な低下を認めた。Mecp2+/-マウスは条件付け場所嗜好性試験にて HFD を強く嗜好した。本研究により，Mecp2+/-マウスは高脂肪食の条件下で過食による肥満が重度になること，高脂肪食は Mecp2+/-マウスの視床下部の摂食抑制障害と報酬系の食行動調節障害を一層増悪することが解明された。

（10）発酵調味料の匂いは上肢運動機能を向上させる

箭野　豊[1]，山本　学[2]，門田真治[3]，椛　秀人[1]，宮田　剛[4]，山口正洋[1]
([1]高知大学，[2]近森病院，[3]白菊園病院，[4]高知工業高等専門学校)

人を含む多くの哺乳類は食物の認知，危険の察知，仲間や交配相手の識別等の多様な機能に嗅覚神経系を用いている。近年，アルツハイマー型認知症やパーキンソン病等，中枢変性疾患の前駆症状に嗅覚障害が認められており，嗅覚機能の低下が，高齢者の情動・運動機能に影響を及ぼすことが知られている。

私は頭部外傷患者への作業療法として調理活動を導入した経験から，調理中の食べ物の匂いが運動機能を改善する可能性があると考えた。そこで，健常人 72 名を 3 群に分け，醤油，水，バラの匂いを曝露し，曝露前後の Functional Reach Test（以下，FRT）と立位体前屈の値を測定した。3 群間で立位体前屈には有意な差はなかったが, 醤油の匂い曝露後の FRT 値が他の 2 群に比べ有意に増加した。また，脳卒中片麻痺患者 20 名に対し，味噌の匂い曝露前後の FRT 値と麻痺側肩関節屈曲角度は曝露後で有意に増加した。以上の結果より，調理工程における発酵調味料の匂いは，「食べたい」という意欲と同時に姿勢筋緊張の変化を誘導し，上肢運動（特に肩甲骨周囲筋の運動）を促通する可能性が示唆された。現在，健常人に対して，3 つの匂い曝露前後の FRT において，上肢運動に関わる体幹筋の筋電活動を計測し，周波数パワースペクトル解析・コヒーレンスを用いて比較検討している。意欲の座である腹側線条体や淡蒼球内節のドーパミン作動性神経回路と，橋網様体脊髄路系を介した姿勢筋の抑制回路の関連が指摘されており，興味深い。

（11）嗅結節の食行動への関与

村田航志（福井大学）

食べ物がおいしいと，体の栄養状態とは関係なくついつい食べ過ぎてしまう。では脳はどのような神経メカニズムで食べ物の感覚情報，ここでは特に匂いの感覚によって食欲と食嗜好を形成するのだろうか。

匂いの情報を脳内で最初に受け取る嗅球の投射ニューロン群は，その軸索を嗅皮質と総称される広大な脳領野へと投射する。嗅皮質内の一領野である嗅結節には，側坐核とともに腹側線条体を構成する解剖学的特徴がある。嗅結節の投射ニューロンは，背側線条体や側坐核の投射ニューロンと同様にドーパミン受容体 D1 または D2 を発現し，腹側被蓋野からドーパミン入力を受ける。ドーパミンは報酬系と呼ばれる行動を強く動機づける神経回路の主要な構成要素であり，我々は嗅結節の食欲・食嗜好形成への関与を探ってきた。

マウスが餌のありかと関連付けた匂いに対して探索行動を示すとき，嗅結節内では前内側部の D1 陽性ニューロンが強く c-fos 応答を示した。オプトジェネティクスと場所嗜好性試験を用いて嗅結節前内側部 D1 陽性ニューロンの機能を調べたところ，このニューロン群の光刺激はマウスにとって誘引的に作用した。薬理遺伝学的に同ニューロン群を活性化すると，活性化中は飼料の摂食量が増え，さらに活性化中に食べた飼料に対して嗜好性を獲得する傾向が予備実験で見られた。以上の結果は，嗅結節の前内側部 D1 陽性ニューロンが，食べ物の匂いによる食行動への動機づけに関わる可能性を示唆する。

（12）混合味溶液の識別

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かったのが実情である。近年，我々のグループは，この点を明らかにするため，行動学的および電気生理学的な手法をもとに解析を続け，ラットが混合味溶液を認識する際，その含有成分が，嗜好性のものであろうが，嫌悪性のものであろうが，十分認識していることを明らかにした（Katagawa et al., 2016）。本発表では，この研究をさらに進歩させた結果得られた，(1) 味溶液識別に関わる刺激溶液の濃度に関わる要因，(2) 各種混合味刺激に対する味覚神経応答の特徴，(3) 味覚識別とその記憶に関わる行動学的要因などについて，我々が，これまで得ている最新データをもとに発表する予定である。

（13）ビタミン C 欠乏と摂取行動

安尾敏明，諏訪部　武，山村知暉，硲　哲崇（朝日大学）

ビタミン C 欠乏（壊血病）の症状の一つとして，食欲不振が生じることは広く知られている。これまでに我々は，欠乏微量栄養素の選択摂取行動の機序を明らかにするために，Osteogenic Disorder Shionogi（ODS）/ShiJcl-od/od（ビタミン C 合成能欠如）ラットを用いた 48 時間 2 瓶選択法を行い，ビタミン C 欠乏前と比べ欠乏時には，ビタミン C 水溶液摂取量が増加すること，食餌量，体重，飲水量や尿量が減少することを報告してきた。しかし，ビタミン C 欠乏で生じる食欲不振がビタミン C 水溶液の選択摂取行動に影響を与えているのかどうかはまだ明らかにしていない。そ

こで，本発表では，上記のことを明らかにするために，同様のラットを VC を摂取させない「欠乏群」と VC を摂取させ欠乏群と同じ体重になるように食餌量を調整した「体重コントロール群」に分け，48 時間 2 瓶選択法を行い，ビタミン C 水溶液摂取量，蒸留水摂取量及び総摂取量を測定し，比較解析したので，その成果を報告したい。

（14）カルシウムによる食欲抑制

五十嵐晶帆，小笠原奨之，原　博，比良　徹（北海道大学）

≪背景≫

ヒトにおいてカルシウムを捕捉した食事が食欲を抑制すること，またカルシウム感知受容体の活性化は食欲抑制ホルモン分泌を誘導することが報告されている。本研究ではカルシウムの経口投与がラットの食欲に与える影響とその時の消化管ホルモン濃度について，さらにカルシウムによる摂食抑制作用に消化管ホルモンの一つである Peptide-YY (PYY) が関与するか検討した。

≪方法≫

AIN-93G 標準食で飼育した SD 系雄性ラットを一晩絶食後，試験溶液を経口投与し直後に飼料を自由摂取させ 24 時間後までの摂食量を測定した。実験１：塩化カルシウム，陽性対照として L-リシン，または溶媒のみ（コントロール）を経口投与し経時的に摂食量を測定した。実験２：塩化カルシウムを経口投与し再給餌 15，30 分後に麻酔下にて門脈より採血し血中消化管ホルモン濃度を測定した。実験３：塩化カルシウム経口投与直後に PYY 受容体の阻害剤を腹腔内投与し摂食量への影響を観察した。

≪結果と考察≫

実験１：塩化カルシウム投与群ではコントロール群と比較して 4 時間後まで有意な摂食量減少が持続した。

実験２：投与 15 分後の血中 PYY 濃度が塩化カルシウム投与群ではコントロール群に比べて高かった。

実験３: PYY 受容体阻害剤投与によりカルシウムによる摂食抑制作用が減弱した。

以上よりラットにおいて塩化カルシウム単回経口投がは短期的に摂食量を減少させることが明らかとなり, この作用には PYY 分泌促進が関与することが示唆された。

（15）ニューロペプチド Y 可視化発現マウスの作製と発現解析

中澤和雄[1]，坪井貴司[2]，沼野利佳[1]（[1]豊橋技術科学大学，[2]東京大学）

視床下部弓状核に存在するニューロペプチド Y（Neuropeptide Y : NPY）産生ニューロンは，その軸索を視床下部外側野に存在する食欲促進ホルモンであるオレキシンや黒色素凝集ホルモン産生ニューロンや，室傍核に存在する副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン産生ニューロンに伸ばし，それらのニューロンの活動を促進または抑制することで食欲を調節している。

概日リズムの中枢である視交叉上核（SCN）に対して，外側膝状体から NPY が分泌されるが，その分泌量は夜間にピークとなる概日リズムを示す。これにより夜行性動物のマウスは，夜間に食欲が促進するという概日リズムを示す。このことは，各時間帯における SCN 周辺での NPY の分泌量を測定することで，摂食行動の概日リズムの制御機構の解明につながると考えられる。そこで本研究では，緑色蛍光タンパク質 Venus に NPY を融合させた NPY::Venus を全身性に発現する NPY 可視化発現トランスジェニック（Tg）マウスを作出し，SCN 周囲の NPY の発現解析を行った。本 Tg マウスを用いることで，計時的に SCN 周囲の NPY 分泌量の測定が可能であった。そこで今回は, 自由給餌群と摂食制限群における SCN 周辺の NPY 分泌量の変化について報告を行う。

（16）フタホシコオロギの臓器連関が体内の栄養状態および摂食行動に与える影響

福村圭介，永田晋治（東京大学）

生体内の栄養状態は，適切な栄養分の摂取や栄養状態に応答した各組織の連携により維持されている。これまでに我々は，哺乳類のグルカゴンに相当する昆虫の神経ペプチドである Adipokinetic hormone (AKH) が，体液中の脂質量や脂肪酸組成を調節することを見出した。このことは，昆虫の脳神経系と脂肪組織が内分泌系により連関することを意味する。本発表では，内分泌系が体内の栄養状態および摂食行動に与える影響を明らかにすることを目的とした。

先ず, 内分泌系が栄養状態に与える影響を検討するため, 脂質代謝を担う脂肪体で発現する神経ペプチド受容体を探索した。その結果，AKH や short neuropeptide F などの複数の神経ペプチドの受容体が認められた。次に，これらの受容体を RNA 干渉法により転写抑制したところ，AKH 受容体をノックダウンした個体（AKHRRNAi）では，脂肪体の代謝関連遺伝子の転写量が変動した。また，AKHRRNAi では, 不飽和脂肪酸の摂食量が顕著に多かった。このことは, 脂肪体の代謝変化が摂食行動を調節することを意味する。そこで，末梢組織での代謝変化を脳神経系に伝達する分泌性因子を探索したところ，インスリン様ペプチドなどの複数のホルモンが脂肪体で認められた。すなわち，脳神経系と脂肪体での臓器連関により，体内の栄養状態および栄養分選択的行動が調節されることが分かった。

（17）視床下部分泌性小タンパク質 NPGL による摂食調節作用

浮穴和義，鹿野健史朗，齋藤鷹也，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。

脳室内へ NPGL を 2 週間慢性投与し，マクロ栄養素飼料給餌条件下での摂食量, 体重, 脂肪蓄積量を解析した。その結果，トータルの摂食量が増加したが，中でも投与開始 5 日目まで脂肪摂取量が増加した。さらに，体重及び脂肪組織重量が増加していた。一方，形態学的解析から，脂肪摂取に関わる神経ペプチドであるガラニンと NPGL が同一細胞で産出されていることを見出した。

以上の解析から，マウスでは，ラットとは異なり，NPGL には脂肪摂取を促す作用があることが示唆された。

（18）脂質と摂食

酒寄信幸，小林和人（福島県立医科大学）

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食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。しかしどのような環境因子によって嗜好食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となる生活環境の解明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減少が見られ，高 n-6/低 n-3 食が拡大している。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た組織学的解析などを行った。研究会では我々の最新データを発表したい。

（19）若年男女における舌への脂肪刺激が脂肪酸感受性および脂肪嗜好性に与える影響

山内優歩，井下真美子，中山治香，森本恵子（奈良女子大学）

近年，食物の中性脂肪は口腔内で脂肪酸に分解され，脂肪酸受容体を介して「脂肪味」が起こると報告された。さらに，高脂肪の食習慣は口腔内脂肪酸感受性を低下させ，肥満を招くとの報告があるが，急性の舌への脂肪刺激による脂肪酸感受性の変化については明らかではない。本研究では若年男女を対象に，舌への脂肪刺激が口腔内脂肪酸感受性を変化させ，脂肪嗜好性・脂質摂取量に影響を与える可能性を検討するとともに，これら指標における性差や女性の月経周期性変動についても検討を加えた。

男性は任意の 1 日，女性は月経期，排卵前期，黄体中期の 3 期に実験を行った。脂肪酸感受性の指標としてオレイン酸検知閾値を 3 肢強制選択法により測定した。さらに，油脂添加ジェルによる舌刺激を 5 分間行い，再度オレイン酸検知閾値を測定した。また，舌刺激前後で異なる脂質濃度のチーズを用いて脂肪嗜好性を評価した。加えて，ビュッフェ形式の自由摂食試験により脂質摂取量を測定し，唾液由来細胞におけるエストロゲン受容体 α および脂肪酸受容体 CD36 mRNA レベルを分析した。

本実験結果により，男性では 5 分間の脂肪・甘味刺激によりオレイン酸感受性が低下し，脂肪嗜好性が増加し，脂質摂取量に影響を与える可能性が示された。しかし，女性では舌刺激によるオレイン酸感受性の低下は黄体中期のみで生じ，排卵前期ではオレイン酸感受性に変化はなく，月経周期に依存することが判明した。

（20）FGF21-Oxytocin axis と糖質嗜好性

松居　翔[1]，北村忠弘[2]，佐々木　努[1]（[1]京都大学，[2]群馬大学）

【背景】

糖質は食行動の引き金として強力に作用し，必要以上のエネルギー摂取をもたらすことで，肥満発症の要因になる。これまでに，Fibroblast growth factor 21（FGF21）は糖質嗜好性を抑制することが報告されている。また我々は，FGF21-Oxytocin（Oxt）axis の存在を明らかにしている。そこで本研究では，FGF21-Oxt axis が糖質嗜好性を制御するのかを検証した。

【方法】

FGF21 受容体を構成する βKlotho の発現が Oxt 神経特異的に欠損している Oxt ニューロン特異的 Klb (β-Klotho) ノックアウト（OK-KO）マウスを作製し，そのマウスを用いて糖質嗜好性試験を行った。また，OK-KO マウスを用いて，2 ボトルテスト[水 vs. スクロース（単純糖質），デキストリン（多糖類），サッカリン（人口甘味料），キニーネ（苦味物質）]を行った。

【結果】

OK-KO マウスは，糖質嗜好性が増加することが明らかになった。また，OK-KO マウスは，スクロースに対する嗜好性の増加が認められたが，デキストリン，サッカリン，キニーネに対する嗜好性の変化を示さなかった。

【結論】

FGF21-Oxt axis は，糖質に対する嗜好性を制御する。

（21）FGF23-αKlotho 系と摂食調節

小森忠祐，森川吉博（和歌山県立医科大学）

食欲は，末梢臓器からの液性，及び神経性の情報が，摂食･エネルギー代謝の中枢である視床下部において統合されて生じる。我々は，視床下部において絶食により誘導される遺伝子を cDNA マイクロアレイにより解析し，抗老化遺伝子である αKlotho を同定した。αKlotho ヘテロ欠損マウスを解析したところ，野生型マウスと比較して，絶食後の再摂食量が減少していた。また，野生型マウスで認められた絶食時の視床下部における NPY と AgRP の増加が，αKlotho ヘテロ欠損マウスでは減弱していた。これらの結果より，絶食時の視床下部において αKlotho は NPY/AgRP の発現を介して摂食を促進している可能性が示唆された。αKlotho のリガンドである FGF23 の血中濃度や視床下部におけるタンパク質の発現が絶食により上昇していたことから，絶食時に FGF23 が視床下部に作用している可能性が示唆された。絶食後のマウスに FGF23 を脳室内投与し摂食量を検討したところ，FGF23 投与群で摂食量の増加が認められ，また，視床下部における NPY や AgRP の発現も増加していた。これらのことから，FGF23 は視床下部において NPY/AgRP の発現を増加させ，摂食促進作用を有することが考えられた。以上の結果より，FGF23-αKlotho 系は，絶食時の摂食促進機構に対して重要な役割を担っている可能性が示唆された。

（22）末梢オキシトシン投与による摂食抑制作用の脳内機構の解析

岩崎有作（京都府立大学）
矢田俊彦（関西電力医学研究所）

オキシトシンは，下垂体後葉ホルモンとしての末梢臓器作用のみならず，脳内でも神経伝達物質/神経修飾物質として作用し，摂食抑制，食嗜好性，社会性向上などの機能を示す。近年，オキシトシンの末梢投与（皮下投与や経鼻投与）によって肥満や糖尿病が改善する事が明らかとなってきた。一方で，オキシトシンの血液脳関門の通過率は極めて低く，末梢オキシトシンの脳への作用機序は不明であった。我々は，末梢オキシトシンが求心性迷走神経の一部サブクラスを活性化して摂食量を抑制する経路を発見した（Y. Iwasaki et al., Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2015）。今回，この＜末梢オキシトシン→求心性迷走神経→脳＞軸を介した摂食抑制作用に関与する視床下部ニューロンを解析したので，その成果を発表する。

（23）非栄養な食品因子による腸管ホルモン分泌

藍原祥子（神戸大学）

腸管は，食事刺激，すなわち糖，脂質，タンパク質やその代謝物といった成分に応じて消化機能や食欲を調節するホルモンを分泌する。この経路は刺激―受容の仕組み，生理応答の各レベルで冗長性がある。摂食行動に対するこの経路の作用機序を解明するにあたり，体内で代謝されない刺激物質を用いることは，腸管での食品受容の仕組みを切り取るよいツールとなりうる。腸上皮で食物の化合物を認識する化学受容体の候補として，口腔内で化学受容を担う味覚受容体が挙げられる。これには栄養となる成分(糖・アミノ酸など)を認識するもののほかに，忌避すべき成分(植物毒など)に応答する分子群が存在する。忌避を担う苦味の受容体である TAS2R の分子群は，植物が光障害や防虫のために産生する植物二次代謝産物によって活性化することが知られている。構造の異なる数種のポリフェノールを利用し，培養細胞を用いて消化管ホルモン分泌を促進する食品因子を探索したところ，緑茶に含まれるエピガロ

カテキンガレート（EGCG）がグルカゴン様ペプチド 1（GLP-1）などの分泌を促進することを見出した。2 mM の EGCG 溶液をマウスに経口投与すると，摂食量が低下した。カルシウムセンサーを導入したマウスを用いて腸上皮における EGCG の作用をライブイメージングをすると，腸上皮の一部の細胞においてカルシウム濃度上昇が観察された。以上より，EGCG は腸管ホルモンを介し摂食を調節する可能性が示された。

（24）霊長類オルガノイド研究の最前線

岩槻　健（東京農業大学），今井啓雄（京都大学）

消化器は内胚葉由来の器官であり，消化管，肝臓，膵臓を含む消化や代謝の要となる臓器群である。上部消化管の末端には舌が配置されており，味覚センサーとしての役割を担っている。また，消化管には栄養素の消化・吸収機構や生体防御機構の他に，味細胞様細胞による栄養素検知機構が備わっている。興味深いことに，膵臓にも味細胞様細胞が存在し，内外分泌機能を適正化するために化学受容機構が働いていると示唆される。このように，内胚葉由来の臓器には味細胞様細胞が散在し，それぞれの臓器特有のセンサー機能を担っていると考えられているが，これまで培養細胞などのツールが乏しく，研究は進んでいない。

我々はこれまでに，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，消化管のオルガノイドが生体を反映している細胞群であることを確認してきた。現在，霊長類から味蕾オルガノイド，消化管オルガノイド，膵臓オルガノイドを作製しそれぞれの臓器におけるセンサー機能を in vitro において再現させることを目的に研究している。本会では，霊長類オルガノイドを使った最近の進捗を short talk にて報告する。

（25）疫学研究から見た人の食選択

朝倉敬子（東邦大学）

人が何を食べるか考えるとき，その選択に影響するのはどのような因子であろうか。個人の生理的欲求以外に，食に対する知識や意識，家族・食事を共にする人の行動やその人との関係性，生活環境など様々な因子によって人の食事内容は決まってくると考えられる。某県 7 市町の 14 公立小学校において，保護者-児童 2650 組に対し前述の因子に関する質問票調査を実施し，栄養素・食品摂取量との関連を検討した。

保護者-児童両方の質問票の提出があり，適切な回答の得られた 2002 組を解析対象とした。栄養知識質問票の正答率は保護者-児童で正の関連があり，正答率の高い児童においては「食事に気を付けることで自分に利益がある」と考える者の割合が高く，かつ栄養摂取状況は良好であった。保護者と十分にコミュニケーションがあると答えた児童，家族の結束が強いと答えた児童の栄養摂取状況も良好であった。保護者が暮らし向きが苦しいと答えている場合，児童の栄養摂取状況は不良であった。保護者個人の収入に関する情報は得られなかったが，課税対象所得の多い調査地域ほど野菜摂取量が多い，清涼飲料水摂取量が少ないなどの関連が認められた。調査地域ごとの栄養摂取状況の違いは大きく，個人レベル因子（例：各人の栄養知識質問票正答率）と地域レベル因子（例：当該地域の大卒率）の食事内容への影響については慎重な検討が必要と考えられた。既存研究の結果も含めて考察する。

（26）食に関連する 12q24 領域

五十嵐麻希[1]，野川　駿[2]，川舩かおる[2]，八谷剛史[2]，
高橋祥子[2]，斉藤憲司[1]，賈　慧娟[1]，加藤久典[1]
（[1]東京大学，[2]㈱ ジーンクエスト）

近年，食に関連するゲノム領域の存在が明らかとなってきた。個人の遺伝的体質に合わせた食を提案する「パーソナルゲノム栄養」は，健康寿命の延長に貢献できると期待されている。

われわれは，パーソナルゲノム栄養の実現を目的に，日本人 1 万 2 千人のゲノムワイド関連解析を行い，食に関連する遺伝座を探索した。その結果，魚の摂取頻度，甘味嗜好性，コーヒー消費量，紅茶消費量は，12q24 領域と関連することが明らかになった。12q24 領域は，2 Mb におよぶ連鎖不平衡領域であり，この中にアルコール代謝に関与する ALDH2 遺伝子の rs671 が含まれている。よって，各食品・食嗜好と 12q24 領域の関連を飲酒で調整すると，魚の摂取頻度および甘味嗜好性は関連性が減弱化したことから，飲酒を介した関連であることが明らかとなった。他方，コーヒーおよび紅茶消費量は，飲酒を介さない関連であった。また，魚の摂取頻度，甘味嗜好性およびコーヒー消費量と 12q24 領域は，男性で強く関連することが示された。

今後は，食と関連する 12 q 24 領域の分子機構解明や，パーソナルゲノム栄養に向けた新たな取り組みを行っていく予定である。

（27）環境温度による腸内細菌叢変動が及ぼす食嗜好制御機構の探索

宇賀神道彦，永野夢紡，石川雄樹，長阪玲子（東京海洋大学）

現在，腸内細菌に関する研究が発展し，宿主の代謝動態との関連性が示されてきているが，腸内細菌が宿主の食嗜好を制御するという報告は少ない。また，環境温度の変動により，食嗜好性が変化していることが確認されている。そこで本研究では環境温度で変動する腸内細菌による，宿主の食嗜好制御機構を探索することを目的とした。

環境温度の差異によって生じる，マウスの腸内細菌叢および食嗜好・摂食関連因子を評価した。

マウスを 7 日間温度馴化後，10℃区・30℃区で高炭水化物餌と高脂質餌を 20 日間選択摂餌させた。隔日で摂餌量を計測，1 週間ごとに採血をして ELISA にて血漿レプチン濃度を測定，期間移行時に糞便を採取し腸内細菌 DNA を抽出したのちにリアルタイム PCR にて解析を行った。解析対象の腸内細菌は宿主の代謝動態との関連が報告されている腸内細菌 Roseburia intestinalis, Lactobacillus reuteri, Akkermansia muciniphila を始めとする 6 種とした。

環境温度の上昇により嗜好性に変化が見られ，腸内細菌叢および血漿レプチン濃度も有意に変化した。これらのことから，環境温度の変化による食嗜好性制御には腸内細菌叢が関与していることが考えられた。

（28）脂質嗜好性を担う臓器連関シグナルの探索

佐々木　努（京都大学）

SIRT1 は NAD+依存性のタンパク脱アセチル化酵素であり，全身に発現している。末梢組織では，エネルギー産生のための利用基質を糖（解糖系）から脂質（脂肪酸燃焼）へと切り替える役割を果たす。他方，中枢神経系の SIRT1 は，身体のニーズを反映するホルモン（Leptin, Insulin, FGF21 など）に対する感受性を調節し，生体恒常性を維持するためのネガティブ・フィードバック制御の効きをよくする作用がある。そこで，申請者らは，「中枢神経系の

SIRT1 は, 末梢組織が求めている利用基質に対する嗜好性を高める」と考え，神経系特異的な SIRT1 増加・欠損マウスの栄養素嗜好性を測定した。そして，「神経系の SIRT1 は，脂質嗜好性を高め，糖質嗜好性を抑制する」ことを報告した（Matsui S et al., Nature Communications, 2018）。

次に，どの脂質成分に対する嗜好性が高まっているかを探索した。その結果，脂肪酸燃焼への利用効率が高い中鎖脂肪酸（特に C8 トリグリセリド）に対する嗜好性が，神経系特異的 SIRT1 増加マウスでは高まっていた。そこで, C8 トリグリセリドの摂取を制御するメカニズムを解明するために, 肝臓でのマルチオミクス解析（RNA, タンパク質，代謝産物）と，脳内の遺伝子発現解析を行った。本講演では，その解析結果について報告する。

9. Neurobiology of Learning & Memory Meeting

2019 年 9 月 12 日－9 月 13 日

代表・世話人：JOSHUA, Johansen（理化学研究所･脳神経科学研究センター）

所内対応者：鍋倉淳一（生体恒常性発達研究部門）

（１）A hypothalamic novelty signal modulates hippocampal memory

Tom McHugh (RIKEN CBS)

（２）Monitoring and updating of action selection through the striatal direct and indirect pathways

Minoru Kimura (Tamagawa University)

（３）Multi-scale analysis of network effect of local perturbation: chemogenetic functional imaging & electrophysiology in macaques

Toshiyuki Hirabayashi (National Institute of Radiological Sciences)

（４）Brainstem-to-amygdala control of emotional associative learning

Josh Johansen (RIKEN CBS)

（５）Non-canonical local dopamine release evoked by postsynaptic neurons

Minoru Saitoe (Tokyo Metropolitan Institute of Medical Sciences)

（６）Disinhibitory gating of discrimination learning and spine enlargement by dopamine D2 receptors in the nucleus accumbens

Sho Yagishita (University of Tokyo)

（７）Social interactions modulate attention and song perception during zebra finch song learning

Yoko Yazaki-Sugiyama (OIST/University of Tokyo)

（８）Heterogeneity in the neural systems mediating fear learning and extinction

Akira Uematsu (University of Tokyo)

（９）A new role of CaMKII as a postsynaptic crosslinker

Yasunori Hayashi (Kyoto University)

（10）Multi-scale Understanding of Synaptic Pathology of Psychiatric Disorders

Akiko Hayashi-Takagi (RIKEN CBS)

（11）RNA epigenetics in neurons and synapses

Dan Ohtan Wang (Kyoto University/iCeMS)

（12）Roles of hippocampus in fear memory reconsolidation and extinction

Satoshi Kida (University of Tokyo)

【参加者名】

林　朗子（理研･脳神経科学研究センター･多階層精神疾患研究チーム）, 木村　實（玉川大学･脳科学研究所）, McHugh Thomas（RIKEN･Center for Brain Science･Lab for Circuit & Behavioral Physiology）, 喜田　聡（東京大学･大学院農学生命科学研究科）, 渡邉真弓（理化学研究所･脳神経科学研究センター･学習･記憶神経回路研究チーム）, 南　雅文（北海道大学･薬学研究院･薬理学研究室）, 山田大輔（東京理科大学･薬学部･薬理学研究室）, 下田藍丸（東京大学大学院･医学系研究科･神経生化学教室）, 松尾直毅（九州大学･大学院理学研究院･行動神経科学）, 小林曉吾（九州大学･大学院理学研究院･行動神経科学）, 天野大樹（北海道大学･大学大学院薬学研究院･薬理学研究室）, 上野耕平（東京都医学総合研究所･･学習記憶プロジェクト）, 藤川　諒（東京理科大学･薬学部生命創薬科学科･精神薬理学研究室）, 高橋純平（東京理科大学･薬学研究科薬科学専攻･精神薬理研究室）, 植松　朗（東

京大学・大学院理学系研究科生物科学専攻・脳機能学研究室）, 柳下　祥（東京大学・医学系研究科・構造生物学）, 王　丹（京都大学・高等研究院物質ー細胞統合システム拠点・Wang グループ）, 杉山（矢崎）陽子（OIST・東大 WPI-IRCN・臨界期の神経メカニズム研究ユニット），大野駿太郎（富山大学・医学薬学研究部・生化学研究室）, 林　康紀（京都大学大学院・医学研究科），Johansen Joshua（理化学研究所・脳神経科学研究センター・学習・記憶神経回路研究チーム），平林敏行（量子科学技術研究開発機構・放射線医学総合研究所・脳機能イメージング研究部），山口真広（名古屋大学・創薬科学研究科・細胞薬効解析学(小坂田研)），Yeh Li-Feng（理化学研究所・脳神経科学研究センター・学習・記憶神経回路研究チーム），白方基揮（東京理科大・薬学部・斎藤研究室），齊藤　実（公益財団法人東京都医学総合研究所・学習記憶プロジェクト），櫻井航輝（大阪大学・蛋白質研究所・高次脳機能学研究室），片山和希（大阪大学蛋白質研究所・理学研究科・高次脳機能学），春日優佑（理化学研究所・脳神経科学研究センター・記憶・学習神経回路研究チーム）, 野村　洋（北海道大学・大学院薬学研究院・薬理学研究室），水谷晃大（大阪大学・理学研究科・高次脳機能学研究室），Gu Xiaowei（RIKEN・Center of Brain Science・Laboratory for Neural Circuitry of Learning and Memory），大川宜昭（獨協医科大学先端医科学統合研究施設・先端医科学研究センター・認知・記憶研究部門），Sulkes Cuevas Jessica Sulkes（University of Tokyo・Graduate School of Arts and Sciences, Department of Multidisciplinary Sciences・Lab. for Neural Circuitry of Learning and Memory (Riken CBS)），榎木亮介（自然科学研究機構・生命創成探究センター），PAN MIAO（名古屋大学環境医学研究所・・分子神経科学），金亮（東京大学大学院・医学系研究科・神経生化学分野），堀尾修平（自然科学研究機構生理学研究所・生殖内分泌研究部門）, 竹本さやか（名古屋大学・環境医学研究所）, 堀金慎一郎（名古屋大学・環境医学研究所・神経 1），小澤享弘（名古屋大学・医学部環境医学研究所・神経系Ｉ）, 許　伊凡（名古屋大学・医学系研究科・神経情報薬理学）, 久保義弘（生理学研究所・神経機能素子），鍋倉淳一（生理学研究所）, 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），張　Dennis（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）, 吉村由美子（生理学研究所・視覚情報）, 近添淳一（生理学研究所・生体機能情報解析室），郷　康広（生理学研究所），Janpen Bangsumruaj （Huachiew Chalermprakiet University）

【概要】

The goal of this meeting was to bring together speakers from different disciplines working in different model organisms to discuss cutting edge research on learning and memory. The speakers spanned different career stages from junior investigators to world leaders and was gender diverse. The topical focus was on different areas of learning and memory research including neural circuits, neuromodulation, disease and molecular underpinnings of synaptic plasticity examined in flies, rodents and monkeys. A poster session was held and several posters were selected for talks, giving junior researchers an opportunity to discuss their work publicly and receive more detailed feedback. Overall the meeting was highly successful, providing an incisive view into cutting edge neuroscience on learning and memory research within Japan, sparking discussion and collaborations and laying a foundation for future cross-disciplinary research efforts.

（1）A hypothalamic novelty signal modulates hippocampal memory

Tom McHugh (RIKEN CBS)

Episodic memory requires converging streams of contextual, social and temporal information along the longitudinal axis of the hippocampus. However, how content-specific modulatory inputs shape this mnemonic process remains unclear. Using mice, we have found that parallel, anatomically distinct projections from the supramammillary nucleus (SuM) of the hypothalamus to the dentate gyrus (DG) and CA2 hippocampal regions modulate memory in a content-specific manner. At the

population level, both contextual and social novelty activate the SuM; however, circuit-based tracing and recordings in a newly developed SuM-Cre transgenic mouse reveal that DG-projecting SuM neurons respond to contextual novelty whereas those targeting CA2 are preferentially engaged by social novelty. Furthermore, inhibition of the SuM-DG pathway leads to deficits in recognizing contextual change while stimulation of the SuM-CA2 projections impairs the expression of social memory. This segregation of social and spatial signals in the hypothalamus suggests bottom-up novelty signaling can flexibly modulate hippocampal memory.

（2）Monitoring and updating of action selection through the striatal direct and indirect pathways

Minoru Kimura (Brain Science Institute, Tamagawa University)

The basal ganglia play key roles in adaptive behaviors guided by reward and punishment. We investigated signals of the direct and indirect pathways of the basal ganglia as rats performed a lever push/pull task for a probabilistic reward. In the dorsomedial striatum, we found that optogenetically and electrophysiologically identified direct pathway neurons encoded reward outcomes, whereas indirect pathway neurons encoded no-reward outcome and next-action selection. Outcome coding occurred in association with the chosen action. Light activation induced a bias on repeat selection of the same action in the direct pathway, but on switch selection in the indirect pathway. Our data reveal the basal ganglia mechanisms underlying monitoring and updating of action selection for goal directed behavior.

Collaborators: S Nonomura, Y Isomura, Y Sakai, K Yamanaka, K Enomoto, S Soma, J Yoshida, K Samejima in Tamagawa BSI, K Kobayashi, K Nishizawa, S Kato in Fukushima Medical University, A Nambu, Y Kawaguchi, S Chiken, H Sano in NIPS, M Watanabe, M Uchigashima in Hokkaido University, M Ogawa in Kyoto University. Supports from KAKENHI, MEXT and AMED.

（3）Multi-scale analysis of network effect of local perturbation: chemogenetic functional imaging & electrophysiology in macaques

Toshiyuki Hirabayashi (National Institute of Radiological Sciences)

Causal understanding of the brain function is one of core issues in contemporary systems neuroscience. Behavioral impact of functional manipulation of a given brain region usually leads to simple interpretation that the manipulated region is required for that behavior. Even such manipulation of “local” brain activity, however, would induce the changes in the operation of large-scale network, and the resultant network-level change is not necessarily predictable from only direct anatomical connections with the manipulated region. Therefore, whole brain imaging concurrent with local perturbation would be a powerful tool to more precisely understand the physiological effect of such local perturbation. Furthermore, electrophysiological technique is indispensable for neuron-level understanding of the network effect revealed by whole brain imaging at the macroscopic level. We are now combining chemogenetics with whole brain imaging and electrophysiology in macaques towards such multi-scale understanding of network effect of local perturbation. In this symposium, I will talk about our recent researches on such multi-modal approach in the context of perception, emotion and cognitive memory.

（4）Brainstem-to-amygdala control of emotional associative learning

Joshua Johansen (RIKEN CBS)

Aversive experiences are powerful triggers for memory formation and alter neural circuits to adaptively shape behavior. The lateral amygdala (LA) is a critical site of neural plasticity mediating aversive memory formation, but how aversive experiences are transduced by the nervous system into neural signals which produce learning and memory is not well understood. I will discuss our recent studies examining how aversive sensory and bodily state information reaches the LA through parallel brainstem neural circuits to trigger aversive associative learning. Using cell type specific optogenetic, neural recording and anatomical tracing approaches, we identified a specific glutamatergic mesencephalic reticular formation pathway which integrates aversive sensory and defensive behavioral response information and triggers fear learning through a direct projection to the LA. Inactivation of this pathway abolishes fear learning and reduces shock evoked responding in LA neurons. Furthermore, stimulation of this pathway is sufficient to produce fear learning. Together, these findings reveal a potential neural mechanisms through which neural circuits transduce aversive external sensory and internal bodily experiences into neural signals which trigger emotional memories.

（5）Non-canonical local dopamine release evoked by postsynaptic neurons

Minoru Saitoe (Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science)

In canonical synaptic transmission, synaptic vesicle (SV) exocytosis is evoked by Ca^{2+} influx to axonal release sites in response to presynaptic neural activity. Hence, dopaminergic (DA) neurons, characterized by a large number of release sites, are thought to execute volume transmission. Recently, however, a second form of SV exocytosis, which does not conform to canonical synaptic transmission, has been implicated in DA neurons, although its entity and underlying mechanisms remain unknown. We found a unique form of SV exocytosis in Drosophila DA neurons that occurs locally onto the postsynaptic mushroom body (MB) neurons that have been coincidentally activated by two different sensory pathways. In this talk, I will show data demonstrating that coincidentally activated MB neurons produce a retrograde signaling molecule, thereby evoke local SV exocytosis. Strikingly, local SV exocytosis requires neither activity of DA neurons nor Ca^{2+} influx at the release sites. Instead, it requires Ca2+ efflux from internal Ca^{2+} store in presynaptic DA terminals. Our data propose that DA neurons utilize two distinct modes of transmission to produce global and local DA signaling.

（6）Disinhibitory gating of discrimination learning and spine enlargement by dopamine D2 receptors in the nucleus accumbens

Sho Yagishita (University of Tokyo)

The striatum consists of two types of spiny-projection neurons (SPN), dopamine 1 receptor (D1R)-expressing and D2R-expressing SPNs. While the role of D1R-SPNs has been well characterized in the detection of a phasic burst of dopamine to regulate synaptic plasticity and reward-related learning, the nature of D2R-dependent behaviors and the cellular mechanisms for detection of dopamine signaling has been unclear. The high affinity of D2R has implies that it has a role in the detection of decreases in dopamine concentration (DA dip) for punishment learning. We thus addressed the D2R function in plasticity and

learning using optogenetic control of DA dips and inhibition of D2R signalling, both in vivo and in slice and found that D2R-SPNs detected DA dips for spine enlargement to refine the generalized reward learning formed by D1Rs. Moreover, we found that a repeated methamphetamine treatment, a model for psychosis, hindered the discrimination learning and a D2R antagonist restored it by enhancement of the plasticity, providing a novel view to understand psychotic symptoms of schizophrenia.

（7）Social interactions modulate attention and song perception during zebra finch song learning

Yoko Yazaki-Sugiyama
(Okinawa Institute of Science and Technology Graduate University / WPI-IRCN the University of Tokyo)

Juvenile zebra finches learn to sing intensively through vocal communications with adult tutors, compared to passive listening to recorded tutor song (TUT). This suggests that high attention level, induced by interacting with tutors, enhances song learning. Here we investigated whether social interactions change attention level and how that change affects song learning by recording neural activities of neurons in the attention control brain area, the nucleus locus coeruleus (LC), and the higher auditory area, the caudomedial nidopallium (NCM), where tutor song memories are suggested to be stored. Both LC and NCM neurons increased their firing rates during the TUT playbacks, but responded more intensely to live tutor singings. Moreover, the responses to TUT of LC neurons as well as TUT-selective neurons in the NCM became greater after hearing hours of live tutor singing. Anatomical analysis showed that LC neurons, which were activated by live tutor singing, project to the NCM. Taken together, we suggest that social interactions with tutors modulate neuronal activity of the LC, which affects selective auditory responses of the NCM neurons, resulting in tutor song memory formation.

（8）Heterogeneity in the neural systems mediating fear learning and extinction

Akira Uematsu (University of Tokyo)

Emotional memory is crucial to guide behaviors for individual's survival. Organisms need to respond to stimuli that predict dangerous or desirable outcomes. When this predicted outcome no longer exists, this emotional memory is weakened and associated behavioral response is reduced through a process called extinction learning. In this talk, I will describe that heterogeneous populations in locus coeruleus noradrenaline system differentially engage in fear learning and extinction. In addition, I will present recent experiments with longitudinal calcium imaging from medial prefrontal cortex which is a key region of gating extinction and discuss how unique population in the prefrontal cortex controls fear extinction.

（9）A new role of CaMKII as a postsynaptic crosslinker

Y. Hayashi (Kyoto University)

Despite the lack of demarcating membranous structure, a synapse can not only maintain the integrity of its components but also dynamically modifies it in response to the neuronal activity. The mechanism by which the synapse maintains and modifies its components to meet its demand has not been totally understood. Here we report that CaMKII, a well-known kinase implicated in the synaptic plasticity, serves as a postsynaptic structural element that captures various proteins.

This is mediated by a binding site on CaMKII normally occupied by the autoinhibitory domain called T-site. Many proteins including synaptic scaffolding, structural, and signaling proteins binds with T-site and are cross-linked through the dodecameric structure of CaMKII. The activation of the kinase opens up T-site to facilitate the binding and one bound, the binding persists even after Ca^{2+} wanes. In this way, CaMKII serves as a universal mechanism to capture synaptic proteins activity dependently.

（10）Multi-scale Understanding of Synaptic Pathology of Psychiatric Disorders

Akiko Hayashi-Takagi (Lab for Multi-scale Biological Psychiatry, RIKEN CBS)

Various lines of evidence have suggested that synaptopathy is involved in schizophrenia. However, it is unknown whether synaptopathy is an underlying mechanism of disease or a secondary consequence. Thus, we performed a longitudinal in vivo 2-photon imaging analysis of the brain of a schizophrenia model (DISC1 knockdown mice) and found that this model exhibited a decrease in the density of dendritic spines, where the majority of excitatory synapses are formed. Furthermore, we found a significantly greater number of large dendritic spines in the model mice. The presence of the large spines in the schizophrenia mice model mirrors findings from another schizophrenia mice model, calcineurin knockout mice. It is well-known that there is a strong correlation between spine head size and its synaptic efficacy, whereby the large spines can generate a larger synaptic current. This led us to hypothesize that large spines can non-linearly affect the dendritic computation, causally resulting in subsequent behavioral alterations. To test this hypothesis, we use a multiscale analysis that consists of an uncaging-evoked single spine EPSC measurement and Ca^{2+} imaging to visualize the synaptic input, dendritic event, action potential, and behavioral manifestations. In addition, with use of in vivo optical and in silico manipulation of the spines in the model animals, we are now trying to causally examine what kind of synaptic pathology would underlie the pathology of disorders.

（11）RNA epigenetics in neurons and synapses

Yoshie Fujiwara[1], Rohini Roy[2], Momoe Sukegawa[2], Soundhar Ramasamy[1], Wan-Ting Hong[1], Ikumi Oomoto[1], Kei Iida[3], Dan Ohtan Wang[1]
([1]Institute for Integrated Cell-Material Sciences, Kyoto University, Japan,
[2]Institute for Integrated Cell-Material Sciences, Kyoto University, Japan / Graduate School of Biostudies, Kyoto University, Japan,
[3]Medical Research Support Center, Kyoto University, Japan)

Single-cell analyses have revealed that compared to other cell types in the brain, neurons not only contain higher RNA content, but also higher RNA species diversity, suggesting complex translational regulatory mechanisms that neurons actively engage to achieve their function. To better understand spatial gene expression in neurons, our lab has focused on a cellular mechanism that physically uncouples transcription and translation through mRNA trafficking and local translation at neuronal synapses. We have found that the synaptically pre-deposited mRNA species can respond to stimuli that induce long-term synaptic plasticity and undergo synapse-, transcript-, and stimulus-specific translation. In search for the regulatory components accounting for such molecular specificity, we have found that methylation at adenosine RNA residues (m6A) can functionally mark the localized RNA species and positively regulate their translation. Reducing proteins that recognize and

bind to m6A in neurons causes neuronal deficits in spinogenesis, activity-dependent spine maturation, synaptic transmission, learning, and memory retention. Furthermore, we show that RNA methylation-mediated translational mechanisms may play important roles in regulating dynamic microtubule networks that underlie building and remodeling of neuronal circuits.

（12）Roles of hippocampus in fear memory reconsolidation and extinction

Satoshi Kida (Graduate School of Agriculture and Life Sciences, The University of Tokyo)

Memory retrieval is not a passive process. Fear memory retrieval initiates reconsolidation or extinction; reconsolidation maintains or enhances fear memory, while extinction weakens it. We have tried to understand mechanisms for regulation of contextual fear memory after retrieval. We found that reconsolidation of fear memory requires gene expression in the hippocampus, mPFC and amygdala while extinction requires gene expression in the mPFC and amygdala, but not hippocampus. Interestingly, hippocampal gene expression is activated when memory is reconsolidated while this gene expression is inactivated when memory is extinguished. These findings raised the possibility that hippocampal silencing is a crucial step to extinguish fear memory. To investigate this, we examined the function of engrams in the hippocampus using c-fos-tag system and found that inactivation of engram neurons during retrieval erases fear memory by blocking reconsolidation, whereas activation of these engrams during retrieval blocks extinction. These results suggest that modulation of hippocampal fear memory engram cells are crucial processes to determine the fate of memory; reconsolidation or extinction.

10. 情動の生起と変容の多面的理解に向けて

2019 年 9 月 11 日－9 月 12 日

代表・世話人：竹本さやか（名古屋大学 環境医学研究所）
所内対応者：鍋倉淳一（生体恒常性発達研究部門）

（1）うつ病における手綱核神経回路と神経炎症の役割
相澤秀紀（広島大学大学院 医系科学研究科）

（2）精神的ストレスによる不安様行動発現の神経メカニズム
笠井淳司（大阪大学大学院 薬学研究科）

（3）意欲調節の神経メカニズムとその障害―サル分子イメージングによる探索
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）

（4）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（理化学研究所 生命医科学研究センター）

（5）仮説ベース/仮説フリーアプローチによる精神疾患の脳機構解明
田中沙織（国際電気通信基礎技術研究所 脳情報通信総合研究所）

（6）異なる２つの前頭前皮質-扁桃体経路におけるストレス応答性のシナプス伝達変化
國石　洋（国立精神･神経医療研究センター 神経研究所）

（7）自閉症モデルマウスにおけるセロトニンと脳機能発達
中井信裕（理化学研究所 脳神経科学研究センター）

（8）扁桃体延長部を介した情動制御の分子神経基盤の探索
竹本さやか（名古屋大学 環境医学研究所）

（9）断眠ストレスや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の解析
永井裕崇（神戸大学大学院 医学研究科）

（10）手綱核-脚間核回路による中央縫線核活動の抑制が，社会的闘争においての劣位化を決定付ける
松股美穂（理化学研究所 脳神経科学研究センター）

（11）恐怖情動記憶を制御する分子メカニズム
金　亮（東京大学大学院 医学系研究科）

（12）慢性痛による抑うつ様行動の神経機構　－ 慢性痛とうつ病をつなぐもの －
南　雅文（北海道大学大学院 薬学研究院）

【参加者名】

南　雅文（北海道大学･薬学研究院･薬理学研究室），相澤秀紀（広島大学大学院･医系科学研究科･神経生物学），國石　洋（国立･精神神経医療研究センター･精神薬理研究部），古屋敷智之（神戸大学･大学院医学研究科･薬理学分野），松下和敏（神戸大学大学院･医学研究科･薬理学分野），山本　亮（金沢医科大学･医学部･生理学１），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･電気生理室），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），宮島倫生（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），天野大樹（北海道大学･大学院薬学研究院･薬理学研究室），沼　知里（神戸大学大学院･医学研究科･古屋敷研究室），山田大輔（東京理科大学･薬学部･薬理学研究室），谷口将之（神戸大学･医学研究科･薬理学分野），小林曉吾（九州大学･大学院理学研究院･行動神経科学），田中沙織（㈱国際電気通信基礎技術研究所脳情報通信総合研究所･認知機構研究所･数理知能研究室），聶　翔（神戸大学大学院･医学研究科･薬理学分野），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･システム神経

回路研究グループ），藤川　諒（東京理科大学･薬学部生命創薬科学科･精神薬理学研究室），白方基揮（東京理科大･薬学部･斎藤研究室），高橋純平（東京理科大学･薬学研究科薬科学専攻･精神薬理学研究室），石川由香（神戸大学･医学研究科･薬理学分野），上田修平（名古屋大学･環境医学研究所･神経系分野 I）　堀金慎一郎（名古屋大学･環境医学研究所･神経 1），黒田啓介（名古屋大学･神経情報薬理学），山橋幸恵（名古屋大学･医学研究科･神経情報薬理），永井裕崇（神戸大学･医学研究科･薬理学分野），橋本泰昌（国立精神･神経医療研究センター神経研究所･遺伝子疾患治療研究部･遺伝子治療技術開発室），竹本さやか(名古屋大学･環境医学研究所･神経系分野 I)，金　亮（東京大学大学院･医学系研究科･神経生化学教室），中井信裕（理化学研究所･脳神経科学研究センター･精神生物学），菅原朋子（豊田中央研究所･ヒューマンサイエンス領域･脳機能解析プログラム），本岡弓佳（神戸大学大学院･医学研究科･薬理学分野），山口真広（名古屋大学･創薬科学研究科･細胞薬効解析学 (小坂田研)），溝口博之（名古屋大学･環境医学研究所･次世代創薬研究センター），三島　零（神戸大学大学院･医学研究科･薬理学分野），松股美穂（広島大学大学院･医系科学研究科（医）･神経生物学研究室），水谷晃大（大阪大学･理学研究科･高次脳機能学研究室），櫻井航輝（大阪大学･蛋白質研究所･高次脳機能学研究室），北岡志保（神戸大学･医学研究科･薬理学），片山和希（大阪大学蛋白質研究所･理学研究科･高次脳機能学研究室），堀　由紀子（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･システム神経回路研究チーム），浅井真人（愛知県医療療育総合センター発達障害研究所･障害モデル研究部），深田太郎（名古屋大学大学院･医学系研究科･分子神経科学研究室），野村　洋（北海道大学･大学院薬学研究院･薬理学研究室），兵頭布実（名古屋大学院･医学系研究科･分子神経科学研究室），揚妻正和（生理学研究所･生体恒常部門），則武　厚（自然科学研究機構生理学研究所･認知行動発達機構研究部門･磯田研究室），PAN MIAO（名古屋大学環境医学研究所･分子神経科学），小澤享弘（名古屋大学･医学部環境医学研究所･神経系 1），遠藤のぞみ（奈良県立医科大学･医学部･第一解剖学），石塚佳奈子（名古屋大学医学部附属病院･親と子どもの心療科），藤原万櫻（名古屋大学･理学部生命理学科･），中武優子（東京理科大学大学院･薬学研究科薬科学専攻･疾患薬理学研究室），渡部文子（東京慈恵会医科大学･総合医科学研究センター･臨床医学研究所），許　伊凡（名古屋大学･医学系研究科･神経情報薬理学），植松明子（生理学研究所･認知行動発達），吉村由美子（生理学研究所･視覚情報），近添淳一（生理学研究所･生体機能情報解析室），鍋倉淳一（生理学研究所），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），張 Dennis（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），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】

生物の生存のために必須である情動は，感覚系，運動系なども関係する統合機能である。我々の行動は情動によって制御され，またその障害は時に精神疾患やストレスなどで顕在化し，社会的にも大きな問題となっている。近年では，ヒトを対象としたイメージング技術，モデル動物を対象とした神経活動計測や回路操作技術，分子的解析技術など，情動の生起における脳内機構の理解に必要な研究技術が著しく発展し，各分野において新たな知見が続々と積み重なっている。また，ゲノム解析技術やモデル動物における遺伝子改変技術の発展などにより，情動変容をもたらす多彩な疾患モデルが確立されつつある。更に，脳に起点をおかず，他システムとの相互作用による情動制御についての研究も近年盛んになりつつある。

そこで，本研究会では，情動の生起と変容について，多彩な動物種およびモデル系を用いて研究を推進する 12 名の研究者を岡崎に招集し，精神疾患やストレス，慢性痛などに伴う情動生起・変容についての研究について講演をいただいた。いずれの講演においてもそれぞれの立場から，双方向に活発な議論が展開された。第一線で実際に研究を行っている若手研究者にも講演を依頼するとともに，多くの大学院生や若手研究者の参加を頂いた。講演の内容は，これまで明らかとされてきた情動に関連する脳領域（前頭前皮質，扁桃体，手綱核など）に

主眼を置いた研究に加え，他の領域や，領域間の相互作用，また，免疫系との相互作用など，多岐および多階層にわたるものであったが，個々の研究内容は有機的につながりを持っており，参加者の研究発展に役立つ情報を共有するとともに，情動を支える神経基盤とその変容および障害について，多面的な理解を深める良い機会となった。2 日間にわたる本研究会での講演と議論を通じて，この分野の医学・生物学における重要性と多岐に広がる発展の可能性を確認するとともに，新たな学術展開の可能性を示す有意義な研究会となったと考えている。

（1）うつ病における手綱核神経回路と神経炎症の役割

相澤秀紀（広島大学大学院 医系科学研究科 神経生物学）

近年，うつ病における手綱核の機能異常が相次いで報告され，うつ病発症におけるその役割が急激に注目を集めているが，このような手綱核の病的活動異常がどのようにして引き起こされるかは不明な点が多い。

この問題に取り組むため，我々は慢性ストレス下でうつ病様の行動異常を示すマウスの手綱核の細胞外環境に注目し，解析を進めている。最近の研究結果によると慢性ストレスは手綱核における細胞外マトリックスの再編成を制御する Matrix metalloproteinases (MMPs) の過剰活性化及び単球などの炎症性細胞の遊走を惹起しており，向炎症性サイトカイン産生が上昇していることが明らかになった。網羅的遺伝子発現解析によると，手綱核で特異的に発現する Proprotein convertase (Pcsk5) と呼ばれる MMPs の活性化酵素がストレス負荷により上昇していた。この酵素は手綱核神経細胞で産生されており，in vitro における microglia の遊走を増強した。Pcsk5 の機能抑制が慢性敗北ストレスによる回避行動を抑制しており，Pcsk5 のうつ病様行動発現における因果関係が明らかとなった。

これらの事実は，手綱におけるストレス応答因子として Pcsk5 の重要性を示唆するものであり，うつ病病態における脳内モノアミン異常の分子基盤を明らかにするものとして期待される。

（2）精神的ストレスによる不安様行動発現の神経メカニズム

笠井淳司（大阪大学大学院 薬学研究科 神経薬理学分野）

過度の精神的ストレスは，広範囲の脳領域の神経活動を変化させ，カテコラミンなどの神経調節物質を介して，不安亢進などの情動変化やその後の情動行動を引き起こす。この情動行動を制御する神経基盤を理解するには，高度に機能局在した脳の広範な領域の神経活動をバイアス無しに捉え，比較解析する研究が必要である。そこで我々が開発した全脳を高精細に観察するため FAST システムと，最初期遺伝子レポーターArc-dVenus マウスを用いて，社会的敗北ストレスおよび拘束ストレスを負荷した脳の全脳活動マッピングを実施した。得られた全ての dVenus 陽性細胞の脳内空間分布を用いて，ストレスの有無による判別分析を実施した結果，既知の情動系神経回路には含まれない微小な神経核が 2 つのストレスモデルに共通して活性化することを見出した。さらに，この領域のストレスに応答した神経細胞を特異的に再活性化した結果，細胞外カテコラミン量の増加や不安様行動を惹起した。これらの最新の知見を紹介するとともに，情動行動制御に関わる神経回路について議論したい。

（3）意欲調節の神経メカニズムとその障害—サル分子イメージングによる探索

南本敬史，堀　由紀子，永井裕司
（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･システム神経回路研究グループ）

仕事や勉強，スポーツなど，日常の多くの行動を支え，その結果を大きく左右する「意欲」（やる気・モチベーション）は脳でどのようにコントロールされているのか？ また，うつなどの精神疾患でしばしば見られる「意欲低下」の背景にはどのような分子・回路病態があるのか？私たちは脳内での意欲制御の基本的な仕組みの理解をめざし，ヒトと近縁で発達した脳をもつサルを対象としてポジトロン断層撮影（PET）など分子イメージングによる研究に取り組んでいる。喉が渇いたサルがジュースの報酬を獲得するための行動の意欲は，報酬の量や行動のコストなどの外的要因，欲求レベルなどの内的要因の複数のパラメータからなる数理モデルで説明可能である。ヒトの意欲低下の症候を再現するモデルザルを作出し，報酬獲得行動のデータを数理モデルで解析することで，ドーパミンシステムがコスト− ベネフィットに基づく意欲制御に深く関わる一方，セロトニンの減少は，報酬や欲求とは無関係に意欲低下を生み出すことを見出した。PET イメージングと薬理操作を組み合わせた解析により，このドーパミン/セロトニンシステム障害による意欲低下は，前部帯状皮質，腹側線条体，扁桃体からなる脳回路の変調が起因している可能性を明らかにした。講演ではこの話題を中心に進行中の研究ついても合わせて紹介したい。

（4）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 [2]，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 [4]，秦　鴻雁 [1]，佐貫理佳子 [5]，古川貴久 [5]，
石濱　泰 [6]，松田文彦 [2]，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] 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，
[5] 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，
[6] 京都大学大学院 薬学研究科 プロテオミクス研究室）

我々の体は多くの生理システムで構成されているが，そのシステム間の相互作用については不明な点が多く残されている。本研究では免疫系の恒常的な活性化がメタボローム変化を介して脳神経系に及ぼす影響，特に情動に与える影響について解析した。

T 細胞活性化モデルである PD-1 欠損マウスの解析の結果, 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の変化が認められた。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。さらに PD-1 欠損マウスのリンパ節ではアミノ酸量が増加していた。一方で，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の含有量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の含有量も低下していた。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こと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唆された。

（5）仮説ベース/仮説フリーアプローチによる精神疾患の脳機構解明

田中沙織（国際電気通信基礎技術研究所 脳情報通信総合研究所）

脳の複雑な機能の解明には, 物質や回路の働きについての数理モデルを仮定し, それを実験的手法で検証する「計算論的神経科学」のアプローチが有効であることは近年神経科学のみならず, 臨床や経済学といった様々な分野に広く浸透してきた。さらに近年，このような「仮説ベース」アプローチを精神疾患患者へ応用することで, 精神疾患のメカニズムを数理モデルとして理解する「計算論的精神医学」という分野が注目を浴びている。講演者のグループでも，注意欠如・多動症や強迫症を対象に，将来や過去の減衰係数の特徴を明らかにしている。一方，ヒト脳画像研究の分野では, 脳画像に加え行動指標や生体指標を含んだ大規模データベース化・精緻化が国際的に進み，脳・行動データを多次元データとして「仮説フリー」なアプローチで扱うことが可能となり, 機械学習によるデータ駆動型解析の活用が本格化している。その例として，疾患の判別や，バイオタイプの同定, さらには個人特性の予測などが挙げられる。疾患判別として強迫性障害のバイオマーカーに関する研究，個人特性としての不安を予測する研究により，これまでの仮説ベースのアプローチに新しい視点を加えることに成功している。本公演では，これまで講演者のグループで実施した仮説ベース/仮説フリーアプローチによる研究を紹介する。

（6）異なる２つの前頭前皮質-扁桃体経路におけるストレス応答性のシナプス伝達変化

國石　洋 [1,2]，山田光彦 [2]，関口正幸 [1]
([1] 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,
[2] 国立精神･神経医療研究センター 精神保健研究所 精神薬理研究部

ストレスへの暴露は，脳の神経回路に様々な影響を与える。特に，前頭前皮質と扁桃体を中心とする回路は情動発現や制御に重要な機能を持っており，ストレスがこれらの回路に影響することで，情動の変容を招く可能性がある。しかし，これらの領域間の情報伝達に対し，ストレスが与える直接の影響を明らかにした研究は未だに少ない。

そこで我々は，光遺伝学とパッチクランプ法を用い，マウスの 2 つの前頭前皮質領域，眼窩前頭皮質（OFC: Orbitofrontal Cortex）と前部帯状回皮質（ACC: Anterior Cingulate Cortex）から扁桃体基底外側核（BLA: Basolateral nucleus of Amygdala）に投射する経路のシナプス伝達の単離計測系を確立した。加えて，それぞれのシナプス伝達特性に対し，Repeated tail-shock stress が及ぼす影響を調べた。その結果，OFC-BLA シナプスにおいて，ストレスによる AMPA/NMDA 電流比の増大および，カルシウム透過性 AMPA 受容体の挿入などのポストシナプスの可塑性の変化が観察された。一方, 興味深いことに, ACC-BLA シナプスでは，ストレスによる AMPA/NMDA 電流比の低下が観察された。これらの結果は，扁桃体への異なる入力経路において，それぞれ異なるストレス応答性の可塑性が引き起こされることを示唆するとともに，これらの可塑性がストレス誘導性の情動変容の基盤の一部である可能性を示唆している。

（7）自閉症モデルマウスにおけるセロトニンと脳機能発達

中井信裕[1]，永野昌俊[2]，齋藤文仁[2]，鈴木秀典[2]，内匠　透[1]
（[1]理化学研究所 脳神経科学研究センター，[2]日本医科大学 薬理学）

自閉スペクトラム症（ASD）は，社会性コミュニケーションの欠如や常同・反復行動，感覚刺激に対する過敏・鈍感性の知覚異常を示す神経発達障害のひとつである。ASD の原因はいまだ不明であるが，遺伝要因が大きく関与していることが示唆されている。我々は ASD 患者で高頻度に見つかっているゲノム変異の 15 番染色体重複を模した ASD モデルマウス（15q dup マウス）を解析することで，ASD 発症につながるメカニズム解明を目指している。本研究では，15q dup マウスの発達期における脳内セロトニン減少に着目し，セロトニン異常が 15q dup マウスの脳機能発達に及ぼす影響を調べた。我々はセロトニン神経の投射先である体性感覚皮質において，抑制機能の低下やひげ刺激に対する受容野機能異常を明らかにした。また，薬理学的手法により発達期の脳内セロトニンレベルを亢進させることで，体性感覚皮質の抑制機能が改善することが明らかとなった。さらに，セロトニン介入後の成体においても 15q dup マウスの社会性行動が改善しており，発達期のセロトニン異常が自閉症発症につながる要因となることが明らかとなった。

（8）扁桃体延長部を介した情動制御の分子神経基盤の探索

竹本さやか（名古屋大学環境医学研究所・神経系分野 I）

扁桃体延長部は，結合性や細胞構築が類似した扁桃体および分界条床核などによって構成され，生理的あるいは病的な情動の制御に深く関わるとされる領域である。これらの領域はいずれも 10 以上の微小な神経亜核から構成されており，大変複雑な組織構築を有している。各亜核の分子マーカーや機能分子が同定されれば，亜核レベルでの機能的理解や，分子制御基盤の解明が進むと期待される。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/CaMKI-III が，扁桃体中心核および分界条床核の特定亜核に発現する分子であることを見出し，その機能解明を推進してきた。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，これらの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，扁桃体と分界条床核の亜核を蛍光標識により分離し，両者の類似性を多面的に検討することで，両領域の各亜核を介した情動制御機構の解明を目指しており，これまでに得られた知見を紹介する。

（9）断眠ストレスや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の解析

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）

個性や記憶の解剖学的基盤である神経細胞間結合の在り方は，学習や睡眠，ストレスなど様々な環境因子により絶え間なく変化し，脳活動や個体の行動を制御する。しかし，長期間の睡眠不足や慢性の心理ストレスなど過度の環境因子は情動変容や認知機能異常を生じさせ精神疾患のリスク因子となる。このように，環境因子はその強度や期間に応じて個体行動における適応的反応や適応不全を生ずるが，その基盤である神経結合の変化並びにその機序については殆ど分かっていない。

本研究においては，神経結合ネットワークにもたらす発達期睡眠の生理的役割や断眠の影響を調べるため，生後 2 週齢のマウスの行動パターン並びに樹状突起スパイ

ンに形成されるシナプスの強度や頻度を調べた。その結果，発達期マウスの睡眠覚醒リズムには概日リズム制御が無い一方で，恒常性制御が存在することが分かった。さらに，短期断眠により運動皮質におけるシナプス強度が増大したことから，覚醒により増大したシナプス強度を低下させ再正常化させる働きが発達期睡眠にあることが分かった。加えて，長期断眠を行うとシナプス強度が睡眠後よりも低下し，シナプス密度が増加することが分かった。これらの結果は断眠によるシナプス強度変化が二相性であるということを示唆する。また，現在は社会挫折ストレスに供したマウスの行動変化と三次元電顕による組織学的変化を解析中であるため，その内容についても紹介したい。

（10）手綱核−脚間核回路による中央縫線核活動の抑制が，社会的闘争においての劣位化を決定付ける

松股美穂 [1]，木下雅恵 [1]，平尾顕三 [1]，小林琢磨 [1]，杉山　拓 [1]，半田剛久 [1]，Tanvir Islam[1]，
小林祐樹 [2]，Arthur J. Huang[3]，崎村建司 [4]，Thomas J. McHugh[3]，糸原重美 [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 行動遺伝学技術開発チーム，
[3] 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，
[4] 新潟大学 脳研究所 細胞神経生物学分野）

手綱核（Hb）は内側部と外側部に分かれ，内側部はさらに背側部と腹側部（vMHb）に分けられる。vMHb の投射はほとんどが脚間核（IPN）に入力しグルタミン酸とアセチルコリン（ACh）が IPN に興奮性シナプス伝達することが知られている。我々は Hb 特異的に ACh 合成酵素を欠失し vMHb-IPN 回路でのみ ACh が放出抑制されるマウスを作製し（cCKO）社会的闘争に関わる試験を行った。cCKO では同腹仔の対照群に比べ対戦相手に勝利しやすく（チューブテスト）攻撃性も高かった（居住者侵入者テスト）。一方，光遺伝学手法により vMHb-IPN 回路を特異的に活性化すると，全てのマウスは対戦相手に敗北した。

IPN のγアミノ酪酸（GABA）神経細胞の投射先の一つが中央縫線核（MnR）との報告を鑑み，vMHb-IPN-MnR の連絡を電気生理学的に確認した上で，MnR のセロトニン（5HT）神経細胞を化学遺伝的手法で抑制すると，cCKO マウスにおいてさえチューブテストで対戦相手に敗北しやすい傾向が認められた。最後に，居住者侵入者パラダイムで侵入者として社会的敗北者になったマウスに対して MnR・5HT 神経細胞を活性化したところ，居住者マウスを対戦相手としたチューブテストで，対照群に比べて有意に敗北しにくい傾向が見られた。

以上の結果より vMHb-IPN 回路の MnR 抑制が社会的劣位を決定すると結論付けた。

（11）恐怖情動記憶を制御する分子メカニズム

金　亮，尾藤晴彦（東京大学大学院 医学系研究科 脳神経医学専攻 神経生化学分野）

恐怖記憶は，動物にとって必要不可欠であるとともに，不安行動を亢進させるなど，情動面においても変化が誘導される。恐怖記憶は脳の様々な領域によって制御される。特に，記憶形成からの時期に応じて海馬から皮質へと記憶の保持・想起に係る脳領野が変化することが知られている。我々は，海馬・扁桃体・前頭前野（帯状回）領域に注目し，恐怖記憶制御の分子メカニズムを明らかにすることを試みてきた。まず，海馬依存的なフェーズにおける転写因子 CREB の coactivator である CRTC1 の役割について調べたところ，意外なことに海馬における CRTC1 ノックダウンは恐怖記憶形成に影響しなかったものの，扁桃体においては恐怖記憶形成を有意に阻害した。よって，CRTC1 は，領野によって恐怖記憶に対する役割が異なることが示唆された。次に，皮質依存的なフ

ェーズにおけるCREBリン酸化を誘発するリン酸化酵素CaMKIVの役割について調べた。その結果，前頭前野（帯状回）CaMKIVは皮質依存的な恐怖記憶の長期化に必要であることが示された。さらに，帯状回CaMKIVは海馬依存的フェーズから皮質依存的フェーズへの移行において指導的役割を果たすことが示唆された。これらの結果から，恐怖記憶の制御機構は，形成されてからの時期に応じて，メカニズムはダイナミックに変動することが示された。

（12）慢性痛による抑うつ様行動の神経機構　－ 慢性痛とうつ病をつなぐもの －

南　雅文（北海道大学大学院薬学研究院薬理学研究室）

痛みは，感覚的側面と情動的側面よりなる複雑な体験である。痛みによる負情動生成は，生体警告系としての痛みの生理的役割に重要であるが，慢性的な痛みでは，痛みにより引き起こされる不安や抑うつなどの負情動は，生活の質（QOL）を著しく低下させるだけでなく，精神疾患・情動障害の引き金ともなる。我々は，行動薬理学的解析や電気生理学的解析により，腹側分界条床核におけるノルアドレナリン神経情報伝達亢進および背外側分界条床核におけるCRF神経情報伝達亢進が，痛みによる負情動生成に重要な役割を果たしていることを明らかにした。背外側分界条床核におけるCRF神経情報伝達とNPY神経情報伝達が，負情動生成において相反的な役割を果たしていることも見出している。さらに，組織化学的解析により，CRFによる分界条床核内神経細胞の活性化が，３本のGABA神経を介して腹側被蓋野ドパミン神経を抑制的に調節する可能性を示した。最近，慢性痛モデル動物では分界条床核内神経情報伝達の可塑的変化により脳内報酬系機能が持続的に抑制されていること示す実験結果を得たので，それらのデータを示し，慢性痛による抑うつ症状の神経機構について論じたい。

11. ミクロからマクロに至る脳の構造と機能のダイナミクス

2019 年 11 月 7 日－11 月 8 日

代表・世話人：河崎 洋志（金沢大学医学系）

所内対応者：吉村 由美子（視覚情報処理研究部門）

（１）Excitability plasticity and mental depressiveness during acute inflammation in the cerebellum

大槻 元（京都大学）

（２）精神疾患関連エピジェネティクス因子の欠損が，マウス内側前頭前野錐体細胞への興奮性シナプス入力の減弱と異常行動を引き起こす

長濱 健一郎（東京大学）

（３）マウス側頭皮質における新規高次視覚野は，小領域ごとに異なる神経投射を示す

西尾 奈々（東京大学）

（４）Oscillatory activities in the cortical circuits

大塚 岳（生理学研究所）

（５）異なったシナプス前モジュールの組み合わせによるシナプス伝達の不均一性

中村 行宏（東京慈恵会医科大学）

（６）Spatiotemporally Asymmetric Excitation Supports Mammalian Retinal Motion Sensitivity

米原 圭祐（オーフス大学）

（７）Top-Down Cortical Circuit for Perception and Memory Consolidation in Mice

村山 正宜（理化学研究所）

（８）Exploring the regulation of ER-mitochondria contact and its physiological roles in neurons

平林 祐介（東京大学）

（９）小胞型グルタミン酸輸送体の発現量が中枢神経系シナプス伝達に与える影響

堀 哲也（同志社大学）

（10）Q-SNARE Syntaxin-7 defines a reluctant recycling pool of synaptic vesicles in hippocampal neurons

森 靖典（同志社大学）

（11）海馬苔状線維シナプス前終末における開口放出および小胞リサイクリングのカルシウム依存性

宮野 里菜子（同志社大学）

（12）トリ蝸牛神経核シナプスにおける Src キナーゼの機能

山田 玲（名古屋大学）

（13）Cerebellar circuit mechanism for rapid sensorimotor associations

堤 新一郎（東京大学）

【参加者名】

米原 圭祐（オーフス大学），神谷 温之（北海道大学），村山 正宜（理化学研究所），平林 祐介（東京大学），狩野 方伸（東京大学），堤 新一郎（東京大学），西尾 奈々（東京大学），長濱 健一郎（東京大学），藤野 修平（東京大学），掛川 渉（慶應義塾大学），中村 行宏（東京慈恵会医科大学），石川 太郎（東京慈恵会医科大学），入江 智彦（国立医薬品食品衛生研究所），河崎 洋志（金沢大学），深澤 有吾（福井大学），久場 博司（名古屋大学），山田 玲（名古屋大学），林 康紀（京都大学），大槻 元（京都大学），堀 哲也（同志社大学），森 靖典（同志社大学），三木 崇史（同志社大学），宮野 里菜子（同志社大学），岡崎 里紗（同志社大学），中久保 佑太郎（同志社大学），川田 聖香（同志社大学），萩原 淳（同志社大学），大橋 俊孝（岡山大学），橋本

浩一（広島大学），中川 直（鹿児島大学），菅森 義真（ウエイブフロント有限会社），郷 康広（生理学研究所），鳴島 円（生理学研究所），榎木 亮介（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），上原 一将（生理学研究所），平澤 輝一（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】

脳神経系では，神経細胞がシナプスを介して情報をやりとりすることにより，その機能が実現される。また脳神経系の機能的理解のためには，分子，シナプス，細胞，神経回路から動物行動に至るまで幅広い階層における研究成果を統合することが重要である。さらに形成過程，可塑的変化や老化・疾患など様々局面での理解も重要であるなど，多角的視点からの解析が必須であることが脳神経研究の特徴である。近年，分子イメージング技術や光遺伝学的操作技術の確立により，真の多階層的研究が実現可能となり，シナプス研究は新たな時代を迎えようとしている。そこで本研究会は，最先端の脳神経科学研究に携わる研究者が一同に会して多角的研究テーマの情報交換を行い，徹底的に議論を行うことを通じてシナプス研究を新次元へと発展させることを目的として企画された。研究会は，2019 年 11 月 7 日-8 日に生理学研究所にて開催された。国内外の研究者約 40 名が参加し，招待講演 3 題，公募による一般演題の口頭発表 10 題が行われた。一般演題は若手の研究者を中心として，電気生理技術を用いたシナプス伝達機構や神経可塑性の研究，二光子顕微鏡による in vivo イメージングや動物行動に関する研究など，最先端の研究データが発表された。今回の研究会では，徹底的な議論を行うために質疑応答の時間を長く取るとの工夫を行った。その結果，熱のこもった議論が行われ，大きな学会では少人数で濃密な議論することは難しいことから本研究会の意義は大きいとの声が多く寄せられた。懇親会では，シニアの研究者と若手研究者との交流が行われ，活発な意見交換が行われていた。研究会の期間中には，世話人会による来年度の方向性も議論され，さらに発展させるための工夫が議論されるなど有意義な研究会となった。

（1）Excitability plasticity and mental depressiveness during acute inflammation in the cerebellum

Gen Ohtsuki[1,2]

（[1]The Hakubi Center for Advanced Research, Kyoto University,

[2]Department of Biophysics, Kyoto University Graduate School of Science）

Cerebellar dysfunction is related to various psychiatric disorders, including au-tism-spectrum disorders and schizophrenia. However, the physiological aspect is less advanced. Recently, I have investigated the immune-triggered hyperex-citability in the cerebellum. Activated microglia via exposure to bacterial endo-toxin lipopolysaccharide or heat-killed Gram-negative bacteria induced poten-tiation of the intrinsic excitability in Purkinje cells (PCs), which was suppressed by microglia-activity inhibitor or microglia-depletion. An inflammatory cytokine, tumor necrosis factor-α (TNF-α) released from microglia via toll-like receptor 4 triggered this plasticity. Region-specific inflammation in the cerebellum in vivo showed depression- and autistic-like behaviors. Furthermore, both TNF-α-inhibition and microglia-depletion reverted such behavioral abnormality. Rest-ing-state functional MRI revealed overconnectivity between the inflamed cere-bellum and prefrontal neocortical regions. Thus, immune activity in the cere-bellum induces neuronal hyperexcitability and disruption of psychomotor be-haviors in animals (Yamamoto et al./ *Ohtsuki, 2019 Cell Reports).

Excitability plasticity of the dendrites may be related to selection of electro-conductivity of synaptic transmission along dendritic processes (Ohtsuki et al., 2012 Neuron; Ohtsuki and Hansel, 2018 iScience). In the later part of the talk, I will present the evidence of discordance of concurrent EPSCs between soma and dendrite of PCs. My results suggest that this discordance contributed to form a cluster of the synaptic transmission. Both

of the induction of intrinsic plasticity and inhibition of SK channels reduced the number of clus-ters, implying that the heterogeneous excitability among PC dendrites may endow neurons with branch-specific computational power and the activity-dependent modulation of the excitability at dendrites (*Ohtsuki, in press, J.Neurosci.). Thus, the excitability plasticity may be linked to physiological mal-function at a disease state, like as in the acute cerebellar inflammation.

（2）精神疾患関連エピジェネティクス因子の欠損が，マウス内側前頭前野錐体細胞への興奮性シナプス入力の減弱と異常行動を引き起こす

長濱 健一郎（東京大学）

統合失調症，自閉症スペクトラム障害などの精神疾患は，幻聴・妄想または社会相互性障害などの症状を呈し，遺伝的要因を含めた多数の因子がその発症に関与することが知られている。これらの精神疾患の病態には，大脳皮質の神経活動の異常が関与すると考えられており，特に内側前頭前野の関与が，患者を対象とした機能的 MRI の画像研究で示唆されている。遺伝的要因の関与の観点から，数多くのゲノムワイド関連解析（GWAS）やエキソームシーケンス解析によりシナプス機能に関わるものを含めた様々な精神疾患関連遺伝子の報告がされており，シナプス機能の病態への関与も示唆されている。

近年，それらの様々な関連遺伝子の発現制御を司る機構として，エピジェネティクス機構の病態への関与が考えられており，いくつかの転写因子やヒストン修飾因子の de novo 変異が患者で報告されている。しかし，個々のエピジェネティクス因子が如何にして精神疾患の発症・病態に関与しているか，その全貌は未だ明らかとなっていない。

今回，我々は，一部の精神疾患患者で rare variant として遺伝子変異が報告されたヒストン修飾酵素に着目した。CRISPR/Cas9 法により，実際の患者で報告されている遺伝子変異を模した変異を持つ遺伝子改変マウスを作製し，行動学的解析，急性脳スライスを用いたホールセルパッチクランプ法によるシナプス機能解析を行ったところ，実際の臨床症状を反映する行動異常とマウス内側前頭前野におけるシナプス伝達異常を同定した。さらに，RNAi 機構による遺伝子のノックダウン効果を利用し，子宮内エレクトロポレーション法を用いて，マウス大脳皮質前頭前野の一部の神経細胞において目的のヒストン修飾酵素の発現を低下させ，シナプス機能解析と行動学的解析を行ったところ，同様のシナプス伝達異常とともに遺伝子改変マウスでみられた行動異常の一部を呈することがわかった。以上から，内側前頭前野の特定の細胞群がマウスにおいて一部の精神疾患様の行動異常に寄与しうることが示唆された。

（3）マウス側頭皮質における新規高次視覚野は，小領域ごとに異なる神経投射を示す

西尾 奈々[1,2]，澁木 克栄[3]，大木 研一[1,2]
（[1]東京大院医統合生理，[2]東京大学ニューロインテリジェンス国際研究機構，
[3]新潟大脳研基礎神経科学システム脳生理）

霊長類の視覚情報処理は，大きく 2 つの経路，背側経路と腹側経路に分けられることが明らかにされている。このうち腹側経路は What pathway とも呼ばれ，見たものの物体認知に機能すると考えられている。様々な実験ツールを適用できる有用なモデル動物マウスの視覚情報処理についても近年研究が進められており，一次視覚野の周囲にある高次視覚野群のうち，内側・前方の群は背側経路に，側方の群は腹側経路に分かれることが報告されているが，それ以降の経路は不明であった。我々は GCaMP トランスジェニックマウスを用いて覚醒下で広域カルシウムイメージングを行い，これまで視覚応答が知られていなかった側頭皮質の Ectorhinal cortex (ECT,

TEa/36a) が顕著な視覚応答特性を持つことを見出した。ECT の特に興味深い応答性は，刺激の物体サイズに従って応答位置がシフトするというものであった。すなわち，小さいサイズの物体刺激に対しては領域後方が，大きいサイズの物体刺激に対しては領域前方が応答するという，物体サイズを表現するような反応を示した。本研究会ではその応答性の詳細と，前方領域（大サイズ領域）と後方領域（小サイズ領域）の神経投射パターンの違いについて報告した。

（4）Oscillatory activities in the cortical circuits

Takeshi Otsuka（Division of Cerebral Circuitry, National Institute for Physiological Sciences）

The cortex outputs the information to several brain areas through different sets of pyramidal cells (PC). It has been shown that cortical PCs form intra- and inter-laminar subnetworks, depending on pyramidal projection subtypes. However, it remains unknown how individual PC subnetworks concern in cortical information processing and the high order brain functions. In the present study, we investigated the effects of optogenetic manipulations of each PC subtype activities on network activities. Channel rhodopsin (ChR2) or archaerhodopsin (eArch) was selectively expressed in L2/3 PCs or L5 PC subtypes of rat motor cortical areas by in utero electroporation. In slice preparations, oscillatory activities were observed in FS cells as well as in the L5 PC subtype by light stimulations to the specific PC subtype. To investigate physiological roles of oscillatory activities, pattern learning task was examined using forced wheel running system, which animals learn irregularly-patterned intervals between step bars to drink water from the supply port, while M1 area was stimulated during running. To evaluate motor learning, we used the falling rate from step bars of a rotating wheel. Time courses of pattern learning formation were affected by optogenetic manipulations of specific PC subtypes. To examine cortical network activities during a task, in vivo recordings were obtained. We found that oscillatory activities in local field potentials during learning were generated and enhanced by light stimulations. Our results suggest that oscillatory activities induced by specific L5 PC subtype contribute to formation of the motor learning.

（5）異なったシナプス前モジュールの組み合わせによるシナプス伝達の不均一性

中村 行宏（東京慈恵会医科大学 医学部 薬理学講座）

シナプス伝達の不均一性を生み出す細胞内機構について，脳幹の巨大シナプス calyx of Held で調べた。成熟した calyx は軸索に接続している茎と，そこから分岐した bouton 状の隆起部からなる。隆起部の数に基づいて calyx を単純型と複雑型に分類したところ，複雑型 calyx では EPSC の振幅，即時放出可能プールのサイズ，シナプス前末端 Ca^{2+}電流が大きく，放出確率は小さかった。複雑型 calyx の EPSC は EGTA によって強く抑制された。さらに calyx に発現する Cav2.1 チャネルを蛍光標識したノックインマウスで形態観察を行ったところ, 蛍光はクラスター状に観察され，幹全体に約 400 個，隆起部 1 つ当たりに 10 個のアクティブゾーンが存在していた。以上の実験結果に数理シミュレーションを適用して解析したところ, 幹では大きな Ca^{2+}チャネルクラスターが短い距離でシナプス小胞と結合し放出確率を上昇させるのに対し, 隆起部では小さな Ca^{2+}チャネルクラスターがより長い距離でシナプス小胞との結合し放出確率を低下させているという結論に至った。シナプスは，2 種類のアクティブゾーンの比率を変えることで, 幅広い放出確率を実現しコーディング能力を拡張できると考えられる。

（6）Spatiotemporally Asymmetric Excitation Supports Mammalian Retinal Motion Sensitivity

Akihiro Matsumoto[1], Kevin L. Briggman[2], Keisuke Yonehara[1]
（[1]Danish Research Institute of Translational Neuroscience - DANDRITE, Nordic-EMBL Partnership for Molecular Medicine, Department of Biomedicine, Aarhus University
[2]Center of Advanced European Studies and Research (caesar) ）

The detection of visual motion is a fundamental function of the visual system. How motion speed and direction are computed together at the cellular level, however, remains largely unknown. Here we suggest a circuit mechanism by which excitatory inputs to direction-selective ganglion cells in the mouse retina become sensitive to the motion speed and direction of image motion. Electrophysiological, imaging, and connectomic analyses provide evidence that the dendrites of ON direction-selective cells receive spatially offset and asymmetrically filtered glutamatergic inputs along motion-preference axis from asymmetrically wired bipolar and amacrine cell types with distinct release dynamics. A computational model shows that, with this spatiotemporal structure, the input amplitude becomes sensitive to speed and direction by a preferred direction enhancement mechanism. Our results highlight the role of an excitatory mechanism in retinal motion computation by which feature selectivity emerges from non-selective inputs.

（7）Top-Down Cortical Circuit for Perception and Memory Consolidation in Mice

Murayama Masanori（RIKEN Center for Brain Science）

Top-down control of sensory processing by higher cortical areas is essential for sensory perception. Despite its importance, little is known about the mechanisms executing this control. Recently, we identified a reverberating cortical circuit that underlies somatosensory perception in the mouse hindpaw. We revealed that 1) physiologically, the circuit consists of sensory input from the primary somatosensory cortex (S1) to secondary motor cortex (M2) that is converted into a feedback projection that returns from M2 to S1, that 2) anatomically, the circuit comprises a long-range recurrent intracortical connection between S1 and M2. Axons from M2 to S1 target both deep and superficial cortical layers in a bidirectional projection pattern that is characteristic of top-down projections. In this talk, I will introduce physiological roles of the top-down pathway in brain functions including perception and its memory consolidation of tactile information.

（8）Exploring the regulation of ER-mitochondria contact and its physiological roles in neurons

平林 祐介（東京大学 工学系研究科 化学生命工学専攻）

Ca^{2+} はニューロンのシナプス伝達において中心的役割を果たすイオンである。従ってニューロンにおける Ca^{2+} 動態制御は非常に重要である。我々はニューロンの樹状突起においてシナプス活動に伴い小胞体からミトコンドリアへ Ca^{2+} が流入することを見出した（Hirabayashi et al., Science, (article) 2017）。Ca^{2+} のミトコンドリアへの流入は小胞体−ミトコンドリアの接触面（Mitochondria-associated membrane, MAM）で起こることが知られているが，MAM はその他にもミトコンドリアの形態制御，脂質合成，オートファゴソーム形成など様々な細胞の恒常性維持に必須の役割を担う。MAM 形成にはミトコンドリア−小胞体の数十 nm の近接が必要であることが示唆されているが，多細胞生物におけるミトコンドリア−小胞体繋留分子は未だ決定的なものが発見されておらず，この分野の進捗の妨げ

となっていた。しかし我々は出芽酵母のミトコンドリア−小胞体繋留タンパク質が持つ一部のドメインを手がかりとして膜タンパク質 PDZD8 に注目し，PDZD8 が哺乳類細胞のミトコンドリア−小胞体の接触に必須であることを初めて示した（Hirabayashi et al., Science, 2017）。内在性の PDZD8 に CRISPR-Cas9 システムを用い蛍光タンパク質を融合させ超解像度顕微鏡を用いその局在を調べたところ，PDZD8 は小胞体，中でも MAM に局在していた。正確にミトコンドリア−小胞体間の距離を定量するには電子顕微鏡（EM）による観察が必須であるが，我々は３次元 EM 画像取得の最適化を行い，FIB (Focus Ion Beam)-SEM (Scanning EM) 画像の３次元再構築により正確に MAM の割合を定量することに成功した。この手法を用い PDZD8 KO 細胞を調べたところ，MAM はコントロールに比べ２割程度まで大きく減少していた。また，培養細胞およびニューロンの樹状突起において小胞体からミトコンドリアへ Ca^{2+} の流入を調べたところ，PDZD8 KD 細胞では流入する Ca^{2+} がコントロールと比べ大きく減少していた。興味深いことに樹状突起においてはミトコンドリアに取り込まれなかった Ca^{2+} により細胞質の Ca^{2+} 濃度が上昇していた。以上の結果から PDZD8 は小胞体とミトコンドリアを繋ぐのに必須のタンパク質であることが明らかとなった。以上の結果は細胞の代謝を始めとした恒常性維持メカニズムの研究から神経疾患の治療法に至るまで, 幅広く大きなインパクトを持つ発見であると考えている。

（9）小胞型グルタミン酸輸送体の発現量が中枢神経系シナプス伝達に与える影響

中久保 佑太郎 [1]，阿部 冴華 [1]，伊佐 真幸 [2]，高森 茂雄 [2]，堀 哲也 [1]
([1] 同志社大･生命医科学，[2] 同志社大･院･脳科学)

シナプス小胞あたりの VGLUT の発現量は, 小胞へのグルタミン酸充填速度に影響し, このことがシナプス伝達効率にシナプス前性に影響を与える可能性があるが, 実験的知見は少ない。我々はげっ歯類脳幹スライス標本において, シナプス前終末内ケージドグルタミン酸光分解を行い，VGLUT1 ノックアウト（KO）マウスにおけるシナプス小胞再充填速度と，その生理学的影響を観測した。

シナプス小胞枯渇処理を施したシナプスにおいて，グルタミン酸アンケージング後の EPSC 回復時間を観測すると，WT マウスと比較し VGLUT1 KO では回復が約３倍遅い事が観測された。また，100 Hz10 秒間の高速かつ持続的な神経活動中は，WT マウスでは calyx シナプス前終末での活動電位発火が 10 秒間安定して後細胞に破綻なく活動電位を発生するのに対し，VGLUT1 KO マウスでは，高頻度活動中に後細胞の活動電位発生に顕著な破綻をきたすことが観測された。

高速に活動するシナプスにおいては，十分量の神経伝達物質輸送体の発現と，回収再利用されたシナプス小胞への素早い神経伝達物質再充填が，高頻度かつ持続的な神経伝達の維持に重要であることを示唆する研究内容を生理研研究会「ミクロからマクロに至る脳の構造と機能のダイナミクス」演題として発表し，報告した。

（10）Q-SNARE Syntaxin-7 defines a reluctant recycling pool of synaptic vesicles in hippocampal neurons

Yasunori Mori[1], Koichiro Takenaka[1], Yugo Fukazawa[2], Shigeo Takamori[1]
([1]Laboratory of Neural Membrane Biology, Graduate School of Brain Science, Doshisha University,
[2]Department of Histological and Physiological Sciences, Faculty of Medical Science, University of Fukui)

Presynaptic terminals contain recycling pool of synaptic vesicles (SVs) that are responsible for sustained neurotransmitter release during repetitive stimulation. Despite morphologically homogeneous appearance of SVs at the presynaptic terminals, whether all recycling vesicles share a common release property has been unclear. Although the neuronal SNARE proteins have been shown to be essential for SV exocytosis, SVs also contain various kinds of endosomal SNARE proteins as minor

components whose functional significance at the presynaptic terminals is poorly understood. Here, by monitoring recycling behavior of endosomal SNAREs (Syntaxin-6, -7, -8, -12/13, -16, vti1a, VAMP-7) tagged with pH sensitive GFP (SEP; super-ecliptic pHluorin) in cultured hippocampal neurons, we demonstrate that vesicles harboring endosomal Q-SNARE Syntaxin-7 undergo exocytosis only upon high frequency stimulation at 20-40 Hz. The release of this subpopulation of recycling vesicles requires high intracellular Ca^{2+} and also depends on actin dynamics. Notably, blockade of Syntaxin-7 functions in neurons attenuated the rate of recruitment of SV recycling pool, rather than the total recycling pool size. Our data collectively suggest that within total recycling vesicle pool, a distinct subset of SVs is recruited for release depending on neural activities, and that Syntaxin-7, at least in part, contributes to form the functionally segregated recycling vesicle pool.

（11）海馬苔状線維シナプス前終末における開口放出および小胞リサイクリングのカルシウム依存性

宮野 里菜子（同志社大学大学院脳科学研究科 シナプス分子機能部門）

シナプス前終末において，即時放出可能プール（RRP）にあるシナプス小胞の開口放出, エンドサイトーシスおよびシナプス小胞の補充は, シナプス伝達を持続的に行うために必要な過程である（シナプス小胞サイクリング）。海馬の苔状線維シナプスでは, 頻回刺激によるシナプス前終末内のカルシウム濃度上昇で, 顕著な短期シナプス増強を示すことが知られている。しかし，カルシウム濃度の上昇により, シナプス小胞サイクリングの各過程がどのような影響を受けているのかは明らかになっていなかった。そこで, 海馬の急性スライス標本を作製して苔状線維シナプス前終末に膜容量測定法を適用し, これらの細胞内カルシウム依存性を調べた。シナプス前終末に RRP が枯渇するような脱分極刺激を与えると, 開口放出により細胞膜の表面積が増えて膜容量が増加し，その後，増加した膜容量はエンドサイトーシスによって徐々に減少した。このとき，細胞内液にカルシウムイオンのキレート剤を加え, その効果をみた。すると，キレート剤の濃度を上げたとき，小胞の放出量は減少したが, エンドサイトーシスの時間経過はほとんど変わらなかった。また, 2 発の RRP 枯渇刺激を様々な間隔で与えて RRP の回復速度をみたところ，キレート剤の濃度の影響を受けないことが分かった。これらの結果から, RRP の消費はカルシウムに依存するが, エンドサイトーシスや RRP への補充過程はカルシウムに依存しないことが分かった。

（12）トリ蝸牛神経核シナプスにおける Src キナーゼの機能

山田 玲，古田 孝行，久場 博司（名古屋大学 医学系研究科 細胞生理学）

Src キナーゼは非受容体型チロシンキナーゼであり, 細胞における様々なシグナル伝達経路に関わる。神経細胞にも広く存在し，海馬では NMDA 受容体の促進作用を介した長期シナプス増強への関与が報告されている。高頻度神経活動を繰り返す聴覚系においても Src キナーゼは発現するが，その生理作用は良く分かってない。本研究ではトリ蝸牛神経核（NM）細胞を対象に，Src キナーゼの聴神経シナプス伝達に対する作用を調べた。孵化後ニワトリ脳幹スライス標本を用い，NM 細胞から聴神経刺激による EPSC を記録した。連続刺激（100 Hz，22 回，20 秒間隔）を与え続けると EPSC の振幅は徐々に減衰するが，この減衰は Src キナーゼ阻害剤（PP2）の投与により回復した。累積プロットを用いた解析から，EPSC の変化はシナプス小胞の即時放出可能プール（RRP）サイズの変化と相関することが分かった。さらに PP2 を事前に投与した標本では，連続刺激による EPSC の減衰は観察されなかった。つまり NM 細胞では聴神経活動に応じて Src キナーゼが活性化し，RRP サイズを減少させることによってシナプス小胞放出を抑制する。免疫染色において GLT-1 との共存が示唆されたことから, Src キナーゼはシナプス周囲のアストロサイトに発現すると考えられる。今後は聴覚情報伝達における Src キナーゼの機能的意義について検討する予定である。

（13）Cerebellar circuit mechanism for rapid sensorimotor associations

Shinichiro Tsutsumi[1], Oscar Chadney, Tin-Long Yiu, Lavinia Farragiana, Edgar Bäumler, and Michael Häusser
（[1] 東京大学）

The key question in neuroscience is how the brain uses sensory information to flexibly adapt motor behavior. The cerebellum has a well-known role in precise motor control. In addition, recent studies emphasize its role in sensory processing which could be used for rapid sensorimotor associations. However, how the cerebellum processes sensory information to rapidly adapt motor behavior remains largely unexplored. Here we invented a behavioral paradigm which requires animals to rapidly discriminate multimodal sensory information to generate temporally precise motor initiation. We probed how the cerebellar cortex contributes to the rapid sensorimotor associations by optogenetic manipulation, high density electrical recordings (Neuropixels recordings), and two photon imaging of cerebellar Purkinje cell activity in the folium Crus I in head-fixed mice.

Optogenetic activation of Purkinje cells shows that cerebellar cortical activity in Crus I during the sensory cue is crucial for temporally precise motor initiation in response to sensory stimuli, but not for the motor performance per se. Neuropixels recordings from Purkinje cells during the task reveal dual phase and bidirectional modulation of simple spikes. Short latency (~200 ms) modulation of simple spikes is sensory modality-specific, and the decreases predict subsequent motor initiation. Long lasting (~2 s) modulation predicts the rate of motor actions. Optogenetic activation of Purkinje cells in Crus I shifts the simple spike decreases toward increases, which corresponds to the inability of the animals to initiate motor behavior. Two photon calcium imaging across entire Crus I reveals that behaviorally relevant complex spike signals are organized into alternating parasagittal bands (zones). The probability, latency and magnitude of coherent complex spike signals within these zones discriminated sensory modality. Coherence level of complex spikes within the salient zones was specifically enhanced during sensory-evoked motor actions, but not for voluntary movement. Coherent complex spike signals in the salient zones during sensorimotor associations were correlated with temporally precise motor initiation.

These results suggest that short latency sensory-evoked decreases in simple spikes are crucial for rapid sensorimotor associations, and subsequent enhancement of coherence in sensory-evoked complex spikes in spatially organized Purkinje cells contributes to temporal precision of sensory-evoked motor initiation. Elaborate coordination of these two systems in the cerebellar cortex may sophisticate sensorimotor associations.

12. 認知神経科学の先端～脳の理論から身体・世界へ

2019 年 9 月 1 日－9 月 2 日
代表：島崎秀昭（京都大学）
所内対応者：磯田昌岐（生理学研究所･認知行動発達）
世話人：吉田正俊（生理学研究所･認知行動発達）

（１）Introduction to discrete active inference
Martin Biehl（Araya Co.）

（２）Learning action-oriented models through active inference
Chris Buckley（University of Sussex）

（３）Active Inference: a principled approach to the exploration-exploitation dilemma in reinforcement learning ?
Alec Tschantz（University of Sussex）

（４）知覚から思考までの基本機構を明らかにする自由エネルギー原理
乾　敏郎（追手門学院大学）

（５）Biological plausibility of variational free energy as a cost function for neural networks
Takuya Isomura（RIKEN Center for Brain Science）

（６）*in-vivo* imaging of the telencephalic neural activities in the closed-loop virtual reality environment revealed active inference in decision making
Hitoshi Okamoto（Lab. for Neural Circuit Dynamic of Decision Making, RIKEN Center for Brain Science）

（７）逆強化学習による動物行動戦略の解読
本田直樹（京都大学 生命科学研究科 生命動態研究センター）

（８）再認の段階的創発を時間構造の変形から考える
平井靖史（福岡大学）

（９）学習と認識の熱力学：ニューラルエンジンとはなにか？
島崎秀昭（京都大学）

【参加者名】

新居桂陽（生理学研究所），Martin Biehl（アラヤ），Christopher Buckley（University of Sussex），遠藤拓己（スマートニュース㈱），原田　勉（神戸大学），平井靖史（福岡大学），廣田隆造（東京大学），本田直樹（京都大学），堀井隆斗（大阪大学），飯田正仁（㈱三菱総合研究所），乾　敏郎（追手門学院大学），磯村拓哉（理化学研究所），岩沖晴彦（霊長類研究所），岩下素子（㈱デンソー），金子　順（東海大学），上林厚志（㈱竹中工務店），金原秀行（豊田中央研究所），北城圭一（生理学研究所），小林秀章，小山雄太郎（生理学研究所），熊谷　亘（理化学研究所），倉重宏樹（東海大学），栗原勇人（早稲田大学），松本有央（産業技術総合研究所），松嶋達也（東京大学），道川貴章（理研光量子工学研究センター），宮崎美智子（大妻女子大学），宮崎崇史（ヤフー㈱），森　裕紀（早稲田大学），工藤和俊（東京大学），金沢星慶（東京大学），久保義弘（生理研），中村絢斗（東京大学），大羽成征（京都大学），落合幸治（理化学研究所），落合哲治（京都拘置所医務課），小笠原淳（慶應義塾大学医学部大学院），小笠原慶太（名古屋大学），荻野正樹（関西大学），岡田康佑（東京大学），岡本　仁（理化学研究所），奥村　唯，太田　陽（名古屋大学），榊原清美（トヨタ自動車㈱），坂本　嵩（慶応義塾大学），佐藤大地（マツダ㈱），佐藤那由多（大阪大学），関澤太樹（東京大学），島崎秀昭（京都大学），宗田卓史（東京医科歯科大学），須田晃充（順天堂大学），菅原朋子（トヨタ中央研究所），砂川純也（北海道大学），鈴木大地（NINS, ExCELLS），高橋　徹（早稲田大学），竹井成和（SmartNews／ 産業技術大学院大学），田中　大（東京大学），谷本悠生（理研 CBS），富田健太

（愛知大学），鳥越万紀夫（理研 CBS），Alexander Tschantz（University of Sussex），上田奈津貴（NCNP，東京医科歯科大学），植松明子（生理学研究所），和田幹彦（法政大学），ユーハオワン（大阪大学），渡部綾一（京都大学），Xiang Felix Yan（早稲田大学），山内　智（ヤフー㈱），吉田正俊（生理学研究所），柴山康太郎（東京大学），Acer Chang（アラヤ），Yeng Yu（アラヤ），磯田昌岐（生理学研究所）

【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。そこで本研究会では，「身体・世界との関わりを志向した脳の理論」をキーワードに 1) 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ことを本会の特色とする。また，NINS 分野融合型共同研究事業による「自由エネルギー原理チュートリアル・ワークショップ」に続けて開催することによって，とくに若手研究者が計算論的方法をそれぞれの分野に応用できるようになることを目指した。

（1）Introduction to discrete active inference

Martin Biehl（Araya Co.）

In this talk I will give an overview of the formal ingredients and assumptions of Friston's active inference. Starting from a Markov chain I will clarify the relation of the "standard" or "internal" formulation of active inference to the "external" free energy principle associated to Markov blankets. The internal version can be seen as an approach to reinforcement learning for partially observable Markov decision problems (POMDPs) i.e. to POMDPs where the transition function is not known to the agent. The external version claims that a particular dependency structure (called a Markov blanket) between subsets of variables in a dynamical system always leads to some subset "appearing" to perform Bayesian inference on another.

I will then present in detail the internal active inference procedure. This procedure relies on a powerful but also computationally intractable graphical generative model. The model includes parameters for the transition function of the environment states and for the dependency of the sensor values on these environment states. The generative model then specifies a joint probability distribution over these parameters as well as all past and future actions, sensor values, and environment states. Conditioning on past taken actions, observed sensor values, and future actions results in an up-to-date posterior (we call it the active posterior) which represents what the model predicts about the consequences of future actions. A policy can then be derived by evaluating its consequences according to some given criteria. The standard criterion in active inference is the expected free energy but other choices are equally compatible with the overall approach. For example, in the reinforcement learning setting it is the expected sum over a particular sensor value called the reward. Obtaining the active posterior and choosing the optimal future action exactly are generally intractable problems. Active inference therefore proposes to turn both of these problems into a single optimization problem. This is achieved by by introducing two new objects. The first is a variational active posterior to approximate the true active posterior. There is then an optimal policy associated to this variational active posterior, the variational optimal policy. The second object is a policy to approximate this variational optimal policy. The single optimization procedure then minimizes the sum of the divergence between the variational active posterior and the true active posterior and the divergence between the approximate policy and the optimal variational policy.

（2）Learning action-oriented models through active inference

Chris Buckley（University of Sussex）

In predictive processing accounts of perception and action, great importance is placed on generative models that encode predictions about the sensory consequences of actions. Such models, which underpin 'active inference' formulations of predictive processing, provide a computational basis for theories of perception and phenomenology that emphasize sensorimotor interactions or contingencies. How such action-oriented models are learned, especially in complex environments, remains an open question. One approach is to learn in the presence of goal-directed actions, however this strategy can suffer from so-called 'bad bootstraps' by prematurely converging to suboptimal solutions. Another approach is to learn in the presence of exploratory or epistemic actions: while this approach can deliver accurate models, these models are not tuned to any particular behavioural niche and are therefore inefficient. Here, we demonstrate a principled and pragmatic approach to learning action-oriented models. Our approach balances goal-directed and epistemic behaviours through minimization of 'expected free energy' according to principles of active inference. We demonstrate this approach using a simple model of bacterial chemotaxis in which agents learn models that are parsimonious, tailored to action, and which avoid 'bad bootstraps'. Intriguingly, our model shows how probabilistic models can support adaptive behaviour not only in spite of, but because of, their departure from veridical representations of the external environment.

（3）Active Inference: a principled approach to the exploration-exploitation dilemma in reinforcement learning ?

Alec Tschantz（University of Sussex）

In recent years, models of active inference have provided compelling accounts for a number of empirical phenomena. However, these models have tended to focus on low-dimensional problems. It, therefore, remains unclear whether active inference can be successfully applied at scale. In this talk, I will introduce a model of active inference that is applicable to high-dimensional domains, such as complex control tasks based on pixel inputs. I will first present empirical results that demonstrate that this model is competitive with both model-free and model-based RL, before discussing the similarities that the model shares with these approaches. I will then move on to highlight novel aspects of the active inference framework that could be beneficial for the field of RL, before finally considering whether the proposed model is biologically plausible.

（4）知覚から思考までの基本機構を明らかにする自由エネルギー原理

乾　敏郎（追手門学院大学）

自由エネルギー原理は脳のさまざまな機能を説明できる重要な理論である。特に事後信念と呼ばれる主観を扱う理論として注目される。自由エネルギー原理という名前は Friston et al. (2006) で初めて登場する。2009 年になると，自由エネルギー原理は大きく発展する。それは能動的推論（active inference）という考え方を導入したことによる（Friston, 2009）。これにより，知覚以外のさまざまな機能を説明してみせる理論となった。この理論では基本的に脳があらゆる感覚の予測器であると考える。そこには運動指令というものもなく，運動もまた感覚の予測（期待）と考えるのである。基本的に「ベイズ脳（Bayesian brain）」のアプローチである。この予測は入力された感覚信号に基づ

き，外環境や内環境（内臓などの内受容系）の状態を推論する。これは基本的にはベイズ推定であり，学習を通じてベイズ最適な（Bayes-optimal）推論を行っていると考える。本講演では，知覚，運動，感情，意思決定，思考などの機能がいかにして，一つの式から導出されるさまざまな関係式で説明されるのかを紹介する。

（5）Biological plausibility of variational free energy as a cost function for neural networks

Takuya Isomura（RIKEN Center for Brain Science）

This presentation comprises two parts. In the first part, I will review the free-energy principle proposed by Karl Friston. This theory aims at explaining various functions and behaviors of neural networks and biological organisms in terms of minimization of variational free energy, as a proxy for surprise. Variational free energy minimization provides a unified mathematical formulation of inference and learning processes in terms of self-organizing neural networks that function as Bayes optimal encoders. Moreover, biological organisms can use the same cost function to control their surrounding environment by sampling predicted (i.e., preferred) inputs, known as active inference. The free-energy principle suggests that active inference and learning are mediated by changes in neural activity, synaptic strengths, and the behavior of an organism to minimize variational free energy. I will mathematically describe how neural and synaptic update rules are derived from variational free energy minimization.

In the second part, I will introduce our recent work. We consider a class of biologically plausible cost functions for neural networks, where the same cost function is minimized by both neural activity and plasticity. We analytical show that such cost functions can be cast as variational free energy under an implicit generative model. Our results suggest that any neural network minimizing its cost function implicitly minimizes variational free energy, indicating that variational free energy minimization is an apt explanation for a canonical neural network

（6）*in-vivo* imaging of the telencephalic neural activities in the closed-loop virtual reality environment revealed active inference in decision making

Hitoshi Okamoto（Lab. for Neural Circuit Dynamic of Decision Making, RIKEN Center for Brain Science）

Selecting a logical behavioral choice from the available options, i.e. decision making is essential for animals. 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 avoidance tasks and simultaneously the neural activities were imaged at 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 predicted status to successfully escape from the danger, 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 principle, 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.

（7）逆強化学習による動物行動戦略の解読

本田直樹（京都大学 生命科学研究科 生命動態研究センター）

動物やヒトは外界の状況に応じて，より多くの報酬が期待できる行動戦略を持って行動していると考えられる。しかし，報酬には食料などの直接的なもののみならず，間接的にそれらに結びつくものもあるため，動物の行動を単に観察しているだけでは，「動物が何を報酬として行動しているのか，何に価値を置いて行動しているのか？」を知ることは困難であった。また脳内では，報酬はドーパミンによって表現されていることから，動物にとって何が報酬となっているのかを明らかにすることは，行動戦略を司る神経メカニズムの理解のためにも重要ある。そこで我々は行動時系列データからその裏に潜む戦略や未知の報酬を解読する機械学習法（逆強化学習）を考案した。この手法を線虫の温度走性行動へと応用することで，線虫にとっての報酬や行動戦略を明らかにした。

一定の温度で培養した線虫は，その培養温度を記憶し，温度勾配下では培養温度を目指して移動し，逆に一定の温度で餌のない飢餓状態を経験した線虫は，温度勾配下で飢餓温度を避けることが知られている。しかし，線虫がどのような戦略にしたがって行動しているのかは全くの不明であった。線虫を温度勾配において追尾することで，行動時系列データを取得し，そして逆強化学習法により，線虫にとっての報酬を推定した。その結果，餌が十分ある状態で育った線虫は，「絶対温度」および「温度の時間微分」に応じて報酬を感じていることを明らかにした。この報酬に基づく戦略は２つの異なるモードから構成されており，一つは効率的に成育温度に向かう移動，もう一つは同じ温度の等温線に沿った移動を説明するものであった。また飢餓を経験した線虫は「絶対温度」のみに依存した報酬により，飢餓温度を避ける戦略を持っていることを明らかにした。さらには，推定された報酬を用いて線虫行動をシミュレーションすると温度走性行動が再現され，逆強化学習法の妥当性が示された。

この手法は行動とそれに伴う状態変化が定量的に観測可能な場合，線虫に限らず他の動物へも適用可能であることから，神経科学や行動生態学の基盤技術になることが期待される。

（8）再認の段階的創発を時間構造の変形から考える

平井靖史（福岡大学）

あるタイプの対象や性質をそれとして同定することなしには，生物の認知も行動も成り立たない。生物の知覚に見られる再認（分類・同定）の働きは，そもそもどのようにして成立したのか。進化の偶有的産物である特定の器官に訴えることなしにこれを説明するためには，（器官でも生物でもなく）環境世界と生物の相互作用連関のシステム全体が，進化を通じてどのように変形してきたかをモデル化する起源論的アプローチが有効と考えられる。一般的な意味での再認は脳を持つ生物の特権ではないから，問題は「どうやって脳が再認を可能にしたか」ではなく，「脳が可能にしたのはどのような再認であったのか」であり，さらに「脳以前にシステムはどのようにして再認を実現したのか」である。

このような観点から，ベルクソンが素描していた「時間を組み込んだシステム論的描像」を紹介する。以下の三つの時間スケールで再認可能性の変形が生じることを確認する。進化論的時間スケールで説明される刺激選別の水準，学習する生物の行動可能性によって説明されるカテゴリー化の水準，オンラインの知覚において動的に生じる注意的焦点化の水準。

（9）学習と認識の熱力学：ニューラルエンジンとはなにか？

島崎秀昭（京都大学）

本講演では脳が外界を学習し，推論する仕組みを情報理論・機械学習・ベイズ統計学の視点から概観し，加えて神経活動のエントロピー変化に基づいて脳の学習・推論を記述する熱力学的な枠組みを紹介する。脳の学習・推論は順方向結合・リカレント結合からなる神経回路網の非線形なダイナミクスによって実現される。感覚野では順方向結合による初期応答は刺激特徴のみに依存し，気づき・注意・報酬価値等の有無にかかわる内発的な状態は初期応答後の活動に対する変調として表れることが報告されている。この遅延変調は高次領野からのリカレント結合に起因するものと考えられている。逆向マスキングや TMS 刺激を用いた人に対する研究では，この遅延部分の活動の選択的阻害により意識的体験が消失することが示されている。講演では刺激応答の神経ダイナミクスが観測と事前知識を統合する動的なベイズ推論として記述されることを示し，さらにリカレント回路による遅延変調を伴う推論過程が情報論的なエンジンを構成することを示す（ニューラルエンジン）。これにより感覚入力に対する内発的な変調の程度やその効率を神経活動のエントロピー変化に基づいて定量化する方法を提案する。

13. 視覚・認知脳機能研究の先端

2019 年 9 月 26 日－9 月 27 日

代表：西本伸志（情報通信研究機構･脳情報通信融合研究センター）

所内対応者：磯田昌岐（生理学研究所）

世話人：二宮太平（生理学研究所）

（１）情報表現モデルを用いた定量的脳機能研究

西本伸志（情報通信研究機構･CiNet）

（２）皮質脳波による視覚情報の decoding と BCI への応用

柳澤琢史（大阪大学･高等共創研究院）

（３）ニューロフィードバックを用いた恐怖記憶の解読と制御

小泉　愛（ソニー･コンピュータサイエンス研究所）

（４）視覚皮質と海馬の細胞外電位に含まれる情報の解読への試み

松本信圭（東京大学･大学院薬学系研究科）

（５）視覚情報処理のクロックとしてのアルファ波

天野　薫（情報通信研究機構･CiNet）

（６）Eye movements and visual salience in schizophrenia

吉田正俊（生理学研究所･認知行動発達機構研究部門）

（７）生物視覚のモデルとしてコンピュータビジョンの可能性と，問題解決の新たな方法論としての深層学習について

岡谷貴之（東北大学･大学院情報科学研究科）

（８）ヒトの時間知覚における周期的神経活動の役割

四本裕子（東京大学･大学院総合文化研究科）

（９）ミラーシステムおよびメンタライジングシステムの神経活動およびその機能連関

二宮太平（生理学研究所･認知行動発達機構研究部門）

（10）意識の場所と境界

大泉匡史（東京大学･大学院総合文化研究科）

（11）脳機能イメージングから社会的認知機能の起源を探る

横山ちひろ（理化学研究所･生命機能科学研究センター）

（12）意思決定の「ゆらぎ」の生物基盤と計算機構

小村　豊（京都大学･こころの未来研究センター）

【参加者名】

青山俊弘（鈴鹿高専），天野　薫（情報通信研究機構），新居桂陽（生理学研究所），安藤博士（アステラス製薬㈱），イウンソウ（同志社大学），石田裕昭（東京都医学総合研究所），磯田昌岐（生理学研究所），上原一将（生理学研究所），植松明子（生理学研究所），オジョンミン（霊長類研究所），大泉匡史（東京大学），岡谷貴之（東北大学），小山健一（科学技術振興機構），呉嘉豪（生理学研究所），小泉　愛（㈱ソニーコンピュータサイエンス），郷田直一（生理学研究所），古賀敬之（早稲田大学），小濱　剛（近畿大学），小村　豊（京都大学），小山雄太郎（生理学研究所），酒井雅子（㈱エクォス・リサーチ），眞田尚久（関西医科大学），高橋友太（早稲田大学），近添淳一（生理学研究所），拓殖仁美（科学技術振興機構），戸松彩花（生理学研究所），富田健太（愛知大学），西本伸志（情報通信研究機構），二宮太平（生理学研究所），則武　厚（生理学研究所），

正岡明浩（玉川大学），松本信圭（東京大学），三宅佑果（KDDI），柳澤琢史（大阪大学），横井　功（生理学研究所），横山ちひろ（理化学研究所），吉田正俊（生理学研究所），四本裕子（東京大学），和泉友人（鈴鹿高専），吉本隆明（生理学研究所），西尾亜希子（生理学研究所），北城圭一（生理学研究所），後藤優仁（慶應義塾大学），岡崎由香（生理学研究所），揚妻正和（生理学研究所），安井貴一（愛知大学），木村梨絵（生理学研究所），宍戸恵美子（名古屋大学）

【概要】

本研究会は，様々なアプローチで高次認知機能の神経基盤の解明を目指す研究者による研究内容紹介・交流を図ることを目的として，「視覚・認知脳機能研究の先端」というタイトルで開催された。26 日は「認知機能情報の解読と制御へのアプローチ」および「視覚・認知機能理解への理論的・実験的アプローチ」，27 日は「社会的認知機能理解への理論的・実験的アプローチ」の計 3 つのセッションを企画し，各セッション 4 名の講演者による研究紹介がおこなわれた。最初のセッションでは，ヒトを対象とした fMRI や脳波測定等により得られた神経活動のデコーディング，更にはニューロフィードバック技術や Brain-Computer interface への応用といった研究紹介とともに，げっ歯類の海馬を対象とした神経活動の詳細な計測と情報表現の検討に関する講演がおこなわれた。2 番目のセッションでは，ヒト脳波におけるアルファ波の視覚や時間知覚における役割から，生物視覚モデルなどへの応用が盛んな深層ニューラルネットワークの現状の総括，またマーモセットを用いた統合失調症モデルに関する研究紹介がおこなわれた。最後のセッションでは，理論的アプローチによる意識研究，マーモセットやマカクザルを用いた社会的認知機能に関する研究，同じくマカクザルを対象とした意思決定に関する電気生理学的研究が紹介された。また，初日の夕方からはポスターセッションもおこなわれ，講演と同じく幅広い分野・手法による研究結果について活発に議論がなされていた。当初の狙い通り，普段触れる機会の少ない様々なアプローチによる先端的研究の成果発表が多くあり，非常に有意義な研究会となった。

（1）情報表現モデルを用いた定量的脳機能研究

西本伸志（情報通信研究機構･CiNet）

私達の日常は，視聴覚を代表とする膨大な感覚入力を処理し，合目的な行動を生み出す複雑な脳機能によって支えられている。標準的な神経科学の方法論においては，これら複雑多様な入力，あるいはそれを契機に生成される内発的な情報の一部に着目し，それらを表現する神経基盤に関する仮説検証に特化した実験を行うことで研究が進められてきた。このような仮説特化型の実験は，特定仮説を定性的に検証する強力な手法である一方，そこで得られた知見がより複雑な状況である日常生活にどの程度一般化できるのか，またある特定部位の神経活動について仮説が説明する成分はどの程度の割合なのか，等を定量的に検討することが困難である。

より直接的に日常的条件下における脳機能を研究するための枠組みとして，モデリングアプローチが挙げられる。この枠組では，たとえば視聴覚においては動画等を含む複雑な入力条件下における脳活動を予測する定量的モデルを構築する。様々な脳機能に関する仮説は，モデルが内包する特徴空間として実装され，その妥当性はモデル構築には用いられない新規の条件下における脳活動の予測能力として定量的に検証される。私達の研究グループでは，この方法論によって視聴覚から認知機能を含む様々な脳機能に関する研究を進めてきた。本講演においては，これらモデリングアプローチを用いた研究について紹介を行う。またこれまで用いられてきた個々のモデルについては，情報表現レベルやアルゴリズムレベル等，いくつかの記述段階のものが存在する。講演においては，これらについて具体例を挙げながら，それぞれ予測性，解釈可能性，生物学的妥当性の観点から議論を行う。

（2）皮質脳波による視覚情報の decoding と BCI への応用

柳澤琢史（大阪大学･高等共創研究院）

Brain-Computer Interface (BCI) は，人の運動意図などを脳信号から読み解き，機械を制御する技術として開発され，重度麻痺患者の意思伝達装置などへの医療応用が期待されている。近年は，多チャンネルの体内埋め込み型の脳信号計測装置が開発され，BCI の医療応用が現実的な課題となっている。我々は，人の脳表面に電極を留置して脳波を計測する皮質脳波を用いた BCI を開発してきた。皮質脳波は刺入電極などと比較して脳への侵襲が低く，安定した信号を得られることから臨床応用に適していると考えられている。しかし，刺入電極によるスパイク計測と比べると，得られる情報が少ない。特に運動情報の推定では，運動野の population coding を基にした BCI と比較すると，ロボット制御や PC への文字入力において精度と速度に大きな差がある。実際，我々が治療対象と考える重症の筋萎縮性側索硬化症患者に対して，皮質脳波を用いた BCI では 10 秒に 1 文字程度の文字入力を実現したが，刺入電極を用いた BCI では 1 分に 30 文字以上の入力が報告されている。

皮質脳波は刺入電極と比較して脳の広い領域から信号を計測できる。そこで我々は，皮質脳波を後頭・側頭葉の広い領域で計測し，分散的に表現されている視覚情報を得ることで，新たな BCI の開発を目指している。特に，多様な視覚的意味情報を皮質脳波から推定することで，３次元の位置や速度の情報に限られる運動情報を基にした BCI よりも，高次元の視覚情報を基にした BCI を目指している。このために，人が様々な意味内容の動画を知覚する際の皮質脳波を計測した。動画を 1 秒毎の静止画に変換し，その意味を文章で記述し，その中の単語を Word2Vec により意味空間のベクトルに変換することで，動画を 1 秒毎の意味ベクトルで表現した。この意味ベクトルを皮質脳波から推定することで，被験者が見ている画像の意味を推定した。視覚情報を用いた皮質脳波 BCI の可能性について議論する。

（3）ニューロフィードバックを用いた恐怖記憶の解読と制御

小泉　愛（ソニー･コンピュータサイエンス研究所）

本講演では，ニューロフィードバック技術（Decoded Neurofeedback, DecNef）を用いて，恐怖記憶に関わる脳活動パターンを解読し制御する研究を紹介します。

心的外傷後ストレス障がい（PTSD）患者の恐怖記憶を和らげるためには，恐怖の対象（例えば，自動車事故に関連する赤い車）を繰り返し見せたり，あるいはイメージさせる手法が効果的です。しかし，そうした手法自体がストレスになり，PTSD の治療を断念するケースも少なくありません。もし，ニューロフィードバック技術を用いて，被験者が無自覚のうちに恐怖記憶を緩和できる手法を開発することができれば，ストレスの少ない新たな PTSD の治療法としての応用可能性が期待できます。

そうしたニューロフィードバック手法の開発を目指し，本研究では，一つ目のステップとして，健常な被験者におけるシンプルな恐怖記憶の緩和に取り組みました。この基礎研究では，視覚野に恐怖記憶の対象を表す空間的脳活動パターンを検出する毎に，被験者に報酬を与える訓練により，恐怖記憶の対象への恐怖反応を緩和できることが確認できました。さらに二つ目ステップとして，現在は，実際の PTSD 患者におけるより複雑な恐怖記憶を緩和する試みに取り組んでいます。本講演では，これらの研究を紹介し，今後の課題について議論します。

（4）視覚皮質と海馬の細胞外電位に含まれる情報の解読への試み

松本信圭（東京大学･大学院薬学系研究科）

視覚皮質および海馬では，感覚刺激や，抽象概念，動物の状態に対応した神経活動が観察される。例えば，一次視覚皮質のニューロンは特定の方向に動く縞模様に対して選択的に発火する「方位選択性」を持つ。また，海馬のニューロンは，動物が特定の位置を通過した時に発火する「場所選択性」を持つ。視覚皮質や海馬における，個々のニューロンの発火の選択性は広く知られている一方で，それらの脳領域における細胞外電位（特に局所場電位）にはどのような情報が含まれるのかは詳細に調べられていない。さらに，局所場電位が個々のニューロンによるどのような神経活動によって生み出されているかもほとんど明らかにはなっていない。

当研究室では，麻酔下および課題遂行中の動物から，様々な電極を用いて細胞外電位および細胞内電位を計測し，特定の神経活動にはどのような情報が内包されているかを検討している。

今回の発表では，視覚皮質と海馬の細胞外電位に関連し，次の二つの内容を発表する。(1) ラットの頭部を固定し，視覚刺激（縞模様）を提示した際の一次視覚皮質の細胞外電位を記録した。一次視覚皮質の細胞外電位から視覚情報のデコードをおこなうことができるか検討した。(2) げっ歯目の海馬の局所場電位においては，シータ波やリップル波が観察され，前者は動物の探索行動時，REM 睡眠時に，後者は無動覚醒時や non-REM 睡眠時に頻繁に観察される。海馬の局所場電位は，動物の場所を符号化していることが示されているが（Agarwal et al., 2014），局所場電位が個々のニューロンのどのような神経活動から生み出されているかは明らかではない。そこで，局所場電位の中でもシータ波に着目し，パッチクランプ法を用いて，個々のニューロンの膜電位を最大 4 細胞から同時に記録することで，シータ波発生時の膜電位の集合ダイナミクスに迫った。

（5）視覚情報処理のクロックとしてのアルファ波

天野　薫（情報通信研究機構･CiNet）

我々は，非侵襲的な脳活動操作手法を用いてヒトの視知覚や行動を生み出す脳活動を調べている。本講演では，経頭蓋交流電気刺激（tACS）法を用いてアルファ波の機能を調べた研究，拡散強調 MRI (dMRI) を用いてアルファ波の神経解剖学的基盤を調べた研究を紹介する。

近年の研究から，10 Hz 程度の神経律動であるアルファ波が視知覚と密接に関連していることが示されているが，因果関係については明らかでない。一つ目の研究[1]では，視覚情報処理におけるアルファ波の機能を検討するためジター錯視と呼ばれる現象を利用した[2]。まず始めに，アルファ波の周波数が個人によって 8-13 Hz の範囲で異なることに着目し，その個人差に対応してジター錯視の見えの周波数も変化することを示した，さらに，強度変調交流電気刺激を用いることで，後頭－頭頂部への電気刺激中のアルファ波計測を実現し，アルファ周波数の増減に対応したジター錯視の周波数変化を観察したことから，ジター錯視の知覚にアルファ波が因果的に寄与していることが示された。最後に，ジター錯視を知覚している際の MEG 信号に対する活動源推定から，アルファ帯域における背側視覚領域と腹側視覚領域の間での情報のやり取りが増大している可能性が示唆された。二つ目の研究では，アルファ波周波数の個人差の神経解剖学的基盤を明らかにするため，MEG を用いた安静時のアルファ波計測と拡散強調 MRI の計測を行った。アルファ波の生成には視床と視覚皮質からなるネットワークが関与しているとする仮説に基づき，外側膝状体（LGN）と第一次視覚野を結ぶ白質線維である視放線に着目しこの線維の特性を分析した。その結果，線維束内での軸索の構造特性を反映していると考えられる Orientation Dispersion Index (ODI) と呼ばれる指標とアルファ波周波数の間に負の相関が観察された。

二つの実験の結果を合わせて考えると，LGN と V1 の

ループで生成されたアルファ波のリズムが，他の視覚領域においても共有され，視覚領域間での情報のやり取りのタイミング信号として機能している可能性が示唆される。白質線維構造の違いからアルファ周波数の違いが生じるメカニズムや，電気刺激によってアルファ波の周波数が変化するメカニズムについては今後の検討が必要である。

[1] Minami, S., Amano, K. (2017) Illusory jitter perceived at the frequency of alpha oscillations, *Current Biology* 27 (15), 2344-2351.

[2] Arnold, D.H. & Johnston, A. (2003) Motion induced spatial conflict. *Nature*, 425, 181-184.

（6）Eye movements and visual salience in schizophrenia

吉田正俊（生理学研究所･認知行動発達機構研究部門）

Abnormality in eye movements during free-viewing is potentially an efficient biomarker for schizophrenia (Miura et.al. 2014; Morita et.al. 2016). We examined whether aberrant salience hypothesis (Kapur 2003) explains the abnormalities in eye movements during free-viewing in schizophrenic subjects. We analyzed eye movement data obtained from 87 schizophrenic subjects and 252 healthy control subjects who viewed natural and/or complex images (n=56) for 8 seconds. We calculated the saliency map of the images (Yoshida et.al. 2012) and evaluated the time course of the salience value at the position of the gaze. We obtained evidence supporting aberrant visual salience during free-viewing in the schizophrenic subjects.

As a first step toward establishing “translatable” markers for schizophrenia, we measured eye movements from normal marmosets with the EyeLink 1000 Plus eye-tracker. The natural and/or complex images identical to those used for the human subjects were randomly presented for 8 seconds. In four marmosets, saccades were reliably detected and characterized as the mean saccade frequency and the main sequence relationship. Then we evaluated a pharmacological model of schizophrenia in marmosets using intramuscular injection of ketamine at a sub-anesthetic dose. Since mismatch negativity (MMN) is a well-established brain marker for schizophrenia, we developed an experimental setup for simultaneous recording of eye movements and the MMN. For this purpose, silver-ball electrodes were epidurally implanted on the auditory cortices. Then eye movements and LFPs were recorded during free-viewing of the identical images with tone stimuli (10 % deviants and 90 % standards). Ketamine (0.5 mg/kg) reduced the median amplitude of saccades and attenuated the MMN with a similar time course. These results suggest that free-viewing is a promising experimental paradigm for establishing “translatable markers” for schizophrenia in humans and in marmosets.

MY was funded by the program for Brain Mapping by Integrated Neurotechnologies for Disease Studies (Brain/MINDS) from Ministry of Education, Culture, Sports Science, MEXT and the Japan Agency for Medical Research and Development (AMED).

（7）生物視覚のモデルとしてコンピュータビジョンの可能性と，問題解決の新たな方法論としての深層学習について

岡谷貴之（東北大学･大学院情報科学研究科）

コンピュータビジョンは, 人の視覚の機能を計算機上で実現することを主要な目標として，今から 40 年ほど前に始まった分野である。7 － 8 年前の深層学習の登場によって，コンピュータビジョンは劇的に発展し，今の AI ブームの中核を担ってきた。本講演では，コンピュータビジョンおよび深層学習と神経科学との, 今後のつながりを考えるための材料を提供できればと思う。具体的なつながりとして, コンピュータビジョン＋深層学習には生物の視覚情報処理のモデルとしての価値が考えられ, 深層学習には神経科学に役立つツールとしての価値が考えられる。

まずモデルとしての価値を考える。深層学習の登場により，深層ニューラルネットワークの性能は，個別のタスクで人と比較できるレベルに到達しているとされ，その中身（情報処理）を生物のそれと比較する必然性は十分にある。ただし，深層ニューラルネットワークは，外から見るとブラックボックスでしかなく，（生物の神経回路網と同じように）計算アルゴリズムがすぐにはわからないという問題がある。これは，実世界応用において深層学習に現在，強く求められている「説明性」や「信頼性」といったこととも重なり合う。そこで，これらに関する研究の状況を説明する。関連して，コンピュータビジョンや深層学習で何が出来て，何が出来ないかを概観する。

これと独立に，そもそも深層ニューラルネットワークがデータの学習を通じて獲得した情報処理の方法が，そもそも生物のそれと近いのだろうか，という疑問がある。現時点では講演者は，そこにはかなりな違いがあるのではないかと見ている。少なくとも違うと考える蓋然性があり，その辺りを議論したい。

次に，ツールとしての側面について考える。今や深層学習は，コンピュータビジョン，自然言語処理，音声情報処理などのいわゆる AI の関連分野を大きく超え，多様な工学・サイエンスにおける新しい問題解決の方法として，広がりつつある。そこでは，数学や物理に基づく従来のモデリングの代わりに，データを通じた学習が中心的な役割を果たす。見落としてはいけないのは，それに加え，個々の問題解決のためにネットワークの構造をどのように設計するかが大きなウェイトを占めることである。新たな応用の開拓とともに，ネットワークの新しい構造要素が盛んに生み出されてきており，これについても説明する。

（8）ヒトの時間知覚における周期的神経活動の役割

四本裕子（東京大学･大学院総合文化研究科）

数百ミリ秒から数秒の間隔時間の知覚には，複数の皮質領域が関与する。そして，時間情報のエンコーディングには，アルファ波などの周期的神経活動が関与する。講演では，以下の 3 つのリサーチクエスチョンを取り上げる。

（1）同期的神経活動はいかにして時間をコーディングするのか？

（2）周期的神経活動の効果はモダリティによって異なるのか？

（3）時間知覚における高次認知の役割は？

明滅（フリッカ）する視覚刺激が知覚時間の過大視をもたらすことが広く知られている。一方で，その背景にある神経相関ははっきりわかっていない。我々の研究では，任意の周波数で時間変調する刺激を用いて神経引き込みを誘発し，それに伴う時間知覚を測定することで，時間知覚における周期的神経活動の役割を検証した。その結果，時間の過大視量が周波数に依存すること，視覚皮質におけるアルファ周波数帯域の神経活動が知覚される時間長と相関すること，引き込みの効果は大脳における皮質間距離に依存することなどを見出した。また，視覚と聴覚では，時間のコーディングに関わる神経活動の周波数が異なることや，触覚でも周期的刺激が時間知覚に影響することを示唆する結果を得た。さらに，予測や期待という高次の認知が時間知覚に及ぼす効果や，時間の記憶表象の特性についても議論する。

（9）ミラーシステムおよびメンタライジングシステムの神経活動およびその機能連関

二宮太平（生理学研究所･認知行動発達機構研究部門）

我々は日常的に，他者の行動とその結果について観察し，自らの行動を決める手がかりとしている。多くの研究で，このような社会的認知機能の神経基盤として，霊長類の脳には 2 つのシステムが存在することが指摘されている。1 つは腹側運動前野（PMv）を中心とするミラーシステムであり，もう 1 つは内側前頭皮質（MFC）を

中心とするメンタライジングシステムである。これら 2 つのシステムは，いずれも社会的情報処理に関与しているにも関わらず，その機能的役割の違いや機能連関の有無についてはいまだに議論の対象となっている。これらの問題について検討するために，マカクザルに対して実在の他個体，ビデオ上の他個体，ビデオ上の棒状の物体の 3 種類のパートナーを相手に行動観察と行動実行を繰り返す役割交替課題をトレーニングし，課題遂行中の PMv および MFC から神経活動の同時記録をおこなった。単一神経細胞活動を解析した結果，PMv と MFC には，自己の行動，他者の行動，またはそのどちらにも応答する神経細胞が，異なる割合で存在した。またパートナーによって応答の強さが変化する細胞が多く観察された。次に，PMv と MFC から同時記録した局所電場電位にグレンジャー因果解析を適用することで，2 領野間の機能連関について検討した。その結果，実在の相手と課題をおこなっている際は，PMv から MFC への情報流が増加しているのに対し，ビデオ上の相手と課題をおこなっている際は，MFC から PMv への情報流が増加していることが明らかになった。最後に，経路選択的かつ可逆的に神経活動を制御できる，ウイルスベクターの 2 重感染法を用いて，PMv から MFC への入力を遮断する実験をおこなった。PMv → MFC 神経路の活動を遮断中，サルはパートナーの行動エラー情報を，次に自らがおこなう選択に利用することができなくなった。以上の結果は，ミラーシステムとメンタライジングシステムが相補的に機能することで，様々な「他者」から行動とその結果に関する情報を抽出し，自らの行動選択に役立てていることを示唆する。

（10）意識の場所と境界

大泉匡史（東京大学･大学院総合文化研究科）

我々の脳の中にある多数の神経細胞が，外界の刺激に対して活動することにより，我々の主観的な体験（意識）が生みだされている。ただし，脳の中で生じる神経活動の全てが意識に直接的な関連があるわけではないことが，これまでの神経科学の知見から分かっている。従って，意識経験を担うのに必要十分な最小の脳活動とは何かを同定することは重要な問題である。この問題は，1990 年代頃より Crick と Koch によって，Neural Correlate of Consciousness（NCC，意識の神経相関）を実験的に探す問題として提唱され，意識の科学的研究の端緒となった。NCC の探求によって，様々な知見が得られ，意識研究は大きく前進することとなったが，脳の中で意識を担う場所はどこかという根本的な問題は現状でも全く明らかになっていない。

意識の場所を同定するという問題は，別の言い方をすれば意識の「境界」を定める問題である。すなわち，脳は多数の神経細胞がつながったネットワークと考えることができるが，このネットワークの中で意識の場所を定める境界を引く問題である。意識の境界の問題は特に，分離脳と呼ばれる，左脳と右脳をつなぐ脳梁が切断された状態の脳に生じる意識を考える際に重要となる。通常の脳では，左脳と右脳が脳梁によって強くつながれることにより，左脳と右脳で処理された情報の両方が統一された意識が生じていると考えられる。しかしながら，脳梁が切断されることにより，左脳と右脳の間のつながりが弱くなると，左脳と右脳のそれぞれに独立した意識が生じる可能性が示唆されている。境界という言葉を使ってこの現象を説明すると，通常の脳は左脳と右脳の間に意識の境界がなく，分離脳は左脳と右脳の間に意識の境界がある状態である。それでは一体，どれくらい左脳と右脳のつながりが弱くなると意識が分離し，あるいはどれくらいつながりが強くなれば意識が統合されるのだろうか？この問題もまた，現状の神経科学の知見からは全く明らかになっていない。

本講演では，脳の中における意識の場所あるいは境界を同定するための，理論的なアプローチを紹介する。これまで様々な理論が意識の場所を予測するための仮説を提唱してきたが，本講演では特に，Integrated Information Theory（IIT，統合情報理論）の仮説を紹介し，その仮説を実験的に検証する試みについても紹介する。

（11）脳機能イメージングから社会的認知機能の起源を探る

横山ちひろ（理化学研究所･生命機能科学研究センター）

脳機能イメージングとは，非侵襲的にヒトの脳機能を画像化し精神神経疾患の診断や治療に役立てようとする技術である。これによって，疾患特異的な，あるいは疾患の症状である社会的認知機能障害に関連した，脳ネットワークや神経伝達物質活動が同定されつつある。生物学的にヒトに最も近縁な非ヒト霊長類は，その社会構造もヒトと類似している。非ヒト霊長類を用いた脳神経活動の直接計測や介入実験は，ヒト研究では実施困難であり，これらの研究成果はヒト社会認知機能の詳細な神経科学的基盤解明に大きな役割を果たすことが期待される。では，非ヒト霊長類を用いた脳機能イメージング研究の意義とは何だろうか。そのメリットのひとつは，ヒトと同じ計測法を用いることで実現する，社会認知機能を支える脳ネットワークや神経伝達物質活動の種間比較である。本講演では，マーモセットの脳機能イメージングを通じて得られた，社会認知機能を支える神経基盤に関する知見をいくつか紹介し，非ヒト霊長類の脳機能イメージングを進化的な視点で活用する試みについて概説したい。

（12）意思決定の「ゆらぎ」の生物基盤と計算機構

小村　豊（京都大学･こころの未来研究センター）

我々の日常生活は，意思決定の連続である。しかし，その意思決定は，様々な要因によって揺らぐ。本講演では，その様式と要因を，神経生理，行動心理，計算モデルの観点から，論じたい。

まず，マカクサルにおいて，意思決定のゆらぎに伴う迷いを，wagering paradigm という課題を用いて，行動学的に抽出することに成功した。その遂行中に，視床枕が，その確信度を表現することを見出し，その神経活動を，抑制すると，リスキーな選択を回避する，すなわち，確信度が低下するような適応行動を示した。

次に，ヒトにおいても，同様の心理物理実験をしたところ，視床枕の神経活動のチューニングカーブは，ヒトの主観的確信度のチューニングカーブと，一致していた。そのカーブ特性は，確率分布をベースにしたカテゴライズモデルから，説明できたので，霊長類の意思決定の確信度は，ヒト・サルにおいて，共通の計算機構が働いていることが示唆された。

最後に，確信度の揺らぎから，自己参照能力を評価する手法と，その適用例を紹介する。

14. 脳神経ダイナミクスの可視化と制御

2019 年 7 月 16 日－7 月 17 日

代表・世話人：武見充晃（東京大学大学院教育学研究科）

所内対応者：北城圭一（生理学研究所神経ダイナミクス研究部門）

（１）脳局所の活動パターンに基づく全脳活動パターンの推定

近添淳一（生理学研究所）

（２）大脳神経活動の遷移ダイナミクスと精神疾患

渡部喬光（理化学研究所）

（３）共感覚における色字対応づけのダイナミクス

浅野倫子（立教大学）

（４）運動制御・学習系における掛け算と割り算

野崎大地（東京大学）

（５）半側空間無視の動物モデルにおける皮質注意経路の機能的結合

吉田正俊（生理学研究所）

（６）マーモセット広域皮質脳波でみる霊長類大脳皮質内の情報伝搬

小松三佐子（理化学研究所）

（７）脳神経データの振動子分解

松田孟留（東京大学）

（８）Toward a comprehensive understanding of the neural mechanisms of decoded neurofeedback

柴田和久（放射線医学総合研究所）

（９）ニューロフィードバックによるトラウマ記憶の克服

小泉　愛（SONY CSL）

（10）歩行時脳律動制御による片麻痺歩行の回復

小金丸聡子（獨協医科大学）

（11）経頭蓋脳電気刺激による多様な脳状態下での運動学習

武見充晃（東京大学）

（12）サプライズによる fmθ と偶発的記銘の変調

鹿内友美（理化学研究所）

（13）人とボットのハイブリッド・システムによる協調行動の向上

白土寛和（Carnegie Mellon University）

（14）バーチャルリアリティによる知覚・認知の制御

鳴海拓志（東京大学）

【参加者名】

武見充晃（東京大学），北城圭一（生理学研究所），上原一将（生理学研究所），岡崎由香（生理学研究所），浅野倫子（立教大学），小泉　愛（SONY CSL），小金丸聡子（獨協医科大学），小松三佐子（理化学研究所），鹿内友美（理化学研究所），柴田和久（放射線医学総合研究所），白土寛和（Carnegie Mellon University），近添淳一（生理学研究所），鳴海拓志（東京大学大学院），野崎大地（東京大学），松田孟留（東京大学大学院），吉田正俊（生理学研究所），渡部喬光（理化学研究所），樋口貴広（首都大学），芝田純也（立命館大学），土元翔平（国立長寿医療研究センター），辻本憲吾（東京大学医学部付属病院），水口暢章（国立長寿医療研究セン

ター），渡邊龍憲（名古屋大学），金子直嗣（東京大学大学院），座間拓郎（理化学研究所），小林稔季（東京大学大学院），岩間清太朗（慶應義塾大学大学院），杉野広尭（慶應義塾大学），加藤健治（国立長寿医療研究センター），牧野勇登（東京大学大学院），後藤優仁（慶應義塾大学），加藤荘志（広島大学大学院），井出拓見（中京大学），彦坂幹斗（中京大学），澁澤柊花（大阪大学大学院），山口真広（名古屋大学），小笠原　淳（慶應義塾大学），平島純奈（慶應義塾大学大学院），梶村昇吾（京都工芸繊維大学），宮田紘平（生理学研究所）

【概要】

脳神経細胞の発火には，ある程度の数の神経細胞による同期的な入力が必要であるように，脳は様々なスケールの機能的に組織された神経細胞のネットワークによって構成されている。では，空間的に分散した神経ネットワークはどのようにして，感覚情報を逐次処理し，周囲の環境変化に応じた動的な意思決定・運動制御を可能にしているのか。このような脳情報処理における神経ダイナミクスの機能的役割の解明には，入力に対する神経ダイナミクスの応答を可視化して現象を記述するだけでなく，ダイナミクスを担う脳システム自体を制御して機能変化をみることによりその因果律を示すことが望ましい。そこで本研究会は，神経ネットワークの時空間的な活動パターンの可視化により脳の情報表現・処理機構の解明を目指す研究者と，神経ダイナミクスの制御により疾患治療や人間拡張を目指す研究者が，お互いの最新知見に対する理解を深めて，新たな技術開発の方向性や共創を導くことを目指して開催された。口頭発表を行なった 14 名の演者（内，女性 5 名，ポスドク以下の若手 5 名）は，8 名は神経科学を専門とする者であったが，6 名はそれぞれ認知心理学・身体教育学・統計科学・リハビリテーション医学・認知工学・計算社会科学を専門とする者であった。研究会には合計 40 名（内，ポスター発表者 12 名）が参加し，普段学会等では出会わない研究者間での非常に活発な質疑が展開された。

（1）脳局所活動パターンに基づく全脳活動パターンの推定

近添淳一（生理学研究所 生体機能情報解析室）

安静時機能的 MRI においては明確な課題や行動を行っていない状態の脳活動において様々な情報を抽出できることが示されている。近年の，機能的 MRI と電気生理を組み合わせた研究（Park et al., 2017）により，隣り合う神経細胞が異なる脳領域と結合していることが明らかにされており，この結果から局所の脳活動においても全脳のネットワーク情報が含まれていることが示唆されている。本研究では，局所の脳活動パターンから全脳の活動パターンを推定できるという仮説をおき，これを検証した。具体的には，各時点での局所の脳活動を基底パターンの線形結合でモデル化し，このモデルを全脳のパターンに適用することで，推定を行った。全脳を 360 の小領域（Glasser et al., 2016）に分割して，この推定を適用したところ，どの小領域においても，有意に全脳の活動パターンを推定可能であることが示された。さらに，局所からの全脳パターン推定精度は，局所領域の大きさに比例する傾向が見られたが，precuneus などのハブ領域においては特に高い推定精度が観察された。これらの結果は，局所に集約されている全脳ネットワーク情報の密度は領域によって異なることを示唆している。

（2）Data-driven approach to illustrate brain dynamics and its application

渡部喬光（理化学研究所 脳神経科学研究センター）

Coordinated whole-brain neural dynamics are essential for proper control of functionally different brain systems, efficient integration of complex and multimodal information, and smooth adaption to transient daily-life situations. Here, I will talk about

a data- driven approach to illustrate such global brain dynamics and another data-driven manner to depict local neural dynamics that should be closely related to local neural information processing. Afterwards, I will show a new paradigm to integrate these global and local neural dynamics and demonstrate its usefulness in reorganization of confusing neuropsychiatric disorders. Moreover, based on the paradigm, I will propose a novel non- invasive intervention method to control human cognitions and mitigate neuropsychiatric disorders.

（3）共感覚における色字対応づけのダイナミクス

浅野倫子（立教大学 現代心理学部）

文字に対して，その物理的な色とは独立に，特定の色の印象を感じることを色字共感覚といい，少数の人がこの認知処理特性を持つ。従来の研究で，色字共感覚は脳内の感覚・知覚処理の単なる「混線」ではなく，言語など高次処理が関与した複雑な現象であることが明らかにされてきた。個々の文字に付随する情報がその色字共感覚者個人の脳内でどのように扱われているかが共感覚色（文字に感じる色）に反映されていると考えられる側面もあり，その意味で，共感覚色は脳内の文字認知処理過程の「可視化」であるとみなせる可能性がある。この話題提供では，このような共感覚色のダイナミクスに関する研究を 2 つ紹介する。一つ目は，既知の文字について新しい情報（新しい読みや意味）を学んだ際の共感覚色の変化について検討した研究である。二つ目は，新奇文字（一般的に，知らない文字には共感覚色は生起しない）の学習時の共感覚色の生起について調べた研究である。

（4）運動制御・学習系における掛け算と割り算

野崎大地（東京大学 大学院教育学研究科）

視覚・固有感覚など多感覚情報の統合，運動指令に基づいて予測された感覚情報と実際の感覚情報の照合，両腕協調運動における両腕情報の統合など，身体運動制御・学習プロセスには，複数の神経情報をどのように統合・活用するかという問題が遍在している。ここでは，制御される腕の情報と，反対側の腕の情報が内部モデル（制御器）内でゲインフィールド（乗算的）（Andersen et al., Science 1985; Pouget & Sejnowski, J Cogn Neurosci 1997）に則って統合されることで柔軟な両腕協調運動が可能になっていること（Yokoi et al., J Neurosci 2011; 2014），視覚および固有感覚エラー情報が Divisive Normalization（除算的）（Carandini & Heeger, Nat Rev Neurosci 2011）の処理を経て統合され，腕運動適応に活用されていること（Hayashi et al., bioRxiv 2019）の 2 点についてお話しする。

（5）半側空間無視の動物モデルにおける皮質注意経路の機能的結合

吉田正俊（生理学研究所 認知行動発達機構研究部門）

半側空間無視（USN）の神経機構に関する現在最も有力な説では，腹側注意経路の損傷で同側の背側注意経路（DAN）の機能的結合が低下することによって左右半球間の不均衡が生じることが提唱されている。これまでの研究では半側空間無視の動物モデルはまだ充分に確立できていない。そこで本研究ではサルの右上側頭回を損傷させて無視症状が発現するか検証した。視覚刺激を妨害物の中から選択する視覚選択課題およびフリービューイング中の視線計測から，ヒト USN と同様の症状が起きていることが明らかになった。また，麻酔下での安静時 fMRI の計

測によって，サル USN モデルにおいてもヒト USN 患者と同様なDANの左右半球間の不均衡が見られることが明らかになった。以上のことはマカクザル USN モデルが USN の神経メカニズムおよび機能回復メカニズムの解明のために有望であることを示している。

（6）マーモセット広域皮質脳波でみる霊長類大脳皮質内の情報伝搬

小松三佐子（理化学研究所 脳神経科学研究センター）

我々の認知機能は脳全域が協調して活動することにより実現されている。とりわけヒトで発達した新皮質は高次認知機能に関わると考えられているが, 新皮質での情報処理様式の多くの部分は未だ謎に包まれている。我々は小型霊長類マーモセットの皮質全域から神経活動を同時計測する多電極皮質脳波電極の開発を行った。マーモセットはヒトと同様に複雑な皮質の階層構造を持つこと, 脳溝が少ないことから皮質脳波計測に適している。開発した電極は大脳半球の前頭極から後頭極, 側頭極までを連続的に覆い, 高い時空間分解能で大脳皮質内の信号伝搬を可視化することができる。音刺激により誘発される神経活動の皮質内伝搬を調べたところ，1 次聴覚野から高次聴覚野へ連続的に活動が伝搬していることに加え, 前頭極から頭頂部へも神経活動が伝搬していることが明らかになった。これらの結果から, 聴覚情報処理は皮質広域が並列的に関わることが示唆された。

（7）脳神経データの振動子分解

松田孟留（東京大学 大学院情報理工学系研究科）

Many time series are considered to be a superposition of several oscillation components. Matsuda & Komaki (Neural Comput 2017a) developed a method for decomposing univariate time series into oscillation components and estimating their phases, and Matsuda & Komaki (Neural Comput 2017b) extended it to multivariate time series. These methods are based on statistical models that assume that several oscillators underlie the given time series and that the oscillators superpose on each variable with amplitude and phase modulation. These models are fitted to data by using empirical Bayes method and model selection with Akaike information criterion. Thus, our methods extract underlying oscillators in a data-driven manner (unlike Fourier analysis and wavelet analysis) and enables investigation of the phase dynamics of a given time series.

（8）ニューロフィードバックによって行動変容が起こる仕組みの理解をめざして

柴田和久（放射線医学総合研究所 脳機能イメージング研究部）

われわれの研究グループは，機能的磁気共鳴画像法（fMRI）を用いたリアルタイム・ニューロフィードバックと機械学習手法を組み合わせ, 被験者の気づきが伴わない状態で, ターゲットの脳部位に特定の賦活パターンを誘導する方法（Decoded Neurofeedback, DecNef）を開発した。DecNef を用いることで，さまざまな知覚認知機能を変化させることができる。この機能変化は，DecNef によって特定のニューロン活動パターンが繰り返し誘起された結果起こる神経可塑性を反映している, と考えることができる（神経可塑性モデル）。本講演では，第一に，DecNef の結果がプラセボ効果や生理学的アーチファクトでは説明できないことを指摘する。第二に，計算モデルをもとに，DecNef に伴い神経可塑性が起こる仕組みについて解説する。第三に，これまでの DecNef 研究を対象にしたメタ解析およびシミュレーションから得られた, 神経可塑性モデルを支持する証拠について議論する。

（9）ニューロフィードバックによるトラウマ記憶の克服

小泉　愛（ソニー コンピュータサイエンス研究所）

心的外傷後ストレス障がい（PTSD）患者の恐怖記憶を和らげるには，恐怖の対象（例えば，自動車事故に関連する赤い車）を繰り返し見せたり，あるいはイメージさせる手法が最も効果的です。しかし，そうした手法自体がストレスになり，PTSD の治療を断念するケースも少なくありません。本講演では，ニューロフィードバック技術（Decoded Neurofeedback, DecNef）を用いて，恐怖対象への暴露によるストレスを回避し，被験者が無自覚のうちに恐怖記憶を緩和する研究を紹介します。具体的には，視覚野に恐怖記憶の対象を表す空間的脳活動パターンを検出する毎に，被験者に報酬を与える訓練により，恐怖記憶の対象への恐怖反応を緩和した基礎研究を解説します。さらに，臨床応用に向けた PTSD 患者を対象とした試みも紹介します。

（10）歩行時脳律動制御による片麻痺歩行の回復

小金丸聡子（獨協医科大学 医学部）

ヒト二足歩行中においては，脊髄の律動的神経活動のみならず，歩行周期依存的な脳ダイナミクスが認められる事が報告されてきた。動物の 4 足歩行では，障害物をまたぐなど，認知を必要とする複雑な応用歩行でのみ大脳皮質活動が重要となるが，ヒト二足歩行では意識的制御を必要としない通常の快適速度の二足歩行でも大脳皮質活動が認められる。その活動がヒト二足歩行を制御している事を示唆する Neuroimaging 研究も近年報告されている。またヒト脳損傷患者における歩行障害が，脊髄が正常に機能しているにも関わらず回復せず，障害が残存するという臨床知見からも，ヒト二足歩行中の脳ダイナミクスの重要性が示唆される。本講演では，ヒト二足歩行中の脳ダイナミクスについて既報告を紹介し，歩行周期依存性の律動性脳活動が非侵襲的脳刺激である経頭蓋交流電流刺激（DC offset あり）を用いて制御される事，歩行周期に同期させた経頭蓋交流電流刺激が歩行中脳ダイナミクスを変化させ，脳卒中後歩行障害患者の歩行機能を回復させるという我々の知見について紹介する。

（11）経頭蓋脳電気刺激による多様な脳状態下での運動学習

武見充晃（東京大学 大学院教育学研究科）

記憶は形成された時と環境・状況が近いほど想起しやすい。この特性は記憶の文脈依存性と言われ，近年その神経実体として，記憶が形成される時と想起される時の脳状態の対応関係が示唆されている。例えばマウスでは，脳神経を直接刺激してその状態を恐怖記憶が形成された時と一致させると，周辺の環境に関わらず突如として恐怖記憶が蘇ることが示されている（Ramirez et al., Science 2013）。ヒトにおいても，記憶の形成と想起時に異なるパターンの脳刺激を与えると，宣言的記憶や運動記憶の想起が阻害されることが示されている（Javadi et al., J Neurosci 2017; Nozaki et al., eLife 2016）。では，複数の脳状態を操作的に作り出し，その全ての状態下で同じ運動課題を学習することで，多様な文脈に単一の運動記憶を紐づけることはできないだろうか。本発表では，経頭蓋脳電気刺激が多様な脳状態を惹起できること，多様な脳状態下で形成された運動記憶が定着に優れること，その理由が神経細胞における記憶表現の冗長性に由来することを示した一連の研究を報告する。

（12）サプライズによる fmθ と偶発的記銘の変調

鹿内友美（理化学研究所 脳神経科学研究センター）

似た特徴を持つ刺激（例えば高音）が繰り返し現れると，次も同じようなものだろうという予測が働く。そのため，予測を裏切る特徴の刺激（低音）が提示された場合，ミスマッチネガティビティなど特徴的な脳活動が観察される。このような連続した同一特徴の刺激への適応については多くの神経科学研究があるが，記憶を含む他の認知機能との関わりを調査した例は少ない。本研究では，適応が偶発的記銘にどのような影響を及ぼすかを検証するために，oddball 課題に改変を加えた記銘課題と再認課題を用いて脳波計測を行った。また，予測の生成と予測外れ，予測の更新を表現できる数理モデル，ベイジアンサプライズを用いて，適応の脳内情報処理過程を推定した。推定された適応の状態の変化と，記銘課題時脳波・再認課題成績との対応について報告する。

（13）人とボットのハイブリッド・システムによる協調行動の向上発表演題名

白土寛和（Carnegie Mellon University, School of Computer Science）

本発表では，人が協調行動をとる際に生じる集合行為問題を取り上げ，個人の振る舞いが集団の協調能力に与える影響を調べた実験結果を示す。実験では，オンライン上で集められた 4000 人ほどの被験者を，人工エージェントである「ボット」と共に，仮想的なネットワーク上に配置し，集団の協調能力を測る「グラフ配色ゲーム」に参加させた。その上で，ボットのランダムな振る舞いの度合いとそのネットワーク内での位置を実験操作し，集団として全体最適に至るまでの時間を計測した。その結果，ボットがある程度ランダムに振る舞うことで，集団の協調行動が最も早く全体最適に至ることを明らかにした。また，個人のランダムな振る舞いは，ネットワークを通して，集団全体に波及することがわかった。最後に，協調行動の難しさを示す具体的な例として，災害に対する社会的ネットワーク上の情報と行動の伝搬に関する社会実験の結果を紹介する。

（14）バーチャルリアリティによる知覚・認知の制御

鳴海拓志（東京大学 大学院情報理工学系研究科）

昨今のバーチャルリアリティ（VR）研究におけるブレークスルーのひとつに，人間の脳の情報処理特性をうまく利用した錯覚応用型のインタフェース技術の登場がある。なかでも，感覚間の相互作用を誘発し，提示が容易な刺激を組み合わせるだけで複雑な五感を提示するクロスモーダルインタフェースは，VR において多様な五感知覚の制御を可能にした。さらには，こうした五感の制御技術を活用することで，VR においてヒトが多様なバーチャル身体を扱えるようになり，そうした身体変容錯覚がヒトの認知にも大きな影響を与えることが明らかになってきている。本講演では，触覚・味覚・嗅覚等を扱うクロスモーダルインタフェースの事例を紹介するとともに，これらに基づいて生じる身体知覚の変容によって運動や情動，認知能力を制御することが可能な次世代の VR 技術を紹介し，VR が脳神経ダイナミクスの理解と制御に活用できる可能性を議論する。

15. 力学系の視点からの脳・神経回路の理解

2019 年 11 月 28 日－11 月 29 日

代表・世話人：北野勝則（立命館大学 情報理工学部）

所内対応者：北城圭一（生理学研究所 神経ダイナミクス研究部門）

（１）ニューロンとシナプスの二重の確率性による大脳皮質の学習計算原理

寺前順之介（京都大学大学院情報学研究科）

（２）連発刺激印加による振動抑制法に対する分岐点近傍解析

上田肇一（富山大学 学術研究部理学系）

（３）時系列情報の規則的構造を学習する神経回路モデル

朝吹俊丈（東京大学大学院 新領域創成科学研究科）

（４）階層的予測情報処理プロセスの失調としての精神障害：神経ロボティクス的アプローチ

山下祐一（国立精神･神経医療研究センター 神経研究所）

（５）脳の機能分化の神経機構解明のための変分原理による発展力学系

津田一郎（中部大学 創発学術院）

（６）MRI データ駆動型マーモセット全脳モデルと局所神経回路記憶モデル

塚田啓道（沖縄科学技術大学院大学 神経計算ユニット）

（７）自発的神経活動の機能的意義

栗川知己（関西医科大学 物理教室）

（８）Multiple pattern generations and chaotic itinerant dynamics in reservoir computing

末谷大道（大分大学 理工学部）

【参加者名】

上原一将（生理学研究所），北城圭一（生理学研究所），岡崎由香（生理学研究所），戸松彩花（生理学研究所），小山雄太郎（生理学研究所），水原啓暁（京都大学），横山　寛（生理学研究所），末谷大道（大分大学），栗川知己（関西医科大学），松山裕典（名古屋大学ニューロサイエンス研究センター）北野勝則（立命館大学），津田一郎（中部大学創発学術院），朝吹俊丈（東京大学大学院），山下祐一（国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター神経研究所），上田肇一（富山大学），田中琢真（滋賀大学）寺前順之介（京都大学），塚田啓道（沖縄科学技術大学院大学），橋爪善光（九州情報大学），加納　周（名古屋大学大学院），垣内田翔子（徳山工業高等専門学校），西井　淳（山口大学），二木大樹（立命館大学グローバルイノベーション研究機構），YE SONG（立命館大学），藤原正幸（北陸先端科学技術大学院大学），金子直嗣（東京大学大学院），松森唯益（㈱豊田中央研究所），竹川高志（工学院大学），遠藤希美（東京大学），山本祥太（大阪大学大学院），橋和田隆志（立命館大学），岩下素子（㈱デンソー），萩原淳（同志社大学），大西　朔（東京大学大学院），徳田慶太（東京大学），笹岡優樹（立命館大学），菅原朋子（豊田中央研究所），関澤太樹（東京大学），鳥居拓馬（北陸先端科学技術大学院大学），日髙昇平（北陸先端科学技術大学院大学），市川航平（東京大学），青柳富誌生（京都大学），鮫島和行（玉川大学脳科学研究所），岩田　拡（あさひが丘ホスピタル），千野直仁（愛知学院大学），伊藤嘉房（藤田医科大学）

【概要】

経時的に変化する外界に柔軟に適応できる脳機能は，脳神経系が有する動的な特性により実現されると考えられ，実際に，この特性は，単一ニューロンやシナプスなどのミクロなスケールから全脳レベルの大域的回路に至るあらゆる階層において観測することができる。しかしながら，こうした動的特性が，脳機能の仕組みにおいて，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。とりわけ，リズムや同期といった脳活動は，認知機能のみならず，脳疾患時の機能不全とも密接な関係があるが，その詳細は不明な点が多い。一方，マルチニューロン活動計測や脳波・皮質脳波など，多点計測データの取得により，脳神経系の動的特性やその機能的意義について，多自由度力学系の観点から解析することが可能となり，近年，こうした研究に注目が集まりつつある。本研究会は，こうした研究課題で活躍する研究者の議論の場となることを期待して開催した。研究会開催当日，会場では，優れた発表と活発な質疑・議論が行われ，開催目的は十分に達成できたと思われる。

（1）ニューロンとシナプスの二重の確率性による大脳皮質の学習計算原理

寺前順之介（京都大学大学院 情報学研究科 先端数理科学専攻）

大脳皮質では，ニューロンとシナプスの両方が高い確率性を持って動作している。ニューロンは不規則なスパイク列を生成し，シナプスは確率的に伝達物質を放出する。シナプス可塑性も大きな揺らぎを伴って実現している。これら確率的挙動には，幾つかの利点が存在することが先行研究によって指摘されてきた。しかしそれらは個別論に留まっており，ニューロンとシナプスの二重の確率性が，総体としてどんな皮質情報処理を実現するのかは未解明に残されていた。この発表では，この二重の確率性が，既存の多くの知見に合致する大脳皮質の学習則を与えることを示す。この学習則は，皮質局所回路の統計性やニューロンの応答特性など，実験的に観測された大脳皮質の様々な性質を再現し，皮質ニューロンとシナプスの確率的な動作特性に整合的な説明を与える。この学習則によって，神経ネットワークに対する入力情報の，最も効率性な符号化が実現することも紹介する。

（2）連発刺激印加による振動抑制法に対する分岐点近傍解析

上田肇一（富山大学 学術研究部理学系）

ニューロンの異常活動の原因として細胞外カリウム濃度の影響が指摘されている。Cressman らはグリアによるカリウムイオンの取り込み効果に着目した数理モデルを導出し，細胞外カリウム濃度とニューロン活動の関係を調べた[1]。本講演では Cressman らが提案したモデルに外力項を追加した方程式の数値実験を行い，連発外部刺激を加えることによってカリウム振動及びそれに伴うニューロンの異常活動を消滅させる手法を提案する。さらに，複合分岐点近傍解析を行い，提案手法が成功するための条件を明らかにする。

[1] Cressman, J. R., et al. (2009). Journal of computational neuroscience, 26(2), 159-170.

（3）時系列情報の規則的構造を学習する神経回路モデル

朝吹俊丈（東京大学大学院 新領域創成科学研究科 複雑理工学専攻）

我々の脳は，外界からの入力情報に含まれる規則的な短い時系列を，一つのまとまり（チャンク）として学習・認識することで複雑な情報に対応していると考えられるが，そのメカニズムはまだよくわかっていない。我々は，チャンクの教師なし学習を行う二つのモデルを提案した。二つのモデルは異なる構造を持つものの，入力に対する出力の予測可能性を最大化することで学習を行う点で共通している。これは，これまでに提案されてきた力学系の分岐構造にチャンクを埋め込むものや，入力時系列に対する遷移確率を元にしたベイズ推定とは本質的に異なるものである。また，我々が提案したモデルは，従来のチャンク学習モデルで検出できなかった複雑な構造を持つ場合でも学習でき，さらにチャンクの学習にとどまらずブラインド信号源分離などの問題にも適用可能であることがわかった。

（4）階層的予測情報処理プロセスの失調としての精神障害：神経ロボティクス的アプローチ

山下祐一（国立精神･神経医療研究センター 神経研究所）

脳とは予測装置であり，階層的に構成される内部モデル（生成モデル）に基づく予測と予測誤差最小化が，人の柔軟で多様な認知・行動を可能にする一般的計算原理である，という仮説（予測情報処理）が有力視されている。精神障害の症状を，この予測情報処理プロセスの変調として理解しようとする試みも盛んになっているが，概念的仮説と症状・行動レベルの病像との間にはギャップが存在している。本講演では，予測情報処理の計算プロセスを階層的なリカレントニューラルネットワーク（RNN）モデルとして具体化し，この RNN によって駆動されるロボットを用いた神経ロボティクス的アプローチにより，計算理論，神経ダイナミクス，知覚・認知行動とその変調としての精神症状の各水準の観察とを実験的に橋渡しする試みを紹介する。

（5）脳の機能分化の神経機構解明のための変分原理による発展力学系

津田一郎（中部大学 創発学術院）

ヒトの大脳新皮質は５０程度のそれぞれ異なる機能を持つ領域に分かれている。これは発見者にちなんでブロードマンの機能地図と呼ばれている。また，皮質下にはさらに多くの機能領域が存在する。それぞれの機能領域ではさまざまなニューロン（神経細胞）活動によって機能が表現されている。このように脳の発達過程で機能が分かれていくことを機能分化という。少なくとも哺乳類の脳や鳥類の脳は特徴的な機能を発現する領域に分かれていて機能分化が進んでいる。最近，ヒトの大脳新皮質において与えられた課題を遂行するときに神経活動のシンクロ（同期）によって同一機能を表現する機能結合領域が調べられた。その結果，大脳新皮質は１００以上のさらに細かい領域に動的に分割されていることが分かってきた。これを機能分割という。ここではこの機能分割も含めて機能分化と呼ぶことにする。しかしながら，この問題に対する理論的なアプローチはほとんどなかったと言ってよい。そこで，我々は脳が処理する問題に応じて脳全体に特異な拘束がかかることで，拘束を満たすように機能要素になるニューロン群が生成されるという作業仮説を立て，機能分化を変分問題として定式化する研究に着手した。まだ研究は初歩的な段階であるが，本講演ではこの試みについて触れ，さまざまなレベルの機能分化を典型的に表現する数理モデルを提案する。提案モデルは進化的に力学系を発展させたものである。

（6）MRI データ駆動型マーモセット全脳モデルと局所神経回路記憶モデル

塚田啓道（沖縄科学技術大学院大学 神経計算ユニット）

本講演の前半では革新脳プロジェクトのデータベースに蓄積されているマーモセットの構造的・機能的データを利用した全脳モデルを紹介する。この研究ではマーモセットの構造的結合に基づいて全脳モデルを構築し，シミュレーションによって fMRI データの再現性を確認することで，局所回路の興奮性と抑制性の結合のバランスの重要性や種間の脳のダイナミクスの違いを検討している。講演の後半では生理学的に尤もらしい２つの学習則を用いた局所神経回路の文脈記憶モデルを紹介する。この研究では時空間パターンの時間情報分離能力に優れた時空間学習則（STLR）と空間パターンの統合（補完）能力に優れた Hebb 型学習則を同一回路内で競合させることによって，時空間文脈情報を安定して記憶できる領域が存在することを明らかにした。これらの異なる２つのアプローチによって脳の神経回路をどのように理解できるのかを議論したい。

（7）自発的神経活動の機能的意義

栗川知己（関西医科大学 物理教室）

近年のライブ多点計測技術の進展により, 神経活動を高次元ダイナミクスとして観察し, その機能的意義を問うことが可能になってきた。多くの研究が，対象となる特定のタスクに対応した軌道構造を解析し, 対象の機能とダイナミクスとしての神経活動を対応させている。しかし，そのタスクの際の軌道を生成する背後にある構造＝自発的神経活動の構造は未だに明らかになっていない。

本発表では, まず自発的神経活動とラットの意思決定との関係，具体的には自発活動の susceptibility の違いがラットの意思決定の個体差を説明できるという研究を紹介する。その後，神経活動の入力に対する変化＝分岐を用いた時系列学習の話を紹介したい。

（8）Multiple pattern generations and chaotic itinerant dynamics in reservoir computing

Hiromichi Suetani（Oita University）

In his seminal book, Donald Hebb raised a problem how incessant activity in the brain (he called “existing activity”) builds the psychological behaviors including attention, set and expectancy, and conducted landmark notions, i.e., Hebbian law, cell assemblies, and phase sequence [1]. Although the importance of spontaneous activity of the brain has been paid less attention until recently, intensive developments of methodological tools reveals that spontaneous activity in the brain is not merely random but rather is more structured with coherent patterns [2].

In this study, we discuss a constructive role of spontaneous activity in the information processing of the brain from the viewpoint of the reservoir computing paradigm [3]. Especially, using FORCE-learning framework [4], we consider the problem of multiple temporal pattern generations via a single recurrent neural network (RNN) that are selectable by the combination of trigger pulses through multiple channels. We show that weak chaos meaning that the maximal Lyapunov exponent is small but strictly positive (this is *not* the so-called “edge of chaos”) is required as a generic property of the RNN for giving optimal performances. Furthermore, when the RNN exhibits optimal performance against the external inputs, the RNN also exhibits intermittent switching processes among several quasi-stable patterns without the external inputs. Such a behavior reminds us a prominent behavior of the high-dimensional nonlinear dynamical systems called *chaotic*

itinerancy [5]. We characterize such an itinerant behavior in terms of the fluctuations of the finite-time Lyapunov exponents and the eigenvalue spectra of the recurrent weight matrices after learning [6]. We also discuss a low-dimensional visualization of itinerant behavior using the methodology of manifold learning.

[1] Hebb, D.O., *The Organization of Behavior : A Neuropsychological Theory* (Wiley, 1949).

[2] Luczak, A., Bartho, P., and Harris, K.D., Neuron **62**, 413 (2009).

[3] J™ ger, H., Tech. Rep. GMD Report **148**, German Research Center for Information Technology (2001); Maas, W. et al., Neural Comp. **14**, 2351(2002).

[4] Sussillo, D., and Abbott, L.F., Neuron **63**, 544 (2009).

[5] Kaneko, K., and Tsuda, I., Chaos **13**, 926 (2003).

[6] Suetani, H., in Proceedings of the 28th International Conference on Artificial Neural Networks (ICANN) Part V (Lecture Notes in Computer Science **11731)**, 76 (Springer, 2019).

16. 幼・小児の成長期における脳機能と運動の発達に関する多領域共同研究

2019 年 8 月 5 日－8 月 6 日

代表・世話人：高草木薫（旭川医科大学）

所内対応者：南部　篤（生体システム研究部門）

（1）拘束条件付き自己組織化と機能分化

津田一郎（中部大学）

（2）身体性の発達と自閉スペクトラム症におけるその障害

和田　真（国立障害者リハビリテーションセンター研究所）

（3）霊長類の皮質―皮質下における自己と他者の報酬情報表現

則武　厚（生理学研究所）

（4）脳性まひ児に対するリハビリテーション実践と課題

木野本誠（大阪発達総合療育センター）

（5）脳領域間抑制の観点からみたヒト脳機能分化の発達過程

守田知代（大阪大学）

（6）自ら動くことがない新しい人間支援ロボットのかたち

平田泰久（東北大学）

（7）ヒトの二足歩行の個体発生と系統発生

荻原直道（東京大学）

（8）ヒト立ち上がり動作における筋シナジーとバイオマーカーとしての利用

安　琪（東京大学）

【参加者名】

高草木　薫(旭川医科大学), 千葉龍介(旭川医科大学), 高橋未来（旭川医科大学），中島　敏（旭川医科大学），福山秀青（旭川医科大学），大木　紫（杏林大学），四津有人（茨城県立医療大学），村田　哲（近畿大学），望月圭（近畿大学），和田　真（国立障害者リハビリテーションセンター研究所），花川　隆（国立精神・神経医療研究センター), 関　和彦(国立精神･神経医療研究センター), 内藤栄一（情報通信研究機構），雨宮　薫（情報通信研究機構），射場一寛（清恵会第二医療専門学院），守田知代（大阪大学），鈴木恒彦（大阪発達総合療育センター），木野本誠（大阪発達総合療育センター），津田一郎（中部大学創発学術院），渡部大志（中部大学創発学術院），舩戸徹郎（電気通信大学），今水　寛（東京大学），荻原直道（東京大学），淺間　一（東京大学），太田　順（東京大学），柳原　大（東京大学），温　文（東京大学），安琪（東京大学），金沢星慶（東京大学），丸田茂樹（東京大学），阿部勇貴（東京大学），高田謙一（東京大学），山川博司（東京大学），吉田和憲（東京大学），湖上碩樹（東京大学），矢野史朗（東京農工大学），市川寛子（東京理科大学），平田泰久（東北大学），サラザルホセ（東北大学），出江紳一（東北大学），菅原朋子（豊田中央研究所），下田真吾（理化学研究所），園尾萌香（理化学研究所），上田彩子（理化学研究所），植松明子（生理学研究所），則武　厚（生理学研究所），上原一将（生理学研究所），本多結城子（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），纐纈大輔（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），西條琢真（生理学研究所）

【概要】

本国における「超高齢者人口の増加」，「労働者人口の減少」，そして，「少子化の急速な進行」は，本国の存亡に関わる重要な課題であり, 可及的な解決法の確立と実行が必要である。特に「少子化」が抱える問題は「生まれてくる子供」の数が少ないという単純な問題として扱うことが出来ない。近年では周産期医療の進歩によって「低体重

児」の出生数が多くなってきている。低体重児では，高次脳機能や運動機能の障害（脳性麻痺や学習障害など）のリスクが増加する。従って，「このようなハンディキャップを持つ幼小児の適切な発達と成長をサポートし，適切な高次脳機能と運動機能を維持・獲得するための枠組み」を構築する必要がある。そこで本研究会では，脳神経科学・小児神経学・工学・リハビリテーション医学，精神医学，心理学を背景とする研究者が参加・議論することにより，上記の枠組みの構築を目指す。

（1）拘束条件付き自己組織化と機能分化

津田一郎（中部大学）

脳の機能分化はいかにして起こるのか。脳の機能モジュールはいかにして構築されるのか。

そもそもニューロンはどのような原理で分化するのか。こういった生物学的に重要な問題に対して，従来の自己組織化理論は十分な解答を与えることができないでいた。そこで私たちは，数学者の立場からこれらの機能分化の過程で数学的に何が起こっているのかを明らかにしようと計画した。本講演では，拘束条件付き自己組織化理論の概略と機能分化の数理モデルを紹介する。システムにかかる拘束条件の種類に応じて，異なる階層の機能分化が起こりうることをニューラルネットモデルを使って示す。また，この理論は再組織の問題にも適用可能であり，将来は神経修復の問題にも一定の寄与ができるのではないかと考えている。

（2）身体性の発達と自閉スペクトラム症におけるその障害

和田　真（国立障害者リハビリテーションセンター研究所）

自閉スペクトラム症（Autism spectrum disorder, ASD）の中核は，社会性とコミュニケーションの障害とされているが，背景にある様々な感覚情報処理の問題が知られている。道具の扱いや球技の不得手もその一つで，自己身体と外部空間の関連付けに問題が生じていると考えられる。

本講演では，ASD 者の身体の捉え方の特徴と，それに関連した感覚情報処理特性について，マウスとヒトのそれぞれを対象とした研究を紹介し，身体性に関わる日常生活上の問題との関連を考察する。

（3）霊長類の皮質―皮質下における自己と他者の報酬情報表現

則武　厚（生理学研究所）

これまで我々は，他者の報酬に影響を受ける自己の報酬価値に焦点を当て，新たに考案した社会的条件づけを用いてその神経基盤を探ってきた。社会的条件づけでは，対面したサル二頭それぞれに異なる報酬確率を同時に知らせ，結果，一方の個体しか報酬を得られない競争的状況を模した。さらに各個体の報酬確率を操作し，他者の報酬に影響される自己の報酬価値を推定した。

本発表では，社会的条件づけ下の行動データおよび大脳皮質皮質下の神経細胞活動について報告し，社会性発達の要因となり得る自他の報酬情報表現の神経基盤について議論したい。

また，ヒトの発達過程に対する社会的条件づけの有用性について，専門家のご意見を伺い議論したい。

（4）脳性まひ児に対するリハビリテーション実践と課題

木野本誠（大阪発達総合療育センター）

医療技術の進歩によって脳性まひ児の臨床像は変化している。早期産による未熟が一因であり，脳内の器質的な損傷だけでなく，神経系や筋骨格系等が十分に準備されないままに重力下での発達を余儀なくされることで生じる問題も少なくない。

そのため脳性まひ児の潜在能力を最大に発揮し成長を促すことは容易なことではない。

このような幼・小児に対して，治療介入を行う上で以下に示す重要な 3 つの要素について説明する。

1. 姿勢制御 : 目標の姿勢あるいは動作にとって必要な筋，筋活動のタイミング，神経システム，2. 感覚システム：必要な筋活動が得られない状態，あるいは不必要な姿勢筋緊張の亢進や動揺（不随意運動）に対して適切な筋活動を促すための感覚情報，3. 運動学習 : 小脳，大脳基底核，皮質における学習，神経可塑性。本講演では，これら神経科学や神経生理学などを考慮し，どのように治療を展開するのか実際の様子を示しつつ議論をする。

（5）脳領域間抑制の観点からみたヒト脳機能分化の発達過程

守田知代（大阪大学）

一般にある課題を遂行中の成人の脳活動を機能的 MRI で計測すると，課題に関連する脳領域の活動が増加する一方で，課題とは無関係な領域の活動は抑制される。この Negative BOLD 現象の生理学的背景は完全な理解に至っていないが，神経系の抑制機構が関与するという知見が近年多く報告されている。私たちはこの現象に着目し，ヒトの認知・運動機能の発達に伴い脳領域間でみられる抑制の進行と行動との関係を調査している。

本講演では，手指運動中の同側運動野の抑制や感覚領域間抑制，また自己身体認知機能の右半球側性化に関わる半球間抑制の発達などを紹介し，脳機能分化における脳領域間抑制の重要性について議論したい。

（6）自ら動くことがない新しい人間支援ロボットのかたち

平田泰久（東北大学）

本講演では，ロボットを駆動するためのモータを極力使わず，人の加える力によって動かされる非駆動型ロボットを紹介します。これは，人が助けて欲しい，もしくは危険な状態にあるというときだけ支援を行うロボットです。本講演では，非駆動型ロボットの例として，歩行器型ロボットや車いす型ロボットを紹介します。

また，人が主体的に動くということを前提に，人が移動すべき方向のみを教示するハプティックデバイス（振動呈示装置）を用いて，人にスポーツを教える研究を紹介します。これにより，高齢者や障がい者はもちろん健常者も，楽しくかつ上手にスポーツを楽しむことができるような支援を目指します。

（7）ヒトの二足歩行の個体発生と系統発生

荻原直道（東京大学）

乳幼児期におけるヒトの二足歩行の運動発達についてまとめ，系統発生，すなわちヒトの系統における二足歩行の進化との関連について議論する。

（8）ヒト立ち上がり動作における筋シナジーとバイオマーカーとしての利用

安　琪（東京大学）

ヒトの立ち上がり動作は日常動作の起点となる重要な動作である。本発表では，ヒト立ち上がり動作における筋シナジー構造に関して発表を行う。

特にヒトが異なる環境において立ち上がる時においても 4 つの共通する筋協調が見られる一方でそれら筋シナジーの活動の振幅や継続時間を変化させて適応的に運動していることが分かった。

それに対して，脳卒中で片麻痺の障害が残った患者においては 4 つの筋協調はあるものの，それらを適切なタイミングで活動させられず，筋シナジーの活動の開始時間やピーク時間を用いることで，患者における運動障害の程度が推定できることから，筋シナジーの活動パターンが運動障害の程度を知るバイオマーカーになり得ることについて議論する。

17. 行動の多様性を支える神経基盤とその動作様式の解明

2019 年 12 月 13 日－12 月 14 日

代表・世話人：関和彦（国立精神・神経医療研究センター）

所内対応者：南部　篤（生体システム研究部門）

（１）周期性に基づく時間予測における線条体と小脳の役割

亀田将史（北海道大学）

（２）サル補足眼野ニューロンによる注意の広がりの表現

横山　修（東京都医学総合研究所）

（３）価値に基づく眼球運動を制御する大脳基底核神経路

網田英敏（霊長類研究所）

（４）構成的アプローチによって脳の情報処理機構を解明するための基盤技術開発

正水芳人（理化学研究所）

（５）霊長類高次脳機能研究のためのマーモセット前頭皮質の機能マッピング

纐纈大輔（生理学研究所）

（６）自他行動モニタリングにおける社会脳ネットワークの機能解析

二宮太平（生理学研究所）

（７）霊長類における，前頭前野−皮質下連絡の機能解明
　　－DREADD による神経路選択的な機能操作による検討－

小山　佳（放射線医学総合研究所）

（８）弁別行動の獲得過程における線条体局所領域間の機能シフト

瀬戸川　将（福島県立医科大学）

（９）経頭蓋磁気刺激（TMS）の作用メカニズムの探索とサル認知・情動機能研究への応用

中村晋也（東北大学）

【参加者名】

中村加枝（関西医科大学），加藤利佳子（京都大学），武井智彦（京都大学），近藤崇弘（慶應義塾大学），関和彦（国立精神･神経医療研究センター神経研究所），禰占雅史（筑波大学），松本正幸（筑波大学），野々村　聡（東京医科歯科大学），笹川瑛貴（東京大学），松崎政紀（東京大学），佐野暢哉（東京都医学総合研究所），中山義久（東京都医学総合研究所），横山　修（東京都医学総合研究所），中村晋也（東北大学），筒井健一郎（東北大学大学院生命科学研究科），羽鳥康裕（東北大学電気通信研究所），瀬戸川　将（福島県立医科大学），小山　佳（放射線医学総合研究所），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），宮川尚久（放射線医学総合研究所），田中真樹（北海道大学），亀田将史（北海道大学医学院），澤頭　亮（北海道大学医学部），正水芳人（理化学研究所），網田英敏（霊長類研究所），井上謙一（霊長類研究所），木村慧（霊長類研究所），高田昌彦（霊長類研究所），チェンアンディ（霊長類研究所），山中　創（霊長類研究所），田中宏和（北陸先端大学），上原一将（生理学研究所），高橋泰伽（生理学研究所），二宮太平（生理学研究所），戸松彩花（生理学研究所），則武　厚（生理学研究所），横井　功（生理学研究所），郷田直一（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），西條琢真（生理学研究所），菊田里美（生理学研究所），Dwi Wahyu Indriani（生理学研究所），Polyakova Zlata（生理学研究所），Nondhalee Pimpimon（生理学研究所）

【概要】

齧歯類を対象とした神経回路研究が世界中で, 大変な勢いで進んでいます。新しい実験技術が次々と開発され，それを用いた巧みな実験によって, 私達の脳神経回路に対する理解は，従来にない解像度で深化しています。しかし，齧歯類は一つのモデル動物種に過ぎません。神経科学の究極の目標がヒトの精神機能の理解にあるとすれば, 齧歯類の脳を理解するだけで満足してはいけないはずです。今後，霊長類などよりヒトに近い動物種を対象とした神経回路や神経機能の研究の重要性が加速度的に増加してゆく時代になります。時として下等動物を対象とした研究にはない困難が伴いますが，やはり私達は巨大で複雑なヒト・霊長類の脳神経に立ち向かわなくてはなりません。

本研究会では，このような問題意識を共有する研究者が集まり，お互いの研究発表，情報交換を行う場を提供することを目的とします。そして，システム神経科学の未来を楽しく議論できればと期待しています。

（1）周期性に基づく時間予測における線条体と小脳の役割

亀田将史（北海道大学）

音楽を聴いているとき, 次のビートのタイミングを容易に予測することができる。このような周期性に基づく時間予測には大脳皮質に加えて大脳基底核や小脳が関与することが知られており, 実際にパーキンソン病や脊髄小脳変性症でリズム知覚や同期運動に障害がみられることが報告されている。しかし，その神経基盤の多くは明らかではない。我々の研究室では一定時間間隔で繰り返し提示される視覚刺激のタイミングを予測するようニホンザルを訓練し（欠落検出課題），脳内から直接神経活動を記録することでこの問題に取り組んできた。先行研究で小脳歯状核ニューロンの関与（Ohmae et al., 2013, Uematsu et al., 2017）を報告してきたが，今回は線条体（尾状核）から記録を行い，小脳との比較を行った（Kameda et al., 2019）。

線条体では繰り返し刺激に応答するニューロンのうち，74％（84/109）が刺激回数に応じて活動を上昇させ，その多くは時間予測を必要とする欠落検出課題で予測を必要としない偏倚検出課題より有意に活動が増加していた。繰り返し刺激の時間間隔による活動変化を調べると，76 %（37/49）では小脳核ニューロンと同様に間隔が長いほど応答が増加した。一方，残りの 24％（12/49）は短い時間間隔で最大応答を示し，小脳と異なる特徴をもっていた。視覚刺激の欠落または偏倚の直前に記録部位への微小電気刺激を行ったところ, 電気刺激によって欠落検出の反応時間は有意に短縮したが, 偏倚検出の反応時間には変化が認められなかった。以上の結果から，小脳に加えて線条体も周期性に基づく時間予測に関与することが示唆された。しかし, これまでに用いた行動課題では視覚刺激のタイミング予測に関与する成分と運動準備に関与する成分を明確に分離できなかったため，課題を改変し，視覚刺激と眼球運動の標的を左右視野に独立して提示することで感覚・運動成分を分離することを試みた。これまでに線条体と小脳核からそれぞれ 28 個と 30 個のニューロン活動を記録し，小脳では視覚刺激の位置によって，線条体では眼球運動の方向によって活動が大きく変化することを見出している。これらの結果から，線条体ニューロンは運動のタイミング制御, 小脳ニューロンは視覚刺激のタイミング予測に深く関与していることが示唆された。

（2）サル補足眼野ニューロンによる注意の広がりの表現

横山　修（東京都医学総合研究所）

視空間的注意は，環境中に存在する視覚情報のうち，そのときどきの状況に応じて適切なものを優先的に処理することを可能にする。視空間的注意の広がりは，対象の大きさや状況に応じて調節される。たとえば，自動車の運転や視覚的手がかりを用いるスポーツにおいては，注意の広がりを制御する能力はパフォーマンスに影

響する。一方，自閉症患者や薬物使用者では，注意の広がりが縮小しがちであることが報告されている。これまで，ヒト機能的イメージング研究によって，視空間的注意を向けられた位置の視覚情報を処理する後頭葉視覚野の神経活動が上昇すること，さらに，注意の広がりの変化に対応して，そのような神経活動上昇を示す視覚野の広がりが変化することがわかってきた。しかし，こうした視覚野の神経活動変化が，上流のどの脳領域において，どのように制御されているのかはよくわかっていなかった。そこで本研究では，前頭葉の眼球運動関連領域のひとつであり，注意に関連する活動を示すことが知られている補足眼野が注意の広がりを表現するかどうかを検討した。ニホンザル２頭に，注意の広がりを変化させることを要求する課題，具体的には，画面中央の注視点を注視したまま，左または右の半側視野に注意を向け，次に，それらの内側に呈示した小さなターゲットに注意を向けることが要求される課題を訓練した。課題の要求の変化に対応して，補足眼野ニューロンの多くが，左または右半側視野（すなわち，比較的広い注意），および，ターゲットの方向（比較的狭い注意），の両方を順に表現することがわかった。最も大きな活動を示すターゲット方向（preferred direction, PD）はニューロンによって異なっていたが，半側視野へ注意を向けたとき，それぞれのニューロンは，PD が注意を向けた半側視野に含まれていたとき，そうでなかったときよりも大きな活動を示した。また，こうした活動変化を示すニューロンの多くは，視覚応答を示す一方で眼球運動時には活動しなかった。これらの結果から，半側視野に注意を向けたとき，その半側視野内の視覚情報処理を担当するニューロン群が活動を上昇して準備し，その空間内に出現するターゲットの処理を促進する，というメカニズムが考えられた。補足眼野ニューロンの PD は注視点を中心として全方向に万遍なく分布していたため，理論上は，こうしたメカニズムによって任意の空間位置に任意の広がりを持つ注意を表現することができる。こうした補足眼野ニューロンの活動は，後頭葉視覚野の神経活動を調節するトップダウン信号の源として，注意の広がりの制御に寄与している可能性がある。

（3）価値に基づく眼球運動を制御する大脳基底核神経路

網田英敏（霊長類研究所）

彦坂らは, 大脳基底核が上丘の神経活動を脱抑制することにより衝動性眼球運動（サッケード）を制御していると提唱した（Hikosaka, Takikawa and Kawagoe 2000）。しかし, 大脳基底核が直接路と間接路を介してどのようにサッケードを制御しているか, 価値に基づく視覚探索に各神経路がどのように寄与しているかについてはまだわかっていなかった。そこで, 光遺伝学的手法及び薬理学的手法を用いて，直接路と間接路を選択的に操作することにより，マカクザル大脳基底核神経路の機能とメカニズムを調べた。

まず，直接路を選択的に操作するため，順行性の AAV ベクターを尾状核に注入し, 尾状核ニューロンにチャネルロドプシン 2 を発現させた。直接路の尾状核ニューロンは黒質網様部に直接投射しているため, 光ファイバーにより黒質網様部を光刺激することで, 直接路の尾状核ニューロン軸索末端を選択的に興奮させることができる。その結果, 黒質網様部ニューロンは光刺激に対して抑制性応答を示した。また，これら抑制性応答を示したニューロン群は価値に基づく神経活動を示した一方, 応答を示さなかったニューロン群は価値に基づく活動を示さなかった。このことは, 尾状核から黒質網様部への抑制性投射が価値情報を伝達していることを示唆する。さらに，光刺激時に上丘ニューロンを記録し，眼球運動を計測したところ，上丘ニューロンは興奮性応答（脱抑制）を示し，それに伴って対側サッケードの促進が観察された。したがって，尾状核を起点とする直接路は，従来唱えられていた通り，二重抑制によって上丘を興奮（脱抑制）させることで，サッケードを促進していることがわかった。

つぎに，間接路を選択的に操作するため，淡蒼球外節にビククリンを局所注入し, 尾状核からの抑制性入力を選択的に阻害する実験をおこなった。通常，黒質網様部ニューロンは報酬をもらえない視覚刺激に対して興奮性応答を示す。しかし，ビククリンを淡蒼球外節に注入すると，この興奮性応答が減弱し, サルは報酬をもらえない視覚刺激に対してもサッケードしてしまうようになった。以上の結

果から，尾状核を起点とする間接路は，黒質網様部の興奮（脱抑制）を介して，報酬をもらえない視覚刺激に対してサッケードしないよう抑制していることがわかった。

これらの実験を通じて，神経路選択的操作と神経活動記録を合わせる実験手法が，特定の神経路の機能とメカニズムを調べる方法として非常に有用であることを示したい。

（4）構成的アプローチによって脳の情報処理機構を解明するための基盤技術開発

正水芳人（理化学研究所）

構成的アプローチ（新たな神経回路の創出）で，どのような脳機能を獲得できるかを解明することは，脳の情報処理機構解明につながる。このための基盤技術として，神経回路創出法と in vivo 2 光子カルシムウムイメージ法が，有用である。本研究会では，現在開発中の神経回路創出法とその将来展望，これまでの研究で開発したげっ歯類（マウス）および霊長類（マーモセット）での in vivo 2 光子カルシムウムイメージ法（Masamizu#, Tanaka# et al., Nature Neuroscience, 2014, Ebina#, Masamizu# et al., Nature Communications, 2018, # Co-first authors）に関して，紹介する。

神経回路創出法に関しては，マイクロ流体デバイスを用いて，神経細胞ファイバーを作製することに成功し，脳への移植を検討している。この神経細胞ファイバーは，将来，脳損傷などで途切れた神経回路の再生医療への応用も期待される。in vivo 2 光子カルシムウムイメージ法に関しては，異なる色の蛍光カルシウムセンサーを用いることによって，2 色同時イメージングが可能である。2 色同時イメージングで，脳に移植した神経細胞ファイバーと，脳の活動を同時に計測できるため，in vivo 2 光子カルシムウムイメージ法は，構成的アプローチによって脳の情報処理機構を解明するための重要な基盤技術である。

最近，我々は，課題実行時のマーモセット・大脳新皮質で，in vivo 2 光子カルシウムイメージングをおこなう系を確立した（Ebina#, Masamizu# et al., Nature Communications, 2018）。具体的には，手を使った運動課題実行時の神経細胞の細胞体，軸索，樹状突起の活動を計測することに成功した。はじめに，マーモセットのための手を使った運動課題装置の開発をおこなった。しかし，これまでにマーモセットでは頭部固定状態で，運動課題を成功した例がなく，その訓練は難しいと考えられていた。2 光子励起顕微鏡下でイメージングをおこなうためには，マーモセットの頭部と胴体を固定した状態で行動課題をおこなわせる必要がある。従来のアクリル板による固定方法では，マーモセットがストレスを感じて行動課題をおこなわなかった。このため，これまで用いられていた頭部と胴体を固定する装置の胴体部分を改良し，ストレスを低減させるためにジャケットを着させて胴体を拘束する方法に変更した。さらに，頭部固定状態前におこなう訓練方法を確立した。マーモセットは，一度，嫌な記憶ができてしまうと，その記憶が長期間維持され，訓練をおこなわなくなってしまうため，徐々に難易度を上げていく段階を踏んだ訓練が重要である。本研究会ではこれらのプロトコールに関しても紹介する。

（5）霊長類高次脳機能研究のためのマーモセット前頭皮質の機能マッピング

纐纈大輔（生理学研究所）

小型の霊長類動物であるマーモセットが神経科学研究のための実験動物として世界的に注目を集めている。マーモセットを研究に用いる利点としては，①連合野皮質をはじめとする高次領野が発達しており，②ライフスパンが短く，遺伝子改変動物を作りやすい，③体重が 300－400 g ほどでラットと同程度でありハンドリングが容易であり，④大脳皮質が平坦で，マッピングに適しているなどが挙げられる。しかし，これまで動物を用いた神経科学研究は，マウス･ラットなどのげっ歯類，マカクサルなどの旧世界サルで行われることが多く，新世界サル

であるマーモセットに関するデータや，実験方法，例えば覚醒下，課題遂行中の神経活動を記録する方法などが圧倒的に不足しているのが現状である。我々の研究室では，これまでマーモセットの運動野，感覚野，大脳基底核の機能マッピングと，それらの線維連絡について解析を行ってきた。現在は，霊長類で特に発達している前頭連合野（PFC）をターゲットにした機能マッピングを目指している。PFC をマッピングするためには，PFC の機能解析に適した行動課題を遂行中のマーモセットから神経活動を記録する必要がある。そこでマーモセットをチェアーに座らせた状態で，記憶課題（遅延見本合わせ課題）を行うようにトレーニングした。

場所の手がかり刺激を用いた遅延見本合わせ課題を行ったところ，80％ 以上の正答率を示した。また 30 秒の遅延期間をおいても記憶の保持か可能であった。またその他にも行動課題を行ったが，マーモセットは PFC の機能マッピングを十分行えるパフォーマンスを示した。今後は，記憶課題遂行中のマーモセットの PFC から神経活動を記録して機能マッピングを行っていく。またマーモセットの前頭皮質には脳溝がなく，PFC は全領域が脳表に露出しており，イメージングが容易である。そこでイメージング技術を組み合わせて，PFC 内の機能分化などを明らかにしていきたい。

（6）自他行動モニタリングにおける社会脳ネットワークの機能解析

二宮太平（生理学研究所）

我々は日常的に，他者の行動とその結果に関する情報を，自らの行動を決める手がかりとしている。先行研究から，霊長類の脳にはこのような社会的認知機能に関わる 2 つのシステムが存在することが指摘されている。1 つは腹側運動前野（PMv）を中心とするミラーシステムであり，もう 1 つは内側前頭皮質（MFC）を中心とするメンタライジングシステムである。これら 2 つのシステムは，いずれも社会的情報処理に関与しているにも関わらず，その機能的役割の違いや機能連関についてはいまだに不明な点が多い。これらの問題について検討するために，マカクザルに対して実在の他個体，ビデオ上の他個体，ビデオ上の棒状の物体の 3 種類のパートナーを相手に行動観察と行動実行を繰り返す役割交替課題をトレーニングし，課題遂行中の PMv および MFC から神経活動の同時記録をおこなった。単一神経細胞活動を解析した結果，PMv と MFC には，自己の行動，他者の行動，またはそのどちらにも応答する神経細胞が，異なる割合で存在した。またいずれの領野においても，パートナーの種類によって応答の強さが変化する細胞が多く観察された。次に，PMv と MFC から同時記録した局所電場電位にグレンジャー因果解析を適用することで，2 領野間の機能連関について検討した。その結果，実在の相手と課題をおこなっている際は，PMv から MFC への情報流が増加しているのに対し，ビデオ上の相手と課題をおこなっている際は，MFC から PMv への情報流が増加していることが明らかになった。最後に，経路選択的かつ可逆的に神経活動を制御できる，ウイルスベクターの 2 重感染法を用いて，PMv から MFC への入力を遮断し，行動への影響を検討した。PMv → MFC 神経路の活動を遮断中，サルはパートナーの行動エラー情報を，次に自らがおこなう選択に利用することができなくなった。以上の結果は，ミラーシステムとメンタライジングシステムが様々な「他者」に応じて相補的に機能することで，相手の行動とその結果に関する情報を抽出し，自らの行動選択に役立てていることを示唆する。

（7）霊長類における，前頭前野−皮質下連絡の機能解明
−DREADD による神経路選択的な機能操作による検討−

小山　佳（放射線医学総合研究所）

脳の前方部に位置する前頭前野は様々な高次認知機能を司っていることが知られている。例えば，背側部に位置する前頭前野背外側部は，作業記憶（ワーキングメモリ）の保持や行動戦略の決定などを行うことで自身の目的を適切に実行・遂行することに，脳底部に位置する前頭眼窩野は，過去に得られた結果や現在の状況を蓄積・分析することにより将来得られる結果が最適になるための判断等に，それぞれ重要な役割を果たしていると考えられている。また，各々の領域内においても，異なる他の脳領域との解剖学的結合様式を基にした，神経経路単位での機能分化が存在することが近年示されつつある。例えば，前頭前野の各領域は線条体や視床などの様々な皮質下領域に投射を送っており，それぞれを結ぶ神経路は異なる機能を担っていることが，主にげっ歯類を用いた研究により明らかにされている。そのような神経経路単位での機能的役割を理解するためには，それぞれの経路の機能を特異的に操作するための技術が必要不可欠である。しかし，前頭前野が高度に発達した霊長類（サル）を対象としたそのような経路選択的な介入操作技術は発展途上であり，霊長類における神経経路レベルでの機能の理解はあまり進んでいない。

そこで我々は，化学遺伝学的手法の一つ，DREADD（Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drugs）とその人工受容体を可視化する PET イメージング技術を用いた，サルにおける経路選択的な機能阻害法の確立を試みた。本発表では，その技術を用いた，２つの前頭前野領域（前頭前野背外側部・前頭眼窩野）と線条体・視床とを結ぶ各神経路を選択的に抑制操作した次の２つの研究結果について紹介する。

1．視空間作業記憶における前頭前野背外側部および線条体・視床 MD 核への神経路特有の役割
2．報酬の価値に基づいた柔軟な意思決定における前頭眼窩野および線条体・視床 MD 核への神経路の特異的な役割。

（8）弁別行動の獲得過程における線条体局所領域間の機能シフト

瀬戸川　将（福島県立医科大学）

大脳基底核は，大脳皮質－基底核－視床を介した機能的に異なるループ回路により構成されており，“連続的な動作”や“適切な行動の選択（弁別行動）”を獲得する際に重要な役割を担っている。基底核の主要な入力核である背側線条体では，連続動作の獲得に伴い，前頭連合野より入力を受ける尾状核（あるいは背内側線条体）から一次運動野・体性感覚野より入力を受ける被殻（あるいは背外側線条体）へと機能的役割を担う回路が変化する。この線条体の領域間にて生じる機能変化は，ヒトやサル，げっ歯類を対象とした多くの先行研究により強く支持されてきた。一方で，感覚情報をもとにした弁別行動の獲得と線条体の関連性を調べた先行研究は，必ずしも連続動作の獲得過程にて生じる機能変化を支持するものではなく，刺激弁別行動の獲得中における線条体内の生理機能変化の解明は大きな課題であった。そこで本研究では，小動物脳機能イメージング法（18F-FDG-PET）を用いて，音弁別課題学習中の線条体全域の糖代謝変化（脳活動）を同一個体のラットから経時的に計測した。その結果，線条体前方部の脳活動が学習過程の初期に増加し，後方部が後期に増加することを発見した。次に，前・後部線条体の神経活動を一過性に阻害することにより，異なるタイミングで領域選択的な正答率の低下が生じることが明らかとなった。また，前・後部線条体への薬理阻害がラットの異なる行動パターンを誘導したことから，２つの領域が聴覚弁別行動の獲得過程において異なる機能を担うことが示唆された。更に，薬理学的な慢性破壊実験により，双方の領域が弁別行動の獲得に寄与することが分かった。前・後部線条体の解剖学

的な接続の違いを調べるためにＣＴｂを微量注入した結果，２領域は異なる神経回路であることが明らかとなった。これらの結果より，別々の神経回路で構成された前・後部線条体が聴覚弁別課題の異なる学習段階に寄与することが明らかとなった。

（9）経頭蓋磁気刺激（TMS）の作用メカニズムの探索とサル認知・情動機能研究への応用

中村晋也（東北大学）

TMS は, 頭皮上に配置したコイルに電流を流すことで生じる誘導磁場によって脳内に微弱な電流を誘起する非侵襲的な脳刺激法である。反復刺激では，その刺激パターンを変えることで脳活動の抑制や促進を行うことができる極めて有用なツールである。我々は，本手法をサルに適用し，その作用メカニズムを探るための神経生理学的基礎実験や，サル大脳皮質の認知・情動機能についての認知神経科学的実験を行ってきた。本発表では，これまでに我々が行った 3 つの研究の成果について議論したい。

TMS の作用メカニズムを探るための基礎実験として，サルの一次運動野への反復 TMS（rTMS）が，硬膜下皮質表面電位（ECoG）や一次運動野への単発の TMS によりその支配筋で生じる筋電図（運動誘発電位：MEP）に与える影響を調べる実験を行った。異なる刺激頻度を用いて 20 分間（計 1200 発）の rTMS を施した結果，低頻度 rTMS 後には，MEP の振幅の減弱（一次運動野神経活動の抑制）に伴う β 帯域のパワーの減弱が，高頻度 rTMS 後には, MEP の振幅の増大（一次運動野神経活動の促進）に伴う γ 帯域とりわけ High-γ 帯域のパワーの増大が生じていることが分かった。これらの結果は，rTMS による神経活動の抑制や促進作用の背景には異なる神経メカニズムが関与していることを示唆している。

また，遅延反応課題遂行中のサルに対し，遅延期間中に 1 秒間（計 10 発）の rTMS を前頭前野背外側部，運動前野，あるいは後頭頂皮質に与えることでその機能を一過性に阻害し，それにより課題遂行に生じる障害を調べることで，各脳領域の機能的役割を評価する実験を行った。その結果，刺激領域の違いにより課題の遂行に異なるパターンの障害を引き起こすこと，すなわち，領域毎の役割分担を示すことに成功した。この結果は，遅延反応課題を正しく実行するために，これらの 3 領域が異なる役割を持って協調的にはたらいていることを示唆している。

さらに，サル内側前頭皮質の気分・情動調節機能について調べるために，20 分間（計 1200 発）の低頻度 rTMS によって脳の特定部位に一時的な機能不全を引き起こすことでその部位の神経活動と行動との因果関係を調べる実験を行った。その結果，内側前頭皮質の腹側部をターゲットとした際に，ケージ内自発活動量の低下，血中コルチゾール濃度の上昇，意欲・社会性の低下がみられ，その効果は，最近，即効性の抗うつ作用があるとして注目されているケタミンの投与によって改善したことから，内側前頭皮質腹側部への低頻度 rTMS によってサルが抑うつ状態に陥ったことが示唆された。

18. 電気生理学的手法を用いたヒト脳神経活動の計測

2020 年 2 月 8 日

代表・世話人：岡本秀彦（国際医療福祉大学）
所内対応者：定藤規弘（自然科学研究機構生理学研究所）

（1）感覚記憶計測のパラダイム
乾　幸二（愛知県医療療育総合センター発達障害研究所）

（2）手指の巧緻的運動時における体性感覚領域の活動
和坂俊昭（名古屋工業大学）

（3）外的環境要因がヒト脳認知機能へ及ぼす影響
中田大貴（奈良女子大学）

（4）内受容感覚と皮質脊髄路興奮性
大鶴直史（新潟医療福祉大学）

（5）アスリートの脳に起こる可塑的変化
山代幸哉（新潟医療福祉大学）

（6）末梢機能障害による脳活動変化
寳珠山　稔（名古屋大学）

（7）聴覚の注意バイアスに関する研究
田中慶太（東京電機大学）

（8）漢字熟語の逸脱検出に関連する視覚誘発脳磁場の検討
軍司敦子（横浜国立大学）

（9）運動知覚を支える脳の神経基盤
今井　章（信州大学）

（10）注意と知覚に関わる脳律動リズムの変動
野口泰基（神戸大学）

【参加者名】

乾　幸二（愛知県医療療育総合センター発達障害研究所），今井　章（信州大学），大鶴直史（新潟医療福祉大学），軍司敦子（横浜国立大学），田中慶太（東京電機大学），中田大貴（奈良女子大学），野口泰基（神戸大学），寳珠山　稔（名古屋大学），山代幸哉（新潟医療福祉大学），和坂俊昭（名古屋工業大学），柿木隆介（生理学研究所），木田哲夫（愛知県医療療育総合センター発達障害研究所），赤塚康介（久留米工業高等専門学校），安宅光倫（生理学研究所），江頭優佳（国立精神・神経医療研究センター），門脇誠一（国際医療福祉大学），小崎瑞貴（東海光学㈱），鈴木雅也（東海光学㈱），中川　慧（広島大学），二橋尚志（小牧市民病院），則武　厚（生理学研究所），羽鳥康裕（東北大学），廣江総雄（ATR 脳情報解析研究所），水野　嶺（東海光学㈱）

【概要】

ヒトの複雑な脳活動を非侵襲的に計測することは，基礎研究のみならず臨床研究でも非常に重要である。現在，様々なニューロイメージング技術が開発され使用されているが，どの手法にも長所と短所があるため，目的に合わせてうまく組み合わせることが重要である。脳波や脳磁図などの電気生理学的な計測方法は，血流等ではなくニューロンの電気的活動を計測するため，ヒトの脳活動を高い時間分解能で計測することが可能である。また，脳から生じた反応を受動的に計測するだけなので，完全に非侵襲的で安全な計測方法である特徴も備える。しかしその一方で，計測データの解析方法も多様で複雑になってきており，ヒト脳の電気生理学的な研究を行う際に

障壁となっている。本研究会において，電気生理学的な手法，特に脳磁計を用いた様々な研究の発表を通して，ヒト脳の神経機能の解明や，新しい解析法に対する理解，臨床への応用等，さらなる研究の発展に貢献できたと考える。前半は主に体性感覚や運動，内臓知覚といった分野に関しての最先端の話が中心であった。ヒトの素早い脳活動を計測できるという電気生理学的手法の利点を生かした研究が多く発表された。後半は，主に認知機能や統合機能に関する研究発表であった。動物実験では難しいヒト固有の脳機能に関する研究で，ヒト脳神経活動を直接計測できる利点を活用していた。参加者は途中で退出することなく最後まで活発な質疑応答が行われた。発表者の半数以上が，生理学研究所の脳磁計を共同研究で利用しており，良い情報交換の場になったと考える。今後も定期的に開催することで，この研究領域における情報のアップデートに役立てていきたいと考えている。

（1）感覚記憶計測のパラダイム

乾　幸二（愛知県医療療育総合センター発達障害研究所）

感覚記憶は持続が数秒と短く，観察するのは容易ではありません。私たちは，感覚入力に対す脳の応答が，直前の感覚入力履歴に顕著な影響を受ける性質を利用して，感覚記憶を客観的に計測するパラダイムを考案し，その性質を明らかにしてきました。これまでの研究成果から感覚記憶の機能は，自己を取り巻く環境のリアルタイムモニターであると考えています。計測パラダイムと，最近の研究成果を紹介します。

（2）手指の巧緻的運動時における体性感覚領域の活動

和坂俊昭（名古屋工業大学）

運動には日常生活でみられる様々な動作や，アスリートにみられる高度な熟練を要する動作に至るまでさまざまなものがある。このような運動を行うとき，身体部位の動きに関わる感覚情報は運動の制御に対してどのような働きを担っているのであろうか。随意運動の準備過程では，感覚情報は運動プログラム形成に必要である。運動遂行中には，時々刻々と変化する運動環境に対応するために，感覚情報は身体部位の運動状態を調節し，修正するために用いられる。本研究では，人体の中で最も巧緻性が高い身体部位の一つである手指の運動に注目し，手指の様々な運動時における体性感覚情報の活動について，脳磁図を用いて検討した。

随意運動遂行に関連する一次体性感覚野の活動は減少する。この現象は，運動に関連しない筋からの情報を排除することによって，運動の妨げとなる反射などを抑制していると考えられている。しかし，手指の巧緻的な運動時には，一次体性感覚野に由来する体性感覚誘発脳磁場の成分は，抑制するものばかりではなく，その活動を増大させる成分があるという新たな知見を明らかにした。特に，物体を操作するために手指を複雑に動かす時，一次体性感覚野における活動は増大することから，巧緻的な運動の制御に関わる一次体性感覚野の働きの一端が明らかとなった。

（3）外的環境要因がヒト脳認知機能へ及ぼす影響

中田大貴[1]，柿木隆介[2]，芝﨑　学[1]（[1]奈良女子大学，[2]生理学研究所）

トップアスリートに限らず，大学運動競技においても，高地トレーニングの導入が高まりつつある。また登山人気も高まり，高地滞在の機会は一般的に普及されてきている。しかし，高地での滞在機会の増加は，高山病や滑落・遭難事故の増加も招いている。登山であれば，適切なルートを選択できなかったり，周りの状況にあった判断ができないことなどが事故の原因の 1 つとして考えられる。これらには，ヒト脳高次機能における認知機能の低下が関係していると考えられる。高地では，平地に比べ低酸素・低温・低圧・低湿といった特徴があり，このような外的環境要因が高地での認知機能を低下させている可能性があるが，その実態は明らかになっていない。本研究では，事象関連電位（ERP）と体性感覚誘発電位・脳磁場（SEP・SEF）を用い，外的環境要因（低酸素，低温，低圧）によって，ヒト脳認知機能にどのような影響を与えるのかを検討することを目的とした。

（4）内受容感覚と皮質脊髄路興奮性

大鶴直史（新潟医療福祉大学）

近年, 心臓や消化器など身体内部からの求心性入力である内受容情報が注目を集めている。これまでに，心臓からの求心性入力によって, 内受容情報が触覚や痛覚などの体性感覚に影響を及ぼすことが報告されてきた。この影響は心電図における R 波から約 300 ミリ秒後に生じることが報告されている。しかしながら，心臓からの内受容情報が運動の経路である皮質脊髄路にどのタイミングでどのような影響を及ぼすかは，まだ不明な点が多い。そこで，本研究では R 波から 0，100，200，300，400 ミリ秒後に経頭蓋磁気刺激（TMS）を用いて一次運動野を刺激し（それぞれ R0，R100，R200，R300，R400 条件），運動誘発電位（MEP）を記録した。また，個人ごとの内受容感覚鋭敏性の指標として，心拍検出課題を用いた。結果，心拍検出課題の成績と MEP 振幅は，R200 では有意な正の相関を示し，R400 では有意な負の相関を示した。このことは，R 波から 200－400 ミリ秒後に，皮質脊髄路の興奮性が変動していることを示唆し, さらにその変動は個人の内受容感覚の鋭敏性によって異なることが示された。

（5）アスリートの脳に起こる可塑的変化

山代幸哉（新潟医療福祉大学）

近年, 卓越した身体能力や技術を持つアスリートの脳に注目が集まり, 様々なニューロイメージング手法を用いて, その計測も頻繁に行われるようになってきた。それらの研究は, 日常のトレーニングによってアスリートの脳には可塑的な変化が生じ, パフォーマンスを高めている可能性を示唆している。

これまでのアスリート研究では, 視覚刺激を用いて事象関連電位（ERP）を計測したものが多い。しかしながら, 運動遂行には体性感覚野の働きが密接に関与していることが知られており, 発表者はアスリートの体性感覚野に生じる可塑的変化に着目してきた。本研究では，特に野球選手に起こった可塑的変化，1）手指の刺激に対する体性感覚誘発電位および単純反応時間の短縮，2）Nogo 電位の短縮と増大および Go/Nogo 識別時間の短縮，3）これらの変化がモダリティ特異的に生じている可能性について報告する。

（6）末梢機能障害による脳活動変化

寳珠山　稔（名古屋大学）

神経系の末梢－中枢連関や相互作用について，四肢末梢の疾患や外傷による末梢機能障害状態での脳磁場を解析することで，体性感覚脳活動の適応的（adaptive）な変化や自律的不適応（mal-adaptive）状態を生じた脳活動を報告する。末梢神経障害や切断肢，慢性疼痛等を有する患者を対象とし，誘発脳磁場および安静時脳磁場の解析から明らかとなる脳機能構築の変化について呈示する。

（7）聴覚の注意バイアスに関する研究

田中慶太（東京電機大学）

両耳分離聴タスクは，左右の耳に同時に異なる刺激音（数字，有意味語，言語音など）を呈示し，指示された耳からの刺激音を回答する。このタスクでは，行動実験により右耳優位が報告されているが，右耳優位と神経生理学的な報告は少ない。そこで本研究では，両耳分離聴タスクを用いて，左右に異なる二音節の言語音を同時に呈示したときの脳反応を脳磁図により計測し，聴性定常応答（ASSR）を用いて，同側・対側反応を弁別し，両耳分離聴タスクに対する聴覚情報処理の様式を視覚化する。

呈示する刺激音は，呈示時間は 330-503 ms の 48 種類の二音節の言語音（「アカ」，「イヌ」など）をそれぞれ 35 Hz と 45 Hz に振幅変調したものを使用した。振幅変調の変調度は 1.0 とし呈示音圧は 90 dB とした。実験中に左右から知覚した言語音を無音区間で記入するように指示し各耳の正答率を求めた。

行動実験の結果，左耳に比べて右耳の正答率が有意に高く，先行研究と同様に右耳優位が示された。さらに左聴覚野において，右耳入力の ASSR 振幅は，左耳入力の ASSR の振幅よりも有意に大きかった（$p<0.05$）。これらの結果より両耳分離聴における右耳優位に対する神経生理学的な関連を ASSR により明確にできることを示唆する。

（8）漢字熟語の逸脱検出に関連する視覚誘発脳磁場の検討

軍司敦子（横浜国立大学）

周辺視野における漢字熟語のチャンキング知覚にかかわる神経基盤を明らかにするため，視覚ミスマッチ反応の計測手法を用いて検討した。

健常成人を対象に，中心視野に無音動画を，周辺視野に視覚刺激を提示しているときの脳磁場を記録した（Elekta-Neuromag 社製 306 チャネル全頭型脳磁計）。視覚刺激には 2 つの課題を設け，（1）文字課題では①フォントの異なる同一の漢字熟語（文字条件）と②線画（非字条件），（2）単語課題では，漢字を組み合わせて作成した①意味のある熟語（単語条件）と②成立しない漢字の羅列（非単語条件）の組み合わせをそれぞれ 8 対 2 の割合で提示した。解析には最小ノルム法（MNE）を用い，左大脳半球の後頭領域を解析対象とした。

二峰性の成分（1M:130 ms, 2M:230 ms）について検討したところ，形態や輝度の知覚における記憶痕跡からの逸脱を反映した 1M 成分は，紡錘状回に推定された。この結果は，先行研究で報告された発生源とは一致しないものの，複雑図形あるいは漢字の表象知覚の点で記憶痕跡の鋳型を検出した可能性はある。

一方で，単語課題では視覚性記憶痕跡の逸脱反応は検出できなかったが，V1～角回付近に推定された 1M，2M 成分がこれまで学習した単語よりも非単語に増大した

ことから，学習単語における長期記憶からの逸脱を検出したと思われる。併せて，漢字熟語のチャンキングにともなう音韻処理も非侵襲的に評価できた可能性が指摘された。

（9）運動知覚を支える脳の神経基盤

今井　章（信州大学）

視空間的に 2 点の離れた位置に第 1，第 2 刺激を順次提示して仮現運動（ベータ運動）を生起させ，脳磁図（MEG）によるその神経基盤を探った。視運動感が，①最適に知覚される最適条件，②2 刺激が同時に提示され運動視が成立しない同時条件，③2 刺激が時間的に分離して提示され運動視が成立しない継時条件の 3 条件下で刺激を観察中の MEG を 8－10 名の実験参加者から取得した。事象関連脳電場を約 80 回の加算平均で求め，最小電流推定法（MCE）による信号源推定を脳の 10 領野について行なって賦活量を推定した。その結果，実験 1 では第 2 刺激後 0－99 ms の時間帯で頭頂部の最適条件の賦活化が他の条件に比較して有意に増大していた。実験 2 では，実際運動条件について検討した結果，運動感が強い条件における中心部と側頭部における賦活化が顕著に認められた。実験 3 では，第 1 と第 2 刺激の形が異なる条件，第 4 実験では色が異なる条件で検討した。その結果，実験 3 では最適条件で刺激提示後 300－399 ms の前頭部の賦活化が，実験 4 では，刺激提示後 100－199 ms の中心部の賦活化が増大していた。以上から，運動視に関わる脳活動は，100 ms 以内で頭頂部に出現し，形の変化は前頭部へ，色の変化は中心部へと，それらが運動関連情報として伝えられることが示唆される。運動知覚における空間視経路と物体視経路との関連性を示す結果と考えられる。

（10）注意と知覚に関わる脳律動リズムの変動

野口泰基（神戸大学）

脳波や脳磁図で記録される律動信号，特にシータ波（4－8 Hz）やガンマ波（> 30 Hz）の振幅増大（event-related synchronization, ERS）は，注意や記憶といった高次心的機能と深く関わることが報告されている。心的機能の発動には多くのニューロンの協調的な活動が必要となるため，それら時間的に同期した活動がマクロレベルの律動信号を発生させる（ERS）と考えられてきた。一方で律動信号の振幅減少は event-related desynchronization（ERD）と呼ばれ，個々のニューロンがバラバラに活動する「不規則な状態」と見なされることが多かった。

このような見解とは逆に，今回の研究では ERD 中の律動信号が規則性をむしろ上昇させていることを示す。視覚刺激を左視野または右視野に提示すると，対側後頭葉ではアルファー波（8－12 Hz）・ベータ波（13－30 Hz）の ERD が観察された。律動規則性の指標としてそれらの頂点間時間間隔（inter-peak interval, IPI）の分散を計算したところ，ERD 中は分散が小さくなっている（リズムが規則正しくなっている）ことが分かった。同様の規則性上昇は，知覚だけではなく注意でも見られた（被験者が左視野に注意を払っているときは，右後頭・頭頂領域で IPI 分散の縮小が見られた）。これらの結果は「心的処理の遂行のため，脳は律動信号の規則性を上昇させていること」，そして「この律動信号の変化がアルファー・ベータ帯域の信号に反映されていること」を示唆する。

19. 第９回社会神経科学研究会
「社会科学的アプローチによるヒトの社会神経回路の理解」

2019 年 11 月 21 日－11 月 22 日

代表・世話人：高岸治人（玉川大学 脳科学研究所）
所内対応者：定藤規弘（自然科学研究機構 生理学研究所）

（１）行動経済学の現在：統合行動科学としての経済学に向けて
犬飼佳吾（明治学院大学 経済学部）

（２）「神経政治学（neuropolitics, political neuroscience）」の研究動向
谷口尚子（慶應義塾大学大学院 システムデザイン･マネジメント研究科）

（３）“和解の心理学”への神経科学的アプローチ
大坪庸介（神戸大学大学院 人文学研究科）

（４）向社会性を支える心と社会の相互構築
清成透子（青山学院大学 社会情報学部）

（５）将来世代に対する利他行動
上條良夫（高知工科大学 経済･マネジメント学群 マネジメント学部）

（６）ソーシャルメディアと社会の分断
笹原和俊（名古屋大学大学院 情報学研究科）

【参加者名】

高岸治人（玉川大学），定藤規弘（生理学研究所），鮫島和行（玉川大学），犬飼佳吾（明治学院大学），大坪庸介（神戸大学），上條良夫（高知工科大学），清成透子（青山学院大学），笹原和俊（名古屋大学），谷口尚子（慶應義塾大学），青木隆太（首都大学東京），赤石れい（理化学研究所），西谷正太（福井大学），高橋英彦（東京医科歯科大学），松田哲也（玉川大学），Adam Smith（名古屋大学），伊藤文人（高知工科大学），尾形清一（京都大学），木下泰輝（奈良先端科学技術大学院大学），近藤崇弘（慶應義塾大学），酒井雅子（㈱エクォス・リサーチ），桜井芳生（鹿児島大学），寿　秋露（玉川大学），沈　鈺蕾（名古屋大学），鈴木友美子（名古屋大学），田中宏季（奈良先端科学技術大学院大学），田中大貴（玉川大学），寺本理紗（京都大学），仁科国之（高知工科大学），二宮太平（生理学研究所），則武厚（生理学研究所），保坂太志（東京大学），本多結城子（生理学研究所），松永昌宏（愛知医科大学），村田香織（麻布大学），柳澤邦昭（京都大学），山田順子（玉川大学），吉岡　歩（名古屋大学），伊藤嘉邦（生理学研究所），小池耕彦（生理学研究所），郷田直一（生理学研究所），小山雄太郎（生理学研究所），近添淳一（生理学研究所），南條啓孝（生理学研究所），濱野友希（生理学研究所），福永雅喜（生理学研究所），丸山修紀（生理学研究所），山本哲也（生理学研究所），吉本隆明（生理学研究所），上原一将（生理学研究所），中江俊介（藤田保健医科大学）

【概要】

近年，ヒトが示す社会性に関する神経科学研究が盛んに進んでおり，日本においてもインパクトのある研究成果がだされてきている。その一方，我が国における社会神経科学の研究は，神経科学者による研究と社会科学者による研究がそれぞれ独立して進めてられており，両者が融合された研究を行うには厳しい環境であった。その壁を取り除き，分野を超えた新しい社会神経科学という学問を創成させていくことが重要と考えらえる。本研究会では，神経科学者と社会科学者の専門家が一同に会し，社会科学分野におけるヒトの社会性の重要な問題を共有することで，今後の社会神経科学の進むべき道筋を考えることを目指す。具体的には，社会科学の中心的な役割を果たす経済学，政治学，社会学，および人文科学との学際領域である社会心理学を専門とする研究者の方

に，それぞれの分野において「どのような問いが重要な問題として現在考えられているか」を説明していただくことで，その問題に対して最先端の神経科学的アプローチがどのような役割を果たせるのかをフロア全体で議論する。そのような試みを行うことで，社会科学の重要な問題に根付いた新しい社会神経科学の研究が創生されることを期待する。

研究会では社会科学，神経科学を専門とする研究者 50 名が参加し，質疑応答において多くの議論が交わされた。また 8 件のポスター発表も行われ，社会科学における問題に対して神経科学的アプローチをどのように用いれば有効であるかを中心に議論が行われた。

（1）行動経済学の現在：統合行動科学としての経済学に向けて

犬飼佳吾（明治学院大学 経済学部）

今世紀初頭以降，経済学の研究手法や研究対象は大きく変容している。こうした変容を牽引しているのは，行動経済学や実験経済学，ランダム化比較実験を利用したフィールド実験である。この流れは，従来の経済学と心理学や社会学といった他領域との境界をより一層曖昧なものにしている。一方で，行動経済学や実験経済学の流れを受けて展開してきた神経経済学分野の研究については，その扱いについて経済学者間で様々な議論が存在する。これらの背景を受け，近隣分野の研究と経済学との関係と異分野融合研究の可能性について，意思決定や社会的選好の研究を参照しつつ，議論を行った。

発表では，経済学における神経科学的な手法を用いた研究の流れについて概観し，Crowding-out 現象という，罰システム制度が人の協力に関する選好を低下させる点について注目し，公共財ゲームを用いた行動実験を用いることによって Crowding-out 現象が実際に生じていることを示した。

（2）「神経政治学（neuropolitics, political neuroscience）」の研究動向

谷口尚子（慶應義塾大学大学院 システムデザイン・マネジメント研究科）

神経科学アプローチを用いた政治学の研究は，2000 年代以降，増加傾向にある。Jost et al.（2014）の包括的なレビューによれば，fMRI 等を用いた手法は，有権者の認知・意思決定の中でも，人種偏見・党派的対立・性差・利益供与による支持形成など，アンケート調査等では扱いにくい「生々しい」反応を計測するのに利用されてきた。近年試みられている，公正感や協力的態度の基盤の探索，また政治選択の合理性／非合理性に関する実験等も含め，研究動向の紹介を行った。

（3）“和解の心理学”への神経科学的アプローチ

大坪庸介（神戸大学大学院 人文学研究科）

和解を理解するためには加害者側・被害者側の要因（謝罪・赦し）を考慮する必要がある。謝罪が和解を促すかどうかは，相手がそれを誠実な謝罪と受け止めてくれるどうかに大きく左右される。一方，赦しは被害者が加害者との関係を重視している程度に強く規定される。これら和解の両側面は，これまで主に進化・社会心理学的アプローチで検討されてきた。本発表では，これらの研究テーマへの神経学的アプローチの可能性について考える。

（4）向社会性を支える心と社会の相互構築

清成透子（青山学院大学 社会情報学部）

生物学的存在としての「ヒト」を社会的存在としての「人間」たらしめる最も大きな要因は，向社会性（協力性・利他性・共感性・互恵性等）である。けれども，ヒトの向社会性の進化の謎は血縁淘汰や互恵性の理論では説明できず，その説明原理を巡って自然科学と社会科学の双方において，学問の境界を越えて様々な研究が取り組まれている。本発表では，山岸を中心に行った「向社会性を支える心と社会の相互構築」に関する一連のプロジェクト研究を紹介する。

（5）将来世代に対する利他行動

上條良夫（高知工科大学 経済･マネジメント学群 マネジメント学部）

グレタ・トゥーンベリさんの国連における演説は記憶に新しい。彼女の訴えは真摯で正当であるにも関わらず，彼女の叫びを冷めた目で見ている大人たちが多いように見える。なぜだろうか。遠い将来の不利益を予測して現在の意思決定を行うことは高度に理性的判断である。ましてや，それが自分と関わらないことであれば，未来の人々の不幸に共感することはますます困難を極める。経済学では，感情的選択よりも，むしろ理性的選択を重視してきた。一方，心理学や神経科学は感情的選択に関わる基盤の解明に注力してきたように思える。それゆえ，経済学において神経科学に期待される役割とは，多種多様な理性的選択の神経基盤を明らかにすることである。例えば将来世代に対する利他行動のような，共感というよりかはむしろ理性によってドライブされる利他行動などがその一例であると考えられる。本講演では，将来世代への利他行動の測定に挑戦した最近の研究について紹介する。

（6）ソーシャルメディアと社会の分断

笹原和俊（名古屋大学大学院 情報学研究科）

人々をつなぐ技術であるはずのソーシャルメディアが，むしろ社会の分断を助長しているという問題が顕在化してきている。本発表では，分断をテーマとする計算社会科学の研究を 2 つ紹介する。1 つ目は，フェイクニュースの温床となるエコーチェンバーについてで，人間の認知特性とソーシャルメディアの相互作用によって意見の分極や社会的分断が加速されることを示す。2 つ目は，「食」と社会的分断についてで，オーガニック系の食を好むユーザとファストフード系を好むユーザには，食以外の価値観や購買意識にも違いがあり，社会的ネットワークも分断されていることを示す。

20. 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 ～みんなのクライオ電顕～

2019 年 11 月 26 日－11 月 27 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）北大クライオ電顕と犬ジステンパーウイルス膜融合タンパク質の単粒子解析
福原秀雄（北海道大学）

（２）ウェルシュ菌二成分毒素：膜孔複合体の単粒子解析
山田等仁・津下英明（京都産業大学）

（３）感染症の理解と対策に向けた，リボソームのクライオ電顕単粒子解析
横山武司（東北大学）

（４）クライオ電顕によって明らかになった脂質フリッパーゼ P4-ATPase の輸送サイクル
西澤智宏（東京学）

（５）緑藻の光化学系 I―集光アンテナ超複合体の構造
菅　寛（岡山大学）

（６）Cryo-EM processing of membrane protein complexes: quirks and pitfalls
Ray Burton-Smith（生理学研究所）

（７）Cryo electron tomography of cellular specimens
福田善之（東京大学）

（８）Performance Contributions of Energy Filtering and Phase Plates for Single Particle Analysis of Membrane Proteins
Radostin Danev（東京大学）

【参加者】

講演者を含め１０８名

【概要】

クライオ電子顕微鏡を用いた生体分子の構造解析が世界で急速に拡大する中，我が国における研究成果の最先端を研究者間で共有し，生理研研究所がその中核となるべく「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」は企画された。そこで，特に最近新しい結果を報告した若手研究者に講演を依頼した。それら演者には得られた結果だけでなく，それを得るに至った過程を紹介頂くようお願いした。特に苦労した点，失敗した点などネガティブな面も紹介して頂き，参加者全員でそれを共有することを目的とした。副題にあるように，「クライオ電子顕微鏡の専門家」になるトレーニングを積まなければ生体分子の構造解析ができないと考えるのではなく，生体分子の構造解析を行いたい研究者が誰しもクライオ電子顕微鏡解析を使えることを目標に，また，現在そのような動きがあることを本研究会から発信することができればと考えた。

まずは，最近クライオ電子顕微鏡施設を整備された北大からの報告を行って頂いた。次に従来の X 線結晶構造解析では不可能な中間体等の構造解析例として，種々の試料について，山田等仁・津下英明博士，横山武司博士，西澤智宏博士，菅寛博士に発表を行って頂いた。これら 4 件の発表のうち 3 件は膜タンパク質という試料の扱いが困難なターゲットについての報告であり，試料調製の技術も向上していることを窺える発表だった。

生理研の Ray Burton-Smith からは，そうした膜タンパク質の解析について，方法論の観点からより普遍的な特徴について発表頂いた。また，クライオ電子顕微鏡で次に期待されているクライオ電子線トモグラフィーを手法とした，細胞内構造解析の高分解能化について福田善之博士に現状を報告頂いた。Radostin Danev 博士には，

生物学的な成果だけでなく博士が開発した位相板を含むハードウェアの最先端について，発表頂いた。

ポスター発表においても未発表のデータを含む 21 演題が紹介され，講演に引けを取らない活発なディスカッションが行われた。

（1）北大クライオ電顕と犬ジステンパーウイルス膜融合タンパク質の単粒子解析

福原秀雄（北海道大学大学院薬学研究院創薬科学研究教育センター）

我々はモルビリウイルスを研究対象として, 細胞への侵入機構の解明を目指してきた。麻疹ウイルス（Measles virus; MV）や犬ジステンパーウイルス（Canine distemper virus; CDV）といったモルビリウイルスは，エンベロープ上に受容体結合タンパク質（H タンパク質）と膜融合タンパク質（F タンパク質）の２種類の糖タンパク質をもつ。これまでに MV と CDV の H タンパク質について結晶構造を決定してきたが，CDV の F タンパク質については発現量が低かったため，クライオ EM による単粒子解析を試みた。今回はその進捗とともに，３月に北大へ導入された Glacios について，現在の状況を紹介したい。

（2）ウェルシュ菌２成分毒素：膜孔複合体の単粒子解析

山田等仁，津下英明（京都産業大学）

E 型ウェルシュ菌は標的細胞の細胞骨格を形成するアクチンを ADP リボシル化することでポリマー化阻害による攻撃をするイオタ毒素を産生する。イオタ毒素は二成分毒素であり ADP リボシル化毒素 Ia と，Ia を膜を介して細胞内に侵入させる膜結合成分 Ib からなる。Ib は標的細胞膜上で中央に孔を持つ可溶性オリゴマー（プレ膜孔）を形成し Ia がこれに結合する。次にイオタ毒素複合体はエンドソームに取り込まれ, エンドソーム内の pH の低下によって Ib オリゴマーは膜貫通型のβバレルを持つ膜孔に構造変化し，Ia がこの中を通過する。

炭疽菌が産生する 2 成分毒素（膜結合成分:PA, 酵素成分:LF,EF）のプレ膜孔複合体は結晶構造解析によって構造が解かれた。2015 年には単粒子解析によって PA 膜孔の構造が解かれたが，酵素成分が通過すると考えられる中央の膜孔に直径 6 Å しかない部分（φ クランプ）があることが明らかにされた。この直径はタンパク質の二次構造よりも小さいことから，酵素成分の膜孔通過に際してφクランプの拡張か酵素成分の完全なアンフォールドが必要とされるが，これまで詳細なメカニズムが明らかにされなかった。

我々は単粒子構造解析によってイオタ毒素複合体（Ia が結合した Ib 膜孔）の高分解能における構造解析に成功した。この構造は，ユニークな Ia の結合と中性 pH において Ib への結合によって Ia の N 末端のアンフォールドされる様子を明らかにした。講演ではこの構造から得られた知見と，結果にたどり着くまでの経緯を紹介します。

（3）感染症の理解と対策に向けた，リボソームのクライオ電顕単粒子解析

横山武司（東北大学大学院 生命科学研究科，理化学研究所 生命機能科学研究センター）

After infection to the host cell, viruses utilize the host machinery including translation system to replicate their own copies. To reveal the details of how virus captures the host translation system is important for the deep understanding of the mechanism of infectious diseases. In terms of the prevention to infectious diseases, translation system is also an important piece

since the ribosome is one of main targets of antibiotics in pathogens. In this presentation, two cryo-EM studies of ribosome complexes will be shown. One is for the understanding of the mechanism of Hepatitis C virus (HCV) infection and the other is for the development of a new aminoglycoside antibiotic, which shows a promising efficacy against multidrug-resistance bacteria.

In the first study, how HCV genomic RNA captures the host translation machinery will be shown. Translation initiation of HCV genomic RNA is induced by an internal ribosome entry site (IRES). In all previously proposed models, HCV IRES RNA targets a free 40S ribosome in the host cell to start translation of proteins encoded on the down-stream mRNA sequence. However, in the current study, by using single particle cryo-electron microscopy (cryo-EM) we observed that the HCV IRES is capable to binds to an actively translating 80S ribosome, which was reconstituted in a human *in vitro* translation system. In the elucidated structure, the HCV IRES “body” binds to the 40S subunit, while the “long arm” remains flexible and does not impede the ongoing translation. In addition, biochemical experiments showed the cap-dependently translating ribosome becomes a better substrate for the HCV IRES than the free ribosome. Therefore, we proposed a new model that the HCV IRES captures translating ribosomes. As soon as ongoing cap-dependent translation terminates, bound HCV IRES RNA will predominantly be used for the next round of protein synthesis.

（4）クライオ電顕によって明らかになった脂質フリッパーゼ P4-ATPase の輸送サイクル

西澤知宏（東京大学）

タイプ 4 に属する P 型 ATPase（P4-ATPase）は脂質を基質として flippase としてはたらく輸送体である。P4-ATPase は真核細胞における脂質の不均一性に関わる。たとえばフォスファチジルセリン（PS）は P4-ATPase のはたらきによって脂質二重膜の細胞内側（inner leaflet）に多く存在するが，アポトーシスを起こした細胞ではこの不均一性が崩れて細胞外側（outer leaflet）に露出する。これが“eat me”シグナルとして認識されることでマクロファージによって貪食される。P4-ATPase の属する P 型 ATPase ファミリーは，筋小胞体カルシウムポンプ（SERCA）やナトリウム・カルシウムポンプ（Na^+/K^+-ATPase）などを代表的なメンバーとして含む ATP 依存的な能動輸送体ファミリーである。このファミリーに属する多くのメンバーはイオンを基質として輸送するのに対して，P4-ATPase のみが脂質という非常に大きな分子を基質とすることから，その独自な機構が予想されていた。しかし，その仕組みは発見以来の謎であった。最近，我々はクライオ電子顕微鏡単粒子構造解析によって，ヒトのもつ P4-ATPase の一つである ATP8A1 とアクセサリータンパクとしてはたらく CDC50a のヘテロ複合体を，6 つの反応中間体構造で決定することに成功した。これらの構造から，ATP8A1 による脂質輸送サイクルの全体像が見えてきたので，これを紹介したい。.

（5）緑藻の光化学系 I―集光アンテナ超複合体の構造

菅　倫寛（岡山大学，JST さきがけ）

緑藻の光化学系 I は集光複合体 I と超複合体をとって存在することが知られており，この構造基盤は弱い光の高効率な利用を可能にしている。我々は緑藻クラミドモナス由来の光化学系 I の立体構造を最大で 9 個の集光複合体 I との超複合体状態でクライオ電顕により 2.9 Å 分解能で決定した。電顕構造より，励起エネルギー伝達のネットワークの詳細が判明しただけでなく，光化学系 I が高い相同性を持つ 8 種類の集光複合体 I タンパク質をいかに判別し超複合体構造を形成するのかが明らかとなった。

ラボ間のコラボレーションも含めると緑藻の光化学系 I の結晶化は 10 年近く取り組んできたことになるが，

良い結晶を得ることはできていなかった。今回の解析では，サブユニット数の異なる状態を一網打尽に構造決定し，さらに意図せずして電子伝達タンパク質であるプラストシアニンとの超複合体状態を捉えることができた。これはクライオ電顕がなければ為し得なかったと考えている。

（6）Cryo-EM processing of membrane protein complexes: quirks and pitfalls

Ray Burton-Smith（National Institute for Physiological Sciences）

Membrane proteins and complexes play critical roles in every living organism, for diverse roles such as signaling, interaction and chemical transport. Further, embedding protein complexes in membranes has a variety of advantages for large multi-protein arrays. The first challenge of membrane protein study occurs long before the sample will even approach a microscope: extraction of the protein from the native lipid environment without excessive damage or denaturation. The second challenge is keeping the extracted protein(s) stable and homogeneous. Many methods have been tested with a range of ingenious ways developed to stabilize hydrophobic regions of protein by additives to buffer, detergents, synthetic polymers or lipid frameworks. Once the protein complex is (relatively) stable, comes the challenge of grid preparation and data acquisition. Free stabilizing agents in the buffer can impact behavior of the complex with solvent/air interface or the grid itself, or worse, cause the protein(s) to aggregate. When high quality data is acquired, the purely random nature of the stabilizer provides a further challenge for processing; the signal from the stabilizer is a necessary, but unwanted, addition which can blur what would be clear particles if they were from soluble protein. Examples using a range of different lipid replacements are shown, reprocessed from data publicly available on EMPIAR (1) using either RELION 3 (2) or cisTEM (3).

1. Iudin, A., Korir, P. K., Salavert-Torres, J., Kleywegt, G. J., and Patwardhan, A. (2016) EMPIAR: a public archive for raw electron microscopy image data. *Nat Methods* 13, 387-388
2. Zivanov, J., Nakane, T., Forsberg, B. O., Kimanius, D., Hagen, W. J., Lindahl, E., and Scheres, S. H. (2018) New tools for automated high-resolution cryo-EM structure determination in RELION-3. *Elife* 7
3. Grant, T., Rohou, A., and Grigorieff, N. (2018) *cis*TEM, user-friendly software for single-particle image processing. *eLife* 7

（7）細胞のクライオ電子線トモグラフィー

福田善之（東京大学 大学院 医学研究科）

In situ studies of molecular sociology and macro molecular assemblies are critical for our understanding of cellular functions. Cryo electron tomography (CET) of vitrified, frozen-hydrated cells is a rapidly developing method for three-dimensional visualization of cellular structures preserved in their natural, cellular environment. CET aims to analyze morphology of cultured cells or organelles. In recent years, it has become possible to detect macro molecular protein complexes directly in cell by combining Volta phase plate. Thereby, an *in situ* visual proteomics which is a method for analysis of structure and conformational changes by subtomogram averaging and classification of macro molecular complexes in the cell. However, applications of this method are typically restricted to peripheral cellular regions. Focused ion beam (FIB) milling is a method that allows thinning of vitrified samples and thus enables CET observations of the entire cellular interior. Thus, the combined application of CET with VPP and FIB has a potential to open a window to the next stage of cellular ultrastructural morphology.

（8）Performance Contributions of Energy Filtering and Phase Plates for Single Particle Analysis of Membrane Proteins

Radostin Danev（The University of Tokyo）

Cryo-electron microscopy （cryo-EM） has seen great advances in recent years. It has become a method of choice for many researchers working on high-resolution structural studies of proteins and complexes. There are a few remaining challenges, such as sample preparation, but overall cryo-EM has already entered the mainstream and is generating a constant flow of outstanding results.

Membrane proteins are one area where X-ray crystallography may require significant effort and resources in order to produce the needed crystals. Cryo-EM on the other hand, needs just a few tens of microliters of purified native protein solubilized in detergent or embedded in nanodisks. It typically takes several sample preparation trials to prepare the sample for high-resolution data acquisition. The straightforward nature of cryo-EM and its ability to produce useful structural information during the early stages of a project is attracting many researchers from the X-ray field.

The wide-ranging success of cryo-EM keeps many researchers busy with the discovery of new structures. However, there is still room for improvement of the technique and many parameters can be optimized further. On the experimental side, the effects of energy filtering, phase plates and objective lens aperture have not been well quantified. In my talk, I will present a summary of our recent results about the effect and benefits from such experimental options. The overall conclusion is that the Volta phase plate does not provide practical benefits and noticeably reduces the achievable resolution. On the other hand, zero-loss energy filtering gives a slight advantage in terms of resolution.

【国 際 研 究 集 会】

国際研究集会

〔　目　　次　〕

1．International Workshop on Frontiers in Defensive Survival Circuit Research
（代表・世話人：加藤総夫　2020 年 1 月 7 日－1 月 8 日）…… 408
2．食・栄養・環境情報の感知と統合的代謝調節
Sensing food/nutrient/environment toward integrative metabolic regulation
（代表・世話人：矢田俊彦　2019 年 7 月 7 日－7 月 8 日）…… 420

1. International Workshop on Frontiers in Defensive Survival Circuit Research

2020 年 1 月 7 日－1 月 8 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）Role of ATP/HMGB1/RAGE and $H_2S/Ca_v3.2$ axes in cystitis-related bladder pain

Atsufumi Kawabata

（Laboratory of Pharmacology & Pathophysiology, Faculty of Pharmacy, Kindai University）

（２）The role of amygdala CGRP in modulating visceral pain

Benedict Kolber（Duquesne University）

（３）Dual and opposing functions of the central amygdala in the modulation of pain

Yarimar Carrasquillo（NCCIH, NIH）

（４）Supraspinal mechanisms modulating itch and pain processing

Robert Gereau IV（Washington University）

（５）DREADD-MEMRI reveals a hub function of the amygdala in spontaneous inflammatory pain-associated activation of limbic pain networks

Fusao Kato（Jikei University）

（６）Sensory TRPA1 activation by thiazoline-related odorants orchestrate life- protective effects

Ko Kobayakawa（Kansai Medical School）

（７）Sensitization of GRPR-expressing dorsal horn neurons under chronic itch condition requires an astrocytic factor

Keisuke Koga（Dept. Life Innovation, Grad. Sch. Pharm. Sci., Kyushu Univ.）

（８）An intero-exteroceptive brain circuit for producing aversive emotional memories

Joshua P Johansen（CBS, Riken）

（９）Exercise promotes active defensive response and prevents pain chronification

Emiko Senba（Osaka Yukioka College of Health Science）

（10）A neuropeptide-mediated descending inhibitory pathway in *Drosophila* nociception

Ken Honjo（Faculty of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba）

（11）Nociceptor Orchestrates Brain Energy Metabolism to Protect Septic Death

Kenta Maruyama（National Institute for Physiological Sciences）

（12）Role of amygdala CRF neurons in pain

Volker Neugebauer（Texas Tech University）

（13）Parabrachial CGRP-expressing neurons establish and maintain threat memories

Richard D. Palmiter（University of Washington）

（14）Neuronal mechanism of chronic pain-induced negative emotional states

Masabumi Minami（Faculty of Pharmaceutical Sciences, Hokkaido University）

（15）General anesthetics activate a potent central pain-suppression circuit in the amygdala

Thuy Hua（Duke University Medical Center）

（16）A novel therapeutic approach for modulating astrocyte activation in chronic pain

Ikuko Takeda（National Institute for Physiological Sciences）

（17）Transcriptome analysis of brain network remodeling in chronic post-surgical pain

Yutaro Kumagai（National Institute of Advanced Industrial Science and Technology）

（18）Microglial contribution to reserpine-induced mechanical hypersensitivity

Hidetoshi Tozaki-Saitoh
（Department of Life Innovation, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University）

ポスター発表

P1. Suppressive effects of amitriptyline and duloxetine on spinal dorsal horn neurons sensitized in a rat model of fibromyalgia.
Daisuke Uta，Katsuyuki Tsuboshima，Hisao Nishijo，Toru Taguchi

P2. Involvement of macrophage cells in herpes zoster pain in herpes simplex virus type I infected mice.
Soichiro Tanbo，Daisuke Uta，Toshiaki Kume，Tsugunobu Andoh

P3. Prophylactic repetitive administration of aucubin attenuates oxaliplatin-induced mechanical allodynia through the inhibition of spinal astrocyte activation.
Miki Maesaka，Daisuke Uta，Toshiaki Kume，Tsugunobu Andoh

P4. Reversal of widespread mechanical hyperalgesia induced by chronic back pain during inhibition of GABAergic neurons in the central nucleus of the right amygdala.
Ryota Tokunaga，Yukari Takahashi，Sara Touj，Harumi Hotta，Hugues Leblond，Fusao Kato，Mathieu Piché

P5. FK506 (tacrolimus) causes pain sensation through the activation of transient receptor potential ankyrin 1 channels.
Kunitoshi Uchida，Tomo Kita，Kenichi Kato，Yoshiro Suzuki，Makoto Tominaga，Jun Yamazaki

P6. Mechanically-insensitive afferents in the rat skeletal muscle.
Hiroki Ota，Takanori Matsubara，Harumi Hotta，Kazue Mizumura，Toru Taguchi

P7. The roles of glycosphingolipids in spinal cord and skin during inflammatory pain.
Shun Watanabe，Motoki Morita，Marie Abe，Satoshi Sugama，Mami Sagawa，MitsuoTanabe

P8. How mindfulness effects for chronic pain?: a questionnaire study.
Toshizumi Muta，Tetsuri Abe，Haruyuki Ishikawa，Fusako Koshikawa

P9. Lateral parabrachial neurons regulate the nociception-respiration coordination.
Akiko Arata，Sotatsu Tonomura，Hirotaka Ooka，Yoko Fujiwara-Tsukamoto，Koichi Noguchi

P10. Pain-related neurons in primary somatosensory cortex contribute to anxiety behavior
Tatsuya Ishikawa，Hiroaki Okuda，Kiyomi Hori，Noriyuki Ozaki

P11. Study on analgesic effect of mosquito saliva -Examination of action on TRPV1 receptor by patch-clamp method-.
Seiji Aoyagi，Yuya Sakai，Tomokazu Takahashi，Masato Suzuki，Ryota Hosomi，
Kenji Fukunaga，Daisuke Uta，Tomonori Takazawa，Tomoyuki Hikitsuchi，
Yumi Kawajiri，Koji Nakayama，Tianbang Li，Makoto Tominaga

P12. Area- and layer-specific distribution of nociceptive neurons in the mouse primary somatosensory cortex.
Hironobu Osak，Moeko Kanaya，Yoshifumi Ueta，Mariko Miyata

P13. Hepatic injury aggravates oxaliplatin-induced peripheral neuropathy in mice: possible involvement of HMGB1 derived from the liver.
Riki Kamaguchi，Risa Domoto，Fumiko Sekiguchi，Maho Tsubota，Masahiro Nishibori，Atsufumi Kawabata

P14. Neuronal mechanism of chronic pain-induced negative emotional states.
Masabumi Minami

【参加者名】

Volker Neugebauer（Texas Tech University），Robert Gereau IV（Washington University），Richard D. Palmiter（University of Washington）Benedict Kolber（Duquesne University），Yarimar Carrasquillo（NIH － NCCIH），Joshua Johansen（CBS, Riken），Thuy Hua（Duke University Medical Center），南雅文(北海道大学), 本庄　賢（筑波大学），熊谷雄太郎（産業技術総合研究），尾崎弘展（東京女子医科大学），加藤総夫・杉村弥恵・高橋由香里・宮沢祐太・浮地里佳子・松下嵩之・奥田崇雄・布間寛章（東京慈恵会医科大学），徳永亮太（カナダ Quebec 大学 Trois-Rivieres 校），水村和枝・山本清文（日本大学），渡辺　俊（北里大学），牟田季純（早稲田大学），上園保仁（国立がん研究センター研究所），濱田祐輔・小島彩絢（星薬科大学），太田大樹（新潟医療福祉大学），瀬尾憲司（新潟大学），歌　大介・丹保宗一郎・前坂未紀・黒川葉好（富山大学），尾崎紀之・石川達也（金沢大学），竹本さやか（名古屋大学），杉浦健之・藤掛数馬・宮本啓補・稲波千尋・上田莉奈・山崎久朗・渡邉僚介（名古屋市立大学），水谷みゆき・林　和寛（愛知医科大学），坂野裕洋（日本福祉大学），中西美保・岩下成人（滋賀医科大学），和中明生・田中達英（奈良県立医科大学），柴田政彦（奈良学園大学），眞下　節（大阪大学），仙波恵美子（大阪行岡医療大学），川畑篤史・釜口　力（近畿大学），青柳誠司・酒井裕也（関西大学），小早川令子・小早川　高（関西医科大学），古江秀昌・荒田晶子（兵庫医科大学），宮地孝明・真鍋　星（岡山大学），津田　誠・齊藤秀俊・古賀啓祐（九州大学），内田邦敏（福岡歯科大学），八坂敏一・山形和彰（鹿児島大学），糸瀬 邦之（ライオン㈱），勝沼功吉・塩見　喜弘（ゼリア新薬工業㈱），石川敏三（ニプロ㈱），加藤貴大（小野薬品工業㈱），眞野博彰（情報通信研究機構），鍋倉淳一・竹田育子・中島健一朗・近藤邦生・Misbah Rashid・富永真琴・曽我部隆彰・齋藤　茂・Derouiche Sandra・宇治澤知代・水藤拓人・李　天邦・馮　暁娜・NguyenThi Hong Dung・Deveci Aykut・雷　晶・鄧　香梅・丸山健太（生理学研究所），Tatjana Strom（生理学研究所/Humboldt University）

【概要】

国際研究集会「International Workshop on Frontiers in Defensive Survival Circuit Research 防御的生存回路研究の最先端」を１月７日～８日に岡崎コンファレンスセンター大隅ホールで開催した。副題を「Pain and Survival Strategy 痛みと生存戦略」とし，国内から 87 名，国外から 7 名，計 94 名の参加者を得て盛大に催された。18 題の口演，14 題のポスター発表があった。痛み，痒みを中心とした防御的生存回路として注目されている扁桃体および腕傍核の防御的な意義に関する海外演者 5 名および国内演者 1 名の特別講演（膀胱痛における腕傍核から扁桃体への CGRP 放出線維の役割（Kolber），扁桃体中心核 PKCδ ニューロンとソマトスタチンニューロンの痛み制御における役割（Carrasquillo），化学遺伝学による痒み行動と痛み行動の制御と細胞機構（Gereau），全身麻酔薬の鎮痛効果に関与する扁桃体ニューロン Hua，有害情報警告核としての腕傍核（Palimiter），体性感覚及び内臓感覚を統合する有害情動記憶回路（Johansen））に加え，日本からの演者 12 名が，パターン認識受容体と膀胱痛（川畑），炎症性疼痛活性化回路の活性化に及ぼす扁桃体活動 DREADD 抑制の影響の MRI 可視化（加藤），匂い情報による生命維持応答制御機構（小早川），脊髄後角痒み制御機構（古賀），運動による防御行動と慢性痛の制御（仙波），ショウジョウバエに存在する下行性疼痛制御系（本庄），敗血症に対する防衛機構としての新しい侵害受容神経の役割（丸山），慢性痛の情動状態を規定する腹側被蓋―分界条床核連関（南），手術後疼痛の脳内分子発現解析（熊谷），ならびに，線維筋痛症モデルにおける脊髄および脳におけるミクログリアの活性化（斎藤）などの痛み研究の最前線の研究成果が報告され，活発に討論された。また，ポスター・セッションでは，さらに幅広い最新痛み研究の成果が報告されポスター会場も熱心な討論の場となった。講国内研究会だけでは望みえない，学術の最先端の知見・技術・認識を広く共有し，痛みと防御的生存回路の研究の最前線に到達することを可能にした有意義かつ刺激的な研究会となった。

（1）Role of ATP/HMGB1/RAGE and $H_2S/Ca_v3.2$ axes in cystitis-related bladder pain

Atsufumi Kawabata（Laboratory of Pharmacology & Pathophysiology, Faculty of Pharmacy, Kindai University）

Damage-associated molecular patterns (DAMPs) including high mobility group box 1 (HMGB1) and ATP play a key role in innate immunity and participate in neuroinflammation and pain signaling. We have reported that cystitis-related bladder pain involves the activation of two different pathways, i.e. $H_2S/Ca_v3.2$ T-type Ca^{2+} channels (Br J Pharmacol 2012;167:917-28) and HMGB1/RAGE (Neuropharmacology 2014;79:112-8). We thus analyzed the mechanisms for possible crosstalk between the two pathways in mice. Cyclophosphamide (CPA) caused cystitis-related bladder pain and upregulation of cystathionine-γ-lyase (CSE), an H_2S-generating enzyme, in the bladder, which were suppressed by inactivation of HMGB1, pharmacological blockade of RAGE or $P2X_4/P2X_7$ receptors, an antioxidant or macrophage depletion. Acrolein, a hepatic metabolite of CPA, caused ATP release from urothelial cells, and ATP triggered redox-dependent HMGB1 release from macrophages. Na_2S, an H_2S donor, enhanced T-type membrane currents in $Ca_v3.2$-expressing HEK293 cells, and genetic deletion of $Ca_v3.2$ as well as a CSE inhibitor suppressed CPA-induced bladder pain in mice. Together, our data unveiled novel neuroimmune mechanisms underlying cystitis-related bladder pain.

（2）The role of amygdala CGRP in modulating visceral pain

Benedict Kolber, Heather Allen, Harley Bobnar
（Duquesne University, Department of Biological Sciences and Chronic Pain Research）

Abstract: Urologic chronic pelvic pain syndrome (UCPPS) is among the most common visceral pain conditions in the United States, affecting between 5 and 10 million Americans and costing over $ 5 billion in healthcare annually. UCPPS patients experience debilitating symptoms that severely impact quality of life, including increased urgency and frequency of urination, intense and burning pain during bladder filling and voiding, referred pain in the back and pelvic area, and co-morbidities such as anxiety and depression. The underlying cause of UCPPS is largely unknown, and therefore treatments are poor and ineffective. Recent imaging studies have identified changes in cortico-limbic areas in UCPPS patients. The central amygdala (CeA) is a bilateral, mid-brain limbic region that processes both pain and emotion and can modulate bladder pain. Afferent neurons from the parabrachial nucleus relay information from the bladder to the CeA express high levels of calcitonin gene-related peptide (CGRP), a peptide with a well-established role in pain processing. Although there is ample evidence that CGRP is pro-nociceptive in the right CeA, a few studies indicate that CGRP may act anti-nociceptively in the left CeA. Here, we will present data exploring CGRP's contribution to the left CeA's anti-nociceptive role in the context of bladder pain using molecular, optogenetic, and pharmacologic techniques.

（3）Dual and opposing functions of the central amygdala in the modulation of pain

Yarimar Carrasquillo
（National Center of Complementary and Integrative Health, National Institutes of Health, Bethesda MD, United States）

Pain perception is essential for survival and can be amplified or suppressed by expectations, experiences, and context. The neural mechanisms underlying bidirectional modulation of pain remain largely unknown. Here, we demonstrate that the central

nucleus of the amygdala (CeA) functions as a pain rheostat, decreasing or increasing pain-related behaviors in mice. This dual and opposing function of the CeA is encoded by opposing changes in the excitability of two distinct subpopulations of GABAergic neurons that receive excitatory inputs from the parabrachial nucleus (PB). Thus, cells expressing protein kinase C-delta (CeA-PKCδ) are sensitized by nerve injury and increase pain-related responses. In contrast, cells expressing somatostatin (CeA-Som) are inhibited by nerve injury and their activity drives antinociception. Together, these results demonstrate that the CeA can amplify or suppress pain in a cell-typespecific manner, uncovering a previously unknown mechanism underlying bidirectional control of pain in the brain.

（4）Supraspinal mechanisms modulating itch and pain processing

Robert W. Gereau IV
（Department of Anesthesiology, Washington University Pain Center，Washington University School of Medicine）

Recent findings suggest that afferent neural pathways that signal pruritus (itch) are very similar to those that signal nociception (pain). It is not clear whether supraspinal modulatory systems for itch and pain are also homologous, but the similarities in anatomical pathways for pain and itch provide a framework for testable hypotheses. This presentation will describe a series of studies that point to the essential role of descending supraspinal circuitry at the level of the central nucleus of the amygdala and periaqueductal gray in modulating pain and itch processing.

（5）DREADD-MEMRI reveals a hub function of the amygdala in spontaneous inflammatory pain-associated activation of limbic pain networks

Daigo Arimura[1,2,3]，Kei Shinohara[1,2,3]，Yukari Takahashi[1,3]，Yae Sugimura[1,3]，Mariko Sugimoto[1,3]，
Yuta Miyazawa[1,3]，Tomokazu Tsurugizawa[1,3,4]，Keishi Muramo[2,3] and Fusao Kato[1,3]
（[1]Department of Neuroscience, [2]Department of Orthopaedics,
[3]Center for Neuroscience of Pain, Jikei University school of Medicine, [4]NeuroSpin, CEA-Saclay, Gif-sur-Yvette）

To visualize the brain activity associated with spontaneously occurring pain during the shift from acute to chronic pain under anesthetic-free conditions, we used manganese-enhanced magnetic resonance imaging (MEMRI) with a 9.4-T scanner in the brains of mice with hind paw inflammation. Formalin injection to the left hind paw significantly increased MEMRI signal in various brain areas, including the right insular cortex, right nucleus accumbens, right globus pallidus, bilateral caudate putamen, right primary/secondary somatosensory cortex, bilateral thalamus, right amygdala, bilateral substantial nigra, and left ventral tegmental area at 2-6 h after injection. As we have demonstrated a right side-specific activation of the central amygdala in the latent formalin inflammation model (Miyazawa et al, Mol Pain, 2018), we analyzed the role of the right amygdala in these post-formalin MEMRI signals using a chemogenetic approach. In mice with the inhibitory “designer receptors exclusively activated by designer drugs” (DREADD) expressed in the right amygdala, their pharmacological activation significantly attenuated MEMRI signals in the bilateral infralimbic cortex, bilateral nucleus accumbens, bilateral caudate putamen, right globus pallidus, bilateral ventral tegmental area, and bilateral substantia nigra. These results suggest that the inflammatory pain-associated activation of these structures depends on the activity of the right amygdala.

（6）Sensory TRPA1 activation by thiazoline-related odorants orchestrate life- protective effects

Ko Kobayakawa（Institute of Biomedical Science, Kansai Medical University）

Innate fear has evolved to fulfil life-preservation; however, the genetic and neuronal substrates underlying its intrinsic protective effects and their potential activators remain unclear. Thiazoline-related fear odors (tFOs) induce robust fearful behaviors via activation of sensory Trpa1 gene. Here, we identified that trigeminal/vagal activation of TRPA1 by tFOs orchestrated robust hypothermia, hypometabolism which enable survival in lethal hypoxia, and enhancement of innate immunity; however, suppression of excessive inflammation. These responses collectively exerted potent therapeutic effects in cutaneous and cerebral ischemia/reperfusion injury and sepsis models. Importantly, activation of TRPA1 is not sufficient but Sp5/NST activation in the brainstem is also necessary for exerting life-protection. Whole brain activity mapping identified the central crisis pathway responsible for tFOs-induced life-protection, and artificial activation of the pathway led to robust hypothermia, hypometabolism and anti-inflammation. Sensory representation of appropriate combination of tFOs-TRPA1 orchestrate intrinsic survival fate via activation of the central crisis pathway in the brain.

（7）Sensitization of GRPR-expressing dorsal horn neurons under chronic itch condition requires an astrocytic factor

Keisuke Koga，Ryo Yamagata，Miho Shiratori-Hayashi and Makoto Tsuda
（Dept. Life Innovation, Grad. Sch. Pharm. Sci., Kyushu Univ.）

Chronic itch is a major symptom in various skin diseases, such as atopic and contact dermatitis. Recent studies have revealed neuronal circuits for itch sensation. Especially, gastrin-releasing peptide (GRP) and its receptor (GRPR) signaling in the spinal dorsal horn (SDH) is crucial for acute physiological itch behavior. However, alternations of GRP-GRPR signaling under chronic itch condition is poorly understood. In this study, we investigated GRP-evoked excitation of GRPR-expressing (GRPR+) SDH neurons using Grpr-EGFP mice. Electrophysiological and immunohistochemical analyses showed that GRPR+ SDH neurons were mainly excitatory. We found that GRP-induced depolarization of excitatory GRPR+ neurons was greatly potentiated in Grpr-EGFP mice with contact dermatitis. However, the levels of Grpr mRNA in the SDH was not upregulated. Recently, we have shown that activation of SDH astrocytes and astrocyte-derived lipocalin-2 (LCN2) are crucial for maintaining chronic itching. Interestingly, we found that the enhancement of GRP-induced excitation was reduced by genetic inhibition of signal transducer and activator transcription 3 (STAT3) in SDH astrocytes. Using the CRISPR-Cas9 system, a site-specific genome editing tool, we further found that a mutation of Lcn2 gene in SDH astrocytes ameliorated the enhancement of GRP-induced depolarization, and also repetitive scratching and skin damage associated with contact dermatitis. Moreover, co-application of LCN2 and GRP was sufficient to potentiate GRP-induced depolarization of excitatory GRPR+ neurons. Our findings indicate that facilitation of GRP-mediated itch signaling in the SDH under chronic itch condition requires LCN2 derived from reactive astrocytes.

（8）An intero-exteroceptive brain circuit for producing aversive emotional memories

Joshua P. Johansen（CBS, Riken）

Aversive experiences trigger memory formation and alter neural circuits to adaptively shape behavior. The lateral amygdala (LA) is a critical site of synaptic plasticity mediating aversive memory formation, but how aversive experiences are transduced by the nervous system into neural signals which produce learning and memory is not well understood. Using cell type specific optogenetic, neural recording and anatomical tracing approaches, we identified a novel glutamatergic brainstem pathway which integrates aversive sensory and defensive behavioral response information and triggers fear learning through a direct projection to the LA. This pathway makes synaptic connections with a specific population of LA neurons which receive convergent synaptic inputs from auditory thalamus and cortex. Inactivation of this projection abolishes fear memory formation and its stimulation is sufficient to produce fear learning. Notably, inactivation of this pathway reduces sensory-shock and aversive-behavioral escape-evoked responding in LA neurons. Together, these findings reveal an aversive signaling circuit which conveys information about both external noxious stimuli and the internal bodily reactions to aversive events to the LA to trigger fear learning. This allows for emotional memory formation in the presence or absence of noxious stimulation and for scaling of the strength of aversive memories by the magnitude of aversive bodily reactions.

（9）Exercise promotes active defensive response and prevents pain chronification

Emiko Senba[1,2], Katsuya Kami[2]
（[1]Dept. of Physical Therapy, Osaka Yukioka College of Health Science,
[2]Dept. of Rehabilitation Medicine, Wakayama Medical University）

We have previously shown that voluntary exercise induced exercise-induced hypoalgesia (EIH), which is due in part to the activation of dopamine (DA) neurons in the ventral tegmental area (VTA) (Kami et al., Sci Rep, 2018). Activation of nucleus accumbens (NAc) by dopaminergic input may hold the key to EIH. In neuropathic pain model mice (partial sciatic nerve ligation: PSL), lateral VTA-DA neurons and NAc-lateral shell neurons are deactivated, while central amygdala (CeA)-GABA neurons are activated.

Survival in threatening situations, such as chronic pain or stress, depends on the selection and rapid execution of an appropriate active or passive defensive response (Tovote P et al., Nature, 2016). In fear avoidance model of pain chronification, patients suffering pain are apt to select passive defense response (freezing) and prolonged immobilization may aggravate pain. On the contrary, if they are confronted to their threatening situation and seek for appropriate treatment, their pain will be reduced.

It has been demonstrated that active avoidance requires a basal amygdala (BA) to NAc circuit, while an inhibitory pathway from CeA to the ventrolateral periaqueductal grey (PAG) produces freezing, passive defensive response (Ramirez F et al., JN, 2015).

In PSL mice that were allowed to run freely on a running wheel for 2 weeks after the surgery, lateral VTA-DA neurons, NAc-lateral shell neurons and BA-Glu neurons projecting to NAc were dramatically activated, while CeA-GABA neurons were totally deactivated.

Thus, exercise therapy and active life style can prevent pain chronification by activating BA-NAc circuit and inhibiting CeA-GABA neurons.

（10）A neuropeptide-mediated descending inhibitory pathway in *Drosophila* nociception

Izumi Oikawa[1]，Shu Kondo[2]，Akiho Kashiwabara[1]，Kao Hashimoto[3]，
Hiromu Tanimoto[4]，Katsuo Furukubo-Tokunaga[5]，Ken Honjo[5]
（[1] Graduate School of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba,
[2] Invertebrate Genetics Laboratory, National Institute of Genetics,
[3] College of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba,
[4] Graduate School of Life Sciences, Tohoku University,
[5] Faculty of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba）

Nociception, a neural process encoding potentially tissue-damaging stimuli, is a crucial sensory function for animals to survive. Since nociception often leads to a perception of pain in humans, a better understanding of the mechanisms underlying nociception is crucial to develop better treatment for pain.

Among the molecules controlling nociception, neuropeptides have been known to play important roles in the transmission and regulation of nociception signaling. However, due to the overwhelming complexity of the neuropeptide systems, elucidation of how neuropeptides control nociception has been a challenging task especially in mammals. In order to study detailed mechanisms of neuropeptide functions, we believe that Drosophila can serve as a very beneficial model organism with its powerful genetic tools, straightforward behavioral paradigm and relatively simple structures of nervous system. Since the neuropeptide systems are well conserved between flies and humans, new findings in Drosophila will provide useful insights toward a comprehensive understanding of neuropeptide functions in humans.

Here we show evidence that an evolutionarily conserved neuropeptide system constitutes of a descending inhibitory pathway regulating nociception in Drosophila. Through genetic screens, we have identified an evolutionarily conserved neuropeptide that negatively regulates nociception in Drosophila. Expression analyses of this neuropeptide revealed that the neuropeptide is expressed only in larval brain. The receptors, on the other hand, are found to be expressed in numerous neurons in the central nervous system (CNS), which include previously identified nociceptive interneurons locating in ventral ganglia of larval CNS. Specific RNAi knockdown of the receptor in the nociceptive interneurons phenocopied hypersensitive nociception phenotype, suggesting the receptor expressed in the nociceptive interneuron is a target of the neuropeptide in negatively regulating nociception. Finally, our Ca2+ imaging revealed that the nociceptive interneurons in the receptor mutants showed highly exaggerated responses to noxious heat stimuli. Taken together, these data support the idea that the evolutionally conserved neuropeptide system functions as a descending inhibitory mechanism in larval nociception.

（11）Nociceptor Orchestrates Brain Energy Metabolism to Protect Septic Death

Kenta Maruyama（Division of Cell Signaling, National Institute for Physiological Sciences）

Sepsis is a dysregulated systemic inflammatory response to infection and still a high mortality rate with no cure. It is established that pain sensing ion channels regulate innate immunity, but the mechanisms of nociceptive modulation in septic death are unknown. Here we identify a type of c-type lectin protein as a Nav1.8 positive nociceptor-enriched, secreted protein and protects host from septic death. During septic conditions, secreted c-type lectin protein penetrate into

brain and suppresses glial IDO-1 expression. Polymicrobial sepsis induction or LPS administration after Nav1.8 positive nociceptor ablation showed high mortality rate accompanied by impaired brain ATP and serum c-type lectin levels. Brain metabolome analysis revealed that nociceptor-ablated mice exhibited increased IDO-1 mediated Kynurenine pathway with impaired cellular respiration. Strikingly, brain injection of IDO-1 inhibitor or a type of c-type lectin protein protects mice from septic death. By identifying nociceptor-derived c-type lectin protein as a brain protective hormone, our preliminary finding broadens our understanding of septic death and suggests promising strategy to survive systemic inflammation.

（12）Role of amygdala CRF neurons in pain

Volker Neugebauer[1,2], Takaki Kiritoshi[1], Vadim Yakhnitsa[1], Mariacristina Mazzitelli[1]
（[1]Dept. of Pharmacology and Neuroscience, School of Medicine,
Texas Tech University Health Sciences Center, Lubbock, TX, USA,
[2]Garrison Institute on Aging, Texas Tech University Health Sciences Center, Lubbock, TX, USA）

The amygdala plays an important role in emotional-affective aspects of behavior and disorders. The amygdala also receives nociceptive information through thalamo-cortical inputs and the spino- parabrachial pathway. The central nucleus (CeA) contains neurochemically distinct neurons that project to other brain regions involved in the expression and modulation of pain and other behaviors. Work from our group initially described neuroplastic changes in CeA neurons that are linked to pain behaviors in different pain models. More recent studies are focused on corticotropin releasing factor (CRF) neurons. CRF neurons undergo excitability changes in neuropathic pain. Optogenetic activation or silencing of CRF neurons modulates pain-related behaviors. Inputs to CRF neurons are modulated by kappa opioid receptors (KOR). KOR activation impairs feedforward inhibition of CRF neurons to increase pain behaviors. CRF neurons may link nociception to emotional processing and stress conditions.

（13）Parabrachial CGRP-expressing neurons establish and maintain threat memories

Richard D. Palmiter（HHMI and Dept. Biochemistry, University of Washington, Seattle, WA, USA）

The parabrachial nucleus (PBN) receives somatosensory and viscerosensory inputs and relays them to other brain regions. The functions of several genetically identified sub-populations of PBN neurons are beginning to be elucidated. Among these are neurons that express calcitonin gene-related peptide (CGRP). The CGRP neurons are activated (assessed by Fos expression and/or GCaMP fluorescence) by a wide variety of threats including, pinch, foot shock, hot plate, itch, visceral malaise (LiCl, LPS or large meal), threatening sensory stimuli and cues that predict pain or malaise. Remarkably, virtually all CGRP neurons respond to each of these threats; thus, they relay a general alarm signal to the rest of the brain, including the central nucleus of the amygdala (CeA), bed nucleus of the stria terminalis (BNST), thalamic (VPMpc) and parasubthalamic (PSTN) nuclei. Optogenetic activation of CGRP neurons is aversive, inhibits appetite, affects the autonomic nervous system and can elicit catatonic, freezing behavior. Optogenetic or chemogenetic activation of CGRP neurons can substitute for foot shock or visceral malaise in classical fear or taste conditioning paradigms. Furthermore, the activity of CGRP neurons after fear or taste learning is important for expression of learned behaviors and retention of these memories.

（14）Neuronal mechanism of chronic pain-induced negative emotional states

Masabumi Minami
（Department of Pharmacology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Hokkaido University）

Negative emotions such as dysphoria, anxiety and fear play an important role in pain as a biological warning system. However, in chronic pain, these negative emotions often lead to mental illnesses such as depression and anxiety disorders. In fact, the comorbidity of chronic pain and depression has long been recognized in the clinic, and several preclinical studies have reported depression-like behaviors in animal models of chronic pain. We have studied neuronal mechanisms underlying pain-induced negative emotions and demonstrated the involvement of the bed nucleus of the stria terminalis (BNST). Specifically, activation of noradrenergic (J Neurosci 28 (2008) 7728-7736) and CRFergic (J Neurosci 33 (2013) 5881-5894) neurotransmission in the ventral and dorsolateral BNST, respectively, plays an important role in pain-induced aversive behaviors in rats. CRF depolarized type II BNST GABAergic neurons, which increased inhibitory inputs to type III BNST GABAergic neurons projecting to the ventral tegmental area (VTA). We also demonstrated that VTA-projecting BNST GABAergic neurons made synapses onto VTA GABAergic neurons (J Neurosci 32 (2012) 18035-18046). Therefore, inhibition of VTA-projecting type III BNST GABAergic neurons should lead to activation of VTA GABAergic neurons through a disinhibition mechanism, thereby suppress VTA dopaminergic neurons leading to the induction of negative emotion like dysphoria. This neuronal circuit plays, at least in part, an important role in pain as a biological warning system.

We previously reported that intra-nucleus accumbens (NAc) dopamine release induced by sucrose solution intake as a reward is suppressed in chronic pain rats (Neurosci Lett 629 (2016) 73-78). Recently, we demonstrated that the frequency of spontaneous IPSCs (sIPSCs) significantly increased in VTA-projecting dlBNST neurons 4 weeks, but not 2weeks, after surgery for neuropathic pain. NBI27914, a CRF type 1 receptor antagonist, decreased the frequency of sIPSCs in VTA-projecting BNST neurons in the chronic pain rats but not in the sham-operated control animals. In addition, bilateral injections of NBI27914 into the dlBNST of chronic pain rats increased intra-NAc dopamine release and induced conditioned place preference. Taken together, these results suggest that the mesolimbic dopaminergic system is tonically suppressed during chronic pain by enhanced CRF signaling within the dlBNST via increased inhibitory inputs to VTA-projecting dlBNST neurons (J Neurosci 36 (2019) 8376-8385). This may be involved in the depressive mood and anhedonia under the chronic pain condition.

（15）General anesthetics activate a potent central pain-suppression circuit in the amygdala

Thuy Hua[1], Bin Chen[1], Dongye Lu[1], Katsuyasu Sakurai[1], Shengli Zhao[1], Bao-Xia Han[1], Jiwoo Kin[1], Luping Yin[1], Yong Chen[2], Jinghao Lu[1], Fang Wang[1]
（[1]Department of Neurobiology, Duke University Medical Center
[2]Department of Neurology, Duke University Medical Center）

General anesthesia (GA) can produce analgesia (loss of pain) independent of inducing loss of consciousness, but the underlying mechanisms remain unclear. We hypothesized that GA suppresses pain in part by activating supraspinal analgesic circuits. We discovered a distinct population of GABAergic neurons activated by GA in the mouse central amygdala (CeAGA neurons). In vivo calcium imaging revealed that different GA drugs activate a shared ensemble of CeAGA neurons. CeAGA neurons also possess basal activity that mostly reflect animals' internal state rather than external

stimuli. Optogenetic activation of CeAGA potently suppressed both pain-elicited reflexive and self-recuperating behaviors across sensory modalities, and completely abolished neuropathic pain-induced mechanical hypersensitivity. Conversely, inhibition of CeAGA activity exasperated pain, produced strong aversion, and cancelled the analgesic effect of low-dose ketamine. CeAGA neurons have widespread inhibitory projections to numerous affective pain-processing centers. Our study points to CeAGA as a potential powerful therapeutic target for alleviating chronic pain.

（16）A novel therapeutic approach for modulating astrocyte activation in chronic pain

Ikuko Takeda，Junichi Nabekura
（Division of Homeostatic Development, National Institute for Physiological Sciences）

Current clinical management of chronic pain is suboptimal as patients often continue to experience unpleasant pain. Chronic pain's pathophysiology involves the aberrant formation of noxious "pain causing" circuits in somatosensory cortex (S1). Given the growing appreciation for the importance of astrocytes in facilitating neural circuit rewiring, we developed a novel approach for modulating S1 astrocyte activation in order to stimulate the reorganization of noxious circuits in chronic pain into innocuous circuits. Activated astrocytes have the potential to cure chronic pain by facilitating of circuit reorganization in S1.

（17）Transcriptome analysis of brain network remodeling in chronic post-surgical pain

Yutaro Kumagai[1]，Kunihiro Nakai[2]，Yutaka Suzuki[3]，Aya Nakae[4]
（[1]National Institute of Advanced Industrial Science and Technology,
[2]University of Fukui Hospital,
[3]Graduate School of Frontier Sciences, The University of Tokyo,
[4]Graduate School of Frontier Biosciences, Osaka University）

Chronic post-surgical pain (CPSP) is a cause of pain suffering even after recovery from surgical insult with incidence rate of 5-50 %. Prior studies suggest that excessive activation of peripheral neurons as well as remodeling of neural circuit by microglia and/or astrocytes are cause of CPSP. However, its molecular mechanism is still elusive. To elucidate the mechanism of CPSP, we devised our original CPSP animal model and investigated the mice with deficiency in various genes involved in inflammatory response and migration of immune cells. We have found that mice deficient in genes involved in inflammatory response were resistant to CPSP. These results indicate that strong inflammation and migration of monocytes into the brain caused by surgical insult are essential molecular basis for CPSP. Moreover, to clarify molecular mechanism under inflammatory remodeling of the brain, we performed transcriptome analysis of whole brain of CPSP mice, and have found that expression levels of genes specific for myelinated oligodendrocytes was reduced. This indicated that CPSP accompanies brain functional network remodeling with demyelination-like reduction of myelinated oligodendrocytes.

（18）Microglial contribution to reserpine-induced mechanical hypersensitivity

Hidetoshi Tozaki-Saitoh, Makoto Tsuda
（Department of Life Innovation, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University）

Microglia, which are pathological effectors and amplifiers in the central nervous system, undergo various forms of activation. There is extensive evidence indicating activation of spinal microglia is a key event for the development of chronic pain after neuronal damage or dysfunction. However phenotypic and functional change and significance of brain microglia in the chronic pain model was less understood. Using CX3CR1-creERT2 mediated microglia selective conditional knockout mice, we investigated whether microglia were involved in the reserpine-induced pain model that is used as a model of fibromyalgia. We found that conditional knockout of microglial transcription factor, IRF8 and MafB, suppressed the reserpine-induced pain hypersensitivity. Although there is no apparent morphological activation observed in microglia in the spinal cord and the prefrontal cortex when analyzed by immunohistochemistry, analysis of single cell transcriptome of prefrontal cortex microglia made it appear that some phenotypic change in the brain microglia in the reserpine-induced pain model mice.

2. 食・栄養・環境情報の感知と統合的代謝調節
Sensing food/nutrient/environment toward integrative metabolic regulation

2019 年 7 月 7 日－7 月 8 日

代表・世話人：矢田俊彦（関西電力･医学研究所）

所内対応者：箕越靖彦（生殖･内分泌系発達機構）

（１）Meal-related hormones regulate insulin release via TRP channel signaling in islet β-cells

Katsuya Dezaki（Jichi Medical University, Japan）

（２）Ion channel synapses of the taste bud

Akiyuki Taruno（Kyoto Prefectural University of Medicine, Japan）

（３）Genetic identification of sweet taste neurons in the mouse brainstem

Ken-ichiro Nakajima（National Institute for Physiological Sciences, Japan）

（４）Mechanism of the perception of "*kokumi*" substances

Chiori Ijichi（Ajinomoto Co., Inc., Japan）

（５）Discovery of AMPK-activated CRH neurons that induce dietary preference for carbohydrate over fat

Yasuhiko Minokoshi（National Institute for Physiological Sciences, Japan）

（６）Sensing environmental energy needs: Astrocytic glutamate uptake drives brain glucose utilization

Luc Pellerin（University of Lausanne, Switzerland）

（７）Neuronal Suppression of Astrocytic Respiration

L. Felipe Barros（Centro de Estudios Científicos, Chile）

（８）Importance of the neuronal environment: role of the neighboring astrocytes in brain activation

Anne-Karine Bouzier-Sore（French National Centre for Scientific Research, France）

（９）Obesity and body composition change in older adults with cognitive decline

Takashi Sakurai（National Center for Geriatrics and Gerontology, Japan）

（10）Brain glycogen: a potential linkage between endurance and cognition

Takashi Matsui（University of Tsukuba, Japan）

（11）Amygdala NPY circuits promote the development of accelerated obesity under chronic stress conditions

Herbert Herzog（Garvan Institute of Medical Research, Australia）

（12）FGF21-oxytocin axis regulates simple sugar preference

Tsutomu Sasaki（Kyoto University）

（13）Object representations in the orbitofrontal cortex are sensitive to metabolic states

Junichi Chikazoe（National Institute for Physiological Sciences, Japan）

（14）Intestinal GLP-1 release by oral administration of rare sugar Dallulose ameliorates arrhythmic-overeating and obesity via vagal afferents

Yusaku Iwasaki（Kyoto Prefectural University, Japan）

（15）Role of MCH neurons in the regulation of metabolism, sleep/wakefulness and memory

Akihiro Yamanaka（Nagoya University, Japan）

（16）Early developmental exposure to environmental chemicals and energy metabolism

Fumihiko Maekawa（National Institute for Environmental Studies, Japan）

（17）DMH neurons control sleep, metabolism, and aging

Akiko Satoh（National Center for Geriatrics and Gerontology, Japan）

（18）Regulation of skeletal muscle mass via a WWP1/KLF15 axis

Wataru Ogawa（Kobe University, Japan）

（19）Ninjin-yoeito activates NPY neurons and restores appetite and body weight in mice under chemotherapy: anti-frailty potential

Toshihiko Yada（Kansai Electric Power Medical Research Institute, Japan）

P-1　Hypothalamic neuronal circuits regulating hunger-induced taste modification

Ou Fu（National Institute for Physiological Sciences, Japan）

P-2　Perinatal exposure to dioxins impacts on gene expression and infant behavior in the mouse

Eiki Kimura（National Institute for Environmental Studies, Japan）

P-3　NPY mediates fasting-induced excitatory synaptic depression onto oxytocin neurons in the PVN

Lei Wang（Jichi Medical University, Japan）

P-4　Changes in intramuscular fat and the effects on taste-traits during postmortem aging of beef

Yanan Zhao（Kobe University, Japan）

P-5　Mechanism of the perception of “*kokumi*” substances

Ryo Matsumoto（Ajinomoto Co., Inc. ,Japan）

【参加者名】

Luc Pellerin（University of Lausanne），L. Felipe Barros（Centro de Estudios Científicos）, Anne-Karine Bouzier-Sore（French National Centre for Scientific Research, France），Herbert Herzog（Garvan Institute of Medical Research），Lei Zhang（University of New South Whales），矢田俊彦（関西電力 医学研究所），出崎克也（自治医科大学），樽野陽幸（京都府立医科大学），伊地知千織（味の素㈱），櫻井　孝（国立長寿医療研究センター）松井　崇（筑波大学），佐々木　努（京都大学），岩崎有作（京都府立大学），山中章弘（名古屋大学），前川文彦（国立環境研究所），佐藤亜希子（国立長寿医療研究センター），小川　渉（神戸大学），近添淳一（生理学研究所），松本　凌（味の素㈱食品研究所），趙　姫楠（神戸大学），王　磊（関西電力 医学研究所），木村栄輝（国立環境研究所），林由佳子（京都大学），重岡　徹（京都大学），藤記沙耶華（京都大学），藍原祥子（神戸大学），豊田行康（名城大学），山之上稔（神戸大学），箕越靖彦（生理学研究所），中島健一朗（生理学研究所），近藤邦生（生理学研究所），菊池晶裕（生理学研究所），傅　欧（生理学研究所），Rashid Misbah（生理学研究所），田中義将（生理学研究所），堀尾修平（生理学研究所），斎藤久美子（生理学研究所），林　めぐみ（生理学研究所）

【概要】

国際学術集会「食・栄養・環境情報の感知と統合的代謝調節」は，環境受容から生体機能制御に至る過程に関する，個体から分子細胞のレベルに至る多領域の研究を対象とし，海外から４名の著名な研究者を招き，国内から数十名の参加者が参加し，研究発表と交流を行った。多領域の中に，トピックとして，味覚と嗜好，神経ペプチド，脳のエネルギー利用，運動と脳機能，老化などを取り上げた。

脳の活動には栄養の供給が必要であり，血管壁から取り込まれた栄養素が，脳の適切な部位に供給される仕組みには謎が残されている。この分野を先導する研究者である Luc Pellerin 博士（University of Lausanne, Switzerland）, Felipe Barros 博士（Centro de Estudios Científicos, Chile），Anne-Karine Bouzier-Sore 博士（French National Centre for Scientific Research, France）から最新の成果が紹介された。神経ペプチド Y の研究を開拓してきた Herbert Herzog 博士から，扁桃体に発現する神経ペプチド Y とストレス応答性肥満の関連が紹介された。箕越教授からは AMPK による炭水化物嗜好性，山中教授からは MCH による代謝と睡眠の統合的制御の神経機構について紹介された。

マウス，ラットの研究に加えてヒトにおける運動や脳機能解析，認知機能の臨床研究も紹介され，定藤教授のご好

意により生理学研究所の fMRI 施設の見学も行われた。大学院生を含む多くの若手研究者が参加し, ポスター発表も行われた。世界 6 カ国からの産学を含む参加者により，研究会と懇親会はもちろん終日活発な討論が行われ, 国際交流，領域間交流，若手～教授までの交流が進み，生理学研究所国際学術集会としての目的を達した。

（1）Meal-related hormo　nes regulate insulin release via TRP channel signaling in islet β-cells

Katsuya Dezaki，Toshihiko Yada（Jichi Medical University, Tochigi, Japan）

Glucose-stimulated insulin secretion in β-cells is initiated by closure of the ATPsensitive K^+ (K_{ATP}) channel, followed by plasma membrane depolarization. In this process, opening of background inward current through non-selective cation channels (NSCCs) might facilitate depolarization after K_{ATP} channel closure. It has been reported that the TRPM2 channel, a type of NSCC, in β-cells plays an essential role in glucoseinduced and incretin-potentiated insulin secretion. Both glucose metabolism and glucagon-like peptide-1 (GLP-1), an insulin releasing gastric hormone, increase the activity of TRPM2 channels. Ghrelin, a stomach-derived hormone, markedly counteracted the glucose-induced activation of TRPM2 current in islet b-cells. In islets from TRPM2-KO mice, ghrelin failed to attenuate glucose-induced insulin release. GLP-1 and ghrelin are released in a reciprocal pattern: upon meals, plasma level of GLP-1 rises and that of ghrelin falls, which may collaborate to effectively activate TRPM2 channels in β-cells, leading to rapid and efficient insulin release for the fine postprandial glucose disposal. Furthermore, oxytocin, a neurohypophysial hormone that reducing food intake, activates TRP-like NSCC currents and depolarizes the membrane potential in β-cells. Developing approaches to specifically intervene the TRP signaling in β-cells might provide a potential therapeutic tool to treat patients with type 2 diabetes.

（2）Ion channel synapses of the taste bud

Akiyuki Taruno[1,2]，Zhongming Ma[3]，Makoto Ohmoto[4]，Makiko Kashio[5]，Ichiro Matsumoto[4]，
Mizuho A. Kido[6]，Michael G. Tordoff [4]，J. Kevin Foskett[3]
（[1]Department of Molecular Cell Physiology, Kyoto Prefectural University of Medicine, Kyoto, Japan,
[2]JST, PRESTO, Saitama, Japan，[3]Department of Physiology, University of Pennsylvania, Philadelphia, PA, USA,
[4]Monell Chemical Senses Center, Philadelphia, PA, USA,
[5]Department of Physiology, Aichi Medical University, Nagakute, Japan,
[6]Department of Anatomy and Physiology, Saga University, Saga, Japan）

Taste cells in the taste bud relay taste information to sensory neurons through cell-tocell communications. However, the neurotransmission machinery of sweet-, bitter-, and umami-sensing type II taste cells has been elusive because they do not possess classical synaptic structures including synaptic vesicles, yet transmit information to neurons by releasing ATP as a neurotransmitter. In response to taste stimuli, type II cells fire action potentials leading to non-exocytotic release of ATP, suggesting the possibility that a voltage-gated ion channel acts as a conduit for ATP release. However, none of known ATP-permeable channels possesses the properties required for action potentialdependent activation. Thus, the chemical neurotransmission mechanism in type II cells has remained unknown. Recently, we discovered a novel voltage-gated non-selective ion channel composed of CALHM1 and 3, and identified it as the *bona fide* ATPrelease channel in type II cells required for perception of sweet, bitter, and umami tastes. Previously, exocytosis of synaptic vesicles was the only neurotransmitter-release pathway for action potential-mediated neurotransmission. However, our discoveries here provide the

first demonstration of an ion channel-mediated mechanism of rapid chemical neurotransmission, which we call “ion channel synapse” in contrast to the classical “vesicular synapse”. The discovery, structure and function of ion channel synapses in the taste bud will be reviewed.

（3）Genetic identification of sweet taste neurons in the mouse brainstem

Ken-ichiro Nakajima[1]，Ou Fu[1]，Yuu Iwai[2]，Kunio Kondoh[1]，Takumi Misaka[2]，Yasuhiko Minokoshi[1]
（[1]National Institute for Physiological Sciences, Japan，[2]The University of Tokyo Japan）

The gustatory system plays an important role in sensing appetitive and aversive tastes for evaluating food quality. In mice, taste signals are relayed by multiple brain regions, including the parabrachial nucleus (PBN) of the pons, before reaching the gustatory cortex via the gustatory thalamus. The PBN, which is composed of multiple subnuclei, functions as a hub to receive and transmit various types of information, such as interoceptive (hunger and satiety) and exteroceptive (gustatory, pain, itch, and thermal sensation) senses. While the existence of taste-responsive PBN neurons was first reported more than 40 years ago, the molecular identity of gustatory neurons in the PBN has remained unknown due to lack of molecular markers. To address this issue, here we focused on transcription factor SatB2, because of its unique localization in the waist area of the PBN, where neuroanatomically and electrophysiologically taste-responsive neurons are localized. Using SatB2-Cre mice that selectively express Cre recombinase in SatB2 neurons, we found that ablation of SatB2PBN neurons lead to large loss of sweet taste recognition, but no effects on other tastes. Importantly, *in vivo* calcium imaging experiments showed that the majority of these neurons are activated only when tasting sweet substances. Optogenetic activation of the gustatory thalamus-projecting SatB2PBN neurons induces appetitive lick behavior. These data strongly suggest that SatB2PBN neurons are critical for transmitting sweet specific appetitive signals. To our knowledge, SatB2PBN neurons are the first molecularly-defined gustatory neurons not only in the PBN but also in the mammalian brain.

（4）Mechanism of the perception of “*kokumi*” substances

Chiori Ijichi（Chemosensory Research Group, Technology Development Center,
Institute of Food Sciences and Technologies, Food Products Division, AJINOMOTO CO., INC. Japan）

Recent progress in molecular biology have revealed that the five basic tastes, sweet, salty, sour, bitter and umami are recognized through specific receptors and subsequent transduction pathways. However, some foods have flavors that cannot be explained by the five basic tastes alone, such as continuity, mouthfulness and thick flavor. Previous studies identified that some γ-glutamyl peptides such as glutathione (GSH) were associated with this flavoring effect and proposed that these substances should be referred to as “*kokumi*” substances. We confirmed that GSH and its related γ-glutamyl peptides modified the five basic tastes, possessing the characteristics of “*kokumi*” substances. We further demonstrated that these molecules are perceived through the calcium-sensing receptor (CaSR) in humans and the activation of CaSR by them are positively correlated with the sensory activity of “*kokumi*” substances, suggesting that γ-glutamyl peptides-CaSR signaling pathway mediates “*kokumi*” flavor. Among these γ-glutamyl peptides, γ-Glu-Val- Gly was identified as the most potent “*kokumi*” substances. We have successfully developed it as food additive for “*kokumi*” flavor.

(This work will also be presented as a poster by Ryo Matsumoto (P-5))

（5）Discovery of AMPK-activated CRH neurons that induce dietary preference for carbohydrate over fat

Yasuhiko Minokoshi
（Division of Endocrinology and Metabolism, National Institute for Physiological Sciences, Japan）

Food selection is influenced by food palatability, nutritional state, and social factors such as stress. However, the mechanism responsible for selection between a highcarbohydrate diet (HCD) and a high-fat diet (HFD) remains unknown. In rodents, fasting increases intake of an HCD when they are presented with both an HFD and an HCD in two-diet choice experiments. This is associated with a rapid recovery from the change in ketone metabolism during refeeding of a carbohydrate compared with that of a fat in diets. We recently found that activation of a subset of corticotropin-releasing hormone (CRH)–positive neurons in the rostral region of the paraventricular nucleus of the hypothalamus (PVH) is necessary to induce the selection of an HCD over an HFD in mice during refeeding after fasting. These neurons manifested activation of AMPK during food deprivation. Studies with DREADD technology and expression of constitutively active AMPK or shRNA for AMPK in PVH CRH neurons revealed that the activation of AMPK in CRH neurons of the PVH is necessary and sufficient for the selection of an HCD over an HFD during refeeding after fasting. Furthermore, the effect of AMPK is mediated by carnitine palmitoyltransferase 1c (CPT1c). We also showed that the CRH neurons are involved in the increase in HCD selection after social defeat stress in mice. Thus, AMPK-regulated CRH neurons in the PVH regulate selection between carbohydrate and fat in diets. Our results identify the specific neuron in the hypothalamus and intracellular signaling pathway responsible for regulation of the complex behavior of selection between carbohydrate and fat in diets.

（6）Sensing environmental energy needs: Astrocytic glutamate uptake drives brain glucose utilization

Luc Pellerin
（Department of Physiology, University of Lausanne, Switzerland and Centre de Résonance Magnétique des Systèmes Biologiques, University of Bordeaux, France）

As part of the Astrocyte-Neuron Lactate Shuttle (ANLS) hypothesis proposed 25 years ago, it was postulated that astrocytes detect neuronal activity at glutamatergic synapses. The mechanism involves glutamate uptake via high affinity Na^+-dependent glutamate transporters which is necessary for recycling glutamate and maintaining glutamatergic neurotransmission. As these active neurons need energy, in parallel, it leads to enhanced glucose utilization by astrocytes and release of lactate as a supplementary energy substrate. Such a concept bears an important corollary for brain imaging techniques based on the measurement of glucose consumption rate using the analog deoxyglucose. It predicts that such functional brain imaging techniques indirectly highlight neuronal activation by measuring in reality a surrogate marker for this activity, which is glucose consumption by astrocytes (and not by neurons). *In vivo* evidence supporting this hypothesis and obtained by two distinct strategies will be presented. In the first case, transgenic mice in which glial glutamate transporters are invalidated have been used to perform cerebral activation visualized by 14C-2-deoxyglucose autoradiography. Results show that following stimulation of the animal whiskers, the normal enhancement in glucose utilization observed in the corresponding barrel cortex of wildtype mice is strongly reduced in knockout mice. In the second approach, using 18Fluorodeoxyglucose (18FDG) and Positron Emission Tomography (PET), it was observed that injection of Ceftriaxone (an antibiotic that was found to stimulate the activity of the glial glutamate transporter GLT1) in adult rats caused an enhancement in the 18FDG signal proportional to the density of glial glutamate transporters. These

results obtained *in vivo* establish that astrocytes represent the primary source of signal for functional brain imaging techniques based on the measurement of glucose consumption rate. Moreover, they suggest that astrocytes might play a critical role for brain function by providing lactate as a necessary energy substrate to sustain certain forms of neuronal activity.

（7）Neuronal Suppression of Astrocytic Respiration

L. Felipe Barros（Centro de Estudios Cientificos-CECs, Valdivia, Chile）

Synaptic transmission is accompanied by high neuronal energy demand, which is mostly met by mitochondrial oxidative phosphorylation. The production of ATP in active neurons is supported by reactive hyperemia, a local vasodilation that elevates capillary oxygen and underlies the fMRI blood oxygen-level dependent (BOLD) signal. Here we will discuss evidence of a complementary strategy for the delivery of oxygen to neurons, namely the suppression of astrocytic respiration. The idea is that under resting conditions housekeeping astrocytes consume more oxygen than neurons and that they switch to glycolytic energy production prompted by neuronal cues. Three signals have been so far proposed to inhibit astrocytic respiration: nitric oxide, ammonium and potassium. While nitric oxide and ammonium target mitochondria, the primary effect of potassium is the activation of glycolysis leading to increased ATP/ADP and secondary inhibition of respiration via the Crabtree effect. The effect of glutamate on astrocytic respiration is not clear. In this light, the physiological role of aerobic glycolysis in brain tissue does not seem to be the generation of ATP but the timely supply of oxygen and lactate to neurons.

（8）Importance of the neuronal environment: role of the neighboring astrocytes in brain activation

Anne-Karine Bouzier-Sore（CR1, CNRS, Centre RMSB, Bordeaux Cedex, France）

The hemodynamic and metabolic responses to brain activation have been the subject of intense investigations in the past twenty years. However, we still do not understand clearly the mechanisms at play. Considering the development and widespread use of brain imaging techniques, it remains of importance to provide valid explanations for the signals monitored in order to provide correct interpretations. In this context, the existence of intercellular lactate shuttling between astrocytes and neurons is of utmost importance. Indeed, in the astrocyte-neuron lactate shuttle (ANLS), it is proposed that astrocytes, the cells in the close environment of neurons, increase their glucose consumption in response to neuronal activation. Using in vivo localized 1H-NMR spectroscopy and functional MRI (fMRI), we were able to follow metabolic fluctuations during brain stimulation and to visualize the activated area, the somatosensory cortex area, also called the barrel field (S1BF). We found that lactate increases in the S1BF during whisker stimulation. Using genetically-modified rats, down-regulated for the lactate transporters (MCTs), we were able to demonstrate that 1) the lactate increase linked to brain activity is lost and 2) no more positive fMRI signal is observed. These results strongly suggest that lactate shuttling is mandatory for brain activation. To go further, if lactate is an important fuel for neurons, we investigated its potential neuroprotective role in a hypoxic-ischemic pup model (rat). We will present results showing that lactate (and not pyruvate or glucose) administrations lead to early brain lesion regression as well as nearly complete motor and memory recoveries at later time. This presentation will therefore illustrate the importance of cerebral lactate shuttling, from physiological situation to therapeutic application.

（9）Obesity and body composition change in older adults with cognitive decline

Takashi Sakurai（National Center for Geriatrics and Gerontology, Japan）

In Japan, incidence of dementia is increasing, thus making the prevention of dementia an urgent priority. Obesity in mid-life is a risk factor for dementia, but overweight and obesity are protective for development of cognitive decline in older people (obesity paradox). Underlying mechanism linking weight loss (WL) and cognitive decline remains to be unclear. Many studies have demonstrated that patients with Alzheimer's disease (AD) lose weight from the early stage, and especially in the moderate to severe stages of AD. The causes of WL in AD seem to be multifactorial and different in various stages of dementia. We aimed to clarify the nutritious conditions in 361 cognitively normal (CN) persons, 619 persons with mild cognitive impairment (MCI), 514 with mild AD, and 702 with moderate AD. As results, body mass index (BMI) did not show any significant change among these individuals, but AD patients exhibited smaller fat-free mass and fat mass in men and women, which is different from older persons with ageing. Next, we investigated the associations between nutritional status and AD-related brain changes using Pittsburgh Compound-B (PiB)-PET, fluorodeoxyglucose (FDG)-PET, and structural MRI. The subjects were 34 Ab-positive individuals with MCI or early AD (prodromal/early AD), and 55 Ab-negative CN subjects. Nutritional status of the subjects was assessed by BMI and waist to height ratio (waist circumference/height). The associations between nutritional status and brain changes were examined by multiple regression analysis using statistical parametric mapping. In the prodromal/early AD group, nutritional status was significantly positively correlated with regional cerebral glucose metabolism (rCGM) in the medial prefrontal cortices. Ab deposition and gray matter volume were not significantly associated with nutritional status. Subanalysis in the prodromal/early AD group demonstrated that fat mass index, but not fatfree mass index, was positively correlated with rCGM in the medial prefrontal areas. These preliminary results suggest that hypometabolism in the medial prefrontal areas is specifically associated with AD-related weight loss and decrease in fat mass may have a key role.

（10）Brain glycogen: a potential linkage between endurance and cognition

Takashi Matsui
（Laboratory of Exercise Biochemistry, Institute of Health and Sport Sciences, University of Tsukuba, Tsukuba, Japan）

A common aim in health and sport sciences is to enhance human performance (e.g. endurance and cognition) exerted by integrated functions of body and mind through exercise. The brain as a regulating organ for functions of body and mind is fueled by carbohydrates. Although brain glycogen localized in astrocytes, the sole brain carbohydrate storage, is degraded into lactate as a neuronal energy source to retain memory function, how this is metabolized and functions during exercise were unknown. We recently found that brain glycogen decreases with prolonged exhaustive exercise. Furthermore, blockade of brain glycogenolysis and lactate transport during exercise decreased endurance capacity associated with brain ATP levels. These findings indicate that lactate borne from brain glycogen is a critical energy source to maintain exercise endurance. Here, we also show the increase in brain glycogen with exercise training that enhances endurance and cognitive performance, suggesting brain glycogen as a potential linkage between endurance and cognition.

（11）Amygdala NPY circuits promote the development of accelerated obesity under chronic stress conditions

Chi Kin Ip[1]，Lei Zhang[1]，Yue Qi[1]，Ramon Tasan[2]，Günther Sperk[2]，Herbert Herzog[1]
（[1]Neuroscience Division, Garvan Institute of Medical Research,
384 Victoria Street, Darlinghurst, Sydney, NSW, 2010, Australia,
[2]Department of Pharmacology, Medical University Innsbruck, 6020 Innsbruck, Austria）

Neuropeptide Y (NPY) exerts powerful orexigenic effect in the hypothalamus. However, extra-hypothalamic nuclei also produce NPY but its influence on energy homeostasis is unclear. We have now uncovered a previously unknown feeding stimulatory pathway that is activated under conditions of stress in combination with calorie-dense food with NPY neurons in the central amygdala being responsible for an exacerbated response to a combined stress and high fat diet intervention. Central amygdala NPY neuron specific Npy overexpression mimics the obese phenotype seen in a stress/high fat diet model, which is prevented by the selective ablation of Npy in this nucleus. Using food intake and energy expenditure as readouts we were able to demonstrate that selective activation of central amygdala NPY neurons results in increased food intake and decreased energy expenditure. Mechanistically it is the diminished insulin signalling capacity on central amygdala NPY neurons under stress/high fat diet conditions that leads to the exaggerated development of obesity.

（12）FGF21-oxytocin axis regulates simple sugar preference

Tsutomu Sasaki，Sho Matsui
（Laboratory of Nutrition Chemistry, Division of Food Science and Biotechnology,
Graduate School of Agriculture, Kyoto University, Japan）

Fibroblast growth factor 21 (FGF21) is an endocrine subfamily of FGF. The circulating FGF21 level is mainly regulated by the secretion of FGF21 from the liver. FGF21 can be secreted by various metabolic stimuli, including fasting and simple sugar intake. Two groups reported that FGF21 regulates “sweet preference” by acting on the paraventricular nucleus of the hypothalamus (von Holsten-Rathole et al., Cell Metab, 2016; Talukdar et al., Cell Metab, 2016) without affecting sweet taste reactivity. However, the FGF21 targets that mediates the regulation of “sweet preference” remained elusive. When we analyzed how neuronal SIRT1 regulates nutrient preference, we found that FGF21 regulates simple sugar preference by activating oxytocin neurons in the paraventricular nucleus of the hypothalamus and that SIRT1 suppressed simple sugar preference by enhancing FGF21 sensitivity (Matsui S, Sasaki T et al., Nature Communications, 2018). Contrary to the previous reports, the preference to an artificial sweetener saccharin was not altered in naïve in oxytocin neuron-specific SIRT1 manipulated mice, but it was decreased in sugar solution-exposed mice, suggesting that FGF21 may be secreted through the cephalic phase response. To address this discrepancy and conclusively show that FGF21 signaling in oxytocin neuron is necessary for regulating simple sugar preference, we analyzed oxytocin neuron-specific Klb knockout (Oxt-Klb-cKO) mice (Klb encodes beta-Klotho, which is an obligatory co-receptor for FGF21). As expected, the Oxt-Klb-cKO mice showed increased preference to simple sugars, but not to saccharin. Therefore, we conclude that FGF21-oxytocin axis regulates simple sugar preference, but not “sweet” preference.

（13）Object representations in the orbitofrontal cortex are sensitive to metabolic states

Junichi Chikazoe
（Section of Brain Function Information, Supportive Center for Brain Research,
National Institute for Physiological Sciences, Japan）

The orbitofrontal cortex (OFC) is thought to play a critical role in value-based decision making. The abundant evidence for the specific role of the OFC has been provided by reinforcer devaluation tasks which tap the ability to represent identity, sensory qualities and subjective values of the expected outcomes. Although the OFC involvement in devaluation tasks is well-established, it still remains unclear which aspect is specifically represented in this region. Here, by conducting functional MRI experiments before and after meal, we investigated whether the human OFC represented object identity, sensory qualities or value. If object representations in the OFC were invariant across different metabolic states, those could be taken as “object identity”, however, if those were maintained only in the same metabolic states, those could be interpreted as reflecting qualitative gustatory experiences. By analyzing the structure of representational similarity across objects, we found that object representations in the OFC were stable only in the same metabolic states, which were altered by feeding. Importantly, altered object representations in the OFC were not fully explained by subjective value whereas the OFC representations were tightly associated with it. These results suggest that the OFC does not represent object identity, rather, it represents inferred sensory qualities as well as value.

（14）Intestinal GLP-1 release by oral administration of rare sugar D-allulose ameliorates arrhythmic-overeating and obesity via vagal afferents

Yusaku Iwasaki[1], Toshihiko Yada[2,3]
（[1]Laboratory of Animal Science, Graduate School of Life and Environmental Sciences,
Kyoto Prefectural University, Japan,
[2]Center for Integrative Physiology, Kansai Electric Power Medical Research Institute, Japan,
[3]System Neuroscience, Graduate School of Medicine, Kobe University, Japan）

Glucagon-like peptide-1 receptor agonists (GLP-1RAs) effectively ameliorate type-2 diabetes, hyperphagia and obesity. However, GLP-1RAs also elicit adverse action including nausea and vomiting due to their direct action on the brain. The endogenous intestinal GLP-1 is rapidly cleaved by DPP4 enzyme within a few minutes. Therefore, it is unclear how endogenous GLP-1 acts on the brain and regulates feeding behavior. Recently, we identified non-metabolic monosaccharide D-allulose (Allu) as a selective GLP-1 releaser, which is one of rare sugar (Y. Iwasaki et al. *Nat. Commun.* 2018). Therefore, Allu could be use in studying about endogenous GLP-1. The intestinal GLP- 1, released by Allu ingestion, interacts with GLP-1 receptor (GLP-1R) in vagal afferent neurons to suppress food intake without aversive behavior in mice and rats. Allu, when added once daily in morning, corrects arrhythmic overeating, obesity and diabetes in high fat diet fed mice. Taken together, intestinal GLP-1 release by Allu may provide a promising tool for restoring feeding rhythm and thereby ameliorating obesity and diabetes.

（15）Role of MCH neurons in the regulation of metabolism, sleep/wakefulness and memory

Akihiro Yamanaka（Research Institute of Environmental Medicine, Nagoya University, Japan）

MCH neurons are exclusively located in the hypothalamus and these neurons project throughout the brain. Ablation of MCH neurons decreased body weight and increased metabolic rate without affecting feeding amount suggesting role in energy homeostasis. On the other hand, MCH neurons densely innervate the dorsal hippocampus where is center of memory. To reveal the role in memory, activation or inhibition of MCH neurons using chemogenetics or optogenetics were performed and hippocampusdependent memory was significantly impaired or improved, respectively. Activation of MCH nerve terminals in vitro inhibited firing of hippocampal pyramidal neurons by increasing inhibitory inputs. In vivo calcium imaging indicated that wake- and REM sleep-active MCH neurons are distinct populations that are randomly distributed in the hypothalamus. Sleep/wakefulness state-dependent optogenetic inhibition of MCH neurons revealed that REM sleep-active MCH neurons impaired hippocampusdependent memory without affecting sleep architecture or quality. Together, these results demonstrate that REM sleep-active MCH neurons in the hypothalamus are involved in active forgetting in the hippocampus.

（16）Early developmental exposure to environmental chemicals and energy metabolism

Fumihiko Maekawa（Center for Health and Environmental Risk Research,
National Institute for Environmental Studies, Tsukuba, Japan）

The adverse effects of contaminated arsenic in drinking water have become a concern in developing countries. A possible association between early developmental exposure to arsenic and higher incidence of diabetes has been reported in certain epidemiological studies. In order to elucidate the mechanism how developmental arsenic exposure alters energy metabolism in mice, we administered sodium arsenite (85 ppm) in drinking water to pregnant mice from gestational day 8 to 18. Firstly, we found impairments in energy metabolism of male offspring at 60 weeks of age, such as hyperglycemia, glucose intolerance and insulin insensitivity. Secondly, we examined the weight and histology of perirenal fat pad and found the increase of weight with adipocyte hypertrophy in prenatally arsenic-exposed males. According to the increase of fat pad, plasma leptin level was significantly increased. Thirdly, we analyzed several gene expressions related to energy metabolism and insulin sensitivity in the fat pad by realtime PCR. Among the genes, the gene expression of TNF-alpha, a cytokine linked to insulin resistance, was significantly increased, indicating the possibility that higher expression of TNF-alpha impairs insulin action in prenatally arsenic-exposed male. Taken together, these results suggest that the adverse effect by developmental exposure of arsenic could be mediated by the dysregulation of adipose tissue.

（17）DMH neurons control sleep, metabolism, and aging

Akiko Satoh（Sleep and Aging Regulation Research Project Team,
National Center for Geriatrics and Gerontology, Obu, Japan）

Aging has significant impacts on sleep, resulting in increases in sleep fragmentation and sleep onset latency, and a decrease in sleep quality in mammals. We have found that aged mice also display severe sleepiness during sleep deprivation. Intriguingly, diet restriction (DR), a dietary regimen well-known to delay the aging process and to extend lifespan in a

wide variety of organisms including mammals, can dramatically attenuate some of age-associated sleep alterations. For example, DR significantly reduces the levels of age-associated sleep fragmentation and sleep attempt during sleep deprivation. Therefore, DR may delay the aging process and extend lifespan by critically altering sleep control in aged animals. To further elucidate mechanisms by which DR ameliorates age-associated sleep alterations, we focus on the gene called PR-domain containing factor 13 (PRDM13). PRDM13 is a SIRT1 downstream gene and is exclusively expressed in the dorsomedial hypothalamus (DMH). The DMH has been shown to control age-associated physiological changes and longevity through SIRT1. We have recently found that conditional DMH-specific *Prdm13*-knockout mice mimic age-associated sleep alterations including sleep fragmentation and severe sleepiness during sleep deprivation. We are currently testing whether PRDM13 is necessary to promote DR-induced sleep phenotypes. In this talk, I will discuss about a role of DMH neurons on age-associated sleep alterations. I will also propose how poor sleep quality promotes the age-associated pathophysiology in peripheral organs/tissues and ultimately affects longevity.

（18）Regulation of skeletal muscle mass via a WWP1/KLF15 axis

Wataru Ogawa
（Division of Diabetes and Endocrinology, Kobe University Graduate School of Medicine, Japan）

Sarcopenia, the age-dependent decline of muscle mass and physical performance, is a major health burden of aging populations. Diabetes mellitus is associated with various disorders of the locomotor system including the decline in mass and function of skeletal muscle and is a well-established risk factor for sarcopenia. Underlying mechanism responsible for the relationship between diabetes mellitus and muscle mass decline remains unknown. We have found that the abundance of the transcription factor KLF15 as well as the expression of genes related to muscle atrophy are increased in skeletal muscle of diabetic model mice, and that mice with muscle-specific KLF15 deficiency are protected from the diabetes-induced decline of skeletal muscle mass. Hyperglycemia was found to up-regulate the KLF15 protein in skeletal muscle of diabetic animals, which is achieved via down-regulation of the E3 ubiquitin ligase WWP1 and consequent suppression of the ubiquitin-dependent degradation of KLF15. Our results reveled that hyperglycemia, a central disorder in diabetes, promotes muscle atrophy via a WWP1-KLF15 pathway. This previously unrecognized pathway linking diabetes and sarcopenia may serve as a therapeutic target for this latter important health problem of the elderly.

（19）Ninjin-yoeito activates NPY neurons and restores appetite and body weight in mice under chemotherapy: anti-frailty potential

Toshihiko Yada[1,2,3], Lei Wang[1,2,3], Chayon Goswami[1,2,3], Katsuya Dezaki[3]
（[1]Center for Integrative Physiology, Kansai Electric Power Medical Research Institute, Japan,
[2]System Neuroscience, Kobe University Graduate School of Medicine, Japan,
[3]Division of Integrative Physiology, Department of Physiology, Jichi Medical University, Japan）

The elder subjects and cancer patients often display reduction of physical and mental activities, being recognized as frailty. The diverse symptoms of frailty appear complex. We hypothesize that all the symptoms could result from reduced appetite/feeding. Administration of cisplatin, an anti-cancer drug, reduces food intake and body weight. Co-administration of Ninjin-yoeito (NYT), an herbal medicine, counteracts the cisplatin-induced reduction of food intake and body weight.

The Ca^{2+} imaging in single neurons isolated from the hypothalamic arcuate nucleus (ARC) combined with immunocytochemistry revealed that NYT directly activates neuropeptide (NPY) neurons of ARC. The NYT-activated NPY neurons contained ghrelin-responsive and unresponsive neurons. In the former case, NYT collaborates with ghrelin to activate NPY. In the latter case, NYT activates ghrelin-unresponsive or resistant NPY neurons, an effect that could restore appetite in the elderly with ghrelin resistance. These results show that NYT activates both ghrelin-responsive and unresponsive NPY neurons, and restores appetite in anorectic mice under chemotherapy, suggesting anti-frailty potential.

P-1　Hypothalamic neuronal circuits regulating hunger-induced taste modification

Ou Fu[1], Yu Iwai[2], Masataka Narukawa[2], Takumi Misaka[2], Kentaro Ishii[2], Ken Murata[2], Kazushige Touhara[2], Ayako Ishikawa[3], Yumiko Yoshimura[3], Yasuhiko Minokoshi[1], Ken-ichiro Nakajima[1,2]

（[1]Division of Endocrinology and Metabolism, National Institute for Physiological Sciences, Japan,
[2]Department of Applied Biological Chemistry, Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo, Japan,
[3]Division of Visual Information Processing, National Institute for Physiological Sciences Japan）

The gustatory system plays a critical role in sensing appetitive and aversive taste stimuli for the evaluation of food quality. Although taste sensitivity and food preference are known to change depending on internal states, such as hunger, the mechanistic insight remains unclear. Here we examine the neuronal mechanisms regulating hunger-induced taste modification in the mouse brain. Starved mice exhibit an increased sensitivity for sweet taste and tolerance for aversive taste. This hunger-induced taste modification is recapitulated by selective activation of orexigenic Agouti-related peptide (AgRP)-expressing neurons in the hypothalamus projecting to the lateral hypothalamus, but not to other brain regions. Glutamatergic neurons in the lateral hypothalamus function as downstream neurons of AgRP neurons. Importantly, these neurons are sufficient and necessary to modulate sensitivities for both appetitive and aversive tastes by using two distinct pathways projecting to the lateral septum or the lateral habenula, respectively. Our results suggest that these hypothalamic circuits for taste modification would be important for optimizing feeding behavior under energy deficit conditions.

P-2　Perinatal exposure to dioxins impacts on gene expression and infant behavior in the mouse

Eiki Kimura, Go Suzuki, Naoto Uramaru, Fumihiko Maekawa

（Center for Health and Environmental Risk Research, National Institute for Environmental Studies, Japan）

Exposure to environmental chemicals has been reported to induce a variety of toxicities, such as impaired liver function and behavioral abnormalities in humans and laboratory animals. We have shown that perinatal exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD), the most toxic chlorinated congeners in the group of dioixns, impairs ultrasonic vocalization (USV) of infant mouse offspring. The aryl hydrocarbon receptor (AhR), a ligand-activated transcription factor, binds TCDD, and then induce expression of target genes, such as *Cyp1a1*. Since brominated analogues of chlorinated dioxins can activate AhR, it is

reasonable to consider that brominated dioxins have toxicities. In the present study, we examined effects of perinatal exposure to 2,3,7,8-tetrabromodibenzo furan (TBDF) on USV and liver gene expression of mouse offspring. Pregnant C57BL/6J mice were orally administered TBDF at a dose of 0 or 45 μg/kg b.w. on gestational day 12.5. USV of offspring on postnatal day 3–5 was measured for 1 min in sound-attenuated chamber, and the USV frequencies of 60–100 kHz were analyzed. The liver and brain tissues on postnatal day 5 were collected, and the expression of the top three mRNAs that were significantly increased or decreased between the vehicle- and TBDF-treated mice was confirmed by quantitative PCR. As a result, total USV duration of the TBDF-treated mice was significantly lower than that in the vehicle-treated mice. Gene microarray revealed significant changes in expression of 1,181 genes in the liver between the vehicle- and TBDF-treated groups. Gene microarray revealed significant changes in expression of 1,181 genes in the liver between two groups. Among them, *Cyp1a1*, *Cyp1a2*, and *Fmo3* mRNAs were significantly increased, and *Tff3*, *Ocstamp*, and *Kcnk16* mRNAs were significantly decreased in the TBDF-treated mice compared to those in the vehicle-treated mice. On the other hand, no significant difference in expression of *Cyp1a1* and *Tff3* mRNAs was observed in the TBDF-treated mice. Our findings show gene expression changes in the liver, but not the brain, of the TBDFtreated offspring, which suggests that suppressed USV might be partly involved in impairment of peripheral tissues, including the liver.

P-3　NPY mediates fasting-induced depression of excitatory synapse on oxytocin neurons in the paraventricular nucleus

Lei Wang[1,2,3], Shigetomo Suyama[4], Toshihiko Yada[1,2,3]
（[1]Center for Integrative Physiology, Kansai Electric Power Medical Research Institute,
[2]Division of Integrative Physiology, Jichi Medical University,
[3]Division of System Neuroscience, Kobe University Graduate School of Medicine,
[4]Division of Neurophysiology, Keio University School of Medicine, Japan）

We previously reported that 24 hours fasting suppressed excitatory synaptic transmission onto anorexigenic oxytocin (Oxt) neurons of paraventricular nucleus (PVN) in a NMDA-type glutamate receptor (NMDAR) dependent manner in rats. However, signal molecules mediating the fasting-induced depression of synaptic transmission remain unknown. Neuropeptide Y (NPY) is a well-known orexigenic neuropeptide, which is released under fasting and potently stimulates feeding. In this study, we investigated whether NPY mediates fasting-induced synaptic depression onto Oxt neurons Administration of NPY decreased mEPSC amplitude and increased AMPA-NMDA ratio, similarly to the effect of 24 hours fasting. Thus, both NPY and fasting induced NMDAR-dependent depression of excitatory synaptic transmission onto Oxt neurons in PVN. In the presence of Y1 receptor antagonist or by increasing intracellular cAMP with IBMX, NPY failed to alter mEPSC onto Oxt neurons in PVN. Furthermore, intra-PVN injection of Y1 receptor antagonist abolished the effects of fasting to depress excitatory synaptic transmission onto Oxt neurons and to increase daily food intake. These results indicate that NPY, via Y1 receptor-mediated suppression of cAMP signaling, decreases NMDAR and thereby depresses excitatory synaptic transmission onto Oxt neurons in PVN, possibly contributing to stimulation of appetite under fasting.

P-4　Changes in intramuscular fat and the effects on taste-traits during postmortem aging of beef

Yanan Zhao[1], Shuji Ueda[1], Yasuhito Shirai[1], Sayaka Ichimura[2], Yuka Yoshida[2],
Masaaki Habara[3], Hidekazu Ikezaki[3], Minoru Yamanoue[1]
（[1]Graduate School of Agricultural Science, Kobe University,
[2]Japan Meat Science andTechnology Institute,
[3]Intelligent Sensor Technology, Inc., Japan）

Nowadays, there are many important attributes of beef palatability and the most influential factor is taste besides tenderness, juiciness and aroma. Amounts and fatty acid composition of intramuscular fat are considered to contribute to beef tenderness and aroma, but the effect on taste-traits remains poorly understood. A lot of research examining the relationship between taste substances and sensory evaluation has been conducted until electronic taste sensing system was developed as a main method to evaluate taste-traits of meat and meat products. In this study, effects of intramuscular free fatty acids (FFAs) on taste-traits were investigated in stored and cooked beef broth prepared by boiling method using electronic taste sensing system and sensory evaluation. Beef samples taken from Japanese Black Wagyu and Holstein carcasses were purchased and stored at 4 °C. We took raw beef samples from parts of rib eye including intramuscular fat tissues at 7-, 14-, and 21-days postmortem, minced and boiled them in distilled water for preparation of beef broth. We found that increased amounts of FFA in beef broth from Japanese Black Wagyu cattle during postmortem aging were associated with taste-traits such as *acid bitterness*, *umami* and *sweetness*. Results of *richness* in Japanese Black Wagyu beef from both analyses by the system and sensory evaluation coincided with each other, so *richness* can be probably used as an index of deliciousness of Japanese Black Wagyu beef.

P-5　Mechanism of the perception of "*kokumi*" substances

Ryo Matsumoto（Chemosensory Research Group, Technology Development Center,
Institute of Food Sciences and Technologies, Food Products Division, AJINOMOTO CO., INC. Japan）

Recent progress in molecular biology have revealed that the five basic tastes, sweet, salty, sour, bitter and umami are recognized through specific receptors and subsequent transduction pathways. However, some foods have flavors that cannot be explained by the five basic tastes alone, such as continuity, mouthfulness and thick flavor. Previous studies identified that some γ-glutamyl peptides such as glutathione (GSH) were associated with this flavoring effect and proposed that these substances should be referred to as "*kokumi*" substances. We confirmed that GSH and its related γ-glutamyl peptides modified the five basic tastes, possessing the characteristics of "*kokumi*" substances. We further demonstrated that these molecules are perceived through the calcium-sensing receptor (CaSR) in humans and the activation of CaSR by them are positively correlated with the sensory activity of "*kokumi*" substances, suggesting that γ-glutamyl peptides-CaSR signaling pathway mediates "*kokumi*" flavor. Among these γ-glutamyl peptides, γ-Glu-Val- Gly was identified as the most potent "*kokumi*" substances. We have successfully developed it as food additive for "*kokumi*" flavor.

【 各種シンポジウム 】

2019（令和元）年度 生理研国際シンポジウム

The 50th NIPS international Symposium
“MIRACLES in Cardiovascular Physiology”

“MIRACLES in Cardiovascular Physiology”と題した第 50 回生理研国際シンポジウムを，2019（令和元）年 12 月 5 日−7 日に，岡崎コンファレンスセンターにて開催しました。西田基宏教授がオーガナイザー兼事務局長を務めました。海外講演者 8 名と国内講演者 18 名による 26 題の講演と，40 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 100 名でした。

本シンポジウムは,「温故知新」を重要視し，Metabolism（代謝），Interaction（連関），Regulation（制御機構），Application（技術開発），Chemical biology（化学生物学），Longevity（寿命），Exercise（運動），Signaling（情報伝達）の分野で最先端の研究成果を挙げているシニアと若手両方の先生方を招聘しました。各々がもつ中心的問題を共有し，その問題を解決するためにどのような有機的連携を展開すべきかについて，活発に議論が交わされました。

全ての講演が聴衆の関心を惹きつける素晴らしい内容でした。心血管分野を牽引する Rui Ping Xiao 先生（中国）による CaMKII アイソフォーム特異的な心筋アポトーシス制御機構に関する講演, David Carling 教授（英国）による AMPK の構造生物学的解析と AMPK 欠損マウスの解析から明らかにされた新たな役割に関する講演，清水逸平准教授（新潟大）による脂肪組織由来因子（セノメタボライト）による心血管リスク制御についての講演，木村航先生（理研）による酸化的代謝と心筋細胞周期との関連に関する新知見等，多くの優れた講演が行われました。また，若手研究者に生理研の研究内容を紹介していただく Local symposium やポスター発表者のフラッシュトークも行い，活発な情報交換および質疑応答が行われました。

The 50th NIPS International Symposium
“MIRACLES in Cardiovascular Physiology”

The 50th NIPS International Symposium “MIRACLES in Cardiovascular Physiology” was held at Okazaki Conference Center from December 5th to 7th, 2019. Professor Motohiro Nishida organized the symposium and also served as Secretary-General. Eight oversea and 18 domestic speakers gave presentations, and there were also 40 poster presentations. The number of participants were as many as 100.

This symposium values the concept of ‘developing new ideas by studying the past’, and both established and rising-sun investigators promoting cutting-edge researches in Metabolism, Interaction, Regulation, Application, Chemical biology, Longevity, Exercise, and Signaling got together to share the respective central questions and actively discuss how to develop an organic collaboration to solve them.

All lectures highly attracted the attention of audience. Professor Rui Ping Xiao, a top runner of cardiovascular research in China, presented her recent finding on the isoform-specific role of CaMKII in cardiac apoptosis. Professor David Carling presented their new finding on the role of AMPK *in vivo* revealed by the analyses using AMPK isoform-specific deficient mice. Dr. Ippei Shimizu presented the new finding that Senometabolite promotes pathologies in cardiovascular disorders. Dr Wataru Kimura (Riken) presented the relationship between oxidative metabolism and cardiomyocyte cell cycle regulation. Active discussion and fruitful exchange of research information were done both in oral sessions (both main and local symposiums) and in poster sessions.

Program

December 5, 2019

Local Symposium (*Chairs: Motohiro Nishida and Hyoung Kyu Kim*)

1. Tomohiro Tanaka　*Cardiocirculatory Signaling, NIPS*
   Pathology-dependent protein-protein interactions (PPIs) as a new therapeutic target of heart failure

2. Kazuhiro Nishiyama　*Kyushu University, Grad. Sch. Pharmaceu. Sci.*
   Atypical GPCR signaling regulated by cysteine-based post-translational modification and its physiological significance

3. Sandra Derouiche　*Cell Signaling, NIPS*
   Involvement of thermosensitive TRP channels in temperature-dependent microglia movement

4. Kenichiro Nakajima　*Endocrinology and Metabolism, NIPS*
   Hypothalamic regulation of feeding-related behaviors

5. I-Shan Chen　*Biophysics and Neurobiology, NIPS*
   Regulatory mechanisms of GIRK channels by small molecules

6. Cheung, Dennis Lawrence　*Homeostatic Development, NIPS*
   Holographic light patterning for fine scale interrogation of cellular networks

7. Hideji Murakoshi　*Biophysics Neuroscience, NIPS*
   Spatiotemporal manipulation and imaging of signaling molecules in neurons

Main Symposium

Opening Remark by Prof. Junichi Nabekura　*Director General of NIPS*

Session 1 (*Discussion Leaders: Motohiko Sato and Takeda*)

1. Rui Ping-Xiao　*Institute of Molecular Medicine, Peking University*
   Ca^{2+}/calmodulin-dependent Kinase II and Cardiac Cell Death

2. Jin Han　*College of Medicine, Cardiovasc. Metab. Disease Center, Inje University*
   Molecular mechanism of exercise-induced cellular adaption

3. Mitsuhiko Yamada　*Shinshu University School of Medicine*
   A β arrestin-bias AT1 receptor agonist improves the survival of neonatal knock-in mice bearing a human dilated cardiomyopathy mutation

4. Satomi Adachi-Akahane　*Grad. Sch. of Med. and Facul. of Med., Toho University*
   Ventricular diastolic dysfunction in the early stage of diabetic cardiomyopathy: involvement of insulin-mediated regulation of Ca^{2+} signaling

Session 2 (*Discussion Leaders: Jin Han and Kazuho Sakamoto*)

5. David Carling　*MRC London Inst. of Med. Sci., Imperial College London*
   Investigating the role of AMPK activation *in vivo*

6. Yasuhiko Minokoshi　*Endocrinology and Metabolism, NIPS*
   AMPK is the metabolic sensor that induces dietary preference for carbohydrate over fat

7. Ippei Shimizu　*Niigata University Grad. Sch. of Med. and Dent. Sci.*
   Senometabolite promotes pathologies in cardiovascular disorders

8. Wataru Kimura　*RIKEN Center for Biosystems Dynamics Research*
   Oxidative Metabolism and Cardiomyocyte Cell Cycle Regulation

9. Ken Suzuki　*William Harvey Research Institute / Queen Mary University of London*
   Myocardial repair, cardiac macrophages and mesenchymal stromal cell-based therapy

December 6, 2019

Session 3 (*Discussion Leaders: Woong Sun and Takuro Numaga-Tomita*)

1. Junko Kurokawa　*University of Shizuoka, Sch. of Pharmaceu. Sci.*
   Multidisciplinary approaches for functional evaluation of human iPS-derived cardiomyocytes

2. Yasunari Kanda　*National Institute of Health Sciences (NIHS)*
Development of *in vitro* cardiotoxicity assessment using human iPS cell technology

3. Satoshi Matsuoka　*Faculty of Medical Sciences, University of Fukui*
Property and roles of mitochondrial Na^{+}-Ca^{2+} exchange in heart

Session 4 *(Discussion Leaders: Satomi Adachi-Akahane and Akiyuki Nishimura)*

4. Yoshihiro Ishikawa　*Yokohama City University School of Medicine*
Mechanical Stress and Vascular Regeneration

5. Sang Geon Kim　*Seoul National University, College of Pharmacy*
G_{12}/G_{13} regulation of systemic energy metabolism

6. Hitoshi Kurose　*Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University*
G_{12} family G protein-mediated signaling

Session 5 (*Discussion Leaders: Ippei Shimizu and Taichiro Tomida*)

7. Soojka Kim Chung　*Macao University of Science and Technology*
Global Proteomics of Skeletal Muscle and Validation Lead to Identification of PGC-1 alpha and Fatty Acid Metabolism Downstream to Exchange Protein Directly Activated by cAMP (Epac) for Forced Treadmill Exercise Capacity

8. Utako Yokoyama　*Tokyo Medical University*
Prostaglandin E receptor EP4-mediated regulation of vascular elasticity

9. Hisao Yamamura　*Grad. Sch. of Pharmaceu. Sci., Nagoya City University*
Pathophysiological significance of TRPC6 channels in pulmonary arterial hypertension

Session 6 (*Discussion Leaders: David Carling and Kazuhiro Nishiyama*)

10. Keiji Kuba　*Akita University Graduate School of Medicine*
mRNA deadenylation-mediated control of cardiac homeostasis

11. Mariko Omatsu-Kanbe　*Shiga University of Medical Science*
Identification of ANP-marked cardiac progenitor cells in mouse heart that develop into beating cells

12. Shigeki Kiyonaka　*Graduate School of Engineering, Nagoya University*
Coordination chemogenetics, a new technique for allosteric regulation of membrane receptors

Flash talk by poster presenters

December 7, 2019

Session 7 (*Discussion Leader: Nobuhiko Ohno*)

1: Akiyuki Nishimura　*Grad. Sch. of Pharmaceu. Sci., Kyushu University*

Pathology-dependent aberrant interaction between mitochondria and actin cytoskeleton causes cardiac fragility

2: Woong Sun　*Korea University College of Medicine*

Mitochondrial quality surveillance by Drp1-dependent regulation of mitochondrial structure and function

Session 8 (*Discussion Leaders: Yasunari Kanda and Nobuhiko Ohno*)

3: Seiryo Sugiura　*UT-Heart Inc*

A Heart simulator coupling the molecular dynamics with the finite element model – Cross-scale integration of our knowledge on heart

4: Hyoung Kyu Kim　*Cardiovascular and Metabolic Disease Center, Inje University*

Tetrahydrobiopterin rescues late-stage diabetic heart failure via restoring mitochondria function through CaMKK2/CREB/PGC1-α signaling

5: Junken Aoki　*Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Tohoku University*

Lysophospholipid Signaling Protects the Heart from Ischemic Damage by regulating the Vagal Nerve

Closing Remark (by Motohiro Nishida)

【トレーニングコース】

第 30 回生理科学実験技術トレーニングコース

2019 年 7 月 29 日－8 月 2 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 30 回目を迎え，7 月 29 日（月）より 8 月 2 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 18 コースの募集を行ったところ 156 名の応募があった。111 名が採択され，107 名が下記のコースを受講した。受講者の約 5 割が大学院生・学部学生で，他は大学や企業の研究者であった。本トレーニングコースは，日本生理学会の共催として実施した。実習指導には生理研の職員を中心として，他大学からの講師も含めて，約 80 人の研究者があたった。

【講演】

「シナプス生物学と病態」

深田正紀（生理学研究所 生体膜研究部門 教授）

「脳活動ダイナミクスと脳機能の個人特性」

北城圭一（生理学研究所 神経ダイナミクス研究部門 教授）

【紹介】

「生理学研究所の紹介」

南部　篤（生理学研究所 生体システム研究部門 教授）

「総合研究大学院大学の紹介と説明会の案内」

吉村由美子（生理学研究所 視覚情報処理研究部門 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活動・シナプス・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. SPM を用いたヒト脳の fMRI データ解析入門
17. 脳波ダイナミクスのデータ解析入門
18. 生体アンプ回路工作と機械工作入門

各コースの具体的な内容に関しては，以下に掲載した。

http://www.nips.ac.jp/training/2019/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/TC2019Q.pdf

【セミナー報告】

セミナー報告

1. 神経自発活動と脳内情報表現の関係

大橋一徳（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・流動研究員）

(2019.4.10)

脳は特定のタスクや外部刺激がなくとも常に活動している。この活動は自発活動と呼ばれ，全脳から細胞レベルまで脳内の様々なスケールで観測されている。特に細胞集団レベル以上の解像度で自発活動を計測した場合，機能コラムや脳領野といった脳内で特定の情報を処理する機能構造と一致した同期活動が出現することが報告されている。また，生まれた直後から存在しており，外部環境に応じて活動パターンを変化させる。これらの事実は，自発活動が外界の知覚や行動に関わる情報処理過程に影響することを示唆している。今回の発表ではネコとマウスを用いた，コラムと領野レベルの自発活動に焦点を当てる。

ネコ初期視覚野において自発活動パターンが方位選択性マップに類似することが知られているが，方位マップは脳両半球に渡って一致すること，及びマップの構造遷移パターンが２通り存在すること紹介し，そのメカニズムを数理モデルを用いて説明する。その後，領野レベルでは従来知られている脳領野以外の構造が自発活動パターンとして複数の動物で観測されることを示し，マウス共通の情報処理の存在について議論する。

＊本セミナーは日本語で行われます。

2. 高速・高精細全脳イメージング法 FAST の開発と全脳機能解析

笠井淳司（大阪大学大学院薬学研究科 神経薬理学分野 助教）

(2019.5.7)

感情や運動など様々な機能を制御する脳は，多数の細胞で構成され，領域や神経回路毎に異なる機能が担われています。そのしくみを詳細に調べる上で，脳全体を詳細に観察することが必要と考えられます。しかし，マウスの脳でさえ，その全体を細胞レベルでとらえる研究は困難でした。そのため，研究者自身の仮説や予測などに基づき，非常にかぎられた脳部位に絞った研究が行われることがほとんどでした。そこで我々は，脳の細胞や神経線維レベルの微細な構造を識別できる分解能で，マウスや非ヒト霊長類の脳全体を高速に観察するイメージング装置（block-face serial microscopy tomography, FAST）を開発しました。脳神経疾患分野における医学や創薬の発展のためには，実験動物を用いて得られた知見が，ヒトにどの程度あてはまるのかを検証していくことも大切です。脳の三次元構造や神経活動パターンを細胞単位の精細さで調べられる FAST は，マウスからサルまで幅広い種類の実験動物に利用できるだけでなく，ヒト死後脳組織の三次元イメージングにも応用できるため，ヒトへの橋渡し研究のための新技術として貢献できると考えられます。本講演では，FAST 開発のポイントなどに重点をおき，その後の脳機能研究についても紹介したいと思います。

1. Kaooru Seiriki, Atsushi Kasai CA, Hitoshi Hashimoto CA, et al. Whole-brain block-face serial microscopy tomography at subcellular resolution using FAST. Nature protocols, (2019), in press.
2. Kaoru Seiriki*, Atsushi Kasai*,CA, et al., High-speed imaging and scalable whole-brain imaging in rodents and primates. Neuron, 94:1085-1100 (2017)

3. ヒトの運動制御メカニズムの理解 － 非侵襲的計測による実験的・数理的な一考察

横山　寛（㈱ センタン･研究員）

(2019.5.23)

ヒトは冗長な筋骨格系を巧みに制御し，柔軟な運動を実現している。こうした運動制御に関する研究は, 大きく 2 通りのアプローチにわけられる。１つは脳活動データをもとに運動表現の神経基盤を明らかにする生理学的なアプローチであり，他方は，最適な運動制御の実現に必要とされる計算理論について議論する数理的アプローチによる研究である。本発表では，ヒトを対象とした 2 つの研究成果について紹介し，脳波の位相同期現象における機能的役割，ならびに，ヒト腕到達運動の計算論，それぞれの観点から議論を進める。

まず，脳波の位相同期現象とその機能的役割について焦点を当てた研究について紹介する。ここでは，位相同期現象の時系列ダイナミクスと運動の切り替えのメカニズムとの関係について考察する。つぎに，ヒト腕到達運動における等時性現象と運動軌道計画との関係について焦点を当てた研究について紹介し，既存の軌道計画規範に基づく数理的仮説と運動中の関節トルクや筋活動との関係について議論する。また，これらに加え，発表の最後には，現在進行中の研究や，今後の展望についても併せて紹介する。

4. Interact therefore I am: Two-person psychophysiology to study interpersonal (mis-)attunement in social interaction

Bolis Dimitrios（Max Planck Institute of Psychiatry, Ph.D. Student）

(2019.5.27)

In this talk, we draw on dialectics and Bayesian accounts of cognition, suggesting that a fine-grained analysis of social interaction might allow us to reconsider the self beyond the static individual, that is how it emerges and manifests itself in social relations. In this light, we put forward the dialectical misattunement hypothesis, which views various psychiatric conditions, such as autism, not as a (disordered) function within single brains but rather as a dynamic interpersonal mismatch, unfolding across various time scales. To operationalize our suggestion, we present two-person psychophysiology and multilevel analysis of intersubjectivity as a means to formally study the self and psychopathology beyond the individual brain. In brief, our results indicate that in real-time social interactions humans highly align with each other across multiple levels of description, from decision-making and gaze behavior to facial expressions and metacognition.

Interestingly, such an alignment is most prominent in collaborative contexts and between people who have a bond of mutual affection.

5. 棘皮動物卵活性化時の電気的変化と細胞内カルシウム

毛利　達磨（生理学研究所 個別研究）

(2019.5.30)

生物学的に，受精とは精子が卵に近づき，卵と接触し卵を活性化して精子が進入する現象と考えられています。受精は，生物にとって次世代を生み出すための，発生プログラムを動かす引き金になる非常に重要な現象です。しかし，ほとんどの動物で精子がどのように卵に近づきどうやって卵を活性化するのか未だに明確ではありません。ウニやヒトデはその取扱いの簡便さのため，約 150 年前からモデル動物として研究されてきましたが，まだその卵活性化機構については不明です。私が特に惹かれているのは受精の時，卵内で何が起こっているのかということです。受精時卵内で非常に多くのことが起こりますが，２つのことに注目しました。卵細胞膜の電気的変化と卵細胞内 Ca 濃度変化です。電気的な変化についてはこれまで色々調べられてきましたがあまりきちんとした結論が出ていませんでした。また，卵細胞内 Ca 濃度変化を電気的変化と比較して論じられることはありませんでした。この２つの現象についてこれまでわかったこと，両者の関係，まだ不明なことなどをセミナーではお話しします。

6. Structure and Function in the Drosophila Renal Epithelium

Aylin Rodan（Department of Internal Medicine, University of Utah）

(2019.6.12)

Vectorial movement of ions and water across polarized renal epithelia is essential for maintaining homeostasis of body chemistries in the face of fluctuating electrolyte intake and losses. Our laboratory studies epithelial ion transport in the Drosophila melanogaster renal epithelium, the Malpighian tubule. We study ion channels and transporters, and the signaling pathways regulating them. We have also been investigating the role of the septate (occluding) junction protein, Mesh, first identified by Professor Furuse, in the Malpighian tubule. I will discuss recent results on ion transport through basolaterally localized ion transporters and channels, as well as our findings on the role of Mesh in epithelial structure and function in developing and adult tubules.

7. From Connections to Cognition: A new look at the brain spacetime

Denis Le Bihan（フランス NeuroSpin, Cea-Saclay Center･所長）

(2019.6.20)

要旨はありません。

このセミナーは英語で開催します。

8. Studying Human Cortex with Large-Scale Electron Microscopy

Daniel Berger（Lichtman Lab, Harvard, USA）

(2019.6.20)

Most invasive brain research is done on model species like mice and rats, but for many neuroscientists the ultimate goal is to understand the human brain. Small biopsy samples of human brain can be acquired from medical surgeries and prepared for large-scale electron microscopy. This opens the opportunity to investigate the ultrastructure of the human brain directly.The Lichtman Lab at Harvard collaborates with several hospitals which make tissue samples available to us which would otherwise be discarded. In our largest electron-microscopic dataset to date, we acquired over a Petabyte of image data from a piece of adult human cortex, which we are currently analyzing in collaboration with the Google Connectomics team. In this talk I will highlight some of our recent findings on the ultrastructural properties of human cortex.

9. Two color volumetric imaging of neural activity of cortical columns in vivo

Shuting Han（Columbia University (she will soon be a postdoctoral researcher at University of Zurich)）

(2019.6.21)

High-speed volumetric imaging of neural activity at cellular resolution is important to capture the emergent functional properties of neural circuits. While two-photon calcium imaging provides a power tool to study population activity in vivo, standard two-photon microscopes only image two-dimensional planes. Expanding it to three-dimensions while maintaining a high spatiotemporal resolution appears necessary. Here, we extended the sequential volumetric two-photon imaging by a novel hybrid approach that acquires two volumes simultaneously through wavelength multiplexing, combining dual color excitation and emission with ETL/SLM-based fast z- scan approaches. We use 920 nm and 1064 nm lasers to image, at the same time, neurons labeled with GCaMP6 in mice cortical layer 2/3, and with jRGECO in layer 5, respectively. An electrically tunable lens or a spatial light modulator was implemented in the beam path to enable fast sequential or simultaneous imaging of different focal planes. Using this beam multiplexing strategy, we image the neuronal activity of cortical circuits at high speed in primary visual cortex from awake mice (600 μm deep volumes at 10 vol/s). We analyze the orientation tuning properties of cells in cortical columns, as well as the spatial structures of visually-evoked neuronal ensembles. We also simultaneously image functional correlations between presynaptic layer 1 axons and postsynaptic layer 2/3 neurons. Wavelength multiplexing enhances high-speed volumetric microscopy and can be combined with other multiplexing schemes to easily boost imaging throughput.1.

10. Dopamine improves cognitive deficits and modulates synaptic plasticity in hippocampal CA1 region in kindled mice

Nahid Roohi（Ph.D student of physiology, Faculty of Medical Science, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran）

(2019.7.8)

Hyperexcitability inducing factors such as seizure and epilepsy potentiate the synapses and impair learning and memory. Moreover, Dopamine (DA) as a neurotransmitter modulates synaptic plasticity and has an important role in cognitive functions. However, how the modulatory effect of DA on plastic properties of a neuron as well as cognitive functions will change as a consequence of epilepsy is not well understood. In our laboratory, we compared the effect of exogenous DA on synaptic plasticity of both ventral and dorsal hippocampal CA1 region, Stratum Radiatum and Stratum Oriens layers, using field potential recording. Our results demonstrated that DA has a reversal role on LTP in intact and kindled mice such that application of DA prevented LTP induction in intact slices while rescued LTP in kindled slices. Taken together, our results highlight the importance of DAergic modulation in normal and disease conditions.

Memory deficit following epilepsy has been frequently examined, however, how a neuromodulator such as dopamine can affect LTP and Learning and memory has not been inspected. We have recently demonstrated a deficit in motivation to explore and its link with the poorer spatial memory in PTZ kindled mice. And we showed that DA by improving plastic properties at the synaptic level and novelty driven exploration at behavioural level improves spatial memory. Previously we examined the effect of tonic stimulation of DA neurons on short term memory and exploration using optogenetic stimulation of Ventral Tegmental Area (VTA) dopaminergic neurons. Tonic stimulation significantly improved short term spatial memory and novelty driven exploration in kindled mice. Since, LTP is considered as the basic mechanism of memory formation, therefore it can be concluded that DA has improved spatial memory through increasing the ability of LTP induction in kindled mice.

11. 脳活動の振動同期ダイナミクスの計算論的解明

北城圭一（神経ダイナミクス研究部門）

(2019.7.19)

ヒトの脳活動を脳波，脳磁図等で計測するとリズミックな振動現象がみられる。またこの振動は過渡的で，遠隔の脳領域間で位相同期を示す。我々はこの振動同期ダイナミクスは単なる物理現象ではなく脳情報処理における機能的役割を果たしていると考えている。そこで，本セミナーでは，脳活動の振動同期ダイナミクスの機能的役割についての計算論的な観点での研究結果を紹介，議論する。まず，健常者での運動，知覚，認知等の課題時の振動同期ダイナミクスについての研究を紹介する。また，脳卒中患者での安静時の脳波振動同期ダイナミクスのデータ解析による病態予測研究を議論する。さらに，非侵襲脳刺激手法と脳波同時計測を用いた振動同期ダイナミクスの操作的な研究結果も紹介し，計算論的な観点での統合的な議論を行う。

12. Redox sensing and signalling in the cardiovascular system

Philip Eaton（William Harvey Research Institute, Queen Mary University of London）

(2019.9.12)

Oxidants, which can be produced in cells and tissues, have been causatively implicated in the pathogenesis of most major diseases.

Whilst this paradigm is still prevalent, and oxidants may indeed play important roles in the disease etiology, it is now also understood that they can also serve as regulatory entities that are important for the maintenance of homeostasis during health and disease. Oxidants can be sensed and transduced into a biological event via their reaction with select cysteine thiol side chains on some proteins. Such reactions can result in oxidative post-translational modifications of proteins that in some cases alter their function to enable adaptation and homeostasis.

Protein kinase A (PKA) and protein kinase G (PKG) are cyclic nucleotide-dependent kinases, being activated by the second messenger cAMP or cGMP respectively. The Regulatory RIasubunit of PKA and the PKG Iaisoform are each able to form homo interprotein disulfides in response to increased oxidants. These oxidative modifications alter the function of PKA and PKG and have a complex interrelationship with their cyclic nucleotide-dependent regulation. Comparing PKA C17S RIaor C42S PKG Iatransgenic knock-in mice, engineered so that the they cannot form the interprotein disulfides, to wild-type controls has allowed the importance of these oxidative modifications to be defined in terms of cardiovascular function.

13. ショウジョウバエ腸管の恒常性における上皮バリアの役割

泉　裕士（細胞構造研究部門）

(2019.10.3)

動物の腸管上皮は，消化酵素や微生物を含む腸管腔の過酷な環境から身体の内部環境を保護するバリアとしての機能を担っている。しかし，その機能の低下がもたらす腸管の恒常性への影響については依然として不明な点が多い。これまで私は，ショウジョウバエ腸管上皮の細胞間隙バリアとして機能する細胞間接着装置セプテートジャンクション(SJ，タイトジャンクションの機能に相当)の分子構築と機能の解析を進めてきた。その過程で，SJ 構成分子の欠失が腸管上皮のバリア機能を破綻させるとともに，幹細胞の過剰増殖と上皮細胞の過剰蓄積を伴う腸管の肥大化を招くことを見出した。また，この腸肥大には，IL-6 様サイトカインが関与していることを明らかにした。このようにショウジョウバエ腸管において，上皮バリアは体内への異物の侵入あるいは体外への生体成分の流出を防ぐだけでなく，幹細胞の増殖と上皮細胞への分化の制御を介して腸管の恒常性維持にも寄与することが示唆された。

14. A natural history of skills

Thomas Boraud（Directeur de recherche, CNRS/Université de Bordeaux, France）

(2019.10.30)

I propose a new theory on skills learning based on the idea that the development of automatisms is not an archaism but rather an advantage evolutionarily linked to the development of a specialized dorsal pallium (the structure we call the cortex in mammals) that has evolved in parallel in different vertebrate lineages. Based on examples from the literature and my own work, I support my demonstration on a minimal computational model by which this hypothesis could be explicitly tested. This approach makes it possible, among other things, to resolve a number of paradoxes and proposes new pathophysiological pathways for decision disorders.

大脳基底核の生理学的･病態生理学的意義について世界的に著名なフランスボルドー大学 Boraud 先生が，新学術領域研究「オシロロジー」の国際シンポジウム（11 月 17 日～19 日京都開催）のため来日されるので，セミナーをお願いしました。是非，御来聴下さい。

15. two-pore Na+ channel 3 の PI(3,4)P2 依存性とその生理的役割について

下村　拓史（神経機能素子研究部門）

(2019.11.1)

Two-pore 型 Na^+チャネルファミリー3（TPC3）は，膜電位依存性 Na^+チャネルの 1 種であり，卵母細胞に発現しているとの報告があるがその生理的意義は不明確なままである。TPC3 はツメガエル卵母細胞に過剰発現すると，長時間の脱分極刺激を与えることでその膜電位依存性が亢進するというユニークな特性を持つ。我々は，この特性が，卵母細胞に内在するシステムによる PI(3,4)P2 と呼ばれるホスホイノシチドの産生に依存することを見出した。すなわち，脱分極刺激により生産された PI(3,4)P2 の TPC3 への結合が，TPC3 の電位依存性を調節する。さらに，TPC3 の立体構造モデルを利用して，この PI(3,4)P2 依存的な調節メカニズムを原子レベルで説明するモデルを提示した。

本セミナーでは，以上のような生物物理学的な解析の結果に加えて，preliminary ではあるが，卵母細胞における生理的役割を示唆するデータについても議論できればと考えている。

16. Relationship between bone, immunity and sensation ～How do integrated systems work?～

丸山　健太（細胞生理研究部門）

(2019.11.19)

本邦における要介護認定を受けた 75 歳以上の高齢者は 500 万人を突破し，その 4 人に 1 人は骨粗鬆症を背景とする関節疾患や骨折によって寝たきりに近い毎日を送っている。長期臥床は肺炎や尿路感染に伴う敗血症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。こうした皮膚や骨格系のトラブルの増加に伴い，老年医療における主訴の大部分が疼痛で占められるという事態も進行中である。それ故，骨破壊・敗血症・痛みの三者を適切にマネジメントするための治療標的の同定は，生活の質の低下に苦しむ超高齢化社会に課せられた喫緊の課題である。我々は，遺伝子改変動物を用いて骨代謝と炎症を同時に制御する因子を探索してゆくな

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・侵害受容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による巧みな恒常性維持機構を内包していることを見出した。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す我々の試みを紹介したい。

17. 原始内胚葉幹細胞の樹立と幹細胞による人工胚盤胞作製の試み

大日向康秀（理化学研究所 生命医科学研究センター，千葉大学大学院医学研究院 分子細胞医学講座）

(2019.11.20)

胚盤胞は栄養膜(trophoblast)，着床前エピブラスト(pre-implantation epiblast)，原始内胚葉(primitive endoderm)からなる数十の細胞の集合である。しかし，この様な単純な構造が如何にして生命の起源として機能するのかについて，分子細胞レベルで理解するためには，我々はまだ多くのことを知らなければならない。

これまでに栄養膜からは栄養膜幹細胞(trophoblast stem cell, TS 細胞)，着床前エピブラストからは胚性幹細胞(embryonic stem cell, ES 細胞)が樹立されている。我々は最近，原始内胚葉から原始内胚葉幹細胞(primitive endoderm stem cell, PrES 細胞)を樹立することに成功，報告した。即ち，我々は胚盤胞を構成する細胞の全ての幹細胞を手にしたことになる。

本セミナーにおいては，新規 PrES 細胞の樹立，性質について概説するとともに，我々が現在進めている，これら幹細胞を時空間的に精密に配置することによって，試験管内で人工的に胚盤胞を作製し，幹細胞から生命を再構成する試みについて議論したい。

18. Marmoset as a Model System for Studying Neural Basis of Vocal Communication

Xiaoqin Wang（Professor, Department of Biomedical Engineering, Johns Hopkins University, USA）

(2019.11.26)

Vocal communication is one of the most important natural behaviors of both humans and many animal species. In the past, studies of echolocating bats and songbirds have provided important insights into neural mechanisms of vocal communication. In comparison, much less has been learned from non-human primates. The common marmoset (Callithrix jacchus), a highly vocal New World monkey species, has emerged in recent years as a promising model system for studying neural basis of hearing and vocal communication. Marmoset offers several critical advantages over other non-human primate species, including a rich vocal repertoire in captivity, a relatively short postnatal development period and the feasibility in generating genetically modified models. In the past 20 years, my laboratory has pioneered a number of behavioral and electrophysiological techniques to study neural activity in the marmoset brain during natural vocal behaviors. Our studies have shed important light on the brain mechanisms for processing communication sounds. They also demonstrated the tremendous potentials of the marmoset as a primate model for studying neural mechanisms underlying vocal communication and social interactions.

19. Formative Pluripotency

木下将樹（ケンブリッジ大学 Wellcome Trust-MRC 幹細胞研究所）

(2019.11.26)

多能性は発生初期の胚において一過的に存在する。この間，エピブラスト細胞は多能性を維持しつつもその特徴を時間軸とともに変えていく。我々はこれらの異なる多能性を，naïve，formative，primed と区別することを提案した。マウスにおいてこれらに相当する細胞として, naïve ＝ ES 細胞, primed ＝ Epi 幹細胞があるが formative 期に相当するものは樹立されていない。ES 細胞は生殖系列を含めた全ての体細胞系へと分化する能力を保持しているが，未分化状態では分化シグナル応答性を持たず，必ず formative 期へと移行する必要がある。一方，primed Epi 幹細胞は生殖細胞分化能を喪失している，かつ分化に偏りがあることが知られている。Formative 細胞は分化応答性を持ち，かつ ES 細胞と同等の分化能を持つ細胞である。我々はこの formative 期の特徴を備えた自己複製する細胞株の樹立に成功した。

今回, 我々がどのようにして formative 期の細胞を培養株として樹立したか，およびどのような特徴を持つのかを紹介したい。

20. 実験動物と動物実験に関わる法律等の改正が我が国の科学技術戦略に及ぼす影響

浦野　徹（動物資源共同利用研究センター）

(2019.11.27)

座　長：箕越靖彦（動物資源共同利用研究センター　センター長）

21. 疾患モデル動物の開発と系統保存

西島和俊（秋田大学　バイオサイエンス教育・研究サポートセンター動物実験部門）

(2019.11.27)

座　長：箕越靖彦（動物資源共同利用研究センター　センター長）

22. 多様なるマクロファージ；新たな治療法の開発に向けて

Ken Suzuki（Translational Cardiovascular Therapeutics, William Harvey Research Institute,
Barts and The London School of Medicine and Dentistry, Queen Mary University of London, UK）

(2019.12.4)

近年マクロファージに関する理解が大きく進展しています。特に組織修復能を持つマクロファージが臓器特異的に在住あるいは集積し，様々な疾患の病因及び治癒において主要な役割を果たすことが明らかになり，これらの知見が新たな治療法開発につながることが期待されています。我々の研究室でもこの細胞を応用した心不全に対する新規治療法，さらに術後癒着予防療法を検討してきましたので，本セミナーではその試みについて紹介致します。

23. 温度感覚の進化と環境適応：センサー分子からフィールドまで

齋藤　茂（生理学研究所 細胞生理研究部門／生命創成探究センター 温度生物学研究グループ）

(2019.12.12)

動物は進化の過程で多様な温度条件の環境に適応してきた。異なる温度環境に適応する過程では細胞や組織レベルの至適温度や生存限界温度が動物種の間で変化するのと連動し，個体レベルの温度感覚も変化していくと考えられる。このような環境適応に関連した温度感覚の進化機構に興味を持ち，温度受容体としてはたらく TRP チャネルの比較解析を行ってきた。本発表では，ツメガエル近縁種の比較を行い，高温センサー機能の種間差と生息環境との関連について調べた研究について紹介する。また，著しい高温耐性を持ち，幼生が温泉でも成育できるリュウキュウカジカガエルを対象に，フィールド調査，行動実験，TRP チャネルの機能解析を通して分子から生態レベルで環境適応機構を調べる研究にも取り組んでおり，その近況についても報告したい。

24. シナプス可塑性のシグナル伝達から EM コネクトミクスへ：拡大するコンピュテーションの役割

浦久保秀俊（京都大学大学院 情報学研究科 システム科学専攻）

(2020.1.10)

脳の記憶の神経基盤であるシナプス可塑性のシグナル伝達（メカニズム）を明らかにしようとする研究は盛んに行われている。しかし，中々わかったような気になれない。実験では要素還元的に分子を対象にせざるを得ず，システム的理解を得ることができないためである。ここで登場するのが，計算モデルを用いて分子と可塑性ルールの間を繋ごうとするアプローチである。本セミナーでは，線条体のドーパミン依存シナプス可塑性を対象に，計算モデルの成功例を紹介したい。

可塑性の計算モデルでは分子の時間ダイナミクスに着目した。ただし，現実のシグナル伝達分子は空間局在し，時空間ダイナミクスとして機能する。空間ダイナミクスの器である神経の形状データは電子顕微鏡（EM）３次元画像に埋め込まれている。しかし，画像から形状データを抽出するセグメンテーションと呼ばれる情報処理の工程には困難が伴う。本セミナーでは，セグメンテーションを容易に行うためのソフトウェア UNI-EM を紹介すると共に，シグナル伝達の時空間ダイナミクスを明らかにするためのシミュレーション例を紹介したい。さらに，EM コネクトミクスにおける情報論的研究の役割について議論したい。

25. 活性イオウによる心筋ミトコンドリア品質制御と心臓恒常性維持・変容機構の解明

西村明幸（九州大学大学院薬学研究院創薬育薬研究施設統括室）

(2020.1.22)

病的な心臓リモデリングの進行に伴う心筋細胞の早期老化は心機能低下の主要な要因である。私たちは，ミトコンドリア分裂因子 Drp1 の活性化を介したミトコンドリアの過分裂が心筋早期老化の引き金となることを見出した。Drp1 の新規活性化因子としてアクチン結合蛋白質 FilaminA を同定し，疾患特異的な Drp1-FilaminA 複合体形成が心筋早期老化を誘導すること，薬理的にこの複合体形成

を阻害することで心不全の進行を抑制できることを明らかにした。また，活性イオウによる Drp1 の硫黄付加（ポリイオウ化）修飾が FilaminA との複合体形成を制御すること，Drp1 のポリイオウ化状態が心疾患リスクに関与することを見出した。本セミナーでは，心臓の恒常性における活性イオウを介した心筋ミトコンドリア品質制御の重要性について紹介する。

参考文献：

1. Nishimura A, et. al. Hypoxia-induced interaction of filamin with Drp1 causes mitochondrial hyperfission-associated myocardial senescence. Science Signal. 11, eaat5185 (2018)
2. Nishimura A, et. al. Depolysulfidation of Drp1 induced by low-dose methylmercury exposure increases cardiac vulnerability to hemodynamic overload. Science Signal. 12, eaaw1920 (2019)

26.　1. The Motor Cortex as a Model System for Studying Dendritic Physiology
2. The Network Dynamics of M1 Cortex in Parkinson's Disease Mice

Speaker 1: Jackie Schiller,　Speaker 2: Yitzhak Schiller MD,（Technion, Israel）

(2020.2.5)

(1) In our laboratory, we are interested in understanding how dendrites contribute to various computations performed by cortical neurons. We and other labs, have shown that nonlinear dendritic properties can contribute to place field formation, visual and somatosensory receptive fields. We aimed to investigate how these nonlinear dendritic properties contribute in computations performed in the motor cortex. I will describe the integrated behavioral and imaging platform we built to investigate the motor cortex in mice. We use a dexterity task, calcium imaging, optogenetic perturbations, and behavioral manipulations.

(2) Parkinson's Disease (PD) is a common neurodegenerative disease, which markedly disrupts motor performance. The basal ganglia (BG), the main brain system affected by PD, exerts their physiological effects mostly by modulating neocortical activity via the cortico-BG-cortical loop. The primary motor cortex M1, integrate data from multiple brain regions, including the BG, to generate motor output commands to the brain stem and spinal cord. Thus, although PD primarily targets the basal ganglia, the motor consequences BG disruption leading to motor disability is expected to be mediated by impairment of the M1 network dynamics.

We in control and 6-hydroxydopamine (6OHDA) induced Parkinsonian mice. Our findings showed that experimental PD dramatically disrupted motor performance. Concomitantly, activation intensity of individual layer-5 PT neurons was markedly attenuated, and activation network dynamics of both layer-5 PT neurons and layer 2-3 pyramidal neurons was disrupted after induction PD. Optogenetic activation of M1 partially improved motor performance of PD mice. General linear model (GLM) analysis revealed reduced encoding of discrete motor parameters of layer-5 PT neurons in Parkinsonian mice. Finally, PD disrupted the stability of the layer-5 PT neuronal network with respect to both recruitment order dynamics of neurons and encoding of individual motor parameters of the task. These findings shed new light on the mechanisms underlying motor disabilities in PD, and identifies novel potential therapeutic targets for PD patients.

27. 光と機械学習による感覚・記憶に関する脳内情報処理機構の解明

揚妻正和（生体恒常性発達研究部門）

(2020.2.12)

脳内の情報は，その最小構成単位である「神経細胞」が作り出すネットワークにより処理される。これまで，個々の神経細胞の機能についての研究は，電気生理学的な記述に始まり，近年の分子生物学，遺伝学などの発達により大いに発展してきた。しかし，個別の神経細胞レベル，あるいは遺伝子・タンパク質の理解のみでは，脳機能を理解するのには不十分である。例えば，統合失調症の原因遺伝子がこれまでに数多く報告されているが，その多くが一部の患者にのみ欠損が見られたり，人種によって影響の偏りがあったりと，関連遺伝子を把握しただけでは脳機能を完全に理解するのは難しい。

我々はその理解に向け，「光学的なアプローチ」・「機械学習」を用いた研究を進めている。そこで今回は，これらの技術により新たに見えてきた「神経細胞集団による情報処理メカニズム」に関する知見を紹介し，また今後の展望についても議論する。

28. Identification of a novel mechanism regulating SERCA activity and heart function in Drosophila melanogaster

Heiko Harten

（Division of Biology/Chemistry Section of Zoology / Developmental Biology University of Osnabrück）

(2020.2.17)

Muscle contraction represents a well characterized molecular process that is, to a considerable extent, regulated by variable Ca^{2+} concentrations within the cytosol.

A major player responsible for modulating this concentration is the Sarcoplasmic/Endoplasmic Reticulum Calcium ATPase (SERCA) that transports Ca^{2+} from the cytosol into the sarcoplasmic reticulum (SR). This activity significantly reduces cytosolic Ca^{2+} levels and thus marks the beginning of the muscle relaxation phase. Accordingly, tight regulation of SERCA-activity is critical to proper functionality of muscle tissue.

As known for vertebrates and insects, activity of SERCA is regulated by peptides that bind to the enzyme and thereby modulate its activity. Vertebrate and fly loss-of-function mutants for corresponding peptides exhibit impaired Ca^{2+} transients in heart cells as well as severe heart arrhythmia. Up to now, it is largely unknown how homeostasis and turnover of such peptides are regulated.

We found that increased expression of the peptidase Neprilysin 4 (Nep4) phenocopied the depicted effects on heart physiology. Significantly, Nep4 catalytic activity was essential, thus confirming abnormal peptide hydrolysis as a causative factor. By combining in vitro and in vivo analyses, we identified Nep4 mediated hydrolysis of SERCA regulatory Sarcolamban peptides as the critical physiological event. Furthermore, Nep4 and SERCA coprecipitated and exhibited substantial colocalization with Sarcolamban in membranes of the SR, indicating that close spatial proximity is of high mechanistic relevance.

By identifying a neprilysin as a novel and essential regulator of SERCA activity, these data advance the current understanding of muscle physiology and functionality in health and disease.

【大学院特別講義】

大学院特別講義

1. 第 224 回（2019.4.24）
   演者：生体機能調節研究領域　細胞生理研究部門　富永真琴　教授
   演題：温度生物学

2. 第 225 回（2019.5.8）
   演者：基盤神経科学研究領域　大脳神経回路論研究部門　川口泰雄　教授
   演題：大脳皮質ニューロン多様性と結合様式

3. 第 226 回（2019.6.19）
   演者：システム脳科学研究領域　認知行動発達機構研究部門　郷　康広　特任准教授
   演題：脳構造・機能解析のためのマルチオミックス研究

4. 第 227 回（2019.7.10）
   演者：脳機能計測・支援センター　生体機能情報解析室　近添淳一　准教授
   演題：Neuroimaging 研究と機械学習

5. 第 228 回（2019.8.7）
   演者：基盤神経科学研究領域　視覚情報処理研究部門　吉村由美子　教授
   演題：大脳皮質視覚野の機能発達メカニズム

6. 第 229 回（2019.10.30）
   演者：基盤神経科学研究領域　生体恒常性発達研究部門　揚妻正和　准教授
   演題：光による脳神経活動観察と操作

7. 第 230 回（2019.11.13）
   演者：生体機能調節研究領域　生殖・内分泌系発達機構研究部門　中島健一朗　准教授
   演題：脳による味覚や食欲の調節メカニズム

8. 第 231 回（2019.12.4）
   演者：分子細胞生理研究領域　神経機能素子研究部門　久保義弘　教授
   演題：イオンチャネルの構造と機能の動的側面

9. 第 232 回（2020.1.15）
   演者：システム脳科学研究領域　神経ダイナミクス研究部門　北城圭一　教授
   演題：神経ダイナミクスと脳情報処理

10. 第 233 回（2020.2.5）
    演者：システム脳科学研究領域　心理生理学研究部門　定藤規弘　教授
    演題：社会脳研究の展望：脳機能イメージングによるアプローチ

生理学研究所年報　第４１巻

発　　行　　2020 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