自 然 科 学 研 究 機 構

生理学研究所年報

第42巻

2021

（2020 年度業務報告書）

はじめに

生理学研究所年報第 42 巻をここに刊行し、2020（令和 2）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。2020 年度におきましては、新型コロナウイルス感染拡大で研究者の移動が大きく制限されるなか、コミュニティ研究者の皆様の御協力と、所員一同の努力によって、例年と同様の多数（185 件；法人化以前の約２倍）の共同研究・共同利用実験を行い、成果を挙げることができました。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。

2021 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（2020 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…… 28
システム脳科学研究領域…… 38
個 別 研 究…… 54
研究連携センター…… 57
脳機能計測・支援センター…… 60
行動・代謝分子解析センター…… 65
動物資源共同利用研究センター…… 69
技　術　課…… 73

研 究 発 表

ａ．発 表 論 文…… 87
ｂ．学 会 発 表…… 103

一般共同研究報告…… 123

計画共同研究報告…… 159

生体機能イメージング共同利用実験報告…… 207

研究会報告…… 237

国際研究集会…… 399

トレーニングコース

第 31 回生理科学実験技術トレーニングコース…… 423

セミナー報告…… 427

大学院特別講義…… 437

職員（2020年度）

所　　長　鍋倉淳一

【分子細胞生理研究領域】

神経機能素子研究部門

教授	久保義弘
准教授	立山充博
助教	下村拓史
特任助教	陳　以珊
NIPS リサーチフェロー	ANDRIANI, Rizki Tsari（～2020.9.30）
ポスドク研究員	ANDRIANI, Rizki Tsari（2020.10.1～）
大学院生	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
総研大生	江川孝彦
技術支援員	鈴木由美
〃	渡邊聖愛
〃	古川佐千子
〃	原　早苗

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	藤原佐知子（2020.10.1～）
大学院生	NGUYEN, Thanh Phong
〃	長澤有祐（2020.4.1～）
技術支援員	渡邊美香
〃	古瀬京子

細胞生理研究部門

教授	富永真琴
准教授	曽我部隆彰
助教	齋藤　茂
特任助教	DEROUICHE, Sandra（～2021.1.31）
NIPS リサーチフェロー	水藤拓人（2020.5.1～）
研究員	齋藤くれあ
〃	水藤拓人（～2020.4.30）
〃	馮　暁娜（～2020.9.30）
〃	佐藤翔馬（2020.4.1～）
〃	NGUYEN, Thi Hong Dung（2020.10.1～）
日本学術振興会特別研究員	宇治澤知代
特別共同利用研究員	笹島沙知子
大学院生	邓　香梅
〃	DEVECI, Aykut
〃	雷　晶
〃	NGUYEN, Thi Hong Dung（～2020.9.30）
技術支援員	福岡慶子
〃	橋本照美
事務支援員	伊藤嘉美

心循環シグナル研究部門

教授	西田基宏
特任准教授	西村明幸（2020.8.1～）
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（～2021.3.31）
〃	下田　翔
〃	阿部愛杜（2020.4.1～）
技術支援員	藤森仁美

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	傳　欧
特別協力研究員	堀尾修平

日本学術振興会特別研究員
上　原　優　子（2020.4.1～）
大 学 院 生　RASHID, Misbah
大 学 院 生　RATTANAJEARAKUL, Nawarat
〃　三　須　宏　武（2020.4.1～）
〃　YU, Long（2020.10.1～）
技術支援員　林　めぐみ
〃　佐　藤　香　織
〃　乙　部　晶　代
〃　藤　原　香菜子（2021.1.4～）

超微形態研究部門

客 員 教 授　大　野　伸　彦

【基盤神経科学研究領域】

生体恒常性発達研究部門

教　授（併任）　鍋　倉　淳　一
准　教　授　鳴　島　円
特任准教授　揚　妻　正　和
特 任 助 教　堀　内　浩
特任研究員　CHEUNG, Dennis Lawrence
〃　竹　田　育　子（2020.4.1～2020.4.30）
特別訪問研究員　竹　田　育　子（2020.5.1～）
特別共同利用研究員　佐　藤　彩（～2021.3.31）
技術支援員　大　場　多津子
〃　市　橋　結　貴
〃　石　田　順　子（～2021.3.31）
〃　小　林　知　子
〃　稲　垣　貴　士（2020.8.1～2021.2.28）
〃　辻　真　治（2020.8.1～2020.9.30）
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　林　健　二
特 任 助 教　木　村　梨　絵（～2021.3.31）
〃　米　田　泰　輔
NIPS リサーチフェロー　山　本　真理子（2020.4.1～）
大 学 院 生　唐　木　智　充（～2021.3.31）
〃　呉　嘉　豪
技術支援員　石　神　久美子
技術支援員　大　村　幸　恵（～2021.3.31）
事務支援員　比　賀　昌　子

バイオフォトニクス研究部門

教　授　根　本　知　己
准　教　授　榎　木　亮　介
助　教　大　友　康　平
特 任 助 教　堤　元　佐
〃　石　井　宏　和
特別共同利用研究員　山　口　和　志（～2021.3.31）
〃　廣　蒼　太（～2021.3.31）
〃　中　田　開　人（～2021.3.31）
〃　張　菁　圃（2020.8.1～）
〃　李　明　亮（2020.11.1～2021.3.31）
大 学 院 生　安　宅　光　倫（2020.4.1～）
〃　高　橋　泰　伽（2020.4.1～）
技術支援員　土　屋　加　奈

【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　二　宮　太　平
〃　則　武　厚
〃　横　井　功
特 任 助 教　植　松　明　子（2020.11.1～）
NIPS リサーチフェロー　植　松　明　子（～2021.10.31）
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（～2020.11.30）
〃　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
研　究　員　纐　纈　大　輔
〃　長谷川　拓
〃　WONGMASSANG, Woranan
〃　POLYAKOVA, Zlata（～2020.9.30）

研　究　員　DWI WAHYU, Indriani（～2020.12.31）
日本学術振興会特別研究員　菊　田　里　美（～2021.3.31）
大 学 院 生　NONDHALEE, Pimpimon
技術支援員　磯　谷　ひとみ
〃　粟　村　香奈子
〃　鈴　木　規　子（～2020.10.31）
〃　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
〃　岡　崎　由　香
特 任 助 教　横　山　　寛
技術支援員　佐　藤　明　子

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
特 任 助 教　中　川　恵　理
〃　山　本　哲　也
NIPS リサーチフェロー　濱　野　友　希（～2021.3.31）
研　究　員　土　元　翔　平（2020.4.1～2021.3.31）
大 学 院 生　吉　本　隆　明（～2020.9.30）
〃　丸　山　修　紀（～2021.3.31）
〃　南　條　啓　孝
〃　小　山　雄太郎
〃　綾　部　宏　明（2020.4.1～）
〃　橋　口　真　帆（2020.4.1～）
〃　小笠原　香　苗（2020.4.1～）
特任専門員　木　村　玲　子
〃　岩　瀬　　恵（2020.4.1～）
技術支援員　竹　中　邦　子
〃　吉　岡　　歩（2020.4.1～）
〃　伊　藤　直　子（2020.5.16～）

【個 別 研 究】

個別研究（大橋研究室）

助　　教　大　橋　正　人

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（～2021.3.31）

【研究連携センター】

センター長（併任）久　保　義　弘

共同利用研究推進室

教　　授（併任）久　保　義　弘
特 任 助 教（併任）西　尾　亜希子

学術研究支援室

客 員 教 授　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（～2020.6.30）

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

形態情報解析室

准　教　授　村　田　和　義
研　究　員　向中野　信　一（～2021.3.31）
〃　BURTON-SMITH, Ray
大 学 院 生　角　田　　潤
〃　千　原　あかね
〃　渡　邊　凌　人
技術支援員　山　田　幸　子
〃　竹　市　祐　介（2020.11.1～）
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（～2020.5.31）
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（～2020.12.31）
特任研究員　松　本　真　実（2020.4.1～）
技術支援員　今　井　篤　子
〃　服　部　宣　子

生体機能情報解析室

教　授（併任）　定　藤　規　弘
准　教　授　近　添　淳　一（～2021.3.31）
研　究　員　PHAM, Quang Trung
技術支援員　丹　羽　開　紀（～2020.12.31）
〃　加　藤　征　広（～2020.3.18）
〃　畔　柳　伊　吹（～2020.11.30）
〃　松　倉　柊　平（2020.7.1～2020.8.15）
〃　石　黒　太　志（～2020.9.30）
〃　西　山　翔　太（～2021.3.31）
〃　成　田　泰　基（～2021.3.31）
〃　犬　塚　小百合（2020.4.1～2021.3.31）
〃　堀　涼（2020.4.1～2021.3.31）
〃　田　辺　雄　大（2020.4.1～2021.2.28）
〃　野　原　裕　太（2020.4.16～）
〃　宮　本　麻梨菜（2020.4.16～2021.1.31）
〃　石　井　秀俊（2020.7.1～2020.8.31）

【行動・代謝分子解析センター】

センター長（併任）　富　永　真　琴

ウイルスベクター開発室

教　授（併任）　南　部　篤
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（～2021.3.31）
研　究　員　及　川　真　実（～2021.3.31）
特別共同利用研究員　長　江　麻佑子
〃　岩　月　研　祐（～2020.9.30）
技術支援員　山　内　恵　子
技術支援員　吉　田　史　香
〃　大　西　皆　子
技術支援員　新　関　奈央子（～2021.2.15）

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）　富　永　真　琴（2020.4.1～）

【研究力強化戦略室】

教　授（併任）　南　部　篤
〃　（併任）　久　保　義　弘
〃　（併任）　深　田　正　紀
〃　（併任）　箕　越　靖　彦
〃　（併任）　吉　村　由美子
特 命 教 授　浦　野　徹
特任准教授　丸　山　めぐみ
特 任 助 教　西　尾　亜希子
特任研究員　NARGIS, Akter
〃　山　根　到
特任専門員　内　山　千保美
〃　岡　安　友　美
事務支援員　安　井　亜　紀
〃　太　田　美穂子
〃　芝　村　賞　子

【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
教　授　西　島　和　俊（2020.9.1～）
特 命 教 授（併任）　浦　野　徹（2020.4.1～）
助　教　王　振　吉
技術支援員　水　野　みどり
〃　松　永　ゆう子（～2020.9.30）
〃　不　退　久　恵

技術支援員　岩　瀬　悦　子
〃　小　林　明　子
〃　浦　川　裕　乃
〃　本　多　千　佳
〃　梅　村　佳　子（2020.9.16～）
〃　大　島　由　揮（2021.3.16～）
〃　新　関　奈央子（2021.2.16～）
〃　橋　本　　遙（2021.3.1～）
〃　橋　本　　恵（2021.2.16～）
〃　青　木　江里子（2020.11.16～2021.1.31）
〃　重　本　久　実

【動物実験コーディネータ室】

研　究　員　山　根　　到
事務支援員　松　倉　さゆり

【生命創成探究センター】（生理学研究所関連）

創成研究領域

温度生物学研究グループ

細胞生理研究部門（兼務）
（ i 頁の細胞生理研究部門を参照）

心循環ダイナミズム創発研究グループ

心循環シグナル研究部門（兼務）
（ i 頁の心循環シグナル研究部門を参照）

バイオフォトニクス研究グループ

バイオフォトニクス研究部門（兼務）
（ ii 頁のバイオフォトニクス研究部門を参照）

【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

分子細胞生理研究領域　技術係

係　　長　山　本　友　美（2020.4.1～）
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
主　　任　石　原　博　美
係　　員　加　納　雄一朗
〃　平　山　祐　哉

基盤神経科学研究領域　技術係

係　　長　髙　木　正　浩（2020.4.1～）
係　　員　渡我部　ゆ　き（2020.4.1～）

システム脳科学研究領域　技術係

係　　長　佐　藤　茂　基
主　　任　髙　橋　直　樹
特任専門員　岩　瀬　　恵（2020.4.1～）

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　山　口　　登（2020.4.1～）
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

動物実験　技術係

係　　長　廣　江　　猛
主　　任　窪　田　美津子
〃　神　谷　絵　美（2020.4.1～）
係　　員　山　中　　緑
〃　高　橋　伸　明（2020.4.1～）

行動･代謝分子解析　技術係

主　　任　三　寳　　誠

研究基盤　技術係

係　　長　森　　将　浩（2020.4.1～）

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　青　木　江里子（2020.11.16～2021.1.31）
〃　粟　村　香奈子
〃　石　神　久美子
〃　石　田　順　子（2020.4.1～）
〃　磯　谷　ひとみ
〃　市　川　　修
〃　伊　藤　嘉　邦（2020.4.1～）
〃　犬　塚　小百合
〃　岩　瀬　悦　子
〃　梅　村　佳　子（2020.9.16～）

技術支援員	浦　川　裕　乃
〃	大　島　由　揮（2021.3.16～）
〃	大　西　皆　子
〃	大　場　多津子
〃	小　原　正　裕
〃	小　林　明　子
〃	佐　治　俊　幸（2020.4.1～）
〃	佐　藤　明　子
〃	重　本　久　実
〃	城　地　智　子
〃	鈴　木　由　美
〃	竹　市　裕　介（2020.11.1～）
〃	土　屋　加　奈
〃	内　藤　知津江
〃	永　田　　治（2020.4.1～）
〃	新　関　奈央子
〃	橋　本　　恵（2021.2.16～）
〃	橋　本　　遥（2021.3.1～）
〃	林　　めぐみ
技術支援員	福　岡　慶　子
〃	藤　森　仁　美
〃	不　退　久　恵
〃	本　多　千　佳
〃	松　永　ゆう子（～2020.9.30）
〃	水　野　みどり
〃	山内　恵子（2021.3.16～）
〃	山　田　幸　子
〃	渡　邊　美　香
事務支援員	小　澤　祐　子
〃	小　林　文　絵
〃	坂　本　　愛
〃	柴　田　利　江
〃	芝　村　賞　子
〃	杉　山　朋　美
〃	高　松　　香
〃	長　尾　法　子
〃	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 の膜電位依存的動的構造変化の，膜電位固定下蛍光測光法による解析
（Rizki Tsari Andriani，久保義弘）
GIRK チャネルの変異による異常なイオン選択性の発生の新規機構の解明
（陳　以珊（I-Shan Chen），久保義弘）
THIK チャネルの活性を制御する遠位 C 末端両域の同定
（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，山本友美，久保義弘）
ホスホイノシチドによる 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，膜タンパク質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）
細菌由来の膜電位依存性 Ca^{2+} チャネルの同定
（下村拓史，立山充博， 入江克雅，米川佳樹，名倉　仁，藤吉好則）
生体膜研究部門 ･･････ 14
概　要
LGI1-ADAM22-MAGUK 複合体によるナノカラムの配列制御とシナプス伝達制御の解明
（深田優子，平野瑶子，稲橋宏樹，深田正紀， 南部　篤，知見聡美，平林真澄，三宝　誠，後藤哲平，
深井周也，Roger Nicoll）
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，平林真澄，三宝　誠，後藤哲平）
知的障害と関連する脳内分泌蛋白質 LGI3 の性状解析
（宮﨑裕理，深田優子，深田正紀，平林真澄，三宝　誠）
PSD-95 の脱パルミトイル化酵素 ABHD17 の性状解析
（江川孝彦，深田優子，深田正紀）
自閉症関連蛋白質 Neuroligin3 による新規のシナプス誘導と社会調節機構
（吉田知之， 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
トリセルラータイトジャンクション形成の分子機構
（菅原太一，古瀬幹夫）

トリセルラータイトジャンクション構成分子の集積機構
（菅原太一，小田裕香子，深田優子，深田正紀，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）
ショウジョウバエ消化管上皮の細胞間隙バリア形成と幹細胞制御に関わる新規膜タンパク質の同定
（泉　裕士，古瀬幹夫）
細胞生理研究部門 ･･････ 19
概　要
マウス食道上皮細胞の創傷治癒過程への TRPV4 の関与
（Ammar Boudaka，齋藤くれあ，富永真琴）
マウス非髄鞘化シュワン細胞での TRPV4 の生理学的意義
（Xiaona Feng，大野伸彦，曽我部隆彰，富永真琴）
TRP チャネルに対するモノテルペン化合物の作用の構造基盤
（Thi Hong Dung Nguyen，富永真琴）
マウスミクログリアの温度依存性運動への TRPV4 の関与
（西本れい，Sandra Derouiche，Aykut Deveci，加塩麻紀子，江藤　圭，鍋倉淳一，富永真琴）
蚊とマウスの唾液による TRPV1, TRPA1 の機能阻害
（Sandra Derouiche, Tianbang Li，富永真琴）
心循環シグナル研究部門 ･･････ 22
概　要
心臓の圧ストレス抵抗性における P2Y6 受容体の役割
（下田　翔，西村明幸，田中智弘，西田基宏）
心筋の交感神経刺激応答における TRPC6 チャネルの役割
（小田紗矢香，西村明幸，田中智弘，西田基宏）
Covid-19 重症化・後遺症発現における TRPC3-Nox2 の関与
（加藤百合，西山和宏， 西村明幸，西田基宏）
非アルコール性肝炎における TRPC3/6 チャネルの役割
（西山和宏， 田中智弘，西田基宏）
生殖・内分泌系発達機構研究部門 ･･････ 24
概　要
脂肪組織炎症反応に及ぼす視床下部腹内側核 SF1 ニューロンによる調節作
（Misbah Rashid，近藤邦生，中島健一朗，箕越靖彦，George Palfalvi）
エネルギー代謝を制御する新たな視床下部神経細胞の同定
（近藤邦生，中島健一朗，箕越靖彦）
シングル核 RNA 解析を用いた視床下部室傍核 CRH ニューロン群の解析
（菊地晶裕，近藤邦生，中島健一朗，箕越靖彦， 郷　康広）
超微形態研究部門 ･･････ 26
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

生体恒常性発達研究部門 ･･････ 28
概　要
In Vivo 多光子顕微鏡を用いた大脳皮質神経回路再編機構の解析
（堀内　浩，揚妻正和，Dennis Chung，和氣弘明，鍋倉淳一）
慢性疼痛モデルマウスにおける大脳皮質神経回路再編
（竹田育子，小泉修一，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 ･･････ 30
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）
マウス一次視覚野におけるコレシストキニン陽性介在細胞由来の抑制性シナプス結合の発達
（唐木智充，吉村由美子）
内因性カンナビノイドによる大脳皮質視覚野の層特異的な臨界期時期制御
（米田泰輔，高木正浩，吉村由美子）
一次視覚野神経細胞における脳状態に依存した視覚応答特性の変化
（呉　嘉豪，米田泰輔，吉村由美子）
バイオフォトニクス研究部門 ･･････ 31
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，三枝理博，戸田知得，江川　潔
二光子スピニングディスク共焦点顕微鏡の技術開発と生物学応用
（大友康平，中田開人，安宅光倫，堤　元佐，石井宏和，榎木亮介，根本知己，村田　隆，長谷部光泰，
中村咲耶，泉　正範，上原亮太，木村　暁，木村幸太郎，渡辺美咲，関本弘之，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
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）
深層学習を用いた三次元時系列画像から細胞自動検出・追跡
（山口和志，堤　元佐，大友康平，根本知己，Wen Chentao，木村幸太郎，山本　啓，青木一洋）
画像解析による新規超解像顕微鏡法 SRRF の二光子イメージングへの適用
（堤　元佐，髙橋泰伽，根本知己，小林健太郎）
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）
大脳神経回路論研究部門 ･･････ 35
概　要
ラットの前頭皮質における視床前外側核(VL)由来神経終末のシナプスターゲット構造
窪田芳之，江川尚美，北　啓子，江藤智子，孫　在隣，川口泰雄，倉本恵梨子）
皮質オシレーション活動による運動学習形成の制御
（大塚　岳，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）
スパイン―デンドライト空間における生体分子の反応拡散シミュレーション環境の開発
（浦久保秀俊，窪田芳之）

システム脳科学研究領域

認知行動発達機構研究部門 ･･････ 38
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）

遺伝子変異個体を対象とした自己と他者の動作情報処理の神経機構の解析
（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）
素材知覚における多感覚的知覚獲得の神経機構
（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 ･･････ 40
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－大脳基底核経路の情報伝達異常がパーキンソン病症状を引き起こす
（知見聡美，Woranan Wongmassang，高田昌彦，南部　篤）
大脳皮質から線条体への入力様式の解析
（佐野裕美，小林憲太，加藤成樹，小林和人，南部　篤）
抗パーキンソン病薬が L-DOPA 誘発性ジスキネジアに与える行動学的影響
（佐野裕美，南部　篤）
パーキンソン病モデルマウスを利用した L-DOPA 誘発性ジスキネジアの病態生理学的解析
（Dwi Wahyu Indrian，知見聡美，長谷川　拓，佐野裕美，南部　篤）
ジストニア様症状を示す変異マウスの筋活動の解析
（佐野裕美，吉岡　望，知見聡美，竹林浩秀，南部　篤）
大脳基底核の間接路が淡蒼球外節の神経活動に及ぼす影響の解析
（佐野裕美，Laura Andreoli，知見聡美，Angela Cenci Nilsson，南部　篤）
大脳基底核の直接路における KCNQ2 が神経活動に及ぼす影響の解析
（佐野裕美，坪井大輔，小林憲太，貝淵弘三，南部　篤）
マーモセット前頭皮質の機能マッピング
（纐纈大輔，南部　篤）
マカクザル視床下核の化学遺伝学的抑制による運動異常
（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 ･･････ 44
概　要
神経活動のゆらぎの機能的意義を理解する研究
（上原一将，萩原　淳，北城圭一）
脳卒中患者の脳波位相同期ネットワークの柔軟性と機能回復との関連
（岡崎由香，服部憲明，河野悌二，畠中めぐみ，宮井一郎，北城圭一）
脳波位相同期ネットワークの時系列推定と変化点検知
（横山　寛，北城圭一）
脳波パワースペクトルの個人特性の多様体学習手法による可視化
（末谷大道，北城圭一）
脳波ダイナミクスの準安定性と自閉症傾向の関連
（佐瀬　巧，北城圭一）
心理生理学研究部門 ･･････ 46
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）
MRI による社会活動と脳白質微細構造の関連解析
（福永雅喜，松本純弥，三浦健一郎，根本清貴，越山太輔，岡田直大，森田健太郎，渡邊嘉之，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）

内的な情報を他者と共有する神経基盤：Dual fMRI 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）
みつめあいと共同注意の神経基盤の関連性：Dual fMRI を用いた研究
（小池耕彦，土元翔平，小笠原香苗，橋口真帆，定藤規弘）
ひらめきに関係する神経基盤の解明：RAT 課題と RAVEN 課題を用いて
（小池耕彦，山本哲也，原田　勉，定藤規弘）
スムースな情報共有の学習に関連した神経基盤の解明：迷路ゲーム課題を用いて
（小池耕彦，角谷基文，定藤規弘）
映像に対する意見交換が映像視聴に与える影響の検討：Dual fMRI を用いて
（小池耕彦，Angela Zhang，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）
行動に随伴した社会的フィードバックの神経基盤：fMRI による検討
（中川恵理，角谷基文，小池耕彦，定藤規弘）
7 テスラ高分解能 fMRI の脳表面ベース解析における空間的歪み補正の定量評価
（山本哲也，福永雅喜，菅原　翔，濱野友希，定藤規弘）
両手指系列運動学習の動作特異的神経基盤の解明：7 テスラ fMRI
（濱野友希，菅原　翔，福永雅喜，定藤規弘）
二者間の社会的行動選択中の神経基盤：Dual fMRI を用いた研究
（土元翔平，小池耕彦，二宮太平，磯田昌岐，定藤規弘）
認知制御は一次運動野における GABA の局所変化を介して運動学習に影響する
（丸山修紀，福永雅喜，菅原　翔，濱野友希，山本哲也，定藤規弘）
社会的意思決定における 2HBT1 効果の神経基盤
（南條啓孝，小池耕彦，宮田紘平，定藤規弘）
日本の教科書は文章題を解くためにどんな図表が役立つと教えているか
（綾部宏明，定藤規弘，マナロ　エマニュエル，福田麻莉）
相談者の不安が軽減することの神経基盤の検討
（橋口真帆，小池耕彦，定藤規弘）
時間の長さを知覚することの正確さに関連する神経活動の検討
（橋口真帆，小池耕彦，Denis Le Bihan，定藤規弘）
心理的プレッシャーが運動制御に与える影響の検討
（小笠原香苗，小池耕彦，定藤規弘）

個別研究

個別研究（大橋研究室）……………………………………………………………… 54
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（山肩研究室）……………………………………………………………… 54
概　要
加齢と手がかり記憶，海馬依存性記憶
（山肩葉子，柳川右千夫，井本敬二）
個別研究（佐竹研究室）……………………………………………………………… 55
概　要
Roscovitine がシナプス小胞体の多重性放出を亢進する作用の分子的基盤
（佐竹伸一郎）
小脳登上線維-プルキンエ細胞間シナプスにおいて記録されるグルタミン酸輸送体電流の性質
（佐竹伸一郎）

研究連携センター

研究連携センター……………………………………………………………… 57
概　要

共同利用研究推進室 ····· 57
概　要
学術研究支援室 ····· 58
概　要
NBR 事業推進室 ····· 58
概　要

脳機能計測・支援センター

形態情報解析室 ····· 60
概　要
ノロウイルスの感染型への構造変化をクライオ電子顕微鏡で解析
（ソン チホン，村田和義， 片山和彦）
真核生物誕生の鍵を握る微生物「アーキア」の構造をクライオ電子顕微鏡で観察
（ソン チホン，村田和義， 井町寛之）
多光子顕微鏡室 ····· 61
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，植田大海，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）
新規レーザーによる 3/4 光子顕微鏡の開発
（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）
光応答性 CaMKII 分子を用いた海馬神経細胞におけるメタ可塑性メカニズムの解明
（植田大海，佐藤愛子，恩田麻紀，村越秀治）
生体機能情報解析室 ····· 63
概　要
領域間推定法を用いたトップダウン・ボトムアップシグナルの除去
（Pham Quang Trung，西山翔大，定藤規弘，近添淳一）
認知機能の時系列的活動レベル推定
（小山雄太郎，平山淳一郎，地村弘二，定藤規弘，近添淳一）
The neural basis of sensory perception-to-value transformation: A combinatory study of fMRI and artificial neural network
（Trung Quang Pham，Takaaki Yoshimoto，Haruki Niwa，Haruka K Takahashi，Ryutaro Uchiyama，Teppei Matsui，Adam K Anderson,，Norihiro 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 ····· 65
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）
細胞内シグナル伝達分子の活性操作による新しいパーキンソン病治療法の探索
（小林憲太，佐野裕美，貝淵弘三，南部　篤）
遺伝子改変動物作製室 ····· 66
概　要
Prdm14 欠損ラット胚盤胞の多能性幹細胞での補完による遺伝子改変ラットの効率的作製
（小林俊寛，平林真澄）
代謝生理解析室 ····· 66
概　要

円形温度グラジエント装置によるマウス温度嗜好性解析
（笹島沙知子，　宇治澤知代，富永真琴）
長引く痒みに関係するアストロサイトの活性化メカニズム
（津田　誠，白鳥美穂，西田基宏）
視床下部カナビノイド受容体の発現レベルに及ぼす高脂肪食とニコチン摂取の相互作用
（Tingting Guo，田中智洋，　中尾一和，箕越靖彦）
パーキンソン病の病態生理の解析
（知見聡美，佐野裕美，南部　篤，　笹岡俊邦，齊藤奈英）

動物資源共同利用研究センター ····· 69
概　要
管理運営
研　究
教　育
社会貢献

技術課 ····· 73
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（生体機能情報解析室）
（髙橋直樹，犬塚小百）
(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，竹市裕介）
(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，高橋伸明）

分子細胞生理研究領域

神経機能素子研究部門

【概要】

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

今年度，これまでに引き続き，神経機能素子の変異体やキメラ分子の作成，tag の付加，非天然蛍光アミノ酸の導入等を進め，卵母細胞，HEK293T 細胞等の遺伝子発現系における機能発現の再構成を行った。また，2 電極膜電位固定法，パッチクランプ等の電気生理学的手法，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 の膜電位依存的動的構造変化の，膜電位固定下蛍光測光法による解析

Rizki Tsari Andriani，久保義弘

P2X2 は細胞外 ATP によって活性化される 2 回膜貫通型サブユニットの 3 量体で構成される非選択性陽イオンチャネルである。我々は，これまでに，P2X2 が，分子内に典型的な膜電位センサーを有しないにも関わらず，膜電位に依存するゲーティングを示すことを見出したが，その膜電位感知機構は未解決であった。本研究においては，ツメガエル卵母細胞を発現系として用い，膜電位固定下蛍光測光法（VCF）により ATP と膜電位に依存する動的構造変化の光学的検出を試みた。P2X2 の蛍光ラベルは，いかなる部域にも特異的に高効率で導入可能な蛍光非天然アミノ酸 Anap を取り込ませることにより行った。P2X2 内の 96 カ所に 1 箇所ずつ Anap を導入して VCF 解析を行ったところ，膜電位依存的変化は，第 2 膜貫通部位の Ala337 と Ile341 でのみ観察された。その変化は，極めて速いキネティクスを示し，また，膜電位変化に追随してリニアに変化したため，膜電位依存的ゲーティングに伴う P2X2 の構造変化というより，膜電位変化そのものを反映するものと考えられた。この結果は，Anap の electrochromic effect により膜電位依存的な蛍光強度の変化が起きていると解釈され，Ala 337 の位置に電場が強く集約していることを示す。さらに，膜電位依存的ゲーティングを際立たせる K308R 変異を付加した変異体 K308R & Ala337Anap を解析したところ，上述の速い成分に加え，電流の活性化に随伴する，キネティクスが遅く膜電位依存性を示す成分が観察された。この変化は，P2X2 の膜電位依存的活性化に伴う構造変化を反映するものと考えられた。構造解析の結果から，ATP 結合に伴い，第 1 膜貫通部位の Phe44 が Ala337 の近傍に動き入ることが知られているため，ATP 存在下で Ala337 と Phe44 の相互作用が想定された。そこで，種々の変異体を用いた機能解析を行ったところ，ATP 存在下での Ala337 と Phe44 の相互作用が膜電位依存的ゲーティングに重要な役割を果たしていることが明らかになった。以上より，電場が集約する Ala337 の位置における Ala337 と Phe44 の相互作用が P2X2 の膜電位依存的ゲーティングの基盤であることが結論された。

GIRK チャネルの変異による異常なイオン選択性の発生の新規機構の解明

陳　以珊（I-Shan Chen），久保義弘

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役割を果たす分子である。GIRK チャネルの遺伝子変異による異常なイオン選択性は，過剰な Na^+ と Ca^{2+} の流入による細胞死を引き起こす。このような GIRK チャネルのミスセンス変異によるイオン調節機能の障害は, Keppen-Lubinsky 症候群や原発性アルドステロン症等先天性疾患の原因である。これまでの研究では，GIRK チャネルの変異体のホモロジーモデルを用いてイオン選択性フィルター（SF）の構造変化を予測し，変異により K^+ と SF の結合の安定性が乱れ，異常なイオン選択性に繋がることが推察されているが，この仮説を実証するデータは提示されていない。本研究では, GIRK2 チャネルの SF の G156S 変異体，ポアヘリックスの L173R 変異体等の異常なイオン選択性を示す変異体の，種々の 1 価陽イオンの K^+ に対する選択性を，アフリカツメガエル卵母細胞を発現系として用い 2 電極固定法により電気生理学的に解析した。その結果，G156S 変異体は, K^+ に比して, Li^+ と Na^+ と Methyl- ammonium に対する選択性が高く，L173R 変異体は Rb^+ と Cs^+ に対する選択性が高いことが明らかとなった。また，SF の構築するイオン透過路のブロッカーである Ba^{2+} や TPN-Q の投与により，G156S 変異体のイオン選択性が変わり，L173R 変異体のイオン選択性は変化しないことが観察された。これらの結果から，G156S の変異により，L173R 変異体とは異なる構造変化が起こり，通常の SF の構築するイオン透過路とは異なるイオン選択性を持つ，第二のイオン透過路が新たに形成された可能性が示唆された。本研究により，従来と全く異なる解釈である「新規イオン通過路の形成による異常なイオン選択性の発生」の可能性が示唆された。

THIK チャネルの活性を制御する遠位 C 末端両域の同定

立山充博，久保義弘

THIK チャネルは, 2 ポア型カリウムチャネルファミリーに属し, 4 つの膜貫通部位と 2 つのポア領域を有する。THIK チャネルには，THIK-1 と THIK-2 のサブタイプが存在するが，両者ともに Gi/o および Gq 共役型受容体（Gi/o-R および Gq-R）により活性化されることを，我々は見出した。一方，THIK-1 チャネルにおいて，中位 C 末端領域でのペプチド切断によりコンダクタンスが増加することや遠位 C 末端領域が Gi/o-R の作用に必須であることが報告されていた。そこで，本研究では，チャネル C 末端領域に着目し Gi/o-R および Gq-R 依存的活性化に関わる領域の同定を目指した。異なる長さで C 末端を削除した THIK チャネルコンストラクトを複数作製し，その機能解析を行ったところ，遠位 C 末端の 10 アミノ酸残基の削除により基礎電流量が増加すること, Gq-R の作用が減弱することが明らかとなった。さらに，THIK-1 チャネルの L398A 変異体および THIK-2 チャネルの L423A 変異体でも同様な結果が得られた。以上により，遠位 C 末端領域がチャネルの基礎活性および Gq-R 依存的活性化に重要な役割を持つことが示された。

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，山本友美，久保義弘

Two-pore Na^+ channel (TPC) は，膜電位依存性カチオンチャネルファミリーに共通する基本単位を同一分子中に 2 つ有する（ドメイン I，II）という，特徴的な分子構造を持つ。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（DII-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，Cd^{2+} を投与することによる膜電位依存性への影響を調べた。一般に膜電位依存性カチオンチャネルにおいて，S4 ヘリックスに導入されたシステイン変異は，他のヘリックス上に存在する内在性の負電荷とともに Cd^{2+}結合サイトを形成することが知られており，これにより膜電位変化によって S4 が他のヘリックスにどのように近接するかという構造変化の知見が得られる。DII-S4 の各残基をシステインで置換し Cd^{2+} を加えたところ，導入位置依存的にチャネル全体の膜電位依存性に異なる影響があることがわかった。これらのシステイン変異に，内在性の負電荷を中性化する変異を組みわせたところ，D511C や F514C などのいくつかの変異体では，システイン変異のみでは観察された電位依存性の変化が消失した。この結果は，Asp511 や Phe514 が，開状態あるいは閉状態において内在性の負電荷と近接するような位置に DII-S4 があることを示している。複数のシステイン変異体の解析結果から，DII-S4 の開状態・閉状態における構造変化様式を予測したところ，その動きは古典的な膜電位依存性 K^+ チャネルの S4 の動きとは大きく異なることが示唆された。以上の結果は，TPC3 における DII-S4 のユニークな動きを示唆するものである。

ホスホイノシチドによる 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 の構造がどのように制御されるのかを明らかにすることを目的とした。まず，2nd S4 の細胞外領域にシステイン（Cys）変異を導入し，ツメガエル卵母細胞に強制発現させて二電極膜電位固定法により解析した。細胞外液中に添加した Cys 修飾試薬 MTSES の，導入 Cys に対するアクセシビリティを，PI 存在下と非存在下で比較すると，PI 存在下の方が 2nd S4 の細胞外領域が外液中に露出していることが分かった。また Voltage Clamp Fluorometry 法により，2nd S4 の N 末端領域と C 末端領域のそれぞれを蛍光ラベルした TPC3 を解析し，蛍光強度変化をもとに 2nd S4 の構造変化を捉えた。その結果，PI 存在下の方が非存在下に比べ，2nd S4 の電位依存的な構造変化が起こりやすいことが分かった。これらの結果から 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が明らかになった。

多機能タンパク質 Sigma-1 受容体の，膜タンパク質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。また，Sigma-1R は，PM 上の 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，膜タンパク質の発現や機能に対する Sigma-1R の共発現の作用を解析し，またその作用の構造基盤を明らかにすることを目的とする。これまでに，まず，ツメガエル卵母細胞を発現系として，種々の膜電位依存性 K^+ チャネルの電流量に対する Sigma-1R の共発現の作用を電気生理学的に解析した。しかし，Sigma-1R の発現を大過剰にしなければ効果が観察されず，またバッチごとに大きく結果がばらついたことから，確実な結論を得ることはできなかった。卵母細胞発現系が，PM と ERM が近接していない等の理由により，Sigma-1R の作用を解析するのに不向きである可能性が想定されたため，発現系を HEK293T 細胞にシフトし，パッチクランプ法による電気生理学的解析を開始した。Gi/o 結合型受容体の機能に対する Sigma-1R 共発現の作用を，エフェクターである GIRK1/2 チャネルの電流を指標として解析したところ，ムスカリニック受容体 2 型（m2R）の機能が顕著に抑制されることを見出した。同じ Gi/o 結合型の m4R, mGluR2, D2R では抑制効果が観察されず，m2R に特異的な効果であることが示された。今後，m2R と m4R のキメラ分子の機能解析等により，Sigma-1R の m2R に対する抑制作用の構造基盤と作用機構の解明を目指す。

細菌由来の膜電位依存性 Ca^{2+} チャネルの同定

下村拓史，立山充博
入江克雅，米川佳樹，名倉　仁，藤吉好則（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）

膜電位依存性 Ca^{2+} チャネル（Cav）は，膜の電位変化と細胞内 Ca^{2+} シグナルを結びつける生理的に重要な分子である。真核生物の Cav は 6 本の膜貫通ヘリックスを基本単位とし，それらが 4 回繰り返された 24 回膜貫通型の複雑な分子構造を有する。進化的には，もともと基本単位のみからなる Cav が存在し，2 回の遺伝子重複を経て連結され今のような構造になったものと考えられる。細菌やアーキアなどにおいてはこのような祖先型の特徴を保持した Cav が存在するものと長らく期待されているが，これまで未同定であり，電位依存性イオンチャネルの進化を考える上でのミッシングリンクとなっていた。我々は，細菌ゲノムデータベース上で，既存の Cav と相同性を有するアミノ酸配列を探索し，哺乳類培養細胞にそれらを発現され，チャネル活性を測定するスクリーニングを行った。その結果，好熱菌 *Meiothermus ruber* より，高い Ca^{2+} 選択性を有する原核生物 Cav（CavMr）を初めて同定することに成功した。興味深いことに，Cav においてイオン選択性を決定する選択性フィルターの配列を哺乳類の Cav と比較したところ，CavMr の配列は，ヒトを含む哺乳類 Cav のリピート I および III の配列に類似していることがわかった。特に，選択性フィルターの 4 位のグリシン残基が特徴的であるが，CavMr においてこのグリシン残基を変異させたところ Ca^{2+} 選択性が大きく損なわれた。この結果は，Cav において原核生物からヒトにまで高度に保存された Ca^{2+} 選択機構の存在を示唆するものである。

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。

LGI1-ADAM22-MAGUK 複合体によるナノカラムの配列制御とシナプス伝達制御の解明

深田優子，平野瑶子，稲橋宏樹，深田正紀
南部　篤，知見聡美（生体システム研究部門）
平林真澄，三宝　誠，後藤哲平（遺伝子改変動物作製室）
深井周也（京都大学）
Roger Nicoll（カリフォルニア大学サンフランシスコ校，米国）

最近，シナプス前部と後部の内部に，さらに小さい領域（ナノドメイン）が存在し，これらナノドメインの対面整列によって，効率のよい情報伝達が可能となることが提唱されている（シナプス・ナノカラム説）。しかし，どのような分子がシナプス間の整列調整を担っているか，そして，その破綻が脳機能に与える影響に関して不明であった。我々は LGI1–ADAM22 に結合する蛋白質を免疫沈降法を用いて網羅的に調べ，プレシナプス，ポストシナプスの複数の蛋白質を同定した。そして，脳組織切片の免疫組織染色によって，これら蛋白質がシナプスを跨いで複合体を形成していることを明らかにした。このトランスシナプス複合体の生理的意義を調べるため，PSD-95 との結合能を欠損させた ADAM22 変異マウスを作製した（平林グループとの共同研究）。そして，そのマウスが自発的なてんかん脳波を発出し，致死的な痙攣発作を示すことを見出した（南部グループとの共同研究）。さらに，このマウスの海馬スライスの電気生理学的実験によって，興奮性シナプス伝達が減弱することを明らかにした（Nicoll グループとの共同研究）。一方，ヒトでてんかんを引き起こす ADAM22 のある変異体が PSD-95 に結合できないことを見出した。以上の結果から，LGI1–ADAM22–MAGUK 複合体がナノカラム構造形成を制御し，その破綻がてんかんを引き起こすことを明らかにした。

（Fukata Y et al. Proc Natl Acad Sci USA 2021, 118: e2022580118）

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
平林真澄，三宝　誠，後藤哲平（遺伝子改変動物作製室）

てんかんはおよそ 1 %の人が罹患する脳神経疾患で，現在用いられている抗てんかん薬に対して難治性のてんかんも知られており，新たな作用点をもつてんかん薬の開発が求められている。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，LGI1–ADAM22 複合体が減少すると，てんかんが引き起こされることを報告してきた。本研究では LGI1–ADAM22 複合体を安定化する分子機構を明らかにし，新たなてんかん治療戦略を見出すことを目指した。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マウスを作製したところ（平林グループとの共同研究），このノックインマウス脳内で ADAM22 と LGI1 の蛋白質量が減少していることを見出した。そして，ADAM22 のリン酸化依存的な蛋白質間相互作用が ADAM22 を細胞内で安定化していることを突き止めた。2020 年度は，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系統群を作製し，その痙攣感受性の評価を進めた。

知的障害と関連する脳内分泌蛋白質 LGI3 の性状解析

宮﨑裕理，深田優子，深田正紀
平林真澄，三宝　誠（遺伝子改変動物作製室）

LGI ファミリー蛋白質（LGI1～4）は，中枢及び末梢神経系に発現する分泌蛋白質であり，LGI ファミリー遺伝子変異は，てんかん（LGI1，LGI2 機能異常）や末梢神経髄鞘低形成（LGI4 機能異常）などの神経疾患を引き起こすことが知られている。また，近年のヒト遺伝学的研究によって, LGI3 遺伝子変異と遺伝性の知的障害発症の関連性が報告され, LGI3 が脳の高次機能に重要な役割を果たす可能性が示された。しかしながら，LGI3 の生理機能は十分に理解されておらず，特に LGI3 の脳内発現，細胞内分布，結合蛋白質（受容体）等については未だ不明である。そこで本研究では，LGI3 の生理機能を明らかにし, LGI3 機能不全が脳の機能異常を引き起こす機序を解明することを目指した。我々は LGI3 の性状解析を目的に, LGI3 遺伝子にエピトープタグを付加したノックインマウスを作製した（平林グループとの共同研究）。2020 年度は，このノックインマウスを用いた LGI3 の脳内発現分布解析を進めた。

PSD-95 の脱パルミトイル化酵素 ABHD17 の性状解析

江川孝彦，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，ABHD17 に相互作用する分子の探索を行った。2020 年度は新たに見出した ABHD17 相互作用分子のパルミトイル化修飾の解析を進めた。

自閉症関連蛋白質 Neuroligin3 による新規のシナプス誘導と社会調節機構

吉田知之（富山大学）
深田優子，深田正紀

Neuroligin3 はシナプス後部の膜蛋白質であり，シナプス前部の Neurexin (Nrx) と結合し，シナプス形成を担うことが知られている。NLGN3 遺伝子に生じる様々な変異が自閉症の発病に関連することが知られており，社会性発達の鍵分子と考えられているが，その分子機能については不明な点が多い。今回，吉田知之博士（富山大学）との共同研究にて，シナプス前部の受容体脱リン酸化酵素 PTPδ のインタラクトーム解析を行い，NLGN3 を PTPδ の結合蛋白質として見出した。さらに，吉田博士らにより，NLGN3 と PTPδ の結合欠損がマウスの社会性行動を減少させる一方で，NLGN3 と Nrx との結合欠損が逆に社会性行動を増加させることが示された。このことから，NLG3 が PTPδ と Nrx の結合を介して，双方向に社会性行動の発達を調整している可能性が示唆された。

（Yoshida T et al. Nat Commun 2021, 12:1848）

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，辺縁系脳炎患者の B 細胞から複数の LGI1 モノクロナール抗体を単離し，それらの特異性と性状解析を進めた。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させることを見出した。

（Kornau HC et al. Ann Neurol 2020, 87, 405-4）

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[7,8]。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
8. Kaneko et al., *Mol Brain* (2020) **13**: 98.

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

成体脳の側脳室周囲組織である脳室下帯では，持続的に新生ニューロンが産生されている。産生された新生ニューロンは，お互いに接着して鎖状の細胞塊を形成し，目的地に向かって高速で移動する。また，脳傷害時には傷害部位へ新生ニューロンが移動するが，この移動過程でも鎖状の細胞塊が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，新生ニューロンは適切な場所で移動を停止させ，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，新生ニューロン間の接着様式の微細形態を解析した。また，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解析した。さらに，新生ニューロンが移動を停止した後にシナプスを形成する際の，ミクログリアと新生ニューロンの相互作用について，形態学的特徴を解析した。これらの解析から，成体脳における新生ニューロンの移動・分化と接着制御の関係が明らかになった。

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

荻野　崇，澤田雅人，澤本和延

成体嗅球では，脳室下帯で産生された新生ニューロンが神経回路へ組み込まれる一方，古い嗅球ニューロンは細胞死により除去されている。このようにニューロンが常に入れ替わることで，嗅球の神経回路の維持および再編成が生じ，嗅覚機能が保たれている。我々は，生体恒常性発達研究部門との計画共同研究により，多光子顕微鏡を用いた嗅球ニューロンの長期生体イメージング法を確立し，ニューロン再生過程における嗅覚入力の役割を明らかにした。しかし，ニューロン再生と周囲の微小環境との関係およびその制御機構はいまだ解明されていない。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およ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およびミクログリアの動態を観察し，ニューロン再生との関係を解析している。本年度は，嗅球において長期間血流制御を行う実験系を確立した。また，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が果たす役割を解析した。これらの結果から，ニューロン再生における血流とミクログリアの役割が明らかとなることが期待される。

生体機能調節研究領域

細胞構造研究部門

【概要】

体の様々な器官を構成する上皮は，二つの空間を隔てつつ選択的な物質輸送を行うことにより各器官の液性環境の恒常性を維持している。細胞構造研究部門では，この上皮の本質的な役割に寄与する上皮のバリア機能と透過性制御のしくみを理解するために，細胞間隙における物質透過を制御する細胞間結合の分子構築と機能の解明を進めている。研究の対象はタイトジャンクション（密着結合），３つの上皮細胞の角が接する部分に形成されるトリセルラータイトジャンクション（tTJ), 腸管上皮のバリア機能をショウジョウバエモデルで研究するためのセプテートジャンクション(SJ)である。研究グループで同定してきた細胞間結合の構成分子の機能解析を中心に，分子細胞生物学，遺伝学，電子顕微鏡形態学と生理学的手法を組み合わせて研究を行っている。2020 年度は tTJ の形成機構の解明について進展があった。tTJ の構成分子である 2 種の膜タンパク質アンギュリンとトリセルリンのうち，アンギュリンが tTJ 形成と上皮バリア機能に中心的な役割を果たすことがはじめて明らかになった。さらにアンギュリンが tTJ に集積するメカニズムに関するモデルを提唱した。研究室構成員に入れ替わりがあり，菅原太一特任助教が 2020 年 3 月に転出, 後任として藤原佐知子特任助教が 10 月に着任した。また，総研大生理科学専攻の大学院生として長澤有祐が研究室に参加した。

トリセルラータイトジャンクション形成の分子機構

菅原太一，古瀬幹夫

トリセルラータイトジャンクション（tTJ）は 3 つの上皮細胞が接する領域（3 細胞結合）の細胞間隙を閉鎖する細胞間結合で，上皮の十分なバリア機能に必要であるが，その形成機構には不明な点が多い。我々は，培養上皮細胞である MDCKII から tTJ の膜タンパク質アンギュリン-1 を欠失させると tTJ 形成が不完全となり，細胞シートのバリア機能が低下することを見出していた。そこで，この影響が，アンギュリン−1 との相互作用によって tTJ にリクルートされる膜タンパク質トリセルリンを介するか否かを調べた。トリセルリンを欠失させた細胞を樹立して解析したところ，凍結割断レプリカ法で観察される tTJ の形態にわずかな異常が生じるものの，3 細胞結合は閉鎖したままであり，細胞シートのバリア機能も正常であった。このことから，tTJ 形成と上皮バリア機能において，tTJ の 2 種の膜タンパク質のうち, アンギュリンファミリーが主要な役割を果たすことが明らかになった。

トリセルラータイトジャンクション構成分子の集積機構

菅原太一，小田裕香子（京都大学），深田優子（生体膜研究部門），深田正紀（生体膜研究部門），古瀬幹夫

トリセルラータイトジャンクション（tTJ）形成の仕組みを理解するためには tTJ の膜タンパク質アンギュリン 1 の局在化機構を解明する必要がある。私たちは，生体膜研究部門との共同研究により，tTJ の膜タンパク質アンギュリン 1 が 3 細胞結合領域（TC)に集積するには細胞質領域の高度なパルミトイル化修飾が必要であることを明らかにしていた。今回，アンギュリン 1 の細胞外ドメインの複数のアイソフォームの動態の解析から，ア

ンギュリン 1 の tTJ への局在化には，パルミトイル化だけでは不十分であり，細胞外領域も重要であることを明らかにした。さらに，細胞膜からのコレステロールを除去するとアンギュリン 1 の局在化が阻害された。以上より，アンギュリン 1 は，高度にパルミトイル化された細胞質ドメインが TC のコレステロール依存膜ドメインに親和性をもつこと，細胞外領域がホモフィリックな弱い接着性を発揮することの両方を利用して TC 特異的に集積するというモデルを提唱した。

（Oda et al., *J. Biol. Chem.*, 295:4289-4302, 2020）

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。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。定量的な解析を行った結果，クローディン・JAM-A 欠損細胞においては細胞の伸展が一定の閾値を超えた際に細胞間接着が破断することが観察された。一方で，正常細胞が同程度の伸展刺激に晒されても細胞間接着構造は保たれた。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。

ショウジョウバエ消化管上皮の細胞間隙バリア形成と幹細胞制御に関わる新規膜タンパク質の同定

泉　裕士，古瀬幹夫

セプテートジャンクション（SJ）は，ショウジョウバエ上皮の細胞間隙バリア機能を担う細胞間接着装置である。私たちは，ショウジョウバエ消化管の新規 SJ 構成膜タンパク質として Hoka を同定した。Hoka の変異体は幼虫期で致死であったため，個体の発生に必須な分子であることが分かった。また，Hoka は他の SJ 構成分子 Ssk, Mesh, Tsp2A と分子複合体を形成し，協調して SJ の形成に関わることを明らかにした。さらに，成虫の消化管で Hoka の発現を抑制したところ，上皮バリア機能の低下と共に，幹細胞の著しい増殖亢進が観察された。また，そのような幹細胞では，増殖に関与する Ras-MAP キナーゼ,Jak-STAT 経路が活性化していた。これらの結果より，Hoka はショウジョウバエ消化管上皮の SJ 形成とバリア機能に必須であり，成虫消化管においては幹細胞の増殖を制御していることが明らかになった。

細胞生理研究部門

【概要】

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

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

マウス食道上皮細胞の創傷治癒過程への TRPV4 の関与

Ammar Boudaka，齋藤くれあ，富永真琴

TRPV4 チャネルは広く上皮細胞に発現して温かい温度刺激や機械刺激で活性化し，食道上皮細胞では ATP 放出に関わることが知られている。そこで，食道上皮損傷からの治癒過程への TRPV4 の関与を検討した。Wound healing assay での単離食道上皮細胞の運動（scratch で除去した gap の closure）は，TRPV4 欠損細胞で有意に促進し，外部からの TRPV4 強制発現で有意に抑制された。細胞周期解析で，TRPV4 欠損細胞は G0/G1 期の細胞が少なく，S 期の細胞が多く，TRPV4 が細胞増殖に影響を与えていると推測された。培養ディッシュを揺らす機械刺激を加えたところ，gap closure は小さくなったことから，TRPV4 の活性化が gap closure を抑制させたと考えられ，TRPV4 欠損細胞の結果と一致した。NPPB 処理によって ATP 放出を刺激すると gap closure は抑制された。外からの ATP 投与は濃度依存的に gap closure を抑制し，adenosine も濃度依存的に gap closute を抑制した。さらなる解析によって，adenosine は A_{2B} adenosine 受容体に作用していることが分かった。これらの結果から，食道上皮細胞は TRPV4 によって機械刺激を感知し，放出された ATP が分解して生じた adenosine が A_{2B} adenosine 受容体に作用して gap closure（損傷からの回復）を抑制していることが明らかになった。

1) Boudaka A, Saito C.T., Tominaga M. Deletion of TRPV4 enhances *in vitro* wound healing of murine esophageal keratinocytes. Sci. Rep. 10: 11349, 2020.

マウス非髄鞘化シュワン細胞での TRPV4 の生理学的意義

Xiaona Feng，大野伸彦，曽我部隆彰，富永真琴

マウスシュワン細胞での TRP チャネルの発現を解析したところ，TRPV4 遺伝子及び蛋白質の発現を確認し，Ca-imaging 法，パッチクランプ法で TRPV4 の機能的発現も観察した。ミエリン関連タンパク質の発現や電子顕微鏡での髄鞘形成の検討では，野生型マウスと TRPV4 欠損マウスで差はなく，TRPV4 は正常な髄鞘形成に関与しないと考えられた。ところが，坐骨神経切断モデルを作成すると，損傷 2 日目から TRPV4 の発現が増大した。免疫染色法により，髄鞘化シュワン細胞ではなく，非髄鞘化シュワン細胞で TRPV4 が発現していた。また，髄鞘への ex-vivo パッチクランプ法による解析で，損傷モデルでのみ TRPV4 活性化による電流応答を観察した。これらのことから，坐骨神経損傷で非髄鞘化シュワン細胞が増加したことで TRPV4 の発現増加が起こったと解釈した。坐骨神経損傷後の後肢の回復は TRPV4 欠損マウスで遅く，電子顕微鏡での解析でも TRPV4 欠損マウス

で髄鞘が有意に薄いことが分かった。

これらのことから，正常ではマウスシュワン細胞に TRPV4 は発現しないが，損傷によって非髄鞘化細胞に TRPV4 発現が誘導され，その TRPV4 は再髄鞘化と末梢神経機能回復に関与していることが明らかになった。

1) Feng X, Takayama Y, Ohno N, Kanda H, Dai Y, Sokabe T, Tominaga M. Increased TRPV4 expression in non-myelinating Schwann cells is associated with demyelination after sciatic nerve injury. Comms. Biol. 3 (1): 716, 2020.

TRP チャネルに対するモノテルペン化合物の作用の構造基盤

Thi Hong Dung Nguyen，富永真琴

モノテルペンはイソプレン単位 2 個からなる C10 化合物であり，代表的なものに menthol がある。menthol は TRPM8 の代表的な刺激化合物だが，TRPV3, TRPA1 も活性化することが知られている。メントールの TRPM8, TRPA1 への作用アミノ酸は同定されているが，TRPV3 の結合サイトは明らかでない。第 4，第 5 膜貫通ドメインのリンカードメインに着目した。マウス TRPV3 (mTRPV3) の G573S 変異体では menthol や別のモノテルペンである camphor に対する感受性が消失したが, R567K 変異体では menthol 感受性はなかったものの camphor によっては活性化した。この 2 つのアミノ酸はラット TRPV1 (rTRPV1)で保存されており，rTRPV1 は menthol で活性化したが，G563S 変異体と R557K 変異体は menthol や camphor に対する感受性を失った。mTRPV3, rTRPV1 でモノテルペン感受性に対する関与が異なることが分かったが，これは mTRPV3 の R567 の正電荷が関わることが明らかになった。

分子動力学シミュレーションでは，mTRPV3 の R567 が menthol や camphor との結合に関与することが分かった。G573 はチャネルのゲーティングに関与するものと推察された。

（生命創成探究センター 奥村久士博士，伊藤 暁博士との共同研究）

1) Nguyem THD, Itoh GS, Okumura H, Tominaga M. Structural basis for promiscuous action of monoterpenes on TRP channels. Comms, Biol. 4 (1): 293, 2021.

マウスミクログリアの温度依存性運動への TRPV4 の関与

西本れい，Sandra Derouiche，Aykut Deveci，加塩麻紀子，江藤　圭，鍋倉淳一，富永真琴

ミクログリアは中枢神経系グリア細胞の一つで，中枢の免疫担当細胞として知られ，中枢神経系に存在する常在性マクロファージとも呼ばれる。ミクログリアは細長い突起を有し，それをダイナミックに動かし，シナプスや軸索等に接触させてその機能を監視・調整している。単離したマウスミクログリアの運動が培養温度依存性であることが明らかとなった。マウスミクログリアに発現する温度感受性 TRP チャネルを解析し，TRPV4, TRPM2, TRPM4 が機能的に発現していることが明らかになり, 中でも TRPV4 の関与が最も推測された。TRPV4 欠損ミクログリアは, 37 度と 40 度での運動に差がなく，TRPV4 の刺激薬 GSK1016790A も運動を増強させた。マウスの脳でのミクログリアを二光子顕微鏡を用いて in vivo 観察すると，細胞体の運動に温度依存性はなかったが, 突起の運動に有意な温度依存性があり, 32 度から 37 度への温度変化で増強した。この温度依存的な変化は TRPV4 欠損マウスで消失した。これらのことから，主に TRPV4 がミクログリアの温度依存性運動に関与することが明らかとなり, TRPV4 を標的とした治療薬開発が期待される。

（生理学研究所 鍋倉淳一博士, 江藤 圭博士との共同研究）

1) Nishimoto R, Derouiche S, Eto K, Deveci A, Kashio M, Kimori Y, Matsuoka Y, Morimatsu H, Nabekura J, Tominaga M. Thermosensitive TRPV4 channels mediate temperature-dependent microglia movement. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 118 (17): e2012894118, 2021.

蚊とマウスの唾液による TRPV1, TRPA1 の機能阻害

Sandra Derouiche, Tianbang Li, 富永真琴

私たちは蚊に刺されても痛みを感じず，後に痒くなって気付くことが多い。蚊の口針が細いことによると理解されているが，蚊の唾液に鎮痛効果があるのではないかと考えた。ラット後肢を機械刺激して生じる脊髄神経の発火はマウス唾液で有意に抑制された。HEK293 細胞に発現させたヒト TRPV1, TRPA1 のそれぞれカプサイシン，シトロネラによる活性化電流を蚊唾液は濃度依存的に抑制した。この現象は蚊唾液に限ったことではなく，マウス唾液もマウス TRPV1, TRPA1 電流を抑制した。蚊唾液を 95 度 20 分間熱処理したところ，TRPV1, TRPA1 電流の抑制効果は有意に減弱したことから，蚊唾液に含まれる蛋白質成分が TRPV1, TRPA1 機能を阻害していると考えられた。ラット唾液に含まれるシアロルフィンに鎮痛効果があることが報告されていたので，シアロルフィンの効果を検討したところ，濃度依存的に TRPV1, TRPA1 電流を抑制した。よって，シアロルフィンは蚊唾液に含まれる TRPV1, TRPA1 機能阻害成分の有力な候補だと考えられた。マウスから単離した感覚神経の TRPV1, TRPA1 活性を蚊唾液やシアロルフィンが阻害することを確認した。最後に，カプサイシンやアリルイソチオシアネートをマウス後肢に投与して観察される痛み関連行動を蚊唾液やシアロルフィンは抑制した。多くの動物は傷口を舐めるが，その理由の一つは唾液による TRPV1, TRPA1 機能阻害によって鎮痛を期待しているからかもしれない。

（関西大学 青柳誠司博士，富山大学 歌大介博士との共同研究）

1) Derouiche S, Li T, Sakai Y, Uta D, Aoyagi S, Tominaga M. Inhibition of TRPV1 and TRPA1 by mosquito and mouse saliva. Pain (in press)

心循環シグナル研究部門

【概要】

全身の血液循環恒常性は，心筋・平滑筋・骨格筋などの筋肉細胞によって支えられている。当部門では，筋肉の柔軟性や老化を制御する分子機構を病態特異的なタンパク質間相互作用の視点から明らかにし，それを基軸に健康長寿につながる創薬戦略の構築を目指した研究を行っている。今年度は，これまで心臓の線維化に関与することを見出してきたプリン作動性 P2Y6 受容体に着目した研究を行い，P2Y6 受容体の発現量が心臓の圧負荷に対する抵抗力を制御することを明らかにした。さらに，心筋細胞において受容体作動性 TRPC6 チャネルがアドレナリン受容体と機能的に共役していることを同定し，交感神経刺激応答性における TRPC3/6 チャネルの新たな生理機能を明らかにした。また，当部門がこれまでに見出してきた TRPC3-Nox2 複合体が Covid-19 重症化・後遺症発現に関与することを見出した。以下に各課題の概要を示す。

心臓の圧ストレス抵抗性における P2Y6 受容体の役割

下田　翔，西村明幸，田中智弘，西田基宏

プリン作動性 P2Y6 受容体は UDP を内因性リガンドとし，マクロファージやミクログリアの貪食・遊走を制御する GPCR として知られている。当部門は P2Y6 受容体が加齢高血圧や心臓の線維化に関わることを，マウスを用いて明らかにしてきた。しかし，驚いたことに，心筋細胞の P2Y6 受容体を過剰発現あるいは欠損しても圧ストレスに対する心臓の抵抗性が低下することを新たに見出した。この原因として，心筋の P2Y6 受容体は低浸透圧ストレスによる細胞障害や線維化誘導に関与するのに対し，非心筋細胞の P2Y6 受容体は心臓の圧負荷

に対する防御シグナルとして働く可能性が示された。

心筋の交感神経刺激応答における TRPC6 チャネルの役割

小田紗矢香，西村明幸，田中智弘，西田基宏

心臓の循環反射は血液循環恒常性を維持するうえで極めて重要な役割を果たしている。血圧が低下した際，交感神経系が活性化することで代償的に心機能が亢進することは教科書的にも知られているが，その一方で，交感神経終末から放出されるノルアドレナリンを感知する GPCR が親和性の高いα受容体でなくβ受容体である理由については良く理解されていなかった。我々は，TRPC6 欠損マウスを用いた解析から，心筋細胞のβ受容体がノルアドレナリン刺激によって効率よく収縮力をあげるために，α受容体を介する TRPC6 チャネルの活性化が必要であることを新たに見出した（図 1）。

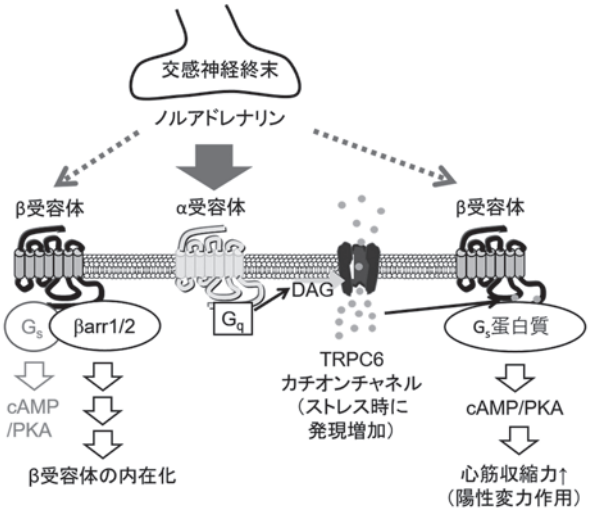


図１　交感神経刺激による心筋の陽性変力応答におけるTRPC6チャネルの関与

Covid-19 重症化・後遺症発現における TRPC3-Nox2 の関与

加藤百合，西山和宏（九州大学 薬学研究院）
西村明幸，西田基宏

Covid-19 重症化・後遺症のリスク因子として，抗がん剤やタバコ，高血糖，心血管病などが疫学的に報告されている。これらリスク因子を心筋細胞に曝露させたところ，共通して angiotensin converting enzyme (ACE2) 受容体の発現増加が起こること，その機序として TRPC3-Nox2 複合体形成が関与することを新たに見出した。さらに，昨年スクリーニングで同定した TRPC3-Nox2 複合体形成阻害活性をもつ既承認薬の中から SARS-CoV-2 ウイルス感染に伴う ACE2 内在化も抑制できる既承認薬を特定することに成功した（図 2）。

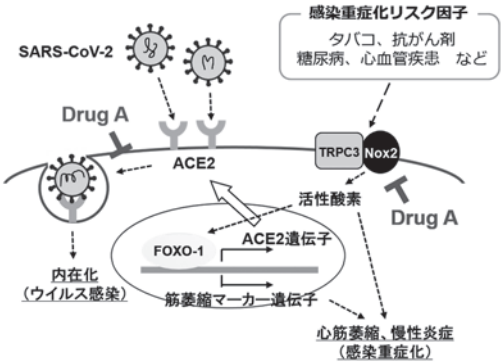


図2　感染重症化リスク因子による心筋細胞でのSARS-CoV-2宿主受容体（ACE2）発現増加におけるTRPC3-Nox2複合体形成の関与と、感染時のACE2内在化を抑制するTRPC3-Nox2形成阻害剤（DrugA）の同定

非アルコール性肝炎における TRPC3/6 チャネルの役割

西山和宏（九州大学 薬学研究院）
田中智弘，西田基宏

心臓の線維化を仲介する TRPC3/6 チャネルが他の組織でも線維化誘導を仲介するか明らかにするため，非アルコール性肝炎（NASH）モデルを TRPC 欠損マウスと掛け合わせて肝形態機能評価を行った。その結果，TRPC3, TRPC6 それぞれを欠損させたマウスでは，野生型と同様に NASH 症状が観察され，有意な抑制効果は認められなかった。この結果から，肝臓の線維化において，TRPC3/6 チャネルの関与は小さいことが示唆された。

生殖・内分泌系発達機構研究部門

【概要】

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

脂肪組織炎症反応に及ぼす視床下部腹内側核 SF1 ニューロンによる調節作

Misbah Rashid，近藤邦生，中島健一朗，箕越靖彦
George Palfalvi（基礎生物学研究所 生物進化研究部門）

肥満は, 脂肪組織への中性脂肪の過剰蓄積を特徴するが, これに伴い脂肪組織にマクロファージが蓄積して, 炎症性サイトカインの分泌を引き起こし, インスリン抵抗性等の肥満症の一因となる。肥満は, 摂取エネルギーがエネルギー消費を上回ることによって引き起こされるため, 中枢神経系による調節作用が肥満及び肥満症の発現に重要と考えられている。しかし，中枢神経系が脂肪組織でのマクロファージの炎症反応にどのような調節作用を及ぼすかは明らかとなっていない。視床下部腹内側核に存在する SF1 (steroidogenic factor 1) 発現ニューロンは，摂食，エネルギー消費，糖代謝を調節する。本論文は，マウス視床下部腹内側核 SF1 発現ニューロンに DTA (diphtheria toxin-A) を発現させることにより破壊し，及び逆に SF1 発現ニューロンを DREADD (designer receptors exclusively activated by designer drugs) 法によって慢性的に活性化して，高脂肪食摂取によって引き起こされる脂肪組織炎症反応に及ぼす効果を調べた。その結果，SF1 ニューロンを破壊すると，鼠径部皮下白色脂肪組織において炎症反応が増強し, 褐色脂肪組織では熱産生関連遺伝子の発現が低下した。副睾丸白色脂肪組織では変化が無かった。これに対して，SF1 ニューロンを活性化すると，逆に，鼠径部脂肪組織において炎症反応が低下し, 褐色脂肪組織では熱産生関連遺伝子の発現が増加した。副睾丸脂肪組織では変化が無かった。以上のことから，SF1 ニューロンは，高脂肪食を摂取した肥満マウスにおいて白色脂肪組織マクロファージの炎症反応を, 褐色脂肪組織では熱産生機能を調節することが明らかとなった。また白色脂肪組織への効果は，脂肪組織の部位によって異なることも明らかとなった。

エネルギー代謝を制御する新たな視床下部神経細胞の同定

近藤邦生，中島健一朗，箕越靖彦

脳は外環境や体内の生理状態を検知し，その情報をもとに様々な末梢組織のエネルギー代謝に関わる機能を制御する。これまでの研究から，視床下部の神経細胞が末梢組織のエネルギー代謝調節に関わることがわかっている。中でも視床下部室傍核（PVH）は，交感神経に投射する神経細胞が存在することが知られており，末梢組織の機能制御に関わると考えられてきた。しかし，PVH には様々な神経細胞が混在しており，どの神経細胞が末梢組織のエネルギー代謝を制御するかは不明な部分が多かった。そこで本研究では，末梢組織のエネルギー代謝を制御する PVH 神経細胞の同定を試みた。

仮性狂犬病ウイルス Bartha 株（以下 PRV）は神経細胞に感染すると増殖し，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。この PRV を，エネルギー代謝に重要な骨格筋と褐色脂肪組織に接種し，これら末梢組織を制御する PVH 神経細胞の同定を行った。その結果，PVH の Nos1 (Nitric Oxide synthase 1) 発現細胞（Nos1 ニューロン）が骨格筋と褐色脂肪組織に投射していることが見出された。

DREADD 法により Nos1 ニューロンを活性化したところ，エネルギー代謝と運動量が増加することが観察され，さらに，脂質の消費量を大きく増加した。一方で DREADD 法により Nos1 ニューロンの神経活動を抑制したところ，エネルギー消費量が増加した一方，脂質代謝量が大幅に減少した。Nos1 ニューロンが影響する末梢組織交感神経活を同定するため，ノルアドレナリンターンオーバーアッセイを行ったところ, Nos1 ニューロンの活性化により，骨格筋（ヒラメ筋）と鼠蹊部白色脂肪組織の交感神経活動が特異的に増加することがわかった。

以上の結果から, Nos1 ニューロンが末梢組織の脂質代謝を制御する新しい神経細胞であることが明らかになった。

シングル核 RNA 解析を用いた視床下部室傍核 CRH ニューロン群の解析

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

視床下部室傍核 CRH ニューロンは HPA 軸を介したストレス応答，食欲や食嗜好制御など，様々な生理作用に関与している。そのため，CRH ニューロンは機能的に多様であることことが予想されるが，その理由はいまだに明らかとなっていない。そこで本研究では，CRH ニューロンの多様性を明らかにすることを目指し，シングル核 RNA-seq を行った。19 匹（9 匹の絶食群と 10 匹の再摂食群）の C57BL/6J マウスから 10,000 個以上の CRH ニューロンの核を用いてシングル核 RNA-seq を行い，クラスター解析を行った。その結果，CRH ニューロンは大きく３つのクラスター（A，B，C）に分類されることが明らかになった。クラスターA はグルココルチコイド受容体（Nc3r1）を高発現しており，HPA 軸を介したストレス制御に関与するニューロン群であると考えられた。これに対し，クラスターB にはレプチンや GLP-1 などのホルモン受容体（Lepr, Glp1r）が高発現していた。また，クラスターC には AMPKα2 (Prkaa2) や AMPKγ2 (Prkag2) が高発現していた。したがって，クラスターB および C は摂食，代謝及びエネルギーバランス調節に関与するニューロン群と考えられる。今後，各クラスターに属する CRH ニューロンの機能解析を行い，CRH ニューロンの神経ネットワークを明らかにする予定である。

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，生体内においてミトコンドリアの分裂を細胞特異的かつ可逆的に抑制することが可能なマウスモデルを開発し，特に大脳皮質および海馬の興奮性神経細胞においてミトコンドリア分裂を抑制可能なマウスの作出を行った。そして，神経特異的ミトコンドリア分裂抑制マウスにおけるミトコンドリアの体積増加が，ミトコンドリアと小胞体の接触面積に及ぼす影響を解析した。この目的で，大脳皮質興奮性神経細胞の軸索が多く投射する脳梁を対象として，ミトコンドリアと小胞体の接触面積を測定・比較した。その結果，神経特異的ミトコンドリア分裂抑制マウスの神経細胞では対照群に比較して大きなミトコンドリアが多く観察されるが，脳梁における軸索のミトコンドリアと小胞体の接触面積には有意な変化を認めなかった。これまでの成果から，軸索におけるミトコンドリアと小胞体の接着面積の増強は，ミトコンドリアの体積の増大と相関している知見を得ていた。しかし，神経細胞のミトコンドリア分裂抑制によっても接着面積の増加が見られなかったという結果は，ミトコンドリアの分裂・融合による体積変化は接着に直接的な影響を及ぼさない可能性を示唆している。そして，この結果はミトコンドリアと小胞体の接着に関わる Mfn2 の発現と活性が, 軸索のミトコンドリアと小胞体の接着に重要であるという，これまでの本研究の成果を支持するものと考えられた。

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。本研究では，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，マウスの脳梁では各オリゴデンドロサイトが髄鞘を形成する軸索群の径とその形成される髄鞘の厚みに偏りがみられることがわかった。また，それらのオリゴデンドロサイトの形成する髄鞘に隣接する髄鞘は，ほとんどが異なるオリゴデンドロサイトによって形成されているにも関わらず，厚さに有意な相関がみられた。これらの結果から，個々のオリゴデンドロサイトが特定の径の軸索に選択的に髄鞘を形成していること，そして各オリゴデンドロサイトの髄鞘の厚みが軸索との相互作用を介して細胞単位で調節されていることが示唆された。

基盤神経科学研究領域

生体恒常性発達研究部門

【概要】

当部門は，発達および障害回復の過程で一旦形成された機能的神経回路に起こる再編成のメカニズムを回路レベルで解明することを主な目標に研究をしている。そのため，3 つのサブテーマについて研究を進めている。

1) フェムト秒パスルレーザーを用いた多光子励起法を利用して，マウス脳内微細構造と細胞活動の可視化技術の確立および技術向上をおこなった。これらの技術を利用して，発達期や障害における大脳皮質神経回路の変化を検討するために，シナプスの長期変化の観察およびその制御機構の解明，特に各種グリア細胞の関与について検討を行っている。

2) 新規イメージングおよび操作技術の構築を JST・クレスト研究（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，竹田育子研究員が名古屋大学の助教に転出した。

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

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

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

ミクログリアに関しては，同細胞内におけるカルシウム動態の時空間的解析を行っている。活動イベントを個別に抽出・定量することで，ミクログリアの機能活動にはその場に留まる静的な活動と方向性をもって拡散する動的な活動が存在することを見出した。さらに，突起を起源とする動的なイベントの拡散方向を定量的に算出することで，情報伝達の方向性，速度，範囲を定量的に読み出すことに成功した。興味深いことに，分岐点において精密に情報伝達が制御されている所見を得た。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，小泉修一（山梨大学 医学研究科），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。そのメカニズムとして，アストロサイト活性化の下流にミクログリアの活性化が関与していることが判明し，現在シグナルの探索を行っている。

感覚情報処理回路の発達およびその制御機構の解明

鳴島　円

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着目した実験系を確立した。現在，発達期の視覚情報の有無が与える影響を解明するための行動実験と，同行動との関連が報告されている上丘において，シナプス特性の電気生理学的解析を行っている。電気生理学的実験では，光遺伝学的手法を用いることで網膜または大脳皮質由来入力を選択的に刺激することに成功しており，シナプス伝達の修飾物質の効果の比較や発達期の感覚経験が与える影響の解明を目指している。

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

イオンイメージングセンサ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】

脳機能の発現に必要な神経回路は, 胎生期から生後間もない時期に遺伝的プログラムにより大まかに形成され, その後, 経験や学習に依存して柔軟に再構築される。このプロセスを経て, 生まれ育った環境に適した機能が獲得される。視覚情報処理研究部門では, 大脳皮質の情報処理の基盤となる神経回路の動作特性やその発達･可塑性メカニズムを明らかにすることを目指して研究を行っている。具体的には, 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, 興奮性細胞の細胞体に抑制性シナプスを形成することが知られている２つの抑制性ニューロンサブタイプ, パルブアルブミン陽性細胞とコレシストキニン陽性細胞のシナプス結合の発達に着目した解析を行った。また, 一次視覚野可塑性の臨界期を制御する分子メカニズムの解析を実施している。以下に本年度に行った研究内容の中で, 4 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の Fast-spiking な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, 開眼前後の時期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。開眼からおよそ 1 日後の生後 14 日齢において, 錐体細胞→FS 細胞の興奮性結合の一過的な増強が観察された。また興奮性結合の増強は, 双方向に結合する細胞ペア選択的にみられた。

開眼がこれらの変化に関与するかを調べるため, 開眼前から両眼遮蔽をしたマウスを用いて同様の検討を行った。両眼遮蔽群では, 生後 14 日齢における一過的な興奮性結合の増強は観察されず, 双方向性結合ペア選択的な増強もみられなかった。これらのことから, 開眼による正常な視覚入力が, 錐体細胞と FS 細胞の双方向性結合ペア間における興奮性結合の一過的な増強に関与することが示唆された。

マウス一次視覚野におけるコレシストキニン陽性介在細胞由来の抑制性シナプス結合の発達

唐木智充, 吉村由美子

大脳皮質に存在する抑制性細胞サブタイプのうち, コレシストキニン（CCK）を発現する CCK 陽性介在細胞は, 大脳皮質視覚野可塑性に関与するエンドカンナビノイド受容体（CB1）を発現していることから, 視覚野の発達に関与している可能性がある。本研究では, マウス一次視覚野において CCK 陽性介在細胞由来の抑制性シナプスの発達過程をスライスパッチクランプ法により調べた。生後 11-13 日齢の視覚野では CCK/CB1 陽性細胞が近傍の錐体細胞と抑制性シナプス結合する割合は約 4 割であった。生後 3 週齢までにこの割合が約 1 割に低下した。結合ペアから記録した抑制性シナプス後電流の振幅や伝達効率には年齢に依存した差異はみられなかった。以上の結果から, 開眼前の未熟な視覚野では CCK/CB1 陽性細胞は視覚野内の抑制性伝達を担う主要な抑制性細胞であることが示唆された。

内因性カンナビノイドによる大脳皮質視覚野の層特異的な臨界期時期制御

米田泰輔，高木正浩，吉村由美子

大脳皮質の神経回路は，生後発達期の一時期である臨界期の経験依存的な可塑性により調整され，その結果，環境に適した機能が構築される。大脳皮質は 6 層からなるが，臨界期の開始が層特異的な機構により制御されているかは明らかになっていない。

我々は大脳皮質一次視覚野の眼優位可塑性をモデルに，内因性カンナビノイド合成酵素欠損マウスを用いて臨界期の開始時期を調べた。欠損マウスの 2/3 層と 4 層では野生型マウスよりも早期に経験依存的な可塑性が生じた。一方で 5 層の臨界期開始時期に違いは検出されなかった。抑制性シナプス伝達の成熟が臨界期をトリガーすることが知られているので，各層の抑制性シナプス伝達を調べたところ，欠損マウスにおいて臨界期の早期開始がみられた層では，抑制性伝達が亢進していた。

これらの結果は，内因性カンナビノイドが抑制性シナプスの機能発達を介して，皮質層特異的に臨界期の開始時期を制御することを示す。

一次視覚野神経細胞における脳状態に依存した視覚応答特性の変化

呉　嘉豪，米田泰輔，吉村由美子

脳の覚醒レベルは, 動物の行動や神経回路のダイナミクスに大きな影響を与える。脳状態は，大脳皮質一次視覚野における個々の神経細胞の応答選択性にも影響することが知られているが, この影響を神経細胞種ごとに調べた研究はあまり報告がない。本研究では，興奮性神経細胞と抑制性神経細胞を分けて解析するために, 抑制性神経細胞に蛍光タンパク質を選択的に発現させた遺伝子組み換えマウスを用いた。in vivo 2 光子励起 Ca^{2+}イメージングにより, 覚醒状態と麻酔状態において同一の視覚野細胞から視覚反応を記録し，その応答選択性を比較した。その結果，興奮性神経細胞と抑制性神経細胞のいずれも, 覚醒状態に比べて麻酔下では最適空間周波数が低周波数側にシフトすることがわかった。これらの結果は，脳状態が空間周波数選択性に影響を与えることを示唆している。

バイオフォトニクス研究部門

【概要】

本研究部門は，先端的な光レーザー技術を駆使した独自の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。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ては，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）
三枝理博（金沢大学 医薬保健研究域医学系）
戸田知得（北海道大学大学院 獣医学研究院 獣医学部）
江川　潔（北海道大学大学院 医学研究科）

哺乳類の概日リズムの中枢は，脳の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，東京大学の深田グループとの共同研究により，低温環境下の概日リズム発振の温度補償性機構に細胞内カルシウムイオンが関与することを見いだした（Kon N et al., *Science Advances*, 2021）。また金沢大学の三枝グループとの共同研究により，視交叉上核のバソプレン産生ニューロンから放出される GABA が，分子時計が何時に行動を引き起こすかを制御することを報告した（Maejima T et al., *PNAS*, 2021）。

現在は，細胞内クロライドイオンや細胞内小器官内のカルシウムイオン等の概日リズムを可視化する研究プロジェクトを遂行中である。また学術変革領域（B）の新規採択をうけて哺乳類の冬眠研究を開始した。山手キャンパスの建物内に冬眠実験室を設置し，低温環境下での動物飼育設備を導入し，シリアンハムスターの飼育を開始した。

二光子スピニングディスク共焦点顕微鏡の技術開発と生物学応用

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

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，ミカヅキモ等の様々な生体試料中の微細形態の三次元動態観察に供された（Otomo K. et al., *Biochem. Biophys. Res. Comm, 2020,* Nakamura S et al., *Plant Cell Physiol.2020*）。

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（原著論文投稿中）。

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（Yamaguchi K et al., *ACS Omega*, 2020）。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（Yamaguchi K et al., *PLoS ONE*, 2020）。

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）

“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の応用研究を展開している（Takahashi T et al., *iScience, 2020*）。

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。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。

深層学習を用いた三次元時系列画像からの細胞自動検出・追跡

山口和志，堤　元佐，大友康平，根本知己
Wen Chentao，木村幸太郎（名古屋市立大学大学院 理学研究科）
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）

近年，顕微鏡技術の向上により細胞集団の活動を三次元で経時的に観察できるようになった。しかし，多数の細胞の検出・追跡の自動化は依然として困難であった。名古屋市立大学・Wen 博士，木村博士らは，細胞検出・追跡の双方に深層学習を適用するソフトウェアパイプライン「3DeeCellTracker」を開発した。

我々は両博士らとの共同研究で，ヒト癌由来細胞の三次元培養サンプル観察への 3DeeCellTracker 適用を試みた。直径約 200 マイクロメートルの HeLa 細胞スフェロイドを作製し，二光子顕微鏡にて約 1000 個の細胞の三次元経時観察を行った。取得した初期画像から訓練・検証データを作成して学習させた結果，実際の観察データにおいて約 97 %の精度で個々の細胞の自動追跡に成功した。

3DeeCellTraker は線虫の脳神経細胞活動やゼブラフィッシュの心筋細胞拍動など種々の観察対象にも適用可能であることが示されており，これまで解析困難であった細胞活動ビッグデータの解析に貢献すると期待される。本研究の成果は 2020 年度に出版され（Wen C. et al., *eLife* **10**; e59187, 2021），生理研，生命創成探究センターおよび名古屋市立大学からプレスリリースが発表された。

画像解析による新規超解像顕微鏡法 SRRF の二光子イメージングへの適用

堤　元佐，髙橋泰伽，根本知己
小林健太郎（北海道大学 電子科学研究所）

Super Resolution Radial Fluctuation（SRRF）法は，2016 年にイギリスの研究グループによって報告された，画像解析による新規超解像法である（Gustafsson et al. *Nat. Commun.* 2016, **17**, 12471）。蛍光分子局在化法を基にしており，蛍光強度の空間・時間相関を解析することで，蛍光ピーク位置を決定する。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

特長である。我々はこれまでに，落射蛍光顕微鏡，共焦点顕微鏡，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。生体深部超解像観察に向け，二光子顕微鏡への SRRF 適用（TP-SRRF）の検証を実施しており，本年度は二光子顕微鏡での SRRF 適用条件の最適化を進めた。その結果，生体脳模倣ゲル, マウス固定脳スライスでの TP-SRRF 観察で，数百マイクロメートル深部において構造化照明超解像顕微鏡法（SIM）に匹敵する高分解像能での観察に成功した。引き続き，*in vivo* イメージングへの適用に向けた検討を実施している（原著論文執筆中）。

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（シチズン時計株式会社）

本研究では，生体深部をサブ細胞スケールで観察できる二光子励起顕微鏡法を応用し，神経科学をはじめとした広範な研究分野の発展に資する高速超解像 in vivo 3D イメージング法の実現を目的とする。我々は東北大学横山教授，佐藤教授，小澤准教授と共同研究を行い，これまでに半導体制御による超短パルスレーザー光の発生，透過型液晶素子を用いた光波面補正といった独自の光学技術を開発・統合した超解像二光子励起誘導放出制御（STED）顕微鏡を開発してきた。これにより，従来の二光子顕微鏡に比べて約 5 倍，70 nm の空間分解能を達成した。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によるパルス式二光子励起ゲート STED 顕微鏡法の確立を行った（原著論文執筆中）。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を進めた。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進めた。一方，生体深部の in vivo イメージングにおいて，広範囲の 3 次元空間を高い時間分解能で可視化することは困難である。そこで，二光子励起発生領域が軸性方向に広がった光ニードルを作成して高速走査する事で，高速 3D イメージング法を可能とする技術開発を進めた（原著論文執筆中）。以上の成果の一部に関して，解説を公刊した。

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（運動野）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，運動学習における錐体細胞サブタイプの機能的役割に関する解析，また，運動学習過程にお

ける入力の機能的再編成を検討した。さらに，その可塑的変化を担う棘突起のカルシウム反応性に関するシミュレーション解析も行った。

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

窪田芳之，江川尚美，北　啓子，江藤智子，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）

ラットの視床の視床外側核(VL)からの視床-皮質神経線維を AAV で GFP 標識した前頭皮質（第２次運動野）の組織の大容量電顕画像撮影を実施した結果，撮影倍率 5.5 nm/pixel で，189 µm x 202 µm 画像サイズの連続切片（40 nm 厚さ）約 1200 枚（48 µm 厚）の画像データセット（1.6 TB）の撮影を完了した。自動セグメンテーションを実施するにあたり，GPU クラスターコンピューターを利用して，Google AI 開発アプリ FFNs で自動セグメンテーションを実施した。しかし，処理終盤に必要な code が未公開であることから，セグメンテーション効率（70～80%程度の正解率）の改善がこれ以上望めないと判断し，FFNs の導入を断念した。その代替策として，アラインメントと自動セグメンテーションを Princeton 大学 Sebastian Seung 教授研究部門に共同研究として依頼した。結果を，2021 年度に受理する予定である。自動セグメンテーション処理にはミスが残存するため，人手による校正（プルーフリード）を Neuroglancer を利用して行う予定である。

皮質オシレーション活動による運動学習形成の制御

大塚　岳，川口泰雄

皮質錐体細胞は多様な投射先に対応して分化しており，局所回路においてサブネットワークを形成している。チャネルロドプシンを発現させたラットの運動野スライス標本において光刺激を行うと，脊髄に投射する 5 層錐体細胞(PT)に依存して β/γ 周波数帯（~30 Hz）の膜電位オシレーションが誘発されることをこれまでに報告した。本年度はオシレーションの機能的役割について，回転カゴを用いた足場バーのパタン学習への寄与を検討した。ラットの一次運動野（M1）から細胞外記録を学習時に行い，局所電場電位を解析した結果，スライス実験と同様なオシレーションが学習中に観察された。また，学習が進むにつれオシレーションが減弱した。さらに，M1 の PT 細胞の活動を光操作で活性・抑制するとオシレーションは増強・減弱し，それに伴って学習形成が促進・抑制された。これらの結果は，PT 細胞に依存して発生するオシレーション活動が学習形成に重要な役割を担っていることを示唆する。

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

シナプス可塑性は脳における学習や記憶の基礎となる神経回路網の変化である。学習に伴うニューロン間結合の時間的変化を描写するため，マウスの前肢運動学習中のシナプスの可塑的新生・消失を観察し，そこへの入力源を形態学的に評価した。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。

スパイン―デンドライト空間における生体分子の反応拡散シミュレーション環境の開発

浦久保秀俊，窪田芳之

神経細胞のスパインは，興奮性入力の受けてであり，可塑性を生じることが知られている。スパインのもつ可塑性の理解のために，正確な３次元形状に基づいたスパイン―デンドライト空間の生体分子反応拡散シミュレーションシステムを開発した。まず，電子顕微鏡 3 次元画像に対してコネクトミクスの情報技術を応用し，スパイン，デンドライト，ミトコンドリア，SER，PSD などの形状を抽出するソフトウェアを開発した。抽出した 3 次元形状内において反応拡散シミュレーションを実行できるように，基盤となるソフトウエア Lattice Microbes の拡張を行い, スパイン Ca^{2+} が非活性化シナプスに拡散する現象をシミュレーションした。その結果，主にデンドライトに存在する SER において Ca^{2+}-induced Ca^{2+} release が生じることで, Ca^{2+} シグナルがデンドライト中をアクティブに伝搬する現象をシミュレーションすることに成功した。さらに，SER を持つ大きなスパインに対して効果的に Ca^{2+} シグナルが伝搬する現象を見出した。

※大脳神経回路論研究部門は 2020 年度で廃止となりました。

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】

当部門ではニホン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実験研究を展開した。研究対象とする社会的認知機能の側面として，他者との運動同期指向性，他者の動作情報に基づく柔軟な意思決定，他者の報酬情報を踏まえた主観的価値評価，向社会行動の文脈依存性，顔の生物らしさの知覚等に着目した。これらの研究では，対面する二頭のニホンザルを用いたタスクを開発し，複数の脳領域から神経活動を計測することで，各認知機能側面の神経基盤解明をおこなった。また，ウイルスベクターを用いた神経路選択的な活動操作により，各機能側面と神経活動との因果的関連性を実証した。これらの研究に加え，ヒトの精神・神経疾患の解明に向けた霊長類モデルの開発に資する実験的認知ゲノミクス研究も推進した。

主な研究成果としては，他者の動作情報に基づく意思決定において，腹側運動前野と内側前頭前野の機能連関が重要であることを示し，Nature Communications 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，マカクザルおよび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。マカクザルについては，ヒト精神・神経疾患関連 503 遺伝子を対象とし，257 個体を対象とした遺伝子解析を行った結果，10 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同定した。マーモセットについては，1281 遺伝子を対象とし 198 個体における解析を行った結果，7 遺伝子にまれな機能喪失変異を同定した。

また，バルプロ酸投与により作出した自閉症様マーモセットにおける 1 細胞遺伝子発現解析を行った。約 7 万細胞の発現データを用いて遺伝子発現プロファイリングを行った結果，10 種類を超える興奮性・抑制性神経細胞のサブタイプを同定し，それぞれのサブタイプ特異的マーカーを同定した。また，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に関しても特異的マーカーを同定した。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解析し，ヒト自閉症患者脳における 1 細胞発現データとの統合解析を行った結果，一部の細胞種において自閉症様マーモセットとヒト自閉症患者において共通の遺伝子発現プロファイリングの変化が認められた。

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 3 頭のニホンザルに，3-4 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。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。これより，他者リズムが自己の運動に与える影響は，社会的な文脈でより促進したと考えられる。この現象に関わる神経活動を記録するため，補足運動野と一次運動野より神経活動を記録中である。また生体同士での実験を実施し，二者双方の同期指向性による相乗効果も検討する。

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

遺伝子変異個体を対象とした自己と他者の動作情報処理の神経機構の解析

二宮太平，則武　厚，磯田昌岐

前年に引き続き，自閉スペクトラム症を含む神経発達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た研究を主におこなった。社会的認知機能に関わる代表的な脳領野である，腹側運動前野（PMv），内側前頭皮質（MFC），および上側頭溝領域（STS）から社会的認知行動課題遂行中の神経活動を記録し，各脳領野の情報処理様式および脳領野間の相互作用について解析した。これまでに，PMv－MFC 間の相互作用が健常個体と異なることが確認できている。今後さらに神経活動の記録・解析を進めていく予定である。

また本年度後半より，映像編集・提示技術を用いた統御性の高い実験系の開発に着手した。他者の映像をリアルタイムに編集・提示することで他者の視線や動作に関する情報を統制し，社会的認知機能関連領野の情報表現や機能連関について詳細な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

本年度は，自閉スペクトラム症に関連する遺伝子に変異を持つ変異型サル 1 個体に対し，社会的条件づけ下の行動および神経活動を記録した。これまで記録してきた野生型個体群の行動および神経活動と比較し，病態モデルにおける社会的コンテキストの報酬情報処理に関する神経機構の変容を明らかにすることを目的とした。ドーパミン作動性中脳核（DA）および内側前頭前野（MPFC）の局所電場電位を解析した結果，変異型個体においては，野生型個体とは異なり，DA から MPFC 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。今後，変異型個体と野生型個体における視床下部外側野を含む神経活動を比較し，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を試みる。さらに，化学遺伝学的手法を用いて経路選択的な神経情報流の遮断を行い，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を目指す。

素材知覚における多感覚的知覚獲得の神経機構

横井　功

世の中に存在する物体は様々な素材（ガラス，金属等）から作られている。我々は物体を目で見ただけで視覚的特徴（色や光沢）と触覚的特徴（温感やざらつき）などの多感覚に由来する情報を知覚することができる。この多感覚的知覚がどのように獲得されているかを明らかにするために，ニホンザルに様々な素材の実物体を呈示し視触覚経験を与えた。経験の前後において注視課題遂行中のサルに素材画像を呈示し後部側頭葉からニューロン活動を記録した。多くのニューロンが経験前と経験後において素材カテゴリーに選択的な反応を示し，素材カテゴリー選択性は視触覚経験後に低下する傾向を示した。さらに，ニューロン集団における素材カテゴリー表現は視触覚経験からの時間経過によって変化し，経験直後には機能的 MRI によって記録された素材の神経表現およびヒトの印象評価との相関を示した。今後，個々のニューロンについて解析を進め時間経過による変化の詳細を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，皮質下領域で，他者の報酬に関連した神経活動が記録できている。今後は，皮質下に加え大脳皮質での神経活動計測も進め，解析を行っていく。

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，ニホンザル）を用いて，大脳基底核を中心に，このような随意運動の脳内メカニズムおよびそれらが障害された際の病態，さらには病態を基礎とした治療法を探ることを目的としている。

そのために，①大脳基底核を巡る線維連絡やその様式を調べる，②運動課題遂行中の動物から神経活動の記録を行う。薬物注入による経路の一時的ブロックや光遺伝学，化学遺伝学などの手法も併用する，③大脳基底核疾患を中心とした疾患モデル動物からの記録を行う，④このような疾患モデル動物に様々な治療法を加え，症状と神経活動の相関を調べる，⑤様々な遺伝子改変動物の神経活動を記録することにより，遺伝子・神経活動・行動との関係を調べることを行っている。

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，非常に複雑な回路を構成している。また，視床下核は大脳基底核の出力核である淡蒼球内節ニューロンへグルタミン酸作動性の強い興奮性入力を送っている。そのため視床下核の活動は大脳基底核の活動に大きな影響を与えると考えられている。これまでわれわれは，淡蒼球の内節と外節において視床下核からの興奮性入力がどのような情報を運んでいるのかを調べてきた。その際，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。2020 年度は，選択的シナプス伝達遮断薬の局所微量注入法によって，３種類の課題（Go 課題，No-go および Stop 課題）を遂行中のニホンザル視床下核の活動を，大脳皮質からのグルタミン酸作動性興奮性入力と，淡蒼球外節からの GABA 作動性抑制性入力に，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は，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。論文として発表するため，データの解析を終了し，まとめているところである。

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，動物の四肢が事故等により喪失した場合，MI や SI の喪失された四肢の体部位再現領域では可塑的な変化が生じる可能性が示唆されているが，再現領域の大きさには差がないとされてきた。しかし，それらの研究は全身麻酔薬の影響を受けたもので，覚醒下での研究例はなかった。また補足運動野（SMA）においては先行研究がなく全く不明であった。

2020 年度，われわれは若年時に片腕を事故により喪失した 2 頭の成年期ニホンザルの，MI，SI および SMA に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，MI では低閾値で運動が誘発されるコア領域が喪失側で小さくなっており，同様に SMA でも喪失部の体部位再現領域が縮小していた。一方で SI ではその様な明確な縮小は見られなかった。次年度は 3 頭目からのデータ収集とまとめを行う予定である。

大脳皮質－大脳基底核経路の情報伝達異常がパーキンソン病症状を引き起こす

知見聡美，Woranan Wongmassang，高田昌彦（京都大学霊長類研究所），南部　篤

パーキンソン病の病態生理を調べるため，ドーパミン選択的神経毒 MPTP を用いて作製したモデルサルの神経活動を記録した。大脳基底核の出力部である淡蒼球内節（GPi）の自発活動に大きな変化は観察されなかったが，大脳皮質運動野に電気刺激を加えて応答を調べると，「直接路」を介して伝達される抑制が著しく減弱していた。ドーパミン補充療法を施して症状が改善している間には「直接路」を介する抑制が回復し，正常サルにおいて観察されるものと同様な応答が観察された。さらに，手術によって視床下核の一部を破壊すると症状が改善することが知られているので，薬剤の局所投与によって視床下核の活動をブロックしてみると，症状が改善するとともに「直接路」を介する抑制が回復した。これらの結果から，パーキンソン病では運動を起こすために必要な「直接路」を通る情報が上手く伝わらなくなることにより，手足が動かしにくくなる「無動」の症状が起こると示唆された。

大脳皮質から線条体への入力様式の解析

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

大脳皮質運動野から線条体への入力を解析するため，レンチウイルスベクターによる逆行性の遺伝子導入とアデノ随伴ウイルスベクターを利用して，マウスの大脳皮質−線条体路にチャネルロドプシン 2 を発現させた。このマウスの大脳皮質運動野に電気刺激あるいは光刺激を加え，その応答を反対側の淡蒼球外節と黒質網様部から記録した。大脳皮質を電気刺激した場合，反対側の淡蒼球外節や黒質網様部から，興奮−抑制−興奮という三相性の応答が認められた。一方，光刺激でも，興奮−抑制という二相性の応答に加えて，興奮−抑制−興奮という三相性の応答も認められた。早い興奮は大脳皮質−視床下核を経由した応答であると考えられており，大脳皮質から反対側の視床下核へ投射する経路も存在し，その側枝が線条体に投射していることが示唆された。

抗パーキンソン病薬が L-DOPA 誘発性ジスキネジアに与える行動学的影響

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を改善することが明らかになり，現在では抗パーキンソン病薬として認可されている。パーキンソン病の治療では，ドパミンを補うようにその前駆体である L-DOPA が使用されるが，長期間服用するとジスキネジアと呼ばれる不随意運動が誘発される。臨床での観察から，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検証するため，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，ジスキネジアに与える影響を観察した。その結果，ゾニサミドはジスキネジアの症状を増悪させないが，投与量依存的にジスキネジアが出現している時間を延長させた。これらの結果から，ゾニサミドの投与量を調節することによって，ジスキネジアへ影響すること無く，L-DOPA が効果的に作用する時間を延長させることが期待できると考えられた。

パーキンソン病モデルマウスを利用した L-DOPA 誘発性ジスキネジアの病態生理学的解析

Dwi Wahyu Indrian，知見聡美，長谷川　拓，佐野裕美，南部　篤

パーキンソン病は中脳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。その治療にはドパミンの前駆体である L-DOPA の投与が有効である。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 状態）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 状態）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 状態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，運動の開始や促進のシグナルが増強し，逆に運動の終了のシグナルが減弱して不随意運動が出現すると考えられた。

ジストニア様症状を示す変異マウスの筋活動の解析

佐野裕美，吉岡　望（新潟大学），知見聡美，竹林浩秀（新潟大学），南部　篤

Dystonin（*Dst*, ジストニン）はマウスの遺伝的なジストニアの原因遺伝子であり，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，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観察された。ジストニアに特徴的な筋収縮として，持続的な筋収縮や伸筋と屈筋が同時に収縮することが挙げられる。そこで，このマウスの筋電図を下肢から記録したが，ジストニアに特徴的な筋収縮は認められなかった。

大脳基底核の間接路が淡蒼球外節の神経活動に及ぼす影響の解析

佐野裕美，Laura Andreoli（Lund Univ.），知見聡美，Angela Cenci Nilsson（Lund Univ.），南部　篤

化学遺伝学的手法 DREADD（Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drugs）を用いて大脳基底核の間接路（線条体−淡蒼球外節路）の生理学的役割を解明するため，間接路に Cre を発現するトランスジェニックマウス（A2a-Cre マウス）にアデノ随伴ウイルスベクターを用いて間接路に hM4D を発現させ，CNO（クロザピン N-オキシド）を投与し，そのときの淡蒼球外節路の神経活動を記録した。その結果，CNO の投与前後で淡蒼球外節の自発発火頻度や自発発火パターンは変化しなかった。また，大脳皮質を電気刺激したときの淡蒼球外節における応答パターンも CNO の投与前後で顕著な変化は認められなかった。そこで次は，間接路に発現するドパミン D2 受容体の拮抗薬であるハロペリドールを投与して，CNO 投与前後の神経活動を記録することを計画している。

大脳基底核の直接路における KCNQ2 が神経活動に及ぼす影響の解析

佐野裕美，坪井大輔（名古屋大学），小林憲太，貝淵弘三（名古屋大学，藤田医科大学），南部　篤

大脳基底核の直接路（線条体−黒質路）に発現する電位依存性 K^+チャネルサブユニット KCNQ2 の神経生理学的役割を解明するため，トランスジェニックマウスとアデノ随伴ウイルスベクターを用いて直接路の KCNQ2 を欠損させ，直接路の投射先である黒質網様部の神経活動を記録した。その結果，黒質網様部における自発発火頻度や自発発火パターンに変化は認められなかった。ところが，大脳皮質を電気刺激したときの応答を黒質網様部において記録したところ，正常なマウスでは興奮−抑制−興奮という三相性の応答を示すが，直接路で KCNQ2 を欠損させたマウスでは興奮−抑制という二相性の応答を示し，さらに抑制の持続時間が有意に延長していた。抑制は大脳皮質−線条体−黒質網様部を介する応答であると考えられていることから，KCNQ2 の欠損により直接路を介する神経伝達が増強していることが示唆された。

マーモセット前頭皮質の機能マッピング

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ところである。

マカクザル視床下核の化学遺伝学的抑制による運動異常

長谷川　拓，知見聡美，小林憲太（ウイルスベクター開発室），南部　篤

大脳基底核の視床下核（STN）を損傷すると反対側の手足にバリズムを呼ばれる不随意運動が起きる。これまで, STN が大脳基底核の出力核である淡蒼球内接（GPi）の発火頻度を上昇させることで運動実行が抑制されていると考えられてきた。

本研究では化学遺伝学的手法を用い，不随意運動をマカクザルに誘導させ，GPi から単一神経活動記録を計測した。GPi の発火頻度は減少せず，神経発火の変動量（Fano Factor, CV of ISIs, sequential correlation）が上昇した。以上の結果から，STN が GPi の発火パターンを安定化させることで，不要な運動を抑制し，安定した随意運動を実現する，といった神経メカニズムが考えらえる。

本年度は実験データの解析及び追加実験を行い，学術論文の投稿を行った。

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，神経活動の多様な非線形ダイナミクスの脳情報処理における機能的意義の検証を目的として研究活動を進めている。2018 年 10 月に発足し 2 年目を迎える 2020 年度は，部門での脳計測実験の研究基盤の確立を目指した。

具体的には，まず安静時，各種課題時のヒトの頭皮脳波計測実験とデータ解析を進めた。非線形ダイナミクスのうち，特に，脳の振動同期ネットワークの過渡ダイナミクス，ネットワークの変化様相，ゆらぎ，準安定性（metastability）に着目した研究プロジェクトを複数継続的に進行している。非線形動力学，情報理論，信号処理理論，複雑ネットワーク解析，統計的機械学習手法等の多面的な手法を組み合わせることにより，今後も継続して過渡ダイナミクスの機能的意義に着目した研究を進める予定である。

また 2020 年度はヒト実験用の電磁シールドルームを防音化し，脳波，脳刺激実験の環境整備を進めて，精度の高い脳波データの計測に成功した。また被験者データベースの構築と運用を進め，ヒト被験者を対象とした脳計測実験環境の構築に成功したといえる。

さらに並行して，共同研究により他機関で取得した脳波データの解析や数理モデル化研究も進めることができた。今後も共同研究と部門での研究を並行して，脳の非線形ダイナミクスの機能的意義に関する研究を多面的，精力的に進めていく所存である。以下に本年度の代表的な研究の要約を記載する。

神経活動のゆらぎの機能的意義を理解する研究

上原一将，萩原　淳，北城圭一

神経活動で観察されるゆらぎはミクロスケールからマクロスケールまであらゆる階層を通して観察される現象である。本研究ではマクロスケールレベルにおける神経活動のゆらぎに着目する。特に時系列で刻々と変化する脳波大域ネットワークのゆらぎの意義について頭皮脳波計測と探索運動学習パラダイムを組み合わせることで明らかにする。本研究ではネットワーク解析で用いられるグラフ理論を発展させ，ネットワークを形成するノードあるいはハブがどの程度他ネットワークコミュニティに関与するかというネットワークの柔軟性を定量化し，大域ネットワークのゆらぎとその機能的意義について検証を進めている。また，ライフスパンで大域ネットワークの柔軟性がどのように変化するかについても併せて検証を進めている。

脳卒中患者の脳波位相同期ネットワークの柔軟性と機能回復との関連

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

脳は深刻な損傷を受けた状態でも脳機能ネットワークの可塑的特性により環境に適応することができる。本研究では脳卒中の回復過程において，ネットワークの柔軟性（コミュニティ内のノード構成の時間的変化）と機能回復との関係について検証した。脳卒中発症後，回復期前期および後期に安静閉眼時の頭皮脳波計測と行動テストを行った。脳卒中後の回復については，日常活動作指標である Functional Indepdence Measure (FIM), 運動麻痺の指標である Fugl-Meyer Assesment (FMA) 等の病態指標を計測した。脳波位相同期ネットワーク解析の結果，健側半球のノードの柔軟性が高いほど FIM や FMA の回復の度合いが高く，逆に，患側半球のノードの柔軟性が高いと回復しにくいことが明らかになった。これらの結果から，代替ネットワークの構築には病変部以外のノードの可変性が重要であることが示唆される。また病変部のノードが過剰な柔軟性を持っている場合は回復が阻害される可能性がある。本研究の他にも森之宮病院と，脳卒中の機能回復と脳波位相同期様相の変化に着目した探索的な研究を並行して行っている。

脳波位相同期ネットワークの時系列推定と変化点検知

横山　寛，北城圭一

本研究では脳波の位相同期現象に反映される脳機能ネットワークの構造的変化をデータ駆動的に捉えるための時系列解析手法の確立を目指した。本研究での提案手法では，観測された脳波の時系列位相を結合位相振動子系にモデルフィッティングし，ネットワーク結合の時系列変化を逐次推定する。さらに，推定された結合強度パラメタの時系列的な変化度を定量することで，ネットワーク結合の構造的変化が生じたタイミングを検出することを可能にした（Yokoyama & Kitajo, 投稿中）。これにより，本提案手法を基に，脳機能ネットワークの構造的変化に関連する神経メカニズムの解明にアプローチすることができる。今後は，本提案を応用し，脳波の時系列変化の背後にある機能的役割の理解に役立てることを目指す。

脳波パワースペクトルの個人特性の多様体学習手法による可視化

末谷大道（大分大学），北城圭一

安静時の自発脳波ダイナミクスの個人特性を可視化する手法開発を行った。具体的には 100 人の 3 分間の閉眼安静時の脳波を各被験者内で 18 個の 10 秒試行として分割し，パワースペクトルを求めた。1800 試行の脳波データを統計的機械学習手法である多様体学習の一種である t 分布型確率的近傍埋め込み法（t-distributed stochastic neighbor embedding: t-SNE）により，2 次元空間に埋め込んだ。その際にパワースペクトル間の距離の metric として beta divergence を用いた。その結果，古典的 Multidimensional scaling (MDS) に比較して，同一個人の脳波試行のパワースペクトルは t-SNE の２次元平面上でクラスタ化され，個人間の分離度が非常に高い配置となった。また同一個人の２日間計測したデータを可視化したところ, 異なる日の同一個人の計測データは近い位置に配置され，一つのクラスタとなるケースが多かった。脳波パワースペクトルの個人特性のロバストな可視化手法の確立に成功したといえる。また，今後は，脳波の大域的位相同期様相等の非線形ダイナミクスの異なる側面の特徴量の可視化手法開発を進めていく予定である。

Suetani and Kitajo, *Neuroscience Research*, **156**, 188-196, 2020

脳波ダイナミクスの準安定性と自閉症傾向の関連

佐瀬　巧（理化学研究所／マラヤ大学），北城圭一

安静時の脳波ダイナミクスの過渡的な特性を定量化し，自閉症特性との関連を調べた。具体的には脳波のデルタ波位相－アルファ波振幅カップリングの複数の準安定状態間の遷移ダイナミクスの定量化を試みた。定型発達者を対象として，３分間の安静時閉眼脳波計測を行い，autism-spectrum quotient（AQ スコア）の質問紙調査により自閉症傾向の評価を行った。AQ スコアのサブスコアである注意のスイッチングに関するスコアと一つの準安定状態での最長滞在時間との間に統計的に有意な相関関係がみられた。より長く一つの状態に滞在する過渡ダイナミクスを示す被験者は自閉症傾向を示す注意関連のスコアが高いという結果になった。また，Kuramoto モデルを用いて，個人の脳波の過渡的なダイナミクスの再現に成功した。これらの結果から脳活動ダイナミクスの準安定性が自閉症傾向の拘束要因となっている可能性が示唆される。

今後は自閉症当事者の脳波データの解析を試みる予定である。

Sase and Kitajo, *PLoS Computational Biology*, **17**, e1008929, 2021

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（岡山大学 ヘルスシステム統合科学研究科）
于　英花（情報通信研究機構 脳情報通信融合研究センター）
Laurentius Huber（University of Maastricht, Netherlands）

MRI による生体観察において，超高磁場 MRI がもたらす信号雑音比（SNR）の上昇は，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。超高磁場 MRI 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, マーストリクト大学の Laurentius Huber 博士との共同研究より，一般的な fMRI で採用される血液の酸素飽和度に依存しない脳血流量の変化を捉える Vsucular occupancy（VASO）法を導入した。本法は，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 を実現する。手指対立運動および安静時の fMRI 計測では，それぞれ大脳皮質の体性感覚運動野, 内側前頭葉帯状皮質に信号変化が観測され, 各種賦活課題実験への応用を進めている。

MRI による社会活動と脳白質微細構造の関連解析

福永雅喜
松本純弥，三浦健一郎（国立精神･神経医療研究センター 精神保健研究所）
根本清貴（筑波大学 医学医療系臨床医学域）
越山太輔，岡田直大，森田健太郎（東京大学大学院 医学系研究科）
渡邊嘉之（大阪大学大学院 医学系研究科）
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）

人の社会活動は, 複数の脳領域における神経活動により実現されており, 脳の結合性により支えられている。本研究では，労働時間に代表される社会活動と，拡散テンソル画像（DTI）で定量化した脳の結合性の関連を検討した。483 名の健常者を対象に 3T MRI による DTI 解析を実施, また有給労働（Work for Pay），家事（Work at Home），学校教育（Student）を分類し作業時間を算出した。これらより各分類の作業時間と DTI 指標との相関関係を分析した。その結果，内包前脚（ALIC），上前頭後頭束（SFO）の mean diffusivity (MD) は，総労働時間と負の相関を示した。また，ALIC と SFO の MD 値は，有給労働の時間数と相関したが, 家事や学校教育の時間数とは相関しなかった。これらの結果は，社会活動が ALIC と SFO の白質微細構造と関連していることを示唆している。報酬を得るための労働と他の 2 つの社会活動の主な違いは, 動機の違いと考えられる。したがって，ALIC と SFO の白質微細構造は, 外的に動機づけられた社会活動に関連していると考えられた。Neurosci Lett. 18:135428 (2020) として発表した。

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い二者が繋がれ, 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., 2020）。この結果を基に，より高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., 2020）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。

内的な情報を他者と共有する神経基盤：Dual fMRI を用いた研究

小池耕彦，田邊宏樹（名古屋大学大学院 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。共有されるものは，外的な物体が持つ情報とは限らない。ある物体に対する印象など，物体そのものが持つ情報ではなく，個人の心内にのみ存在する情報が共有される場合もある。このような外的に存在する物体に対する内的な情報の共有は，共感の前駆段階と考えることができるが，その神経基盤は明らかになっているとは言い難い。本研究では，我々がおこなってきた共同注意の Dual fMRI 実験を拡張した実験系を構築し，その神経基盤の検討を進めている。

みつめあいと共同注意の神経基盤の関連性：Dual fMRI を用いた研究

小池耕彦，土元翔平，小笠原香苗，橋口真帆，定藤規弘

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

ひらめきに関係する神経基盤の解明：RAT 課題と RAVEN 課題を用いて

小池耕彦，山本哲也，原田　勉（神戸大学），定藤規弘

悩んだ末にアイデアが閃く過程の神経基盤を, 様々な可能性を脳内で検索する過程（Divergent process）と，それら可能性の中から一つの結論に収束する過程（Convergent process）に分けて検討した。実験課題としては，一つの漢字に別の漢字をつけて熟語を完成させる RAT 課題と，８枚の画像からルールを見つけ出してそのルールに当ては

まる別の画像を考える RAVEN 課題を用いた。RAT 課題は言語性の閃きであり，RAVEN 課題は視覚イメージ性の閃きであることから, それらの神経基盤の異同を検討することで, モダリティに拠らない閃きの神経基盤を描出できると考えた。RAT 課題の解析の結果，尾状核の活動，また尾状核と視覚野との結合性の強さが, 閃きと関連していることが明らかとなった。RAVEN 課題についても実験は終了しており，現在，解析中である。RAVEN 課題と RAT 課題の結果を突き合わせた上で, 英文誌に投稿する予定である。

スムースな情報共有の学習に関連した神経基盤の解明：迷路ゲーム課題を用いて

小池耕彦，角谷基文，定藤規弘

他者との会話においては，抽象的かつ目の前に物理的には存在しない情報や概念について口頭で情報交換をすることがある。その神経基盤を，迷路ゲーム（Garrod & Anderson, 1987）を用いた実験により検討した。参加者は Dual fMRI 装置に入り，口頭で情報を交換しながら協力して迷路ゲームを解く課題を，トータル 4 回繰り返した。行動指標の解析をすると，第三者評価による会話のスムースさは回を重ねるごとに上昇し，また二者の口の動きの因果性は向上した。この会話のスムースさ向上と並行して，課題関連の脳活動は，前頭前野内側面および上側頭回において増加していくのが観察された。また，二者の情報共有の神経基盤を描出するのに利用される二者脳活動相関を計算すると，前頭前野と右上側頭回にて有意であった。これらの結果は，ゲームのルールや局面といった抽象性の高い情報の共有には，上側頭回−前頭前野のネットワークにおいておこなわれている可能性を示唆する。実験, 解析はすべて終了しており, 現在, 論文執筆中である。

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

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

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

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

非ヒト霊長類（NHP）を対象とした MRI/fMRI は，より直接的なヒト・非ヒト種間比較を可能とし，脳機能のより深い理解に寄与する重要な研究手法である。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，特に超高磁場 MRI で収集した NHP データの処理に最適化した MRI/fMRI 解析パイプラインの開発を進めている。本年度は，本研究所 7 テスラ MRI にて他部門と共同で計測した麻酔下マカクザル構造 MRI（17 例），

安静時 fMRI（延べ 13 例），マーモセット構造 MRI（延べ 26 例）のデータ，および前年度取得データを，開発したパイプラインで解析し，コイルの種類や頭部手術・治具の有無等の条件に応じた最適化・改良を進めた。さらに，新たに他部門と共同で開始した麻酔下マカクザル課題 fMRI 実験（本年度延べ 25 例）のデータ解析に合わせた改良を行い，その実適用を進めている。

行動に随伴した社会的フィードバックの神経基盤：fMRI による検討

中川恵理，角谷基文（日本学術振興会 特別研究員），小池耕彦，定藤規弘

教師による評価という社会的な信号の処理に関わる神経基盤を検討するため, 機能的磁気共鳴画像法（fMRI）を用いた実験を行なった。被験者 33 名は疑似英単語を音読し，その発音を教師から評価された。教師からポジティブ反応があったとき気分評定値は有意に上昇し，ネガティブ反応では低下した。ポジティブ・ネガティブのいずれの教師の反応も「自己に関連した信号」の評価に関わる内側前頭前野を賦活させた。また，ポジティブ反応では右の一次視覚野（V1），ネガティブ反応では左の V1 が賦活し，V1 が社会的信号の価値を評価していることが示唆された。さらに，自己の行動に随伴した反応があった後にのみ V1 から一次運動野への結合が強くなり, 自他の区別を評価する内側前頭前野の活性化により調整されることが明らかになった。本結果は，自身の発話に随伴した「教師の反応」という社会的な信号は，運動制御システムへのフィードバックとして作用する可能性を示している。

7 テスラ高分解能 fMRI の脳表面ベース解析における空間的歪み補正の定量評価

山本哲也，福永雅喜，菅原　翔（東京都医学総合研究所），濱野友希，定藤規弘

7 テスラ fMRI は高い信号雑音比や空間分解能を誇る一方, 空間的歪みが大きな問題となる。それ故, 構造 MRI との正確な位置合わせが重要である。本研究では，1.2 mm 高解像 fMRI データの脳表面ベース解析における歪み補正の効果を定量評価した。静磁場の不均一と傾斜磁場の非線形性による歪みを，それぞれ皮質欠落率（皮質外組織の収集割合）と皮質内変位（本来とは異なる皮質位置からの収集）で評価した。歪み補正なしでの皮質欠落率は 9.7 %，平均皮質内変位は 0.96 mm だった。静磁場不均一や傾斜磁場の非線形性による歪みの補正は，皮質欠落率をそれぞれ 2.1，8.7 %に，平均皮質内変位をそれぞれ 0.29，0.86 mm に有意に低減した。これらの補正は歪みが顕著ではなく，従来，問題視されていなかった領域でも効果的だった。静磁場不均一による歪みの補正が 7 テスラ高分解能 fMRI の脳表面解析では特に重要である。

両手指系列運動学習の動作特異的神経基盤の解明：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, 片手動作の単なる合計ではない。しかし, 両手による技能学習過程においても, 片手による学習と異なる独自の神経基盤があるのかは不明確である。空間座標系で対称な両手動作（並列動作）と自己座標系で対称な両手動作（鏡像動作）では, 並列動作は鏡像動作からの変換を必要とするため難しいことが知られている。本研究では，これらの両手動作特異的な性質が, 技能学習の神経基盤における動作特異性をも

たらすかを検証している。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 35 人を対象として実施した。暫定的な結果として，より実行が難しい並列動作による系列運動学習を通じて, 両側一次運動野・背側運動前野・小脳に加えて右補足運動野と被殻の課題関連活動が増大することが示された。今後はより詳細な解析を通じて, 両手による系列運動学習の神経基盤を明らかとする予定である。

二者間の社会的行動選択中の神経基盤：Dual fMRI を用いた研究

土元翔平，小池耕彦，二宮太平，磯田昌岐，定藤規弘

実社会では，他者の行動から得られる情報を上手く活用することが求められる。磯田教授のグループがニホンザルを対象として，社会的行動選択中の脳領域間の機能連関を明らかにした。ヒトにおいても同様の神経基盤が存在するかを検証するために，サルで実施した社会的行動選択課題をヒトにおいても実施した。課題内容は, 2 人が交代して 3 つのボタンから 1 つの正解ボタンを選べば報酬がもらえるという試行である。課題をおこなう相手として，実際の相手だけでなく，録画再生されたスクリーン上の手や棒状の物体がボタンを押すという 3 種類の条件を設定した。この課題中の二者間の脳活動を Dual fMRI を用いて計測した。その結果，手や棒と一緒に課題をするときよりも，実在の相手と一緒に課題をする時に, 島皮質や補足運動野，側頭頭頂接合部が統計的有意に賦活することが分かった。現在は，脳領域間の機能連関を検討している。

認知制御は一次運動野における GABA の局所変化を介して運動学習に影響する

丸山修紀，福永雅喜，菅原　翔（東京都医学総合研究所），濱野友希，山本哲也，定藤規弘

一次運動野はピアノ打鍵動作の様な系列指運動学習において重要である。しかし，一次運動野と他の脳領域の関係性は明らかでない。右利き成人 38 名に最大速度で打鍵することにより学習を促す系列指運動課題を実施した。7 テスラ MRI を用いて課題時及び課題前後の安静時に機能的 MRI と MR Spectroscopy (MRS) を行い，学習中のネットワーク結合変化と代謝状態を評価した。機能的 MRI により課題準備期に学習に伴い脳活動が増強する領域を描出した。MRS により右側一次運動野のグルタミン酸とガンマアミノ酪酸（GABA）を計測した。GABA/グルタミン酸比は課題成績の向上率と負相関した。また課題準備関連信号が増強した領域は，感覚運動ネットワークと前頭頭頂ネットワークの領域に一致した。安静時の右側一次運動野と前頭頭頂ネットワークの機能的結合性変化と GABA/グルタミン酸比の変化は負相関した。一次運動野の GABA/グルタミン酸比は一次運動野と前頭頭頂ネットワークの遠隔結合を制御することが示された。

社会的意思決定における 2HBT1 効果の神経基盤

南條啓孝，小池耕彦，宮田紘平（東京大学），定藤規弘

ヒトの社会的な意思決定は個人のそれより優れていると信じられている（Two heads better than one 2HBT1 効果）が，その神経基盤は明らかではない。社会的な意思決定においては，話し合いなどの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 効果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，fMRI による脳活動計測を行い，個人内の弁別能の向上及び主観的な確信度評定に関わる脳領域の解析を進めている。

日本の教科書は文章題を解くためにどんな図表が役立つと教えているか

綾部宏明，定藤規弘
マナロ エマニュエル（京都大学教育学研究科）
福田麻莉（東京大学教育学研究科）

数学文章題解決には図表が有効であるとされるが，生徒が図表を使えるようになるためにはさまざまな課題があると報告されている。主な原因は，問題タイプとその解決に適する図表の種類の対応を私たちは十分に理解していないからだと考えられる。そこで本研究では，それらの対応が実際の教育現場でどのように指導されているかを調査した。対象は，文科省検定済算数教科書 1 社 1～6 年が収録するすべての文章題であり，問題タイプと解決に推奨される図表の種類の対応を評定した。カイ二乗分析（残差分析）の結果，問題タイプと図表の種類の対応には関連がみられた。具体的には，変更問題，結合問題，変化問題と具体図，比較問題，変化問題と数直線図，データ整理問題と表／グラフ，視覚化問題と具体図／グラフにおいて関連が有意であった。これらの結果は，我が国の数学教育が習得させようとしている問題タイプと図表の種類の対応を明らかにした。

相談者の不安が軽減することの神経基盤の検討

橋口真帆，小池耕彦，定藤規弘

相談支援場面では「共感」に相談支援場面では「共感」により相談者の不安が和らぐことが経験的に知られているが，その神経基盤は明らかになっていない。本研究では，相談者が共感された時の不安軽減効果の神経基盤解明を目指して，カウンセラー役 と相談者役を設けて対話する心理実験を行い，（１）カウンセラー側の共感が声を介して相談者伝わることで相談者側の不安を軽減させること（２）カウンセラー役の音声は共感条件と対照条件の受容条件・反問条件では異なることを検証を行った。 実験は両者の間に衝立を立て顔が見えずに声のみでやり取りをしてもらった（40 ペア）. 結果,（１）相談者の不安評定値の分散分析は交互作用があり（P=0.002）。事後検定において，共感条件は受容条件より不安評定値が低かった（P=0.007）。（２）カウンセラー役の音声の基本周波数の主成分分析において受容条件と共感条件の音声の違いが確認できた（P＝0.014）。

時間の長さを知覚することの正確さに関連する神経活動の検討

橋口真帆，小池耕彦，Denis Le Bihan，定藤規弘

主観的な感覚である時間の長さ知覚に関する領域として，Craig (2009) は内受容感覚に関連する領域である島皮質を重視した。Wittmann ら（2010）は 10 秒以上の時間再生の正確さに島皮質が寄与すると報告した。しかし，数秒のレンジでも島皮質が時間の長さ知覚の正確さに関連しているかは不明だった。本研究では，2 秒以下の時間の長さ知覚の正確さに関連した神経活動を同定することを目的に脳機能イメージングを行った。聴覚刺激を用いた心理課題を実施し，被検者はテスト刺激の聴覚刺激間隔が短い参照刺激に近いか？　長い参照刺激に近いか？　弁別した。各被検者の心理物理曲線の 50 ％ 弁別閾は主観的な時間であり，物理的な時間との距離を正確さの心理量として脳活動との相関分析を行った。結果，時間の長さ知覚が正確な被検者ほど，右島皮質・右下前頭回の活動が高く，これらの領域が時間の長さ知覚の正確さに関連することが明らかとなった。

心理的プレッシャーが運動制御に与える影響の検討

小笠原香苗，小池耕彦，定藤規弘

他者から評価されるなどのプレッシャーは運動制御に影響を与える。しかし，そのメカニズムは未だ解明されていない。視覚-運動協調時の運動制御は，課題目標でありフィードバックを明示的に利用できる運動制御精度と，課題精度とは無関係でフィードバックもない身体状態（力みなど）に分けられ，プレッシャーが両者に与える効果は異なることが示唆されている。本研究では，運動制御精度と力みを独立かつ同時に測定する実験系を提案し，プレッシャーが両者に与える影響の差異を検討する行動実験をおこなった。握力で車を制御するドライビングゲーム課題をおこなわせ，課題中の握力（力み）とエラー量（運動制御精度）を測定した。実験の結果，運動制御精度と力みはどちらもプレッシャーにより影響を受けるものの，影響の受け方は異なることが明らかとなった。今後は MRI を用いて神経基盤を明らかとする。

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シグナル応答の定量的検出において使用可能な, 培養細胞へのシグナル入力を誘導発現によりオンオフにするシステムを構築してきている。その結果，データとして必要性の明らかになってきた, 機能分子阻害に対するシグナル応答の時間依存性などを解析のパラメーターに加えることを可能としている。

個別研究（山肩研究室）

【概要】

脳の高次機能，中でも学習・記憶に関わる分子メカニズムの解明は，記憶の異常を伴う脳疾患や老化による脳機能低下の予防・治療に欠かせない。当研究室では，その過程で重要な役割を果たす脳内の蛋白質リン酸化酵素，Ca^{2+}/カルモジュリン依存性プロテインキナーゼ II（CaMKII）に重点を置いて，研究を進めている。CaMKII は，神経細胞間の情報伝達の場であるシナプスの後部に特に多く存在し，学習・記憶の基本現象とされるシナプ

スの長期増強（LTP）に不可欠の分子と考えられている。私達は，このキナーゼの酵素活性をなくした遺伝子改変マウスを作製し，生化学・細胞生物学・組織化学・電気生理学・行動科学など様々な手法を用いて解析することにより，このキナーゼの生体内での役割を解明しようとしている。本年度は，以下の課題を中心に研究を行った。

加齢と手がかり記憶，海馬依存性記憶

山肩葉子，柳川右千夫（群馬大学），井本敬二

Ca^{2+}/カルモジュリン依存性プロテインキナーゼ II（CaMKII）は，脳に多く存在する蛋白質リン酸化酵素で，学習・記憶の分子メカニズムに関わることが知られている。中でも神経細胞に特異的に発現するアイソフォーム，CaMKIIα は，その中心的な役割を果たす。これまでに，CaMKIIα の不活性型ノックインマウスを用いて，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てきている。本年度は，野生型マウスの高齢群と若年群とを用いて，水迷路を利用した手がかり記憶と海馬依存性の空間認識記憶の比較テストを行った。その結果，高齢群のマウスは，手がかり記憶については若年群と同等の記憶が獲得できたが，空間認識記憶については若年群に比べると成績が劣ることが判明した。今後これらマウス脳サンプルを用いた CaMKII キナーゼ活性測定等，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】

抗がん剤候補物質 roscovitine（cyclin-dependent kinase 1, 2, 5 阻害薬，Ca_v2 チャネル作用薬）がシナプス種特異的な様式でシナプス小胞体の多重性開口放出を促進させる作用の分子的基盤を追究した。また，小脳登上線維-プルキンエ細胞間シナプスにおいて，グルタミン酸輸送体電流の解析を行った。

Roscovitine がシナプス小胞体の多重性放出を亢進する作用の分子的基盤

佐竹伸一郎

Roscovitine には，小脳顆粒細胞 - 分子層介在神経間グルタミン酸（Glu）作動性シナプスならびに小脳顆粒細胞 - プルキンエ細胞間 Glu 作動性シナプスにおいて，シナプス小胞体の多重性放出（multivesicular release, MVR）を促進させる作用がある。また roscovitine は，小脳分子層介在神経 - プルキンエ細胞間 GABA 作動性シナプスにおいて記録した，抑制性シナプス後電流（IPSC）の振幅と減衰時間（τ_{decay}）を同じく MVR の亢進により増大させることができる。

Roscovitine の作用機序を電位依存性カルシウムチャネル（Ca_v）集合体と開口放出 Ca^{2+} センサーの位置関係に焦点を当てて検討した。緩徐結合性 Ca^{2+} キレート薬 EGTA-AM (100 μM) を小脳スライス標本に先行投与することにより，roscovitine (30 μM) の興奮性シナプス後電流（EPSC）増大作用は著しく減弱した。一方，roscovitine による IPSC 増大は，急速結合性 Ca^{2+} キレート薬 BAPTA-AM (100 μM) により強く阻害された（EGTA-AM は無効）。

これらの結果は，roscovitine の MVR 亢進作用は興奮性シナプスと抑制性シナプスでは発現機構が異なること，特に興奮性ニューロン顆粒細胞の軸索終末において①内在性 Ca^{2+} 緩衝機構 (Ca^{2+} buffer) と②Ca^{2+} マイクロドメインシグナリング（即ち，Ca_v チャネル集合体から遠位にある開口放出 Ca^{2+} センサーの動員）が MVR の誘発に重要な役割を担っていることを示唆している。

小脳登上線維 - プルキンエ細胞間シナプスにおいて記録されるグルタミン酸輸送体電流の性質

佐竹伸一郎

グルタミン酸輸送体（興奮性アミノ酸輸送体 excitatory amino acid transporter, EAAT）は神経細胞から放出された興奮性伝達物質 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。

プルキンエ細胞が登上線維 Glu を回収する過程をさらに詳しく解析するため，登上線維の電気刺激に伴いプルキンエ細胞において誘発される，シナプス性グルタミン酸輸送体電流（synaptic transporter current, STC）を観察した。重合多糖類 dextran (40 kDa, 5 %) は STC の振幅を可逆的に増大させた。この STC 増大は，登上線維 Glu がシナプス間隙から拡散していく過程が dextran によって物理的に阻害されたことに伴い，シナプス近傍に滞留した Glu がより多くの EAAT 分子によって回収されている様子を反映している。

一方，エタノール（50 mM）は STC の振幅を有意に減弱させた（減衰時間 τ_{decay} には無効）。エタノールは，EAAT のターンオーバー（Glu 輸送行程の回転速度）を促進する作用を介して，シナプス近傍の Glu 量を恒常的に減少させているため，登上線維終末から放出された Glu の回収に関った EAAT 分子の数も併せて減少したと考えられる。引き続き STC に薬理学的手法を適用することにより，EAAT の機能変化が Glu の細胞外動態におよぼす影響を追究している。

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 年度以降は，サルの供給は停止し，母群の維持を行っている。(4) 流動連携研究室は，2015 年度末で閉鎖となった多次元共同脳科学推進センターから本センターに移設されたもので，国内の研究者のサバティカル滞在による研究の推進を目的として，随時募集を行っている。2020 年度は，応募が無く活動は行われなかった。(5) 国際連携研究室は，外国人客員教授が長期滞在して運営する 3 年の時限付き研究室で，国際連携研究の推進を目的としている。2017 年度から NeuroSpin （フランス原子力・代替エネルギー庁）の元 Director である Denis Le Bihan 博士が，外国人客員教授として研究室の P.I.を務め，2 期目の初年度である 2020 年度も，引き続き 7T-MRI を用いたヒト脳イメージングの研究，特に拡散強調画像の新規撮像法および解析法の開発に取り組んでいる。

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。2020 年度は岡崎市商工会議所にて開催された産学交流会（12 月 11 日「新技術・新分野への展開に，大学との連携を！」）において，生理学研究所の共同利用研究・産学連携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，オンラインで ABiS 支援説明会の主催，および種々の生命科学関係の学会において周知活動を実施した。2020 年 9 月 8 日～9 日には，2018 年度より ABiS が参画している，全世界規模でのバイオイメージングの国際連携ネットワークを進める Global Bioimaging (GBI) の第 5 回目の年会をオンラインで行い，「Pre-publication image data: management and processing」について GBI 参加国間で議論した。2021 年 2 月 24 日には，オンラインにて ABiS シンポジウム「先端バイオイメージングの現在そして未来 ～我が国の研究戦略～」を開催し，バイオイメージング分野の最先端の技術，特に光学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，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，2020 年 12 月中旬に 5 回目となる冬のシンポジウムを実施する予定であったが，新型コロナウイルス感染拡大の影響により中止を余儀なくされた。

・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，国際的な脳科学研究の枠組みである International Brain Initiative（IBI）への戦略的対応のための意思決定を行う会議体「脳科学研究に関する国際協力推進会議」第 1 回会合（6 月，オンライン開催）の庶務を務めた。また，6 月 12 日～13 日には，プログラムスーパーバイザー（PS）・プログラムオフィサー（PO）による研究計画の確認及び助言，研究者間の交流促進を図ることを目的とする「オンライン分科会」を主催した。11 月 17 日～18 日には PS・PO による各課題の研究進捗管理および次年度予算配分の検討を目的とする「オンライン研究進捗報告会」の運営補佐を行った。12 月 9 日には PS がプロジェクト全体の運営を監督し，研究の進捗と点検に関わる情報収集等を行うことを目的とする「プロジェクト推進会議」を主催した。

NBR事業推進室

【概要】

文部科学省補助事業ナショナルバイオリソースプロジェクト（NBRP）「ニホンザル」は 2002 年に発足し，自然科学研究機構生理学研究所が代表機関となって京都大学霊長類研究所（分担機関）と共同推進してきた。

2017 年度からの第４期 NBRP「ニホンザル」は京都大学霊長類研究所を代表機関，自然科学研究機構生理学研究所を分担機関とする新体制で本事業を推進している。ニホンザルは優れた認知能力を持ち，我が国の高次脳機能研究に不可欠なモデル動物である。NBRP「ニホンザル」は病原微生物学的にも安全かつ付加価値の高い実験用動物として繁殖育成し，国内の研究者を対象に安定して提供する事を目的としている。事業推進の柱として 2020 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 2020 年度末時点で繁殖母群１６４頭，育成仔ザル８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３８件９８頭の応募があり，３８件９８頭が採択，３８件６７頭が京都大学霊長類研究所（代表機関）から提供された。提供先機関は，国公立が９機関，私立大学が３機関，研究所が５機関，合計１７機関である。

（３）研究用ニホンザルの組織試料提供の実施

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

（４）プロジェクトの総合的推進

１）委員会等の実施

運営委員会をオンラインにて３回開催した。そのうち，提供に関する審議の採否について２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（オンライン２回，メール会議３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オンラインにて開催し，ユーザーとの意見交換を行った。

３）事前講習会の開催

事前講習会を開催して，ニホンザル提供を希望する研究者に対して教育と指導を行った。今年度はオンライン（7/28）にて開催した。

４）母群検討委員会

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

（５）その他の活動

新型コロナウイルス対応のための，マニュアルの策定，飼育保管設備及び検査機器類の整備などをおこない，新型コロナウイルス対策を実施した。

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た。しかし，2020 年度以降は，装置の経年劣化に伴い新規の共同利用実験を受けないことになったため，昨年までに採択された継続課題について，合計 3 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 13 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。

ノロウイルスの感染型への構造変化をクライオ電子顕微鏡で解析

ソン チホン，村田和義
片山和彦（北里大学）

ノロウイルスは世界中で流行しているウイルス性急性胃腸炎の主要な原因ウイルスで，現在でも発展途上国を中心に毎年約 20 万人がノロウイルス感染で命を落としている。日本国内においても，学校，飲食店，病院，養護ならびに介護施設などで度々集団感染を引き起こし，大きな社会問題となっている。しかし，ノロウイルスを培養できる細胞は非常に限られており，ウイルスそのものに関する構造学的な知見も少ないため，未だノロウイルス感染症への効率的な治療法はなく，ワクチンも存在しない。そこで本共同研究では，ノロウイルスの感染の仕組みの解明や治療薬およびワクチンの開発のために，クライオ電子顕微鏡を用いて，ノロウイルス粒子の構造を詳細に調べた。

結果，ノロウイルスは 2 種類のキャプシド（殻）の構造をもち，これらは溶液中の pH と金属イオンの濃度変化によって不可逆的に変化することを突き止めた。さらには，一方の構造は宿主細胞に感染しやすく，他方は感染しにくいこともわかった。これらのことから，ノロウイルスは通常は非感染型の粒子形をして生体の免疫機構から逃れ，標的の小腸上皮に細胞に達するまでに，感染型に形を変化させると考えられた。

Song C, Takai-Todaka R, Miki M, Haga K, Fujimoto A, Ishiyama R, Oikawa K, Yokoyama M, Miyazaki N, Iwasaki K, Murakami K, Katayama K, Murata K (2020) Dynamic rotation of the protruding domain enhances the infectivity of norovirus. *PLoS Pathog* **16**(7): e1008619.

真核生物誕生の鍵を握る微生物「アーキア」の構造をクライオ電子顕微鏡で観察

ソン チホン，村田和義
井町寛之（海洋研究開発機構）

複雑な細胞構造を持つ真核生物の祖先は，単純な細胞構造を持つ原核生物であるアーキアが，同じく原核生物であるバクテリアの細胞を内部に取り込み，共生させることによって誕生したとされている。例えば，共生したバクテリアはやがてミトコンドリアへの道を辿る。最近の研究から，アスガルドと呼ばれるアーキアの一群が真核生物に最も近いと予測されていたが，その存在は環境ゲノム情報でしか確認されておらず，その実体は完全に謎につつまれたままであった。

共同研究者の井町博士は，2006 年 5 月に有人潜水調査船「しんかい 6500」により，ロキアーキオータを含めた多種多様な未培養微生物を含む深海堆積物を，南海トラフのメタン湧出帯（水深 2533 m）から採取し，その中から，真核生物に最も近いと考えられるロキアキオータ MK-D1 株の培養に成功した。そして本共同研究では，細胞の内部構造をクライオ電子顕微鏡トモグラフィーで調べた。その結果，MK-D1 株の細胞内部は非常に単純な構造で，多くの研究者が予測していた「アスガルド上門アーキアは真核生物と同様に核や小器官を有する複雑な細胞である」ことを裏切るものであった。その一方で，MK-D1 株の細胞形態は他の原核生物では観察されない複雑な形態を有することが明らかとなった。

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**, 519-525.

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，植田大海，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。今年度はこれらの結果をまとめ，論文として発表した。また，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。

親水性を大きく改善した蛍光タンパク質の開発

村越秀治，小杉貴洋

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

新規レーザーによる 3/4 光子顕微鏡の開発

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

現在，脳深部の神経細胞の観察を目指して豊田工大藤教授と連携して，新規ファイバー型レーザーの構築とそれを利用した 3 光子顕微鏡システムを構築している（Nomura Y et al., OSA continuum 2020）。現在多光子顕微鏡に利用される市販レーザーは 700-1000 nm のものが一般的であるが，水による吸収が比較的少ない波長 1900 nm 程度までは波長が長いほど組織による散乱が少ないと考えられている。そこで本研究では 1800 nm のファイバー型レーザーを開発し多光子顕微鏡を構築することで脳組織深部の観察を試みている。具体的には，長波長領域において透過性の高いツリウムファイバーを用いて新規レーザーシステムの構築を進めた。現在までにこのレーザーを用いて，赤色蛍光タンパク質である TurboFP635 を発現した海馬スライス内神経細胞の可視化に成功し，今年度に論文として発表した（Nomura Y et al., OSA continuum 2020）。現在，このシステム下において個体マウス脳のイメージングを進めている。

光応答性 CaMKII 分子を用いた海馬神経細胞におけるメタ可塑性メカニズムの解明

植田大海，佐藤愛子，恩田麻紀，村越秀治

個々のシナプスがもつ可塑性のレベルは神経活動などに伴って変化することが知られており，メタ可塑性と呼ばれている。例えば，慢性的に活性化した神経細胞ではシナプス長期増強（LTP）の誘起閾値が上昇することが知られている。しかしその分子メカニズムはよくわかっていない。そこで本研究では，マウス海馬の CA1 領域の神経細胞を対象として，2 光子グルタミン酸アンケージング法と最近開発した光応答性 CaMKII を用いて，構

造的 LTP（sLTP）閾値が上昇するメカニズムを詳細に検討した。結果として，慢性的に活性化した神経細胞（活動依存的プロモーターEASRE と黄色蛍光タンパク質変異体 Achiless でラベルした）では，グルタミン酸刺激による樹状突起スパインへのカルシウム流入が減少しており，さらにその下流シグナルである CaMKII 依存的シグナルも抑制されていることがわかった。また，この 2 つの sLTP 抑制メカニズムはタンパク質合成依存性が異なっていたことから，細胞内で機能的に区別されたメカニズムであることが示唆された。

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。

領域間推定法を用いたトップダウン・ボトムアップシグナルの除去

Pham Quang Trung，西山翔大，定藤規弘，近添淳一

視覚野における情報処理は階層的に行われる。例えば，初期視覚野である V1 は網膜から外側膝状体を介した視覚情報の入力を受け，傾きや色の情報を処理して，高次視覚野に伝達する。脳領域間の情報伝達は多くの場合，双方向的であり，初期視覚野から高次視覚野に情報が送られる（ボトムアップシグナル）のみでなく，高次視覚野から初期視覚野への情報の伝達（トップダウンシグナル）も重要な役割を担っている。本研究においては，脳領域間の情報伝達が課題によって変化するという仮説をおき，堀川ら[1]の視覚実験データを用いて，これを検証した。

視覚野内の領域間（V1, V2, V3, V4, FFA, LOC, PPA）で脳活動の推定を行った後，他の領域の活動で説明できる成分を解析的に除去することにより，画像提示条件と比べて画像想像条件において，領域間の情報伝達が密になることを示した。

1. Horikawa T, Kamitani Y., Generic decoding of seen and imagined objects using hierarchical visual features. Nature Communications volume 8, 15037 (2017).

認知機能の時系列的活動レベル推定

小山雄太郎，平山淳一郎（産業技術総合研究所），地村弘二（慶應大学），定藤規弘，近添淳一

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

The neural basis of sensory perception-to-value transformation: A combinatory study of fMRI and artificial neural network

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

Subjective valuation is one of the most important cognitive activities by which an individual can choose the most appropriate action. Previous studies have revealed two anchors of subjective valuation in human brain, i.e. the sensory cortexes and the orbitofrontal cortex[1]. The transformation process between these regions remains largely unknown. In this study, we investigate how sensory information (particularly vision and audition) is transformed into value information. Using a combination of functional MRI and Artificial Neural Networks (ANN), we found that the transformation was processed sequentially along the principal gradient of cortical connectivity[2]. And the value information was found to cover broad regions of the default mode network (DMM), extending the prior findings. These observations were consistent between the visual and auditory experiments although their ANNs were constructed differently. In future work, we will use the same methodology to investigate the integration of the vision and audition with regard to subjective valuation.

1. Chikazoe J, et al., Population coding of affect across stimuli, modalities, and individuals, *Nature Neuroscience*, 17, 1114–1122 (2014).
2. Pham T.Q., et al., Vision-to-value transformations in artificial networks and human brains, *bioRxiv*, doi: 10.1101/2021.03.18.435929, Preprint (2021).

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 204 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

脳機能解析を行う上で，特定神経路において高効率な逆行性遺伝子導入を可能にするウイルスベクターシステムは, 強力なツールとなる。現在, 高効率な逆行性 AAV ベクターシステムの開発・改良に取り組んでいる。本システムは, AAV トロピズムによる神経路選択性を顕著に緩和するため，色々なモデル動物の様々な神経路への適用が期待出来る。

細胞内シグナル伝達分子の活性操作による新しいパーキンソン病治療法の探索

小林憲太，佐野裕美，貝淵弘三（藤田医科大学），南部　篤

独自に開発した二重 AAV ベクターシステムを利用して, パーキンソン病モデルマウスの線条体-黒質投射ニューロンで特異的に Protein kinase A (PKA)のドミナントアクティブ変異体を発現誘導する遺伝子改変マウスを作製した。この遺伝子改変マウスでは，パーキンソン病様の表現型が顕著に緩和されることを見出した。現在，PKA の下流で機能する分子に関しても同様の解析を進めているところである。本研究は，特定の細胞内シグナル伝達分子を標的としたパーキンソン病の新たな治療法開発に大きく寄与する可能性がある。

遺伝子改変動物作製室

【概要】

目的遺伝子の機能を個体レベルで解析するため，あるいはヒト疾患をモデルとして再現するため，遺伝子改変動物は欠かすことができない。ラットにおいて胚性幹(ES) 細胞の樹立方法が確立され，CRISPR/Cas9 システムのような遺伝子編集技術も急速な発展を遂げたことにより，ラットでも自在に遺伝子改変動物を作製できるようになった。これまではマウスを用いて追究されてきた様々な生命現象をラットでも解析でき，動物種を超えた諸現象の保存性や種特異性の有無も明らかになる。以下には, *Prdm14* 遺伝子ノックアウトによる生殖細胞欠損ラットの特徴について紹介する。

Prdm14 欠損ラット胚盤胞の多能性幹細胞での補完による遺伝子改変ラットの効率的作製

小林俊寛，平林真澄

Prdm14 遺伝子は多能性幹細胞や胎仔期の生殖細胞において特異的に発現しており，ホモ欠損（KO）させると雌雄いずれも不妊になることが知られている。本研究では CRISPR/Cas9 システムにより作出した *Prdm14* 遺伝子ヘテロ欠損ラットを用い，まず *Prdm14* 遺伝子の KO 個体における生殖細胞・周辺細胞の有無を観察した。胎生 15.5 日齢 KO 個体の生殖隆起には Vasa 陽性の生殖細胞は認めらず，生後 1 日齢では雌雄 KO 個体の卵巣・精巣ともに正常に見えたものの，4 週齢以上になると卵巣の消失ならびに精巣の萎縮が観察された。次に，tdTomato 陽性ラット ES 細胞を *Prdm14* 遺伝子 KO 胚盤胞に注入して，生殖細胞を補完できるか調べた。その結果，キメラ産仔は ES 細胞のみに由来する生殖巣を持ち，補完キメララットと野生型ラットとの交配によって得られた G1 世代は 100％ ES 細胞に由来していた。これらの結果は，迅速かつ効率的な遺伝子改変ラット作製システムの確立に寄与すると期待される。

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の神経活動の計測（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)，（３）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），（４）麻酔マウスを用いた臓器形態－機能連関（肝・腎・血管），４次元心機能変化，微小循環血流量（脳・臍帯）の非侵襲的超音波イメージ（担当：心循環シグナル研究部門，西田教授），（５）円形温度グラジエント装置によるマウス温度嗜好性解析（担当：細胞生理研究部門，富永教授）。

円形温度グラジエント装置によるマウス温度嗜好性解析

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

マウスの温度嗜好性行動は，これまで，２プレートテストや線形の温度グラジエント装置で解析されてきた。これらの装置では，正確な温度嗜好性を解析できず，特にマウスの「隅に寄る」行動から，最低温度や最高温度の場所にとどまりがちな欠点があった。そこで，円形の温度グラジエント装置を用いて，野生型マウスと温度感受性 TRP チャネル（TRPV1, TRPV3, TRPV4, TRPM2, TRPM8, TRPA1）欠損マウスの温度依存性行動を解析した。リングは最低温を 11.5 度，最高温を 43.6 度とした。60 分間の高度を観察したが，最初の探索行動の影響を除くために最後の 20 分間のデータを解析した。マウスの体温は温度依存性行動に影響せず，行動解析時に約 1.5 度上昇した。滞在時間の解析では，TRPM8 欠損マウスが有意に長く低温域に滞在し，低温域での運動速度も大きかった。野生型マウス，TRPM2, TRPA1 欠損マウスは約 34 度に最も長く滞在したが，他の欠損マウスはより低い温度を好んだ。また，これらのマウスはより運動が活発であった。TRPV1, TRPA1 の温度感受性を観察するために，最低温を 7.8 度，最高温を 54.9 度として解析したところ，TRPA1 欠損マウスは野生型マウスと低温域の行動が変化なかった。TRPV1 欠損マウスは，野生型マウス，TRPA1 欠損マウスと比較して，54.9 度領域に入り，その温度域での運動速度も大きくならなかったことから，高温を忌避しないと考えられた。円形温度グラジエント装置はマウスの温度嗜好性解析に有用であると考えられた。

長引く痒みに関係するアストロサイトの活性化メカニズム

津田　誠，白鳥美穂（九州大学大学院 薬学研究院）
西田基宏

慢性的な痒みは，アトピー性皮膚炎をはじめ様々な病気で起こることが知られており，抗ヒスタミン薬などの既存薬ではかゆみを十分に抑えることが難しいため，一刻も早いメカニズムの解明とそれを基盤とした創薬開発が期待されている。当研究グループは以前，炎症を起こした皮膚と末梢神経で繋がっている脊髄後角で，「アストロサイト」と呼ばれる細胞が STAT3 という分子の働きで長期にわたって活性化し，それによって作り出されたリポカリン 2（LCN2）というタンパク質が痒み信号を強め，慢性的なかゆみに寄与することを明らかにしてきた。しかし，アストロサイトがどのような仕組みで長期的に活性化しているのかは不明であった。

今回，STAT3 活性化因子として知られていたインターロイキン（IL）-6 の発現が皮膚炎マウスの末梢神経で増加し，それが脊髄後角アストロサイトに作用して 1 型 IP3 受容体や TRPC チャネルを介する細胞内カルシウム上昇を起こし，長期的な STAT3 活性化を誘導することを見出した。さらに，末梢神経の IL-6，アストロサイトの 1 型 IP3 受容体や TRPC の発現あるいは活動を抑制することで，皮膚炎マウスで見られる脊髄後角アストロサイトの活性化，LCN2 発現，そして引っ掻き行動が抑えられることも明らかになった。

視床下部カナビノイド受容体の発現レベルに及ぼす高脂肪食とニコチン摂取の相互作用

Tingting Guo，田中智洋（名古屋市立大学大学院 医学研究科 消化器･代謝内科学）
中尾一和（京都大学大学院 医学研究科 メディカルイノベーションセンター）
箕越靖彦

カナビノイド受容体 1（CB1R）は脳及び末梢組織に広く分布しており，CB1R の阻害剤投与により，肥満やたばこ依存症にヒトにおいても有効であることは知られている。しかし，そのメカニズは不明である。本研究では，CB1R が視床下部のどの部位に発現し，それらが肥満やニコチン曝露によってどう変化をするかをマウスを用いて調べた。

視床下部では，視床下部に広く発現しているが，室傍核，腹内側核，背内側核に比べ，弓状核及び外側核に CB1R の mRNA 発現が高いことが分かった。マウスにニコチン又は高脂肪食を各々単独で与えてもこれらの神経核において CB1R の発現に変化は無かった。ところが，高脂肪食を摂食させたマウスにニコチンを投与すると，弓状核，室傍核，外側核において CB1R の発現が有意に増加した。

以上の実験から，高脂肪食を肥満させたマウスにおいてニコチン摂取は CB1R の発現を高め，その反応を増強する可能性があることが示された。たばこ，特にニコチン摂取は摂食量を低下させるが，禁煙により逆に摂食量が増加する。本研究は，禁煙による体重のリバウンド現象に CB1R とそのシグナル伝達機構が関与する可能性を示した。

パーキンソン病の病態生理の解析

知見聡美，佐野裕美，南部　篤
笹岡俊邦，齊藤奈英（新潟大学）

パーキンソン病（PD）の病態生理を明らかにするため，ドーパミン D2 受容体（D2R）ノックアウトマウスの神経活動を記録し，6-OHDA によって作製した PD マウスと比較した。大脳基底核の中継核として機能する淡蒼球外節（Gpe）の神経細胞は，野生型マウスでは，大脳皮質運動野の電気刺激に対して「早い興奮－抑制－遅い興奮」という 3 相性の応答を示す。一方，D2R ノックアウトマウスでは遅い興奮が著しく延長されており，この応答様式は PD マウスとよく似ていた。GPe は線条体間接路細胞の投射先であり，皮質由来の遅い興奮は，大脳皮質－線条体間接路細胞－GPe－視床下核－GPe 路を介して伝達される。このことから，D2R を介する情報伝達は，線条体の間接路細胞に対して抑制性に働くことが示唆された。また, D2R ノックアウトマウスと PD マウスの GPe 神経細胞がよく似た応答様式を示すことから，PD で観察される GPe の異常な応答様式は, D2R を介する情報伝達の消失に起因すると考えられる。

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果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。2020 年度は，9 月に新たに西島教授が加わり，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，施設設備等の補修・管理及び改修・増築工事についての業務を行った。微生物コントロールについては，齧歯類の微生物自家検査への一本化を進め，その他に，サル類の微生物検査体制の整備などを進めた。施設設備等の補修・管理については，従来から実施している明大寺及び山手地区の両施設における修理作業の他に，改修・増築工事およびそこに設置する備品の導入を進めた。

第二の研究は，公益財団法人実験動物中央研究所との共同研究として，個別換気飼育ラックフィルターからの微生物モニタリング検査法，ニホンザルの心理的ストレスの軽減策をテーマとして進めた。

第三の教育は，センターの利用者を対象に，明大寺及び山手両地区それぞれに，利用者講習会及び実務講習を開催した。

第四の社会貢献としては，研究所外の各種学協会等での理事長，理事，委員等としての活動，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

明大寺地区の動物種別飼育数は，マウス 1,800 匹，ラット 0 匹，魚類 11,846 匹，両生類 84 匹，サル類 29 匹であった。年間延べ入館者数は 7,551 人，利用登録者数は 123 名であった。

山手地区の動物種別飼育数は，マウス 2,261 匹，ラット 201 匹，魚類 4,280 匹，両生類 249 匹であった。年間延べ入館者数は 9,797 人，利用登録者数は 155 名であった。

2. 飼養室の使用状況

明大寺地区陸生動物飼養保管室の利用部門数は，11 部門（生理研 10 部門，共通研究施設 1 部門）であった。山手地区陸生動物飼養保管室の利用部門数は，10 部門（生理研 6 部門，生命創成探究センター3 部門，共通研究施設 1 部門）であった。明大寺地区水生動物室の利用部門数は 5 部門（生理研 1 部門，基生研 4 部門），山手地区水生動物室の利用部門数は 3 部門（生命創成探究センター3 部門）であった。

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）で飼育されているマウス，ラットを対象に，微生物モニタリング検査を 3 カ月に一回の割合で行った。検査項目はウイルス感染症：MHV，Sendai virus，Ectromelia virus，Lymphocytic choriomeningitis virus，SDAV，Hanta virus；細菌性感染症：*Mycoplasma pulmonis*，*Salmonella spp.*，*Clostridium piliformis*，*Pasteurella pneumotropica*，*Bordetella bronchiseptica*，*Streptococcus pneumoniae*，*Citrobacter rodentium*，*Corynebacterium kutscheri*；内部寄生虫：Giardia muris，Spironucleus muris，Trichomonads etc.，Pinworms と外部寄生虫を対象とした。

(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，検査結果の早期入手，検査諸経費の削減，汚染事故発生時の早期対応を目的として，2017 年 12 月より，センターにおいて自家検査ができる体制を構築した。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，事前に 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，継続して ICLAS での研修を受講する予定であったが，2020 年度は新型コロナ感染症のため中止した。

(3) 微生物モニタリングの件数

センター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，搬入時には全てのマウスについて，マウス肝炎ウイルス（MHV）を対象とした検疫を，飼育中の齧歯類動物については，自家検査による定期的な微生物モニタリングを実施した。2019 年度まで外部委託していた MHV 検査については，2020 年度より自家検査に切り替えた。定期的なモニタリング検査において，検査試薬が入手できない等の理由で，自家検査の対象としていない検査項目については，これまで通り外部委託した。自家検査で行った件数は，明大寺地区ではマウス 92 件とラット 8 件，山手地区ではマウス 160 件とラット 24 件で，MHV 検査は 8 件であった。外部委託した件数は，明大寺及び山手両地区を合わせて，マウス Lymphocytic choriomeningitis virus 252 件，ラット Hantavirus 32 件，マウス免疫不全コアセット 1 件，*Pseudomonas aeruginosa* 1 件，*Helicobacter hepaticus* 3 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を実施した。マカクサルの導入時には，事前に 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）の検査結果を確認することとした。2020 年度には，ニホンザル 8 頭の検疫検査を実施した。サルの定期的健康診断は，全頭（59 頭）を対象として，血液学的検査，血清生化学的検査，糞便検査（寄生虫，細菌性赤痢，サルモネラ菌），ツベルクリン反応による結核症の感染検査，B ウイルス抗体検査，サルレトロウイルス（SRV）抗体・核酸検査，E 型肝炎ウイルス（HEV）抗体・核酸検査，麻疹ワクチン予防接種およびイベルメクチンの予防投与を実施した。

5. マウス発生工学業務の実績

齧歯類の授受について，年間で 61 件の導入と 103 件の供与があった。この内の一部について，凍結保存やクリーンアップを行い，受精卵凍結保存 34 件，クリーンアップ兼受精卵凍結保存 2 件，融解・移植 35 件を受託し，実施した。

6. 空調設備等の主な修理内容

(1) 明大寺地区動物棟 1

2019 年 4 月に改修・増築工事を開始し，2020 年 9 月に開所を迎えた。

1) 動物棟 1 南側及び西側外壁の塗装を行った。ガス容量の確保のため，ガス配管の径を拡大する工事を行った。
2) 動物棟2 の温湿度モニターシステムの動物棟1中央監視装置への取り込み工事を行った。
3) 高圧蒸気滅菌器，プレハブ冷蔵庫の警報システム配線の延伸工事を行った。
4) 専門業者によるクリーンエリアの清掃消毒を実施した。

(2) 明大寺地区動物棟 2

1) 西面 3F，4F の壁に雨水の侵入が確認されたため，シーリングおよび塗装による補修を行った。
2) 高圧蒸気滅菌機の配管蒸気漏れ，シーケンサー故障の修理を行った。
3) 蒸気ボイラーのヘッダーフランジからの蒸気漏れの修理を行った。
4) 貯湯槽蒸気バルブ，蒸気ボイラー逃し弁からの蒸気漏れの修理を行った。
5) 暑熱によりチラーが停止した対応として，扉を開放した状態での運転を行った。

(3) 山手地区

1) エレベーターのテールコード交換を行った。
2) 高圧蒸気滅菌器の給蒸遮断弁圧力センサー故障，蒸気電磁弁故障，圧力スイッチ蒸気漏れ，扉上昇用ソレノイド故障，配管蒸気漏れ，コンプレッサ故障等の修理を行った。
3) 蒸気ボイラー薬注器，基盤に不良個所があったため，修理を行った。
4) 空調の空冷ヒートポンプブラインチラー氷蓄熱ユニットのエアポンプに異常があり，修理を行った。
5) 飼育室の照明が故障したため，修理を行った。
6) ケージ洗浄機の電磁弁が故障し，修理を行った。
7) ベランダ給湯機の取り換え工事を行った。

7. 改修・増築棟の備品の概算要求

「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，これに基づいて大型物品の導入を進め，2021 年 3 月より，動物の飼育を開始した。

8. 新型コロナ感染症対策

生理研の感染対応マニュアル「新型コロナウイルス感染対策」にあわせ，「COVID-19 におけるセンターの対応マニュアル」を作成した。新型コロナウイルス対策として，職員全員の出勤時と退勤前に体温測定を実施し，昼食は分散して取るなどの対応を行った。

【研究】

1. 個別換気飼育ラックフィルターからの微生物モニタリング検査法の開発

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

2. ニホンザルの心理的ストレスの軽減策の検討

ストレスが原因で脱毛していると考えられるニホンザルが 2 頭いたが，対面で飼育しているサルの威嚇がその原因であると考え，ケージ前にカーテンを設置し，脱毛状態に与える影響を検討した。その結果，脱毛の改善傾向がみられ，カーテンの設置がサルのストレスの軽減につながる可能性が示された。

【教育】

1. 利用者講習会

明大寺及び山手地区において，初めてセンターを利用するユーザーを対象として，利用者講習会及び実務講習会を開催した。コロナ禍のため，利用者講習会の開催回数を減らし，オンラインでの開催も試みた。実務講習会は，実地で行ったが，密を避けるため人数を制限した。利用者講習会には, 明大寺地区で 51 名, 山手地区で 2 名，実務講習会には，明大寺地区で 56 名，山手地区で 22 名の参加があった。

2. 実技講習

マウスの取り扱いに不慣れな方及び動物実験初心者の方を対象にして，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の 3Rs の原則に基づく実技講習会の実施を検討したが，コロナ禍及び動物棟 1 の改修・増築のため中止した。

3. 生理研トレーニングコース

生理研トレーニングコース「遺伝子改変マウスの基本的手技と学習･記憶行動解析入門」の実施を予定していたが，コロナ禍のために中止された。

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主催の「サル講習会」で講義の一部を担当した。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，受講者は 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，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，基盤神経科学研究領域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渡我部ゆき係員を採用した。また，動物資源共同利用研究センター霊長類動物関連技術を強化するため，高橋伸明係員を採用した。さらに，部門先端研究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。

技術課組織の強化と指導体制の見直し，研究支援体制の充実を図るため，山本友美主任，髙木正浩主任，森将浩主任の 3 名を係長に，神谷絵美係員を技術主任に，山口登係長を基盤神経科学研究領域技術係から脳機能計測・支援技術係に異動させた。

今年度末，1 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』を企画したが，COVID-19 感染拡大防止のため中止となった。

②生理学技術研究会の開催

全国の大学等技術職員の技術連携と交流を目的に第 43 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 2021 年 2 月 18 日－19 日の 2 日間にわたりオンライン開催した。会では，26 題の発表があり，研修講演として『新規材料やレーザー技術を活用した生理機能の顕微イメージング』（根本知己教授，生理学研究所バイオフォトニクス研究部門）を行った。これらの報告を『生理学技術研究会報告（第 43 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報告会を行ってきたが，今年度は COVID-19 感染拡大防止のため，中止した。

④自然科学研究機構技術研究会の参加

自然科学研究機構技術職員の技術紹介と技術連携・異分野連携を目的に開催してきたが，今年度は COVID-19 感染拡大防止のため，中止した。

⑤東海・北陸地区国立大学法人等技術職員研修等の受講と参加

東海北陸地区大学等の技術職員の技術交流と技術向上を目的に，毎年当番校により東海・北陸地区国立大学法人等技術職員研修が行われており，本年は複合領域コースと機械コースが企画されたが，COVID-19 感染拡大防止のため中止された。また，東海・北陸地区技術職員合同研修に係わる技術職員代表者会議（名古屋大 Web 開催，3 名）に参加し，今後の研修会開催について議論を進めた。また，令和 2 年度自然科学研究機構 初任者研修（自然科学研究機構 Web 開催，1 名），令和 2 年度東海地区国立大学法人等目的別研修（静岡大 Web 開催, 1 名），令和 2 年度東海地区国立大学法人等職員基礎研修（名古屋大 Web 開催，2 名），令和 2 年度東海地区国立大学法人等係長研修（名古屋大 Web 開催, 3 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，情報ネットワークセキュリティ ’19，感染症と生体防御 ’18，遠隔学習のためのパソコン活用 ’17 の 3 科目を選択し, 3 名が受講した。

⑦科学研究費補助金（奨励研究）等の採択

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

⑧業務報告会とデータベース化事業の促進，および表彰制度の整備

課員の配属先研究部門での業務成果は，技術課業務報告会で報告され，情報の共有化が図られている。また，その成果は技術課主催の生理学技術研究会，配属先部門での学会発表により所外に発信されているが，より広く活用され，即時的に発信するために，優れた成果をデータベース化する事業を技術課が研究部門と進め，その一部を技術課ホームページで公開している。今年度も，その編集を技術係員が行い，その更新を進めた。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，令和 2 年度東海・北陸地区 国立大学・研究所 環境安全衛生協議会（名古屋大 Web 開催，1 名），特定化学物質及び四アルキル鉛等作業主任者技能講習（名古屋，2 名），有機溶剤作業主任者技能講習（名古屋，2 名），酸素欠乏・硫化水素危険作業主任者技能講習（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，自衛消防業務再講習（名古屋，1 名）を受講した

⑩岡崎 3 機関技術課長会と機構技術代表者会議の開催

岡崎 3 機関の三技術課長と事務センターの各課課長補佐を交え, 毎月 1 回, 岡崎 3 研究所の動向や今後の計画, 問題点などの意見交換を行った。また核融合科学研究所, 国立天文台も交え毎月 1 回，オンライン会議による情報交換を行った。

⑪職場体験の受入れ等

広報展開推進室が推進する地域貢献活動を支援しているが，今年度は COVID-19 感染拡大防止のため，職場体験の受入れ指導を行わなかった。また，生理研一般公開（Web 開催）, せいりけん市民講座（オンライン開催）, 岡崎市理科作品展（Web 開催），大学共同利用機関シンポジウム（オンライン開催），自然科学研究機構シンポジウム（オンライン開催）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（生体機能情報解析室）

髙橋直樹，犬塚小百合

【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。

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．特定のチャンネルで波形が非表示かつチューニング波形がフラットになった不具合が 2 件あった。いずれも SQC ボードの故障が原因だったため交換を行った。
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ている。原因特定にはハードサイクルなどの作業を伴うが，計測には支障がないため運用観察としている。
3．UPS バッテリーアラート（システムラック用とデータサーバ用）, 酸素濃度計のバッテリーを交換した。

今年度の生体磁気計測装置の稼働率を下表に示す。

2020 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	
2020 年 4 月	30	9	0	9	43	9	9	
5 月	31	13	0	8	44	8	8	
6 月	30	8	2	12	60	12	12	8～9 日定期点検
7 月	31	10	1	10	50	10	10	20 日臨時保守作業
8 月	31	11	0	8	40	8	8	
9 月	30	10	2	11	61	11	11	28～29 日定期点検
10 月	31	9	0	11	50	11	11	
11 月	30	11	0	7	37	7	7	
12 月	31	8	2	6	29	6	6	8～9 日定期点検
2021 年 1 月	31	12	0	8	42	8	8	
2 月	28	10	0	7	39	7	7	
3 月	31	8	2	12	57	12	12	1 日，3 日定期点検
	365	119	9	109	46	109	109	（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を利用した研究成果については，システム脳科学研究領域心理生理学部研究部門と脳機能計測・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。

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

各 MRI 装置の保守は, 三ヶ月毎にメーカーによる定期点検が行われている。今年度，伊藤は定年退職して，再雇用による技術支援員となったが, これまで通り MRI 実験用の PC 等を含む実験装置の保守や更新を行っている。また，５月から新たに技術支援員を 1 人採用して，実験用 PC の管理や安全衛生面の強化を行った。

また，Dual fMRI 実験装置と 7 T-MRI 装置に新たに高画質のデジタル録画装置を設置した。これに伴い音声刺激関係の機器の更新を行った。

その他, 前年度に引き続き MRI 実験で得られる大量のデータ解析に対応するために，データ解析用 PC クラスタおよびメイニ―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しているため，便宜上 Verio-A，Verio-B として個々の稼働率を算出している。

2020 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	
2020 年 4 月	30	9	1	20	0	0	0	
5 月	31	13	2	16	0	0	0	
6 月	30	8	1	21	29	0	6	
7 月	31	10	1	20	55	1	10	定期点検
8 月	31	11	1	19	11	0	2	
9 月	30	10	1	19	53	1	9	冷凍機メンテナンス（液体ヘリウム補充）
10 月	31	9	0	22	73	0	16	
11 月	30	11	3	16	88	0	14	定期点検
12 月	31	11	1	19	71	0	13.5	
2021 年 1 月	31	11	1	19	87	0	16.5	
2 月	28	10	0	18	100	0	19	
3 月	31	8	2	21	95	0	20	定期点検
計	365	121	14	230	56	2	126	

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	
2020 年 4 月	30	9	1	20	0	0	0	
5 月	31	13	2	16	6	0	1	定期点検
6 月	30	8	4	18	0	0	0	
7 月	31	10	4	17	12	0	2	
8 月	31	11	1	19	26	0	5	
9 月	30	10	1	19	37	2	5	定期点検
10 月	31	9	0	22	27	0	6	
11 月	30	11	3	16	72	0.5	11	
12 月	31	11	1	19	63	0	12	
2021 年 1 月	31	11	1	19	74	0	14	定期点検
2 月	28	10	0	18	100	0	19.5	
3 月	31	8	3	20	95	0	19	
計	365	121	21	223	43	2.5	94.5	

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	
2020 年 4 月	30	9	0	21	76	0	16	
5 月	31	13	1	17	71	0	12	定期点検
6 月	30	8	2	20	80	4	12	
7 月	31	10	0	21	71	5	10	
8 月	31	11	1	19	32	3	3	定期点検
9 月	30	10	3	17	35	1	5	
10 月	31	9	3	19	92	1.5	16	
11 月	30	11	2	17	79	1	12.5	定期点検（液体ヘリウム補充）
12 月	31	11	0	20	93	0	18.5	
2021 年 1 月	31	11	0	20	63	0	12.5	
2 月	28	10	1	17	85	0	14.5	
3 月	31	8	1	22	77	0	17	定期点検
計	365	121	14	230	72	15.5	149	

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

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，竹市裕介

【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。今年度も，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。

本年度前半は COVID-19 による研究所の活動制限により，電子顕微鏡室の利用は，限られた利用者に限定され，SBF-SEM もその期間は利用を停止していた。職員も一部職員を除いて在宅勤務となり，その期間は限られた職員で電子顕微鏡室の運営を行った。

本年度の後半にはソーシャルディスタンスを維持した電子顕微鏡室運営を行った。山手地区においては，SBF-SEM が経年劣化と思われるトラブルが何度か起こったが，現在は復旧している。また，電子顕微鏡室所属の透過型電子顕微鏡に関しては，予定通り新しく電子顕微鏡室に移管された電子顕微鏡（日立 HT7700）へと保守契約を移行する予定である。一方，これまで主力機として利用されてきた電子顕微鏡（日本電子製 JEM1010）は，今後保守契約加入は行わないが，引き続き機器が使えなくなるまで継続して利用する予定である。

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。

また，明大寺電子顕微鏡室のスペースは新しく生体分子構造研究部門が利用することとなり，それに伴い，室内の機器や物品の整理を進めている。今後明大寺地区の電子顕微鏡や周辺機器の運用等の業務は随時生体分子構造研究部門に移管する予定である。

【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は，COVID-19 の影響により数は減少したものの，明大寺，山手の両地区で希望に応じて実施した。

【研究内容一覧表】

本年度も例年通り，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。

2020 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	電子顕微鏡室 （窪田グループ）	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
		マウス大脳皮質神経回路解明のための 3 次元微細構造解析
	心循環シグナル	さまざまなストレス下にある心組織や培養細胞中のミトコンドリアの超微形態を評価する
		さまざまなストレス下にある心組織や培養細胞中のオルガネラ構造を評価する
	細胞構造	マウスくも膜の微細構造の観察，3D-SEM を用いたくも膜細胞の 3 次元構造の解析
		細胞間接着装置および上皮細胞の電子顕微鏡観察
	超微形態	共同研究およびイメージング支援事業の遂行
	生体分子構造	サンプルの作製・確認及び電顕観察
		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	微細藻類における光合成機構の解明
	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	食虫植物の運動器官発生メカニズムの研究
	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が，本年はコロナ禍のため講座の開催を取りやめた。

昨年 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，本年 7 月まで多くあった。

金工室の旋盤一台のモーターに焼き付きが発生し，修理を行った。使用機器は，設置後 40 年近くの経過があり，使用頻度が低いとは言え，故障の発生頻度が増している。修理に必要な予算の計上の必要性を感じた。

なお，機器研究試作室の今年度の利用状況は，以下の通りである。

2020 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	62	心理生理学	4	視覚情報処理	4	動物資源共同利用研究センター	3
バイオフォトニクス	2	大脳神経回路論	2	生殖・内分泌系発達機構	1	技術課	1

基生研							
時空間制御	2	クロマチン制御	1	共生システム	1		

分子研							
装置開発	57						

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	9	23	0	0	27	94	36	117
5	16	43	0	0	28	118	44	161
6	4	9	0	0	2	6	6	15
7	12	18	1	1	0	0	13	19
8	1	1	1	3	0	0	2	4
9	3	6	2	7	0	0	5	13
10	7	9	0	0	0	0	7	9
11	5	9	0	0	0	0	5	9
12	4	5	0	0	0	0	4	5
1	5	6	0	0	0	0	5	6
2	3	3	0	0	0	0	3	3
3	10	15	0	0	0	0	10	15
合計	79	147	4	11	57	218	140	376
前年度実績	*86*	*177*	*17*	*40*	*192*	*709*	*295*	*926*

機器研究試作室　依頼製作品例

機械工作	温度勾配アルミプレート	マウス用傾斜固定器	飛沫防止衝立
電気工作	メダカ用音刺激装置	マウス用トレッドミル	実験装置修理
レーザー加工	マウス回転固定台	電極固定台	ハムスターケージ

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。

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 87 名で，研究推進のために活用されている。

メールシステムは，2020 年 8 月に Google Workspace for Education に移行し，Chat，Drive などの多くの新しいサービスが利用可能となった。12 月にはセキュリティ向上のため 2 段階認証を必須としている。

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。

情報セキュリティインシデントは，今年度も自然科学機構内外で発生している。これに対応するため機構 CSIRT が組織されており，発生予防，対策，監視等を行うと共に，発生時及び発生後の対応を行っている。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 368 名。WWW 登録者が 103 名。LAN の端末数が 1,877 台。WWW は 5,200 IP／日の端末から 22,000 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，高橋伸明

【概要】

昨年度と比べ，齧歯類の搬入件数は変わらず，搬出件数は増加した。マウス受精卵凍結と融解件数は増加したが，稼働を始めたバリア施設への導入を進めたためであると考えられた。

動物の延べ飼育数は昨年度と比べ，マウス，ラット，マカクサル，マーモセットともに減少した。

施設運用において，齧歯類微生物モニタリングを引き続き実施した。初心者を対象とした実験動物の基本的手技の実技講習を計画したが，COVID-19 の蔓延のため中止を余儀なくされた。例年，トレーニングコースでもマウスの基本的手技を担当していたが，COVID-19 の影響によりトレーニングコースが中止となった。マカクサル導入時の検疫，1 回/年の全個体の定期検診は例年通りに実施した。マーモセット導入前に，トリコモナスが検出されたため，投薬後導入し，現飼育動物も含め全頭についてトリコモナス検査を実施した。

明大寺の動物棟 1 は，機能の改善および高度化を目的とてして増築･改修工事を行い，2020 年 4 月に竣工した。大型機器類の導入を行い，運用に関わる物品整備の後，9 月 30 日に開所式を行った。バリアエリアの過酢酸による滅菌を業者に依頼・実施し，2021 年 3 月から本格稼働し，飼育を開始した。

動物棟 1 の SPF 化に伴い，業務の見直しを行い，技術支援員を新たに 4 人増員した。

明大寺動物棟 2 は 27 年が経過しており，空調機器類及び配管類の経年劣化による不具合，外壁の亀裂からの雨水の侵入が起こり，修繕しながら運用しているが，今後の大規模改修が望まれる。

山手の施設は 19 年を経過し，空調機器類の経年劣化，バリア構築の根幹である高圧蒸気滅菌機で不具合が起きており，修繕をしながら運用しているが，今後の根本的な対策が必要である。

COVID-19 の対応として，生理研の感染対応マニュアル「COVID-19 感染対策」にあわせ，「COVID-19 におけるセンターの対応マニュアル」を作成した。また，COVID-19 対策として，職員全員出勤時と退勤前に体温測定の実施や，昼食は分散して食べるなどの対応を行った。

【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 61 件の導入と 103 件の供与があった。全体として昨年より増加した。他機関からの導入は減少したが，供与は増加し，3 機関内の導入と供与は増加した。海外からの導入はなく，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注力した。

②受精卵凍結・クリーンアップ事業

受精卵凍結保存は 34 件，クリーンアップ兼受精卵凍結保存は 2 件，融解・移植は 35 件それぞれ実施した。昨年度と比較してクリーンアップ件数は減少したが，凍結保存，融解・移植件数は動物棟 1 の SPF 化に関連して増加した。

③齧歯類微生物検査事業

昨年度に引き続き，自家検査をマウス 252 件，ラット 32 件実施した。また，外部施設からのマウス導入にあたり，PCR による MHV の自家検査を 8 件実施した。

動物棟 1 にマイクロアイソレーションラックが導入されたため，微生物モニタリング定期検査項目に，*Helicobacter hepaticus*，*Helicobacter bilis* を加えることを検討した。

技術支援員に検査方法の講習を行った。

④マウス・ラットの取り扱い実技講習会の中止

例年，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 2 回行っているが，COVID-19 の影響のため中止した。また，生理研トレーニングコースでも「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」コースで講習を行っているが，COVID-19 の影響でトレーニングコースが中止となった。

【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，11 部門（生理研 10 部門，共通研究施設 1 部門）であった。

利用者講習会を隔月で開催していたが，COVID-19 の影響で 2020 年 5 月以降は座学を中止し，実地講習のみを行った。また，動物棟 1 稼働に伴い，2021 年 2 月からの利用者講習会を online で実施し，合計 51 名の参加があった。

昨年度と比べ，マウス，ラットの延べ飼育数は減少し，サルはやや減少，マーモセットは減少した。マウスについては，動物棟 1 のバリア施設の稼働に伴って動物棟 2 の CV マウス飼育施設を順次閉鎖したため減少したと思われ，ラット，マーモセットは利用者の転出に伴い減少した。

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 においては，平成 31 年度国立大学法人先端研究等施設整備費補助金にかかる大型機器類の導入（高圧蒸気滅菌機，個別換気ケージ飼育装置，万能型洗浄機，ケージ洗浄機，オゾンガス滅菌装置，動物飲水製造装置，消毒液製造装置など）を 8 月末までに完了した。また，備品の移動・廃棄及び保管を行った。その後，運用に関わる物品整備，旧施設で使用していた物品の消毒滅菌後の導入および廃棄などを行い，9 月 30 日に開所式を行った。バリアエリアの過酢酸による滅菌を業者に依頼・実施し，2021 年 3 月から本格稼働した。

改修工事期間中は，動物棟 2 のみでの運営を行った。

④主な工事及び修理について

（1）動物棟 1 ドラフト用排風機を有機溶剤対応に変更工事
（2）動物棟 1 チラー圧縮機不良のため交換修理
（3）動物棟 1 ドライエリアプレハブ冷蔵庫警報ライン敷設工事
（4）動物棟 1 リボイラー2 漏水修理
（5）動物棟 1 オートクレーブ 3 号機蒸気漏れ修理
（6）動物棟 2 機械室蒸気ボイラーフランジパッキン蒸気漏れ修理
（7）動物棟 2 貯湯槽蒸気入口バルブ，ボイラー蒸気逃がし弁の蒸気漏れ修理
（8）動物棟 2 雨水侵入のため，南面壁および西面壁の修繕塗装工事
（9）動物棟 2 オートクレーブシーケンサー不良のため修理

【山手地区 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 6 部門，生命創成探究センター3 部門，共通研究施設 1 部門）であった。

利用者講習会を隔月で開催するとともに，実際の利用方法について別途実務講習会を実施した。COVID-19 の影響で，5 月以降は実務講習会のみとしたため，利用者講習会は 2 名，実務講習会受講者は 22 名となった。

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 2～3 の微生物モニタリングを 3 ヶ月に 1 回のペースで実施した。

③施設整備について

経年劣化によりエレベーター・テールコードの交換を行った。また，同じく経年劣化したベランダ給湯機の取り換え工事を行った。

④主な工事及び修理について

（1）4 階熱源室不良箇所修理
（2）4 階機械室空調用空冷ヒートポンプブラインチラー氷蓄熱ユニットエアポンプ修理
（3）4 階熱源室ボイラー蒸気ヘッダー蒸気漏れ修理
（4）4 階エアシャワー送風停止せず修理
（5）ケージ洗浄機異音のためオーバーホールの実施と吐水圧が低いため電磁弁交換修理
（6）給湯機修理
（7）オートクレーブリボイラー蒸気漏れ修理
（8）オートクレーブ蒸気漏れ，圧力スイッチ交換修理

【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行わなかった。

陸生動物部門別・動物種別搬入数（2020 年度）

部門＼動物種	明大寺地区							山手地区		
	マウス	ラット	ハムスター	モルモット	ウサギ	マーモセット	サル	マウス	ラット	ハムスター
神経機能素子								3		
生体膜								269	8	
個別研究(佐竹・山肩)								7	11	
生体システム	90					4	4	50		
認知行動発達							5			
大脳神経回路論								90	19	
生殖･内分泌系発達機構	334							48		
生体恒常性発達	180							7		
多光子顕微鏡室	60	9								
動物資源共同利用研究センター	143	6						332	24	
視覚情報処理	222	32						135		
細胞生理								186	10	
遺伝子改変動物作製室								600	607	
心循環シグナル								370	29	
細胞構造	46							32		
バイオフォトニクス	23							149		5
神経細胞生物学								124		
ウイルスベクター開発室	26									
合　計	1,124	47				4	9	2,402	708	5

【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 88
生体膜研究部門 88
神経発達・再生機構研究部門 88
細胞構造研究部門 89
細胞生理研究部門 90
心循環シグナル研究部門 90
生殖・内分泌系発達機構研究部門 91
超微形態研究部門 91
生体恒常性発達研究部門 92
視覚情報処理研究部門 93
バイオフォトニクス研究部門 93
大脳神経回路論研究部門 94
認知行動発達機構研究部門 94
生体システム研究部門 95
神経ダイナミクス研究部門 96
心理生理学研究部門 96
個別研究（佐竹研究室） 98
形態情報解析室 98
多光子顕微鏡室 99
生体機能情報解析室 99
ウィルスベクター開発室 99
遺伝子改変動物作製室 100

発　表　論　文

《神経機能素子研究部門》

1)　英文原著論文

1. Shimomura T, Yonekawa Y, Nagura H, Tateyama M, Fujiyoshi Y, Irie K (2020) A native prokaryotic voltage-dependent calcium channel with a novel selectivity filter sequence. Elife 9: e52828. doi: 10.7554/eLife.52828.

2)　研究関係著作

1. 陳以珊, 久保義弘（2020）GIRK チャネルの，小分子による新規機能調節機構. 心電図 40: 107-113.

3)　その他

1. Akiyama S, Aoki K, Kubo Y (2020) Biophysical research in Okazaki, Japan. Biophys Rev 12: 237-243. doi: 10.1007/s12551-020-00633-4.
2. Kubo Y (2020) A new world of heme function. Pflügers Arch 472:547-548. doi: 10.1007/s00424-020-02388-z.

《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: 405-418. doi: 10.1002/ana.25666.

2)　研究関係著作

1. 深田正紀, 横井紀彦, 平田哲也, 深田優子（2020）zDHHC パルミトイル化酵素と ABHD17 脱パルミトイル化酵素. "膜タンパク質工学ハンドブック" （津本浩平, 浜窪隆雄 監修; 秋吉一成, 園山正史, 富田泰輔 編集幹事）, 第 2 編 第 8 章-3, エヌ・ティー・エス, pp. 316-323.
2. 平野瑶子, 宮﨑裕理, 深田正紀, 深田優子（2020）てんかん関連リガンド・受容体 LGI1・ADAM22. "膜タンパク質工学ハンドブック"（津本浩平, 浜窪隆雄 監修; 秋吉一成, 園山正史, 富田泰輔 編集幹事）, 第 2 編 第 12 章, エヌ・ティー・エス, pp. 357-365.

《神経発達・再生機構研究部門》

1)　英文原著論文

1. Kaneko N, Nakamura S, Sawamoto K (2020) Effects of interferon-alpha on hippocampal neurogenesis and behavior in common marmosets. Mol Brain 13:98. doi: 10.1186/s13041-020-00639-9.
2. Akter M, Kaneko N, Herranz-Pérez V, Nakamura S, Oishi H, García-Verdugo JM, Sawamoto K (2020) Dynamic Changes in the Neurogenic Potential in the Ventricular-Subventricular Zone of Common Marmoset during Postnatal Brain Development. Cerebral Cortex 30:4092-4109. doi: 10.1093/cercor/bhaa031.
3. Kumar D, Koyanagi I, Carrier-Ruiz A, Vergara P, Srinivasan S, Sugaya Y, Kasuya M, Yu TS, Vogt KE, Muratani M, Ohnishi T, Singh S, Teixeira CM, Chérasse Y, Naoi T, Wang SH, Nondhalee P, Osman BAH, Kaneko N, Sawamoto K, Kernie SG, Sakurai T, McHugh TJ, Kano M, Yanagisawa M, Sakaguchi M (2020) Sparse Activity of Hippocampal Adult-Born Neurons during REM Sleep Is

Necessary for Memory Consolidation. Neuron 107:552-565.e10. doi:10.1016/j.neuron.2020.05.008.

4. Sawada M, Matsumoto M, Narita K, Kumamoto N, Ugawa S, Takeda S, Sawamoto K (2020) In vitro Time-lapse Imaging of Primary Cilium in Migrating Neuroblasts. Bio-protocol 10:e3823. doi:10.21769/BioProtoc.3823.

2)　英文総説

1. Nakajima C, Sawada M, Sawamoto K (2020) Postnatal neuronal migration in health and disease. Curr Opin Neurobiol 66:1-9. doi:10.1016/j.conb.2020.06.001
2. Akter M, Kaneko M, Sawamoto K (2020) Neurogenesis and neuronal migration in the postnatal ventricular-subventricular zone: similarities and dissimilarities between rodents and primates. Neurosci Res S0168-0102: 30379-5. doi: 10.1016/j.neures.2020.06.001.

3)　研究関係著作

1. Sawada M, Sawamoto K (2020) Neuronal migration in the postnatal brain. "Cellular Migration and Formation of Axons and Dendrites 2nd Edition (Comprehensive Developmental Neuroscience)" (Eds Rubenstein J, Rakic P, Chen B, Kwan K), Academic Press, Chapter 21, pp. 465-478.
2. Meunier A, Sawamoto K, Spassky N (2020) Ependyma. "Patterning and Cell Type Specification in the Developing CNS and PNS, Second Edition (Comprehensive Developmental Neuroscience series)" (Eds Rubenstein J, Rakic P), Elsevier, Chapter 42, pp. 1021-1036.
3. 中嶋智佳子，澤本和延（2020）最先端形態学・シングルセル遺伝子発現解析による生後脳のニューロン移動機構の解明．月刊「細胞」52（13; 11 月号）:52-54.

《細胞構造研究部門》

1)　英文原著論文

1. Jonusaite S, Beyenbach KW, Meyer H, Paululat A, Izumi Y, Furuse M, Rodan AR (2020) The septate junction protein Mesh is required for epithelial morphogenesis, ion transport, and paracellular permeability in the Drosophila Malpighian tubule. Am J Physiol Cell Physiol 318:C675-C694. doi: 10.1152/ajpcell.00492.2019.
2. Oda Y, Sugawara T, Fukata Y, Izumi Y, Otani T, Higashi T, Fukata M, Furuse M (2020) The extracellular domain of angulin-1 and palmitoylation of its cytoplasmic region are required for angulin-1 assembly at tricellular contacts. J Biol Chem 295:4289-4302. doi: 10.1074/jbc.RA119.010491.
3. Beyenbach KW, Schoene F, Breitsprecher LF, Tiburcy F, Furuse M, Izumi Y, Meyer H, Jonusaite S, Rodan AR, Paululat A (2020) The Septate Junction Protein Tetraspanin 2A is critical to the Structure and Function of Malpighian tubules in Drosophila melanogaster. Am J Physiol Cell Physiol 318:C1107-C1122. doi: 10.1152/ajpcell.00061.2020.
4. Hempstock W, Sugioka S, Ishizuka N, Sugawara T, Furuse M. Hayashi H (2020) Angulin-2/ILDR1, a tricellular tight junction protein, does not affect water transport in the mouse large intestine. Sci Rep 10:10374. doi: 10.1038/s41598-020-67319-5.
5. Nagatake T, Yan-Chun Z, Ito T, Itoh M, Kometani K, Furuse M, Saika A, Node E, Kunisawa J, Minato N, Hamazaki Y (2021) Selective expression of claudin-5 in thymic endothelial cells regulates the blood-thymus barrier and T-cell export. Int Immunol 33(3):171-182. doi: 10.1093/intimm/dxaa069.

2)　英文総説

1. Hartmann C, Schwietzer YA, Otani T, Furuse M, Ebnet K (2020) Physiological functions of junctional adhesion molecules (JAMs) in tight junctions. Biochim Biophys Acta Biomembr 1862:183299. doi: 10.1016/j.bbamem.2020.183299.
2. Otani T, Furuse M (2020) Tight junction structure and function revisited. Trends Cell Biol 30:805-817. doi: 10.1016/j.tcb.2020.08.004.

3)　研究関係著作

1. 古瀬幹夫，大谷哲久（2020）傍細胞輸送と claudin:分子構造と機能．腎と透析 88:333-336.
2. 大谷哲久，古瀬幹夫（2020）タイトジャンクションの構造・機能連関の新しい視点．生化学 92: 731-734. doi:10.14952/SEIKAGAKU.2020.920731.

《細胞生理研究部門》

1) 英文原著論文

1. Shimada H, Kusakizako T, Nguyen THD, Nishizawa T, Hino T, Tominaga M, Nureki O (2020) The structure of nanodisc-reconstituted TRPV3 reveals the lipid-associated gating mechanism. Nat Struct Mol Biol 27: 645-652. doi: 10.1038/s41594-020-0439-z.
2. Boudaka A, Saito CT, Tominaga M (2020) Deletion of TRPV4 Enhances in vitro Wound Healing of Murine Esophageal Keratinocytes. Sci Rep 10: 11349. doi: 10.1038/s41598-020-68269-8.
3. Sugisawa E, Takayama Y, Takemura N, Kondo T, Hatakeyama S, Kumagai Y, Sunagawa M, Tominaga M, Maruyama K (2020) RNA sensing by gut Piezo1 is essential for systemic serotonin synthesis. Cell 182 (3): 609-624. doi: 10.1016/j.cell.2020.06.022.
4. Suzuki Y, Sawada H, Tokumasu T, Suzuki S, Ninomiya S, Shirai M, Mukai T, Saito CT, Nishimura G, Tominaga M (2020) Novel TRPV6 mutations in the spectrum of transient neonatal hyperparathyroidism. J Physiol Sci 70: 33. doi: 10.1186/s12576-020-00761-2.
5. Ohnishi K, Saito S, Miura T, Ohta A, Tominaga M, Sokabe T, Kuhara A (2020) OSM-9 and OCR-2 TRPV channels are accessorial warm receptors in Caenorhabditis elegans temperature acclimatisation. Sci Rep 10 (1): 18566. doi: 10.1038/s41598-020-75302-3.
6. Feng X, Takayama Y, Ohno N, Kanda H, Dai Y, Sokabe T, Tominaga M (2020) Increased TRPV4 expression in non-myelinating Schwann cells is associated with demyelination after sciatic nerve injury. Communs Biol 3: 716. doi: 10.1038/s42003-020-01444-9.
7. Ashina K, Kobayashi K, Derouiche S, Hamabata T, Nakamura T, Nagata N, Tominaga M, Murata T (2021) 5,6-dihydroxy-8Z,11Z,14Z,17Z-eicosatetraenoic acid accelerates the healing of colitis by inhibiting transient receptor potential vanilloid 4-mediated signaling. FASEB J e21238. doi: 10.196/fj.20193207RRR.
8. Nguyen THD, Itoh GS, Okumura H, Tominaga M (2021) Structural basis for promiscuous action of monoterpenes on TRP channels. Commun Biol 4 (1): 293. doi: 10.1038/s42003-021-01776-0.

2) 研究関係著作

1. 富永真琴（2020）末梢受容体と一次求心性線維の役割. "疼痛医学"（田口敏彦, 飯田宏樹, 牛田享宏 監修; 野口光一, 矢吹省司, 上園晶一, 山口重樹, 池内昌彦 編集）, 医学書院, p.34-39.
2. 富永真琴（2020）神経生理学から視た痒みの実態 –TRP チャネルとかゆみ–. アレルギー 69(1): 1-6.
3. 富永真琴（2020）辛いのを英語で hot と言うのはなぜですか？ Clinical Neuroscience 38(11): 1481.

《心循環シグナル研究部門》

1) 英文原著論文

1. Shimoda K, Nishimura A, Sunggip C, Ito T, Nishiyama K, Kato Y, Tanaka T, Tozaki-Saitoh H, Tsuda M, Nishida M (2020) Modulation of P2Y6R expression exacerbates pressure overload-induced cardiac remodeling in mice. Sci Rep 10(1):13926. doi: 10.1038/s41598-020-70956-5.
2. Shiratori-Hayashi M, Yamaguchi C, Eguchi K, Shiraishi Y, Kohno K, Mikoshiba K, Inoue K, Nishida M, Tsuda M (2021) Astrocytic STAT3 activation and chronic itch require IP_3R1/TRPC-dependent Ca^{2+} signals in mice. J Allergy Clin Immunol Apr;147(4):1341-1353. doi: 10.1016/j.jaci.2020.06.039.
3. Nishiyama K, Toyama C, Kato Y, Tanaka T, Nishimura A, Nagata R, Mori Y, Nishida M (2021) Deletion of TRPC3 or TRPC6 fails to attenuate the formation of inflammation and fibrosis in nonalcoholic steatohepatitis. Biol Pharm Bull 44(3):431-436. doi: 10.1248/bpb.b20-00903.
4. Yagi-Utsumi M, Tanaka T, Otsubo Y, Yamashita A, Yoshimura S, Nishida M, Kato K (2021) Cold Atmospheric Plasma Modification of Amyloid β. Int J Mol Sci. Mar

18;22(6):3116. doi: 10.3390/ijms22063116.

2)　英文総説（査読あるもの）

1. Nishiyama K, Tanaka T, Nishimura A, Nishida M (2021) TRPC3-based protein signaling complex as a therapeutic target of myocardial atrophy. Curr Mol Pharmacol 14(2): 123-131. doi:10.2174/1874467213666200407090121.
2. Nishida M, Tanaka T, Mangmool S, Nishiyama K, Nishimura A. Canonical Transient Receptor Potential Channels and Vascular Smooth Muscle Cell Plasticity. J Lipid Atheroscler 9(1):124-139. doi: 10.12997/jla.2020.9.1.124.

3)　研究関係著作

1. 西田基宏，西山和宏，加藤百合，田中智弘，西村明幸（2020）G タンパク質共役型受容体. 実験医学 増刊 38(10): 144-148.
2. 西田基宏，加藤百合，田中智弘，西山和宏，西村明幸（2020）ミトコンドリア異常は心不全の原因か. 循環器内科 87(5):579-584.
3. 西田基宏，加藤百合，田中智弘，西山和宏，西村明幸（2020）RAA 系と細胞老化. 日本臨床（増刊）高血圧学（上）78(6):308-314.

《生殖・内分泌系発達機構研究部門》

1)　英文原著論文

1. Guo T, Tanaka T, Matsumoto M, Kaneko K, Unzai T, Ogino Y, Aotani D, Kusakabe T, Iwakura H, Miyazawa T, Sawamoto K, Minokoshi Y, Masuzaki H, Inagaki N, Nakao K (2020) A combination of dietary fat intake and nicotine exposure enhances CB1 endocannabinoid receptor expression in hypothalamic nuclei in male mice. Neurosci Lett 714(1):134550. doi: 10.1016/j.neulet.2019.134550.

2)　英文総説

1. Minokoshi Y, Nakajima KI, Okamoto S (2020) Homeostatic versus hedonic control of carbohydrate selection. J Physiol 598(18):3831-3844.doi: 10.1113/JP280066.
2. Minokoshi Y (2020) Neural control of homeostatic feeding and food selection. " New insights into metabolic syndrome" (ed Takada A), IntechOpen. doi: 10.5772/intechopen.93413.
3. Minokoshi Y, Nakajima K, Okamoto S(2020) Homeostatic versus hedonic control of carbohydrate selection. J. Physiol. 598, 18, 3831-3844.

3)　研究関係著作

1. 箕越靖彦（2020）炭水化物嗜好性の恒常的・快楽的調節機. Current Therapy 38(8): 68-76.
2. 箕越靖彦（2020）空腹感と満腹感. "摂食と健康の科学（シリーズ＜栄養と疾病の科学＞ 1）"（高田明和編），朝倉書店, pp. 74-100.
3. 近藤邦生（2020）糖代謝の制御を担う視床下部神経回路　医学のあゆみ　第 274 巻 p.1019-1024
4. 近藤邦生（2020）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　YAKUGAKU ZASSHI 第 140 巻 p.985-992
5. 中島健一朗（2020）空腹によって味覚を変化させる脳内の神経ネットワーク　バイオサイエンスとインダストリー　Vol78, No 3, 226-227
6. 中島健一朗（2020）9 章「甘味とその美味しさを選択的に伝える神経細胞の発見」　糖尿病学 2020 編門脇孝、山内敏正　診断と治療社 64-72
7. 中島健一朗（2020）「空腹時に味覚を調節する神経ネットワークを発見」化学　Vol75, No 3, 72

《超微形態研究部門》

1)　英文原著論文

1. Koseki H, Miyata H, Shimo S, Ohno N, Mifune K, Shimano K, Yamamoto K, Nozaki K, Kasuya H, Narumiya S, Aoki T (2020) Two Diverse Hemodynamic Forces, a Mechanical Stretch and a High Wall Shear Stress, Determine Intracranial Aneurysm Formation. Transl Stroke

Res 11:80-92. doi: 10.1007/s12975-019-0690-y.
2. Otani Y, Ohno N, Cui J, Yamaguchi Y, Baba H (2020) Upregulation of large myelin protein zero leads to Charcot-Marie-Tooth disease-like neuropathy in mice. Commun Biol 3:121. doi: 10.1038/s42003-020-0854-z.
3. Sampilvanjil A, Karasawa T, Yamada N, Komada T, Higashi T, Baatarjav C, Watanabe S, Kamata R, Ohno N, Takahashi M (2020) Cigarette smoke extract induces ferroptosis in vascular smooth muscle cells. Am J Physiol Heart Circ Physiol 318:H508-H518. doi: 10.1152/ajpheart.00559.2019.
4. Oka M, Shimo S, Ohno N, Imai H, Abekura Y, Koseki H, Miyata H, Shimizu K, Kushamae M, Ono I, Nozaki K, Kawashima A, Kawamata T, Aoki T (2020) Dedifferentiation of smooth muscle cells in intracranial aneurysms and its potential contribution to the pathogenesis. Sci Rep 10:8330. doi: 10.1038/s41598-020-65361-x.
5. Yamada N, Karasawa T, Wakiya T, Sadatomo A, Ito H, Kamata R, Watanabe S, Komada T, Kimura H, Sanada Y, Sakuma Y, Mizuta K, Ohno N, Sata N, Takahashi M (2020) Iron overload as a risk factor for hepatic ischemia-reperfusion injury in liver transplantation: Potential role of ferroptosis. Am J Transplant 20:1606-1618. doi: 10.1111/ajt.15773.
6. Shimo S, Saitoh S, Nguyen HB, Thai TQ, Ikutomo M, Muramatsu K, Ohno N (2020) Sodium-glucose co-transporter (SGLT) inhibitor restores lost axonal varicosities of the myenteric plexus in a mouse model of high-fat diet-induced obesity. Sci Rep 10:12372. doi: 10.1038/s41598-020-69256-9.
7. Morita R, Onuma TA, Manni L, Ohno N, Nishida H (2020) Mouth opening is mediated by separation of dorsal and ventral daughter cells of the lip precursor cells in the larvacean, Oikopleura dioica. Dev Genes Evol 230:315-327. doi: 10.1007/s00427-020-00667-4.
8. Miyata T, Hagiwara D, Hodai Y, Miwata T, Kawaguchi Y, Kurimoto J, Ozaki H, Mitsumoto K, Takagi H, Suga H, Kobayashi T, Sugiyama M, Onoue T, Ito Y, Iwama S, Banno R, Matsumoto M, Kawakami N, Ohno N, Sakamoto H, Arima H (2020) Degradation of Mutant Protein Aggregates within the Endoplasmic Reticulum of Vasopressin Neurons. iScience 23:101648. doi: 10.1016/j.isci.2020.101648.

2)　研究関係著作

1. 大野伸彦，志茂聡，齊藤百合花（2020）電子顕微鏡ボリュームイメージング法. "組織細胞化学"（日本組織細胞化学会編），中西印刷株式会社, pp. 159-170.

《生体恒常性発達研究部門》

1)　英文原著論文

1. Horiuchi H, Agetsuma M, Ishida J, Nakamura Y, Lawrence Cheung D, Nanasaki S, Kimura Y, Iwata T, Takahashi K, Sawada K, Nabekura J (2020) CMOS-based bio-image sensor spatially resolves neural activity-dependent proton dynamics in the living brain. Nat Commun 11(1):712. doi: 10.1038/s41467-020-14571-y.
2. Sato A, Arichi S, Kojima F, Hayashi T, Ohba T, Cheung DL, Eto K, Narushima M, Murakoshi H, Maruo Y, Kadoya Y, Nabekura J, Ishibashi H (2020) Histamine depolarizes rat intracardiac ganglion neurons through the activation of TRPC non-selective cation channels. Eur J Pharmacol 886:173536. doi: 10.1016/j.ejphar.2020.173536.

2)　研究関係著作

1. Sato A, Lawrence Cheung D, Ishibashi H (2020) Mechanisms Underlying the Excitatory Effect of Histamine on Intrinsic Neurons of Rat Heart. Japanese Histamine Research Society Web Magazine. Volume 5.

《視覚情報処理研究部門》

1)　英文原著論文

1. Nakazawa S, Yoshimura Y, Takagi M, Mizuno H, Iwasato T (2020) Developmental Phase Transitions in Spatial Organization of Spontaneous Activity in Postnatal Barrel Cortex Layer 4. J Neurosci 40(40):7637-7650. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1116-20.2020.
2. Hagihara KM, Ishikawa AW, Yoshimura Y, Tagawa Y, Ohki K (2020) Long-Range Interhemispheric Projection Neurons Show Biased Response Properties and Fine-Scale Local Subnetworks in Mouse Visual Cortex. Cereb Cortex 2021 Jan 5;31(2):1307-1315. doi: 10.1093/cercor/bhaa297.

《バイオフォトニクス研究部門》

1)　英文原著論文

1. Avena RF, Qiao L, Fujii Y, Otomo K, Ishii H, Suzuki T, Tsujino H, Uno T, Tsutsumi Y, Kawashima Y, Takagi T, Murai K, Nemoto T, Arisawa M (2020) Absorption, Fluorescence, and Two-photon Excitation Ability of 5-Phenylisolidolo[2,1-a]quinolines. ACS Omega 5(5):2473-2479. doi:10.1021/acsomega.9b04070.
2. Kitrungrotsakul T, Han XH, Iwamoto Y, Takemoto S, Yokota H, Ipponjima S, Nemoto T, Xiong W, Chen YW (2020) An End-to-End CNN and LSTM Network with 3D Anchors for Mitotic Cell Detection in 4D Microscopic Images and Its Parallel Implementation on Multiple GPUs. Neural Comput Appl 32:5669-5679. doi: 10.1007/s00521-019-04374-8.
3. Otomo K, Goto A, Yamanaka Y, Hori T, Nakayama H, Nemoto T (2020) High-peak-power 918-nm laser light source based two-photon spinning-disk microscopy for green fluorophores 529(2):238-242. doi: 10.1016/j.bbrc.2020.05.213
4. Yamaguchi K, Kitamura R, Kawakami R, Otomo K, Nemoto T (2020) In vivo two-photon microscopic observation and ablation in deeper brain regions realized by modifications of excitation beam diameter and immersion liquid. PLoS One 15(8):e0237230. doi:10.1371/journal.pone.0237230.
5. Takahashi T, Zhang H, Kawakami R, Yarinome K, Agetsuma M, Nabekura J, Otomo K, Okamura Y, Nemoto T (2020) PEO-CYTOP Fluoropolymer Nanosheets as a Novel Open-Skull Window for Imaging of the Living Mouse Brain. iScience 23(10):101579. doi: 10.1016/j.isci.2020.101579.
6. Yamaguchi K, Otomo K, Kozawa Y, Tsutsumi M, Inose T, Hirai K, Sato S, Nemoto T, Uji-i H (2021) Adaptive Optical Two-photon Microscopy for Surface profiled Living Biological Specimens. ACS Omega 6(1):438-447. doi:10.1021/acsomega.0c04888.
7. Nakamura S, Hagihara S, Otomo K, Ishida H, Hidema J, Nemoto T, Izumi M (2020) Autophagy contributes to quality control of leaf mitochondria. Plant Cell Physiol 62(2): 229‑247 (2021). doi: 10.1093/pcp/pcaa162.
8. Iijima K, Oshima T, Kawakami R, Nemoto T (2020) Optical clearing of living brains with MAGICAL to extend in vivo imaging. iScience 24(1):101888. doi: 10.1016/j.isci.2020.101888.
9. Maejima T, Tsuno Y, Miyazaki S, Tsuneoka Y, Hasegawa E, Islam T, Enoki R, Nakamura T, Mieda M (2021) GABA from vasopressin neurons regulates the time at which suprachiasmatic nucleus molecular clocks enable circadian behavior. Proc Natl Acad Sci USA 118(6):e2010168118. doi:10.1073/pnas.2010168118.

2)　研究関係著作

1. 大友康平，石井宏和，根本知己（2020）2 光子顕微鏡法の技術開発と生物学応用．光アライアンス 31(7): 42-45.
2. 石井宏和，大友康平, Jui-Hung Hung，堤元佐，横山弘之，根本知己（2020）新規パルス光源系を用いた二光子 STED 顕微鏡の開発．光学 49(6):19.1.
3. 榎木亮介（2020）哺乳類のウルトラディアンカルシウムリズムの生成機構．月刊「細胞」52(10): 558-561.

4. 榎木亮介（2020）概日リズムより短い周期の体内時計：ウルトラディアンリズム. "Annual Review 神経 2020"（鈴木則宏，荒木信夫，宇川義一，桑原聡，塩川芳昭 編），中外医学社, pp. 9-15.

《大脳神経回路論研究部門》

1)　英文原著論文

1. Okamoto S, Sohn J, Tanaka T, Takahashi M, Ishida I, Yamauchi K, Koike M, Fujiyama F, Hioki H (2020) Overlapping projections of neighboring direct and indirect pathway neostriatal neurons to globus pallidus external segment. iScience 6:23(9):101409. doi: 10.1016/j.isci.2020.101409.
2. Agahari FA, Stricker C (2021) Serotonergic modulation of spontaneous and evoked transmitter release in layer II pyramidal cells of rat somatosensory cortex. Cereb Cortex 31 (2): 1182-1200. epub 2020 Oct 16. doi: 10.1093/cercor/bhaa285.

2)　研究関係著作

1. Urakubo H, Kubota Y（2020）電子顕微鏡画像から神経構造の 3 次元再構築を行うための情報技術. 顕微鏡 55 巻 3 号 120-124.

※大脳神経回路論研究部門は 2020 年度で廃止となりました。

《認知行動発達機構研究部門》

1)　英文原著論文

1. Noritake A, Ninomiya T, Isoda M (2020) Representation of distinct reward variables for self and other in primate lateral hypothalamus. Proc Natl Acad Sci USA 117(10):5516-5524. doi: 10.1073/pnas.1917156117.
2. Ninomiya T, Noritake A, Kobayashi K, Isoda M (2020) A causal role for frontal cortico-cortical coordination in social action monitoring. Nat Commun 11:5233. doi: 10.1038/s41467-020-19026-y.
3. Autio JA, Glasser MF, Ose T, Donahue CJ, Bastiani M, Ohno M, Kawabata Y, Urushibata Y, Murata K, Nishigori K, Yamaguchi M, Hori Y, Yoshida A, Go Y, Coalson TS, Jbabdi S, Sotiropoulos SN, Kennedy H, Smith S, Van Essen DC, Hayashi T (2020) Towards HCP-Style macaque connectomes: 24-Channel 3T multi-array coil, MRI sequences and preprocessing. Neuroimage 215:116800. doi: 10.1016/j.neuroimage.2020.116800.
4. Hori K, Yamashiro K, Nagai T, Shan W, Egusa SF, Shimaoka K, Kuniishi H, Sekiguchi M, Go Y, Tatsumoto S, Yamada M, Shiraishi R, Kanno K, Miyashita S, Sakamoto A, Abe M, Sakimura K, Sone M, Sohya K, Kunugi H, Wada K, Yamada M, Yamada K, Hoshino M (2020) AUTS2 regulation of synapses for proper synaptic inputs and social communication. iScience 23:101183. doi: 10.1016/j.isci.2020.101183.
5. Ishishita S, Tatsumoto S, Kinoshita K, Nunome M, Suzuki T, Go Y, Matsuda Y (2020) Transcriptome analysis revealed misregulated gene expression in blastoderms of interspecific chicken and Japanese quail F1 hybrids. PLoS One 15:e0240183. doi: 10.1371/journal.pone.0240183.
6. Hiraga K, Inoue YU, Asami J, Hotta M, Morimoto Y, Tatsumoto S, Hoshino M, Go Y, Inoue T (2020) Redundant type II cadherins define neuroepithelial cell states for cytoarchitectonic robustness. Commun Biol 3:574. doi: 10.1038/s42003-020-01297-2.
7. Kishida T, Toda M, Go Y, Tatsumoto S, Sasai T, Hikida T (2021) Population history and genomic admixture of sea snakes of the genus Laticauda in the West Pacific. Mol Phylogenet Evol 155:107005. doi: 10.1016/j.ympev.2020.107005.

8. Labuguen R, Matsumoto J, Negrete S, Nishimaru H, Nishijo H, Takada M, Go Y, Inoue K, Shibata T (2021) MacaquePose: A novel ‘in the wild’ macaque monkey pose dataset for markerless motion capture. Front Behav Neurosci 14:581154. doi: 10.3389/fnbeh.2020.581154.

2) 英文総説

1. Isoda M (2020) Socially relative reward valuation in the primate brain. Curr Opin Neurobiol. 68:15-22. doi: 10.1016/j.conb.2020.11.008.

3) 研究関係著作

1. 郷康広（2020）ヒトとチンパンジーの脳の遺伝子発現. Clin Neurosci 38(9):1180-1181.

《生体システム研究部門》

1) 英文原著論文

1. Darbin O, Hatanaka N, Takara S, Kaneko N, Chiken S, Naritoku D, Martino A, Nambu A (2020) Parkinsonism differently affects the single neuronal activity in the primary and supplementary motor areas in monkeys: An investigation in linear and non-linear domains. Int J Neural Syst 30:2050010. doi: 10.1142/S0129065720500100.
2. Darbin O, Hatanaka N, Takara S, Kaneko M, Chiken S, Naritoku D, Martino A, Nambu A (2020) Local field potential dynamics in the primate cortex in relation to parkinsonism reveled by machine learning: A comparison between the primary motor cortex and the supplementary area. Neurosci Res 156:66-79. doi: 10.1016/j.neures.2020.01.012.
3. Horie M, Yoshioka N, Kusumi S, Sano H, Kurose M, Watanabe-Iida I, Hossain MD I, Chiken S, Abe M, Yamamura K, Sakimura K, Nambu A, Shibata M, Takebayashi H (2020) Disruption of dystonin in Schwann cells results in late-onset neuropathy and sensory ataxia. Glia 68(11):2330-2344. doi: 10.1002/glia.23843.
4. Watanabe H, Sano H, Chiken S, Kobayashi K, Fukata Y, Fukata M, Mushiake M, Nambu A (2020) Forelimb movements evoked by optogenetic stimulation of the macaque motor cortex. Nature Commun 11:3253. doi: 10.1038/s41467-020-16883-5.
5. Polyakova Z, Chiken S, Hatanaka N, Nambu A (2020) Cortical control of subthalamic neuronal activity through the hyperdirect and indirect pathways in monkeys. J Neurosci 40:7451-7463. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0772-20.2020.
6. Sano H, Kobayashi K, Yoshioka N, Takebayashi H, Nambu A (2020) Retrograde gene transfer into neural pathways mediated by adeno-associated virus (AAV)-AAV receptor interaction. J Neurosci Methods 345:108887. doi.org/10.1016/j.jneumeth.2020.108887
7. Kunisawa K, Hatanaka N, Shimizu T, Kobayashi K, Osanai Y, Mouri A, Shi Q, Bhat MA, Nambu A, Ikenaka K (2020) Focal loss of the paranodal domain protein Neurofascin155 in the internal capsule impairs cortically induced muscle activity in vivo. Mol Brain 13(1):159. doi: 10.1186/s13041-020-00698-y.
8. Wongmassang W, Hasegawa T, Chiken S, Nambu A (2021) Weakly correlated activity of pallidal neurons in behaving monkeys. Eur J Neurosci 53:2178-2191. doi: 10.1111/ejn.14903.
9. Sano N, Nakayama Y, Ishida H, Chiken S, Hoshi E, Nambu A, Nishimura Y (2021) Cerebellar outputs contribute to spontaneous and movement-related activity in the motor cortex of monkeys. Neurosci Res 164:10-21. doi: 10.1016/j.neures.2020.03.010.

2) 研究関係著作

1. 南部篤、知見聡美（2020）ネットワーク病としてのパーキンソン病. BRAIN and NERVE 72:1159-1171.
2. 知見聡美、南部篤(2020) パーキンソン病の病理生理. Clinical Neuroscience 38:823-826.
3. Nambu A, Tsuda I, Mima T (2020) Oscillology: Nonlinear Neural Oscillations. Neurosci Res 156: 1-4. doi: 10.1016/j.neures.2020.05.007

《神経ダイナミクス研究部門》

1) 英文原著論文

1. Ueda K, Nishiura Y, Kitajo K (2020) Mathematical mechanism of state-dependent phase resetting properties of alpha rhythm in the human brain. Neurosci Res 156: 237-244. doi: 10.1016/j.neures.2020.03.007.
2. Suetani H, Kitajo K (2020) A manifold learning approach to mapping individuality of human brain oscillations through beta-divergence. Neurosci Res 156: 188-196. doi: 10.1016/j.neures.2020.02.004.
3. Okazaki YO, Mizuno Y, Kitajo K (2020) Probing dynamical cortical gating of attention with concurrent TMS-EEG. Sci Rep 10:4959. doi: 10.1038/s41598-020-61590-2.
4. Shakeel A, Tanaka T, Kitajo K (2020) Time-series prediction of oscillatory phase of EEG signals using least mean square algorithm-based AR model. Appl Sci 10(10):3616. doi: 10.3390/app10103616.
5. Kawano T, Hattori N, Uno Y, Hatakenaka M, Yagura H, Fujimoto H, Yoshioka T, Michiko Nagasako, Otomune H, Kitajo K, Miyai I (2020) Electroencephalographic phase synchrony index as a biomarker of post-stroke motor impairment and recovery. Neurorehabil Neural Repair 34: 711-722. doi: 10.1177/1545968320935820.

2) 研究関係著作

1. 北城圭一（2020），脳のリズム現象の数理と解析. Neurological Surgery 脳神経外科, 48(4), 363 - 371.

《心理生理学研究部門》

1) 英文原著論文

1. Arioka Y, Shishido E, Kushima I, Mori D, Ozaki N (2020) Cell body shape and directional movement stability in human-induced pluripotent stem cell-derived dopaminergic neurons. Sci Rep 10(1):5820. doi: 10.1038/s41598-020-62598-4.
2. Biton A, Traut N, Poline JB, Aribisala BS, Bastin ME, Bülow R, Cox SR, Deary IJ, Fukunaga M, Grabe HJ, Hagenaars S, Hashimoto R, Kikuchi M, Muñoz Maniega S, Nauck M, Royle NA, Teumer A, Valdés Hernández M, Völker U, Wardlaw JM, Wittfeld K, Yamamori H; Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative, Bourgeron T, Toro R (2020) Polygenic architecture of human neuroanatomical diversity. Cereb Cortex 30(4):2307-2320. doi: 10.1093/cercor/bhz241.
3. Grasby KL et al.(Fukunaga M) Enhancing NeuroImaging Genetics through Meta-Analysis Consortium (ENIGMA) Genetics working group (2020) The genetic architecture of the human cerebral cortex. Science 367(6484):eaay6690. doi: 10.1126/science.aay6690.
4. Hofer E, Roshchupkin GV, Adams HHH, Knol MJ, Lin H, Li S, Zare H, Ahmad S, Armstrong NJ, Satizabal CL, Bernard M, Bis JC, Gillespie NA, Luciano M, Mishra A, Scholz M, Teumer A, Xia R, Jian X, Mosley TH, Saba Y, Pirpamer L, Seiler S, Becker JT, Carmichael O, Rotter JI, Psaty BM, Lopez OL, Amin N, van der Lee SJ, Yang Q, Himali JJ, Maillard P, Beiser AS, DeCarli C, Karama S, Lewis L, Harris M, Bastin ME, Deary IJ, Veronica Witte A, Beyer F, Loeffler M, Mather KA, Schofield PR, Thalamuthu A, Kwok JB, Wright MJ, Ames D, Trollor J, Jiang J, Brodaty H, Wen W, Vernooij MW, Hofman A, Uitterlinden AG, Niessen WJ, Wittfeld K, Bülow R, Völker U, Pausova Z, Bruce Pike G, Maingault S, Crivello F, Tzourio C, Amouyel P, Mazoyer B, Neale MC, Franz CE, Lyons MJ, Panizzon MS, Andreassen OA, Dale AM, Logue M, Grasby KL, Jahanshad N, Painter JN, Colodro-Conde L, Bralten J, Hibar DP, Lind PA, Pizzagalli F, Stein JL, Thompson PM, Medland SE; ENIGMA consortium (.., Fukunaga M, ..), Sachdev PS, Kremen WS, Wardlaw JM, Villringer A, van Duijn CM, Grabe HJ, Longstreth WT Jr, Fornage M, Paus T, Debette S, Arfan Ikram M, Schmidt H, Schmidt R, Seshadri S (2020) Genetic correlations and genome-wide associations of cortical structure in general population samples of 22,824 adults. Nat Commun

11(1):4796. doi: 10.1038/s41467-020-18367-y.

5. Ikegame T, Bundo M, Okada N, Murata Y, Koike S, Sugawara H, Saito T, Ikeda M, Owada K, Fukunaga M, Yamashita F, Koshiyama D, Natsubori T, Iwashiro N, Asai T, Yoshikawa A, Nishimura F, Kawamura Y, Ishigooka J, Kakiuchi C, Sasaki T, Abe O, Hashimoto R, Iwata N, Yamasue H, Kato T, Kasai K, Iwamoto K (2020) Promoter activity-based case-control association study on SLC6A4 highlighting hypermethylation and altered amygdala volume in male patients with schizophrenia. Schizophr Bull 46(6):1577-1586. doi:10.1093/schbul/sbaa075.
6. 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) Differences in fractional anisotropy between the patients with schizophrenia and healthy comparison subjects. Mol Psychiatry 25(4):697-698. doi: 10.1038/s41380-020-0700-1.
7. Matsumoto J, Fukunaga M, Miura K, Nemoto K, Koshiyama D, Okada N, Morita K, Yamamori H, Yasuda Y, Fujimoto M, Hasegawa N, Watanabe Y, Kasai K, Hashimoto R (2020) Relationship between white matter microstructure and work hours. Neurosci Lett 740:135428. doi: 10.1016/j.neulet.2020.135428.
8. Numata T, Sato H, Asa Y, Koike T, Miyata K, Nakagawa E, Sumiya M, Sadato N (2020) Achieving affective human-virtual agent communication by enabling virtual agents to imitate positive expressions. Sci Rep 10(1):5977. doi: 10.1038/s41598-020-62870-7.
9. Okamoto Y, Sasaoka T, Sadato N, Fukunaga M, Yamamoto T, Soh Z, Nouzawa T, Yamawaki S, Tsuji T (2020) Is human brain activity during driving operations modulated by the viscoelastic characteristics of a steering wheel?: an fMRI study. IEEE Access 8:215073-215090. doi: 10.1109/ACCESS.2020.3040231.
10. Sasai S, Koike T, Sugawara SK, Hamano YH, Sumiya M, Okazaki S, Takahashi HK, Taga G, Sadato N (2021) Frequency-specific task modulation of human brain functional networks: a fast fMRI study. NeuroImage 24:117375. doi: 10.1016/j.neuroimage.2020.117375.
11. Sumiya M, Okamoto Y, Koike T, Tanigawa T, Okazawa H, Kosaka H, Sadato N (2020) Attenuated activation of the anterior rostral medial prefrontal cortex on self-relevant social reward processing in individuals with autism spectrum disorder. Neuroimage Clin 26:102249. doi: 10.1016/j.nicl.2020.102249.
12. 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. Neuroscience Research 153:27-39.
13. Harada T, Mano Y, Komeda H, Hechtman LA, Pornpattananangkul N, Parrish TB, Sadato N, Iidaka T, Chiao JY (2020) Cultural influences on neural systems of intergroup emotion perception: An fMRI study. Neuropsychologia 137:107254.
14. Mochizuki H, Hernandez L, Yosipovitch G, Sadato N, Kakigi R (2020) The Amygdala Network for Processing Itch in Human Brains. Acta Dermato-Venereologica 100(19): adv00345.

2) 英文総説

1. Koshiyama D, Miura K, Nemoto K, Okada N, Matsumoto J, Fukunaga M, Hashimoto R (2020) Neuroimaging studies within cognitive genetics collaborative research organization aiming to replicate and extend works of ENIGMA. Hum Brain Mapp (in press; epub Jun 5). doi: 10.1002/hbm.25040.

3) 研究関係著作（和文総説）

1. 福永雅喜（2020）超高磁場 MRI による脳機能評価の実際. INNERVISION 2020(9):7-10. ISBN:978-4-902131-90-1.
2. 福永雅喜（2020）第 2 章 6. 脳灌流 MRI. "痛みのバイオマーカーとしての機能的脳画像診断法（分担執筆）"（倉田二郎 編著）, 真興交易医書出版部, pp.74-86.
3. 小池耕彦（2020）ハイパースキャニングを用いたコミュニケーションの神経基盤の検討．基礎心理学研究, 39(1) 96-102. doi: https://doi.org/10.14947/psychono.39.16.

3) その他

1. 木田哲夫（2020）「特別寄稿」脳磁場解析入門～基礎から最近の進歩まで～．日本生体磁気学会誌 33(1): 35-38.

《個別研究（佐竹研究室）》

1)　英文原著論文

1. Satake S, Konishi S (2020) Roscovitine differentially facilitates cerebellar glutamatergic and GABAergic neurotransmission by enhancing $Ca_v2.1$ channel-mediated multivesicular release. Eur J Neurosci 52: 3002-3021. doi: 10.1111/ejn.14771.
2. Rey S, Maton G, Satake S, Llano I, Kang S, Surmeier DJ, Silverman RB, Collin T (2020) Physiological involvement of presynaptic L-type voltage-dependent calcium channels in GABA release of cerebellar molecular layer interneurons. J Neurochem 155: 390-402. doi: 10.1111/jnc.15100.

《形態情報解析室》

1)　英文原著論文

1. Yamada H, Chikamatsu K, Aono A, Murata K, Miyazaki N, Kayama Y, Bhatt A, Fujiwara N, Maeda S, Mitarai S (2020) Fundamental cell morphologies of the species in the novel five genera robustly correlate with new classification in family Mycobacteriaceae. Front Microbiol 11:562395. doi: 10.3389/fmicb.2020.562395.
2. Tomita M, Nagatani Y, Murata K, Momose A (2020) Enhancement of low-spatial-frequency components by a new phase-contrast STEM using a probe formed with an amplitude Fresnel zone plate. Ultramicroscopy 218:113089. doi: 10.1016/j.ultramic.2020.113089.
3. Song C, Takai-Todaka R, Miki M, Haga K, Fujimoto A, Ishiyama R, Oikawa K, Yokoyama M, Miyazaki N, Iwasaki K, Murakami K, Katayama K, Murata K (2020) Dynamic rotation of the protruding domain enhances the infectivity of norovirus. PLoS Pathog 16(7): e1008619. doi: 10.1371/journal.ppat.1008619.
4. Yagi-Utsumi M, Yanaka S, Song C, Satoh T, Yamazaki C, Kasahara H, Shimazu T, Murata K, Kato K (2020) Characterization of amyloid β fibril formation under microgravity conditions. Microgravity 6:17. doi: 10.1038/s41526-020-0107-y.
5. Okamoto K, Ferreira RJ, Larsson DSD, Maia FRNC, Isawa H, Sawabe K, Murata K, Hajdu J, Iwasaki K, Kasson PM, Miyazaki N (2020) Acquired functional capsid structures in metazoan totivirus-like dsRNA virus. Structure 28:1-9. doi: 10.1016/j.str.2020.04.016.
6. Watanabe T, Nishizawa Y, Minato H, Song C, Murata K, Suzuki D (2020) Hydrophobic monomers recognize microenvironments in hydrogel microspheres during free radical seeded emulsion polymerization. Angew Chem Int Ed Engl 132(23):8934-8938. doi: 10.1002/anie.202003493.
7. 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
8. Yagi-Utsumi M, Sikdar A, Song C, Park J, Inoue R, Watanabe H, Burton-Smith R.N., Kozai T, Suzuki T, Kodama A, Ishii K, Yagi H, Satoh T, Uchiyama S, Uchihashi T, Joo K, Lee J, Sugiyama M, Murata K, Kato K (2020) Supramolecular tholos-like architecture constituted by archaeal proteins without functional annotation. Sci Rep 10:1540. doi: 10.1038/s41598-020-58371-2.
9. 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, 519–525. doi: 10.1038/s41586-019-1916-6.

2)　英文総説

1. Tanaka N, Fujita T, Takahashi Y, Yamasaki J, Murata K, Arai S (2020) Progress in environmental high-voltage

transmission electron microscopy for nanomaterials. Phil Trans R Soc A378:20190602. doi: 10.1098/rsta.2019.0602.

3) 研究関係著作

1. 安藤潤、中村彰彦、山本真由子、ソンチホン、村田和義、飯野亮太（2020）金銀ナノ粒子による多色・高速生体 1 分子イメージング. 光学 49(6):249. 日本光学会.

《多光子顕微鏡室》

1) 英文原著論文

1. Nomura Y, Murakoshi H, Fuji T (2020) Short-wavelength, ultrafast thulium-doped fiber laser system for three-photon microscopy. OSA Contin 3:1428-1435. doi: 10.1364/OSAC.395410.

2) 研究関係著作

1. 村越秀治, 植田大海（2020）二光子蛍光寿命イメージングと色素タンパク質によるタンパク質間相互作用の可視化. 光学 49(1): 20–25.

《生体機能情報解析室》

1) 英文原著論文（MRI）

1. Phuc NT, Trung PQ, Ishizaki A (2020) Controlling the nonadiabatic electron-transfer reaction rate through molecular-vibration polaritons in the ultrastrong coupling regime. Sci Rep 10(1):7318. doi: 10.1038/s41598-020-62899-8.

2) 英文原著論文（MEG）

1. Noguchi Y, Kakigi R (2020) Temporal codes of visual working memory in the human cerebral cortex: Brain rhythms associated with high memory capacity. Neuroimage 222:117294. doi: 10.1016/j.neuroimage.2020.117294.
2. Tanaka S, Gomez-Tames J, Wasaka T, Inui K, Ueno S, Hirata A (2021) Electrical characterisation of A δ-fibres based on human in vivo electrostimulation threshold. Front Neurosci 14: 588056. doi: 10.3389/fnins.2020.588056.

《ウィルスベクター開発室》

1) 英文原著論文

1. Fukui A, Osaki H, Ueta Y, Kobayashi K, Muragaki Y, Kawamata T, Miyata M (2020) Layer-specific sensory processing impairment in the primary somatosensory cortex after motor cortex infarction. Sci Rep 10:3771. doi: 10.1038/s41598-020-60662-7.
2. Sakuta H, Lin CH, Hiyama TY, Matsuda T, Yamaguchi K, Shigenobu S, Kobayashi K, Noda M (2020) SLC9A4 in the organum vasculosum of the lamina terminalis is a [Na^+] sensor for the control of water intake. Pflügers Arch 472:609-624. doi: 10.1007/s00424-020-02389-y.
3. Hasegawa R, Ebina T, Tanaka YR, Kobayashi K, Matsuzaki M (2020) Structural dynamics and stability of corticocortical and thalamocortical axon terminals during motor learning. PLoS One 15:e0234930. doi: 10.1371/journal.pone.0234930.
4. Yoshida K, Tsutsui-Kimura I, Kono A, Yamanaka A, Kobayashi K, Watanabe M, Mimura M, Tanaka KF (2020) Opposing ventral striatal medium spiny neuron activities shaped by striatal parvalbumin-expressing interneurons during goal-directed behaviors. Cell Rep 31:107829. doi: 10.1016/j.celrep.2020.107829.

5. Yamagata T, Raveau M, Kobayashi K, Miyamoto H, Tatsukawa T, Ogiwara I, Itohara S, Hensch TK, Yamakawa K (2020) CRISPR/dCas9-based Scn1a gene activation in inhibitory neurons ameliorates epileptic and behavioral phenotypes of Dravet syndrome model mice. Neurobiol Dis 141:104954. doi: 10.1016/j.nbd.2020.104954.
6. Cui W, Aida T, Ito H, Kobayashi K, Wada Y, Kato S, Nakano T, Zhu M, Isa K, Kobayashi K, Isa T, Tanaka K, Aizawa H (2020) Dopaminergic signaling in the nucleus accumbens modulates stress-coping strategies during inescapable stress. J Neurosci 40:7241-7254. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0444-20.2020.
7. Isa K, Sooksawate T, Kobayashi K, Kobayashi K, Redgrave P, Isa T (2020) Dissecting the tectal output channels for orienting and defense responses. eNeuro 7:ENEURO.0271-20.2020. doi: 10.1523/ENEURO.0271-20.2020.
8. Ao T, Kikuta J, Sudo T, Uchida Y, Kobayashi K, Ishii M (2020) Local sympathetic neurons promote neutrophil egress from the bone marrow at the onset of acute inflammation. Int Immunol 32:727-736. doi: 10.1093/intimm/dxaa025.
9. Sano H, Kobayashi K, Yoshioka N, Takebayashi H, Nambu A (2020) Retrograde gene transfer into neural pathways mediated by adeno-associated virus (AAV)-AAV receptor interaction. J Neurosci Methods 345:108887. doi: 10.1016/j.jneumeth.2020.108887.
10. Matsuda T, Hiyama TY, Kobayashi K, Kobayashi K, Noda M (2020) Distinct CCK-positive SFO neurons are involved in persistent or transient suppression of water intake. Nat Commun 11:5692. doi: 10.1038/s41467-020-19191-0.
11. Vancraeyenest P, Arsenault JT, Li X, Zhu Q, Kobayashi K, Isa K, Isa T, Vanduffel W (2020) Selective mesoaccumbal pathway inactivation affects motivation but not reinforcement-based learning in macaques. Neuron 108: 568‑581. doi: 10.1016/j.neuron.2020.07.013.
12. Kunisawa K, Hatanaka N, Shimizu T, Kobayashi K, Osanai Y, Mouri A, Shi Q, Bhat MA, Nambu A, Ikenaka K (2020) Focal loss of the paranodal domain protein Neurofascin155 in the internal capsule impairs cortically induced muscle activity in vivo. Mol Brain 13:159. doi: 10.1186/s13041-020-00698-y.
13. Tokuoka K, Kasai M, Kobayashi K, Isa T (2020) Anatomical and electrophysiological analysis of cholinergic inputs from the parabigeminal nucleus to the superficial superior colliculus. J Neurophysiol 124:1968-1985. doi: 10.1152/jn.00148.2020.
14. Fredes F, Silva MA, Koppensteiner P, Kobayashi K, Joesch M, Shigemoto R (2021) Ventro-dorsal hippocampal pathway gates novelty-induced contextual memory formation. Curr Biol 31:25-38.e5. doi: 10.1016/j.cub.2020.09.074.

2)　研究関係著作

1. 小林憲太（2020）レンチウイルスベクター. "決定版ウイルスベクターによる遺伝子導入実験ガイド（実験医学別冊）"（平井宏和，日置寛之，小林和人 編），羊土社, pp. 38-43.

《遺伝子改変動物作製室》

1)　英文原著論文

1. Nakayama K, Chinen S, Teshima J, Tamada Y, Hirabayashi M, Hochi S (2020) Silk fibroin sheet multilayer suitable for vitrification of in vitro-matured bovine oocytes. Theriogenology 145: 109-114. doi: 10.1016/j.theriogenology.2020.01.052.
2. Kobayashi T, Kobayashi H, Goto T, Takashima T, Oikawa M, Ikeda H, Terada R, Yoshida F, Sanbo M, Nakauchi H, Kurimoto K, Hirabayashi M (2020) Germline development in rat revealed by visualization and deletion of Prdm14. Development 147: dev183798. doi: 10.1242/dev.183798.
3. Ikegami K, Goto T, Nakamura S, Watanabe Y, Sugimoto A, Majarune S, Horihata K, Nagae M, Tomikawa J, Imamura T, Sanbo M, Hirabayashi M, Inoue N, Maeda KI, Tsukamura H, Uenoyama Y (2020) Conditional kisspeptin neuron-specific Kiss1 knockout with newly generated Kiss1-floxed and Kiss1-Cre mice replicates a

hypogonadal phenotype of global Kiss1 knockout mice. J Reprod Dev 66: 359-367. doi: 10.1262/jrd.2020-026.

4. Minabe S, Nakamura S, Fukushima E, Sato M, Ikegami K, Goto T, Sanbo M, Hirabayashi M, Tomikawa J, Imamura T, Inoue N, Uenoyama Y, Tsukamura H, Maeda KI, Matsuda F (2020) Inducible Kiss1 knockdown in the hypothalamic arcuate nucleus suppressed pulsatile secretion of luteinizing hormone in male mice. J Reprod Dev 66: 369-375. doi: 10.1262/jrd.2019-164.
5. Goto T, Hirabayashi M, Watanabe Y, Sanbo M, Tomita K, Inoue N, Tsukamura H, Uenoyama Y (2020) Testosterone supplementation rescues spermatogenesis and in vitro fertilizing ability of sperm in Kiss1 knockout mice. Endocrinology 161: bqaa092. doi: 10.1210/endocr/bqaa092.
6. Nakayama-Iwatsuki K, Yamanaka T, Negishi J, Teshima J, Tamada Y, Hirabayashi M, Hochi S (2020) Transplantation of rat pancreatic islets vitrified-warmed on the nylon mesh device and the silk fibroin sponge disc. Islets 12: 145-155. doi: 10.1080/19382014.2020.1849928.
7. Chinen S, Yamanaka T, Hirabayashi M, Hochi S (2020) Rescue of vitrified-warmed bovine mature oocytes by short-term recovery culture with resveratrol. Cryobiology 97:185-190. doi: 10.1016/j.cryobiol.2020.03.004.

b.　学会発表

〔　目　　次　〕

神経機能素子研究部門 104
生体膜研究部門 104
神経発達・再生機構研究部門 105
細胞構造研究部門 105
細胞生理研究部門 106
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 108
超微形態研究部門 109
生体恒常性発達研究部門 109
視覚情報処理研究部門 110
バイオフォトニクス研究部門 111
大脳神経回路論研究部門 112
認知行動発達機構研究部門 113
生体システム研究部門 114
神経ダイナミクス研究部門 115
心理生理学研究部門 115
個別研究（山肩研究室） 116
個別研究（佐竹研究室） 117
形態情報解析室 117
多光子顕微鏡室 118
生体機能情報解析室 118
ウィルスベクター開発室 118
遺伝子改変動物作製室 119
動物資源共同利用研究センター 119

学　会　発　表

神経機能素子研究部門

1. Takushi Shimomura, Ki-ichi Hirazawa, Yoshihiro Kubo (2020・3・18)　PI(3,4)P_2- and voltage-dependent gating of two-pore Na^+ channel 3. In Symposium“Combined approaches of cutting-edge techniques and structural information to reveal the dynamics of membrane proteins”第 97 回日本生理学会大会（別府、誌上開催）
2. I-Shan Chen, Yoshihiro Kubo (2020・3・18) Roles of the pore helix in the regulation mechanisms of gating of GIRK channels. In Symposium“New strategies for understanding functions and mechanisms of ion channels/transporters/ pumps in the upcoming post- structure era”第 97 回日本生理学会大会（別府、誌上開催）
3. Ki-ichi Hirazawa，Takushi Shimomura, Yoshihiro Kubo (2020・3・17) Analysis of the structural dynamics of Two-pore Na^+ channel 3. 第97回日本生理学会大会（別府、誌上開催）
4. Michihiro Tateyama, Yoshihiro Kubo (2020・3・17) Activation of the THIK-2 channel by Gi/o and Gq coupled receptors. 第 97 回日本生理学会大会（別府、誌上開催）
5. Tomomi Yamamoto, Satoko Hattori, Li Zhou, Rie Natsume, Kohtarou Konno, I-Shan Chen, Masahiko Watanabe, Kenji Sakimura, Tsuyoshi Miyakawa, Yoshihiro Kubo (2020・3・17) Physiological roles of Prrt3, an orphan metabotropic receptor: Comprehensive behavioral test battery analysis using homozygous full gene knock-out mice derived from flox mice. 第 97 回日本生理学会大会（別府、誌上開催）
6. Rizki Tsari Andriani, Yoshihiro Kubo（2020・3・19）ATP- and voltage-dependent gating of P2X2 receptor analyzed by voltage-clamp fluorometry. 第 97 回日本生理学会大会（別府、誌上開催）
7. Chang Liu, I-Shan Chen, Ruth Murrell-Lagnado, Yoshihiro Kubo (2020・3・19) Modulation of ion channel function by Sigma-1 receptor, a multimodal membrane protein. 第 97 回日本生理学会大会（別府、誌上開催）
8. 陳以珊，久保義弘（2020・10・16- 20）GIRK チャネルの変異による異常なイオン選択性の発生の新規機構の解明. 第 67 回中部日本生理学会（Web 開催）

生体膜研究部門

1. 横井紀彦（2020・2・7）ADAM22 phosphorylation stabilizes the antiepileptic LGI1-ADAM22 complex in the brain. 第一回 CIBoG リトリート（大府）
2. 宮﨑裕理（2020・2・7-8）Binding mode and physiological role of epilepsy-related ligand/receptor LGI1-ADAM22 complex. 第 2 回生命創生探求センター若手リトリート（蒲郡）
3. 深田正紀（2020・9・19）神経シナプスの制御機構とその破綻によるてんかんの病態機構。第 10 回 名古屋大学医学系研究科・生理学研究所合同シンポジウム（オンライン）（招待講演）
4. Fukata Masaki，Yokoi Norihiko，Fukata Yuko（2020・11・12）Acyl-PEGyl exchange gel-shift (APEGS) assay for palmitoylation quantification. 第 71 回 日本電気泳動学会総会（オンライン）（招待講演)
5. Fukata Masaki，Yuri Miyazaki，Yokoi Norihiko，Fukata Yuko（2020・12・2）Synaptic function regulated by palmitate cycling on PSD-95 and trans-synaptic LGI1 and ADAM22. 第 43 回日本分子生物学会年会（オンライン）（招待講演）

神経発達・再生機構研究部門

1. 伊藤 晃，坪井義晃，澤田雅人，澤本和延（2020・12・12）新生仔脳傷害モデルマウスの歩行機能獲得過程におけるリハビリテーションの効果．第 25 回日本基礎理学療法学会学術大会（宮城県仙台市）
2. 藤掛数馬，澤田雅人，匹田貴夫，瀬戸弥生，金子奈穂子, Vicente Herranz-Perez，土肥名月，本間夏美，大佐賀智，柳川右千夫，赤池敏弘, Jose Manuel Garcia-Verdugo，服部光治，祖父江和哉、澤本和延（2021・12・6）成体脳での Fyn によるニューロブラスト間接着調整機構．第 71 回名古屋市立大学医学会総会（愛知県名古屋市）
3. 澤本和延（2020・11・21）三次元電顕技術による神経再生メカニズムの解明．公益社団法人日本顕微鏡学会第 63 回シンポジウム（オンライン）
4. 澤本和延（2020・11・13）脳疾患後の再生過程におけるニューロンの移動機構とその操作技術. 第 63 回日本脳循環代謝学会学術集会（オンライン）
5. Ishido Y, Sawada M, Kurematsu C, Oishi H, Ohmuraya M, Nagata S, Asano K, Tanaka M, Sawamoto K（2020・9・10）Microglial phagocytosis of dying neurons maintains neuronal turnover in the adult olfactory bulb．第 63 回 日本神経化学会大会（オンライン）
6. Gokenya S, Kawase K, Ito A, Sawada M, Iwata O, Saitoh S, Sawamoto K（2020・9・10）Decreased postnatal neurogenesis in a mouse model of preterm birth．第 63 回日本神経化学会大会（オンライン）
7. Takagi Y, Sawada M, Nakajima C, Matsumoto M, Ohno N, Igarashi M, Sawamoto K（2020・9・11）Dynamic change in growth cone morphology in adult-born migrating neurons. 第 63 回 日本神経化学会大会（オンライン）
8. 澤本和延（2020・8・4）脳細胞の移動・再生を促進する技術．次世代医療システム産業化フォーラム（オンライン）
9. 澤田雅人，松本真実，大野伸彦，五十嵐道弘，澤本和延（2020・7・31）移動するニューロンにおける成長円錐の構造と動態．第 43 回日本神経科学大会（オンライン）
10. 金子奈穂子，澤本和延（2020・8・1）脳梗塞後の脳内における新生ニューロンの配置制御と神経機能再生．第 43 回日本神経科学大会（オンライン）
11. Matsumoto M, Sawada M, Garcia-Gonzalez D, Herranz-Perez V, Ogino T, Nguyen HB, Thai TQ, Narita K, Kumamoto N, Ugawa S, Saito Y, Takeda S, Kaneko N, Khodosevich K, Monyer H,　Garcia-Verdugo JM, Ohno N, Sawamoto K（2020・2・21）Spatiotemporal regulation of primary cilium in migrating neuroblasts in the adult brain．第 16 回成体脳ニューロン新生懇談会（宮城県仙台市）
12. Matsumoto M, Sawada M, Garcia-Gonzalez D, Herranz-Perez V, Ogino T, Nguyen HB, Thai TQ, Narita K, Kumamoto N, Ugawa S, Saito Y, Takeda S, Kaneko N, Khodosevich K, Monyer H, Garcia-Verdugo JM, Ohno N, Sawamoto K（2020・2・14）Dynamics of primary cilium in migrating new neurons in the adult brain. ABiS Symposium Forefront and Future of Electron Microscopic Imaging（愛知県岡崎市）
13. 澤本和延（2020・1・11）脳細胞の移動・再生機構とその操作技術．ニューロカンファレンス和歌山（和歌山県和歌山市）
14. 澤本和延（2020・1・10）Neuronal migration for development, maintenance and repair of the postnatal brain. New Frontier in Neuroscience 2020（石川県金沢市）

細胞構造研究部門

1. Otani T. (2020.5.20) Quest for claudin-independent occluding junctions in vivo. 53rd Annual meeting of the Japanese Society of Developmental Biologists（誌上開催）
2. Otani T, Nguyen, TP, Sugawara T, Furuse M. (2020.6.9~11) Molecular organization of the macromolecule permeability barrier. The 72nd Annual meeting of the Japanese Society for Cell Biology（誌上開催）
3. 菅原太一，古瀬京子，古瀬幹夫（2020.6.9~11）アンギュリン-1 はトリセルリンとクローディンに依存せ

ずトリセルラーコンタクトにおける細胞膜の密着とバリア機能を制御する　第 72 回日本細胞生物学会大会　（誌上開催）

4. 古瀬幹夫（2020.9.3~4）傍細胞輸送特性の再構成に向けて．生理研研究会「上皮膜輸送の多様性・調和機構を基盤とする異分野融合研究の創出」（オンライン開催）
5. 菅原太一、古瀬京子，大谷哲久，若山友彦，古瀬幹夫（2020.10.24）上皮のトリセルラーコンタクトにおいて透過バリアが形成される仕組み　日本解剖学会第 76 回九州支部学術集会　（オンライン開催）
6. 古瀬幹夫（2020.10.31）密着結合の構造と機能の新しい視点．第 34 回表皮細胞研究会　（東京）
7. 古瀬幹夫（2020.11.11-14）上皮細胞の隙間をシールする分子機構．第 30 回日本耳科学会総会・学術講演会（北九州）
8. Otani T, Nguyen, TP, Furuse M. （2020.12.2）Tight Junction Structure and Function Revisited. MCSJ2020（オンライン開催）
9. 菅原太一，古瀬京子，大谷哲久，若山友彦，古瀬幹夫 (2020.12.2~4) アンギュリンはトリセルリンに依存せず 3 細胞結合の細胞膜密着構造を形成する．第 43 回日本分子生物学会年会 (オンライン開催）
10. 泉　裕士,古瀬幹夫 (2020.12.2~4) 新規膜タンパク質 Hoka によるショウジョウバエ腸管のセプテートジャンクション形成と幹細胞恒常性の制御．第 43 回日本分子生物学会年会 (オンライン開催)
11. 菅原太一，古瀬京子，大谷哲久，若山友彦，古瀬幹夫 (2020.12.3~4) 上皮のトリセルラーコンタクトにおけるバリア形成機構 第 52 回臨床分子形態学会総会・学術集会 (オンライン開催）。

細胞生理研究部門

1. Tominaga Makoto（2020.1.26）Functional interaction between Thermosensitive TRP Channel and Anoctamin 1. International Symposium on TRP Ion Channel at Wakayama（和歌山）
2. Deveci Aykut（2020.2.7-2.8）Temperature regulates microglial motility via activation of thermo-sensitive Transient Receptor Potential Vanilloid 4 (TRPV4). 2nd ExCELLS Retreat for Young Scientists（ExCELLS 若手交流リトリート）（蒲郡）
3. Lei Jing（2020.2.7-8）Investigation of functional roles between mTRPV4 and mTMEM79. 2nd ExCELLS Retreat for Young Scientists（ExCELLS 若手交流リトリート）（蒲郡）
4. Feng Xiaona（2020.2.7）TRPV4 is functionally expressed in cultured mouse Schuwann cells. 第 1 回 CIBoG リトリート（東浦）
5. 富永真琴（2020.2.22）物理刺激によって活性化するイオンチャネル．第 28 回バイオフィジオロジー研究会（京都）
6. Derouiche Sandra（2020.3.17）Involvement of thermosensitive TRP channels in temperature-dependent microglia movement. 第 97 回日本生理学会大会（誌上開催）
7. 宇治澤知代（2020.3.17）Thermal gradient assay からみるマウスの温度依存的行動．第 97 回日本生理学会大会（誌上開催）
8. 富永真琴（2020.3.18）Ambient temperature sensing with TRPA1 channel in mosquito. 第 97 回日本生理学会大会（誌上開催）
9. 曽我部隆彰（2020.3.18）Thermo-sensing mechanisms underlying temperature preference in fruit flies. 第 97 回日本生理学会大会（誌上開催）
10. Li Tianbang（2020.3.18）Investigation of the Analgesic Effect of Saliva of Mosquito with a Patch-Clamp Method. 第 97 回日本生理学会大会（誌上開催）
11. 藤田郁尚（2020.3.19）Aluminum ion blocks hTRPV1 and hTRPA1 activities. 第 97 回日本生理学会大会（誌上開催）
12. 富永真琴（2020.7.1-7.31）痛み研究の現状と未来．第 49 回日本慢性疼痛学会（オンライン形式）
13. 齋藤茂（2020.9.9）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．日本進化学会第 22 回（オンライン形式）
14. 齋藤くれあ（2020.9.9）高温センサーTRPA 1 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維持機構．日本進化学会第 22 回（オンライン形式）

15. Feng Xiaona（2020.9.19）Increased TRPV4 expression in non-myelinating Schwann cells is associated with demyelination after sciatic nerve injury. 第 10 回 名古屋大学医学系研究科・生理学研究所合同シンポジウム（オンライン形式）
16. Derouiche Sandra（2020.10.16-10.20）Involvement of thermosensitive TRP channels in temperature-dependent microglia movement. 第 67 回中部日本生理学会（オンライン形式）
17. Nguyen Thi Hong Dung（2020.12.21）Structural basis for promiscuous action of monoterpenes on TRP channels. 第 3 回 ExCELLS シンポジウム（オンライン形式）

心循環シグナル研究部門

1. 西田基宏，田中智弘，小田紗矢香，西村明幸，西山和宏（2020.2.7）抗がん剤投与による心筋萎縮における TRPC3-Nox2 複合体形成の役割．第 49 回日本心脈管作動物質学会（久留米）
2. 西田基宏（2020.3.2）活性イオウによる心筋の頑健性制御．第 19 回分子予防環境医学研究会大会（仙台）
3. 西田基宏, 田中智弘, 西山和宏, 西村明幸（2020.3.18）Myocardial atrophy regulated by the formation of TRPC3 protein complex．第 93 回日本薬理学会年会（誌上開催）
4. 西田基宏（2020.10.6）システインパースルフィドによる心筋の頑健性制御．第 73 回日本酸化ストレス学会／第 20 回日本 NO 学会合同学術集会（オンライン開催）
5. 西田基宏（2020.8.14）病態特異的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．第 2 回心筋代謝研究会（オンライン開催）
6. 西田基宏（2020.9.16）活性イオウによる心筋の頑健性制御．第 93 回日本生化学会大会（オンライン開催）
7. 西田基宏（2020.12.3）筋萎縮性疾患治療薬を指向したエコファーマ研究．第 41 回日本臨床薬理学会学術総会（福岡）
8. 西田基宏, 西村明幸, 田中智弘, 阿部愛杜（2020.12.3）シルニジピンによるミトコンドリア機能維持を介した糖代謝改善効果．第 41 回日本臨床薬理学会学術総会（福岡）
9. 西村明幸，後藤拓実，西山和宏，伊吹裕子，内橋貴之，柴田貴広，内田浩二，赤池孝章，熊谷嘉人，西田基宏（2020.3.2）タバコ副流煙による心筋細胞老化機構．第 19 回分子予防環境医学研究会大会（宮城）
10. 西村明幸，下田翔，田中智弘，西山和宏，西田基宏（2020.3.18）Drp1-mediated mitochondrial dynamics in cardiac remodeling. 第 97 回日本生理学会大会（誌上開催）
11. 西村明幸，下田翔，田中智弘，西山和宏，西田基宏（2020.9.6）活性イオウによる心筋の頑健性制御．第 93 回日本生化学会大会（オンライン開催）
12. 西村明幸（2020.9.19）心筋ミトコンドリア品質制御による心臓恒常性維持・変容機構．名古屋大学大学院医学系研究科-生理学研究所合同シンポジウム（オンライン開催）
13. 西村明幸（2020.12.21）Pathology-dependent aberrant interaction between mitochondria and actin cytoskeleton causes cardiac fragility. 第 3 回 ExCELLS シンポジウム（オンライン開催）
14. 田中智弘，佐々木渉太，金子俊郎，井田智章，赤池孝章，西田基宏（2020.10.7）プラズマ照射による新規レドックスシグナル形成とその生理学的意義の解明．第 20 回 日本 NO 学会（誌面開催）
15. 田中智弘（2020.12.21）Reductive supersulfides mediate mitochondrial protection against ischemia/reperfusion injury. 第 3 回 ExCELLS シンポジウム（オンライン開催）
16. Kato Y, Tomokiyo D, Nishiyama K, Kusakabe T, Kamiya N, Imai Y, Asakura H, Kanda Y, Nishida M.（2020.12.25）Involvement of TRPC3-Nox2 axis in ACE2-mediated SARS-CoV-2 infection in hearts. NIPS international meeting on cardiovascular physiology（オンライン開催）
17. 加藤百合，西山和宏，友清大樹，田中智弘，西村明

幸，西田基宏（2020.11.21）新型コロナウイルス感染に対する新規治療標的の提案とその薬理学的応用．第 73 回日本薬理学会西南部会（オンライン開催）

18. 西山和宏，田中智弘，西村明幸，加藤百合，西田基宏（2020.10.6）抗がん剤誘発性筋萎縮における TRPC3-Nox2 タンパク質複合体形成の役割．第 20 回日本 NO 学会（誌面開催）
19. 小田紗矢香（2020.2.7）The role of TRPC6 channel in a cardiac sympathetic nerve regulation．第 2 回 ExCELLS 若手リトリート（愛知）
20. 小田紗矢香（2020.9.25）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．第 19 回次世代を担う若手のためのファーマ・バイオフォーラム 2020（オンライン開催）
21. 小田紗矢香（2020.9.25）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．2020 年度 TRP チャネル研究会（オンライン開催）口頭発表
22. Oda S（2020.12.25）TRPC6 positively regulates cardiac contractility by modulating β adrenergic receptor signaling. NIPS International Meeting on Cardiovascular Physiology 2020（online）
23. 下田翔（2020.8.29）プリン作動性 P2Y6R 発現量変化は圧負荷誘導性心不全を悪化させる．第 19 回次世代を担う若手のためのファーマ・バイオフォーラム 2020（オンライン開催）
24. 阿部愛杜，西山和宏，田中智弘，西村明幸，加藤百合，西田基宏（2020.12.3）ミトコンドリア品質管理を標的とした炎症性腸疾患治療への応用．第 41 回日本臨床薬理学会学術総会（オンライン開催）
25. 後藤拓実，友清大樹，加藤百合，西山和宏，西村明幸，西田基宏（2020.12.3）タバコ副流煙による心筋早期老化の誘導機構．第 41 回日本臨床薬理学会学術総会（オンライン開催）
26. 友清大樹，後藤拓実，遠山千恵実，西村明幸，西山和宏，加藤百合，田中智弘，西田基宏（2020.12.4）Covid-19 感染重症化の予防・治療を見据えたエコファーマ研究．第 41 回日本臨床薬理学会学術総会（オンライン開催）

生殖・内分泌系発達機構研究部門

1. 中島健一朗（2020.1.24）in vivo カルシウムイメージングによるうま味・塩味伝達中枢神経の測定と両味の相乗効果の検証．第 24 回うま味研究助成成果発表会（東京）
2. 近藤邦生（2020.1.29-31）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 7 回領域会議（つくば）
3. 箕越靖彦（2020.1.31-2.1）視床下部を介したエネルギー代謝調節機構の生理機能と分子機作に関する研究．第 34 回日本糖尿病・肥満動物学会 米田賞受賞講演（群馬）
4. 傅欧，岩井優，近藤邦生，三坂巧，箕越靖彦，中島健一朗（2020.1.31-2.1）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同定．第 34 回日本糖尿病・肥満動物学会（群馬）
5. Misbah Rashid，箕越靖彦（2020.2.7-8）Can chronic activation of SF1 neurons ameliorates obesity?　第 1 回 CIBoG リトリート（第 12 回 Nagoya グローバルリトリート）（大府）
6. Ken-ichiro Nakajima（2020.2.17-18）Hypothalamic neuronal circuits regulating hunger-induced taste modification．1st CU-KU Symposium 2020 and 4th CU-NIPS Symposium 2020:“Advances in Neuroscience Research”（Bangkok, Thailand）
7. 箕越靖彦（2020.3.2）健康・長寿に関わる骨格筋の代謝と栄養摂取．第 19 回 自然科学研究機構　小森 彰夫 機構長プレス懇談会（東京）
8. 傅欧（2020.3.17-19）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 97 回日本生理学会大会（大分・誌上開催）
9. 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（2020.3.17-19）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の性差．第 97 回日本生理学会大会（大分・誌上開催）
10. Tingting Guo, Mami Matsumoto, Takashi Yagi, Hiroyuki Koyama, Daisuke Aotani, Kazunobu Sawamoto, Yasuhiko

Minokosh, Hiroaki Masuzaki, Noboya Inagaki, Kazuwa Nakao, Tomohiro Tanaka.（2020.3.17-19）A combination of high fat diet and nicotine enhances CB1 endocannabinoid receptor in hypothalamic nuclei in mice. The 97th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan（大分・誌上開催）

11. 中島健一朗，傅欧，岩井優，成川真隆，三坂巧，箕越靖彦（2020.3.25-28）「空腹は最高の調味料」－その神経基盤の解明．日本農芸化学会 2020 年度大会シンポジウム「食欲・食嗜好の分子・神経基盤」（福岡・オンライン）
12. 堀尾修平，山形聡，加藤成樹，小林憲太，崎村建司，小林和人，箕越靖彦，井樋慶一（2020.7.29-8.1）視床下部室傍核 CRF ニューロン死滅の摂食調節への影響．第 43 回日本神経科学大会（神戸）
13. 箕越靖彦（2020.8.3）空腹感と満腹感を作り出すメカニズムと肥満・ストレス・寿命との関連．テックデザインセミナー（Web 開催）
14. 近藤邦生（2020.8.24-25）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 8 回領域会議（オンライン）
15. Ken-ichiro Nakajima（2020.9.3）Genetic identification of sweet taste neurons in the mouse brain stem．International Congress on Obesity and Metabolic Syndrome (ICOMES) 2020（Seoul, Korea・Zoom online）
16. Ken-ichiro Nakajima（2020.9.18）Hypothalamic neuronal circuits regulating hunger-induced taste modification．2020 International Congress of Diabetes and Metabolism (ICDM)（Seoul, Korea・Zoom online）
17. 中島健一朗（2020.10.14）味覚の脳内伝達とその調節を担う神経細胞・ネットワークの解明．第 4 回バイオインダストリー大賞・バイオインダストリー奨励賞表彰式・受賞記念講演会（横浜）
18. 中島健一朗（2020.11.14）味覚の脳内伝達とその調節を担う神経機構の解析．日本農芸化学会中部支部第 188 回例会 農芸化学会奨励賞受賞講演（Zoom online）
19. 近藤邦生（2020.12.19-20）エネルギー代謝を制御する中枢－末梢神経回路．生理研研究会「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」（岡崎・オンライン）

超微形態研究部門

1. Shimo S, Saitoh S, Nguyen HB, Thai TQ, Ikutomo M, Muramatsu K, Ohno N (2020.3.25) Sodium-glucose co-transporter (SGLT) inhibitor restores lost axonal varicosities of the myenteric plexus in a mouse model of high-fat diet-induced obesity. 第 125 回日本解剖学会総会全国学術集会 (誌上開催)
2. Ono K, Gotoh H, Nomura T, Ohno N (2020.7.29) Ultrastructural characterization of glial cells in the early postnatal mouse optic nerve. 第 43 回日本神経科学大会（Web 開催）
3. Simankova A, Bizen N, Ohno N, Abe M, Sakimura K, Takebayashi H. (2020.7.29) Analysis on a novel Olig2-binding protein in oligodendrocyte differentiation. 第 43 回日本神経科学大会（Web 開催）
4. 大野 伸彦 (2020.9.26) 3D 電顕が見せる新しいイメージと応用. 第 50 回日本腎臓学会東部学術大会（Web 開催）

生体恒常性発達研究部門

1. Takeda I, Nabekura J, (2020.1.8) A novel therapeutic approach for modulating astrocyte activation in chronic pain. Pain and Survival Strategy,（岡崎市）
2. 鍋倉淳一,（2020.1.15）生体イメージングによる大脳皮質神経回路再編の観察：発達と病態. 産業医科大学 医学部 大学院講義,（北九州市）
3. 鍋倉淳一,（2020.1.16）大脳皮質神経回路の再編成：ニューロン－グリア連関. 九州大学 薬学研究院

特別講義,（福岡市）

4. 佐藤彩，有地志帆，小島史章，石橋仁,（2020.2.1）ヒスタミンは TRPC チャネルの活性化により幼若ラットの心臓神経節細胞を興奮させる．第 22 回日本ヒスタミン学会,（広島市）
5. Agetsuma M, (2020.2.13) Population coding of fear memory in prefrontal cortex. MACS International Symposium: COMPUTATIONAL PRINCIPLES IN ACTIVE PERCEPTION AND REINFORCEMENT LEARNING IN THE BRAIN,（京都市）
6. 鍋倉淳一,（2020.2.14）神経回路長期再編の生体内観察. ABiS Symposium Forefront and Future of Electron Microscopic Imaging,（岡崎市）
7. Takeda I, Nabekura J, (2020.2.17) Astrocytes are a novel therapeutic target for chronic pain. 4th CU-NIPS symposium,（バンコク，タイ）
8. 鍋倉淳一,（2020.2.18）脳内免疫細胞による大脳皮質神経回路形成．行動・運動から紐解く神経回路の発達における異分野融合型研究による解明 ワークショップ,（岡崎市）
9. 鳴島　円,（2020.2.18）代謝型グルタミン酸受容体１型（mGluR1）による視床シナプス結合パタンの制御. 行動・運動から紐解く神経回路の発達における異分野融合型研究による解明 ワークショップ, (岡崎市)
10. 鍋倉淳一,（2020.2.25）脳の中を観る．岡崎南ロータリークラブ例会,（岡崎市）
11. 佐藤彩，有地志帆，小島史章，鍋倉淳一，石橋仁,（2020.3.17）ヒスタミンは TRPC チャネルの活性化により幼若ラットの心臓神経節細胞を興奮させる．第 97 回日本生理学会,（誌上開催）
12. Agetsuma M, Sato I, Tanaka Y, Kasai A, Arai Y, Yoshitomo M, Hashimoto H, Nabekura J, Nagai T, (2020. 3.18) Optical and computational dissection of neural circuit for fear memory . 第 97 回日本生理学会大会・他学会連携シンポジウム「データ駆動型知能を用いた神経科学の現状と展望」,（別府市）
13. Agetsuma M, Sato I, Tanaka Y, Kasai A, Arai Y, Yoshitomo M, Hashimoto H, Nabekura J, Nagai T, (2020.3.28) 光と数理による恐怖記憶における前頭前野情報処理機構の解明．第 98 回日本生理学会大会,（名古屋市）
14. Narushima M, Yagasaki Y, Takeuch Y, Aiba A, Miyata M, (2020.7.12) The metabotropic glutamate receptor subtype 1 regulates development and maintenance of lemniscal synaptic connectivity through cortical activity in the somatosensory thalamus. FENS 2020 Virtual Forum,（オンライン）
15. 鍋倉淳一, (2020.7.29) Remodeling of neuronal circuits in vivo:glia-neuron interaction. 第 43 回　日本神経科学大会,（ストリーム配信）
16. 鳴島　円,（2020.9.19）新生児期から成熟期にいたるシナプスの強化・刈り込み・維持のメカニズム．日本赤ちゃん学会第２０回学術集会,（オンライン）
17. 堀内　浩、揚妻正和、石田順子、澤田和明、鍋倉淳一,（2020.9.19）．名古屋大学大学院医学系研究科－生理学研究所合同シンポジウム,（オンライン）
18. 鍋倉淳一,（2020.10.31）感覚研究の未来に期待する．第４回 感覚研究フロンティア シンポジウム,（オンライン）

視覚情報処理研究部門

1. Kimura R, Yoshimura Y (2020.1.29-31) Low-contrast preference of activity in rat primary visual cortex during an orientation discrimination task. The Eighth International Neural Microcircuit Conference -Synaptic Specificity to Circuit Dynamics-（Yamanouchi, Nagano）
2. Kimura R, Yoshimura Y (2020.2.4) Activity of low contrast-preferring neurons in rat primary visual cortex during an orientation discrimination task. UK-Japan Neuroscience Symposium 2020（Edinburgh, United Kingdom）
3. 木村梨絵（2020.6.4）学習に伴う視覚情報処理システム動態の解明．新学術領域研究 脳情報動態を規定する多領野連関と並列処理 第 5 回領域会議,（Zoom 開催）
4. 呉 嘉豪，米田 泰輔，吉村 由美子（2020.7.30）同一神経細胞の麻酔、覚醒下における空間周波数応答特性の変化．第 43 回日本神経科学大会（WEB 開催）

5. 吉村由美子（2020.8.1）大脳皮質視覚野の経験依存的発達メカニズム．第 43 回日本神経科学大会（WEB 開催）

バイオフォトニクス研究部門

1. Otomo K & Nemoto T,（2020.2.13~15）Improvements of two-photon microscopy techniques for understanding intravital phenomena, The 8th RIEC International Symposium on Brain Functions and Brain Computer （仙台）
2. Tsutsumi M & Nemoto T, (2020.2.7~8), Application of novel image analysis method SRRF for deep and fast super resolution imaging, ABiS International Symposium 2020 （岡崎）
3. 榎木亮介，(2020.2.18) 光計測で紐解く生物時計中枢神経回路の作動原理，生理学研究所研究会（岡崎）
4. 廣蒼太，山田淑子，舘野高，根本知己，榎木亮介，（2020.3.17-19）光イメージングを用いた概日時計中枢における核-細胞質の Ca^{2+} 動態の解析，第 97 回日本生理学会大会（別府）（オンライン）
5. 根本知己 (2020.05.07)，先端レーザー光技術を使した高速超解像 *in vivo* 3D イメージング法の研究，AMED 革新脳春の分科会（オンライン）
6. 根本知己 (2020.05.16)，バイオフォトニクス研究部門，生理学研究所オープンキャンパス（オンライン）
7. 榎木亮介，廣蒼太，根本知己，(2020.9.3) 多機能イメージング計測から迫る概日リズム中枢神経回路の作動原理，生理学研究所研究会（オンライン）
8. 大友康平，根本知己，(2020.9.3) 二光子励起顕微鏡の機能向上による多次元生細胞イメージング，生理学研究所研究会（オンライン）
9. 根本知己 (2020.09.20)，多重平面同時可視化による生体超高速 3 次元タイムラプスイメージング，オプトシンフォニクスシンポジウム（オンライン）
10. 根本知己 (2020.09.19)，非線形光学を活用した光学顕微鏡による細胞生理機能の可視化解析，名大医生理研合同シンポジウム（オンライン）
11. 榎木亮介，廣蒼太，根本知己，(2020.9.12) 光イメージング計測で紐解く生物時計中枢神経回路の作動原理，名大生理研合同シンポジウム（オンライン）
12. 根本知己 (2020.09.05)，バイオフォトニクス研究部門，生理学研究所オープンキャンパス（オンライン）
13. 根本知己 (2020.10.26)，話題提供：革新脳プロジェクトにおける研究開発技術以外のことを，AMED 革新脳秋の分科会（オンライン）
14. 根本知己，大友康平，堤元佐，石井宏和 (2020.11.15) 2 光子励起蛍光を用いたライブイメージング技術の展開，日本光学会年会（オンライン）
15. 根本知己 (2020.11.15) 蛍光顕微鏡，日本分光学会第 56 回 秋期セミナー（オンライン）
16. 廣蒼太，根本知己，榎木亮介，(2020.11.21) 概日時計中枢における核-細胞質カルシウム動態の長期イメージング解析，第 29 回日本バイオイメージング学会学術集会（オンライン）
17. 中田開人，鎌田恭史，大友康平，石井宏和，堤元佐，榎木亮介，舘野高，根本知己，(2020.11.21) 多点走査型 2 光子顕微鏡による Aβ オリゴマー曝露時のアストロサイト Ca^{2+} 動態の可視化解析，第 29 回日本バイオイメージング学会学術集会（オンライン）
18. 高橋泰伽，張宏，川上良介，鎗野目健二，揚妻正和，鍋倉淳一，大友康平，岡村陽介，根本知己，(2020.12.01) 新規ナノシートを活用した広範囲かつ深部でのマウス脳 in vivo 二光子イメージング，第 12 回光塾（光塾 2020）（オンライン）
19. Otomo K, (2020.12.03) Improving two-photon excitation microscopy for deeper, sharper and/or faster intravital imaging, 44th Meeting of Australian Society for Biophysics,（オンライン）
20. Nemoto T, (2020.12.03) Multi-photon Microscopy Improved by Novel Optics and Material Technologies, A3 Star Alliance Workship2020（オンライン）
21. Otomo K, (2020.12.03) Two-photon excitation confocal spinning-disk microscopy for real-time visualizations of biological phenomena, A3 Star Alliance Workship2020（オンライン）
22. Tsutsumi M (2020.12.21) Image analysis based super-resolution two-photon microscopy TP-SRRF fordeep

imaging，第 3 回 ExCELLS シンポジウム,（オンライン）

23. Yamaguchi K (2020.12.21) Global analytical method for intercellular signal transduction occurring in 3D multicellular tumor spheroid，第 3 回 ExCELLS シンポジウム,（オンライン）
24. 根本知己 (2020.12.24)，近赤外超短光パルスによる生体超高速 3 次元タイムラプスイメージング，オプトシンフォニズム公開シンポジウム 2020 Optosymphonism Public Symposium 2020 ～モダリティーとスケールを超える光音響～（オンライン）
25. Takahashi T, Zhang H, Kawakami R, Yarinome K, Agetsuma M, Nabekura J, Otomo K, Okamura Y & Nemoto T, (2020.12.22) PEO-CYTOP fluoropolymer nanosheets as a novel open-skull window for in vivo deep and wide-field imaging of living mouse brain，生命科学リトリート（オンライン）
26. 根本知己，(2021.01.18) 近赤外超短光パルスレーザーを用いた生理機能のイメージングと応用，レーザー学会学術講演会第 41 回年次大会（オンライン）
27. 榎木亮介，(2021.03.13) Visualizing Neuronal Circuits Controlling Circadian and Ultradian Ca^{2+} Rhythms in Mammals，第 10 回 生理研—霊長研—新潟脳研 合同シンポジウム（オンライン）

大脳神経回路論研究部門

1. Kubota Y, Sohn J, Kuramoto E, Kawaguchi Y (2020.1.30) Thalamo-cortical synaptic network in motor cortex analyzed with large volume electron microscopy. The Eighth International Neural Microcircuit Conference -Synaptic Specificity to Circuit Dynamics-（長野県下高井郡）
2. Morishima M, Kawaguchi Y (2020.1.30) Sublayer dependent excitatory and inhibitory circuits in the layer 5 of rat frontal cortex. The Eighth International Neural Microcircuit Conference -Synaptic Specificity to Circuit Dynamics-（長野県下高井郡）
3. Otsuka T (2020.1.30) Oscillation in the cortical circuitry. The Eighth International Neural Microcircuit Conference -Synaptic Specificity to Circuit Dynamics-（長野県下高井郡）
4. Sohn J, Youssef M, Hatada S, Kawaguchi Y, Kubota Y (2020.1.30) Input-dependent spine dynamics in motor cortex during motor learning. The Eighth International Neural Microcircuit Conference -Synaptic Specificity to Circuit Dynamics-（長野県下高井郡）
5. Agahari FA, Kawaguchi Y (2020.1.29-30) Connection selectivity of somatostatin cell subtypes in layer 2/3 of frontal cortex. The Eighth International Neural Microcircuit Conference -Synaptic Specificity to Circuit Dynamics-（長野県下高井郡）
6. Im S, Morishima M, Kawaguchi Y (2020.1.29-30) Layer 1 projection diversity of layer 5 pyramidal cells in the frontal cortex. The Eighth International Neural Microcircuit Conference -Synaptic Specificity to Circuit Dynamics-（長野県下高井郡）
7. Kawaguchi Y, Ueta Y, Agahari FA, Im S (2020.1.31) Local circuits in the frontal cortex drive diverse corticocortical projections. The Eighth International Neural Microcircuit Conference -Synaptic Specificity to Circuit Dynamics-（長野県下高井郡）
8. 川口泰雄（2020.2.14）スパインと電気結合：濱先生と私. ABiS Symposium Forefront and Future of Electron Microscopic Imaging（岡崎）
9. Kubota Y, Sohn J, Kuramoto E, Kawaguchi Y (2020.2.14) Thalamo-cortical synaptic network in motor cortex analyzed with large volume electron microscopy. ABiS Symposium Forefront and Future of Electron Microscopic Imaging（岡崎）
10. Kubota Y, Sohn J, Suzuki M, Hatada S, Youssef M, Larkum ME, Kawaguchi Y (2020.2.18) Network plastic changes in the primary motor cortex as the basis of a new motor skill acquisition. 2020 Gordon Research Conference, Thamamocortiacl Interactions（Ventura, USA）
11. 窪田芳之（2020.3.18）大容量電顕データセットと自動神経要素区分化アプリ．第 97 回日本生理学会大会（誌上開催）
12. 田中康裕，田中康代，正水芳人，川口泰雄，松崎政紀（2020.3.27）運動学習中の大脳皮質入出力の層特

異的な神経活動ダイナミクス．第 125 回日本解剖学会総会・全国学術集会（誌上開催）

13. 孫在隣，窪田芳之，川口泰雄（2020.3.27）皮質－皮質間連絡・視床－皮質投射の入力依存的な運動学習時回路動態．第 125 回日本解剖学会総会・全国学術集会（誌上開催）
14. 窪田芳之，孫在隣，倉本恵梨子，日置寛之，川口泰雄 (2020.3.27) 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－ATUM-SEM 法による解析－．第 125 回日本解剖学会総会・全国学術集会（誌上開催）
15. 孫在隣，ヨーゼフ モハメド，川口泰雄，窪田芳之（2020.7.30）皮質－皮質間連絡・視床－皮質投射の入力依存的な運動学習時回路動態．第 43 回日本神経科学大会（オンライン開催）
16. 窪田芳之，孫在隣，倉本恵梨子，ヨーゼフ モハメド，日置寛之，川口泰雄（2020.7.30）大容量電顕データセットを使った視床－大脳皮質神経終末のシナプスターゲット解析．第 43 回日本神経科学大会（オンライン開催）
17. 窪田芳之（2020.9.18）導電性カーボンナノチューブコート PET テープに乗せた神経組織の高解像度電子顕微鏡撮影とその解析法．第59回 フラーレン･ナノチューブ・グラフェン総合シンポジウム（オンライン開催）
18. 窪田芳之，川口泰雄（2020.9.19）非錐体細胞の樹状突起へのシナプス入力特性．第 10 回名古屋大学医学系研究科・生理学研究所合同シンポジウム（オンライン開催）

※大脳神経回路論研究部門は 2020 年度で廃止となりました。

認知行動発達機構研究部門

1. 磯田昌岐（2020 年 1 月 18 日）脳内の自己ニューロンと他者ニューロンから自閉スペクトラム症を考える．講義 : 発達障害に「似て非なる」大人たち（東京都豊島区）
2. 郷康広（2020 年 2 月 14 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 9 回日本マーモセット研究会（兵庫県神戸市）
3. 磯田昌岐（2020 年 2 月 15 日）マカクザルをモデルとして高次脳機能のゲノム基盤と神経基盤を明らかにする．第 9 回日本マーモセット研究会（兵庫県神戸市）
4. Isoda M（2020 年 2 月 17 日）Developing a systems neuroscience of self and others using macaques．チュラロンコン大学・京都大学・生理研合同シンポジウム（Bangkok, Thailand）
5. Noritake A（2020 年 7 月 30 日）Social reward valuation in cortico-subcortical brain networks of macaques．第 43 回日本神経科学大会（WEB 開催）
6. 則武厚（2020 年 9 月 9 日）サル皮質―皮質下における自己と他者の報酬表現．JPA2020 日本心理学会第 84 回大会（WEB 開催）
7. 則武厚（2020 年 9 月 15 日）マカクザル皮質―皮質下ネットワークにおける自己と他者の報酬情報処理. 生理研研究会「意思決定研究の新展開 ～社会共感・主観価値の生成・葛藤に関わる神経メカニズム ～」（WEB 開催）
8. 戸松彩花（2020 年 9 月 19 日）随意運動中の脊髄への筋感覚入力に対する課題依存的促通と抑制．名大医-生理研合同シンポジウム（WEB 開催）
9. 郷康広（2020 年 9 月 19 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．第 10 回名大医−生理研合同シンポジウム（WEB 開催）
10. 磯田昌岐（2020 年 11 月 20 日）腹側運動前野と内側前頭前野の機能連関から自閉スペクトラム症を考える．生理学研究所研究会「社会性の創発・発達、その多様な軌跡」（WEB 開催）
11. 則武厚（2020 年 11 月 25 日）霊長類における自己と他者の報酬に関する神経機構．2020 年 名古屋大学脳とこころの研究センターワークショップ（WEB 開催）
12. 郷康広，辰本将司，石川裕恵（2020 年 12 月 5 日）ヒトとチンパンジーの選択的スプライシングの多様性解析とその脳内表現．第 36 回日本霊長類学会（WEB 開催）
13. 郷康広（2020 年 12 月 21 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．第 3 回 ExCELLS シンポジウム（WEB 開催）

14. 新居桂陽, 二宮太平, 磯田昌岐（2020 年 12 月 23 日）Neuronal responses to real and artificial faces in the macaque amygdala. Life Science Retreat 2020（WEB 開催）

生体システム研究部門

1. 南部 篤（2020.1.10）定位脳手術に役立つ神経生理学. 第 43 回日本てんかん外科学会、第 59 回日本定位･機能神経外科学会　合同教育セミナー（浜松）
2. 南部 篤（2020.1.11）電気刺激のウソ･ホント？ 第 59 回日本定位･機能神経外科学会（浜松）
3. 南部 篤（2020.1.28）大脳基底核とパーキンソン病. 医療法人鉄友会宇野病院第 16 回市民公開講座（岡崎）
4. 纐纈大輔、南部 篤（2020.2.7）前頭連合野機能マッピングのための記憶課題. 第 9 回マーモセット研究会（神戸）
5. Koketsu D, Nambu A (2020.2.7) Working Memory Tasks of Marmosets. 第 9 回マーモセット研究会（神戸）
6. Nambu A (2020.2.17) Parkinson’s disease as a network disorder. 1st CU- KU Symposium and 4th CU-NIPS Symposium,（Bangkok, Thailand）
7. Wongmassang W, Hasegawa T, Chiken S, Nambu A (2020.2.17) The correlated activity of pallidal neurons in a MPTP-treated monkey model of parkinsonism. 1st CU-KU Symposium and 4th CU-NIPS Symposium（Bangkok, Thailand）
8. Nambu A (2020.3.16) Parkinson’s disease as a network disorder. The 6th Symposium of NEURO SCIENCE NETWORK in KOBE（神戸）
9. Nambu A (2020.3.16) DBS - From view of system neurophysiology. 第 93 回日本薬理学会年会（横浜）
10. Sano H, Wahyu DI, Chiken S, Nambu A, (2020.3.17) Regulation of voluntary movements by signals through the external segment of the globus pallidus. The 97th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan（別府）
11. Osanai M, Tanihiara H, Inagaki R, Kikuta S, Sasaoka T, Nambu A (2020.3.17) The role of dopamine D1 receptor on the whole brain activity and on the motor function. 97th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan（別府）
12. Chiken S, Sano H, Kobayashi K, Nambu A (2020.3.19) How do the basal ganglia control thalamocortical activity? The 97th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan（別府）
13. Hasegawa T, Chiken S, Kobayashi K, Nambu A (2020.3.19) Chemogenetics to decipher the functional role of the subthalamic nucleus in macaque monkeys. 97th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan（別府）
14. Wongmassang W, Hasegawa T, Chiken S, Nambu A (2020.3.19) Weak correlated activity of pallidal neurons during task performance in normal and mild parkinsonian monkeys. The 97th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan（別府）
15. Polyakova Z, Hatanaka N, Chiken S, Nambu A (2020.3.19) Glutamatergic and GABAergic control of monkey subthalamic activity during motor task. 97th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan（別府）
16. Chiken S, Sano H, Kobayashi K, Nambu A (2020.7.12-14) Optogenetic manipulation of basal ganglia inputs to the thalamocortical system in macaque monkeys. FENS2020（Glasgow, Scotland, UK）
17. Sano H, Kobayashi K, Kato S, Chiken S, Kobayashi K, Nambu A (2020.7.12-4) Two types of cortical inputs to the striatum. FENS2020（Glasgow, Scotland, UK）
18. 笹岡俊邦, 齊藤奈英, 知見聡美、阿部 学, 川村名子, 鍋島陽一, 田井中一貴, 﨑村建司, 南部 篤（2020.7.29）大脳基底核間接路の D2 受容体発現細胞における NMDA 受容体のマグネシウムブロックの減少により誘導される運動制御と学習記憶の変化の解析. 第 43 回日本神経科学大会（神戸）
19. 齊藤奈英, 田井中一貴, 知見聡美, 原 怜, 山口 瞬, 一瀬 宏, 南部 篤, 笹岡俊邦（2020.7.29）受容体を介した神経伝達は、運動制御、嫌悪記憶形成および大脳皮質の Arc 活性化に必要である. 第 43 回日本神経科学大会（神戸）
20. Nondhalee P, Nobuhiko H, Nambu A（2020.7.29）What happens in our brain if we lose our hand accidentally? 第 43 回日本神経科学大会（神戸）

21. 知見聡美, 南部 篤（2020.8.20）運動異常症の脳内メカニズムー小脳と大脳基底核はどのように寄与するのか？ 第６２回日本小児神経学会学術集会（幕張）
22. 知見聡美, 南部 篤（2020.8.31）ジストニア症状発現の脳内メカニズムー大脳基底核と小脳はどのように寄与するのか？ 第６１回日本神経学会学術大会（岡山）
23. 南部 篤（2020.9.1）舞踏運動の病態生理について．第 61 回日本神経学会学術大会（岡山）
24. 佐野裕美、知見聡美、渡辺秀典、小林憲太、深田優子、深田正紀、虫明元、南部 篤 (2020.9.19)マカクザルへの光遺伝学の適応～サル大脳皮質運動野への光刺激が誘発した運動～ 第 10 回生理学研究所・名古屋大学医学系研究科合同シンポジウム（岡崎）
25. 佐野裕美 (2020.12.11)オプトジェネティクスを利用したマカクザル上肢の運動誘発～マカクザル大脳皮質へのオプトジェネティクスの適用～ 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」（岡崎）

神経ダイナミクス研究部門

1. Keiichi Kitajo, Takumi Sase, Yoko Mizuno, Hiromichi Suetani （2020・2・7） Visualization of inter-individual variations in noise-induced brain dynamics. 第 1 回 CIBoG リトリート（第 12 回 NAGOYA グローバルリトリート）（大府）
2. 横山 寛（2020･2･20）情報工学的観点からの脳神経ダイナミクスの理解．先進電磁波イメージング研究会（土岐）
3. 北城圭一（招待講演）（2020･2･21）Transient oscillatory dynamics and brain disorders．第 6 回 Neuroscience Network in Kobe シンポジウム（神戸）
4. 横山 寛, 北城 圭一（2020･7･29）Detecting the change-point of dynamical brain networks based on the Bayesian dynamical inference．第 43 回日本神経科学大会（神戸・オンライン）
5. 末谷 大道，北城 圭一（2020･7･31）リザバー計算による脳波モデリングと個人認証への応用．第 43 回日本神経科学大会（神戸・オンライン）
6. 北城圭一（招待講演）（2020･8･30）脳波遷移ダイナミクスと自閉症傾向との関連．第 22 回日本ヒト脳機能マッピング学会（札幌・オンライン）
7. 北城圭一（招待講演）（2020, 11,12）脳の遷移ダイナミクスの機能的意義と自閉症傾向との関連．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（岡崎・ハイブリッド）
8. 横山 寛（招待講演）（2020･11･27）脳波位相同期ネットワークの時系列推定と変化点検知．生理研研究会第 2 回 力学系の視点からの脳・神経回路の理解（岡崎・オンライン）
9. 小野島 隆之, 北城 圭一（2020･11･26）カルマンフィルタによる脳波瞬時位相の予測，生理研研究会　第 2 回 力学系の視点からの脳・神経回路の理解（岡崎・オンライン）
10. 北城圭一（招待講演）（2020･11･28）TMS-EEG 計測による脳ダイナミクスのプローブ手法の提案．日本臨床神経生理学会学術大会第 50 回記念大会（京都・オンライン）

心理生理学研究部門

1. Koike T (2020.2.7) Hyperscanning neuroimaging technique to reveal the neural basis of social interaction. Nagoya Global Retreat (1st CIBoG Retreat)（Obu, Aichi, Japan）.
2. 福永雅喜（2020.2.9）Task fMRI 篇．第 7 回 ABiS 脳画像解析チュートリアル（東京）
3. 東島（宍戸）恵美子（2020.2.14）「アイトラッキングと心の動き」．奥三河メディカルバレー第５回ワークショップ（新城，愛知）
4. Maruyama S, Fukunaga M, Peter Fautz HP, Heidemann R and Sadato N (2020.2.17) Comparison of 3T and 7T MRI for the visualization of globus pallidus sub-segments. 1st CU-KU Symposium and 4th CU-NIPS Symposium

"Advances in Neuroscience Research"（Bangkok, Thailand）

5. Fukunaga M （2020.2.21） Brain Microstructure and Function using Ultra High Field MRI The 10th BRI International Symposium（Niigata, Japan）
6. 福永雅喜（2020.5.15）高磁場 MRI の現状と課題 ～7T MRI の使用経験から～．臨床 MRI 安全運用のための指針関連 web 特別企画 第 25 回講演会「MRI 安全性の考え方」（Web 開催）
7. Koike T (2020.6.13) Hyperscanning fMRI studies to reveal neural basis of eye-to-eye communication. Neurosync 2020（Web 開催）
8. Yamamoto T, Fukunaga M, Sugawara S, Hamano Y, Sadato N (2020.6.24) Quantitative Evaluations of Geometric Distortion Corrections in Surface-Based Analysis of 7T fMRI. The 26th Annual Meeting of the Organization for Human Brain Mapping（Web 開催）
9. Yamamoto T, Fukunaga M, Sadato N (2020.6.24) Linking Multimodal Parcellation 1.0 of Human Connectome Project to MNI Coordinates. The 26th Annual Meeting of the Organization for Human Brain Mapping（Web 開催）
10. Koyama Y, Kato Y, Jimura K, Chikazoe J, Sadato N (2020.7.29-8.1) Functionally constrained autoencoder: autoencoder for temporal information extraction of cognitive processes from BOLD signal. 第 43 回日本神経科学大会（Web 開催）
11. Yamamoto T, Sugawara S, Hamano Y, Fukunaga M, Sadato N (2020.8.1) Toward fine anatomically-informed functional analyses using ultra-high field MRI: Quantitative evaluation of artifact corrections in 7-T functional MRI data. International Conference on Complex Medical and Engineering 2020（Web 開催）
12. Yamamoto T, Fukunaga M, Sadato N, Le Bihan D (2020. 8.8) Parcellation of the human brain cortex using a modell free, sparse acquisition diffusion MRI approach (≪S-index≫). 2020 ISMRM & SMRT Virtual Conference & Exhibition（Web 開催）
13. Xia Li, Masaki Fukunaga, Tie-Qiang Li (2020.9.3) Kinetic oscillatory stimulation in the nasal cavity elicits functional brain activation in the limbic system of the brain. 11th Annual Scientific Symposium Ultrahigh Field Magnetic Resonance: Clinical Needs, Research Promises and Technical Solutions（Web 開催）
14. 中根俊樹，福永雅喜，田岡俊昭，川井恒，加藤裕，櫻井康雄，長縄慎二（2020.9.11）7T-MRI 装置における MP2RAGE を用いた視床内部構造の描出．第 48 回日本磁気共鳴医学会大会（Web 開催)
15. 小池耕彦（2020.9.14）コミュニケーションの神経基盤の検討 : 二者同時記録 MRI 装置を用いて．電子情報通信学会ヒューマン情報処理研究会（Web 開催）
16. 丸山修紀，福永雅喜，菅原翔，濱野友希，山本哲也，定藤規弘 (2020.9.19) The sequential finger tapping learning mediated by the primary motor cortex with the fronto-parietal network: a combined MRI-MRS study. 第 10 回名古屋大学医学系研究科・生理学研究所合同シンポジウム（Web 開催）
17. Akram MSH, Fukunaga M, Nishikido F, Takyu S, Obata T, Yamaya T (2020.11.5) Feasibility study on a single-channel microstrip transmission-line RF coil integrated with PET detector module for a 7T whole-body MRI system. Virtual 2020 IEEE Nuclear Science Symposiu & Medical Imaging Conference（Web 開催）
18. 福永雅喜（2020.12.5）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 26 回講演会「MRI 安全性の考え方」（Web 開催）
19. 福永雅喜（2020.12.12）fMRI の基礎．日本磁気共鳴医学会 第 24 回実践･先端講座「Advanced Neuroimaging」（Web 開催）

個別研究（山肩研究室）

1. Yamagata Y, Yanagawa Y, Imoto K (2020.7.29-8.1) Relationship between aging, spatial memory and calmodulin kinase II. 第 43 回日本神経科学大会（WEB 開催）

個別研究（佐竹研究室）

1. 池田啓子, 佐竹伸一郎, 川上 潔（2020.3.17-19）*Atp1a3* 遺伝子欠損マウス小脳プルキンエ細胞におけるグルタミン酸取込み活性の低下：グリアによる代償機構と長期抑圧への影響. 第 97 回日本生理学会大会.（誌上開催）
2. 佐竹伸一郎（2020.7.29-8.1）エタノールの小脳プルキンエ細胞グルタミン酸輸送体促進作用：Na ポンプの関与. 第 43 回日本神経科学大会（オンライン開催）

形態情報解析室

1. ソン チホン、村田和義（2020.9.19）クライオ電子顕微鏡によるノロウイルスの動的構造変化の解析. 第 10 回名大生理研合同シンポジウム（オンライン）
2. ソン チホン（2020.11.10）クライオ電顕によるノロウイルス感染構造変換の解析. 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」 ～コロナ禍にできること、すべきこと～（オンライン）
3. ソン チホン、中鉢淳、洲崎敏伸、村田和義（2020.11.21）マイクロトーム SEM によるミカンキジラミの細胞内共生細菌プロフテラの形態解析. 日本顕微鏡学会第 63 回シンポジウム　顕微鏡オンラインフォーラム 2020（オンライン）
4. Ryoto Watanabe, Chihong Song, Yoko Kayama, Masaharu Takemura, Kazuyoshi Murata （2020.12.18） Particle maturation process of Medusavirus. 第 3 回 ExCELLS シンポジウム（オンライン）
5. 村田和義、宋 致宏、岡本健太、武村政春（2021.1.26）巨大ウイルスの構造からみるウイルス多様性と系統進化の研究２. 新学術領域「ネオウイルス学」第８回領域班会議（オンライン）
6. Ryoto Watanabe, Chihong Song, Yoko Kayama, Masaharu Takemura, Kazuyoshi Murata (2020.2.4) Particle maturation process of Medusavirus. 第 3 回 ExCELLS 若手リトリート（オンライン）
7. Ryoto Watanabe, Chihong Song, Yoko Kayama, Masaharu Takemura, Kazuyoshi Murata (2020.2.6) Particle maturation process of Medusavirus. 第 2 回 CIBoG リトリート（第 13 回 NAGOYA グローバルリトリート）（オンライン）
8. 村田和義（2020.2.15）電子顕微鏡を用いたノロウイルス粒子の構造解析. 2020 年度 AMED 新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業「下痢症ウイルスの感染増殖機構・病原性発現機構の解明に向けた研究」 第 2 回班会議（オンライン）
9. Kazuyoshi Murata (2020.2.17) Cryo-EM at Okazaki. Cryo-Electron Microscopy Course at OIST（沖縄）
10. 村田和義（2020.3.8）電子線位相イメージンググループ. JST ERATO 百生量子ビーム位相イメージングプロジェクト最終成果報告会（オンライン）
11. 永谷 幸則、富田 雅人、向中野 信一、新井 善博、村田 和義、百生 敦（2020.3.8）レーザーを用いた非接触な位相差電子顕微鏡. JST ERATO 百生量子ビーム位相イメージングプロジェクト最終成果報告会（オンライン）
12. 永谷 幸則、富田 雅人、向中野 信一、新井 善博、村田 和義、百生 敦（2020.3.8）コントラスト最大化位相差走査電子顕微鏡. JST ERATO 百生量子ビーム位相イメージングプロジェクト最終成果報告会（オンライン）
13. 向中野 信一、永谷 幸則、新井 善博、村田 和義、百生 敦（2020.3.8）FZP-PC-STEM 法の応用探索. JST ERATO 百生量子ビーム位相イメージングプロジェクト最終成果報告会（オンライン）
14. 村田和義（2020.3.13）巨大ウイルスから物質と生命との境界を探る. 第 31 回自然科学研究機構シンポジウム　― 生きているとは何か？ ―（オンライン）

多光子顕微鏡室

1. 村越秀治 (2020.9.17) A photoactivatable CaMKII induces synaptic plasticity in single synapses. 生理研国際研究会「Synapse and System Plasticity of Learning and Memory」（オンライン）
2. 植田大海、内藤清惟、白石光也、中森裕之、椎名貴彦、志水泰武（2020.9.19）in vivo 大腸運動記録を用いた α-MSH による排便促進作用メカニズムの検討. 第 10 回名古屋大学医学系研究科・生理学研究所合同シンポジウム（オンライン）
3. 植田大海、村越秀治（2020.12.3）慢性的に活性化された神経細胞における構造的可塑性の単一スパイン解析. 生理研シナプス研究会 2020（オンライン）
4. 村越秀治（2020.12.13）CaMKII 経路の単一シナプス内光操作と分子活性イメージング. 生理研研究会「シナプスを見る、測る、操る－新たな技術で挑むシナプス学」（オンライン）
5. 植田大海 (2020.12.22) Analysis of the single-spine structural plasticity of single spines in hyperexcited hippocampal neurons. 生命科学リトリート 2020（オンライン）
6. 村越秀治（2021.1.18）2 光子蛍光寿命イメージング顕微鏡によるシグナル分子活性の定量計測. 一般社団法人レーザー学会学術講演会第 41 回年次大会（オンライン）
7. 植田大海、村越秀治 (2021.2.6) Chronic pharmacological activation induces the homeostatic suppression of structural LTP in cultured hippocampal neurons. 第 2 回 CIBoG リトリート（第 13 回 NAGOYA グローバルリトリート）（オンライン）
8. 植田大海、村越秀治 (2021.3.12) Chronic neuronal excitation leads to homeostatic suppression of structural long-term potentiation. 第 10 回 生理研-霊長研-新潟研合同シンポジウム（オンライン）

生体機能情報解析室

1. 近添淳一（2020.2.18）脳と人工神経回路の対照により明らかにされた価値情報処理中枢としての default mode network. 自然科学研究機構 分野融合型共同研究事業ワークショップ「運動・行動から紐解く脳神経回路発達メカニズムの異分野融合研究による解明」（岡崎，愛知）
2. 近添淳一（2020.2.21）The role of the default mode network in value estimation: A combinatorial study of fMRI and deep learning. 第 10 回 新潟大学脳研究所共同研究拠点国際シンポジウム（新潟，新潟）

ウィルスベクター開発室

1. Ryota Hasegawa, Teppei Ebina, Yasuhiro R Tanaka, Kenta Kobayashi, Masanori Matsuzaki (2020.7.30) Structural dynamics and stability of corticocortical and thalamocortical axon terminals during motor learning. 第 43 回日本神経科学大会（神戸）
2. Yoshinori Koshimizu, Kenta Kobayashi, Kaoru Isa, Tadashi Isa (2020.7.31) Distribution of axon collaterals of ventral tegmental area-cortical motor area projection neurons in rats: a study with double infection of retrograde and anterograde viral vectors. 第 43 回日本神経科学大会（神戸）
3. Fuyuki Karube, Susumu Takahashi, Kenta Kobayashi, Fumino Fujiyama (2020.7.31) Pyramidal neurons projecting to the globus pallidus and their synaptic targets. 第 43 回日本神経科学大会（神戸）
4. Shuhei Horio, Satoshi Yamagata, Shigeki Kato, Kenta Kobayashi, Kenji Sakimura, Kazuto Kobayashi, Yasuhiko Minokoshi, Keiichi Itoi (2020.7.31) Effect of ablation of corticotropin-releasing factor neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus on feeding regulation. 第 43 回日

本神経科学大会（神戸）

5. Kaoru Isa, Thongchai Sooksawate, Sakura Ikeda, Sara Karimi, Kenta Kobayashi, Tadashi Isa (2020.7.31) Retrospective fear: fearful emotion caused by activation of the efference copy signal for escape behavior from superior colliculus to amygdala. 第 43 回日本神経科学大会（神戸）
6. Tsuneyuki Koga, David Kleindienst, Hana Kolinkova, Makoto Sanbo, Kenta Kobayashi, Manabu Abe, Kenji Sakimura, Masumi Hirabayashi, Ryuichi Shigemoto (2020.7.31) Altered input-side dependent asymmetry of CA3-CA1 synapses lacking PirB expression in pre- or postsynaptic neurons. 第 43 回日本神経科学大会（神戸）
7. Hirotaka Onoe, Kaoru Isa, Reona Yamatuchi, Yoshinori Koshimizu, Sjoerd Murris, Muhammad Zubair, Wim Vanduffel, Kenta Kobayashi, Yasumi Ohta, Takashi Tokuda, Jun Ohta, Tadashi Isa (2020.7.31) Modulation of prefrontal neural network by the optogenetic manipulation of the ventral tegmental area using a novel LED probe device and highly efficient viral vector system. 第 43 回日本神経科学大会（神戸）

遺伝子改変動物作製室

1. Kobayashi T. (2020. 2. 18) Conservation and diversity of germline development in mammals. 1st CU- KU Symposium and 4th CU-NIPS Symposium “Advances in Neuroscience Research”（Bangkok, The Kingdom of Thailand）
2. 中山（岩月）研祐, 山中 貴寛, 根岸 淳, 手島 淳輝, 玉田 靖, 平林 真澄, 保地 眞一.（2020. 5. 23）シルクフィブロインディスクをデバイスとして SSV 法によってガラス化保存したラット膵島の腎被膜下移植. 第 67 回日本実験動物学会（誌上開催）
3. 長江 麻佑子, 及川 真実, 水野 直彬, 岩月 研祐, 三宝 誠, 中内 啓光, 平林 真澄, 小林 俊寛.（2020. 5. 23）アデノ随伴ウイルスベクター法を介した効率的な Tfap2c-T2A-tdTomato ノックインラット作製とその発現解析. 第 67 回日本実験動物学会（誌上開催）
4. 長田泰 幸, 前田 達弘, 平尾 雅郎, 吉田 史香, 平林 真澄, 小林 俊寛.（2020. 5. 23）CRISPR/Cas9 システムを用いた膵欠損モデルウサギの作製. 第 67 回日本実験動物学会（誌上開催）
5. 小林 俊寛.（2020. 12. 3）円盤状胚盤を形成する哺乳類から樹立した多能性幹細胞とその利用. 第 43 回日本分子生物学会年会（オンライン開催）

動物資源共同利用研究センター

1. 廣江 猛（2021 年 2 月 18~19 日）明大寺動物資源共同利用研究センターの改修・増築について −運用開始までの道のりと問題点−. 第 43 回 生理学技術研究会（Web 開催）
2. 高橋 伸明（2021 年 2 月 18~19 日）ニホンザルの心理的ストレスによる脱毛の軽減策と効果第 43 回 生理学技術研究会（Web 開催）

【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 125
2. 水生動物の環境適応を支える温度感受性 TRP チャネルの研究 125
3. イソギンチャク近縁種から単離した新規神経毒の作用機構に関する研究 126
4. Protease inhibitors as Kv channel gating modifiers 127
5. 新規蛍光ドーパミンセンサーの培養海馬神経細胞における動作検証 127
6. 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 128
7. 体温センサーTRP チャネルによる代謝制御機構の解明 128
8. 蚊の唾液の鎮痛効果に関する研究 129
9. 昆虫からみた種間の攻防を支える TRP チャンネルの関与 129
10. 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 130
11. 温度感受性 TRPV チャネルとメカノセンシング 131
12. マウス心筋前駆細胞 ACMs の起源および生理的意義の解明 131
13. 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 132
14. 末梢組織代謝を制御する神経回路に対して糖尿病改善因子 R spondin 1 が及ぼす作用の解明 132
15. 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 133
16. 神経積分器と小脳を結ぶ神経回路の解明 133
17. 発達期 DGL ノックアウトマウスにおける抑制性シナプス入力の測定 134
18. 聴覚系の大脳皮質−大脳基底核ループの神経回路の解明 135
19. 骨形成過程における骨細胞動態の in vivo イメージング解析 135
20. 機能性抗体を用いた血管内皮細胞の炎症応答に伴う細胞表面分子が内在化される動態の超解像精密解析 136
21. 生体深部イメージング用高分子ナノ薄膜の創製と機能評価 137
22. 2 光子スピニングディスク共焦点顕微鏡による細胞骨格組織化の研究 137
23. 新規 2 光子励起色素創製を目指した設計・合成・構造解析・機能評価研究 138
24. 2 光子励起顕微鏡を用いた先進的生体がんイメージング法の開発 138
25. 視線を手がかりとした他者の情動理解における上丘の役割の解明 139
26. マーモセット及びマカクザルを用いた視覚的注意に関わる神経回路の網羅的解明 140
27. ジストニアパーキンソニズム等神経疾患病態モデルマウスを用いた神経機能の解析 140
28. 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 141
29. 不随意運動発生のメカニズムの解析 141
30. チック症の病態メカニズム解析 142
31. 神経麻痺性角膜症に対する TRP チャネルの影響 142
32. 統合失調症モデル動物の脳波ダイナミックス解析手法の開発 143
33. 睡眠調節におけるグリア細胞の役割：星状細胞突起のシナプスでの構造的可塑性の分析 143
34. 運動学習のための神経回路基盤の解明 144
35. 大脳皮質運動野ソマトスタチン細胞の機能的多様性 145
36. CLEM による前頭皮質 6 層錐体細胞のシナプス結合の解析 145
37. 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 146

38. In vivo two-photon imaging of cortical neurons during pain ····· 147
39. 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 ····· 148
40. 概日時計の分子機構に関する細胞内 Ca^{2+} の動態解析 ····· 148
41. 新規蚊媒介性ウイルスの多型の構造解析 ····· 149
42. ファージ療法の実用化に資するバクテリオファージの感染・増殖機構の解明 ····· 149
43. ノロウイルスの高分解能構造解析 ····· 150
44. ハプト藻類の脂質体の構造機能解析 ····· 150
45. アミロイドβタンパク質のアミロイド線維の精密構造解析 ····· 151
46. 真核生物の繊毛構築のための輸送機構の構造学的解明究 ····· 151
47. 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 ····· 152
48. 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 ····· 152
49. ラット・ウサギの発生エピゲノム比較解析 ····· 153
50. 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 ····· 154
51. 神経スパインの形態学的解析に関する共同研究 ····· 155

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^+ 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。Gating modifier toxin である APETx1 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 を阻害することが知られている。しかしながら，これまでに，膜電位存在下で生じる hERG の静止状態の立体構造は未解明であり，APETx1 の hERG 結合様式は不明である。そこで本研究では APETx1 および hERG の変異体を用いた電気生理学的解析により，APETx1 による hERG 阻害機構の原子レベルでの解明を目的とした。

我々は，APETx1 の 1 残基変異体 15 種を調製し，パッチクランプ法により，APETx1 の変異体添加時の hERG 電流を測定した。その結果，hERG 阻害に重要な役割を果たす APETx1 の 4 残基（F15, Y32, F33, L34）を同定した。これらの残基は，この APETx1 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。

さらに，hERG 変異体に対する APETx1 の阻害活性を電気生理学的に解析した。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，2 電極膜電位固定法を行い，APETx1 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 APETx1 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。

そこで，hERG-VSD の電位センサーである S4 ヘリックスの位置をシフトさせた複数の立体構造をモデリングし，APETx1 との docking simulation を行ったところ，ヘリックス 1～2 ターン分 S4 を細胞内側にシフトしたモデルで，APETx1 による hERG 阻害が変調を受けた hERG 残基が近接し APETx1 との相補的表面を形成した。この docking model は，今回の変異体を用いた一連の電気生理学実験結果を矛盾なく説明するものであることから，APETx1 の hERG 阻害様式を反映していることが示唆された。

Reference

Matsumura K. et al. **BMC Mol. Cell Biol.** 22, 3 (2021).

2.　水生動物の環境適応を支える温度感受性 TRP チャネルの研究

齊藤　修，北野友惟，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，様々な環境に棲む魚類や両生類などの水生動物がどのような特徴を持つ温度感受性 TRP 群を発現し，如何に環境適応や生存戦略に役立てているかを解明する。

陸生動物の主要な侵害刺激センサーは，6 種の温度感受性 TRP チャネル（TRPA1,V1-4,M8）である。それらを活性化する温度閾値はチャネルごとに異なり，各温度域をカバーしている。一方，水中に棲む魚類には，TRPA1,V1,V4 の 3 種の遺伝子しか存在しない。そこで，ミナミメダカを主なモデルに魚類の温度感受性 TRP を解析した結果，特に高温応答については，魚類 TRPA1 と V1 には明確な高温閾値がなく 25℃付近から緩徐に活性化される特性があることなどが明らかになった。そこで，本年度は，ミナミメダカと異なった環境に生息する魚類 2 種，即ち，低水温の湧水帯に棲むイトヨと高水温の熱帯に近いハイナン島に棲むメダカの近縁種ハイナンメダカが，各々どのような性質の温度感受性 TRP を持ちどう環境適応しているのか解析することにした。

低水温を好むイトヨについては，まず TRPA1 に注目して cDNA を単離し，電気生理学的な機能解析を行った。結果，化学物質応答については，代表的な TRPA1 リガンドの AITC, MA, carvacrol によって活性化された。一方，高温応答性については，ミナミメダカの TRPA1 や TRPV1b に比べ，顕著に大きな高温活性化が検出された。

今後，詳しい比較検討が必要であるが，暫定的な温度係数 Q10 は，陸上動物のように高く 11 程度算出され，また高温閾値は 24℃付近であった。よって，イトヨの生態的特徴と TRPA1 の機能がよく一致すると考えられた。

次にハイナンメダカの TRP については，まずメダカで全身の感覚神経に発現している TRPV1b に注目して cDNA を単離し，電気生理学的な機能解析を行った。結果，ミナミメダカ同様，カプサイシン非感受性で 2-APB 応答性が検出され，高温応答についても 25℃付近から緩徐に高温活性化された。よって，ハイナンメダカの高温適応には他の TRP が関与している可能性が考えられた。一方，高い塩水適応性を示すミナミメダカの TRPV1b には高浸透圧応答性が存在する事を見出していたが，ハイナンメダカ TRPV1b には有意な応答が検出されなかった。そこで，今後はハイナンメダカの塩水適応性との関連を解析してゆく。

3. イソギンチャク近縁種から単離した新規神経毒の作用機構に関する研究

本間智寛（東海大学 生物学部）
陳　以珊，下村拓史，久保義弘（生理学研究所）

イソギンチャクの毒には，タンパク質性の溶血毒とペプチド性の Na チャネル毒と K チャネル毒の神経毒がある。なかでもペプチド毒は，その特異な作用機構から，貴重な薬理学的試薬として利用され，多発性硬化症の治療薬としても開発中である。代表者は，サワガニに対する毒性を指標に，従来のイソギンチャク毒とは異なる一次構造の新規ペプチド毒を数多く単離してきた。

一方，刺胞動物イソギンチャクは，花虫綱六放サンゴ亜綱のイソギンチャク目に位置するが，同亜綱の他の目に属する「イソギンチャク近縁種」における毒成分は，ほとんど調べられていない。予備実験では，ハナギンチャク目からの 1 種，ホネナシサンゴ目からの 2 種について，サワガニに強い神経毒性を示す毒成分が存在し，それらは従来のペプチド毒とは異なるタンパク毒と判明し，精製を進めている。

本研究では，「イソギンチャク近縁種」にはまだ数多くの未発見の新規神経毒が存在するとの想定のもと，それらの単離と構造解析，作用機構の解明を行い，有効利用に資することを目的とした。

今回，近縁種のツノサンゴ目のウミカラマツとムチカラマツの 2 種を入手したので，粗抽出液を調製し，サワガニに対する毒性試験を行った。

ツノサンゴ目は骨軸とよばれる硬い骨格を有し，骨軸に多数の小さなポリプが群体を形成しているので，骨軸を数センチ毎の長さで切断し，その重量に対する 5 倍量のイオン交換水を加えてホモジナイズして抽出を行った。その後，冷却遠心分離し，得られた上清を粗抽出液とした。

粗抽出液のサワガニ毒性は，両種で致死と麻痺活性（反転させて起き上がれない状態）ともに認められた。ムチカラマツの致死活性はウミカラマツより 4 倍強かったが，ウミカラマツでは致死と麻痺活性との間の毒性の強さに開きがあり，麻痺活性は単に致死成分が希釈されたことにより毒性が弱まったものではなく，致死成分とは別に，麻痺のみを引き起こす毒成分の存在が示唆された。

サワガニでの症状は，従来のイソギンチャクの Na チャネル毒や K チャネル毒での症状に似ていた。現在，粗抽出液のアフリカツメガエルの卵母細胞に発現させた電位依存性の Na チャネルや K チャネルへの作用を解析している。今後は，精製途中にある予備実験での近縁種に加えて，ツノサンゴ目の 2 種についても，阻害作用が認められたチャネルに対する毒性を指標として，新規神経毒の精製を進めていく予定である。

4.　Protease inhibitors as Kv channel gating modifiers

和田広夢，滝本浩一（長岡技術科学大学）
下村拓史，久保義弘

研究試薬として使用されるセリンプロテアーゼ阻害剤 PMSF は，HEK293 細胞に発現させた Kv4.3 チャネルの不活化を促進する。PMSF はプロテアーゼの活性セリン残基を共有結合修飾することにより効果を発揮することから，チャネル中の特定アミノ酸残基の修飾が不活化促進の要因であることを想定した。本共同研究では，アフリカツメガエル卵母細胞を発現系として，PMSF による効果の可逆性，Kv チャネル特異性，さらに不活化促進機構解明に向けた実験を行った。

PMSF は，卵母細胞に発現させた Kv4.2，Kv4.3，Kv2.1 及びショウジョウバエ Shaker チャネルの不活化を促進する傾向を示した。また，哺乳類細胞に発現させた Kv4.3 チャネルでは見られないピーク電流量の減少も観察された。不活化の促進及びピーク電流量の減少は可逆的であり，灌流による薬剤除去により回復した。これらの結果は，PMSF のチャネル阻害効果は，チャネル中のアミノ酸残基の共有結合修飾によらないことを示す。また，PMSF は多様な Kv チャネルに対して阻害効果を発揮することから，この薬剤が調査したチャネルに共通な構造あるいは発現系に内在する因子に非共有結合的に作用することにより効果を発揮することを示唆する。

チャネル不活化は，N 端に存在するペプチドがチャネルの細胞内側を塞ぐようにして生じる N 型，ポア及び C 端領域が関与しチャネルの細胞外側における構造変化による C 型（P/C 型）に大別される。PMSF がどちらの不活化機構に影響を与えるかを検討するために，N 端ペプチドを欠損し N 型不活化を示さない Kv4.2（Kv4.2ΔN19），Kv4.3（Kv4.3ΔN19）及びショウジョウバエ Shaker チャネル（Shaker Δ N6-46），さらに C 型不活化を欠失した Shaker チャネル（ShakerT449V）を用いた。PMSF は，全ての N 端欠損チャネルの不活化を促進した。逆に，単一アミノ酸置換 Shaker チャネルの不活化には影響を与えなかった。これらの結果は，PMSF が Kv チャネルの C 型不活化に影響することを示す。また，PMSF は，野生型ばかりでなく C 型欠失 Shaker チャネルも含めた全てのチャネルのピーク電流量を可逆的に減少した。そこで，PMSF には C 型不活化の促進とピーク電流量の減少という２つの区別可能な作用がある可能性がある。

5.　新規蛍光ドーパミンセンサーの培養海馬神経細胞における動作検証

竹内倫徳（Department of Biomedicine, Aarhus University）
中本千尋（Department of Biomedicine, Aarhus University；共同利用研究者）

＜研究目的＞

新奇な体験は記憶の固定化を促進するが，その責任領域は海馬である。申請者は，海馬において青斑核由来のドーパミン（DA）放出が記憶の固定化に重要であることを示した（Takeuchi et al., Nature, 2016）。海馬における青斑核由来の軸索より放出される DA を直接検出するために，新規 DA 赤色蛍光タンパク質センサーを開発した。本共同研究の目的は，神経細胞レベルでのセンサーの動作確認である。そのために，ラット海馬初代培養神経細胞を用いて，DA 赤色蛍光タンパク質センサーの動作確認をおこなった。

＜具体的な研究成果＞

1)　DA 赤色蛍光タンパク質センサーの発現確認

ラット胎児（E18）より海馬初代培養神経細胞を作製し，センサー発現ベクターを Lipofectamine2000 により導入した。4-7 日後に蛍光顕微鏡を用いて，ライブセルイメージングを行い，センサーの細胞膜への発現を確認した。さらに，DA による蛍光変化率の変化を確認した。その後，DA の添加濃度を変化せる，用量反応曲線を作製し，DA に対する EC50 を算出した。

2)　タイムラプスイメージングによるセンサーの詳細な性能評価

1）と同条件で作製した初代培養神経細胞に，DA 赤色蛍光タンパク質センサー発現を導入し，タイムラプスイメージングをおこなった。その結果, DA の添加によって蛍光変化率が変化し，アンタゴニストの添加によってその蛍光変化率がベースラインレベルに戻ることを確認した。また，この DA センサーが，ノルアドレナリン存在下でも特異的に DA を検出できることを確認した。

これらの研究成果は，現在論文として投稿中である。

6. 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。温度依存的な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重要である。本研究は，温度感受性 TRP チャネルに着目し, 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，以下２つの実験を実施した。

【実験①】本年度は，カメの生殖腺における TRPV4 や TRPM8 の生理的応答を検証するため，Ca^{2+} イメージングによって生殖腺細胞における TRP のアゴニストに対する応答を解析した。まず，孵化後のクサガメ（*Mauremys reevesii*）の生殖腺を摘出し，酵素処理によって分離した細胞を一晩培養した。培養した細胞に Ca^{2+} インジケータ Fluo-4 を取り込ませ, TRPV4 のアゴニスト（GSK1016790A）を灌流させた際の蛍光強度を観察した。その結果，アゴニストの投与に伴い蛍光強度が高まる細胞を確認した。ワニにおいて，TRPV4 を強制発現させた HEK293 細胞は，GSK1016790A に対して急激に蛍光強度が高まることが報告されている。一方，カメの生殖腺細胞は，GSK1016790A に対して緩やかに蛍光が増強された。HEK293 細胞に比べて応答は弱いものの，カメの生殖腺細胞において TRPV4 が発現している可能性が示唆された。今後，薬剤応答と温度応答についてさらに検証していく。

【実験②】本年度は，共同研究者である富永研究室，齋藤茂博士の協力のもと，カメ TRPV4 及び TRPM8 を *Xenopus* 卵母細胞に強制発現させ，薬剤および温度応答を計測した。予備的な結果ではあるが，TRPM8 は低温刺激によって活性化されることがわかり，以前実施した卵殻表面への薬剤塗布実験で使用したアゴニスト及びアンタゴニストに対する応答も確認した。カメ TRPV4 においては，TRPM8 と同様に薬剤応答は確認されたものの，安定した温度応答の結果は得られなかった。これは，HEK293 細胞を用いた時と同様に，細胞膜の安定性などが原因と考えられる。しかし，HEK293 細胞に比べれば良好な結果が得られているため，今後は *Xenopus* 卵母細胞を用いてさらなる追試を実施する必要がある。

7. 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）

Transient receptor potential melastatin 2 (TRPM2) は体温域の温度により活性化を受けることから，我々は体温センサーとしての機能に注目し研究を進めてきた。これまでに, TRPM2 と代謝センサーとして知られるサーチュイン分子（SIRT1）との間に機能連関が存在し，プロテインキナーゼ C（PKC）による TRPM2 リン酸化を介してその効率化が行われることを明らかにしてきた。本年度は，TRPM2 リン酸化による TRPM2 機能調節機構に関する解析を中心に行った。

TRPM2 リン酸化候補部位として同定されたスレオニン残基は，TRPM2 の内因性リガンドである Adenosine diphospho ribose (ADPR) の結合部位に近接していたことから，TRPM2 単独発現 HEK293T 細胞を用いた全細胞電流測定により，ADPR 活性化 TRPM2 電流への影響を検討した。その結果，PKC 活性化剤であるフォルボールエステル（PMA）処置により低濃度の ADPR により誘発さ

れる TRPM2 電流が有意に増加することが明らかになった。しかしながら，リン酸化候補部位であるスレオニン残基をアラニン置換したリン酸化欠失変異体，グルタミン酸に置換したリン酸化模倣変異体は，いずれも ADPR による TRPM2 活性化が減弱していたため，当該スレオニン残基のリン酸化による TRPM2 活性制御への寄与を明らかにすることができなかった。一方，TRPM2 リン酸化による TRPM2 活性化温度閾値への影響を検討したところ，PMA 処置により活性化温度閾値の上昇が認められ，TRPM2 リン酸化は TRPM2 機能に対して多彩な修飾を行う可能性が示唆された。

研究代表者は，これまでに TRPM2 のメチオニン酸化が活性化温度閾値の調節にかかわることを示してきた。今回明らかとしたスレオニン残基および上述のメチオニン残基はいずれも，ADPR 結合部位の近傍に位置することから，これらの領域が閾値調節ドメインを形成している可能性が示唆される。本研究結果は，体温センサーTRP チャネルの活性化温度閾値が如何にして決定されるのかを知る糸口となると期待されるものであり，今後さらに本成果を発展させたい。

8.　蚊の唾液の鎮痛効果に関する研究

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。

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の頭部サンプル（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 15,000rpm，15 分間遠心分離した）を調整した。蚊頭部ホモジェネートは，HEK293 細胞においてヒト TRPV1, TRPA1 電流を濃度 依存的に抑制した。効果は TRPA1 抑制の方が大きかった。マウス唾液も同様に濃度依存的にマウス TRPV1, TRPA1 電流を抑制し，TRPA1 の抑制効果の方が大きかった。95 度 20 分の熱処理で抑制効果が消失したことから，唾液に含まれるペプチド成分が有効成分と推定した。これまで鎮痛効果のある唾液成分として知られる sialorphin の効果を検討したところ，蚊頭部ホモジェネートやマウス唾液と同様に濃度異存的にヒト TRPV1, TRPA1 電流を抑制し，脊髄神経の発火も抑制した。

最後に，蚊頭部ホモジェネートと sialorphin はマウス後根神経節細胞におけるカプサイシン活性化電流，カプサイシンによる細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇，AITC による細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇を抑制した。また，カプサイシンと AITC のマウス足底投与による痛み関連行動も蚊頭部ホモジェネートと sialorphin で抑制された。蚊唾液は，TRPV1, TRPA1 を抑制することで穿刺痛の軽減をもたらしているものと推定される。また，ヒトを含む哺乳類がけがをした場所を舐めるのは，唾液による鎮痛効果を考えてのことかもしれない。

9.　昆虫からみた種間の攻防を支える TRP チャンネルの関与

保　智己（奈良女子大学 理学部）

多くの植物はシアン化合物を化学防除因子として利用しているが，アブラナ科植物は防御物質としてイソチオシアネートを利用するよう独自に進化してきた。アブラナ科植物特有の，グルコシノレートと β-グルコシダーゼ（食害によりイソチオシアネートを生成する）を用いる防御の特徴を解明するため，野生型と防御システム関連の突然変異

型のシロイヌナズナ実生の破砕物がクロキンバエの食欲に及ぼす影響を比較した。その結果，野生型の破砕物はハエの嗅覚に訴えて食欲を減退させるだけでなく，味覚にも訴えて摂食を刺激する糖受容神経の応答を抑制するとともに毒物受容神経の応答を引き起こす 2 重 3 重の作用によりハエの摂食行動を効果的に抑制することができるが，変異型にはそのような効果がないことが分かった。一方，アブラナ科以外の多くの植物にみられるシアン配糖体とβ-グルコシダーゼ（食害によりシアン化水素を生成する）を用いる防御システムは食欲抑制ではなく強い致死効果を示すことから，植物が食植生昆虫の食害から身を守るために発達させてきた化学防御システムは，大規模な食害を被りながら相手を殺す古い形から，相手の化学感覚を標的に食欲を減退させ双方に軽微なダメージで済ます新しい形へと，植物－昆虫間に Win－Win な関係性を生む方向へ進化してきたと考えられた（論文準備中）。

本共同研究ではこの進化したアブラナ科植物の化学防御システムによる昆虫の食欲抑制の分子基盤の解明を目的とし，イソチオシアネート受容体の候補と想定される TRPA1 の活性を調べようと考えた。

クロキンバエの TRPA1 のクローニングのため，ゲノム配列データベースを精査して TRPA1 に相当する配列を見出した。クロキンバエ TRPA1 には N 末端に 2 種類のバリアントが存在したが，その両方をクローニングすることに成功した。この TRPA1 を培養細胞に発現させ，イソチオシアネートを化学防除物質としてもつシロイヌナズナの i) 野生型と，ii) イソチオシアネート前駆体であるグルコシノレートの分解酵素を持たない幼体植物摩砕抽出物，さらに，iii) 最近同定したシロイヌナズナ由来の 13 種のイソチオシアネート成分それぞれに対する応答を測定する予定であったが，COVID-19 の感染拡大のため実施することができなかった。この測定は次年度の課題として申請したい。

10. 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（静岡県立大学 食品栄養科学部 環境生命科学科）
富永真琴（生理学研究所／生命創成探究センター）

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（L901～I916）のアミノ酸をアラニンに置換すると Y913A, I916A 変異体においてのみ有意に不活性化が遅くなった。次に，ヘリックス構造を不安定化させるグリシンに置換させ変異体を解析した結果，L901G，Y913G，Q915G，I916G において有意に不活性化が遅くなった。Q915 においてアラニン変異体とグリシン変異体で不活性化への影響が異なっていたが，MD シミュレーションによる構造解析を行った結果 Q915G はイオン選択フィルターの構造を不安定化させたことから，ヘリックス構造の不安定化に伴うイオン選択フィルターの不安定化が不活性化を遅延させている可能性が考えられる。ヘリックス構造電位依存的不活性化に関与する pore helix のうち特に関与の強い C 末側の 4 アミノ酸（Y913，L914，Q915，I916）をグリシンに置換した変異体（TRPM5/4G）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。

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 POPC：POPE＝3：1 の脂質二重膜中で観察された。脂質二重膜に 30％コレステロールを添加すると温度依存的活性化が増強された。

11. 温度感受性 TRPV チャネルとメカノセンシング

吉本怜子，内野加穂，本田裕子，城戸瑞穂（佐賀大学）

私たちの身体は常に温度や機械的な刺激にさらされており，多様な刺激に応じ組織を構築し適応している。温度や機械的な刺激により活性化される受容体やシグナル伝達経路などについての研究が進展に伴い，新たな知識が蓄積されているが，その適正な維持や組織損傷に対する治癒の機構は十分に明らかに成ったとは言えない。

私たちは，多様な温度そして機械的な刺激に曝されている口腔をユニークなモデル系として，膜機能タンパク複合体として温度感受性 Transient Receptor Potential (TRP) チャネルの機能を解析している。共同研究では，口腔上皮における温度および機械刺激感受性 TRP Vanilloid 4 (TRPV4)を対象とし，上皮細胞の移動および細胞間接着における解明を目指した。野生型および TRPV4 遺伝子欠失マウスを用いて，口蓋粘膜に 1.5mm パンチによる創傷を与え治癒を比較した。TRPV4 遺伝子欠失マウスの創部は野生型マウスより早期の治癒を示した。さらに，上皮細胞の細胞移動への TRPV4 の影響を調べた。新生マウスから採取した口腔粘膜上皮細胞の細胞移動を比較すると，TRPV4 遺伝子欠失マウスから採取した細胞は野生型マウスから採取した細胞よりも，移動距離が長く，速い移動を示した。TRPV4 は細胞内で線維状の局在を示し，細胞骨格である線維状のアクチンと密接な関係を示していた。細胞の移動を促進し，を行い，治癒を上皮細胞の挙動に TRPV4 が与える影響について解析を行った。さらに，異なる温度における培養において，TRPV4 遺伝子欠失マウスから採取した細胞は野生型マウスから採取した細胞と比較し，細胞間の接着が緩やかであった。

これらの結果は，薬理学的な TRPV4 の刺激あるいは抑制においても確認された。

以上のことから，TRPV4 が口腔上皮において，細胞移動の抑制に関与することが示唆された。今後は，その詳細な機構，分子標的について検討して行く予定である。

12. 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）

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。哺乳類の心臓に存在する細胞は心筋細胞だけではなく，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。一方，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，ACMs の細胞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について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。さらに，横行大動脈結紮手術による肥大心モデルでは，GFO シグナルの増加みられたため，既存の細胞に融合している可能性が考えられた。

13. 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）
村田遼太（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や炎症の関与が示されてきた。そこで我々は，内因的な抗酸化・炎症制御タンパク質であるチオレドキシン（Trx）に着目した。外因的な Trx の投与は血中からの消失が速く，標的臓器利用率の低さが臨床応用における課題である。そこで，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 融合体を作製し（ピキア酵母発現系），DOX 心筋症に対する治療介入を試みた。マウスに Dox (3 mg/kg) 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，心不全病態が有意に改善した。

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や炎症性サイトカインの増加は HSA-Trx 投与により有意に抑制された。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 macrophage migration inhibitory factor (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た。加えて，心筋組織にお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 の保持や 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唆された。ラット初代心筋細胞を用いた検討から，Dox 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，DOX 心筋症に対する HSA-Trx の有用性を実証した。

14. 末梢組織代謝を制御する神経回路に対して糖尿病改善因子 R spondin 1 が及ぼす作用の解明

戸田知得，李　明亮（北海道大学大学院 獣医学研究院 生化学教室）

【目的】

脳には血糖値の増減を感知し末梢組織の代謝を調節して血糖値を一定に保つ機能がある。肥満はこの機能を破綻させ，糖尿病発症の一因となる。申請者は肥満による血糖値感知機能の低下を改善する R spondin 1 を発見した。しかし，その作用機序は不明である。本研究はウイルスベクターを用いて，末梢組織の代謝を調節する神経回路を標識し，肥満による変化および R spondin 1 を投与した時の変化を観察する。

【方法】

マウスを通常食または高脂肪食（45 kcal %脂肪含有，Research Diet, D12451）で 8 週間飼育した後，仮性狂犬病ウイルス（Pseudorabies virus: PRV）を下肢のヒラメ筋に投与し，5 日後に脳内で標識される神経細胞を観察した。

高脂肪食飼育群は 2 群に分け，それぞれ脳室内に生理食塩水または R spondin 1 を 1 日 1 回，5 日間投与した。

【結果】

通常食マウスの脳において, raphe pallidus, nucleus of the solitary tract, rostral ventromedial medulla, locus coeruleus (LC), subcoeruleus nucleus, lateral hypothalamus, dorsomedial hypothalamus (DMH), paraventricular hypothalamus などに PRV 陽性細胞が確認できた。高脂肪食で飼育すると PRV 陽性細胞の数が DMH および LC で通常食飼育マウスよりもそれぞれ増加または減少した。R spondin 1 を投与すると，DMH および LC での PRV 陽性細胞数の変化が通常食マウスと同程度に戻った。

【考察】

高脂肪食による肥満は, DMH および LC における神経回路を変化させて骨格筋の機能を低下する可能性がある。R spondin 1 は DMH および LC における神経回路の変化を回復し，肥満による糖代謝の悪化を改善するかもしれない。

15. 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，河村菜々実（大阪大学大学院）

本研究課題の目的は，マウス大脳皮質バレルや 4 層において双方向性シナプス結合関係にある興奮性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である。細胞系譜を可視化するために，蛍光タンパクを発現する iPS 細胞を樹立し，野生型マウスの胚盤胞へ移植することでキメラマウスを作製した。これは，生理学研究所遺伝子改変動物作製室の協力を得て行った。キメラマウスから脳スライス標本を作製し，ホールセルパッチクランプおよびレーザースキャン光刺激法により，同一細胞系譜の神経細胞が双方向性結合関係にある場合と結合関係にない場合において，視床中継細胞から共通入力を受けるかどうかを検証するために，視床と皮質を含む急性スライスを作製しバレル野 4 層の蛍光タンパク発現細胞からダブルホールセル記録を行い，レーザー照射によりグルタミン酸に変換されるケージドグルタミン酸を用いて, 視床へのレーザー照射を行った。その結果，視床中継細胞からの入力を得る効率が非常に悪く，共通入力有無の検証は困難となった。そのため，視床軸索を刺激する方法として，視床へチャネルロドプシンを発現するアデノ随伴ウイルス（AAV）を用いることとした。視床へ AAV を感染させた 1 週間後に急性スライスを作製し，皮質神経細胞からホールセル記録を行った結果，視床軸索の応答を効率よく得ることができるようになった。しかし，本目的である双方向性シナプス結合関係にある興奮性神経細胞が視床の単一の中継細胞から共通入力を受けているかどうかを検証するためには，単一軸索を刺激する必要がある。そのため，単一軸索を刺激出来ているかどうかの判断を刺激に対する応答の出現頻度が約 50%になるような AAV の感染量およびレーザー強度やレーザー照射時間の検討を行った。今後は，その条件を確定し双方向性シナプス結合関係にある興奮性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たいと考えている。

16. 神経積分器と小脳を結ぶ神経回路の解明

齋藤康彦（奈良県立医科大学）
吉村由美子（視覚情報処理研究部門）

視線の保持には脳幹の神経積分器と呼ばれる領域が関与し，神経積分器と前庭小脳との神経回路がその機能に重要であることが示唆されている。垂直系の視線保持はカハール間質核（INC）が神経積分器として関与しているが，INC から前庭小脳への神経経路は明らかにされていない。本研究では，まずトレーサーを用いた解析を行う

ため，Alexa 488 標識デキストランをラットの前庭小脳の片葉または虫部垂・小節に注入した。その結果，逆行性標識されたニューロンは舌下神経前位核（PHN）や内側前庭神経核（MVN）に存在したが，INC には存在しなかった。従って，INC から前庭小脳への直接投射の可能性は低いことが示唆された。次に，狂犬病ウイルスを用いたトランスシナプス標識法を用いて, INC は PHN または MVN を経由して前庭小脳に間接的に神経接続している可能性について調べた。狂犬病ウイルスの糖タンパク質（G）を発現する AAV2-retro ウイルス，TVA（トリウイルスのコートタンパク質 EnvA の受容体）と GFP を発現する AAV2-retro ウイルスをラットの虫部垂・小節に注入した。3 週間後に，EnvA で偽型した赤色蛍光タンパク質（RFP）を発現する G 欠損狂犬病ウイルスを同じラットの PHN と MVN の片側に注入した。5 日後灌流固定し，脳組織標本を蛍光顕微鏡で観察した。実験を行った 4 匹のラットすべてにおいて, GFP と RFP を共発現するスターター細胞が PHN および MVN に存在し，さらに狂犬病ウイルスがスターター細胞から一つシナプスを超えて逆行性感染した RFP 陽性ニューロンが INC の両側に存在した。最後に, 同様のトランスシナプス標識法を用いて，PHN もしくは MVN を経由して INC は片葉へ間接接続するか検証する実験を行った。しかし，今回はスターター細胞が PHN や MVN に存在することを確認できなかったため, この仮説は検証できなかった。以上の結果より，INC から前庭小脳へは PHN および MVN を経由した間接的な神経経路を構成していることが本研究によって強く示唆された。

17. 発達期 DGL ノックアウトマウスにおける抑制性シナプス入力の測定

亀山克朗，畠　義郎（鳥取大学 医学部）
米田泰輔，吉村由美子（生理学研究所）

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

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

マウス大脳皮質視覚野のスライス標本を作製し, 2/3 層興奮性ニューロンからホールセルパッチ記録を行い，微小抑制性シナプス後電流（mIPSC）を計測して，DGLα ノックアウトマウスと通常マウスで比較，検討を行った。その結果，生後 17 日齢，21 日齢，25 日齢のいずれにおいても，mIPSC の大きさには，DGLα ノックアウトマウスと通常マウスとの間で違いは見受けられなかった。しかし mIPSC の発生頻度については，生後 21 日齢，25 日齢で両者に差はなかったが, 生後 17 日齢では通常マウスよりも DGLα ノックアウトマウスのほうが mIPSC の発生頻度が上昇していた。したがって，内因性カンナビノイドが合成されていない状態では，とりわけ幼若な時期に抑制性伝達物質の放出頻度が高まっており，それが臨界期可塑性に影響を及ぼしていると考えられる。引き続き，大脳皮質の他の層における内因性カンナビノイドのシナプス伝達への作用について調べていく。

18. 聴覚系の大脳皮質-大脳基底核ループの神経回路の解明

冨岡良平（熊本大学大学院 生命科学研究部）
宮下俊雄（帝京大学 医学部）

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

シナプス前ニューロンの同定は，淡蒼球外節 GABA ニューロンに感染させた膜タンパク（RG）欠損偽型狂犬病ウィルス（PRV）の越シナプス感染により行った。これまでの実験では，Cre 依存的に TVA-mCherry 及び RG を発現する AAV ウィルスを VGAT-Cre マウスの淡蒼球外節へ微量注入し，淡蒼球外節に TVA-mCherry と RG を発現させた。3 週間後に PRV を大脳皮質聴覚野へ注入し，淡蒼球外節 GABA ニューロンの軸索に発現している TVA 経由で PRV を感染させ，淡蒼球外節 GABA ニューロンのシナプス前ニューロンを越シナプス的に GFP で標識した。これまで 2 個体の淡蒼球外節においてスターター細胞を確認しており，以下に述べるように，シナプス前ニューロンを解析が可能になった。

これまで約 9 割のシナプス前ニューロンが線状体に分布していることが確認できた。線条体の投射ニューロンは直接路・間接路に分かれていた。淡蒼球外節 GABA ニューロンがどちらから特異的に入力を受けているのかを検証するために，直接路のマーカーとしてプレプロダイノルフィン，間接路のマーカーとしてプレプロエンケファリンを用いて，GFP 標識されたシナプス前ニューロンの神経化学的特性を調べた。淡蒼球外節は間接路の神経核として知られているため，主にプレプロエンケファリン陽性であろうと予想していたのだが，結果はその逆であった。

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

19. 骨形成過程における骨細胞動態の in vivo イメージング解析

谷村明彦 [1]，根本知己 [2]，石田成美 [1]，根津顕弘 [1]，大友康平 [2]
([1] 北海道医療大学 歯学部薬理学分野
[2] 生理学研究所 バイオフォトニクス研究部門)

骨組織は，骨芽細胞，骨細胞，破骨細胞と骨基質によって構成されるが，骨組織の細胞の 90～95 %を占める骨細胞の機能は未だに不明である。近年，骨代謝や体内の電解質代謝における骨細胞の重要性を示唆する新しい知見が増えている。

本研究では，蛍光物質を使って細胞および骨基質の石灰化部位をラベルし，組織透明化技術，共焦点レーザー顕微鏡，及び多光子レーザー顕微鏡を使った深部イメージング観察によって，石灰化の進行に伴う骨細胞の形成過程の 3 次元的に解析と，生きたマウスの頭頂骨の intravital イメージングによる骨細胞の形態および機能の経時的変化の解明を計画した。2020 年度は，新型コロナ感染症拡大の防止のため生理学研究所での研究は実施せず，北海道医療大学で実施可能な共焦点レーザー顕微鏡を使った研究を行った。

骨吸収部位に沈着するカルセイン，テトラサイクリン，アリザリンレッドを 3 日間隔で腹腔内に投与したマウスから摘出した頭頂骨をパラホルムアルデヒドで固定し，

透明化試薬 LUCID で処理した後，共焦点レーザー顕微鏡で立体構造を観察すると，骨成長に伴うカルセイン（緑），テトラサイクリン（青緑），アリザリンレッド（赤）の層が観察された。また骨細胞の細胞体や細胞突起の周囲に，弱い蛍光色素の沈着が観察された。この結果から骨細胞の周囲で骨吸収や再石灰化が起こっている可能性が示唆された。

また頭頂骨の表層付近の骨と骨細胞の関係を詳しく調べると，骨細胞が３日前の骨表面の蛍光ラベルを突き抜けている像が観察された。この結果から，頭頂骨表面の骨形成に伴って，骨細胞が突起を伸ばしている可能性が示唆された。

GFP マウスにアリザリンレッドを投与し，１日および３日後のマウス頭頂骨の骨細胞を観察すると，屠殺時の骨細胞（緑）とアリザリンレッド投与時の骨細胞の形態（赤）を比較することができる。アリザリンレッド投与後１日の GFP マウスでは GFP 蛍光とアリザリンレッド蛍光はほぼ一致したのに対して，アリザリンレッド投与後 3 日の GFP マウスでは，骨細胞の GFP 蛍光とアリザリンレッド蛍光が必ずしも一致しなかった。この結果から骨基質内の骨細胞の突起が動いている可能性が示唆された。

今後，本研究の結果に基づいた多光子レーザー顕微鏡観察による骨基質内の骨細胞動態の可視化によって共焦点レーザー顕微鏡観察の結果を確認したい。

20. 機能性抗体を用いた血管内皮細胞の炎症応答に伴う細胞表面分子が内在化される動態の超解像精密解析

福原武志（順天堂大学 医学部 神経学講座）

細胞表面分子は，細胞接着やシグナル伝達などの様々な機能を担っており，その機能破綻が様々な疾病の原因となる。炎症や虚血に伴うタンパク質シェディングや微小顆粒の放出，あるいは，細胞表面分子とリガンドの結合からリピッドラフトへの局在化によるシグナル伝達などが報告されている。しかしながら，これら一連のプロセスを可視化した事例は少なく，不明な点も多い。本研究では，独自に樹立した抗体を活用して，標的分子の内在化へ至る過程を可視化することを提案した。

血管内皮細胞を免疫原としたハイブリドーマライブラリーから機能的選抜により樹立した 90G4 抗体は，タイトジャンクションタンパク質 CD321 を認識し，細胞内へ内在化される機能を有し，炎症や低酸素曝露に伴う内在化が観察された（Fukuhara T. et al., 2017）。CD321 は，虚血時に臓器へ浸潤する炎症性ミエロイド系細胞のレセプターとなるので，90G4 抗体の投与は虚血に伴う組織損傷を阻止できた（Yin et al., 2021）。T29 抗体は，一部の血管内皮細胞に発現する CD146 を認識した。ストレス刺激により，シェディングされ内皮細胞の分泌顆粒上に局在し放出された。まず，高感度に分子動態を検出する目的で，抗体架橋型高輝度蛍光リポソームの合成を最適化した（Hamamichi et al., 2020; Hamamichi et al., 2021）。内皮細胞のライブイメージング解析により極微量（抗体 5 ng）で取込み（蛍光集積）を検出可能なモダリティとなった。

細胞表面分子の内在化には，マイクロピノサイトーシスや貪食，エンドサイトーシス，トランスサイトーシスなどが想定されている。T29 抗体および T29 イムノリポソームの内在化経路を，高感度に蛍光で検出する目的で，引き続き TPLSM-SD を用いた Z 方向への空間解像度を改良したイメージングを進める必要がある。これまでの解析から CD146 は，遊走時の単一細胞上，タイトジャンクション形成後，あるいは炎症刺激後の動態においてそれぞれ異なる制御を受けていると考えられるので，今後のさらなる解析が必要であると考えている。特に，各内在化の経路に特異的な阻害剤を用いることで，T29 抗体がいかなる経路と局在を介したメカニズムで内在化や分泌の動態制御を受けているか明らかにしたいと考えている。

21. 生体深部イメージング用高分子ナノ薄膜の創製と機能評価

岡村陽介，張　宏（東海大学 工学部応用化学科）
高橋泰伽，大友康平，根本知己（生理学研究所 バイオフォトニクス研究部門）

生体組織をイメージングする際，カバーガラスを介して観察するのが常套手段であるが，多くの課題（乾燥・変形・観察窓のサイズの限定等）も残されている。他方，厚みをナノ寸法に制御した高分子ナノ薄膜は，ナノ厚特有の高い接着力が発現し，接着剤なしで生体組織に貼付できる（Okamura, Y. *et al.*, *Adv. Mater.* **21**, 4388 (2009)）。本研究では, 生体深部イメージング用ナノ薄膜を創製し, カバーガラスを用いる従来法では達成できない生体深部イメージングに適用, 機能評価を行うことを目的とした。

まず，フッ素含有高分子（CYTOP®, AGC 社製）からなるナノ薄膜を調製した。具体的には，シリコン基板上に水溶性犠牲層（ポリビニルアルコール: PVA, 10 mg/mL），CYTOP 溶液（30 mg/mL）の順にスピンコート（4,000 rpm, 60 s）した。次いで，CYTOP 表面を親水化するために，ポリジメチルシロキサン（PDMS）溶液（1 wt%）をスピンコート（4,000 rpm, 20 s）後，酸素プラズマ照射を経て 2-[methoxy (polyethyleneoxy)propyl] trichlorosilane（Cl_3Si-mPEO, Gelest 社製）トルエン溶液に浸漬させ，PEO-CYTOP ナノ薄膜を調製した。基板ごと水中に浸漬させたところ，水面に浮いた状態でナノ薄膜（膜厚: 130 nm 程度）を回収できた。得られたナノ薄膜には撥水性由来の乾燥防止効果が発現することを確認すると共に，ナノ薄膜自体に可視光の吸収はないことから，イメージングに適用できる可能性を裏付けた。

生体組織の 1 例として，マウスの生体脳に着目し PEO-CYTOP ナノ薄膜を貼付した。ナノ薄膜の最表面は PEO 層の導入により親水化されているため, 脳表に密着していた。また，ナノ薄膜自体は撥水性を示すため，浸液を透過させないバリア層として機能することも確認した。さらに，柔軟性のあるナノ薄膜のため, 脳表の自然な湾曲を保ったまま神経細胞を広範囲にイメージングできることも明らかにした（Takahashi, T. *et al.*, *iScience* **20**, 101579 (2020)）。従って，PEO-CYTOP ナノ薄膜はイメージングアクセサリとして応用できる可能性を実証した。

22. ２光子スピニングディスク共焦点顕微鏡による細胞骨格組織化の研究

村田　隆（神奈川工科大学）
渡辺美咲，関本博之（日本女子大学）
大友康平，堤　元佐，根本知己（生理学研究所）

紡錘体は細胞分裂で染色体を分配するのに働く。多くの細胞では，正常な紡錘体の形成に中心体が必要だが，哺乳類の卵母細胞等のように中心体なしで微小管が組織化し，正常な紡錘体を形成する細胞もある。植物細胞は中心体を持たないため，中心体非依存型の紡錘体形成を理解するための良い実験材料と言える。

タバコ培養細胞 BY-2 は“植物の HeLa 細胞”との別名を持ち，早い増殖と容易な形質転換などの特性を持つ。我々はこの細胞を用いて紡錘体のイメージングを行い，紡錘体形成過程における微小管と染色体の相互作用を明らかにしてきた。また，根本研究室で構築した２光子スピニングディスク共焦点顕微鏡を用いたマルチカラー観察方法の開発も行ってきた。本年度はこれまで開発してきた技術を用いて，極方向からの細胞分裂のマルチカラー観察を行った。

タバコ培養細胞 BY-2 には細胞の外形が異なる系統が存在する。OSAKA 系統は一般的な BY-2 細胞に比べて細胞が丸いため，分裂軸が不安定になるのが特徴である。この細胞に新規開発した H2B-mCherry mCitrine-TUB 同時標識コンストラクトを導入し，細胞分裂時の染色体と微小管を極方向から３D 観察することに成功した。

さらに，紡錘体形成の進化を探るため，接合藻類のヒメミカヅキモを用いた解析を行った。接合藻類は陸上植物に最も近縁な藻類として近年脚光を浴びている。その

中でもヒメミカヅキモは形質転換が可能でありゲノム情報が蓄積しているなど，蛍光イメージング解析を行う材料として適している。関本研で作成した CenH3-mCitrine 標識ミカヅキモを用いて細胞核の３D イメージングを行い，ヒメミカヅキモの染色体数の解析を試みた。近赤外パルスレーザで２光子励起を行うことにより核の裏側におけるコントラスト低下を最小化した結果，細胞核全域での動原体の識別が可能になった。その結果，接合型プラスとマイナスの両方の系統とも 70-80 本程度の非常に多くの染色体を持つことが明らかになった。

23. 新規 2 光子励起色素創製を目指した設計・合成・構造解析・機能評価研究

佐藤祐太，鈴木健之，有澤光弘（大阪大学）
大友康平，根本知己（生理学研究所）

生きた動物の内部で起きている現象をサブミクロンの解像度でとらえることは困難である。2 光子顕微鏡はこのような生体現象を捉えることができる強力なツールとして注目を集めているが，本法実施上鍵となる 2 光子励起色素骨格が限られていることから，新しい色素骨格の開発が求められている。

一方，既に我々は数年前に共同研究を開始し，新規多環性含窒素複素環化合物を与える新しい反応や合成法を開発すると共に，これら新規化合物の光学特性について解析して来た。その結果，つい最近，新規２光子励起色素骨格 isoindolo[2,1-a]quinolone を見いだすことに成功した。

本新規骨格を有する化合物の中には，従来型色素よりも超波長側に吸収帯を有する２光子励起色素が含まれている。本申請研では，これらの問題を解決すべく，新規 2 光子励起 色素開発を目指した設計・合成・構造解析・機能評価研究を展開する。

上記研究目標を達成する為, isoindolo[2,1-a]quinolone 誘導体を種々合成し，それらの吸光・蛍光・２光子励起光特性についてまとめ，誌上発表した（Ramon Francisco Avena, Lin Qiao, Yuki Fujii, Kohei Otomo, Hirokazu Ishii, Takeyuki Suzuki, Hirofumi Tsujino, Tadayuki Uno, Yasuo Tsutsumi, Yusuke Kawashima, Tatsuya Takagi, Kenichi Murai, Tomomi Nemoto, Mitsuhiro Arisawa, *ACS Omega* **2020**, 5, 2473-2479.）。

また，新たな isoindolo[2,1-a]quinolone 誘導体を９種類合成した。現在，これら色素の光学特性について解析を進めているところである。また, この解析結果に基づき，新たな誘導体合成を進める予定である。

24. 2 光子励起顕微鏡を用いた先進的生体がんイメージング法の開発

今村健志（愛媛大学大学院 医学系研究科 分子病態医学講座）
根本知己（生理学研究所 バイオフォトニクス研究部門）

近年，がん分子標的治療やがん免疫療法など画期的ながん治療法の台頭により，がん治療は飛躍的に進歩し，がん患者の死亡率は減少しつつある。一方で，がん転移･再発に対する効果的な治療法は未だに少なく，多くのがん患者ががん転移･再発に苦しみ, 死亡している。よって，現在のがん研究・がん医療の最大の課題は，がん転移･再発の予防･抑制のための研究とその臨床応用といっても過言ではない。

がん転移･再発のようなダイナミックな病態の解析には生体分子イメージング技術が有用である。研究代表者今村健志は，これまで蛍光イメージング技術をがん研究領域に応用した先進的研究を行ってきた。一方，共同研究受入教員根本知己は，先進的生体２光子励起蛍光顕微鏡システムを構築している。

そこで，本研究では，がんにおける革新的蛍光イメージングを実現するために，２光子励起蛍光顕微鏡を用い，がんの発症･転移過程を生体で観察･解析する新たなテクノロジーの開発を目指した。

まず，前立腺がん移植モデルの開発については，ヒト前立腺がん細胞株 LNCaP の皮下移植の基礎実験を行った。

次に，２光子励起顕微鏡を用いた生体深部観察の最適化については，当初は，生理研に設置されている共同研究受入教員が開発した新規光源搭載正立型２光子励起顕微鏡を用いて研究を進める予定であったが，新型コロナウイルス感染蔓延のために，研究代表者が生理研を訪問することが困難であったため，メール，電話，リモート等を用い，共同研究受入教員の指導のもとに，愛媛大学の正立型２光子励起顕微鏡を用いて，生体蛍光観察の条件の検索・検討を行なった。

具体的には，マウス大脳新皮質の観察を行い，特に対物レンズの特性や収差補正を中心に生体の光学的条件検討を行った。２光子励起顕微鏡を用いて，生体でがんの発症・転移過程を観察するためには，視野が狭いことが問題である。そこで低倍率低 N/A（倍率 10 倍，N/A=0.5）の対物レンズを用いた生体深部イメージングの光学的条件検討を行った。オープンスカル法によるマウス大脳新皮質の生体深部観察において，補正環のパラメーター調整によって，広視野での深部観察に成功した。

25. 視線を手がかりとした他者の情動理解における上丘の役割の解明

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

他人の視線が気になるという現象は誰もが経験したことがあるであろう。また，肖像画と目が合う気がするという感覚を経験する人も多い。

中脳の上丘は，視覚情報処理と眼球運動制御の両者に関与しており，浅層に入った感覚入力は，中間層～深層に伝えられ，運動出力となる。この感覚運動変換の過程は極めて自動的にかつ無意識に行われていると考えられてきた。しかしながら，視覚に情動的価値を持たせると，そちらへ向かう眼球運動に変化が起こると考えられる。これは上丘が単に感覚運動変換を自動的に行うのではなく，視標の価値判断を行っていることを意味する。すなわち価値判断を行う部位との神経結合が存在するということを示唆しており，これを実験的に証明したいと考えている。上丘浅層で受容された視線の情報が辺縁系に送られ生態学的価値判断の後，対象となった視線を見る・見ないの行動が上丘運動ニューロンにより実行されるという仮説を立て，上丘の神経活動を電気生理学的に解析する。

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，視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。

本年度は，神経活動計測のための増幅器の作成と，行動制御のプログラムの開発を進めた。

26. マーモセット及びマカクザルを用いた視覚的注意に関わる神経回路の網羅的解明

吉田正俊（北海道大学 人間知･脳･AI 研究教育センター）

大脳皮質には注意に関わる経路が 2 つあることがヒトでの損傷患者研究やイメージング研究などから明らかになってきている。本研究課題では，マーモセットを対象として，視覚的注意に関わる神経ネットワークを，眼球運動の計測と fMRI，ECoG，Ca イメージングを用いた脳活動計測を組み合わせることによって明らかにすることを目的とした。生理学研究所で保有，飼育しているマーモセットを利用した。イソフルレンによる全身麻酔下で，GRIN レンズを大脳皮質に 1mm 程度刺入した。これらを用いて覚醒下で静止画像および動画をフリービューイング中の眼球運動を計測するとともに，Ca イメージングによって神経活動を計測を行った。統合失調症の動物モデルとして，麻酔容量を大幅に下回る濃度の塩酸ケタミン（0.5 mg/kg）を筋肉注射した。その結果，塩酸ケタミン投与後にはサッケード長が現象する実験結果を得ることができた。また，Ca イメージングによる神経活動の計測にも成功した。

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

池田啓子（村山医療センター 臨床研究部 態生理学室）
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）は神経機能に必須の膜タンパクで，α と ß で構成されている。神経系には α2 と α3 が高発現している。α2 と α3 サブユニットをコードする遺伝子変異は，ジストニア，パーキンソニズム，片頭痛，うつ病，てんかん等，多彩な神経症状発現につながる。これら神経疾患症状の分子基盤を，疾患モデルマウスであるα3 サブユニット遺伝子ヘテロ欠損マウス *Atp1a3*$^{+/-}$（生後約 6 ヶ月）を用いて解析した。正常マウスでは，上腕の屈筋と伸筋である二頭筋と三頭筋が同期して活動することはないが，*Atp1a3*$^{+/-}$ においては，両者の同期した活動や，数十秒にわたる持続的な活動が観察された。これはジストニア患者でみられる拮抗筋同士の同時収縮と筋の持続的な活動である。次に覚醒状態の個体で大脳基底核の出力部である淡蒼球内節と，介在部である淡蒼球外節からニューロン活動を記録した。淡蒼球内節について，野生型（正常）兄弟マウスでは平均約 50 Hz の連続発火がみられるのに対し，*Atp1a3*$^{+/-}$ では平均発火頻度は約 33 Hz と有意に低下していた。さらに *Atp1a3*$^{+/-}$ では，バーストや発火がしばらく休止するポーズが随所に観察された。淡蒼球外節については野生型と *Atp1a3*$^{+/-}$の間に変化はなかった。次に大脳皮質に単発の電気刺激（持続時間 0.2 ms，強度 20-50 μA）を与え，淡蒼球内節および外節ニューロンでの 3 相性の応答パターン（早い興奮，抑制，遅い興奮）を記録した。*Atp1a3*$^{+/-}$では，抑制が消失するニューロン，遅い興奮が消失するニューロン，遅い興奮のあと抑制が続くニューロンなど，多彩なパターンが観察された。これらの結果は，*Atp1a3*$^{+/-}$ がジストニアとパーキンソニズムが混合した病態であることを意味する。私たちは以前，生後 2 週の *Atp1a3*$^{+/-}$では小脳の介在ニューロンからプルキンエ細胞への抑制性シナプス伝達が亢進していることを報告した。現在，*Atp1a3*$^{+/-}$の基底核回路の異常が，小脳のシナプス伝達障害を原因として発達段階で獲得されたものか，あるいは小脳の異常とは独立した基底核単独で生じたものかを精査中である。さらに今後は，免疫染色法や基底核モノアミンの定量などの生化学的実験を加え，*Atp1a3*$^{+/-}$の表現型（ジストニアとパーキンソニズム）の理解につなげる予定である。

28. 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）

本研究は，大脳皮質－大脳基底核－視床－大脳皮質ループにおける運動系ループと辺縁系ループの相同性を神経生理学的に検証する。すなわち，運動の発現における運動系ループの機能的役割を辺縁系ループに演繹し，情動発現の神経基盤を明らかにすることが目的である。

覚醒下のニホンザルにおいて，視床下核（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。

２頭のサルにおいて，計 190 個の STN ニューロンを記録した。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観察されなかった。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を合わせた 4 群間において，自発発射頻度，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位置していた。

STN において，一次運動野，補足運動野，および前辺縁皮質よりそれぞれ直接投射を受ける（ハイパー直接路）ニューロンが確認できた。それぞれのニューロンの分布はトレーサーを用いた研究と一致するものであったが，大脳皮質から興奮が伝わる速度や持続時間がそれらの間で異なっているなど興味深い結果が得られた。

29. 不随意運動発生のメカニズムの解析

竹林浩秀，吉岡　望（新潟大学）
堀江正男（新潟県立看護大学）
黒瀬雅之（岩手医科大学）
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とジストニア様症状などの運動失調を示す。*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持つ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，神経型 *Dst-a* と筋肉型 *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* と *Dst-b* に加えて皮膚型の *Dst-e* も欠失し，全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，運動障害の発症に加えて，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が電子顕微鏡観察により明らかになった。一方，Dst^{Gt} ホモマウスは，運動障害を示すものの皮膚の電顕像は正常と変わらないことも明らかとなった（Dis Model Mech 2020）。

さらに，Dst^{Gt} アリールを用いて，Cre 組換えシステムによる条件付きノックアウト（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* トランスジェニックマウスとの掛け合わせにより，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* 変異を誘導した。この *P0-Cre*; *Dst* cKO マウスでは，遅発性の感覚性運動失調の症状が観察された。組織学的解析と筋電図解析を行い，論文報告を行なった（Glia 2020）。現在，より早い発生段階の神経堤細胞にて Cre 組換えが誘導される *Wnt1-Cre* マウスを用いて *Dst* cKO マウスを作製し，解析している。この *Wnt1-Cre*; *Dst* cKO マウスでは，末梢神経

系の感覚神経細胞やシュワン細胞で *Dst* の欠失が起こるので，感覚神経細胞の変性が観察され，早発性の運動失調が生じることが明らかとなった。詳細な表現型解析を組織学的手法や生理学的手法を用いて継続している。

30. 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のもと，線条体への GABA 受容体拮抗薬局所注入により，マウスチックモデルを作製し，神経科学的手法を用いて，その病態生理を解き明かす。昨年度までに，マウス線条体への GABA 受容体拮抗薬である Bicuculline の少量注入により，線条体における体部位局在に一致した一過性の筋収縮を示すチック症状を誘発することを明らかにした。

本年度は，線条体 Bicuculline 注入モデルマウスの全脳において，c-Fos タンパクの免疫染色を行うことで，チック様症状発現時の活性化脳部位を検討した。その結果，一次運動野に加えて，扁桃体，帯状皮質，島皮質，梨状皮質といった情動機能に関与する辺縁系脳部位の活性化を観察することができた。このことは，運動チック・音声チックを呈するトウレット症候群の患者において，運動症状に先行して，Premonitory urge といって，ムズムズするような不快な感覚症状が生じる現象に関与しているのかもしれない。実際，トウレット症候群の患者では，島皮質の活性化も脳機能画像研究により報告されている。

現在，扁桃体，帯状皮質，島皮質，梨状皮質といった，線条体 Bicuculline 注入モデルマウスにおける c-Fos 陽性脳部位に，ハロロドプシンを発現させ，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，線条体 Bicuculline 注入後のチック症状が改善するかどうかを行動学的に解析中である。

31. 神経麻痺性角膜症に対する TRP チャネルの影響

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

神経麻痺性角膜症モデルマウスの障害三叉神経に TRP チャネルの AAV を注入して角膜創傷治癒の遅延がレスキューできるのか，またその時に影響する因子について検討する予定であったが，コロナの蔓延のために研究所に行くことができなかった。

2021 年度にも，このテーマで共同研究が採択されており，コロナが落ち着き次第研究を行いたいと考えている。

32. 統合失調症モデル動物の脳波ダイナミックス解析手法の開発

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 神経ダイナミックス研究部門）

統合失調症はヒトの高次脳機能が障害される難治性の疾患であるものの，その生物学的マーカーや根治治療法は未知のままである。近年，高密度高精度の脳波解析により，統合失調症患者は，聴覚反応性を指標とするミスマッチ陰性電位（MMN），聴性定常状態誘発反応（ASSR），注意関連事象関連電位（P300）などに顕著な異常が観察されている。加えて患者の脳機能画像解析では，皮質間連合性に障害があるとも指摘されている。そこで我々は，これらの脳波生理指標に合致するモデルとして，サイトカインである上皮成長因子（EGF）の末梢投与で作製されたラットを採用し，統合失調症患者で診られた皮質間の連合性障害についてそのモデル再現性を検討した。モデル動物は，新生児ラット皮下に EGF を連投し，２－３か月齢に成長させることで作製した。モデルラットに 80dB の 55kHz 正弦波，同周波数のラット鳴き声，もしくはその逆再生音を聞かせて生じた自称関連電位を脳の６か所に設置した硬膜下電極から記録し，刺激間で相互に比較，もしくはモデルラットと正常ラット間で比較した。結果，これら３種類の音の種類によって，聴覚皮質ならびに前頭葉の事象関連電位には大きな差異が見られた。このことはモデルラットの聴覚認知が大脳レベルで弁別されていることを意味する。さらに我々は，聴覚皮質の前頭葉の音誘発性の事象関連電位の位相同期性と信号時間遷移から，音情報の皮質間共有性，移動性を推定した。結果，当該モデルラットでは，バックグラウンド（刺激間）での皮質間位相同期性が高く，音刺激時の位相同期性は相対的に劣化していることが判明した。興味深いことに，このモデル動物での音声刺激に依存した位相同期障害は，抗精神病薬治療で大幅に改善していた。加えて移動エントロピー法により，実際の聴覚情報移動量を推定したところ，優位な差異はモデルと正常群間には見られなかった。したがって上述の位相同期性が，聴覚野から前頭葉への情報伝達に起因してるかどうかは，今後，再検討をする必要がある。

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

仙波和惠，SamuelDeurveilher，Chantalle Briggs，Tatjana Golovin，Shannon Hall
（Dalhousie 大学, Department of Medical Neuroscienc，カナダ）
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。

2020 年度は，5 匹目 6 匹目のラットからの 4 つの OX 細胞について，先の 4 匹と同じく ATUM-SEM 法を使って連続電顕画像データセットを獲得する予定であったが，コロナ禍のため来所できず，提案者の Dalhousie 大学にて，これまでに 4 匹から獲得した 11 個の OX 細胞からの大容量電顕データセットを用いて，OX 細胞への興奮性と抑制性のシナプスに関して，シナプスを星状膠細胞突起が取り囲む部位について，３次元再構築と定量解析を進めた。星状膠細胞突起とシナプスの距離関係には，数量的な指標を開発導入して解析を促進した。これまでに分析した計 351 のシナプスでは，この距離は 0.1－1.2 μm（特に 0.2－0.5 μm

に集中）であることを見いだした。細胞体，樹状突起にかかわらす，ほとんどの場合，シナプス近辺の星状膠細胞突起は前シナプスと後シナプスの両方に接触しており，前シナプスと後シナプスが接する周囲線（Perimeter）の約半分をしめている。また，OX 細胞の細胞体の表面のうち，少なくとも 40－80%は，星状膠細胞シートにおおわれていることが分かった。シナプスに接近している星状膠細胞突起は，これらの星状膠細胞シートの延長となっており，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る。

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

34. 運動学習のための神経回路基盤の解明

鈴木基高，Matthew Larkum（Humboldt University of Berlin）
Julia Ledderose（Charite Medical University of Berlin）
Jackie Schiller,Yitzhak Schiller（Technion, Rambam Health Care Campus）
窪田芳之，孫　在隣（生理学研究所 大脳神経回路論研究部門）

コロナ禍により，当共同研究の申請時に予定していた生理研の訪問は不可能となってしまいましたが，Email 等を通して共同研究者である窪田芳之博士・孫在隣博士とは連絡を取り続け，予定していた全ての実験を無事遂行することができたことを報告いたします。

本研究は，大脳皮質の第一次運動野（M1）にある 5 層錐体路細胞の樹状突起において，棘突起が新生または消失する頻度が運動学習に伴って上昇するという発見に基づき，それらの新生または消失する棘突起が脳のどの領域からシナプス入力を受けているのかを同定することを目標に進められました。

具体的には，マウスがタネ掴み課題を学習する際に遺伝学的ツール DREADD 法を使い，特定の領野から M1 に入力する求心性興奮神経線維の信号を遮断し，学習に与える影響を確認した。皮質からの入力は大脳皮質 2 次運動野（M2），視床からの入力は前腹側核（VA）あるいは内側腹側核（VM）が起源ではないかという仮説を立て，これらの領野にアデノ随伴ウィルスを用いて抑制性の DREADD を発現させることで M1 への特定の経路を選択的に抑制することに成功した。また，DREADD による選択的な経路抑制が間違いなく機能していることを確認するため，青色光に反応して活動電位を起こす Channelrhodopsin を DREADD と一緒に発現させ，evoked potential が有意に減少することを確認した。この効果は M2→M1 経路と VA/VM→M1 経路の両方で顕著であった。さらに，DREADD が発現する受容体に選択的に結びつくリガンドである CNO による効果が充分に長く持続する，つまりマウスのタネ掴み学習の際に M2→M1 経路または VA/VM→M1 経路が効果的に抑制されていることも確認できた。

本実験により，運動学習に伴った M1 での神経ネットワークの変化が，実際の学習の基盤となっていることを機能的に証明し，神経ネットワーク再編原理を知る上で重要な所見を提供できる。

これらの結果は論文にまとめ，投稿準備中である。

35. 大脳皮質運動野ソマトスタチン細胞の機能的多様性

フランシスクス アドリアン アガハリ，田中康裕（玉川大学 脳科学研究所）
窪田芳之（生理学研究所 大脳神経回路論研究部門）

大脳新皮質の GABA 作動性ソマトスタチン細胞の感覚情報処理における役割は次第に明らかになりつつあるが, 前頭皮質運動野での機能はあまり解明されていない。運動野と他の皮質領野との結合は，行動発現に重要だと考えられる。特に新皮質 2/3 層は多様な皮質領野に投射することが知られている。本研究では運動野 2/3 層で，発火・形態特性を同定したソマトスタチン細胞と皮質間投射錐体細胞の結合関係を調べることで，前頭皮質ソマトスタチン細胞の機能的多様化と, 前頭皮質 2/3 層興奮・抑制回路の結合原理を明らかにする。そのために必要な情報である, 2/3 層ソマトスタチン細胞や錐体細胞の生理特性・分子発現・形態の解明を，生理学研究所で利用可能な設備を使って進める。本年度は先ず，この研究のために導入したソマトスタチン細胞に Cre を発現するマウスで，ソマトスタチン発現特異性を免疫組織化学の手法で調べた。前頭皮質 2/3 層では，5/6 層とは異なり，Cre がソマトスタチン細胞選択的に発現することを確認した。次に，このマウス系統の 2/3 層からホールセル記録することで，ソマトスタチン細胞が電気生理学的に多様であることが分かった。そこで，この生理的多様性と，2/3 層ソマトスタチン細胞に発現する複数の分子マーカーとの関係を, 記録細胞の免疫組織化学で検索した。その上で，電気生理的な性質及び分子マーカー発現が異なる細胞の樹状突起・軸索形態を定量的に比較している。

36. CLEM による前頭皮質 6 層錐体細胞のシナプス結合の解析

苅部冬紀，角野風子（北海道大学 医学研究院）
東山哲也，緒方久美子（同志社大学 脳科学研究科）
窪田芳之（生理学研究所 大脳神経回路論研究部門）

逆行性トレーサーにより標識した視床へ投射する前頭皮質第 6 層錐体細胞の局所的なシナプス結合様式を，Correlative Light and Electron Microscopy (CLEM) を用いて解析した。標識細胞を *in vitro* whole cell patch clamp 法で記録し，電気生理学的性質を記録し，biocytin を注入した。蛍光 streptavidin で記録細胞を可視化し，さらに血管を蛍光レクチンで，また，細胞核を DAPI で標識した。標識した 3 個の視床投射 6 層細胞とその周囲を共焦点蛍光顕微鏡で撮影した（図 1）。撮影後，改変 ATUM 法（Kubota et al., 2018）を用いて電子顕微鏡観察用に組織処理と薄切を行い，フィールドエミッション走査電子顕微鏡で 600J × 150 × 7 μm^3 の範囲の画像を取得した。

ImageJ の TrakEM2 プラグインを用いて，画像のアラインメントとセグメンテーションを行い，蛍光画像と電顕画像の相関を取り，再構築の対象となる 6 層投射細胞の細胞体と樹状突起，軸索を同定し（図 2A），三次元再構築を行った。

その結果，視床投射 6 層細胞の軸索の一部は，近隣の視床投射 6 層細胞の棘突起へシナプスを形成していた（図 2B）。また，蛍光標識されていない棘突起を持つ樹状突起や，GABA 作動性介在細胞と思われる棘突起の少ない樹状突起への投射も観察された。

今後はさらに再構築を進め，視床投射 6 層細胞のシナプス標的を解明する。

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

倉本恵梨子（鹿児島大学大学院 医歯学総合研究科 歯科機能形態学）
窪田芳之（生理学研究所 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。

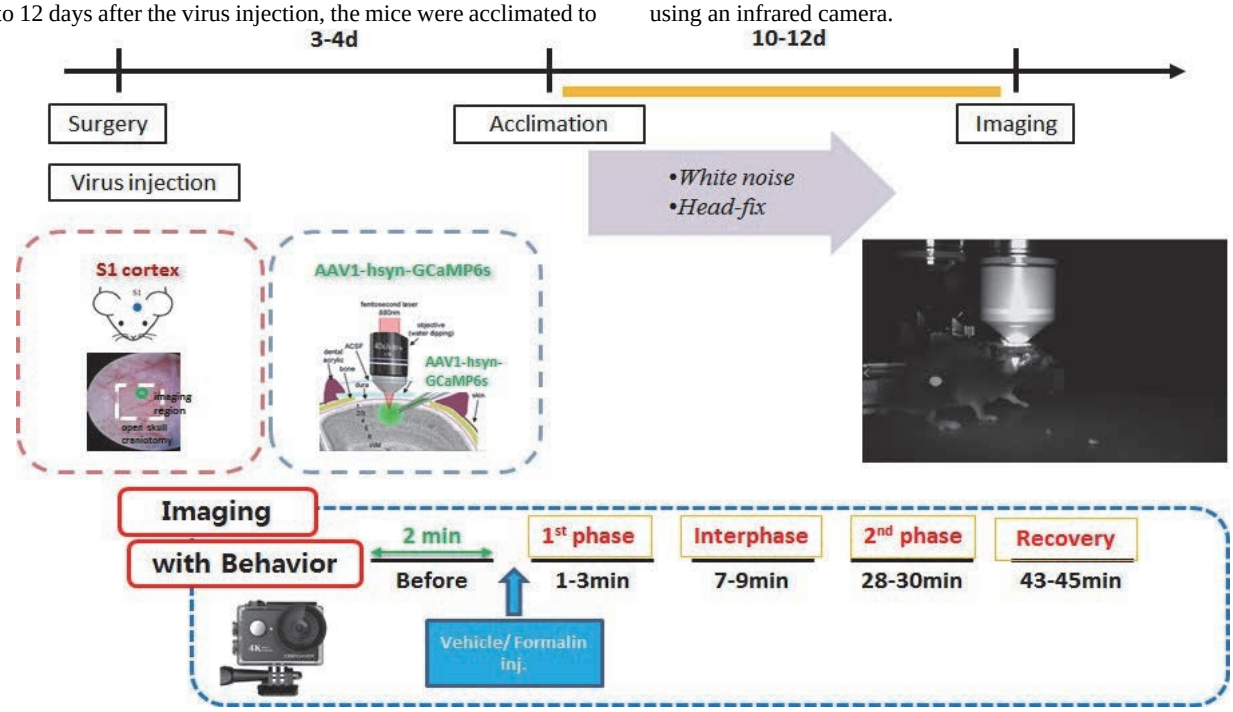
ペントバルビタールの腹腔内投与によりラットを麻酔し，膜移行性シグナル付きの緑色蛍光タンパク（palGFP）を発現するアデノ随伴ウイルスベクター（AAV-palGFP）溶液を詰めたガラス針を視床核に刺入し，AAV を電気的に注入した。手術から 1 週間後にラットを灌流固定して脳を取り出し，ビブラトームにて厚さ 100 ミクロンの切片を作製した。蛍光顕微鏡下で，AAV に感染して GFP を発現している神経細胞を含む切片を選出した。グルタミン酸脱炭酸酵素 67kD (GAD67) に対する抗体を用いて脳切片を蛍光免疫染色し，運動性視床核の亜核 VA・VL・VM を区別し，GFP 陽性のニューロンが分布する亜核を同定した。一方，大脳皮質の切片で GFP 陽性の視床皮質神経線維を見つけるために，血管壁を赤色蛍光標識されたレクチンで，細胞核を DAPI（青色蛍光標識）で対比染色した。LSM を用いて高倍率で連続フォーカス画像を撮影した。その後，大脳皮質の切片を EM 観察用に組織処理し，連続超薄切片を作成し，走査型 EM で広範囲撮影を行い，連続 EM 画像データセットを作製した。LSM 画像データセットと EM 画像データセットの相関観察解析により，GFP 陽性の視床−皮質投射軸索を同定し三次元再構築によりシナプスターゲット構造解析を行った。VA 視床核からの皮質投射線維の再構築解析を実施した結果，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，シナプス結合測の違いを解明したい。

38. In vivo two-photon imaging of cortical neurons during pain

Sun Kwang Kim（Kyung Hee University College of Korean Medicine）

(1) Establishment of in vivo two-photon imaging with motion tracking in awake, head-fixed mice

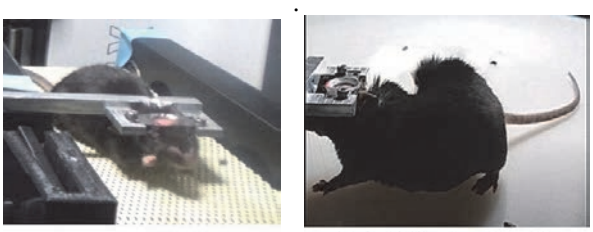
A chronic cranial window was made on the mouse S1 cortex hind limb area with an injection of GCaMP6 virus. From 3 days to 12 days after the virus injection, the mice were acclimated to the imaging environment in head-fixed condition with white noise. Using two-photon microscopy, we imaged neuronal calcium activity before and during formalin-induced pain. At the same time, we performed motion tracking of the mice using an infrared camera.



<Simulataneous in vivo two-photon imaging and motion tracking in awake, head-fixed mice>

(2) Establishment of the measurement of pain and itch behaviors in head-fixed mice

The mice were habituated to the experimental environment in head-fixed condition for 30 min before behavior measurement. Following capsaicin (pain) or histamine (itch) injection into cheek or neck, wiping (pain) or scratching (itch) behavior was videotaped.



Cheek-Capsaicin-Wipe　　Neck-Histamine Scratch

39. 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。

以上のような，2019 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，2020 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複数回成功しており，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。2020 年度には，以上の成果に関して，実験手技上懸念される点などについて免疫染色を用いた検証実験も行った。

40. 概日時計の分子機構に関する細胞内 Ca^{2+}の動態解析

金　尚宏（名古屋大学 トランスフォーマティブ生命分子研究所 生命農学研究科）
榎本亮介（生理学研究所 バイオフォトニクス研究部門）

概日時計は約 24 時間の生物リズムを駆動する生物時計である。共同利用研究者は，概日時計は不死化した培養細胞株においても存在するという特徴を活かし，細胞を用いた薬理学的なスクリーニングを行い新規の時計因子の同定を試みた。その結果，Na^+/Ca^{2+} 交換輸送体 (NCX)と Ca^{2+}/カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼ II (CaMKII)という 2 つの Ca^{2+} シグナル制御因子が概日時計の発振に重要な役割を示すことを見出した。

概日時計の周期は生理的な温度範囲において，外界の温度が変化しても約 24 時間周期に保たれるという温度補償性という特徴を示す。共同利用研究者は，温度補償性を担うメカニズムとして NCX による低温での細胞内 Ca^{2+} 流入が重要であることを見出した。哺乳類のペースメーカー神経である視交叉上核の培養スライスにおいて，細胞内 Ca^{2+} リズムが温度変化に対してどのような応答を示すのかを解析した。その結果，35 度で培養した際に観察される細胞内 Ca^{2+} の明瞭な概日リズムは，28 度においても観察され，温度低下に伴って Ca^{2+} リズムのピークとトラフレベルはともに上昇することが観察された。この細胞内 Ca^{2+} レベルの上昇は，再び 35 度に温度を戻した場合には元のレベルへと減少が観察されたことから，細胞内 Ca^{2+} 振動は温度変化に対して鋭敏に反応することが分かった。

41. 新規蚊媒介性ウイルスの多型の構造解析

岡本健太（ウプサラ大学）
ChihongSong，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）

本研究では，蚊由来ネギウイルス科（Negeviridae）に属する Tanay virus (TANAV) の新規構造とその構造機能を解き明かすことを目的として研究を進めている。クライオ電子顕微鏡を使用した TANAV の単粒子解析から，その特徴的な楕円状の構造を再構築することに成功している。また，TANAV は特定条件下において，構造をバレット状や筒状に変化することが解析の結果明らかとなっている。このような劇的な構造変化は，TANAV の感染機構やウイルス遺伝子放出機構に関わっていると推測された。そのため，クライオトモグラフィー法や特定の対称性に基づく構造平均化を行うことで，これらの構造変化が起こった TANAV の構造に関しても解析を行った。結果 TANAV の構造変化とその構造機能に関してのモデルを構築することに成功した。以上の結果は，Structure and its transformation of elliptical nege-like Tanay virus として，追加実験を含めて論文を再投稿する予定である。

42. ファージ療法の実用化に資するバクテリオファージの感染・増殖機構の解明

宮崎直幸，鯉渕　航，神谷亮佑
（筑波大学生存ダイナミクス研究センター）

細菌感染症では，抗菌薬の過剰投与による薬剤耐性菌の蔓延が医療および畜産分野において問題となっている。抗菌薬非依存的治療法として，バクテリオファージの溶菌活性を利用するファージ療法が注目されている。しかし，ファージの感染・増殖機構に対する知識の欠如により，ファージ療法は実用化に至っていない。我々は，主にクライオ電子顕微鏡を用いた構造生物学的手法により，ファージの宿主認識・感染機構の解明を目指して研究を行なっている。

本研究では，黄色ブドウ球菌ファージ S13’と S6，ピロリ菌ファージ KHP30 のクライオ電顕構造解析に取り組んできた。クライオ電子顕微鏡による構造解析では，生理学研究所のクライオ電子顕微鏡を用いて試料の状態をチェックし，初期構造を決定したのち，蛋白質研究所のクライオ電子顕微鏡を用いて最終構造を決定した。

黄色ブドウ球菌ファージ S13’と S6 は異なるウイルス科に分類されるファージであり，それらの構造を解明することで，黄色ブドウ球菌ファージの宿主認識の共通性や相違性が明らかになると期待して研究を行なった。S13’は，ポドウイルス科に属すウイルスであり，直径約 40 nm の頭部と非収縮性の約 50 nm 短い尾部をもつ。我々は，このファージの頭部と尾部の構造をそれぞれ 2.7, 3.8 Å で決定した。ファージの宿主認識，感染に関与する尾部には，宿主と結合するタンパク質，宿主細胞壁を溶かす酵素，宿主細胞膜に孔を開けゲノムを宿主細胞内へ透過させるタンパク質などがあるが，それらの機能的な配置を明らかにすることができた。S6 は，マイオウイルス科に属すウイルスで，ゲノムサイズ 270 kbp，全長 480 nm の巨大ファージである。このファージは，収縮性の尾部を持っており，我々は，2 万 5 千枚を超えるクライオ電顕画像を取得し，そこから，収縮前後の尾部の構造を，それぞれ 3.0，3.1 Å で決定した。それらの構造から尾部収縮の際のタンパク質の構造変化の詳細とその仕組みを明らかにすることができた。

ピロリ菌に感染するピロリ菌ファージ KHP30 は，宿主の存在する胃の中で強酸性条件下でも安定である。我々は，その頭部の構造を 2.9 Å で決定し，強酸性下での安定性に寄与していると考えられる構造的な特徴を明らかにした。

43. 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。これらの結果は，2020 年に PLoS Pathogens に掲載された。

2021 年度に向け, 感染性粒子とレセプター分子 CD300lf との結合部位を特定すること, 懸案である内部構造解析を行うため，内部構造の代表的な構成分子である VP2 の電子顕微鏡観察を実施した。

44. ハプト藻類の脂質体の構造機能解析

広瀬　侑（豊橋技術科学大学大学院 工学研究科）

Dicrateria rotunda strain ARC1 は北極海域において採取されたハプト植物門に属する真核微細藻類の一種である。本株は，炭素数 10 から 40 程度までの直鎖炭化水素（アルカン）を合成する能力を持つが，これらのアルカン合成機構や生理的な意義は不明である。本研究では，ARC1 株のアルカン合成経路の解明やバイオマス産生への応用のため，ARC1 株の細胞内構造，特にオルガネラ（葉緑体・ミトコンドリア・脂質顆粒）の構造を SEM 連続断面観察（SBF-SEM）によって調査した。

ARC1 株を通常条件および低温条件にて培養し，グルタルアルデヒド固定および洗浄を行い，細胞の形態の変化の無いことを顕微鏡で確認した。その後，細胞を海水に懸濁し, SBF-SEM 用の切片の作製と画像の取得を行った。細胞内の葉緑体・ミトコンドリア・脂質顆粒のサイズや個数の詳細な情報の取得に成功した。4 °C 低温培養条件において，本株の脂質顆粒の蛍光強度の顕著な増大と細胞サイズの増大（直径 20-25 %程度，体積 2 倍程度）が認められた。この結果は，セルアナライザーを用いた解析によっても確認できた。低温条件においてアルカン含有量の明瞭な増加は確認できなかった。アルカンがエネルギー源の貯蔵ではなくそれ以外の生理機能を持つ可能性が考えられた。現在，これらの結果をまとめて論文に投稿中である。今後，ARC1 株のユニークなアルカン産生経路の解明が期待される。

45. アミロイドβタンパク質のアミロイド線維の精密構造解析

矢木真穂（自然科学研究機構 生命創成探究センター）

アミロイド線維はタンパク質が規則正しく凝集した超分子複合体であり，アルツハイマー病などの原因となることが知られている。線維形成機構を理解することは，これら疾患の治療や予防において重要となるが，詳細な線維形成機構は未だ解明されていない。アミロイド線維形成は核形成プロセスと線維伸長プロセスから構成されている。これは多様なアミロイド形成タンパク質に共通のメカニズムであると考えられているが，アミロイド線維のメゾスコピックな形態は，タンパク質がおかれた溶液条件によって大きく影響を受けることが知られている。また，アミロイド線維形成は，タンパク質の結晶化と類似していると考えられている。タンパク質の結晶化に対する重力の影響はこれまでに研究されているが，アミロイド形成に対する重力の影響は報告されていない。

本研究では，国際宇宙ステーション「きぼう」日本実験棟の微小重力環境を活かして，アルツハイマー病発症に関わるアミロイドβ（Aβ）のアミロイド線維形成機構を調べる実験を実施した。まず微小重力下におけるアミロイド線維の形成速度を調べた結果, 線維形成の速度は, 地上に比べて微小重力空間の方が遅いことがわかった。さらに，クライオ電子顕微鏡を用いて，Aβ（1-40）のアミロイド線維の形態を解析した結果，微小重力下で形成したアミロイド線維は大きく分けて 2 つの構造をとっていることが判明した。そのうちの 1 つは地上で形成したアミロイド線維に類似していたが，もう 1 つは地上ではみとめられなかった特徴的な構造であることが明らかとなった。微小重力環境においては，アミロイド線維は対流や沈殿の影響を受けずにゆっくりと伸長して地上とは異なる構造になると考えられる。

今回明らかになった独特な形態のアミロイド線維について，その詳細な構造を明らかにしていくことは，アルツハイマー病などのアミロイド線維が関わる病気の発症機構の本質を分子のレベルで理解し，創薬研究に役立つものと期待される。

46. 真核生物の繊毛構築のための輸送機構の構造学的解明究

昆　隆英，今井　洋（大阪大学大学院 理学研究科）
村田和義，Song Chihong（生理学研究所 脳機能計測･支援センター）

繊毛は，真核生物の細胞表面から突出した毛状の構造を指す。この繊毛が，波打ち運動することで，単細胞生物が移動を行え，また，多細胞生物では，体表に水流を作り，捕食などに活用される。繊毛の内部構造は，単細胞生物からヒトに至るまで進化の過程で高度に保存されている。ヒトの繊毛の異常は，呼吸器不全，不妊，内臓逆位の疾患と強く関連するため，繊毛の研究は極めて重要であると言える。

繊毛の波打ち運動は, その内部に存在する「ダイニン」と呼ばれるタンパク質が駆動することで生じる。しかし，このダイニンが光により制御されるかどうかはわかっていなかった。

本研究では，筑波大学稲葉教授との共同研究により，ダイニンに直接結合する新規のタンパク質を発見した。このタンパク質のアミノ酸配列には，青色光の受容に関係する BLUF (sensors of Blue Light using FAD) と呼ばれるドメインが含まれていたので，「ダイニン結合 BLUF タンパク質」として，DYBLUP と名付けた。

このタンパク質の突然変異体をモデル生物である緑藻クラミドモナス（*Chlamydomonas reinhardtii*）で作製したところ，光反応と関連していることがわかった。野生型のクラミドモナスは，細胞内で光合成を行うので，走光性を示す。しかし，あまりに強い光は細胞内で毒として作用するため，強光を避ける。一方，DYBLUP の突然変異体は，一時的に強光を避けるものの，すぐに強光に慣れて，順化してしまった。このことから，DYBLUP は，ダイニンを調節し，強光に順化してしまうのを防ぐ役割があると考えられる。

この DYBLUP の局在を，クラミドモナスの繊毛の DYBLUP にラベルを導入し，クライオトモグラフィー法により調べた。その結果，DYBLUP は，繊毛に存在する約 10 種類のダイニンのうち，dynein-f と呼ばれるダイニンのモーター部位に直接結合していることが明らかとなった。さらに，DYBLUP は，ダイニンを繊毛内の微小管につなぎとめるテザーを構成するタンパク質の一つであることも解明された。

本研究の結果は，Kutomi *et al*., 2021 Science Advances（DOI 10.1126/sciadv.abf3621）（査読有）として，論文に掲載された。

47. 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）

膵ランゲルハンス島（膵島）の超低温保存技術が確立されれば，インスリン投与という対処療法が主流の1型糖尿病治療に対し，根治療法となる膵島移植という新たな選択肢を追加することができる。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，ラット膵島のガラス化保存デバイスをナイロンメッシュ（NM）からシルクフィブロインスポンジ（SFS）に変更し，超急速冷却条件としては液体窒素に浮かべた金属フロート上の窒素ガス中で冷却する Solid Surface Vitrification (SSV) 法を採用した。Brown-Norway (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，NM デバイスか SFS デバイスに膵島 100 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。NM デバイスと SFS デバイスからの膵島回収率はそれぞれ 97.1 %と 93.8 %，生存率は 77.9 %と 74.4 %，SI 値は 4.7 と 4.2 であり，ほぼ同等であった。一方，新鮮対照膵島の生存率は 97.5 %，SI 値は 6.5 であった。ガラス化加温膵島 800 個，あるいは新鮮対照膵島 800 個をストレプトゾトシンの静脈内投与により高血糖（>350 mg/dl）誘起した BN ラットの腎被膜下に移植したところ，移植 3 週間以内に正常血糖値（<200 mg/dl）に回復したレシピエントの割合は 80.0～83.3 %だった。正常血糖回復個体において移植 30 日目および 60 日目に施した腹腔内糖負荷試験（IPGTT）では，NM ガラス化区，SFS ガラス化区，新鮮対照区のいずれでも糖負荷応答パターンは同等だった。移植 70 日目に移植膵島片を摘出した後には，レシピエントは高血糖回帰した。腎臓とともに摘出した移植膵島片の内外には毛細血管新生が観察された。以上，NM デバイスだけでなく SFS デバイス上に大量のラット単離膵島を搭載してガラス化・加温しても正常なインスリン分泌能・血糖値制御能を保持した状態で回収できることが，in vitro の評価系（FDA/PI，ELISA）ならびに in vivo の評価系（腎被膜下膵島移植，IPGTT）の両方から証明できた。なお本年度の研究では，ラット単離膵島をパッケージングするアルギン酸ゲル包埋というプロセスは組み入れず，SFS への高接着性に着目した実験デザインとした。

48. 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）
平林真澄，小林俊寛（生理学研究所）

霊長類 iPS 細胞の生殖細胞分化誘導は，ヒト発生進化の生物学的基盤の解明や希少霊長類の保全・繁殖の観点から重要である。本研究では，当研究室で樹立した非ヒト霊長類（チンパンジー，ニホンザル）の 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。

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 陽性細胞の分化誘導の確認と特性解析を進めてきた。また，ニホンザル iPS 細胞の分化誘導においても PGC 分化を確認した。ニホンザルについては，生殖細胞の遺伝子発現の指標として，精巣における精子形成の遺伝子発現解析も行い，論文発表した（Okada et al., Primates, 2021）。

49. 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）
平林真澄，小林俊寛（生理学研究所）

ラット・ウサギ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（特に生理学など）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・ウサギの価値を再評価し，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・ウサギ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することを研究目標とした。

我々は生殖細胞の性の記録が受精後にも引き継がれる“ゲノム刷り込み機構”に着目し，哺乳動物種ごとの刷り込み遺伝子座の全容（インプリントーム）を明らかにするため，ラット胚の対立遺伝子（アレル）別解析を行った。異なる 2 系統ラットの交雑より得られた F1 ラット胚より DNA，RNA を回収し，RNA-seq および全ゲノムバイサルファイトシーケンス（WGBS）を行った。RNA-seq のアレル別解析により，マウスにおける既知の刷り込み遺伝子に加え，複数のラット特異的な新規刷り込み遺伝子を特定することに成功した（図１）。それらの多くは胚体外組織でのみ刷り込み発現を示すことから，胎盤組織系列における刷り込み機構の多様性が示唆される。現在，各刷り込み遺伝子のエピジェネティックな制御状態を明らかにするために，WGBS データを利用したアレル別の DNA メチル化状態のプロファイル化（DNA メチローム解析）に取り組んでいる。また，我々が以前作製した PRDM14 遺伝子改変ラット（Development, 2020）を利用して始原生殖細胞を回収し，WGBS を行った。ラットの生殖細胞～胚～始原生殖細胞にいたる生殖サイクルでの DNA メチル化の確立・維持・消去のプロセスの全容を明らかにし，マウスおよびヒトとの比較解析により，種特異的なエピゲノムパターンの成立する仕組みの解明を目指す。

また CUT&RUN 法によるラット卵子のヒストン修飾パターンのプロファイル化を行った結果，マウス卵子と同様に H3K4me3 (promoter)，H3K27me3 (intergenic)，H3K36me3 (gene body)の相反関係が認められた。今後は，ラットインプリントームマップとの比較により，各遺伝子座の刷り込み機構成立機序について考察する。さらにウサギを利用した同様の実験を計画している。

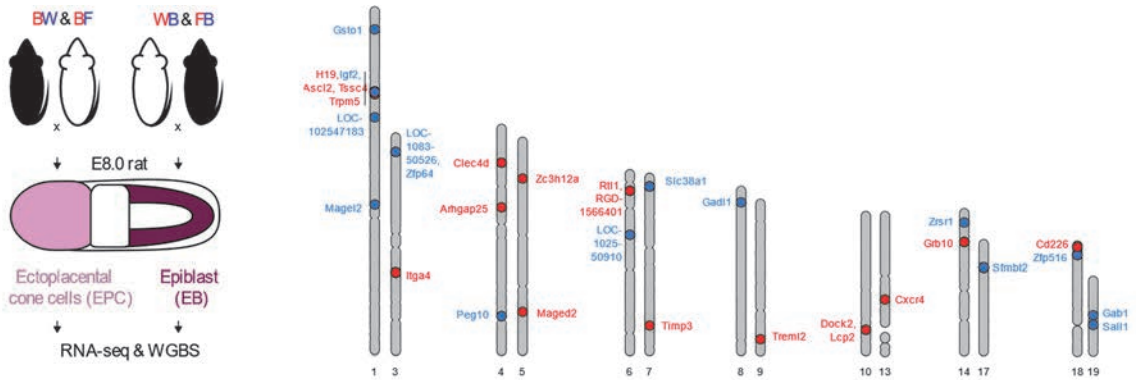


図１．ラット胚・胚体外組織のインプリントーム解析
（左）BNラットとWKYラットもしくはF344ラットとの交雑F_1世代胚よりRNA、DNAを回収。
（右）多型を利用してRNA-seqデータの対立遺伝子間の偏りを評価し、刷り込み遺伝子を同定。

50. サル局所電場電位の計算論的解析法による学習メカニズムの解明

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

本研究は，サルの複数の脳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，特定の脳部位における神経活動の変化だけではわからない，連合学習における情報伝達の脳内メカニズムをネットワーク観点から解明することを目的とする。

具体的には，社会的古典的条件づけと呼ばれる実験課題状況において，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目的で実施された。

本年度は，提案代表者が提案した課題関連成分分析とその拡張手法を適用し調べた動物の学習に伴う脳部位間の伝播電位成分の昨年度の結果を基に，因果性解析・ネットワーク解析・テンソル分解といった手法を適用し，得られた神経活動の指標と動物の連合学習との対応づけることを目指す予定であった。また並行して進めていた，ドパミン作動性中脳核におけるドパミン神経細胞の応答パターンを内側前頭前野および視床下部外側野の神経応答パターンを用い再構成を試みる解析については，LASSO 等のアルゴリズムを用いたところ，定性的な刺激呈示直後の一過性の興奮性応答パターンは再現できたものの，報酬確率による応答の変化の再現性が悪かった。そこで線形則に加え指数関数則を導入したところ，再現性がかなり改善された。これらの結果は，ドパミン神経細胞の神経応答パターンは，少なくとも一過性の興奮応答を担う神経集団と報酬確率による応答の変化を担う神経集団との 2 つの神経集団によって構成されている可能性を示唆している。次年度は，これらの異なる神経集団の記録位置などを確認するとともに，因果性解析・ネットワーク解析・テンソル分解といった手法を適用し，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する。

51. 神経スパインの形態学的解析に関する共同研究

津田　誠，吉原康平（九州大学大学院 薬学研究院）

神経障害性疼痛は，糖尿病や癌，帯状疱疹などによる神経の損傷や機能異常を起因とする疾患であり，衣服が肌に触れるような刺激さえも激烈な痛みとしてしまうアロディニアが症状として知られている。神経障害性疼痛を発症した患者では，モルヒネにさえ抵抗性を示す例も少なくない。そのため，神経障害性疼痛の発症メカニズムおよび新規治療法の開発は急務の課題である。

神経障害性疼痛発症の原因として，脳の一次体性感覚野（S1）の神経回路が再編成され，痛みの回路を形成することが報告されている。さらに神経回路の再構築は，グリア細胞のアストロサイトが活性化することで誘発される（Kim et al., J. Clin. Invest., 2016）。一方で，これまでに鍋倉研究室と代表者らは，神経損傷を与えた坐骨神経に長期的にテトロドトキシン（TTX）を処置することで末梢からの過剰な痛みの入力を抑制し，同時に S1 アストロサイトを再活性化することで，痛みが回復することを見出している（2018 年度共同研究）。そこで本年度は，そのメカニズム解明を目的に，鍋倉研究室にて撮像した S1 第 5 層錐体細胞の画像データを利用し，神経スパインの形態学的変化の解析を行った。

画像データは以下のように取得した。M-line マウス（Thy1 プロモーターの下流に GFP を発現）のを坐骨神経の部分結紮行った。神経結紮後 14 日目に TTX 含有のエチレン酢酸ビニル共重合体を結紮側の坐骨神経に巻き付け，その神経活動を長期的に抑制した。さらに，1 日に 3 回，合計 7 日間アストロサイトの活性化を行った。2 光子励起顕微鏡を使用し，アストロサイト活性化前および活性化を始めて 3 日おきに 12 日目までの S1 第 5 層錐体細胞のスパインの変化を撮像した。

それらの画像データを鍋倉研究室保有のソフトウェアを用いて解析し，スパインの形態学的変化を評価した。その結果，アストロサイトを活性化した群では対照群と比較して，神経スパインのターンオーバー率，消失率および形成率の有意な増加が認められた。これらの結果は，S1 アストロサイトが末梢からの感覚入力に応じて神経回路を可塑的に変化させることを示唆している。また本研究成果は，末梢神経の活動抑制とアストロサイトの再活性化による新たな疼痛治療戦略の開発につながる可能性が期待される。本研究成果は現在論文投稿中である。

【計画共同研究報告】

計画共同研究報告

〔 目　　次 〕

1. 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 ····· 161
2. 脳の左右を決定する新規遺伝子変異 ····· 161
3. TRPチャネル病の発症メカニズム解明 ····· 162
4. 小脳をモデルとした抑制性ニューロンの数の制御メカニズム ····· 162
5. 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 ····· 163
6. 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 ··· 163
7. 神経傷害に対するPACAPの神経細胞死抑制機構の解析 ····· 164
8. L-ドーパ受容体GPR143の中枢神経系における局在の解析 ····· 165
9. 脳の構造形成，機能化に関わる遺伝子の解析 ····· 165
10. RNA顆粒の動的性質と学習・記憶との関連の解析 ····· 166
11. 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 ····· 166
12. 神経幹細胞の未分化性維持に関わる遺伝子の機能解析 ····· 167
13. 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 ····· 168
14. ドーパミン受容体及びNMDA受容体改変マウスを用いた運動制御と 記憶学習機能の解析 ····· 169
15. シナプス伝達修飾機構から見た大脳基底核の直接路および間接路の機能 ····· 170
16. セピアプテリン還元酵素遺伝子改変マウスを用いたジストニア・パーキンソニズム発症機構の解析 ···· 170
17. 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 ····· 171
18. 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
19. 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
20. TRPイオンチャネルの機能変化が介在する細菌感染病態の発症メカニズムの解析 ····· 172
21. TRPチャネルと7回膜貫通型の温度受容体候補分子を介したデュアル温度センシングの生理学的解析 ···· 173
22. 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 ····· 174
23. 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 ····· 174
24. 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 ····· 175
25. ショウジョウバエの腸における新規細胞AnCellの電子顕微鏡による解析 ····· 175
26. 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
27. ショウジョウバエ上皮の細胞間接着およびアクチン細胞骨格の電子顕微鏡観察 ····· 177
28. 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
29. 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
30. ヒト副腎皮質疾患におけるmitophagyおよび細胞内小器官の 超微形態学的変化に関する検討 ····· 178
31. 生後環境による神経細胞の超微細構造の変化を深層学習で効率的に解析する ····· 179
32. 原索動物神経回路の三次元超微細形態学的解析 ····· 179
33. 大脳皮質ニューロンの微細構造の解析 ····· 180
34. 家族性中枢性尿崩症のバソプレシンニューロンにおける 小胞体内凝集体形成機序の解明 ····· 180
35. 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 ····· 181
36. 精子完成における細胞内小器官の動態と酸化ストレスによる影響の解明 ····· 182
37. Using Zernike phase plate cryo-EM (ZEM) to study topoisomerases ····· 182
38. 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

39. 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 ･････････････････････････････････････ 184
40. 先端電子顕微鏡による海底微生物の細胞構造解析 ･･･ 185
41. インフルエンザウイルスRNAポリメラーゼと阻害抗体複合体の クライオ電子顕微鏡単粒子解析････ 185
42. 緑藻クラミドモナスの光化学系II超分子複合体の構造解析･････････････････････････････････ 186
43. 植物寄生性線虫の感染部位の微細構造解析 ･･･ 186
44. 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･････････････････････････････ 187
45. 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･･････････････ 188
46. ドレブリン遺伝子改変マウスにおける多光子励起レーザー顕微鏡を用いたシナプスの長期in vivo
イメージング解析 ･･･ 189
47. 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 ･･ 189
48. 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 ･････････････････････････････････ 190
49. 海馬シナプスにおける入力側依存性左右差の形成機構 ･････････････････････････････････････ 190
50. 従来型解析にバイオインフォマティクスを取り入れた新規長鎖遺伝子の機能解明 ･･････････････ 191
51. 広視野2光子顕微鏡によるマウス大脳皮質広域Ca^{2+} イメージングに向けたウイルスベクター開発と
導入法の確立 ･･･ 191
52. 認知課題実行時の神経活動動態の解明 ･･ 192
53. 光計測と光刺激を用いた脳機能作動原理の研究 ･･ 192
54. 体液恒常性を制御する神経機構の解明 ･･ 193
55. 大脳皮質運動野から脊髄および大脳基底核へ投射する神経経路の機能解明 ･･････････････････ 194
56. 意欲行動における腹側海馬-腹側線条体回路の機能解明･････････････････････････････････････ 194
57. 中枢神経系におけるL-ドーパ受容体GPR143の役割に関する検討･･････････････････････････････ 195
58. 前シナプス分子基盤による神経回路形成・維持機構の解析 ･････････････････････････････････ 195
59. 新規膜電位センサーを用いた小脳プルキンエ細胞の単純スパイクの研究 ･･････････････････････ 196
60. アデノ随伴ウイルス遺伝子導入を用いた神経発生および恒常性維持の分子メカニズム解析 ･････････ 197
61. ウィルスベクターを用いた集中的リハビリテーションの作用機序の検討 ･･････････････････････ 197
62. 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 ･･ 198
63. 報酬学習の神経回路機構解明に資する技術開発 ･･ 198
64. ウイルスベクターを用いた経路選択的遺伝子操作による霊長類神経回路の機能解析 ･･････････････ 199
65. 皮質・基底核・視床回路を解析する研究 ･･ 199
66. 自己免疫性脳炎における自己抗体の標的蛋白質の同定 ･･････････････････････････････････････ 200
67. 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 ･･････････････････ 200
68. 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 ･･････････････････････ 201
69. CaチャネルのCa依存性調節（増強と不活性化）の分子機構･･････････････････････････････････ 201
70. ミクログリア生理機能の探索と病態への検証 ･･ 202
71. 熱帯熱マラリア生殖母体期の3次元構造の解析 ･･ 204

1.　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，三竇　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報告した（Schöpf et al., *PNAS*, 2021）。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 法により作成した。現在，homozygous の個体が得られており，alpha2delta2 の機能に障害がないかどうかを調べるためにまず成長過程の体重変化，Open field, footprint rotarod 等の一般的な行動実験を行ったところ，異常は認められていない。今後は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（Bhandari et al., *eLife* 2021）。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 マウスも作成した。今後このマウスでも，interpeduncular nucleus におけるシナプス構造と機能の変化を調べる。

2.　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，三竇　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。一昨年度までの基生研共同利用研究によってこの左右のフェノタイプを決めると思われる遺伝子変異を同定したので，昨年度はこの変異を導入したノックインマウスを作成した。この変異のフェノタイプを確認するためには二種類の変異を同時に導入する必要があり，いずれも homozygous の動物を得ることが必要である。昨年度はそれぞれの変異を CRISPR/cas9 法を用いて C57BL6 マウス受精卵に導入し, 2 cell 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 2 cell を偽妊娠 C57BL6 マウスに戻すことでそれぞれの変異を持つマウスを得ることができた。これらの homozygous が得られた段階で，目的の動物を得るためにはさらに数世代の交配が必要である。ただこれら二つの遺伝子変異間の距離が近いために，困難も予想される。そこで，交配と並行して今年度は一つの遺伝子について homozygous の動物から受精卵を採取して，これに対して二つ目の遺伝子変異を CRISPR/cas9 法を用いて導入する方法も行う予定である。予定通りの目的変異が得られれば，右および左のフェノタイプを示すことを証明

する。具体的には，左右入力 CA3-CA1 シナプスのサイズを電子顕微鏡で測定し導入した遺伝子変異によって，両側が右あるいは左のフェノタイプとなっていることを確認する。また，昨年度は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，相模女子大学の後藤先生との共同研究 delayed nonmatching-to-position task を行ったところ，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。

3. TRP チャネル病の発症メカニズム解明

鈴木喜郎（岩手医科大学 生理学講座 統合生理学分野）
平林真澄，三竇　誠（生理学研究所）

胎盤における母子間 Ca^{2+} 輸送は, 脳や心臓などの胎児組織の正常な発達にとって必須であるとともに胎児の骨形成のために重要な役割を果たしている。我々はこれまでに，Ca^{2+} 選択的なチャネルの１つである TRPV6 の変異によって，胎盤における母子間 Ca^{2+} 輸送低下による骨異常を伴う新生児一過性副甲状腺機能亢進症を発症することを明らかにしてきた（Suzuki Y, AJHG2018）。本研究の目的は，本疾患の原因変異として同定された TRPV6 遺伝子変異をゲノム編集によってマウスに導入し，疾患の発症メカニズムを明らかにすることである。

本年度は，細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇を起こす G450E 変異体, および細胞膜上に移行できない R424Q 変異体に着目し，ゲノム編集マウス作製用 ssODNs，ガイド RNA の設計・発注を行い，CRISPR/Cas9 法による変異体の作製を行った。その結果，両変異体とも F0 マウスの作製に成功した。

今後，上記２系統を確立し，それらのマウスを掛け合わせた際に新生児副甲状腺機能亢進症を発症するかどうかを解析する。さらに別のタイプの変異（アンキリンリピートドメイン変異）についても作製・解析を行う。将来的には母体ビタミンＤ欠乏などの環境因子が疾患の発症にどの程度関与しているのかを明らかにし，疾患発症のための重要なリスクファクターであることを証明したい。

4. 小脳をモデルとした抑制性ニューロンの数の制御メカニズム

金子涼輔（大阪大学大学院 生命機能研究科）
平林真澄，三竇　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，一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。一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エピゲノム修飾（ヒストン修飾）を解析した結果，Pcdh 発現陽性細胞においてヒストン H3K27Ac が

有意に変化しているゲノム DNA 領域を複数同定した。今後は本結果を精査すると共に，これら領域の欠損マウスを作製するなどにより機能解明を進める。

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。昨年度までに発生初期小脳の抑制性ニューロンにおける Pcdh-g は分子層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されていた。本年度は小脳顆粒細胞における Pcdh-g の関与を調べるため，本細胞特異的に Pcdh-g を欠損させたマウスを作製・解析した。その結果，本マウスでは運動学習に異常を認めたものの，小脳構造に大きな異常は認められなかった。本結果は，小脳顆粒細胞における Pcdh-g の抑制性ニューロン数の制御への関与は大きくは無いことを示している。今後はどの Pcdh-g アイソフォームが抑制性ニューロン数の制御に関わるかを調べる。

5. 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上衣細胞で Cre を発現し，タモキシフェン依存性に Cre が作動するマウス（*Vim*-Cre-ERT2 マウス）。これらの遺伝子組換えマウスを交配することで，タモキシフェン依存性に WGA を上衣細胞に発現するマウスの作出を試みた。

Vim-Cre-ERT2 マウスは，目的の遺伝子配列をマウス受精卵の雄性前核へマイクロインジェクションすることで作出した。目的の遺伝子配列は，Cre-ERT2 遺伝子配列を含むプラスミドへマウス *Vim* プロモーター遺伝子を含む遺伝子配列を挿入して作製した。その結果 3 系統の F0 ファウンダーマウスを得た。さらに，*Vim*-Cre-ERT2 の各系統のマウスと *CAG*-STOP floxed-WGA-2A-GFP マウスを交配することで，*CAG*-STOP floxed-WGA-2A-GFP/*Vim*-Cre-ERT2 マウスを得た。

今後は，WGA の局在解析および起点細胞の同定を行う予定である。WGA の局在解析については，*CAG*-STOP floxed-WGA-2A-GFP/*Vim*-Cre-ERT2 マウスの第 4 脳室にタモキシフェンを投与した後，脳を採材し，WGA と各種細胞マーカーの二重染色を行う。起点細胞は，*Cre* もしくは *WGA* の ISH，もしくは GFP の検出により同定する。

6. 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，三寳　誠（生理学研究所）

マウスの 1 次視覚野では，視覚刺激のそれぞれの傾きに反応する神経細胞が空間的に無秩序に分布している。しかし，細胞系譜が同一な細胞（姉妹細胞）間では同じ傾きに反応する細胞の割合が高く，姉妹細胞が少なくとも傾きに関する視覚情報処理の機能単位として働いていることが示唆された。また，パッチクランプ法により姉妹細胞間では相互シナプス結合の割合が高いことが明らかにされた。これらのことから，姉妹細胞間の特定な方位への反応性（方位選択性）の類似性は優位な相互シナプス形成によって生み出されていると仮定できるが，その分子メカニズム

の解明には至っていない。私たちはその候補分子としてクラスター型プロトカドヘリン（cPCDHs）の機能を考えた。その理由は，cPCDHs の① 同一サブセット間での細胞接着活性②マウス大脳皮質神経細胞での特定サブセットの発現，③58 分子全欠損条件下での姉妹細胞間の相互シナプス結合数の減少，である。

本研究では，上述した cPCDHs 全欠損の姉妹細胞の間で，方位選択性の類似性が維持されているかを in vivo 二光子カルシウムイメージングで調べ，cPCDHs による姉妹細胞間での傾き情報の処理システムの発現メカニズムを調べた。先ず，GFP マウス，あるいは cPCDHs 全欠損マウス（tdTomato 導入）の胎児より作製された iPS 細胞を野生型マウス桑実胚に注入し iPS 細胞のキメラマウスを得た。それぞれの蛍光を指標にして大脳皮質での iPS 細胞由来の細胞の分布を調べたところ，iPS 細胞由来でかつ単一神経幹細胞から分化した姉妹細胞がクラスターを成して存在して，その空間的分布パターンはトランスジェニック法により標識された姉妹細胞（Ohtsuki, et al., 2012）と同じであった。そこで二光子カルシウムイメージングでこれら姉妹細胞の視覚特性を調べた。その結果，方位選択性を示す GFP 陰性，GFP 陽性，cPCDHs 全欠損細胞の方位選択性度合いの指標である gOSI は 0.56±0.02，0.54±0.03，0.524±0.03 と三者間で優位な差はなく，cPCDHs は方位選択性の鋭さには関与していないことがわかった。次に，cPCDHs 全欠損の姉妹細胞間の方位選択性の類似度を調べたところ，選択的な方位の差が 10° 以下で，GFP 陽性細胞の割合は GFP 陰性細胞群（非姉妹細胞）と比べて 1.21 と約 21％高いのに対し，cPCDHs 全欠損では 1.00 と差がなく方位選択性の類似性が消失していた。これらの結果から，姉妹細胞間で cPCDHs により形成された有意なシナプス結合によって，姉妹細胞単位での視覚情報処理システムが構築される分子機構が明らかとなった。

7.　神経傷害に対する PACAP の神経細胞死抑制機構の解析

平林敬浩，塩田清二（星薬科大学 先端生命科学研究所）
山下道生（星薬科大学 薬学部）
平林真澄（生理学研究所 遺伝子改変動物作製室）

下垂体アデニル酸シクラーゼ活性化ポリペプチド（Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide, PACAP）は主に神経組織で発現しており，生体内では下垂体ホルモン分泌，血管拡張，平滑筋収縮，アドレナリン分泌，インシュリン分泌，免疫抑制作用，外分泌促進作用など，多様な機能を担っている。近年，脳虚血・脳梗塞モデル，脊髄損傷モデルといった神経傷害モデル動物を用いた研究結果から，PACAP は，その受容体を介して神経細胞死抑制作用を有することが明らかになっている。本研究ではその分子機構を明らかにすることを目的として受容体遺伝子改変マウスを作製・解析を試みた。

当該年度はまず PACAP の 3 種の受容体（PAC1-R, VPAC1-R, VPAC2-R）のうち，神経細胞死抑制作用に関与していることが示唆されている PAC1-R 遺伝子のノックアウトマウスを作製した。PAC1-R 遺伝子ノックアウトマウスは CRISPR/Cas9 系を用いて，同遺伝子の第 6 エクソンの両端を切断する様にデザインした sgRNA を Cas9 nuclease とともに受精卵にインジェクションし，同エクソンを欠損させることで作製した。

作製したヘテロ欠損マウスを交配して得られたホモ欠損マウスの 90 %以上は生後まもなく死亡したが，生存したホモ欠損マウスは外見に異常な点は認められず，また雌雄共に交配することが可能であった。現在，これらホモ欠損マウスに見られる死亡の原因について解析を行っている。

また，ホモ欠損マウスの多くは生後まもなく死亡してしまうこと，また将来的な活用を考慮して Cre 発現依存的に遺伝子をノックアウトできるように CRISPR/Cas9 系を用いてエクソンの両端に loxP 配列を挿入した PAC1-R 遺伝子コンディショナルノックアウトマウスの作製も併せて進めている。

8. L-ドーパ受容体 GPR143 の中枢神経系における局在の解析

笠原由佳，増川太輝，五嶋良郎（横浜市立大学）
平林真澄，三竇　誠（生理学研究所）

ドパミン前駆体である L-ドーパは，長らくそれ自体には生理活性がないと考えられてきた。しかし，我々はこれまでに L-ドーパを最終産物として含む神経細胞の存在，神経刺激による L-ドーパの遊離，そしてドーパによる生理作用を明らかにし，L-ドーパが神経伝達物質である可能性を見出してきた（Misu and Goshima, Tips. 1993; Masukawa et al., JCI Insight. 2017）。L-ドーパが神経伝達物質たり得るか究明するためには，その生理学的機能の全容を明らかにする必要がある。近年，L-ドーパ受容体として，眼白子症原因遺伝子産物として知られる G タンパク質共役型受容体 GPR143 が同定された（Lopez et al., PLoS Biol. 2017）。我々は，抗 GPR143 抗体を作製し，免疫染色法により GPR143 が眼だけではなく，中枢神経系においても広く発現することを発見した（Fukuda et al., Brain Res. 2015）。しかしながら，中枢神経系における GPR143 の発現レベルは低く，その局在の詳細は不明である。そこで，本共同研究では GPR143 遺伝子にタグを付加したノックインマウスを作製することを目指した。このマウスを用いて組織化学的検討を行い，中枢神経系における GPR143 のより詳細な局在解析を可能にする。初めに，所属研究室にてマウス GPR143 遺伝子全長のN末端もしくは C 末端に 3×FLAG または tdTomato 及び FLAG を付加したプラスミドを作製した。これらのプラスミドを HEK293 細胞にトランスフェクションし，GPR143 の発現及び局在に与える影響について評価した。この結果, C 末端に 3×FLAG または N, C 末端に tdTomato 及び FLAG を付加した場合，細胞内の GPR143 の発現及び局在が異常となることが明らかとなった。一方，N 末端に 3×FLAG を付加した場合，GPR143 の発現及び局在の異常は観察されなかった。この検討の後，共同研究先である遺伝子改変動物作製室にて，N末端に 3×FLAG を付加した GPR143 遺伝子配列, MC1 プロモータ制御下で発現するジフテリア毒素 A 断片遺伝子（MC1-DT-A）の順で並んだ直鎖状 DNA をマウス ES 細胞（TT2 細胞）にエレクトロポレーション法で導入した。これらの ES 細胞をネオマイシン含有培地で培養し，相同組換えが生じた細胞を選別した。得られた相同組換え ES 細胞をマウス受精卵にマイクロインジェクション法で導入し，これを仮親マウスの子宮に移植しキメラマウスを作製した。このキメラマウスを野生型マウスと交配し，ヘテロマウスを作製し，所属大学に輸送，搬入した。現在，ヘテロマウス同士の交配によりホモマウスの作製を行っている。

9. 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）
平林真澄，三竇　誠（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，昨年度に候補となる遺伝子を欠損するマウスの作製を CRISPR/Cas9 システムによりおこなった。本年度は，候補遺伝子に変異を入った個体を交配して変異が仔に伝わる系統を選別した。さらに，交配により CTCF 遺伝子を脳の特定の神経細胞で欠損か

つ候補遺伝子が欠損した二重欠損マウスの作製を進めてきた。候補遺伝子は欠損してもマウスの生存には影響しない。来年度は，この新たに作製した二重欠損マウスを用いて，神経細胞の脱落が抑制されるかどうかの解析をおこなう計画である。また，神経細胞の脱落が抑制された場合には，進行性の運動障害が緩和されるかどうかを調べるためロータロッドを用いた行動実験をおこない，明らかにしていく予定である。

一方，大脳皮質一次視覚野の神経細胞で左右の眼からの入力の違いにより異なる発現を示す遺伝子を同定し，解析を進めてきた。同定した遺伝子の機能をより詳しく解析するために改変マウスの作製を計画し，ベクター設計・作製を進めている。

10. RNA 顆粒の動的性質と学習・記憶との関連の解析

椎名伸之（基礎生物学研究所 神経細胞生物学研究室）
平林真澄，三寳　誠（生理学研究所）

神経細胞に存在する RNA 顆粒は, 樹状突起への mRNA 輸送及びシナプス入力依存的な局所的翻訳制御を担い，長期記憶の形成に重要な役割を担う。筋萎縮側索硬化症や前頭側頭葉変性症などの神経変性疾患では，疾患の原因遺伝子産物である TDP-43 や FUS が RNA 顆粒に過剰に集積し，それが疾患の原因になると考えられている。RNA 顆粒は液-液相分離によって形成されており，その流動性の制御が生理機能や疾患と密接に関わると予想されているが，流動性の転換やその制御機構の解析は進んでいない。そこで本研究は，RNA 顆粒構成タンパク質である G3BP1 及び RNG105 に GFP を融合した GFP ノックインマウスを作成し，学習・記憶や神経変性疾患における RNA 顆粒のダイナミクスを ex vivo 及び in vivo で計測することを目的とした。そのために本年度は，GFP ノックインマウスの作成を行った。

マウスの内在性の G3BP1 及び RNG105 に GFP を融合するべく, CRISPR/Cas9 法を用いて GFP 遺伝子をノックインした。具体的には，まず，C57BL/6J マウスを用いて体外授精し，受精卵を得た。得られた受精卵に対してマイクロインジェクション法によって Cas9 タンパク質，gRNA，及び GFP 遺伝子を含む一本鎖 DNA 断片を導入した。その後受精卵を仮親（ICR）の卵管に移植し，F0 産仔を得た。F0 マウスと C57BL/6J マウスの体外受精を行い，GFP 遺伝子が導入された F1 ノックインマウスを得た。G3BP1-GFP ノックインマウスから大脳皮質由来神経初代培養細胞を作成し，蛍光顕微鏡下での観察を行った結果，ストレス誘導性の RNA 顆粒（ストレス顆粒）に G3BP1-GFP が集積することを確認した。

今後は，RNG105-GFP ノックインマウスに関しても，RNG105-GFP が RNA 顆粒へ集積することを確認する。さらに，両ノックインマウスを用いて，海馬急性スライス及び生体脳大脳皮質における RNA 顆粒ダイナミクスの経時的蛍光イメージングを行い，学習・記憶や神経変性疾患における RNA 顆粒の流動性転換やその制御機構の解析を進める予定である。

11. 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（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 システムによるキスペプチン遺伝子（*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。

Kiss1-floxed ラットの弓状核に，Cre リコンビナーゼを発現するアデノ随伴ウイルスベクター（AAV）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 のパルス状分泌を司る中枢であることを強く示唆した。また，本共同研究により 2011 年に作成した全身性 *Kiss1* ノックアウトラットの弓状核に *Kiss1* を発現する AAV を投与し，弓状核キスペプチンニューロンを復元することで，黄体形成ホルモンのパルス状分泌と卵胞発育を回復させることに成功した。これらの結果をまとめた論文は PNAS 誌に掲載された（Nagae, Uenoyama *et al*., 2021, PNAS）。名古屋大学と生理学研究所で本研究成果の共同プレスリリースを行い，NHK ニュース，日本経済新聞，Forbes など 20 のメディアで取り上げられ，大きな反響を得た。

本年度作製が完了した *Kiss1*-Cre ラットと Cre リコンビナーゼ依存的に赤色蛍光を発現するレポーターラットを交配し，キスペプチンニューロン常時可視化ラットの作出に成功し，現在表現型の詳細な解析を実施している。

12. 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，三竇　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。本研究では，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 およびα1,3-フコース転移酵素 Fut10 に注目し，これらの機能解析を行うために必要な遺伝子改変マウスの作出を計画した。2018 年度から継続して計画研究に採択していただいた結果，Rnf20 遺伝子と Fut10 遺伝子のコンディッショナルノックアウト（cKO）マウスおよびテトラサイクリン誘導型過剰発現（TetOne tg）マウスを作製・解析することができた。

Rnf20 cKO マウスを Nestin -CreER マウスと交配し，タモキシフェン投与によって神経前駆細胞特異的かつ時期特異的に Rnf20 をノックアウトしたところ，予想通り脳における神経幹細胞の分化が抑制されることが観察された。一方で，TetOne-Rnf20 tg マウスにドキシサイクリンを投与することにより，Rnf20 遺伝子を過剰発現させた場合は，神経幹細胞が未分化性を保てずに，分化が促進されることを示唆するデータを得た。

Fut10 遺伝子の改変マウスに関しては，予想通りの表現型が見られなかった。例えば TetOne-Fut10 tg マウスでは，ドキシサイクリンを投与しても Fut10 遺伝子が充分に過剰発現されていなかったため，他の rtTA 発現マウスと組み合わせることで表現型が観察できないか，継続して検討中である。また，Fut10 cKO マウスについても，明らかな表現型が得られておらず，さらに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。

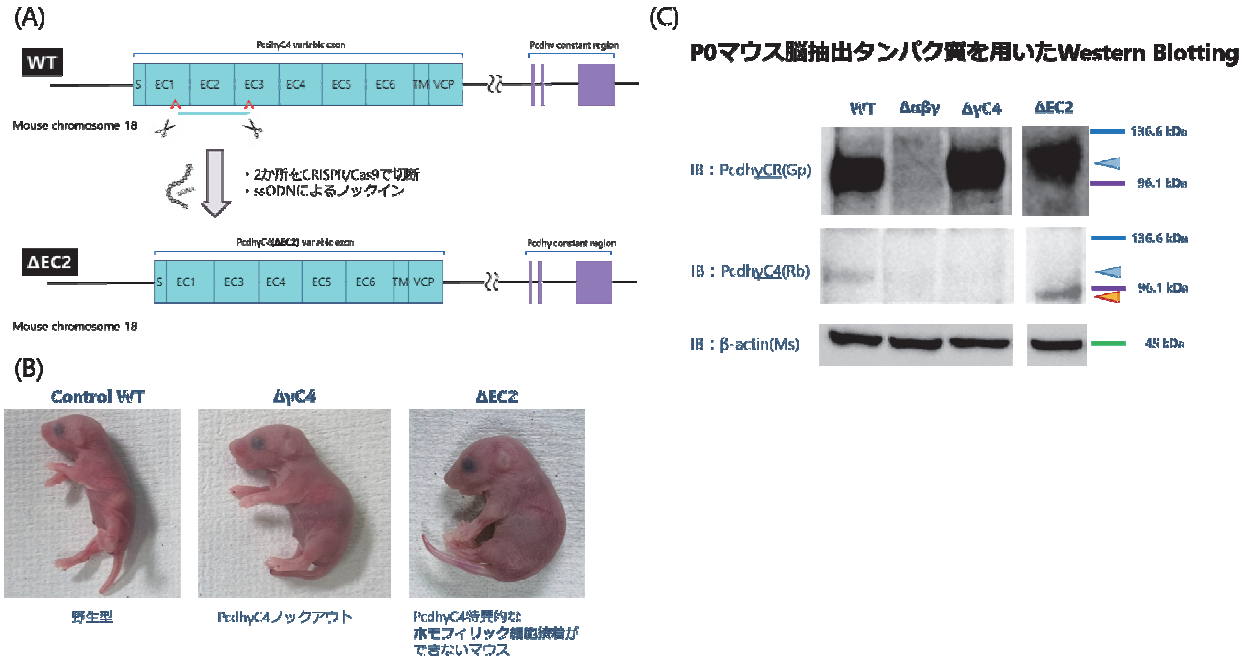
13. 機能的な神経回路形成における神経細胞の個性化の役割

八木　健，足澤悦子，樋口流音（大阪大学大学院 生命機能研究科）
平林真澄，三寶　誠（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，PcdhγC4 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。また，PcdhγC4 以外の 21 種類の Pcdhγ を欠損しても誕生後のマウス死亡は認められず，PcdhγC4 が必須の遺伝子であることが明らかとなった。特に本年度は，この PcdhγC4 のどのタンパク質領域が必要なのかを明らかにするために，CRISPR/Cas9 を用いて PcdhγC4 機能領域欠損マウスの作製を行った（図 A）。その結果，ホモフィリック結合に必要な EC2 領域を欠損したマウス（ΔEC2 マウス）では，タンパク質発現が認められながらもマウスは誕生直後に死亡することが明らかとなり，PcdhγC4 のホモフィリック結合が必須であることが明らかとなった（図 B：マウスの表現型，図 C：Western Blotting の結果。青色の矢頭は PcdhγC4 タンパクを示し，橙色の矢頭は EC2 領域が欠損した PcdhγC4 タンパクを示す）。現在，他の機能領域欠損マウスの作製と解析を継続的に行っている。

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。



14. ドーパミン受容体及び NMDA 受容体改変マウスを用いた運動制御と記憶学習機能の解析

笹岡俊邦，齊藤奈英，田井中一貴，阿部　学，﨑村建司（新潟大学 脳研究所）
鍋島陽一（神戸医療産業都市推進機構 先端医療研究センター）
知見聡美，南部　篤（生体システム研究部門）

パーキンソン病（PD）は，運動症状に加え，認知機能障害や抑うつなどの非運動症状を示す神経疾患である。中脳の黒質のドーパミン作動性ニューロンは, 主に線条体に投射される。線条体には，ドーパミン D1 受容体（D1R）を発現する直接路ニューロンと，ドーパミン D2 受容体（D2R）を発現する間接路ニューロンの 2 種類の投射ニューロンが存在する。これらの 2 つの経路における神経活動の不均衡が，PD の症状の原因と考えられている。しかしこれらの回路における細胞やシナプスの特性の違いは, まだ明らかになっていない。

私達は，PD の症状の神経メカニズムと，大脳基底核を介した情報処理における NMDA 受容体の活性化の役割を理解するため，間接路ニューロンに特異的に活性化 NMDA 受容体を発現する変異マウスを開発した。GluN2 サブユニットの第 2 膜貫通領域のアスパラギン残基（N595）は，電位依存性 Mg^{2+} ブロックに重要である。私達は, 標的遺伝子に特定の変異を空間的に限定して導入する方法を開発し, loxP 配列-GluN2 の野生型 exon 10 (N595) -loxP 配列-変異型 exon 10 (Q595) を並列し, 野生型 exon 10 の splice donor site と変異型 exon 10 の splicing 分岐点の間を短縮した変異マウス（GEMA マウス）を作製した（Hayashi et al., 2014）。GEMA マウスでは，野生型 exon のみが発現し，野生型 exon 10 が Cre-loxP 組換えで削除されると，変異型 exon 10 が発現される。この N595Q 変異は NMDA 受容体の Mg^{2+} ブロックが低下し活性化しやすい状態となる。私達は，D2R 発現制御による Cre リコンビナーゼ発現マウスおよび GEMA マウスを用いて，D2R を発現する間接路ニューロン選択的に変異型 GluN2（N595Q）を発現するマウス（GEMA D2-iCre マウス）を作製した。

GEMA D2-iCre マウスの変異導入様式を全脳透明化による三次元イメージングを用いて解析した。また行動解析では自発運動量の変化はなかったが, 恐怖条件付けの行動テストで学習-記憶の成績が低下していた(図参照)。今後，直接路ニューロン, 間接路ニューロンの神経活動を解析し，NMDA 受容体活性化による行動変化の仕組みを明らかにしてゆきたい。

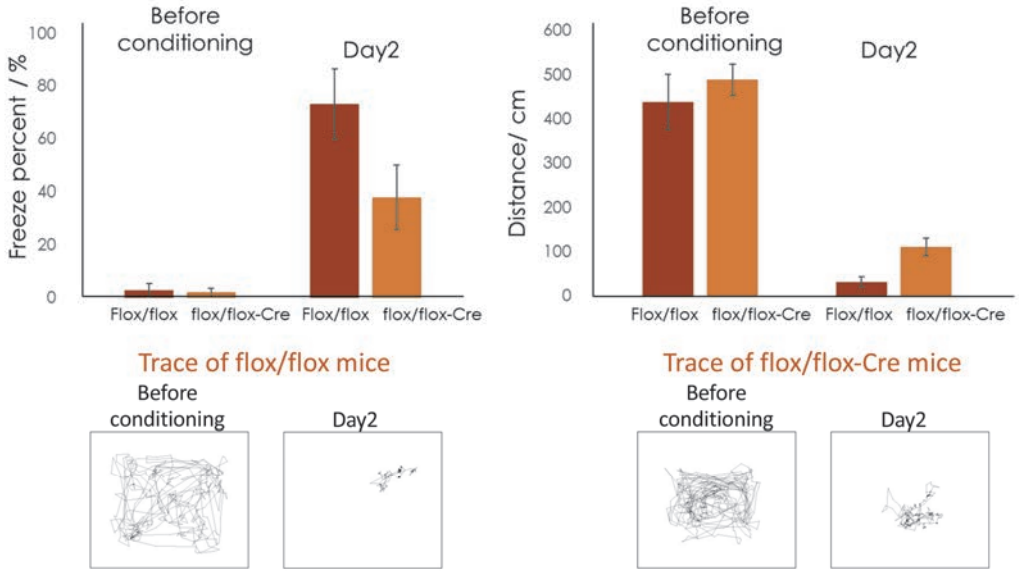


図　恐怖条件付け試験
GEMA D2-iCre マウス（flox/flox-Cre）のフリージングの割合は，対照マウス（flox/flox）より低下し，flox/flox マウスの移動距離は対照マウスより長く，学習の低下が示唆された。

15. シナプス伝達修飾機構から見た大脳基底核の直接路および間接路の機能

籾山俊彦，鈴木江津子（東京慈恵会医科大学 医学部）
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。大脳基底核の直接路および間接路を構成する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。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（Suzuki & Momiyama, Eur. J. Neurosci. 53, 796-813, 2021）。さらに，大脳基底核の直接路あるいは間接路を構成する 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を用いて, 各回路に特異的な機能について解析中である。

16. セピアプテリン還元酵素遺伝子改変マウスを用いた ジストニア・パーキンソニズム発症機構の解析

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）

セピアプテリン還元酵素（sepiapterin reductase; SPR）は，ドーパミンやノルアドレナリン・セロトニンなどのモノアミン神経伝達物質の生合成に必須なテトラヒドロビオプテリン（BH4）の生合成酵素である。BH4 はグアノシン三リン酸から３つの酵素により生合成されることが知られており，SPR はその第三段階に働く。

第一段階の GTP シクロヒドロラーゼ I（*GCH*）遺伝子の片側アリルの遺伝子変異，または，*SPR* の両側アリルの遺伝子変異（*SPR* 欠損症）によりドーパ反応生ジストニアを発症する。*SPR* 欠損症では，脳内ドーパミンの欠乏によりジストニアを発症すると考えられるが，なぜ BH4 を必要とする他の代謝系（Phe 代謝など）での障害が現れないのかについては，解明されていない。

Spr-KO マウスは，自発運動量の低下や，前肢の振戦様の震えなどのパーキンソニズム様の運動障害を示した。我々は以前，BH4 生合成第二段階の酵素を欠損させたマウスに, ノルアドレナリンニューロンでは BH4 合成が行えるように遺伝子工学で改変したマウス（*DPS* マウス）を作製し解析した。このマウスでは自発運動量の低下や前肢の震えなどの表現型は観察されなかったが，細い棒の上を歩かせるビームテストでは四肢の協調運動の低下が観察され，パーキンソニズムというよりジストニア様の表現型と考えられた。*DPS* マウスと *Spr*-KO マウスで，BH4 欠乏によるドーパミンの生合成の低下というメカニズムは同じであるにも関わらず，なぜジストニア様とパーキンソニズム様という異なる表現型が現れるのか興味深い。本研究では，この点を解明することにより，ジストニア・パーキンソニズム発症機構の違いを理解することを目的としている。

上記二つのマウスで異なる点としては，*DPS* マウスではドーパミンは欠乏しているがノルアドレナリンは欠乏していないことが挙げられる。そこで，*Spr*-KO マウス

でもノルアドレナリン欠乏状態を解消することで，現れる表現型が変化するか調べるために，*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。今後，ドーパミンニューロン選択的に *Spr* 遺伝子を破壊したマウスを作出し，ジストニア様の表現型を示すか，パーキンソニズム様の表現型を示すか観察し，その発症機構を解析していく。

17. 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）

これまでの研究で我々は脳内には 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 種類が存在し，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。(Tatsumi et al., Front. Neuroanat. 12:8. 2018)。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イルスベクター（以下 AAV-Flex-GAT-3shRNA）を注入したが，感染効率及び組換え効率がかなり少ないことがネックとなった。そこで Olig2-AS と GFAP-AS の分子的な差異をさらに追求する目的で既報のシングルセル RNA 解析のデータから淡蒼球のアストロサイト発現遺伝子のクラスター解析を行ったところ，成熟脳の淡蒼球には確かに Olig2 を発現するアストロサイト集団が存在し，その集団では GFAP の発現量が低いことが確認できた。さらに Olig2 を発現する集団を再クラスター化すると，この集団に特異的に発現するいくつかのトランスポーター遺伝子が同定できた。その内の一つは Slc7a10 で ASC-1 とも呼ばれるもので，Glycine の輸走に関わり神経細胞に発現するとされてきた遺伝子であった。Laser microdissection を用いて淡蒼球の Olig2-AS と GFAP-AS を分取し，それぞれから RT-PCR を用いて GAT-3 や ASC-1, 及び GLAST,GLT-1 などのグルタミン酸トランスポーターも含めて発現解析を行ったところ，Olig2-AS では ASC-1 が高発現していることが明らかとなった。現在抗体を用いた免疫組織化学法，及び遺伝子プローブを用いた In situ hybridization 法を用いて実際に ASC-1 が Oli2-AS に特異的に発現するか否かを検討中である。

18. 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，平林敬浩（星薬科大学 先端生命科学研究所）
竹ノ谷文子（星薬科大学 薬学部）
平子哲史（人間総合科学大学 人間科学部）
箕越靖彦（生理学研究所 生殖･内分泌系発達機構研究部門）

ガラニン様ペプチド（Galanin-like peptide, GALP はガラニン受容体の内因性リガンドとしてブタ視床下部から発見された，60 のアミノ酸 からなる生理活性ペプチドである。これまでに我々は，肥満モデルマウスに対して GALP を脳室内投与すると体重および摂食量が減少すること，さらに脳室内投与された 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ことを明らかにしてきた。これらの結果から，GALP は将来的に抗肥満薬として臨床応用できる可能性が高いと考えられる。しかし，脳室内投与ではヒトでの適用は困難なことから，投与が簡便で苦痛を伴わない点鼻投与での応用を目指し，GALP 点鼻投与によるエネルギー代謝の詳細を検討した。

C57BL/6 マウスに高脂肪食餌を 14 週間自由給餌させる

ことで肥満を誘発させ，食餌性肥満（DIO）マウスを作製した。マウスの肥満状態を確認した後，2 週間順応させた後，GALP，あるいは対照として生理食塩水をマウスに 11 日間点鼻投与し，その間の体重変化の推移を観察した。その結果，GALP 点鼻投与群は対照群と比較し，体重増加が有意に抑制された。また，点鼻投与後の DIO マウス肝臓を試料としたメタボローム解析を行ったところ，GALP の点鼻投与は脂肪酸 β 酸化の亢進，および脂肪酸合成の抑制に寄与している可能性が示唆された。今後はメタボローム解析で得られた結果について詳細に検討し，GALP のエネルギー代謝亢進作用機序の全容を明らかにする計画である。

19. 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）

栄養素（糖，脂質，タンパク質）の摂取で分泌促進される消化管ホルモンの Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) は，インスリンを分泌促進させ，摂食量を抑制する。我々は，ゼロカロリーの希少糖アルロースが GLP-1 を選択的に分泌促進させる事を発見した。そこで，アルロースを用いることで，体内のエネルギー状態を変化させず，腸から放出される生理的な GLP-1 の作用を解析することが可能となった。

アルロースの摂取により放出される GLP-1 は，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＞軸を介した全身代謝（糖代謝，エネルギー代謝）を調節している可能性を，我々は見出している。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未だ不明な点が多い。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 の耐糖能向上作用とその作用機序について検証した。

健常マウスにアルロースを経口投与しても，その後 4 時間までの血糖値・血漿インスリン値に影響を与えなかった。一方，高血糖・高インスリン血症を呈する 2 型糖尿病 db/db マウスにアルロースを単回経口投与すると，投与後 1～4 時間まで血糖値と血漿インスリン値を有意に低下させた。高血糖・低インスリン血症を示す 1 型糖尿病 Akita マウスへのアルロースの投与は，血糖値・血漿インスリン値に影響を与えなかった。以上の結果より，アルロースによる GLP-1 分泌促進は，血漿インスリン濃度依存的にインスリン感受性を亢進させ，高血糖を改善する可能性が示された。健常マウスへのアルロース前投与は，グルコース腹腔内投与後の高血糖を有意に抑制した。同様の試験を Akita マウスで実施したところ，グルコース腹腔内投与後，グルコース刺激性インスリン分泌が惹起されず，耐糖能向上作用はみられなかった。さらに，求心性迷走神経を障害させた健常マウスでは，アルロースの耐糖能向上作用は完全に消失した。以上より，アルロースによる腸 GLP-1 は求心性迷走神経を介してインスリン濃度依存的にインスリン感受性を亢進させて高血糖を改善させていることが示唆された。

20. TRP イオンチャネルの機能変化が介在する細菌感染病態の発症メカニズムの解析

堀口安彦（大阪大学 微生物病研究所 分子細菌学分野）
富永真琴（生理学研究所 細胞生理研究部門）
平松征洋（大阪大学 微生物病研究所 分子細菌学分野）

百日咳菌は特徴的な咳発作で知られる呼吸器感染症（百日咳）の原因菌である。この咳発作は患者に多大な負荷を強い，ときに死亡原因となるがその発症機構は全く不明であった。これまでに当該研究者らは百日咳菌の

病原性を解析する過程で，特定の系統のマウスが百日咳感染に応答して再現よく咳発作を起こすことを発見した。さらにこのマウスモデルを活用した研究成果から，百日咳菌の病原因子であるリポオリゴサッカライド（LOS）と百日咳毒素（Ptx）の作用によって咳応答が惹起され, Vag8 と呼ばれる病原因子がこれをさらに増悪させると考えられた。また種々の阻害剤を用いた結果から，LOS-Vag8-Ptx による咳反射応答はブラジキニン 2 型受容体（B2R）と Transient Receptor Potential イオンチャネルのひとつである TRPV1 の機能と連関することがわかった。そこで本研究課題では，百日咳菌の各病原因子が B2R-TRPV1-咳応答の系路にどのように影響を与えているのか詳細に検討した。B2R は炎症性メディエーターのブラジキニン（Bdk）の受容体で，TRPV1 は温度や物理的化学的刺激に応答するセンサーとして知られており，咳反射に関わる神経線維の興奮伝導に関与し，その活性は Bdk によって制御を受けることが報告されている。そこで，Bdk を生成しない *Kng1* ノックアウトマウスや *Trpv1* ノックアウトマウス，LOS の受容体である Toll 様受容体 4（TLR4）のノックアウトマウスを使用して，LOS-Vag8-Ptx による咳応答を検討したところ，LOS は TLR4 を介して感染局所で Bdk を生成させることがわかった。さらに B2R や TRPV1 を発現する細胞，および脊髄後根神経節ニューロンを用いた全細胞パッチクランプや細胞内 Ca^{2+} イオン測定イメージングを通じて，Bdk は B2R を介して TRPV1 の興奮感受性を増大させるが，Ptx は TRPV1 の感受性を負に調節する Gi GTPase の機能を遮断することによって, TRPV1 の興奮性をさらに高めることがわかった。また Vag8 は Bdk 生成過程のカリクレイン・キニン系のカスケードを負に調節する C1 エステラーゼインヒビターを阻害して，Bdk の生成レベルを高めていることがわかった。

以上の結果から，百日咳の咳発作の発症メカニズムの一端が明らかにできた。この知見は，百日咳咳発作の原因療法の開発に向けて貴重な情報を提供していると考えている。

21. TRP チャネルと 7 回膜貫通型の温度受容体候補分子を介した デュアル温度センシングの生理学的解析

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（甲南大学大学院 自然科学研究科／統合ニューロバイオロジー研究所）

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，線虫で見つけ，その上流の GPCR 型の温度受容体候補の解析を進めている。本共同研究では，まずこの GPCR が発現するニューロンにおいて発現している TRP チャネルである OSM-9，OCR-2 と OCR-1 が温度受容体として機能しているのかどうかを調べるために，*Xenopus* oocyte にこれらの TRP チャネルを発現させて，温度刺激を与えた際の反応性を電気生理学的に測定した。その結果，OSM-9 と OCR-2 を同時に発現させた *Xenopus* oocyte は温度刺激に反応したが，OSM-9, OCR-2 単体では温度に応答しなかった。また，線虫の遺伝学的解析では負の機能を持つ OCR-1 を OSM-9 と OCR-2 と同時に *Xenopus* oocyte に発現させたが，OSM-9 と OCR-2 を同時に発現させた *Xenopus* oocyte と同様の温度応答を示した。これらの結果から，OSM-9 と OCR-2 が複合体を形成して，温度依存的にチャネルを開口させている可能性が示唆された。 線虫において，*osm-9* と *ocr-2* に変異をもつ線虫変異体は ADL 温度受容ニューロンの異常により低温馴化に異常をもち，また，*osm-9* と *ocr-2* 変異体の ADL 温度受容ニューロンの温度応答性は低下しいる。以上の結果から，TRP チャネルが ADL ニューロンにおいて温度受容体として機能し，線虫個体の低温馴化を制御していることが示唆された（共同研究論文：Ohnishi et al., ***Scientific reports***, 2020）。

一方で，OSM-9 と OCR-2 チャネルの温度応答性は，一般的な温度応答性 TRP チャネルと比べて非常に低かったため，TRP 以外の温度受容体の存在を考えた。TRP チャネルはその上流の G タンパク質情報伝達系で制御されるケースが知られていたため，G タンパク質のさらに上流で機能する GPCR が温度受容に関わっているとい

う仮説を立て，GPCR 型の温度受容体の候補遺伝子を *Xenopus* oocyte に発現させ，その温度応答性を電気生理学的に測定したが，温度応答性を示さなかった。今後は，培養細胞に候補 GPCR とその下流の分子を同時に発現させて，温度応答性を測定する予定である。

22. 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 [1)]，松岡義和 [2)]，森松博史 [1)]，デルーチ サンドラ [3)]，富永真琴 [3)]
([1)] 岡山大学大学院 医歯薬総合研究科，[2)] 岡山大学病院 集中治療部
[3)] 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り，ミクログリアに発現するいくつかの温度感受性 TRP チャネルがその制御機構に関与する可能性を見出し，2018 年度および 2019 年度には，細胞生理研究部門および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個体レベルを含めた検討を行い，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を突き止めていた。2020 年度は，in vitro 実験を追加した。野生型ミクログリアの電気生理学的検討で，TRPV4 活性化剤併用によってミクログリアの運動がより活性化されることを見出した。個体レベルで得られていた結果を in vitro 実験にて実証することができ，ミクログリアの温度依存的な動きには，TRPV4 が関与していることを裏付けることができた。新型コロナウィルス肺炎の国内感染爆発により，生理学研究所に訪問することはできなかったが，遠隔システムによる議論をかさねたのちに，これらの結果をまとめ，論文として投稿し受理され，Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS) に掲載された。

23. 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，卯津羅玲奈，高橋賢次（鳥取大学 農学部）
齋藤　茂，富永真琴（生理学研究所／生命創成探究センター）

TRPV1 は Capsaicin，酸及び熱感受性の非選択的陽イオンチャネルであり，侵害受容に関与している。TRPV1 の薬物反応性には著明な種差があり，これまで我々は，種々の動物由来 TRPV1 遺伝子の発現機能解析の結果，両生類は哺乳類に比べて Capsaicin 感受性が著しく低いことを明らかにしている。鳥類 TRPV1（cTRPV1）は Capsaicin 非感受性との報告があるが，その薬物応答性など詳細な機能は明らかにされていない。また近年，哺乳類 TRPV1 は細胞外 Na^+ 濃度変化により活性制御を受けていることが示されているが，cTRPV1 に対する作用は不明である。本研究では，cTRPV1 における Capsaicin と細胞外 Na^+ 濃度に対する反応性及び阻害薬の効果について検討した。

ニワトリ背根神経節細胞及びニワトリ TRPV1 遺伝子，マウス TRPV1 を発現させたヒト胎児腎臓由来 293 細胞を用いて，蛍光色素 Fura-2 による細胞内 Ca^{2+}イメージング及びホールセルパッチクランプ法による電流測定を行った。さらにニワトリヒナを用いて疼痛関連行動の測定を行った。ニワトリ背根神経節細胞において，Capsaicin は細胞内 Ca^{2+} 濃度（$[Ca^{2+}]_i$）を上昇させたが，その力価は哺乳類に比べて著しく低かった。細胞外 Na^+ 濃度低下により$[Ca^{2+}]_i$ 増加反応が見られ，完全に除去した条件では，その反応は最大となった。Capsaicin 及び酸による反応は，細胞内 Na^+ 濃度を低下させた条件下で増強した。cTRPV1 遺伝子発現細胞においても，高濃度 Capsaicin 及び細胞外 Na^+ 濃度低下により$[Ca^{2+}]_i$ 増加反応が見られた。cTRPV1

遺伝子発現細胞において，細胞外 Na^+ 濃度低下により外向き整流性電流が生じた。また，マウス TRPV1 とは異なり，cTRPV1 の Capsaicin，酸及び細胞外 Na^+ 濃度低下による反応は TRPV1 阻害薬により殆ど抑制されなかった。TRPV1 の主要な酸感受性部位を変異させた cTRPV1 では，細胞外 Na^+ 濃度低下による反応が著しく減弱していた。ニワトリヒナへの Capsaicin，酸及び低 Na^+ 溶液の適用により，疼痛関連行動が生じた。

以上の成績から, cTRPV1 は哺乳類とは異なり, Capsaicin 感受性が著明に低かったが, 哺乳類と同様に細胞外 Na^+ 濃度により制御されていることが明らかになった。更に，両種におけるチャネル活性には阻害薬の作用に違いがあったことから，cTRPV1 の機能解析は，阻害薬の作用点を解明する上で有用な情報を提供することと考えれられる。

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

西山和宏（九州大学大学院 薬学研究院 生理学分野）

［目的］

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。昨年度までの成果により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。本年度は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）にて作製した。

［方法］

iGONAD 法（経卵管ゲノム編集）

gRNA は CHOPCHOP にて設計した。

マウスは C57BL/6J（雄雌ともに 8 週齢）を用いた。1 匹の雄につき，2 匹のメスを交配させ，膣栓を確認したメスマウスを実験に使用した。メスマウスを三種混合注射薬の腹腔内注射により麻酔し，背部を切開し，卵巣，卵管を体外に露出させた。マイクロマニピュレーターにより卵管膨大部に gRNA および Cas9，ssODN の混合物を 2 μl 注入した。卵管に対してエレクトロポレレーターにより電気刺激し, その後, 体内に卵巣, 卵管を戻した。この操作を左右両側の卵管，卵巣で行い，閉腹し，縫合した。その後，出産したマウスの遺伝子型をシークエンスにより確認した。

［結果］

20 匹の雌マウスを使用し, 1 匹の変異体マウス（P2Y6R C220S）の作出に成功した。P2Y6R C220S HET マウスは WT と比較して，体重や臓器重量に有意な差は認められなかった。

［結論］

今後は，本年度作製した変異体マウス（P2Y6R C220S）を用いて，慢性炎症（デキストラン硫酸ナトリウム誘発大腸炎モデル）や ITC の感受性に対する検討を行い，システイン修飾による P2Y6R 内在化機構の病態生理学的な役割を明らかにする予定である。

25. ショウジョウバエの腸における新規細胞 AnCell の電子顕微鏡による解析

Sa Kan Yoo，Hanna Ciesielski（理化学研究所 生命機能科学研究センター）
古瀬幹夫，大谷哲久（生理学研究所 細胞構造研究部門）

私たちは近年ショウジョウバエの腸においてこれまで発見されていなかった新規の細胞を発見し，AnCells と名付けた。AnCells が個体の中の栄養制御に関わることを見出していたが, 実際にどのような機能を持った細胞なのか

は未知であった。そこで, 古瀬教授との共同研究で AnCells を電子顕微鏡で観察することを行なった。実際には, 二度, 電子顕微鏡画像の撮影を行ない, 現在三度目の電子顕微鏡画像の撮影の準備をしている最中である。

一度目は，抗体などなしで，ショウジョウバエの腸の細胞の形から AnCells を推定してその細胞の電子顕微鏡画像を取得した。それにより，AnCells と推定される細胞は，ライソソームを多く保持していることが明らかになった。ただこの方法の問題点は，観察している細胞が本当に AnCells かどうかについては, 100 %の確信をえられなかったことである。したがって，AnCells を確実に同定するために，二度目の撮影では，AnCells をマークする ance 抗体を用いて，免疫電子顕微鏡法を行なった。免疫電子顕微鏡法においても，同様に AnCells はライソソームを多量に含むことが明らかになった。

この研究を行なっている過程で，AnCells を同定するのに，myo1D>GFP 系統を用いた時に GFP 抗体を使えることがわかり，その感度・特異度は，Ance 抗体を用いた時よりも高いことがわかった。現在，AnCells の同定をさらに確実にするために，myo1D>GFP 系統において GFP 抗体を用いて免疫電子顕微鏡法を行なっている最中である。GFP 抗体を用いた免疫電子顕微鏡法においても，ance 抗体を用いたものと同じような画像が撮影できれば, AnCells は間違いなくライソソームを多量に含む細胞であると結論づけることが可能になる。

AnCells は新しいタイプの細胞死（erebosis）を行なっている細胞であることが明らかになりつつ, 今回の共同研究により，erebosis に分子機構についての知見が深まった。

26. 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，久保山和哉，川瀬恒哉
（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）
松本真実（生理学研究所 電子顕微鏡室）
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，成体でも持続的に新たなニューロンが産生されている。産生された新生ニューロンは高速度で移動し，嗅球に到達後，成熟することで嗅覚神経回路の可塑性に寄与している。また，脳傷害後には，傷害部へと新生ニューロンが移動し，傷害後のニューロン再生に寄与する。しかし，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不明である。本研究では，連続ブロック表面走査型電子顕微（SBF-SEM）を用いて，新生ニューロンの周囲組織との接触・接着形態を網羅的に解析し，生体脳での高速移動に関わる微小環境との相互作用の形態学的特徴を明らかにすることを目的とし，以下の解析を行った。

① 集団移動する新生ニューロンの解析

新生ニューロンは，移動する際に鎖状の細胞塊を形成し，互いを足場にしながら集団的に移動する。また，移動中にはアストロサイトをはじめとする細胞群と相互作用する。SBF-SEM および 3 次元再構築法により，正常脳および傷害脳内を移動する新生ニューロン同士の接着状態の関係を定量的に解析した。また，新生ニューロンの集団移動時におけるアストロサイトとの相互作用について解析した。

② 出生時イベントによる幹細胞ニッチの構造変化

出生時イベントが，その後の脳室下帯における神経幹細胞および周囲の細胞群の形態に与える影響を SBF-SEM および 3 次元再構築法により解析した。

③ 新生ニューロンとミクログリアの相互作用

嗅球まで移動してきた新生ニューロンは，鎖状移動から単独移動へと移動形態を変化させ，嗅球内をさらに移動し，停止後にシナプスを形成する。SBF-SEM および 3 次元再構築法により，ミクログリアと新生ニューロンのシナプスの相互作用について形態学的特徴を定量的に解析した。

27. ショウジョウバエ上皮の細胞間接着およびアクチン細胞骨格の電子顕微鏡観察

杉村　薫，井川敬介（東京大学 理学系研究科）
大谷哲久（生理学研究所 細胞構造研究部門）

細胞配置換えは形態形成や創傷治癒を駆動する非常に重要なプロセスである。細胞配置換えは細胞接着面の収縮，細胞頂点の組み換え，新生細胞接着面の伸長の三段階で進行する。このうち，細胞接着面の収縮と伸長が myosin-II により駆動されることがわかっている一方で，細胞頂点の組み換えのメカニズムの解析は遅れている。提案代表者と共同利用研究者は以前，細胞頂点の組み換え時に myosin-II が細胞接着面から乖離してリング様の構造を一過的に形成すること，ミオシンリングを正しいタイミングで形成することが細胞配置換えの進行に必要であることを報告していた。しかしながら，リング内部のアクチン細胞骨格ネットワークなど，ミオシンリングの微細構造は不明である。

本研究は，細胞頂点の組み換え時に形成されるミオシンリングの微細構造を電子顕微鏡観察により明らかにすることを目的とする。細胞構造研究部門に滞在し技術指導と観察を実施する予定であったが，新型コロナウィルス感染症拡大のために長期出張が困難となった。そこで，提案代表者の研究室からショウジョウバエ上皮組織サンプルを送付し，細胞構造研究部門で電子顕微鏡観察用のサンプルを調整した。これまでに，ショウジョウバエの蛹から翅上皮を単離し，定法に従い 2.5 % グルタールアルデヒドと 2 % PFA の混合液により固定したサンプル，もしくは Tilney らによってアクチン細胞骨格の可視化に用いられてきた 2 % グルタールアルデヒドで固定したサンプルを調整し，包埋した。包埋に当たっては上皮組織の水平面の切片の取得を容易にするため，シリコン円形板もしくはアクラフィルムを用いた包埋を行った。今年度はサンプルの包埋まで完了することが出来たため，次年度以降に超薄切片の作成と微細構造の観察を進めていく予定である。

28. 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。これまで慢性ストレスによる認知情動変容の細胞生物学的基盤として神経細胞の樹状突起萎縮が重要と考えられてきた。その要因としてミクログリアの活性化を伴う脳内炎症やストレスホルモンである副腎皮質ホルモンの亢進が重要であることが知られているが, 神経細胞内のメカニズムには不明な点が多い。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の形態と細胞内小器官を同時に可視化し, ストレス病態における組織細胞生物学的変化の実態解明を目的とする。

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，慢性（10 日間）のストレスに供したマウスもしくはコントロール群のマウスから脳を回収し，SBEM (Serial block-face electron microscopy) により前頭前皮質の連続電顕画像を取得し，樹状突起とスパイン, シナプス並びにシナプス周囲のグリア細胞, スパインや軸索付属の細胞内小器官の三次元再構成を行ってきた。その結果，慢性ストレス後においては細胞体から伸びる樹状突起全長の長さが短くなること, 一方で樹状突起分枝一本ずつの長さには差が見られないことを見出した。また，樹状突起内のミトコンドリアの長さが短くなり過剰分裂型を呈することが分かった。ミトコンドリアの過剰分裂型は酸化ストレスや細胞死シグナリングとの関連性が深い。そのためこれらの知見は慢性ストレスがミトコンドリアの細胞死シグナリングを介して樹状突起分枝の欠失を招く可能性を示唆する。現在はこれらの知

見に加えシナプス周囲の細胞内小器官や神経グリア相互作用に関する形態解析を継続中である。また，これまで得られた知見に関してはその病態における役割を調べるため薬理学的・分子生物学的操作を加えることによりストレス病態を克服できるかどうか調べている。

29. 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）やマクロファージの観察・分類への SBF-SEM の有用性を検証してきた（Mantani *et al*., 2019; 2021 他）。本研究では昨年度から引き続き，SBF-SEM を用いることにより，ラット腸管各領域の粘膜固有層に加え，成獣および各胎齢マウスの小腸の粘膜固有層における様々な細胞群の三次元的観察を実施することを目的とした。ラットの腸管各部位および成獣および各胎齢マウスの小腸を樹脂包埋し，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，各種細胞の三次元解析を行い，以下の成果を得た。

1) ラット大腸における FBLC の部位差に関する研究

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 が存在することを定量的に明らかにした。この結果を踏まえ，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。以上の結果から，とくに大腸腸陰窩周囲の FBLC の数や種類は部位によって異なることが示唆された（第 163 回日本獣医学会学術集会にて公表，論文投稿準備中）。

2) マウス小腸粘膜における神経ネットワーク形成過程に関する研究

各種胎齢のマウス小腸粘膜における神経ネットワークの形成過程を明らかにするため，断層データを取得した。それらのデータを現在三次元構築中であり，得られた成 果は来年度以降，各種学術集会で公表するとともに，学術雑誌に投稿・公表予定である。

30. ヒト副腎皮質疾患における mitophagy および細胞内小器官の超微形態学的変化に関する検討

山﨑有人 [1]，高木孝士 [2]，笹野公伸 [1]，尾形博子 [1]，Gao Xin[1]
([1] 東北大学大学院 医学系研究科 病理診断学分野)
([2] 昭和大学 電子顕微鏡室)

本研究計画ではヒト副腎皮質細胞においてステロイド合成能に重要な役割を持つミトコンドリア等の細胞内小器官に現れる細胞老化に伴う変化（mtDNA damage や mitophagy）及び，ステロイドホルモン過剰に伴う臓器障害機構を検討し，ヒト副腎皮質疾患における病態病理を解明する事を目的とするものであり，東北大学病院にて上記症例の臨床診

断にて手術施行時に採取された手術検体の一部より 3 次元的超微形態学的解析用の試料を採取し，生理学研究所のミクロトーム組込み型走査電子顕微鏡（SBF-SEM）を用いて連続切片画像取得と 3 次元再構築を行い，ミトコンドリアの fusion, fission 等の形態学的変化および mitophagy 等の細胞内小器官の interaction を立体的にイメージング化するものである。

今年度は COVID-19 流行により，来所回数が当初の予定よりも減少したが，東北大学病院で原発性アルドステロン症組織 2 例の検体採取後，ミクロトーム組込み型走査電子顕微鏡（SBF-SEM）での観察に最適な試料作製プロトコルの検討を行い，次回来所時の SBF-SEM 観察対象領域の選定，面出しの作業を行った。来年度以降も継続課題として採択されており，次回来所時に SBF-SEM で該当箇所を検討する予定である。本年度は来所が困難であったため，原発性アルドステロン症, Cushing 症候群等の対象症例に対する細胞老化マーカーやステロイドホルモン合成酵素の免疫組織化学的検討等を主体に東北大学で予備検討を進めた。

31. 生後環境による神経細胞の超微細構造の変化を深層学習で効率的に解析する

篠原良章（自治医科大学 組織学）

自治医科大学では電顕データの解析用に強力な GPU を積んだ Linux ワークステーションやサーバを用意し，docker 環境を構築することで，必要に応じて複数の深層学習のライブラリを使用可能にした。これらの機器を用い，生理研での受け入れ担当者の大野先生が岡崎の 3D 顕微鏡で取得されたデータからオルガネラの自動解析を行っているところである。

オルガネラ解析は具体的には２つの方法で行っている。

１．既に生理学研究所電子顕微鏡室の浦久保先生が公開されている UNI-EM を用い，GUI 環境でさまざまな既存の深層学習のニューラルネットワークを用いオルガネラの自動抽出を行なう。

２．カスタムのニューラルネットワークのコーディングを行い, Jupyter Notebook 上で逐次コードを走らせることで自動抽出の計算速度や精度をテストする。この方法では，現在ではよく知られている深層学習ネットワークである U-Net を用いて解析を行っているが，新しい深層学習ライブラリやニューラルネットワークを自由に試すことが可能である。なお，U-Net でも核やミトコンドリアのような電顕上で特徴的なコンテクストを持つオルガネラの場合は detection のエラー率が 2-3 %以内であり，実用上も差し支えないレベルにある。

２の方法では，ネットワークのパラメータや画質をさまざまに変えてテストしてみたが, 2000 枚程度の電顕画像からの核の自動抽出に要する処理時間は 1 時間程度であった。しかし，この計算は CPU のみで行うと 1 日程度の時間を要することが分かった。つまり，自動解析の成否は，使用する計算環境に大幅に依存する。今後は，１．私が使用している計算環境でどの程度の画素数の画像まで対応できるか，２．現在は深層学習フレームワークの Tensorflow ver1/Keras を導入しているが，他のライブラリでは検出精度はどう変わるか，３．オルガネラ抽出の正確さを上げるにはどうしたらよいか，４．シナプスなど他のオルガネラにも使用できるか，などの問いに答えていきたいと考えている。

32. 原索動物神経回路の三次元超微細形態学的解析

岩﨑広英（群馬大学大学院 医学系研究科）
大野伸彦（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）

脳の高次機能は神経細胞が互いにシナプスを介して他の神経細胞とネットワークを形成することで実現する。したがって，神経細胞の結合様式の網羅的解析（コネクトーム解析）は個体レベルにおける神経回路レベル

で理解する上で重要である。本研究では，原索動物の一種であるマボヤ（Halocynthia rorezi）の幼生の神経回路の網羅的解析を目指した。マボヤ幼生を用いた理由としては，①神経回路が比較的少数の神経細胞により構成されること，②既にコネクトームが解明されている線虫(C.elegans)と同様，全ての胚が個体によらず同一の発生様式を示すこと，が挙げられる。当初の計画では所属機関において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）による観察を行う予定であったが，新型コロナウイルス感染症の流行に伴う所属機関による出張自粛要請等のため来所できなかった。そのため本年度は所属機関の透過型電子顕微鏡を用いて，染色法をはじめとする試料作製の条件検討を行った。今後は生理学研究所の SBF-SEM での観察に最適の試料作製法について検討し, SBF-SEM によるマボヤ幼生の三次元再構築像の取得を目指す。最終的に得られた電子顕微鏡の三次元再構築像より神経細胞のセグメンテーションを行い，マボヤ幼生における神経回路の結合様式について網羅的に明らかにする。

33. 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）
大野伸彦（生理学研究所 生体機能調節研究領域 超微形態研究部門）

ニューロン間のシナプス結合は様々な情報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。昨年度は，DAB 染色が不十分であることが分かったため, 染色等の最適化を行った。本年度, 最適化された条件を用い大脳皮質を観察したところ，APEX2 により核標識されたニューロンを見出し，そのニューロンの細胞体, 及び樹状突起の内部オルガネラ構造を観察することに成功した。さらに，SBF-SEM によりの非常に axial 方向に解像度の高い（25 ナノメートル程度）画像を取得することに成功した。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。

34. 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，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）

家族性中枢性尿崩症（FNDI）は緩徐に進行する尿崩症症状を呈する常染色体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。さらに，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 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。本研究では，ERAC と ER およびライソソームの構造的相関性を SBF-SEM を用いて明らかにすることを目的とした。

3 ヶ月齢雄性 FNDI マウスを麻酔下に灌流固定し，脳を摘出後にブロック染色，樹脂包埋試料を作製し，AVP ニューロンが局在する視床下部の視索上核を対象に Serial block-face scanning electron microscopy(SBF-SEM) による連続画像の取得と 3 次元微細構造の解析を施行した。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。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。すなわち ERAC は周囲の ER と連続性を有すると同時に細胞質の Lysosome に接続しうる構造と考えられた。

また，一部の ER 内には ERAC を形成する前段階の比較的小さな凝集体が蓄積しており，これらに対してもライソソームが融合している像が観察された。この結果は，ERAC 形成の早期の段階からライソソームによる凝集体の分解が行われていることを示唆すると考えられた。

以上より，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 の内部で分解されていることが明らかとなった。

35. 神経幹細胞からニューロン，グリア細胞への分化過程の形態学的解析

後藤仁志，小野勝彦（京都府立医科大学大学院 神経発生生物学）
大野伸彦（自然科学研究機構 生理学研究所 超微形態研究部門）

発生期の神経幹細胞は分裂を繰り返しながら，分化した細胞を産生する。分化した細胞は，幹細胞とは異なる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。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が，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。サンプリングの手法などを検討した結果，胎生 15 日齢の大脳皮質の表層にある神経幹細胞の仮足において多数のグリコーゲン顆粒が鮮明に観察された。現在，セグメンテーションを行うことで，その 3 次元的な分布を解析中である。

小野は，生後 4 日目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。今年度は，前年度までに 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 再構築を行った。アストロサイト・オリゴデンドロサイト前駆細胞・ミクログリアなどの視神経に存在するグリア細胞の種類によって異なる特徴を見出している。今年度は，繊毛・小胞体・ゴルジ体などについても個別にセグメンテーションを行い，それぞれの細胞種における分布を解析している。また，これらのセグメンテーションデータを用いて生理学研究所の Amira ソフトウェアを用いて形態を示すための動画を作製した。現在，これらの特徴的な構造に関するデータを取りまとめているところである。

36. 精子完成における細胞内小器官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）

精子完成では，減数分裂後に半数体の精子細胞の形態変化が生じる。精子完成中には，精子への形態変化に伴い，細胞内小器官の数や分布が大きく変化する。2 次元での解析を通じて，従来はその動態を解析してきたが，その 3 次元的解析についてはほとんど明らかになっていない。また，精子や精巣は，酸化ストレスに感受性が高いことが知られており，酸化ストレスにおける精子完成での細胞内小器官，特に，ミトコンドリアの挙動を SBF-SEM を用いて三次元微細構造レベルで明らかにすることを目的とした。Wistar ラットを用いて，虚血・再灌流による精子形成障害を生じた精巣と，コントロール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精子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精子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 50nm ごとの連続画像を得た。得られた連続画像より，先体を指標に精子細胞を同定し，5 個の精子細胞を解析した。これまでに，コントロールの精子細胞について，ミトコンドリアの数が，428.1 個であることが分かった。

酸化ストレス後の精巣については，本年度の計画共同研究で集中的に観察する予定だったが，新型コロナウイルス感染症により，生理学研究所への来所が困難になり, 顕微鏡観察を実施することができなかった。

37. 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 structural information of antibody - receptor binding is essential for drug design. However, because of the size and molecular dynamics of antibody, less of single antibody structure had been solved by cryo-EM in high resolution in the present. To address this issue, ZEM embedded cryo-EM and detergent-containing sample preparation may provide niches to help antibody single particle reconstruction. In this study, we used rituximab, a commercial therapeutic antibody for as a target to demonstrate the results.

To overcome the non-specific aggregation effect of antibody in our previous report (**Figure 2**), we introduced detergent into cryo-sample to provide better sample distribution, and better ice thickness (**Figure 1**). With the better quality of cryo-sample, the power of contrast-enhancement of ZEM can be carried out. Based on our lately results, the Y shape and Fab domain can be identified not only in 2D classification (**Figure 3**), but also in 3D reconstruction. Due to high dynamic, the Fc domain can be only observed in 2D view. (**Figure 4**.)

Since the rapid iteration of cryo-EM structure determination era comes, on-the-fly analysis is necessary to survey sample quality in the begging state screening session. And, ZEM is a powerful observation tool for low-contrast or small particles. We hope this combination application can accelerate the development of structural pharmacology.

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).

Imaging cryo sample of antibody with and without detergent (DDM)

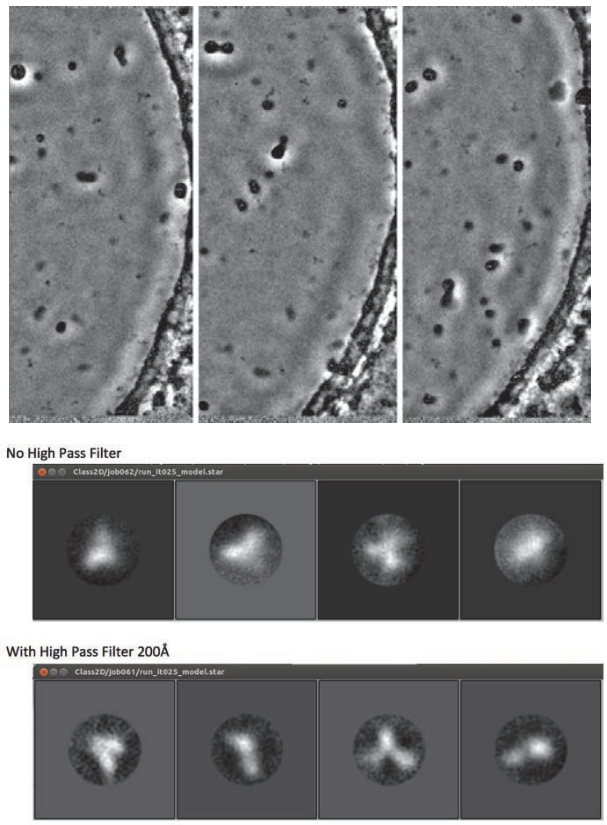


Figure 1. A ZEM image of Rituximab and the 2D classification assisted by high-pass filtering.

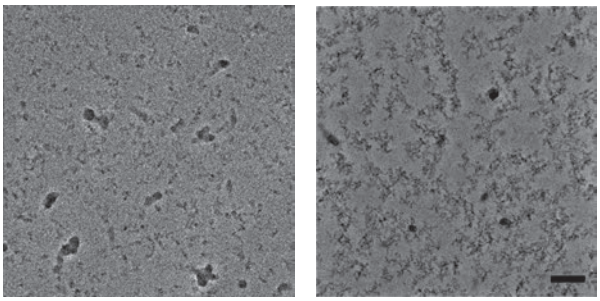


Figure 2. Imaging cryo sample of antibody with and without detergent (DDM).

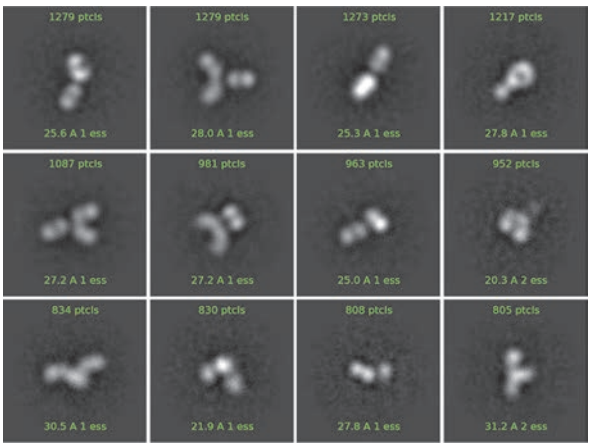


Figure 3. Extending the condition surveyed with ZEM, the 2D classification by auto-collecting system with another type of phase plate shows equivalent results.

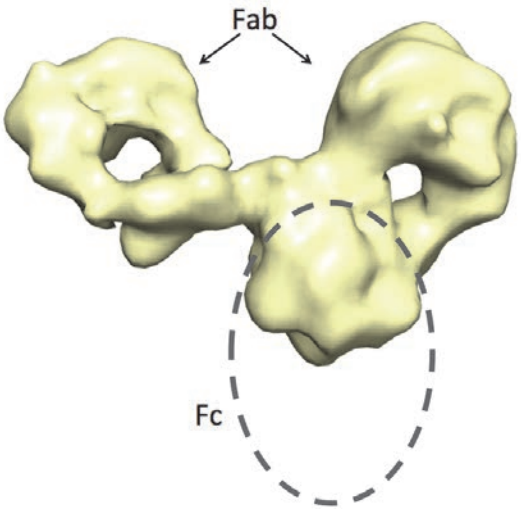


Figure 4. The domain of Fab on the Y shape of antibody can be recognized in the 3D reconstruction.

38. 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，アベイナヤカ ダミタ（埼玉大学 教育学部）
ゴーシュ イリカ（埼玉大学 理工学研究科），ソン チホン，村田和義（生理学研究所）

桿状のシアノバクテリア（*Synechococcus elongatus* PCC 7942）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。この系を用いることにより，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，さらに細胞中央部に棒状に集積したカルボキシソームの周囲にDNAの凝集構造が形成されること，などを明らかにしてきた。

今回，特定の濃度の亜鉛イオンを含む水溶液中でシアノバクテリア DNA の凝集構造が形成されることが新たに明らかになった。蛍光顕微鏡による観察では DNA の凝集構造は特定の濃度の亜鉛イオンを含む溶液に 20 分から 30 分間懸濁することにより形成され，その後 DNA は徐々に元の拡散状態に復帰した。しかし，亜鉛イオンに加えて銅イオンが存在する水溶液中では, DNA の凝集構造は 1 時間後も維持された。亜鉛イオン，銅イオンに加えてニッケルイオンが存在すると，1 時間後には細胞内のチラコイド膜やタンパク質構造などは著しく破壊されるが, DNA は凝集構造を保ったまま維持されることが分かった。

この系を用いて低温位相差電子顕微鏡観察することにより，シアノバクテリア DNA の凝集構造を観察することを目指した。亜鉛イオンと銅イオンを含む水溶液で 1 時間処理したシアノバクテリアを急速凍結して低温電子顕微鏡観察したところ，細胞中央部に一定の太さの繊維状構造がコイル状に配列する様子を可視化することができた。この繊維やコイル状の構造は，DRAQ 染色により，細胞分裂に先立つ凝集状態の DNA を電子顕微鏡で可視化した際に観察される繊維やコイル状の構造と似ていた。

今後，亜鉛イオンに加えて銅イオンやニッケルイオンを含む水溶液中で処理したシアノバクテリアを用いて，チラコイド膜やタンパク質が破壊されるなかで，選択的に維持される DNA の凝集構造を観察していきたい。電子線トモグラフィーを行うことにより, DNA 凝集構造の詳細な立体像を明らかにすることが可能となる。さらに, 亜鉛イオンにより誘導される DNA 凝集構造と，細胞分裂に先駆けて形成される DNA 凝集構造の比較観察を行い，シアノバクテリアにおける DNA 凝集構造形成のメカニズムと意義の解明に迫りたい。

39. 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）
宋　致宏，村田和義（生理学研究所）

【背景・目的】多くの巨大ウイルスは「ウイルス工場」と呼ばれる宿主細胞内構造体を形成するが，申請者が近年，温泉水より分離した 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ている。さらに，申請者が近年，千葉県の淡水から採取したミミウイルスの一種 cotonvirus は，宿主細胞の細胞質において，ゴルジ体様構造の一部を利用してウイルス工場を作り出すことが示唆されている。そこで，超高圧電子顕微鏡を用いてトモグラフィー解析を行い，cotonvirus のウイルス工場形成過程の三次元構造解析を行うことが極めて有用であると考え，本研究課題を申請することとした。

【方法】東京理科大学において cotonvirus を感染させたアカントアメーバ細胞を調製した。まず, 経時的に cotonvirus を感染させて調製した cotonvirus 感染アカントアメーバ細胞を，化学固定して樹脂に包埋し，東京理科大学において透過型電子顕微鏡解析に供し，cotonvirus のアカントアメーバ細胞内での感染サイクルを明らかにした。これによって, ゴルジ体様構造がウイルス工場周辺にみられる時期を特定し, その時期に包埋した樹脂サンプルを生理学研究所に送付して, 生理学研究所において適当な厚さの切片に薄切して超高圧電子顕微鏡および200kV STEM トモグラフィー解析に供した。cotonvirus ウイルス工場周辺を映し，得られたトモグラフィー画像から 3D 再構築を行い，cotonvirus ウイルス工場の構造的な特徴を検討した。

【結果】

Cotonvirus のウイルス工場は，ほかのミミウイルスよりも若干遅く感染後 4 時間あたりから形成されはじめ，20 時間ほどで成熟することがわかり，このうち感染後 8～12 時間あたりの初期ウイルス工場の周辺には, アカントアメーバのゴルジ体と思われる細胞小器官が配置されていることが明らかとなった。

そこで, 感染後 8～12 時間のアカントアメーバ細胞につ

いて厚切りトモグラフィーを行い, ウイルス工場とゴルジ体様構造周辺の立体的位置を検討したところ, ウイルス工場とゴルジ体様構造との間には, ところどころで連結されている部分や, 完全にウイルス工場とは離れている部分が混在していることが明らかとなった。

さらに，ゴルジ体膜に局在することが知られている GM130 タンパク質に対する抗体で cotonvirus 感染細胞を観察すると, 成熟したウイルス工場周辺が同抗体で強く染色されたことから，cotonvirus は，そのウイルス工場の形成にゴルジ体を利用するとともに，GM130 を含む膜が成熟したウイルス工場の形成に必要であることが示唆された。

40. 先端電子顕微鏡による海底微生物の細胞構造解析

井町寛之，小河原美幸（海洋研究開発機構）
村田和義，ソン チホン（生理学研究所）

提案代表者の井町は新規な培養手法を使うことによって，これまでだれも培養することができなかった海底下に優占化して存在することが予見されていたアーキアやバクテリアの培養に成功している。これら海底から培養されたアーキアやバクテリアは生態学，進化学および分類学的な観点から重要であり，その細胞や生理学的特徴の詳細を把握することは生物学の基礎的知見を大きく拡充することに繋がる。これら培養に成功しているいくつかの微生物は光学顕微鏡あるいは薄片化サンプルを使った透過型電子顕微鏡による観察において特徴的な細胞構造を有するものが存在している。本共同研究ではこれら微生物のさらなる詳細な細胞構造を解明するために，低温位相差電子顕微鏡を用いることで生きた状態に近い状況の細胞を高分解能で観察を行うことを目的とする。今年度は，真核生物誕生の鍵を握るとされているアスガルド類アーキア群の初めての分離株である MK-D1 株について, (1) 共生相手となる他種微生物細胞の認識に重要な役割を果たすと考えられている細胞表層に存在する Surface layer (S 層) の構造と, (2) 細胞外部に伸ばす特徴的な突起構造について低温位相差電子顕微鏡を用いた観察を行った。

約 2L の嫌気海水培地で約 3 ヶ月間 MK-D1 株を培養した。定量 PCR により増殖を確認した後に，嫌気チャンバー内で孔径 0.2 μm のフィルターろ過により培養液を 5 ml に濃縮した。濃縮したサンプルは嫌気的に保存し，直ちに生理学研究所に持ち込んだ。現在，試料を氷包埋しクライオ電子顕微鏡観察を行っているが，細胞自体の数が少ないため，まだ目的の場所に到達できていない。今後，試料の濃度を上げる工夫をし，再度，挑戦する予定である。

41. インフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼと阻害抗体複合体のクライオ電子顕微鏡単粒子解析

朴　三用（横浜市立大学）

2010 年度に大流行した新型インフルエンザウイルスの亜型は H1N1 であった。今後，別の亜型の新型インフルエンザウイルスが出現する可能性はあるが，どのように変異を繰り返してどのような亜型が出現するのかを予測することは不可能に近い。これに対して，RNA ポリメラーゼはウイルスの複製（増殖）に必須であるため，RNA ポリメラーゼの変異の多くをウイルスそのものが許容できない。実際，すべてのインフルエンザウイルス亜型の RNA ポリメラーゼのタンパク質は, 96%以上アミノ酸が保存されており，変異が極めて少ないタンパク質である。我々は，RNA ポリメラーゼの PA/PB1 サブユニットと PB1/PB2 サブユニットの複合体での構造解析に世界で初めて成功した。PA/PB1 サブユニット結合領域は，サブユニット同士が鍵と鍵穴のような形であった。

本課題ではインフルエンザ RNA ポリメラーゼに特異的に結合し，細胞内でウイルス増殖を阻害するモノクロ

ーナル抗体の取得に成功した。そこで本共同研究では，生理学研究所のクライオ電子顕微鏡を用いた単粒子解析によって，インフルエンザ RNA ポリメラーゼと阻害抗体との複合体立体構造解析を行い，その結合様式やウイルス増殖阻害の作用機序を明らかにすることを目的として研究を進めていく。しかし，昨年度から，新型コロナによる研究の制限などにより，研究が進まず，試料の調製もできてない状態である。

今後，改善に向け，準備を行っている。

42. 緑藻クラミドモナスの光化学系 II 超分子複合体の構造解析

皆川　純，得津隆太郎，渡邉顕正（基礎生物学研究所 環境光生物学研究部門）
宋　致宏，村田和義（生理学研究所 形態情報解析室）

植物は，様々な光環境に適応しながら光合成を行う。特に，光合成反応の許容量を超過するような光の下では，余分な光エネルギーを熱に変換して捨てる NPQ と呼ばれる光環境適応を行う。申請者らは最近，この NPQ は光化学系 II 超分子複合体に LHCSR と呼ばれるタンパク質が結合した時に起きることを見いだした。本研究では，光化学系 II-LHCSR 超分子複合体の構造解析を行う事で，NPQ の分子構造基盤の解明を目指す。

PSII-LHCSR 超分子複合体は，葉緑体チラコイド膜中に少量しか形成されないため，X 線結晶構造解析のような超高解像度解析は極めて困難である。そこで本研究では，クライオ電子顕微鏡観察を用いたタンパク質単粒子解析を行い，その高次元構造を明らかにすることが不可欠である。

緑藻クラミドモナスに強光を照射しチラコイド膜を精製する。得られたチラコイド膜を界面活性剤を用いて可溶化および安定化し，ショ糖密度勾配超遠心法により膜タンパク質超複合体として PSII-LHCII-LHCSR 複合体を精製することができた。これを速やかに生理研へ運び，即座に氷包埋試料グ リッドを作製し，クライオ電子顕微鏡観察により粒子画像を取得した。結果，安定で相同な形状の粒子像を得ることができた。今後，このグリッドを用いてハイエンドの 300kV クライオ電子顕微鏡により高分解能の粒子画像を収集し，単粒子解析を行って PSII- LHCII-LHCSR 複合体の 3 次元構造を解明する予定である。

43. 植物寄生性線虫の感染部位の微細構造解析

古賀博則（石川県立大学 生物資源環境科学部）
ソン チホン，村田和義（生理学研究所）

１．はじめに

ダイズシストセンチュウはダイズ根に侵入後，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。一方，これまで一次細胞壁を内側に突出することにより, その表面積が増大しているという現象（cell wall ingrowth）が知られている。道管に接したシンシチウムが cell wall ingrowth を形成することにより, 細胞壁の表面積を著しく増やし, 道管からシンシチウム内へアポトーシスによる養水分の流入を増やしているものと考えられる。本年度は，この cell wall ingrowth とその近傍に存在する管状の滑面小胞体との関係を超高圧電顕で三次元的に解析した。

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

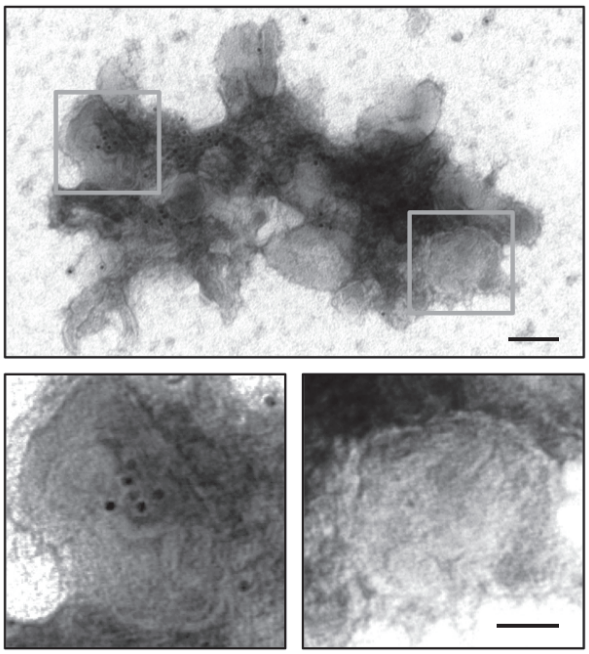
オスミウム浸軟処理した試料の電界放射型走査電顕観察および超高圧電顕観察画像のトモグラフィー解析でも，根の道管に接したシンシチウム内の細胞壁には著しい肥厚が認められるとともに，細胞壁がシンシチウム内に枝状に突起し，部位によっては網目状となって，表面積を増やしていた。これらの細胞壁の突出部位の間隙や近傍には管状小胞体が多数観察された。これらの観察結果から，細胞壁の肥厚および突起構造の形成は，細胞壁の体積を増やすことにより，アポプラストのはたらきを高め，道管からより多くの水やショ糖等をシンシチウム内に取り込んでいるものと推察される。これらの養水分は cell wall ingrowth の内側に大量に存在する管状小胞体に吸収され，線虫が養水分吸収のために口針より宿主細胞内に突出した feeding tube まで管状小胞体によって運ばれ，最終的に線虫体内に入るものと考えられる。

44. 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）
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。しかしながら，オキシトシン・ニューロンにおける CD38 の膜局在は不明である。そこで本研究では，クライオ電子顕微鏡（電顕）法を用いて，CD38 の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，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（2019 年度報告書）。そこで，この精製サンプルを炭素コーティングしたフォルムバール膜へ塗布し，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）。つまり，金粒子がつくもの，つかないものが混在する傾向がみられ，オキシトシン・ニューロン由来の分泌顆粒が特異的に CD38 を発現していることが示唆された。今回，N 末端抗体についても同様に解析したが，顕著な免疫陽性反応は観察されなかった。これらのことは，CD38 が C 末端部を分泌顆粒の外に配置する膜トポロジーであることを支持する。



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。免疫陽性反応は C 末端抗体でのみ観察された。ネガティブ染色。スケールバー ＝ 100 nm; 50 nm（拡大図）

45. 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，万　育萌（神戸大学 理学研究科）
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。

これまでの研究から以下がわかっている。キネトシストは，直径約 300 nm のユニークで複雑な分泌性のオルガネラである。静止状態では，キネトシストは外側の細胞膜と内側のキネトシスト膜に囲まれている。その中心には，2 つの球状構造が連なったコア構造がある。2 つの球状構造は短い連結構造で結ばれている。餌の捕獲時にキネトシストが排出されると，キネトシストの内部の構造体が漁網のように広がり，特徴的なリング状の構造が出現する。この構造は，内外に伸びるフィラメントを伴った 96 個の要素が連結した円形のはしご状の構造である。また，これらのフィラメントは餌生物の体表に存在する β-1,3 グルカン分子に対して結合性を示す MVP タンパク質を含んでいる。

本研究では，これまで解析が進んでいなかった，分泌前のキネトシスト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，放出後に形成されるリング状構造に相当する小型のリング構造が，分泌前のキネトシストの内部にも既に存在していることがわかった。また，このリング構造は，48 個のユニット構造が連結して構築されていることもわかった。また，これまでは不定形の物質と思われていたコア構造の周囲の構造は，細いフィラメントで構成されていることがわかった。これらの観察結果より，キネトシストの分泌に伴い，MVP から成るフィラメント構造を伴うリング構造が拡大し，餌に向かって放出されることが示された。

46. ドレブリン遺伝子改変マウスにおける多光子励起レーザー顕微鏡を用いたシナプスの長期 in vivo イメージング解析

花村健次，瀬川万里（群馬大学大学院 医学系研究科）
鳴島　円，鍋倉淳一（生理学研究所）

興奮性シナプス後部のアクチン結合タンパク質であるドレブリンは, アルツハイマー病のヒト死後脳で減少している。このドレブリンの減少は，シナプスや神経細胞数の減少に先行して起こると考えられている。シナプス後部のドレブリンは, X 線照射による認知機能低下に伴って減少することもマウスを用いた実験で明らかとなっている。ドレブリンの遺伝子改変マウスにおいて加齢依存性の学習障害やシナプス可塑性の異常を見出している。この異常は, 興奮性シナプスが形成される樹状突起スパインやスパイン内のアクチン細胞骨格の不安定化が引き起こしていると考えた。この仮説を検証するため，ドレブリンの生体脳におけるスパイン形態変化やアクチンの動態に与える働きを解析することを目的とした。

本年度は生体脳におけるスパイン形態変化を安定して解析するために, マウスにおいて長期 in vivo イメージング用の観察窓作成の技術習得と樹状突起スパイン構造の観察を行うことを試みた。見学した手術の手技を踏まえて，手術の練習と生体脳における神経細胞の観察を行った。新型コロナウイルスによる非常事態宣言や群馬県での警戒レベルなどの影響により，大学内での実験に制限が出たこともあり，コンスタントに実験を行うことは難しかったが，試行錯誤しながら実験を進めた。マウスの週令や，観察窓の作成過程での歯科用セメントや樹脂等の塗布量を調節することで長期的な観察ができた個体も見られたが，安定して観察することが難しかった。当初予定では生理研にて長期 in vivo イメージング用の観察窓作成の技術習得と樹状突起スパイン構造の観察を行う予定であったが，新型コロナウイルスの感染拡大防止措置により生理研への来所が困難であったため，群馬大学にて長期 in vivo イメージング用の観察窓作成と長期イメージングの技術習得を目指して研究を行った。具体的には，メールで対処法について相談したり，生理研で手術の動画を新たに作成して群馬大に送付し，樹状突起スパイン構造の観察における二光子励起レーザー顕微鏡のセッティングの細かい情報を共有するなど，きめ細かく情報共有を行った。この技術を応用して，X 線照射が樹状突起スパインに与える影響の予備的な実験データを得ることができた。将来的には，ドレブリンの生体脳におけるスパイン形態変化やアクチンの動態に与える働きを明らかに出来ると考えられる。

47. 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）

成体哺乳類の脳室下帯には，神経幹細胞が存在し，生涯にわたって新生ニューロンを産生し続ける。これらの新生ニューロンは，嗅覚の一次制御中枢である嗅球への移動し, 嗅球の抑制性ニューロンとして成熟する。一方, 嗅球ではニューロンが細胞死を起こして失われており，このような嗅球におけるニューロンのターンオーバーによって，嗅球の神経回路の構造や機能が維持されている。我々は，生理学研究所生体恒常性発達研究部門との計画共同研究により，多光子顕微鏡を用いた嗅球内の生体イメージング法を確立した。その技術を用いることによって，嗅球ニューロンを長期間追跡して観察することが可能となり，ニューロンのターンオーバーが嗅覚入力の影響を受けて時間的・空間的に制御されることを明らかにした。しかし，ニューロンのターンオーバーを制御

する仕組みはいまだ明らかとなっておらず，周囲の微小環境が新生ニューロンの定着過程に影響を与えていることが示唆される。本研究では，新生ニューロンの周囲に存在する，グリア細胞や血管の役割に着目し，ニューロンのターンオーバーを制御する仕組みを詳細に解析することを目的とした。

本年度は，多光子顕微鏡を用いて嗅球内の新生ニューロンの動態および血流を記録することで，新生ニューロンの移動と成熟における血流の役割を解析した。成体嗅球ではアストロサイトを介した血流調節の仕組みが報告されている。その仕組みを利用し，アストロサイトにおいて化学遺伝学的方法を用いることで，嗅球内の血流を長期間にわたって制御するための実験系を確立することに成功した。また，新生ニューロンの成熟過程では，ミクログリアとシナプスの相互作用を詳細に観察した。これらの結果から，ニューロンのターンオーバーがグリア細胞および血流によって調節されている可能性が考えられる。

48. 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（東北大学大学院 医学系研究科 生体システム生理学分野）
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，
The University of Chicago, Department of Organismal Biology and Anatomy）
深田正紀，深田優子（生体膜研究部門）
小林憲太（ウィルスベクター開発室）
南部　篤，知見聡美，佐野裕美（生体システム研究部門）

非ヒト霊長類を動物モデルとして神経活動の発振現象の発生メカニズムとその機能的意義を理解することを目指す。任意のタイミングにおける特定の神経活動の制御による効果的な脳波の修飾を可能にするために光遺伝学的手法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短潜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った。最近，私達はアデノ随伴ウィルスベクター（AAV-DJ-CAG-hChR2(H134R)/EYFP）によってサル一次運動野における光感受性タンパク（チャネルロドプシン）の高効率発現の成功を報告した。そこで本課題では神経活動の発振現象の一つである脳波に着目して，覚醒下の運動課題中において，脳波と同期した光刺激によって脳波の変調とサルの行動変化の関係について調査した。

実験は東北大学における国際共同研究推進プログラムの一環として共同研究連携機関であるシカゴ大学で実施した。上肢姿勢を一定時間（3.5 [sec]）保持する課題を習熟させたサルの一次運動野の上肢運動支配領域にウィルスベクターを注入し，続いて光ファイバーが結合された慢性埋込型多点電極を同部位に留置手術をした。実験では課題中にベータ波帯域(12-25 Hz)の脳波の発生頻度が大となるタイミングで光刺激を与え，約 2 か月間にわたり光神経応答を記録することができた。サル認知課題行動下における光刺激時の多点神経応答と運動行動の同時記録は世界的に報告が少ない。記録データセットの詳細な解析によって，サル一次運動野における神経回路ネットワークダイナミクスによるベータ脳波の発生メカニズムとその機能的意義の解明が期待される。

49. 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。2020 年度は 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（presynaptic KO），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がの入力依存性左右差が消失していることを確認した。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，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。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，シナプスにおける PirB を直接可視化することを試みたが，FLAG 標識を得ることはできなかった。現在，別のタグを付加した KI mouse の作成を検討中である。

50. 従来型解析にバイオインフォマティクスを取り入れた新規長鎖遺伝子の機能解明

増田知之（筑波大学 医学医療系）
小林 憲太（自然科学研究機構 生理学研究所）

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。新規に開発した遺伝子機能予測法によって，各遺伝子がどのような生命事象と相関性が高いか調べた結果，*mF1* が神経軸索ガイダンス事象に対して高い相関性を示すことが明らかとなった。

今年度は，ウイルスベクターを用いた異所性発現系で，*in vivo* における両分子の機能を調べた。各発生段階のニワトリ胚の様々な部位にアデノ随伴ウイルス（AAV）ベクターを注入し，ウイルスベクターの分布と導入効率を *in situ* ハイブリダイゼーション法で精査した。予想通り，用いる AAV の血清型によって，遺伝子発現の分布と導入効率に大きな差があり，現在最適な条件を検討中である。最適な AAV の系統および導入条件を明らかにしたのち，2 つの新規長鎖遺伝子を導入した際の神経系への影響を評価し，中枢・末梢神経系における両者の機能解明を目指したい。

51. 広視野 2 光子顕微鏡によるマウス大脳皮質広域 Ca^{2+} イメージングに向けたウイルスベクター開発と導入法の確立

上森寛元（理化学研究所 脳神経科学研究センター）
小林憲太（生理学研究所 ウィルスベクター開発室）

理化学研究所脳神経科学研究センター触知覚生理学研究チーム（チームリーダー：村山正宜）では，マウス大脳皮質を広域（3mm*3mm）に Ca^{2+} イメージングすることのできる 2 光子顕微鏡を開発している。広域に 2 光

子励起させるためには，高速でのレーザースキャニングが必須であり，そのために単位面積当たりの励起光滞在時間が短くなる。結果的に像の SN 比がトレードオフとなってしまう。この問題を解決する 1 つの方法として，明るい蛍光を発する Ca^{2+} センサー（GCaMP）を広範囲に発現させることが挙げられる。

本計画共同研究では，マウス大脳皮質に広範囲に GCaMP を発現させるウイルスベクターを開発し，その導入法・最適なウイルス濃度を検討することを目的とした。今年度は AAV（アデノ随伴ウイルス）によるセロタイプ DJ の GCaMP7.09 を組み込んだウイルスベクターの作成を小林先生に行っていただき，ウイルス濃度の検討を行った。結果，ウイルス濃度を下げていくと GCaMP の発現領域が狭まっていくこと，Ca^{2+}波形の decay が短くなることなどが分かった。本顕微鏡での観察領域を踏まえて濃度を最終決定し，本条件によって安定して広視野 2 光子 Ca^{2+} イメージングを行えることを確認した。また，同条件個体において LFP を計測することによって異常な脳波が生じていないことを確認し，マウスの脳切片の共焦点顕微鏡による観察によって大脳皮質の層構造が崩れていないことも確認した。以上のように，安定した広視野観察が可能な条件を整えることに成功したため，現在は行動実験下における広視野 2 光子 Ca^{2+} イメージングにも着手し始めている。行動実験ではマウスのトレーニングが必要となるため，長期（2 か月程度）で安定して 2 光子観察できることが求められるが，安定して GCaMP の発現が維持できていることを確認している。今後は広視野 2 光子 Ca^{2+} イメージングによる神経活動の記録に尽力し，生理データの取得・解析を遂行していく。

52. 認知課題実行時の神経活動動態の解明

松崎政紀，正水芳人（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）

霊長類マーモセットと齧歯類マウスを用いて，認知課題を構築し，課題実行中の大脳神経活動動態を高解像度の蛍光イメージング法を用いて計測するとともに，光遺伝学などの手法を用いて神経活動操作をすることで，認知・行動を実現する神経活動動態の原理の解明を目的とする。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。

2020 年度は，動物を課題装置に頭部固定状態で座らせ，覚醒時の認知課題遂行中における脳の神経細胞の活動を，2 光子励起顕微鏡による *in vivo* イメージングによって計測する系を立ち上げた。また，アデノ随伴ウイルスのセロタイプ 9（AAV9）がマーモセットの脳で強く発現することも確認した。今後，AAV9 でのベクター作製を依頼し，神経細胞の活動を光遺伝学的または化学遺伝学的に制御することによって，その際の動物行動変化を計測する予定である。

53. 光計測と光刺激を用いた脳機能作動原理の研究

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

本研究では，行動時の神経活動および形態変化を光計測によって明らかにし，それにより明らかとなった活動を光刺激によって制御することにより，脳の作動原理の解明を目的とする。その際にはアデノ随伴ウィルスベクターを用いた経路特異的な計測・制御を用いることで，これらを脳の回路レベルで理解する。

2020 年度は，本研究で作製したアデノ随伴ウィルスベクターを用いることで，動物が新しい運動技能を学習する際の，一次運動野（M1）におけるシナプス前部の構造変化について明らかにした（Hasegawa et al., *PLoS One*,

15(6): e0234930, 2020）。シナプスは，神経情報を出力する側のシナプス前部（軸索ブトン）と，入力される側のシナプス後部（樹状突起スパイン）の間の，情報伝達のための接触構造である。運動学習時，運動記憶に関連する新しい樹状突起スパインが，学習の初期段階で形成されると言われている。しかし，軸索ブトンがどのように形成され，排除され，維持されるのか，また，長距離の大脳皮質と視床皮質の軸索ブトンが学習中に異なる構造変化を示すのかについては，あまり理解されていなかった。そこで，マウス M1 の第 1 層（L1）に存在する長距離軸索ブトンを，ロータロッド課題の 7 日間の学習中に 2 光子イメージングで観察した。その結果，第二次運動野からの軸索ブトンの形成率は訓練期間中に増加するのに対し，運動視床からの軸索の消去率が減少していることが明らかとなった。特に，学習後期（4 日目から 7 日目）において視床由来の軸索ブトンの消失率は，訓練を受けていないマウスよりも低かった。これら結果は，M1 の視床軸索ブトンが学習後期において安定することが，運動技能の学習に寄与していることを示唆している。

また，上記のような長期的な学習依存的な効果について調べるにあたり，経路特異的な神経細胞の不活性化は有用である。そこで，DTR（ジフテリア毒素受容体）を経路特異的に発現可能とするアデノ随伴ウィルスについても本共同研究にて作製し，今後はその因果関係について実証を行う予定である。

54. 体液恒常性を制御する神経機構の解明

松田隆志（国立大学法人 東京工業大学）
小林憲太（自然科学研究機構 生理学研究所）

【研究の背景】

ヒトを含む陸生動物において，体液状態を一定に保つこと(体液恒常性)は生命活動を維持するうえで重要である。脳は常に体液状態を監視しており，水分・塩分欲求をコントロールしている。脳において，血液-脳関門が欠損している脳室周囲器官（CVOs）がその監視の場であり，水分・塩分欲求の制御に関与していることが示唆されているが，それぞれの制御を担う詳細な神経回路機構は完全には解明されていない。

我々は，これまでの研究において，CVOs の一つである脳弓下器官（SFO）に水分欲求を誘導するニューロン（水ニューロン）および塩分欲求を誘導するニューロン（塩ニューロン）を同定するとともに，それらの一次神経投射先を世界に先駆けて明らかにしてきた。塩欠乏状態では, SFO 内で GABA ニューロンの集団がコレシストキニン（CCK）に応答して水ニューロンの神経活動を選択的に抑制していることを明らかにした。しかしながら, CCK の分泌がどのように制御されているのかは不明であった。

【研究成果】

小林先生に調製して頂いたアデノ随伴性ウイルスベクターと CCK 産生細胞特異的に Cre リコンビナーゼを発現する遺伝子改変マウスを組み合わせることで，CCK 産生細胞選択的に光感受性チャネルを発現させることに成功した。その結果，SFO 内に CCK 産生ニューロンを同定し，それらを人為的に活性化することで水分欲求が抑制されることを明らかにした。

さらに，SFO の CCK 産生ニューロンに蛍光カルシウムインジケーターを発現させ，神経活動を観察したところ，少なくとも 2 系統の CCK 産生ニューロンが存在することを明らかにした。解析の結果，一方は体液中の Na^+ 濃度が低下した状態で持続的に，他方は水分を摂取した刺激に反応して一過性に，活性化されるものであった。いずれも水ニューロンの抑制を介して過剰な水の摂取を予防するシステムとして生物が獲得したメカニズムであると考えられた。

【発表論文】

Matsuda, T., Hiyama, T.Y., Kobayashi, K., Kobayashi, K., Noda, M. Distinct CCK-positive SFO neurons are involved in persistent or transient suppression of water intake. *Nature Communications*, 11, 5692 (2020).

55. 大脳皮質運動野から脊髄および大脳基底核へ投射する神経経路の機能解明

西村幸男，鈴木迪諒
（東京都医学総合研究所 脳機能再建プロジェクト）

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を形成している。しかし，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不明である。本研究提案では，ウイルスベクターを利用した遺伝子導入技術を用いて，上述の神経経路の機能的役割を明らかにする。これまでに興奮性DREADD（hM3D）を実装した逆行性ウイルスベクター（AAV2 retro-hSyn-hM3D(Gq)-mCherry）を提供していただき，これを 2 頭のマカクサルの下位頚髄（C7-8）に注入した。うち 1 頭において電気生理実験を実施した。イソフルランあるいはセボフルランによる吸入麻酔中に，人工リガンドを筋注後，一次運動野皮質内微小電極によって誘発される筋活動が増大することを確認した。また，麻酔中にも関わらず，筋の自発的発火が周期的に引き起こされていた。加えて，覚醒下において，人工リガンドを筋注後には上肢の複数の筋において振戦用の活動が生じた。また，2 頭のサルの灌流固定後の脳切片を用いて，免疫染色によってウイルスベクターの発現を確認した。その結果，一次運動野，運動前野背側部，補足運動野，一次体性感覚野などの代表的な皮質脊髄路起始ニューロンだけでなく，赤核からの起始ニューロンでもラベルが確認された。これら一連の結果は，頚髄へのウイルスベクター注入によって発現された運動性下降路の起始ニューロンが，人工リガンド投与後に活性化され，脊髄運動ニューロンへの入力が増大し，筋活動生成に貢献したことを示している。一方で，脊髄切片に対し，免疫染色を行ったところ，脊髄固有路ニューロン（C3-4）のラベル数は先行研究から想定されるほどのラベル数には遠く及ばなかった。また，先行研究で脊髄への投射が示されている青斑核，縫線核，A11 といったモノアミン領域でもウイルスベクターのラベルは認められなかった。以上を踏まえ，今回用いたウイルスベクターAAV2 retro は領域によっては発現性が乏しいが，随意運動制御の大部分に関わる皮質脊髄路の神経活動操作には大いに効果的な手法となることが示された。

56. 意欲行動における腹側海馬-腹側線条体回路の機能解明

田中謙二（慶應義塾大学 医学部 精神神経科学教室）
小林憲太（生理学研究所）

腹側線条体は，報酬系にかかわる脳部位として知られている。そのため，エサ報酬を目的としてレバーを押すオペラント行動（目的指向型行動，意欲行動）の制御においても腹側線条体は関わっている。本研究では，腹側海馬から腹側線条体へ至る投射が，意欲行動中にどのような活動パターンを示すのか，この活動に摂動を加えると，意欲行動にどのような変化が現れるのかを調べた。

小林によって提供される逆行性アデノ随伴ウイルスベクターを腹側線条体へ感染させ，腹側海馬にカメレオン（カルシウムインジケーター）を発現させた。腹側海馬 CA1 神経の集合活動を，ファイバーフォトメトリー法で記録した。レバーを押す期間ずっと腹側海馬 CA1 神経の活動が低下し，報酬を得るとその活動が上昇することを明らかにした。腹側海馬 CA1 神経の下流である腹側線条体神経細胞の活動を計測するために，小林によって提供される順行性アデノ随伴ウイルスベクターを腹側線条体に感染させ，カメレオンを発現させた。腹側線条体神経細胞の活動パターンは，上流の腹側海馬 CA1 神経の活動と同じであった。つまり，レバーを押す期間ずっと活動が抑制され，報酬を得ると活動が上昇した。

先行研究において，腹側線条体神経活動を興奮性オプシンで強制的に活性化させると，意欲行動の持続が障害されることを示していた。上流の腹側海馬 CA1 神経の活動を興奮性オプシンで強制的に活性化させた場合，同様

に意欲行動の持続が障害された。これにより，意欲行動の持続において，腹側海馬と腹側線条体が機能的に同調していることが分かった。

57. 中枢神経系における L-ドーパ受容体 GPR143 の役割に関する検討

笠原由佳，増川太輝，五嶋良郎
（横浜市立大学）

所属研究室では，ドパミンの前駆体である L-ドーパが神経伝達物質として作用するという，「L-ドーパ神経伝達物質仮説」を提唱してきた。この仮説を検証するため，これまでに L-ドーパを最終産物として含む神経細胞の存在，神経刺激による L-ドーパの遊離，そしてその生理作用を明らかにした（Misu and Goshima, Tips. 1993; Masukawa et al., JCI Insight. 2017）。さらに，近年，L-ドーパ受容体として G タンパク質共役型受容体 GPR143 が同定された（Lopez et al., PLoS Biol. 2017）。我々は，GPR143 が広領域で発現する中枢神経系に着目し，L-ドーパ-GPR143 シグナリングの生理学的機能について検討してきた（Fukuda et al., Brain Res. 2015; Masukawa et al., JCI Insight. 2017）。さらなる追究を行うためには，GPR143 の発現を操作できる実験系の確立が不可欠である。所属研究室では既に GPR143 遺伝子欠損マウスの作製に成功しているが，局所的かつ時期特異的な GPR143 発現操作手法の確立が課題となっていた。そこで，本共同研究では新たにアデノ随伴ウイルスベクターを作製，利用することで，GPR143 のより限局した発現操作を可能にし，L-ドーパ-GPR143 シグナリングの生理学的機能の解明を目指す。

我々はこれまで，GPR143 遺伝子欠損マウスを用いた行動解析から，GPR143 の欠損によりうつ様行動が増悪することを発見している。GPR143 によるうつ様行動の制御に関わる脳領域を特定するため，まず，GPR143$^{flox/y}$ マウスにアデノ随伴ウイルスを投与し，周辺細胞選択的に Cre recombinase を発現させ，Cre / loxP システムにより GPR143 を欠損させることを試みた。AAV DJ-CAGGS-GFP/Cre-WPRE ベクターを作製し，予備試験を行った結果，*in vitro* レベルでのウイルスの細胞感染及び Cre / loxP システムの作動を確認した。しかしながら，生体内にウイルスを投与した場合，周辺細胞への感染は認められたが，GPR143 の発現は変化しなかった。さらに，CRISPR-Cas9 システムにより GPR143 の発現を操作するため，AAV DJ-CMV-SaCas9-U6sgRNA ベクターを作製したが，*in vitro* 実験系においてその有用性は認められなかった。次に，GPR143 を関連脳領域特異的に発現させるため，AAV DJ-CAGGS-GPR143-GFP-WPRE ベクターを作製した。*In vitro* 及び *in vivo* レベルで細胞への感染及び GPR143 の発現を確認した後，このウイルスを GPR143 遺伝子欠損マウスの海馬歯状回特異的に投与し，GPR143 を再発現させた。この結果，GPR143 の欠損により増加するうつ様行動が軽減することが明らかになった。以上から，海馬歯状回における L-ドーパ-GPR143 シグナリングがうつ様行動の制御に関与することが示唆された。

58. 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，浜田　駿，大塚稔久（山梨大学大学院 総合研究部 医学域）
小林憲太（生理学研究所 ウイルスベクター開発室）

脳の様々な機能は構成する神経細胞間のシナプス伝達による神経回路網に支えられており，領域または細胞特異的に光制御分子を発現させ光刺激によって神経回路を制御する光遺伝学法は，その方法が発表されてから脳の複雑な機能の解明に広く貢献している。さらに近年は，新たな特性を持つ光制御分子の開発や，また多様な解析手法のニーズに合わせて光制御分子を細胞内の機能部位に局在化させるタグ分子の開発にも強い関心が

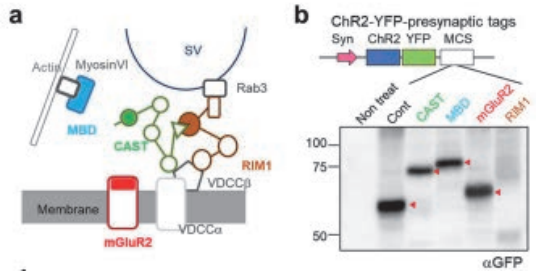
寄せられている。

本申請者らは，これまでの前シナプス分子基盤の解析によって得られた知見を応用し，光制御分子を前シナプス膜に局在化させる分子タグを開発し，また本共同研究により作成した各種 AAV を用いて形態学・生理学的にその有用性を解析し報告した。

An engineered channelrhodopsin optimized for axon terminal activation and circuit mapping.

Hamada S., Nagase M., Yoshizawa T., Hagiwara A., Isomura Y., Watabe A. M., Ohtsuka T.

***Communications Biology*, 2021**



本研究ではまず，channelrhodopsin2 (ChR2)-YFP の C 末側に局在化タグとして，前シナプスタンパク質 CAST の N 末領域(139-306 aa), RIM1 PDZ domain (614-693 aa), myosin VI binding domain の融合タンパク質，mGluR2 の C 末領域 (820-872 aa) を結合させ，局在様式の変化を観察した。その結果，mGluR2 タグに前シナプス終末への集積効果を見出し，さらに細胞体での発現を抑制させるため，分解を促す PEST 配列などを追加した mGluR2-PA タグを構築した。

この mGluR2-PA タグを ChR2-YFP に付加した AAV をマウスの海馬や大脳皮質に発現させたところ，反対側への投射が増加していること，またこれらの局在化タグが ChR2 の機能に影響を及ぼさず，さらに mGluR2-PA タグによって，ChR2 の光刺激依存的なシナプス伝達がより効率的になっていることを電気生理学的に確認した。さらに，ChR2-YFP-mGluR2-PA は Multi-Linc 法による optogenetic spike collision test にも有用であり，かつ光照射後の multiple unit activity によるノイズを有意に軽減させることを確認した。

本研究は，今後 ChR2 だけでなく各種光制御分子へと応用範囲を広げ，またポストシナプス膜など他の細胞内機能部位をターゲットとした局在化タグの開発などにも発展させ，神経回路が制御する脳機能の解明に今後も貢献していく。

59. 新規膜電位センサーを用いた小脳プルキンエ細胞の単純スパイクの研究

真仁田聡（山梨大学大学院 総合研究部医学域生理学講座 神経生理学教室）
小林憲太（生理学研究所 ウイルスベクター開発室）

小脳プルキンエ細胞は複雑スパイクと単純スパイクを起こすことが知られている。これまでのイメージングによる小脳プルキンエ細胞の研究では主にカルシウムイメージング法を用いて複数のプルキンエ細胞の複雑スパイクの応答が観察されてきた。しかし単純スパイクは顕著なカルシウム応答を示さないため，イメージングによって得られる単純スパイクの知見は少ない。そこで本研究ではプルキンエ細胞の単純スパイクの活動を新規膜電位センサー：SomArchon を用いて測定し，その特徴を検討することを目的とした。

Addgene で入手したプラスミドより，Cre 依存的に SomArchon を発現させるアデノ随伴ウイルス（AAV: adeno-associated virus）ベクターを作製した。プルキンエ細胞特異的に Cre を発現する遺伝子改変マウスの小脳に作製した AAV を注入した。注入より 3 週間以上経た後，急性小脳スライス標本を作製し，神経細胞に SomArchon が発現されているか検討した。SomArchon は膜電位応答に対して蛍光強度が変化する赤色とは別に，膜電位応答は示さないが蛍光強度が赤色より高い緑色蛍光を有するため，その蛍光によりどの細胞に SomArchon が発現しているか観察したところ，発現量が高い細胞から単純スパイクと予想される蛍光変化を小脳のプルキンエ細胞より観察することに成功した。一方で単純スパイク様の蛍光変化を示す細胞数が少なかったため，今後は観察できる細胞の数を増やす検討を行う。これによりプルキンエ細胞間における単純スパイクの挙動を観察する。また，in vivo において単純スパイクを観察できるようにも検討し，行動と単純スパイクの時空間的特徴を明らかにしたい。

60. アデノ随伴ウイルス遺伝子導入を用いた神経発生および恒常性維持の分子メカニズム解析

備前典久，矢野真人，吉岡　望，アンナ･シマンコワ，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，これまでに 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，本年度は引き続き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 を感染させることにより正常 *Dst* 遺伝子を発現させ，コンディショナル・レスキュー実験を行った。その結果，Cre 感染 Dst ミュータントマウスの寿命が有意に延び，ジストニア様症状が緩和した。

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。昨年度に引き続き OIF を強制発現した培養神経幹/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) またはレトロウイルス（pMY-OIF-IRES-GFP）を感染させ，FGF2 除去後 3 日目に，成熟 OL マーカーの PLP 抗体による免疫染色を行ったところ，OIF 強制発現により PLP 陽性 OL 数が有意に増加した。よって以上の結果と前年度までの報告から，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こと，OIF はミエリン関連分子の発現を cell-autonomous に制御する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。

61. 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（名古屋市立大学 大学院医学研究科）
小林憲太（自然科学研究機構生理学研究所 ウイルスベクター開発室）

脳血管障害後の有効なリハビリテーション法に，麻痺側上肢の集中的な使用（CIMT 法）がある。しかし，CIMT 法による機能の獲得過程において，小脳を介した調節機構のダイナミックな変化は未だ不明である。本研究の目的は，二重ウイルスベクター感染法を用いた赤核−オリーブ核−小脳路−赤核の回帰経路における神経核間回路の選択的遮断法を用い，脳出血後のリハビリテーションによる運動機能の回復過程において，小脳が関与する調節機構の適応的変化を解析することである。

始めに，プルキンエ細胞−小脳歯状核−赤核小細胞部の神経連絡の確認を行った。赤核の 1 箇所（A: −5.2 mm, L: 1.6 mm, V: 7.5 mm）への Mini-ruby 投与によって反対側歯状核に比較的限局した陽性細胞検出を認めた。また順行性トレーサーのビオチン化デキストランアミン（BDA）の歯状核への投与により対側赤核で BDA 陽性線維が確認され，さらに小脳歯状核への Mini-ruby 投与によりプルキンエ細胞層に陽性細胞体が確認された。これにより，プルキンエ細胞−小脳歯状核−赤核小細胞部の神経連絡が確認できた。

次に，小脳歯状核−赤核小細胞部の神経連絡をウイルス二重感染法により選択的神経遮断することを目指した。小林健太准教授と情報交換を行い，今後の実験計画を決定し，小脳歯状核へアデノ随伴ウイルスベクター（AAV-DJ-EF1-DIO-hM4D(Gi)-mCherry）を注入，赤核小細胞部へレトルウイルスベクター（FuGE-MCSV-Cre）を注入することとした。

その前段階として，Cre に応答し EGFP を発現する AAV-DJ-CAGGS-FLEX-EGFP の赤核小細胞部への投与

と FuG-E-MCSV-Cre の小脳歯状核への投与により，両ベクターの注入量の最適化を検討した。その結果，赤核小細胞部の１カ所へ 0.4 μl，小脳歯状核の２カ所へ 0.6 μl ずつの注入によって，脳の深部に於いても安定したウイルス二重感染が可能であることが明らかになった。

62. 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）
眞部寛之（同志社大学大学院 脳科学研究科 神経回路情報伝達機構部門）

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。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 サブユニットや軸索から逆行性に感染するウイルスベクターをマウス視床下部外側野に注入すると，嗅皮質領域内にクラスター状に神経細胞が標識される。グルタミン酸デカルボキシラーゼの mRNA との共標識により, 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（Murata et al., Scientific Reports 2019），その機能と神経接続を解析している。

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，前年度に引き続き薬理遺伝学実験を進めている。逆行性に感染するアデノ随伴ウイルスベクター (AAV) 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) および抑制型 DREADD (hM4Di) を発現誘導するアデノ随伴ウイルスを用いて腹嗅核に hM3Dq もしくは hM4Di を発現誘導した。Clozapine N-oxide の投与によるラットの行動学的，生理学的変化を現在検証している。

腹嗅核ニューロンの投射先を評価するために，前シナプス終末が GFP 標識される Synaptophysin-GFP タンパク質を搭載した AAV を導入した。前述のように逆行性感染型 AAV-Cre と組み合わせ，腹嗅核ニューロンに Synaptophysin-GFP を発現させ, 投射する脳領域の評価を進めている。

63. 報酬学習の神経回路機構解明に資する技術開発

小川正晃（京都大学）

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

（計画）麻酔下のラットの報酬系脳領域（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・モノアミンセンサーなどを発現する AAV ベクターを注入し，さらに活動計測・操作を行うための光を導入するための光ファイバーやレンズ，または神経活動記録用の電極を埋め込み，条件刺激と報酬の間の関係を学習する行動中の神経活動の計測や操作に対する有用性を評価する。

（結果）本共同研究によって作成した AAV ベクターをラット脳に注入し，行動中ラットの特定の神経細胞や神経回路活動イメージングを行い，問題無く使用できることを確認した。それにより，複数のラットからデータ取得を行った。さらに，光遺伝学法による行動制御に及ぼす影響を検討し，その効果を確認した。これらの成果は，現在投稿準備中である。

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

伊佐　正（京都大学大学院 医学研究科）
小林憲太（ウィルスベクター開発室）

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

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, ウイ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, 努力に向かう動機付けには影響することを Neuron 誌に発表した（Vancraeyenest et al., **Neuron**, 2020）。また，VTA 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実験では，ラットを用いて，VTA から皮質運動野に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発表し（Koshimizu et al., **Gene Ther**. 2021），さらに研究を進めている。同時にニホンザル VTA にウイルス注入を行った実験では, 広範囲の皮質への投射と特徴的投射経路を発表した（Zubair et al., **Cereb Cortex**, 2021）。このデータに基づき，VTA にクリムゾン R 搭載 AAV ウイ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し, リスク評価に基づく意思決定の制御に成功した。また, 逆行性ウイ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を進め，さらに，電気生理実験や回路操作実験を進めている。

一方，マウスでも，AAV ベクターを用いて二丘傍核（PBN）から上丘浅層へのコリン作動性入力の解剖学的および電気生理学的解析結果（Tokuoka et al., **J Neurophysiol**, 2020）や上丘から脳幹への出力経路の経路選択的刺激による行動の解析（Isa et al., **eNeuro**, 2020）も発表し，さらに研究を進めた。

65. 皮質・基底核・視床回路を解析する研究

藤山文乃（北海道大学大学院 医学研究院）

フレイルティは, 加齢による筋骨格系あるいは心肺機能などの身体機能の低下のみならず, モチベーションの低下を含む認知機能の低下など, 精神的な面での低下が認められ, 総合的に社会生活が損なわれていく多面的な状況を指す。つまり，加齢とともに，運動機能と脳機能は，どちらが原因とも結果とも言い難く, 連動しながら障害されていく。一方，多くの神経変性疾患の発症率は，加齢とともに上昇する。たとえば，パーキンソン病は，中脳黒質のドーパミン神経細胞の変性脱落を病因としており, 高齢になるほど発症率および有病率は増加している。しかし，これまでの基礎研究の多くで使われた実験動物は若年成体であり，加齢，もしくはドーパミン量の変化による神経路の可塑性については，全く解明されていない。本研究では，この問題を解明するために, 加齢と神経伝達物質の影響とを切り分けつつ, 大脳基底核神経路がどのように適応的に作り変えられているかを解明した。まず，ドーパミン神経細胞は生化学的・遺伝学的に複数のサブクラスに分類され，パーキンソン病あるいパーキンソン病により優先的に変性脱落するサブクラスは calbindin 陰性のドーパミン神経細胞であることがわかっているため, 老齢マウスにおいて calbindin とドーパミン合成過程の律速酵素であるチロシン水酸化酵素（TH）の二重免疫染色を行った。次に生理学研究所 行動･代謝分子解析センターの小林憲太准教授に作成していただいた tdTomat を発現する順行性 AAVdj

ウィルストレーサーを, 各年齢の動物の黒質緻密部の領域ごとに注入し，どの領域のどのサブクラスのドーパミン神経細胞が加齢によって影響を受けやすいのかを解析中である。

66. 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，運動異常症など，多彩な神経症状を呈する自己免疫性中枢神経疾患である。免疫療法が奏功するが，髄液検査や頭部 MRI 検査などに特異的な異常所見をみとめず診断に難渋することが多い。一部の患者では，血清もしくは髄液中に神経抗原に対する疾患特異的な自己抗体が検出されることがあり，診断マーカーとして重要である。2019 年度，我々は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。免疫組織染色の結果, 44 名の主に小脳性運動失調症を合併した自己免疫性脳炎患者の血清中において，何らかの神経抗原を標的とする自己抗体を検出した。本年度は，自己抗体陽性患者の血清を用いた免疫沈降と質量分析により，いくつかの抗原蛋白質を同定した。抗原蛋白の局在や機能などから，病態との関連性が疑われ，これまでに自己抗体の存在が報告されていない抗原蛋白としては，神経細胞接着分子として報告されている transmembrane protein 132A と，小脳プルキンエ細胞に豊富に発現し，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 Dynamin-1-like protein isoform 1 が新規抗原分子として同定できた。また，自己免疫性脳炎に関連する自己抗体として，すでに海外から報告されているが，本邦では報告されていない自己抗体の標的抗原蛋白として，sodium/potassium-transporting ATPase subunit alpha-3 isoform 1 と Microtubule-associated protein 1B を同定した。その後，Cell based binding assay と western blot を用い，これらの抗原蛋白を認識する自己抗体の測定系を構築した。現在，多数の自己免疫性脳炎患者と対照患者の検体中で自己抗体を検索することにより，疾患特異性の検証を行っている。

67. 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（神戸大学）
久保義弘（生理学研究所）

ヒトを含む多くの動物は，オプシンと呼ばれる光受容タンパク質を用いて外界の光シグナルを感知している。オプシンは，7 回膜貫通ヘリックス構造を持つ典型的な G タンパク質共役受容体（GPCR）でもある。これまでにオプシン遺伝子は, 様々な動物種から数千種類（以上）同定されている。さらにオプシンタンパク質の分子特性の解析から, オプシンは吸収波長特性や共役する G タンパク質サブタイプなどが多様化していることがわかっている。言い換えると，同じオプシンファミリーに属するタンパク質の中でも，光応答特性・シグナル伝達特性などの機能特性がダイナミックに変換していることを示している。このように多様化したオプシンの機能特性は，オプシンを光刺激によって生物機能を操作する光遺伝学解析のツールとして用いる際に考慮する必要がある。

本研究の申請者（塚本）は，生理研久保研究室との共同研究によって，多様な動物から見いだされたオプシンとイオンチャネルをアフリカツメガエル卵母細胞に強制発現させた上で，オプシンへの光刺激に応じてイオンチャネルの活性がどのように変化するのかを電気生理

学的に解析してきた。前年度までの計画共同研究から，オプシンごとにチャネル活性を増減させる光の波長や，光依存的に生じるチャネル電流のキネティクスが異なることを見出していた。

2020 年度は，多様なオプシンの光操作ツールとしての有用性を示すために, オプシンが光を受容するために必要な発色団分子レチナールの “結合力” について解析を行った。具体的には，GPCR 経路の光遺伝学ツールとして最もよく用いられている哺乳類の視細胞で機能するオプシンと，無脊椎動物が持つオプシンについて，異なる量のレチナール分子を添加したときの光依存的な電気生理応答を比較した。その結果，哺乳類の視細胞で機能するオプシンよりも無脊椎動物のオプシンの方が, 少量のレチナールしか存在しない条件でも大きな光応答を示すことを見出した。光遺伝学解析では，レチナールの含有量の少ない組織をターゲットとすることもあるため, レチナール希薄環境でも光反応を起こすことができるオプシンはツールとしての利点があると考えられる。

68. 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）
久保義弘（生理学研究所）

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, 前年度に明らかにした腸管の一部に多く発現する VSP の機能を調べた。その結果，VSP ノックアウトゼブラフィッシュでは，腸管上皮細胞の細胞内の vacuole の形成に異常が生じ，腸管での栄養吸収が低下する可能性が示され，VSP ノックアウトゼブラフィッシュの生存率の低下の要因と考えられた。(2) ホヤ Nav に存在するアンキリンと相互作用するアミノ酸配列（II-III リンカー領域）と相同な配列に GFP を融合させて局在解析を行い，ラットの神経の軸索起始部に局在する機能をもつことを明らかにした。 (3) ゼブラフィッシュの HCN チャネルが腸管の逆蠕動運動を制御する機能を担うことを明らかにした。(4) ゼブラフィッシュの 2 種類の HCN4 オーソログ(hcn4, hcn4l)をアフリカツメガエルの卵母細胞に発現させ，電位依存性が異なること，ヘテロ四量体を構成することを明らかにした。また HCN チャネルに対する各種阻害剤（Ivabradine, ZD7288, Cs^+）によって電流が抑制されることも確認した。

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を確認することができた。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。

69. Ca チャネルの Ca 依存性調節（増強と不活性化）の分子機構

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）

L 型 Ca チャネル Cav1.2 は，カルモジュリン（CaM）によって Ca 依存性の増強（facilitation）と不活性化（inactivation）という２つの様式により調節されるが，その分子機構には不明の部分が多い。本研究は，分子構

造シミュレーション法によりCaチャネルとCaMの相互作用を解析し，得られた情報を基にチャネルの変異体を用いた結合実験や patch-clamp 実験を行い，CaM による調節の分子機構を解明することを目的とした。分子構造シミュレーション法は, I-TASSER, ClusPro, FastContact, PyMol を使用して行った。まず，Cav1.2 チャネルの C 末部 preIQ-IQ 領域と apoCaM の結合シミュレーションでは, チャネルの R1615，K1642，K1665，R1677，K1681 のアミノ酸残基が CaM と強く相互作用することが示唆された。また，チャネルのN末部と preIQ-IQ 領域をリンカーで繋いだペプチドと Ca^{2+}/CaM の結合シミュレーションでは，N末部の K92，K119 と IQ 領域の R1682 のアミノ酸残基が CaM と強く相互作用することが示唆された。これらの情報を基に，チャネルに変異を導入してその機能的効果を patch-clamp 法で確認する実験や変異チャネル断片ペプチドと CaM との pull-down 法による結合実験が，現在進行中である。

70. ミクログリア生理機能の探索と病態への検証

和氣弘明（名古屋大学 大学院医学研究科 分子細胞学）

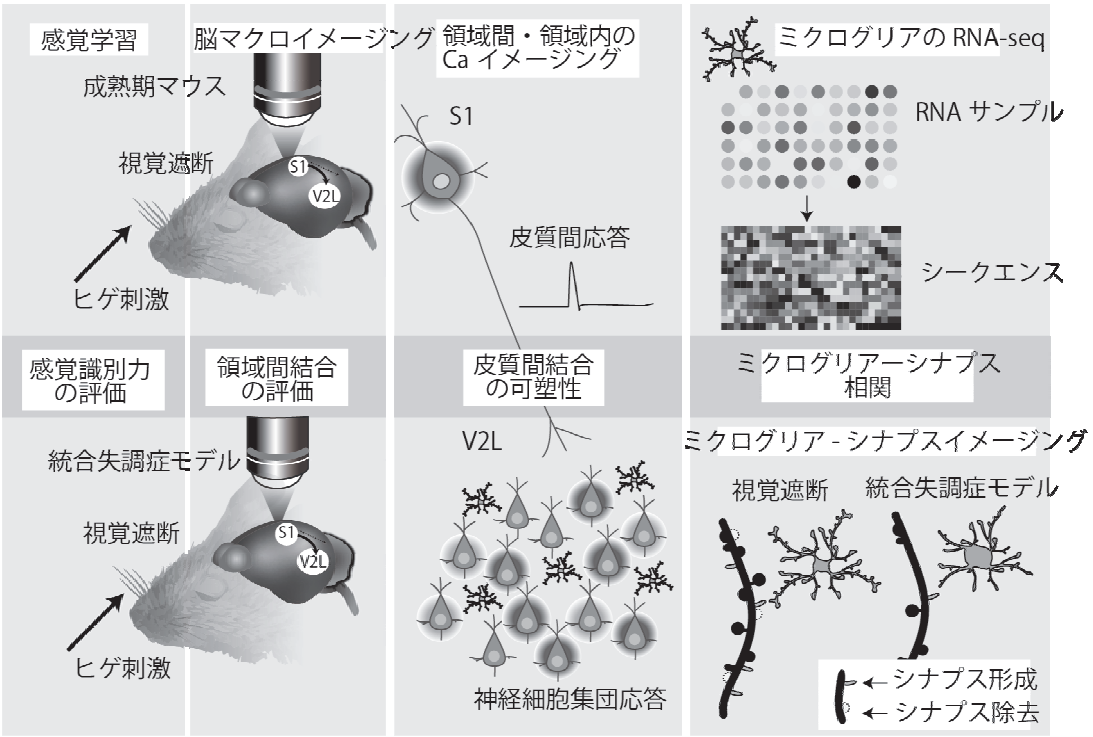
ヒトは外界の環境を知覚し, 感覚器に応じた知覚応答が引き起こされ，高次脳機能が引き起こされる。高次脳機能に異常を起因する精神疾患・発達障害ではこの感覚応答の変容がよく知られており, のメカニズムを明らかにすることは病態を理解する上で必須である。本研究では感覚領域間の機能的結合に着目し, 感覚喪失時に引き起こされる異種感覚の可塑性のメカニズムをミクログリアのシナプス修飾の観点から明らかにする。視覚遮断マウスモデルを用いて，第一次感覚野→高次視覚野の機能的結合に着目し，その機能的結合および高次視覚野内で起こる神経回路再編のメカニズムをミクログリアの観点から分子基盤を明らかにした。ミクログリアは，生後早期に樹状突起に接触し, 未熟なシナプスの形成に寄与し（Miyamoto, Wake et al., *Nature Commun*, 2016），その後は細胞性質を変化させ古典的補体カスケードを用いて, シナプスを貪食することでシナプス除去過程に関与することが知られている（Schafer et al., *Neuron*, 2012）。さらに成熟期においても，ミクログリアはシナプス活動を修飾し, シナプスの可塑的変化を制御することで, 神経回路活動を変化させることが明らかとなっている（Akiyoshi et al., *eNeuro*, 2018, Badimon, Wake et al., *Nature*, 2020）。またこのような発達期のミクログリアによるシナプス数の制御不全が未熟なシナプスの増加あるいはシナプス数の減少を引き起こし, これが原因となって発達障害や統合失調症などの精神疾患に繋がることが示唆されている（Schafer et al., *eLife*, 2016, Wake et al., *Trends in Neurosci*, 2013）。さらに，成熟期における過剰なシナプス貪食がシナプスの脱落を引き起こすことでアルツハイマー型認知機能障害を誘発する可能性があることが示唆されている（Hong et al., 2016）。このようなミクログリアによるシナプス数の制御や機能制御が世界で着目されているが, そのメカニズムを生理的機能の観点から考察し, 分子から個体行動までの階層的メカニズムを示した研究は未だ少ない。近年，感覚除去を施したマウスにおけるシナプス除去過程にミクログリアが関与していることが明らかとなった（Gunner et al., 2019）。このような感覚喪失・除去において，異種感覚の可塑性が知られている（Sadato et al., 2005）。これは盲のヒトが点字を使用するときに視覚野を使うなど失われた感覚領野を残存する感覚を利用し, 残存する感覚の識別力の向上に寄与すると言う概念である。また先天盲の人は統合失調症の発症に対して抵抗性をもつこと（Morgan et al., 2018），逆に成熟したヒトでは視覚遮断によって幻覚などが生じ, 統合失調症発症リスクが増えることが知られている（Merabet et al., 2004）。これらのエビデンスは，視覚などの異種感覚の可塑的変化のメカニズムをミクログリアが制御している可能性が高いことを示唆し, 病態時においてはこの異種感覚の可塑的変化の制御機構が統合失調症発症に抵抗性を示す可能性を意味している。そこで本課題では，知覚の喪失などの変化において, 異種感覚領域の結合に対してミクログリアがどのように機能し，その寄与の変容が精神疾患・発達障害に結びつくか？そのメカニズムを多階層的に解析した。

まず, 先天的視覚遮断モデルマウスにおいてヒゲ刺激に対して, 高次視覚野が応答するメカニズムおよびその機能

的意義を明らかにする。これまでの報告で，視覚遮断マウスでは第一次聴覚野（A1）から高次視覚野(V2L)に投射があること知られているため（Laramee et al., *EJN*, 2011），まず, 本研究で用いるモデルでの予備実験として第一次感覚野から高次視覚野への投射を, 順行性および逆行性神経回路標識法で明らかにした。

次に，この S1→V2 の神経回路がヒゲ刺激に対する応答を検証するために, S1 にカルシウム感受性蛍光タンパク質（GCaMP6s）をコードするアデノ随伴ウィルス（AAV）を注入し，個体にヒゲ刺激を与えた際の軸索活動を２光子顕微鏡による生体イメージングで可視化し，これを数理学的処理を加えて視覚遮断マウスと正常マウスの機能応答を比較したところヒゲ刺激に対して S1→V2 の軸索は V2 内で刺激に同期して活動することが明らかとなった。次に対応する視覚領域（V2L）でヒゲ刺激に対する応答性を視覚遮断モデルマウスで検証し，正常群と比較するために V2L に GCaMP6f をコードする AAV を注入し, ヒゲ刺激に対する神経細胞集団の応答を２光子顕微鏡で可視化したところ単純な刺激では視覚遮断群，正常群いずれも同期的な活動を有しなかった。次に，「異種感覚の可塑性は代償的に残存する感覚の識別力を向上させること」について解析した。感覚の識別力が向上したマウスでは，より複雑な物体の提示によって感覚応答の差が出現すると考え，荒さが異なる２種類の紙やすりをマウスのヒゲに提示し，その機能応答の変化を可視化し，数理学的に検証することで定量的に比較検討を行ったところ，荒い紙やすりに対して視覚遮断群は有意な活動上昇を示すことがわかった。またこれらの機能応答をもたらすシナプスの可塑的変化に対するミクログリアの寄与を検証するために，コロニー刺激因子１受容体の阻害剤（CSF1R）の阻害剤を用いて，マウスの開眼４日前（生後１０日）から視覚遮断（生後１４日目）６日後（生後２０日後）までミクログリアを除去し，成熟したマウスにおける紙やすり刺激に対する神経細胞集団の応答性の変化を２光子顕微鏡で可視化し，これを数理学的に解析したところ視覚遮断において認められた活動上昇が阻害されることがわかった。また，この時期における V2L における神経細胞集団の紙やすり刺激に対する活動増加はミクログリアによるシナプスに対する作用が考えられるため，各シナプスマーカーとミクログリアを S1 および V2L で免疫染色することでその相関を検証したところ有意にミクログリアが抑制性シナプス除去を引き起こすことが明らかとなった。さらにこれを電気生理学的に検証するために, S1 に光活性化タンパク質（チャネルロドプシン）を発現したマウスの V2L の脳スライスを作成し，この抑制性神経細胞および興奮性神経細胞から同時にパッチクランプ法を用いて電気的活動を計測した。ここに光刺激を行いその応答を確認することで，これらの抑制性および興奮性神経細胞が S1 から投射を受けていることを確認し，相互に電流を注入し，刺激することでそれぞれの抑制性シナプス電流および興奮性シナプス電流を記録し，視覚遮断群，正常群および視覚遮断＋ミクログリア除去群でその変化を比較したところ興奮性神経細胞における抑制性電流の優位な低下を認めた。またこの際のミクログリアによるシナプス修飾を行う責任分子の同定を行うため，ミクログリアを磁気ビーズ法で単離し, その mRNA を回収し，これを RNA-seq にかけることで網羅的にその遺伝子発現を時系列に沿って解析した。次に実際に視覚遮断マウスにおいて感覚識別能が向上し，ミクログリアを除去した場合にはこの向上が損なわれるかどうかを検証するために，紙やすりの荒さの違いを検出することで見ず報酬が得られる感覚識別学習装置を作成しこれを用いて，個体行動の計測を行ったところ，視覚遮断群で優位に増加した学習過程がミクログリアによって損なわれることが明らかとなった（Hashimoto, Nabekura, Wake et al., submitted）。

図３. 研究計画（病態）



71. 熱帯熱マラリア生殖母体期の 3 次元構造の解析

大野伸彦（生理学研究所，自治医科大学），早川枝李（自治医科大学）

熱帯熱マラリア原虫（*Plasmodium falciparum*）は，5 種のヒトマラリアのうち最も重篤な臨床症状を引き起こす。熱帯熱マラリア感染者に対する根治治療を考えたとき，熱帯熱マラリア原虫の生殖母体期は transmission brooking 創薬としての可能性のみならず，生育環境の変化にともなうステージの移行が起きることから，基礎生物学の研究対象としても魅力的である。しかし, 大量培養が困難であるため, 詳細な内部構造や機能については不明な点が多い。

熱帯熱マラリア原虫―生殖母体期の内部構造について，これまでにギムザ染色や電顕画像から報告されてきたが，ギムザ染色像が示す 3 次元構造が未定なこともあり，本共同研究のターゲットである詳細な細胞内構造，新規形成のオルガネラの有無，その 3 次元構造，細胞内局在，機能，構成物質，サイズなどについてはまったく不明である。そこで我々は，熱帯熱マラリア原虫―生殖母体期の細胞内部の構造を詳細に検討するために，ミクロトーム組込み型走査電子顕微鏡(SBF-SEM)を用いて 50 v nm ごとに切片を作成して連続断面画像を取得し，Image J, Amira により感染赤血球内の内部構造について，3 次元再構築を行った。サンプル作成方法は熱帯熱マラリア原虫感染赤血球を化学固定し，ブロック染色，樹脂包埋, トリミングの後, SBF-SEM で観察した。この結果, 熱帯熱マラリア原虫の別の感染期である赤内期では観察されなかった大きな「袋状構造」が生殖母体期で新たに形成されていたことが分かった。この「袋状構造」は, 赤内期で観察される Maurer’s cleft, TVN, CV 等の膜構造とはサイズ，2 次元構造，3 次元構造がまったく異なっており，宿主である赤血球膜との結合様式においても異なっていた。また「袋状構造」の赤血球内での局在は, 熱帯熱マラリア原虫本体から直接 budding しているもの, 原虫を包んでいる寄生胞膜から直接 budding しているものが確認された。それらの数は単体ではなく，一赤血球内で複数形成されていることもわかった。本共同研究は近い将来，論文としてまとめるため，現在も詳細な検討を続行中である。

【生体機能イメージング共同利用実験報告】

生体機能イメージング共同利用実験報告

〔 目　　次 〕

1. 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 209
2. マカクザルの脳構造撮影 209
3. 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 210
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 211
5. 拡散強調 MRI を用いたマカクザル神経線維結合の検討 211
6. 意欲−運動連関を支える神経機構の解明 212
7. ぬれ感覚の脳内形成機序の探索 212
8. バーチャルエージェントによる表情模倣成立の効果に関する神経生理学的解明 213
9. 語用論的解釈の神経基盤 ― 認知要素と情動要素の協働機制の探索 214
10. 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 215
11. 運動イメージの脳内表象の解明 215
12. 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究 216
13. 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 216
14. 脳波・機能的 MRI 同時計測法を用いた睡眠覚醒機構の解明 217
15. 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 218
16. 経頭蓋電気刺激による聴覚誘発脳磁界の変調 218
17. Gap により惹起される聴覚誘発脳磁界反応 219
18. MEG を利用した聴覚時空間的脳活動の検討 219
19. 曖昧視知覚の不安定化をもたらす脳内情報処理の解明 220
20. 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 220
21. 脳磁図を用いた運動知覚の神経基盤の解明 221
22. 末梢神経線維の選択刺激法の確立と脳反応の計測 222
23. 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 222
24. 変化応答としての聴覚後期活動と聴性定常反応の位相変化 223
25. 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 223
26. 副交感神経系の変動特性の安静時脳ネットワークへの影響評価 224
27. 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 224
28. 大脳言語野皮質の層特異的活動の計測 225
29. 超高磁場機能的磁気共鳴画像法を用いたヒト脳活動の高分解能計測および解析法の研究 225
30. 眼球運動の機能的ネットワークの解析 226
31. 7T MR 装置を用いた血管壁イメージングによる脳血管壁性状と 3 次元シネ位相コントラスト磁気共鳴法による脳血管血流動態の検討 226
32. 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 227
33. 呼吸活動が及ぼす認知パフォーマンス関連の脳活動の解明 228
34. 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 229
35. fMRI における外側後頭皮質のより特異的な functional localizer の探索 229
36. 意味の創発に関わる内的表象形成メカニズムの解明 230

37. 将来の報酬を期待するヒト脳の価値表象の動的特徴と選択形成の解析 ····· 230
38. 機械学習と fMRI を用いた抒情の生じるメカニズムの解明 ····· 231
39. Personalizing Brain Stimulation Dosage by New Neurostimulation Computational Model ····· 232
40. 相互模倣による行為・意図の共有に関与する神経基盤の解明 ····· 233
41. Feasibility study of a microstrip transmission-line RF coil combining RF shielded PET detector module for a 7T MRI ··· 234

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 40 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 発現がリガンドの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。さらに２頭のサルから採取した脳脊髄液を解析することにより，ドーパミン・セロトニンの脳内レベルが減少傾向を示すことを確認した。これらの結果より，LHb 過活動モデルザルは一過性にうつの症候を一部再現することが示唆される。

ヒトとサルへの新型コロナウイルス感染拡大防止の観点から，両者の往来を見合わせる一方，今後の機能 MRI 撮像の実施を見据え，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。また，脳活動への影響が比較的小さいと考えられているプロポフォールの静脈投与による麻酔法について，技術的検討を行った。

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.　マカクザルの脳構造撮影

鯉田孝和（豊橋技術科学大学 エレクトロニクス先端融合研究所）
磯田昌岐，横井　功（生理学研究所 認知行動発達機構）

マカクザルから神経細胞の活動を記録するのに先立って，微小電極を目的の脳部位に導くための正確な脳構造を知る必要がある。サルの脳には個体差があるため，個体ごとに脳の三次元構造を MRI により取得することが望ましい。提案代表者の研究機関ではマカクザルを用いた慢性電気生理実験が可能であるものの，MRI が配備されていない。そこでサル MRI が撮影可能な生理研イメージング機器を利用することとした。

生理学研究所のイメージング機器（7T MRI）を用いて，2021 年 3 月 18 日に 5 時間の機器専有で，マカクザル 1 頭の脳構造画像を取得した。サルはナショナルバイオリソースから提供を受けたもので，豊橋技術科学大学において飼育馴化されている。動物実験は豊橋技術科学大学動物実験規程に基づき，動物実験計画の承認をうけて実施された。生理学研究所においては自然科学研究機構動物実験規程に基づき動物実験計画の承認をうけて実施された。

動物は専門業者により輸送し，外部利用者用の処置室にて導入麻酔ののち，イソフルラン吸入（1-3％）によって維持した。代表者はサルへの吸入麻酔の経験が浅く，

MRI 室での装着は未経験であったが，戸松特任准教授の処置により安定計測が可能となった。麻酔中は動物の心拍数，動脈血酸素飽和度をモニターした。郷田助教，福永准教授らの提案により，約９０分かけて T1，T2，T2*強調画像を収集し高分解能構造解析を行った。横井助教の提供により，計測時にはチェンバーに MRI マーカーとなるガラス管を装着した。撮影後サルを処置室に戻すとともに麻酔から復帰させ，復路の運搬を終えた。

撮影結果は良好であり，ターゲットとなる視床の神経核，大脳皮質領域，構造が十分に目視確認できた。各強調画像を比較することで神経核の特定は容易になり，マーカーのガラス管によって電極の刺入経路の推定が正確になった。

また，提案代表者が開発している電極位置マーキング手法であるタングステン留置に関する生体内の計測テストを行った。マーキングを施したサルの灌流脳を 7T MRI で長時間計測し，高分解能解析を行った。その結果，タングステン粒は検出できなかったものの，電流印加によるリージョンマークが MRI で計測可能であることが明らかになった。リージョンマークは磁場アーティファクトがないため生体脳での正確な位置特定に役立つ。

3.　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。当初，本年度は 3 台の fMRI スキャナを同時に用いる実験環境の構築を進め，本実験を行う予定であったが，コロナ禍の影響で本実験の実施が困難となった。そこで，本年度は以前の二人組実験のデータを用いて，他者協調傾向がどのように脳構造と関連するかを Voxel based morphometry (VBM) によって解析した。

この解析では，他者協調傾向の指標として共同把持力調整課題時の握力データから算出されたノイズ寄与率を用いた。その結果，左前頭極・縁上回付近の領域においてノイズ寄与率と有意な正の相関が示された（FDR, $p < 0.05$）。これらの脳領域は mentalizing system に属し，共同行為時の社会性の個人差が脳構造にも反映されている可能性が示唆された。

2021 年度は VBM 解析の結果をさらに精査するとともに，コロナ禍の状況が許せば 20 組前後の三人組を対象に共同課題の本実験を実施する予定である。

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）

他者との社会的関わりにおいて相手を受容する態度をとることは，二者の間の社会的紐帯を醸成し，相手の行動変容・意識変容につながる重要な行動である。ここで，相手を受容するか否かという社会行動は，相手の評価を行い，得た情報に基づく。我々は MRI を用いた実験的研究により，他者からの評価を受けることで，状態自尊心が変化し，楔前部にて表象されることを確認した（Kawamichi et al., 2018）。

受容行動により，社会的紐帯がいかに形成されるかを調べることを本年度の目的とした。Dual-fMRI を用いて，二者が交互に意見表出をする課題を開発した。本実験では，40 人（女性 24 名。21.85±0.40 歳）の実験協力者を募集し，この課題を通じて，二者の親密度が向上すること，すなわち，dual-fMRI 上での社会的交流のみで，社会的紐帯が形成されることを確認した。さらには，社会的紐帯の形成が rTPJ と rIFG の機能的結合性の上昇として示され，かつ，社会的紐帯の形成具合と正の相関があること（uncorrected $p < 0.001$ at voxel level, FWE corrected $p < 0.05$）を確認した。

今後は，本研究で得た成果の論文化を加速する。

5.　拡散強調 MRI を用いたマカクザル神経線維結合の検討

菅原　翔，臼田　升，鈴木 迪諒，中山 義久，西村 幸男（東京都医学総合研究所）
福永雅喜，定藤規弘（生理学研究所）

損傷からの機能回復や熟達者の卓越機能を説明する上で，拡散 MRI 計測に基づくトラクトグラフィーを用いた解剖学的結合の量的評価は非常に有用である。しかし，トラクトグラフィーの精度に関しては未だ多くの議論が存在する。本申請課題では，神経トレーサーを注入後に灌流固定したマカクザル脳標本を用いて，組織学的な解剖的結合評価との直接比較により，トラクトグラフィーに基づく解剖学的結合評価の妥当性を検証する。

本年度は固定標本を用いた拡散 MRI 計測プロトコルの確立を目指して，神経トレーサーを注入していない灌流固定標本を用いて撮像を実施した。サル用 Phased-array coil の故障や感染症による移動制限による影響を受けたが，予備的検討を進めることができた。通常の処理では標本内の間隙に多数の気泡が存在し，撮像が困難であることが判明したため，PTB 溶液への置換時に陰圧をかけることによって気泡をできる限り除去する前処理を実施した。この処理によって気泡による信号低下を十分に少なくすることができ，拡散強調像を計測することができた。しかし，既存の GE-EPI シーケンスでは解像度に限界があるため，固定脳に適したシーケンスを導入するための準備を現在進めている。

次年度はできるだけ早い段階で新たに導入する撮像シーケンスを調整し，固定標本での高解像度拡散 MRI の撮像を可能とする。次年度内には，神経トレーサーを一次運動野へ注入した固定標本での計測を行うことを目標とする。

6.　意欲-運動連関を支える神経機構の解明

中山義久，西村幸男，菅原　翔，鈴木迪諒，臼田　升（東京都医学総合研究所）

運動競技の場面で，「勝ちたい」という意欲に満ち溢れている時には高いパフォーマンスを出すことができ，よい結果を得られるということを多くの人が経験している。これまで，中脳や大脳基底核の神経核が意欲を司る脳部位であることがわかってきており，これらの神経核が運動を生み出す運動野に直接的に働きかけ，この系が運動の生成に重要であると考えられる。しかし，意欲と運動パフォーマンスとの間の因果関係を説明する神経科学的根拠については未だ不明である。そこで本研究では，意欲に基づく身体運動制御機構の神経基盤を解明するため，意欲に関連する神経核と運動関連領域とを結びつける機能的結合と解剖学的結合を明らかにすることを目的とする。

前年度までの成果として，外的報酬の有無に関わらず，運動準備時の腹側中脳活動が後の運動出力と関連することが明らかとなった。この成果に基づく新たな展開として，腹側中脳活動を自発的に高めることで，後の運動出力を促進できるという仮説を得た。事前の行動実験によって，目標を達成するという情動イメージによって，後の運動出力が促進されることを確認した。よって，情動イメージが腹側中脳の活動水準を向上させ，後の運動出力へ作用するという仮説を検証すべく，7 テスラ MRI による実験を現在準備している。

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，視覚情報を基にした目的の計画，動作情報への変換，動作の準備といった各段階に運動前野背側部の異なる下位領域が活動するという結果を得た。

7.　ぬれ感覚の脳内形成機序の探索

永島　計（早稲田大学 人間科学学術院）
中田大貴（奈良女子大学 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，温熱的な不快感にもつながる。しかし，ヒトには蒸れセンサーや濡れセンサーはないと考えられており，触覚や温冷感などの異なる感覚入力様式の組み合わせ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濡れ感や蒸れ感に関わる脳部位を同定し，②異なる感覚入力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高湿度環境での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蒸れ感形成のメカニズムにおける鼻粘膜の役割を解析した。さらに，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

被験者 25 名を対象に実験を行った。被験者は低湿度（相対湿度 30 %），高湿度（相対湿度 70 %），低温（25 °C），高温（35 °C）の空気を鼻マスクを介して吸入した（２種類の相対湿度 X２種類の温度試行）。鼻で吸気（3 s），口で呼気（3 s）を行う調節呼吸とし，9 分間行った（90

回の呼吸）。この間，鼻中隔の粘膜状においた熱電対で 100 ms 毎に温度を記録した。また，吸気の温度感覚および湿度感覚を Visual Analogue Scale で 10 分毎に評価させた。さらに，メントールを含有する空気を吸気し，その影響を解析した。

3. 結果

鼻粘膜温度は，高温高湿度＞高温低湿度＞低温高湿度＞低温低湿度の順で低下した。温度感覚も，鼻粘膜温度と同様に変化した。湿度感覚は，高温では高湿度と低湿度の間で差を認めなかったが，低温では高湿度で有意な湿度感覚の上昇が認められた。吸気に伴う鼻粘膜の冷たさの感覚の強さと乾燥感覚には正の相関が認められた。また，メントール含有空気の吸気は湿度感覚を低下させた。

4. 結論

環境の湿度感覚の受容部位として鼻粘膜が重要な部位であることが明らかになった。さらに，冷感覚が重要な機序である可能性が示唆された。今後，これらの感覚に関わる脳のメカニズムを明らかにする。

8. バーチャルエージェントによる表情模倣成立の効果に関する神経生理学的解明

佐藤大樹（芝浦工業大学 システム理工学部 生命科学科）

AI 技術の発展に伴い，人工対話エージェント(Virtual Agent: VA)の重要性が高まっている。VA のコミュニケーション能力を高めるため，対話相手の動きなどを模倣する機能を VA に実装する研究が報告されているが，その効果について一致した見解は得られていなかった。

我々の研究グループは，VA による表情模倣がもたらす効果とその神経基盤に関する研究を進めてきた。機能的磁気共鳴画像法（functional Magnetic Resonance Imaging: fMRI）を用いた先行研究の結果，実験参加者が笑顔を示した直後に VA が喜び感情を表現すること（被模倣条件）で，参加者のポジティブ気分が向上し，帯状回や楔前部が賦活することを示した。しかし，この結果だけでは，ポジティブな感情を共有したことが原因なのか，感情を模倣されたことが原因なのか，切り分けることができなかった。そこで本研究では，実験条件に「悲しい顔」を加えるとともに，VA の感情表現の後にヒトが表情を生成する「模倣条件」も追加し，感情の種類（喜び－悲しみ）と模倣の順序（模倣―被模倣）の影響を検討した。

健常成人 31 名を対象とした fMRI 計測を実施した。参加者には，ヒヨコ型 VA の周囲に表示した記号により，笑顔か悲しみ，いずれかの表情を表出するよう教示した。ヒト表情の表出前に VA が先行して感情表現をする「模倣」条件と，ヒトが先行して表情を表出する「被模倣」条件を設定した。また，各試行の後にポジティブーネガティブの軸で気分を評価させた。

気分評価の結果，模倣条件と被模倣条件の差はなかったが，参加者の表情がエージェントの感情と一致しているときにポジティブ気分が高まることが分かった。一方，fMRI の結果は，模倣条件が側頭から後頭にかけて広い領域を賦活させるのに対し，被模倣条件は，線条体近傍に限局した活動を誘発することを示した。この結果は，被模倣条件だけが報酬系を賦活させた可能性を示す。この線条体の活動は，笑顔でも悲しい顔でも共通しており，参加者と VA の感情表現が一致しているときに限定して見られた。

本研究により，ヒトは VA に表情（感情）を模倣されることによって報酬を感じる可能性が示された。主観的な気分評価では差が見られなかったが，さらに解析を進め，共感的なコミュニケーションを実現する VA の感情表現アルゴリズムの開発に繋げたい。

9.　語用論的解釈の神経基盤 — 認知要素と情動要素の協働機制の探索

中村太戯留（武蔵野大学 データサイエンス学部（教養教育））
松井智子（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）

比喩や皮肉などの語用論的解釈に際しては，大脳皮質などによる認知的処理の要素と，大脳辺縁系などによる情動的処理の要素が，協働的に活動することが特徴である。これらの要素は，意味的情報と現実との間の何らかのズレ（意図的な不調和）の感知とその解消に関与するが，その協働機制は統一見解に至っていない。

本研究は，語用論的刺激の複雑性の制御による，不調和処理における認知要素と情動要素の協働機制の探索を目的とし，(A)「皮肉における刺激の複雑性制御による認知要素と情動要素の協働を探る」と (B)「面白さを誘発する比喩的表現における刺激の複雑性制御による認知要素と情動要素の協働を探る」を進めている。

(A) 皮肉に関して，本年度は前課題において収集したイメージングデータの再解析と，解析結果の再検討を実施した。皮肉に関する先行研究（Spotorno 他, 2012）では文字刺激が用いられることが多く，皮肉理解の前提となる文脈情報の提示につづいて，その内容と不調和な発話内容の提示があるという刺激構成となっている。その先行研究では，この「文脈情報と発話内容の不調和」の主効果として，内側前頭前野前方を含む「心の理論」関連の部位の賦活が報告されていた。本研究では，情動的処理の要素を検討するために音声刺激を用いており，発話韻律と関連した不調和を検討することが可能である。結果，「文脈情報と発話内容の不調和」の主効果は先行研究の結果を再現したのに加えて，「発話内容と発話韻律の不調和」の主効果として扁桃体，そして両要因の交互作用（文脈情報と発話韻律の不調和）として内側前頭前野後方，下前頭回そして島皮質の賦活が認められた。なお，扁桃体は，新しい視点から再解析することにより賦活を確認できた部位であることを付記する（図 1）。扁桃体は関連性感知において重要な役割を果たす可能性が示唆されており（Sander 他, 2003），皮肉に特有な処理をしている可能性も示唆されている（内山他, 2012）。内側前頭前野や島皮質は顕著性ネットワークにおいて重要な役割を果たす可能性が示唆されており（Menon & Uddin, 2010），本研究においては，音声刺激の皮肉理解における二種類の不調和の統合処理に関与している可能性が示唆される。

来年度は，これらの論文化を進めるとともに，(A)と(B)の関係性の検討を進める予定である。

引用文献

Menon, V., & Uddin, L. Q. (2010). Saliency, switching, attention and control: a network model of insula function. *Brain structure & function*, **214**(5-6), 655–667.

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.

Sander, D., Grafman, J., & Zalla, T. (2003). The human amygdala: an evolved system for relevance detection. *Reviews in the neurosciences*, **14**(4), 303–316.

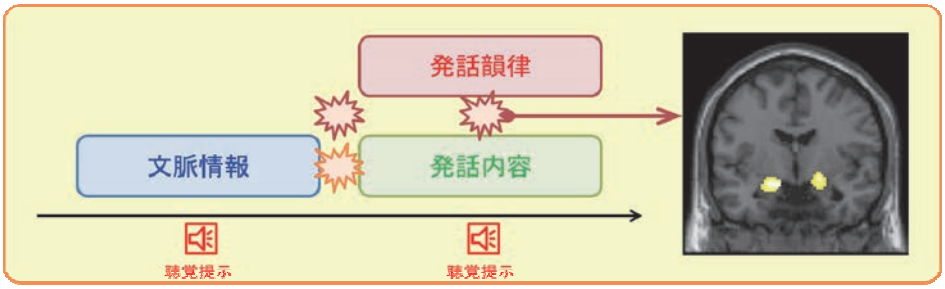


図 1 ：韻律を有する皮肉理解における「発話内容と発話韻律の不調和」の主効果

10. 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（発達障害研究所），西原真理（愛知医科大 痛みセンター），杉山俊介（岐阜大 精神科）
竹内伸行（愛知医科大 精神科），絹川友章（名古屋大 麻酔科），谷口智哉（名古屋大 麻酔科）

聴覚誘発電位・誘発磁場を用いたペアパルス抑制のパラダイム確立を目指して引き続き研究を行った。短潜時抑制（10〜60 ミリ秒のプレパルス – テスト間隔），長潜時抑制（600〜700 ミリ秒）いずれも良好な再現性を示し，信頼できる検査と考えられた（Takeuchi, Journal of Neuroscience Methods 2021; Takeuchi, Neurosci Res 2021）。抑制率の分布も比較的幅広く，抑制系能力の指標としても有用であると思われる。

このパラダイムを用いて，精神疾患や発達障害について計測を行って（脳波）健常者と比較する計画で，一部の疾患についてはそれぞれの臨床施設で既にデータ収集が開始されている。病態に抑制系の異常が関与するかどうかについて，新知見が得られるものと期待される。

プレパルス抑制以外の手法として，定常反応（steady state response）を用いたパラダイムも考案した。異なる周波数のオシーレション回路間の関係や位相移動を観察する方法である（Sugiyama, Front. Psychiatry 2021; Sugiyama, Hum Brain Mapp 2020）。それぞれの計測で関与する興奮性伝達や抑制の仕組みが異なれば，検査の組み合わせで多くの情報を得ることができると期待される。

11. 運動イメージの脳内表象の解明

水口暢章（立命館大学 総合科学技術研究機構）
菅原　翔（公益財団法人東京都医学総合研究所 脳機能再建プロジェクト）
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）
濱野友希，土元翔平，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，その能力は運動イメージを用いたトレーニングの効果やBCI操作能と関連がある可能性が示されている。たとえ若年健常者であっても運動イメージ能力に個人差があることは広く受け入れられている事実であるが，運動イメージは主観的な体験であるため運動イメージ能力の定量方法は未だ確立していない。したがって，運動イメージ能力と関連する神経基盤を明らかにすることは意義があると考えられる。

先行研究でよく用いられる経頭蓋磁気刺激法（TMS）により誘発した運動誘発電位，および，fMRI による脳機能イメージングはそれぞれ確立された方法であり，各手法を用いた研究では再現性の高い結果が得られている。しかしながら，これまでの運動イメージ研究の多くは質問紙に主観的に答える方法を用いて，質問紙のスコアと運動誘発電位もしくは脳機能イメージング結果と比較しているため，定量的な指標である運動誘発電位と脳機能イメージング結果の関係性は調べられていない。そこで本研究では，同一被験者を対象として，先行研究により運動イメージ能力と関連することが示唆されている運動誘発電位の振幅増大と脳機能イメージングで評価した脳内表象類似性（representation similarity）の程度との関連性を明らかにすることを目的とした。

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。

これまでに被験者 25 名からデータを取得した。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，運動イメージ関連領域が賦活することを確認しており，これらは先行研究の結果と一致している。今後は引き続きデータを蓄積し，電気生理学的な解析と脳機能イメージングを合わせた解析を行う予定である。

12. 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究

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）

自然に習得する母語に比べ，第二言語を習得するには様々な困難が伴う。新たに文字表記，発音，文法などを学ばねばならないからだ。中には流暢に第二言語を操る学習者もいるが，「てにをは」と呼ばれる，平仮名一文字の助詞習得がボトルネックとなっている。また，英語学習者にとっては前置詞や関係代名詞を含む文章の習得が難しいとされている。

本研究では，第二言語習得を困難にする要因の一つは syntax（統語）の習得であると仮定し，学習者が困難をきたす原因を脳画像を用いて検証する。母語である第一言語が処理される過程と，第二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する。先行研究では，母語処理と第二言語処理に関して「同じ処理が行われる」説と「異なる処理が行われる」という相反する説が報告されてきたため，脳画像を用いてそれぞれの言語処理を可視化することを本研究の目的である。

まず，被験者に日本語母語話者と日本語学習者を採用し，日本語の文章に見合った正しい助詞を解答するタスクを課し，両グループの正答率，解答速度，神経基盤を比較検証した。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。

実験の結果，学習者は母語話者に比べ正答率が低く，解答速度も遅かった。つまり，日本語母語話者にとって助詞の産出は簡単である一方，学習者にとっては，平仮名一文字を産出することが非常に困難であることが明らかになった。神経基盤は，両グループとも IFG の関与が認められ母語話者も学習者も同じ領域を使って処理を行うことが明らかになった。一方，学習者グループに特化して活動する領域は IFS であり VWM を使って記憶リソースを駆使して助詞を産出していることが明らかになった。これらの発見により，母語話者も学習者も同じ神経基盤を使って統語処理を行うが，学習者は文法ルールを見つけ出したり，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。

13. 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）
當山峰道（藤田医科大学 医学部 リハビリテーション医学Ⅰ講座）
山口玲欧奈（京都大学 高等研究院）
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 年度から 2017 年度にかけて合計 6 頭の損傷後 4 ヶ月間の安静時 MRI データを記録した。2018 年度以降は主に記録したデータの解析を行った。

昨年度は，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。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。今年度は解析を進め，機械学習を用いた画像ノイズ除去技術である FIX-ICA を適用し，Eigenvector centrality を用いてネットワークの中心性を調査した。損傷後の 1 ヶ月を対象とし, 6 頭のグループ解析を行うと，右の視床を主として左の視床，小脳で中心性が有意に低下していたことが示された。一方，個体ごとにみるとノイズ除去が十分でない個体もいることから，個体ごとのノイズ除去の精度を高め，各回復過程に合わせて中心性の解析を進めることで，脊髄損傷後の脳における大規模回路再編の詳細を明らかにする。

14. 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（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。3T MRI（Siemens 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，睡眠段階判定を基にした 2) ブロックデザイン解析，3) 機能的結合性解析を行った。

本課題は前年度からの継続であり，被験者数を増やし実験を施行予定であったが，COVID-19 の影響により 2020 年度中は新規実験の中断を余儀なくされた。定期的にオンラインで解析方法等の検討を行う場を設け，オフサイトで可能な範囲の解析を進めた。計 33 名（女性 16 名，平均 21.5 ± 3.2 歳）の撮像を終えており，Alpha power-BOLD 間には視床の CM（正中中心核）を主体に有意な正相関，後頭葉を主体に負相関がみられている。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る一方で，入眠期に Default Mode Network を含む皮質間の結合性には有意変化を認めなかった。

これらは感覚を統合する視床と大脳皮質間の機能的結合性低下が入眠期の意識レベル変化に寄与するという仮説を支持している。視床内の核ごとに結合性動態は異なっており，今後その詳細解析も進める予定としている。

15. 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（関西学院大学大学院 理工学研究科）
川上　愛（大阪大学大学院 文学研究科）

2020 年度は，新型コロナウィルスの感染が広がる社会状況を踏まえて研究計画を修正し，前年度までの研究成果の公開と，2021 年度以降の研究を円滑に行うための環境整備を中心とした活動を行った。具体的な実施項目は，1) 意図的な立毛生成能力の客観的計測に関する論文の投稿，2) クラウドファンディングを通じた研究活動の情報発信と予算の獲得，3)被験者の候補となる意図的な立毛生成能力を持つ個人の特定と予備的なデータの取得の３つであった。

年度の前半における研究では，前年度までに取得した意図的な立毛の客観的計測データに基づいた論文の投稿作業を行った。この結果，当該の研究内容は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 Frontiers in Neuroscience 誌に掲載された。また，学術系クラウドファンディングサービスである academist にて，情動性の立毛に関わる神経基盤の解明を目的としたファンディングを実施し，目標額を達成しプロジェクトを成立させた。なお，このファンディングで獲得した資金は，意図的な立毛生成能力を持つ被験者が生理学研究所での fMRI 計測実験に参加する際に，その旅費として使用する予定である。

年度後半の研究では，前年度に引き続いて意図的な立毛生成能力を持つ個人の特定を進めた。クラウドファンディングによる情報発信の成果として，新たに 15 名程度の個人から意図的な立毛生成能力の自己申告が得られた。このうち11名については質問紙調査にて意図的な立毛生成に該当する能力を回答しており，うち 3 名については立毛計測機材による画像解析データでこの能力が客観的に確認された。2021 年度の研究では，これらの個人に対して被験者としての参加を依頼する予定である。

上記に加え，2019 年度末に取得した 4 名分の撮像データを用いて予備的な解析を実施した。この結果，個人レベルでは課題の内容に応じた脳部位の賦活が確認されたが，集団レベルでは有意な活動を確認するに至らず，撮像データの拡充が急務であることが確認された。先述のように，2020 年度は新型コロナウィルスの影響により fMRI を用いた実験が実施できなかったため，計画全体において撮像データの取得に遅れが見られる。2021 年度も引き続き実験の実施が困難な状況が続くと予想されるが，2020 年度に新たに特定した意図的な立毛生成の能力を有する個人を対象に，可能な限り実験規模の拡大を目指す。

16. 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）

本研究の目的は，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ことである。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外部被験者を募って計測し，比較検討する予定であった。

しかしながら，COVID-19 の感染予防の為，研究代表者は所属組織から外部被験者と接触することが制限された。経頭蓋電気刺激では頭皮に接触する必要があり，脳磁計は比較的狭い閉鎖空間にあり換気が難しいことから，外部被験者を用いた計測が困難であったため，今

年度は内部被験者数名を測定する結果となった。特に副反応などは出現せず，計測は順調に行うことができた。今後は感染状況を見ながら，外部被験者の測定を行っていく予定である。

17. Gap により惹起される聴覚誘発脳磁界反応

岡本秀彦（国際医療福祉大学 医学部 医学科）

聴覚刺激において，物理的に音波が存在する状態はもちろんであるが，音波がない状態でも「音波がない」という情報が重要な意味を持つ場合がある。特に，語音の知覚において「無音(Gap)」の存在は重要な枠割を果たしていることが，様々な行動実験から知られている。しかしながら，継続音の途中に呈示された無音がヒト脳内においてどのような神経活動を惹起するかについては，あまり知られていない。ヒト脳内における無音の神経処理機構を理解することは，言語処理の理解に繋がると考えらえる。そこで本研究では，持続音に埋め込まれた Gap によって誘発される脳活動を計測することを目的として MEG を用いて聴性誘発脳磁界を計測する。測定時に音を発生せず時間分解能に優れる MEG 計測は，Gap により誘発される神経活動の計測に非常に有用である。Gap 刺激により惹起される聴覚誘発脳磁界反応が，雑音の繰り返しによりどのような影響を受けるかを検証することで，Gap の呈示頻度が脳活動に与える影響を調べる。

今年度は実験の刺激の作成や準備を行い，予備実験を行う予定であった。刺激音の作成や，聴性誘発脳磁界の測定プロトコルなどは予定通り行うことができた。あとは外部被験者を募り，実際に計測する段階であるが，実際の計測は，実験代表者が指導している大学院生が主体となり計測する予定であった。しかしながら，COVID-19 の感染予防の為，大学院生の県を超える移動が制限されたこと，研究代表者が外部被験者と接触することが制限されたことがあり，外部被験者を用いての脳磁場計測は進んでいない状況である。感染状況を見ながら，外部被験者の測定を行っていく予定である。

18. 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）

本研究は，主として聴覚機能に着目して，時間及び空間分解能に優れた脳磁図（MEG）を利用し，行動と脳機能を関連性を見出し，脳内の活動部位と部位間の結合により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。

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）を呈示する両耳分離聴タスクの結果を報告する。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のが現状である。

右耳優位とは，2 つの異なる音声刺激を同時に両耳に提示したとき，右耳からの刺激を左耳よりも正しく報告するという結果である。これは，聴覚経路の対側半球への投射が顕著であることと，音声の知覚において左聴覚野が優位であることに起因すると考えられている。本研究では，右耳優位性における注意の役割を調べることを目的とし，日本語の 2 音節の単語（例として「/ta/ko/」または「/i/ka/」）のペアを実験参加者に同時に呈示し，その時の MEG を計測した。音声刺激は, 片方の耳で 35Hz, もう片方の耳で 45Hz で変調した。これは周波数のタグ付け法により，左右の耳の刺激に対する左右の聴覚野の反応を選択的に抽出することが可能となる。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。

行動実験では，右耳に提示された刺激の方が左耳より

も高い正解率を示し，右耳優位が確認した。聴覚定常応答（ASSR）の振幅は，Passive 条件に比べて，刺激に注意を向けている Active 条件のときに大きくなった。さらに，神経生理学的指標である ASSR 振幅の注意による変調は，行動学的指標である正解率の左右差（左右の耳から聞き取った正解の割合）との間には，相関が得られた。これらの結果は，両耳分離聴時の右耳優位性に注意が寄与していることを神経生理学的に裏付ける結果である。

19. 曖昧視知覚の不安定化をもたらす脳内情報処理の解明

浦川智和（東京理科大学）

本研究課題においては，視覚ミスマッチ処理と呼ばれる脳内処理に着目し，この脳内視覚情報処理の駆動が曖昧視知覚の不安定化に関与するのか明確にすることを目指した。脳活動計測には，高い時空間分解能を持つ脳磁図（MEG）を用いることで，知覚的バイアスの減弱に関わる脳活動の発生とそれに伴って生じる脳部位間の機能的結合について検討する予定としていた。

本課題に使用する刺激呈示プログラムや実験器具などは既に準備が完了していたものの，以下の理由により本年度は実験実施に至らなかった。１．当初訪問を予定していた時期において，新型コロナウイルス感染症の拡大に歯止めがかからなかったことから，研究実施者および訪問先の対応者の健康と安全を最優先とし，訪問を見送った。２．研究所への訪問時期については，当初予定した時期以外の時期についても継続的に検討を行ってきたが，これらの時期においては所属機関における感染症対策に伴う教育業務およびその他研究室運営にかかる業務が急激に増加し，当初想定していた以上に共同利用研究の実施に係る時間的制約が大きかった。

今後，新型コロナウイルス感染症の動向および研究代表者の学内業務の今後の状況をみながら，機会があれば再度共同利用研究を申請させていただければと考えている。

20. 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）

本研究は，昨年度からの継続課題である。Marelli & Amenta (2018) によれば，語の意味活性化速度は，個々の語が持つ形態－意味間の対応関係の一貫性に依存する。彼らは，語の形態－意味対応の一貫性が語彙判断課題の成績に有意な効果を持つことを報告した。そこで，昨年度の研究では，Hino, Miyamura & Lupker (2011) が報告した漢字語とカタカナ語の形態－意味対応の一貫性のデータをもとに，語の形態－意味対応の一貫性を操作した語彙判断課題を行い，一貫性効果の観察を試みた。実験の結果，行動データには一貫性効果は観察されなかったが，前頭部と中央部の電極において N400 の振幅に有意な一貫性効果が観察された。低一貫語に対する N400 の振幅の方が高一貫語に対する振幅よりも大きかった。

語彙判断課題は，語の意味に関する判断を求める課題ではなく，むしろ，形態情報の親近性に基づいて判断がなされる可能性が高い（e.g., Borowsky & Masson, 1996; Kawamoto, Farrar & Kello, 1994; Hino & Lupker, 1996）。そのため，行動データに一貫性効果が観察されなかったのかもしれない。そこで今年度は，関連性判断課題を使って，語の形態－意味対応の一貫性効果の観察を試みた。この課題の各試行では，先行語の提示に続いてターゲット語が提示され，実験参加者には，継時提示された語ペアの意味に関連があるかどうかの判断を求めた。高一貫語と低一貫語は，全て“関連なし”試行のターゲット語として提示した。

実験の結果，行動データには一貫性効果は観察されな

かったが，前頭部と中央部の電極において，N400 の振幅に一貫性効果が観察された。さらに，頭頂部と後頭部の電極において，逆方向の一貫性効果が観察された。高一貫語に対する N400 の振幅の方が低一貫語に対する振幅よりも大きかった。この頭頂部と後頭部の電極で観察された効果は，Verleger, Jaskowski & Wascher (2005) が提案する P3b に類似していた。P3b は課題遂行の際の判断生成から実際の反応に至るプロセスを反映する。低一貫語は形態類似語の多くがターゲット語と関連のない意味を持つため，それが“関連なし”反応へのバイアスを生じ，低一貫語を含む語ペアに対する“関連なし”反応が容易になることで，こうした効果が観察されたものと思われる。

いずれにしても，これらの実験の結果から，語を読む際には，その初期段階に，ターゲット語の意味ばかりでなく，その形態類似語の意味も同時に活性化され，その後，ターゲット語に対する適切な意味が選択されるというプロセスが介在することが示唆された。

21. 脳磁図を用いた運動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，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設定し，視覚刺激による運動感に加えて聴覚刺激による運動感についても検討した。

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，中央凝視点の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，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 刺激が同じ位置で提示される一致条件と，異なる位置で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，上後頭回と下頭頂小葉における脳活動について，刺激提示後 0－500 ms の電流量を 50 ms ごとに平均してその変動を 11 名の実験参加者で調べた。

視覚刺激条件における上後頭回について，見え×半球左右差×時間の分散分析を行ったところ，見えの主効果，見えと左右差の交互作用，見えと時間の交互作用が有意（$p<.05$）であった。下頭頂小葉については，時間の主効果，見えと時間の交互作用が有意（$p<.05$）であった。

聴覚条件について同様な分析では，上後頭回について，見えの条件の主効果以外は全て有意（$p<.05$）であった。下頭頂小葉では，見えの主効果，時間の主効果，見えと左右差の交互作用, 見えと時間の交互作用が有意 ($p<.05$) であった。

視覚刺激に対しては上後頭回において，同時条件で全般に活動量が多くなっていたが，聴覚刺激に対してはその傾向がより顕著であった。一方, 下頭頂小葉では逆に，視覚刺激に対しては最適条件において活動量がより大きく，聴覚刺激に対してもその傾向がより顕著であった。

22. 末梢神経線維の選択刺激法の確立と脳反応の計測

和坂俊昭（名古屋工業大学）

痛覚に関与する侵害受容器は，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，その情報は直径が太い有髄神経の Aδ 線維と細い無髄神経の C 線維によって，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。これらの神経線維は，機械的刺激によって興奮するが，電気刺激によって興奮を生起することも可能である。しかし，両線維は電気刺激に対する閾値が異なるため，皮膚上から 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。これらの末梢神経線維を刺激する方法の一つとして，表皮内電気刺激（IES: Intra-epidermal electric stimulation）がある。IES とは，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き，微弱な電流を印加することで，表皮内の神経線維を刺激する方法である。本研究では，IES を用いて複数の条件で電流を提示し，Aδ 線維の閾値と脳活動を調べ，Aδ 線維の計算モデルを構築するための基礎的データを取得し，神経線維を効率的に刺激する方法を明らかにすることを目的としている。

被験者の右手の手背部に表皮電気刺激法で用いる刺激電極を貼付し，6 条件のパルス幅（60, 100, 200, 400, 800, 1600 μ 秒）の単発矩形波を用いて，各条件における Aδ 線維の痛覚閾値と脳反応を計測した。通電波形のパルス幅が 60 μ 秒の条件では，閾値は最も高く，パルス幅が長くなるにつれて閾値は低下した。各条件における脳反応は，パルス幅の違いに関係なく，潜時は約 0.3 秒に反応がみられた。以上の結果は，いずれも Aδ 線維を選択的に刺激していたことを示すものである。次に，パルス幅を 400 μ 秒に固定して，30 Hz の頻度でパルスの反復回数（単発から 10 連発）における痛覚閾値を計測した。痛覚閾値の結果から，Aδ 線維に関する S-D 曲線（強さ-時間曲線）を計算し，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，8 連発刺激時における閾値の電流強度で固定し，パルス数の違いによ る脳反応を計測した。その結果，少ないパルス数では脳反応が出現しないことも確認した。以上の結果から，Aδ 線維に対する時間的加重効果を明らかとなり，Aδ 線維の選択的刺激法に関する基礎的な知見を得た。

23. 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 1000 Hz の純音を用いて，マスキング音として 1000 Hz 周辺の周波数帯域を広域雑音より除去することで作成した周波数帯域除去雑音を用いた。刺激音を単独，または周波数帯域除去雑音を背景音として提示した時に誘発される脳磁場を測定した。対象となる被験者は名古屋市立大学病院や近隣の耳鼻咽喉科から紹介していただいている。しかしながら，本年度は COVID-19 の影響で来所できる回数が制限されていたこと及び対象被験者での計測が困難であった為実計測が出来なかった。そのため次年度の計測のために感染対策を徹底した計測手順や方法を再度検討，見直しを行った。

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の研究費での雇用も検討中である。

Sekiya et al., Broadened population-level frequency tuning in the auditory cortex of tinnitus patients. J Neurophysiol. 2017, 117:1379-1384.

24. 変化応答としての聴覚後期活動と聴性定常反応の位相変化

元村英史（三重大学 医学部附属病院 精神科神経科）

周期的な音刺激を呈示すると，聴性定常反応（auditory steady state response: ASSR）が誘発される。この音刺激の途中で音特性を変化させると，ASSR の位相は速化し，再び定常状態に戻る。また，連続音の突然の音特性変化は，約 100～180 ms 後に Change-N1 も誘発する。2018 年度の共同利用実験において，この二つの脳活動は変化させる音特性の物理的変化量に依存することを明らかにし，論文発表を行った（Motomura et al., 2019）。本研究課題では，全頭型脳磁図計（Vectroview, ELEKTA Neuromag）を用い，この二つの脳活動について，大脳半球差（第 1 実験）と感覚記憶との関連（第 2 実験）の解明を目指した。

第 1 実験の大脳半球差については，25 ms 純音を連結した 1200 ms の持続音を用い，音開始から 600 ms 後の一つの純音のみを周波数変化（両耳，左耳，右耳）させたテスト刺激と周波数を終始変化させないコントロール刺激の 4 刺激をランダム呈示する音刺激パラダイムを確立した。

Oddball 課題を用いると, テスト刺激の呈示頻度が稀なほど Change-N1 の振幅は大きく（Ohoyama et al., 2012），ASSR の位相は強く速化する（Sugiyama et al., 2019）。つまり，この二つの脳活動の挙動には感覚記憶が関連すると考えられる。音特性変化前の音刺激の持続時間が長いほど Change-N1 の振幅が高くなる（Inui et al., 2010）ことも感覚記憶の関連を示唆する所見である。第 2 実験の感覚記憶の関連については, ASSR の位相変化も Change-N1 同様に変化前の音刺激時間に依存するのではないかという仮説検証を目指し，40-Hz の click 連発音を用い，音圧増加前の音刺激の持続時間を変化させた音刺激パラダイムを確立した。

この二つの実験系においてオフラインフィルター（ASSR: 35-45 Hz, 変化関連脳活動: 1-35 Hz）を用いて ASSR の位相変化および Change-N1 の計測・検討を数例で行った。コロナ禍にて，2020 年度は脳磁図実験が予定通り進まなかったが，引き続いてこの二つの実験系の data 収集および解析を行う予定である。

25. 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）

2020 年度は新型コロナウイルスが蔓延し，県をまたぐ移動に著しい制限がかかった。所属機関である神戸大学では他県（特に大都市圏）への移動禁止または自粛要請が常に出され，生理学研究所での実験実施はかなわなかった。ただこれまでに取得したデータをまとめ，英文国際誌に 1 本の論文を掲載することが出来たため，以下ではそれを報告する。

短期記憶は，見たり，聞いたりしたことを，短期間（数十秒程度）貯蔵・保持する記憶である。会話・読書など色々な作業に必要となる（たとえば会話の場合，「今何について話しているか」「相手の質問は何だったか」などを記憶しなければならない）。だが「短期記憶がどのようなパターンの神経活動として保持されているか」という点に関しては諸説あり，論争中である。そこで今回，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，それらが記憶負荷の上昇（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 秒間の固

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。

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。さらに記憶課題の成績が良い被験者のみ，前頭葉でも同様の反応が見られた。これらの結果は，短期記憶の保持にα・βが関与すること，記憶力の個人差は前頭葉のα・β波に原因があること，などを示唆する（Noguchi Y, Kakigi R. 2020 *Neuroimage*. 222:11729.）。

26. 副交感神経系の変動特性の安静時脳ネットワークへの影響評価

成　烈完（東北福祉大学 感性福祉研究所）
福永雅喜（自然科学研究機構 生理学研究所）

安静時機能的 MRI (rs-fMRI) 信号の収集には多くの場合１０分前後の時間がかかり，その間に生理的変化が生じる可能性がある。我々は被験者の覚醒状態に相関する２０－５０秒周期の信号成分が rs-fMRI 信号に含まれていることを確認してきた。これは rs-fMRI 信号が自律神経系の影響を受けることを示唆する。睡眠を含む自律神経系の変化の rs-fMRI 脳機能ネットワークへの影響を調べることを目的で研究を行った。７テスラ MRI 装置で

脳下垂体・中脳・延髄などからの fMRI 信号計測を行うために MRI 測定シーケンスのパラメータ最適化を行った。しかし，COVID-19 の影響により，実験の実施が大きく制限されたため，ヒト被験者を対象とした計測を開始できなかった。次年度は，計測環境の準備は完了しているため，状況が整い次第，実験を開始する予定である。

27. 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，Kenichi Ueno，Masako Tamaki，Chisato Suzuki，Shubham Gupta，Keiji Tanaka
（RIKEN Center for Brain Science）

The work on the project in FY2020 focused on preliminary experiments that can be transitioned to the RIKEN CBS 8-Channel transmit/receive array, when the additional needed software from Siemens has been obtained as well as Ethical Committee approval for pTx experiments with human subjects.

We have done high-resolution fMRI experiments, on several subjects, focused on the inferotemporal cortex. These experiments were done using multi-shot EPI, but with the single-channel Nova transmit array. These experiments have once again demonstrated that multi-shot EPI reduces the distortions and signal drop-out that severely limit studies in the inferotemporal cortex, when single-shot EPI is used. Our results so far demonstrate that the area of the cortex involved in object recognition, does extend into the region impacted by signal drop-out as expected. Since multi-shot EPI only reduces the extent of the signal drop-out region, but does not eliminate it, this result emphasizes the need for pTx to more fully recover the signal in the drop-out region.

Toward the end of FY2020, we also performed some preliminary MRS experiments, with the aim of combining MRS and fMRI experiments in the same experimental session. These preliminary experiments showed that it is possible to obtain sufficient SNR to measure Glutamate and GABA concentrations, in as little as 24 s. At 3T, similar quality spectra, would take more than 5 min. MRS studies could also benefit from pTx, because the MRS voxel could be excited with a single pTx pulse,

rather than needing a train of high-power RF pulses.

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.

28. 大脳言語野皮質の層特異的活動の計測

幕内　充（国立障害者リハビリテーションセンター研究所）

新型コロナウイルス感染症の流行のため出張が不可となったため，本年度は 2 回しか生理研に来ることができず，さらにそのうち 1 回は被験者の体調不良の為撮像ができなかったので，7T MRI 撮像は 1 回であった。

日本語と英語の埋め込み文と埋め込みのない文を読ませ，理解させる課題を 1 名に対し行った。7T MRI を使用して全脳をカバーする撮像を行った。TR=1000 ms, TE=23.8 ms, 2.5 mm 厚，axial 54 slices，mutiband factor 3,1 session 545 volum x 5 session.

SPM12 による解析結果を見るとアーチファクトが多かった。次回以降，層別活動を計測するための高解像度撮像を行う予定である。

29. 超高磁場機能的磁気共鳴画像法を用いたヒト脳活動の高分解能計測および解析法の研究

宮脇陽一，梅沢昂平（電気通信大学大学院 情報理工学研究科）
高原　唯（電気通信大学 情報理工学域）
山下宙人（ATR 計算脳イメージング研究室）
福永雅喜（生理学研究所 心理生理学研究部門）

ヒトの外界認識では，複数脳部位が逐次的かつ階層的に関与する神経活動が重要である。そのメカニズムを理解するには高時空間分解能でのヒト脳活動計測と解析が必要である。しかしながら，こうした目的のために十分な時空間分解能でヒト脳活動を計測し，解析可能な手法は現存しない。本研究では超高磁場 fMRI の性質を活用し，ヒト脳活動の高時空間分解能計測ならびに計測データからの高精度な情報抽出を行い，脳内での情報表現を研究することを目的とする。

2020 年度は，大脳皮質における空間的に詳細な情報表現抽出の対象として体性感覚野を選び，超高磁場 7T fMRI 装置を用いて, 手指を用いたタッピングタスク時における手指の身体表現図式のマッピング実験を実施した。空間分解能にして 1.2×1.2×1.2 mm の高解像度ヒト脳活動撮像の実施に成功し，また体性感覚野および運動感覚野における手指表現マップを得ることに成功した。この脳活動マップが，手指運動の学習前後でどのように変化するかを新しい実験タスクのもとで現在調査しているところである。

それと同時に，超高磁場 7T fMRI 装置を用いて時間的に詳細な情報表現抽出の試みの準備も進めた。これまで提案代表者が他研究機関で実施してきた超高磁場 fMRI 信号の高速撮像法は, 従来方法と比較して約 16 倍程度高速（TR 125 ms 程度）にヒト脳活動を計測するものであるため，高速撮像に伴う信号対雑音比の低下が懸念される。こうした状況が生理学研究所の fMRI 装置で起きないかを検証するため，ヒト被験者実験を実施する前段階として，ヒト脳を模擬した媒質でできた撮像用模型（ファントム）を用いて信号対雑音比の検証を行った。結果，これまで同様の信号対雑音比での計測が可能であることを定量的に確認し，ヒト実験へと移行する準備を整えることができた。

30. 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。

これまでの研究で，ミエリン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た。本年度は前年度に引き続き，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差異について検討するため，19 名の被験者の fMRI データのグループ解析を行った。各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（注視課題），滑らかに動く視標を眼で追跡する課題（スムースパシュート課題），跳躍的に動く視標を眼で追跡する課題（視覚誘導性サッケード課題）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。統計的有意性の評価には FDR を採用した。注視課題との比較から，二つの眼球運動に共通して，MT+野，前頭眼野，補足眼野，運動前眼野，頭頂間溝領域に統計的に有意な信号上昇が見られた。スムースパシュート課題と視覚誘導性サッケード課題の比較では，MT+野，下頭頂小葉の PFt，後部帯状皮質において，スムースパシュート課題でより強い賦活が見られ，前頭眼野，補足眼野，運動前眼野および頭頂連合野の LIP 野において，視覚誘導性サッケード課題でより強い賦活が見られた。これらの結果は，二つの眼球運動に関わる脳領域は重複するが，各脳領域の働きは眼球運動の種類に応じて異なることを示唆する。

次年度は，行動パフォーマンスと賦活との関係，脳領域間の構造・機能的コネクティビティ，について詳細に検討する計画である。

31. 7T MR 装置を用いた血管壁イメージングによる脳血管壁性状と 3 次元シネ位相コントラスト磁気共鳴法による脳血管血流動態の検討

礒田治夫（名古屋大学 脳とこころの研究センター）
福永雅喜（自然科学研究機構 生理学研究所）
小森芳秋，市場義人（シーメンスヘルスケア株式会社）

1. 背景･目的

血流動態により血管壁リモデリングが生じ，血管壁の厚みや形状が変化する。近年，3 次元シネ位相コントラスト磁気共鳴法により血管内速度ベクトルが空間 3 次元で経時的に取得でき，血流動態が分かるようになった。また，血管壁イメージングで血管壁の厚みや性状を検出可能となってきた。

本研究の目的は，高空間分解能，高 SNR の 7T MR 装置を用い，血流動態と血管壁性状の関連を検討することである。本年度は血管壁イメージングの確立を目指した。

2. 方法

実験には MAGNETOM 7T (SIEMENS, Erlangen, Germany) と 1ch Tx / 32ch Rx head coil (Nova Medical, Wilmington, USA) を用い，健常成人 1 名の撮像を次のように行った。文献 1-4) を参考に T1 強調や PD 強調の 3D-sampling perfection with application optimized contrasts using different

flip angle evolution (3D-SPACE) 法のパラメータを変化させた。PD 強調 3D-SPACE に IR パルス，MT パルス も併用した。総計 12 通りの撮影を行った。

得られた画像に対し，内頸動脈，中大脳動脈を対象に血管壁信号・血管内腔信号・髄液信号・髄液信号均一度などに注目して，血管壁の描出を定性的に評価した。

3. 結果･考察

文献の画像と我々が得た画像には乖離があり，血管壁の描出は不良であった。PD 強調 SPACE では，髄液の動きにより信号低下が生じた脳槽内を走行する血管壁は評価可能な場合があった。T1 強調 SPACE では，血管壁は描出されるが，髄液信号が比較的高く，コントラストは不良であった。IR pulse 付加 SPACE でも血管壁の描出は不良であった。なお，この方法では，髄液信号が均一に低下するものがある一方，不均一なものがあった。また，IR pulse 付加 SPACE では MT pulse 付加で血管壁描出がやや向上した。IR pulse 付加 SPACE では，撮影断面方向の違いが血管壁描出能に影響を及ぼすことが示唆された。

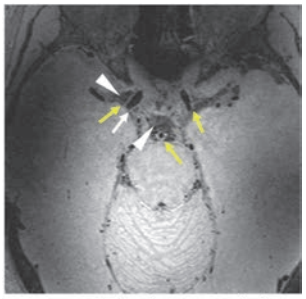
今後の対策としては，血管壁・血液・髄液・脳実質などの緩和時間を加味して信号強度をシミュレーションし，TI を含めた最適パラメータを見つける必要がある。

4. 結論

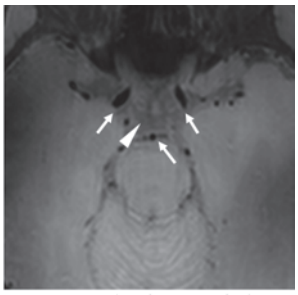
今回用いたパラメータの SPACE 法で血管壁は良好に描出できなかった。今後，組織の緩和時間を加味したシミュレーションにより，髄液と血液の信号を低下させ，血管壁信号を高信号に描出する最適なパラメータをさらに検討したい。

5. 文献

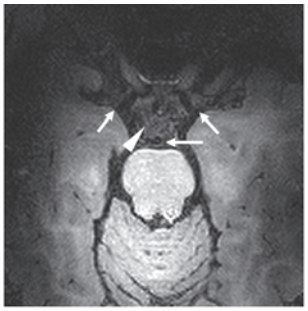
1) Zhu, Magn Reson Mater Phy 2016;29:559–570.
2) Liu, European Radiology 2020;30:301–307.
3) Fakin, Stroke 2020;51:3623–3631.
4) Lindenholz, Radiology 2018; 286:12–28.



SPACE画像(TR/TE=1460/17) 内頸動脈壁、脳底動脈壁が観察される（→）。髄液の動きで信号が低下した髄液（矢頭）周囲の動脈壁（黄色）の描出は良好。



SPACE画像(TR/TE=700/12) 内頸動脈壁、脳底動脈壁が観察される（→）。髄液（矢頭）の信号が全体的に高く、血管壁と髄液のコントラスト差は小さい。



SPACE画像(TR/TE/TI = 6050/30/1770) 髄液（矢頭）の信号は低いが、不均一である。内頸動脈壁、脳底動脈壁は観察される（→）が不明瞭である。

32. 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）
瀬尾芳輝（愛知学泉大学）
福永雅喜（生理学研究所）

超高磁場の MRI の利点として，高いケミカルシフト分解能による代謝物のスペクトル分離能を利用した代謝物の分離計測法があげられる。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。この傾斜磁場の印可による周波数のズレは，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 2cm 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。一方，灰白質と白質では代謝物成分が異なる。このため関心領域を決めるケミカルシフトを NAA として大脳の中隔付近に関心領域を設定した場合，myo イノシトールは白質の一部を含み，得られたスペクトルの割合は灰白質のスペクトルと異なる。中隔付近を CSI 法で計測したスペクトルにはこの CSD error を含まれないいため，より純粋な灰白質のスペクトルが計測されることが期待される。このため，中隔付近の灰白質をシングルボクセル法と CSI の両方で計測し，シングルボクセル法における CSD error によるスペクトルの代謝物濃度比の変化についてデータを収集した。2021 年度も引き続きデータを取得して CSD error によるスペクトルにおける代謝物エラーについてまとめる予定である。

33. 呼吸活動が及ぼす認知パフォーマンス関連の脳活動の解明

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）

呼吸は，脳幹の延髄の PreBötzinger Complex から生じるリズムジェネレータとしての吸息期神経活動と脳幹の橋の呼息期神経活動，迷走神経活動による反射（Hering-Breuer 反射）により形成・維持されることが知られている。また，呼吸のパターン活動は，上位脳からのトップダウン制御も含まれる。

近年，呼吸の律動的活動は，認知機能を司る上位脳に「ボトムアップ制御」として直接作用する可能性が示唆されている。2018 年，我々は心理生理学的手法を用いて，呼吸活動，特に息を吸う瞬間が直接認知パフォーマンスを変えることを発見し，その成果を国際科学誌 PLoS ONE に発表した。この研究では，EI 転移期（呼息期から吸息期へと切り替わるタイミング）が記憶想起プロセスと重なったときに，課題の反応時間が約 0.5 秒延長し，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タイミングでは，そのような結果は示されなかった。これにより，呼吸のタイミングは，記憶したことが正確に思い出せないなど，認知低下に直接影響を及ぼすことが明らかになった。

2018 年より，同一の課題を用いて fMRI 実験を開始している。健常被験者に見本合わせ再認課題を fMRI 撮像下で行ってもらい，同時に呼吸活動をモニターした。行動解析において，2018 年の論文と同様，息吸う瞬間が課題の正解率を低下させることが示され，今回の実験では，さらなる詳細な EI 転移期（息吸う瞬間）の効果が示された。一方，fMRI 画像解析に関しては，今回，呼吸活動の大脳皮質活動への効果が研究テーマであるため，呼吸によるアーチファクトの影響について慎重に取り扱う必要がある。そのアーチファクトを取り除く最先端の手法として，Independent Component Analysis (ICA) を用いた FIX 法がある。これは，ICA アルゴリズムを用いて，fMRI の 4 次元画像に含まれるアーチファクトや生理的ノイズ（体動や拍動等）を一つずつのコンポーネントとして分類する方法であり，これを用いることで，fMRI データ画像に直接アーチファクトとして作用する呼吸や拍動の影響を劇的に取り除くことが可能となる。現在，ICA-FIX 法を用いて，これらのアーチファクトを除去する処理に取り組んでいる。

34. 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，于　英花（岡山大学大学院 ヘルスシステム統合科学研究科）
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。この知覚過程は，低次感覚皮質各層の神経細胞で構成する局所神経回路が重要な役割を果たしているという仮説はあるが，その神経基盤は未だ解明されていない。本研究は，2019 年度からスタートした共同研究であり，7 T レイヤーfMRI 技術を用いて，ヒト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。

これまでの研究推進により，片側体性感覚皮質や帯状回皮質など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。今年度では，緊急事態宣言に伴う移動制限の影響を受け，レイヤーfMRI 実験の進行が遅れたが，現時点では健常若年者 14 名のデータを取得した。これまでの成果は，ヒト第一次体性感覚野の各層における予測誤差処理メカニズムの理解を深めた。また，予測信号生成に関わる帯状回皮質層別の活動特徴も記録でき，次年度の研究推進に必要不可欠な知見が得られた。さらにこれらの研究成果は，2021 年 5 月に開催される International Society for Magnetic Resonance in Medicine (ISMRM2021) 年次大会に発表する予定である。次年度では，さらにレイヤーfMRI 実験を実施し，本研究の目標達成を目指す。

35. fMRI における外側後頭皮質のより特異的な functional localizer の探索

内山博之（鹿児島大学 学術研究院 理工学域）
福永雅喜，郷田直一（生理学研究所 心理生理学部門）
宮田良眞，有馬尚輝，熊谷建哉（鹿児島大学大学院 理工学研究科）

1995 年 Tootell の率いるグループの fMRI 計測によって，「後頭葉の外側後部の，MT/V5 の後方に接する」領域が様々なオブジェクトに反応することが初めて明らかになった（Malach et al., 1995）。しかし，その後の数多くの研究によって，現在ではこの領域（lateral occipital cortex, LO）はオブジェクト識別に直接関与しているのではなく，形状知覚に関与していると考えられているが（Larssen and Heeger, 2006），未だその詳細は明らかではない。研究代表者らが行った電気生理学的計測によって，LO が複数の基本図形で構成された単純複合図形によって強く活性化されることが明らかとなった。このような知見を踏まえて，本研究では LO を強く活性化する図形特徴を明らかにし，LO における形状分析過程を解明することを目的とする。

新型コロナウィルス感染症拡大予防のための出張の制限によって，当初想定していた計測回数と被験者数とはならなかったものの，７テスラ MRI を用いて延べ７名の被験者を対象に計測実験を行った。１６秒間の一つのブロックで同一カテゴリの画像を２０枚連続的に呈示するブロックデザインで計測し，カテゴリ間の BOLD 信号の対比を行なった。カテゴリの対比は，以下の組み合わせで行なった：１）オブジェクト画像とそのスクランブル画像（従来の LO の functional localizer），２）単一基本図形と３，４個の同一の基本図形で構成された単純複合図形，３）単純複合図形とそのスクランブル画像，４）単純複合図形とオブジェクト画像。さらに３名の被験者で，retinotopy map の計測も行い，LO 周辺の各領域の同定を試みた。

馴化の起こりやすい単純な形状の図形によるブロックデザインでの賦活法や，単一図形と複合図形による刺激範囲の調整など，いくつか解決しなければならない実験上の問題に遭遇した。しかし，未だ分析中ではあるが，複数の被験者で単純複合図形がそのスクランブル画像よりも強い BOLD 信号を示す領域が LO で見られ（図１），電気生理学的知見を支持する知見が得られた。

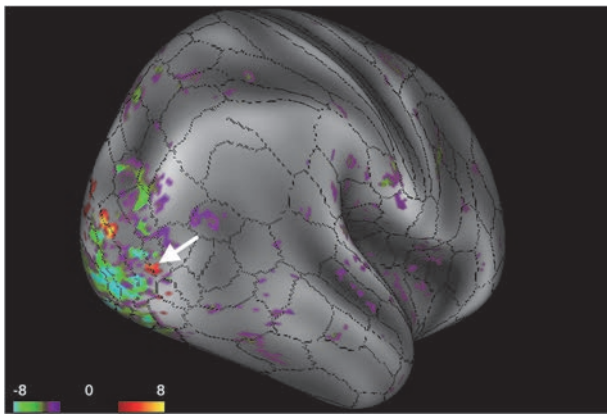


図１。単純複合図形による右 LO の活性部位（白矢印）

共同研究の２年目となる 2021 年度は, オブジェクト画像の構造化なども含めた様々な刺激画像を用いて計測を行い，LO の形状分析過程の理解に結び付けたい。

36. 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）

本研究課題では，比喩生成時において内的表象が形成される神経メカニズムを解明することを目的とし，提示された視覚イメージを口頭で説明する画像説明実験とともに，聴覚刺激を伴う映像鑑賞課題・画像説明実験で頻出した 8 種類の概念（回答）を用いた one-back 課題を用いた MRI 実験を実施する。映像鑑賞課題において得られたデータに対し searchlight hyperalignment 法を用いて，各被験者の神経パターンを共通表象スペースへと変換するモデルを学習する。画像説明実験における比喩生成過程の神経パターンと one-back 課題における各概念に関する神経パターンを共通表象スペース内のベクトルに変換することで，比喩生成時に形成される（個人差を考慮した）内的表象について検討を行う。既に，2019 年度に 6 名の被験者での実施を行い，2020 年度に被験者 30 名の追加を計画していたが，Covid-19 の影響により実験実施ができなかった。そのため，2021 年度に 2020 年度実施予定であった実験を行い，被験者数を増やすことを予定している。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 モデルの作成，画像説明課題における対象概念を用いた比喩生成過程の脳活動データを用いた classification accuracy の確認を予定している。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することで，特定の意味認識に関わる領域の有無について検討する予定である。

37. 将来の報酬を期待するヒト脳の価値表象の動的特徴と選択形成の解析

新滝玲子（慶應義塾大学大学院 理工学研究科）
地村弘二（慶應義塾大学 理工学部 生命情報学科）

採餌は，幅広い生物種において，刻々と変化する不確実な環境下で栄養を獲得し，生き延びるための基本的な行動である。非ヒト種の動物を対象とした採餌行動の研究では実環境が用いられており，被検動物は餌や液体を，実験室環境で探し，見つけ，摂取している。しかし，ヒトを対象とした研究では，仮説的な状況を用いられてき

たため，種間で採餌行動を比較するには限界がある。そこで本研究では，機能的 MRI 撮像中に，ヒトが，数十秒遅延する実物の液体の報酬を実際に獲得・消費し（経験試行），その後，同じ環境で遅延報酬を待つ（採餌試行）という採餌課題を遂行した。重要なことは，採餌試行では，被験者はいつ報酬が得られるかわからない状況で待ち続けることができる一方で，好きなときに報酬を待つのをやめて，次の新しい環境（経験試行）に移ることができた。採餌試行の遅延の開始から報酬を待つのをやめるまでの時間を生存率分析で分析したところ，経験試行で報酬の量が少なく，遅延時間が長い環境では，高い頻度でより早く待つのをやめる傾向があった。機能的 MRI 画像の解析では，ベイズ学習を用いて，経験試行の遅延期間における価値表現信号の時間的動態をモデル化した。待つことの喜びを反映した予期効用の動態は，前頭眼窩前頭皮質と海馬に関連していた。そして，行動解析で生存関数の曲線下面積（AuC）を算出し，AuC が大きい人と小さい人の間で予測効用の時間動態を比較した。その結果，前頭眼窩皮質では，AuC が小さい個体の方が予期効用効果が顕著であるのに対し，海馬では AuC が大きい個体の方が顕著であった。これらの結果は，採餌行動において，行動戦略に依存して関連する脳領域が異なることを示しており，前頭眼窩皮質と海馬が，それぞれ探索戦略と滞在戦略に関与していることを示唆している。

38. 機械学習と fMRI を用いた抒情の生じるメカニズムの解明

磯　暁（素粒子原子核研究所）
近添淳一，郷田直一（自然科学研究機構 生理学研究所）
持橋大地，小山慎介（統計数理研究所）
浅原正幸（国立国語研究所）
船井正太郎（沖縄科学技術大学院大学 物理生物学ユニット）
鹿野　豊（慶應義塾大学 理工学研究）
川島寛乃（慶應義塾大学 環境情報学部）
松井鉄平（東大 医学部 統合生理学分野）

【本研究の目的】

脳機能イメージングの発展に伴い主観的経験を客観的に観察することが可能となった。一方で深層学習による自然言語処理が飛躍的な進歩を遂げており，機械学習と fMRI の融合により，言語による抽象的思考とそれを可能にする脳の理解を深めることが望まれる。そこで，言語的表象を解析対象として，機械学習と fMRI の両面から，抒情が生じるメカニズムの解明に取り組み，言語世界における感情の論理を解き明かすことを目指している。

【短歌の主観的評定に基づく研究】

東西の代表的な大学短歌会である京都大学と早稲田大学の短歌会のメンバーを被験者として，短歌の主観的な評定を行う際の脳活動を，fMRI を用いて計測した。新型コロナの影響で学生の来訪が中止になるなど，実験計画に遅れが生じているものの，現時点で 7 名の計測が終わっており，来年度は 20 名の計測を予定している。

被験者はさらに, fMRI 実験に用いた短歌を含む多数の短歌に対して，主観的な評定と技術面の評定を Excel ファイル上で行った。この評定実験で用いた短歌を自然言語処理の機械学習モデルである BERT に入力し，被験者の評定データを用いて，BERT の人工神経回路の訓練を行う。このように訓練を施した人工神経回路の情報表現と，fMRI で計測した脳活動データに対して，表象類似度解析を行うことで，単語の列である短歌から評価や感情が生じる過程を解明するべく，現在研究を進めている。

【短歌と平文の違いに基づく研究】

生理研近辺の大学生を中心として被験者を募集し，短歌と平文（抒情的でない文）を読む際の脳活動を，fMRI を用いて計測した。現時点で 24 名の計測が終わり，来年度は 10 名程度の計測を予定している。

この計測実験で用いた短歌と平文を，事前に大量の言語データを学習した自然言語処理モデル BERT に入力すると，単語の並び方の特徴を反映した情報表現が得られる。これらの短歌や平文には抒情的かどうか判断が難しいものが含まれており，そのような中間的な文の情報表現は中間的な数値表現であることが確認できた。（図は BERT の情報表現を図示。赤点が短歌，青点が平文を表す。）

そうした性質をもつ情報表現を fMRI の脳活動データと比較し，表象類似度解析を行うことで，単語の列から抒情が生じる要因を言語的・脳科学的の両面から解明するべく，研究中である。

39. Personalizing Brain Stimulation Dosage by New Neurostimulation Computational Model

Jose Gomez-Tames，Akimasa Hirata，Toshiaki Wasaka
（Nagoya Institute of Technology, Electrical and Mechanical Engineering）
Masaki Fukunaga，Norihiro Sadato (National Institute for Physiological Sciences)

1. Introduction. In recent years, there has been a growing interest in medical treatment methods that involve non-invasive, localized stimulation of the brain. Transcranial magnetic stimulation (TMS) is a brain stimulation method by inducing eddy currents in the cortical and subcortical regions through changes in the magnetic field generated by placing a coil near the head and applying a pulsed current to the coil, based on the law of electromagnetic induction (Faraday's law) [1]. This method can be used for the diagnosis of brain functions and treatments; however, it is difficult to estimate the exact stimulation region and the activated neural circuits where TMS is acting [2]. Electromagnetic computational advances have permitted the investigation of the stimulation site by computation of the induced electric field, although more experimental verification is needed [3]. We performed computational analysis on individualized head models to investigate induced electric fields for different orientations of the TMS coil.

2. Methods. We used personalized computational head models based on magnetic resonance image (MRI) to investigate neuromodulation effects in the brain by TMS. Magnetic resonance images (3T, T1, and T2) were obtained to create individualized head models. The heads of twelve individuals were scanned at the facilities of the National Institute for Physiological Sciences. Individual head models of the individuals were obtained. The segmented models have a resolution of 0.5 mm, and the model consists of 13 types of tissues. An electrical constant derived from 10 kHz was assigned to each tissue in the model (Figure 1).

We also measured motor thresholds for different coil orientations (steps from 0° to 150° with steps of 30°) by measuring the resting motor thresholds of the tibialis anterior (TA) muscle of the right leg in four individuals. The coil used was a figure-of-8 coil. Next, under the same conditions in the experiment, we conducted an electromagnetic field analysis to determine the induced electric field on the brain as a physical quantity of neuromodulation. The position of the coil and orientation were acquired during the experiment by the navigation system.

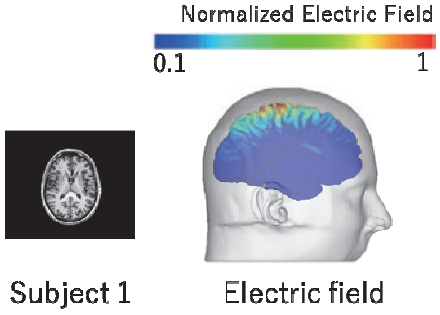


Figure 1. Illustration of MRI data used for segmentation of head model to compute electric field (cross-section)

3. Results and Discussion

We investigate the dependence of the motor threshold and electric field distribution on the coil angle during TMS. Figure 2 illustrates the effect of changing the coil orientation on the induced electric field.

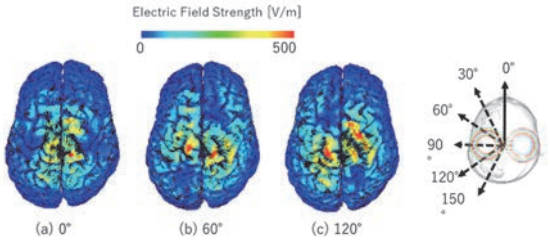


Figure 2. Electric field distributions at different TMS coil orientations. Electric field direction is shown by black lines.

In this experiment, we found that the stimulation threshold followed a U-shape with a minimum value at 90°. We found relative difference between subjects potentially due to variations of the distance from the scalp to the foot is different for each individual. We also found a similar trend for the inverse of the EF (normal component). The results indicate that the normal component is a good indicator of the neuromodulation effect for TMS when targeting the leg region.

4. Conclusion

We evaluated the stimulation thresholds of TMS targeting the lower limbs by electromagnetic computational analysis. As a result, we confirmed that both the experimental motor threshold and the stimulation threshold were minimum at 90° coil angle. Also, the computational analysis showed a strong positive correlation between the motor thresholds and the normal component across different coil angles. These preliminary results indicates the effectiveness of TMS computation and its validity to be used as a tool to investigate TMS. Future work includes increasing the number of individuals and investigating the effect of different electric field metrics.

5. References

[1] A. T. Barker, R. Jalinous, and I. L. Freeston, “Non-invasive magnetic stimulation of human motor cortex,” *Lancet (London, England)*, vol. 1, no. 8437, pp. 1106–1107, 1985.

[2] J. Gomez-Tames, A. Hamasaka, I. Laakso, A. Hirata, and Y. Ugawa, “Atlas of optimal coil orientation and position for TMS: A computational study,” *Brain Stimul.*, vol. 11, no. 4, pp. 839–848, 2018, doi: 10.1016/j.brs.2018.04.011.

[3] S. Aonuma *et al.*, “A high-resolution computational localization method for transcranial magnetic stimulation mapping,” *Neuroimage*, vol. 172, pp. 85–93, 2018, doi: 10.1016/j.neuroimage.2018.01.039.

40. 相互模倣による行為・意図の共有に関与する神経基盤の解明

宮田紘平，工藤和俊（東京大学）
小池耕彦，定藤規弘（自然科学研究機構 生理学研究所）

模倣は他の人の行動・身振りや声色を見たり聞いたりして，それを自ら再生する知覚―運動スキルである。模倣者と被模倣者が刻々と入れ替わる相互模倣では，お互いの行動を模倣・観察することで，行為や意図を共有することができる。これまでの研究で模倣者と被模倣者の間でミラーニューロンシステムの活動が同期することが報告されている（Dumas et al., 2010）。この同期が行為や意図の共有を反映していると考えられるが，未だ不明である。これら共有の神経基盤を明らかにすることは，ヒトの社会的コミュニケーション能力を理解する上で重要である。そこで本研究では，相互模倣における行為と意図の共有とミラーニューロンシステムの活動同期の関係性を明らかにすることを目的とする。

今年度は実験準備を行い，行動の予備実験を実施した。健常成人の参加者２人１組に書字の模倣課題を行ってもらった。文字はそれぞれ２画の偏と旁から成る漢字を用いた。書字を右人差指で空中に行い，お互いの指の動きはビデオカメラシステムを通して見られるように設定した。実験条件として，行為と意図の共有を操作した。行為共有あり条件では，模倣者は相手の動きを鏡のようになぞる。行為共有なし条件では，模倣者と被模倣者は書き順が異なるように設定した（偏と旁どちらを先に書

くか）。意図共有あり条件では模倣者に被模倣者が書く文字を事前に知らせ，共有なし条件では知らせない。ただし，行為と意図ともに共有がない条件では２人は異なる漢字を書いた。模倣者と被模倣者の役割はランダムに切り替えるように設定した。先行研究から行為や意図の共有に応じて２人の内的な状態が変化することが予想されたため，各試行後にはポジティブとネガティブを両端とした Visual Analogue Scale で内省報告を行ってもらった。

内省報告の結果，意図共有あり条件の方が意図共有なし条件よりもポジティブ方向への感情が高い傾向が確認された。一方で，行為共有の有無では意図共有の有無と交互作用があった。

今後はマーカーレスで動画から動きを追従できる DeepLabCut を用いて，課題中に記録した指の動きの類似性を評価する。そして，課題中の２人の脳活動を機能的磁気共鳴画像法で記録し，行為と意図の共有に応じて活動強度が変化する領域や領域間の機能的結合，そして２個体間の結合強度が変化する領域を明らかにする。

41. Feasibility study of a microstrip transmission-line RF coil combining RF shielded PET detector module for a 7T MRI

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]イメージング物理研究グループ 先進核医学基盤研究部
[2]医工連携画像研究グループ 分子イメージング診断治療研究部）
Masaki Fukunaga
（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）

During the year from April 2019 to March 2020, we conducted our preliminary study on a single-channel microstrip transmission line radiofrequency coil that integrated a radiofrequency shielded positron emission tomography (PET) detector module with front-end readout electronics for simultaneous PET and MRI study with the 7 Tesla clinical MRI system facilitated at the National Institutes for Physiological Science (NIPS), Japan. We had a plan to conduct further studies on some novel design approaches in this year (April 2020 to March 2021) that would have addressed some limilations that we found in our preliminary study and also at the same time would have tasted some new ideas. However, due to COVID-19 pandemic situation we avoided to conduct such study this year. We hope to continue our progress in near future. Thank you very much.

【研　究　会　報　告】

研究会報告

〔　目　　次　〕

1. 生体コモンスペース研究会
（代表・世話人：高井まどか　2021 年 2 月 19 日）…… 239
2. 細胞システム理解のためのシグナル応答原理解明の最前線
（代表・世話人：松田知己　2020 年 9 月 3 日－9 月 4 日）…… 248
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　2020 年 10 月 6 日）…… 256
4. 自閉症，てんかんの病態原理に関与するシナプス制御・神経回路機構
（代表・世話人：田渕克彦　2021 年 2 月 2 日）…… 268
5. 上皮膜輸送の多様性・調和機構を基盤とする異分野融合研究の創出
（代表・世話人：五十里　彰　2020 年 9 月 3 日－9 月 4 日）…… 275
6. 温熱生理研究会
（代表世話人：志水泰武　2020 年 8 月 27 日）…… 286
7. 痛みの研究会
（代表世話人：古江秀昌　2021 年 1 月 22 日）…… 292
8. TRP チャネル研究会　―相互作用分子との協働による環境情報の受容と環境適応―
（代表世話人：内田邦敏　2020 年 9 月 25 日）…… 300
9. 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：岩部美紀　2020 年 12 月 19 日－12 月 20 日）…… 310
10. 食の「満足感」を担う分子・経基盤研究会（食欲・食嗜好研究会）
（代表・世話人：佐々木　努　2020 年 9 月 14 日－9 月 15 日）…… 321
11. シナプスを見る，測る，操る－新たな技術で挑むシナプス学
（代表・世話人：掛川　渉　2020 年 12 月 3 日）…… 329
12. 機能と構造の視覚科学研究会
（代表・世話人：鯉田孝和　2020 年 9 月 1 日）…… 336
13. 意思決定研究の新展開～社会共感・主観価値の生成・葛藤に関わる神経メカニズム～
（代表・世話人：雨森賢一　2020 年 9 月 14 日－9 月 15 日）…… 340
14. 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　2020 年 11 月 12 日－11 月 13 日）…… 349
15. 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　2020 年 12 月 11 日－12 月 12 日）…… 354
16. 脳神経倫理研究会
（代表・世話人：中澤栄輔　2021 年 1 月 28 日）…… 356
17. 第 10 回社会神経科学研究会「社会性の創発・発達，その多様な軌跡」
（代表・世話人：　明和政子　2020 年 11 月 19 日－11 月 20 日）…… 358
18. Synapse and System Plasticity of Learning and Memory Meeting
（代表・世話人：王　丹　2020 年 9 月 17 日－9 月 18 日）…… 366
19. 生体システム統合機構としての情動
（代表・世話人：南　雅文　2020 年 9 月 16 日）…… 383

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
（提案代表：岩崎憲治　2020 年 11 月 10 日） ······ 390
21. 第 2 回「力学系の視点からの脳・神経回路の理解」
（代表・世話人：青柳富誌生　2020 年 11 月 26 日－11 月 27 日） ······ 392

1. 生体コモンスペース研究会

2021 年 2 月 19 日

代表・世話人：高井まどか（東京大学大学院 工学系研究科）

所内対応者：久保義弘（生理学研究所）

（1）修飾サブユニットによるイオンチャネル電位センサーの制御メカニズム

○中條浩一，糟谷　豪（自治医科大学医学部生理学講座統合生理学部門）

（2）がん細胞膜と細胞接着面との接着解消にともなう細胞内ナトリウムポンプの動態変化

○藤井拓人[1]，清水貴浩[1]，永森收志[2]，小泉桂一[3]，田渕圭章[4]，奥村知之[5]，藤井　努[5]，竹島　浩[6]，酒井秀紀[1]

([1]富山大･薬･薬物生理，[2]慈恵医大･臨床検査医学，[3]富山大･和漢医薬･未病創薬ユニット，[4]富山大･生命科学･ゲノム機能解析，[5]富山大･医･消化器･腫瘍･総合外科，[6]京都大･薬･生体分子認識学)

（3）膜厚さプローブとしての polytheonamide B チャネル

松木悠佳[1]，高島雅子[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)

（4）ナノ流路における脂質二重膜の形成と測定法の開発

○川岸啓人[1]，老木成稔[2]，岩本真幸[2]，許岩[1,3,4]

([1]阪府大･工･物質･化学，[2]福井大･医･生命情報，[3]JST さきがけ，[4]阪府大 NnaoSquare)

（5）両親媒性ペプチドとリン脂質からなるナノ構造の形成と形態制御

○池田恵介[1]，穴田千晴[1]，江川文子[2]，藤原敏道[2]，中尾裕之[1]，中野　実[1]

([1]富山大･薬･生体界面化学，[2]阪大･蛋白研)

（6）MPC ポリマーをマトリックスとするナノ相分離表面におけるタンパク質吸着挙動

○増田　造[1]，平口侑香里[1]，久代京一郎[1]，荒木保幸[2]，和田健彦[2]，高井まどか[1]

([1]東大･工･バイオエンジニアリング専攻，[2]東北大･多元研)

（7）タンパク質の精密定量による生命システムの定量的描出

○松本雅記（新潟大･医･オミクス生物学分野）

（8）リガンド修飾ヘテロ核酸(X-HDO)の CNS 移行メカニズムの解析

○中田弦希[1]，山本俊輔[2]，平林英樹[2]，横田隆徳[3]，楠原洋之[1]

([1]東大院･薬，[2]武田薬品工業･薬物動態研究所，[3]医科歯科大･医･脳神経病態学分野)

（9）膜近傍の環境を感知する電位依存性 H^+ チャネルの分子機構

○藤原祐一郎（香川大学･医学部･分子生理学）

(10) 内耳感覚上皮ナノ振動の計測とその制御機構の解析

○太田　岳[1]，任　書晃[2]，崔　森悦[3,4]，日比野　浩[1,3]

([1]大阪大･医・統合薬理学，[2]岐阜大･医･生理学，[3]AMED-CREST･AMED，[4]新潟大･工･情報電子)

(11) 電気化学発光を用いた細胞スフェロイドの代謝活性検出

○平本　薫[1]，伊野浩介[2]，小松慶佳[1]，梨本裕司[2,3]，珠玖　仁[2]

([1]東北大･環境･先端環境創成学専攻，[2]東北大･工･環境資源化学講座，[3]東北大･学際研)

(12) 人工抗体搭載型光アンテナによる細菌計測

○田邉　壮，板垣賢広，松井響平，椎木　弘

(大阪府立大･工･分子認識化学研究グループ)

（13）骨格筋再生過程における膜張力感知機構の役割

○原　雄二[1]，平野航太郎[1]，小畑裕次郎[1]，森　泰生[1]，梅田眞郷[1]
（[1]京大･工･合成･生物化学専攻）

（14）高分解能光干渉断層撮影法による内耳感覚上皮帯のナノ振動計測

○任　書晃[1,4]，太田　岳[2]，崔　森悦[3,4]，日比野　浩[2,4]
（[1]岐阜大･医･生理学，[2]大阪大･医･統合薬理学，[3]新潟大･工･情報電子，[4]AMED-CREST･AMED）

（15）レーザー誘起表面変位（LISD）顕微鏡の開発と単一生細胞における膜の動的粘弾性計測への応用

○森作俊紀[1]，由井宏治[1,2]
（[1]東理大･研究推進機構･W-FST センター，[2]東理大･理･化）

（16）走査型イオンコンダクタンス顕微鏡を用いた細胞のダイナミックイメージング

○周　縁殊[1]，斎藤将樹[2]，池上浩司[3]，鎌田　諒[4]，
佐々木敦朗[4,5]，福間剛士[1]，高橋康史[1,6]
（[1]金沢大･ナノ生命，[2]東北大･医･分子薬理，[3]広島大･医，
[4]慶應大･先端生命，[5]シンシナティ大 v 医，[6]JST さきがけ）

【参加者名】

赤羽悟美（東邦大学），安部　力（岐阜大学），池田恵介（富山大学），伊藤雅方（東邦大学），岩本真幸（福井大学），老木成稔（福井大学），大島大輔（東邦大学），太田　岳（大阪大学），緒方元気（大阪大学），糟谷　豪（自治医科大学），川岸啓人（大阪府立大学院），許　岩（大阪府立大学），黒川洵子（静岡県立大学），酒井秀紀（富山大学），坂口義彦（奈良県立医科大学），椎木　弘（大阪府立大学），周縁殊（金沢大学），珠玖　仁（東北大学），高井まどか（東京大学），高橋康史（金沢大学），田邉　壮（大阪府立大学大学院），冨田太一郎（東邦大学），中條浩一（自治医科大学），中田弦希（東京大学），中野実（富山大学大学院），永森收志（東京慈恵会医科大学），梨本裕司（東北大学），任　書晃（岐阜大学），原　雄二（京都大学），日比野浩（大阪大学大学院），平本　薫（東北大学），藤井拓人（富山大学），藤原祐一郎（香川大学），真木孝尚（福井大学），増田　造（東京大学），松本雅記（新潟大学），三上義礼（東邦大学），三善英知（大阪大学），村上慎吾（中央大学），森作俊紀（東京理科大学），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）

【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，このような先端ナノ計測技術を独自に開発し，活用して生体界面の微小空間を観測する理工学系の研究者，これらの科学者と協働して生体界面の生理学的挙動を研究する医・生物・薬学者，そし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ことを目的とする。

（１）修飾サブユニットによるイオンチャネル電位センサーの制御メカニズム

○中條浩一，糟谷　豪（自治医科大学 医学部 生理学講座 統合生理学部門）

電位依存性チャネルは，生体の電気活動やイオン輸送を担う重要な膜タンパク質である。電位依存性チャネルは S1-S4 セグメントと呼ばれる 4 本の膜貫通領域で構成される共通のドメイン（電位センサードメイン）が備わっており，この中の S4 セグメントが中心となって，膜電位を感知する。細胞内の電位が脱分極すると，S4 セグメントが細胞外側にスライドし，その構造変化が引き金となってチャネルはイオンを通す開状態となる。KCNQ1 は電位依存性 K^+ チャネルの一種であり，KCNE と呼ばれる修飾サブユニットによってその性質を大きく変える特徴を持つ。特に KCNE3 とよばれる修飾サブユニットは KCNQ1 の電位依存性を消失させ，常時開状態の K^+ チャネルに変えるユニークな性質を持つ。これまでの生理学的解析や，クライオ電子顕微鏡による KCNQ1-KCNE3 の複合体構造から，KCNE3 が電位センサードメインに結合し，電位センサーの動きを変えることで KCNQ1 を開状態にしていることがわかってきた。しかし KCNE3 がどのようなメカニズムで電位センサーの動きを変えているのかについては，まだよくわかっていない。我々は，KCNQ1 の S1 セグメントと KCNE3 上のいくつかのアミノ酸側鎖の相互作用が，KCNE3 を開状態に固定するために必要であることを，電気生理学的手法と光生理学的手法を併せることで明らかにした。

（２）がん細胞膜と細胞接着面との接着解消にともなう細胞内ナトリウムポンプの動態変化

○藤井拓人 [1]，清水貴浩 [1]，永森收志 [2]，小泉桂一 [3]，田渕圭章 [4]，
奥村知之 [5]，藤井　努 [5]，竹島　浩 [6]，酒井秀紀 [1]
（[1] 富山大･薬･薬物生理，[2] 慈恵医大･臨床検査医学，[3] 富山大･和漢医薬･未病創薬ユニット，
[4] 富山大･生命科学･ゲノム機能解析，[5] 富山大･医･消化器･腫瘍･総合外科，
[6] 京都大･薬･生体分子認識学）

がん転移プロセスにおいて，がん細胞の基質からの剥離は最も重要なステップの一つである。しかし，がん細胞膜と細胞接着面との接着が解消された「直後」に細胞内で起こる現象については未解明である。我々は，がん細胞の細胞内小胞に異常発現している Na イオンポンプが，がん細胞をディッシュから剥離させることで原形質膜へ移行し，ディッシュに再接着させることで再び細胞質内に戻ることを見出した。また，この Na イオンポンプの動態制御に，がん細胞が剥離した直後に惹起される細胞内遊離 Ca^{2+} 濃度上昇が関与することがわかった。剥離による Ca^{2+} 濃度上昇および Na イオンポンプの原形質膜移行は，SERCA Ca^{2+}-ATPase 阻害剤（thapsigargin および CPA），Nicotinic acid adenine dinucleotide phosphate（NAADP）阻害剤（Ned-19），および Focal adhesion kinase（FAK）阻害剤（PF573228）の処理により阻害された。さらに，細胞内 Na イオンポンプをノックダウンした剥離がん細胞において，ミトコンドリア酵素活性の減少およびアポトーシスの亢進が観察された。がん細胞が細胞接着面から剥離すると，細胞内ストアからの NAADP/FAK 依存的な Ca^{2+} シグナルが惹起され，細胞内ナトリウムポンプの原形質膜移行が引き起こされ，この機構が剥離がん細胞の生存に関与しているものと考えられた。

（３）膜厚さプローブとしての polytheonamide B チャネル

松木悠佳[1]，高島雅子[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）

生体膜は脂質二重膜という基本構造を持ちながら主にそのリン脂質組成によって厚さにバラエティがある。そしてこの厚さの違いを膜タンパク質は環境因子として感じとり，膜上での分布やその機能を変化させている。膜の厚さを測る方法には様々あるが，三次元弾性体としての膜の力学的特性も捉える必要がある。今回私達はチャネル形成ペプチドである polytheonamide B (pTB) チャネルを膜の厚さを測定するプローブとして利用した。pTB は 48 残基のペプチドであり，特異アミノ酸からなる。立体構造的には gramicidin (gA) チャネルと同様の $\beta^{6.3}$ ヘリックスという特殊な構造を取り，長さ 40 Å，内径 4 Å のポアを形成する。膜に自発的に入り込み，一価陽イオン選択性チャネルとなる。そのゲーティング機構は，1 分子で膜を貫通する pTB の場合，gA チャネルのように膜内で二量体の形成と解離による電流オン・オフではない。脂質二重膜の厚さを変えるために異なる有機溶媒で膜を形成した。有機溶媒分子の長さが長いほど膜は薄くなることが知られており，膜静電容量の測定により確かめた。 pTB のチャネル活性は膜が厚くなるにしたがって開確率が下がることが明らかになった。さらに脂質二重膜の厚さを変えるためにリン脂質分子のアシル基の長さを変えたもので膜を形成し実験した。

（４）ナノ流路における脂質二重膜の形成と測定法の開発

○川岸啓人[1]，老木成稔[2]，岩本真幸[2]，許　岩[1,3,4]
（[1]阪府大･工･物質･化学，[2]福井大･医･生命情報，[3]JST さきがけ，[4]阪府大 NnaoSquare）

脂質二重膜は生命を定義する構成要素の１つであり，これまで, バルク平衡測定によって脂質二重膜と分子(タンパク質，ペプチド，水)の相互作用が研究されてきた。生命現象の理解には，膜間の分子ダイナミクス解明が極めて重要であるが，1 分子に適した測定法がないため，単一分子レベルでの定量的な情報は未だほとんど取得されていない。[1]ナノ流体デバイスは，ナノメートルスケールの流路を持ち，fL(10^{-15} L)～aL(10^{-18} L)の流体を制御できることから, 細胞内で重要な μM～nM の高い濃度でも，単一分子の操作と分析が可能である。[2]そこで本研究ではこれに着目し，ナノ流路内に垂直な脂質二重膜を形成し，膜間の分子ダイナミクスを単一分子レベルで測定可能なナノ流体デバイスの開発を目的とした。

本研究では，脂質二重膜を垂直に形成するための特殊なナノ流路構造を持つナノ流体デバイスを作製した。水層と脂質を溶解した有機層をそれぞれナノ流路に導入し，ナノ流路内で脂質一重膜同士を接触させることで，脂質二重膜を形成した。さらに，ナノ流路内の顕微鏡観察を行い，脂質二重膜の評価を行った結果を報告した。

【参考文献】

1. G. M. King and I. Kosztin, *J. Membr. Biol.*, 2020,.
2. Y. Xu, *Adv. Mater.*, 2018, **30**, 1-17.

（５）両親媒性ペプチドとリン脂質からなるナノ構造の形成と形態制御

○池田恵介[1]，穴田千晴[1]，江川文子[2]，藤原敏道[2]，中尾裕之[1]，中野　実[1]
（[1]富山大･薬･生体界面化学，[2]阪大･蛋白研）

生体膜構造を模倣したナノ粒子の作製やその構造の制御は，それを利用した計測系の構築やナノメディシン等への応用へ向けた基盤となる。近年，脂質二重層をタンパク質，ポリマー，ペプチドなどの両親媒性分子が取

り囲んだ構造を持つ円盤状ナノ粒子（ナノディスク）が注目されている。我々は，両親媒性αヘリックス構造を形成するペプチド 18A に着目し，リン脂質とのナノディスク形成について調査した。その結果，リン脂質二重層のゲル-液晶相転移温度以上で，ナノディスクが不安定化し，ディスク同士の融合によってより大きなナノディスクやラメラ構造が形成されることを見出した。さらに高温では，ペプチドの変性に伴いベシクル構造が出現した。これらの知見に基づき，ナノディスク構造をさらに安定化するペプチドをデザインした。また，18A 変異体は，ナノディスクだけでなく，リン脂質と線維状の複合体を形成した。この線維形成には脂質－ペプチド間の特異的な分子認識が介在していた。以上より，脂質－ペプチド分子間相互作用の変化が集合体形態を変化させる，あるいはこの相互作用の調節によってナノ構造を制御可能であることが示唆された。

（６）MPC ポリマーをマトリックスとするナノ相分離表面におけるタンパク質吸着挙動

○増田　造[1]，平口侑香里[1]，久代京一郎[1]，
荒木保幸[2]，和田健彦[2]，高井まどか[1]
（[1] 東大･工･バイオエンジニアリング専攻，[2] 東北大･多元研）

材料表面におけるタンパク質吸着は，細胞足場のような生体材料を設計する上で重要な現象である。表面のナノ構造はタンパク質吸着に影響する因子であるが，タンパク質吸着を促進する疎水性ドメインの大きさとタンパク質吸着挙動の関係は未解明である。本研究では，疎水性セグメント (A) として poly(3-(methacryloyloxy) propyltris(trimethylsilyloxy) silane) (PMPTSSi)，親水性セグメント (B) として poly(2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine) (PMPC)からなる ABA 型ブロック共重合体から，サイズを 10 nm または 20 nm に制御した疎水性ドメインと親水性マトリックスを持つナノ相分離表面を作製した。この表面におけるタンパク質吸着挙動について，疎水性の PMPTSSi のみからなる表面と比較すると，ドメインより大きいフィブロネクチン，フィブリノーゲンの吸着量は大きく低下した。一方，ドメインよりも小さいリゾチームは相分離表面でも吸着がみられた。すなわち，タンパク質吸着を抑制する PMPC がマトリックスとなる相分離表面において，疎水性ドメインよりも大きなタンパク質は吸着が顕著に抑制されることが明らかになった[1]。

1) T. Masuda et al., Eur. Polym. J. 2020, 135, 109885.

（７）タンパク質の精密定量による生命システムの定量的描出

○松本雅記（新潟大･医･オミクス生物学分野）

近年，次世代シークエンサーや質量分析計の高性能化に伴い，多数の生体内高分子の網羅的な解析が可能なってきた。複雑な生命システムの理解には，単なる分子の網羅的同定だけでは不十分で，より機能的かつ定量的な情報の取得が求められている。特に，タンパク質においては，存在量，局在，相互作用，翻訳後修飾などが複雑に絡み合ってその機能や活性が発揮されることから，これらの情報を様々な条件下で定量的に取得する必要がある。我々はこれまで，ゲノムワイドなヒト組換えタンパク質ライブラリー（18000 以上）を利用したターゲットプロテオミクス解析のプラットフォームである iMPAQT (in vitro proteome assisted MRM for protein absolute quantification) を開発し (Matsumoto M. et al. Nat. Methods 2017, Matsumoto M. and Nakayama KI. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2018)，がんにおける代謝経路再編成やクロマチンタンパク質動態の解析に利用してきた(Kodama M. et al. *Nat. Commun.* 2020, Kito Y. *Sci. Rep.* 2020)。最近取り組んでいる iMPAQT の自由度や堅牢性の向上や質量分析技術開発の現状，パスウェイ構成要素の精密定量を通して見えてきた，がんや老化における代謝経路再編成の実体を報告した。

（８）リガンド修飾ヘテロ核酸(X-HDO)の CNS 移行メカニズムの解析

○中田弦希[1]，山本俊輔[2]，平林英樹[2]，横田隆徳[3]，楠原洋之[1]
（[1]東大院･薬，[2]武田薬品工業･薬物動態研究所，[3]医科歯科大･医･脳神経病態学分野）

核酸医薬品は，低分子医薬品や抗体医薬品と異なりタンパク質に変換される前の形態である核酸をターゲットとし，理論的には細胞内のあらゆる遺伝子を制御できる。その汎用性の高さから，今まで治療困難とされてきた疾患への応用が強く期待されている。一方で，生体内における送達性のコントロールが困難で，核酸医薬品の開発におけるボトルネックとなり，特に脳内へ核酸医薬品を到達させる技術は確立されていない。横田らは，新たに DNA と RNA の混合二本鎖から構成されるヘテロ核酸にリガンドを付加(X-HDO)することにより，脳内の標的遺伝子の発現抑制できることを明らかとした。これは中枢神経疾患を対象とした核酸医薬品の開発に大きく影響を与えるものであり，血液中から脳移行メカニズムの解析が早急の課題である。本研究では，マウス脳毛細血管内皮細胞に発現するスカベンジャー受容体に注目し，HEK293 細胞に強制発現させ，X-HDO 曝露後の細胞内 ASO 蓄積量を LC-MS/MS により定量した。検討したスカベンジャー受容体のうち, Ly75 を強制発現させることで，X-HDO 曝露後の細胞内 ASO 蓄積量の増加が認められた。同様に，一本鎖核酸 ASO 曝露後でも，細胞内 ASo 蓄積量の増加が認められたが, HDO 曝露後ではそのような効果が認められなかった。本結果は，Ly75 が X-HDO ならびに ASO の血液脳関門透過に関与していることを示唆している。

（９）膜近傍の環境を感知する電位依存性 H^+ チャネルの分子機構

○藤原祐一郎（香川大学･医学部･分子生理学）

白血球に発現し，バイ菌を退治するための活性酸素の産生を担う電位依存性 H^+ チャネル（Hv チャネル）は，電圧，pH，酸化還元，温度，膜の伸展，脂質分子など，種々の物理化学的エネルギーを受容し，H^+ の透過・生体電気信号へエネルギー変換する膜機能分子である。4 本の膜貫通ヘリックスにより H^+ 透過能を持つ電位センサーを形成するシンプルな分子構造を呈する。１つのステートで結晶構造が解かれているが，チャネル機能の動的な分子構造基盤の理解は進んでいない。

pH を感知して開閉する Hv チャネルは，細胞内側あるいは外側の絶対的 pH 値ではなく, 相対的な pH の差を感知して開閉すると考えられている。言い換えると，膜にかかる電圧（ΔV）並びに H^+濃度勾配（ΔpH）によってチャネルは開く。他の電位依存性チャネルには見られないユニークな特性である。我々は，電位センサーの駆動に伴う電荷の移動（ゲート電流）を解析することにより，pH は H^+ 透過とは別過程の膜電位を感知する過程に影響を与えていることを見いだした。ΔpH の感受性に対して変異体作成→電気生理学的解析による探索を重ね，細胞内・外の pH 感受性を個別に変化させる変異体を獲得した。このことは，野生型の Hv チャネルには pH センサーが細胞内外にあり，その感受性はほぼ等価で，あたかも膜にかかる ΔpH を感知しているように振る舞っていることを示唆する。

（10）内耳感覚上皮ナノ振動の計測とその制御機構の解析

○太田　岳[1]，任　書晃[2]，　崔　森悦[3,4]，日比野　浩[1,3]
（[1]大阪大･医･統合薬理学，[2]岐阜大･医･生理学，[3]AMED-CREST･AMED，[4]新潟大･工･情報電子）

ヒトをはじめとした動物は，大小・高低様々な音を聴く。その分析は，聴覚の末梢器官である内耳蝸牛の「感覚上皮」により始まる。音はこのシート様組織をナノスケールで揺らし，その構成要素である有毛細胞の感覚毛を屈曲させる。そして，毛の先端にあるチャネルの開口状態が変動し，内部へのイオン流入量も増減する。この電流量は，小さな音ほど感覚毛が大きく揺れるという「非線形」な性質によって調節を受ける。チャネルの電流量の増減に呼応して，有毛細胞は，膜電位依存的に細胞体を長軸方向に伸縮させる。伸縮動作が感覚上皮の振動振幅を増幅する。しかし，感覚上皮の動作を制御するメカニズムについてはまだ十分に理解されていない。そこで我々は，改良型レーザー干渉計により，生モルモット感覚上皮の高周波音領域におけるナノ動態を分析した。80 dB 以上の強大音を入力すると，典型的な正弦波振動を確認するとともに，この組織の位置が上方に向かい直流的に移動する「位置ずれ」を見出した。この応答は，細胞体の伸縮を阻害すると喪失した。さらに，別の個体へ感覚毛の動作を修飾する薬物を投与した。以前の報告通り，感覚上皮の正弦波振動における非線形な応答は減弱した。同時に，位置ずれはほぼ測定されなかった。以上より，感覚上皮の位置ずれは，感覚毛の動作に影響されるイオン流入により制御されると考えられた。

（11）電気化学発光を用いた細胞スフェロイドの代謝活性検出

○平本　薫[1]，伊野浩介[2]，小松慶佳[1]，梨本裕司[2,3]，珠玖　仁[2]
（[1]東北大･環境･先端環境創成学専攻，[2]東北大･工･環境資源化学講座，[3]東北大･学際研）

3 次元的に培養した細胞（スフェロイド）が生体内の組織モデルとして注目されている。生きたスフェロイドの代謝活性を測定することで，個々のスフェロイドの品質評価や薬剤の効能評価への利用が期待される。本研究ではルミノール誘導体の電気化学発光を利用して，スフェロイドの代謝活性イメージングを行った。電気化学発光は，電極反応によって発光物質が励起されて生じる溶液-電極界面の発光現象である。ルミノール誘導体は過酸化水素の存在下で酸化電圧を印加することにより強く発光することが知られている。本研究では，酸素の 2 電子還元により過酸化水素が発生することを利用して，酸素の還元とルミノール誘導体の酸化を交互に行うことで微小領域の酸素濃度をセンシングする電気化学発光システムを開発した。基板上にスフェロイドを配置すると，スフェロイドの呼吸活動によりスフェロイド周辺に酸素濃度分布が生じるため，これをルミノール誘導体の発光分布としてイメージングすることが可能である。本研究では，ヒト間葉系幹細胞と乳がん細胞のスフェロイドをモデルとして，電気化学発光イメージングを用いて呼吸活性評価や代謝物評価を行った。

（12）人工抗体搭載型光アンテナによる細菌計測

○田邉　壮，板垣賢広，松井響平，椎木　弘
（大阪府立大･工･分子認識化学研究グループ）

我々の研究グループでは，微生物が形成する様々な界面に着目し，光学的，電気化学的手法を用いた計測法の開発に取り組んでいる。細菌の表面は種々の化学種からなり，周囲の物質との間にさまざまな結合や相互作用を

もつ。そこで，分子インプリンティング法を適用し，細菌表面の特定化学種に対応する分子鋳型をポリマーマトリクスに形成した。分子インプリンティング法はテンプレート（標的）分子との非共有結合に基づいた鋳型の形成を可能にするため，標的分子を認識する人工抗体として機能する。また，外部刺激によるポリマーの構造変化によって人工抗体の結合性が変化することを見出した。室温において金属ナノ粒子は特定細菌表面に結合したが，温度上昇によって結合性が消失した。つまり，人工抗体の結合性の温度制御が可能になった。このような特徴を有する人工抗体搭載金属ナノ粒子を用いて，金属ナノ粒子の光学的，電気化学的特性に着目した細菌検出が可能になった。

（13）骨格筋再生過程における膜張力感知機構の役割

○原　雄二[1]，平野航太郎[1]，小畑裕次郎[1]，森泰生[1]，梅田眞郷[1]
（[1]京大・工・合成・生物化学専攻）

骨格筋を構成する筋線維は，筋収縮・弛緩に伴い絶えず損傷を受けており，損傷後の筋線維を再生する機能は筋恒常性の維持に必要不可欠である。筋損傷時に筋幹細胞から派生した筋芽細胞が互いに融合しあうことで，筋管と呼ばれる多核の細胞融合体が形成され，筋線維への成熟・再生に至る。我々はこれらの過程において，膜構造が大きく変化すること，さらに細胞膜に掛かる物理的な力の役割について興味を抱いてきた。特に膜張力により活性化されるイオンチャネル PIEZO1 を中心に，いわゆる「機械受容イオンチャネル」の役割解明を目指してきた。我々はこれまでに筋線維の再生に関わる筋芽細胞をモデル系として，膜外層から内層にリン脂質を輸送するリン脂質フリッパーゼが PIEZO1 活性化を正に制御し，細胞骨格の再編成を経て秩序だった筋管構造の構築に関わることを見出した。

続いて上記経路の生体レベルでの重要性の解明を試みた。*Piezo1* は筋幹細胞にて高発現するが，分化に応じて発現が減少し成熟筋線維ではほとんど発現が検出されなかった。そこで我々は筋幹細胞特異的 *Piezo1* 欠損マウスを作出・解析した。筋再生過程を検討したところ，筋再生の遅延が認められ，さらに単離した筋幹細胞の解析により，同遺伝子欠損に伴い筋幹細胞の増殖および遊走能低下を示した。以上，PIEZO1 による膜張力感知機構は，筋再生の進行に重要な役割を果たすことが示唆された。

（14）高分解能光干渉断層撮影法による内耳感覚上皮帯のナノ振動計測

○任　書晃[1,4]，太田　岳[2]，崔　森悦[3,4]，日比野　浩[2,4]
（[1]岐阜大･医･生理学，[2]大阪大･医･統合薬理学，[3]新潟大･工･情報電子，[4]AMED-CREST･AMED）

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，内・外有毛細胞，支持細胞，そして細胞外基質層などの細胞や組織により構成される。内有毛細胞は，求心性神経を活性化して，音情報を脳へと送る。一方，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て音受容の感度を調節する。修飾された上皮帯の振動は，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が，生体内での上皮帯の動態は十分に明らかにされていない。

本研究では，この課題を克服するため，光干渉断層撮影（Optical Coherence Tomography: OCT）法を基盤とするイメージング振動計測装置を創製した市販の 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，さらに細胞外基質層の３点にて異なる振動

様式が計測された。さらに，マウスを対象とした計測も行い，外有毛細胞の頂側と細胞外基質層の２点の振動様式も測定した。本研究の技術は，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が解明されるだけでなく，今後各種難聴モデルマウスを用いた力学的視点からの病態解明にも貢献できる。

（15）レーザー誘起表面変位（LISD）顕微鏡の開発と単一生細胞における膜の動的粘弾性計測への応用

○森作俊紀[1]，由井宏治[1,2]
（[1]東理大･研究推進機構･W-FST センター，[2]東理大･理･化）

細胞膜の粘弾性は，がんの転移などに関わる細胞移動や組織の自発形成などに重要な役割を果たしている。従来，細胞膜の粘弾性計測には，マイクロピペット吸引法や原子間力顕微鏡（AFM）などの接触法が主に用いられてきた。しかし，マイクロピペット吸引法では直接接触による膜損傷の可能性がある。また AFM では，機械的な励振を用いるので，周期的外力を加える周波数応答依存特性（パワースペクトル）測定においては，周波数の上限が kHz 程度までに制限される。そこで本研究では，細胞 1 個における細胞膜の粘弾性を計測可能な新たな手法として，主に以下の 3 つの特徴をもつレーザー誘起表面変位（laser-induced surface deformation: LISD）顕微鏡を開発した。

・細胞への外力印加にレーザー光の輻射圧を利用する光学駆動・非接触型

・光学駆動により従来 kHz 程度だった動的粘弾性計測の周波数を MHz まで拡張

・上記 2 つの特徴を光学顕微鏡に組み込み，1-2 μm の空間分解能で任意の場所を計測可

当該顕微鏡を用いて，がんと正常細胞の粘弾性による識別や 1 μm 程度の微小な細胞構造体の堅牢生の起源の解明，さらには植物組織の先端成長と細胞壁の粘弾性との因果関係を明らかにした。以上，LISD 顕微鏡を開発し，当該顕微鏡が 1 細胞レベルで動物細胞および植物細胞の表面の粘弾性計測に有用な手法であることを示した。

（16）走査型イオンコンダクタンス顕微鏡を用いた細胞のダイナミックイメージング

○周　縁殊[1]，斎藤将樹[2]，池上浩司[3]，鎌田　諒[4]，
佐々木敦朗[4,5]，福間剛士[1]，高橋康史[1,6]
（[1]金沢大･ナノ生命，[2]東北大･医･分子薬理，[3]広島大･医，
[4]慶應大･先端生命，[5]シンシナティ大･医，[6]JST さきがけ）

走査型イオンコンダクタンス顕微鏡（SICM）はガラスのナノピペットと試料との距離により変化するイオン電流を利用して，非接触でナノピペットを試料表面にナビゲートする走査型プローブ顕微鏡である。SICM は溶液中に存在する細胞表面のナノスケール形状をイメージングすることが可能である。さらに，最初の数枚のイメージを自動的に学習して，細胞が存在しない領域をスキャン範囲から除くことでイメージングの高速化ができる。SICM の特徴として，蛍光イメージングと同時に行うことができる。私たちは一つの細胞の表面に一本しか存在しない一次繊毛を蛍光で標識した後，SICM で形状測定を行った。具体的に，ヒト網膜色素上皮細胞株（RPE-1 細胞）とイヌ腎臓尿細管上皮細胞株（MDCK 細胞）の一次繊毛の構造をナノスケールで比較した。また，高解像度 SICM の形状イメージングにより，蛍光標識が困難なシリアポケットの可視化にも成功した。最近は一次繊毛に局在するタンパク質を常時発現した細胞を用いて，生細胞での一次繊毛の動きの観察にも成功した。

2. 細胞システム理解のためのシグナル応答原理解明の最前線

2020 年 9 月 3 日－9 月 4 日

代表・世話人：松田知己（大阪大学 産業科学研究所）

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）二光子励起顕微鏡の機能向上による多次元生細胞イメージング

○大友康平[1,2]，根本知己[1,2]

（[1]自然科学研究機構 生命創成探究センター 創成研究領域，

[2]自然科学研究機構 生理学研究所 基礎神経科学領域）

（2）トランススケールスコープが見出す生命のシンギュラリティ

市村垂生[1,2]，垣塚太志[1]，堀川一樹[3]，勢力　薫[4]，笠井淳司[4]，

橋本　均[1,4]，藤田克昌[1,5]，渡邉朋信[6]，○永井健治[1,7]

（[1]大阪大学 先導的学際研究機構，[2]JST さきがけ，[3]徳島大学 先端研究推進センター，

[4]大阪大学大学院 薬学研究科，[5]大阪大学大学院 工学研究科，

[6]理化学研究所生命機能科学研究センター，[7]大阪大学産業科学研究所）

（3）刺胞動物ヒドラにおける進化的に保存された睡眠メカニズム

○金谷啓之[1]，Sungeon Park[2]，Ji-hyung Kim[2]，楠見淳子[3]，Sofian Krenenou[4]，猿渡悦子[5]，

佐藤　文[5]，Jongbin Lee[2]，Hyunwoo Bang[2]，小早川義尚[5]，Chunghun Lim[2]，伊藤太一[5]

（[1]東京大学大学院 医学系研究科，[2]School of Life Sciences, Ulsan National Institute of Science and Technology，

[3]九州大学大学院 比較社会文化研究院，[4]AgroParisTech，[5]九州大学 基幹教育院）

（4）多機能イメージング計測から迫る概日リズム中枢神経回路の作動原理

○榎木亮介[1,2]，廣　蒼太[1,2]，根本知己[1,2]

（[1]生命創成探究センター バイオフォトニクス研究グループ，

[2]生理学研究所 バイオフォトニクス研究部門）

（5）睡眠・覚醒リズムのリン酸化仮説

○上田泰己[1,2]（[1]東京大学大学院医学系研究科システムズ薬理学教室，

[2]理化学研究所 生命機能科学研究センター 合成生物学研究チーム）

（6）生体内の薬物動態とその作用をリアルタイム計測する局所薬物センサシステム

○緒方元気[1]，澤村晴志朗[1]，浅井　開[2]，楠原洋之[3]，栄長泰明[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]慶應義塾大学 理工学部化学科，

[3]東京大学大学院 薬学系研究科 分子薬物動態学教室）

（7）動的膜張力測定法と KcsA チャネルの張力応答

岩本真幸，○老木成稔（福井大学高エネルギー医学研究センター）

（8）大脳皮質における細胞外 ATP 動態の *in vivo* 蛍光イメージング

○北島奈美[1]，瀧川健司[1]，関谷　敬[1]，佐藤　要[1]，浅沼大祐[1]

，坂本寛和[1]，並木繁行[1]，飯野正光[2]，廣瀬謙造[1]

（[1]東京大学大学院医学系研究科細胞分子薬理，[2]日本大学医学部細胞分子薬理）

（9）Ca^{2+} とレドックスシグナルによる小脳シナプス可塑性の極性決定

○柿澤　昌[1]，遠藤昌吾[2]

（[1]京都大学大学院 薬学研究科 生体分子認識学分野，

[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）

（10）A red-shifted version of genetically encoded ratiometric fluorescent temperature indicator for live-cell imaging with low phototoxicity and high time resolution

○Cong Quang Vu[1,2]，Tetsuichi Wazawa[2]，Kai Lu[2]，Masahiro Nakano[2]，Takeharu Nagai[1,2]
（[1] 大阪大学大学院 生命機能研究科，[2] 大阪大学 産業科学研究所）

（11）熱が細胞内でシグナルになる可能性

○鈴木　団（大阪大学 蛋白質研究所）

【参加者名】

松田知己（大阪大学），永井健治（大阪大学），Vu Cong（大阪大学），Zhai Le（大阪大学），LU KAI（大阪大学），上田泰己（東京大学），大出晃士（東京大学），金谷啓之（東京大学），温　芷晴（東京大学），NGO THUC ANH（東京大学），菅森義真（ウエイブフロント㈲），老木成稔（福井大学），平田宏聡（名古屋大学），曽我部正博（名古屋大学），廣瀬謙造（東京大学），大久保洋平（東京大学），並木繁行（東京大学），北島奈美（東京大学），飯野正光（日本大学），太向　勇（日本大学），柿澤　昌（京都大学），日比野浩（新潟大学大学院），緒方元気（新潟大学大学院），鈴木　団（大阪大学），山澤徳志子（東京慈恵会医科大学），金　尚宏（東京大学），根本知己（自然科学研究機構生命創成探究センター），榎木亮介（自然科学研究機構生命創成探究センター），高橋泰伽（自然科学研究機構生命創成探究センター），安宅光倫（自然科学研究機構生命創成探究センター），廣　蒼太（自然科学研究機構生命創成探究センター），大友康平（自然科学研究機構生命創成探究センター），堤　元佐（自然科学研究機構生命創成探究センター），渡我部ゆき（所属），山口和志（自然科学研究機構生命創成探究センター），石井宏和（自然科学研究機構生命創成探究センター），中田開人（自然科学研究機構生命創成探究センター），上原優子（生理学研究所），久保義弘（生理学研究所），立山充博（生理学研究所），下村拓史（生理学研究所），陳　以珊（生理学研究所），AndrianiRizki Tsari（生理学研究所），平澤輝一（生理学研究所），LIU Chang（生理学研究所）

【概要】

細胞はシグナル分子，張力，浸透圧，酸化ストレス，熱などの様々な形態の情報を外部から受け取り，細胞内での情報伝達・処理を介した応答を通して，細胞機能そしてさらなる細胞間での情報伝播を介した生体機能の制御を実現している。ライブイメージングを中心とした計測技術や in silico での細胞シミュレータを用いた解析などの研究手法の進歩に伴い，制御機構解明の基礎となる個々の刺激とその応答に関する知見は深まっている。細胞システム解明のさらなる進展のためには，これらのシグナル応答機構の類似性や違いを考察してその総体を理解する必要がある。本研究会では，シグナル応答解明を目指して研究を最前線で進めている研究者が，個々の研究対象の垣根を超えて討論をすることにより，技術的な障壁を乗り越える方法を考案し，測定結果に関する新たな解釈を産み出して当該研究分野のさらなる発展の方向性を見出すことを目指している。

上記目標を達成するために，幅広い研究対象，研究手法で細胞シグナル応答の研究を行っている研究者を募って，個々の研究領域での研究成果を持ち寄り，異なった視点で互いの研究を掘り下げる議論を行った。当初は生理研での開催を目指したが，新型コロナウイルスの影響に伴い，Zoom によるオンラインでの開催となった。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 44 名の参加者により活発な討議を行なった。そのうちの 3 件は大学院生によるもので，発表者の年齢層も幅広いものであった。異なる階層・分野の研究者が一堂に会して視点で互いの研究を見つめ直すことで，直面している問題を解決する糸口やこれまでに無い発想が産み出され，シグナル応答原理解明のさらなる発展がもたらされることが期待される研究会となった。

（１）二光子励起顕微鏡の機能向上による多次元生細胞イメージング

○大友康平 [1,2]，根本知己 [1,2]
（[1] 自然科学研究機構 生命創成探究センター 創成研究領域，
[2] 自然科学研究機構 生理学研究所 基礎神経科学領域）

試料を蛍光標識し，顕微可視化する蛍光顕微鏡法は生物学研究における重要なツールである。近年の技術発展は目覚ましく，2008，2014 年のノーベル賞受賞対象となったことは記憶に新しい。本法には，空間・時間分解能，深部可視化能，視野の広さ，多色性，侵襲性の低さ，長期観察適合性等の様々な性能指標が存在する。これらの指標の優劣は顕微光学原理に大きく依存するが，多くは互いにトレードオフの関係にある。蛍光顕微鏡法のうち，近赤外光パルスを用いた二光子励起顕微鏡法は励起の局所性，深部可視化能，低侵襲性を特徴とする。我々は本法に着目し，機能向上・強化研究に取り組んできた。その結果，新規半導体レーザー光源，補償光学技術の適用による深部可視化能の更なる向上，超解像顕微鏡法の一つである誘導放出制御（STED）法の応用による空間分解能の向上，多点走査方式の導入による高速化をそれぞれ達成した。これらの顕微鏡システムは既に細胞生物学や神経科学研究の現場にて活用されつつあり，更なる技術展開と生物学応用が期待される。

（２）トランススケールスコープが見出す生命のシンギュラリティ

市村垂生 [1,2]，垣塚太志 [1]，堀川一樹 [3]，勢力　薫 [4]，笠井淳司 [4]，
橋本　均 [1,4]，藤田克昌 [1,5]，渡邉朋信 [6]，○永井健治 [1,7]
（[1] 大阪大学 先導的学際研究機構，[2]JST さきがけ，[3] 徳島大学 先端研究推進センター，
[4] 大阪大学大学院 薬学研究科，[5] 大阪大学大学院 工学研究科，
[6] 理化学研究所 生命機能科学研究センター，[7] 大阪大学 産業科学研究所）

ビッグバンのように無から有が創出される位相特異点や，人工知能がヒトの知能を凌駕する技術特異点はシンギュラリティと呼ばれる。極めて稀にしか起こらない少数要素のイベントが核となり，多要素システム全体に劇的で不可逆な変化をもたらすことが大きな特徴である。生命現象においても，比較的少数しか存在しない細胞（シンギュラリティ細胞）が核となり，多細胞システム全体の構造・機能に劇的な変化をもたらす現象が知られているものの，それらが生起される機序はほとんど明らかにされていない。本演題では，生命現象におけるシンギュラリティにアプローチするため，シンギュラリティ細胞を見逃さない，超広視野と高解像度を両立したトランススケールスコープ AMATERAS (A Multi-scale/modal Analytical Tool for Every Rare Activity in Singularity) の開発，ならびに AMATERAS で捉えたカルシウムシグナルの多様性やシンギュラリティが絡む生命現象などについての紹介がなされた。

（３）刺胞動物ヒドラにおける進化的に保存された睡眠メカニズム

○金谷啓之[1]，Sungeon Park[2]，Ji-hyung Kim[2]，楠見淳子[3]，Sofian Krenenou[4]，猿渡悦子[5]，
佐藤　文[5]，Jongbin Lee[2]，Hyunwoo Bang[2]，小早川義尚[5]，Chunghun Lim[2]，伊藤太一[5]
（[1]東京大学大学院 医学系研究科，[2]School of Life Sciences, Ulsan National Institute of Science and Technology，
[3]九州大学大学院 比較社会文化研究院，[4]AgroParisTech，[5]九州大学 基幹教育院）

睡眠は哺乳類に限らず，ショウジョウバエや線虫でも観察される進化的に保存された現象である。しかしながら，睡眠制御機構が進化の過程でどのように形成されたのかは定かでない。我々は，散在神経系(原始的で中枢を欠いた神経系)を有する刺胞動物ヒドラの睡眠を解析し，その分子メカニズムの保存性を検証した。行動学的な解析から，ヒドラには反応性の低下・恒常性を伴う睡眠様状態が存在することが分かった。メラトニンや GABA の睡眠促進作用はヒドラにおいても保存されていた一方，一般に覚醒作用をもたらすドーパミンの投与は，ヒドラの睡眠を促進することが明らかになった。断眠させたヒドラの遺伝子発現変化を網羅的に解析したところ，cGMP-dependent protein kinase 1 (PRKG1) や ornithine aminotransferase (OAT) を含む 212 個の遺伝子の発現変動が検出された。PRKG1 はヒドラにおいて，他の生物と同様に睡眠促進作用を持つ一方, オルニチン代謝の睡眠に対する影響は, ヒドラとショウジョウバエで対照的であった。睡眠制御機構は散在神経系を有する動物でも既に分子レベルで獲得されており, また一部の制御機構は進化の過程で再プログラムされたと推測される。

（４）多機能イメージング計測から迫る概日リズム中枢神経回路の作動原理

○榎木亮介[1,2]，廣蒼太[1,2]，根本知己[1,2]
（[1]生命創成探究センターバイオフォトニクス研究グループ，
[2]生理学研究所バイオフォトニクス研究部門）

哺乳類の約 24 時間の概日リズムの中枢は，脳深部の視床下部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ることで，睡眠覚醒サイクルやホルモン分泌などの約 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 24 時間に正確でロバストなリズムを示す。一方で分散培養した個々の神経細胞はリズムの周期が不安定でばらつくとされ，視交叉上核の組織としての安定性や頑強性は多数の神経細胞の相互作用により生み出されると考えられている。

講演者はこれまでに，日から週単位で概日リズムを計測する為の蛍光イメージング計測法を確立し，視交叉上核の多振動体構造や，概日カルシウムリズムと時計遺伝子発現との機能連関，神経回路で同期する概日膜電位リズムの存在や，視交叉上核の主な投射先である室傍核/傍室傍核領域におけるウルトラディアンカルシウムリズムなどを報告してきた。また最近では，マイクロパターン基盤上に単一神経細胞を培養する手法を確立し，大多数の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，また神経細胞のリズムはグリア細胞により撹乱されることを見出した。これらの概日リズムのイメージング解析の試みの他，進行中である細胞内局所カルシウムリズム計測について紹介した。

（５）睡眠・覚醒リズムのリン酸化仮説

○上田泰己 [1,2]
（[1] 東京大学大学院医学系研究科システムズ薬理学教室，
[2] 理化学研究所生命機能科学研究センター合成生物学研究チーム）

講演者らは，分子活性の変動そのものが睡眠覚醒リズムの時間情報，特に睡眠時間長を支配する可能性を考え，哺乳類の睡眠（特にノンレム睡眠）で神経細胞の活動パターンを直接担うイオンチャネル・ポンプについて，神経活動の数理モデリングと，マウス睡眠表現型のスクリーニングシステム（SSS 法），独自に改良した CRISPR を用いたノックアウトマウス作製技術（Triple-CRISPR 法）を用いて，細胞内 Ca^{2+} 動態に直接関与する一連のイオンチャネル・ポンプが睡眠時間制御に重要であることを見出してきた。さらに，細胞内 Ca^{2+} が制御するリン酸化酵素に着目し，*Camk2a/b* ノックアウトマウスが著明な睡眠時間の短縮を示すことを明らかにした。そして，CaMKII α/β が睡眠を誘導するリン酸化酵素であることを発見した。この発見を元に，神経細胞の興奮持続やエネルギーの枯渇，外的環境変化によるストレスなどの細胞状態・個体状態の履歴をリン酸化を中心とした分子修飾として統合・記録し，神経細胞の興奮性の低下，代謝活動の制御，ストレスによる細胞障害の修復を誘導する睡眠のリン酸化仮説を提唱するに至った。概日時計研究からも示されるように，リン酸化制御が数分から数時間の広いスケールの時間情報の本体となりうる。総じて，タンパク質のリン酸化修飾が睡眠時間制御に中心的な役割を果たす全体像を明らかにするべき時がまさに訪れている。

（６）生体内の薬物動態とその作用をリアルタイム計測する局所薬物センサシステム

○緒方元気 [1]，澤村晴志朗 [1]，浅井　開 [2]，楠原洋之 [3]，栄長泰明 [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] 慶應義塾大学 理工学部化学科，
[3] 東京大学大学院 薬学系研究科 分子薬物動態学教室）

生体に投与した薬物が，各々の臓器の“局所”へ如何に分布しどのような濃度変化を示すか，そしてどのような作用を及ぼすかをリアルタイム観測することは，薬効や毒性の仕組みを理解する上で重要である。現在，薬物濃度動態の把握には，体液や臓器を採取し，それらの標本を体外の分析器にかける方法が主流である。しかし，この従来法では，「生体内」の“局所”における薬物動態を，リアルタイムで追尾することは困難である。また，種々の生体信号の計測系との組み合わせも難しい。以上を踏まえ，講演者らは，最近，先端素材の「導電性ダイヤモンド」を用いた計測システムを創出した。このシステムは，薬物濃度を測定する針状ダイヤモンド電極と，チャネルやトランスポータの働きに立脚する生体電位のモニターを指向した微小ガラス電極を搭載する。本システムの二つの電極をモルモットの内耳へ挿入し，聴覚に必須な内耳の特殊電位環境を破綻させ，難聴を誘引するブメタニドを静注した。その結果，迅速な濃度上昇と，それに少し遅延した内耳体液電位の降下が観察された。また，ラット脳に二つの電極を刺入し，抗てんかん薬ラモトリギンを静注すると，脳内では，ゆっくりとしたラモトリギンの濃度上昇が観察された。神経活動を示す電場電位は，薬物濃度の上昇開始とともに強く抑制された。本システムは多様な薬物や臓器に適用可能であり，次世代の創薬や治療法の展開に大きく貢献する。

（７）動的膜張力測定法と KcsA チャネルの張力応答

岩本真幸，○老木成稔（福井大学 高エネルギー医学研究センター）

チャネル－膜相互作用の分子メカニズムは広く研究されてきた。特に膜の力学特性（変形・弾性・張力）に対する応答について機械受容性チャネルがその先鞭を告げたが，他の多くのチャネルも膜張力依存性を示すことが明らかになってきた。これらの研究には patch-clamp 法が適用されてきたが，パッチ膜の物理的・化学的特性は単純ではなく，膜張力の定量的評価にも問題がある。一方，脂質 2 重膜法でも膜張力の定量的測定が可能になってきたが，従来の方法では準定常的な膜張力しか評価できなかった。そこで Contact Bubble Bilayer (CBB) 法における他の脂質 2 重膜法にはないメリットを利用した膜張力測定法を確立した。CBB 法ではバブル圧を操作できるので，Young-Laplace 則によって膜張力も自由にコントロールできる。今回，新しい方法を確立することによって膜張力の変化を時系列で捉えることに成功した。そして特徴的な張力依存性をもつ KcsA カリウムチャネルの膜張力に対する動的応答を捉えることができた。

（８）大脳皮質における細胞外 ATP 動態の *in vivo* 蛍光イメージング

○北島奈美[1]，瀧川健司[1]，関谷　敬[1]，佐藤　要[1]，浅沼大祐[1]，
坂本寛和[1]，並木繁行[1]，飯野正光[2]，廣瀬謙造[1]
（[1]東京大学大学院 医学系研究科 細胞分子薬理，[2]日本大学 医学部 細胞分子薬理）

生体内における ATP は, 細胞内でのエネルギー通貨としてだけでなく，細胞外にてシグナル分子として作用する。脳では，アストロサイトや神経細胞から放出され，神経活動の制御などのシグナル伝達を担う。偏頭痛や脳梗塞などの病態では，一過性の神経活動が大脳皮質を伝播する際に，細胞外 ATP 濃度が上昇する。これらの細胞外 ATP シグナルの機能解明には，ATP の時空間動態に関する知見が有用である。これまでに多くの蛍光 ATP プローブが開発され，細胞内動態の可視化に応用されてきた。しかし，細胞外 ATP シグナルは，細胞内より低い濃度域で作用するため，可視化のためのより高感度のプローブが必要とされてきた。本研究では，より感度の高い ATP プローブを開発するため，ATP 結合蛋白である F_O/F_1 ATPase の ε サブユニットと低分子蛍光色素 Cy3 を組み合わせたプローブを設計した。そして，蛍光色素と ATP 結合蛋白との結合部位を網羅的に探索し，高感度（$K_d \approx 100$ nM）かつ高変化率（100 %）の ATP プローブ ATP Optical Sensor (ATPOS) を作製した。この ATPOS をマウス大脳皮質へ導入し，生体内における細胞外 ATP の可視化法を確立した。さらに，この可視化法を，神経活動が伝播する偏頭痛や脳梗塞などの病態モデルへ応用し，ウェーブ状に広がる ATP 濃度上昇を捉えた。

（９）Ca^{2+} とレドックスシグナルによる小脳シナプス可塑性の極性決定

○柿澤　昌[1]，遠藤昌吾[2]
（[1]京都大学大学院 薬学研究科 生体分子認識学分野，
[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）

環境条件の変化に応じて記憶･学習を書き換えたり消去することは，新しい環境に適応し，合理的な行動を行うために必要不可欠である。記憶・学習の消去には記銘過程と同様にシナプス可塑性が細胞レベルの基盤となり, 記銘とは反対方向の変化が対応すると考えられている。シナプス可塑性は長期増強（LTP）と長期抑圧（LTD）に大別され

るが，この LTP/LTD の極性決定には細胞内 Ca^{2+} 濃度変化が影響する。小脳では，より大きな Ca^{2+} 上昇が LTD を，より小さな Ca^{2+} 上昇が LTP を誘導する。したがって，LTD 誘導時には LTP を誘導するシグナル系も活性化される可能性があるものの，LTP の変化が 100 % 以上であるのに対し，LTD の変化が 20～30 % 程度であることを考慮すると，単に LTP に上書きする形で LTD が誘導されるとは考え難く，LTD シグナルによる LTP の阻害が推測される。これまで一酸化窒素（NO）と活性酸素（ROS）から産生される 8-ニトロ-cGMP シグナル系の LTD への関与を示してきたが，今回，同シグナル系が LTP の阻害を介して，小脳シナプス可塑性の極性を決定づける可能性が示された。mGluR1-Gqα-PLCβ シグナル系は，LTD への関与は示されている一方で NO や ROS 産生への関与は示されていないが，これらのノックアウトマウスでは LTD 刺激により LTD も LTP も誘導されないことは，本仮説を支持する。

（10）A red-shifted version of genetically encoded ratiometric fluorescent temperature indicator for live-cell imaging with low phototoxicity and high time resolution

○Cong Quang Vu[1,2]，Tetsuichi Wazawa[2]，Kai Lu[2]，Masahiro Nakano[2]，Takeharu Nagai[1,2]
（[1] 大阪大学大学院 生命機能研究科，[2] 大阪大学 産業科学研究所）

Developments of fluorescent thermometers include fluorescent dyes, nanoparticles, nanodiamonds, polymers, single-stranded DNA, and genetically encoded temperature indicators (GETIs). For cell imaging, GETIs are very useful for localization to a specific organelle by fusing with a signaling peptide or a protein. Previously, they developed a ratiometric GETI, gTEMP, by using two fluorescent proteins with different temperature sensitivity. They reported development of a red-shifted version of gTEMP, R-gTEMP, composed of a green fluorescent protein (GFP) with low temperature-sensitivity and a red fluorescent protein (RFP) with high temperature-sensitivity. In R-gTEMP, fluorescence of both GFP and RFP is simultaneously observed with excitation of only the GFP. By taking the fluorescence ratio of RFP to GFP, ratiometric temperature imaging was performed at a high time resolution of 10 ms. In addition, visible light excitation of the GFP (~480 nm) can reduce phototoxicity in comparison to the UV excitation (~370 nm) of gTEMP. R-gTEMP was able to measure temperature in a wide range from 15 to 50 °C with a temperature sensitivity comparable to that of gTEMP. We successfully observed a temperature gradient in single cells expressing R-gTEMP with an artificially-generated heat spot and chemically-induced heat production in mitochondria. Thus, R-gTEMP would be a useful indicator to study temperature-related biological processes in live cells and expand the toolbox of GETIs.

（11）熱が細胞内でシグナルになる可能性

○鈴木　団（大阪大学 蛋白質研究所）

体温が 1 °C でも高いと不快なように，温度は我々にとって身近である。しかし細胞のスケールでは，熱物性に関わるパラメータについて，例えば熱伝導率（熱源周囲の温度勾配を決めるパラメータ）のような基本的な値であっても，我々の知識は極めて限られている。そこで，体温恒常性を維持するための細胞による熱産生が，細胞の温度をどう変化させるかについて検討するとき，細胞内の熱伝導率は水として議論されることが多い。計算より得られるタンパク質分子の熱伝導率や，実験的に報告される脂質二重膜の熱伝導率が水の 1/3～1/6 程度であることを考えると，上記の仮定は大雑把にも思われる。そこで我々は，熱源かつ温度計として二つの機能を併せ持つ蛍光ナノ粒子と，これを利用してナノ粒子近傍の熱伝導率を計測する手法を開発した。そして，生きた細胞の中で，局所的な熱伝導率を計測することに初めて成功した。ちょっとした計算から，細胞のエネルギーのごく一

部を放出するだけで，熱源周囲の温度が上昇することが導かれる。微小な領域の温度上昇は速やかに緩和するが，いくつかの生物学的過程にとっては十分に影響すると考えられた。細胞内で局所的に放出された熱が，熱源近傍の細胞内過程に影響している可能性，すなわち熱が近距離のシグナル（「熱シグナル」）として働いている可能性を示唆しているのかもしれない。

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

2020 年 10 月 6 日

代表・世話人：岡村康司（大阪大学大学院 医学系研究科）
所内対応者：久保義弘（生理学研究所）

（1）精子に存在する特殊な膜電位感知機構

河合喬文 [1]，Sharmin Akter[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）メカノセンサーチャネル Piezo の感覚神経とリンパ管における寄与

野々村恵子 [1,2]，Ardem Patapoutian[3]，藤森俊彦 [1,2]
（[1] 自然科学研究機構 基礎生物学研究所 初期発生研究部門，[2] 総合研究大学院大学
[3]Howard Hughes Medical Institute, The Scripps Research Institute）

（3）脂質膜ドメイン間の分配に基づく膜受容体のシグナル伝達制御

柳川正隆 [1]，桑島佑太朗 [1,2]，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）

（4）イオンチャネル構造遷移過程のＸ線 1 分子動画計測

清水啓史（福井大学 学術研究院 医学系研究科 統合生理学）

（5）チャネルシナプスの構造と生理

樽野陽幸 [1,2]（[1] 京都府立医科大学大学院 医学研究科 細胞生理学，[2]JST さきがけ）

（6）細胞質 cAMP 緩衝タンパク質による生体膜 cAMP 感受性チャネル活動の時間制御

中島則行 [1]，中島明子 [1]，鷹野　誠 [1]（[1] 久留米大学 医学部 生理学講座）

（7）消化管神経叢で逆蠕動を制御する HCN チャンネル

小野富三人（大阪医科大学 医学部 生理学教室）

（8）マイクロチップを利用した生体膜機能の再構築と膜タンパク質の高感度解析

渡邉力也（理化学研究所 開拓研究本部）

（9）膜をはり，分子をはかる

竹内昌治 [1,2,3]
（[1] 東京大学 情報理工学系研究科 知能機械情報学専攻
[2] 神奈川県立産業技術総合研究所（KISTEC），[3] 東京大学 生産技術研究所）

ポスター発表

（1）カリウムチャネル選択性フィルタ内のイオン選択的ダイナミクス

三田建一郎 [1]，炭竈享司 [1,2]，岩本真幸 [1,3]，老木成稔 [1,4]
（[1] 福井大学 医学部 分子生理，[2] 金沢大学 ナノ生命科学研究所
[3] 福井大学 医学部 分子神経，[4] 福井大学 医学部 高エネルギー医学研究センター）

（2）嗅シリアサブミクロン区画における[Ca]i と膜電流の同時計測

竹内裕子 [1]，倉橋　隆 [1]（[1] 大阪大学大学院生命機能研究科生理学研究室）

（3）Hypokalemic periodic paralysis with a charge-retaining substitution in the voltage sensor

久保田智哉 [1]，Fenfen Wu[2]，Savine Vicart，仲座真希 [1]，Damien Sternberg[3]，渡邉大祐 [4]，
阿部達哉 [4]，國分則人 [5]，Bertrand Fontaine[3]，Stephen C. Cannon[2]，髙橋正紀 [1]
（[1] 大阪大学大学院 医学系研究科 保健学専攻，[2]Dept of Physiology, UCLA
[3]University Hospital Pitié-Salpêtrière，[4]NHO 箱根病院 神経内科，[5] 獨協医科大学 神経内科）

（４）電位依存性酵素 VSP の電位センサー・酵素間共役における S4 最下部の役割の解明

水谷夏希 [1]，川鍋陽 [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] 香川大学 医学部 分子生理学）

（５）神経チャネル病の患者遺伝子解析の現状と問題点

佐藤瑠香 [1]，久保田智哉 [1]，髙橋正紀 [1]

（[1] 大阪大学大学院 医学系研究科 保健学専攻 臨床神経生理学）

（６）電位依存性プロトンチャネル活性に影響する細胞内分子

川鍋　陽 [1]，藤原祐一郎 [1]（[1] 香川大学 医学部 分子生理学講座）

（７）動的膜張力操作による KcsA チャネルゲート開閉特性の研究

岩本真幸 [1]，老木成稔 [2]（[1] 福井大学 学術研究院医学系部門 分子神経科学分野

[2] 福井大学 高エネルギー医学研究センター）

（８）ホスホイノシチドによる KcsA の機能制御

紀谷拓音 [1]，川鍋　陽 [1]，藤原祐一郎 [1]（[1] 香川大学 医学部 分子生理学講座）

（９）速度論的解析をベースにした TRP チャネル $PI(4,5)P_2$ 結合構造領域に対する分子ドッキング
シュミレーションを用いたホスホイノシチド選択性の解析

森　誠之 [1]，岡田　亮 [1]，長谷英治 [2]

（[1] 産業医科大学 医学部 生体物質化学，[2] 京都大学 工学研究科 合成･生物化学専攻）

（10）ゼブラフィッシュが持つ二つの HCN4 チャネルの機能解析

劉　嘉瑩 [1]，糟谷　豪 [1]，中條浩一 [1]（[1] 自治医科大学医学部統合生理学）

（11）生体膜環境の変化に伴う膜タンパク質の機能・動態制御機構の解析

桑島佑太朗 [1,2]，柳川正隆 [2]，阿部充宏 [2]，青柳良平 [1]，有田　誠 [1]，佐甲靖志 [2]

（[1] 慶應義塾大学大学院薬学研究科代謝生理化学講座，[2] 理化学研究所佐甲細胞情報研究室）

（12）機械受容イオンチャネル PIEZO1 におけるリン脂質動態の感知機構

原　雄二 [1]，丹羽洸介 [1]，佐々木映美 [1]，小畑裕次郎 [1]，平野航太郎 [1]，土谷正樹 [1]，梅田眞郷 [1]

（[1] 京都大学大学院 工学研究科 合成･生物化学専攻）

（13）ツメガエル卵母細胞系におけるイオンチャネルへの光応答性非天然アミノ酸導入法の検討

下村拓史 [1]，久保義弘 [1]（[1] 生理学研究所 神経機能素子研究部門）

【参加者名】

老木成稔（福井大学），中川敦史（大阪大学），小野富三人（大阪医科大学），佐甲靖志（理化学研究所），二階堂悠平（大阪大学），糟谷　豪（自治医科大学），西谷友重（和歌山県立医科大学），三好智満（大阪大学），竹内裕子（大阪大学），塚本寿夫（神戸大学），久保田智哉（大阪大学），入江克雅（名古屋大学），杉本俊一（大阪大学），シユウシュンセン（大阪大学），倉橋　隆（大阪大学），水谷夏希（大阪大学大学院），好岡大輔（大阪大学大学院），岡村康司（大阪大学大学院），中條浩一（自治医科大学），山田憲明（大阪大学），大河内善史（大阪大学），藤原祐一郎（香川大学），善方文太郎（自治医科大学），森　泰生（京都大学），高橋正紀（大阪大学），渡邉力也（理化学研究所），久場博司（名古屋大学），中島則行（久留米大学），稲田壮峰（香川大学），河合喬文（大阪大学大学院），佐藤瑠香（大阪大学），黒川竜紀（大分大学），柳（石原）圭子（久留米大学），野々村恵子（基礎生物学研究所），倉智嘉久（大阪大学），神鳥和代（香川大学），樽野陽幸（京都府立医科大学），竹内昌治（東京大学），川鍋　陽（香川大学），清水啓史（福井大学），大岸憲人（東京大学），阿部一啓（名古屋大学），岩本真幸（福井大学），Sharmin Akter（大阪大学大学院），柳川正隆（理化学研究所），大嶋篤典（名古屋大学），紀谷拓音（香川大学），森　誠之（産業医科大学），劉　嘉瑩（自治医科大学），岡田亮（産業医科大学），桑島佑太朗（理化学研究所），松田　真（大阪大学），大崎寿久（神奈川県立産業技術総

合研究所），坂田宗平（大阪医科大学），平野航太郎（京都大学大学院），Paixao Ian（大阪大学），佐々木映美（京都大学大学院），小畑裕次郎（京都大学），原　雄二（京都大学），勝田雄治（㈱資生堂），森　梨沙（大阪大学），村田和義（生理学研究所），佐々木真理（大阪医科大学），河野佳汰（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），Andriani Riski Tsari（生理学研究所），平澤輝一（生理学研究所），Liu Chang（生理学研究所）

【概要】

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，昨年の大阪大学での所外開催に引き続いての開催となった。３月頃から COVID-19 が国内でも猛威をふるいだし，担当教室の久保教授と打ち合わせを何度か行った結果，オンラインでのバーチャル開催とすることに決定した。複数の若手研究者からの意見を取り入れつつ，できるだけオンラインでのメリットを生かせるような開催を目指した。オンラインでの特殊性を考え，これまでの研究会の通例である開催期間の二日間を一日間に設定した。オンラインシステムとしては，広く使われており利便性も優れている zoom を使用することとした。

講演者には，多方面から奥深いアプローチがなされるようになっている昨今の状況を背景に，若手研究者の研究者の意見を反映させながら，1 分子計測，電気生理学，遺伝学の研究から工学的応用の研究までを含む，学際的な研究プログラムとした。午前，午後の講演セッションの合間に，昼食休憩をはさみ，ポスターセッションを設けた。ポスターセッションでは，各発表者毎のブレークアウトルームを設定することで，参加者が自由にブレークアウトルームに往き来できる状況を設けた。ポスター発表は説明者が不在のときの待ち受け画面に加えてコアタイムでのパワーポイント数枚による説明とした。プログラムの進行は全体としてチャット機能を用いた質問者の順序の明確化や生理研側からのタイマー表示などの工夫も功を奏し，大きな時間の遅れや接続の遮断なども生じず，予定通り円滑に研究会は進行した。その結果，例年での会場開催に引けをとらない熱い議論が交わされた。参加者数も昨年を上回る約 70 名に登り，今後の研究会の発展を後押しする上でも有用な機会となった。

（１）精子に存在する特殊な膜電位感知機構

河合喬文[1]，Sharmin Akter[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）

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構成され，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。これまで VSP は精巣で発現することは分かっていたが，長い間その生物学的機能は分かっていなかった。近年我々は，VSP がマウスの精子に発現し実際に酵素活性を示していること，VSP がカルシウムシグナルに寄与し，精子の運動性に寄与していることなどを明らかにした。その一方で，VSP がどのようなメカニズムで精子の膜電位信号を感知しているのかについて，その時空間的な詳細を含めて不明な点は多く存在する。我々は，このような VSP の電位感知メカニズムに迫るべくアプローチを行っている。本発表では現在有している予備的なデータを中心に発表した。

（２）メカノセンサーチャネル Piezo の感覚神経とリンパ管における寄与

野々村恵子 [1,2]，Ardem Patapoutian[3]，藤森俊彦 [1,2]
（[1] 自然科学研究機構 基礎生物学研究所 初期発生研究部門，[2] 総合研究大学院大学
[3]Howard Hughes Medical Institute, The Scripps Research Institute）

機械受容チャネル Piezo1/2 は細胞膜に埋まる巨大な構造を持ち，細胞膜の張力が増加すると開口し，非選択的にカチオンを透過させる。Piezo2 は感覚神経の一部に高く発現しており，皮膚触覚の主要な機械受容分子であることが示された。私は，Piezo 依存的な機械受容が生体の組織において果たす役割を調べるために，Piezo1 あるいは Piezo2 を細胞種特異的に欠損したマウスの解析を行った。その結果，感覚神経に発現する Piezo2 が呼吸パターンを調節することを明らかにした（Nonomura et al., 2017, Nature）。また，リンパ管や静脈にて逆流を防ぐ構造である弁の形成には Piezo1 が必要であることを見出した（Nonomura et al., 2018, PNAS）。本発表ではこれらの詳細について報告した。

（３）脂質膜ドメイン間の分配に基づく膜受容体のシグナル伝達制御

柳川正隆 [1]，桑島佑太朗 [1,2]，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）

膜受容体は主要な創薬の標的分子である。GPCR は G タンパク質とアレスチンを介して様々なシグナル伝達経路を活性化する。主作用に係る経路を選択的に制御するバイアスリガンドは，より副作用の少ない薬の候補として注目されている。しかしながら，GPCR が細胞内でいかにして経路選択(シグナルバイアス)を実現しているかは明らかでない。本研究では，アンジオテンシン受容体 AT1R をモデルとした 1 分子イメージング・BRET イメージングを行った。その結果，AT1R が Gq・GRK と細胞膜ドメイン内でシグナロソームを形成し，リガンドの種類に応じて 3 者の膜ドメインへの分配が変化することで，シグナルバイアスを制御していることが明らかになった。

上記の例にも見られるように，脂質膜と膜受容体の相互作用は，細胞内シグナル伝達の空間的制御に重要な役割を担うと考えられる。生体において細胞膜の脂質組成は食生活等により変化するが，その細胞内シグナル伝達への影響は未解明な部分が多い。本発表の後半では，TRPV4 チャネルをモデルとして，培養細胞の脂質組成を変えた際に生じる膜受容体の機能・拡散動態の変化を定量した最近の試みに関しても紹介した。

（４）イオンチャネル構造遷移過程のＸ線１分子動画計測

清水啓史（福井大学 学術研究院 医学系研究科 統合生理学）

電子線単粒子構造解析により，イオンチャネルの立体構造情報の蓄積が進んでおり，「機能する際にどのように動くか」が大きな課題となっている。この課題に取り組むため，私達は X 線 1 分子動態計測法を用いてイオンチャネル分子の構造変化の動画計測を行ってきた。発現・精製した分子を基板に固定し，基板側と逆側に自作した金ナノ結晶を観測プローブとして取り付ける。放射光白色 X 線を照射して，分子の構造変化を金ナノ結晶からの回折点の動きとして動画計測する。分子がねじれる構造変化は回折点の回転運動として，屈曲する構造変化

は回折点の半径方向の運動として計測できる。2008 年に K^+ チャネル(KcsA)開閉の際のねじれ構造変化をビデオレートで計測することに成功して以降，観測手法を改良し，現在はサブミリ秒の時間分解能で連続的に構造変化を追跡できる。この手法の利点は空間分解能が高い（～0.1° 程度）こと，構造変化の遷移過程を連続的に記録できることである。これにより，分子揺らぎの変化と大きな構造変化の関係を調べる方法として，動的な構造変化の過程に立体構造情報を位置づける方法として有用と考えている。発表では手法の詳細，KcsA チャネルのデータに加えて，近年取り組んでいる TRPV1 チャネルの動態計測データを紹介した。

（５）チャネルシナプスの構造と生理

樽野陽幸 [1,2]（[1] 京都府立医科大学大学院 医学研究科 細胞生理学，[2]JST さきがけ）

神経機能を司る重要な生命機能である神経細胞間の情報連絡のしくみは現在，シナプス小胞の開口分泌による「化学シナプス」とギャップ結合による「電気シナプス」の２つが広く知られている。一方，味覚を担う味蕾感覚細胞は古典的小胞性化学シナプスを持たずに ATP を伝達物質とする化学神経伝達を行うが，そのシナプス機構は長い間謎だった。近年，CALHM1 と CALHM3 からなる電位依存性イオンチャネル CALHM1/3 が発見され，味蕾細胞で活動電位によって開く CALHM1/3 のイオン透過ポアを通して ATP が神経へ向けて放出されることが明らかとなった。私はこれを従来の小胞性シナプスに対して「チャネルシナプス」と命名し，第２の化学シナプス様式として提唱している。最近になり，チャネルシナプスにおける CALHM1/3，ミトコンドリア，神経の厳密な空間的配置による神経伝達の局所性と安定性を支えるであろう固有のシナプス構造が明らかとなった。また，CALHM チャネルの３次元構造が決定されて ATP 透過機構の構造基盤が解明された。本講演では，CALHM チャネルシナプスの構造と生理機能についての最新の知見をまとめて紹介した。

（６）細胞質 cAMP 緩衝タンパク質による生体膜 cAMP 感受性チャネル活動の時間制御

中島則行 [1]，中島明子 [1]，鷹野　誠 [1]（[1] 久留米大学 医学部 生理学講座）

嗅細胞には，細胞内 cAMP により活性化される 2 つのカチオンチャネル（CNG および HCN）が存在する。CNG チャネルが匂い受容体を介した cAMP 増加を感知する一方で，HCN チャネルは定常 cAMP 濃度を感知して自発活動レベルを調節し，活動依存的な神経ネットワーク構築を制御する。しかし数ミクロン径の嗅細胞内部での汎用分子 cAMP の時空間的な情報処理メカニズムの多くが不明であった。そこで我々は，すべての嗅細胞に発現する Olfactory marker protein（OMP）に着目した。OMP はこれまで組織マーカーとして主に利用されていたが，生物物理学的な機能は不明であった。我々はシミュレーションにより OMP に cAMP 結合構造があることを発見した。OMP はリガンド刺激により急増した cAMP をスポンジのように速やかに吸着することで，CNG チャネルが持続的に開き続けることを抑制する。加えて，匂い受容体の自発活性化は cAMP と OMP の結合・解離平衡を保つことで，cAMP のリザーブプールを形成する。この cAMP 緩衝メカニズムにより，匂い受容および神経ネットワーク構築という異なる時間軸の cAMP 依存現象を実現していると考えられる。

（７）消化管神経叢で逆蠕動を制御する HCN チャンネル

小野富三人（大阪医科大学医学部生理学教室）

HCN チャネルは，心臓以外に腸管神経系においても発現が報告されている。ゼブラフィッシュを用いて消化管における HCN4 の発現と生理学的機能を検討した。まず *hcn4* 遺伝子中に Gal4 遺伝子が挿入されたラインを用いて，生体内で HCN4 発現細胞を視覚化し，さらに免疫組織化学的にこれらがセロトニン神経であることを同定した。次に vector-based imaging system を用いて蠕動の定量解析を行い，順蠕動は腸管に対し主に長軸方向，逆蠕動は主に短軸方向への収縮で構成されていることを確認した。さらに HCN4 チャンネルのアンタゴニストとモルフォリノノックダウンを用いたチャネル機能の抑制実験並びにチャネルロドプシンを発現させた神経活動の活性化実験を行った。その結果，HCN4 発現神経の活動を抑制または活性化すると，逆蠕動が特異的に影響を受けた。以上より，今まで神経系による制御メカニズムが不明であった逆蠕動に関して，HCN4 発現神経がリズムの“発生”“伝播”および“輪走筋収縮”を制御するという，新たな 3 つの神経ネットワークの存在が示唆された。

（８）マイクロチップを利用した生体膜機能の再構築と膜タンパク質の高感度解析

渡邉力也（理化学研究所 開拓研究本部）

マイクロチップを利用したバイオ分析は, 従来の生化学計測の感度や効率を大幅に高めるだけでなく，digital PCR, 次世代 DNA シークエンサーに代表される革新的な分析装置へと応用発展している。元来，マイクロチップによる生化学分析は，取り扱いのしやすさから，主として水溶性の生体分子を標的としてきたが, 生理的および薬理的な重要性を考えると, 膜タンパク質に代表される脂好性の生体分子への汎用性の拡張は必要不可欠であると考えられている。この背景をうけ，近年，私たちは，生体膜が高度に集積化されたマイクロチップを開発し, 生体膜機能の再構築とイオンや脂質などの膜輸送を高感度に検出する技術基盤を確立した[1,2]。本演題では，マイクロチップの最新の開発動向を交えながら, それらが実現する膜タンパク質研究の近未来像について議論した。

（９）膜をはり，分子をはかる

竹内昌治 [1,2,3]
（[1] 東京大学情報理工学系研究科知能機械情報学専攻
[2] 神奈川県立産業技術総合研究所（KISTEC），[3] 東京大学生産技術研究所）

本講演では，これまでに我々の研究室で考案されたマイクロデバイス技術を用いたさまざまな人工脂質 2 重膜形成法とその可能性について概説した。たとえば，脂質の単分子膜同士を接触させて 2 分子膜を形成する「接触法」を開発した。この方法は，マイクロ流路中で，水－溶媒界面にできる脂質分子の単分子膜を接触させ二重膜を形成させる。圧力や流速等を調節することによって，再現性の良い膜形成が行える。また，これらのデバイスに電極を挿入することにより，膜タンパク質を通過するイオン電流計測や膜間に電位差を与えたときのタンパクの応答の解析などに応用できる。多チャンネル化にも適しており，このような脂質二重膜がデバイスに融合したシステムは，DNA チップや（可溶性の）タンパク質チップのように，創薬に重要な，膜タンパク質（特にイオンチャネル）の網羅的な解析ツールとしての応用が期待できる。

ポスター発表

（１）カリウムチャネル選択性フィルタ内のイオン選択的ダイナミクス

三田建一郎 [1]，炭竈享司 [1,2]，岩本真幸 [1,3]，老木成稔 [1,4]
（[1] 福井大学 医学部 分子生理，[2] 金沢大学 ナノ生命科学研究所
[3] 福井大学 医学部 分子神経，[4] 福井大学 医学部 高エネルギー医学研究センター）

カリウムチャネルのイオン選択性は，サイズの小さな Na^+ よりも大きな K^+ イオンを透過させるものでありそのメカニズムは不明である。KcsA カリウムチャネルを介した Na^+ 透過の特異な性質を検討した。単一チャネル電流で 200 mM の Na^+ 濃度では Na^+ ブロッキングが見られ，高い膜電位で緩和され，Na^+ がチャンネルを透過することを示唆した。2000 mM Na^+ 濃度で単一チャネルコンダクタンスは K^+ の 80 分の 1 であることが初めて測定され Na^+ の透過が直接示された。分子動力学シミュレーションではフィルタのカルボニル酸素リング内で Na^+ イオンは 4 カルボニル酸素配位サイトの中心に分布するだけでなく，8 カルボニル酸素配位サイトの中心から外れ，フィルタ内に連続的な経路が形成された。加えて，Na^+配位の両親媒性配位によりフィルタ内で曲がりくねった経路が生成され複数の Na^+ の配位自由度が高くなった。Na^+ の滞留時間は K^+ よりも遥かに長く透過速度は遅くなる。フィルタ内の透過速度の差はコンダクタンス選択性として表され多数のイオンチャネルの選択性メカニズムを理解する基礎となる。

（２）嗅シリアサブミクロン区画における[Ca]i と膜電流の同時計測

竹内裕子 [1]，倉橋　隆 [1]（[1] 大阪大学大学院 生命機能研究科 生理学研究室）

嗅細胞の応答の諸性質を説明するためには，線毛内の cAMP や Ca が長軸方向に対して拡散抑制を受けていると考えざるを得ない事象がある。線毛はチューブ構造で拡散制限を起こす構造体がみられないが，ケージド cAMP の局所ジャンプと電気生理学的記録により，細胞内因子の空間分布を推定したところ，Ca や cAMP の生理学的な影響が線毛の長軸数ミクロン程度を超えないことを確認した。しかし，一部の研究者はビジュアル的に関連物質の時空間特性を見なければ，問題は完結しないと指摘する。線毛は，エンベロープウイルスなどと同等レベルの直径（0.1～0.2 μm）しかなく光学測定は困難と考えられたが，今回，我々は線毛内に Fluo-4 とケージド cAMP を導入して LSM のラスタースキャンによる ROI 機能を用い，局所 cAMP ジャンプに伴う線毛の局所 Ca イメージング，線毛膜電流を同時に記録した。その結果，匂い順応に関する Ca の動作機序に関する新たな知見が得られ，また Ca（と cAMP）の線毛内拡散速度が自由拡散に比べて劇的に制限されていることが分かった。本実験では，Ca 測光や UV 刺激がラスタースキャンによる時空間差を含むが，データ処理の計算手順の詳細などについても併せて議論した。

（３）Hypokalemic periodic paralysis with a charge-retaining substitution in the voltage sensor

久保田智哉 [1]，Fenfen Wu[2]，Savine Vicart[3]，仲座真希 [1]，Damien Sternberg[3]，渡邉大祐 [4]
阿部達哉 [4]，國分則人 [5]，Bertrand Fontaine[3]，Stephen C. Cannon[2]，髙橋正紀 [1]
（[1] 大阪大学大学院 医学系研究科 保健学専攻，[2]Dept of Physiology, UCLA,
[3]University Hospital Pitié-Salpêtrière，[4]NHO 箱根病院 神経内科，[5] 獨協医科大学 神経内科）

家族性低カリウム性周期性四肢麻痺（HypoPP）は，Nav1.4 又は Cav1.1 の電位感受性ドメイン（VSD）内のアルギニンが非電荷アミノ酸に変異することで発症する。その機能異常は，Gating pore 電流と呼ばれる漏洩電流の発生であり，病態の本態と考えられてきた。今回，我々は 4 家系 5 名の HypoPP において VSD 内のアルギニンがリジンへ変化する症例を経験した。それらの変異チャネルは，疾患発症に十分な Gating pore 電流を生じなかった。HypoPP の病態メカニズムが Gating pore 電流だけではないことを示す貴重な症例である

（４）電位依存性酵素 VSP の電位センサー・酵素間共役における S4 最下部の役割の解明

水谷夏希 [1]，川鍋　陽 [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] 香川大学 医学部 分子生理学）

電位依存性酵素 VSP は，電位依存性イオンチャネルに類似の電位センサーとそれに続く酵素部位で構成され，細胞膜電位の脱分極に伴って主にイノシトールリン脂質 PI(4,5)P_2 を脱リン酸化するユニークな分子である。我々は電位センサーによる膜電位感知に共役して酵素活性が誘導されるメカニズムの解明を目指し，電位センサーの 4 番目の膜貫通ヘリックス S4 に着目してこれまで解析を行ってきた。S4 への網羅的なアミノ酸変異導入の結果，カタユウレイボヤ由来 VSP (Ci-VSP)の S4 最下部に当たる I233 および F234 では導入アミノ酸側鎖の疎水性の強さと酵素活性の強さが相関することが明らかになった。さらに，両部位の親水性アミノ酸変異体では酵素活性誘導に重要な酵素部位の動きが減弱した。以上から，S4 最下部およびその疎水性は電位センサー・酵素間共役に重要であることが示唆された。

次にその具体的な役割を明らかにするため，酵素活性誘導時に S4 最下部の構造がどのように変化するか，非天然蛍光アミノ酸 Anap を導入して膜電位変化に伴う蛍光強度変化を解析した。研究会では，得られた結果から想定される構造変化についても考察し発表した。

（５）神経チャネル病の患者遺伝子解析の現状と問題点

佐藤瑠香 [1]，久保田智哉 [1]，髙橋正紀 [1]
（[1] 大阪大学大学院 医学系研究科 保健学専攻 臨床神経生理学）

神経細胞に発現するイオンチャネル遺伝子の異常で発症する神経チャネル病は，てんかん，小脳失調，頭痛など多岐にわたる。その中で反復発作性運動失調症（EA）と家族性片麻痺性片頭痛（FHM）について，日本の各医療施設より依頼をうけ，遺伝子解析に取り組んでいる。EA は間欠的な運動失調を呈する希少難病であり EA2 型（EA2）が最多 EA1 型が次に多いとされている。ともに常染色体優性遺伝の疾患であり EA2 は CACNA1A 遺伝子，EA1 は KCNA1 遺伝子に変異を持つ。一方 FHM は麻痺症状を前兆とする片頭痛であり，1～3 型がある。FHM1 は CACNA1A 遺伝子，FHM2 は ATP1A2 遺伝子，FHM3 は SCN1A 遺伝子の異常で発症する常染色体優性遺伝性疾患である。本邦では EA も FHM も遺伝子診断確定例は限られ，その有病率や自然歴など実態は不明で

ある。診断確定例の数が限られる原因として臨床症状が多彩であること，同一家系内でも臨床症状が違う事があること，また遺伝子解析の結果複数の遺伝子変化が検出され，その病原性の確定が困難である場合が多いことなどが挙げられる。研究会では，我々の神経チャネル病遺伝子解析の取り組みの現状とその中で経験した問題点について紹介した。

（６）電位依存性プロトンチャネル活性に影響する細胞内分子

川鍋　陽[1]，藤原祐一郎[1]（[1]香川大学医学部分子生理学講座）

細胞の電気的活動の分子基盤であるイオンチャネルは，細胞内外のさまざまな分子により機能制御を受ける。膜電位変化に応答してプロトンを透過する機能をもつ電位依存性プロトンチャネル Hv1 では，細胞外の Zn^{2+} や阻害剤 2GBI，脂質であるアラキドン酸などによる機能制御が報告されている（Sasaki et al. 2006, Hong et al. 2013, Kawanabe&Okamura 2016）。これらの報告は細胞外側・膜からの分子による制御が対象であり，細胞内側からの制御についてはほとんど報告がなかった。本研究で，Hv1 に対する細胞内側からの分子による制御を明らかにするために，培養細胞に発現させたマウス由来の Hv1 電流をパッチクランプ法で計測，急速灌流システムを使って細胞内分子の影響を評価した。その結果，細胞内 ATP により，Hv1 活性が制御されることを示唆するデータを得た。発表においては，その制御メカニズムと生理的意義について議論した。

（７）動的膜張力操作による KcsA チャネルゲート開閉特性の研究

岩本真幸[1]，老木成稔[2]
（[1]福井大学 学術研究院 医学系部門 分子神経科学分野，[2]福井大学 高エネルギー医学研究センター）

細胞膜に発生する張力は，膨潤や分裂，遊走など，細胞の様々な変化に連動し，また，膜張力変化が膜タンパク活性に影響することが明らかになっている。これまで，膜張力依存的に活性化する機械受容チャネルが多数発見されてきたが，近年我々は，pH 依存性の KcsA カリウムイオンチャネルの活性が，膜張力によって修飾されることを明らかにした。程度の差こそあれ，膜張力は多くのイオンチャネル活性に影響していると考えられる。本研究では膜張力の普遍的作用機序の解明に向け，酸性 pH で活性化状態にある KcsA チャネルのゲート開閉を，様々な膜張力下で解析した。Contact Bubble Bilayer (CBB) 法では，2 つの脂質水溶液バブルの接触角と半径，内圧によって，チャネルが組み込まれた接触面の脂質二重膜張力が決まる。今回，微小なバブル内圧の測定法を確立し，シングルチャネル電流測定中の連続的な膜張力値を得ることができた。圧力操作により約 1～6 mN/m の範囲で膜張力を変動させたところ，開確率の膜張力依存性がヒステリシスを示すことが明らかになった。この結果は，膜張力によってチャネル構造にモードシフトが起きる可能性を示唆した。

（８）ホスホイノシチドによる KcsA の機能制御

紀谷拓音[1]，川鍋　陽[1]，藤原祐一郎[1]（[1]香川大学 医学部 分子生理学講座）

細胞膜を構成する脂質は，イオンチャネルをはじめとする膜タンパク質の機能を維持する上で重要な働きをしている。特に $PI(4,5)P_2$ などに代表されるホスホイノシチドは多くのイオンチャネルに対して直接作用し，その

機能を制御していることが知られている。一方，カリウムチャネルのモデルとしてよく研究されている KcsA は，膜の内葉に存在するホスファチジルグリセロールなどの脂質によって，活性が制御されることが報告されているが（Iwamoto & Oiki 2015），ホスホイノシチドが KcsA の活性に与える影響については不明である。

我々は本研究で，ホスホイノシチドによる KcsA の機能制御を明らかにするために，発現・精製した KcsA を人工膜に再構成して，contact bubble bilayer (CBB) 法を用いてチャネル電流を計測した。その結果，膜の内葉がホスファチジルコリンのみで構成されるときに比べて，PI や PI(4)P，PI(4,5)P_2，PI(3,4,5)P_3 が 10 % 含まれている膜組成の時には，チャネルの開確率が著しく上昇するというデータを得た（Po=0.17→0.94-0.99）。本ポスター発表において，その制御メカニズムと生理的意義について議論した。

（９）速度論的解析をベースにした TRP チャネル PI(4,5)P_2 結合構造領域に対する分子ドッキングシュミレーションを用いたホスホイノシチド選択性の解析

森　誠之[1]，岡田　亮[1]，長谷英治[2]
（[1]産業医科大学 医学部 生体物質化学，[2]京都大学 工学研究科 合成･生物化学専攻）

イノシトールリン脂質（ホスホイノシチド）は膜蛋白質と選択的に結合することで生体膜フラッグ機能や神経活動の調節といった生理機能に関わる。PI(4,5)P_2 作用部位が未だ明瞭でない TRPC6 チャネルに着目しゼブラフィッシュ由来 VSP を用いた速度論的な解析実験を行った。437 番目のアルギニンなどはホスホイノシチドの結合速度に影響を及ぼす重要なアミノ酸残基であることを見出した。これらのアミノ酸残基を近年クライオ電顕により明らかになった TRP チャネルの分子構造に照らし合わせると PreS1 ループ構造とアンキリンドメインの間にあり口（マウス）のような形状で配置されている。PreS1 ループ構造は TRPV1 や TRPM8 など他の TRP チャネルに共通して見られる機能未知の構造である。この領域のホスホイノシチドに対する特異性を調べるため，docking simulation を行った。TRPC6 のマウス構造はイノシトール(4,5)二リン酸に対し高い指向性を示した。ホスホイノシチドに対する TRP チャネル群の共通した分子認識機構解明の手掛かりになると考えられた。

（10）ゼブラフィッシュが持つ二つの HCN4 チャネルの機能解析

劉　嘉瑩[1]，糟谷　豪[1]，中條浩一[1]（[1]自治医科大学 医学部 統合生理学）

HCN チャネルは，過分極で開くとともに，細胞内環状ヌクレオチド（cAMP）濃度に依存して電位依存性を変化する性質を持つ。ヒトは HCN1～4 の遺伝子を持っており，心筋や神経細胞の興奮性を制御する。HCN4 は洞房結節など特殊心筋細胞に発現し，細胞を自発的に興奮させるペースメーカーチャネルとして機能する。ゼブラフィッシュは 5 cm 程度の小型熱帯魚で生後１週間程度は透明であり，体内を外から容易に観察できることから，心臓研究においても有望なモデル脊椎動物として注目されている。ヒトには１つしかない HCN4 遺伝子がゼブラフィッシュには２つ（DrHCN4，DrHCN4L）存在し，どのような生理機能を持つかは明らかでない。そこで，DrHCN4，DrHCN4L をそれぞれアフリカツメガエルの卵母細胞に発現させ，電気生理学的性質を解析し，ヒトの HCN4 チャネル（HsHCN4）と比較した。HsHCN4, DrHCN4, DrHCN4L の G-V カーブの $V_{1/2}$ はそれぞれ-100.2 mV，-88.5 mV，-73.5 mV となり，DrHCN4L が最も開きやすいことがわかった。DrHCN4L には細胞内の cAMP 結合領域を中心にユニークなアミノ酸変異があり，開きやすいチャネルになっていると考えられる。

（11）生体膜環境の変化に伴う膜タンパク質の機能・動態制御機構の解析

桑島佑太朗[1,2]，柳川正隆[2]，阿部充宏[2]，青柳良平[1]，有田　誠[1]，佐甲靖志[2]
（[1]慶應義塾大学大学院 薬学研究科 代謝生理化学講座，[2]理化学研究所 佐甲細胞情報研究室）

生体膜には多様な脂質分子が分布し膜タンパク質の反応場を提供している。近年膜リン脂質組成の変化が TRPV4 チャネルの活性に影響することが報告されたがその活性制御機構は不明である。そこで本研究では膜タンパク質の“動き”と“機能”に着目し膜リン脂質組成の変化に応じて生じる影響を定量的に評価する手法からその制御機構の理解を目指した。

TRPV4 と同じファミリーに属する痛み受容体 TRPV1 が，活性化後に膜上での動きが遅くなると報告されている。全反射蛍光顕微鏡を用いた 1 分子イメージングにより TRPV1 の動態変化を解析し活性化後に動きが遅くなることを確認した。TRPV4 についても同様に活性化後に動きが遅くなり機能と動きが相関することを見出した。

膜リン脂質に多価不飽和脂肪酸を取り込ませると TRPV4 介したカルシウム応答が増強することを確認した。同条件で TRPV4 の拡散動態を解析した結果 TRPV4 の動きが速くなることが明らかになった。膜タンパク質の 1 分子イメージングと機能評価を組み合わせ膜脂質環境の変化に伴う膜タンパク質の動態と機能変化が定量的に計測できることが明らかになった。

（12）機械受容イオンチャネル PIEZO1 におけるリン脂質動態の感知機構

原　雄二[1]，丹羽洸介[1]，佐々木映美[1]，小畑裕次郎[1]，平野航太郎[1]，土谷正樹[1]，梅田眞郷[1]
（[1]京都大学大学院 工学研究科 合成･生物化学専攻）

イオンチャネルをはじめとする膜タンパク質は，隣接する脂質分子群により活性制御されることが古くから論じられてきた。しかし生体膜における脂質分子の微細な変動が如何に認識され，膜タンパク質の活性制御を経て細胞現象が誘導されるか，その機構は未だ明らかではない。我々は生体膜を構成するリン脂質のとんぼ返り運動（フリップ・フロップ）に着目し，これまでにリン脂質フリッパーゼが，酸性リン脂質の一つであるホスファチジルセリン（PS）を形質膜外層から内層へ輸送することで，膜張力で活性化される機械受容イオンチャネル PIEZO1 を正に制御することを明らかにした。

本研究では，PIEZO1 によるリン脂質動態感知について，その分子機構解明を目的とした。ヒト PIEZO1 とショウジョウバエ PIEZO とのキメラ変異体などのイオンチャネル活性評価を通じ，ヒト PIEZO1 の N 末端から中央領域にかけてリン脂質動態を感知する領域の存在が示唆された。本研究会では，また，現在進行中の，PIEZO1 における構造解析などの情報を基に，詳細なリン脂質認識部位の同定および PIEZO1 活性制御機構のさらなる解明に向けて行っている実験結果も併せて発表した。

（13）ツメガエル卵母細胞系におけるイオンチャネルへの光応答性非天然アミノ酸導入法の検討

下村拓史[1]，久保義弘[1]（[1]生理学研究所 神経機能素子研究部門）

コドン拡張法は，目的タンパク質の任意の位置に非天然アミノ酸を導入することを可能にする。この手法により側鎖に光異性化能を有するアミノ酸（Photo-switchable unnatural amino acid; PSAA）を組み込むことで，多様なタンパク質に光応答性を付与できると期待されるが，その報告例は現状ではごく少数である。我々は，ラット由来の膜電位感受性 K+チャネル Kv1.2 を対象として，ツメガエル卵母細胞系における PSAA 導入法の確立を目指した。先行研究に基づき，終止コドンである TAG を PSAA 用に再定義するためのプラスミドを設計し，Kv1.2

の S4 ヘリックス上における TAG 変異体 DNA および PSAA とともに卵母細胞に導入した。その結果，Kv1.2 電流を生じる変異体が得られ，これらを発現した卵母細胞に異なる波長の光を照射することで可逆的に活性を変化させられることを確認した。さらに，それぞれの Kv1.2 PSAA 変異体は光照射に対して異なる電位感受性の変化を示すことも分かった。この結果は，ツメガエル卵母細胞系における PSAA 導入を初めて実証したものであり，また S4 ヘリックスの電位感受性メカニズムについて新たな知見を与えるものである。

4. 自閉症，てんかんの病態原理に関与するシナプス制御・神経回路機構

2021 年 2 月 2 日

代表・世話人：田渕克彦（信州大学 学術研究院医学系）
所内対応者：深田正紀（生理学研究所 生体膜研究部門）

（１）自閉症関連タンパク質 Neuroligin3 による新規のシナプス誘導経路と社会性調節機構
吉田知之（富山大学大学院 医学薬学研究部）

（２）グルタミン酸受容体によるシナプス形成機構
松田恵子（慶應義塾大学 医学部）

（３）イハラてんかんラットの原因遺伝子 DSCAML1 とヒトてんかん
星野幹雄（国立精神･神経医療研究センター）

（４）自閉スペクトラム症モデルにおいて発生シグナルの異常が引き起こす特定抑制性ニューロンサブタイプの分化障害
飯島崇利（東海大学 医学部）

（５）てんかん性脳症の原因遺伝子の同定と病態解明
才津浩智（浜松医科大学 医学部）

（６）X 染色体連鎖性神経発達障害の神経回路異常の研究
田渕克彦（信州大学 学術研究院 医学系）

（７）自閉スペクトラム症の病態モデル
内匠　透（神戸大学 医学部）

（８）Neuroligin-3 R451C 自閉症モデルマウスのシナプス構造異常の同定
深澤有吾（福井大学 学術研究医学領域）

（９）ボリューム電子顕微鏡による有髄および脱髄軸索の 3 次元微細形態解析
大野伸彦（自治医科大学 医学部）

（10）小脳抑制性介在ニューロンルガロ細胞の帯状構造特異的な入出力様式
宮﨑太輔（北海道大学 保健科学研究院）

（11）AMPA 受容体のパルミトイル化修飾異常に伴うてんかん発作
林　崇（国立精神･神経医療研究センター）

（12）てんかん・発達障害の発症神経回路
山川和弘（名古屋市立大学大学院 医学研究科）

（13）ストレスによる炎症反応を引き金とした脳組織リモデリング
古屋敷智之（神戸大学 医学研究科）

【参加者名】

吉田知之（富山大学），松田恵子（慶應義塾大学），星野幹雄（国立精神神経医療研究センター），飯島崇利（東海大学），才津浩智（浜松医科大学），田渕克彦（信州大学），内匠　透（神戸大学），宮﨑太輔（北海道大学），大野伸彦（自治医科大学），深澤有吾（福井大学），林　崇（国立精神神経医療研究センター），山川和弘（名古屋市立大学），古屋敷智之（神戸大学），飯島陽子（東海大学），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（総合研究大学院大学），山辻　陸（岡山大学），妹尾賢治（東京大学），井上昌俊（スタンフォード大学），玉田紘太（神戸大学），聶　翔（神戸大学大学院），Kaneko Keisuke（Children's Hospital of Philadelphia / University of Pennsylvania），Gayathri Balasuriya（Kobe University Graduate School of Medicine），野村　淳（神戸大学），長野凱大（関西学院

大学），石川　充（慶應義塾大学），小林洋平（大日本住友製薬㈱），柴田和輝（大日本住友製薬㈱），下野耕平（大日本住友製薬㈱），樋口　杏（金沢大学），石川由香（神戸大学），前田夕佳（東京理科大学），国井美紗子（横浜市立大学），大槻　元（京都大学大学院），山脇優輝（京都大学），田辺章悟（国立精神・神経医療研究センター），高橋華奈子（国立医薬品食品衛生研究所），中村行宏（東京慈恵会医科大学），鳴島　円（生理学研究所），山肩葉子（生理学研究所），谷口将之（神戸大学），竹本さやか（名古屋大学），矢賀勇志（千葉市立海浜病院），掛川　渉（慶應義塾大学），DilinaTuerde（慶應義塾大学），吉川弥里（就実大学），垣田真奈美（豊田中央研究所），窪田芳之（生理学研究所），植松明子（生理学研究所），郷　康広（生命創成探究センター），山本真理子（生理学研究所），長澤有祐（生理学研究所），佐藤　彩（生理学研究所），奥村久士（生命創成探究センター），竹田育子（名古屋大学），谷本昌志（基礎生物学研究所），塚原飛央（ミシガン大学），渋下　碧（名古屋大学大学院），渡邉　惠（国立精神・神経医療研究センター），会見昂大（慶應義塾大学），ラハマン ラビブライス（生理学研究所），堀内　浩（生理学研究所），新田博司（九州大学），新居桂陽（生理学研究所），藤原佐知子（生理学研究所），北城圭一（生理学研究所），村越秀治（生理学研究所），河野圭太（第一三共㈱），上田健二郎（第一三共㈱），堂本将輝（大塚製薬㈱），伊藤政之（慶應義塾大学）

【概要】

自閉症とてんかんは，ともに遺伝子異常に起因する神経発達障害である。分子メカニズムに共通点が多く，実際，自閉症患者の多くでてんかんを合併することが知られている。過去 20 年近くにわたり，これらの原因遺伝子が同定されてきたが，それらは数百種類にもおよび，メカニズムの違いを分類する必要がある。症候群性自閉症や一部のてんかんで，単一遺伝子の異常により発症するものがある一方，多くのものがポリジーン遺伝（多因子遺伝）の様式をとることもわかってきている。これらの遺伝子の多くは，シナプス機能に関わっていることから，シナプス機能の異常がこれらの疾患の病態の本質ではないかと考えられ，モデル動物を用いたシナプス機能の研究がおこなわれてきた。一方，同じ遺伝子が原因で起こるシナプス異常でも，脳の領域によって表現型が異なるケースも多く，神経回路と関連付けた研究の重要性を問う声が増してきている。本研究会は，自閉症，てんかんなどの神経発達障害の原因遺伝子の同定，個々の分子機能の研究，病態モデルのシナプス機能，神経回路異常の研究で成果を挙げている国内の気鋭の研究者を招聘し，最新の研究成果を発表していただいた。国内の研究者が研究を発展させていく上で，有意義な情報交換の場になったと考えている。

（１）自閉症関連タンパク質 Neuroligin3 による新規のシナプス誘導経路と社会性調節機構

吉田知之（富山大学大学院 医学薬学研究部）

Neuroligin 3 (NLGN3) はシナプス後部の膜タンパク質であり，シナプス前部の Neurexin (NRXN) と結合してシナプス形成を担うシナプスオーガナイザーとしてよく知られている。私たちはシナプス前部オーガナイザーである受容体チロシン脱リン酸化酵素 PTPδ のインターラクトーム解析から，NLGN3 が PTPδ と結合してシナプス形成を担う新規のシナプス誘導経路があることを見出した。NLGN3-PTPδ および NLGN3-NRXN 複合体の結晶構造を基に，PTPδ もしくは NRXN との結合を選択的に障害した NLGN3 点変異をデザインした。それらの点変異を導入したマウス系統を作出して，社会性行動への影響を評価したところ，NLGN3-NRXN 経路を障害したマウス系統では社会性行動の増加が認められた。一方で，NLGN3-PTPδ 経路を障害したマウス系統では社会性が減少していた。また，自閉症モデルとして知られる NLGN3R451C 点変異導入マウス由来の神経細胞では，PTPδ を介するシナプス誘導が選択的に障害されていた。これらの結果から，NLGN3 が互いに競合する２つのシナプス前部リガンド，NRXN と PTPδ を介して，双方向性に社会性行動の発達を調節し，特に NLGN3-PTPδ 経路の障害が自閉症の発病に関与する可能性が示唆された。

（２）グルタミン酸受容体によるシナプス形成機構

松田恵子（慶應義塾大学 医学部）

神経細胞の樹状突起では，多くの場合さまざまな脳領域からの異なった興奮性入力を受けるが，各シナプスでは入力線維に応じて，形成されるシナプスの形態や，集積するグルタミン酸受容体のサブユニット構成，さらにどのような可塑性を表現するかが異なっている。その結果，機能的に特異化したシナプスが，樹状突起上の特定の領域に局在化し，シナプス伝達や可塑性様式が樹状突起上で区画化される。シナプス形成を引き起こす分子はシナプスオーガナイザーと総称され，neurexin や neuroligin を初めとして数多くの分子が発見されてきたが，これまでどのようにして入力線維に応じて，シナプスの個性が決定されるのか，その分子メカニズムは不明のままであった。これまで，グルタミン酸受容体の最もアミノ酸末端に存在する細胞外領域（ATD）は全長の 3 分の 1 を占めるにもかかわらず，チャンネルのサブユニット構成選択に関わる以外の機能は不明なままであったが，我々はシナプス間隙に突き出たグルタミン酸受容体の ATD が，細胞外因子やシナプス前部の受容体との相互作用領域としての機能に着目した。本発表においては，グルタミン酸受容体そのものがチャンネルとしての機能する以外に，シナプス間隙においてシナプス前部とシナプス後部を機能的に繋ぎ，シナプス形成と特異的機能を規定する分子機構について議論した。

（３）イハラてんかんラットの原因遺伝子 DSCAML1 とヒトてんかん

星野幹雄（国立精神･神経医療研究センター）

我々は, 連鎖解析法と次世代シークエンス技術を用いて, イハラてんかんラットの原因遺伝子として DSCAML1 を同定した。さらに，イハラてんかんラットでは，DSCAML1 遺伝子ゲノムに一塩基変異が入ることでスプライシング異常が生じ機能的な DSCAML1 タンパク質が作られないこと, そのため嗅内皮質の抑制性神経細胞の数が激減しその部位での電気活動が異常に活発になること，さらに嗅内皮質の興奮が海馬に伝えられて全脳的な激しいてんかん発作を引き起こすこと，などが明らかになった。また，当研究機関の「てんかん症例バイオバンク」の中から DSCAML1 遺伝子ゲノムに変異を持つヒト症例を見つけた。その症例では, DSCAML1 タンパク質の C 末端側の一つのアミノ酸がアラニンからスレオニンに変異するが，その結果として DSCAML1 の立体構造が変化し，細胞膜へと露出できなくなり本来の機能を失うことがわかった。さらに，ゲノム編集技術を使うことに相同なアミノ酸変異を持つ疾患型ノックインマウスを作成したところ，嗅内皮質の抑制性神経細胞の減少や, てんかん用の異常脳波を記録した。以上から, この DSCAML1 遺伝子の変異によって，てんかん発症の原因・誘因となる可能性が示唆された。また，このタイプのてんかんに対する新たな治療法の開発についても紹介した。

（４）自閉スペクトラム症モデルにおいて発生シグナルの異常が引き起こす特定抑制性ニューロンサブタイプの分化障害

飯島崇利（東海大学 医学部）

これまで VPA やウイルス感染を模倣する poly(I:C) を妊娠マウスやラットに投与して作成した胎生期薬剤曝露型の ASD 動物モデルはヒト ASD を強く反映するモデルとして，多くの研究者たちに広く研究材料に用いられ

てきた。しかしながら，これらの胎生期曝露が ASD を引き起こす本質的分子メカニズムについては未だ混沌としている。 近年我々は，胎生期の薬剤曝露が神経系に及ぼす影響の全貌解明のため，培養神経細胞に ASD リスクファクターである VPA を低濃度に一過的投与するによって子宮内曝露を模倣した in vitro VPA モデルを構築し (Iijima et al., Sci. Rep., 2016) ，さらにこのモデルを用いてエクソンアレイおよび RNA-seq による網羅的トランスクリプトーム解析を行った。この遺伝子発現プロファイルを手掛かりとして，VPA 暴露 ASD マウスから ASD 発症や中核的症状に関与すると思われる興味深い異常をいくつか同定し，本発表ではその中で最も顕著であった大脳皮質特定抑制性ニューロンサブタイプの分化障害について紹介する。この異常は胎生後期の発生シグナル異常によって引き起こされることを見出しており，ASD 発症の新たな原因としての可能性と，将来的な創薬・治療への応用についても議論した。

（５）てんかん性脳症の原因遺伝子の同定と病態解明

才津浩智（浜松医科大学 医学部）

原因遺伝子（分子）の同定がその疾患の治療薬開発に繋がるためには，マウスを代表とする動物モデルの作成を通じて疾患の病態生理を解明し，治療の標的分子を同定したのちに薬物スクリーニングを行うといった，いくつもの過程が必要である。しかし，近年の次世代シークエンサーの登場と CRISPR/Cas9 という 2 つのブレイクスルーによって，原因遺伝子（分子）の同定とマウスモデルの作成は比較的容易になった。我々の研究室では，ヒト疾患の遺伝子解析を通じてその原因遺伝子変異を同定し，遺伝子変異に基づいたマウスモデルを作製することで，病態解明を目指している。本発表では，次世代シークエンサーを用いたてんかん性脳症の遺伝子解析の現状と，てんかん性脳症の新規原因遺伝子 RHOBTB2 のマウスモデルを用いた病態解明の試みについて紹介した。

（６）X 染色体連鎖性神経発達障害の神経回路異常の研究

田渕克彦（信州大学 学術研究院 医学系）

我々は，MICPCH 症候群の分子病態メカニズムを解明する目的で，原因遺伝子である CASK のメスヘテロノックアウトマウスを MICPCH 症候群の疾患モデルとして研究を行っている。CASK のような X 染色体上にある遺伝子は，メスでは X 染色体不活性化の影響を受けると考えられる。このため，我々は CASK メスヘテロノックアウトマウスの脳切片からパッチピペットを用いた single-cell RT-PCR を行い，このマウスでは CASK 遺伝子は X 染色体不活性化の影響を受け，CASK 欠損細胞と CASK 正常細胞がランダムなモザイク状に入り混じっていることを見出した。パッチクランプ法による電気生理学的解析により，CASK 欠損ニューロンに投射するシナプスの興奮性・抑制性のバランスが崩れていることが判明した。また，これは CASK の guanylate kinase ドメインを介した転写因子 TBR1 の機能獲得が阻害されることにより，下流遺伝子である Grin2B（NMDA 受容体のサブユニット GluN2B をコード）の発現が低下していることにより引き起こされることが判明した。このマウスに関しては，現在小脳低形成のメカニズム，行動異常との関係について研究を行っており，これらについて研究会で報告した。

（７）自閉スペクトラム症の病態モデル

内匠　透（神戸大学 医学部）

自閉スペクトラム症（ASD）は近年増加傾向にあり注目される。ASD は脳の発達障害と考えられ，他の精神疾患に比べて，遺伝的寄与が高いことが知られている。今では千個もの ASD リスク遺伝子，百のオーダーのコピー数多型（CNV）がその原因に関与すると報告されている。CNV の中で最も頻度の高いものの一つとして，ヒト染色体 15q11-13 重複が知られている。我々は，Cre-loxP 系に基づく染色体工学の手法を用いて，ヒト染色体 15q11-13 相同領域であるマウス染色体 7c の 6.3 Mb にわたる重複をもったマウスを作製した。本マウスは，自閉症様行動を示すという表現妥当性のみならず，その生物学的異常としてヒトと同じ染色体異常を有するという構成妥当性をも充たすヒト型自閉症モデルマウスである。また，本マウスにおいてはシナプスやセロトニンの異常が見いだされた。本マウスは，ヒト自閉症の前向き遺伝学のための人工的ファウンダーマウスとして，また創薬のためのモデルとして期待されるところである。さらに，ゲノム編集技術を利用した次世代染色体工学を確立し，ASD の原因となる CNV の網羅的 ES 細胞モデルライブラリーの構築に成功した。興味深いことにこれらの CNV は ASD のみならず統合失調症や双極性障害のような他の精神疾患 CNV とオーバーラップしている。これら動物・細胞の病態モデルを用いた研究を紹介した。

（８）Neuroligin-3 R451C 自閉症モデルマウスのシナプス構造異常の同定

深澤有吾（福井大学 学術研究医学領域）

シナプス伝達は神経細胞間に形成されるシナプス結合で行われ，その適切な伝達とその調節が脳機能を支えている。また，シナプス伝達の異常が原因と考えられる精神神経疾患も多く存在する。従って，各種神経精神疾患モデルマウスのシナプス機能や形態を精度良く解析することは，神経疾患の病態解明と治療法の開発に有効であると考えられる。しかし，シナプス結合はシナプス前と後の異なる細胞の間に形成され，それぞれに異なる役割を担ったナノスケールのオルガネラで構成することでシナプス伝達機能を創出しているため，個々のシナプス結合の機能と構造を解析することは容易でなく，その異常を十分に同定できているとは言えないのが現状である。近年実用化された高分解能型走査型電子顕微鏡を用いた連続断面観察技術と三次元再構築技術に着目し，シナプス前後構造の構造特徴を定量的に評価する手法（微細構造相関解析法）の開発を行ってきた。この手法では，収束イオンビーム搭載高分解能走査型電子顕微鏡（FIB-SEM）を用いることで，シナプス結合前後構造まるごとを従来の透過型電子顕微鏡観察よりも高い分解能で観察し，三次元再構築像から定量的に構造情報を取得することができる。本発表では，各種シナプス伝達関連遺伝子の変異によるシナプス結合構造への影響と自閉症モデルマウス Neuroligin-3 R451C におけるシナプス構造の異常について報告した。

（９）ボリューム電子顕微鏡による有髄および脱髄軸索の３次元微細形態解析

大野伸彦（自治医科大学 医学部）

ボリューム電子顕微鏡は, 数百枚以上の連続電子顕微鏡画像を効率的に取得し，生体の細胞や組織の三次元（3D）微細構造解析を行う上で有効な手法である。SBF- SEM を用いたボリューム電子顕微鏡法をマウス脱髄モデルの超微形態解析に応用することで, 脱髄時の軸索ミトコンドリアの局在とダイナミクスが変化すること, そして微小管と

の結合を介したミトコンドリアの変化が脱髄軸索の生存に寄与していることが明らかになった。また，慢性進行性の脱髄下におけるマウス小脳皮質では，登上線維の varicosity がその内部のミトコンドリアとともに肥大化することが示された。一方で，ボリューム電子顕微鏡法によりオリゴデンドロサイトとそれらが形成する髄鞘の超微形態解析を行うことで，マウスの脳梁では各オリゴデンドロサイトが髄鞘を形成する軸索群の径とその形成される髄鞘の厚みに偏りがみられることがわかった。また，それらのオリゴデンドロサイトの形成する髄鞘に隣接する髄鞘は，ほとんどが異なるオリゴデンドロサイトによって形成されているにも関わらず，厚さに有意な相関がみられた。これらの結果から，個々のオリゴデンドロサイトが特定の径の軸索に選択的に髄鞘を形成していること，そして各オリゴデンドロサイトの髄鞘の厚みが軸索との相互作用を介して細胞単位で調節されていることが示唆された。

（10）小脳抑制性介在ニューロンルガロ細胞の帯状構造特異的な入出力様式

宮﨑太輔（北海道大学 保健科学研究院）

今回，我々は LC 特異的に蛍光タンパクを発現するモデルマウスを作成し，LC の形態学的特性を詳細に検討した。蛍光 in situ hybridization では，LC の約 70 % は GAD67/GlyT2 共陽性であり，残りは GAD67 単独陽性であることが示された。LC への入力を検討したところ，PC 反回軸索終末，苔状線維，登上線維，顆粒細胞上行線維，GlyT2 陽性線維による入力が観察された。LC とのシナプス形成はみられなかったものの，セロトニン線維は LC 樹状突起と近接している傾向が見られ，液性伝達を介したセロトニン神経支配様式が示唆された。さらに LC 樹状突起同士は互いにジャンクション構造によって結合しており，小脳帯域構造のマーカーである aldolaseC との相関性を検討したところ，個々の LC 樹状突起は小脳帯域構造と対応していることが明らかとなった。一方，LC からの軸索は分子層の抑制性介在ニューロンやゴルジ細胞に投射しており，上行線維による同一帯域内への強い入力と側方側枝による帯域を超えた入力を行っていることが明らかとなった。

（11）AMPA 受容体のパルミトイル化修飾異常に伴うてんかん発作

林　崇（国立精神･神経医療研究センター）

個体レベルでの AMPA 受容体パルミトイル化の意義を明らかにするため，AMPA 受容体のシナプス組み込みに最も重要な GluA1 サブユニットのパルミトイル化部位システイン残基をセリン残基に置換した，非パルミトイル化修飾型ノックインマウス（GluA1CS）を作製した。GluA1CS 遺伝子改変マウスは，巨視的な脳構造および通常のシナプス伝達と行動には明確な異常が認められなかったが，分子レベルでは，海馬における GluA1 リン酸化（pSer831）の上昇と大脳皮質での GluA1 タンパク質の発現増加が見られた。また，海馬歯状回で最初期遺伝子 Arc 分子の発現パターン異常が観察された。これらの分子変化に対応して，GluA1CS 個体ではてんかん誘発薬ペンチレンテトラゾールの投与によって起こる発作の閾値が低下していた。同様に，臨床でも使用される各種の抗てんかん薬の発作抑制効果も低減していた。LTP および LTD は，野生型マウスと比較して有意な差はなかったものの，強い化学的 LTP（cLTP）刺激に伴うスパイン構造の膨張は，一定の大きさ以上のスパインで顕著に増大していた。以上の一連の実験結果から，正常な脳内においては，AMPA 受容体のパルミトイル化が興奮性シナプスでの AMPA 受容体発現量を適切に調節しており，この修飾機構が興奮性と抑制性のバランス異常から生じるてんかん発作を抑止しているものと考えられた。

（12）てんかん・発達障害の発症神経回路

山川和弘（名古屋市立大学大学院 医学研究科）

てんかんや自閉症などの大規模ゲノム解析において新生機能喪失変異を多く示す遺伝子として常に上位にランクされる電位依存性ナトリウムチャネルやシナプス蛋白をコードする遺伝子の機能解析，マウスモデル解析，さらにはそれら遺伝子の変異により発症する疾患の治療法の開発を目指して研究を進めてきた。SCN1A については，てんかん・自閉症・知的障害を合併するドラベ症候群などでの変異同定と機能解析について多くの報告を行うとともに，Nav1.1 のパルブアルブミン陽性（PV+）抑制性神経細胞での高い発現と Scn1a ナンセンス変異ノックインマウスにおけるけいれん発作と突然死, 記憶学習障害と社会性行動異常, PV+細胞での Nav1.1 半減がてんかん発作と突然死の主原因であり，興奮性神経細胞での半減は逆効果を持つこと，抑制性神経細胞特異的 Scn1a 発現促進による治療法開発の試みなどを報告した。SCN2A については，てんかん患者での初めての変異，てんかん脳症・知的障害・自閉症合併患者の新生ナンセンス変異，Scn2a ヘテロノックアウトマウスの興奮性神経細胞依存的てんかん発作，記憶学習障害と記憶再生異常, 社会性行動異常と AMPA 受容体機能亢進薬による改善を報告した。

（13）ストレスによる炎症反応を引き金とした脳組織リモデリング

古屋敷智之（神戸大学 医学研究科）

社会や環境から受けるストレスは情動や認知機能を変容し，うつ病などストレス関連疾患のリスクを高める。ストレスを受けた動物やうつ病患者で炎症反応が誘導されることが示唆されてきたが，その働きには不明な点が多い。我々はマウスにおいて，社会挫折ストレスが自然免疫受容体 TLR2/4 を介して前頭前皮質のミクログリアを活性化し TNF-α や IL-1α といった炎症性サイトカインを産生して，興奮性神経細胞の樹状突起退縮やうつ様行動を誘導することを示した。また皮質下領域では TLR2/4 を介してエンドカナビノイド 2-AG に由来する炎症関連分子 PGE2 の合成経路を増強し，前頭前皮質に投射するドパミン系を抑制してうつ様行動を誘導することも示した。しかし，ストレスによる脳内炎症反応がいかに惹起され増強されるのか，炎症に曝された神経細胞がいかに機能・形態変化を遂げるのか，これらの変化になぜ個体差があるのか，など重要な問題が山積している。本講演ではストレスによる炎症反応を引き金とした脳組織リモデリングに関する最新の知見を紹介した。

5. 上皮膜輸送の多様性・調和機構を基盤とする異分野融合研究の創出

2020 年 9 月 3 日－9 月 4 日

代表・世話人：五十里　彰（岐阜薬科大学）
所内対応者：古瀬幹夫（生理学研究所）

（1）日本人 CFTR 変異体への白人型 CFTR 変異治療薬の効果について
相馬義郎（国際医療福祉大学）

（2）塩素イオンチャネル CFTR 変異体の小胞体関連分解における HECT 型ユビキチンリガーゼの機能解析
鎌田優香（関西学院大学）

（3）老化モデルマウスにおける腸管機能の解析
栗原史弥（静岡県立大学）

（4）RAA 系による大腸におけるクローディン発現の制御
五十里　彰（岐阜薬科大学）

（5）傍細胞輸送特性の再構成に向けて
古瀬幹夫（生理学研究所）

（6）ヘテロ二量体型アミノ酸トランスポーターの構造機能解析
Wiriyasermkul Pattama（奈良県立医科大学）

（7）乳がん細胞 MDA-MB-231 の JPH203 抵抗性にはアミノ酸飢餓ストレスを介した CTH の発現誘導が関与する
山賀　貴（杏林大学）

（8）トランスポーターの non-canonical substrate を多階層的解析により明らかにする
永森收志（奈良県立医科大学）

（9）CNNM によるマグネシウムの輸送とその医学生物学的重要性
船戸洋佑（大阪大学）

（10）細胞外の微量金属環境が極性細胞の膜輸送に与える影響
神戸大朋（京都大学）

（11）二価鉄イオンを標的とした蛍光プローブとイメージング研究への応用
平山　祐（岐阜薬科大学）

（12）Intracellular pH of airway surface epithelia in luminally-perfused mice bronchioles
Liu Libin（名古屋大学）

（13）新生仔マウス初期培養上衣線毛細胞の培養系の確立
浅野真司（立命館大学）

（14）肺多線毛上皮での線毛運動調節における Ezrin の役割の検討
川口高徳（立命館大学）

（15）ステロイド薬による抗アレルギー作用と電気生理学的手法による定量化
風間逸郎（宮城大学）

（16）選択的 LAT1 阻害薬 JPH203 前暴露によるアミノ酸輸送阻害効果
安西尚彦（千葉大学）

（17）脂肪肝増悪因子としてのコレステロールトランスポーターNPC1L1 に関する研究
高田龍平（東京大学）

（18）唾液腺水分泌の駆動力として働く Cl-分泌における Na+-グルコース共輸送体の役割

杉田　誠（広島大学）

（19）胃壁細胞の酸分泌刺激状態と休止状態における膜構造とイオン輸送機能の解析

藤井拓人（富山大学）

【参加者名】

丸中良典（京都工場保健会/立命館大学），五十里　彰（岐阜薬科大学），吉野雄太（岐阜薬科大学），平山　祐（岐阜薬科大学），船戸洋佑（大阪大学），神戸大朋（京都大学），Hempstock Wendy（静岡県立大学），長田望実（静岡県立大学），林　久由（静岡県立大学），石塚典子（静岡県立大学），栗原史弥（静岡県立大学），伊久美直毅（静岡県立大学），木村　徹（杏林大学），山賀　貴（杏林大学），浅野真司（立命館大学），川口高徳（立命館大学），高橋昂平（立命館大学），安岡加紗音（立命館大学），名本友里枝（立命館大学），平尾拓也（立命館大学），増田加奈（立命館大学），石黒　洋（名古屋大学），Liu Libin（名古屋大学），山本明子（名古屋大学），杉田　誠（広島大学），永森收志（奈良県立医科大学），Wiriyasermkul Pattama（奈良県立医科大学），酒井秀紀（富山大学），藤井拓人（富山大学），相馬義郎（国際医療福祉大学），沖米田司（関西学院大学），鎌田優香（関西学院大学），安西尚彦（千葉大学），高田龍平（東京大学），風間逸郎（宮城大学），河原克雅（仙台白百合女子大学），武藤重明（自治医科大学），長澤有佑（総合研究大学），古瀬幹夫（生理学研究所），大谷哲久（生理学研究所），泉　裕士（生理学研究所）

【概要】

上皮細胞はシートを形成して体内環境を外部環境から隔離する一方で，電解質や栄養素等を選択的に輸送する。細胞膜に発現するチャネルやトランスポーターの機能は，リン酸化やアセチル化などの翻訳後修飾だけでなく，タンパク質間相互作用や細胞内輸送によって調節される。また，上皮細胞を結合させるタイトジャンクションも水や電解質の輸送に関与しており，多種類の輸送機構が協調的に機能することによって生体ホメオスタシスが維持される。

本研究会では，金属，非金属，糖質等の上皮膜輸送研究に携わる若手研究者が，生体，器官，細胞，分子レベルからの多角的なアプローチによって得られた研究成果を発表し，シニア研究者と十分な時間をかけて議論することによって上皮膜輸送の多様性と調和機構の統合的理解を進めることを目的とした。今年度は，COVID-19 の影響で WEB 開催に変更されたにもかかわらず，医学，薬学，工学，栄養学等の多分野の研究者が参加され，新規課題の発見や課題解決に繋がる活発な発表と討論が行われた。さらに，フリーディスカッションの時間を設けたことにより，若手からシニアまで世代を超えた研究者の議論が深まり，本研究会で目指した異分野融合研究の創出に向け，一定の役割を果たすことができた。

（１）日本人 CFTR 変異体への白人型 CFTR 変異治療薬の効果について

君島莉央，相馬光流，岩井翔吾，松澤由佳，金子すずな，深田侑希
大川詩織，清水正浩，小林奈央，直井佑太，成田和希，相馬義郎
（国際医療福祉大学 薬学部 分子病態治療学分野／基礎医学研究センター）

嚢胞線維症 Cystic Fibrosis (CF) は，白人種における代表的な遺伝性疾患のひとつである。日本人を含む他人種においては，CF 患者の数は少ないが，白人種とは異なるタイプの CFTR 変異がみられる。

日本人に最も高頻度にみられる病因性変異は，エクソン 16-17ｂにわたる大規模欠損変異で，153 個のアミノ酸の大規模欠損を引き起こす（Δ(G970-T1122) 変異）。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いる（classⅡ変異）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，Δ (G970-T1122) 変異に加え, 2 番および3番目に多いL441P 変異と H1085R 変異を含む class Ⅱ変異が 11 種類含まれている。今回我々は，欧米で最も多くみられる classⅡ変異である ΔF508 変異の治療薬として開発された VX-809 (Lumacaftor) の日本人特有の CFTR 変異体への効果について検討した。

（２）塩素イオンチャネル CFTR 変異体の小胞体関連分解における HECT 型ユビキチンリガーゼの機能解析

鎌田優香，中島千雅子，福田亮介，沖米田司
（関西学院大学 理工学部 生命医化学科）

遺伝子変異などにより生じた異常タンパク質は細胞内タンパク質品質管理機構により認識され, ユビキチン化を受けて分解される。CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator) は, 難治性遺伝性疾患である嚢胞性線維症（CF）の原因タンパク質であり，気道などの上皮細胞のアピカル膜で塩素イオンチャネルとして機能する。CF 患者の大部分で見られる ΔF508 CFTR 変異体は小胞体におけるフォールディング異常の結果, ユビキチン―プロテアソーム系により小胞体関連分解を受ける。その結果, 上皮細胞のアピカル膜への発現が低下し，CF 病態を引き起こす。

本研究室の先行研究において，ΔF508 CFTR の形質膜発現を制御するユビキチン化酵素 (E3 ligase) siRNA 網羅的スクリーニングが行われ，複数の新規 E3 ligase が同定された。本研究では，ΔF508 CFTR の小胞体品質管理に関与することが考えられる HECT 型 E3 ligase (HECT-X) の機能解析を目的とした。ΔF508 CFTR の小胞体品質管理への関与が既知である E3 ligase RNF5 および RNF185 との比較検討を行うため, 各 E3 ligase KO 細胞を用いた解析を進めている。本発表では，現在までに得られた我々の最新の結果を発表し, これら複数のユビキチンリガーゼの機能に関して議論する。

（３）老化モデルマウスにおける腸管機能の解析

栗原史弥，Wendy Hempstock，石塚典子，林　久由
（静岡県立大学大学院 薬食生命科学総合学府 生理学研究室）

消化管の主要な機能としては栄養素の消化吸収機能と同時に外来異物が生体内に侵入することを防ぐバリア機能があり，これは上皮細胞により担われている。老化に伴い腸管のバリア機能が低下することは種を超えて観察されており，これにより腸管内の異物が体内に侵入し，炎症性腸疾患や自己免疫疾患など様々な疾病の発症要因となると考えられている。上皮膜のバリア機能はタイト結合で担われているが，老化に伴いタイト結合部の透過性がどのような機序を介して，低下しているかについては明らかにされていない。本研究では，老化促進モデルである Senescence-Accelerated Mouse Prone (SAMP) 1 マウス及び C57BL/6J マウスを用い，Ussing チャンバー法にて栄養素吸収機能並びにバリア機能について検討した。グルコースおよびペプチド誘発性短絡電流上昇は SAMP1 マウスにおいて有意に低下し，これは過去の報告と一致した。腸管バリア機能を評価すると，盲腸，大腸では有意な変化は観察されなかったが，小腸中部では，予想とは逆に経上皮コンダクタンスは低下した。更にこの低下の機序を検討すると，細胞間隙の陽イオン透過性が対照群に比べ有意に低下していた。しかし，タイト結合部のイオン透過性に関与する，クローディンファミリーの細胞局在並びに mRNA 発現量には変化が観察されず，機能的な調節がされている可能性が示唆された。以上より，消化管の老化による機能低下機序は部位ごとに異なることが示唆された。

（４）RAA 系による大腸におけるクローディン発現の制御

廣田智恵子[1]，髙階優衣[1]，眞鍋　綾[1]，古川千紗[1]，石塚典子[2]
林　久由[2]，田渕圭章[3]，松永俊之[4]，五十里　彰[1]
（[1]岐阜薬科大学 生化学研究室，[2]静岡県立大学大学院 薬食生命科学総合学府 生理学
[3]富山大学 生命科学先端研究センター，[4]岐阜薬科大学 EGPS）

体内の塩分濃度の低下により，レニン-アンジオテンシン-アルドステロン（RAA）系が活性化し，腸管や腎臓のイオンチャネル及びトランスポーターを介した電解質の輸送が増加する。一方，RAA 系が細胞間イオン透過性に及ぼす影響は不明な点が多い。これまでに我々は，低食塩食で飼育したマウスの遠位結腸において，細胞間接着分子のクローディン-2（CLDN2）と CLDN7 の発現量が増加することを報告した。マウス結腸由来 MCE301 細胞をアルドステロン処理したところ，CLDN2 発現量が増加したが，CLDN7 発現量は変化しなかった。今回，アンジオテンシン II（ANGII）の効果を検討したところ，CLDN7 の mRNA 量とタンパク質量が増加することを見出した。ANGII タイプ 1 受容体拮抗薬であるロサルタンの共処理により，CLDN7 の発現増加が抑制された。また，ANGII 処理によって核内の NF-κB 量が増加し，CLDN7 の転写活性が増加した。この効果は，NF-κB 阻害剤である BAY 11-7082 の共処理によって有意に阻害された。ANGII は塩素イオンとナトリウムイオンの透過比（P_{Cl}/P_{Na}）を増加させたため，塩分濃度の低下による RAA 系の活性化，腸管の CLDN7 の発現増加を介して，傍細胞性塩素イオン吸収が増加することが示唆された。

（５）傍細胞輸送特性の再構成に向けて

古瀬幹夫（生理学研究所 細胞構造研究部門）

単純拡散である傍細胞輸送の特性は細胞間結合タイトジャンクション（TJ）の膜タンパク質クローディンファミリーの 20 を超えるサブタイプの組み合わせに大きく依存する。クローディンには，TJ においてバリアを形成するサブタイプと電解質を通すポアを形成するサブタイプが存在する。そして，ポア型クローディンが関与する電解質の傍細胞輸送が経上皮輸送と巧妙に共役して上皮輸送全体を制御していることが，遺伝子改変マウスや遺伝病の研究から明らかにされてきた。我々は，安定した形質をもつ上皮細胞株を用いて，任意の組合せのクローディンサブタイプを導入して様々な傍細胞輸送特性を再構成し，上皮輸送に与える影響を解析することを目指している。しかし，そのためには，クローディンを発現せず TJ を持たない上皮細胞株が必要となる。そこで，我々は，典型的な上皮細胞の一つであるイヌ腎臓由来 MDCK II 細胞を用いて，ゲノム編集によりクローディン遺伝子を多重に欠損させ，最終的に TJ を持たない上皮細胞を樹立した。さらにこの細胞に特定のクローディンサブタイプを単独で導入し，形成された TJ の特性を解析したので報告する。

（６）ヘテロ二量体型アミノ酸トランスポーターの構造機能解析

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 a plasma membrane amino acid transport family that plays important roles in various biological functions, for example, nutrient homeostasis, metabolic activities, renal amino acid reabsorption and cell growth regulation. Members of HATs are composed of two subunits, a transporter subunit (SLC7)

and an auxiliary glycoprotein subunit (SLC3). There are 2 members of SLC3, SLC3A1 (rBAT) and SLC3A2 (CD98hc). Each glycoprotein subunit is able to form heterodimer with several types of the transport subunits. One of the attractive HAT members is SLC3A2-SLC7A5 (CD98hc-LAT1). CD98hc-LAT1 is a promising target of cancer diagnosis and therapeutic due to its high and specific upregulation in many cancers. LAT1-CD98hc supplies the cells with essential amino acids and serves leucine as a signaling molecule for cell-growth regulatory pathways via mTOR. In collaboration with Nureki laboratory at the University of Tokyo, we have solved LAT1-CD98hc structures by cryo-EM imaging. To explore the function and structure of LAT1-CD98hc in depth, LAT1-CD98hc was purified and reconstituted in a defined liposome composition. The transport properties and kinetics were well illustrated. We recently extend a similar approach to understand the structure and function SLC7A9-SLC3A1, another HAT member who is the cystinuria-causative genes. Extensive studies on these two complexes will provide a better understanding of the HAT clans.

（７）乳がん細胞 MDA-MB-231 の JPH203 抵抗性にはアミノ酸飢餓ストレスを介した CTH の発現誘導が関与する

山賀　貴，櫻井裕之（杏林大学 大学院医学研究科 薬理学教室）

［背景］ アミノ酸トランスポーターLAT1 はがん細胞の増殖に寄与すると考えられており，新たな治療標的として注目されているが，LAT1 阻害への感受性はがん細胞によって様々である。

［目的］ LAT1 阻害への抵抗性のメカニズムを明らかにする。

［方法］ LAT1 を発現する乳がん細胞株 MDA-MB-231 と T-47D を用いて，マイクロアレイで LAT1 特異的阻害薬である JPH203 処理によって変動した遺伝子の解析を行った。

［結果］ JPH203 処理により，ストレス応答に関与する転写因子 activating transcription factor 4 (ATF4) は，MDA-MB-231 と T-47D の両方で誘導されていたが，ATF4 をノックダウンした後に JPH203 を処理すると，MDA-MB-231 のみで生存率が減少した。ATF4 標的遺伝子のうち cystathionine gamma-lyase (CTH) は，酸化ストレスから細胞を保護することが報告されており，JPH203 によって MDA-MB-231 で誘導されていた。CTH をノックダウンした後に JPH203 を処理すると，MDA-MB-231 のみで生存率が減少した。

［考察］ MDA-MB-231 の JPH203 への抵抗性は，ATF4 を介した抗酸化ストレス経路の活性化が関与することが示唆された。

（８）トランスポーターの non-canonical substrate を多階層的解析により明らかにする

永森收志（奈良県立医科大学 生体分子不均衡制御学）

これまでの膜輸送体研究は，解析が容易であることの多い canonical な基質を対象として主に進められてきた。一方で，生体内においてトランスポーターは non-canonical な基質の輸送も行っており，それが，疾患や生理機能にとって重要であることが明らかになっている。我々は，メタボロミクス，プロテオミクス，ex vivo や細胞レベルからタンパク質レベルの機能解析といった多階層的な解析系を用いることで，トランスポーターの non-canonical な基質を明らかにすることを目指している。以下がその一例である。

腎障害の診断の遅れは，罹患率や死亡率に大きな影響を与える。腎障害では特に糸球体が注目されているが，近位尿細管の損傷も起き，それにより個々の膜輸送体タンパク質にだけでなく，輸送システム全体の協調にも障害がおこることが知られている。そこで，急性腎障害モデルの早期虚血再灌流傷害（IRI）を起こしたマウス腎臓

近位尿細管上皮刷子縁膜のプロテオーム解析から，傷害反応性タンパク質の急激な上昇と多くのトランスポーターの減少を見いだした。その結果，初期 IRI のバイオマーカーを予測し，さらに詳細な多階層的解析のベンチマークとして，腎障害バイオマーカーとして期待される D-セリンの輸送体を同定した。この発見は, non-canonical な基質輸送の役割を解明し, 腎臓における D-セリン輸送システムを明らかにした。このアプローチにより，他の膜輸送系の研究が進むことも期待される。

（９）CNNM によるマグネシウムの輸送とその医学生物学的重要性

船戸洋佑，橋爪　脩，吉田　篤，山崎大輔，三木裕明（大阪大学 微生物病研究所 細胞制御分野）

マグネシウムは必須元素でありながら, 細胞から Mg^{2+} を排出する分子の実体が不明であるなど，他の主要元素と比べ恒常性維持機構の理解が大きく遅れていた。我々はがん悪性化を促す phosphatase of regenerating liver（PRL）の結合分子として膜蛋白質 Cyclin M（CNNM）を同定し，イメージング解析などから CNNM が不明であった Mg^{2+} 排出分子であることを発見した。またノックアウトマウスを用いた解析より, CNNM が細胞内マグネシウム量の調節に加え，腸や腎臓の上皮細胞を介したマグネシウムの吸収／再吸収に寄与し，個体でのマグネシウム恒常性維持にも重要であることを見つけている。また悪性がん組織で高発現する PRL は CNNM を阻害し，細胞内 Mg^{2+} 濃度を増やすことでがん悪性化に関わることも明らかにしてきた。

さらに最近，PRL による細胞内 Mg^{2+} 調節の異常ががん組織で見られる酸性環境への適応にも関わることを見つけている。生体内の細胞外環境は pH 7.4 前後に厳密に調節されており，通常細胞はこの環境で最もよく増殖する。一方がん組織はワールブルグ効果などの代謝変容により細胞外 pH が 6.5 前後にまで酸性化しており, PRL 高発現細胞はこの酸性環境で最も盛んに増殖していた。細胞内 Mg^{2+} の調節異常が酸性適応を促す仕組みも明らかにしており，この最新の研究成果についても紹介する。

（10）細胞外の微量金属環境が極性細胞の膜輸送に与える影響

神戸大朋（京都大学大学院 生命科学研究科）

上皮細胞のアピカル膜とバソラテラル膜には，様々な亜鉛トランスポーターが発現する。これまでアピカル膜に発現する複数の ZIP が亜鉛濃度に応じて発現制御されることがよく知られていたが，最近，我々はバソラテラル膜に局在し，唯一の亜鉛エクスポーターである ZNT1 が，亜鉛濃度の減少に応じて細胞表面から細胞内に取り込まれて分解されることを見出した。この結果は，ZIP と ZNT1 の発現のバランスが個体レベルの亜鉛ホメオスタシス維持に重要であることを示している。

上皮細胞アピカル膜に ZIP4 を誘導発現させると，培養液中に微量に存在する亜鉛が細胞内に取り込まれるために，ZNT1 の発現は上昇する。一方，亜鉛に加えて鉄やマンガンも輸送できる ZIP8 を誘導発現させると，通常の培養では ZIP4 の場合と同様に ZNT1 の発現が増加するが，培養液中に数 μM のマンガンが共存すると，ZNT1 の発現は逆に減少する。この ZNT1 の発現減少は，ZIP8 特異的であり，ZIP4 を誘導した時には見出されない。以上の結果は，アピカル膜に発現する個々の ZIP の発現量に加えて，細胞外の微量金属環境に応じてバソラテラル膜の ZNT1 の発現量が制御されていることを示唆している。様々な金属により亜鉛ホメオスタシスは撹乱されるが，その機序は不明であった。今回見出したマンガンによる ZNT1 の発現変化は，その分子機序の一端を明示していると考えている。

（11）二価鉄イオンを標的とした蛍光プローブとイメージング研究への応用

平山　祐（岐阜薬科大学 薬化学研究室）

鉄は生体内に最も多く含まれる遷移金属種であり，その生命機能は多岐にわたる。一方，鉄の過剰や欠乏は様々な疾患の要因となり，特に鉄過剰はがんや神経変性疾患に関与していると言われている。細胞内では，還元性物質であるグルタチオンが大量に存在していること，鉄の輸送タンパク質として知られる PCBP1/2 との結合性から，細胞内での鉄輸送は主に二価鉄の状態で行われる。その一方，二価鉄は酸化ストレスの根源とも言えるフェントン反応の基質であり，種々の病態のトリガーにもなりうる。我々は，このような生体内における「鉄イオン自体」の挙動と機能を追跡するべく，細胞内二価鉄イオンを選択的に検出できる蛍光プローブを開発し，様々なモデル系において二価鉄イメージング研究を実施してきた。本発表では，二価鉄イメージング蛍光プローブの作用機序とこれらを使った過去のイメージング研究の概要について紹介し，その後，最近研究が盛んに進められている鉄依存性細胞死（フェロトーシス）における二価鉄変動イメージングと，トランスフェリン・トランスフェリン受容体を介した細胞の鉄イオン取込のリアルタイムイメージング，および二価鉄を指標としたハイスループットスクリーニングについて紹介したい。

（12）Intracellular pH of airway surface epithelia in luminally-perfused mice bronchioles

Libin Liu[1], Akiko Yamamoto[1], Makoto Yamaguchi[1], Itsuka Taniguchi[1], Nao Nomura[1]
Miyuki Nakakuki[1], Yuka Kozawa[1], Mayuko Higuchi[1], Tsutomu Tamada[2], Hiroshi Ishiguro[1]
([1]Department of Human Nutrition, Nagoya University Graduate School of Medicine, Nagoya
[2]Department of Respiratory Medicine, Tohoku University Graduate School of Medicine, Sendai)

HCO_3^- concentration of airway surface liquid is important for antimicrobial activity and mucociliary clearance in airway. Recent studies on H^+/HCO_3^- transporters in airway epithelium mainly use human nasal epithelial cells or Calu-3 cells. In the present study, we have tried to characterize HCO_3^- transport in airway surface epithelium by using luminally-perfused bronchioles from mice. Tertiary bronchi (150-180 μm diameter) were dissected from the lungs of C57BL/6J mice and the lumen was microperfused using concentric holding and perfusion pipettes. The epithelium was loaded with BCECF by applying BCECF-AM (5 μM) to the lumen for 10 min and changes in intracellular pH (pH_i) were measured by microfluorometry at 37 °C.

When both bath and lumen were perfused with the HCO_3^--free Hepes-buffered solution, removal of luminal Cl^- (replaced with gluconate) did not affect pH_i. When both bath and lumen were perfused with the standard HCO_3^--CO_2-buffered solution, removal of luminal Cl^- caused reversible elevation of pH_i from 6.93±0.02 to 7.05±0.03 (n=8) in 4 min, suggesting that Cl^--HCO_3^- exchange mediates HCO_3^- secretion across the apical membrane. The intracellular alkalization caused by removal of luminal Cl^- in the presence of HCO_3^- was largely inhibited by luminal application of H_2DIDS (200 μM). While luminal application of higher concentration of amiloride (100 μM) caused decline of pH_i by 0.06±0.01 (n=8) in 5 min. Luminal application of lower concentration of amiloride (1 μM) caused elevation of pH_i by 0.03±0.00 (n=8) in 4 min.

In summary, the present data suggest that Cl^--HCO_3^- exchange, Na^+-H^+ exchange, and ENaC in the apical membrane are involved in HCO_3^- secretion by airway surface epithelia.

（13）新生仔マウス初期培養上衣線毛細胞の培養系の確立

名本有里枝[1]，石井佑季[1]，中張隆司[2]，浅野真司[1]
（[1]立命館大学 薬学部，[2]立命館大学 総合科学技術研究機構）

脳室表面を覆う上衣細胞には多数の運動性線毛が存在し，脈絡叢で産生された脳脊髄液の流動や，神経細胞の移動の誘導に関わる。上衣線毛の形成や運動に障害があると水頭症を引き起こすことが報告されているが，線毛の発達や運動の調節機構は十分に解明されていない。この問題を解決するには，安定な実験系として，脳室上衣線毛細胞の初代培養系が必要である。本研究では，マウスから初期培養上衣線毛細胞の培養系を構築し，運動の解析を行った。

新生仔マウスの全脳の細胞懸濁液をtrypsin処理した後，10 % FBS を含む DMEM を用いてフラスコ中で培養した。1 週間後，細胞を回収して Transwell chamber insert に播種し 10 % FBS を含む DMEM 培地下で 2 日間培養した。その後，basal 側の培地として 10 % FBS を含む DMEM を，apical 側の培地として FBS を含まない MEM を用いて培養した。こうして得られた上衣線毛細胞を，高速度カメラを接続した倒立光学顕微鏡の灌流チャンバーにセットし，ビデオ画像を解析し，ciliary beat frequency (CBF) と ciliary beat distance (CBD) を測定した。

脳室上衣線毛細胞数は Transwell に播種後 1-5 週間に渡り増加した。線毛運動の CBF 値は 12.6 Hz から 5 週間で 19.9 Hz に増加した。一方，CBD 値は 5 週間維持された。脳室上衣線毛細胞は CO2/HCO3--free 条件下で CBF 及び CBD 値が増加し細胞内 pH 依存性が示唆された。

Transwell を用いた極性培養により，脳室上衣線毛細胞をより生理的な環境に近い条件で培養できた。また，脳室上衣線毛細胞の分化と維持には apical 側の培地に FBS を含まない条件が必要であると考えられた。

（14）肺多線毛上皮での線毛運動調節における Ezrin の役割の検討

川口高徳[1]，小木曽遥香[2]，齋藤大地[1]，安岡加紗音[1]，中張隆司[2]，浅野真司[1]
（[1]立命館大学 薬学部，[2]立命館大学 総合科学技術研究機構）

気道上皮では，多線毛細胞において運動線毛が，液層の流れを作り出すことで，感染防御の維持に重要である。線毛運動の活性化は，細胞内での cAMP レベルの上昇や pH の変化によって引き起こされる。Ezrin は，apical 膜で局在するタンパク質のリンカータンパク質であり，気道上皮でも線毛運動活性化に関わる β2 アドレナリン受容体 (β2AR) および PKA の局在に重要な役割を担う可能性がある。本研究では，野生型マウスと比較して Ezrin の発現を 5%以下まで抑制した Ezrin ノックダウンマウス（Vil2kd/kd マウス）を用いて，気道線毛の機能や β2AR の局在の制御における Ezrin の役割を検討した。

その結果，野生型マウスの肺多線毛細胞において，β2AR が Ezrin と subapical 領域で共発現していることが明らかとなった。また，Vil2kd/kd マウスの肺多線毛細胞において，野生型マウスと比較して β2AR 刺激薬であるプロカテロール処理で起こる線毛運動の周波数（CBF）と振幅（CBA）の増加率が低く，反応性の低下が見られた。IBMX 処理時には，野生型および Vil2kd/kd マウス間に CBF，CBA の違いは見られなかった。以上から，Ezrin は肺多線毛細胞において β2AR 刺激時の PKA を介した cAMP レベルの上昇による線毛運動の活性化に重要な役割を担う可能性が考えられる。

（15）ステロイド薬による抗アレルギー作用と電気生理学的手法による定量化

風間逸郎（宮城大学 看護学群）

アレルギー反応の際に肥満細胞がヒスタミンなどを放出する過程（開口分泌現象；エクソサイトーシス）は，電気的細胞膜容量測定法による解析が可能である。これまでわれわれは，ラット腹膜由来肥満細胞に対し本電気生理学的手法を用いることにより，一部の抗アレルギー薬が，組織のヒスタミン受容体に拮抗するだけでなく，肥満細胞におけるエクソサイトーシスの過程そのものを阻害することによって（“肥満細胞安定化作用”），より強力な抗アレルギー作用を発揮することを明らかにしてきた。

副腎皮質ステロイド薬は強力な抗炎症薬であるが，急性期には抗アレルギー作用をも発揮することが分かっている。しかし，本薬剤が，肥満細胞からのエクソサイトーシスそのものに及ぼす作用の詳細は明らかでない。そこで本研究では，ラット腹腔より肥満細胞を単離後，ヒドロコルチゾンやデキサメタゾンの存在下でエクソサイトーシスを誘発し，脱顆粒現象を観察した。また，ホールセル・パッチクランプ法を用いて電気的細胞膜容量の変化を測定し，これらの薬剤がエクソサイトーシスの過程に及ぼす作用について定量化した。その結果，肥満細胞に対する内的または外的刺激によりエクソサイトーシスが惹起され，脱顆粒現象の進行と共に細胞膜容量は増加した。比較的低用量のステロイド薬（1, 10 μM）は，これらの変化に影響を与えなかったが，高用量のステロイド薬（100, 200 μM）は速やかに，脱顆粒現象や膜容量の増加を有意に抑制した。以上の結果より，ステロイド薬は用量依存性にエクソサイトーシスの過程を阻害し，“肥満細胞安定化作用”を発揮することが明らかになった。本作用は，ステロイド薬が有する“non-genomic”な即時作用の本体である可能性が高いと考えられた。

（16）選択的 LAT1 阻害薬 JPH203 前暴露によるアミノ酸輸送阻害効果

奥主健太郎，降幡知巳，森尾花恵，霊園良恵，安西尚彦（千葉大学 大学院医学研究院 薬理学）

JPH203 は，腫瘍細胞における必須アミノ酸の取り込みに主要な役割を果たす L 型アミノ酸トランスポーター1（LAT1）を標的とする新規抗がん薬である。JPH203 の共培養による阻害効果は，従来の取り込みアッセイで示されていますが，その前暴露による阻害効果は未だ明らかではない。今回，LAT1 発現ヒト大腸癌 HT-29 細胞でロイシン取り込みアッセイを用いて LAT1 機能に対する JPH203 の前暴露阻害効果の特徴解明を目的とした。細胞を JPH203（0.3 μM で 120 分間）と前暴露すると，対照細胞における活性レベルの 30 %に低下した。同様に，時間依存性解析では，HT-29 細胞を 10 μM の JPH203 と 30，60，120 分間前暴露すると，ロイシンの取り込み活性がそれぞれ対照細胞の 42 %，32 %，28 %と低下した。さらに，前暴露効果と共培養効果の組み合わせの IC50 値は，共培養阻害のみの場合よりも低かった（34.2±3.6 nM vs 99.2±11.0 nM）。JPH203 には前暴露効果を通じて LAT1 機能を阻害する能力があることが明らかになった。これらの知見は，癌治療における JPH203 の抗癌効果への新しい洞察を提供する。

（17）脂肪肝増悪因子としてのコレステロールトランスポーターNPC1L1 に関する研究

高田龍平，豊田　優，山梨義英，鈴木洋史（東京大学 医学部附属病院 薬剤部）

コレステロールトランスポーターとして知られる Niemann-Pick C1-Like 1 (NPC1L1) は，マウスではほぼ小腸特異的に発現し，コレステロールの消化管吸収を担うことが知られている。一方，ヒトにおける NPC1L1 は小

腸のみならず肝臓においても高発現している。ところが，肝臓の NPC1L1（肝 NPC1L1）が胆汁に排泄されたコレステロールの再吸収に関与することが見出されているものの，その生理的重要性については不明な点が多い。そこで，肝臓への脂肪蓄積に注目した以下の検討を行った。

ヒト NPC1L1 を肝臓に発現する遺伝子改変マウス（L1-Tg マウス）に高脂肪食を 2 週間与えると，顕著な脂肪肝が誘導された。一方，NPC1L1 阻害薬エゼチミブを含む高脂肪食を与えたところ，脂肪肝は誘導されなかった。さらに，肝組織を用いたマイクロアレイ解析，およびその結果を踏まえた *in vivo* 阻害剤投与実験の結果から，肝 NPC1L1 依存的な高脂肪食性脂肪肝誘導における TLR4 シグナルの関与が明らかとなった。また，脂肪肝が誘導された L1-Tg マウスにエゼチミブを含む高脂肪食を与えたところ，30 日後には肝臓中の中性脂肪レベルが大幅に低下し，脂肪肝治療効果が認められた。

以上の結果から，肝 NPC1L1 が脂肪肝増悪因子であることが示唆された。ヒトに近い肝臓を持つ L1-Tg マウスにおいて，高脂肪食誘導性の脂肪肝が早期に認められたことは興味深く，この原因となる分子機構についてさらなる検討を進めている。

（18）唾液腺水分泌の駆動力として働く Cl^-分泌における Na^+−グルコース共輸送体の役割

杉田　誠[1]，竹安美彩[2]，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）

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，基底側方膜の Na^+-K^+-2Cl^- 共輸送体（NKCC）を介して細胞内に輸送された Cl^- が Ca^{2+} 依存性 Cl^-チャネル（TMEM16A）を介して腺腔側へ分泌され，水分泌を駆動する。本研究では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とホールセルパッチクランプ解析の比較，および顎下腺灌流標本での唾液分泌速度測定を用い，carbachol 刺激により誘発される Cl^- 電流・水分泌のグルコース輸送体活性への依存性を探究した。ホールセルパッチクランプで記録される Cl^- 電流は TMEM16A の活性化状態を表出するのに比較し，グラミシジン穿孔パッチクランプで記録される Cl^- 電流は NKCC を介して細胞内に輸送された Cl^- が TMEM16A を介し分泌される量を表出する。Carbachol 刺激により誘発される顎下腺からの持続的な水分泌は Na^+-グルコース共輸送体 SGLT1 を阻害する phlorizin の投与により抑制された。分離腺房細胞でのグラミシジン穿孔パッチクランプとホールセルパッチクランプの双方の記録において，carbachol 刺激は振動性 Cl^- 電流を誘発した。Carbachol により誘発される振動性 Cl^- 電流は phlorizin の投与によって，ホールセルパッチクランプ記録よりも，グラミシジン穿孔パッチクランプ記録において顕著に抑制された。SGLT1 阻害により，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。

（19）胃壁細胞の酸分泌刺激状態と休止状態における膜構造とイオン輸送機能の解析

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）

胃壁細胞は，酸分泌刺激により細胞内の細管小胞が互いに融合し頂端膜につながることで，管腔側の表面形状が劇的に変化する。頂端膜と細管小胞では，胃プロトンポンプ（H^+,K^+-ATPase）と共役する機能分子が異なっており，酸分泌に伴う膜構造変化およびイオン輸送機能の分子機構の解明には異分野融合による研究が必要である。我々は，ラット胃より初代培養胃壁細胞を作製し，高橋グループにより新たに開発されたナノピペット型 pH センサーにより，管腔表面 pH 変化のリアルタイム計測，および走査型イオンコンダクタンス顕微鏡（SICM）を用いた頂端膜表面形状のナノスケールレベルでの動的変化の可視化に成功した。また，酸分泌に関与する新規機能分子の同定を目的として，永森グループがブタ胃粘膜より精製した頂端膜由来ベシクルと細管小胞由来ベシクルを用いた網羅的定量プロテオーム解析を行い，我々は細管小胞において Na^+/H^+交換輸送体（NHE）が高発現していることを見出した。ブタ胃粘膜の免疫組織染色により，NHE は胃壁細胞に高発現しており，H^+,K^+-ATPase と部分的に共局在していることがわかった。アクリジンオレンジを用いたベシクル内 pH 測定において，NHE 特異的阻害剤により ATP 依存性の細管小胞内の pH が有意に上昇したことから，NHE が H^+,K^+-ATPase と機能共役している可能性が示唆された。

6. 温熱生理研究会

2020 年 8 月 27 日

代表世話人：志水泰武（岐阜大学）

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）温度感受性 TRP マウスの温度行動解析

宇治澤知代，富永真琴

（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）

（２）運動中のマスク着用の有無が深部体温および身体周囲環境に及ぼす影響

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）

（３）カプサイシン投与による脱感作が暑熱下での自発運動抑制に及ぼす影響

増田雄太[1]，丸井朱里[2]，加藤一聖[1]，唐木幸音[1]，坂井里帆[1]，永島　計[2]

（[1]早稲田大学 人間科学研究科，[2]早稲田大学 人間科学学術院 体温･体液研究室）

（４）心理ストレス性交感神経反応を駆動する脳神経回路

片岡直也，嶋　裕太，中村和弘

（名古屋大学大学院 医学系研究科 統合生理学）

（５）視床下部室傍核オキシトシン神経系による褐色脂肪熱産生の促進

福島章紘，中村和弘

（名古屋大学大学院 医学系研究科 統合生理学）

（６）3 種単糖：グルコース，フルクトース，アルロースの GLP-1 分泌能と体熱産生作用の比較

坂本侑津希[1]，武藤明日香[1]，矢田俊彦[2]，岩崎有作[1,3]

（[1]京都府立大学 生命環境学部，[2]関西電力医学研究所，

[3]京都府立大学大学院 生命環境科学研究科室）

（７）カイコとクワコの温度センサーと休眠誘導

塩見邦博[1]，横山　岳[2]，下田みさと[3]，齋藤　茂[4]，富永真琴[4]

（[1]信州大学 繊維学部，[2]東京農工大学 農学部

[3]群馬蚕糸技術センター，[4]生理学研究所 細胞生理部門）

（８）冬眠ハムスターにおける低温ショックタンパク質の選択的スプライシングによる発現調節析

椎名貴彦[1,2]，堀井有希[2]，志水泰武[1,2,3]

（[1]岐阜大学 応用生物科学部 共同獣医学科

[2]岐阜大学大学院 連合獣医学研究科

[3]岐阜大学 生命の鎖統合研究センター（G-CHAIN））

（９）非冬眠動物における冬眠様状態の誘導

砂川玄志郎

（理化学研究所 生命機能科学研究センター 老化分子生物学研究チーム･網膜再生医療研究開発プロジェクト）

【参加者名】

岡松優子・斉藤昌之・高澤　翠・石本太我（北海道大学），梅川　結（秋田県総合食品研究センター），大西浩史（群馬大学），永島　計・丸井朱里・加藤一聖・増田雄太・坂井里帆（早稲田大学），時澤　健（労働安全衛生総合研究所），塚本大輔・石野　匠・安達めぐみ・白畠由比穂・関　皓太（北里大学），内田邦敏（静岡県

立大学），塩見邦博（信州大学），志水泰武・椎名貴彦・堀井有希（岐阜大学），福島章紘・片岡直也（名古屋大学），安井美桜（名古屋市立大学），佐藤麻紀・犬飼洋子（愛知医科大学），内田有希（奈良女子大学），岩崎有作・大林健人・清水天幸（京都府立大学），天野郁子・古武達也（京都大学），砂川玄志郎（理化学研究所），二連木晋輔（オハイオ州立大学），中島　英（味の素㈱），富永真琴・根本知己・曽我部隆彰・榎木亮介・齋藤　茂・Derouiche Sandra・水藤拓人・佐藤翔馬・丸山健太・渡我部ゆき・Feng Xiaona・Nguyen Thi Hong Dung・Lei Jing・Deveci Aykut・Deng Xiangmei・高橋泰伽（生理学研究所／生命創成探究センター）

【概要】

2020 年度の温熱生理研究会（代表 岐阜大学・志水泰武（以下敬称略））は，新型コロナ感染症の影響で参集して行うことができなかったため，遠隔会議システム（Zoom）を活用して実施した。初めての試みであったが，事務局のきめ細かい準備と統制の取れた運営により，参集型の研究会と遜色のない活発な討論が実現できた。演題申し込み数は例年より少なかったが，登録期間の延長や演題登録の個別依頼を避け，討論に費やす時間を十分に確保することとした。その結果として，わずか 9 題の研究成果発表であったが，非常に活発な討論が行われ，充実した研究会となった。

第 1 セッションの座長は内田が担当し，3 名の演者が研究成果報告を行った。富永は従来法の欠点を解消する画期的な温度依存性行動解析法を紹介し，各種 TRP チャネルの欠損マウスを用いた最新の結果を報告した。加藤はマスク着用の有無が運動中の深部体温に及ぼす影響を示した。猛暑の中，マスク着用が励行される状況下でタイムリーな話題であった。増田は，カプサイシン投与による TRPV1 受容体の感受性低下が暑熱環境での運動量低下を抑制する可能性を示した。

第 2 セッションでの座長は，砂川が務めた。片岡は心理ストレスを受けたラットにおける体温上昇，頻脈について，腹内側前頭前皮質の DP/DTT 領域から視床下部背内側部（DMH），延髄縫線核への神経路が重要な神経路になることを示した。福島は視床下部室傍核から吻側延髄縫線核（rMR）へ投射するオキシトシン神経系が，交感神経プレモーターニューロンの興奮性を増強し，交感神経活動を促進することを示した。岩崎はフルクトースとアルロースが強い GLP-1 分泌促進能を有し，GLP-1 分泌と GLP-1 受容体を介して体熱産生を誘導することを報告した。

第 3 セッションの座長は，岡松が担当した。塩見はカイコ休眠誘導のしくみを家畜化前のクワコと比較しながら検証し，次世代卵の休眠性は母蛾が胚期に受けた温度条件が優先的となるカイコと幼虫期の日長条件で次世代卵の休眠性が決定するクワコの違い明確に示す性かを報告した。椎名は冬眠動物の低温耐性のメカニズムを解明するために低温ショックタンパク質のひとつである Cold-inducible RNA-binding protein（CIRP）に着目し，シリアンハムスターにおける CIRP の発現調節について報告した。砂川はマウスの脳（視床下部）の一部に存在する Q 神経（Quiescence-inducing neurons：休眠誘導神経）を興奮させると，マウスの体温・代謝が数日間にわたって著しく低下することを示し，冬眠しない動物に冬眠様状態を誘導できすこと，すなわち人間でも冬眠を誘導できる可能性があることを報告した。

いずれの報告においても有意義な議論がなされた。WEB 開催であることから，懇親会は実施できなかったが，質疑応答の時間を十分確保できたことから充実した研究会となった。

（１）温度感受性 TRP マウスの温度行動解析

宇治澤知代，富永真琴
（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）

マウスの温度依存性行動は，これまで two-plate test や温度勾配をもった直線 plate で調べられてきたが，温度分解能が高くなく，端に居たがるというマウスの性質による影響を受ける欠点があった。そこで，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），加速度（Acceleration）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。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。

（２）運動中のマスク着用の有無が深部体温および身体周囲環境に及ぼす影響

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）

感染症予防を目的としてマスクの着用が一般化している。一方，厚生労働省は暑熱環境でのマスク着用が熱中症発症リスクを高めると注意喚起を行なっている。しかし，マスクによる体温調節反応の影響を調べた研究は少なく，エビデンスは乏しい。暑熱環境での現場を模した実験を行い，マスク着用による影響を調べることを目的とした。

建設現場で働く若年成人男性 2 名を対象とした。屋外建設施設において 10 分間の中程度強度の運動を，マスクの着用の有無の 2 試行に分けて実施した。運動開始前，運動開始後 5 分，運動終了後にアンケートによる主観的感覚，鼓膜温度（Tear），顔面および胸部の皮膚温度（Tface; Tchest），局所相対湿度（RHface; Rhchest）を測定した。

マスク着用により運動開始後の息苦しさ，運動終了時の不快感が上昇する傾向が見られた。両試行において 10 分間の運動により Tear, Tchest の上昇が確認された。マスク着用による Tear, Tface, Tchest の変化は見られなかったが，マスク条件では運動によって RHface が上昇する傾向が見られた。

本研究では，マスク着用による運動時の深部体温，皮膚温度の変化は見られず，RHface が上昇した。したがって感覚指標の変化は RHface の上昇に依存すると考えられた。本研究によりマスク着用は感覚指標への影響に留まり，体温調節反応に影響しないことが示唆された。

（３）カプサイシン投与による脱感作が暑熱下での自発運動抑制に及ぼす影響

増田雄太 [1]，丸井朱里 [2]，加藤一聖 [1]，唐木幸音 [1]，坂井里帆 [1]，永島　計 [2]
（[1] 早稲田大学 人間科学研究科 体温･体液研究室，[2] 早稲田大学 人間科学学術院 体温･体液研究室）

マウスを暑熱暴露（33 ºC）すると，回転ホイールで測定した運動量が低下することを我々の研究室では報告している。しかし，この環境でマウスを２週間以上飼育すると，運動量は徐々に増加してくる。このメカニズムとして，皮膚での温度センサーの一つである Transient Receptor Potential Vanilloid 1 (TRPV1) の発現低下が関与する可能性が示唆されている。本研究では，カプサイシン投与による TRPV1 受容体の感受性低下（脱感作現象）が暑熱環境下における自発的運動に及ぼす影響を検討した。

カプサイシン投与を行う群（CAP 群）と Vehicle 投与群（Ve 群）の 2 群にマウスを分けた。カプサイシン投与による脱感作現象は eye-wiping test で評価した。次に，マウスは 12 時間の明暗サイクルで飼育し，25 ºC で飼育を行う条件（25 ºC 条件）と暗期の最初 6 時間を 33 ºC に環境温を維持した条件（33 ºC 条件）で，回転ホイールでの自発的運動量を測定した。

6 時間のホイール運動の合計回転数は 25°C 条件では群間の差はなく，33 ºC 条件では CAP 群の運動量が Ve 群と比較して有意に高値を示した（CAP 群 33 ºC, 1556±267 回転; Ve 群 33 ºC, 815±130 回転）。カプサイシン投与に

よる TRPV1 受容体の感受性低下が暑熱環境での運動量低下を抑制する可能性が示唆された。

（４）心理ストレス性交感神経反応を駆動する脳神経回路

片岡直也，嶋　裕太，中村和弘
（名古屋大学大学院 医学系研究科 統合生理学）

心理ストレスを受けたラットの脳内では，視床下部背内側部（DMH）から延髄縫線核への神経路が活性化され，交感神経系を介して褐色脂肪組織（BAT）熱産生，体温上昇，頻脈が惹起される。我々は最近，DMH が腹内側前頭前皮質の DP/DTT 領域からグルタミン酸作動性のストレス信号を受けることを見出した。DP/DTT→DMH 神経路が心理ストレス反応にどの程度重要なのかを検討するため，順行性および逆行性のアデノ随伴ウイルス（AAV）を DP/DTT および DMH へ注入し，DP/DTT→DMH 投射神経選択的に caspase3 を発現させて破壊すると，心理ストレスによる BAT 熱産生と体温上昇が消失した。この AAV 二重感染法を用いて，DP/DTT→DMH 投射神経選択的に光駆動型クロライドチャネルを発現させ，その軸索終末が分布する DMH を光照射して神経伝達を抑制すると，社会的敗北ストレスによる体温，脈拍，血圧の上昇ならびにストレス源からの逃避行動が強く抑制された。これらの結果から，DP/DTT→DMH 神経路は大脳皮質の心理ストレス信号を視床下部へ伝達し，ストレスに対処するための自律神経反応と行動を惹起する重要な神経路であることが明らかになった。

（５）視床下部室傍核オキシトシン神経系による褐色脂肪熱産生の促進

福島章紘，中村和弘
（名古屋大学大学院 医学系研究科 統合生理学）

視床下部に存在するオキシトシンニューロンは様々な脳領域へ投射し，母性行動や社会的相互作用，ストレス反応などを修飾することが知られる。本研究は，オキシトシンによる自律神経機能修飾とその機構を明らかにすることを目指し，視床下部室傍核から吻側延髄縫線核（rMR）へ投射するオキシトシン神経系の機能を検討した。

オキシトシンニューロン選択的に膜移行型 GFP を発現させるウイルス（Oxy-Tet-palGFP virus）をラット室傍核に注入すると，rMR において GFP 陽性軸索と VGLUT3 陽性交感神経プレモーターニューロン間でのシナプス様構造が観察された。また，rMR からの逆行性標識では，室傍核尾側部のオキシトシンニューロンが多く標識され，視索上核では標識されなかった。

麻酔ラットの rMR にオキシトシンを微量投与すると，褐色脂肪組織の交感神経活動の増加や頻脈が誘導され，この作用はオキシトシン受容体拮抗薬によって阻害された。また，このオキシトシン微量投与は，rMR でのグルタミン酸作動性興奮性神経伝達も増強した。さらに，光遺伝学技術を用いて，室傍核から rMR へのオキシトシン神経伝達を選択的に刺激すると，rMR 内オキシトシン微量投与と同様の交感神経反応が誘導された。

以上より，室傍核オキシトシンニューロンの一部は rMR へ軸索投射して交感神経プレモーターニューロンの興奮性を増強し，交感神経活動を促進することが示された。

（６）３種単糖：グルコース，フルクトース，アルロースの GLP-1 分泌能と体熱産生作用の比較

坂本侑津希[1]，武藤明日香[1]，矢田俊彦[2]，岩崎有作[1,3]
（[1]京都府立大学 生命環境学部
[2]関西電力医学研究所
[3]京都府立大学大学院 生命環境科学研究科）

食事誘発性熱産生には，栄養素の消化・吸収・代謝に伴う熱産生（特異動的作用）に加えて，非栄養素成分による体熱産生作用も含まれる。しかし，後者の熱産生機構については未だ不明な点が多い。

発表者らは，食後誘発性熱産生に食後分泌促進される消化管ホルモンの glucagon-like peptide-1（GLP-1）が関与する可能性を見出し，2018 年の本研究会にて発表した。GLP-1 はグルコースやフルクトースによって分泌されることが報告されている。加えて，フルクトースの類縁体（C3-エピマー）でゼロカロリー甘味料（非栄養素成分）である希少糖「アルロース」が，強力な GLP-1 分泌促進成分：GLP-1 リリーサーであることを発表者らは発見した（Y. Iwasaki et al., Nat Commun 2018）。

本研究では，3 種の六炭糖（グルコース，フルクトース，アルロース）に着目し，これら GLP-1 分泌促進能と体温上昇作用を，マウスを用いて比較・検討した。

3 種の単糖のうち，フルクトースとアルロースに強い GLP-1 分泌促進作用がみられた。そして，フルクトースとアルロースの経口投与はマウスの直腸温を有意に上昇させた。GLP-1 分泌を促進させない腹腔内投与では直腸温を変化させなかった。加えて，GLP-1 受容体欠損マウスへのフルクトースまたはアルロースの経口投与において，直腸温の上昇は全く観察されなかった。以上の結果より，フルクトースとアルロースは，強い GLP-1 分泌促進能を有し，GLP-1 分泌と GLP-1 受容体を介して体熱産生を誘導することが示された。

（７）カイコとクワコの温度センサーと休眠誘導

塩見邦博[1]，横山　岳[2]，下田みさと[3]，齋藤　茂[4]，富永真琴[4]
（[1]信州大学 繊維学部，[2]東京農工大学 農学部
[3]群馬蚕糸技術センター，[4]生理学研究所 細胞生理部門

カイコ（Bombyx mori）は 5 千～1 万年前の中国において祖先種のクワコ（Bombyx mandarina）から家畜化されたと考えられている。家畜化の過程でさまざま興味深い形質を獲得しており，休眠誘導のしくみもその一つである。カイコもクワコも胚休眠といって卵の時期に休眠する。2 化性のカイコの場合，次世代卵の休眠性は母蛾が胚期に受けた温度条件が優先的に作用し決定される。例えば 25℃・全暗（25DD）の場合，幼虫期がいかなる日長条件でも休眠卵を産卵し，15DD の場合では非休眠卵を産卵する。一方，クワコの場合，たとえ 25DD や 15DD に保護しても，それらの温度条件は休眠性の決定に関係なく，幼虫期の日長条件で次世代卵の休眠性が決定する。

我々はこのようなカイコの家畜化過程における環境応答の分子機構の解析に着手している。カイコでは温度センサーと時計タンパク質の強い繋がりがあり，これが休眠性の決定に重要であり，クワコではこの繋がりが弱いために幼虫期の日長条件が休眠性の決定に重要になると推測した。

（８）Thermal Gradi 冬眠ハムスターにおける低温ショックタンパク質の選択的スプライシングによる発現調節

椎名貴彦[1,2]，堀井有希[2]，志水泰武[1,2,3]
（[1]岐阜大学 応用生物科学部 共同獣医学科
[2]岐阜大学大学院 連合獣医学研究科，
[3]岐阜大学 生命の鎖統合研究センター（G-CHAIN））

リスやハムスターなどの一部の哺乳類は，冬季の厳しい環境で生存するために，自発的に体温を下げ冬眠する。冬眠時には体温が 10 °C 以下になるにもかかわらず，心拍動や呼吸といった生命維持に必須の活動が行われることから，冬眠動物には低体温に耐える機構が備わっていると考えられる。一方，冬眠動物には虚血や放射線照射などによる臓器障害が極めて軽微であるという特性がある。冬眠動物の低体温耐を解明し，ヒトを含めた非冬眠動物に適用できれば，冬眠動物の特性を医療応用できると期待される。従来から低温に応答して誘導される分子として，低温ショックタンパク質が知られている。低温ショックタンパク質には細胞保護作用があることを考えると，冬眠動物の低温耐性機構に低温ショックタンパク質が寄与すると予想される。私たちは低温耐性のメカニズムを解明する一環として，低温ショックタンパク質のひとつである Cold-inducible RNA-binding protein（CIRP）に着目した研究を進めてきた。その結果，１）冬眠時のハムスターにおける CIRP は，スプライシングレベルの調節を受け，転写量自体に依存せずに機能的なタンパク質の発現が増加する，２）CIRPmRNA のスプライシングは体温変化によって調節されることを明らかにしてきた。本演題では，冬眠時のシリアンハムスターにおける CIRP の発現調節について報告した。

（９）非冬眠動物における冬眠様状態の誘導

砂川玄志郎
（理化学研究所 生命機能科学研究センター 老化分子生物学研究チーム･網膜再生医療研究開発プロジェクト）

冬眠中の動物は正常時と比べて数％まで酸素消費量が低下し，外気温よりも数度高い程度の低体温を呈しますが，何ら組織障害を伴うことなく自発的に元の状態に戻ります。このような“制御された低代謝”は，臨床への応用が期待されています。外傷や疾患によって組織が受けるダメージを回避することができるからです。しかし，冬眠のメカニズムは全く分かっていません。冬眠研究を困難にしている理由の一つが，通常使用される実験動物であるマウス等が冬眠をしないことでした。

本研究では，マウスの脳（視床下部）の一部に存在する神経細胞群を興奮させると，マウスの体温・代謝が数日間にわたって著しく低下することを発見しました。この神経細胞群を Q 神経（Quiescence-inducing neurons：休眠誘導神経）と名付け，この Q 神経を刺激することにより生じる低代謝を QIH（Q neurons – induced hypometabolism）と名付けました。

QIH 中のマウスは動き・摂食がほぼなくなり，体温セットポイントが低下するため著しい低体温を呈します。行動解析・組織学的解析では QIH の前後で異常が見らませんでした。本研究によって，哺乳類に広く保存されている Q 神経を選択的に刺激することで，冬眠を通常はしない動物に冬眠様状態を誘導できることが明らかとなり，人間でも冬眠を誘導できる可能性が示唆されました。今後，他の非冬眠動物や冬眠動物で QIH を誘導できるか検証していく予定です。

7. 痛みの研究会

2021 年 1 月 22 日

代表世話人：古江秀昌（兵庫医科大学）

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）有髄神経における Whole-cell patch-clamp 法の確立と K2P チャネルの役割

神田浩里 [1,2]，戴　毅 [1,2]，野口光一 [2]，Jianguo Gu[3]

（[1] 兵庫医療大学 薬学部，[2] 兵庫医科大学 解剖学 神経科学部門

[3]University of Alabama at Birmingham, Department of Anesthesiology and Perioperative Medicine）

（２）脱分化を伴うシュワン細胞障害に起因したタキサン系抗がん剤誘発末梢神経障害の発症機構に関する研究

今井哲司，小柳円花，中川貴之

（京都大学 医学部附属病院 薬剤部）

（３）Spreading depression (CSD) とは酸化型ミトコンドリアの細胞間伝播であり，血管内酸素分圧に依存する

前田仁士，寺田廣大，田中佑汰，桑名俊一

（植草学園大学 保健医療学部）

（４）【特別講演１】下行性疼痛制御メカニズムと新規アストロサイトサブセット

津田　誠（九州大学大学院 薬学研究院 薬理学分野）

（５）【特別講演２】条件付け恐怖の消去学習と WEB による痛み関連学習に関する話題

小山なつ（滋賀医科大学 生理学講座）

（６）運動が鎮痛に働く脳メカニズム：恐怖回避思考からの脱却

上　勝也 [1,2]，仙波恵美子 [2,3]

（[1] 宝塚医療大学 和歌山保健医療学部 リハビリテーション学科,

[2] 和歌山県立医科大学 医学部 リハビリテーション医学,

[3] 大阪行岡医療大学 医療学部 理学療法学科）

（７）軽度頭部外傷後の慢性頭痛の神経機構

田代晃正（防衛医科大学校 生理学講座）

（８）頭頚部領域の異所性疼痛メカニズム

篠田雅路（日本大学 歯学部 生理学講座）

（９）炎症が痛みの上・下行性経路に関わる扁桃体中心核ニューロンに及ぼす影響

杉村弥恵，高橋由香里，奥田崇雄，徳 亮太，加藤総夫

（東京慈恵会医科大学 神経科学研究部）

（10）島皮質による三叉神経脊髄路核尾側亜核ニューロンの活動制御機構

小林真之，中谷有香，山本清文（日本大学　歯学部　薬理学講座）

（11）Thermal Gradient Ring を用いた侵害性刺激の行動解析

宇治澤知代 [1,2]，富永真琴 [1,2,3]，笹島沙知子 [1,2,3,4]

（[1] 生理学研究所 細胞生理研究部門，[2] 生命創成探究センター 温度生物学研究グループ

[3] 総合研究大学院大学 生理科学専攻, [4] 愛知医科大学大学院　医学研究科）

（12）【特別講演３】臨床医の基礎研究

−古典的 Ca^{2+} イメージング法と古典的パッチクランプ法による痛みの研究−

馬場　洋（新潟大学大学院 医歯学総合研究科 麻酔科学分野）

【参加者名】

南　雅文（北海道大学），半場道子（福島県立医科大学），山本純偉（筑波大学），前田仁士（植草学園大学），太田　浄（群馬大学），河野達郎（国際医療福祉大学），田代晃正（防衛医科大学校），篠田雅路・坪井美行・水村和枝・小林真之・岩田幸一・人見涼露・山本清文・岡田明子・林　良憲・淺野早哉香（日本大学），梅田　聡（慶應義塾大学），渋川義幸・栗栖諒子（東京歯科大学），加藤総夫・高橋由香里・杉村弥恵・徳永亮太・佐藤奈保子（東京慈恵会医科大学），尾崎弘展（東京女子医科大学），山本将大（国立国際医療研究センター），坂井　敦・丸山基世（日本医科大学），砂川正隆・高山靖規・加藤真未・赤沼裕子（昭和大学），槇原弘子（横浜市立大学），田辺光男・森田元樹・緒形雅則・尾山実砂・渡辺　俊（北里大学），馬場　洋（新潟大学），歌　大介・高崎一朗（富山大学），尾崎紀之・堀紀代美（金沢大学），水谷みゆき（愛知医科大学），杉浦健之・大澤匡弘（名古屋市立大学），小山なつ・中西美保・岩下成人（滋賀医科大学），中川貴之・今井哲司（京都大学），田中達英（奈良県立医科大学），川股知之・吉田朱里（和歌山県立医科大学），佐々木　淳（大阪大学），仙波恵美子（大阪行岡医療大学），野村有紀（神戸大学），徳山尚吾（神戸学院大学），上　勝也（宝塚医療大学），戴　毅・神田浩里（兵庫医療大学），古江秀昌・荒田晶子・古賀啓祐・大久保正道・小林希実子・中村善隆（兵庫医科大学），津田　誠・齊藤秀俊・大野瑛明・内山瑳和子・末藤大智（九州大学），小野堅太郎（九州歯科大学），藤田亜美（福岡歯科大学），城戸瑞穂・吉本怜子（佐賀大学），栗原　崇・倉本恵梨子（鹿児島大学），荒川尚久・中岡由貴・土門友紀・窪田一史（第一三共㈱），渡邉修造・守口由紀子・坪内千春・平尾顕三（ラクオリア創薬㈱），石川敏三（ニプロ㈱），長濱顕司・塩見喜弘（ゼリア新薬工業㈱），増井邦晴（丸石製薬㈱），渡邉　紀（花王㈱），伊藤彰敏（旭化成ファーマ㈱），野沢　治（日産化学㈱），富永真琴・曽我部隆彰・齋藤茂・水藤拓人・佐藤翔馬・DEVECI Aykut・LEI Jing・久保亜抄子・丸山健太（生命創成探究センター/生理学研究所）

【概要】

痛みの研究会を 1 月 22 日に Web 上で開催し，末梢から中枢に至る幅広い領域を対象とした最新の研究成果が報告（特別講演 3 題，招待講演 9 題）された。103 名もの参加があり，最前線の解析や新規知見に対して活発な議論が行われるなど有意義な研究会となった。幅広い領域を対象とした背景には，痛みは破局的思考を誘発して精神機能に影響を及ぼすなど複雑で，痛みを伝導路の点として理解せず統合的に捉えることが重要であると考えた為である。参加者は研究機関や大学の基礎，臨床の研究者が計 88 名，企業等の研究者が 15 名参加した。特別講演では，各演題の時間を 40-50 分と十分に確保し，下行性疼痛制御メカニズムと脊髄グリア細胞の関与（津田）や，臨床的観点から複数の解析系を用いた鎮痛機構の本質（馬場），恐怖学習の機構や痛みの研究史（小山）など多角的視点から得られた最新の研究成果に対して熱心な討論・議論が展開された。招待講演では各演題 25 分とし，できるだけ多くの話題を提供して頂いた。末梢神経有髄神経の絞輪部からの新規パッチクランプ法の確立（神田），非侵襲的疼痛画像イメージング法の開発（前田），恐怖回避や運動・鎮痛の神経回路の同定（上），頭部外傷と疼痛の詳細な神経機構（田代），扁桃体における神経投射・機能と炎症時の可塑的変化（杉村），三叉神経と島皮質の疼痛神経機構の詳細（小林），Thermal Gradient Ring を用いた受容機構の解明と痛み研究への有用性（富永）に関する独創的な研究成果が発表され，意欲的で刺激的な質疑応答に加え，生産的な討論も行われた。会全体を通じて最前線の知見・技法を広く共有でき，今後の研究を遂行する上で極めて貴重な研究会となった。Web 上で 100 名を超える参加者と会を進行するに当たり，対応部門のスタッフの綿密な準備のお陰で，計画した演題はすべてスムーズに発表・意見交換が行われ盛会となった。

（１）有髄神経における Whole-cell patch-clamp 法の確立と K2P チャネルの役割

神田浩里 [1,2]，戴　毅 [1,2]，野口光一 [2]，Jianguo Gu[3]
（[1] 兵庫医療大学 薬学部，[2] 兵庫医科大学 解剖学 神経科学部門
[3]University of Alabama at Birmingham, Department of Anesthesiology and Perioperative Medicine）

有髄神経線維の活動電位の伝導方法は, 髄鞘を飛び越えてランビエ絞輪部に電位が起こる「跳躍伝導」を特徴としている。そのため, 無髄神経線維に比べて伝導速度が速く, 高頻度刺激に対し繰り返し発火することが可能となる。この有髄神経線維の電気生理学的な解析方法として, これまで細胞外記録による活動電位の解析が行われてきたが, イオンチャネルレベルでの解析が行われていない。本研究では, 哺乳類の有髄神経線維のランビエ絞輪部におけるホールセルパッチクランプ法を確立し，軸索部に発現するイオンチャネルの機能的な解析を行った。

ラットの感覚神経（Aβ）線維のランビエ絞輪部でのホールセルパッチクランプ法により，電位依存性カリウムチャネルではなく温度感受性の K2P チャネルが強い外向き電流を起こすことを見つけた。また，K2P チャネルの中でも TREK-1 と TRAAK チャネルが特異的にランビエ絞輪に発現する事を同定した。これらのチャネルをノックダウンすることにより，軸索部における活動電位の再分極や高頻度刺激への対応，速い伝度速度の獲得のために重要な働きを担うことを見つけた。

本研究における軸索部のホールセルパッチクランプ法は，軸索における活動電位の解析に非常に有用な手法である。また，哺乳類軸索部における K2P チャネルを用いた新規活動電位メカニズムは，活動電位の伝導における基礎的な理解に重要であることが考えられた。

（２）脱分化を伴うシュワン細胞障害に起因した タキサン系抗がん剤誘発末梢神経障害の発症機構に関する研究

今井哲司，小柳円花，中川貴之
（京都大学 医学部附属病院 薬剤部）

タキサン系抗がん剤は，副作用として抗がん剤誘発末梢神経障害（CIPN）を誘発するが，その発症機序には不明な点が多い。本研究では，髄鞘を形成するシュワン細胞に着目して, CIPN の発症機序について検討を行った。ラット坐骨神経由来シュワン細胞にパクリタキセル (PT，10 nM) を処置したところ，ガレクチン-3 の分泌を伴ったシュワン細胞の脱分化が観察された。また，タキサン系抗がん薬の投与を受ける乳がん患者，および PT（20 mg/kg）を反復投与したマウスにおいて，CIPN の発症初期にシュワン細胞由来と考えられるガレクチン-3 の血中濃度が上昇することを確認した。ガレクチン-3 が免疫細胞の遊走因子として知られることから，マクロファージ細胞株 RAW 264.7 を用いて細胞遊走アッセイを実施した。その結果，RAW 264.7 はガレクチン-3（2 pM）含有培地に対する遊走反応を示した。同様に，PT 反復投与による CIPN モデルマウスの坐骨神経軸索において，マクロファージが多数浸潤していることを確認し，クロドロン酸内包リポソーム処置により末梢マクロファージを除去すると，機械過敏応答がほぼ完全に抑制された。以上の結果から，シュワン細胞由来ガレクチン-3 が，化学誘引分子としてマクロファージの末梢神経への浸潤を誘発し, PT による CIPN 発症に関与すると考えられた。

（３）Spreading depression (CSD)とは酸化型ミトコンドリアの細胞間伝播であり,血管内酸素分圧に依存する

前田仁士，寺田廣大，田中佑汰，桑名俊一
（植草学園大学 保健医療学部）

片頭痛の実態は全身の不調を伴う重い障害である。Spreading depression (CSD) は脳表面を神経活動の抑制がゆっくりと伝播する現象であり，片頭痛前兆の病態生理であると推定されているが，その発生機構はまだ明らかではない。本研究ではミトコンドリア内フラビンタンパクの自己蛍光イメージングにより，片頭痛モデルマウスと対照のマウスで大脳皮質活動を直接観察・比較してみた。結果，CSD は酸化型フラビンタンパクの細胞間伝播という形で画像化することが出来た。この画像化した CSD は，正常のマウスでは一度刺激に対して反応するとその後 1 時間以上経過しないと次の刺激に対する反応は観察されなかったが，片頭痛モデルでは短時間内の繰り返し刺激に対しても都度現れた。一方で一旦大きな CSD 観察されると，モデルマウスにおいても短時間後に次の CSD を生じるのは困難であった。しかしそのマウスに酸素を吸入させると CSD は直ちに再び現れた。また，この CSD のようなシグナル伝播は mGluR1 アゴニストである t-ACPD によっても誘導された。さらに CSD が生じる時，マウスは無動になった。以上から，慢性片頭痛のモデル動物では CSD が容易に誘発されること，また CSD の発生要因は主にグリア細胞における過剰なエネルギーを消費であり，酸素供給に依存することが分かった。この事実は，頭痛発作に対する酸素投与療法の根拠となり得る。

（４）【特別講演１】下行性疼痛制御メカニズムと新規アストロサイトサブセット

津田　誠（九州大学大学院 薬学研究院 薬理学分野）

皮膚などへの侵害刺激は，一次求心性神経を介して脊髄後角に入り，神経回路で適切に情報処理・統合され，脳へ伝達されることで生体は侵害刺激の存在を認知し，それに対する適切な行動を誘発する。痛覚情報伝達経路には，グリア細胞も豊富に存在し，これまで神経障害性疼痛などの慢性疼痛に対する重要性が数多く示されてきた。さらに最近では，概ね均一な集団と考えられてきたグリア細胞が，実は非常に不均一な集団を形成していることもわかり始め，世界的な注目を集めている。最近我々は，脊髄アストロサイトの中に，後角の表層に局在するサブセットを発見した。このアストロサイトサブセットは，皮膚への侵害刺激（カプサイシン足底部投与）に応答し，細胞内カルシウム濃度を上昇させた。このカルシウム応答がどのようなシグナルで引き起こされ，脊髄後角での体性感覚情報プロセシングにどのような影響を及ぼすのかを，脊髄スライスや in vivo イメージング，行動薬理学的手法で解析し，表層アストロサイトサブセットが青斑核から脊髄後角へ投射するノルアドレナリン神経シグナルで活性化すること，その活性化により皮膚への軽度機械刺激に対する過敏応答が誘発されることを明らかにした。脊髄後角表層に局在する新しいアストロサイトサブセットの研究により，同細胞を介する下行性ノルアドレナリン神経の新しい体性感覚調節機構が明らかになった。

（５）【特別講演２】条件付け恐怖の消去学習と WEB による痛み関連学習に関する話題

小山なつ（滋賀医科大学 生理学講座）

前半の「条件付け恐怖の消去学習」に関する話題は，マウスを対象とした研究に関するものである。慢性痛の発生モデルとして「恐怖回避モデル」が提唱されているので，条件付けられた恐怖の消去学習の効果が亢進され

ているマウスを探索してきた。最近では，ランニングホイールをケージに入れたマウスで，消去学習が亢進されるかを解析している。文脈記憶や手がかり記憶の消去の時間経過を解析するプロトコールを検討し，手がかり記憶のみを消去するプロトコールにおいて，文脈記憶も曖昧になることが判明した。

後半の「WEB による痛み関連学習」に関しては，膨大である痛み関連コンテンツを学習するために，WEB ファイルを構築することによって，筆者の脳みそに外付け HDD（？）を追加し，シナプスを強化するために，コンテンツ通しにリンクを張り巡らすというようなことを行ってきた。「痛み関連の用語集」を作ることから始めたが，シドニーで開催された第 11 回 IASP の製薬会社のブースで痛みに関する歴史年表をもらったことをきっかけに，「痛みに関する歴史年表」なども作り始めた。倉石先生が 2009 年の生理学研究所研究会で，痛みの歴史に関する教育講演をするようにと依頼してくださり，その中で，カウザルギーという用語を作ったことで知られるミッチェルを通して，南北戦争に魅せられ，麻酔薬や消毒法の歴史や，当時の時代背景を含めた医学史の研究を始めたところである。

（６）運動が鎮痛に働く脳メカニズム：恐怖回避思考からの脱却

上　勝也[1,2]，仙波恵美子[2,3]
（[1]宝塚医療大学 和歌山保健医療学部 リハビリテーション学科，
[2]和歌山県立医科大学 医学部 リハビリテーション医学，
[3]大阪行岡医療大学 医療学部 理学療法学科）

私達は運動が慢性痛を緩和する（exercise-induced hypoalgesia: EIH）脳メカニズムの解明に取り組み，神経障害性疼痛(NPP)モデルマウスに対する自発運動（VE）が，腹側被蓋野におけるドパミンの産生を高めて脳報酬系を活性化することや NPP により高まった扁桃体（Amyg）中心核（CeA）における GABA ニューロンの活性化を VE が抑制することにより EIH 効果が生み出されることを明らかにしてきた（Kami et al.Sci Rep,2018, Kami et al. Mol Pain,2020）。海馬は背側と腹側（vHC）に区分され，とくに vHC は CeA や扁桃体基底外側核（BLA）への出力を介して恐怖の文脈化, 条件付け, 消去に影響を及ぼしている。本研究では Amyg を介して恐怖行動に影響を及ぼす vHC と EIH 効果との関係について検討した。NPP モデルマウスに対する VE は有意に疼痛行動を改善した。vHC-CA1 領域において，NPP に伴い高まったグルタメート・ニューロンの活性化は VE により抑制され，さらに CA1 領域に局在して錐体細胞を抑制する parvalbumin 陽性 GABA 介在ニューロンの活性化を高めた。PSL-Sedentary マウスの BLA に RetroBeads Red(RBR)を注入すると，vHC-CA1 領域には多くの FosB 陽性 RBR 陽性ニューロンが観察された。NPP モデルマウスの文脈性恐怖記憶の消去が VE により促進されるかどうかを調べたところ，PSL-Runner では PSL-Sedentary と比較して Freezing 時間の著しい短縮を認めた。以上の結果は，EIH 効果には VE に伴う文脈性恐怖記憶の消去が重要な役割を担うとともに，これには vHC-Amyg(BLA)経路の抑制が関与する可能性を示唆した。

（７）軽度頭部外傷後の慢性頭痛の神経機構

田代晃正（防衛医科大学校 生理学講座）

軽度頭部外傷（Mild Traumatic Brain Injury :mTBI）後の慢性頭痛（Post Traumatic Headache: PTH）は痛覚過敏，Photophobia，拍動痛といった，片頭痛様の症状を呈する。近年我々は，光刺激による眼球内の血管拡張（副交感神経反射）が侵害刺激となり，三叉神経−自律神経回路を興奮させることを報告したが，頭痛や photophobia との関連は不明な点も多く残されている。本研究は，レーザー誘起衝撃波による，mTBI モデルを用い，これまで，

頭痛のメカニズムとして研究されてきた髄膜炎症，血管拡張，神経活動を複合的な相関システムとして実証していくことで，PTH の神経機構の一端を解明することを目的とする。レーザー誘起衝撃波をラット頭頂部に照射。エバンスブルーを用い，髄膜の炎症を確認した。次に，痛覚過敏や Photophobia を確認するため，角膜に対する侵害刺激や白色光刺激に対する侵害受容行動の解析に加え，延髄後角の侵害受容ニューロン活動を記録した。さらに，光刺激による髄膜内の血流量の変調及び，血管拡張に伴う侵害受容ニューロンの興奮を記録した。その結果 mTBI 後 7-10 日のラットで，髄膜におけるエバンスブルーの漏出，侵害受容行動の増加，侵害受容ニューロンの興奮性の増大が観察された。また，光刺激による，髄膜の血流量増加，血管拡張に伴う侵害受容ニューロンの興奮を確認することができた。本研究により，PTH は慢性的な髄膜炎症による三叉神経–自律神経回路の感作が原因となり，痛覚過敏，Photophobia，拍動痛を発症することが示唆された。

（８）頭頚部領域の異所性疼痛メカニズム

篠田雅路（日本大学 歯学部 生理学講座）

頭頚部局所に生じる炎症や腫瘍あるいは末梢神経損傷といった末梢組織の病変は, 頭頚部領域の広範囲にわたる異所性疼痛を引き起こす。三叉神経系の侵害受容ニューロンおよびグリア細胞や炎症性細胞といった非ニューロンとの間に存在する情報伝達機構の可塑的変化がその発症要因の一つとして考えられており, その変化は末梢組織病変が消退した後も持続することが報告されている。われわれは, 三叉神経第Ⅲ枝領域の炎症や末梢神経損傷によって口髭部（三叉神経第Ⅱ枝領域）に生じる異所性疼痛は，局所病変部から三叉神経節へ逆行性軸索輸送された NGF のシグナル増強による TRPV1 陽性三叉神経節ニューロンの増加，三叉神経節に浸潤する Iba1 陽性マクロファージから放出される TNF-α のシグナル増強，三叉神経節ニューロンで産生される NO の三叉神経節内への放出増強, さらにギャップ結合を介した三叉神経節内衛星細胞活性化の伝播の結果, 口髭部投射三叉神経節ニューロンの興奮性が増強することにより口髭部異所性疼痛が発症することを見出した。また, 僧帽筋炎に随伴した顎顔面部の異所性疼痛には, 僧帽筋投射一次ニューロン中枢端から遊離される Fractalkine による延髄の Microglia の活性化が関与することも見出した。本講演では，われわれの研究成果を中心に最新の研究データを交えて, 頭頚部領域の異所性疼痛を調節するニューロンと非ニューロン間クロストークについて議論した。

（９）炎症が痛みの上・下行性経路に関わる扁桃体中心核ニューロンに及ぼす影響

杉村弥恵，高橋由香里，奥田崇雄，徳永亮太，加藤総夫
（東京慈恵会医科大学 神経科学研究部）

扁桃体中心核（CeA）は外側腕傍核（LPB）を介して，脊髄後角から侵害受容情報の入力を受ける一方，下行性疼痛制御系の起始核である中脳水道周囲灰白質（PAG）に投射する。我々はこれまで，炎症性疼痛モデルにおいて LPB-CeA 外側外包部（CeC）シナプス伝達が増強する事実（Sugimura et al. 2016, Miyazawa et al. 2018），CeA ニューロンが炎症性疼痛による異所性痛覚過敏を引き起こす事実（Sugimoto et al. 2020）を報告してきた。しかしながら，上行性の侵害受容入力が翻って下行性経路に及ぼす影響の詳細は未解明であった。CeA に投射する LPB ニューロンのほとんどは CGRP を発現するため，CGRP 下流に Cre リコンビナーゼを発現する CalcaCre マウスを用いて ChR2 を発現させ, PAG に投射する CeA ニューロンへのシナプス入力を解析したところ， LPB（CGRP）ニューロンからの興奮性単シナプス性入力を受ける PAG 投射 CeA ニューロンが存在する事実を見出した。これらは CeA 内側亜核と外側亜核に局在し，LPB や局所回路からのシナプス入力，発火パターンなど， 侵

害受容性扁桃体 CeC ニューロンと異なる特徴を示した。炎症や慢性疼痛がこのニューロンの興奮性に及ぼす影響の解明は，痛みの慢性化における CeA の役割の理解につながると期待される。

（10）島皮質による三叉神経脊髄路核尾側亜核ニューロンの活動制御機構

小林真之，中谷有香，山本清文（日本大学 歯学部 薬理学講座）

骨格筋を構成する筋線維は高い再生能を有しており，運動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が維持される。筋線維に付随する幹細胞（筋衛星細胞）は，過剰な形質膜伸展の感知により休止状態から活性化状態へと遷移し，筋線維の修復・再生をもたらすと想定されてきたが，その分子機構は未だ明らかではない。我々はこれまでに細胞膜の膜張力により開口する機械受容イオンチャネル PIEZO1 が，筋衛星細胞に高発現することを見出した。以上の知見の元，本研究では PIEZO1 の骨格筋再生過程における機能解明を試みた。

まず筋衛星細胞特異的 Piezo1 欠損マウスの作出および表現型解析を行った。筋線維変性剤カルジオとキシンを骨格筋に適用し筋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著しく低下した。また，単離筋線維上の筋衛星細胞における挙動解析の結果，Piezo1 欠損細胞では増殖能低下とともに，細胞質分裂の遅延が認められた。続いて内在性 PIEZO1 の C 末端に蛍光タンパク質 tdTomato が付加される Piezo1-tdTomato マウスを用いて PIEZO1 の動態解析を行ったところ，PIEZO1-tdTomato は筋衛星細胞の細胞質分裂時に分裂溝へ集積することを見出した。以上の結果より，PIEZO1 は筋衛星細胞の細胞質分裂時において機能し，骨格筋線維の再生に重要な役割を果たすことが示唆された。

（11）Thermal Gradient Ring を用いた侵害性刺激の行動解析

宇治澤知代 [1,2]，富永真琴 [1,2,3]，笹島沙知子 [1,2,3,4]
（[1] 生理学研究所 細胞生理研究部門，[2] 生命創成探究センター 温度生物学研究グループ
[3] 総合研究大学院大学 生理科学専攻，[4] 愛知医科大学大学院 医学研究科）

43 度を越える熱刺激，15 度以下の冷刺激は痛みを惹起すると考えられている。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）, 加速度（Acceleration）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。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 は温度刺激による痛み関連行動の解析に有用であると考えられた。

（12）【特別講演３】 臨床医の基礎研究
– 古典的 Ca^{2+}イメージング法と古典的パッチクランプ法による痛みの研究 –

馬場　洋（新潟大学大学院 医歯学総合研究科 麻酔科学分野)

細胞内 Ca^{2+} イメージング法は神経細胞の活動を可視化する方法として一般的となっている。神経細胞の活動（興奮）を「活動電位の発生」と定義した場合，細胞内 Ca^{2+} をモニターすることは神経細胞の活動をモニターする方法となり得るのか，L5 レベルの後根付き脊髄横断スライス標本と外因性 Ca^{2+} インディケーターを使用した in vitro Ca^{2+} イメージング法を用いて検討した。後根断端を電気刺激すると刺激から約 2-3 ms 遅れて Aδ 線維の入力による Ca^{2+} 上昇が見られ，約 30-40 ms 遅れて C 線維の入力による Ca^{2+} 上昇が加わり, 100 ms 以内で細胞内 Ca^{2+} はピークに達する。これらの反応はこれまでの電気生理的実験で得られた結果とほぼ完全に一致し, 時間解像度も極めて高い。一方，その下行相は緩徐であり，刺激から約 400 ms で半減し，ベースラインに戻るまでは約 2 秒以上を要する。後根刺激で誘発される活動電位発生は 100-150 ms 程度しか持続せず, その後は速やかに静止膜電位レベルに戻ることから，細胞内 Ca^{2+} の下行相は活動電位発生とは相関しない。従って，細胞内 Ca^{2+} イメージング法は in vitro 標本において, その上昇相からピークまでを見ることによってのみ脊髄後角ニューロンの興奮を評価できる。本法を使って脊髄レベルで鎮痛作用を発揮するオピオイドの一種であるメサドンの作用を検討した。その結果を報告する。

8. TRP チャネル研究会
—相互作用分子との協働による環境情報の受容と環境適応—

2020 年 9 月 25 日

代表世話人：内田邦敏（静岡県立大学）
所内対応者：富永真琴（生命創成探究センター／生理学研究所）

（１）マウス慢性脳低灌流モデルにおける TRPA1 の病態生理学的役割

抱　将史，森嶋美沙，戸堀翔太，永安一樹，白川久志，金子周司
（京都大学大学院 薬学研究科 生体機能解析学）

（２）接触性皮膚炎感作過程におけるアジュバント物質の作用メカニズム

黒羽子孝太，木川晶峻，丸尾遥佳，梅本英司，今井康之
（静岡県立大学 薬学部）

（３）食品由来脂肪酸およびその代謝産物による TRPV1 を介した UCP1 発現調節

川原崎聡子 [1]，内田邦敏 [2]，岸野重信 [3]，高橋春弥 [1]，野村　亘 [1,6]，狩野百合子 [4]
小川　順 [3,6]，富永真琴 [5]，井上和生 [1,6]，河田照雄 [1,6]，後藤　剛 [1,6]
（[1] 京都大学大学院 農学研究科 食品生物科学専攻，[2] 静岡県立大学 食品栄養科学部
[3] 京都大学大学院 農学研究科 応用生命科学専攻，[4] 神戸女子大学 家政学部
[5] 生理学研究所 細胞生理研究部門，[6] 京都大学生理化学研究ユニット）

（４）Increased TRPV4 in non-myelinating Schwann cells is associated with demyelination after sciatic nerve injury

Xiaona FENG[1,2,3], Yasunori TAKAYAMA[4], Nobuhiko OHNO[5,6],
Hirosato KANDA[7], Yi DAI[7], Takaaki SOKABE[1,2,3], Makoto TOMINAGA[1,2,3]
([1]Department of Physiological Sciences SOKENDAI, [2]Division of Cell Signaling NIPS
[3]Thermal Biology Group, Exploratory Research Center on Life and Living Systems (ExCELLS)
[4]Department of Physiology, Showa University School of Medicine,
[5]Division of Ultrastructural Research NIPS
[6]Department of Anatomy, Division of Histology and Cell Biology, Jichi Medical University, School of Medicine
[7]Department of Pharmacy, School of Pharmacy, Hyogo University of Health Sciences)

（５）胃腸上皮に発現する TRPV4 活性化の VNUT 阻害による制御及び，腸内細菌による TRPV4 発現抑制に関する検討

三原　弘 [1]，内田邦敏 [2]，小泉修一 [3]，森山芳則 [4]
（[1] 富山大学 医学部第三内科，[2] 静岡県立大学 食品栄養科学部環境生命科学科
[3] 山梨大学大学院 薬理学講座，[4] 松本歯科大学 歯学部）

（６）口腔粘膜創傷治癒における TRPV4 の影響

吉本怜子 [1]，合島怜央奈 [2]，大崎康吉 [1]，曹　愛琳 [1]，高　玮琦 [1]
本田裕子 [1]，内野加穂 [1]，澤田孟志 [1]，城戸瑞穂 [1]
（[1] 佐賀大学 医学部組織神経解剖，[2] 佐賀大学 医学部口腔外科）

（７）難治性消化管疾患モデル動物における TRPV2 の発現と機能解析

松本健次郎 [1]，末永美奈子 [1]，林　大成 [1]，城戸瑞穂 [2]，加藤伸一 [1]
（[1] 京都薬科大学 薬物治療学分野，[2] 佐賀大学 医学部生体構造機能学講座）

（８）TRPM7 と歯のエナメル質形成機構

岡部幸司，進　正史，鍛治屋　浩，岡本富士雄
（福岡歯科大学 細胞分子生物学講座 細胞生理学分野）

（９）冬虫夏草 OCS は TRPM7 チャネルの抑制を介して肺高血圧を改善する

倉原　琳[1]，平石敬三[1]，Lixia YUE[2]，平野勝也[1]，井上隆司[3]
（[1]香川大学 医学部 自律機能生理学，[2]コネチカット大学 医学部，[3]福岡大学）

（10）骨格筋幹細胞における機械受容イオンチャネル PIEZO1 の役割

平野航太郎[1]，原　雄二[1]，野々村恵子[2]，北嶋康雄[3]，小野悠介[3]，森　泰生[1]，梅田眞郷[1]
（[1]京都大学大学院工学研究科 合成･生物化学専攻，
[2]基礎生物学研究所 初期発生研究部門，[3]熊本大学 発生医学研究所 筋発生再生部門）

（11）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

小田紗矢香[1,2]，Supachoke MANGMOOL[3]，山口陽平[4]，冨田拓郎[5]，加藤百合[7]，
田中智弘[6]，西村明幸[1,2]，西山和宏[7]，入部玄太郎[4]，西田基宏[1,2,7]
（[1]生命創成探究センター（生理学研究所），[2]総合研究大学院大学
[3]マヒドール大学薬学部，[4]旭川医科大学，[5]信州大学 医学部
[6]自然科学研究機構，[7]九州大学大学院 薬学研究院）

（12）Structural basis for promiscuous action of monoterpenes on TRP channels

Thi Hong Dung NGUYEN[1,2,3]，Satoru G. ITOH[4,5,6]，Hisashi OKUMURA[4,5,6]，Makoto TOMINAGA[1,2,3]
([1]Department of Physiological Sciences SOKENDAI，[2]Division of Cell Signaling NIPS
[3]Thermal Biology Group, Exploratory Research Center on Life and Living Systems (ExCELLS)
[4]Biomolecular Dynamics Simulation Group ExCELLS，[5]Research Center for Computational Science IMS
[6]Department of Structural Molecular Science SOKENDAI)

（13）TRPC6 変異体 R175W における Ca^{2+}/ Calmodulin 依存的不活性化機構 (CDI) の破綻

岡田　亮[1]，Onur K. POLAT[2,3]，森　誠之[1]
（[1]産業医科大学 医学部，[2]京都大学工学研究科 合成･生物化学専攻，[3]Rush University）

（14）TRPA1 チャネルタンパク質の代謝を介した新規酸素センシング機構

中尾章人[1]，内山　誠[1]，岡田泰昌[2]，森　泰生[1]
（[1]京都大学大学院工学研究科 合成･生物化学専攻，[2]村山医療センター 臨床研究部）

【参加者名】

山口陽平（旭川医科大学），鈴木喜郎（岩手医科大学），佐藤主税（産業技術総合研究所），三原　弘（富山大学），内田邦敏・坂本多穂・黒羽子孝太・寺田祐子・松山　南・剣持麻奈斗（静岡県立大学），松本健次郎（京都薬科大学），金子周司・白川久志・抱　将史・國政椋太郎・中島弘貴・坂口怜子・中尾章人・植田誉志史・平野航太郎・尼谷明日路・長谷川義晃・細越淳来・川本倫也・松永佳大・大森美ずき・中道賢治・永田航也・田中千尋・高橋重成・原　雄二・後藤　剛・川原崎聡子・松尾和輝（京都大学），永田　龍・藤田郁尚（大阪大学），岩田裕子（国立循環器病研究センター研究所），太田利男（鳥取大学），倉原　琳（香川大学），森　誠之・岡田　亮（産業医科大学），西田基宏・加藤百合・西山和宏・遠山千恵実・田丸　愛・鮎川皓一・大久保礼真・友清大樹・後藤拓実・酒田康介（九州大学），沼田朋大（福岡大学），岡部幸司・岡本富士雄・鍛治屋浩（福岡歯科大学），城戸瑞穂・吉本怜子・本田裕子・西山めぐみ・内野加穂（佐賀大学），森村浩三・髙橋大樹（田辺三菱製薬㈱），勝田雄治（㈱資生堂），臼倉　淳（㈱マンダム），富永真琴・曽我部隆彰・齋藤　茂・水藤拓人・佐藤翔馬・Feng Xiaona・Nguyen Thi Hong Dung・Deng Xiangmei・Lei Jing・安井美桜・丸山健太・西村明幸・田中智弘・小田紗矢香・下田　翔（生命創成探究センター/生理学研究所），稲橋宏樹（生理学研究所）

【概要】

2020 年度の TRP チャネル研究会（代表 静岡県立大学・内田邦敏）は，当初５月２８日，２９日の開催を予定していたが，新型コロナ感染症の影響を考慮し遠隔会議システム（Zoom）を活用したオンラインにて実施した。移動時間を考慮する必要がなかったため，９月２５日終日の開催とした。初めての試みではあったが，事務局の周到な準備と運営により，オンサイトとほとんど変わらぬ活発な議論がなされた。演題は 14 題となり，参加者も例年よりも多い 80 人となった。

セッションは，１）TRPV，TRPA1 チャネルの生理・病態，２）口腔，消化管における TRP チャネルの役割，３）循環，筋組織における TRP チャネルの役割，４）TRP チャネル活性化機構，の 4 つを設け，セッション後及び研究会終了後には質疑応答時間以外にも出来る限り自由な議論の時間の場として，自由討論の時間を設けた。

第 1 セッションは白川が座長を担当した。抱はマウス慢性脳低灌流モデルにおける神経傷害に対し，アストロサイトに発現する TRPA1 チャネルが保護的に作用することを報告した。黒羽子は接触性皮膚炎感作を起こす物質（アジュバンド）が末梢神経に発現する TRPV1，TRPA1 を活性化する可能性を示した。川原崎は腸内細菌代謝産物である脂肪酸が迷走神経の TRPV1 を活性化することでエネルギー代謝を亢進することを報告した。Feng は末梢神経の髄鞘を形成するシュワン細胞において TRPV4 が神経傷害に伴う脱髄に関わることを報告した。

第 2 セッションは内田が座長を担当した。三原は胃上皮の TRPV4 発現がピロリ菌感染に伴うメチル化により発現抑制されること，TRPV4 の下流で機能する VNUT が内臓痛治療の標的となる可能性を示した。吉本は口腔上皮の TRPV4 が細胞間接着や細胞移動を調節し創傷治癒に関与することを報告した。松本は迷走神経に発現する TRPV2 が内臓痛覚過敏並びに逆流性食道炎に関与することを報告した。岡部は TRPM7 が歯のエナメル芽細胞に高発現し，エナメル形成に関わることを報告した。

第 3 セッションは山口が座長を担当した。倉原は漢方の冬虫夏草が TRPM7 チャネル活性の抑制を介してはい高血圧症を改善することを示した。平野は機械受容チャネルである PIEZO1 が筋衛星細胞の細胞質分裂を制御し，に骨格筋線維再生に関わることを報告した。小田は心筋に発現する TRPC6 がアドレナリン受容体シグナルを正に制御し心臓の陽性変力作用をもたらすことを報告した。

第 4 セッションは西村が座長を担当した。Nguyen は様々な TRP チャネル活性を調節するモノテルペン作用する構造基盤を紹介した。岡田は FSGS 患者由来の変異の解析から，TRPC6 の Coiled-Coil domain が Ca^{2+}/ Calmodulin 依存的な TRPC6 不活性化に関わることを報告した。中尾は酸素依存的な代謝による TRPA1 活性の制御が酸素感知に関与するというユニークな機構を紹介した。

質疑の時間を十分に確保したこともあり，いずれの発表においても有意義な議論がなされた。特に若手からの質問が多く，充実した研究会となった。

（１）マウス慢性脳低灌流モデルにおける TRPA1 の病態生理学的役割

抱　将史，森嶋美沙，戸堀翔太，永安一樹，白川久志，金子周司
（京都大学大学院 薬学研究科 生体機能解析学）

慢性脳低灌流は，神経変性疾患や精神疾患など認知機能障害を伴う多くの中枢神経疾患で認められ，これらの発症・病態増悪に関わっていることが指摘されつつあるが，その病態メカニズムには不明な点が多い。本研究では，微小金属コイル装着による両側総頸動脈狭窄（BCAS）処置により作製したマウス慢性脳低灌流モデルを用いて，脳内ではアストロサイトなどに機能的に発現する TRPA1 の関与を検討した。

BCAS 処置 14 日後において，野生型（WT）マウスでは認められなかった白質傷害および認知機能障害が TRPA1 遺伝子欠損（TRPA1-KO）マウスにおいてのみ認められた。免疫組織化学および定量的 PCR 解析により，BCAS 処置 14 日後の白質脳梁部において，WT マウスでは GFAP 陽性アストロサイト数が増加し，抗炎症性アストロサイトの関連遺伝子である Cd109 の発現が増大したが，TRPA1-KO マウスではそのような変化は減弱してい

た。初代培養アストロサイトを用いた検討において，TRPA1 を活性化するために H2O2 (100 μM) を処置したところ，WT アストロサイトでは Cd109 の遺伝子発現が増大したのに対し，TRPA1-KO アストロサイトではそのような変化は認められなかった。以上の結果から，TRPA1 を介したアストロサイトの活性化が，慢性脳低灌流に伴う病態に対して保護的に寄与する可能性が示された。

（２）接触性皮膚炎感作過程におけるアジュバント物質の作用メカニズム

黒羽子孝太，木川晶峻，丸尾遥佳，梅本英司，今井康之（静岡県立大学 薬学部）

Fluorescein isothiocyanate (FITC) をハプテンとした接触性皮膚炎（FITC-CHS, contact hypersensitivity）マウスモデルにおいて，感作時に FITC とフタル酸ジブチル (DBP) を一緒に皮膚に塗布することで，感作促進（アジュバント）作用が発現することを報告してきた。DBP は可塑剤として多く用いられてきた物質である。FITC-CHS において DBP を含んだ感作溶媒をマウス前肢に塗布すると，FITC を保持した樹状細胞の所属リンパ節への移動（トラフィッキング）が促進されていた。この樹状細胞のトラフィッキングに神経の関与が推察されたことから，マウス後根神経節由来の細胞を用い，また Transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) および TRP vanilloid 1 (TRPV1) を強制発現させた細胞株を用いて DBP の作用を検討した。その結果，DBP により活性化される神経細胞が存在し，その活性化は TRPA1 および TRPV1 を介していることが明らかとなった。このことから FITC-CHS のアジュバント作用は TRPA1，TRPV1 を発現した末梢神経が DBP によって活性化された結果，樹状細胞のトラフィッキングが促進されることで成立すると考えられた。

（３）食品由来脂肪酸およびその代謝産物による TRPV1 を介した UCP1 発現調節

川原崎聡子 [1]，内田邦敏 [2]，岸野重信 [3]，高橋春弥 [1]，野村　亘 [1,6]，狩野百合子 [4,]
小川　順 [3,6]，富永真琴 [5]，井上和生 [1,6]，河田照雄 [1,6]，後藤　剛 [1,6]
（[1] 京都大学大学院 農学研究科 食品生物科学専攻，[2] 静岡県立大学 食品栄養科学部
[3] 京都大学大学院 農学研究科 応用生命科学専攻，[4] 神戸女子大学 家政学部
[5] 生理学研究所 細胞生理研究部門，[6] 京都大学 生理化学研究ユニット）

脂肪組織のミトコンドリアにおいて熱産生を介して全身のエネルギー消費に寄与する脱共役タンパク質 1 (UCP1) は，肥満予防・治療への応用が期待されている。近年，特定の食品由来成分が UCP1 発現調節能を有することが報告されている。当研究室において，食品由来多価不飽和脂肪酸が UCP1 発現誘導能を有することを見出した。ドコサヘキサエン酸（DHA）およびエイコサペンタエン酸（EPA）を豊富に含む魚油を投与したマウスおよびリノール酸の腸内乳酸菌代謝産物である 10-oxo-12 (Z)-octadecenoic acid (KetoA) を投与したマウスにおいて，高脂肪食負荷時の体重増加の抑制が認められた。これらのマウスにおいて，褐色脂肪組織および白色脂肪組織において Ucp1 発現が誘導されており，それに伴い直腸温および酸素消費量が上昇した。また，これらの化合物の投与によりノルアドレナリン代謝回転が亢進した。これらの化合物の Ucp1 発現誘導作用は，β-アドレナリン受容体阻害剤の投与下で消失した。さらに，TRPV1 ノックアウトマウスでは魚油または KetoA の投与による体重増加抑制作用および Ucp1 発現誘導作用は認められなかった。以上の結果から，これらの食餌由来脂肪酸およびその代謝産物の Ucp1 発現誘導作用は TRPV1 を介した交感神経の活性化によるノルアドレナリン分泌の増加に起因することが示唆された。

（４）Increased TRPV4 in non-myelinating Schwann cells is associated with demyelination after sciatic nerve injury

Xiaona FENG[1,2,3]，Yasunori TAKAYAMA[4]，Nobuhiko OHNO[5,6]
Hirosato KANDA[7]，Yi DAI[7]，Takaaki SOKABE[1,2,3]，Makoto TOMINAGA[1,2,3]
（[1]Department of Physiological Sciences, SOKENDAI，[2]Division of Cell Signaling NIPS,
[3]Thermal Biology Group, Exploratory Research Center on Life and Living Systems (ExCELLS),
[4]Department of Physiology, Showa University School of Medicine,
[5]Division of Ultrastructural Research NIPS,
[6]Department of Anatomy, Division of Histology and Cell Biology, Jichi Medical University, School of Medicine,
[7]Department of Pharmacy, School of Pharmacy, Hyogo University of Health Sciences）

Transient receptor potential vanilloid 4 (TRPV4) is a non-selective calcium-permeable cation channel that is widely expressed and activated in various neurons and glial cells in the nervous system. Schwann cells (SCs) are primary glia cells that wrap around axons to form the myelin sheath in peripheral nervous system. However, whether TRPV4 is expressed and functions in SCs is unclear. Here, we found the functional expression of TRPV4 in mouse SCs and investigated its physiological significance. Deletion of TRPV4 did not affect normal myelin development for SCs in sciatic nerves in mice. On the other hand, after sciatic nerve cut injury, TRPV4 expression was remarkably increased in SCs following nerve demyelination. Ablation of TRPV4 expression impaired the demyelinating process after nerve injury, resulting in delayed remyelination and functional recovery of sciatic nerves. These results suggest that local activation of TRPV4 could be an attractive pharmacological target for therapeutic intervention after peripheral nerve injury.

（５）胃腸上皮に発現する TRPV4 活性化の VNUT 阻害による制御及び，腸内細菌による TRPV4 発現抑制に関する検討

三原　弘[1]，内田邦敏[2]，小泉修一[3]，森山芳則[4]
（[1]富山大学 医学部 第三内科，[2]静岡県立大学 食品栄養科学部 環境生命科学科，
[3]山梨大学大学院 薬理学講座，[4]松本歯科大学 歯学部）

アデノシン三リン酸（ATP）は，消化管の機械刺激受容性迷走神経求心性神経の活性を調節する。ATP は ATP トランスポーターVNUT を介して分泌小胞に保存されるが，クロドロン酸が VNUT を阻害すると報告され，慢性疼痛に対する安全で強力な治療オプションであることが示唆されている。TRPV4 は，機械刺激や内因性微小炎症物質であるエポキシエイコサトリエン酸などによって活性化され，炎症条件下で感受性が上昇することが知られている。我々は VNUT と TRPV4 がマウス食道上皮細胞に存在しており，胃上皮の TRPV4 活性化でも ATP が放出され，ピロリ菌感染によってメチル化異常により胃上皮の TRPV4 の発現が抑制されることを報告して来た。今回，ヒト胃腸細胞株（GES-1 および CCD 841）と，SPF マウス，全身 TRPV4 欠損マウス，VNUT 欠損マウス，無菌（GF）マウスの組織における TRPV4 および/または VNUT の発現を検討した。TRPV4 アゴニスト（GSK101 または 8,9-EET）は，マウスの初代結腸上皮細胞および CCD 841 細胞で細胞内 Ca^{2+} 濃度および/または電流応答の増加を誘発したが，TRPV4 欠損マウス由来の結腸上皮細胞では誘発しなかった。TRPV4 アゴニストは GES-1 および CCD 841 細胞からの ATP 放出を誘発し，VNUT 阻害剤であるクロドロン酸によって阻害された。SPF マウスは，GF マウスに比べ消化管上皮の TRPV4 発現が低下していた。これらの一連の結果は，クロドロン

酸による VNUT 阻害は内臓痛の新しい治療オプションとなり，また，ピロリ菌以外の腸内細菌にも TRPV4 発現抑制作用がありえることを示しており，病態への関与を含め更なる検討が必要と考えられた。

（６）口腔粘膜創傷治癒における TRPV4 の影響

吉本怜子[1]，合島怜央奈[2]，大崎康吉[1]，曹　愛琳[1]，高　玮琦[1]
本田裕子[1]，内野加穂[1]，澤田孟志[1]，城戸瑞穂[1]
（[1]佐賀大学 医学部 組織神経解剖，[2]佐賀大学 医学部 口腔外科）

皮膚や粘膜の創傷が治癒には，上皮による速やかな被覆が重要である。Transient receptor potential vanilloid 4 (TRPV4) は温度や機械的刺激などにより活性化される Ca^{2+} 透過性陽イオンチャネルである。我々は TRPV4 が口腔の上皮細胞に機能的に発現し，細胞間接着や増殖を制御することを見出したことから，TRPV4 が粘膜創傷治癒の標的となりうると考えた。8 週齢の C57BL/6 野生型マウス（WT）あるいは TRPV4 遺伝子欠失マウス（TRPV4KO）の硬口蓋に直径 1.5 mm の円型の創を作製し，治癒過程を組織学的に解析した。形成後 3 日目の創の面積および幅は WT より TRPV4KO で有意に小さかった。また，免疫組織化学染色により，再生上皮における細胞間接着および細胞骨格に関わる分子の局在を調べたところ，TRPV4KO の再生上皮では，WT と比べて E-cadherin で示される細胞間隙が広く認められた。加えて，細胞間接着や細胞運動時の張力発生に関与するミオシン調節軽鎖のリン酸化が，再生上皮では非受傷部と比べて強く認められ，さらに，TRPV4KO の再生上皮では WT より強く認められた。口腔上皮初代培養細胞を用いた解析では，TRPV4KO の細胞では WT の細胞と比べて細胞移動が亢進し，リン酸化ミオシン調節軽鎖の強い染色陽性を呈した。以上の結果から，TRPV4 活性の調節により創傷治癒過程を制御できる可能性が示唆された。

（７）難治性消化管疾患モデル動物における TRPV2 の発現と機能解析

松本健次郎[1]，末永美奈子[1]，林　大成[1]，城戸瑞穂[2]，加藤伸一[1]
（[1]京都薬科大学 薬物治療学分野，[2]佐賀大学 医学部 生体構造機能学講座）

TRPV2 は神経，心臓，免疫細胞に発現し，機械的刺激や 52 ℃以上の高温で活性化する受容器である。機能性消化管障害や消化管炎症などの難治性消化管疾患への関与も示唆されているが，大腸や食道における TRPV2 発現と病態における役割については不明な点が多い。本研究では，炎症性腸疾患および逆流性食道炎の病態モデルを用いて，TRPV2 の局在と機能解析を行った。

ラット大腸において TRPV2 は内在性抑制性，知覚神経，マクロファージ，脊髄由来（A 線維），迷走神経由来の外来性神経に発現していた。一方，TRPV1 は大腸へ投射する外来性神経にのみに発現が認められた。病態モデルの大腸，DRG，迷走神経背側核における TRPV2 発現は正常動物と比較して有意に増大したが，筋間神経叢における発現は変化が認められなかった。また TRPV2 陽性神経細胞の各種マーカーとの共局在割合は各部位で正常と病態モデルで変化は認められなかった。病態時の内臓痛覚過敏は TRPV2 阻害作用を有するトラニラスト，TRPV1 拮抗薬である BCTC の投与により改善された。

ラット下部食道括約筋（LES）において，TRPV2 は主に nNOS 陽性の内在性抑制性神経に発現していた。LES における TRPV2，NGF 発現は，正常時と比較し病態時では有意に増大した。摘出 LES において 2-APB の弛緩作用は，正常ラットと比較して病態時には有意に増大した。この作用はトラニラストおよび L-NAME によって完全に抑制された。さらに，トラニラストの投与は，逆流性食道炎モデルにおける体重減少，食道傷害，上皮の肥厚を有意に抑制した。

TRPV2 は大腸における内臓痛覚過敏，LES の弛緩による胃酸の逆流に関与していることが判明した。

（８）TRPM7 と歯のエナメル質形成機構

岡部　幸司，進　正史，鍛治屋　浩，岡本　富士雄
（福岡歯科大学　細胞分子生物学講座　細胞生理学分野）

TRPM7 はミネラル輸送を担うイオンチャネルと α キナーゼ活性を有するユニークな分子で「チャネルキナーゼ」と呼ばれる。この TRPM7 は全身中でも特に歯のエナメル芽細胞に高い発現が認められ重要性が予想される。ダイアモンドに匹敵する硬度を有する歯のエナメル質の形成や石灰化は，エナメル芽細胞の分化，基質タンパクの分泌及び分解脱却，ハイドロキシアパタイトの結晶化により進み，エナメル芽細胞の機能異常は歯の形成障害を呈する。我々はエナメル芽細胞における TRPM7 のキナーゼ機能とチャネル機能を検討した。まず，点変異によりキナーゼ活性だけを欠失した TRPM7 α キナーゼ変異（KR）マウスを用いてキナーゼ機能の解析を行った。その結果，切歯にエナメル質形成不全や石灰化異常を認め，チャネル機能に影響を与えずエナメル芽細胞の分化に重要な BMP シグナルの smad･p38 や CREB のリン酸化の障害が認められた。次に，イオンチャネル機能の解析を目的に歯特異的なコンディショナル TRPM7 欠損（CK14-cre/TRPM7fl/fl）マウスの解析を行った結果，TRPM7 様イオン電流の抑制と共に，KR マウスに比べて重篤なエナメル質形成不全を呈した。従って，TRPM7 のキナーゼ機能は BMP や CREB のシグナルを介して，また，チャネル機能はその Ca^{2+}/Mg^{2+} 輸送等を介してエナメル質形成を担うことが明らかとなった。

（９）冬虫夏草 OCS は TRPM7 チャネルの抑制を介して肺高血圧を改善する

倉原　琳[1]，平石敬三[1]，Lixia YUE[2]，平野勝也[1]，井上隆司[3]
（[1]香川大学 医学部 自律機能生理学，[2]コネチカット大学 医学部，[3]福岡大学）

昆虫病原性真菌である冬虫夏草 Ophiocordyceps sinensis (OCS) は，異常増殖やリモデリングに対して抑制作用を発揮することが知られている。一方，肺高血圧症（PH）の病態の進行には, 肺動脈のリモデリングと異常収縮が密接に関与している。そこで本研究では，OCS による PH の治療の可能性について，ラット･マウスの肺高血圧モデルおよび培養肺動脈内皮細胞（HPAEC）・平滑筋細胞（HPASMC）を用い，種々の炎症・線維化への関与の報告がある TRPM7 について検討を行った。OCS は，モノクロタリン PH ラットの病態進行を改善した。TRPM7 遺伝的ノックアウトマウスでは，野生型マウスと比較して PH の病態の進行が有意に穏やかであった。PH ラットと PH 患者の肥厚肺動脈および叢状病変部位には TRPM7 の発現局在が観察された。OCS は，PH 患者由来 HPASMC の増殖，および TRPM7 様電流，内皮間葉転換，IL-6 による STAT3 のリン酸化，PDGF による Akt のリン酸化を抑制した。同様の効果は，TRPM7 siRNA 処置や TRPM7 拮抗薬 FTY-720 の添加でも観察された。さらに，OCS と FTY-720 は，単離ヒト肺動脈に対して弛緩作用を示した。これらの結果から，OCS は PH の改善効果を持ち，この効果の一部は TRPM7 チャネル活性の抑制を介した機序によって生じている可能性が示唆された。

（10）骨格筋幹細胞における機械受容イオンチャネル PIEZO1 の役割

平野航太郎 [1]，原　雄二 [1]，野々村恵子 [2]，北嶋康雄 [3]，小野悠介 [3]，森　泰生 [1]，梅田眞郷 [1]
（[1] 京都大学大学院 工学研究科 合成･生物化学専攻，
[2] 基礎生物学研究所 初期発生研究部門，[3] 熊本大学 発生医学研究所 筋発生再生部門）

骨格筋を構成する筋線維は高い再生能を有しており，運動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が維持される。筋線維に付随する幹細胞（筋衛星細胞）は，過剰な形質膜伸展の感知により休止状態から活性化状態へと遷移し，筋線維の修復・再生をもたらすと想定されてきたが，その分子機構は未だ明らかではない。我々はこれまでに細胞膜の膜張力により開口する機械受容イオンチャネル PIEZO1 が，筋衛星細胞に高発現することを見出した。以上の知見の元，本研究では PIEZO1 の骨格筋再生過程における機能解明を試みた。

まず筋衛星細胞特異的 Piezo1 欠損マウスの作出および表現型解析を行った。筋線維変性剤カルジオとキシンを骨格筋に適用し筋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著しく低下した。また，単離筋線維上の筋衛星細胞における挙動解析の結果，Piezo1 欠損細胞では増殖能低下とともに，細胞質分裂の遅延が認められた。続いて内在性 PIEZO1 の C 末端に蛍光タンパク質 tdTomato が付加される Piezo1-tdTomato マウスを用いて PIEZO1 の動態解析を行ったところ，PIEZO1-tdTomato は筋衛星細胞の細胞質分裂時に分裂溝へ集積することを見出した。以上の結果より，PIEZO1 は筋衛星細胞の細胞質分裂時において機能し，骨格筋線維の再生に重要な役割を果たすことが示唆された。

（11）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

小田紗矢香 [1,2]，Supachoke MANGMOOL[3]，山口陽平 [4]，冨田拓郎 [5]，加藤百合 [7]
田中智弘 [6]，西村明幸 [1,2]，西山和宏 [7]，入部玄太郎 [4]，西田基宏 [1,2,7]
（[1] 生命創成探究センター（生理学研究所），[2] 総合研究大学院大学
[3] マヒドール大学 薬学部，[4] 旭川医科大学，[5] 信州大学 医学部
[6] 自然科学研究機構，[7] 九州大学大学院 薬学研究院）

心臓は環境変化や外的刺激に対して柔軟に適応することで，その恒常性を維持している。非選択的カチオンチャネルである Transient receptor potential canonical (TRPC)6 は，①種々の物理化学的刺激を感知し，そのシグナルを細胞内に伝達するマルチモーダルセンサー，②シグナル分子を集積させる足場タンパクという二面的役割を持ち，これらの機能異常・破綻が心血管疾患の病態形成に関与することが明らかにされてきた。しかし，TRPC6 の生理的役割については不明な点が多い。そこで心臓の運動量を制御する自律神経系に着目し，心臓のアドレナリン受容体（AR）応答における TRPC6 の役割について解析を行った。心カテーテル法を用いた測定により，TRPC6 欠損マウスにおいて，β AR 刺激後の心収縮応答（陽性変力作用）が減弱していることを見出した。TRPC6 欠損マウスにおける心収縮力応答の減弱は，単離心筋レベルでも観察された。cAMP 検出プローブ用いたイメージングにより，TRPC6 をノックダウンした初代ラット胎児心筋細胞でβ AR 刺激後の cAMP 産生の低下を確認した。HEK293 細胞の過剰発現系において，TRPC6 はβ AR の内在化プロセスにも関与することを見出した。本研究により，TRPC6 はβ AR シグナルを正に制御することによって心臓の陽性変力作用を増強させることが示唆された。

（12）Structural basis for promiscuous action of monoterpenes on TRP channels

Thi Hong Dung NGUYEN[1,2,3]，Satoru G. ITOH[4,5,6]，Hisashi OKUMURA[4,5,6]，Makoto TOMINAGA[1,2,3]
（[1]Department of Physiological Sciences SOKENDAI，[2]Division of Cell Signaling NIPS,
[3]Thermal Biology Group, Exploratory Research Center on Life and Living Systems (ExCELLS),
[4]Biomolecular Dynamics Simulation Group ExCELLS，[5]Research Center for Computational Science IMS
[6]Department of Structural Molecular Science SOKENDAI）

Monoterpenes are major constituents of plant-derived essential oils and have long been widely used for therapeutic and cosmetic applications. The monoterpenes menthol and camphor are agonists or antagonists for several TRP channels such as TRPM8, TRPV1, TRPV3 and TRPA1. However, which regions within TRPV1 and TRPV3 confer sensitivity to monoterpenes or other synthesized chemicals such as 2-APB are unclear. In this study we identified conserved arginine and glycine residues in the linker between S4 and S5 that are related to the action of these chemicals and validated these findings in molecular dynamics simulations. The involvement of these amino acids differed between TRPV3 and TRPV1 for chemical-induced and heat-evoked activation. These findings provide the basis for characterization of physiological function and biophysical properties of ion channels.

（13）TRPC6 変異体 R175W における Ca^{2+} / Calmodulin 依存的不活性化機構（CDI）の破綻

岡田　亮[1]，Onur K. POLAT[2,3]，森　誠之[1]
（[1]産業医科大学 医学部，[2]京都大学 工学研究科 合成･生物化学専攻，[3]Rush University）

受容体作動性非選択的カチオンチャネルである TRPC6 は, 難治性ネフローゼ症候群を伴う腎病変である巣状分節性糸球体硬化症（focal segmental glomerulosclerosis, FSGS）の原因遺伝子として知られている。最近，我々は，TRPC6 C 末端領域の Coiled-Coil domain に FSGS 患者由来の変異をもつ TRPC6 変異体では Ca^{2+} / Calmodulin 依存的不活性化機構（CDI）が破綻し，遅延性シグナルが生じることによって発症に至るとの知見を得た（Polat OK et al., JASN, 2019）。一方，N 末端領域の Ankyrin-repeat domain に変異をもつ FSGS 関連 TRPC6 変異体に関する機能解析は十分になされておらず，C 末端領域の変異体と同様に CDI が破綻しているか不明であった。今回，日本人女児の FSGS 患者より同定された R175W 等，Ankyrin-repeat domain の変異体について電気生理学的手法を用いた機能解析を行ったところ，野生型 TRPC6 と比較して顕著な CDI の遅延が認められた。CDI の破綻は，N 末端領域や C 末端領域に変異をもつ FSGS 関連 TRPC6 変異体の gain-of-function を説明する新たな知見であると考えられた。

（14）TRPA1 チャネルタンパク質の代謝を介した新規酸素センシング機構

中尾章人[1]，内山　誠[1]，岡田泰昌[2]，森　泰生[1]
（[1]京都大学大学院 工学研究科 合成･生物化学専攻，[2]村山医療センター 臨床研究部）

酸素に関する研究は 2019 年ノーベル生理学・医学賞の受賞対象となったが，未だ不明な点が多い。特に急性の酸素センシング機構に関しては，Heymans 以降（1938 年ノーベル生理学・医学賞受賞）頸動脈小体によって担われているとされているが，その分子メカニズムは今なお決，着がついていない。また，体内の局所，特に酸素消費が盛んな脳の局所における酸素センシング機構の詳細は不明であった。最近，我々の研究グループは，延髄呼吸中枢にお

けるアストロサイトが穏やかな低酸素に速やかに応答すること，またその分子メカニズムとして TRPA1 チャネルタンパク質の細胞表面膜における集積が重要であることを明らかにした（Current Biology in press, 京都大学プレスリリース http://www.kyoto-u.ac.jp/ja/research/research_results/2020/200717_2.html）。今までの急性の酸素センシング機構としては, 既に形質膜上に存在するイオンチャネルの機能修飾によって細胞応答が惹起されると考えられてきたのに対し，本研究では TRPA1 チャネルタンパク質の酸素依存的な代謝が関与することを明らかにした。本発表では，このユニークな TRPA1 の制御機構に関して報告する。

9. 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

2020 年 12 月 19 日－12 月 20 日

代表・世話人：岩部美紀（東京大学大学院 医学系研究科 代謝･栄養病態学）
所内対応者：箕越靖彦（生理学研究所 生殖･内分泌系発達機構研究部門）

（１）脂肪肝再生過程で生じる細胞死の様式制御メカニズム
稲葉有香（金沢大学）

（２）非アルコール性脂肪肝炎とクッパー細胞鉄代謝
金森耀平（名古屋大学）

（３）筋萎縮における尿中タイチン測定の意義
堤　理恵（徳島大学）

（４）身体不活動にともなう骨格筋代謝の変化が高次脳機能に及ぼす影響
志内哲也（徳島大学）

（５）亜鉛トランスポーターから究明する代謝調節機構の解明　～生活習慣病に対する治療戦略を目指して～
福中彩子（群馬大学）

（６）立体構造情報に基づいた，グレリン受容体のリガンド認識機構の解明
椎村祐樹（久留米大学）

（７）健康長寿を目指した新規糖尿病治療法創製に向けた取り組み
岩部美紀（東京大学）

（８）視床下部のプロスタグランジン生成と全身糖代謝の関係
戸田知得（北海道大学）

（９）軽度認知障害から中期のアルツハイマー型認知症患者における APOE-ε4 と体格・身体組成の関連
安藤貴史（産業技術総合研究所）

(10) 糖尿病における精神障害に対する neuropeptide Y の関与
植田大暉（星薬科大学）

(11) エネルギー代謝を制御する中枢―末梢神経回路
近藤邦生（生理学研究所）

(12) 腸 GLP-1 の血漿インスリン濃度依存的なインスリン感受性亢進作用
岩崎有作（京都府立大学）

(13) 食塩と脂質の過剰摂取が体重，糖代謝に与える影響
高木博史（名古屋大学）

(14) 中鎖脂肪酸受容体を介した新規代謝調節機構
大植隆司（東京農工大学）

(15) 骨量減少を抑制する脂肪酸の発見
中島友紀（東京医科歯科大学）

(16) 栄養素研究の新たなモデル動物として遺伝子改変メダカの作製
別府香名（徳島大学）

(17) 急性腎虚血再灌流モデルにおいてアディポネクチンと T-カドヘリンは血管透過性亢進と尿細管細胞傷害に保護的に作用する
清水有理（大阪大学）

(18) 膵β細胞再生の分子機構
三木隆司（千葉大学）

(19) サルコペニア・フレイルと性差
小川純人（東京大学）

【参加者名】

戸田知得（北海道大学），喜多俊文（大阪大学），清水有理（大阪大学大学院），中島友紀（東京医科歯科大学），土居雅夫（京都大学），櫻井　孝（国立長寿医療研究センター），阪上　浩（徳島大学大学院），神田　容（名古屋大学），黒田雅士（徳島大学大学院），付　友紀子（名古屋大学），米持奈央美（星薬科大学），川上歩花（徳島大学），田村優実（徳島大学大学院），須藤珠水（東京農工大学），松尾宏美（徳島大学大学院），福中彩子（群馬大学），小川純人（東京大学），富永玲奈（徳島大学大学院），宮本潤基（東京農工大学），渡辺啓太（東京農工大学），椎村祐樹（久留米大学），北野(大植) 隆司（東京農工大学），西田朱里（東京農工大学大学院），山内敏正（東京大学大学院），満島　勝（国立国際医療研究センター），坂野僚一（名古屋大学），杉山摩利子（名古屋大学），溝口　暁（名古屋大学大学院），柳沼裕史（名古屋大学），滝　啓吾（名古屋大学），茶本　凜（徳島大学），芝崎真裕（星薬科大学），志内哲也（徳島大学），田中　都（名古屋大学），菅波孝祥（名古屋大学），三島優奈（徳島大学），木村　藍（国立長寿医療研究センター），安藤貴史（産業技術総合研究所），岩部真人（東京大学），松川隼也（国立国際医療研究センター研究所），二木寛之（東京大学），原　加奈子（徳島大学），金森耀平（名古屋大学），稲葉有香（金沢大学），池田弘子（星薬科大学），植田大暉（星薬科大学），別府香名（徳島大学大学院），廣瀬友矩（名古屋大学），岩部美紀（東京大学），岩崎有作（京都府立大学），大林健人（京都府立大学），清水天幸（京都府立大学），高木博史（名古屋大学），岡本士毅（琉球大学），堤　理恵（徳島大学），孫　汝楠（名古屋大学），三木隆司（千葉大学），長沼孝雄（国立国際医療研究センター研究所），古橋眞人（札幌医科大学），井上　啓（金沢大学），田中智洋（名古屋市立大学），青谷大介（名古屋市立大学），能美太一（京都府立大学），長谷川結紀（京都府立大学），武藤明日香（京都府立大学），豊岡真悠（京都府立大学），小山博之（名古屋市立大学大学院），近藤邦生（生理学研究所），中島健一朗（生理学研究所），菊地晶裕（生理学研究所），上原優子（生理学研究所），箕越靖彦（生理学研究所），傅　欧（生理学研究所），三須宏武（生理学研究所），堀尾修平（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 10 名の研究者に発表をお願いした。具体的な発表は，肝臓・筋肉における代謝制御（稲葉・金森・堤・志内等），受容体・トランスポーター代謝調節（福中・椎村・岩部等），中枢における代謝制御（戸田・安藤・植田・近藤等），腸・運動器における代謝制御（岩崎・高木・大植・中島等），感覚器・代謝関連臓器・老化に関する代謝制御（別府・清水・三木・小川等）について行った。また，発表者および参加者全員に占める女性研究者の割合が 30%をこえ，男女共同参画の推進にも貢献できる研究会となった。本研究会は，ZOOM シンポジウム形式で行い，最新の技術とデータの共有，自由・活発な発表・議論が行われ，知見・研究技術・人的交流を深めることができ，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）脂肪肝再生過程で生じる細胞死の様式制御メカニズム

稲葉有香[1]，橋内咲実[2]，井上　啓[1,2]
（[1]金沢大学 新学術創成研究機構 栄養･代謝研究ユニット
[2]金沢大学 医薬保健学総合研究科 代謝生理学分野）

脂肪肝では，肝臓の再生能が障害される。我々は，脂肪肝再生障害の要因として，細胞内ストレスに伴う肝細胞死誘導が重要な役割を担うこと，脂肪肝の程度に応じて再生過程で生じる細胞死の量と質が変化することを明らかにした。特に，高度脂肪肝では，壊死が誘導され，重篤な肝障害を引き起こす。本研究は，高度脂肪肝再生過程で生じる細胞死の質を制御するメカニズムの解明を目的とした。

高脂肪食負荷マウスに対する70%肝切除後の再生過程において，中等度脂肪肝ではアポトーシスが，高度脂肪肝ではアポトーシス・ネクローシスが惹起された。高度脂肪肝の再生過程で，ストレス誘導性転写因子 ATF3 の発現が著増したことから，ATF3 欠損マウスを用いた検討を行った。ATF3 欠損群では，高度脂肪肝切除後再生過程でネクロプトーシスのみ消失した。実際，ATF3 欠損群では，ネクロプトーシス誘導分子 RIPK3 の発現及びリン酸化が減少したが，活性型カスパーゼ３は野生型と同等であった。一方，高度脂肪肝マウスへの ATF3 過剰発現は，RIPK3 発現を増加させ，ネクロプトーシスを惹起した。さらに，ネクロプトーシスをモニタリング可能な肝細胞株を用いた検討により，ATF3 過剰発現がネクロプトーシスを誘導することを明らかにした。

高度脂肪肝の再生過程で生じるネクロプトーシスの制御メカニズムとして，ATF3 が重要な役割を担うことを明らかにした。課題名と研究者名の間，研究者名と本文の間にはそれぞれ空行を１行ずつ入れてください。

（２）非アルコール性脂肪肝炎とクッパー細胞鉄代謝

金森耀平[1]，田中　都[1]，伊藤美智子[1,2,3]，越智　梢[1]，伊藤綾香[1]，小川佳宏[4]，菅波孝祥[1]
（[1]名古屋大学 環境医学研究所 分子代謝医学分野
[2]東京医科歯科大学 生体材料工学研究所 バイオエレクトロニクス分野
[3]神奈川県立産業技術研究所，[4]九州大学大学院 医学研究院 病態制御内科学分野）

脂肪肝が進行すると，炎症と線維化を伴う非アルコール性脂肪肝炎（nonalcoholic steatohepatitis: NASH）を発症する。NASH では，肝細胞死に応答してクッパー細胞が CD11c 陽性に形質転換することで病態形成を促進するが，形質転換の機序には不明点が多い。一方，鉄代謝異常が NASH 発症の引き金として指摘されているものの，詳細は不明である。本研究では，クッパー細胞鉄代謝が NASH の病態形成に及ぼす意義を明らかにすることを目的とした。

磁気細胞分離装置を利用し，NASH モデルマウスにおけるクッパー細胞を鉄高含有（Fe-hi）細胞，鉄低含有（Fe-lo）細胞に分類した。その結果，Fe-hi クッパー細胞が CD11c 陽性であり，炎症･線維化促進因子を高発現することから，細胞内の鉄蓄積が NASH におけるクッパー細胞の形質転換を誘導すると考えられた。分子機構として，鉄によるリソソームの機能障害が転写因子 MiT/TFE ファミリーを活性化することで，CD11c ならびに炎症・線維化促進因子の発現誘導に至ると考えられた。実際，NASH では，死細胞に近接する CD11c 陽性クッパー細胞において，MiT/TFE ファミリーの活性化が認められた。

NASH とクッパー細胞鉄代謝の関係の実態を明らかにした本研究は，新たな病態メカニズムの解明に資すると期待される。

（３）筋萎縮における尿中タイチン測定の意義

堤　理恵[1]，原加奈子[1]，三島優奈[1]，黒田雅士[1]，中西信人[2]，大藤　純[2]，松尾雅文[3]，阪上　浩[1]
（[1]徳島大学大学院 医歯薬学研究部 代謝栄養学分野
[2]徳島大学病院 救急集中治療部，[3]神戸学院大学 リハビリテーション学部）

ICU 入室患者に見られる顕著な筋萎縮はその後の離床や社会復帰の観点からも深刻である。しかしながら筋萎縮を診断できる明確なバイオマーカーは未だ存在しない。我々は，筋ジストロフィー患者において尿中タイチン濃度が筋萎縮の非侵襲的バイオマーカーとなり得ることに着目し，重症患者における尿中タイチン測定の意義を検討した。徳島大学病院及び徳島県立中央病院 ICU に 3 日以上入室が見込まれる成人の呼吸不全患者を対象とし，1，2，3，5，7 日目の尿中タイチン濃度の測定を行った。筋萎縮の評価には，超音波を用いて大腿直筋の筋断面積を測定した。尿中タイチン濃度(正常値; 1-3pmol/mg/dl)は, 1, 3, 5 日目にそれぞれ 27.9(16.8-59.6), 46.6(24.4-97.6)，38.4(23.6-83.0) pmol/mg Cr といずれも正常上限の 10 倍～15 倍に上昇した。さらに尿中タイチン濃度は 3～7 日目において大腿直筋の萎縮が大きいほど上昇が顕著であり (p≦0.03), ICU-AW や死亡率との関連も示唆された。現在，尿中タイチンの放出の機序および生理的意義について筋損傷，筋萎縮および敗血症モデルマウスを用いて検討している。本発表においては，骨格筋分解の結果増加する血中遊離アミノ酸濃度との関連と併せて報告する。

（４）身体不活動にともなう骨格筋代謝の変化が高次脳機能に及ぼす影響

志内哲也[1]，清水紀之[1]，近久幸子[1]，勢井宏義[1]
（[1]徳島大学大学院 医歯薬学研究部 統合生理学分野）

ロコモティブシンドロームやサルコペニアなど，運動不足が原因となる症状が注目されている。生活習慣病の発症への寄与率としても，身体不活動は喫煙や肥満と同等の位置づけがなされている。適度な運動が身心に対して良い影響があることは周知の事実であり，近年ではその分子メカニズムも明らかになりつつある。しかしながら，身体不活動によるマイナス効果については，疫学的には知られているが，機序についてはあまり知られていない。

身体不活動により，大きな影響が出る臓器の一つが骨格筋である。身体を動かすためには骨格筋の活動が必要であり，動かさなければ骨格筋は退廃する。すなわち，骨格筋の変化が発端となり個体に様々な影響を与える「筋脳相関」による生体制御が，身体不活動による生活習慣病発症の機序になる可能性が考えられる。

我々は，身体不活動による骨格筋代謝の変化に影響をもたらす因子として，グルココルチコイド系に焦点を当てて検討を行っている。本発表では，身体不活動マウスモデルや骨格筋特異的遺伝子制御マウスモデルを用いた研究を紹介し，身体活動におけるグルココルチコイド系を介した骨格筋代謝の変化と高次脳機能への関連性について議論したい。

（５）亜鉛トランスポーターから究明する代謝調節機構の解明 ～生活習慣病に対する治療戦略を目指して～

福中彩子[1]，木村　徹[2]，深田俊幸[3]，藤谷与士夫[1]
（[1]群馬大学 生体調節研究所，[2]杏林大学 医学部，[3]徳島文理大学 薬学部）

人体における代謝調節機構の理解は, 主に生活習慣の改善おいて必要不可欠となっている。この代謝機能を担う組織や細胞の働きは極めて多くの分子やシグナル伝達系により複雑に制御されると考えられている。そして代謝を担う個々の細胞種においては, 近年生体内に微量に存在する金属元素の関連分子が様々なメカニズムで調節に関与することが明らかになっており, 個々の金属関連分子が代謝において如何なる機能を発揮するかに注目が集まっている。我々のグループはこれまでに特定の亜鉛のトランスポーターが, 膵島の機能や脂肪細胞の分化を制御することを見出したため, その詳細なメカニズムの解明を目指した研究を行っている（Tamaki M，*J Clin Invest.* (2013), Fukunaka A, *PLoS Genet.* (2017) ）。本発表では我々がこれまで明らかにしてきた亜鉛トランスポーターの代謝調節機構における役割と, その制御を利用した生活習慣病の治療戦略について議論したい。

（６）立体構造情報に基づいた，グレリン受容体のリガンド認識機構の解明

椎村祐樹，児島将康（久留米大学 分子生命科学研究所 遺伝情報研究部門）

グレリンは，胃から発見されたペプチドホルモンである。グレリンの活性化は 3 番目のセリン残基へのオクタン酸修飾によって制御されており，オクタン酸修飾されたグレリン（活性型グレリン）は，グレリン受容体に結合することで，成長ホルモンの分泌促進や摂食亢進，エネルギー代謝調節など多彩な生理作用を示す。したがってグレリン受容体は脂肪酸修飾の有無を識別するための分子機構を備えていると考えられるが，その認識機構は明らかになっていない。そこで本研究では，グレリン受容体の立体構造を決定し，そのリガンド認識機構の解明を試みた。

X 線結晶構造解析によって，アンタゴニストが結合したグレリン受容体の立体構造を 3.3 Å 分解能で決定した。取得した 3 次元構造からリガンド結合部位について詳細に解析した。その結果，グレリン受容体のリガンド結合部位に，極性アミノ酸の局在とフェニルアラニン残基の集積という 2 つの特徴を見出した。そこで，これらのアミノ酸をそれぞれアラニンに置換したグレリン受容体変異体を作製し，活性型グレリンとの結合実験を行った。その結果，作製したグレリン受容体変異体では，活性型グレリンとの結合能が著しく減衰することが確認された。したがって，グレリン受容体は，リガンド結合部位の極性アミノ酸とフェニルアラニンによって活性型グレリンを認識していることが示唆された。

（７）健康長寿を目指した新規糖尿病治療法創製に向けた取り組み

岩部（岡田）美紀，岩部真人，山内敏正
（東京大学大学院 医学系 研究科糖尿病･代謝内科）

生活習慣病は，健康長寿の最大の阻害要因である。糖尿病は，がんや認知症などのリスクが高まり健康な人より約 10 年短命となる。我々は，脂肪細胞から分泌されるホルモンであるアディポネクチンとその受容体 AdipoR の作用低下がこれら疾患の原因となることを明らかにしてきた。アディポネクチン/AdipoR を標的にした抗糖尿病・生活習慣病薬開発を目指し，分子メカニズムに立脚した治療戦略研究を行ってきた。これまでに AdipoR アゴニストの取得に成功し，AdipoR の立体構造情報を利用した構造ベース創薬を目指してきた。

さらに，糖尿病・生活習慣病に対して，運動が有効な予防法・治療法であることはよく知られているが，運動の詳細な分子メカニズムは未だ十分に解明されておらず，さらに，運動を継続することは非常に困難であるという課題が存在する。我々は，運動の分子メカニズムを明らかにすると共に運動の実施率向上のための取り組みを行っている。

激増する糖尿病・生活習慣病治療法創製の有力なストラテジーとして，構造ベース創薬の基盤が整い，AdipoR を標的とする治療法・治療薬の開発の加速が期待される。また，糖尿病・生活習慣病を解決し，先制医療のコンセプトを具現化し，運動の実施率向上を目指した健康長寿に資する画期的な新規糖尿病・生活習慣病治療法開発の取り組みと可能性についても紹介したい。

（８）視床下部のプロスタグランジン生成と全身糖代謝の関係

戸田知得 [1]，Lee Ming Liang[1]，松永洋和 [1]，杉浦悠毅 [2]，早坂孝宏 [3]，北沢　泉 [1]，岡松優子 [1]，木村和弘 [1]
（[1] 北海道大学大学院 獣医学研究院 生化学教室，[2] 慶応義塾大学 医学研究科 医化学教室
[3] 北海道大学 医学研究院 外科系部門 外科学分野）

視床下部は血中の栄養素やホルモン濃度の変化によって全身のエネルギー状態をモニターしている。その状況に応じて摂食量や全身組織の代謝を調節することで体重や血糖値などを一定に保つ。特に，視床下部には血糖値のセンサーとして働くグルコース感受性神経があり，骨格筋の糖取り込みや肝臓からの糖産生を調節して血糖値を一定に保っている。肥満すると視床下部によるエネルギー感知システムの機能が低下して，全身エネルギーの恒常性が維持できなくなる。しかし，そのメカニズムは十分に解明されていない。

細胞膜リン脂質中には不飽和脂肪酸が存在し, 様々な刺激によって遊離され, プロスタグランジン類の原料として利用される。しかし, 血糖値の変化または肥満が視床下部のプロスタグランジン類を生成するか, また, 視床下部のプロスタグランジン類が血糖値の調節に重要であるかは不明である。我々は, イメージング質量分析器および高速液体クロマトグラフィー質量分析器を用いて, 視床下部における細胞膜リン脂質量の変化およびプロスタグランジン類の生成を測定した。その結果, 血糖値の増加および肥満が視床下部におけるアラキドン酸含有リン脂質量を低下し, ある種のプロスタグランジン類の生成を増加することで, 全身の糖代謝調節に重要な役割を営むことを見出した。本研究会ではこれらの知見について紹介し，血糖値増加と肥満の違いについて議論したい。

（９）軽度認知障害から中期のアルツハイマー型認知症患者における APOE-ε4 と体格・身体組成の関連

安藤貴史 [1]，木村　藍 [2]，杉本大貴 [2]，櫻井　孝 [2]
（[1] 産業技術総合研究所，[2] 国立長寿医療研究センター）

背景：

認知症患者における体重低下は, 認知症の進行や死亡率の増加に関わる。また，アルツハイマー型認知症病を発症する人は, 発症の数年前から体重の低下が見られることが明らかになっている。これらのことから，アルツハイマー病における体重低下の要因調査や体重低下する人の特徴を把握することで, アルツハイマー病の進行リスクの顕在化や, 認知症発症や進行の遅延などに寄与する可能性がある。したがって，本研究では，認知機能が低下している高齢者において，APOE-ε4 の有無と体格・身体組成に関連があるか明らかにすることを目的とした。

方法：

2010 年 10 月から 2018 年 2 月の期間，もの忘れ外来を初めて受診した 65 歳から 89 歳の外来患者において，軽度認知障害から中期のアルツハイマー型認知症の 1690 名を対象とした。対象者の APOE4 の保有有無と body mass index（BMI）や，除脂肪量，脂肪量，体脂肪率を評価し関連を調べた。

結果：

併存疾患や認知機能などの交絡因子の補正後，女性において APOE-ε4 を保有していると，BMI が低く，体脂肪量や体脂肪率が少なかった。一方で，男性では関連がみられなかった。

結論：

認知機能が低下した高齢女性では，APOE-ε4 の有無は認知機能のみならず，認知機能とは独立して BMI や体脂肪量と関連することが明らかになった。我々の結果より，APOE-ε4 を保有している高齢女性は，栄養の充足状態や体重の管理により気を配る必要があると言えるだろう。

（10）糖尿病における精神障害に対する neuropeptide Y の関与

植田大暉，米持奈央美，鎌田知紘，池田弘子（星薬科大学 薬物治療学研究室）

糖尿病では精神疾患の罹患率が高いことが報告されている。うつ病などの精神疾患では社会性の低下が発症要因となることから，糖尿病においても社会性が低下することで精神疾患が発症する可能性が考えられる。そこで，1 型糖尿病モデルである streptozotocin (STZ) 誘発糖尿病マウスの社会性について検討した結果，STZ 誘発糖尿病マウスでは社会性が低下していることが明らかになった。一方，神経ペプチドである neuropeptide Y はエネルギー調節だけでなく情動にも関与することが指摘されている。そこで NPY が社会性に関与するか検討したところ，NPY Y_2 受容体の刺激により社会性が低下した。さらに，NPY Y_2 受容体拮抗薬の投与により STZ 誘発糖尿病マウスにおける社会性の低下が改善した。以上より，糖尿病時には，NPY 神経が活性化することで社会性が低下することが示唆された。一方，扁桃体や腹側海馬のグルタミン酸神経が社会性に関与することが報告されていることから，グルタミン酸神経の関与について検討した結果，NPY はグルタミン酸神経の活性化を介して社会性を低下させることを示唆する結果が得られた。本発表では，糖尿病における社会性の低下に対する NPY ならびにグルタミン酸神経の関与についての研究成果を発表したいと考えている。

（11）エネルギー代謝を制御する中枢—末梢神経回路

近藤邦生，箕越靖彦（生理学研究所 生殖･内分泌系発達機構研究部門）

我々の体は，外界の環境の変化に対して体内のエネルギー状態を安定に保つ「エネルギー恒常性」を持つ。恒常性の制御に重要な役割を果たしているのが，脳である。脳は，外界の情報と体内の情報を取り入れて統合し，末梢組織の機能を制御する。

我々は近年，エネルギー代謝を制御する中枢—末梢間神経回路の解明に取り組んでいる。仮性狂犬病ウイルス（PRV）は神経細胞に感染し，シナプスを介して逆行的に移動する性質を持つ。PRV を末梢組織に接種するとウイルスは接種した組織に投射する一連の神経回路に感染するため，末梢組織を制御する神経回路を網羅的に同定することができる。我々は PRV を用いて，エネルギー代謝を担う末梢組織（肝臓・骨格筋・褐色脂肪組織）を制御する中枢神経回路の解析を行い，他の中枢神経から情報を受け取り，脊髄に投射して末梢組織を制御する神経細胞（プレモーターニューロン）が，限局された脳領域に存在することを見出した。視床下部室傍核に存在するプレモーターニューロンの多くが Nitric oxide synthase 1 (Nos1) を発現していた。この室傍核 Nos1 ニューロンは，肝臓･骨格筋･褐色脂肪組織の全てに投射しており，化学遺伝学的手法を用いて人為的に活性化すると，エネルギー消費量と血糖値が上昇した。このことから，Nos1 ニューロンが末梢組織のエネルギー代謝を制御することが示唆される。

（12）腸 GLP-1 の血漿インスリン濃度依存的なインスリン感受性亢進作用

岩崎有作[1]，大林健人[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，[3]神戸大学大学院 医学研究科）

腸ホルモン glucagon-like peptide-1 (GLP-1) は，膵β細胞に作用し，インスリン分泌促進を介して高血糖を改善する。加えて，腸 GLP-1 は内臓感覚神経の求心性迷走神経を活性化して耐糖能を向上させる経路も明らかとされた。しかし，腸 GLP-1 の求心性迷走神経を介した耐糖能向上作用の詳細なメカニズムは不明な点が多い。本研究では，GLP-1 分泌促進剤として同定した希少糖アルロースを用いて，健常マウスと糖尿病モデルマウスに対する希少糖アルロースの GLP-1 分泌促進を介した血糖改善作用とその機序を検討した。

健常マウスへのアルロース単回経口投与は GLP-1 分泌を亢進させたが血糖値に影響を与えなかった。高血糖･高インスリン血症を示す 2 型糖尿病モデルマウス（高脂肪食肥満マウス，db/db マウス）へのアルロース投与は顕著に高血糖を改善した。この時血漿インスリン値に変動はなく，インスリン抵抗性が改善していた。高血糖・低インスリン血症の 1 型糖尿病モデルマウス（Akita マウス）へのアルロース投与は高血糖を改善しなかった。一方，Akita マウスへのアルロース投与は，インスリン腹腔内投与による血糖低下作用を増強させた。

以上より，腸 GLP-1 分泌促進は，高い血漿インスリン値の時のみインスリン感受性を亢進させて高血糖を改善することが示された。

（13）食塩と脂質の過剰摂取が体重，糖代謝に与える影響

高木博史[1]，滝　啓吾[1]，坂野僚一[1,2]，有馬　寛[1]
（[1]名古屋大学大学院 医学系研究科 糖尿病･内分泌内科学
[2]名古屋大学 総合保健体育科学センター）

日本人の食塩摂取量は諸外国と比較して伝統的に多いことが知られている。食生活の欧米化によって日本人のエネルギー摂取に占める脂質の割合は増加しており，日本人の食生活は食塩と脂質の過剰摂取となっている。我々は食塩と脂質の過剰摂取が体重と糖代謝に与える影響をマウスモデルで検討した。

8 週齢 C57BL6J 雄性マウスを普通食(NCD 群)，高塩分食(NCD+NaCl 群)，または高脂肪食(HFD 群)，高脂肪高塩分食(HFD+NaCl 群)で 30 週間飼育し，体重，耐糖能を比較した。NCD 群と NCD+NaCl 群においては体重，耐糖能に有意差を認めなかったが，HFD 群と比較して HFD+NaCl 群は，累積摂餌量は同等であったものの飼料効率の低下，体重増加の抑制，肝重量の低下，精巣周囲脂肪組織重量の増加を認めた。NCD 群と NCD+NaCl 群においてはインスリン感受性と耐糖能に差を認めなかったが，HFD 群と比較して HFD+NaCl 群は，インスリン感受性改善を認めたものの耐糖能悪化を認め，ピルビン酸負荷試験において肝糖新生亢進を認めた。HFD 群と比較して HFD+NaCl 群は，ブドウ糖負荷試験中の血中インスリン濃度が低く，膵島の面積と数の有意な減少を認めた。

以上より，食塩と脂質の過剰摂取は，肥満度が低くインスリン分泌不全を合併した 2 型糖尿病の病態形成に関与する可能性が示唆された。

（14）中鎖脂肪酸受容体を介した新規代謝調節機構

大植隆司[1]，増島侑紀[1]，野仲葉月[1]，五十嵐美樹[1]，加藤裕教[2]，木村郁夫[1,2]
（[1]東京農工大学大学院 農学研究院，[2]京都大学大学院 生命科学研究科）

食生活の欧米化に伴う脂質の過剰摂取が，代謝性疾患の誘発・増悪化に関与することが知られているが，近年，代謝性疾患の予防・改善の観点から，摂取する食事脂質の量だけでなく，質の重要性に注目が集まっている。そのような中，脂肪酸は単にエネルギー源として利用されるだけではなく，様々な細胞内プロセスに関係するシグナル分子として作用する可能性が明らかになってきた。その機能を担う生体内の受容体として，G タンパク質共役受容体（GPCR）が示唆されている。しかしながら，その詳細な認識機構とそれに続く機能発現を含めた分子機序は明らかにされていない。なかでも，手術後の栄養管理や低栄養患者の栄養補給，また小児のてんかん治療食（ケトン食）などの医療用食品として利用される MCT オイルの構成脂肪酸である中鎖脂肪酸は，生体内において様々な生理機能に関与すると言われているがその正確な分子作用機序は明らかになっていない。

本研究では，中鎖脂肪酸に着目し，GPCR を介した代謝調節機構を明らかにする一環として，受容体遺伝子欠損マウスを用いた個体レベルでの検討に加え，それら受容体の強制発現株を用いた中鎖脂肪酸の詳細な受容機構を細胞レベルで検証した。その結果，中鎖脂肪酸は GPCR を介して代謝機能調節に寄与することが示唆された。今後，代謝性疾患の予防を対象とした機能性食品の開発や，脂肪酸受容体を標的とした創薬への応用につながることが期待される。

（15）骨量減少を抑制する脂肪酸の発見

中島友紀[1,2]
（[1]東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科 分子情報伝達学，
[2]日本医療研究開発機構 AMED-CREST）

ローヤルゼリー（Royal Jelly: RJ）は，ミツバチの働き蜂が蜂蜜や花粉を食べ，その体内で合成し，咽頭腺，大腮腺から分泌する乳白色クリーム状の物質で，女王蜂やその幼虫に必須な特別食物である。RJ は，ロイヤルラクチンなどたんぱく質が多いほか，アミノ酸，脂質，ビタミン，ミネラルなど，多彩な成分で構成されている。古来よりヒトにおける RJ の摂取は，抗炎症，血圧改善，肥満予防など様々な健康増進の効果をもたらすことが知られており，RJ に特徴的な様々な機能性分子が含まれていると考えられてきた。これまでに，RJ の摂取が骨量の維持に有意な効果をもたらすことが示唆されてきたが，その機能性分子や作用メカニズムについては不明であった。

本研究では，ローヤルゼリー（Royal jelly: RJ）の様々な分画解析から，脂肪酸である 10-ヒドロキシ-2-デセン酸（10H2DA）が骨破壊を抑制する分子であることを発見した。さらに，10H2DA が遊離脂肪酸受容体 4（FFAR4）を活性化し，NF-κB シグナルを抑制することで破骨細胞分化を抑制することを明らかにした。

本研究の成果から，閉経後骨粗鬆症のような病的骨破壊を伴う骨疾患の新規治療法の開発や機能性食品による骨健康の増進への応用が期待される。

（16）栄養素研究の新たなモデル動物として遺伝子改変メダカの作製

別府香名[1]，堤　理恵[1]，黒田雅士[1]，阪上　浩[1]
（[1]徳島大学大学院 代謝栄養学分野）

【背景・目的】

化学療法による味覚障害は，味覚受容体の down-regulation が関与しており，受容体発現の dysregulation が味覚障害の原因の一つである可能性がある。しかし，齧歯類の味蕾細胞が少ないことや倫理上及び動物愛護の観点から，詳細な機序や有効成分を明らかにすることは困難である。本研究では，味覚受容体を蛍光ラベルした遺伝子改変メダカを作製することで，剖検の必要のない実験系の確立を目指し，栄養素研究の新たなモデル動物としての有用性を検討した。

【方法】

OK-Cab^lf メダカの受精卵に CRISPR/Cas システムを利用したゲノム編集を行い，味覚受容体 T1R3（Taste Receptor Type1 member3）遺伝子領域に GFP を導入した味覚受容体可視化トランスジェニックメダカを作製した。稚魚に抗がん剤とアミノ酸曝露を行い，T1R3 の発現変化を，リアルタイム PCR による遺伝子発現量の解析と蛍光強度により評価した。

【結果・考察】

ノックイン系統において，口唇，鰓耙，咽頭部に GFP 蛍光が認められた。抗がん剤の 5-FU 曝露により T1R3 遺伝子発現量の減少と蛍光強度の減弱が確認された。一方，グルタミン酸ナトリウム曝露により T1R3 発現が増加した。今回作製したノックイン系統は，味覚研究のモデル動物として有用である可能性が示唆された。

（17）急性腎虚血再灌流モデルにおいてアディポネクチンと T-カドヘリンは血管透過性亢進と尿細管細胞傷害に保護的に作用する

清水有理（大阪大学大学院 医学系研究科 内分泌･代謝内科学）

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である。多量体 APN は，GPI アンカー型膜蛋白 T-カドヘリン（Tcad）と高親和性に相互作用することで血管，心筋，骨格筋組織に集積し，血管内皮細胞，心筋・骨格筋細胞，間葉系幹細胞のエクソソーム産生を促進する。

腎臓は，心血管組織と比較すると Tcad 発現量は相対的に低いが，APN は種々の腎障害モデルにおいて保護的に作用することが報告されている。そこで我々は APN と Tcad の腎臓における局在と作用について検討した。

本研究では①免疫染色で APN と Tcad が細動脈までの血管内皮と傍尿細管毛細血管の周皮細胞に存在すること，②マウス急性腎虚血再灌流モデルで Tcad-KO ならびに APN-KO マウスが野生型に比べてより高度な尿細管上皮細胞障害と血管透過性を呈したこと，③障害に応答して Tcad-KO と APN-KO マウスの両方で野生型ではみられなかった周皮細胞の loss を認めたこと，④In vitro でマウス初代周皮細胞も Tcad を発現し，APN 添加で Tcad 依存的にエクソソーム分泌を促進したことを明らかにした。

周皮細胞から放出されたエクソソームは，障害を受けた尿細管上皮細胞や毛細血管網に対して保護的な役割を担っていると報告されており，今回のモデルでも同様に作用していると考えられる。以上より APN は Tcad を介して周皮細胞に集積し，マウス急性腎虚血再灌流モデルにおいて腎保護的に作用したと考えられる。

（18）膵 β 細胞再生の分子機構

三木隆司[1]，波多野亮[1]，張　錫麟[1]，陳　雪[1]，馬　玉潔[1]，金田篤志[2]，李　恩瑛[1]
（[1]千葉大学大学院 医学研究院 代謝生理学，[2]千葉大学大学院 医学研究院 分子腫瘍学）

膵 β 細胞の量と質の低下は糖尿病の重要な発症原因である。2 型糖尿病患者では，膵 β 細胞量は糖尿病発症に先立って減少し始め，発症後も進行するが，健常者では，膵 β 細胞死による減少が細胞増殖で代償され，生涯にわたり膵 β 細胞量はほぼ一定に維持される。膵 β 細胞の増殖制御機構の解明は重要であり，本研究では膵島再生モデルマウスを用いてこの分子機構を解析した。

私たちは膵 β 細胞特異的にジフテリア毒素受容体（DTR）を発現するマウス（DTR マウス）を作製し，ジフテリア毒素（DT）を投与すると，残存膵 β 細胞が速やかに細胞分裂を起こすことを見出した。

今回はこのマウス（DTR マウス）を用いて，この再生機序を分子レベルで解析した。DTR マウスでは，DT 投与後に残存する膵 β 細胞が活発な細胞分裂を起こし，比較的短期間（14 日程度）で膵島再生することが明らかになった。再生機序を分子レベルで解明するために，再生膵島をレーザーキャプチャーマイクロダイセクション（LCM）法で回収し，遺伝子発現を qPCR 解析した。すると Ngn3 や MafB など，未熟な膵 β 細胞の分子マーカーと細胞分裂を示す Ki67 の発現が増加し，機能分子である Ins2 などの発現が減少することを見出した。この様に，DT 投与後には残存する膵 β 細胞が脱分化・増殖し，膵 β 細胞が再生することが明らかになった。本シンポジウムではこの機序についてご紹介したい。

（19）サルコペニア・フレイルと性差

小川純人（東京大学大学院 医学系研究科 老年病学）

これまでの知見から，老年疾患や老年症候群の中には性差が存在することが知られており，さらに生殖系臓器や心臓，脳，腎臓をはじめとする非生殖系臓器における性差，薬物動態や薬力学における性差，寿命や健康寿命の性差なども次第に明らかとなってきている。とりわけ，サルコペニアやフレイル（虚弱）の発症・進展に関しては，性差の存在や性ホルモン動態との関連性が浮かび上がっていることに加えて，骨代謝や認知機能などの臓器連関における骨格筋の役割や機能も示唆されている。また，漢方医学ではフレイルと虚証（腎虚，気虚，血虚，脾虚など）との接点も注目され，漢方補剤の中には抗炎症効果や性ホルモン様作用がある可能性が示唆されている。今回，サルコペニア・フレイルとその性差について取り上げ，その中で性ホルモン作用の特性や性差に配慮した運動・栄養アプローチ，ならびにホルモン補充や漢方補剤をはじめとした薬物療法とその可能性について紹介したい。

10. 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）

2020 年 9 月 14 日－9 月 15 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）新規「摂食リズム異常モデルマウス」の肥満表現系解析
岩崎有作（京都府大）

（２）摂食リズムと概日リズムの相互作用
中澤和雄（豊橋技科大）

（３）The role of neuropeptides in satiety
Young-jai You（名古屋大）

（４）視床下部分泌性小タンパク質の脂肪蓄積作用
福村圭介（広島大）

（５）グルカゴンとタンパク質嗜好性
松居　翔（京都大）

（６）報酬系に対する脳内脂質の役割
酒寄信幸（広島大）

（７）サルを多面的に見つめてうつ病研究を推進するツール
山中　創（京大霊長研）

（８）食・代謝・光情報の統合と摂食概日リズム創出：室傍核の役割
矢田俊彦（関西電力医学研究所）

（９）匂いに基づく摂食行動の神経調節性シグナルによる調節機構
モハメッド･モンジュルル･アハサン（高知大学）

（10）竹食の霊長類における TAS2R16 の機能変化
今井啓雄（京大霊長研）

（11）塩味とうま味の相乗作用に関する研究
小澤貴明（大阪大蛋白研）

（12）末梢塩味受容機構の解明
樽野陽幸（京都府医大）

【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（産業技術総合研究所），五十嵐麻希（東京大学大学院），五十嵐美樹（東京農工大学），石本太我（北海道大学），市川智也（㈱ロッテ），稲葉明彦（京都大学霊長類研究所），井上可南子（京都大学），井原悠介（味の素），今井啓雄（京都大学），岩越栄子（広島大学），岩崎有作（京都府立大学），岩畑慎一（ハウス食品㈱），岩間大貴（京都大学），上田修平（名古屋大学環境医学研究所），上原優子（生理学研究所），宇賀神道彦（東京海洋大学大学院），浮穴和義（広島大学），OH JUNGMIN（京都大学大学院），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），大林健人（京都府立大学），岡　和（豊田中央研究所），岡　和來（京都大学），岡田紫苑（京都大学），岡本士毅（琉球大学大学院），小澤貴明（大阪大学），垣田真奈美（豊田中央研究所），門田惇希（広島大学），鴨井享宏（ハウス食品グループ本社㈱），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㈱），北沢　泉（北海道大学獣医学研究院），木村友紀（松谷化学工業㈱），河内花菜子（京都大学），

小山博之（名古屋市立大学大学院），近藤高史（近畿大学），近藤邦生（生理学研究所），酒寄信幸（広島大学），佐々木　努（京都大学），志内哲也（徳島大学），柴田諒祐（日本製粉㈱），清水愼太郎（ハウス食品㈱），清水天幸（京都大学），白石郁美（味の素㈱），相馬祥吾（京都府立医科大学），鷹股　亮（奈良女子大学），竹隈幸洋（ハウス食品グループ本社㈱），竹村晶子（奈良県立医科大学），玉置麻理（ハウス食品㈱），樽野陽幸（京都府立医科大学），柘植杏菜（ライオン㈱），都地真澄（東京海洋大学），戸田知得（北海道大学），富　研一（不二製油グループ本社㈱），豊原良和（高砂香料工業㈱），内藤万菜（広島大学），長崎恭久（日清食品ホールディングス㈱），中澤和雄（豊橋技術科学大学），中島健一朗（生理学研究所），中村文哉（アサヒクオリティーアンドイノベーションズ㈱），成松勇樹（広島大学），新田貴大（ハウス食品グループ本社㈱），沼野利佳（豊橋技術科学大学），沼部令奈（京都大学），野尻健介（長谷川香料㈱），野村憲吾（京都府立医科大学），乗添彩乃（奈良女子大学），伯川美穂（京都大学），傅欧（生理学研究所），福村圭介（京都第二赤十字病院），藤井　徹（八千代病院），伏見駿亮（京都大学大学院），北條江里（日本ハム㈱），堀尾修平（生理学研究所），松居　翔（京都大学），松本英希（味の素㈱），丸山世倫（京都大学），三須宏武（生理学研究所），MISBAH RASHID（生理学研究所），箕越靖彦（生理学研究所），三村朱花（広島大学），宮本理人（徳島大学），村田航志（福井大学），Md. Monjurul Ahasan（高知大学），森紀之（同志社女子大学），森本恵子（奈良女子大学），森脇翔悟（広島大学），八十島安伸（大阪大学），矢田俊彦（関西電力医学研究所），山内優歩（奈良女子大学），山口正洋（高知大学），山下真理子（奈良女子大学），山中　創（京都大学霊長類研究所），You, Young-Jai（名古屋大学），吉川貴仁（大阪市立大学大学院），吉田健人（京都大学），Rattanajearakul Nawarat（生理学研究所），綿屋佑紀（ポッカサッポロフード&ビバレッジ㈱）

【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 5 回食欲・食嗜好の分子・神経基盤研究会が 9/14-15 に zoom によるオンラインで開催された。新型コロナウイルス対策のため，オンサイトでの開催を断念し，オンラインのみの開催としたが，参加へのハードルが下がり，参加者が例年（90～100 名程度）よりも 1 割ほど増えた（合計 111 名。内訳は，アカデミア 77 名，産業界 29 名，その他 5 名）。オンサイト開催の際に必要な「出張」がなくなったため，参加しやすくなった属性の方々（20 代と産業界）の参加が増えた。

初のオンライン開催であったため，最低限必要な内容に絞った形式での開催となった。その結果，発表形式は口頭発表（1 種類のみ），ポスター発表なし，とした。その代わりに，特別講演を今回初めて導入した。ただし，オンライン開催の問題点として，例年積極的に行っている休憩時間における参加者間の情報交換ができなかったり，発表に対する質疑時間が不十分であったりなど，課題も見られた。

オンライン開催の功罪が分かる研究会となったが，参加者の満足度は例年通り高く，来年も参加したいという声が大半であった。ただし，来年の開催フォーマットとしては，オンサイト＋オンライン（併用），あるいは，オンサイトでの開催希望が多く，オンライン開催のみの希望は少なかった。

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）新規「摂食リズム異常モデルマウス」の肥満表現系解析

山下栞奈（京都府立大学 生命環境学部）
矢田俊彦（関西電力 医学研究所）
岩崎有作（京都府立大学 生命環境学部，京都府立大学大学院 生命環境科学研究科）

摂食リズム異常（非活動期の過食）は内臓肥満や代謝疾患の強力な成因である。しかし，摂食リズム障害の改善薬は未だ開発されていない。その理由は，良い摂食リズム異が存在しないことが考えられる。発表者らは，従来の特殊技術（遺伝子改変）や長期間の肥満誘導飼育（高脂肪食負荷 2 ヶ月）を必要とせず，マウスを絶食・明期再摂食するだけで摂食リズムを崩せることを見出した（2016 年の本会にて発表）。本研究では，この新規摂食リズム異常モデルマウスの肥満表現系について解析をした。

自由摂食群を対照群とし，約一日絶食・明期再摂食させたマウスの摂食量を調べた。再摂食後 4 日間は明期摂食量のみが有意に増加し，そして，累積摂食量は自由摂食群と等しくなった。絶食期間中は有意に脂質代謝亢進しが，再摂食後 4 日間の脂質代謝は低下し，そのためこの 1 週間の累積脂質燃焼量は自由摂食群より有意な低値を示した。絶食から 1 週間に解剖すると，内臓脂肪重量が約 1.5 倍に増加した。週に一度の一日絶食・明期再摂食を 8 週間繰り返すと，内臓肥満を呈し，インスリン抵抗性を惹起した。一日絶食・明期再摂食後，時間給餌制限により強制的に明期過食を防止すると，脂質代謝低下と内臓脂肪蓄積を抑制した。また，GLP-1 リリーサーの希少糖アルロースの投与によっても，明期過食と内臓肥満を是正した。本モデルマウスが今後の摂食リズム異常改善薬の開発に役立つかもしれない。

（２）摂食リズムと概日リズムの相互作用

中澤和雄[1]，坪井貴司[2]，沼野利佳[1]
（[1]豊橋技術科学大学 環境生命工学専攻，[2]東京大学大学院 総合文化研究科 広域科学専攻）

神経伝達物質の一種である神経ペプチド Y(Neuropeptide Y：NPY) は，摂食行動を促進させる。具体的には，視床下部弓状核に存在する NPY 産生ニューロンが，室傍核へ NPY を分泌することで摂食行動が促進される。一方，概日リズムの制御中枢である視交叉上核（SCN）に対する NPY 分泌には，概日リズムがあり，マウスでは，夜間に NPY 分泌量のピークが現れる。そこでマウスに毎日一定時刻に給餌させる制限摂食を行うことで, 行動リズムなどの概日リズムの位相が, 摂食時間に同調して変化することが報告されている。

SCN に対する NPY 分泌量を測定することで，制限摂食が SCN の概日リズム制御への影響を解析できる。そこで本研究では NPY に緑色タンパク質 Venus を融合させた NPY::Venus を強制発現させた NPY 可視化トランスジェニック（Tg）マウスを作出し，制限摂食時の SCN における NPY 分泌量を測定した。

一方 SCN の概日リズムを, Period1 時計遺伝子の発現変動を指標として測定した。具体的には, 化学発光によって Period1 時計遺伝子発現変動をリアルタイム可視化解析できる (Period1-Luc)Tg マウスを用いた。そして，制限摂食時の Period1-Luc Tg マウスの SCN と消化管を単離培養し，その概日リズムを比較検討した。

本研究会では，制限摂食時の SCN と消化管の概日リズムへの影響の相違について議論したい。

（３）The role of neuropeptides in satiety

Mei Makino，Young-Jai You
（Neuroscience Institute, Nagoya University）

From simple invertebrates to complicated humans, most animals exhibit a behavioral sequence of satiety: after full feeding, animals stop eating and fall asleep. We found C. elegans exhibits satiety quiescence that mimics post-prandial sleep in mammals. Satiety quiescence is regulated by insulin, cGMP and TGFβ signaling in neurons, as well as by fat metabolism mediated by the SREBP-SCD pathway, suggesting a robust conservation in behavior and molecular pathways in feeding regulation between C. elegans and mammals. Based on this conservation, we investigate the neuro-molecular mechanisms of appetite regulation, taking an advantage of the simple yet powerful genetics and rich resources available in C. elegans.

Neuropeptides regulate many kinds of homeostasis, such as energy and sleep homeostasis. To find neuropeptides that regulate feeding, we performed an RNA interference-based screen of a neuropeptide family, FLPs, which plays a conserved role in feeding in invertebrates as well as mammals. Among 28 tested flp genes, we identified 10 FLPs that regulate satiety quiescence. Among them flp-11, known to regulate other types of sleep-like behaviors in C. elegans, plays the most significant role in satiety quiescence; the flp-11 mutation reduces satiety quiescence, whereas over-expression of flp-11 enhances it. FLP-11 acts in RIS neuron, as a mutant of aptf-1, a transcription factor required for RIS cell fate determination, is also defective in satiety quiescence. We are currently investigating how and where FLP-11 interacts with the cGMP and TGFβ signals that also regulate satiety quiescence. Taken together, our study could provide an insight into understanding how neuropeptides regulate feeding behavior by unveiling the conserved molecular mechanisms and the underlying neural circuit.

（４）視床下部分泌性小タンパク質の脂肪蓄積作用

福村圭介，成松勇樹，鹿野健史朗，齋藤鷹也，近藤邦裕，古満芽久美，岩越栄子，浮穴和義
（広島大学大学院 統合生命科学研究科）

我々は近年, 鳥類や哺乳類の視床下部に特異的に発現し, 80 アミノ酸残基の分泌性小タンパク質をコードする新規遺伝子を発見した。この小タンパク質を，C 末端のアミノ酸配列（Gly-Leu-NH2）から Neurosecretory protein GL (NPGL) と名付けた。これまでに，NPGL は脂肪蓄積や摂食行動を亢進することが明らかになっている。本研究では, ラットおよびマウスを用いて，食餌中の栄養分が NPGL の生理作用に与える影響について検討した。

先ず，栄養分の組成が異なる食餌下で，脳室内に NPGL を 2 週間慢性投与し，脂肪蓄積量をそれぞれ測定した。その結果，糖質が多く含まれる食餌下では，NPGL の投与により，脂肪蓄積量が顕著に増加した。また，アデノ随伴ウイルスにより Npgl を過剰発現させたところ，食餌からのグルコースの取り込みが亢進し，脂肪蓄積量も増加した。さらに，白色脂肪組織での de novo 脂質合成酵素の転写量も増加した。一方で，脂質含有量が多く糖質含有量が少ない食餌下では, NPGL の脂肪蓄積作用が認められなかった。すなわち，NPGL は，糖質を基質とした de novo 脂質合成を亢進することで，脂肪蓄積を促すことが示唆された。

（５）グルカゴンとタンパク質嗜好性

松居　翔[1]，中川祐子[2]，藤谷与士夫[2]，北村忠弘[3]，佐々木　努[1]
（[1]京都大学大学院 農学研究科 食品生物科学専攻 栄養化学分野）
（[2]群馬大学 生体調節研究所 分子糖代謝制御分野，[3]群馬大学 生体調節研究所 代謝シグナル解析分野）

主に膵臓α細胞で合成・分泌されるグルカゴンは，血糖低下時に分泌が亢進し血糖値を上昇させるホルモンとして知られていたが，近年，グルカゴンの特異的な生理作用は，血糖値増加作用ではなくアミノ酸代謝の恒常性維持であることが提唱されている。また，アミノ酸の摂取は,膵臓α細胞からのグルカゴンの分泌を誘導する。これらのことから，グルカゴンは生体内のアミノ酸の恒常性を維持するために，タンパク質嗜好性の制御に関わることが予想される。そこで，9 週齢雄 C57BL/6 マウスに 0.1，0.5，1mg/kg body weight のグルカゴンを腹腔内投与し, 普通食 vs.高タンパク質食の食餌選択試験を行った。その結果，1mg/kg body weight のグルカゴン投与で顕著なタンパク質嗜好性抑制作用が認められた。他方，同様の検証を高ショ糖食，高脂肪食でも行ったが，それらの食餌に対する嗜好性の変化は認められなかった。これらのことから，グルカゴンはタンパク質嗜好性を特異的に抑制制御していることが明らかになった。今後は，神経特異的グルカゴン受容体欠損マウスを用いて検証を行い，グルカゴンによるタンパク質嗜好性抑制作用の制御機構を明らかにしていく。

（６）報酬系に対する脳内脂質の役割

酒寄信幸（広島大学），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 n-6 と n-3 PUFA がバランスよく配合されたコントロール飼料または高 n-6/低 n-3 飼料を投与し，快楽的摂食行動およびそ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解析を行った。本研究は脳発生の観点から将来の摂食行動を解析している。研究会では我々の最新データを発表したい。

（７）サルを多面的に見つめてうつ病研究を推進するツール

山中　創[1]，石橋英俊[2]，高田昌彦[1]，中村克樹[1]
（[1]京都大学霊長類研究所，[2]東京医科大学）

うつ病は原因不明の疾患であり, 根本的な治療方法は確立されていない。そのため，病因解明や根本的な治療法の開発がげっ歯類を中心に現在も精力的に進められている。しかし，行動や解剖学的構造・生理学的特徴がヒトと大きく異なるげっ歯類から得られた知見そのままをヒトに当てはめるだけでは限界がある。また，うつ病は複雑で多種

多様な病態像を示すことから，一つの評価テストだけでその動物がうつ病であるのかを判断するには限界がある。本研究ではこれらの限界を打開するために，ヒトに近縁な霊長類を対象にした多面的なテストバッテリーを構築した。６つのテストを考案し，コモンマーモセットのレセルピン惹起性うつ病モデルに対して８日間の反復測定を行い，新しいテストバッテリーを構築した。砂糖水に対する選好性，食べた量，食べ物を選り好みする行動などを調べた。９頭のマーモセットのうち１頭は，６つすべてのテストで典型的なレセルピン反応パターンを示す高感受性個体であった。本研究における発生率（11 %）は，臨床研究での発生率（19 %）とほぼ同等であった。このテストバッテリーは，霊長類モデルにおけるうつ病様行動の評価に有用なツールとなることが示唆された。新しい研究基盤となる「マーモセットのうつ病用テストバッテリー」であれば，探索的なスクリーニング法として有効性を発揮し，うつ病研究の学術体系や方向性を大きく転換させることが期待できる。

（８）食・代謝・光情報の統合と摂食概日リズム創出：室傍核の役割

矢田俊彦[1]，王　磊[1]，中田正範[2]，岩崎有作[3]
（[1]関西電力医学研究所 統合生理学研究部門，神戸大学大学院 医学研究科 糖尿病･内分泌内科部門）
（[2]和歌山県立医科大学 生理学講座，[3]京都府立大学大学院 生命環境科学研究科 動物機能学研究室）

動物もヒトも固有の摂食概日リズムを持ち，体重や血糖値の恒常性維持に重要な役割を担っている。その障害は肥満や糖尿病の成因となり，さらの多くの疾患に関与すると推察される。これらの疾患は近年増加しており，原因として摂食概日リズムを乱す環境要因がある。しかし，摂食概日リズムの形成および環境要因による撹乱のメカニズムには未知の部分が多い。齧歯類の摂食は，暗期に亢進し，明期に抑制される。明期には視床下部室傍核の Nesfatin-1，オキシトシン神経が活性化され，摂食抑制と逆位相で相関する。Nesfatin-1 阻害は，オキシトシン抑制，明期摂食増加を起こす。明期の飢餓・低血糖により分泌される FGF21 は，その後の暗期の血糖上昇の作用を受けることで，次の明期サイクルに Nesfatin-1 を活性化する。暗期の光照射は，中枢時計 SCN を介して室傍核オキシトシン神経を活性化し，摂食を抑制する。従って，1 サイクル前の明期の FGF21 分泌＋暗期の血糖上昇→明期 Nesfatin-1 活性化の流れ，および，光照射の２経路によりオキシトシンが活性化され，明期摂食が抑制される。過去のリズム維持が重要である。一方，暗期直前には，弓状核 NPY/AgRP ニューロンが活性化され，室傍核に投射しオキシトシンを抑制し，食欲と暗期摂食がトリガーされる。

肥満動物は明期選択的な過食を示し，Nesfatin-1 またはオキシトシンの補充で明期過食と肥満が改善する。希少糖アルロースは明期過食と肥満を改善し，腸ホルモン GLP-1 分泌を亢進する。GLP-1 は室傍核 Nesfatin-1，オキシトシン神経を活性化する。摂食概日リズムの維持・修復には，明期の飢餓→FGF21 分泌，暗期の食事→血糖上昇・GLP-1 分泌，明期の光照射の生活習慣の維持による室傍核 Nesfatin-1・オキシトシン系の律動的活性化が重要である。

（９）匂いに基づく摂食行動の神経調節性シグナルによる調節機構

モハメッド･モンジュルル･アハサン，村田芳博，谷口睦男，山口正洋
（高知大学 医学部 統合生理学講座）

食べ物の匂いに基づく摂食行動は神経調節性シグナルによって影響を受ける。我々は，マウス嗅覚系脳領域において摂食に関する神経調節性シグナル分子の発現を調べ，多くの分子が固有の発現パターンを持っていること，また匂いとえさ報酬の連合学習によってその発現が変化することを明らかにした。嗅結節の前内側ドメインは匂いの誘引行動を促進する領域である。そこで，この領域に高い発現を示すオレキシン受容体に着目し，この機能的役割を検

討した。特定の匂いとえさ報酬の連合学習を行い，この匂いに誘引行動を示すようになったマウスを用いて，嗅結節の前内側ドメインにオレキシン受容体アンタゴニストを局所投与したところ，匂いに対する誘引行動が減弱し，更にこの匂いに対して忌避行動をとるようになった。また，匂いとえさの連合学習の過程でオレキシン受容体アンタゴニストを局所投与すると，誘引学習が抑制された。以上のことから，嗅結節前内側ドメインはオレキシンシグナルなどの代謝シグナルを受け取って，匂いの摂食行動を制御していることが考えられた。

（10）竹食の霊長類における TAS2R16 の機能変化

糸井川壮大（京都大学霊長類研究所，日本学術振興会），Fabrizio Fierro（The Hebrew University）
Morgan E. Chaney（Kent State University），Elise Lauterbur（The University of Arizona）
早川卓志（北海道大学，日本モンキーセンター），Anthony J. Tosi（Kent State University）
Masha Y. Niv（The Hebrew University），今井啓雄（京都大学霊長類研究所）

味覚は食物の栄養価や有害性を判断するうえで欠かせない感覚である。食嗜好の多様化に伴い，味覚の変化も起こっている可能性があり，さらに味覚の変化が食嗜好の多様性をもたらす可能性もある。味覚の中でも青酸化合物などの毒物認識に関与する苦味は，苦味受容体 TAS2R がリガンドである苦味物質を受容し，活性化されることでもたらされる。ゲノム中の苦味受容体遺伝子のレパートリーは種間相違が大きく，動物の食性や生活環境に応じて柔軟に変化してきたと考えられている。また，個々の苦味受容体のリガンド感受性にも種間相違があり，食性との関連が示唆されている。

これまで私たちは，苦味受容体のリガンド感受性と食嗜好・食行動の関係を調べてきた。本発表では，植物の主要な二次代謝産物であるβグルコシド類を特異的に受容する苦味受容体 TAS2R16 のリガンド感受性を様々な食性の霊長類で比較検討した結果を紹介し，食性との関連を考察する。特に，青酸化合物を多く含む竹を主食とするジェントルキツネザル３種に注目し，進化に伴う TAS2R16 の機能変化をトレースした結果を発表する。

（11）塩味とうま味の相乗作用に関する研究

小澤貴明，柴田智弘，疋田貴俊（大阪大学 蛋白質研究所）

うま味物質の添加は塩味の持つ嗜好性を増強することがヒトにおいて報告されている。しかし，実験動物において同様の効果が認められるかどうかは検討されて来なかった。本研究では，塩摂取制限下にあるマウスを対象として，食塩水報酬（NaCl）に対するうま味物質（monosodium glutamate, MSG）の添加が及ぼす影響について，給餌チューブに対する舐め行動（リッキング）を指標としたオペラントリッキング課題を用いて検討した。実験 1 では，比率累進スケジュールを用いて，異なる濃度の食塩水報酬に対する動機づけを調べたところ，食塩濃度の増加に伴って時間あたりの報酬獲得回数が増加した。実験 2 では，同じ課題を用いて，食塩水に対する MSG 添加が報酬獲得動機づけに及ぼす影響を調べたところ，MSG 添加量の増加に伴って時間あたりの報酬獲得回数が増加した。以上の結果は，（１）本行動課題はマウスの塩味報酬に対する動機づけを測るのに適切であること，（２）マウスにおいて，うま味物質の添加が塩味嗜好性を増強する可能性を示している。重要なことに，食塩単独条件と食塩+MSG 条件において時間当たりの報酬獲得回数が同程度の時，ナトリウム含有量は食塩+MSG 条件の方が 30 % 少ない。このことは，マウスにおいて食塩の一部を MSG に置き換えることにより，減塩効果が得られることを示唆している。発表では，脳内ドーパミン放出量を検討した予備データに基づいて，塩味とうま味の相乗作用の神経基盤についても議論する。

（12）末梢塩味受容機構の解明

樽野陽幸（京都府立医科大学 細胞生理学，JST さきがけ）

うま味物質の添加は塩味の持つ嗜好性を増強することがヒトにおいて報告されている。しかし，実験動物において同様の効果が認められるかどうかは検討されて来なかった。本研究では，塩摂取制限下にあるマウスを対象として，食塩水報酬（NaCl）に対するうま味物質（monosodium glutamate, MSG）の添加が及ぼす影響について，給餌チューブに対する舐め行動（リッキング）を指標としたオペラントリッキング課題を用いて検討した。実験 1 では，比率累進スケジュールを用いて，異なる濃度の食塩水報酬に対する動機づけを調べたところ，食塩濃度の増加に伴って時間あたりの報酬獲得回数が増加した。実験 2 では，同じ課題を用いて，食塩水に対する MSG 添加が報酬獲得動機づけに及ぼす影響を調べたところ, MSG 添加量の増加に伴って時間あたりの報酬獲得回数が増加した。以上の結果は，（１）本行動課題はマウスの塩味報酬に対する動機づけを測るのに適切であること，（２）マウスにおいて，うま味物質の添加が塩味嗜好性を増強する可能性を示している。重要なことに，食塩単独条件と食塩+MSG 条件において時間当たりの報酬獲得回数が同程度の時，ナトリウム含有量は食塩+MSG 条件の方が 30 %少ない。このことは，マウスにおいて食塩の一部を MSG に置き換えることにより，減塩効果が得られることを示唆している。発表では，脳内ドーパミン放出量を検討した予備データに基づいて，塩味とうま味の相乗作用の神経基盤についても議論する。

11．シナプスを見る，測る，操る－新たな技術で挑むシナプス学

2020 年 12 月 3 日

代表・世話人：掛川　渉（慶應義塾大学）
所内対応者：吉村由美子（視覚情報処理研究部門）

（１）海馬苔状線維シナプス前終末における cAMP 依存的な局所 Ca^{2+} 流入の増強
深谷亮太（同志社大学）

（２）超解像顕微鏡を用いたスパインの微細形態と動態の解析
柏木有太郎（東京大学）

（３）小脳シナプスの機能的多様性の直接計測
川口真也（京都大学）

（４）シナプス型特異的なシナプス前部ナノ構造の超解像可視化解析
坂本寛和（東京大学）

（５）Super-resolution imaging for subsynaptic architecture of glutamate receptor subtypes regulated by liquid-liquid phase separation
Pin-Wu Liu（京都大学）

（６）高分解能走査型電子顕微鏡を用いたシナプス結合の微細構造相関解析
深澤有吾（福井大学）

（７）概日時計と睡眠・覚醒を繋ぐ神経回路
小野大輔（名古屋大学）

（８）シナプス可塑性の光操作－記憶・学習を制御するオプトジェネティクス－
松田信爾（電気通信大学）

（９）CaMKII 経路の単一シナプス光操作と分子活性イメージング
村越秀治（生理学研究所）

【参加者名】

金子啓介（Children’s Hospital of Philadelphia），河野洋幸（アイオワ大学），渡辺雅彦（北海道大学），Peng Zhao（北海道大学），Sultana Ferdous（北海道大学），佐々木哲也（筑波大学），今村彩子（筑波大学），細井延武（群馬大学），渡邊　将（群馬大学），合田紀子（理化学研究所），齋藤喜仁（理化学研究所），厚美佑輔（理化学研究所），鷹合秀輝（国立障害者リハビリテーションセンター），柚崎通介（慶應義塾大学），掛川　渉（慶應義塾大学），松田恵子（慶應義塾大学），高野哲也（慶應義塾大学），荒井　格（慶應義塾大学），山崎世和（慶應義塾大学），石川智愛（慶應義塾大学），Dilina Tuerde（慶應義塾大学），須山成朝（慶應義塾大学），伊藤政之（慶應義塾大学），石川理子（慶應義塾大学），今井貴雄（慶應義塾大学），鹿内弥磨（慶応義塾大学），竹尾ゆかり（慶應義塾大学），曽我部拓（慶應義塾大学），小泉美智子（慶應義塾大学），本橋淳子（慶應義塾大学），石田　綾（慶應義塾大学），野澤和弥（慶應義塾大学），会見昂大（慶應義塾大学），大垣里紗（慶應義塾大学），塩崎茉莉（慶應義塾大学），吉川かおり（慶應義塾大学），平山昭代（慶應義塾大学），井端啓二（聖マリアンナ医科大学），坂内博子（早稲田大学），松田信爾（電気通信大学），上阪直史（東京医科歯科大学），渡部文子（東京慈恵会医科大学），中村行宏（東京慈恵会医科大学），石川太郎（東京慈恵会医科大学），宮田麻理子（東京女子医科大学），緑川光春（東京女子医科大学），植田禎史（東京女子医科大学），岡部繁男（東京大学），狩野方伸（東京大学），真鍋俊也（東京大学），柏木有太郎（東京大学），渡邉貴樹（東京大学），菅谷佑樹（東京大学），坂本寛和（東京大学），大島知子（東京大学），佐藤大祐（東京大学），野呂高之（東京大学），小島佑介（東京大学），石川裕貴（東京大学），大西泰地

（東京大学），張　疏（東京大学），藤野修平（東京大学），鈴木穂香（東京大学），奥野優人（東京大学），小林新九郎（東京大学），井上律子（東京都健康長寿医療センター研究所），瀧川健司（東京都健康長寿医療センター研究所），入江智彦（国立医薬品食品衛生研究所），有村奈利子（国立精神･神経医療研究センター），橋本泰昌（国立精神･神経医療研究センター），實木　亨（横浜市立大学），中島和希（横浜市立大学），太田　航（横浜市立大学），大塚稔久（山梨大学），喜多村和郎（山梨大学），飛田耶馬人（山梨大学），萩原　明（山梨大学），浜田　駿（山梨大学），真仁田紀子（山梨大学），金　然正（山梨大学），深澤有吾（福井大学），久場博司（名古屋大学），清中茂樹（名古屋大学），小野大輔（名古屋大学），堂浦智裕（名古屋大学），山田　玲（名古屋大学），藤原里沙子（名古屋大学），小島憲人（名古屋大学），曽我恭平（名古屋大学），三浦裕太（名古屋大学），武内恒成（愛知医科大学），林　康紀（京都大学），平野丈夫（京都大学），川口真也（京都大学），劉　品吾（京都大学），井下拓真（京都大学），水田恒太郎（京都大学），田中洋光（京都大学），森田雅登（京都大学），山下愛美（大阪医科大学），北西卓磨（大阪市立大学），八木　健（大阪大学），足澤悦子（大阪大学），粟　汐里（大阪大学），坂場武史（同志社大学），高森茂雄（同志社大学），御園生裕明（同志社大学），森　靖典（同志社大学），三木崇史（同志社大学），塙　京子（同志社大学），深谷亮太（同志社大学），吉田知史（同志社大学），竹中康一郎（同志社大学），宮野里菜子（同志社大学），平井向日葵（同志社大学），田中　護（同志社大学），中澤惠太（同志社大学），杉村岳俊（奈良県立医科大学），田川義晃（鹿児島大学），奥野浩行（鹿児島大学），堀　哲也（沖縄科学技術大学院大学），村越秀治（生理学研究所），榎木亮介（生理学研究所），郷　康広（生理学研究所）山肩葉子（生理学研究所），平澤輝一（生理学研究所），高橋泰伽（生理学研究所），植田大海（生理学研究所）安宅光倫（生理学研究所），廣　蒼太（生理学研究所），吉村由美子(生理学研究所)，林　健二（生理学研究所），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），呉　嘉豪（生理学研究所），高木正浩（生理学研究所）

【概要】

意識や記憶をはじめとする高次脳機能は，脳内の構成素子である神経細胞が「シナプス」を介して連絡しあうことで発揮される。近年の光学系および計測系の技術革新や，光遺伝学などの優れた分子・細胞制御ツール開発の加速に伴い，シナプス研究も新たな切り口から追究できる時代になりつつある。本研究会は，「シナプスを見る・測る・操る―新たな技術で挑むシナプス学」をテーマとし，シナプスの形成・機能制御機構に関する最新の知見について情報交換を行うことを目的として企画された。今年は，新型コロナウイルス感染拡大状況に鑑み，１２月３日の１日に発表を凝縮し，Zoom 会議システムを用いた Online 開催とした。国内外から１３８名もの研究者が参加し，気鋭の研究者による９題の口頭発表が行われた。３つの発表セッションのうち，「シナプスを測る」セッションでは，電気生理学的手法を用い神経伝達放出機構や活動電位伝播様式に関する新たな概念が報告された。「シナプスを見る」セッションでは，今後のシナプス研究を切り開くべく最新の超解像蛍光顕微鏡や電子顕微鏡技術が紹介された。「シナプスを操る」セッションでは，新規光遺伝学技術を駆使し，記憶・学習をはじめとする高次脳機能解明に向けた興味深い研究発表が続いた。発表後の質疑応答では，挙手による質問形式に加え，Chat 機能や Slack システムへの質問・コメント書き込みを併用し，限られた時間の中で有意義な議論が行われた。また，今回，Online 開催の特長をさらに活かし，Breakout room システムを用いたポスターセッションを開催した。このセッションでは，18 名の若手研究者が発表し，対面さながらの活発な意見交換が行われた。会終了後に開催された世話人会では，Online 開催の長所や課題点，そして次回以降の会の実施方法について多くの建設的な意見が述べられた。来年度は，新型コロナウイルスが沈静化し，Online だけでなく対面での討論が実現されることを期待する。

（１）海馬苔状線維シナプス前終末における cAMP 依存的な局所 Ca^{2+}流入の増強

深谷亮太（同志社大学 脳科学研究科）

グルタミン酸作動性の海馬苔状線維-CA3 錐体細胞（MF-CA3）シナプスでは，高頻度刺激によりシナプス前性の伝達増強が誘導される。このとき，シナプス前終末（MFB）において cAMP/PKA 系がはたらくことで，神経伝達物質の開口放出と Ca^{2+} とのカップリングが強まり，グルタミン酸放出が促進されると考えられている。本研究では，このカップリングにかかわる要素（開口放出の Ca^{2+} 感受性，MFB への Ca^{2+} 流入）に，cAMP 濃度の上昇がどのように作用するかを調べた。ラット海馬の MF-CA3 シナプスに，Ca^{2+} アンケージング，Ca^{2+} イメージング, MFB からの直接ホールセルパッチクランプ記録, 超解像蛍光顕微鏡（STED）法を適用し，それぞれの実験において cAMP の濃度上昇の効果を検討した。解析の結果，cAMP 濃度が上がることで，Ca^{2+} チャネルが放出部位付近へ集積し, 脱分極にともなう局所 Ca^{2+} 流入を大きくすることを示唆する所見を得た。以上の内容について，上記演題にて発表をおこなった。

（２）超解像顕微鏡を用いたスパインの微細形態と動態の解析

柏木有太郎（東京大学大学院 医学系研究科 神経細胞生物学教室）

哺乳類の中枢神経系において，興奮性シナプスの大部分は錐体神経細胞の樹状突起から伸び出たスパインと呼ばれる 1 μm程度の小さな突起の上に作られる。スパインの大きさは最も小さなものと最も大きなもので 100 倍程も体積が違い，その形態は細長い突起様のものからマッシュルーム状の形態のものまで多種多様である。スパインの大きさはシナプスの情報伝達効率と高く相関し，またスパインの形態はシナプス後部の分子動態に影響してシナプス後部シグナルを調節するとされる。シナプス伝達効率を調整する分子機構を理解し，また神経疾患におけるシナプスの病理的な変化を理解する上で，個々のスパインの大きさと形状を正確かつ迅速に測定する技術の開発が必要である。

我々は超解像顕微鏡を用いて光学顕微鏡画像からスパインの微細形状を正確に測定する技術を開発した。本セミナーでは超解像顕微鏡の一つである構造化照明顕微鏡を用いたスパインの定量解析手法について説明し，本手法を用いたスパイン解析の実例を提示する。本手法はライブイメージングと組み合わせることで生きたスパインの形態変化を定量解析することが可能である。シナプス可塑性後におこるスパインの微細形態変化について紹介し，記憶や学習の構造的基盤を明らかにする上で本手法がどのように発展できるかを議論したい。

（３）小脳シナプスの機能的多様性の直接計測

川口真也（京都大学大学院 理学研究科 生物物理学教室）

中枢神経系ニューロンでは，樹状突起→細胞体→軸索→終末へと情報が 1 方向性に処理される。これは，神経回路のはたらきを理解する土台となっている。しかし，軸索やその終末は微小で直接記録が技術的に難しいため，軸索部における 1 方向性の情報伝達の妥当性には，不明確な点が残っている。そこで，神経細胞の電気的活動を高時空間解像度で記録する細胞膜電位蛍光イメージングと，軸索からの直接パッチクランプ記録を組み合わせて軸索・終末部の情報の流れを詳細に解析した。その結果，神経活動に依存して軸索での情報の流れが長時間にわたり可塑的に変化することが分かった。小脳プルキンエ細胞では，通常は軸索起始部で活動電位発火が起

こる。ところが，神経活動を 2 分間亢進させた後では，発火開始部位が軸索遠位まで大きくシフトすることが示唆された。そして，その異所性の活動電位が，ときに逆伝播して細胞体や周辺の軸索終末部まで至ることが分かった。その仕組みとして，軸索終末部において伝達物質を感知するイオンチャネル型受容体のはたらきが増大することに起因し，その結果，異所性の活動電位が惹起されると考えられた。本研究会では，神経細胞における 1 方向性情報処理の神経活動依存的な多方向化について概説し，そのメカニズムを考察した。

（４）シナプス型特異的なシナプス前部ナノ構造の超解像可視化解析

坂本寛和（東京大学大学院 医学系研究科 細胞分子薬理学分野）

シナプス小胞のエキソサイトーシスを介した神経伝達物質の放出はシナプス前終末のアクティブゾーンで起こる。アクティブゾーンは RIM・CAST/ELKS・RIM-BP などの足場タンパク質と Munc13・カルシウムチャンネルなどの放出装置から構成される超分子ナノ構造体であるが，その構造はすべてのシナプスで共通なのか，それともシナプスの種類によって異なるのかはよく分かっていなかった。今回，超解像顕微鏡を用いたアクティブゾーン主要構成分子の測定法と超解像顕微鏡画像の効率的な解析法を構築することで, 海馬 CA3 領域内の四種類のシナプス型（二種類のグルタミン酸作動性シナプスと二種類の GABA 作動性シナプス）ついて数百から数千のアクティブゾーンの系統的定量解析を実現し，シナプス型特異的なアクティブゾーンの超分子ナノ構造を明らかにすることができた。本研究結果から，アクティブゾーンは柔軟な超分子構造体であり，その分子組成だけでなく分子の結びつき・微細空間配置を調整することで神経伝達物質の放出特性に合わせた構造を取ることが明らかとなった。

（５）Super-resolution imaging for subsynaptic architecture of glutamate receptor subtypes regulated by liquid-liquid phase separation

Pin-Wu Liu，Tomohisa Hosokawa and Yasunori Hayashi
（Department of Pharmacology, Kyoto University Graduate School of Medicine）

Long-term potentiation (LTP) of synaptic transmission, which generates a persistent synaptic change from transient neuronal activity, is known to be the basis for memory formation. The major mechanism to maintain LTP is the regulation of glutamate receptors, especially AMPA receptor (AMPAR). AMPARs form segregated clusters, called nanodomains, on the postsynaptic membrane in an activity dependent manner. This AMPAR nanodomains and presynaptic vesicle releasing sites are aligned together and forming a trans-synaptic nanocolumn structure, which regulates the efficacy of synaptic transmission. This can be a novel mechanism for LTP. However, the mechanism underlying AMPARs segregation and the activity-dependent regulation remains unclear.

Recently, liquid-liquid phase separation (LLPS) of biological macromolecules was found to play a critical role in regulating the assembly and the segregation of proteins within various intracellular structures, including postsynaptic density (PSD). Interestingly, we found that calcium/calmodulin-dependent protein kinase II (CaMKII) undergoes LLPS with NMDAR subunit GluN2B in Ca^{2+} dependent manner as possible mechanism of the incorporation of CaMKII into PSD. Incorporation of CaMKII resulted in the segregation of Stargazin, as a proxy of AMPAR, from GluN2B as a phase-in-phase structure. Furthermore, Neuroligin-1 (NLGN1), a neuronal adhesion molecule, which clusters presynaptic neurexin and other active zone proteins, also segregates together with AMPAR.

To test if this mechanism regulates subsynaptic segregation

of AMPAR and NMDAR at the synapse, we observed AMPAR and NMDAR in living neuron with dual-color direct stochastic optical reconstruction microscopy (dSTORM) treated with membrane-permeable CN21 (tat-CN21) which competes and disrupts CaMKII-GluN2B interaction. In intact synapses, the two receptors are segregated from each other, consistent with our in vitro experiment. This segregation was disrupted by tat-CN21. Furthermore, tat-CN21 also reduced the segregation between of NLGN1 and NMDAR. These results suggest that the incorporation of CaMKII into PSD and the interaction between CaMKII and GluN2B is critical for the formation of AMPAR nanodomain and the trans-synaptic nanocolumn.

（６）高分解能走査型電子顕微鏡を用いたシナプス結合の微細構造相関解析

深澤有吾（福井大･医･脳形態機能学分野）

シナプス伝達は神経細胞間に形成されるシナプス結合で行われ，適切な伝達と可塑的制御機構により脳機能が支えられ，シナプス伝達の異常が原因と考えられる精神神経疾患も多く存在する。従って，脳内の各シナプス結合の機能や形態の特徴を理解することは，脳機能の創出機構と神経疾患の病態の両方の解明に有効である。しかし，個々のシナプス結合の機能と構造を単一シナプス結合レベルで解析することは容易ではなく，また，その解析も集団解析に留まっているのが現状である。

私はこの現状を変える目的で，従来の透過型電子顕微鏡観察よりも広範囲を連続断面観察できる収束イオンビーム搭載型高分解能走査型電子顕微鏡（FIB-SEM）を用いてシナプス前後構造を丸ごと撮影し，その三次元再構築像から構造情報を定量的に取得する手法の開発を行ってきた。

そこで本発表では，これまでに得られた軸索-樹状突起スパインシナプスの微細構造に関する解析結果を下記の項目に焦点を当てて紹介した。

１）複数のシナプス結合種に共通する構造特徴：微細構造相関とは何か？
２）シナプス結合の種類に固有の構造特徴は何か？
３）シナプス結合の個々の構造特徴を決定している遺伝子産物は何か？
４）シナプス結合の構築異常を単一シナプスレベルで検出できるか？

（７）概日時計と睡眠・覚醒を繋ぐ神経回路

小野大輔（名古屋大学 環境医学研究所）

私たちは地球の自転により生じる２４時間周期の明暗環境の中，睡眠・覚醒を毎日繰り返しています。しかし，この睡眠・覚醒リズムは，恒常暗など一定環境下でもおよそ２４時間毎に繰り返し見られます。この２４時間の自律的なリズムを，「概日リズム」と呼び，概日時計により調節されています。私たちの体を構成するすべての細胞には，この概日時計が備わっており，遺伝子発現レベルで２４時間の時間を刻んでいます。その中でも，概日時計の中枢，脳内の視床下部に位置する「視交叉上核」に存在することが知られています。睡眠・覚醒は，概日時計により調節されている一方，私たちは生命の危機に直面した際には，眠たい夜中であっても一時的に覚醒することで，その危機を回避する行動を取ります。つまり，睡眠･覚醒は，概日時計による調節を受けつつも，緊急事態にはその情報をシャットダウンし，一時的に覚醒度を保つシステムが備わっています。しかしながら，概日時計中枢である視交叉上核から，どの神経回路を介して睡眠・覚醒が調節しているのかはよく分かっていませんでした。

我々のグループは，光操作と光計測技術を駆使しこの問題に取り組みました。マウスを用いストレス応答に関わる脳内の神経細胞として知られている，コルチコトロピン放出ホルモン産生神経（CRF 神経）を興奮させると，覚醒時間が増加することを発見しました。また CRF 神経

は，覚醒の維持に重要なオレキシン神経を興奮させていることも発見しました。さらに CRF 神経の活動は，視交叉上核の神経から遊離される抑制性の伝達物質である GABA により調節されていました。つまり，視交叉上核は CRF 神経の活動を調節し，さらにオレキシン神経の活動を介して覚醒を誘導していることが分かりました。これらの結果から，日中は視交叉上核の神経活動が増加し，その結果室傍核 CRF 神経の活動が抑制され，覚醒度が抑えられ，夜間になると視交叉上核の活動が減少し，室傍核 CRF 神経の活動が増加し，オレキシン神経を介し覚醒度が増加している事が考えられます。

（８）シナプス可塑性の光操作－記憶・学習を制御するオプトジェネティクス－

松田信爾（電気通信大学大学院 情報理工学研究科）

シナプス可塑性は記憶や学習の基礎過程と考えられており，そのメカニズムの解明は神経科学分野の最重要課題のひとつであり盛んに研究されてきている。これまでの研究により長期増強および長期抑圧といった代表的なシナプス可塑性はシナプス後部に存在する AMPA 型グルタミン酸受容体（AMPA 受容体）の数の変化であることが明らかにされてきた。一方，シナプス可塑性と記憶学習といった個体レベルでの脳機能との直接的な関係性については不明な部分が多く残されている。

我々は光駆動性のプロトンポンプを神経細胞の特定の細胞小器官に発現させ，AMPA 受容体の細胞内輸送を光によって制御することでシナプス可塑性を操る技術を開発し，シナプス可塑性と脳機能との関係性を解析してきている。

長期抑圧はシナプス後部に存在する AMPA 受容体の数がエンドサイトーシスによって減少することが明らかになっている。またエンドサイトーシスにはエンドソーム内部の酸性化が重要な役割を果たすことも知られている。そこで我々は近年，光刺激によりエンドソーム内部から細胞質へとプロトンを輸送する光遺伝学ツール PhotonSABER を開発し，光刺激を与えているときにのみ AMPA 受容体のエンドサイトーシスならびに長期抑圧を阻害することに成功した。この PhotonSABER を小脳プルキンエ細胞特異的に発現するノックインマウスでは，光を照射しない条件では，正常に視機性眼球反応（OKR）の適応が見られたが，光刺激を与えた時にのみ OKR 適応が阻害された。このことから小脳 Purkinje 細胞の長期抑圧は OKR 適応学習を直接的に制御していることが示唆された。

さらに近年の研究によりリソソームのエキソサイトーシスが長期増強の誘導に重要であることが明らかになってきている。実際，我々は海馬神経細胞および小脳 Purkinje 細胞に長期増強を誘導する刺激を与えると，リソソームのエキソサイトーシスが引き起こされることを明らかにしている。また，シナプトタグミン７の dominant- negative 変異体を発現させ，リソソームのエキソサイトーシスを阻害すると長期増強が引き起こされないことも明らかにしている。リソソームのエキソサイトーシスにはリソソーム内部からのカルシウムの放出が必要であり，リソソーム内部にカルシウムを貯蔵するためには内部が酸性化していることが必要であることも知られている。そこで光駆動性プロトンポンプをリソソームに発現させ光刺激依存的にリソソームのエキソサイトーシスを制御し長期増強の誘導を光により阻害する技術を開発している。

（９）CaMKII 経路の単一シナプス光操作と分子活性イメージング

村越秀治（生理学研究所 脳機能計測･支援センター）

CaMKII は，大脳皮質や海馬の神経細胞で非常に多く発現（全タンパク質量の数%）しており，シナプス長期増強や記憶・学習に深く関与していると考えられている。私たちは最近，CaMKII の機能を調べるためのツールとして，Phototropin1 の LOV2 を用いて，遺伝子コード型の光応答性 CaMKII（paCaMKII）を開発した。paCaMKII

を海馬スライス CA1 領域の興奮性神経細胞に導入し，2 光子励起を用いて単一スパイン内で paCaMKII を活性化させたところ，スパイン体積の増大と維持が 4 時間以上に渡って観察された。さらに，刺激スパインにおいて，AMPA 受容体の集積と AMPA 電流の増大も観察された。これらのことはシナプス可塑性の惹起には CaMKII の活性化で十分であることを示している。また私たちは，CaMKII の下流のシグナル分子の時空間活性化パターンを調べるため, アクチン制御分子である Cdc42 に着目し，単一スパインでの paCaMKII 活性化による Cdc42 活性化を 2 光子蛍光寿命イメージング顕微鏡により可視化した。その結果，CaMKII 活性化が Cdc42 活性化には十分であることが分かった。さらに，単一スパインでの CaMKII 活性化と比較して，多重スパインでの CaMKII 活性化によって個々のスパインで Cdc42 と長期増強が増強されることが分かった。すなわち，CaMKII は自身の空間活性パターンによってシナプス長期増強をコントロールできることが分かった。今後 paCaMKII が，CaMKII の機能の機能を調べるための強力なツールになると考えられる。

12. 機能と構造の視覚科学研究会

2020 年 9 月 1 日

代表・世話人：鯉田孝和（豊橋技術科学大学）

所内対応者：吉村由美子（視覚情報処理研究部門）

（１）神経回路の構造と機能を明らかにするウイルス遺伝子工学とイメージング技術

小坂田文隆（名古屋大学）

（２）乳児の視覚世界

山口真美（中央大学）

（３）アゲハの高次中枢における波長情報処理

木下充代（総合研究大学院大学）

（４）視覚運動特徴を処理する特異な網膜神経回路

松本彰弘（デンマーク・オーフス大学）

【参加者名】

萩原賢太（Friecrich Mieschar Institute），米原圭祐（オーフス大学），松本彰弘（オーフス大学），本谷友作（コーネル大学），笹森　瞳（北海道大学），斎藤優花（北海道大学），眞田尚久（岩手県立大学），森澤陽介（東北大学），曽加　蕙（東北大学），山本浩輔（東北大学），平松　駿（東北大学），増田　修（新潟医療福祉大学），杉山清佳（新潟大学），侯　旭濱（新潟大学），酒井晶子（新潟大学），佐々木哲也（筑波大学），菊地　豊（公益財団法人脳血管研究所附属美原記念病院），大塚聡子（埼玉工業大学），村井伊織（理化学研究所），石井俊行（日本医科大学），峯耕太郎（国立成育医療研究センター），蟻川謙太郎（総合研究大学院大学），木下充代（総合研究大学院大学），山口真美（中央大学），楊　嘉楽（中央大学），中島悠介（中央大学），馬　書悦（中央大学），鶴見周摩（中央大学），山中七菜子（中央大学），武　真由（中央大学），雄　元晴（東海大学），伊藤　南（東京医科歯科大学），吉田達見（東京医科歯科大学），吉田　誠（東京工業大学），蒋池かおり（東京女子医科大学），小島大輔（東京大学），根東　覚（東京大学），西尾奈々（東京大学），平本篤紀（東京大学），品川大樹（東京大学），橋本昂之（東京大学），面谷　信（東京電機大学），有久　亘（東京都医学総合研究所），浅野暁子（東京都立大学），金子章道（慶應義塾大学），本間耕平（慶應義塾大学），石川理子（慶應義塾大学），小松英彦（玉川大学），齊藤治美（玉川大学），吉岡敏秀（玉川大学），正岡明浩（玉川大学），蒋　嘉森（玉川大学），Yong Haiming（Tokyo Medicalcenter），山原恵子（科学技術振興機構），内川惠二（神奈川工科大学），宇賀貴紀（山梨大学），篠崎陽一（山梨大学），上野智広（山梨大学），濱田健太郎（山梨大学），三原美晴（富山大学），久保　郁（国立遺伝学研究所），北川真子（国立遺伝学研究所），松田光司（国立遺伝学研究所），Fiallos Carolina（国立遺伝学研究所），臼井支朗（豊橋技術科学大学），鯉田孝和（豊橋技術科学大学），及川達也（豊橋技術科学大学），渡邉裕汰（豊橋技術科学大学），兼松　圭（豊橋技術科学大学），山本直之（名古屋大学），小坂田文隆（名古屋大学），萩尾華子（名古屋大学），竹内遼介（名古屋大学），佐藤彰典（名古屋大学），正木佑治（名古屋大学），伊藤　慶（名古屋大学），辻村誠一（名古屋市立大学），佐藤麻紀（愛知医科大学），小林　恵（愛知県医療療育総合センター発達障害研究所），神山斉己（愛知県立大学），岩松立眞（愛知県立大学），牧野　蓮（愛知県立大学），山下　茜（愛知県立大学），佐々木友望（愛知県立大学），日高　聰（藤田医科大学），金地真生（三重大学），杉村岳俊（奈良県立医科大学），伊藤浩之（京都産業大学），田中宏喜（京都産業大学），山田将太郎（京都産業大学），森口佑介（京都大学），渡部綾一（京都大学），坂田千文（京都大学），若山曉美（近畿大学病院），竹村浩昌（情報通信研究機構），坂野雄一（情報通信研究機構），篠崎隆志（情報通信研究機構），番　浩志（情報通信研究機構），中村大樹（NTT コミュニケーション科学基礎研究所），秋山　諒（NTT コミュニケーション科学基礎研究所），北西卓磨（大阪市

立大学），佐藤宏道（大阪大学），藤田一郎（大阪大学），七五三木　聡（大阪大学），田村　弘（大阪大学），内藤智之（大阪大学），稲垣未来男（大阪大学），三好智満（大阪大学），末松尚史（大阪大学），角田圭輔（大阪大学），畑中　岳（大阪大学），山本　悠（大阪大学），伊藤竜朗（大阪大学），大石浩輝（大阪大学），林　燦碩（大阪大学），宮田季和（大阪大学），上田悠佳（大阪大学），安井裕人（大阪大学），渡辺直樹（大阪大学），澤井　元（大阪府立大学），森本優洸聖（大阪府立大学），阪口幸駿（同志社大学），尾山匡浩（神戸市立工業高等専門学校），潮井川修一（福岡国際医療福祉大学），佐藤雅之（北九州市立大学），永井聖剛（立命館大学），小池千恵子（立命館大学），立花政夫（立命館大学），堀江　翔（立命館大学），西村勇輝（立命館大学），首藤浩伸（立命館大学），堀　哲崇（立命館大学），井上祐介（立命館大学），松島祐輝（立命館大学），塚本吉彦（兵庫医科大学），畠　義郎（鳥取大学），相田紗織（山口大学），奥村美紗子（広島大学），中山賢一（広島大学），安川真輔（九州工業大学），岡村純也（鹿児島大学），山根ゆか子（OIST），西　友希（石川病院），緒形昌美（ソニー㈱），本間俊光（Yamagata1），澤田大輔（アサヒクオリティーアンドイノベーションズ㈱），小池　誠（マイクロ特許事務所），河田　卓（㈱Inner Frontier），横田浩紀（㈱Ayrom），加藤大典（㈱トプコン），中野由香梨（㈱ニデック），野秋貴史（参天製薬㈱），永谷広行（星和電機㈱），日野恵介（大塚製薬㈱），鈴木栄二（東海光学㈱），郷田直一（生理学研究所），鳴島　円（生理学研究所），揚妻正和（生理学研究所），西尾亜希子（生理学研究所），高橋泰伽（生理学研究所），山本哲也（生理学研究所），吉村由美子（生理学研究所），林　健二（生理学研究所），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），呉　嘉豪（生理学研究所），高木正浩（生理学研究所）

【概要】

視覚系の研究には，光受容器，網膜，中枢，さらに心理物理学や工学モデル，眼科学や神経心理学など様々な階層の研究が含まれる。実験対象も非脊椎動物から人間までと幅広い。それぞれの領域で研究が進展するにつれ，研究分野は細分化し，各研究者個人がすべての分野をカバーできないことはもちろん，個々の研究の位置付けや体系的理解も困難になってきている。こうした現状をふまえ，自らの研究の位置づけをしっかりと認識し，密接に関連する研究領域の進歩を理解するために，本研究会が企画された。

研究会は 2020 年 9 月 1 日に zoom を用いたオンライン形式で開催された。国内外からの招待講演４題，ならびに１４件のフラッシュトークが行われた。４つの招待講演は，昆虫の中枢神経系，マウス網膜，マウス視床皮質回路，ヒトの赤ちゃんの成長と多岐にわたり，それぞれが大変わかりやすく興味をそそる講演であった。フラッシュトークでは解剖，心理，生理，計算論まで幅広く視覚科学にまつわるトピックを共有することができた。

オンライン開催でありさらに参加費無料であったことから国内外から数多くの参加者に恵まれた。事前登録数は１６８名，同時最大接続数１３０名程度と予想を超える規模となった。オンライン会議では質疑応答の盛り上がりが心配されたが，チャット機能で随時コメントや質問を寄せるとともに，質疑を座長が読み上げ，演者が回答するとともに，共著者もチャットでフォローするという方式が一体感を生み，まれにみる盛り上がり方を見せた。開催後のアンケートでは８８名もの意見が寄せられ，そのすべてが好意的なものであった。早期にオンライン開催を決めたことから海外で活躍する研究者を容易に招待でき，さらに一般参加者も国内遠方や海外から多く見られたことから，オンライン開催の良い点が現れたと言える。次回以降も感染症の状況によらずオンライン開催を希望する意見が３割程度あり，今後の開催方針の参考となった。

（１）神経回路の構造と機能を明らかにするウイルス遺伝子工学とイメージング技術

小坂田文隆（名古屋大学大学院 創薬科学研究科 細胞薬効解析学分野）

視覚情報は網膜で受容され，外側膝状体（LGN）を経て大脳皮質 1 次視覚野（V1）へと伝えられる。その後，高次視覚野を含む他の領野に伝達され，知覚や認知に至る。これら視覚関連領域において，例えば，霊長類の LGN は組織学的に 6 層を有し，各層は左眼あるいは右眼のどちらか一方から入力を受け，視覚反応特性も異なる。霊長類の V1 は大脳皮質表面に対して水平に 6 層構造を持ち，反応性が類似した神経細胞が集まるカラム構造を柱状に持つ。一方で，マウスでは，LGN は組織学的に明確な層構造を持たず，V1 もカラム構造を持たない。しかし，マウスのこれらの領域においても，細胞種特異的なシナプス接続や分布により精密な神経回路構造が形成されることで，特異性を持った情報処理や機能発現が実現されることが明らかになりつつある。本講演では，神経回路の構造と機能を解析するための新たな手法として，特定の細胞種に組換え酵素を発現する遺伝子改変マウス，特定の細胞種に入力する細胞群を標識できる狂犬病ウイルスベクター，静脈注射で血液脳関門を通過し脳細胞へ遺伝子導入可能なアデノ随伴ウイルスベクターに代表されるウイルス遺伝子工学技術と，大脳皮質の多くの領野を同時に機能評価できる広域イメージングや異なる焦点面を同時に撮像可能な多平面 2 光子イメージングなどの光学技術を紹介し，それらを組み合わせることで得られたマウスの視覚神経回路に関する知見を紹介する。

（２）乳児の視覚世界

山口真美（中央大学 文学部 心理学研究室）

乳児の視覚認知世界は，１９６０年代に心理学者 Fantz が考案した，乳児の選好特性を利用した実験手法である「選好注視法」や，学習を利用した「馴化法」を用いることにより明らかになっている。形態認知・空間認知・運動視から言語獲得，あるいは視力発達に至るまで，乳児の多様な認知機能を明らかにされてきた。近年はこうした基本的認知機能に加え，多感覚の統合過程や社会性の認知機能の解明についての研究が進んでいる。さらに乳児を対象とした脳計測手法の確立により，脳機能の発達をベースにした認知発達が解明されることとなり，定型・非定型な発達を検討することが可能となった。

私たちの研究室では，顔認知・空間認知や運動視・周辺抑制の発達などを検討し，色知覚では乳児でも金色カテゴリがあること，さらに言語を獲得する以前に色カテゴリの脳内処理が存在することを明らかにしてきた。

乳児の視覚認知能力が成人と同様な機能を持つことが明らかにされてきた一方で，幼い乳児は成人と同じように世界を見ているわけではないことも明らかになっている。成人が当たり前のように感じる「知覚の恒常性」のない世界にいることが，最近の実験で明らかにされた。すなわち，生後４ヶ月未満の乳児は，成人が気づかない環境の変化，照明方向の変化に気づく。そしてこの気づきが消失した生後７ヶ月以降，それ以前の乳児では気づくことのできない，物体の質感の変化に気づくようになり，成人と同様の「恒常性」のある世界に生きることとなる。乳児の視覚世界の不思議さを実感しながら，成人に至る，視覚認知機能の発達について解説する。

（３）アゲハの高次中枢における波長情報処理

木下充代（総合研究大学院大学）

アゲハ（*Papilio xuthus*）は，色恒常性や対比現象を含む色覚を持つ。求蜜行動中のアゲハは，色をよく覚え見分ける。色の識別能力は非常に高く，430，480，560 nm の３波長でわずか１ nm の差を弁別できる。このことから，アゲハの色覚は複眼にある６種類の光受容細胞のうち紫外・青・緑・赤受容細胞を基盤とした４原色と考えられている。

複眼から入った波長情報は，視覚中枢で処理されたあと高次中枢で他の感覚と統合される。視覚中枢からの出力神経を精査したところ，アゲハではキノコ体傘部に出力する視覚神経群が発達していることを発見した。キノコ体は，視覚・嗅覚・味覚など異なる感覚情報の統合と連合学習・記憶に関わる領域である。

キノコ体傘部に入る視覚情報の性質を明らかにするため，キノコ体で分光感度と光強度応答の細胞内記録を行なった。これまで記録した細胞は，分光感度に従って１２種に分けることができた。その多くの細胞の分光感度は反対色性を含み，光受容細胞の分光感度とも異なっていた。中には感度の高い波長域が，哺乳類の第四視覚野で見つかるような鋭いものがあった。鋭い感度を持つ細胞の感度域は，波長弁別能の高い紫から緑の波域と赤波長域に分布していた。キノコ体に入力する視覚神経群は，求蜜行動中にアゲハが見て学習する“色”情報を送っている可能性が高い。以上の結果は，これまで報告されている昆虫の色覚に関わる神経機構の理解を大きく進める知見である。

（４）視覚運動特徴を処理する特異な網膜神経回路

松本彰弘（デンマーク･オーフス大学）

わたしたちが受容する視覚世界は，明るさ，色，空間周波数など多様な視覚特徴を含有する。それらの特徴が時間軸に相関構造を伴うと，運動方向，速度などの運動特徴が生じる。視覚系の感覚器官である網膜は，その神経回路によって，視覚特徴を抽出し脳へと伝送する。特に，網膜像に生じた運動方向や速度は，脳において，身体の移動に伴うオプティカルフローの処理や眼球運動の制御などに利用される重要な特徴である。

網膜での運動特徴の抽出は，運動方向と速度に調節性を持った方向選択性細胞が担う。即ち，遅い速度に調節性をもつオン型と，より速い速度に広範な調節性をもつオンオフ型細胞である。つまり，網膜表現として運動情報は，運動方向と速度とが連関を有する。

これまでの研究から，GABA 作動性抑制性シナプスの空間的に非対称な分布が，方向選択性の形成に寄与することが知られている。一方で，グルタミン酸作動性やアセチルコリン作動性シナプスによる興奮性入力がどのように寄与するのか，明らかではない。また異なる速度調節性を説明する回路機構も示されていない。

本研究での着眼は，視覚特徴の処理における，グルタミン酸, アセチルコリン, GABA 作動性神経伝達による，局所の樹状突起での時空間的な演算論である。マウス網膜を用い，電気生理，２光子イメージング，EM コネクトミクス解析，モデルシミュレーションを組み合わせ，網膜回路での特異な結合様式が，運動特徴の検出に寄与することを示した研究について，報告する。

13. 意思決定研究の新展開 ～社会共感・主観価値の生成・葛藤に関わる神経メカニズム～

2020 年 9 月 14 日－9 月 15 日

代表・世話人：雨森賢一（京都大学霊長類研究所･白眉センター）

所内対応者：磯田昌岐（認知行動発達機構研究部門）

世話人：則武　厚（認知行動発達機構研究部門）

（１）予測に基づく意思決定を可能にするマウス前頭皮質の神経活動

濱口航介（京都大学 医学研究科）

（２）意思決定における側坐核ネットワークの制御機構

疋田貴俊（大阪大学 蛋白質研究所）

（３）接近回避葛藤の柔軟な切り替えを行う線条体モジュール仮説

雨森賢一（京都大学霊長類研究所･白眉センター）

（４）行動異常に関わる線条体コンパートメントの神経活動

三浦正巳（東京都健康長寿医療センター研究所）

（５）霊長類における遺伝学的干渉によるネットワーク作動変容のマルチスケール解析

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）

（６）社会的距離を制御する神経回路の探索

征矢晋吾（筑波大学 国際統合睡眠医科学研究機構）

（７）協力社会を支える社会性の比較認知科学

山本真也（京都大学 高等研究院）

（８）発声制御における聴覚-前頭皮質回路の役割

綱田丈二（Chinese Institute for Brain Research, Beijing）

（９）マカクザル皮質―皮質下ネットワークにおける自己と他者の報酬情報処理

則武　厚（自然科学研究機構 生理学研究所）

（10）マーモセット自閉症モデルにみる社会行動の異常

一戸紀孝（国立精神･神経医療研究センター）

（11）マカクザルはこころの理論をもつか?

長谷川功（新潟大学 医学部）

（12）マーモセット大脳皮質視覚野での自発活動と刺激誘発性活動のカルシウムイメージング

松井鉄平（東京大学 医学部）

【参加者名】

雨森賢一（京都大学霊長類研究所），一戸紀孝（国立精神・神経医療センター），征矢晋吾（筑波大学），綱田丈二（Chinese Institute for Brain Research, Beijing），長谷川　功（新潟大学），濱口航介（京都大学），疋田貴俊（大阪大学），平林敏行（放射線医学総合研究所），松井鉄平（東京大学），三浦正巳（東京都健康長寿医療センター），山本真也（京都大学高等研究院），則武　厚（生理学研究所），井上謙一（京都大学霊長類研究所），網田英敏（京都大学霊長類研究所），髙安　環（京都大学理学研究科），野々村　聡（京都大学霊長類研究所），兼子峰明（京都大学霊長類研究所），鮫島和行（玉川大学），仁科国之（高知工科大学），加藤郁佳（東京大学・理化学研究所），小口峰樹（麻布大学），廣川純也（同志社大学），萩原賢太（Friedrich Miescher Institute），山本愛優美（慶應義塾大学），岩沖晴彦（京都大学霊長類研究所），佐藤大気（東北大学大学院生命科学研究科），上原一将（生理学研究所），辻本憲吾（国立精神・神経医療研究センター），松田直祥（北海道大学），佐藤大輔（新潟医療福祉大学），八田紘和（京

都大学こころの未来研究センター），水口暢章（立命館大学），石田裕昭（東京都医学総合研究所），山本美久（岡山大学），角谷基文（名古屋大学），二宮太平（生理学研究所），西　友希（石川病院），原　あゆみ（慶應義塾大学），出馬圭世（高知工科大学），小笠原香苗（生理学研究所），竹村浩昌（情報通信研究機構），趙　景康（新潟大学），OH JUNGMIN（京都大学霊長類研究所），渡我部昭哉（理研 CBS），雨森智子（京都大学霊長類研究所），近藤崇弘（慶應義塾大学），岡本　峻（慶應義塾大学），横山　修（東京都医学総合研究所），米丸ひなの（立命館大学），渡邉　裕（医療社団法人春恵会基礎医学実験室），井上律子（東京都健康長寿医療センター研究所），羽野貴哉（NPO 法人子どもの発達・学習を支援するリハビリテーション研究所），大塚　亮（ユマニテク医療福祉大学校），阪口幸駿（同志社大学大学院），吉武講平（Icahn School of Medicine at Mount Sinai, NY, USA），植松明子（生理学研究所），鳥越万紀夫（理化学研究所），田中大樹（石川病院），木村梨絵（生理学研究所），浦久保秀俊（生理学研究所），纐纈大輔（生理学研究所），横山　寛（生理学研究所），高橋泰伽（生理学研究所），郷　康広（自然科学研究機構生命創成探究センター），揚妻正和（生理学研究所），田中慎吾（新潟大学），戸松彩花（生理学研究所），定藤規弘（生理学研究所），人羅菜津子（北海道大学），高橋裕美（同志社大学大学院），小松英彦（玉川大学脳科学研究所），瀬口瑛子（慶應義塾大学），大原崚太郎（京都大学霊長類研究所），小原奈暉（新潟大学），近添淳一（生理学研究所），菅原朋子（豊田中央研究所），高橋幸治（横浜市立脳卒中・神経脊椎センター），川嵜圭祐（新潟大学），江川　純（新潟大学大学院），横井　功（生理学研究所），齊藤孝臣（新潟大学大学院），Nanxi Liu（新潟大学），新居桂陽（生理学研究所），磯田昌岐（生理学研究所），足立雄哉（新潟大学），郷田直一（生理学研究所），阿部　湧（新潟大学大学院），杉山秀吾（新潟大学）

【概要】

神経科学の進展とともに，意思決定に影響を及ぼす「価値」には，様々な心象があることが明らかになってきた。またその中でも，「社会の中の自己や他者の心象」といった社会的な価値が本質的であることが明らかになってきた。こうした中，意思決定研究は，新たな展開を迎え，社会的な価値判断を研究対象とする新たなステージに入っている。近年は神経活動の計測技術，操作技術が高度化し，解析できる対象やスケールが大きくなってきた。そこで，1 日目（14 日）は，大脳皮質―大脳基底核の詳細な回路研究を行っている研究者を招き，「大脳基底核を含む大規模ネットワークの脳メカニズム」のセッションを企画し，5 名の講演者による研究紹介が行われた。げっ歯類，マーモセット，マカクザルの大規模ネットワークの研究に至るまで，イメージング・遺伝学的回路操作などの最先端の手法を用いた研究の発表があった。2 日目（15 日）は，「社会価値判断とコミュニケーションの脳メカニズム」と題したセッションを行い，7 名の講演者による研究紹介が行われた。社会的距離，忌諱，協調，協力，妬み，コミュニケーション，こころの理論に関する研究が，げっ歯類，マーモセット，そしてマカクザルを用いて，神経回路の因果的関与のレベルで詳細に解明される研究が次々と発表され，大いに感銘を受けた。われわれ動物は，主観的，社会的な様々な価値を統合して，その葛藤の中で意思決定を行っている。こうした研究の潮流を踏まえ，ディスカッションの時間を設け，新たな展開を見せている意思決定研究に科学的に取り組むためにはどうすべきか，について多角的な討論を行った。本研究会は，コロナ禍のため web 開催となったが，学術的に重要な発表が多く，当初の狙い以上の盛会となり，非常に有意義な研究会となった。

（１）予測に基づく意思決定を可能にするマウス前頭皮質の神経活動

濱口航介，渡邉　大（京都大学 医学研究科）
高橋裕美（同志社大学 脳科学研究科）

動物はどこまで環境の構造を理解して，意思決定をしているのだろう。従来の意思決定課題においては，環境の構造を含まないモデルフリーの強化学習モデルが利用される事が多い。この時，動物が環境の構造について知らない事を暗黙に仮定している。しかし連続逆転学習課題や Two-armed bandit 課題のように，定期的に報酬の条件が変わる課題を長期間行わせると，報酬条件の変わるタイミングを動物が予測するという報告が複数存在する。このことは，課題の構造を動物が学習し，報酬条件が変化する前に予測的に探索を始める神経メカニズムの存在を示している。しかしながら，予測的な意思決定の神経メカニズムは，ほとんどわかっていない。

この理解に向けて，我々はマウスを用いて以下のような実験を行った。マウスに連続逆転学習課題を長期間学習させると，学習後期において高正答率を示すマウスは報酬条件が変化する直前で予測的な逆転行動を行った。これはマウスが，逆転が定期的に起こるという逆転課題の構造を学習したからと考えられた。

この予測的な逆転に重要な役割を果たす皮質領域を，光遺伝学による神経活動抑制を用いて同定した。運動直前の神経活動を抑制すると，逆転が遅くなる皮質領域が存在した。光抑制効果が最も有意に認められた領域は，２次運動野（M2）の一部で，顔や舌の運動とその準備を担う Anterior Lateral Motor (ALM)と呼ばれる領域であった。

予測的な逆転行動の神経メカニズムとしては，１）行動の価値が減衰する，２）探索に関わる神経活動が増加する，などが予想された。予測的な逆転行動に関わる神経活動を計測するため，ALM 皮質５層の興奮性神経細胞から二光子顕微鏡によるカルシウムイメージングを行った。学習後期で高正答率のマウスでは，行動直前の準備活動は，報酬を得るといったん強まるが，その後は報酬を得るごとに減衰した。一方で，学習初期の低正答率のマウスの準備活動は，報酬を得るごとに強くなっていた。これらの結果は，ALM の神経活動は，単なる運動準備ではなく，行動の結果得られる報酬期待（行動価値）を表す事を示している。

本研究では，マウスが予測的な逆転行動を行う事，その神経メカニズムが ALM の行動価値の減衰であることを示した。本講演ではさらに，逆転を予測しつつ意思決定を行う強化学習モデルについても議論する。

（２）意思決定における側坐核ネットワークの制御機構

疋田貴俊（大阪大学 蛋白質研究所）

報酬を求め，危険を避ける意思決定は，動物の生存に関わる必須な行動であり，大脳基底核，特に腹側線条体である側坐核が関与している。私たちはこれまでに，側坐核の直接路が報酬行動に，間接路が忌避行動に関与することを示してきた。また，側坐核に入力する腹側被蓋野からのドーパミン入力が直接路と間接路のスイッチングを行っているという新しい神経回路機構を提唱している。さらに，側坐核の直接路と間接路が側坐核-大脳皮質前頭前野ネットワークをどのように制御しているかを分子機構から解析を進めている。これらから意思決定における神経ネットワークの制御機構を考察する。

（３）接近回避葛藤の柔軟な切り替えを行う線条体モジュール仮説

雨森賢一（霊長類研究所･京都大学白眉センター）

報酬と同時に罰があたえられる場合，その報酬と罰のセットを受け入れるか（接近），受け入れないか（回避），という意思決定に関して心理的な葛藤が生じる。これは接近回避葛藤とよばれ，不安やうつといった情動や気分と関係が深く，抗不安薬の投与によって変化することが知られている（Vogel et al., 1971）。我々は，マカクザルの線条体を対象として微小電気刺激実験を行い，線条体の刺激は，不安生成だけでなく，強迫性障害に似た悲観的な価値判断の固執を引き起こすことを明らかにした（Amemori et al., 2018）。こうした固執現象は，関連する大脳皮質である前帯状皮質の刺激では引き起こされなかった。線条体に特有のこの固執現象は，どのように説明できるのだろうか？

線条体のストリオソームとマトリックスのコンパートメント構造は, マトリックスの最終出力核が視床である一方, ストリオソームは黒質ドーパミン細胞の制御にもかかわる。こうした解剖学の知見から，強化学習の actor-critic モデルとの類似性が示唆されている。状態価値関数を表現する critic をストリオソームが担い，行動価値関数を表現する actor をマトリックスが担うと考えると，行動生成過程における 2 つのコンパートメントの機能分担を説明することができる。ただし，実際の線条体構造は，ストリオソームとマトリックスが隣接した構造をなし，2 つの構造の間には直接の相互作用はないものの, コリン作動性介在ニューロンなどを介した間接的な相互作用が存在することが明らかになりつつある（Inoue et al., 2016）。また，actor-critic モデルとは違い, 線条体は多数のコンパートメント構造が入り組んだ構造になっており，actor と critic が並列した形になっている。

本研究では, こうした実際の線条体の解剖学的な構造を考慮に入れたモジュール強化学習法を提案する。このモデルは，critic を報酬の予測器として使用し，制御器の actor とペアがモジュールを形成し（Amemori et al., 2011），予測期の予測誤差に応じて選択されることにより，行動を，行為の系列として生成することが可能となる（Haruno et al., 2001）。本研究のモジュール強化学習法は，モジュールの予測器の破綻が意思決定の固執を誘導することから，ストリオソームの活動異常が, 固執の原因であることを示唆する。本研究では，こうした理論的な背景をもとに，悲観的な価値判断の固執現象のモデル化を行う。さらに，モデル化を通して, モジュール強化学習の線条体モデルとしての妥当性と，弱点について議論する。

（４）行動異常に関わる線条体コンパートメントの神経活動

三浦正巳，井上律子（東京都健康長寿医療センター研究所）

常同行動は，目的のない無意味にみえる行動，姿勢や発語を繰り返す行動異常である。状況によらず同じ行動が表出するため，常同行動は行動選択が上手くいっていない状態と言える。発達障害，精神疾患や認知症など多彩な疾患において常同行動はみられる。精神刺激薬剤によっても常同行動は誘発され，治療中のパーキンソン病での punding もその一つとされる。

常同行動を生じる神経基盤には大脳基底核の機能異常が含まれ，一部には線条体の解剖学的領域 striosome と matrix が関わると考えられてきた。精神刺激薬剤を反復投与した常同行動モデル動物では，striosome 優位に Fos などの最初期遺伝子が誘導される。最初期遺伝子は神経活動によって誘導されることから, 線条体の不均等な興奮が起きていることが推測されている。

我々は常同行動モデルマウスの神経活動を調べ，striosome の直接路ニューロンと間接路ニューロンから電気記録を行ってきた。線条体の 80 – 90 % を占める matrix と同様に, striosome の投射ニューロンはドーパミン D1 受容体を持つ直接路ニューロンと D2 受容体を持つ間接路ニューロンから構成されていて，striosome の直接路ニューロンは黒質緻密部へ投射している。従って striosome と matrix を分ければ, 線条体には 4 種類の投射ニューロンが

存在する。これら４種類の投射ニューロンから電気記録を行い，常同行動モデルマウスの神経活動がどのように変化しているかを比較した。その結果，実際に膜の興奮性が変化していることを見出している。

行動異常とは日常生活でその場に相応しい行動をとれないことであるが，常同行動に線条体の興奮性の異常があるとすると，どのように関わっているのだろうか。最後に，意思決定といった視点から線条体の役割を考察する。

（５）霊長類における遺伝学的干渉によるネットワーク作動変容のマルチスケール解析

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）

特定の脳領域における神経活動を操作して，それによる行動の変化を調べる手法は，古くから脳領域と機能の因果的対応を調べる為の基本的なアプローチの一つであり，特に近年の遺伝学的回路操作法の進展に伴い，現代のシステム神経科学においてはその中核を担っている。こうした局所的な神経活動の操作がもたらす行動の変化は，一般には操作した領域自体の活動変化によるものであると解釈されるが，実際にはその影響は操作した領域のみにとどまらず，神経投射を介して特定の大域ネットワーク全体に及んだ結果として行動の変化に繋がると考えられ，かつその影響範囲は必ずしも解剖学的結合のみでは決まらない。従って局所操作の影響を正しく理解する為には，行動の変化を調べるだけでなく，操作と同時に全脳の機能イメージングを行い，大域ネットワーク作動の変容を捉える方法が有効であると考えられる。本講演では，DREADD による局所抑制がもたらす大域ネットワーク作動の変容をマルチスケールに捉える “Chemogenetic fMRI/fPET & electrophysiology” について，知覚，認知記憶，及び情動のそれぞれの側面で進めているマカクザル研究を通じて紹介し，その現状と展望について議論したい。

（６）社会的距離を制御する神経回路の探索

征矢晋吾，矢代　海，兎田幸司，齋藤夕貴，櫻井勝康，Yoan Cherasse，櫻井　武
（筑波大学 国際統合睡眠医科学研究機構）
阿部　学（新潟大学 脳科学研究所）

見知らぬ他者とコミュニケーションを取る上で個体間の距離を縮めていくことは社会性を構築する上で必須である。しかし，社会的接触に至るまでの個体間距離の調節機序については不明である。他者との社会的接触は恐怖や不安などの情動応答を引き起こすことから，情動応答の制御メカニズムが重要である可能性が示唆される。

我々は社会的接触を制御する神経基盤を探索するためニューロペプチド B/W の受容体である Npbwr1 に注目した。Npbwr1 は恐怖応答に重要な役割を果たす扁桃体中心核（CeA）において顕著な発現が観察され，社会行動や情動応答に重要な役割を果たすと考えられている。Npbwr1-iCre マウスを用いて Cre 依存的なアデノ随伴ウイルス（AAV）を CeA に投与することにより，Npbwr1 を発現するニューロン（Npbwr1 ニューロン）特異的に hM3Dq および hM4Di を発現させ，CNO 投与により人為的に操作した。その結果，3 チャンバー社会行動試験において，hM3Dq 群ではコントロール（Saline 投与群）に比べ新規マウス周辺における滞在時間が著しく増加した一方で，hM4Di 群では滞在時間が減弱した。Npbwr1 ニューロンの投射先を探索するため，Cre 依存的にシナプトフィジンを発現する AAV を CeA に投与した結果，Npbwr1 ニューロンは主に MiTg (Microcellular tegmentum) に投射することが明らかになった。CeA の Npbwr1 ニューロンに ChR2 を発現させ，光遺伝学を用いて下流の MiTg に投射する軸索末端を刺激した結果，3 チャンバー社会行動試験において新規マウス周辺における接触時間が顕著に増加した。Npbwr1 はヒトにおいて機能低下を伴うアミノ酸配

列の変化（Y135F）を伴う SNP (1 塩基多型:404A>T) が確認されている。AAV を用いて NPBWR1(135Y) および変異型 NPBWR1(135F) を Npbwr1-iCre の CeA に回復させた結果，135F 群では顕著な社会的接触や社会的距離の短縮が観察される一方で，135Y 群では社会的接触の減少および社会的距離の増加が確認された。さらに 135F 群では 135Y 群に比べて恐怖条件付けにおいて音および文脈に対する恐怖応答が著しく減弱していた。

以上の結果から，CeA の Npbwr1 ニューロンは下流の MiTg を介して他者との社会的接触を制御している可能性が示唆された。また，Npbwr1 の SNP は恐怖応答の調節に関与し，社会的接触および社会的距離の制御に重要な役割を果たすことが示唆される。

（７）協力社会を支える社会性の比較認知科学

山本真也（京都大学 高等研究院）

チンパンジー・ボノボを中心とした進化の隣人を対象に，「ヒトらしい」行動特性の進化的基盤について研究してきた。この 2 種は進化的に非常に近縁であるにもかかわらず，認知・行動・社会のさまざまな点で異なる様相をみせる。チンパンジーは競合的な社会を築き，ボノボは寛容な社会に暮らすと言われている。このような違いが，彼らの協力行動にどのような異同をもたらすのだろうか。

チンパンジーは集団での協力に優れ，ボノボは 2 個体間での協力に秀でており，それには集団内と集団間の要因が関わっているという仮説を立てた。ボノボの個体間関係は寛容であり，そのことが高度に社会化された食物分配などの 2 個体間協力を支えている。それに対し，チンパンジーでは，個体間関係が競合的であると同時に，集団間関係も敵対的である。この外集団の脅威に対応するため，集団としてまとまる特性を獲得してきたのではないか。協力（集団内協力）と戦争（集団間競合）は表裏一体である可能性が指摘される。

野外での観察研究および飼育下での認知研究に加え，近年は，生理学的側面からの協力行動のメカニズム解明にも挑戦している。様々な動物種へのオキシトシンの経鼻投与にも成功した。幅広い視点からの比較認知科学の取り組みを紹介したい。

（８）発声制御における聴覚-前頭皮質回路の役割

綱田丈二（Chinese Institute for Brain Research, Beijing）

状況に応じて，発声を柔軟に制御することは，他者へ正確に意思伝達する上で重要である。発声の制御には，意図した発声と，聴覚フィードバックとして聞いた音声の誤差を小さくすることが要求される。これまでの研究によって，発声の制御において，前頭皮質は，発声に関する運動指令の生成に関与し，聴覚皮質は，聴覚フィードバックをモニタリングし，意図した発声と聴覚フィードバックの誤差をコードすることが示されてきた。これらから，発声中に前頭皮質から聴覚皮質へ，意図した発声に関する情報が送られると考えられる。しかしながら，１）発声中に前頭皮質と聴覚皮質が相互作用するかどうか，２）相互作用するならば，どのような情報がやり取りされるのか，明らかではなかった。そこで，これら２点を検証するため，発声中のコモン・マーモセットの前頭皮質と聴覚皮質から神経活動を同時に記録した。その結果，発声の直前に両脳領野のシータ波の活動が高まり，これらの活動が，前頭前皮質から聴覚皮質への情報の流れを反映するものであることが分かった。さらに前頭皮質の発声前における活動は，これから発する鳴き声のタイプや音響的な特性をコードすることが分かった。以上の結果は，発声開始前に，前頭皮質は，意図した発声に関する情報を聴覚皮質に送ることを示唆する。対照的に，発声中には，前頭皮質の活動は，広い帯域に渡って抑制されており，脳領野間の相互作用も弱かった。その一方

で，聴覚皮質において，聴覚フィードバックのモニタリングに関与する，ガンマ波の活動が発声中に高まり，この活動が，発声前のシータ波の活動と相関することが分かった。このことは，発声中，聴覚皮質は，意図した発声に関する情報を保持しつつ，同時に，聴覚フィードバックをモニタリングすることを示唆する。このように，本研究では，発声の制御の神経メカニズムとして，前頭皮質から聴覚皮質への意図した発声に関する情報の伝達と，この情報に基づいた聴覚皮質における聴覚フィードバックのモニタリングを明らかとした。

（９）マカクザル皮質—皮質下ネットワークにおける自己と他者の報酬情報処理

則武　厚（自然科学研究機構 生理学研究所）

自己の得るもの（報酬）の価値が他者の得るものに影響を受けてしまう。その背景には，限りある報酬資源をめぐる他者との競争があると考えられる。我々はそのような競争的状況において他者の報酬に影響を受ける自己の報酬価値を「主観的価値」とし，その神経機構を電気生理学的に調べた（Noritake et al., 2018, 2020）。

この目的のため，2 頭のサル（自己と他者）を対面して座らせ，各サルに視覚刺激－報酬確率を同時に条件づけする「社会的条件づけ」をおこなった。社会的条件づけでは，競争的状況を模し，自己および他者の報酬確率を操作した。この社会的条件づけ下において，自己の報酬情報処理に深く関係するドーパミン中脳核のドーパミン細胞，それと解剖学的結合を密に持つ視床下部外側野および社会的な情報処理の中枢とされる前頭前野内側部の細胞から単一神経細胞活動および局所電場電位活動を記録した。

本研究会では，報酬への期待行動における主観的価値の表出，上記の脳部位における自己および他者の報酬情報処理様式，脳部位間の神経情報の流れに関して得た結果に基づき，主観的価値生成過程の仮説を報告する。さらに，皮質—皮質下ネットワークにおける報酬情報処理における社会的・競争的要因の重要性について議論する。

（10）マーモセット自閉症モデルにみる社会行動の異常

一戸紀孝（国立精神･神経医療研究センター）

自閉スペクトラム症（以下自閉症）は，コミュニケーション/社会性の障害・固執性をコア症状として，３歳までに診断される発達障害である。自閉症は 100 人に 1 人の頻度で認められが, そのコア症状に対する治療法はいまだに確立していない。非ヒト霊長類は，ヒトに類似の社会行動・脳構造/機能・発達に伴う遺伝子発現ダイナミクスをもつ点で発達障害である自閉症の Translational Research にとって有用な動物と期待されている。この中でマーモセットは学習依存的な多様なコールを用いたコミュニケーションを行い，早い成熟，繁殖力の高さゆえに，自閉症モデル動物としてのメリットがある。

妊娠中の母親が抗てんかん薬バルプロ酸を使用すると，子どもの自閉症のリスクが上昇することが知られている。バルプロ酸のエピジェネティックな胎児遺伝子発現修飾が自閉症発症のメカニズムと考えられている。我々は，このバルプロ酸を妊娠中の母親マーモセットに投与することにより自閉症モデル動物を作成した。このモデル動物の大脳皮質の遺伝子発現の変異は，ヒト自閉症における変異と相関をしめしていた。また，分子生物学的・形態学的解析はシナプス形成・髄鞘形成・ミクログリア・アストロサイトの異常においてモデル動物とヒト自閉症患者において共通点が多いこと示した。これらのことから，バルプロ酸暴露マーモセットは生物学的な観点から自閉症の良いモデルになっていると考えられた。

我々は動物モデルとして必須の行動学的異常に関して検討を行った。ヒト自閉症は３歳の時期に診断されることを考慮して，ヒトの 3 歳に当たる 3 ヶ月令のマーモセットの行動異常を調べた。その結果，小児期のモデルマーモセットは call が単調になっており，他個体へ視線

を向ける頻度が低いことがわかった。また成体のモデル動物は，向社会性に関連すると考えられている不公平忌避を示さないことが見出された。我われは定型発達マーモセットは，二人の実験者が食べ物を交換するお芝居をしていて，どちらかが非互恵的に振る舞うと，その実験者からは餌をもらわない傾向があることをすでに報告していた。このテストを成体モデル動物に行ったところ，モデル動物は同じ条件下でも二人の実験者から同様な割合で餌を受けとることがわかった。成体のモデル動物は逆転学習の異常も認められ，モデル動物がもう一つのコア症状である固執性傾向も持つことが示された。興味深いことに３ヶ月令のモデル動物の他個体へ視線を向ける頻度の異常の程度と，成体における３つのテストの異常の程度には相関が見られ，小児期での自閉症様傾向が成体まで維持されると考えられた。これらの結果はバルプロ酸暴露マーモセット行動学的・生物学的な妥当性を持ち，自閉症の治療法開発にとって有望なモデルであると考えられた。

（11）マカクザルはこころの理論をもつか?

長谷川　功（新潟大学 医学部 神経生理学分野）

社会生活において，人の気持ちを汲んだり，その場の空気を読んだりするためには，他者にも自分とは異なる心の状態があることを理解する『心の理論』と呼ばれる能力（Premack and Woodruff, 1978）が必要と考えられる。心の理論の有無を検証する決め手は，相手の誤った思い込みを正しく理解して，その思い込みにもとづく相手の行動を予測できるかどうかを調べる『誤信念課題』である（Wimmer & Perner, 1983）。種々の誤信念課題を用いたヒトの脳機能イメージングにおいて，内側前頭皮質，上側頭溝，側頭頭頂接合部を含む脳回路の賦活が報告されている（Schurz et al, 2014）。しかし，これらの回路の中に心の理論の能力と因果関係を持つ部位があるかどうかは特定されていない。因果関係を立証するには動物実験が不可欠であるが，ヒト以外の動物が他者の誤った信念を理解できることを示す証拠がなかった（Call and Tomasello, 2008）からである。

近年，非言語的な誤信念課題と予期的眼球運動パラダイム（Southgate et al, 2007）を組み合わせたアプローチにより，チンパンジーにも他者の誤った信念を理解できることが報告された（Krupenye et al, 2016）。わたしたちは，同様の手法を用いて，マカクザルにも他者の誤った信念を理解できることを示唆する視線の偏りがあることを見出した。しかし，見かけ上の行動の類似は，必ずしも進化の相同性にもとづくとは限らない。わたしたちはヒトの脳機能イメージングで誤信念課題に伴う賦活が最も再現性よく認められる内側前頭皮質の神経活動と非ヒト霊長類の「他者の誤った信念の認知」様の行動との因果関係を明らかにするため，マカクザルの脳の神経活動を可逆的に抑制する化学遺伝学のアプローチ（Nagai et al, 2016）を利用した。実験の結果，内側前頭皮質の神経活動を抑制すると，サルの，動く視標を追視する能力や，短期記憶に基づく視線の偏りには変化が認められなかったが，他者の誤信念に基づく行動を予期する視線の偏りが消失することがわかった。本研究により，マカクザルでも他者の誤った信念を理解できること，さらにこの能力が内側前頭皮質の神経活動に依存していることが示唆された。

（12）マーモセット大脳皮質視覚野での自発活動と刺激誘発性活動のカルシウムイメージング

松井鉄平，橋本昴之，村上知成，上村允人，菊田浩平，加藤利樹，大木研一
（東京大学医学部統合生理学教室）

Spontaneous cortical activity in the absence of sensory inputs or body movements is robustly observed across cortical areas. Previous studies reported non-random spatiotemporal structure of spontaneous cortical activity. Whether or not such non-random spatiotemporal structure relate to functional organization of the cortical networks is an active matter of debate. At the mesoscale, previous optical imaging in the visual cortex of cats and ferrets reported that spatial patterns of spontaneous cortical activity closely resemble spatial patterns of iso-orientation columns (Kenet et al., 2003; Smith et al., 2018) suggesting that spontaneous activity recapitulates visually evoked activity. However, because functional organization of higher visual areas in these animals are hardly known, these previous studies were limited to early visual areas. In primates, whose higher visual areas are well studied, it has been difficult to measure precise mesoscale structures of spontaneous neuronal activity because, in macaque monkeys, most of the visual areas are embedded within the sulcus and inaccessible to optical imaging. In this study, we applied calcium imaging technique optimized for primates (Sadakane et al., 2015; Uemura et al., Society for Nerusocience Abstract, 2018) to marmoset monkeys whose smooth cortical surface allows optical access throughout the visual cortical network. By using combination of widefield and two-photon imaging, we compared spontaneous and visually evoked cortical activity in multiple visual cortical areas at multiple spatial scales.

Wide-field imaging of spontaneous activity in the marmoset visual cortex revealed rich spatiotemporal structures at various spatial scales. At a large spatial scale of several millimeters, wave-like spontaneous activity propagating across the cortex was readily observed. At a smaller spatial scale of several hundred micrometers, columnar patterns resembling orientation maps were frequently observed and were often embedded within the wave-like activity. Cellular scale imaging with two-photon microscopy confirmed that the columnar spontaneous activity reflected spontaneously active clusters of neurons. In the primary visual cortex, spike triggered average of spontaneous activity showed significant overlap between the column-like spontaneously activity and iso-orientation columns. Currently, we are extending the same analysis to higher visual areas. The combined results will allow us to examine whether or not there exist a general rule that defines the relationship between spontaneous and visually evoked cortical activity.

14. 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

2020 年 11 月 12 日－11 月 13 日

代表・世話人：高草木　薫（旭川医科大学 脳機能医工学研究センター）
所内対応者：南部　篤（生体システム研究部門）

（1）胎児・乳児期における脳機能と運動の発達
多賀源太郎（東京大学）

（2）精神科臨床における成人の自閉症スペクトラム障害，ADHD，学習障害，発達性協調運動障害などの発達障害
前田貴記（慶応義塾大学）

（3）当院にて経験する小児運動疾患～瀬川病・遺伝性ジストニア・トウレット症～
星野恭子（瀬川記念小児神経学クリニック）

（4）小児の不随意運動症に対する脳深部刺激療法
熊田聡子（東京都立神経病院）

（5）小児のリハビリテーション～脳性麻痺を中心に～
四津有人（東京大学）

（6）脳の遷移ダイナミクスの機能的意義と自閉症傾向との関連
北城圭一（生理学研究所）

（7）コルセット使用時の体幹筋の様子から推定される患者の状態
下田真吾（理化学研究所）

（8）脳卒中患者の歩行の「個別性」を克服するモデルベースト・リハビリテーション
大脇　大（東北大学）

（9）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
定藤規弘（生理学研究所）

【参加者名】

安　琪（九州大学），雨森賢一（京都大学），太田　順（東京大学），中屋敷弘晟（東京農工大学），鈴木恒彦（大阪発達総合療育センター），平田泰久（東北大学），林部充宏（東北大学），濵田裕幸（東京大学），福山秀青（旭川医科大学），藤山文乃（北海道大学），温　文（東京大学），阿部勇貴（東京大学），丸田茂樹（東京大学），高田謙一（東京大学），木野本　誠（ボバースリハビリテーション教育センター），沖村　宰（慶應義塾大学），須藤珠水（東京農工大学），湖上碩樹（東京大学），阪口幸駿（同志社大学），石塚佳奈子（名古屋大学），守田知代（大阪大学），内藤栄一（情報通信研究機構），山川博司（東京大学），大瀧亮二（東北大学大学院），田中　大（東京大学），下田真吾（理化学研究所），羽野貴哉（NPO 法人子どもの発達・学習を支援するリハビリテーション研究所），熊田聡子（東京都立神経病院），吉田純一朗（国立精神神経医療研究センター），前田貴記（慶應義塾大学医学部），門田　宏（高知工科大学），江藤人拓（東京大学），知見聡美（生理学研究所），古賀洋平（九州大学），須藤珠水（東京農工大学），儀間裕貴（東京都立大学），山田康朝（千葉県立四街道特別支援学校），千葉龍介（旭川医科大学），萩生翔大（京都大学），阿部十也（国立精神神経医療研究センター），高橋未来（旭川医科大学），岸　哲史（東京大学），Oh Jungmin（京都大学），野口智弘（旭川医科大学），淺間一（東京大学），四津有人（東京大学），吉田和憲（東京大学），佐藤　彩（生理学研究所），鳴島　円（生理学研究所），吉村由美子（生理学研究所），Rahman Labiblais（生理学研究所），星野恭子（瀬川記念小児神経学クリニック），橘　吉寿（神戸大学），関　和彦（国立精神・神経医療研究センター）

【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。2020 年度の研究会では，現地とオンラインにおいて 50 名を超える参加者によって幼小児の健全な発達をいかに促すかについて議論が行われた。具体的には臨床現場において脳性麻痺や発達障害を抱える幼小児と接している医師や，脳の発達，社会性の獲得などを研究している脳・神経生理を専門とする研究者，リハビリテーションシステムを開発する工学者などが集まり，相互に意見交換がなされた。特に臨床現場において障害を抱える様々な幼小児を診ているリハビリテーション医学の研究者とロボット工学を専門とする工学者などによる活発な議論が行われた。

（１）胎児・乳児期における脳機能と運動の発達

多賀源太郎（東京大学）

ヒトの運動は，胎児期に始まり，新生児から生後 3 ヶ月に至るまで，General Movement と呼ばれる全身の自発運動によって特徴付けることができます。その後，生後１年間に，定頸，上肢リーチング，寝返り，座位，立位，二足歩行などのように次々と随意的な運動が獲得されます。近年では 3 次元動作解析装置による行動計測や心理実験，MRI や NIRS 等の脳の構造・機能イメージング手法，非線形動力学モデリングの発展に伴って，胎児期から乳児期にかけて，大脳の層構造の発達，脳溝や白質線維の形態形成，脳の機能的ネットワークの構築と発達，脳の自発活動や機能的活動等の実態が明らかにされ，運動発達を脳の発達との関連において，理解することが可能になりつつあります。本発表においては，物理学，生物学，工学，心理学等を基盤とし脳と身体の自発活動に関して，乳幼児期に観察される自発運動の特徴と意図の発現，その自発運動の特徴と環境との相互作用を通じた学習機構やその個性創発の原理について議論します。

（２）精神科臨床における成人の自閉症スペクトラム障害，ADHD，学習障害，発達性協調運動障害などの発達障害

前田貴記（慶応義塾大学）

精神科臨床で出逢う発達障害の患者さんたちは，知的には大きな問題がないため，特別な支援を受けてきたことはなく，生きにくさを感じつつも，なんとか成人して社会人になることはできる人たちである。しかし，社会に出て就労を始めると，人間関係の複雑さや，現代ではますます合理性・効率性が求められるため，うまく適応できず，二次的にうつなどの精神障害を発症し，ようやく精神科を受診するに至る。発達障害患者さんへの精神療法のコツは，苦手な部分については目立たないように足を引っ張らないようにとアドバイスをしながら，当人

の持っている能力を最大限に駆使して，適応する術（すべ）を探る工夫の繰り返しである。ご本人にも，ご家族にも，「発達障害なりに発達するので諦めないこと。」と励ましておりますが，このアドバイスは響くように思います。当日は，成人の発達障害の臨床の実際について，お話いたしますが，小児期にどのようなサポートが必要なのかについて考える上で参考になるかもしれません。見方を変えれば，試行錯誤しながらもなんとか“適応”して生きてきたと前向きにみることもできるので。なお，私が専門にしている「主体性(agency)」の神経科学という観点からの発達障害研究の試みについても，紹介したいと思います。

（３）当院にて経験する小児運動疾患～瀬川病・遺伝性ジストニア・トウレット症～

星野恭子（瀬川記念小児神経学クリニック）

瀬川家の始祖は高槻藩藩医，9 代目前院長瀬川昌也先生は 1973 年日本初小児神経専門クリニックを御茶ノ水に開業しました。瀬川先生は 1970 年夕方に増悪するジストニアの女児に出会いました。この女児は L-dopa で劇的に改善したことから，小児のパーキンソン病（PD）と議論されたが，1 例目の祖母も同症状で L-dopa で改善したことから独立した疾患となりました。GCH1 遺伝子異常が同定されて以来，症状の多様性が報告されています。遺伝性ジストニアは 30 近く分類されていますが，その中でも ATP1A3 異常 DYT12（Rapid-onset dystonia parkinsonism）精神症状を呈する SGCE 異常 DYT11（Myoclonus-dystonia），成長障害を呈する KMT2B 異常 DYT28 を紹介します。最後に当院に最も多く来院する神経発達症の中で，難治トウレット症 DBS 治療例と自閉スペクトラム症のロコモーションについても述べます。当日は，トウレット症や自閉症スペクトラム症を有する方々の行動に関するビデオを提示しながら，神経科学や生理学，工学の研究者の先生方と議論をしたいと思います。

（４）小児の不随意運動症に対する脳深部刺激療法

熊田聡子（東京都立神経病院 神経小児科）

脳深部刺激療法は neuromodulation 療法の一つで，大脳基底核などの慢性電気刺激により神経回路の機能を修正し，運動異常症の症状改善を図ります。このような治療法は成人ではパーキンソン病に対して広く行われるようになり，有効性が報告されてきました。一方で，小児ではジストニアなどにおいて，筋肉が自分の意志とは無関係に収縮を起こし，身体の捻れを伴うような不随意運動に対して脳深部刺激療法の有効性が報告されていますが，本邦での知見は未だ少ないのが実情であります。被殻の投射神経細胞における dopamin signaling の異常によって生じる遺伝性ジストニアの存在が明らかとなっており，ジストニア病態における dopamine の意義がますます注目されています。本発表では，当科で 2007 年より施行している小児の不随意運動症に対する脳深部刺激療法の治療経過を報告し，効果発現の機序や幼弱脳に対する慢性的な刺激が脳機能に与えうる長期的な影響に関して考察し，参加者の皆様と議論していきます。

（５）小児のリハビリテーション ～脳性麻痺を中心に～

四津有人（東京大学）

本稿では，脳性麻痺を中心に小児のリハビリテーションについて述べます。リハビリテーションの対象は，疾患の治療だけでなく，機能・構造障害，活動制限，参加制約なども含みます。対応として，根治できるものは根治を目指しますが，根治が困難な場合は対処療法を行います。また，患者本人への対応だけでなく，環境への対応も行います。アプローチとして，小児科，整形外科，理学療法，作業療法，言語聴覚摂食嚥下療法など，総合的なチームアプローチが必要となります。テクノエイドの利用は以前より行われているが，今後，ますます工学的アプローチが重要になると考えています。本発表においては脳性麻痺児に対して行っているリハビリテーションの実情をお話するとともに，今までに行ってきた医工連携における取組として，先天性無痛無汗症患者のロコモーションに対して開発した装具のコンセプトとその効果に関して実例を交えながら紹介をし，議論していきたいと思います。

（６）脳の遷移ダイナミクスの機能的意義と自閉症傾向との関連

北城圭一（生理学研究所）

我々の研究グループでは脳波の非線形ダイナミクス，特に振動同期ダイナミクスの機能的意義や脳卒中・脳梗塞をはじめとする病態との関連を計算論的神経科学および脳波などによるイメージジングの観点から調べてきました。脳波の振動同期は大域的な情報統合に関連すると考えられます。一方，脳波レベルの振動同期は一つの同期状態が長く持続することは少なく，複数の同期状態間を遷移する過渡的なダイナミクスを示すことが多いです。メタスタビリティ（準安定性）とも呼ばれるこの性質は脳のネットワーキングを切り替える柔軟な脳情報処理にとって必須な性質であると思われます。本発表ではこのような過渡的な神経ダイナミクスと健常な脳の機能や脳卒中病態との関連を報告します。さらに，健常者の自閉症傾向と過渡的な大域的脳波ダイナミクスとの関連についても報告し，過渡的なダイナミクスの計算論，及び，その数理モデルや個人特性についての議論を行いたいと思います。

（７）コルセット使用時の体幹筋の様子から推定される患者の状態

下田真吾（理化学研究所）

小児麻痺に代表される幼少期の運動麻痺からのリハビリテーションは，これまで一度も経験したことのない動作を学ばなければならないうえに，小児は成長の過程にあって身体や脳の発達を伴うため，機能回復を促すことは複雑なプロセスとなることが容易に予想されます。さらに幼少期は好奇心が旺盛であり，環境における様々なことに興味を示す時期でもあります。そのため身体や運動の状態そのものだけでなく，その時の興味や意識の状態などを正しく推定することが効果的なリハビリには不可欠であると考えられます。本発表では，実際の臨床現場において脳性麻痺児がコルセットにより体幹を固定することで，麻痺患者が活発に動くようになったという事実をもとに，コルセット前後の体幹の筋電位解析を行うことで，動作中の筋活動から動きに関わる成分を抽出するだけではなく，周波数特性から患者の意識・疲労・興味といった要素を推定する手法について議論を行います。

（８）脳卒中患者の歩行の「個別性」を克服するモデルベースト・リハビリテーション

大脇　大（東北大学）

脳卒中発症後の歩行の変容は，発症部位，重症度，残存機能によりさまざまであり，神経疾患と歩行障害の因果関係は明確ではありません。このため，担当医師，療法士は，個人の経験ベースの主観的かつ定性的な歩行診断を行い，限られた入院日数，介入時間の制限のなかで試行錯誤的に介入法を模索しているのが現状です。本研究では，標準的な介入による歩行改善を妨げる最も根源的な要因が「脳卒中患者の歩行の個別性」 にあるとの着想に基づき，歩行の個別性を形成する力学的数理構造を解明し，個別性モデルに基づくモデルベースト・リハビリテーションの実現を目指しています。本講演では，これまでの発表者らの取り組みである角運動量に着目した歩行分析による脳卒中患者の個別性の表現方法と，歩行動作に対して開発してきたインソール型の知覚フィードバック機器によって足部の接地タイミングを教示することによる介入法，および将来展望について紹介し，議論を行う予定です。

（９）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

定藤規弘（生理学研究所）

ヒトは相手や第三者・モノを注視することで視覚的注意を共有することができます。前者をアイコンタクト，後者を共同注意と呼び，社会性発達上非常に重要な里標であります。発表者は今までの研究において（昨年の研究会にて実際にお見せしました）二個体の同時計測 fMRI を用いた脳機能イメージングから（１）アイコンタクトによる再帰的な相互作用が小脳と前帯状皮質や前島皮質を含む辺縁系ミラーシステムを活性化すること，（２）共同注意における標的の共有は，右前島皮質の個人間神経同期によって表象されること，（３）共同注意の経験はミラーシステムに含まれる右下前頭葉におけるアイコンタクト中の個体間神経同期により記憶されることを示してきました。これらの結果は，ミラーシステム並びに小脳が視線を介した即時性相互作用に関与していることを示しております。本発表においてはこれらの結果を参加者の皆様にお示しすると共に議論をしていきます。

15. 行動の多様性を支える神経基盤とその動作様式の解明）

2020 年 12 月 11 日－12 月 12 日

代表・世話人：関　和彦（国立精神･神経医療研究センター 神経研究所モデル動物開発研究部）
所内対応者：南部　篤（生体システム研究部門）

（１）Cortical information dynamics of active vision in the marmoset
兼子峰明（京都大学霊長類研究所）

（２）扁桃体の持続的賦活化により腹側視覚皮質の顔-表情の神経表現が変容する
宮川尚久（放射線医学総合研究所）

（３）筋と脊髄をつなぐ人工神経接続による一次運動野神経細胞の適応
兼重美希（東京都医学総合研究所）

（４）Are primates just big frogs? Forelimb force direction and amplitude are independently controlled by spinal motor modules.
Amit Yaron（国立精神･神経医療研究センター）

（５）オプトジェネティクスを利用したマカクザル上肢の運動誘発
～マカクザル大脳皮質へのオプトジェネティクスの適用～
佐野裕美（生理学研究所）

（６）味覚連合記憶の想起における青斑核ノルアドレナリン細胞の役割
― ハエ嗅覚器由来のイオンチャネルを利用した新規神経活動活性化ツールによる検討 ―
井口善生（福島県立医科大学）

（７）経済学的意思決定時の腹側線条体・中脳ドーパミンニューロン・眼窩前頭皮質の神経活動ダイナミクス
禰占雅史（筑波大学）

（８）効率的な視覚探索を妨げる統合失調症の復帰抑制障害
岡田研一（北海道大学）

（９）海馬出力路の構成と機能
大原慎也（東北大学）

【参加者名】

網田英敏（京都大学霊長類研究所），井口善生（福島県立医科大学），磯田昌岐（生理学研究所），井上謙一（京都大学霊長類研究所），上田康雅（関西医科大学），上原一将（生理学研究所），大井真人（東北大学），大原慎也（東北大学），岡田研一（北海道大学），小山　佳（放射線医学総合研究所），加藤荘志（広島大学），兼子峰明（京都大学霊長類研究所），兼重美希（東京都医学総合研究所），亀田将史（北海道大学），木村　慧（京都大学霊長類研究所），行天悠一郎（東北大学），倉岡康治（関西医科大学），郷田直一（生理学研究所），小杉亮人（国立精神・神経医療研究センター），小林和人（福島県立医科大学），佐野裕美（生理学研究所），澤頭　亮（北海道大学），関　和彦（国立精神・神経医療研究センター），高田昌彦（京都大学霊長類研究所），髙安　環（京都大学霊長類研究所），武井智彦（京都大学），竹谷隆司（北海道大学），橘　吉寿（神戸大学），田中真樹（北海道大学），辻　奈津美（神戸大学），土田直司（北海道大学），筒井健一郎（東北大学），長野人士（東北大学），中村加枝（関西医科大学），中村晋也（東北大学），中山義久（東京都医学総合研究所），南部　篤（生理学研究所），西村幸男（東京都医学総合研究所），二宮太平（生理学研究所），禰占雅史（筑波大学），芳賀春香（東北大学），萩原　淳（生理学研究所），羽鳥康裕（東北大学），濱野友希（生理学研究所），福永雅喜（生理学研究所），松崎政紀（東京大学），松本正幸（筑波大学），松山　圭（北海道大学），南本敬

史（放射線医学総合研究所），三村喬生（放射線医学総合研究所），宮川尚久（放射線医学総合研究所），森谷叡生（東北大学），安田正治（関西医科大学），山中　創（京都大学霊長類研究所），ヨウアンキ（東北大学），横山　修（東京都医学総合研究所），吉田暁人（東京大学），Rahman Labiblais（生理学研究所），Gaoge YAN（京都大学霊長類研究所），Amit Yaron（国立精神・神経医療研究センター），戸松彩花（生理学研究所），吉野倫太郎（東北大学），奈良愛美（東北大学），纐纈大輔（生理学研究所），畑中伸彦（生理学研究所），菊田里美（生理学研究所），知見聡美（生理学研究所），植松明子（生理学研究所），Woranan Wongmassang（生理学研究所）

【概要】

脳は，外部環境と内部環境に関する情報を常に感知し，それらを統合，認識，記憶と照合することによって適切な行動を決定・発現する。動物の行動の多様性は，このプロセスの多様性であり，その脳内メカニズムを探るのがシステム神経科学である。近年，その基盤となる神経ネットワークと行動の因果律を検証する分子遺伝学的な方法が，主として齧歯類を対象に開発され，多くの成果を上げている。光遺伝学やイメージング技術など，目的の神経ネットワークの活動を操作・可視化する革新的な手法など，革新的な実験ツールを用いることによって，ヒトや霊長類の進化した脳神経系や複雑な筋骨格構造が作り出す，運動・感覚・知覚・認知・情動などの多様性を，高い精度で解明できる時代が到来している。本研究会は，様々な神経ネットワークを基盤にして，動物の行動やその多様性などを対象としている研究者が，最新の研究成果及び将来展望を議論することを目的とする。

二年目になる本年は, COVID19 感染状況が小康状態になった秋のタイミングで，直接対面議論の有用性を鑑みて研究会直前まで現地開催の予定で準備を進めたが，再び感染蔓延の兆候から，計画変更して完全オンラインでの開催となった。結果として，質の高い口頭発表と前年度以上に活発な議論が交わされ，充実した研究会になった。しかし，もう一つの柱であったポスター発表とそれをトリガーにした自由討論，人脈形成などの若手研究者向けのイベントは行なうことが出来なかった。次年度の状況は予測できないが，オンラインになった場合にも同分野の若手研究者の発表・交流の場をどのように作るか，十分な検討が必要である。

16. 脳神経倫理研究会

2021 年 1 月 28 日
代表・世話人：中澤栄輔（東京大学 医学部）
所内対応者：定藤規弘（生理学研究所）

（１）日本の Neuroethics の歴史と現状

中澤栄輔（東京大学）

（２）ワークショップ「日本の Neuroethics が 2020 年代に問うべき 30 の問い」

定藤規弘（生理学研究所）
丸山めぐみ（生理学研究所）
Nargis Akter（生理学研究所）
福士珠美（日本医療研究開発機構）
荒木敏之（国立精神･神経研究センター）
有江文栄（国立精神･神経研究センター）
立花幸司（熊本大学）
中澤栄輔（東京大学）

【参加者名】

中澤栄輔（東京大学），定藤規弘（生理学研究所），丸山めぐみ（生理学研究所），福士珠美（日本医療研究開発機構），荒木敏之（国立精神･神経研究センター），有江文江（国立精神･神経研究センター），Nargis Akter（生理学研究所），立花幸司（熊本大学）

【概要】

脳神経科学・技術の発展に伴い，それによってもたらされる人間，社会の変容を評価する営みとして脳神経倫理は欧米を中心に 2000 年代のはじめに勃興した。2008 年には，International Neuroethics Society が米国の研究者を中心に結成され，脳神経倫理学という学際的学問分野が形成されている。日本においても脳神経倫理に関する萌芽的な取り組みは散見される。しかしながら，これまで，日本においては学会組織の枠組みを超えた分野横断型の学知の集合と蓄積がなされることがなかった。

こうした状況を踏まえ，脳神経倫理研究会は日本における脳神経倫理学のプラットフォームとなるべく，研究者の自発的取り組みとして結成されたものである。研究会では，「日本の Neuroethics の歴史と現状」について中澤栄輔（東京大学）が提題を行ったのち，「日本の Neuroethics が 2020 年代に問うべき 30 の問い」と題して今後，脳神経科学・技術が社会・人間に与える影響について体系を構築するための方法がディスカッションされた。

（１）日本の Neuroethics の歴史と現状

中澤栄輔（東京大学）

日本の Neuroethics は 2000 年代半ばよりいくつかの研究プロジェクトにより推進されることで始まった。当時から，Brain Machine Interface の倫理，Deep Brain Stimulation の倫理，エンハンスメントの倫理 [4]，人間の自由意志といったトピックがしばしば議論の俎上に乗せられた。その後，脳画像研究における偶発的所見への対処法についての研究など，脳科学研究を実施する上で現実的に生じうる喫緊の問題への取り組みも行われ

た。現在では，2000 年代半ばの草創期の熱は若干失われているように感じられるものの，日本の Neuroethics は脳科学研究の進捗に併せて，着実なしかたで進展してきた。21 世紀に入ってからの脳科学はイメージング，組織工学，遺伝学といった関連諸領域の急速な進展と相俟って予想以上の進捗を見せている。2000 年代には単なるサイエンスフィクションであると一蹴されていた杞憂も，2020 年代にはリアルな懸念として取り上げられ得る状況にある。脳科学研究の進展と，脳科学研究をめぐる社会の変化を機敏に捉え，Neuroethics の研究対象もまた柔軟に変化させていく必要がある。とりわけ，日本という文脈を加味して，いま Neuroethics が問うべき問いを構築する作業が求められる

（２）ワークショップ「日本の Neuroethics が 2020 年代に問うべき 30 の問い」

定藤規弘，丸山めぐみ，Nargis Akter（生理学研究所）
福士珠美（日本医療研究開発機構）
荒木敏之，有江文栄（国立精神・神経研究センター）
立花幸司（熊本大学），中澤栄輔（東京大学）

本邦における脳神経倫理の課題をまとめるべく，「日本の Neuroethics が 2020 年代に問うべき 30 の問い」を策定するため，その意義，射程，製作工程についてディスカッションが行われた。

【意義】脳神経科学・技術の急速な進展に伴って，脳神経倫理の需要が高まっている。その一方で，日本の脳神経倫理は，個別の大学や研究機関ごとに時限的に設置されたプロジェクトごとの取り組みにとどまっており，知見の蓄積と継承が十分ではない。そこで「30 の問い」の策定を通じて，日本の脳神経倫理の課題を浮き彫りにすることには学問的および社会的な意義がある。

【射程】脳神経科学・技術の倫理的課題を周知，共有することを目指し，「30 の問い」の射程は，第一に日本の脳神経科学者を念頭におく。さらに，日本の脳神経倫理の取り組みを海外の研究者と共有することは学問的に重要であり，海外の脳神経科学者，脳神経倫理学者がアクセス可能な形態での公表を目指す。

【製作工程】2021 年度中の公表を目指す。

17. 第 10 回社会神経科学研究会「社会性の創発・発達，その多様な軌跡」

2020 年 11 月 19 日－11 月 20 日

代表・世話人： 明和政子（京都大学大学院 教育学研究科）

世話人： 松田哲也（玉川大学 脳科学研究所）

世話人： 髙橋英彦（東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科）

所内対応者： 定藤規弘（自然科学研究機構 生理学研究所）

（1）「ロボットとの共生社会学」

浅田　稔（大阪大学 先導的学際研究機構）

（2）「能動的推論，視点取得からコミュニケーションへ－発達原理を考える－」

乾　敏郎（追手門学院大学）

（3）「実行機能の発達の社会神経科学的検討」

森口佑介（京都大学大学院 文学研究科）

（4）「社会性と自閉スペクトラム症：脳画像研究」

小坂浩隆（福井大学 医学部）

（5）「オキシトシンは人間関係のバイオマーカーか」

藤原武男（東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科）

（6）「社会の形成における内分泌の役割」

菊水健史（麻布大学 獣医学部）

（7）「腹側運動前野と内側前頭前野の機能連関から自閉スペクトラム症を考える」

磯田昌岐（自然科学研究機構 生理学研究所）

（8）「共同注意を支える生理的基盤」

板倉昭二（同志社大学 赤ちゃん学研究センター）

（9）「共感性と視点取得に関わる神経基盤と発達過程」

小川健二（北海道大学大学院 文学研究院）

(10) 「スティグマの生物・心理・社会学的研究」

小池進介（東京大学 こころの多様性と適応の統合的研究機構）

(11) 「ライフコース疫学による思春期主体価値の形成過程と人生への影響の解明」

西田淳志（東京都医学総合研究所 社会健康医学研究センター）

(12) 「内受容感覚と意味概念に基づく社会的感情の創発」

大平英樹（名古屋大学 情報学研究科）

【参加者名】

角谷基文（名古屋大学情報学研究科）
水口暢章（立命館大学総合科学技術研究機構）
孟　憲巍（同志社大学赤ちゃん学研究センター）
中村月香（国立精神・神経医療研究センター神経研究所 微細構造研究部）
桜井芳生（鹿児島大学法文学部人文学科）
仁科国之（高知工科大学）
渡部綾一（京都大学大学院教育学研究科）
羽野貴哉（NPO 法人子どもの発達・学習を支援する リハビリテーション研究所）
下野九理子（大阪大学連合小児発達学研究科）
西　友希（石川病院リハビリテーション部）
田中大樹（石川病院リハビリテーション部）
大東　将（京都大学文学研究科）
高橋宏暢（麻布大学獣医学部動物応用科学科）
飯泉佑香（麻布大学獣医学部動物応用科学科）
渡邊　塁（東京医科歯科大学精神行動医科学分野）
原　あゆみ（慶應義塾大学青山敦研究室）

五島隆太（広尾病院神経科医員）
松本有紀子（東京医科歯科大学精神科）
松永昌宏（愛知医科大学医学部衛生学講座）
金井貴夫（東京医科歯科大学）
高橋佳代（理化学研究所　生命機能科学研究センター　健康・病態科学研究チーム）
吉岡　歩（名古屋大学心理・認知科学専攻）
高岸治人（玉川大学脳科学研究所）
寿　秋露（玉川大学脳科学研究所高岸研究室）
保坂太志（東京大学総合文化研究科広域科学専攻）
永澤美保（麻布大学獣医学部動物応用科学科介在動物学研究室）
植松明子（生理学研究所認知行動発達機構研究部門）
山田順子（玉川大学脳科学研究所）
子安ひかり（麻布大学介在動物学研究室）
山本　希（京都大学大学院文学研究科心理学専修）
小笠原香苗（生理学研究所心理生理学研究部門）
北地　雄（総合東京病院）
阪口幸駿（同志社大学大学院脳科学研究科）
本多結城子（生理学研究所）
福永雅喜（生理学研究所）
土元翔平（生理学研究所心理生理学研究部門）
三船恒裕（高知工科大学経済マネジメント学群）
濱野友希（生理学研究所システム脳科学研究部門）
中川恵理（生理学研究所心理生理学研究部門）
橋口真帆（生理学研究所心理生理研究部門）
近添淳一（生理学研究所生体機能情報解析室）
上原一将（生理学研究所神経ダイナミクス研究部門）
郷田直一（生理学研究所心理生理学研究部門）
戸松彩花（生理学研究所認知行動発達）
丸山修紀（生理学研究所心理生理学研究部門）
南條 均（大阪市立大学）
山本哲也（生理学研究所心理生理学研究部門）
小池耕彦（生理学研究所）
伊藤嘉邦（生理学研究所心理生理学）
吉本隆明（生理学研究所心理生理部門）
南條啓孝（生理学研究所心理生理学研究部門）
田中大貴（玉川大学脳科学研究所）
藤井貴之（玉川大学脳科学研究所松田研究室）
石原　暢（神戸大学人間発達環境学研究科）
田邊宏樹（名古屋大学情報学研究科心理・認知科学専攻）
紙上敬太（筑波大）
萩原　淳（生理学研究所神経ダイナミクス研究部門）
李　述氷（玉川大学脳科学研究所）
森田彩子（東京医科歯科大学国際健康推進医学分野）
則武　厚（生理学研究所）
二宮太平（生理学研究所）
小山佑奈（博士後期課程学生）
浅田　稔（大阪大学先導的学際研究機構）
磯田昌岐（生理学研究所）
板倉昭二（同志社大学 赤ちゃん学研究センター）
乾　敏郎（追手門学院大学）
大平英樹（名古屋大学情報学研究科）
小川健二（北海道大学大学院文学研究院）
菊水健史（麻布大学獣医学部）
小池進介（東京大学こころの多様性と適応の統合的研究機構）
小坂浩隆（福井大学医学部）
西田淳志（東京都医学総合研究所社会健康医学研究センター）
藤原武男（東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科）
森口佑介（京都大学大学院文学研究科）
定藤規弘（生理学研究所）
髙橋英彦（東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科）
松田哲也（玉川大学脳科学研究所）
明和政子（京都大学大学院教育学研究科）
岩瀬　恵（生理学研究所定藤研究室）
木村玲子（生理学研究所心理生理学研究部門）
竹中邦子（生理学研究所）
（講演者 12 名，座長 4 名，一般 61 名，スタッフ 3 名　計 80 名）

【概要】

ヒトの形質は，胎児期からの身体―環境の相互作用を連続的に重ねながら創発し，多様に水路づけられていく。さらに，個の発達は周囲の社会，文化の形成に影響を与え，それが次世代の個の形質を創発させる制約環境そのものとなる。本研究会では，きわめて社会的な生物として進化してきたヒト特有の形質，社会的認知が創発・発達する軌跡（機序），その普遍性と多様性，さらにその背後にあるメカニズム（機構）について，２日間（2020

年 11 月 19 日（木）12:55-16:05・20 日（金） 9:00-12:05）にわたり議論した（オンラインによる開催）．参加者は計 80 名（講演者 12 名，座長 4 名，一般 61 名）であった。

本研究会は，４つのセッションにより構成された。セッション１では，ロボティクス，社会神経認知科学，発達心理学分野の研究者から話題提供がなされ，ヒトの社会性発達に関する心理・行動特性とその機構について議論を行った。セッション２では，社会性発達の定型―非定型性を含む多様な表現型に関連する要因として，脳の構造や機能，内分泌オキシトシンとその生物学的基盤について，医学，生物学，社会疫学の知見を中心に議論を行った。セッション３では，ヒトの社会性を代表する共同注意や共感，自他の視点変換を取り上げ，その脳内，心的機構と機序について，神経生理，発達心理学，社会神経認知科学の知見から議論した。セッション４では，思春期から成人期にかけて顕著に変化する社会性の側面に焦点をあて，社会的自己の発達とその多様性創発に関連すると思われる社会的，身体的要因について，臨床医学，社会医学，計算論的心理学の知見を中心に議論を行った。

コロナ禍において，オンラインでのコミュニケーション様式が私たちの日常に急激に浸透した。生物としてのヒトの社会性は，身体という生物学的制約のもと，環境（他者）と身体が相互作用することで創発，発達する。この根幹をふまえると，実世界と仮想世界とが交錯する新たな時空間において，ヒトの社会性がどのように発達していくのかを真剣に考えなければならない時期を迎えている。本研究会を通じて，従来の視点を超えた発想，アプローチにより研究を進展させていく必要性を，参加者と共有して閉会とした。

（１）ロボットとの共生社会学

浅田　稔（大阪大学 先導的学際研究機構 共生知能システム研究センター）

最先端 AI・ロボティクスの進展はめざましく，オートドライブに代表されるように，自律的判断を行う人工物が社会に導入されつつある。本講演では，人工物の代表的存在であるロボットが社会的存在として認められる可能性を議論する。これまで人固有と思われていた自己の概念，主体感，共感，道徳，倫理，法制度などについて，人工物としての設計可能性を検討し，共生社会のあり方を問う。上記の課題は，講演者が提唱してきた認知発達ロボティクスが対象としてきた研究トピックであり，最初にその思想的背景にふれる。次に，初期自己の概念としての生態学的自己や最小自己と呼ばれる主体感について，設計論の立場も交えて紹介する。次に痛覚による，自己の気付きや他者の痛みを感じることを通じての共感や初期モラルの創発可能性について思考実験する。下図は，ミラーニューロンシステムの発達を通じて，自己の痛み体験から他者の痛みを感じ，それを回避する行動を学習するロボットの概念設計図を示す。

（２）能動的推論，視点取得からコミュニケーションへ －発達原理を考える－

乾　敏郎（追手門学院大学大学院 心理学研究科）

Friston の自由エネルギー原理（FEP）は，知覚と運動の循環，意思決定，好奇心，洞察，脳間共鳴，意識などを説明する脳の大統一理論である（乾・阪口，2020 岩波書店　印刷中）。FEP では，人間や生物が不確実性を最小化するように行動すると考える。不確実性の最小化によって，外環境と（身体）内環境の予測をより確実なものとし，サプライズを避けることができる。サプライズの長期平均がエントロピーであり，このような機能により熱力学第二法則に抗し，適応的事前分布を実現でき，（一般化）ホメオスタシスを実現する。不確実性は，ベイズ推定の枠組みで計算すると，Helmholtz の自由エネルギーと同一の式で表されることが，この名前の由来で

ある。自由エネルギーを最小化する方法は二つある。一つは予測をより確実なものに書き換える方法である。これは知覚，すなわち無意識的推論に対応する。もう一つは能動的推論 active inference と呼ばれるもので，知覚した対象に対して，再びその感覚を作り出す運動（または注意）を実現する（確認する）ことにより，自己実現的な知覚－運動のサイクルを閉じてサプライズを低下させ，自己が持つ外界に対する生成モデルを確実なものにしていく方法である（Stahl & Feigenson (2015) の発達研究も一例）。これは一般に，自己証明する脳として知られる。FEP では，脳内に運動指令というものはなく，運動はあくまで予測された外受容，自己受容感覚の実現であり，随意運動の場合は，自己受容感覚の予測を筋肉と脊髄の間にある反射弓，内臓運動の場合は脳幹と内臓の間にある自律神経反射弓によって運動が実行される。FEP によれば，ミラーニューロンは外受容と自己受容信号を入力として，外受容信号と自己受容信号を予測する多感覚ニューロンであり，ミラーニューロンは自己の持つ生成モデルを他者に当てはめて理解と学習を進めるニューロンである。ここではミラーニューロンを含む視点取得（身体化された処理過程）のモデルと実験的知見を紹介する。2 人のインタラクションにおいては，環境の生成モデルに他者の心的状態を含め，それを隠れ状態として推論と学習を行う。これにより互いの脳は共振しあう（Huygens の振子時計のように）．FEP から相対的に不正確な事前信念を持っている人は正確な事前信念を持っている人に比べて相手の構造に合わせて修正していく傾向が強いことが理論的に示されている。以上のような背景にたって，FEP を基礎とした発達原理への構想を紹介する。避ける行動を学習するロボットの概念設計図を示す。

（３）実行機能の発達の社会神経科学的検討

森口佑介（京都大学大学院 文学研究科）

実行機能とは，目標に向かった行動や思考を制御する能力力のことを指す。これまでの研究から，実行機能は３歳から６歳頃に著しい発達を見せることが明らかになっている。このような発達プロセスの背後にあるのが，外側前頭前野などの脳内機構であることが示されている。これまでの研究は，参加児個人に対して課題を与え，いかにしてその問題を解決するか，その発達過程はいかなるものかに着目してきた。しかしながら，他者がいる場面において実行機能がいかに発達するについては明らかではない。本研究では，講演者がこれまで取り組んできた，実行機能の社会神経科学的研究について報告する。1 つは，社会的環境と実行機能の発達に関する研究である。養育者 (Lertladaluck et al., 2020)，経済格差 (Moriguchi & Shinohara, 2019)，文化 (Senzaki et al., submitted) などの社会環境的要因が実行機能の発達に及ぼす影響について紹介する。もう 1 つは，他者と共同で課題に取り組む場面における実行機能の様相である。他者と課題に取り組んでいるときに，子どもの行動が以下に影響をうけるのか，その発達的変化はいかなるものか（Moriguchi & Sakata, 2020）について紹介する。

（４）社会性と自閉スペクトラム症：脳画像研究

小坂浩隆（福井大学 医学部 精神医学）

社会性は，ヒトの世界の中で重要や役割を担っている。その社会性が乏しい一群の代表に自閉スペクトラム症 (autism spectrum disorders: ASD) がある。以前は，広汎性発達障害，アスペルガー障害と呼ばれていた一群も含め，ASD は大きな概念となっている。人口の 1-2%も占める自閉スペクトラム症児者は，決して珍しい障害ではなく，グレーゾーンを含めると日常場面で出会うことも多い。発表者は，自閉スペクトラム症をもつ当事者たちを日々の臨床で診ているなかで，臨床症状を呈することに臨床疑問をもち，その回答を出す臨床研究をいくつか行って

きた。（１）コミュニケーション能力に与えているよう要因は何か，（２）話し始めるまでの時間はどれぐらいかかるのか，（３）相手の表情を理解できないのはなぜか，（４）共同注視ができない責任領域はどこか，（５）他者からの評価を気にしないのはなぜか，（６）相手の気持ちに本当に共感できないのか，など自施設や他施設での研究を紹介しながら，社会的コミュニケーションの障害が認められる自閉スペクトラム症の病態を探究したい。

Kimura et al., Psychiatry Res., in press
Kosaka et al., NeuroImage, 50:1357-1363, 2010
Lange et al., Autism Res, 8:82-93, 2015
Hazlett et al., Nature, 542:348-351, 2017
Wolff et al., Am J Psychiatry 169:589-600, 2012
Ishitobi et al., Res Autism Spectr Disord, 5:910-919, 2011
Hadjikhani et al., Sci Report, 7:3163, 2017
Tanabe et al., Front Hum Neurosci, 6:268, 2012
Morita, et al., Social Neurosci, 7:223-239, 2012
Komeda, et al., SCAN, 10:145-152, 2015

（５）オキシトシンは人間関係のバイオマーカーか

藤原武男（東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科 国際健康推進医学分野）

これまで社会疫学の重要なテーマであるソーシャルキャピタルの健康影響について研究をしてきたが，そのバイオマーカーとしてオキシトシンに着目し関連を調査した。一方，親子関係の研究も行っている中で，オキシトシンと養育行動との関連についても祖母・母・子の三世代にわたる調査も実施してきた。本講演ではこれまでの研究を概観し，欧米からの結果とも比較しながら，日本における人間関係のあり方についてオキシトシンを通して考察してみたい。

（６）社会の形成における内分泌の役割

菊水健史（麻布大学 獣医学部）

ヒトを含む生物は，集団を形成し，その中で適切な行動をとる。他者とのやり取りを介して，いわゆる集団内のニッチが形成されていく。このようなプロセスにおいて，内分泌の役割が注目されている。多くの社会行動はホルモンの制御下にあり，性行動や攻撃行動，親子の関係性がホルモン依存的に成り立つ。例えば，幼若個体から性成熟を迎えるとき，成熟後のホルモンによるオス型行動の発現，メス型行動の発現，オスとメスが番ったのちの養育行動への推移，など生命活動の時期や役割の特異性を担っているのがホルモンのはたらきの一つである。そしてこのような生命活動の時期や役割によって，外界の刺激に対する情動反応性も大きく変容する。共感性の起源的機能である情動伝染においても，グルココルチコイドがその伝染に関わることが明らかになった。また幼少期の母子間におけるオキシトシンの分泌は成長後の社会性を左右することも明らかになった。このように，社会性の制御にはホルモンが司っており，内分泌社会学「Social Neuroendocrinology」なる新しい領域も始まりつつある。本講では社会性を司るホルモンである性ホルモンや，グルココルチコイド，オキシトシンに着目し，社会形成における役割について，進化的な側面も含めて紹介する。

（７）腹側運動前野と内側前頭前野の機能連関から自閉スペクトラム症を考える

磯田昌岐（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）

自閉スペクトラム症の社会的認知行動変容を特に腹側運動前野のミラーニューロンの障害から説明しようとする仮説に broken mirror hypothesis がある。しかし，ミラーニューロンは本来単一神経細胞レベルの発火パターンで定義されることから，この仮説の検証は困難である。一方，われわれは自閉スペクトラム症様の表現型を示すニホンザルの自然発生例を見出し，精神疾患関連遺伝子の変異に加えて内側前頭前野のミラーニューロンや他者ニューロンが野生型個体に比し顕著に少ないことを報告した。腹側運動前野と内側前頭前野はそれぞれミラーシステムとメンタライジングシステムのノードと考えられているが，両者の機能差，両者の機能連関の様式，自閉スペクトラム症表現型との関連性については，その有無も含めてわかっていない。今回われわれは対面する２頭のニホンザルに対し，他者の動作情報を参照して自己の動作を適切に選択することを要求するタスクを考案し，腹側運動前野と内側前頭前野から神経活動を同時に計測した。また，ウイルスベクター技術を用いて腹側運動前野から内側前頭前野に投射する神経路の活動を選択的に遮断し，タスク遂行への影響を検討した。その結果，２つの脳領域では動作主関連ニューロン（ミラーニューロン，他者ニューロン，自己ニューロン）の存在割合が異なること，及び生物学的他者に対する選好性が異なることを見出した。２領域の機能連関については，動作遂行時と動作観察時にデルタ帯域の同期的活動が高まること，及び他者の生物性が高いほど腹側運動前野から内側前頭前野への情報流が増加することを見出した。さらに，当該神経路の情報流を遮断すると，他者の動作情報に基づく自己の動作選択が障害され，その程度は他者の生物性が高いほど顕著になることを見出した。この行動障害は上記の自閉スペクトラム症様ニホンザルと類似していたことから，自閉スペクトラム症での社会的認知行動変容には腹側運動前野と内側前頭前野の協調不全が関与する可能性が示唆された。

（８）共同注意を支える生理的基盤

板倉昭二（同志社大学 研究開発推進機構 赤ちゃん学研究センター）

ヒトの社会の成立は，社会的コミュニケーションに負うところが極めて大きい。それによって，自分や他者，また環境に関する情報交換が可能となる。これらの情報交換は，言語や身体のシグナルといった様々なチャンネルを通して行われる。特に，身体シグナルに関して，ヒトは視線に対する感受性が特に強い。ヒトは，他者の視線方向に基づいて，自分の注意をシフトさせる傾向がある。これは，個人間やヒトを取り巻く環境を広く共有する関係を創り出す核となる能力である。本講演では，まず，ヒト以外の霊長類に関する Experimenter-Given Cue Paradigm による行動学的な研究を紹介する。一連の結果から，多くの人以外の霊長類で，視線追従が見られた。こうした視線追従は，霊長類に限らず，イヌやウマといった家畜化された動物にも認められることがわかっている。次に，視線追従や共同注意の意味を，母子やロボットを用いて，検討した研究を紹介する。例えば，母親との注意の共有で生起した乳児の刺激に対するインパクトは，単に刺激の物理的変化による注意の励起よりも大きいことがわかった。また，ヒトもロボットも，ともに視線と頭部回転（head orientation）により，特定の物体刺激に対する乳児の視線追従を誘発することはできた。しかしながら，ヒトの視線は，乳児における物体学習や物体選好に影響を及ぼしたが，ロボットの視線の場合はその限りではなかった。最後に，こうした視線追従や共同注意は，覚醒水準のレベルに依存しているとことを，心拍を指標として用いた研究を紹介する。９～１０カ月児に，ヒト成人が，乳児とアイコンタクトを取る，目を閉じている，首を横に振る（シバリング）３つの条件を示したのち，２つの物体の内の一つに視線を向けるビデオを観察すし，視線追従の割合や心拍を計測した。

その結果，アイコンタクト条件のみ心拍が上がり，視線追従も増加することがわかった。

（９）共感性と視点取得に関わる神経基盤と発達過程

小川健二（北海道大学大学院 文学研究院）

共感性や心の理論（視点取得）に関わる神経基盤は，成人を対象とした脳機能イメージングで多く調べられてきたが，その発達過程については不明な点が多い。共感性に関わる神経基盤の発達を調べるため，児童期の子供（6〜11 歳）と成人（20〜32 歳），それぞれ 30 名を対象にして実験を行った。刺激として，子供向けのアニメーションから情動的共感および認知的共感が含まれる 8 つの場面（各 1 分間）を切り出し，その動画視聴中の脳活動を fMRI で計測した。分析では，共感性や心の理論に関わるとされる関心領域（ROI）の信号時系列を基に，個人内での異なる ROI 間の相関（functional connectivity），および個人間での同じ ROI 間の相関（inter-subject correlation）を算出した。結果として群間の違いが観察され，認知的共感に関わるネットワークに変化が見られた。本結果が，情動的共感と認知的共感に対する発達過程の違いを反映する可能性について考察したい。

次に，認知的な他者理解である心の理論（視点取得）の神経基盤について検討した。心の理論の神経基盤として，特に側頭頭頂接合部（TPJ）が一貫して報告されているが，自分とは異なる他人から見え方を理解する「（レベル２の）視覚的視点取得」と，他人の心的状態を理解する「誤信念課題」とは，同一の神経基盤に支えられているのだろうか？その問いに答えるため，双方の課題遂行中の成人の被験者（20〜27 歳，31 名）の fMRI 脳活動を直接比較した。結果から，両方の課題で両側 TPJ の活動増加が顕著に見られたが，TPJ の中でも誤信念課題は視覚的視点取得に比べ，より前方かつ背側に活動ピークが位置していた。本結果は，心の理論に関わる TPJ の中でも領域特異性が存在する点を示唆するものであり，同じく他者認知に関わる有線外身体領域（EBA）や上側頭溝後部（STSp）を含め，心の理論の脳内機序について考察する。

（10）スティグマの生物・心理・社会学的研究

小池進介（東京大学 こころの多様性と適応の統合的研究機構）

スティグマとは偏見・差別のことで，それによって行動が変容してしまうことも含む。精神疾患へのスティグマは，一般市民だと援助希求・受療行動を，当事者・家族だと回復を妨げる要因となる。そのため，疾病教育などの当事者・家族へのアプローチだけでなく，広く一般市民にむけた教育啓発活動が必要である。一方で，精神疾患へのスティグマについては，教育啓発活動などの社会運動的な側面が大きく，これまで生物・心理・社会学的いずれをとっても，科学的な検討が十分なされてきたとはいえない。本発表ではまず，精神疾患へのスティグマについて発表者がこれまで行ってきた心理社会学的研究を概説する。そのうえで，安静時機能結合，親子関係といった生物心理学的な検討を紹介し，なぜ人が人を差別するのか，思春期発達の観点から考察していく。

（11）ライフコース疫学による思春期主体価値の形成過程と人生への影響の解明

西田淳志（東京都医学総合研究所 社会健康医学研究センター）

若者の活力は，少子高齢社会において社会的イノベーションを維持・発展させるための貴重な人的資本であり，それを最大限に引き出す社会の在り様が今日問われている。一方，若者の無気力（アパシー）や長期ひきこもりは，社会問題となって久しく，未だその解消に向けた有効策は見出されていない。思春期は，人生という長期的生活行動を自ら主体的に選択する動因（「主体価値」）が形成される重要なライフステージあり，この時期に形成される主体価値は，その後の人生における自己実現，それを希求する際のモチベーションの基盤となり，人間のウェルビーイングの源となると考えられる。我々は，思春期の主体価値の形成過程，およびその後のライフアウトカムに与える影響を大規模コホート研究によって実証的に解明しようと試みている。 主体価値に関するこれまでの研究の多くは，価値形成がある程度進んだ成人を対象としたものであり，その発達過程を縦断的にとらえようとする研究，特に大規模コホート研究によって実証的に明らかにしようとする研究は皆無であった。そこで日本で最大規模となる思春期コホート（東京ティーンコホート）を用いてこの主体価値の思春期形成過程の解明に取り組んでいる。東京ティーンコホートは，都内 3 自治体（世田谷区・三鷹市・調布市）に住む 10 歳児童約 3300 人の思春期発達過程を縦断的にとらえることを目的としたプロジェクトであり，これまでのところ 92％の追跡率を維持している。本発表では，東京ティーンコホートによる思春期の主体価値形成過程に関する知見とともに，ロンドン大学 MRC Unit と連携して行っている思春期主体価値の長期的生涯影響の研究成果についても報告する。

（12）内受容感覚と意味概念に基づく社会的感情の創発

大平英樹（名古屋大学大学院 情報学研究科 心理･認知科学専攻）

内受容感覚（interoception）は身体内部の知覚を意味するが，近年，脳内の内的モデルによる予測と身体信号との差異，つまり予測誤差を検出し，それを縮小することで身体状態を制御する過程だと考えられるようになった（e.g. Seth & Friston, 2016）。この観点では，内受容感覚とは単なる受動的な身体の知覚ではなく，恒常性の維持のために，予測的処理により身体状態の表象を創り出す能動的な過程である。この考え方により，内受容感覚を基盤とした感情の創発や，時間知覚，意思決定，さらには社会的認知への影響など，広範な心理的現象との関連が理解される。また，こうした内受容感覚の予測的処理の神経基盤として，島皮質をはじめ，前部帯状皮質，前頭眼窩皮質，線条体，扁桃体，などを中心とした大規模な神経ネットワークが考えられている。一方，情動などの主観的経験の創発には，内受容感覚をはじめ外受容感覚，固有感覚などを統合したカテゴリーとしての意味概念の意義が指摘されている。これは，社会的感情などの高次の心理的過程では特に重要であると考えられている。近年，そうした意味概念の機能を階層的な予測的処理として表現しようとする考え方が提唱されており，そこでは意味概念は状況や個人の内的状態の不確実性を縮小する装置として機能すると主張されている。この仮説についての実証的検討はほとんどなされていないが，社会的認知，社会的感情，社会的行動を説明する魅力的な理論的枠組みであると考えられる。ここでは，内受容感覚を巡る最近の研究知見を紹介しつつ，その機能を社会性へ拡張し将来の研究を発展させるための課題を指摘したい。

18. Synapse and System Plasticity of Learning and Memory Meeting

2020 年 9 月 17 日－9 月 18 日

代表・世話人：王　丹（京都大学 高等研究院）

所内対応者：鳴島　円（自然科学研究機構 生理学研究所）

（１）Homeostatic maintenance of net synaptic drive during synaptic plasticity.

Cliff Abraham (University of Otago)

（２）Protein arginine methylation outside the nucleus: how does it regulate synapse development and plasticity?

Lai Kwok On (University of Hong Kong)

（３）Maintenance of time-dependent spatial memory by neurosteroids in mice.

Shimizu Kimiko (The University of Tokyo)

（４）The role and regulation of importin beta 1 in nuclear signaling during transcription-dependent plasticity.

Ch'ng Toh Hean (Nanyang Technological University)

（５）An aversive-sensorimotor neural circuit for instructing associative emotional memories.

Joshua Johansen (RIKEN)

（６）Group III metabotropic glutamate receptors gate long-term potentiation and synaptic tagging/capture in rat hippocampal area CA2.

Saji Kumar Sreedharan (National University of Singapore)

（７）Characterization of a novel hippocampal-septal circuit.

Thomas McHugh (RIKEN)

（８）The role and regulation of importin beta 1 in nuclear signaling during transcription-dependent plasticity.

Lin Shih-Chieh (National Yang-Ming University)

（９）Cerebellar output networks for non-motor cognitive behaviors.

Lee Yong-Seok (Seoul National University)

（10）Engram cells after repetition of learning.

Han Jin-Hee (Korea Advanced Institute of Science and Technology)

（11）Cortico-amygdala interaction during taste-aversion association learning to recruit a memory trace.

Sano Yoshitake (Tokyo University of Science)

（12）Dopamine dip and dopamine D2 receptors regulate structural long-term potentiation and discrimination learning.

Iino Yusuke (The University of Tokyo)

（13）On-demand DA release is involved in olfactory aversive learning.

Saitoe Minoru (Tokyo Metropolitan Institute of Medical Sciences)

（14）Genome editing-based strategies for imaging endogenous proteins in mammalian brain in vivo.

Mikuni Takayasu (Niigata University)

（15）Imaging voltage in neurons with genetically encoded indicators.

Sakamoto Masayuki (Kyoto University)

（16）Spying on endocannabinoid dynamics in vivo by constructing genetically-encoded GRAB sensors.

Li Yulong (Peking University)

（17）A photoactivatable CaMKII induces synaptic plasticity in single synapses.

Murakoshi Hideji (National Institute for Physiological Sciences)

（18）Extinction reverses specific synaptic engrams that encode a fear memory.

Kaang Bong-Kiun (Seoul National University)

（19）A hippocampal-amygdala circuit for experience-dependent observational fear.

Kitamura Takashi (UT Southwestern)

（20）Unraveling cortical circuits for shaping vision-guided action.

Lee Seung-Hee (Korea Advanced Institute of Science and Technology)

（21）How does memory retrieval regulate memory?

Ye Xiaojing (Sun Yat-Sen University)

（22）Defining the spatiotemporal window of synaptic plasticity events during memory consolidation.

Goto Akihiro (Kyoto University)

（23）Balancing act: Mechanism of homeostatic synaptic scaling by proteostasis.

Sourav Banerjee (National Brain Research Centre of India)

（24）Dnmt3b regulates synaptic function and memory in adult hippocampal neurons.

Zhuo Yu (Qingdao University)

（25）Neuron-selective RNA editing of Cav1.3 Channel and its role in Learning and Memory.

Soong Tuck Wah (National University of Singapore)

（26）Controlling the flexibility in memory updating through the gating mechanism for activity-dependent transcription in Drosophila

Hirano Yukinori (Hong Kong University of Science and Technology)

（27）Epitranscriptomic mechanisms at the dynamic end of microtubule regulates neurodevelopment and synapse organization.

Wang Dan Ohtan (Kyoto University)

（28）Long Noncoding RNAs and Memory.

Timothy Bredy (University of Queensland)

（29）Abnormal Sleep Signals Vulnerability to Chronic Social Defeat Stress.

Dipesh Chaudhury (New York University Abu Dhabi)

（30）Genetic and imaging approaches to elucidate the roles of REM sleep.

Hayashi Yu (Kyoto University)

（31）Offline emergence of transitive inference in cortical circuits.

Kareem Abdou (University of Toyama)

（32）Improvement of social defeat stress-induced PTSD-like behaviors by hippocampal memory forgetting effects of neurogenesis enhancer.

Ishikawa Rie (The University of Tokyo)

【参加者名】

王　丹（Institute of Cell-Material Sciences, Kyoto University），喜田　聡（東京大学大学院農学生命科学研究科/Univeristy of Tokyo），Joshua Johansen（RIKEN CBS），Yukinori Hirano（Life Science Division, Hong Kong University of Science and Technology），小林曉吾（九州大学），Sajikumar Sreedharan（Physiology, National University of Singapore），Kwok-On LAI（School of Biomedical Sciences, University of Hong Kong），奥野浩行（鹿児島大学），林　康紀（京都大学大学院），Thomas McHugh（RIKEN CBS），Arima Tomoki（Tokyo University of Science），Jianzhi Zeng（Peking University），坂本雅行（京都大学大学院生命科学研究科），Abdalla Alia（Division of Life Sciences/HKUST），田川義晃（鹿児島大学医歯学総合研究科），Li Yaolong（Graduate school of medicine Kyoto University），Kareem Abdou

（Department of Biochemistry, University of Toyama），清水貴美子（東京大学），平原千景（東京農業大学），松田朋子（東京農業大学大学院農学研究科バイオサイエンス専攻博士前期課程 動物分子生物学研究室），Mayumi Watanabe（RIKEN Center for Brain Science），Wickliffe Abraham（Department of Psychology, University of Otago），Jun Yokose（UT Southwestern），Takashi Kitamura（University of Texas Southwestern Medical Center），Ryang Kim（University of Texas Southwestern Medical Center），Keiko Tanaka-Yamamoto（Center for Functional Connectomics, Korea Institute of Science and Technology (KIST)），谷水俊之（東京大学 農学生命科学研究科 栄養化学研究室），Lin ChiaWen（RIKEN CBS），Muhang Li（Laboratory for Circuit & Behavioral Physiology, RIKEN Center for Brain Science），Kenta Hagihara（Friedrich miescher Institute），木村梨絵（生理学研究所 視覚情報処理研究部門），Tuck Wah Soong（Department of Physiology, Yong Loo Lin School of Medicine, National University of Singapore），Kazumasa Tanaka（OIST），Tomoka Yoseyama（Okinawa Institute of Science and Technology Graduate University），Xiaoijng Ye（Dept. of Forensic Science, Zhongshan School of Medicine, Sun Yat-sen University），Thato Mokhothu（Memory Research unit OIST），NG Man Yung（HKUST LIFS Department），Shruthi Sateesh（Department of Psychology, University of Otago），Yong-Seok Lee（Seoul National University College of Medicine），Yoshitake Sano（Tokyo University of Science, Department of Applied Biological Science），HE LINMENG（RIKEN Center for Brain Science），Kandarp Joshi（ICeMS, Kyoto University），Jeong-Kyu Han（Seoul National University），Viviane Saito（Memory Research Unit, Okinawa Institute of Science and Technology Graduate University (OIST)），助川桃枝（京都大学生命科学研究科），豊泉英智（RIKEN CBS），Xiaowei Gu（RIKEN CBS），水田恒太郎（京都大学），Heeyoun Park（CFC, Korea Institute of Science and Technology (KIST), Korea），Kaoru Inokuchi（Univ Toyama），浅井裕貴（富山大学 医学部 生化学講座），上原一将（生理学研究所・神経ダイナミクス研究部門），高橋泰伽（生理科学研究所バイオフォトニクス研究部門），揚妻正和（生理学研究所・生体恒常性発達研究部門），榎木亮介（自然科学研究機構生命創成探究センター），Nur Zeynep Gungor（Center for Brain Science, Riken），植田大海（生理学研究所），Mostafa Fayed（Department of Biochemistry, University of Toyama），濱野友希（生理学研究所 システム脳科学研究部門），Yusuke Iino（The university of Tokyo），堀内　浩（生理学研究所 生体恒常性発達研究部門），後藤明弘（京都大学医学研究科システム神経薬理），丸山健太（生理学研究所），鍋倉淳一（生理学研究所），山肩葉子（生理学研究所），Minoru Saitoe（Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science），Jin-Hee Han（Department of Biological Sciences, KAIST），Shih-Chieh Lin（Institute of Neuroscience, National Yang-Ming University），Dipesh Chaudhury（New York University Abu Dhabi），Rie Ishikawa（University of Tokyo），Naoki Matsuo（Faculty of Science, Kyushu University），村越秀治（生理学研究所），長野慎太郎（（公財）東京都医学総合研究所），Yoshinori Suzuki（Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science），Kohei Ueno（Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science），Yulong Li（Peking University），Bong-Kiun Kaang（School of Biological Sciences），Timothy Bredy（The University of Queensland），Yu Hayashi（Grad. School of Med., Kyoto U./ WPI-IIIS, U. of Tsukuba），Zhaofa Wu（Peking University），藤田　楓（九州大学），Mohamed H. Aly Mostafa（Department of Biochemistry, Graduate School of Medicine and Pharmaceutical Sciences, University of Toyama），Maha Wally（Department of Biochemistry, Graduate School of Medicine and Pharmaceutical Sciences, University of Toyama），HONGYU CHANG（東京大学大学院医学系研究科 疾患生命工学センター構造生理学部門(Kasai lab)），YU ZHOU（Qingdao University），Akinobu Suzuki（University of Toyama），Ming-Ching Chiang（Institute of Neuroscience, National Yang-Ming University），Szwen Liu（Institute of Neuroscience, National Yand-Ming University, Taiwan），Ch'ng Toh Hean（Nanyang Technological University, Lee Kong Chian School of Medicine），川辺浩志（神戸医療産業都市推進機構），Takayasu Mikuni（Brain Research Institute, Niigata University），野村　洋（北海道大学），李　妍（名古屋大学），LiWanru（Nagoya University），藤原芳江（京都大学高等研究院物質一細胞統合システム拠点），Taegon Kim（Korea Institute of Science and Technology (KIST)），人羅菜津子（北海道大学），Aleksa Petković（Biology, NYUAD），野本真順（富山大学 医学薬学研究部 生化学講座），Seung-Hee Lee（KAIST Department of Biological Sciences），Motomi Matsuno（Tokyo Metropolitan Insitute of Medical Science），宮下知之（東京都医学総合研究所），向井康

敬（名古屋大学環境医学研究所），大川宜昭（獨協医科大学），山中章弘（名古屋大学環境医学研究所），高橋純平（東京理科大学 薬学部 薬科学科専攻）, Yi Wang（RIKEN, Center for Brain Science），松村京香（東京農業大学大学院農学研究科），Marko Susic（NYUAD Biology），鳴島 円（生理学研究所）, Sourav Banerjee（National Brain Research Centre）, 廣　蒼太（生理学研究所バイオフォトニクス），根本知己（自然科学研究機構生命創成探究センター・生理学研究所），Anurag Singh（Department of Psychology, University of Otago, Dunedin），Damien Mercier（OIST / Memory research Unit），Rohini Roy（Graduate school of Biostudies），SUK-HO LEE（Seoul National University），Kyoung-Doo Hwang（Department of Physiology, Seoul National University College of Medicine），Won-Kyung Ho（Department of Physiology, Seoul National University College of Medicine），Yong Gyu Kim（Department of Physiology, Seoul National University College of Medicine），Jewoo Seo（Seoul National University, College of Medicine, Department of Biomedical Sciences）, Junjiro Horiuchi（Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science），Nozomi Uemura（Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science, Learn and Memory Project），Z. Salma Haniffa（Biology Department, NYUAD），Jessica Natali Sulkes Cuevas（Centetr for Brain Science, Riken）, Yire Jeong（Department and Institution: Dept. of Biological Sciences, Korea Advanced Institute of Science and Technology）, Hongshen He（RIKEN CBS McHugh lab）, Seiya Ogura（Department and Institution: Kyoto university, Systems Neuropharmacology ）, Shengqun Hou（iCeMs, Kyoto University），CHANG YUNG CHIA（Kyoto University Graduate School of Medicine），Tomohisa Hosokawa（Department and Institution Kyoto University, graduate school of medicine, department of pharmacology），Ayaka BOTA（Kyoto University），石井宏和（Department and Institution ExCELLS, NIPS），Jiang Xinzhi（Department of Pharmacology, Kyoto University Graduate School of Medicine），Ogawa, Masaaki（Department and Institution Graduate School of Medicine, Kyoto Univ.），Dennis Cheung（自然科学研究機構生理学研究所生体恒常性発達研究部門）

【概要】

記憶はすべての生物が生存していく上で欠かせない生命機能である。動物のみならず神経系をもたない多くの単細胞生物でさえ，なんらかの形で過去の経験から，未来へ備える記憶機能をもっている。つまり，遺伝子発現，イオンチャンネルの状態，細胞内シグナル伝達，シナプス, 細胞, 発火パターン, ニューロンネットワーク，脳領域結合など様々な時空間スケールにおいて，バイオロジカルな変化が起きて，その結果が記憶の実態になりうる。また，記憶研究は，加齢，　運動，睡眠，生活習慣など他の生命活動にも密接に関係する。一方で，包含する 範囲が多岐にわたるため，記憶研究者が一堂に会する機会が少ない。今回はコロナ禍の影響でビデオ通信の形で，地域的にはニュージーランドから，UAE までカバーし，アジアオセニア各国の研究者を中心とした会議の開催になった。二日間にわたって，様々な視点から記憶・学習に集中した議論と未発表データのシェアから，お互いの最先端の情報を共有・補完することで，アジア諸国の様々な研究者による画期的な記憶・学習研究の新展開に繋がる機会を設けることができた。

（１）Homeostatic maintenance of net synaptic drive during synaptic plasticity

Wickliffe C. Abraham（Department of Psychology, Brain Health Research Centre,
Brain Research New Zealand, University of Otago, Dunedin, New Zealand）

A recurrent question in the synaptic plasticity field is how circuit activity is homeostatically maintained in the face of synaptic plasticity events that could lead to runaway synaptic strengthening or weakening. A mechanism does appear to exist, as we have observed that long-term potentiation (LTP) in the dentate gyrus in vivo is rapidly matched by long-term depression (LTD) in nearby synapses. This electrophysiological homeostasis is correspondingly associated with large increases in the size of some postsynaptic spines balanced by smaller reductions in the size of many others, as revealed by 3D reconstructions of serial section electron microscopy. Computational modelling has replicated the electrophysiological data, when the induction of LTP is accompanied by a rapid change in the thresholds for LTP and LTD such that LTD is induced by ongoing spontaneous activity of all the synaptic inputs, until the level of postsynaptic cell firing is restored to basal levels. Thus, a rapid metaplasticity-based response to an initially unidirectional plasticity event may be one mechanism by which network stability is maintained.

（２）Protein arginine methylation outside the nucleus: how does it regulate synapse development and plasticity?

Kwok-On Lai（School of Biomedical Sciences, State Key Laboratory of Brain and Cognitive Sciences,
The University of Hong Kong, Hong Kong）

Most excitatory synapses are located on dendritic spines, which are highly dynamic and heterogeneous in morphologies. Mushroom spines are crucial for the storage of memory, while defects in spine maturation are associated with neurodevelopmental disorders. Furthermore, experience- dependent changes in spine size are pivotal to learning and memory. The neuronal cytoskeleton is crucial for dendritic spine formation and remodeling. On one hand, actin filaments are abundant in dendritic spines, and the concerted action of multiple actin-binding proteins initiates structural changes of the synapse. On the other hand, microtubule-mediated dendritic transport of mRNAs and their local translation allow spatially-restricted modification of protein composition that leads to strengthening of individual synapses. In this talk I will summarize our recent findings on how the synaptic actin cytoskeleton and intracellular transport are controlled by arginine methylation, a type of post-translational modification which is better known to regulate chromatin structure and transcription in the nucleus. I will discuss arginine methylation of the dendritic RNA-binding protein G3BP1 and the kinesin motor KIF5B, as well as the consequences on dendritic spine development and synaptic function.

（３）Maintenance of time-dependent spatial memory by neurosteroids in Mice

Shimizu Kimiko（The University of Tokyo）

Neurosteroids are neuroactive steroids that are synthesized in the brain and influence many biological functions. These neurosteroids are synthesized from cholesterol by a series of cytochrome P450 enzymes, among which a new member of P450 hydroxylase, CYP7B1, has been shown to catalyze formation of 7-hydroxylated neurosteroids, 7α-hydroxypregnenolone (7α-OH-

Preg) and 7α-hydroxydehydroepiandrosterone (7α-OH-DHEA). We identified for the first time the existence of 7α-OH-Preg and 7α-OH-DHEA in the mouse hippocampus after Morris's water maze task by using LC-MS/MS. We found a dawn-dusk change in remote spatial memory in WT mice; the memory performance at ZT1 (dawn) was higher than that at ZT11.5 (dusk). *Cyp7b1*-deficiency impaired remote spatial memory at ZT1 and prevented training-induced increase of dendritic spine density in the hippocampus. Further, chronic intracerebroventricular administration of 7α-OH-Preg and 7α-OH-DHEA in *Cyp7b1*-deficient mice improved the spine density and remote spatial memory performance. These results demonstrate that the 7α-hydroxylated neurosteroids regulate long-term maintenance of spatial memory in mice.

（４）The role and regulation of importin beta 1 in nuclear signalling during transcription-dependent plasticity

Toh Hean Ch'ng（Nanyang Technological University）

Activity-dependent nuclear translocation of plasticity proteins is required to trigger transcription during encoding of long-term memories. The movement of soluble proteins to the nucleus serve as a means for synaptic signals to be relayed to the nucleus to modulate transcription. The failure of this signal transmission is the underlying cause of numerous neuropsychiatric and neurocognitive disorders. In this study, we show that the importin-β1, a member of the classical nuclear import complex, is found in different subcellular compartments and responds to a variety of stimulus by undergoing nuclear accumulation. Importantly, the inhibition of importin-β1 mediated nuclear import impaired transcription of immediate early gene expression and abolished several forms of long-term plasticity in hippocampal slices. We also report the presence of different importin-β1 mRNA isoforms at the synapse and show that synaptic stimulation drives local translation of importin-β1. Finally, we describe a biochemical approach to isolate and characterize novel importin β1 cargo proteins at the synapse that respond to neuronal activity by entering the nucleus. Collectively, our data validates the importance of importin β1-mediated active transport of nuclear proteins during transcription-dependent plasticity.

（５）An aversive-sensorimotor neural circuit for instructing associative emotional memories

Joshua Johansen（RIKEN）

Aversive experiences produce immediate emotional reactions and long-term associative memories. It is unclear how the nervous system transduces aversive experiences into neural instructive signals which produce memory formation. A common view is that emotional memories are triggered by the external sensory properties of aversive experiences, but classical theories proposed that emotional feeling states result from internal bodily reactions to unpleasant events. Here we identify a brainstem cuneiform (CnF) circuit which conveys both external aversive-sensory and internal aversive-motor information to the lateral amygdala (LA), a brain region important in emotional learning, to instruct associative memories. Glutamatergic CnF neurons projecting to the LA integrate information from spinal-nociceptive and defensive-motor brain regions. Combined machine learning behavioral analyses and electrophysiology approaches demonstrated that LA neurons encode both aversive-sensory and aversive-motor features of noxious stimulation and that this information is transmitted through the CnF-to-LA pathway. Finally, optogenetic inactivation of the CnF-to-LA circuit abolished aversive memory formation and stimulating it was sufficient to produce learning. These findings show that emotional memories arise through engagement of an instructive circuit driven by both external and internal aspects of aversive experience. This

suggests a clinically relevant brain mechanism for the individual scaling of emotional memory strength by both the intensity of external traumatic experiences and the magnitude of the accompanying bodily reactions.

（６）Hippocampal area CA2: Trace or trap for memory ?

Sreedharan Sajikumar（National University of Singapore, Singapore）

The hippocampus is a critical brain region for the formation of declarative memories. While social memory had long been attributed to be a function of the hippocampus, it is only of late that the area CA2 of the hippocampus was demarcated as essential for social memory formation. In addition to this distinct role, CA2 possesses unique molecular, structural and physiological characteristics compared to the other CA regions-CA1 and CA3, and the dentate gyrus (DG). CA2 pyramidal neurons are positioned at a location between CA1 and CA3, receiving inputs from CA3 and DG, in addition to forming a powerful disynaptic circuit with direct input from the entorhinal cortical layer II neurons. CA2 also receives direct inputs from the hypothalamic regions and displays a unique expression pattern for receptors for neuromodulators. The location, inputs, and molecular signatures of the area CA2 point to the possibility that CA2 serves as a modulatory gateway that processes information from the entorhinal cortex and CA3, before relaying them onto CA1, the major output of the hippocampus. I will discuss recent findings regarding plasticity and neuromodulation in the CA2 region of the hippocampus, and how this may have the potential to influence plasticity in connecting circuits, and thereby memory and behaviour.

（７）Characterization of a novel hippocampal-septal circuit

Thomas McHugh（RIKEN）

The connections between the hippocampus and medial septum (MS) are crucial for integration of sensory and motor information, the generation of the theta oscillation and the encoding and expression of memory. While recent work has uncovered specific roles for ascending cholinergic, glutamatergic and GABAergic inputs from the MS to the hippocampus in these processes, much less is known about the role of the descending hippocampal efferents. I will describe our identification and characterization of a novel descending glutamatergic projection from hippocampal CA2 pyramidal cells to PV+ neurons in the MS that can regulate hippocampal cholinergic tone. I will highlight the involvement of this pathway during different memory phases and share the behavioral and physiological consequences of manipulations of this circuit.

（８）Temporal backpropagation of basal forebrain neuronal activity reveals stepwise learning strategy

Lin Shih-Chieh（National Yang-Ming University）

Much evidence suggests that animals and humans form internal models to guide decision-making and associative learning. However, little is known about how such internal models are first established during new learning. Here, by tracking the temporal evolution of neuronal activity in the basal forebrain (BF) during learning, we show that animals

internal model undergoes stepwise expansion to incorporate new reward predictors. Reward predictors were sequentially incorporated based on their temporal proximity to the reward, and this process was mirrored by the temporal backpropagation of the BF neuronal responses from the time of reward to earlier epochs in discrete steps. A new stimulus was not automatically represented in the internal model until the BF neuronal responses backpropagated to that stimulus. These results reveal an effective strategy for discovering novel associations in complex decision trees without the need for representing all potential events concurrently.

（９）Cerebellar output networks for non-motor cognitive behaviors

Yong-Seok Lee（Department of Physiology, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea）

The cerebellum has recently been shown to be involved in regulating non-motor functions such as social behaviors and goal-directed behaviors through its projections to other brain regions. Also, cerebellum dysfuncions are associated with multiple neuropsychiatric disorders. Although the cerebellum is also reported to be involved in several affective behaviors including fear memory, how its output from deep cerebellar nuclei (DCN) regulates the fear learning and memory is not known. In this study, we found that a subpopulation of DCN neurons project to parabrachial nucleus (PBN) which was shown to process general danger signals. Optogentic inhibition of PBN-projecting DCN neurons impaired the expression of cued fear memory without affecting either contextual fear memory or innate fear response. In addition, we also found that PBN-projecting DCN neurons do not overlap with VTA-projecting DCN neurons which has recently been shown to be involved in social rewarding. Taken together, we demonstrate a functional role of a previously unknown cerebellar output network to PBN in fear learning and memory. Furthermore, our results suggest that distinct cerebellar outputs have emotional valence specificities.

（10）Engram cells after repetition of learning

Han Jin-Hee（Korea Advanced Institute of Science and Technology）

Most memories result from repeated experiences in our everyday life. However, it is unknown what happens to engram during this process. Using excitability manipulation and natural engram cell labeling methods in mice, we examined whether a subset of cells that was initially allocated into engram still participates in memory even after repetition of the same learning. In this talk, I will present and discuss data from this study.

（11）Cortico-amygdala interaction during taste-aversion association learning to recruit a memory trace

Yoshitake Sano（Tokyo University of Science）

The insular cortex (IC) is the primary gustatory cortex, and it is a critical structure for encoding and retrieving the conditioned taste aversion (CTA) memory. In the CTA, consumption of an appetitive tastant is associated with aversive experience such as visceral malaise, which results in avoidance of consuming a learned tastant. Previously, we showed that levels of the cyclic-AMP-response-element-binding protein (CREB) determine the insular cortical neurons that proceed to

encode a conditioned taste memory. In the amygdala and hippocampus, it is shown that CREB and neuronal activity regulate memory allocation and the neuronal mechanism that determines the specific neurons in a neural network that will store a given memory. However, cellular mechanism of memory allocation in the insular cortex is not fully understood. In this study, we manipulated the neuronal activity in a subset of insular cortical and/or basolateral amygdala (BLA) neurons in mice, at the time of learning and tested whether highly excitable neurons during learning are preferentially re-activated by memory retrieval. Here, we show that functional and structural interactions between the IC and BLA regulate CTA memory allocation in the insular cortex.

（12）Dopamine D2 receptors detect dopamine dips to disinhibit structural long-term potentiation and to refine reward prediction

Iino Yusuke（The University of Tokyo）

Dopamine neurons encode the discrepancy between the expected and actual reward. When the expected reward is omitted, there is a transient decrease in dopamine concentration (dopamine dip) in the nucleus accumbens (NAc). Although high-affinity dopamine D2 receptors (D2Rs) have been proposed to detect dopamine dips, the characteristics, and the cellular basis of D2R- and dopamine dip-dependent behavior are unclear. Here, we demonstrate that tone reward conditioning induces stimulus generalization in a manner dependent on dopamine D1 receptors (D1Rs) in the NAc of mice and that discrimination learning refines the conditioning using a dopamine dip. In NAc slices, a dopamine dip (as short as 0.4 s) was detected by D2Rs to disinhibit adenosine A2A receptor (A2AR)-mediated enlargement of dendritic spines in D2R- expressing spiny projection neurons (D2-SPNs). Plasticity- related signaling by Ca^{2+}/calmodulin-dependent protein kinase II and A2ARs in the NAc were required for discrimination learning. In contrast, dopamine dips or D2-SPNs were not involved in extinction learning. Our results demonstrate that D2Rs detect dopamine dips to refine the generalized reward prediction mediated by D1Rs.

（13）On-demand DA release is involved in olfactory aversive learning

Minoru Saitoe（Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science (TMiMS)）

In *Drosophila*, dopamine (DA) released onto the mushroom body (MB) is critical for olfactory aversive conditioning. In canonical release mode, activated DA neurons release DA from numbers of release sites, volume transmission. Our *ex vivo* imaging studies identified a novel mode of local DA release induced by carbon monoxide (CO) generated in the postsynaptic MB neurons that have been coincidentally activated by two different sensory input pathways, on-demand transmission. Unlike canonical release, on-demand DA release requires Ca^{2+} efflux via ryanodine receptors (RyRs) in the release sites and does not necessarily require activity of DA neurons. Strikingly, *in vivo* imaging study of DA release in fly performing olfactory aversive conditioning revealed unique phase of DA release that depended on RyR activity in the DA neurons and occurred after ceasing conditioning. Behavioral studies suggest that to establish olfactory aversive conditioning RyR-mediated DA release phase after conditioning is more important than DA release phase during conditioning. We propose that on-demand DA release plays pivotal role in olfactory aversive conditioning by regulating DA release after conditioning.

（14）Genome editing-based strategies for imaging endogenous proteins in mammalian brain *in vivo*

Takayasu Mikuni（Brain Research Institute, Niigata University）

Rapid and precise genome editing using CRISPR-Cas systems is a powerful technology in various scientific fields. Especially, genome editing through homology-directed repair (HDR) provides a versatile approach to precisely introduce insertions, deletions or replacements in the genome. However, it has been considered to be difficult to induce HDR in postmitotic neurons, limiting the application of precise genome editing in the field of neuroscience. Here I present two strategies, SLENDR and vSLENDR, to induce HDR-mediated genome editing in mammalian brain *in vivo*. Rapid and precise genome editing in the brain will allow for a wide range of applications in neuroscience research, such as high-throughput monitoring of endogenous gene products in brain tissue.

（15）Imaging voltage in neurons with genetically encoded indicators

Sakamoto Masayuki（Kyoto University）

Imaging membrane potential in neurons has become a fruitful approach to study neural circuits. Recently, the effective performance of genetically encoded fluorescent voltage indicators has been greatly improved. Here, we developed a novel genetically encoded voltage indicator, ArcLight-MT and demonstrated the use of it. First, we applied it to measure the voltage in dendritic spines. To examine electrical properties of dendritic spines, we recorded voltage fluorescence signal in response to synaptic input with two-photon glutamate uncaging. We found that spine heads are electrically isolated by the spine neck from membrane potential signals in parent dendrites. This attenuation of EPSPs by spines could have important repercussions for synaptic plasticity and dendritic integration. Next, we utilized this indicator in vivo. We succeeded to record visual stimulus-induced fluorescent response in visual cortex with single cell resolution in single trials. Our results demonstrate that the feasibility of voltage imaging as a tool to monitor the activity of neurons.

（16）Spying on endocannabinoid dynamics *in vivo* by constructing genetically-encoded GRAB sensors

Yulong LI（School of Life Sciences, Peking University）

Endocannabinoids (eCBs) are retrograde lipid neuromodulators involved in many physiological and pathological important processes including learning and memory. A longstanding yet largely unmet goal is to measure eCB dynamics reliably and specifically with high spatiotemporal precision, particularly in animals executing complex behaviors. Here, we developed a novel genetically-encoded fluorescent eCB sensor (GRAB-eCB) based on the human CB1 receptor and a circular permutated EGFP (cpEGFP). GRAB-eCB retains the molecular specificity & affinity of native CB1 receptor and exhibits ~second kinetics and large fluorescent increase (upto $\Delta F/F0$ ~700 % in neurons) to eCBs. GRAB-eCB is capable of reporting eCB signals in cultured neurons and acute brain slices. In living mice, GRAB-eCB can depict running or foot-shock triggered eCB dynamics in hippocampus and amygdala, respectively. Finally, co-expressing GRAB-eCB with calcium indicator jRGEGO resolves eCB waves in green and neuronal activity in red simultaneously during an epileptic event *in vivo*. Thus, GRAB-eCB sensor provides a powerful new tool to study eCB dynamics in vivo. Additional GRAB sensors can be similarly developed to expand the detection repertoire of other important neurochemicals, such as monoamines, purinergic transmitters and neuropeptides.

（17）A photoactivatable CaMKII induces synaptic plasticity in single synapses

Hideji Murakoshi（National Institute for Physiological Sciences）

Optogenetic approaches have proven their utility in the neurosciences for studying neuronal functions. However, optogenetic tools capable of inducing synaptic plasticity at the level of single synapses have been lacking. Here, we describe an optogenetic tool for dissecting signaling through the Ca^{2+}-calmodulin-dependent protein kinase (CaMKII) pathway and for inducing synaptic plasticity. We engineered a photoactivatable (pa)CaMKII by fusing a light-sensitive domain, LOV2, to CaMKIIα. Blue light or two-photon excitation reversibly activated paCaMKII. Activation in single spines was sufficient to induce structural long-term potentiation (sLTP) in vitro and in vivo. It also resulted in recruitment of AMPA receptors and functional LTP in single spines. Combining paCaMKII activation with protein activity imaging by 2-photon FLIM-FRET, we demonstrate that paCaMKII activation in clustered spines induces robust sLTP by a mechanism that involved the actin-regulatory small GTPase Cdc42. This optogenetic tool for dissecting the function of CaMKII activation in the absence of other calcium-sensitive signaling and for manipulating synaptic plasticity should find many applications in neuroscience.

（18）Extinction reverses specific synaptic engrams that encode a fear memory

Bong-Kiun Kaang（Seoul National University）

Successful adaptation to the environment requires accurately responding to external threats. This process recalls specific memories from a given context that was shaped by extinguishing non-adaptive responses. Although many studies have investigated the neural correlates of memory extinction, we still do not know whether extinction involves reversing strengthened synapses that encode fear memories (unlearning) or inhibitory learning of the safety information (new learning). To address this issue by examining any structural synaptic changes accompanied by memory extinction, we applied our previously developed synapse-labeling dual-eGRASP. We found that synapses between engram neurons at auditory cortex and lateral amygdala were selectively enhanced to store fear memory consistent with our prior work in the hippocampus. We found that extinction reversed this conditioning-induced enhancement of synapses between engram neurons while other types of synapses did not show any significant changes. Our studies demonstrate that extinction induces the reversal of engram synapses, which supports the unlearning hypothesis.

（19）A hippocampal-amygdala circuit for experience-dependent observational fear

Takashi Kitamura（University of Texas Southwestern Medical Center）

The ability to predict dangerous situations is crucial for survival. In social fear learning, individuals can learn about harmful stimuli and environments by observing other conspecifics in aversive situations. Observational fear (OF) is a mouse model of social fear learning in which a naïve observer witnesses an unfamiliar demonstrator receive foot-shocks in a modified contextual fear apparatus. Although the observer is not shocked, it freezes in response to demonstrator foot-shock and learns to fear the context. We define this as innate OF because the observer has neither shock experience nor is familiar with the demonstrator. However, in other cases in nature, it is difficult to assess the

danger of a situation solely by observing others. Therefore, in these cases, both prior experience and familiarity with the demonstrator are required for observers to exhibit OF. We define this as experience-dependent OF. While the neural mechanisms of innate OF primarily depend upon the anterior cingulate cortex (ACC) and basolateral amygdala (BLA), the neural mechanisms of experience-dependent OF are mostly unexplored. In this study, we developed a mouse model of experience-dependent OF and then investigated the underlying neural mechanisms. Surprisingly, a chemical lesion in ACC failed to block experience-dependent OF, while the same lesion results in impairment of innate OF. This is confirmed by enhanced immediate early gene expression in ACC during innate OF but not during experience dependent OF, indicating ACC has a specific role in innate OF but in not experience-dependent OF. Next, we investigated the role of the hippocampus in experience-dependent OF. Chemogenetic inhibition of excitatory neurons in dorsal hippocampus during own shock experience blocks experience-dependent OF. In ventral hippocampus, chemogenetic inhibition of excitatory neurons that project to the BLA during OF testing blocks experience-dependent OF. Together, our findings demonstrate that a dorsal and ventral hippocampus-amygdala network differentially contributes to experience-dependent OF. Furthermore, we propose dorsal hippocampus generates a fear memory engram in the BLA during own shock experience and ventral hippocampus reactivates the fear memory engram to express experience-dependent OF.

（20）Unraveling cortical circuits for shaping vision-guided action

Lee Seung-Hee（Korea Advanced Institute of Science and Technology）

Visual information is a key environmental cue that makes animals learn goal-directed behavior. However, it is still unclear how cortical circuits permit appropriate responses to relevant visual stimuli while inhibiting spontaneous action. Here, we unraveled a visual circuit in the cingulate cortex (Cg) that trigger vision-guided action in mice performing a visual Go/No-go task. Unlike the visual cortex, which is predominantly processing sensory information, the Cg represents sensory and motor signals independently during the task. Both visual gain and premotor suppression in the Cg predict trial-by-trial variations in reaction times during the task. Notably, optogenetic activation of Cg sensory neurons drives task-relevant actions by inhibiting the on-going activity of motor neurons. Furthermore, premotor suppression happens only when background activity in the Cg is low. Together, our data demonstrate that sensory inputs to the Cg disinhibits goal-directed actions via exerting gated inhibition of motor neurons that suppress spontaneous action.

（21）How does memory retrieval regulate memory?

Xiaojing Ye（Zhongshan School of Medicine, Sun Yat-sen University）

Memory retrieval serves an important biological function to modulate the strength and content of the original memories. Understanding how memories can be modified through retrieval opens novel exciting opportunities for treatments of many neuropsychiatric disorders, in which memory becomes maladaptive and inflexible. While brief recent memory retrieval leads to memory strengthening, prolonged non-reinforced retrieval or retrieval of remote memories favors memory extinction, raising the question of how different patterns of memory retrieval generate distinct effects. Using the inhibitory avoidance task in rats, we have found that activity in the direct, sparse dorsal hippocampal projections to the prelimbic and infralimbic cortex of the medial prefrontal cortex is differentially engaged in retrieval-mediated memory enhancement and extinction, respectively. We have further explored the contribution of excitatory and inhibitory synaptic proteins to

retrieval-mediated memory regulation. Collectively, our study will help develop novel strategies for preventing and potentially reversing maladaptive memory enhancement in affiliated neuropsychiatric disorders.

（22）Defining the spatiotemporal window of synaptic plasticity events during memory consolidation.

Goto Akihiro（Kyoto University）

The memory is initially formed in the hippocampus but subsequently transferred to the rest of brain, in a process called memory consolidation. During this process, “offline-synaptic plasticity” occurs but when and where such plasticity occurs remains largely elusive. We therefore developed a new method for optically erasing long-term potentiation (LTP) with a defined spatiotemporal window. We previously found that cofilin, an actin binding protein, is enriched in the spine during LTP. We therefore inactivated cofilin optically by fusing it with SuperNova, a photosensitizer protein that generates ROS upon light illumination and found LTP was specifically erased if light is illuminated within 30 min after induction in vitro.

In vivo, we found memory was erased by illumination right after memory task in hippocampus, but not in anterior cingulate cortex (ACC). After mouse was returned to home cage and went to sleep, hippocampus was illuminated and memory was erased. Next day in home cage, illumination during sleep in hippocampus had no effect but that in ACC erased memory. This indicates offline LTP locally at hippocampus and ACC during sleep are important for memory consolidation.

（23）Balancing act: Mechanism of homeostatic synaptic scaling by proteostasis

Sourav Banerjee（National Brain Research Centre）

Homeostatic scaling maintains synaptic weightage at a threshold point by adjusting its strength following hebbian changes that occur when neural circuit is engaged in cognitive function. Synaptic homeostasis requires changes in proteomic composition that is dependent on new protein synthesis and protein degradation by ubiquitin-proteasome system (UPS). However, the regulatory control point driving homeostatic scaling by co-modulating protein synthesis and UPS-mediated protein degradation, known as proteostasis, is poorly understood. Here, we examine a mechanism that modulates synaptic scaling in hippocampal neurons using whole-cell patch clamp recording and analyzing the associated remodeling of protein complexes. Our data shows that the combinatorial actions of protein synthesis and protein degradation regulate synaptic strength by remodeling of miRNA containing RNA inducing silencing complex (miRISC) *via* the mTOR pathway. We observed that the remodeling of miRISC modulates surface expression of AMPA receptors, an end point effector of synaptic scaling, *via* regulation of Arc expression. Our finding proposes a multifaceted model, where synaptic scaling is regulated by compositional change in protein complex through a synergistic control of protein synthesis and protein degradation. This study opens up a new avenue to explore how concerted mechanisms of translation and degradation dictates synaptic plasticity.

（24）Dnmt3b regulates synaptic function and memory in adult hippocampal neurons

Yu Zhou（Department of Physiology and Pathophysiology, Qingdao University）

DNA methylation is a key epigenetic mark regulating important cellular processes in brain development and plasticity. Dnmt3b is the major *de novo* DNA methyltransferase, but its function in mature neurons is unclear. We generated conditional mutant mice lacking *Dnmt3b* exclusively in αCaMKII^{+} excitatory or Dlx5/6^{+} inhibitory neurons, and found that Dnmt3b deficiency in αCaMKII^{+} neurons led to altered calcium transients, impaired synaptic plasticity and object-place memory. Whole genome bisulfite sequencing revealed a significant decrease in non-CpG methylation of sialyltransferase genes in the hippocampus of Dnmt3b-deficienct mice. Gene expression microarray and qRT-PCR analysis identified dysregulated expression of transcripts associated with synaptic function, including *St6gal2* that encodes ST6Gal II. Interfering with *St6gal2* upregulation or blocking ST6Gal II activity rescued LTP and memory deficits in Dnmt3b-deficient mice. We conclude that Dnmt3b is required for synaptic plasticity and object-place memory, and sialyltransferase genes are important candidates for Dnmt3b-depedent modulation of non-CpG methylation and transcription in CA1 excitatory neurons. Our study provide the first direct evidence that Dnmt3b in αCaMKII^{+} neurons of dorsal CA1 are required for maintenance of neuronal methylation, for proper control of gene expression, and consequently for normal synaptic plasticity and object-place memory in adult mice. Different from Dnmt1 and Dnmt3a, Dnmt3b functions to maintain non-CpG methylation pattern within gene bodies of αCaMKII^{+} neurons. Our analysis adds important new insight into the role of Dntm3b in synapse function and adult memory. In addition, we get a new link to sialic acid biology in this process.

（25）Neuron-selective RNA editing of Cav1.3 Channel and its role in Learning and Memory

Tuck Wah Soong（National University of Singapore）

Posttranscriptional modification such as RNA editing is an adaptive means to fine-tune Ca^{2+}-dependent regulation of voltage-gated Cav1.3 channels by recoding the genomic sequence that encode *IQDY* of the IQ-domain. Neuron-selective RNA editing of the Cav1.3 channels slows CDI and paradoxically it has been reported that calmodulin binds edited Cav1.3 channels with lower affinity to result in lower open probability.

To address the mechanism that underly neuron-selectivity in RNA editing of Cav1.3 channel, we evaluated the role of reported editing repressors and found that the splicing factor SRSF9 binds to the single strand intronic sequence around exon 41 to reduce ADAR2-mediated editing of the Cav1.3 IQ-domain.

To address the physiological significance of Cav1.3 RNA editing and to address the above-mentioned paradox in regulation of Ca^{2+} influx, we generated editing complementary sequence null (ECS$^{-/-}$) mice that were genetically targeted to produce unedited Cav1.3 channels. Electrophysiological hippocampal slice recordings showed enhanced late-LTP. The ECS$^{-/-}$ mice have better spatial learning and memory as demonstrated by behavioral tests using the Morris Water-maze.

（26）Controlling the flexibility in memory updating through the gating mechanism for activity-dependent transcription in *Drosophila*

Yukinori Hirano（Division of Life Science, Hong Kong University of Science and Technology）

Consolidated memory can be preserved or updated depending on the environmental change. Although such conflicting regulation may happen during memory updating, the flexibility of memory updating may have already been determined in the initial memory consolidation process. Here, we explored the gating mechanism for activity-dependent transcription in memory consolidation, which is unexpectedly linked to the later memory updating in *Drosophila*. Through proteomic analysis, we discovered that the compositional change in the transcriptional repressor, which contains the histone deacetylase Rpd3 and CoRest, acts as the gating mechanism that opens and closes the time window for activity-dependent transcription. Opening the gate through the compositional change in Rpd3/CoRest is required for memory consolidation, but closing the gate through Rpd3/CoRest is significant to limit future memory updating. Our data indicate that the flexibility of memory updating is determined through the initial activity-dependent transcription, and thus provide a rule in defining the memory state.

（27）Epitranscriptomic mechanisms at the dynamic end of microtubule regulates neurodevelopment and synapse organization

Dan Ohtan Wang（Kyoto University）

N6-methyl-adenosine (m6A) is the most abundant internal messenger RNA (mRNA) modification in mammals, marking thousands of mRNAs and regulating their splicing, export, stability, and translation. A wide range of brain functions have been shown to be dependent on m6A-mediated regulatory pathway, including but not limited to cortical neurogenesis, circadian rhythm, learning and memory, reward, addiction, stress, stroke, and spinal injury, etc. Previously we have identified a synaptic m6A-epitranscriptome, a composite of 4,469 m6A sites in 2,921 genes selectively enriched at the synapses of healthy adult rodent forebrain. This group of genes are functionally enriched for synapse organization and function, and implicated in neurodevelopmental and neuropsychiatric disease pathways. However, the cellular mechanism underlying this functional linkage has been unknown. Now we show that a developmentally regulated RNA granule located to the microtubule growing end, which plays crucial role for modulating neuronal connectivity through regulating cytoskeleton dynamics, is highly decorated with m6A and recruits cytoplasmic m6A reader YTHDF1. Reducing YTHDF1 (reader) or METTL14 (writer), disrupted the expression of the RNA granule and severely inhibits postmitotic neural development, in a similar manner to when dynamic microtubule is dysregulated. Our results reveal a physical link between RNA modification and dynamic microtubule.

（28）Long Noncoding RNAs and Memory

Timothy Bredy（University of Queensland）

Long noncoding RNAs have emerged as key regulators of gene expression. To date, due to their low level and often state dependent manner of expression. most effort toward understanding the functional relevance of this class of RNA

has been focused on cancer or ES cell differentiation. Here, I will present recent our work using new approaches to detect lncRNA in the brain and discuss the functional role of experience-dependent lncRNA activity in learning and memory.

（29）Abnormal Sleep Signals Vulnerability to Chronic Social Defeat Stress

Dipesh Chaudhury（New York University Abu Dhabi）

There is a close association between mood and sleep regulation. Sleep is necessary for normal functioning of the brain during the wake state and disrupted sleep is a core feature of many psychiatric diseases including major depressive disorder (MDD). Moreover, chronic stress has detrimental effects on sleep. We assessed the link between stress and sleep in mice using a chronic social defeat stress (CSDS) paradigm. The social behaviour of the mice post stress was classified in two main categories: mice susceptible to stress that display social avoidance and mice resilient to stress. EEG measures of sleep-wake states was assessed across 24-h pre- and 24-h post-stress periods. Stress-susceptible mice displayed increased fragmentation of Non-Rapid Eye Movement (NREM) sleep both pre- and post-stress. Stress-resilient mice displayed reduced sleep time in the initial quarter of the dark period pre-stress relative to the stress-susceptible mice. In-contrast, following exposure to CSDS, both resilient and susceptible mice spent similar amounts of time in the different vigilance states. Additionally, during the dark phase post-CSD, resilient mice displayed increased NREM fragmentation similar to the susceptible mice. Our findings emphasized the strong interplay between sleep and stress and sleep differences prior to stress exposure can predict the level of susceptibility to future stress.

（30）Genetic and imaging approaches to elucidate the roles of REM sleep

Yu Hayashi
（Graduate School of Medicine, Kyoto University/
International Institute for Integrative Sleep Medicine (WPI-IIIS), University of Tsukuba

The roles of rapid eye movement (REM) sleep, a major source of vivid dreams, are poorly understood. Here, we focused on cerebral blood flow (CBF). Various approaches have been taken to investigate how CBF changes during sleep. However, conflicting conclusions have been drawn from multiple approaches including positron emission tomography (PET), near infrared spectroscopy (NIRS), and ultrasonic doppler techniques. We developed an alternative approach using two-photon microscopy to directly observe red blood cells in capillaries while monitoring sleep/wake stages (Tsai et al., unpublished). We will discuss our results, which will help draw a final conclusion on how CBF changes during REM sleep. In addition, we identified neurons involved in regulating REM sleep and genetically manipulated their functions (Hayashi et al., Science, 2015; Kashiwagi et al., Current Biology, 2020; Liu et al., unpublished). With these approaches, we developed mice in which REM sleep is drastically reduced. These mice exhibited various behavioral deficits, supporting that that REM sleep plays an essential role in maintaining brain functions.

（31）Offline emergence of transitive inference in cortical circuits

Kareem Abdou（University of Toyama）

Creative problem-solving is critical for all spheres of innovation and pioneering thought. Sleep does more than simply consolidate memories; it can inspire insight. However, it is unknown how the brain creates new ideas or solve problems during periods of rest/sleep. In this study, Mice were subjected to transitive inference behavior paradigm using 5 different contexts. Mice were trained with individual premise pairs (A>B, B>C, C>D, D>E) allowing mice to form hierarchical order (A>B>C>D>E), then they were tested with inference pairs (B & D). Mice did not infer correctly when tested on the last day of the training stage, but one day later they could infer correctly. Sleep deprivation for 4 hours after the training sessions disrupted the performance during the inference test. Optogenetic inhibition to Anterior Cingulate Cortex (ACC) neurons during rapid eye movement (REM) & non-REM (NREM) sleep blocked the emergence of inference, but did not affect the original premise pairs. Moreover, in case of incomplete training, optogenetic activation to the neuronal terminals of medial entorhinal cortex in ACC during REM, but not NREM, sleep was sufficient to induce the inference. Collectively, REM and NREM sleeps are necessary for correct transitive inference, while only REM sleep is sufficient for inducing the inference and creativity.

（32）Improvement of social defeat stress-induced PTSD-like behaviors by hippocampal memory forgetting effects of neurogenesis enhancer

Rie ISHIKAWA（Dept. of Applied Biological Chemistry, Univ. of Tokyo）

Post-traumatic stress disorder (PTSD) is a mental disorder associated with traumatic memory. Our previous study showed that increasing adult hippocampal neurogenesis by treatment with memantine (MEM), an uncompetitive antagonist of the NMDA glutamate receptor, promotes hippocampus-dependent fear memory forgetting in mice (Ishikawa et al., 2016), raising the possibility that fear memory forgetting is a novel therapeutic target of PTSD (Kida, 2018). In rodents, repeated exposures to social defeat (SD) stress by aggressor mice induce social avoidance behaviors to the aggressor and chronic anxiety-like behaviors. In this study, we used SD stress paradigm as a new PTSD model and examined effects of MEM treatment on SD stress-induced PTSD-like behaviors. MEM treatment significantly reduced social avoidance behavior in SD mice, suggesting that MEM-treated SD mice showed forgetting of social avoidance memory. Interestingly, MEM-treated SD mice showed comparable anxiety-like behavior with control mice that were not exposed to SD stress. Therefore, we suggest that neurogenesis enhancer improves PTSD (anxiety)-like behaviors through forgetting of traumatic (social avoidance) memory.

19. 生体システム統合機構としての情動

2020 年 9 月 16 日

代表・世話人：南　雅文（北海道大学大学院 薬学研究院 薬理学研究室）
所内対応者：揚妻正和（生理学研究所 生体恒常性発達研究部門）

（1）ストレスによる脳内炎症の多様性
古屋敷智之（神戸大学大学院医学研究科薬理学分野）

（2）心理ストレス反応の神経回路　－「心」と「体」をつなぐ仕組み －
中村和弘（名古屋大学大学院 医学系研究科 統合生理学）

（3）Crisis fate orchestration: 先天的恐怖情動誘導性の生命保護作用
小早川　高（関西医科大学）

（4）慢性痛による拡張扁桃体神経回路の可塑的変化は不安を惹起する
山内直紀，南　雅文（北海道大学大学院 薬学研究院 薬理学研究室）

（5）不安様行動における脳と末梢臓器活動の変化
佐々木拓哉（東京大学大学院 薬学系研究科）

（6）特異的な神経回路活性化による自己免疫疾患の制御
村上正晃（北海道大学 遺伝子病制御研究所）

（7）扁桃体中心核内ネットワーク
加藤総夫，杉村弥恵，奥田崇雄，徳永亮太，高橋由香里
（東京慈恵会医科大学 神経科学研究部）

（8）幼少期の皮膚炎によるストレスは思春期の脳内炎症に対するプライミング効果を介して鬱様症状を誘導する
橋本興人，関口正幸（国立精神･神経医療研究センター 神経研究所 疾病研究第四部）

（9）Omega-3 系脂肪酸と不安症状
松岡　豊（国立がん研究センター 社会と健康研究センター）

（10）情動と自律神経機能：「脳・心・身体」の三者関係による調和的理解
梅田　聡（慶應義塾大学 文学部 心理学研究室）

【参加者名】

南　雅文（北海道大学・大学院薬学研究院・薬理学研究室），揚妻正和（生理学研究所・生体恒常性発達研究部門・鍋倉研），加藤総夫（東京慈恵会医科大学・神経科学研究部），中島龍一（藤田医科大学・総医研・システム医科学），古屋敷智之（神戸大学・大学院医学研究科・薬理学分野），谷口将之（神戸大学・医学研究科・薬理学分野），高橋由香里（東京慈恵会医科大学・総合医科学研究センター・神経科学研究部），野村　洋（北海道大学・大学院薬学研究院・薬理学研究室），北岡志保（神戸大学・医学部・薬理学分野），笠井淳司（大阪大学・薬学研究科・神経薬理学），天野大樹（北海道大学・大学院薬学研究院・薬理学研究室），上田修平（名古屋大学・環境医学研究所・神経系分野 I），則武　厚（生理学研究所・認知行動発達機構研究部門・磯田研究室），竹本さやか（名古屋大学・環境医学研究所・神経 I），佐々木拓哉（東京大学・大学院薬学系研究科・薬品作用学教室），梅田　聡（慶應義塾大学・文学部・心理学研究室），中村和弘（名古屋大学大学院・医学系研究科・統合生理学），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），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），大西克典（久留米大学医学部薬理学講座），鍋倉淳一（生理学研究所），助川桃枝（京都大学 iCeMS 王丹グループ），塚原飛央（ミシガン大学医学部 MNI　Iwase

and Sutton labs），堀内　浩（生理学研究所生体恒常性発達研究部門），村上正晃（北海道大学・遺伝子病制御研究所），西岡忠昭（大阪大学・蛋白質研究所・高次脳機能学研究室），小早川　高（関西医科大学・附属生命医学研究所・神経機能部門），近藤邦生（生理学研究所），Chanhyun Park（Institute for Basic Science (Korea), Center for NanoMedicine, Jae-Hyun Lee lab），人羅（今村）菜津子（北海道大学・薬学部薬理学研究室），聶　翔（神戸大学大学院・医学研究科・薬理学），浮地里佳子（東京慈恵会医科大学・神経科学研究部），杉村弥恵（東京慈恵会医科大学・神経科学研究部），三須宏武（生理学研究所・生殖・内分泌系発達機構研究部門），森　啓太（東京大学・理学系研究科・生物科学専攻），堀金慎一郎（名古屋大学・環境医学研究所・神経１），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），國石　洋（国立精神・神経医療研究センター 精神薬理研究部），北沢　泉（北海道大学・獣医学研究院・生化学教室），OH JUNGMIN（京都大学・霊長類研究所・統合脳システム分野），松岡　豊（国立がん研究センター・社会と健康研究センター健康支援研究部），鳥越万紀夫（理化学研究所・CBS・意思決定回路動態），山内直紀（北海道大学大学院薬学研究院薬理学研究室），片岡直也（名古屋大学大学院・医学研究科・統合生理学），奥田崇雄（慈恵医大・神経科学研究部・加藤研），徳永亮太（東京慈恵会医科大学神経科学研究部），堀川伊和（神戸大学・大学院・医学研究科・薬理学分野），佐藤奈保子（東京慈恵会医科大学 神経科学研究部），松下和敏（神戸大・医・薬理），守屋正道（慈恵医大神経科学部・帝京平成大学健康医療スポーツ学部），山本純偉（筑波大学医学医療系），橋本泰昌（国立精神神経医療研究センター），戸田知得（北海道大学・獣医学部・生化学教室），榎木亮介（自然科学研究機構 生命創成探究センター バイオフォトニクス研究部門），根本知己（自然科学研究機構・生命創成探究センター・バイオフォトニクス），植松明子（生理学研究所），山肩葉子（生理学研究所），菅原朋子（豊田中央研究所ヒューマンサイエンス特任研究室），疋田貴俊（大阪大学蛋白質研究所），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），山田大輔（東京理科大学・薬学部・薬理学研究室），小林健寧（大阪大学蛋白質研究所・高次脳機能学研究室），布間寛章（東京慈恵会医科大学神経科学研究部），酒井雅子（㈱エクォス・リサーチ三河安城研究室），野口　淳（東京慈恵会医科大学神経科学研究部），山本真理子（生理学研究所・視覚情報処理研究部門），Kae Nakamura（関西医大生理学），青峰良淳（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高次脳機能学研究室），安宅光倫（生理研・基盤神経科学・バイオフォトニクス），安田正治（関西医科大学生理学講座），山内つぐみ（東京理科大学薬学部斎藤研究室），斎藤顕宜（東京理科大学・薬学部・薬理学研究室），河南絢子（東京理科大学薬学部斎藤研究室），稲垣貴士（生理学研究所生体恒常性発達研究部門

【概要】

情動と身体反応について考えるとき，例えば，不安・恐怖情動を惹起する感覚刺激として捕食者との遭遇があるが，このような場合に生物が緊急かつ最優先に行うべきことは危機回避であり，脳も含めた様々な臓器（システム）の機能を総動員することが生存維持に重要である。この「様々なシステムの機能を緊急かつ最優先で動員し，危機回避のための一連の生体反応とする生体システム統合機構」こそが「不安・恐怖情動」の本体であると考えられる。そこで，本研究会は，「情動＝生体システム統合機構」という視点から各研究者の研究を見直し，成果発表と討論により，「情動とは何か」という問いに対して新しい考え方を提起し，情動研究の新しい方向性を見いだすことを目的として企画・開催した。研究会では，情動とそれに関連する身体反応，さらには，そのメカニズムに関する最新の研究成果 10 件が発表され，いずれの発表においても活発な質疑応答がなされた。それにより，情動を新しい視点から捉え直し，その作動原理の理解を深めることができた。

（１）ストレスによる脳内炎症の多様性

古屋敷智之（神戸大学大学院 医学研究科 薬理学分野）

社会や環境から受けるストレスは心身に多様な影響を与え，うつ病など精神疾患のリスクを高める。うつ病では脳内外に炎症を示唆する所見が見られ，抗炎症薬によるうつ病への治療効果も報告されて，うつ病における炎症の役割が注目されるようになった。動物モデルでも，慢性ストレスが抑うつや不安とともに脳内の炎症反応を誘導することが示されてきた。しかしストレスによる脳内炎症のメカニズムや意義は長らく不明であった。講演者らは，これまでに，マウスの反復社会挫折ストレスモデルを用いて，慢性ストレスによる抑うつや不安に，自然免疫受容体によるミクログリア活性化や，それに続くサイトカインやプロスタグランジンなど炎症性物質の産生が関わることを明らかにし，さらに慢性ストレスによる脳内炎症には，脳領域により異なる分子機序が関わることも示している。また，最近ではミクログリアの活性化因子や転写･エピゲノム制御を調べ，慢性ストレスによるミクログリア活性化に脳内外の多様なシグナルが関わる可能性を見出している。本講演ではストレスによる脳内炎症の多様性とそのメカニズムに関する講演者らの研究について最新の研究成果も交えた発表がなされた。

（２）心理ストレス反応の神経回路　－「心」と「体」をつなぐ仕組み －

中村和弘（名古屋大学大学院 医学系研究科 統合生理学）

脳の中には心理ストレスや喜怒哀楽などの情動をつかさどる「心」の領域と，「体」の状態を調節する領域が存在し，密接に連関することで「心身相関」とよばれる現象が起こる。例えば，心理ストレスを受けると交感神経が活性化して，脈拍，血圧，体温が上昇する。しかし，「心」と「体」の脳領域をつなぐ神経回路は不明であり，長年探し求められてきた。講演者らは，ラットを用いた実験によって，大脳皮質・内側前頭前野の中でも未探索で機能不明の dorsal peduncular cortex/dorsal tenia tecta（DP/DTT）から，交感神経制御中枢の一つである視床下部背内側部（DMH）へ心理ストレス信号が伝達されることを発見した。光遺伝学の手法を用いて DP/DTT→DMH の神経路を刺激すると，心理ストレスを受けた時と同様に熱の産生や脈拍・血圧が上昇する交感神経反応が生じた。一方，この神経路を選択的に破壊あるいは光抑制すると，社会的敗北ストレスで生じる熱産生，体温，脈拍，血圧の上昇がいずれも強く抑制された。また，ストレスを受けたラットは通常，自分を攻撃した個体（ストレス源）から逃避するが，この神経路を抑制すると，ストレスを受けなかったラットのように積極的にストレス源の個体と交流するようになった。本講演では，「心」と「体」の脳領域をつなぐことで心身相関を実現する DP/DTT→DMH の神経路に関する講演者らの研究について最新の研究成果も交えた発表と質疑応答がなされ，心理ストレスによる交感神経反応やストレス逃避行動を起こす仕組みに関する理解が深まった。

（３）Crisis fate orchestration: 先天的恐怖情動誘導性の生命保護作用

小早川　高（関西医科大学）

生物は潜在的な生命保護作用を持つと考えられるが，その全貌は未解明である。先天的恐怖情動は危機状態での生存確率を上昇させる意識，行動，生理応答を統合指揮する脳の機能として進化したと考えられる。そうであれば，先天的恐怖情動システムは潜在的な生命保護作用の誘導に関連する可能性があると考えられる。しかし，一般的に恐怖やストレスは心身に悪影響を与えると広く認識されている。現状では，恐怖情動は生命保護作用を持つのか生命

障害作用を持つのかというレベルで明確な回答は得られていない。講演者らの大規模フォワードジェネティクススクリーニングにより，天然物か人工物かを問わず様々な種類の嗅覚刺激による先天的な恐怖行動は，主に三叉神経に発現する TRPA1 により誘発されることが解明された。先天的恐怖情動誘発の遺伝的主体である Trpa1 受容体と，それを介し極めて強力な先天的恐怖行動を誘導するチアゾリン類恐怖臭（Thiazoline-related fear odors: tFOs）の組み合わせにより，強力な先天的恐怖情動状態をモデル動物に容易に誘導できる感覚誘導系が確立された。講演者らは，この実験系を活用し，先天的恐怖情動が潜在的な生命保護作用を誘導する可能性を検証した。その結果，tFO 刺激は TRPA1 を介して，低体温，低代謝，自然免疫の強化，抗炎症作用などの極めて強力な生命保護作用を統合誘導することが明らかになった。これらの保護作用は，後天的な恐怖刺激やストレスホルモンの投与などでは誘導できなかった。本講演では，TRPA1 を適切な種類の匂い分子で刺激することにより先天的恐怖情動性の生死を決する生命保護作用が誘導されるという新たな概念が示され，情動と身体反応に関する理解が深まった。

（４）慢性痛による拡張扁桃体神経回路の可塑的変化は不安を惹起する

山内直紀，南　雅文（北海道大学大学院 薬学研究院 薬理学研究室）

痛みが引き起こす抑うつや不安などの負情動は，生体警告系として重要である。しかし，慢性痛においては，生体警告系としての役割を果たし終えた痛みが，うつ病や不安障害などの精神疾患の引き金となる。実際に，慢性痛と精神疾患の併存率は高く，痛みの持続に伴って負情動に関わる神経回路に可塑的変化が生じることが推測される。講演者らは，分界条床核に着目し，負情動に関わる神経情報伝達の慢性痛による可塑的変化を調べてきた。慢性痛モデル動物では，分界条床核から外側視床下部へ投射する神経細胞に対する抑制性入力が増加していた。この分界条床核から外側視床下部への出力抑制は慢性痛モデル動物における不安様行動亢進に関与していた。分界条床核出力神経への抑制性入力増加における，分界条床核内局所神経回路の可塑的変化の関与を調べるため，Cre マウスを用いた実験を行い，慢性痛により興奮性を増大させる分界条床核内の細胞集団が同定された。これらの神経細胞は，外側視床下部へ投射する分界条床核の出力神経細胞に抑制性シナプスを形成していた。本講演では，慢性痛モデル動物における不安情動惹起に関わる分界条床核内局所神経回路の可塑的変化に関する講演者らの研究について最新の研究成果も交えた発表がなされ，質疑応答が行われた。

（５）不安様行動における脳と末梢臓器活動の変化

佐々木拓哉（東京大学大学院薬学系研究科）

不安は，自閉症やうつ症状とも関連する精神状態であり，さまざまな脳領域のボールド信号の変化や，遺伝子発現変化が報告されている。実験動物において，不安様行動を調べるための行動試験はいくつか存在するが，そのような行動において，脳や末梢臓器の活動が，リアルタイムでどのように動的に変化し，また両者が相互作用するか未解明の点が多い。講演者らは，自由行動動物において，複数脳領域の脳波，心電図，迷走神経発火等の電気生理信号を同時計測する方法を用い，こうした生理学的課題に取り組んできた。本講演では，主に高架式十字迷路試験，社会相互作用試験，オープンフィールド試験において見出された前頭前皮質・扁桃体ネットワークの発火応答や特定周波数の脳波信号の変化，末梢臓器活動の多様性や特徴的な経時変化について報告がなされた。されに，電気生理計測法に加えて，遺伝子改変技術や無線光刺激装置を融合し，特定の迷走神経を選択的に光操作するための新しい実験技術についての報告もなされ，活発な意見交換が行われた。

（６）特異的な神経回路活性化による自己免疫疾患の制御

村上正晃（北海道大学 遺伝子病制御研究所）

免疫系と神経系の関係は，「神経内分泌免疫系」によるホルモン性の全身制御機構が知られてきた。グルココルチコイドによる免疫抑制効果はよく知られた現象である。しかし，グルココルチコイド投与には多くの副作用があり臨床的に問題となる場合も多い。近年，特異的な神経回路活性化による局所免疫反応の制御機構が発見された。様々な環境刺激が特異的な神経回路を活性化して免疫反応を制御するとの考え方である。講演者は，この神経機構の１つとしてゲートウェイ反射を提唱している。ゲートウェイ反射では，特異的な神経回路の活性化が局所の血管の状態を変化させて，血中の自己反応性Ｔ細胞の侵入口を形成して局所の炎症性病態を制御する。講演者らはこれまでに，重力，電気刺激，痛み，ストレス，光などの環境刺激を起因とするゲートウェイ反射を報告してきた。それぞれ特異的な神経回路の活性化により特異的な血管周囲において分泌されるノルアドレナリンが NFkB 依存性に遊走因子，ケモカインの発現を増強して血中に存在する自己反応性Ｔ細胞の侵入口を形成，炎症病態を誘導する。特に，ストレスを起因とするゲートウェイ反射では，脳内２箇所の血管周囲に生じる微小炎症から ATP が遊離され，結果として，上部消化管に分布する迷走神経神経を過剰に活性化してアセチルコリン依存性に臓器恒常性を破綻させ，臓器特異的な炎症の誘導から突然死を引き起こすことが示された。本講演では，免疫系と神経系の関係についてゲートウェイ反射を中心に講演者らの研究成果が報告され，質疑応答がなされた。神経系と免疫系の連関機構に関する理解が深められた。

（７）扁桃体中心核内ネットワーク

加藤総夫，杉村弥恵，奥田崇雄，徳永亮太，高橋由香里
（東京慈恵会医科大学 神経科学研究部）

講演者は，2017 年の本研究会で，「情動」という機能の実体は存在しないのではないかという見解を提唱した。５億年以上前から生体は，生存に不利か有利かという判断に基づいてさまざまな状況に応答し，それが（たまたま）適切だったものは生存して種を存続させてきた。その判断過程をヒトが認知的・内省的に「情動」と名付けたのであり，根底にある生物学的機構はこの「不利有利判断」神経機構にほかならない。侵害受容・炎症情報は扁桃体を活性化し，さまざまな行動・内分泌・自律応答を誘発する。侵害受容情報が「情動の座」である扁桃体を活性化して痛みの負情動を起こすという tautology 解釈を超え，扁桃体ネットワークがどのようにこの「不利有利判断」回路を実装し，適切な下流機構を活性化するのかという回路設計の問題を理解することが必要である。扁桃体中心核外包亜核（CeC）抑制性ニューロンには腕傍核からの興奮性侵害受容情報が入力し（Sugimura et al, 2016 など），すぐ内側の外側亜核（CeL）に局在する抑制性ニューロン，および，より内側の内側亜核（CeM）抑制性ニューロンを抑制する。CeL の一部および CeM の抑制性ニューロンは，中脳水道周囲灰白質，孤束核，楔形核など扁桃体外に投射する。本講演では，この抑制性ニューロンからなる階層的ネットワークの入力・出力関係を理解するために講演者らが進めている電気生理学的試みと研究の現状について，報告と質疑応答がなされた。

（８）幼少期の皮膚炎によるストレスは思春期の脳内炎症に対するプライミング効果を介して鬱様症状を誘導する

橋本興人，関口正幸
（国立精神･神経医療研究センター 神経研究所 疾病研究第四部）

心身の発達において乳幼児期の成育環境が非常に重要であり, 乳幼児期の慢性的ストレス負荷がその後の身体的, 精神的発達において大きな影響を及ぼすことが知られている。アトピー性皮膚炎（AD）は乳幼児期の代表的な慢性皮膚疾患の一つであり強烈な掻痒感により QOL を著しく低下させるだけでなく, 喘息やアレルギー性鼻炎への引き金になることが知られている。さらに近年の大規模コホート研究により，AD 罹患の有無で将来不安症や鬱，自閉症，注意欠陥多動性障害といった精神・発達障害合併のリスクがあることが明らかになってきている。講演者らは, 幼少期に AD 様皮膚炎を引き起こしたマウス（AD マウス）では思春期に脳内で神経炎症に対するプライミング状態が誘導され，リポポリサッカライド（LPS）を用いた追加の刺激により脳内で過剰な炎症反応が引き起こされることを明らかにした。さらに，LPS 刺激 24 時間後の行動解析で，AD マウスでは鬱様行動の異常を示すことが明らかになった。また，LPS 刺激後の AD マウス脳内ではキヌレニン代謝律速酵素である indoleamine 2,3-dioxygenase や kynurenine 3-monooxygenase の発現が有意に上昇していることが明らかとなった。本講演では，講演者らの研究について最新の研究成果も交えた発表がなされ, これまで疫学的に明らかにされてきた幼少期の AD と精神疾患合併のメカニズムについての討論が行われた。

（９）Omega-3 系脂肪酸と不安症状

松岡　豊（国立がん研究センター 社会と健康研究センター）

Omega-3 系脂肪酸（ω3）は細胞膜の脂質二重層を構成するリン脂質の成分として重要な栄養成分で, 脳内では神経発達, 神経新生, 神経伝達物資調整などに影響を及ぼす。講演者は，世界に先駆けて ω3 の恐怖記憶制御仮説に基づく心的外傷後ストレス障害の予防･症状軽減の可能性を検討する臨床試験に取り組んできた。のちに Sekiguchi らが，餌中の ω3／ω6 の脂肪酸バランスがマウス恐怖神経回路を修飾し，ω3／ω6 比が高いほど文脈性・聴覚性恐怖記憶が減弱することを報告した。メカニズムとしては，高 ω3／ω6 餌により脳内の膜流動性が高まり，CB1 受容体付近のコレステロールが膜から追い出される。その結果，CB1 受容体が脱抑制され, 扁桃体シナプスにおける長期増強が抑制されることが考えられている。これまでの臨床試験は結果のばらつきが大きく，ω3 が不安症状軽減に効果を有するか否かについて分からなかった。講演者らは，ω3 の抗不安効果を調べた 19 件の臨床試験を系統的に検討し，ω3 が不安症状軽減と関連すること（効果量＝0.374），身体疾患や精神疾患等を抱えている場合にその効果が高いことを見出した。不安症状は，疾病横断的に取り組む必要性のある臨床アウトカムである。本講演では，ω3 と不安症状の関連についての研究の現状と, 講演者らの研究についての発表がなされ，ω3 と不安症状の関連の理解に必要な今後の研究の方向性が議論された。

（10）情動と自律神経機能：「脳・心・身体」の三者関係による調和的理解

梅田　聡（慶應義塾大学 文学部 心理学研究室）

情動の神経メカニズムを探る上では，脳神経活動に加え，自律神経活動の影響を十分に考慮する必要がある。情動における身体活動の重要性については，William James が 1884 年に「情動とは何か」というタイトルの論文を発表して以来，多くの心理学者や神経科学者が主張している。しかしながら，そのメカニズムを明らかにするプロセスにおいて，行動としての情動（emotion）と主観的感情（feeling）を混同して捉えている研究が散見される。特に，島皮質や帯状回前部から構成されるセイリエンスネットワークに関する研究が進むにつれ，このことが浮き彫りとなってきた。本講演では，自身の身体内部状態の感覚である内受容感覚（interoception）と自律神経活動との関連性に焦点を当て，主に主観的感情（feeling）が生み出されるメカニズムについての発表がなされ，不安やうつなどの精神症状がいかにして引き起こされるのかについて，「脳－こころ－身体」の三者関係のダイナミクスを枠組みとした解明が試みられた。具体的には，健常者および自律神経障害を対象とした MRI による脳画像法，局所脳損傷を伴う症例に対する神経心理学的方法，覚醒下手術中の頭蓋内刺激法などの研究成果が紹介され，統合的な視点から情動に関する理論の妥当性が議論された。

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

2020 年 11 月 10 日

提案代表：岩崎憲治（筑波大学）
所内対応者：村田和義（生理学研究所）

（１）クライオ電顕によるノロウイルス感染構造変換の解析

ソン チホン（生理学研究所）

（２）北大におけるハイエンド Cryo-EM の導入および運営計画

前仲勝実 （北海道大学）

（３）Cold field emission beam による高分解能リモート解析

米倉功治（理化学研究所）

【参加者名】

講演者を含め　　１６９名

【概要】

クライオ電子顕微鏡の導入は海外では急速な勢いで進み，自動化を含む高度化が日々進んでいる。クライオ電顕への要請はその進展をはるかに超える勢いで日を追って強くなっている。それは新型コロナウイルスの驚異に対するクライオ電顕の成果も間違いなくある。そのような中で，2000 年度から継続してきたこの研究会を果たす役割を改めて考え，三演題を選定し，オンライン開催によって広く聴衆を集めることとなった。当該研究所のウイルスに対する成果，そして，新施設の構築，最先端のハードウェア・ソフトウェアの開発とその成果の三つを各演者に講演して頂いた。リモート開催でも会でのアクティビティは昨年度よりむしろ高く，関心の高さを表していた。高度な感染症研究施設へのクライオ電顕の導入，施設としての運営の工夫，普及がまだ始まったばかりの Cold field Emission beam を利用するための工夫とその成果は，クライオ電子顕微鏡の適用範囲の拡大，これまで考えられなかった高分解能解析の汎用化に向けた開発を知ることとなった。コロナ禍で研究会，学会等コアな情報交換のできる場が中止，延期等で減少している中での開催は非常に意義があったと評価する。このように本研究会は環境の如何にかかわらず，継続をすることで，ますますその意義と期待を得ている。

（１）クライオ電顕によるノロウイルス感染構造変換の解析

ソン チホン（生理学研究所）

ノロウイルスは世界中で流行しているウイルス性急性胃腸炎の主要な病原体で，現在でも発展途上国を中心に毎年約 20 万人がノロウイルス感染で命を落としている。しかし，ノロウイルスを培養できる細胞は非常に限られており，ウイルスそのものに関する構造学的な知見も少ないため，未だノロウイルス感染症への効率的な治療法はなく，ワクチンも存在しない。我々は唯一培養細胞で増殖できるマウスノロウイルスを用いて，そのキャプシド構造の解析を行った。結果，マウスノロウイルスの同一種で異なる２つの粒子構造(A タイプと B タイプ)が存在することを発見した。マウスノロウイルスは酸性条件下で金属イオンを加えると A タイプを示し，アルカリ性条件にして，金属イオンを取り除くと B タイプになった。これらの構造の変化は，外側の突起（P）がウイルスのシェル（S）と密着すると A タイプに，突起が回転して伸び，シェルから離れると B タイプになることがわかった。さらに，それぞれのタイプのノロウイルスを細胞に感染させたところ，A タイプは B タイプに比べて

増殖が早いことから，A タイプが感染型であることがわかった。その反面，B タイプは免疫システムを回避するためのものではないかと推定された。これら２つの構造はヒトのノロウイルスの VLP（ウイルス様中空粒子）においても確認され，今後この構造変化のメカニズムを利用した治療薬・ワクチンの開発への応用が期待される。

（２）北大におけるハイエンド Cryo-EM の導入および運営計画

前仲勝実（北海道大学）

北海道大学薬学研究院では，創薬科学研究教育センターを中心にアカデミア創薬拠点として，化合物ライブラリーの管理および運用，さらにはバイオ医薬品の開発を進めている。特に，立体構造解析と物理化学解析に立脚する点に特徴があり，シーズ探索からヒット・リード化合物の探索や最適化，さらには ADME 評価までシームレスにつなぐ統合的な創薬開発体制を整えている。立体構造解析に関しては，2013 年の International Conference on StructuralGenomics –Structural Life Science– を主催したことがきっかけとなり，大きなトピックスとなっていたクライオ電子顕微鏡解析を導入する必要性を感じ（もう一つのトピックスは X 線自由電子レーザー（XFEL）であった），北大に導入できるように準備をスタートさせ，教員を派遣するなどオックスフォード大学との連携を進めてきた。2018～2019 年度には AMED や北大の支援があり，クライオ電子顕微鏡 Glacios (FEI) を導入することができた。さらに，2019 年度には，FIB/SEM Aquilos (FEI/Thermo Fisher) を導入した。今年度は新型コロナウイルス COVID-19 の対策で急務の治療薬やワクチンの開発のため，AMED 創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業（BINDS）支援により，BSL3 施設にハイエンドクライオ電子顕微鏡 Krios G4 を北大に導入することが決まった。現在，人獣共通感染症リサーチセンター内に設置を進めている。本講演では，創薬科学研究教育センターをコアとした創薬開発に向けたクライオ電子顕微鏡の体制の現状と今後の運用計画について，概略を紹介したい。

（３）Cold-field emission 電子ビームによる高分解能リモート単粒子解析

米倉功治（理研 SPring-8，東北大学 多元研）

The cold-field emission (CFE) source provides high-resolution signals thanks to its high temporal coherence. Since 2018, we have been carrying out single particle cryo-EM with a CFE beam for various samples from ~ 50 kD to super macromolecular complexes, which include spherical virus, membrane proteins, and protein-nucleic acids complexes. We found that our cryo-EM system with a CFE gun can allow us to econstruct higher-resolution structures with better estimated B-factors for map sharpening from smaller numbers of images than the conventional Schottky emission does. Fast and remote data collection further improves throughput in both single particle analysis and electron 3D crystallography.

In this symposium, I will report the performance and characteristics of the cryo-EM system and also introduce the progress and updates during the OVID-19 pandemic.

21. 第 2 回「力学系の視点からの脳・神経回路の理解」

2020 年 11 月 26 日－11 月 27 日

代表・世話人：青柳富誌生（京都大学大学院 情報学研究科）
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）トロピカル幾何学を用いた神経活動解析
三浦佳二（関西学院大学 理工学部生命科学科）

（2）タスク誘発コネクトームダイナミクス同定とその応用
山下宙人（国際電気通信基礎技術研究所（ATR）脳情報解析研究所）

（3）意味分散表現と脳波現象に基づく脳情報動態の理解
佐藤直行（公立はこだて未来大学 複雑系知能学科）

（4）知識と認知バイアスのベイズ更新による学習としての解
竹川高志（工学院大学 情報学部 システム数理学科）

（5）脳波位相同期ネットワークの時系列推定と変化点検知
横山　寛（生理学研究所 システム脳科学研究領域 神経ダイナミクス研究部門）

（6）自発的神経活動の機能的意義
田中琢真（滋賀大学 データサイエンス研究科 データサイエンス学部）

（7）カオスの縁における神経活動の雪崩現象
豊泉太郎（理化学研究所 脳神経科学研究センター 数理脳科学研究チーム）

【参加者名】

上原一将（神経ダイナミクス研究部門），岡崎由香（神経ダイナミクス研究部門），鈴木万穂子（神経ダイナミクス研究部門），萩原　淳（神経ダイナミクス研究部門），北城圭一（神経ダイナミクス研究部門），ラハマンラビブライス（神経ダイナミクス研究部門），則武　厚（生理学研究所認知行動発達機構部門），御代田亮平（LINECorp.），寺前順之介（京都大学情報学研究科），濱口航介（京都大学医学研究科生体情報科学講座），武井智彦（京都大学大学院医学研究科/白眉センター），藤田一寿（公立小松大学），加藤荘志（広島大学総合科学部），進士裕介（中部大学大学院工学研究科），圓山由子（長岡技術科学大学技学研究院電気電子情報工学専攻），谷本　彩（東京大学医学部附属病院），金沢星慶（東京大学大学院情報理工学系研究科），山本英明（東北大学電気通信研究所），酒井　裕（玉川大学脳科学研究所），高橋義一（慶應義塾大学），堀尾喜彦（東北大学電気通信研究所），本間俊光（Yamagata1），吹野美和（パナソニック㈱ デジタル･AI 技術センター），間島　慶（京都大学），亀山克朗（鳥取大学医学部生命科学科神経科学分野），深山　理（情報通信研究機構脳情報通信融合研究センター），西井　淳（山口大学大学院創成科学研究科），工藤　究（㈱リコー），宮脇寛行（大阪市立大学医学研究科），井上　公（産業技術総合研究所），宮平佳明（東北大学大学院理学研究科物理学専攻），末谷大道（大分大学理工学部），松本英之（大阪市立大学大学院医学研究科神経生理学），坂本貴和子（自然科学研究機構），内田裕輝（大阪大学蛋白質研究所，国立精神・神経医療研究センター），宮崎崇史（ヤフー㈱），土元翔平（生理学研究所心理生理学研究部門），林　敬司（トヨタ自動車未来創生センター基盤研究室第 5 基盤研究 G），高須正太郎（京都大学情報学研究科先端数理科学専攻非線形物理学講座），田中康裕（玉川大学脳科学研究所），徳田慶太（筑波大学システム情報系），北野勝則（立命館大学情報理工学部），青柳富誌生（京都大学情報学研究科），高森美咲（関西学院大学大学院理工学研究科生命科学専攻），山下祐一（国立精神神経医療研究センター），佐瀬　巧（理化学研究所脳神経科学研究センター理研 CBS－トヨタ連携センター），安　琪（九州大学大学院システム情報科学研究院），崔　高超（理化学研究所脳神経科学研究センター脳リズム情報処理連携ユニット），座間拓郎（理研 CBS トヨタ連携センター），中田一紀（TDK㈱），高橋泰伽（生理

学研究所バイオフォトニクス研究部門），清水元喜（東京大学大学院情報理工学系研究科），安宅光倫（生理学研究所バイオフォトニクス研究部門），工藤亘平（工学院大学数理解析研究室），山本昌治（京都大学大学院情報学研究科先端数理科学専攻非線形物理学講座），高橋春輝（工学院大学情報学専攻），松本　駿（工学院大学情報学部システム数理学科），山本雅裕（㈱東芝研究開発センター），大橋一徳（日本大学歯学部），三分一史和（統計数理研究所），伊藤浩之（京都産業大学），住　拓磨（東北大学電気通信研究所），山根千佳（山口大学大学院創成科学研究科），揚妻正和（生理学研究生体恒常性発達研究部門），吉村奈津江（東京工業大学科学技術創成研究院），佐々木拓哉（東京大学大学院薬学系研究科），竹内雄一（大阪市立大学大学院医学研究科神経生理学），大槻　進（㈱Splink），小野島隆之（理化学研究所脳神経科学研究センター），橋和田隆志（立命館大学情報理工学研究科），宗田卓史（国立精神・神経医療研究センター），髙島魁斗（京都大学大学院情報学研究科先端数理科学専攻非線形物理学講座），岡田青空（京都大学大学院情報学研究科先端数理科学専攻非線形物理学講座），荒井貴光（京都大学情報学研究科），立川剛至（京都大学大学院情報学研究科），Rodrigues Crespo Thomas（Kyoto University, Graduate School of Informatics, Department of Advanced Mathematical Sciences），横山　寛（生理学研究所 システム脳科学研究領域 神経ダイナミクス研究部門），三浦佳二（関西学院大学），豊泉太郎（理化学研究所 脳神経科学研究センター），田中琢真（滋賀大学データサイエンス研究科），佐藤直行（公立はこだて未来大学），竹川高志（工学院大学 情報学部），山下宙人（ATR 脳情報解析研究所）

【概要】

システムとしての非線形力学系の理解は，数学，物理学，工学，脳科学など，基礎・応用問わず広い分野において重要視されている。とりわけ，脳科学においては，神経細胞レベルのミクロなスケールから，全脳に渡るマクロなスケールまで，様々な階層における脳活動におけるダイナミクスを非線形力学系の観点から理解する研究がなされている。特に，機能的結合解析をはじめ，多くの生理学研究により，脳領域間（あるいは神経細胞間）における繋がりや構造的変化が知覚，認知，情動，運動など様々な脳機能との関わりがあることが明らかになっていることから，ネットワーク結合力学系としての脳神経ダイナミクスの定量的理解が，多様で柔軟な脳の情報処理システムを解明する上で必要不可欠である。本研究会は，生理学的研究と数理学的研究の橋渡しとなり，システムとしての脳を理解するための活発な議論の場となることを期待して開催したものである。今年度，新型コロナウイルス感染症のために対面での開催は見送らざるを得なかったが，Zoom や Remo 等の遠隔会議システムの活用を行い，無事開催することが出来た。研究会開催当日，遠隔会議形式ではあったが，講演だけでなくポスター発表においても興味深い発表と活発な質疑・議論が行われ，開催目的は十分に達成できたと確信している。これも生理研の本制度やリソース，そして現地スタッフの協力があって達成できたものである。

（１）トロピカル幾何学を用いた神経活動解析

三浦佳二（関西学院大学 理工学部 生命科学科）

前半では，トロピカル幾何学の深層学習への応用を，非数学者に向けた易しい形で解説する。与えられた問題の学習不可能性を，試行錯誤の学習を行わずとも，（ReLU ニューロンからなる）ネットワークの構造から判定できうる。特に，ノコギリ歯のような複雑な境界線をなぜどのように学習できるのかを解明する計算例を通して，必要な層数やニューロン数の見積もり方を紹介する。

後半では，ドーパミン細胞と非ドーパミン細胞を識別するために，神経応答曲線間のトロピカル距離が有効であることを示す。トロピカル距離は，時間的ドリフト等による曲線全体の持ち上げに対して不感応であるため，応答曲線の差異を便利に測ることができる。また一般に神経細胞が何に応答するかわからない場合には，特徴量を多く使い過ぎて S/N 比を悪化させがちである。このような意味の無いノイズからなる特徴次元が増加する場合でも，トロピカル SVM を用いれば分類が上手くいくことを示す。

（２）タスク誘発コネクトームダイナミクス同定とその応用

山下宙人（国際電気通信基礎技術研究所（ATR）脳情報解析研究所）

ここ 30 年，ヒトを対象にした脳研究では，fMRI や脳波（EEG），脳磁図（MEG），近赤外分光計測法（NIRS）など，生体を傷つけない非侵襲的な脳計測手法を用いて，脳活動や脳ネットワークの研究が行われてきた。空間分解能に優れたイメージング技術である fMRI を用いたブレインマッピングやマクロコネクトーム研究により，脳機能部位やネットワークに関する多くの知見が蓄積されてきたが，サブ秒の速い脳活動変化を対象にした脳ダイナミクス，特に脳ネットワークダイナミクスに関する理解は十分でない。本講演では，ATR 脳情報解析研究所で行ってきた複数脳計測と機械学習法の組み合わせによりミリ秒脳ダイナミクスを可視化する方法と，その応用としてデータ生成と脳情報解読問題への応用した最近の結果を紹介する。

（３）意味分散表現と脳波現象に基づく脳情報動態の理解

佐藤直行（公立はこだて未来大学 複雑系知能学科）

脳波は脳動態を調べるための有効な手がかりだが，その信号はさまざまな反応選択性を持つニューロン群の集団電位であり，詳細な情報処理を明らかにするのは難しい。一方，近年の自然言語処理技術のひとつ「意味分散表現」は大脳皮質における広範な情報表現に関する有用な手がかりであり，脳波計測の不足を補える可能性がある。私たちは，大脳皮質における意味分散表現の仮定のもと，脳波から情報処理を探るための解析手法を提案してきた。文章読解時の脳波・機能的脳画像の複合解析により，シータ波の増大および大域機能回路の抑制が記憶記銘に関わること示し，また，絵画呼称時の皮質脳波コヒーレンス解析では，ベータ波コヒーレンスが言語意味の統合処理に関わることを明らかにした。以上，脳波活動の機能的役割について議論をお願いしたい。

（４）知識と認知バイアスのベイズ更新による学習としての解

竹川高志（工学院大学 情報学部 システム数理学科）

本発表では最初に，ベイズ更新による情報処理プロセスが，脳の基本的な機能として無意識下で実装されている可能性を心理実験により検証する。具体的には，典型的な認知バイアスとして知られるアンカリング効果に関する実験結果が，アンカに対する信頼度と自分の予測精度の関係を考慮したベイズ更新プロセスにより定量的に説明できることを示す。ベイズ更新が神経回路でどのように実現されているかについては今後の課題であるが，条件反射などの繰り返しによる学習についても同様のモデルで情報源の信頼性という観点から統一的に扱うことができることは重要である。続けて，多腕バンディット問題において曖昧な事前情報を提示する実験や，ベイズ更新による学習と推論を導入した強化学習モデルなどを例に知識と意思決定の関係についても議論する予定である。

（５）脳波位相同期ネットワークの時系列推定と変化点検知

横山　寛（生理学研究所 システム脳科学研究領域 神経ダイナミクス研究部門）

脳波にて一般的に見られる過渡的な位相同期現象の背後には脳領域間の情報伝達に必要な機能的な役割があると考えられている。脳波の同期現象が示すネットワークダイナミクスとその背後にあるメカニズムを明らかにすることは，基礎・応用両方の観点において非常に重要である。しかし，その一方で，こうしたネットワークとしての脳のダイナミクスを時系列的に評価するための解析手法が十分に確立されていないという問題がある。そこで本研究では，位相振動子のベイズ的結合推定手法に統計的異常検知の枠組みを取り入れたアプローチを提案し，脳波の位相同期現象に反映される機能的ネットワークの時系列推定と変化点検知に挑戦する。

今回の講演ではまず，シミュレーションデータに基づく解析から，提案手法の妥当性や同手法が適用可能な振動子の数などについて議論し，最後に実際の脳波データに適用した最近の研究結果について紹介する。

（６）自発的神経活動の機能的意義

田中琢真（滋賀大学 データサイエンス研究科 データサイエンス学部）

課題を実行中の動物の皮質運動野において多数の神経細胞の活動を記録すると，高次元の時系列が得られる。この時系列を解析すると，ダイナミクスは比較的低次元の空間の中で生じていることがわかると報告されている。神経細胞が非常に多数ある場合は高次元のダイナミクスを示すことも可能なはずだが，実際に実現されるダイナミクスがかなり低次元であるのは，神経回路のどのような特性に基づいているのだろうか。学習則がわからないので，実際にどのようなダイナミクスが実現されるかは必ずしも答えられない。しかし，学習則によらず，可能な回路のあらゆる構造の中で，ある特定の課題を実行できるものを選び出すと，比較的類似の性質を持っていることがわかる。このような条件で選び出された回路の特性について報告する。

（７）カオスの縁における神経活動の雪崩現象

豊泉太郎（理化学研究所 脳神経科学研究センター 数理脳科学研究チーム）

神経活動のダイナミクスを理解する上で，二種類の臨界現象が重要とされています。一つは，非カオス状態からカオス状態に転じる境界領域で観測される現象で，カオスの縁と呼ばれます。カオスの縁では，神経ネットワークの計算効率が高まることが報告されています。もう一つは，連鎖的に起こる神経活動の規模の分布がべき乗則に従う現象で，雪崩現象といいます。しかし，この二つの臨界現象がどのように関係しているかは分かっていませんでした。本講演では，シナプス強度の分布がガウス分布に従うような従来の神経ネットワークモデルでは，この二つの臨界現象を同時に再現できないことを示します。次に，近年生理実験で計測されているように，シナプス強度の確率が裾の厚い分布を示すモデルを導入します。そして，このモデルではカオスの縁で雪崩現象が生じることを理論と数値解析によって示します。

【国 際 研 究 集 会】

国際研究集会

〔　目　　次　〕

NIPS International Meeting on Cardiovascular Physiology 2020

生理および病態時の制御メカニズムの解析から明らかにする心血管系の総体的な理解
~HOLISTIC UNDERSTANDING OF CARDIOVASCULAR SYSTEM BY MECHANISTIC ANALYSIS OF PHYSIOLOGICAL AND PATHOLOGICAL CONDITIONS~

（Organizer: Hitoshi Kurose,　Caretaker: Motohiro Nishida　2020 年 12 月 25 日－12 月 26 日）…… 400

NIPS International Meeting on Cardiovascular Physiology 2020
生理および病態時の制御メカニズムの解析から明らかにする心血管系の総体的な理解
~HOLISTIC UNDERSTANDING OF CARDIOVASCULAR SYSTEM BY MECHANISTIC ANALYSIS OF PHYSIOLOGICAL AND PATHOLOGICAL CONDITIONS~

2020 年 12 月 25 日－12 月 26 日

Organizer: Hitoshi Kurose (Kyushu University)

Caretaker: Motohiro Nishida (National Institute for Physiological Sciences)

（１）Regulatory mechanism of cell fusion in skeletal myogenesis

Taichiro Tomida (Toho University)

（２）Postnatal loss of gp130 indicates impaired cardiac contractility accompanied by inhibiting physiological proliferation of cardiomyocytes

Hiroyuki Kawagishi (Shinshu University)

（３）B38-CAP is a bacteria-derived carboxypeptidase which resembles SARS-CoV-2 receptor ACE2 enzyme activity and suppresses hypertension and cardiac dysfunction in mice

Teruki Sato (Akita University)

（４）Senocule-induced sync-aging promotes pathologies in cardiovascular-metabolic disorders

Ippei Shimizu (Niigata University)

（５）From receptor-operated Ca^{2+} channels to TRP channels
-my personal challenge to understanding elusive but fascinating molecules-

Ryuji Inoue (Fukuoka University)

（６）Tetrahydrobiopterin enhanced cardiac mitochondrial biogenesis via NOS-independent CaMKK2/PGC-1α pathway

Hyoung Kyu Kim (Inje University)

（７）Adenosine Receptor: Therapeutic Target for Treatment of Cardiac Fibrosis

Supachoke Mangmool (Mahidol University, Thailand)

（８）Energy Metabolism in the Hypoxic and Diabetic hearts

Amira Hajirah Abd Jamil (University of Malaya, Malaysia)

（９）LXRα Inhibition of Autophagy in Hepatocytes: Impact on Fatty Liver Disease

(Yun Seok Kim（Seoul National University/Dongguk University, South Korea）

（10）Reproducing variable action potential configurations of hiPS-CMs by applying parameter optimization to a mathematical cardiomyocyte model

Yukiko Himeno (Ritsumeikan University)

（11）Prevention of mitochondrial impairment by inhibition of protein phosphatase 1-Drp1 cascade in amyotrophic lateral sclerosis

Woong Sun (Korea University, South Korea)

（12）Property and possible role of cardiac progenitors atypically-shaped cardiomyocytes

Mariko Omatsu-Kanbe (Shiga University of Medical Science)

（13）BH4 activates CaMKK2 and rescues the cardiomyopathic phenotype in rodent models of diabetes

Jin Han (Inje University, South Korea)

（14）Modulation of cardiac function by intervention in the regulatory mechanisms of actin dynamics in the sarcomere

Koji Sakata (Miyazaki University)

（15）TRPC6 positively regulates cardiac contractility by modulating β adrenergic receptor signaling

Sayaka Oda (National Institute for Physiological Sciences)

（16）Cardioprotective effect of insulin on left ventricular diastolic dysfunction of diabetic cardiomyopathy through direct and indirect pathways

Yoshinori Mikami (Toho University)

（17）Spatial and functional associations of mitochondria and local calcium release in murine sinoatrial nodal cells

Yukari Takeda (Fukui University)

（18）Screening for factors causing the morphological remodelling of mitochondrial nucleoids

Soumyadip Pal (Osaka University)

（19）Regulatory mechanism of mitochondrial immune response against RNA virus infection

Yuki Hanada (Osaka University/Kyushu University)

（20）Cardiac Mitofusin-1 is Declined in Non-responding Patients with Heart failure

Yung-Ting Hsiao (Niigata University)

（21）Implantable tissue engineered blood vessels fabricated by periodic hydrostatic pressure

Tomoyuki Kojima (Yokohama City University)

（22）Involvement of TRPC3-Nox2 axis in ACE2-mediated SARS-CoV-2 infection in hearts

Yuri Kato (Kyushu University)

（23）Functional role of delayed rectifier K^+ current in the spontaneous automaticity of the guinea-pig pulmonary vein cardiomyocytes

Xinya Mi (Shiga University of Medical Science)

（24）Presence of ANP promotor-driven AcGFP-expressing cardiac progenitor cells in mice heart

Ryo Fukunaga (Shiga University of Medical Science)

（25）Obesity associated Pro-Fibrotic Protein Augments Fibrosis in Heart

Yuki Tsukano (Niigata University)

（26）Brown adipose tissue dysfunction promotes metabolic disorder in a failing heart

Yohko Yoshida (Niigata University)

（27）Three-dimensional multilayers of smooth muscle cells acquire arterial physiology

Shota Tanifuji (Tokyo Medical University)

（28）Sex differences in functional morphology of the murine fetal heart

Junko Kurokawa (University of Shizuoka)

（29）Role of PARP1-PKM2 axis in the pathogenesis of Right Ventricular Failure associated with Pulmonary Arterial Hypertension

Tsukasa Shimauchi (Laval University, Canada)

（30）Dynamic regulation of mitochondrial membrane in cellular signaling and differentiation

Naotada Ishihara (Kyushu University/Kurume University)

（31）Protective roles of MITOL against myocardial senescence and ischemic injury partly via Drp1 regulation.

Shigeru Yanagi (Gakushuin University)

（32）Metabolic adaptation in the regulation of cardiomyocyte cell cycle ~how mammals deal with a mismatch between development and birth timing~.

Wataru Kimura (Institute of Physical and Chemical Research)

（33）G protein selectivity of antagonists

Hitoshi Kurose (Kyushu University)

【参加者名】

Taichiro Tomida (Toho University), Hiroyuki Kawagishi (Shinshu University), Teruki Sato (Akita University), Ippei Shimizu (Niigata University), Ryuji Inoue (Fukuoka University), Supachoke Mangmool (Mahidol University, Thailand), Amira Hajirah Abd Jamil (University of Malaya, Malaysia), Yun Seok Kim (Seoul National University/Dongguk University, South Korea), Yukiko Himeno (Ritsumeikan University), Woong Sun (Korea University, South Korea), Mariko Omatsu-Kanbe (Shiga University of Medical Science), Jin Han (Inje University), Tsukasa Shimauchi (Laval University, Canada), Naotada Ishihara (Osaka University), Shigeru Yanagi (Gakushuin University), Wataru Kimura (Institute of Physical and Chemical Research), Hitoshi Kurose (Kyushu University), Koji Sakata (Miyazaki University), Sayaka Oda (National Institute for Physiological Sciences), Yoshinori Mikami (Toho University), Yukari Takeda (Fukui University), Soumyadip Pal (Osaka University), Yuki Hanada (Osaka University), Yung-Ting Hsiao (Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences), Tomoyuki Kojima (Tokyo Medical University), Yuri Kato (Kyushu University), Xinya Mi (Shiga University of Medical Science), Ryo Fukunaga (Shiga University of Medical Science), Yuki Tsukano (Niigata University), Yohko Yoshida (Niigata University), Shota Tanifuji (Tokyo Medical University), Junko Kurokawa (University of Shizuoka), Motohiro Nishida (National Institute for Physiological Sciences), Kunitoshi Uchida (University of Shizuoka), Yasunari Kanda (National Institute for Health Sciences), Akiyuki Nishimura (National Institute for Physiological Sciences), Reishin Okubo (Kyushu University), Koichi Ayukawa (Kyushu University), Kazuhiro Nishiyama (Kyushu University), Mitsuhiko Yamada (Kyushu University), Susumu Minamisawa (The Jikei University school of Medicine), Sara Jodai (Kyushu University), Takuro Numaga-Tomita (Shinshu University), Kosuke Sakata (Kyushu University), Daiki Tomokiyo (Kyushu University), Yoshihiro Kubo (National Institute for Physiological Sciences), Daiju Yamazaki (National Institute for Health Sciences), Kazuho Sakamoto (University of Shizuoka), Kazuma Korogi (Kyushu University), Makoto Takano (Kurume University), Satoshi Matsuoka (Fukui University), Ayako Takeuchi (Fukui University), Akira Amano (Ritsumeikan University), Akinori Noma (Ritsumeikan University), Etsuko Minobe (Kagoshima University), Yukiko Kaneko (University of Shizuoka), Yosuke Okamoto (Akita University), Hideaki Tagashira (Fukuoka University), Yutaro Tsujita (Fukuoka University), Momoka Yamaguchi (University of Shizuoka), Jun Ichikawa (Fukuoka University), Ryu Takeya (Miyazaki University), Masaki Kameyama (Kagoshima University), Akira Ooka (University of Shizuoka), Naoki Dohi (University of Shizuoka), Satomi Adachi-Akahane (Toho University), Daisuke Ohshima (Toho University), Kazuharu Furutani (Tokushima Bunri University), Katsuya Hirano (Kagawa University), Satomi Kita (Tokushima Bunri University), Tomohisa Ishikawa (University of Shizuoka), Hiroyuki Nakamura (Shinshu University), Sayumi Kotani (Kyushu University), Hana Inoue (Tokyo Medical University), Tomoe Nakamura-Nishitani (Wakayama Medical University), Kotaro Kasai (Kyushu University), Iyuki Namekata (Toho University), Ryoji Shirasaka (Kyushu University), Yuki Uchibori (Kyushu University), Riku Kawanabe (Kyushu University), Yuto Shiraishi (Kyushu University), Akira Yonamine (Kyushu University), Ryota Shimaoka (Kyushu University), Ryo Yoshiki (Kyushu University), Sang Geon KIM (Dongguk University), Choongho Lee (Dongguk University), Tatsuki Kurokawa (Oita University), Tomo Kita (Fukuoka University), Takayuki Nemoto (Fukuoka University), Koki Narimatsu (Kyushu University), Utako Yokoyama (Tokyo Medical University), Yuka Furumoto (Kyushu University), Young Hee Choi (Dongguk University), Takero Nakajima (Shinshu University), Kakeru Shimoda (The Graduate University for Advanced Studies), Tomohiro Tanaka (National Institute for Physiological Sciences), Tomonori Yasuda (Kyushu University), Yuya Taniguchi (Kyushu University), Masanori Ito (Toho University), Michiko Tashiro (Tokyo Medical University), Noburo Takizawa (Kyushu University), Takeru Fujii (Kyushu University), Shunichi Kajioka (International University of Health and Welfare), Yukinori Nagakura (International University of Health and Welfare), Hiroki Mishima (Nagoya City University), Riko Miyaki (Nagoya City University), Yuki Sawai (Nagoya City University), Taiju Katayama (Nagoya City University), Yoshiaki Suzuki (Nagoya City University), Riko Ogawa (Nagoya City University), Hisao Yamamura (Nagoya City University), Aya Yamamura (Aichi Medical University), Yasuhiro Jinno (International University of Health and Welfare), Nanaho Michigami (Nagoya City University), Tomo Kurata (Nagoya City University), Kazuyuki Matsumoto (Nagoya City

University), Mina Ota (Nagoya City University), Yu Hasegawa (International University of Health and Welfare), Mayumi Hirano (Kyushu University), Shunsuke Ando (Nagoya City University), Akari Deguchi (Nagoya City University), Akiko Kawade (Nagoya City University), Sou Inagaki (Nagoya City University), Shingo Murakami (Chuo University), Risa Kurose (Nagoya City University), Kentaro Shibata (International University of Health and Welfare), Taiki Amano (Nagoya City University), Yukino Kato (Nagoya City University), Takahisa Suzuki (Nagoya City University), Naoki Kawata (Nagoya City University), Yuto Yamauchi (Kyushu University), Keiji Kuba (Akita University), Hyoung Kyu Kim (Inje University, South Korea), Sang Geon Kim (Seoul National University/Dongguk University, South Korea)

【概要】

20-401 "Holistic understanding of cardiovascular system by mechanistic analysis of physiological and pathological conditions"

The above-mentioned NIPS International Workshop (Organizer: Prof. Hitoshi Kurose (Kyushu University, Graduate School of Pharmaceutical Sciences), Caretaker: Prof. Motohiro Nishida) was held online for two days from Dec. 25 to Dec. 26, 2020. It was mainly organized by next-generation young researchers who are working on cutting-edge research such as mechanisms underlying the maintenance and transfiguration of cardiovascular metabolisms and functions from molecule/ organelle to systems. Seven foreign active (& young) researchers were invited from South Korea (4), Canada (1), Thailand (1), and Malaysia (1), and 12 speakers from Japan (2 of them were lectures commemorating the retirement of Profs. Kurose and Ryuji Inoue (Fukuoka University School of Medicine)). In addition, 15 graduate students and young researchers gave oral presentations. There were 135 participants (including 9 from overseas) in total. In this workshop, we covered the following topics: cardiovascular functions and energy metabolism, signal transduction, organelle quality control, multi-organelle crosstalk, aging, practical application of iPS-derived myocardium, and drug discovery. We held this workshop online in consideration of the new coronavirus infection (COVID-19) pandemic, but the exchange of opinions was as lively as face-to-face meeting.

The relationship between mitochondria quality control and metabolic reprogramming is extremely important for the repair and regeneration of the heart. Leading researchers in this field are Prof. Woong Sun (Korea University, Korea), Prof. Jin Han (Inje University, Korea), Prof. Naotada Ishihara (Osaka University), Prof. Wataru Kimura (RIKEN), Prof. Shigeru Yanagi (Gakushuin University). They introduced their cutting-edge research achievements. Dr. Yun Seok Kim (Seoul National University, South Korea) suggested an innovative therapeutic strategy targeting lipophagy for the treatment of Non-alcoholic steatohepatitis. Honorary Prof. Ryuji Inoue (Fukuoka University) presented his history of electrophysiological discovery of receptor-operated cation (ROC) influx in blood vessels and introduced TRP channel group as its molecular entity of ROC channels and their unique electrophysiological properties. He also established a mathematical model to express what he found from many years of his research and what he still can not understand. Prof. Kurose introduced his achievements on elucidating the roles of heterotrimeric G protein family in cardiac remodeling and the development of new drugs targeting proton-sensing GPCRs. We really enjoyed this exciting workshop.

（1）Regulatory mechanism of cell fusion in skeletal myogenesis

Taichiro Tomida, Kimitaka Yamaguchi, Masanori Ito, Yoshinori Mikami, Daisuke Ohshima, Satomi Adachi-Akahane
(Department of Physiology, Faculty of Medicine, School of Medicine, Toho University)

Multinucleation of myoblast to form myotube is an irreversible differentiation step during skeletal muscle formation. This process is initiated by cell-cell fusion of myoblasts via fusogenic transmembrane proteins Myomerger and Myomaker. In this study, aiming at clarifying the key mechanism responsible for muscle formation and regeneration, we investigated the regulatory mechanism and physiological function of fusogenic proteins in C2C12 cells. By challenging kinase inhibitors on

differentiating C2C12 myoblasts, we identified p38MAPK activation as a critical step in fusion as well as expression of both Myomerger and Myomaker. FRET imaging analysis revealed that p38 MAPK is highly activated during differentiation. Myomerger-KO C2C12 cells lacked multinucleation as would be expected, although these cells expressed muscle-specific genes such as troponin-T on differentiation. Our results indicate that p38MAPK is involved in the cell fusion process, which occurs independently of cell differentiation, thus further implying that p38MAPK may mediate inflammatory cytokine-induced cell fusion in regulating skeletal myogenesis.

（2）Postnatal loss of gp130 caused impaired cardiac contractility accompanied by inhibition of physiological proliferation of cardiomyocytes

○Hiroyuki Kawagishi[1,2], Tsutomu Nakada[3], Takuro Numaga-Tomita[2], Mitsuhiko Yamada[2]
([1]Department of Biotechnology, Institute for Biomedical Sciences, Shinshu University
[2]Department of Molecular Pharmacology, Shinshu University School of Medicine, Shinshu University
[3]Department of Instrumental Analysis, Research Center for Supports to Advanced Science, Shinshu University)

Mammalian ventricular cardiomyocytes (VCM) are still premature at birth and continue to differentiate, for instance, the excitation-contraction coupling system by weaning. In addition, mouse VCMs also undergo physiological cell division several times within approximately one week after birth. Although several factors regulate the proliferation, it is still unclear what roles this proliferation plays in the postnatal cardiac maturation. Here, we examined a role of gp130, a main subunit of receptors for the interleukin-6 family of cytokines in this process. Daily subcutaneous injection of a specific gp130 inhibitor SC144, from postnatal day 1 to 20, induced a significant decrease in the contractility of the left ventricle (LV) and in the thickness of the LV wall. Postnatal gp130 conditional knockout mice, which were established by adeno-associated virus-mediated cardiomyocyte-specific deletion of gp130 at postnatal day 1, recapitulated this pharmacological observation. Interestingly, both mouse models demonstrated the significant reduced proliferation of VCMs in the LV but not in the right ventricle albeit each cell exhibited almost intact excitation-contraction coupling. Therefore, we found that gp130 played a crucial role in the functional cardiac development by promoting postnatal physiological VCM proliferation.

（3）B38-CAP is a bacteria-derived carboxypeptidase which resembles SARS-CoV-2 receptor ACE2 enzyme activity and suppresses hypertension and cardiac dysfunction in mice

○Teruki Sato[1,2], Takafumi Minato[1], Satoru Nirasawa[3], Tomokazu Yamaguchi[1],
Hiroyuki Watanabe[2], Yumiko Imai[4], Saori Takahashi[5], Keiji Kuba[1]
([1]Department of Biochemistry and Metabolic Science, Akita University Graduate School of Medicine
[2]Department of Cardiovascular Medicine, Akita University Graduate School of Medicine
[3]Biological Resources and Post-Harvest Division, Japan International Research Center for Agricultural Sciences
[4]Laboratory of Regulation of Intractable Infectious Diseases, National Institute of Biomedical Innovation, Health and Nutrition
[5]Akita Research Institute of Food and Brewing)

Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) is a carboxypeptidase which negatively regulates the renin-angiotensin system, critically involved in cardiovascular disorder, lung injury, or fibrotic kidney disease, whereas ACE2 is a SARS-CoV-2

receptor for virus entry into cells. Recombinant soluble human ACE2 protein (rhACE2) is a glycosylated protein which requires time- and cost-consuming protein production in mammalian cells. Here we show that the B38-CAP, a carboxypeptidase derived from Paenibacillus sp. B38, is a novel ACE2-like enzyme. Comparative analysis of protein 3D structures revealed that B38-CAP homologue shares structural similarity to mammalian ACE2 without any apparent sequence identity. In vitro, recombinant B38-CAP protein catalyzed the conversion of angiotensin II to angiotensin 1-7 with the same potency and kinetics as human ACE2. Treatment with B38-CAP reduced plasma angiotensin II levels and suppressed angiotensin II or pressure-overload induced pathological remodeling and cardiac dysfunction in mice, without any overt toxicity of liver and kidney. Our data identified the bacterial B38-CAP as an ACE2-like carboxypeptidase exhibiting ACE2like functions in vitro and in vivo. These results indicate that evolution has shaped a bacterial carboxypeptidase to a human ACE2-like enzyme. Bacterial engineering could be utilized to design improved protein drugs for hypertension and heart failure.

（4）Senocule-induced sync-aging promotes pathologies in cardiovascular disorders

Ippei Shimizu[1,2]

([1]Department of Cardiovascular Biology and Medicine, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences
[2]Division of Molecular Aging and Cell Biology, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences)

Mechanisms contributing for the synchronization of aging (sync-aging) are yet to be defined. Here, we define “senometabolite” or “senoprotein” as circulating metabolites having causal roles for the synchronization and progression of aging. We did metabolomics studies in aged individuals or patients with heart failure and found oxidized choline increased under these conditions compared to respective controls. We generated murine left ventricular (LV) pressure overload model and found that oxidized choline increased both in plasma and failing heart. Administration of oxidized choline deteriorated cardiac function, in contrast, genetic model showed suppression of this metabolite ameliorated systolic dysfunction in LV pressure overload model. Proteomic study showed that oxidized choline reduced the expression of cytochrome c oxidase subunit1, and metabolomics study showed that both ATP and phosphocreatine level significantly reduced in cardiac tissues of wild type mice administrated with this metabolite. Administration of oxidized choline also reduced muscle strength, induced fibrosis in skeletal muscle, and electron microscopy showed an increase in dysfunctional mitochondria both in the heart and skeletal muscle. In aged wild type mice, metabolomic study showed oxidized choline increased in plasma. We also identified a secreted type profibrotic protein (s-PP) that would increase with aging or obesity. Genetic suppression of s-PP resulted in amelioration of fibrosis in atrium, left ventricle, kidney and liver. Our studies indicate this profibrotic protein has pathogenic roles for heart failure with preserved ejection fraction (HFpEF), atrial fibrillation, chronic kidney disease and nonalcoholic steatohepatitis (NASH), and we categorized it as “senoprotein”. Aging process is still mysterious and continues to be an interesting topic to be explored. Our findings indicate that suppression of circulating senometabolite or senoprotein would become therapies for age related disorders.

（5）From receptor-operated Ca^{2+} channels to TRP channels -my personal challenge to understanding elusive but fascinating molecules-

Ryuji Inoue
(Division of the Promotion of Sciences, Fukuoka University; Department of Physiology, Fukuoka University School of Medicine)

In the lecture, I would briefly look back my past research experience. I started the research work in 1983 as a doctoral student of Prof. Kuriyama's lab. With new patch clamp technique, he could finish the work about large-, middle- and small-conductance Ca^{2+}-activated K^+ channels in vascular smooth muscle cells. However, the entity of receptor-operated Ca^{2+} entry (ROC) mechanism still remained hypothetical. However, situation was (partly) ended by the discovery of the mammalian homologues (TRP channels) of Drosophila melanogaster's trp proteins, the nonselective cation channels originally identified as the mutants associated with aberrant visual transduction that involves phospholipase C-mediated PIP2 hydrolysis. I participated in this initial discovery process by showing that TRPC6 is the molecular identification of 'native' Ca^{2+}-permeable nonselective cation channels activated by α_1-adrenoceptor stimulation. It is now well accepted that the members of TRP superfamily are ubiquitously expressed and involved in a broad range of physiology and pathophysiology. TRP channels would give the final answer to my long-standing question of "what is ROC". Soon after adopting the molecular biology, I realized that numerical model-based simulations is inevitably required. His group has got a few interesting outcomes that account for the following findings. First, a gain-of-function mutation of TRPM4 channel which facilitates premature excitations (e.g., EADs) can also cause conduction failure/block. Second, the slight differences of sensitivity to phosphatidylinositol-4,5-diphosphate between TRPC3/TRPC6/TRPC7 subfamily likely underlies the vascular over-reactivity associated with essential hypertension. I finally mentioned a couple of important things, what guided me is not my decisive attitude toward well-defined goals, but unexpected and invaluable encounters with many distinguished people inside and outside of Japan. Furthermore, I have learned through these encounters is that good ideas would always result from what finally convince us through ever-lasting questioning and challenging actions.

（6）Tetrahydrobiopterin enhanced cardiac mitochondrial biogenesis via NOS-independent CaMKK2/PGC-1〈 pathway

○Hyoung Kyu Kim[1], Nam Mi Park[1], Pham Trong Kha[1], Sun-Woo Kim[1], Ippei Shimizu[2], Tohru Minamino[2], Jin Han[1]
([1]Cardiovascular and Metabolic Disease Center, Inje University, Busan, Republic of Korea
[2]Department of Cardiovascular Biology and Medicine, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences)

Tetrahydrobiopterin (BH4) is an endogenous cofactor for various enzymatic conversions of essential biomolecules. Depending on the physiological functions of these molecules, BH4 plays multiple roles in the cardiovascular, immune, nervous and endocrine systems. A deficiency of BH4 has been implicated in various cardiovascular and metabolic diseases. We tested whether BH4 deficiency is involved in diabetic cardiomyopathy (DCM) and the therapeutic potential of BH4 supplementation for late-stage DCM, furthermore the underlying fundamental mechanism by using type 2 diabetic rats and Spr-/- mice, a genetic model of BH4 deficiency. Diabetic rats and Spr-/- mice, had cardiac remodeling, lower cardiac contractility, and mitochondrial dysfunction, which recovered with BH4 supplementation. The AMPK and PGC1α signaling pathways, key modulators of OXPHOS, were downregulated in both models, which recovered with BH4 supplementation. As

upstream regulatory mechanism of both pathways, BH4 directly bound to CaMKK2 and activated downstream pathways, PGC1α and AMPK, in cardiomyocytes. BH4 is a novel CaMKK2 activator showing therapeutic potential for recovering the cardiac remodeling and mitochondrial functions in DCM.

（7）Adenosine Receptor: Therapeutic Target for Treatment of Cardiac Fibrosis

Supachoke Mangmool
(Department of Pharmacology, Faculty of Science, Mahidol University, THAILAND)

Cardiac fibrosis is one of the major causes of heart failure and contributes to the abnormality of cardiac functions. After cardiac injury, a number of paracrine and neuronal hormone systems (e.g., angiotensin II (Ang II) and endothelin-1 (ET-1) promote cardiac fibroblast activation, leading to fibroblast proliferation, extracellular matrix (ECM) overproduction, and myofibroblast differentiation. The ECM accumulation and differentiation of fibroblast into myofibroblast lead to the replacement of cardiac myocytes with fibrotic scar tissue, resulting in cardiac fibrosis. Thus, it is crucial to discover the new therapeutic approaches to prevent and reverse underlying cardiac fibrosis. Adenosine can reduce the cell proliferation and myofibroblast differentiation of cardiac fibroblasts, supporting the cardioprotective effects of adenosine. Thus, the identification of the molecular mechanisms of adenosine-mediated signaling on inhibition of cardiac fibrosis will help us to discover the new compounds acting on stimulation of adenosine receptor for prevention of cardiac fibrosis.

（8）Energy Metabolism in the Hypoxic and Diabetic hearts

○Amira Hajirah Abd Jamil, Muhammad Danish Badrul Hisham
(Department of Pharmaceutical Life Sciences, Faculty of Pharmacy, University of Malaya, MALAYSIA)

Abnormalities in cardiac substrate metabolism have been identified in many pathologies, and have been shown to impair cardiac function, accelerate disease progression and to predict mortality. Given the pivotal role of metabolism in keeping the heart contracting, a greater understanding on what metabolism can do and how this is modified in diseases may facilitate the development of new therapeutic targets for the heart. Using animal models, our research aims to understand how abnormal metabolism and metabolite levels regulate transcription, post-translational modification, and enzyme activity in the heart. Specifically, we are interested in the roles played by lipids and oxidized lipids within the heart, and this presentation will summarize how they may be driving molecular changes that are associated with the metabolic and cardiac dysfunction, particularly when exposed to hypoxia and diabetes.

（9）LXRα Inhibition of Autophagy in Hepatocytes: Impact on Fatty Liver Disease

○Yun Seok Kim[1,2] and Sang Geon Kim[2]
([1]Department of Clinical Pharmacology, College of Medicine, Seoul National University, SOUTH KOREA
[2]College of Pharmacy, Dongguk University, SOUTH KOREA)

Fat accumulation results from increased fat absorption and defective fat metabolism. Liver X receptor α (LXRα) increases lipogenesis. However, its role in lipolysis and fat utilization was unknown. This study investigated the regulatory effect of LXRα on autophagy in hepatocytes. Gene sets annotated to ‘autophagy’ or ‘lytic vacuole’ were enriched in LXR knockout livers. Reduced autophagy due to a high-fat diet was increased by depleting LXRα. Mechanistically, ATG4B and Rab-8B, autophagy-related proteins, were repressed by LXRα. In addition, let-7a and microRNA-34a, which directly regulate ATG4B and Rab-8B, were increased by LXRα. The cell-based experiments confirmed that let-7a and miR-34a were transcriptionally regulated by LXRα. Consistently, LXRα lowered mitochondrial function with increase of fat accumulation. In obese animals or non-alcoholic fatty liver disease patients, Let-7a and miR-34a were up-regulated with decreases of ATG4B and Rab-8B. These results suggested LXRα and let-7a/miR-34a as new therapeutic targets against non-alcoholic fatty liver disease progression.

（10）Reproducing variable action potential configurations of hiPS-CMs by applying parameter optimization to a mathematical cardiomyocyte model

○Yukiko Himeno[1], Hirohiko Kohjitani[2], Futoshi Toyoda[3], Zhang Yixin[1], Akira Amano[1], Akinori Noma[1]
([1]Ritsumeikan University, College of Life Sciences, Department of Bioinformatics
[2]Kyoto University, Graduate School of Medicine, Department of Cardiovascular Disease
[3]Shiga University of Medical Science, Department of Physiology)

Human-induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes (hiPS-CMs) are cultured myocytes which have a whole set of genome of each donor and considered as a potent material for studying genome-specific cardiotoxicity. However, the wide variation of action potential (AP) configurations in hiPS-CMs among cells even within the same clonal strain prevents practical realization. To overcome this problem, it was hypothesized that this variation stems from variations in expression levels of individual channel proteins, because hiPS-CMs possess the same set of ionic channels coded by the same genes as the donor. Then the maximum conductance parameters of individual ionic channels of a mathematical human ventricular cell model were modified by parameter optimization to fit to various experimental APs. By applying membrane potential dependent parameters obtained by AP clamp as constraints, we could succeed in optimizing the fitting efficiency and developing mathematical hiPS-CM models in a semi-automatic manner.

（11）Prevention of mitochondrial impairment by inhibition of protein phosphatase 1-Drp1 cascade in amyotrophic lateral sclerosis

So Yoen Choi[1], Ah-Young Chung[2], Hae-Chul Park[2], Hyun Kim[1], Ju-Hyun Lee[1], Jae Ryun Ryu[1], ○Woong Sun[1]
([1]Department of Anatomy, Korea University College of Medicine, Republic of Korea
[2]Graduate School of Medicine, Korea University College of Medicine, Republic of Korea)

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a fatal neurodegenerative disease caused by progressive loss of motor neurons (MNs) and subsequent muscle weakness. These pathological features are associated with numerous cellular changes, including alteration in mitochondrial morphology and function. However, the molecular mechanisms associating mitochondrial structure with ALS pathology are poorly understood. In this study, we found that Dynamin-related protein 1 (Drp1) was dephosphorylated in several ALS models, including those with SOD1 and TDP-43 mutations, and the dephosphorylation was mediated by the pathological induction of protein phosphatase 1 (PP1) activity in these models. Suppression of the PP1-Drp1 cascade effectively prevented ALS-related symptoms, including mitochondrial fragmentation, mitochondrial complex I impairment, axonal degeneration, and cell death, in primary neuronal culture models, iPSC-derived human MNs, and zebrafish models in vivo. These results suggest that modulation of PP1-Drp1 activity may be a therapeutic target for multiple pathological features of ALS.

（12）Property and possible role of cardiac progenitors atypically-shaped cardiomyocytes

○Mariko Omatsu-Kanbe[1], Ryo Fukunaga[1], Kakeru Shimoda[2], Masakazu Agetsuma[3], Junichi Nabekura[3], Motohiro Nishida[2], Hiroshi Matsuura[1]
([1]Department of Physiology, Shiga University of Medical Science
[2]Division of Cardiocirculatory Signaling, National Institute for Physiological Sciences
[3]Division of Homeostatic Development, National Institute for Physiological Sciences)

The adult heart comprises cardiomyocytes, vascular smooth muscle cells, fibroblasts and cardiac stem or progenitor cells. Atypically-shaped cardiomyocytes (ACMs) were identified as spontaneously beating cells in the cultures of interstitial cell fractions from adult mouse hearts and express proteins specific for atrial and ventricular myocytes, SA nodal cells and fetal heart cells, thus suggesting that these cells are likely to be cardiac progenitors. These cells displayed peculiar morphology with many protrusions and contain multiple nuclei with irregular shapes. Neighbored ACMs in culture were observed to be fused with each other resulting in the larger cells with more complicated shapes. Such characteristics are far different from those in the ventricular myocytes. Based on the evidence that ACM abundantly express ANP, we prepared ANP promotor-driven AcGFP-expressing mice generated by infection of adeno-associated virus (AAV2-9) encoding pANP-AcGFP to visualize and trace ACMs. In this study, we examined the nature of ACMs in the heart obtained from the knock-in mice. The localization of ACMs was confirmed in the interstitial space among ventricular myocytes. We also found that signs of fusion between ACMs and ventricular myocytes in hypertrophied heart. The results suggest that ACMs plays a role in the heart at least under pathophysiological conditions.

（13）BH4 activates CaMKK2 and rescues the cardiomyopathic phenotype in rodent models of diabetes

Hyoung Kyu Kim[1], Ippei Shimizu[2], Tohru Minamino[2], Bernd Nilius[3], ○Jin Han[1]
([1]Department of Physiology, BK21 Plus Project Team, College of Medicine, Smart Marine Therapeutics Center, Cardiovascular and Metabolic Disease Center, Inje University, Busan, Korea
[2]Department of Cardiovascular Biology and Medicine, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences
[3]Katholieke Universiteit Leuven, Department of Cellular and Molecular Medicine, Leuven, Belgium)

Diabetic cardiomyopathy (DCM) is a major cause of mortality/morbidity in diabetes mellitus patients. Although tetrahydrobiopterin (BH4) shows therapeutic potential as an endogenous cardiovascular target, its effect on myocardial cells and mitochondria in DCM and the underlying mechanisms remain unknown. Here, we determined the involvement of BH4 deficiency in DCM and the therapeutic potential of BH4 supplementation in a rodent DCM model. We observed a decreased BH4:total biopterin ratio in heart and mitochondria accompanied by cardiac remodeling, lower cardiac contractility, and mitochondrial dysfunction. Prolonged BH4 supplementation improved cardiac function, corrected morphological abnormalities in cardiac muscle, and increased mitochondrial activity. Proteomics analysis revealed oxidative phosphorylation (OXPHOS) as the BH4-targeted biological pathway in diabetic hearts as well as BH4- mediated rescue of down-regulated peroxisome proliferator-activated receptor-γ coactivator 1-α (PGC-1α) signaling as a key modulator of OXPHOS and mitochondrial biogenesis. Mechanistically, BH4 bound to calcium/calmodulin-dependent protein kinase kinase 2 (CaMKK2) and activated downstream AMP-activated protein kinase/cAMP response element binding protein/PGC-1α signaling to rescue mitochondrial and cardiac dysfunction in DCM. These results suggest BH4 as a novel endogenous activator of CaMKK2.

（14）Modulation of cardiac function by intervention in the regulatory mechanisms of actin dynamics in the sarcomere

○Koji Sakata[1,2], Sho Matsuyama[1,3], Yohko Kage[1], Morimoto Sachio[4], and Ryu Takeya[1]
([1]Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, University of Miyazaki
[2]Department of Internal Medicine, Circulatory and Body Fluid Regulation, Faculty of Medicine, University of Miyazaki
[3]Department of Cardiovascular Surgery, Kyushu University Graduate School of Medical Sciences
[4]Department of Health Sciences at Fukuoka, International University of Health and Welfare)

Genetic mutations in sarcomeric proteins are a major cause of cardiomyopathy. Recently, direct modulation of the sarcomere, i.e., activation or inhibition of myosin motor protein, has been emerged as a novel approach to potentially treat heart failure and cardiomyopathy. By contrast, it remains unclear whether modulation of actin dynamics in the sarcomere could lead to improvement of cardiac function. Indeed, we have shown so far that the actin-organizing formin protein Fhod3 has two opposing roles in cardiac function; genetic inhibition of Fhod3 impairs cardiac function of intact mice but ameliorates cardiac dysfunction in cardiomyopathic mice. To elucidate the exact role of Fhod3 in the cardiac function, we examined the effect of the formin inhibitor SMIFH2 on the contractility of isolated perfused hearts. We found that SMIFH2 enhanced the cardiac contractility, suggesting the possibility that actin dynamics in the sarcomere could be a potential therapeutic target for cardiac diseases.

（15）TRPC6 positively regulates cardiac contractility by modulating ® adrenergic receptor signaling

○Sayaka Oda[1,2,3,6], Supachoke Mangmool[4], Yohei Yamaguchi[5], Yuri Kato[7], Tomohiro Tanaka[1,2,6], Kazuhiro Nishiyama[7], Akiyuki Nishimura[1,2,3,6], Gentaro Iribe5, Motohiro Nishida[1,2,3,6,7]
([1]National Institute for Physiological Sciences
[2]Exploratory Research Center on Life and Living Systems, National Institute for Physiological Sciences
[3]The Graduate University for Advanced Studies
[4]Mahidol University, THAILAND
[5]Asahikawa Medical University
[6]National Institutes of Natural Sciences
[7]Kyushu University)

A member of transient receptor potential canonical (TRPC) channels, TRPC6 is activated downstream of receptor signaling and permeates various cations. Although many studies suggest the involvement of TRPC6 in cardiovascular pathology, physiological role of TRPC6 is still unrevealed. In order to investigate the function of TRPC6 in heart, we focus on sympathetic nervous system, which plays pivotal roles in maintaining cardiovascular homeostasis. We found that the increase of cardiac contractility after β adrenergic receptor (AR) stimulation (positive inotropic effect) was reduced in TRPC6- deficient mice. Compared to wild type, TRPC6-deficient ventricular cardiomyocytes showed a lower contraction by βAR stimulation. The βAR-stimulated increase of intracellular cAMP was also reduced in TRPC6-silencing neonatal rat cardiomyocytes. In fact, norepinephrine stimulated Gq-coupled α_{1A}AR, which led to increases in intracellular Zn^{2+} concentration through TRPC6 channel activation. Inhibition of α_{1A}AR and chelation of intracellular Zn^{2+} suppressed the norepinephrine-induced increase of cAMP production. In contrast, α_{1A}AR activation enhanced cAMP production through TRPC6-mediated Zn^{2+} influx. These results suggest that TRPC6 positively regulates cardiac contractility by modulating βAR signaling through α_{1A}AR-Zn^{2+} axis.

（16）Cardioprotective effect of insulin on left ventricular diastolic dysfunction of diabetic cardiomyopathy through direct and indirect pathways

○Yoshinori Mikami, Masanori Ito, Taichiro Tomida, Daisuke Ohshima, Satomi Adachi-Akahane
(Department of Physiology, Faculty of Medicine, Toho University)

Left ventricular (LV) diastolic dysfunction is one of the earliest changes in diabetic cardiomyopathy. However, its onset mechanism remains to be clarified. We aimed to clarify the cardioprotective mechanism of insulin against diastolic dysfunction in diabetic cardiomyopathy. In type1 DM model mice 4 weeks after streptozotocin injection (STZ- 4W), the LV diastolic function was impaired and the phosphorylation levels of eNOSSer1177 and phospholamban (PLN)-Ser16 were significantly lower than those of control mice. In STZ-4W mice implanted with insulin pellets for 3 weeks, diastolic function and the phosphorylation levels of eNOS-Ser1177 and PLN-Ser16 were reverted to the control levels. Interestingly, insulin increased the plasma erythropoietin (Epo) level in STZ-4W mice, and subcutaneous injection of Epo induced phosphorylation of eNOS-Ser1177 in the ventricle. These results indicate that insulin restores LV diastolic function by the phosphorylation of eNOS-Ser1177 through both direct and indirect pathways in the early stage of diabetic cardiomyopathy in T1DM model mice.

（17）Spatial and functional associations of mitochondria and local calcium release in murine sinoatrial nodal cells

〇Yukari Takeda and Satoshi Matsuoka
(Department of Integrative and Systems Physiology, Faculty of Medical Sciences, University of Fukui)

The pacemaker activity of sinoatrial nodal cells (SANCs) is modulated by a functional interplay of ion channels at the plasma membrane and local calcium release (LCR) from the sarcoplasmic reticulum (SR). Our recent studies have focused on understanding contribution of mitochondrial Na^+-Ca^{2+} exchanger (NCXm) to LCR in SNCs. Although it is anticipated that NCXm-mediated mitochondrial Ca^{2+} efflux modulates Ca^{2+} handling of nearby SR, the spatial interrelation between mitochondria and LCR has not been thoroughly clarified. Here, we revealed the close association between mitochondria and LCR in murine SANCs using high-speed two dimensional and confocal line-scan imaging techniques. LCRs in the early phase of Ca^{2+} transient cycle length (CL) appeared with a higher probability in close proximity to mitochondria. Although LCR increases toward the late phase of CL, occurrence of the late LCR nearby mitochondria was not significantly higher than those outside of mitochondria. Attenuation of mitochondrial Ca^{2+} efflux by a NCXm inhibitor, CGP-37157, reduced the amplitude of LCR, simultaneously prolonged LCR period and CL. CGP-37157 also attenuated the occurrence of early LCRs. Together, results suggested that mitochondria are involved in LCR generation by modulating SR Ca^{2+} content through NCXm-mediated Ca^{2+} efflux in murine SANCs.

（18）Screening for factors causing the morphological remodelling of mitochondrial nucleoids

〇Soumyadip Pal, Takaya Ishihara, Naotada Ishihara
(Laboratory of Cellular Life Science, Department of Biological Sciences, Graduate School of Science, Osaka University)

Mitochondria are dynamic organelles within the cells that produce energy which is necessary for various cellular functions within the body. They also have their own DNA (mtDNA) which is packaged into small units called mitochondrial nucleoids. Mitochondria are extremely abundant in the heart to supply sufficient energy for its proper functioning. Recent reports have showed that alterations in mitochondrial nucleoid morphology resulting in its severe clustering (due to Drp1 deficiency thereby resulting in loss of mitochondrial fission) have resulted in developmental failures of the heart because of mitochondrial respiratory deficiencies (Ishihara et al., Molecular and Cellular Biology, 2014). As a result, we focused to find other factors which can potentially remodel mitochondrial nucleoid morphology and clarify their modes of functioning on a molecular level.

（19）Regulatory mechanism of mitochondrial immune response against RNA virus infection

〇Yuki Hanada[1,2], Risa Maeda[1], Yoshihiro Ogawa[2], Masatoshi Nomura[2], Naotada Ishihara[1]
([1]Department of Biological Sciences, Graduate School of Science, Osaka University,
[2]Department of Medicine and Bioregulatory Science, Graduate School of Medical Science, Kyushu University)

Virus infection causes multiple pathogenic symptoms throughout the whole body. Antiviral innate immune response represses viral replication, however, dysregulation of activated antiviral response, called cytokine storm, hurts small blood

vessels. Here we explored the regulatory mechanism of antiviral response using mammalian cultured cells and especially focused on mitochondria. Mitochondrial antiviral signaling (MAVS), the central protein of anti-RNA virus response occurring on mitochondria, showed accumulation and dynamic feature of its mitochondrial localization during antiviral response. This MAVS protein dynamics was regulated by mitochondrial fission factor (Mff), widely known as a component of mitochondrial fission machinery. We found that Mff regulates temporal immune response and the antiviral function of Mff is independent of mitochondrial fission activity. Taken together, our data indicates that Mff is a potential therapeutic target for the regulated antiviral response on mitochondria.

（20）Cardiac Mitofusin-1 is Declined in Non-responding Patients with Heart failure

○Yung-Ting Hsiao[1], Ippei Shimizu[1,2], Takayuki Wakasugi[1], Shuang Jiao[1], Tohru Watanabe[1], Takeshi Kashimura[1], Yohko Yoshida[1,2], Haruo Hanawa[1], Kazuyuki Ozaki[1], Tomoyoshi Soga[3], Tohru Minamino[4, 5]

([1]Department of Cardiovascular Biology and Medicine, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences
[2]Division of Molecular Aging and Cell Biology, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences
[3]Institute for Advanced Biosciences, Keio University
[4]Department of Cardiovascular Biology and Medicine, Juntendo University Graduate School of Medicine
[5]Japan Agency for Medical Research and Development-Core Research for Evolutionary Medical Science and Technology (AMED-CREST)　)

Mitochondria are dynamic regulators of cellular metabolism and homeostasis. Functional decline of this organelle is well accepted as a major contributor to aging and age-related diseases. Studies indicate mitochondrial dysfunction has causal roles for metabolic remodeling in the failing heart, but underlying mechanisms remain to be explored. The prognosis of severe heart failure is still unacceptably poor and it is urgent to establish new therapies for this critical condition. We tried to elucidate the role of Mitofusin-1 in a failing heart. We examined twenty-two heart failure patients who underwent endomyocardial biopsy were enrolled in this study, including 14 responders and 8 non-responders. A significant reduction in mitochondrial size in cardiomyocytes, and Mfn1, was observed in non-responders. The LV pressure overload with thoracic aortic constriction (TAC) c-Mfn1 KO mouse model was generated. Systolic function was reduced in c-Mfn1 KO mice, while dysfunctional mitochondria in TAC c-Mfn1 KO mice increased. In vitro studies in NRVMs indicated negative regulation of Mfn1 by the β-AR/cAMP/PKA/miR-140-5p pathway resulting in significant reduction in mitochondrial respiration of NRVMs. The level of miR140-5p was increased in cardiac tissues of non-responders. Taken together, our results suggest that mitofusin-1 becomes a biomarker for non-responders with heart failure and would become next generation therapy for severe heart failure patients.

（21）Implantable tissue engineered blood vessels fabricated by periodic hydrostatic pressure

○Tomoyuki Kojima[1,2], Utako Yokoyama[1], Takashi Nakamura[3], Junichi Saito[1,3], Etsuko Miyagi[2], Yoshihiro Ishikawa[3]
([1]Department of Physiology, Tokyo Medical University
[2]Department of Obstetrics and Gynecology, Yokohama City University School of Medicine
[3]Cardiovascular Research Institute, Yokohama City University Graduate School of Medicine)

Purpose: We aimed to fabricate biological grafts desired for patients with congenital heart disease.

Materials and methods: Human umbilical artery smooth muscle cells (hUASMCs) were seeded on culture disks. Cells were exposed to periodic hydrostatic pressure (PHP) (110-180kPa, 0.002 Hz) under hypoxia (O2=60 mmHg) for 24 hours. We repeated these procedures and obtained cell sheets.

Results: The mRNA expression levels of LDHA and PGK1 were increased compared to cells cultured under atmospheric normoxic condition (3.8±0.2 and 3.0±0.2-fold, respectively; n=8; p<0.01). The tensile rupture of the grafts was 1188±282 mmHg (n=8). All 16 rats implanted with the grafts in the abdominal aorta survived until the following assays. The grafts were endothelialized 3 weeks after implantation and implanted sites were patent 5 months after implantation in which hUASMCs were replaced with host-derived cells.

Conclusion: We fabricated the implantable biological grafts by PHP under hypoxia.

（22）Involvement of TRPC3-Nox2 axis in ACE2-mediated SARS-CoV-2 infection in hearts

○Yuri Kato[1], Daiki Tomokiyo[1], Kazuhiro Nishiyama[1], Takahiro Kusakabe[2], Noriho Kamiya[3], Yumiko Imai[4], Hiroshi Asakura[5], Yasunari Kanda[5], Motohiro Nishida[1,6]
([1]Graduate School of Pharmaceutical Sciences　[2]Faculty of Agriculture, Kyushu University
[3]Graduate School of Engineering, Kyushu University
[4]National Institutes of Biomedical Innovation Health and Nutrition　[5]National Institute of Health Sciences
[6]National Institute for Physiological Sciences and Exploratory Research Center on Life and Living Systems, National Institutes of Natural Sciences)

A new pandemic of pneumonia caused by severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) has emerged and its severe and prognostic symptoms have become a social problem. SARS-CoV-2 infection is mainly initiated by binding of its surface Spike protein to angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) on the host cell membrane followed by internalization via endocytosis-mediated pathway. We eventually found that ACE2 expression levels were upregulated by the exposure to epidemiologically reported risk factors for COVID-19 severity; cigarette side-stream smoke, anti-cancer drug, diabetes and obesity, through formation of protein complex between transient receptor potential canonical (TRPC) 3 and NADPH oxidase (Nox) 2 on the rodent myocardial plasma membrane. We thus used 20 already approved drugs that has previously reported to have potency to attenuate the formation of TRPC3-Nox2 protein complex and evaluated the inhibitory effect on Spike protein-induced ACE2-GFP internalization in HEK293 cells. We found that several TRPC3-Nox2 complex inhibitors also have potency to inhibit the Spike protein-induced ACE2 internalization, and finally identified one drug that has the most potency to prevent SARS-CoV-2-induced infection and proliferation in TMPRSS2- expressing VeroE6 cells, and fluorescence-labeled S protein-induced pseudo infection in human iPS-derived cardiomyocytes. These results provide a new concept that the inhibition of TRPC3-Nox2 complex formation will be a novel strategy to improve COVID-19 aggravation and sequelae by suppressing ACE2-mediated infection pathway.

（23）Functional role of delayed rectifier K^+ current in the spontaneous automaticity of the guinea-pig pulmonary vein cardiomyocytes

○Xinya Mi[1], Wei-Guang Ding[1], Akiko Kojima[2], Mariko Omatsu-Kanbe[1], Hiroshi Matsuura[1]
([1]Department of Physiology, Shiga University of Medical Science
[2]Department of Anesthesiology, Shiga University of Medical Science)

Pulmonary veins contain a myocardial layer and its electrical activity is considered to underlie their arrhythmogenicity in the heart. In this study, we examined the functional role of delayed rectifier K^+ current (IKs), which is one of the contributors to cardiac repolarization in the spontaneous action potentials of pulmonary vein cardiomyocytes (PVC). The spontaneous action potentials and membrane currents were recorded from PVC using perforated patch-clamp and conventional whole-cell patch-clamp modes. The PVC exhibited spontaneous action potentials with an average firing rate of 166±5/min. Bath application of the selective IKs blocker HMR-1556 decreased the firing rate. β-adrenergic agonist isoproterenol increased firing rate of the action potentials. Concomitant addition of HMR-1556 markedly reduced the firing rate compared with basal condition. We also found that IKs was strongly enhanced by β1- and β2-adrenoceptor (AR) stimulation with a negative voltage shift in the current activation. Both β1-AR and β2-AR mediated enhancements of IKs were markedly attenuated by the treatments with adenylyl cyclase inhibitor SQ22536 or protein kinase A (PKA) inhibitor H89. Results suggest PVC the functional role of IKs in spontaneous automaticity increases during sympathetic excitation, and the effect of β-adrenergic stimulations on IKs activation is mediated through a cAMP-PKA pathway.

（24）Presence of ANP promotor-driven AcGFP-expressing cardiac progenitor cells in mice heart

○Ryo Fukunaga[1], Kakeru Shimoda[2], Masakazu Agetsuma[3], Junichi Nabekura[3],
Motohiro Nishida[2], Hiroshi Matsuura[1], Mariko Omatsu-Kanbe[1]
([1]Department of Physiology, Shiga University of Medical Science
[2]Division of Cardiocirculatory Signaling, National Institute for Physiological Sciences
[3]Division of Homeostatic Development, National Institute for Physiological Sciences)

The adult mammalian heart is composed of several kinds of cells, including cardiomyocytes, vascular smooth muscle cells, fibroblasts and cardiac stem cells or progenitor cells. We found atypically-shaped cardiomyocytes (ACMs) in the culture of cardiomyocyte-removed fractions obtained from mouse cardiac ventricles. ACMs showed the automaticity similar to the sino-atrial (SA) nodal cells. The immunocytochemical analyses confirmed that these cells express not only specific proteins of ventricles but also those of atria and SA nodal cells. The data suggest that ACMs are likely to be cardiac progenitors or immature cardiomyocytes. In this study, we focused on the evidence that ACMs abundantly express ANP, usually absent in the postnatal ventricular myocytes, to visualize and track ANP-expressing ACMs. We prepared ANP promoter-driven AcGFP-expressing mice generated by the infection of adeno-associated virus (AAV2-9) encoding pANP-AcGFP and found that GFP-marked ACMs were localized in the interstitial space among ventricular myocytes. The GFP-expressing ACMs were able to develop into beating cells after several days in culture. In addition, the number and size of GFP-marked cells were increased in hypertrophic heart. The results suggest the possibility that ANP-expressing ACMs play a role in the heart under pathophysiological conditions.

（25）Obesity associated Pro-Fibrotic Protein Augments Fibrosis in Heart

○Yuki Tsukano[1], Ippei Shimizu[1,2], Yohko Yoshida[1,2], Yung Ting Hsiao[1], Ryutaro Ikegami[1], Yuka Hayashi[1], Masayoshi Suda[1], Goro Katsuumi[1], Masaaki Nakao[1], Tohru Minamino[3]
([1]Department of Cardiovascular Biology and Medicine, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences
[2]Division of Molecular Aging and Cell Biology, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences
[3]Department of Cardiovascular Biology and Medicine, Juntendo University Graduate School of Medicine)

Chronic sterile inflammation in visceral fat has causal roles for systemic metabolic disorders in obesity. Inflamed visceral adipose tissue secretes pro-inflammatory adipokines, and this contributes to tissue remodeling under a metabolically stressed condition. White adipokines are broadly studied, however, roles of brown adipose tissue (BAT) derived adipokines (BATokine) remain to be explored. In this project, we tried to characterize pathogenic role of BATokine in obesity related fibrotic disorders, especially focusing on heart failure with preserved ejection fraction (HFpEF). We analyzed two sets of DNA microarray data, and identified an obesity associated pro-fibrotic protein (OAFP) as a possible pathogenic BATokine. We also found OAFP increased in patients with diastolic dysfunction. We generated dietary obese models of systemic or BAT specific OAFP KO mice and found OAFP suppression ameliorates diastolic dysfunction. Cardiac fibrosis was also suppressed by genetic depletion of OAFP. Suppression of OAFP may become a therapy for HFpEF.

（26）Brown adipose tissue dysfunction promotes metabolic disorder in a failing heart

○Yohko Yoshida[1,2], Ippei Shimizu[1,2], Tohru Minamino[3]
([1]Department of Cardiovascular Biology and Medicine, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences
[2]Division of Molecular Aging and Cell Biology, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences
[3]Department of Cardiovascular Biology and Medicine, Juntendo University Graduate School of Medicine)

Low body temperature predicts poor clinical outcomes in patients with heart failure, however, underlying mechanisms and pathological implications are largely unknown. Here we show that brown adipose tissue (BAT) dysfunction develops in a murine heart failure model and has a causal role for promoting pathologies in failing heart. We found murine models with thoracic aortic constriction (TAC) induced BAT dysfunction, and this led to a significant reduction in body temperature. Chronic activation of adrenergic signaling induced apoptosis in brown adipocytes, and surgical denervation of sympathetic nerves innervating BAT improved thermogenic response and ameliorated cardiac systolic dysfunction. Gain of BAT function model improved thermogenesis and ameliorated cardiac dysfunction in TAC. Metabolomic analyses showed that BAT dysfunction led to an increase of trimethylamine N-oxide (TMAO) that promoted metabolic dysfunction in the failing heart. TMAO administration resulted in a significant reduction in phosphocreatine or ATP level in cardiac tissues. Genetic or pharmacological inhibition of TMAO production ameliorated cardiac dysfunction during left ventricular pressure overload. Maintenance of BAT homeostasis and suppression of TMAO would become next generation therapies for heart failure.

（27）Three-dimensional multilayers of smooth muscle cells acquire arterial physiology

○Shota Tanifuji[1], Yuji Naito[1], Tomoyuki Kojima[1,2], Takuya Naruto[3], Michiya Matsusaki[4], and Utako Yokoyama[1]
([1]Department of physiology, Tokyo Medical University
[2]Department of Obstetrics and Gynecology, Yokohama City University School of Medicine
[3]Department of Pediatrics and Developmental Biology, Tokyo Medical and Dental University
[4]Department of Applied Chemistry, Graduate School of Engineering, Osaka University)

The purpose of this study was to evaluate gene expression profiles of three-dimensional cellular multilayers (3DCMs). We fabricated 3DCMs derived from rat aortic smooth muscle cells (rASMCs) using a layer by layer method (LbL). Gene expression profiles obtained by microarray analyses were used to characterize 3DCMs. The results of principal component analysis showed that 3DCMs had similar gene expression pattern to that of neonatal and adult aortic tissues rather than that of rASMCs. Gene set enrichment analyses revealed that the gene sets of vasculature development, regulation of anatomical structure morphogenesis, and canonical Wnt signaling pathway were positively associated with 3D structure of vascular SMCs. Among upregulated genes in 3DCMs compared to rASMCs, the genes of thrombospondin family were significantly upregulated in 3DCMs (Comp, 1277.8-fold; Thbs2, 646.8-fold).

（28）Sex differences in functional morphology of the murine fetal heart

Shion Nagasawa[1], Masami Kodama[2], Koichi Nishiyama[3], Yuichiro Arima[3], Kazuho Sakamoto[1], ○Junko Kurokawa[1]
([1]University of Shizuoka, Faculty of Pharmaceutical Sciences
[2]The University of Tokyo, Institute for Quantitative Biosciences
[3]Kumamoto University, The International Research Center for Medical Sciences)

Cardiovascular diseases (CVDs) show significant sex differences, which has been attributed to the cardioprotective effects of estrogen. However, recent studies unravel that the underlying mechanisms seem unlikely to be due to estrogen alone, such as sex differences in mortality of extremely preterm newborns. Thus, we seek biological sex differences in cardiovascular development. A newly-developed coronary arteriogram revealed that sex differences of morphology and function even at a late embryonic stage. Microarray analysis of the fetal heart shows that the escape gene from X-chromosome inactivation is involved in gender differences, suggesting the involvement of mechanisms other than estrogen.

（29）Role of PARP1-PKM2 axis in the pathogenesis of Right Ventricular Failure associated with Pulmonary Arterial Hypertension

〇Tsukasa Shimauchi, Junichi Omura, Sandra Breuils-Bonnet, Valerie Nadeau, Eve Tremblay, Yann Grobs, Kana Shimauchi, François Potus, Roxane Paulin, Steeve Provencher, Olivier Boucherat, Sébastien Bonnet
(Pulmonary Hypertension and Vascular Biology Research Group of Quebec Heart and Lung Institute, Laval University, Quebec, Canada)

Background: Right ventricular failure (RVF) is a poor prognosis factor for patients with pulmonary arterial hypertension. Inflammation, DNA damage, and glycolysis are key pathways triggering cardiomyocytes (CM) dysfunction. DNA damage-dependent Poly (ADP ribose) Polymerase 1 (PARP1) activation was documented to promote glycolysis and inflammation through nuclear retention of Pyruvate Kinase Muscle isozyme 2 (PKM2). Despite PARP1/PKM2 axis is involved in many pathologies, their role in RV failure (RVF) remains unclear. We hypothesized sustained PARP1 activation induces nuclear PKM2 localization, resulting in transition from compensated (cRV) to decompensated RV (dRV).

Results: We found that PARP1/PKM2 expression/activity were upregulated in dRV patients (died of RVF) compared to cRV patients (CI>2.2) and control donors, and correlated with RV hypertrophy, fibrosis, and inflammation. Similar findings were seen in two rat models of RVF (monocrotaline, PA banding). In vitro, we confirmed oxidative stress induced nuclear translocation of PARP1/PKM2 leading to inflammation and CM death. These effects were prevented by PARP1 inhibitor (ABT888, Olaparib) or PKM2 activator (TEPP46, DASA). In vivo, Olaparib or TEPP46 prevented RVF in rats. Moreover, systemic PARP1 knockout mice were resistant to RVF induced by PA banding.

Conclusion: We demonstrated for the first time PARP1/PKM2 axis is a critical integrator of RVF.

（30）Dynamic regulation of mitochondrial membrane in cellular signaling and differentiation

Yuki Hanada[1,2], Tatsuki Yasuda[1], Emi Ogasawara[1], Takaya Ishihara[1] and 〇Naotada Ishihara[1,3]
([1]Graduate School of Science, Osaka University
[2]Graduate School of Medical Science, Kyushu University
[3]Institute of Life Science, Kurume University)

Mitochondria are multifunctional organelles that have critical roles not only in energy production by oxidative phosphorylation but also in various cellular signaling pathways. Mitochondria dynamically change their structure with active membrane fusion and fission in response to cellular signaling and differentiation. Dynamin-related GTPase Drp1 plays a key role in mitochondrial fission, and several Drp1 receptors, such as Mff, is an OManchored proteins that recruit Drp1 to the mitochondrial fission sites. Mitochondria have their own DNA, mtDNA, which is essential for the respiratory function. We found that distribution of mtDNA was altered in mitochondrial fission deficient cells, which should be related to maintenance of mitochondrial functions. Recently we also found that mitochondrial fission factors play critical roles in cellular signaling in cultured cells and differentiation in vivo. Here we would like to discuss physiological roles of mitochondrial membrane dynamics.

（31）Protective roles of MITOL against myocardial senescence and ischemic injury partly via Drp1 regulation

○Shigeru Yanagi[1,2] and Takeshi Tokuyama[2]
([1]Laboratory of Molecular Biochemistry, Department of Life Science, Faculty of Science, Gakushuin University
[2]Laboratory of Molecular Biochemistry, School of Life Sciences, Tokyo University of Pharmacy and Life Sciences)

Abnormal mitochondrial fragmentation by dynamin-related protein1 (Drp1) is associated with the progression of aging-associated heart diseases, including heart failure and myocardial infarction. Here we report a protective role of outer mitochondrial membrane (OMM)-localized E3 ubiquitin ligase MITOL/MARCH5 against cardiac senescence and myocardial infarction, partly through Drp1 clearance by OMM-associated degradation (OMMAD). Persistent Drp1 accumulation in cardiomyocyte-specific MITOL conditional-knockout mice induced mitochondrial fragmentation and dysfunction, including reduced ATP production and increased ROS generation, ultimately leading to myocardial senescence and chronic heart failure. Furthermore, ischemic stress-induced acute down-regulation of MITOL, that permitted mitochondrial accumulation of Drp1, resulted in mitochondrial fragmentation. Adeno-associated virus-mediated delivery of the MITOL gene to cardiomyocytes ameliorates cardiac dysfunction induced by myocardial infarction. Our findings suggest that OMMAD activation by MITOL can be a therapeutic target for aging-associated heart diseases, including heart failure and myocardial infarction.

（32）Metabolic adaptation in the regulation of cardiomyocyte cell cycle ~how mammals deal with a mismatch between development and birth timing?

○Wataru Kimura
(Institute of Physical and Chemical Research Center for Biosystems Dynamics Research)

Adult mammals are incapable of heart regeneration due to an inability of cell cycle entry in vast majority of cardiomyocytes. In sharp contrast, fetal or neonatal mammals are capable of heart regeneration after multiple types of myocardial injuries through the proliferation of pre-existing cardiomyocytes. We demonstrated that a metabolic transition from glycolysis to mitochondrial oxidative phosphorylation that takes place soon after birth induces cardiomyocyte cell cycle arrest through oxidative DNA damage and the DNA damage response pathway in mice. In addition, we have shown that mitochondrial fission is a critical regulator of cardiomyocyte cell cycle in the postnatal mouse heart. By contrast, unlike mice or humans, some mammalian species need to continue organogenesis in the postnatal environment due to a mismatch between birth timing and developmental timing. We showed that mammals giving birth to immature infants maintain cardiomyocyte proliferation and the capacity of cardiac regeneration for a long time after birth. We would like to discuss how environmental factors affect the capacity for cardiac regeneration in several different mammalian species.

（33）G protein selectivity of antagonists

Hitoshi Kurose
(Kyushu University, Graduate School of Pharmaceutical Sciences)

G protein-coupled receptors (GPCRs) recognize and transduce extracellular information into cells. Extracellular information includes neurotransmitter, hormones, ions, and so on. GPR4 is a proton-sensing GPCR expressing in endothelial cells, and activates three G proteins: Gs, Gq, and G12. From chemical library screening, we obtained two compounds with inhibitory activity. Two compounds inhibited Gs-mediated response. However, they differentially inhibited Gq/G12-mediated responses. It indicates that critical amino acids interacting with Gq/G12 are different from those of Gs. It also suggests that careful drug design will lead to development of G protein-selective inhibitor. Single receptor couples to multiple G proteins and activation of each G protein links to cellular responses in a coordinated or independent manner. G protein-selective inhibition will provide another option to selectively manipulate specific G protein-mediated responses including side effects.

【トレーニングコース】

第 31 回生理科学実験技術トレーニングコース

2020 年 8 月 3 日−8 月 7 日

担当：箕越靖彦（生殖・内分泌系発達機構研究部門）

【概要】

31 回目になる生理科学実験技術トレーニングコースは，2020 年 8 月 3 日（月）より 8 月 7 日（金）までの 5 日間，生理学研究所の明大寺，山手両キャンパスで開催の予定であった（担当：箕越靖彦）。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。

しかし，今年度は新型コロナウイルス感染症が一旦落ち着いた 5 月末にコースの参加募集をしたものの，7 月になり首都圏における感染拡大が目立つようになったことからやむを得ず開催を中止することになった。2020 年度のコースの総募集人数は昨年の約 120 名から約 80 名に減らして募集した。82 名の応募があり，61 名を採択した。コース応募者は大学院生，学部学生，大学，企業の研究者であった。

以下参考資料として，計画していた実習内容を記載する。

【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. in vivo 4 次元心循環機能計測と臓器間相互作用の解析
4. 多次元生体光イメージングの原理と応用
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. ゲノム編集による遺伝子改変動物作製のための発生工学技術
9. 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. 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
19. 生体アンプ回路工作と機械工作入門

各コースの具体的内容については，生理学研究所ウェブサイト*1 ホームページをご覧いただきたい。

*1　http://www.nips.ac.jp/training/2020/courses.html

【セミナー報告】

セミナー報告

1. ヒト脳白質線維束の包括的理解に向けたマルチモーダル脳マッピング

竹村浩昌（テニュアトラック研究員（情報通信研究機構 脳情報通信融合研究センター(CiNet) 脳機能解析研究室））

(2020.4.2)

ヒトの大脳皮質は神経細胞の細胞体を多く含む灰白質と，遠く離れた脳領域どうしの連絡を担う白質から構成される。古典的解剖学研究では，白質における線維束と脳機能の関連が類推されてきた。近年，拡散強調MRI(dMRI)法の発展により，ヒトの生体脳における主要な白質線維束を計測することが可能となってきた。本講演では dMRI を用いた脳データ解析法の概要を紹介したのち，白質線維束の分析によって明らかになってきた成果について紹介する。第一に，死後脳研究で既に存在が知られているヒトの白質線維束を dMRI データから求め，網膜疾患の影響・脳活動との関連・発達などを評価した研究結果について紹介する。第二に dMRI を用いて，従来の視覚神経科学研究であまり着目されてこなかった背側視覚野と腹側視覚野を結ぶ白質線維束を分析した成果を紹介する。特に，非ヒト霊長類から得られた dMRI データの分析を通じて解剖学的研究とヒト脳イメージング研究のギャップを埋めるアプローチについて議論する。最後に dMRI とは原理の異なる計測手法である，偏光顕微鏡を用いたデータを分析し白質線維束の空間構造を調べた成果を紹介し，線維束の詳細な理解が視覚皮質の機能構築の理解に果たす役割について議論する。

2. 下行性抑制から見た慢性痛の病理高速・高精細全脳イメージング法 FAST の開発と全脳機能解析

林田健一郎（秋田大学　医学部器官・統合生理，准教授）

(2020.5.29)

要旨はありません。

3. 実験モデル動物の開発・特性解析と系統保存

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，准教授）

(2020.6.1)

要旨はありません。

4. 遺伝子発現パターンを指標にした霊長類大脳皮質視覚野の比較解剖学

高畑　亨（中国：浙江大学システム神経・認知科学研究所，教授)）

(2020.6.1)

要旨はありません。

5. 1.Stabilization of short-term perceptual representations by thalamic input
2.Engagement of output "decoder" neurons in PFC task networks

Speaker1: Lukas Ian Schmitt　Speaker2: Miho Nakajima (RIKEN Center for Brain Science)

(2020.7.3)

（１）The thalamus is the major input to the cortex and interactions between these two structures are critical for cognition. While the it is often thought of as a simple relay carrying information to the cortex or between cortical regions, recent anatomical and functional data suggest that such an oversimplified model is unlikely to capture the involvement of the thalamus in many cognitive functions. This is particularly true in the case of “higher-order” thalamic nuclei such as the mediodorsal (MD) and Lateral Posterior (LP). Unlike the more extensively studied sensory thalamic nuclei, these higher-order nuclei are primarily connected to cortical circuits and receive little peripheral sensory input. Previous work has suggested that one of these nuclei, the MD helps to sustain attentional rules in its cortical counterpart, the prefrontal cortex (PFC) by selectively stabilizing task-relevant cortical networks. These results suggest that thalamic input may play a key role in short-term maintenance of information, a function that is essential for the ability to make inferences based on dynamically changing sensory stimuli. To determine whether this function is a general feature of higher-order thalamocortical networks, we have begun investigating interactions between posterior parietal cortex (PPC) and its thalamic counterpart, the LP. The PPC is a key player in sensory decision-making and recent evidence suggests that one of its roles is to influence processing of current inputs based on sensory history. Using a novel sensory decision-making task, we found that the PPC maintains sensory history and that this function requires the LP. We also found that, similar to MD, LP activation enhanced connectivity in the PPC suggesting that it may play an analogous role in stabilizing cortical representations. Overall, these findings identify a potentially general circuit feature in the mammalian brain, thalamic control of functional cortical connectivity, and suggest that it is essential for diverse cognitive abilities that rely on short term maintenance of information.

（２）In constantly changing environments, animals must adapt their behaviors based on informative sensory stimuli. Because the meaning of a given sensory input can vary depending on the situation, the brain must flexibly map each stimulus to its appropriate behavioral output depending on internal goals. The prefrontal cortex (PFC) plays a central role in implementing such transformations but how the PFC supports adaptive processing of information across multiple tasks without interference remains unclear. An important step in understanding flexible computations in the PFC is to examine how outputs (decoders) of this circuit are flexibly incorporated into its internal, task-specific networks. To investigate this, we employed well-controlled behavioral tasks that require cue to task-rule transformation in the PFC both to identify populations carrying relevant output information and to examine task-related activity in this population. More specifically, by applying a rule dependent cross-modal sensory selection task we sought to identify the PFC outputs that controlled sensory processing. Our findings demonstrated that PFC neurons projecting to different territories of the tail of striatum acted to "decode" rule information, providing outputs that controlled selection among competing sensory modalities by suppressing distracting input. These outputs were anatomically fixed, placing a fundamental constraint on the internal dynamics of the PFC. Overall, our results identify a key output of the PFC responsible for the control of sensory processing and introduce important principles governing how this circuit can remodel its internal network depending on the goal.

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

Quang Trung Pham（生理学研究所　生体機能情報解析室　博士研究員）

(2020.8.6)

The behaviors of an individual are usually regulated by subjective valuations that are not only driven by external information but also influenced by internal affective state. The default mode network (DMN) has been demonstrated to play a crucial role in monitoring affect, but for subjective valuation, the level of processing at which the DMN is situated remains unclear. In this study, we developed an artificial neural network (ANN) that predicts participants' valuation of oil paintings, and examined the relationship between ANN representations and brain activity. We found that the visual areas V1 and V2 are highly correlated with shallow layers of the ANN, while the default mode network is correlated with deeper layers. Vision-to-value processing was well-aligned with the principal gradient of cortical connectivity. These findings suggest that the default mode network plays a central role in processing subjective value, and that subjective value is imputed by projecting external information onto an internal space via the principal gradient.

7. 遺伝子操作を用いたマカク大脳における経路選択的神経活動操作と局所多細胞同時記録

小口峰樹（麻布大学獣医学部）

(2020.9.1)

システム神経科学における遺伝子工学技術の利用は，一方で，光遺伝学や化学遺伝学に基づく神経活動の可逆的な操作法として，他方で，カルシウムイメージングを用いた多細胞同時記録法として，げっ歯類での研究を中心に多数の革新的な知見をもたらしてきた。しかしながら，非ヒト霊長類に対するこうした技術の導入はいまだ限定的なものに留まっている。本講演では，講演者がこれまでマカクザルを被験体として取り組んできた，化学遺伝学を用いた前頭前野-線条体経路の不活化実験と，微小内視鏡を用いた皮質からのカルシウムイメージング実験について紹介したい。

前頭前野と線条体を結ぶ経路は価値に基づく意思決定において重要な役割を果たしていると考えられる。特に，前頭前野の外側部（LPFC）と線条体の尾状核（Cd）を結ぶ経路は，主にヒトの構造的・機能的 MRI 研究を通じて，抑制コントロールやワーキングメモリーとの関係が指摘されてきた。しかし，実験動物を用いた介入操作を伴う因果的なレベルでの検証は進んでいない。講演者は，あらかじめ報酬非対称型遅延反応課題を訓練した 2 頭のサルに，2 種類のウイルスベクターを用いた化学遺伝学 2 重遺伝子導入法を適用し，LPFC-Cd 経路に対して選択的な不活化を行った。リガンドを投与し，LPFC-Cd 経路を抑制すると，行動においては，ワーキングメモリーへの影響は認められなかったが，連続エラーの増加や眼球運動における衝動性の亢進が認められた。また，神経活動においては，局所場電位の特定の周波数帯でのタスク関連応答の減少が認められた。以上の結果は，LPFC-Cd 経路がある種の抑制コントロールに関係していることを示唆している。

この化学遺伝学の実験と並行し，講演者は，微小内視鏡を用いたカルシウムイメージングをマカクザルに適用する作業を進めてきた。微小内視鏡法は，2 光子顕微鏡法と異なり，時間・空間解像度に劣るものの，装置の簡便性や撮像の自由度において優れており，屈折率分布型（GRIN）レンズを用いることで脳深部からのイメージングを可能とする。この手法を確立するため，視覚刺激によって容易に神経活動を誘発できる第 1 次視覚野（V1）での観察を行った。ベクターは，マカクザルの皮質での高頻度の遺伝子導入が報告されている AAV2.1 を用いた。結果，注視課題遂行中の 2 頭のサルから，刺激応答を示す蛍光変化信号を確認できた。これらの信号の一部は，V1 に特徴的なレチノトピーと傾き選択性を示した。また，これらの信号を用いて，呈示された視覚刺激をデコーディングすることにも成功した。現在は，微小内視

鏡法の LPFC への適用を進めており，in vivo での十分な蛍光プローブの発現を確認している。本講演では，さらに，こうした多細胞同時記録法を適用する予定の，現在進行中のカテゴリー学習実験についても紹介したい。

8. 覚醒下非ヒト霊長類を対象とした電気生理学的手法による高次脳機能研究

植松明子（生理学研究所　研究員）

(2020.9.1)

覚醒下の非ヒト霊長類を対象とした電気生理学実験の利点は，複雑な行動課題の遂行中に時間空間精度よく神経活動を記録できる点，並びに，神経活動に直接介入し，その影響を観察する事ができる点である。本セミナーでは，この方法を用いることで明らかになった小脳におけるタイミング予測機能の神経機構と，現在進行中の，他者の報酬が自己の脳内でどう表現されるかを明らかにする研究を紹介する。

小脳は長年，運動制御への関与が研究されてきたが，近年では高次脳機能にも寄与していることが報告されている。我々は，高次脳機能の中でもタイミング予測機能に着目し，研究を行った。繰り返し提示される視標の提示タイミングを予測させる行動課題をサルに訓練し，課題遂行中のサルの小脳歯状核から神経活動を記録した。結果，提示タイミングに一致し，視標提示回数の増加とともに変化が増大するリズミックな神経活動応答を検出した。この神経活動記録部位の不活化により，タイミング予測を必要とする行動が遅延することを明らかにした。また，同部位の電気刺激によって，タイミング予測を必要とする行動は早まった。これらの結果から，小脳歯状核のリズミックな神経活動の上昇が次の刺激提示のタイミング予測を反映していることが示唆された。さらに，この神経活動形成に寄与するのは，歯状核に投射する小脳皮質プルキンエ細胞と苔状線維のどちらであるのかを調べるため，微量薬物注入による受容体阻害を行い検討した。結果，両者ともに影響を持つが，小脳皮質プルキンエ細胞からの入力の方がより寄与度が大きい事が示唆された。

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，後者では不快刺激となる。何故このような正反対の情動が生じるのだろうか。この疑問を解決するため，他者の利益を自己がどう評価しているかを明らかにし，その評価を変える要因について検証する。

実験では，対面した２頭のサルを対象とし，一方のサル（アクター）が，提示された２つのボタンのうち一方のボタンを押すと，押した色に応じて「自己」，「他者」，「どちらにもなし」に報酬が割り当てられる課題を訓練した。２つのボタンに異なった色が提示される自由選択条件と，同色が提示される強制選択条件を用いる。現在，行動データからは，「自己」が選択肢にある場合は自己を選択するが，「どちらにもなし」と「他者」では他者に報酬を与える傾向にあることを示す結果が得られている。また，不快刺激に応答する外側手綱核の神経活動記録から，少数ではあるが，「他者」と「どちらにもなし」は共に不快刺激であるが，その程度は異なることを示唆する興味深いデータが得られつつある。

9. 細胞のメカノトランスダクションにおけるケラチン中間径フィラメントの関与と生理的役割

Physiological roles and molecular mechanisms of keratin-mediated cellular mechanotransduction

藤原佐知子（広島大学大学院医系科学研究科）

(2020.9.7)

細胞内外の力学的環境は，細胞や組織の生理機能を制御する重要な因子である。力学的刺激は主に細胞の接着部位で受容され，化学的シグナルに変換された結果，アクチンや中間径フィラメントなどの細胞骨格の再構築が促される（メカノトランスダクション）。ケラチンは上皮細胞の主要な中間径フィラメントであり，細胞内に

密なネットワークを形成し細胞に力学的な強度を与えると同時に，デスモソームやヘミデスモソームに繋留され細胞間接着や細胞-基質間接着の安定性に貢献する。単純型表皮水疱症（Epidermal Bullosa Simplex, EBS）は日常生活で加わる程度の力で皮膚に水疱や潰瘍が生じる難病で，表皮基底層のケラチノサイトにおけるケラチンの変異が主要な病因として知られるが，ケラチンの異常と病態を繋ぐ分子機構はほとんど不明である。そこで本研究では，野生型ケラチンを発現するケラチノサイトとケラチンに変異を持ち異常な繊維構造を呈する EBS ケラチノサイトを比較し，メカノトランスダクションにおける正常なケラチンネットワークの関与について検証した。その結果，EBS ケラチノサイトでは細胞牽引力の低下および接着斑の形成不全と局在異常が見られ，加えて基質の硬さ依存的な接着や方向性をもった集団移動が阻害されていた。またその分子機構として，EBS ケラチノサイトでは接着斑形成促進に働く Src-FAK 経路の活性が低いこと，さらに細胞骨格再構築で重要な RhoA の活性も低下しており，Rho 活性化剤処理によって基質への接着が回復することが分かった。これらの結果から，表皮ケラチノサイト において，ケラチンは Rho シグナルを介してメカノトランスダクションを制御し，細胞-基質間接着や協調的な細胞運動に寄与することが示唆された。EBS における皮膚基底層の接着異常や創傷治癒の遅延について，新たな側面からの理解につながることが期待される。

10. 自己および他者の報酬情報処理に関する神経機構

則武　厚（生理学研究所　認知行動発達機構研究部門　助教）

(2020.9.8)

自分の得るもの（報酬）の価値が他人の得るものに影響を受けてしまう。その背景には，限りある報酬資源をめぐる他者との競争が要因であると考えられる。そこで我々は 2 頭のサル（自己と他者）を対面して座らせ，視覚刺激－報酬確率を各サルに同時に条件づけするという「社会的条件づけ」を考案し，競争的状況を模した。社会的条件づけ下において，自己の報酬情報処理に深く関係するドパミン中脳核や視床下部外側野，およびそれらと解剖学的結合があり社会的な情報処理の中枢とされる前頭前野内側部の細胞から神経活動を電気生理学的に記録した。本セミナーでは，これら脳部位における自己と他者の報酬情報処理様式，また脳部位間の神経情報の流れの解明に焦点を当てた我々の最近の研究成果を紹介し，報酬の価値づけにおける社会的要因および競争的要因の重要性について議論したい。

11. 経頭蓋磁気刺激を用いた α 波による注意制御機構の検証

岡崎由香（生理学研究所　神経ダイナミクス研究部門　助教）

(2020.10.7)

脳に入力される情報は常に注意による取捨選択が行われている。この情報選択は入力に対する神経応答やネットワーク結合の変調によって実現されていると考えられているが，本セミナーではこの選択過程における α 波の役割について議論する。

ヒト脳波及び MEG を用いた研究において，空間的注意の移動に伴って規則的な α 波パワーの変調が通常観測される。この α パワーの変動は視覚刺激呈示前に出現し，次に提示される刺激に対する誘発応答や課題成績の増減に関与する。これらの結果は α 振動が皮質の応答特性を決定している事を示唆している。しかし，視覚刺激に対する反応を観測するのみでは視床レベルでのゲーティング機能を除外することはできない。そこで，本研究では TMS によって視覚皮質を直接刺激し，同時に脳波を測定することで α 波と皮質の反応性について検証した。

12. ペルオキシソームによる一次繊毛の生理機能の保証機構と疾患

宮本達雄（広島大学原爆放射線医科学研究所）

(2020.11.17)

一次繊毛は，G0 期細胞表面に発達する 1 本の毛様の微小管性構造である。一次繊毛を覆う細胞膜（繊毛膜）には，多様なシグナル受容体やイオンチャネルが集積しており，一次繊毛は細胞の「センサー器官」として機能する。一次繊毛のセンサー機能を担保するために，繊毛膜は，他の細胞膜領域に比べて，コレステロール含量が高く，特異な脂質組成であることが知られている。しかし，繊毛膜の脂質特性を産むメカニズムは不明な点が多い。

一次繊毛関連遺伝子の欠損は，多発性嚢胞腎，多指症，網膜色素変性など特徴的な先天奇形を伴う一連の繊毛病を発症する。Zellweger 症候群は，ペルオキシソーム形成遺伝子群の変異によって引き起こされる稀少な常染色体劣性遺伝病である。本疾患は，脂質代謝異常に起因する筋緊張低下，肝・脾腫大の好発の他に，多発性嚢胞腎や網膜色素変性などの繊毛病症状を高率に合併する。最近，我々は Zellweger 症候群患者皮膚線維芽細胞の繊毛膜のコレステロール量が低下することを見出した。また，生細胞イメージングや 3 次元-光・電子相関顕微鏡/集束イオンビーム・走査電子顕微鏡技術（3D-CLEM/FIB-SEM）を用いた観察から，ペルオキシソームは微小管上を運動した後，コレステロールを繊毛に供給することが明らかになった。さらに，高効率な遺伝子ターゲティング技術（CRISPR-ObLiGaRe 法）を用いたノックアウト細胞ライブラリーの作製と表現型探索の結果，ペルオキシソームの繊毛への運動を担う Rabin8/Rab10/KIFC3 複合体とペルオキシソームから繊毛へコレステロールを輸送する繊毛分子 ORP3 を同定した。これらの知見から，Zellweger 症候群は繊毛膜コレステロールの低下による繊毛病であることが示唆された。

13. 大規模認知機能の脳内表現モデル化とデコーディング

中井智也（情報通信研究機構・脳情報通信融合研究センター（CiNet）研究員）

(2020.12.1)

近年，動画などの自然刺激を利用することで多様な特徴量の脳内表現を定量的にモデル化・デコーディングする研究が盛んに行われている。しかしこれまでの研究は視覚や聴覚等の感覚情報が中心であり，より複雑な認知機能を定量的にモデル化することは困難であった。本研究では，被験者に 3 日間にわたり 100 種類以上の認知課題を実施してもらい，脳活動を fMRI で測定した。課題種類を表現するスパースな特徴量と，課題を 700 次元の隠れ変数で表現した認知因子特徴量を利用し，複雑な認知機能と脳活動の関係を定量的に表すモデルを構築した。さらに認知因子特徴量を用いることで，モデル学習に用いていない新規の認知課題を高精度でデコーディングすることに成功した。

14.「細胞外マトリックスの組み立てツール」のはたらき
～ 架橋酵素リシルオキシダーゼの活性化に必須の分泌タンパク質 Fibulin-4 の役割 ～

中邨智之（関西医科大学　薬理学講座・教授）

(2021.1.15)

細胞外マトリックスの中でも組織の強度を規定する膠原線維はコラーゲンタンパク質でできているが，引っ張りに耐えられるよう分子どうしが共有結合で架橋されている。また組織の伸縮性を担う弾性線維はエラスチンタンパク質でできているが，伸縮性を生み出すためにやはり分子間が架橋されている。いずれも「構成タンパ

ク質を正しく並べて，架橋する」という手順を踏むことで，細胞よりはるかに大きな構築物を作り，なおかつその特異な力学的特性を発揮させることができるという共通点がある。コラーゲンとエラスチンにはアミノ酸配列の共通性はないが，いずれの架橋もリシルオキシダーゼ（LOX）という酵素が行うことが知られている。

我々はこれまでにエラスチンを正しく並べるために Fibulin-5 と LTBP-4 という分泌タンパク質が必須であることを報告してきたが，Fibulin-5 のファミリータンパク質である Fibulin-4 のはたらきは謎であった。Fibulin-4 欠損マウスは弾性線維形成不全だけでなく膠原線維の異常も示し，動脈の破裂のため生後すぐに死亡するが，この表現型は LOX 欠損マウスと全く同じなのである。

今回，Fibulin-4 欠損マウス・細胞が作る LOX には活性がないことを見出し，Fibulin-4 が LOX 活性に必要とされる仕組みを明らかにしたので紹介したい。

15. サイトカインと神経回路による組織特異的自己免疫疾患の制御

村上正晃（北海道大学・遺伝子病制御研究所・分子神経免疫学分野）

(2021.1.18)

炎症は，局所の血管透過性が上昇し免疫細胞が集積，組織恒常性の破綻が生じて引き起こされる。私たちは自己免疫疾患の組織特異性の分子機構を研究している。2008 年に非免疫細胞での炎症誘導機構である IL-6 アンプを発見し，2012 年にゲートウェイ反射を見出した。今回，サイトカインによって非免疫細胞で活性化し，炎症を誘導する IL-6 アンプと特異的神経回路が固有の血管に自己反応性 T 細胞の侵入口を形成するゲートウェイ反射による組織特異的な自己免疫疾患の制御を議論する。

16. 方位弁別学習後のラット一次視覚野における低コントラスト優位な神経活動

木村梨絵（生理学研究所　視覚情報処理研究部門　特任助教）

(2021.1.19)

動物は外界の様々な刺激を知覚・認知し，その情報に基づいて行動する。見慣れた刺激であれば，判別が多少困難でも同様の行動出力が可能だが，その神経基盤はほとんど明らかにされていない。そこで，縦縞の提示時にはレバーを押し，横縞の時はレバーを引くという視覚弁別課題を，高コントラストの刺激を用いてラットに学習させた後に，刺激のコントラストを下げて弁別が困難な課題も実施し，この時の一次視覚野の発火活動を，多点電極を用いてマルチユニット記録した。これによって，低コントラストの方位弁別を実現する神経基盤を明らかにすることを目指した。

高コントラスト刺激に強く応答する細胞だけでなく，低コントラスト刺激に強く応答する細胞を見出した。このような低コントラスト優位な細胞は，麻酔下や学習前ではほとんど観察されず，課題の正解時に強く活動した。また，低コントラスト優位な細胞を含めた細胞集団から提示した刺激が縦縞か横縞かをデコーディングすると，低コントラスト刺激の時には，この細胞を含めない場合に比べてその精度が良くなった。したがって，低コントラスト優位な神経活動は，低コントラストの方位弁別に寄与すると考えられた。

このような低コントラスト優位な神経活動は，どのようにして生じるのだろうか。まず，学習後には興奮性の上昇が観察され，低コントラスト刺激でも強い視覚応答を示すと考えられた。また，一次視覚野の局所電場電位（LFP）を解析したところ，学習後には高コントラスト刺激提示時にベータ（18-30 Hz）帯域のオシレーションが強く生じた。さらに，この帯域の位相にロックした発火活動が生じ，特に抑制性細胞は，興奮性細胞に比べて位相がそろった活動を示した。高コントラスト刺激では抑制性の影響が強くなると考えられた。以上から，低コントラスト優位な神経活動は，興奮と抑制のバランスの変化によって作られることが示唆された。

17. 体温センサーTRPM2 の機能調節機構と生理的意義

加塩麻紀子（愛知医科大学　生理学第 1 講座）

(2021.2.22)

加塩博士は，総研大を卒業した後，岡崎統合バイオサイエンスセンター 特任助教，京都府立医科大学 助教を経て，2017 年から愛知医科大学生理学第 1 講座 講師を務めていらっしゃいます。

これまで，温度感受性 TRPM2 チャネルと II 型味細胞に発現する CALM1/3 チャネルの機能解析をしてこられましたが，今回は TRPM2 チャネル制御機構に関する未発表の内容をうかがえるものと思います。

18. f MRI 研究に何ができるのか，何をするべきか

近添淳一（生理学研究所　生体機能情報解析室　准教授）

(2021.3.16)

生体機能情報解析室では，神経科学研究から得た知見を，臨床応用や人工知能研究に結びつけることを目指して技術開発を続けてきました。トークの前半では，技術開発における成果として，脳の局所情報からの全脳情報の解読（博士研究員：Balbir さん），認知過程の時系列情報の解読（院生：小山さん），robust な機能的結合解析法（技術支援員：西山さん，成田さん，院生：吉本さん）についてご説明します。これに関連して，生体恒常性発達研究部門の揚妻先生と行ったコラボレーション（技術支援員 : 畔柳さん）についても触れたいと思います。また機械学習を用いて行った研究として，島皮質における基本味覚の弁別能（近添），内的状態の変化に伴い柔軟に変化する脳内表象（院生：吉本さん）の研究を紹介します。トークの後半では，油絵や音楽の価値を判断する人工知能（博士研究員 : Pham さん）のお話を中心に，ｆ MRI 研究における深層学習の応用可能性と，人工知能研究に対する f RI 研究の貢献についてお話ししたいと思います。

【大学院特別講義】

大学院特別講義

1. 第 234 回（2020.5.20）※WEB 配信
   演者：基盤神経科学研究領域　大脳神経回路論研究部門　窪田　芳之　準教授
   演題：大脳皮質の神経細胞の多様性と局所神経回路結合

2. 第 235 回（2020.6.10）※WEB 配信
   演者：基盤神経科学研究領域　バイオフォトニクス研究部門　根本　知己　教授
   演題：神経・生理機能の光学顕微鏡による新規的な可視化解析

3. 第 236 回（2020.7.22）※WEB 配信
   演者：生体機能調節研究領域　細胞構造研究部門　古瀬　幹夫　教授
   演題：上皮における傍細胞輸送の制御

4. 第 237 回（2020.8.5）※WEB 配信
   演者：行動・代謝分子解析センター　遺伝子改変動物作製室　小林　俊寛　助教
   演題：哺乳類初期胚発生の理解と応用

5. 第 238 回（2020.10.21）※WEB 配信
   演者：生体機能調節研究領域　生殖・内分泌系発達機構研究部門　箕越　靖彦　教授
   演題：動物個体におけるエネルギー代謝の動的平衡と脳

6. 第 239 回（2020.11.11）※WEB 配信
   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　戸松　彩花　特任准教授
   演題：運動制御と体性感覚情報

7. 第 240 回（2020.12.2）※WEB 配信
   演者：分子細胞生理研究領域　生体膜研究部門　深田　優子　准教授
   演題：てんかん関連リガンド-受容体複合体による経シナプス連結機構の生理機能

8. 第 241 回（2021.1.13）※WEB 配信
   演者：基盤神経科学研究領域　生体恒常性発達研究部門　神経回路の経験依存的発達と可塑性　教授
   演題：神経回路の経験依存的発達と可塑性

生理学研究所年報　第４２巻

発　　行　　2021 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

〒170-0013　東京都豊島区東池袋 2-31-14
Reveur　101
電話〈03〉3988-5656