自然科学研究機構

生理学研究所年報

第43巻

2022

（2021年度業務報告書）

はじめに

生理学研究所年報第 43 巻をここに刊行し、2021（令和 3）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。2021 年度におきましては、前年度と同様、新型コロナウイルス感染の周期的拡大で研究者の移動が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、研究および共同研究のリモート化などを積極的にすすめ、例年以上の多数（199 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。

2022 年 8 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（2021 年度）…… i

研究活動報告

目　次…… 3
分子細胞生理研究領域…… 9
生体機能調節研究領域…… 20
基盤神経科学研究領域…… 32
システム脳科学研究領域…… 41
研究連携センター…… 58
脳機能計測・支援センター…… 61
行動・代謝分子解析センター…… 67
動物資源共同利用研究センター…… 71
技　術　課…… 74

研 究 発 表

ａ．発 表 論 文…… 87
ｂ．学 会 発 表…… 103

一般共同研究報告…… 125

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…… 205

研究会報告…… 237

各種シンポジウム

第 51 回　生理研国際シンポジウム…… 451

トレーニングコース

第 32 回生理科学実験技術トレーニングコース…… 461

セミナー報告…… 465

大学院特別講義…… 475

職員（2021年度）

所　　長　鍋倉淳一

【分子細胞生理研究領域】

神経機能素子研究部門

教　　授	久保義弘
准 教 授	立山充博
助　　教	下村拓史
NIPS リサーチフェロー	平澤輝一（2021.4.1～）
大学院生	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
〃	TEH, Zhi Hui
技術支援員	鈴木由美
〃	渡邊聖愛
〃	古川佐千子
〃	原　早苗

生体分子構造研究部門

教　　授	村田和義
特任助教	宋　致弘
研 究 員	BURTON-SMITH, Raymond
〃	竹市裕介（2021.11.1～2022.1.31）
大学院生	角田　潤
〃	千原あかね
〃	渡邉凌人
技術支援員	山田幸子
〃	肥田宗政（2021.12.1～）
〃	竹市裕介（2022.2.1～）
事務支援員	河口美江
〃	大塚ひとみ（2021.9.16～2022.3.31）

神経発達・再生機構研究部門

客員教授	澤本和延

【生体機能調節研究領域】

細胞構造研究部門

教　　授	古瀬幹夫
准 教 授	泉　裕士
助　　教	大谷哲久
〃	大橋正人（2021.4.1～）
特任助教	藤原佐知子
大学院生	NGUYEN, Thanh Phong
〃	長澤有祐
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
特任准教授	加塩麻紀子（2021.4.1～）
〃	丸山健太（2021.9.16～）
助　　教	齋藤　茂
NIPS リサーチフェロー	水藤拓人
研 究 員	齋藤くれあ
〃	佐藤翔馬
〃	NGUYEN, Thi Hong Dung（～2022.1.15）
日本学術振興会特別研究員	宇治澤知代
大学院生	邓　香梅
〃	DEVECI, Aykut
〃	雷　晶
〃	ALIYU, Mudassir Magaji（2021.10.1～）
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
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（～2022.2.28）
大学院生	下田　翔（～2022.3.31）
〃	阿部愛杜（～2022.3.31）
〃	湯　肖康（2021.10.1～）

技術支援員　藤森仁美
〃　大村幸恵（2021.4.1～）
〃　湯肖康（2021.5.1～2021.9.30）

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（～2021.8.6）
特別協力研究員　堀尾修平
日本学術振興会特別研究員　上原優子
大学院生　RASHID, Misbah（～2021.9.30）
〃　RATTANAJEARAKUL, Nawarat
〃　三須宏武
〃　YU, Long
技術支援員　林めぐみ
〃　佐藤香織
〃　乙部晶代
〃　藤原香菜子（～2021.7.31）

分子神経免疫研究部門

教授　村上正晃
特任准教授　長谷部理絵
助教　山崎剛士

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
〃　金叢芸
特別訪問研究員　竹田育子（2021.5.1～2022.3.31）
技術支援員　大場多津子
〃　市橋結貴
〃　小林知子
事務支援員　小林文絵
〃　永田みづほ

視覚情報処理研究部門

教授　吉村由美子
助教　林健二
特任助教　米田泰輔
NIPS リサーチフェロー　山本真理子
大学院生　呉嘉豪
技術支援員　石神久美子
事務支援員　比賀昌子

バイオフォトニクス研究部門

教授　根本知己
准教授　榎木亮介
〃（兼任）　大友康平（2021.10.1～）
助教　大友康平（～2021.9.30）
〃　石井宏和（2022.3.1～）
特任助教　堤元佐
〃　石井宏和（～2022.2.28）
特別共同利用研究員　張菁圃（～2022.3.31）
特任研究員　李明亮（～2021.9.30）
日本学術振興会外国人研究員　李明亮（2021.10.1～）
日本学術振興会特別研究員　高橋泰伽（2021.4.1～）
大学院生　安宅光倫
〃　中田開人（2021.4.1～）
〃　廣蒼太（2021.4.1～）
技術支援員　土屋加奈
〃　渡邉真規（2021.4.16～）
〃　河内美輪（2021.5.1～）

多細胞回路動態研究部門

教授　和氣弘明（2021.9.1～）
特別訪問研究員　加藤大輔（2021.9.9～2022.3.31）
〃　杉尾翔太（2021.9.9～2022.3.31）
特別共同利用研究員　郭中天（2021.9.27～2022.3.31）
〃　進藤麻理子（2021.9.27～2022.3.31）

【システム脳科学研究領域】

認知行動発達機構研究部門

教授　磯田昌岐
特任准教授　郷康広

特任准教授　戸松彩花
助教　二宮太平
〃　則武厚
〃　横井功（～2021.6.30）
特任助教　植松明子
大学院生　新居桂陽
特任専門員　柴田あゆみ
〃　山西ユミ
技術支援員　城地智子

生体システム研究部門

教授　南部篤
助教　畑中伸彦
〃　知見聡美
〃　佐野裕美（～2022.3.31）
研究員　纐纈大輔
〃　長谷川拓（～2022.1.31）
〃　WONGMASSANG, Woranan（～2022.1.31）
大学院生　NONDHALEE, Pimpimon
技術支援員　磯谷ひとみ
〃　粟村香奈子
〃　宮本香奈（～2022.3.31）

神経ダイナミクス研究部門

教授　北城圭一
助教　上原一将
〃　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（～2021.6.15）
〃　山本哲也
日本学術振興会特別研究員　土元翔平（2021.4.1～）
特別協力研究員　吉本隆明（～2022.3.31）
特別共同利用研究員　伊津野巧（2021.4.1～）
大学院生　南條啓孝
〃　小山雄太郎
〃　綾部宏明
大学院生　橋口真帆
〃　小笠原香苗
特任専門員　木村玲子
〃　岩瀬恵
技術支援員　竹中邦子
〃　吉岡歩（～2022.3.31）
〃　伊藤直子（～2021.12.16）

感覚認知情報研究部門

教授　竹村浩昌（2021.9.1～）
特別共同利用研究員　宮田季和（2021.9.1～）
技術支援員　庭木由紀（2021.10.1～）

【研究連携センター】

センター長（併任）久保義弘

共同利用研究推進室

教授（併任）久保義弘
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（～2022.3.31）
〃　高田昌彦
特任准教授（併任）丸山めぐみ
特任専門員　林愛
事務支援員　土井優

NBR事業推進室

教授（併任）南部篤
事務支援員　岡本友紀

流動連携研究室

国際連携研究室

【脳機能計測・支援センター】

センター長（併任）磯田昌岐

多光子顕微鏡室

准教授　村越秀治
技術支援員　佐藤愛子
〃　平田華代（2021.10.15～）

電子顕微鏡室

教授（併任）古瀬幹夫
准教授（併任）村田和義
〃　窪田芳之
特任助教　浦久保秀俊（2021.4.1～）
〃　孫在隣（2021.4.1～）

特任助教　石原義久（2022.2.1～）
特任研究員　松本真実（～2022.3.31）
〃　PANDEY, Vikas（2021.9.1～）
〃　SIMANKOVA, Anna（2022.2.16～）
大学院生　入佐紘司（2021.4.1～2022.2.1）
技術支援員　今井篤子
〃　服部宣子
〃　荒木玲子（2021.4.1～）
〃　北啓子（2021.4.1～）
〃　江川尚美（2021.4.1～）
〃　兵藤智栄美（2021.4.1～）
〃　江藤智子（2021.4.1～）
〃　渡邊晴子（2021.4.1～）
〃　廣岡依里（2021.8.1～）
〃　讃岐颯真（2021.8.1～2021.9.7）

生体機能情報解析室

教授（併任）　定藤規弘
客員教授　乾幸二
〃　山地一禎（2021.8.1～）
准教授（兼任）　近添淳一（2021.4.1～2022.3.31）
研究員　PHAM, Quang Trung（～2022.3.31）
技術支援員　野原裕太（～2022.2.28）
〃　NGUYEN, Dang Vu（2021.4.16～2021.7.31）
〃　松本崇宏（2021.5.16～2021.12.31）
〃　松永大希（2021.8.16～2022.2.28）

時系列細胞現象解析室

教授（併任）　吉村由美子
助教　佐竹伸一郎
〃　大塚岳

【行動・代謝分子解析センター】

センター長（併任）　富永真琴

ウイルスベクター開発室

教授（併任）　南部篤
准教授　小林憲太
技術支援員　影山梨衣

遺伝子改変動物作製室

准教授　平林真澄
准教授（兼任）　小林俊寛（2021.4.1～）
特別共同利用研究員　長江麻佑子（～2021.9.30）
技術支援員　山内恵子
〃　吉田史香
〃　大西皆子

多階層生理機能解析室

教授（併任）　西島和俊
助教　山肩葉子（2021.4.1～）

【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

【研究力強化戦略室】

教授（併任）　南部篤
〃（併任）　深田正紀
〃（併任）　吉村由美子
〃（併任）　箕越靖彦
〃（併任）　久保義弘
〃（併任）　北城圭一
特命教授　浦野徹
特任准教授　丸山めぐみ
特任助教　西尾亜希子
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（～2022.3.31）
〃　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
特命教授（併任）　浦　野　　徹
助　　教　　王　　振　吉（～2021.4.11）
技術支援員　　水　野　みどり
〃　　不　退　久　恵
〃　　岩　瀬　悦　子
〃　　小　林　明　子
〃　　浦　川　裕　乃
〃　　本　多　千　佳
〃　　梅　村　佳　子
〃　　大　島　由　揮
〃　　新　関　奈央子
〃　　橋　本　　遙（～2022.3.31）
〃　　橋　本　　恵
〃　　重　本　久　実
〃　　奥　　留　美（2021.4.1～）
〃　　深　津　　葵（2021.4.1～）
〃　　肥　田　宗　政（2021.4.1～2021.11.30）
〃　　小宮山　　果（2022.2.1～）
〃　　山　本　美　華（2022.2.1～）

【動物実験コーディネータ室】

特任研究員　　山　根　　到
事務支援員　　松　倉　さゆり

【生命創成探究センター】（生理学研究所関連）

創成研究領域

温度生物学研究グループ

細胞生理研究部門（兼務）

（ i 頁の細胞生理研究部門を参照）

心循環ダイナミズム創発研究グループ

心循環シグナル研究部門（兼務）

（ i 頁の心循環シグナル研究部門を参照）

バイオフォトニクス研究グループ

バイオフォトニクス研究部門（兼務）

（ ii 頁のバイオフォトニクス研究部門を参照）

物質−生命境界領域研究グループ

生体分子構造研究部門（兼務）

（ i 頁の生体分子構造研究部門を参照）

認知ゲノム研究グループ

【技　術　課】

課　　長　　大河原　　浩

研究領域技術班

課長補佐（班長）　戸　川　森　雄

分子細胞生理研究領域　技術係

係　　長　　山　本　友　美
係　　員　　稲　橋　宏　樹

生体機能調節研究領域　技術係

係　　長　　福　田　直　美
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
係　　員　　渡我部　ゆ　き

システム脳科学研究領域　技術係

係　　長　　佐　藤　茂　基
主　　任　　髙　橋　直　樹
係　　員　　横　井　　功（2021.7.1～）
特任専門員　　岩　瀬　　恵

研究施設技術班

班　　長　　吉　村　伸　明

研究連携　技術係

係　　長　　吉　友　美　樹

脳機能計測･支援　技術係

主　　任　　山　田　　元（～2022.3.31）

情報処理･発信　技術係

係　　長　　村　田　安　永（2021.10.1～）
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
係　　員　　山　中　　緑
〃　　高　橋　伸　明

行動･代謝分子解析　技術係

係　　長　　三　寶　　誠（2021.4.1～）

研究基盤　技術係

係　　長　　森　　将　浩

研究力強化戦略室

特任専門員　　内　山　千保美

特任専門員　　岡　安　友　美

技術支援員・事務支援員

技術支援員　　粟　村　香奈子

〃　　石　神　久美子

〃　　磯　谷　ひとみ

〃　　市　橋　結　貴（2021.4.1～）

〃　　伊　藤　嘉　邦

〃　　犬　塚　小百合

〃　　岩　瀬　悦　子

〃　　梅　村　佳　子

〃　　浦　川　裕　乃

〃　　大　島　由　揮

〃　　大　西　皆　子

〃　　大　場　多津子

〃　　小　原　正　裕（～2022.3.31）

〃　　奥　　留　美（2021.4.1～）

〃　　小　林　明　子

〃　　小宮山　　果（2022.2.1～）

〃　　佐　治　俊　幸

〃　　佐　藤　明　子

〃　　重　本　久　実

〃　　城　地　智　子

〃　　鈴　木　由　美

〃　　竹　市　裕　介（～2021.10.31）

技術支援員　　土　屋　加　奈

〃　　内　藤　知津江

〃　　永　田　　治

〃　　新　関　奈央子

〃　　庭　木　由　紀（2021.10.1～）

〃　　橋　本　　恵

〃　　橋　本　　遥（～2022.3.31）

〃　　林　　めぐみ

〃　　肥　田　宗　政（2021.4.1～）

〃　　深　津　　葵（2021.4.1～）

〃　　福　岡　慶　子

〃　　藤　森　仁　美

〃　　不　退　久　恵

〃　　本　多　千　佳

〃　　水　野　みどり

〃　　山　内　恵　子

〃　　山　口　　登（2021.4.1～）

〃　　山　田　幸　子

〃　　山　本　美　華（2022.2.1～）

〃　　吉　田　史　香（2021.4.1～）

〃　　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

〃　　手　嶌　直　子（2021.4.1～）

〃　　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…… 9

概　要

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， Jodene Eldstrom，David Fedida）

THIK-1 チャネル活性化に関与する第 4 膜貫通部位の解析（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）

遷移金属イオン蛍光共鳴エネルギー移動法による Two-pore Na$^+$ channel 3 の解析（平澤輝一，立山充博，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），久保義弘，Ruth Murrell-Lagnado）

新規ウミカラマツ由来毒素の同定（下村拓史，久保義弘， 本間智寛）

生体膜研究部門…… 12

概　要

LGI1-ADAM22 複合体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， 深井周也，尾勝　圭，山形敦史， 三宝　誠，後藤哲平，平林真澄）

LGI1-ADAM22-MAGUK 複合体によるシナプス-ナノカラムの制御機構の解明
（深田優子，平野瑶子，稲橋宏樹，深田正紀， 南部　篤，知見聡美，佐野裕美， 三宝　誠，後藤哲平，平林真澄， 山形敦史，深井周也， Roger Nicoll）

知的障害と関連する脳内分泌蛋白質 LGI3 の性状解析（宮崎裕理，深田優子，深田正紀， 大塚　岳， 三宝　誠，平林真澄）

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）

LGI1-ADAM22-MAGUK 経路による海馬長期増強(LTP)の制御機構の解明（Xiumin Chen，Roger Nico，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，深井周也，深田優子，深田正紀）

ドーパミンとノルエピネフリンを同時可視化する新規赤色蛍光ドーパミンバイオセンサーの開発
（中本千尋，竹内倫徳， 青木一洋， 深田優子，深田正紀）

自己免疫性辺縁系脳炎患者由来の抗 $GABA_A$ 受容体抗体の作用機序の解明（Jakob Kreye，Harald Pruss， 深田優子，深田正紀）

生体分子構造研究部門…… 16

概　要

汎用型電子顕微鏡を用いた 3 Å 分解能を超えるタンパク質の単粒子構造解析
（香山容子，レイモンド・バートンスミス，宋　致弦，村田和義）

新型コロナウイルス中和 VHH ナノ抗体とスパイクタンパク質との結合様式の構造解析
（ソン チホン，村田和義， 芳賀　慧，戸高玲子，片山和彦）

プロテアソーム α 7 サブユニットが作るダブルリングの構造揺らぎをクライオ電子顕微鏡で解析
（ソン チホン，村田和義， 関口太一郎，加藤晃一， 佐藤匡史）

神経発達・再生機構研究部門…… 18

概　要

生後脳内を移動する新生ニューロンと周囲の細胞群の超微細構造の解析
（松本真実，久保山和哉，澤田雅人，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…… 20

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，若山友彦，古瀬幹夫）

クローディン欠失上皮細胞を用いたクローディン分子の機能解析（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）
上皮バリアのホメオスタシスにおける細胞競合の役割の解析（大谷哲久，古瀬幹夫）
タイトジャンクション分子 ZO-1 のドメイン機能解析（藤原佐知子，天野剛志，廣明秀一，古瀬幹夫）
クモ膜バリアの分子基盤の研究（長澤有裕，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）
細胞内膜系の選別輸送のメカニズムと発生シグナル制御（大橋正人，木下典行）

細胞生理部門 …… 23

概　要
Thermal Gradient Ring によるマウスの温度依存性行動の解析（宇治澤知代，笹島沙知子，加塩麻紀子，富永真琴）
ショウジョウバエ視細胞の TRP チャネル活性制御に寄与する脂質代謝物の同定
（曽我部隆彰，Bradshaw H，富永真琴，Leshman E，Chandel A，Montell C）
マウスにおいて侵害受容シグナルがミクログリアのキヌレイン経路を介して内毒素血症による死を防ぐ（丸山健太，富永真琴）
糖尿病性神経症モデルマウスの温度感受性変化（笹島沙知子，近藤正樹，神谷英紀，富永真琴）
蚊 TRPA1 の活性化温度閾値を決定するアミノ酸の同定（Nguyen THD，Chapman S，加塩麻紀子，齋藤くれあ，富永真琴）

心循環シグナル研究部門 …… 25

概　要
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，西山和宏，湯　肖康，西村明幸，平林真澄，西田基宏）
Drp1 のグルタチオン化による心筋老化抑制機構（西村明幸，湯　肖康，重田育照，西田基宏）
GPCR の新奇内在化機構（REDAI）の同定とその病態生理学的意義の解明（西山和宏，西村明幸，西田基宏）
低温プラズマ照射システイン溶液の虚血心筋保護の作用機序の解明
（下田　翔，田中智弘，西村明幸，佐々木渉太， 金子俊郎，西田基宏）

生殖・内分泌系発達機構研究部門 …… 27

概　要
グルコース飢餓において炭水化物食の選択的摂取を引き起こす脳内機構
（Nawarat Rattanajearakul，中島健一朗，近藤邦生，箕越靖彦）
皮下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用
（Misbah Rashid，近藤邦生，中島健一朗，箕越靖彦，George Palfalvi）
脂肪消費の概日リズムを制御する新たな視床下部神経細胞の同定（近藤邦生，中島健一朗，箕越靖彦）
ビタミン B1 の脳内感知メカニズムの解明（中島健一朗，近藤邦生，箕越靖彦）
シングル核解析による新規視床下部室傍核 CRH ニューロン群の発見
（菊地晶裕，近藤邦生，中島健一朗，箕越靖彦， 郷　康広）

分子神経免疫研究部門 …… 29

概　要
遠隔炎症 G 反射（長谷部理絵，村上正晃）
視細胞が関与する抑制性 G 反射（Andrea Stofkova， 村上正晃）

超微形態研究部門 …… 30

概　要
髄鞘形成・機能・疾患の構造化と制御（大野伸彦）
脱髄病変の解析効率の向上を目指した技術開発（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 …… 32

概　要

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

視覚情報処理研究部門…… 34

概　要
発達期マウス一次視覚野 6b 層ニューロンの視覚応答選択性（米田泰輔，林　健二，吉村由美子）
一酸化窒素合成酵素（NOS1）を発現する抑制性ニューロンの視覚反応性（林　健二，吉村由美子）
マウス一次視覚野 2/3 層における Fast spiking 抑制性細胞－錐体細胞間結合の発達（山本真理子，吉村由美子）

バイオフォトニクス研究部門…… 35

概　要
概日リズム，グルコース代謝，冬眠を制御する神経細胞~回路の光イメージング解析
（榎木亮介，廣　蒼太，李　明亮，張　菁圃，根本知己，金　尚宏，山口良文，戸田知得，江川　潔）
先端光技術を駆使した二光子高速超解像イメージング法の研究
（石井宏和，大友康平，坂本　丞，堤　元佐，榎木亮介，根本知己，横山弘之，佐藤俊一，小澤祐市，田辺綾乃，栗原　誠，橋本信幸）
画像解析による新規超解像法 SRRF の二光子イメージングへの適用（堤　元佐，髙橋泰伽，根本知己，小林健太郎）
二光子スピニングディスク共焦点顕微鏡の技術開発と生物学応用
（大友康平，中田開人，安宅光倫，堤　元佐，石井宏和，榎木亮介，根本知己，村田　隆，長谷部光泰，中村咲耶，泉　正範，上原亮太，木村　暁，木村幸太郎，渡辺実咲，関本弘之，中山博史）
高分子超薄膜のマウス脳 in vivo イメージング応用
（髙橋泰伽，大友康平，石井宏和，根本知己，揚妻正和，鍋倉淳一，岡村陽介）
二光子顕微鏡による生体組織の深部可視化に向けた計算補償光学技術の開発（髙橋泰伽，大友康平，根本知己，松田厚志）
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，山本　啓，青木一洋，山口大輔，高野勇一，雲林院　宏）
アドオン型光ニードル形成デバイスによる生体ボリュームイメージング
（大友康平，石井宏和，榎木亮介，根本知己，小澤祐市，佐藤俊一，張　菁圃，山崎美和子，渡辺雅彦）
高い二光子吸収断面積値を有する有機蛍光色素の探索
（大友康平，石井宏和，渡我部ゆき，根本知己，喬　琳，有澤光弘，鈴木健之）

多細胞回路動態研究部門…… 40

概　要
グリア細胞の生理機能解明（郭中天，進藤麻理子，杉尾翔太，加藤大輔，和氣弘明）
ホログラフィック顕微鏡の構築（郭中天，進藤麻理子，杉尾翔太，加藤大輔，和氣弘明）

システム脳科学研究領域

認知行動発達機構研究部門…… 41

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掲載の神経基盤解明（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）
他者への報酬は脳内でどのように処理されるのか（植松明子，磯田昌岐）

生体システム研究部門…… 43

概　要
大脳基底核における上肢運動 Stop 課題遂行中の活動調節（畑中伸彦，南部　篤）
喪失四肢の脳内表現（Pimpimon Nondhalee，畑中伸彦，南部　篤）

パーキンソン病モデルサルにおける小脳活動の変化（知見聡美，Waranan Wongmassang，長谷川　拓，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）
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）
ドパミン D2 受容体拮抗薬が大脳基底核の神経活動に及ぼす影響の解析（佐野裕美，阿部欣史，田中謙二，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）
化学遺伝学的手法を用いたニホンザル視床下核の活動抑制（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 …… 46

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）
持続的注意機能と脳波の同期ネットワークのゆらぎの HD-tDCS-EEG 同時計測による因果解明（岡崎由香，北城圭一）
脳波位相同期ネットワークの変化点検知手法の開発（横山　寛，北城圭一）
カルマンフィルタを用いた脳波位相の適応的時系列予測による脳状態依存刺激システムの構築（小野島隆之，北城圭一）

心理生理学研究部門 …… 48

概　要
触覚の時間予測誤差処理の一次体性感覚皮質レイヤー特異的活性化； 7 テスラ fMRI 研究
（福永雅喜，定藤規弘，楊　家家，于　英花， Laurentius Huber）
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， 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，小笠原香苗，定藤規弘）
みつめあいと共同注意の神経基盤の関連性：Dual MRI を用いた研究
（小池耕彦，土元翔平，小笠原香苗，橋口真帆，定藤規弘）
ひらめきに関係する神経基盤の解明：RAT 課題と RAVEN 課題を用いて
（小池耕彦，山本哲也，吉岡　歩，小笠原香苗，土元翔平，橋口真帆，原田　勉，定藤規弘）
円滑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）
内的な情報を他者と共有する神経基盤：Dual MRI を用いた研究
（小池耕彦，吉岡　歩，田邊宏樹，中川恵理，角谷基文，定藤規弘）
脳機能種間比較に向けた非ヒト霊長類 MRI / fMRI 解析環境の開発と適用（郷田直一，福永雅喜，定藤規弘）
第二言語文産出時における意味・統語処理の神経基盤　統語的プライミングを用いた fMRI による検討
（中川恵理，小池耕彦，角谷基文，島田浩二， 牧田　快，吉田晴世，横川博一，定藤規弘）
ハードウェア非依存型の汎用 HCP 前処理パイプラインの構築と提供（山本哲也，福永雅喜，定藤規弘）
二者間の社会的行動選択中の神経基盤：Dual fMRI を用いた研究
（土元翔平，小池耕彦，吉岡　歩，橋口真帆，小笠原香苗，山本哲也，福永雅樹，定藤規弘， 二宮太平，
則武　厚，磯田昌岐）
ヒト fMRI における安静時機能結合解析の新規手法の開発（吉本隆明，定藤規弘，近添淳一）
メタ認知プロセスに関わる神経基盤（南條啓孝，山本哲也，宮田航平，赤石れい，定藤規弘）
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）
社会的報酬によるアンダーマイニング効果の神経基盤（綾部宏明，小池耕彦，定藤規弘）
時間間隔を正確に知覚することに関連する脳領域（橋口真帆，小池耕彦，守田知代， 原田宗子，Denis Le Bihan，定藤規弘）
他者からの共感により相談者の不安が軽減することの神経基盤検討（橋口真帆，小池耕彦，定藤規弘）
高プレッシャー下でのパフォーマンス低下の神経基盤: 7 テスラ MRI を用いた検討
（小笠原香苗，小池耕彦，福永雅喜，吉岡　歩，定藤規弘）
視点取得に関連する神経基盤の検討（伊津野巧，小池耕彦，定藤規弘）

感覚認知情報研究部門 …… 56

概　要
緑内障が白質線維束に及ぼす影響の検討
（小川俊平，堀口浩史，増田洋一郎，吉川啓司，中野　匡， 竹村浩昌， 宮崎　淳，松元健二）
定量的 MRI を用いたヒト外側膝状体の下位領域の計測（大石浩輝，竹村浩昌，天野　薫）

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

研究連携センター…… 58

概　要

共同利用研究推進室…… 58

概　要

学術研究支援室…… 59

概　要

NBR 事業推進室…… 60

概　要

脳機能計測・支援センター

多光子顕微鏡室…… 61

概　要
シナプス可塑性における短時間-長時間変換シグナルのメカニズムの解明（長澤裕太郎，佐藤愛子，平田華代，村越秀治）
親水性を大きく改善した蛍光タンパク質の開発（村越秀治，小杉貴洋）
新規レーザーによる 3/4 光子顕微鏡の開発（村越秀治，植田大海，藤　貴夫）
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，長澤裕太郎，佐藤愛子，村越秀治）

電子顕微鏡室（窪田グループ）…… 62

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）
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）
スパインー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）

生体機能情報解析室…… 64

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）
主観的時間知覚が将来の報酬の選好に及ぼす影響の検討
（新滝玲子，田中大輝，岡安　萌，鈴木真介， 吉本隆明，定藤規弘，近添淳一，地村弘二）

時系列細胞現象解析室…… 65

概　要
皮質運動野における学習形成の制御機構（大塚　岳）
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： Ca^{2+}チャネル機能亢進作用の関与の検討
（佐竹伸一郎）

行動・代謝分子解析センター

ウィルスベクター開発室…… 67

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 …… 68

概　要

ラット体内でマウス多能性幹細胞から精子作製（小林俊寛，平林真澄）

多階層生理機能解析室 …… 68

概　要

ジストニアモデルマウスの筋活動解析（佐野裕美，吉岡　望，知見聡美，竹林浩秀，南部　篤）

乳酸輸送体制御タンパク質 Basigin による代謝調節作用
（龍華章裕，小杉智規，有馬　寛，丸山彰一，門松健治，近藤邦生，箕越靖彦）

リン酸化非依存的・レドックス依存的 GPCR 内在化機構に着目した抗炎症作用（西山和宏，加藤百合，西村明幸，西田基宏）

情動，学習・記憶に関わる行動解析（山肩葉子，西島和俊）

カルモジュリンキナーゼ II 活性と情動関連行動（山肩葉子，柳川右千夫

動物資源共同利用研究センター …… 71

概　要

技術課 …… 74

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，山口　登）

(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　　（山田幸子，肥田宗政，山田　元）

(2) 電子顕微鏡室（生理研・基生研共通施設）　　（石原博美，山田　元，山口　登，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。

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）（和歌山県立医科大学医学部薬理学講座），久保義弘
Jodene Eldstrom，David Fedida
（Department of Anesthesiology，Pharmacology and Therapeutics, University of British Columbia，Vancouver，Canada）

G タンパク質結合型内向き整流性 K^+チャネル（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 症候群等の遺伝性疾患の病因である。これまでの研究では，変異により K^+ とイオン選択性フィルター（SF）の結合の安定性が乱れ，異常なイオン選択性が起こると想定されてきたが，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 部位の G156S 変異体等のイオン選択性異常を示す変異体の，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 変異体においては，K^+ に比して，Li^+ と Na^+ と Methyl- ammonium に対する選択性が高いこと，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ることが明らかになった。これらの結果は，G156S の変異により，通常の SF の構築するチャネル中央に位置するイオン透過路に加えて，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を示唆する。さらに，アフリカツメガエル卵母細胞を発現系として用いて G156S 変異体の単一チャネル電流を，細胞外溶液に K^+，Li^+，K^+と Li^+ を用いて，また TPN-Q 非存在下，存在下で記録することにより，TPN-Q によりブロックされる K^+ 電流と，TPN-Q でブロックされない Li^+ 電流があることが，単一チャネルレベルで確認された。さらに，単一チャネル記録のサブレベルの詳細な解析により，第二のイオン透過路は 4 量体において 4 つ存在することが示された。S148F, T151A 等の，背後から SF を支えるポアヘリックス上の変異体でも第 2 のイオン透過路が見られたことと併せると，4 量体で 4

つ存在するポアヘリックス近傍に第 2 のイオン透過路は形成されていると考えられた。本研究により，従来と全く異なる新規機構である「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」が明らかになった。

THIK-1 チャネル活性化に関与する第４膜貫通部位の解析

立山充博，久保義弘

2 ポア型カリウム（K2P）チャネルファミリーに属する THIK-1 チャネルは，4 つの膜貫通部位と 2 つのポア領域を有し，アラキドン酸（AA）により活性化する。我々は，さらに，Gq 共役型受容体（Gq-R）が THIK-1 チャネルを活性化することを見出した。しかしながら，THIK-1 の活性化機構は不明であった。一方，K2P チャネルの活性制御に第 4 膜貫通部位（M4）の構造変化が関与することが示唆されている。そこで，紫外線照射により近傍のアミノ酸残基と反応する人工光クロスリンクアミノ酸（4-azido-phenylalanine,AzP）を利用し M4 の構造変化を阻害することでチャネル活性化を阻害できるかどうかを検証した。アンバーコドンとこれに対応する tRNA を利用し M4 の任意の部位への AzP 導入し，AzP 導入チャネルを CHO 細胞に発現させホールセルパッチクランプ法により電流を記録した。11 種の AzP 導入チャネルは，カリウムチャネル活性，AA 応答および Gq-R 応答を維持していたが，紫外線照射後，Y273 および I281 に AzP を導入したチャネルにおいて，AA 応答と Gq-R 応答の有意な減弱が見られた。これらの結果は，AzP の光クロスリンク反応により THIK-1 チャネルの構造が固定され，AA 投与や Gq-R 刺激による構造変化が阻害される部位が M4 に存在する可能性を示すものである。即ち，THIK-1 チャネルの活性化に M4 が重要な役割を担うことが示唆された。

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 つ有するという特徴的な分子構造を持つ。このうちドメイン I はホスホイノシチド（PI）結合領域を有する一方，ドメイン II は膜電位感知に主要な役割を果たし，これら２つの刺激が統合されることでチャネルの開口が決定される。特にドメイン II においては，4 番目のヘリックス（DII-S4）が膜電位に応じて構造変化することが膜電位感受性の実体である。我々は，*Xenopus tropicalis* 由来の TPC サブタイプ 3 (XtTPC3) を対象に，二電極膜電位固定法を利用した電気生理学的な解析を行い，TPC の PI および膜電位刺激を統合するメカニズムの解析を行った。我々は，F514R という DII-S4 のアミノ酸置換を行った変異体において，その膜電位依存性が，野生型と同様の成分に加え，非常に低い膜電位でも開口するような二段階の活性化パターンを示すことを見出した。この成分は，F514R に対して付加的に DII-S2 上の Glu447 への変異を導入する（E447Q/F514R）と消失した。このことは，F514R における低電位側でのチャネル開口は，変異導入された Arg514 の正の電荷と元々存在する Glu447 が十分近い距離にあるため新たに静電相互作用が形成されること，これにより何らかの開状態が誘導されることを示唆する。興味深いことに，この低電位側でのチャネル開口は XtTPC3 への非結合状態では消失した。このことは，PI 存在下でのみこの特殊な開状態が実現できることを示唆している。以上の結果は，電位感知を行う DII と PI 結合を担う DI が関わる TPC3 の複雑な開閉メカニズムの一端を示すものである。

遷移金属イオン蛍光共鳴エネルギー移動法による Two-pore Na^+ channel 3 の解析

平澤輝一，立山充博，下村拓史，久保義弘，

膜電位依存性カチオンチャネルは 4 番目の膜貫通ヘリックス（S4）に複数の正の荷電残基を有しており，膜電位変化に応じてこの S4 が構造変化を起こす。Two-pore Na^+ channel (TPC) 3 は単量体中に 2 つの異なる S4 を持つが，主に 2 番目の S4 (2nd S4) が膜電位センサーとして機能する。また TPC3 はホスホイノシチド（PI）による活性制御も受ける。我々はこれまでに，PI によって 2nd S4 の膜電位依存的な構造変化が亢進されることを明らかにした。しかし PI 結合時と非結合時に 2nd S4 が具体的にどのように動いているのかについて不明な点が多く，PI による 2nd S4 の制御機構が完全には理解されていない。そこで本研究では，蛍光分子と遷移金属イオン（tm）の間の蛍光共鳴エネルギー移動（FRET）の変化を指標に，2nd S4 の構造変化を具体的に捉えることができる tmFRET の実験を行う。FRET ペアとして蛍光非天然アミノ酸の Anap と，システイン（Cys）修飾が可能な TETAC-Cu^{2+} 錯体を用いる。これまでに，2nd S4 の細胞外領域に Anap を導入した TPC3 が，ツメガエル卵母細胞により良好に発現されることを見出した。現在，Anap 導入部位の周辺に位置する残基を Cys に変異させた TPC3 を，卵母細胞に発現させて TETAC-Cu^{2+} 錯体でラベルし，Voltage Clamp Fluorometry 法により FRET 変化を測定している。

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

Sigma1 受容体 (S1R) 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, S1R 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，散発的な報告にとどまっている。本研究は，膜タンパク質の発現や機能に対する S1R 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して開始した。これまでに，種々のイオンチャネルの電流量に対する S1R の共発現の作用を，HEK293T 細胞を発現系として用いてパッチクランプ法により電気生理学的に解析した。その中で Gi/o 結合型受容体の機能に対する S1R 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，GIRK1/2 チャネルではなく，m2 型ムスカリニック受容体（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 に特異的であることが示された。そこで，m2R と m4R のキメラ分子を作成して機能解析を行い，S1R の m2R に対する抑制作用の構造基盤が，細胞外第 2 ループにあることを明らかにした。この領域の点変異体を解析したところ，m2R の E172P 変異体，E175Q 変異体では抑制効果が失われた。そのため，m2R の Glu172 および Glu175 が，S1R の m2R に対する抑制作用の構造基盤であることが明らかになった。

新規ウミカラマツ由来毒素の同定

下村拓史，久保義弘
本間智寛（東海大学，生物学部）

数多くの海洋性動物が毒素を有し，そのいくつかは古来より毒あるいは有用な薬として人類にも恩恵をもたらしてきた。一例として，イソギンチャクなどの刺胞動物はイオンチャネル阻害剤などの毒素を持つことが知られている。本研究では，同じく刺胞動物の一種でウミカラマツ科に属するウミカラマツおよびムチカラマツより得られた毒素について，ツメガエル卵母細胞を用いた電流測定系による毒素活性の測定を行った。2 種のカラマツ抽出液に対して，サワガニを用いたスクリーニングと各種精製処理を組み合わせることで，麻痺・致死活性を示す粗精製画分が得られた。この画分溶液を細胞外液で希釈して卵母細胞に投与したところ，投与によりチャネル活性を生じるものが 2 種のカラマツ抽出液でともに同定された。投与対象の卵母細胞には異所的にチャネルを発現させていないため，この毒素はイオンチャネルの活性化毒あるいは阻害毒などではなく，チャネル形成毒であると考えられる。この毒素は通常は水溶性ペプチドとして存在しているが，標的の細胞膜に組み込まれると多量体を形成してイオンなどを透過する孔を形成してしまう。活性を示した画分を SDS-PAGE により分離したところ，毒素に相当すると想定されるバンドが確認された。分子量などから判断して，これらは新規のペプチド毒素と推定される。今後は，この新規毒素のさらなる精製とペプチド・シークエンスによるアミノ酸配列の決定，詳細な作用機序の解析を進める予定である。

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 複合体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
深井周也，尾勝　圭（京都大学），山形敦史（理化学研究所）
三宝　誠，後藤哲平，平林真澄（遺伝子改変動物作製室）

てんかんのおよそ 30%は難治性のてんかんといわれ，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 複合体が減少することで，てんかんが誘引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の解明を試みた。そして，ADAM22 のリン酸化依存的な 14-3-3 との結合が ADAM22 のエンドサイトーシスを抑制し，LGI1-ADAM22 複合体を安定化することを突き止めた。さらに，様々な量の LGI1 と ADAM22 を発現するマウス系統群を作製し，てんかん発症を抑制する LGI1 と ADAM22 の蛋白質量を明らかにした。以上のことから，LGI1–ADAM22 複合体の量が脳の興奮性を決定する主要な要因であることを明らかにし，その増加が脳の抗てんかん作用に繋がることを提案した。

（Yokoi N et al. *Cell Rep* 2021, 37, 110107）

LGI1-ADAM22-MAGUK 複合体によるシナプス-ナノカラムの制御機構の解明

深田優子，平野瑶子，稲橋宏樹，深田正紀
南部　篤，知見聡美，佐野裕美（生体システム研究部門）
三宝　誠，後藤哲平，平林真澄（遺伝子改変動物作製室）
山形敦史（理化学研究所），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）

近年，シナプス前部と後部のシナプス-ナノドメインがナノメートル精度で対面整列することにより，効率のよいシナプス伝達が可能となることが提唱されている（シナプス-ナノカラム仮説）。我々は脳組織切片の超解像イメージングにより，LGI1 と ADAM22 を含む高次複合体がシナプス間隙を跨いで存在することを見出した。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，足場蛋白質 MAGUK 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，そのマウスが致死性てんかん発作を呈することを見出した（南部グループとの共同研究）。さらに，電気生理学的実験によって，このマウスの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）。以上の結果から，LGI1–ADAM22–MAGUK 複合体がナノカラム形成およびシナプス伝達を制御し，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）

知的障害と関連する脳内分泌蛋白質 LGI3 の性状解析

宮﨑裕理，深田優子，深田正紀
大塚　岳（時系列細胞現象解析室）
三宝　誠，平林真澄（遺伝子改変動物作製室）

LGI ファミリー遺伝子（LGI1～4）の変異は中枢及び末梢神経系の異なる神経疾患を引き起こすことが知られている。近年のヒト遺伝学的研究によって，LGI3 遺伝子変異と遺伝性神経疾患（知的障害）の関連性が報告され，

LGI3 が正常な脳活動に寄与している可能性が示された。しかし，LGI3 の生理機能は十分に理解されておらず，特に LGI3 の脳内発現，細胞内分布，結合蛋白質（受容体）等については未だ不明である。そこで本研究では，LGI3 の生理機能を解明することを目指した。我々は LGI3 遺伝子にエピトープタグを付加したノックインマウスを作製した（平林グループとの共同研究）。2021 年度は，このノックインマウスを用いて，マウス脳内の LGI3 結合タンパク質の網羅的な同定を試み，LGI3 が LGI1･LGI4 の受容体である ADAM22 ファミリータンパク質と相互作用することを見出した。

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，興奮性シナプス後肥厚部（PSD）に濃縮し，AMPA 受容体など様々なシナプス膜タンパク質を裏打ちすることにより，シナプス伝達やシナプス形成の中核的な役割を果たす。PSD-95 が PSD に局在，濃縮するために，パルミトイル化脂質修飾が必要不可欠である。そして，パルミトイル化修飾が可逆反応であり，外界刺激に依存して変化することからその制御機構の解明が求められている。最近，我々は PSD-95 脱パルミトイル化酵素として ABHD17A/B/C を同定した。しかし，ABHD17 の脳内発現，細胞内局在，基質特異性，活性制御機構，生理機能については未だ不明である。本研究では ABHD17 にタグを挿入したノックインマウスを用いて，ABHD17 に相互作用する分子の探索を行った。2021 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。

LGI1-ADAM22-MAGUK 経路による海馬長期増強(LTP)の制御機構の解明

Xiumin Chen, Roger Nicol（カリフォルニア大学サンフランシスコ校，米国）
深田優子，深田正紀

海馬の長期増強（LTP, long-term potentiation）は，古くからシナプス可塑性の実験モデルとして活用され，記憶・学習の分子基盤と考えられてきた。近年，LTP の分子メカニズムとして，神経活動依存的な AMPA 受容体のシナプス後膜への輸送が重要視されている。本研究では，AMPA 受容体のシナプス後膜でのアンカリングを担う MAGUK 蛋白質の LTP 誘導における役割を検討し，(1) PSD-95，PSD-93，SAP-102 の 3 つの MAGUK 蛋白質が機能重複性を有しつつ，LTP 誘導に必須の役割を果たすこと，(2) PSD-95 と PSD-93 が LGI1-ADAM22 を介して AMPA 受容体をシナプスでアンカリングする一方，SAP102 は未知の経路を介して機能することを明らかにした。

(Chen X et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 2021, 118, e2107585118)

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），深井周也（京都大学）
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，シナプス形成に重要

な役割を果たす。NLGN3 遺伝子に生じる様々な変異が自閉症の発症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 のプロテオミクス解析を行い，Neuroligin3 を PTPδ の新規結合蛋白質として同定した。さらに，吉田博士らにより，Neuroligin3 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，Neuroligin3 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, Neuroligin3 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ことが示唆された。

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

ドーパミンとノルエピネフリンを同時可視化する新規赤色蛍光ドーパミンバイオセンサーの開発

中本千尋，竹内倫徳（オーフス大学，デンマーク）
青木一洋（基礎生物学研究所）
深田優子，深田正紀

ドーパミンとノルエピネフリンは類似した化学構造を持ち，多くの脳機能において互いに関与しあっていると考えられてる。一方，それらを生体内で特異的に，かつ高い感度並びに時間的・空間的分解能で観察することは困難であった。今回, デンマーク オーフス大学の竹内倫徳博士らにより，赤色蛍光タンパク質を用いたドーパミンバイオセンサー「R-GenGAR-DA」が開発された。本共同研究では，ラット初代培養神経細胞において，この赤色蛍光ドーパミンセンサーがドーパミンに対して高い選択性を有することを明らかにした。また，既報の緑色蛍光ノルエピネフリンバイオセンサーと共に用いることで，ひとつの細胞でドーパミンとノルエピネフリンを同時に可視化することに成功した。

（Nakamoto C et al. *Mol Brain* 2021, 14, 173）

自己免疫性辺縁系脳炎患者由来の抗 $GABA_A$ 受容体抗体の作用機序の解明

Jakob Kreye，Harald Pruss（German Center for Neurodegenerative Diseases，独国）
深田優子，深田正紀

我々はこれまでに, 神経分泌蛋白質 LGI1 や $GABA_A$ 受容体に対する自己抗体が自己免疫性脳炎を引きおこすことを報告してきた。今回，ドイツ神経変性疾患センターの Prüss 博士らにより，患者脳脊髄液から複数の抗 $GABA_A$ 受容体自己抗体が組換え型モノクローナル抗体として単離され，それらの性状解析を共同研究として進めた。我々は抗 $GABA_A$ 受容体自己抗体の標的抗原（サブユニット）を cell-surface binding assay にて同定し，作用点を明らかにした。一方，Prüss 博士らは電気生理学的解析により，これら自己抗体の阻害効果を明らかにした。また，Prüss 博士らは抗 $GABA_A$ 受容体自己抗体をマウス脳室内に投与することによって，痙攣症状が誘引されることを見出した。

（Kreye J et al. *J Exp Med* 2021, 218, e20210012）

生体分子構造研究部門

【概要】

生体分子構造研究部門は，今年度よりスタートした。200 kV クラオ EM を中心とする先端電子顕微鏡機器を駆使して，生体組織や細菌などの細胞性試料の立体形態観察と，ウイルス粒子，タンパク質複合体などの無染色氷包埋試料による高分解能三次元構造解析を行っている。今年度は生理研開所以来管理運用されてきた医学生物学専用超高圧電子顕微鏡を，その経年劣化とメーカーサポート終了により停止して廃棄した。そして，その跡地を改修して，生命創成探究センターが計画する 300 kV クライオ EM とそのトモグラフィー試料作製装置の設置を行った。クライオ EM による共同研究は，タンパク質複合体からウイルス粒子の高分解能単粒子構造解析などに関する課題で，生理研一般共同研究と計画共同研究ならびに先端バイオイメージング研究支援（ABiS）を通して合計 20 件行われた。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。

汎用型電子顕微鏡を用いた 3 Å 分解能を超えるタンパク質の単粒子構造解析

香山容子，レイモンド・バートンスミス，宋　致弘，村田和義

現在，クライオ電子顕微鏡による単粒子解析は，創薬のためのタンパク質の構造決定において，重要な手法の一つになりつつある。ところが，これには数万以上のタンパク質粒子像を撮影して平均化する必要があり，すべて専用のクライオ電子顕微鏡装置により行われてきた。しかし，これらの装置は数億円以上し，国内では十分に普及が進んでいないのが現状である。

そこで本研究では，国内でも大学や研究機関において導入が進んでいる汎用型の電子顕微鏡を活用して，タンパク質の構造決定ができないかどうかを検証した。その結果，電子顕微鏡の倍率や露光条件などを最適化することにより，アポフェリチンにおいて構造決定に必要な 3 Å（0.3 nm）分解能を超える解析に成功した。得られたアポフェリチンの構造モデルからは，このタンパク質を構成するアミノ酸の個々の側鎖の形や向きも正確に決定することができた。また自動画像収集ソフトウエアを併用することで，画像撮影枚数を 3 倍程度増やすことができ，構造対称性が低い可溶性タンパク質である β ガラクトシダーゼでも，3.6 Å（0.36 nm）の構造解析が行えた。

本成果により，高価な専用のクライオ電子顕微鏡装置がなくても，必要な条件を最適化することにより，ある程度のタンパク質の構造解析が行えることが示された。

Kayama Y, Burton-Smith RN, Song C, Terahara N, Kato T, Murata K* (2021) Below 3 Å structure of apoferritin using a multipurpose TEM with a side entry cryoholder. Sci Rep 11, 8395.

新型コロナウイルス中和 VHH ナノ抗体とスパイクタンパク質との結合様式の構造解析

ソン チホン，村田和義
芳賀　慧，戸高玲子，片山和彦（北里大学）

現在，世界中で猛威を振るう新型ウイルス感染症に対して，効果的な予防薬や治療薬の開発が喫緊の課題である。そのような中，共同研究先の北里大学の片山教授のグループは，（株）花王，（株）EME とともに新型コロナウイルス感染を効果的に中和する VHH ナノ抗体の作製に成功した。この VHH ナノ中和抗体は構造的に非常に安定であるため，点鼻薬として使用することで感染細胞の拡大を防ぎ，コロナ感染症を治癒する効果が期待される。本共同研究では，この VHH ナノ抗体がどのように新型コロナウイルスに結合して，感染を抑制するのか

を，そのスパイクタンパク質と抗体との複合体をクライオ電子顕微鏡で単粒子解析することによって明らかにした。

結果，この VHH ナノ抗体は，スパイクタンパク質上の受容体結合ドメイン（RBD）とウイルスの膜融合に関与する N 末端ドメインとの間に結合することがわかった。このことから，この VHH ナノ抗体は，新型コロナウイルスがホスト細胞表面の ACE2 受容体と結合することを直接阻害するわけではなく，その後のウイルスとホスト細胞膜との膜融合を阻害することがわかった。

この成果により，この VHH 中和抗体が，複数の変異株に対しても有効である理由が明らかにった。さらに，今後出現するであろう変異株に対しても，新たな対策を立てられるようになった。

Haga K, Takai-Todaka R, Matsumura Y, Song C, Takano T, Tojo T, Nagami A, Ishida Y, Masaki H, Tsuchiya M, Ebisudani T, Sugimoto S, Sato T, Yasuda H, Fukunaga K, Sawada A, Nemoto N, Murata K, Morimoto T, Katayama K (2021) Nasal delivery of single-domain antibody improves symptoms of SARS-CoV-2 infection in an animal model. PLoS Pathog 17(10), e1009542.

プロテアソーム α7 サブユニットが作るダブルリングの構造揺らぎをクライオ電子顕微鏡で解析

ソン チホン，村田和義
関口太一郎，加藤晃一（ExCELLS／分子研）
佐藤匡史（名古屋市立大学）

プロテアソームは，細胞の中で不要となったタンパク質を分解する掃除役のタンパク質複合体で，古細菌からヒトに至る細胞中に幅広く分布している。プロテアソームの構造は，それぞれ 7 個の α と β サブユニットが作る 2 種類のリングが，α β β α と並んだ四重の筒型構造を形成し，この中に不要なタンパク質を取り込んで分解する。ヒトのプロテアソームでは，この α と β のリングが 1 から 7 と名付けられたそれぞれ異なるサブユニットで構成されており，これが一定の順番に並んで各リングを形成する。しかし，このような複雑なリング構造がどのようにして形成されるのかはわかっていない。

本研究の共同研究者である生命創成探究センターの加藤教授のグループは，これまでにプロテアソームの構成サブユニットのうち α7 が単独でプロテアソームに似た二重のリング構造を形成することを発見している。また，これに α4 や α6 を加えると，二重のリングが壊されることも見出した。本研究では，この α7 二重リングの機能を明らかにするため，その溶液中での構造をクライオ電子顕微鏡単粒子解析という方法を用いて調べた。

本研究の結果，α7 二重リングは，主にリングの重なり方の異なる 3 種類の構造を示すことが明らかになった。そしてこれらをその形から，Symmetric 型，Dislocated 型，Open 型と名付けた。これまで α7 二重リングの構造は，X 線結晶解析により報告されているが，今回の解析で，最もこれに近い Symmetric 型では，結晶構造に比べてリングどうしが 3Å 離れて 15 度時計方向に回転して重なっていることがわかった。そして，Dislocated 型では二重リングがさらに 11Å ずれて重なっており，Open 型ではこの二重リングが調理された二枚貝のように約 40 度開いた構造をしていることがわかった。これらのことから，α7 二重リングは，溶液中でダイナミックに揺らいだ構造を取ることが明らかになった。

本成果は，α7 二重リングの多彩な形態変化を明らかにしただけでなく，複雑なプロテアソームの形成メカニズムの一端を知るための重要な手がかりを得た。今後さらに研究を進めることによって，プロテアソーム全体の形成メカニズムが明らかにできるとともに，プロテアソームの医療や産業への利用を大きく加速するものと期待される。

Song C, Satoh T, Sekiguchi T, Kato K*, Murata K* (2021) Structural fluctuations of the human proteasome α7 homo-tetradecamer double ring imply the proteasomal α-ring assembly mechanism. Int J Mol Sci 22(9), 4519.

神経発達・再生機構研究部門

【概要】

近年の研究により，生後の脳においても神経幹細胞が存在し，持続的に新生ニューロンやグリア細胞が産生されていることが明らかになった。生理的条件下では，これらの神経新生のメカニズムが脳の発達や恒常性の維持に関与している。一方，脳外傷や脳梗塞などの病態的条件下では，このメカニズムが活性化して，傷害によって失われたニューロンの一部を再生させる。本研究部門では，マウスを用いて生後脳における新生ニューロンやグリア細胞の産生・移動・成熟メカニズム [1-3] および，脳傷害後のニューロン・グリア細胞の再生や脳機能の回復を賦活化する操作技術の開発 [4-6] を進めている。さらに，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および周囲細胞群の微細形態解析（古瀬幹夫教授，大野伸彦客員教授と共同），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神経新生メカニズムとその意義を解明し，様々な中枢神経系疾患に対する新たな治療法の開発に貢献することを目指している。

1. Sawada et al., *EMBO J* (2018) **37**: e97404
2. Matsumoto et al., *J Neurosci* (2019) **39**: 9967-9988
3. Kurematsu et al., *J Exp Med* (2022) **219**: e20202304
4. Fujioka et al., *EBioMedicine* (2017) **16**: 195-203
5. Jinnou et al., *Cell Stem Cell* (2018) **22**: 128-137
6. Kaneko et al., *Science Adv* (2018) **4**: eaav0618
7. Akter et al., *Cereb Cortex* (2020) **30**: 4092-4109
8. Kaneko et al., *Mol Brain* (2020) **13**: 98.

生後脳内を移動する新生ニューロンと周囲の細胞群の超微細構造の解析

松本真実，久保山和哉，澤田雅人，金子奈穂子，澤本和延

生後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し，適切な場所で移動を停止させ，分化を開始する。また，脳傷害時には傷害部位へ新生ニューロンが移動し，ごく一部の新生ニューロンが成熟する。しかし，正常脳および傷害脳内の新生ニューロンの移動維持・停止過程における接着様式および制御メカニズムは未だ不明である。

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

本年度は，新生仔大脳皮質傷害モデルおよび成体脳梗塞モデルにおいて，移動する新生ニューロンと足場になりうる周囲の細胞群との相互作用について，その接着状態を解析した。また，出生時イベントが生後の脳室下帯の細胞構築に与える影響について解析した。さらに，移動を停止した新生ニューロンのシナプス成熟過程において，ミクログリアと新生ニューロンのシナプスの相互作用および貪食形態を詳細に解析し，ミクログリアがフォスファチジルセリン依存的に新生ニューロンのシナプスを貪食除去することを明らかにした (Kurematsu et al., *J Exp Med*, 2022)。これらの解析から，生後脳における新生ニューロンの移動・成熟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，嗅球における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多くの点で未解明である。

本研究ではニューロン再生における微小環境として血管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ている。本年度は，多光子顕微鏡を用いて嗅球ニューロンを長期間観察することで，ニューロン再生の様子を捉え，血流との関連性を調べた。また，ミクログリアが新生ニューロンのシナプスをフォスファチジルセリン依存的に貪食することで，成熟過程に寄与することを見出し，その動態を多光子顕微鏡を用いた生体ライブイメージングで捉えることに成功した（Kurematsu et al., *J Exp Med*, 2022）。これらの結果は，ニューロン再生過程において血流とミクログリアが重要な役割を果たすことを示唆している。

生体機能調節研究領域

細胞構造研究部門

【概要】

体の様々な器官を構成する上皮は，二つの空間を隔てつつ選択的な物質輸送を行うことにより各器官の液性環境の恒常性を維持している。細胞構造研究部門では，この上皮の本質的な役割に寄与する上皮のバリア機能と透過性制御のしくみを理解するために，細胞間隙における物質透過を制御する細胞間結合の分子構築と機能の解明を進めている。研究の対象はタイトジャンクション（密着結合；TJ），３つの上皮細胞の角が接する部分に形成されるトリセルラータイトジャンクション（tTJ），腸管上皮のバリア機能をショウジョウバエモデルで研究するためのセプテートジャンクション（SJ）である。研究グループで同定してきた細胞間結合の構成分子の機能解析を中心に，分子細胞生物学，遺伝学，電子顕微鏡形態学と生理学的手法を組み合わせて研究を行っている。2021 年度は，tTJ 構成分子アンギュリンの機能解析でこれまでに蓄積されたデータをまとめて tTJ 形成の分子機構の新しいモデルを提唱するとともに，接着分子カドヘリンにより形成される細胞間結合であるアドヘレンスジャンクションが上皮細胞の 3 細胞結合領域において tTJ に付随して存在すること見出して論文として発表した。また，これまでの TJ 研究から派生した張力を介する上皮恒常性に関する研究，SJ による腸幹細胞の増殖制御に関する研究も着実に進展している。研究所内の配置換えにより，2021 年度より，細胞内膜系の選別輸送を研究する大橋正人助教が部門に加わった。

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（熊本大学），若山友彦（熊本大学），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。前年度までの研究と合わせて，tTJ 構成分子のうち，アンギュリンファミリーが 3 細胞結合の細胞膜の閉塞に寄与する一方，トリセルリンは細胞膜の閉塞には直接関与せず，細胞膜内で tTJ に TJ ストランドが連結するために必要であることを明らかにした。さらに，アンギュリンが TJ の足場タンパク質 ZO-1 との相互作用を介して TJ の膜タンパク質クローディンをリクルートすることも含めて，tTJ 形成の分子機構のモデルをこれまでにない明解な形で提唱した。また，tTJ 構造に付随してカドヘリン接着により形成される細胞間結合アドヘレンスジャンクションが 3 細胞結合領域に存在することを見出した。（Sugawara et al.. *J. Cell Biol*.2021）

クローディン欠失上皮細胞を用いたクローディン分子の機能解析

古瀬幹夫

2019 年に発表したクローディン欠失上皮細胞は，イヌ腎臓上皮由来細胞株 MDCK 細胞から発現する主要なクローディンサブタイプ全てをゲノム編集により欠失させることにより TJ を失った細胞である。この細胞にクローディンを再発現させると TJ が再構成される。この実験系は，クローディンの各サブタイプの機能を比較し

たり，クローディン分子そのものの機能解析に有用である。そこで，特定のドメインや翻訳後修飾の TJ 形成におけるクローディン分子の意義を知るために，TJ の足場タンパク質と相互作用するC末端を欠失させたクローディン，パルミトイル化を受けるシステイン残基を変異させたクローディン，ユビキチン化を受けることが予想されるリジンを変異させたクローディンをそれぞれ再発現させた細胞株を樹立した。これら細胞を形態学的に解析することにより，TJ 形成におけるクローディン分子の機能解析を進める。

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一定の閾値以上に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。クローディン・JAM-A 欠損細胞における細胞間接着装置の不安定化の分子機構を解析した結果，アクチン繊維の重合およびクローディン・JAM-A のトランス相互作用とアクチン繊維との連結の重要性が示唆された。これらの結果から，クローディンと JAM-A は密着結合とアクチン繊維とを連関させることにより力学的ストレスに対する細胞間接着構造の安定性を保つことが示唆された。

上皮バリアのホメオスタシスにおける細胞競合の役割の解析

大谷哲久，古瀬幹夫

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

タイトジャンクション分子 ZO-1 のドメイン機能解析

藤原佐知子，天野剛志（名古屋大学），廣明秀一（名古屋大学），古瀬幹夫

タイトジャンクションの足場タンパク質である ZO-1 の機能解析にはドメイン欠失の手法が取られてきたが，このアプローチではタンパク質構造変化に伴う二次的影響を無視できない。そこで我々は，構造生物学の知見を利用し

て立体構造予測に基づいた点変異導入により標的タンパク質との結合機能を喪失した ZO-1 変異体の作製を試みた。その結果, N 末の 3 つの PDZ ドメインについて 3〜4 アミノ酸変異でそれぞれの結合タンパク質との結合能が低下もしくは喪失することを見出した。これらの ZO-1 点変異について，ZO-1 の局在や機能に及ぼす影響を検証したところ，単独の PDZ ドメインが働く場合および複数の PDZ ドメインの協調した働きが必要な場合があることが分かった。ZO-1 のような複数のドメインを保有するが故に多様な機能を持つ分子を解析するうえで, 立体構造に基づいた点変異導入は有用な技術であり, 今後さらなる機能解析への活用が期待できる。

クモ膜バリアの分子基盤の研究

長澤有裕，古瀬幹夫

クモ膜は脳の表層を覆うバリアであり，脳内の液性環境の恒常性維持に重要な役割を果たすと考えられる。ところが，1970 年代の形態学的な記述以降，バリアとしてのクモ膜の構造と機能はほとんど研究されておらず，その分子実体は不明であり，生理学的意義も実証されていない。そこで我々は，TJ および tTJ の観点からクモ膜バリアの構造と機能を解明する研究を開始した。マウス脳を免疫学的手法で解析することにより，E–カドヘリンがクモ膜のよいマーカーとなること, TJ の構成分子としてクローディン 11，オクルディン，ZO-1 が検出されること，tTJ 構成分子としてアンギュリンファミリーが検出されることを見出した。また，電子顕微鏡観察により，TJ, tTJ と思われる細胞間接着構造を確認した。今後，免疫電子顕微鏡によるこれら分子の局在解析，遺伝子欠失マウスにおける細胞間接着構造の変化やクモ膜バリアの評価を実施する。

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として機能する細胞接着構造である。私たちは，ショウジョウバエ消化管の SJ 構成膜タンパク質として新たに Hoka を同定し，この分子が SJ 形成，消化管上皮バリア機能と個体の発生に必須であることを明らかにした。ショウジョウバエ成虫の消化管恒常性における Hoka の役割を解析するために，成虫消化管の Hoka の発現を RNAi により抑制したところ，消化管の幹細胞の著しい増殖亢進と上皮細胞の腫瘍化が観察された。さらに，そのような消化管の上皮細胞では，aPKC の発現が大きく上昇していることを見出した。Hoka の発現を抑制した消化管で aPKC の発現を RNAi により抑制したところ, 幹細胞の増殖が低下した。従って，Hoka はショウジョウバエ消化管上皮の SJ 形成に必須であり，成虫消化管においては aPKC の活性を制御し，幹細胞の増殖をコントロールしていることが示唆された (Izumi et al., *J. Cell Sci.*2021）。

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）

細胞内膜系では，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。我々は，発生過程での，個々の細胞とその有機的構築体である上皮組織の三次元形態形成における，細胞内膜系

の動態によるシグナル制御に注目し，その全容の解明を進めている。これまでに，モデル細胞系と発生実験系を相補的に利用し，平面細胞極性（PCP）形成シグナルを制御する細胞内膜系タンパク質の候補を見出してきた。現在，タンパク質機能阻害実験系の工夫と，それを元にした機能阻害ライブラリーを用いたスクリーニングによって，関連する新たな制御因子を探索する実験系の確立を進めている。本年度は，これまでより多種類の細胞での使用を可能とする汎用化機能阻害ベクターの設計・作成と，ライブラリーを構築するために十分な阻害コンストラクト作成方法の効率化に成功し，ライブラリー作成のワークフローをほぼ確立した。

細胞生理部門

【概要】

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

Thermal Gradient Ring によるマウスの温度依存性行動の解析

宇治澤知代，笹島沙知子，加塩麻紀子，富永真琴

マウスの温度依存性行動はこれまで，後肢の下からレーザー熱刺激を与えるプランターテストや高温のプレート上での逃避行動を観察するホットプレートテストで行われてきた。また，温度グレーディエントがある装置でも，直線型のものが使われ，マウスが端を好む性質の影響を除外できなかった。プランターテストやホットプレートテストは痛み熱刺激への逃避行動を観察するがマウスの温度嗜好性は解析できなかった。そこで，ドーナツ型のプレートで自在に温度勾配をもたせる Thermal Gradient Ring を用い，滞在時間，移動スピード等の複数のパラメータを解析することで温度マウスの温度忌避行動と温度嗜好性を詳細に解析した。野生型マウスと TRP チャネルの欠損マウス (TRPV1, TRPV3, TRPV4, TRPM2, TRPM8, TRPA1) を用いた。複数の TRP チャネル欠損マウスで野生型マウスと異なるデータが得られ，Thermal Gradient Ring の有用性が示された。

1) Ujisawa T, Sasajima S, Kashio M, Tominaga M. Thermal Gradient Ring Reveals Different Temperature-dependent Behaviors in Mice Lacking Thermosensitive TRP Channels. J. Physiol. Sci. 72: 11, 2022.

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

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

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

（カリフォルニア大学サンタバーバラ校 Craig Montell 博士，インディアナ大学 Emma Leishman 博士との共同研究）

1) Sokabe T, Bradshaw HB, Tominaga M, Leishman E, Montell C. Light-induction of endocannabinoids and activation of *Drosophila* TRPC channels. BioRxiv, 2021.

マウスにおいて侵害受容シグナルがミクログリアのキヌレイン経路を介して内毒素血症による死を防ぐ

丸山健太，富永真琴

内毒素血症によってもたらされる死における侵害受容器の機能はほとんどわかっていない。今回我々は，抗菌ペプチドの一種である Reg3γ を内毒素から宿主を保護する侵害受容器由来のホルモンとして同定した。内毒素血症が生じると，侵害受容器から放出された Reg3γ は脳に浸透し，ミクログリアに発現するキヌレニン経路の律速酵素である IDO1 の発現を抑制した。内毒素を投与された Nav1.8 陽性の侵害受容器を欠損させたマウスや, 侵害受容器特異的 Reg3γ 欠損マウスでは，末梢の炎症が正常であるにもかかわらず，脳の HK1 のリン酸化障害と ATP 産生の障害を伴った高い死亡率を呈した。こうした代謝の停止は脳でのみ観察され，キヌレニン経路の代謝物であるキノリン酸の蓄積が脳の HK1 のリン酸化障害を誘発していた。また驚くべきことに, IDO1 の阻害剤または Reg3γ の髄注は，内毒素血症をおこしたマウスの死亡率を大幅に低下させることが明らかとなった。

（北海道大学 近藤 豪博士，産業総合技術総合研究所 熊谷 雄太郎博士，大阪大学 加藤 弘樹博士との共同研究）

1) Sugisawa E, Kondo T, Kumagai Y, Kato H, Takayama Y, Isohashi K, Shimosegawa E, Takemura N, Hayashi Y, Sasaki T, Martino MM, Tominaga M, Maruyama K. Nociceptor-derived Reg3γ prevents endotoxic death by targeting kynurenine pathway in microglia. Cell Rep 38: 120462, 2022.

糖尿病性神経症モデルマウスの温度感受性変化

笹島沙知子，近藤正樹，神谷英紀，富永真琴

STZ の投与によるマウスの糖尿病性神経症モデルにおいて，TRPV1, TRPA1 の関与を検討した。STZ 投与によって，機械刺激・熱刺激に対する過敏期は観察されず，

投与 3 週目以降に鈍麻期が観察された。これまで報告されているような TRPV1, TRPA1 の発現や機能の変化は観察されなかった。そこで，Thermal Gradient Ring を用いて検討すると，TRPA1 欠損マウスは野生型と同様であり，糖尿病モデルマウスは TRPV1 欠損マウスのように野生型マウスより低温を好んだが，高温を忌避する行動は野生型マウスと差がなかった。糖尿病で観察されるさまざまな温度依存性行動の変化にはさまざまな要因がからんでおり，Thermal Gradient Ring にような preference も含めた解析の重要性が示された。

（愛知医科大学 近藤 正樹博士，神谷 英紀博士，生理研 大野伸彦博士との共同研究）

1) Sasajima S, Kondo M, Ohno N, Ujisawa T, Motegi M, Hayami T, Asano S, Asano-Hayami E, Nakai-Shimoda H, Inoue R, Yamada Y, Miura-Yura E, Morishita Y, Himeno T, Tsunekawa S, Kato Y, Nakamura J, Kamiya H, Tominaga M. Thermal Gradient Ring Reveals Thermosensory Changes in Diabetic Peripheral Neuropathy in Mice. Sci. Rep. 12: 9724, 2022.

蚊 TRPA1 の活性化温度閾値を決定するアミノ酸の同定

Nguyen THD，Chapman S，加塩麻紀子，齋藤くれあ，富永真琴

熱帯の蚊（ネッタイシマカ *Ades aegypti*: Aa）と温帯の蚊（アカイエカ *Culex pipiens pallens*: Cp）の TRPA1 の熱刺激による活性化温度閾値が 8−10 度異なることを報告してきた。この活性化温度閾値の違いを決定するモチーフもしくはアミノ酸を同定しようと試みた。アミノ末端を入れ替えると，アミノ末端だけ温帯の蚊の AaTRPA1 は高温で，アミノ末端だけ熱帯の蚊の CpTRPA1 は低温で活性化するようになり，活性化温度閾値が逆転した。そこで，AaTRPA1 と CpTRPA1 のアミノ末端のキメラ体を作成して解析したところ，390 番目から 459 番目の 70 アミノ酸が重要なことが分かった。そこで，この 70 アミノ酸の中で異なるアミノ酸の点変異体を解析することによって，AaTRPA1 の 2 つの電荷アミノ酸（418E, 459R）が活性化温度域値を高くするのに関わっていることが判明した。このアミノ酸は別の熱帯の蚊スレフェンシハマダラカでも保存されており，CpTRPA1 のアミノ酸（Q）にすると活性化温度閾値は低下した。酸性アミノ酸と塩基性アミノ酸間の塩橋（側鎖間に働く弱いイオン性相互作用）で蛋白質の三次元構造が安定化して熱刺激にたいして構造変化が起こりにくくなっているものと考えられた。

1) Nguyen THD, Chapman S, Kashio M, Saito C, Strom T, Yasui M, Tominaga M. Single amino acids set apparent temperature thresholds for heat-evoked activation of mosquito transient receptor potential channel TRPA1. J. Biol. Chem. 102271, 2022

心循環シグナル研究部門

【概要】

全身の血液循環恒常性は，心筋・平滑筋・骨格筋などの筋肉細胞によって支えられている。当部門では，筋肉の柔軟性や老化を制御する分子機構を病態特異的なタンパク質間相互作用の視点から明らかにし，それを基軸に健康長寿につながる創薬戦略の構築を目指した研究を行っている。また，近年同定された超硫黄分子（反応性が極めて高

い硫黄代謝物）をはじめとした硫黄を軸としたレドックス研究から筋組織の再生・修復・成熟化機構についても研究を行っている。今年度は，受容体作動性 TRPC6 チャネルの心臓における生理的役割について解析を行い，各種遺伝子改変動物と組織イメージング解析を用いて TRPC6 による亜鉛イオン流入が交感神経刺激による心収縮力制御に関わることを見出した。また，プリン作動性 P2Y6 受容体の β アレスチンに依存しない新奇内在化機構（Redox-dependent alternative internalization; REDAI）を発見し，機能性食品成分イソチオシアネートの抗炎症効果におけるその重要性を示した。さらに，心臓の虚血ストレス抵抗性における超硫黄分子種の役割を心筋ミトコンドリア品質制御の観点から明らかにした。以下に各課題の概要を示す。

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，西山和宏（九州大学 薬学研究院），湯　肖康，西村明幸，平林真澄，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。TRPC6 は Zn^{2+} イオンを動員させることでノルアドレナリン刺激に対する β 受容体／Gs シグナリングを増強し，強心作用，特に陽性変力作用を増強させ，急性心不全を改善させることをマウスレベルで示した。

Drp1 のグルタチオン化による心筋老化抑制機構

西村明幸，湯　肖康，重田育照（筑波大学 計算科学研究センター），西田基宏

細胞内レドックス恒常性の破綻は心血管系疾患を含む多くの疾患発症に関与している。グルタチオン化修飾は最も重要なレドックス関連翻訳後修飾の 1 つである。心筋細胞では様々なグルタチオン化タンパク質が同定されているが，グルタチオン化と心不全の関連性は不明である。我々は，ミトコンドリア分裂促進因子 Drp1 は Cys644 のグルタチオン化修飾を介して低酸素ストレスによって引き起こされる心筋細胞の機能障害を改善することを見出した。自由運動を行ったマウスの心臓では酸化型グルタチオン（GSSG）含量が増加し，Drp1 グルタチオン化が増加していた。心筋梗塞モデルマウスに GSSG を投与すると心収縮力の改善が見られるとともに心筋細胞の老化現象も抑制された。さらに，MD シミュレーションから Cys644 のグルタチオン化によって起こる Drp1 の立体構造変化を予測することで，Cys644 グルタチオン化と活性との相関関係を推測した。

GPCR の新奇内在化機構（REDAI）の同定とその病態生理学的意義の解明

西山和宏（九州大学 薬学研究院），西村明幸，西田基宏

GPCR はリガンド刺激後に GPCR キナーゼ（GRK）によりリン酸化され，β アレスチン依存的に内在化することでシグナル強度を負に制御すると考えられている。しかし，GRK によるリン酸化を受けにくい GPCR がどの

ような機序で内在化するかについては不明であった。そこで我々は, GRK によるリン酸化を受けにくい GPCR としてプリン作動性 GPCR の 1 つである P2Y6R の内在化機構について検討を行った。その結果，機能性食品成分イソチオシアネートや親電子性物質が P2Y6R の細胞内第 3 ループにある Cys220 の SH 基修飾および第 2 ループにある Lys137 のユビキチン化を介して内在化を引き起こすことを明らかにした。P2Y6R C220S 変異マウスを作製し，その機能解析を行うことで Cys220 を介した P2Y6R の内在化が抗炎症作用に関与することを見出した。加えて，このβアレスチンに依存しない新奇内在化機構（Redox-dependent alternative internalization; REDAI）は，P2Y6R 以外の GPCR でも保存されていることも明らかにした。

低温プラズマ照射システイン溶液の虚血心筋保護の作用機序の解明

下田　翔，田中智弘，西村明幸，佐々木渉太（東北大学 工学研究科），
金子俊郎（東北大学 工学研究科），西田基宏

求核性の高い硫黄鎖をもつシステインを含む溶液に低温プラズマを照射し，低酸素ストレス下に曝露した心筋細胞やマウス虚血心臓に処置したところ，再灌流（再酸素化）後の心筋細胞障害が著しく改善された。この溶液中にはシステインよりも化学反応性の高い超硫黄分子種が生成されており，プラズマ照射システイン溶液を心筋細胞に処置することで心筋細胞内の超硫黄分子量が維持され，その結果，虚血／再灌流時に生じる超硫黄分子の分解と代謝硫化物の蓄積が軽減されることがわかった。その機序として，プラズマ照射システインが超硫黄化酵素 sulfide:quinone oxide reductase (SQOR)の発現量を増加させる効果を持つことも新たに示された。

生殖・内分泌系発達機構研究部門

【概要】

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

グルコース飢餓において炭水化物食の選択的摂取を引き起こす脳内機構

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

マウスは高脂肪食と高炭水化物食の両方を与えると高脂肪食を多く摂取する。一方，グルコース飢餓時には炭水化物を選択的に摂取する。しかし，その仕組みは不明であった。

これまでに，絶食時に見られる炭水化物嗜好性の上昇には視床下部室傍核(PVH)のコルチコトロピン放出ホルモン産生神経（CRH 神経）が活性化し，同神経内で AMP キナーゼ（AMPK）がリン酸化することが必要なことがわかっていた。そこで，2-デオキシグルコース（2-DG）投与によりグルコース飢餓を誘導したところ，PVH の

CRH 神経が活性化し, AMPK のリン酸化も生じた。また, DREADD により CRH 神経の活動を人工的に抑制するとグルコース飢餓時の炭水化物摂取が阻害された。また, 同神経内で AMPK の発現を抑制しても同様の結果が得られた。さらに，炭水化物摂取はニューロペプチド Y(NPY)の PVH 局所投与により高まったが, PVH の CRH 神経を阻害すると抑えられた。

そこで, PVH に投射する NPY 神経を探索したところ, 延髄孤束核など複数の部位に存在した。このうち PVH に投射する延髄孤束核の NPY 神経をオプトジェネティクスにより活性化したところ炭水化物嗜好性が上昇した。このことから NPY-CRH 軸がグルコース飢餓時に炭水化物食の選択的摂取を引き起こすことが判明した。

皮下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用

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）

肥満では蓄積する脂肪の体内分布の違いにより，代謝に及ぼす影響が異なる。脂肪組織では，肥満に伴いマクロファージの蓄積と炎症性サイトカインの分泌を伴う炎症反応が起こり，インスリン抵抗性等の肥満症の一因となる。しかし，皮下脂肪組織は，肥満しても炎症反応が少ないことが知られており，そのメカニズムは明らかとなっていなかった。本研究では，SF1 (steroidogenic factor 1) 発現ニューロンが肥満における脂肪組織の炎症反応を調節する可能性を調べた。マウス視床下部腹内側核 SF1 発現ニューロンに DTA (diphtheria toxin-A) を発現させて破壊し，或いは逆に 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，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た。副睾丸脂肪組織では何れの操作でも変化が無かった。SF1 ニューロンの活性化による鼠径部脂肪組織の炎症抑制作用には交感神経系が必要であった。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，鼠径部皮下脂肪組織での炎症反応を抑制していることが明らかになった。

脂肪消費の概日リズムを制御する新たな視床下部神経細胞の同定

近藤邦生，中島健一朗，箕越靖彦

視床下部室傍核（PVH）は，交感神経に投射する神経細胞が存在することが知られており，末梢組織の機能制御に関わる。しかし，PVH には様々な神経細胞が混在しており，どの神経細胞が末梢組織のエネルギー代謝を制御するかは不明な部分が多い。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。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を含むさまざまな組織に投射していることを見出した。

DREADD 法により Nos1 ニューロンを活性化したところ，エネルギー代謝と運動量が増加し，特に脂質の消費量が大きく増加した。逆に Nos1 ニューロンの神経活動を抑制したところ，明期（マウスの休止期）にのみ，脂質代謝量が大幅に減少した。Nos1 ニューロンの神経活動を恒常的に抑制すると，明期に生じる脂質消費量の増加が抑制された。脂質消費量は, 摂食量が増える活動期（暗期）で減少し，逆に休息期（明期）で増加する。ファイバーフォトメトリー法により, Nos1 ニューロンの活動が明期に増加することを見出した。以上の結果から，Nos1 ニューロンが，脂質消費の概日リズムに関わる新しい神経細胞であることが明らかになった。

ビタミン B1 の脳内感知メカニズムの解明

中島健一朗，近藤邦生，箕越靖彦

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

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

はじめに，求心性迷走神経を外科的に切除したマウスを B1 欠乏にしたところ，B1 摂取による急速な食欲の回復が見られなくなった。このことから，求心性迷走神経が B1 の脳内感知に寄与することが明らかになった。

次に，活性化している神経で分子ツールを発現誘導できる遺伝子改変マウス(TRAP2 マウス)を用い, B1 欠乏時と回復時に活性化している神経を比較した。その結果，B1 の有無に応じて活動が大きく変化する神経細胞が脳内の複数の部位に存在することが明らかになった。
そこで，そのうちの 1 つである脳幹に抑制型 DREADD を導入し，B1 欠乏時にその神経活動を制御した。その結果，このマウスは対照群とは異なり，B1 を摂取しなくても短期的には食欲が急速に回復した。このことから脳幹内にビタミン B1 を感知し摂食を制御する仕組みがあることが明らかになった。

シングル核解析による新規視床下部室傍核 CRH ニューロン群の発見

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

CRH ニューロンの多様性を明らかにすることを目的に，シングル核 RNA 解析を行った。約 10,000 核のシークエンスデータを用いてクラスター解析を行ったところ, 視床下部室傍核のニューロンは３つのメジャークラスター（A, B，C）に分類できた。CRH ニューロンのみで構成されたクラスターA は，グルココルチコイド受容体（Nc3r1）が高発現しており，HPA 軸を介したストレス制御に関与する CRH ニューロン群であると考えられた。また，クラスターB にはレプチン受容体（Lepr）などが高発現しており，ホルモン応答に関与するニューロン群であると考えられた。一方，クラスターC には AMPKγ2 (Prkag2) や時計関連遺伝子（Per, Cry など）などが高発現しており，さらに，栄養状態のセンシングやエネルギー代謝調節への関与が知られる遺伝子の発現が確認され, 新規ニューロン群であると考えられた。クラスターB および C は CRH ニューロンだけではなく non-CRH ニューロンも含んでいるが，CRH ニューロンと non-CRH ニューロンの発現プロファイルには違いが見られた。今後，各クラスターの生理的機能を解析して行く予定である。

分子神経免疫研究部門

【概要】

私たちは神経免疫連関の新たなコンセプトとして，2012 年にゲートウェイ（G）反射を発見した。G 反射では，中枢神経系や網膜に対する自己反応性 T 細胞の存在下に，重力，痛み，ストレス，光などの環境刺激や人為的刺激により，特定の神経回路が活性化し，血液関門を持つ中枢神経系（CNS）などの特定血管においてノルアドレナリンや ATP などの神経伝達物質が放出される。これらは局所の血管内皮細胞を刺激し，炎症の分子基盤である IL-6 アンプを誘導する。その結果，過剰産生されるケモカインにより自己反応性 T 細胞の侵入口である血管ゲートが形成され，組織特異的炎症が誘導される。G 反射は様々な病態や生理現象に関与するので，分子神経免

疫研究部門では，新たな G 反射の発見と，既知の G 反射の詳細な神経回路をはじめとする分子機構の解明を目的に研究を行っている。以下に概説するように，2021 年度は「遠隔炎症 G 反射」を発見し，論文を投稿中である。また，2019 年に視神経の光刺激により起こる抑制性 G 反射である「光 G 反射」を報告したが，2021 年度は，網膜の神経細胞が関与する抑制性 G 反射の新たな分子機構について論文を発表した。

遠隔炎症 G 反射

長谷部理絵，村上正晃

関節リウマチ，乾癬，間質性肺炎などの炎症性疾患では，遠隔部位に多発性に炎症が生じる。これらの現象を説明しうる分子機構として「遠隔炎症 G 反射」を発見した。IL-6 信号伝達分子 gp130 のアミノ酸置換により，STAT3 シグナルが過剰となる F759 マウスの片側の足関節に IL-6 と IL-17A を投与すると，血管内皮細胞や滑膜線維芽細胞で IL-6 アンプが活性化し，局所的に ATP が過剰産生される。この ATP が感覚神経を活性化し，活性化シグナルが L5 脊髄から下部胸髄の介在神経を介して反対側の感覚神経に伝達する。反対側感覚神経から ATP が放出され，反対側足関節で IL-6 アンプの活性化が起こり，炎症が促進された。コラーゲン誘導関節炎モデルでも同様の現象が確認されたことから，「遠隔炎症 G 反射」は，遠隔性多発性に炎症が起こる様々な疾患に共通したメカニズムである可能性がある。

（*J Exp Med*. 2022. **219**(6), e20212019）

視細胞が関与する抑制性 G 反射

Andrea Stofkova（Charles University，チェコ共和国）
村上正晃

2019 年度に発表したように網膜抗原に対する自己反応性 T 細胞依存性に誘導されるぶどう網膜炎モデルマウス (EAU) に光刺激を与えると，網膜の視神経細胞から過剰なノルアドレナリンが分泌され，負のフィードバックにより α1A アドレナリン受容体の発現量が減少し，その結果，網膜血管内皮細胞での NF-κ B 活性化が抑制され，免疫細胞の網膜への浸潤が抑制される（光 G 反射）。私たちは，光受容体の機能不全が網膜神経細胞の活性化に影響し，血液網膜関門および網膜の炎症形成に影響を与えるのではないかという仮説を立てた。桿体錐体ジストロフィーを伴う夜盲症のモデルである Gnat1rd17 マウスに EAU を誘導した。その結果，EAU 発症は，野生型マウスより重症化した。本現象の分子機構を解析すると当該マウスでは桿体細胞からのドーパミン産生が減少していた。ドーパミンは網膜血管内皮細胞に作用し，IL-6 アンプ活性化を抑制したことから，桿体細胞からのドーパミン産生は網膜炎症を制御していることが示唆された。

(*Int J Mol Sci*. 2022. **23** (1), 453)

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。

髄鞘形成・機能・疾患の構造化と制御

大野伸彦

髄鞘の病的な喪失や構造制御は様々な疾患に関連し，環境などによる髄鞘の可塑的な形成・修飾は，学習や社会行動に影響する。したがって，髄鞘の形成や異常に関わる機序の理解は脳機能の解明に重要である。本研究では，脳白質のオリゴデンドロサイトとその形成する髄鞘の 3 次元微細構造を，SBEM を用いて検討している。これまでの結果から，マウスの脳梁のオリゴデンドロサイトは明瞭な極性を有し，また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た。一方で，脳梁の列状に並ぶオリゴデンドロサイトと散在するオリゴデンドロサイトの間では形態的特徴に有意な違いは見られなかった。これまでの結果から，異なる分布を示すオリゴデンドロサイトの構造的特徴が明らかになり，オリゴデンドロサイト毎に髄鞘を形成する軸索の選択性，また形成する髄鞘の厚みの細胞単位での調節が示唆されている。

脱髄病変の解析効率の向上を目指した技術開発

大野伸彦

実験動物などによる脱髄モデルでは，脱髄領域を採取し，解析する必要があるが，脱髄部位の確認には組織切片の観察が必要であることが多く，未標識の脱髄部位のみを摘出することは困難であった。そこで，脱髄病変の解析効率を高める技術開発の中で，中枢神経系の脱髄領域の標識法である Neutral red による染色法を末梢神経に応用し，末梢神経系の脱髄病変を検出できる技術の開発を目指した。その結果，リゾレシチン投与による脱髄急性期に坐骨神経に脱髄病変に一致した赤色の領域が目視で観察され，その後の再髄鞘化において徐々に標識が減弱した。実際，標識坐骨神経の電子顕微鏡観察では，標識部位に脱髄と貪食されたミエリン残渣が確認され，Neutral red は脱髄領域のマクロファージとシュワン細胞に局在した。本手法により，末梢神経組織中の脱髄病変を肉眼的に同定し，病変組織の効率的な解析が可能になると期待される。

基盤神経科学研究領域

生体恒常性発達研究部門

【概要】

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

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

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

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

In Vivo 多光子顕微鏡を用いた大脳皮質神経回路再編機構の解析

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

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

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

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

慢性疼痛モデルマウスにおける大脳皮質神経回路再編

竹田育子，小泉修一（山梨大学医学研究科），鍋倉淳一

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

った。

末梢感覚神経の部分傷害後に末梢感覚神経の過剰活動と痛覚過敏が持続する。痛覚過敏形成時に限定して，大脳皮質錐体細胞のシナプスの新生・消失が更新し，その後ターンオーバー率は傷害前の値に戻るが感覚過敏は長期にわたり持続する。慢性疼痛時には，大脳皮質感覚野細胞の活動の増強が観察された。これらから，慢性疼痛時における大脳皮質感覚野における回路再編による過剰応答回路の形成が持続する慢性疼痛発症の一因である可能性が示唆される。さらに，大脳皮質神経回路再編時には，アストロサイトにおける５型代謝型グルタミン酸受容体の再発現によりその活動が亢進していることが判明した。これらの知見に基づいて，慢性疼痛の慢性期（維持期）にアストロサイトを再活性化し，神経回路の可塑性を再度更新させ，異常痛覚を除去する試みを開始した。　慢性疼痛持続期に DREADD システムを用いてアストロサイトを活性化し，さらに障害末梢神経活動のブロックを組み合わせると，長期に痛覚過敏が除去されることが行動実験で確認された。さらに，臨床応用を目指して，慢性痛覚モデルマウスに経頭蓋電気刺激によるアストロサイト活性化と障害末梢神経への局所麻酔薬投与によっても，痛覚過敏が長期的に除去されることが判明した。その脳内メカニズムの解明のため，マウス大脳皮質一次体性感覚野におけるシナプスの変化の長期観察を行った。その結果，末梢神経損傷後，痛覚過敏発症時に形成されたシナプスが有意に消失するが判明した。この結果から，過剰痛覚関連回路に回路再編が起こり，痛覚過敏が除去される可能性が示唆され，研究を継続している。そのメカニズムとして，アストロサイト活性化の下流にミクログリアの活性化が関与していることが判明し，現在シグナルの探索を行っている。

感覚情報処理回路の発達およびその制御機構の解明

鳴島　円

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

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

イオンイメージングセンサの脳内埋め込み技術の構築

堀内　浩，石田順子，鍋倉淳一

JST・戦略的創造研究推進事業（代表：豊橋技術科学大学：澤田和明教授，非標識神経伝達物質イメージングセンサーによる細胞活動可視化システム構築と脳機能の時空間解析）の分担研究として，豊橋技術大学で開発したイオンイメージングセンサの脳内埋め込み技術の構築を行っており，大脳皮質内における pH の不均一性などの予備結果が得られつつある。また，癲癇様の電気活動の発生と脳内 pH の変化（低下）が同期していることを見出した。さらに，この pH 変化にはアストロサイトが関連している可能性を示唆する予備実験結果を得ており，癲癇発症予防法の開発に向けた基礎情報を今後積み重ねていく予定である。さらに，自由行動下における

計測を可能とするため，小型軽量化・参照電極内蔵化を進めており，実際に動物の行動中の細胞外イオン計測が可能なレベルまで到達した。今後は，さらなる最適化を行いつつ，個体の行動や脳機能に伴うイオン計測を進めていく。

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の解析を行っている。本年度は，覚醒マウスの大脳皮質一次視覚野から２光子励起カルシウムイメージングを行い，視覚野の一番深い層にある興奮性サブプレートニューロンおよび一酸化窒素合成酵素を発現する抑制性ニューロンサブタイプの視覚反応特性の解析を進めた。また，脳スライス標本を用いた神経結合発達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，3 テーマについての要約を記載する。

発達期マウス一次視覚野 6b 層ニューロンの視覚応答選択性

米田泰輔，林　健二，吉村由美子

サブプレートニューロンは生後発生の初期における神経回路形成の基盤となる。その多くは細胞死によって消失するが，一部は大脳皮質の最深層である 6b 層に残る。生後脳におけるサブプレートニューロンの機能を検証するために, 2 光子カルシウムイメージングを用いて，発達期マウス一次視覚野 6b 層のニューロンの視覚応答選択性を評価した。

イメージングと組織透明化法を組み合わせることによって，機能計測を行なったニューロンの多くがサブプレートニューロンのマーカー遺伝子を発現することが示された。成熟マウスにおける以前の報告と一致して，6b 層のニューロンは低い方向選択性を示した。また 6b 層ニューロンは低い空間周波数選択性を示し，両眼の応答選択性がミスマッチしていた。

これらの結果は，生後に残るサブプレートニューロンが大脳皮質の情報処理を担うことを示唆する。

一酸化窒素合成酵素（NOS1）を発現する抑制性ニューロンの視覚反応性

林　健二，吉村由美子

大脳皮質には多くの抑制性ニューロンサブタイプが存在する。各細胞サブタイプを蛍光標識する遺伝子改変マウスが開発され，それぞれのサブタイプの感覚応答性や機能が特徴づけられている。一酸化窒素合成酵素（NOS1）を発現する抑制性ニューロン (NOS1 陽性細胞) は，細胞内シグナル伝達物質である一酸化窒素を神経活動依存的に放出するユニークな特性を示すが，*in vivo* 大脳皮質での機能はほぼ未解明である。そこで，我々は

NOS1-IRES-Cre マウスを用いて NOS1 陽性細胞を蛍光標識したマウス大脳皮質一次視覚野に jGCaMP7f を用いた *in vivo* カルシウムイメージングを適用し，NOS1 陽性細胞の視覚反応を解析した。その結果，NOS1 陽性の抑制性細胞は視覚刺激に応答すること，他の抑制性細胞と同様に視覚刺激に対して幅広い応答を示すことを明らかにした。今後はこの細胞から放出される NO の機能について検討する予定である。

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

大脳皮質の主要な抑制性細胞である Fast-spiking 細胞（FS）と錐体細胞（Pyr）間の神経結合の発達過程を明らかにするため，異なる発達段階のマウス一次視覚野切片標本において 2/3 層の FS と Pyr のペアから同時ホールセル記録により解析した。

開眼 1〜2 日後では，開眼前や開眼時と比較し，Pyr→FS の興奮性結合および FS→Pyr の抑制性結合の結合確率と結合強度の増加が観察された。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見られた。

開眼 1 週間後には，開眼 1〜2 日後と比較して興奮性結合が減弱し，双方向性結合ペア選択的な増強は見られなかった。一方，抑制性結合においては，双方向性結合ペア選択的な増強がみられた。

以上から，FS-Pyr 間の双方向性結合ペア選択的な結合増強は，興奮性結合では開眼 1-2 日後に一過的に，抑制性結合では開眼 1 週間後に，異なる時期におこることが明らかとなった。

バイオフォトニクス研究部門

【概要】

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

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

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

概日リズム，グルコース代謝，冬眠を制御する神経細胞~回路の光イメージング解析

榎木亮介，廣　蒼太，李　明亮，張　菁圃，根本知己
金　尚宏（名古屋大学 トランスフォーマティブ生命分子研究所）
山口良文 (北海道大学 低温科学研究所)
戸田知得（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, 視床下部領域にある視交叉上核に局在する。視交叉上核は約２万個の神経細胞とそれを取り巻くグリア細胞から構成され, ネットワーク全体としては正確でロバストな概日リズムを示すと考えられている。私たちはこれまでに長期間光イメージング計測法を確立し, 視交叉上核の神経細胞における細胞内カルシウムや膜電位の概日リズムを報告してきた。現在は，北海道大学の江川助教との共同研究による GABA 作動性細胞で構成される視交叉上核神経細胞のクロライドイオンの可視化解析や, 細胞内小器官内のカルシウムリズムの可視化解析の研究プロジェクトが進行中である。また，学術変革領域（B）「冬眠生物学」の採択をうけて，低温環境下における概日リズム発振メカニズムの研究に着手している。これまでに, 山手キャンパス建物内に冬眠実験室を設置し, シリアンハムスターの冬眠誘導実験を開始した。名古屋大学の金特任講師との共同研究では,概日リズムの温度補償性機構に細胞内カルシウムイオンが関与することを見いだした（Kon N et al. Science Advances, 2021）。さらに，視交叉上核における低温リズム発振のメカニズムを探索する目的で, 様々な低温環境下でタイムラプス観察を可能とする顕微鏡を構築し, 金特任講師および北海道大学の山口教授との共同研究により, マウスおよびハムスターにおける概日リズムの可視化研究が進行中である。また北海道大学の戸田助教との共同研究により, 冬眠様状態の動物におけるグルコース代謝の解析が進行中である。

先端光技術を駆使した二光子高速超解像イメージング法の研究

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

本研究では，生体深部をサブ細胞スケールで観察できる二光子励起顕微鏡法を応用し，神経科学をはじめとした広範な研究分野の発展に資する高速超解像 in vivo 3D イメージング法の実現を目的とする。我々は東北大学横山教授，佐藤教授，小澤准教授らと共同研究を行い，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（原著論文投稿中）。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（Chang et al., Sci. Rep. 2022）。以上の成果の一部に関して解説を公刊した（Ishii, Otomo et al., Neurosci. Res. 2022）。

画像解析による新規超解像法 SRRF の二光子イメージングへの適用

堤　元佐，髙橋泰伽，根本知己
小林健太郎（北海道大学 電子科学研究所）

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

二光子スピニングディスク共焦点顕微鏡の技術開発と生物学応用

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

我々はこれまでにスピニングディスク共焦点スキャナを用いた高速二光子顕微鏡システムの開発に取り組んできた。二光子蛍光を観察する際，その励起領域は対物レンズの集光スポットに限局されるため，検出器に共焦点ピンホールを前置せずとも光学断層像を取得することが可能である。一方で本システムは，ニポウディスクに配したピンホールを通過した蛍光のみを二次元検出器に結像する。共焦点効果は二光子顕微鏡像にも有効であり，構築システムは通常の二光子顕微鏡より 3 割程度高い光軸方向分解能を実現する。本特徴は三次元イメージングにおいて有用性を発揮することから，共同研究・共同利用を通じ，線虫，ゼブラフィッシュ，シロイヌナズナ，マウス，ミカヅキモ等の様々な生体試料中の微細形態の三次元動態観察に供されている。特に本年度は，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 (K. Kamada, et al., Sci. Rep. 2022)。

高分子超薄膜のマウス脳 in vivo イメージング応用

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

二光子顕微鏡により，生きたままのマウス脳深部の観察を行う場合には，不透明な頭蓋骨を透明で平坦なカバーガラスに置き換える手術が広く用いられる。しかし，観察領域が広いほど手術の難易度は高くなるため，従来は狭い領域のみを観察する研究手法が一般的であり，多くの細胞を観察することは困難であった。これに対して，我々は“どこにでも貼れる”というユニークな性質を有する高分子超薄膜を活用して，マウス脳の in vivo イメージングへの応用を行ってきた（Zhang H et al., PLoS ONE 2020, Takahashi T et al., iScience, 2020）。本年度は，高分子超薄膜を活用した広範囲観察窓作成法について解説を刊行した（Takahashi T et al., STAR Protocols, 2021）。現在は，高分子超薄膜と光硬化性ポリマーを併用した観察窓作成法の実証を進めており，これまでに従来の手法では困難であった覚醒下マウスの長期イメージングに成功している。

二光子顕微鏡による生体組織の深部可視化に向けた計算補償光学技術の開発

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

二光子顕微鏡を用いて生体脳組織の深部を観察する上では，試料に由来する光学収差により理想的な結像からのズレが生じ，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や空間光位相変調器を活用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。一方，より簡便な方法として，光学素子の新規導入なしに，取得した三次元画像のみから光学収差を推定・補正する手法の開発を行っている（特願：2022-132546）。現在までに，蛍光ビーズおよび生きたままのマウス脳の神経細胞の二光子イメージング像に本手法を応用し，シグナルノイズ比を数十倍にすることに成功している。現在は，カルシウムイメージングのデータへの応用可能性の検討を進めている。

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）
山口大輔，高野勇一，雲林院　宏（北海道大学 電子科学研究所）

近年，顕微鏡技術の向上により細胞集団の活動を経時的に観察できるようになった。しかし，多数の細胞の三次元での検出・追跡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。我々は昨年度までに両博士らとの共同研究により，ヒト癌由来細胞の三次元培養サンプル観察への同法適用を試み，二光子顕微鏡で取得された HeLa 細胞スフェロイドの三次元観察データへの適用で，約 1000 個の細胞を自動検出・追跡し，個々の細胞中のシグナル変動を経時的に解析できることを実証した（Wen et al., eLife, 2021）。本年度は北海道

大学 電子科学研究所の研究者との共同研究を開始し，同所での二光子顕微鏡観察系を共同で立ち上げ，3DeeCellTracker を用いた細胞スフェロイドにおける薬剤投与時の細胞応答評価系を確立した。

アドオン型光ニードル形成デバイスによる生体ボリュームイメージング

大友康平，石井宏和，榎木亮介，根本知己
小澤祐市，佐藤俊一（東北大学 多元物質化学研究所）
張　菁圃，山崎美和子，渡辺雅彦（北海道大学大学院 医学研究院）

生体標本における三次元構造と高速ダイナミクスを捉えるボリュームイメージング法は近年のホットトピックである。このうち，U. C. Barkley の Na Ji 博士の研究グループが報告した長焦点針状集光スポットを用いた手法（Lu et al., Nat. Neurosci. 2017）は，生体マウス脳内において数十 μm 厚の空間に分布する複数の樹状突起スパインの Ca^{2+} 変動を一挙可視化し，神経科学分野に大きなインパクトを与えた。しかし，本法の達成にはベッセルビーム波面生成と適切なリレー光学系構築が必要であり，通常の顕微鏡システムでは実装が困難であった。システム一式としての市販化はされているものの，価格帯は高価であり，普及はごく一部にとどまっている。ここで我々は，リレー光学系の構築を省略して本法を成立させる大胆かつ簡易的な改変を着想した。具体的には，通常の顕微鏡には必ず備わっているフィルターキューブ位置にアキシコンレンズ等の複数光学素子を配することで，本法を実現した。提案手法は 250 μm 厚の培養脳スライス中に三次元的に分布する神経細胞の Ca^{2+} 動態を，1 回のレーザー走査で可視化した（Chang et al., Sci. Rep. 2022）。

高い二光子吸収断面積値を有する有機蛍光色素の探索

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

大半の蛍光バイオイメージング法においては，可視化対象を蛍光発色団で標識することが必要である。そのため，蛍光発色団を新規に創成する遺伝学，生物有機化学，材料科学等の技術貢献は重要である。我々はこれまでに，二光子顕微鏡や超解像顕微鏡観察に適した蛍光発色団について探索を行ってきた。その探索の過程で，大阪大学大学院薬学研究科の有澤光弘教授らが発見した新規骨格を基に合成した色素が，高い二光子吸収断面積値を有することを見出した（Avena et al., ACS omega, 2020）。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（原著論文投稿中），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。

多細胞回路動態研究部門

【概要】

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

グリア細胞の生理機能解明

郭中天，進藤麻理子，杉尾翔太，加藤大輔，和氣弘明

(a) ミクログリア

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

更に炎症により血液脳関門に誘導され初期に保護的に作用していたミクログリアが，炎症の増悪とともに傷害性に働くことも見出した（Haruwaka et al., 2019）。2021 年度は運動学習や異種感覚の可塑性におけるミクログリアの関与を進めた。

(b) オリゴデンドロサイト

我々は活動依存的な髄鞘化とオリゴデンドロサイトの機能的反応について 2 光子顕微鏡と電気生理学的手法を用いて明らかにしてきた（Wake et al., 2011, Wake et al, 2015, Kato et al., 2020）。2021 年度は更にこの細胞応答や分子メカニズムの解析を進めた。

ホログラフィック顕微鏡の構築

郭中天，進藤麻理子，杉尾翔太，加藤大輔，和氣弘明

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

システム脳科学研究領域

認知行動発達機構研究部門

【概要】

社会的認知機能の神経機構の解明を目指し, ニホンザルをモデル動物とするシステム神経生理学実験をおこなった。当該年において研究対象とした社会的認知機能側面は, 他者との運動同期指向性, 他者動作情報に基づく自己動作の制御, 他者報酬情報に基づく自己報酬の主観的価値評価, 他者動作情報の文脈依存的処理, 顔の生物らしさの知覚である。これらの研究では, 対面する二頭の動物が行動タスクを遂行する際に, 複数の脳領域から神経活動を記録し, 様々な手法を用いて解析した。また, ウイルスベクターを用いた神経回路選択的遮断法を駆使して, 推定される神経回路機能の因果的検証をおこなった。さらに, ヒトの精神・神経疾患の解明に資する, 社会的認知ゲノミクス研究を推進した。主な研究成果としては, 他者の動作情報の処理における上側頭溝中間部領域の役割を明らかにし, PNAS 誌に発表した。また, 社会的認知機能研究の最新の知見を踏まえて社会脳に関する機能仮説を提唱し, 複数の総説論文に発表した。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。2021 年度はマーモセットに注力して解析を行った。1281 遺伝子を対象とし 1832 個体の多型データ（SNV）を用いて主成分分析（PCA）解析を行った結果, 日本国内に飼育されているマーモセットは主に３つの系統に由来することを明らかにした。また, ヒト精神神経疾患関連遺伝子を対象とした遺伝子変異解析を行った結果, 機能喪失（Loss-of-Function）変異の可能性がある遺伝子を 27 遺伝子同定した。

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。同定した細胞タイプごとに, バルプロ酸投与マーモセットと定型発達マーモセットの比較を行った結果, バルプロ酸投与マーモセットの興奮性ニューロンでは発現低下, 逆に抑制性ニューロンにおいて発現亢進が認められた。また, 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, 細胞タイプごとに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動態を示す遺伝子を多数存在し, 中でも自閉症関連遺伝子が多数存在していた。

他者との運動同期指向性を指標とした社会性掲載の神経基盤解明

戸松彩花

我々の身体運動は, 個体の脳・神経系内のみに閉じておらず, 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

ズムを引き寄せ合う現象（Keller et al. 2014 他多数）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・社会の形成に密接にかかわる性質であるが，その神経実態は未解明である。いかなる神経ネットワークが自己と他者のリズムの違いを検出し，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，ニホンザルをモデル動物として同期指向性を抽出するための課題開発に注力してきた。セルフペースの片手往復運動を，指示に従い「速く」もしくは「遅く」行うよう訓練したニホンザル二頭を向かい合わせて配置し，互いに相手の運動を観察しながら課題運動を行わせた。すると，相手に合わせることに一切の報酬はないにもかかわらず，両者の運動に明らかな同期現象が出現した。この同期現象は，視覚情報を遮ると減弱した。このときの同期の強さは，動物の動画を提示した際に表出したものよりもはるかに強く，社会的文脈が強いほど明確な効果があると言える。これらの特徴より，今回観察した現象は，これまでヒトで観察されてきた現象と相同であるといえる。今後はこの運動課題遂行中の運動前野および補足運動野より神経活動の記録を重ね，各脳領域の関与について検討する。

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

前年度に引き続き，神経発達障害関連遺伝子に機能喪失型変異があるサルを対象とした，自他の動作情報処理の神経機構に関する研究をおこなった。社会的認知機能を担うミラーシステムの中核をなす腹側運動前野の神経活動解析をおこない，正常個体と比較して，ミラーニューロンの数が減少していること，さらに mu 波抑制がほぼ消失していることを明らかにした。遺伝子変異個体において，ミラーシステムの機能に異常がある可能性を示唆する結果である。現在，当該研究をまとめた原著論文を専門誌に投稿中である。

また，前年度後半より開発を開始した映像編集・提示技術を用いた統御性の高い実験系が完成し，社会脳ネットワークの機能仮説検証に向けた実験に着手した。当該実験系を用いた行動課題のトレーニングがほぼ完了しており，腹側運動前野および内側前頭前野を対象とした電気生理学的実験にむけた準備をおこなっている。

社会的コンテキストにおける報酬情報処理の神経機構

則武　厚，二宮太平，磯田昌岐

本年度はこれまで我々が明らかにしてきた，内側前頭前野（MPFC）から視床下部外側野（LH）の神経情報の流れが，社会的コンテキストにおける他者の報酬情報処理に重要であるかを，DREADD 法を用いて検証した。具体的には，社会的条件づけをおこなったサル一頭に対し，二種類のウイルスベクターを使用する二重感染法を用い，DCZ 注入によって MPFC から LH へ投射する神経経路の活動を選択的に遮断した。その後，期待行動であるリッキングの頻度を測定したところ，自己の報酬確率は区別するものの，他者の報酬確率を区別しなくなった。一方で，DCZ の代わりに生理食塩水を注入した統制条件では，自己と他者の報酬確率が区別されていた。また，DCZ 注入前後の MPFC および LH の両脳部位から神経活動の同時記録をおこなった。今後，記録した神経活動の解析を進め，この神経経路における自他の報酬情報処理内容を明らかにする予定である。さらに，もう一頭のサルにも同様の手法を用い，本実験結果の検証をおこなう予定である。

他者への報酬は脳内でどのように処理されるのか

植松明子，磯田昌岐

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

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

現在，前頭葉内側部ならびに皮質下領域で，他者の報酬に関連した神経活動が記録できている。今後，さらにデータを集めるとともに解析を進める。

生体システム研究部門

【概要】

私達を含め動物は，日常生活において周りの状況に応じて最適な行動を選択し，あるいは自らの意志によって四肢を自由に動かすことにより様々な目的を達成している。このような随意運動を制御している脳の領域は，大脳皮質運動野と，その活動を支えている大脳基底核と小脳である。逆にこれらの領域が機能不全に陥ると，パーキンソン病やジストニア，ジスキネジアに見られるように，随意運動が著しく障害される。本研究部門においては，げっ歯類，霊長類（マーモセット，ニホンザル）を用いて，大脳基底核を中心に，このような随意運動の脳内メカニズムおよびそれらが障害された際の病態，さらには病態を基礎とした治療法を探ることを目的としている。

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

大脳基底核における上肢運動 Stop 課題遂行中の活動調節

畑中伸彦，南部　篤

視床下核は大脳皮質から入力を受ける大脳基底核の入力核の一つであり，同時に淡蒼球外節から入力を受ける中継核でもあるという，非常に複雑な回路を構成している。また，視床下核は大脳基底核の出力核である淡蒼球内節ニューロンへグルタミン酸作動性の強い興奮性入力を送っている。そのため視床下核の活動は大脳基底核の活動に大きな影響を与えると考えられている。これまで運動開始直前に運動を停止させる Stop 課題に関する視床下核の活動が報告されているが，前頭前皮質や辺縁皮質から入力を受ける視床下核領域の報告のみで，実際の運動に関わっている背側部の視床下核ニューロンの報告はなかった。われわれは運動皮質に刺激電極を慢性的に埋め込み，情報の流れを確認して視床下核ニューロンの活動を記録した。その結果一次運動野や補足運動野から入力を受ける視床下核のニューロンには，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。2021 年度はこれまで記録したデータを解析し論文にまとめた。

喪失四肢の脳内表現

Pimpimon Nondhalee，畑中伸彦，南部　篤

大脳皮質の一次運動野（MI）や一次体性感覚野（SI）には，明確な四肢や体幹の体部位再現がある。これまで，動物の四肢がアクシデントにより喪失した場合，MI や SI の喪失された四肢の体部位再現領域では可塑的な変化が生じる可能性が示唆されているが，再現領域の大きさには差がないとされてきた。しかし，それらの研究は全身麻酔下で行われたもので，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不明であった。これまで，われわれは若年時に片腕を事故により喪失した 2 頭の成年期ニホンザルの MI, SI および SMA に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。2021 年度は大脳皮質微小刺激法で誘発された健常側および喪失側の筋電図を記録し解析した。その結果，喪失側では刺激に対して誘発される筋活動の大きさが健常側に比べ小さいこと，潜時には影響がないことがわかった。

パーキンソン病モデルサルにおける小脳活動の変化

知見聡美，Waranan Wongmassang，長谷川　拓，南部　篤

パーキンソン病 (PD) では，中脳ドーパミン作動性神経細胞が変性･脱落することによって大脳基底核が変調をきたし，運動障害が生じる。小脳は大脳基底核とともに運動制御において重要な役割を果たす高次中枢であり，大脳基底核との間で相互連絡を持つことが，解剖学的研究によって明らかにされている。また，PD の主要な症状の 1 つである振戦に関係する神経活動は小脳から入力を受ける視床核 Vim を破壊すると改善することから，小脳の関与が強く疑われる。本研究ではドーパミン神経毒を投与して作製した PD モデルサルにおいて，小脳出力部である歯状核の神経活動を記録した。大脳皮質運動野に電気刺激を加えて応答を記録すると，健常サルでは「抑制－興奮」という応答様式が観察されるが，PD サルにおいては，抑制に続く興奮が著しく増強された異常な応答様式が多く観察された。このことから，小脳の異常活動も PD の症状発現に関与している可能性が示唆された。

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り，現在では抗パーキンソン病薬としても認可されている。パーキンソン病の治療では，ドパミンの前駆体である L-DOPA が使用されるが，長期間服用すると L-DOPA 誘発性ジスキネジアと呼ばれる不随意運動が誘発される。臨床での研究から，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，L-DOPA 誘発性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 とゾニサミドを投与し，L-DOPA 誘発性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，ジ

スキネジアが出現している時間を投与量依存的に延長させることが明らかとなった。これらの結果から，ゾニサミドの投与量を調節することで，ジスキネジアを増悪させること無く，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。

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）はマウスの遺伝性ジストニアの原因遺伝子である。神経堤細胞から分化した細胞，すなわち末梢神経のみで *Dst* を欠損する Wnt1-Cre::Dst cKO マウスは，歩行時の体幹捻転など典型的なジストニアの表現型を示さないが，下肢で捻転運動様の異常な運動が認められた。ジストニアに特徴的な筋活動として，持続的な筋収縮や伸筋と屈筋の同時収縮が挙げられる。そこで，このマウスの筋電図を上肢と下肢から記録したが，ジストニアに特徴的な伸筋と屈筋の同時収縮などは認められなかった。これらのことから末梢神経における *Dst* 欠損はジストニア症状に関与していないことが示唆された。

ドパミン D2 受容体拮抗薬が大脳基底核の神経活動に及ぼす影響の解析

佐野裕美，阿部欣史（慶應義塾大学），田中謙二（慶應義塾大学），南部　篤

ドパミン D2 受容体拮抗薬のハロペリドールは抗精神病薬として使用されており，長期間使用すると遅発性ジスキネジアと呼ばれる口腔領域の不随意運動を誘発する。遅発性ジスキネジアの病態生理学的変化を解析するため，ハロペリドール（ハロマンス）をマウスに筋注して遅発性ジスキネジアを誘発し，D2 受容体が豊富に発現する線条体–淡蒼球ニューロンの投射先である淡蒼球外節において神経活動を記録した。その結果，自発発火頻度には影響が認められなかった。そこで次に，大脳皮質から線条体への入力を模倣するように大脳皮質運動野を電気刺激したときの応答を淡蒼球外節で記録した。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，ハロマンスを投与したマウスでは，遅い興奮の持続時間が有意に延長していた。遅い興奮は大脳皮質–線条体–淡蒼球外節–視床下核–淡蒼球外節を介する応答であると考えられていることから，ハロマンス投与により線条体–淡蒼球外節–視床下核–淡蒼球外節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と Ca イメージングを行い，前頭連合野の機能マップを作成している。

化学遺伝学的手法を用いたニホンザル視床下核の活動抑制

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）の障害により，ヘミバリスムと呼ばれる不随意運動が生じる。一方，STN はパーキンソン病における定位脳手術のターゲットであり，破壊や脳深部刺激療法により症状が改善する。本研究では，ニホンザルの STN の神経細胞に抑制性 DREADD である hM4Di を発現させ，Deschclozapine を投与することにより，活動を抑制することに成功した。STN の活動を抑制すると，反対側の上肢に不随意運動が出現し，到達運動が不安定になった。STN の投射先であり大脳基底核の出力部である淡蒼球内節（GPi）において，上肢運動中の神経活動を記録したところ，STN の活動を抑制すると発火様式が不規則になった。発火頻度は変化しなかったことから，GPi の不規則な発火が異常運動の出現に寄与することが示唆された。すなわち，STN は GPi の活動を安定化させることにより，スムーズな運動を実現していると考えられる。現在，パーキンソン病サルの STN の活動を同様の方法で抑制することにより，症状を改善できるか検討を進めている。

神経ダイナミクス研究部門

【概要】

神経ダイナミクス研究部門は脳活動の非線形ダイナミクスの脳情報処理機構における機能的役割についての理解を目標とする。特にヒトの頭皮脳波を計測し,遠隔の脳領域間でみられる脳波の位相同期ネットワークを定量化し，その柔軟性，ゆらぎ，準安定性に着目した研究プロジェクトを継続的に進行している。また，fMRI 計測，自律神経系計測，さらには，非侵襲脳刺激手法を組み合わせた研究も遂行している。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，力学系数理モデル等の手法を組み合わせることにより，脳の非線形ダイナミクスの機能的意義について計算論的観点からの解明を目指している。

これまで，経頭蓋磁気刺激により脳波の振動現象に干渉，さらに制御できることが我々のものを含む先行研究で示されている。さらに当研究部門では，新たに経頭蓋直流電気刺激を導入し，局所領域の活動の変調により大域的なネットワークダイナミクスの変調が可能か検証を進めている。また，脳波で計測可能な瞬時の脳状態依存での脳刺激手法の技術開発も行っている。

また，特に医療機関との共同研究体制を強化し，計画共同研究と一般研究を推進した。計画共同研究については，2021 年度より，「神経活動ダイナミクスの解析による精神・神経疾患の病態解明」が新設され，当研究部門が担当している。

2021 年度の成果の一部を下記に紹介する。

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

本研究ではマクロスケールレベルの神経活動のゆらぎ，すなわち，脳機能結合柔軟性に着目し，感覚運動系の柔軟な対応が求められる誤差運動学習中にみられる脳機能結合柔軟性とその機能的意義について研究を進めた。さらに加齢の影響についても検討を進めた。健常若年者と高齢者各 27 名を対象とし，運動学習課題中に記録した頭皮脳波をもとにして算出した脳機能結合のノードダイナミクスを脳機能結合柔軟性とした。結果として，運動準備期間の脳機能結合柔軟性は若年者と高齢者の間で有意差が認められ，高齢者の方が脳機能結合の柔軟性が高い結果を示した。運動学習能との関係については，若年者にみられる能機能結合柔軟性は運動学習保

持能力と関係が認められたのに対して，高齢者では脳機能結合柔軟性と運動学習能の関係性が認められず，高齢者が有する高い脳機能結合柔軟性は運動学習能に対して貢献できていない可能性が示唆された。

持続的注意機能と脳波の同期ネットワークのゆらぎの HD-tDCS-EEG 同時計測による因果解明

岡崎由香，北城圭一

日常生活において，我々は自在に特定の場所や物体に注意を向け，維持することが可能である。しかし柔軟であるがゆえに，内的および外的な要因で無意識のうちに注意は絶えず変動し，意識的に注意を一カ所に長時間維持することは容易ではない。この背後には脳の局所的な活動，あるいは，大域的な振動同期ネットワークが時間とともに変化するゆらぎ特性が関与している可能性がある。本研究では高精細度経頭蓋直流電気刺激（HD-tDCS）と脳波（EEG）の同時計測によってアルファ波振動の制御機構と注意維持に関して因果的な検証を進めている。認知機能と脳活動の因果性を示すためには操作的手法が不可欠であるが，HD-tDCS-EEG 同時計測は技術的課題が多く，これまでほとんど行われたことがない。この手法の確立より，電気刺激による局所領域の変調が可能となり，それが大域的にもたらす変化を多くの脳領域から同時に記録し，持続的注意と脳ネットワークの関連の因果的理解が可能となる。

脳波位相同期ネットワークの変化点検知手法の開発

横山　寛，北城圭一

脳波の遠隔領域間の位相同期ネットワークは文脈依存的に柔軟に構造変化をしていると考えられる。この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開発を昨年度に引き続いて行った。ベイズ推定に基づく本提案手法では，観測された脳波の時系列データから瞬時位相情報を抽出し，結合位相振動子系のモデルにフィッティングすることでネットワーク結合パラメータの推定を行う。さらに結合パラメータの分布の時間変化の情報からネットワーク結合の変化点を推定する。数理モデルで妥当性を検証した本提案手法を聴覚課題を行っているときの脳波オープンデータにも適用し，聴覚刺激入力によるネットワーク変化の抽出に成功した。今後は，本提案を応用し，脳波位相同期ネットワークの機能的役割の理解に役立てることを目指す。

Yokoyama H, Kitajo K, Detecting changes in dynamical structures in synchronous neural oscillations using probabilistic inference. *NeuroImage*, **252**, 119052, 2022.

カルマンフィルタを用いた脳波位相の適応的時系列予測による脳状態依存刺激システムの構築

小野島隆之（理化学研究所），北城圭一

近年脳波をリアルタイムに計測解析し，得られた瞬時の脳状態に依存した経頭蓋磁気刺激や感覚刺激のフィードバック刺激を用いた研究が行われ始めている。我々はカルマンフィルタと自己回帰モデルを組み合わせることにより，単一チャンネルの脳波のアルファ波振動の瞬時位相依存で刺激するシステムを構築した。脳波は完全に周期的ではなく，ゆらぎをみせるため，瞬時位相の推定のためには必須な未来の時系列予測に関して困難さがある。カルマンフィルタを用いることで，数 100 ms オーダーの未来の脳波時系列を予測することで精度高

くアルファ波の位相を推定することに成功した。本手法を用いて，脳の瞬時状態依存的な脳刺激手法を今後発展させることにより，可塑性誘導をはじめさまざまな応用を進めていく。

Onojima T, Kitajo K, A state-informed stimulation approach with real-time estimation of the instantaneous phase of neural oscillations by a Kalman filter. *Journal of Neural Engineering*, **18**, 066001, 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。一方で，共同利用研究の新たな方向性であるデータベース構築と meta-analysis の一環として，日本国内の精神科関連の研究機関で構成される COCORO（認知ゲノム共同研究機構）に参加し大規模データ解析による imaging genetics を展開した。

触覚の時間予測誤差処理の一次体性感覚皮質レイヤー特異的活性化； 7 テスラ fMRI 研究

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

人間の脳は，感覚入力に対する予測との誤差を評価し，絶えず内部予測のモデルを更新している。一方，ヒトの一次体性感覚皮質（3b 野）では，異なる皮質層が感覚入力とエラー信号生成に関与している。しかし，時間予測誤差処理において，一次体性感覚皮質の各層がどのように寄与するか不明である。本研究では，7 テスラレイヤーfMRI を用いて，人差し指のタッピング課題時の 3b 野における予測誤差の脳内表現について層横断的に調査した。ランダムシーケンスに比較し，順序の決まった刺激では，3b 野の表層と深層の両方で活動が増加した。また，タッピングの遅延により，3b 野の深層のみに変調が見られ，遅延のない刺激と比較し，短遅延の刺激では活動が大きく，長遅延では活動が小さかった。これらは，触覚の時間予測誤差処理における 3b 野の層特異的反応性を示唆している。これらの層間の反応特性は，皮質層間あるいは皮質領域間の柔軟なコミュニケーションに寄与する可能性があると考えられた。Neuroimage: 248:118867 (2022) として発表した。

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）
橋本亮太（国立精神･神経医療研究センター 精神保健研究所）

統合失調症患者は，認知機能障害の重要な要素である知能の低下を示すことがある。従来研究により，統合失調症患者には，灰白質構造と機能的結合の変化と病前と現在の知能指数（IQ）の差で定義される知能低下に関連があることが示されている。しかし，大脳白質の微細構造と知能低下の関連は不明であった。本研究では，統合失調症患者 138 名と健常対照者 554 名から得られた拡散テンソル画像（DTI）の指標を解析した。患者群は知能の低下に基づき，IQ 悪化群（94 名），IQ 維持群（42 名），IQ 低下群（2 名）の 3 つに分類した。DTI は 2 つの MRI スキャナーにて撮像されたため，装置毎に解析した。IQ 低下群と健常対照群の比較では，MRI スキャナーに関係なく 3 つの関心領域で DTI 指標に差を認めたが，IQ 維持群と健常対照群では 1 つの関心領域のみで差が認められた。しかし，IQ 悪化群と保存群の比較では，再現性のある差が認められなかった。従来の知見と合わせると，統合失調症における知能低下のマーカーとしては，白質微細構造よりも灰白質構造や機能的結合性が有望であると考えられた。Clin EEG Neurosci: 15500594211063314 (2021) 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，小笠原香苗，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。データ解析の過程で，脳波計測にともなうノイズが fMRI データに重畳していることが明らかとなったため，Human Connectome Project で用いられているノイズ除去手法を適用する処理を進めている。

みつめあいと共同注意の神経基盤の関連性：Dual MRI を用いた研究

小池耕彦，土元翔平，小笠原香苗，橋口真帆，定藤規弘

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

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，吉岡　歩，小笠原香苗，土元翔平，橋口真帆，原田　勉（神戸大学），定藤規弘

悩んだ末にアイデアが閃く過程の神経基盤を，様々な可能性を脳内で検索する拡散過程（Divergent process）と，それら可能性の中から一つの結論に収束する過程（Convergent process）に分けて検討した。実験課題としては，一つの漢字に別の漢字をつけて熟語を完成させる RAT 課題と，８枚の画像からルールを見つけ出してそのルールに当てはまる別の画像を考える RAVEN 課題を用いた。RAT 課題は言語性の閃きであり，RAVEN 課題は資格イメージ的な閃きであることから，それらの神経基盤の異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，尾状核の活動が閃きと関連していることが明らかとなった。RAVEN 課題の解析の結果も，尾状核の活動がひらめきと関連していることを示した。これらの結果は，閃きに辿り着く思考の拡散–収束過程には，思考するモダリティが言語か画像化を問わず，尾状核が関与している可能性を強く示唆する。

その後，Dual fMRI を用いて，二人が会話コミュニケーションをしながら RAVEN 課題をしている最中の脳活動を解析することで，社会的な場面における閃きの神経基盤をを検討する研究を開始し，データ収集を継続している。

円滑な情報共有の学習に関連した神経基盤の解明：迷路ゲーム課題を用いて

小池耕彦，角谷基文，定藤規弘

他者と会話をする際には，抽象的かつ目の前に物理的には存在しない情報や概念について口頭で情報交換をする。この神経基盤を，迷路ゲーム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，計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円滑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。この会話の円滑さ向上と並行して，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 MRI 装置の中で同時に映画を見たあとに，その見どころや印象について語り合い，その後再び同じ映画を視聴した。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。解析は終了しており，現在は Angela Zhang が論文を執筆中である。

内的な情報を他者と共有する神経基盤：Dual MRI を用いた研究

小池耕彦，吉岡　歩，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，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(Yoshioka et al., 2020)。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，会話を介して，呈示された物体/事象に対する好みの情報を共有する実験をおこなった。その結果，左下前頭囲が，好みという内的な情報を共有した結果として自他の好みが不一致であることを知った際に，特異的な活動を示すことが明らかになった。この結果は，吉岡歩が主著者として，国際誌に投稿中である。

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

郷田直一，福永雅喜，定藤規弘

非ヒト霊長類（NHP）を対象とした MRI/fMRI は，直接的なヒト・非ヒト種間比較を可能とし，脳機能のより深い理解に貢献する重要な研究手法である。本研究では，特に超高磁場 MRI で収集した NHP データの処理に最適化した MRI/fMRI 解析パイプラインの開発および実データへの適用を進めている。本年度においては，本研究所 7 テスラ MRI にて，麻酔下マカクザル構造 MRI 実験（8 例），固定脳超高解像度構造 MRI 実験（延べ 5 例），および，光遺伝学/化学遺伝学的手法を用いた麻酔下マカクザル fMRI 実験（皮質内刺激 fMRI 実験延べ 24 例，課題 fMRI 実験延べ 3 例，安静時 fMRI 実験延べ 5 例）を他部門と共同で継続的に実施し，複数の種類の NHP 用コイル，撮像条件，頭部治具等条件に応じたパイプライン最適化，および，それを用いたデータ解析を行った。

第二言語文産出時における意味・統語処理の神経基盤
統語的プライミングを用いた fMRI による検討

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

日本人英語学習者は二重目的語構文（DO）と比べ，前置詞句を伴う構文（PO）を選好する傾向がある。DO は文法符号化処理負荷が大きいためとの仮説を立て fMRI 実験を行った。その結果発話潜時は DO が PO よりも長くエラー率も高かった。これは DO の方が難しいことを意味している。また，構文の繰り返し産出時にエラー率が低下した。これは PO・DO で共通の処理があることを示唆し，対応して後頭から頭頂にかけての領域で構文処理の繰り返しによる神経活動の低下がみられた。これらの領域の活動は PO・DO に共通する文の意味的符号化処理を反映しているとみられる。また，PO と比べ DO 産出時には左下前頭回を含む言語処理関連領域が賦活した。以上より文法符号化とこれに関わる実行機能が DO 産出に負荷を生じさせると考察した。本研究は，反復練習や教師の発話を聞いて繰り返すという古典的な学習法が実際に効果的であり，外国語教育場面で不可欠な活動であることを示している。

ハードウェア非依存型の汎用 HCP 前処理パイプラインの構築と提供

山本哲也，福永雅喜，定藤規弘

Washington University in St. Louis を中心とする Human Connectome Project（HCP）が提供する HCP Pipelines は，コホート研究向けに構築された前処理・解析ツールである。我々はこれまで所内で取得された 3 及び 7 テスラの両 MRI データに対応した前処理や課題 fMRI データ解析のために，パイプラインの汎用化を進めてきた。しかし，これは本部門が有するハードウェア上での運用を想定したものでしかなかった。今回，ハードウェアに依存したスクリプト群の全面改良を行い，CPU のコア数やメモリー容量等のハードウェア性能や構成に応じた計算負荷の最適化を環境設定ファイルで行えるようにした。実際に，共同利用研究や ABiS の支援事業の枠組みにて，本汎用 HCP 前処理パイプラインを提供し，所外のハードウェアでも問題なく運用できることを確認した。今後，前処理以外のパイプラインについてもハードウェア非依存化を進めると同時に，スクリプトの公開を検討している。

二者間の社会的行動選択中の神経基盤：Dual fMRI を用いた研究

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

種間の神経基盤を比較検証するために，サルで実施した社会的行動選択課題をヒトで実施した。課題内容は，３つのボタンから１つの正解ボタンを選べば報酬がもらえるという試行であり，２人が交代しながらボタンを押す。課題相手の対照条件として，録画再生されたスクリーン上の手や棒状の物体がボタンを押すという条件を設定した。この課題中の二者間の脳活動を Dual fMRI を用いて計測した。

取得した脳活動データを Human Connectome Project の pipeline を用いた前処理を適用した後，各試行の脳活動を抽出した。その結果，自分の直前の試行で相手が正解ボタンを探索するときにおいて，実在の相手と課題をする

条件時に，右脳半球下前頭回が対照条件よりも統計的有意に賦活することが分かった。現在は，二者間の脳領域間の機能ダイナミクスを検討している。

ヒト fMRI における安静時機能結合解析の新規手法の開発

吉本隆明，定藤規弘，近添淳一（ARAYA）

安静時脳機能結合の解析は，近年とりわけ fMRI（機能的磁気共鳴画像法）のデータを対象にして活発に行われている。しかしながら，これまでの安静時脳機能結合の解析は，脳領域内の信号を空間方向で平均した時系列データの相関を計算するという，比較的単純な解析手法が主流であった。私たちは，従来の解析では平均化の手続きにより失われていた局所領域の脳活動パターンの情報を積極的に活用する解析手法を提案し，新規手法で観察された安静時脳機能結合に基づいて，ヒトの性格特性や心理課題の成績を推定する学習器の開発を行っている。

解析対象としては，Human Connectome Project (HCP)が公開している健常者 1,000 人超の安静時の fMRI データを用いている。将来的には，精神疾患の鑑別への臨床応用に向けて，新規データの分類のためのアプリケーションの開発を検討している。

メタ認知プロセスに関わる神経基盤

南條啓孝 [1,2,3]，山本哲也 [1,2]，宮田航平 [4]，赤石れい [3]，定藤規弘 [1,2]
[1)] 生理学研究所 心理生理学研究部門
[2)] 総合研究大学院大学 生命科学研究科
[3)] 理化学研究所 脳神経科学研究センター
[4)] 東京大学大学院 総合文化研究科

メタ認知とは，認知過程そのものを監視し制御する高次認知機能である。監視過程は自己の認知に対する確信で計測されることから，確信を知覚刺激強度等の外的要因を操作することによってメタ認知の神経基盤が検討され，メタ認知的監視には前頭極が重要であると報告された。これらの先行研究では，確信をもたらす監視への外的要因の影響を排除し得ず，また制御と監視の神経基盤の異同は知られていない。本研究は,内的に誘発されるメタ認知の監視過程と制御過程に関わる神経基盤を明らかにすることを目的として，34 人の被験者を対象に機能的 MRI を行った。メタ認知的監視と制御の連動を（１）確信の高いときに発生する自己の判断に固執して新たな情報に対する認知的柔軟性が低下する confirmation bias ならびに（２）エラー検出機能をもって検出するために，2 回連続して知覚弁別とその時の確信度評定を行わせる心理物理学的実験課題を考案した。刺激強度の影響を取り除くために，解析時に各刺激強度内の 1 回目の判断における確信度の中央値を用いて,高確信トライアルと低確信トライアルに分割した。行動解析の結果，confirmation bias を確認した。さらに 1 回目の判断が間違っていた場合，低い確信を抱いているときは，高い確信のときと比べて，判断をより頻繁に変更して正答に到達した。これらのことから，課題によりメタ認知の監視と制御過程を導出することができた。fMRI は現在解析中である。

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。

社会的報酬によるアンダーマイニング効果の神経基盤

綾部宏明，小池耕彦，定藤規弘

褒めは，金銭的報酬と比べて社会的報酬とよばれ，私たちの行動を促す外的報酬である。反面，外的報酬は課題や活動の面白さ（内発的動機づけ）を弱体化させて自発的な行動を抑制することがある（アンダーマイニング効果）。この効果は金銭的報酬において顕著であり，報酬系（線条体，中脳領域）の脳活動減少と対応づけて神経基盤も確認されている（Murayama et al., 2010）。一方，社会的報酬はその効果を生じさせないとされる。

ところが，ヒトの脳は金銭的報酬と社会的報酬を区別していない可能性がある。いずれも報酬系脳活動を高めるからである（脳内共通通貨仮説）。もし，報酬により効果が異なるならば，神経基盤も異なるはずである。しかし，未だ検討されていない。

本研究では，金銭的報酬に着目した先行研究を再現しつつ, 社会的報酬によるアンダーマイニング効果の神経基盤を検証できる実験計画を立て，実験を概ね完了した。

時間間隔を正確に知覚することに関連する脳領域

橋口真帆，小池耕彦，守田知代（脳情報通信融合研究センター）
原田宗子（広島大学），Denis Le Bihan，定藤規弘

私達が知覚する時間の長さは主観的で長くも短くもなるが，楽器を正確に演奏する場合など日常場面では主観的に知覚する時間間隔が物理的な時間に近いこと，すなわち時間間隔を正確に知覚する能力が必要となる。本研究では，2 秒以下の時間間隔を正確に知覚する能力に関する神経基盤を描出する目的で心理課題時の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長短いずれの参照刺激に近いかを弁別した。各被検者の 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，時間間隔の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間隔を正確に知覚することに関連する脳領域であることが明らかとなった。加えて，時間間隔を正確に知覚できた被検者ほど右島皮質と右中前頭回の結合性が高いことが分かった。

他者からの共感により相談者の不安が軽減することの神経基盤検討

橋口真帆，小池耕彦，定藤規弘

医療や福祉の対人援助場面では「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, その神経基盤は不明である。本研究は呈示刺激により不安感情を惹起された相談者役が対話を通してカウンセラー役に共感されるという場面を設定し, この際の心理評価および脳機能イメージングを行うことで, 相談者が他者に共感された時の不安軽減効果の神経基盤を検討する。なお，本実験は 2 者が対面することはなく声のみでやり取りを行う。予備心理実験では，カウンセラー役が相談者役の「不安です」という言葉を聞いて，「そうですね」と同意の言葉を返し，この際カウンセラー役に相談者役と同一の不安感情惹起刺激を呈示した（共感条件）。なお，非共感条件ではカウンセラー役に風景など不安感情が生じない中立画像を提示した。予備心理実験より，共感条件において非共感条件よりも相談者の不安が軽減することが確認できた。今年度中に本実験実施予定である。

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

小笠原香苗，小池耕彦，福永雅喜，吉岡　歩，定藤規弘

高プレッシャー下では運動パフォーマンスが低下することがある。その原因として過剰な覚醒度の上昇（過覚醒）の関与が示唆されているが，そのメカニズムや神経基盤は明らかになっていない。本研究では，高解像度での脳機能描出が可能な 7 テスラ MRI を用いて高プレッシャー下での脳活動を記録した。両手の握力を用いた視覚運動協調課題をおこなわせた。

結果として，低頻度で起こる高報酬なイベントで高プレッシャーをかけると，(1) 覚醒度上昇を示す生理指標（瞳孔径・握力）に変化が起き，(2) 視覚運動協調課題の成績が低下し，(3) 覚醒度を反映する自律神経系の調整とネットワークの制御に関わるサリエンスネットワーク（島皮質，前帯状皮質）の過活動がみられた。実験はすべて終了しており，現在は解析と並行して論文執筆をおこなっている。

視点取得に関連する神経基盤の検討

伊津野巧，小池耕彦，定藤規弘

視点取得とは，自分の現在の視点を異なる立場や位置に移動させ，その視点にある者がもつだろう考えや感情，もしくは見える風景を推測することを指す。さまざまな心理療法の作用機序として，他者視点を取得することで認知的変化が生じると考えられている。しかし，他者の考えや感情に焦点を当てた視点取得の神経基盤に関する研究はほとんどない。本研究では，Happy もしくは Unhappy な状況において，自分視点，相手視点，第三者視点の視点取得を行う前後で自身の感情を評価させ，視点の種類によって，感情の変化量に差があるか調べた。15 名の心理実験の結果，Unhappy な状況において，自分視点と比較して，相手視点と第三者視点を取得すると自身のネガティブな感情が緩和されたことが分かった。現在，38 名の fMRI データを収集し，そのデータ解析を行っている。

感覚認知情報研究部門

【概要】

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

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

緑内障が白質線維束に及ぼす影響の検討

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

緑内障は網膜神経節細胞および視神経に障害を及ぼす疾患であり，日本における中途失明原因の第一位であるとされる。緑内障が視覚情報の伝達経路に及ぼす影響を調べるため，玉川大学脳科学研究所の保有する３テスラ MR 装置を用いて緑内障症例 17 名，および健常対照群 30 名を対象に拡散強調 MRI および定量的 T1 計測を行い，初期視覚情報の伝達経路である視索および視放線の分析を行った。その結果，視索においてはいずれの MRI 計測法でも，緑内障症例において異常値が見られることを認めた。一方で，網膜神経節細胞より 1 シナプス離れた視放線においては，定量的 T1 計測において緑内障症例は異常値が見られなかったものの，拡散強調 MRI 計測においては異常値を示した。このことは，緑内障によって視放線における経シナプス変性が生じることを意味している。定量的 T1 がミエリン密度と相関する指標であることを考えると，脱髄以外の障害が主に視放線で生じている可能性が示唆される。

定量的 MRI を用いたヒト外側膝状体の下位領域の計測

大石浩輝（情報通信研究機構），竹村浩昌，天野　薫（東京大学）

外側膝状体（lateral geniculate nucleus; LGN）は網膜からの視覚信号を中継する視覚情報処理に関与する重要な神経核である。LGN は大別して大細胞領域（magnocellular, 以下 M 領域）と小細胞領域（parvocellular, 以下 P 領域）からなり, それぞれ異なる機能を担うことが電気生理学および解剖学研究から明らかになっている。しかし，ヒト生体脳において M 領域および P 領域を計測する方法は十分に確立していない。本研究では，Macromolecular Tissue Volume (MTV)法（Mezer et al., 2013）と呼ばれる qMRI 計測法を応用し，ヒト LGN における組織構造の計測を行なった。その結果，MTV の計測結果に基づいてヒト被験者における M 領域と P 領域の位置を判定できること，判定された M 領域と P 領域の位置がヒト死後脳解剖データと一致していたことが分かったが分かった。またこの結果は, 同一被験者を対象に異なる日再度行われた MTV 計測実験においても見られた。加えて判定された M 領域と P 領域の活動を fMRI で計測したところ電気生理学研究で知られている刺激選択性と一致する結果が得られた。このことか

ら，MRI 計測からヒト LGN の機能および構造を非侵襲で計測する手法が確立し，今後 LGN の下位領域とヒトの感覚・認知情報処理の関連を解明する研究の発展につながることが期待される。

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

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

ヒトの一次視覚野の大きさは，健常視力を持つ成人どうしの間でも 3 倍程度異なる場合があることが知られている。しかしどのような要因によって，このような大きな個人差が生じているのかは明らかでない。先行する死後脳を対象とする研究（Andrews et al., 1997）では，ヒトの一次視覚野の大きさが網膜神経節細胞由来の白質線維束である視索の大きさと相関することが示されている。このため，視索と一次視覚野の関連がヒト生体脳においても見られるのかを 178 名の健常成人から得られた機能的 MRI および拡散強調 MRI データセット（HCP 7T Retinotopy Dataset; Benson et al., 2018）を分析することで検討した。その結果，視索の組織構造（拡散異方性）と一次視覚野の表面積との間に相関関係があること，またこの相関関係が異なる計測条件においても再現されることが分かった。さらに，双生児を対象とした分析により，視索と一次視覚野の両方において遺伝の影響が見られることが分かった。このことは，ヒトの一次視覚野の個人差は，網膜神経節細胞由来の線維束である視索の個人差と一部共通した要因によって生じていることを示唆する。

研究連携センター

【概要】

研究連携センターは 2016 年 4 月に設立され活動を開始した。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 2 年目にあたる 2021 年度も，引き続き 7T- MRI を用いたヒト脳イメージングの研究，特に拡散強調画像の新規撮像法および解析法の開発に取り組んだ。

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。2021 年度は生理学研究所の紹介ビデオを新規に作成し YouTube にアップしたほか，10 月 24 日（日）に開催された大学共同利用機関シンポジウムの HP 上で共同利用研究等に

ついて紹介した。

学術研究支援室

【概要】

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

・先端バイオイメージング支援プラットフォーム（ABiS）

2016 年度より開始された新学術領域研究（学術研究支援基盤形成）の 1 つである，ABiS の運営事務局を担当している。狩野客員教授が代表を務める ABiS は，生理学研究所と基礎生物学研究所が中核機関を担う，各種顕微鏡や MRI による先端的イメージング観察及び画像解析技術支援プラットフォームであり，共同利用研究と相補的な取組として，全国の連携機関とネットワークを構成し，オーダーメイド型の支援を行う事業である。

今年度は，前年度と同様にオフィシャルウェブサイトにおいて，ABiS の支援内容，公募情報，会議や研究集会の案内，トレーニング開催情報，支援による成果発表等を随時発信するとともに，種々の生命科学関係の学会において周知活動を実施した。2021 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 6 回目の年会がオンラインで開催され，「Imaging Infrastructures in a time of change」について GBI 参加国間で議論した。2022 年 3 月 1 日には，オンラインにて ABiS シンポジウム「イメージングデータ解析が拓く生命科学の新時代」を開催し,今後の解析技術およびデータ利活用の展開を議論した。

なお，期末評価において高い評価 （評価結果 A : プラットフォームの目的に照らして，期待通りの成果が認められるため，今後も学術研究の更なる発展への貢献が期待できる）を受け，2022 年度から，学術変革領域研究（学術研究支援基盤形成）として本プラットフォームの継続が決定した。

・「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，新学術領域研究 4 領域と学術変革領域研究 (A) 4 領域が参加し，2021 年 12 月 15 日～18 日に 5 回目となる冬のシンポジウムをオンラインにて実施した。

・戦略的国際脳科学研究推進プログラム（国際脳）

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

今年度は，国際的な脳科学研究の枠組みである International Brain Initiative (IBI) に設置されているワーキンググループ（WG），Data Standards & Sharing WG の全ての活動の実務を行った。本 WG の隔月会議の開催に加え，INCF Neuroinformatics Assembly 2021 (online) の企画シンポジウムとサテライトイベントを企画運営した。また，2021 年 6 月 11 日～12 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「国際脳オンライン分科会」を主催した。11 月 11 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。2022 年 2 月 6 日には AMED の脳科学研究関連の 4 プログラム合同で「脳とこころの研究推進プログラム公開シンポジウム」を開催した。

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 2021 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 2021 年度末時点で繁殖母群１５５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３２件１１７頭（簡易申請含む）の応募があり，３２件１１７頭が採択，３０件５５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８機関，私立大学が１機関，研究所が５機関，合計１４機関である。

（３）研究用ニホンザルの組織試料提供の実施

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

（４）プロジェクトの総合的推進

１）委員会等の実施

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

２）ユーザーコミュニティとの連携

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

３）事前講習会の開催

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

４）母群検討委員会

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

（５）その他の活動

感染症対応のための，マニュアルの改定等，感染症対策を実施した。2021 年度は第４期の最終年度にあたり，今後，どのように継続していくかについても代表機関と議論を行った。

脳機能計測・支援センター

多光子顕微鏡室

【概要】

多光子顕微鏡室では，主に 2 光子蛍光寿命イメージング顕微鏡を用いて研究を推進している。2 光子蛍光寿命イメージング顕微鏡を用いることで脳組織等の組織深部においても，細胞やシナプス内で起こるシグナル伝達や分子間相互作用などの生化学反応を高空間分解能でイメージングすることができる。この方法を用いて，シナプス内の生化学反応を可視化することにより，シナプス可塑性機構を調べている。また，顕微鏡を軸とした最先端の光学技術に加え，新規蛍光タンパク質や光制御可能なタンパク質分子などのプローブの開発も行っており，これらの技術を顕微鏡や電気生理学的手法と組合せることで，神経細胞およびグリア細胞の機能に関する研究を推進している。

シナプス可塑性における短時間-長時間変換シグナルのメカニズムの解明

長澤裕太郎，佐藤愛子，平田華代，村越秀治

神経回路の形成と機能の基礎となるシナプスは数万タンパク質分子からなる 300 ナノメートル程度の分子複雑体である。その形態・体積や内部構造は動的に制御されており，動物の記憶メカニズムの基礎と考えられている。我々はこれまで，2 光子蛍光寿命イメージング顕微鏡法により，海馬興奮性シナプスにおいて，短時間の Ca2+流入および CaMKII 活性化が局所的かつ動的な長時間の低分子量 G タンパク質（Cdc42）活性に変換されることがシナプス長期増強の基礎となっていることを明らかにした。現在，このタイムスケール変換メカニズムを調べている。本研究では，Cdc42 の活性化因子に着目し，網羅的にそれらのダイナミクスと分子機能を 2 光子蛍光寿命イメージング顕微鏡法と局所分子光操作法により明らかにすることを試みている。このようにして，シナプスにおいて，短時間シグナルを長期持続シグナルに変換するメカニズムを分子集合・離散の観点から明らかにし，記憶システムや脳の遺伝疾患メカニズムの解明につなげたい。

親水性を大きく改善した蛍光タンパク質の開発

村越秀治，小杉貴洋

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

の細胞内での特性を調べていく。

新規レーザーによる 3/4 光子顕微鏡の開発

村越秀治，植田大海，藤　貴夫

現在，脳深部の神経細胞の観察を目指して豊田工大藤教授と連携して，新規ファイバー型レーザーの構築とそれを利用した 3 光子顕微鏡システムを構築している。現在多光子顕微鏡に利用される市販レーザーは 700-1000 nm のものが一般的であるが，水による吸収が比較的少ない波長 1900nm 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）。今年度は，このシステム下において個体マウス脳のイメージングを進めた。現在までに深部 700 マイクロメートルにある神経細胞の可視化に成功している。今後はより深部の観察を目指す。

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，長澤裕太郎，佐藤愛子，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（Ueda et al. Cell Reports 2022）。

電子顕微鏡室（窪田グループ）

【概要】

大脳皮質は多くの領域から構成され，それぞれが機能分担をすることで知覚，運動，思考といった我々の知的活動を支えている。この仕組みを知るためには，皮質内神経回路の構造と機能を明らかにすることが重要である。当研究室では大脳皮質局所回路の構築原理の解析研究を実施している。今年度，当研究室では，大脳皮質の１次・２次運動野に焦点をあて，in vivo imaging，免疫組織化学法，光顕-電顕相関解析法，大規模電顕画像解析法などの多岐にわたる実験手技を取り入れ，神経細胞タイプごとのシナプス結合パターンや 可塑的な神経回路リモデリング等，記憶学習などを中心に研究をすすめた。新皮質局所回路と大脳システム回路を統合的に解析し，ニューロンタイプの機能分担や層構造の役割，さらに運動野から感覚野・海馬・視床・基底核・小脳などへの多

様な投射などの機能的解析を進めている。

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

窪田芳之，江川尚美，北　啓子，江藤智子，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。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実施した。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）を改造 VAST Lite を利用して行なった。結果，ターゲットの大半は錐体細胞の棘突起であることが明らかとなった。

学習に伴う大脳皮質運動野での回路特異的な可塑的変化

孫　在隣，窪田芳之，川口泰雄

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（1 日目～4 日目）に一次運動野と二次運動領域の間に「学習回路」が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（5 日目～8 日目）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–皮質間結合がおそらく試行錯誤を行うため，獲得技能の維持すなわち学習した内容を習慣化するためには視床-皮質入力が重要であることが示唆された。実際に，学習初期に学習回路を化学遺伝実験手法で信号を遮断すると学習の上達が妨げられる一方，学習期間が終了し上達したマウスに対して同様に信号を遮断したところ，上達済であったはずの運動がまともに実行できない事をみいだした。

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手であり, シナプス可塑性を生じることが知られている。シナプス可塑性の理解のために, スパイン―デンドライト空間中における生体分子反応拡散シミュレーションシステムの開発を継続して行っている。電子顕微鏡 3 次元画像を対象に，コネクトミクスの情報技術を応用して，スパイン，デンドライト，ミトコンドリア，SER，PSD などの 3 次元形状を形状を抽出する。同 3 次元形状内において，シナプスへグルタミン酸刺激を行った場合に，Ca^{2+}シグナルがスパイン―デンドライト空間をどの様に反応拡散するかシミュレーシ

ョンする。これまでのシミュレーションから，シナプス部の代謝型グルタミン酸受容体（mGluR）の活性から生じる IP3 がデンドライト ER 上の IP3 受容体を刺激し，局所デンドライトにおいて Ca^{2+}シグナルを生じる計算結果を得ている。 Ca^{2+}シグナルが生じる空間範囲は，ヘテロシナプス可塑性が生じる範囲とおおよそ同一であり，局所 Ca^{2+} がヘテロシナプス可塑性の空間決定因子となる可能性を強く示唆している。引き続き，シミュレーションにより，実証実験可能な予測を行うことを目指してシミュレーションを進める予定である。

生体機能情報解析室

【概要】

高磁場 MRI（３テスラおよび７テスラ）の共同利用によるヒト並びにサルを対象とする脳機能計測を支援するとともに，脳の構造機能連関研究を進めることを目的としている。MRI 装置の基礎研究・機器開発から臨床画像研究に至る共同研究を推進しつつ，測定方法，解析手法，応用の範囲，安全性の検証などの面で基盤技術を整備する。脳の構造機能連関を研究するにあたり，生成される大量の画像データを統計数理学的に取り扱う手法を開発している。

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のみでなく，高次視覚野から初期視覚野への情報の伝達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，論文発表した[2]。

1. Horikawa T, Kamitani Y., Generic decoding of seen and imagined objects using hierarchical visual features. Nature Communications **8**, 15037 (2017)
2. Pham TQ, Nishiyama S, Sadato N, Chikazoe J., Distillation of Regional Activity Reveals Hidden Content of Neural Information in Visual Processing. Frontiers in human neuroscience 727 (2021)

主観的時間知覚が将来の報酬の選好に及ぼす影響の検討

新滝玲子（慶應大学），田中大輝（慶應大学），岡安　萌（慶應大学），鈴木真介（メルボルン大学）
吉本隆明，定藤規弘，近添淳一，地村弘二（慶應大学）

我々の報酬に対する選好は，それを獲得するまでの時間的な遅れの影響を受ける。本研究においては，外界の変化が時間の近くに影響を与えることを示し，大脳皮質および皮質下領域からの報酬信号によって，この選好の変化を説明できることを示した。実験では，被験者は数十秒の間，視覚刺激を提示される。これが静止画である

場合には，動画である場合と比較して，より長い提示時間であるかのように感じられることを発見した。さらに，腹外側前頭前野と腹側線条体の活動は，主観的時間知覚によって変化する報酬成分を反映していることが明らかになった。これらの結果をまとめ，preprint として，bioRxiv にて発表した[1]。

1. Shintaki R., Tanaka D., Okayasu M., Suzuki S., Yoshimoto T., Sadato N., Chikazoe J., Jimura K., Subjectivity of time perception alters choice preference for future rewards through fronto-striatal value signal dynamics. bioRxiv 2022.

時系列細胞現象解析室

【概要】

脳は神経細胞を素子とし，シナプスを介した神経回路で情報を処理することによって高次機能を発揮する。従って，神経回路の構造を理解した上で個々の細胞の活動や細胞間のシナプス伝達の制御機構を明らかにすることは，脳の機能を理解することにおいて必要不可欠である。私たちは，大脳皮質，基底核，小脳などの脳領域において主に生理学的手法を用いて，高次機能と関連した神経回路の機能的構造や動態制御ならびにシナプス伝達の動作・制御機構を研究してきた。また，脳・神経系疾患の発症機序について，新規治療法の開発も目指して，疾患関連遺伝子変異マウスの病態解析も行っている。本年度は，高次機能に関連した神経細胞・回路の動態制御機構として，運動学習における皮質一次運動野の錐体細胞サブタイプの機能的役割について解析を行った。また，抗がん剤候補物質 roscovitine 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。

皮質運動野における学習形成の制御機構

大塚　岳

皮質錐体細胞は多様な投射先に対応して分化しており，局所回路においてサブネットワークを形成している。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，回転カゴを用いた足場バーのパタン学習とオシレーション活動の関連を検討した。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，M1-PT 細胞に依存したオシレーションが学習形成に重要な役割を担っていることを示唆する。

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：Ca^{2+}チャネル機能亢進作用の関与の検討

佐竹伸一郎

抗がん剤候補物質 roscovitine（cyclin-dependent kinase 1, 2, 5 阻害薬）には，小脳顆粒細胞-プルキンエ細胞間グルタミン酸（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。

これまでに，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内在性 Ca^{2+} 緩衝機構（Ca^{2+} buffer）と Ca^{2+} マイクロドメインシグナリングが MVR の誘発に重要な役割を担っていることを示唆する結果を得ている。

Roscovitine には Cdk5 阻害作用に併せて，$Ca_v2.1$ チャネルならびに $Ca_v2.2$ チャネルの機能を亢進させる作用があることが報告されている。Roscovitine の MVR 促進作用にこれら Ca^{2+} チャネルが関与する可能性を検討するため，roscovitine アナログ GV-58（Cdk 阻害作用のみを欠損させた Ca^{2+} チャネル作動薬）が小脳シナプス伝達におよぼす影響を観察した。GV-58 は，顆粒細胞 - プルキンエ細胞間 Glu 作動性シナプス伝達ならびに介在神経 - プルキンエ細胞間 GABA 作動性シナプス伝達, いずれに対しても有意な促進作用を示さなかった。この結果に基づき oscovitine は，Ca^{2+} チャネルの機能亢進作用を介してではなく，Cdk5 を阻害することにより，MVR を誘発していると結論した。

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 211 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（藤田医科大学），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，種々のモデル動物の様々な神経路に適用出来る高効率な逆行性 AAV ベクターシステムの開発・改良に取り組んでいる。

細胞内シグナル伝達分子の活性操作による新しいパーキンソン病治療法の探索

小林憲太，佐野裕美（藤田医科大学），貝淵弘三（藤田医科大学），南部　篤

独自に開発したダブル AAV ベクターシステムを利用して, パーキンソン病モデルマウスの線条体-黒質投射ニューロンで特異的に Protein kinase A (PKA) のドミナントアクティブ変異体を発現誘導する遺伝子改変マウスを作製した。このマウスでは，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。さらに，PKA の下流で機能する主要な分子に関しても同様の解析を進めている。本研究は，特定の細胞内シグナル伝達分子を標的とした新しいパーキンソン病治療法の開発に大きく貢献すると考えられる。

遺伝子改変動物作製室

【概要】

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

ラット体内でマウス多能性幹細胞から精子作製

小林俊寛，平林真澄

動物体内で効率的に多能性幹細胞から生殖細胞を作るため，我々が以前開発した「胚盤胞補完法」を用いた。胚盤胞補完法は，遺伝的に組織・臓器を欠損する動物の胚盤胞に正常な多能性幹細胞を移植することで多能性幹細胞由来の組織・臓器を作る方法で，これまでに膵臓や腎臓の作製に成功してきた。本研究では生殖細胞の作れない *Prdm14* 欠損ラットの胚盤胞を用いた胚盤胞補完法により,多能性幹細胞由来の生殖細胞を胚発生を利用して効率的に作れるか検証した。*Prdm14* 欠損ラット胚盤胞に雄マウスの多能性幹細胞（ES 細胞，iPS 細胞）を移植したところ，産まれてきた雄ラットの精巣内においてマウス多能性幹細胞由来の精子および精子細胞が作られていた。このラット体内で作られたマウスの精子細胞を，マウスの未受精卵に顕微注入し仮親に移植すると，正常なマウス産仔が得られた。以上のことよりラットの体内というマウスにとっては異種の環境においても，マウスの多能性幹細胞から機能的な生殖細胞が作り得ることを証明した。

多階層生理機能解析室

【概要】

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

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

運動系を中心とした,覚醒下での単一ニューロン活動などの神経活動の計測（担当：生体システム研究部門，南部教授），自由行動下における摂食行動，エネルギー消費の計測（担当:生殖・内分泌系発達機構研究部門,箕越教授），自由行動下における体温，脈拍数，血圧の計測（担当：細胞生理研究部門，富永教授），麻酔マウスを用いた臓器形態－機能連関（肝・腎・血管），４次元心機能変化，微小循環血流量（脳・臍帯）の非侵襲的超音波イメージ（担当：心循環シグナル研究部門，西田教授），円形温度グラジエント装置によるマウス温度嗜好性解析（担当：細胞生理研究部門，富永教授），情動，学習・記憶に関わる行動解析：オープンフィールド，明暗往来，高架式十字迷路，強制水泳，ロータ・ロッド，受動的回避反応，恐怖条件づけ，モリス水迷路，バーンズ迷路など。

ジストニアモデルマウスの筋活動解析

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

理研 BRC の吉木先生らのグループが発見した突然変異マウス（dt-23Rbrc）は，*Dystonin*（*Dst*，ジストニン）遺伝子が全身で欠損をしており，上肢の捻転，下肢の伸展，歩行時の体幹捻転など，ジストニア様症状を示す。実際，このマウスの筋電図を記録したところ，持続的な筋収縮，伸筋と屈筋の同時収縮といったジストニアに特徴な筋活動を示した。一方，神経堤細胞から分化した細胞，すなわち末梢神経のみで *Dst* を欠損した Wnt1-Cre::Dst cKO マウスは，下肢で捻転運動様の異常な運動が認められたが，歩行時の体幹捻転など典型的なジストニアの表現型を示さなかった。さらにこのマウスの筋電図を上肢と下肢から記録したが，ジストニアに特徴的な筋活動は認められなかった。これらのことから中枢神経における *Dst* 欠損がジストニア症状に関与していることが示唆された。

乳酸輸送体制御タンパク質 Basigin による代謝調節作用

龍華章裕，小杉智規，有馬　寛，丸山彰一（名古屋大学 大学院医学系研究科 総合医学専攻 病態内科学）
門松健治（名古屋大学大学院医学系研究科 分子生物学）
近藤邦生，箕越靖彦

乳酸輸送を担う monocalboxylate transporter 1 (MCT1) が細胞膜に発現するには，細胞膜蛋白である CD147/Basigin (BSG) が必要である。本研究では，BSG 欠損によって乳酸・ピルビン酸輸送を抑制した時の代謝に及ぼす影響を調べた。BSG 欠損によって細胞膜に存在する MCT1 の量が有意に低下し，その結果，乳酸やピルビン酸の細胞内への取込みが低下することによって肝臓での糖新生，TCA 回路が抑制された。これに対して，代償的に糖原性アミノ酸やケトンによる TCA 回路への流入が増加した。また，このマウスに高脂肪食を与えたところ，高脂肪食によって引き起こされる高血糖や脂肪肝が抑制され，インスリン抵抗性が改善した。以上の結果から，BSG は糖・脂質・アミノ酸代謝の調節に必須であることが明らかとなった。

リン酸化非依存的・レドックス依存的 GPCR 内在化機構に着目した抗炎症作用

西山和宏，加藤百合（九州大学大学院 薬学研究院），西村明幸，西田基宏

多くの G タンパク質共役型受容体（GPCR）は，リガンド刺激後に GPCR キナーゼ（GRK）によりリン酸化され，β アレスチン依存的に内在化することで，自身のシグナルを負に制御すると考えられている。しかし，GRK によるリン酸化を受けにくい GPCR がどのような機序で内在化するかについては不明であった。我々は，GRK によるリン酸化を受けにくい炎症誘導性 GPCR であるプリン作動性 P2Y6R の内在化機構について検討を行った。その結果，機能性食品成分イソチオシアネートや親電子性物質が P2Y6R の細胞内第 3 ループにある Cys220 の SH 基修飾および第 2 ループにある Lys137 のユビキチン化を介して内在化を引き起こすことを明らかにした。P2Y6R 欠損マウスと P2Y6R C220S 変異マウスを作出し，デキストラン硫酸誘発性の大腸炎モデルと掛け合わせたところ，P2Y6R 欠損マウスでは大腸の萎縮や突然死が軽減されたのに対し，P2Y6R C220S 変異マウスでは症状が悪化することを確認した。さらに，このβアレスチンに依存しないレドックス依存的内在化（Redox-dependent alternative internalization; REDAI）が，P2Y6R 以外の GPCR でも保存される機構であることも明らかにした。

情動，学習・記憶に関わる行動解析

山肩葉子，西島和俊

マウスの情動や学習・記憶に係わる行動解析を行うことにより，特定の遺伝子・蛋白質の生理機能の解明や，疾患モデル動物の開発・評価を目指して，動物資源共同利用研究センター内に行動解析室が新たに設置され，そのセットアップを行った。具体的には，情動関連行動の評価のために，オープンフィールド，高架式十字迷路，強制水泳の各装置に加えて，新たに明暗往来装置を導入した。また，学習・記憶関連行動の評価のために，ロータ・ロッド，受動的回避反応，恐怖条件づけ，モリス水迷路の各装置に加えて，新たにバーンズ迷路の装置を導入し，これら装置の最適化を行った。また，他大学の大学院生を対象に行動解析実習を行うと共に，生理学研究所内外の研究者と行動実験に関する打ち合わせと実験計画の作成を行った。

カルモジュリンキナーゼ II 活性と情動関連行動

山肩葉子，柳川右千夫（群馬大学）

Ca^{2+}/カルモジュリン依存性プロテインキナーゼ II（CaMKII）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。中でも神経細胞特異的に発現するアイソフォームである CaMKIIα は，その中心的な役割を果たし，我々は，その活性をなくした CaMKIIα ノックインマウス（CaMKIIα-KI）を用いて，海馬依存性のシナプス可塑性と海馬依存性の記憶が強く障害されることを示してきた。一方，この分子は情動にも係わる可能性があることから，CaMKIIα-KI を用いて，情動関連行動の解析を行った。その結果，オープンフィールドテストでは中央部を避ける傾向が認められたのに対し，高架式十字迷路テストでは壁のない open arm に多く侵入し長時間滞在することが判明した。これらの結果から，CaMKIIα 活性が情動関連行動の制御にも強く関与することが示唆された。

動物資源共同利用研究センター

【概要】

動物資源共同利用研究センター（以下「センター」と略す）は，2019 年 4 月に改組され，運営部門，先端モデル動物作製室，モデル動物表現型解析室の 3 部門からなる。センターでは，適正な実験動物を用いて再現性の高い正確な動物実験成績を得ることをめざして，実験動物と動物実験に関して，管理運営，研究，研究支援，教育及び社会貢献を行うべくその責務を果たした。

Ⅰ．管理運営

1. 動物飼育数および入館者数

明大寺地区の動物種別飼育数（特定の日に集計した値）は，マウス 1,870 匹，ラット 1 匹，魚類 11,846 匹，両生類 84 匹，サル類 36 匹であった。年間入館者数は延べ 4,336 人（センター職員を除く），登録者数 124 名であった。山手地区の動物種別飼育数（特定の日に集計した値）は，マウス 2,486 匹，ラット 253 匹，魚類 4,450 匹，両生類 254 匹であった。年間入館者数は延べ 5,612 人（センター職員を除く），登録者数は 144 名であった。

2. 飼養室の使用状況

明大寺地区陸生動物の飼養保管室利用部門数は，16 部門（生理研 15 部門，共通研究施設 1 部門）であった。山手地区陸生動物の飼養保管室利用部門数は，9 部門（生理研 5 部門，生命創成探究センター3 部門，共通研究施設 1 部門）であった。水生動物の利用状況について，明大寺地区では 5 部門（生理研 1 部門，基生研 4 部門），山手地区では 3 部門（生命創成探究センター3 部門）が水槽を利用した。

3. 微生物学的品質管理

（1）齧歯類の微生物モニタリング項目

センター内及びセンター外(センターの外部にある部門に設置されている飼育室）で飼育しているマウス，ラットを対象に，微生物モニタリング検査を 3 ヶ月に 1 回の割合で定期的に行った。検査項目は，ウイルス感染症：Mouse hepatitis virus，Sendai virus，Ectromelia virus，Lymphocytic choriomeningitis virus，Sialodacryoadenitis virus，Hantavirus；細菌性感染症：*Mycoplasma pulmonis*，*Salmonella spp.*，*Clostridium piliformis*，*Pasteurella pneumotropica*，*Bordetella bronchiseptica*，*Streptococcus pneumoniae*，*Citrobacter rodentium*, *Corynebacterium kutscheri*, *Helicobacter hepaticus*, *Helicobater bilis*；内部寄生虫：Giardai muris，Spironucleus muris, Trichomonads etc., Pinworms と外部寄生虫とした。

（2）齧歯類の微生物モニタリング検査体制

3 ヶ月に 1 回の割合で, センターにおける自家検査により，齧歯類の微生物モニタリングを行った。自家検査はセンターの獣医師の指導の下，ICLAS モニタリングセンターで研修を受けた技術職員 1 名および技術支援員 1 名で実施した。なお，自家検査による成績の正確性を維持することを目的として, 継続して ICLAS モニタリングセンターでの研修を受けることとしていたが，2021 年度は新型コロナ禍のため中止した。

（3）微生物モニタリング検査の件数

明大寺及び山手地区で飼育される実験動物の適正な微生物学的品質管理を目的として，搬入時には全てのマウス（ブリーダー等の特に指定された施設からの動物を除く）の検疫を，飼育中の齧歯類動物については定期的な微生物モニタリングを実施した。ただし，検査試薬が入手できない検査項目や自家検査の対象としていない検査項目については，検査を外部委託した。自家検査で行った件数は，明大寺地区ではマウス 178 件，山手地区ではマウス 127 件とラット 24 件であった。外部委託検査を行った件数は，明大寺・山手両地区合わせて，マウス Lymphocytic choriomeningitis virus 305 件，ラット Hantavirus 24 件であった。

4. サル類の検疫

サル類実験動物の検疫検査と一般健康診断を実施をした。マカクサルの導入時に E 型肝炎ウイルス（HEV），サル免疫不全ウイルス（SIV），サル T 細胞白血病ウイルス 1 型（STLV-1）の検査結果を確認することとし, 2021 年度はニホンザル 7 頭の検疫検査を実施した。サルの定期的健康診断においては，全頭（51 頭）を対象として，血液学的検査，血清生化学的検査，糞便検査（寄生虫，細菌性赤痢，サルモネラ菌），ツベルクリン反応による結核菌感染検査，B ウイルス抗体検査，サルレトロウイルス（SRV）抗体検査・核酸検出，HEV 抗体検査・核酸検出，麻疹ワクチン予防接種およびイベルメクチン予防投与を実施した。

5. マウス受精卵凍結胚操作・融解・クリーンアップ

齧歯類の授受について，動物輸送件数は年間でのべ 51 件の導入と 68 件の供与があった。このうちの一部について凍結保存やクリーンアップを行った。すなわち，受精卵凍結保存 18 件，精子凍結保存 1 件，クリーンアップ兼受精卵凍結保存 7 件，融解・移植 25 件を実施した。

6. 空調設備等の主な修繕

適正な動物飼育環境の保持のために，各設備のトラブルについて対処した。

（1）明大寺地区動物棟 1

・一般飼育室の壁にダンパーを設置
・ブースターファンドレンパンの角度調整
・胚操作飼育室 2 の扉のエアタイト補修
・外気温の低下に対する空調の設定変更
・空調夏季モードのプログラム変更
・チラーの修理
・共同利用実験室空調の異音対応

（2）明大寺地区動物棟 2

・高圧蒸気滅菌機の経年劣化に対する対応
・全熱交換機用給水ユニット噴霧ポンプの修理
・給湯用膨張タンクボールタップの交換修理

（3）山手地区

・貫流蒸気ボイラー給水ポンプの修理
・排風機軸受けの修理
・冷温水機の修理
・貫流蒸気ボイラーの修理
・蒸気配管の修理
・高圧蒸気滅菌機の修理
・各飼育室に設置されている温室度センサーの更新

7. 改修・増築棟の運用

「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，これに基づいて動物棟 1 の改修・増築を行った。2021 年 3 月より動物の飼育を開始し，2021 年度には本格的に稼働した。

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・更新した。新型コロナウイルス対策として，職員全員出勤時と退勤前に体温測定の実施，昼食は分散して食べるなどの対応を行った。

Ⅱ．研究

1. 個別換気飼育ラックフィルターからの微生物モニタリング検査法の検討

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

2. ツイスト式給水瓶キャップ締め付け治具の開発

給水瓶を準備する際に，作業員の指先及び手首に負担がかかる。これを軽減するために，カゴに入れたまま給水瓶のツイストキャップを締め付けることの出来る治具を機器研究試作室と共同で開発し，これが実用新案に登録された（第 3235193 号）。

3. 受賞等

窪田美津子技術職員が「ツイスト式給水瓶キャップ締め付け治具の開発で，高橋伸明技術職員が「動物棟 2　サル飼育ケージ水洗装置の作製と効果」で生理学実験技術努力賞を受賞した。

Ⅲ．研究支援

1. 運営部門

・センターの計画共同研究に関わる応募要項を作成し，応募のあった計画共同研究についてセンター内で審議を行った。その後に運営委員会での審議，生理研共同利用研究部会での審議を経て承認された（23 件を採択）。
・計画共同研究を進めるにあたり各部門より要望のあった X 線照射装置および実体顕微鏡などを滅菌し，バリア内実験室に搬入した。

2. 先端モデル生物作製室

・研究所外 12 件の要請に応え，研究の進捗に重要な役割を果たすトランスジェニック（Tg）動物やノックアウト/ノックイン（KO/KI）マウス・ラット計 18 系統を作製し，提供した。

3. モデル動物表現型解析室

・マウス・ラットの行動・代謝・生理機能解析の一環と

して，情動，学習・記憶に関わるマウスの行動評価のための各種解析装置の準備を行った。

Ⅳ．教育

1. 利用者講習会

明大寺地区と山手地区において初めてセンターを利用するユーザーを対象として，利用者講習会及び実務講習会を開催した。新型コロナ禍のため，利用者講習会の開催回数を減らし，オンラインでの開催とした。実務講習会は実地で行ったが，密を避けるために人数を制限した。利用者講習会は明大寺地区で 14 名，山手地区で 11 名，実務講習会は明大寺地区で 16 名，山手地区で 14 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を対象として，3R の原則に基き動物の福祉に配慮したマウスの正しい取り扱い方法と基本的な手技を習得するための実技講習会を計画したが，新型コロナ禍のために中止した。

3. 生理研トレーニングコース

生理研トレーニングコース「遺伝子改変マウスの基本的手技と学習･記憶行動解析入門」を実施した。新型コロナ感染症対策のために受入れ条件を厳格にした結果，参加者は 1 名であった。

4. 動物実験委員会主催講習会

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

Ⅴ．社会貢献

1. 研究所外での役員等

日本実験動物学会，ICLAS モニタリングセンター運営検討委員会，NPO 法人動物実験関係者連絡協議会，国立大学法人動物実験施設協議会，全国医学部長病院長会議，日本学術会議，日本実験動物技術者協会，同協会東海北陸支部，日本大学動物実験委員会，東洋大学動物実験委員会，徳島大学，実験動物中央研究所等の実験動物と動物実験に関係した種々の組織において，副理事長，理事，評議員，委員，顧問，支部長等の役割を担って活動した。また，熊本大学，中国・広東省医学実験動物中心，中国・中国医科大学において，名誉教授，客員教授，として活動した。

2. 動物愛護管理法，動物実験基本指針等の各種規制に関連する活動

動物の愛護及び管理に関する法律や動物実験基本指針等の各種規制に関して，文部科学省，農林水産省，環境省，厚生労働省，内閣府等，日本学術会議（実験動物分科会・機能医科学分科会・ICLAS 分科会），全国医学部長病院長会議との打合せを行った。

3. 日本実験動物学会主催の人材育成事業

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

4. 行政との情報交換

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

5. 実験動物等の関係者への周知徹底

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

技術課

大河原　浩

【概要】

今年度，システム脳科学研究領域の技術職員体制を強化するため，横井功係員を採用した。また，ネットワーク管理および情報セキュリティ管理の強化，動物飼育および実験技術向上を図るため，技術職員の採用に向けた活動を行った。

技術課組織の強化と指導体制の見直し，研究支援体制の充実を図るため，三賓誠主任，村田安永主任の 2 名を係長に昇任させた。

今年度末，1 名の技術職員が早期退職となり，担当業務の整理と引継ぎを行った。

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，COVID-19 禍ではあったが開催され，1 名の受講者を受け入れ指導した。

②生理学技術研究会の開催

全国の大学等技術職員の技術連携と交流を目的に第 44 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 2022 年 2 月 17 日－18 日の 2 日間にわたりオンライン開催した。会では，29 題の発表があり，研修講演として『定量生物学の現状と展望』（青木一洋教授，基礎生物学研究所 定量生物学研究部門）を行った。これらの報告を『生理学技術研究会報告（第 44 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，今年度も中止した。

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，第 15 回を 2021 年 6 月 24 日に生理学研究所でオンライン開催した。会では，研修講演「脳と精神，脳の中の自己と他者」（磯田昌岐教授，生理学研究所 認知行動発達機構研究部門），「データの取り扱い」を共通テーマにポスター発表が 16 演題，各研究所最新動向と技術トピックスが 5 演題あった。詳細は『第 15 回自然科学研究機構技術研究会 報告書（Web 掲載）』にまとめた。

⑤東海・北陸地区国立大学法人等技術職員研修等の受講と参加

東海北陸地区大学等の技術職員の技術交流と技術向上を目的に，毎年当番校により東海・北陸地区国立大学法人等技術職員研修が行われており，本年は電気・電子コースと生物・生命コースが企画された。前者は開催日を調整し実施されたが受講者はなかった。後者は 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，Web 開催，3 名）に参加し，今後の研修会開催について議論を進めた。

その他，令和 3 年度機器・分析技術研究会（山口，Web 開催，1 名），共同利用機関におけるセキュリティワークショップ（岐阜，Web 開催，3 名），令和 3 年度高エネルギー加速器研究機構技術職員シンポジウム（茨城，Web 開催，1 名），実験・実習技術研究会 2022（東京，Web 開催，2 名），技術研究会（岐阜，Web 開催，3 名），令和 3 年度東海地区国立大学法人等職員基礎研修（名古屋，Web 開催，1 名），令和 3 年度東海地区国立大学法人等係長研修（名古屋，Web 開催，1 名），霊長類研究所の施設見学および情報収集（犬山，1 名），第 2 回実験動物微生物統御若手の会オンライン勉強会（Web 開催，1 名）などに参加し，業務の研究技術力および支援力の強化を図った。

⑥放送大学利用による専門技術研修の受講

研究の高度化と多様化に対応するため，放送大学を利用した技術職員の研修を推進している。今年度，受講者はいなかった。

⑦科学研究費補助金（奨励研究）等の採択

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

⑧業務報告会とデータベース化事業の促進，および表彰制度の整備

課員の配属先研究部門での業務成果は，技術課業務報告会で報告され，情報の共有化が図られている。また，その成果は技術課主催の生理学技術研究会，配属先部門での学会発表により所外に発信されているが，より広く活用され，即時的に発信するために，優れた成果をデータベース化する事業を技術課が研究部門と進め，その一部を技術課ホームページで公開している。今年度も，その編集を技術係員が行い，その更新を進めた。また，閲覧状況を確認できるようにしている。こうした事業の推進のなかで，優れたデータベースにはデータベース賞として表彰授与を所長より行っている。こうした事業の推進により，研究者との連携を深め，業務の活性化を進めた。なお，業務報告会には，基礎生物学研究所 三輪朋樹技術課長に聴講をお願いし，意見を求めることとしている。

⑨安全衛生技能講習等の受講と参加

研究所の安全衛生を課業務として充実するために，第17回労働安全衛生に関する情報交換会（岐阜, Web 開催, 1名），令和3年度東海・北陸地区 国立大学・研究所 環境安全衛生協議会（名古屋，Web 開催，1名）を受講した。また，防火防災体制を強化するため，自衛消防業務新規講習参加（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，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，山口　登

【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あり，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．計測用椅子が不調だったため，修理を行った。

今年度の生体磁気計測装置の稼働率を下表に示す。

2021 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	
2021 年 4 月	30	9	0	5	24	5	5	
5 月	31	13	0	5	28	5	5	
6 月	30	8	2	6	30	6	6	2～3 日定期点検
7 月	31	11	0	5	25	5	5	
8 月	31	10	0	9	43	9	9	
9 月	30	10	4	4	25	4	4	7～9 日定期点検，27 日臨時保守作業
10 月	31	10	0	12	57	12	12	
11 月	30	10	0	11	55	11	11	
12 月	31	8	2	8	38	8	8	8～9 日定期点検
2022 年 1 月	31	11	2	8	44	8	8	11～12 日臨時保守作業
2 月	28	10	0	9	50	9	9	
3 月	31	9	2	13	65	13	13	15～16 日定期点検
	365	119	12	95	40	95	95	（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，３ヶ月毎にメーカーによる定期点検が行われている。また，実験用の PC を含む実験装置の保守や更新などの技術系のサポートは心理生理学研究部門の技術支援員伊藤が，事務系のサポートは心理生理学研究部門の特任専門員岩瀬が担当している。

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

昨年度に引き続き新型コロナ（COVID-19）の影響を受け，稼働率が例年に比べて低くなった月が多かった。

7T-MRI では，毎年 11 月頃に行われるコールドヘッドの交換を行う技術者が海外から入国できないため作業ができなかった。このためヘリウムの漏れが発生し定期的に補充を行った。また，装置を停止させる必要も生じた。

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。

2021 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	
2021 年 4 月	30	9	2	19	37	1	6	
5 月	31	13	2	16	44	0	7	
6 月	30	8	1	21	62	0	13	
7 月	31	11	2	18	31	0	5.5	定期保守
8 月	31	10	0	21	55	0.5	11	
9 月	30	10	0	20	45	0	9	
10 月	31	10	0	21	33	0	7	
11 月	30	10	5	15	67	0	10	定期保守
12 月	31	11	0	20	75	1	14	
2022 年 1 月	31	12	2	17	35	0	6	
2 月	28	10	0	18	61	0	11	
3 月	31	9	1	21	62	0	13	定期保守
計	365	123	15	227	51	2.5	112.5	

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	
2021 年 4 月	30	9	2	19	37	0	7	
5 月	31	13	2	16	50	0	8	
6 月	30	8	2	20	25	1	4	定期保守 冷凍機メンテナンス
7 月	31	11	3	17	21	0	3.5	
8 月	31	10	0	21	48	0	10	
9 月	30	10	2	18	33	0	6	定期保守
10 月	31	10	0	21	14	0	3	
11 月	30	10	6	14	36	0	5	
12 月	31	11	0	20	73	0.5	14	
2022 年 1 月	31	12	2	17	18	0	3	定期保守
2 月	28	10	0	18	50	0	9	
3 月	31	9	1	21	62	1	12	
計	365	123	20	222	39	2.5	84.5	

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	
2021 年 4 月	30	9	7	14	100	0	14	
5 月	31	13	3	15	87	0	13	定期保守
6 月	30	8	0	22	91	0	20	
7 月	31	11	1	19	100	0	19.5	
8 月	31	10	1	20	75	2	13	定期保守
9 月	30	10	1	19	100	9	10	
10 月	31	10	9	12	92	1	10	
11 月	30	10	5	15	93	0	14	定期保守
12 月	31	11	9	11	91	0	10	
2022 年 1 月	31	12	7	12	83	0	10	
2 月	28	10	19	0	NA	0	0	使用停止
3 月	31	9	22	0	NA	0	0	定期保守 使用停止
計	365	123	84	159	92	12	133.5	

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

②脳機能計測･支援センター

(1) 形態情報解析室

山田幸子，肥田宗政，山田　元

【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，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。

なお，今年度末までに，超高圧電子顕微鏡および FIB 装置は廃止され，位相差電子顕微鏡は生体分子構造研究部門に移管された。

(2) 電子顕微鏡室（生理研・基生研共通施設）

石原博美，山田　元，山口　登，小原正裕

【概要】

電子顕微鏡室では，例年同様，幾つかの機器においてトラブルが発生したが，技術課職員による保守作業やメーカーによる修理対応により，現在はほとんどの機器が順調に稼働している。しかし，そのうちの 3 次元再構築型走査型電子顕微鏡（Zeiss 製 SBF-SEM）においては，2 台あるうちの 1 台に取得画像にノイズが頻発しており，メーカーに修理を依頼しているが，原因の特定が難航し，装置は停止を余儀なくされている。

このような SBF-SEM の不具合による研究の停滞を避けるために，今年度末，新たに 3 台目の SBF-SEM 装置（日本電子製 IT800）が山手地区 2 号館 1 階電顕室スペースに導入された。今後，本格稼働に向けた運用を開始す

る予定である。

透過型電子顕微鏡に関しては，これまで主力機として利用されてきた電子顕微鏡（日本電子製 JEM1010）のメーカーによる保守契約が昨年度をもって打ち切られ，今後の故障対応が難しくなると予想される。そこで，新しく電子顕微鏡室に移管された電子顕微鏡（日立製 HT7700）を後継機とすべく昨年度から準備を進めており，予定通り今年度より保守契約を開始した。ただし，利用者が多い JEM1010 も引き続き運転する予定であり，今年度は機器のメンテナンスとしてオーバーホールを行なった。

今年度より，明大寺電子顕微鏡室として利用してきた共通施設棟 I 地下一階のスペースに生体分子構造研究部門が研究室を構えることとなった。一方，来年度より電子顕微鏡室の技術課職員の配置を山手地区に集中させることが決まり，明大寺電子顕微鏡室内の技術課職員用居室を廃止して，備品等の廃棄および山手地区への引っ越しを行った。

さらに，これまで山手地区と明大寺地区にそれぞれ 1 名ずつ配置されていた技術課職員が今年度 3 月で 2 名とも退職することとなった為，後任の職員に業務の引継ぎを行った。

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

(3) 機器研究試作室（生理研・基生研共通施設）

佐治俊幸

【概要】

機器研究試作室は多種多様な医学・生物学用実験機器の開発と改良，それに関わる技術指導，技術相談を室の役割とし，生理研・基生研の共通施設として運営されている。

新しい研究には新しい研究機器を作るという『ものづくり』が希薄になっている状況下，一方では，研究の多様化は常に新たな役割の模索が迫られている。そうした認識のもと，『ものづくり』能力の重要性の理解と機械工作ニーズの新たな発掘と展開を目指すために，2000 年度から，医学・生物学の実験研究に使用される実験装置や器具を題材にして，機械工作の基礎的知識を実習主体で行う機械工作基礎講座を開講してきたが，コロナ禍のため受講者を絞って講座を開催し，1 名のみ実施した。また，生理科学実験技術トレーニングコースの受講者は 3 名を受け入れた。

近年，使用頻度が急上昇しているレーザーカッターであるが，導入から 4 年を迎え，発振管の老朽化のために出力が低下し，加工が行えなくなった。レーザーカッターの更新を希望し，生理研より臨時予算をもらえることになったが，発振管の交換が可能な事が判り，交換することとした。発振管交換，光軸調整を自分で行い，正常に動作することとなった。

レーザーカッターは，まだ新しい機器ではあるが，他の使用機器は，設置後 40 年近くの経過があり，使用頻度が低いとは言え，故障の発生頻度が増している。修理に必要な予算の計上の必要性を感じた。

なお，機器研究試作室の今年度の利用状況は，以下の通りである。

2021 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	65	心理生理学	15	動物資源共同利用研究センター	11	生体システム	5
バイオフォトニクス	1	生体機能情報解析室	1	技術課	1		

基生研							
植物環境応答	2						

機器研究試作室　利用人数表

月	生理研		基生研		合計	
	利用人数	利用時間(h)	利用人数	利用時間(h)	利用人数	利用時間(h)
4	11	26	0	0	11	26
5	2	2	0	0	2	2
6	5	8	0	0	5	8
7	3	3	0	0	3	3
8	11	17	0	0	11	17
9	11	24	0	0	11	24
10	13	22	0	0	13	22
11	13	20	0	0	12	20
12	12	15	2	4	14	19
1	5	13	0	0	5	13
2	5	5	0	0	5	5
3	10	17	0	0	10	17
合計	100	172	2	4	102	176
前年度実績	*79*	*147*	*4*	*11*	*140*	*376*

（前年度実績，分子研：57 名，218 時間）

機器研究試作室　依頼製作品例

機械工作	メダカ体長測定用水槽	マウス Y 字迷路	マウス観察ケージ
電気工作	ＵＶ投光器	ステッピングモータ駆動回路	タイムラプスカメラ
レーザー加工	カブトムシ飼育ケージ	マイクロ流路	テープ巻取機

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 86 名で，研究推進のために活用されている。

岡崎情報ネットワークは，MAC アドレス認証の動的 VLAN 機能を有する 1000BASE-T ネットワークの提供を基とし，利便性の向上と情報セキュリティの確保を両立している。また，同様の認証機能，あるいは Web 認証機能を持つ無線 LAN，並びに eduroam は，構内全域で利用可能である。今年度はネットワーク機器の更新を進め，有線 LAN では 10Gbps 以上の回線が必要な箇所の整備，無線 LAN では電波が弱い箇所の改善，Wi-Fi 6 対応化などを実施した。

情報セキュリティインシデントは，今年度も自然科学機構内外で発生している。これに対応するため機構 CSIRT が組織されており，発生予防，対策，監視等を行うと共に，発生時及び発生後の対応を行っている。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 380 名。WWW 登録者が 100 名。LAN の端末数が 1,931 台。WWW は 5,100 IP／日の端末から 25,000 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・搬出件数とも減少した。マウス受精卵凍結と融解件数は減少したが，クリーニング後の個体化は増加した。その理由として，2021 年 3 月から稼働したバリア施設への導入が進み，外部からの導入も進んだことが考えられた。

動物の飼育数は，昨年度と比べ，マウスはやや減少し，ラットは増加した。マカクサルは減少し，マーモセットは増加した。

施設運用では，齧歯類の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。しかし，生理研トレーニングコースのマウスの基本的手技では，1 名に講習を実施した。マカクサル導入時の検疫，1 回/年の全個体の定期検診を例年通り実施した。

明大寺地区の動物棟 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，2021 年 3 月から飼育を開始した。また，施設の運用を充実させるため，マウス個別換気飼育ラック，飼育室温度監視用データロガー，オートクレーブ台車などを整備した。

明大寺動物棟 2 は竣工から 28 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，全館改修を行うために，概算要求用の改修図面案を作製した。また，施設整備のために電動油圧手術台とサル用監視カメラを導入した。

山手地区の施設は竣工から 20 年が経過し，空調機器類の経年劣化，バリア構築の根幹である高圧蒸気滅菌機で不具合が起きており，修繕をしながら運用しているが，今後の根本的な対策が必要である。また，施設整備のためにプレハブ冷蔵庫の更新などを行った。

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」の改訂にあわせ，「COVID-19 におけるセンターの対応マニュアル」を改訂した。センター職員に COVID-19 感染者（山手地区 1 名，明大寺地区 1 名）が発生し，マニュアルに従い対応を行った。また，職員や利用者に COVID-19 濃厚接触者が確認され，該当者が通行した場所の噴霧消毒やドアノブの清拭消毒を行った。

【明大寺/山手地区 共通業務】

①施設の利用状況

動物の飼育数は，昨年度と比べ，マウスはやや減少し，ラットは増加した。マカクサルは減少し，マーモセットは増加した。マウスについては，動物棟 1 のバリア施設の稼働に伴い，動物棟 2 のコンベンショナルマウス飼育施設を閉鎖したため，一時的に飼育数が減少したと考えられた。

②齧歯類の授受

年間で延べ 51 件の導入と 68 件の供与があった。いず

れも昨年より減少した。他機関からの導入は増加し，供与は減少した。3 機関内の導入と供与は減少した。海外からの導入，供与はいずれも増加した。また，授受の条件や書類内容の確認，利用者へのアドバイスなどに注力した。

③受精卵凍結・クリーンアップ

受精卵凍結保存 18 件，クリーニング後の個体化兼受精卵凍結保存 7 件，凍結受精卵の融解・移植 25 件，精子凍結 1 件を実施した。昨年度と比較してクリーニング後の個体化の受託件数は増加した。また, 動物棟 1 への SPF 動物の導入が落ち着いてきたため，凍結，融解の受託件数は減少した。精子凍結は業務としては行っていないが，他大学へ凍結精子を供与する要望があったため，実施した。今後も精子凍結の要望に備える必要がある。

他機関において，ドライシッパーの誤った使用方法を原因とする事故があったため，運送会社や各営業所によって，ドライシッパーの取り扱いを停止するという事態が発生した。搬入，搬出のいずれにおいても受け取り拒否があり，使用方法が適正であれば問題がないことを説明し，対応していく必要があると考えられた。

④齧歯類微生物検査

昨年度に引き続き，マウス 254 件，ラット 24 件の自家検査を実施した。また，外部施設からのマウス導入にあたり，受精卵からの個体化に際する里親検査を 37 件，個体導入の際の検疫囮動物検査を 14 件実施した。

動物棟 1 の稼働に伴い，微生物モニタリング定期検査項目に, *Helicobacter hepaticus, Helicobacter bilis* を加えた。

獣医師の指導の下，技術職員と技術支援員の 2 名体制で業務を進めた。

⑤マウス・ラットの取り扱い実技講習会

例年，マウス・ラットを主な対象として，馴化，保定，経口投与法，一般的な飼育作業等の内容について，利用者への実技講習を年 2 回行っているが，COVID-19 の影響のため中止した。一方, 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」コースでは 1 名に対して講習を行った。

【明大寺地区 陸生動物エリア】

①施設の利用状況

陸生動物の飼養保管室利用部門数は，16 部門（生理研 15 部門，共通研究施設 1 部門）であった。

利用者講習会は COVID-19 の影響のため，座学をオンラインで実施し, 14 名の参加があった。また実地講習は，16 名の参加があった。

②齧歯類微生物モニタリング

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

③サル類

ニホンザルを 7 頭検疫し，導入を行った。またサル類 51 頭の定期検診を行った。

マーモセットの導入時には臨床症状の観察を行い，12 頭の導入を行った。また体調不良による検査を 1 件行った。

④施設整備について

動物棟 1 においては，施設を充実させるため，マウス個別換気飼育ラック，飼育室温度監視用データロガー，オートクレーブ台車，バリア内ウイルス等保管用共用ディープフリーザー，胚操作用ディスプレイ付き実体顕微鏡, CO_2 インキュベータ, 微生物検査用デジタルカメラ，リアルタイム定量 PCR，ロボット掃除機を整備した。

動物棟 2 においては，経年劣化による空調，配管も含む大規模改修にかかる概算要求を行うため，南部教授，磯田教授とともに改修図面案を作製した。また，施設整備のために電動油圧手術台とサル用監視カメラを導入した。

⑤主な工事及び修理について

(1) 動物棟 1 改修棟非常階段下の窓が施錠されておらず空いた状態だったため板を張り補修
(2) 動物棟 1 一般飼育室と前室との差圧が大きく，扉が開きにくかったためダンパーを設置
(3) 動物棟 1 増築棟 1F 女性用トイレで漏水があったため修理
(4) 動物棟 1 増築棟 2F CV 倉庫および 3F 共同利用実験室の床に結露を認め，空調と扇風機による対応
(5) 動物棟 1 万能洗浄機ガス滅菌のポンプ機能に不具合があり修理
(6) 動物棟 1 増築棟 3F 廊下天井に漏水があり，ブースターファンのドレンパン取り付け不良のため，角度調整修理
(7) 動物棟 1 西側道路の雨水排水溝に工事の土砂が詰まり，土砂を取り除く対応
(8) 動物棟 1 胚操作飼育室 2 の扉にエアタイト扉用ゴムがなく補修
(9) 動物棟 1 外気 5℃以下になると凍結防止のため温

水が 100%解放となる設定になっており，室温が 25℃を超えたため，制御プログラムの変更

（10）動物棟 1 空調が夏季モードの場合には，チラーは冷水 2 台，温水 1 台で運転するが，温水は除湿の時しか使用されない設定であり，湿度が低いときには室温が下がるため，制御プログラムの変更

（11）動物棟 1 チラー3 号機のコンプレッサーが故障し，修理

（12）動物棟 1 消毒液吐水口ボールバルブのパッキンがよじれ止水できず，ボールバルブ交換

（13）動物棟 1 飲水製造装置の減圧弁で，工事後配管内の夾雑物が原因で圧力が下るため，減圧弁の交換

（14）動物棟 1 共同利用実験室の天井裏空調配管がたわみ，異音が発生し，吸音する保温材を巻き補修

（15）動物棟 2 高圧蒸気滅菌機の放射棒が経年劣化で下がり，扉が開かず調整を行ったが，交換が必要とのことで，使用状況を鑑み，2022 年度に使用を中止することを決定

（16）動物棟 2 全熱交換機用給水ユニット噴霧ポンプが故障し修理

（17）動物棟 2 給湯用膨張タンクボールタップ不良のため交換修理

（18）動物棟 1, 2 ともに 3 機関による無線アクセスポイント更新工事

【山手地区 陸生動物エリア】

①施設の利用状況

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

利用者講習会は COVID-19 のため，座学をオンラインで実施し，11 名の参加があった。また，実地講習を実施し，14 名の参加があった。

②齧歯類微生物モニタリング

全 SPF 飼育室およびマウス・ラット一時保管室 2〜3 の微生物モニタリングを 3 ヶ月に 1 回のペースで実施した。

③施設整備

故障したプレハブ冷蔵庫の更新を行った。また，施設を充実させるために，バリア内ウイルス等保管用共用ディープフリーザー，フレークアイスメーカー，水槽用加熱冷却器を導入した。

④主な工事及び修理について

（1）貫流蒸気ボイラー2 号機の給水ポンプが故障し修理

（2）1 号館 A 棟 5 階機械室の FE-18A 排風機軸受け故障し修理

（3）1 号館 A 棟の冷温水機 1 号機故障し修理

（4）1 号館 A 棟の山手 1 号館 A 棟・B 棟用の吸収冷温水機 2 号機の伝熱管漏洩し復旧修理

（5）貫流蒸気ボイラー2 号機の薬注装置より液漏れし修理

（6）5F 機械室外側蒸気配管より蒸気漏れがあり修理

（7）4F スリッパ用殺菌線ロッカータイマーが故障し交換修理

（8）高圧蒸気滅菌機 1 号機，モーターバルブ交換，タッチパネル故障による交換修理

（9）高圧蒸気滅菌機 2 号機，ボールバルブ，電磁弁，減圧弁，逆止弁，圧力スイッチ，電極保持器の交換，ドアパッキン巻き込みによる交換修理

（10）高圧蒸気滅菌機 3 号機，フリーベアリング故障修理，電磁弁，スチームトラップ，ユニオンパッキン交換

（11）施設課により中央監視設備改修工事

（12）施設課により各飼育室に設置されている温湿度センサーの更新

（13）3 機関による無線アクセスポイント更新工事

【明大寺/山手地区 水生動物エリア】

①施設の利用状況

（1）明大寺地区では，生理研 1 部門，基生研 4 部門の利用があった。

（2）山手地区では，生命創成探究センター3 部門が水槽を利用した。

②主な工事及び修理

特に大きな工事及び修理は行わなかった。

陸生動物部門別・動物種別搬入数（2021 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	63									
生体膜	129							50	17	
時系列細胞現象解析室	4							15	44	
生体システム	254	19				4	4			
認知行動発達							3			
電子顕微鏡室								65		
生殖内分泌系	474							1		
生体恒常性発達	584							1		
多光子顕微鏡室	63									
動物資源共同利用研究センター	331							128	24	
視覚情報処理	230	5						15		
細胞生理	23							132	12	11
遺伝子改変動物作製室	1							478	261	
心循環シグナル	48							457	42	
細胞構造	23							22		
バイオフォトニクス	25							138		5
神経細胞生物学										
ウイルスベクター開発室	44									
多細胞回路動態	165									
分子神経免疫	4									
合　計	2,465	24	0	0	0	4	7	1,502	400	16

【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
生体分子構造研究部門…… 89
神経発達・再生機構研究部門…… 90
細胞構造研究部門…… 90
細胞生理研究部門…… 91
心循環シグナル研究部門…… 92
生殖・内分泌系発達機構研究部門…… 92
超微形態研究部門…… 93
生体恒常性発達研究部門…… 93
視覚情報処理研究部門…… 94
バイオフォトニクス研究部門…… 94
認知行動発達機構研究部門…… 95
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
感覚認知情報研究部門…… 99
多光子顕微鏡室…… 99
電子顕微鏡室（窪田グループ）…… 99
生体機能情報解析室…… 99
時系列細胞現象解析室…… 100
ウィルスベクター開発室…… 100
遺伝子改変動物作製室…… 101
動物資源共同利用研究センター…… 101
その他…… 102

発　表　論　文

《神経機能素子研究部門》

1)　英文原著論文

1. Chen IS, Eldstrom J, Fedida D, Kubo Y (2022) A novel ion conducting route besides the central pore in an inherited mutant of G-protein-gated inwardly rectifying K^+ channel. J Physiol 600(3):603-622 doi: 10.1113/JP282430.
2. Hirazawa K, Tateyama M, Kubo Y, Shimomura T (2021) Phosphoinositide regulates dynamic movement of the S4 voltage sensor in the second repeat in two-pore channel 3. J Biol Chem 297(6):101425. doi: 10.1016/j.jbc.2021.101425.
3. Andriani RT, Kubo Y (2021) Voltage-clamp fluorometry analysis of structural rearrangements of ATP-gated channel P2X2 upon hyperpolarization. Elife 10:e65822. doi: 10.7554/eLife.65822.
4. Matsumura K, Shimomura T, Kubo Y, Oka T, Kobayashi N, Imai S, Yanase N, Akimoto M, Fukuda M, Yokogawa M, Ikeda K, Kurita J, Nishimura Y, Shimada I, Osawa M (2021) Mechanism of hERG inhibition by gating-modifier toxin, APETx1, deduced by functional characterization. BMC Mol Cell Biol 22(1):3. doi: 10.1186/s12860-020-00337-3.

《生体膜研究部門》

1)　英文原著論文

1. Fukata Y, Chen X, Chiken S, Hirano Y, Yamagata A, Inahashi H, Sanbo M, Sano H, Goto T, Hirabayashi M, Kornau HC, Prüss H, Nambu A, Fukai S, Nicoll RA, Fukata M (2021) LGI1-ADAM22-MAGUK configures trans-synaptic nanoalignment for synaptic transmission and epilepsy prevention. Proc Natl Acad Sci USA 118: e2022580118. doi: 10.1073/pnas.2022580118.
2. Chen X, Fukata Y, Fukata M, Nicoll R (2021) MAGUKs are essential, but redundant, in long-term potentiation. Proc Natl Acad Sci USA 118:e2107585118. doi: 10.1073/pnas.2107585118s.
3. Yoshida T, Yamagata A, Imai A, Kim J, Izumi H, Nakashima S, Shiroshima T, Maeda A, Iwasawa-Okamoto S, Azechi K, Osaka F, Saitoh T, Maenaka K, Shimada T, Fukata Y, Fukata M, Matsumoto J, Nishijo H, Takao K, Tanaka S, Okabe S, Tabuchi K, Uemura T, Mishina M, Mori H, Fukai S (2021) Canonical versus non-canonical transsynaptic signaling of neuroligin 3 tunes development of sociality in mice. Nat Commun 12:1848. doi: 10.1038/s41467-021-22059-6.
4. Kreye J, Wright SK, van Casteren A, Stöffler L, Machule ML, Reincke SM, Nikolaus M, van Hoof S, Sanchez-Sendin E, Homeyer MA, Gómez CC, Kornau HC, Schmitz D, Kaindl AM, Boehm-Sturm P, Mueller S, Wilson MA, Upadhya MA, Dhangar DR, Greenhill S, Woodhall G, Turko P, Vida I, Garner CC, Wickel J, Geis C, Fukata Y, Fukata M, Prüss H (2021) Encephalitis patient-derived monoclonal $GABA_A$ receptor antibodies cause epileptic seizures. J Exp Med 218:e20210012. doi.org/10.1084/jem.20210012.
5. Nakamoto C, Goto Y, Tomizawa Y, Fukata Y, Fukata M, Harpsøe K, Gloriam DE, Aoki K, Takeuchi T (2021) A novel red fluorescence dopamine biosensor selectively detects dopamine in the presence of norepinephrine in vitro. Mol Brain 14:173. doi.org/10.1186/s13041-021-00882-8.
6. Yokoi N, Fukata Y, Okatsu K, Yamagata A, Liu Y, Sanbo M, Miyazaki Y, Goto T, Abe M, Kassai H, Sakimura K, Meijer D, Hirabayashi M, Fukai S, Fukata M (2021) 14-3-3 proteins stabilize LGI1-ADAM22 levels to regulate seizure thresholds in mice. Cell Rep 37:110107. doi.org/10.1016/j.celrep.2021.110107.

2)　和文原著論文

1. 深田正紀, 横井紀彦, 深田優子 (2021) APEGS 法によるタンパク質パルミトイル化修飾の定量. 電気泳動 65: 41-45. doi.org/10.2198/electroph.65.41.

3)　英文総説

1. Fukata Y, Hirano Y, Miyazaki Y, Yokoi N, Fukata M (2021) Trans-synaptic LGI1-ADAM22-MAGUK in AMPA and NMDA receptor regulation. Neuropharmacology 194: 108628. doi: 10.1016/j.neuropharm.2021.108628.

《生体分子構造研究部門》

1)　英文原著論文

1. Kutomi O, Yamamoto R, Hirose K, Mizuno K, Nakagiri Y, Imai H, Noga A, Obbineni JM, Zimmermann N, Nakajima M, Shibata D, Shibata M, Shiba K, Kita M, Kigoshi H, Tanaka Y, Yamasaki Y, Asahina Y, Song C, Nomura M, Nomura M, Nakajima A, Nakachi M, Yamada L, Nakazawa S, Sawada H, Murata K, Mitsuoka K, Ishikawa T, Wakabayashi KI, Kon T, Inaba K (2021) A dynein-associated photoreceptor protein prevents ciliary acclimation to blue light. Sci Adv 7(9): eabf3621. doi: 10.1126/sciadv.abf3621.
2. Kayama Y, Burton-Smith RN, Song C, Terahara N, Kato T, Murata K (2021) Below 3 Å structure of apoferritin using a multipurpose TEM with a side entry cryoholder. Sci Rep 11: 8395. doi: 10.1038/s41598-021-87183-1.
3. Song C, Satoh T, Sekiguchi T, Kato K, Murata K (2021) Structural fluctuations of the human proteasome α7 homo-tetradecamer double ring imply the proteasomal α-ring assembly mechanism. Int J Mol Sci 22(9): 4519. doi: 10.3390/ijms22094519.
4. Pan X, Tokutsu R, Li A, Takizawa K, Song C, Murata K, Yamasaki T, Liu Z, Minagawa J, Li M (2021) Structural basis of LhcbM5-mediated state transitions in green algae. Nat Plant 7(8): 1119-1131. doi: 10.1038/s41477-021-00960-8.
5. Harada N, Hirose Y, Song C, Kurita H, Sato M, Onodera J, Murata K, Itoh F (2021) A novel characteristic of a phytoplankton as a potential source of straight-chain alkanes. Sci Rep 11(1): 14190. doi: 10.1038/s41598-021-93204-w.
6. Takahashi H, Fukaya S, Song C, Murata K, Takemura M (2021) Cotonvirus japonicus using Golgi apparatus of host cells for its virion factory phylogenetically links tailed tupanvirus and icosahedral mimivirus. J Virol 95(18): e0091921. doi: 10.1128/JVI.00919-21.
7. Kamiya R, Uchiyama J, Matsuzaki S, Murata K, Iwasaki K, Miyazaki N (2022) Acid-stable capsid structure of Helicobacter pylori bacteriophage KHP30 by single-particle cryo-electron microscopy. Structure 30(2), 300-312.e3. doi: 10.1016/j.str.2021.09.001.
8. Haga K, Takai-Todaka R, Matsumura Y, Song C, Takano T, Tojo T, Nagami A, Ishida Y, Masaki H, Tsuchiya M, Ebisudani T, Sugimoto S, Sato T, Yasuda H, Fukunaga K, Sawada A, Nemoto N, Murata K, Morimoto T, Katayama K. (2021) Nasal delivery of single-domain antibody improves symptoms of SARS-CoV-2 infection in an animal model. PLoS Pathog 17(10): e1009542. doi: 10.1371/journal.ppat.1009542.
9. Yagi-Utsumi M, Aoki K, Watanabe H, Song C, Nishimura S, Satoh T, Yanaka S, Ganser C, Tanaka S, Schnapka V, Goh EW, Furutani Y, Murata K, Uchihashi T, Arakawa K, Kato K (2021) Desiccation-induced fibrous condensation of CAHS protein from an anhydrobiotic tardigrade. Sci Rep 11(1): 21328. doi: 10.1038/s41598-021-00724-6.

2)　英文総説

1. Burton-Smith RN, Murata K (2021) Cryo-electron microscopy of the giant viruses. Microscopy, Microscopy 70(6), 477-486. doi: 10.1093/jmicro/dfab036.

3)　研究関係著作

1. 村田和義(2021)巨大ウイルスの構造解析，ネオウイルス学　河岡義裕編 P.187, ISBN 978-4-08-721159-7 集英社新書
2. 宋 致弘、村田和義(2021)クライオ電子顕微鏡で生体分子の構造解析をはじめよう，日本結晶学会誌 Vol.63 P.80-88 日本結晶学会

《神経発達・再生機構研究部門》

1)　英文原著論文

1. Koyanagi I, Sonomura K, Naoi T, Ohnishi T, Kaneko N, Sawamoto K, Sato T, Sakaguchi M (2021) Metabolic fingerprints of fear memory consolidation during sleep. Mol Brain 14(1): 30. doi: 10.1186/s13041-021-00733-6.
2. Ito N, Riyadh MA, Ahmad SAI, Hattori S, Kanemura Y, Kiyonari H, Abe T, Furuta Y, Shinmyo Y, Kaneko N, Hirota Y, Lupo G, Hatakeyama J, Abdulhaleem MFA, Anam MB, Yamaguchi M, Takeo T, Takebayashi H, Takebayashi M, Oike Y, Nakagata N, Shimamura K, Holtzman MJ, Takahashi Y, Guillemot F, Miyakawa T, Sawamoto K, Ohta K (2021) Dysfunction of the proteoglycan Tsukushi causes hydrocephalus through altered neurogenesis in the subventricular zone in mice. Sci Transl Med 13: 587.
   doi: 10.1126/scitranslmed.aay7896.
3. Okada M, Kawagoe Y, Sato Y, Nozumi M, Ishikawa Y, Tamada A, Yamazaki H, Sekino Y, Kanemura Y, Shinmyo Y, Kawasaki H, Kaneko N, Sawamoto K, Fujii Y, Igarashi M (2021) Phosphorylation of GAP-43 T172 is a molecular marker of growing axons in a wide range of mammals including primates. Mol Brain 14 (1): 66. doi: 10.1186/s13041-021-00755-0.
4. Yaguchi A, Oshikawa M, Watanabe G, Hiramatsu H, Uchida N, Hara C, Kaneko N, Sawamoto K, Muraoka T, Ajioka I (2021) Efficient protein incorporation and release by a jigsaw-shaped self-assembling peptide hydrogel for injured brain regeneration. Nat Commun 12: 6623.
   doi: 10.1038/s41467-021-26896-3.
5. Ota Y, Kubota Y, Hotta Y, Matsumoto M, Matsuyama N, Kato T, Hamakawa T, Kataoka T, Kimura K, Sawamoto K, Yasui T (2021) Change in the central control of the bladder function of rats with focal cerebral infarction induced by photochemically-induced thrombosis. PLoS ONE 16(11): e0255200.
   doi: 10.1371/journal.pone.0255200.

2)　研究関係著作

1. 宮本拓哉, 金子奈穂子, 澤本和延 (2021) 成体脳における新生ニューロンの移動メカニズムと治療応用. BIO Clinica 36(4 月号):192-196.
2. 中嶋智佳子, 澤本和延 (2021) シングルセル解析技術を用いたニューロン移動・再生機構の解明. Precision Medicine (7 月臨時増刊号):60-63.

《細胞構造研究部門》

1)　英文原著論文

1. Higashi AY, Higashi T, Furuse K, Ozeki K, Furuse M, Chiba H (2021) Claudin-9 constitutes tight junctions of folliculo-stellate cells in the anterior pituitary gland. Sci Rep 11(1):21642. doi: 10.1038/s41598-021-01004-z.
2. Sugawara T, Furuse K, Otani T, Wakayama T, Furuse M (2021) Angulin-1 seals tricellular contacts independently of tricellulin and claudins. J Cell Biol 220(9): e202005062. doi: 10.1083/jcb.202005062.
3. Saito AC, Higashi T, Fukazawa Y, Otani T, Tauchi M, Higashin AY, Furuse M, Chiba H (2021) Occludin and tricellulin facilitate formation of anastomosing tight-junction strand network to improve barrier function. Mol Biol Cell 32(8): 722-738. doi: 10.1091/mbc.E20-07-0464.
4. Baier FA, Sanchez-Taltavull D, Yarahmadov T, Castella CG, Jebbawi F, Keogh A, Tombolini R, Odriozola A, Dias MC, Deutsch U, Furuse M, Engelhardt B, Zuber B, Odermatt A, Candinas D, Stroka D (2021) Loss of Claudin-3 Impairs Hepatic Metabolism, Biliary Barrier Function, and Cell Proliferation in the Murine Liver. Cell Mol Gastroenterol Hepatol 12(2): 745-767.
   doi: 10.1016/j.jcmgh.2021.04.003.
5. Izumi Y, Furuse K, Furuse M.(2021) The novel membrane protein Hoka regulates septate junction organization and stem cell homeostasis in the Drosophila gut. J Cell Sci 134(6): jcs257022. doi: 10.1242/jcs.257022.

2)　英文総説

1. Furuse M, Takai Y (2021) Recent advances in understanding

tight junctions. Fac Rev 10:18. doi: 10.12703/r/10-18.

3) 研究関係著作

1. 古瀬幹夫, 武藤重明 (2021) 尿細管の電解質輸送におけるクローディンの役割. 腎と透析 90: 685-690.

《細胞生理研究部門》

1) 英文原著論文

1. Yokoyama T, Saito S, Shimoda M, Kobayashi M, Takasu Y, Sezutsu H, Kato Y, Tominaga M, Mizoguchi A, Shiomi K (2021) Comparisons in temperature and photoperiodic-dependent diapause induction between domestic and wild mulberry silkworms. Sci Rep 11(1): 8052. doi: 10.1038/s41598-021-87590-4.
2. Nishimoto R, Derouiche S, Eto K, Deveci A, Kashio M, Kimori Y, Matsuoka Y, Morimatsu H, Nabekura J, Tominaga M (2021) Thermosensitive TRPV4 channels mediate temperature-dependent microglia movement. Proc Natl Acad Sci USA 118(17): e2012894118. doi: 10.1073/pnas.2012894118.
3. Matsui T, Kadono-Maekubo N, Suzuki Y, Furuichi Y1, Shiraga K, Sasaki H, Ishida A, Takahashi S, Okada T, Toyooka K, Sharif J, Furuya Y, Abe T, Tominaga M, Miyawaki A, Amagai M (2021) Unique cell death of keratinocytes, corneoptosis, requires Ca^{2+} elevation and acidification. Proc Natl Acad Sci USA 118(17): e2020722118. doi: 10.1073/pnas.2020722118.
4. Fouad A, Matsumoto K, Amagase K, Yasuda H, Tominaga M, Kato S (2021) Protective Effect of TRPM8 against Indomethacin-Induced Small Intestinal Injury via the Release of Calcitonin Gene-Related Peptide in Mice. Biol Pharm Bull 44(7): 947-957. doi: 10.1248/bpb.b21-00045.
5. Kasahara Y, Narukawa M, Ishimaru Y, Kanda S. Umatani C, Takayama Y, Tominaga M, Oka Y, Kondo K, Kondo T, Takeuchi A, Misaka T, Abe K, Asakura T (2021) TMC4 is a novel chloride channel involved in high-concentration salt taset sensation. J Physiol Sci 71: 23. doi: 10.1186/s12576-021-00807-z.
6. Kasahara Y, Narukawa M, Kanda S, Tominaga M, Misaka T, Abe K, Asakura T (2021) Transmembrane channel-like 4 is involved in pH and temperature-dependent modulation of salty taste. Biosci Biotechnol Biochem 85(11): 2295-2299. doi: 10.1093/bbb/zbab152.
7. Derouiche S, Li T, Sakai Y, Uta D, Aoyagi S, Tominaga M. Inhibition of TRPV1 and TRPA1 by mosquito and mouse saliva. Pain 163 (2): 299-307, 2022.c doi: 10.1097/j.pain.0000000000002337.
8. Quiroga HPO, Ganassi M, Yokoyama S, Nakamura K, Yamashita T, Raimbach D, Hagiwara A, Harrington O, Breach-Teji J, Asakura A, Suzuki Y, Tominaga M, Zammit PS, Goto K. Fine tuning of Piezo1 Expression and Activity Ensures Efficient Myoblast Fusion during Skeletal Myogenesis. Cells 11(3): 393. doi: 10.3390/ cells11030393.
9. Sugisawa E, Kondo T, Kumagai Y, Kato H, Takayama Y, Isohashi K, Shimosegawa E, Takemura N, Hayashi Y, Sasaki T, Martino MM, Tominaga M, Maruyama K. Nociceptor-derived Reg3g prevents endotoxic death by targeting kynurenine pathway in microglia. Cell Rep. 38 (10): 110462. doi: 10.1016/j.celrep.2022.110462.

2) 研究関係著作

1. 富永真琴 (2021) 侵害受容性疼痛のメカニズム. ペインクリニック 42: S51-S58.
2. 富永真琴：温度生物学研究の今　細胞 The CELL 53 (4): 2-3, 2021.
3. 富永真琴 : 温度感受性 TRP チャネルと生理機能　細胞 The CELL 53 (4): 4-7, 2021.

3) その他

1. 富永真琴 (2021) 物理刺激受容のメカニズムの解明－2021 年ノーベル生理学・医学賞によせて－. 医学のあゆみ 279(9): 912-915,2021.
2. 富永真琴 (2021) 2021 年ノーベル生理学・医学賞 温度と触刺激の受容体の発見. 現代化学 609(12): 35-37,2021.
3. 富永真琴 (2021) 温度･機械刺激の受容体「TRP/PIEZO」発見の軌跡. 実験医学 39(19): 3033-3035,2021.
4. 富永真琴：2021 年ノーベル生理学医学賞によせて 生物の科学 遺伝 76 (1) 002-004, 2022.

5. 富永真琴：温度受容体と機械刺激受容体の発見　科学(岩波書店)92 (2) 114-118, 2022.
6. 富永真琴、加塩麻紀子 : 温度を感じるしくみ　BRAIN and NERVE 74 (2): 127-132,2022.

《心循環シグナル研究部門》

1)　英文原著論文

1. Yagi-Utsumi M, Tanaka T, Otsubo Y, Yamashita A, Yoshimura S, Nishida M, Kato K. Cold Atmospheric Plasma Modification of Amyloid β. Int J Mol Sci 22(6): 3116. doi: 10.3390/ijms22063116.
2. Marutani E, Morita M, Hirai S, Kai S, Grange R, Miyazaki Y, Nagashima F, Traeger L, Magliocca A, Ida T, Matsunaga T, Flicker D, Corman B, Mori N, Yamazaki Y, Batten A, Li R, Tanaka T, Ikeda T, Nakagawa A, Atochin D, Ihara H, Olenchock B, Shen X, Nishida M, Hanaoka K, Kevil C, Xian M, Bloch D, Akaike T, Hindle A, Motohashi H, Ichinose F (2021) Sulfide catabolism ameliorates hypoxic brain injury. Nat Commun 12: 3108. doi: 10.1038/s41467-021-23363-x.
3. Matsuoka Y, Takahashi M, Sugiura Y, Izumi Y, Nishiyama K, Nishida M, Suematsu M, Bamba T, Yamada KI (2021) Structural library and visualization of endogenously oxidized phosphatidylcholines using mass spectrometry-based techniques. Nat Commun 12: 6339. doi: 10.1038/s41467-021-26633-w.

2)　英文総説

1. Nishimura A, Tanaka T, Kato Y, Nishiyama K, Nishida M (2021) Cardiac robustness regulated by reactive sulfur species. J Clin Biochem Nutr. 2022 Jan;70(1):1-6. doi: 10.3164/jcbn.21-84.

3)　研究関係著作

1. 西田基宏, 西村明幸, 田中智弘, 加藤百合, 西山和宏 (2021) 心筋の頑健性と超硫黄分子代謝. 生化学 93(5): 1-6.

《生殖・内分泌系発達機構研究部門》

1)　英文原著論文

1. Ryuge A, Kosugi T, Maeda K, Banno R, Gou Y, Zaitsu K, Ito T, Sato Y, Hirayama A, Tsubota S, Honda T, Nakajima K, Ozaki T, Kondoh K, Takahashi K, Kato N, Ishimoto T, Soga T, Nakagawa T, Koike T, Arima H, Yuzawa Y, Minokoshi Y, Maruyama S, Kadomatsu K (2021) Basigin deficiency prevents anaplerosis and ameliorates insulin resistance and hepatosteatosis. JCI Insight 6(20):e142464. doi: 10.1172/jci.insight.142464.

2)　英文総説

1. Fu O, Minokoshi Y, Nakajima KI (2021) Recent advances in neural circuits for taste perception in hunger. Front Neural Circuits 15:609824. doi: 10.3389/fncir.2021.609824.

3)　研究関係著作

1. 箕越靖彦 (2021) 摂食と食物嗜好性の調節 -恒常性と快楽的調節. 実験医学 39(5):676-687.
2. 岡本士毅, 箕越靖彦, 益崎裕章 (2021) ストレスによる食行動の変容メカニズム. "食と栄養のサイエンス 食行動を司る生体恒常性維持システム", 実験医学別冊 (佐々木努 編), 羊土社, pp. 187-198.
3. 箕越靖彦 (2021) 糖尿病における脳の代謝変化. " 糖尿病と食 (シリーズ <栄養と疾病の化学> 3), 第 12 章" (植木浩二郎 編), 朝倉書店, pp. 213-237.

《超微形態研究部門》

1)　英文原著論文

1. Nishida H, Ohno N, Caicci F, Manni L (2021) 3D reconstruction of structures of hatched larva and young juvenile of the larvacean Oikopleura dioica using SBF-SEM. Sci Rep 11:4833. doi: 10.1038/s41598-021-83706-y.
2. Mursalimov S, Ohno N, Matsumoto M, Bayborodin S, Deineko E (2021) Serial Block-Face Scanning Electron Microscopy Reveals That Intercellular Nuclear Migration Occurs in Most Normal Tobacco Male Meiocytes. Front Plant Sci 12:672642. doi: 10.3389/fpls.2021.672642.
3. Shiizaki K, Tsubouchi A, Miura Y, Seo K, Kuchimaru T, Hayashi H, Iwazu Y, Miura M, Battulga B, Ohno N, Hara T, Kunishige R, Masutani M, Negishi K, Kario K, Kotani K, Yamada T, Nagata D, Komuro I, Itoh H, Kurosu H, Murata M, Kuro-O M (2021) Calcium phosphate microcrystals in the renal tubular fluid accelerate chronic kidney disease progression. J Clin Invest 131:e145693. doi: 10.1172/JCI145693.
4. Simankova A, Bizen N, Saitoh S, Shibata S, Ohno N, Abe M, Sakimura K, Takebayashi H (2021) Ddx20, DEAD box helicase 20, is essential for the differentiation of oligodendrocyte and maintenance of myelin gene expression. Glia 69:2559-2574. doi: 10.1002/glia.24058.
5. Hamada K, Shinozaki Y, Namekata K, Matsumoto M, Ohno N, Segawa T, Kashiwagi K, Harada T, Koizumi S (2021) Loss of P2Y1 receptors triggers glaucoma-like pathology in mice. Br J Pharmacol 178:4552-4571. doi: 10.1111/bph.15637.
6. Kuroda R, Tominaga K, Kasashima K, Kuroiwa K, Sakashita E, Hayakawa H, Kouki T, Ohno N, Kawai K, Endo H (2021) Loss of mitochondrial transcription factor A in neural stem cells leads to immature brain development and triggers the activation of the integral stress response in vivo. PLoS One 16:e0255355. doi: 10.1371/journal.pone.0255355.
7. Yamazaki R, Osanai Y, Kouki T, Shinohara Y, Huang JK, Ohno N (2021) Macroscopic detection of demyelinated lesions in mouse PNS with neutral red dye. Sci Rep 11:16906. doi: 10.1038/s41598-021-96395-4.
8. Komuro Y, Galas L, Morozov YM, Fahrion JK, Raoult E, Lebon A, Tilot AK, Kikuchi S, Ohno N, Vaudry D, Rakic P, Komuro H (2021) The Role of Galanin in Cerebellar Granule Cell Migration in the Early Postnatal Mouse during Normal Development and after Injury. J Neurosci 41:8725-8741. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0900-15.2021.
9. Hosotani M, Kametani K, Ohno N, Hiramatsu K, Kawasaki T, Hasegawa Y, Iwasaki T, Watanabe T (2021) The unique physiological features of the broiler pectoralis major muscle as suggested by the three-dimensional ultrastructural study of mitochondria in type IIb muscle fibers. J Vet Med Sci 83:1764-1771. doi: 10.1292/jvms.21-0408.
10. Nishida H, Matsuo M, Konishi S, Ohno N, Manni L, Onuma TA (2021) Germline development during embryogenesis of the larvacean, Oikopleura dioica. Dev Biol 481:188-200. doi: 10.1016/j.ydbio.2021.10.009.
11. Mursalimov S, Ohno N, Deineko E (2021) Intercellular nuclear migration in cryofixed tobacco male meiocytes. Protoplasma. 2021 Nov 23. doi: 10.1007/s00709-021-01725-y. Online ahead of print.

2)　研究関係著作

1. 大野伸彦, 齊藤百合花, 長内康幸, 山崎礼二, 篠原良章 (2021) ボリューム電子顕微鏡イメージングにおける組織細胞化学の特徴. ``組織細胞化学 2021" (日本組織細胞化学会編), 中西印刷株式会社, pp 163-174.

《生体恒常性発達研究部門》

1)　英文原著論文

1. Horiuchi H, Parajuli B, Komiya H, Ogawa Y, Jin S, Takahashi K, Azuma YT, Tanaka F, Suzumura A, Takeuchi H (2021) Interleukin-19 Abrogates Experimental Autoimmune Encephalomyelitis by Attenuating Antigen-Presenting Cell Activation. Front Immunol 12:615898.

doi: 10.3389/fimmu.2021.615898.

2. Sano F, Shigetomi E, Shinozaki Y, Tsuzukiyama H, Saito K, Mikoshiba K, Horiuchi H, Cheung DL, Nabekura J, Sugita K, Aihara M, Koizumi S (2021) Reactive astrocyte-driven epileptogenesis is induced by microglia initially activated following status epilepticus. JCI Insight 6(9):e135391. doi: 10.1172/jci.insight.135391.

3. Tanaka M, Shigetomi E, Parajuli B, Nagatomo H, Shinozaki Y, Hirayama Y, Saito K, Kubota Y, Danjo Y, Lee JH, Kim SK, Nabekura J, Koizumi S (2021) Adenosine A2B receptor down-regulates metabotropic glutamate receptor 5 in astrocytes during postnatal development. Glia 69(11): 2546-2558. doi: 10.1002/glia.24006.

2)　英文総説

1. Koizumi S, Shigetomi E, Sano F, Saito K, Kim SK, Nabekura J (2022) Abnormal Ca^{2+} Signals in Reactive Astrocytes as a Common Cause of Brain Diseases. Int J Mol Sci 23(1):149 (epub Dec 23, 2021). doi: 10.3390/ijms23010149.

《視覚情報処理研究部門》

1)　英文原著論文

1. Nishio N, Hayashi K, Ishikawa AW, Yoshimura Y (2021) The role of early visual experience in the development of spatial-frequency preference in the primary visual cortex. J Physiol 599(17):4131-4152. doi: 10.1113/JP281463.

2. Kimura R, Yoshimura Y (2021) The contribution of low contrast–preferring neurons to information representation in the primary visual cortex after learning. Sci Adv 7(48):eabj9976. doi: 10.1126/sciadv.abj9976.

《バイオフォトニクス研究部門》

1)　英文原著論文

1. Nakamura S, Hagihara S, Otomo K, Ishida H, Hidema J, Nemoto T, Izumi M (2021) Autophagy Contributes to the Quality Control of Leaf Mitochondria. Plant Cell Physiol 62:229-247. doi: 10.1093/pcp/pcaa162.

2. Yamaguchi K, Otomo K, Kozawa Y, Tsutsumi M, Inose T, Hirai K, Sato S, Nemoto T, Uji-i T (2021) Adaptive Optical Two-photon Microscopy for Surface profiled Living Biological Specimens. ACS Omega 6:438-447. doi: 10.1021/acsomega.0c04888.

3. Wen C, Miura T, Voleti V, Yamaguchi K, Tsutsumi M, Yamamoto K, Otomo K, Fujie Y, Teramoto T, Ishihara T, Aoki K, Nemoto T, Hillman EMC, Kimura KD (2021) 3DeeCellTracker, a deep learning-based pipeline for segmenting and tracking cells in 3D time lapse images. eLife 10: e59187. doi: 10.7554/eLife.59187.

4. Kitrungrotsakul T, Iwamoto Y, Takemoto S, Yokota H, Ipponjima S, Nemoto T, Lin L, Tong R, Li J, Chen Y-W (2021) Accurate and fast mitotic detection using an anchor-free method based on full-scale connection with recurrent deep layer aggregation in 4D microscopy images. BMC Bioinformatics 22: 91, doi:10.1186/s12859-021-04014-w.

5. Kitrungrotsakul T, Han X-H, Iwamoto Y, Takemoto S, Yokota H, Ipponjima S, Nemoto T, Xiong W, Chen Y-W (2021). A Cascade of 2.5D CNN and Bidirectional CLSTM Network for Mitotic Cell Detection in 4D Microscopy Image. IEEE/ACM Trans Comput Biol Bioinform 18(2): 396-404. doi: 10.1109/TCBB.2019.2919015.

6. Takahashi T, Zhang H, Otomo K, Okamura Y, Nemoto T (2021) Protocol for constructing an extensive cranial window utilizing a PEO-CYTOP nanosheet for in vivo wide-field imaging of the mouse brain. STAR Protoc 2(2):100542. doi:10.1016/j.xpro.2021.100542.

7. Kamasaki T, Miyazaki Y, Ishikawa S, Hoshiba K, Kuromiya K, Tanimura N, Mori Y, Tsutsumi M, Nemoto T, Uehara R, Suetsugu S, Itoh T, Fujita Y (2021) FBP17-mediated finger-like membrane protrusions in cell competition between normal and RasV12-transformed cells.

iScience 24(9): 102994. doi: 10.1016/j.isci.2021.102994.
8. Kon N, Wang H, Kato Y, Uemoto K, Kawamoto N, Kawasaki K, Enoki R, Kurosawa G, Nakane T, Sugiyama Y, Tagashira H, Endo M, Iwasaki H, Iwamoto T, Kume K, Fukada Y. Na^{+}/Ca^{2+} exchanger mediates cold Ca^{2+} signaling conserved for temperature-compensated circadian rhythms, Sci Adv 2021, 7(18): eabe8132, doi: 10.1126/sciadv.abe8132.
9. Maejima T, Tsuno Y, Miyazaki S, Tsuneoka Y, Hasegawa E, Islam M, 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.org/10.1073/pnas.2010168118.

2) 英文総説
1. Ishii H, Otomo K, Takahashi T, Yamaguchi K, Nemoto T (2022) Focusing new light on brain functions: multiphoton microscopy for deep and super-resolution imaging. Neurosci .Res 179:24-39, doi: 10.1016/j.neures.2021.11.011.

3) 研究関係著作
1. 大友康平, 根本知己 (2021) 二光子顕微鏡法の技術展開と生体イメージング応用. オプトロニクス 10 巻 12 号 99-103.
2. 大友康平, 髙橋泰伽, 山口和志, 石井宏和, 根本知己 (2021) 生命多光子顕微鏡による深部高解像・超解像イメージング. 光学 50 巻 4 号 141-146.

4) その他
1. 大友康平, 根本知己 (2021) 二光子顕微鏡法の機能向上と生理学応用. レーザー学会第 557 回研究報告, RTM-21(27), pp:11-16.

《認知行動発達機構研究部門》

1) 英文原著論文
1. Ninomiya T, Noritake A, Isoda M (2021) Live agent preference and social action monitoring in the macaque mid- superior temporal sulcus region. Proc Natl Acad Sci USA 118(44): e2109653118. doi: 10.1073/pnas.2109653118.
2. Nakai K, Shiga T, Yasuhara R, Sarkar AK, Abe Y, Nakamura S, Hoashi Y, Kotani K, Tatsumoto S, Ishikawa H, Go Y, Inoue T, Mishima K, Akamatsu W, Baba K (2021) In vitro monitoring of HTR2A-positive neurons derived from human-induced pluripotent stem cells. Sci Rep 11: 15437. doi: 10.1038/s41598-021-95041-3.

2) 英文総説
1. Noritake A, Ninomiya T, Isoda M (2021) Subcortical encoding of agent-relevant associative signals for adaptive social behavior in the macaque. Neurosci Biobehav Rev 125:78-87. doi: 10.1016/j.neubiorev.2021.02.018.
2. Isoda M (2021) The role of the medial prefrontal cortex in moderating neural representations of self and other in primates. Annu Rev Neurosci 44:295-313. doi: 10.1146/annurev-neuro-101420-011820

3) 研究関係著作
1. 磯田昌岐 (2021) 社会的文脈での意思決定とその神経機構. Clinical Neuroscience 39:943-946.
2. 郷康広 (2021)個性学入門 (保前文高, 大隅典子 編), 朝倉書店, pp. 89-100.
3. 郷康広 (2021) ヒトゲノム事典 (井ノ上逸朗, 今西規, 河村正二, 斎藤成也, 颯田葉子, 田嶋敦 編), 一色出版, pp. 56-58.
4. 磯田昌岐 (2021) 自閉症スペクトラム症の霊長類モデル. Clinical Neuroscience (40:345-349).
5. 伊佐正, 磯田昌岐, 南本敬史 (2021) 意思決定と行動選択－Overview. Clinical Neuroscience 39:934-936.

《生体システム研究部門》

1) 英文原著論文
1. Dwi Wahyu I, Chiken S, Hasegawa T, Sano H, Nambu A (2021) Abnormal cortico-basal ganglia neurotransmission in a mouse model of L-DOPA-induced dyskinesia. J Neurosci 41(12): 2668-2683. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0267-20.2020.
2. Koketsu D, Chiken S, Hisatsune T, Miyachi S, Nambu A

(2021) Elimination of the cortico-subthalamic hyperdirect pathway induces motor hyperactivity in mice. J Neurosci 41 (25): 5502-5510. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1330-20.2021.
3. Chiken S, Takada M, Nambu A (2021) Altered dynamic information flow through the cortico-basal ganglia pathways mediates Parkinson's disease symptoms. Cereb Cortex 31 (12): 5363-5380. doi: 10.1093/cercor/bhab164.

2)　研究関係著作

1. Nambu A (2021) Distinct roles of the dorsal versus ventral subthalamic nucleus. Mov Disord 36 (10): 2223. doi: 10.1002/mds.28752.
2. 知見聡美、南部篤 (2021) ジストニアの病態生理 : モデルマウスの神経活動から考察する Annual Review 神経 2021: 237-244.
3. 南部篤、知見聡美、西尾亜希子 (2021)自然科学研究機構生理学研究所 (NIPS) Clinical Neuroscience 39: 1203-1207.

《神経ダイナミクス研究部門》

1)　英文原著論文

1. Shakeel A, Onojima T, Tanaka T, Kitajo K (2021) Real-time implementation of EEG oscillatory phase-informed visual stimulation using a least mean square-based AR model. J Pers Med 11:38. doi: 10.3390/jpm11010038.
2. Okazaki YO, Nakagawa Y, Mizuno Y, Hanakawa T, Kitajo K (2021) Frequency- and area-specific phase entrainment of intrinsic cortical oscillations by repetitive transcranial magnetic stimulation. Front Hum Neurosci 15: 608947. doi: 10.3389/fnhum.2021.608947.
3. Sase T, Kitajo K (2021) The metastable brain associated with autistic-like traits of typically developing individuals. PLoS Comput Biol 17: e1008929.
doi: 10.1371/journal.pcbi.1008929.
4. Kasai T, Kitajo K, Makinae S (2021) Behavioral and electrophysiological investigations of effects of temporal regularity on illusory-figure processing. Brain Res 1766:147521. doi: 10.1016/j.brainres.2021.147521.
5. Nakatani H, Kawasaki M, Kitajo K, Yamaguchi Y (2021) Frequency-dependent effects of EEG phase resetting on reaction time. Neurosci Res 172: 51-62.
doi: 10.1016/j.neures.2021.05.006.
6. Kawano T, Hattori N, Uno Y, Hatakenaka M, Yagura H, Fujimoto H, Nagasako M, Mochizuki H, Kitajo K, Miyai I (2021) Association between aphasia severity and post-stroke brain network alterations assessed using the electroencephalographic phase synchrony index. Sci Rep 11: 112469. doi: 10.1038/s41598-021-91978-7.
7. Onojima T, Kitajo K (2021) A state-informed stimulation approach with real-time estimation of the instantaneous phase of neural oscillations by a Kalman filter. J Neural Eng 18: 066001. doi: 10.1088/1741-2552/ac2f7b.

2)　研究関係著作

1. 北城圭一 (2021) ヘテラルキーとは. Clinical Neuroscience 39(7): 812-815.

《心理生理学研究部門》

1)　英文原著論文

1. Arioka Y, Shishido E, Kushima I, Suzuki T, Saito R, Aiba A, Mori D, Ozaki N (2021) Chromosome 22q11.2 deletion causes PERK-dependent vulnerability in dopaminergic neurons. EBioMedicine 63:103138.
doi: 10.1016/j.ebiom.2020.103138.
2. Goering S, Klein E, Specker Sullivan L, Wexler A, Agüera Y Arcas B, Bi G, Carmena JM, Fins JJ, Friesen P, Gallant J, Huggins JE, Kellmeyer P, Marblestone A, Mitchell C, Parens E, Pham M, Rubel A, Sadato N, Teicher M, Wasserman D, Whittaker M, Wolpaw J, Yuste R (2021) Recommendations for responsible development and application of neurotechnologies. Neuroethics (epub Apr 29　14:365-386). doi: 10.1007/s12152-021-09468-6.

3. Hamano YH, Sugawara SK, Fukunaga M, Sadato N (2021) The integrative role of the M1 in motor sequence learning. Neurosci Lett 760:136081. doi: 10.1016/j.neulet.2021.136081.
4. Koike S, Tanaka SC, Okada T, Aso T, Yamashita A, Yamashita O, Asano M, Maikusa N, Morita K, Okada N, Fukunaga M, Uematsu A, Togo H, Miyazaki A, Murata K, Urushibata Y, Autio J, Ose T, Yoshimoto J, Araki T, Glasser MF, Van Essen DC, Maruyama M, Sadato N, Kawato M, Kasai K, Okamoto Y, Hanakawa T, Hayashi T (2021) Brain/MINDS beyond human brain MRI project: A protocol for multi-level harmonization across brain disorders throughout the lifespan. NeuroImage Clin 30:102600. doi: 10.1016/j.nicl.2021.102600.
5. Komatsu H, Nishio A, Ichinohe N, Goda N (2021) Structure and function of neural circuit related to gloss perception in the macaque inferior temporal cortex: a case report. Brain Struct Funct 226(9)3023-3030. doi:10.1007/s00429-021-02324-6.
6. Maruyama S, Fukunaga M, Sugawara SK, Hamano YH, Yamamoto T, Sadato N (2021) Cognitive control affects motor learning through local variations in GABA within the primary motor cortex. Sci Rep 11(1):18566. doi: 10.1038/s41598-021-97974-1.
7. Miyata K, Koike T, Nakagawa E, Harada T, Sumiya M, Yamamoto T, Sadato N (2021) Neural substrates for sharing intention in action during face-to-face imitation. Neuroimage 233:117916. doi: 10.1016/j.neuroimage.2021.117916.
8. Ogino Y, Kawamichi H, Takizawa D, Sugawara SK, Hamano YH, Fukunaga M, Toyoda K, Watanabe Y, Abe O, Sadato N, Saito S, Furui S (2021) Enhanced structural connectivity within the motor loop in professional boxers prior to a match. Sci Rep 11(1):9015. doi: 10.1038/s41598-021-88368-4.
9. Okamoto Y, Kitada R, Tanabe HC, Sasaki AT, Kochiyama T, Yahata N, Sadato N (2021) The extrastriate body area is involved in reciprocal imitation of hand gestures, vocalizations, and facial expressions: a univariate and multivariate fMRI study. Soc Neurosci 16(4):448-465. doi:10.1080/17470919.2021.1944908.
10. Shin HG, Lee J, Yun YH, Yoo SH, Jang J, Oh SH, Nam Y, Jung S, Kim S, Fukunaga M, Kim W, Choi HJ, Lee J (2021) χ-separation: Magnetic susceptibility source separation toward iron and myelin mapping in the brain. NeuroImage 240:118371. doi:10.1016/j.neuroimage.2021.118371.
11. Shin J, Ma S, Hofer E, Patel Y, Vosberg DE, Tilley S, Roshchupkin GV, Sousa AMM, Jian X, Gottesman R, Mosley TH, Fornage M, Saba Y, Pirpamer L, Schmidt R, Schmidt H, Carrion-Castillo A, Crivello F, Mazoyer B, Bis JC, Li S, Yang Q, Luciano M, Karama S, Lewis L, Bastin ME, Harris MA, Wardlaw JM, Deary IE, Scholz M, Loeffler M, Witte AV, Beyer F, Villringer A, Armstrong NJ, Mather KA, Ames D, Jiang J, Kwok JB, Schofield PR, Thalamuthu A, Trollor JN, Wright MJ, Brodaty H, Wen W, Sachdev PS, Terzikhan N, Evans TE, Adams HHHH, Ikram MA, Frenzel S, Auwera-Palitschka SV, Wittfeld K, Bülow R, Grabe HJ, Tzourio C, Mishra A, Maingault S, Debette S, Gillespie NA, Franz CE, Kremen WS, Ding L, Jahanshad N; ENIGMA Consortium (Fukunaga M et al.), Sestan N, Pausova Z, Seshadri S, Paus T; neuroCHARGE Working Group (2021) Global and Regional Development of the Human Cerebral Cortex: Molecular Architecture and Occupational Aptitudes. Cereb Cortex 30(7):4121-4139. doi: 10.1093/cercor/bhaa035.
12. Sønderby IE, van der Meer D, Moreau C, Kaufmann T, Walters GB, Ellegaard M, Abdellaoui A, Ames D, Amunts K, Andersson M, Armstrong NJ, Bernard M, Blackburn NB, Blangero J, Boomsma DI, Brodaty H, Brouwer RM, Bülow R, Bøen R, Cahn W, Calhoun VD, Caspers S, Ching CRK, Cichon S, Ciufolini S, Crespo-Facorro B, Curran JE, Dale AM, Dalvie S, Dazzan P, de Geus EJC, de Zubicaray GI, de Zwarte SMC, Desrivieres S, Doherty JL, Donohoe G, Draganski B, Ehrlich S, Eising E, Espeseth T, Fejgin K, Fisher SE, Fladby T, Frei O, Frouin V, Fukunaga M, Gareau T, Ge T, Glahn DC, Grabe HJ, Groenewold NA, Gústafsson Ǒ, Haavik J, Haberg AK, Hall J, Hashimoto R, Hehir-Kwa JY, Hibar DP, Hillegers MHJ, Hoffmann P, Holleran L, Holmes AJ, Homuth G, Hottenga JJ, Hulshoff Pol HE, Ikeda M, Jahanshad N, Jockwitz C, Johansson S, Jönsson EG, Jørgensen NR, Kikuchi M, Knowles EEM, Kumar K, Le Hellard S, Leu C, Linden DEJ, Liu J, Lundervold A, Lundervold AJ, Maillard AM, Martin NG, Martin-Brevet S, Mather KA,

Mathias SR, McMahon KL, McRae AF, Medland SE, Meyer-Lindenberg A, Moberget T, Modenato C, Sánchez JM, Morris DW, Mühleisen TW, Murray RM, Nielsen J, Nordvik JE, Nyberg L, Loohuis LMO, Ophoff RA, Owen MJ, Paus T, Pausova Z, Peralta JM, Pike GB, Prieto C, Quinlan EB, Reinbold CS, Marques TR, Rucker JJH, Sachdev PS, Sando SB, Schofield PR, Schork AJ, Schumann G, Shin J, Shumskaya E, Silva AI, Sisodiya SM, Steen VM, Stein DJ, Strike LT, Suzuki IK, Tamnes CK, Teumer A, Thalamuthu A, Tordesillas-Gutiérrez D, Uhlmann A, Ulfarsson MO, van 't Ent D, van den Bree MBM, Vanderhaeghen P, Vassos E, Wen W, Wittfeld K, Wright MJ, Agartz I, Djurovic S, Westlye LT, Stefansson H, Stefansson K, Jacquemont S, Thompson PM, Andreassen OA; ENIGMA-CNV working group (2021) 1q21.1 distal copy number variants are associated with cerebral and cognitive alterations in humans. Transl Psychiatry 11(1):182. doi: 10.1038/s41398-021-01213-0.

13. Takahashi J, Hirano Y, Miura K, Morita K, Fujimoto M, Yamamori H, Yasuda Y, Kudo N, Shishido E, Okazaki K, Shiino T, Nakao T, Kasai K, Hashimoto R, Onitsuka T (2021) Eye movement abnormalities in major depressive disorder. Front Psychiatry, 12:673443. doi: 10.3389/fpsyt.2021.673443.
14. Uchiyama Y, Sakai H, Ando T, Tachibana A, Sadato N (2021) BOLD signal response in primary visual cortex to flickering checkerboard increases with stimulus temporal frequency in older adults. PLoS One 16(11):e0259243. doi: 10.1371/journal.pone.0259243. eCollection 2021.
15. Yokoyama C, Autio JA, Ikeda T, Sallet J, Mars RB, Van Essen DC, Glasser MF, Sadato N, Hayashi T (2021) Comparative connectomics of the primate social brain. Neuroimage 245: 118693. doi: 10.1016/j.neuroimage.2021.118693.
16. Harada T, Sugawara T, Ito T, Wada Y, Fukunaga M, Sadato N, Larroque SK, Demertzi A, Laureys S, Sakai H (2021) Vestibular morphological asymmetry associated with motion sickness susceptibility. Front Neurosci 15:763040. doi: 10.3389/fnins.2021.763040.
17. Matsumoto J, Miura K, Fukunaga M, Nemoto K, Koshiyama D, Okada N, Morita K, Yamamori H, Yasuda Y, Fujimoto M, Ito S, Hasegawa N, Watanabe Y, Kasai K, Hashimoto R (2021) Association Study Between White Matter Microstructure and Intelligence Decline in Schizophrenia. Clin EEG Neurosci 15500594211063314. doi:10.1177/15500594211063314. (in online ahead of print)
18. Yoshioka A, Tanabe HC, Sumiya M, Nakagawa E, Okazaki S, Koike T, Sadato N (2021) Neural Substrates of Shared Visual Experiences: A Hyperscanning fMRI Study. Soc Cogn Affect Neurosci 16:1264-1275. doi:10.1093/scan/nsab082.
19. Sakai H, Harada T, Larroque SK, Demertzi A, Sugawara T, Ito T, Wada Y, Fukunaga M, Sadato N, Laureys S (2021) Left parietal involvement in motion sickness susceptibility revealed by multimodal MRI. Hum Brain Mapp (; epub Nov 15 43:1103-1111 (2022)). doi: 10.1002/hbm.25710.
20. Kato T, Manabe R, Igarashi H, Kametani F, Hirokawa S, Sekine Y, Fujita N, Saito S, Kawashima Y, Hatano Y, Ando S, Nozaki H, Sugai A, Uemura M, Fukunaga M, Sato T, Koyama A, Saito R, Sugie A, Toyoshima Y, Kawata H, Murayama S, Matsumoto M, Kakita A, Hasegawa M, Ihara M, Kanazawa M, Nishizawa M, Tsuji S, Onodera O (2021) Candesartan prevents the progression of arteriopathy in CARASIL model mice. J Clin Invest 131(22):e140555. doi: 10.1172/JCI140555.

2)　和文原著

1. 西牧侑哉, 郷田直一, 蒲池みゆき (2021) VR 環境下での風の強さ知覚における視触覚統合. 日本バーチャルリアリティ学会論文誌 26(1): 14-21.
2. 目良貢, 中村優佑, 吉田敏宏, 清水圭吾, 菅原翔, 福永雅喜, 定藤規弘, 農沢隆秀 (2021) 時系列データを解析するためのベイジアンネットワークの活用法に関する研究. 日本応用数理学会論文誌 31(2): 76-104. doi:10.11540/jsiamt.31.2_76.

3)　研究関係著作

1. 定藤規弘, 小池耕彦 (2021) 共同注意の神経科学. CLINICAL NEWROSCIENCE 39(8): 992-995.
2. 福永雅喜 (2021) 7TMRI におけるリスクマネージメント. インナービジョン 36(3): 86-89.
3. 越山太輔, 福永雅喜, 笠井清登, 橋本亮太 (2021) 統合失調症・双極性障害に共通する大脳白質の微細構造変化. 精神科臨床 Legato 7:90-93.
4. 福永雅喜 (2021) 超高磁場 MRI の可能性. Medical Science Digest 47:664-667.

《感覚認知情報研究部門》

1) その他

1. Takemura H, Rosa MPG (2021) Understanding structure-function relationships in the mammalian visual system: part one (Editorial). Brain Struct Funct 226:2741-2744. doi: 10.1007/s00429-021-02406-5.

《多光子顕微鏡室》

1) 英文原著論文

1. Shibata AC, Ueda HH, Eto K, Onda M, Sato A, Ohba T, Nabekura J, Murakoshi H (2021) Photoactivatable CaMKII induces synaptic plasticity in single synapses. Nat Commun 12:751. doi: 10.1038/s41467-021-21025-6.
2. Shimizu T, Murakoshi H, Matsumoto H, Ichino K, Hattori A, Ueno S, Ishida A, Tajiri N, Hida H (2021) Tension sensor based on fluorescence resonance energy transfer reveals fiber diameter-dependent mechanical factors during myelination. Front in Cell Neurosci 15: 685044. doi: 10.3389/fncel.2021.685044.

2) 英文総説

1. Murakoshi H (2021) Optogenetic imaging of protein activity in the synapse by using 2-photon fluorescence lifetime imaging microscopy. Adv Exp Med Biol 1293: 295-308. doi: 10.1007/978-981-15-8763-4_18.
2. Ueda HH, Nagasawa Y, Murakoshi H (2021) Imaging intracellular protein interactions/activity in neurons using 2-photon fluorescence lifetime imaging microscopy. Neurosci Res 179: 31–38. doi: 10.1016/j.neures.2021.10.004.

3) 研究関係著作

1. 植田大海，長澤裕太郎，村越秀治 (2021) 光応答性 CaMKII の開発と単一シナプス光操作 --ローカルオプトジェネティクス--. 生物物理 61(6): 374-377.

《電子顕微鏡室（窪田グループ）》

1) 英文原著論文

1. Urakubo H, Yagishita S, Kasai H, Kubota Y, Ishii S (2021) The critical balance between dopamine D2 receptor and RGS for the sensitive detection of a transient decay in dopamine signal. PLoS Comput Biol 17(9): e1009364. doi: 10.1371/journal.pcbi.1009364.
2. Fang L, Monroe F, Novak SW, Kirk L, Schiavon CR, Yu SB, Zhang T, Wu M, Kastner K, Latif AA, Lin Z, Shaw A, Kubota Y, Mendenhall J, Zhang Z, Pekkurnaz G, Harris K, Howard J, Manor U (2021) Deep Learning-Based Point-Scanning Super-Resolution Imaging. Nat Methods 18: 406-416. doi: 10.1038/s41592-021-01080-z.

2) 研究関係著作

1. Kubota Y (2021) Morphological and neurochemical characterization of electrophysiologically identified cells. "Receptor and Ion Channel Detection in the Brain: methods and protocols, Second Edition" (Eds: Rafael Lujan, Francisco Ciruela), Springer, New York, pp 353-382. doi: 10.1007/978-1-0716-1522-5_24.

《生体機能情報解析室》

1) 英文原著論文

1. Pham TQ, Nishiyama S, Sadato N, Chikazoe J (2021) Distillation of regional activity reveals hidden content of neural information in visual processing. Front Hum

Neurosci 15:777464. doi: 10.3389/fnhum.2021.777464.

2) 研究関係著作

1. 近添淳一 (2021) 味覚の脳機能イメージング. Clinical Neuroscience 39(2): 167-169.

《時系列細胞現象解析室》

1) 英文原著論文

1. Otsuka T, Kawaguchi Y (2021) Pyramidal cell subtype-dependent cortical oscillatory activity regulates motor learning. Commun Biol 4:495. doi:10.1038/s42003-021-02010-7.
2. Satake S, Konishi S (2021) Topographical distance between presynaptic Ca^{2+} channels and exocytotic Ca^{2+} sensors contributes to differential facilitatory actions of roscovitine on neurotransmitter release at cerebellar glutamatergic and GABAergic synapses. Eur J Neurosci 54:7048-7062. doi:10.1111/ejn.15487.

《ウィルスベクター開発室》

1) 英文原著論文

1. 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. doi: 10.1016/j.cub.2020.09.074.
2. Nagae M, Uenoyama Y, Okamoto S, Tsuchida H, Ikegami K, Goto T, Majarune S, Nakamura S, Sanbo M, Hirabayashi M, Kobayashi K, Inoue N, Tsukamura H (2021) Direct evidence that KNDy neurons maintain gonadotropin pulses and folliculogenesis as the GnRH pulse generator. Proc Natl Acad Sci USA 118:e2009156118. doi: 10.1073/pnas.2009156118.
3. Kosugi K, Yoshida K, Suzuki T, Kobayashi K, Yoshida K, Mimura M, Tanaka KF (2021) Activation of ventral CA1 hippocampal neurons projecting to the lateral septum during feeding. Hippocampus 31:294-304. doi: 10.1002/hipo.23289.
4. Zubair M, Murris SR, Isa K, Onoe H, Koshimizu Y, Kobayashi K, Vanduffel W, Isa T (2021) Divergent whole brain projections from the ventral midbrain in macaques. Cereb Cortex 31:2913-2931. doi: 10.1093/cercor/bhaa399.
5. Koshimizu Y, Isa K, Kobayashi K, Isa T (2021) Double viral vector technology for selective manipulation of neural pathways with higher level of efficiency and safety. Gene Ther 28:339-350. doi: 10.1038/s41434-020-00212-y.
6. Ota K, Oisi Y, Suzuki T, Ikeda M, Ito Y, Ito T, Uwamori H, Kobayashi K, Kobayashi M, Odagawa M, Matsubara C, Kuroiwa Y, Horikoshi M, Matsushita J, Hioki H, Ohkura M, Nakai J, Oizumi M, Miyawaki A, Aonishi T, Ode T, Murayama M (2021) Fast, cell-resolution, contiguous-wide two-photon imaging to reveal functional network architectures across multi-modal cortical areas. Neuron 109:1810-1824.e9. doi: 10.1016/j.neuron.2021.03.032.
7. Miya K, Keino-Masu K, Okada T, Kobayashi K, Masu M (2021) Expression of heparan sulfate endosulfatases in the adult mouse brain: co-expression of Sulf1 and dopamine D1/D2 receptors. Front Neuroanat 15:726718. doi: 10.3389/fnana.2021.726718.
8. Ohta Y, Guinto MC, Tokuda T, Kawahara M, Haruta M, Takehara H, Tashiro H, Sasagawa K, Onoe H, Yamaguchi R, Koshimizu Y, Isa K, Isa T, Kobayashi K, Akay YM, Akay M, Ohta J (2021) Micro-LED array-based photo-stimulation devices for optogenetics in rat and macaque monkey brains. IEEE Access 9:127937-127949. doi:10.1109/ACCESS.2021.3111666.
9. Oomoto I, Uwamori H, Matsubara C, Odagawa M, Kobayashi M, Kobayashi K, Ota K, Murayama M (2021) Protocol for cortical-wide field-of-view two-photon imaging with quick neonatal adeno-associated virus injection. STAR Protoc 2:101007. doi: 10.1016/j.xpro.2021.101007.

《遺伝子改変動物作製室》

1)　英文原著論文

1. Nagae M, Uenoyama Y, Okamoto S, Tsuchida H, Ikegami K, Goto T, Majarune S, Nakamura S, Sanbo M, Hirabayashi M, Kobayashi K, Inoue N, Tsukamura H (2021) Direct evidence that KNDy neurons maintain gonadotropin pulses and folliculogenesis as the GnRH pulse generator. Proc Natl Acad Sci U S A 118: e2009156118. doi: 10.1073/pnas.2009156118.
2. Matsumura T, Sato T, Abe T, Sanjo H, Katagiri K, Kimura H, Fujii T, Tanaka H, Hirabayashi M, Ogawa T (2021) Rat in vitro spermatogenesis promoted by chemical supplementations and oxygen-tension control. Sci Rep 11:3458. doi: 10.1038/s41598-021-82792-2.
3. Kobayashi T, Goto T, Oikawa M, Sanbo M, Yoshida F, Terada R, Niizeki N, Kajitani N, Kazuki K, Kazuki Y, Hochi S, Nakauchi H, Surani MA, Hirabayashi M (2021) Blastocyst complementation using Prdm14-deficient rats enables efficient germline transmission and generation of functional mouse spermatids in rats. Nat Commun 12:1328. doi: 10.1038/s41467-021-21557-x.
4. Nakayama-Iwatsuki K, Yanagisawa K, Tanaka D, Hirabayashi M, Negishi J, Hochi S (2021) Acellular matrix derived from rat liver improves the functionality of rat pancreatic islets before or after vitrification. Cryobiology 100:90-95. doi: 10.1016/j.cryobiol.2021.03.005.
5. Yamanaka T, Nakayama-Iwatsuki K, Fujimoto S, Hirono N, Negishi J, Tamada Y, Hirabayashi M, Hochi S (2021) All-in-one silk fibroin sponge as the vitrification cryodevice of rat pancreatic islets and the VEGF-embedded scaffold for subrenal transplantation. Transplant Proc 53:1744-1750. doi: 10.1016/j.transproceed.2021.04.012.
6. Nakayama-Iwatsuki K, Hirabayashi M, Hochi S (2021) Fabrication of functional rat pseudo-islets after cryopreservation of pancreatic islets or dispersed islet cells. J Tissue Eng Regen Med 15:686-696. doi: 10.1002/term.3219.
7. Kobayashi T, Castillo-Venzor A, Penfold CA, Morgan M, Mizuno N, Tang WWC, Osada Y, Hirao M, Yoshida F, Sato H, Nakauchi H, Hirabayashi M, Surani MA (2021) Tracing the emergence of primordial germ cells from bilaminar disc rabbit embryos and pluripotent stem cells. Cell Rep 37: 109812. doi: 10.1016/j.celrep.2021.109812.
8. Kinoshita M, Kobayashi T, Planells B, Klisch D, Spindlow D, Masaki H, Bornelö S, Stirparo GG, Matsunari H, Uchikura A, Lamas-Toranzo I, Nichols J, Nakauchi H, Nagashima H, Alberio R, Smith A (2021) Pluripotent stem cells related to embryonic disc exhibit common self-renewal requirements in diverse livestock species. Development 148:dev199901. doi: 10.1242/dev.199901.

2)　英文総説

1. Alberio R, Kobayashi T, Surani MA (2021) Conserved features of non-primate bilaminar disc embryos and the germline. Stem Cell Reports 16:1078-1092. doi: 10.1016/j.stemcr.2021.03.011.

《動物資源共同利用研究センター》

1)　英文総説

1. Nishijima K, Kitajima S, Matsuhisa F, Niimi M, Wang C-c, Fan J (2021) Strategies for highly efficient rabbit sperm cryopreservation. Animals 11(5):1220. doi: 10.3390/ani11051220.

《その他》

1)　英文原著論文

1. Matsuura H, Kojima A, Fukushima Y, Xie Y, Mi X, Sabirov RZ, Okada Y (2021) Positive Inotropic Effects of ATP Released via the Maxi-Anion Channel in Langendorff-Perfused Mouse Hearts Subjected to Ischemia-Reperfusion. Front Cell Dev Biol 9:597997. doi: 10.3389/fcell.2021.597997.
2. Numata T, Sato-Numata K, Hermosura MC, Mori Y, Okada Y (2021) TRPM7 is an essential regulator for volume-sensitive outwardly rectifying anion channel. Commun Biol 4:599. doi: 10.1038/s42003-021-02127-9.
3. Sato-Numata K, Numata T, Ueta Y, Okada Y (2021) Vasopressin Neurons Respond to Hyperosmotic Stimulation with Regulatory Volume Increase and Secretory Volume Decrease by Activating Ion Transporters and Ca^{2+} Channels. Cell Physiol Biochem 55(S1):119-134. doi: 10.33594/000000342.

2)　英文総説

1. Okada Y, Sabirov RZ, Merzlyak PG, Numata T, Sato-Numata K (2021) Properties, Structures, and Physiological Roles of Three Types of Anion Channels Molecularly Identified in the 2010's. Front Physiol 12:805148. doi: 10.3389/fphys.2021.805148.
2. Okada Y, Sabirov RZ, Sato-Numata K, Numata T (2021) Cell Death Induction and Protection by Activation of Ubiquitously Expressed Anion/Cation Channels. Part 1: Roles of VSOR/VRAC in Cell Volume Regulation, Release of Double-Edged Signals and Apoptotic/Necrotic Cell Death. Front Cell Dev Biol 8:614040. doi: 10.3389/fcell.2020.614040.
3. Okada Y, Sato-Numata K, Sabirov RZ, Numata T (2021) Cell Death Induction and Protection by Activation of Ubiquitously Expressed Anion/Cation Channels. Part 2: Functional and Molecular Properties of ASOR/PAC Channels and Their Roles in Cell Volume Dysregulation and Acidotoxic Cell Death. Front Cell Dev Biol 9:702317. doi: 10.3389/fcell.2021.702317.
4. Sabirov RZ, Islam MR, Okada T, Merzlyak PG, Kurbannazarova RS, Nargiza A. Tsiferova NA, Okada Y (2021) The ATP-Releasing Maxi-Cl Channel: Its Identity, Molecular Partners, and Physiological/Pathophysiological Implications. Life (Basel) 11(6):509. doi: 10.3390/life11060509.

3)　その他

1. Ritter M, Mongin AA, Valenti G, Okada Y (2021) Editorial: Ion and Water Transport in Cell Death. Front Cell Dev Biol 9:757033. doi: 10.3389/fcell.2021.757033.

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
生体分子構造研究部門 105
神経発達・再生機構研究部門 105
細胞構造研究部門 106
細胞生理研究部門 107
心循環シグナル研究部門 108
生殖・内分泌系発達機構研究部門 111
分子神経免疫研究部門 112
超微形態研究部門 113
生体恒常性発達研究部門 113
視覚情報処理研究部門 114
バイオフォトニクス研究部門 115
多細胞回路動態研究部門 116
認知行動発達機構研究部門 116
生体システム研究部門 117
神経ダイナミクス研究部門 117
心理生理学研究部門 118
感覚認知情報研究部門 120
多光子顕微鏡室 120
電子顕微鏡室（窪田グループ） 120
生体機能情報解析室 120
時系列細胞現象解析室 121
ウィルスベクター開発室 121
遺伝子改変動物作製室 121
多階層生理機能解析室 122
動物資源共同利用研究センター 122

学　会　発　表

神経機能素子研究部門

1. Michihiro Tateyama, Yoshihiro Kubo (2021.3.29) The distal C-terminal region of THIK channels plays critical roles in the regulation of the channel activity. 第 98 回日本生理学会大会（名古屋，オンライン開催）
2. Takushi Shimomura, Ki-ichi Hirazawa, Yoshihiro Kubo (2021.3.29) Cysteine scanning analysis of the 2nd S4 in two-pore Na^+ channel 3. 第 98 回日本生理学会大会（名古屋，オンライン開催）
3. I-Shan Chen, Yoshihiro Kubo （2021.3.29） Novel mechanisms underlying the abnormal ion selectivity of inherent GIRK mutants. 第 98 回日本生理学会大会（名古屋，オンライン開催）
4. Rizki Tsari Andriani, Yoshihiro Kubo (2021.3.29) Optical monitoring of voltage-dependent gating of ATP-gated channel P2X2 by utilizing fluorescent unnatural amino acid (fUAA) 第 98 回 日本生理学会大会（名古屋，オンライン開催）
5. Ki-ichi Hirazawa, Takushi Shimomura, Yoshihiro Kubo (2021.3.29) Analysis of the activation mechanism of Two-pore channel 3 by membrane voltage and phosphoinositide 第 98 回日本生理学会大会（名古屋，オンライン開催）
6. Chang Liu, I-Shan Chen, Ruth Murrell-Lagnado, Yoshihiro Kubo (2021.3.29) Regulation of the function of K_v channels by Sigma-1 receptor. 第 98 回日本生理学会大会（名古屋，オンライン開催）
7. 塚本寿夫，久保義弘 (2021.9.2）無脊椎動物オプシンの特性を活用した細胞応答の光操作　第 92 回日本動物学会オンライン米子大会（米子，オンライン開催）
8. 平澤輝一，下村拓史，久保義弘（2021.10.15-16）Two-pore channel 3 の膜電位依存的活性化とそのホスホイノシチドによる制御　第 68 回中部日本生理学会（金沢，オンライン開催）
9. 陳以珊，久保義弘（2021.11.27）遺伝性疾患に関連する変異 GIRK チャネルのイオン選択性の新規制御機構の解明 第 113 回近畿生理学談話会（京都）

生体膜研究部門

1. Yokoi N, Fukata Y, Sanbo M, Goto T, Hirabayashi M, Fukata M（2021・2・6）ADAM22 biosynthetic analysis reveals the seizure threshold in a mouse model. The 2nd Nagoya CIBoG Retreat（オンライン開催）
2. 横井紀彦（2021・3・11）脳内蛋白質複合体の研究を通して，生物無機化学の未来について考えること. 分子研研究会「錯体化学から始まる学術展開の可能性」（岡崎，オンライン開催）（招待講演）
3. Yokoi N, Fukata Y, Sanbo M, Goto T, Hirabayashi M, Fukata M（2021・3・12）Effective expression level of the anti-epileptic complex, LGI1-ADAM22, is maintained by ADAM22 phosphorylation. The 10th NIPS-PRI-BRINU Joint Symposium（オンライン開催）
4. 横井紀彦，深田優子，三宝誠，後藤哲平，平林真澄，深田正紀（2021・3・17）シナプス蛋白質複合体 LGI1-ADAM22 のリン酸化による抗てんかん機構の解明．自然科学研究機構「ネットワーク型研究加速事業（国際ネットワーク）」生理研プロジェクト「機能タンパク質の構造と機能のダイナミクスと，それに基づく細胞・生体システム作動機構の研究拠点の形成」年度末成果報告会を兼ねたシンポジウム（オンライン開催）
5. Fukata M, Fukata Y（2021・5・11）Trans-synaptic LGI1-ADAM22-MAGUK protein complex in synaptic functions and disorders. SYNABS symposium （Germany, Online)（招待講演）
6. 横井紀彦，深田優子，三宝誠，後藤哲平，平林真澄，深田正紀（2021・9・25）抗てんかん作用を発揮する LGI1-ADAM22 複合体の量とその制御機構の解明. 第 11 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）

生体分子構造研究部門

1. 村田和義（2021.6.14-16）巨大ウイルスの構造から見る物質と生命の新たな境界．日本顕微鏡学会第 77 回学術講演会（つくば）
2. Ray Burton-Smith, Jun Tsunoda, Chihong Song, Hiroshi Ueno, Takeshi Murata, Ryota Iino, Kazuyoshi Murata（2021.6.14-16）The States of the Off-Axis Rotor of Enterococcus hirae V-type ATPase by Cryo-EM. 日本顕微鏡学会第 77 回学術講演会（つくば）
3. Ryoto Watanabe, Chihong Song, Yoko Kayama, Masaharu Takemura, Kazuyoshi Murata（2021.6.14-16）Particle maturation process of Medusavirus revealed by EM observation．日本顕微鏡学会第 77 回学術講演会（つくば）
4. Chihong Song, Kazuhiko Katayama, Kazuyoshi Murata（2021.6.14-16）High-resolution Analysis on Structural Changes of Norovirus by Cryo-EM．日本顕微鏡学会第 77 回学術講演会（つくば）
5. 神谷亮佑，内山淳平，松崎茂展，村田和義，岩崎憲治, 宮崎直幸(2021.6.14-16)ピロリ菌ファージ KHP30 のクライオ電子顕微鏡構造解析．日本顕微鏡学会第 77 回学術講演会（つくば）
6. 鯉渕航, 内山淳平, 松崎茂展, 村田和義, 岩崎憲治, 宮崎直幸（2021.6.14-16）巨大バクテリオファージ S6 の尾部収縮前後の構造変化．日本顕微鏡学会第 77 回学術講演会（つくば）
7. Kazuyoshi Murata（2021.7.6）Cryo-electron microscopy of the giant viruses. The Fourth International Symposium on Advanced Microscopy and Spectroscopy (ISAMS-4) (online)
8. 渡邉凌人，ソンチホン，香山容子，武村政春，村田和義（2021.9.25）電子顕微鏡による巨大メドゥーサウイルスの形態と形成過程の解析. 第 10 回名大生理研合同シンポジウム（オンライン）
9. 村田和義（2021.10.23）電子顕微鏡で見たウイルス構造から学ぶ感染症対策．文部科学省新学術領域研究 2021 年度市民公開シンポジウム（オンライン）
10. Ray Burton-Smith（2021.12.20）Cryo-EM structure of the giant virus Melbournevirus．ExCELLS シンポジウム（岡崎）
11. Ryoto Watanabe, Chihong Song, Yoko Kayama, Masaharu Takemura, Kazuyoshi Murata（2021.12.20）Medusavirus の局所構造解析により示されるウイルス粒子形成に伴う構造変化. ExCELLS シンポジウム（岡崎）
12. 関口太一朗, 谷中冴子, ソンチホン, Christian Ganser, 村田和義，内橋貴之，加藤晃一（2021.12.20）プロテアソームサブユニットを題材にしたタンパク質集合体における非対称性の設計原理の探究．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）
13. 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）
14. 村田和義（2022.3.23）岡崎におけるクライオ電子顕微鏡施設の紹介．生理研研究会「機能的神経回路の構築と動作を支える分子細胞基盤」（オンライン）

神経発達・再生機構研究部門

1. 松本真実，澤田雅人，Diego Garcia-Gonzalez，Vicente Herranz-Perez，荻野崇，Huy Bang Nguyen，Truc Quynh Thai, 成田啓之, 熊本奈都子, 鵜川眞也, 斎藤祐見子, 竹田扇，金子奈穂子，Konstantin Khodosevich，Hannah Monyer，Jose Manuel Garcia-Verdugo，大野伸彦，澤本和延（2021・12・5）生後脳内を移動する新生ニューロンにおける一次繊毛の微細形態の動的変化．第 72 回名古屋市立大学医学会総会（愛知県名古屋市）
2. 金子奈穂子，澤本和延（2021・12・3）　Adult-born neurons migrate and differentiate in response to the microenvironment in the post-stroke brain. 第 44 回分子生物学会年会（神奈川県横浜市）
3. 中島 徳彦, 金子 奈穂子, 石崎 友崇, 田村 淳, 樋口 慧, 月田 早智子, 澤本 和延（2021・12・2）ERM 蛋白質 Ezrin による脳室下帯の細胞構築制御．第 44 回分子生物学会年会（神奈川県横浜市）

4. Kaneko N, Akter M, Herranz-Perez V, Oishi H, Garcia-Verdugo JM, Sawamoto K（2021・10・28）Neurogenic potential in common marmoset ventricular-subventricular zone during postnatal brain development. ISSCR TOKYO JAPAN（オンライン）
5. 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（2021・10 ・27）Dynamic Changes in Ultrastructure of the Primary Cilium in Migrating Neuroblasts in the Adult Brain. ISSCR TOKYO JAPAN（オンライン）
6. 澤田雅人, 澤本和延（2021・9・30）成体脳のニューロン新生における死細胞の貪食過程と意義. 第 64 回日本神経化学会大会（オンライン）
7. 松本真実, 澤田雅人, 松下勝義, Huy Bang Nguyen, Truc Quynh Thai, 大野伸彦, 澤本和延（2021・9・30）正常脳と傷害脳内において鎖状移動する新生ニューロンの細胞間接着制御. 第 64 回日本神経化学会大会（オンライン）
8. 博松千紘, 澤田雅人, 大村谷昌樹, 田中基樹, 久保山和哉, 荻野崇, 松本真実, 大石久史, 稲田浩之, 高坂新一, 大野伸彦, 山田麻紀, 浅井真人, 曽我部正博, 鍋倉淳一,浅野謙一, 田中正人, 澤本和延（2021・9・30）ミクログリアはフォスファチジルセリン依存的に成体新生ニューロンのシナプスを貪食する. 第 64 回日本神経化学会大会（オンライン）
9. 岡田正康(新潟大学), 澤本和延（2021・9 ・30）Phosphorylation of GAP-43 T172 is a molecular marker representing the growing axons in a wide range of mammals including primates. 第 64 回日本神経化学会大会（オンライン）
10. 長瀬次郎, 中嶋智佳子, 中村小百合, 澤田雅人, 澤本和延（2021・9・30）細胞外マトリックスを含有する人工足場を用いた傷害脳組織における新生ニューロンの移動促進. 第 64 回日本神経化学会大会（オンライン）
11. 金子奈穂子,澤本和延（2021・9・15）動的な鎖状細胞塊を形成して脳傷害部へ移動する新生神経細胞. 2021 年度日本数理生物学会年会（オンライン）
12. 金子奈穂子, 澤本和延（2021・8・28）脳梗塞切片を移動する生きた神経細胞の挙動を記録するライブイメージング法. 第 11 回日本脳血管・認知症学会総会（オンライン）
13. 澤本和延（2021・7・7）細胞移動促進による機能的神経再生. 第 42 回日本炎症・再生医学会（オンライン）
14. 松本真実, 澤田雅人, Garcia-Gonzalez D, Herranz-Perez V, 荻野崇, Nguyen HB, Thai TQ, 成田啓之, 熊本奈都子, 鵜川眞也, 斎藤祐見子, 竹田扇, 金子奈穂子, Khodosevich K, Monyer H, Garcia-Verdugo JM, 大野伸彦, 澤本和延（2021・6・21）成体脳内を移動する新生ニューロンにおける一次繊毛の時空間的制御. 第 165 回名古屋市立大学医学会例会（オンライン）
15. 澤本和延（2021・5・19）生後のニューロン新生を操作することによる神経疾患治療法の開発. 第 62 回日本神経学会学術大会（オンライン）
16. 澤田雅人, 澤本和延（2021・3・28）生後脳における新生ニューロンの移動維持・停止機構. 第 126 回日本解剖学会総会・全国学術集会 / 第 98 回日本生理学会大会　合同大会（オンライン）
17. 宮本 啓補, 澤田 雅人, 山﨑 久朗, 梅澤 直, 樋口 恒彦, 粂 和彦, 澤本 和延, 大澤 匡弘（2021・3・28）成体海馬ニューロン新生に着目した痛みの慢性化を引き起こす中枢神経回路の解明. 第 141 回日本薬学会年会（オンライン）
18. 中村泰久, 川瀬恒哉, 澤田雅人, 澤本和延（2021・2・5）早産による生後のニューロン新生低下のメカニズム. 成体脳のニューロン新生懇談会（オンライン）
19. 中嶋智佳子, 澤本和延（2021・2・3）脳細胞の移動・再生促進技術の開発. 令和２年度 AMED 再生・細胞医療・遺伝子治療研究開発交流会（オンライン）

細胞構造研究部門

1. 古瀬幹夫 (2021.4.26) 上皮細胞極性形成における細胞間結合の役割. 発生生物学会ワークショップ「細胞極性研究の新展開」(オンライン開催)
2. 泉 裕士, 古瀬幹夫 (2021.6.29~7.2) 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73回

日本細胞生物学会（オンライン開催）

3. 古瀬幹夫 (2021.9-10) 3 細胞結合における細胞間隙バリアの形成機構. 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）
4. Izumi Y, Furuse M. (2021.9.13-16) The novel membrane protein Hoka regulates septate junction organization and stem cell homeostasis in the Drosophila intestine. The 14th Japanese Drosophila Research Conference. （オンライン開催）
5. 泉 裕士, 古瀬幹夫 (2021.9.25) ショウジョウバエ腸管の恒常性における上皮パラセルラーバリアの役割. 第 11 回 名古屋大学・生理研合同シンポジウム（オンライン開催）
6. Otani T, Furuse M. (2021.9.27~29) Competitive elimination of tight junction deficient cells regulate epithelial barrier homeostasis. The 4th International Tight Junction Conference.（ハイブリッド開催）
7. Furuse M, Sugawara T. (2021.9.27-29) Molecular mechanism of tricellular tight junction formation. 4th International Tight Junction Conference.（ハイブリッド開催）.
8. 古瀬幹夫 (2021.10.15-16) 上皮の 3 細胞結合部位をシールする分子機構. 第 20 回生体機能研究会（高崎）
9. Furuse M. (2021.11.16) How the paracellular space is sealed where three epithelial cells meet. KU-YU-NIPS Joint symposium （オンライン開催）
10. Furuse M. (2021.12.6-8) Mechanisms of the paracellular sealing at tricellular contacts in vertebrate epithelial cells. The 51st NIPS International Symposium.（オンライン開催)
11. Izumi Y (2021.12.6~8) The role of the paracellular barrier in stem cell homeostasis in the Drosophila gut. The 51st NIPS International Symposium.（オンライン開催）
12. Otani T, Furuse M. (2021.12.6-8) Competitive elimination of tight junction deficient cells regulate epithelial barrier homeostasis. The 51st NIPS International Symposium.（オンライン開催）
13. Nguyen TP, Otani T, Furuse M. (2021.12.6-8) The roles of claudins and JAM-A in providing tight junction-dependent mechanical resistance. The 51st NIPS International Symposium.（オンライン開催）

細胞生理研究部門

1. Deng Xiangmei（2021.2.6）Possible physiological function of lipid enzymes involved in thermotaxis in fruit fly larvae. 第２回 CIBoG リトリート（第 13 回 NAGOYA グローバルリトリート）（オンライン開催）
2. 水藤 拓人 （2021.2.4） Molecular mechanism of thermosensing and behavioral thermoregulation in Drosophila. 3rd ExCELLS Retreat for Young Scientists (ExCELLS 若手交流リトリート)（オンライン開催）
3. 佐藤 翔馬（2021.2.4）Development of a novel insect repellent using Drosophila melanogaster. 3rd ExCELLS Retreat for Young Scientists(ExCELLS 若手交流リトリート)（オンライン開催）
4. Lei Jing（2021.3.12）Investigation of the interaction between TRPV3 and TMEM79 in mouse skin keratinocytes. 第 10 回 生理研-霊長研-新潟脳研合同シンポジウム（オンライン開催）
5. 曽我部 隆彰（2021.3.28）Light stimulation induced biosynthesis of endocannabinoids and N-acyl amide in photoreceptor cells in Drosophila. 第 98 回日本生理学会大会（オンライン開催）
6. 佐藤 翔馬 （2021.3.28） Characterization of insect repellents targeting TRP channels. 第 98 回日本生理学会大会（オンライン開催）
7. 富永 真琴（2021.3.29）Crosstalk between sensory neurons and immune system through TRP channels. 第 98 回日本生理学会大会（オンライン開催）
8. 齋藤 茂（2021.3.29）Molecular basis for the reduced heat perception in frog tadpoles inhabiting hot spring. 第 98 回日本生理学会大会（オンライン開催）
9. 水藤 拓人（2021.3.29）Identification of genes regulating sensory functions via modifications of membrane lipids in Drosophila. 第 98 回日本生理学会大会（オンライン開催）
10. Nguyen Thi Hong Dung（2021.3.29）Structural basis for promiscuous action of monoterpenes on TRP channels. 第 98 回日本生理学会大会（オンライン開催）

11. Deveci Aykut（2021.3.29）Investigation of the possible relation between TRPM2-IKca1-ANO1 ion channels. 第 98 回日本生理学会大会（オンライン開催）
12. Lei Jing（2021.3.29）Investigation of the interaction between TRPV3 and TMEM79 in mouse skin keratinocytes. 第 98 回日本生理学会大会（オンライン形式オンライン開催）
13. Deng Xiangmei（2021.3.30）Physiological functions of lipid enzymes involved in thermotaxis in Drosophila melanogaster. 第 98 回日本生理学会大会（オンライン開催）
14. 富永 真琴（2021.5.25）温度感受性 TRP チャネルを介した温度感知機構と生理的意義に関する研究. 第 58 回日本伝熱シンポジウム（オンライン開催）
15. Tominaga Makoto（2021.6.8）Physiological Significance of TRPV4 in Glia Cells. 20 Years of TRPV4 Exploring Science, Discovery, and Future Directions（オンライン開催）
16. Tominaga Makoto（2021.8.8）Physiological Function of TRPV4 in Glia Cells. The 8th International Ion Channel Conference（Tianjin, China ハイブリッド開催・オンライン参加）
17. Saito Shigeru（2021.8.16-19）The evolutionary tuning of thermal perception related to habitat selection in frogs. The 2nd AsiaEvo Conference（オンライン開催）
18. 齋藤 茂（2021.8.18-8.21）両生類の生態的な棲み分けに起因した温度感覚の進化的変化とその分子機構. 日本進化学会第 23 回東京大会（オンライン開催）
19. 齋藤 くれあ（2021.8.18-8.21）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. 日本進化学会第 23 回東京大会（オンライン開催）
20. 富永真琴（2021.9.4）皮膚，感覚神経に発現する温度感受性 TRP チャネルと発汗. 第 29 回日本発汗学会総会スポンサードシンポジウム（オンライン開催）
21. 富永 真琴（2021.9.25）温度感受性 TRP チャネルの構造と生理機能. 第 11 回名古屋大学医学系研究科・生理研合同シンポジウム（オンライン開催）
22. Lei Jing（2021.9.25）Investigation of the interaction between TRPV3 and TMEM79 in mouse keratinocytes. 第 11 回名古屋大学医学系研究科･生理研合同シンポジウム（オンライン開催）
23. 丸山 健太（2021.10.9）感覚免疫学. 第 71 回日本薬学会関西支部総会（オンライン開催）
24. 丸山 健太（2021.10.15）セロトニン恒常性維持機構を捉えなおす～感覚免疫学の視点から～. 第 68 回中部日本生理学会（オンライン開催）
25. 富永 真琴（2021.11.8）TRP チャネルを介した痛覚・温度感覚. 第 2 回 Bio-Intelligence for well-being(BIW) 研究会（オンライン開催）
26. 富永 真琴（2021.11.12）刺激感受性 : 温度感受性 TRP チャネルの生理機能. 日本動物実験代替法学会 第 34 回大会（沖縄）
27. Maruyama Kenta （ 2021.11.16 ） Crosstalk between Nociceptive and Osteo-immune system～From Senso-immunological point of view～. Joint symposium of Korea Univ.-Yonsei Univ.-NIPS（オンライン開催）
28. 齋藤 茂（2021.11.25）両生類の生態的な棲み分けに起因した温度感覚の進化的変化とその分子機構. 第 59 回日本生物物理学会年会（オンライン開催）
29. 富永 真琴（2021.11.28）温度感受性 TRP チャネルを介した温度受容のメカニズム. 全日本鍼灸学会第 39 回 関東支部学術集会（オンライン開催）
30. Maruyama Kenta（2021.12.10）Senso-immunology. ソウル大学歯学部国際シンポジウム（オンライン開催）
31. 富永 真琴（2021.12.18）TRP チャネルと痒み. 第 7 回学術シンポジウム～難治性かゆみの克服をめざして～（東京）
32. 富永 真琴（2021.12.21）TRP チャネルと痒み. TRP チャネルと痒み. Kyoto Dermatology Research Seminar（京都）

心循環シグナル研究部門

1. 加藤百合，西山和宏，友清大樹，諫田泰成，西田基宏（2021.1.26）低濃度有機水銀曝露による新型コロナウイルス感染増悪. 令和 2 年メチル水銀研究ミーティング（WEB 開催）
2. 西田基宏（2021.1.28）病態特異的タンパク質間相互作用を標的としたドラッグ・リポジショニング. 第

4 回 Cardio Renal Diabetes 研究会（WEB 開催）

3. 鮎川皓一，遠山千恵美，西山和宏，加藤百合，田中智弘，西村明幸，西田基宏（2021.2.13）筋ジストロフィーモデルマウスにおける TRPC3-Nox2 複合体の関与. 日本酸化ストレス学会東海支部 第 9 回学術集会（WEB 開催）
4. 友清大樹，加藤百合，西山和宏，西村明幸，田中智弘，日下部宜宏，神谷典穂，今井由美子，伊吹裕子，諫田泰成，西田基宏（2021.2.13）TRPC3-Nox2 複合体形成を標的とした COVID-19 新規治療薬の探索. 日本酸化ストレス学会東海支部 第 9 回学術集会（WEB 開催）
5. 西田基宏（2021.3.4）超硫黄分子による心筋の頑健性制御．第 1 回 レドックス R&D 戦略委員会シンポジウム（WEB 開催）
6. 加藤百合，西田基宏（2021.3.8）COVID-19 治療薬開発を目指したエコファーマ研究. 第 94 回日本薬理学会年会（札幌／ハイブリッド開催）
7. 西村明幸，酒田康介，田中智弘，西山和宏，加藤百合，西田基宏（2021.3.9）新規硬さセンサーGPCRs の同定と筋組織における役割の解明. 第 94 回日本薬理学会年会（札幌／ハイブリッド開催）
8. Motohiro Nishida（2021.3.10）Redox regulation of mitochondrial quality control as a therapeutic target of cardiac senescence．The 8th Japan-China Joint Meeting of Basic and Clinical Pharmacology（WEB 開催）
9. 尼谷明日路，笠原勇矢，下條正仁，西田基宏，永田龍，小比賀聡，森泰生（2021.3.10）TRPC チャネル選択的化合物の線維化疾患治療候補薬としての開発と核酸医薬への展開．第 94 回日本薬理学会年会（札幌／ハイブリッド開催）
10. Kakeru Shimoda（2021.3.12）The role of P2Y6R in pressure overload-induced heart failure．第 10 回生理研-霊長研-新潟脳研合同シンポジウム（WEB 開催）
11. 西村明幸，下田翔，田中智弘，西山和宏，西田基宏（2021.3.13）ミトコンドリア品質による心筋リモデリング機構. CVMW2020 －心血管代謝週間－（WEB 開催）
12. Motohiro Nishida（2021.3.26）Role of TRPC channels in the sympathetic response of the heart．第 85 回日本循環器学会学術集会（横浜／ハイブリッド開催）
13. 西村明幸，下田翔，田中智弘，西山和宏，西田基宏（2021.3.26）Pathology-dependent Aberrant Interaction between Mitochondria and Actin Cytoskeleton Causes Cardiac Fragility．第 85 回日本循環器学会学術集会（横浜／ハイブリッド開催）
14. 西田基宏（2021.3.30）心筋の頑健性維持におけるミトコンドリア品質管理の役割．第 126 回日本解剖学会総会／第 98 回日本生理学会大会合同大会（WEB 開催）
15. 加藤百合，西山和宏，田中智弘，西村明幸，西田基宏（2021.3.29）TRPC3-Nox2 複合体形成による筋萎縮制御. 第 126 回日本解剖学会総会／第 98 回日本生理学会大会合同大会（WEB 開催）
16. Akiyuki Nishimura, Motohiro Nishida（2021.3.28）Mitochondrial quality control in cardiac homeostasis and disease. 第 126 回日本解剖学会総会／第 98 回日本生理学会大会合同大会（WEB 開催）
17. 友清大樹，加藤百合，西村明幸，西山和宏，田中智弘，日下部宜宏，神谷典穂，今井由美子，朝倉宏，伊吹裕子, 諫田泰成, 西田基宏（2021.3.27）COVID-19 重症化機構の解明及び予防・治療を目指したグリーンファルマ研究．日本薬学会年会（WEB 開催）
18. 西田基宏，西村明幸，田中智弘，加藤百合，西山和宏（2021.4.22）活性イオウによるミトコンドリア品質管理と心筋早期老化制御. 第 94 回日本内分泌学会学術総会（WEB 開催）
19. 西田基宏（2021.5.19）超硫黄分子による心筋のストレス抵抗性制御. 第 74 回日本酸化ストレス学会／第 21 回日本 NO 学会合同学術集会（WEB 開催）
20. 西山和宏，西村明幸，柴田貴広，内田浩二，西田基宏（2021.5.19）システイン修飾を介した GPCR のタンパク質品質管理機構の解明. 第 74 回日本酸化ストレス学会／第 21 回日本 NO 学会合同学術集会（WEB 開催）
21. 松永哲郎，笠松真吾，西村明，井田智章，守田匡伸，居原秀，下田翔，西田 基宏，本橋ほづみ，赤池孝章（2021.5.19）アルコールデヒドロゲナーゼ 5（ADH5）のニトロソグルタチオン還元酵素（GSNOR）反応の選択的欠損マウスの開発. 第 74 回日本酸化ストレス学会／第 21 回日本 NO 学会合同学術集会（WEB 開催）
22. 守田匡伸，西村明，井田智章，松永哲郎，高田剛，ジョン ミンキョン，田中 智弘，西田基宏，本橋ほ

づみ，赤池 孝章（2021.5.19）硫化水素キノン酸化還元酵素 （SQR）を介した超硫黄分子による種横断的なミトコンドリア硫黄呼吸. 第 74 回日本酸化ストレス学会／第 21 回日本 NO 学会合同学術集会（WEB 開催）

23. 西田基宏（2021.6.21）活性イオウによる心筋ミトコンドリアの頑健性制御. 第 15 回日本ケミカルバイオロジー学会（WEB 開催）
24. 西田基宏（2021.7.5）ミトコンドリア硫黄呼吸・代謝を標的とする創薬戦略．Diabetes Web Seminar（熊本市）
25. 西田基宏，田中智弘，西村明幸，下田翔，西山和宏（2021.7.30）超硫黄分子による心筋ミトコンドリアの頑健性制御．生理研研究会 2021　生命を支える硫黄生物学の最前線（仙台／ハイブリッド開催）
26. 田中 智弘，下田翔，井田智章，佐々木渉太，金子俊郎，赤池孝章，西田 基宏（2021.7.31）プラズマ照射による硫黄代謝物の生成とその生理学的意義の解明. 生理研研究会 2021　生命を支える硫黄生物学の最前線（仙台／ハイブリッド開催）
27. 西山 和宏，西村 明幸，下田　翔，田中　智弘，加藤　百合，柴田　貴広，内田　浩二，西田 基宏（2021.8.26）システイン SH 修飾を介した GPCR の新奇タンパク質内在化機構．日本薬学会薬理系部会主催「生体機能と創薬シンポジウム 2021」（札幌／ハイブリッド開催）
28. 加藤百合，西山和宏，友清大樹，小谷さゆみ，田中智弘，西村明幸，神谷典穂，日下部宜宏，諫田泰成，西田基宏（2021.8.26）ACE2 に着目した COVID-19 感染症における重症化機構の解明と治療薬の開発．日本薬学会薬理系部会主催「生体機能と創薬シンポジウム 2021」（札幌／ハイブリッド開催）
29. 下田翔，田中智弘，西村明幸，守田匡伸，赤池孝章，西田基宏（2021.8.28）心筋のシステインパースルフィド生成活性と虚血耐性との関係. 第 20 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 2021（WEB 開催）
30. 友清大樹，加藤百合，西村明幸，西山和宏，田中智弘，日下部宜宏，神谷典穂，今井由美子，朝倉宏，伊吹裕子，諫田泰成，西田基宏（2021.8.28）COVID-19 重症化の予防・治療を目指したグリーンファルマ研究．第 20 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 2021（WEB 開催）
31. 田中智弘，下田翔，井田智章，佐々木渉太，金子俊郎，赤池孝章，西田基宏（2021.9.25）プラズマ照射による硫黄代謝物の生成とその生理学的意義の解明. 第 11 回 名古屋大学医・生理研合同シンポジウム（WEB 開催）
32. 西田基宏，小田紗矢香，加藤百合，西村明幸，西山和宏（2021.10.9）脂質作動性 TRPC チャネルタンパク質の機能多様性に着目した創薬．第 145 回日本薬理学会関東部会（WEB 開催）
33. 西村明幸，後藤拓実，西山和宏，加藤百合，田中智弘，伊吹裕子，西田基宏（2021.10.9）タバコ副流煙による心筋早期老化の誘導機構．第 145 回日本薬理学会関東部会（WEB 開催）
34. 西田基宏（2021.10.23）病態特異的タンパク質間相互作用に着目したエコファーマ創薬. 第 53 回日本動脈硬化学会総会・学術集会（WEB 開催）
35. 西田基宏（2021.11.3）超硫黄分子による心筋の頑健性制御．第 95 回日本生化学会大会（WEB 開催）
36. Motohiro Nishida（2021.11.5）Role of reactive sulfur species in mitochondrial quality control . 2021 International Conference of the Korean Society for Molecular and Cellular Biology (KSMCB2021)（韓国 Jeju／ハイブリッド開催）
37. 友清大樹，加藤百合，西山和宏，西村明幸，田中智弘，日下部宜宏，神谷典穂，今井由美子，朝倉宏，伊吹裕子，諫田泰成，西田基宏（2021.11.13）COVID-19 重症化機構の解明及び予防・治療を目指したグリーンファルマ研究. 第 38 回日本薬学会九州山口支部大会（WEB 開催）
38. 西村明幸，下田翔，田中智弘，西山和宏，加藤百合，西田基宏（2021.11.18）超硫黄分子による心臓頑健性制御．生理研研究会－比較統合生理学的観点からの循環生理の解析－（岡崎／ハイブリッド開催）
39. 加藤百合，西山和宏，西村明幸，西田基宏（2021.11.19）TRPC3-Nox2 複合体形成を標的とした創薬．第 74 回日本薬理学会西南部会（久留米大）
40. 加藤百合，西山和宏，西田基宏（2021.12.2）ドキソルビシンによる心毒性メカニズムの解明と治療法の探索．第 44 回日本分子生物学会（横浜／ハイブリッド開催）
41. 西山和宏，西村明幸，下田翔，加藤百合，西田基宏

（2021.12.3）システイン修飾を介した GPCR の新奇内在化機構の解明. 第 31 回日本循環薬理学会（WEB 開催）

42. 西田基宏，西村明幸，田中智弘，加藤百合，西山和宏（2021.12.3）活性硫黄分子に着目した虚血後心不全の治療戦略．第 31 回日本循環薬理学会（WEB 開催）
43. 西田基宏（2021.12.10）TRPC タンパク質のアイソフォーム特異的機能に着目した心臓リモデリング制御．CVMW2021‐心血管代謝週間‐（WEB 開催）
44. 西田基宏（2021.12.10）病態特異的タンパク質間相互作用に着目したエコファーマ創薬．CVMW2021‐心血管代謝週間‐（WEB 開催）

生殖・内分泌系発達機構研究部門

1. 中島健一朗（2021.3.18-21）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 2021 年度大会（オンライン開催）
2. 箕越靖彦，Rashid Misbah，近藤邦生（2021.3.20-21）視床下部を介した末梢組織の代謝・炎症制御．第 41 回日本肥満学会（オンライン開催）
3. 近藤邦生，箕越靖彦（2021.3.20-21）エネルギー代謝を制御する中枢―末梢神経回路. 第 41 回日本肥満学会（オンライン開催）
4. 菊地晶裕（2021.5.20-22）MODY10 家系で同定された R55C 変異を有するプロインスリンおよびインスリンの立体構造モデル. 第 64 回日本糖尿病学会年次学術集会（オンライン開催）
5. 中島健一朗（2021.5.26-27）空腹によって味覚を変化させる脳内メカニズム. 第 15 回日本分子イメージング学会総会・学術集会（オンライン開催）
6. 中島健一朗（2021.5.29）味覚の脳内伝達とその調節を担う神経メカニズム．第 5 回愛知糖尿病・内分泌研究会（オンライン開催）
7. 中島健一朗（2021.7.3-4）空腹時に味覚を変化させる視床下部神経ネットワークの解明．第 75 回日本栄養・食糧学会大会（オンライン開催）
8. 森下雅大，三塚萌里，恒岡洋右，堀尾修平，小林和人，加藤成樹，塚原伸治（2021.7.28-31）マウスの内側視索前野から腹側被蓋野へ投射する雄特有なニューロンは雄性行動の制御に関与する. 第 44 回日本神経科学大会（神戸・ハイブリッド開催）
9. 近藤邦生（2021.9.2-4）経シナプス性ウイルストレーサーと光を用いた神経回路解析．日本動物学会 第 92 回 オンライン米子大会（オンライン開催）
10. 近藤邦生，Rashid Misbah，箕越靖彦（2021.9.12）食餌性肥満における視床下部腹内側核の脂肪組織炎症制御．Desire Conference 2021（オンライン開催）
11. 中島健一朗（2021.9.22-24）空腹が味覚に及ぼす影響の検証．日本味と匂学会第 55 回大会（福岡・ハイブリッド開催）
12. 中島健一朗，箕越靖彦（2021.9.27）微量必須栄養素の新規脳内感知機構の解明．生理学研究会「第 6 回食欲・食嗜好の分子・神経基盤研究会」（オンライン開催）
13. 箕越靖彦（2021.10.15）視床下部によるエネルギー代謝調節機構. 第 18 回東北糖尿病トータルケア研究会（オンライン開催）
14. 近藤邦生（2021.10.21）感覚器－末梢組織間の革新的神経回路解析法の開発．さきがけ「生体多感覚システム」～キックオフミーティング～（オンライン開催）
15. 森下雅大, 三塚萌里, 小野浩太, 恒岡洋右, 堀尾修平, 加藤成樹，小林和人，塚原伸治（2021.10.30-31）内側視索前野の性的二型性を確立するニューロンの形態学的特性，生理機能および性差構築機構の解析．第 47 回日本神経内分泌学会学術集会（オンライン開催）
16. 箕越靖彦（2021.11.2）Hypothalamic regulation of carbohydrate and lipid intake and utilization in peripheral tissues．理研 IMS セミナー（オンライン開催）
17. 近藤邦生（2021.11.3）感覚器－末梢組織間の革新的神経回路解析法の開発．JST-AMED 連携領域_2021 年度 4 プログラム合同領域会議（オンライン開催）
18. 中島健一朗（2021.11.16）How hunger makes food tastier: a neural circuit in the hypothalamus．高麗大 -延世大-生理研合同シンポジウム（オンライン開催）
19. 中島健一朗，箕越靖彦（2021.12.18-19）微量必須栄養素の新規脳内感知機構の解明．生理学研究会「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」（オンライン開催）

分子神経免疫研究部門

1. 村上正晃, (2021.11.17) COVID-19 サイトカインストームの誘導機構. 第17回日本食品免疫学会学術集会 (JAFI2021) (WEB 開催)
2. 村上正晃, (2021.11.20) 宇宙環境における自己免疫疾患誘導メカニズム. 第 67 回日本宇宙航空環境医学会 (Web 開催)
3. 村上正晃, (2021.11.27) COVID-19 重症化の主要因であるサイトカインストーム誘導機構. 第51回日本皮膚免疫アレルギー学会総会学術大会 (東京都・WEB 開催)
4. 村上正晃, (2021.12.6) Gateway Reflex, a Molecular Mechanism How to Establish Gateways for Autoreactive CD4+ T Cells in Blood Barriers. THE 22nd RIES-HOKUDAI INTERNATIONAL SYMPOSIUM (WEB 開催)
6. Mona Uchida, Yuki Tanaka, Takeshi Yamasaki, Masaaki Murakami, (2021.12.8) Roles of gravity stimulation during the development of autoimmune diseases, which are mediated by the gateway reflexes. 第 50 回日本免疫学会学術集会 (奈良市・WEB 開催)
7. Kaoru Murakami, Daisuke Kamimura, Rie Hasebe, Mona Uchida, Nobuya Abe, Reiji Yamamoto, Jing-Jing Jiang, Hiroki Tanaka, Shizuo Akira, Yuki Tanaka, Masaaki Murakami, (2021.12.8) Rhodobacter azotoformans LPS is a TLR4 agonist that suppresses cytokine storm and enhances TLR3-mediated chemokine expression. 第50回日本免疫学会学術集会 (奈良市・WEB 開催)
8. Shintaro Hojyo, Rie Hasebe, Kumiko Tanaka, Yuki Tanaka, Mona Uchida, Masaaki Murakami, (2021.12.8) Establishment of a severe COVID-19 model in mice with stress. 第 50 回日本免疫学会学術集会 (奈良市･WEB 開催)
9. Yuki Tanaka, Rie Hasebe, Shintaro Hojyo, Madoka Higuchi, Daisuke Kamimura, and Masaaki Murakami, (2021.12.8) Roles of a metabolite during EAE development. 第50回日本免疫学会学術集会 (奈良市・Web 開催)
10. Rie Hasebe, Yuki Tanaka, Shintaro Hojyo, Daisuke Kamimura, Masaaki Murakami, (2021.12.8) Inflammation spreads to other limbs through an ATP-mediated sensory-interneuron network. 第 50 回日本免疫学会学術集会 (奈良市・WEB 開催)
11. Toshiki Sugawara, Yuki Tanaka, Shintaro Hojyo, Masabumi Minami, Masaaki Murakami, (2021.12.8) Lipid-mediated IL-6 amplifier regulation in vivo and in vitro. 第 50 回日本免疫学会学術集会 (奈良市・WEB 開催)
12. 木田博朗，松井雄一郎，高橋郁子，岩崎倫政，村上正晃, (2021.12.8) Analysis of disease-associated SNPs and inflammatory mechanisms in Dupuytren’s contracture. 第 50 回日本免疫学会学術集会 (奈良市・WEB 開催)
13. Nobuya Abe, Yuichiro Fujieda, Kenji Oku, Nobuhiko Takahashi, Kohei Karino, Mona Uchida, Michihito Kono, Yuki Tanaka, Rie Hasebe, Masaru Kato, Tatsuya Atsumi, Masaaki Murakami, (2021.12.8) Chronic stress-induced microglial interleukin-12/23 axis and medial prefrontal cortex impairment in neuropsychiatric lupus. 第 50 回日本免疫学会学術集会 (奈良市・WEB 開催)
14. Shiina Matsuyama, Nobuhiko Takahashi, Shintaro Hojyo, Daisuke Kamimura, Masaaki Murakami, (2021.12.8) A survival factor of blood-derived MHC class II^{hi} cells in the CNS, which is critical for pain-mediated EAE relapse. 第 50 回日本免疫学会学術集会 (奈良市・WEB 開催)
15. 村上正晃, (2021.12.16) 量子の力で病気につながる微小炎症を見つけて神経の力で直す！-AMED ムーンショット微小炎症プロジェクトとは. 量子生命科学先端フォーラム 2021 冬の研究会 (WEB 開催)
16. Yuki Tanaka, Rie Hasebe, Shintaro Hojyo, Madoka Higuchi, Daisuke Kamimura, and Masaaki Murakami, (2021.12.16) 代謝産物による中枢性炎症制御メカニズムの解明. 量子生命科学先端フォーラム 2021 冬の研究会 (WEB 開催)
17. 内田萌菜，田中勇希，山崎剛士，村上正晃, (2021.12.16) 宇宙環境における炎症病態誘導メカニズムの変化. 量子生命科学先端フォーラム 2021 冬の研究会 (WEB 開催)
18. 菅原季起, 田中勇希, 北條慎太郎, 南雅文, 村上 正晃, (2021.12.16) Lipid-mediated IL-6 amplifier regulation in vivo and in vitro. 量子生命科学先端フォーラム 2021 冬の研究会 (WEB 開催)

19. 村上正晃, (2021.12.23) IL-6 アンプによる炎症の誘導とサイトカインストーム. ダイアローグ株式会社・ウェビナー『COVID-19: Infection & Immuinity』(WEB 開催)

超微形態研究部門

1. 大野伸彦, (2021.9.9) SBF-SEM による生物組織の連続電子顕微鏡画像取得の後処理における最近の進展と課題.日本顕微鏡学会ソフトマテリアル分科会.第一回講演会.（オンライン開催）.
2. 長内康幸，バッツルガ　バツプレブ，山崎　礼二，山本真理子，幸喜富，矢田部恵，水上　浩明，上野将紀，小林憲太，吉村由美子，篠原　良章，大野伸彦, (2021.9.30～10.1)単眼の視覚欠如と両眼の視覚欠如が髄鞘形成に与える影響の解析. 第 64 回日本神経化学会年会.（オンライン開催）.

生体恒常性発達研究部門

1. 鍋倉淳一 (2021.2.24) 脳の中を覗いてみよう. 愛知学院大学心身科学部研究所研究会 (オンライン)
2. Agetsuma M., Sato I., Tanaka Y., Kasai A., Arai Y., Yoshitomo M., Hashimoto H., Nabekura J., Nagai T. (2021.3.9) 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　Optical and computational dissection of prefrontal neural circuit for fear memory. 日本薬理学会【第 94 回年会】(札幌市)
3. Ikuko Takeda, Dennis Cheung, Junichi Nabekura (2021.3.12) Reactivation of astrocytes can reverse chronic pain. 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)
4. 堀内　浩，揚妻正和，石田順子，Dennis Cheung，澤田和明，鍋倉淳一 (2021.3.17) イオンイメージセンサによる生体脳 pH イメージング.【機能タンパク質の構造と機能のダイナミクスと，それに基づく細胞・生体システム作動機構の研究拠点の形成】年度末成果報告会・シンポジウム (オンライン)
5. 鍋倉淳一 (2021.3.21) アストロサイトによる大脳皮質回路再編. 第 5 回極みプロジェクトシンポジウム 第 5 回 CREST チームミーティング (淡路市)
6. Agetsuma M., Sato I., Tanaka Y., Kasai A., Arai Y., Yoshitomo M., Hashimoto H., Nabekura J., Nagai T. (2021.03.28) 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 / 第 126 回日本解剖学会総会・全国学術集会 合同大会(シンポジウム「大脳皮質局所神経回路構築と学習記憶によるリモデリング」にて） (オンライン)
7. Ikuko Takeda, Dennis Cheung, Junichi Nabekura (2021.3.29) Astrocytes rehabilitate noxious circuits in chronic pain. 第 126 回日本解剖学会総会・全国集会・第 98 回日本生理学会大会　合同大会 (オンライン)
8. 竹田育子，Dennis Cheung, 鍋倉淳一 (2021.3.29) Astrocytes rehabilitate noxious circuits in chronic pain. 第 126 回日本解剖学会総会・全国集会・第 98 回日本生理学会大会　合同大会 (オンライン)
9. Agetsuma M. (2021.03) Optical and computational dissection of prefrontal neural circuit for fear memory.. 第５回極みプロジェクト国際シンポジウム (オンライン)
10. Nabekura Junichi (2021.6.30) Microglia regulate synaptic formation, neuronal activity, and local synchronization. ASN(American Society for Neurochemistry) 2021 Annual Meeting　(オンライン)
11. 竹田育子，Dennis Cheung, 鍋倉淳一 (2021.7.28) Activated astrocytes as a therapeutic approach adjust noxious circuits in chronic pain. 第 44 回日本神経科学大会 (神戸市)
12. Agetsuma M., Sato I., Tanaka Y., Kasai A., Arai Y., Yoshitomo M., Hashimoto H., Nabekura J., Nagai T.: (2021.07.28) Optical and computational dissection of prefrontal neural circuit for fear memory.. The 44th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society (神戸市)
13. Hiroshi Horiuchi, Masakazu Agetsuma, Junko Ishida, Dennis L Cheung, Kazuaki Sawada, Junichi Nabekura (2021.7.31) CMOS-based bio-image sensor visualizes neural activity dependent proton dynamics in the living

brain. 第 44 回日本神経科学大会・CJK 第一回国際会議 (神戸市)

14. 揚妻正和 (2021.08) マウス生体脳活動データを用いた情報コードアンサンブルの抽出とモデルベース機械学習. 諸科学における大規模データと統計数理モデリング・諸科学における大規模多様なデータを基盤としたデータ駆動型研究の萌芽・推進のためのワークショップ (オンライン)
15. Agetsuma M. (2021.9.25) Optical and computational dissection of cortical network for fear memory. 名大医・生理研 合同シンポジウム (オンライン)
16. 揚妻正和 (2021.10.06) 情動と認知を支える脳ダイナミクス. Genius Lounge #3 (港区)
17. 鍋倉淳一 (2021.10.8) 生きている脳を覗く：神経細胞ネットワークの再編とグリア細胞の役割. 小林製薬株式会社招待講演 (茨木市)
18. 揚妻正和 (2021.10.16) 恐怖記憶生成における前頭前野情報処理と神経回路再編. 第 68 回 中部日本生理学会 (オンライン)
19. 揚妻正和 (2021.10.19) 恐怖記憶生成と脳内時空間ダイナミクス〜前頭前野情報処理と神経回路再編〜. 大阪大学高次脳機能学セミナー (吹田市)
20. 揚妻正和 (2021.11.5) 恐怖記憶生成と脳内時空間ダイナミクス〜前頭前野情報処理と神経回路再編〜. 神戸大学シグナル伝達医学研究展開センター　シグナル伝達医学研究展開セミナー (オンライン)
21. 揚妻正和 (2021.11.18) 二光子イメージング法を用いた神経科学と情動記憶研究. 言語学・応用言語学演習 XV / 実験言語学特論 II (福岡市)
22. 鍋倉淳一 (2021.11.26) グリアによる神経回路再編と細胞外環境リアルタイム計測法. 東北大学加齢医学研究所セミナー (仙台市)
23. 揚妻正和 (2021.11.29) 光と数理で紐解く，記憶コード神経回路網の動的生成過程と情報処理. アドバンス生命理学特論・GTR セミナー (名古屋市)
24. 揚妻正和 (2021.12.1) WET/DRY 研究「全部盛り」による脳回路メカニズムの探索　〜分子・光学・行動から機械学習まで〜. ARCLEV TECH EXPO 2021 (港区)
25. 鍋倉淳一 (2021.12.4) アストロサイトによる慢性疼痛の発症と新規治療戦略. 第 48 回日本脳科学会 (浜松市)
26. 鍋倉淳一 (2021.12.11) アストロサイトによる大脳皮質回路再編. 第 6 回 CREST チームミーティング (岡崎市)
27. 揚妻正和 (2021.12.11) 恐怖記憶を支える神経回路の動的生成過程と情報処理. 第 7 回極みプロジェクトシンポジウム (岡崎市)
28. 揚妻正和 (2021.12.16) 恐怖記憶を支える神経回路の動的生成過程と情報処理. 第 812 回九州大学生医研セミナー (オンライン)
29. 竹田育子，和氣弘明，鍋倉淳一 (2021.12.17-18) Modulating astrocyte activation reorganized noxious circuits in chronic pain. グリアデコ第 3 回領域会議 (港区)
30. 堀内　浩 (2021.12.17-18) 水の吸収と流動に着目したミクログリアの生理機能解明. 第 3 回グリアデコーディング領域会議 (東京)
31. 堀内　浩 (2021.12.18) 水の吸収と流動に着目したミクログリアの生理機能解明. 第 3 回グリアデコーディング領域会議 (東京)
32. Hiroshi Horiuchi, Kazuaki Sawada, Junichi Nabekura (2021.12.19) CMOS image sensor reveals neural activity-dependent pH changes in the living brain with single-cell level resolution. The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2021 (オンライン)
33. 揚妻正和 (2021.12.22) 恐怖記憶を支える神経回路の動的生成過程と情報処理. 山梨大学 第 28 回 GLIAC セミナー (甲府市)

視覚情報処理研究部門

1. 木村梨絵, 吉村由美子 (2021.3.30) 方位弁別学習後のラット一次視覚野に見られる低コントラスト優位な神経活動. 第 126 回日本解剖学会総会・全国学術集会 / 第 98 回日本生理学会大会　合同大会（WEB 開催）
2. Jiahao Wu, Taisuke Yoneda, Yumiko Yoshimura (2021.7.30) Effect of Anesthesia on Spatial Frequency Tuning in Mouse Primary Visual Cortex. 第 44 回日本神経科学大会（神戸）

3. 米田泰輔, 亀山克朗, 後藤隆浩, 寺田慧子, 高木正浩, 吉村由美子, 崎村建司, 狩野方伸, 畠義郎 (2021.9.25) 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. 第11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）
4. Yumiko Yoshimura (2021.11.30) Roles of visual experience in maturation of neural responses in rat visual cortex. Development of consciousness symposium (WEB 開催)

バイオフォトニクス研究部門

1. 根本知己 (2021.01.18~20) 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）
2. 榎木亮介 (2021.02.16) 冬眠動物の概日時計の分子機構：カルシウムを基軸とした低温リズム発振機構の解明 , 第二回冬眠生物学領域会議（オンライン）
3. 榎木亮介 (2021.02.16) 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）
4. Nemoto T (2021.02.19) *in vivo* two-photon microscopic observation realized by laser light modulation and novel material, The 11th BRI International Symposium (online)
5. Nemoto T, Otomo K, Takahashi T, Yamaguchi K (2021.6.11~12) Improving two-photon microscopy by utilizing novel materials and laser optics, The 8th Japan-China Symposium on Nanomedicine（オンライン）
6. Takahashi T, Hong Zhang, Kawakami R, Yarinome K, Agetsuma M, Nabekura J, Otomo K, Okamura Y, Nemoto T (2021.06.11~12) Novel fluoropolymer nanosheets “PEO-CYTOP” for *in vivo* deep and wide-field imaging of the mouse brain, The 8th Japan-China Symposium on Nanomedicine（オンライン）
7. Nakata K, Otomo K, Ishii H, Tsutsumi M, Enoki R, Nemoto T (2021.06.11~13) High spatiotemporal imaging of Aβ oligomers-induced calcium elevations in primary culture of astrocyte using multi-beam scanning two-photon microscopy, The 8th Japan-China Symposium on Nanomedicine (online）
8. Enoki R (2021.07.16) Exploring the origin of circadian calcium rhythms in the master clock in mammals, Asia Forum on Chronobiology (Kaifeng, China (online)
9. 根本知己 (2021.08.23) 新規材料やレーザー技術を活用した細胞生理機能の非線形光学イメージング, 第16回NCU Life Science Seminar（オンライン）
10. 榎木亮介, 平田 快洋, 繁富-栗林 香織 (2021.09.06) マイクロパターン基盤上に培養した単一神経細胞における概日時計の光イメージング解析 , 日本機械学会（オンライン）
11. 堤 元佐, 髙橋泰伽, 小林健太郎, 根本知己 (2021.09.09~10) 画像解析による超解像法 SRRF の in vivo イメージングへの適用, 第 30 回 日本バイオイメージング学会学術集会（オンライン）
12. 安宅光倫，大友康平，榎木亮介，根本知己 (2021.9.9~10) 多点走査型 2 光子顕微鏡を用いた生体脳のボリュームCa^{2+}イメージング, 第30回 日本バイオイメージング学会学術集会（オンライン）
13. 榎木亮介, 廣蒼太, 根本知己 (2021.09.12) 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 , 第１０回名大生理研合同シンポジウム（オンライン）
14. 榎木亮介, 廣蒼太, 根本知己 (2021.09.17) 概日カルシウムリズムの源流を探る, 生理研研究会　細胞システム理解のためのシグナル応答原理解明の最前線（オンライン）
15. 大友康平, 根本知己 (2021.09.16~17), 新規二光子顕微技術による低侵襲生体イメージング, 生理学研究所研究会「細胞システム理解のためのシグナル応答原理解明の最前線」（オンライン）
16. 大友康平, 石井宏和, 根本知己 (2021.09.25) 二光子励起顕微鏡法の時空間分解能向上, 第 11 回 名古屋大学医・生理研合同シンポジウム（オンライン）
17. 大友康平, 根本知己 (2021.10.15) 二光子顕微鏡法

の機能向上と生理学応用，レーザー学会第 557 回研究会「光・レーザーの医学・医療応用」（富山県民会館）

18. Nemoto T (2021.11.4~6) "*in vivo*" multi-photon imaging of neural and cellular functions, the Advanced Biophotonics Conference 2021 (ABC 2021) (Busan, South Korea (online))
19. 榎木亮介 (2021.11.11~12), 極低温環境における概日時計中枢のリズム発振，生理学研究所研究会「極限環境適応」（岡崎（ハイブリッド））
20. Nemoto T, Otomo K, Ishii H, Takahashi T, Tsutsumi M, Yamaguchi K (2021.11.17~19) Adaptive optics and super-resolution on two-photon microscopy, the 14th International Symposium of Nanomedicine (ISNM2021) (Shimane Univ (online))
21. 榎木亮介 (2021.11.20~21), 低温環境における概日時計中枢のリズム発振機構，第 28 回日本時間生物学会学術大会（那覇，沖縄）
22. 榎木亮介 (2021.11.22) 研究者として生きる術，生物リズム若手研究者の集い 2021（那覇，沖縄）
23. 石井宏和 (2021.12.17) 生体深部“ナノ”イメージングを目指した二光子顕微鏡の超解像化，機構サイトビジット 2021（オンライン）
24. Ishii H (2021.12.20) Improvement of two-photon microscopy for in vivo nanoscale imaging, 第 4 回 ExCELLS シンポジウム（オンライン）
25. 石井宏和 (2021.12.23) 先端光技術を駆使した 細胞内ダイナミクスの可視化限界の拡張と応用，部門公開セミナー（オンライン）

多細胞回路動態研究部門

1. 和氣弘明（2021・9・30）グリアの貪食能による脳の生理・病態制御. 第 64 回日本神経化学大会シンポジウム（オンライン）
2. 和氣弘明（2022・3・7）ミクログリアがコードする情報の読み出しへの挑戦. 第 95 回日本薬理学会（オンライン）
3. 和氣弘明（2022・3・27）脳-臓器動態を観る．第 127 回日本解剖学会総会・全国学術集会（オンライン）

認知行動発達機構研究部門

1. 郷康広，渡邊恵，小賀智文，辰本将司，石川裕恵，臼井千夏，一戸紀孝（2021 年 1 月 26 日）自閉症モデルマーモセット脳におけるシングルセル遺伝子発現解析．第 10 回日本マーモセット研究会（WEB 開催）
2. 新居桂陽，二宮太平，磯田昌岐（2021 年 2 月 6 日）Neuronal responses to real and artificial faces in the macaque amygdala．第 2 回 CIBoG リトリート（第 13 回 NAGOYA グローバルリトリート）（WEB 開催）
3. 磯田昌岐（2021 年 2 月 27 日）霊長類動物をモデルとして社会性の神経機構を探る．文部科学省共同利用・共同研究拠点/大学共同利用機関連携シンポジウム（WEB 開催）
4. 二宮太平（2021 年 3 月 6 日）前頭葉における他者動作情報処理の機能解析．京都大学霊長類研究所共同利用研究会（WEB 開催）
5. 則武厚（2021 年 3 月 9 日）Toward understanding social emotions:Neural mechanisms of reward processing for self and other in the macaque brain．第 94 回日本薬理学会年会（WEB 開催）
6. 郷康広，渡邊恵，小賀智文，辰本将司，石川裕恵，臼井千夏，一戸紀孝（2021 年 3 月 12 日）自閉症モデルマーモセット脳におけるシングルセル遺伝子発現解析. 第 10 回生理研―霊長研―新潟脳研合同シンポジウム．（WEB 開催）
7. 則武厚（2021 年 3 月 24 日）Self-other reward processing in the macaque brain．Tsukuba University Inauguration Symposium for the Neuroscience Program（WEB 開催）
8. Isoda M（2021 年 4 月 14 日）Roles for medial prefrontal cortex and dopaminergic midbrain nuclei in social reward monitoring and valuation．Special symposium of Experimental Psychology Society（WEB 開催）
9. 郷康広，辰本将司，石川裕恵，臼井千夏，渡邊恵，小賀智文，一戸紀孝（2021 年 7 月 17 日）自閉症モ

デルマーモセット脳におけるシングルセル遺伝子発現解析．第 37 回日本霊長類学会大会（WEB 開催）
10. 磯田昌岐（2021 年 7 月 28 日）社会的意思決定の神経基盤 : 自閉的行動との関わり．第 44 回日本神経科学大会（神戸コンベンションセンター（兵庫県神戸市））
11. 二宮太平（2021 年 7 月 30 日）自他行動モニタリングにおける前頭葉皮質―皮質間相互作用の機能的意義．第 44 回日本神経科学大会（WEB 参加）
12. 戸松彩花，磯田昌岐（2021 年 7 月 31 日）社会的コンテキストにおけるマカクザルの運動リズム同調．第 44 回日本神経科学大会（WEB 参加）
13. Noritake A, Ninomiya T, Isoda M（2021 年 8 月 31 日）Cortico-subcortical neural activity and coordination in social reward monitoring and valuation, The 80th Fujihara seminar (WEB 開催)
14. 戸松彩花（2021 年 9 月 10 日）Inter-individual motion entrainment in non-human primates．第 15 回 Motor Control 研究会（WEB 開催）
15. Isoda M（2021 年 9 月 14 日）Action and reward in the primate social brain．JANUBET Primate Neurobiology School（WEB 開催）
16. 新居桂陽，二宮太平，磯田昌岐（2021 年 9 月 25 日）顔の本物らしさと視線への扁桃体ニューロンの応答特性．第 11 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. Arai K, Isoda M, Ninomiya T（2021 年 11 月 10 日）Neurons in the macaque amygdala encode face animacy and self-relevant gaze shift．SfN2021（WEB 開催）

生体システム研究部門

1. 南部 篤（2021.1.22）定位脳手術に役立つ神経生理学．第 60 回日本定位･機能神経外科学会 教育セミナー（新潟, web 開催）
2. 佐野 裕美（2021.3.13）Forelimb movements evoked by optogenetics in the macaque motor cortex．生理学研究所･新潟大学脳研究所シンポジウム（web 開催）
3. 知見 聡美，南部 篤（2021.5.19）ジストニアの病態生理－小脳と大脳基底核の寄与について考察する．第 62 回日本神経学会学術大会（京都）
4. 南部 篤（2021.6.1）大脳基底核 23 の問題．第 35 回日本大脳基底核研究会 教育講演（web 開催）
5. Atsushi Nambu（2021.9.15）Pathophysiological mechanisms of movement disorders. JANUBET Primate Neurobiology School（web 開催）
6. Atsushi Nambu (2021.9.30) Physiology and pathophysiology of the globus pallidus. 第６４回日本神経化学会大会（web 開催）
7. 佐野裕美（2021.12.13）大脳基底核の回路変動と運動制御との関係．大阪大学蛋白質研究所セミナー 多様なドーパミン神経伝達から脳を探る
8. 南部篤，(2021.12.17) 独創的であるとは？佐々木和夫先生から学んだこと．「次世代脳」プロジェクト冬のシンポジウム 2021（web 開催）
9. Satomi Chiken, Atsushi Nambu (2021.12.17) Altered dynamic information flow through the cortico-basal ganglia pathways is responsible for Parkinson’s disease symptoms. Swedish Basal Ganglia Society (SWEBAGS) Conference *“Basal ganglia: disinhibited”*（web 開催）
10. 南部篤, (2021.12.22) 神経生理学からみた水俣病．水俣セミナー（東京）

神経ダイナミクス研究部門

1. 鈴木万穂子（2021・3・12）Understanding the functional significance of metastability in the brain by mathematical modeling．第 10 回生理研-霊長研-新潟脳研合同シンポジウム（岡崎・オンライン）
2. 河野悌司，服部憲明，宇野裕，畠中めぐみ，矢倉一，藤本宏明，長廻倫子，望月秀樹，北城圭一，宮井一郎（2021・5・22）失語症重症度と言語関連領域の脳波位相同期との関連 Association between the aphasis severity and the EEG phase synchrony of language-related regions．第 62 回日本神経学会学術大会（京都・ハイブリッド）
3. 北城圭一（招待講演）（2021・7・6）脳のリズムネッ

トワークのダイナミクスと心の個人特性．理研 CBS-TOYOTA センター(BTCC)公開シンポジウム 心・からだ・社会からの見る・創る Well-being（和光・オンライン）

4. 末谷大道，崔高超，北城圭一（2021・7・29）統合失調症における脳機能結合の多様体学習解析：安静時脳波の位相同期行列間の log-determinant ダイバージェンスに基づくアプローチ．第44回日本神経科学学会大会（神戸・ハイブリッド）
5. 小野島隆之，北城圭一（2021・7・30）視覚刺激を用いた閉ループ手法のためのカルマンフィルタを用いた脳波位相依存刺激. 第 44 回日本神経科学学会大会学会（神戸・ハイブリッド）
6. 北城圭一（招待講演）（2021・9・19）rTMS-EEG 同時計測による非線形神経ダイナミクスへの摂動的アプローチ．第 117 回日本精神神経学会学術総会，シンポジウム 11, rTMS の生物学的基盤, TMS を用いた神経生理学的研究と精神科領域への臨床応用（京都・ハイブリッド）
7. 横山寛，廣本建一，山田整，山口雄平，北城圭一（2021・9・25）データ駆動型モデリングによる安静時脳波-自律神経系信号間 cross-frequency coupling 推定．名大生理研合同シンポジウム（岡崎・オンライン）
8. 北城圭一（招待講演）（2021・10・20）脳リズムと心の個人特性. 理研 バトンゾーンエキスポ 2021（和光・オンライン）
9. 北城圭一（招待講演）（2021・10・28）ヒト脳波データ解析による脳の非線形ダイナミクスと心の個性の可視化. 中部大学シンポジウム 第 1 回中部大学　基礎生物学研究所 生理学研究所 連携セミナー 「AI と生命システム」（春日井・ハイブリッド）
10. 萩原淳，上原一将，北城圭一（2021・12・3）半球間視覚情報統合能力の個人差に関連する脳波位相同期ダイナミクス．生理研研究会 第 3 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）
11. 北城圭一（招待講演）（2021・12・7）脳の中にはリズムがある？～体の中のふしぎな話～．おかざきッズ　サイエンスセミナー（岡崎・オンライン）
12. 北城圭一（招待講演）（2021・12・16）Closed-loop/state-informed TMS-EEG による脳情報処理の解明. 第 51 回日本臨床神経生理学会学術大会　サテライトシンポジウム 2　第 32 回磁気刺激法の臨床応用と安全性に関する研究会（仙台・ハイブリッド）

心理生理学研究部門

1. 松本純哉，福永雅喜（2021.1.11）FreeSurfer 解析の QC 報告. 第 15 回 COCORO 会議（オンライン開催）.
2. 福永雅喜（2021.1.31）Task fMRI 篇. 第 9 回 ABiS 脳画像解析チュートリアル（オンライン開催）.
3. 橋口真帆，小池耕彦，守田知代，原田宗子，定藤規弘（2021.03.12) Neural substrates of accurate time perception - An fMRI study. 第 10 回 生理研-霊長研-新潟脳研合同シンポジウム（オンライン開催）.
4. Chen NH, Cho KH, Chao YP, Huang SM, Sadato N, Kuo LW, Fukunaga M (2021.5.17) Reproducibility evaluation on resolving complex fiber orientations using diffusion spectrum imaging at 3T and 7T. 2021 ISMRM & SMRT Annual Meeting & Exhibition. Proc. Intl. Soc. Mag. Reson. Med. 29（オンライン開催）.
5. Yang J, Fukunaga M, Yu Y,Huber L, Bandettini PA, Sadato N (2021.5.18) Layer-specific activation of prediction in the human midcingulate cortex. 2021 ISMRM & SMRT Annual Meeting & Exhibition. Proc. Intl. Soc. Mag. Reson. Med. 29（オンライン開催）.
6. Hashiguchi M, Koike T, Le Bihan D, Sadato N (2021.06. 21-25) Neural substrates of accurate perception of time duration - An fMRI study. Organization for Human Brain Mapping (OHBM2021)（オンライン開催）
7. 柏木宏子，松本純弥，三浦健一郎，福永雅喜，根本清貴，岡田直大，竹田康二，長谷川尚美，藤本美智子，安田由華，山森英長，池田学，渡邉嘉之，平林直次，橋本亮太（2021.7.14）暴力の既往のある統合失調症罹患者の，脳体積，大脳皮質厚および表面積の特徴．第 43 回生物学的精神医学会（京都，ハイブリッド）
8. 松本純弥，三浦健一郎，福永雅喜，岡田直大，根本清貴，藤本美智子，肥田道彦，宮田淳，大井一高，中瀧理仁，吉村玲児，原田健一郎，橋本直樹，鬼塚俊明，山本真江里，山末英典，高橋努，笠井清登，渡邊嘉之，橋本亮太（2021.7.14）COCORO（Cognitive

Genetics Collaborative Research Organization: 認知ゲノム共同研究機構）による統合失調症の大脳皮質厚・大脳皮質面積のメガアナリシス. 第 43 回生物学的精神医学会（京都，ハイブリッド）

9. Fukunaga M (2021.7.28) Ultra high field functional-structural MRI analysis of neural basis of intentional sharing. 日米脳ランチョンセミナー, 第 44 回日本神経科学大会（神戸，ハイブリッド）
10. 三浦健一郎，山本哲也，松田圭司，松本純弥，橋本亮太，小野誠司，定藤規弘，福永雅喜（2021.7.29）追跡眼球運動中の大脳皮質活動特性：円滑追跡眼球運動と衝動性眼球運動の比較. 第 44 回日本神経科学大会（神戸，ハイブリッド）
11. 中山義久，菅原翔，福永雅喜，濱野友希，定藤規弘，西村幸男（2021.7.30）追跡眼球運動中の大脳皮質活動特性:円滑追跡眼球運動と衝動性眼球運動の比較. 第 44 回日本神経科学大会（神戸，ハイブリッド）
12. 橋口真帆，小池耕彦，定藤規弘（2021.08.22）対話における「共感」による相談者の不安軽減効果. 第 8 回顔・身体学領域会議（立命館大学大阪いばらきキャンパス，ハイブリッド）
13. 小笠原香苗，小池耕彦，定藤規弘（2021.8.22）プレッシャーが明示的な運動制御精度と力みに与える影響. 第 8 回顔・身体学領域会議（立命館大学大阪いばらきキャンパス，ハイブリッド）※ 若手ポスターアワード受賞
14. 小笠原香苗，小池耕彦，定藤規弘（2021.09.03）プレッシャーが明示的な運動制御精度と力みに与える影響. 日本認知科学会第 38 会大会（オンライン開催）
15. 梅田雅宏，福永雅喜，定藤規弘，渡辺康晴，河合裕子，村瀬智一，樋口敏宏（2021.9.10） 7T-MR 装置を用いた 1H-CSI による脳の代謝物計測. 第 49 回日本磁気共鳴医学会大会（オンライン開催）
16. Waggoner RA, Fukunaga M, Tanskanen T, Ueno K, Sadato N, Tanaka K (20201.9.10) Inferotemporal Lobe High-Resolution fMRI at Ultra-High Field Using Multi-Shot EPI. 第 49 回日本磁気共鳴医学会大会（オンライン開催）
17. 小池耕彦（2021.9.17）二者間での情報共有の神経基盤の解明：ハイパースキャニング fMRI を用いて. 第 5 回ヒト脳イメージング研究会（オンライン開催）
18. 土元翔平，小池耕彦，橋口真帆，小笠原香苗，二宮太平，磯田昌岐，定藤規弘（2021.9.17）二者共同課題中における他者の行動を処理・活用するヒト脳活動領域の同定. 第 5 回ヒト脳イメージング研究会（オンライン開催）
19. 吉岡歩，田邊宏樹，中川恵理，角谷基文，小池耕彦，定藤規弘（2021.9.17）ハイパースキャニング fMRI による主観的評価共有場面の神経活動の検討. 第 5 回ヒト脳イメージング研究会（オンライン開催）※ 若手奨励賞授賞
20. Yoshioka A, Tanabe HC, Sumiya M, Nakagawa E, Okazaki S, Koike T, Sadato N（2021.9.25） Neural substrates of shared visual experiences : A hyperscanning fMRI study. 第 11 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）
21. 福永雅喜（2021.10.30） 7 テスラ超高磁場 MRI による脳イメージング. 第 39 回神経治療学会学術大会シンポジウム（オンライン開催）
22. Fukunaga M (2021.11.19) Imaging Brain Microstructure and Function with Ultra High Field MRI, The745th Human Brain Research Center Seminar (Kyoto University, オンライン開催)
23. Ayabe H, Manalo E, Fukuda M & Sadato N (2021.9.28) What Diagrams Are Considered Useful for Solving Mathematical Word Problems in Japan? 12th International Conference on the Theory and Application of Diagrams, Diagrams 2021 (オンライン開催)
24. Chen NH, Cho KH, Chao YP, Huang SM, Sadato N, Kuo LW, Fukunaga M (2021.12.9) Orientation Distribution Function (ODF) based reproducibility in diffusion spectrum imaging (DSI) at 3T and 7T. ISMRM Diffusion Study Group Trainee Day: 24 Hours of DIFFUSION Around the World !（オンライン開催）
25. 小笠原香苗，小池耕彦，定藤規弘（2021.12.11）プレッシャーが力みとパフォーマンス低下に及ぼす影響. 第 10 回日本情動学会（名古屋，愛知）
26. Ogasawara K (2021.12.13) Neural substrates of choking under pressure - An fMRI study. 令和 3 年度生理研大学院生中間発表会（岡崎，愛知）※ 生理研大学院生優秀賞受賞

感覚認知情報研究部門

1. Takemura H, Kimura N, Morita T. & Naito E, (2021・9・17) White matter tissue property of the wheelchair racing athlete: a single case study. 第５回ヒト脳イメージング研究会（オンライン開催）
2. Miyata T, Benson N.C. Winawer J. & Takemura H, (2021・9・17) Assessing structural covariance of primary visual cortex and white matter in a neuroimaging dataset. 第５回ヒト脳イメージング研究会（オンライン開催）
3. 竹村浩昌（2021・12・18）視路白質病変の構造解析. 第 59 回日本神経眼科学会総会（東京）

多光子顕微鏡室

1. 植田大海，村越秀治（2021.7.31）神経細胞の慢性的な活性化は構造的 LTP の誘起を抑制する．第 44 回日本神経科学大会 / CJK 第 1 回国際会議（オンライン）
2. 植田大海，長澤裕太郎，村越秀治（2021.9.25）光応答性 CaMKII を用いた海馬神経細胞における Metaplasticity メカニズムの検討. 第 11 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. 長澤裕太郎（2021.12.23）Exploring RhoGEFs involved in Cdc42 activation in synapses. 生命科学リトリート 2021（オンライン）
4. 植田大海（2022.2.4）光応答性 CaMKII を用いた海馬神経細胞単一スパインにおける Metaplasticity メカニズムの検討. 2021 年度 生理学研究所研究会「機能的神経回路の構築と動作を支える分子細胞基盤」（オンライン）
5. 植田大海（2022.2.17）Metaplasticity in hippocampal neurons revealed by photo-activatable CaMKII. 第 11 回 生理研–霊長研–新潟研合同シンポジウム（オンライン）
6. 長澤裕太郎（2022.2.17）Exploring RhoGEF involved in the long-term Cdc42 activation during LTP. 第 11 回生理研–霊長研–新潟脳研合同シンポジウム（オンライン）
7. 長澤裕太郎（2022.2.19）Exploring RhoGEFs involved in Cdc42 activation in excitatory synapses. 第 14 回 NAGOYA グローバルリトリート（オンライン）

電子顕微鏡室（窪田グループ）

1. Sohn J, Suzuki M, Youssef M, Hatada S, Larkum ME, Kawaguchi Y, Kubota Y （ 2021.3.12 ） Synaptic reconfiguration in motor cortex underlies acquisition of proficient motor skill. 第 10 回 生理研-霊長研-新潟脳研合同シンポジウム（オンライン開催）
2. 浦久保秀俊（2021.3.28）Simulation of spatiotemporal signaling dynamics for synaptic plasticity by using technologies for EM connectomics. 第 126 回日本解剖学会総会・全国学術集会／第 98 回日本生理学会大会（オンライン開催）
3. 窪田芳之，川口泰雄（2021.3.30）ラットの大脳皮質細胞へのシナプス入力特性. 第 126 回日本解剖学会総会・全国学術集会／第 98 回日本生理学会大会（オンライン開催）
4. 孫在隣，川口泰雄，窪田芳之（2021.3.30）運動学習時の皮質－皮質間連絡・視床－皮質投射の神経回路再編成. 第 126 回日本解剖学会総会・全国学術集会／第 98 回日本生理学会大会（オンライン開催）
5. 窪田芳之（2021.6.15）ラット大脳皮質の大容量電顕画像データセット撮影と自動セグメンテーション. 日本顕微鏡学会第 77 回学術講演会（ハイブリッド開催・つくば）
6. 窪田芳之，畑田小百合，山口登，Mohamed AA，田中康裕，川口泰雄（2021.7.29）ラットの大脳皮質細胞へのシナプス入力特性. 第 44 回日本神経科学大会／第 1 回 CJK 国際会議（ハイブリッド開催,オンラインにてポスター発表・神戸）
7. 窪田芳之（2021.8.10）大規模電顕画像データによる脳ミクロコネクトーム. 諸科学における大規模データと統計数理モデリング& 諸科学における大規模・多

様なデータを基盤としたデータ駆動型研究の萌芽･推進のためのワークショップ（オンライン開催）

8. 浦久保秀俊（2021.9.25）電子顕微鏡画像に基づいた３次元樹状突起スパイン中の Ca2+シグナル シミュレーション. 第 11 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）
9. Sohn J, Suzuki M, Hatada S, Youssef M, Larkum ME, Kawaguchi Y, Kubota Y（2021.10.5-8）Presynaptic control of spine dynamics for learning and memory in neocortex. EMBO−EMBL Symposium: Seeing is Believing - Imaging the Molecular Processes of Life（オンライン開催）
10. 浦久保秀俊（2021.12.2-3）GPU を用いたスパイン－デンドライト Ca2+シグナルシミュレーション. 生理研研究会『大脳皮質を中心とした神経回路：構造と機能、その作動原理』（ハイブリッド開催・岡崎）

生体機能情報解析室

1. Pham QT, Nohara Y, Nguyen DV, Sadato N and Chikazoe J (2021.9.18) Hierarchical processing of music-to-value transformation in human brain. The 5th JHBI (オンライン開催)
2. 近添淳一（2021. 11. 5）個人の美的嗜好を模倣する機械. 2021 年度生理研研究会「情動の脳科学的理解に基づく人文系学問の再構築」(岡崎，ハイブリッド開催)

時系列細胞現象解析室

1. 任翔壎，植田禎史，大塚岳，田中康裕，川口泰雄（2021.7.29）前頭皮質 5 層錐体細胞の皮質間投射多様性. 第 44 回日本神経科学大会（神戸）
2. 佐竹伸一郎，池田啓子 (2021.7.28-31) *Atp1a2* 遺伝子ヘテロ欠損マウス扁桃体における抑制性シナプス伝達の亢進. 第 44 回日本神経科学大会，第 1 回 CJK 国際会議（オンライン開催）
3. 大塚岳（2021.9.25）皮質回路におけるオシレーション活動と運動学習. 名古屋大学医学研究科・生理学研究所合同シンポジウム（オンライン開催）

ウィルスベクター開発室

1. F. MATSUDA, K. OKUDA, Y. SUETOMI, K. KOBAYASHI, S. OHKURA (2021.11.9) Study on the method of gene delivery to the hypothalamic arcuate nucleus using goats and newly established goat kisspeptin neuron cell lines. Neuroscience 2021 (Virtual, USA)
2. Kaoru ISA, Kota TOKUOKA, Sakura IKEDA, Sara KALIMI, Kenta KOBAYASHI, Thongchai SOOKSAWATE, Tadashi ISA (2022.3.16) Amygdala underlies the environment-dependency of defense responses induced via superior colliculus. 第 99 回日本生理学会大会 (ハイブリッド開催 仙台)

遺伝子改変動物作製室

1. Higuchi R, Hoshino N, Watanabe M, Sanbo M, Hagi A, Hirabayashi M, Yagi T. (2021.7. 30) Among the more than 50 clustered protocadherin (cPcdh), PcdhgC4 is the only isoform that is essential for mice survival and that confers diversity to cPcdh. 第 44 回日本神経科学大会（神戸）
2. 長江 麻佑子, 小林 俊寛, 三宝 誠, 平林 真澄, 水野 直彬, 中内 啓光, 榎本 悠希, 井上 直子, 束村 博子,

上野山 賀久. (2021. 9. 24) GnRH パルスジェネレーター解析のための新規 Cre 発現ラットの作製. 第 114 回日本繁殖生物学会（京都）

3. 岩月 研祐, 及川 真実, 小林 久人, 栗本 一基, 平林 真澄, 小林 俊寛. (2021.12. 1) ラット Naïve 型多能性幹細胞におけるゲノムインプリンティング消去回避の試み. 第 44 回日本分子生物学会年会（横浜）
4. 及川 真実, 小林 久人, 三宝 誠, 水野 直彬, 岩月 研祐, 山内 恵子, 吉田 史香, 山本 拓也, 篠原 隆司, 中内 啓光, 栗本 一基, 平林 真澄, 小林 俊寛. (2021.12. 2) ラット多能性幹細胞からの機能的な始原生殖細胞の分化誘導. 第 44 回日本分子生物学会年会（横浜）

多階層生理機能解析室

1. 山肩葉子, 柳川右千夫 (2021.9.25) 不活性型カルモジュリンキナーゼ IIα ノックインマウスにおける不安様行動. 第 11 回名古屋大学医学研究科・生理学研究所合同シンポジウム（WEB 開催）
2. Yamagata Y (2022.2.17) Emotional behavior in the absence of kinase activity of calmodulin kinase II alpha. 第 11 回生理研・霊長研・新潟脳研合同シンポジウム（WEB 開催）

動物資源共同利用研究センター

1. 西島和俊（2021 年・9 月・25 日）実験モデル動物としてのウサギの特性. 第 11 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）
2. 乾守裕, 廣江猛, 王振吉（2021 年・10 月・14-16 日）動物実験施設改修工事期間中の紫外線カットフィルムによる昆虫侵入防止対策. 第 55 回日本実験動物技術者協会総会（岐阜, オンライン）
3. 窪田美津子, 乾守裕, 佐治俊幸, 太田里美, 廣江猛, 西島和俊（2021 年・10 月・14-16 日）ツイスト式給水瓶キャップ締め付け治具の開発. 第 55 回日本実験動物技術者協会総会（岐阜, オンライン）
4. 廣江猛, 乾守裕, 山中緑, 谷川綾菜, 藤田涼太郎, 太田里美, 窪田美津子, 西島和俊（2021 年・10 月・14-16 日）Slack を用いた動物施設管理の紹介. 第 55 回日本実験動物技術者協会総会（岐阜, オンライン）

【一般共同研究報告】

一般共同研究報告

〔 目　　次 〕

1. 電位依存性イオンチャネルの動作機構解明 …… 127
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 …… 127
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 …… 128
4. 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 …… 128
5. 海馬シナプス分子局在の制御における LGI1 の役割 …… 129
6. タイトジャンクション分子の局在と機能の解析 …… 130
7. 腸管上皮のクローディン発現パターンを模した細胞株を用いたタイト結合機能の解析 …… 130
8. 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 …… 131
9. カイコの休眠誘導・覚醒に関わる環境温受容機構の解析と進化的考察 …… 131
10. 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 …… 132
11. 温度感受性 TRPV チャネルと創傷治癒 …… 133
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 …… 133
13. Designer Receptor Exclusively Activated by Designer Drug (DREADD 法)および Optogenetics を用いた脳排便中枢の局在および役割の解明 …… 134
14. マウス視覚野錐体細胞ーパルブアルブミン陽性細胞間結合関係と外側膝状体投射の関係を明らかにする …… 135
15. 神経積分器と小脳を結ぶ神経回路の解明 …… 135
16. 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 …… 136
17. 聴覚系の大脳皮質-大脳基底核ループの神経回路の解明 …… 136
18. 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 …… 137
19. 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 …… 138
20. 計算論的解析法に基づく脳部位間相互作用の解明 …… 138
21. 辺縁系大脳基底核の機能解析 …… 139
22. 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
23. 不随意運動発生のメカニズムの解析 …… 140
24. 神経麻痺性角膜症に対する TRP チャネルの影響 …… 141
25. チック症の病態メカニズム解析 …… 141
26. 脳内微量薬剤注入による新規パーキンソン病治療法の開発 …… 142
27. 統合失調症モデル動物の脳波ダイナミクス解析 …… 142
28. 数知覚に関する神経力学系モデリングと脳波計測実験の融合的研究 …… 143
29. 構成的アプローチによる最小神経細胞ネットワークを用いた情報処理システム構築の試み …… 144
30. 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 …… 145
31. 前頭皮質 6 層視床投射細胞のシナプス結合を CLEM 法により解明する …… 145
32. 皮質抑制性細胞の形態解析システムの構築 …… 146
33. 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
34. 視床下部腹内側核のグルコース感受性神経における in vivo imaging 解析 …… 147
35. 概日時計の分子機構に関する細胞内 Ca^{2+} の動態解析 …… 147
36. 皮質下における末梢感覚情報の修飾機構の解明 …… 148

37. 新規蚊媒介性ウイルスの多型の構造解析…… 148
38. 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…… 149
39. ノロウイルスの高分解能構造解析…… 149
40. シアノバクテリアのフィコビリソームの構造機能解析…… 150
41. 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…… 150
42. 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
43. 心臓神経節細胞における神経伝達物質ヒスタミンの作用機序解明…… 152
44. 多光子顕微鏡のための超短光パルスファイバーレーザーの開発…… 152
45. アルギン酸ゲル包埋したラット膵島のガラス化保存と糖尿病モデルへの移植…… 153
46. ラット・ウサギの発生エピゲノム比較解析…… 153
47. ラットにおける効率的な精子幹細胞移植法の確立…… 154
48. 高糖摂食に伴うショウジョウバエ腸管上皮細胞の形態変化の電子顕微鏡を用いた解析…… 155
49. 嗅覚から消化器応答にいたる神経回路のマッピング…… 155
50. 末梢臓器支配の神経経路解析…… 156
51. ウイルス感染細胞の電子顕微鏡観察…… 156

1. 電位依存性イオンチャネルの動作機構解明

横川真梨子，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）

電位依存性 K^+チャネル(Kv)は，膜電位に応じてイオン透過路を開閉するが，その動的な構造メカニズムは未解明である。これまでに我々は，原核生物由来の Kv である KvAP を研究対象として，KvAP の VSD の S1 と S4 に 1 残基ずつ Cys を変異導入し，それらの間をジスルフィド(SS)結合で架橋することにより，膜電位存在下で近接する残基対を膜電位の無い状態で近接させる手法を確立し，このような変異体(SS-locked mutant)を複数得ることに成功した。

本共同研究では，これらの SS-locked mutants が，KvAP のどのような機能状態を反映したものかを，電気生理学的に解析することを目的として，アフリカツメガエルの卵母細胞に KvAP およびその変異体(SS-locked mutant)を発現し，2 電極膜電位固定法により，SS 結合形成時および還元剤により SS 結合を切断した際の KvAP 電流を調べることとした。

そこでまず，野生型 KvAP のアミノ酸配列をコードする DNA（コドンをアフリカツメガエルのものに最適化したものとしていないもの）を鋳型として合成した RNA をアフリカツメガエルの卵母細胞に注入し，KvAP を発現させ，2 電極膜電位固定法により電気生理学的解析を行った。しかし，複数のバッチで試したが，KvAP 由来の電流がほとんど観測されなかった。電流量の増大を狙ってコレステロールを除去する試薬の処理などを試みたが，十分な電流量が得られなかった。これらの結果から，原核生物由来の KvAP がアフリカツメガエルの卵母細胞では発現量が低い，あるいは，アフリカツメガエルの卵母細胞の膜環境では Kv として機能しないことが示唆された。SS-locked mutants はさらに発現量が減少することが予想されること，野生型の電気生理活性が評価できていないために SS-locked mutants の活性を野生型と比較できないことから，本研究をアフリカツメガエルの卵母細胞で実施していくことを断念せざるを得ないと判断した。

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

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

今年度，我々は，主に北半球の温帯・亜寒帯に生息し高温を嫌う有尾両生類の特に異なる温度ニッチを持つ 4 種（アホロートル：メキシコの平均 15℃の涼冷な高原湖，イベリアトゲイモリ：比較的温暖なイベリア半島，ヤマトサンショウウオ：四季のある日本・近畿，冬(4℃)に産卵開始，ハコネサンショウウオ：日本の特に温度の低い山地渓流や伏流水近く，飼育温度 4℃）が，その低温生息地選択と適応性を支えるどのように温度感受性が変化した侵害高温センサーTRPV1 を獲得しているのか検討することにした。TRPV1 は，哺乳類では 43℃以上の高温を感知する主要な侵害高温センサーであるが，これまでに我々は，アホロートル TRPV1 をクローニングして，その高温活性化閾値が約 31℃でアホロートルの高温忌避行動とよく一致することを見出していた。そこで，他の 3 種の有尾両生類も同様に大きく高温活性化閾値が変化した TRPV1 を獲得しているのか，アホロートル TRPV1 の配列を参考にそれぞれの cDNA を単離し機能解析を行った。結果，興味深い事に，有尾両生類の TRPV1 は，4 種全てが他の哺乳類などに比べ約 10℃低い温度から活性化される，非常に特徴的な温度センサーであることが明らかになった。この結果は有尾両生類の低温への適応に TRPV1 の機能が大きく関わる事を示唆する。そこで，次にこの有尾両生類 TRPV1 の閾値低下に TRPV1 分子上の

どの部位が重要か，ラットとアホロートルの TRPV1 を用いてキメラ解析を行った。結果，N 端 150 アミノ酸が決定部位であり，この部位の交換で TRPV1 の高温活性化閾値が交換できることが判明した。更に他の３種の有尾両生類 TRPV1 でも，閾値低下の責任部位は同じ部位であり，この N 端 150 アミノ酸に依存して高温応答性が変化することが判明した。よって，有尾両生類は，おそらく共通の機構で閾値低下を獲得した TRPV1 を発現しており，この特徴的な TRPV1 が有尾両生類の低温生息地選択と適応性を支えているものと考えられた。今後は，TRPV1 の N 端の変化でどのような機構で高温活性化閾値がシフトするのか，アプローチしていきたい。

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は，タンパク質からなる溶血毒とペプチドからなる神経毒の Na^+チャネル毒と K^+チャネル毒に大きく大別される。なかでもペプチド毒は，その特異な作用機構から，イオンチャネル研究のための薬理学的試薬として有効利用され，医薬品としては多発性硬化症の治療薬としての開発が続けられている。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を有した新規ペプチド毒を数多く単離してきたが，その対象は，花虫綱六放サンゴ亜綱のイソギンチャク目に限られ，同亜綱の他の目に属する「イソギンチャク近縁種」については，ほとんど調べていなかった。本研究では，世界的に見てもまだ研究対象とされていない「イソギンチャク近縁種」には未知の数多くの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ている。

各種近縁種から調製した粗抽出液のサワガニに対する毒性スクリーニングの中で，ツノサンゴ目のウミカラマツとムチカラマツの 2 種は，強い致死と麻痺活性を示したので，アフリカツメガエルの卵母細胞を用いた二本刺し膜電位固定法による測定を行った。その結果，チャネルを発現していない卵母細胞において，電位依存性のカチオンチャネル様の電流が発生し，粗抽出液にイオンチャネル形成毒が含まれることが示唆された。

そこでこれら粗抽出液をゲルろ過クロマトグラフィー（Superdex 75）に供し，卵母細胞に発生する電流の測定を指標にして精製を進めたところ，ウミカラマツでは 9kDa，ムチカラマツでは 15kDa 付近のピークにそれぞれ粗抽出液と同様の活性が確認された。次いで，活性の認められたそれぞれのピークを陰イオン交換クロマトグラフィー（HiTrap Q HP）に供したところ，ウミカラマツでは単一ピークに活性が確認されたが，ムチカラマツでは量的な問題のためか活性は確認できなかった。現在，プロテインシークエンサーによる一次構造解析に向けて，量をスケールアップした精製と，電気泳動による毒成分の性状解明を行っている。

これまでイソギンチャクの神経毒はイオンチャネルを阻害する毒との定説から，イオンチャネル形成毒を想定してのアッセイは行っていなかったが，本例はその活性が認められた最初の例となった。イソギンチャク近縁種に限らずイソギンチャクにおいても，形成毒の存在を想定した毒成分の探索が必要と考えられる。

4. 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（0.92 μM）。さらに，ノルアドレナリンに対する EC50 を算出し，本センサーのドーパミンに対する選択性がノルアドレナリンの 66 倍高いことを明らかにした。

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，英国の学術誌「Molecular Brain」に 2021 年 12 月 06 日付けで発表された（DOI：https://doi.org/10.1186/s13041-021-00882-8）。

5. 海馬シナプス分子局在の制御における LGI1 の役割

重本隆一（IST Austria）

leucine-rich glioma inactivated -1 (LGI1)は，シナプス前部および後部に局在する膜蛋白質を介してグルタミン酸受容体やイオンチャネルの機能や局在を調節していると考えられている。LGI1 自己抗体による脳炎はヒトでも epilepsy や dystonia などの特徴的な神経症状を引き起こし autoimmune encephalitis の中でも抗 NMDA 受容体抗体に次いで 2 番目に症例数の多い疾患となっている。本研究では，まず LGI1 ノックアウトマウスを用い，海馬シナプス分子局在の制御における LGI1 の役割を調べた。深田らが作成した LGI1 ノックアウトマウスにおけるシナプス後部の AMPA 受容体およびシナプス前部のカルシウムチャネルの発現と局在の異常を凍結割断レプリカ標識法を用いて調べたところ，AMPA 受容体では有意な差がなかったが，VGCC subunit Cav2.1 のシナプス発現が上昇していた。そこで，次に LGI1 自己抗体による脳炎患者およびコントロールのヒト血清より精製した IgG をミニポンプを使って数週間にわたりマウス脳内に注入したところ，逆に脳炎患者に由来する IgG を注入したマウスで有意な Cav2.1 の減少が認められた。他グループからは AMPA 反応の減弱やプレシナプスの release probability の上昇が報告されているので，観察された Cav2.1 の減少では患者で認められる興奮性上昇の説明がつかない。そこで，今後は別の可能性として LGI1 と結合する膜蛋白質であるカリウムチャネルサブユニット Kv1.1 や ADAM22 のシナプスや axon initial segment での局在を凍結割断レプリカ標識法を用いて調べることを試みた。ところが Kv1.1 の presynaptic active zone における発現は低く，LGI1 自己抗体によるさらなる減弱が興奮性の上昇につながるとは考えにくい。そこで，現在はより発現密度が高い axon initial segment でのこれらの分子発現が脳炎患者に由来する IgG の慢性投与によって減弱する可能性を調べている。また ADAM22 が PSD95 と結合する部位を欠損させたノックインマウスを用いて，axon initial segment でのカリウムチャネル Kv1.1 や Kv1.2 の定量を行う予定である。

6. タイトジャンクション分子の局在と機能の解析

東　智仁（公立大学法人福島県立医科大学）
古瀬幹夫（国立生理学研究所）
齋藤　明，東　淳子（公立大学法人福島県立医科大学）

タイトジャンクション（TJ）は細胞間接着の一つで傍細胞経路の透過性を制御し，上皮のバリア機能を担う。TJ を構成するオクルディン，クローディン，JAM などの膜タンパクは，複数の分子がファミリーを形成しているが，それぞれの発現部位や機能の差異・冗長性については未解明のことが多い。本研究では，オクルディン関連分子，クローディン，JAM ファミリーの１つ CLMP の局在と機能を，電子顕微鏡観察を通じて調べ，これらの分子が上皮の種類に応じて多様なバリア機能を生み出す仕組みを解明することを目的とした。

1）TAMP ファミリー

イヌ上皮細胞株 MDCK II を親株としてオクルディンとその関連分子であるトリセルリンの二重ノックアウト細胞を作成し，透過型電子顕微鏡と凍結割断レプリカ電顕法により TJ 形態の超微細構造の変化を観察し，機能との相関を調べた。その結果，二重ノックアウト細胞では TJ を構成する膜密接構造である TJ ストランドが作るネットワークがシンプルになることが分かった。構造を元に行った傍細胞経路透過度の数理シミュレーションによる予測値は，透過度の実測値とよく一致することが分かった。これらの結果を論文に報告した（Saito AC et al., MBoC, 2021）。

2）クローディン 9

約 24 種類あるクローディンは組織特異的に発現して固有のバリア機能を発揮することが知られる。これまで発現箇所が不明であったクローディン 9 について特異抗体を作成し，クローディン 9 が脳下垂体前葉の濾胞星状細胞が作る濾胞腔の細胞間接着部位に発現していることを見出した。免疫電顕により，この構造が TJ であることを確認し，論文に報告した（Higashi AY et al., Sci Rep, 2021）。

3）CLMP

JAM ファミリーは８～９種類あることが知られているが，そのうちの CLMP については局在や機能がほとんど分かっていない。近年，CLMP-KO マウスは蠕動運動が障害されることが報告されたため，その仕組みを探るために特異抗体を作製して発現細胞や局在を調べることとした。蠕動運動を行うことが知られる腸管や尿管で，免疫電顕の条件検討を行い，信頼できるシグナルが得られる条件を決定した。引き続き来年度に向けて，CLMP 発現細胞を特定し，その局在する細胞内構造の解明につなげていきたいと考えている。

7. 腸管上皮のクローディン発現パターンを模した細胞株を用いたタイト結合機能の解析

石塚典子（静岡県立大学）
古瀬幹夫（生理学研究所）

小腸上皮のタイト結合にはクローディン 2, 3, 7, 15 が強く発現している。本研究は，小腸上皮細胞のタイト結合がこれらの組み合わせのクローディンサブタイプのモザイクとして形成される意義について調べることを目的とした。具体的には，主要なクローディンをゲノム編集で欠失させてタイト結合を失った上皮細胞（クローディン欠失 MDCK 細胞）を用いて，まず上記クローディンサブタイプを単独で発現させてタイト結合を形成させ，さらに複数のサブタイプを小腸上皮細胞の発現パターンを模して発現させてタイト結合を形成させ，生理学的解析を行う。これまでに，上記クローディン単独でタイト結合を形成した細胞を樹立して Ussing チャンバー法で解析することにより，クローディン２，クローディン 15 はそれぞれ単独でできたタイト結合が陽イオン選択性を示し，クローディン３，クローディン７単独でできたタイト結合は強いバリア機能を持つことを明らかにした。現

在，複数のクローディンを発現する細胞を樹立しつつある。また，クローディン欠失 MDCK 細胞に有意に発現しているクローディン 12，クローディン 16 は，単独ではタイト結合を作らず，上記クローディンの導入によって形成されるタイト結合にも組み込まれず，その影響をほとんど無視してよいことがわかった。

8. 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
（東京理科大学先進工学部生命システム工学科）

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。これまでの研究から，クサガメ（*Mauremys reevesii*）において，胚発生中の卵殻表面に TRPM8 阻害剤や TRPV4 活性化剤を塗布することで，雄産生温度下において性分化関連遺伝子の発現量やミュラー管の発達が雌様に偏る個体が産生されることを見出している。本年度は，これら TRPM8 及び TRPV4 の温度依存性や薬剤応答性を明らかにするため，以下２つの実験（①及び②）を実施した。

【実験①】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。前年度の解析を追試したところ，クサガメ TRPM8 は 20 °C 程度という低温刺激によって活性化されることを明らかにした。また，TRPV4 においても昨年度に続き追試を実施したものの，活性化温度を推定できるほど安定した結果は得られなかった。しかし，TRPV4 が熱に応答していることは確認できており，活性化温度の推定が困難であることは細胞の膜安定性との関連が強いと考えられる。これらの結果は，これまでに実施したクサガメ卵に対する薬剤塗布実験によって, TRPM8 の阻害や TRPV4 の活性化を促したことを示唆しており，それぞれ低温および熱刺激に応答することから，TRPM8 や TRPV4 が性決定における温度センサーの役割を担っていることを支持すると考えられる。

【実験②】クサガメ TRPM8 および TRPV4 の薬剤応答性や温度感受性を解析するため，前年度に続き東京理科大学において Ca2+イメージングを実施した。TRPV4 を HEK 細胞に発現させ，培養した細胞に Ca2+インジケータ Fluo-4 を取り込ませた。TRPV4 のアゴニストである GSK1016790A または 40 °C の細胞外液を灌流させ，蛍光強度を EVOS-M7000 によって観察した。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することができた。一方，熱刺激に対する応答は観察できたものの, 安定した応答は観察できていない。これまで, HEK 細胞を用いた whole-cell patch-clamp 法や Xenopus 卵母細胞を用いた二電極膜電位固定法を実施してきたが，クサガメ TRPV4 においてはどれも安定した熱応答を観察することができなかった。少なくとも TRPV4 が熱感受性のイオンチャネルであることは確認できたため，今後は国際誌への投稿に向け論文化を進める。

9. カイコの休眠誘導・覚醒に関わる環境温受容機構の解析と進化的考察

塩見邦博（国立大学法人信州大学学術研究院繊維学系）

カイコ（*Bombyx mori*）の卵休眠は母蛾の胚期の温度条件により決定する。例えば，卵を 25 °C に保護すれば次世代卵は休眠する。15 °C では次世代は非休眠卵となり，約 1 週間で孵化が起こる。これまでに温度センサーの BmoTRPA1 が約 20 °C 以上の温度で活性化され，休眠卵の誘導に関わることが知られていたが，非休眠卵の誘導が BmoTRPA1 の不活性状態に起因するものなのか，低温の感受に関わる別の温度センサーにより誘導されるのかは不明であった。また，カイコの卵休眠は 46~48 °C の塩酸に漬けること（塩酸処理）により人工的に覚醒す

る。さらに，蛹の卵巣を 46 ℃ の湯温に漬けることにより単為発生が誘発されることが知られていた。

そこで，温度条件により引き起こされるこれらの現象に TRP チャネルが関与しているか調査した。カイコゲノムにコードされる 6 種類の TRP チャネルをアフリカツメガエルの卵母細胞で発現させ，温度感受性能を調査したところ，1 つの TRP チャネルは 42.5 ℃ に活性化温度閾値を持つ高温センサーであることがわかった。また，明確な活性化温度閾値を持たず，温度上昇に伴い活性化が起こる別のもう 1 種類の温度センサーも発見した。そこで，カイコのゲノム編集技術を利用し，42.5 ℃ に活性化温度閾値を持つ温度センサーのノックアウト（KO）系統を作出し，塩酸処理および単為発生処理を行った。その結果，KO 系統でも野生型と同様に休眠覚醒および単為発生が誘発された。これらの結果から，この高温センサーはこれらの現象に関わっていないか，関わっているものの他の因子が協調的に関わり機能を補填している可能性が考えられた。今後は，休眠誘導に関わる可能性のある低温センサーの同定を含め，TRP チャネルの詳細な機能解析を進め，カイコが独自に持つ環境温応答機構とその進化過程の解明に繋げていきたい。

10. 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・小熊尚子・高橋賢次（鳥取大学・農学部）
齊藤　茂・富永真琴（生理学研究所／生命創成探究センター）

ポリサルファイド（PS）は，硫化水素の酸化によって生じるエンドサルファー（内因性硫黄含有物質）である。これまで我々は，PS が侵害受容性チャネルである TRPA1 を活性化することを明らかにしている。TRPA1 は炎症時に産生される活性酸素種（ROS）によっても活性化することが知られている。そこで本研究では，PS が ROS の一種である過酸化水素（H_2O_2）による TRPA1 活性に与える影響について検討した。

野生型および TRPA1 遺伝子欠損マウスにより分離した知覚神経細胞とマウス TRPA1 遺伝子（mTRPA1）を発現させたヒト胎児腎由来細胞を用いて，蛍光色素 Fura-2 による Ca^{2+}イメージングを行った。また，SSip-1DA を用いて細胞内 PS イメージングを行った。更に，動物個体を用いて疼痛関連行動の解析を行った。

野生型マウスより単離した知覚神経細胞において，H_2O_2 により反応速度の異なる二種類の$[Ca^{2+}]_i$増加反応が生じた。H_2O_2 適用時，素早く生じる反応は TRPA1 阻害薬で阻害され，TRPA1 遺伝子欠損マウスより単離した知覚神経細胞では消失していた。一方，遅い反応はこれらの処置によって影響を受けなかった。PS の前投与により，H_2O_2 による速い反応は抑制された。PS の前投与はまた，内因性 TRPA1 アゴニストである PGJ_2 反応も抑制した。mTRPA1 遺伝子発現細胞において，PS の前投与は H_2O_2 反応を抑制し，更に PS 自身の反応，PGJ_2 および allylisothiocyanate（AITC）反応も抑制した。しかしながら，AITC 反応に対する抑制効果は他のアゴニストよりも弱かった。$[Ca^{2+}]_i$ と$[PS]_i$ の同時測定を行ったところ，PS 適用後の H_2O_2 反応の抑制時に，PS は細胞内に残存していないことが分かった。PS 適用時の細胞外 Ca^{2+}除去又はカルモジュリン阻害剤の適用により，H_2O_2 に対する抑制作用は減弱した。野生型マウスを用いた行動実験では，PS 前投与により H_2O_2 による痛み行動の減弱が見られた。

以上の結果から，エンドサルファーである PS が，炎症時に酸性される ROS により生じる酸化ストレス誘発性 TRPA1 反応を受容体を脱感作させることにより抑制し，鎮痛作用を発揮する可能性が示された。

11. 温度感受性 TRPV チャネルと創傷治癒

城戸瑞穂，吉本怜子
（佐賀大学医学部生体構造機能学講座）

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，その刺激に適応した組織が作られている。しかし，その適正な維持や組織損傷に対する治癒の機構の理解は未だその途上にある。私たちは，膜機能タ ンパク複合体として温度あるいは機械刺激感受性の transient receptor potential channel vaniloid (TRPV) チャネルが口腔粘膜に発現し，粘膜の損傷における治癒状態を変化させることを報告してきた。本研究では，TRPV4 分子を標的として，細胞の移動における細胞骨格との関連を調べた。

ヒト及びマウスの株化細胞を用いて，TRPV チャネルの阻害あるいは活性化薬を添加し，細胞の移動速度，移動距離を調べた。そして，TRPV4 阻害は，細胞の移動を促進すること，細胞の移動方向性がより広くなることが判った。また細胞移動は温度が高いとより活発になった。さらに，集団移動する細胞において，細胞間の接着も TRPV4 が調節していることがわかった。個体レベルの口腔粘膜への損傷モデルにおいて，TRPV4 遺伝子欠失マウスは，野生型マウスよりも速やかに治癒した。 TRPV4 は，細胞のなかで，細胞膜の表面，糸状突起，葉状突起，さらに，その境界にも存在し，繊維状アクチンと密接な位置的関係を示していた。

超解像顕微鏡による観察により，TRPV4 がアクチン線維の上で周期的な局在を示すことが示唆された。

TRPV4 遺伝子欠失マウスで認められる速やかな創傷治癒は口腔上皮細胞の移動が関与することが示唆され，その移動は，アクトミオシンの調節の変化に依ることが考えられた。

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

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

ACMs は心筋間質細胞群を培養し，その中から特徴的な形態と自発的拍動によって顕微鏡下で同定しており，この細胞を特異的に標識する手法を確率することは大きな課題の一つであった。心筋細胞では細胞膜に有用で特異的なマーカータンパク質が知られていないこともあり，ほとんどの場合，転写因子や収縮タンパク質の発現によって心筋細胞の同定が行われている。ACMs も同様で，これまで，細胞膜に発現するプリオンタンパク質および心筋特異的収縮タンパク質の両方を共発現し，かつ心筋細胞の間隙に局在する小型細胞を ACMs とする方法を用いてきたが，煩雑であり，生細胞には応用できなかった。

今回の共同研究では，ACMs が心室筋組織から発見されたにも関わらず心房筋細胞に特異的に発現する心房性ナトリウム利尿ペプチド（ANP）を常に発現していることに注目した。ANP のプロモータ下で GFP を発現するコンストラクト（pANP-GFP）を作製し，これをアデノウイルスベクターを用いてマウスに発現させることによって，心臓に局在する ACMs を同定することに成功した。固定した心臓組織標本における GFP の蛍光を可視化することにより，心臓に ACMs が存在することを確認し，さらに肥大心において GFP シグナルを持つ細胞数が増加傾向にあることが明らかになった。これらの結果は，

病態心において ACMs が既存の心筋細胞と融合する可能性を示唆するものである。今後は，実験数を増やすことによって統計的に意義のある結論に導きたい。

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

田中義将（九州大学病院 肝臓･膵臓･胆道内科）

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

【方法・結果】野生型マウスの肛門に逆行性トレーサーとして感染部位にて GFP を発現する豚ヘルペスウイルス(PRV)を注射した。注射 3−5 日後に sacrifice したところ，既報のとおり Bar や LC といった橋排便中枢を含むさまざまな脳領域への感染が認められた（図 A）。次に橋排便中枢を支配する神経細胞を考慮して CRH-cre mice や VGluT2-cre mice における橋排便中枢に対して光遺伝学的手法および化学遺伝学的手法を用いて肛門内圧や排便量などの各種検討を行ったところ腸管収縮を引き起こし排便量を増加させることが確認された(図 B, C)。さらに，橋排便中枢に対して cre リコンビナーゼ発現細胞のみに感染を引き起こし，GFP を発現させる PRV を感染させたところ，3 日後には PVH を含むいくつかの領域への感染が確認された（図 D）。

【考察】便秘患者は高齢化に従い年々増加傾向にあり，腸管に作用する種々の薬剤が臨床において用いられていが，排便には知覚およびそれに対する有効な腸管運動をコントロールする正常な神経伝達が重要であり，それに対する治療は不十分なのが現状である。今回の研究は既存の治療法と異なる新たなアプローチにつながることが期待される。今後は排便上位中枢に対する光遺伝学的手法を用いた解析や Fiber photometry 法を用いた神経活動の可視化を検討していく予定である。

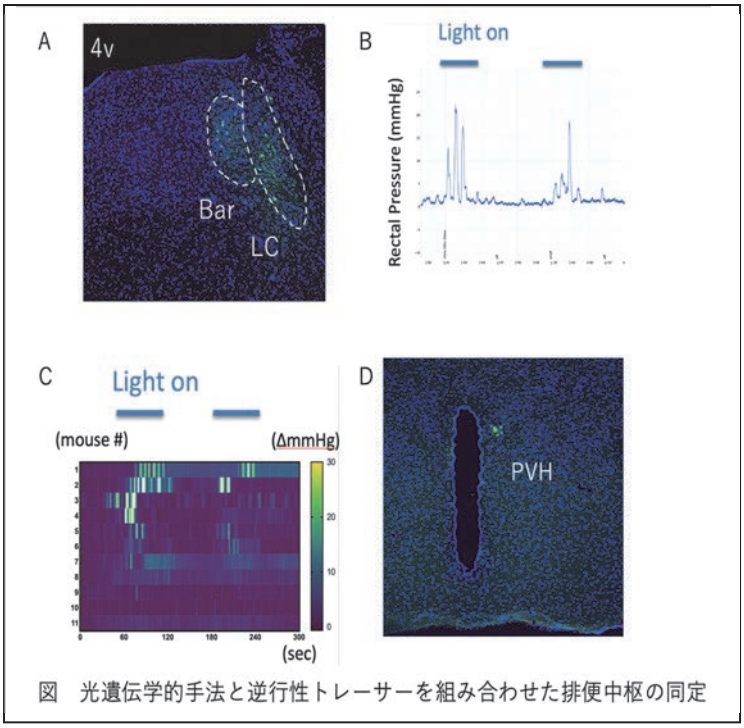


図　光遺伝学的手法と逆行性トレーサーを組み合わせた排便中枢の同定

14. マウス視覚野錐体細胞―パルブアルブミン陽性細胞間結合関係と外側膝状体投射の関係を明らかにする

足澤悦子，河村菜々実
（大阪大学大学院）

マウス大脳皮質視覚野 2/3 層の錐体細胞はパルブアルブミン陽性細胞と双方向性結合を形成する。私たちはこれまでに錐体細胞とパルブアルブミン陽性細胞の結合関係には，１）双方向性結合を形成しやすいもの，２）パルブアルブミン陽性細胞から錐体細胞への一方向性のシナプス結合を形成しやすいもの，の 2 種類が存在することを見出した。本研究課題の目的では，この 2 種類の結合が LGN からの投射関係と相関があるかどうかを検証することである。外側膝状体は視覚野の 1 層へパッチ状に投射し，その投射下・非投射下の 2/3 層錐体細胞および PV 陽性細胞は，それぞれ LGN から異なる強度のシナプス入力を受けていることが報告されている。本研究では，LGN にチャネルロドプシンを発現するアデノ随伴ウイルスを感染させることで，LGN からの投射軸索にチャネルロドプシンを発現するマウスの作製を試みた。その結果，視覚野の 1 層に投射する LGN からの投射線維を可視化することに成功した。AAV を感染させた生後 21 日から 26 日のマウス視覚野から急性スライス標本を作製し，2/3 層の錐体細胞および PV 陽性細胞からトリプルホールセル記録を行い，レーザースキャン光刺激法により 1 層の LGN 軸索を刺激したところ，錐体細胞および PV 細胞において刺激依存的に興奮性シナプス応答を記録することに成功した。今後は，錐体細胞―PV 細胞の結合関係および LGN からの入力強度に相関があるかどうかを検証していく予定である。

15. 神経積分器と小脳を結ぶ神経回路の解明

齋藤康彦（奈良県立医科大学）
吉村由美子（視覚情報処理研究部門）

視覚を適切に働かせるには視線を保持することで視覚対象を網膜上で静止させる必要がある。視線の保持には脳幹の神経積分器が関与し，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。水平系の神経積分器である舌下神経前位核（PHN）から前庭小脳へは直接投射していることが明らかにされているが，垂直系の神経積分器であるカハール間質核（INC）からの投射経路は調べられていない。，我々は，過去のトレーサーを用いた研究より INC は前庭小脳に直接投射していないことを示唆する知見を得ている。そこで，昨年度までに，狂犬病ウイルスを使用したトランスシナプス標識法を用いて，前庭小脳の一部である虫部垂・小節と INC との神経連絡を調べた結果，INC から前庭小脳へは PHN や内側前庭神経核（MVN）を介して神経連絡があることを明らかにした。本年度は，もう一つの前庭小脳のである片葉・傍片葉と INC との神経連絡について，同様にトランスシナプス標識法を用いて調べた。狂犬病ウイルスの糖タンパク質（G）を発現する AAV2retro ウイルス，トリウイルスのコートタンパク質 EnvA の受容体である TVA と GFP を発現する AAV2retro ウイルスをラットの片側の傍片葉に注入した。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 日の生存期間後，灌流固定し，脳組織標本を蛍光顕微鏡で観察した。その結果，傍片葉に投射する PHN および MVN のニューロンから，狂犬病ウイルスが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 の吻側に両側で観察された。以上の結果より，INC から傍片葉へは，虫部垂・小節への神経連絡と同じく，PHN および MVN を経由した間接的な神経経路が構成されていることが示された。

16. 発達期 DGL ノックアウトマウスにおける抑制性シナプス入力の測定

亀山克朗，畠　義郎（鳥取大学医学部）
米田泰輔，吉村由美子（生理学研究所）

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

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

マウス大脳皮質視覚野のスライス標本を作製し，2/3 層ならびに 4 層興奮性ニューロンからホールセルパッチ記録を行い，微小抑制性シナプス後電流 (mIPSC) を計測した。その結果，2/3 層，4 層両方で生後 17，21，26 日齢のいずれにおいても，mIPSC の大きさには DGL(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 の発生頻度は通常マウスに比べて DGLα ノックアウトマウスで，2/3 層では生後 17 日齢で上昇，21 日齢で差はなく，26 日齢では減少していた。一方 4 層では生後 17，21 日齢で上昇，26 日齢では差がなかった。このように，総じて DGLα ノックアウトマウスの方が幼若な時期に mIPSC の発生頻度が高く，抑制性シナプス入力が強いことが確かめられた。これが *in vivo* 実験でみられた DGLα ノックアウトマウスと通常マウスでの臨界期可塑性の違いを生み出していると考えられる。

17. 聴覚系の大脳皮質-大脳基底核ループの神経回路の解明

冨岡良平（熊本大学大学院生命科学研究部）
宮下俊雄（帝京大学医学部）

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

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

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。以上の結果から，聴覚システムの皮質-大脳基底核ループは，運動系システムのループと異なる神経回路であることを明らかにできた。

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。

18. 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（北海道医療大学歯学部薬理学分野）
根本知己（生理学研究所バイオフォトニクス研究部門）
根津顕弘，石田成美（北海道医療大学歯学部薬理学分野）
島谷真梨（北海道医療大学歯学部組織再建口腔外科学分野）
大友康平（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 2 光子レーザー顕微鏡を使って，骨形成過程の 3 次元的に解析と生きたマウスの頭頂骨の intravital イメージングを計画した。2021 年度は，新型コロナ感染症拡大の防止のため主な研究を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。また 12 月に感染状況の改善によって，一度だけ生理学研究所に来所して 2 光子レーザー顕微鏡を使った予備実験を実施した。

骨吸収部位に沈着するカルセイン（CL），テトラサイクリン（TC），アリザリンレッド（AR）を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 あるいは SCALEVIEW-S4 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 CL（488 nm 励起，490-550 nm 蛍光），TC（405 nm 励起，490-530 nm 蛍光），AR（561 nm 励起，570-640 nm 蛍光）の層が観察された。また 4 色目の蛍光色素としてカルセインブルー（405 nm 励起，460-500 nm 蛍光）による骨染色を確認した。

2 光子励起法を使って 700 nm の 1 波長でこれらの蛍光色素の可視化を試みたが, CL 蛍光が強いため他の蛍光色素との分離が難しいことがわかった。この結果から, 各々の色素を単独投与したマウスを使って適切な投与量の決定が必要であることがわかった。

骨内や骨周辺の細胞を可視化する方法として, DAPI による核染色と Actin Orange によるアクチン染色を行った。LUCID で透明化した組織では，DAPI 蛍光が大きく減弱した。一方，SCALEVIEW-S4 で透明化した組織では上記の蛍光色素による核とアクチンの可視化が可能であった。また自家蛍光を使って無染色の正常組織の可視化解析が可能であることがわかった。特に 640nm の励起光を使う事によって血球を強く可視化できることがわかった。また 2 光子励起法の第 2 次高調波発生光（SHG）を使う事によって，骨のコラーゲン線維の可視化を確認した。

今後，本年度の結果に基づいた 2 光子レーザー顕微鏡観察によって，生きたマウスを使った in vivo ライブイメージングで頭頂骨の形成過程を可視化する。

19. 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）

ヒトは感覚入力のうち 90%以上を視覚入力が占めており，視覚的動物であると言われるが，霊長類において視覚は社会行動において最も重要な感覚である。また，社会的コミュニケーションにおいて，顔は重要な情報を発信しているが，中でも目は，心的状態を強く反映していることが示唆されている。

中脳の上丘は，下等な動物から霊長類に至るまで，視覚を中心とした聴覚・体性感覚などの情報処理と Orienting response の中枢として眼球及び頭部運動制御に関する多くの研究がなされている。それとは逆に，侵害刺激などに対する avoidance reflex の中枢として，両者は上丘出力細胞の標的が異なる系であることが知られる。従来の研究では，比較的単純な視覚刺激（例えばスポット光）を用いて上丘ニューロンの応答特性を解析する方法が主流であった。一方で，上丘は，顔の低空間周波数成分を手がかりに，他者の情動理解にも関与することが示唆されているがその神経機構は明らかにされていない。他方，Blind Sight として知られる現象において，大脳両側一次視覚野の障害後も，視標の存在が認識できないにもかかわらず，無意識下に視線あるいは手をかなり正確に視標に向けることが出来ることが知られ，この視覚入力は，上丘-視床枕を経由して，大脳背側系の空間識の経路に関与する。

視標に意味を持たせる（様々な表情の写真や異なる顔方向，視線方向の顔写真を呈示する）ことにより，生態学的な価値判断（表情及び視線方向の識別を行わせる）ののちのサッケードがどの脳部位を介するか，その神経回路を明らかにすることを本研究は目的とする。具体的には，自分や他人の顔，様々な表情の顔，顔以外，さらに，アイコンタクトのある顔（正面向きの視線），アイコンタクトのない顔（横向きの視線）等，種々の視標に対するサッケードを訓練し，通常サッケードと比較して潜時の違いを計測する。さらに，上丘，視床枕，大脳前頭眼野，辺縁系（扁桃体や黒質緻密部）より神経活動の記録を行い，信号の流れを明らかにする。他者の情動理解の神経機構に関する入力が具体的に脳のどこからあるのかを見出し，特に他者の視線に関する情報が脳内でどのように処理され，自己の行動にどのように反映されるのか（サッケードにどのような影響を与えるのか），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。

20. 計算論的解析法に基づく脳部位間相互作用の解明

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

本研究の目的は，脳部位間から記録された神経活動に対し計算論的信号解析法を用いることにより，部位間の情報の流れと処理様式を解明することである。具体的にはある脳部位の集団神経活動を用いて他の脳部位の集団神経活動を計算論的手法で再構成すること，そしてその再構成に必要な活動成分を調べることで，部位間の情報伝達処理様式の解明を試みた。単一神経細胞の反応特性を調べる従来研究を補完する形で，神経集団としての部位間相互作用を解明するのが目的である。

所内対応者のグループで既に記録したサル前頭前野内側部（mPFC）・視床下部外側野（LH）・中脳ドーパミン神経核（DA）の単一神経活動データに対し，神経集団としての活動の特徴づけを行った。最初に活動の多様性を定量化するため，各部位の神経集団活動に対して成分分解と次元推定を行った。その結果，mPFC と LH では 15 前後の次元，また DA では 5 程度の次元が得られ，多様な反応特性の mPFC と LH と比較して DA 神経細胞の活動は画一的な反応を示していることが分かった。所内対

応者グループの先行研究において，mPFC と LH の神経活動は一過性と持続性を示すのに対し，DA の神経活動は一過性のもので占められていることが報告されており，今回の結果とも合致する。次に，部位間の相互作用を調べるため，DA と LH の集団活動を mPFC 集団活動から再構成することを試みた。ランク縮約回帰法（rank-reduced regression method）を用いて，部位間の相互作用を規定する成分を同定したところ，LH 集団活動を再構成する mPFC の成分は一過性および持続性を含む多様な成分であるのに対し，DA 集団活動を再構成する mPFC の成分は一過性のみであった。また，DA 集団活動には自己のみではなく他者報酬割合を反映した成分が含まれていたため，mPFC→DA の相互作用では自己と他者の報酬情報を統合した主観的報酬価値を計算しているものと考えられ，所内対応者グループの仮説と一致した。本研究によって，先行研究で報告されてきた単一神経細胞の反応特性から推定された部位間の相互作用が直接的に検証され，社会的報酬課題下における自他の報酬情報が脳の複数部位で階層的に処理される過程を解明できた。

21. 辺縁系大脳基底核の機能解析

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

大脳基底核は大脳皮質の広い領域からの入力を受け，情報処理を行った後の情報を，再び視床を介して大脳皮質に戻すループ回路を形成している。この大脳皮質－基底核ループの中で運動系ループについては比較的研究が進んでいるが，辺縁系ループについては不明な点が多い。本研究では辺縁系ループにおける情報処理機構を解析することにより，情動の発現と制御の神経基盤を明らかにすることを目指している。

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

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

また，応答の潜時を調べたところ，早い興奮，遅い興奮ともに Limbic-STN で最も長く，M1-STN で最も短かった。また，応答の持続時間は早い興奮，遅い興奮ともに Limbic-STN で有意に長かった。この応答の潜時および持続時間の違いから，運動の発現や制御を担う運動系ループにおいては，情動の発現や制御に関わる辺縁系ループ比べて，より速い情報伝達が可能であることが示唆された。

22. 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 病態生理学研究室）
南部　篤，知見聡美（生理学研究所 生体システム研究部門）
佐竹伸一郎（生理学研究所 脳機能計測支援センター 時系列細胞現象解析室）

Na ポンプ（Na,K-ATPase）α3 サブユニット遺伝子 *ATP1A3* の変異は，急性発症型ジストニアパーキンソニズム（RDP，遺伝性ジストニア DYT12），小児交互性片麻痺（AHC），CAPOS 症候群等，多彩な神経疾患の原因となり，様々な発作的な神経症状（ジストニア，片麻痺，痙攣）をひきおこす。現時点では多彩な神経症状の発現制御が主たる治療となっている。申請者らは病態モデルマウスのα3 サブユニット遺伝子ヘテロ欠損マウス *Atp1a3*$^{+/-}$ を用いて病態生理を解明し，新規治療開発を目指している。小脳と大脳基底核それぞれについて解析を行った。

小脳スライス標本を用いた電気生理実験により，生後 2 週齢 *Atp1a3*$^{+/-}$では小脳平行線維－プルキンエ細胞間興奮性シナプスの mGluR1 依存性の長期抑圧（LTD）が消失していた。小脳 LTD の形成には，グルタミン酸輸送体（excitatory amino acid transporter, EAAT）による制御が重要な役割を果たす。EAAT は，Na ポンプが細胞膜内外に形成する Na^+/K^+濃度勾配を利用してグルタミン酸（Glu）を運ぶ二次能動輸送体で，シナプス間隙の Glu を回収して神経伝達を終結させ，Glu のシナプス外漏出を制限する役割を持つ。光解除性 Glu の光照射に伴い記録される電流（PTC）を用いて，EAAT 機能の評価を行い，*Atp1a3*$^{+/-}$では，プルキンエ細胞の PTC が野生型よりも顕著に減弱していること，バーグマングリアの PTC が増強していることを見出した。2 週齢マウス小脳膜分画の Na ポンプと EAAT のタンパク質含有量をウエスタンブロット法にて比較検討を繰り返し，PTC 振幅の変異と EAAT 発現量の間に高い相関性があることを見出した。神経－グリア補償機構の分子的基盤の一因は，小脳発達段階における蛋白質の発現量の差異があることが示唆された。さらに生体脳に EAAT 阻害薬を投与し運動機能におよぼす影響の観察を試みたが，差異を明確にすることはできなかった。

成体を用いて覚醒下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。*Atp1a3*$^{+/-}$では野生型とは異なる反応を見出した。今後は，小脳と大脳基底核疾患での変化が別々に生じるのか，小脳発達異常に伴う基底核の変化かに焦点をあてて解析する予定である。

23. 不随意運動発生のメカニズムの解析

竹林浩秀，吉岡　望（新潟大学），堀江正男（新潟県立看護大学），黒瀬雅之（岩手医科大学）
佐野裕美，知見聡美，南部　篤（生理学研究所 生体システム研究部門）

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* マウスは，細胞骨格制御因子をコードする *Dystonin* (*Dst*) 遺伝子に変異がある。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。さらに，Cre 組換え酵素などによる部位特異的 DNA 組換え法を用いて，コンディショナルノックアウト（cKO）実験とコンディショナルレスキュー（cRes）実験を行うことができる。今年度は，*Wnt1-Cre* トランスジェニックマウスと掛け合わせることにより作製した *Dst* cKO マウスと *Dst* cRes マウスについて組織学的および生理学的な解析を進めた。*Dst* cKO マウスでは，運動症状の多くを再現することができた。さらに，*Dst* cRes マウスでは症状の回復が観察された。つまり，胎仔の背側にある Wnt1 陽性細胞系譜が *dt* マウスの病態に深く関わっていることが示唆されている（論文作成中）。また，筋肉型 *Dst-b* の機能的な役割を調べるために，*Dst-b* 特異的なエクソンに終止変異を導入し，ホモマウスの表現型を調べた。すると，*Dst-b* ノックアウトマウスは，骨格筋と心筋において，遅発

性のミオパチーを示すことがわかった。本結果より, *Dst-b* は骨格筋や心筋の維持に重要な働きをしていることが明らかとなった（BioRxiv にて論文発表, https://doi.org/10.1101/2022.03.17.484743）。

もう一つのプロジェクトとして，リン脂質のホスホイノシタイド代謝異常による大脳基底核変性についての病態解析研究を行った。脱リン酸化酵素 *Inpp4a* の KO マウスと大脳基底核における *Inpp4a* cKO マウスの作製と解析を行った。大脳基底核特異的 *Inpp4*a cKO マウスでは，線状体の変性を見出しており，現在，*Inpp4a* KO マウスの表現型との比較を含めて，組織学的手法や生理学的手法を用いて詳細な解析を継続して行なっている。

24. 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医学部眼科）
知見聡美，佐野裕美，南部　篤（生理学研究所 生体システム研究部門）

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

コロナ禍で訪問することが困難であったが，2022 年 1 月から 3 回訪問し，神経麻痺性角膜症マウスモデルを作成している。2022 年度にも継続して研究をおこなっている。

25. 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（生理学研究所 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，マウス線条体運動領域に，GABA 受容体拮抗薬である Bicuculline のを少量注入することで，線条体における体部位局在に一致した一過性の筋収縮を示すチック症状を誘発することに成功した。さらに，チック症モデルマウスの全脳において，c-Fos タンパクの免疫染色を行うことで，症状発現時の活性化脳部位を検討した結果, 一次運動野に加えて, 扁桃体，帯状皮質，島皮質，梨状皮質といった情動機能に関与する辺縁系脳部位の活性化を観察することができた。線条体運動領域から，これら辺縁系脳部位への直接投射は無いので，どの脳部位を経由して辺縁系脳部位に線維連絡するかを明らかにする目的で，アデノ随伴ウイルスを神経トレーサーとして用いた解剖実験を行った。その結果，線条体運動領域から淡蒼球・黒質網様部を経て，さらに，視床髄板内核を経由して，辺縁系脳部位に至ることが明らかになった。トウレット症候群患者の脳外科治療において，視床髄板内核が脳深部刺激療法の標的脳部位となることが，これまで臨床的に知られていたが，その正当性に対する科学的エビデンスを本研究により得ることが出来た。

現在，チック症モデルマウスにおける c-Fos タンパク高発現脳部位である辺縁皮質を，化学遺伝学的手法を用いて人工的に神経活動抑制し，その際，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。

26. 脳内微量薬剤注入による新規パーキンソン病治療法の開発

島津秀紀（武庫川女子大学･薬学部）
後藤　惠（徳島大学･大学院医歯薬学研究部）
畑中伸彦，知見聡美，南部　篤（生理学研究所 生体システム研究部門）

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

2021 年度は，一頭のサルを馴致し，以下のような行動課題を訓練した。モンキーチェアに頭部固定したサルの正面に約 40 cm の距離を開けてクリューバーボードを設置する。ボードには幅 1.5 cm，長さ 3 cm の溝が 5 X 3 のマトリックスに配置され，それぞれの溝は互いに垂直，水平にバラバラに向いている。溝の内部にはイモなどの報酬が置かれ，サルは片方の手で溝に指を入れ，報酬を取り出し，口元に運び食べる課題である。使用しない方の手は, 報酬に届かないようにモンキーチェアに固定し，患側と健側をそれぞれ交互にテストすることができるよう設計した。またボードには，行動課題における運動を精密に評価・検討するため，レーザーによる通過センサーを 5 X 3 の溝の手前に設置し，サルが指を挿入したタイミング，場所，溝から口元までの移動時間，口元から次のターゲットへの移動時間がそれぞれ記録できるようになっている。本課題の遂行には精密把持が必要であり，パーキンソン病モデルサルにおける運動障害，とくに拇指と指示を用いた巧緻運動障害の有無を正確に評価することができる。さらに上肢の動きを 3 次元的に解析することができるよう，上と横からカメラで運動の軌跡を同時撮影するシステムを構築中である。

2022 年度は，計測システムの完成後，定位脳手術的に注入用カニューレを被験個体の線条体に刺入し，微量注入ポンプを左右の頭部上に設置する。イマチニブメシル酸塩水溶液を，ポンプを用いて片側の線条体に持続注入するとともに，一定の間隔を開けてドーパミン神経毒である MPTP を全身静脈内投与することで，被験個体に緩徐にパーキンソン病症状を発現させ，イマチニブ注入側でドーパミン神経細胞が保護され，運動機能が温存されるかどうかについて評価・検討する予定である。

27. 統合失調症モデル動物の脳波ダイナミクス解析

那波宏之（和歌山県立医科大学･薬学部）
北城圭一（生理学研究所･神経ダイナミクス部門）

思春期以降に幻聴・幻覚を代表とする脳高次機能異常を呈する精神疾患，統合失調症は，いまだ原因不明の脳疾患でその治療法も限定されている。これまでの患者脳波研究から，患者脳波には病態に関連する聴覚・事象関連電位異常やオシレーション障害が報告されているものの，これら脳波障害を反映するモデル動物やそのメカニズムには不明な部分が多くあった。そこで本共同研究では，聴覚関連障害を示す統合失調症モデル動物である，上皮成長因子（EGF）の新生仔投与モデルを用い，そのラット鳴き声依存性事象関連電位とその大脳皮質連合性を，各種脳波ダイナミックス解析法で分析することで，脳波分析方法の妥当性，当該モデルの信頼性，脳波異常のトランスレーション可能性を評価した。

ラットに対し硬膜上電極を前頭皮質，聴覚皮質，参照電極を鼻腔上に設置して，ラットの陽性鳴き声（50-60 Hz），サイン音（55 Hz），陽性鳴き声の逆再生音を聞かせて，その事象関連電位とその時間周波数パターンをモデルラットとコントロールラットで比較した。結果，モデル動物では，聴覚皮質電極においてサイン音，鳴き声音，区別なくガンマ領域の脳波パワーとその同期性が低

下していた。一方，前頭葉電極で鳴き声刺激は，モデルラットとコントロールラットともに反応を誘起するのに対し，サイン音は，モデル動物でのみ有意な脳波反応を呈した。

これら二つの皮質電極間の脳波同期性を基に，モデル動物における鳴き声情報の皮質間 CONNECTIVITY を推定した。するとモデル動物においてのみ，鳴き声依存的な脳波位相同期性が低下していた。しかし，統合失調症治療薬の投与により，脳波位相同期性が著しく改善することが判明した。これらの結果から，当該ラットモデルにおいても，ヒト統合失調症患者でみられるよう聴覚言語刺激に対する前頭葉：側頭葉の連合性の障害が見られること，この障害は統合失調症治療薬で改善することが明らかになった。従って，これらの脳波ダイナミクス解析は，ヒトと動物間で比較可能なトランスレーションツールとして有効であることが判明した。

28. 数知覚に関する神経力学系モデリングと脳波計測実験の融合的研究

末谷大道（大分大学理工学部）
北城圭一（生理学研究所）

視覚や聴覚・触覚などの諸感覚を通じて，対象の形状や大きさに捉われず「数」に関して不変な特徴を抽出する数知覚は，ヒトの数学的能力の基盤となっている。一方，数個程度の対象を一瞬で数え上げる能力は，乳幼児や人以外の動物にも生得的に備わっており，subitizing と呼ばれている。本研究は，数知覚に必要な認知能力について，数理モデルを構築し，脳波レベルでの神経ダイナミクス実験との比較・検証を行う。

2021 年度は，数理的な研究に関しては ImageNet のデータで事前学習した AlexNet（一般の視覚的物体認識を行う CNN）やアーキテクチャは AlexNet と同一で結合強度をランダムにした CNN に，面積・縦横比・配置をランダムにした複数個の長方形から成る視覚刺激（数刺激）を与えた場合に，画像としての差異に依らない数としての不変性がどのように表現されるか調べた。AlexNet 内の fc7 層部分（4096 次元）の神経活動を多様体学習で低次元可視化したところ，この空間で“1”，“2”，…と自然な順序に従った構造が現れることがわかった（事前に順序情報は与えられていないことに注意）。さらに，数刺激と正解の数を対応させる教師あり学習を追加で行ったところ，離散構造が現れることが分かった。特に，（ぼやけているものの）ランダム結合でも自然な順序を持つ構造が現れたことから，数知覚は経験を必要としない，神経回路の一般的な特性である可能性が示唆された。現在，深層正準相関分析を用いて異複数のデータ（例えば，上記の数刺激と画像としてのアラビア数字）を同時に提示し，その背後にある数としての共通情報を抽出することを試みている。現在は静的な神経回路を用いたアプローチに留まっているが，さらに，再帰的神経回路による動的な情報処理の問題に拡張することで脳波計測実験と対応させる予定である。

脳波計測実験については，生理学研究所での実験を行うため，数知覚の脳波実験に関してのパラダイム検討を進めた。具体的には，手書き文字の数字画像，あるいは，上記で述べた複数個の図形から成る数刺激を被験者に提示することなどを検討した。この際，被験者は瞬時に数を知覚・判断する subitzing 能力が求められる。そして，この課題実行時の頭皮脳波や眼球電図を計測する実験系の構築と文字や図形の生成，提示刺激画像のプログラミング等を進めた。今後はヒトを対象とした脳波実験を進めて課題をチューニングし，脳波データの取得と解析を計画している。

29. 構成的アプローチによる最小神経細胞ネットワークを用いた情報処理システム構築の試み

安田賢二（早稲田大学）
曽我部隆彰（生理学研究所）

これまでの神経細胞ネットワークの構成的構築では，あらかじめ神経細胞のネットワークパターンを微細立体構造や接着因子のマイクロプリンティングで基板上にデザインして，これに沿って神経突起のパターンを構築することを行ってきた。しかし，これだけでは確立的な結合配置となり選択的に軸索や樹状突起を特定の隣接する神経細胞に結合させることは困難であった。本共同研究では，これを解決するために細胞培養中であっても微細構造を追加工できる独自技術であるアガロース微細加工技術を利用し，結合方向を完全に制御した軸索と樹状突起によって繋がれた神経細胞最小ネットワークを構築し，この神経細胞ネットワークの演算，記憶などの回路機能の動作を確認することを目標としている。

今年度は，コロナによる研究制約のため，神経細胞ネットワークの電気生理学的な評価の準備作業となるアガロース微細加工技術の改良開発を中心に研究を進め，これまでのアガロース加工技術の課題を解決する２つの改良型アガロース微細加工技術の開発に成功した。

まず第一の改良アガロース加工技術は，これまでの最小加工限界を決める集束赤外光の集束点の幾何光学的収束限界（波長の２倍程度：1480 nm 赤外光では集束は 4 ∝m 以上）を超えた微小の加工を可能にするため，幾何光学的限界がない吸光に着目し，吸光材として Pt をコートした直径 0.7 ∝m のガラス管表面に水の吸収がない 1064nm 赤外集束光を照射して熱変換をすることで神経突起の伸長制御の目標である 2 ∝m を切るアガロースの微細追加工を実現し，実際に追加工をしながら軸索を隣接する神経細胞に誘導することに成功した（図１）[1]。

上記改良システムは，パッチクランプ法による電気生理学的手法では十分であるが透明電極（ITO）アレイを配置した細胞外電位計測に用いた場合，1064 nm 赤外光であっても ITO の吸収によって ITO 電極配線上のアガロースが熱溶解する課題は残った。そこで第二の改良型アガロース加工技術として，先端径が∝m 程度のキャピラリー管中に Na イオン水溶液を満たし，高周波交流電圧を管の内外に印加して管先端で発生させたイオン電流の局所ジュール熱でアガロース加工する技術を開発し，この追加工によって軸索を隣接した神経細胞に誘導することにも成功した（図２）[2]。

次年度はこれら２つの改良神経細胞ネットワーク構築技術を用いて構築した最小神経細胞ネットワークでの電気生理学的測定に進む予定である。

【文献】

[1] Tanaka Y, et al. Stepwise neuronal network pattern formation in agarose gel during cultivation using non-destructive microneedle photothermal microfabrication. *Sci Rep*, 11, 18197, 2021.

[2] Shimoda, K, et al. *In situ* agarose microfabrication technology using Joule heating of micro ionic current for on-chip cell network analysis. *Micromachines*, 13, 174, 2022.

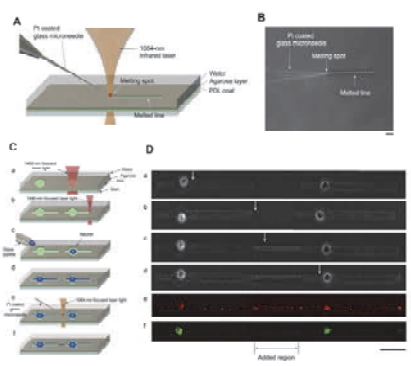


図１．マイクロニードル先端の光吸収を用いたアガロース微細加工．A. 方法の概念図．B. アガロースの微細加工中の顕微鏡写真．C, D. 神経細胞から伸長した軸索の選択的誘導の例．（文献１）

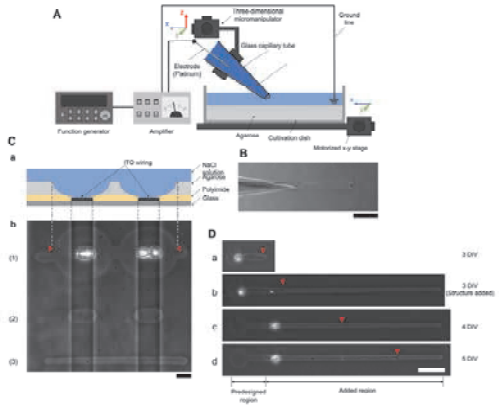


図2. マイクロイオン電流のジュール熱を用いたアガロース微細加工．A. 装置構成図．B. アガロースの微細加工中の顕微鏡写真．C. ITO電極を配置した多電極細胞外電位計測チップ上の微細加工（(1) (2) 集束光加工，(C) 本技術での加工）．D. 神経細胞から伸長した軸索の選択的誘導の例．（文献２）

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

仙波和惠，Samuel Deurveilher，Tatjana Golovin（Dalhousie 大学，Department of Medical Neuroscience，カナダ）
窪田芳之（生理学研究所・脳機能計測･支援センター 電子顕微鏡室･窪田グループ）

睡眠覚醒のサイクルの維持には，視床下部の神経細胞が重要な役割を演じている。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。

2021 年度は, 5 匹目と 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, 2021 年度に引き続き，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。

オレキシン細胞体と樹状突起の表面の約 70%は，大変に薄い（約 100 nm）星状膠細胞突起シートに覆われており，シナプスに接近している星状膠細胞突起の多くは，この薄いシートの延長であることがわかった。

星状膠細胞突起とシナプスの距離関係については，三種類の数量的な指標を開発導入して解析を進めた。これまでに分析した計 351 のシナプスでは，ほとんどの場合（約 95 %），星状膠細胞突起がシナプス付近に存在し，前シナプスと後シナプスの両方に接触していた。また，星状膠細胞突起は，前シナプスと後シナプスが接触する周囲線のうちの約半分に，直接接触していた。さらに，シナプスのクレフトからは，星状膠細胞突起は，100－1200 nm（特に 200-400 nm に集中）の距離に位置していることを見いだした。

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。

31. 前頭皮質 6 層視床投射細胞のシナプス結合を CLEM 法により解明する

苅部冬紀，平井康治，角野風子（北海道大学）
窪田芳之（生理学研究所大脳神経回路論研究部門）

齧歯類の二次運動野第 6 層は，視床に投射する錐体細胞や対側大脳皮質に投射する錐体細胞，GABA 作動性の抑制性介在細胞などから構成される。6 層の局所回路シナプス結合の詳細を解明するために, 改変 ATUM 法と組織処理方法(Kubota et al., 2018)を用いて作製した電子顕微鏡標本の解析を行った。

標本として，逆行性トレーサーにより視床投射細胞を標識したラット脳から *in vitro* スライス標本を作製し，細胞内記録と biocytin 注入を行った 30 μm 厚の脳切片を用いた。記録した 3 個の視床投射細胞を蛍光標識し，共焦点顕微鏡画像を取得したのち樹脂包埋し，600×150 μm の範囲を切り出し，35 nm 厚の連続超薄切片を作成し，ウエハー上に張り付けた。本年度までに約 200 枚の超薄切片の SEM 画像を撮影した。共焦点蛍光顕微鏡画像と SEM 画像の対応から，標識した３個の視床投射細胞を同定し，その軸索を追跡し，三次元的再構築を行った。

その結果，同定視床投射細胞の軸索神経終末の一部は

は錐体細胞と推定される樹状突起上の棘突起にシナプスを形成していた。

ペア細胞記録や光遺伝学によるシナプス結合の測定によれば，6 層の視床投射細胞による 6 層内の興奮性結合は低頻度であり，主に抑制性介在細胞にシナプス結合することが報告されている。ここまでの解析結果は，電気生理学的に細胞体では記録できない，局所的な興奮性シナプスの存在する可能性を示唆するものであり，さらに検証を進める。

32. 皮質抑制性細胞の形態解析システムの構築

森島美絵子（東京慈恵会医科大学臨床医学研究所）
窪田芳之（生理学研究所）

大脳皮質の抑制性細胞は,神経細胞の約 20 パーセントの割合で存在するが, 細胞タイプは多様で 80 以上にも分類されるとも言われいてる。分類には，分子マーカー，電気的性質，形態の組み合わせで行われてきたが（Kawaguchi and Kubota, 1996; Kawaguchi and Kubota, 1997; Markram et al., 2004），最近になって遺伝子による分類が多数報告されてきている（Gouwens et al., 2020; Scala et al., 2021）。しかしながら，2000 年代までの基本的な分類を超えることはなく，遺伝子を組み合わることによって細分化が進みさらに多様性があることが示されている。特に，複雑な分類の最終手段に形態的特性が鍵となっていることに着目し，本研究課題では，大脳神経回路論部門の形態データリソースにさらに抑制性細胞の形態解析を追加したうえで，機械学習による抑制細胞の形態解析システムの構築を目標とする。このシステム構築によって形態解析に精通していなくても容易に分類できることを期待している。

2021 年度は，機械学習による形態解析システム構築のために，抑制性細胞の細胞体，樹状突起，軸索の 3 次元情報を含む形態データの学習用データ収集を行った。大脳神経回路論部門には大脳皮質 2/3 層の抑制性細胞の形態データリソースは豊富にあるが，5 層の抑制性細胞の形態データが少ない。このため，大脳神経回路論部門から引き継ぎ窪田研究室に冷凍保存してあるスライスの標本化を進めた。この過程で，効率をあげるために，標本を 300 マイクロの厚みのまま透明化し，蛍光染色による観察をコンフォーカル顕微鏡によって行った。透明化には，Cubic 法，Scale 法を試した。

抑制性細胞の主要な分子マーカーであるパルブアルブミン陽性細胞，ソマトスタチン陽性細胞群の形態解析データ収集しつつあるため，来年度はこれらのデータを用いて，実際の機会学習アリゴリズムを用いた分類モデルを作成し，実際に細胞種の分類を試みる予定である。

33. 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（自然科学研究機構 生理学研究所 脳機能計測・支援センター電子顕微鏡室）

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。

34. 視床下部腹内側核のグルコース感受性神経における in vivo imaging 解析

戸田知得（北海道大学大学院獣医学研究科獣医学部生化学教室）

【目的】

視床下部腹内側核には血糖値の増減を感知し末梢組織の代謝を調節して血糖値を一定に保つグルコース感受性神経がある。肥満はこの神経の機能を破綻させ，糖尿病を発症させる。しかし，グルコース感受性神経が血糖値の変化に応じてどのような神経活動を示すかは十分に研究されていない。我々は Arc-CreER^{T2} マウスを用いてグルコース感受性神経だけを蛍光タンパク質で標識する方法を開発した。本研究は Miniscope を用いて，自由行動下のマウスにおけるグルコース感受性神経の活動を測定し，血糖値または肥満による変化を観察する。

【方法】

Arc-CreER^{T2} マウスの視床下部腹内側核にアデノ随伴ウイルスを投与し，グルコース感受性神経に細胞内カルシウム濃度センサーの GCaMP6 を発現させる。その後，同じ場所に GRIN レンズを留置する。通常食または高脂肪食でマウスを飼育した後, 腹腔内にグルコースを投与し，腹内側核神経の活動および血糖値を測定する。これにより，血糖値の変化とグルコース感受性神経の活動の関係および肥満によるグルコース感受性の低下を in vivo で明らかにする。

【進捗】

Arc-CreER^{T2} マウスの視床下部腹内側核にアデノ随伴ウイルスを投与したが，十分な蛍光強度を発するほどの GCaMP6 の発現量を得ることができなかった。そこで，新たにアデノ随伴ウイルスを購入し実験に使った。また GRIN レンズについても数種類を試し，脳内に挿入する深さなどの条件検討を行った。新型コロナウイルス感染症の拡大もあり，生理学研究所への訪問・実験など十分な研究を行うことができなかったため，研究が進んでいるとは言い難い。そこで 2022 年度も継続して研究を行う。

35. 概日時計の分子機構に関する細胞内 Ca^{2+}の動態解析

金尚宏（名古屋大学トランスフォーマティブ生命分子研究所･生命農学研究科）

概日時計は約 24 時間の生理リズムを駆動する生物時計であり, Rat-1 繊維芽細胞などの不死化した培養細胞株においても存在する。そこで共同利用研究者は，細胞を用いた薬理学的なスクリーニングを行い，新規の時計因子の同定を試みた。その結果, Na^+/Ca^{2+} 交換輸送体（NCX）と Ca^{2+}/カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼ II (CaMKII)という 2 つの Ca^{2+} シグナル制御因子が概日時計の発振に重要な役割を示すことを見出した。また概日時計は，生理的な温度範囲において，外界の温度が変化しても約 24 時間周期を保つという温度補償性を示す。概日リズムの多くは時計遺伝子による転写リズムによって生み出される。そして, その転写リズムの温度補償性は，NCX による低温での細胞内 Ca^{2+} 流入によって担われていることが明らかとなった。そこで，生理学研究所の榎木 亮介准教授との共同研究により, 哺乳類のペースメーカー神経である視交叉上核の培養スライスにおける，細胞内 Ca^{2+} リズムの温度応答を解析した。その結果，細胞内 Ca^{2+} の概日リズムのベースラインは, 温度低下に伴っ

て上昇することが分かった。これらの成果を論文にまとめ，Science Advances 誌に公表した。また，細胞内 Ca^{2+} 振動を生み出すメカニズムに関して，種々のイオンチャネル阻害剤を用いて解析を進めているところである。

36. 皮質下における末梢感覚情報の修飾機構の解明

関　和彦（国立精神･神経医療研究センター）
戸松彩花（生理学研究所）

手足の末梢感覚情報は脊髄より入力し, 延髄を経由して視床→大脳皮質感覚野もしくは小脳へと送られる。これらの入力情報は知覚体験を引き起こすとともに運動制御に用いられると考えられている。感覚情報が発生する文脈や身体の状況などに応じて体験される知覚や運動への重要性は異なるはずだが, その実態とメカニズムは未解明である。マカクサルを被検体として，随意運動・受動運動・麻酔下における脊髄上肢関連セグメント (C3-T1)および延髄楔状束核における, 感覚神経ターミナルにおけるシナプス前抑制の変動を測定し, 脊髄および延髄のシナプス前抑制メカニズムと大脳皮質運動関連領域の活動との関係を麻酔下電気刺激およびトレーサー注入によって確認する計画を立て，2021 年 8 月に実施の予定であったが，COVID-19 による交流自粛のため，実験自体は実施に至らなかった。ただし，オンラインミーティングは月に 1 回程度継続して行い, これまでに取得した脊髄におけるシナプス前抑制の随意運動中変動, および脊髄回路の運動中の役割に関するモデル提案に関する論文を執筆した。

37. 新規蚊媒介性ウイルスの多型の構造解析

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

蚊由来ネギウイルス科に属する Tanay virus (TANAV) の新規構造とその機能的な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。これまでのクライオ電子顕微鏡を使用したトモグラフィー法や特定の対称性を利用した単粒子解析による粒子の三次元構造解析を行ってきた。その結果，特徴的な楕円状の構造や粒子表面の突起構造を再構築することに成功している。また，TANAV は構造を弾丸状や筒状に変化することが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。その構造変化には，粒子を構成するウイルスタンパク質である，ORF2 (楕円状構造形成タンパク質)と ORF3（突起構造形成タンパク質）の挙動が重要であると考えられた。そこで，TANAV の様々な構造における両タンパク質の挙動を解析する分子生物学的手法の確立を行なっている。現在, レクチンブロット法を使用することで, 感度良く糖タンパク質である ORF3 を検出することが可能となった。現在，様々な TANAV の多型の構造において，ORF3 が TANAV 粒子状に存在しているか，またウイルス遺伝子が含まれているかの解析を行なっている。以上の結果は，現在解析中の追加実験を含めて論文に再投稿する予定である。

38. 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･教養教育研究院）
村田和義（自然科学研究機構･生理学研究所）

【背景と目的】近年分離されたメドゥーサウイルスは，宿主細胞核を「ウイルス工場」として複製するが，その成熟過程は明らかではない。そこで，200 kV 電子顕微鏡を用いた解析を行い，ウイルス工場ならびに粒子形成過程の三次元構造解析を行うことが有用であると考えた。本研究では，メドゥーサウイルスに関して，宿主アカントアメーバ（以降アメーバ）細胞核内に形成するウイルス工場の経時的な三次元構造解析，ならびにウイルス粒子形成過程の経時的な三次元解析を，200 kV 電子顕微鏡を用いて行い，その感染サイクルを解明することを目的とした。

本年度はその中で，メドゥーサウイルスにおいて内部に DNA を持たない「中空粒子」が非常に高い割合で存在することに着目し，メドゥーサウイルスの粒子形成過程を含む感染サイクルを解明することを目指すことにした。

【方法】メドゥーサウイルスを感染させたアメーバ細胞について，感染後時間を追って樹脂包埋サンプルを調製し，200 kV 電子顕微鏡に供した。メドゥーサウイルス感染アメーバの培養上清にリリースされたウイルス粒子の形態について，クライオ電子顕微鏡を用いた単粒子解析を行った。

【結果】メドゥーサウイルス感染アメーバの培養上清を解析したところ，メドゥーサウイルスの段階的な形成過程を表す DNA の有無を指標とした 4 種類の粒子のすべてが，メドゥーサウイルス感染アメーバからそのままの形で放出されることがわかった。また，DNA を含む成熟粒子が，アメーバの細胞核の近くで特に多く見られたことから，メドゥーサウイルスはアメーバの細胞内に大量に中空粒子を合成し，細胞核のそばにいる一部の中空粒子のみが，細胞核から放出されたウイルス DNA を取り込み, DNA を取り込めなかった中空粒子も合わせて細胞外に放出されることがわかった。さらにクライオ電子顕微鏡解析により，メドゥーサウイルス粒子の１２個の頂点付近には，形状の異なる２種類のスパイクタンパク質が存在することも明らかとなった。

【考察】大量に中空粒子を合成し，一部の粒子のみが DNA を取り込むというメドゥーサウイルスの一見非効率的なウイルス粒子の形成過程は，これまでの巨大ウイルスの粒子形成過程としては例がなく，ウイルスの新しい増殖戦略の存在を示唆している。新しく見出した２種類のスパイクタンパク質が感染サイクルにおいてどのような役割を担っているかについては不明であり，今後解析していきたい。

39. ノロウイルスの高分解能構造解析

片山和彦，芳賀　慧，戸高玲子，石山涼翔
（北里大学大村智記念研究所･感染制御科学府ウイルス感染制御学）
村田和義，ソン･チホン
（生理学研究所）

ノロ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。本研究では，マウスノロウイル（MNV）およびヒトノロウイルス（HNV）様非感染性粒子（VLP）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，ノロウイルス感染の分子機構や粒子形成機構を明らかにし，ノロウイルスの感染制御に役立てる。

ノロウイルスに近縁のネコカリシウイルスでは，ウイルスが細胞上のレセプターに結合した際，宿主細胞にウイルス RNA を送り込むためのポータル様構造が粒子を裏打ちする構造タンパク質 VP2 の変形によって引き起

こされることが示された。我々は，ノロウイルスにおける VP2 の機能を解析するため，リバースジェネティックスシステムと，MNV レセプターである CD300lf 分子と VP2 を定常的に発現する Huh751/CD300lf/VP2 細胞を用い，レポーター遺伝子を内包した VLP（repVLP）の作出を行った。具体的には，MNV ゲノム ORF3 に蛍光タンパク質 UnaG, VENUS 又は, ルシフェラーゼ遺伝子（Nanoluc）を組み込んだプラスミドを細胞に導入すると，レポーター遺伝子組み込み MNV ゲノムの翻訳が行われ，複製サイクルが進行して VP2 以外のタンパク質が供給される。細胞内に VP2 を定常的にトランス供給しておくと，レポーター遺伝子を持つ RNA をパッケージした repVLP が形成される。本実験により作出した repVLP は，CD300lf，VP2 を発現していない細胞では，新生ウイルス粒子の産出はできない。

クライオ電子顕微鏡観察では，未だ解像度は低いが，基本的には MNV-VLP と表面構造が変わらず，粒子内に RNA が満たされた repVLP が観察可能であった。今後，トランス供給する VP2 に変異を導入してクライオ電子顕微鏡で観察し，VP2 の機能ドメインを明らかにしていく予定である。

40. シアノバクテリアのフィコビリソームの構造機能解析

広瀬　侑（国立大学法人豊橋技術科学大学大学院工学研究科応用化学･生命工学系）

シアノバクテリアは酸素発生型の光合成を行う原核生物であり，フィコビリソームと呼ばれる超分子複合体を光合成のアンテナとして持つ。近年爆発的に蓄積しつつあるゲノム情報により，シアノバクテリアのフィコビリソームの構造には種間で大きな多様性が存在することが示唆されている。また，フィコビリソームの構造や吸収波長を周囲の光波長依存的に応じて作り換える光色順化と呼ばれる能力を持つ種も存在する。しかし，フィコビリソームの高分解能の構造はまだほとんど報告例がなく，したがってその構造多様性の全体像や，多様な形態を生み出す構成タンパク質，それらの光波長依存的な制御には不明な点が多い。

本研究では，緑色光と赤色光に応答するタイプの光色順化におけるフィコビリソームの構造変化を明らかにすることを目的とし，*Pleurocapsa* 属，*Nostoc* 属，*Phormidium* 属など，複数のシアノバクテリアのフィコビリソームの単離を行った。特に，最も安定なフィコビリソームを単離できた *Nostoc* 属シアノバクテリアにおいて，緑色光と赤色光で培養した細胞からフィコビリソームを精製し，クライオ電子顕微鏡解析を行った。村田和義教授と Song Chihong 助教との共同研究により，フィコビリソームの３次元像の構築に成功し，フィコビリソームのコアおよびロッドを構成するディスクの数を決定することができた。遺伝子配列から予測されたフィコビリソームのモデルと，実際に観察された構造には不一致が見られた。フィコビリソーム構成タンパク質の配列と，フィコビリソームの構造との対応関係は，今後見直す必要があるかもしれない。現在，これらの結果をまとめた論文を執筆中であり，速やかに発表していきたい。また，今後は架橋剤などを検討し，より安定的にフィコビリソームを調製する手法の確立と，３次元像のさらなる高分解能化が必要である。

41. 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神経変性疾患の発症と密接に関わっている。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おり，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。一方，

アミロイド線維のメゾスコピックな形態が，タンパク質がおかれた溶液環境によって大きく影響を受けることが知られている。したがって，神経変性疾患の発症メカニズムの構造基盤を解明するためには，環境因子，変異の影響，時間変化も含めたアミロイド線維の体系的な構造解析が必要不可欠である。

本課題では，昨年度に引き続き，アルツハイマー病の発症に関わるアミロイドβタンパク質（40 残基および 42 残基）を対象とし，アミロイド線維の精密構造解析を行うことを目的とした。今年度は，野生型アミロイドβに加えて，および各種家族性変異型アミロイドβを対象に，地上もしくは宇宙（微小重力環境）にて形成したアミロイド線維のクライオ電子顕微鏡による立体構造解析を実施した。

アミロイド線維のクライオ電子顕微鏡画像を丹念にクラス分けして 3 次元立体構造を再構築しなおしたところ，地上で形成した野生型アミロイドβの線維に関しては，分解能 3.1 Å の構造を得ることができた。また，微小重力下で形成した野生型アミロイドβ線維に関しては，これまでに大きく分けて 2 つの構造（Type-1, Type-2）を報告していた。今回の再解析により，地上ではみとめられなかった特徴的な Type-2 線維は，さらに 2 つのサブクラスに分けられることが明らかとなった。さらに，微小重力環境において形成した変異型アミロイド β（D7N）の線維に関しても特徴的な線維構造を示唆する高分解能な電顕像を取得しており，現在構造の精密化を進めているところである。

微小重力下において形成される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，アミロイド線維が関わる疾患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。

42. 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）

真核生物の細胞表面から突出した毛状の構造を繊毛と呼ぶ。繊毛が，波打ち運動することで，単細胞生物が移動でき，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。

本研究では，筑波大学稲葉教授との共同研究により，繊毛運動を駆動させるモータータンパク質であるダイニンに，直接結合する DYBLUP タンパク質を発見した。そして，モデル生物である緑藻クラミドモナス（*Chlamydomonas reinhardtii*）を用いて，DYBLUP の局在を昨年度報告した。その後，ダイニンの活性をリン酸化により制御するタンパク質の繊毛内の局在を明らかにするために，分子遺伝学的方法によりラベル導入を試みている。現在時点ではラベル導入法の諸検討を行っている段階であり，構造データ収集までにはまだ時間を要する見込みである。

サブプロジェクトとして，繊毛運動を行う生物であるプラナリアの腹部の繊毛の観察を行った。プラナリアが滑走運動中に急速凍結法を行うという新たな手法を村田博士と共同で開発し，凍結置換後に，形態を走査型電子顕微鏡で観察した。その結果，プラナリアが停止している状態から滑走運動を始めるときに，繊毛密度を大きく変化させること，また，繊毛の形態が大きく変化することが明らかとなった。現在，この結果を論文にまとめている。

43. 心臓神経節細胞における神経伝達物質ヒスタミンの作用機序解明

佐藤　彩（北里大学大学院医療系研究科）
石橋　仁（北里大学医療衛生学部）

アレルギー発症時には心臓周囲の肥満細胞から放出されたヒスタミンが副交感神経節後神経である心臓神経節細胞を興奮させる。しかし既存の方法ではヒスタミン受容体サブタイプ毎の機能解析が困難であった。本研究の目的は，受容体サブタイプを個々にノックダウンして，二光子顕微鏡による機能解析を行うことである。そこで本共同研究では，今年度までに受容体サブタイプを個々にノックダウンするための shRNA，および Cripr-Cas9（gRNA）の配列設計と作製を進めた。今後これらを用いて，生体内で心臓神経節細胞特異的なノックダウンが可能かどうかを調べる予定である。また，受容体サブタイプ（H1R, H2R）を可視化するために H1R-GFP，H2R-GFP 作製し，HeLa 細胞での発現を確認した。今後，2 光子顕微鏡のイメージングでヒスタミン受容体の機能変化を観察する予定である。

44. 多光子顕微鏡のための超短光パルスファイバーレーザーの開発

藤　貴夫（豊田工業大学）
村越秀治（生理学研究所）

多光子顕微鏡の光源としては，高いピーク出力をもったチタンサファイアレーザーを使うことがほとんどであるが，波長は 650-1000 nm 程度に限定されている。3 光子顕微鏡で有用な波長である 1300 nm と 1800 nm の波長で発振し，十分なピーク出力と平均出力をもったファイバーレーザーを開発して，それらを多光子顕微鏡に応用することを本研究の目的とする。豊田工業大学において開発したファイバーレーザーを生理学研究所の多光子顕微鏡室に持ち込み，実際に生きた動物を対象とした実験を行うことを目標としていた。

1800 nm のレーザーは，エルビウム添加ファイバー（Er:fiber）レーザーを基本としている。50 MHz の繰り返し周波数でフェムト秒パルスを発生する Er:fiber 発振器からの出力について，音響光学素子（AOM）によって繰り返し周波数を 500 kHz にしてから増幅し，その 1550 nm の波長をラマンシフトファイバーによって，1800 nm 程度にまで変換した。その出力パルスを 10 ps 程度まで伸長し，ツリウム添加フッ化物ファイバーを増幅媒質とした増幅器によって増幅することで，2 μJ 程度の出力を得た。それに対して，パルス圧縮を行い，150 fs 程度のパルス幅をもったパルスを得た。このレーザーシステム出力を多光子顕微鏡に導入した。

3 光子顕微鏡では，まず，直径 0.2 μm の蛍光ビーズを用いて空間分解能の計測を行った。蛍光ビーズを 14%アクリルアミドゲルに包埋し，3 光子顕微鏡下で観察を行ったところ，空間分解能は x-y 方向が 0.75 μm，z 方向が 2.1 μm（励起体積 0.72 fL）であった。920 nm の 2 光子励起の場合と比較しても遜色のない空間分解能が得られた。

また，TurboFP635 を HeLa 細胞に発現させ，3 光子顕微鏡下での観察に成功した。吸収のピークは 588 nm にあり，1800 nm の 3 分の 1 が 600 nm であることから考えても波長が近く最適なプローブである。さらに，シアン蛍光タンパク質（mTurquoise2）と緑色蛍光タンパク質（mEGFP）の 4 光子励起蛍光イメージングにおいても，高いコントラストでの観察に成功した。

次に，海馬スライスの CA1 領域にアデノ随伴ウイルスを用いて TuboFP635 を導入し，3 光子顕微鏡下で観察を行った。高いコントラストで細胞体や個々のスパインの観察に成功した。

そして，個体マウスにおいて神経細胞観察を試みた。生後 9 週齢マウスの大脳皮質において，TurboFP635 をコードするアデノ随伴ウイルスを脳表面から 1200, 800, 400, 200 μm の位置に導入した。ウイルス導入から 14 日後に観察を行った。この結果，大脳皮質深部 800 μm 程度において神経細胞体の観察に成功した。

45. 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）

膵島の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 型糖尿病治療に膵島移植という根治療法を追加できる。本研究の目的は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で，前年度にラット膵島のガラス化保存デバイスとしてナイロンメッシュと同等の有効性を証明したシルクフィブロイン製スポンジ（SFS）の生体適合性に着目し，今年度は加温膵島を SFS デバイスに搭載したままで糖尿病モデルラットの腎被膜下に移植する実験を行った。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，直径 8-mm の SFS ディスクに 550 個を搭載して SSV 法によってガラス化保存した。この 550 個という膵島量は，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 1 匹の治癒に必要な下限量である。また移植膵島の生着の成否は速やかな血管新生誘導によって影響されるので，SSF スポンジに血管上皮細胞成長因子（VEGF）を添加した実験区も設定した。新鮮対照膵島 550 個の腎被膜下移植における治癒率（血糖値<200 mg/dl）は 60％ だったが，ナイロンメッシュデバイス上でガラス化・加温し，回収した比較対照膵島 550 個を移植しても治癒例は得られなかった。SFS デバイスをスキャフォルドにも利用するガラス化・加温膵島の移植においても治癒率は 0％ だったが，VEGF のトランスポーターとしての役割を SFS デバイスに追加した場合には 33 ％ のレシピエントラットの血糖値が正常化した。以上, SFS はガラス化デバイスとしてだけでなく，移植膵島のスキャフォルドやサイトカインの DDS デバイスとしても機能できる素材であると実証した。

46. 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（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。また，ラット新規刷り込み遺伝子をマウス，ヒトと比較した結果，卵子への H3K27me3 修飾，ZFP57 結合モチーフの出現，内在性レトロウイルスプロモーターの挿入など，種特異的な刷り込み発現が確立される複数のメカニズムがあることが明らかになった。このように，ラットのインプリントームの特徴づけは，刷り込み遺伝子発現の保存

性と種特異的刷り込みの成立機序の解明につながる。さらにウサギを利用した同様の実験を計画している。

また以前我々は PRDM14 遺伝子改変ラットを作製し，始原生殖細胞（PGC）の RNA-seq 解析を行っている（Development, 2020）。さらに，ラット ES 細胞からエピブラスト様細胞（EpiLC）および PGC 様細胞（PGCLC）への誘導に成功し，PGCLC の精巣移植により精子誘導および産仔に成功した（Science, in press）。哺乳動物での試験管内生殖細胞再構築系を利用した繁殖の成功はマウスに次いで２例目である。本研究はマウスとヒト間の進化学上のギャップを埋め，各動物の発生・生殖工学的理解を深める極めて重要な意義があると言える。

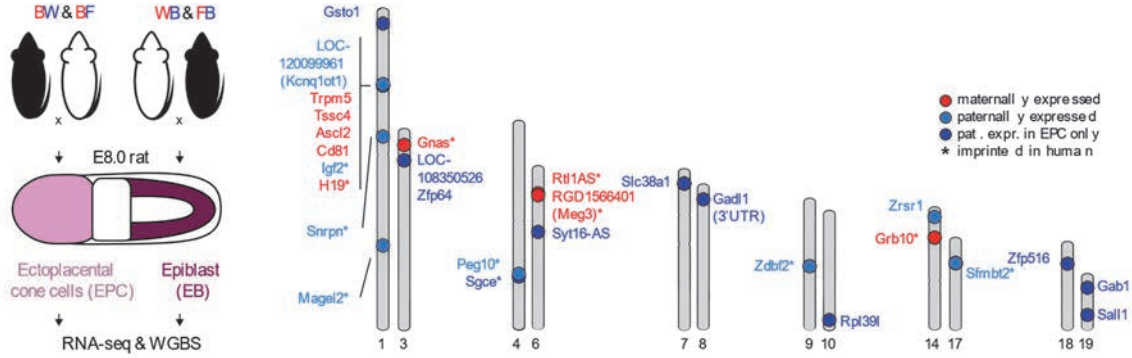


図１．ラット胚・胚体外組織のインプリントーム解析
（左）BNラットとWKYラットもしくはF344ラットとの交雑F_1世代胚よりRNA、DNAを回収。
（右）多型を利用してRNA-seqデータの対立遺伝子間の偏りを評価し、刷り込み遺伝子を同定。

47. ラットにおける効率的な精子幹細胞移植法の確立

中村隼明（広島大学大学院統合生命科学研究科）
平林真澄（生理学研究所）

精子幹細胞は，予め生殖細胞を除去した宿主の精巣内に移植すると，生着して完全な精子形成のコロニーを形成できる。しかし，ラットではマウスにおいて確立されたブスルファンの投与による生殖細胞の除去が技術的に困難であり，現状ではドナー精子幹細胞のコロニー形成効率が低い。そこで，本研究はラットにおいて生殖細胞不全モデルと，ドナー精子幹細胞の運命を制御する技術の有用性を検討し，実用レベルの移植法を確立することを目的とする。本年度は，ラットにおける精子幹細胞の移植法を確立し，得られた結果をますと比較することで，基礎的な知見を収集した。ドナー細胞は，全身で td-Tomato を発現するラット（Rosa-tdTomato: 生理学研究所の平林真澄博士より譲渡）の精巣を単一細胞に解離して調整した。2 週齢の野生型ラットにブスルファン 12 mg/kg を腹腔内投与し，3 週間後に移植の宿主として用いた。精巣細胞の懸濁液 (約 5×10^5 個) を宿主ラット精巣の精細管内に注入し，90 日後に tdTomato 陽性の精子形成コロニーの数と長さを測定した。その結果，精巣細胞 5×10^5 個あたりのコロニー数は，ラットとマウスと同程度であった（12±1 個 vs 13.8±1.7 個）。一方，コロニーの長さは，ラットがマウスと比較して有意に長いことが明らかとなった（8.0±1.2 mm vs 6.1±0.3 mm）。ブスルファンを投与した宿主ラット精巣の 90％ 以上の領域において，内在性生殖細胞に由来する精子形成が回復していた。このため，宿主精巣内では，ドナーと宿主由来の精子幹細胞の細胞競合を起こり，ドナー精子幹細胞は本来の活性を十分に発揮できなかったと推察される。生殖細胞の形成に不可欠な *Prdm14* 遺伝子の機能破壊ラット（生理学研究所の平林真澄博士より譲渡）の精巣を解析した結果，生殖細胞は完全に枯渇していたが，その支持細胞であるセルトリ細胞は野生型と同程度残されていることが明らかとなった。以上の結果より，ドナー精子幹細胞を *Prdm14* 機能破壊ラットの精巣へ移植することで，内在性精子幹細胞との細胞競合がなくなり，コロニー数と長さが改善されると期待される。

48. 高糖摂食に伴うショウジョウバエ腸管上皮細胞の形態変化の電子顕微鏡を用いた解析

丹羽隆介（筑波大学生存ダイナミクス研究センター）
泉　裕士（生理学研究所細胞構造研究部門）

自然界に生息している生物は，様々な種類の食糧を摂取するジェネラリストと，特定の食糧のみを摂取するスペシャリストに大きく分けることができる。モデル動物であるショウジョウバエ属昆虫の場合，キイロショウジョウバエ *Drosophila melanogaster* は様々な糖度の野菜や果物，腐敗した植物を摂取しているジェネラリストである。一方で，セイシェルショウジョウバエ *D. sechellia* は，低糖度の食物であるヤエヤマアオキのみを摂取するスペシャリストである。そして，我々の先行研究から，キイロショウジョウバエと比較して，セイシェルショウジョウバエは高糖食に対する適応能力が低いこと，そして高糖食で飼育したセイシェルショウジョウバエ成虫の腸上皮構造には顕著な形態異常が生じることが分かっている（未発表）。本研究では，餌中の高糖食摂取時の２種のショウジョウバエ成虫の中腸上皮細胞の形態を，透過型電子顕微鏡を用いて解析することを目的とした。

方法：キイロショウジョウバエあるいはセイシェルショウジョウバエ成虫を，通常餌（8 % グルコース含有）あるいは高糖餌(30 % グルコース含有)で数日間飼育し，解剖によって腸を摘出し，組織を固定した。その後，固定サンプルの超薄切片を作製し，腸管腔の状態や腸管上皮細胞の形態を透過型電子顕微鏡で観察した。

結果と考察:キイロショウジョウバエ成虫においては，通常餌あるいは高糖餌のいずれを摂取させた場合でも，腸管は正常な単層上皮構造を保持した。一方で，セイシェルショウジョウバエ成虫においては，高糖餌で飼育した際, 腸上皮細胞に高頻度に異常な重層化が認められた。こうした重層化は通常食で飼育したセイシェルショウジョウバエ成虫の腸管では観察されなかった。他方，微絨毛や septate junction の構造を見る限り，上皮細胞の極性に明確な異常を見出すことはできなかった。以上の透過型電子顕微鏡を用いた観察は，併行して行っていた上皮細胞極性マーカーによる免疫染色のデータと一致した。以上の結果から，高糖食は，キイロショウジョウバエの腸上皮には大きな影響を与えないが，セイセルショウジョウバエの腸上皮の構築に，細胞の頂部―基部軸の極性制御とは別の仕組みを通じて影響を及ぼすことを結論づけた。

現在，一連の表現型を記載した論文の投稿を準備中である。

49. 嗅覚から消化器応答にいたる神経回路のマッピング

村田航志（福井大学学術研究院医学系部門脳形態機能学分野）

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

蛍光タンパク質を発現誘導する PRV を成体マウスの胃壁もしくは顎下腺に注入し，2, 3, 4, または 5 日後に動物を灌流固定し，脳・脊髄を摘出した。摘出したサンプルの薄切標本を作成し，免疫染色により蛍光タンパク質発現の見られる細胞を可視化，顕微鏡撮影し，標識されたニューロン群の分布を評価した。これまでに，副交感神経出力核である迷走神経背側運動核および唾液核をはじめ，延髄縫線核や視床下部，扁桃体領域など複数の領域に PRV 感染によって蛍光タンパク質を発現するニューロン群が見いだされた。PRV 注入から 4-5 日後のサンプルでは, 嗅覚野領域においても PRV 感染ニューロンが観察された。引き続き，PRV 感染ニューロン群の脳内分布を評価し，胃および唾液腺の制御に関わる神経回路と嗅覚野の関与を明らかにする。

50. 末梢臓器支配の神経経路解析

檜山武史（岡山大学）

自律神経や感覚神経などの末梢神経は様々な臓器を支配している。例えば, 交感神経系は脳の室傍核や，延髄の吻側延髄腹外側部 (RVLM)のニューロンが脊髄の中間外側核に投射している。そこにある節前ニューロンににシナプスを形成し，その神経信号が脊髄神経節（交感神経鎖）や椎前神経節（上頸神経節，腹腔神経節，上腸間膜神経節，大動脈腎動脈神経節など）を介して各臓器に伝達される。

こうした神経情報が臓器に関わらず一様なのか，臓器ごとに異なる信号を送っているのかは，結論は出ていない。また，自律神経節や後根神経節の中で支配臓器ごとの分布がどうなっているのか，明らかになっていない。もしも, 臓器ごとに異なる信号を送っているのであれば, 中枢から臓器に至る伝達経路も臓器ごとに独立している可能性がある。

本研究は，シナプスを超えて逆行性に感染する仮性狂犬病ウイルス（Pseudorabies virus，PRV）を用いて臓器から上位中枢に至る経路を標識し，支配臓器ごとの経路を比較することを目的に実施した。

マウスの腹腔神経節が支配している臓器の中から２か所，上頸神経節や星状神経節が支配している臓器の中から２か所を選び，緑色蛍光タンパク質（Green fluorescent protein，GFP）または赤色蛍光タンパク質（Red fluorescent protein，RFP）を発現する PRV を感染させた。２日目および３日目に灌流固定し，神経節や脊髄，脳を取り出して観察した。

2 日目に固定したマウスでは交感神経節までしか蛍光が観察されなかった。一方，３日目に固定したマウスでは，蛍光は弱いものの，脊髄の中間外側核まで蛍光が観察された。しかし，その上位にあたる脳では蛍光は観察されず，抗 GFP 抗体や抗 RFP 抗体を用いた免疫染色を行っても発現を検出することができなかった。

次年度，PRV の投与量と固定までの時間を調整し，解析を進めていく予定である。

51. ウイルス感染細胞の電子顕微鏡観察

中山英美（大阪大学微生物病研究所）
武市裕介，山田幸子，ソン チホン，村田和義（生理学研究所）

SARS-CoV-2 を感染させた培養細胞において光学顕微鏡下で空胞様変性が観察された。これがウイルス粒子 を含む ERGIC（小胞体-ゴルジ体中間区画）であるか否かを検証するため，光顕電顕相関観察法を用いて光顕下で観察される空胞様変性と同じ場所を電子顕微鏡下で観察した。個々の細胞の場所を特定できるように番地のついた碁盤目状の格子が施された特殊なシャーレの中で Vero 細胞を培養し，これに SARS-CoV-2 を感染させた。そして，ウイルス増殖期に空胞様変性を起こした細胞とその空胞の光顕像を記録した。これをグルタルアルデヒドで固定して完全に無毒化したあと, 阪大微研から生 理学研究所に送付した。生理研では，その固定試料を脱水後樹脂に包埋したあと，シャーレに記された番地を頼りに光顕像と同じ場所を切り出して薄切し，電子顕微鏡下でその空胞変性の様子を観察した。結果，細胞外には複製されたウイルス粒子が多数観察されたが，空胞変性した ERGIC において同様のウイルス粒子は観察されなかった。引き続き空胞変性を起こした細胞内を電子顕微鏡で観察した結果，ERGIC とは異なる小胞内で増殖するウイルス粒子を確認することができた。このことから，空胞変性はウイルスの感染により引き起こされるが，複製されたウイルスが溜まって引き起こされるものではないことがわかった。

【計画共同研究報告】

計画共同研究報告

〔　目　　次　〕

1. 脳の左右を決定する新規遺伝子変異……161
2. 新規 TRP チャネル病の発症メカニズム解明……161
3. 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……161
4. CRISPR/Cas9 system による受容体特異的 Cre ノックインマウスの作製と in vivo imaging による虚血再灌流障害機構の解明……162
5. 神経傷害に対する PACAP の神経細胞死抑制機構の解析……163
6. L-DOPA 受容体 GPR143 の局在解析 ……163
7. RNA 顆粒の動的性質と学習・記憶との関連の解析……164
8. 哺乳類の生殖機能を制御する脳内メカニズム解明のための遺伝子改変モデルの作製……164
9. 選択的シナプス形成の制御メカニズム……165
10. 神経細胞の個性がつくる機能的回路形成メカニズム……166
11. 脳の構造形成，機能化に関わる遺伝子の解析……166
12. TRPC6 KYD 変異体マウスの作製……167
13. 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……168
14. 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……168
15. 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
16. Olig2 アストロサイトに特異的に発現するトランスポーターSLC7A10 の同定 ……170
17. 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
18. GLP-1 の<求心性迷走神経→視床下部→遠心性交感神経>軸を介した代謝調節機構の解明 ……171
19. 生理活性脂質が TRPV に与える影響の評価……172
20. 温度感受性 TRP チャネル活性化における細胞膜脂質の役割……172
21. 7 回膜貫通型の温度受容体候補分子を介した温度センシングの生理学的解析 ……173
22. 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 ……173
23. 生後脳内を移動する新生ニューロンと周囲の細胞群の超微細構造の解析……174
24. 三次元走査型顕微鏡観察技術を用いたシナプス結合の定量的微細構造解析法の確立とその応用……174
25. Serial block-face 走査型電子顕微鏡を用いた腸管粘膜固有層内細胞集団の発生学的解析……175
26. 社会ストレスによる脳組織の超微細な細胞生物学的変化とその機序・役割の解明……176
27. Study of wheat male meiosis by serial block-face scanning electron microscopy ……176
28. ヒト副腎皮質疾患における副腎組織及び腎組織の細胞内小器官の超微形態学的変化に関する検討……177
29. 原索動物神経回路の三次元超微細形態学的解析……177
30. 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……178
31. 大脳皮質ニューロンの微細構造の解析……179
32. 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……179
33. 神経幹細胞からニューロン，グリア細胞への分化過程の形態学的解析……180
34. バクテリア DNA 凝集構造の位相差電子顕微鏡による観察……180
35. 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……181
36. 先端電子顕微鏡による海底微生物の細胞構造解析……181
37. 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 ……182

38. クライオ電子顕微鏡を用いた CD38 の膜トポロジーの解明 ……182
39. Major vault protein により構成される原生生物のオルガネラ kinetocyst の分子構築……183
40. ミクログリア生理機能の探索と病態への検証……184
41. 多光子顕微鏡を用いた嗅球ニューロンのターンオーバーを制御するグリア細胞及び血管の機能解析……185
42. 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 ……185
43. 海馬シナプスにおける入力側依存性左右差の形成機構……186
44. 皮質・基底核・視床回路を解析する研究……186
45. 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……187
46. 光計測と光刺激を用いた脳機能作動原理の研究……187
47. 体液恒常性を制御する神経機構の解明……188
48. 大脳皮質運動野から脊髄および大脳基底核へ投射する神経経路の機能解明……189
49. 意欲行動における腹側海馬-腹側線条体回路の機能解明……189
50. 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……190
51. 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……190
52. 中枢神経系における L-DOPA 受容体 GPR143 の役割解明 ……191
53. 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……191
54. ウイルスベクターを用いた嗅覚中枢神経回路の構造と機能の解析……192
55. 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……192
56. 報酬学習の神経回路機構解明に資する技術開発……193
57. ウィルスベクターを用いた末梢-中枢神経回路ネットワークの解明……193
58. 脳の発生に関わる脂質関連タンパク質の研究……194
59. 自己免疫性小脳性運動失調症に関連する抗神経抗体の標的抗原蛋白の同定……194
60. イネキシンヘミチャネルの開閉制御機構……195
61. 生物多様性に基づく膜タンパク質の生理機能と分子動作原理の解明……196
62. 動物の光受容タンパク質オプシンのダイナミックな機能変換を利用した光遺伝学ツールの開発……196
63. 「新規骨格を有する 2 光子励起色素」創製を目指した設計・合成・構造解析・機能評価研究……197
64. 安静時脳内ネットワークのダイナミズムの臨床応用……198
65. 経頭蓋静磁場刺激によるヒト脳可塑性の神経生理学的探索……198
66. 頭蓋内電極を用いたてんかん病態下の脳内ネットワーク機構とてんかん病態の解明 ……199
67. 脳波ダイナミクスに着目した脳卒中機能回復原理の解明……199
68. 運動異常症の脳内電位の同期現象……200
69. 下垂体後葉ホルモンの分子・機能進化に関する研究……200
70. Neural Mass model によるヒト脳波の興奮/抑制性バランスの定量化……201
71. 小胞放出を抑制した海馬シナプスの３次元微細形態解析……202

1. 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，この変異を導入したノックインマウスを作成し，予想通りの右および左のフェノタイプを示すことを証明することを試みた。同定した遺伝子変異（右のフェノタイプを左のフェノタイプに変化させる）を CRISPR/cas9 法を用いて C57BL6 マウス受精卵に導入し，2-cell stage にて凍結し，それらをドライシッパーにて IST Austria に送付，embryo transfer で産仔を得ることができた。ところが，得られた産仔の遺伝子解析で期待された変異を持つ個体が見つかったものの，周辺に off target とみられる InDel 変異が存在するものばかりで，目的変異のみの個体はまだ得られていない。さらに新たな guide RNA を選択して同様に変異を持つ産仔が得られたが，やはり InDel 変異を伴うものばかりという結果になった。次年度は，conventional な方法に戻って目的遺伝子変異のみが挿入されたマウスの作成を目指す。それが得られた場合は，左右入力 CA3-CA1 シナプスのサイズを測定することによって，フェノタイプを確認する。

2. 新規 TRP チャネル病の発症メカニズム解明

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

胎盤における母子間 Ca^{2+} 輸送は，脳や心臓などの胎児組織の正常な発達にとって必須であるとともに，胎児の骨形成のために重要な役割を果たしている。我々は Ca^{2+} 選択性チャネル TRPV6 遺伝子変異によって母子間 Ca^{2+} 輸送低下による新生児期副甲状腺機能亢進症を発症することを報告した。本研究の目的は，本疾患の原因変異をゲノム編集によってマウスに導入し，疾患の発症メカニズムを個体レベルで明らかにすることである。

本年度は，細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇を起こす G450E 変異体，および細胞膜に移行できない R424Q 変異体の作成を行った。昨年度に作成した両変異体の F0 マウスについて生理学研究所において凍結受精卵を作成し，岩手医科大学動物研究センターに輸送後，個体化を行った。2 ラインとも個体化および系統維持に成功し，現在，オフターゲット除去のためバッククロスを行っている。

今後，バッククロスの完了したこれら 2 ライン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）についても作成・解析を行う。さらに母体ビタミンD欠乏が疾患の発症にどの程度関与しているのかを明らかにし，疾患発症には遺伝子変異だけでなく環境因子も重要であることを証明したい。

3. 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，糖新生，摂食および生殖機能を制御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，

後脳の上衣細胞と糖新生，摂食および生殖機能を制御する神経細胞間の神経伝達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（CAG-STOP floxed-WGA-2A-GFP/ Vim-Cre-ERT2 マウス）を作出した。CAG-STOP floxed-WGA-2A-GFP/ Vim-Cre-ERT2 マウスの後脳脳室に，ジメチルスルホキシドに溶解したタモキシフェン（10 mg/mL）を 1 μL 投与した。投与から 1 週間後，脳を採材し，免疫組織化学染色法により WGA の局在を解析した。

WGA の免疫陽性反応は，第 4 脳室および脊髄中心管の上衣細胞および脳幹実質の細胞において確認された。また, 側脳室や第 3 脳室などの前脳脳室の上衣細胞では，WGA の免疫陽性反応は確認されなかった。

以上から，後脳の上衣細胞は脳幹の細胞との間に神経伝達経路を形成していることが明らかとなった。したがって，後脳の上衣細胞が低栄養を感知すると，シグナルを脳幹の細胞へと伝達し，糖新生，摂食および生殖機能を制御する可能性が示唆された。

4.　CRISPR/Cas9 system による受容体特異的 Cre ノックインマウスの作製と in vivo imaging による虚血再灌流障害機構の解明

城　愛理（順天堂大学 大学院医学研究科）
平林真澄，三竇　誠（生理学研究所）

申請者は脳虚血再灌流障害における血管細胞応答の時空間ダイナミクスを解明するため，ペリサイト特異的にカルシウムセンサーを発現するマウスを作製することを目的とした。2021 年度は，CRISPR/Cas9 システムにより，ペリサイト特異的に Cre を恒常的に発現するノックインマウスを作成するとともに，野生型マウスを用いたイメージングの予備検討を行った。

1) 細胞特異的 Cre 発現マウスの作成

CRISPR/Cas9 システムにより, ペリサイト特異的に Cre を恒常的に発現するノックインマウスを作成し，in situ hybridization (RNA scope)によって，ペリサイトでの Cre の発現を確認した。今後はこのマウスを, CAG-loxP-stop-loxP-GCaMP-F2A-mCherry 配列を持つマウス（RIKEN BRC より入手予定) と交配させ，ペリサイト特異的に GCaMP を発現するマウスを得，2）更にこのマウスを用いて虚血再灌流モデルにおける生体カルシウムイメージングを行う予定である。

2) 虚血再灌流時のカルシウムイメージングの予備検討

2021 年度は生体カルシウムイメージングのための予備検討として，野生型マウスを用いて以下の 2 点を行った。まず，2 次元レーザードップラー血流計を用いて虚血処置後の虚血に陥る範囲，および再開通処置によって血流が戻る範囲を特定し，イメージングの際に頭蓋骨を削る範囲を決めた。更に，頭蓋骨に窓を開けてヘッドプレートをつけた状態で虚血および再開通処置を行い，窓内に虚血・再灌流範囲が入ることを確認した。

今後の予定としては，ペリサイト特異的に GCaMP を発現するマウスが得られ次第，虚血再灌流における軽シウムイメージングを開始する予定である。

5. 神経傷害に対する PACAP の神経細胞死抑制機構の解析

平林敬浩（湘南医療大学 臨床医学研究所）
塩田清二（湘南医療大学 薬学部）
山下道生（星薬科大学 薬学部）
平林真澄，三竇　誠（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，涙液，汗など外分泌促進作用等，多様な機能を担っている。さらに近年，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 3 種の受容体（PAC1 受容体，VPAC1 受容体，VPAC2 受容体）のうち，PAC1 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。

本研究において，PACAP による神経細胞死抑制作用の分子機構を明らかにすることを目的として PAC1 受容体遺伝子改変マウスを作製し，PAC1 受容体遺伝子ヘテロ欠損マウス同士の交配したところ，PAC1 受容体ホモ欠損マウス数はメンデル比に比べて少ない傾向が認められた。この結果から，PAC1-R 遺伝子の欠損は胎生致死，あるいは生後まもなくの死亡を引き起こす傾向がある可能性が考えられた。

また，PAC1 受容体遺伝子ヘテロ欠損マウス同士の交配で得られた 胎仔（E14.5）より前脳を採取して神経前駆細胞の単離培養をした。その結果，野生型マウス，PAC1 受容体遺伝子ホモ欠損マウス，それぞれ神経前駆細胞間の増殖速度に有意差は認められなかったが， PAC1 受容体遺伝子ホモ欠損マウス由来細胞の方が遅かった。上述のように， PAC1-R 遺伝子の欠損は胎生致死，あるいは生後まもなくの死亡を引き起こす可能性があることから，この結果は PAC1 受容体遺伝子欠損により神経前駆細胞が細胞死を引き起こすことが起因している可能性が考えられる。この点については今後更なる解析が必要であると思われる。

6. L-DOPA 受容体 GPR143 の局在解析

増川太輝（横浜市立大学 医学部）
平林真澄，三竇　誠（生理学研究所）

我々は，L-DOPA が神経伝達物質仮説を提唱し，それを実証してきた。L-DOPA は G タンパク質共役型受容体である GPR143 を媒介して生理作用を示すことが知られているが，その生体内分布や，詳細な局在は明らかとなっていない。そこで，GPR143 の発現をより詳細に明らかにすることを目的とし，GPR143 に 3×flag を付加したノックイン（KI）マウスを作製することにより検討した。

ゲノム編集技術を用いて，GPR143 の N 末端に 3×flag を付加したマウスを作製したところ，7 匹のファウンダーマウスが得られた。これらの動物のうち，1 匹に正しく 3×flag が挿入されていることを sequence により確認した。この動物を交配し，複数個体の KI マウスを得た。3×flag-GPR143 発現をタンパク質レベルで確認するため，ウェスタンブロット法を用いて検討したところ，3×flag-GPR143 の発現は眼において認められたものの，その他，中枢神経系や末梢臓器においては確認できなかった。さらに，免疫染色を行ったが，3×flag-GPR143 の発現は確認できなかった。GPR143 をタンパク質レベルで検出するには，抗 flag 抗体を用いたウェスタンブロットや免疫染色では，検出感度が不十分であると考えられる。今後は，付加するタグの種類や部位の変更，検出感度を上昇させる方法の導入が必要である。

7. 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）
平林真澄，三寶　誠（生理学研究所）

神経細胞に存在する RNA 顆粒は液-液相分離によって形成され，その流動性の制御が生理機能や疾患と密接に関わると考えられている。例えば生理条件下では，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果たす。一方，筋萎縮性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, RNA 顆粒に疾患原因遺伝子産物である TDP-43 や FUS が凝集化し，それが疾患の原因になると考えられている。しかし，RNA 顆粒の流動性の制御と生理機能・疾患との関連については多くが未知である。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製し，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計測することを目的とした。

昨年度（2020 年度）は，G3BP1 遺伝子に GFP 遺伝子をノックインしたマウスを作製し，大脳皮質由来神経初代培養細胞を蛍光顕微鏡下で観察することにより，G3BP1-GFP の経時的蛍光イメージングを行った。今年度（2021 年度）は，RNG105-GFP ノックインマウスの作製と蛍光イメージング解析を行った。

RNG105-GFP の蛍光イメージングでは，まず，成熟マウス脳の切片を作製し，大脳皮質や海馬神経の樹状突起における RNA 顆粒への RNG105-GFP の局在化を調べた。予想に反して，RNG105-GFP の顆粒状の局在化は認められなかった。そこで，RNA 顆粒の形成を促進するストレス条件下での解析を行うことにした。大脳皮質由来神経初代培養細胞に亜ヒ酸を投与して酸化ストレスを誘導し，経時的蛍光イメージングを行ったところ，ストレス依存的に RNG105-GFP が顆粒へ集積することを観察した。以上の結果は，GFP のノックインにより RNG105 が RNA 顆粒への局在化能を失ったわけではないことを示した。内在性の RNG105 は生理条件下でも RNA 顆粒に局在化することを考え合わせると，水親和性の高い GFP の融合により，RNG105 の液-液相分離を起こす臨界濃度が上昇したと推察された。したがって，今回得られた RNG105-GFP ノックインマウスは, RNA 顆粒の凝集化が起こりやすくなると考えられる神経変性疾患，ストレス，加齢などにおける研究に使用することが適していると考えられた。

8. 哺乳類の生殖機能を制御する脳内メカニズム解明のための遺伝子改変モデルの作製

束村博子，上野山賀久，井上直子，長江麻佑子，山田晃熙，滝沢麻里奈（名古屋大学大学院生命農学研究科）
平林真澄（生理学研究所）

本研究では，神経内分泌学研究に重要な実験動物モデルとして遺伝子改変ラットを作製し，生殖中枢キスペプチンニューロンやそれに関連するニューロンの機能解析を通じて，キスペプチンニューロンを中心とした哺乳類の生殖機能を制御する脳内メカニズムの解明を目指している。キスペプチンは性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) 分泌を制御する神経ペプチドであり，卵胞発育と排卵という生殖のふたつの重要なイベントを制御する。これまでに，本研究で作出した遺伝子改変ラットなどを用いて，視床下部の弓状核に位置するキスペプチンニューロン群が卵胞発育を制御し，前腹側室周囲核に位置するキスペプチンニューロン群が排卵を制御することを明らかにしてきた。

本年度は，本研究で昨年度に作製した *Kiss1*-Cre ラットを評価する目的で，同ラットを 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と交配した。その結果，キスペプチンニューロンを常時可視化できるラットの作出に成功した。さらに，キスペプチンニューロン常時可視化ラットを用いて，出生直後から成熟期までのキスペプチンニューロンの発達を継時的に解

析した。現在，本実験結果を論文にまとめている。

また，キスペプチンニューロン常時可視化ラットより，弓状核および前腹側室周囲核の細胞を単離し，蛍光活性化セルソーティングによるキスペプチンニューロンの分取のための予備実験を実施している。

さらに，*Kiss1*-Cre ラットの弓状核にエストロジェン受容体 α のコリプレッサー候補の shRNA を投与し，*Kiss1* 発現に及ぼす影響を検討したところ，候補コリプレッサーのノックダウンにより弓状核における *Kiss1* 発現細胞数が有意に増加することを見出し，候補コリプレッサーがエストロジェン依存性の *Kiss1* 発現抑制を仲介することを示唆した。現在，本実験結果を論文にまとめている。

また，本研究で作製した *Oprk1*-Cre ラットを評価する目的で，同様の実験を実施した他，2 群のキスペプチンニューロンの生理的役割を明らかにする目的で，小胞グルタミン酸トランスポーターVGLUT2，エストロジェン受容体 α，ダイノルフィンを標的とし，各遺伝子の前後に loxP 配列を挿入した floxed ラットの作製に向け，ターゲティングベクターの作製を進めた。

9. 選択的シナプス形成の制御メカニズム

金子涼輔（大阪大学大学院生命機能研究科）
平林真澄，三寶　誠（生理学研究所）

ニューロンは適切な相手を選択してシナプス形成する。例えば，小脳プルキンエ細胞は 1 本のみの登上線維と結合する。シナプス形成を制御するメカニズムは解明されつつあるが，シナプス結合パートナーの選択メカニズムには不明な点が多い。

本研究では申請者らの知見「個々のニューロンごとに異なるクラスター型プロトカドヘリン（cPcdh）の発現パターン」（Kaneko et al, J Biol Chem, 2006; Hirano, Kaneko et al, Front Mol Neurosci, 2012）を足がかりとして，選択的シナプス形成の制御メカニズムを解明する。

具体的には，マウス小脳の登上線維-プルキンエ細胞シナプスをモデルとし，仮説「同じ cPcdh を発現するニューロン同士が結合する」を検証する。そのため，以下 2 課題を行う。[1] cPcdh 遺伝子改変マウスの作製：58 種類の cPcdh のうち S-type cPcdh に分類される 53 種類が選択的シナプス形成へ関与すると想定されている。本研究ではゲノム編集法を用いて，この S-type cPcdh の遺伝子数を減少させた遺伝子改変マウスを作製する。その後，本マウスの登上線維-プルキンエ細胞シナプスの結合状態を調べる。[2] cPcdh 発現パターンと選択的シナプス形成との関係解明: それぞれの S-type cPcdh は成熟した小脳プルキンエ細胞において単一細胞レベルで確率論的に発現する。しかし，発現レベルが比較的低い，登上線維での発現様式やシナプス形成期の発現様式は不明である。さらに，シナプス結合している登上線維-プルキンエ細胞での cPcdh 発現様式の解析はこれら神経の細胞体が 2 mm 以上離れて存在するため解析困難である。そこで，単一 cPcdh 発現を蛍光タンパク質にて可視化できるマウスを作製し，これら困難を克服する。

今年度は以下の如く進展した。[1] cPcdh 遺伝子改変マウスの作製：53 種類の S-type cPcdh の遺伝子数を 1 種類に減少させたマウス作製を行った。ゲノム編集ツールをマウス受精卵へ注入し，候補マウスが得られている。[2] cPcdh 発現パターンと選択的シナプス形成との関係解明: 53 種類の S-type cPcdh のうち，Pcdhb3 をターゲットとした。ターゲティングベクターが完成したため，次年度はマウス作製を行う。

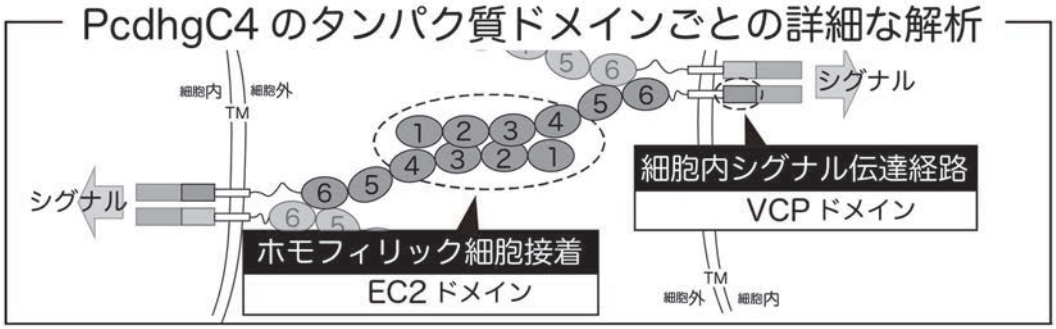
10. 神経細胞の個性がつくる機能的回路形成メカニズム

八木　健，足澤悦子，金子涼輔，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（自然科学研究機構･生理学研究所）

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

興味深いことに 58 種類の Pcdh のうち，PcdhγC4 を単独で欠損させたマウスは，誕生後に死亡することが明らかになった。この PcdhγC4 タンパク質は単独で細胞膜に発現できず，必ず他の Pcdhγ 及び Pcdhβ タンパク質とヘテロ 2 量体をつくる必要があり，Pcdh のタンパク質多様性の基盤となることが示唆されている。本年度は，この PcdhγC4 のどの領域の機能が必要かを明らかにするために，CRISPR/Cas9 を用いて PcdhγC4 のホモフィリック接着活性に重要な EC2 領域，特異的細胞内領域 vCP を欠失させた変異マウスの作製を行った。当初は，PcdhγC4 欠損マウスが死亡することから，変異マウスを得ることができなかったが，CRISPR/Cas9 を 2 細胞期の 1 細胞にインジェクションすることで，変異細胞と正常細胞がモザイクとなった変異マウスが生まれ，そのモザイクマウスを交配することで，目的とした遺伝的変異を持った γC4EC2 欠失及び γC4vCP 欠失ヘテロマウスを得ることに成功した。これらヘテロマウスを交配することで γC4EC2 欠失及び γC4vCP 欠失ホモマウスを作製したところ，両方の欠失マウスが誕生後に死亡することが明らかとなった。それぞれの欠失マウスの脳からタンパク質を抽出して解析したところ，目的とした γC4EC2 欠失タンパク質及び γC4vCP 欠失タンパク質が同定された。これらの結果により，γC4 のホモフィリック接着活性及び特異的細胞内領域が重要であることが明らかとなった。

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



11. 脳の構造形成，機能化に関わる遺伝子の解析

平山晃斉，梅嶋宏樹，冨田江一（徳島大学）
三寶　誠，平林真澄（生理学研究所）

ネコの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。さらに詳細な解析を進めるため，マウスを用いた実験系での解析を進めている。着目した分子には２種類のアイソフォームがあるため，その発現様式の解析をおこなった。その結果，細胞によって発現の強弱が異なること，両方のアイソフォームが発現している神経細胞でも神経細胞内での局在が異なることか

ら，機能的にも異なることが想定された。今後，これらの分子をターゲットとした遺伝子改変マウスの作製を進めていく計画である。

一方, 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する CCCTC (CTCF) 結合因子の神経系における役割の解析を進めてきた。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。私たちは，脳の特定の神経細胞で CTCF を欠損させるマウスを作製し，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，やがて多くの神経細胞が脱落していくことなどを確認した。細胞死はこれまでネクローシスとアポトーシスに大別されていたが，近年，様々種類の細胞死が見つかってきた。CTCF 欠損マウスで生じる細胞死の種類を同定するため，免疫組織科学的な解析，電子顕微鏡による詳細な形態の解析および細胞死に関連する分子の遺伝子改変マウスの作製により解析を進めている。

12. TRPC6 KYD 変異体マウスの作製

西山和宏（九州大学大学院 薬学研究院 生理学分野）
平林真澄，三竇　誠（生理学研究所）

［目的］

我々は，細胞膜電位に依存しない受容体作動性／メカノ作動性の Ca^{2+} 流入を担うチャネル群の心臓における役割解析を進める中で，Zn^{2+} と Fe^{2+} 透過性を有する transient receptor potential canonical (TRPC) 6 チャネルがβアドレナリン受容体刺激による心臓の収縮力（陽性変力作用）を増加することをマウスで見出した。さらに，TRPC6 の亜鉛透過性が減少する変異体（KYD 変異体）も見出している。そこで，本共同研究を通じて KYD 変異体マウスを作製し，解析を行うことにより，心臓の恒常性における TRPC6 の亜鉛流入の役割を生体レベルで明らかにする。

［方法］

本年度は，TRPC6（WT または KYD 変異体）を安定発現させたラット大動脈平滑筋細胞（RAOSMC）を用いて TRPC6 KYD 変異体の分子・生化学的な解析を行った。また，ラット新生児心筋細胞（NRCM）を用いて，細胞内亜鉛の変化が心筋収縮力に与える影響についても検討した。さらに Crisper/Cas9 システムを応用し TRPC6 KYD 変異体マウスの作製を行った。

［結果］

TRPC6 KYD 変異体を発現させた RAOSMC は TRPC6(WT) を発現させた RAOSMC と比較して, 細胞内の亜鉛プール量が減少していることが明らかとなった。一方で，カルバコール刺激による TRPC6 を介したカルシウム流入は WT と KYD 変異体の間に有意な差は認められなかった。亜鉛のキレーターである PTEN はノルエピネフリンによる心筋収縮力増強を抑制することが明らかとなった。加えて，平林研究室との共同研究により，C57BL/6J と 129sv をバックグラウンドとした TRPC6 KYD マウスを作製することができた。

［結論］

本年度の成果から，TRPC6 KYD 変異体はカルシウム透過性に関しては変化がなく，亜鉛透過性が減少することが明らかとなった。ノルエピネフリンは亜鉛依存的に心筋の収縮力を増強させることが明らかとなった。今後は本年度作製された変異体マウスを用いて，TRPC6 を介した亜鉛透過性の生体における役割を明らかにする予定である。

13. 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（生理学研究所 生体システム研究部門）

ジストニア・パーキンソニズムの発症には，黒質線条体系ドーパミンニューロンが深く関与している。ドーパミンの生合成には，ドーパミン生合成律速酵素であるチロシン水酸化酵素の補酵素としてテトラヒドロビオプテリン（BH4）を必要とする。BH4 は，グアノシン三リン酸から GTP シクロヒドロラーゼ I（GCH），ピルボイルテトラヒドロプテリン合成酵素，セピアプテリン還元酵素（SPR）の三つの酵素により生合成される。ヒトでは *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。

我々は *Spr*-KO マウスについて生化学的，行動学的解析，電気生理学的解析を行い，自発運動量の低下，前肢の振戦様震えなど，パーキンソン病類似の運動障害を示すことを明らかにしてきた。*Spr* -KO マウスでは，脳内のドーパミン，ノルアドレナリン，セロトニンが全て野生型の 10%以下に低下している。また，BH4 の低下から発達遅滞と高フェニルアラニン血症を示す。このように *Spr*-KO マウスは，黒質線条体系ドーパミンニューロンだけでなく，全身性の症状や脳内モノアミン全般の減少のため，マウスに現れる運動量の低下や振戦様震えなどの症状の発症機序の詳細を解析することが困難である。そのため，*Cre*-lox システムを利用して細胞選択的な遺伝子破壊を行うために, Spr-flox マウスを作製した。ドーパミントランスポータ（DAT）遺伝子内に *Cre* をノックインして作製された DAT-*Cre* マウスは，中脳ドーパミンニューロン特異的に Cre を発現する。現在，DAT-*Cre* マウスと *Spr* -flox マウスを交配して，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製中である。このマウスにおいて，BH4 やドーパミンの減少の程度と細胞選択性を生化学的，組織化学的に明らかにし，さらにパーキンソニズムやジストニアの症状の現れ方について解析し，これらの病態におけるドーパミンにより引き起こされる症状と，ドーパミン系以外のモノアミンニューロンにより引き起こされる症状を解析していく。

14. 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･医学部薬理学講座）
知見聡美，南部　篤（生理学研究所 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）。次いで,

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，パーキンソン病による大脳基底核の傷害からの回復過程における直接路および間接路の機能について行動学的解析を行っている。

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

齊藤奈英，福田七穂，小田佳奈子，笹岡俊邦（新潟大学脳研究所）
板倉　誠（北里大学医学部）
木津川尚史（立命館大学）
知見聡美，南部　篤（生理学研究所 生体システム研究部門）

ドーパミン D1 受容体（D1R）を介したドーパミン神経伝達は，報酬系学習のみならず，回避系学習においても重要な役割を果たすと考えられている。文脈性恐怖条件付け試験や聴覚性恐怖条件付け試験は古典的恐怖条件付けの処理に関与し，回避的学習記憶を評価するものである。本研究では 2 種類の行動解析で回避的学習記憶を評価した。また，D1R を介するドーパミン神経伝達の役割の評価に，発達中の D1R 欠損の神経回路変化への影響を避けて，成熟期に D1R 欠損したマウスを用いて検討することが重要である。そこで，D1R 発現をドキシサイクリン（Dox）投与により制御できる D1R ノックダウン（KD）マウスを用いて，文脈性恐怖条件付け試験および聴覚性恐怖条件付け試験における D1R を介したドーパミン神経伝達の回避的記憶形成への役割について検討した。回避記憶については，条件付け 1 日後の近時記憶と条件付け 4 週間後の遠隔記憶により記憶形成を調べた。さらに，D1RKD マウスの脳組織を，回避的フットショック刺激後に免疫染色し，回避的記憶形成時の海馬（CA1，CA3，歯状回），線条体，扁桃体，前頭前野における活性化した最初期遺伝子 c-Fos の分布を調べた。D1RKD マウスの海馬，線条体，扁桃体サンプルを用いて，回避的フットショック刺激後に免疫ブロッティングを行い，c-Fos 量と Ser187 残基でリン酸化された SNAP-25 量の増加を検討した。Dox により D1R を欠損させると，行動実

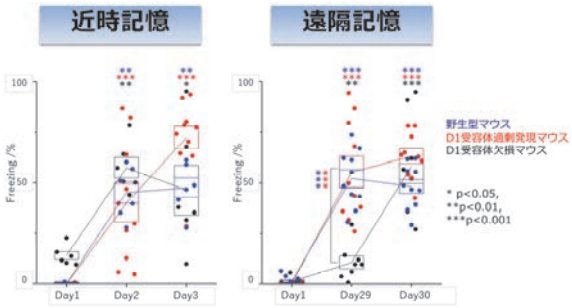


図1 文脈性恐怖条件付け試験(Day2, Day29)および聴覚性恐怖条件付け試験(Day3, Day30)においてD1R欠損マウスでは遠隔嫌悪記憶における文脈的恐怖学習が損なわれていた

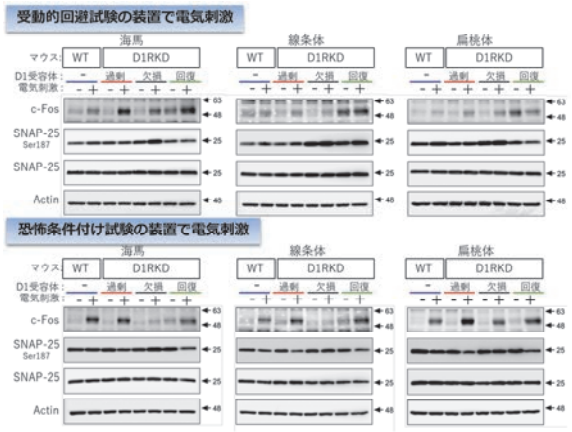


図2 フットショック刺激後の海馬・線条体・扁桃体におけるc-Fos及びリン酸化SNAP-25発現量解析ではD1R欠損マウスにおいて刺激後の海馬・線条体のc-Fos発現上昇はわずかで刺激前後でリン酸化SNAP-25発現量が増加した

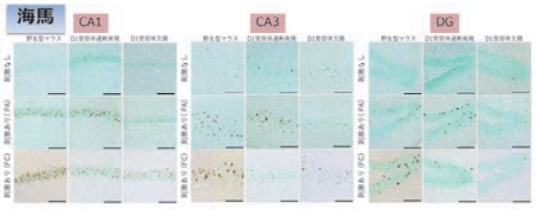


図3 D1R欠損マウスでは受動的回避試験(PA)及び恐怖条件付け試験(FC)によるフットショック刺激後の海馬CA1・CA3・DGにおけるc-Fos発現陽性細胞数がいずれも低下していた

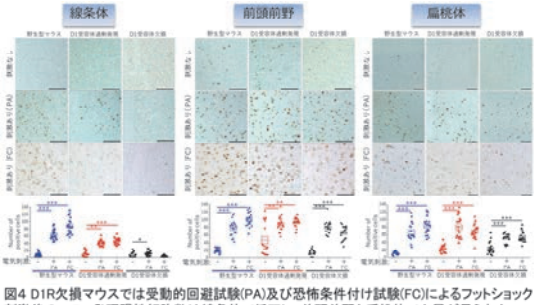


図4 D1R欠損マウスでは受動的回避試験(PA)及び恐怖条件付け試験(FC)によるフットショック刺激後のc-Fos発現陽性細胞数は線条体で低下し、前頭前野と扁桃体で上昇が見られた

験により，フットショック刺激後の遠隔嫌悪記憶における文脈的恐怖学習が損なわれていることが明らかとなった（図１）。さらに，発現解析の結果，海馬と線条体において刺激後の c-Fos 量がわずかに増加し，海馬，線条体, 前頭前野において刺激前後でリン酸化 SNAP-25 の量が有意に増加することが示された（図２，３，４）。これらの知見は，D1R を介したドーパミン神経伝達が，文脈的恐怖条件付け試験で遠隔記憶形成に重要な要因であることを示すものである。

研究発表

1. 論文発表

Saito N, Itakura M, Sasaoka T.: D1 Receptor Mediated Dopaminergic Neurotransmission Facilitates Remote Memory of Contextual Fear Conditioning. *Front. Behav. Neurosci.* 16, 751053 (2022)

2. 学会発表

笹岡俊邦 : D1 及び D2 ドーパミン受容体を介する神経伝達による運動制御と学習記憶の仕組みの理解．シンポジウム４「ドパミン研究の最近の展開」第 43 回日本生物学的精神医学会・第 43 回日本神経精神薬理学会合同大会 2021 年 7 月 14 日

16. Olig2 アストロサイトに特異的に発現するトランスポーターSLC7A10 の同定

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

我々は大脳基底核間接路の重要なコンポーネントである淡蒼球に着目し，同部位に多くの Olig2 アストロサイト（従来から同定されている GFAP アストロサイトとは異なるもの）が存在することをこれまで報告してきた。この Olig2 アストロサイトの機能に迫る目的で本年度は淡蒼球から Olig2 アストロサイト及び GFAP アストロサイトをレーザーマイクロダイセクション（LMD）法を用いて分取，それぞれの細胞集団の遺伝子発現を比較検討し，特に膜型トランスポーターに着目して解析を行った。LMD 法に先立って，公開されているシングルセル RNA のデータベースを検索したところ確かに淡蒼球のアストロサイトには Olig2 を強く，GFAP を弱く発現する亜集団が存在することが明らかとなった。この亜集団で発現しているトランスポーターの上位 10 個をみるとグリア型 GABA トランスポーターGAT-3 に加えて，中性アミノ酸トランスポーターの一種である SLC7A10（別名 ASC-1）の発現が高いことが分かった。このデータを踏まえて，我々は LMD で分取した Olig2 アストロサイトと GFAP アストロサイトの RNA を抽出し，RT-PCR でトランスポーター類の mRNA 発現を比較した。シングルセル解析を裏付けるように，GAT-3 や Olig2 が Olig2 アストロサイトには有意に多く発現しており，これに加えて，SLC7A10 も強発現していた。SLC7A10 が淡蒼球アストロサイトのどの部分で発現しているかを SLC7A10 の特異抗体を用いて免疫染色でみたところ，アストロサイトの微小突起に局在していることが明らかとなった。この局在は超高解像顕微鏡を用いてさらに明瞭に同定することが出来た。SLC7A10 はグリシンを運搬すること知られており，淡蒼球の機能制御にグリシンシステムが関与している可能性が示唆された。またそれ以外のリガンドが関与している可能性もあり，今後の検討課題である。

17. 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（湘南医療大学 薬学部），平林敬浩（湘南医療大学 臨床医学研究）
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 60 アミノ酸残基からなる，視床下部弓状核ニューロンで産生される生理活性ペプチドである。GALP には様々な生理作用がある事が知られているが，そのひとつに抗肥満作用がある。これまでに, 我々は脳室内投与された GALP が交感神経を介して肝臓での脂肪酸β酸化および白色脂肪組織での脂肪分解を増加させる事を明らかにしてきた。また，近年，我々は GALP が中枢のみならず末梢組織でも産生され，循環血液中に存在することを見出した。そこで我々は GALP の末梢臓器への影響を調べる目的で, 初代培養肝細胞を用いた *in vitro* の系にて GALP そのものが細胞での代謝経路に及ぼす影響を検討した。

マウス初代培養肝細胞に GALP 添加後の遺伝子発現を Real-time PCR 法を用いて検討した結果，GalR3（ガラニン受容体 3）遺伝子発現が vehicle 群と比較しおよそ 1.5 倍増加した。しかし，脂肪酸合成に関与する FAS（脂肪酸合成酵素），SCD1（ステアロイル-CoA 不飽和化酵素 1）遺伝子発現および脂肪酸β酸化に関与する CPT1（カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ I），MCAD（中鎖アシル CoA 脱水素酵素）や転写因子である PPARα 遺伝子発現は GALP 投与による影響はみられなかった。前述のように GALP を脳室内投与した際には肝臓における脂肪酸β酸化が亢進したが，マウス初代培養肝細胞を用いた *in vitro* 実験では異なる結果となった。

これまでに，褐色脂肪組織や白色脂肪組織で GALP が産生されること，さらに血中にも GALP が存在することが明らかになっているが，代謝に及ぼす影響は GALP が標的臓器に直接作用するのではなく，神経など他の経路を介していることが示唆された。

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

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

消化管ホルモンの Glucagon-like peptide-1（GLP-1）は，栄養素（糖，脂質，タンパク質）の摂取で分泌促進され，インスリンを分泌促進させ，摂食量を抑制する。我々は，非代謝性（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ことを見出した。従って，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 GLP-1 の生理的な作用を解析することが可能となった。

アルロースによる GLP-1 放出は，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 の耐糖能向上作用における視床下部責任神経の解析を進めた。

マウスにアルロースを経口投与すると，視床下部の X 神経に c-Fos 発現が有意に上昇すること，X の mRNA 発現が上昇することを見出した。この作用は，横隔膜下の迷走神経切断，及び，GLP-1 受容体欠損によって大幅に減弱した。神経 X がアルロースによる耐糖能向上作用に関与しているのかを検証するために，Cre マウスの視床下部亜核に抑制型 DREADD 受容体（hM4Di）を発現する AAV ベクターを微量注入し，クロザピン N オキサイド（CNO）投与によって X 神経を抑制する実験系を構築し

た。CNO の投与によってアルロースによる耐糖能向上作用は完全に消失した。従って，視床下部 X 神経がアルロース/腸 GLP-1 の耐糖能向上作用を調節する重要な神経であることが示唆された。

19. 生理活性脂質が TRPV に与える影響の評価

村田幸久（東京大学大学院農学生命科学研究科）

我々はこれまでに，5,6-DiHETE や 15-HEDE，12-HETE といった脂質代謝産物が, 血管の平滑筋や内皮細胞の活性を変化させることを発見してきた。本研究ではこの機構を明らかにする目的で, 脂質代謝産物が非選択的カチオンチャネルである TRPV の活性に与える影響を評価した。

富永研究室にて，TRPV1 や 4 を強制発現させた HEK293 細胞を用いて，蛍光指示薬である Fura-2 を用いて，細胞内カルシウム濃度を測定した。TRPV1 強制発現細胞に対し, TRPV4 アゴニスト活性を持つ 3 もしくは 10 nM の GSK101 を投与すると, 細胞内カルシウム濃度の上昇が確認された。これに対し，300 nM もしくは 1 μM の 5,6-DiHETE を前処置すると，GSK101 による細胞内カルシウム濃度の上昇が抑制された。また TRPV1 強制発現細胞に，TRPV1 アゴニスト活性をもつ, 100 nM のカプサイシンを投与すると細胞内カルシウム濃度が上昇した。これに対し，300 nM の 5,6-DiHETE を投与すると，このカルシウム濃度上昇が抑制される傾向がみられた。

今後これらの結果の再現性を確認し, さらなる詳細検討を進める。

20. 温度感受性 TRP チャネル活性化における細胞膜脂質の役割

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

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報告されている。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。

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体温以上の温度による不可逆的な不活性化は POPC : POPE＝3 : 1 の脂質二重膜中でも観察された。脂質二重膜に 30％ コレステロールを添加すると 20, 25, 30 °C におけるチャネル開口確率が増大しており，温度依存的活性化はコレステロールによって増強されることが示唆された。一方で, TRPM5 チャネルのコンダクタンスはコレステロールがない膜中では 63.4 pS であったのに対して 30％コレステロールを添加した膜中では 34.1 pS となった。この値は培養細胞における TRPM5 チャネルのコンダクタンスに近い値であった。

温度や機械刺激などの物理刺激によって活性化されるチャネルが脂肪組織にも発現する可能性がいくつか報告されている。本研究では，褐色脂肪組織に発現する機械刺激感受性チャネルの役割を明らかにすることを目的として研究を行った。

褐色脂肪細胞においては, 機械刺激感受性チャネルの 1 つである Piezo1 チャネルは未分化の褐色脂肪前駆細胞に発現が高く, 分化に従って発現量が低下することを見出した。分化の過程で Piezo1 チャネルを薬理学的に活性化すると褐色脂肪細胞への分化は抑制された。この分化抑制作用は Piezo1 チャネル阻害薬によって回復した。また，Piezo1 チャネルの活性化はカルシニューリンの活性化を誘導すること, Piezo1 チャネル活性化による分化抑制作用はカルシニューリン阻害薬によって回復することから，この分化抑制にはカルシニューリン経路の関与が示唆された。

成熟した褐色脂肪細胞において Piezo1 発現は低かったたが，その発現量はアドレナリン β 受容体作動薬処置

によって変化しなかった。現在，組織特異的 Piezo1 チャネル欠損マウスの作出を行なっている。

21. 7 回膜貫通型の温度受容体候補分子を介した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，これまでの共同研究から，*C. elegans* の温度受容ニューロンにおける 2 つの TRPV チャネルが温度受容体であることが見つかってきた（共同研究論文：Ohnishi et al., *Scientific reports*, 2020）。一方で，これらの TRPV チャネルの温度応答性は弱かった。最近の解析から，これらの TRPV の上流で GPCR が機能している可能性が得られたため，この GPCR が本当に温度受容体であるかを生理学的解析を用いて明らかにすることを目的として解析を行った。

まず，*C. elegans* において，GPCR 型の新規の温度受容体候補遺伝子を，温度を受容しない *C. elegans* の化学受容ニューロンで強制発現させたところ，温度上昇に対して反応するようになる結果が得られた。そこで，ショウジョウバエの培養細胞（S2）に温度受容体候補 GPCR を発現させ，再構成的に温度に応答するようになるかを解析した。その際に，この GPCR の下流で機能することが示唆されている *C. elegans* の G タンパク質や TRPV を発現させたショウジョウバエ S2 細胞を作製して，生理学解析に用いた。当該 GPCR と G タンパク質，PLC-beta，TRPV を発現する S2 細胞に，膜電位インジケーターである Fura2 を添加し，温度刺激を与えたところ，顕著に温度に反応する結果が得られた。ところが，PLC-beta だけを導入した S2 細胞でも同様な温度応答性が見られたことから，人口導入した PLC-beta が，S2 細胞の内在性の何らかのチャネルを活性化して，温度に応答してしまったのではないかと考えられた。

今後はさらに，S2 細胞に候補 GPCR と cGMP 依存性チャネル，およびその関連分子を同時に発現させて，当該 GPCR が温度応答性を持つかを測定する予定である。

22. 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）での役割を解析した。

［方法］

野生型マウス（WT）および P2Y6R C220S HET マウスに対してデキストラン硫酸ナトリウム誘発大腸炎モデルを用いて，慢性炎症におけるシステイン修飾による P2Y6R 内在化の役割を明らかにした。

［結果］

P2Y6R C220S HET マウスは WT マウスに比較して，大腸炎の進行が悪化した。さらに，GPCR の Cys 修飾による Lys ユビキチン化を介した分解機構は，P2Y6R 以外の

GPCR でも保存されていることも確認された。

［結論］

本研究の結果より，GPCR の Cys 修飾とそれに続く Lys137 のユビキチン化が，β アレスチン非依存的な GPCR 内在化やタンパク分解を仲介するという新奇な制御機構が初めて明らかにされた（Nishiyama et al. science signaling. 2022）。今後は，P2Y6R の超硫黄化修飾に着目して研究を進めて行く予定である。

23. 生後脳内を移動する新生ニューロンと周囲の細胞群の超微細構造の解析

澤本和延，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，成体でも神経幹細胞が存在し，持続的に新たなニューロンが産生されている。産生された幼若な新生ニューロンは移動能が高く，高速度で脳内を移動し，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，新生ニューロンと周囲組織や細胞群との相互作用の詳細は不明である。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 成体脳内を移動する新生ニューロンの解析

成体脳内の新生ニューロンは，鎖状に連なり，周囲の細胞群と相互作用しながら移動する。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間の接着状態を定量的に解析した。また，ニューロン-グリア相互作用を解析した。

② 新生仔脳内を移動する新生ニューロンと足場の解析

新生仔期の大脳皮質に傷害が生じると，新生ニューロンが傷害部へと移動する。SBF-SEM および 3 次元再構築法により，移動する新生ニューロンと周囲細胞群との相互作用について解析した。

③ 出生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，生後の脳室下帯における神経幹細胞および上衣細胞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。

④ 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, 移動を停止してシナプスを形成し，成熟する。成熟過程では，シナプス形成に加えて不要なシナプスの除去が生じているが, その制御機構は不明だった。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および貪食を形態学的に評価し，定量的に解析した。その結果, ミクログリアがフォスファチジルセリン依存的に新生ニューロンのシナプスを貪食除去することを明らかにした（Kurematsu et al., *J Exp Med*, 2022）。

24. 三次元走査型顕微鏡観察技術を用いたシナプス結合の定量的微細構造解析法の確立とその応用

深澤有吾，黒田一樹（福井大学学術研究院･医学系部門･脳形態機能学分野）
加藤　輝（大学共同利用機関法人自然科学研究機構（新分野創成センター））

神経伝達を担うシナプス結合は多種のナノメータースケールの超微細構造の集合体であり，その構造解析はこれまで透過型電子顕微鏡を用いて行われてきた。しかし，従来の超薄切片を用いた解析では，各シナプスのラ

ンダムな単一断面像を集めて解析するのが一般的であり，連続切片観察であっても 50~70 nm 毎の断層観察となり，Z 方向の空間分解能が低く，その結果，観察法に由来する構造計測結果のバラツキが大きくなり，構造特徴や異常の検出感度が低くなってしまう問題点が有った。そこで本研究では，断層撮影が 10 nm 以下で行え，XY 解像度も 2 nm 以下で観察できる収束イオンビーム搭載高分解能走査型電子顕微鏡（FIB-SEM）を用いて，シナプス結合内の各種超微細構造の解析に適した試料作製法を確立すると共に，シナプス前後構造丸ごとの三次元構造解析を行って，構造特徴や異常が精度良く検出できる手法の開発を目指した。また，FIB-SEM の欠点である狭い観察範囲を広範囲観察が可能な生理学研究所所有のダイヤモンドナイフ搭載高分解能走査型電子顕微鏡（DK-SEM）を用いて補完する手法の開発，および，AI を利用した画像計測法の確立も目的とした。

試料作製法の検討では，シナプス後肥厚やシナプス小胞を係留するアクチン線維がコントラスト良く観察できるプロトコールを確立した。しかし，局所での翻訳を担うポリリボゾームの観察に適した試料作製法は見出すことができなかった。シナプス結合の構造特徴解析では，各種シナプス内構造の複数の構造計測値（体積や個数など）を多変量解析することで，少ない観察対象数でも精度良く，シナプス結合種特異的な特徴が精度良く抽出できることが分かった。また，精神神経疾患モデルマウスにおける新規のシナプス構造異常も検出することに成功した。この解析手法を各種遺伝子改変マウスに適用してシナプス結合の構造特徴を決定する遺伝子の同定を試みた結果，CaMKII や Arc など検討したシナプス可塑性関連遺伝子産物の機能異常や欠損，或いは過剰発現は構造特徴に影響しないこと，一方，シナプス間細胞接着因子の 1 つである Neuroligin のあるホモログがシナプス前後構造の比率の制御に関与していることを示唆する結果を得た。コロナ禍により DK-SEM による補完法と AI 画像解析手法の開発は十分に行えなかったが，引き続きチャレンジしたい。

25. Serial block-face 走査型電子顕微鏡を用いた腸管粘膜固有層内細胞集団の発生学的解析

万谷洋平（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）
中西怜稀（神戸大学大学院･農学研究科･組織生理学教育研究分野）

腸管粘膜固有層内には，間葉系細胞，免疫担当細胞を含めた種々の細胞が多数存在している。我々はこれまで Serial block-face 走査型電子顕微鏡（SBF-SEM）を用いて，ラット腸管粘膜固有層内の細胞の三次元的解析を行い，線維芽細胞様細胞（FBLC），マクロファージ，好酸球の観察・分類（Arai *et al., 2020;* Mantani *et al.,* 2019; 2021; Tamura *et al., submitted*）や小腸神経ネットワークの解析（Nakanishi *et al.,* 2020）への SBF-SEM の有用性を検証してきた。今年度は，SBF-SEM を用いることにより，ラット成獣における腸管ネットワーク構造の腸管内の部位差を明らかにすると共に，各胎齢マウスの小腸の粘膜固有層における神経ネットワークの三次元的観察を実施し，小腸粘膜内神経ネットワークの発生過程を明らかにすることを目的とした。その結果，以下の成果を得ている。

1) ラット大腸粘膜における神経ネットワークの部位差に関する研究

ラット盲腸，下行結腸粘膜における神経ネットワークを解析した結果，とくに下行結腸の腸表面上皮側で複雑な神経ネットワークが発達することを示した。これらの神経線維は盲腸，下行結腸ともに，腸表面上皮側の FBLC とマクロファージ様細胞に多く接触していることも明らかにした（第 164 回日本獣医学会，第 127 回日本解剖学会総会で公表済み）。本成果については，現在学術雑誌への投稿準備中である。

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，E13.5~E17.5 のマウス小腸の断層データを取得した。それらのデータを現在三次元構築中であり，得られた成果は来年度以降，各種

学術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。

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

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

社会や環境から受ける慢性ストレスは，抑うつや不安を招き精神疾患の発症リスクとなる。これまで，慢性ストレスによる認知情動変容の細胞生物学的基盤として神経細胞の形態的萎縮が重要と考えられてきた。その要因としてミクログリアの活性化を伴う脳内炎症やストレスホルモンである副腎皮質ホルモンの亢進の重要性が指摘されてきたが，神経細胞内のメカニズムは殆ど不明である。本研究は三次元電子顕微鏡を用いて神経細胞の形態と細胞内小器官を同時に可視化し，ストレス病態における組織細胞生物学的変化の実態解明を目的とする。

慢性ストレスには観察対象の C57BL/6 マウスをより体格の大きく攻撃性の高い ICR マウスに 1 日 10 分間，10 日間連続曝露する社会挫折ストレスモデルを用いる。SBEM 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，ストレスにより樹状突起やシナプスの萎縮が生じること，そしてその萎縮にミトコンドリアが関連することを見出してきた。今年度は分子機序を調べるためにマルチオミクス解析を実施し，シナプス特異的な中央代謝経路の変容を明らかにした。また，中央代謝系を担う分子の遺伝子発現を操作することによりうつ様行動の減弱が認められたことから，慢性ストレスがシナプスの中央代謝系変容を介して認知情動変容を招くことが明らかとなった。さらに中央代謝系の変容がシナプスや神経細胞の活動に与える影響を今後調べていく予定である。

また，慢性ストレス病態と加齢病態には類似性がある。研究代表者らのストレス研究の蓄積を加齢病態に適応し神経精神疾患の機序を病態横断的に明らかにすることを目的とし，加齢による認知機能低下を調べるための新規行動試験系を確立した。老齢マウスと若齢マウスから回収した脳の SBEM 像は取得済であり，今後画像解析を行い，加齢による認知機能低下を担う超微細細胞生物学的変化を同定する。

27. Study of wheat male meiosis by serial block-face scanning electron microscopy

Sergey Mursalimov（Institute of Cytology and Genetics）
Nobuhiko Ohno（Jichi Medical University）

The project aim was to study male meiosis of wild-type wheat plants by serial block face scanning electron microscopy (SBF-SEM). The three-dimensional ultrastructural analysis of wheat meiocytes was performed for the first time. Plants *Triticum aestivum* L. cv. Saratovskaya 29, (2n = 42, BBAADD) were grown and prepared for analysis at the Institute of Cytology and Genetics, Novosibirsk (Russia) and then analyzed using Gatan 3view - Zeiss ΣIGMA/VP microscope in National Institute for Physiological Sciences, Okazaki (Japan). The used protocols were adapted for wheat anthers. It was shown that the sectioning of fixed material by a vibratome, a step usually precedes to the en bloc staining, is not suitable for wheat anthers and should be replaced by alternative methods. Wheat anthers at the late developmental stages demonstrate much better staining and structure preservation than at early developmental stages. Thus, wheat anthers at early developmental stages should be stained

longer and treated with special care.

Using SBF-SEM, thousands of electron microscopic images of wheat male meiocytes at the first and second meiotic divisions were obtained. The general meiotic dynamics and specific futures of cells ultrastructure at different staged were studied. The meiotic changes in the cell nucleus, cytoplasm and cell wall are traced. The obtained data for wild-type wheat plants could be used for the comparative analysis of deviations in wheat meiosis induced by mutations or environmental stresses. Intercellular nuclear migration (cytomixis) was documented at the first meiotic division. It was shown that callose wall formation in wheat meiocytes at the first meiotic division progress more intense than in rye or tobacco plants and cells become fully isolated to the second meiotic division. The goal of the project was fully achieved.

28. ヒト副腎皮質疾患における副腎組織及び腎組織の細胞内小器官の超微形態学的変化に関する検討

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

本研究計画ではヒト副腎皮質細胞においてステロイド合成能に重要な役割を持つミトコンドリア等の細胞内小器官に現れる細胞老化に伴う変化（mtDNA damage や mitophagy）及び，ステロイドホルモン過剰に伴う臓器障害機構を検討し，ヒト副腎皮質疾患における病態病理を解明する事を目的とするものであり，東北大学病院にて上記症例の臨床診断にて手術施行時に採取された副腎手術検体ないしは腎生検組織の一部より 3 次元的超微形態学的解析用の試料を採取し，生理学研究所のミクロトーム組込み型走査電子顕微鏡(SBF-SEM)を用いて連続切片画像取得と 3 次元再構築を行い，ステロイド過剰，特にアルドステロン過剰状態に伴う特異的な腎障害をヒトの検体を用いて三次元的超微形態像で観察するものである。

今年度は 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，1 例に対して 1 個の糸球体血管極を描出し，3D SBF-SEM による三次元的撮像を実施した。今後，VAST Lite 等の画像解析ソフトを用いて，輸入細動と輸出細動脈における硝子化の程度等の動脈硬化性変化の違い 3 次元的に解析する予定である。

29. 原索動物神経回路の三次元超微細形態学的解析

岩﨑広英（群馬大学 大学院医学系研究科）
大野伸彦（生理学研究所　生体機能調節研究領域 超微形態研究部門）
西野敦雄（弘前大学 農学生命科学研究科 生物学科）

本研究は個体の行動や認知機能を司る神経回路ネットワークを網羅的に解析することを目的としている。原索動物の一種であるマボヤ幼生を用い，電子顕微鏡により三次元再構築することでシナプスを同定し，神経細胞間の結合様式を網羅的に解析する。一連の解析を通じてマボヤ幼生における神経ネットワークの全貌の解明を目指す。

本年度は生理学研究所のミクロトーム組み込み式走査型電子顕微鏡（SBF-SEM）を用いてホヤ幼生の頭部の電子顕微鏡観察を行った。観察に用いた試料は SBF-SEM

での観察に従来から用いられてきた rOTO 法を一部改良して作製した。具体的には四酸化オスミウムとフェロシアン化カリウムで処理後，テトラカルボヒドラジド，四酸化オスミウムで順次処理した。続いて酢酸ウランおよびアスパラギン酸鉛処理の後に順次脱水し，Durcupan 樹脂へと包埋した。観察にあたっては，観察する領域は 100 μm 四方とし，切削と画像取得を繰り返すことで最終的に約 2000 枚の連続画像を取得することに成功した。その結果，マボヤ幼生の身体を構築する様々な組織の微細形態について詳細な知見を得ることができた。

ただし今回はマボヤ幼生の全体的な組織構築についての知見を得るために観察を行ったため，神経回路の詳細な同定のためには画像取得法の改良が必要であることも明らかとなった。例えば今回は rOTO 法に基いて作製された試料を用いて観察を行ったが，シナプスの同定を容易にするためには膜のコントラストがより明瞭である必要性が明らかとなった。また，今回得られた画像から，シナプスを同定できる分解能での画像取得のためには観察範囲を狭める必要があることも明らかとなった。

本年度の研究により得られた知見から，マボヤ幼生のどの領域に焦点を当て，どの方向から観察すればよいかについての見通しが立ったことから，今後はその方針に従って観察を進めていく。また染色法についても改良・検討し，セグメンテーションの効率向上を図る。

30. 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）

自治医科大学組織学分野（大野研究室）ではボリューム電顕データのセグメンテーションを nvidia1080Ti を 4 台 GPU を積んだ Linux サーバや 2080Ti を 1 台積んだワークステーションを用いて常時行っている。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であり，また各ライブラリ間での比較を行うことも可能となっている。これらのデータ解析環境を用い，生理研での受け入れ担当者の大野が岡崎の 3D 顕微鏡で取得し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，主として Resnet 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。

２の方法ではハイパーパラメータのチューニングが逐次可能なため，核やミトコンドリアのようなオルガネラの自動抽出効率の評価を U-Net を用いて行った。まず，コンピュータが判定したサンプルのうち，正しくある領域をオルガネラとして判定した確率／そのオルガネラの面積として，各オルガネラ面積で正規化して「正答率」を定義した。

次いでハイパーパラメータのチューニングを行ない，ネットワークのオルガネラ検出の正答率に影響を与える因子を調べたところ，初期画像の画素数が最も critical であり，特徴量や層の数，カーネルのサイズなどはあまり影響を与えなかった。

このように，古典的な U-Net でも学習による正答率はかなり高く，正答率が上位 95％ のサンプルで誤差は 1% 未満であった。さらに，極めて正答率が低かったサンプルを実際目で確かめたところ，人が判定してもかなり難しい標本であり，オルガネラ検出程度では充分深層学習ネットワークが使用できることが分かった。なお，Tensorflow1 を使用したところこのような高い正答率を得られたが，Tensorflow2 では速度は勝るものの，正答率はむしろ下がる傾向にあった。

今後はさらにこの研究を発展させ，広範囲の画像からもビニングのような圧縮操作なしでオルガネラの自動検出を簡便に行えるようにしたいと考えている。

31. 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。昨年度の共同研究の結果, DAB 染色の条件についての最適化が終了したので，本年度は実際に多くのサンプルを取得し, その画像解析を行なった。これまで SBF-SEM によって得られる大量のデータを定量的に解析することはこれまで困難であったが, 本年度は深層学習を用いることによって, 解析速度を飛躍的に高めることに成功し, 実際に非常に多くのニューロンの形状を明らかにした。今後はさらに解析を進めることによって初期の目的を達成する。

32. 家族性中枢性尿崩症のバソプレシンニューロンにおける小胞体内凝集体形成機序の解明

宮田　崇，萩原大輔，有馬　寛（名古屋大学大学院医学系研究科 糖尿病・内分泌内科学）
大野伸彦（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顕性遺伝性疾患である。我々は FNDI モデルマウスを作出し，バソプレシン（AVP）ニューロンの小胞体の一部に変異タンパク凝集体が封じ込められた区画（ERAC: Endoplasmic reticulum-associated compartment）が形成されることを見出した。さらには SBF-SEM を用いた解析により, ERAC は正常小胞体の内腔との連絡を保ったまま，ライソソームと突起性構造物を介して融合していることを明らかにした。そして免疫電顕による検討により，ERAC は隔離膜のマーカー LC3 を発現する膜で囲われていること，ライソソームの加水分解酵素 カテプシン D が ERAC 内に発現していることを見出した。以上より，FNDI マウスの AVP ニューロンにおいて, 変異タンパクを ERAC に封じ込めてライソソームにより分解する機構が存在すると考えられた。

一方で，FNDI マウスに対して AVP 産生刺激として間歇脱水負荷を繰り返すと尿量が進行性に増加し，形態学的には ERAC 形成が破綻して変異タンパク凝集体が小胞体内腔全体に広がり，病的に拡張した小胞体を標的としてオートファジーが誘導され，やがては AVP ニューロンがオートファジー関連細胞死に至る。ERAC 形成が破綻する機序，あるいは小胞体内凝集体を標的としたオートファジー誘導の機序の詳細は未だ不明であり，本研究ではこれらを形態学的に解析することを目的とした。

48 時間の間歇脱水負荷を繰り返した 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 SBF-SEM による連続画像を取得した。得られた画像において，ERAC の形成は破綻して凝集体が小胞体内腔全体へ拡散していた。さらに

は拡散した凝集体を包む小胞体膜と近接するように隔離膜が多数観察された。

本研究課題は次年度へ継続し，今後は Microscopy Image Browser を用いて AVP ニューロンの小胞体と小胞体内凝集体および隔離膜を画像セグメンテーションして構造的関係性を解析することで，隔離膜が近接する小胞体膜を起源として新生している可能性を検証していく予定である。

33. 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）

神経幹細胞は, 発生期にその形態や細胞内構造をダイナミックに変化させながら, グリア細胞や神経細胞へと分化している。これらの発生時期の細胞内小器官などの構造の変化をとらえるため，生理学研究所の大野らと共同で，SBF-SEM (Serial Block Face Scanning Electron microscopy) によって発生・発達期の電子顕微鏡像を撮像し，三次元的な構造を解析してきた。

後藤は, 発生期大脳皮質の神経幹細胞が細胞体から長い仮足を伸ばす特徴的な形態を持つことに着目している。本年度は，前年度までに生理学研究所の SBF-SEM を用いて撮像した，胎生 15 日齢の発生過程の大脳皮質データの解析を行った。その結果，大脳皮質の仮足端には多量のグリコーゲンが存在していることがわかった。グリコーゲン顆粒，および仮足の形態などのセグメンテーションを行い，生理学研究所のワークステーション上の Amira ソフトウェアにて 3 次元再構築を行った。これらの解析より，グリコーゲンを含む仮足端は胎生 15 日齢で約 70%程度であり，残りの 30%の仮足はグリコーゲンを含有しない仮足端であり, 両者はおそらく別の細胞群に由来することが示唆された。現在，これらの結果のさらに詳細に解析するとともに論文として成果発表するための準備中である。

小野は，生後発達期の視神経が主にグリア細胞から構成されることに着目し，存在するグリア細胞のそれぞれの微細形態的特徴を三次元的に解析している。今年度は，SBF-SEM によって撮像したデータのセグメンテーションを行い，3 次元構造の再構築および 3 次元構造を表示するための動画の作製を，生理学研究所の Amira を使用して行った。その結果，この時期のオリゴデンドロサイト前駆細胞に特徴的な細胞内構造を見出した。その結果は，第 44 回神経科学会大会および第 127 回解剖学会総会にて発表した(小野，後藤，大野ら)。現在，論文発表にむけて準備中である。

34. 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）
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可能である。この系を用いることにより，これまでに細胞分裂に先駆けて DNA が凝集構造をとること，この時ポリリン酸体が対になって配置し，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。さらに詳細に DNA がとる構造を可視化するために，凝集期の DNA を DARQ5 と DAB で処理後オスミウムブラックの形成を促す方法の検討を行った。その結果，凝集時の DNA が一定の太さのひも状構造を形成し，それがさらにコイル状に配置する様子を観察することができた。今回新たに一定濃度以上の亜鉛イオンが DNA の凝集を誘起することが明らかになったことから，この状態における DNA 凝集構造の詳細を観察することを試みた。

亜鉛イオンの存在下で DNA が凝集したシアノバクテ

リアを高圧凍結・凍結置換後，樹脂包埋し超薄切片を作製して TEM 観察したところ，DNA 凝集構造の電子密度が高くなっている様子が確認できた。STEM-EDX による元素マッピングにより，凝集構造部位には亜鉛が局在することが示されたため，亜鉛イオンが直接 DNA の凝集構造形成に関与し，高電子密度を付与していると考えられた。この樹脂包埋試料から 200～300 nm の厚さの切片を作製し，電子線トモグラフィーにより DNA 凝集構造の三次元立体像を構築することを試みた。亜鉛の吸着により電子密度が高くなったため, DNA の凝集構造を特定することは容易になったが, DNA が形成するより微細な構造を観察するためには DNA 繊維を電子染色する必要があると考えられた。

今後，亜鉛イオンで処理後，高圧凍結・凍結置換，樹脂包埋した試料から 500 nm 程度の切片を作製し，切片の両側から酢酸ウラニウムで加熱しながら染色したのち, 電子線トモグラフィーを試みたい。これにより亜鉛イオンにより凝集し高電子密度となった DNA のより微細な構造の立体像を可視化することが期待できる。さらに，亜鉛イオンによる DNA 凝集の意義についても検討する。

35. 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）

近年，新型インフルエンザウイルスによるパンデミックが懸念されており，さらに薬剤耐性ウイルスの出現についても報告されていることから，新たな抗インフルエンザ薬の開発が急務とされている。インフルエンザウイルスの RNA ポリメラーゼは，ウイルス増殖の中心的な役割を担っており，他のウイルスタンパク質と比べ変異が起こりにくいという特徴から理想的な薬剤ターゲットとして注目されてきた。我々はこれまでに，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。しかし，開発した抗体がどのように RNA ポリメラーゼに結合し，ウイルス増殖を阻害するのかは不明である。そこで本研究では，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を明らかにするために，生理学研究所のクライオ電子顕微鏡を用いて単粒子解析を実施した。

インフルエンザ RNA ポリメラーゼと阻害抗体との複合体の調製を行い，生理学研究所のクライオ電子顕微鏡（JEM2100F）を用いて粒子の観察を行った。インフルエンザ RNA ポリメラーゼの 2 つのサブユニット PA-PB1 に阻害抗体の Fv 領域を結合させた複合体粒子を確認することができ，単粒子解析によって分解能 7.2 Å のマップが得られ，阻害抗体の結合部位を同定することに成功した。立体構造解析の結果から，阻害抗体は，インフルエンザ RNA ポリメラーゼの RNA 結合部位および多量体形成部位に結合していることがわかった。つまり，開発した抗体は，インフルエンザ RNA ポリメラーゼそれらの機能を阻害することにより，ウイルス増殖を抑制させることが示唆された。また，解析した複合体構造の情報をもとに変異体を作製し，結合に関わるアミノ酸残基を特定することできた。以上の結果から，今後インフルエンザウイルスに対する創薬として，本研究で開発した阻害抗体が低分子化合物をはじめとする新規薬剤開発へと展開されることが期待される。

36. 先端電子顕微鏡による海底微生物の細胞構造解析

井町寛之，酒井早苗（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様々な培養手法を使うことによって，培養が難しいとされていた海底下に優占化して存在するアーキアやバクテリアの培養に成功している。これら培養されたアーキアやバクテリアは生態学，進化学

および分類学的な観点から重要であり，その細胞や生理学的特徴の解明を行うことは生物学の基礎的知見を大きく拡充することに繋がる。これら培養に成功している微生物の中には光学顕微鏡，走査型電子顕微鏡あるいは薄片化サンプルを使った透過型電子顕微鏡による観察において特徴的な細胞構造を有するものが存在している。本共同研究ではこれらの特徴的な細胞形態を有する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，ダークマター微生物の 1 つとして知られる WS3 門の初めての培養株について，低温位相差電子顕微鏡を用いた観察を行った。その結果, (1) 他の顕微鏡観察では明らかにできなかった細胞サイズを明瞭に把握できたこと，(2) 2〜3 個の桿状細胞が長軸方向に直鎖状に繋がっているものに加え, *Bifidobacterium* 属のバクテリアで見られるような細胞が Y 字型に分岐し連結した特徴的な細胞連結構造が確認されたこと，そして (3) ポリリン酸と思われる顆粒が各細胞の両端のいずれかに 1 つ存在すること，が明らかとなった。今後は，この特徴的な Y 字型細胞連結構造について詳細な観察や調査を進め，この WS3 門バクテリアが持つと思われるユニークな細胞分裂機構を明らかにしていく予定である。

37. 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

ソン･チホン，村田和義（生理学研究所）
皆川　純，得津隆太郎，渡邉顕正（基礎生物学研究所）
Zhenfeng Liu，Mei Li（中国科学院）

植物や藻類は，太陽光エネルギーを集めて電気化学エネルギーに変換して利用することで二酸化炭素を固定し炭水化物を合成する（光合成反応）。その中心となるのは，光化学系 I, 光化学系 II と呼ばれる二種の膜タンパク質色素超複合体である。光化学系 I は光化学系 II 同様光エネルギーを電気化学エネルギーに変換するが，光環境によっては光化学系 II との間で集光装置を交換するいわゆる「ステート遷移」反応を起こすことが知られている。この「ステート遷移」の構造基盤は知られていなかったが，本共同研究では，光化学系 I とこれに光エネルギーを与える集光装置(LHCI),さらに光化学系 II から移動してきた集光装置(LHCII)の全体を緑藻のクラミドモナスから取り出し，その立体構造を解像度 2.84 Å でクライオ電子顕微鏡解析にて決定した。これにより，LHCII がリン酸化残基を介して光化学系 I に結合する構造様式を含む超複合体の構造の詳細が明らかとなった。

Pan, X., Tokutsu, R., Li, A., Takizawa, K., Song, C., Murata, K., Yamasaki, T., Liu, Z., Minagawa, J., Li, M. (2021) Structural basis of LhcbM5-mediated state transitions in green algae. Nat Plants 7: 1119-1131.

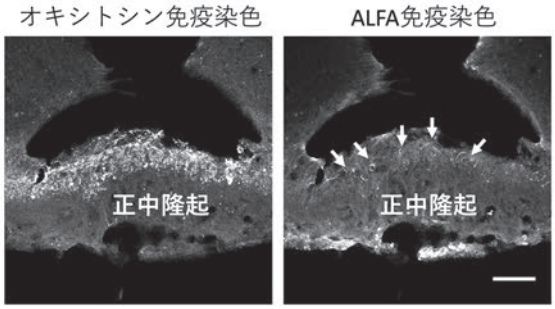
38. クライオ電子顕微鏡を用いた CD38 の膜トポロジーの解明

坂本浩隆，前嶋　翔（岡山大学･学術研究院自然科学学域･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（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。

研究代表者のラットを用いた予備的な免疫電子顕微鏡（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）。さらに，これまでの一連の解析から，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が示唆されている。しかしながら，現状，免疫染色等で CD38 を直接標識したものをクライオ電顕で分泌顆粒をまるごと観察することは実現できていない。ここには，溶媒中に浮遊する分泌顆粒をうまく免疫標識することが困難である，という問題があった。そこで今回，AAV ベクターにより，CD38 の C 末端部に ALFAtag を結合させた融合タンパク質(CD38-ALFAtag)をオキシトシンニューロンに強制発現させて，同ニューロン内で ALFAtag に対する GFP 結合型ラクダ抗体（nanobody）を同時に発現させることにより，ラット生体内で分泌顆粒膜に存在する CD38 を蛍光標識することを計画した。2021 年度はコロナ感染症の影響もあり，来所することができなかったため，今後の展望と岡山大学で実施した予備的解析結果をあわせて報告する。今回の解析結果を受けて，最終的にはラット生体内においてあらかじめ nanobody-標識されているサンプルをクライオ電顕で観察したい。

本研究では，まず予備的解析として，AAV ベクター系を用いて CD38-ALFAtag 融合タンパク質をオキシトシンニューロンで強制発現させることを試みた。2 種類の AAV ベクター（AAV-OXYTOCINpromoter-Cre/AAV-FLEX-CD38-ALFAtag）をカクテルでラット視索上核（SON）へ感染させて，SON のオキシトシンニューロン特異的に CD38-ALFAtag 融合タンパク質を発現させた。AAV 感染させて 3 週間後，灌流固定を行い，脳の凍結切片を作製した。切片を抗 ALFA 抗体/抗オキシトシン抗体で二重免疫染色した。その結果，オキシトシン線維が密に存在する正中隆起部の内層において，ALFA 免疫陽性を示す線維が観察された（図参照）。これらの結果は CD38 が軸索まで輸送されて（分泌顆粒の膜に組み込まれている可能性が高い），末梢で機能していることを示唆するものである。今後，生体内で ALFA 抗体と結合させた分泌顆粒サンプルをクライオ電顕で観察することを計画している。あるいは，CD38-ALFAtag を発現させた分泌顆粒を *in vitro* で双極性の nanobody を用いて凝集体にすることにより，CD38 の膜トポロジーを明らかにしたい。



図：　AAV ベクターにより，ラット視索上核のオキシトシンニューロンで CD38-ALFAtag 融合タンパク質を強制発現させた。正中隆起におけるオキシトシン／ALFA に対する二重免疫染色像を示す。一部のオキシトシン線維に ALFA 陽性反応がみられた（矢印）。
スケールバー ＝ 100 μm

39. Major vault protein により構成される原生生物のオルガネラ kinetocyst の分子構築

洲崎敏伸，北川　円（神戸大学理学研究科）
村田和義，ソン･チホン（生理学研究所）

単細胞真核生物 *Raphidiophrys contractilis* は，エサ生物の表面に存在する β-1,3 グルカン分子を認識し，ファゴサイトーシスによりエサ生物を捕食している。申請者らは最近，*R. contractilis* の β-1,3 グルカン認識分子を同定し，それが Major vault protein (MVP) であることを報告した（Bhadra et al., 2017）。MVP は，真核生物に広く存在する機能未知のオルガネラであるヴォールト（vault）の主要構成タンパク質である。*R. contractilis* においては，MVP はヴォールトを形成してはおらず，そのかわりにこの生物の分泌小胞である kinetocyst に局在していることもわかった。

本研究では，*R. contractilis* の MVP の細胞内局在を調べ，それが複雑な形態をした kinetocyst 内で，「ジャケット」と呼ばれる部分に存在することを見出した。そこで，

細胞全体を凍結置換法により樹脂包埋したサンプルの厚切り切片や，単離した kinetocyst の急速凍結試料を用いて，低温位相差電子顕微鏡によるトモグラフィー観察を行った。その結果，*R. contractilis* の MVP は，分泌小胞内ではコンパクトに折りたたまれて格納されているが，エサを捕獲する際には細胞外に放出され，急速にその形状を変化させて，あたかも魚を捕獲する際に用いられる投網のように，特徴的なリング構造を中心に持つ繊維状の網目構造となって拡散していくことがわかった。

今年度の研究においては，特に kinetocyst の微細構造について，分泌の前後で比較することにより，MVP 分子を含む kinetocyst 構造の形態的変化を解析した。その結果，分泌前には kinetocyst の赤道面に，48 個のユニット構造が連結して構成されるリング状構造が存在することと，分泌後には個々のユニット構造が 2 つに分離し，合計 96 個のユニット構造の連続体となって直径も拡大していくことがわかった。このリング構造には MVP 分子のフィラメントが連結しており，これが拡大しながらエサに向かって放出されることがわかった。

40. 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系研究科）

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する。まずこれまでの先行研究より第一次感覚野→高次視覚野への結合があることが示唆されているため，この結合を可視化した。それぞれに順行性標識および逆行性標識し S1→V2L の神経回路結合があることが明らかとなった。そこでこの S1 バレル野からの V2L での軸索のヒゲ刺激に対する応答を 2 光子顕微鏡によって可視化したところ，軸索応答はヒゲ刺激に同期していることがわかった。複雑な物体提示の時に V2L の活動を要するのではないかと考え，異なる紙やすりの提示に対する応答を検証した。視覚遮断群で正常群と比してどちらの紙やすりに対する提示にもカルシウム活動の頻度が増加することがわかった。さらにミクログリアを薬理学的に手法によって除去し，検証したところ，ミクログリア除去群においてはこの有意な神経細胞のカルシウム活動頻度の増加は認められないことがわかった。そこで免疫組織学的染色によってその V2L における詳細を検証したところ抑制性シナプスの数が減少していること，ミクログリアが興奮性細胞周囲に接触し，物理的に抑制性シナプスを剥がしている可能性があることがわかった。ミクログリアを単離しその遺伝子発現を網羅的に検証することで関与分子の探索を行い，そこに MMP9 が関与していることがわかった。MMP9 の阻害剤で閉眼と共に処理すると，神経活動の上昇が阻害され，抑制性シナプスの現象が損なわれることがわかった。さらにこの異種感覚の結合及びそれによるヒゲ刺激に対する視覚野の応答はヒゲの識別を担っているかを検証するためにこの異なる紙やすりに対する Go, No-go 試験を行ったところ視覚遮断マウスでは有意に学習過程の促進を認めることが明らかとなった。本研究は現在論文に投稿中である。

41. 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）
揚妻正和，鳴島　円，鍋倉淳一
（生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門）

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，ニューロンのターンオーバーが活発に生じている。このようなニューロン再生によって，嗅球の神経回路の構造や機能が維持されている。

我々は，生理学研究所生体恒常性発達研究部門との計画共同研究により，多光子顕微鏡を用いた嗅球内の生体イメージング法を確立した。その技術を用いることによって，嗅球ニューロンを長期間追跡して観察することが可能となり，ニューロンのターンオーバーが嗅覚入力の影響を受けて時間的・空間的に制御されることを明らかにした（Sawada et al., *J. Neurosci.*, 2011）。しかし，ニューロンのターンオーバーを制御する仕組みはいまだ明らかになっていない。我々は，周囲の微小環境が新生ニューロンの定着過程に影響を与えていると考え，新生ニューロンの周囲に存在する，グリア細胞や血管の役割に着目し，ニューロンのターンオーバーを制御する仕組みを詳細に解析することを目的とした。

本年度は，嗅球で移動を停止して成熟する新生ニューロンと周囲環境との関係を解析した。血管との関係に関する解析では，成熟する新生ニューロンと血流のイメージングを行い，その時空間的な関係を詳細に解析した。また，ミクログリアとの関係については，嗅球のミクログリアが，成熟過程にある生きた新生ニューロンのシナプスを，細胞外膜に提示されたフォスファチジルセリンに依存して貪食することを見いだした。さらに，多光子顕微鏡を用いて貪食の様子を生体ライブイメージングで直接観察した結果，ミクログリアが，シナプスのフォスファチジルセリン依存的に膜を伸展させ，シナプスを貪食する様子を捉えることに成功した（Kurematsu et al., *J. Exp. Med.*, 2022）。以上の結果から，血管およびグリア細胞が，嗅球におけるニューロンの移動・成熟過程を制御することが示唆された。

42. 求心性迷走神経活動による延髄孤束核神経活動変化の *in vivo* イメージング

山田大輔，斎藤顕宜（東京理科大学 薬学部 薬学科 薬理学研究室）
関口正幸（国立精神･神経医療研究センター 神経研究所 疾病研究第４部）
鍋倉淳一，揚妻正和（生理学研究所 生体恒常性発達研究部門）

体内の情報を脳がモニターする，いわゆる内環境受容は，代謝などの内科的機能だけでなく，恐怖や不安などの精神的機能にも影響を与えることが知られている。内環境受容では，末梢臓器から発する求心性迷走神経が重要な役割を担うことが近年注目を集めている。求心性迷走神経は，全身から延髄の孤束核に集約して入力したのち，より上位の各脳領域へと広く投射する。すなわち，孤束核は末梢臓器から脳への情報伝達の中継地点であり，求心性迷走神経と孤束核神経細胞間のシナプス伝達の詳細を明らかにすることは，内環境受容の神経回路基盤を理解するために重要であると考えられる。しかし，孤束核は小脳直下に位置することから，in vivo での検討が困難であった。そこで本研究では，この課題を二光子顕微鏡による in vivo イメージングを用いて解決することを目的として検討を行った。

C57BL/6J マウスの孤束核に，AAV を用いてカルシウ

ムセンサータンパク質（GCaMP6 等）を発現させた。その後，プリズム２個を連結して小脳と延髄の隙間に挿入し，観察窓とともに頭部に固定することにより，小脳を避けて二光子顕微鏡観察が可能な新規システムを構築した。

迷走神経活動に応答する孤束核神経活動を検出するために，頸部の迷走神経束を露出し，電気刺激用電極を装着，装着部位を速硬化シリコンで固定保護した。以上の処置を施したマウスを用いて，麻酔下（マウスの苦痛軽減のため）にて孤束核での Ca^{2+} シグナルを観察しながら迷走神経の電気刺激を行った。さらに，迷走神経活動を刺激することが知られている摂食抑制ペプチド CCK-8 の静脈内投与を行い，同様な Ca^{2+} シグナルの観察を行った。

その結果，頸部迷走神経束の電気刺激，CCK-8 の静脈内投与に同期した孤束核内神経細胞の Ca^{2+} シグナルが観察された。また，一部の観察においては迷走神経刺激とは同期しない Ca^{2+} シグナルも検出された。

現在，観察された上記 Ca^{2+} シグナルの解析を行なっており，孤束核の神経活動を単一細胞解像度で検出することに成功している。単一神経レベルでの迷走神経刺激への応答性や活動パターンの違いなどの詳細について早期に論文発表することを目指す。

今後，電気刺激だけでなく，胃腸伸展や栄養素投与など，より生理的な迷走神経刺激法を用いて，孤束核神経の応答について検討することを計画している。

43. 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。一昨年度は，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，シナプス結合の両側の PirB 発現が MHCclassI-PirB による認識と左右差の維持に必要であることを明らかにした。PirB flox mouse の CA3 に Cre と EGFP を発現した結果，Cre を発現しない EGFP のみで標識された個体では，野生型と同様，右入力シナプスの方が左入力シナプスよりも大きく，perforated synapse の割合も約 2 倍であったのに対し，Cre を発現する個体では左右差が消失していた。しかし，この結果は共同研究者によって得られている，PirB null KO を使ったレスキュー実験と一見矛盾する。この電気生理学による結果では，postsynaptic 側で PirB をレスキューした場合にのみ左右差が正常に戻ることが分かっている。この結果は，postsynaptic 側の過剰発現による presynaptic 側への影響によって起こっているのではないかとの仮定をたて，PirB のシナプス発現を可視化するために 3XFLAG タグを付加した tagged PirB knock-in mouse を作成した。ところが，抗 FLAG 抗体を用いても，タグ化された PirB を検出することができなかった。発現量が低いという問題があることを考慮し，PirB が強く発現している脾臓や胸腺でも可視化を試みたが検出できず，FLAG タグの sulfation が原因と考えられる。そこで，現在 spot タグおよび ALFA タグを付加した PirB を発現して電子顕微鏡でシナプス局在を調べることを試みている。

44. 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）

大脳基底核は行動選択や意思決定に関わる脳基底部の神経核群である。大脳基底核のネットワークとして，直接路・間接路が知られており，各々運動のアクセルとブレーキを担当すると考えられている。淡蒼球外節は視床下核とともに間接路の中継核として知られている。しかし，本研究課題ではこれまで，小林憲太准教授に作成

していただいた蛍光物質を発現する順行性 AAVdj ウィルストレーサーなどを使用し，大脳皮質から淡蒼球外節への直接の投射があることなどを解明してきた。これらの知見から，淡蒼球外節は大脳基底核の中継核としてのみ働く神経核ではなく，大脳皮質から直接情報を受け取ることが明らかになった。淡蒼球外節には，主に視床下核や黒質に投射する prototypic neuron と，線条体にのみ投射する arkypallidal neuron が存在するが，一次運動野から淡蒼球外節への投射は arkypallidal neuron に選択性を示すことも明らかになった（Karube et al., eLife, 2019）。

本年は，本研究課題で作成していただいたウイルストレーサーを用いて，淡蒼球外節から線条体への投射様式を詳細に解析した。線条体には，ストリオソーム・マトリックスというコンパートメント構造があるが，解析の結果，淡蒼球外節からの抑制性投射は線条体マトリックス領域に強い選択性を示して投射していることが明らかになった。このストリオソーム・マトリックス構造に関しては，大脳皮質運動野からの選択的な投射を含めて解析中である。これらの結果は本年度，日本神経科学学会でのポスター発表（Karube et al.），および日本解剖学会東北・北海道連合支部学術集会での口頭発表（Karube et al.）を行なっており，論文作成に向けてさらなる解析を加えつつある。

45. 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。

今年度も昨年度に続いて SARS-Cov-2 のパンデミックのため，出張等の移動が制限されただけでなく，技師・学生の自宅待機により，研究の進行に大幅な遅れが生じたため，昨年度からの計画を引き続き進めた。具体的には，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）ベクターを注入すると，用いる AAV の血清型によって，分布と導入効率に大きな差があるため，最適な条件を検討した。その結果，AAV の血清型が DJ 型の場合よりも，DJ/8 型および 2 型の場合で望ましい結果が得られ，最適な AAV の系統が判明した。来年度には，これまでの結果を受けて，2 つの新規長鎖遺伝子の変異型を用いた解析を行う予定である。

46. 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）

神経活動の光計測では，アデノ随伴ウィルスベクター（AAV）等により神経細胞へと発現させたカルシウムセンサー（GCaMP 等）を 2 光子顕微鏡でイメージングする，2 光子カルシウムイメージング法が広く使われている。取得された時系列画像は，細胞体を同定した後，その輝度変化を抽出し，デコンボリューション処理を行うことで発火タイミングの推定が行われる。しかし，カルシウムセンサーは樹状突起や軸索といった細胞体を取

り囲む微細構造にも発現をすることから，それらから発せられる蛍光シグナルが目的とする細胞体のシグナルへと混じり，真の発火タイミングの推定を困難とさせていた。近年 2 光子顕微鏡の広視野化が進んでおり，より広い範囲の神経細胞のイメージングが可能となってきているが，スキャン速度には限界があるため単一ピクセルあたりの解像度は低くせざるを得なく，構造的にそれら微細構造を分けることはさらに困難となっていた。そこで，本研究では細胞体へと発現を局在化させるカルシウムプローブを大脳皮質神経細胞へと発現させ，その特徴について調べることで，より正確な大規模神経活動の光計測法について検討した。

細胞体への GCaMP の局在化には近年報告が為されたリボソームへのつなぎとめ配列（Chen et al., *Neuron*, 2020）を利用した。これに jGCaMP8 を組み合わせたプラスミドより AAV を調整し，マウス大脳皮質へと注入した。注入より 1 ヶ月後, 頭蓋骨上に形成したガラス窓越しに, *in vivo* にて 2 光子カルシウムイメージングを実施した。2/3 層に位置する神経細胞を対象とした 30 Hz でのイメージングより，隣接した細胞体の蛍光輝度変化のトレースについて比較したが，バックグラウンドの減算を実施しない場合でも各トレース間にクロストークは見られなかった。また，視野を限定することで 200 Hz の高速イメージングについても実施したが，1 フレーム相当の時間での蛍光シグナルの鋭い立ち上がりが観察され，正確な発火タイミングの推定が可能であった。今後，これらの特性による，より大規模かつ精緻な神経活動の計測を行動と共に計測することで，脳の作動原理の解明を行っていく。

47. 体液恒常性を制御する神経機構の解明

松田隆志（国立大学法人 東京工業大学）
小林憲太（自然科学研究機構 生理学研究所）

【研究の背景】

ヒトを含む脊椎動物において体液状態を一定に保つこと(体液恒常性)は, 生命維持において重要である。脳は感覚性脳室周囲器官（sCVOs）において，体液中の Na^+濃度やアンジオテンシン II（Ang II）などの液性因子を介して，常に体内状態を監視しており，必要に応じて水分/塩分摂取や排尿，血圧などの生理機能を制御している。

しかしながら，この体液恒常性を制御する神経回路や分子制御機構の詳細はいまだ明らかになっていない。そこで本共同研究は，小林先生に調製して頂いたウイルスベクターを用いて，脳において特定の細胞集団に遺伝子導入を行い，それらの細胞集団の活動を制御あるいは観察することによって，体液恒常性を担う神経機構の解明を目的としている。

【研究成果】

小林先生のご協力のもと，我々はこれまでに，sCVOs の一つである脳弓下器官（SFO）において水分欲求を誘導するニューロン（水ニューロン）および塩分欲求を誘導するニューロン（塩ニューロン）を同定するとともに，それらの活動調節機構を世界に先駆けて明らかにしている（Matsuda et al., Nature Neuroscience, 2017）。2020 年度は，ウイルスベクターと遺伝子改変マウスを組み合わせることによって，SFO 内において水ニューロンの活動を抑制する 2 系統のコレシストキニン（CCK）陽性ニューロンを同定した（Matsuda et al., Nature Communications, 2020）。また，miRNA を発現させるウイルスベクターを用いた解析から, もう一つの sCVOs である終板脈管器官(OVLT)において Na^+/H^+ 交換輸送体 SLC9a4 が体液 Na^+ 濃度を感知するセンサー分子として働き，水分摂取行動を制御していることを明らかにした（Sakuta et al., Pflugers Arch., 2020）。

2021 年度では，Cre リコンビナーゼ依存的に目的遺伝子を発現させるウイルスベクターを用いた解析によって，sCVOs とは異なる神経核において，CCK ニューロンが水分および塩分欲求の両方を抑制する新たな神経機構を発見した。現在，論文報告の準備を進めている。また，sCVOs において，自律神経系の活性化を介した血圧上昇につながる新しいメカニズムの解析を進めている。

【本共同研究における発表論文】

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)

Sakuta, H., Lin, C. H., Hiyama, T.Y., Matsuda, T., Yamaguchi, K., Shigenobu, S., Kobayashi, K., Noda, M.. SLC9A4 in the organum vasculosum of the lamina terminalis is a [Na^+] sensor for the control of water intake. *Pfl⁄gers Archiv - European Journal of Physiology*. 472, 609–624. (2020)

48. 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）を下位頚髄（C7-8）に注入したマカクサルにおいて，吸入麻酔中下で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ていた。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。灌流固定後の脳切片に対する組織学的解析の結果，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・脳幹網様体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。今年度は追加で 4 頭のサルの下位頚髄にウイルスベクターを注入した。内 2 頭では，行動実験と電気生理実験を，別の 2 頭では安静時 fMRI によるネットワークを DREADD の on/off で検証する準備を進めている最中である。これら一連の実験により，皮質脊髄路に代表される運動性下行路の機能的役割と，この経路の活性化に伴う神経ネットワークの変化および付随する行動への影響を明らかにする。

49. 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･先端医科学研究所）

我々はこれまでに腹側海馬（vHP）が意欲行動の持続を担うことを発見した。腹側海馬は意欲行動にかかわりが深い腹側線条体に密な投射をしているが，腹側海馬−腹側線条体回路が目的指向型行動の遂行における役割はいまだ不明である。

本共同研究では，ウイルスベクター開発室　小林憲太博士から提供される順行性 AAV を用いて，腹側海馬から腹側線条体へ投射する CA1 神経にカルシウムセンサーを発現させた。腹側線条体に光ファイバーを留置し，レバーを押したら餌がもらえるオペラント行動中の当該神経軸索終末のカルシウム濃度変化をファイバーフォトメトリーで計測したところ，経路特異的な活動は観察されなかった。すなわち，レバーを押している最中に当該経路の活動が抑制されていた。この生理学的な意義を明らかにするために，当該神経に AAV を用いて ChR2 を発現させ，レバーを押している最中の軸索終末の活動を人為的に高めた。その結果，意欲の持続が障害されることに加えて，エサと関連の無いレバーを押す回数が増えた。このことは，腹側線条体が意欲行動の選択を担っている先行研究を支持する所見であった。

この一連の研究によって，腹側海馬-腹側線条体経路が意欲行動の選択と持続に関わることが明らかになり，うつ病などの意欲の障害においてこの経路の活動がバイオマーカーとなり得るのかという新たな展開を期待させる結果をもたらした。

50. 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 ウイ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 x 3mm）において 2 光子 Ca^{2+} イメージングすることのできる顕微鏡を開発している。顕微鏡による神経活動の記録を広域において行う場合，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 S/N 比とのトレードオフが発生する。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）を大脳皮質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，マウス大脳皮質において広範囲に GCaMP を発現させるためのウイルスベクターを開発し，GCaMP の導入方法や条件の最適化を行った上で，大脳皮質広域において S/N 比の良い大規模神経活動データを取得する。昨年度と同様に今年度においても AAV（アデノ随伴ウイルス）によるセロタイプ DJ の G-CaMP7.09 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いた。昨年度は特に GCaMP を発現させる皮質全体において損傷がなくかつ広く発現させられるようなウイルス濃度条件の最適化を進めた。今年度は，その最適化された条件において実際にイメージングを行い，広域（3mm x 3mm）において観察視野全体に密に GCaMP 陽性細胞が見られること，さらには安定して S/N 比の良い神経活動データが得られることを確認した。最適化された条件で広域 2 光子観察を行った場合，平均して約 13000-15000 個程度の神経細胞の同時記録が達成され，マウスによっては最大 18000 個程度の神経細胞から同時に活動を記録することに成功した。

今年度は主に大脳皮質の 2/3 層のイメージングを行ったが，より深部（5 層）の観察手法の確立も極めて重要である。この場合は，遺伝子改変マウスなども利用して開発を進める必要があるため，例えば Cre 依存的に GCaMP を発現させるような Flex ウイルスベクターや，最近開発された赤色センサーなども利用しつつ，広域深部での広範囲でのセンサーの発現と S/N 比の良いイメージングを可能とするウイルスベクターの開発を進めることを検討している。

51. 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（東京理科大学･理工学部）
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）

神経細胞はシナプス伝達によって相互に連絡する神経ネットワークを形成し，様々な脳の機能を制御している。このような神経ネットワークの関係や機能を解析する方法の一つとして開発された光遺伝学法は，さらに脳からのアウトプットとなる行動を制御するなど脳機能を科学的に解明する重要な手法の一つとして大きく発展し，神経・精神疾患の病態解明にも貢献してきている。このような光遺伝学法のさらなる発展には，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も重要な要素の一つである。

申請者らは，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，2021 年に報告した。

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**

本年度は，これらの成果を応用発展させるため，新たなタグの開発並びに検証を進めている。特に光制御分子は種類によって局在パターンやタグとの相性が異なることがわかってきた。先に報告した channelrhodopsin2 (ChR2) と同様な光制御型イオンチャネルでも，光感受性やイオン選択性の異なる種類では，細胞小器官の膜に集積する傾向を見出し，より適した分子タグの改良を行っている。また，細胞全体に広く拡散する光制御分子に関しては，新たな機能部位へ局在させるタグの開発を進めている。

機能部位への局在化には，各光制御分子の特徴，並びにタグとして利用している元のタンパク質の性質など，複数の要素が関与している。本研究では，今後も多様な機能部位をターゲットとした局在化タグの開発を進め，神経回路が制御する脳機能の解明に貢献していくものである。

52. 中枢神経系における L-DOPA 受容体 GPR143 の役割解明

増川太輝（横浜市立大学 医学部）

我々は，L-DOPA が神経伝達物質であるという仮説を提唱し，それを実証する知見を集積してきた。長らく，L-DOPA に対する受容体は不明であったが，G タンパク質連関型受容体である GPR143 が L-DOPA 受容体として機能することが報告された。GPR143 は中枢神経系に広く分布しているが，その役割は明らかとなっていない。我々は，GPR143 遺伝子欠損マウスを用いた検討から，GPR143 がうつ様症状に関与する可能性や，ドパミン D2 受容体応答を修飾することを見出してきた。本研究では，GPR143 遺伝子欠損（GPR143-KO）マウスの脳内に， GPR143 を組み込んだアデノ随伴ウイルス（AAVdj-GPR143-2A-EGFP）を投与し，再発現させた際の効果を解析する。

GPR143-KO マウスにおいて，強制水泳試験を行ったところ，野生型（WT）マウスと比較し，無動時間の増加が認められた。このような表現型がどのような脳領域の GPR143 によるものなのかを明らかにするため，GPR143-KO マウスの海馬に，AAVdj-GPR143-2A-EGFP および AAVdj-EGFP を投与し，強制水泳試験を行った。その結果，AAVdj-GPR143-2A-EGFP を投与したマウスにおいて，AAVdj-EGFP と比較し，無動時間の短縮が認められた。このことは，海馬の GPR143 がうつ様症状に関与することを示す（Kasahara et al, 2022）。

また，我々は，ドパミン D2 受容体作動薬であるキンピロールの運動量抑制作用が，GPR143-KO マウスにおいて，WT と比較し，減弱することを見出している。GPR143-KO マウスの背側線条体に，AAVdj-GPR143-2A-EGFP を投与すると，AAVdj-EGFP と比較し，キンピロールの作用が回復した。このことは，線条体における GPR143 が D2 受容体を修飾し，キンピロールの効果を促進することを示す（未発表データ）。

53. 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，吉岡　望，アンナ･シマンコワ，益子洋樹，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, 以前 AAV をマウスの末梢神経系から感染させ，感覚神経に遺伝子を導入する手法を確立したことを踏まえ，本年度は AAV-CAG-Cre を *Dst*$^{Gt\text{-}inv}$ マウスの感覚神経に感染させ，*Dst* をノックアウトしたところ運動異常を呈した。このことから，*Dst* 全身ノックアウトマウスで生じた運動失調症状の少なくとも一部は感覚神経の異常によることが示唆された。

2 つ目の実験では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）を感染させ，FGF2 除去後 2 日目，あるいは甲状腺ホルモン T3 および T4 を添加して 2 日目に, 成熟 OL マーカーの CC-1, PLP, MBP による免疫染色を行ったところ，OIF 強制発現により各タンパク陽性 OL 数が有意に増加した。一方，OL 前駆細胞（OPC）マーカーの PDGFRα と細胞増殖マーカーBrdU との免疫染色を行ったところ, 二重陽性率に有意な変動が認められなかったことから，OIF は OPC の増殖ではなく，OL への成熟化を促進することが示唆された。

54. ウイルスベクターを用いた嗅覚中枢神経回路の構造と機能の解析

村田航志（福井大学学術研究院医学系部門 脳形態機能学分野）

匂いの感覚は食物の探査や危険からの回避など多様な生理・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。本研究では嗅皮質を構成する亜領域のうち，腹側線条体領域としての性質をもつ嗅結節と，視床下部外側野に軸索投射する腹嗅核に着目し，その神経回路の構造と機能を明らかにする。

嗅結節ニューロン群の軸索投射先を解析するために Synaptophysin-GFP を発現するアデノ随伴ウイルス（AAV）を導入した。嗅結節のニューロン群にはサブタイプがあり，ドーパミン受容体 D1 と D2 の発現で区別できる。D1 発現ニューロンまたは D2 発現ニューロンが Cre 組換え酵素を発現するマウスを用いて，両サブタイプそれぞれの軸索投射先を評価した。嗅結節の D1 発現ニューロンと D2 発現ニューロンのどちらを AAV で標識した場合でも，Synaptophysin-GFP が腹側淡蒼球で観察された。視床背内側核や視床下部外側野，腹側被蓋野においては Synaptophysin-GFP の分布が D1 発現ニューロンと D2 発現ニューロンで異なる傾向がみられた。今後の研究でも引き続き，嗅結節の D1 発現ニューロンと D2 発現ニューロン，および腹嗅核ニューロンの軸索投射を明らかにする。

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

伊佐　正（京都大学大学院医学研究科）
小林憲太（ウィルスベクター開発室）

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

昨年度は，伊佐と小林の共著によるウイルスベクターを用いた経路選択的刺激について，2 編の原著論文と 1 編の総説を発表し，さらに 1 本の論文を投稿中である。
１．ラットの腹側被蓋野（VTA）に順行性 AAV ベクター，皮質運動野に逆行性ウイルスベクターを注入して経路選択的にチャネルロドプシンやクリムゾンRを発現させ，その組織学的検索により二重感染に最適な組合せを明らかにした（Koshimizu et al. Gene Therapy 2021）。
２．サルの脊髄損傷からの回復過程における大規模な回路再編とその際に生じる大脳間の脱抑制の機能回復に対する寄与をウイルス注入により，解剖学的，あるいは化学遺伝学的な技術を導入して解析を行い，現在論文化を進めている（Yamaguchi et al.）。
３．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，論文化に向けたデータ取得を進め，このデータを元に，電気生理実験や回路操作実験を進めている。
４．マウス上丘の同側脳幹への投射経路を経路選択的に光遺伝学的に刺激することによる逃避行動を誘導する実験系を用いて，恐怖情動の記憶を誘導させることができることを発見した。この逃避行動はマウスが置かれた環境によって flight 行動になったり後すざり行動になるが，その過程に扁桃体が決定的な役割を果たすことを明らかにした（Isa et al. Frontiers Neurosci 2022）。

56. 報酬学習の神経回路機構解明に資する技術開発

小川正晃（京都大学）

（目的）報酬学習を担ういわゆる報酬系と呼ばれる脳領域は，条件刺激と報酬の間の関係の学習に対応して活動するが，それらの活動が，実際に学習に果たす役割は，未解明である。そのような役割を解明するための鍵となるのは，時空間特異的に神経活動を操作し記録する手法の開発である。そこで本研究は，この目的に資する新規ウイルスベクターを開発する。
（計画）麻酔下のラットの報酬系脳領域（中脳―基底核領域など）に，本共同研究によって作製する光感受性チャネル・ポンプ・カルシウムセンサー・モノアミンセンサーなどを発現する AAV ベクターを注入し，さらに活動計測・操作を行うための光を導入するための光ファイバーやレンズ，または神経活動記録用の電極を埋め込み，条件刺激と報酬の間の関係を学習する行動中の神経活動の計測や操作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。複数の成果を得ており，現在，投稿中あるいは投稿準備中である。

57. ウィルスベクターを用いた末梢-中枢神経回路ネットワークの解明

檜山武史（岡山大学）

自律神経は脳の中枢から制御されている。しかし，その制御に関わる神経回路の詳細は明らかになっていない。本研究では，神経細胞を逆行性に輸送されるがシナプスを超えない逆行性レンチウィルスベクター（HiRet）や逆行性輸送型アデノ随伴ウィルス（AAVrg）を用いて，自律神経制御に関わる神経回路を解析した。
本年度は，HiRet や AAVrg が末梢臓器からの神経標識に使用可能か検討した。膵臓，脾臓，腎臓，甲状腺，褐色脂肪細胞，骨髄，唾液腺に緑色蛍光タンパク質（GFP）や赤色蛍光タンパク質（RFP）を発現する HiRet または AAVrg を投与し，対応する交感神経節における蛍光タンパク質の発現を比較したところ，末梢臓器からの標識には AAVrg の方が適していることが明らかになった。
AAVrg による逆行性標識の解析から，各交感神経節に

おいて，臓器ごとに投射している細胞の分布を明らかにすることに成功した。さらに，逆行性標識された腹腔神経節から細胞を単離して回収し，シングルセル RNASeq 解析を実施した。ニューロンの中に AAVrg によって導入された GFP や RFP の mRNA の検出を試みたが，残念ながら成功しなかった。

一方，中枢神経系では，HiRet の方が効率よく標識されることが確認された。そこで HiRet によって逆行性標識をした後に，神経組織を回収してシングルセル RNASeq を実施したところ，ウイルスによって導入された GFP を検出することができた。

以上より，逆行性標識とシングルセル RNASeq を組み合わせて末梢-中枢神経回路ネットワークに迫る技術が確立された。次年度より，解析を進めていく。

58. 脳の発生に関わる脂質関連タンパク質の研究

服部光治（名古屋市立大学･大学院薬学研究科）

リーリンは脳の正常な形成と機能発現に必須の分泌タンパク質であり，その機能低下は統合失調症などの精神神経疾患やアルツハイマー病などの神経変性疾患の発症や増悪化に寄与することが確実視されている。これら疾患は現代社会の最大の課題であり，脳の作動原理の理解に基づいた新規薬物の開発が切望されている。しかしリーリンが脳の機能低下を引き起こすメカニズムの全貌は不明である。我々が，リーリンが神経細胞の脂質組成を制御することを見いだしたが，これが細胞内シグナルの活性化を介するものか，または，リーリンがアポリポタンパク質様に機能するからは，不明である。本研究では，そのメカニズムに迫るため，脳内におけるリーリン結合性分子の探索を行った。

抗リーリンモノクローナル抗体を共有結合させたゲルを作成し，非切断型リーリンノックインマウス（精製中のリーリン分解を防ぐため）またはリーリン欠損マウス（コントロール）の大脳の可用性画分と混合後，洗浄・沈降させることでリーリンを精製した。その後，電気泳動と銀染色を行い，非切断型リーリンノックインマウス由来の画分にのみ存在するバンドを質量分析法によって同定した。その結果，１０種弱の分子が同定されたが，そのほとんどは細胞質または核内に局在するとされるものであったため，本研究の目的あるいは想定するモデルに合致するものではないと判断した。現在，超遠心分離法による分解などを試行している。

59. 自己免疫性小脳性運動失調症に関連する抗神経抗体の標的抗原蛋白の同定

吉倉延亮（岐阜大学医学部附属病院 脳神経内科）
竹腰　顕（岐阜大学医学部附属病院 脳神経内科）
木村暁夫（岐阜大学大学院医学系研究科 脳神経内科学分野）

自己免疫性小脳性運動失調症は，自己免疫学的機序を背景として発症する自己免疫性中枢神経疾患である。患者は，急性・亜急性に進行する起立歩行障害，上肢巧緻運動障害，構音・嚥下障害をきたす難治性の疾患である。

本研究は，この自己免疫性小脳性運動失調症患者の血清・脳脊髄液を用いて，病態に関連する自己抗体（抗神経抗体）を新たに検出し，その標的となる神経細胞膜表面抗原を同定することを目的とした研究である。

自己免疫性小脳性運動失調症では，いくつかの疾患特異的な抗神経抗体が存在することが報告されている（Balint B, et al. Brain 2018）。これらの抗神経抗体は，重要な診断マーカーであるとともに，mGluR1 などの神経細胞膜表面抗原に対する抗神経抗体は，病態に直接関与するため，抗体陽性患者に対し，免疫療法が奏功することが知られている（Jones AL, et al. JAMA Neurol. 2015）。一方，免疫組織学的な手法を用いた最近の研究により，小脳性運動失調症患者の中には，少なからず未知の抗神経抗体の合併が示唆される患者が存在することが報告

されている（Hadjivassliou M, et al. Cerebellum Ataxia 2021）。

本年度，未知の抗神経抗体の合併が予想される自己免疫性小脳性運動失調症患者の血清を用い，ラット海馬初代培養神経細胞を抗原とする免疫沈降法と，質量分析により，抗体の標的抗原となる神経細胞膜蛋白の同定を試みた。136 名の小脳性運動失調症患者を対象とし，ラット小脳凍結切片を用いた免疫組織染色により，対象患者の血清中に存在する抗神経抗体のスクリーニングを行った。結果，60 名の患者の血清中において抗神経抗体の合併を確認した。次にラット海馬初代培養神経細胞に対し，この 60 名の血清を用い免疫細胞染色を施行したところ，16 名の患者の血清で，細胞膜表面が染色され，神経細胞膜表面抗体を合併する可能性が示唆された。これらの抗体が未知の抗体である可能性を考慮し，この 16 名の患者の血清を用いて，ラット海馬初代培養神経細胞を抗原とした免疫沈降を施行したところ，健常者の血清では存在しない，いくつかの特異的なバンドが確認された。現在このバンドに該当する蛋白を質量分析により同定中である。

60. イネキシンヘミチャネルの開閉制御機構

中野俊詩（名古屋大学大学院理学研究科）
久保義弘（生理学研究所神経機能素子研究部門）

イネキシンはギャップ結合やヘミチャネルを形成して細胞内外にイオンや小分子を透過する膜タンパク質であり，哺乳動物のコネキシンやパネキシンの機能的なホモログである。本研究では，線虫 *C. elegans* の温度応答行動の解析から示唆された新規のイネキシン制御分子に着目し，イネキシンヘミチャネルの活性測定を介して，新たな膜タンパク質制御機構を明らかにすることを目的とした。

提案代表者らによる線虫 *C. elegans* の温度応答行動に着目した最近の研究から，イネキシンタンパク質の活性がストマチンなどの膜タンパク質によって制御される可能性が示唆された。そこで，本研究ではこの可能性を検証するために，まず INX-4，UNC-7 などのイネキシンタンパク質のヘミチャネル再構成を試みた。

アフリカツメガエル卵母細胞に，INX-4，UNC-7 を発現させ，ヘミチャネル再構成を試みたが，有意な電流は生じなかった。ストマチンがヘミチャネル活性に必須である可能性が考えられたことから，ストマチン MEC-2 の野生型あるいは機能獲得型タンパク質を，INX-4 または UNC-7 と共発現させたが，有意なチャネル電流は測定できなかった。

INX-4 や UNC-7 は，脊椎動物においてヘミチャネル活性を示すパネキシンなどに比べて，アミノ末端の配列が長い。イネキシン INX-6 などの構造解析から，イネキシン N 末端はチャネルポア内に位置することから，INX-4，UNC-7 の N 末端配列がチャネル電流の生成を阻害している可能性が考えられた。そこで，INX-4(ΔN1-42)，UNC-7(ΔN1-120) を作成し，アフリカツメガエル卵母細胞にてチャネル再構成を試みたが，これらの N 末端欠損型イネキシンによっても有意な電流は検出できなかった。さらに，パルミチン酸，リノレン酸など，イネキシンやパネキシンなどのアゴニストとして作用することが報告されている分子の存在下で，同様に測定を試みたが，有意な電流は測定されなかった。

次に，哺乳類培養細胞 CHO 細胞に INX-4，UNC-7 を発現させ，チャネル電流が生じるかを検証したが，顕著な電流は確認できなかった。

以上の結果から，線虫イネキシンタンパク質 INX-4，UNC-7 の発現によって，アフリカツメガエル卵母細胞あるいは哺乳類培養細胞におけるヘミチャネル再構成は非常に困難であると考えられた。

61. 生物多様性に基づく膜タンパク質の生理機能と分子動作原理の解明

小野富三人，坂田宗平（大阪医科薬科大学）
中條浩一（自治医科大学）
藤原祐一郎（香川大学）
岡村康司，好岡大輔（大阪大学）

本研究は，受容体を含む膜タンパク質の機能を生物種で比較し，その動作原理の共通項や多様性を明らかにすることを目的として行われた。本年度行われた研究は以下の通りである。

(1) ゼブラフィッシュ稚魚を用い，2 種類の HCN4 オーソログ(hcn4, hcn4l)について，心拍数制御における役割を検討した。まず一般的な HCN 阻害剤である Ivabradine, ZD7288 が，ゼブラフィッシュの心拍数を抑制することを確認した。次に hcn4, hcn4l に対するモルフォリノアンチセンスオリゴをゼブラフィッシュ胚にインジェクションし，心拍数が一過的に減少すること，心臓周辺に浮腫を生じることがわかった。以上の結果から，hcn4, hcn4l どちらも心拍数制御に関わること，そして両遺伝子の発現が心臓の初期発生に関わっている可能性が示唆された。

(2) 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，腸管の一部に多く発現する VSP の局在を調べた。免疫電顕による解析の結果，VSP は腸管上皮細胞の apical membrane に近い場所に局在することが明らかになった。MDCKII 細胞を用いた subcellular localization 解析により，VSP は主に early endosome, recycling endosome に局在することが明らかになった。VSP 欠損個体で見られる腸管上皮細胞の細胞内の vacuole の形成異常はこれら endosome における VSP の機能の欠損によって生じた可能性を示唆した。

(3) ゼブラフィッシュの骨格筋でナトリウムチャネルをコードしている遺伝子 Nav1.4 をノックアウトした個体を作成した。細胞を単離してパッチクランプを行なったところナトリウム電流は期待通り消失していたが，意外なことにノックアウト個体の遊泳運動は，幼生でも成体でも正常個体と比べて大きな違いはなかった。このことから神経筋接合部でのアセチルコリン受容体で発生する電流が十分な筋収縮を惹起する可能性を考え，コンピューター上でシミュレーションを行なった。

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。

62. 動物の光受容タンパク質オプシンのダイナミックな機能変換を利用した光遺伝学ツールの開発

塚本寿夫（神戸大学）
久保義弘（生理学研究所）

細菌から哺乳類まで，広範な生物種が外界の光をエネルギーや情報として利用して活動している。光を利用するためには，光を感知するためのセンサー分子が必要であり，多くの場合，光受容タンパク質がその機能を担っている。これまでに多種多様な光受容タンパク質が同定され，それらの機能発現・機能制御メカニズムが解明されてきた。

この 20 年間近くの間に，種々の光受容タンパク質（をコードする遺伝子）を光に応答しない「普通の」細胞種に人為的に発現させて，その細胞応答を光でコントロー

ルする光遺伝学（optogenetics）解析が発展してきた。既存の光遺伝学解析の多くでは，緑藻類から見いだされた光駆動型イオンチャネルのチャネルロドプシンが光操作ツールとして利用されているが，動物が持つ光感受性 G タンパク質共役受容体であるオプシンも，GPCR が関わる多様な細胞応答を光で操作するためのツールとして活用されている。本研究課題では，申請者である塚本が生理研久保研究室と共同研究を進める過程で見出した，動物オプシンの機能特性が種類ごとにダイナミックに変換（多様化）していることに基づき，種々のオプシンの機能特性を利用した新規光遺伝学ツールの開発を目的としている。

2021 年度は，これまでの研究から光遺伝学ツールとして有望そうな分子特性を示したオプシンを利用して，GPCR シグナリング経路のうち特定の経路のみを光で操作できるツールの作製に取り組んだ。GPCR が駆動する細胞内シグナル経路は多数存在するため，動物オプシンをツールとして用いた場合，具体的にどのシグナル経路を制御しているのか不明確になることがある。この点を改善するために，GPCR シグナリング経路の種類によって応答キネティクスが大きく異なることに着目し，光を受容すると一時的に G タンパク質を活性化するオプシンを利用して，速いキネティクスを示す細胞応答を選択的に操作するツールを作ることができると考えた。

研究を進めた結果，一時的な光活性化を示すオプシンが実際に速い細胞応答は光依存的に駆動するが，遅い応答はあまり活性化しないことを見出した。さらに，G タンパク質を介するシグナル伝達を加速するタンパク質を利用することで，そのシグナル経路選択性を強化することにも成功した。

63.「新規骨格を有する 2 光子励起色素」創製を目指した設計・合成・構造解析・機能評価研究

和田祐希，Avena Francisco Ramon，有澤光弘（大阪大学）
石井宏和，大友康平，渡我部ゆき，根本知己（生理学研究所）

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

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

昨年度は isoindolo[2,1-a]quinolone 誘導体を種々合成すると共に，それらの吸光・蛍光・２光子励起光特性についてまとめ，誌上発表した（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.）。この研究の結果，本新規骨格を有する化合物の中には，従来型色素よりも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ことがわかった。本申請研究では，本研究成果を礎に，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した。

具体的には，新たな isoindolo[2,1-a]quinolone 誘導体を９種類，設計・合成した。合成した化合物の化学構造は NMR, 質量分析及び X 線結晶構造解析により確定した。また，これら色素の光学特性（二光子励起色素スペクトルは生理学研究所において，吸光・蛍光スペクトルは大阪大学において取得）について解析を進めている。この解析結果から，構造活性相関の考察を深め，新たな誘導体の設計・合成を進める予定である。

64. 安静時脳内ネットワークのダイナミズムの臨床応用

服部憲明，岩間雄大（富山大学）
北城圭一（生理学研究所･神経ダイナミクス研究部門）

本研究の目的は，脳神経疾患で活用できる dynamic functional connectivity (DFC) 指標を見出すことである。これまでの安静時脳波，機能的 MRI 研究は，一部の精神疾患を除き，static FC (SFC) 解析が主であった。脳神経疾患において，認知･運動機能低下には減弱した，また，脱抑制的な症状などには過剰な FC の揺らぎがあり，DFC が治療効果を反映する可能性がある。

本研究では，富山大学附属病院に設置されている脳波計，MRI 装置を用いて，成人（６５歳以上を含む）健常者および脳卒中，もやもや病，重度内頚動脈狭窄，水頭症，パーキンソン病などを有する患者について，手術を含む治療前後に，安静時脳波，MRI データを収集する。そして，匿名化したデータについ生理学研究所のワークステーションで SFC，DFC 解析を行い，認知機能，運動機能などの臨床データと DFC，SFC 指標との関連，治療前後での指標の変化を検討し，バイオマーカーとして有用なネットワーク，脳波周波数帯域を見出す。

21 年度は，富山大学の倫理委員会で一括承認された研究計画について，生理学研究所と共同研究契約を締結した。そして，予備実験を開始し，富山大学で計測した 30 チャンネル頭皮脳波データの読み取り方法を確立し，様々なアーチファクトについて，実験環境，計測条件について，詳細な検証と対応を共同で繰り返した。一定のクオリティの脳波データが収集できるようになったことを確認し，本実験のデータ収集を開始した。さらに，脳波データの前処理法，位相同期解析の平均値や分散などの基本的な指標についてのトポグラフィー表示法を共同で開発した。更に，DFC のより発展的な解析方法についての検討を行った。21 年度中に若年および高齢者で構成された 10 名の健常ボランティアのデータを収集できている。

65. 経頭蓋静磁場刺激によるヒト脳可塑性の神経生理学的探索

芝田純也（新潟医療福祉大学）
美馬達哉（立命館大学）
北城圭一（生理学研究所･神経ダイナミクス研究部門）

経頭蓋静磁場刺激（tSMS, transcranial static magnetic field stimulation）は，ネオジム永久磁石を頭表に留置することで，磁石直下の脳皮質の機能を抑制することができる。経頭蓋電気刺激や経頭蓋磁気刺激と異なり頭皮の火傷やけいれんを誘発するリスクはなく，真に非侵襲的な脳刺激法であり，難治性脳疾患の治療やリハビリテーションへの応用が期待されている。

その神経生理学的作用機序として，神経細胞膜の興奮性の変化が示唆されている。細胞膜のリン脂質と膜貫通タンパク質は反磁性異方性を有しているため，tSMS がもたらす中等強度の静磁場環境において，細胞膜内に埋め込まれているイオンチャネルが変形しその機能が変化する可能性がある。また，磁場勾配がもたらす磁気の圧力が機械的刺激としてイオンチャネルに作用する可能性，ローレンツ力によりイオンチャネル内のイオンの軌跡がゆがむ可能性なども指摘されており，tSMS の作用機序として統一された見解はまだ存在しない。今後，tSMS を適切に臨床応用していくためには，神経生理学的実験データに基づき，tSMS の作用機序を数理モデル化することは必須と考えられる。本研究の目的は，計算論的神経科学者と臨床神経生理学者が共同研究を行い，tSMS がもたらす脳可塑性を数理的に理解する研究基盤を構築することである。

tSMS がもたらす脳活動のダイナミクス変化をオンラインで記録することができる tSMS-脳波同時記録法を確立することができた。tSMS には直径 50 mm，高さ 30 mm の

円柱型ネオジム磁石（表面磁束密度 5340 G, 吸着力 88 kgf。ネオマグ株式会社，東京）を用い，脳波記録には，アクティブ電極付キャップと脳波用アンプ（Brain Products, Gilching, Germany）を用いた。健常成人 12 名を対象にして，手指一次運動野へ tSMS を 20 分間行い，刺激前後での脳活動変化を脳波で評価した。一次運動野近傍の脳波電極において，4－8Hz の θ 領域の脳活動が刺激前と比べて増大することを認めた。脳波は一群の神経細胞の電気的活動を全脳領域にわたって高い時間解像度で記録できるため, 記録データは数理モデル化の解析対象となりうる信頼性の高い神経生理学的データとなる。次年度は tSMS の計算論モデルの作成を目指し共同研究を進めていく。

66. 頭蓋内電極を用いたてんかん病態下の脳内ネットワーク機構とてんかん病態の解明

松橋眞生，池田昭夫，宇佐美清英（国立大学法人京都大学大学院医学研究科）
下竹昭寛，小林勝哉，山中治郎（国立大学法人京都大学大学院情報学研究科）
横山　寛，北城圭一（生理学研究所・神経ダイナミクス研究部門）

本研究ではてんかん患者の皮質脳波（ECoG）データを対象として，非線形動力学と情報理論的観点で解析手法を提案し，振動，同期ダイナミクスの詳細の解析を行う。具体的には，京都大学にて既に計測済みのてんかん患者の発作時，発作直前時，発作間欠期における ECoG データに対し，位相同期，位相↓振幅カップリング等の解析を行うことで，てんかん発作時特異的な皮質脳波のダイナミクスを明らかにする。また，トランスファーエントロピー等の情報理論解析により，動的な情報流の定量化を行うことで，てんかん発作特異的な皮質脳波の位相同期及び位相－振幅カップリングの背後にある神経情報流とてんかん発作の機序解明を目指す。

本年度は，前年度から引き続き，1 Hz 以下の Slow な脳波振幅（infra-slow)に見られるてんかん予兆とてんかん時の脳波判読に用いられる Conventional な Oscillation（1~3Hz: δ 帯域，100~300Hz: HFO）との関係解明を進めた。その結果，多くの患者データにて統計的有意な δ 帯域及び HFO の間で位相－振幅カップリングがてんかん発作直前に認められた。また，δ 帯と HFO それぞれの振幅変動に対して Infra-slow からの情報流の強さをシンボリック・トランスファーエントロピーにて定量したところ，Infra-slow から δ 帯域の情報流入が強い患者ほど，てんかん発作時における δ －HFO 間の振幅－位相カップリングが顕著に強い事がわかった。これは，既存研究でも多く報告のあるてんかん発作時の振幅－位相カップリングが Infra-slow からの情報流がトリガーとなり引き起こされている可能性を示唆するもので，てんかん発作特異的な皮質脳波の振幅－位相ダイナミクスのメカニズムを理解するための糸口となる可能性がある。先行研究では，既に振幅－位相カップリングとてんかん発作との関係は議論されているがてんかん発作中において，異なる周波数帯域間で振幅－位相カップリングが高まるのか，それらの発生機序はわかっていない。本研究の知見はそれらの問いに対して一つの発生機序の可能性を明示するものである。今後は，これらの知見をまとめて，論文投稿を目指す。

67. 脳波ダイナミクスに着目した脳卒中機能回復原理の解明

河野悌司[1]，北城圭一[2]，宮井一郎[1]，服部憲明[3]，畠中めぐみ[1]，矢倉　一[1]，藤本宏明[1]
([1]森之宮病院 神経リハビリテーション研究部
[2]生理学研究所 神経ダイナミクス研究部門
[3]富山大学 学術研究部 医学系）

安静時においても脳はダイナミックに活動しており，安静時の脳波を測定することで，活動時の脳賦活の予測が可能である。我々はこれまでに亜急性期脳卒中患者において，安静時脳波の位相同期指数 phase synchrony index

（PSI）を用いて脳ネットワーク機能を評価し，左右運動野間や非病変側半球内の PSI が患者の運動機能障害やその回復と関連することを明らかにしてきた。本研究においては，失語症を呈する脳卒中患者の言語野間 PSI が発話能力障害のバイオマーカーたりうるかを検討した。

対象は文章より同意を得た脳卒中患者および健常者であり，日本光電社製脳波計（19ch）を使用し脳波検査を実施した。左前頭葉に脳梗塞病変を有する失語症患者において，PSI を用いて評価した脳ネットワーク機能と発話能力障害との関連を評価した。言語機能評価は訓練を受け，脳波データについてブラインド化された言語聴覚士が実施した。

脳梗塞患者 31 名（平均年齢 67.6 歳，脳波測定は発症後 35.0 日［中央値］）と年齢，性別を一致させた健常者 24 名（平均年齢 66.0 歳）を対象とした。言語関連領域（左右の下前頭部および側頭部）を関心領域として設定し，これらの領域間 PSI（δ 帯～γ 帯）を評価した。その結果，両側下前頭間 PSI は lowβ 帯で対照群より低値で発話能力障害と正の相関を示した。一方で，右下前頭-側頭間 PSI は δ 帯で対照群より高値で発話能力障害と負の相関を示すことが明らかとなった。これらの領域に隣接し，言語野と関連しない領域間 PSI では健常者との差や発話能力障害との相関は認めなかった。このように脳波 PSI が脳梗塞後失語症患者の両側大脳半球に及ぶ大域的ネットワークの変化を検出できるバイオマーカーたりうることが明らかとなった。今後は失語症回復予測についての検討を実施する予定である。

Teiji Kawano et al., Association between aphasia severity and brain network alterations after stroke assessed using the electroencephalographic phase synchrony index, Sci Rep. 2021 Jun 14;11(1):12469. doi: 10.1038/s41598-021-91978-7.

68. 運動異常症の脳内電位の同期現象

村瀬永子（独立行政法人 国立病院機構 奈良医療センター 脳神経内科）
上原一将，北城圭一（生理学研究所・神経ダイナミクス研究部門）

所内対応者の北城教授と共同利用研究者の上原助教に大まかな内容をオンラインにて確認し，その後実際にお会いしてデータ解析の相談をする計画であった。しかし新型コロナ感染症のため面会禁止が続き，実際にお会いできたのは 2022 年 3 月 31 日であった。

対面で初めてお会いして話し合うことで，以下のことを確認できた。

① データは txt file で送り，filter をかえて Local Field Potential と Spike の観点から，異なった周波数どうしの PAC をまず計算することになった。
② データは Drop Box で患者名を匿名化しておくること。
③ 10 例のジストニア患者，3 名のパーキンソン病，1 名の本態性振戦のデータがあるが，まず小数例のジストニアで解析すること。
④ 最近では集束超音波の凝固術が優先され，定位脳手術での初回例が減少しているため，症例は減少していること。

これらの話し合いの結果，2022 年度として初めてデータを 4 月 4 日に共有することが可能となった。今後さらに症例を数例御追加し，少数例で傾向がでるか検討予定である。

69. 下垂体後葉ホルモンの分子・機能進化に関する研究

山口陽子（島根大学学術研究院 農生命科学系）
久保義弘，立山充博（生理学研究所）

バソプレシン（VP）およびバソトシン（VT）は脊椎動物の脳下垂体後葉から分泌されるホルモンであり，複数の G タンパク質共役型受容体（GPCR）を介して多彩な機能を発揮する。VP/VT は腎臓での水分再吸収を強力に

促進する作用（抗利尿作用）をもち，乾燥した陸上環境での生存に必要不可欠である。

GPCR は共役する G タンパク質の種類によって下流のシグナル伝達経路が異なる。VP/VT の抗利尿作用を司る V2a 型受容体（V2aR）は主に G_s と共役して cAMP 産生を促進するが，他の VP/VT 受容体サブタイプは主に G_q と共役し，細胞内 Ca^{2+} 濃度を上昇させる。これは VP/VT 受容体ファミリーの進化の過程で V2aR のみがシグナル伝達経路を切り替えた結果だと解釈されるが，その詳細ならびにそれが生物の環境適応能力にどのような影響を与えたかは不明である。我々は軟骨魚類での研究から，V2aR の祖先型分子である V2bR を偶然発見した（Yamaguchi et al., Gen Comp Endocrinol, 2012）。V2bR は構造的には V2aR に近縁だが，二次情報伝達物質は Ca^{2+} である。以上を踏まえ，V2aR と V2bR の両方をもつモデル生物のメダカを用いて「V2aR の分子・機能進化を in vitro 及び in vivo で人為的に再現する」研究を計画した。

本年度はメダカ V2bR 配列の一部を V2aR のそれと入れ替えたキメラ受容体を作成し，蛍光プローブと全反射照明蛍光顕微鏡を用いた in vitro ライブセルイメージングで受容体のシグナル伝達経路の切り替わりを評価した。4 種類のキメラ V2bR を作成し，このうち他機関での予備実験結果に基づいて選んだ 1 種類および野生型 V2aR/V2bR について解析を実施したところ，先行研究や予備実験とは異なり，受容体間で明確な差は見られなかった。今後の方針として，当初は他のキメラ受容体の解析とキメラ受容体発現メダカの作成を予定していたが，今回の実験結果を踏まえ，野生型 V2aR/V2bR の機能特性を再検証することを優先する。メダカ以外の生物の V2aR/V2bR を解析対象に加えるほか，G_s/G_q 以外の G タンパク質との共役を検証することも視野に入れる。

70. Neural Mass model によるヒト脳波の興奮/抑制性バランスの定量化

野田賀大，和田真孝，髙野万由子（慶應義塾大学 医学部 精神･神経学教室）
北城圭一，横山　寛（生理学研究所･神経ダイナミクス研究部門）

本申請研究では，ヒト脳波から皮質内 E/I バランスの変化を予測し，うつ病患者の病態評価，及び治療による病状回復度の定量評価を可能とするようなデータ駆動型モデリング手法の確立を目的としている。具体的には，観測脳波信号を，Neural Mass (NM) model とモデルフィッティングすることで，同定されたモデルパラメタから，興奮―抑制性バランス（E/I バランス）の定量化を行う。これらの手法を健常群，及びうつ病群の実験参加者より計測した安静時脳波信号に適用し，治療前後における皮質内 E/I バランスの変化を推定することで，患者の皮質内 E/I バランスが治療により，どの程度，健常者の皮質内 E/I バランスに近づいたかなどを評価する手法開発を行う。

2021 年度は，脳波データ計測に加えて，提案手法の NM Model を用いた数値シミュレーションによる疑似脳波を用いた妥当性検証を中心に研究を進めた。データ計測については，慶應義塾大学・野田グループの方で，既に目標とするサンプル数の安静時脳波データ計測を健常群，うつ病群の両群において，おおよそ完了しており，前処理などを済ませたデータセットを生理学研究所・北城グループと共有し，解析を進めていく方向でデータ共有及びそれに伴う諸手続きを進めた。提案手法の実装・デバッグ等については，北城グループの方で進めており，実装した提案手法の数値シミュレーションによる検証を進めた。具体的には，パラメータの数値や時系列変動が既知の疑似脳波信号を NM Model より生成し，それを提案手法に適用することで，提案手法がどの程度の精度で真値のパラメータ，及び疑似脳波信号の時系列変動を予測できるかについて確認を進めた。数値シミュレーションの結果，提案手法を用いて高い精度で疑似脳波信号と NM model のパラメータ変動を予測できることが確認された。

今後の予定としては，野田グループにて計測した実際の脳波データに提案手法を適用し，解析を進め，健常群と疾患群の間での E/I バランスの比較や治療効果の推定について議論する予定である。

71. 小胞放出を抑制した海馬シナプスの３次元微細形態解析

林　周一（川崎医科大学解剖学）
大野伸彦（生理学研究所 超微細形態研究部門）

海馬は記憶の形成に重要であり，歯状回からアンモン角 CA3 への投射軸索（苔状線維）は海馬内の主要な回路の一つである。苔状線維は，CA3 ニューロンとの間に特徴的な巨大シナプス終末を形成し，強力な出力を CA3 に伝えることが知られているが，その形態形成を制御する分子機構は明らかでない。本研究は，発生期の苔状線維の巨大シナプス終末の形成において，小胞放出が果たす役割を明らかにすることを目的として実施した。

本年度の研究では, 歯状回のニューロンの一部を蛍光タンパク質 tdTomato で標識し，同時にそのシナプスからの小胞放出を抑制するように遺伝子改変したトランスジェニックマウスを用いて, 海馬の電子顕微鏡観察用試料の作製を行った。上記マウスの成獣のホモ接合型と同腹のヘテロ接合型の各 1 匹ずつを灌流固定し, 取り出した脳をスライスした。その後，光学顕微鏡を用いて CA3 領域の低倍率から高倍率の明視野像を取得し, 目印となる血管や細胞を撮影した。さらに，蛍光標識された苔状線維のシナプス終末の共焦点顕微鏡像を取得した。その後，生理学研究所において，スライスを電子顕微鏡観察用に染色し，樹脂包埋を行った。次年度の研究では，この試料について Serial-Block-Face-Scanning Electron Microscopy (SBF-SEM) 像を取得し, 事前に取得した蛍光顕微鏡像と相関させることにより, 苔状線維の巨大シナプス終末の微細形態を 3 次元解析する予定である。

【生体機能イメージング共同利用実験報告】

生体機能イメージング共同利用実験報告

〔 目　　次 〕

1. 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 …… 207
2. マカクザルの脳構造撮影 …… 207
3. マカクサルを用いた精神機能と運動機能を向上させるための脳深部刺激療法の確立 …… 208
4. 発達過程にあるマイクロミニブタ還流脳の超高磁場 MRI による解剖学・組織学・Tractography …… 208
5. 共同運動課題時の複数名同時脳活動計測：コミュニケーション形成の神経的基盤を探る …… 209
6. 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 …… 210
7. 拡散強調 MRI を用いたマカクザル神経線維結合の検証 …… 210
8. 意欲-運動連関を支える神経機構の解明 …… 211
9. ぬれ感覚の脳内形成機序の探索 …… 211
10. 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 …… 212
11. ハイパースキャン MRI を用いた相互作用する二者の言葉のやりとりによる共創的学習と共有イメージの神経基盤の解明 …… 213
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 …… 214
13. 運動イメージの脳内表象の解明 …… 214
14. 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 …… 215
15. 脳波・機能的 MRI 同時計測法を用いた睡眠覚醒機構の解明 …… 215
16. 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 …… 216
17. 認知的負荷の時間割引の行動・神経機構の解明および先延ばし・ アパシーの横断的説明 …… 217
18. Gap により惹起される聴覚誘発脳磁界反応 …… 217
19. MEG を利用した聴覚時空間的脳活動の検討 …… 218
20. 反復・同音語プライミング効果を用いた漢字熟語を読む際の処理経路の検討 …… 218
21. 聴覚情報処理基盤となる音響物理パラメータ特定のための聴覚誘発磁界の計測 …… 219
22. 脳磁図を用いた運動知覚の神経基盤の解明 …… 220
23. 手指の運動制御時における感覚運動領域活動の解明 …… 220
24. 脳磁図を用いた片側良聴耳患者における周波数特異性の研究 …… 221
25. 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 …… 221
26. 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 …… 222
27. ヒト記号記憶の保持に関わる脳律動信号の波形解析 …… 222
28. 音声及び音楽刺激に対する神経振動帯域間相互作用の信号源解析 …… 223
29. 自立神経系の変動特性の安静時脳ネットワークへの影響評価 …… 223
30. Positron emission tomography (PET) insert study with a 7T whole-body MRI system …… 224
31. Development of 8-channel parallel transmission technology in 7 Tesla MRI system and its application to research of functional architectures in human association cortices …… 224

32. 眼球運動の機能的ネットワークの解析 225
33. 大脳言語野皮質の層特異的活動の計測 225
34. 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 226
35. 骨格筋代謝物質における 7T MRS/CSI の最適化と計測法の確立 226
36. 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 227
37. Personalizing Brain Stimulation Dosage by New Neurostimulation Computational Model 227
38. 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 228
39. 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 229
40. 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 230
41. fMRI における外側後頭皮質のより特異的な functional localizer の探索 230
42. 意味の創発に関わる内的表象形成メカニズムの解明 231
43. 機械学習と fMRI を用いた抒情の生じるメカニズムの解明 232
44. 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 233

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･量子医科学研究所･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。そのうち 4 頭については LHb での hM3Dq 発現を DREADD 選択的 PET リガンド[^{11}C]DCZ を用いた PET 撮像により実験開始前に確認するとともに，最終的に免疫組織学的に同定した。これらのサルに DREADD アゴニストを全身投与することで，（1）[^{18}F]FDG-PET イメージング解析により発現領域の神経活動が亢進すること，（2）採取した脳脊髄液を HPLC 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,（3）意欲行動を定量できる行動課題を用いて，意欲減退が生じることを確認した。これらの結果を総合し，LHb に導入した hM3Dq を介して，アゴニスト投与によりうつの一部の病態が再現できるモデルが確立できた。

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，引き続き両者の往来を見合わせる一方，正常個体を対象とした撮像条件の検討を生理研・量研の双方で実施し，麻酔管理技術，撮像した画像の S/N 比やシグナルの均一性などと合わせて情報共有を行なった。加えて，DREADD アゴニスト DCZ 投与による DREADD を介した BOLD 変化を検出すべく，Pharmaco-fMRI 法の利用など技術的検討を行った。

得られた撮像プロトコルや麻酔条件についての情報と技術情報は，今後の化学遺伝学による回路操作条件での安静時機能結合パターン解析における最適な機能 MRI 撮像の条件設定に生かされることが期待できる。

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（生理学研究所 認知行動発達機構研究部門）
横井　功（生理学研究所　認知行動発達機構研究部門 生理学研究所 技術課）
郷田直一（生理学研究所 心理生理学研究部門）

マカクザルの脳から単一神経細胞の活動を記録する際には微小電極を目的の脳部位に正確に導くことが重要である。そのためには目的の部位の正確な脳構造を知る必要がある。特に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が，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。

MRI 撮影により記録目的の神経核である外側膝状体ならびに視床枕の構造を同定するとともに，設置済みの記録用チェンバーとの位置関係を正確に同定するためには，T1，T2，T2*強調画像をそれぞれそれぞれ撮影し組み合わせて評価する必要がある。本年度は記録用チェンバーの取り付け手術を行った後に MRI 撮影の計画を立てた。

しかし，MRI 撮影の日程調整が難航したため，あらためて撮影計画について協議し，撮影を行わないこととした。理由として当該サルは前年度，記録用チェンバーを

取り付ける前に MRI 撮影を行っており，このデータを再解析することで記録用チェンバーとの対応付けが可能である可能性が示唆されたためである。郷田助教の指導のもと MRI データの再解析を行ったところ，記録用チェンバーをとりつけたサル頭部のレントゲン画像と対応付けを行うことができ，記録部位の推定が可能となった。求まった推定座標に基づき，ユニット記録実験を開始したところ，果たして該当座標に置いて明瞭な視覚応答特性が得られ，外側膝状体の位置特定ができた。外側膝状体をランドマークとして相対的に電極位置を調整することで視床枕と思われる部位の特定もできた。

MRI データの再解析に基づいて記録部位のマッピングを行う事で，予定していたよりも速やかに部位特定が完了した。これは実験の効率化のみならず，頭蓋の開口面積を減らし，電極の刺入回数も少なく済むなど侵襲性が低く，実験動物への倫理的配慮としても意義がある。

3.　マカクサルを用いた精神機能と運動機能を向上させるための脳深部刺激療法の確立

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）

中枢神経障害後にはうつ病の併発率が高く，それが運動機能回復を阻害することが臨床現場での大きな問題となっている。ゆえに，うつと相対する意欲の生成に関与する脳領域の活性化が精神機能の改善と活動性・運動機能を向上させるためには重要である。特定の意欲中枢活性化の手法として脳深部刺激法が挙げられるが，その手法を確立するためにはモデル動物の意欲中枢を的確に同定することが不可欠である。

上記の目的を達成するために，2021 年度の生体機能イメージング共同利用実験において，3 頭のニホンザルを東京都医学総合研究所から生理学研究所へ搬出し，各個体の脳構造画像の撮像を行った。得られた画像を基に，意欲中枢の一つとされる側坐核の座標を特定し，刺激電極を慢性的に埋め込んだ。埋め込み後，到達把握運動課題中のサルの側坐核へ電気刺激を与え，電気刺激による意欲と運動パフォーマンスの変化を検証した。

電気刺激ありの条件では，刺激なしの条件に比べ，課題施行数が 2~3 倍ほど増加した。一方で，反応時間や把握力などのパラメーターには刺激 on/off の差はほとんど観られなかった。これらの結果は，側坐核への電気刺激は電気刺激と連合した行動への意欲を高め，行動実行の強化に繋げることができることを示している。うつ病における意欲の減退を緩和させる手法として，側坐核への脳深部刺激法は意欲向上に伴う活動性の改善につながる手法になる可能性が示唆された。

4.　発達過程にあるマイクロミニブタ還流脳の超高磁場 MRI による解剖学・組織学・Tractography

高垣堅太郎，竹島雅之，平田真樹，森松文毅（徳島大学 バイオイノベーション研究所）
Wolf Zinke（Leibniz Institute for Neurobiology, Magdeburg）

脳生理学ではサルやイヌ・ネコなどが伝統的には最も重要な哺乳類モデル生物であったが，繁殖・飼育や遺伝子改変の容易性から齧歯類が用いられるようになった。本研究は，イヌ・ネコに代わる中大動物モデルとして注目されるブタを，脳生理学研究のモデル生物として確立するという大目標のもとで行った。

ブタは睡眠サイクルなどをはじめとする行動全般がヒトとの共進化によりヒト化しており，臓器大も猿と比べて大きい。また家畜動物として，人間との特殊な関係性を築いてきたため，その実験利用にあたっては猿やイヌ・ネコとは違った位置付けが可能である。こういった事情により現在，ブタはヒト疾患モデルやデバイス開発のプラットフォームとして注目されるのみならず，異種臓器移植のドナーともなっている。

本研究では発達過程にあるブタ脳の *ex vivo* 還流標本を用い，初めて超高磁場 MRI での撮像を確立した。また，

イメージングについては実験繁殖したマイクロミニピッグを利用することで，今まで研究されることが少なかった初期発達期の脳を対象とした。

まず，*ex vivo* イメージングに適する標本について検討し，サルや齧歯類といった実験動物の解剖ではルーチーンに行われる還流固定法をブタにて確立することに成功した。還流固定による組織標本は脳・肝臓・腎臓など内部構造の複雑な臓器においては組織学・病理学的に高品質な組織標本を得る上で欠かせない。畜産動物においては初めての中心循環経由の還流標本採取であり，将来の中大動物生理学・病態生理学の参考になるよう還流プロトコルも発表してゆく予定である。

Ex vivo イメージングについては，サルと同様脳摘出標本が至適であることが確認され，通常解剖像とともにミエリン比重画像，トラクトグラフィーなどが得られた。このデータは，ブタの脳発達アトラスとしてまとめてゆく予定である。

また頭蓋骨から摘出しない全頭標本では，微小な空気泡によるイメージング像の歪みが見られることもわかった。ブタ成獣の頭骸骨は霊長類と比べ前頭洞など含気部の発達が著しく，*ex vivo* 標本での知見をもとに，ブタ *in vivo* で可能なイメージング項目を検討してゆく。

さらに，生体イメージングに向けた準備として，超高磁場施設内での麻酔利用可能性や移動式飼養管理施設の使用の可能性について，さまざまな側面から検討を行い，継続課題において実施する予定である。

5.　共同運動課題時の複数名同時脳活動計測：コミュニケーション形成の神経的基盤を探る

阿部匡樹（北海道大学大学院教育学研究院健康体育学分野）
高橋康介（中京大学心理学部実験心理学領域）
渡邊克巳（早稲田大学理工学術院基幹理工学部表現工学科）

二人以上の集団が一つのゴール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，単純な力調整課題においてもメンタライジングシステムと呼ばれる脳領域の賦活が生じること，その中でも右の側頭-頭頂接合部（TPJ）が他者との協調に大きな役割を示すことを明らかにした（Abe et al., NeuroImage 2019）。昨年度はこれに VBM 解析を加え，メンタライジングシステムに属する左前頭極・縁上回付近の領域が他者協調の度合と関連していることを示唆した。

この力調整課題にさらに 1 名加えて 3 名とした場合，より複雑かつ高次の社会性が要求され，その神経基盤の詳細を検討することが可能となると考えられる。そこで，本年度は昨年度に引き続き 2 台の 3T-fMRI スキャナと 1 台の 7T-fMRI スキャナを同時に用いた実験環境の構築，ならびに実験課題の精査と検証を進めた。

3 台の fMRI スキャナおよび視覚刺激の同時使用に関しては，昨年度までに延長ケーブルによって異なる研究棟にあるスキャナ間を直接接続する実験系を構築し，視覚刺激の適用および fMRI データの取得，ともに問題なく可能であることが確認されている。本年度は実験プロトコルの調整を再検討して二人課題との比較も可能な課題設定としたが，コロナ感染状況の悪化に伴い実験の中止が続き，本実験の完遂には至らなかった。来年度以降は 3 人同時課題の実施・解析に焦点を絞り，20 組前後を対象に共同課題時の脳活動同時計測を行う予定である。

6.　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）

マネする人とマネされる人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（Call, 2002）。本研究ではこの行為・意図の共有の神経基盤を明らかにすることを目的として，２台の MRI 装置を用いて相互模倣課題中の２人の脳活動を調べた。

課題は意味のないカタカナ２文字の書字模倣とし，右人差指で透明のパネルに書いてもらった。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し，模倣しやすいように映像は左右反転させた。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（左と右の文字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人は異なる文字を異なる書き順で書いた。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。今年度は健常成人２９組５８名のデータを記録した。

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よりポジティブと報告することが確認された。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。意図共有がある場合は，行為共有によってよりポジティブ感情を回答したが，意図共有がない場合には，そのような差は見られなかった。意図が共有されない場合には，相手が何を書くかわからないため，行為の共有に失敗した試行が影響している可能性が考えられる。

この点を含めて，現在は課題中に記録した２人の指の動きの類似性評価を進めている。そして，これら行為と意図の共有に応じて活動強度が変化する脳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脳領域を今後明らかにしていく。

7.　拡散強調 MRI を用いたマカクザル神経線維結合の検証

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ことを目的とした。

昨年度よりの課題である固定標本を用いた拡散 MRI 計測プロトコル確立を目指して，神経トレーサーを注入していない灌流固定標本を用いた撮像を実施した。本年度も感染症の蔓延のために発令された緊急事態宣言に伴う移動制限により，実験の実施できる機会が十分ではなかった。さらに，昨年度より問題となっている空間解像度の問題を解決するため，SE-EPI シーケンスの導入を進めたが，装置との互換性等の問題により実装には至らなかった。

上記のような撮影方法の限界のため，現状では本申請課題の目的を達成するのに十分な拡散強調画像を得ることは難しいと判断した。空間解像度の問題を解決する新たな撮影手法が実現された後，改めて本申請課題を再開することを計画している。

8.　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結びつける機能的結合と解剖学的結合を明らかにすることを目的とする。

これまでの成果として，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。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。この仮説を確かめる 7 テスラ MRI 実験に 28 名が参加した。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。さらに，情動イメージ中には非情動イメージに比べて中帯状回前方部がより強く賦活した。現在，腹側中脳活動と情動イメージを介した運動出力の自発的促進について，詳細な解析を実施している。

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決定，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。この結果をまとめた論文が NeuroImage 誌に掲載された（Nakayama et al., 2022）。

9.　ぬれ感覚の脳内形成機序の探索

永島　計（早稲田大学，人間科学学術院）
中田大貴（奈良女子大学，生活環境科学部）
菅原　翔（東京都医学総合研究所）
定藤規弘（生理学研究所，心理生理学研究部門）

1. はじめに

湿度や皮膚表面の濡れは，“蒸れ感”，“濡れ感”として我々の意識にのぼる。研究は，①濡れ感や蒸れ感に関わる脳部位を同定し，②これらの感覚の形成機序を脳内情報伝達解析により明らかにする。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す。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

健康な男女 16 名を対象とした。吸気の温度条件（25 ℃, 34 ℃），相対湿度（RH）条件（30 %, 70 %）を変化させる 4 試行の実験を行った。実験では鼻部のみを覆うマスクを介して，統制呼吸（3 秒間の鼻からの吸気，続いて 3 秒間の口からの呼気を 90 回，9 分間)を行った。また，メントールをマスク内で昇華させながら同様の条件で行った（N=8）。統制呼吸中の鼻中核部の粘膜表面温度（T_{nose}），マスク内の温度（T_{mask}）及び湿度（RH_{mask}）を連続的に測定した。実験参加者は，吸気に対する温度感覚，蒸れ感覚を評価した。また，大気圧，吸気の温度，湿度から露点温度（T_d）を求めた。

3．結果

蒸れ感覚は吸気の温度，相対湿度の上昇に伴い有意に強くなった（$p<0.001$）。T_{mask}，T_{nose} と蒸れ感覚の間には有意な相関はみとめられなかった。T_d と蒸れ感覚の間には有意な正の相関が見られた（$r=0.4336$, $p<0.01$）。吸気の温度感覚と蒸れ感覚の間で有意な正の相関が見られた ($r=0.666$, $p<0.01$)。メントールを吸引しながら行った実験においても温度感覚と蒸れ感覚の間に有意な正の相関が見られた ($r=0.535$, $p<0.01$)。

4．結論

吸気の蒸れ感覚は，吸気の温度，湿度上昇の各々の刺激によって強くなった。VAS 蒸れ感覚の強度は露点温度との高い正の相関が見られ，吸気中の含水量を受容するメカニズムの存在を予想した。T_{nose} と蒸れ感覚との間には有意な相関関係は認められなかったが，温度感覚と蒸れ感覚鼻腔内での温度感覚が蒸れ感覚の形成要因となる可能性が示された。メントール刺激による温感覚の変化をともに，蒸れ感覚との関係も変化したことから，蒸れ感覚の形成には吸気温度による T_{nose} の変化でなく，吸気温度に対して生じる温度感覚が重要である可能性が示された。

10. 語用論的解釈の神経基盤 — 認知要素と情動要素の協働機制の探索

中村太戯留（武蔵野大学データサイエンス学部(教養教育)）
松井智子（現：中央大学文学部／元：東京学芸大学国際教育センター）
内海　彰（電気通信大学大学院情報理工学研究科総合情報学専攻）

語用論的解釈においては，何らかの不調和を手掛かりとして, 発話者の発話内容を調節する処理が必要となる。その際に，認知要素と情動要素が関与すると考えられている（Vrticka 他, 2013）。本研究は，語用論的刺激を用いて，(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，昨年度に引き続き論文化を進めた。認知要素として，文脈情報と発話内容の不調和の感知では内側前頭前野の前方, 側頭極, そして小脳が賦活した。この結果は，小脳が「心の理論」に関与するという見解（Van Overwalle 他, 2020）とも符合する。情動要素として，発話韻律と発話内容の不調和の感知では扁桃体が賦活した。この結果は，扁桃体が皮肉理解において重要な役割を果たすという見解（内山他, 2012）と符合する。そして，両要素の交互作用として，帯状回を含む内側前頭前野の後方，島皮質，そして前頭前野が賦活した。両要素は，顕著性ネットワーク（Menon & Uddin, 2010）を介して前頭前野で統合されると解釈した（図１）。これらをまとめた論文を記載して発表した（中村他, 2022）。

(B) 比喩に関して, (A)と(B) の関係性の検討の一環として，認知要素と関連した研究の動向の検討（内海, 2022）と, 情動要素（ユーモア）と関連した理論構築（中村, 2022）を進めた。後者は，ユーモア理解における不調和の解消段階で扁桃体が重要な役割を果たすという見解（中村他, 2018）に加え，「『保護されている』という認識の枠組み」（Apter, 2007）の重要性を指摘した。その神経基盤は不明であるため，今後の重要な検討課題と位置づけられる。

引用文献

Apter, M. J. (2007). *Danger: our quest for excitement*. Oxford: Oneworld.

Nakamura, T., Matsui, T., Utsumi, A., Yamazaki, M., Makita, K., Harada, T., Tanabe, H. C., & Sadato, N. (2018). The role of the amygdala in incongruity resolution: the case of humor comprehension. *Social neuroscience*, **13**(5), 553□565.

Nakamura, T., Matsui, T., Utsumi, A., Sumiya, M., Nakagawa, E., & Sadato, N. (2022). Context-prosody interaction in sarcasm comprehension: a functional magnetic resonance imaging study. *Neuropsychologia*, **170** (108213), 1–11.

中村太戯留. (2022). ユーモア理解の「見いだし」理論. *語用論研究*, **23**, 34–50.

Vrticka 他. (2013). The neural basis of humour processing. *Nature reviews. Neuroscience*, **14** (12), 860–868.

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.

Uchiyama 他. (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.

内海彰. (2022). 比喩処理の認知プロセスに関する実証的研究の動向と展望. *語用論研究*, **23**, 16–33.

Van Overwalle 他. (2020). Consensus paper: cerebellum and social cognition. *Cerebellum*, **19** (6), 833–868.

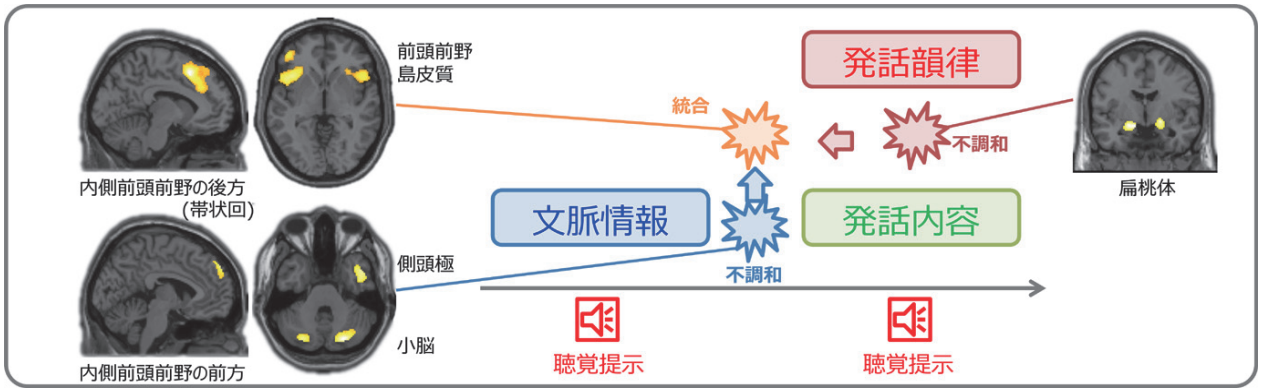


図 1 ：皮肉理解における認知要素と情動要素の協働機制

11. ハイパースキャン MRI を用いた相互作用する二者の言葉のやりとりによる共創的学習と共有イメージの神経基盤の解明

田邊宏樹（名古屋大学）

経験を共有することは人間の社会的認知の基本であり，言語を介したコミュニケーションはその中核をなすものである。我々はこれまで，視覚的経験は世界に向けられた心的状態であり，視覚的経験の共有は，共有の指向性に対する共同注意と心的状態の推論（心の理論）によって媒介されるという仮説を立て，音声言語による空間的・特徴的な共同注意課題を用いた hyperscan fMRI 研究を行ってきた。実験の結果，共同注意ネットワークの主要ノードと考えられている右前島皮質（AIC）～下前頭回（IFG）複合体と，ターゲットの共有カテゴリーを表す右後上側頭溝（STS）において，課題特異的な神経活動のペア間同期を認めた。この結果を踏まえ，言語のやりとりによってイメージを共有する際の二者の神経メカニズムを探る実験課題の構築を試みた。具体的には，ペアとなった二者のうちの 1 人に絵または写真を提示するとともに何を伝えるかのヒントを視覚的に呈示し，それを言語化して相手に伝え，情報を受け取った方は言語的なヒントを元に自分の中に視覚イメージを作り出すというものである。このような情報伝達を行う二者において，ヒントの数により共有するイメージの脳内表象の活動パタンの類似度の違いやペア特異性などを検討することとした。本年度は，上記に示した実験の具体的な課題の構築がほぼ完成し，行動及び hyperscan fMRI の予備実験を行った。行動実験の結果，今回用いた実験刺激において，情報を受け取る側は主観的にはヒントの数により視覚イメージの鮮明度が変化することが確認できた。さらに hyperscan fMRI のプレ実験において，刺激や課題の難易度，MRI 内での言語でのやりとりの問題点などを洗い出し，最終的に作成した実験課題が MRI 内で遂行可能であることを確認した。現在，刺激呈示時間などの微調整を行っているところであり，それが終了し次第本実験に入る予定である。

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）

本研究は，第二言語処理に伴う脳領域を明らかにすることで，第二言語を処理する過程にどのような機能が求められるか調査することを目的とする。被験者に日本語母語話者と日本語学習者の２グループを採用し，第一言語として日本語を処理する過程と，第二言語として処理する過程を比較検証した。

用いた課題は日本語の助詞である。二つの文章を述部，主部の順に提示し，平仮名一文字を発話することで正しい文章に構築築する課題を課した。一般的に「てにをは」と呼ばれる助詞は，私たち日本人にとって難しいものではない。発話の中で自然に使い分けているが，一文字の平仮名が単語に加わることによって，その単語が主語になるのか，目的語になるのか，または所有を示すか瞬時に決定する。第二言語習得分野において，日本語の助詞は習得が難しい文法要素の一つとされている。つまり学習者にとって，文脈に適した助詞を瞬時に選び文章を構築することが大変難しいのである。

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した。

両グループの正答率，解答速度，神経基盤を比較検証した結果，学習者は母語話者に比べ正答率が低く，解答速度も遅かった。つまり，日本語母語話者にとって助詞の産出は簡単である一方，学習者にとっては，平仮名一文字を産出することが非常に困難であることが明らかになった。神経基盤は，両グループとも left Inferior Frontal Gyrus の関与が認められ母語話者も学習者も同じ領域を使って処理を行うことが明らかになった。一方，学習者グループに特化して活動する領域は Left Inferior Frontal Sulcus であり Verbal Working Memory 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. 運動イメージの脳内表象の解明

水口暢章（立命館大学総合科学技術研究機構）
菅原　翔（公益財団法人東京都医学総合研究所脳機能再建プロジェクト）
濱野友希（早稲田大学理工学術院総合研究所）
加藤健治（国立研究開発法人国立長寿医療研究センター健康長寿支援ロボットセンター）
土元翔平，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。

今年度は 6 名の被験者からデータを取得し，これまでに 30 名の一般健常者が実験に参加した。運動課題は指タッピングとし，指タッピングの実行および運動イメージを行った。課題開始および終了は視覚および聴覚キューによって呈示され，筋電図によって課題中の筋活動を手指および前腕から記録した。

現時点までの解析の結果，運動イメージによって運動誘発電位の振幅が増大すること，および，運動イメージ関連領域が賦活することを確認しており，これらは先行研究の結果と一致している。今後は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進める予定である。

14. 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 fMRI 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。今年度は，亜半切からの機能回復に関わる脳活動の解明に取り組んだ。まだ回復が始まらない損傷後 1 か月では，健常側の手への刺激によって，一次体性感覚野の活動が増加した。損傷後の 2 ヶ月において，6 頭のうち 5 頭が回復を示した。この 5 頭のデータから，健常側の手へ刺激によって後頭頂皮質の活動が増加し，その後は損傷前と同程度になった。このような健常側の感覚応答の増大は，回復過程において皮質において非選択的に大規模な脱抑制が起きているということを示唆している。一方，回復を示さなかったサルでは，後帯状皮質を中心に活動が増加した。これらの結果から，健常側への刺激に対する脳の活動応答は，時間依存的であり，損傷側の機能回復過程に関連していることが示唆された。

15. 脳波・機能的 MRI 同時計測法を用いた睡眠覚醒機構の解明

石井　徹（京都大学大学院医学研究科附属脳機能総合研究センター）

「睡眠と覚醒，意識と無意識の境界で脳に何が起きているのか」は神経科学領域に残された課題の一つである。入眠期には脳波に多彩な変化が現れるのみならず，眼球運動，筋電図にも様々な変化がみられる。また，主観的

には入眠時心像が出現しその内容も刻々と変化することが報告されている。これらは覚醒から睡眠への移行過程で生じる脳内の動的変化を反映していると考えられるが，入眠期におけるヒトの脳活動変化について詳細は未だ解明されていない。本研究では，睡眠判定の gold standard であり高い時間分解能を有する脳波と，高い空間分解能を有する fMRI の同時計測手法を用い，覚醒と睡眠を調節する脳機能に迫ることを目的とした。

18-35 歳の健康な男女を対象として被験者を募集し，午睡実験を行った。3TMRI（Siemen 社 verio）及び脳波計測装置（BrainAmp）を用い自然睡眠中の脳活動計測を 1 時間連続で行った。覚醒と睡眠 NREM stage1 の遷移に焦点を当て，視察脳波判定により stage shift が確認できた時点で被験者に覚醒を誘導する方法を用いた。脳波解析では，周波数解析及び AASM 基準に基づく睡眠段階視察判定を行った。fMRI 解析においては，1) スペクトラム解析に基づいた EEG 各帯域と BOLD の相関，睡眠段階判定を基にした 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，Pandemic 等の影響により 2021 年度中も新規実験の中断を余儀なくされ，被験者の追加は叶わなかった。定期的にオンラインで解析方法等の検討を行い，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た。視床を seed とした機能的結合性解析では，入眠期に視床と皮質領域との結合性が低下している一方で，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，その結果を報告予定である。

16. 意図的な立毛生成の神経基盤および情動機能との相互作用の解明

片平建史（早稲田大学文学学術院）
川上　愛（早稲田大学人文科学総合研究センター）

今年度の研究では，意図的な立毛生成に関わる神経基盤を解明するための脳機能イメージング研究を実施する予定であった。しかしながら，年度中盤における新型コロナウィルス感染症の拡大により研究の遂行に制約が生じたため，研究の準備状況の充実と予備的なデータの解析に努めた。具体的な実施項目は，1) fMRI と立毛の同時計測を行うための実験系の精緻化，2) 意図的な立毛生成能力を持つ被験者を対象とした予備的データの解析，3) 意図的な立毛生成能力を保有する被験者プールの拡充であった。

年度の前半における研究では，生理学研究所で保有する高磁場対応 CCD カメラ（フィジオテック 12M）を用いて fMRI の撮像中に立毛のデータを取得するための計測系を確認した。高磁場対応 CCD カメラを自作のカメラマウントおよび光ファイバーを用いた導光装置と組み合わせ，MRI スキャナ（Siemens 社製 3T MRI MAGNETOM Verio）のボア内に設置した上で，CCD カメラの映像データが良好に得られる条件の探索を行った。

年度後半の研究では，前年度までに取得を完了していた，意図的な立毛の生成を実行する間の脳機能計測の予備的データの検討を行った。当該実験は意図的な立毛生成能力を有する被験者 4 名を被験者として，立毛を意図的に生成するタスクブロックと安静状態を維持するレストブロックを 30 秒ずつ交互に繰り返すブロックデザインで機能画像の撮像と立毛の映像記録を行ったものである。グループ解析の結果は意図的な立毛生成に関連した運動野や中枢自律神経ネットワークの活動とともに，視覚野における活動も明らかにした。このうち視覚野の関与は意図的な立毛生成のタスクからは予想されない活動であり，立毛生成の方略と対応づけながら個人ごとに詳細な解析を行う必要性が示唆された。

また，年度を通して意図的な立毛生成能力を持った個人の特定を進め，立毛の客観的な測定によってこの能力が確認された被験者のプールを 19 人まで拡大した。これ

により，意図的な立毛生成に関わる神経基盤を解明するための脳機能イメージング研究を実施するのに十分な人数の被験者が確保される。

今後の計画としては，新型コロナウィルスの感染状況が落ち着き次第，脳機能イメージング研究を実施し，意図的な立毛生成に関わる神経基盤の検討を行う。立毛反応に関連した脳活動のデータはこれまで発表されておらず，新規性の高い知見が得られるものと期待される。

17. 認知的負荷の時間割引の行動・神経機構の解明および先延ばし・アパシーの横断的説明

永瀬麻子（鳥取大学医学部医学科脳神経医科学講座脳神経内科学分野）

認知的負荷とは，論文の構成を考えたり，自動車の運転をしたり，数学の問題を解いたりする際に生じる認知的な負荷のことである。つまりは，学生さんが勉強したり, 社会人の方がデスクワークをしたりしているときは, なにかしらの認知的な負荷課題を遂行している。この認知的な負荷に基づく意思決定・学習の機構はまだ十分には明らかになっておらず, また, この機構と時間の関係, またこの機構の障害がどのような日常の問題行動を引き起こすのかも解明されていない。この研究では，負荷と時間に基づく意思決定・学習の行動原理と神経機構，および, 健常人を対象として，これらの個人差が意欲障害・強迫症などを診断横断的に説明できるかどうかを調べている。

2021 年度は，生理学研究所・定藤の研究室を訪問し，行動実験および fMRI 実験の打ち合わせと準備を行った。標準的な撮像方法, マルチバンドを用いた撮像方法, HCP パイプラインに準じた撮像方法とこれらのデータに適した解析手法のいずれの手法が，今回の実験デザインでの標的脳領域と親和性の高い方法であるか，議論・検討した。

2022 年度は，行動実験と fMRI 実験の実施を予定している。

18. Gap により惹起される聴覚誘発脳磁界反応

岡本秀彦，門脇誠一（国際医療福祉大学医学部）

本研究では，雑音下に埋め込まれた無音区間（Gap）により惹起される聴覚誘発脳磁界反応を調べようと試みた。聴覚情報は蝸牛において周波数情報と，各周波数帯域の音圧が時間の経過とともにどのように変化するかの時間情報に変換され，聴覚中枢に伝達さえる。語音の知覚にはこの時間情報をどれだけ正確に伝えられるかを示す「聴覚時間分解能」が非常に重要な役割を担っていることが明らかになっている。聴覚時間分解能を調べるために，最も広く施行されている測定方法は，Gap in Noise（GIN）テストと呼ばれるもので, 広帯域雑音に短時間の Gap を挿入しそれを徐々に短くして，どこまで Gap の存在を知覚できるかを調べる方法である。しかしながら，GIN テストは比較的集中力が必要な試験であり，実際の臨床の現場ではほとんど使用されていない。またGIN テストは被験者の反応を必要とする主観的な試験であり，客観的に聴覚時間分解能を計測する方法は限られているのが現状である。そこで本研究では，客観的に時間分解能を計測することを目的に, MEG を用いて様々な長さの Gap によって惹起される聴性誘発脳磁場反応を計測することを目的とした。測定時に音を発生せず時間分解能に優れる MEG 計測は，聴覚時間分解能を計測する本研究に非常に有用であると考えた。

Gap 刺激により惹起される聴覚誘発脳磁界反応が, Gap の長さにどのような影響をうけるか，また雑音の繰り返しの頻度によりどのような影響を受けるかを検証した。本研究では聴性誘発定常反応に注目し Gap を繰り返し頻度，20 Hz, 40 Hz, 80 Hz で予備実験を行い，40 Hz の時の反応が SN 比に優れていることが分かった。そこで，聴力正常の健常成人 20 名を対象に, 脳磁場を計測しようと考えた。しかしながら，2021 年度で脳磁計が使用できな

くなってしまうこと，生理学研究所における新型コロナウィルス感染予防の観点から，外部被験者を測定することが困難であること，計測に従事する門脇誠一が新型コロナウィルスの患者を診る可能性がある臨床医であること，などから残念ながら MEG を用いた計測の続行は難しいと考えた。今後は，空間分解能には劣るが安価なため利便性がある脳波を用いて，研究を続行する予定である。

19. 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）

本研究は，聴覚機能に着目して，時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。

呈示した音とは異なる音を知覚する現象として錯聴があり, そのひとつとしてオクターブ錯聴がある。これは，両耳に 1 オクターブ離れた 2 つの音を順次入れ替えて呈示すると，錯聴者は片耳から交互に知覚するという現象である。本研究では，非錯聴者と錯聴者の知覚別の聴覚野反応の比較していくことで，特徴や関連性を検討することを目的とする。オクターブ錯聴音呈示時の聴覚野反応として聴性定常応答（Auditory Steady-State Response: ASSR）の振幅を指標とし, 定量的に評価する。なお ASSR の活動源は第一次聴覚野であると報告されている。

実験参加者は聴覚正常である 30 名（平均年齢 21.7 歳，標準偏差 1.2 歳，うち女性 2 名）とした。本研究で使用した刺激音は，低音 400 Hz，高音 800 Hz の 2 つの音で構成され, 37 Hz と 41 Hz に振幅変調を行い, 1 音の長さを 513 ms とした。行動実験として，実験参加者に刺激音を呈示し，その知覚を紙に記入することで錯聴者と非錯聴者を分類した。

MEG の解析では信号源推定を行い, 聴覚野反応の波形を求めることで, ASSR 振幅平均を算出した。統計解析として，非錯聴者と左耳入力の知覚をした錯聴者，右耳入力の知覚をした錯聴者ごとに左右聴覚野と左右耳の二要因での二元配置分散分析を行い比較した。

その結果，非錯聴者では左半球よりも右半球の振幅が有意に大きかった（$p<0.05$）。また非錯聴者の右半球優位性は，知覚パターンに関わらず確認された。一方左耳入力パターンを知覚した錯聴者は，左右半球間に有意差はなく，交互作用もなかった。しかし，1 音目では右耳よりも左耳の振幅が大きく, 2 音目では, 左耳よりも右耳の振幅が大きい傾向にあった。

非錯聴者と錯聴者には同じ刺激を呈示しているにもかかわらず，知覚パターンにより両者で異なる聴覚野の脳活動が確認された。このことは知覚が第一次聴覚野に影響を及ぼしていることを示唆する。

20. 反復・同音語プライミング効果を用いた漢字熟語を読む際の処理経路の検討

日野泰志（早稲田大学文学学術院）
手嶋樹里，橘　光貴（早稲田大学大学院文学研究科）
木田哲夫（愛知県医療療育総合センター発達障害研究所）

語を読む際，意味情報を活性化するには，書字・形態情報から，直接，意味情報が活性化される直接経路と，音韻情報を介して意味情報が活性化される音韻媒介経路とが仮定されている。例えば，Van Orden (1987) は，カテゴリー判断課題において，カテゴリー(e.g., flowers)の成員でないターゲット語（e.g., ROWS）がカテゴリーの成員である同音語（e.g., ROSE）を持つ場合，誤反応が増えたことから，意味活性化は音韻媒介経路によると指摘した。類似のデータは，漢字熟語を使ったカテゴリー判断課題でも報告されている（e.g., Sakuma, Sasanuma, Tatsumi & Masaki, 1998; Wydell, Patterson & Humphreys, 1993）。では，漢字熟語を読む際にも，主に，音韻媒介経路による

意味活性化が機能するのだろうか。

実験１では，マスク下のプライムを伴う語彙判断課題を使って，反復ペア（e.g., 公園―公園），同音語ペア（e.g., 講演―公園），関連なしペア（e.g., 撤退―公園）に対する事象関連電位を測定し，N400 の振幅を比較することで，漢字熟語を読む際の意味活性化の性質について検討した。マスク下のプライムを伴う語彙判断課題では，関連なしペアに対する N400 の振幅は，反復ペアに対する振幅よりも大きくなる。活性化される意味情報間の不一致性が高い程，N400 の振幅は大きくなるようである（e.g., Holcomb & Grainger, 2006; Grainger & Holcomb, 2009）。もし音韻媒介経路による意味活性化が生じるなら，同音語ペアの場合，プライムとターゲットが，（少なくとも部分的に）同じ意味情報を活性化するため，N400 の振幅は，反復ペアと同じように小さくなるはずである。一方，直接経路による意味活性化では，同音語ペアのプライムとターゲットの間に意味の共有はないため，N400 の振幅は関連なしペアと同程度に大きくなるはずである。実験１の結果，反復ペアに対する N400 の振幅は関連なしペアに対する振幅よりも小さかったが，同音語ペアに対する振幅は，関連なしペアとほぼ等しかった。この結果は，漢字熟語を読む際には，主に，直接経路による意味活性化が機能していたことを示すものと思われる。

一方，同音語ペアと関連なしペアのみを使って，語ペアのプライムをカタカナ提示した実験２では（e.g., コウエン―公園 vs. テッタイ―公園），関連なしペアに対する N400 の振幅は，同音語ペアに対する振幅よりも有意に大きくなった。漢字熟語プライムをカタカナ表記することにより形態親近性が著しく損なわれ，直接経路が機能せず，音韻媒介経路による意味活性化が生じた結果，N400 に振幅差が観察されたものと思われる。

21. 聴覚情報処理基盤となる音響物理パラメータ特定のための聴覚誘発磁界の計測

林　実（明星大学 理工学部）

時々刻々と変化する音声に対応する神経活動を捉えるために，ミリセカンドオーダーの高時間分解能を有する MEG 計測が有効である。本実験は，音声に対する聴覚情報処理基盤となる音響物理パラメータを聴覚誘発磁界 AEF の計測により特定する。音声の基本構造の音響物理パラメータを高精度にコントロールし，それに対応する神経活動を計測することにより，音響物理パラメータを特定し，聴覚情報処理機能を模した自然な音声情報処理技術の創出に資する。

実験に用いる音は，音声の基本構造を模した音とし，周波数，音圧，時間変化など各種音響物理パラメータのコントロールを先端技術により高精度に行う。成人聴力健常被験者は，ランダムに提示された音を聞き，その際の大脳皮質の神経活動から得られる客観的な AEF の各成分データを分析指標とする。

今年度は，まず各音素音節の持続時間の異なる有意味連続音声それぞれに対する AEF の計測実験Ⅰを行い，次に実験Ⅰにおける連続音声の音響物理パラメータを模した連続音に対する AEF の計測実験Ⅱを行った。さらに実験Ⅰの有意味連続音声中の各音素を置き換えた無意味連続音声を生成し，有意味連続音声と無意味連続音声に対する AEF の計測実験Ⅲを行い，以下の結果を得た。

実験Ⅰより，有意味連続音声刺激音において，各音節ユニット（例：７音素４音節の刺激音に対して顕著に４つの AEF 成分）それぞれに対応する AEF 成分が観測された。

実験Ⅱより，有意味連続音声の音響物理パラメータを模した刺激音において，各刺激音の弱強，短長，雑純のユニット変化構造それぞれに対応する AEF成分が観測された。

実験Ⅲより，有意味連続音声と無意味連続音声の刺激音に対する二値判別する際，無意味連続音声と判別できた音節ユニットそれぞれに対応する AEF 成分の振幅が顕著に大きく観測された。

次年度は，各計測実験で得られたデータの解析を行い，各音響物理パラメータと AEF 成分の対応関係に関する知見をまとめ，聴覚情報処理機能のさらなる探究を進めていく。

22. 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）
柏戸昌也（東京電機大学理工学研究科）
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）

本研究では，空間的に移動していない物体が運動して見えるという仮現運動事態において脳磁界活動（MEG）を取得し，運動知覚の神経基盤を探った。視覚刺激，聴覚刺激，および視聴覚複合刺激による運動感を伴う刺激を提示し，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 後に凝視点から対称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を設けた。視聴覚複合条件では，視覚，聴覚の S1，S2 刺激の各々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を設定した。

MEG の計測は，306 チャンネル全頭型脳磁計（Elekta Neuromag-306, Helsinki）を使用した。MEG データは，刺激提示前 233 ms から提示後 1700 ms を 1 エポックとし，加算平均を 80 回，1―40 Hz のバンドパスフィルタ処理をした。刺激提示前 100 ms から 0 ms をベースラインとして設定し，MATLAB 上の Brainstorm で信号源推定した。信号源推定後，AAL アトラスより，本報告では運動処理に関わるとされる MT 野を含む中側頭回に焦点をあて，S1 刺激開始後 300―349 ms の振幅の時間平均を行った。

振幅値について，最適，同時条件ごとに，提示条件×左右半球の分散分析を行った結果, 最適条件では, 視覚，視聴覚条件において右半球の活動が有意に増大していた。同時条件では，聴覚，視聴覚条件において右半球の活動が有意に増大していた。最適条件と同時条件における視覚条件間の比較では右半球において有意であったが，聴覚条件間では有意差はみられなかった。視聴覚複合条件では，最適，同時，ともに右半球での活動が有意に増大していた。

中側頭回では運動処理と空間処理とが行われていることが示唆され，さらに他の部位との関連について検討することで運動知覚の神経基盤解明に資すると思われる。

23. 手指の運動制御時における感覚運動領域活動の解明

和坂俊昭（名古屋工業大学）

手指は, 人体の中で最も巧緻性が高い身体部位であり，ヒトと外界をつなぐインターフェースとして，日常生活やスポーツ活動において重要な役割を担っている。しかし，近年，手先が不器用な子供が増えたという問題がしばしば取り上げられている。また，高齢者においては，加齢の影響や運動疾患によって, 手先の巧緻性が低下し，生活の質は極端に低下することが問題となっている。

手指が巧緻的な運動を行える背景には，力発揮量の巧みなコントロールを行う筋出力調節機構や 5 本の指を協調して運動させるタイミングの調節機構が存在する。運動を行うとき，時々刻々と変化する運動環境に対応するために，感覚情報は身体部位の運動状態を調節し，修正するために用いられている。運動制御に対して感覚情報がどのような働きを担うのかは古くからの重要な問題あるが，その全容については明らかにされていない点が多く残されている。そこで, 本研究では, 脳磁図を用いて，手指の運動時における体性感覚情報処理を記録し，巧緻的な運動の制御に関連する感覚運動統合過程を明らかに

することを目的としている。

被験者は右手指を用いて，積み木を摘まんで移動する Move 課題と摘まんだ積み木を 180 度回転させて移動する Turn-Move 課題, 積み木を回転し続ける Turn 課題を行った。これらの課題中に正中神経を刺激し，体性感覚誘発脳磁場を記録した。体性感覚誘発脳磁場の初期成分である M20 と M30 は課題中に有意な振幅の減少を示すが，M38 成分は Turn 課題時において有意な振幅の増大を示した。これらの成分の発生源は一次体性感覚野付近に推定された。

運動時の一次体性感覚野の初期活動は抑制されることが知られており（gating），M20 と M30 の減少はこれまでの研究報告と一致するものである。しかし，抑制直後に出現する M38 増大に関する報告はなく，本研究における新たな発見であり，手指運動時の感覚運動統合過程は，抑制と促通が組み合わさった特徴的な処理過程であることが明らかとなった。この現象は，指先を用いた巧緻的な運動時において顕著であることから，巧緻的な運動の背景にある神経機構であると考えられる。先行研究では M38 に関する報告がほとんどみられないため，今後の研究の継続が必要である。

24.　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，本年度も昨年度に引き続き 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，見直しを行ったが今後 MEG の利用制限も生じるため来年度は研究計画自体の見直しを予定する。

Sekiya et al., Broadened population-level frequency tuning in the auditory cortex of tinnitus patients. J Neurophysiol. 2017, 117:1379-1384

25. 感覚情報処理抑制系の機序解明と検査パラダイムの確立

杉山俊介（岐阜大学）
竹内伸行，西原真理（愛知医科大学）
絹川友章，谷口智哉（名古屋大学）
バヤスガランボルギル，乾　幸二（愛知県医療療育総合センター）

2021 年度はグループ全体として，5 本の原著論文が国際誌に掲載された。

聴覚系の短潜時抑制（10～60 ミリ秒）と長潜時抑制（600～700 ミリ秒）のうち，短潜時抑制検査については十分な再現性があるとの結果を得て，以前に報告した。本年度は長潜時抑制について，EEG を用いて再現性を評

価し，報告した（Takeuchi et al. Neurosci Res. 2021）。また，MEG を用いた研究において，長潜時抑制に関する新たなメカニズムを発見し，報告した（Takeuchi et al. Brain Topogr. 2022）。

さらには，MEG を用いて，ヒトのガンマオシレーションにおいて，40 Hz のオシレーションが駆動している間に 20〜30 Hz の低周波ガンマオシレーションが抑制されるというメカニズムを初めて発見し，報告した（Sugiyama et al. Cereb Cortex. 2021）

痛覚に関する研究も並行して行った。第一に，下行性疼痛抑制系のメカニズムである Conditioned Pain Modulation（CPM）に関する新たな知見を報告した（Kinukawa et al. Neuroscience. 2021）。第二に，Wind-up という現象について電気刺激と磁気刺激を用いて比較した研究も行い，報告した（Taniguchi et al. Front Neurosci. 2022）。

生理学研究所生体機能イメージング共同利用実験によって充実した研究結果を示すことができたと考えている。

26. 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）

聴性定常反応（auditory steady state response: ASSR）は周期的音刺激により誘発され，突然の音特性変化によってその位相は一過性に速化し，再び定常に戻る。また，連続音の突然の音特性変化は変化発生から約 100〜180 ms 遅れて明瞭な変化関連脳活動の Change-N1m を誘発する。本研究課題では，このふたつの指標を用いて，脳の変化応答のメカニズムの解明を目指した。コロナ禍にあって共同利用実験の研究遂行が難しく，データ数も予定を下回り，記録した脳磁図 data の解析もまだ完了できていない。現時点での解析結果を暫定的に報告する。

実験 1) 48 個の 25- ms, 800 Hz 純音連結音(持続 1200 ms)を用い，片耳（左，右）および両耳において 25 番目純音のみ周波数を変化(880 Hz)させた。ASSR の速化および Change-N1m の振幅, 潜時に左右の半球差はみられなかった。片側の同側変化と比べ，対側変化では ASSR の位相速化が強く, Change-N1m 潜時は短縮した。両側変化では，片側の対側変化よりも Change-N1m 振幅は低かった。ASSR の位相速化においては，両側変化と対側変化にこの差異はみられなかった。

実験 2) 40 Hz の 1- ms クリック連発音(持続 1300 ms)を用いた。終始 70 dB の標準刺激と連発音の途中から 85 dB に音圧を上昇させた逸脱刺激（500 ms 逸脱音, 800 ms 逸脱音）を呈示した。変化前の標準音呈示時間が長い 800 ms 逸脱音において 500 ms 逸脱音よりも ASSR の位相速化は強くみられた。これまでの報告にある Change-N1（Inui et al., 2010）と同様に，変化前の標準音呈示時間に影響を受けることから，ASSR の位相速化にも何らかの感覚記憶の影響があると考えられた。

変化関連脳活動および ASSR の位相速化はともに脳の自動変化応答を反映する指標であり，二つの指標の異同の更なる検討を進めていきたい。

27. ヒト記号記憶の保持に関わる脳律動信号の波形解析

野口泰基，喜多伸一，松本絵理子（神戸大学）

2021 年度は，新型コロナウィルスのアルファ株（春）・デルタ株（夏）・オミクロン株（冬）が蔓延した。所属機関（神戸大学）からは県外出張に関する自粛要請・注意が 1 年中続き, 生理学研究所への来所は叶わなかった。共同利用研究で行う予定だった研究は所属機関で行ったため，以下にそれを記す。

複数の単語を同時に記憶するとき，単語間に意味的な関連性があると，それらは 1 つのチャンクとして記憶される（たとえば「リンゴ」「ミカン」「バナナ」は「果物」という共通概念で括られる）。この意味統合を引き起こす脳の仕組みは不明である。本研究では意味的に関連する 5 個の単語を記憶・保持している時と，関連性の

ない 5 単語を保持している時の脳波を比較した。側頭葉における α・β 帯域（8-30 Hz）の律動信号を分析したところ，後者では前者に比べて律動リズムが不規則になることが示された。つまり意味的に統合不能な単語群を記憶した時は，脳内で不協和を起こしたような波形が観察された。これらの結果は，(1) ある単語が持つ個々の意味素性（semantic feature）は，脳内で特定周波の律動信号としてコードされていること，(2) 意味素性を共有する単語群の記憶は律動信号の共鳴（協和）を引き起こすこと，を示唆する。これらの成果は英語論文としてまとめ，国際誌に投稿準備中である。

28. 音声及び音楽刺激に対する神経振動帯域間相互作用の信号源解析

田村俊介（九州大学大学院医学研究院精神病態医学）
光藤崇子（日本学術振興会特別研究員 RPD）

音声信号や音楽信号を聴取する際には，それらの信号が持つ様々な速さの時間変動成分に同期して，複数の周波数帯域にわたる神経振動の相互作用が生じることが知られている。本研究では，時間分解能に加えて空間分解能にも優れる脳磁図を用いた脳機能計測実験を行い，音声・音楽刺激聴取中に生じる神経オシレーションの信号源解析を行うことで，聴覚の時間情報処理に係る脳内機構を解明することを目的とした。

音声信号は，10 Hz 以下の遅い時間変動成分（振幅包絡）と 50 Hz 以上の速い時間変動成分（時間微細構造）という特徴的な時間的特徴を持つことが知られている。本研究では，振幅包絡と時間微細構造に同期して生じる θ オシレーションと γ オシレーションの計測を健常被験者 14 名で実施した。左右半球差に注目をして信号源解析を行なったところ，聴覚ベルト領域において，θ と γ オシレーションともに右半球優位の刺激同期が確かめられた。さらに，θ オシレーションと γ オシレーションの刺激同期性の間には，サンプル数が少ない影響か有意ではないものの，正の相関関係が見られた。また，コントロール条件として使用した逆再生音声や雑音駆動音声（音声から時間微細構造を取り除いた合成音声）に比べて，通常の音声の方が右半球でのみ刺激同期性を持つことが分かった。音声刺激と同様の時間構造を持つ非音声刺激でも，通常音声と同様の傾向が得られたため，音声聴取時に生じる θ 及び γ オシレーションと両者の関係性は音声，非音声に共通の処理であることが示唆された。

また，音楽刺激を用いた研究では，時間縮小錯覚というリズム知覚における錯覚現象と神経オシレーションの関係性を検討した。実験では，1000 Hz の純音を 3 回連続呈示し，その時間間隔を操作した刺激を用いた。具体的には，1 音目と 2 音目の間隔を 120 ms，200 ms，280 ms の 3 条件で設定し，2 音目と 3 音目の間隔は 200 ms で固定とした。1 音目と 2 音目の 120 ms の時のみ，2 音目と 3 音目の間隔が他の刺激よりも短く知覚される錯覚現象が確かめられた。上記の刺激を用いた知覚課題を行なっている際の神経活動を脳磁図で計測した結果，錯覚が見られる条件でのみ，2 音目と 3 音目に同期して生じる聴覚ベルト領域の θ オシレーション（5 Hz）に位相リセットが生じ，1 周期が短縮される傾向が見られた。このことから聴覚皮質における位相リセットは，リズム知覚において重要な役割を担うことが示唆される。

29. 自立神経系の変動特性の安静時脳ネットワークへの影響評価

成　烈完（東北福祉大学 感性福祉研究所）
福永雅喜（自然科学研究機構 生理学研究所）

安静時機能的 MRI (rs-fMRI) 信号の収集には多くの場合１０分前後の時間がかかり，その間に生理的変化が生じる可能性があり，睡眠を含む自律神経系の変化の rs-fMRI 脳機能ネットワークへの影響を調べることを目的

で研究を行っている。前年度までの研究で７テスラ MRI 装置での計測環境の準備は完了しているものの COVID-19 の影響で，実験の実施に制約があり，今年度は既存の３テスラ MRI 装置での T1 画像データから脳下垂体のマスクを作成し，同装置での EPI データ（voxel size 3.4x3.4x3.4 mm）から rs-fMRI の信号を抽出して信号特性を調べた。繰り返し測定を含むデータから信号を調べた結果，不連続的な変化と再現性が乏しいことが確認された。それは脳下垂体特有のロケーションとサイズに起因すると判断された。そこで，改めて３テスラ装置でより高分解度のデータ(2x2x2 mm)を得た。EPI 画像上で脳下垂体内の voxel を同定して信号を調べた結果，不連続的な変化は見られなかった。その voxel と他の脳部位との相関を調べたが通常の DMN などで観察されるブロードなマップは見られなかった。このような結果を踏まえて，次年度の研究では７テスラの装置でより高分解度の画像を得て脳下垂体と視床下部との相関，それから他の脳部位との相関をしらべることによって自立神経系の変化を同定して行く予定である。

30. Positron emission tomography (PET) insert study with a 7T whole-body MRI system

[1]Md Shahadat Hossain Akram, Ph.D., [1]Sodai Takyu, Ph.D., [1]Fumihiko Nishikido, Ph.D.,
[2]Takayuki Obata, Ph.D., [1]Taiga Yamaya, Ph.D.
（量子科学技術研究開発機構 量子医科学研究所 [1]イメージング物理研究グループ 先進核医学基盤研究部,
[2]医工連携画像研究グループ 分子イメージング診断治療研究部）
Masaki Fukunaga, Ph.D.
（大学共同利用機関法人 自然科学研究機構 生理学研究所 システム脳科学研究領域 心理生理学研究部門）

In this project, we are studying on the development of positron emission tomography (PET) insert for the 7 Tesla magnetic resonance imaging (MRI) system. For this purpose, we previously developed a single channel microstrip transmission-line radiofrequency (RF) coil that integrated an RF-shielded MR compatible PET detector module with the RF coil to make it a single compact PET/MRI module. Previously, we did a feasibility study of this multi-modal PET-coil module. However, because of COVID-19 situation, we delayed our further study. Based on our previous study results, in the last year we prepared a manuscript and submitted it for publication. The manuscript is still under review. This fiscal year, we plan to develop a multichannel RF coil module of this compact PET-coil system and we will do the related study accordingly.

31. Development of 8-channel parallel transmission technology in 7 Tesla MRI system and its application to research of functional architectures in human association cortices

Masako Tamaki，Kenichi Ueno，Chisato Suzuki，R. Allen Waggoner
(RIKEN Center for Brain Science)

The work on the project in FY2021 focused on preliminary experiments for combining MRS and EEG together with fMRI at 7T.

We investigated the MRS data quality in the cortical (visual area) and subcortical (hippocampus) regions using ultra-short TE STEAM (TR=8s) and different types of shimming (standard shim, GRE shim, and fastestmap) were tested using 7T MRI (without EEG). Two subjects' data were collected successfully. MRS data were preprocessed using MRspa (www.cmrr.umn.edu/downloads/mrspa) and concentrations of Gamma-Aminobutyric Acid (GABA) and Glutamate were estimated using LCModel (Provencher, 1993). For the visual area, the temporal resolution was about 8-16s. The Cramér - Rao lower bounds (or %SD), which indicates MRS data quality,

were ~10 % for GABA and 5-6 % for Glutamate, with just an 8s scan. As to the hippocampus, %SD was 8 % for GABA and 3 % for Glutamate with a 3 min scan. By contrast, %SD was 16 % for both GABA and Glutamate with a 10 min scan from the hippocampus, using a Siemens Prisma 3T MRI at RIKEN CBS. Among the 3 types of shimming, the standard shim seemed to be the best at least for the hippocampus (standard, 8%; GRE, 9 %; fastestmap, 35 % for GABA). MRS studies would benefit from pTx, which would permit focused excitation.

At RIKEN CBS we have performed safety tests for EEG-fMRI using a phantom and fiber optic thermal sensors to evaluate any heating induced by the EEG cap. We have prepared to do similar tests on the NIPS 7T system, once the system is available.

These results form the groundwork for the planned MRS-EEG-fMRI studies. Once the pTx protocols have been approved, these experiments can be further enhanced by pTx.

32. 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，スムースパシュートと視覚誘導性サッケード運動に関わる大脳皮質の脳領域について検討し，スムースパシュートで MT+野，下頭頂小葉の PFt，後部帯状皮質でより強い賦活が見られること，視覚誘導性サッケード課題で前頭眼野，補足眼野，運動前眼野および頭頂連合野の LIP 野により強い賦活が見られることを報告した。本年度は，大脳皮質及び皮質下の脳活動領域の同定を目的として，２７名の被験者が，静止した視標を固視する課題，滑らかに動く視標を眼で追跡する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視覚誘導性サッケード課題を遂行する際のデータを解析した。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。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。また，各被験者について ICA を利用したノイズ除去（ICA-FIX），Multi-modal surface matching を適用した。大脳皮質では，スムースパシュートと視覚誘導性サッケード運動の共通領域として MT+野, 前頭眼野, 補足眼野, 運動前眼野，頭頂間溝領域が確認され，運動の種類による活動差が見られる領域も同様に確認された。皮質下については，スムースパシュートで被殻，外側膝状体，視床枕，橋，小脳虫部，小脳半球，片葉に脳活動が見られ，視覚誘導性サッケード運動では，被殻，外側膝状体，上丘，小脳虫部，小脳半球，片葉に脳活動が見られた。また，二つの運動の比較において，小脳半球において視覚誘導性サッケード運動優位の活動が見られた。大脳皮質同様，皮質下部位においても，二つの眼球運動に関わる脳領域の多くが重複するが，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。

33. 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）

実験を行うことが出来なかった。

34. 超高磁場機能的磁気共鳴画像法を用いたヒト脳活動の高分解能計測および解析法の研究

宮脇陽一，高原　唯，河田ケルシ（電気通信大学大学院情報理工学研究科）
浅見徳哉，上田大智（電気通信大学情報理工学域）
荒井　謙（東京大学大学院工学系研究科）
山下宙人（ATR 計算脳イメージング研究室）
福永雅喜（生理学研究所心理生理学研究部門）

ヒトの外界認識では，複数脳部位が逐次的かつ階層的に関与する神経活動が重要である。そのメカニズムを理解するには高時空間分解能でのヒト脳活動計測と解析が必要である。しかしながら，こうした目的のために十分な時空間分解能でヒト脳活動を計測し，解析可能な手法は現存しない。本研究では超高磁場 MRI の性質を活用し，ヒト脳活動の高時空間分解能計測ならびに計測データからの高精度な情報抽出を行い，脳内での外界情報表現を研究することを目的とする。

2021 年度は，昨年度に引き続き，運動感覚野における詳細な情報表現抽出を目指し，手指を用いたタッピングタスク時における手指の身体表象図式のマッピングが人工身体部位の付加前後でどのように変容するかを超高磁場 7T fMRI 装置を用いて計測する実験を中心に実施した。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を行い，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。またこの脳活動マップが，人工身体部位の付加前後で変化する傾向も捉えた。この脳活動マップの変容が，生得的な手指に対応する脳活動マップとどのような位置関係にあるかを現在詳細に調べている。

運動感覚野における脳活動計測と同時に，視覚刺激に対する皮質及び皮質下の同時脳活動計測も，同じく超高磁場 7T fMRI 装置を用いて実施した。現在まで，高精度な脳活動の計測自体には成功し，視覚皮質においては予想通りの結果が得られつつあるものの，皮質下の脳活動の解析においては十分な結果が得られていない。こうした問題を解決するため，実験パラダイムおよび計測手法を改良し，新たな計測実験へと移行する準備を進めることができた。

35. 骨格筋代謝物質における 7T MRS/CSI の最適化と計測法の確立

日置麻也（帝京平成大学 健康医療スポーツ学部）
梅田雅宏（明治国際医療大学 基礎教養講座）
福永雅喜（生理学研究所 心理生理学研究部門）

【背景・目的】

骨格筋代謝物質は，重要なエネルギー源として日常生活の身体活動や運動時に利用される。我々は，これまで筋細胞内脂質を含めた様々な骨格筋代謝物質を同定し定量化を試みてきた。しかし，従来の 3T 装置による MRS では，同定が困難な骨格筋代謝物質がある（Hioki et al. 2019, 2021）。本研究は，7T MRS を用いて，骨格筋代謝物質（筋細胞内・外脂質，タウリン，トリメチルアンモニウム，アセチルカルニチン，カルニチン，総クレアチン，カルノシン）の計測法を確立することを目的に実験を行った。

【方法】

1) 骨格筋代謝物質のケミカルシフトと分裂をより正確に得るため，シーケンス (シム調整，磁場均一度評価)，コイルの種類・位置，測定のタイミング等を検討した。2) 筋細胞内脂質に結合する脂肪酸（3 種類：Oleic acid, Palmitic acid, Linoleic acid）の検出は，ファントム（試薬）を用いてスペクトルを収集した。3) 健常な男性・女性 (3 名) を対象に，ヒト骨格筋・下腿部筋群（前脛骨筋，腓腹筋，ヒラメ筋）の MRS を実行した。

【結果】

ファントムによる 3 種類の脂肪酸（Oleic acid，Palmitic acid，Linoleic acid）は，それぞれ特徴的なスペクトルピークを示した。ヒト下腿部筋群である前脛骨筋，ヒラメ筋，腓腹筋の順で骨格筋代謝物質の MRS 解析を行い，前脛骨筋の代謝物質（筋細胞内・外脂質，タウリン，トリメチルアンモニウム，総クレアチン）のスペクトルピーク分裂が正確に得られた。

【今後の方向性】

ヒラメ筋, 腓腹筋の代謝物質のスペクトルピークでは，シーケンスの検討が課題として残った。下肢台を作成するなど，コイルの位置調整が必要であること，筋によって，それぞれシム調整，磁場均一度の評価の検討が必要であることがわかった。今後は，対象者を増やし，ヒト骨格筋代謝物質の MRS を収集, 計測法の確立を目指し，2 次元 CSI 法の応用へ進める。また，本年度，高分解能 NMR により生体に含まれる脂肪酸を計測した。その情報を用いて，今後，脂肪酸解析する予定である。さらに，足関節底背屈運動負荷の介入による，骨格筋代謝物質の経時的な変化を調査する応用研究へ進める。

36. 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
数井駿佑，中島美来（名古屋大学大学院医学系研究科
梅村智義，高桑隆之介（名古屋大学大学医学部保健学科）

血流動態により血管壁リモデリングが生じ，血管壁の厚みや形状が変化する。また, 3 次元シネ位相コントラスト磁気共鳴法により血管内の血流速度が空間 3 次元で経時的に取得でき，血流動態が分かるようになった。さらに，血管壁イメージングと言われる血管壁の厚みや性状を検出する MR 撮影法が開発されている。本研究の目的は，高空間分解能，高 SNR の 7T MR 装置を用い，血管壁性状と血流動態の関連を検討することである。

このために，既存の MPRAGE 法や SPACE 法などのパラメータの更なる最適化を試みる。また，これらの改良版導入を試みる。7T MR 装置を用いた血管壁イメージング確立後に，健常成人の脳血管を対象にした血管壁イメージングを行い，血管壁の性状（特に厚みなど）を検討する。また，同時に今まで検討してきた高空間分解能の心電図同期 3 次元シネ位相コントラスト磁気共鳴法の脳血管データを取得して血流解析を行い, 血管壁剪断応力，壁剪断応力空間勾配，振動剪断指数などの血管壁バイオマーカーを得る。以上から，血流動態の血管壁に及ぼす影響を検討，比較することを計画していた。

しかし, COVID-19 感染症のパンデミックのため, 研究所への移動を控えていたため, ならびに 7T MR 装置の故障などが重なり，今年度は残念ながら，研究を進めることができなかった。

37. Personalizing Brain Stimulation Dosage by New Neurostimulation Computational Model

Jose Gomez-Tames（Nagoya Institute of Technology）

1. Introduction. Transcranial Magnetic Stimulation (TMS) is a non-invasive neuromodulation scheme that induces an electric current in the brain below the stimulating coil. Computational methods have been adopted for estimating the stimulation intensity level and location in particular for the hand motor area of the brain. However, no previous studies have investigated the individualized induced electric field characteristics in the primary motor area of the lower limb. 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. We also measured motor thresholds for different coil orientations (steps from 0 ° to 150 ° with steps of 30 °) by measuring the resting motor thresholds (rMT) of the tibialis anterior (TA) muscle of the right leg in ten individuals. 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.

3. Results and Discussion. This study investigated the induced electric field on the leg motor area that lies deep in the brain. There was a maximum threshold at the optimal coil orientation that decreased at the other coil orientations for the normal electric field component that indicates that the field may be acting on neurons that are preferentially oriented at the optimal orientation. If the rMT is related to the same deep brain circuits, a variation of the normal component threshold is not expected and it may be the product of activities originated from neighbouring areas.

4. Conclusion. In this study, we measured the threshold of MEPs in the lower limb muscle for different TMS coil orientations. In addition, we computed the induced electric field in the brain based on the experimental conditions. The measured motor threshold and the induced electric field in the brain showed that the most effective orientation is the medial-lateral direction of the TMS coil handle. Also, the physical quantity of the motor threshold on the lower limb was characterized by the normal component of the electric field. This characterization will help to understand the neuronal circuits involved in TMS stimulation.

38. 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（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の向上や，エディティングを用いないダイレクトフィッティングによる代謝物計測が期待される。さらに高磁場の MRS は高感度で測定時間の短縮が期待できる。一方，特定の領域を選択励起して得られるシングルボクセル法（single voxel spectroscopy : SVS）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 と呼ばれるケミカルシフトの異なる代謝物の計測領域の位置ずれが問題となる。つまり，2 cm 角などの小さな領域から SVS 法でスペクトルを得る場合，ケミカルシフトの異なる代謝物はすれた領域から信号が計測される。CSD error は，静磁場強度に比例して大きくなるため超高磁場 MRS で大きな問題となっている。この問題の解決方法の一つに，ケミカルシフトスペクトロスコピックイメージング（CSI）法がある。CSD による代謝物濃度の計測エラーを比較するため，CSI 法と SVS 法で同一の領域を測定して濃度を比較した。隔壁付近の灰白質の 4 ボクセル（7.5x7.5x15 mm^3）と隣接する白質の 4 ボクセルを CSI 法で，同一の領域の灰白質を SVS 法（2x2x2 cm^3）で計測し，それらのスペクトルから代謝物濃度を求めた。6 人の健常成人のデータからえら各スペクトルは LCModel で代謝物毎のピーク面積として分離し，クレアチニンとクレアチンリン酸の合計に対する比として求めた。まず，灰白質と白質の代謝物の濃度の違いを知るために，CSI 法で計測した中隔付近の灰白質と白質を比較した。NAA は灰白質で 1.59±0.14 で，

白質で 1.91±0.12，グルタミン酸とグルタミンの合計(Glx)は灰白質で 1.75±0.09，白質で 1.01±0.06 など差があったが，GABA については灰白質で 0.35±0.06，白質で 0.33±0.08 と差が小さかった。一方同様の灰白質領域を SVS 法で得たスペクトルでは NAA が 1.53±0.07，Glx が 1.88±0.11，GABA が 0.45±0.03 という値であった。測定領域は 2ppm にある NAA の高いピークに合わせて計測しているため，CSI 法と SVS 法で NAA の計測領域は正しいと考えられ，NAA 濃度の違いは測定シーケンスに起因すると考えられる。一方，灰白質と白質の NAA 濃度差は報告とよく一致していた。さらに GABA についても他の 7T-MRI の報告とも近い値が得られ，7T-MRI ではエディティング法を用いなくても信頼できる GABA 濃度計測が行えることが確認できた。

39. 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）

我々はこれまで，心理生理学的手法を用いて，息吸う瞬間，つまり EI 転移期（呼息期から吸息期に切り替わるタイミング）が記憶想起過程の途中に入り込んだとき，課題の反応時間が延長し，正答率が低下することを発見した。

呼吸活動は，延髄の吸息中枢のリズムジェネレータと橋の呼息中枢のネットワーク活動の相互作用により維持形成させると考えられている。EI 転移期とは，まさに延髄のリズムジェネレータ PreBötzinger Complex の活動開始のタイミングとなる。

EI 転移期が認知機能を低下させるならば，脳活動へのなんらかの作用が考えられる。また近年，視覚や触覚などの感覚情報の獲得や自発的ボタン押しのタイミングについて，脳活動に合わせて，呼吸がその調整に関与していることが示されている。

そこで本研究では，認知課題を行う場合，呼吸は，感覚情報の獲得とボタン押しのタイミングについて，どちらをパフォーマンスに合わせて調整するだろうか，さらに，記憶想起過程で出現する EI 転移期がどのように脳に作用するかについて検討した。健常被験者に見本合わせ再認記憶課題を fMRI 撮像下で行い，同時に鼻カニューレを用いて呼吸活動をモニターした。課題の成績については，これまでと同様，息吸う瞬間が想起時に出現すると正答率が低下した。

fMRI 画像データ解析については，呼吸活動による大脳皮質活動の効果という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を慎重に取り扱う必要がある。その手法として multirun ICA-FIX 法を用いた。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生理的ノイズ（体動や拍動など）やその他のアーチファクトを個々のコンポーネントとして分類し取り除く方法である。

また，いくつかの呼吸アーティファクトを取り除く手法と合わせて，fMRI 画像データを解析したところ，特に EI 転移期を含んだ想起過程は，それ以外の想起過程と比較して，右 TPJa（側頭頭頂接合部）と言われる部位での活動低下が認められた。TPJa は，ventral attention network の node の一つであり，またこの node からは，salience network への投射が確認されている。さらに重要なこととして，TPJa 活動は想起過程に依存し，記憶獲得過程や delay 過程では活動が見られなかった。以上より，呼吸の調整効果は，想起過程において，TPJa 活動に対応して課題の正答率を向上させていることが明らかになった。

40. 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 学術研究院ヘルスシステム統合科学学域）
福永雅喜，定藤規弘（自然科学研究機構 生理学研究所 システム脳科学研究領域）

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。本研究では，7 テスラレイヤー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。

今年度では，7 テスラ MRI の故障のため当初計画したレイヤーfMRI 実験が中止となり，主にこれまで取得したデータの解析と整理を進め，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を検討した。その成果の一部を NeuroImage 誌へ投稿し，掲載された。次年度では，これまでのレイヤーfMRI 実験の遅れを取り戻した上で，新たに計画している触覚知覚形成過程を検討するレイヤーfMRI 実験を実施し，本研究の目標達成を目指す。

41. 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）
有馬尚輝，熊谷建哉，塚本健伍（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，hMT/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した。

２年目となる今年度も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と 7 テスラ MRI の機器不調のため，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４名の被験者を対象に画像刺激実験と，3 テスラ MRI を用いて３名の試験者に対して HCP pipeline の適用のために resting state の計測を行った。

昨年度は 16 秒間に 20 枚の刺激図形を連続して呈示するというブロックデザインで計測を行ったが，今年度は単純な形状の図形の連続的呈示による馴化の可能性を考慮し，事象関連デザインで計測し，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）単純複合図形とオブジェクト画像。未だ一部データは処理中ではあるが，現時点までに処理できたデータに基づく知見を以下に示す。

図１は，昨年度と今年度計測した延べ８名の被検者のデータに基づく，単純複合図形>単一基本図形となった voxel の確率マップである。LO2 を中心に，V4t, LO1 などの LO 関連領域で図形の「複合性」による活性化が見られた。しかし V3, V4 などでも活性化が見られ，LO 関連領域における活性の局在性に関しては，従来法のオブジェクト画像とそのスクランブル画像の対比（図２）の方が，V3, V4 の活性化が抑えられており，優れていた。

このように提案手法は LO の functional localizer としての従来法に対する優位性が見られなかったものの，本研究によって LO がヒトの形状知覚過程において図形の複合性のような環境の視覚的把握の基礎となる根本的分析に関与していることが確認されたと言える。

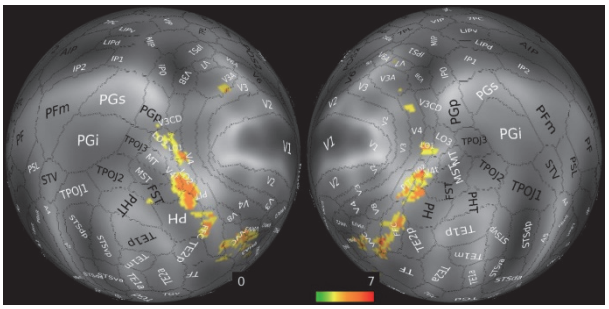


図１．図形の「複合性」によって活性化される領域
（単純複合図形＞単一基本図形，確率マップ）

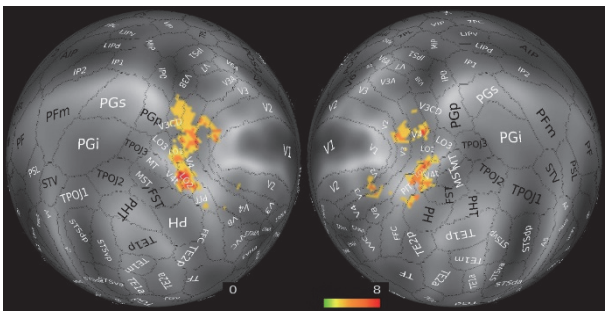


図２．従来の LO の functional localizer による活性化領域
（オブジェクト画像＞スクランブル画像，確率マップ）

42. 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・株式会社アラヤ）
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 実験を実施し，意味認識に関わる神経メカニズムの解明を目指している。

既に，2019 年度に 6 名の被験者での実施を行ったが，2020 年度は Covid-19 の影響により実験実施ができなかった。今年度は 6 名の被験者での追加実験を実施し，さらに，2022 年度に引き続き実験を実施し，被験者数を増やすことを予定している。

また，これまでに収集した画像説明実験に関するデータ分析から，字義的説明生成と比較して比喩的説明生成過程では，両側中側頭回において発話オンセットに向けて急激な賦活がみられるとともに，発話オンセットにてより強い賦活がみられることが示された。

今後，映像鑑賞課題において得られたデータに対し searchlight hyperalignment 法を用いて，各被験者の神経パターンを共通表象スペースへと変換するモデルを学習し，画像説明実験における比喩生成過程の神経パターンと one-back 課題にお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目指す。具体的には，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，画像説明実験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，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。

43. 機械学習と f MRI を用いた抒情の生じるメカニズムの解明

磯　暁（高エネルギー加速器研究機構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（情報・システム研究機構統計数理研究所)
浅原正幸（人間文化研究機構国立国語研究所）
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（群馬大学大学院理工学府）
川島寛乃（慶應義塾大学･環境情報学部 修士課程）
松井鉄平（岡山大学･学術研究院自然科学学域）

【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。依然として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 13 名の計測が終わっており，来年度は可能であれば 20 名弱の計測を行いたい。

被験者には，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った。

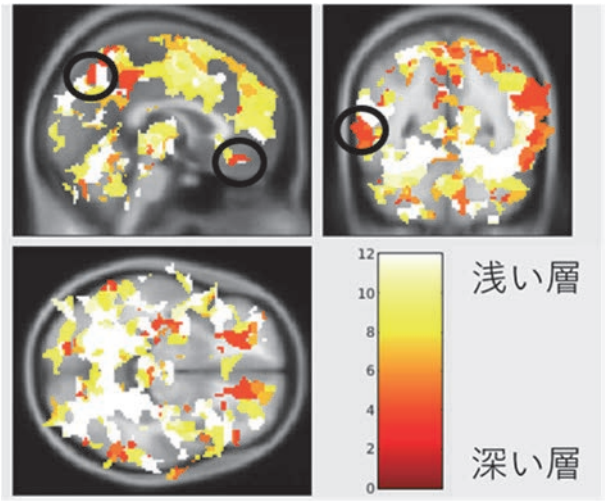
このように訓練を施した人工神経回路の情報表現と，fMRI で計測した脳活動データに対して，表象類似度解析を行うことで，単語の列である短歌から評価や感情が生じる過程を解明するべく，現在研究を進めている。

【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。37 名の計測が終わり，そのうち 32 名のデータを用いて解析を行い，被験者が抒情を感じるか否かで反応が大きく異なる脳部位を特定できた。

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。特に，BERT の深い層ほど文全体を俯瞰した言語的特徴を表現すると考えられている。そのような情報表現と fMRI の脳活動データの表象類似度解析を行うことにより，BERT の深い層と強く相関する脳部位（赤い領域）には，抒情を感じるか否かで反応が変わる部位（黒丸）が含まれることが示せた。

現在，これらの相関が生じる要因を詳しく解析することで，単語の列から抒情が生じるメカニズムを言語的・脳科学的の両面から解明するべく，研究を行っている。



44. 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

田中大輝，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）

時間の知覚期間は，時間の経過とともに起こる出来事の主観的な経験に依存する。一方で報酬は，得られるまでの時間が長くなるとその価値が低くなる。しかし，知覚された時間の主観が，遅延する報酬に対する選択選好に影響するかどうかは不明であった。本研究では，選択選好の形成が主観的に知覚された継続時間によって偏り，将来の報酬を予期している間の時間的に進化する脳活動に関連することを示した。

ヒトは，数十秒経つと得られる液体報酬を待っているときに，視覚的に色のついたパネルが提示された。そのパネルの色は，遅延時間中，徐々に連続的に変化した。パネルの色が変化による遅延は，コントロール条件である色が変化しない遅延よりも短く知覚された。また，色変化の速度が速い遅延ほど，時間は短く近くされた。興味深いことに，遅延に対する知覚バイアスが大きい被験者は，色が変化する遅延の報酬をより強く好むことが示された。

将来の報酬を待っている時，腹外側前頭前皮質（vlPFC）は将来の報酬を待つこと自体の価値を反映する予期効用，腹側線条体（VS）は将来得られる報酬の価値を反映する，遅延の継続時間によって動的に変化する活動を示した。これらの価値動態を表す信号は，報酬を待っていない遅延時間では観察されなかった。

さらに，持続時間の知覚に偏りが大きい被験者では，遅延時間中に vlPFC の活動が弱くなることが示された。これらの結果は，主観的な時間経験によって遅延報酬の選択が偏り，そしてその偏りは将来の報酬の動的な価値信号と vlPFC-VS 系における正確な外界の知覚によって調節されていることを示唆する。

【研　究　会　報　告】

研究会報告

〔　目　　次　〕

1. 細胞の局所コミュニティ研究会
（代表・世話人：珠玖　仁　2022 年 2 月 24 日）…… 239
2. 構造情報を基盤とした膜機能分子の生理機能理解に向けて
（代表・世話人：中條浩一　2021 年 9 月 7 日）…… 250
3. 機能的神経回路の構築と動作を支える分子細胞基盤
（代表・世話人：吉田知之　2022 年 2 月 4 日）…… 259
4. 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　2021 年 9 月 9 日－9 月 10 日）…… 268
5. TRP チャネル研究会　― 相互作用分子との協働が織りなす生理機能とその破綻による病態発現 ―
（代表世話人：内田邦敏　2021 年 5 月 28 日）…… 279
6. 温熱生理研究会
（代表世話人：志水 泰武　2021 年 8 月 31 日）…… 287
7. 痛みの研究会
（代表世話人：古江秀昌　2022 年 1 月 31 日）…… 294
8. 生命を支える硫黄生物学の最前線
（代表・世話人：魏　范研　2021 年 7 月 30 日－7 月 31 日）…… 303
9. 2021 年度生理研心血管研究会　―比較統合生理学的観点からの循環生理の解析－
（代表・世話人：山田充彦　2022 年 11 月 18 日－11 月 19 日）…… 316
10. 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　2021 年 12 月 18 日－12 月 19 日）…… 335
11. 食の「満足感」を担う分子・神経基盤研究会（食欲・食嗜好研究会）
（代表・世話人：佐々木　努　2021 年 9 月 27 日）…… 346
12. 機能と構造の視覚科学研究会
（代表・世話人：鯉田孝和　2021 年 9 月 8 日）…… 354
13. シナプスの理解深化からの神経回路動態の再考
（代表・世話人：川口真也　2021 年 11 月 29 日－11 月 30 日）…… 360
14. 細胞システム理解のためのシグナル応答原理解明の最前線
（代表・世話人：松田知己　2021 年 9 月 16 日－9 月 17 日）…… 369
15. 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　2022 年 3 月 2 日－3 月 3 日）…… 376
16. 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　2022 年 1 月 7 日－1 月 8 日）（ハイブリッド開催）…… 381
17. 人工知能技術と科学の協調と展開
（代表・世話人：吉村奈津江　2021 年 7 月 16 日－7 月 17 日）…… 383
18. 力学系の視点からの脳・神経回路の理解
（代表・世話人：北野勝則　2021 年 12 月 3 日－12 月 4 日）…… 389
19. 脳神経倫理研究会
（代表・世話人：中澤栄輔　2022 年 1 月 27 日）…… 394

20. 脳・環境・臓器間ネットワークと社会性
（代表・世話人：松田哲也　2021 年 11 月 25 日－11 月 26 日）…… 396
21. 大脳皮質を中心とした神経回路：構造と機能，その作動原理
（代表・世話人：田中康裕　2021 年 12 月 2 日）－12 月 3 日）…… 402
22. 記憶・学習の多角的理解に向けたアプローチ
（代表：林　悠　2021 年 9 月 16 日）…… 406
23. 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
（代表・世話人：諸隈誠一　2021 年 9 月 12 日－9 月 13 日）…… 414
24. 多様な視点から情動を捉え直す
（代表・世話人：南　雅文　2020 年 9 月 15 日）…… 421
25. 極限環境適応
（代表・世話人：金　尚宏　2021 年 11 月 11 日－11 月 12 日）…… 428
26. スポーツからみる日常と非日常の神経生理学
（代表・世話人：宮崎　真　2022 年 3 月 28 日）…… 435
27. 新たなステージへと高度化するクライオ電子顕微鏡解析
（代表・世話人：岩崎憲治　2021 年 11 月 16 日）…… 439
28. 情動の脳科学的理解に基づく人文系学問の再構築
（代表・世話人：持橋大地　2021 年 11 月 5 日－11 月 6 日）…… 443

1. 細胞の局所コミュニティ研究会

2022 年 2 月 24 日

代表・世話人：珠玖　仁（東北大学･大学院工学研究科）

所内対応者：久保義弘（生理学研究所･神経機能素子部門）

（1）ナノピペットによる細胞局所形状・内容物の評価

○井田大貴[1,2,3,4]，高橋康史[2,6]，熊谷明哉[3,4]，平　典子[4]，珠玖　仁[4,5]，吉田孟史[6]，華山力成[6]

（[1]東北大学･学際科学フロンティア研究所，[2]JST さきがけ，[3]東北大学･AIMR，

[4]東北大学･環境，[5]東北大学･工，[6]金沢大学･WPI-NanoLSI）

（2）モデル膜貫通ペプチドを用いた脂質スクランブリング促進因子の解明

○中尾裕之[1]，杉本佑太[1]，池田恵介[1]，斎藤大明[2]，中野　実[1]

（[1]富山大学･薬・生体界面化学，[2]北陸大学･薬）

（3）微小神経核の 1 細胞解析から局所コミュニティに迫る

栢野功成，徐　珊珊，李　皓生，○檜山武史（岡山大学･医歯薬学総合研究科･細胞生理学）

（4）ヒト空腸スフェロイド由来小腸上皮細胞の構築と薬物代謝に関する in vivo への外挿法の開発

○道場一祥[1]，前田和哉[1,2]，栗盛　洸[3]，榎本剛史[3]，下村　治[3]，小田竜也[3]，楠原洋之[1]

（[1]東京大学大学院薬学系研究科分子薬物動態学教室，

[2]北里大学薬学部薬剤学教室，[3]筑波大学医学医療系消化器外科）

（5）ヘテロ二量体アミノ酸トランスポーターの生合成・局在機序の解析

○永森収志[1]，Yongchan Lee[2]，Pattama Wiriyasermkul[1]，Werner Kühlbrandt[2]

（[1]東京慈恵会医科大学･臨床検査，[2]MPI Biophys., Dept Struct Biol.）

（6）小胞局在ナトリウムポンプを標的としたがん細胞グルコース輸送体の動態制御機構

○藤井拓人[1]，加藤瑞希[1]，清水貴浩[1]，田渕圭章[2]，清水康晴[3]，竹島　浩[4]，酒井秀紀[1]

（[1]富山大学･薬･薬物生理学，[2]富山大学･ゲノム機能解析，

[3]救心製薬，[4]京都大学･薬学部･生体分子認識学）

（7）脳内細胞外シグナルのリアルタイム測定を実現する蛍光センサーの開発と応用

○稲生大輔[1,2]，日比野　浩[1]，西山正章[2]（[1]大阪大学･医･統合薬理，[2]金沢大学･医･組織細胞）

（8）カリウムチャネルとイノシトールリン脂質の分子間相互作用と機能修飾

○紀谷拓音[1]，竹下浩平[2]，川鍋　陽[1]，藤原祐一郎[1]

（[1]香川大学･医･分子生理，[2]理研･放射光科学研究センター･生物系ビームライン基盤）

（9）（特別講演 1）メカノメディスン

○成瀬恵治（岡山大学･学術研究院医歯薬学域･システム生理学）

(10) チャネル形成ペプチド polytheonamide B と膜との相互作用

松木悠佳[1]，高島政子[2]，岩本真幸[2]，○老木成稔[3]

（[1]福井大学･医学部･麻酔蘇生科，[2]医学部･分子神経科学，

[3]福井大学･高エネルギー医学研究センター）

(11) 電位依存性 K^+チャネル複合体中の機能的相互作用部位の探索

○中條浩一，糟谷　豪（自治医科大学･医学部･統合生理学）

(12) 長期抗血栓性を示す生体膜類似界面の人工肺への応用

○高井まどか，原　伸太郎（東京大学･工･バイオエンジニアリング専攻）

(13) 光音響法を用いた生体模倣試料の局所弾性計測

○浦島周平[1,2]，木村真衣子[1]，森作俊紀[2]，由井宏治[1,2]
（[1] 東京理科大学･理･化，[2] 東京理科大学･ウォーターフロンティア研究センター）

（14）（特別講演 2）イオン液体を導電剤に用いた生体材料の電子顕微鏡観察法

○桑畑　進，津田哲哉（大阪大学大学院･工学研究科･応用化学専攻）

（15）スマートポリマーを用いた培養基材の開発とマテリオバイオロジーへの展開

○宇都甲一郎，荏原充宏（物質･材料研究機構 機能性材料研究拠点，スマートポリマーグループ）

（16）ポルフィリンへの官能基修飾がもたらすがん細胞集積性の変化

○東條敏史，近藤剛史，湯浅　真（東京理科大学･理工･先端化学）

（17）活動電位の伝播挙動解析における測定法の課題

○白井　理，宋和慶盛，北隅優希（京都大学･農･応用生命科学専攻）

（18）細菌細胞活性の電気化学計測

○池田　光，板垣賢広，西井成樹，定永靖宗，椎木　弘（大阪府立大学･工･表面計測化学）

（19）ダイヤモンド電極を用いた緑内障点眼薬の電気化学測定

○米田真央[1]，緒方元気[1]，花輪　藍[1]，浅井　開[1]，山岸麗子[2]，本庄　恵[2]，相原　一[2]，栄長泰明[1]
（[1] 慶應義塾大学理工学部，[2] 東京大学医学部）

（20）ダイヤモンド電極を用いた皮膚刺入型薬物センサの開発

○澤村晴志朗[1]，Norzahirah Binti Ahmad[1]，緒方元気[2]，秋山洸英[1]，
石井あゆみ[1]，栄長泰明[1]，日比野　浩[1]
（[1] 大阪大学･医･統合薬理，[2] 慶應義塾大学･理工･化学）

【参加者名】

檜山武史（岡山大学），東條敏史（東京理科大学），魚崎浩平（物質・材料研究機構），稲生大輔（大阪大学），日比野　浩（大阪大学），劉　嘉瑩（自治医科大学），任　書晃（岐阜大学），堀井和広（岐阜大学），高橋康史（名古屋大学），原　雄二（静岡県立大学），山田充彦（信州大学），竹馬真理子（慶應義塾大学），高井まどか（東京大学），清水貴浩（富山大学），三善英知（大阪大学），鎌田佳宏（大阪大学），原伸太郎（東京大学），村上慎吾（中央大学），影山湧二（中央大学），椎木　弘（大阪府立大学），近藤剛史（東京理科大学），糟谷　豪（自治医科大学），酒井秀紀（富山大学），影山哲平（富山大学），岩本真幸（福井大学），竹内唯登（富山大学），永森收志（東京慈恵会医科大学），珠玖　仁（東北大学），加藤瑞希（富山大学），坂本多穂（静岡県立大学），緒方元気（慶應義塾大学），成瀬恵治（岡山大学），米田真央（慶應義塾大学），老木成稔（福井大学），赤羽悟美（東邦大学），冨田太一郎（東邦大学），三上義礼（東邦大学），藤井拓人（富山大学），浦島周平（東京理科大学），中尾裕之（富山大学），川鍋陽（香川大学），紀谷拓音（香川大学），黒川洵子（静岡県立大学），白井　理（京都大学），中條浩一（自治医科大学），大島大輔（東邦大学），田熊大輝（京都大学），清水聡史（静岡県立大学），澤村晴志朗（大阪大学），神取和代（香川大学），山口賢彦（静岡県立大学），Ahmad Norzahirah Binti（大阪大学），井田大貴（東北大学），桑畑　進（大阪大学），池田光（大阪府立大学），道場一祥（東京大学），楠原洋之（東京大学），宇都甲一郎（物質・材料研究機構），藤原祐一郎（香川大学），久保義弘（生理学研究所），立山充博（生理学研究所），下村拓史（生理学研究所），平澤輝一（生理学研究所），Liu Chang（生理学研究所）

【概要】

本研究会では，理工学技術で局所を解析する研究者，in vitro や in silico で細胞の局所の反応をモデル化・解析する生物学・理論科学者，およびこれらの科学者と協働して細胞から組織，臓器への連携を研究する医・薬・生物学者を集めて議論し，細胞の局所コミュニティにおける新しい知見から生命現象を理解することに

挑戦している。細胞同士のコミュニケーションの現場，或いは細胞と細胞外マトリックス間の情報伝達の場（コモンスペース）を直接評価し，モデル化やシミュレーションと組み合わせて精巧で緻密な現象理解が期待できる。

近年，細胞集団に隣接する細胞外空間の新奇な輸送現象が同定され，基礎生物学的観点および疾病の原因究明の観点から注目されている。臓器は，様々な細胞集団により構成される精巧なシステムである。オルガノイド培養技術の進展により，organ-on-chip 上での機能の再現も可能となった。個々の細胞集団は，同種あるいは異種の細胞同士のコミュニケーションにより正常に働く。本研究会では，極めて限られた空間で行われる，細胞コミュニケーションの現場を観測する先端技術を結集し，in vitro や in silico で生体界面現象をモデル化・解析する生物学・理論科学者を巻き込んで学際的議論を重ね，様々な形体での共同研究を推進して世界初の学際領域を開拓することを目標とする。

今年度の研究会はオンラインの形態で実施され，計測・解析システムや輸送体（トランスポーター），イオンチャネル，生体膜，機能性材料，生理活性物質など 7 部構成で特別講演 2 件を含む合計 20 件の発表があった。

（1）ナノピペットによる細胞局所形状・内容物の評価

○井田大貴[1,2,3,4]，高橋康史[2,6]，熊谷明哉[3,4]，平　典子[4]，珠玖　仁[4,5]，吉田孟史[6]，華山力成[6]
（[1]東北大学･学際科学フロンティア研究所，[2]JST さきがけ，[3]東北大学･AIMR，
[4]東北大学･環境，[5]東北大学･工，[6]金沢大学･WPI-NanoLSI）

ナノスケールの開口部を有するガラスピペット（ナノピペット）は，その先端において領域限定的に試料と相互作用でき，細胞の局所を高空間分解能で計測・操作できる。ナノピペットに電解液を充填して電圧を印加すると，先端部にイオン流が生じる。この状態で電流をモニターしながら試料に近接させると，試料のごく近傍でイオン流の空間的な阻害による電流値の変化が観察できる。この現象を利用することで，非接触でピペット―試料間距離が制御でき，走査により形状像を取得できる（走査型イオンコンダクタンス顕微鏡）。本研究では，上記技術を用いてマクロピノサイトーシス阻害剤による膜表面動態への影響などを定量的に評価した。また，ナノピペット内部に有機電解液を充填した場合は，水系電解液中で形成される液-液界面の張力が電圧によって変化する事で，微少量の溶液を吸引・吐出できる。走査型イオンコンダクタンス顕微鏡の距離制御と微小流量制御を組み合わせることで，ピペットを高精度で制御しながら，蛍光標識した細胞内の微粒子を直接回収・評価できた。

（2）モデル膜貫通ペプチドを用いた脂質スクランブリング促進因子の解明

○中尾裕之[1]，杉本佑太[1]，池田恵介[1]，斎藤大明[2]，中野　実[1]
（[1]富山大学･薬･生体界面化学，[2]北陸大学･薬）

リン脂質の二層間の移動（フリップフロップ）を双方向に促進するタンパク質，スクランブラーゼは，血小板凝集やアポトーシス細胞の除去などの様々な生理的過程に関与する。スクランブラーゼの膜貫通領域には親水性のアミノ酸残基が並んだ溝のような構造があり，ここがフリップフロップを促進する活性部位であると考えられている。本研究では，膜貫通領域の様々な位置に親水性アミノ酸残基を配置したモデル膜貫通ペプチドを合成し，そのフリップフロップ促進活性を測定することで，親水性アミノ酸残基の空間配置がフリップフロップ促進活性に与える影響を評価した。その結果，親水性アミノ酸残基が膜貫通ヘリックスの同

一面上に並ぶことでフリップフロップ促進活性が相乗的に上昇することが明らかになった。また，親水性アミノ酸残基を膜中央に配置した膜貫通ペプチドがフリップフロップを促進したのに対して，膜表面に配置した膜貫通ペプチドでは活性が見られなかった。全原子 MD シミュレーションから，活性のないペプチドでは親水性アミノ酸残基の側鎖がリン脂質の極性基と同じ位置に分布していることが示されており，親水性アミノ酸残基が膜の疎水性領域に分布することがフリップフロップ促進に重要であることが示された。

（3）微小神経核の１細胞解析から局所コミュニティに迫る

栢野功成，徐　珊珊，李　皓生，○檜山武史（岡山大学･医歯薬学総合研究科･細胞生理学）

脳の中で進化的に古い領域である視床下部や脳幹には，神経核と呼ばれる神経細胞集団が多数存在する。神経核特有の機能があるだけでなく，各神経核自体も多様な細胞の集合体である。その局所コミュニティ内のシグナリングを解明するには，まず，どのような細胞が存在するのかを明らかにする必要がある。近年，個々の細胞の遺伝子発現の全体像を解析するシングル・セル・RNASeq (scRNASeq) が一般化し，細胞を大量に得やすい免疫細胞や腫瘍細胞などで応用が進んでいる。この数年は，脳・神経系への応用も始まっている。しかし，脆弱な神経細胞を十分な細胞数確保することは難しく，微小な神経核への応用は進んでいない。また，神経の機能は回路によって決まるため，scRNASeq で得られた細胞ごとの遺伝子情報と回路の情報をつなげる必要がある。そこで，我々は HiRet 逆行性レンチウイルスと scRNASeq 法を組み合わせた BackTraceSeq 法を試みている。この手法を用いて体液をモニタリングする脳内中枢である脳弓下器官(SFO)から抗利尿ホルモン産生部位である室傍核（SON）に投射する神経細胞に発現する遺伝子を網羅的に解析した。scRNASeq のデータ解析では，次元削減やバックグラウンドの除去などのパラメータの設定次第で解析結果が大きく変わる。特に神経系のサンプルは良い状態のサンプルが少ないこともあり，その検討が重要になる。パラメータの最適解を求めるため，パラメータを段階的に変動させてクラスタリング結果の妥当性を検証した。

（4）ヒト空腸スフェロイド由来小腸上皮細胞の構築と薬物代謝に関する in vivo への外挿法の開発

○道場一祥[1]，前田和哉[1,2]，栗盛　洸[3]，榎本剛史[3]，下村　治[3]，小田竜也[3]，楠原洋之[1]
（[1]東京大学大学院薬学系研究科分子薬物動態学教室，
[2]北里大学薬学部薬剤学教室，[3]筑波大学医学医療系消化器外科）

本研究では，ヒト空腸スフェロイド由来小腸上皮細胞の，薬物代謝酵素およびトランスポーターが基質薬物のヒト消化管吸収に及ぼす影響を定量的に評価するための新たな in vitro モデルとしての有用性を検証することを目的とした。Wnt3a，R-spondin 3，noggin を含む conditioned medium を用いて，外科手術で得られたヒト空腸組織からヒト空腸スフェロイドを樹立し，長期に渡って増殖させることに成功した。ヒト空腸スフェロイド由来小腸上皮細胞における薬物動態関連遺伝子の mRNA 発現量は，播種後 5 日間までにヒト空腸スフェロイドでの発現量と比較して大きく増加し，少なくとも播種後 13 日間の培養期間ではヒト空腸組織での発現量とほぼ同等であった。分化した細胞では，代表的な薬物代謝酵素（CYP3A, CYP2C9, UGT1A, CES2）および取り込み・排出トランスポーター（PEPT1, P-gp, BCRP）の活性が確認された。さらに，細胞層を介した吸収方向の透過クリアランスから推定した 5 種類の CYP3A 基質薬物の腸管アベイラビリティ（Fg）の値は，ヒト in vivo における Fg の値と良好な相関を示した。以上の結果から，このモデルは，薬物代謝酵素およびトランスポーターが基質薬物のヒト消化管吸収に及ぼす影響を定量的に評価するのに有用であると考えられる。

（5）ヘテロ二量体アミノ酸トランスポーターの生合成・局在機序の解析

○永森収志[1]，Yongchan Lee[2]，Pattama Wiriyasermkul[1]，Werner Kühlbrandt[2]
（[1]東京慈恵会医科大学･臨床検査，[2] MPI Biophys., Dept Struct Biol.）

膜タンパク質は，ポリペプチド鎖として翻訳されただけでは機能を完全には発揮できず，膜挿入され，正常な高次構造を形成し，機能すべき膜ドメインに局在して始めて生理的な活性を示す。Heterodimeric Amino acid Transporter ファミリーは，輸送機能を示す軽鎖と細胞膜局在に必須な重鎖からなる複合体として存在し，多様な生理機能に重要な役割を果たしている。HAT ファミリーの一員である rBAT（重鎖）-$b^{0,+}$AT（軽鎖）複合体は，シスチンや塩基性アミノ酸などを輸送し，重鎖・軽鎖いずれかに輸送機能を損なう変異が生じるとシスチン尿症となる。これまで数百の病的変異が解析され，輸送活性にかかわる変異については理解が進んできたが，それ以外の部位の変異については殆ど明らかになっていない。我々は，クライオ電子顕微鏡と生化学による解析を組み合わせ，輸送機能，さらに複合体の生合成機序の解明を試みた。その結果，重鎖 rBAT に Ca^{2+} 結合部位を見いだし，その Ca^{2+} を介した超二量体化が複合体の高次構造形成，安定化，細胞膜局在化に重要であることを示し，基質結合部位の変異とは異なる，生合成に関わる変異による病態発症の機序を明らかにした。本研究により，シスチン尿症の新たな治療法開発のための方向性が示された。さらに，膜タンパク質複合体の高次構造形成・局在における Ca^{2+} 分子の役割が明らかにされた。

（6）小胞局在ナトリウムポンプを標的としたがん細胞グルコース輸送体の動態制御機構

○藤井拓人[1]，加藤瑞希[1]，清水貴浩[1]，田渕圭章[2]，清水康晴[3]，竹島　浩[4]，酒井秀紀[1]
（[1]富山大学･薬･薬物生理学，[2]富山大学･ゲノム機能解析，
[3]救心製薬，[4]京都大学･薬学部･生体分子認識学）

がん細胞では原形質膜におけるグルコース輸送体 GLUT1 の発現量が高く，エネルギー代謝の制御機構が正常細胞と異なっている。我々は，ナトリウムポンプ（Na^+,K^+-ATPase）阻害剤である強心配糖体（ouabain, oleandrin, digoxin）が，ヒトがん細胞の原形質膜における GLUT1 発現レベルを顕著に減少させ，グルコース取込みおよび解糖系を抑制することで増殖を阻害することを見出した。興味深いことに，強心配糖体の作用点は，原形質膜の Na^+,K^+-ATPase α1-isoform では無く，細胞内小胞に異常発現する Na^+,K^+-ATPase α3-isoform（α3NaK）であった。がん細胞内に取込まれた強心配糖体は，α3NaK に作用し，細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇および phosphatidylinositol-3 kinase の活性化を介して GLUT1 の dynamin 依存性エンドサイトーシスを誘導することが示唆された。以上の結果から，α3NaK と GLUT 1 を介する強心配糖体の新たな抗がんメカニズムの存在が考えられる。

（7）脳内細胞外シグナルのリアルタイム測定を実現する蛍光センサーの開発と応用

○稲生大輔[1,2]，日比野　浩[1]，西山正章[2]（[1]大阪大学･医･統合薬理，[2]金沢大学･医･組織細胞）

脳内では認知・記憶・意思決定といった様々な情報処理が達成されているが，その多様性の鍵を握るのが細胞外シグナル伝達である。脳の細胞外では数百種類にわたる分子が情報伝達を介在すると想定されているが，生きた脳内における局所動態は未だ不明な点が多く，その計測法の開発は強く求められている。そこで

我々は本課題の解決を目指すべく，細胞外シグナル分子が結合すると明るく光るタンパク質型蛍光センサーの開発を進めている。本研究ではまず，"幸せホルモン"と呼ばれる神経ペプチド オキシトシンに対する蛍光センサーの開発を行った。オキシトシン受容体と蛍光タンパク質のキメラ分子に対して指向性分子進化をほどこし，明るさが最大 8 倍変化する超高感度センサーの開発に成功した。本センサーを生きたマウスの脳に導入し，生体内におけるオキシトシンの脳内動態をリアルタイムで捉えることが達成した。さらに，オキシトシン以外の分子に対する蛍光センサーの開発も行った。オキシトシンセンサーの蛍光モジュール部位を切り出し，その他のシグナル分子受容体の対応部位に付加することで，オキシトシン以外の 24 種のリガンドに対する機能的な蛍光センサーの開発に成功した。すなわち，開発した蛍光モジュールを転用することで，様々な細胞外分子を感知するセンサーを効率よく開発することができる可能性が示唆された。

（8）カリウムチャネルとイノシトールリン脂質の分子間相互作用と機能修飾

○紀谷拓音[1]，竹下浩平[2]，川鍋　陽[1]，藤原祐一郎[1]
（[1]香川大学･医･分子生理，[2]理研･放射光科学研究センター･生物系ビームライン基盤）

細胞膜内葉にわずかに存在するイノシトールリン脂質（PIPns）は，イオンチャネルなどの膜タンパク質の機能制御や細胞内情報伝達において重要な役割を担っている。一方 KcsA は放線菌由来のカリウムチャネルであり，その安定性から結晶構造学，電気生理学，計算科学などの幅広い手法により解析が進んでおり，代表的なカリウムチャネルのモデルとして用いられている。膜脂質によるカリウムチャネルの活性制御については従来から研究されており，KcsA についてもホスファチジルグリセロールの存在で開確率が上昇することが知られているが，PIPns による効果を研究した例はない。そこで本研究では，PIPns が KcsA の機能に与える効果を評価するために，Contact Bubble Bilayer method（CBB 法）を用いて膜組成の異なる脂質二重膜に埋め込まれた KcsA の K^+ 電流を計測した。その結果，細胞膜内葉に PIPns が含まれていると KcsA の開確率が上昇した。特に負電荷量の多い PIPns の場合，開確率の上昇幅が増大した。さらに PIPns と KcsA の分子間相互作用をマイクロスケール熱泳動法(MST 法)により分析し，両者の結合と機能制御に相関があることを明らかにした。

（9）（特別講演 1）メカノメディスン

○成瀬恵治（岡山大学･学術研究院医歯薬学域･システム生理学）

我々の体は外界からだけではなく体内においても様々な力学的・機械的刺激（メカニカルストレス）を受容し，応答することで正常な生理機能を維持している。メカニカルストレスの受容応答機構は細胞分裂，発生過程，臓器機能発現など広範な時空間スケールにわたる生理機能の調節に寄与しており，メカニカルストレス受容応答機構の破綻が様々な病態に関与していることを示唆するエビデンスが集積されてきた。メカノセンサー分子→細胞→組織→臓器→個体レベルでの縦糸的研究に各種臓器の疾患という横糸的研究を加えた布陣をとり，メカノバイオロジーを切口とした病態解明を基に，新規治療法を開発するメカノ医療（メカノメディスン）の確立を目指し，これまでに数々の新規研究方法や研究システムを開発し問題を解決してきた。

本講演ではメカノバイオロジーに関する基礎医学的研究，特にメカニカルストレス受容機構を概説し，その研究過程で派生した自己集合化ペプチドを用いた再生医療・医療材料(止血剤)，生殖補助医療，宇宙医学への展開を紹介する。

(References) [1] *Science*, 285, 882-886, 1999; [2] *PNAS*, 98,

7765-70, 2001; [3] *Nature*, 411, 1016, 2001; [4] *Nature Materials*, 4, 403-406, 2005; [5] *Nature Commun*, 5: 3932, 2014; [6] *Nature Commun*, 10: 5754, 2019; [7] *npj Microgravity* 7(1).

（10）チャネル形成ペプチド polytheonamide B と膜との相互作用

松木悠佳[1]，高島政子[2]，岩本真幸[2]，○老木成稔[3]
（[1]福井大学･医学部･麻酔蘇生科，[2]医学部･分子神経科学，
[3]福井大学･高エネルギー医学研究センター）

脂質 2 重膜はチャネルがその機能を生み出すために不可欠な場である。多様な膜脂質がチャネルに直接作用を及ぼすだけでなく，弾性膜としての巨視的力学的特性がチャネルに作用を及ぼす（force-from-lipid 原理）。しかしこのような膜の振る舞いを捉えるには生体膜では極めて限られた方法しか存在しない。そこで２つの戦略をとる。化学的・力学的操作が可能な脂質平面膜法のひとつである contact bubble bilayer（CBB） 法の適用と膜局所変形のプローブとしてのチャネル形成ペプチド polytheonamide B（pTB）の使用である。チャネル膜貫通領域の疎水性表面の厚さが膜疎水性コアの厚さと一致しないと，膜がチャネル近傍で変形し，チャネルの構造変化に影響を与える（hydrophobic mismatch）。CBB の厚さを脂質分子種や有機溶媒で変化させ，pTB の単一チャネル活性の膜厚依存性を測定した。一方，従来から生体膜も脂質 2 重膜も十分な力学特性（厚さ・圧縮弾性率など）は測定されてこなかったので，CBB の力学特性を様々な条件下（膜張力・電位負荷など）で測定した。新しい特性が明らかになり，チャネル - 膜相互作用について検討した。

（11）電位依存性 K^+ チャネル複合体中の機能的相互作用部位の探索

○中條浩一，糟谷　豪（自治医科大学･医学部･統合生理学）

電位依存性チャネルは 4 本の膜貫通セグメント(S1~S4)からなる電位センサードメインを持ち，それが膜電位に応じて構造変化を起こすことで開閉する。電位依存性チャネルの中には，修飾サブユニットと複合体を形成することで電位依存性などの性質を大きく変えるものが存在する。近年のクライオ電子顕微鏡による構造解析の進展により，これら電位依存性チャネルの複合体構造も報告されるようになってきた。しかし構造情報が得られたとしても，複合体の機能修飾メカニズムは必ずしも自明ではない。電位依存性 K^+ チャネルの一種である KCNQ1 は，修飾サブユニットの KCNE3 と複合体を構成し，常時開状態の K^+ チャネルとなる。KCNQ1 と KCNE3 の複合体構造はすでに報告されているが，KCNE3 がどのような仕組みで KCNQ1 を開状態に固定できるのかについての理解は十分ではない。我々は，複合体構造中で KCNE3 が KCNQ1 の S1 セグメントと相互作用している点に注目し，この相互作用部位のアミノ酸をさまざまな大きさのアミノ酸に置換した。その結果，相互作用部位のアミノ酸の側鎖が大きすぎても小さすぎても KCNQ1-KCNE3 チャネルの開状態を維持することができないことがわかった。したがって，KCNE3 と KCNQ1 の S1 セグメント間のタイトな相互作用が，電位センサードメインの動きを修飾し，KCNQ1 を常時開状態に固定すると考えられた。

（12）長期抗血栓性を示す生体膜類似界面の人工肺への応用

○高井まどか，原　伸太郎（東京大学･工･バイオエンジニアリング専攻）

膜型人工肺（ECMO）は，急性呼吸性窮迫症候群（ARDS），Covid-19 による重篤肺疾患の症例で用いられている。患者への負担低減や，臓器移植までの橋渡しでの利用を考えると，現状の 6 時間から 1 ヶ月程度の連続使用を可能とする性能向上が ECMO には求められている。このような中長期連続使用を実現させるため，我々はシリコーン中空系材料に着目した開発に取り組んでいる。シリコーンは，物理的な孔のない均質膜であり，かつ優れたガス透過性を示す。しかし血液適合性は乏しく，シリコーンへの抗血栓性材料による表面機能化が必須である。細胞膜を構成するリン脂質の親水性官能基であるホスホリルコリン（PC）基を一成分にもち，分子内で架橋構造をつくる高分子膜を開発した[1]。架橋型のリン脂質ポリマーが被覆されたシリコーン基材は，90 日間のタンパク質吸着抑制機能を維持し，さらにヤギへの埋め込み実験において優れた抗血栓性，ガス透過性を示し，人工肺への応用の可能性を示せた。

[1] K. Nagahashi, Y. Teramura, and M. Takai, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 134, 384‑391 (2015)

（13）光音響法を用いた生体模倣試料の局所弾性計測

○浦島周平[1,2]，木村真衣子[1]，森作俊紀[2]，由井宏治[1,2]
([1]東京理科大学･理･化，[2]東京理科大学･ウォーターフロンティア研究センター)

生体組織の弾性計測は病理診断や人工デバイス開発の観点から重要である。例えば糖尿病患者の場合，疾患初期に毛細血管が脆弱になり破綻することが知られているが，血管の破綻は血液の流出に伴う重篤な合併症を引き起こすため，脆弱化した毛細血管の早期発見は重要な課題である。肝臓など深部生体組織の弾性を計測する手法として超音波エラストグラフィが既に実用されているが，この手法では空間分解能が約 1 cm に留まっており，直径 4~10 μm の毛細血管へは応用できない。この問題を克服するため，我々は数マイクロメートルの空間分解能を持つ光音響分光法(PAS)に着目した。PAS は，物質が吸収した光エネルギーを熱に変換し，熱膨張に伴って発生する音響波を捉える分光法である。これまでこの手法は毛細血管の形状や分布を計測するために用いられてきたが，近年我々は発生する音響波の周波数から対象の弾性を同定できる可能性を見出した。当初はヤング率 MPa 程度の硬い物体に対して検証されたが，本研究ではこの手法を毛細血管を模擬したコラーゲンシートへ展開し，血栓や皮膚などと同程度の数百 kPa オーダーでも計測可能であることを実証した。

（14）（特別講演 2）イオン液体を導電剤に用いた生体材料の電子顕微鏡観察法

○桑畑　進，津田哲哉（大阪大学大学院工学研究科応用化学専攻）

イオン液体は，融点が室温より低い塩であり，カチオンとアニオンが解離した状態の液体である。それゆえ，イオンが単独に蒸発することが無いので蒸気圧が計測不能なくらい小さく，熱しても真空下に置いても蒸発しない。すなわち，これまでは液体を入れる事が絶対的に禁止されていた真空条件が必要な計測機器や加工機器にもイオン液体を入れる事ができる。それが明らかになりつつある中，イオン液体を走査型電子顕

微鏡（SEM）の中に入れて観察したところ，イオン液体が全く帯電されずに観察出来る事を発見した。この結果を利用し，イオン液体で濡らした状態の試料を観察する方法を開発した。この方法の利用価値のひとつは，生体試料の電子顕微鏡観察である。生体試料中に存在する水分をイオン液体と置き換えることにより，試料を Wet な状態のままで観察が可能となる。特に乾燥すると変形，または破損してしまうような絨毛などの繊維状の試料には最適な方法である。さらに，細胞等についても形状を維持しながら SEM 観察ならびに透過型電子顕微鏡（TEM）観察することが可能である。それらの試料を観察する為に適したイオン液体の選択法についても，物理化学的な見地から明確にした。

（15）スマートポリマーを用いた培養基材の開発とマテリオバイオロジーへの展開

○宇都甲一郎，荏原充宏（物質・材料研究機構 機能性材料研究拠点，スマートポリマーグループ）

特定の生物学的機能の操作を可能とする新しい材料の開発には，材料と生物学の相互依存関係を解明することが必須であり，材料物性や特性が細胞，組織，臓器，そして生物全体のスケールで生物学的機能に及ぼす影響を研究する分野は「マテリオバイオロジー（Materiobiology）」として注目されている。我々は，生体内と同様な動的な構造力学的環境を創出可能なスマートポリマー材料の開発を行い，その動的性質に起因する新奇な細胞現象の探索や細胞操作技術の構築を目指した研究を展開している。本研究では，外部刺激に応答し形状を変化させる「形状記憶高分子」を細胞培養基材として応用した。形状記憶高分子の分子デザインにより転移温度を生体温度付近で精密に制御可能であり，細胞培養可能な温度域で表面のナノ構造を動的に変化可能な培養基材の作製に成功した。マウス線維芽細胞を用いた細胞培養実験の結果から，細胞が基材の表面ナノ構造に依存した伸展と配向性を生じることが確認された。さらに接着細胞に対して動的なナノ構造変化を誘起させたところ，細胞がナノ構造変化を感知して自身の配向性を変化させることを見出した。マウス心筋細胞シートを用いて同様な実験を行った場合，シートを形成する細胞の配向性のみならず拍動方向を動的に制御できることを明らかとした。以上の結果は，形状記憶高分子で作製した培養基材が単細胞から多細胞系の細胞機能操作に有用であることを示している。

（16）ポルフィリンへの官能基修飾がもたらすがん細胞集積性の変化

○東條敏史，近藤剛史，湯浅　真（東京理科大学･理工･先端化学）

近年，ポルフィリンのがん細胞集積性を利用したがん診断用の腫瘍イメージング，および抗がん剤としての機能を付与した新規機能性分子の創製研究が活発に行われている。一方で，ポルフィリンには meso 位，β位という 2 種類の官能基修飾位置が存在するが，分子設計の際に meso 位と β 位のどちらに官能基を修飾するか定まっていない現状である。官能基の種類および修飾位置が与えるポルフィリンのがん細胞集積性への影響が明らかになれば，ポルフィリンを基盤とした新規機能性分子設計のガイドライン構築につながる。本研究では，官能基修飾位置とがん細胞集積性の相関関係を明らかにするために，ポルフィリンにアルキル基とフェニル基を meso 位あるいは β 位に修飾し，ヒト乳がん細胞(MCF-7)への集積量を評価した。その結果，アルキル基修飾型ポルフィリンでは meso 位，フェニル基修飾型ポルフィリンでは β 位ががん細胞集積量において優位性を示した。官能基の種類に応じて優位な修飾位置が異なる要因として，修飾した官能基の種類および位置によるポルフィリンの立体構造および凝集性の変化が関連していることが示唆された。

（17）活動電位の伝播挙動解析における測定法の課題

○白井　理，宋和慶盛，北隅優希（京都大学･農･応用生命科学専攻）

神経伝導は遅延型 K^+ チャネル，チャネル型受容体および電位依存性 Na^+ チャネルの働きで説明されてきた。平常時は，一部の K^+ チャネルが開いており，細胞内外の K^+ 濃度比によって膜電位（静止電位）は決まる。外部刺激を受けるとシナプスのチャネル型受容体が開き，Na^+ が流入し，周辺の膜電位が正側へ変化する。これが軸索に伝わり，膜電位が閾値を越えると電位依存性 Na^+ チャネルが開き，Na^+ の透過が主体的になるので膜電位は細胞内外の Na^+ 濃度比に起因する活動電位を示す。この活動電位を示す部位が軸索上でシナプス末端まで伝わるとされ，各部位での膜電位と膜電流の変化は Hodgkin-Huxley 式を用いて解析されてきた。

従来は軸索上の複数部位の膜電位の経時変化を測定するために，軸索内に挿入した電極と外部電極間の電位差を固定する電位固定法が使用されてきた。軸索表面に外部から接触させた複数の電極と内部電極との間に流れる電流から膜電位が評価されてきたが，電位固定用の回路内に電流が流れるため系を乱す恐れがある。そこで，本研究では，各チャネルの機能を模擬した有機液膜型セルを複数個連結したモデル神経系を構築し，電位固定法を用いた場合の膜電位変化の伝播について検討し，電位固定法が有する課題を明らかにした。

（18）細菌細胞活性の電気化学計測

○池田　光，板垣賢広，西井成樹，定永靖宗，椎木　弘（大阪府立大学･工･表面計測化学）

微生物の生命維持や分裂増殖は，個々の細胞の代謝によって達成される。代謝に着目した計測によって，微生物の活性を評価することができる。その代表的な例として，細胞の呼吸による溶存酸素の消費に着目した方法がある。微生物の呼吸が活性化することで，溶存酸素が消費され，酸素の還元電流が減少する。この減少量から，細胞の活性や個数を見積もることができる。しかし，水温や，試料溶液に含まれる物質によって溶存酸素量が変化するため，個々の計測で得られた数値には補正が必要となる。我々は，代謝における一連の反応の中でも電子移動反応に着目し，テトラゾリウム塩（MTT）を用いた検討を行った。酸化型 MTT は可溶性であり，細胞膜を透過して細胞内部でホルマザンに還元され紫色に呈色する。このような性質を利用した比色法は，微生物の活性評価のアッセイに利用されている。MTT のサイクリックボルタモグラムでは，上記の酸化還元反応に由来する２対の電流応答がみられた。また，得られた電流応答は，電解液に溶存する酸素の還元電流とは異なる電位に観察された。このことから，様々な試料溶液において溶存酸素の影響を受けず，微生物の活性を評価することが可能であった。

（19）ダイヤモンド電極を用いた緑内障点眼薬の電気化学測定

○米田真央[1]，緒方元気[1]，花輪　藍[1]，浅井　開[1]，山岸麗子[2]，本庄　恵[2]，相原　一[2]，栄長泰明[1]
（[1]慶應義塾大学理工学部，[2]東京大学医学部）

薬が正しく効果を発揮するには，作用部位に治療効果を惹起するのに十分な量が届く必要がある。点眼薬は，角膜を通過し眼球内に到達することで薬効が得られるが，その到達のタイミング，および作用点での詳細な濃度変化は正確に知られていない。これらの情報は治療効果が高く，安心・安全な新規点眼薬の開発に

は重要なため，眼内での薬物濃度の移り変わりを経時的にリアルタイムで観測する手法の開発が求められる。そこで我々は，この課題を解決するためにホウ素ドープダイヤモンド（BDD）マイクロ電極を活用し，眼の前房内における薬物濃度をリアルタイムに追跡する新たな測定システムの構築に取り組んだ。ターゲット薬として，緑内障点眼薬のチモロールマレイン酸塩（TMA）を選択した。pH 7.4 のリン酸緩衝液中にて TMA の電気化学反応の基礎実験をし，豚から摘出した眼の房水中にて TMA の検量線を作成した。さらに，摘出豚眼球の前房内に BDD マイクロ電極を刺入し，TMA を点眼し ex vivo 測定をした。生体由来成分による妨害を取り除くため，房水酸化電位，TMA 検出電位，電極表面還元電位を組み合わせる電位ステップ法を用い 1 分間に 1 度の測定により，TMA 滴下後にゆっくりとした濃度上昇を観測した。豚から摘出した眼前房内にて TMA 濃度変化を電気化学測定によって定量できることが示唆された。

（20）ダイヤモンド電極を用いた皮膚刺入型薬物センサの開発

○澤村晴志朗[1]，Norzahirah Binti Ahmad[1]，緒方元気[2]，秋山洸英[1]，
石井あゆみ[1]，栄長泰明[2]，日比野　浩[1]
（[1]大阪大学･医･統合薬理，[2]慶應義塾大学･理工･化学）

抗がん薬など一部の薬は，体内薬物動態の個人差が大きく，時に致命的な有害事象を引き起こす。そのため，患者の血中薬物濃度を管理する治療薬物モニタリングが必要とされている。しかしながら，質量分析や免疫蛍光法といった従来の測定法は，専用の機器が必要でコストや手間がかかるため，頻回な測定は不可能である。

本研究では，先端径 ~20 μm の針状ダイヤモンドセンサを皮膚に刺入し，間質液中の薬物濃度を連続的に測定する手法を開発した。標的薬物は，抗がん薬であるドキソルビシンとした。この薬物は，肺癌や消化器癌など幅広い腫瘍に適応があるが，体内濃度が高まると心機能障害を示すことが報告されており，モニタリングの需要がある。まず，リン酸緩衝液中での in vitro 測定で，約 5 秒に 1 回という高い時間分解能で薬物を検出できる測定法を樹立した。この方法では，血液や間質液に高濃度で含まれる内因性物質の影響をほとんど受けない還元電位のみを用いて，検出下限 ~0.2 nM という高い感度を達成した。次に，剃毛したラット背部皮膚に麻酔下で針状センサを刺入し，生きた動物での測定を実施した。静脈にドキソルビシンを投与した際の間質液中の薬物動態が，約 4 時間にわたってリアルタイムに捉えられた。低侵襲に体内の薬物動態を把握できる本手法は，臨床における薬物モニタリングシステムを開発する基盤となることが期待される。

2. 構造情報を基盤とした膜機能分子の生理機能理解に向けて

2021 年 9 月 7 日

代表・世話人：中條浩一（自治医科大学･医学部統合生理学部門）
所内対応者：久保義弘（生理学研究所･神経機能素子部門）

（１）精子イオンチャネルの動態を制御する様々なメカニズム

河合喬文（大阪大学大学院医学系研究科統合生理学）

（２）Voltage-clamp fluorometry analysis of structural rearrangements of ATP-gated channel P2X2 upon hyperpolarization

Rizki Tsari Andriani[1,2*], Yoshihiro Kubo[1,2]
([1]Division of Biophysics and Neurobiology, National Institute for Physiological Sciences
[2]Department of Physiological Sciences, The Graduate University for Advanced Studies,School of Life Science
* Current affiliation: Integrative Physiology, Graduate School of Medicine, Osaka University)

（３）細胞容積調節機構における TRPM7 の新たな役割

沼田朋大（福岡大学医学部生理学講座）

（４）植物のアニオンチャネルを介した CO_2 感知メカニズム

祢冝淳太郎（九州大学大学院理学研究科植物生理学研究室）

（５）リサイクル型オプシンの光応答特性を利用した光操作ツールの開発

塚本寿夫（神戸大学大学院理学研究科生物学専攻，JST さきがけ）

（６）グルコース輸送体 SGLT における糖の選択的輸送機構

神鳥和代[1]，城田松之[2]，藤原祐一郎[1]
([1]香川大学医学部分子生理学，[2]東北大学医学系研究科新医学領域創生分野）

（７）クライオ電子顕微鏡により明らかとなったヘテロ二量体型アミノ酸輸送体の構造と分子病理

李　勇燦（横浜市立大学大学院生命医科学研究科）

（８）Structural basis of gating modulation of the Kv4 macromolecular channel complex

木瀬孔明（東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻）

（９）細菌由来のイオンチャネルに見いだされたカルシウムの選択的透過と機能阻害

入江克雅（和歌山県立医科大学薬学部･薬品物理化学研究室）

（10）リン脂質フリップ・フロップにより制御されるイオンチャネルの役割

原　雄二（静岡県立大学薬学部統合生理学分野）

（11）PMP2/FABP8 induces PI(4,5)P_2-dependent transbilayer reorganization of sphingomyelin in the plasma membrane

阿部充宏（理化学研究所開拓研究本部佐甲細胞情報研究室）

（12）細胞膜リン脂質フリッパーゼ ATP11C による脂質輸送メカニズム

阿部一啓（名古屋大学細胞生理学研究センター･大学院創薬科学研究科）

（13）ドメイン間相互作用を介した酸化ストレスによる TRPM7 チャネル活性の調節機構

井上　華[1]，村山　尚[2]，小林琢也[2]，小西真人[1]，横山詩子[1]
([1]東京医科大学細胞生理学，[2]順天堂大学大学院細胞･分子薬理学）

（14）Gating-modifier toxin APETx1 による電位依存性カリウムイオンチャネル hERG 阻害機構の解析

大澤匡範（慶應義塾大学･薬学部）

（15）チャネル構造-機能情報の乖離と適合

老木成稔（福井大学高エネルギー研究センター）

【参加者名】

永森收志（東京慈恵会医科大学），陳　以珊（和歌山県立医科大学），井上　華（東京医科大学），河合喬文（大阪大学大学院），老木成稔（福井大学），沼田朋大（福岡大学），田中康太郎（名古屋大学），高橋正紀（大阪大学），中川敦史（大阪大学），森　泰生（京都大学）,倉智嘉久（大阪大学），黒川竜紀（大分大学），岡村康司（大阪大学），中條浩一（自治医科大学），糟谷　豪（自治医科大学），劉　嘉瑩（自治医科大学），善方文太郎（自治医科大学），藤原祐一郎（香川大学），水谷夏希（大阪大学），三好智満（大阪大学），柳川正隆（理化学研究所），久保田智哉（大阪大学大学院），Andriani Rizki Tsari（大阪大学），木瀬孔明（東京大学），真木孝尚（福井大学），祢宜淳太郎（九州大学），岩本真幸（福井大学），横川真梨子（慶應義塾大学），阿部一啓（名古屋大学），辻本　臨（静岡県立大学），中西　陸（静岡県立大学），原　雄二（静岡県立大学），鈴木美希（静岡県立大学），塚本寿夫（神戸大学），阿部充宏（理化学研究所），入江克雅（和歌山県立医科大学），大澤匡範（慶應義塾大学），佐甲靖志（理化学研究所），森梨沙（大阪大学），樽野陽幸（京都府立医科大学），小野富三人（大阪医科薬科大学），竹内裕子（大阪大学），紀谷拓音（香川大学），李　勇燦（横浜市立大学），西谷（中村）友重（和歌山県立医科大学），好岡大輔（大阪大学大学院），RATANAYOTHA Adisorn（大阪大学），大河内善史（大阪大学），柳（石原）圭子（久留米大学），神取和代（香川大学），佐々木真理（大阪医科薬科大学），香西大輔（名古屋大学），久保義弘（生理学研究所），立山充博（生理学研究所），下村拓史（生理学研究所），平澤輝一（生理学研究所），Liu Chang（生理学研究所）

【概要】

本研究会は，「構造情報を基盤とした膜機能分子の生理機能理解に向けて」と題し，2021 年 9 月 7 日(水)に開催された。当初は生理学研究所で開催される予定であったが，COVID-19 の感染状況に鑑み，昨年度に引き続き zoom を利用した web 開催とした。これまでの研究会は通常二日間にわたって開催されていたが，web 開催ということもあり，昨年と同様一日間で開催することとした。今回はポスターセッションを設けず，その代わりに例年より多い 15 名もの講演者がプレゼンテーションを行った。事前登録による参加者数は約 60 名であり，例年通りの盛況であった。

プログラムの内容であるが，昨今爆発的に増えている構造情報から，いかに膜タンパク質の機能を理解していくか，ということをテーマに，主に若手～中堅の研究者が，イオンチャネルやトランスポーター，膜脂質分子に関する講演を行った。その中には精子，植物の生理現象や，無脊椎動物，細菌などの哺乳類とは異なる機能を持つタンパク質分子も含まれており，非常に多彩な内容となった。最後に福井大学の老木成稔教授が特別講演を行い，イオンチャネルの構造機能研究のこれまでを振り返り，さらに今後の展望についてディスカッションした。講演時間は基本的に 22 分で，討論時間は 8 分に設定した。比較的討論時間に余裕を持たせたこともあり，十分に議論を行うことができた。web 開催ではあったが，この 1 年でほとんどの参加者がオンラインでの会議に慣れたこともあり，ほとんどトラブルもなく，時間通りにスムーズに進行された。休憩時間等での雑談や情報交換がしにくい点は課題として残ったものの，オンサイトでの開催に引けを取らない活気ある研究会を開催することができた。

（1）精子イオンチャネルの動態を制御する様々なメカニズム

河合喬文（大阪大学大学院医学系研究科統合生理学）

昨今の研究から，精子の細胞膜上にも様々な種類のイオンチャネルが存在し，その受精能の制御に重要な役割を果たしていることが明らかにされてきている。特に細胞内の pH 制御を担う H^+ チャネルやトランスポ

ーター，膜電位制御を担う K^+ チャネル Slo3,Ca^{2+} シグナルを制御する Ca^{2+} チャネル CatSper は，受精に直結する重要な膜輸送体である。我々はこれまでの，電位依存性ホスファターゼ(VSP)に着目した研究から，精子では細胞膜上のイノシトールリン脂質レベルが鞭毛膜上で適切に制御されており，これが Slo3 の活性を制御するのに重要であることを示してきた。このように，精子イオンチャネルの活性を制御するシグナル因子に注目することは，精子の生理機能を議論するうえで重要である。今回私は，イノシトールリン脂質の他に，精子の中に蓄積していることで知られている亜鉛イオンに着目し，その生理的な役割を検証した。我々は亜鉛イオンが受精過程において示すダイナミクスを観察することに成功し，また亜鉛イオンが精子のイオンチャネルに作用する様子も観察した。

（2）Voltage-clamp fluorometry analysis of structural rearrangements of ATP-gated channel P2X2 upon hyperpolarization

Rizki Tsari Andriani[1, 2*], Yoshihiro Kubo[1, 2]

([1]Division of Biophysics and Neurobiology, National Institute for Physiological Sciences

[2]Department of Physiological Sciences, The Graduate University for Advanced Studies, School of Life Science

* Current affiliation: Integrative Physiology, Graduate School of Medicine, Osaka University)

P2X2 is a ligand-gated ion channel activated primarily by extracellular ATP. Gating of P2X2 has been shown to be dependent not only on [ATP] but also on membrane voltage. Upon hyperpolarization, there is a gradual increase in the inward current in the presence of ATP, despite the absence of a canonical voltage-sensor domain. P2X2 is known to have a topology with only two transmembrane (TM) domains with a large extracellular ligand binding loop for its structure. We aimed to investigate the structural rearrangements of rat P2X2 during ATP- and voltage-dependent gating, using a voltage-clamp fluorometry technique. Through genetic incorporation of a fluorescent unnatural amino acid named Anap, sites of interest were labeled at individual positions of the P2X2 receptor. We observed fast and linearly voltage-dependent fluorescence intensity (F) changes at Ala337 and Ile341 in the TM2 domain, which could be due to the electrochromic effect, reflecting the presence of a converged electric field. We also observed slow and voltage-dependent F changes at Ala337, which reflect structural rearrangements. Furthermore, we determined that the interaction between Ala337 in TM2 and Phe44 in TM1, which are in close proximity in the ATP-bound open state, is critical for activation. Taking these results together, we propose that the voltage dependence of the interaction within the converged electric field underlies the voltage-dependent gating.

（3）細胞容積調節機構における TRPM7 の新たな役割

沼田朋大（福岡大学医学部生理学講座）

動物細胞は，細胞膨張の後の調節性容積減少（RVD）メカニズムによって，細胞容積を一定に保っている。上皮細胞において RVD は，容積感受性外向整流性 Cl^- チャネル（VSOR）およびCa^{2+} 活性化 K^+チャネルを介した KCl 放出によって達成される。これまで細胞膨張によって誘発される TRPM7 チャネルの活性化は，Ca^{2+} 流入を引き起こし，それによって K^+チャネルを活性化することは知られていたが，VSOR には Ca^{2+} 感受性がないことから，TRPM7-VSOR の関係については検討されていなかった。

ここでは，TRPM7 が VSOR の活性化に果たす何らかの役割を調べた。TRPM7 の発現を HeLa 細胞でノックダ

ウンしたり，DT40 細胞でノックアウトしたりすると，TRPM7 の活性と RVD 能だけでなく，VSOR 活性も抑制された。さらに，TRPM7 欠損 DT40 細胞における TRPM7 の異種発現は，VSOR のコア分子である LRRC8A の発現の増加を伴い，VSOR 活性と RVD 能の両方を救済した。TRPM7 の VSOR 活性促進は，定常状態の Ca^{2+} 流入の媒介を通じた LRRC8A 発現の増強，TRPM7 の C 末端ドメインと LRRC8A との間の相互作用を通じた LRRC8A タンパク質の形質膜発現安定化によることが示された。これらの結果から，TRPM7 は新たに VSOR 活性の必須の調節因子の役割を担っていることが明らかとなった。

（4）植物のアニオンチャネルを介した CO_2 感知メカニズム

祢宜淳太郎（九州大学大学院理学研究科植物生理学研究室）

植物は高濃度 CO_2 や乾燥（アブシジン酸）を感知すると，孔辺細胞から陰イオンの放出が始まる。これが端緒となって，細胞外への水の流出が生じ，気孔は閉じる。孔辺細胞には，多くのポンプやイオンチャネルが存在し，特に気孔閉鎖には，S (slow) 型のアニオンチャネルが中心的な役割を果たしていると推定されていたが，その分子実体は不明であった。そこで我々は高度に制御された CO_2 環境下におけるサーマルイメージングによって，高 CO_2 環境下でも気孔を閉じることができないシロイヌナズナ変異株 slac1 を単離し，その原因遺伝子の構造・機能解析から，気孔閉鎖を駆動する細胞膜局在 S 型アニオンチャネル SLAC1 (Slow Anion Channel 1) を世界に先駆けて同定した（Negi *et al Nature* 2008）。SLAC1 の発見により，気孔閉鎖を駆動するイオンチャネルの分子レベルでの機能解析が可能になり，SLAC1 は CO_2 シグナルをその膜貫通領域で受信し，乾燥シグナルと CO_2 シグナルをそれぞれ別のポリペプチド領域で受容していることを明らかにした（Yamamoto *et al Plant Cell* 2016）。さらに，孔辺細胞が保持する独自の葉緑体が CO_2 による気孔応答に必須の役割をもち，SLAC1 の活性制御にも関わることを明らかにした （Negi *et al PNAS* 2018）。気孔装置閉鎖駆動部本体の分子実体を明らかにしたことによって，これまで研究が進んでいなかった気孔閉鎖メカニズムの解明が急速に進んでいることを紹介した。

（5）リサイクル型オプシンの光応答特性を利用した光操作ツールの開発

塚本寿夫（神戸大学大学院理学研究科生物学専攻，JST さきがけ）

この１５年間に，光刺激あるいは化学刺激によって細胞応答を人為的に操作する研究が飛躍的に発展してきた。その中でも最も発展しているのは，光感受性イオンチャネルであるチャネルロドプシン（あるいはその類縁体）を神経細胞に導入して光によって神経発火を操作する解析（光遺伝学）である。一方で，化学刺激によって細胞応答を操作する用途には，主にＧタンパク質共役受容体（GPCR）変異体が用いられているため，光操作ツールとして光感受性 GPCR である動物オプシンの重要性も高まっている。これまでは，脊椎動物の視細胞で機能するオプシンが光操作ツールとしてよく利用されてきたが，発表者を含めたオプシン研究者（の一部）は，無脊椎動物由来のオプシンのほうがツールとして優れていると考えている。本発表では，これまでに数千種類同定されている動物オプシンの中で，どのようなオプシンが光操作ツールとして望ましいのかを具体例をあげて紹介するとともに，オプシンの機能特性をどのようにすれば「強化」できるのかについての研究結果を発表した。

（6）グルコース輸送体 SGLT における糖の選択的輸送機構

神鳥和代[1]，城田松之[2]，藤原祐一郎[1]
（[1]香川大学医学部分子生理学，[2]東北大学医学系研究科新医学領域創生分野）

Sodium-glucose linked transporters (SGLT) は，小腸や腎尿細管の上皮細胞で糖の吸収を担っており，吸収不良の原因や糖尿病治療薬のターゲットとして臨床的にも注目されている。基質となる単糖はアイソフォームごとに異なり，厳密な選択性を持つ。その選択的輸送機構は明らかになっていない。本研究では，グルコースとガラクトースのみを輸送するヒト SGLT1 の基質結合状態の構造モデルを構築し，さまざまな天然糖と変異体を用いて電気生理学的な解析を行った。その結果，糖結合ポケットで親水性相互作用を形成する残基を変異させることで，糖の水酸基の配向選択性を変化させ，マンノースとアロースの輸送に成功した。また，グルコースとガラクトースの輸送比率を変え一部のアイソフォームの基質特異性を再現することに成功した。立体障害を取り除き，糖の炭素骨格との疎水性相互作用を調整することで，最終的にフルクトースを輸送する SGLT4 の基質特異性を再現することに成功した。これは，五員環構造として知られるフルクトースが，六員環構造で SGLT に結合していることを示唆していた。本研究は，広くトランスポーターの基質予測や，その阻害剤の設計にも役立つと考えられた。

（7）クライオ電子顕微鏡により明らかとなったヘテロ二量体型アミノ酸輸送体の構造と分子病理

李　勇燦（横浜市立大学大学院生命医科学研究科）

$b^{0,+}$ 輸送系はシスチンおよび塩基性アミノ酸の輸送体であり，主に腎臓や小腸に局在する。$b^{0,+}$ 輸送系の遺伝的異常はシスチン尿症として知られ，尿中に再発性のシスチン結石を生じる。シスチン尿症には type I と呼ばれる局在異常型と，non-type I と呼ばれる輸送不活型の 2 種類が知られているものの，各分子病理に至る詳細なメカニズムは明らかではなかった。今回我々は，クライオ電子顕微鏡を用いて $b^{0,+}$ 輸送系の構造を明らかにした。$b^{0,+}$ 輸送系は，$b^{0,+}$AT と rBAT からなるヘテロ二量体が，さらに“超二量体”として会合したヘテロ四量体構造をとっていた。2 つのヘテロ二量体は rBAT 同士の相互作用によって会合しており，その界面には，これまで予測されていなかった Ca^{2+} イオンが観測された。糖鎖成熟アッセイと部位特異的架橋により Ca^{2+} 結合部位周辺の変異の影響を調べたところ，Ca^{2+} が高次構造形成およびタンパク質の成熟に重要であることが示された。また，培養細胞を用いたタンパク質局在観察の結果から，rBAT への Ca^{2+} 結合の異常が，type I シスチン尿症と類似した局在異常をもたらすことを見出した。さらに，輸送体を担う本体である $b^{0,+}$AT サブユニットに対する変異体解析の結果から，塩基性アミノ酸の認識に関わる残基を明らかにした。これらの結果から，type I シスチン尿症の分子病理における，高次構造形成という新たな視点を示した。

（8）Structural basis of gating modulation of the Kv4 macromolecular channel complex

木瀬孔明（東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻）

イオンチャネルの多くは，多様な制御サブユニットと複合体を形成することによって電位依存性，ゲート開閉のキネティクスのモジュレーション（modulation）を受ける。神経細胞の樹状突起に局在する電位依存性カリウムチャネル Kv4 は，細胞質内タンパク質 KChIP と 1 回膜貫通タンパク質 DPP の 2 つの制御サブユニッ

トと複合体を形成して，活性化・不活性化・不活性化状態からの回復において速いキネティクスを獲得し，活動電位の樹状突起への逆伝搬の抑制などを行う。

我々は，クライオ電子顕微鏡を用いて Kv4.2 単体（4 量体），Kv4.2-KChIP1 複合体（8 量体），Kv4.2-DPP6S 複合体（8 量体），Kv4.2-DPP6S-KChIP1 巨大複合体（12 量体）の立体構造を決定した。これら４種類の構造を比較した結果，KChIP1 が Kv4.2 のポアの開閉を制御する S6 ゲートと相互作用してゲートの構造を安定化すること，１つの KChIP1 が隣り合った２つの Kv4.2 サブユニットを結びつけることによって 4 本の S6 の動きが連動する仕組みになっていることが分かった。また，DPP6S が Kv4.2 の電位センサードメインを構成する S1-S2 の構造を安定化するように相互作用することが明らかになった。さらに電気生理学的解析を組み合わせることによって，これらの相互作用がモジュレーションの構造基盤であることを明らかにした。

（9）細菌由来のイオンチャネルに見いだされたカルシウムの選択的透過と機能阻害

入江克雅（和歌山県立医科大学薬学部･薬品物理化学研究室）

イオンチャネルの構造生物学において細菌由来のチャネルが果たした役割は大きく，細菌由来のカリウムチャネルである KcsA や細菌由来のナトリウムチャネル（BacNav）の高分解能構造は，イオン選択性などの基本的な機能の理解に貢献した。一方で，細菌由来のカルシウムチャネル（Cav）についても探索が進められてきたが，最初の細菌由来チャネルの発見から 20 年近く経てもなお未発見であった。

そこで，我々は BacNav の選択性フィルターに負電荷のアミノ酸変異を導入した人工チャネルがカルシウム選択性を獲得することに着目し，BacNav に相同性をもち選択性フィルターのアミノ酸が BacNav よりも負電荷が多いものを探索した。その結果，複数の候補遺伝子を同定し，昆虫培養細胞を用いた全細胞パッチクランプ実験の結果，Meiothermus ruber 由来の候補遺伝子は高いカルシウム選択性を持つチャネルであることを示した。M. ruber は既存の BacNav の宿主より生命の共通祖先に近い Deinococcus-Thermus 門に属することから，このチャネルグループを AnclNav (Ancestor-like BacNav) と名付けた。AnclNav には Ca^{2+}によって電流が阻害されるといった，従来の BacNav にはない特徴を持つものもあり，イオンチャネルの進化と起源を考えるうえで興味深いグループである。

（10）リン脂質フリップ・フロップにより制御されるイオンチャネルの役割

原　雄二（静岡県立大学薬学部統合生理学分野）

生体膜の構成成分であるリン脂質は，脂質二重層の内・外層間で非対称に局在し，細胞内シグナリング，細胞遊走など，多様な細胞現象に重要な役割を果たしている。リン脂質の非対称分布は，外層から内層に特定の脂質分子を輸送するフリッパーゼをはじめ，脂質二重層間におけるリン脂質のトンボ返り運動（フリップ・フロップ）を担うリン脂質輸送体群により形成される。我々はこれまでに骨格筋線維の再生過程をモデル系として，リン脂質フリッパーゼによるリン脂質輸送が，膜張力により活性化される PIEZO1 イオンチャネルの活性化を正に制御することで，秩序だった再生筋線維の形態形成に必須であることを見出した。

本研究会では，脂質二重層間におけるフリップ・フロップにより活性制御される細胞・生理現象について，下記の通り報告した。まず，リン脂質フリップ・フロップにより制御される PIEZO1 の機能解明のため，骨格筋幹細特異的な *Piezo1* 欠損マウスを作出・解析したところ，筋再生の遅延，筋幹細胞の増殖および遊走能低下が認められた。このことは 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す

ものである。また，リン脂質フリップ・フロップにより制御されるイオンチャネル群のさらなる同定を行ったところ，Ca^{2+} 透過型イオンチャネルの一つが有意に活性減弱化を示したことから，リン脂質の膜間分布の変化は PIEZO1 だけでなく，他のイオンチャネル制御にも関わることが示唆された。

（11）PMP2/FABP8 induces PI(4,5)P_2-dependent transbilayer reorganization of sphingomyelin in the plasma membrane

阿部充宏（理化学研究所開拓研究本部佐甲細胞情報研究室）

哺乳動物細胞の細胞膜において，脂質二重層の外層と内層では脂質の構成成分が大きく異なっている。スフィンゴ脂質であるスフィンゴミエリンは，ほとんどが細胞膜外層に分布しているものの，少量ながら内層にも存在している。スフィンゴミエリンは合成直後に細胞膜外層へ輸送されることから，輸送された後に何らかの機構によって細胞膜外層から内層へ移行することが予想される。グリセロ脂質に関しては，脂質二重層内移行に関する因子・分子機構の理解が進んでいるが，スフィンゴ脂質に関しては，ほとんどわかっていない。本研究で遺伝学的スクリーニングを行ったところ，スフィンゴミエリンの脂質二重層内移行に関わるタンパク質として，PMP2/FABP8 が同定された。PMP2/FABP8 のノックアウト細胞では，蛍光ラベルされたスフィンゴミエリンの細胞膜外層から内層への移行活性が低下していることがわかった。また，PMP2/FABP8 の過剰発現細胞では，スフィンゴミエリンは細胞膜外層で減少し，内層で増加していることがわかった。さらに，PMP2/FABP8 のリコンビナントタンパク質と人工膜を用いた結果から，PMP2/FABP8 は PI(4,5)P_2 に結合し，脂質二重層の形状を変化させることで，スフィンゴミエリンの脂質二重層内移行を促進していることが示唆された。

（12）細胞膜リン脂質フリッパーゼ ATP11C による脂質輸送メカニズム

阿部一啓（名古屋大学細胞生理学研究センター・大学院創薬科学研究科）

真核生物の細胞膜において，フォスファチジルセリン（PtdSer）は細胞膜内葉に偏って分布している。この脂質非対称分布は，P4-ATPase に分類される脂質フリッパーゼ ATP11C が PtdSer を細胞膜外葉から内葉へとフリップすることで維持されている。しかしこの非対称分布は，アポトーシスによって細胞が自発的な死を遂げる際に崩壊する - アポトーシスによって誘導されたカスパーゼが ATP11C を特異的に切断し失活させることで，PtdSer が細胞膜外葉へ露出，これがいわゆる『Eat me』シグナルとして働き，死細胞はマクロファージによって無用な炎症を引き起こすことなく貪食される。故に「細胞死を司るポンプ」とも形容できる ATP11C であるが，その生理的重要性と同様に，専らイオンを輸送する P 型 ATPase にあって巨大な脂質を輸送する分子機構に興味が持たれる。

我々はヒト ATP11C/CDC50A 複合体の複数の反応中間体の構造を，X 線結晶学（Nakanishiet al., 2020, *J. Biol. Chem.*）と Cryo-EM（Nakanishi et al., 2020, *Cell Rep.*）によって決定した。これらの構造解析と変異体による機能解析によって，ATP11C が ATP 加水分解と脂質輸送を共役させる仕組み，脂質認識機構（なぜ PtdSer が輸送され PtdCho ではだめなのか），イオン輸送型 ATPase との共通点と相違点を明らかにした。

（13）ドメイン間相互作用を介した酸化ストレスによる TRPM7 チャネル活性の調節機構

井上　華[1]，村山　尚[2]，小林琢也[2]，小西真人[1]，横山詩子[1]
（[1]東京医科大学細胞生理学，[2]順天堂大学大学院細胞・分子薬理学）

Transient receptor potential melastatin 7 (TRPM7) は全身の細胞に普遍的に発現する非選択性陽イオンチャネルで，Mg ホメオスタシスに重要な分子と考えられている。TRPM7 のチャネル活性は細胞内 Mg^{2+} によって抑制されており，細胞内 Mg^{2+} が低下すると活性が高まり細胞内への Mg^{2+} 流入を引き起す。TRPM7 はイオンチャネルドメインとキナーゼドメインの二つの機能ドメインを有する非常にユニークなイオンチャネルである。チャネル活性にはキナーゼ活性は必要ないが，キナーゼドメインの全欠損はチャネル活性を著しく阻害する。我々は，チャネルドメインとキナーゼドメインを別々のタンパク質として細胞に共発現させる実験を行い，以下のことを明らかにした。1) チャネル活性の Mg^{2+} 依存性はチャネルドメインとキナーゼドメインの相互作用によって調節される，2) ドメイン間相互作用にはチャネルドメインとキナーゼドメインが連結している必要はない，3）キナーゼドメインの zinc-binding motif によって保持される構造はドメイン間相互作用に必須である，4) 酸化ストレス下では zinc-binding motif 内のシステイン残基が酸化されることによってドメイン間相互作用が阻害され，チャネル活性が阻害される。

（14）Gating-modifier toxin APETx1 による電位依存性カリウムイオンチャネル hERG 阻害機構の解析

大澤匡範（慶應義塾大学・薬学部）

hERG はヒト心臓に発現する電位依存性 K^+ チャネルであり，心筋の膜電位の再分極過程を担う。イソギンチャク由来のペプチド性毒素 APETx1 は，hERG の静止状態における電位センサードメイン（VSD）に結合し阻害する。しかしながら，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 阻害機構の解明を目的とした。

我々は，リコンビナント APETx1 およびその 1 残基変異体 15 種の調製法を確立し，パッチクランプ法により APETx1 添加時の hERG 電流を測定した。その結果，hERG 阻害に重要な APETx1 の 4 残基を同定した。

さらに，21 種類の hERG 変異体に対する APETx1 の阻害活性を二本刺し膜電位固定法により評価したところ，APETx1 の阻害活性に影響する hERG の 5 残基を同定した。しかし，これらは，既知の hERG の構造上では互いに離れて位置し，APETx1 との結合を説明できなかった。

そこで，hERG-VSD の膜電位依存的な構造変化を想定し，S4 を細胞内側にシフトしたモデルで APETx1 とのドッキングを行ったところ，APETx1 との相補的結合が見られたことから，このモデルが APETx1 の hERG 阻害様式を反映することが示唆された。

（15）チャネル構造-機能情報の乖離と適合

老木成稔（福井大学高エネルギー研究センター）

イオンチャネルは 1998 年に初めて結晶構造が得られて以来，チャネル特性の理解が劇的に深められてきた。チャネルは一分子測定において他の蛋白質にくらべ優位性があるため，構造と機能に対する理解は膜蛋白質をリードする存在である。したがってチャネル構造機能相関研究の過程を辿ることで，蛋白質の構造と機能

情報をどのように理解するかを学ぶことができる。しかし膜蛋白質にはその機能構造を考える上で膜蛋白質特有の問題がある。水溶性蛋白質ではリガンド結合のようなその場での反応（近接作用）様式をとるので相互作用する構造を捉えることは方法論的に可能である。一方，膜蛋白質では膜環境の中で膜張力や膜電位のような遠隔作用がその機能に影響を与えるので，そのような作用下にある構造を得ることは極めて困難である。このような状況下でチャネル機能情報を基にして，構造情報をどう理解し利用するか，という観点からいくつかの例を示し，チャネル構造-機能情報の乖離と適合について議論した。

3. 機能的神経回路の構築と動作を支える分子細胞基盤

2022 年 2 月 4 日

代表・世話人：吉田知之（富山大学大学院医学薬学研究部）
所内対応者：深田正紀（生理学研究所生体膜研究部門）

（1）Beat/Side ファミリー膜タンパク質はショウジョウバエ視覚系ニューロンのシナプス特異性を制御する
鈴木崇之（東京工業大学生命理工学院）

（2）*Ptprd* 遺伝子マイクロエクソンの取捨選択調節が作り出す脳神経回路の設計図
吉田知之（富山大学学術研究部）

（3）受容体タンパク質チロシン脱リン酸化酵素 PTPδ によるシナプス分化誘導の構造基盤
深井周也（京都大学大学院理学研究科）

（4）液－液相分離によるアクティブゾーン構成分子群の動態制御メカニズム
大塚稔久（山梨大学大学院総合研究部）

（5）LGI1-ADAM22 抗てんかん蛋白質複合体の量的制御機構の解明
横井紀彦（生理学研究所生体膜研究部門）

（6）神経細胞における酸性リン脂質フリッパーゼの機能
服部光治（名古屋市立大学大学院薬学研究科）

（7）アストロサイトによる神経回路と動物行動の修飾
長井　淳（理研 CBS グリア - 神経回路動態研究チーム）

（8）光応答性 CaMKII を用いた海馬神経細胞単一スパインにおける Metaplasticity メカニズムの検討
植田大海（生理学研究所脳機能計測･支援センター）

（9）神経活動依存的な細胞内競合に基づく神経回路リモデリング
今井　猛（九州大学大学院医学研究院）

（10）情動による知覚記憶固定化の促進は NREM 睡眠中の扁桃体－皮質回路が担う
村山正宜（理化学研究所脳神経科学研究センター）

（11）海馬・線条体・眼窩前頭皮質における同期的な時間表現
藤澤茂義（理化学研究所脳神経科学研究センター）

（12）組織透明化・3D イメージング技術による 3 次元神経病理学
田井中一貴（新潟大学脳研究所システム脳病態学分野）

（13）岡崎におけるクライオ電子顕微鏡施設の紹介
村田和義（生理学研究所生命創成探究センター）

【参加者名】

鈴木崇之（東京工業大学），吉田知之（富山大学），深井周也（京都大学），大塚稔久（山梨大学），横井紀彦（生理学研究所），服部光治（名古屋市立大学），長井　淳（理化学研究所），植田大海（生理学研究所），今井　猛（九州大学），村山正宜（理化学研究所），藤澤茂義（理化学研究所），田井中一貴（新潟大学），村田和義（生命創成探究センター），深田正紀（生理学研究所），深田優子（生理学研究所），宮崎裕理（生理学研究所），稲橋宏樹（生理学研究所），江川孝彦（生理学研究所），鄭　芷卉（生理学研究所），袴田大晶（生理学研究所），天野大樹（北海道大学），海老根映美（基礎生物学研究所），藤本聡志（九州大学），橋本昂之（東京大学），東島眞一（基礎生物学研究所），平澤輝一（生理学研究所），堀尾修平（生理学研究所），堀内　浩（生理学研究所），稲垣成矩（九州大学），岩﨑広英（群馬大学），泉

裕士（生理学研究所），城田ふみ（産業医科大学），木村梨絵（東京大学），木村有希子（生命創成探究センター），小西克侑（大阪大学），長澤裕太郎（生理学研究所），中田里奈穂（同志社大学），新山哲士（九州大学），西本翔裕（東京大学），野住素広（新潟大学），椙岡拓己（基礎生物学研究所），高橋泰伽（生理学研究所），谷本昌志（基礎生物学研究所），塚原飛央（ミシガン大学），トゥホンヤー（大阪大学），内田周作（京都大学），上原一将（生理学研究所），植松明子（生理学研究所），和氣弘明（生理学研究所），山肩葉子（生理学研究所），山口暖乃（横浜国立大学），吉田知史（同志社大学），吉村由美子（生理学研究所），村越秀治（生理学研究所）

【概要】

光遺伝学やイメージング技術等の進歩によって様々な脳機能を担う神経細胞アンサンブルが急速に明らかになっている。このような機能的神経細胞アンサンブルの構築機能，可塑的変化の調節機構を理解することが，高次脳機能の発現機構やその破綻に起因する精神疾患の発病機構の理解に不可欠である。とりわけ個々の神経細胞を繋ぐシナプスの形成，維持，可塑性，および再編の分子細胞基盤やこれらを伴う神経回路動作原理の解明は，神経科学領域の最重要課題の一つであり，分子，オルガネラ，細胞，回路，個体を標的とした多階層のアプローチを必要とする。本研究会ではシナプス分子の構造・機能解析分野，さらにはシナプスおよび神経回路の形態・機能・病態解析分野において第一線で活躍される研究者を招聘して，最新の研究成果について発表して頂いた。また，今後のシナプスおよび神経回路研究分野の新たな展開を模索し，活発な議論と情報交換を行なった。

（1）Beat/Side ファミリー膜タンパク質はショウジョウバエ視覚系ニューロンのシナプス特異性を制御する

鈴木崇之（東京工業大学生命理工学院）

すべてのニューロンは，多くの接続相手から１つのニューロンを選択しシナプス接続をおこなう「シナプス特異性」と呼ばれる驚くべき能力を有する。では「シナプス特異性」はどのように制御されているのだろうか？ニューロンには，シナプスを誘導する分子機構は共通して備わっており，その分子機構とは別に，細胞接着因子などの働きによるニューロン同士の結合強度を比較し，結びつきの強いニューロン同士がシナプスを形成するという「ニューロン間相対的結合強度比較機構」という理論が提唱された（Xu et al., 2019）。しかしながら，具体的な分子基盤は未解明のままである。我々は，ショウジョウバエの視神経系をモデルに，「シナプス特異性」が制御される分子機構を探った。近年，Beat/Side ファミリー膜タンパク質がお互いにヘテロ結合しあうことが明らかになった(Ozkan et al., 2013, Li et al., 2017)。そこで我々は，Beat/Side ファミリーがシナプス特異性を制御する新規遺伝子群ではないかと，包括的な機能解析をおこなった。

まず，我々は Beat/Side タンパク質がラミナ・ニューロン（視細胞の二次ニューロン）のシナプス特異性を制御しているかを調べた。ラミナ・ニューロンには５つのタイプ（L1-L5）が知られているが，L2 と L4 との間にだけ，（双方向に）シナプスを形成している。*SideX SideY* の二重変異体では，L2 や L4 がほかのラミナ・ニューロンとも異所的にシナプスを形成してしまい，全体としてはシナプス数が増えるという表現型を示した。このように，SideX と SideY は正確な「シナプス特異性」の実現に不可欠であることが分かった。

次に，我々は Beat/Side タンパク質がシナプス接続を異所的に誘導できるかを検証した。R7 視細胞はメダラ神経節の M4-6 層にシナプスを形成する。SideX を R7 視細胞に過剰発現すると，R7 が M9-10 まで軸索を伸ばし，M1-2 層と M9-10 層に異所的に過剰なシナプスが形成され，BeatX-SideX の相互作用がシナプスを誘導したことが示唆された。

驚くべきことに，SideX は細胞内ドメインを欠いた断

片でもシナプスを誘導することが分かり，細胞内にシグナルを送るほかの協調タンパク質の存在が示唆された。そこで，SideX と協調的にシナプスを誘導しうる遺伝子として，Kirre という IRM ファミリーに属するタンパク質が同定された。

以上の結果から，Beat/Side タンパク質はその特異的な結合によって，「シナプス特異性」を制御していることが示された。機能欠損型の実験から Beat/Side タンパク質はシナプス形成そのものを制御しているとは言い難く，ニューロン同士の接着を強めシナプス形成を起こしやすくしているように見える。それに対して，過剰発現の実験ではシナプスを誘導する能力を有していることも示した。２つの結果を統合すると，Beat/Side は，単に細胞接着因子としてだけではなく，IRM などのタンパク質と共にシナプスを誘導する複合体の一部を担っていると考えられる。我々の結果は，このような複合体の「ニューロン間相対的結合強度比較機構」により，シナプス形成をする相手が決定されるという理論を強く支持する。

（2）*Ptprd* 遺伝子マイクロエクソンの取捨選択調節が作り出す脳神経回路の設計図

吉田知之（富山大学学術研究部･医学系）

近年，哺乳類の神経細胞において選択的に利用される 3〜27 ヌクレオチド（nt）の極めて短いエクソン（マイクロエクソン, micro-exon）の存在が明らかになり，神経系で働くタンパク質の機能に多様性を生む新たなメカニズムとして注目されている。私たちは神経細胞間のシナプス構造を分化誘導する細胞接着分子（シナプスオーガナイザー）として受容体チロシン脱リン酸化酵素 PTPδ（遺伝子名 *Ptprd*）を同定し，そのイムノグロブリンドメイン内に挿入される短いペプチドをコードする 3 つのマイクロエクソンを見出した。シナプス形成期のマウス脳内では，これら 3 つマイクロエクソンの取捨選択によって作り出される少なくとも 8 種類の PTPδ スプラスバリアントが発現しており，選択するマイクロエクソンに応じて誘導するシナプスの種類（グルタミン酸作動性・GABA 作動性）と誘導するシナプスの数が決まることを発見した。実際に *Ptprd* 遺伝子のマイクロエクソンの取捨選択状態には脳部位や発達時期に応じた固有のパターンがあり，そのパターンは神経活動や炎症ストレスによって変化することがわかった。すなわち，*Ptprd* 遺伝子のマイクロエクソンの取捨選択パターンは神経回路網形成の遺伝的に決められた設計図として機能し，さらにこの設計図は環境要因によって書き換えられることが示唆された。本発表では *Ptprd* 遺伝子のマイクロエクソンの時空間的な取捨選択パターンや調節メカニズム，さらにこの調節の破綻が引き起こすマウスの行動変化について紹介したい。

（3）受容体タンパク質チロシン脱リン酸化酵素 PTPδ によるシナプス分化誘導の構造基盤

深井周也（京都大学大学院理学研究科化学専攻）

PTPδ は，LAR や PTPσ と共に IIa 型に分類される受容体タンパク質チロシン脱リン酸化酵素（IIa RPTP）である。神経系では，ヘパラン硫酸やコンドロイチン硫酸との結合を介して軸索伸張を制御し，さらに，複数の異なる膜受容体様リガンドとの結合を介してシナプス分化を誘導するシナプスオーガナイザーとしての役割も担う。シナプスオーガナイザー間の選択的な相互作用はシナプス標的の選択や特性（興奮性・抑制性）の決定に関わっており，回路形成において重要な役割を担うと考えられる。それを裏付けるように，シナプスオーガナイザーの機能異常は自閉症や知的障害などの神経発達障害と密接に関連している。

IIa RPTP は巨大な細胞外ドメインと一本の膜貫通ヘリックス，細胞内の２つの脱リン酸化酵素ドメイン（D1 および D2）で構成される。細胞外ドメインは，N 末端から順に３つの免疫グロブリン（Ig）ドメイン（Ig1-Ig3）と 4 つもしくは 8 つの III 型フィブロネクチン（FN）ドメイン（FN1-FN8）で構成される。シナプス前終末に局

在する PTPδ は，シナプス後終末のシナプスオーガナイザーである IL-1RAcP，IL1RAPL1，Slitrk1-Slitrk6，SALM3，SALM5，NGL3，Neuroligin（NLGN）3 とシナプス間隙を跨いで相互作用することでシナプス分化を誘導する。これらの相互作用の選択は，Ig2 内の mini-exon A に由来する挿入ペプチド（meA ペプチド）と Ig2 と Ig3 の間の mini-exon B に由来する挿入ペプチド（meB ペプチド）の組み合わせによって調節されている。NLGN3 は，他のシナプスオーガナイザーとは異なり，meB ペプチドを欠いたスプライスバリアント（meB^{-}）と選択的に結合してシナプス分化を誘導する。また，NLGN3 は別のシナプス前終末のシナプスオーガナイザーである Neurexin（NRXN）と相互作用する点でも異なっている。

私たちは，PTPδ の Ig1 から FN1 までの領域と NLGN3 の細胞外ドメインを構成するエステラーゼ様ドメインとの複合体の結晶構造を決定し，meB^{-} に選択的な相互作用機構を明らかにした。さらに，既知の NRXN-NLGN 複合体の結晶構造と比較することで，PTPδ と NLGN3，NRXN と NLGN3 の各相互作用を選択的に失わせる変異を見出した。それらの変異を導入した遺伝子改変マウスを作出し，大脳皮質の神経細胞におけるシナプス誘導能や個体の行動を解析した結果，NRXN を介する経路と PTPδ を介する経路のうち，一方の経路が失われるともう一方の経路によるシナプス誘導が促進すること，また，興奮性/抑制性シナプスタンパク質の発現バランスが崩れて社会性行動に変化が起こることが明らかになった。本講演では，最近論文に報告したこれらの知見を紹介すると共に，今後の展開について議論したい。

（4）液－液相分離によるアクティブゾーン構成分子群の動態制御メカニズム

大塚稔久（山梨大学･大学院総合研究部･医学域基礎医学系･生化学講座第一教室）

脳の高次機能は，神経終末におけるシナプス伝達が時空間的に厳密に制御されることで，適切に機能する。情報の出力側であるプレシナプスには比較的電子密度の高い構造体としてアクティブゾーンが存在する。アクティブゾーンは，神経伝達物質を含有したシナプス小胞が特異的にドッキング，融合する場所でもあり，シナプス伝達を時空間的に厳密に制御する役割を果たす。1990 年代に入り，アクティブゾーン特異的な一連のタンパク質が同定され，それらの機能解析が進んできた。現在，特異的タンパク質群として，Bassoon, Piccolo/Aczonin, RIM, Munc13-1, CAST および ELKS の 6 つが知られている。なかでも，CAST およびそのファミリーメンバーELKS は他のアクティブゾーンタンパク質全てと直接相互作用し，巨大な分子複合体を形成する。そそして，線虫やショウジョウバエのアクティブゾーンの研究から，CAST/ELKS ファミリーがアクティブゾーンの構築と維持に重要な役割を果たすことが明らかとなってきた。さらには，これらに加えて，遺伝子改変マウスの解析から，CAST/ELKS がシナプス可塑性やカルシムチャネルのクラスタリングを制御していることも明らかとなってきた。その一方で，CAST/ELKS が担うアクティブゾーン超分子複合体が，どのような生理的動態を示し，また様々な精神神経疾患においていかにその機能と構造が変容していくかについては未だ明らかとなっていない。

そこで，本講演では，はじめにアクティブゾーンの構造と機能に関するこれまでの知見を概説するとともに，CAST/ELKS を介した超分子複合体の動作原理について，特に，液－液相分離の現象に基づいた私共の最近のデータを紹介したい。

（5）LGI1-ADAM22 抗てんかん蛋白質複合体の量的制御機構の解明

横井紀彦，深田優子，深田正紀（生理学研究所生体膜研究部門）

てんかんはおよそ 1 %の人が罹患する脳神経疾患で，その主な原因は脳の異常興奮にあると考えられている。

いまだ 30％近くのてんかんは難治性てんかんと言われており，新たなてんかん治療戦略の開発が求められている。神経分泌蛋白質 LGI1 とその受容体 ADAM22 の変異が家族性てんかん患者において認められ，また，LGI1 に対する自己抗体は痙攣や記憶障害を伴う辺縁系脳炎を引き起こす。我々は LGI1 と ADAM22 が複合体を形成し，シナプス足場蛋白質 PSD-95 を介して AMPA 受容体機能を制御することを見出した[1]。そして，LGI1 てんかん原因変異体の分子病態として，LGI1–ADAM22 複合体が減少することを報告してきた[2,3]。このことから，LGI1–ADAM22 複合体の量の制御機構が脳の興奮制御機構と密接に関わることが推測された。そこで，ADAM22 の翻訳後修飾に着目し，マウス脳内で ADAM22 の Ser832 が大部分リン酸化されていることを見出した[4]。そして，そのリン酸化欠損変異体（Ser832Ala）のノックインマウス脳内で，ADAM22 と LGI1 の蛋白質量が大きく減少していることを見出した。さらに分子機構として，ADAM22 の Ser832 と Ser855 が PKA によってリン酸化され，14-3-3 蛋白質と結合することで，ADAM22 のエンドサイトーシスが抑制されていることを明らかにした。つまり，このリン酸化による ADAM22–14-3-3 結合によって，LGI1–ADAM22 複合体が安定化されていることが明らかになった。次に，この複合体の減少とてんかん発症との関連を調べるため，様々な量の LGI1 と ADAM22 を発現するマウスを 7 系統作製した。そして，ADAM22 が 30%以下になると痙攣感受性が上昇すること，10%の ADAM22 と 50%の LGI1 によって致死的痙攣が抑制される一方，LGI1 が 30%まで減少すると致死的痙攣が引き起こされることを見出した。さらに，ADAM22 と LGI1 を神経細胞種特異的に欠損，又は発現させることで，LGI1–ADAM22 複合体が興奮性神経細胞と抑制性神経細胞に共に必須であることを明らかにした。以上のことから，脳内の LGI1–ADAM22 複合体を増加させることが脳の興奮安定性の増強/抗てんかん作用に繋がると考えられ，その手段として ADAM22–14-3-3 複合体の安定化を提案したいと考えている。

1) Fukata et al. *Science* 2006, 313, 1792
2) Yokoi et al. *Nat. Med.* 2015, 21, 19
3) Yamagata, Miyazaki, Yokoi et al. *Nat. Commun.* 2018, 9, 1546
4) Yokoi et al. *Cell Reports* 2021, 37, 110107

（6）神経細胞における酸性リン脂質フリッパーゼの機能

服部光治（名古屋市立大学大学院薬学研究科病態生化学分野）

神経回路網を理解するために DNA，RNA，タンパク質を網羅的に解析する研究が数多く行われ，大きな成果を上げてきている。一方，脳や神経細胞における脂質分子の機能に関してはまだ多くの未解明問題が残されている。

細胞膜（脂質二重膜）ではリン脂質は非対称的に分布しており，ホスファチジルセリン（PS）は主に細胞質側（内葉）に存在する。PS を外葉から内葉へと輸送するフリッパーゼのうち，ATP8A2 は主に脳のみに存在し，ヒトにおける ATP8A2 の欠損は小脳失調・精神遅滞および平衡障害症候群（CAMRQ）の原因である。しかし，ATP8A2 欠損が脳の発達や機能に異常を引き起こす機構は未解明である。また，ATP8A2 と相同性の高い ATP8A1 も主に脳神経系に発現し，その欠損マウスでは海馬の興奮性シナプス数の減少と学習能力低下が生じることが報告されているが，その分子的基盤も未解明である。ATP8A1 と ATP8A2 は細胞内小器官や小胞の非対称性にも関与し，タンパク質輸送にも重要な機能を果たすことが知られている。しかし，ATP8A1 や ATP8A2 の機能不全による中枢神経系の異常が，細胞外への PS 露出に起因するものなのか，または細胞内小胞輸送の異常に起因するものなのかも，明確ではない。

我々は神経細胞膜の非対称性の意義を理解するため，ゲノム編集技術を用いて ATP8A1 と ATP8A2 の欠損マウスをそれぞれ作成し，これらを交配して ATP8A1/ATP8A2 二重欠損（DKO）マウスを作成した。ATP8A2 欠損マウスと DKO マウスはともに顕著な小脳失調・運動失調を示し，生後 3 週間程度までに死亡した。しかし，死亡時において小脳の神経細胞の配置や構造に大きな異常はなく，神経変性の程度もごく軽微

であった。一方，グリア細胞であるアストロサイトとミクログリアが異常に活性化していた。この表現型は ATP8A2 欠損マウスよりも DKO マウスで顕著であった。また，ATP8A1 と ATP8A2 のそれぞれ単独欠損マウスでは大脳や海馬の神経細胞の配置や構造に大きな異常は見いだされなかったが，DKO マウスでのみ，海馬と大脳においても，アストロサイトの活性化が顕著であった。現在，これらの現象の分子的基盤および生理的・病理的意義を理解するための解析を行っている。

（7）アストロサイトによる神経回路と動物行動の修飾

長井　淳（理研 CBS グリア - 神経回路動態研究チーム）

Astrocytes tile the entire nervous system and structurally interact with synapses. We explored astrocyte signaling in the adult neural circuits, by using multiple integrated approaches, including calcium imaging, electrophysiology, opto/pharmaco-genetics, mouse behavioral tests, RNA-seq and new astrocyte manipulation tools that we recently developed. First, I will describe mechanisms of bi-directional neuron-astrocyte communications in the striatum that lead to hyperactivity and disrupted attention via a synaptogenic cue. Second, I will present how astrocytes respond to distinct perturbations and how we can use the molecular signaling information for phenotypic benefits in neurodegenerative disease mouse models, e.g. Huntington's disease. Third, I will report a validation work for a new effective, specific and consequential attenuation tool of astrocyte Gq-GPCR signaling in vivo. Together, the findings show that signaling from astrocytes to neurons is sufficient per se to alter synapses, circuits and behavior. We also provide new tools to study such astrocyte-neuron dynamics.

（8）光応答性 CaMKII を用いた海馬神経細胞単一スパインにおける Metaplasticity メカニズムの検討

植田大海 [1,2]（[1] 生理学研究所脳機能計測･支援センター多光子顕微鏡室，
[2] 総合研究大学院学生命科学研究科生理科学専攻）

シナプス長期増強（Long-Term Potentiation: LTP）を誘起する刺激強度の閾値は神経活動に伴い変化することが知られており，シナプス可塑性の可塑性（Metaplasticity）と呼ばれている。例えば，長時間活性化し続けた海馬神経細胞では，LTP 誘起閾値が上昇することで LTP が抑制されている。このメカニズムとして，樹状突起スパイン上の NMDA 受容体，特に GluN2B 含有 NMDA 受容体の数が減少することで，LTP を誘起するシグナルカスケードが阻害されると考えられている。しかしながら，NMDA 受容体より下流のシグナル分子である Ca^{2+} や CaMKII が LTP 抑制メカニズムに関わっているかは不明である。

私たちはこれを調べるために，単一スパインに LTP を誘起できる２つの異なる方法を用いた。1 つは 2 光子グルタミン酸アンケージング法である（Matsuzaki et al., 2004, Nature）。これによって，慢性的に活性化された海馬神経細胞では単一スパインへの Ca^{2+} 流入が減少しており，それに伴い structural LTP（sLTP）が抑制されていることがわかった。もう一つの LTP 誘起法として，当研究室で開発した遺伝子コード型光応答性 CaMKII を使用した（Shibata et al., 2021, Nat Commun）。これを神経細胞に遺伝子導入し，2 光子励起により CaMKII シグナリングを直接活性化することで sLTP を誘起した。すると慢性的に興奮した神経細胞では，光応答性 CaMKII 活性化による sLTP も抑制されていることが明らかとなった。この結果は，CaMKII の下流シグナルが，NMDA 受容体- Ca^{2+} シグナルとは独立して抑制されていることを示唆している。以上の結果から，LTP を誘起するシグナルカスケードの中には，LTP 誘起閾値を制御する多重の分子メカニズムが存在することが示された。

（9）神経活動依存的な細胞内競合に基づく神経回路リモデリング

今井　猛（九州大学大学院医学研究院）

神経系の発達過程において，神経細胞はしばしば過剰な接続を形成するが，そのあとでリモデリングを行うことで特異的な回路を獲得する。マウス嗅球において，僧帽細胞は生後初期には複数の樹状突起を複数の糸球体へと接続しているが，発達につれて，1 本の主樹状突起のみを強化しつつ，残りの主樹状突起を刈り込むことが知られている。しかしながら，このような選択的な樹状突起の刈り込みがどのように制御されており，どうやって 1 本の主樹状突起のみを残すのかについてはよく分かっていなかった。我々は，僧帽細胞の樹状突起リモデリングが，嗅神経細胞由来ではなく，嗅球内で生じる自発的な神経活動によって制御されていることを見出した。自発的な神経活動は，覚醒下の新生仔マウスにおいても，嗅球の急性スライスにおいても観察された。これによってグルタミン酸が NMDA 受容体を活性化させると，僧帽細胞全体で RhoA が活性化され，樹状突起の刈り込みが促進されることが判明した。一方で，NMDA 受容体からの入力は，局所的に RhoA の抑制と Rac1 の活性化を引き起こし，その結果，NMDA 受容体が活性化された樹状突起はむしろ強化されることが判明した。従って，自発神経活動によって細胞内で Rho GTPase による側方抑制が生じ，その結果として単一の主樹状突起のみが形成されるものと考えられる。

（10）情動による知覚記憶固定化の促進は NREM 睡眠中の扁桃体－皮質回路が担う

村山正宜（理化学研究所脳神経科学研究センター）

ある体験による情動の高まりは，その時に得た知覚情報を記憶としてより強く定着させる。これまで，情動による記憶の固定化促進には扁桃体外側基底核（Basolateral Amygdala; BLA）の関与が示されてきたが，BLA がいつ・どのように他の脳領域と相互作用し，記憶を促進させるのかは不明であった。本研究では，新たに知覚情報－情動情報連合学習課題を構築し，覚醒や REM/NREM 睡眠状態における BLA－皮質回路の操作に加え，BLA 及び皮質の複数領域から電気生理学的記録をおこなった。新規の連合学習課題では，雄マウスへの知覚と情動情報として，それぞれツルツルの床面と雌マウスを提示した。床面と雌マウスを連合学習したマウスでは，床面のみを学習したマウスに比べて床面記憶の保持期間が延長した。次に，この記憶促進に BLA とどの皮質領域が関連するのかを調べた。我々の先行研究では，床面記憶の固定化は第二運動野(M2)から第一体性感覚野（S1）へのトップダウン入力が担うことを報告している（Miyamoto et al., Science 2016）。そこで BLA が両皮質へ投射しているかどうかを解剖学的に調べた結果，BLA は M2 へは密に投射しているが，S1 には投射しないことを見出した。各睡眠時に BLA 及び M2，S1 の神経活動を同時記録した結果，情動体験は学習後の NREM 睡眠時に扁桃体と皮質活動の同期性を優位に上昇させることが明らかとなった。最後に，各睡眠時に扁桃体から M2 への投射を光遺伝学的に抑制した。その結果，NREM 睡眠時の抑制においてのみ知覚記憶の促進が阻害された。これらの結果は，NREM 睡眠時の扁桃体－皮質間の同期性の増強が，情動による知覚記憶の固定化促進に寄与することを示唆する。

（11）海馬・線条体・眼窩前頭皮質における同期的な時間表現

藤澤茂義（理化学研究所脳神経科学研究センター）

ヒトを含む多くの動物種は，さまざまな時間スケールの情報を認識することができ，またその時間情報を使って行動を制御している。例えば，時計がなくても，私たちは経過時間を知覚することができる。しかし，視覚や聴覚などの他の感覚とは異なり，時間を知覚するために特化した感覚器は存在しない。そのため，時間を知覚するためにはもっぱら脳内の神経活動による情報処理が必要であるが，その脳内のメカニズムは未だ明らかになっていない。

近年，経験した出来事についての記憶である「エピソード記憶」を担う脳部位である海馬において，数秒の時間に応答して発火する「時間細胞」という細胞群が発見された。一方で，線条体や眼窩前頭皮質などの脳領域においても，海馬の時間細胞と同様に，経過時間に応答して発火する活動が報告されている。このことから，時間情報は複数の脳領域にまたがって情報処理されていると推測することができるが，これらの領域の間でどのような相互作用が存在するかはいまだ解明されていなかった。今回，海馬・線条体・眼窩前頭皮質での時間表現に注目し，時間計測を必要とする行動課題を行っているラットの海馬・線条体・眼窩前頭皮質から，ニューロンの発火活動を細胞外電気生理記録により同時に観測することにより，計時におけるこれらの領域の時間表現と領域間の同期活動についての研究を行った。その結果，まず，海馬・線条体・眼窩前頭皮質のそれぞれ領域に，経過時間に応答して活動する神経細胞群を観察した。また，これらの領域の時間表現をデコード解析することにより，これらの領域の神経細胞の活動はラットの時間知覚に基づいた意思決定を反映していることを明かにした。さらに，これらの領域はシータ波（5-11Hz）での活動電位の同期が存在し，また領域間の神経細胞どうしに精密な時間スケールでの同期活動が存在することが観測された。これらの研究結果を通じて，複数の脳領域にまたがる時間認知のメカニズムについて考察していく。

（12）組織透明化・3D イメージング技術による 3 次元神経病理学

田井中一貴（新潟大学脳研究所システム脳病態学分野）

中枢疾患患者の死後脳の神経病理学的知見は，疾患の原因因子を明らかにすると共に治療薬の標的分子を同定するための基盤的情報源である。これまで，既存の薄切標本に基づく病理学的解析により，多くの中枢疾患の病理像が蓄積されてきた。しかしながら，近年特に注目されている脳小血管病などの血管および周囲の関連因子の立体的分布が疾患に関与する症例においては，薄切標本のみでは特徴的な病理像を把握するのが困難である。近年，生体組織を高度に透明化する技術と光学的断層撮影技術の発展により，高速かつ高解像度の 3 次元イメージング手法が確立されてきた。我々は，これまでに水溶性の透明化試薬による高度な哺乳類組織透明化技術 CUBIC (*C*lear, *U*nobstructed *B*rain/*B*ody *I*maging *C*ocktails and *C*omputational analysis) を開発した(*Cell*, 2014a; *Cell*, 2014b; *Cell Rep*, 2018 他)。

透明化技術をヒト脳組織に展開するためには，ヒト脳組織を高度に透明化する手法と共に透明化条件に適用可能な特異的染色技術の確立が求められる。しかしながら，これまでに開発した透明化プロトコールでは，線維構造や脂質成分，血液由来が強度な自家蛍光を示すため，特異的染色を確認することが困難である。そこで，多様な構成物に由来する自家蛍光を一網打尽にする汎用性の高い褪色効果を兼ね備えた透明化手法の開発に取り組んだ。従来の脱脂試薬に還元剤や酸化剤等を組み合わせることで，組織の自家蛍光をおよそ 10 分の 1 に軽減させる複数の新規褪色透明化プロトコールを確立した。これによりマルチカラー蛍光イメージングの基盤が整った。

次に，可視光領域に蛍光発光を示す基本的な色素骨格を網羅したおよそ 200 種類の既存の水溶性蛍光プローブライブラリを用いて，一連の褪色透明化プロトコールに適用可能な特異的染色プローブのスクリーニングを行った。その結果，ニッスル染色・微小血管・老人斑・ミエリンなど多様な一般 3D 染色手法の開発に成功した。また，褪色透明化プロトコールは，病理診断において使用される様々な抗体を用いたホールマウント免疫染色手法にも適用可能であり，一般染色手法と組み合わせたマルチカラーイメージングが可能になった。本手法を用いて 3D イメージングに基づく次世代神経病理学の創成を目指す。

（13）岡崎におけるクライオ電子顕微鏡施設の紹介

村田和義（自然科学研究機構生命創成探究センター･生理学研究所）

近年，構造生物学におけるクライオ電子顕微鏡解析への期待が急速に高まっている。自然科学研究機構（自然機構）生理学研究所（生理研）では，1998 年からいち早くクライオ電子顕微鏡（クライオ電顕）の整備を進め，位相差電子顕微鏡など，クライオ電顕構造解析を実現するための革新的周辺技術を生み出して来きた。ところが，2013 年に“Resolution Revolution”と呼ばれるクライオ電顕解析における高分解能化が一挙に進み，現在では，数千枚のタンパク質試料の画像を撮影して，そこから数十から数百万のタンパク質粒子画像を抽出して立体再構成を行なうことがトレンドとなった。これには，従来の装置におけるマニュアル操作でのデータ収集では間に合わず，完全自動化された電子顕微鏡が必要不可欠となり，それに対応した電子顕微鏡装置が世界中に急速に普及した。国内でも東大や阪大，OIST などにこれらの設備が導入された。

そのような中，生理研ではこれまでの技術を生かして，より高分解能解析に適した凍結グリッドの作製（スクリーニング）を行ない，これに適応する凍結グリッドを，AMED BINDS などの支援事業を通して東大や阪大などに送り，そこの最新のクライオ電顕設備でデータ収集してもらうことを行ってきた。そして，同時に自然機構においても自動化された最新鋭のクライオ電顕の整備要求を粛々と続けてきた。そして，今年度，昨今の研究情勢を鑑み，独自で岡崎（生命創成探究センター）にクライオ電顕の整備を行なうこととなった。

本設備は，300 kV のハイエンドのクライオ電顕（TITAN Krios G4, TermoFisher Scientific）と Cryo-FIB SEM （Aquilos2, TermoFisher Scientific）からなる。TITAN Krios G4 は，国内で初めてとなる Cold-FEG 電子銃，およびエネルギーフィルターSelectris を装備し，Selectris を挟む２台の電子直接検出カメラ Falcon4 が搭載されている。Aquilos2 は，蛍光顕微鏡（iFLM）を搭載し，凍結した細胞や組織から特定の領域を切り出すことが可能で，これにより *In Situ* でのタンパク質の構造解析を狙う。本講演では，これらの設備の詳細，利用形態，解析例などを，私どもが独自に行っている構造解析研究を含めて紹介する。

4. 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

2021 年 9 月 9 日－9 月 10 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）TMEM16F が担う原形質膜のリン脂質/イオン輸送における subunit cavity の役割

清水貴浩（富山大学）

（2）Biogenesis and function of heterodimeric amino acid transporter rBAT-$b^{0,+}$AT

Pattama Wiriyasermkul（東京慈恵会医科大学）

（3）嗜好品の成分による抗アレルギー作用についての生理学的検討

風間逸郎（宮城大学）

（4）ヒト鼻粘膜，気管支初代培養細胞におけるアンギオテンシン変換酵素 ACE2 の発現についての研究

安岡加紗音（立命館大学）

（5）3 細胞結合における細胞間隙バリアの形成機構

古瀬幹夫（生理学研究所）

（6）肺腺癌スフェロイド細胞のグルコース代謝と抗癌剤感受性に対するクローディン-2 発現の影響

五十里　彰（岐阜薬科大学）

（7）細胞内 Na^+,K^+-ATPase の動態変化が関与する剥離がん細胞の細胞死回避メカニズム

藤井拓人（富山大学）

（8）正常上皮細胞と変異細胞間に生じる細胞競合

藤田恭之（京都大学）

（9）気道線毛の形態形成および運動調節における Ezrin の役割の検討

川口高徳（立命館大学）

（10）抗がん剤 irinotecan 投与によって生じる嗜好性塩味応答の変化

大林奈美（広島大学）

（11）塩味の細胞と分子のメカニズム

樽野陽幸（京都府立医科大学）

（12）ラットにおける侵害刺激による大腸運動調節機構の雌雄差

堀井和広（岐阜大学）

（13）Bicarbonate transport by airway surface epithelia in luminally-perfused mice bronchioles

Libin Liu（名古屋大学）

（14）日本人型嚢胞線維症 H1085R-および L441P-CFTR 変異体に対する白人型病因性 CFTR 変異体発現促進薬の効果

相馬義郎（国際医療福祉大学）

（15）CFTR 形質膜品質管理における RING 型 E3 Ligase CARP1 の機能解析

谷口正伍（関西学院大学）

（16）新規尿酸トランスポーターGLUT12/SLC2A12 の生理機能解析

高田龍平（東京大学）

（17）A novel role of PRL in regulating epithelial cell density by inducing apoptosis at confluence

Sweksha Lohani（大阪大学）

（18）マンガンに依存した ZIP8 の細胞表面発現増加は多面発現 SNP（rs13107325）により阻害される

長松詩野（京都大学）

（19）膜タンパク質の立体構造を基盤とする腸管モデル細胞を用いた鉄イオン吸収メカニズムの解析

澤井仁美（兵庫県立大学）

【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），尾沼才綺（岐阜薬科大学），廣田智恵子（岐阜薬科大学），周　暁鵠（岐阜薬科大学），任　書晃（岐阜大学），堀井和広（岐阜大学），船戸洋佑（大阪大学），Lohani Sweksha（大阪大学），藤田恭之（京都大学），神戸大朋（京都大学），長松詩野（京都大学），樽野陽幸（京都府立医科大学），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），中園絢女（静岡県立大学），鈴木由華（静岡県立大学），Hempstock Wendy（静岡県立大学），長田望実（静岡県立大学），木村　徹（杏林大学），中張隆司（立命館大学），浅野真司（立命館大学），川口高徳（立命館大学），安岡加紗音（立命館大学），Wang Hao-Ting（立命館大学），平尾拓也（立命館大学），一二三晴也（立命館大学），Kim Baekgyu（立命館大学），神矢莉那（立命館大学），廣澤孝駿（立命館大学），石黒　洋（名古屋大学），Liu Libin（名古屋大学），杉田　誠（広島大学），大林奈美（広島大学），酒井秀紀（富山大学），清水貴浩（富山大学），藤井拓人（富山大学），加藤瑞希（富山大学），竹内唯登（富山大学），影山哲平（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），福田亮介（関西学院大学），谷口正伍（関西学院大学），日向大智（関西学院大学），中山弘章（関西学院大学），澤井仁美（兵庫県立大学），安西尚彦（千葉大学），橋本弘史（千葉大学），平山友里（千葉大学），石羽根美咲（千葉大学），齊藤将太（千葉大学），高田龍平（東京大学），永森收志（東京慈恵会医科大学），Wiriyasermkul Pattama（東京慈恵会医科大学），風間逸郎（宮城大学），河原克雅（仙台白百合女子大学），玉田　勉（東北大学），近藤江里（佐藤製薬㈱），古瀬幹夫（生理学研究所），加納雄一朗（生理学研究所），泉　裕士（生理学研究所），大谷哲久（生理学研究所），藤原佐知子（生理学研究所），平澤輝一（生理学研究所），古瀬京子（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。細胞膜に発現するイオン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トラフィッキング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イオン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，アミノ酸，糖質等の上皮膜輸送研究に携わる研究者が，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，学生からシニアまで幅広い年齢層の研究者が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。今年度も COVID-19 の影響で WEB 開催であったにもかかわらず，医学，薬学，工学，栄養学等の多分野の研究者が参加し，2 日間にわたり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，意見交換会では，実験方法にまで踏み込んだ深い議論がなされ，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）TMEM16F が担う原形質膜のリン脂質/イオン輸送における subunit cavity の役割

清水貴浩，白井佳暖，藤井拓人，酒井秀紀（富山大学 学術研究部 薬学･和漢系 薬物生理学）

血液凝固障害を生じるスコット症候群の原因遺伝子である transmembarne protein 16F (TMEM16F) は，細胞内遊離 Ca^{2+} 濃度上昇により細胞膜のリン脂質を双方向に輸送するスクランブラーゼとして機能することが明らかとなっている。興味深いことに，我々は，TMEM16F が，スクランブラーゼ機能だけでなく，イオンチャネル機能も有することを見出している。本研究では，これらの機能に直接的に関与する部位を明らかにするため，ヒト TMEM16F の親水性ポアと考えられる subunit cavity における変異体を作製した。各変異体は，ヒト胎児腎臓 HEK293T細胞に強制発現させ，リン脂質輸送能とイオン輸送能（膜電流）をフローサイトメトリー解析およびパッチクランプホールセル記録法により観測した。その結果，subunit cavity 領域の膜表面に位置するアミノ酸変異体（E528G，K529C，E603A）および膜中央部のアミノ酸変異体（Y562W）がリン脂質輸送を減少させるとともに，膜電流も低下させた。これらの結果から，TMEM16F におけるリン脂質とイオンの輸送は，親水性の高い subunit cavity を介して生じることが示唆された。

（2）Biogenesis and function of heterodimeric amino acid transporter rBAT-$b^{0,+}$AT

Pattama Wiriyasermkul [1], Yongchan Lee [2], Werner Kühlbrandt [2], Shushi Nagamori [1]
([1] Department of Laboratory Medicine, The Jikei University School of Medicine,
[2] Department of Structural Biology, Max Planck Institute of Biophysics, Germany)

Heterodimeric amino acid transporters (HATs) comprise two subunits, the functional transporter “light chain” and the regulatory protein “heavy chain”. rBAT-$b^{0,+}$AT complex, a member of HATs, transports cystine and cationic amino acids. Mutations in either rBAT (heavy chain) or $b^{0,+}$AT (light chain) lead to cystinuria (renal cystine stones). Since rBAT and $b^{0,+}$AT were cloned in the late ’90s, more than 100 pathological mutations have been identified, but many of them still have mysterious pathological mechanisms behind them. By combining biochemical analysis and cryo-EM structures, we solved the structure of rBAT-$b^{0,+}$AT and examined their biogenesis. We discovered Ca^{2+}-binding sites on rBAT and found the Ca^{2+} mediating super-dimerization, which was a key for the plasma membrane localization. Several amino acid residues were found to be necessary for the complex formation, protein maturation and trafficking. Accordingly, we clarified the mechanism of cystinuria with mutations in residues involved in the biogenesis of rBAT-$b^{0,+}$AT. Moreover, our functional study unveiled the key residues for substrate recognition. Exchange such residues within the HAT family switches their substrate binding properties, leading to the revolutionary prospect of HAT members. Our results provide an understanding of the HAT biogenesis and serve as a guide to develop a new therapeutic approach.

（3）嗜好品の成分による抗アレルギー作用についての生理学的検討

風間逸郎（宮城大学 看護学群）

コーヒーや緑茶に含まれるカフェインやカテキンは，アレルギー性鼻炎や気管支喘息患者の症状を緩和し，抗アレルギー作用を発揮することが経験的に知られている。ラットの腹膜より単離した肥満細胞に対し，カフェイン（1～100 mM）やカテキン（1～25 mM）を単独投与，または併用投与したうえでエクソサイトーシ

スを誘発し，顕微鏡下で脱顆粒現象を観察した。その結果，カフェインやカテキンともに，比較的低濃度（1～10 mM）では肥満細胞からの脱顆粒現象を十分には抑制しなかった。しかし，いずれも，25 mM以上の高濃度では脱顆粒現象を大きく抑制し，用量依存性の抑制効果を発揮した。そこで，単独では十分な抑制効果がみられなかった 10 mM カフェインに，比較的低濃度のカテキンを併用投与したところ，カフェインによる脱顆粒抑制効果を大きく増強した。とくにカテキン 1 および 2.5 mM では，相加効果以上に相乗効果を発揮した。文献上，カフェインやカテキンはアレルギー疾患の症状を緩和することが知られるが，本研究の結果より，これらはいずれも，肥満細胞からの脱顆粒現象，つまりエクソサイトーシスの過程そのものを直接的に抑えることによって，抗アレルギー作用を発揮すると考えられた。とくにカフェインは脂溶性が高いため，肥満細胞膜の脂質二重層の間に入り込み，膜の曲率を変化させることで直接的に，またはイオンチャネルや受容体を介して間接的に，エクソサイトーシスの過程を阻害するメカニズムも考えられた。さらに本研究の結果，カフェインとカテキンを併用投与することよって，相乗的な抗アレルギー効果が得られた。カフェインやカテキンは適量であれば，コーヒーや緑茶など，日々の嗜好品の中から簡単に摂取することが可能である。本研究の結果より，カフェインやカテキンを単独でなく，同時に摂取した方が，より強力な抗アレルギー効果が見込めると考えられた。

（4）ヒト鼻粘膜，気管支初代培養細胞におけるアンギオテンシン変換酵素 ACE2 の発現についての研究

安岡加紗音[1]，松田京子[1]，川口高徳[1]，安田　誠[2]，中張隆司[3]，丸中良典[3,4]，浅野真司[1]
（[1]立命館大薬，[2]京都府立医大・耳鼻咽喉科，[3]立命館大総研，[4]京都工場保健会）

【目的】COVID-19 の原因ウイルスである SARS-CoV-2 は，そのスパイクタンパク質がヒトの Angiotensin converting enzyme 2（ACE2）と結合し，ヒトのタンパク質分解酵素の TMPRSS2 によって切断され細胞内に侵入する。本研究は，ヒト気道上皮細胞（NHBE）やヒト鼻粘膜由来の初代培養細胞（cHNECs）を用いて，気液界面培養 (ALI) による線毛細胞への分化に伴う ACE2 や TMPRSS2 の発現変化を確認した。

【方法】細胞を単層になるまで Transwell 上で極性培養し，apical 側の培地を取り除き空気に触れさせる ALI 法で分化させ，アセチルチューブリン抗体を用いた蛍光抗体法で線毛を確認した。ウエスタンブロット法を用いて，ACE2, TMPRSS2 などの発現を確認した。

【結果と考察】ALI で NHBE 及び cHNECs を分化させると，7 日目までに線毛が見られ，28 日目にかけて増加した。ACE2 の発現は ALI 前では低く，ALI 7 日目までに著しい増加が見られ，その後高いレベルで一定になり，さらにプロセッシングを受けることが観察された。TMPRSS2 は ALI 前から発現が見られ，経時的に大きな変化は見られなかった。このことから NHBE 及び cHNECs 細胞において，分化に伴い誘導された ACE2 と TMPRSS2 の共発現を確認した。線毛細胞から線毛を単離し ACE2 や TMPRSS2 の発現を検討した結果も報告する。

（5）3 細胞結合における細胞間隙バリアの形成機構

古瀬幹夫（生理学研究所 細胞構造研究部門 / 総合研究大学 生命科学 生理科学）

上皮が体内の各区画の液性環境を仕切るバリアとしてはたらくためには，上皮細胞同士の隙間における物質の漏れを制限する必要があり，膜タンパク質クローディンファミリーが隣接する細胞を密着させる細胞間結合タイトジャンクション（以下 TJ）が重要な役割を果たすことが知られている。一方，上皮の細胞間隙には，2 つの上皮細胞に挟まれた領域に加えて，3 つの上皮細胞の角が点状に集まる 3 細胞結合が多数存在してお

り，上皮が十分なバリア機能を発揮するためには 3 細胞結合の隙間もシールする必要がある。3 細胞結合では，その中心に延びた 3 つの TJ が会合し，基底膜側に折れ曲がって並走することにより細胞間隙を極限まで狭めて物質の透過を妨げていると考えられており，この構造は特にトリセルラーTJ（以下 tTJ）とよばれている。これまでの研究から，tTJ に特異的に集積する分子として膜タンパク質トリセルリンとアンギュリンファミリー（アンギュリン 1/LSR, アンギュリン 2/ILDR1, アンギュリン 3/ILDR2）が知られているが，tTJ の形成機構は明らかにされていなかった。この問題にアプローチするために，我々は，イヌ腎臓由来上皮細胞株 MDCKII を用いて，ゲノム編集により tTJ あるいは TJ 構成分子を様々に欠失させた細胞株を樹立して，電子顕微鏡観察と上皮透過性の評価を進めてきた。その結果，アンギュリンが 3 細胞結合の閉鎖に中心的な役割を果たしていることが明らかになったので報告する。

（6）肺腺癌スフェロイド細胞のグルコース代謝と抗癌剤感受性に対するクローディン-2 発現の影響

伊藤綾夏 [1]，奈迫遥華 [1]，秋月梨佐 [1]，高階優衣 [1]，江口博晶 [1]，松永俊之 [2]，吉野雄太 [1]，
遠藤智史 [1]，五十里　彰 [1]（[1] 岐阜薬科大学 生化学研究室，[2] 岐阜薬科大学 EGPS）

これまでに我々は肺腺癌細胞に細胞間接着分子のクローディン-2（CLDN2）が高発現し，抗癌剤抵抗性の獲得に寄与することを報告したが，その機序は大部分が不明である。ヒト肺腺がん由来 A549 細胞の三次元培養モデル（スフェロイド）において，CLDN2 は外層に分布した。CLDN2 発現のノックダウンにより，酸化ストレス応答転写因子である Nrf2 およびグルコース輸送体・代謝酵素の発現量が低下した。CLDN2 とグルコース輸送・代謝の関連が示唆されたため，二次元培養モデルにおいて，低グルコース培地またはグルコース輸送体阻害剤であるファセンチンの効果を検討した。低グルコース培地への曝露またはファセンチン処理により，グルコース輸送体・代謝酵素の発現量が増加した。トランスウェルアッセイにおいて，CLDN2 発現のノックダウンによりグルコース透過性が亢進したため，CLDN2 はグルコースに対するバリアを形成することが示唆された。さらに，グルコース欠乏により活性酸素種（ROS）の産生が亢進し，ミトコンドリア膜電位が低下したため，ミトコンドリアの機能障害が関与することが示唆された。スフェロイド細胞の抗癌剤感受性が CLDN2 ノックダウンによって亢進し，この効果はファセンチンや Nrf2 活性化剤のスルフォラファンの共処理によって阻害された。以上の結果から，CLDN2 はグルコース輸送の低下，ミトコンドリア ROS 産生の亢進，Nrf2 シグナルの活性化を介して，肺腺癌細胞の抗癌剤抵抗性の獲得に寄与することが示唆された。

（7）細胞内 Na^+,K^+-ATPase の動態変化が関与する剥離がん細胞の細胞死回避メカニズム

藤井拓人 [1]，清水貴浩 [1]，加藤瑞希 [1]，永森収志 [2]，小泉桂一 [3]，奥村知之 [4]，藤井　努 [4]，竹島　浩 [5]，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･未病創薬，
[4] 富山大･医･消化器･腫瘍･総合外科，[5] 京都大･薬･生体分子認識学）

がん細胞は，基質から剥離しても細胞死（アノイキス）が引き起こされず，原発巣から他組織に転移する。しかし，がん細胞の剥離により誘導される分子機構の全容は明らかになっていない。我々は，通常，神経細胞の原形質膜に発現する Na^+,K^+-ATPase α3-isoform (α3NaK) が，胃がんや大腸がんなど様々ながん種において高頻度で異常発現することを見出した。興味深いことに，原発がん組織では α3NaK は原形質膜ではなく細胞質内に局在していたが，がん患者より採取した腹水に存在する腹膜転移がん細胞では α3NaK が原形質膜にも存在していた。ヒトがん細胞株を用いた解析により，α3NaK はディッシュ接着時には，細胞内の Rab10 発現小胞に局在

するが，EDTA やトリプシンで剥離させることで原形質膜へと移行し，原形質膜における Na^+,K^+-ATPase の酵素活性が上昇することが明らかとなった。この α3NaK の原形質膜移行には FAK/NAADP/Ca^{2+}シグナル経路の関与が示唆された。また，がん細胞の剥離により誘導されるアポトーシスは，α3NaK をノックダウンすることで亢進し，過剰発現させることで抑制した。α3NaK を過剰発現させたがん細胞を移植したマウスでは，がんの成長および肺転移が有意に促進した。以上より，剥離刺激に伴う α3NaK の原形質膜移行は，アノイキスに対する耐性を引き起こし，がん細胞の転移促進に関与することが示唆された。

（8）正常上皮細胞と変異細胞間に生じる細胞競合

藤田恭之（京都大学 医学研究科 分子腫瘍学）

現在のがん治療研究の潮流は，がん細胞と正常細胞の細胞内シグナルの違いを明らかにし，その差異をターゲットにしてがん細胞を特異的に攻撃するというものである。しかし，それらの研究で，がんは正常な細胞から起こり，正常な細胞に囲まれながら増えていくという「がんの社会性」についてはあまり顧みられることはなかった。がん細胞と周りの正常細胞はお互いの存在を認識できるのだろうか？また，両者は何か作用を及ぼし合うのだろうか？私の研究室では，新たに確立した哺乳類培養細胞系やマウスモデルを用い，正常上皮細胞と様々なタイプの変異細胞との境界で起こる現象を解析してきた。その結果，がん遺伝子 *Src* 変異細胞や *Ras* 変異細胞が正常細胞に囲まれると，変異細胞内の様々なシグナル伝達が活性化され，正常上皮細胞層からはじき出されるように管腔側（体内への浸潤とは逆方向）へと排出されることが明らかになった。これらの現象は変異細胞のみが存在した時には見られないことから，周囲の正常細胞の存在が，変異細胞のシグナル伝達や性状に大きな影響を与えうることを示している。このように正常細胞と変異細胞が互いに生存を争う現象は細胞競合と呼ばれている。

本研究会では，哺乳類における細胞競合現象について最新の知見を紹介し，細胞競合がどのように上皮組織の恒常性維持やがん化に関わっているかを論説する。

（9）気道線毛の形態形成および運動調節における Ezrin の役割の検討

川口高徳[1]，齋藤大地[1]，安岡加紗音[1]，中張隆司[2]，浅野真司[1]
（[1]立命館大学 薬学部，[2]立命館大学 総合科学技術研究機構）

気道上皮では，多線毛細胞において運動線毛の作り出す液層の流れが感染防御の維持に重要である。Ezrin は apical 膜で局在する細胞骨格関連タンパク質であり，気道上皮で，線毛形成で必須となる apical 領域でのアクチン細胞骨格の集積や，線毛運動活性化に関わる β_2 アドレナリン受容体（β_2AR）の局在に重要な役割を担う可能性がある。本研究では，Ezrin の発現を 5%以下に抑制した Ezrin ノックダウンマウス（$Vil2^{kd/kd}$マウス）を用いて，気道線毛の形態や β_2AR 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，β_2AR 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，野生型マウスと比べ $Vil2^{kd/kd}$ マウスの肺多線毛細胞では，プロカテロールによる線毛運動の CBF と 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・$Vil2^{kd/kd}$ 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 β_2AR 刺激時の 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ことが示唆された。

（10）抗がん剤 irinotecan 投与によって生じる嗜好性塩味応答の変化

大林奈美[1,2]，酒寄信幸[1]，内藤真理子[3]，河口浩之[2]，杉田　誠[1]
（[1]広島大学 大学院医系科学研究科 口腔生理学研究室，[2]広島大学病院 口腔総合診療科
[3]広島大学大学院 医系科学研究科 口腔保健疫学研究室）

がん化学療法によって生じる有害事象のうち味覚異常は発症頻度が高く，食欲不振，低栄養，創傷治癒遅延や QOL 低下につながる深刻な症状である。しかしながら，その味質特異性や発症機序には未解明な点も多く，有効な治療・改善方法は確立されていない。本研究では，細胞傷害性抗がん剤である irinotecan に注目し，irinotecan が味覚システムに与える影響についてマウスを用いた行動学的・組織学的実験により探求した。二瓶選択法による味溶液飲水行動の調査において，irinotecan 投与群では PBS を投与した対照群よりも，薬剤投与後の低濃度嗜好性塩味溶液の飲水量が有意に減少した。この差は amiloride による味細胞膜上での ENaC 阻害により消失した。マウス舌上皮の茸状乳頭を免疫組織化学的に解析すると，irinotecan 投与後 2 日目，24 日目では投与前と比較して，味蕾を構成する細胞数および細胞増殖マーカーKi67 陽性細胞の割合に変化はなかった。味蕾の味孔での α-ENaC 発現を調べると，二瓶選択法の結果と時間的齟齬はみられるものの，irinotecan 投与後 24 日目では投与前と比較して α-ENaC の発現レベルが有意に低下した。一方，甘味溶液を用いた二瓶選択法では irinotecan 投与群と対照群に有意な差はなかった。Irinotecan は低濃度嗜好性塩味溶液の飲水量を減少させ，この変化には α-ENaC の機能変化が関与している可能性が示された。また，irinotecan に対する感受性には味質特異性があることが示唆された。

（11）塩味の細胞と分子のメカニズム

樽野陽幸（京都府立医科大学 大学院医学研究科 細胞生理学）

ナトリウムイオン（Na^+）は代替できない必須のミネラルの一つであり，舌ではおいしく感じられる。飽食の現代，塩のおいしさに起因する過剰摂取が多くの高血圧患者を生み出している。そのため，減塩によって国民の健康を守ることが公衆衛生上の喫緊の課題となっている。しかし，塩味の受容機構が充分に理解されていないため，既存の経験的な減塩戦略では充分な効果が得られていない。このように，塩味を感じるメカニズムを解明することが社会的に求められてきた。本研究では，舌で塩味を感じる細胞の同定に成功し，さらにこれらの細胞が塩味の情報を変換して脳へと伝えるしくみを分子レベルで解明した。今回，マウスを用いた実験で，数ある味蕾細胞のうち，ENaC と CALHM1/3 とよばれる分子を同時に発現するという特徴を持った細胞のグループが塩味の受容を担当する細胞，すなわち塩味細胞であることを突き止めた。さらに，塩味細胞が塩に応答して活性化する仕組みを以下のように解明した。まず ENaC を介して細胞内に Na^+が流入して細胞膜が脱分極すると，活動電位が発生する。この活動電位に応答して活性化した CALHM1/3 チャネルが神経伝達物質 ATP を放出し，求心性味神経を活性化させることで塩味が生じる。実際に，塩味細胞の微細構造を観察すると，塩味細胞の味神経と接している部分に CALHM チャネルが集積していることも明らかにした。

（12）ラットにおける侵害刺激による大腸運動調節機構の雌雄差

堀井和広[1,2]，椎名貴彦[1]，志水泰武[1]
（[1]岐阜大学大学院 連合獣医学研究科 獣医生理学研究室，[2]岐阜大学大学院 医学系研究科 生理学分野）

私たちはこれまで，大腸内の侵害刺激によって下行性疼痛抑制経路が活性化され大腸運動を促進することを明らかにしてきた。下行性疼痛抑制経路は脳から脊髄へ投射しモノアミンなどを放出して末梢からの侵害情報の過剰な伝達を防ぐ経路である。興味深いことにこの経路には様々な雌雄差が報告されている。本研究ではこの経路を介した大腸運動の調節機構における雌雄差を検討した。

侵害刺激としてカプサイシンを大腸内腔に投与すると，雄ラットでは大腸運動が促進されるのに対し，雌ラットでは応答が全くみられなかった。カプサイシンを受容する TRPV1 チャネルの発現について雌雄差を検討したものの，大腸や背根神経節での発現量に雌雄差はみられなかった。下行性疼痛抑制経路の伝達物質としてモノアミンだけでなく GABA が知られている。そこで GABA の関与を検討した結果，GABA 受容体阻害薬を脊髄に投与しておくと雌でも侵害刺激により応答がみられた。一方，雄では GABA 受容体阻害薬を前投与しても応答に変化はみられなかった。よって雌特異的な GABA 神経の活性化が雌雄差の原因であると考えられる。モノアミンも GABA も疼痛調節においては抑制性に働くのに対し，大腸運動の調節に関してはモノアミンが促進性，GABAは抑制性に作用すると考えられる。雌特異的な GABA 経路の活性化が，女性は便秘になりやすいといった排便異常の性差に関与する可能性がある。

（13）Bicarbonate transport by 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], Erina Niwa[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. In the present study, bronchioles (150-180 μm diameter) were dissected from the lungs of C57BL/6J mice and the lumen was microperfused using concentric holding and perfusion pipettes. Epithelial cells were loaded with BCECF-AM from the lumen and changes in intracellular pH (pH_i) were measured by microfluorometry at 37 °C.

When the bath and lumen were first perfused with HCO_3^--buffered solution (25 mM HCO_3^-/5% CO_2) and the luminal perfusate was switched to HCO_3^--CO_2 free Hepes-buffered solution, pHi transiently increased due to CO_2 diffusion out of the cell and then gradually decreased due to HCO_3^- secretion. Stimulation with forskolin (5 μM) accelerated the rate of pH_i decline. The presence of $CFTR_{inh}$-172 (5 μM), H_2DIDS (200 μM), and amiloride (1 μM) in the lumen significantly inhibited forskolin-accelerated pH_i decline, respectively. When both the bath and lumen were perfused with the HCO_3^--free solution, removal of luminal Cl^- caused a small intracellular acidification. In contrast, when perfused with the HCO_3^--buffered solution, removal of luminal Cl^- caused reversible elevation of pH_i, which was largely inhibited by luminal application of H_2DIDS (200 μM). Luminal application of 1 μM amiloride to inhibit ENaC caused elevation of pH_i, which was dependent on the presence of HCO_3^-.

In contrast, luminal application of 100 μM amiloride to inhibit Na^+-H^+ exchange caused intracellular acidification both in the presence and absence of HCO_3^-.

In summary, CFTR, Cl^-/HCO_3^- exchanger, Na^+/H^+ exchanger, and ENaC are involved in H^+/HCO_3^- transport

across the apical membrane of airway surface epithelia in mice distal airway.

（14）日本人型嚢胞線維症 H1085R-および L441P-CFTR 変異体に対する白人型病因性 CFTR 変異体発現促進薬の効果

清水正浩，大川詩織，松澤由佳，金子すずな，深田侑希，直井佑太，成田和希，石塚柊太，
小川亜美，小川未裕，大塚悠花，黒澤歩実，君島莉央，相馬光流，中尾香菜子，相馬義郎
（国際医療福祉大学 薬学部 分子病態治療学分野/基礎医学研究センター）

嚢胞線維症 Cystic Fibrosis (CF)は，白人種における代表的な遺伝性疾患のひとつである。日本人を含む他人種においては，CF 患者の数は少ないが，白人種とは異なるタイプの CFTR 変異がみられる。

日本で同定された 21 種類の病因性 CFTR 変異のうち，最も高頻度に見られる Δ(G970-T1122)変異 (Wakabayashi-Nakao et al. JPS 2018) に加え，2 番および 3 番目に多い L441P 変異と H1085R 変異は，蛋白は合成されるが，ゴルジ体での糖鎖修飾等の成熟過程が正常に行われず，細胞膜上での発現が阻害されている class Ⅱ変異であることが明らかになった。

最近，欧米で最も多くみられる ΔF508 変異(class Ⅱ)の細胞膜上での発現を促進する治療薬 corrector として，lumacaftor，tezacaftor および elexacaftor の 3 種類の薬が開発された。これらの corrector は，欧米の CF 患者に，開口促進薬 potentiator である ivacaftor も含めて組み合わせ投与され，治療効果が確認されてきている。

今回，我々はこれらの白人型 corrector の日本人型 L441P-CFTR 変異体および H1085R-CFTR 変異体への効果について調べ，ある程度の発現促進効果があることを確認した。

（15）CFTR 形質膜品質管理における RING 型 E3 Ligase CARP1 の機能解析

谷口正伍，酒井了平，丸尾明日香，桐谷響暉，福田亮介，沖米田司
（関西学院大学 生命環境学部 生命医科学科）

嚢胞性線維症（Cystic Fibrosis, CF）は慢性閉塞性肺疾患を主徴とする致死性の劣性遺伝子性疾患で，形質膜で塩素イオンチャネルとして機能する膜タンパク質 CFTR の遺伝子変異により発症する。CF 患者で最も頻度の高い CFTR 変異体 ΔF508-CFTR は構造異常タンパク質としてユビキチン（Ub）化され，小胞体および形質膜から分解される。ΔF508-CFTR はチャネル機能を有するため，その形質膜発現の改善が CF 治療戦略に有効であると考えられている。我々は Ub E3 Ligase RFFL (CARP2) が形質膜に発現した ΔF508-CFTR を選択的に認識し，Ub 化により分解することを明らかにした（Dev Cell 2018）。RFFL には相同性が高いホモログとして CAPR1 (RNF34) が存在する．RFFL と CARP1 はがん細胞に高発現し p53 の Ub 化と分解に関与するが，両者が異なる機能を持つことも示唆されている。そこで本研究では，CFTR 形質膜品質管理における CARP1 の機構を明らかにすることを目的とした。本発表では，精製タンパク質を用いた in vitro 評価，およびノックダウン実験やノックアウト細胞における解析など，我々の最近の結果について発表し，CARP1 の機能について議論したい。

（16）新規尿酸トランスポーターGLUT12/SLC2A12 の生理機能解析

高田龍平，宮田大資，豊田　優，鈴木洋史（東京大学 医学部附属病院 薬剤部）

【目的】血清尿酸値の異常は様々な疾患と関連することが知られるが，その制御機構については不明の点が多い。本研究では，尿酸の体内動態制御機構の理解を深めることを目指し，生理的に重要な新規尿酸輸送体の同定を進めた。

【方法】ゲノムワイド関連解析（GWAS）により血清尿酸値との関連が報告されている GLUT12/SLC2A12 に着目し，*in vitro* 実験により尿酸輸送活性を，*Glut12* 欠損（KO）マウスの解析により生理機能を評価した。マウスはヒトと異なり尿酸代謝酵素（Uox）を有することを考慮し，*Glut12* KO マウスは *Uox* との両欠損（DKO）マウスとして 2 系統（#1，#2）を作出した。

【結果】HEK293 細胞を用いた *in vitro* 実験の結果，GLUT12 は尿酸輸送活性を有し，その輸送活性は pH 依存的に変動することが明らかとなった。また，*Glut12-Uox* DKO マウスの血中尿酸濃度は対照群である *Uox* KO マウスと比較して有意に高値を示した。

【考察】本研究により，Glut12 は血中尿酸濃度を制御する生理的に重要な尿酸輸送体であることが明らかとなった。GWAS により *SLC2A12* 遺伝子近傍の遺伝子多型と血清尿酸値の関連が報告されていることを踏まえると，GLUT12 はヒトの体内においても重要な役割を果たしている可能性が考えられた。

【参考文献】

Toyoda Y*, Takada T*, Miyata H*, et al.,
Proc Natl Acad Sci USA, 117(31):18715-18177, 2020.

（17）A novel role of PRL in regulating epithelial cell density by inducing apoptosis at confluence

Sweksha Lohani[1], Yosuke Funato[1], Yuki Akieda[2], Tohru Ishitani[2], and Hiroaki Miki[1]
([1]Department of Cellular Regulation, Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University,
[2]Department of Homeostatic Regulation, Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University)

Maintaining proper epithelial cell density is essential for the survival of multicellular organisms. While regulation of cell density through apoptosis is well known, its mechanistic details remain elusive. Here, we report the involvement of membrane-anchored phosphatase of regenerating liver (PRL), originally known for its role in cancer malignancy and regulation of epithelial Mg^{2+} transport, in this process. In epithelial MDCK cells, upon confluence, doxycycline-induced expression of PRL upregulated apoptosis, reducing the cell density. This could be circumvented by artificially reducing the cell density via stretching the cell-seeded silicon chamber. Moreover, siRNA-mediated knockdown of endogenous PRL blocked apoptosis, leading to greater cell density. Mechanistically, PRL promoted apoptosis by upregulating the translation of E-cadherin and activating TGF-β pathway. Morpholino-mediated inhibition of PRL expression in zebrafish embryos caused developmental defect with reduced apoptosis and increased epithelial cell density during convergent extension. This study revealed a novel role of PRL in regulating density-dependent apoptosis in vertebrate epithelium.

（18）マンガンに依存した ZIP8 の細胞表面発現増加は多面発現 SNP （rs13107325）により阻害される

長松詩野[1]，西藤有希奈[1, 2]，神戸大朋[1]（[1]京都大学大学院 生命科学研究科，[2]京都薬科大学･薬学部）

亜鉛インポーターである ZIP8 は，生理的な基質として亜鉛の他に，マンガンを輸送できることが明らかになってきている。ZIP8 の SNP（rs13107325：A391T）は“多様な疾患に関わる SNPs”のトップ 9 と報告されており，近年 ZIP8 には大きな注目が集まっている。疾患の原因としては，マンガン代謝異常の関与が示唆されているが，詳細は明らかにされていない。本研究では，この SNP について新たな知見を集めることを目的に，A391T の変異が ZIP8 の金属輸送，及び細胞内発現に与える影響について解析した。

ZIP8 A391T の比較対象として，ZIP8 野生株と，金属結合部位の変異体である ZIP8 E343A を解析した。各 ZIP の金属輸送については，ZNT1 と MT の金属応答性発現変化（亜鉛増加に応じて増加し，マンガン増加に応じて減少する）を指標に解析した。

ZIP8，ZIP8 A391T 変異体を誘導発現し金属輸送を解析した結果，両者は共に，亜鉛存在時には ZNT1，MT の発現が増加し，マンガン存在時には減少するという同じ挙動を示した。同様の実験を E343A 変異体で行ったところ，ZNT1，MT の変化は認められなかった。この結果は，A391T 変異によりマンガン輸送活性が低下するという予想に反するものであった。一方，局在解析を行ったところ，ZIP8 ではマンガン添加により細胞表面の ZIP8 の発現が増加したことに対し，ZIP8 A391T では細胞表面の発現に増加は認められなかった。以上の結果から，A391T の変異が ZIP8 の輸送活性には大きな影響を与えず，マンガン依存的な細胞表面への蓄積を低下させることが明らかになった。

（19）膜タンパク質の立体構造を基盤とする腸管モデル細胞を用いた鉄イオン吸収メカニズムの解析

澤井仁美（兵庫県立大学 大学院理学研究科）

鉄は，すべての生物の生命維持に必須の微量金属であり，酸素の運搬貯蔵やエネルギー生産などの重要な生理機能に用いられている。一方で，鉄が過剰になると活性酸素種発生の元凶となるため，鉄の恒常性維持のための特異的で緻密な制御系が存在する。体内の鉄イオンは，発汗や皮膚の剥離などで排出され，失われた分は食餌により補充される。ヒトには，制御可能な鉄イオンの排出経路がないため「吸収」が鉄の恒常性維持において重要なステップとなるが，大変効率が悪い。そのため，安全で効率のよい鉄剤や鉄栄養強化食品の開発が期待されている。

食物由来の鉄イオンは，主に十二指腸の粘膜上皮細胞に局在する 2 種類の膜タンパク質「鉄還元酵素 Dcyt*b*」と「二価金属トランスポーターDMT1」の働きにより細胞内に取り込まれる。これらの膜タンパク質の機能が破綻すると，体内の鉄イオン濃度のバランスが崩れ，鉄代謝異常に陥る。演者らはヒト由来 Dcyt*b* のＸ線結晶構造解析に成功し，鉄イオンの結合やその反応機構を解明した[*Commun. Biol.* (2018) 1, 120]。さらに，Dcyt*b* の立体構造から見出された知見を生細胞で検証するために，腸管における鉄イオンの吸収を再現する機能評価系を構築した。その系を用いて，鉄イオンの吸収に影響を与える化合物の探索を行った。本講演では，鉄イオンの吸収に関わる膜タンパク質の構造機能相関やその機能評価系を用いた鉄イオンの吸収を向上させる化合物の探索について紹介する。

5. TRP チャネル研究会
― 相互作用分子との協働が織りなす生理機能とその破綻による病態発現 ―

2021 年 5 月 28 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）【特別講演 1】受容体作動性 Ca チャネルから始まった TRP チャネル研究

井上隆司[1,2]（[1]福岡大学研究推進部，[2]福岡大学医学部生理学）

（2）【特別講演 2】膜脂質のダイナミズムから生命現象を探る

梅田眞郷（同志社大学研究開発推進機構 メカノバイオロジー研究センター）

（3）【特別講演 3】クライオ電子顕微鏡解析で見えてきた膜タンパク質の分子機構

濡木　理（東京大学大学院理学系研究科）

（4）ミクログリアの温度依存的運動と TRPV4 の関与

西本れい[1,2,4]，Sandra Derouiche[1,2,3]，江藤　圭[2,5]，Aykut Deveci[1,2,3]
加塩麻紀子[1,2,3]，鍋倉淳一[2,5]，富永真琴[1,2,3,6]）
（[1]生理学研究所 細胞生理研究部門，[2]総合研究大学院大学 生命科学研究科，[3]生命創成探究センター
[4]岡山大学 医学部，[5]生理学研究所 生体恒常機能発達機構研究部門，[6]順天堂大学 医学部）

（5）アセトアミノフェンによる線条体 TRPV1 の活性化は
ドパミン D2 受容体遮断薬が誘発する口唇ジスキネジアを軽減する

長岡巧樹[1]，長島卓也[1]，浅岡希美[2]，山本浩貴[1]，戸田千尋[1]，栢沼　玄[1]
Siswanto Soni[1]，永安一樹[1]，白川久志[1]，金子周司[1]
（[1]京都大学大学院 薬学研究科 生体機能解析学，[2]京都大学大学院 医学研究科 システム神経薬理学）

（6）MrgprB4 陽性三叉神経に発現する TRPA1 は不快感の緩和を媒介する

戸堀翔太[1]，緋山　遥[1]，三宅崇仁[1]，矢野佑一[1]，永安一樹[1]，
白川久志[1]，中川貴之[2]，森　泰生[3]，金子周司[1]
（[1]京都大学 薬学研究科 生体機能解析，[2]京都大学 医学部附属病院 薬剤部，
[3]京都大学 工学研究科 合成・生物化学）

（7）X 線 1 分子追跡法による TRPV1 チャネルの 3 次元運動

藤村章子[1]，三尾和弘[1]，倉持昌弘[2]，関口博史[3]，佐々木裕次[2]
（[1]産総研 先端オペランド計測 OIL
[2]東京大学大学院 新領域創成科学研究科
[3]高輝度光科学研究センター SPring-8）

（8）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)

（９）TRPC6 変異体の機能解析による腎疾患 FSGS 発症時期の推定

岡田　亮[1,2]，小牧竜也[1,3]，Onur K. Polat[4,5], 森　誠之[1]
（[1]産業医科大学 医学部 医学科生命科学分野 生体物質化学,
[2]産業医科大学 産業保健学部 人間情報科学,
[3]北九州市立大学大学院 国際環境工学研究科 環境システム専攻,
[4]京都大学 工学研究科 合成・生物化学専攻, [5]Rush University, Chicago, USA）

（10）皮膚表皮顆粒層細胞が起こす細胞死における，細胞内酸性化と TRPV3 による制御

松井　毅[1,2,3]，葛野菜々子[2]，鈴木喜郎[4]，古市祐樹[2,3]，白神慧一郎[2]，佐々木博之[2]
石田　梓[5,6]，高橋苑子[5,6]，岡田峰陽[5,6]，豊岡公徳[7]，ジャファル・シャリフ[8]，阿部高也[9]
清成　寛[9]，富永真琴[4]，宮脇敦史[10]，天谷雅行[2,3]
（[1]東京工科大 応用生物，[2]理研 IMS 皮膚恒常性，[3]慶應医皮膚科，[4]生理研/生命創成探究センター，
[5]理研 IMS 組織動態，[6]横浜市大，[7]理研 CSRS 理研 BRC 細胞機能探索技術，
[8]理研 IMS 免疫器官形成，[9]理研 生命機能 生体モデル開発，[10]理研 CSRS）

（11）マウス味覚感受性における TRP チャネルの関与

松本健次郎[1]，富永真琴[2]，城戸瑞穂[3], 加藤伸一[1]
（[1]京都薬科大学 薬物治療学分野，[2]生理学研究所 細胞生理
[3]佐賀大学 医学部 生体構造機能学講座）

【参加者名】

山口陽平（旭川医科大学），鈴木喜郎（岩手医科大学），三尾和弘・藤村章子（産業技術総合研究所），福士勇人（植草学園大学），濡木　理・細木星花・萩野達也・島田寛人（東京大学），松井　毅（東京工科大学），岡田泰昌（国立病院機構村山医療センター），大久保達成（横浜市立大学），三原　弘（富山大学），原雄二・内田邦敏・黒羽子孝太・鈴木美希・寺田祐子・剣持麻奈斗・楊　継斌・吉越　渚・石川翔理・鈴木知依（静岡県立大学），梅田眞郷（同志社大学），松本健次郎・中本智大（京都薬科大学），金子周司・白川久志・抱将史・長岡巧樹・戸堀翔太・中島弘貴・山下志織・谷山一修（京都大学），岩田裕子（国立循環器病研究センター研究所），永田　龍・木下　允・田辺勇輝・高石雅之・臼倉淳・渥美友紀子・木原圭梧（大阪大学），西本れい（岡山大学），太田利男・増満えみ（鳥取大学），倉原　琳（香川大学），森　誠之・岡田　亮（産業医科大学），井上隆司・胡耀鵬・佐藤（沼田）かお理（福岡大学），岡部幸司（福岡歯科大学），西田基宏・西山和宏・加藤百合・小谷さゆみ（九州大学），城戸瑞穂・吉本怜子・内野加穂・澤田孟志（佐賀大学），勝田雄治（㈱資生堂），岡本浩明（小林製薬㈱），甲田哲之・上野翔太・清水翔太（大塚製薬㈱），宍戸祐二（ラクオリア創薬），山野井遊（㈱池田模範堂），富永真琴・曽我部隆彰・西村明幸・加塩麻紀子・齋藤　茂・水藤拓人・佐藤翔馬・Nguyen Thi Hong Dung・丸山健太・下田　翔・Lei Jing・鄧　香梅（生命創成探究センター／生理学研究所）

【概要】

2021 年度の TRP チャネル研究会（代表 静岡県立大学・内田邦敏）は，5月 28 日（金曜日）に遠隔会議システム（Zoom）を活用したオンラインにて実施した。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。演題数は特別講演 3 題，一般講演 8 題の合計 11 題であった。参加者はオンラインにて実施した昨年度の研究会とほぼ同じ 79 人であった。

特別講演として，3 人の先生にご講演頂いた。一般講演３つのセッション１）末梢，中枢神経系における TRP チャネルの生理・病態，２）TRP チャネル活性化機構，３）皮膚，口腔における TRP チャネルの役割，の３つのセッションに分けて実施した。研究会後には質疑応答時間以外にも自由な議論の時間の場として，Zoom のブレイクアウトルーム機能用いて各セッションに分かれての自由討論の時間を設けた。

特別講演では，井上隆司先生には TRP チャネルがクローニングされる以前からのリガンド作動性チャネル

研究の歴史と将来についてご講演頂いた。梅田眞郷先生には TRP チャネルなどの膜タンパク質の機能する場としての細胞膜脂質の重要性について脂質と機械刺激受容チャネル Piezo の機能連関を中心にご講演頂いた。濡木理先生にはクライオ電子顕微鏡を用いたナノディスクに再構成した TRP チャネルの構造解析から膜脂質を介した TRP チャネル活性化機構についてご講演頂いた。

一般講演の第 1 セッションは原が座長を担当した。西本はミクログリアの運動は温度依存的に亢進し，ミクログリアの TRPV4 が温度感知に関わる作用することを報告した。長岡はアセトアミノフェンが線条体 TRPV1 の活性化を介してジスキネジアを軽減することを報告した。戸堀は MrgprB4 陽性の三叉神経が疼痛や掻痒関連行動には関与せず，頬へのアセトン塗布などで誘発される不快感を軽減する作用をもっている可能性を示した。

第 2 セッションは曽我部が座長を担当した。藤村は X 線 1 分子追跡法を用いて TRPV1 チャネルが活性化刺激に伴って回転運動によってチャネルが開口する可能性を示した。Nguyen は植物に多く含まれるモノテルペンがいくつかの TRP チャネルに作用すること，及び TRPV3 と TRPV1 における活性化メカニズムについてアミノ酸レベルで報告した。岡田は TRPC6 の変異体間の不活性化の違いと腎疾患 FSGS 発症時期との間に相関があることを報告した。

第 3 セッションは城戸が座長を担当した。松井は皮膚表皮顆粒層細胞が角化の過程で起こす細胞死にコルネオトーシスという pH とカルシウムに依存する新たな細胞死概念を提唱し，その細胞死に TRPV3 が関与する可能性を示した。松本は味細胞のⅣ型細胞に発現する TRPV4 が味細胞の分化に関与すること，並びにに細胞に投射する感覚神経の TRPA1 が甘み及び旨味情報伝達に関わる可能性を報告した。

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。特に特別講演では若手からの活発に質問があり，時間を超過するほどの議論がなされ，充実した研究会となった。

（1）受容体作動性 Ca チャネルから始まった TRP チャネル研究

井上隆司[1,2]（[1]福岡大学研究推進部，[2]福岡大学医学部生理学）

血管平滑筋等の興奮性の低い組織では，種々の神経伝達物質やオータコイド，血管作動性ペプチドホルモンの刺激に応答して，細胞膜の電気現象とは殆ど無関係に収縮を発生することが知られていた。Somlyo & Somlyo[1] はこの現象を薬物収縮連関（pharmaco-mechanical coupling）と呼び，活動電位を介した Ca 動員機構（electro-mechanical coupling）とは全く異なる機序を介して生じていることを示唆したが，当時はその分子実体は全く不明であった。

その後，イノシトール脂質代謝の研究が進み，スキンドファイバーによる収縮蛋白質応答の解析法や細胞内遊離カルシウム濃度測定法が開発されるに至って，薬物収縮連関には少なくとも，（1）イノシトールリン脂質代謝亢進によって引き起こされる細胞内貯蔵 Ca の放出，（2）収縮蛋白系の Ca 感受性増大，（3）細胞外からの Ca の動員（流入），の 3 つの機序が関与していると考えられるようになった。Bolton や van Breemen らは第三番目の機序を定式化して「受容体作動性 Ca チャネル」（receptor-operated Ca^{2+} channel；ROCC）と名付け，電位依存性 Ca^{2+} チャネルとは生物物理学的にも薬理学的にも全く異なる Ca^{2+} チャネル分子であると提唱した[2]。

私が ROCC の研究を始めたのは正にこのようなタイミングであった。そこで，その当時全く新しい実験方法として注目されつつあったパッチクランプ法を平滑筋の ROCC 研究に適用し，そのチャネル分子としての特徴や制御機構を解明することに専心した。その後研究が進むにつれ，ROCC と呼んでいた現象は，平滑筋に特有な単一の分子機序の反映ではなく，TRP チャネルスーパーファミリーを含む幾つかの異なるクラスの分子群が関与する現象の総体であること，そしてその生物学的意義は，平滑筋の収縮に限らず，多様な生体機能の発現・調節や病態の形成過程にあることが次第に明らかとなっていった。

本講演では，これらの歴史的経緯について概説し，

更に現在，私自身がこの研究分野に蓄積された膨大な知見をどのように統合しようとチャレンジしているのかについて触れてみたい。

[1] Somlyo AV and Somlyo AP. J Pharmacol Exp Ther 159(1), 1968.
[2] Bolton TB. Physiol Rev. 59(3), 1979

（2）膜脂質のダイナミズムから生命現象を探る

梅田眞郷（同志社大学研究開発推進機構 メカノバイオロジー研究センター）

私の研究対象である生体膜は，極めて多様な脂質分子により構築されるソフトな分子集合体であり，膜中では個々の脂質分子が活発な熱運動を繰り返している。一方，最近の結晶構造解析や分子シミュレーション技術により，生体膜中での脂質分子の動きは決してランダムなものではなく，特定の膜タンパク質の周囲に集積し，特異的な分子間相互作用を介して膜タンパク質の活性制御に関わることも明らかにされつつある。

私たちは，特定の脂質分子を特異的に認識する一連のプローブ群を開発し，生体膜中でのリン脂質の分子運動とその生物機能について研究を進めてきている。これまでに，細胞膜中での脂質分子の局所的な集積や脂質二重層内外でのとんぼ返り運動（フリップ・フロップ）の活性化が，細胞の分裂や融合，形態形成や変形能の制御に深く関わることを明らかにしている。また，最近になり，局所的なリン脂質フリップ・フロップの活性化によりイオンチャネル開閉のオン・オフが制御されることから，膜リン脂質による“フリップ・フロップ スイッチ”の概念を提唱している。

従来，休止期に消費される ATP の多くはタンパク質代謝に費やされ，膜へのエネルギー投資は僅かと考えられていた。しかし，最近の研究では，タンパク質の生合成に約 1.5 %の ATP が消費されるのに対し，膜脂質の代謝と輸送に約 18~25 %の ATP が消費され，さらに脂質分子のフリップ・フロップに約 8 %の ATP が消費されると試算されている。この試算の正否については更なる検証が必要であるが，細胞が膜中での脂質分子の運動とその制御に多くのエネルギーを費やす意味は，未だ十分には理解されていない。

今回の講演では，特有の構造を有する機能性脂質による生物機能の調節と共に，脂質分子の運動と位置の変化によるタンパク質・細胞・個体の機能制御の可能性について議論したい。

（3）クライオ電子顕微鏡解析で見えてきた膜タンパク質の分子機構

濡木　理（東京大学大学院 理学系研究科）

2018 年 7 月に BINDS 東京大学拠点のクライオ電子顕微鏡（Titan Krios，Talos Arctica）が稼働を開始した。この 1 年で，我々の研究室だけで 20 種以上の新規膜タンパク質の立体構造を単粒子解析で決定している。生体内の化学反応の反応速度は温度に依存して大きく変化する。そのため生物は外界の温度変化を受容し，応答することで恒常性を保っている。温度刺激を受容するチャネルの代表的なものが TRP チャネルである。我々は，TRP チャネルのうち TRPV ファミリー・TRPM ファミリーに着目して研究を進めている。 TRPV ファミリーは TRPV1-TRPV4 が平温−高温を受容する受容体であり，これを欠損させると温度応答性を失う表現型をもつことが知られている（Science 288, 306–313, 2000）。TRPV3 は 33 °C - 39 °C で活性化することが知られており，コレステロールや PIP2 といった物質がモデレーターとして働くことが電気生理学的に示されていた。しかし，脂質分子と TRPV3 の活性化機構の関連は不明であった．2018 年に TRPV3 の構造解析が報告されたが（Nat. Struct Mol. Biol. 25, 805–813, 2018; Nat. Commun. 9, 4773, 2018），これらは脂質環境中の構造ではなく，活性化機構に関する構造的知見は不足していた。我々は，マウス由来 TRPV3 を人工脂質二重層 Nanodisc に再構成し，クライオ電子顕微鏡

単粒子解析により，分解能 3.4 Å で構造決定に成功した。決定した構造において TRPV3 は Gly638 から成る上部ゲートと Ile674 からなる下部ゲートの 2 つのゲートを持っており，先行研究ではすべて開状態であった上部ゲートが脂質との相互作用により閉状態を取っていた。このことから脂質により開閉が制御されており，熱で脂質が解離することでチャネルが開く機構が示唆された。

（4）ミクログリアの温度依存的運動と TRPV4 の関与

西本れい[1,2,4]，Sandra Derouiche[1,2,3]，江藤　圭[2,5]，Aykut Deveci[1,2,3]，加塩麻紀子[1,2,3]，鍋倉淳一[2,5]，富永真琴[1,2,3,6]

（[1]生理学研究所 細胞生理研究部門，[2]総合研究大学院大学 生命科学研究科，[3]生命創成探究センター
[4]岡山大学 医学部，[5]生理学研究所 生体恒常機能発達機構研究部門，[6]順天堂大学 医学部）

中枢神経系のグリア細胞であるミクログリアは，中枢神経系の免疫応答を担い，中枢神経系の恒常性を保っている。研究分野での技術革新によってもたらされた中枢神経系の細胞のライブセルイメージングにより，ミクログリアはダイナミックに動き，周囲の神経細胞やアストロサイトなどのグリア細胞と常時コンタクトしていることがわかってきた（Nimmerjahn et al, 2005）。これまで，低温環境ではミクログリアの動きが遅くなるという報告はあったが，その関連分子については分かっていなかった。私たちは，温度制御可能な in vitro および in vivo イメージングシステムを構築し，単一細胞レベルでミクログリアの動きを観察した結果，ミクログリアの動きには温度依存性があること，そしてその分子基盤に Transient Receptor Potential vanilloid 4 (TRPV4) が関与することを発見し報告した。 (Nishimoto and Derouiche et al, 2021)

（5）アセトアミノフェンによる線条体 TRPV1 の活性化は ドパミン D2 受容体遮断薬が誘発する口唇ジスキネジアを軽減する

長岡巧樹[1]，長島卓也[1]，浅岡希美[2]，山本浩貴[1]，戸田千尋[1]，栢沼　玄[1]，
Siswanto Soni[1]，永安一樹[1]，白川久志[1]，金子周司[1]
（[1]京都大学大学院 薬学研究科 生体機能解析学，[2]京都大学大学院 医学研究科 システム神経薬理学）

遅発性ジスキネジアはドパミン D2 受容体遮断薬の長期使用により生じる不随意運動である。患者の QOL 低下が問題視されているが，十分な薬効と高い安全性を持つ治療薬は存在しない。本研究では，臨床ビッグデータ解析と薬理学的検討を用いてジスキネジアの治療標的同定を行った。

2 種類の臨床ビッグデータ解析により，ドパミン D2 受容体遮断薬によるジスキネジアの発生率がアセトアミノフェン併用により低下していることを見出した。次にジスキネジアモデルマウスを用いた検討で，野生型（WT）マウスにハロペリドールを 21 日間投与すると，ジスキネジアの実験的指標である空の咀嚼運動（VCM）数の増加が認められた。また VCM 数の増加はアセトアミノフェンの経口投与およびアセトアミノフェン代謝物 AM404 の背側線条体内投与により抑制された。一方，TRPV1 遺伝子欠損マウスではその作用は消失した。神経活性化マーカーc-Fos と間接路中型有棘神経細胞（iMSNs）マーカーppENK を用いた免疫組織化学的検討を行ったところ，ジスキネジアモデルにおける c-Fos+/ppENK+数減少はアセトアミノフェンの投与で改善した。一方 TRPV1 遺伝子欠損マウスではその作用は認められなかった。以上より，アセトアミノフェンは代謝物 AM404 が TRPV1 活性化を介して背側線条体 iMSNs の活動低下を改善させ，ジスキネジアを抑制する可能性が示された。

（6）MrgprB4 陽性三叉神経に発現する TRPA1 は不快感の緩和を媒介する

戸堀翔太[1]，緋山　遥[1]，三宅崇仁[1], 矢野佑一[1], 永安一樹[1],
白川久志[1], 中川貴之[2],森　泰生[3], 金子周司[1]
（[1]京都大学 薬学研究科 生体機能解析, [2]京都大学医学部附属病院 薬剤部,
[3]京都大学 工学研究科 合成･生物化学）

げっ歯類に存在するMrgprB4陽性感覚神経は皮膚をなでるなどの触刺激を受容し，心地よい感覚を伝達する。しかしながら，MrgprB4 陽性感覚神経がどのようなメカニズムで触刺激を受容するか，またMrgprB4陽性感覚神経の活性化が痛みなど他の感覚にどのような影響を及ぼすかはほとんど明らかになってない。本研究では，MrgprB4陽性感覚神経におけるTRPチャネルの機能的発現およびMrgprB4欠損が感覚機能に与える影響を検討した。

MrgprB4 陽性感覚神経は三叉神経節および後根神経節で認められた。また，MrgprB4 陽性感覚神経のうち約 80％が TRPA1 を機能的に発現していた一方で，TRPV1, TRPM8, TRPV4 の機能的発現は認められなかった。続いて，MrgprB4 欠損マウスを用いて疼痛様行動，掻痒様行動，足底アセトン塗布による冷刺激への反応性を評価したところ野生型と比較して差は認められなかった。しかし，MrgprB4 欠損マウスでは不快感を惹起する頬アセトン塗布および頬へのスクロース溶液噴霧に対する応答が増加した。さらに TRPA1 欠損マウスを用いて同様の検討を行ったところ，TRPA1 欠損マウスにおいてもMrgprB4欠損マウスと同様に応答が増加した。以上の結果から，三叉神経において TRPA1 と MrgprB4 が協調して快刺激を伝達し，不快感の緩和に寄与する可能性が示された。

（7）X 線 1 分子追跡法による TRPV1 チャネルの 3 次元運動

藤村章子[1]，三尾和弘[1]，倉持昌弘[2]，関口博史[3]，佐々木裕次[2]
（[1]産総研 先端オペランド計測 OIL，[2]東京大学大学院 新領域創成科学研究科
[3]高輝度光科学研究センター SPring-8）

Transient receptor potential (TRP) チャネルは細胞膜に存在し内因性物質，化学物質，物理刺激などによって活性化されるセンサーである。TRPチャネルの多くは身体のいたるところに存在し中でも TRP vanilloid 1（TRPV1）はカプサイシンや酸，熱刺激に応答する重要な働きを担っている。

今回TRPV1の作動機構を解明するために，SPring-8にてX線の回折現象を利用し，時間分解能100 μm/frameでリアルタイム観察した （X 線 1 分子追跡法（DXT: Diffracted X-ray Tracking））。DXT ではタンパク質を金ナノ結晶で標識し，回折スポットの回転運動を傾斜角 θ, 回転角 χ としてリアルタイムに計測し分析を行う。時間分解能は 100 μm/frame，角度精度はそれぞれ $\Delta\theta = 0.18$ mrad，$\Delta\chi = 0.74$ mrad である。

解析は速度に依存したフィルタリング方法を導入し，バイアスがかかった運動を抽出した。その結果 TRPV1 のカプサイシン活性に伴うねじれ運動が確認できた。検出した変化はカプサイシン下で最大 1ms で 1.55° であった。また，TRPV1 のアンタゴニスト（AMG9810）を入れた場合の χ 軸方向の回転運動は，カプサイシンを入れた場合と逆方向であった。

（8）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.

（9）TRPC6 変異体の機能解析による腎疾患 FSGS 発症時期の推定

岡田　亮[1,2]，小牧竜也[1,3]，Onur K. Polat[4,5], 森　誠之[1]
([1]産業医科大学 医学部 医学科 生命科学分野 生体物質化学,
[2]産業医科大学 産業保健学部 人間情報科学,
[3]北九州市立大学大学院 国際環境工学研究科 環境システム専攻,
[4]京都大学 工学研究科 合成・生物化学専攻，[5]Rush University, Chicago, USA）

巣状分節性糸球体硬化症（focal segmental glomerulosclerosis, FSGS）はネフローゼ症候群を伴う難治性腎疾患であり，発症要因として TRPC6 の遺伝子変異が挙げられる。同遺伝子に関して複数の変異が同定されており，発症年齢は幼児期から成人後まで広く分布する。発症年齢の推測は治療方針の決定の際に有益であると考えられるが，変異の位置や置換するアミノ酸の種類との関連性を見出すことはできない。

我々は最近，FSGS 型 TRPC6 変異体では Ca^{2+} 依存的不活性化機構と呼ばれるチャネル活性のブレーキ機構が破綻することで FSGS 発症に至るとの知見を得たことから（Polat et al., 2019, JASN），不活性化機構の破綻した TRPC6 変異体の過剰なチャネル活性と発症年齢との関連性を明らかにすることを目的に，パッチクランプ法による TRPC6 変異体の機能解析を行った。チャネル活性化後より 60 秒間の電流密度積分値を解析したところ，若齢発症の FSGS 患者より同定された変異体（R175W, R895L）では発症年齢の高い患者より同定された変異体（G109S，R175Q）に比べ増加した。

以上より，パッチクランプ法により測定した電流密度積分値は FSGS 発症年齢と相関関係を示すと考えられた。本知見は発症年齢の推測方法確立の基盤となる可能性がある。

（10）皮膚表皮顆粒層細胞が起こす細胞死における，細胞内酸性化と TRPV3 による制御

松井　毅[1,2,3]，葛野菜々子[2]，鈴木喜郎[4]，古市祐樹[2,3]，白神慧一郎[2]，佐々木博之[2]，
石田　梓[5,6]，高橋苑子[5,6]，岡田峰陽[5,6]，豊岡公徳[7]，ジャファル・シャリフ[8]，阿部高也[9]，
清成　寛[9]，富永真琴[4]，宮脇敦史[10]，天谷雅行[2,3]
（[1]東京工科大 応用生物，[2]理研 IMS 皮膚恒常性，[3]慶應医皮膚科，[4]生理研/生命創成探究ｾﾝﾀｰ，
[5]理研 IMS 組織動態，[6]横浜市大，[7]理研 CSRS 理研 BRC 細胞機能探索技術，
[8]理研 IMS 免疫器官形成，[9]理研 生命機能 生体モデル開発，[10]理研 CSRS）

皮膚表皮角層は，コルネオサイトと呼ばれる死細胞が数層積み重なり，気相環境に対する機能的バリアとして働いている。しかしながら，顆粒層の最上層の SG1 細胞が，どのように細胞死を起こして角層を形成するのかは，依然不明である。マウス個体を用いた細胞内 Ca^{2+}と pH のライブイメージングを駆使して，SG1 の細胞死過程を詳細に解析した。その結果，SG1 細胞において，長期（約 60 分間）の細胞内 Ca^{2+}濃度の上昇の後，細胞内が酸性化することが明らかとなった。この酸性化状態のまま SG1 細胞は Corneocyte へと変化する。次に分離した SG1 細胞の解析により，細胞内酸性化は，角化現象の特徴であるケラトヒアリン顆粒の消失と DNA の分解に必須であることが明らかになった。さらに同じく分離 SG1 細胞を用いたパッチクランプアッセイにより，TRPV3 特有の電流を検出した。実際に，TRPV3 欠損マウスでは，酸性化が起きるタイミングに異常が起きることが明らかとなった。以上の結果は，SG1 細胞死はユニークな細胞内イオン変化を経て，角層バリアを形成する新しい様式の細胞死であることを示している。この細胞死をコルネオトーシスと命名した。

（11）マウス味覚感受性における TRP チャネルの関与

松本健次郎[1]，富永真琴[2]，城戸瑞穂[3]，加藤伸一[1]
（[1]京都薬科大学 薬物治療学分野，[2]生理学研究所 細胞生理，[3]佐賀大学 医学部 生体構造機能学講座）

味覚感受性は味溶液の濃度のみならず，その温度に大きく依存していることから，温度感受性受容体 TRP の口腔内環境における機能解析は，味覚の新たな生物学的意義の提案を可能にすることが期待される。本研究では味覚受容との関わりについて TRPA1，TRPV1，TRPV4 遺伝子欠損動物（KO）を用いて検討した。

Brief access test 及び two-bottle test において，甘味およびうま味溶液に対する嗜好性は WT と比較し TRPA1KO では有意に低かった。TRPV4KO は酸味溶液に対する感受性が有意に低かった。TRPV1 の欠損では，基本 5 味に対する感受性に影響はなかった。有郭乳頭において，TRPA1 は P2X2 受容体陽性の味神経に認められたが，味細胞マーカーである T1R3，PLCβ2，CAR4 とは共局在しなかった。TRPV4 は，味蕾の幹細胞であるⅣ型の味細胞に発現していることが観察された。TRPV1 は，CGRP 陽性神経との共局在が確認された。TRPA1 の欠損は味細胞，味神経の発現に影響を及ぼさなかったが，TRPV4 の欠損はⅢ型味細胞の発現を減少させることが，免疫組織染色，QPCR による解析から明らかとなった。また，TRPV4KO では，味蕾における Ki67 陽性細胞数及びβカテニン発現量が WT と比較し有意に低下した。

味覚受容において TRPA1 は味神経に発現し，甘味および，旨味の情報伝達に関与していることが示唆された。TRPV4 はⅣ型味細胞に発現し，酸味受容細胞であるⅢ型味細胞への分化および増殖を制御することで，酸味の感受性に影響していることが明らかとなった。

6. 温熱生理研究会

2021 年8 月 31 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）両生類の生態的な棲み分けに起因した温度感覚の進化的変化とその分子機構

齋藤　茂[1,2,3]，齋藤くれあ[1,2]，井川　武[4]，小巻翔平[5]，富永真琴[1,2,3]
（[1]生理学研究所 細胞生理，[2]生命創成探究センター 温度生物
[3]総合研究大学院大学 生理科学，[4]広島大学 両生類研究センター
[5]いわて東北メディカル･メガバンク）

（2）褐色脂肪細胞分化における機械刺激感受性陽イオンチャネル Piezo1 の関与

剣持麻奈斗[1]，川原崎聡子[2]，岡村和彦[3]，後藤　剛[2]，内田邦敏[1,4]
（[1]静岡県立大学大学院 薬食生命科学総合学府 環境科学専攻
[2]京都大学大学院 農学研究科 食品生物科学専攻，[3]福岡歯科大学 生体構造学講座 病態構造学分野
[4]静岡県立大学 食品栄養科学部 環境生命科学科）

（3）ヒト褐色脂肪と食事誘導熱産生：食事組成の影響

会田さゆり[1,2]，松下真美[1]，米代武司[1,3]，斉藤昌之[1,4]
（[1]天使大学 看護栄養学部，[2]茨城キリスト教大学 生活科学部
[3]東京大学 先端科学技術研究センター，[4]北海道大学 獣医学研究院）

（4）ヒト褐色脂肪組織活性とメンソール溶液塗布による代謝亢進の関係

三浦愛子[1]，若林　斉[1]，北　樹乃[1]，藤本知臣[2]
前田享史[3]，亀谷俊満[4]，松下真美[5]，斉藤昌之[6]
（[1]北海道大学 環境人間工学研究室，[2]新潟医療福祉大学，[3]九州大学，
[4]LSI 札幌クリニック，[5]天使大学，[6]北海道大学）

（5）心と身体をつなぐ脳の神経路メカニズム

片岡直也[1,2]，伊藤綾香[2,3]，中島啓輔[1]，菅波孝祥[3]，中村和弘[1]
（[1]名古屋大学 医学系研究科 統合生理学，[2]名古屋大学 高等研究院
[3]名古屋大学 環境医学研究所 分子代謝医学）

（6）生物時計の温度補償性 –変化する外部環境の中で一定の内因リズムを刻む仕組み–

金　尚宏[1,2]
（[1]名古屋大学 トランスフォーマティブ生命分子研究所，[2]名古屋大学大学院 生命農学研究科）

（7）蒸れ感覚形成の要因としての鼻部温度の関与

加藤一聖[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）

（8）体温測定用マイクロチップを用いたマウス腹腔温測定の自動化

中田彩登[1]，石田駿斗[1]，近藤隆路[2]，辻田大地[2]，松村　潔[1]
（[1]大阪工業大学 工学部，[2]大阪工業大学 ものづくりセンター）

（9）冬眠様選択的スプライシングの変化における Cold-inducible RNA-binding protein 転写物の定量的解析

堀井有希[1]，白石茂菜実[2]，椎名貴彦[2]，志水泰武[2]
（[1]岐阜大学 糖鎖生命コア研究所 糖鎖分子科学研究センター 研究基盤部門 動物実験分野
[2]岐阜大学 応用生物科学部 獣医生理学研究室）

（10）日内休眠がマウスの Cold-inducible RNA-binding protein 遺伝子の選択的スプライシングに与える影響

白石茂菜実[1]，堀井有希[3]，椎名貴彦[1,2]，志水泰武[1,2]
（[1]岐阜大学 応用生物科学部共同獣医学科 獣医生理学研究室
[2]岐阜大学大学院 共同獣医学研究科 獣医生理学研究室
[3]岐阜大学 糖鎖生命コア研究所 糖鎖分子科学研究センター）

【参加者名】

斉藤昌之･三浦愛子･若林　斉･岡松優子･北　樹乃（北海道大学），松下真美（天使大学），酒井寿郎（東北大学/東京大学），会田さゆり（茨城キリスト教大学），時澤　健（労働安全衛生総合研究所），永島　計･丸井朱里･唐木幸音･加藤一聖･増田雄太（早稲田大学），塚本大輔･関　皓太（北里大学），内田有希（昭和大学），米代武司（東京大学），内田邦敏･剣持麻奈斗（静岡県立大学），志水泰武･椎名貴彦･堀井有希･白石茂菜実（岐阜大学），犬飼洋子（愛知医科大学），中村和弘･片岡直也･金　尚宏（名古屋大学），原田慶恵（大阪大学），松村　潔･中田彩登（大阪工業大学），砂川玄志郎（理化学研究所），渡邊正知･門田麻由子･田中優太（福山大学），勝田雄治（㈱資生堂），志田原靖博（花王㈱），富永真琴･曽我部隆彰･榎木亮介･齋藤　茂･加塩麻紀子･水藤拓人･佐藤翔馬･NGUYEN Thi Hong Dung･丸山健太･DENG Xiangmei･DEVECI Aykut･LEI Jing（生命創成探究センター／生理学研究所）

【概要】

2021 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。事務局によるきめ細かい準備と統制の取れた運営により，問題なく進めることができた。演題申し込み数は対面式で実施する研究会に比べて少なかったが，討論に費やす時間を十分に確保することができた。わずか１０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志水が担当し，４名の演者が研究成果報告を行った。齋藤は日本に生息する 5 種類のカエルの棲み分けに起因した温度感覚の進化的変化，およびその分子機構について最新の結果を報告した。剣持は褐色脂肪細胞分化における機械刺激感受性陽イオンチャネル Piezo1 の関与を解析し，分化過程おいて Piezo1 の活性化が細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇を引き起こし，Calcineurin 経路を介して分化を抑制することを示した。斉藤は，ヒト褐色脂肪と食事誘導熱産生，特に食事組成の影響を検討した結果を報告した。食後の交感神経活性化は炭水化物摂取で最も強く，食事誘導熱産生が食事摂取，交感神経活性化，褐色脂肪熱産生によって誘発されることを示した。三浦は，ヒトにおけるメンソール溶液塗布による代謝亢進の程度は，褐色脂肪組織活性の高い者ほど顕著であったことから，TRPM8 の刺激に伴う代謝亢進の作用機序として，褐色脂肪組織における非震え代謝の寄与が大きいことを示唆した。

第 2 セッションでの座長は，富永が務めた。片岡は心と身体をつなぐ脳の神経路として，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を同定していたが，今回は DP/DTT より上位では複数の神経核が複雑な神経ネットワークを形成し，脳領域間の神経活動バランスを制御していることを示した。金は，概日リズムの温度補償性には，Na^{+}/Ca^{2+} 交換輸送体（NCX）による温度応答性の細胞 Ca^{2+} シグナリングが重要であること，NCX は温度低下に伴って Ca^{2+}および Ca^{2+}/カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼ II（CaMKII）を活性化することで転写フィードバックループの振動速度の低下を補償(加速)することを報告した。加藤は蒸れ感覚形成要因を検討し，蒸れ感覚が吸気の温度，湿度のみならず鼻粘膜表面温度の影響を受けることを示すとともに，吸気中の含水量を受容する何らかのメカニズムの存在を示唆した。

第 3 セッションの座長は，砂川が担当した。中田はこれまでの方法のデメリットを解消し，自動的にマウス腹腔温を測定するデバイスを開発した。6 個のケージ内のマウス腹腔温を 10 分間隔で数日間にわたり計測することが可能となった。堀井は，冬眠動物において Cold-inducible RNA-binding protein (CIRP) の選択的スプライシングのパターンが変化することを見出してきたが，今

回はマウスにおいても冬眠様の発現パターンへ誘導できること，冬眠様のスプライシングの変化は転写量を変化させずとも素早く CIRP mRNA の発現効率を上昇させる機序であることを示唆した。これに引き続き白石は，CIRP の選択的スプライシングの変化はマウスが自発的に体温を低下させる日内休でも認められることを示し，細胞保護作用をもつ CIRP タンパク質の選択的スプライシングによる発現制御は，冬眠動物のみならず非冬眠動物においても普遍的に存在していることを報告した。

いずれの報告においても有意義な議論がなされた。オンライン開催であることから，懇親会は実施できなかったが，質疑応答の時間を十分確保できたことから充実した研究会となった。

（1）両生類の生態的な棲み分けに起因した温度感覚の進化的変化とその分子機構

齋藤　茂[1,2,3]，齋藤くれあ[1,2]，井川　武[4]，小巻翔平[5]，富永真琴[1,2,3]
（[1]生理学研究所 細胞生理，[2]生命創成探究センター 温度生物，[3]総合研究大学院大学 生理科学，
[4]広島大学 両生類研究センター，[5]いわて東北メディカル･メガバンク）

動物は活動する場所や時間を互いにずらし，多くの種が繁栄する豊かな生態系を構築している。そのため，同じ地域に生息する種でも異なる環境に適応している場合がある。両生類は種ごとに産卵時期や，利用する水場をずらすことで同所的に複数の種が共存している。幼生が成長の過程で経験する温度は種ごとに異なり，特に，日射による水温上昇や，夏期の高温は生存を左右し得る要因となる。本研究では，時空間的に異なるニッチに生息する日本在来の 5 種のカエル（無尾両生類）の幼生を用い，高温耐性の指標となる臨界最高温度（CTmax），および，能動的な行動応答による忌避温度を比較した。これら 2 つの値には明瞭な正の相関関係があり，生息地においてより高温に曝される可能性がある種ほど高くなっていた。また，忌避温度の種差は，臨界最高温度のそれよりも 2.3 倍ほど大きく，忌避応答は生息地の環境条件に応じてより柔軟に変化する要素であることが明らかとなった。更に，5 種のうち 3 種から高温受容のセンサー分子である TRPA1 を単離し，その機能特性を比較したところ，忌避温度と一致した種間差が生じていることが分かった。両生類の温度適応機構において高温センサーの進化的変化が重要な役割を担ってきたと考えられる。

（2）褐色脂肪細胞分化における機械刺激感受性陽イオンチャネル Piezo1 の関与

剣持麻奈斗[1]，川原崎聡子[2]，岡村和彦[3]，後藤　剛[2]，内田邦敏[1,4]
（[1]静岡県立大学大学院 薬食生命科学総合学府 環境科学専攻
[2]京都大学大学院 農学研究科 食品生物科学専攻，[3]福岡歯科大学 生体構造学講座 病態構造学分野
[4]静岡県立大学 食品栄養科学部 環境生命科学科）

褐色脂肪は非ふるえ熱産生によって，蓄えたエネルギーを消費することから肥満の治療ターゲットとして注目されている。褐色脂肪前駆細胞において，細胞内への Ca^{2+} の流入は褐色脂肪細胞への分化を抑制すること，並びに前駆細胞への機械刺激は褐色脂肪細胞への分化を抑制することが報告されている（Neal and Clipstone. 2002, Sun et al. 2016）。そこで本研究では，機械刺激感受性イオンチャネルである Piezo1 の褐色脂肪細胞分化への関与について検討した。

褐色脂肪細胞における Piezo の発現を RT-qPCR 法および Ca^{2+}-imaging 法を用いて検討した結果，Piezo1 の発現が認められた。また，マウスの褐色脂肪組織においても Piezo1 タンパク質の発現が認められた。分化誘導時に Piezo1 作動薬である Yoda-1 を処置すると分化は用量依存的に抑制された。この分化抑制作用は Piezo1 阻害薬および siRNA による Piezo1 knock-down によって回復した。

さらに，Piezo1 作動薬による分化抑制作用は Calcineurin 阻害薬の同時処置によって回復した。

以上の結果より，褐色脂肪細胞の分化過程において Piezo1 の活性化が細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇を引き起こし Calcineurin 経路を介して分化を抑制することが示唆された。

（3）ヒト褐色脂肪と食事誘導熱産生：食事組成の影響

会田さゆり[1, 2]，松下真美[1]，米代武司[1, 3]，斉藤昌之[1, 4]
（[1]天使大学 看護栄養学部，[2]茨城キリスト教大学 生活科学部
[3]東京大学 先端科学技術研究センター，[4]北海道大学 獣医学研究院）

【背景・目的】寒冷刺激を受けると，非震え熱産生（NST）の部位である褐色脂肪が活性化し，体温維持に寄与することは良く知られている。食事摂取後に見られる NST は食事誘導熱産生（DIT）と呼ばれ，一日の総エネルギー消費量（EE）の約 10 % を占めるが，褐色脂肪との関係については不明な点が多い。これまで我々は，ヒト褐色脂肪の活性を画像診断法（FDG-PET/CT）によって評価・定量する方法を開発し，低活性者に比べて高活性者では DIT が約 1.5 倍高いことを見出し，DIT に対する褐色脂肪の寄与を明らかにしてきた（Hibi et al, Int J Obes 2016）。さらに，DIT の日内変動に褐色脂肪が一部関与することも見出した（Matsushita et al, Int J Obes 2021）。DIT は食事組成によって大きく異なり，タンパク質＞炭水化物＞脂肪の順であることが古くから知られているので，今回，褐色脂肪に起因する DIT に及ぼす食事組成の影響を調べた。

【方法】延べ 52 名の健常成人男性を被験者として，FDG-PET/CT により各人の褐色脂肪活性を測定した後，高炭水化物食（C 食），高タンパク質食（P 食），高脂肪食（F 食）を摂取させ，2 時間にわたって呼気分析法により EE と DIT を測定した。

【結果・考察】DIT は P 食＞C 食＞F 食の順となり，一般的知見と合致していた。被験者を褐色脂肪活性の高い群と低い群に分けて比較すると，C 食後の DIT は低い群に比べて高い群の方が約 2 倍となったが，P 食や F 食摂取後では 2 群間に有意差は見られなかった。さらに，C 食後の DIT と褐色脂肪活性の間には有意な正相関が認められた。これらの結果は，食後の交感神経活性化が炭水化物摂取で最も強いとの知見とも一致しており，ヒト DIT が食事摂取→交感神経活性化→褐色脂肪熱産生によって誘発されることを示している。

（4）ヒト褐色脂肪組織活性とメンソール溶液塗布による代謝亢進の関係

三浦愛子[1]，若林　斉[1]，北　樹乃[1]，藤本知臣[2]，前田享史[3]，
亀谷俊満[4]，松下真美[5]，斉藤昌之[6]
（[1]北海道大学 環境人間工学研究室，[2]新潟医療福祉大学，[3]九州大学
[4]LSI 札幌クリニック，[5]天使大学，[6]北海道大学）

本研究ではメンソール（M）溶液塗布による冷受容体（TRPM8）刺激に伴う代謝亢進とヒト褐色脂肪組織（BAT）活性の関連性を検証することを目的とした。

成人男性 13 名を対象として，BAT 高活性群（High 群，n = 6）と低活性群（Low 群，n = 7）に分け，M 条件，コントロール（C）条件で実験を行った。安静仰臥位で室温 27 ℃，相対湿度 40 % の部屋にて 20 分間 Baseline を計測した後，120 分間安静を維持し，30 分毎に 4 %M 溶液または C 溶液を塗布した。実験中，皮膚温，直腸温，酸素摂取量（VO2），皮膚血流量，血圧を測定した。

VO2 において，High 群では 60 分と 90 分で M 条件が有意に高値を示し（$P < 0.05$），Low 群では 90 分で M 条件が有意に高値を示した（$P < 0.05$）。また，実験後半（60 – 120 分）の VO2 平均値の条件差（M–C）と BAT 活性に

有意な正の相関がみられた（$P < 0.05$）。平均皮膚温は，BAT 群間，条件間ともに有意な差はみられなかったが，直腸温では両 BAT 群で 90 分と 120 分において M 条件が有意に高値を示した（$P < 0.05$）。

これらの結果より，両 BAT 群において M 溶液塗布による代謝亢進とそれによる深部体温の上昇は見られたものの，代謝亢進の程度はBAT活性の高い者ほど顕著であった。このことから，M 溶液塗布による TRPM8 の刺激に伴う代謝亢進の作用機序として，BAT における非震え代謝の寄与が考えられた。

（5）心と身体をつなぐ脳の神経路メカニズム

片岡直也[1,2]，伊藤綾香[2,3]，中島啓輔[1]，菅波孝祥[3]，中村和弘[1]
（[1]名古屋大学 医学系研究科 統合生理学
[2]名古屋大学 高等研究院，[3]名古屋大学 環境医学研究所 分子代謝医学）

私達の脳には，心理ストレスなどの情動を処理する「心」の神経回路と，体温や脈拍・血圧など「体」の状態を調節する神経回路が存在し，これらの脳領域が密接に連関することで「心身相関」と呼ばれる現象を引き起こす。我々は最近，体温調節や脈拍・血圧の調節を行う視床下部背内側部（DMH）がストレスや情動を処理する内側前頭前皮質の 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，この神経路は「心」と「体」の脳領域を繋ぐことで心身相関を実現し，心理ストレスによる交感神経反応を駆動させる神経路であることが明らかになった。しかしながら，心と体そ れぞれの詳細な神経回路の決定には未だ至っていない。DP/DTT より上位の神経ネットワークを探索した結果，DP/DTT は視床室傍核（PVT）など複数の脳領域からストレス信号を受けていることが明らかとなった。このことから，DP/DTT の上位では複数の神経核が複雑な神経ネットワークを形成し，脳領域間の神経活動バランスを制御していると予想された。そこで本研究では現在，脳内の複数の脳領域から同時に神経活動を計測する Multi-fiber photometry を用いて，多彩な心理ストレス反応を惹起する神経回路の解析を行っている。さらに，心理ストレスは交感神経系を活性化させ，末梢の免疫系にも影響を与えることから，末梢の免疫細胞の動態についても解析を行っている。

本研究会では，上記の神経回路解析から得られた新たな知見と，今後の展望について報告したい。

（6）生物時計の温度補償性-変化する外部環境の中で一定の内因リズムを刻む仕組み-

金　尚宏[1,2]
（[1]名古屋大学 トランスフォーマティブ生命分子研究所
[2]名古屋大学大学院 生命農学研究科）

神経の発火や心臓の拍動など，生物リズムは様々な生理現象に観察される。これらのリズムを駆動するものは振動体であり，その中で時刻を告げる機能を有するものを生物時計と呼ぶ。最も代表的な生物時計は約 24 時間の周期を持つ概日時計（circadian clock）であり，睡眠や覚醒などの様々な生理リズムを生み出している。概日時計は非常に特徴的な温度特性・温度補償性を有し，様々な環境温度において，ほぼ一定の周期を刻み続ける。

真核生物における概日リズムの生成は時計遺伝子による転写・翻訳フィードバックループで説明されてきた。しかし，転写や翻訳などの生化学反応は，一般的に温度が 10 度上がると反応速度は 2-3 倍になる。そこで私たちは，概日リズムを温度補償するためには，温度変化に応じて転写・翻訳フィードバックループの振動速度を調整する反応が必要であろうと考えた。培養細胞を用いて低分子化合物による探索を行ったところ，概日リズムの温度補償性には，Na^+/Ca^{2+} 交換輸送体

（NCX）による温度応答性の細胞内 Ca^{2+} シグナリングが重要であることが分かった。そして詳細な解析から，NCX は温度低下に伴って Ca^{2+}および Ca^{2+}/カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼ II（CaMKII）を活性化することで，転写フィードバックループの振動速度の低下を補償（加速）することが分かった。

（7）蒸れ感覚形成の要因としての鼻部温度の関与

加藤一聖[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）

ヒトが快適な生活を送るために，環境の湿度の調節や維持は非常に重要である。我々は生活の中で空気の乾燥や湿潤を感じるが，現在のところヒトの湿度感覚の形成メカニズムは明らかではない部分が多い。本研究では吸気の温度，湿度変化が湿度感覚に与える影響を調べ，仮説検証の一助とした。

健康な男女 16 名を対象とした。実験は吸気の温度条件（25 ºC; 低温, 34 ºC; 高温），湿度条件（30 %; 低湿度, 70 %; 高湿度）をそれぞれ変化させ，合計 4 試行の実験を 2 日間に分けて行った。実験では鼻部のみを覆うマスクを介して，統制呼吸（3 秒間の鼻からの吸気，続いて 3 秒間の口からの呼気)を 9 分間行った。統制呼吸中の鼻中核部の粘膜表面温度（Tnose），マスク内湿度（Rhmask）を連続的に測定した。実験参加者には，吸気に対する温度感覚，蒸れ感覚を Visual Analog Scale (VAS) を用いて評価させた。また，大気圧，吸気の温度，湿度から露点温度を計算した。

Tnose，蒸れ感覚は高温条件で有意に上昇した（$P < 0.001$）。さらに露点温度と蒸れ感覚の間には有意な正の相関が見られた（$r = 0.4336$, $P < 0.01$）。吸気の蒸れ感覚は，吸気の温度，湿度のみならず鼻粘膜表面温度の影響を受けることが明らかになった。また，蒸れ感覚の強度は露点温度との高い正の相関が見られたことから，吸気中の含水量を受容する何らかのメカニズムの存在が予想される。

（8）体温測定用マイクロチップを用いたマウス腹腔温測定の自動化

中田彩登[1]，石田駿斗[1]，近藤隆路[2]，辻田大地[2]，松村潔[1]
([1]大阪工業大学 工学部，[2]大阪工業大学　ものづくりセンター)

体温測定用マイクロチップ IPTT-300（Bio Medic DataSystem 社）は従来のマウス用体温測定カプセル（G2-E-mitter，STARR Life Science 社）と比べ，小型（重量約 1/10），個体識別可，安価（約 1/40）という利点を持つ。一方，これまでの本マイクロチップの使用から以下の問題点が明らかとなった。①測定時には Reader を近づけ，手動で測定ボタンを押す必要がある。そのため測定時にマウスを興奮させ，安定した測定ができない。②複数の個体を 10 分間隔で経時的に手動測定することは煩雑である。

③マイクロチップが腹腔内を移動し，特に雄の場合は陰嚢に入りやすい。本研究ではこれらの問題を解決するために，手術法の改良と測定の自動化を行った。マイクロチップは縫合糸で腹筋に固定した。測定の自動化は 2 足歩行ロボット用 CPU ボード(VS-RC003HV, ヴイストン社)で 3 個のサーボモータを制御することで実現した。そのうち 2 個のサーボモータで Reader を動かし，マウスケージの下面を平面的に走査した。それに同期して 1 個のサーボモータで Reader の測定ボタンを押した。これにより放射状に配置した 6 個のケージ内のマウス腹腔温を 10 分間隔で数日間にわたり計測することが可能となった。

（9）冬眠様選択的スプライシングの変化における Cold-inducible RNA-binding protein 転写物の定量的解析

堀井有希[1]，白石茂菜実[2]，椎名貴彦[2]，志水泰武[2]
（[1]岐阜大学 糖鎖生命コア研究所 糖鎖分子科学研究センター，
[2]岐阜大学 応用生物科学部 獣医生理学研究室）

冬眠動物であるシリアンハムスターにおいて，冬眠時に Cold-inducible RNA-binding protein (CIRP) の選択的スプライシングの発現パターンが変化することを見出してきた。また，人為的に，マウスにおいても冬眠様の発現パターンへ誘導することができた。我々は，選択的スプライシングの変化により，機能的な CIRP mRNA の量が増加しているのではないかと予想した。そこで，ddY 系統のマウスにおける CIRP 遺伝子の発現パターンによる CIRP 転写物の発現量の変化を調べた。

マウスの血液を採取し，37 ℃，28 ℃ または 15 ℃ で保温し，RT-PCR 法により発現を解析した。PCR 産物の電気泳動により，37 ℃ 及び 15 ℃ で保温した場合には，CIRP mRNA と共にスプライシングバリアントが検出された。一方，28 ℃ で保温した場合には，CIRP mRNA のみに発現が集約する，冬眠様のスプライシングパターンが確認された。リアルタイム RT-PCR による定量的解析では，全ての温度条件において，CIRP スプライシングバリアントと CIRP mRNA の総量は変化しなかった。一方，28 ℃ の条件では，37 ℃ 及び 15 ℃ の条件よりも CIRP mRNA の発現量が高かった。冬眠様の選択的スプライシングの変化は，転写量を変化させずとも素早く CIRP mRNA の発現効率を上昇させる機序である可能性が示唆された。

（10）日内休眠がマウスの Cold-inducible RNA-binding protein 遺伝子の選択的スプライシングに与える影響

白石茂菜実[1]，堀井有希[3]，椎名貴彦[1,2]，志水泰武[1,2]
（[1]岐阜大学 応用生物科学部 共同獣医学科 獣医生理学研究室
[2]岐阜大学大学院 共同獣医学研究科 獣医生理学研究室
[3]岐阜大学 糖鎖生命コア研究所 糖鎖分子科学研究センター）

【背景と目的】Cold-inducible RNA-binding protein (CIRP) は，低温時に発現が増加し，細胞を保護する作用を発揮するタンパク質の一つである。我々は，冬眠中のハムスターにおいて CIRP 遺伝子に特徴的な選択的スプライシングの変化が起こることを明らかにしてきた。さらに，非冬眠動物であるマウスにおいても強制的に体温を低下させる処置により，冬眠様の選択的スプライシングを誘導することに成功した。本研究では，マウスが自発的に体温を低下させる日内休眠を行うことに着目し，非冬眠動物においても自律的な CIRP 遺伝子のスプライシングの変化が起こるか検討した。

【方法】C57BL6J 系マウスの皮下に体温測定用ロガーを設置し，絶食により日内休眠を誘導した。脳及び心臓における CIRP mRNA の発現を RT-PCR 法により解析した。

【結果と考察】平常体温時のマウスでは，脳および心臓で複数の CIRP 遺伝子スプライシングバリアントが発現していた。一方，日内休眠により体温が低下したマウスにおいては，機能的な CIRP タンパク質に翻訳されるスプライシングバリアントのみが発現していた。このパターンの変化は冬眠時のハムスターと同等であった。休眠前および覚醒後のマウスの心臓，脳では平常体温時と同じ複数のバリアントが観察され，可逆的であることが示された。これらの結果から，細胞保護作用をもつ CIRP タンパク質の選択的スプライシングによる発現制御は，冬眠動物のみならず非冬眠動物においても普遍的に存在していることが明らかとなった。

7. 痛みの研究会

2022 年 1 月 31 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）Ivabradine Hydrochloride (IVA) の鎮痛作用

劉　思丹（第一三共㈱ トランスレーショナルサイエンス第二部門）

（２）サルファイドによる Cav3.2 依存性疼痛と有機ゲルマニウムの効果

関口富美子[1]，増田寛志[1]，笠波嘉人[1]，小池寧々[1]，南郷優希[1]
島田康弘[2]，杉本果歩[1]，佐藤克行[2]，中村宜司[2]，山口浩明[3]
田邉元三[4]，丸本真輔[5]，坪田真帆[1]，川畑篤史[1]
（[1]近畿大学 薬学部 病態薬理学研究室，[2]浅井ゲルマニウム研究所
[3]山形大学大学院 医学系研究科 創薬科学講座
[4]近畿大学 薬学部 有機薬化学研究室，[5]近畿大学 共同利用センター）

（３）甘草由来フラボノイドおよびエストロゲンによる TMEM16A 阻害

加藤真未[1,2]，髙山靖規[1]，砂川正隆[1]
（[1]昭和大学 医学部 生理学講座，[2]九州大学大学院 薬学研究院 薬理学分野）

（４）側坐核内ドパミン D1 受容体含有神経細胞の活性化による痛覚制御機構の解析

濱田祐輔[1,2]，佐藤大介[1]，成田道子[2,3]，田中謙一[1]，葛巻直子[1,2]，成田　年[1,2]
（[1]星薬科大学 薬理学研究室，[2]国立がん研究センター 研究所 がん患者病態生理研究分野
[3]東京医科大学 医学総合研究所 分子細胞治療研究部門）

（５）三叉神経脊髄路核尾側亜核ニューロンにおける IL-33 を介した興奮性神経伝達の変調機構

木村有貴，林　良憲，篠田雅路（日本大学 歯学部 生理学講座）

（６）一次体性感覚野の痛みに関わる神経細胞の役割

石川達也，Ilia Potapenko，奥田洋明，堀紀代美，尾﨑 紀之
（金沢大学 医薬保健研究域 医学系 機能解剖学）

（７）Investigation of the interaction between TRPV3 and TMEM79 in mouse keratinocytes

Jing Lei[1,2,3]，Takeshi Matsui[4,5]，Masayuki Amagai[4,6], and Makoto Tominaga[1,2,3]
([1]生理学研究所 細胞生理研究部門，[2]総合研究大学院大学 生命科学研究科
[3]生命創成探究センター 温度生物学研究グループ
[4]理研 生命医科学研究センター 皮膚恒常性研究チーム
[5]東京工科大学 応用生物学部，[6]慶應義塾大学 医学部 皮膚科学）

（８）マウス糖尿病性末梢神経障害における温痛感覚変化を明らかにする温度勾配装置

笹島沙知子[1,2], 近藤正樹[1], 宇治澤知代[2,3], 井上利恵子[1], 茂木幹雄[1],
速水智英[1],浅野紗恵子[1], 森下啓明[1], 姫野龍仁[1], 恒川　新[1],
加藤義郎[1], 中村二郎[1],神谷英紀[1], 富永真琴[2,3]
（[1]愛知医科大学病院 糖尿病内科，[2]生理学研究所 細胞生理研究部門
[3]生命創成探究センター 温度生物学研究グループ）

（９）【招待講演】神経傷害性疼痛モデルにおける損傷 C-線維終末の可塑的変化

山中博樹（兵庫医科大学解剖学講座神経科学部門）

（10）【招待講演】がん化学療法誘発性末梢神経障害動物モデルでの妥当な評価法

中川貴之，吉田圭織，山中凛太朗，山本京奈，荻原孝史，今井哲司
（京都大学 医学部附属病院 薬剤部）

（11）【招待講演】痛みを慢性化する脳回路の探索

大澤匡弘[1]，宮本啓補[1]，山﨑久朗[1]，梅澤直樹[1]，竹内雄一[2]，樋口恒彦[1]，粂和彦[1]
（[1]名古屋市立大学大学院 薬学研究科，[2]北海道大学大学院 薬学研究院）

（12）【招待講演】ミクログリアの性差と神経障害性疼痛

木口倫一（和歌山県立医科大学 薬学部 生体機能解析学研究室)

（13）【特別・教育講演】慢性痛の成立における腕傍核・扁桃体システム可塑性の能動的役割

加藤総夫（東京慈恵会医科大学 神経科学研究部／痛み脳科学センター)

【参加者名】

南　雅文（北海道大学），半場道子（福島県立医科大学），河野達郎（国際医療福祉大学），太田　浄（群馬大学），田代晃正（防衛医科大学校），守屋正道（帝京平成大学），前田仁士（植草学園大学），篠田雅路･林　良憲･坪井美行･木村有貴･大島絵莉（日本大学），坂井　敦･丸山基世（日本医科大学），加藤総夫･杉村弥恵･高橋由香里･徳永亮太･浮地里佳子･佐藤奈保子･東　怜花（東京慈恵会医科大学），栗栖諒子（東京医科歯科大学），成田　年･森　友久･葛巻直子･濱田祐輔･須田雪明･佐藤大介･田中謙一･眞壁一志･渡邊諒･牟田武尊･北條達也･松浦吉孝･角谷　龍･金子萌々音･高田優太朗･井手ゆきの･河村菜央･福岡由莉香･垣内万菜香（星薬科大学），山本将大（国立国際医療研究センター），砂川正隆･高山靖規･加藤真未（昭和大学），緒形雅則･渡辺　俊（北里大学），矢島愛美（鶴見大学），馬場　洋（新潟大学），太田大樹（新潟医療福祉大学），歌　大介（富山大学），尾崎紀之･堀紀代美･村中由佳･石川達也（金沢大学），粂　和彦･杉浦健之･大澤匡弘･酒井美枝･小西紗菜･中曽根美奈（名古屋市立大学），坂野裕洋（日本福祉大学），小山なつ（滋賀医科大学），中川貴之･今井哲司（京都大学医学部附属病院），Erkin KURGANOV（京都工芸繊維大学），川畑篤史･関口富美子･笠波嘉人（近畿大学），小西克侑（大阪大学），仙波恵美子（大阪行岡医療大学），片野泰代･井上明俊（関西医科大学），木口倫一･上　拓馬（和歌山県立医科大学），上　勝也（宝塚医療大学），古江秀昌･荒田晶子･山中博樹･古賀啓祐･中村善隆（兵庫医科大学），宮地孝明（岡山大学），津田　誠･内山瑳和子･末藤大智（九州大学），藤田亜美（福岡歯科大学），城戸瑞穂･曹　愛琳（佐賀大学），脇坂貴大（熊本大学），倉本恵梨子･岩井治樹（鹿児島大学），御領憲治（日産化学㈱），増井邦晴（丸石製薬㈱），加藤貴大･神谷明裕･中山敬司（小野薬品工業㈱），守口由紀子･宍戸祐二（ラクオリア創薬㈱），青野浩之･關　巖･錦　浩正･三宅真澄（あゆみ製薬㈱），長谷川穂乃歌（帝人ファーマ㈱），北野　裕･土門友紀･劉　思丹（第一三共㈱），富永真琴･曽我部隆彰･加塩麻紀子･齋藤　茂･水藤拓人･佐藤翔馬･Jing LEI（生理学研究所），笹島沙知子（生理学研究所/愛知医科大学病院）

【概要】

痛みの研究会を 1 月 31 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前線の解析や新規知見が，特別教育講演 1 題，招待講演 4 題，一般講演 8 題として報告された。これに対して 114 名もの参加があり，参加者や座長との活発な議論や意見交換が行われ，有意義な研究会となった。本会の目的の 1 つを，当該分野の裾野を広げる事とし，特に若手研究者の発表を歓迎した。日々実験を行っている大学院生や研究員等から現場の声や実験成果が紹介された。これらは一般講演として各 20 分確保した為，十分な成果報告が行われ，質疑応答に加えてシニア研究者からのコメントや提案が行われるなど，若手研究者と十分な意見交換が行われた。また，招待講演（各 30 分）として，末梢 C-線維中枢端の可塑的変化（山中），がん治療時の神経傷害の機能変化と評価法（中川），痛みの慢性化と脳神経回路（大澤），ミクログリアと疼痛の性差（木口）に関する最新の知見や研究成果が報告された。多角的視点から得られたこれらの研究に対しても，熱心で十分な討論・議論が展開され，痛みを伝導路の点として理解せず，統合的，或いは複合的視点で捉える

ことの重要性が理解された。さらに，特別教育講演は 1 時間を確保し，慢性痛の成立と能動的な扁桃体の役割について，長年にわたる研究の展開や最新の成果が詳細に紹介され（加藤），活発な議論がなされた。特に，痛みの本質とは何か，それを解明する今後の研究方針や方策の重要性が問題提起され，国内の痛み研究をリードする研究者らと深い議論が展開された。予定を 1 時間以上延長し，計 2 時間を超える教育講演となったが，真の進むべき研究の方向性を参加者の多くが賛同し，会は盛会のうち閉会となった。会の終了後世話人に対し，本会の意義や重要性，所内対応部門によって痛みの研究会が長年継続されている事への感謝の連絡が数多く寄せられた。

（1）Ivabradine Hydrochloride (IVA) の鎮痛作用

劉　思丹（第一三共㈱ トランスレーショナルサイエンス第二部門）

HCN family (Hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated ion channel family) は過分極依存性陽イオンチャネルであり，4 つのサブタイプ（HCN1，2，3，4）が存在し，生理機能として心臓や神経におけるペースメーカー電流を担う。

末梢感覚神経 C 線維の HCN2 を特異的に Knock-out したマウスでは神経障害性及び炎症性の疼痛モデルにおける痛覚過敏症状が消失することから，HCN2 は広い鎮痛スペクトルを期待できる末梢作用型鎮痛薬の標的候補として注目されている。

心不全治療薬である IVA は，末梢作用型 HCNs pan inhibitor であり，主薬効である HCN4 と HCN1 を介した徐脈作用に加えて，HCN2 を介した鎮痛作用も期待される。演者らは，IVA について神経障害性疼痛及び炎症性疼痛に対する In vitro/vivo 薬効薬理作用を検証し，ドラッグリポジショニングの可能性を検討した。

ラット DRG 神経及びヒト iPS 由来知覚神経 C 線維において，IVA はイオンチャネル作用型化合物や起炎因子によって惹起される過剰な神経発火を濃度依存的に抑制した。また，神経障害性疼痛モデルマウス及び炎症性疼痛モデルマウスにおいて，IVA (10, 30 mg/kg, i.p.) は用量依存的な鎮痛作用を示した。一方で，マウス心拍数に対しても IVA (10 mg/kg, i.p.) は有意な徐脈作用を示した。

以上の結果から，IVA は神経障害性疼痛及び炎症性疼痛に対して有望な薬効薬理作用が期待できることが示唆されたが，鎮痛作用と徐脈作用との選択性マージンが乏しいことも示唆されたため，IVA そのものを鎮痛薬としてドラッグリポジショニングするのは困難であると考えられた。

（2）サルファイドによる Cav3.2 依存性疼痛と有機ゲルマニウムの効果

関口富美子[1]，増田寛志[1]，笠波嘉人[1]，小池寧々[1]，南郷優希[1]
島田康弘[2]，杉本果歩[1]，佐藤克行[2]，中村宜司[2]，山口浩明[3]
田邉元三[4]，丸本真輔[5]，坪田真帆[1]，川畑篤史[1]
（[1]近畿大学 薬学部 病態薬理学研究室，[2]浅井ゲルマニウム研究所
[3]山形大学大学院 医学系研究科 創薬科学講座
[4]近畿大学 薬学部 有機薬化学研究室，[5]近畿大学 共同利用センター）

サルファイド類は Cav3.2 T 型 Ca2+チャネルを介する膜電流（T-current）を増大させることで痛みを増強する。サルファイド類は Zn2＋との親和性が高く，生体内で Cav3.2 の機能は Zn2＋によって恒常的に抑制されている。そこで今回は，サルファイド類の Cav3.2 機能増強作用と Zn2＋との関係を解析し，さらに有機ゲルマニウム類の repagermanium の水解物 3-(trihydroxygermyl) propanoic acid（THGP）の影響を検討した。Cav3.2 発現 HEK293

細胞において，サルファイド類の Na2S と NaSH は 3-30 μM の範囲で T-current を迅速かつ持続的に増大させたが，ポリサルファイド類の Na2S3 と Na2S4 にはそのような効果はほとんど見られなかった。Na2S の T-current 増強効果は，緩和な Zn2＋キレート作用を有する tricine を細胞外液に添加すると消失したが，ZnCl2 添加により回復した。次に，常温で THGP と NaSH または Na2S を混和すると，THGP に S が取り込まれた化合物が迅速に生成されること，また，この反応は ZnCl2 により可逆的に阻害されることを LC-MS/MS 法と 1H-NMR 法を用いて証明した。さらに，THGP は Cav3.2 発現 HEK293 細胞において Na2S の T-current 増大作用を抑制し，マウスにおいて Na2S 誘起後肢アロディニアと内因性 H2S/Cav3.2 系が関与する内臓痛を抑制した。以上より，サルファイドは Cav3.2 の Zn2＋抑制を解除することで痛みを促進すること，repagermanium 水解物はサルファイドを捕捉することで痛みを抑制することが示唆された。

（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，甘草由来フラボノイドおよびエストロゲンによる TMEM16A 阻害

加藤真未[1,2]，髙山靖規[1]，砂川正隆[1]
（[1]昭和大学 医学部 生理学講座，[2]九州大学大学院 薬学研究院 薬理学分野）

Transmembrane 16A (TMEM16A) は一次感覚神経や上皮細胞に発現するカルシウム活性化クロライドチャネルである。その活性化は疼痛惹起や腸管蠕動運動，インスリン分泌などの多くの生理機能に関与する反面，喘息，下痢，および腫瘍形成といった病態に関わることが報告されている。本研究ではホールセルパッチクランプ法を用いた電気生理学的解析より，甘草由来フラボノイドであるリクイリチゲニンがマウスおよびヒト TMEM16A 電流を阻害することを発見した。リクイリチゲニンの薬理学的作用の中には疼痛軽減作用，抗炎症作用，抗がん作用など TMEM16A の阻害によっても説明し得る事象が多く含まれていた。しかしながら，両者の関係については明らかにされておらず，本研究で明らかとなったリクイリチゲニンによる TMEM16A 阻害が，リクイリチゲニンの薬理学的作用における分子メカニズムの一つである可能性が示された。

また先行研究では，リクイリチゲニンがエストロゲン受容体 β の選択的アゴニストであることが報告されている。そこで 4 種類の内因性エストロゲンを用い，マウスおよびヒト TMEM16A に対する阻害作用について検討を行った。その結果，妊娠期に多く産生されるエストリオールが，マウス・ヒトともに最も強い TMEM16A 阻害作用を持つことが明らかとなった。エストリオールによる TMEM16A 阻害は妊娠期特有の生理機能および病態に関与し得る可能性がある。

（4）側坐核内ドパミン D1 受容体含有神経細胞の活性化による痛覚制御機構の解析

濱田祐輔[1,2]，佐藤大介[1]，成田道子[2,3]，田中謙一[1]，葛巻直子[1,2]，成田　年[1,2]
（[1]星薬科大学 薬理学研究室，[2]国立がん研究センター 研究所 がん患者病態生理研究分野
[3]東京医科大学 医学総合研究所 分子細胞治療研究部門）

脳内報酬系において重要な位置付けにある側坐核は，90 %以上がドパミン受容体含有神経細胞で占められている。最近の研究で，側坐核内ドパミン D1 受容体含有神経細胞は，中脳領域へと投射し，接続する介在神経を介して正の情動を強化することが明らかになった。そこで本研究では，側坐核内ドパミン D1 受容体含有神経細胞を特異的に活性制御した際の疼痛に対する影響について検討を行った。光遺伝学的手法に従い，D1-Cre マウスの側坐核内に AAV-FLEX-ChR2 を微量注入することで D1-Cre::ChR2NAc マウスを作製し，特定波長

の光照射を側坐核あるいは腹側被蓋野にそれぞれ行うことで側坐核内ドパミン D1 受容体含有神経細胞を特異的に活性化した。その結果，坐骨神経結紮による痛み閾値の低下は，いずれの刺激によっても一過性に回復した。次に，7 日間の反復的な光刺激により，側坐核内ドパミン D1 受容体含有神経細胞を繰り返し活性化させた際の坐骨神経結紮による低下した痛覚閾値に対する影響について検討を行った結果，疼痛閾値のベースラインの有意な回復が認められ，その回復は刺激を中止しても，数日間継続した。以上，本研究の結果より，側坐核内ドパミン D1 受容体含有神経を介した辺縁-中脳-辺縁系の円環的 feed forward ネットワークの活性化が疼痛制御や遷延化疼痛のリセットに重要な役割を果たす可能性が示唆された。

（5）三叉神経脊髄路核尾側亜核ニューロンにおける IL-33 を介した興奮性神経伝達の変調機構

木村有貴，林　良憲，篠田雅路（日本大学 歯学部 生理学講座）

これまでに，神経障害性疼痛におけるサイトカインの寄与が多くの研究において明らかになっている。近年では，種々のサイトカインの中でも interleukin (IL)-33 の神経障害性疼痛への関与が示唆されているが，IL-33 に起因するシグナルの詳細は十分に解明されていない。本研究では，口腔顔面領域の神経障害性疼痛モデルを使用し，神経障害性疼痛時における IL-33 の役割を解析した。

実験には C57BL/6J マウスの眼窩下神経を部分結紮した infraorbital nerve injury (IONI) モデルを使用した。IONI 後，口ひげ部で機械アロディニアが認められ，三叉神経脊髄路核尾側亜核（Vc）における IL-33 陽性細胞数およびタンパク量の増加が認められた。Vc における IL-33 はオリゴデンドロサイトに局在し，IL-33 受容体である ST2 はニューロンに局在していた。IONI 後に口ひげ部で生じる機械アロディニアは IL-33 阻害薬の大槽内投与により緩和し，正常マウスへの IL-33 の大槽内投与により口ひげ部で機械アロディニアが生じた。IL-33 の大槽内投与により，Vc における GluN2B のリン酸化および GluN2B を介したシナプス電流の増大が認められた。また，Vc の GluN2B のリン酸化には Fyn キナーゼのリン酸化が関与しており，IL-33 誘発性の機械アロディニアは Fyn キナーゼ阻害薬により抑制された。

以上の結果より，オリゴデンドロサイトで合成された IL-33 がニューロンの ST2 に作用し，Fyn キナーゼを介して GluN2B のリン酸化を生じさせることで顔面領域の神経障害性疼痛が発症することが示唆された。

（6）一次体性感覚野の痛みに関わる神経細胞の役割

石川達也，Ilia Potapenko，奥田洋明，堀紀代美，尾﨑 紀之
（金沢大学 医薬保健研究域 医学系 機能解剖学）

慢性疼痛患者の多くは不安障害等も同時に発症し，QOL 低下の原因となっている。しかし，不安障害に深く関わる脳において痛覚認知と不安障害の関係は未だ不明な点が多く，痛みに対するこれら脳機能連関の解明は急性及び慢性疼痛の効果的な治療法確立に重要である。これまでの研究から，一次体性感覚野(S1)が痛覚認知に関わり，海馬や扁桃体等が不安障害に関わる事が知られ，末梢からの上行路が明らかにされているが，S1 での痛覚認知が不安障害に影響を及ぼしているか不明であった。また，S1 は痛みや痒み等の侵害刺激だけでなく，触覚や温度感覚等も認知しており，S1 が不安等情動に影響を及ぼすか詳細に検討するには痛みに関わる S1 の神経細胞のみの活動を制御する必要があった。

したがって，本研究では一次体性感覚野の痛みに関わる神経細胞の機能を明らかにするために，化学遺伝学的手法（DREADD システム）を痛みに関わる S1 の神経細胞にのみ構築し S1 の痛覚認知が不安障害等情動へ与える影響及びそれを司る神経回路を明らかにする事

を目的とした。

DREADD システムにより痛みに関わる S1 の神経細胞の活動を亢進させると，機械刺激に対する閾値の低下と不安様行動が誘発される事が明らかになり，これには S1 と視床間の神経回路が関与している可能性を行動学的及び組織学的実験により見出した。

本研究結果から，痛みに関わる S1 の神経細胞の役割は痛覚認知だけでなく情動へも影響を及ぼしている事が示唆された。

（7）Investigation of the interaction between TRPV3 and TMEM79 in mouse keratinocytes

Jing Lei[1,2,3]，Takeshi Matsui[4,5]，Masayuki Amagai[4,6], and Makoto Tominaga[1,2,3]
([1]生理学研究所細胞生理研究部門，[2]総合研究大学院大学生命科学研究科
[3]生命創成探究センター温度生物学研究グループ
[4]理研生命医科学研究センター皮膚恒常性研究チーム
[5]東京工科大学応用生物学部，[6]慶應義塾大学医学部皮膚科学)

Itch-specific therapies of skin disease have been put in great effort to investigate the underlying mechanisms and potential targets. Cation-permeable transient receptor potential V3 (TRPV3) ion channel is predominantly expressed in skin keratinocytes, participating in physiological progress ranging from somatosensation to inflammation. TRPV3 level is increased in isolated keratinocytes from mouse model of atopic dermatitis (AD), a most common chronic skin disease with spontaneous itch and skin barrier disfunction, and gain of function mutation of TRPV3 is known to be related with a hereditary skin disease, Olmsted syndrome with severe itch. However, the underlying mechanism of how TRPV3 is implicated in itch signaling is still poorly understood. Interestingly, a less known transmembrane protein 79 (TMEM79) has been introduced to play roles for pathogenesis of AD in mice. These facts promoted us to consider a possible interaction between TRPV3 and TMEM79 in skin keratinocytes. In this study, we revealed that mouse TMEM79 was able to suppress 2-APB-induced currents in mouse TRPV3-transfected HEK293 cells, by downregulating TRPV3 expression level on plasma membrane. Co-immunoprecipitation and immunofluorescence studies further indicated that TMEM79 mediated the trafficking of TRPV3 via physical protein-protein interaction. Consistent with the results in HEK293 cells, 2-APB-induced mouse TRPV3 currents were larger in primary mouse keratinocytes when TMEM79 was deleted. Based on the above evidence, our future work will focus how TRPV3-TMEM79 interaction contributes to itch, which may provide a novel understanding of therapy for itch and skin disease.

（8）マウス糖尿病性末梢神経障害における温痛感覚変化を明らかにする温度勾配装置

笹島沙知子[1,2]，近藤正樹[1]，宇治澤知代[2,3]，井上利恵子[1]，茂木幹雄[1]，速水智英[1]，浅野紗恵子[1]
森下啓明[1]，姫野龍仁[1]，恒川　新[1]，加藤義郎[1]，中村二郎[1]，神谷英紀[1]，富永真琴[2,3]
([1]愛知医科大学病院 糖尿病内科,[2]生理学研究所 細胞生理研究部門,
[3]生命創成探究センター 温度生物学研究グループ)

糖尿病末梢神経障害(DPN)は糖尿病患者によくみられる，しびれや疼痛，感覚鈍麻を伴う合併症である。その発症進展機序には，高血糖，脂質異常，インスリンシグナル異常，細小血管障害など多数の要因が関わる。DPN の温度関連症状には，今までに齧歯類において TRPV1 および TRPA1 の発現や機能が関与すると報告されている。その温度依存性行動変化を評価するために，プランターテストやホットプレートテストが広く使用

されてきた。我々の研究でもプランターテストを用いて，ストレプトゾトシン誘発 DPN モデルマウスと TRPV1-/-マウスで同様に温痛覚鈍麻が観察されたが，DPN モデルマウスの脊髄後根神経節における TRPV1 と TRPA1 の発現低下や機能変化を認めなかった。一方，マウス行動の自由度を高め，回避行動だけではなく温度嗜好性も分析できる温度勾配装置（Thermal Gradient Ring：TGR）を使用したところ，DPN モデルマウスと TRPV1-/-マウスの温度依存性表現型の変化を明確に区別することができた。DPN は多因子の影響で進行するため，温度関連症状も多様であり，相応する行動-反応変化を呈する。これらを分析するためには複数の行動実験によるアプローチが必要であり，TGR を用いた分析は DPN の初期段階で発生する温度依存性の軽微な徴候を検出するのに適している可能性がある。

（9）【招待講演】神経傷害性疼痛モデルにおける損傷 C-線維終末の可塑的変化

山中博樹（兵庫医科大学 解剖学講座 神経科学部門）

末梢神経損傷後の脊髄の後角ではシナプスが構造的に変化し，それによるネットワークの変化が神経傷害性疼痛に寄与すると考えられている。しかし，このような可塑的変化における損傷一次求心性神経終末の役割は不明であった。本研究では，末梢神経損傷後の後角 I-II 層における細胞間接着分子 L1-CAM (total L1-CAM [tL1-CAM]) 陽性の一次求心性神経終末の形態と後角のシナプスとの接着パターンの変化を検討した。共焦点レーザー顕微鏡を用いた画像定量では，tL1-CAM 陽性終末は，C 線維終末で肥大した varicosity 様の形態変化を示した。tL1-CAM 陽性 varicosity では，リン酸化（Ser1181）L1-CAM (pL1-CAM) と Growth associated protein 43 (GAP-43) が増加し，同時に CGRP，galanin が集積している事がわかった。しかし，この varicosity はシナプス前終末マーカーである synaptophysin との共存は示さなかった。画像の三次元再構成によってシナプス接着を定量的に分析したところ，末梢神経損傷後に樹状突起上シナプスの減少と tL1-CAM 陽性 varicosity 上での軸索−軸索間シナプス接着の増加を確認した。これらの tL1-CAM 陽性 varicosity にはカルシウムチャネル alpha 2 delta-1 サブユニットの増加を認めたため，プレガバリンを投与したところ，tL1-CAM 陽性 varicosity の肥大化の抑制に伴って pL1-CAM の蓄積を阻害し，上記の後角のシナプス接着パターンの変化を抑制した。これらの結果は，末梢神経損傷後の可塑性の一つが L1-CAM 陽性 varicosity へのシグナルの収束であり，損傷 C 線維終末が脊髄内のシグナルを痛みに変換するゲートとして働いているのではないかと考えている。

（10）【招待講演】がん化学療法誘発性末梢神経障害動物モデルでの妥当な評価法

中川貴之，吉田圭織，山中凛太朗，山本京奈，荻原孝史，今井哲司
（京都大学 医学部附属病院 薬剤部）

白金系，タキサン系など一部の細胞傷害性抗がん薬によって誘発される末梢神経障害（CIPN）は，有効な予防/治療法はなく，重症化に伴い抗がん薬の減量や中止に至ることもある。その症状は薬剤毎に多少異なるが，四肢末端のしびれ（感覚障害，異常感覚，錯感覚）や痛みなど感覚神経障害に基づく症状が主となる。重篤な CIPN になれば，痛み（主に自発痛，稀に誘発痛）も発生するが，その初期症状や主たる症状はしびれであり，実際，CIPN を対象とした臨床研究では，日常生活動作の制限のほか，触覚/振動覚/温冷覚の障害やしびれを評価することが多い。一方，CIPN 動物モデルでは，ほとんどのケースで von Frey フィラメントによる機械過敏応答（ヒト CIPN では逆に反応が低下する）や熱/冷過敏応答などの誘発痛が測定され，感覚障害などが評価されることはほとんどなく，ヒトへの外挿性が問題となる可能性がある。この基礎/臨床研究間のギャップを

埋めるため，我々はオキサリプラチン（10 mg/kg，週 1 回 8 週間）による CIPN 動物モデルを再検討し，熱刺激（Hargreaves テスト）や触刺激（adhesion removal テスト）に対する感覚障害を検出し，評価してきた。その結果，機械/冷過敏応答は抗がん薬投与数日～数週間内の早期から現れるのに対し，熱/触覚障害は神経軸索障害や表皮内神経線維の退縮と同様に 6～8 週後に生じることを確認した。また，本モデルでは，熱/触覚障害に先行して，神経性血管応答の低下を伴う血流障害が発生し，血流障害が CIPN の進行に少なくとも一部関与することを見出した。

CIPN 動物モデル用いた研究結果の解釈には一定の注意が必要であり，ヒト CIPN と相関する妥当性のある評価法が必要であると考えられる。

（11）【招待講演】痛みを慢性化する脳回路の探索

大澤匡弘[1]，宮本啓補[1]，山﨑 久朗[1]，梅澤直樹[1]，竹内雄一[2]，樋口恒彦[1]，粂　和彦[1]
（[1]名古屋市立大学大学院 薬学研究科, [2]北海道大学大学院 薬学研究院）

神経障害性疼痛の発症機序については不明な点が多い。我々はこれまでに，神経障害性疼痛時に体性感覚認知に関与する脳領域に加え，情動に関与する脳領域も活性化していることを明らかにしている。痛み刺激は，脊髄後角（SDH）を中継し様々な脳領域を活性化する。これまでに，SDH から視床後腹外側核（VPL）や外側腕傍核（LPB）へ投射する神経が同定されている。そこで本研究では，SDH から VPL や LPB に投射する神経回路の活性化が疼痛の慢性化に寄与するか検討した。

Designer Receptor Exclusively Activated by Designer Drugs (DREADDs) 法を用いて SDH から LPB へ投射する神経路を抑制したところ，SNI モデルで見られる機械痛覚過敏が部分的に抑制されたが，VPL への投射ニューロンを抑制しても機械痛覚過敏は影響を受けなかった。健常動物において，SDH から LPB へ投射するニューロンを活性化すると機械痛覚閾値が低下し，活性化終了後も低下が持続した。一方，VPL へ投射するニューロンを活性化すると機械痛覚閾値が低下したが，活性化終了後に痛覚閾値低下は消失した。本研究により，痛みを慢性化させる神経回路が SDH から LPB に投射する神経であることが明らかになった。

（12）【招待講演】ミクログリアの性差と神経障害性疼痛

木口倫一（和歌山県立医科大学 薬学部 生体機能解析学研究室)

神経障害性疼痛の病態には脊髄ミクログリアが重要な役割を果たすと考えられているが，その役割は性によって異なる可能性が近年示唆されるようになった。その詳細を明らかにするため，雌雄それぞれのマウスにおいてミクログリアが痛みに及ぼす影響を検討した。

坐骨神経傷害マウスの脊髄後角において，ミクログリアの活性化が雌雄ともに認められた。ミクログリア枯渇薬である PLX3397 を坐骨神経傷害マウスに与えると，雄ではアロディニアが抑制されたが，雌では抑制効果が認められなかった。また PLX3397 によるミクログリアの減少の程度は，雄と比較して雌では弱いことが示された。CX3CR1-Cre を用いて脊髄ミクログリアに Gi-DREADD を誘導すると，雄でのみ坐骨神経傷害後のアロディニアが抑制された。一方，CX3CR1-Cre を用いて脊髄ミクログリアに Gq-DREADD を誘導すると，雄でのみアロディニアが惹起された。Gq-DREADD による炎症性因子の発現増加は，雄と比較して雌では弱いことも明らかになった。

上記の結果より，ミクログリアの性質自体が雌雄で異なっており，それが痛みの調節機構に影響を及ぼしていると考えられる。今後はミクログリアにおける性差形成の分子基盤を明らかにすることが重要である。

（13）【特別・教育講演】慢性痛の成立における腕傍核・扁桃体システム可塑性の能動的役割

加藤総夫（東京慈恵会医科大学 神経科学研究部／痛み脳科学センター)

痛みが「苦痛」を不可避的に伴う機構を解明することなしにその理解・克服は不可能である．痛みの苦痛を実現している生物学的機構の解明に取り組んできた．

扁桃体は，さまざまな情動関連の脳機能モジュールからの入力を受けて，多様な情動関連機能実行神経モジュールに投射する情動関連情報処理の「ハブ」である．特に扁桃体中心核（CeA）は，脊髄後角浅層／三叉神経脊髄路尾側亜核から腕傍核（PB）を経て直接的に侵害受容情報を受けるとともに，最後野－PB 系を介して脳内で最も早く全身の炎症の情報を得る．ラット神経障害性疼痛モデルで PB−CeA シナプス伝達が下肢痛覚過敏に相関して増強する事実（Ikeda, Takahashi, Inoue, Kato, 2007）を見いだして以来，このシナプス可塑性の特性や分子機構，ネットワーク応答ダイナミクス，行動観察，全脳活動履歴可視化，条件付け学習獲得などを，持続性疼痛モデル，ノックアウト動物，FosTRAP 法，光・化学遺伝学法，恐怖／脅威条件付け，自発・オペラント行動評価，およびマンガン造影 MRI などのアプローチを駆使して示してきた．PB- CeA 系は，身体の傷害炎症状況を他の内感覚情報と併せてモニターするとともに，状況に連動させて，痛覚感度と自律・内分泌・行動などの痛覚関連応答の発現を能動的に制御する痛み苦痛コアシステムであると結論した。

8. 生命を支える硫黄生物学の最前線

2021 年 7 月 30 日－7 月 31 日

代表・世話人：魏　范研（東北大学）
所内対応者：西田基宏（生理学研究所）

（1）超硫黄分子による電子転移反応とエネルギー代謝
赤池孝章（東北大学大学院医学系研究科環境医学分野）

（2）NADPH オキシダーゼおよび一酸化窒素合成酵素による超硫黄活性化機構
髙田　剛（東北大学大学院医学系研究科環境医学分野）

（3）Supersulfides Synthesis is Not Impede by the Disruption of Canonical Pathway Enzymes
Qamarul Hafiz Zainol Abidin（東北大学大学院医学系研究科環境医学分野）

（4）硫黄分子による Se-水銀化されたセレノプロテイン P のターンオーバー
外山喬士（東北大学大学院薬学研究科）

（5）鉄硫黄クラスター生合成マシナリーの構造・機能解析
平林　佳（東京理科大学理学部）

（6）超硫黄分子による心筋ミトコンドリアの頑健性制御
西田基宏（九州大学大学院薬学研究院生理学分野・自然科研究機構生命創成探究センター）

（7）超硫黄分子種によるミトコンドリアエネルギー代謝機構の解明
松永哲郎（東北大学大学院医学系研究科環境医学分野）

（8）ミトコンドリア病の新規治療標的の探索
松田　盛（東北大学加齢医学研究所モドミクス医学分野）

（9）小胞体レドックスによるカルシウム恒常性維持機構
藤井唱平（京都産業大学生命科学研究科）

(10) 分子カプセルによる硫黄および生体分子の捕捉
吉沢道人（東京工業大学科学技術創成研究院化学生命科学研究所）

(11) 超硫黄分子の分子科学的アプローチ：量子化学計算・ラマン散乱
中林孝和（東北大学大学院薬学研究科）

(12) ジニトロベンゼン骨格を持つ Cys-SSH 検出蛍光プローブの開発と 細胞イメージング
川口充康（名古屋市立大学大学院薬学研究科）

(13) 超硫黄化タンパク質の特異的検出法：新規超硫黄ビオチンスイッチ法
Jung Minkyung（東北大学大学院医学系研究科環境医学分野）

(14) 新規アルキル化試薬 N-iodoacetyl L-tyrosine methyl ester を用いた超硫黄メタボローム・プロテオーム解析系の構築
笠松真吾（東北大学大学院医学系研究科環境医学分野）

(15) 超硫黄オミックスの開発に向けた基盤研究
井田智章（東北大学大学院医学系研究科環境医学分野）

(16) 活性硫黄分子種を検出する蛍光プローブの開発とその応用
花岡健二郎（慶應義塾大学大学院薬学研究科）

(17) 紅色細菌における硫化水素・超硫黄分子の検知機構
清水隆之（東京大学大学院総合文化研究科）

（18）硫化水素応答性転写因子 SqrR/BigR/YgaV の大腸菌における機能

Rajalakshmi（東京工業大学生命理工学院）

（19）Effect of supersulfides on the aging of yeast

Naim Hassan（東北大学大学院医学系研究科環境医学分野）

（20）光合成制御にかかわる藍藻 SQR の解析

小林歩夢（東北大学大学院工学研究科）

（21）プラズマ照射による硫黄代謝物の生成とその生理学的意義の解明

田中智弘（自然科学研究機構新分野創成センター）

（22）造血幹細胞における超硫黄分子の役割

村上昌平（東北大学加齢医学研究所遺伝子発現制御分野）

（23）T 細胞受容体 (TCR)/CD3 複合体を標的とした超硫黄分子による免疫応答制御

守田匡伸（東北大学大学院医学系研究科環境医学分野）

（24）Glutathione efflux serve as a proximal upstream event for activation of the NLRP3 Inflammasome

Tianli Zhang（熊本大学大学院生命科学研究部微生物学講座）

（25）超硫黄分子による炎症抑制作用

澤　智裕（熊本大学大学院生命科学研究部微生物学講座）

【参加者名】

西田基宏（自然科学研究機構生理学研究所），本橋ほづみ（東北大学），魏　范研（東北大学），居原秀（大阪府立大学），安田智徳（九州大学），和田啓（宮崎大学），古本裕香（九州大学），谷口雄哉（九州大学），関根弘樹（東北大学），北村大志（東北大学），花岡健二郎（慶應義塾大学），武田遥奈（東北大学），谷貝知樹（東北大学），外山喬士（東北大学），村上昌平（東北大学），中林孝和（東北大学），田原進也（東北大学），西山和宏（九州大学），加藤百合（九州大学），鮎川皓一（九州大学大学院），小谷さゆみ（九州大学），石丸泰寛（東北大学），清水隆之（東京大学大学院総合文化研究科），松田　盛（東北大学，加齢医学研究所），竹田　遥（東北大学大学院工学研究科），佐藤奏音（東北大学大学院），Tang Xiao Kang（九州大学），小林俊介（東北大学），吉田実央（東北大学），白川由美子（東北大学），西村明幸（生理学研究所），田中智弘（自然科学研究機構新分野創成センター），影山莉沙（東北大学大学院），大久保礼真（九州大学大学院），後藤拓実（九州大学大学院），小林歩夢（東北大学大学院），中村正宗（東北大学），金澤理貴（東北大学 工学研究科），笠松真吾（大阪府立大学大学院），増田真二（東京工業大学），中川秀彦（名古屋市立大学），谷　春菜（東北大学 加齢医学研究所），藤井唱平（京都産業大学），下田　翔（生理学研究所），川口充康（名古屋市立大学大学院薬学研究科），三木裕明（大阪大学），潮田亮（京都産業大学），澤　智裕（熊本大学），張田力（熊本大学），重川秀実（筑波大学），井田智章（東北大学大学院），吉沢道人（東京工業大学），高田　剛（東北大学大学院），Jung Minkyung（東北大学大学院），鈴木賢諒（東北大学），Qamarul Hafiz Bin Zainol Abidin（Tohoku University），HASSAN NAIM（Tohoku University），守田匡伸（東北大学），野村聡（㈱ 堀場製作所），松永哲郎（東北大学），酒田康介（九州大学大学院），友清大樹（九州大学），田中高洋（㈱ T's Garden），森原元彦（小野薬品工業㈱），堀内　正（慶應義塾大学），異島　優（徳島大学），平田史明（㈱ユニバーサル・バイオサンプリング），多田羅洋太（弘前大学），山下勇人（㈱大塚製薬工場），高橋正一郎（㈱トライネット），神田　努（鳥取大学），赤池孝章（東北大学），樋田　光（筑波大学），佐藤　聡（東北大学），高田知朗（鳥取大学医学部），西野恒代（協和発酵バイオ㈱），星　尚志（東北大学大学院），大島悦男（協和発酵バイオ㈱），岡村佳映（大阪府立大学），原　太郎（㈱ニップン），松野伸哉（協和発酵バイオ㈱），石渡名澄（㈲パレットコンタクト），徳田　進（昭栄薬品㈱），鷲尾昌彦（富士通㈱），ZHAO MINGYUE（東北大学加齢医学研

究所），浅田康勝（大阪府立大学），山重貴久（京都大学），小前奏明（大阪府立大学大学院），有澤美枝子（九州大学），金野文香（大阪府立大学大学院），成　恩圭（東北大学），佐々木栄太（慶應義塾大学），勝部　諒（サントリーグローバルイノベーションセンター㈱），長井悠佑（㈱島津製作所），遠田隆人（大阪府立大学大学院），浅井さとみ（東海大学），國府大智（弘前大学大学院），斎藤芳郎（東北大学），大脇拓真（大阪府立大学），櫻井久雄（㈱島津製作所），魚住信之（東北大学），榊　洋通（㈱島津製作所），丸山明子（九州大学大学院），奥村　毅（㈱島津テクノリサーチ），SY Liou（JMBC），太田　宏（㈱島津総合サービス），古川博朗（㈱　島津製作所），和田匠太（京都産業大学），西萩一夫（㈱島津製作所），辻井　雅（東北大学），坂本拓斗（大阪府立大学），堀健太郎（㈱島津テクノリサーチ），豊島安健（国立研究開発法人産業技術総合研究所），オオガシンジ（弁理士），國澤研大（㈱島津製作所），津々木博康（熊本大学大学院），向　紀雄（㈱島津製作所），遠山敦彦（㈱島津製作所），梅澤啓太郎（東京都健康長寿医療センター研究所），岸田夏月（東京工業大学），鎌田啓佑（結核研究所），土屋幸弘（昭和薬科大学），笠松俊夫（熊本大学大学院），豊元柊弥（熊本大学大学院）

【概要】

硫黄は地球が誕生してから生命を支えてきた元素である。しかし，酸素を産生・消費する生命体の繁栄により，硫黄の重要性に対する認知度が相対的に低下し，特に，硫黄の酸化還元を受けやすいという性質のために，多くの硫黄代謝物は測定の途中で変化してしまい，その存在が過小評価あるいは見落とされてきた。近年，硫黄代謝物の新たな測定技術が開発されたことを端緒に，様々な硫黄代謝物を正確に捉えることが可能になり，また，超硫黄分子と総称される新しいカテゴリの硫黄代謝物の存在も明らかになってきた。さらにこれらの硫黄代謝物がエネルギー代謝やタンパク質生合成など普遍的な生命機能に不可欠であることも明らかになりつつある。本研究会では硫黄代謝物が関わる多様な生命現象に関して，構造生物学，進化生物学，医学生理学など幅広い研究分野で得られた最先端の知見を共有し議論を深めることで新たな硫黄生物学の開拓を目指して，2021 年 7 月 30 日と 7 月 31 日の二日にわたり開催した。本会議はコロナウイルス感染症対策の観点からハイブリッド方式をとり，東北大学加齢医学研究所国際会議室を本拠地に全国各地の研究施設とオンラインで繋いで開催された。本研究会への参加登録は企業から 28 名，アカデミアから 96 名，計 127 名，そのうち，オンサイト・オンライン合わせて，計 103 名の参加が確認された。会議では全２５題の研究発表があり，硫黄生物学の世界的な研究リーダーである赤池孝章東北大学教授による特別講演以外に，硫黄生物学研究の最前線で活躍している若手研究者による発表も多く，各演題に対して活発な議論が行われた。また，本研究会では論文未発表の結果が多く開示され，多様な研究バックグラウンドを有する研究者ならびに企業関係者が世界最先端の研究結果を共有することで，硫黄生物学の一層の推進が図られた。さらに，本研究会により新規共同研究も生まれ，研究会の波及効果が極めて高いものであった。

（1）超硫黄分子による電子転移反応とエネルギー代謝

赤池孝章（東北大学大学院医学系研究科環境医学分野）

硫黄は自然環境に普遍的に存在し，酸素が地球上に出現する以前から生命進化に深く関わってきた。我々はこれまで，システインパースルフィド（cysteine persulfide）に代表される硫黄原子が連結した構造を持つ超硫黄分子が生体内で大量に合成され，多彩な生理機能を発揮していることを明らかにしてきた。最近，生体内の主要な活性酸素産生酵素である NADPH oxidase (NOX) が超硫黄分子の活性化に関与していることが示された。すなわち，NOX が NADPH の電子を酸素分子に与える前に超硫黄に供与して，この電子が酸素分子と共役されることで活性酸素（あるいは活性硫黄分子）が産生されることが分かってきた。同様の『超硫黄−酸

素・電子転移反応』はミトコンドリアの電子伝達系でも認められており，生体内での普遍的なレドックス応答であると推察された。 興味あることに，NOX とともに感染防御活性を発揮している一酸化窒素合成酵素（nitric oxide synthase, NOS）の酵素反応においても，NADPH から超硫黄への電子転移が起こることから，NOX や NOS，あるいは，ミトコンドリア電子伝達系などの一連の NADPH/NADH 依存性酸化還元酵素（反応）にあっては，超硫黄–酸素・電子転移反応が普遍的に営まれていることが示唆される。

（2）NADPH オキシダーゼおよび一酸化窒素合成酵素による超硫黄活性化機構

髙田　剛（東北大学大学院医学系研究科環境医学分野）

我々はこれまでに，ミトコンドリアにおいて複数個の硫黄原子が直鎖状に連結した超硫黄分子が，電子供与体および受容体として機能することを報告した。一方，NADPH オキシダーゼ（NOX）や一酸化窒素合成酵素（NOS）は，NADPH から供給される電子を用いて活性酸素種（ROS）や一酸化窒素（NO）を生成する。本研究では NOX および NOS による超硫黄代謝メカニズムの解明を目指した。NOX ファミリーの NOX2 や NOX4，NOS ファミリーの nNOS，eNOS，iNOS の過剰発現細胞に酸化型グルタチオントリスルフィド（GSSSG）を処置したところ，酵素発現に依存してシステインパースルフィド（CysSSH），グルタチオンパースルフィド（GSSH），グルタチオントリスルフィド（GSSSH）の有意な増加，すなわち硫黄伸長反応が観察された。in vitro において，組換え NOS を GSSSG 存在下で NADPH と反応させた結果，NADPH と GSSSG の消費と共に，GSSH や GSSSH が産生された。以上より，NOX および NOS は，GSSSG を基質とした NADPH からの電子転移反応を触媒することで，生体内で超硫黄分子を還元酸化的に伸長・活性化する新規超硫黄代謝酵素 NADPH-dependent sulfur oxidoreductase（NSOR）として機能していることが示唆された。

（3）Supersulfides Synthesis is Not Impede by the Disruption of Canonical Pathway Enzymes

Qamarul Hafiz Zainol Abidin（東北大学大学院医学系研究科環境医学分野）

Endogenous supersulfides such as cysteine persulfide, glutathione persulfide and hydropersulfide are canonically thought to be catalyzed by cystathionine-β-synthase, cystathionine-γ-lyase and 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase (CBS/CSE/3MST). However, numerous studies identified factual discrepancies in explaining the involvement of these enzymes for the synthesis of supersulfides. We have previously demonstrated that knock down of CBS/CSE with siRNA did not significantly reduce intracellular supersulfides and that mitochondrial cysteinyl-tRNA synthetase (CARS2) provides the most intracellular supersulfides via the activity of cysteine persulfides synthase. Therefore, we tried to generate CBS/CSE/3MST knock out mice (Triple-KO) and then supersulfides level was measured in different tissues. Liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry with iodoacetamide derivative, β-(4-hydroxyphenyl)ethyl iodoacetamide showed that WT and Triple-KO mice have similar supersulfides profiles. On the other hand, our previous finding on WT and CARS2-KO study showed significant reduction of supersulfides in CARS2-KO. This finding establishes that CARS2 act as the primary supersulfides synthase.

（4）超硫黄分子による Se-水銀化されたセレノプロテイン P のターンオーバー

外山喬士（東北大学大学院薬学研究科）

環境中親電子物質であるメチル水銀（MeHg）は，生体内でタンパク質中のシステイン（Cys）やセレノシステイン（Sec）残基と共有結合し，毒性を示す。最近我々は，低濃度の MeHg が血漿中のセレン輸送タンパク質であるセレノプロテイン P（SeP）の Sec 残基に共有結合（Se-水銀化）することを明らかにした。しかし，この Se-水銀化の安定性や，本修飾がどのように MeHg の毒性に関与するかは不明である。そこでまず，MeHg を共有結合した Sec を，アミノ基を用いてビーズに固相化し，GSH や Cys を添加して Sec からの水銀の解離を検討したところ，10 mM でもほとんど MeHg の溶出は認められなかった。一方，ポリスルフィドまたは Sec の添加では解除された。この結果から，Se-水銀化は通常のチオールではほぼ解除不可能であり，その解除には超硫黄分子またはセレンが必要であることが示唆された。次に，ヒト神経芽細胞の培養培地に精製 SeP を添加すると，セレン供給に応じて GPx1 および GPx4 の発現が増加したが，これは Se-水銀化で顕著に抑制された。一方，細胞にポリスルフィドを添加すると，Se-水銀化された SeP による GPx1 と GPx4 の発現誘導は一部回復した。以上より，SeP のセレン供給を抑制する Se-水銀化に対し，超硫黄分子が Se-水銀化を解除する生体防御作用を担うことが示唆された。

（5）鉄硫黄クラスター生合成マシナリーの構造・機能解析

平林　佳（東京理科大学理学部）

鉄硫黄（Fe-S）タンパク質は多様にしてかつ生物界に普遍的に分布しており，呼吸，光合成，アミノ酸やビタミン生合成，遺伝子制御に至るまで生命活動の根幹に関わる反応を担っている。これら機能の中心である金属補因子 Fe-S クラスターは，一般に[2Fe-2S]および[4Fe-4S]のような形でタンパク質に配位している。Fe-S クラスターは単純な構造だが，細胞内では多成分で構成される複雑なマシナリーがその生合成を担う。その代表である SUF マシナリーは，オペロンにコードされる六種のタンパク質（SufABCDSE）から構成される。このなかで SufS-SufE 複合体はシステインから硫黄を引き抜き，クラスター合成の場である SufB-SufC-SufD 複合体に硫黄種を引き渡す。本研究では，このコア複合体のどこでどのように Fe-S クラスターが組み立てられるのかを明らかにすることを目的としている。

我々は，SufB-SufC-SufD コア複合体の構造機能解析を進め，Fe-S クラスター合成に特化したβ-ヘリックス構造および ATP 依存的な構造変化を明らかにした。さらに，Fe-S クラスターの材料である硫黄原子の供給経路を探るために，さまざまな変異体の機能解析を進めた結果，コア複合体内部に「硫黄供給トンネル」が存在することを明らかにした。

（6）超硫黄分子による心筋ミトコンドリアの頑健性制御

西田基宏（九州大学大学院薬学研究院生理学分野，自然科学研究機構生命創成探究センター）

持続的なストレスや加齢に伴う心筋の代謝異常が，心筋の頑健性を低下させる原因として近年注目されている。我々は，細胞内レドックス反応（エネルギー代謝）の場であるミトコンドリアの品質管理機構に着目し，ミトコンドリア分裂促進タンパク質 dynamin-related GTP-binding protein 1 (Drp1)が電子授受能の高いポリ硫黄鎖を形成し，環境中親電子物質による Drp1 ポリ硫黄鎖の脱イオウ化がミトコンドリア過剰分裂を伴う心筋早

期老化の原因となることを報告してきた。今回我々は，細胞内に豊富に存在する小分子型の超硫黄化合物（超硫黄分子）の心筋頑健性に対する役割を解析した。低酸素曝露により，細胞内の超硫黄分子量は低下し，それに伴って ATP 産生能も低下した。低酸素ストレスによるミトコンドリア代謝障害は，細胞内超硫黄分子量を増加させることで回復し，再酸素化（再灌流）後の心機能も有意に回復した。以上より，超硫黄分子が独立した機構でミトコンドリアの呼吸代謝や品質管理を維持することで，心筋の虚血ストレス抵抗性を維持する役割を担う可能性が示された。

（7）超硫黄分子種によるミトコンドリアエネルギー代謝機構の解明

松永哲郎（東北大学大学院医学系研究科環境医学分野）

【目的】我々は，システインパースルフィドに代表される超硫黄分子種の新規生成経路としてシステイニル tRNA 合成酵素（CARS）を同定し，ミトコンドリア型 CARS (CARS2) 由来の超硫黄分子がミトコンドリアの電子伝達系を維持・促進することを見出した。本研究では，ミトコンドリア膜電位形成を指標に，CARS2 由来の超硫黄分子によるミトコンドリアにおけるエネルギー代謝の詳細について解析を行った。

【方法・結果】単離ミトコンドリアに野生型 CARS2 と超硫黄分子生成変異体を GFP あるいは BFP 融合タンパク質として発現させ，膜電位を指標としたミトコンドリア電子伝達系解析システムの構築に成功した。本法により，単一ミトコンドリアレベルで，CARS2 による硫黄エネルギー代謝をリアルタイムイメージングできるようになった。実際，野生型 CARS2 発現ミトコンドリアにおける膜電位は，CARS2 のリジン変異体（AIIA）を発現させたミトコンドリアにおいて有意に低下した。さらに，低酸素条件におけるミトコンドリア膜電位形成を解析した結果，CARS2 のリジン変異体（AINK）を発現させたミトコンドリアでは膜電位の増加は見られなかった。

【結語】単一ミトコンドリア機能解析システムを構築し，本法により，通常酸素および低酸素条件における CARS2 由来の超硫黄依存型ミトコンドリアエネルギー代謝，所謂，硫黄呼吸の生理的な役割を明らかにした。

（8）ミトコンドリア病の新規治療標的の探索

松田 盛（東北大学加齢医学研究所モドミクス医学分野）

ミトコンドリアは，エネルギー生産と代謝調節に不可欠な存在である。ミトコンドリアには 1 細胞あたり数百～数千コピーの独自のゲノム（mtDNA）があり，13 種類の呼吸器複合体サブユニットを翻訳するための rRNA および tRNA 遺伝子がコードされている。特に，ミトコンドリア tRNALeu（UUR）の A3243G 変異は，Mitochondrial myopathy, Encephalopathy, Lactic acidosis, and Stroke-like episodes（MELAS）の患者で最も頻繁に確認される変異である。メカニズム的には，A3243G の変異により tRNALeu（UUR）の転写後修飾が損なわれ，Leu コドンでのデコーディング不良が誘発され，最終的には代謝危機と組織の機能不全を引き起こす。現在のところ，MELAS の治療に有効な薬剤や治療ターゲットはみつかっていない。本研究では，A3243G 変異による細胞機能障害を改善する遺伝子を同定するために，機能的ゲノミクス・スクリーニングを行った。MELAS 患者由来の A3243G mtDNA を約 100 % 持つ細胞株である 2SD 細胞に，shRNA ライブラリをコードしたレンチウイルスを感染させ，2SD 細胞の生存率を向上させることができる shRNA ターゲットの探索を行った。今回の発表では，機能的ゲノムスクリーニングの結果を紹介したい。

（9）小胞体レドックスによるカルシウム恒常性維持機構

藤井唱平（京都産業大学生命科学研究科）

小胞体は分泌・膜タンパク質のフォールディングの場であり，立体構造形成に重要なジスルフィド結合形成に有利な酸化的環境を維持している。この酸化的フォールディングを分子シャペロンと約 20 種類の PDI ファミリータンパク質が触媒する。また，小胞体は細胞内のカルシウムイオンストアとしての役割もあり，サイトゾルと比較しておよそ 1 万倍もの濃度勾配を維持している。これまで，小胞体のレドックス環境とカルシウムイオン環境との相互作用など，その関係は明らかにされてこなかった。我々は，小胞体膜上のカルシウムイオンポンプ SERCA とカルシウムイオンチャネル IP3 受容体のレドックス制御に着目し，小胞体内腔環境に依存した新たなカルシウム制御機構の全容解明を目指した。今回，小胞体に存在する PDI ファミリータンパク質の遺伝子破壊株ライブラリをゲノム編集技術により樹立し，カルシウムイメージングを行って IP3 受容体の制御因子を探索した。IP3 受容体の活性化には，Ero1 を中心とした小胞体の酸化カスケードが相補的に寄与することを明らかにした。また，小胞体内腔の還元酵素 ERdj5 が，IP3 受容体を還元することで，チャネル活性を負に制御することを明らかにした。これまでの知見から，ERdj5 が小胞体のカルシウム環境に応じてチャネルとポンプを合目的的に制御し，小胞体のカルシウム恒常性を維持する仕組みを見出した。

（10）分子カプセルによる硫黄および生体分子の捕捉

吉沢道人（東京工業大学科学技術創成研究院化学生命科学研究所）

無機化合物の構造決定において，「質量分析」は重要な役割を果たしている。とりわけ無機クラスターは，他の分析法では十分な構造情報が得られないため，質量分析が最重要の手段となっている。自然界には，種々の大きさの硫黄分子 S_n が存在する。しかしながら，それらの無機クラスターは，通常の質量分析条件では容易に分解するため，構造決定が困難であった。本研究では，中性の硫黄分子 S_n の質量数を決定する新手法を開発した。我々が合成したイオン性の分子カプセルは，水中で 2 分子の硫黄分子 S_8 および S_6 を定量的に捕捉した。それらの構造は，NMR および X 線結晶構造解析で示唆された。さらに，捕捉された硫黄分子はカプセル内で顕著に安定化され，それらの質量数を汎用の質量分析装置（ESI-TOF MS）で決定することに成功した。他の生体分子の捕捉と識別についても合わせて紹介する。

（11）超硫黄分子の分子科学的アプローチ：量子化学計算・ラマン散乱

中林孝和（東北大学大学院薬学研究科）

近年注目を集めている超硫黄分子について，分子科学的な視点から構造や反応性を理解することは，超硫黄分子の特異的な性質を理解する上で極めて重要である．しかし，システインやグルタチオンからなる超硫黄分子の電子状態などについて，理論化学・分子科学的な考察はほとんど行われていなかった．そこで本研究では，量子化学計算の一つである密度汎関数法を用いて，様々な超硫黄分子の最適化構造と電子状態について検討した．さらにラマンスペクトルの実験結果との比較についても紹介する．システインパースルフィドは，気相中ではカルボニル基同士で水素結合をした環状二量体で最適化構造を形成し，計算されたラマンスペクトルは実測を再現した．さらに，パースルフィドは，正に電荷密度の偏りがある硫黄原子と負に電荷

密度の偏りがある硫黄原子の 2 種類から構成されることがわかった．また硫黄原子の数を増やしても環状二量体の構造は保たれ，分子内に正と負の電荷密度の偏りがある硫黄原子を両方持つことがわかった．シスチンでは正の電荷密度の偏りがある硫黄原子のみを有している．超硫黄分子が正と負に電荷密度の偏りがある硫黄原子を持つことは，求電子性と求核性の両者を持つことなど，超硫黄分子の特異的な化学的性質の原因の一つであると考えられる．

（12）ジニトロベンゼン骨格を持つ Cys-SSH 検出蛍光プローブの開発と細胞イメージング

川口充康（名古屋市立大学大学院薬学研究科）

システインの硫黄原子が二つ連なったシステインパースルフィド（Cys-SSH）が CBS，CSE および CARS により産生されることが示されている。しかし，Cys-SSH の細胞内局在や生理的意義については未解明な点が多い。そこで，本研究では生細胞内で機能する Cys-SSH 特異的蛍光プローブの開発を目指した。

①Cys-SSH の求核性が極めて高いこと，②フェノール性水酸基をマスクすることでクマリン，Tokyo Green (TG) は消光することの二点に着目し，またニトロベンゼン誘導体をマスキング部位として選択することで Cys-SSH との特異的な芳香族求核置換反応により蛍光が回復することを期待し，蛍光プローブを設計・合成した。各硫黄種 Na2S, Na2S2, Cys, Cys-SSH, GSH, GSSH との反応による蛍光変化からプローブの機能評価を行った結果，ジニトロベンゼン程度の求電子性により Cys-SSH, GSSH 選択性が生じること，TG 型プローブで特に反応性が高いことが分かった。また生細胞を用いて機能評価を行った結果，TG 型プローブで Cys-SSH, GSSH 選択的な蛍光上昇が観察された。以上の結果から，ジニトロベンゼン骨格を持つ蛍光プローブが Cys-SSH に対し適した求電子性をもつこと，また特に TG 型プローブは生細胞でも Cys-SSH 選択性を示すことを見出した。

（13）超硫黄化タンパク質の特異的検出法：新規超硫黄ビオチンスイッチ法

Jung Minkyung（東北大学大学院医学系研究科環境医学分野）

我々はタンパク質のシステイン残基が翻訳時に超硫黄化され，レドックスシグナル伝達などに関与することを報告してきた。本研究では，これまで開発してきたタンパク質超硫黄の特異的検出法（ビオチンスイッチ法）について報告する。まず，低分子超硫黄分子と各種親電子化合物との反応を解析したところ，超硫黄分子は求核性と親電子性の両方の化学的特性を有することが分かった。この化学特性を利用して，親電子性化合物である maleimide の PEG 化誘導体（PEG-MAL）によりタンパク質を標識し，その後，還元剤や親電子化合物を処理することで，超硫黄化システイン残基からの PEG-MAL の脱離を SDS-PAGE で検出する PEG-MAL labeling gel shift assay (PMSA) を構築した。本法により様々な組換えタンパク質の超硫黄化を調べた結果，解析した全てのタンパク質が超硫黄化されており，哺乳類細胞のライセートにおいても同様な結果が得られた。さらに，biotin 標識 PEG-MAL（biotin-PEG-MAL）を用いて超硫黄化タンパク質を avidin ビーズに捕捉し，還元剤により超硫黄化タンパク質を特異的に溶出する biotin-PEG-MAL capture 法を構築した。この方法により，HEK293T 細胞内の多くのタンパク質が内因的（定常的）に超硫黄化されていることが示された。

（14）新規アルキル化試薬 N-iodoacetyl L-tyrosine methyl ester を用いた超硫黄メタボローム・プロテオーム解析系の構築

笠松真吾（大阪府立大学大学院理学系研究科生物科学専攻分子生物学分野）

近年，グルタチオンの SH 基に過剰な硫黄原子が付加したグルタチオンパースルフィドなどの超硫黄分子（supersulfides）の生体内産生が発見され，様々な細胞機能に関与していることが明らかにされている。

これまでに我々は，SH 基に反応する親電子性アルキル化試薬を用いて，高い反応性を有するゆえに不安定である超硫黄分子を標識・安定化した後，質量分析装置にて定量的に検出するアッセイ系を確立してきた。超硫黄分子の解析において，アルキル化試薬の選択は重要であるが，市販のアルキル化試薬は，超硫黄分子の分解を促進することが示されている。我々は最近，チロシンやヒドロキシフェニル基を持つ化合物が超硫黄分子を安定化する作用を持つことを見出した。

そこで，チロシン誘導体を用いて，新規アルキル化試薬の合成し，超硫黄メタボローム・プロテオーム解析への有用性を検討した。その結果，新規アルキル化試薬 N-iodoacetyl L-tyrosine methyl ester (TME-IAM) は，従来のアルキル化試薬よりも高い超硫黄分子保護能を持ち，TME-IAM を用いてマウス組織の超硫黄メタボローム解析の結果，従来の解析系よりも高感度に超硫黄分子を検出することができた。本研究で開発した TME-IAM を用いた超硫黄メタボローム・プロテオーム解析系により，新規のレドックス制御因子の探索・同定が可能であると期待される。

（15）超硫黄オミックスの開発に向けた基盤研究

井田智章（東北大学医学系研究科環境医学分野）

【背景】システインパースルフィドに代表される超硫黄分子(supersulfide)は酸化ストレス等において防御的な役割を演じている。今回，我々がこれまで取組んできた超硫黄オミックスの技術開発に向けた基盤研究について報告した。

【方法と結果】定量的で高精度な超硫黄オミックスを確立するために，超硫黄分子を捕捉し安定化するプローブを探索し，β-(4-hydroxyphenyl)ethyl iodoacetamide (HPE-IAM) を見出した。また，安定同位体希釈法と HPE-IAM で捕捉した多様な超硫黄代謝物を LC-MS/MS で解析することで高精度超硫黄オミックスを構築した。さらに，新型コロナウイルス感染患者から得られた呼気凝縮液を用いた超硫黄代謝物の産生動態解析を行った。その結果，超硫黄代謝物である亜硫酸イオン，チオ硫酸イオンや二硫化水素イオンが新型コロナ感染患者の呼気中に有意に増加し病状の回復に伴って低下していた。

【考察】新型コロナウイルス感染において超硫黄分子が防御制御因子として機能していることが示唆された。また，呼気凝縮液におけるこの様な超硫黄分子の生体情報モニタリングは，新型コロナ感染のみならず様々な疾病のバイオマーカーや日常的な健康管理などに資する先進医療の確立に貢献することが期待された。

（16）活性硫黄分子種を検出する蛍光プローブの開発とその応用

花岡健二郎（慶應義塾大学大学院薬学研究科）

これまでに我々は，H2S に応答し，還元型グルタチオンに応答しない H2S 選択的な蛍光プローブとして，H2S との反応部位として Cu2+錯体部位を有するフルオレセイン誘導体（HSip-1）を開発した（J. Am. Chem. Soc.,

2011）。この HSip-1 を用いて，活性硫黄分子種の産生酵素の阻害剤探索を目指した阻害剤スクリーニングを行った。現在までにこの阻害剤スクリーニングによって， cystathionine γ-lyase (CSE) と 3-mercaptopyruvate sulfurtransferase (3MST) の選択的阻害剤の開発に成功した。また，sulfane sulfur の他の硫黄原子と可逆的に結合する性質と，キサンテン系蛍光色素のスピロ環化平衡に着目し，可逆的に sulfane sulfur を検出する蛍光プローブ（SSip-1）の開発に成功した（Chem. Commun.., 2017）。さらに，細胞膜透過性を持つ SSip-1 DA をデザイン・合成し，培養細胞での蛍光イメージングへと応用した結果，SSip-1 は生細胞内においても可逆的に sulfane sulfur に応答し，細胞内の sulfane sulfur の濃度変動を可視化することに成功した。このように，これまでに開発している各種活性硫黄種を検出する蛍光プローブ及び，それらの応用について発表した。

（17）紅色細菌における硫化水素・超硫黄分子の検知機構

清水隆之（東京大学大学院総合文化研究科）

最近，我々は紅色細菌から新規超硫黄分子センサータンパク質 SqrR を同定し，SqrR が超硫黄分子の一種であるグルタチオンパースルフィド（GSSH）によって in vitro でテトラスルフィド結合を形成することで活性を変化させることを明らかにした。しかし，細胞内で安定的に SqrR をパースルフィド修飾する超硫黄分子とその代謝系はわかっていなかった。

これを明らかにするために，野生株と硫化水素酸化酵素 SQR の欠損株について，硫化水素添加後の細胞内超硫黄分子の定量解析をおこなったところ，SQR 欠損株では，野生株と比較して，超硫黄分子量が維持されにくいことがわかった。実際に，SQR 欠損株では，SqrR を介した硫化水素応答遺伝子の発現が安定的に誘導できなくなった。この表現型は，GSSH ではなくシステインパースルフィド（CysSSH）によって回復した。また，GSSH と CysSSH に対する SqrR の親和性を測定したところ，CysSSH への親和性が有意に高いことがわかった。さらに，SqrR によって制御を受けるプロモーターの活性は，GSSH 処理よりも CysSSH 処理によって有意に上昇した。以上の結果から，SQR によって合成された CysSSH が SqrR の制御に関わる主要な RSS であることが示唆された。

（18）硫化水素応答性転写因子 SqrR/BigR/YgaV の大腸菌における機能

Rajalakshmi（東京工業大学生命理工学院）

我々が先に硫化水素を電子源に光合成を行う紅色細菌から同定した硫化水素応答性転写因子 SqrR は，グルタチオンパースルフィド等の超硫黄分子によって分子内テトラスルフィド結合を形成することで転写を調節する。一方，植物に感染する Xylella の SqrR のホモログである BigR は，植物が抗菌物質として放出する硫化水素に依存して分子内ジスルフィド結合を形成し，感染時に必要な遺伝子の転写を制御すると報告されていることから，SqrR/BigR ホモログの機能的に保存されたシステインの反応性は，各細菌における硫化水素の利用形態とその際の実効濃度に応じて進化の過程で最適化されてきたと推察される。しかしその分子基盤は不明である。今回，SqrR/BigR の非硫黄細菌における機能とシグナル認識機構多様化の分子基盤を調べる目的で，大腸菌の SqrR/BigR ホモログ YgaV の解析を進めた。精製した YgaV は，硫化ナトリウム添加（硫化水素イオンと平衡状態になる）により，DNA 結合能を低下させ，おそらく分子内ジスルフィド結合を形成するメカニズムで転写の調節を行うと考えられた。RNA seq 解析から，YgaV は嫌気呼吸関連遺伝子の転写を制御することがわかった。以上より，YgaV は腸内の硫化水素濃度依存的に転写をコントロールすることで，嫌気条件で駆動する電子伝達系を最適化していると考えられた。

（19）Effect of supersulfides on the aging of yeast

Naim Hassan（東北大学大学院医学系研究科環境医学分野）

We revealed a breakthrough that the enzyme cysteinyl-tRNA synthetase (CARS) catalyzes a pyridoxal phosphate (PLP)-dependent biosynthesis of CysSSH from L-cysteine. In vitro and in vivo analysis also indicated that CysSSH production by CARS is highly conserved among all organisms we tested. Therefore, we attempted to evaluate the function of CysSSH using yeast Saccharomyces cerevisiae. A yeast CARS mutant of PLP-binding site was constructed, and it showed decreased production of supersulfides including CysSSH. Moreover, this mutant dramatically reduces chronological aging, compared with wild-type. In addition, Na2S2, a supersulfide donor, rescued a decrease of chronological aging. Thus, CysSSH produced by CARS may play significant role in regulating longevity of the yeast. Besides, we also found that HMT2, a homolog of sulfide quinone reductase (SQR), is responsible for aging in yeast Schizosaccharomyces pombe. Therefore, we conclude that supersulfide and SQR-dependent-longevity regulation may promote further understanding of aging in various organisms including human.

（20）光合成制御にかかわる藍藻 SQR の解析

小林歩夢（東北大学大学院工学研究科）

【背景と目的】

酸素非発生型光合成を行う緑色硫黄細菌は，SQR (sulfide quinone reductase) を用いて，硫黄を電子源として利用することで光合成電子伝達を駆動している。しかし緑色硫黄細菌から進化し，酸素発生型光合成を行う藍藻において SQR の生理学的役割は未解明となっている。本研究では，藍藻のモデル生物である Synechocystis sp. PCC6803 においてこれまで機能未知であった SQR に着目し，光合成制御機構への寄与を解析した。

【結果と考察】

藍藻 SQR の酵素活性を解析するために野生株(WT)と sqr 欠損株（Δsqr）について細胞内硫黄分子種の定量を行った。その結果，Δsqrでは細胞内のグルタチオンパースルフィド（GSSH）が減少傾向にあり，チオ硫酸が有意に減少していた。さらに硫化水素ストレスへの感受性が著しく増加した。最後に，藍藻 SQR の生理学的役割を解析するために WT と Δsqr の生育試験を行った。その結果，寒天培地上で生育した場合，Δsqrは生育が遅延し，チオ硫酸を添加することで生育の遅延が相補された。これらの結果から，藍藻の SQR は硫化水素を酸化することで，チオ硫酸や GSSH などのサルフェン硫黄としてストックしていることが示唆された。またこれにより，藍藻は寒天培地上のような大気レベルの酸素濃度での生育が可能となることが示唆された。

（21）プラズマ照射による硫黄代謝物の生成とその生理学的意義の解明

田中智弘（自然科学研究機構新分野創成センター）

プラズマ照射は，さまざまな活性種を生み出すだけでなく，出発物質の分子構造も原子レベルで改変しうる。近年，低温プラズマ照射による特異な化学反応が生命活動に及ぼす影響（殺菌・滅菌効果や創傷治癒，抗腫瘍効果など）に注目が集まっているが，そのメカニズムは不明であった。

我々は，加湿したヘリウムガスを用いた非平衡大気圧プラズマをシステイン（Cys-SH）溶液に照射すると，システインパースルフィド（Cys-SSH）やチオ硫酸イオンなどの硫黄代謝中間体が生成されることを見出した。

そこで，低酸素下で培養したラット新生児由来の初代培養心筋にプラズマ照射したシステイン溶液（Cys*）を添加し，ミトコンドリア機能や虚血耐性，硫黄代謝への影響を評価した。その結果，Cys*を含む培地での培養により，低酸素環境（1％O2）で見られるミトコンドリア機能の低下や，再酸素化による細胞死を有意に抑制した。さらに，低酸素下で起こる硫化物（sulfide）の蓄積が有意に抑制され，細胞内 RSS 異化が有意に抑制された。

以上から，さまざまな硫黄代謝中間体を含む Cys*は，O2 が欠乏した際に起こる細胞内の RSS 異化を負に制御し，ミトコンドリアにおけるエネルギー代謝を維持することによって，心筋保護効果を発揮することが示唆された。

（22）造血幹細胞における超硫黄分子の役割

村上昌平（東北大学加齢医学研究所遺伝子発現制御分野）

超硫黄分子（スーパースルフィド）は硫黄原子が直鎖状に連なった反応性の高い構造を持ち，求電子反応および求核反応の両者において高い反応性を示す。我々は，これまでにミトコンドリアに局在する CARS2 がシステイン（CysSH）をシステインパースルフィド（CysSSH）に変換することを発見した。そこで本研究では，生体内における超硫黄分子の生理学的機能を明らかにするために，誘導的に CysSSH 合成活性を失った CARS2 変異体（CARS2AINK）のみを発現するマウスを作成した。その結果，CARS2AINK マウスは顕著な貧血を示し，2 週間程度で全例が死亡することがわかった。また，CARS2AINK マウスの骨髄細胞ではアポトーシスが亢進し，赤芽球細胞が消失，造血幹細胞の幹細胞性が失われることがわかった。ミトコンドリアの活性酸素種を調べると，CARS2AINK マウスの造血幹・前駆細胞では活性酸素種が増加していた。造血幹細胞の幹細胞維持には，ミトコンドリアが膜電位を維持したまま，活性酸素種を産生させないことが重要であることから，造血幹細胞における超硫黄分子は膜電位形成の際にリークする電子を受け取ることで活性酸素種の発生を抑制し，さらにその電子を電子伝達系に戻すことで，効率的な膜電位形成を可能にしていると考えられた。

（23）T 細胞受容体 (TCR)/CD3 複合体を標的とした超硫黄分子による免疫応答制御

守田匡伸（東北大学大学院医学系研究科環境医学分野）

【背景】硫黄原子が連結した構造を持つ超硫黄分子は，そのユニークな酸化還元特性に基づいて様々な生理機能を発揮する。我々は超硫黄分子の主要産生酵素としてアミノアシル tRNA 酵素の一つである cysteinyl-tRNA synthetase（CARS）を同定し，ゲノム編集マウスの作製・解析を通して，ミトコンドリアの CARS2 が産生する超硫黄分子が生体の硫黄代謝およびエネルギー代謝に深く関与していることを明らかにしてきた。TCR シグナル活性化に伴って，CARS2 の発現低下および超硫黄分子の減少が観察されたことから超硫黄分子が免疫機能の制御に寄与していることが示唆されている。

【結果】CARS2 ヘテロ欠損マウスではナイーブ CD4+T 細胞において TCR シグナルの活性化が促進され，ダニ抗原喘息モデル処理を行うと 2 型炎症反応の増悪が認められた。これらの免疫応答促進は内因性の超硫黄分子として豊富な GSSSG の添加により抑制され，さらにドッキングシミュレーションの結果から GSSSG が CD3ε 鎖の CXXC モチーフと相互作用していることが予測された。

【考察】これらの結果から，GSSSG は TCR/CD3 複合体の特異的なリガンドとして TCR シグナルを負に制御することで免疫応答制御を調節していることが示唆され，免疫応答破綻に起因する自己免疫疾患などの病態に対して，超硫黄分子を骨格とした創薬開発の可能性を見出した。

（24）Glutathione efflux serve as a proximal upstream event for activation of the NLRP3 Inflammasome

Tianli Zhang（熊本大学大学院生命科学研究部微生物学講座）

NLRP3 inflammasome involves in host immune and inflammatory responses via maturation of precursor forms of interleukin (IL)-1β and IL-18 into active proinflammatory cytokines and initiation of pyroptosis. This study was conducted to clarify the impact of cellular glutathione (GSH) towards NLRP3 inflammasome activation. We found that ATP, but not other NLRP3 inflammasome activators, induces rapid GSH decline in macrophages, which led to generation of cellular reactive oxygen species. Simultaneously, comparable level of GSH was detected in culture supernatants, suggesting ATP induced GSH efflux. Moreover, exogenous addition of P2X7 receptor antagonist, GSH or oxidized form of GSH (GSSG) attenuated this efflux. More importantly, activation of the NLRP3 inflammasome both in vitro and in vivo were strongly inhibited by adding GSH or GSSG extracellularly. These data suggest that GSH efflux triggers NLRP3 inflammasome activation, and hence constitute a potential therapeutic strategy for NLRP3 inflammasome-associated inflammatory disorders.

（25）超硫黄分子による炎症抑制作用

澤　智裕（熊本大学大学院生命科学研究部微生物学講座）

炎症は，体内に侵入した病原体や異物，死細胞を除去して生体の恒常性を維持する重要な反応である。一方，過剰な炎症反応や遷延性に続く慢性炎症は，組織の障害を介して病気の進展にも関わる。生体内には炎症を負に制御する仕組みがあり，それを活用することで抗炎症を通じた病気の予防や治療が期待できる。含硫アミノ酸であるシステイン生合成に関わる酵素，cystathionien γ-lyase (CSE) に抗炎症作用が報告された。その機構として，CSE により産生する硫化水素が想定されていた。生体内には，システインのチオール基にイオウ原子が長く連結した超硫黄分子が豊富に存在していることが明らかになってきたが，超硫黄分子が炎症反応にどのように影響するかはわかっていなかった。われわれは，細胞内の超硫黄分子量を増加させることができる超硫黄ドナーを独自に開発し，それを用いた炎症反応に対する超硫黄分子の作用を解析した。その結果，細胞内の超硫黄量が増加すると，自然炎症の重要な担い手である Toll 様受容体シグナルが，大きく抑制されることがわかった（Cell Chem Biol 2019）。また，Toll 様受容体から刺激を受けた Nod 様受容体の活性化，つまり NLR インフラマソーム応答も，超硫黄分子によって強力に抑制された（データ未発表）。以上のことから，超硫黄分子は炎症反応の負の制御に重要な役割を担っていることが示唆された。

9. 2021 年度生理研心血管研究会 ―比較統合生理学的観点からの循環生理の解析－

2022 年 11 月 18 日－11 月 19 日

代表・世話人：山田充彦（信州大学医学部）

所内対応者：西田基宏（生理学研究所 心循環シグナル研究部門）

（1）脊椎動物の心臓形態進化における転写因子の機能

小柴和子（東洋大学 生命科学部）

（2）光干渉断層撮影装置（OCT）を活用した蝸牛内 in vivo 細胞のナノ振動解明

任 書晃（岐阜大学大学院 医学系研究科）

（3）hERG チャネルの不活性化機構と薬物相互作用

古谷和春（徳島文理大学 薬学部，カリフォルニア大学 デービス校）

（4）超硫黄分子による心臓頑健性制御

西村明幸（生理学研究所 心循環シグナル研究部門）

（5）BITC induces mitochondrial fission and cardiomyocyte proliferation

坂口あかね（理化学研究所 BDR）

（6）ヒト人工多能性幹細胞由来心筋細胞の 2 次元細胞シートの電気機械的特性

中瀬古（泉）寛子（東邦大学 医学部）

（7）胎生期の心臓形態形成時に起こる内皮造血の分子制御機構の解明

劉　孟佳（東京慈恵会医科大学 医学部）

（8）ドキソルビシンが心臓線維芽細胞へ与える影響と心臓障害の新たなメカニズム

根本寛子（横浜市立大学大学院 医学研究科）

（9）ヒト iPS 細胞由来分化細胞を用いた SARS-CoV-2 感染モデルの開発

諫田泰成（国立医薬品食品衛生研究所 薬理部）

（10）心房特異的 Pitx2c 過剰発現は洞結節の機能を低下させ，カルシウム調節異常により上室不整脈を増加させる

馬場俊輔（東京慈恵会医科大学 医学部）

（11）洞房結節自動能における細胞内 Ca^{2+}の関与：動物種による違い

行方衣由紀（東邦大学 薬学部）

（12）虚血性急性腎障害における遠位尿細管 NCX1 の病態生理学的重要性

根本隆行（福岡大学 医学部）

（13）Physiological role of gp130 in postnatal proliferation of cardiomyocytes and functional development of heart

川岸裕幸（信州大学 先鋭領域融合研究群バイオメディカル研究所）

（14）一酸化窒素 NO は S-ニトロシル化シグナルを介して心筋 Na^{+}チャネルを抑制する

小野克重（大分大学 医学部）

（15）細胞融合がひきおこす骨格筋分化の遺伝子制御

冨田太一郎（東邦大学 医学部）

（16）ヒト肺高血圧肺組織におけるテロメア長およびテロメア関連蛋白質の解析

倉原　琳（香川大学 医学部）

（17）比較トランスクリプトームと幹細胞モデルから見る心筋細胞の成熟制御機構

魚崎英毅（自治医科大学 分子病態治療研究センター）

（18）Sulfide catabolism ameliorates hypoxic brain injury

市瀬　史（Harvard Medical School; Massachusetts General Hospital）

（19）シンポジウム「心血管系の環境適応システム －胎児期から成体まで－」のイントロダクション

西谷友重（和歌山県立医科大学 医学部）

（20）組織分化におけるミトコンドリアダイナミクスの重要性

石原孝也（大阪大学大学院 理学研究科）

（21）胎児期における大血管の分化メカニズム

横山詩子（東京医科大学 医学部）

（22）心血管に見られる性差とその形成機構

黒川洵子（静岡県立大学 薬学部）

（23）Rap1 低分子量 G タンパク質は血管透過性を制御することにより生体恒常性を維持する

福原茂朋（日本医科大 先端研）

（24）シンポジウム「臓器連関から紐解く新たな循環生理」のイントロダクション

久場敬司（秋田大学大学院 医学系研究科）

（25）神経・免疫系を介した多臓器連携による循環制御機構

藤生克仁（東京大学 医学系研究科）

（26）臓器連関をデータとモデルから読み解く

島村徹平（名古屋大学大学院 医学系研究科）

（27）感覚免疫学

丸山健太（自然科学研究機構 生理学研究所）

（28）臓器連関による糖・エネルギー代謝調節機構の解明

山田哲也（東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科）

（29）カテコラミン誘発性肺静脈自動能における Ca^{2+} 刺激性アデニル酸シクラーゼの関与

岡本洋介（秋田大学大学院 医学系研究科）

（30）胎児マウス冠血管に見られる形態機能的性差

長沢思音（静岡県立大学 薬学部）

（31）KD025 の肺動脈平滑筋細胞増殖抑制作用と病態改善効果

山村　彩（愛知医科大学 医学部）

（32）血管平滑筋のカベオラ局在型 Cav1.2/CaMKK2/CaMK1a 複合体は興奮転写連関を介した血管リモデリングに関与する

鈴木良明（名古屋市立大学大学院 薬学研究科）

（33）肺動脈平滑筋細胞における SKF96365 の Ca^{2+}感受性受容体の活性化作用

宮木理子（名古屋市立大学 薬学部）

（34）脳血管障害性認知症に対する Mizagliflozin の効果

石田菜々絵（岩手医科大学 薬学部）

【参加者名】

山田充彦（信州大学医学部），西田基宏（自然科学研究機構生理学研究所（生命創成探究センター）），平野勝也（香川大学医学部），加藤百合（九州大学大学院薬学研究院），田中智弘（自然科学研究機構・新分野創成センター），村上慎吾（中央大学理工学部電気電子情報通信工学科），友清大樹（九州大学大学院薬学府），酒田康介（九州大学大学院薬学府），古本裕香（九州大学薬学部），西山和宏（九州大学薬学部），谷口雄哉（九州大学薬学部），Tang Xiao Kang（総統研究大学院大学生理学研究所），大久保礼真（九州大学院薬学府），下田　翔（総合研究大学院大学生命科学研究科），長田千尋（静岡県立大学薬学

部），津元国親（金沢医科大学医学部），坂本多穂（静岡県立大学薬学部），鷹野　誠（久留米大学医学部），岡　沙由稀（東京医科大学医学研究科），坂井花菜（九州大学薬学府），南沢　享（東京慈恵会医科大学），浅井こなつ（九州大学大学院薬学府），杉本真菜（静岡県立大学薬学部），野間口　財（静岡県立大学薬学部），稲田理毅（静岡県立大学薬），五十嵐弦（静岡県立大学薬学部），加地憲武（静岡県立大学薬学部），山川稚葉（九州大学大学院薬学府），水野颯人（九州大学大学院薬学府），山口賢彦（静岡県立大学薬学部），木村　航（理化学研究所生命機能科学研究センター），河野佑輔（九州大学大学院薬学府），天野　晃（立命館大学生命科学部），森　亮太（九州大学大学院薬学府），藤井純平（九州大学薬学府），小谷さゆみ（九州大学薬学部），松田　和（九州大学大学院薬学府），赤羽悟美（東邦大学医学部），黒瀬等（九州大学大学院薬学研究院），忻　雨夫（九州大学薬学府），末藤大智（九州大学薬学府），黒川竜紀（大分大学医学部），鄭　思拓（九州大学），谷本昌志（基礎生物学研究所），尾高椋介（東邦大学薬学部），澤井優輝（名古屋市立大学大学院薬学研究科），片山大樹（名古屋市立大学大学院薬学研究科），藤原萌園（名古屋市立大学大学院薬学研究科），松本和幸（名古屋市立大学薬），天野泰樹（名古屋市立大学薬学部），大島大輔（東邦大学医学部），三上義礼（東邦大学医学部），加藤優子（東京医科大学医学部），谷藤章太（東京医科大学），稲垣　奏（名古屋市立大学大学院薬学研究科），高橋梨紗（東京医科大学），山村寿男（名古屋市立大学大学院薬学研究科），野口貴史（東京医科大学），倉田　朋（名古屋市立大学薬学部），徳山剛士（自治医科大学医学部），田代倫子（東京医科大学医学部），中村隆（東京医科大学），安済達也（自治医科大学分子病態治療研究センター），冨田拓郎（信州大学医学部），瀬谷大貴（東京慈恵会医科大学医学部），弘瀬雅教（岩手医科大学薬学部），小川璃子（名古屋市立大学），川田成紀（名古屋市立大学大学院薬学研究科），篠田康晴（東北大学大学院薬学研究科），岩本隆宏（福岡大学医学部），喜多知（福岡大学医学部），田頭秀章（福岡大学医学部），城戸百香（九州大学薬学府），粂慎一郎（大分大学医学部），安藤駿佑（名古屋市立大学薬学部），小松知広（福岡大学医学部），佐藤元彦（愛知医科大学医学部），喜多紗斗美（徳島文理大学薬学部），川出有希子（名古屋市立大学薬学研究科），陳　以珊（和歌山県立医科大学医学部），安田純平（和歌山県立医科大学医学部），藤森一樹（九州大学大学院薬学研究院），西村明幸（生理学研究所），坂口あかね（理化学研究所 BDR），中瀬古（泉）寛子（東邦大学医学部），劉孟佳（東京慈恵会医科大学），根本寛子（横浜市立大学大学院医学研究科），諫田泰成（国立医薬品食品衛生研究所），馬場俊輔（東京慈恵会医科大学小児科学講座），行方衣由紀（東邦大学薬学部），根本隆行（福岡大学医学部），川岸裕幸（信州大学先鋭領域融合研究群バイオメディカル研究所），小野克重（大分大学医学部），冨田太一郎（東邦大学医学部），倉原琳（香川大学医学部），魚崎英毅（自治医科大学分子病態治療研究センター），岡本洋介（秋田大学大学院医学系研究科），長沢思音（静岡県立大学薬学部），山村　彩（愛知医科大学医学部），鈴木良明（名古屋市立大学大学院薬学研究科），宮木理子（名古屋市立大学薬学部），石田菜々絵（岩手医科大学薬学部），小柴和子（東洋大学生命科学部），任　書晃（岐阜大学医学部），古谷和春（徳島文理大学薬学部），市瀬史（Massachusetts General Hospital，Harvard Medical School Anesthesia，Critical Careand Pain Medicine），西谷（中村）友重（和歌山県立医科大学医学部），石原孝也（大阪大学大学院理学研究科生物科学専攻），横山詩子（東京医科大学医学部），黒川洵子（静岡県立大学薬学部），福原茂朋（日本医科大学先端医学研究所），久場敬司（秋田大学大学院医学系研究科），藤生克仁（東京大学医学系研究科），島村徹平（名古屋大学大学院医学系研究科），丸山健太（自然科学研究機構生理学研究所），山田哲也（東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科），倉智嘉久（大阪大学国際医工情報センター），向井正哉（静岡県立大学薬学部），須藤優香（静岡県立大学薬学部），服部希海（静岡県立大学薬学部），岩鶴　果奈（静岡県立大学薬学部），藤井萌功（静岡県立大学薬学部），若林聖士（静岡県立大学薬学部），石川義弘（横浜市立大学）

【概要】

心血管系の主たる役割は，末梢臓器に必要十分な酸素を分配することである。恒温動物は変温動物より全身代謝が活発であり，多くの心拍出量を必要とする。そのため恒温動物は心拍数を速め，ヒス・プルキンエ線維による速い心室内興奮伝導を獲得した。また心拍数増加に必然的に伴う収縮・拡張期短縮を補うために，T 管と筋小胞体を備えた心筋細胞が重層緻密化して強い収縮力を生み出す心室壁の獲得し，この厚い壁に十分な酸素を分配するための冠血管を生み出した。さらに心拍出量増加に伴う血圧上昇に耐える堅牢な動脈も獲得した。ヒトは胎生期から離乳期までにこの系統発生を繰り返し，その後は各年齢での運動・摂食・睡眠に応じて自在に循環機能調節を行い 100 年近くも生存する。本研究会では，このような心血管系の生理病理の背景にある多層階メカニズムを比較統合生理学的観点から検討し，さらなる循環生理学の発展に貢献することを目的とする。具体的には本年度は，オンライン開催で 124 名が参加し，上記テーマに関する特別講演 2 演題，異分野講演 1 演題，次世代講演 1 演題，シンポジウム 2 つ（各 4 演題），一般演題 14 演題，ポスター演題 6 演題を実施，参加者との間で熱の入った有意義な討論を行った。

（1）脊椎動物の心臓形態進化における転写因子の機能

小柴和子（東洋大学 生命科学部 応用生物科学科）

脊椎動物は進化の過程で心房と心室に中隔を獲得し，陸上生活に適した血液循環を可能とする心臓を形成していった。しかし，脊椎動物がどのように中隔を獲得していったのかそのメカニズムは未だ不明である。我々はこれまでの研究から，心臓転写因子 *Tbx5* が心室中隔を有する動物において左心室に局在すること，また，心臓全体に *Tbx5* を発現させると心室中隔が形成されなくなることを見出し，*Tbx5* の極性をもった発現が心室中隔形成に重要であることを明らかにした。そこで，心房中隔形成においても極性をもって発現する因子が関与しているのではないかと考え，心房中隔獲得において進化的に重要な位置にあるハイギョに着目して解析を行った。解剖学的な解析から，ハイギョには心房の尾側半分に中隔が存在することが分かり，さらにハイギョを含む心房中隔を有する動物では *Pitx2* が左心房に局在していることを見出した。*Pitx2* が左心房に局在する意味を明らかにするために，*Pitx2* を心臓全体に発現するマウスを作出したところ，*Pitx2* 異所性発現マウスでは心房中隔形成の異常とともに，房室管や洞房結節の異常が認められ，胎生致死となった。RNA-seq で遺伝子発現変化を調べると *Pitx2* 異所性発現マウスではヒアルロン酸合成酵素をコードする *Has2* の発現が異常に亢進していることが分かった。

（2）光干渉断層撮影装置（OCT）を活用した蝸牛内 in vivo 細胞のナノ振動解明

任　書晃（岐阜大学大学院 医学系研究科 生命原理学講座 生理学分野）

生体のイメージング技術として，近年超ミクロスコピックな機器の発展が目覚ましいが，未だ *in vivo* 細胞を計測対象とすることは多くない。我々は，組織における細胞の力学的な相互作用に着目し，これを *in vivo* で観測するため，工学と医学生物学を活用した新たな光学計測装置を開発した。装置は，眼科などで臨床応用が進められている光干渉断層撮影法（Optical Coherence Tomography: OCT）を基盤とした。研究対象は，力学的な振動が感覚機能の根幹をなす聴覚の末梢器官「内耳蝸牛」とした。内耳蝸牛では，音によって感覚上皮帯がナノスケールで振動することで，機械刺激が電気信号へと変換される。上皮帯は，様々な種類の細胞や構造物により構成されるが，様々な力学特性を持つ上皮帯細胞群がいかに相互作用して，組織の特徴的な振動

を成立させているかは謎であった。我々は，市販の OCT 装置を改造し，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することで，高い空間分解能を実現し，蝸牛の *in vivo* 細胞の可視化とナノ振動の計測を行った。非接触・非侵襲の計測法でありながら，細胞レベルの断層撮影とナノレベルの動態計測が実行できる装置の特徴を今後活かせば，生動物内のメゾスコピック領域（細胞〜組織）における *in vivo* ライブイメージング装置として，様々な器官・組織でも活用できることが期待された。

（3）hERG チャネルの不活性化機構と薬物相互作用

古谷和春（徳島文理大学 薬学部 薬理学，カリフォルニア大学 デービス校 生理学）
Jan Maly，Igor Vorobyov，Vladimir Yarov-Yarovoy（カリフォルニア大学 デービス校 生理学）

hERG チャネルは，心室筋細胞の活動電位後再分極に重要な I_{Kr} を担う電位依存性カリウムチャネルである。hERG チャネルは，脱分極による活性化（開口）後，急速に不活性化される。この hERG チャネルの不活性化機構は，いわゆるカリウムチャネルの C 型不活性化機構であると考えられているが，その機構は十分明らかとなっていない。また，多くの hERG チャネル遮断薬は活性化状態より不活性化状態の hERG チャネルに高い親和性をもつと考えられているが，その理由も明らかとなっていない。我々は，hERG チャネルの 3 次元構造モデルを作成し，MD シミュレーションを行うことによって，開口状態の構造的安定性と，開口状態からの構造変化を予測した。その結果，開口状態の hERG チャネルの S5P turret helix の構造には柔軟性があり，複数の構造をとった。その領域における構造変化は，hERG チャネルの選択性フィルターの構造変化を伴った。この一連の構造変化は，イオン透過を制御し，不活性化ゲート機構の構造基盤である可能性ある。さらに，構造変化はポア領域にまで及んでいた。不活性化と考えられる構造変化により，S6 ヘリックスが回転し，薬物の結合部として知られる Y652 および F656 が中心腔のより中心側に向きを変えていた。ドッキングシミュレーションにより，このポア領域の構造変化は薬物との相互作用に影響すると考えられた。

（4）超硫黄分子による心臓頑健性制御

西村明幸，下田　翔，田中智弘（生理学研究所 心循環シグナル研究部門）
西山和宏，加藤百合（九州大学 薬学研究院）
西田基宏（生理学研究所 心循環シグナル研究部門，九州大学 薬学研究院）

エネルギー代謝や膜電位形成など生命現象の根源を支えるレドックス反応はこれまで酸素を中心に解析されてきた。近年，硫黄代謝物の定量解析技術が開発されたことを端緒に，生体内に硫黄原子が複数連なった超硫黄分子と呼ばれる化学反応性の高い硫黄代謝物が豊富に存在し，それらが酸素に匹敵する普遍的で重要な生命素子であることが示されつつある。当部門では，心筋ミトコンドリアのホメオスタシスを軸に超硫黄分子と心臓頑健性との関連を研究してきた。今回，超硫黄産生酵素の 1 つである CARS2 の遺伝子欠損マウスと虚血再灌流（I/R）モデルを掛け合わせることで心筋の虚血ストレス抵抗性における超硫黄分子の役割を解析した。I/R 後の左心室虚血領域において，超硫黄分子が著しく減弱していた。I/R 後の心臓では CARS2 の発現量が減少しており，CARS2 発現低下の大きさに比例して I/R 後の心機能も大きく低下していた。再灌流前に，虚血領域に Na_2S_4（3 nmol）を投与することで，I/R 後の心不全が有意に改善した。さらに，CARS2 欠損マウスでは，I/R 後の心機能が著しく悪化していた。以上の結果から，超硫黄分子が心筋の虚血再灌流障害に対して保護的に作用することが示唆された。

（5）BITC induces mitochondrial fission and cardiomyocyte proliferation

Akane Sakaguchi，Miwa Kawasaki
（Laboratory for Heart Regeneration, RIKEN Center for Biosystems Dynamics Research）
Kozue Murata（Clinical Translational Research Program, RIKEN Center for Biosystems Dynamics Research; Institute for Advancement of Clinical and Translational Science, Kyoto University Hospital）
Hidetoshi Masumoto（Clinical Translational Research Program, RIKEN Center for Biosystems Dynamics Research; Department of Cardiovascular Surgery, Graduate School of Medicine, Kyoto University）
Wataru Kimura（Laboratory for Heart Regeneration, RIKEN Center for Biosystems Dynamics Research）

Adult mammalian heart cannot regenerate myocardial injury because the cardiomyocytes lost the ability to proliferate until early neonatal stage. To induce myocardial proliferation in the adult heart, we focused on a small chemical compound benzyl isothiocyanate (BITC), which is known to regulate cell cycle in certain types of tissues such as urinary bladder. We found that (1) BITC administration enhances cardiomyocyte proliferation in a dose-specific manner, (2) the targets of BITC for the cell proliferation are the activation of CDK pathway and the phosphorylation of Drp1, and (3) the juvenile heart can regenerate the myocardial infarction by BITC treatment even after the regenerative period. Based on these results, I would like to discuss the effect and potential therapeutic strategy of BITC administration for the regeneration of the ischemic heart disease.

（6）ヒト人工多能性幹細胞由来心筋細胞の 2 次元細胞シートの電気機械的特性

中瀬古（泉）寛子（東邦大学 医学部 薬理学講座），佐塚文乃（国立医薬品食品衛生研究所 薬理部）
後藤　愛，神林隆一（東邦大学 医学部 薬理学講座），松本明郎（東邦大学 医学部 加齢薬理学講座）
武井義則（東邦大学 医学部 薬理学講座），諫田泰成（国立医薬品食品衛生研究所 薬理部）
内藤篤彦（東邦大学 医学部 生理学講座 細胞生理学分野）
杉山　篤（東邦大学 医学部 薬理学講座，加齢薬理学講座）

ヒト人工多能性幹細胞由来心筋細胞の単純 2 次元細胞シート（ヒト iPS 心筋シート）で，ヒト生体心臓で観察されるような正の収縮力－頻度の関係を引き出すための条件を探索するため，電気ペーシングによる運動方向の調節や酸素供給によりヒト iPS 心筋シートの電気機械的特性が改善されるという仮説を検証した。ヒト iPS 心筋シートの細胞外電位と運動ベクトルを同時に観察することで，電気的興奮と収縮運動の空間的および時間的連関を評価した。自発収縮時は，細胞シート上を最早期興奮部位から電気的興奮が一方向に伝播したが，収縮波は複数の部位から始まり融合し，弛緩波はヒト iPS 心筋シートの中央付近から始まった。そこで電気刺激を自発収縮時の弛緩開始領域付近で行い，ヒト iPS 心筋シート上の電気的興奮と収縮弛緩運動の方向および順序を最適化すると，ヒト iPS 心筋シートは「正の収縮速度-頻度関係」および「頻度依存性の弛緩速度の増強」を示した。また弛緩運動は二相より構成され，早い弛緩相のピーク時間が酸素濃度の増加やβアドレナリン作動性刺激によりさらに早くなることから，筋小胞体 Ca^{2+}-ATPase である Serca2a の活性を反映すると示唆された。以上よりヒト iPS 心筋シートは電気刺激によりヒト生体心に類似する収縮特性を示し，早い弛緩相は能動的弛緩能を反映する指標となりうると考えられた。

（7）胎生期の心臓形態形成時に起こる内皮造血の分子制御機構の解明

劉　孟佳（東京慈恵会医科大学 細胞生理学講座，カリフォルニア大学 ロサンゼルス校 分子･細胞･発生生物学）
川平直史（カリフォルニア大学 ロサンゼルス校 分子･細胞･発生生物学）
中島康弘（京都大学 医学部 循環器内科）
中野治子（カリフォルニア大学 ロサンゼルス校 分子･細胞･発生生物学）
南沢　享，（東京慈恵会医科大学 細胞生理学講座），中野　敦（東京慈恵会医科大学 細胞生理学講座，
カリフォルニア大学 ロサンゼルス校 分子･細胞･発生生物学，循環器内科）

胎生期心臓の心内膜は造血能を持ち，組織リモデリングに重要なマクロファージ産生の部位となることを我々は明らかにしてきた。Nkx2-5 転写因子が胎生期の心内膜床部分の内皮細胞に発現し，局所造血に必須であるが，その詳細な分子メカニズムは未解明である。本研究では，Nkx2-5 依存的な心内膜造血の制御機構を探るため，Nkx2-5 ノックアウト（KO）マウス胎仔（胎生 9。5 日）の心臓を用いた single-cell RNA sequence (scRNA-seq) データを解析した。野生型に比べて心内膜で Notch シグナルパスウェイが有意に減少（GO 解析）しており，内皮間葉転換（EndMT）と内皮造血転換（EHT）に関与するクラスターが Nkx2-5 KO で消失していた。この結果から，Nkx2-5 の下流で Notch シグナルが EndMT と EHT に重要であると考えた。*In vivo* で検証するため Nkx2-5 特異的に Notch intracellular domain (NICD) を過剰発現させたところ，心臓での造血が劇的に増加した。さらに，Nkx2-5 KO で NICD を過剰発現させたところ，EndMT と EHT の表現型がレスキューされた。以上から，Nkx2-5/Notch シグナルが哺乳類胎生期の心内膜床リモデリングおよび心内膜造血を制御していることが示された。

（8）ドキソルビシンが心臓線維芽細胞へ与える影響と心臓障害の新たなメカニズム

根本寛子 [1,2]，梅村将就 [1]，中鍛治里奈 [1,3]，永迫　茜 [1]，長尾景充 [1]，日高祐子 [1]
Md Rafikul Islam[1]，石川聡一郎 [1,3]，水野雄斗 [1]，鈴木文菜 [1]，鈴木伸一 [2]，石川義弘 [1]
([1]横浜市立大学大学院 医学研究科 循環制御医学
[2]横浜市立大学大学院 医学研究科 外科治療学
[3]横浜市立大学大学院 医学研究科 顎顔面口腔機能制御学

【背景】ドキソルビシン（DOX）投与後の不可逆的な心不全に，カルシウム（Ca^{2+}）シグナルの関与が報告されている。ストア作動性 Ca^{2+} 流入機構(SOCE)は Ca^{2+} 調整機構の一つである。SOCE の重要な構成因子に Ca^{2+} チャネルの Orai がある。Orai は心臓線維芽細胞に多く発現し心不全にも関与するが，DOX の心毒性との関連については報告がない。【目的】DOX が心臓線維芽細胞において Orai を介して Ca^{2+} を調節することで心毒性を示すという仮説のもと，その機序を解析し心不全発症との関連を解明する。【方法】ヒト心臓線維芽細胞（HCF）をコントロール群と DOX 群に分け，アポトーシスアッセイ，細胞周期アッセイ，活性酸素測定を行い，両群を比較した。さらに DOX 刺激下で SOCE 阻害薬の YM-58483 により細胞外からの Ca^{2+} 流入を阻害して，心毒性への影響を評価した。同様に Orai 遺伝子ノックダウン HCF を使用して DOX の心毒性と Orai との関連を評価した。【結果】DOX 群で p53，p21 の発現が有意に上昇し，アポトーシスの上昇，細胞周期の各期細胞割合の変化を認めた。活性酸素産生も上昇した。さらに YM-58483 により，DOX 刺激で上昇したアポトーシスが有意に抑制された。【考察・結語】本研究結果により Orai が DOX 関連心不全の抑制に寄与する可能性が示唆され，今後は動物モデルでの検討が必要と考えられた。

（9）ヒト iPS 細胞由来分化細胞を用いた SARS-CoV-2 感染モデルの開発

山田　茂，佐塚文乃，諫田泰成（国立医薬品食品衛生研究所 薬理部）

COVID-19 感染症が世界中でパンデミックとなり，現在まで SARS-CoV-2 のゲノムや感染様式，重症化機構など様々な研究が進められている。当初，COVID-19 は肺機能の重篤な障害（急性呼吸窮迫症候群）が報告されたが，その後，肺以外にも様々な臓器障害が認められ，例えば心臓では SARS-CoV-2 感染者の 20 %もの人に不整脈などの長期障害が報告された。また，年齢，喫煙，肥満などの重症化リスク因子が明らかになってきた。そのため，ウイルス感染モデルの確立が急務である。そこで我々は，ヒト iPS 細胞から分化誘導した各種細胞を用いて，SARS-CoV-2 感染モデルを検討した。その結果，ヒト iPS 細胞由来心筋細胞は SARS-CoV-2 によく感染すること，SARS-CoV-2 感染により収縮能などが抑制されることを見出した。SARS-CoV-2 感染によりミトコンドリアの形態にも異常が認められるため，収縮障害はエネルギー代謝を介した作用であることが考えられた。また，心筋細胞以外にも，ヒト iPS 細胞から分化誘導した脳血管内皮細胞や肺胞上皮細胞などにも効率よく SARS-CoV-2 が感染することを確認した。以上の結果から，ヒト iPS 細胞由来分化細胞は SARS-CoV-2 治療薬の評価モデルとして有用であると考えられる。

（10）心房特異的 Pitx2c 過剰発現は洞結節の機能を低下させ，カルシウム調節異常により上室不整脈を増加させる

馬場俊輔（東京慈恵会医科大学 小児科学講座）
赤池　徹，暮地本宙己，新庄聡子，南沢　享（東京慈恵会医科大学 細胞生理学講座）

背景：心臓左右軸の決定に重要な転写因子 Pitx2 は，家族性心房細動と関連の深い SNP として報告された一方，洞房結節（SAN）異常は洞不全症候群として心房細動（Af）を合併する致命的疾患だが，SAN 機能低下を起こす Pitx2c の異所性発現と Af 発症の分子機序について不明な点が多い。目的：右房 Pitx2c 過剰発現は SAN 機能を低下させ，カルシウム調節異常により上室性不整脈を増加させる，という仮説を検証した。方法：心房特異的に発現するサルコリピン遺伝子に Cre 遺伝子を発現させたマウスと，loxP 配列の間に Pitx2c 遺伝子を導入したマウスを交配，心房特異的 Pitx2c 過剰発現マウスを作成し Wild type マウス（WT）と B6-Tg (CAG-LSL-Pitx2c); SLNCre/+ マウス（OE）の表現型を調べた。結果と考察：OE は WT に比べ，右房 pitx2c 発現は多く，上室性期外収縮，Af を多く認め，修正 SAN 回復時間が延長し，Af が誘発されやすかった。一方，ペースメーカー機能をもつ細胞を示す HCN4 は，OE では SAN で発現抑制，右房内異所性の発現を認めた。心房内イオンチャネル関連遺伝子を調べた所，OE 右房で，カルシウム動態の調整遺伝子 Cacna1c や Serca2 の発現低下を認めた。これらは，心房内異所性 Pitx2c 発現が電気的リモデリングを引き起こす事を示唆した。

（11）洞房結節自動能における細胞内 Ca^{2+}の関与：動物種による違い

行方衣由紀，尾高椋介，實方健人，福田歩美，濵口正悟，田中　光（東邦大学 薬学部 薬物学教室）

心臓拍動の源は，洞房結節の活動電位発生のきっかけとなる緩徐脱分極であり，その勾配が心拍数を決定している。近年，この勾配を維持する仕組みとして，細胞内 Ca^{2+} を介した自動能の調節機構が注目されている。そこで本研究では，心拍数の異なる動物間における細胞内 Ca^{2+} の緩徐脱分極相への関与の違いを検討し

た。マウスおよびモルモットから摘出した右心房筋にガラス微小電極法を適用し活動電位を取得した結果，マウスのほうが拍動数が高く，緩徐脱分極相の勾配(slope)が急であった。また BAPTA-AM，Ryanodine，Niflumic acid の処置により，両種ともに slope が低下した。一方，Na^+/Ca^{2+} 交換機構（NCX）阻害薬である SEA0400 の処置および外液の low Na^+ への置換は，マウスでのみ slope を低下させた。以上より，マウス，モルモットともに細胞内 Ca^{2+} は slope の形成に関与しており，筋小胞体上の ryanodine 受容体が，その供給源として寄与していることが示唆された。しかし，細胞内 Ca^{2+} を電位へと変換する NCX の働きには違いがあり，マウスでは，NCX の forward mode を介した内向き電流が slope の形成に関与しているのに対し，モルモットでは NCX が関与していない可能性が示唆された。体の小さな動物は，大きい動物と比較して，より多くの仕組みを駆使することで，高い心拍数を維持していると考えられる。

（12）虚血性急性腎障害における遠位尿細管 NCX1 の病態生理学的重要性

根本隆行（福岡大学 医学部 薬理学），若崎るみ枝（福岡大学筑紫病院 麻酔科）
田頭秀章，喜多　知，中嶋尚子（福岡大学 医学部 薬理学）
喜多紗斗美（福岡大学 医学部 薬理学，徳島文理大学 薬学部 薬理学）
岩本隆宏（福岡大学 医学部 薬理学）

虚血性急性腎障害は，手術侵襲や移植を起因とする顕著な腎機能低下であり，その病態に寄与する腎組織病変は主に近位尿細管障害であると指摘されているが，遠位尿細管の重要性については未だ不明確である。本研究では，遠位尿細管基底膜側に発現する NCX1 の虚血性急性腎障害における病態生理学的意義を明らかにするために，遠位尿細管特異的 NCX1 欠損（NCX1-cKO）/高発現（NCX1-TG）マウスを作製し，腎虚血再灌流モデル実験を実施した。右腎摘出マウスの左腎動静脈を 30 分間閉塞し，再灌流後 24 時間の腎機能（血漿 Cr，BUN，尿量，電解質排泄）を評価した。また，再灌流 24 時間後の腎組織を HE 染色し，腎組織障害の程度をスコア化した。NCX1-TG に腎虚血再灌流処理を施すと，血漿 Cr および BUN の有意な増加が認められたが，野生型マウスと同程度であった。一方，NCX1-cKO ではそれらの増加が顕著に抑制された。腎組織所見においても，NCX1-cKO では腎皮質・腎髄質の組織障害が軽減していた。興味深いことに，NCX1-TG では腎皮質は野生型マウスと同程度であったが，腎髄質の組織障害が有意に増悪化しており，同部位のマクロファージ浸潤亢進も認められた。本研究の結果から，虚血性急性腎障害における遠位尿細管 NCX1 の病態生理学的重要性が示唆された。遠位尿細管 NCX1 抑制処置は腎保護的効果が期待できると考えられた。

（13）Physiological role of gp130 in postnatal proliferation of cardiomyocytes and functional development of heart

川岸裕幸
（信州大学 先鋭領域融合研究群バイオメディカル研究所 バイオテクノロジー部門，医学部 分子薬理学教室）
中田　勉（信州大学 基盤研究支援センター 機器分析支援部門）
冨田（沼賀）拓郎（信州大学 医学部 分子薬理学教室）
Maite Larrañaga
（Universitat Internacional de Catalunya, Faculty of Medicine and Health Sciences, Basic Sciences Department, Spain）
山田充彦（信州大学 医学部 分子薬理学教室）

哺乳類の心室筋細胞は出生後，離乳期までにその表現型が変化する。マウスの心室筋細胞は出生後も一定回数分裂するが，その制御メカニズムは不明な点があり，出生後の心臓の発達における生理的な意義については明らかになっていない。そこで我々は，この時期の心臓での機能が報告されている細胞間シグナル伝達について，その受容体阻害薬を新生児マウスに注射し，心臓への影響を調査した。その結果，インターロイキン 6 ファミリーの受容体である gp130 の阻害薬（SC144）を投与すると，離乳期のマウスにおいて左室収縮率の低下が生じることを見出した。さらなる解析のために，アデノ随伴ウイルスを用いた細胞種特異的遺伝子ノックアウトモデル（CASAAV）を用いて，出生後に心筋細胞特異的に gp130 をノックアウトした。そのマウスの心臓の表現型を検討したところ，同様の左室収縮率低下が認められ，左室壁が菲薄化していた。さらに左室の心筋細胞の分裂が有意に低下しており，左室の心筋細胞総数が減少していることが判明した。また複数の gp130 リガンド分子を単離心室筋細胞に添加したところ，インターロイキン 6 が心室筋細胞の分裂を有意に誘導した。以上のことから，インターロイキン 6/gp130 シグナルは，新生児の心室筋細胞の生理的な分裂と，出生後の心臓の正常な機能発達に重要な役割を果たしていることが明らかになった。

（14）一酸化窒素 NO は S-ニトロシル化シグナルを介して心筋 Na^+チャネルを抑制する

小野克重，王　普，小山内博基，吉村健司，粂慎一郎（大分大学 医学部 病態生理学講座）
森島真幸（近畿大学 農学部 食品栄養学科），黒川竜紀（大分大学 医学部 病態生理学講座）

ガス性シグナル分子である一酸化窒素 NO は血管では平滑筋弛緩因子として，心筋では細胞内 cGMP 濃度の上昇を介して心筋保護作用を示す。一方，治療薬としての硝酸薬は NO を介して虚血や心不全治療に用いられるが有害作用も知られている。本研究は NO が電位作動性 Na^+ チャネルに何らかの作用を有するという仮説を立て，その制御作用の解明を目的とした。ラット心筋細胞にパッチクランプ法を施行して Na^+ チャネル電流(I_{Na})を測定し，NO ドナー（NOC-18，SNAP）の作用を観察した。NOC-18 や SNAP は短期作用（ - 5 min）では I_{Na} に作用を示さないが長期作用(24 h)では濃度依存性にこれを抑制した。NO の I_{Na} に対する抑制作用は G キナーゼ阻害剤 KT5823 の作用下では影響を受けず，NO 除去剤 carboxy-PTIO や S-ニトロシル化阻害剤 NEM の作用下で消失した。心筋 Na^+ チャネルαサブユニット（SCN5A）の mRNA 及び同蛋白（Nav 1.5）は NO の作用で低下した。一方，SCN5A の抑制性転写因子 FOXO1 は NO の作用で増加した。FOXO1 活性加薬である paclitaxel は長期的に I_{Na} を抑制し，NO の更なる I_{Na} の抑制を阻害した。NO は S ニトロシル化シグナルを介して転写因子 FOXO1 の発現を増加させ長期的に電位作動性 Na^+チャネルの発現を低下させることが示唆された。

（15）細胞融合がひきおこす骨格筋分化の遺伝子制御

冨田太一郎，山口君空，三上義礼，大島大輔，赤羽悟美
（東邦大学 医学部 生理学講座 統合生理学分野）

背景と目的　骨格筋は胎生期だけでなく，成体においても高い筋形成能を維持している。骨格筋形成の過程では，筋芽細胞の融合により多核の筋繊維が生じるが，近年，この細胞融合を実行する分子として 1 回膜貫通タンパクの Myomixer (Mymx) が同定された。そこで，Mymx の制御機構とその生理機能を明らかにし，筋形成および再生を制御する分子機序を解明することを目的として，in vitro 筋分化系を構築した。

方法　C2C12 細胞の in vitro 筋分化系を用いた。まず，既知の細胞融合因子の発現を定量 PCR で解析した。次に，CRISPR-Cas9 法により，細胞融合因子 Mymx の遺伝子欠損株（KO 株）を得た。また，KO 株にレトロウィルスで Mymx を再導入し，細胞融合の回復による遺伝子発現の変化を RNA-seq 法で解析した。

結果　筋分化誘導に伴う Mymx の上流制御を薬理学的に探索した結果，p38MAPK の関与が認められた。実際，このキナーゼ活性の阻害により細胞融合は抑制されたが，細胞形態および遺伝子発現に一定の筋分化の徴候を認めた。そこで，Mymx-KO 株に Mymx 遺伝子を再構成させ，細胞融合依存的に変動する遺伝子を網羅的に探索した。その結果，サルコメア関連分子，Ca^{2+} 制御分子などの興奮収縮連関に関わる遺伝子の発現量に有意な差が認められた。これらの遺伝子は，筋分化制御の転写因子 MyoD や myogenin の発現とは独立に変動していた。

結語　細胞融合依存的に興奮収縮連関の形成を制御する新たな遺伝子制御機構が存在する可能性を見出した。

（16）ヒト肺高血圧肺組織におけるテロメア長およびテロメア関連蛋白質の解析

倉原　琳，李　小東，平石敬三（香川大学 医学部 律機能生理学）
石川かおり（香川大学 医学部総合内科），石川　亮（香川大学 医学部 病理診断科）
松田陽子（香川大学 医学部 腫瘍病理），平野勝也（香川大学 医学部 律機能生理学）

研究背景・目的：肺高血圧症（PH）は肺動脈リモデリングを示す難治性血管病である。細胞増殖はテロメラーゼ活性に関連し，その触媒サブユニット human telomerase reverse transcriptase (hTERT) はテロメア短縮，成長因子や低酸素刺激，サイクリン依存性キナーゼ 1（CDK1）によって活性化される。細胞の老化や増殖の結果によりテロメア長が短縮することも知られている。本研究では，肺高血圧肺組織におけるテロメア関連蛋白質の発現とテロメア長を解析した。方法：PH（n=5）及び非肺高血圧：non-PH（n=5）の肺の組織を用いて，蛍光免疫染色による活性型 hTERT（Thr249 リン酸化体），細胞周期関連分子，各種細胞マーカーの発現解析， FISH 法によるテロメア長の定量をおこなった。結果：PH 肺組織は non-PH 肺組織と比較しての肺動脈及びその周辺でテロメア長が短い細胞が多く，CDK1 と共発現する hTERT 陽性細胞が増生した。PH 肺組織の肺動脈周辺で増生した hTERT 発現細胞の 9 割が CD44 陽性細胞であった。PH 組織では老化マーカーp16 陽性細胞が肺動脈内皮を中心に観察され，強皮症を持つ症例では平滑筋層でも観察された。結論：PH 肺動脈では細胞老化によるテロメア短縮に対し hTERT の再活性化された可能性がある。

（17）比較トランスクリプトームと幹細胞モデルから見る心筋細胞の成熟制御機構

魚崎英毅，Nawin Chanthra（自治医科大学 分子病態治療研究センター 再生医学研究部）
安済達也（自治医科大学 分子病態治療研究センター 再生医学研究部，小児科学）
Razan E Ahmed，徳山剛士（自治医科大学 分子病態治療研究センター 再生医学研究部）

心筋細胞は生後にその機能を大きく向上させ，成熟することが知られている。しかし，その制御メカニズムは未だ十分に理解されていない。そのメカニズムを明らかにするために，我々はマウスとヒトの比較トランスクリプトームと，多能性幹細胞由来心筋細胞を用いた研究を行っている。マウスとヒトの胎生期から成体までの経時的なトランスクリプトームを解析し，これまでマウスで心筋細胞の成熟マーカーとされてきた遺伝子が，ヒトでは必ずしも成熟マーカーとして使えないことを見出した。そこで新しいマーカー遺伝子を使った成熟レポーターの開発を行った。さらに，トランスクリプトームに基づいてマウスおよびヒト心筋細胞の成熟度を定量する手法を確立した。これにより，in vitro で心筋細胞の成熟度を評価する基盤を構築した。以前の研究において核内受容体を活性化する PGC1a/b が心筋細胞の成熟を制御していることが明らかになっていた。そこで，マウスおよびヒト多能性幹細胞由来心筋細胞に対し，核内受容体アゴニストを処理することで，成熟度を促進することができるかを調べ，さらに最適組み合わせを探索したところ，マウスとヒトで一部異なる組み合わせにより成熟が促進されることを見出した。また，ヒトの成熟度はマウスと比べ不十分であり，マウスとヒトの心筋細胞成熟機構には相違点があることが示唆された。

（18）Sulfide catabolism ameliorates hypoxic brain injury

市瀬　史（Harvard Medical School; Massachusetts General Hospital）

The mammalian brain is highly vulnerable to oxygen deprivation, yet the mechanism underlying the brain’s sensitivity to hypoxia is incompletely understood. Hypoxia induces accumulation of hydrogen sulfide, a gas that inhibits mitochondrial respiration. Here, we showed that, in mice, rats, and naturally hypoxia-tolerant ground squirrels, the sensitivity of the brain to hypoxia was inversely related to the levels of sulfide: quinone oxidoreductase (SQOR) and the capacity to catabolize sulfide. Silencing SQOR increased the sensitivity of the brain to hypoxia, whereas neuron-specific SQOR expression prevented hypoxia-induced sulfide accumulation, bioenergetic failure, and ischemic brain injury. Excluding SQOR from mitochondria increased sensitivity to hypoxia not only in the brain but also in heart and liver. Pharmacological scavenging of sulfide maintained mitochondrial respiration in hypoxic neurons and made mice resistant to hypoxia. These results illuminated the critical role of sulfide catabolism in energy homeostasis during hypoxia and identify a therapeutic target for ischemic brain injury.

（19）シンポジウム「心血管系の環境適応システム—胎児期から成体まで—」のイントロダクション

西谷友重（和歌山県立医科大学 医学部）

心血管系は，胎児期から成体まで成長していく過程で，胎生環境や出生時および出生後の各種ストレスなど大きな環境変化にさらされる。これらに対し，血管では心臓発生や虚血の際の血管新生，心臓では細胞内微小器官（筋小胞体やミトコンドリアなど）の成熟やイオン制御因子の遺伝子発現変化を介して，各種環境

変化に適応する。特に発達期で高発現する遺伝子は病態時にも高発現して生体防御に働く場合も多く，未成熟期の発達過程の機構を明らかにすることにより疾患に対する新規治療法開発に役立つ可能性がある。成体においても性ホルモンや他臓器からの生理活性物質が内因性の生体防御機構として働くことが報告されている。本シンポジウムでは，心血管の各成長段階において新規に見いだされた恒常性維持機構および生体防御に関わる因子を紹介していただき，心血管による巧妙な生命維持機構を討論したい。

（20）組織分化におけるミトコンドリアダイナミクスの重要性

石原孝也，石原直忠（大阪大学大学院 理学研究科 生物科学専攻）

ミトコンドリアはエネルギー生産のみならず，細胞死や Ca 応答の制御，さらには酸化ストレスの発生にも関わる，多機能かつ生命機能に必須なオルガネラである。近年，ミトコンドリアは細胞内で分裂と融合を頻繁に繰り返しながら，ダイナミックにその形態を変化させていること，また，分化・発生・病態形成など多様な現象に関与していることが明らかになっている。我々はミトコンドリア分裂因子 Drp1 の遺伝子欠損マウスを構築し，その生理的意義の解析を進めている。その中で，Drp1 は心機能に必須であることをこれまでに見出している。Drp1 を欠損した心臓は拡張し，収縮不全が認められた。さらに著明な筋線維形成不全および酸素呼吸活性の低下が認められた。その病態形成の詳細解析を進めたところ，Drp1 遺伝子を欠損した心筋細胞では，mtDNA の不均一な分布が観察された。mtDNA はミトコンドリアの活性維持に必須の遺伝子をコードしており，その細胞内配置が心機能維持に関与する可能性が示唆された。このようにミトコンドリア分裂因子 Drp1 の解析をきっかけにして，ミトコンドリア膜と mtDNA の協調的かつダイナミックな挙動が重要であることなど，ミトコンドリアの様々な新しい特性を見出しつつある。今後，関連因子の解析から分子機序や生理機能との関連を明らかにしていきたい。

（21）胎児期における大血管の分化メカニズム

横山詩子（東京医科大学 細胞生理学分野）

哺乳類は出生時に水中生活から陸上生活への急激な変化を乗り越える。胎盤循環から切り離されることにより新生児は自らの肺でガス交換を開始し，末梢血管抵抗の増加に伴い体血圧が上昇する。これらの変化に適応するために，胎児期に大動脈では弾性線維が形成され，大動脈と接する動脈管では弾性線維の形成が抑制されて血管内膜肥厚形成が促進される。動脈管では，胎盤で多く産生されるプロスタグランディン E_2 (PGE_2) の受容体である EP4 が高度に発現している。G 蛋白共役型受容体である EP4 は cAMP を産生し，プロテインキナーゼ A を介して胎内での動脈管拡張に寄与している。我々は，EP4 刺激が血管拡張とともに，ホスホリパーゼ C を介してクラスリン依存性エンドサイトーシスを亢進させ，ライソゾームでのリシルオキシダーゼの分解を促進することで弾性線維形成を低下させることを明らかにした。さらに，EP4 刺激はホスホリパーゼ C-プロテインキナーゼ C-NFκB 経路を介して糖タンパクである fibulin-1 を著明に増加させた。Fibulin-1 はバーシカン，フィブロネクチン，ヒアルロン酸といった細胞外マトリックスを統合することで，平滑筋細胞を血管内腔へと遊走させて内膜肥厚形成を促進させた。これらより，胎児期における動脈管特異的な EP4 発現は大血管のリモデリングを誘導し，新生児循環への適応に重要な役割を果たすことが示唆された。

（22）心血管に見られる性差とその形成機構

黒川洵子（静岡県立大学 薬学部），児玉昌美（順天堂大学 医学部）
長沢思音，坂本多穂（静岡県立大学 薬学部）

循環器系における性差には，成人の場合，エストロゲンの内皮保護作用などの性ホルモンの関与が報告されており，心血管における生理・病態そして予防・診断・治療に影響する。また，超早産児における循環不全などにも性差が報告されており，発生・発達期に心血管の性差が既に形成されると示唆される。しかし，発生・発達期での性差機構は全く不明である。そこで，我々は，発生・発達期のマウス心臓を標本とし，雌雄差に関わる遺伝子発現変動，心筋細胞の生理学的機能および冠血管の形態機能を解析した。まず，胎生 17.5 日のマウス心室でのマイクロアレイ解析では，X 染色体から escape する遺伝子を含め 59 遺伝子が性差遺伝子として同定された。生理学的機能解析では，新生児マウス心室筋細胞のβアドレナリン受容体シグナル制御に雌雄差が見られた。最後に，冠血管の形態機能の解析では，胎生 17.5 日のマウスから心臓を摘出し，独自の手法で冠血管造影を行った。心臓サイズについては雌雄差を見いだせなかったが，冠血管径については，心室長軸が長い群のみで有意な差があることを見出した。以上より，マウス心臓の遺伝子発現および形態機能における雌雄差が発生・発達期に見られることを示した。

（23）Rap1 低分子量 G タンパク質は血管透過性を制御することにより生体恒常性を維持する

山本清威（日本医科大 先端研 病態解析学，徳島大 医歯薬学研究部）
渡邊−高野晴子（国循セ 細胞生物学），堀上大貴（東京大 農学生命科学）
大橋隆治（日本医科大 病理学），久保田義顕（慶応大･解剖学）
村田幸久（東京大 農学生命科学），望月直樹（国循セ 細胞生物学）
福原茂朋（日本医科大 先端研病態解析学）

血管内腔面でシートを形成する血管内皮細胞は，Vascular endothelial (VE)-cadherin による細胞間接着を形成し，血管透過性をダイナミックかつ厳密に制御することにより，生体恒常性を維持している。しかし，その制御機構の破綻は血管透過性の過剰亢進をもたらし，様々な疾患の病態を悪化させる。我々は，Ras ファミリーに属する低分子量 G タンパク質 Rap1 は，VE-cadherin による血管透過性制御の鍵分子であることを発見した。Rap1 は，Rho ファミリー低分子量 G タンパク質の Rho を抑制し，血管透過性亢進に働く収縮性アクチン繊維を破壊する一方，Cdc42 を介して細胞間接着部位に沿ったアクチン繊維を形成し，VE-cadherin 接着を安定化することにより，血管透過性を抑えることを明らかにした。また，血管内皮特異的 Rap1 欠損マウスは VE-cadherin 接着の破綻により，重度の肺水腫を呈し死亡することから，Rap1 は正常肺組織の血管透過性を低い状態に維持していることが示された。さらに，Rap1 活性化により炎症に伴う血管透過性亢進を抑制できることが分かった。以上により，Rap1 は生体内における血管バリア機能維持に必須のシグナル分子であり，急性呼吸窮迫症候群やがんなど血管透過性の亢進がかかわる疾患の治療標的となる可能性が示唆された。

（24）シンポジウム「臓器連関から紐解く新たな循環生理」のイントロダクション

久場敬司（秋田大学大学院 医学系研究科）

心血管系を含む生体の恒常性の維持には個体から臓器，細胞，オルガネラ，分子にいたる全ての階層が重要である。近代の循環生理の研究は，実験動物の摘出臓器や単離細胞の解析研究から始まり，細胞内のチャネル，シグナル伝達，機能調節などの分子実体とその機能の解明研究へと発展してきた。近年の基礎研究分野では細胞内分子の詳細な機能解明など要素を絞り込む研究が多く行われてきた。一方で最近，臓器連関が個体の恒常性維持に関与するという概念が確立されてきた。遺伝子欠損マウスを活用した個体レベルの研究により，臓器連関の破綻が疾患や老化をもたらすこと，臓器連関の実体として臓器・細胞間の液性因子の伝達や細胞同士の直接接触を介した密接なコミュニケーションが示されてきている。また，臓器連関の研究は疾患病態のコンテクストで語られることから臨床関連分野からの貢献が大きい。そこで本シンポジウムでは，臓器連関に関連する第一線の研究者に最新の研究成果を講演していただき，基礎分野における次世代の循環生理研究を議論することをねらいとする。

（25）神経・免疫系を介した多臓器連携による循環制御機構

藤生克仁（東京大学 循環器内科）

心不全は全身疾患といわれており，臓器間連携に着目した新しい恒常性維持機構またはその破綻機構の解明が必要である。我々は，これまでに心臓・脳・腎臓が神経・免疫細胞ネットワークを介して結合しており，このネットワークが心保護的に働くことを報告した（Fujiu et al., *Nat Med* 2017）。このシステムの破綻は心不全死を惹起した。さらに，心臓内のマクロファージが発現しているアンフィレグリンを除去すると，様々な不整脈が自然発生するのみならず，交感神経刺激時には，心臓突然死を発症することを見出した（Sugita J, Fujiu K, et al., *Nat Commun*, 2021）。これらの結果は，心臓内に存在している心臓マクロファージが発現しているアンフィレグリンが心臓関連死の２大原因である心不全死，心臓突然死の両者に保護的に働いていることを示唆した。さらに，マクロファージがアンフィレグリンを発現できるのは，非炎症状態のマクロファージのみであるが，炎症状態のマクロファージが，炎症の収束過程で細胞代謝が脂肪酸代謝になり，炎症収束転写プログラムが発動することが重要であるが，この過程に新規に同定した long-non coding RNA が重要であることを見出した（Nakayama Y, Fujiu K et al., *PNAS* 2020）。

（26）臓器連関をデータとモデルから読み解く

島村徹平（名古屋大学大学院 医学系研究科）

近年の一細胞オミクス計測技術や空間トランスクリプトーム解析などの技術革新により，一細胞レベルでのゲノム，エピゲノム，トランスクリプトーム，プロテオーム，メタボローム，メタゲノム等のオミクスの同時測定，あるいは空間情報を付加した遺伝子発現情報の取得が可能となった。これにより，従来技術では全く垣間見ることのできなかった多様な生物学的プロセスにおける細胞間コミュニケーションの解明がもはや不可能ではない目標となりつつある。一方で，時空間情報をもつ網羅的分子情報から，いかにして有用な情報を抽出・統合し，細胞相互作用ネットワークが関わる生命現象や疾患解明へつなげるかかが重要な課題

になっている。本講演では，近年著しい発展を遂げる深層学習技術を駆使して，一細胞計測と空間トランスクリプトーム情報を相互に補完しながら，臓器連関に関連する細胞間コミュニケーションの理解を加速するためのデータ駆動型アプローチについて，最新研究事例を通じて紹介した。

（27）感覚免疫学

丸山健太（自然科学研究機構 生理学研究所）

前世紀の医療界では，外傷や感染に伴う痛みは診断の糸口になるのだから，治す必要のないものだとされていた。それ故，急性痛に対する理解は遅々としてすすんでいなかった。しかし 1997 年に，痛覚神経上に発現して痛みを感知する TRPV1 チャネルが単離されると，堰を切ったように多くの痛み受容に関与するイオンチャネルがクローニングされ，侵害受容学は飛躍的な進展をみせた。また，2010 年には機械刺激を感知するイオンチャネルとして Piezo ファミリー遺伝子が同定され，現在，他分野にわたる研究者が当該遺伝子の機能解析に取り組んでいる。こうした中，これまで手付かずの状態にあった感染随伴疼痛に関する研究も開始され，痛覚神経があたかも自然免疫細胞のように病原体を直接認識している姿が浮き彫りとなってきた。また，痛みによって活性化された痛覚神経は，神経ペプチドの内分泌を介することでさまざまな病気を増悪させているのみならず，時として防御因子としてもふるまうことが報告され，最近では，痛覚神経が骨炎症や病原体感染を制御しているとする仮説まで登場している。本講演では，新たな船出のときをむかえた侵害受容にまつわる科学の現在を俯瞰しながら，感覚生理学と免疫学を融合させた感覚免疫学（Senso-immunology）ともいうべき新しい学際領域の持つ可能性について，我々の成果をまじえつつ議論した。

（28）臓器連関による糖・エネルギー代謝調節機構の解明

山田哲也（東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科 分子内分泌代謝学分野）

白色脂肪組織を有することの意義の一つに，食物を常に得ることができるか不確かな環境下で，すぐに利用できるエネルギー源を体に蓄えておくことが挙げられる。一方で，過剰な脂肪の蓄積（＝肥満）は個体の活動性を損ない，捕食や外敵からの回避において不利益をもたらす。従って，哺乳類は生存戦略として摂食およびエネルギー消費量を調整し，適切なレベルの脂肪蓄積を維持できるよう進化を遂げてきたものと想定される。我々は，来るべき飢餓に備えて適切なレベルの脂肪蓄積を維持しておくために，摂取したエネルギーを効率的に脂肪として蓄えるような肝臓－脳－褐色脂肪組織（BAT）連関（*Cell Metab*, 2012）が個体に備わっていること，あるいは体重の過増加（＝肥満）を防止するために，肝臓の脂肪蓄積に端を発する神経シグナルが BAT によるエネルギー消費亢進を担っていること（*Science*, 2006）などを解明してきた。一方，いったん食物の不足に直面すれば生存のために個体レベルのエネルギー消費を抑制する必要があり，最近，このメカニズムにも肝臓－脳－BAT 連関が重要な役割を担っていることを見出した。このように個体レベルのエネルギー代謝調節において，肝臓に端を発する臓器連関が重要な役割を担っている訳だが，経口摂取で得た栄養素が，腸管，門脈の順に通過し肝臓に至ることからすると，肝臓が臓器連関の起点として機能するのは合目的的と考えられた。

（29）カテコラミン誘発性肺静脈自動能における Ca^{2+} 刺激性アデニル酸シクラーゼの関与

岡本洋介（秋田大学大学院 医学系研究科 細胞生理学講座）
Naing Ye Aung（山形大学 医学部 病理解析センター）
高木大地，五十嵐　亘（秋田大学大学院 医学系研究科 心臓血管外科学講座）
尾野恭一（秋田大学大学院 医学系研究科 細胞生理学講座）

【背景】肺静脈から単離した心筋細胞はノルアドレナリンなど刺激で自発性活動電位が誘発される特徴を持つ。我々はこれまでカテコラミンα受容体刺激の下流でイノシトール誘発性 Ca^{2+} 放出が活動電位を惹起する仕組みを解明してきた。今回，β 受容体刺激の下流で主要な膜機能を活性化するアデニル酸シクラーゼ（AC）の働きを研究した。【方法・結果】ラットの各心臓区域について，RT-PCR 法，免疫組織染色，ウェスタンブロット法で 9 つある AC のアイソタイプの発現パターを確認したところ，心臓では AC3， AC5 ならびに AC9 の発現量が高く，特に AC3 は心房と肺静脈で限局的に発現が高かった。細胞免疫染色では AC は T 管の沿って局在していた。1 μM イソプレテレノール刺激で各種心筋細胞の L 型 Ca^{2+} 電流を増大させたところ，心室筋細胞と違い，心房と肺静脈の心筋では，細胞内 Ca^{2+} をキレートするよりも 0.1 mM 細胞内 Ca^{2+} 条件で優位に増大反応が強くなった。ノルアドレナリン誘発自動能は SQ22536（SQ） 5 μM では停止しなかったものの， 100 μM で停止した。【結論】SQ に高感度かつ Ca^{2+} 抑制性の AC5 や，SQ や Ca^{2+} に非感受性の AC9 ではなく，SQ に中程度感受性かつ Ca^{2+} 刺激性の AC3 が，肺静脈の誘発性自動能で主な役割を担っていた。

（30）胎児マウス冠血管に見られる形態機能的性差

長沢思音（静岡県立大学 薬学部），児玉昌美（順天堂大学 医学部）
坂本多穂，黒川洵子（静岡県立大学 薬学部）

心血管疾患の発症率には男女差が存在する。この差は長らくエストロゲンによる血管保護作用によるものと考えられてきた。しかし，超早産児の生存率や更年期以降の心血管病の病態など性ホルモンの影響のみで説明しがたい性差も存在し，そのメカニズムは未だ解明されていない。そこで我々は，性腺ホルモンの分泌が生じる前の胎児期のマウス心臓を用いて性差機構を解析した。血管造影法による冠血管の形態機能解析では，胎生 17.5 日のマウスから心臓を摘出し，インク定圧注入法による血管造影を行った。胎生 17。5 日マウスの心臓は心室長軸長が長い群と短い群に分かれたが，いずれの群でも雌雄差はみられなかった。一方，冠血管径については，心室長軸が長い群のみで有意な差があることを見出した。生理的条件下では雄の冠血管径の方が長いが，血管拡張薬（NOC7）存在下では雌の方が長くなった。これらの結果をもとに，胎生 17.5 日マウスの心臓の雌雄差に関わる遺伝子発現変動をみるため，マイクロアレイによる解析を行った。胎生 17.5 日心臓にて発現に雌雄差がある遺伝子を探索したところ，X 染色体から escape する遺伝子を含め 9 遺伝子が同定された。今回，胎生期マウス心臓の機能形態および遺伝子発現の性差を実験的に示すことに成功した。

（31）KD025 の肺動脈平滑筋細胞増殖抑制作用と病態改善効果

山村　彩，Md Junayed Nayeem，高橋理恵，佐藤元彦（愛知医大医学部）

肺高血圧症臨床分類の第 1 群で最も典型的な臨床像を示す肺動脈性肺高血圧症（PAH）は予後不良の難病である。PAH の主な原因は，肺動脈平滑筋の過収縮（攣縮）と肥厚（リモデリング）の亢進である。既存の PAH 治療薬は肺血管拡張剤であるため，肺血管リモデリングを改善する薬剤の開発が期待されている。これまでに我々は，特発性肺動脈性肺高血圧症（IPAH）患者由来の肺動脈平滑筋細胞（PASMCs）において，Rho キナーゼ 2（ROCK2）が発現増加していることを見出した。本研究では，正常ヒトおよび IPAH 患者由来の PASMCs を用いて，ROCK2 阻害薬 KD025 の薬効を評価した。KD025 は IPAH-PASMCs の異常な細胞増殖を濃度依存的に抑制した（IC_{50} = 289 nM）。また，siRNA 法による ROCK2 ノックダウンによっても細胞増殖は抑制された。モノクロタリン誘発性肺高血圧症（MCT）ラットの PASMCs でも ROCK2 の発現増加が認められた。MCT ラットにおける KD025（1 mg/kg/day）の腹腔内投与は右室収縮期圧（RVSP）を低下させた。以上の結果，ROCK2 の発現増加が肺血管リモデリングによる PAH 病態形成に関与していることが明らかになった。本研究による知見は，PAH 病態機構の解明や新規治療薬の開発に大きく貢献すると考えられる。

（32）血管平滑筋のカベオラ局在型 Cav1.2/CaMKK2/CaMK1a 複合体は興奮転写連関を介した血管リモデリングに関与する

鈴木良明，小澤拓海，中島七海，今泉祐治，山村寿男
（名古屋市立大学大学院 薬学研究科 細胞分子薬効解析学分野）

細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇は，Ca^{2+}/CaM dependent kinase (CaMK)などのシグナル分子を活性化して，興奮転写連関による遺伝子発現を誘導する。血管平滑筋細胞（VSMC）では，カベオラ構成分子カベオリン（cav）-1 が電位依存性 Ca^{2+} チャネル（Cav1.2）とその下流シグナル分子を集積させる。本研究では，カベオラが興奮転写連関の構造的基盤になると仮定して，その分子機構と生理的意義の解明を目的とした。マウス腸間膜動脈を持続的に脱分極させると，VSMC 内で転写因子 CREB が活性化され，炎症促進遺伝子群が誘導された。一方，cav1-KO マウス由来の組織ではこれらの反応は見られなかった。各種阻害薬および RNAi により，Cav1.2-CaMKK2-CaMK1a 経路が興奮転写連関に重要であることが明らかになった。蛍光イメージングの結果，上記分子群のカベオラ内への局在化が VSMC における CREB の活性化に必要であることが判明した。in vivo でマウス腸間膜動脈に圧負荷をかけたところ，刺激部位へのマクロファージの遊走と中膜肥厚が生じたが，CaMKK2 阻害薬あるいは cav1-KO によりこれらの変化は抑制された。以上より，カベオラ局在型 Cav1.2/CaMKK2/CaMK1a 複合体は，興奮転写連関を介して血管リモデリングを誘発することが示唆された。

（33）肺動脈平滑筋細胞における SKF96365 の Ca^{2+} 感受性受容体の活性化作用

宮木理子（名古屋市大院薬 細胞分子薬効解析），山村　彩（愛知医大 医生理）
鈴木良明，山村寿男（名古屋市大院薬 細胞分子薬効解析）

肺動脈性肺高血圧症（PAH）は，肺血管攣縮やリモデリングにより肺血管抵抗が持続的に上昇し，慢性的に肺動脈圧が上昇する難病である。PAH には肺動脈平滑筋細胞（PASMCs）の持続的な細胞内 Ca^{2+} 濃度

（$[Ca^{2+}]_{cyt}$）上昇が関与する。SKF96365 は TRP チャネルやストア作動性 Ca^{2+} チャネルなどを阻害することが知られている。本研究では，PASMCs の Ca^{2+} シグナルにおける SKF96365 の薬理作用を検討した。正常ヒト肺動脈平滑筋細胞（Normal-PASMCs）において，SKF96365 は $[Ca^{2+}]_{cyt}$ に影響を与えなかった。一方，特発性肺動脈性肺高血圧症患者由来肺動脈平滑筋細胞（IPAH-PASMCs）では，SKF96365 によって $[Ca^{2+}]_{cyt}$ が上昇した。この $[Ca^{2+}]_{cyt}$ 上昇は Ca^{2+} 感受性受容体（CaSR）阻害薬である NPS2143 や Calhex231 によって抑制された。また，SKF96365 は CaSR 誘発性 $[Ca^{2+}]_{cyt}$ 上昇を増強した。この増強は NPS2143 や Calhex 231 によって抑制された。最後に，CaSR を siRNA ノックダウンした IPAH-PASMCs においては，SKF96365 による $[Ca^{2+}]_{cyt}$ 上昇は減弱した。以上より，SKF96365 が CaSR 活性化作用を有することが明らかになった。

（34）脳血管障害性認知症に対する Mizagliflozin の効果

石田菜々絵（岩手医科大学 薬学部）
斉藤麻希（医療創生大学 薬学部）
弘瀬雅教（岩手医科大学 薬学部）

緒言：我々は，ナトリウム-グルコース共輸送体 1（SGLT1）が，脳微小血管障害性認知障害に関与していることを報告した。今回，mizagliflozin（SGLT1 阻害薬）の脳微小血管障害性認知障害に対する効果を検討した。

方法：Asymmetric common carotid artery surgery (ACAS) にて脳微小血管障害（慢性的脳血流低下）状態を作製した。Mizagliflozin は，ACAS 施行 1 週間前より実験終了まで慢性的に投与された。ACAS 試行 4 週目にモリス水迷路試験を施行した。実験は，Control 群，ACAS 群と ACAS+mizagliflozin 群の 3 群で検討した。また，PC12HS 細胞を用いて interlukin-1β (IL-1β) による神経細胞障害に対する mizagliflozin の効果を検討した。

結果：モリス水迷路試験では，動物がゴール台に泳ぎ着くまでの時間（escape latency）を測定し，ACAS 群では Control 群と比較して escape latency の延長があった。Mizagliflozin は，この延長を改善した。Mizagliflozin は，IL-1β 投与による PC12HS 細胞障害を防いだ。結論：Mizagliflozin は，IL-1β による神経細胞障害を防いで脳微小血管障害性認知障害に対する保護効果を示すことが示唆された。

10. 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

2021 年 12 月 18 日－12 月 19 日

代表・世話人：岩部美紀（東京大学大学院医学系研究科）
所内対応者：箕越靖彦（生殖･内分泌系発達機構研究部門）

（1）体温維持機構における骨格筋の役割と臓器間代謝ネットワーク

三島優奈（徳島大学）

（2）飢餓時の体温調節機構 ― 咀嚼行動との機能連関を考える

佐藤貴弘（久留米大学）

（3）求心性迷走神経による末梢オキシトシ・バソプレシンセンシングと摂食行動への連関

岩崎有作（京都府立大学）

（4）免疫系などの宿主生理機能に影響を与える腸内細菌種の探索

田之上　大（慶應義塾大学）

（5）マウスの反復社会挫折ストレスが全身糖代謝に及ぼす影響

戸田知得（北海道大学）

（6）細胞膜上プロゲステロン受容体を介した代謝機能制御

渡辺啓太（東京農工大学）

（7）グルカゴン応答性メチル化酵素を介した血糖制御・肝腫瘍形成機構の解明

松本道宏（国立国際医療研究センター研究所）

（8）グルカゴン測定系の改良とその応用～今後の検討課題を含めて～

北村忠弘（群馬大学）

（9）脳内中枢時計の時刻調節に関与する新規オーファン受容体 Gpr19

山口賀章（京都大学）

(10) 微量必須栄養素の新規脳内感知機構の解明

中島健一朗（生理学研究所）

(11) ヘルスケア IoT による疾患診断と発症予測・制御

中村　亨（大阪大学）

(12) サルコペニア・フレイルとホルモン

小川純人（東京大学）

(13) Ppy 遺伝子の活性化が β 細胞の heterogeneity を規定する

深石貴大（群馬大学）

(14) フレキシブルセンサを用いた生体計測

横田知之（東京大学）

(15) 双極性障害と身体活動の関連性

久島　周（名古屋大学）

(16) 情動行動の発現に関与する脳内シグナル伝達機構

永井　拓（藤田医科大学）

(17) 健康長寿実現を目指した新規糖尿病・生活習慣病治療法の確立

岩部（岡田）美紀（東京大学）

(18) 膵島の栄養素代謝異常はグルカゴン過剰分泌に関与する

和田恵梨（群馬大学）

（19）カナグリフロジンによるグルコース非依存的大腸ガン増殖抑制作用

田中智洋（名古屋市立大学）

（20）レプチン投与は PTP1B 欠損下でインスリン依存性糖尿病モデルマウスの糖代謝を改善する

坂野僚一（名古屋大学）

【参加者名】

黒田雅士（徳島大学大学院），堤　理恵（徳島大学），三島優奈（徳島大学），阪上　浩（徳島大学大学院），田村優実（徳島大学大学院），富永玲奈（徳島大学大学院），藤本紗織（徳島大学），待田京香（徳島大学），松村英里佳（徳島大学），坂　季穂子（徳島大学），小林久呂枝（徳島大学），和田安純（徳島大学），福中彩子（群馬大学），田中　都（名古屋大学），菅波孝祥（名古屋大学），土居雅夫（京都大学），田中智洋（名古屋市立大学），高木博史（名古屋市立大学），青谷大介（名古屋市立大学），徐　書誠（北海道大学），杉山摩利子（名古屋大学医学部附属病院），中島友紀（東京医科歯科大学），北村忠弘（群馬大学），茶本　凜（徳島大学），恒川　卓（一宮市立市民病院），古橋眞人（札幌医科大学），志内哲也（徳島大学），佐々木智之（名古屋大学），宮本潤基（東京農工大学），滝　啓吾（岡崎市民病院），廣瀬友矩（名古屋大学），付　友紀子（名古屋大学），米田祥広（徳島大学），坂野僚一（名古屋大学総合保健体育科学センター），佐藤大介（山形大学），池田弘子（星薬科大学），米持奈央美（星薬科大学），芝崎真裕（星薬科大学），鎌田知紘（星薬科大学），渡辺啓太（東京農工大学），田之上　大（慶應義塾大学），和田恵梨（名古屋大学），戸田知得（北海道大学），白川伊吹（名古屋大学），山口賀章（京都大学），大植隆司（京都大学），満島　勝（国立国際医療研究センター研究所），松川隼也（国立国際医療研究センター研究所），松本道宏（国立国際医療研究センター研究所），永井　拓（藤田医科大学），小川純人（東京大学），横田知之（東京大学），久島　周（名古屋大学），豊岡真悠（京都府立大学），能美太一（京都府立大学），尾崎主基（京都府立大学），佐藤貴弘（久留米大学），射場拳虎（京都府立大学），中上拓海（大手前大学），清水天幸（京都府立大学），大林健人（京都府立大学），長沼孝雄（国立国際医療研究センター研究所），岩崎有作（京都府立大学），岩部美紀（東京大学），岩部真人（東京大学），孫　子曰（東京大学），武藤明日香（京都府立大学），二木寛之（東京大学），陸　天伊（東京大学），深石貴大（群馬大学），中村　亨（大阪大学），榊原伊織（徳島大学大学院），山内敏正（東京大学），岡本士毅（琉球大学），孫　汝楠（名古屋大学），箕越靖彦（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），近藤邦生（生理学研究所），中島健一朗（生理学研究所），堀尾修平（生理学研究所），三須宏武（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，臨床研究，健康情報系，生体医工学系，生体情報工学等の専門家が一堂に会し，幅広い領域をまたぐ異分野連携学際的共同研究の推進により，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に加え，各分野のトップランナー20 名の研究者に発表をお願いした。具体的な発表は，セッション 1（三島・佐藤・岩崎・田之上等），セッション 2（戸田・渡辺・松本・北村等），セッション 3（山口・中島・中村・小川等），セッション 4（深石・横田・久島・永井等），セッショ

ン 5（岩部・和田・田中・坂野等）として行った。また，昨年に続き，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，全世代活躍型研究会としてZOOM シンポジウム形式で行い，最新の技術とデータの共有，自由・活発な発表・議論が行われ，知見・研究技術・人的交流を深めることができ，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）体温維持機構における骨格筋の役割と臓器間代謝ネットワーク

三島優奈[1]，堤　理恵[1]，藤本紗織[1]，志内哲也[2]，岡松優子[3]，黒田雅士[1]，阪上　浩[1, 4]
([1]徳島大学大学院 医歯薬学研究部 代謝栄養学分野
[2]徳島大学大学院 医歯薬学研究部 統合生理学分野
[3]北海道大学大学院 獣医学研究院 生化学教室
[4]徳島大学先端酵素学研究所糖尿病臨床･研究開発センター）

生体（内温動物，Endothermy）の体温は，体内の代謝で発生する熱によって維持されているが，熱産生のうち安静時の約 25%，活動時を含めると約 60 %が骨格筋由来であるといわれている。我々は，骨格筋不動化をモデルとして，熱産生における骨格筋の役割と体温維持における生体の代謝連関による制御機構の解明を試みた。

両後肢にギプス固定をして作製した骨格筋不動化C57BL/6J マウスモデルの直腸温は不動化前と比して低下傾向を示し，寒冷曝露によって著明な体温低下を示した。これは不動化により骨格筋の熱産生が抑制され，寒冷環境下における体温維持が困難となることを示している。骨格筋不動化状態における各臓器の糖・アミノ酸代謝産物の解析では，筋萎縮の過程で骨格筋細胞中の遊離アミノ酸濃度は上昇するにも関わらず，骨格筋自身のアミノ酸取り込み量やアミノ酸代謝の亢進は認めず，一方で褐色・白色脂肪組織および肝臓においてL-[3-^{3}H]-ロイシンの取り込みが上昇し，肝糖新生の亢進が不動化早期より認められた。褐色脂肪組織においては，UCP1 タンパク発現が不動化早期より増加し，各エネルギー基質の利用に関連する遺伝子発現が増加した。すなわち，不動化による骨格筋由来の遊離アミノ酸は脂肪組織や肝臓で利用されていることが示された。実際，不動化モデルでは酸素消費量が増大し，脂肪組織重量は減少した。これより，骨格筋不動化による褐色脂肪組織の熱産生に伴い，肝臓や白色脂肪組織などの多臓器の代謝動態が連関することが示唆された。

骨格筋の不動化により骨格筋の熱産生能力は低下し，褐色脂肪組織による代償的な体温維持機構が働く。この体温維持機構では，骨格筋が積極的にエネルギー基質としてアミノ酸を他臓器に提供することが，結果として廃用性筋萎縮の一因となると考えられた。

（2）飢餓時の体温調節機構 ― 咀嚼行動との機能連関を考える

佐藤貴弘，大石佳苗，児島将康（久留米大学 分子生命科学研究所）

動物では空腹になると摂食調節系が亢進し，エネルギーを摂取するための摂食行動が惹起される。しかしながら，持続的に食物を得ることができない飢餓時には，体内の消費エネルギーを抑制して生命を維持する戦略が必要になる。齧歯類のマウスではトーパーと呼ばれる現象によって能動的な低体温や低代謝などが誘導され，エネルギー消費の抑制が生じることが知られている。我々は，空腹時に胃や十二指腸から分泌されて血液中を循環するホルモンのグレリンが，トーパーの誘導や維持に必要なホルモンであるということを報告してきた。しかしながら，グレリンがどのような作用機序で体温を調節するのかは十分に理解されていな

かったことから，本講演では，グレリンがトーパーの誘導や維持をどのような作用機序で可能にするのかについて概説する。また，最近，グレリンが咀嚼行動の促進に関与すると報告されていることから，飢餓時のグレリンによる体温調節と咀嚼行動との機能連関についても考察したい。

（3）求心性迷走神経による末梢オキシトシ・バソプレシンセンシングと摂食行動への連関

岩崎有作[1]，清水天幸[1]，豊岡真悠[1]，輿水崇鏡[2]，矢田俊彦[3]
（[1]京都府立大学大学院 生命環境科学研究科，[2]自治医科大学･医学部分子薬理学部門，
[3]関西電力医学研究所･統合生理学研究部）

近年のシングルセル RNA シーケンス技術による遺伝子発現パターン解析により，求心性迷走神経には十数種のサブクラスが存在することが分かってきた。その中で，下垂体後葉ホルモンのオキシトシンやバソプレシンの受容体を発現するサブクラスが存在することが報告された。しかし，これら下垂体後葉ホルモン受容体を発現する求心性迷走神経がどのような機能を有しているのかは，不明な点が多い。我々は，肥満/閉症治療の目的で研究されているオキシトシン末梢投与に注目し，末梢オキシトシンがオキシトシン受容体発現求心性迷走神経を活性化し，視床下部室傍核のオキシトシン神経の活性化を介して摂食量を抑制する，末梢・中枢オキシトシン連間軸を見出した（Iwasaki Y., Yada, T., BBRC 2019）。さらに，末梢のバソプレシンは，オキシトシン応答求心性迷走神経とは異なるサブクラスを活性化し，視床下部X神経を活性化して摂食量を抑制する新規経路を発見した（unpublished data）。本発表では，主要な２つの下垂体後葉ホルモンが，異なる求心性迷走神経サブクラスを活性化し，異なる視床下部神経を介して摂食行動を調節している作用と機序を解説する。

（4）免疫系などの宿主生理機能に影響を与える腸内細菌種の探索

田之上　大[1,2]，永山　学[1,2]，本田賢也[1,2]
（[1]慶應義塾大学医学部 微生物学･免疫学教室
[2]理化学研究所 生命医科学研究センター 消化管恒常性研究チーム）

昨今のマイクロバイオータ研究は，次世代シーケンシングによる大規模解析の進行に伴い飛躍的に進展した。その中で我々は宿主生理機能，とりわけ免疫系に作用する腸内常在細菌に着目し，ヒトおよびマウスから責任細菌株を同定・単離してきた。例えば，常在菌を持つ通常マウスの腸管に多数局在する Interferon-gamma (IFNγ) 産生性 CD8T 細胞数が無菌マウスにおいては著しく少ないことに着目した。その集積に腸内細菌の関与が考えられたため誘導細菌を健常者の便サンプルからトップダウン方式でスクリーニングした結果，11 細菌株からなるコンソーシアムを同定・単離した。実際，この 11 菌株のみを定着させたマウスの大腸において IFNγ 産生 CD8T 細胞が強力に誘導されることが確認出来た。また，11 菌株定着マウスを皮下腫瘍モデルに供すると CD8T 細胞依存的に免疫チェックポイント阻害剤の抗がん免疫作用を増強させたことから，11 菌株は腸管局所のみならず全身の免疫系に影響することが明らかとなり，治療法開発に応用出来る可能性が示唆された。また，現在では宿主代謝系に作用する腸内細菌について研究を推進しておりその内容についても本発表で紹介する。

（5）マウスの反復社会挫折ストレスが全身糖代謝に及ぼす影響

戸田知得，石本大我，加藤　完
（北海道大学大学院獣医学研究院生化学教室）

精神的ストレスはヒトにおけるⅡ型糖尿病のリスク因子となる。精神的ストレスによって HPA axis が活性化し，血中コルチゾールの増加に伴って末梢組織のインスリン抵抗性が起こることが知られている。本研究では，マウスのうつ病モデルである反復社会挫折（chronic social defeat: CSD）ストレスにおいて，どのようなタイミングおよびメカニズムで全身糖代謝が悪化するかを解析した。

C57BL マウスを攻撃性の強い ICR マウスのいるケージ内に侵入させ，10 分間物理的に攻撃を受けさせた後，マウスを金網で仕切り同居させた。この操作を 10 日間行うと，CSD ストレス負荷マウスにおいて CSD を行わないコントロールと比べて不安様行動が増加した。しかし，10 日目の時点でのグルコース負荷試験およびインスリン負荷試験における血糖値はコントロールと同程度であり全身糖代謝は変化しなかった。CSD ストレスが終わって 7 日後（実験 17 日目）にグルコース負荷試験を行うと CSD ストレス負荷マウスはコントロールよりも耐糖能が低下した。このとき血中コルチコステロンの濃度はストレス負荷前と同じ程度であった。したがって，CSD ストレスの終了が全身糖代謝を悪化させ，HPA axis とは別のメカニズムが働いている可能性がある。

本研究会では 17 日目に全身糖代謝が悪化した原因について最新のデータを紹介し，ストレスからの解放が全身糖代謝を悪化させる可能性について議論したい。

（6）細胞膜上プロゲステロン受容体を介した代謝機能制御

渡辺啓太[1]，山野真由[2]，大植隆司[2]，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 代謝機能制御学研究室，
[2]京都大学大学院 生命科学研究科 生体システム学分野）

卵巣から合成・分泌される性ステロイドホルモンの一つであるプロゲステロンは，性機能への関与だけではなく，免疫機能，神経保護作用や皮脂分泌など多彩な生理機能に関与していることが明らかになってきた。プロゲステロンの有するこれらの機能には，核内受容体を介した遺伝子発現制御のような長期的な機能変化では説明のできない即時性の反応が多数関与していることが示唆されるが，その詳細なメカニズムは未だ明らかにされていない。一方，近年新たに細胞膜上プロゲステロン受容体（mPR; membrane progesterone receptor）ファミリーの存在が報告され，プロゲステロンによる種々の即時性応答に関与する可能性が示唆されている。本研究では，プロゲステロンによる mPR を介したエネルギー代謝制御機構を解明することを目的とし，個体，細胞レベルでの分子機能解析を行った。その結果，α からεからなる mPR ファミリーの内，mPRε は mPR ファミリーの中で唯一，脂肪組織に発現し，雌雄どちらにおいてもプロゲステロン刺激を受けることで糖取り込みを制御する可能性が示唆された。今後，mPRε によるプロゲステロンの受容機構を明らかにすることで，細胞膜受容体を標的とした新規創薬，生活習慣病・肥満・糖尿病に対する新規の予防・改善戦略に貢献できると期待される。

（7）グルカゴン応答性メチル化酵素を介した血糖制御・肝腫瘍形成機構の解明

松本道宏，松川隼也，満島　勝，長沼孝雄
（国立国際医療研究センター 研究所糖尿病研究センター 分子代謝制御研究部）

インスリン抵抗性を有する 2 型糖尿病患者では，肝糖新生の亢進と非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）が高頻度で併存する。前者はグルカゴンシグナルの活性化により誘導され高血糖を惹起するため，その制御は病態に即した治療戦略となっている。後者へは高インスリン血症や脂肪分解の亢進などが関与し，肝がんへの進展阻止が重要な課題となっているが，グルカゴンシグナルが NAFLD/肝がんに与える影響は明らかにされていない。グルカゴンは肝臓において，糖新生，脂肪酸酸化，アミノ酸異化などの代謝作用を示すが，これらの作用を担う酵素群の発現も遺伝子転写を介して誘導する。我々は本誘導を担う核内シグナル伝達モジュールを見いだし，これを介した新たなグルカゴン作用のエフェクター分子の網羅的探索を行い，メチル化酵素 SETX を同定した。これまでの検討から SETX は肝細胞においてグルカゴンにより発現が誘導されるリジンモノメチル化酵素であり，リン酸化により活性調節を受けること，非ヒストンタンパクのメチル化を介して肝糖新生と肝がんを促進することが明らかになっている。本発表では本酵素に関する最新の知見を紹介し議論したい。

（8）グルカゴン測定系の改良とその応用～今後の検討課題を含めて～

北村忠弘（群馬大学生体調節研究所，代謝シグナル解析分野）

グルカゴンは血中に存在するグルカゴン関連ペプチドとの交差反応性により，従来使用してきた競合法 RIA では血中濃度を正確に測定できなかった。そこで最近，グルカゴンの N 末端と C 末端を認識する２つの抗体を用いたサンドイッチ ELISA が開発された。筆者らは質量分析装置を用いた高特異性のグルカゴン測定系（LC-MS/MS）との比較検証を行い，サンドイッチ ELISA が競合法 RIA よりも正確であることを証明した。次に，健常者（CONT）と２型糖尿病患者（T2DM）の血中グルカゴン濃度をサンドイッチ ELISA で比較検討したところ，T2DM は CONT に比べ，（１）空腹時の高グルカゴン血症，（２）糖負荷後３０分のグルカゴンが低下しない，（３）食事負荷後３０分のグルカゴンが著明に上昇することが判明した。特に食後３０分のグルカゴン変動は種々の血糖関連パラメーターと強く相関すること，T2DM におけるグルカゴン異常はインスリンやインクレチンとは関連していないことが明らかとなった。従って，２型糖尿病の病態診断にグルカゴンが独立したマーカーとなり得ることが示唆された。しかしながら，現在臨床検査で使用されているサンドイッチ ELISA はグリセンチンなどとの交差反応性が残っており，膵臓や胃を切除した症例では正確に測定できないことが判明した。この問題を解決すべく，著者らは特異性と感度を飛躍的に改良した新規サンドイッチ ELISA の開発に成功し，その有用性を確認した。一方，一般的に臨床研究で用いられる糖負荷と食事負荷試験では糖尿病におけるグルカゴン異常を検出する感度が低いことから，糖尿病モデルマウスに対し，単独栄養素負荷を行って検証したところ，糖尿病におけるグルカゴン過剰分泌を検出するにはタンパク質負荷，特に分岐鎖アミノ酸負荷が最も有効であることを確認した。

（9）脳内中枢時計の時刻調節に関与する新規オーファン受容体 Gpr19

山口賀章，土居雅夫（京都大学大学院 薬学研究科 システムバイオロジー分野）

我々は，概日時計の中枢である視交叉上核（SCN）に発現する G タンパク質共役型受容体（GPCR）の概日リズム機能を研究している（Yamaguchi et al, Science 2013; Doi et al, Nat Commun 2016; Yamaguchi et al, iScience 2018; Wang et al, Sci Rep 2020）。今回，SCN に発現する新規オーファン GPCR である Gpr19 の時刻調節機能を報告する（Yamaguchi et al, Sci Rep 2021）。

Gpr19 は SCN の背側に発現し，その転写物量は概日リズムを示した。Gpr19$^{-/-}$マウスは行動リズムの周期長が延長し，その SCN では Bmal1 や Gpr176 など夜間にピークを示す遺伝子の発現量が低下した。また Gpr19$^{-/-}$マウスは，夜間の光刺激による行動リズムの位相後退量が減少した。神経活動のマーカーである c-Fos の免疫組織化学により光刺激の SCN への作用を解析したところ，Gpr19$^{-/-}$マウスの SCN では，入力部位である腹側の c-Fos の発現は正常であったが，出力部位である背側の発現は低下した。したがって Gpr19 は，光刺激による SCN の腹側から背側への神経活動伝播を担い，概日時計の位相変動を調節すると考えられる。本研究により，概日リズムを調整する新たな標的候補が示された。

（10）微量必須栄養素の新規脳内感知機構の解明

中島健一朗，箕越靖彦（生理学研究所 生殖･内分泌発達機構研究部門）

近年，三大栄養素（糖質・脂質・タンパク質）の生体恒常性の研究が進み，脳-末梢臓器連環による総エネルギー摂取量の恒常性維持機構の実態が解明されつつある。また，その破綻が肥満や糖尿病をはじめとした代謝疾患を引き起こすことも知られている。これらの栄養素ついては視床下部を中心にその脳内感知や食物選択メカニズムの研究も進行している。一方，食品成分には三大栄養素の他にビタミンやミネラルなどの微量必須成分が含まれる。これら微量必須栄養素は主として補酵素として三大栄養素の代謝調節に関与することがこれまでの細胞内エネルギー代謝経路研究により詳細に調べられている。しかし，全身レベルにおける恒常性維持機構や脳内感知の仕組みはほとんどわかっていない。

そこで，我々は様々な微量栄養素のうち，TCA サイクルを構成する複数の酵素の補酵素として機能し，地球上の全ての動物のエネルギー産生において必須であるビタミン B1 に注目し，マウスを用いて研究を行っている。本発表では，ビタミン B1 欠乏によって引き起こされる食欲不振とそこからの回復のプロセスを解析することで分かってきた新規腸脳軸や摂食調節機構について報告したい。

（11）ヘルスケア IoT による疾患診断と発症予測・制御

中村　亨（大阪大学 基礎工学研究科）

昨今の IoT（Internet of Things）技術による日常生活下モニタリングの発展と普及は，我々の日常生活下での行動（睡眠や食事を含む様々な活動）や生理・心理状態，さらには周辺環境データの長期にわたる経時的・連続的計測を可能にしつつある。近年，これらの日常生活データを個人の健康リスクの検知や予測に活用し，さらには行動変容につなげる取り組みが国際的にも注目されている。特に，現在の医療診断の枠組みでは使用されてこなかったスマートフォンやウェアラブルデバイスなどで計測される非医療データの利活用に期待が寄せられている。本発表では，我々がこれまで取り組んできたウェアラブル活動量計を用いた精神疾患の

客観的評価や病態遷移の推定，日内の自覚症状変化の推定などについて紹介する。さらに，我々が開発してきた日常生活下での健康関連情報モニタリングが可能なスマートフォンを基盤とする IoT クラウドシステムとそれを用いた取り組み等についても紹介する。

（12）サルコペニア・フレイルとホルモン

小川純人（東京大学大学院 医学系研究科 老年病学）

高齢者において，サルコペニア（加齢性筋肉減少症）やフレイル（虚弱）は，転倒・骨折リスクおよび要介護リスクの増大につながるだけでなく，ADL や QOL，生命予後にも影響をおよぼす可能性が指摘されている。そのため，介護予防や「フレイル健診」をはじめとした早期からの予防・対策は重要と考えられている。サルコペニアやフレイルの発症・進展に関して，性ホルモンやビタミン D を含めた動態との関連性が示唆されており，筋骨連関や認知機能におけるホルモンの役割や機能についても知見が集まりつつある。今回，サルコペニア・フレイルとホルモンとの関連性について，ホルモンの有する多面的作用や筋骨連関の制御，ホルモン補充や漢方補剤等による薬物療法の可能性を含めて紹介したい。

（13）Ppy 遺伝子の活性化が β 細胞の heterogeneity を規定する

深石貴大[1]，中川祐子，福中彩子[1]，佐藤隆史[1]，原　朱美[2]，
宮塚　健[2]，松岡孝昭[3]，綿田裕孝[2]，藤谷与士夫[1]
（[1]群馬大学 生体調節研究所 分子糖代謝制御分野
[2]順天堂大学大学院 医学研究科 代謝内分泌内科学講座
[3]和歌山県立医科大学 内科学第一講座）

Pancreatic polypeptide (PP)は Ppy 遺伝子によりコードされ，膵島の一部を占める PP 細胞で産生される。その生理的意義は不明だが，Ppy-lineage cell は内分泌前駆細胞としての役割を持つと報告されてきた。

我々が最近確立した Ppy ノックインレポーターマウス(Ppy-Cre;Rosa26-YFP マウス)の解析の結果，成獣の膵島で Ppy-lineage cell は PP 細胞のみならず各種内分泌細胞に分化していた。Ppy-lineage β cell の遺伝子発現を網羅的に解析すべく，single-cell transcriptome analysis を施行したところ，β 細胞の中に Ppy-lineage β cell と考えられるサブクラスターが確認され，PP 細胞の key gene の発現亢進，β 細胞の機能・成熟に関連する遺伝子の発現低下が確認された。免疫染色において，Ppy-lineage β cell は PP 細胞の key gene の一つである TSPAN8 を高発現しており，β 細胞の成熟マーカーである GLUT2, UCN3 の発現が低下していた。また，Ca^{2+} imaging において，Ppy-lineage β cell は non-Ppy-lineage β cell と比較しグルコース応答性の細胞内 Ca 流入が低下していた。以上より，Ppy-lineage β cell は PP 細胞に近い遺伝子発現プロファイルを持つ，機能的に未熟な subpopulation であると示唆された。

さらに，Ppy-lineage β cell は通常 β 細胞の 15 % 程度を占めるに過ぎないが，GLUT2 を介して β 細胞を破壊する STZ の投与後，残存 β 細胞の 50 % 程度を Ppy-lineage β cell が占めていた。GLUT2 非依存的な diphtheria toxin (DT) による β 細胞破壊ではそのような変化は確認できず，Ppy-lineage β cell における GLUT2 の発現低下による現象と考えられた。しかし，DT 投与後の長期観察において Ppy-lineage β cell の割合が上昇しており，遷延する高血糖状態において Ppy lineage β cell が何らかの病態生理学的意義を有している可能性が示唆された。

（14）フレキシブルセンサを用いた生体計測

横田知之，染谷隆夫（東京大学 工学系研究科）

現代社会の国際的な大きな社会問題の 1 つとして高齢化があげられる。高齢化社会においては，病院や介護施設のみで高齢者をケアすることは難しく，高齢者個人が自分自身の健康状態に責任をもって管理することが必要となってくる。このような在宅医療システムを構築するためには，高齢者でも簡便かつ安心して自分の健康状態へアクセスすることができる必要性がある。このような社会を実現するうえで，重要な技術としてあげられるのがウェアラブルエレクトロニクスである。

ウェアラブルエレクトロニクスの最先端技術の 1 つにフレキシブルエレクトロニクスがあげられる。フレキシブルエレクトロニクスは，従来のシリコンを用いたエレクトロニクスとは異なり，材料自身の柔らかさや有機分子ならではの特異的な機能を生かすことで，生体・医療向けのデバイス応用が注目を集めている。我々のグループでは，特に有機エレクトロニクスを極限まで薄膜化することで，生体表面へ追従するフレキシブルセンサの開発に取り組んでいる。本講演では，1 μm という薄膜基板上に形成した様々な柔らかい集積回路や発光素子に関する技術紹介を行うとともに，ヘルスケア向け応用に関する進捗についても紹介する。

（15）双極性障害と身体活動の関連性

久島　周[1,2]
（[1]名古屋大学大学院 医学系研究科 精神医学分野，[2]名古屋大学医学部附属病院 ゲノム医療センター）

双極性障害は，躁状態とうつ状態を繰り返す，代表的な精神疾患の 1 つである。双極性障害（I 型）の生涯有病率は 1 % 程度であり，10〜20 代に発症することが多い。躁状態の時は，気分が高揚あるいは易怒的になり，活動性や気力の増加が認められる。一方，うつ状態では抑うつ気分，興味・関心や喜びの喪失，活動性の低下がみられる。

多くの患者で睡眠覚醒リズムの問題が認められる。双極性障害の患者は，食生活の乱れ，運動不足，薬剤の影響などにより，身体疾患の合併が多く，肥満，糖尿病，高脂血症，高血圧，メタボリックシンドロームの合併率が高く，平均余命が一般人口よりも 10 歳短いとの報告もある。

双極性障害の脳病態は不明な点が多いが，遺伝要因が強く発症に関与することが疫学研究から明らかになっている（遺伝率 80 %）。発表者らは，全ゲノムを対象とした頻度の稀なゲノムコピー数変異（copy number variation: CNV）の解析から，双極性障害のリスクに関わる遺伝子を見出した。この知見に基づいたモデルマウスを用いて解析を進めており，当日の講演では現在までに得られた結果についても紹介する。

（16）情動行動の発現に関与する脳内シグナル伝達機構

永井　拓（藤田医科大学 精神･神経病態解明センター 神経行動薬理学研究部門）

喜び，悲しみ，怒り，恐怖，不安というような激しい感情の動きは情動行動として表現され，これはある感覚情報に対する脳の反応で人間が生きていくうえで欠かすことができない脳の働きである。ドパミンは快・不快情動の発現に重要な役割を果たす神経伝達物質としてよく知られている。コカインや覚醒剤などの依存性薬物は脳内報酬系の中心である側坐核で細胞外ドパミン量を増大させることによりドパミン D1 受容体

を発現する中型有棘神経細胞の細胞興奮性を高め，精神運動興奮や報酬関連行動などの快情動行動をもたらす。これまでの研究で，快情動行動における側坐核中型有棘神経細胞の重要性は明らかにされてきたものの，その分子メカニズムが不明であった。我々は，新たな包括的リン酸化プロテオミクス法を開発し，これまで不明であった細胞興奮性やシナプス可塑性制御の分子機序として，D1R-PKA-Rap1-MAPK 経路が細胞興奮性に，MAPK-Npas4 経路がシナプス可塑性に重要であることを見出した。また，忌避反応を伴う不快情動行動には，ドパミン D2 受容体およびアデノシン A2A 受容体を発現する中型有棘神経細胞の PKA-Rap1 シグナルが関与していることを見出した。これら一連の研究により，ドパミンはアデノシンと協働して中型有棘神経細胞のリン酸化シグナルを調節し，快・不快に関する情動行動を制御していると考えられる。

（17）健康長寿実現を目指した新規糖尿病・生活習慣病治療法の確立

岩部（岡田）美紀（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り，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 の作用低下が生活習慣病などの疾患の原因となることを明らかにしてきた。AdipoR を標的にした抗糖尿病・生活習慣病薬開発に向けた構造ベース創薬を目指してきた。これまでに AdipoR アゴニストの取得に成功し，さらに最近，新しい AdipoR の構造と機能を明らかにし，肥満関連疾患に対する多彩な作用を発揮することが分かってきた。

また，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いない。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。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。

（18）膵島の栄養素代謝異常はグルカゴン過剰分泌に関与する

和田恵梨[1,2]，小林雅樹[1]，河野大輔[1]，菊池　司[1]，平野瞳子[3]，大日方　英[3]，北村忠弘[1]
([1]群馬大学生体調節研究所 代謝シグナル解析分野
[2]名古屋大学環境医学研究所 メタボ栄養科学寄附研究部門
[3]群馬大学大学院 医学系研究科 教育研究支援センター 共同利用機器部門)

2 型糖尿病では高グルカゴン血症が認められており，高血糖の一因と考えられている。我々は，糖尿病患者および糖尿病モデルマウスにおいて，空腹時よりも食後に高グルカゴン血症が顕著となることを明らかとした。本研究では，グルカゴン過剰分泌に関連する栄養素の特定および，そのメカニズムの解明を目的とした。

単独栄養素負荷時のグルカゴン濃度を測定した。3 大栄養素（たんぱく質，脂質，炭水化物）をそれぞれ負荷したところ，たんぱく質の負荷後にすべての糖尿病モデルマウスで高グルカゴン血症が認められた。更に 3 種のアミノ酸溶液（分岐鎖アミノ酸，分岐鎖アミノ酸以外の必須アミノ酸，非必須アミノ酸）を作製し，それぞれ投与した。すると分岐鎖アミノ酸（BCAA）投与後にのみ，糖尿病モデルマウスで高グルカゴン血症となることが認められた。

続いて，糖尿病モデルマウス膵島の BCAA 代謝産物

を調べた。BCAA 異化で産生される分岐鎖ケト酸や分岐鎖アシル CoA の含量は糖尿病モデルマウス膵島で減少していた。そこで，BCAA 代謝抑制酵素である BCKDK の阻害剤を糖尿病モデルマウス膵島に添加したうえで，BCAA 添加を行ったところ，グルカゴンの過剰分泌は改善された。

以上より，糖尿病病態では膵島で BCAA 代謝異常が起こっており，それが糖尿病における食後グルカゴン分泌亢進に関与していることを初めて明らかとした。

（19）カナグリフロジンによるグルコース非依存的大腸ガン増殖抑制作用

田中智洋，八木崇志，久保田英嗣，片岡洋望
（名古屋市立大学 医学研究科 消化器･代謝内科学）

ガン細胞における細胞内代謝と増殖との関連が示され，代謝制御による制ガン戦略が注目を集めている。一般にガン細胞は解糖系に依存し，より多くのグルコース分子を要とする。我々は，特に消化管ガンにナトリウム・グルコース共役輸送体（SGLT）が高発現していることに着目し，SGLT 阻害剤が大腸ガンの増殖に及ぼす影響を検討した。ヒト大腸ガン細胞株に SGLT2 阻害薬，カナグリフロジン（Cana）を添加すると，S 期細胞の減少と用量依存的な増殖抑制が認められた。同じ SGLT2 阻害薬でもエンパグリフロジン（Empa）はこの効果を示さなかった。Cana，Empa はいずれも糖取込みには影響せず，Cana の増殖抑制効果はグルコース除去培地や SGLT1 ノックダウン細胞でも観察されたことから，増殖抑制はグルコース非依存的と考えられた。一方，Cana は Empa ではみられない ADP や GDP，GSSG の増加等の代謝変化を生じ，リン酸化 AMPK の増加，リン酸化 4EBP1 の減少をもたらした。Cana の効果は AMPK 阻害薬や mTOR 活性化薬により阻害されたことから，グルコース非依存的な細胞内エネルギー状態変化が Cana 作用の機序と考えられた。Cana の経口投与はヌードマウスの皮下に移植した大腸ガンの増殖を抑制した。以上，カナグリフロジンによる糖取込み非依存的なガン細胞代謝変化と増殖抑制効果が示され，今後の展開が期待される。

（20）レプチン投与は PTP1B 欠損下でインスリン依存性糖尿病モデルマウスの糖代謝を改善する

坂野僚一[1,2]
（[1]名古屋大学 総合保健体育科学センター，[2]名古屋大学医学部附属病院 糖尿病･内分泌内科）

【背景】インスリン依存性糖尿病モデルマウス（IDDM）にレプチンを脳室内投与すると，自律神経を介し末梢臓器での糖の取り込みを増強して糖代謝を改善する報告がある。Protein Tyrosine phosphatase-1B (PTP1B) は，レプチンシグナルを阻害する酵素であり，PTP1B 欠損下ではレプチンシグナルが亢進する。

【目的】IDDM において PTP1B 欠損下でレプチンを投与し糖代謝が改善するか否かを検討する。

【方法】10 週齢の雄性野生型マウス（WT）および全身性または POMC ニューロン特異的または AgRP ニューロン特異的 PTP1B 欠損マウス（それぞれ W-KO，P-KO，A-KO）にストレプトゾシン（STZ）を投与して IDDM を作成後，浸透圧ポンプを用いてレプチン 20 μg/日を皮下へ持続投与し糖代謝の変化を評価した。

【結果】IDDM W-KO および P-KO は IDDM WT と比較して有意な糖代謝の改善を認めたが A-KO では傾向を認めるのみであった。

【考察】IDDM モデルマウスにレプチンを投与すると PTP1B 欠損下では外因性のレプチン作用が増強し，インスリンシグナルとは独立して糖代謝を改善する可能性が示唆された。また，レプチンによる血糖降下作用は少なくとも POMC ニューロンを介したものであることが示唆された。

11. 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）

2021 年 9 月 27 日

代表・世話人：佐々木　努（京都大学）
所内対応者：箕越靖彦（生体機能調節研究領域 生殖･内分泌系発達機構研究部門）

（1）飲酒欲求の調節メカニズム

佐々木　努（京都大学）

（2）核輸送とアルコール関連行動

青峰良淳（大阪大学）

（3）辛味感受性と遺伝子多型

村田芳博（高知大学）

（4）微量栄養素の受容機構

中島健一朗（生理学研究所）

（5）迷走神経切断動物における欠乏微量栄養素の選択摂取行動

安尾敏明（朝日大学）

（6）慢性ストレス下の摂食・栄養変化

藤井　徹（八千代病院）

（7）マウスの食塩嗜好性を記述するホメオスタシス強化学習理論の構築

内田裕輝（国立精神･神経医療研究センター）

（8）匂いの行動学習を担う嗅皮質領域の神経回路可塑性機構

モハメッド･ファズレイ･ラッビ･シャ（高知大学）

（9）脂肪酸伸長酵素 Elovl6 とショ糖嗜好性

志村拓哉（筑波大学）

(10) 匂いに対する誘引行動の代謝シグナルによる調節機構

モハメッド･モンジュルル･アハサン（高知大学）

(11) Neuropeptide F はショウジョウバエにおいてインクレチン様作用を持つ

丹羽隆介（筑波大学）

(12) 肥満マウスにおける視床下部分泌性小タンパク質の機能解析

成松勇樹（広島大学）

(13) 低脂肪・高炭水化物食給餌下における視床下部分泌性小タンパク質の影響

加藤正暉（広島大学）

【参加者名】

近藤高史（近畿大学），清水愼太郎（ハウス食品㈱），加藤直樹（アサヒクオリティーアンドイノベーションズ㈱），宮本理人（神奈川工科大学），柴田諒祐（㈱ニップン），豊原良和（高砂香料工業㈱），伊藤建吾（エスビー食品㈱），松本英希（味の素㈱），宇賀神道彦（東京海洋大学大学院），今井啓雄（京都大学），村田芳博（高知大学），青峰良淳（大阪大学蛋白質研究所），疋田貴俊（大阪大学蛋白質研究所），内田裕輝（国立精神・神経医療研究センター），藤井徹（八千代病院），加藤るみ子（八千代病院），鈴木未宇（八千代病院），藤川哲兵（UT Southwestern Medical Center），森下紗帆（常葉大学），溝口博之（名古屋大学），加藤正暉（広島大学），成松勇樹（広島大学），朝倉敬子（東邦大学），中島久和（京都府立医科大学），岩畑慎一（ハウス食品㈱），趙卉家（味の素㈱），平井宏和（日本食品化工㈱），酒

寄信幸（広島大学），松居　翔（京都大学），五十嵐麻希（東京大学），竹隈幸洋（ハウス食品グループ本社㈱），長阪玲子（東京海洋大学），岡　和（豊田中央研究所），福原正太（京都第二赤十字病院），根岸剛大（ハウス食品㈱），都地真澄（東京海洋大学），池田弘子（星薬科大学），菊池真和（㈱ロッテ），山口正洋（高知大学），柘植杏菜（ライオン㈱），福村圭介（広島大学），新田貴大（ハウス食品グループ本社㈱），小栗靖生（京都大学大学院），吉田健人（京都大学），沼上真佑（明治大学大学院），安尾敏明（朝日大学），田中大介（東京医科歯科大学），芝崎真裕（星薬科大学），丹羽隆介（筑波大学），留岡諭志（ライオン㈱），Md. Fazley Rabbi Sha（高知大学），大野雅貴（マルハニチロ㈱），鷹股　亮（奈良女子大学），八十島安伸（大阪大学），鴨井享宏（ハウス食品グループ本社㈱），岩崎有作（京都府立大学），井原悠介（味の素㈱），藤田真由（静岡大学大学院），吉野朱香（静岡大学大学院），柳沼裕史（たかぎ内科），Md Monjurul Ahasan（高知大学），上田修平（名古屋大学），恒川　卓（一宮市立市民病院），重岡徹（味の素㈱），立松綾子（富士食品工業㈱），白石郁美（味の素㈱），野尻健介（長谷川香料㈱），中川佳保（奈良女子大学），田中　都（名古屋大学），安藤貴史（産業技術総合研究所），大栗弾宏（サントリー食品インターナショナル㈱），河内花菜子（京都大学），山田真実（京都大学大学院），小澤貴明（大阪大学），村田航志（福井大学），志内哲也（徳島大学），岡田紫苑（京都大学），小山博之（名古屋市立大学大学院），深澤朋子（早稲田大学），加藤成樹（福島県立医科大学），志村拓哉（筑波大学），平田康朗（医療法人社団 珠泉会），佐々木　努（京都大学），森脇翔悟（広島大学），内藤万菜（広島大学），竹村晶子（名古屋市立大学大学院），浮穴和義（広島大学），新福夏海（広島大学），岩越栄子（広島大学），丸山世倫（京都大学大学院），森　紀之（同志社女子大学），大西康太（京都府立大学），大林健人（京都府立大学大学院），竹澤李奈（京都大学），森岡修平（京都大学），森本恵子（京都光華女子大学），山中　創（京都大学霊長類研究所），森　新（京都大学），青木駿介（㈱電通サイエンスジャム），高橋侑真（京都大学），長縄詩織（京都大学），井上可南子（京都大学），伏見駿亮（京都大学大学院），藤平杏子（東京工業大学），沼部令奈（京都大学），箕越靖彦（生理学研究所），中島健一朗（生理学研究所），近藤邦生（生理学研究所），菊地晶裕（生理学研究所），堀尾修平（生理学研究所），上原優子（生理学研究所），三須宏武（生理学研究所）

【概要】

本会は昨年度に引き続き，本年度も COVID19 対策のためにオンライン開催となりました。コロナ禍が想定以上に長引き，研究開発活動のみならず，日常生活にも支障が生じている方々も多いことを反映して，各種学会においても，オンライン開催への切り替えや，登録演題数の減少が生じています。本会も，今年度は 1 日に短縮して開催する運びとなりました。他方，参加者は例年と変わらず，合計112名（内，アカデミア81名，産業界 25 名，その他 6 名）の方にご参加いただきました。特に，遠方から出張するのが難しい方々にとっては，オンラインで聞きたいところだけ参加できるというのは，メリットだったようです。

昨年度開催した zoom でのオンライン研究会では，学術講演の質は対面開催時と同程度に保てましたが，参加者間の交流しにくさが目立ちました。そこで本年度は，参加者プロフィールを復活させると共に，立ち話感覚の SNS ツールである SpatialChat を導入しました。懇親会会場を移動しながら，複数の人と情報を交換する感覚を，SNS 上で再現しているサービスです。対面の研究会の時のように，セッション間の休憩時間を長めに確保して，情報交換ができるようにスケジュールを組んだ結果，質疑が白熱したため各プログラムは予定より長くかかりましたが，休み時間の意見交換も含めて，無事に終了することができました。SpatialChat を導入したおかげで，休憩時間での追加質問や，懇親会での情報交換はスムーズにいきました。

他方，オンラインでは知らない人同士が交流するにはハードルが高く，初対面の参加者同士では情報交換がしにくかったようです。そのような反省も踏まえ，来年度は対面で開催したいという意向が強かったと思います。オンサイト，もしくは，ハイブリッドを含めて検討したいと思います。

（1）飲酒欲求の調節メカニズム

佐々木　努（京都大学）

飲酒は，世界疾病負荷第 9 位に相当する社会問題であり，49 歳以下の死・障害の最大の危険因子である。2019 年の日米 EU5 か国の有病者数は，2,894 万人である。日本における過度の飲酒による社会的損失は年間 4.15 兆円と試算されている。しかし，飲酒に対する介入を必要とする対象者は，病状を否認し，治療を拒否するという問題がある。さらに，既存の薬物療法も，有効性が低いことが問題となっている。他方，酒量を減らすほど健康リスクが低下することが報告されており（Lancet, 2018），実効性のある介入法の開発に対するニーズが高い。

飲酒に関するこれまでの研究は，薬物依存の観点から，脳内報酬系に着目した研究が進められてきた。他方，飲酒は食事と共に飲食の一環として行われること，および，進化生物学的な仮説“drunken monkey hypothesis”に着目し，生活習慣としての飲食の一環として，飲酒に伴い生成する栄養代謝シグナルが飲酒を調節する可能性を検証した。その結果，申請者らが同定した「糖分に対する摂取欲求を調節する臓器連関シグナル」である FGF21-オキシトシン系は，飲酒欲求も調節することを見出した。そして，FGF21 分泌誘導剤を探索，同定し，機能性食品成分として特許出願を行った。本講演では，これらの成果を紹介する。

（2）核輸送とアルコール関連行動

青峰良淳，櫻井航輝，Tom Macpherson，小澤貴明（大阪大学 蛋白質研究所）
宮本洋一，米田悦啓，岡　正啓（国立研究開発法人 医薬基盤･健康･栄養研究所）
疋田貴俊（大阪大学 蛋白質研究所）

インポーチン α3（遺伝子：Kpna3）は，核輸送因子のインポーチン α ファミリーのサブタイプである。インポーチン α は，古典的核輸送シグナル(cNLS) 及びインポーチンβ1を認識・結合し，三量体複合体を形成する。インポーチンβ1により，三量体複合体は核内に輸送される。重要なことに，ヒト KPNA3 の一塩基多型（SNP）が特にアルコール依存症と関連していることが報告されている。しかし，脳内及び神経細胞でのインポーチンα3の役割についてはほとんど知られていない。本研究では，アルコール依存症におけるインポーチンα3の役割を調べるために，インポーチン α3 ノックアウト（KO）マウスのアルコール探索行動を評価した。

初めに，エタノール２瓶選択試験を行った。雄の KO マウスは，野生型と比較して，特に高濃度のエタノール（18，21 % ）で，有意に高いエタノール消費量を示した。逆に雌の KO マウスは，有意に低い消費量を示した。次に，エタノールの報酬性を調べるために，タッチスクリーンを用いたオペラント課題を行った．その結果，雄の KO マウスは，野生型と比較して，報酬に対するオペラント反応が有意に多かった。これらの結果は，インポーチン α3 がアルコールの報酬作用の制御に重要な役割を果たしていることを示唆しており，将来のアルコール依存症の治療において有効なターゲットとなる可能性がある。

（3）本学医学科学生の辛味検知閾値と受容体遺伝子多型

村田芳博，柴野　究，山口正洋，奥谷文乃（高知大学）

本学医学科学生のカプサイシンに対する口腔内検知閾値と辛味嗜好性について予備調査を行ったところ，舌尖部で閾値が低い群と高い群が存在し，低い群では高い群に比べて辛い食品を嫌い，好ましくないイメージを持つ傾向がみられた。そこで本研究では，検知閾値の違いを生み出すメカニズムを考察するため，口腔内のカプサイシン検知閾値と辛味受容体遺伝子の一塩基多型（SNP）の相関を解析した。

本学医学科学生 226 名（男性 163 名，女性 63 名，年齢中央値 21 歳）を対象として，濾紙ディスク法を用いて舌尖部のカプサイシンに対する検知閾値を測定した。その上で，辛味受容体遺伝子 TRPV1 の exon 領域における 3 箇所の既知 SNP を対象としてジェノタイピングを行った。ゲノム DNA は被験者の頬粘膜細胞から抽出し，ジェノタイピングした。そして，検知閾値との相関解析（ハプロタイプ解析）を行った。その結果，カプサイシン閾値のヒストグラムは予備調査と同様に，低閾値群と高閾値群の二峰性を示した。この 2 群間でハプロタイプ解析を行ったところ，7 通りのハプロタイプが存在し，あるハプロタイプが高閾値群に特徴的であることが分かった。すなわち，辛味検知閾値は受容体遺伝子多型の影響を受けている可能性が考えられる。

本研究は医学部倫理委員会の承認を受け，被験者に対して研究目的を十分説明し同意を得た上で実施した。

（4）微量必須栄養素の新規脳内感知機構の解明

中島健一朗，箕越靖彦（生理学研究所）

近年の研究により，三大栄養素（糖質・タンパク質・脂質）の生体恒常性における脳-末梢臓器連環の詳細が解明され，その重要性や健康への影響が明らかになりつつある。また，これらの成分については視床下部を中心にその脳内感知や食物選択メカニズムの研究も進行している。その一方，食品成分には三大栄養素の他にビタミンやミネラルなどの成分が含まれる。これら微量必須栄養素は補酵素として三大栄養素の代謝調節に関与することが細胞内の代謝経路研究により詳細に調べられているものの，全身レベルでの恒常性維持機構や脳内感知の仕組みはほとんどわかっていない。

そこで，我々は様々な微量栄養素のうち，TCA サイクルを構成する複数の酵素の補酵素として機能し，全ての動物のエネルギー産生において必須であるビタミン B1 に注目してマウスを用い研究を実施している。本発表では，ビタミン B1 欠乏によって引き起こされる食欲不振とそこからの回復のプロセスを解析することで分かってきた新規腸脳軸や摂食調節機構について報告したい。

（5）迷走神経切断動物における欠乏微量栄養素の選択摂取行動

安尾敏明，諏訪部　武，中村文彦，硲　哲崇（朝日大学）

これまでに，ビタミン C（以下，VC）合成能が欠如した ODS/shiJcl-od/od ラット（以下，OD ラット）において，VC 欠乏時に VC やクエン酸といった酸に対する鼓索神経応答が低下し，これらに対する嗜好率は増加するが，食欲不振や体重減少が起きる可能性を我々は示してきた。近年，味覚センサーは口腔のみならず，脳や腸管にも存在し，摂取した食品の情報を脳へ伝えることで，食欲や摂食行動に影響を与え，エネルギー代謝を変化させることから，「口腔-脳-腸連関」の存在が示唆されている。

本研究では，VC 欠乏時における VC の選択摂取行動に迷走神経が関与しているのかどうかを明らかにするために，OD ラットを迷走神経切断群と偽似手術群に分け，VC 欠乏前後に 48 時間二瓶選択法を行い，両群の 10mMVC 水溶液と 3mM クエン酸水溶液に対する嗜好率をそれぞれ算出し比較した。その結果，欠乏前と比べ欠乏後，為似手術群では両水溶液の嗜好率が有意に増加したが，切断群では両水溶液の嗜好率は有意には増加せず，為似手術群と比べて低い値であった。

以上の結果から，VC 欠乏動物における VC の選択摂取行動に迷走神経が一部関わっている可能性が考えられたが，切断群のラットも，欠乏後に VC 水溶液を摂取し，欠乏から回復したことから，欠乏した微量栄養素の選択摂取には，味覚神経が重要な働きをしている可能性が考えられ，今後さらなる研究が必要である。

（6）慢性ストレス下の摂食・栄養変化

藤井　徹（八千代病院）

2020年世界中がSARS-CoV-2パンデミックとなり，糖尿病(DM)者も三密回避のため屋外運動・施設筋トレなどの運動不能状態が長く続いた。さらに東海地区では異常気象に晒された。そこで，2020 年２月以降の当診療科受診患者のラボデータおよび診察時の聴き取りからDM者の生活状況を探った。

【結果】①殆どのDM者が自身の身体活動の低下を実感していた。②摂食量・質が変化していることを認識していたDM者は少なかった。③正しい体重変化を把握していたDM者は少なかった。

【考察】サルコペニア・フレイル進展予防のためには，高齢になる前からの的確な食事(栄養バランス+量)摂取に加え的確な運動，社会的・精神的フレイルの原拠となる「孤立」環境の排除が必要である。しかし2020 SARS-CoV-2パンデミックと梅雨期～９月末までの異常気象は，精神的・身体的ストレス状態を多くの DM者にもたらした。例年は彼岸が過ぎ，過ごしやすい秋となると真夏の摂食量・質悪化も回復することが多いが，2020 は１１月になっても栄養状態が悪化したままとなっている人が極めて多かった。さらに，多くの DM者が自己認識していないだけで無く，主治医も把握していない場合が多かった。栄養状態悪化に運動不足，さらに社会的・精神的孤立が重なることにより，高齢のみならず青壮年DM者にもサルコペニア・フレイルを進展させるリスクがあることが判明した。

（7）マウスの食塩嗜好性を記述するホメオスタシス強化学習理論の構築

内田裕輝（国立精神･神経医療研究センター，東京医科歯科大学）
疋田貴俊（大阪大学蛋白質研究所）
山下祐一（東京医科歯科大学）

動物には，高濃度食塩水をナトリウム不足時に嗜好し，通常時に忌避する食塩欲求が知られ，ホメオスタシス維持の神経基盤を理解するためのモデルとして研究されている。先行研究により，食塩欲求行動に関連する脳領域に関する知見が蓄積されているが，食塩欲求行動制御のメカニズムには未解明な点が多い。この課題に対して，報酬予測や嗜好性といった脳機能の要素が，どのような計算プロセスにより，食塩欲求行動を制御するのかといった計算論的モデルの有効性が期待される。本研究では，ホメオスタシスを強化学習プロセスとして理解する計算モデル（ホメオスタシス強化学習モデル，HRL）を用いて，食塩欲求行動のモデル化を試みた。

まず，内部状態として体内ナトリウム状態を設定し，マウスが高濃度食塩水に対して，ナトリウム不足状態では嗜好を，通常時には忌避をそれぞれ示すことを再

現し，HRL が食塩欲求行動に適用可能であることを確認した。さらに，食塩欲求に関与する外側結合腕傍核の活動を化学遺伝学的手法（DREADD）で操作する実験を HRL により再現し，外側結合腕傍核が報酬学習における行動価値の学習プロセスに関与する，との仮説を提案した。最後に，HRL が食塩欲求以外の一般的な食行動をモデル化できる可能性を示すため，HRL モデルを用いて食行動による栄養保持と，その変調としての肥満症やうつ病の症状，症状の推移や治療可能性について検討を行った。

（8）匂いの行動学習を担う嗅皮質領域の神経回路可塑性機構

モハメッド･ファズレイ･ラッビ･シャ，古賀有里子，村田芳博，谷口睦男，山口正洋（高知大学）

匂いに対する行動の多くは経験によって獲得される。マウス嗅皮質の一領域である嗅結節の前内側ドメインは匂いの誘引行動学習により活性化し，外側ドメインは匂いの忌避行動学習により活性化する。しかしなぜ学習によって嗅結節の特定ドメインが活性化するようになるかは分かっていない。嗅結節は様々な脳領域から軸索投射を受ける。嗅皮質の最大領域である梨状皮質から嗅結節への軸索投射に着目し，この軸索投射が匂い学習によって如何なる可塑的変化を示すかを検討した。遺伝子改変マウスとウイルスベクターを用いて梨状皮質ニューロンにチャネルロドプシン（ChR2）と赤色蛍光蛋白(mCherry)を発現させ，光刺激と共にえさを与えることにより光刺激によってえさを求める行動学習を行った。このマウスの梨状皮質から嗅結節への軸索投射を組織学的に解析したところ，誘引行動に関わる嗅結節前内側ドメインにおける ChR2-mCherry 陽性軸索末端が，忌避行動に関わる嗅結節外側ドメインにおける ChR2-mCherry 陽性軸索末端に比してサイズが大きくなっていた。光刺激のみを行ったマウスではこのような変化は観察されなかった。以上より梨状皮質から嗅結節への軸索投射は学習に基づくドメイン特異的な可塑的変化を起こしうることが判明し，これがドメイン特異的活性化に関与している可能性が考えられた。

（9）脂肪酸伸長酵素 Elovl6 とショ糖嗜好性

志村拓哉，松坂　賢（筑波大学），煙山紀子（東京農業大学），加藤淳子（筑波大学）
藤　万里子，飯田薫子（お茶の水女子大学），島野　仁（筑波大学）

脂肪酸伸長酵素 Elovl6 は炭素数 12-16 までの飽和・一価不飽和脂肪酸を基質とし，炭素数 18 の長鎖脂肪酸の合成を行う脂肪酸伸長酵素である。本研究では，Elovl6 欠損（KO）マウスおよびニューロン特異的 Elovl6 欠損（NKO）マウスを用いて摂食調節機構における Elovl6 の役割を検討した。普通食，高ショ糖食を単独または選択条件で与え，その摂食パターンと摂食量を観察した。また，報酬系に重要な役割をもつオピオイドに着目し，Elovl6 KO/NKO マウスにオピオイド受容体のアンタゴニストを投与し同様の解析を行った。

単独給餌の結果，コントロール群と比較して Elovl6 KO/NKO マウスは普通食の摂餌量は変わらなかったが，高ショ糖食では摂食量が有意に増加した。また，選択給餌では，普通食と高ショ糖食を合わせた総摂食量と総カロリー摂取量は全てのマウスで同等だったが，Elovl6KO/NKO マウスは高ショ糖食をより多く摂食し，普通食の摂食量は減少した。さらに，Elovl6 KO/NKO マウスで認められたショ糖嗜好性は，naloxonazine 投与群では変化せず，naloxone および β-FNA を投与した群で抑制された。

以上より，Elovl6 による脂肪酸組成の変化は，嗜好性に基づいた摂食に影響を及ぼし，オピオイド受容体が関与することが示唆された。

（10）匂いに対する誘引行動の代謝シグナルによる調節機構

モハメッド･モンジュルル･アハサン，村田芳博，谷口睦男，山口正洋（高知大学）

食べ物の匂いに対する応答は空腹時と満腹時で大きく異なり，嗅覚機能は代謝状態の影響を受けることが知られている。我々は匂いに基づく誘引・忌避行動を制御するマウス嗅結節における神経調節性シグナル分子の発現を調べ，匂いの誘引行動を担う嗅結節の前内側ドメインに多くの分子が高発現していることを明らかにした。そこで摂食促進作用を持ち，この領域に高い発現を示すオレキシン受容体に着目し，この役割を薬理学的に検討した。特定の匂いとえさ報酬の連合学習を行って，匂いに誘引行動を示すマウスの嗅結節前内側ドメインにオレキシン受容体アンタゴニストを局所投与したところ，匂いに対する誘引行動が減弱し，更にこの匂いに対して忌避行動をとるようになった。一方，アンタゴニストを嗅結節の外側ドメインや側坐核に局所投与しても匂いの誘引行動に変化は見られなかった。以上のことから嗅結節前内側ドメインは代謝シグナルを受け取って匂いに基づく摂食行動を制御していると考えられた。

（11）Neuropeptide F はショウジョウバエにおいてインクレチン様作用を持つ

丹羽隆介（筑波大学）

栄養素の量や質に応じて適切にエネルギー産生を制御するために，多くの動物においてインスリンやグルカゴンが重要な役割を果たす。そして脊椎動物では，栄養の情報を読み取り，インスリンとグルカゴンの産生・分泌を調節するホルモンとして，胃腸内分泌細胞（EEC）から分泌される消化管ホルモン「インクレチン」がよく知られており，糖尿病や肥満といった生活習慣病治療のターゲットとしても注目される。しかし，インクレチンの報告はヒトなどの脊椎動物の系に限られており，昆虫などの無脊椎動物に同様の機能をもつホルモンが存在するのかは不明であった。

一方，消化管ホルモンの研究は，近年モデル生物キイロショウジョウバエ Drosophila melanogaster においても活発に展開されつつある。先年我々は，ショウジョウバエ EEC から分泌されるペプチドホルモン Neuropeptide F（NPF）がメス生殖幹細胞の増殖に必須の役割を果たすことを報告した。

本講演では，腸 NPF が，生殖幹細胞のみならず，インスリンやグルカゴンに相当するホルモンの合成・分泌の制御を介して全身性の脂質代謝に影響を及ぼすことを紹介する。NPF は，脊椎動物の NPY の相同分子であり，インクレチンとは全く異なる 1 次構造のペプチドホルモンであるが，少なくともショウジョウバエにおいてはインクレチンと同等の作用を有すると考えられる。

（12）肥満マウスにおける視床下部分泌性小タンパク質の機能解析

成松勇樹，加藤正暉，三村朱花，新福夏海，福村圭介
岩越栄子，古満芽久美，森脇翔悟，渡邊大輝，浮穴和義
（広島大学）

我々は鳥類の視床下部から新規遺伝子を発見し，産出される成熟小タンパク質を neurosecretory protein GL（NPGL）と命名している。NPGL は魚類から哺乳類にわたる脊椎動物において保存されており，重要な生理機能を持つと考えられている。ラットやマウスを用いたこれまでの解析により，NPGL は摂食行動を促進し，

肥満を惹起することを明らかにしている。一方で，肥満動物では摂食行動の亢進に伴い，運動量が低下し，高血糖症などの生活習慣病を発症することが報告されている。したがって，生活習慣病の対策には，肥満時の摂食行動および運動量の制御機構を理解することが重要である。そこで本研究では，肥満マウスにおいて NPGL が摂食行動および自発運動に与える影響を明らかにすることを目的として，食餌誘導性肥満（DIO）マウスを用いて，NPGL の脳室内慢性投与実験を行った。

自発運動量を測定できる回転ホイール存在下で，DIO マウスの脳室内に NPGL を慢性投与した結果，摂食量・体重増加量・脂肪重量・骨格筋重量が有意に増加した。一方で，自発運動量や血糖値に有意な差は認められなかった。また，骨格筋において，持久力を担う遅筋線維を構成する遺伝子の発現量が有意に増加した。したがって，肥満マウスにおいて NPGL は，摂食行動や脂肪蓄積を促進する一方で，骨格筋量を増加し，同時に運動量を維持することが示唆された。

（13）低脂肪・高炭水化物食給餌下における視床下部分泌性小タンパク質の影響

加藤正暉，成松勇樹，森脇翔悟，内藤万菜，古満芽久美，浮穴和義，岩越栄子
（広島大学）

我々は，視床下部から分泌性の小タンパク質をコードする新規遺伝子を発見しており，その成熟小タンパク質の構造から，Neurosecretory protein GL（Npgl) と命名している。ラットやマウスを用いた解析から，NPGL は摂食行動や脂肪蓄積を促進することを明らかにしている。Wistar 系統ラットを用いた解析から，NPGL は炭水化物からの de novo 脂肪合成を促す作用がある一方で，C57BL/6 系統マウスを用いた解析からは飼料からの脂肪吸収を亢進させることを見出している。今回はマウスの系統間における NPGL の効果の違いの有無を検討することを目的とし，ＩＣＲ系統マウスを用いて NPGL の作用を検討した。

アデノ随伴ウイルスを用いて Npgl 前駆体遺伝子を視床下部領域に過剰発現させた ICR 系統マウスを用い，低脂肪・高炭水化物食を 2 ヶ月間給餌し，摂食量と体重の測定を行った。さらに，サンプリング時に各種組織重量を測定した。その結果，摂食量・体重・脂肪重量・肝臓重量・腎臓重量・血糖値が有意に増加した。Npgl 過剰発現による血糖値の増加は，Wistar 系統ラットや C57BL/6 系統マウスでは確認されておらず，ICR 系統マウス特異的な表現型であることが示唆された。現在，肝臓や脂肪組織での脂質代謝関連遺伝子の mRNA 発現量の解析を進めており，それらの結果についても発表したい。

12. 機能と構造の視覚科学研究会

2021 年 9 月 8 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）ゼブラフィッシュ中波長領域感受性を示す錐体細胞の遺伝子発現制御メカニズム

小川洋平（Washington University School of Medicine）

（2）Late phase suppression shapes identity and familiarity responses in macaque face patch neurons

小谷野賢治（NIH）

（3）盲視の脳内メカニズム -非ヒト科霊長類を用いた研究について-

伊佐　正（京都大学）

（4）マウス一次視覚野における自然画像の表現

吉田盛史（東京大学）

（5）網膜発生と変性，維持におけるグリア細胞の役割

渡辺すみ子（東京大学）

（6）人工知能を用いた魅力的な顔および自動車の心的イメージ可視化研究

内藤智之（大阪大学）

【参加者名】

小谷野賢治（National Institute of Mental Health），吉田篤司（National Institutes of Health），大石浩輝（NICT），小川洋平（Washington University School of Medicine），川崎雅司（バージニア大学），福富又三郎（ワシントン大学セントルイス校），金子沙永（北海道大学），吉田正俊（北海道大学），寺島裕人（北海道大学），大黒　浩（札幌医科大学），日景史人（札幌医科大学），角田遼河（岩手県立大学），眞田尚久（岩手県立大学），川崎修斗（岩手県立大学），法霊崎真琉（岩手県立大学），高橋　礼（岩手県立大学），尾崎拓（岩手大学），大門将寛（東北大学），高田悠太（東北大学），金　成慧（宇都宮大学），酒井　宏（筑波大学），佐々木哲也（筑波大学），鈴木大地（筑波大学），宍倉基文（筑波大学），鹿野　豊（群馬大学），今村一之（前橋工科大学），溝上陽子（千葉大学），川嵜圭祐（新潟大学），橋本昂之（東京大学），小島大輔（東京大学），吉田盛史（東京大学），丸岡久人（東京大学），青木佑紀（東京大学），竹前和彦（東京大学），渡辺すみ子（東京大学），西尾奈々（東京大学），三田真理恵（東京大学），深田吉孝（東京大学），富山優介（東京大学），山川昌彦（横浜国立大学大学院），正岡明浩（玉川大学），小松英彦（玉川大学），本間耕平（慶應義塾大学），森将輝（慶應義塾大学），早野元詞（慶應義塾大学），佐藤慎哉（国立循環器病研究センター研究所），大松聡子（国立障害者リハビリテーションセンター研究所），世古裕子（国立障害者リハビリテーションセンター研究所），須田悠紀（山梨大学），林　隆介（産業技術総合研究所），稲吉宏明（産業技術総合研究所），篠崎隆志（情報通信研究機構），竹村浩昌（情報通信研究機構），坂野雄一（情報通信研究機構），番　浩志（情報通信研究機構），石金浩史（専修大学），箕浦　舞（早稲田大学），木下充代（総合研究大学院大学），楊　嘉楽（中央大学），山口真美（中央大学），中島悠介（中央大学），鶴見周摩（中央大学），行松慎二（中京大学），平柳光浩（帝京科学大学），本間光一（帝京大学），庄野　逸（電気通信大学），村上　諒（電気通信大学），蒋池かおり（東京女子医科大学），雁木美衣（日本医科大学），齊藤健（日本大学），伊勢村和靖（日本大学），榎澤瑠奈（日本大学），森下克幸（日本大学），上野寛子（明治学院大学），村井伊織（理化学研究所），池田琢朗（理化学研究所），谷本　彩（理化学研究所），田中啓治（理化学研究所），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），佐々木友望（愛知県立大学），岩松立眞（愛知県立大学），杉山しづか（愛知県立大学），高橋啓介（愛知淑徳大学），高橋伸子（愛知淑徳大学），本居快（愛知淑徳大学），國武実里（愛知淑徳大学），木矢剛智（金沢大学），久保　郁（国立遺伝学研究所），松田光司（国立遺伝学研究所），宮下真信（沼津工業高等専門学校），佐藤隆夫（人間環境大学），平田豊（中部大学），進士裕介（中部大学），妹尾圭司（浜松医科大学），鯉田孝和（豊橋技術科学大学），田村秀希（豊橋技術科学大学），及川達也（豊橋技術科学大学），山田達郎（豊橋技術科学大学），兼松圭（豊橋技術科学大学），辻村誠一（名古屋市立大学），萩尾華子（名古屋大学），足立　炎（名古屋大学），佐藤彰典（名古屋大学），小坂田文隆（名古屋大学），伊藤　慶（名古屋大学），岩田　萌（名古屋大学），鈴木偉久（名古屋大学），平田貴士（名古屋大学），青山俊弘（鈴鹿工業高等専門学校），三浦佳二（関西学院大学），伊藤浩之（京都産業大学），末松尚史（京都産業大学），山田将太郎（京都産業大学），山本大智（京都大学），伊佐　正（京都大学），森口佑介（京都大学），佐々木　亮（京都大学），笠井昌俊（京都大学），藤本花音（京都大学），齊藤例治美（京都大学），小濱　剛（近畿大学），北西卓磨（大阪市立大学），藤田一郎（大阪大学），内藤智之（大阪大学），橘木修志（大阪大学），長谷部政治（大阪大学），三好智満（大阪大学），稲垣未来男（大阪大学），佐々木耕太（大阪大学），豊田峻輔（大阪大学），澤井　元（大阪府立大学），大迫優真（同志社大学），福見　稔（徳島大学），作田木南（立命館大学），松田隆稔（立命館大学），余田優太（立命館大学），澤田　綾（立命館大学），七田芳則（立命館大学），立花政夫（立命館大学），天野　晃（立命館大学），小池千恵子（立命館大学），木津川尚史（立命館大学），二木大樹（立命館大学），石橋拓也（立命館大学），森藤　暁（立命館大学），ZHANG PEIYU（立命館大学），草野亜胤（立命館大学），堀江　翔（立命館大学），松島祐輝（立命館大学），渡邉美樹也（立命館大学），首藤浩伸（立命館大学），近藤佑樹（立命館大学），岩尾京春（立命館大学），中木駿汰（立命館大学），田内雅規（岡山県立大学），早坂央希（鹿児島大学），岡村純也（鹿児島大学），宇山紘史（神戸アイセンター病院），松山オジョス 武（神戸アイセンター病院），山本　翠（神戸アイセンター病院），大森敏明（神戸大学），潮井川修一（福岡国際医療福祉大学），塚本吉彦（兵庫医科大学），阪内　香（琉球大学），山根ゆか子（沖縄科学技術大学院大学），赤塚浩二（㈱本田技術研究所），西澤昌宏（NHK 放送技術研究所），新谷俊了（システム計画研究所），緒形昌美（ソニーグループ㈱），小池　誠（マイクロ特許事務所），橋本雅俊（花王㈱），沖山夏子（花王㈱），山本雅裕（㈱東芝），黒沢正治（㈱コーセー），神谷享子（㈱セシルリサーチ），大澤孝治（㈱ニデック），中野由香梨（㈱ニデック），寺澤靖雄（㈱ニデック），菊地　豊（公益財団法人脳血管研究所附属美原記念病院），鶴原亜紀（航空医学実験隊），日野恵介（大塚製薬㈱），四方幸治（大塚製薬㈱），鈴木栄二（東海光学㈱），酒井英典（特定非営利活動法人湘南 NPO サポートセンター），間島　慶（量子科学技術研究開発機構），吉田愛由美，永谷広行，金子章道（生理学研究所），吉村由美子（生理学研究所），山本真理子（生理学研究所），上原一将（生理学研究所），二宮太平（生理学研究所），林　健二（生理学研究所），郷田直一（生理学研究所），米田泰輔（生理学研究所），本多結城子（生理学研究所），安宅光倫（生理学研究所），萩原　淳（生理学研究所），宮田季和（生理学研究所），呉　嘉豪（生理学研究所），高橋泰伽（生理学研究所），高木正浩（生理学研究所）

【概要】

本研究会は視覚機能に関わる様々な研究分野の架け橋となるべく企画されたものである。視覚は，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関係し，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。本研究会は任意団体である視覚科学フォーラムとの共同開催であり，生理研研究会としては継続２年目になる。

研究会は 2021 年 9 月 8 日 9:30〜16:00 に zoom を用いたオンライン形式で開催され，国内外からの招待講演６題で構成された。６つの招待講演は，魚類の錐体視細胞の遺伝子発現，網膜視細胞変性症の分子基盤，最先端の留置型多点電極を用いたサル顔情報処理，盲視モデルサルの行動と脳機能，マウス視覚野応答からの刺激画像再構築，AI 生成による魅力的な顔の可視化技術と多岐にわたった。発表者は若手からシニアまでを含み，とくに北米で活躍中の若手の講演を重視した。

オンライン開催であり参加費無料であったことからか国内外から数多くの参加者に恵まれた。事前登録数は 200 名，同時最大接続数 160 名程度と予想を超える規模であった。質疑応答はチャット機能を用いることで，質疑を座長が読み上げ，演者が回答する形式をとった。この形式では講演中や質問回答中にも随時コメントや質問が寄せられるため時間効率的であるだけでなく，質問に関する第三者のコメントがつくなど，独特の一体感と熱気が感じられるため大変有意義である。来年度以降の継続を求める声は強く，オンラインの効率性と，実地開催のコミュニケーションを両立した研究会の開催を模索する計画である。

（1）ゼブラフィッシュ中波長領域感受性を示す錐体細胞の遺伝子発現制御メカニズム

小川洋平（Washington University School of Medicine）

脊椎動物の錐体細胞は明るい場所での視覚を担い，光波長感受性の異なる複数の錐体サブタイプの組み合わせにより，「色」を知覚することができる。錐体サブタイプはそれぞれ互いに異なる種類の光受容タンパク質（錐体オプシン）を発現する。比較ゲノム解析により，祖先型の脊椎動物は 4 種類（SWS1/紫: SWS2/青: Rh2/緑: LWS/赤）の錐体オプシンを備えていたと推定され，４色型の色覚は脊椎動物における色覚の原型であると考えられている。近年の研究により，紫や赤の色センサー遺伝子の発現に必須の転写制御分子（Tbx2b, Thrb）がそれぞれ同定され，錐体オプシン遺伝子制御や，錐体サブタイプの分化メカニズムが解明されつつある。その一方，視細胞の遺伝学的な研究はマウス（哺乳類）が中心であったため，哺乳類において失われた中波長領域の錐体オプシンである青や緑色感受性のオプシン遺伝子の制御メカニズムは謎のまま残されていた。

これまでに我々（深田吉孝・小島大輔グループ）は，４色型の色覚をもつ小型魚類ゼブラフィッシュの桿体細胞と錐体細胞それぞれをセルソーターにより分取し，遺伝子発現量を網羅的に比較解析した。その中でも特に，錐体特異的に発現する転写因子に焦点を絞り，ゲノム編集技術などの発生工学的手法を用いて機能解析を行った。その結果，緑と青両方の錐体サブタイプに必須の因子 Six6b および Six7 を同定した。さらに，Six7 の遺伝的下流で働く分子として，青の錐体サブタイプのアイデンティティを規定する因子 Foxq2 を同定した。これら転写因子の欠損個体における表現型と，成魚の錐体サブタイプを用いた遺伝子発現量解析 [RT-qPCR, シングルセル RNA-seq] から，ゼブラフィッシュ錐体細胞の分化メカニズムが「緑デフォルト」である可能性を見出した。本発表では，これら知見を述べると共に，Six6, Six7, Foxq2 の種間保存性を議論し，脊椎動物の錐体細胞の進化的な変遷を考察する。

（2）Late phase suppression shapes identity and familiarity responses in macaque face patch neurons

小谷野賢治（NIH）

Visual identification of faces plays an important role in our social life, and the primate brain develops specialized visual areas for face processing. We can differentiate thousands of similar faces, from which we routinely identify familiar from

unfamiliar individuals. How our brain achieves such excellent recognition capacity? In the first study, we investigated a hypothesis grounded in human psychophysics, namely that the brain maintains an internal visual reference as a norm to aid in the featural and configural analysis of faces. Through electrophysiological recordings in fMRI-defined face patches, we demonstrated that the neural encoding of face identity involves the dynamic suppression of average facial structure, supporting the hypothesis of norm-based face perception. In response to photorealistic face stimuli that systematically varied in identity levels according to a psychophysically-defined face space, a high proportion of single units showed robust tuning around average face at the center of the face space. This tuning emerged relatively late in the response and was expressed as selective suppression of sustained responses to low-identity faces. This delayed suppression, which may serve to accelerate and amplify the extraction of distinctive facial characteristics, supports the hypothesis that norm is critical for face identification. In the second study, we further examined how familiarity of face modifies the neuronal encoding of faces. We longitudinally recorded the responses of the same face selective neurons across several weeks utilizing implanted microwire bundles. Novel face images were introduced on the first day and then shown repeatedly every day while neuronal responses were tracked. During this period, a subset of face-selective neurons in the anterior medial（AM) patch exhibited gradual decrease in their late-phase visual responses to the faces that stabilized only after several days. Unlike the late response, the early onset excitatory response was stable and did not change over time. A control experiment further revealed that the rate change for a given stimulus was determined by the number of days, rather than by the total number of trials. Taken together, these results indicate the prominent role of suppression in shaping responses in the sustained period, both for the encoding of face identity and for the familiarization of novel stimuli. We suggest potential relationships between the norm and familiarity, both of which are established through storing of past experiences.

（3）盲視の脳内メカニズム -非ヒト科霊長類を用いた研究について-

伊佐　正（京都大学大学院 医学研究科 神経生物学分野）

一次視覚野に損傷を受けた患者は反対側視野の視覚的意識を喪失するが，一部の患者においては，本人が「見えない」と主張するにもかかわらず障害視野に提示した物体に対して指さす，または眼を向けるという行動が可能であるという「盲視（blindsight）」という現象が 1973 年に Weiskrantz らによって報告されてからほぼ半世紀が経過しようとしている。この間，ヒトを対象とする研究は脳機能イメージングも含めて様々な研究が行われてきた。特に近年の動向としては，意識の有無に関するハードな議論に加えて，発症時期や訓練の量によって盲視患者の一部において，ある種の「意識的経験」を惹起させることも可能であるという「可塑性」の文脈で語られることが増えてきた。一方で神経回路に関する研究は多くの研究が間接的な証拠に依存しており，また，決着のついていない議論が多かった。私たちの研究室では今から１８年前に一次視覚野を一側性に吸引除去したニホンザルを対象として，一次視覚野をバイパスする視覚経路とこれらの動物の認知行動機能に関する一連の研究を行ってきた。

本講演では，盲視を中継する経路としての外側膝状体ー高次視覚野に対する上丘ー視床枕ー高次視覚野（頭頂連合野）というこれまでの議論の現状，さらに視覚的意識，短期記憶，連合学習，注意（サリエンシーの検出）などといった盲視における認知機能に関してこれまで明らかになってきたことを包括的に論じてみたい。

（4）マウス一次視覚野における自然画像の表現

吉田盛史，大木研一（東京大学 医学系研究科 統合生理学）

大脳皮質視覚野では，ある瞬間においては主に少数の細胞が強く活動するスパースコーディングが知られている。このスパースコーディングは視覚系のみならず，他の感覚系なども含め広く観察される活動様式である。しかしながら，スパースに活動する細胞集団に実際の脳内でどのような情報が表現されているのか，また，大脳皮質の神経活動は同じ刺激を繰り返し提示した際に毎回少しずつ異なる応答を示すが，このような試行間のばらつきがある状況において，少数の細胞に表現されている情報は安定であるのか，に関して実験的な検証はあまりなされていない。本講演では，これらの疑問に答えるために私達が行った，マウス一次視覚野（V1）における画像表現に関する研究について紹介したい（Yoshida and Ohki, 2020）。

マウスに自然画像（写真）を提示しながら，二光子カルシウムイメージングにより V1 の局所（数百ミクロン四方）の細胞集団の視覚応答を網羅的に記録した。まず，個々の画像に対しては記録された細胞の約数パーセントが応答を示し，スパースな活動が確認された。次に，個々の細胞に表現される視覚特徴（受容野特性）を調べたところ，同時に活動している細胞の表現は細胞間で少しずつ異なっており，多様な情報が表現されているということが示唆された。このような集団活動に含まれる情報を評価する目的でデコーディング解析を行った。特に神経活動から提示された画像そのものを復元する画像再構成という手法を用いた。その結果，個々の刺激画像は比較的少数の細胞の活動からある程度の精度で再構成可能であった。このことから，少数の細胞の活動にも画像を表現できる程の情報が含まれていること，個々の細胞の多様な情報表現が少数の細胞からの画像再構成を可能にしていることが示唆された。また，神経活動の試行間のばらつきにもかかわらず，再構成される画像は試行間で比較的安定していた。表現する視覚特徴が似ている細胞ペアにおいてもノイズ相関が低く，独立に近い活動のばらつきを示すことにより，試行間で安定した画像表現が実現されていると考えられた。これらの結果より，マウス V1 においては試行間でばらつきを持つ少数の細胞活動にも安定して画像情報が表現されていることが示唆された。

（5）網膜発生と変性，維持におけるグリア細胞の役割

渡辺すみ子（東京大学 医学系研究科／付属病院）

私たちは網膜視細胞変性症の発症と病態解析の分子基盤の検討をマウスモデル，ヒト iPS 細胞などを用いて行ってきた。当初は，視細胞そのものに着目し，なぜ神経細胞死に至るのか，網膜神経細胞に特異的に発現する遺伝子とその変異がもたらす生化学的変化について検討を加えてきた。一方，網膜で神経細胞死が始まると，マイクログリア，ミューラーグリア細胞の活性化が観察される。これらの細胞は，サイトカイン類を多数放出したり，ファゴサイトーシスで死細胞を除去するなどマクロファージを始めとする免疫細胞のような働きをすることが知られている。加えてアストロサイト，網膜色素細胞などの炎症像の構築への役割も含めて，これらの炎症担当細胞とでもいうべき細胞により形成されるローカルな眼内炎症が視細胞変性の進展の修飾のみならず，発症にも正負に関わることを仮定し，分子基盤の検討を行っている。

Cd9, RasV12 を使った研究を中心に最新のデータも含めてお話ししようと思っております。皆様からご意見をいただければ幸いです。

（6）人工知能を用いた魅力的な顔および自動車の心的イメージ可視化研究

内藤智之（大阪大学大学院 医学系研究科 認知行動科学教室）

ヒトは他者の顔印象を評定する際に，その印象について個人が持つ典型的なイメージ（心的テンプレート）と眼前の顔との類似性から瞬時に印象を評定するという心的テンプレート仮説が提案されている（Brinkman, Todorov, & Dotsch, 2017）。先行研究では性的な魅力，有能さ，優しさなどの感性評定について心的テンプレート仮説が成立することが報告されている（Imhoff, Woelki, Hanke, & Dotsch, 2013; Karremans, Dotsch, & Corneille, 2011）。我々はこれまでに男女の魅力顔に関して心的テンプレートを可視化し，可視化された心的テンプレートと類似した顔の魅力度が高いことを明らかにした（Naito, Hirogaki, Shiraishi, & Sato, 2017）。心的テンプレートの可視化には顔画像にノイズを加えた画像を視覚刺激とした逆相関法がもちいられるが，この手法は可視化される心的テンプレートがベース画像に規定されるという問題点が存在する。本研究では，敵対的生成ネットワーク（Style-GAN）と逆相関法を組み合わせることで，高精度カラー画像として心的テンプレートが可視化可能であるかどうかを，魅力顔，魅力的自動車イメージ，魅力的絵画イメージについてそれぞれ検討した。その結果，上記 3 画像カテゴリにおいて，Style-GAN による心的テンプレートの可視化が可能であることが明らかとなった。更に，魅力イメージに関する心的テンプレート間の写像について線形計画行列によるリッジ回帰を行った結果，車の魅力度スコアから予測された魅力顔心的テンプレートと，顔魅力度スコアから生成した魅力顔心的テンプレートの相関係数が 0.8 以上であった。この結果は，魅力イメージについて画像カテゴリに依存しない共通イメージが存在する可能性を示唆している。

13. シナプスの理解深化からの神経回路動態の再考

2021 年 11 月 29 日－11 月 30 日

代表・世話人：川口真也（京都大学）

所内対応者：吉村由美子（視覚情報処理研究部門）

（1）高頻度で持続的なシナプス伝達をささえるシナプス小胞ナノスケール動態

三木崇史（同志社大学）

（2）チャネルシナプス：シナプス小胞に依存しない化学神経伝達機構

樽野陽幸（京都府立医科大学）

（3）動物個体の行動変容に関与するシナプス分子群の神経回路特異的解析

大西泰地（東京大学）

（4）Molecular anatomy of brain synapses from living psychiatric patients

Zacharie Taoufiq（OIST）

（5）分泌型シナプスオーガナイザー　C1q ファミリーが作り上げるシナプスの橋

松田恵子（慶應義塾大学）

（6）マウス体性感覚視床における経路依存的なプレシナプス機構の成熟過程

緑川光春（東京女子医科大学）

（7）大脳皮質一次視覚野へのトップダウン投射を担うシナプスにおける可塑性の解析

石川理子（慶應義塾大学）

（8）グリア細胞による活動電位の伝導制御機構の存在

杉尾翔太（名古屋大学）

（9）視覚運動を演算する網膜神経回路におけるシナプス様式

松本彰弘（オーフス大学）

（10）歯状回新生ニューロンは消去課題中の活動により恐怖記憶の消去を促進する

菅谷佑樹（東京大学）

（11）報酬の予測や獲得に伴うマウスの顔運動を制御する神経回路機構

山下貴之（藤田医科大学）

（12）シナプス可塑性の時空間解析を可能とする新規光遺伝学的手法

後藤明弘（京都大学）

（13）Activity-dependent dendrite development of the cerebellar Purkinje cells

竹尾ゆかり（慶應義塾大学）

（14）大脳皮質出力層の機能的秩序構造とその発生

丸岡久人（東京大学）

（15）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）

【参加者名】

松本彰弘（オーフス大学），塚原飛央（ミシガン大学），渡辺雅彦（北海道大学），会見昂大（慶應義塾大学），松田恵子（慶應義塾大学），伊藤政之（慶應義塾大学），柚崎通介（慶應義塾大学），掛川　渉（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），石川理子（慶應義塾大学），曽我部拓（慶應義塾大学），須山成朝（慶應義塾大学），竹尾ゆかり（慶應義塾大学），吉川かおり（慶應義塾

大学），入江智彦（国立医薬品食品衛生研究所），橋本泰昌（国立精神･神経医療研究センター），井端啓二（聖マリアンナ医科大学），江川孝彦（総合研究大学院大学），今村彩子（筑波大学），砂川玄志郎（理化学研究所），合田裕紀子（理化学研究所），王　丹（理化学研究所），村山正宜（理化学研究所），中村行宏（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），真鍋俊也（東京大学），尾藤晴彦（東京大学），狩野方伸（東京大学），渡邉貴樹（東京大学），丸岡久人（東京大学），佐郡和人（東京大学），鳥羽拓馬（東京大学），奥野優人（東京大学），菅谷佑樹（東京大学），西尾奈々（東京大学），木村梨絵（東京大学），石川裕貴（東京大学），藤野修平（東京大学），坂本寛和（東京大学），野呂高之（東京大学），大西泰地（東京大学），瀧川健司（東京都健康長寿医療センター研究所），西宗裕史（東京都健康長寿医療センター研究所），久場博司（名古屋大学），杉尾翔太（名古屋大学），郭　中天（名古屋大学），山下貴之（藤田医科大学），河崎洋志（金沢大学），實木　亨（三重大学），橘　吉寿（神戸大学大学院），林　康紀（京都大学），川口真也（京都大学），田中洋光（京都大学），井下拓真（京都大学），後藤明弘（京都大学），李　耀龍（京都大学），清水　優（京都大学），小椋星哉（京都大学），三木智博（京都大学），森田雅登（京都大学），岡田詩穂里（京都大学），田熊大輝（京都大学），大川理久（京都大学），稲谷徹平（京都大学），水田恒太郎（京都大学），古川　慧（京都大学），張　永佳（京都大学），樽野陽幸（京都府立医科大学），山下愛美（大阪医科薬科大学），小西克侑（大阪大学），坂場武史（同志社大学），河野洋幸（同志社大学），田淵詠梨（同志社大学），吉田知史（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），三木崇史（同志社大学），塙京子（同志社大学），藤森一樹（九州大学大学院），冨岡良平（熊本大学），奥野浩行（鹿児島大学），田川義晃（鹿児島大学），Taoufiq Zacharie（Okinawa Institute of Scienceand Technology），鈴木俊也（大塚製薬㈱），和氣弘明（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），鳴島　円（生理学研究所），近藤邦生（生理学研究所），上原一将（生理学研究所），高橋泰伽（生理学研究所），長澤裕太郎（生理学研究所），萩原　淳（生理学研究所），吉村由美子（生理学研究所），林　健二（生理学研究所），山本真理子（生理学研究所），米田泰輔（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】

神経細胞間で情報を伝達するシナプスは，その可塑性が記憶・学習の基盤になるとともに，その形成や制御異常は高次脳機能の障害と密接に関係する。先端技術の進歩によりシナプスの理解は今も深化を続けており，それは神経回路のはたらきの考察を促進し，様々な精神疾患や脳機能障害への対処策の構築にも寄与すると期待される。そこで，シナプスに焦点をあてた神経回路の動態に関する最新知見の情報交換を目的に，本研究会は企画された。特に，新型コロナウイルス感染症による研究者間交流の沈滞が２年近く続いており，本研究会が果たすべき役割は大きい。そこで，国内外から多くが参加できるようにすることと講演者－聴衆が面と向かって議論する機会を提供する，という２点を両立させる試みとして，2021 年 11 月 29 日・30 日に生理学研究所において対面とオンラインのハイブリッド形式で開催され，105 名の参加者を得て盛会となった。古典的なシナプスの理解を深化させ神経回路のはたらきを革新するユニークな研究を行っている国内外の 5 名の招待講演者と公募による一般口演者 10 名，合わせて 15 名が質の高い発表を行い，最新データに基づいた情報共有と闊達な議論が行われた。対面での講演・議論は，多くの現地参加者にとり久しぶりで，その重要性を各人が再認識したようである。一方で，オンライン併用による参加者の増加は顕著で，その利便性をうまく活用して研究交流の促進をこれからも図る意義はあろう。今後のシナプスおよび神経科学研究の発展のためにも，大学院生を含む若手が発表して議論を深める経験を積むことは重要であり，それは本研究会の重要なミッションに位置付けられる。この点は今回の研究会でも模索したが，結果としては不十分であり，それを促進する方策を練ることが今後の改善点に挙げられる。

（１）高頻度で持続的なシナプス伝達をささえるシナプス小胞ナノスケール動態

三木崇史（同志社大学 脳科学研究科）

脳の多様な機能は，それぞれに適した特性を有するシナプスにより担われている。平衡感覚や運動学習を担う小脳は，体の姿勢や動き等の情報を脊髄等を介して受けとる。この小脳への入力線維である小脳苔状線維は時に数百 Hz にも及ぶ高頻度で活動するため，このようなシナプスでは伝達物質を高頻度でかつ持続して放出させる必要がある。しかし，その仕組みについては不明な点が多い。最近の研究から私たちは，この小脳苔状線維シナプス前終末において，神経活動時にシナプス小胞が膜近傍へ高速に動員されることを明らかにした（Miki et al., 2020）。これは，高頻度で持続したシナプス伝達に必須な過程であると考えられたが，このメカニズムについてはほとんど分かっていなかった。今回の研究会では，この小脳苔状線維シナプス前終末での高速小胞動員メカニズムについて，全反射照明蛍光イメージング・電気生理・単一粒子追跡法・モデルシミュレーションを用いた最新の研究を，未発表データを中心に紹介した。実験結果から考えられる，高頻度で持続したシナプス伝達時のシナプス小胞動態・エキソサイトーシスと細胞骨格の関連性について議論した。

（2）チャネルシナプス：シナプス小胞に依存しない化学神経伝達機構

樽野陽幸[1,2,3]（[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，[3]JST CREST）

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，シナプス小胞のエクソサイトーシスによる化学シナプスとギャップジャンクションによる電気シナプスが広く知られる。一方，味覚を担う味蕾感覚細胞はシナプス小胞を持たないにもかかわらずアデノシン３リン酸（ATP）を伝達物質として活動電位に依存した化学神経伝達を行うが，そのシナプス機構は長らく謎だった。近年，Calcium Homeostasis Modulator 1 (CALHM1) と CALHM3 のヘテロ多量体 CALHM1/3 が発見され，これは速い電位依存性ゲート機構と大きなイオン透過ポアを有する電位依存性 ATP チャネルであった。さらに，味蕾細胞は CALHM1/3 チャネルを発現しており，味刺激によって惹起される活動電位によって開く CALHM1/3 のイオン透過ポアを通して ATP が求心性味神経へ向けて放出されることが明らかとなった。個体レベルでは，CALHM1 や CALHM3 を欠損したマウスでは味覚の受容が消失していた。我々は味覚受容を担うこの特殊な神経伝達機構を従来の小胞性シナプスに対して「チャネルシナプス」と命名し，第２の化学シナプス様式として提唱している。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，神経の厳密な近接配置による固有のシナプス構造が明らかとなるとともに，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。チャネルシナプスの構造，機能，生理的役割についての最新知見を紹介する。

（3）動物個体の行動変容に関与するシナプス分子群の神経回路特異的解析

大西泰地，坂本寛和，廣瀬謙造（東京大学大学院 医学系研究科 細胞分子薬理学分野）

環境適応的な行動の変化には中枢神経シナプスの可塑的変化の関与が指摘されている。特に行動の変化に伴ってシナプス前部の分子にどの程度変化が生じるのか，その変化が神経回路特異的に生じるのかは明らかではない。我々は，動物個体に行動変化を生じさせるような経験が，どのような神経回路特異的なアクティ

ブゾーン分子の変化を誘導するのかを解明することを目標とし，二つの研究を行った。

一つ目の研究では，脳の広い領域でシナプスの可塑的変化を引きおこすエンリッチメント環境で飼育したラットを用いて，海馬における複数の神経回路上の興奮性および抑制性シナプスを評価した。単一シナプスレベルで分子の定量行うことが可能な免疫組織化学法と高精細なイメージング法を組み合わせることにより，特定の神経回路のみでアクティブゾーン構成分子の量が変化することを見出した。二つ目の研究では，実際に動物個体の行動変化が生じた際に活性化する神経細胞間のシナプスのみを特異的に標識する技術の開発を行った。行動実験タスク中に活動するプレシナプス細胞，ポストシナプス細胞それぞれにシナプスに局在する分子を遺伝学的に発現させることにより，両分子が共に存在するシナプスを同定した。これらの技術を用いることで経験による回路特異的なプレシナプス分子の変化を検証することが可能となった。

（4）Molecular anatomy of brain synapses from living psychiatric patients

Zacharie Taoufiq and Tomoyuki Takahashi
（Cellular and Molecular Synaptic Function Unit, Okinawa Institute of Science and Technology Graduate University）

Synapses are specialized cellular structures connecting neurons that are essential to communication within the brain. They receive-process-store-control all information that flows within neuronal networks. In fact, alteration of synaptic protein expression is often at the root of many brain diseases such as Alzheimer's, autism, ADHD, and schizophrenia. Therefore, there is a tremendous interest in dissecting their proteome.

Brain research/sampling on living individual is key but unethical. However, we have recently developed a noninvasive/harmless dissection of brain synapses from living psychiatric patients, by combining stem cell reprogramming technology and our powerful proteomics approach (Taoufiq *et al PNAS 2020*). We called this new technology: 'Personalized Synapse Proteomics' (PSP). Our PSP 'ugly prototype' could unveil proteome alterations in brain synapses from a living patient with schizophrenia versus his healthy sibling. These include known schizophrenia disease biomarkers and may potentially encompass dozens of novel ones.

We are planning to expand the use of PSP to 50 new samples. Therefore, we are now organizing a future interdisciplinary collaboration with data scientists who are using artificial intelligence and machine learning techniques to understand/explore our new data. We think this new work will be a gateway toward the development of next-gen personalized and precision therapies against various brain disorders.

（5）分泌型シナプスオーガナイザー　C1q ファミリーが作り上げるシナプスの橋

松田恵子（慶應義塾大学 医学部）

神経細胞同士が繋がる場であるシナプスが，どこで，どういったタイミングで出来上がるか，そのシナプスにどのような特異的な性質を持たせるかは，シナプスオーガナイザーによって精密に制御され，高度な脳の機能に必須である。実際に統合失調症，不安障害，うつなど，さまざまな精神疾患において，シナプス構造の変化が見出され，自閉症スペクトラム障害の患者の一部では，シナプスオーガナイザーである neuroligin3, 4 や neurexin，あるいはシナプス分子のアンカーである Shank 遺伝子の異常が報告されている。このように，多くの精神疾患や発達障害は，シナプス形成や機能の異常である「シナプス病」であると考えられており，特異的シナプス形成やシナプス機能を制御する分子基盤を明らかとすることは，脳機能という生命現象の理解のみならず，病態を理解し治療戦略を編み出すための根幹となりえるだろう。シナプスオーガナイザーには，

膜タンパク質である接着分子型に加えて，神経細胞やグリア細胞から放出される分泌型シナプスオーガナイザーもシナプス間隙で機能している。私たちは，これまで分泌性タンパク質である補体C1qファミリー分子を中心として，分泌型シナプスオーガナイザーがシナプスを制御する機構を明らかとしてきた。その特徴として，1)シナプスに分泌されたあと，細胞外基質のようにそのシナプスにとどまり，細胞外からシナプス特異的な機能を発揮すること。2)シナプスによって特異的な結合パートナー群を持つこと，が挙げられ，シナプスに多様性を生じさせ複雑な神経回路網を作り出す分子基盤となりえることに着目した。

本発表では，C1q ファミリー分子を中心とした分泌型シナプスオーガナイザーによるシナプス機能制御機構の理解から明らかとなった，これら分子に内包される強力なシナプス形成領域を応用し，これを基に開発された，さまざまな神経回路においてシナプス機能を制御する新規シナプスコネクター分子の今後の可能性について議論したい。

（6）マウス体性感覚視床における経路依存的なプレシナプス機構の成熟過程

緑川光春（東京女子医科大学･医学部･生理学（神経生理学））

生後発達期での中枢神経系の回路形成過程では，最初期にシナプスが過剰に形成された後，必要なシナプスが強化されていき，不必要なシナプスが除去されていく。この現象は発達・経験依存的に進行するが，その過程において強化・あるいは除去される対象である前シナプス側の機能がどのように変化するのかはよく分かっていなかった。

脳の複雑な神経回路の中でこの疑問に応えるために，我々はマウス視床のヒゲ体性感覚野（VPm）のシナプスに着目した。ここでは，発達初期では単一の VPm ニューロンに対してヒゲ由来，それ以外の部位（異所性）由来共に複数の線維がシナプスを形成している（多重支配）が，成熟した VPm ニューロンは一本のヒゲ由来線維に支配される（一本支配）（Takeuchi et al., 2012, 2014, *J Neurosci.*; Takeuchi et al., 2017, *eNeuro*）。つまり，強化されるシナプス（ヒゲ由来）と除去されるシナプス（異所性由来）が既知である。また，マウスがヒゲを使った探索行動を開始する時期にヒゲを抜去すると多重支配が継続することから，シナプスの選択的強化・除去に感覚経験依存性があることが分かっている（Takeuchi et al., 2014, *J Neurosci.*）。

このシナプスにおいて我々は，マウス遺伝学・ウイルス学を併用することによってヒゲ由来・異所性由来のシナプスに対して特異的に分子的操作を加え，蛍光タンパク質を発現させることによるシナプス前終末からの直接ホールセルクランプ記録が可能な実験系を構築した。これによって強化・除去されるシナプス前部の機能を並列して測定し，発達依存的な変化に加えてヒゲ抜去による感覚経験依存的な変化についても系統的・定量的に調べた。

実験の結果，発達初期に未熟であるシナプス前機構は，強化されるヒゲ由来のプレシナプス部において顕著な発達・経験依存的な成熟を示すのに対し，除去される異所性由来のプレシナプス部においてはほとんど成熟しないことが明らかになった。強化されるヒゲ由来のプレシナプス部においては生後２週目にまず開口放出可能なシナプス小胞プールのサイズが大きくなり，次いで生後３週目により短い刺激に追随して開口放出可能な速い成分のシナプス小胞プールの発達が確認された。この速い成分のシナプス小胞プールの発達は，カルシウムチャネルに密接した開口放出可能なシナプス小胞の割合が増大することによってもたらされることが示唆された。また，速い成分のシナプス小胞プールの発達はその変化が生じる時期をまたいでヒゲを抜去すると消失したため，感覚経験依存的に進行することが分かった。

（7）大脳皮質一次視覚野へのトップダウン投射を担うシナプスにおける可塑性の解析

石川理子，柚﨑通介（慶應義塾大学･医学部･生理学教室）

大脳皮質の神経細胞は，領野内の神経細胞からシナプス入力を受けるとともに，領域外からの神経細胞からも多くのシナプス入力を受ける。大脳皮質一次視覚野（V1）の神経細胞は，高次脳領域からのトップダウン入力をうけ，この入力が学習により変化することが数多く報告されている。しかし，トップダウン入力のように領域間をつなぐ長距離結合を担うシナプスの特性や可塑性は，切片標本を用いた ex vivo の実験での検証が困難であったためにほとんど解析されていなかった。

本研究では，一次視覚野（V1）に強いトップダウン入力を送る Retrosplenial cortex（RSC）に AAV ベクターを用い，チャネルロドプシン（ChR2）を RSC に特異的に導入し，RSC シナプス終末を光照射することで，トップダウン入力を担うシナプスの生理機能を，急性脳切片を用いたホールセルパッチクランプ法により検証した。複数の発達段階にあるマウスの一次視覚野から切片標本を作製し，V1 の 2/3 層の錐体細胞からホールセル記録を行った。RSC-V1 シナプス終末領域を光照射するタイミングと記録細胞に活動電位を発生させる相対的なタイミングを可変とし，長期増強（LTP, Long term potentiation）や長期抑制（LTD, Long term depression）を引き起こせるか，その誘導条件について検討した。開眼直後の幼弱期のマウスにおいて（P16-P19），光照射のタイミングが記録細胞の活動電位発生タイミングに先行する場合に LTP が観察された。また，この活動タイミング依存的な LTP は，生後 6 週齢を超えたマウス V1 においても観察された。トップダウンシナプスにおいて，神経細胞間の伝達効率の調整が，年齢に依存せず生じたことから，このシナプス可塑性が成熟マウスにおける視覚学習の神経基盤となる可能性が示唆される。

（8）グリア細胞による活動電位の伝導制御機構の存在

杉尾翔太（名古屋大学大学院 医学系研究科 分子細胞学）

2021 年 11 月 29・30 日に開催されたシナプス研究会にて，Oligodendrocytes response to neural activity and regulate action potential propagation というタイトルで口演発表をさせていただいた。近年，中枢神経系において髄鞘を形成するオリゴデンドロサイト（OC）が神経活動の変化に応答して，髄鞘の容態変化を介して神経軸索の伝導性を修飾することで神経回路活動を時空間的に制御し，運動学習や記憶といった脳機能の発現に寄与することが明らかとなってきている。本発表では，OC を観察対象とした 2 光子生体 Ca^{2+} イメージングと光遺伝学的手法を利用した活動電位の伝導評価系を紹介するとともに，OC が神経回路の活動増減に対して応答し，髄鞘の容態変化を介して活動電位の伝導性を制御することで，プレニューロンからポストニューロンへと到達する活動電位のタイミングが同期化する現象を示した。この結果に基づくと運動学習や記憶といった脳機能発現の過程で生じる神経回路再編に，OC による活動電位の伝導制御機構の関与が示唆され，spike timing-dependent plasticity や神経回路再編と OC による活動電位の伝導制御機構との関連について議論を行った。

（9）視覚運動を演算する網膜神経回路におけるシナプス様式

松本彰弘（オーフス大学 DANDRITE 研究所）

わたしたちが受容する視覚世界は多様な視覚特徴を含有する。視覚系の感覚器官である網膜では，それぞれ固有の特徴に選択性をもつ 40 タイプ以上の網膜神経節細胞が，軸索（視神経）を介して情報を並列に脳へと伝送す

る。

身体や頭の動きに伴って視野が動くと，網膜像には「動き（視覚運動）」が生じるが，視覚的な動きの検出は，視覚運動の方向に選択性をもつ方向選択性細胞が担う。方向選択性細胞は，双極細胞から放出されるグルタミン酸，またスターバースト細胞から放出されるアセチルコリンと GABA を受容する。これまでの研究では，GABA 作動性シナプスが空間非対称に形成されることで方向選択性が生じると考えられてきた。一方で，グルタミン酸やアセチルコリンを介した興奮性経路の寄与については長年の議論があり，判然とは分かっていない。

本研究では，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，双極細胞－方向選択性細胞シナプスに視覚運動特徴を計算するための特異な神経結合様式が興奮性経路に存在することを示した。双極細胞の軸索終末，また方向選択性細胞の樹状突起では，アセチルコリンと GABA 作動性シナプスがそれぞれ局所に回路を形成し，グルタミン酸の放出と受容を修飾していた。さらに特異な神経結合様式が形成される機構について議論した。

（10）歯状回新生ニューロンは消去課題中の活動により恐怖記憶の消去を促進する

菅谷佑樹（東京大学大学院 医学系研究科 神経生理学分野）

歯状回は，連合記憶の消去学習に重要な役割を果たしていることが報告されているが，その詳細なメカニズムはいまだ不明である。哺乳類の歯状回の特徴として，成体におけるニューロン新生が知られている。本研究では，歯状回の新生ニューロンの活動が恐怖記憶の消去学習に必要であることを報告する。方法として，成体の新生ニューロン特異的ジフテリアトキシン受容体発現マウスに音を条件刺激とする恐怖条件付けを行った。コンテクスト暴露によるすくみ行動の出現によって恐怖記憶の獲得を確認した後，ジフテリアトキシンを投与することで 5 週齢の新生ニューロンを除去した。このマウスに条件刺激を繰り返し提示し，恐怖記憶の消去課題を 5 日間行ったところ，対照群と比較して恐怖記憶の消去学習が阻害されることが明らかとなった。同様に，5 週齢の新生ニューロン特異的抑制性 DREADD 発現マウスに音依存性恐怖条件付けを行い，消去課題の 1 時間前にクロザピン N オキシドを投与してその活動を阻害すると，対照群と比較して恐怖記憶の消去学習が阻害された。消去学習中の新生ニューロンの活動を Ca^{2+} イメージングを用いて観察したところ，条件刺激と関連した活動を示すことが明らかとなった。この活動は条件付けを行っていないマウスの新生ニューロンでは認められなかった。これらの結果は，新生ニューロンの活動が，恐怖記憶の消去学習に必要であることを示している。

（11）報酬の予測や獲得に伴うマウスの顔運動を制御する神経回路機構

山下貴之（藤田医科大学医学部）

マウスの顔運動と脳全体の神経活動には高い相関があり，顔運動は知覚・認知機能に影響を及ぼす。しかしながら，マウスの顔運動を制御する神経回路メカニズムはよくわかっていない。マウスに報酬関連タスクを行わせると，報酬予測や報酬獲得のタイミングで洞毛などの顔面部位に運動が惹起される。そこで，私たちは，報酬予測や報酬獲得に伴い発火することが知られている腹側被蓋野ドーパミン神経細胞（VTA-DA 細胞）の活性化が顔運動を駆動するのではないかと考えて，光遺伝学的に当該神経細胞を刺激した。そして，VTA-DA 細胞への刺激頻度依存的に洞毛および鼻先の特徴的な運動が誘発された。さらに，音刺激と VTA-DA 細胞の刺激を連合させたところ，学習後に音刺激に伴い洞毛や鼻先の一過性の運動が誘発された。これらの顔運動はそれぞれ報酬獲得と報酬予測に伴う表情と考えられる。それぞれの運動の神経メカニズムについて，薬理学的阻害やシリコンプローブ記録により検討した。その結果，中脳辺縁系ドーパミン経路を起点とし側坐

核 D1 受容体を介する神経回路により報酬獲得に伴う顔運動が惹起され，D1 受容体を介さない経路により報酬予測に伴う顔運動が惹起されること，および大脳皮質一次運動野は両者の回路を統合する出力ノードであることが示唆された。本研究会では以上の結果について概説し，顔運動を制御する神経回路についてさらなる考察を進めた。

（12）シナプス可塑性の時空間解析を可能とする新規光遺伝学的手法

後藤明弘（京都大学大学院 医学研究科 システム神経薬理）

この度，2021 年 11 月 29-30 の間に開催された生理学研究所の「シナプスの理解深化からの神経回路動態の再考」研究会に参加し，「シナプス可塑性の時空間解析を可能とする新規光遺伝学的手法」という演題名で以下のような内容で口頭発表を行った。

エピソード記憶は海馬で形成された後，皮質で固定化される。この記憶固定化の過程において，シナプス可塑性が重要な役割を担っている。しかし実際に脳のどの領域のいつの段階でシナプス可塑性が起きているかは完全に解明されていない。そこでシナプス可塑性が起きる時間枠を検出するために，光によって LTP を消去する新たな光遺伝学的手法を開発した（Goto et al., 2021, Science 374, 857–863 ）。

アクチン関連分子である cofilin は LTP に伴ってスパインに流入し，シナプス後部のスパイン拡大（sLTP, structural LTP）に重要な役割を担う。したがって，CALI を高効率で起こす光増感たんぱく質 SuperNova と cofilin を融合し（Cofilin-SuperNova）スパインに発現させ，光を照射することで，Cofilin を不活化し，LTP を解除することに成功した。この技術は 20 分以内に誘導された LTP のみを光で消去できるため，光によって LTP が誘導された時間を解析することができる。

アデノ随伴ウイルスによって Cofilin-SuperNova を海馬に発現させ，学習直後あるいはその後のホームケージ内での睡眠中に光を照射したところ，それぞれで記憶が消去された。また前帯状皮質では学習の翌日の睡眠時に光を照射することで記憶が消去された。以上から海馬では学習の直後とその後の睡眠時に LTP が起き，その翌日の睡眠時には前帯状皮質でさらに LTP が起きることを明らかにした。さらに小型顕微鏡によるカルシウムイメージングと組み合わせて神経活動を観察することで，海馬細胞活性がシナプス可塑性によって同期発火性を獲得していく過程を明らかにした。本研究によって，記憶固定化の初期段階で生じるシナプス可塑性の時空間情報とそれに伴う細胞活性を明らかにした。

（13）Activity-dependent dendrite development of the cerebellar Purkinje cells

Yukari H. Takeo, Michisuke Yuzaki（慶應義塾大学 医学部 生理学）

Neurons develop cell-type specific dendritic tree architectures. Precise control of dendritic morphology is a prerequisite for proper circuit assembly. While studies have elucidated importance of neuronal activity for circuit development, whether and how neuronal activity regulates dynamic structural changes of developing dendrites remains unclear. To address this question we use the cerebellar Purkinje cells (PCs). PCs have a unique cellular morphology characterized by a single flat dendritic tree. Establishment of this iconic dendritic tree morphology is preceded by formation of an immature stellate cell shape with numerous short dendrites oriented in all directions. The precise transition process and underlying mechanism for this drastic morphological change has long been a mystery. Here, using *in vivo* two-photon time-lapse imaging, we show that the developing PCs dynamically retract all but one stellate dendrite. The remaining dendrites kept growing into the single mature dendritic tree. Overexpression of Kir2.1 abolished the

retraction of excess dendrites, suggesting that neuronal activity is required for developmental dendritic pruning of PCs. Further studies indicated that CaMKII signaling in PCs is the key molecular mechanism for the activity-dependent dendritic pruning. Our findings not only reveal the dynamic morphogenesis of the cell-type specific dendritic tree, but also provide new insights into molecular mechanisms for activity-dependent dendritic development.

（14）大脳皮質出力層の機能的秩序構造とその発生

丸岡久人（東京大学･院医･神経細胞生物学分野）

大脳皮質は多種多様な神経細胞により構成されるが，皮質機能の根幹となる回路構造の基本的なロジックも未だ不明な点が多い。近年，我々は大脳皮質の出力層である第５層が神経細胞サブタイプ特異的な微小カラムの繰り返しに構造化されていること，および単一の微小カラム内の神経細胞が同期した神経活動と類似の刺激応答性を示し，微小カラムが機能単位として動作することを示唆する知見を報告した。微小カラムの同期活動には感覚刺激に無関係な成分も含まれるため，高次皮質領野からのトップダウン入力が個々の微小カラムに収束して同期活動を惹起している可能性が示唆された。この可能性に取り組むため，我々はトップダウン入力が第一次視覚野の個々の微小カラムに収束しているのかを検証した。また，単一の微小カラムは大脳発生において異なる放射状グリア細胞から新生した神経細胞が集合することにより形成されることを以前に報告したが，微小カラムの発生機構は不明である。本発表ではこれら２点について論じる。

（15）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，
理化学研究所 生命機能科学研究センター 網膜再生医療研究開発プロジェクト）

一部の哺乳類は冬になると自らの基礎代謝を低下させる。この能動的な低代謝・低体温状態を休眠とよび，特に数ヶ月に及ぶ休眠を冬眠とよぶ。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，体温も環境温度に近くなる。通常であればエネルギー不足や低温により障害を受ける環境だが，動物は何ら障害を伴うことなく自発的に元の状態に戻ることができる。冬眠の低代謝は“制御された低代謝”であり，疾患によって組織が受けるダメージを回避できる可能性など，人間への応用が期待されている。しかし，冬眠応用の実現性の検証はおろか，メカニズムさえもほとんど分かっていない。冬眠研究を困難にしている理由の一つが，実験動物として任意のタイミングで冬眠を誘導することができる動物がいないことであった。私たちは，マウスの視床下部に存在する Qrfp 陽性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低下することを見出した（Takahashi TM, Nature, 2020）。この神経細胞群を Q 神経（Quiescence-inducing neurons : 休眠誘導神経）と名付け，Q 神経を興奮させると生じる低代謝を QIH (Q neurons-induced hypometabolism) と名付けた。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する。行動解析・組織学的解析では QIH の前後で異常はみとめられず，QIH は同一個体でくりかえし誘導することができる。本研究によって，非冬眠動物に冬眠様状態を誘導できることが明らかとなった。さらに，マウスというポピュラーな実験動物にて任意のタイミングで冬眠様状態を誘導できることは，今後の休眠研究に大きく貢献できると考えている。

14. 細胞システム理解のためのシグナル応答原理解明の最前線

2021 年 9 月 16 日－9 月 17 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：根本知己（生理学研究所）

（1）光スイッチング蛍光タンパク質「Kohinoor2.0」による長時間・高速超解像イメージング

○野間涼平[1,2]，和沢鉄一[2]，宇土周作[1]，杉浦一徳[2]，鷲尾　隆[2]，永井健治[1,2]
([1]大阪大学大学院 工学研究科 生物工学専攻，[2]大阪大学 産業科学研究所)

（2）超解像顕微鏡を用いた系統的大規模解析による Ca^{2+}-シナプス小胞カップリングの解明

○坂本寛和，廣瀬謙造（東京大学大学院 医学系研究科 細胞分子薬理学）

（3）カリウムチャネルの K^+/Na^+ 選択性分子機構

三田建一郎[1]，炭竈享司[1,2]，岩本真幸[1,2]，○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 分子神経科学，[4]福井大学 医学部 高エネルギー医学研究センター)

（4）骨格筋筋小胞体 Ca^{2+} 遊離機構の再構成

○村山　尚（順天堂大学 医学部薬理学講座）

（5）Oxidative stress hot-spots signify a close interplay between tumor buds that undergo partial EMT and neutrophils

○植田誉志史，森　泰生（京都大学大学院 工学研究科合成･生物化学専攻）

（6）カルシウムイオンを切り口とした皮膚上皮細胞の細胞死（角化）メカニズムの解析

○村田光麻，椛島健治（京都大学大学院 医学研究科 皮膚科学講座）

（7）Tensile status of adherens junctions as a therapeutic target for skin carcinoma

○Oleg Dobrokhotov，曽我部正博，平田宏聡
（名古屋大学大学院 医学系研究科 メカノバイオロジーラボ）

（8）マウス大脳皮質初代培養における睡眠・覚醒様神経活動の誘導

○多月文哉，史　蕭逸，上田泰己（東京大学大学院 医学系研究科 システムズ薬理学）

（9）概日カルシウムリズムの源流を探る

○榎木亮介[1,2]，廣　蒼太[1,2]，根本知己[1,2]
([1]自然科学研究機構 生理学研究所，[2]自然科学研究機構 生命創成探究センター)

（10）新規二光子顕微技術による低侵襲生体イメージング

○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）

（11）微小な音を受容する内耳蝸牛の仕組みと働き

太田　岳[1]，張　奇[1]，任　書晃[2]，○日比野　浩[1]
([1]大阪大学大学院 医学系研究科 薬理学講座統合薬理学，
[2]岐阜大学大学院 医学系研究科 生命原理学講座生理学分野)

【参加者名】

永井健治（大阪大学），松田知己（大阪大学），酒井伸弥（大阪大学），野間涼平（大阪大学），Zhai Le（大阪大学），LU KAI（大阪大学），廣瀬謙造（東京大学），坂本寛和（東京大学），老木成稔（福井大学），村山　尚（順天堂大学），（植田誉志史）京都大学，村田光麻（京都大学），曽我部正博（名古屋大学），平田宏聡（名古屋大学），Dobrokhotov Oleg（名古屋大学），上田泰己（東京大学），大出晃士（東京大学），多月文

哉（東京大学），金谷啓之（東京大学），WEN ZHIQING（東京大学），石川裕貴（東京大学），根本知己（生理学研究所），榎木亮介（生理学研究所），大友康平（生理学研究所），堤　元佐（生理学研究所），廣蒼太（生理学研究所），安宅光倫（生理学研究所），中田開人（生理学研究所），高橋泰伽（生理学研究所），長澤裕太郎（生理学研究所），日比野　浩（大阪大学），任　書晃（岐阜大学），堀井和広（岐阜大学），飯野正光（日本大学），山澤德志子（東京慈恵会医科大学），中村行宏（東京慈恵会医科大学），林　周宏（慶應義塾大学），北澤彩子（慶應義塾大学），大久保洋平（順天堂大学），呉林なごみ（順天堂大学），泉　裕士（生理学研究所），浦久保秀俊（生理学研究所），鈴木　団（大阪大学），柿澤　昌（京都大学），高橋智幸（沖縄科学技術大学院大学）

【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。新型コロナウイルスの影響に伴い，昨年度に引き続き Zoom によるオンラインでの開催となった。分子動態解析，分子シミュレーション，シグナル動態解析，シグナル動態操作，個体レベルの機能解析，新規光学技術，など多様な分野に跨がる 11 名の講演者を迎え，総勢 45 名の参加者により活発な討議を行なった。そのうちの 2 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。Zoom ブレイクアウトルームを利用して参加者同士の交流の機会を設けるように配慮した。互いの研究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）光スイッチング蛍光タンパク質「Kohinoor2.0」による長時間・高速超解像イメージング

○野間涼平[1,2]，和沢鉄一[2]，宇土周作[1]，杉浦一徳[2]，鷲尾　隆[2]，永井健治[1,2]
（[1]大阪大学大学院 工学研究科 生物工学専攻，[2]大阪大学 産業科学研究所）

これまでに開発されていた光スイッチング蛍光タンパク質 Kohinoor は，405 nm の光照射により ON 状態から OFF 状態へ遷移し，488 nm の光照射により OFF 状態から ON 状態へ遷移と ON 状態の蛍光励起が起こりピーク波長 518 nm の蛍光を発する。Kohinoor を用いて光毒性の低い超解像イメージングに成功したものの，蛍光強度などの光特性が不十分で，高速・長時間超解像イメージングが困難であったため，変異体 Kohinoor2.0 が開発された。Kohinoor2.0 は Kohinoor と比べて，2.6 倍高い蛍光強度と 1.5 倍速い OFF 遷移速度を示した。また，pH 変化に伴う吸収スペクトルの変化の解析から，pH 中性付近において，Kohinoor2.0 の発色団のイオン化状態存在率が Kohinoor と比べて 2 倍高いことが判明し，蛍光強度改善に寄与していると推測された。さらに，Kohinoor2.0 を用いて COS7 細胞の SPoD-OnSPAN 超解像イメージングを行ったところ，4 時間に及ぶアクチンフィラメントの動態を捉えることに成功した。さらに，0.5 秒の時間分解能でミトコンドリアの超解像イメージ

ングを行い，ミトコンドリアの融合，分裂の高解像観察に成功した。以上の研究から，Kohinoor2.0 を用いた長時間・高速超解像イメージングによる，細胞小器官や分子の微細な動態のさらなる解明が期待される。

（2）超解像顕微鏡を用いた系統的大規模解析による Ca^{2+} -シナプス小胞カップリングの解明

○坂本寛和，廣瀬謙造（東京大学大学院 医学系研究科 細胞分子薬理学）

神経伝達物質は Ca^{2+} 依存的なシナプス小胞の開口放出を介してシナプス前終末から放出される。興味深いことに，神経伝達物質の放出確率はシナプスの種類ごとに大きく異なっており，その機能的な違いは電位依存性 Ca^{2+} チャネルとシナプス小胞との間の物理的な距離（Ca^{2+} -シナプス小胞カップリング）の違いに由来すると考えられている。近年の研究から，シナプス前終末に集積する足場タンパク質群（Munc13, RIM, RIM-BP, CAST）が Ca^{2+}-シナプス小胞カップリングを制御している可能性が指摘されているが，その詳細は不明である。本研究では，海馬 CA3 領域に形成される放出確率の異なる二種類の興奮性シナプス（苔状線維シナプスと連合線維シナプス）および二種類の細胞体近傍抑制性シナプス（PV+シナプスと CCK+シナプス）に注目し，電位依存性 Ca^{2+} チャネル（P/Q 型および N 型）および足場タンパク質群の大規模な超解像顕微鏡計測を行った。各シナプス種について数千から数万個のシナプスに対して系統的定量解析を行った結果，神経伝達物質の放出確率が高いシナプスほど，Ca^{2+} チャネルと一部の足場タンパク質が物理的に近い位置に配置され，強く結びついていることが明らかとなった。このナノレベルの分子配置特性は，Ca^{2+} -シナプス小胞カップリングの構造基盤となっている可能性がある。

（3）カリウムチャネルの K^+/Na^+選択性分子機構

三田建一郎[1]，炭竈享司[1,2]，岩本真幸[1,2]，○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 分子神経科学，
[4]福井大学 医学部 高エネルギー医学研究センター）

進化上，最古のチャネルのひとつであるカリウムチャネルは細胞外高 Na^+ 条件下で外向きに電流を流し，inside negative な静止膜電位を形成している。カリウムチャネルのイオン選択性において K^+（半径 1.3 Å）よりも小さな Na^+（半径 1.0 Å）をなぜ流さないのか？カリウムチャネルはそれ以後に出現する他のチャネルよりもはるかに難しい課題を進化の初めに獲得していたことになる。カリウムチャネルのイオン選択性機構は 80 年以上にわたって研究されてきたが，その過程は紆余曲折であった。とくにカリウムチャネル結晶構造決定後は美しい結晶構造がその解釈を翻弄してきたきらいがある。「選択性フィルタに K^+ が高親和性結合することが Na^+ を排除し，knock-on 機構で K^+ イオンが速やかに流れる」という従来の透過選択性に関する描像は，本来ダイナミックであるはずのイオン選択過程を十分に捉えきれているだろうか？「そもそもカリウムチャネルを Na^+ が流れるのか」，という課題に挑戦し，電気生理学的な測定で KcsA カリウムチャネルを流れる単一チャネル Na^+ 電流を測定することに成功した。これと平行して分子動力学シミュレーションを行い，カリウムチャネルを流れる Na^+ の特異な透過様式を発見し，イオン選択性機構を明らかにした。

（4）骨格筋筋小胞体 Ca^{2+} 遊離機構の再構成

○村山　尚（順天堂大学 医学部 薬理学講座）

骨格筋筋小胞体（SR）からの Ca^{2+} 遊離は 1 型リアノジン受容体（RyR1）／Ca^{2+} 遊離チャネルを介して起こる。RyR1 は T 管膜のジヒドロピリジン受容体（DHPR）との相互作用による脱分極性 Ca^{2+} 遊離（DICR）と Ca^{2+} の結合により活性化する Ca^{2+} 誘発性 Ca^{2+} 遊離（CICR）の 2 つのモードで開口する。RyR1 の遺伝子変異は RyR1 の活性を亢進または抑制することで，悪性高熱症やミオパチー等の筋疾患を引き起こす。これらの筋疾患には有効な治療薬が少なく，新たな薬物の開発が望まれている。HEK293 細胞に RyR1 を発現させることで CICR の再構成系を構築し，疾患変異の表現型の解析および薬物開発を行われてきた。その結果，新たな悪性高熱症治療薬として Compound 1 (Cpd1) の開発に成功した。Cpd1 は既存薬のダントロレンに比べて水溶性が高く，半減期が短いことからより安全な治療薬として使用できる可能性がある。DICR には RyR1 に加えて DHPR，STAC3，Junctophilin-2 が必要なことが知られている。最近，RyR1 発現 HEK293 細胞に上記遺伝子を導入することで DICR の再構成に成功した。この系は定量性が高く DICR 構成因子変異の表現型解析に有用であることが示された。本手法により，DICR の分子機構の解明や特異的作用薬の探索が加速することが期待される。

（5）Oxidative stress hot-spots signify a close interplay between tumor buds that undergo partial EMT and neutrophils

○植田誉志史，森　泰生（京都大学大学院 工学研究科合成･生物化学専攻）

がんの進展での腫瘍の形成・増殖・転移など様々なステップにおいて，活性酸素種を介した酸化ストレスのダイナミックな変化が生じることが示唆されている。複雑ながんと酸化ストレスの関係性を明らかにするために，がん細胞の過酸化水素（H_2O_2）曝露量を判別する蛍光プローブを作製し，腫瘍組織における酸化ストレスの時空間的な変化を可視化して，その役割を調べた。腫瘍内には局所的な高 H_2O_2 領域が存在し，原発腫瘍から離れた少数のがん細胞のクラスター（tumor budding）周辺に多く見られることが分かった。Tumor budding は転移の初期過程にあるがん細胞の部分的な上皮間葉転換（EMT）を反映し，高 H_2O_2 下の腫瘍細胞では，間葉系の形質に関わる遺伝子発現と c-Myc(MYC)に制御される遺伝子群の発現が向上していた。H_2O_2 は MYC の発現上昇を介して部分的な EMT と budding を促進すると思われる。一方 MYC の発現上昇は細胞の H_2O_2 産生を増加させたことから，両者には機能的連関があることが示唆された。さらにこの hot-spot は好中球集積の空間的な情報として重要であり，好中球は H_2O_2，MYC，EMT の連関を増強した。H_2O_2 hot-spot は転移を促進する場として重要な役割を果たしており，その酸化ストレスに対する動的な対抗手段としてがん細胞は budding を起こして逃避するのかもしれない。

（6）カルシウムイオンを切り口とした皮膚上皮細胞の細胞死（角化）メカニズムの解析

○村田光麻，椛島健治（京都大学大学院 医学研究科 皮膚科学講座）

皮膚の水分バリア機能の大半は角層によって担われる。角層は皮膚上皮細胞が重層化した後，角化と呼ばれる細胞死により構築されるが，角化の誘導メカニズムの大半は不明である。

マウス皮膚の生体イメージングにより，個々の細胞が異なるタイミングで，40 分程度，細胞質カルシウム

イオン（Ca^{2+}）濃度を上昇させた後，角化が起こることが見出された。この Ca^{2+} 上昇は，辺縁帯と呼ばれる構造を作るために必要と予測されたため，細胞死の誘導にも関わるとの仮説を立て，①細胞質で増加する Ca^{2+} の由来，②責任分子，③Ca^{2+} の制御異常による皮膚疾患の存否を検討した。

①②ラット由来の皮膚上皮細胞株における角化直前の Ca^{2+} 濃度上昇は，培養液への EGTA の添加で強く阻害された。高濃度の SKF96365，2-APB による処理，および，*Stim1* の siRNA によって Ca^{2+} 上昇と角化が阻害された。しかし，既報では皮膚特異的 *Stim1* 欠損マウスでは角層の欠損は見られない。また，*Trpv3* の siRNA では Ca^{2+} 上昇と角化が強く促進され，特異的な分子の同定に至っていない。

③GJB2 の変異による Keratitis-Ichthyosis-Deafness 症候群では，活性の異常に高いヘミチャネルの形成と，角化の促進が知られる。モデルマウスの生体内観察により，細胞質 Ca^{2+} 濃度の著明な上昇が，角化に先行することを見出した。

（7）Tensile status of adherens junctions as a therapeutic target for skin carcinoma

○Oleg Dobrokhotov，曽我部正博，平田宏聡（名古屋大学大学院 医学系研究科 メカノバイオロジーラボ）

Cell density-dependent inhibition of proliferation（CIP) is essential for tissue homeostasis. CIP depends on the formation of the adherens junction（AJ). Forces generated by actomyosin at the AJ are indispensable for CIP in normal skin keratinocytes. However, it remains unclear whether and how the tensile status of AJs contributes to the malignant proliferation of skin cancer cells. Keratinocyte carcinoma cells with high proliferation ability have reduced actomyosin contractility than normal keratinocytes. In turn, pharmacological activation of actomyosin or application of sustained planar stretch, which induced tension to AJs, inhibited proliferation of keratinocyte carcinoma cells. Importantly, skin homeostasis depends on precise coordination between proliferation and differentiation of keratinocytes. At the same time, cancers with less-differentiated phenotypes are generally more aggressive. Indeed, pharmacological activation of actomyosin contractility not only inhibited proliferation but also promoted epidermal differentiation of keratinocyte carcinoma cells. As both inhibition of proliferation and promotion of differentiation might positively impact the cancer therapy outcome, it was suggested that the tensile status of AJs might be used as a novel therapeutic target in keratinocyte carcinoma.

（8）マウス大脳皮質初代培養における睡眠・覚醒様神経活動の誘導

○多月文哉，史　蕭逸，上田泰己（東京大学大学院　医学系研究科　システムズ薬理学）

睡眠時と覚醒時に脳は異なる周波数特性の神経活動を示す。脳波測定においては，睡眠時の高振幅で低周波の活動と覚醒時の低振幅で高周波の活動として対比され，これらは皮質の神経細胞の同期性の高低によると考えられてきた。しかしながら，これら睡眠覚醒による大脳皮質神経細胞の発火パターンがどのように形成されているのかは明らかでない。

マウス大脳皮質初代培養を高密度微小電極アレイ上で培養する系を導入し，安定した神経活動を得ることに成功した。そこに睡眠覚醒制御に関わることが知られている神経伝達物質のカクテル（Ding *et al*., 2016）を培地中に投与したところ，同期発火が減少し，低周波成分（delta 帯域）が減弱した。一方で，受容体拮抗薬が強力に覚醒を誘導する NMDA を培地中に投与したところ周期的な同期発火の増加と delta 帯域成分が増強されることを見出した。また，睡眠を誘導するリン酸化酵素であるカルシウムカルモジュリン依存性リン酸化酵素 2（CaMK2）の活性をウェスタンブロッティングにより推定したところ，NMDA 投与による活性の増強と，カクテル投与による活性の低下が認められた。

以上より *in vitro* で 睡眠覚醒様の発火パターンおよび細胞内シグナリングを再現する系を確立した。

（9）概日カルシウムリズムの源流を探る

○榎木亮介[1,2]，廣　蒼太[1,2]，根本知己[1,2]
（[1]自然科学研究機構 生理学研究所，[2]自然科学研究機構 生命創成探究センター）

脳深部の視床下部領域にある視交叉上核は，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。細胞〜ネットワークレベルの概日カルシウムリズムが報告されてきたが，その発振メカニズムの全容はいまだ明らかではない。これまでに電位依存性ナトリウムチャネルやカルシウムチャネルの阻害薬投与により，概日カルシウムリズムの振幅が減衰することが報告されている。また小胞体リアノジン受容体の競合的阻害薬を投与した際にもリズム振幅が減衰する報告がある。しかし，上記の阻害薬のいずれにおいても概日カルシウムリズムの停止には至っていないため，その他のイオンチャネルや輸送体が関わっている可能性がある。また薬剤の超長期投与する際の生理機能への影響は不明であり，概日リズム発振メカニズムのどこに作用しているのか判別が難しい。一方，時計遺伝子 Cry1/2 を欠損する視交叉上核においても概日カルシウムリズムは見いだされることから，生後発達や細胞ネットワークレベルでの補償機構も考えられる。概日カルシウムの源流を探る為には，多色イメージング計測計測による細胞ネットワークレベルや細胞内オルガネラレベルの計測が有効であると考えられている。これまでの概日カルシウムリズムの研究を紹介し，進行中のミリ秒スケールの神経活動と概日カルシウムリズムの同時計測や，細胞内局所カルシウム計測の試みについて紹介した。

（10）新規二光子顕微技術による低侵襲生体イメージング

○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となっている。生体内における静的な微細構造のみならず，動的な形態変化や機能をライブ可視化できる点は，本法を用いるメリットの一つである。二光子顕微鏡法は，近赤外超短パルスによる可視発色団の二光子励起蛍光の取得を前提とするため，励起の局所性，深部可視化能の特徴を有する。一方で，イメージングにおける性能指標の多くは，観察による侵襲性とトレードオフの関係にある。近赤外光を用いる二光子顕微鏡法は低侵襲的な観察手法であるとされているものの，条件が精微であるほど，取得情報量とともに生体が受けるダメージも著しく増大する。本トレードオフは，時空間的に最低限とした光照射，高効率な信号取得，生体試料にストレスを与えない調製法等により部分的に回避できる。新規的な光パルス光源，補償光学技術，レーザースキャン方式，生体適合性マテリアル等の技術を援用することで，本来の低侵襲性能をできる限り保持したままに，深部可視化能の更なる向上，高時空間分解能化が取り組まれてきた。開発した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，更なる応用が期待される。

（11）微小な音を受容する内耳蝸牛の仕組みと働き

太田　岳[1]，張　奇[1]，任　書晃[2]，◯日比野　浩[1]（[1]大阪大学大学院 医学系研究科 薬理学講座統合薬理学
[2]岐阜大学大学院 医学系研究科 生命原理学講座生理学分野）

聴覚を司る「内耳蝸牛」では，微小音を受容し，その信号を増幅する。この仕組みの理解を目指して研究が行われてきた。音は蝸牛に達すると，“感覚上皮帯”にナノ振動を惹起する。この上皮シート層は，感覚細胞である有毛細胞を含む。上皮帯の振動により，有毛細胞の感覚毛は屈曲し，体液から陽イオンが流入する。そして有毛細胞は電気興奮する。この過程により，音の機械的な刺激は電気信号へ変換される。有毛細胞は興奮すると伸縮する。この動作が微小な上皮帯振動を増幅するが，その詳細は十分に明らかではない。そこで，光干渉を使った振動計測系により，生きた動物の感覚上皮帯を観測した。音刺激により有毛細胞は交流的に伸縮したが，その頂上部と基底部の動作のタイミングは異なる可能性を見出した。加えて，細胞は直流的に短縮していた。これらの事象はアクティブ制御機構として，「小さい音振動ほど増幅する」蝸牛の特徴に関わると推定された。また，蝸牛には，有毛細胞へのイオン流入を加速するため，別の上皮シート層に“生体電池”が備わる。K^+ 選択的電極を用いた計測により，この電池は，直列に繋がった 2 つの K^+ 濃淡電池から成ることを見出した。さらに音入力により有毛細胞を刺激すると，生体電池の起電力が変化した。以上より，蝸牛は，感覚上皮帯に備わる有毛細胞のアクティブ制御機構と生体電池がネットワーク回路を作り，微小音を効果的に受容していると考えられた。

15. 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

2022 年 3 月 2 日－3 月 3 日

代表・世話人：高草木薫（旭川医科大学 脳機能医工研究センター）
所内対応者：南部　篤（生理学研究所 生体システム部門）

（1）周産期からの身体感覚と社会的認知の発達的関連

明和政子（京都大学）

（2）自閉スペクトラムの当事者研究が示唆するもの

熊谷晋一郎（東京大学）

（3）新生児の脳機能と生体リズム

岩田欧介（名古屋市立大学）

（4）神経発達症に併存する運動障害の理解：レット症候群をモデルとして

高橋　悟（旭川医科大学）

（5）予測符号化理論に基づく認知発達と発達障害

長井志江（東京大学）

（6）発達性協調運動障害の病態理解とハビリテーション介入

信迫悟志（畿央大学）

（7）レット症候群の病態メカニズム

石田　綾（理化学研究所）

（8）子どもの可能性を広げるリハビリテーションのために

松田雅弘（順天堂大学）

【参加者名】

現地（11 名）

高草木薫（旭川医科大学），安　琪，木原諒也（九州大学），松田雅弘，城井麻美子（順天堂大学），南部　篤，畑中伸彦，知見聡美，佐野裕美，纐纈大輔（生理学研究所），下田真吾（理化学研究所）

zoom（50 名）

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），高橋　悟, 高橋未来（旭川医科大学），信迫悟志（畿央大学），明和政子（京都大学），古賀洋平（九州大学），加藤荘志（広島大学），峯　耕太郎（国立成育医療研究センター），實木　亨（三重大学），北原エリ子，掛川　圭（順天堂大学），安田万里子（川崎医科大学），朴　志勲（大阪大学），鈴木恒彦（大阪発達総合療育センター），宮田麻理子（東京女子医科大学），長井志江，淺間一，濵田裕幸，温　文，太田　順，柳原　大，金　東敏，四津有人，熊谷晋一郎，阿部勇貴，丸田茂樹，長谷川哲也，山川博司，吉田和憲，湖上碩樹（東京大学），儀間裕貴，菊地　謙（東京都立大学），吉田さちね（東邦大学），木野本　誠（民間企業），岩田欧介，鈴木智子，横井尭子（名古屋市立大学），石田綾，高橋美幸（理化学研究所），江川史朗（理研 BDR），齋藤潤孝，本間涼花（獨協医科大学）

【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。2021 年度の研究会では，現地とオンラインにおいて合わせて 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理学療法士，脳の発達やレット症候群に関して脳・神経生理学の面から研究を行っている研究者，自閉症や脳性麻痺児の当事者研究を行っている医師や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）周産期からの身体感覚と社会的認知の発達的関連

明和政子（京都大学）

欧米圏で行われた最新の長期コホート研究は，周産期の異質な環境経験が発達障害の発症リスクと関連することを示しています。私たちは，身体性（Embodiment）を軸に，身体感覚，とくに「内受容―外受容感覚の統合」が認知機能の創発・発達に深く関わると仮定し，周産期からの連続的検証を重ねてきました。周産期に副交感神経系の機能に弱さがみられた乳児や早期産児が生後 12，18 か月の時点で運動や情動，言語・社会性領域に発達の問題を抱えるリスクが高いことや，発達障害，自閉症スペクトラム症のリスクが高いことが示されてきました。周産期は，身体―環境の相互作用において神経回路の形成が顕著に変化する時期（感受性期）であります。発達初期の発達原理を明らかにし，様々な生体計測装置と従来までの検査方法を組み合わせることで，発達過程の調査やバイオマーカの同定を行うことができます。研究会では幼小児の社会性を回復しうる，早期からの効果的な発達支援法の開発のための議論が行われました。

（2）自閉スペクトラムの当事者研究が示唆するもの

熊谷晋一郎（東京大学）

日本の当事者研究，イギリスの参加型研究（participatory research）やユーザー主導型研究（user-led research）など，障害のある当事者が，受動的な研究対象ではなく，自ら研究者として障害のメカニズムや対処法を探求する試みが広がっています。なかでも当事者研究は，〈身体〉の可塑性の限界を羅針盤にして社会の可塑的変化を目指す「障害者運動」と，対話を通じた〈自伝的記憶〉の統合に力点を置く「依存症自助グループ」に影響を受けている。本講演では，綾屋・熊谷による自閉スペクトラム症の当事者研究の中でも，当事者の視点をもとに進めた研究で，自閉スペクトラム症の患者が健常者に比べて，自己身体を大きく推定しがちで，他者との近い距離を選考する傾向にあることを明らかにした研究や自分自身の記憶に関する振り返りに関して健常者と

の違いを調べた研究について紹介が行われた。そして，障害の社会モデルに基づく支援の重要性や当事者との共同創造によってインクルーシブな社会環境を構築することに関して考察・議論が行われました。

（3）周産期からの身体感覚と社会的認知の発達的関連

岩田欧介（名古屋市立大学）

脳機能獲得の加速は乳児期後期から顕著になりますが，ヒトは母体にいる胎児期から驚くほど多くの外部信号を処理して学習していることが近年になって知られるようになってきました。プレリミナリな観察を短絡的に応用した「発達を促すケア」を科学的に刷新すべく，私たちの医療チームでは，心理・工学・生理学など多分野の専門家と合同チームを形成し，比較的単純な外部入力とそれに関連した脳機能獲得過程の関連を観察してきました。今回の研究会の機会をいただき，新生児早期にも見られる概日リズムなどの生体リズムの発現とその新生児の在胎週数との関係について調べた研究をはじめとして，新生児にも既にみられる環境に適合する機能に関して新しい知見をご紹介するとともに，より複雑な外部刺激と認知機能の関係を解明するプロジェクトの概要をご覧いただき，多分野の若手・エキスパートの皆様と議論を重ねられたらと考えています。研究会においては臨床現場における新生児の発達に関して議論が行われました。

（4）神経発達症に併存する運動障害の理解：レット症候群をモデルとして

高橋　悟（旭川医科大学）

神経発達症のお子さんは，「ボールを蹴る」「縄跳びをする」など複数の身体部位を協調させて行う運動が苦手なことが多いです。このような動作が極端に不器用な発達性協調運動症は，小児のおよそ５％でみられます。また，他の神経発達症との併存が多く，自閉スペクトラム症や注意欠如多動症などの発達特性を有するお子さんでは，５０％以上の頻度でこのような運動障害が併存しています。このような神経発達症の発症要因は，均一ではなく，遺伝要因と環境要因が複雑に関与していることが知られています。私達は，単一遺伝子 MECP2 の異常によって発症する均一な患者群であるレット症候群を対象にして，その臨床的特徴を理解することで発達性協調運動症の病態を理解し，治療方法の開発に貢献したいと考えております。本研究会では，臨床現場において観察される神経発達症のお子さんの症状の診断やその予後改善のための方策について工学系の研究者などと活発な議論が行われました。

（5）予測符号化理論に基づく認知発達と発達障害

長井志江（東京大学）

乳・幼児の認知発達はどのような神経基盤に支えられているのでしょうか。乳幼児が獲得する社会性やそこに内在する個性の発生機序は，まだ未解明な部分が非常に多いです。本講演では，脳の統一原理とされる予測符号化理論に基づいた計算論的研究を紹介します。講演者は，人が得ている感覚信号と脳が生成する予測信号の誤差，つまり予測誤差を最小化する過程が認知発達を導くと提案してきました。講演者は今までに予測符号化に基づく神経回路モデルをヒューマノイドロボットに実装することで原理を検証する構成論的なア

プローチによる研究を行ってきました。その結果として学習をとおした予測機能の獲得とその変調が，描画行動や利他的行動の発達とその多様性を生じるということを示してきました。このような研究成果に基づいて，自閉スペクトラム症などの発達障害者の理解と支援を目指す取り組みについても紹介し，研究会では参加者と活発な議論が行われました。

（6）発達性協調運動障害の病態理解とハビリテーション介入

信迫悟志（畿央大学）

近年，小児リハビリテーション領域では発達性協調運動障害（DCD）についての関心が高まっております。DCD とは，微細運動・粗大運動・バランスといった協調運動技能の獲得や遂行に著しい低下がみられる神経発達障害の一類型であり，他の神経発達障害（ASD，ADHD，LD）とも頻繁に併存し，学齢期の小児の有病率はおよそ 5〜6 % とされています。男女比は 2 対 1，4 対 1，ないし 7 対 1 とされており，男児に多いことがわかっています。そして DCD と診断された児の 50〜80 % が青年期・成人期にもその協調運動困難が残存するとされており，DCD の病態理解と有効なハビリテーション技術の開発は，喫緊の課題となっております。本講演では，我々が実施してきた DCD の病態理解とハビリテーション介入に関する研究として，靴ひもを結ぶといった両手の協調動作を苦手とする小児に対して，動作の手続きを教示することで動作の改善が見られた例などを紹介させて頂き，研究会においては運動学習について活発に議論が行われました。

（7）レット症候群の病態メカニズム

石田　綾（理化学研究所）

脳を構成する神経細胞の成熟過程には，一群の遺伝子発現がダイナミックに変化することが必要であり，MeCP2（メチル化 CpG 結合タンパク 2）はこの過程を担う最も重要な分子のひとつであります。正常な脳発達における MeCP2 の重要性は，MeCP2 の欠損と過剰が共に重篤な小児神経疾患である Rett 症候群と MECP2 重複症候群などを引き起こすことから明確に示されています。しかし，このような病態が神経回路におけるどのような異常によって生じるのかについては未解明な点が多いです。本講演では，原因と疾患の関係か明らかになっている単一遺伝子の疾患である Rett 症候群に着目し，脳内のネットワークにどのような変化が障害を引き起こすのかということについて，発達期のマウスモデルを用いて分子，シナプス，細胞とそれらから発現される行動を繋ぐ多角的なアプローチにより得られた研究成果を紹介したいと思います。研究会では今までに見出された脳発達の新規メカニズムとレット症候群の関係性について議論が行われました。

（8）子どもの可能性を広げるリハビリテーションのために

松田雅弘（順天堂大学）

「発達障害」には，広義と狭義の意味があり，広義としては子どもの発達に関わる全般的な障害として捉え，脳性麻痺などの疾患も含まれます。狭義としては自閉症スペクトラム障害などの発達障害を指しています。広義での発達障害に対するリハビリテーションの歴史の中で，子どもの可能性を追及する取り組みが実

践されてきましたが，近年の様々な先端技術の発展と科学の進歩によって，子どもの可能性を追及する手法が増えることが期待されています。子どもはその活動を通じて，自己の世界を拡張させ，運動を含めた学習を進めていきます。そこに 1 人の支援者として，どのような関わりを持ち，家族とその子どもと一緒に協働していく形を創造できるかが，子どもの将来の可能性を広げることとなります。それに加えて，街などのコミュニティ全体が子どもの生き生きとした活動を支えるインクルーシブな取り組みを実践していくことの重要性について講演が行われ，研究会にて活発な議論がなされました。

16. 行動の多様性を支える神経基盤とその動作様式の解明

2022 年 1 月 7 日－1 月 8 日（ハイブリッド開催）

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）報酬履歴に基づく行動制御に関わる黒質緻密部および線条体における領域特異的かつ細胞タイプ特異的な神経活動特性

野々村　聡（霊長類研究所）

（2）眼球運動を用いた中央実行系の神経機構の解析

澤頭　亮（北海道大学）

（3）中脳辺縁系による運動制御機構

鈴木迪諒（東京都医学総合研究所）

（4）大脳皮質・延髄における体性感覚の階層的情報処理

窪田慎治（国立精神･神経医療研究センター）

（5）一過性と持続性の活動モードによって報酬価値をモニターするドーパミンニューロン

王　亜偉（筑波大学）

（6）運動タスク実行中のマカクザルにおける一次体性感覚野 3a 野の感覚抑制

菊田里美（国立精神･神経医療研究センター）

（7）マカクザル内側前頭皮質から扁桃体および側坐核への投射様式の解析

吉野倫太郎（東北大学）

（8）VR システムを用いた行動時皮質機能ネットワーク動態の解析

中井信裕（神戸大学）

（9）マーモセットの摂餌行動における時系列構造の計算論的解析

三村喬生（量子科学技術研究開発機構）

(10) 霊長類脳への高効率な導入遺伝子発現と神経細胞特異的な感染を実現するモザイク AAV ベクターの開発

木村　慧（霊長類研究所）

(11) Somatotopic reorganization of the sensorimotor cortex in Japanese macaques after accidental arm amputation.

Pimpimon Nondhalee（生理学研究所）

(12) 脊髄損傷サルの一次運動野のニューロンは人工的な皮質脊髄路に集団で適応する

尾原　圭（東京都医学総合研究所）

【参加者名】

現地参加：松本正幸（筑波大学），王　亜偉（筑波大学），鈴木迪諒（東京都医学総合研究所），尾原　圭（東京都医学総合研究所，新潟大学），春日優佑（理化学研究所 CBS），江川史朗（理研 BDR/NCNP），小林和人（福島県立医科大学），関　和彦（国立精神神経医療研究センター），窪田慎治（国立精神神経医療研究センター），菊田里美（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），兼子峰明（京都大学霊長類研究所），野々村　聡（京都大学霊長類研究所），木村　慧（京都大学霊長類研究所），橘　吉寿（神戸大学），中井信裕（神戸大学），田中真樹（北海道大学），澤頭　亮（北海道大学），南本敬史（量子科学技術研究開発機構），吉野倫太郎（東北大学），以下，生理学研究所，南部　篤，畑中伸彦，知見聡美，佐野裕美，纐纈大輔，Pimpimon Nondhalee，竹村浩昌

Web 参加：大屋知徹（University of Western Ontario），中村加枝（関西医科大学），上田康雅（関西医科大学），倉岡康治（関西医科大学），安田正治（関西医科大学），行天悠一郎（京都大学），伊東　諒（京都大学），平山　怜（京都大学），齊藤治美（京都大学高等研究院 ASHBi），加藤利佳子（京都大学高等研究院 ASHBi），雨森智子（京都大学高等研究院 ASHBi），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），Gaoge YAN（京都大学霊長類研究所），髙安　環（京都大学霊長類研究所），鴻池菜保（京都大学霊長類研究所），Oh Jungmin（京都大学霊長類研究所），李　卓玲（京都大学霊長類研究所），大石高生（京都大学霊長類研究所），山中　創（京都大学霊長類研究所），大塚友紀子（京都大学霊長類研究所），岩沖晴彦（京都大学霊長類研究所），武井智彦（玉川大学脳科学研究所），加藤荘志（広島大学），小杉亮人（国立精神・神経医療研究センター神経研究所），禰占雅史（筑波大学），西村幸男（東京都医学総合研究所），中山義久（東京都医学総合研究所），横山　修（東京都医学総合研究所），兼重美希（東京都医学総合研究所），中村晋也（東北大学），高橋慧多（東北大学），山田和輝（東北大学），筒井健一郎（東北大学），羽鳥康裕（東北大学），趙智　健（東北大学），川村太一（東北大学），Vikas Kumar Tiwari（東北大学），大原慎也（東北大学），長野人士（東北大学），白濵幸弘（東北大学），亀田将史（北海道大学），岡田研一（北海道大学），安部　楓（北海道大学），土田直司（北海道大学），Li Li（北海道大学），小山　佳（量子科学技術研究開発機構），本間涼花（獨協医科大学），齋藤潤孝（獨協医科大学），以下，生理学研究所，磯田昌岐，郷田直一，上原一将，二宮太平

【概要】

げっ歯類を対象とした神経回路研究が世界中で，大変な勢いで進んでいる。光･化学遺伝学やイメージング技術など新しい実験技術が次々と開発され，それを用いた巧みな実験によって，私達の脳神経回路に対する理解は，従来にない解像度で深化しつつある。しかし，げっ歯類は一つのモデル動物種に過ぎない。神経科学の究極の目標がヒトの精神機能の理解にあるとすれば，げっ歯類の脳を理解するだけで満足してはいけないはずである。今後，霊長類などよりヒトに近い動物種を対象とした神経回路や神経機能の研究の重要性が加速度的に増加してゆく時代になると確信している。時としてげっ歯類を対象とした研究にはない困難が伴うが，やはり私達は巨大で複雑なヒト・霊長類の脳神経に立ち向かわなくてはならない。

本研究会では，このような問題意識を共有する研究者が集まり，お互いの研究発表，情報交換を行うことにより，システム神経科学の未来を議論，展望した。昨年度に引き続き，今年度も若手中堅研究者に最新の発表を依頼し，活発な議論がなされた。また本年度の新たな試みとして，発表時間の短い発表枠を設定し，特に学生や新規研究を始めたばかりの研究者にも発表の機会を与え，多くの研究者から今後の研究展開へのインプットが得られたと好評であった。

本研究会は COVID-19 の感染状況を考え，人数を制限した現地開催と Web 開催とのハイブリッド開催とした。過去 2 年間のオンライン開催経験の蓄積により，難なく終了することができた。

17. 人工知能技術と科学の協調と展開

2021 年 7 月 16 日－7 月 17 日

代表・世話人：吉村奈津江（東京工業大学･科学技術創成研究院）
世話人：上原一将（生理学研究所･神経ダイナミクス研究部門）
所内対応者：北城圭一（生理学研究所･神経ダイナミクス研究部門）

（1）高次視覚野の計算理論：顔認識系から一般物体表象へ
細谷晴夫（国際電気通信基礎技術研究所）

（2）深層ニューラルネットワークモデル・脳磁場計測・超高磁場 MRI 計測の融合による認識行動ダイナミクスの高時空間分解能解析の試み
宮脇陽一（電気通信大学大学院 情報理工学研究科）

（3）脳 AI 融合の医学
栁澤琢史（大阪大学 高等共創研究院）

（4）計算論的精神医学：精神医学における人工知能技術の役割と展望
山下祐一（国立精神･神経医療研究センター 神経研究所）

（5）人工知能技術を用いた演奏家の技能や疾患の理解の深化
古屋晋一（ソニーコンピュータサイエンス研究所）

（6）ヒューマノイドロボットの階層的な運動制御
森本淳（京都大学 情報学研究科／国際電気通信基礎技術研究所）

（7）高速視覚を用いたロボット制御に基づくダイナミックインタラクション
山川雄司（東京大学大学院 情報学環）

（8）ロボット聴覚・音環境理解研究とその展開
中臺一博（ホンダ･リサーチ･インスティチュート･ジャパン／東京工業大学）

（9）構成論的発達科学：脳の一般原理に基づく認知発達と発達障害
長井志江（東京大学 国際高等研究所）

【参加者名】

長井志江（東京大学），柳澤琢史（大阪大学高等共創研究院），森本　淳（㈱国際電気通信基礎技術研究所），古屋晋一（ソニーコンピュータサイエンス研究所），山下祐一（国立精神･神経医療研究センター），細谷晴夫（国際電気通信基礎技術研究所），山川雄司（東京大学大学院），中臺一博（HRI-JP／東京工業大学工学院），宮脇陽一（電気通信大学大学院），宮田なつき（産業技術総合研究所），渡辺英治（基礎生物学研究所），下田真吾（理化学研究所），Junichi Chikazoe（㈱アラヤ），上原一将（生理学研究所），横山　寛（生理学研究所），北城圭一（生理学研究所），萩原　淳（生理学研究所），後藤優仁（生理学研究所），吉村奈津江（東京工業大学），小栗康子（北里大学），岡崎由香（生理学研究所），浦久保秀俊（生理学研究所），本多結城子（生理学研究所），中田大貴（奈良女子大学），植松明子（生理学研究所），芝崎　学（奈良女子大学），高橋泰伽（生理学研究所），髙橋陽香（花王㈱），緒方洋輔（花王㈱），福見稔（徳島大学大学院）大西章也（香川高等専門学校），常盤達司（広島市立大学大学院），板橋貴史（昭和大学発達障害医療研究所），西田知史（情報通信研究機構 未来 ICT 研究所），小濱　剛（近畿大学），福島誠（有限責任監査法人トーマツ デロイトアナリティクス），馬場孝之（富士通㈱），青柳富誌生（京都大学），酒井　宏（筑波大学），田中琢真（滋賀大学），ITARU KITAYAMA（九州工業大学），鈴木隆文（情報通信研究機構脳情報通信融合研究センター），菊池眞之（東京工科大学），平田　豊（中部大学），吉本潤

一郎（奈良先端科学技術大学院大学），篠崎隆志（情報通信研究機構 未来 ICT 研究センター），堺　浩之（豊田中央研究所），竹内雄一（大阪市立大学大学院），小磯堅秀（電気通信大学大学院），平井　碩（近畿大学大学院），丸山裕恒（東京工業大学），青木隆太（東京都立大学），山根千佳（山口大学大学院），間島　慶（量子科学技術研究開発機構 量子生命科学研究所），浅井義之（山口大学大学院），内田裕輝（東京医科歯科大学），山田将太郎（京都産業大学），末松尚史（京都産業大学），森下克幸（日本大学大学院），竹村浩昌（情報通信研究機構未来 ICT 研究所脳情報通信融合研究センター），田上慶治（工学院大学），河田ケルシ（電気通信大学大学院），大脇崇史（豊田中央研究所），カトウシンヤ（日本大学大学院），木村聡貴（NTT コミュニケーション科学基礎研究所），宮崎崇史（ヤフー㈱），竹下和良（藤井病院），立本将士（東京湾岸リハビリテーション病院），松井　崇（筑波大学），高田直樹（㈱知能情報システム），坂本　嵩（慶應義塾大学），鹿内友美（理研），近藤祐介（共和薬品工業㈱），有働立太（共和薬品工業），江川史朗（理研），岩間清太朗（慶應義塾大学大学院），南部功夫（長岡技術科学大学），森重真純（慶應義塾大学），深山　理（情報通信研究機構 脳情報通信融合研究センター），福田雅之（jcho 北海道病院）水口暢章（立命館大学），岡田征剛（東京大学大学院），小池康晴（東京工業大学），梅原　潤（情報通信研究機構脳情報通信融合研究センター），吉田尚人（東京大学），Pan Pengcheng（東京大学），金子文成（慶應義塾大学），臼井信男（東京工業大学科学技術創成研究院），武井裕樹（日本大学大学院），杉野広尭（慶應義塾大学大学院），本間咲希（慶應義塾大学），小杉亮人（国立精神･神経医療研究センター），髙橋直樹（生理学研究所），青山千紗（大阪大学大学院），可部泰生（東京大学大学院），兵藤仁紀（一般），戸松彩花（生理学研究所），揚妻正和（生理学研究所），纐纈大輔（生理学研究所），大野伸彦（自治医科大学），小松英彦（基礎生物学研究所），横井功（生理学研究所），西嶋　櫻（生理学研究所），PHAM QUANG TRUNG（生理学研究所），LI JIARUI（The University of Tokyo IRCN），田村秀希（豊橋技術科学大学），土元翔平（生理学研究所），谷　恵介（追手門学院大学），倉敷秀明（慶應義塾大学）Masako Sakai（㈱アイシン），座間拓郎（理研），森理也（津山工業高等専門学校），野澤孝之（東京工業大学），塚根良太（山口大学），相川千尋（玉川大学），渡邊紀文（武蔵野大学），小松秀俊（共和薬品工業㈱），関　和彦（NCNP）

【概要】

近年，人工知能（AI）の普及により様々な分野で AI 技術を用いたシステムやサービスが普及し，我々の社会生活の中に浸透しつつあります。研究においても AI 技術が組み込まれ，既存の手法では見過ごされてきた重要な情報が可視化できるようになり，科学と AI 技術の調和が基礎・応用研究分野において革新をもたらしています。しかしながら，現在，広い研究分野で AI 技術が用いられているにも関わらず，分野越境し，議論を深める場はそう多くありません。AI 技術のさらなる発展や新たな価値の創生にはこのような分野越境による議論が必要であると考え研究会を企画しました。研究会では様々な領域で AI 技術を用いて研究に取り組んでいる研究者の方々をお迎えし，多角的視点から AI 技術と科学の協調と展開について議論を進めます。また，本研究会を通して将来の連携につながる交流の場を構築します。

（1）高次視覚野の計算理論：顔認識系から一般物体表象へ

細谷晴夫（国際電気通信基礎技術研究所）

霊長類の高次視覚野が複雑物体を表現していることはよく知られているが，その計算原理はまだ謎に包まれている。しかし，近年の研究から，様々な物体カテゴリに対応したモジュールがあることが明らかになり，特に顔カテゴリに関しては様々な詳細な応答特性が報告されている。これを足掛かりに，一般物体表象のメ

カニズムを解明できることが期待されているが，そのために重要な役割を担うのが計算理論である。本講演の前半では，顔認識系の計算モデルを探求した我々の計算神経科学研究を紹介する。すなわち，同系には従来型の畳み込みニューラルネットでは説明できない性質があることを示し，それを打開するために提案した混合スパース符号化モデルと，そしてその理論予測を実験検証するために進めている Freiwald ラボとの共同研究などについて説明する。後半では，これらの計算論から着想した，一般物体表象の人工知能モデル研究を紹介する。すなわち，モジュール化された不変特徴系という高次視覚野の特性に着目し，これを取り入れた新しい深層生成学習モデル CIGMO（Categorical Invariant Generative MOdel）を提案し，この情報表現戦略が，ワンショット学習など様々な下流タスクの性能を向上させることのできる，高い効率性を実現することを示す。

（2）深層ニューラルネットワークモデル・脳磁場計測・超高磁場 MRI 計測の融合による認識行動ダイナミクスの高時空間分解能解析の試み

宮脇陽一（電気通信大学大学院 情報理工学研究科）

私たちを取りまく実世界環境は，多種多様な物体の集合でできている。こうした複雑な環境下でヒトは何に視線を先に向け，何を先に認識しているのだろうか。視覚的認識の時間的差別化はヒトの生存や社会行動に大きな影響を与える基盤であり，その解明はヒトの動的認識過程における情報価値を再定義するうえでも重要である。こうした問いに挑戦するため，我々の研究グループではいわゆる人工知能技術として分類される技術要素を用いて，ヒトの視線が向く先の特徴（画像特徴）を定量化するとともに，その際の脳活動を高時空間分解能で計測・解析するための技術開発に現在取り組んでいる。前者においては，具体的には，深層ニューラルネットワーク（DNN）を活用して階層的な画像特徴量と視線移動との関係を解析し，さらに DNN で合成した抽象的だが階層的な特徴量をもつ画像刺激を用いた実験を実施することで，高次画像特徴量への時空間的誘目性を見出した。後者においては，構造化モデルを用いた脳磁場信号源の推定や超高磁場 MRI 信号の超高速デコーディングにより，脳活動信号からの高時空間分解能での情報抽出への技術基盤が構築されつつある。本発表では，こうした取り組みを行動実験ならびに脳活動計測実験への人工知能技術の応用の一例として紹介しつつ，新技術による神経科学の地平の開拓の可能性について議論できれば幸いである。

（3）脳 AI 融合の医学

栁澤琢史（大阪大学 高等共創研究院，大阪大学大学院 医学系研究科 脳神経外科）

脳信号から様々な知覚認知内容や運動状態などを AI によって推定する脳情報解読技術（Neural Decoding）によって，脳とコンピュータを直接つなぐ Brain-Computer Interface（BCI）が実現した。また，体内埋め込み型脳信号計測技術が実用化され，脳の電気刺激と組み合わされることで，AI が推定した脳情報に応じて脳活動を制御する Brain-chip が，失った脳機能の補填や機能拡張として期待されている。既に，てんかんやパーキンソン病の治療として，脳波を自動解析し適切な電気刺激を脳へ行う閉回路型脳刺激療法が行われている。しかし，脳情報解読に基づいたフィードバックによる脳 AI 融合が，脳へどのような影響を生じるかは明らかでない。我々は，幻肢痛患者が BCI を使い，幻肢のイメージやロボットを操作することで痛みを治療できることを示したが，AI の選択によっては逆に，痛みが増えることも見出した。脳 AI 融合を医療として用いるには，脳への影響を予測し制御することが期待される。本講演では，脳 AI 融合の医学としての可能性と懸念点について議論する。

（4）計算論的精神医学：精神医学における人工知能技術の役割と展望

山下祐一（国立研究開発法人 国立精神･神経医療研究センター神経研究所 疾病研究第七部）

人工知能（AI）技術を含む，数理・データ科学を用いた精神医学研究は，「計算論的精神医学」と総称され，近年活発な研究領域を形成するようになっている。計算論的精神医学は，精神障害に関する生物学的知見が多数蓄積されているにもかかわらず，それがいかにして行動・症状レベルの異常に至るのかがほとんど明らかになっていない，という精神医学が直面する問題を解決する上で，強力な研究方略を提供することが期待されている。例えば，遺伝子・分子，神経・生理，行動・症状の各水準の“ビッグデータ”に対して，数理・データ科学の手法を適用することで，これまで明らかにできなかったデータの中の隠された規則性・関係を見つけ出そうとする「データ駆動型」アプローチとよばれるタイプの研究が盛んに試みられている。一方，AI は脳情報処理様式のモデル化に由来するという観点から，データの解析ツールとして利用するのみならず，精神・神経疾患における脳の病態を理解するための特異的な貢献が期待される。このような観点から，脳の情報処理課程を，ある種の“計算”ととらえて数式を用いてモデル化し，精神障害をこの計算プロセスの変調として理解しようとするタイプの研究も試みられ，「理論駆動型」アプローチとよばれている。本講演では，これらの計算論的精神医学の研究状況を概観するとともに，演者自身の取り組みも含めて最新の動向について紹介する。

（5）人工知能技術を用いた演奏家の技能や疾患の理解の深化

古屋晋一（ソニーコンピュータサイエンス研究所）

深層学習をはじめとする近年の人工知能技術の進歩に伴い，様々なセンサから得られたマルチモーダルな時系列情報から，従来は容易に同定することが困難であったスキルや疾患に関する情報を高精度に抽出することが可能になりつつある。さらに，これらスキルや疾患に伴う症状の個人差を説明する要因を同定するためにも，人工知能技術は有力なツールとして役立っている。本講演は，特に演奏家の高度な身体運動スキルや，過度な練習に伴い発症する不随意動作を描写し，背景に潜むメカニズムを明らかにするために，人工知能技術がどのような役割を果たし得るかについて，カメラ画像，音響信号，脳イメージングデータといった異なるモダリティのセンサ情報を用いた近年の研究成果について紹介する。また，これらの技術が今後の教育に及ぼし得る影響や，ユーザーが配慮すべきプライバシーの問題についても論じる。さらに，演奏家の熟達やリハビリテーションを促進する手段としての人工知能技術の潜在的な可能性について議論を行う。

（6）ヒューマノイドロボットの階層的な運動制御

森本　淳（京都大学 情報学研究科，国際電気通信基礎技術研究所 脳情報通信総合研究所）

ロボットが経験したデータから行動則を獲得するため機械学習の枠組みにおいては，実際に実環境において行動してみなければそのつぎの状況に関する情報が得られないということが問題となります。そこでロボットが運動学習を行う場合に，ある状況においてロボットがある動作を行ったときに，つぎにどのような状態になっているか，ということを予測するシミュレーションモデルを用いることが検討されてきています。モデルはロボットの設計図などの事前知識に基づいて得られる場合や，教師付き学習の方法でデータから獲

得することも可能です。特に，このシミュレーションモデルとロボットのセンサ情報を融合的にリアルタイム処理することで動作生成を行うアプローチが注目を集めています。実ロボットを制御する場合このリアルタイム性が問題となります。ここでは，この実時間性を達成するための階層的な制御システムの有用性について議論したいと思います。

（7）高速視覚を用いたロボット制御に基づくダイナミックインタラクション

山川雄司（東京大学大学院 情報学環）

本研究では，高速画像処理技術を駆使することにより，1 kHz での実時間視覚フィードバックを可能にし，ロボット制御に活用することにより，視覚情報に基づく高速なロボット制御を実現している。本講演では，基盤技術である高速画像処理について概説するとともに，開発してきた高速ロボットおよびロボットシステム構成を紹介する。また，デモビデオを通して，その高速ロボット制御に基づく実世界とのダイナミックインタラクションを紹介する。具体的には，時々刻々形状が変化する柔軟物の高速かつ動的な操りや，勝率 100 % じゃんけんロボットを始めとする人間とロボットとの協調動作を紹介する。柔軟物の高速かつ動的な操りに関しては，操りの高速化を可能にするコンセプトを説明するともに，柔軟紐の片手結び操作，柔軟紐の高速結び操作，布の動的折りたたみ操作等を実現タスクとして紹介する。人間とロボットとの協調動作に関しては，高速・高精度・低遅延を特徴として，手の運動を認識した上でのテレマニピュレーション，人間の操作に協働した形での物体操作，手先運動機能を高機能化させる支援技術等を紹介する。

（8）ロボット聴覚・音環境理解研究とその展開

中臺一博
（ホンダ･リサーチ･インスティチュート･ジャパン，東京工業大学 工学院 システム制御系中臺研究室）

ロボット聴覚は，それまで数値シミュレーション主体で行われてきた音環境理解研究を実環境・実時間処理へ拡張し，「ロボットの耳」の構築をめざす，人工知能，信号処理，ロボティクスにまたがる日本発の研究領域として，2000 年に提案され，研究が進められてきた。人や動物の聴覚にヒントを得た両耳聴処理，信号処理ベースのマイクロホンアレイ処理，近年では，深層学習との融合研究などが盛んに行われている。音源定位，音源分離，音声認識技術を始めとした，これまでのロボット聴覚の成果はロボット聴覚オープンソースソフトウェア HARK として 2008 年に公開され，以降，継続的に毎年 10,000 件以上，ダウンロードされている。基本的なロボット聴覚技術がある程度利用可能になってきたこともあり，近年は，レスキューロボットや生態学など，さまざまな分野への展開研究も行われている。一方で，使いやすい技術・実用化という観点では，課題もあり，課題を解決するための基礎研究も継続的に進められている。こうした状況下で，近年著しい進展を見せている人工知能技術への期待は大きく，ロボット聴覚研究でも積極的に用いられている。本講演では，ロボット聴覚の概要，これまでの進展，また今後の展開について紹介する。

（9）脳の一般原理に基づく認知発達と発達障害

長井志江（東京大学ニューロインテリジェンス国際研究機構）

人は生後の感覚運動経験を通して，自己認知や目標指向動作などの自己に関する能力から，他者意図の推定や協調といった社会的能力までも獲得する。また，その発達過程は個人ごとに多様であり，特に，自閉スペクトラム症などの発達障害は，定型発達とは異なる軌跡を示す。では，これらの発達の背後にはどのような認知神経基盤が存在するのであろうか。特に，認知発達における「時間的連続性」と「空間的多様性」を同時に説明しうる原理は存在するのであろうか。

長井は，脳の一般原理である「予測情報処理」理論に基づいて，連続的で多様な認知発達が統一的に説明できると提案してきた。本理論によると，脳は予測する機械であり，環境や身体からの感覚信号と，脳の内部モデルに基づいて予測した感覚信号の誤差，つまり予測誤差を最小化するように知覚や運動を生成すると考えられている。本講演では，予測符号化に基づく神経回路モデルを用いて，ロボットが環境との相互作用を通して，どのようにどこまでの認知機能を獲得できるのか，また予測情報処理の変調に対応するモデル変数の変動が，認知発達にどのような影響を与えるのかを検証した実験を紹介する。そして，これらの実験結果を踏まえて，人工知能技術を用いた人の認知機能の原理解明，そして，その知見を応用した汎用人工知能の設計の可能性について議論する。

18. 力学系の視点からの脳・神経回路の理解

2021 年 12 月 3 日－12 月 4 日

代表・世話人：北野勝則（立命館大学）
世話人：岡崎由香（生理学研究所･神経ダイナミクス研究部門）
所内対応者：北城圭一（生理学研究所･神経ダイナミクス研究部門）

（1）力学系としての意思決定過程

濱口航介（京都大学）

（2）構成要素が入れ替わり続けるネットワークの頑健性について

島田　尚（東京大学）

（3）神経回路ダイナミクスと変分ベイズ推論の数学的等価性と今後の展開

磯村拓哉（理化学研究所）

（4）脳を物理リザバーとして考える

高橋宏知（東京大学）

（5）データ駆動型力学系を用いた自発運動の個性検出

多賀厳太郎（東京大学）

（6）統計神経力学による深層学習の解析

唐木田亮（産業技術総合研究所）

（7）腸内細菌に見られる法則性と時系列ダイナミクス

高安伶奈（東京大学）

【参加者名】

吹野美和（パナソニック㈱），栗川知己（関西医科大学），荒井貴光（京都大学），濱田智明（工学院大学），萩原淳（生理学研究所），藤平　遼（東京大学大学院），山口　裕（福岡工業大学），武田祐輔（理化学研究所），濱口航介（京都大学大学院），唐木田亮（産業技術総合研究所），島田　尚（東京大学），高安伶奈（東京大学），高橋宏知（東京大学），多賀厳太郎（東京大学），磯村拓哉（理化学研究所），髙橋直樹（生理学研究所），岡崎由香（生理学研究所），鈴木万穂子（生理学研究所），横山　寛（生理学研究所），上原一将（生理学研究所），北城圭一（生理学研究所），後藤優仁（生理学研究所），安藤正彦（㈱日立製作所），Hiroaki Inayoshi（AIST），Tomoki Tokuda（ATR），本間俊光（Yamagata1），宮崎崇史（ヤフー㈱），渡辺辰矢（茨城大学），斎藤陽平（茨城大学），三浦佳二（関西学院大学），伊藤浩之（京都産業大学），中牟田旭（京都大学），青柳富誌生（京都大学），寺前順之介（京都大学），落合美佳子（京都大学），青木俊太郎（京都大学），山本昌治（京都大学），高須正太郎（京都大学），諸隈誠一（九州大学），脇坂貴大（熊本大学大学院），佐藤直行（公立はこだて未来大学），藤田一寿（公立小松大学），竹川高志（工学院大学），高橋春輝（工学院大学大学院），中西大斗（広島大学）加藤荘志（広島大学大学院），峯　耕太郎（国立成育医療研究センター），山下祐一（国立精神・神経医療研究センター），松本有央（産業技術総合研究所），井上　公（産業技術総合研究所），中村大樹（産業技術総合研究所），田中琢真（滋賀大学），矢野望夢（鹿児島大学院），中井信裕（神戸大学），小松英彦（生理学研究所），Pham Quang Trung（生理学研究所），高橋泰伽（生理学研究所），上田恭平（静岡大学），栗原勇人（早稲田大学），榔木功介（早稲田大学），長井隆行（大阪大学），中野ヒナ（大阪府立大学），末谷大道（大分大学理工学部），手塚太郎（筑波大学），塚田啓道（中部大学），津田一郎（中部大学創発学術院），韮澤駿（電気通信大学），川端政則（東京医科歯科大学），名村憲尚（東京工業大学），太田桂輔（東京大学），

合原一幸（東京大学），関澤太樹（東京大学），近藤勇人（東京大学大学院），新屋裕太（東京大学大学院），渡辺昌英（東京都立小児綜合医療センター），儀間裕貴（東京都立大学），松下優貴（大総合文化），堀尾喜彦（東北大学），高木拓明（奈良県立医科大学），日永田智絵（奈良先端科学技術大学院大学），勝木厚成（日本大学），宇佐見雄（日本大学），大橋一徳（日本大学），齊藤　健（日本大学理工学部），植松明子（生理学研究所），上田肇一（富山大学），西村治彦（兵庫県立大学），蓮井成仁（宝塚リハビリテーション病院），飯塚博幸（北海道大学），吉田正俊（北海道大学），土田直司（北海道大学），島崎秀昭（北海道大学人間知･脳･AI 研究教育センター），竹内雄一（北海道大学大学院），平井真洋（名古屋大学），森岡博史（理化学研究所），小野島隆之（理化学研究所），桝谷壮太（立命館大学），蝦名晟弥（立命館大学），北野勝則（立命館大学），竹原晃多（立命館大学），坪　泰宏（立命館大学），間島　慶（量子科学技術研究開発機構），齋藤潤孝（獨協医科大学埼玉医療センター），梅原広明（国立研究開発法人情報通信研究機構），中川正基（大阪大学）

【概要】

単一ニューロンやシナプスなどのミクロなスケールから全脳レベルの大域的回路に至るあらゆる階層において観測することができる非線形力学的な特性は，脳が実現する様々な機能を実現するメカニズムと密接な関係があると明らかにされるようになってきた。

また最近では，こうした動的特性が，各階層内だけでなく，階層を跨って相互に作用していることにも注目が集まりつつあり，ネットワーク結合力学系としての脳神経ダイナミクスそのもの，および，脳機能におけるその機能的意義の理解を得ることが必要であると期待されている。本研究会では，このような特性に着目した実験的研究，データ解析，理論モデルなどの関連した研究の活発な議論の場となることを期待する。

（1）力学系としての意思決定過程　Decision Making Process as a Dynamical System

濱口航介（京都大学大学院 医学系研究科 生体情報科学講座）

意思決定とは，より報酬が得られる，あるいは苦痛を避けられる行動を選ぶための，一連の計算である。合目的な動物が意思決定を行うとき，意思決定の計算は脳内のどのような力学系（神経回路）で実装されているのだろう。近年，弁別課題を行うマウスの前頭皮質では，刺激の提示後から行動開始まで待機時間（数秒）の間に，将来の行動を表現する自発神経活動（準備活動）が現れる事，準備活動は外乱に対する頑健性から双安定なアトラクタダイナミクスを持つ事が報告されている（1, 2）。例えば，光遺伝学を用いて片側の前頭皮質の準備活動を光抑制すると，光抑制の解除後すぐ（数百ミリ秒）に神経活動が回復し，正しい行動を選択できる。しかし両側の前頭皮質を抑制すると，行動選択はランダムになる事から，左右の前頭皮質がそれぞれ双安定に自発活動を維持し，将来取るべき行動を記憶する事が明らかになっている。

さて，この前頭皮質の双安定な神経活動が，単なる行動準備か，行動に伴う報酬期待（行動価値）を表現するかは重要な問題である。もし準備活動が，報酬の有無によらず将来の行動を表現するなら，その神経活動は運動を表現し，意思決定の機構は観測領域の上流にあると期待できる。一方でもし，報酬の有無や多寡に応じて準備活動が変化するなら，その神経活動は行動価値を表現し，観測領域が“行動選択”（意思決定の最終段階）に関わる回路を構成する可能性がある。実際に，前頭皮質が持つような多安定性は，行動価値に応じて行動を確率的に選択する行動選択を力学系として実装できる。しかしマウス前頭皮質の準備活動が，行動準備と行動価値のどちらを表現するのかは，使われた課題の構造上，わからなかった。

前頭皮質の準備活動が行動価値を表すかどうか調べるため，我々は，報酬確率が定期的に変化する意思決定課題をマウスに行わせた。二光子顕微鏡によるカルシウムイメージング法を用いて，前頭皮質の神経活動

を計測したところ，その準備活動は主に行動価値を表現する事が明らかになった。また光遺伝学による光抑制を用いて，双安定性の強さが行動価値に応じて変化する事を明らかにした。これらの結果は，マウス前頭皮質の多安定な回路が行動選択を実装する力学系であるのを示唆している。

1. N. Li, K. Daie, K. Svoboda, S. Druckmann, Robust neuronal dynamics in premotor cortex during motor planning. Nature 532, 459-464（2016).
2. H. K. Inagaki, L. Fontolan, S. Romani, K. Svoboda, Discrete attractor dynamics underlies persistent activity in the frontal cortex. Nature 566, 212-217（2019).

（2）構成要素が入れ替わり続けるネットワークの頑健性について

島田　尚（東京大学大学院 工学系研究科）

現実に目にしている複雑で大規模なシステムが崩壊してしまうことなく存続できているのは何故か，というのは生体システムや生態系などの広汎な系に関連のある重要な問題である。生態系を主な対象として行われて来た微分方程式系の線型安定性や大域安定性にもとづいた議論，自己組織的臨界性，複雑ネットワークにおける構造と脆弱性の関係の研究など，多くの研究がなされてきた。

講演者らは近年，系の内部ダイナミクスと構成要素の導入・除去（絶滅）のプロセスを出来うる限り簡略化した数理模型を提案し，その解析から従来知られていたものとは異なる頑健性／脆弱性転移の機構を見出した。この枠組みにおいては，理論模型の唯一のパラメターである新要素あたりに与える相互作用の数がほどよい場合に限り系は複雑なネットワークへと発展できる（複雑化相，頑健相）。一方で相互作用数が少なすぎる領域と多すぎる領域では系の大きさは有限の大きさに留まる（有限相，脆弱相）。

本発表では，理論模型の平均場近似的解析から分かるこの転移の機構について説明し，また，模型から得られる適度に疎な相互作用構造や，構成要素の寿命分布などが現実の系で普遍的に観測されている特徴と符合することについて紹介する。さらに，相互作用に双方向性を導入した場合など，現実の系とのより緊密な対応を目指した取り組みについても紹介したい。

（3）神経回路ダイナミクスと変分ベイズ推論の数学的等価性と今後の展開

磯村拓哉（理化学研究所 脳神経科学研究センター）

知能という言葉の定義は曖昧だが，多くの動物が持つ知能に共通点があるとすれば感覚入力に基づいて自身の行動を環境に適応させる能力だろう。近年注目されている自由エネルギー原理によると，脳は感覚入力のサプライズを最小化することで能動的な推論を行い環境に適応しているらしい。問題は一体脳内のどこでそれが行われているかである。ミクロに見ると，標準的な神経細胞やシナプスのダイナミクスは微分方程式で記述可能であり，潜在的なコスト関数の勾配に従っていると考えられる。実は任意のコスト関数を最小化するダイナミクスは潜在的に変分ベイズ推論を実行しているとみなすことができる。この考えに基づき，標準的な神経回路モデルが，推論，予測，行動制御，行動計画などの適応的行動をベイズ最適な方法で実行できることを紹介する。後半では，適応的行動に限らない，より一般的な知能を変分ベイズ推論で形式的に表す展望について紹介し，理論的アプローチが知能の特性にどこまで迫ることができそうかという未だ答えのない話題について議論したい。洞察や創造性は，もしかすると一般的なコスト関数の大域解探索問題として解釈できるかもしれない。はたしてこの方針は人間の知能を特徴付けるとされる意識や心の理論などにも迫ることができるだろうか？

（4）脳を物理リザバーとして考える　The Brain as a Physical Reservoir

高橋宏知（東京大学大学院 情報理工学系研究科）

リザバー計算は，大規模なリカレント・ニューラルネットワークの学習手法として，また脳のモデルとして注目されている。リザバー計算では，ネットワークの最適化ではなく，ネットワークの非線形なダイナミクスを計算資源として利用することを考える。また，ニューラルネットワークの代わりに，任意の物理現象や力学系を計算資源として利用できるが，このような計算資源を物理リザバーと呼ぶ．本研究では，脳そのものを物理リザバーとみなし，計算資源として定量化することを考えた。力学系（リザバー）が過去の入力をどのように加工・保持しているかを示し，その情報処理を定量的に評価する指標として，情報処理容量（Information processing capacity; IPC）が用いられる。神経細胞の分散培養系（in vitro) やげっ歯類の感覚野（in vivo）をリザバーとみなし，外部刺激に対する応答の再現性に基づいて，IPC を推定した。

ベルヌーイ分布や一様分布に従う刺激に対する神経応答から IPC を推定した。その結果，in vitro 系でも in vivo 系でも，実験試料に記憶されている情報は，主に過去の入力値（1 次 IPC）と入力値同士の積（2 次 IPC）から構成されることがわかった。刺激に関する過去の記憶は，in vitro 系では 200 ms – 400 ms，in vivo 系では数秒程度，それぞれ維持されていることがわかった。さらに実験試料を用いて，シフトレジスタやブール計算を試みたところ，各タスクでの演算性能は IPC で網羅的に評価できた。このように，脳は物理リザバーとして定量化できる可能性を示した。

（5）データ駆動型力学系を用いた自発運動の個性検出

多賀厳太郎（東京大学大学院 教育学研究科）

胎児期に，脳は，感覚刺激を受け取る前から自発活動を生成し，活動依存的に形態を形成し，ネットワークを組織化する。人生最初に出現する行動は，自発運動である。出生後，自発的な脳の活動や身体運動は，環境との相互作用を促し，適応的な行動や認知の獲得に不可欠である。

脳活動や運動生成の理解に，力学系モデルの構築は有効である（Taga, Biol Cybern 2021）。ただ，ヘテロな要素からなる多自由度系のモデルを発見的に構築することは容易ではない。非侵襲で大量の時系列データから，データ駆動で元の力学系を推定する方法の開発が望まれる。特に，ジェネリックな特徴抽出だけでなく，それぞれの個性を扱う枠組みが必要である。

ここでは，３ヶ月児の自発運動の時系列データから力学系を推定し，個性を検出する試みを紹介する。時間遅れ座標系による埋め込みを用いて再構成した力学系に，外部入力を与えた時の時間発展を近似的に求めるアルゴリズムを作った。データを前半と後半に 2 分割し，個人認証を試みた。前半の力学系から後半の力学系へ外部入力を総当たりで与え，入力に最も同期した出力を生じたものを，同一児のデータとした。58 人のデータで，8 割以上の個人認証が可能であった。

この結果は，乳児の自発運動に個性的なダイナミクスがあることを示唆している。また，本研究が，自己同一性の維持，学習のための力学系の更新等の理解に寄与する可能性を議論する。

（6）統計神経力学による深層学習の解析

唐木田　亮（産総研･人工知能研究センター）

統計神経力学はランダムな結合を持つニューラルネットワークモデルを体系的に解析する理論の枠組みであり，脳神経回路や人工神経回路の研究に様々な知見を与えてきた。統計力学の文脈では平均場理論とも呼ばれている。特に近年は，深層学習における最適化の初期値としてランダム結合が使われることから，訓練しやすいネットワークの構造，学習率やパイパーパラメータの設定に理論的な知見を与えている。訓練が進むほど結合は一般にはランダムから遠ざかるが，パラメータが十分にランダムに近い状況でも学習を完了させられる設定は存在し，これは Neural Tangent Kernel (NTK) regime として知られる。本講演ではこのような統計神経力学的解析が深層学習に与えた知見を簡単に概観したあと, NTK regime における解析の例として，継続学習における知識転移と忘却の解析を紹介する。あるニューラルネットワークが異なる複数のタスクを継続的に学習するとき，予測性能はタスクの類似度に依存することを示す。具体的には, 負から正の知識転移への切り替わりや，避けるのが困難な破滅的忘却の存在を明らかにする。さらに, 予測性能はタスク間の訓練サンプル数のバランスにも大きく依存し，学習曲線は非線形な増減を起こすことを明らかにする。

（7）腸内細菌に見られる法則性と時系列ダイナミクス

高安伶奈（東京大学大学院 医学系研究科）

近年，ヒトの様々な機能と腸内細菌叢との関係が明らかになってきている。異なるコホートにおけるマイクロバイオームの違いから，疾患や免疫，あるいは脳機能に関わるマイクロバイオームの変容パターンが明らかになってきた一方で，腸内マイクロバイオームの生態系における共通原理を探った研究はまだ少ない。我々は，同一親の SPF マウスの子孫 7 匹から，平均 4.3 日の間隔で糞便サンプルを縦断的に採取した。培養に依存しない 16S rRNA 遺伝子配列解析により，加齢に伴いマウスの形質が多様化していくのに伴って腸内細菌叢が変容することが明らかになった。腸内細菌種の観察頻度は，すべてのマウスで共通して二峰性の分布を示した。同一個体で生涯にわたって存続する種の多くは Bacteroides 門に属しており，マウスの寿命と強い相関関係を示した。一方，一過性の種は，Bacteroidetes と同様に最も豊富な分類群の一つである Firmicutes 門に属するものが多かった。種の存在量の分布は，少年期には低い指数，成人期には高い指数，老年期には再び低い指数を持つ，べき乗則分布に近似した fat-tail 型の分布を示した。腸内細菌叢の変化の速度は，幼少期に最も速く，老年期に最も遅くなった。このようなマウスの腸内細菌叢の時間的変化に見られる共通の特徴は，腸内細菌叢の成熟に共通のメカニズムがあることを示唆している。腸内生態系の法則を探ることは，腸内細菌の特徴を再現するミクロな数理モデルの構築につながる。

本講演ではさらに，ヒト・マウスの腸内細菌と脳・神経に関わる最新のトピックを紹介する。

19. 脳神経倫理研究会

2022 年 1 月 27 日
代表・世話人：中澤栄輔（東京大学医学部）
所内対応者：定藤規弘（生理学研究所）

（1）現代日本における Neuroethics

中澤栄輔（東京大学）

（2）ワークショップ「日本の Neuroethics の今後の展開」

定藤規弘，丸山めぐみ，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），植原　亮（関西大学），中澤栄輔（東京大学）

【参加者名】

中澤栄輔（東京大学），定籐規弘（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），有江文栄（国立精神･神経研究センター），Nargis Akter（生理学研究所），植原　亮（関西大学），立花幸司（熊本大学）

【概要】

脳神経科学・技術の発展に伴い，それによってもたらされる人間，社会の変容を評価する営みとして脳神経倫理は欧米を中心に 2000 年代のはじめに勃興した。2008 年には，International Neuroethics Society が米国の研究者を中心に結成され，脳神経倫理学という学際的学問分野が形成されている。日本においても脳神経倫理に関する萌芽的な取り組みは散見される。しかしながら，これまで，日本においては学会組織の枠組みを超えた分野横断型の学知の集合と蓄積がなされることがなかった。

こうした状況を踏まえ，脳神経倫理研究会は日本における脳神経倫理学のプラットフォームとなるべく，研究者の自発的取り組みとして結成されたものである。研究会では，前年に引き続いて，日本おける Neuroethics の現在と今後の展開が議論された。まず，「現代日本における Neuroethics」と題して中澤栄輔（東京大学）2020 年代における日本の Neuroethics の現状と課題を整理した。そこでは，Neuroethics という領域の定義と方法論，精神疾患の神経科学的説明の社会的・人間的影響，試料やデータを用いた研究の倫理，神経システムの道徳的重要性，介入の倫理，脳科学技術の産業応用・社会といったトピックスについて，それぞれ問題の概要，短期的な課題，中長期的な課題について議論を行った。その後，ワークショップ「日本の Neuroethics の今後の展開」として，日本の Neuroethics を今後，発展させるべく，本研究会の今後の展開についてディスカッションを実施した。

（1）現代日本における Neuroethics

中澤栄輔（東京大学）

neuroethics とは，脳神経科学が人間・社会に対して与える影響についての学である。近年の脳科学・技術の発展は速度を増しており，脳科学研究が個体としての人間や社会にもたらす影響は大きい。脳科学研究の推進のためには，脳科学研究のもたらす影響の予測，その影響に関する価値判断，並びにその影響に関する社

会的合意が必要となる。脳科学研究の目標，方法論，社会的合意について俯瞰的に解析する学問領域が neuroethics である。現代日本における neuroethics には，精神疾患の神経科学的説明の社会的・人間的影響，試料やデータを用いた研究の倫理，神経システムの道徳的重要性，介入の倫理，脳科学技術の産業応用・社会，以上の課題領域が研究対象となりうる。それぞれに短期的課題，中長期的課題を挙げることが可能であり，とりわけ喫緊のテーマとしては，ブレインバンクの社会的受容性に関する研究，遺伝子改変マーモセットを用いた脳科学研究に関する日本国内での合意形成などを挙げることができる。これらを俯瞰的に議論の俎上にあげるため，Neuroethics のシステマティック・レビューの方法論を確立することもまた，研究領域として要請される。

（2）ワークショップ「日本の Neuroethics の今後の展開」

定藤規弘，丸山めぐみ，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），植原　亮（関西大学），中澤栄輔（東京大学）

日本の Neuroscience は近年，長足の進歩を見せている。その一方で，人文学的領域である Neuroethics はいまだ発展途上の研究領域であると言わざるを得ない。国際的な研究組織としては International Neuroethics Society が組織されて，毎年アメリカで総会を開催しているが，日本にはいまだそうしたボトムアップ型の研究組織は存在していない。そこで，日本の脳神経科学の研究の実情と展望，さらには日本の社会的文脈を考慮に入れた上で，脳神経科学と人間，社会との関連を俯瞰的に検討する研究組織の創生が望まれる。具体的には，学術集会やシンポジウムなどを通じ，脳科学研究者と関心を共有しうるテーマについて広範な議論を興すことが，まず第一歩として考えられる。脳神経倫理研究会は，そうした日本における Neuroethics 研究をリードするべく，継続的に研究会を開催し，議論を深め，将来構想を行っていくべきである。

20. 脳・環境・臓器間ネットワークと社会性

2021 年 11 月 25 日－11 月 26 日

代表・世話人：松田哲也（玉川大学脳科学研究所・教授）
所内対応者：定藤規弘（自然科学研究機構生理学研究所・教授）

（１）腸内細菌と認知機能の相関から展望する認知症予防

佐治直樹（国立長寿医療研究センターもの忘れセンター

（２）体力・肥満と認知機能

石原　暢（神戸大学大学院人間発達環境学研究科）

（３）腸内細菌叢の構造と機能の多様性

中山二郎（九州大学大学院農学研究院）

（４）実験動物において迷走神経が情動に与える影響の解析

佐々木拓哉（東北大学大学院薬学研究科）

（５）心理社会的ストレス・腸内環境と過敏性腸症候群

福土　審（東北大学大学院医学系研究科心療内科学）

（６）感情認識と心拍知覚

寺澤悠理（慶應義塾大学文学部心理学専攻 ）

（７）腸内細菌と腸脳相関

須藤信行（九州大学大学院医学研究院）

【参加者名】

福永雅喜（生理学研究所）渡邊　塁（東京医科歯科大学 医歯学総合研究科）植松明子（生理学研究所　認知行動発達機構研究部門）桜井良太（東京都健康長寿医療センター）上田江里子（京都大学教育学研究科明和研究室）竹村浩昌（生理学研究所）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）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）松永倫子（京都大学教育学研究科明和研究室）阪口幸駿（同志社大学研究開発推進機構）仁科国之（大阪大学大学院人間科学研究科）鹿内友美（理研 CBS 脳リズム情報処理連携ユニット）前岡　浩（畿央大学健康科学部理学療法学科）松本有紀子（東京医科歯科大学　精神科）森口佑介（京都大学）小林盾（成蹊大学文学部現代社会学科）松永昌宏（愛知医科大学医学部）上村 いつか（理化学研究所 生命医科学研究センター マイクロバイオーム研究チーム）永澤美保（麻布大学獣医学部介在動物学研究室）三國史佳（麻布大学伴侶動物学研究室）高木佐保（麻布大学）上原一将（生理学研究所 神経ダイナミクス研究部門）小笠原香苗（生理学研究所 心理生理研究部門）揚妻正和（生理学研究所）鈴木友美子（名古屋大学）子安ひかり（麻布大学介在動物学研究室）金井貴夫（東京医科歯科大学大学院博士課程（精神行動科学専攻））宍倉由真（麻布大学介在動物学研究室）小川昭利（順天堂大学医学部生理学第一講座）藤原秀朗（京都大学教育学研究科明和研究室）小山佑奈（東京医科歯科大学国際健康推進医学分野）栗原実紗（名古屋大学 大平研究室）成戸洋介（ユニ・チャーム㈱ 共生社会研究所）藤崎健二（慶應義塾大学理工学部システムデザイン工学科満倉研究室）齋藤潤孝（獨協医科大学埼玉医療センター）北地　雄（総合東京病院 リハビリテーション科）守田知代（情報通信研究機構）小林佳世子（南山大学経済学部）伊津野　巧（自然科学研究機構 生理学研究所 システム脳科学研究領域）黒田裕太（北翔大学スポーツ教育学科）高岸治人（玉川大学脳科学研究所）李　述氷（玉川大学脳科学研究所　高岸研究室）寿秋露（玉川大学脳科学研究所高岸研究室）橋口真帆（生理学研究所 心理生理研究部門）Yang Li（名古屋大学）南條啓孝（生理学研究所/心理生理学研究部門）金城卓司（玉川大学脳科学研究所）山中　航（順天堂大

学スポーツ健康科学部生理学研究室）佐々木章宏（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）野崎優樹（甲南大学文学部人間科学科）鈴木裕哉（芝浦工業大学大学院理工学研究科 北川研究室）菅　文美（ユニ･チャーム㈱，名古屋大学大学院情報学研究科大平研究室）山口修平（理化学研究所）森本陽子（生命倫理カフェ･ねりま）松井久典（京都第一赤十字病院）酒井 雅子（㈱アイシン）姫野友紀子（立命館大学）南　哲人（立命館大学）中田大貴（奈良女子大学）中村啓信（東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科精神行動医科学分野）諸隈誠一（九州大学大学院医学研究院 保健学部門）山田大輔（東京理科大学）吉岡　歩（生理学研究所 心理生理）富田健太（名古屋大学大学院 大平研究室）林　寛治（個人）高橋陽香（花王㈱）石田裕司（京セラ㈱）深田吉則（関西大学文学部 総合人文学科 心理学専修 石津ゼミ）神田真治（神協産業㈱）岡崎由香（NIPS 神経ダイナミクス研究部門）土元翔平（生理学研究所心理生理学研究部門）萩原　淳（生理学研究所，神経ダイナミクス研究部門）上原優子（生理学研究所 生体機能調節研究領域 生殖･内分泌系発達機構研究部門）近藤邦生（生理学研究所 生殖･内分泌系発達機構研究部門）鬼頭文子（東京理科大学薬学部斎藤研究室）山本哲也（生理学研究所 心理生理学研究部門）平林直樹（九州大学伊都診療所）田村秀希（豊橋技術科学大学情報･知能工学系認知神経工学研究室）近添淳一（生理学研究所･生体機能情報解析室）田中大貴（玉川大学脳科学研究所）小池耕彦（生理学研究所心理生理学研究部門）梶原隆真（京都大学大学院教育学研究科明和研究室）河合英理子（理化学研究所）中村月香（国立精神・神経医療研究センター神経研究所微細構造研究部）石原　暢（神戸大学大学院人間発達環境学研究科）佐々木拓哉（東北大学大学院薬学研究科）佐治直樹（国立長寿医療研究センターもの忘れセンター）須藤信行（九州大学）寺澤悠理（慶應義塾大学文学部心理学専攻）中山二郎（九州大学大学院農学研究院）福土　審（東北大学大学院医学系研究科心療内科学）菊水健史（麻布大学）髙橋英彦（東京医科歯科大学）明和政子（京都大学）定藤規弘（生理学研究所　心理生理学研究部門）松田哲也（玉川大学脳科学研究所）片桐さやか（東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科）伊藤嘉邦（生理学研究所 心理生理学部門）木村玲子（生理学研究所 心理生理学研究部門）岩瀬　恵（自然科学研究機構生理学研究所定藤研究室）竹中邦子（自然科学研究機構生理学研究所定藤研究室）

【概要】

これまでの脳研究は，主に臓器別に研究が行われていたため，臓器内の機能の理解にとどまっていた。近年，個別の臓器に焦点を当てた研究から，生体を１つの恒常性維持機構ととらえ，システムとして解明を目指す研究が進んでいる。社会性は，生体内環境と外環境がそれぞれ相互作用し社会性を形成しており，生物がもつ知覚，認知，記憶，学習といった機能を用いて個が社会を理解しつつ，自分が所属している集団の環境を把握し，社会的な判断を行っていると考えられている。また，身体内環境も社会性に関与しており，腸内細菌叢とストレスとの関連，腸と認知症，脳と免疫の関係性も明らかになりつつある。そこで，本研究会では，社会性を生体システムから理解することを目指し，脳・環境・臓器間ネットワークと社会性について７名のこの分野で活躍されている研究者による講演を通じて最新の知見をえるとともに相互ディスカッションを行った。今年度については，COVID-19 感染拡大のため，オンラインでの開催となったが，遠方からの参加や参加できる講演のみの参加というオンラインでのメリットを活かせた運営を行うことができた。

（1）腸内細菌と認知機能の相関から展望する認知症予防

佐治直樹（国立研究開発法人 国立長寿医療研究センター もの忘れセンター）

腸内細菌と認知症についての研究が注目されている。その背景は，次世代シーケンサを用いた腸内細菌の解析法が開発され，「これまで見えなかった腸内細菌像」が見えるようになったことによる。動物モデルやヒトを対象にした臨床研究から腸内細菌と認知症との関連が示唆され，腸脳相関が徐々に解明されてきた。演者

らも，病院もの忘れ外来を受診した患者さんを対象に腸内細菌と認知機能についての臨床研究を実施している。これまでの研究結果から，①既知の危険因子とは独立して腸内細菌は認知症と関係する，②軽度認知障害の時期から腸内細菌が変化する，③腸内細菌の代謝産物も認知機能と関連する，④大脳白質病変は腸内細菌と関連する，などの興味深い結果が判明した。大脳白質病変は，高齢者によく見られる脳 MRI 異常所見であり，加齢や高血圧が主な病因である。腸内細菌やその代謝産物が大脳白質病変に関連するという知見は，「脳の加齢性変化」を考察するにあたり新しい視点である。また，⑤生活習慣病の有無により腸内細菌叢も変化し，⑥食事内容が腸内細菌の代謝産物や認知症にも関連することも判明した。地中海食や DASH 食（Dietary Approaches to Stop Hypertension：高血圧を防ぐ食事）は心臓病や認知症の予防効果があるが，これらと同様に，日本型食生活（日本食）も認知症を予防する可能性が示唆された。腸内細菌は認知症の危険因子の可能性があり，食品を介した腸内細菌叢の改善が新しい認知症予防法として検討されている。高齢化社会においては，認知症の予防と対策が期待されている。認知症の発症には，様々な機序が関与するが，腸内細菌や代謝産物，食品なども影響する。中高年における軽微なもの忘れの段階で生活習慣や食事内容を見直すことで腸内細菌叢が改善し，認知症の予防に寄与する可能性がある。腸内細菌叢を改善する視点から，既存の食品以外にも新規の機能性食品が開発されるかもしれない。腸脳相関には未解明な部分もあるが，今後の研究展開が期待される。

（2）体力・肥満と認知機能

石原　暢（神戸大学大学院 人間発達環境学研究科 人間発達専攻）

高度な経済成長に伴い，身体的に不活動なライフスタイルが蔓延している。 身体不活動は体力低下や肥満リスクの増加をもたらし，心血管疾患，二型糖尿 病などの疾病リスクを増加させることは周知の事実であろう。過去 20 年の研究 から，低体力と肥満が様々な認知機能の低下とも関わることが示されてきた。 一方，それらの関係の背景にある脳の構造・機能については不明な点が多い。 そこで我々は，核磁気共鳴画像法を用い，体力・肥満と認知機能の関係および その背景にある脳構造・機能を詳しく調べる研究を進めている。本発表では， 成人を対象に，体力・肥満と認知課題遂行中の脳活動，大脳皮質構造（皮質厚， 髄鞘化，神経突起密度・方向散乱），構造的・機能的脳内ネットワークの関係を 調べた研究成果を報告する。また，子どもにおいても例外ではなく，低体力と 肥満は認知機能や学力の低下と関わることが示されている。本発表では，子ど もの身体活動および肥満と大脳皮質構造の関係を縦断的に調べた最近の研究成 果についても紹介する。

（3）腸内細菌叢の構造と機能の多様性

中山二郎（九州大学大学院 農学研究院 生命機能科学部門）

研究概要：我々は，アジア人の腸内細菌叢を調査する共同研究グループ Asian Microbiome Project を設立し，老若男女，また各種疾病患者の腸内細菌叢を調査している。アジア人は，西欧諸国に比較するとビフィズス菌が多い傾向にあり，クラスタリングでも，ビフィズス菌の多いタイプが，プレボテラ属の多いタイプに対峙して存在する。一方，ビフィズス菌はバクテロイデス属とは共存する傾向にあり，つまりアジアでは，プレボテラ型（P タイプ）と，ビフィズス菌ーバクテロイデス型（BB タイプ）の２つに大きく分かれることが示された。興味深いことに P タイプは東南アジアやモンゴル等の農村地域の人々に多く，BB タイプは，中国，台湾，日本の各都市や，タイ，フィリピン，モンゴルでは都市部に住む人々に多いことが示され，生活様式の

現代化，特に食の高脂質化に従い，P タイプから BB タイプへのシフトが起きていることが示された。そして，さらに興味深いことに P タイプから BB タイプへのシフトが現在進行形で起きている発展途上国においては，P タイプに比べ BB タイプの保有者の方が 2 型糖尿病などの生活習慣病の高いリスクに晒されていることが示された。以上のような細菌組成に加えて，代謝物にも注目して研究を進めている。インドネシアの 2 型糖尿病患者は，バクテロイデス属の中でも胆汁酸の脱抱合活性の強い Bacteroides fragilis を多く有していて，FXR のアンタゴニストとして血糖値制御に重要な働きをする抱合型胆汁酸である TUDCA や GUDCA が枯渇していた。そして，さらに興味深いことに，抗糖尿病薬であるメトフォルミンの摂取者は B. fragilis の減少とともに TUDCA と GUDCA が回復していた。日本人の調査では，日本人の腸内細菌叢は大きく 7 つのタイプに分けられ傾向にあることが示された。興味深いことに，高脂質摂取群に見られるタイプと高アルコール摂取群に見られるタイプの細菌叢では，他のタイプでは二次胆汁酸主体の組成であるのに対し，一次胆汁酸の多い組成を示した。二次胆汁酸が血糖値や血中脂質の制御に重要な働きを有することも報告されており，腸内細菌による胆汁酸代謝の重要性が示唆された。

（4）実験動物において迷走神経が情動に与える影響の解析

佐々木拓哉（東北大学大学院 薬学研究科 薬理学分野）

脳は，末梢臓器の生理状態の感覚（内受容感覚）を受容し，それに基づいて身体の恒常性を維持し，感情や意思決定など脳の高次機能も変化する。内受容感覚の伝達に重要な役割を担う組織が，迷走神経である。迷走神経は，遠心性よりも求心性神経のほうが大多数占めており，緻密かつ複雑に各臓器を支配する神経回路網を形成しているが，その生理的実態や意義はほぼ未解明であった。近年になり，迷走神経の電気刺激が抵抗性鬱病の治療に著効を示すことや，逆に腸内の環境が悪化すると迷走神経を介して精神疾患のリスクが高まる等，迷走神経を介した内受容感覚と脳活動の関連が報告されている。しかし詳細な生理機構は明らかではない。我々はマウスにおいて，迷走神経を調べるための実験手法を確立し，その生理的意義の解明に取り組んでいる。最近我々は，脳の電気生理計測に加えて，カフ型電極を用いた迷走神経計測を統合する技術を開発した。これにより，迷走神経の活動と相関する脳活動パターンや周期をもった臓器活動を検出することが可能となった。また，特定の迷走神経サブタイプのみに光感受性分子を発現させたバイジェニックマウスを作製し，求心性迷走神経，遠心性迷走神経を選択的に光操作することを可能とした。このような実験技術を用いて，迷走神経活動が脳の精神機能にどのような影響を及ぼすか調べたところ，特定の情動行動や社会性行動時には，迷走神経の活動頻度が増大し，特に前頭前皮質や扁桃体の脳波パワー変動と強く相関することが明らかにした。現在，我々は迷走神経に関する知見の共通原理を見出することを目指している。そのために，迷走神経を介して脳に伝達された多次元的な内受容感覚情報が，どのように脳に予測誤差を生み出し，各臓器の活動を制御するか検証している。本発表では，この理論を支持するいくつかの実験データを紹介しつつ，今後の研究の展望についても議論する。

（5）心理社会的ストレス・腸内環境と過敏性腸症候群

福土　審（東北大学大学院 医学系研究科 心療内科学）

過敏性腸症候群（irritable bowel syndrome: IBS）とは，腹痛が便通異常と関連し合いながら持続するため，罹患者の quality of life が著しく低下する疾患である。IBS においては，血液検査や大腸内視鏡検査によっては症状の原因となる癌も潰瘍性病変も検出されない。IBS は心理社会的ストレスによって症状が発症もしくは増悪する心身症としての側面を持つ。その病態生理学を追求することで，ストレスが人間の生体に負荷された時の脳腸相関（brain-gut interactions）の概念化を皮切りに，消化管内腔のシグナルが如何に脳機能に影響するか，腸内細菌の影響，粘膜透過性亢進，粘膜微小炎症などが次々に明らかになって来た。これらが短鎖脂肪酸や神経伝達を介して脳機能に影響する根拠が蓄積しつつある。IBS は類縁疾患の機能性ディスペプシアや食道障害との重複によって重症化するだけでなく，うつ病，不安症の原因にも結果にもなり，片頭痛，顎関節症，気管支喘息，線維筋痛症，慢性疲労症候群，慢性骨盤痛，間質性膀胱炎，月経前症候群に高率に合併する。また，認知症やパーキンソン病のリスクが高い。即ち，IBS を解決すれば，これらの全ての問題も軽減あるいは解決できる可能性がある。IBS とは，中枢神経系と消化管の機能的関連の全てを総称する脳腸相関が病態の中心を占める病的状態である，と言える。消化管からの感覚信号は脊髄神経の感覚 neuron が受容し，発火すると脊髄後根から脊髄後角 lamina I neuron に信号を伝える。その軸索は対側の脊髄視床路，脊髄網様体路を視床，あるいは傍小脳脚核まで上行する。視床から，島，前帯状回，前頭前野に，あるいは，傍小脳脚核から扁桃体中心核，視床下部に信号が投射され，刺激強度が高い場合か，感覚閾値が低ければ内臓痛覚を起こす。これらの中枢の賦活は交感神経ならびに副交感神経の遠心路と視床下部-下垂体-副腎皮質系の活性化を介して全身に影響する。中枢の賦活はまた，中心灰白質の下行性痛覚抑制系を賦活し，内臓知覚を抑制する。脳機能画像検査により，大腸伸展刺激時のヒト消化管知覚の脳内プロセシングと神経伝達が明らかになりつつある。大腸伸展刺激時の局所脳血流量の変化を見ると，健常者で見られる視床，島，前帯状回，扁桃体，前頭前野の賦活が，IBS 患者ではさらに亢進している。これらの脳内の責任部位を繋ぐネットワークの感作が IBS 患者に見られる内臓知覚過敏の重要な原因と考えられる。これらの脳機能の変化は IBS に高頻度に併存するうつ，不安の源流を構成する。IBS の病態解明は脳腸相関だけでなく，脳・環境・臓器間ネットワークと社会性の関連がいかに人間の健康と病的状態に関与するかに直結しており，今後ますます重要になるであろう。

（6）感情認識と心拍知覚

寺澤悠理（慶應義塾大学 文学部 心理学専攻）

本演題では，身体の状態とその解釈を結ぶ存在としての内受容感覚の感情認識における機能を，認知神経科学や心理学の観点から検討する。内受容感覚とは，身体内部の状態の変化に伴う感覚を意味し，主観的感情と深い関連性を持つことが指摘されている。その一方で，数々の臓器や体液由来の環境の変化がこの感覚に影響を及ぼしており，その生起機序と感情との関連性については未だ明らかでない点も多い。演者はこれまで，内受容感覚と環境情報（状況に関する文脈情報やその解釈，他人の表情など）を統合することが主観的感情の基本システムであるという仮説のもと研究を行ってきた。その過程で，内受容感覚には，純粋な求心性の感覚としての側面と，その感覚をどのように認識するのかという評価の側面があることに気付かされた。これらの内受容感覚の特徴の異常がパニック障害，鬱，不安障害，摂食障害といった種々の心理的な問題と関連していることは，身体状態とそれに基づく主観的感情状態の適切な結びつきにおいて内受容感覚が重

要な機能を担っていることを示唆しているであろう。上述のような枠組みに則り，本演題では，特に心拍知覚を検出するための敏感さや，心拍の処理と関連が指摘されている心拍誘発電位位（Heartbeat-evoked Potential：HEP）と，感情認識の諸相の関係性についてお話をしたい。感情を喚起する画像を観察している時や身体内外の情報に注意をむけている時の心拍誘発電位を分析し，個人の感情認識の特性と合わせて考察することで，本研究会のテーマである脳・環境・臓器間のネットワークと社会性に関する一つの視点を提供したい。

（7）腸内細菌と腸脳相関

須藤信行（九州大学大学院 医学研究院 心身医学）

腸内常在菌は，宿主の様々な生理機能の発現に深く関与しているが，脳の機能や発達に関与しているかについては不明であった。2004 年，我々のグループは，腸内細菌がストレス応答を構成する視床下部－下垂体－副腎軸反応の発達に関わっていることを世界で初めて明らかにした。すなわち無菌（germfree: GF）マウスは通常の SPF マウスと比較し，拘束ストレスに対する血中 ACTH およびコルチコステロンの上昇反応が有意に亢進していた。人口菌叢マウスを用いた検討では，Bacteroides vulgatus 単一細菌マウスのストレス負荷による ACTH, corticosterone 上昇反応は GF マウスと同一であったが，Bifidobacterium infantis 単一細菌マウスでは，SPF マウスと同程度まで反応性が減じていた。一方，ウサギ由来の病原性大腸菌株の単一細菌マウスでは，GF マウスと比較しストレス反応性が亢進していたが，遺伝子変異株 ΔTir（translocated intimin receptor を欠損した病原性大腸菌)単一細菌マウスでは反応性の亢進は認められなかった。さらに最近，腸内細菌による影響はストレス反応に留まらず行動特性にも及ぶことが演者を含む複数の研究グループによって明らかにされた。事実，ビー玉埋没行動とオープンフィールド法を用いた我々の検討では，GF マウスは，通常の SPF マウスの腸内細菌で再構成された人工菌叢マウスと比較し，多動で不安レベルも高かった。以上の結果は，腸内細菌は宿主のストレス応答や行動特性を規定する重要な因子であることを示している。本講演では，我々の動物実験の結果に基づき，“腸内細菌－腸－脳相関”と呼ばれる研究領域の発展について述べたい。

21. 大脳皮質を中心とした神経回路：構造と機能，その作動原理

2021 年 12 月 2 日－12 月 3 日

代表・世話人：田中康裕（玉川大学脳科学研究所）
所内対応者：窪田芳之（生理学研究所脳機能計測･支援センター）

（1）海馬から海馬外への経路選択的な空間情報の送出
北西卓磨（大阪市立大学大学院医学研究科）

（2）視覚弁別課題におけるマウスの行動戦略及び，関連した視覚野の活動
吉田盛史（東京大学大学院医学系研究科）

（3）マーモセット前頭前皮質のプロジェクトーム解析
渡我部昭哉（理化学研究所脳神経科学研究センター）

（4）知覚意思決定における大脳皮質の一次感覚野の情報表現と発信
船水章大（東京大学定量生命科学研究所）

（5）標準リカレントネットワークモデルでつなぐ皮質回路の構造・機能・作動原理
島崎秀昭（北海道大学人間知・脳・AI 研究教育センター）

【参加者名】

仙波和惠（Dalhousie University），萩原賢太（Friecrich Mieschar Institute），石原義久（ベルリン･シャリテ医科大学），島崎秀昭･藤山文乃･苅部冬紀･平井康治･石原　憲･角野風子･土田直司（北海道大学），福田雅之（JCHO 北海道病院），篠崎　淳（札幌医科大学），松本有央（産業技術総合研究所），渡我部昭哉･村山正宜･鳥越万紀夫･齋藤喜仁･大迫優真（理化学研究所脳神経科学研究センター），津田佐知子（埼玉大学），齋藤潤孝･本間涼花（獨協医科大学埼玉医療センター），森田賢治･飯野祐介･近藤将史･吉田盛史･船水章大･西尾奈々･木村梨絵･橋本昂之･佐藤由宇･吉本遼平･吉本愛梨（東京大学），田中康裕･酒井　裕･鮫島和行･小口峰樹･川口泰雄･任　翔壎･杉本翔哉（玉川大学脳科学研究所），森島美絵子（東京慈恵会医科大学），植田禎史（東京女子医科大学），川端政則（東京医科歯科大学），小笠原　淳･倉敷秀明（慶應義塾大学），宗田卓史･小林　般（国立精神･神経医療研究センター），日置寛之･小林朋世（順天堂大学），山下晶子･大橋一徳（日本大学），侯　旭濱（新潟大学），佐藤大輔･長坂和明（新潟医療福祉大学），江崎博仁（金沢大学），中川直樹（国立遺伝学研究所），小坂田文隆･竹田育子･竹内遼介･佐藤彰典･山口真広（名古屋大学），田中琢真（滋賀大学），高須正太郎･小椋星哉（京都大学），木村　慧（京都大学霊長類研究所），廣川純也･谷隅勇太（同志社大学），坪　泰宏（立命館大学），水関健司･北西卓磨･松本英之（大阪市立大学），古田貴寛･小山内実･畠中由美子･田村篤史（大阪大学），中井信裕･味岡雄大（神戸大学），永瀬麻子（鳥取大学），加藤荘志（広島大学），今井　猛（九州大学），山本雅裕（㈱東芝），酒井雅子（㈱アイシン），小松英彦･榎木亮介･揚妻正和･米田泰輔･植松明子･上原一将･山本真理子･二宮太平･中田開人･呉　嘉豪･廣　蒼太･長澤裕太郎･安宅光倫･高橋泰伽･窪田芳之･浦久保秀俊･孫　在隣（生理学研究所）

【概要】

実験技術の著しい発達により，行動中の動物を用いて多数の神経細胞の活動を同時に捉え解析できるようになり，また，神経細胞の形態についても，細かな神経側枝分布のデータを効率よく取得することが可能となっている。一方で，人工知能研究の急展開により，知性そのものへの洞察が深まる可能性もある。これらを踏まえ，本研究会では大脳皮質を中心とする神経回路の構造と機能について最新の知見を検討し，さらに理論的洞察を加え，作動原理の解明に迫ることを目的としている。本年度は，形態学・生理学・データ解析・計算理論までをカバーできる 5 人の新進気鋭の研究者に，各々の最新の研究結果と将来の展望を発表して

いただいた。第 1 日目，北西卓磨先生（大阪市立大学大学院医学研究科）が海馬台からの情報転送の容態についての研究を発表し，次いで，吉田盛史先生（東京大学大学院医学系研究科）がマウスでの視覚弁別に関する研究を発表した。渡我部昭哉先生（理化学研究所脳神経科学研究センター）はマーモセット前頭前野のメゾスコピックなコネクトミクス研究について発表した。第 2 日目，米国より戻られた船水章大先生（東京大学定量生命科学研究所）が，マウスを用いた知覚意思決定の実験とモデリングによる研究を発表した。最後に理論家として島崎秀昭先生（北海道大学人間知・脳・AI 研究教育センター）が，これまで積み重ねてきたリカレントネットワークの理論を概説し，その最先端にある状態空間イジングモデルについても紹介した。コロナ禍ではあったが，ハイブリッド開催とし，全国から多くの方に参加していただくことができた。また，質問も現地参加者に限らず，リモートでの参加者からも活発な質問があり，各々の 1 時間の枠を超えて建設的かつ徹底した討論を行った。大学院生などの若手も多くの議論に参加し，参加者は研究のスタンスや立場を問わず，発想を養うよい機会になったと思われる。

（1）海馬から海馬外への経路選択的な空間情報の送出

北西卓磨（大阪市立大学大学院医学研究科・科学技術振興機構戦略的創造研究推進事業さきがけ）

「いま自分がどこにいて，どこへ向かっているか？」という空間認識は，動物の生存に重要な脳機能である。海馬には，動物のいる場所・移動スピード・道順など空間ナビゲーションに関連した情報を持つ神経細胞が存在する。これらの細胞の発する情報は，海馬から下流の脳領域群へと分配・伝達されることで，ナビゲーション行動を支えると考えられるが，具体的にどのように分配されるかは不明だった。私たちは最近，海馬から海馬台を経て 4 箇所の下流領域へと分配される空間情報の流れを明らかにした。ラットの海馬 CA1 野と海馬台から，256 チャネルのシリコンプローブによる神経活動計測をおこない，さらに，多点の光遺伝学により個々の海馬台神経細胞の投射先領域を同定した。その結果，海馬台は，海馬に比べてノイズに強い頑強な情報表現を持つことを見出した。さらに，移動スピードと道順の情報はそれぞれ帯状皮質と側坐核に選択的に伝達され，場所の情報は側坐核・視床・乳頭体・帯状皮質の 4 領域に均等に分配されることを明らかにした。こうした結果から，海馬台は，海馬から下流領域群への情報の分配をになう鍵となる脳領域であると考えられる。

Kitanishi, Umaba, Mizuseki. Robust information routing by dorsal subiculum neurons. Science Advances, 2021.

（2）視覚弁別課題におけるマウスの行動戦略及び，関連した視覚野の活動

吉田盛史（東京大学大学院医学系研究科）
斎藤久美子（東京大学大学院医学系研究科・沖縄科学技術大学院大学神経回路ユニット）
大木研一（東京大学大学院医学系研究科）

動物は，視覚弁別に際し，しばしば物体の全体ではなく部分の情報，例えば局所的な明るさや部分の形を手掛かりとする。また，ヒトでも物体識別が難しい条件下では部分の情報を頼りにする。このような部分を手掛かりとする視覚弁別は特定の条件下では有用であると考えられるが，その神経基盤に関しては不明な点が多い。そこで，我々はマウスに視覚弁別課題を訓練させ，その視覚弁別の戦略および視覚野の神経活動を調べた。

マウスに単純な図形を弁別させる go/no-go 型弁別課題

を訓練させた。学習後，マウスが図形の全体あるいは部分を使って課題を解いているのかを調べると，主に go 刺激の一部を手掛かりとしていた。広域一光子 Ca2+ イメージングにより課題中の視覚野の活動を記録すると，go 及び nogo 刺激への応答パターンは空間的に重なっていたが，一部の領域で go 刺激に対する応答が nogo 刺激に対する応答に比べ大きく，この領域は，レチノトピー上で，マウスが手掛かりとしていた go 刺激の一部を表現する領域に対応していた。また，この領域を含む視覚野の活動パターンからマウスの視覚刺激への行動を予測することができた。以上より，マウスは視覚野の go・nogo 刺激間の応答差が顕著な領域の活動を行動へと結びつけて課題を遂行していることが示唆された。現在，上記の行動や神経活動への前頭葉の寄与を検討しており，その結果についても議論した。

（3）マーモセット前頭前皮質のプロジェクトーム解析

渡我部昭哉（理化学研究所脳神経科学研究センター）

前頭前皮質（PFC）は，情動行動，社会行動，行動プランニング，注意，ワーキングメモリーなどのさまざまな高次脳機能に関わる連合皮質である。我々のグループは，霊長類のモデルとしてマーモセットを使用し，PFC のプロジェクトーム解析を行なってきた。具体的には，順行性 AAV トレーサーを PFC のさまざまな領野に注入し，２光子連続トモグラフィーによる精密な 3D 解析により，脳全体への投射パターンをマッピングしている。霊長類 PFC からは，特徴的なカラム状の皮質間投射が存在していることが 1970 年代から知られているが，その詳細はよくわかっていない。今回我々は，PFC 投射を２つのタイプに分けて考えることで，複雑な PFC 投射パターンを定量的に記述することに成功した。１つは，サブミリメートルサイズの狭い領域に軸索終末が集中する焦点型で，カラム状投射はこのタイプに相当する。もう１つは，スパースだが広い領域に広がる拡散型である。PFC の各点からの投射は両者の混合と考えられ，それぞれ注入部位の座標に基づく定量的なモデルによって説明することができた。機能的には，焦点型が局所的で高効率な神経伝達を担うのに対し，拡散型は広い領域の神経活動が同期した時に有効になる結合ではないかと考えている。このような２種類の投射は，霊長類で顕著に発達したものであり，このような様式の発達こそが，拡大した皮質において効率的な神経伝達を可能にした要因なのかもしれない。

（4）知覚意思決定における大脳皮質の一次感覚野の情報表現と発信

船水章大（東京大学定量生命科学研究所）

大脳新皮質の一次聴覚野の音への反応は，音の提示確率，音に連合した報酬，注意，課題時，受動時といった様々な状況で変化する。変化した音表現（encoding）から行動を決定するためには，聴覚野の下流の領野が，聴覚野から音情報を読み取る（decoding）必要がある。本研究は，聴覚野における音の表現と読取りの関係を調べるために，頭部を固定したマウスで，音周波数弁別課題を実施した（Marbach and Zador, bioRxiv, 2016 に基づく）。弁別課題でマウスは，音周波数の高・低に応じて，左・右スパウトを選択し，報酬の水を得た。状況として，左右スパウトの報酬量，または，周波数音の提示確率を操作した。この課題時に聴覚野の神経活動を二光子顕微鏡で多細胞同時計測した。

もう一つの研究では，マウスの選択行動の最適性を検証する音周波数弁別課題を構築し，選択行動を信号検出理論で解析した（Funamizu, iScience, 2021）。この課題は，i) 長さの異なる音刺激をマウスに提示した，ii) 左右スパウトの報酬量をバイアスさせた。長音に比べて短音では，課題正解率の低下と，報酬量による選択行動のバイアスが見られた。ただし，マウスの選択行

動は，最適なベイズ推定ではなく，単純な強化学習に適合した。現在，この課題時の聴覚野の神経活動を，電気生理学的に計測中である。

（5）標準リカレントネットワークモデルでつなぐ皮質回路の構造・機能・作動原理

島崎秀昭（北海道大学人間知･脳･AI 研究教育センター）

本講演では標準的なリカレントネットワークであるイジングモデル/ボルツマンマシンを用いて，皮質の回路構造と機能，そして作動原理を検証する研究の現状と将来展望を紹介した。イジングモデルはイベントによって相互作用する非線形素子からなるコンパクトなリカレントニューラルネットワークモデルで，統計学・統計物理学・機械学習における標準的なモデルとして広く使用されている。このモデルで神経活動を記述し解析することで，個々の要素に立脚した神経系の巨視的な挙動を明らかにできるだけでなく，神経系の計算を機械による計算と同じ枠組みで記述し，統一的に理解することが容易になる。本講演では，覚醒・行動下で記録された変動する神経活動を解析するために，我々が 10 年以上に渡って開発してきた状態空間法を用いたイジングモデルよる動的な集団活動の解析環境を紹介した。そして，これらの手法を用いたデータ解析に基づき，推定された活動の相関構造から皮質の回路構造を同定する研究を紹介した。次に，ネットワークの計算論的な機能を明らかにする研究として，神経細胞集団が有する外界の生成モデルをイジングモデルの枠組みで構成し，リカレントネットワークの神経応答のダイナミクスをベイズ推論における認識のダイナミクスとして記述する研究を紹介した。最後に，状態空間–イジングモデルによって神経細胞集団の外界への適応・学習のダイナミクスを可視化し，イジング型生成モデルの理論的な学習ダイナミクスと比較することで，脳の学習と認識の作動原理をデータから検証する取り組みを紹介した。

22. 記憶・学習の多角的理解に向けたアプローチ

2021 年 9 月 16 日

代表：林　悠（京都大学）
所内対応者：鳴島　円（生理学研究所･生体恒常性発達研究部門）

（１）Cell-type, circuits, and anatomical organization in medial entorhinal cortex for learning and memory
北村貴司（UT Southwestern Medical Center）

（２）成体海馬で新生するニューロンが記憶を固定化するメカニズム
坂口昌徳（筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構（WPI-IIIS）

（３）幼若期逆境体験がもたらす前頭前野神経回路とグリア動態の変化
山室和彦（奈良県立医科大学精神医学講座）

（４）グリア細胞からのグルタミン酸小胞開口放出が嫌悪性連合学習における嫌悪情報を伝達する。
宮下知之（東京都医学総合研究所学習記憶プロジェクト）

（５）レム睡眠の操作が可能なマウスを用いた睡眠の質が記憶に及ぼす影響の解析
林　悠（京都大学大学院医学研究科・
筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構（WPI-IIIS））

（６）段階的なシナプス可塑性による記憶の固定化
後藤明弘（京都大学医学研究科システム神経薬理）

（７）多様な記憶の形成・固定化・読み出しメカニズム
市之瀬敏晴（東北大学学際科学フロンティア研究所）

（８）運動記憶を支えるカイニン酸型グルタミン酸受容体の新規活動様式
掛川　渉（慶應義塾大学医学部生理学教室）

（９）視覚学習の促進と定着におけるノンレム睡眠とレム睡眠の相補的な役割
玉置應子
（理化学研究所･開拓研究本部，理化学研究所･脳神経科学研究センター）

（10）線虫の味覚における記憶学習を制御する分子機構
富岡征大（東京大学大学院理学系研究科）

（11）海馬におけるアンサンブル反響活動による連合記憶の制御
野本真順，井ノ口　馨
（富山大学学術研究部医学系 生化学講座，富山大学アイドリング脳科学研究センター（RCIBS））

（12）神経活動パターン依存的な嗅覚回路の形成機構
竹内春樹（東京大学大学院薬学系研究科）

（13）予測依存的な感覚情報処理の調節
古舘昌平（Sainsbury Wellcome Centre for Neural Circuits and Behaviour – UCL）

【参加者名】

林　悠（京都大学），玉置應子（国立研究開発法人理化学研究所），井ノ口　馨（富山大学学術研究部医学系），竹内春樹（東京大学大学院薬学系研究科），野本真順（富山大学学術研究部医学系生化学講座），ボーグ ジェームス（東京大学農学生命科学研究科），坂口昌徳（筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構），石川理絵（東京大学大学院農学生命科学研究科応用生命化学専攻），TakashiKitamura（University of Texas Southwestern Medical Center），奥野浩行（鹿児島大学），掛川　渉（慶應義塾大学医学部生理学教室），鈴木陽子（筑波大学国際統

合睡眠医科学研究機構），松尾直毅（九州大学大学院理学研究院），Yasunori Hayashi（Kyoto University Graduate School of Medicine），安垣進之助（筑波大学大学院人間総合科学研究科生命システム医学専攻／国際統合睡眠医科学研究機構（WPI-IIIS）），市之瀬敏晴（東北大学学際科学フロンティア研究所），八代　海（筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構），春日優佑（理化学研究所脳神経科学研究センター），疋田貴俊（大阪大学蛋白質研究所），Chen, Chung-Kuan（筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構），人羅（今村）菜津子（熊本大学大学院生命科学研究部），小山元暉（九州大学理学部生物学科行動神経科学研究室），喜田　聡（東京大学大学院農学生命科学研究科），齊藤　実（東京都医学総合研究所），後藤明弘（京都大学医学研究科システム神経薬理），富岡征大（東京大学大学院理学系研究科），山室和彦（奈良県立医科大学精神医学講座），中井彩加（筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構），小林曉吾（九州大学），永嶋　宇（東京慈恵会医科大学），篠田　陽（東京薬科大学），新田淳美（国立大学法人富山大学），揚妻正和（生理学研究所），渡部文子（東京慈恵会医科大学），岡村　響（筑波大学ヒューマニクス学位プログラム），岩城　拓（国立研究開発法人科学技術振興機構），萩原賢太（Friedrich Miescher Institute），山田大輔（東京理科大学薬学部），伊澤俊太郎（マックスプランク代謝研究所），高橋泰伽（生理学研究所バイオフォトニクス研究部門），竹本研（三重大学大学院医学系研究科生化学），設樂久志（三重大学大学院医学系研究科生化学講座），實木　亨（三重大学医学部），堀内　浩（自然科学研究機構生理学研究所），植田大海（生理学研究所），金叢芸（生理学研究所生体恒常性発達研究部門），榎木亮介（生理学研究所/生命創成探究センター），野村　洋（名古屋市立大学），清水目　倫太郎（名古屋市立大学大学院医学研究科認知機能病態学寄附講座），平野匡佑（名古屋市立大学大学院医学研究科認知機能病態学），鈴木章円（富山大学），浅井裕貴（富山大学），竹内春樹（東京大学），Hongyang Wu（Tohoku University），Haiyan Wang（富山大学），鍋倉淳一（生理学研究所），山肩葉子（生理学研究所），貝田千太郎（名古屋市立大学医学部医学科），大川宜昭（獨協医科大学先端医科学研究センター認知･記憶研究部門），遠山　卓（東京慈恵会医科大学臨床医学研究所），Javan Lee Tze Han（富山大学），米田泰輔（生理学研究所），Kenji Mizuseki（Osaka City University），白坂みさの（早稲田大学），宮下知之（東京都医学総合研究所学習・記憶プロジェクト），鳴島　円（生理学研究所生体恒常性発達研究部門），古舘昌平（Sainsbury Wellcome Centre - UCL），諸隈誠一（九州大学），南　雅文（北海道大学薬学研究院薬理学研究室），浅岡由衣（京都大学霊長類研究所）

【概要】

記憶は多くの生物が生存していく上で欠かせない生命機能であり，動物のみならず単細胞生物でさえ，記憶機能をもっている。記憶には様々な種類が存在し，シナプス伝達の機能的変化による「短期記憶」やシナプスの構造的変化による「長期記憶」のように保持時間に基づいて分類されたり，意識して経験した記憶である「陳述記憶」や無意識のうちに積み上がる「非陳述記憶」のように内容に基づいて分類されたりする。また，記憶は，加齢，運動，睡眠，生活習慣など他の生命現象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。そこで本研究会は，記憶・学習の解明を目指した研究者が集まり，お互いの最先端の情報を共有・補完することを目的として開催した。記憶研究の第一線で活躍する研究者たちによって，線虫・ショウジョウバエ・マウス・ラット・ヒトなど多様な動物種を対象として，胎児期や幼児期，成体期から高齢期，さらには認知症モデル等，様々なライフステージや状態に注目した研究についての最新の成果の発表がなされた。オンラインでの開催であったものの，多くの研究者が質疑応答時間のみならずブレイクアウトルームなども活用し，シニア・ジュニア関係なく忌憚のない議論を行われた。また，オンラインであることを逆手にとって海外で活躍する研究者も多く交えて交流することができた。本研究会を通じて記憶研究に取り組んでいる研究者が互いにじっくり耳を傾け，重要問題についての共通認識や研究手法および情報をシェアし，さらには様々な実験パラダイムの意義や特色を浸透させることができ，この分野の持続した成長と若手研究者の育成につながったものと期待される。

（1）Cell-type, circuits, and anatomical organization in medial entorhinal cortex for learning and memory

Takashi Kitamura（University of Texas Southwestern Medical Center）

Topographical maps have been observed in many sensory and motor systems in the brain. Anatomical arrangement of neurons including their location and neural connectivity facilitates differential property of the variable computed in the neural network as circuit function. Entorhinal cortical-hippocampal (EC-HPC) networks represent spatiotemporal cognitive variables including space, time and frequency that are crucial for learning and memory. A unique topographical representation for space is recently found in the concerted activity of grid cells that fire at multiple locations with a regular hexagonal structure in medial EC (MEC). Each module contains grid cells with similar firing property. However, neural mechanisms about how MEC generates topographical modules of grid cell activity remains unknown.

We have previously demonstrated that the layer II of MEC (MECII) contains anatomical cell clusters. MECII contains two types of excitatory neurons, Reelin+ and CalB+ cells. CalB+ cells are clustered into patches arranged in a hexagonal grid and are surrounded by Reelin+ cells in MECII. Furthermore, a recent study showed that topographical modules of grid cell activity are localized surrounded by CalB+ cell clusters in MEC. Since the majority of CalB+ cells locally connect within EC and neural activity of CalB+ cells regulate grid cells activity of Reelin+ cells in MECII, it has been speculated a pre-wiring model to generate topographical modules of grid cell activity controlled by local network connection of CalB+ cell clusters in MEC. However, due to the lack of molecular mechanisms about how CalB+ cells form the cell clusters in MEC, it remains unknown whether anatomical cell clusters may facilitate grid cell modules. In my talk, I present the molecular mechanisms for the formation of anatomical cell clusters in CalB+ cells and then examine the role of the CalB+ cell clusters on the topographical modules of grid cell activity in MEC.

（2）成体海馬で新生するニューロンが記憶を固定化するメカニズム

坂口昌徳（筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構 (WPI-IIIS)）

PTSD は恐怖記憶処理の異常がその本態と考えられている。とくにその悪夢などの睡眠関連症状に関連して，レム睡眠中の恐怖記憶処理の破綻が病態へ関与することが指摘されている。われわれはレム睡眠中に海馬の歯状回で新生するニューロンの活動が恐怖記憶の固定化に必要であることを示した（Kumar et al., Neuron 107:552, 2020）。哺乳類の海馬は，大人になってもニューロンが新生するという，他の脳部位とは異なる細胞可塑性を示す。新生ニューロンは，その数の少なさと活動のまばらさにもかかわらず恐怖記憶固定化に重要である（Vergara et al., Front Cell Neurosci 14:594401, 2020）。われわれは，世界で初めて睡眠中の新生ニューロンのライブイメージに成功し（Carrier-Ruiz et al., STAR Protocols 2:100328, 2021），その恐怖記憶固定化における集団レベルの活動の動態を明らかにした（Vergara et al., IJMS 22:2874, 2021）。本研究は，ごくわずかに新生するニューロンの絶妙なタイミングでの活動が恐怖記憶の固定化に必要であり，そのメカニズムの解明が PTSD の病態の理解に貢献できることを示唆する。

（3）幼若期逆境体験がもたらす前頭前野神経回路とグリア動態の変化

山室和彦（奈良県立医科大学精神医学講座

COVID-19 が瞬く間に世界へ流行が広がり，多くの国で感染の抑制を目的とした渡航制限や外出制限行っており，孤独はメンタルヘルスへの深刻な脅威としてますます認識されるようになっている。マウスにおいて離乳直後の 2 週間（生後 21 から 35 日）の幼若期社会的孤立（jSI）は，成体期の社会行動の低下につながることが知られており，社会行動の確立に敏感な時期であることを示唆している。齧歯類だけでなくヒトでの多くの研究で，内側前頭前野（mPFC）が社会行動を調節する脳ネットワークの重要な領域であるとされている。過去の研究では，mPFC の皮質下に投射する L5/6 の錐体細胞は幼若期の社会孤立に対して脆弱であり，jSI では成体期の錐体細胞の活動が減弱していることを明らかにした。本研究では，mPFC 錐体細胞（L5/6）から投射され，社会行動に関連のある皮質下領域として，視床室傍核（PVT）が一つの候補であることを明らかにし，同領域が側坐核や扁桃体などのさまざまな報酬関連領域に投射していることを考えると，mPFC→PVT 神経回路は脳ネットワークの制御に影響しているといえる。また，成体期での適切な社会行動のために，幼若期社会的経験を必要とする神経回路（mPFC→PVT）を同定した。

本講演では mPFC→PVT 神経回路の機能的および行動的役割だけでなく幼若期の社会経験におけるグリア動態の変化についても述べる。

（4）グリア細胞からのグルタミン酸小胞開口放出が嫌悪性連合学習における嫌悪情報を伝達する。

宮下知之（東京都医学総合研究所 学習記憶プロジェクト）

ショウジョウバエの匂い嫌悪学習では条件刺激（CS）の匂い情報と，無条件刺激（US）の電気ショック情報が記憶中枢キノコ体で連合し，嫌悪性匂い記憶が形成される。

我々は新規のグルタミン酸（Glu）小胞輸送体 DVGLUT2 がショウジョウバエの匂い記憶中枢キノコ体（MB）に接するグリア細胞 Ensheathing glia（ENG)で特異的に発現していることを見出し，ENG が US ショック呈示に応じて MB と，MB に投射するドーパミン作動性神経細胞（DAN）へ Glu を小胞開口放出していることを見出した。

US により ENG から放出された Glu は MB の NMDA 受容体（NR）に結合するが，US のみでは Mg^{2+} ブロックにより NR を介した Ca^{2+} 応答が MB で見られず，匂い CS 入力と同期させると Mg^{2+} ブロックが解除され，US 呈示に対して NR を介した Ca^{2+} 応答が起こることが分かった。一方 US 呈示応じた DA 放出は ENG から放出された Glu がカイニン酸受容体（KAR）を介して誘導していることが分かった。

我々の結果から，広範な神経細胞への感覚情報の伝達というグリア細胞の新たな機能と共に，MB では CS が入力した MB 神経細胞への選択的な US 情報入力が NR によりゲーティングされること，これまで DAN が一括して行うと考えられてきた記憶中枢への US 情報の伝達と学習強化がそれぞれ別の機構であることを示唆された。

（5）レム睡眠の操作が可能なマウスを用いた睡眠の質が記憶に及ぼす影響の解析

林　悠（京都大学大学院医学研究科･筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構 (WPI-IIIS) ）

ヒトの睡眠は，一晩の間に 2 種類のステージ，ノンレム睡眠とレム睡眠を行き来する。レム睡眠は睡眠全体の 15 % 程度にしか満たないが，この間，寝ているにも関わらず脳は活発に活動し，鮮明な夢が生み出される。このような独特な生理状態が何のためにあるかは，脳科学の大きな謎であった。私たちはレム睡眠の役割の解明を目指し，レム睡眠を任意のタイミングで人為的に遮断・誘導できる遺伝子組換えマウスを世界で初めて開発した。そのマウスを詳しく調べた結果，レム睡眠には徐波と呼ばれる記憶の定着を促す神経活動を誘導する効果があることが明らかとなった。さらに最近では，レム睡眠を長期的に増加・抑制できるマウスを開発することにも成功した。レム睡眠が長期的に減少したマウスでは，様々な記憶学習課題の成績が低下していることが判明した。現在，レム睡眠の異常が記憶学習に重要な大脳皮質や海馬にもたらす影響を細胞レベル・分子レベルで解析しており，最新の成果に基づいてレム睡眠の記憶学習における役割について議論したい。

（6）段階的なシナプス可塑性による記憶の固定化

後藤明弘（京都大学医学研究科システム神経薬理）

エピソード記憶は海馬で形成された後，皮質で固定化される。この記憶固定化の過程において，シナプス可塑性が重要な役割を担っている。しかし実際に脳のどの領域のいつの段階でシナプス可塑性が起きているかは完全に解明されていない。そこで我々は新たな光操作技術を開発し，シナプス長期増強（LTP）を特異的に 20 分の時間枠で消去する技術を開発した。この技術を用いることで，学習後に海馬で異なる段階のシナプス可塑性が起きていることを明らかにした。まず学習直後，オンラインでシナプス可塑性が起こり，その後の睡眠中にさらにオフラインでのシナプス可塑性が起きることを見出した。カルシウムイメージングを用いてそれぞれのシナプス可塑性を消去した後の細胞活性を観察すると，オンラインのシナプス可塑性によって学習した空間への細胞活性の特異性が上昇し，その後オフラインのシナプス可塑性によってそれらの細胞活性が同期生を獲得することが明らかとなった。海馬でのこれらのシナプス可塑性は学習当日に起きるが，さらに前帯状皮質では学習 1 日後の睡眠中にシナプス可塑性が誘導されていることを明らかにした。以上のように，本研究は記憶固定化におけるシナプス可塑性の局在，時間枠と役割を細胞レベルで明らかにした。

（7）多様な記憶の形成・固定化・読み出しメカニズム

市之瀬敏晴（東北大学学際科学フロンティア研究所）

ショウジョウバエは，匂い刺激と電気ショック罰を連合することによって忌避記憶を，砂糖報酬と連合することによって報酬記憶を形成する。忌避記憶は匂い刺激からの逃避，報酬記憶は匂いへの誘引と，それぞれ相反する行動を引き起こすが，この記憶はどちらも，キノコ体という単一の神経構造体に形成される。演者らはキノコ体から出力する約 20 種類の神経細胞種を個別に阻害することにより，忌避記憶と報酬記憶はキノコ体の特定の領域に形成され，読み出されることを見出した。それぞれの領域を構成する神経回路構造を比較することにより，特に報酬記憶について，特徴的な神経回路構造が見られることが明らかになった

（Ichinose et al., 2021, Curr Biol）。さらに最近では，タンパク質合成依存的な記憶固定の分子メカニズムの解明に取り組んでいる。この目的のため，脳の特定細胞でタンパク質翻訳をゲノムワイドにモニターする手法を開発し，神経活動の前後で比較した。本会議では記憶の形成・固定化・読み出しメカニズムについて，神経回路と遺伝子発現の両面から議論したい。

（8）運動記憶を支えるカイニン酸型グルタミン酸受容体の新規活動様式

掛川　渉（慶應義塾大学医学部生理学教室）

イオンチャネル型グルタミン酸受容体メンバーであるカイニン酸受容体（kainate receptor; KA-R）は，共役するチャネルを介して細胞の興奮性やシナプス伝達を調節する重要な膜タンパク質である。近年，KA-R はチャネルとしてのみならず，細胞内の C 末端領域を介してシグナル伝達系を駆動させる，いわゆる「非チャネル活動」を伴うユニークな受容体として注目されている。しかし，KA-R を標的とした従来の手法では，同受容体のチャネル活動と非チャネル活動とを明確に切り分けることが困難であったため，KA-R による非チャネル活動の機能的意義については，今も尚，不明な点が多い。

私たちはごく最近，小脳運動記憶の教師信号として働く延髄下オリーブ核細胞軸索登上線維（climbing fiber; CF）－プルキンエ細胞シナプス（CF シナプス）入力において，KA-R がシナプス後受容体として働いていることを見出した。また興味深いことに，KA-R の 1 サブユニットを欠く KA-R KO マウスは，CF シナプス上の KA-R 消失に伴って重篤な小脳運動記憶障害を呈した。不思議なことに，CF シナプスで生じるシナプス後電流（excitatory postsynaptic current; EPSC）のうち，KA-R 由来の EPSC 成分は 5%にも満たない。そのため，CF シナプス上の KA-R はチャネル活動とは異なる様式を介して小脳回路機能を制御している可能性が示唆される。この可能性を検証するために，私たちは KA-R KO マウスの病的表現型を分子・細胞－回路－個体レベルの各階層にわたって詳細に解析した結果，小脳運動記憶を支える KA-R の新しい活動様式を解明した。

（9）視覚学習の促進と定着におけるノンレム睡眠とレム睡眠の相補的な役割

玉置應子（理化学研究所･開拓研究本部理化学研究所･脳神経科学研究センター）

学習におけるノンレム睡眠とレム睡眠は未だ明らかではない。視覚学習では，ノンレム睡眠が学習の促進（offline gains）に関連し，レム睡眠は学習の定着（stabilization）を促し新しい学習からの干渉を抑制する可能性が示唆されている。これらのことから，視覚学習の促進と定着には，ノンレム睡眠とレム睡眠における相反する可塑性の変動が関係する可能性がある。本研究では，この仮説を検証するため，睡眠中のヒト被験者の視覚皮質から非侵襲的に神経伝達物質の濃度を計測した。グルタミン酸とγアミノ酪酸の濃度の比をとり，睡眠時の脳の興奮抑制（EI）バランス変動を求めた。EI バランス変動は，視覚学習の可塑性と相関することが知られている。睡眠の前後で 2 種類の視覚学習の訓練を実施し，睡眠による学習の促進と定着の度合いを調べた。その結果，ノンレム睡眠を含む睡眠後には学習は促進した。しかしノンレム睡眠のみの（レム睡眠を含まない）睡眠後には，学習は定着しなかった。EI バランスはノンレム睡眠時に増加しレム睡眠時に低下した。ノンレム睡眠時の EI バランスは学習促進と相関し，レム睡眠時の EI バランスは学習定着と相関した。ノンレム睡眠時には，可塑性が高まることで学習が促進され，レム睡眠時には，ノンレム睡眠時に上がった可塑性を下げることで学習が固定される可能性が示唆された。ノンレム睡眠とレム睡眠は，視覚学習において，相反する神経化学的プロセスに基づき，相補的な役割を果たす可能性がある。

（10）線虫の味覚における記憶学習を制御する分子機構

富岡　征大（東京大学大学院理学系研究科）

線虫 *C. elegans* は化学物質と餌の有無を関連付けて記憶し，餌探索の為の学習行動を示す。例えば，摂食時にナトリウムイオン（Na^+）を感知すると Na^+ に対する誘引行動が強まる。Na^+ は主に ASEL 味覚神経で受容されるが，ASEL 神経ではグルコース（Glc）も受容されることがわかった。摂食時に Glc を与えると Glc に対する誘引行動が強まるが，Na^+ 走性に対しては寧ろ誘引応答を低下させるように作用した。この現象は，味覚感覚入力を ASEL 神経のみに限局させた線虫を用いてもみられた。従って，Glc と Na^+ は ASEL 神経を介して異なる物質として記憶され，摂食時に経験した化学物質組成に近い領域に線虫は移動する学習を示すと考えられる。現在，この現象を制御する分子機構の解析を行っている。一方，飢餓状態の線虫は，飢餓時に経験した食塩の濃度から忌避する学習行動を示す。味覚忌避学習と呼ぶこの現象には，ASER 味覚神経で働くインスリン様シグナル伝達が重要な働きをする。線虫のインスリン受容体ホモログは選択的スプライシングにより 2 種のアイソフォーム（DAF-2a 及び DAF-2c）が作られ，これらは ASER 神経の細胞体と軸索に異なる局在を示す。主に細胞体に局在する DAF-2a は遺伝子発現制御により飢餓の情報伝達に関わる。一方，DAF-2c アイソフォームは軸索へと輸送され，シナプス伝達を介して学習行動を制御することが示唆されている。現在，DAF-2c 経路が学習時にシナプス伝達を調節する分子機構を，リン酸化プロテオーム解析などを用いて明らかにしようとしている。

（11）海馬におけるアンサンブル反響活動による連合記憶の制御

野本真順，井ノ口　馨
（富山大学 学術研究部 医学系 生化学講座，富山大学 アイドリング脳科学研究センター (RCIBS) ）

一般的には，海馬は場所（文脈: context）を条件刺激（CS）とした恐怖文脈条件づけ記憶（contextual fear memory）には重要であるが，音や光（cue）を CS とした恐怖手がかり条件づけ記憶（cued fear memory）には重要でないとされている。一方，健忘症患者の研究より，cued fear memory の CS-US 間の叙述的連合には海馬，反射的連合には扁桃体がそれぞれ重要であり，CS-US 情報が海馬と扁桃体で二重処理されることが示唆されている。しかし，海馬が cued fear memory を制御する仕組みは不明なままである。

CA3 NMDA 受容体欠損マウスは，cued fear memory の想起障害と学習時の CS，US，および想起時の CS に応答する CA1 のアンサンブルにおける学習中の反響活動とアンサンブル間の同期活動の顕著な低下を示した。さらに，この反響活動は CS が単独提示された場合でも CA3 NMDA 受容体依存的に生じた。また，学習時の反響活動が生じるタイミングで CA3 活性を光抑制すると cued fear memory の想起障害が生じた。

我々の発見は，海馬における CA3 依存的アンサンブル反響活動が cued fear memory の制御に重要であり，海馬はエピソード記憶制御における従来の見解よりも，一般的に機能することを示唆するとともに，反響ネットワーク仮説を支持している。

（12）神経活動パターン依存的な嗅覚回路の形成機構

竹内春樹（東京大学大学院薬学系研究科）

高等動物の神経回路は，遺伝的プログラムに加えて，臨界期に生じる神経活動に依存した回路の精緻化を経て完成される。「三つ子の魂百まで」という格言にあるように，発達期における神経細胞の適切な活動とそれに伴う回路の成熟は，その後の我々の高度な行動・機能発現に極めて重要な役割を果たす。この活動に依存した回路形成を説明するモデルとしてヘブ則が知られているが，これはシナプス前細胞と後細胞との同期的活動（“Neurons that fire together wire together.”）に伴うシナプス結合の可塑的な変化を前提としている。しかし，嗅覚系における神経活動依存的な糸球体形成機構はシナプス形成前に起こる現象であり，シナプス後細胞が欠損した場合でも観察される。従って，嗅覚系の回路形成機構には既存のモデルが適用出来ず，異なる機構が存在すると考えられる。ここでは，光遺伝学による神経活動の記録と操作を通じて明らかになった嗅覚系における神経活動依存的な回路形成の機構を紹介する。

（13）予測依存的な感覚情報処理の調節

古舘昌平（Sainsbury Wellcome Centre for Neural Circuits and Behaviour – UCL）

我々は，感覚器が毎瞬受容する膨大な入力を脳で処理し，周辺の状況や自らの状態を把握する。この際，感覚入力は逐一内的モデル，所謂『予測』と照合され，その一致度によって，感覚入力の情報処理が瞬時に調節されると考えられている。このような能動的で柔軟な過程により，予期せぬ（即ち個体にとって新奇の情報を含む有益な）感覚入力を検出し重点的に処理することが可能になる。しかしながら Ⅰ）感覚情報処理の予測依存的な調節とは，そもそも具体的にどのような神経活動の変化なのか？また Ⅱ）それは如何なる回路メカニズムによって実行されるのか？は不明であった。

本研究では，virtual reality 空間で行動するマウスにおいて，大脳新皮質一次視覚野の神経活動が予測依存的にどう変化するかを，Ca^{2+} イメージングにより検討した。その結果，ⅰ）視覚刺激が予測と反する場合，提示された視覚刺激に対して高い選択性を示す一部の細胞の神経活動が，極めて強く促進された。つまり，刺激の視覚的特徴が，まさに鮮明に脳内表象されることが分かった。更に ⅱ）この選択的な促進は，大脳新皮質の vasoactive intestinal peptide (VIP) 陽性抑制性神経細胞と，高次視床核 pulvinar の協調的な働きを介して実行されることが分かった。以上，本研究より，予測に基づき感覚情報処理が柔軟に調節される仕組みの一端が，初めて明らかになった。

23. 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

2021 年 9 月 12 日－9 月 13 日

代表・世話人：諸隈誠一（九州大学大学院 医学研究院 保健学部門）
所内対応者：鳴島　円（生理学研究所･生体恒常性発達研究部門）

（1）ヒト胎児の行動と発達

諸隈誠一（九州大学大学院 医学研究院 保健学部門）

（2）種を超えて保存される初期胎動性活動について

荒田晶子（兵庫医科大学 生理学 生体機能門）

（3）生物的運動の発達：胚の自発運動はヒヨコのふ化後の社会的選好性の発達にとって必要でも十分でもない

松島俊也（北海道大学 理学研究院 生物科学）

（4）大脳サブプレートと運動発達

多賀厳太郎（東京大学大学院 教育学研究科）

（5）サブプレートニューロンの大脳新皮質形成における役割

丸山千秋（東京都医学総合研究所 脳神経回路形成プロジェクト）

（6）発達初期の自発運動が引き起こす神経活動とその役割

金沢星慶（東京大学大学院 情報理工学系研究科 知能機械情報学専攻）

（7）ホログラフィック顕微鏡による脳神経回路の操作および生物応用

和氣弘明（名古屋大学大学院 医学系研究科 分子細胞学）

（8）オレキシン神経活動によるレム睡眠と脱力発作の調節

山中章弘（名古屋大学 環境医学研究所）

（9）情動-自律応答連関の解明を目指す自由行動マウス実験系の開発

山下　哲（鹿児島大学大学院 医歯学総合研究科 統合分子生理学）

(10) 脳機能発現において迷走神経が伝達する内受容感覚の意義の考察

佐々木拓哉（東北大学大学院 薬学研究科）

(11) 予期抑制に関わる視床-皮質回路

村山正宜（理化学研究所 脳神経科学研究センター）

【参加者名】

諸隈誠一（九州大学），松澤奈々（クリフム出生前診断クリニック），松島俊也（北海道大学･理学研究院･生物科学部門），夫　律子（クリフム出生前診断クリニック），佐々木拓哉（東北大学大学院薬学研究科），多賀厳太郎（東京大学大学院教育学研究科），山下　哲（鹿児島大学大学院医歯学総合研究科統合分子生理学分野），山中章弘（名古屋大学環境医学研究所），金沢星慶（東京大学情報理工学系研究科），中原一成（九州大学大学院医学研究院生殖病態生理学），菊地君与（九州大学），和氣弘明（名古屋大学大学院医学研究科），杉田祐輔（東京理科大学），出水小春（東京大学），吉村由美子（自然科学研究機構生理学研究所），堀内　浩（自然科学研究機構生理学研究所），金　叢芸（生理学研究所生体恒常性発達研究部門），高橋泰伽（生理学研究所バイオフォトニクス研究部門），榎木亮介（生理学研究所/生命創成探究センター），竹田育子（名古屋大学大学院医学系研究科分子細胞学），儀間裕貴（東京都立大学），上之薗知邑（鹿児島大学），宮本英城（愛徳医療福祉センター），花嶋かりな（早稲田大学），鈴木菜穂（徳島大学大学院創成科学研究科），鍋倉淳一（生理学研究所），廣　蒼太（生理学研究所），白坂みさの（早稲田大学），小倉有紀子（東京大学情報理工学系研究科），米田泰輔（生理学研究所），荒田晶子（兵庫医科大学生理学･生体機能部門），北城圭一（生理学研究所神経ダイ

ナミクス研究部門），畑中伸彦（生理学研究所），村山正宜（理化学研究所脳神経科学研究チーム），二宮太平（生理学研究所），丸山千秋（公益財団法人東京都医学総合研究所），纐纈大輔（生理学研究所），鳴島　円（生理学研究所生体恒常性発達研究部門），守屋敬子（（公財）東京都医学総合研究所），阿知波ひとみ（東京都医学総合研究所），宋　祥赫（東京都医学総合研究所），和田京介（東京都医学総合研究所）

【概要】

胎児は妊娠初期より活発に運動する。また，感覚器のなかで触覚が妊娠初期より機能開始し，妊娠中期までは主たる感覚器である。すなわち胎児期に得られる多くの環境フィードバックは，胎児の自発運動によって子宮壁や自身の体を触ることから得られる触覚情報である。また，胎児は，睡眠の多くをレム睡眠が占め，生後３か月までは成人と異なりレム睡眠中に体を動かす。以上は，胎児・新生児期に運動が果たす役割が大きいことの傍証と考えられる。

胎児が運動しながら発達する意義は，自発運動によって得られる体性感覚，循環，呼吸，代謝系の変化を入力し，経験依存の調整を行うことにあると推察される。しかしながら，胎児期の運動の役割については解明が進んでいない。

ところで，自閉スペクトラム症を含む神経発達障害（NDD; neurodevelopmental disorders）の合併症は多様で，心拍のゆらぎの低下など自律神経系の問題，睡眠覚醒障害，感覚の特殊さ（感覚過敏・鈍麻），糖代謝などの内分泌・代謝の問題，消化管の機能異常，筋骨格の異常，前庭機能異常，協調運動の障害（不器用さなど），意識・無意識の切り替えの問題（嚥下障害など）等が知られている。しかしながら，これら多様な症状の包括的な理解は進んでいない。

一方，胎児発育不全は NDD のリスク因子であることが疫学的に示されている。胎児発育不全は，自発運動が減少し，全身性の運動のみではなく，呼吸運動や心拍パターンも変化することが知られている。しかしながら，NDD に至る過程は示されていない。

以上の問題を解決するために，本研究会では生理学等の基礎研究，臨床医学，シミュレーションや数理科学の研究者が共同して，運動が発達初期の神経回路形成に果たす役割を明らかにするとともに，環境要因などの発達に影響を与える因子に対する予防策を検討することを目的とする。

（1）ヒト胎児の行動と発達

諸隈誠一（九州大学大学院 医学研究院 保健学部門）

ヒト胎児の全身運動は妊娠 7 週よりはじまり，眼球運動は妊娠 14 週頃に観察可能となる。はじめは頻度が少なく散発的であるが，妊娠の進行に従い次第に頻度が増加するとともに，周期性がみられるようになる。眼球運動が頻発する「眼球運動期」と，逆に眼球運動がみられない「無眼球運動期」が交互に出現するようになるのは妊娠 29-31 週頃である。眼球運動期・無眼球運動期はレム/ノンレム睡眠の原形と言われている。

また，産婦人科の臨床現場では，胎児の健常性を胎児心拍数パターンにより評価している。胎児心拍数パターンが異常の場合は，低酸素，酸血症を呈している場合が多いとされる。しかしながら，実際に異常を認め，胎児機能不全と診断された場合においても，出生後は元気である症例，すなわち偽陽性が多く，偽陽性による帝王切開分娩の増加が問題視されている。

近年増加している発達障害では，レム/ノンレム睡眠の異常が指摘されており，レム睡眠中の眼球運動の低下（レム活動性の低下）とノンレム睡眠の短縮が知られている。また，心拍ゆらぎの低下，刺激に対する反応性の亢進も指摘されている。

レム/ノンレム睡眠の起源は胎児期にあり，胎児機能不全の偽陽性例は分娩ストレスに対して過剰に反応していると仮定すると，発達障害にみられる問題は，すでに胎児期にはじまっている可能性がある。

以上の内容をふまえ，胎児期の行動と生後の発達との関連について，ヒトの疫学研究，観察研究の結果を紹介する。

（2）種を超えて保存される初期胎動性活動について

荒田晶子（兵庫医科大学 生理学･生体機能部門）

胎動は，胎児の発育と生存率に大きな影響を及ぼし，感染症による胎動異常は，発達障害や自閉症リスクの増大が示唆されている。ヒト胎動は，妊娠初期には全身運動が発現し，その後，反射運動が発現すると言われている。我々は，15〜21 日齢のラット胎児において，初期に全身運動，続けて反射運動という 2 種類の胎動が発現すること，炎症性物質 poly:IC により異常な胎動が出現し，胎動が変化することを見出している。さらに，ゼブラフィッシュにも，ヒトや齧歯類の胎動に似たコイリングと呼ばれる初期運動が存在し，このコイリングを抑制した時の行動を解析した。コイリングの開始は排卵後 16〜18 時間で持続時間は 6 時間であるので，このコイリングステージを麻酔薬 MS-222 で全期間，前半部，後半部に分けて抑制し，孵化したゼブラフィッシュの尾を刺激し，水泳速度を観察した。後半 3 時間のコイリング抑制グループは他と比べて著しく遅い水泳速度を示し，コイリング抑制されたゼブラフィッシュは，刺激に対する反応が低く，寿命が短くなった。ゼブラフィッシュでは，コイリング抑制により発達中の運動機能と刺激の反応（感覚反応）の両方が悪化することが示唆された。これらの結果は，胎動が発達において重要な役割を果たす事を示唆する。初期胎動は種を超えて保存されており，胎動を指標とした研究は，神経回路の発達や発達障害を解明する重要なツールとなりうる。

（3）生物的運動の発達：胚の自発運動はヒヨコのふ化後の社会的選好性の発達にとって必要でも十分でもない

松島俊也（北海道大学･理学研究院･生物科学）

孵卵開始から約 10 日でニワトリの胚は殻の中で活発な自発運動を始める。21 日目で孵化したヒヨコは，生物的運動（Biological Motion，BM）を備える視覚対象に選好性を示す（Vallortigara et al. 2005）。しかしこの選好性は弱く，孵化後の非特異的な刷り込みを経て強化される（Miura et al. 2012）。強化された BM 選好性はヒヨコの視覚的注意を水路化（canalisation）し，母鳥などの動物へ刷り込み対象を絞り込む（Miura et al. 2016, 2020）。ヒトでも近年 ASD の家族性リスクを持つ新生児の BM 選好性は低いことが報告された（Di Giorgio et al. 2015）。本研究では ASD のモデル動物としてヒヨコに着目し，発生後期（14 日齢以後）の BM 選好性の発生機構を調べた。

E14 の VPA 投与は自発運動を抑制し，孵化後の雛は正常な BM 選好性を示したものの記憶形成は抑えられた。ケタミン投与も自発運動を抑制したが，逆に BM 選好性を阻害し記憶形成は正常だった。MK801 投与は自発運動を抑制したが BM 選好性も記憶形成も共に阻害しなかった。よって胚の自発運動は NMDA 受容体に依存するが，BM 選好性にも刷り込みにも関わらない。

ツボクラリンによって E14 胚を不動化したところ，雛の BM 選好性を抑制したが記憶形成は損なわれなかった。しかし同様に選択的な BM 選好性の抑制は，bicuculline, nipecotic acid さらに bumetanide の E14 投与でも生じた。初期視覚系の nAChR-NKCC1-GABAAR のカスケードの関与が示唆される。

本研究は科研費（国際共同研究強化 B，19KK0211）により，Giorgio Vallortigara（トレント大学 CIMeC）および本間光一（帝京大学薬学部）との共同研究として実施した。

（4）大脳サブプレートと運動発達

多賀厳太郎（東京大学大学院 教育学研究科）

ヒトで最初に出現する運動は，受胎後 8 週ごろから生じる自発運動である。自発運動は，出生後も頻繁に観察されるが，生後 3 ヶ月ごろから意図的な運動が出現するのにともなって消失していく。一方，ヒトの大脳における最初の自発活動は，サブプレートで生成される。サブプレートは，皮質の発達や視床皮質経路の形成に関わったのち，胎児期後半から乳児期初期にかけて縮退していく。このように，自発運動とサブプレートの自発活動は，ともに胎児期の主要な活動であり，乳児期に消失していくという興味深い共通点を持っている。ここではさらに，自発運動とサブプレートの間には密接な関係があるという仮説を提示する。その手がかりとして，cine MRI による胎動の計測，乳児の自発運動や環境との相互作用による意図的運動の出現に関わる運動・行動計測とモデル研究，胎児期の脳の構造形成やネットワーク形成，早産児や乳児の脳波・脳イメージング研究等を紹介する。サブプレートにおける自発活動と大域的なネットワーク形成が，自発活動に基づく環境への働きかけの志向性を表出し，環境の知覚や行動の意図を生成する大脳皮質の発達の基盤を与えるメカニズムを議論する。

（5）サブプレートニューロンの大脳新皮質形成における役割

丸山千秋（東京都医学総合研究所･脳神経回路形成プロジェクト）

胎児期の脳発達過程では，限られた時間内に膨大数のニューロンが正確に配置され，効率よく 6 層構造が形成される。その際，移動モード変換の促進にサブプレートニューロン（SpN）の神経活動が重要な働きをしていることを我々はこれまでに見出してきた。SpN は大脳皮質で最初期に誕生し，成熟するニューロンで，生後はその大部分が細胞死により消失することが知られている。

また，生後残存する SpN の数が多いことと自閉症，統合失調症発症との間に相関があるとの報告もある。さらには生後も残存する SpN は睡眠や意識レベルの制御に関与している可能性も示唆されている。したがって SpN は胎児脳発達期から成体脳機能に至るまで，様々な役割をこなしているが，そのサブタイプの詳細は不明なままである。そこで，我々はサブタイプごとの役割分担や発生起源，細胞死の起こりやすさの違い等を明らかにする目的で，SpN のシングルセル解析，及び，胎児期の異なる発生ステージにおける空間的トランスクリプトーム解析を行なった。両データから，発現場所の情報も合わせて胎生期 SpN の新規マーカー候補を同定した。本研究は将来的に，SpN の細胞死を抑制した場合に，神経活動や回路形成にどのような影響があるかについて解析し，精神疾患と SpN の関連性を考察する上で有用な情報となり得る。

（6）発達初期の自発運動が引き起こす神経活動とその役割

金沢星慶（東京大学大学院 情報理工学系研究科 知能機械情報学専攻）

発達期の脳・脊髄神経系にみられる時間的・空間的パターンを持った自発発火は，神経回路形成に重要な役割を担っていることが知られている．この神経細胞の自発発火は外部入力を遮断した場合でも生じることを特徴とする一方で，感覚入力をはじめとする外界からの刺激によって活動パターンや回路形成が大きく変容する特徴を持つことから，環境適応に繋がる自己調整が行われていると考えられている．そのような神経

細胞の自発活動に関する知見が主に神経生理学的研究によって明らかになると同時に，発達初期の自発運動時に生じる神経活動に関する報告も増えてきている．自発運動時に生じる神経活動は運動出力を生成するだけでなく，運動で生じた感覚入力をも生成することから，身体的特徴や環境との相互作用を反映した感覚運動情報構造を形作ると考えられる．ここでは，自発運動によって生じる神経活動がどのような形で発達に寄与するのか？を議論するため，主に筋骨格系の固有感覚入力および骨格筋活動出力に注目し，①脳-身体-環境の統合的シミュレーション，②実際の新生児・乳児に生じている感覚-運動入出力の推定，③シミュレーションと実データの融合について紹介する．

（7）ホログラフィック顕微鏡による脳神経回路の操作および生物応用

和氣弘明（名古屋大学大学院 医学系研究科 分子細胞学）

学習・記憶・情動などの高次脳機能は複数の脳領域における個々の神経細胞が時空間的に整然とした活動を奏で，叙述的な神経細胞集団活動（＝神経回路活動）を創出することで効率的に発現する。私たちはこれまで，生体イメージングを用いて，高次脳機能に必要とされる神経・グリア細胞の構造・機能を可視化し研究を行ってきた。その中で例えば，グリア細胞のシナプス・血液脳関門に対する生理的・病理的制御機構について明らかにし，これらの神経回路活動に対する寄与を抽出してきた。さらに，このような神経・グリア回路活動を再生するために新しくホログラフィック顕微鏡構築し，研究を進めている。今回はこのような光技術を用いた最新の知見について議論したい。

（8）オレキシン神経活動によるレム睡眠と脱力発作の調節

山中章弘（名古屋大学 環境医学研究所）

睡眠障害「ナルコレプシー」は，日中の耐えがたい眠気，情動脱力発作を特徴としており，視床下部のオレキシン神経が，免疫細胞に攻撃されて特異的に脱落することによって発症する。情動脱力発作は，嬉しい，笑うなどポジティブな感情によって発動し，抗重力筋が脱力して姿勢を維持出来なくなる症状である。オレキシンを欠損させた，ナルコレプシーモデルマウスにおいても，情動脱力発作が観察されるが，チョコレートをマウスに与えることで，情動脱力発作の回数が増加することが報告されているなど，マウスにおいても恐らく喜びの感情によって情動脱力発作が引き起こされている。そこで，独自に作成したナルコレプシーモデルマウス（Orexin-Flippase マウス）において，オレキシンを産生しないオレキシン神経の活動をカルシウムイメージングで記録するために，カルシウムインジケーターの GCaMP6 をアデノ随伴ウイルスベクターを用いてオレキシン神経に発現させ，情動脱力発作時の神経活動を記録したところ，情動脱力発作時に活動が低下することを見いだした。これは，情動脱力発作時に，オレキシン神経が強い抑制性入力を受けることを示している。そこで，狂犬病ウイルスベクターを用いたオレキシン神経に入力する神経の解析によって，一次入力神経を解析することによって，脱力発作の発動に関わる神経回路の同定とその動作原理の解明に繋げる。

（9）情動-自律応答連関の解明を目指す自由行動マウス実験系の開発

山下　哲（鹿児島大学大学院 医歯学総合研究科･統合分子生理学）

情動に変化が生じると，それに応じた生理反応として心拍数・血圧の変化，瞳孔反応など情動性自律反応とよばれる現象が引き起こされる。特に恐怖やストレスなど嫌悪情動が生じた際の心拍数上昇などを伴う防衛反応（闘争・逃走反応）には，視床下部オレキシン神経系が重要な役割を果たしていることが知られている。我々はファイバーフォトメトリーシステムを用いて，マウスのオレキシン神経活動と心拍数を自由行動下において同時記録することで，この役割を詳しく検証した。嫌悪情動変化に伴う自律神経反応とオレキシン神経活動の時間的な関係性について解析した結果，心拍数が上昇する直前にオレキシン神経活動が急激に増加していることが明らかとなった。また恐怖条件付け実験により，嫌悪刺激の記憶はオレキシン神経を活性化し，その直後に心拍数も増加させることがわかった。これらの結果は，オレキシン神経が嫌悪情動と自律神経系の防御反応を結びつける重要な要素である可能性を示唆している。では逆に，自律神経活動は情動へ直接影響を与えているのだろうか。これを調べるために現在我々は新たな実験系の開発を行っている。本発表では，上記の神経活動記録技術やチャネルロドプシンによる光操作技術を駆使した，情動と自律神経活動の相互関係を明らかにするための *in vivo* 実験系について紹介したい。

（10）脳機能発現において迷走神経が伝達する内受容感覚の意義の考察

佐々木拓哉（東北大学大学院 薬学研究科）

脳は，内臓の生理状態の感覚（内受容感覚）を常にモニターし，恒常性維持や高次な情報処理を司る。この感覚に重要な役割を担うのが，迷走神経である。迷走神経と言うと，遠心性の副交感神経ばかりが注目されてきたが，実際には求心性の神経のほうが，迷走神経全体の 75-90 % を占めており，緻密かつ複雑な神経回路網を形成して，各臓器を支配している。近年では，迷走神経刺激が，抵抗性鬱病の治療に著効を示すことや，腸内の環境悪化が情動制御障害を誘発することなど，迷走神経と脳機能の関連が報告されている。これらの報告は，迷走神経を介した内受容感覚が，脳活動に対して重要な影響を及ぼすことを示唆しているが，その詳細な生理機構は未解明である。最近，我々は脳の神経活動に加えて，迷走神経や末梢臓器の生体電気信号を網羅的に計測する方法を開発しており，このような生理学的課題に少しずつアプローチできるようになってきた。本発表では迷走神経活動が，前頭前皮質や扁桃体などの情動回路の神経活動リズムに及ぼす影響や，精神疾患モデルにおける変容，治療の可能性について最近のデータを提示する。さらにこのような知見が，迷走神経が担う内受容感覚の共通原理によって，どのように説明されるか議論する。

（11）予期抑制に関わる視床-皮質回路

村山正宜（理化学研究所 脳神経科学研究センター）

Statistical predictability of a stimulus sequence leads to learned expectations and facilitates the subsequent sensory processing of the predicted inputs. Previous experimental and theoretical studies have suggested that expectation sharpens cortical representations by suppressing stimulus-evoked neural activity. This phenomenon, termed "expectation suppression", can be distinguished from repetition-suppression and adaptation effects based on its temporal properties. Expectation suppression

is considered to be an experimental signature of predictive coding. Although expectation suppression has been reported in multiple cortical regions across species ranging from mice to humans, its underlying circuit mechanisms have not yet been elucidated. Here, we explored the neural circuits underlying expectation suppression of tactile responses in the forepaw primary somatosensory cortex（fpS1) of mice. Statistically predictable stimuli（i.e., repetitive stimulation to a forepaw with fixed intervals) lead to suppression of sensory responses in fpS1. We identified a non-primary thalamus whose axons projected to superficial layers of fpS1. Activity in this area of the thalamus was facilitated by the predictable stimulus, but not by unpredictable（i.e., stimulation with random intervals). In contrast, evoked activities in the ventral posterolateral nucleus（VPL), the primary sensory thalamus, were the same for both predictable and unpredictable sensory stimuli. Optogenetic inactivation of terminals from the non-primary thalamus in fpS1 attenuated expectation-based cortical suppression. Based on these findings, we hypothesize that cortical expectation suppression is mediated by increased activity of cortical inhibitory neurons driven by inputs from non-primary thalamus evoked by stimuli. We discuss these findings as well as additional details of circuit mechanisms for expectation suppression in the cortex.

24. 多様な視点から情動を捉え直す

2020 年 9 月 15 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）ストレスによる不安関連行動を制御する新たな神経回路

笠井淳司（大阪大学大学院 薬学研究科）

（2）迷走神経を介した内受容感覚の情動への影響

佐々木拓哉（東北大学大学院薬学研究科）

（3）恐怖記憶を支える海馬・扁桃体・前頭前野のセル・アセンブリ同期活動

水関健司（大阪市立大学大学院 医学研究科）

（4）側坐核における報酬・忌避の神経機構

疋田貴俊（大阪大学 蛋白質研究所）

（5）物質依存に対する Key 分子の発見

新田淳美（富山大学 薬学・和漢系）

（6）行動依存症の情動機能の特徴

後藤幸織（京都大学 霊長類研究所）

（7）多様な快情動とそのメカニズム

池田和隆（東京都医学総合研究所）

（8）ケタミンの即効性抗うつ作用を担う神経回路基盤

篠原亮太（神戸大学大学院 医学研究科）

（9）仔マウスへの行動選択に影響する内側視索前野への入力シナプスの解析

天野大樹（北海道大学大学院 薬学研究院）

(10) 攻撃性の個体差に免疫系が及ぼす影響

高橋阿貴（筑波大学 人間系）

(11) The Fear Circuit Revisited: Contributions of the amygdala-midbrain di-synaptic pathway to conditioned fear.
温故知新 ~古くて新しい恐怖回路~

萩原賢太（Friedrich Miescher Institute / University of Basel）

【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），篠田　陽（東京薬科大学），南井まり佳（東京大学大学院総合文化研究科広域科学専攻），岩田　萌（名古屋大学創薬科学研究科細胞薬効解析学研究室），揚妻正和（生理学研究所），池田和隆（公益財団法人東京都医学総合研究所），篠原亮太（神戸大学大学院医学研究科薬理学分野），佐々木拓哉（東北大学大学院薬学研究科），笠井淳司（大阪大学大学院薬学研究科），勢力　薫（大阪大学薬学研究科），水関健司（大阪市立大学大学院医学研究科），後藤幸織（京都大学霊長類研究所），高橋阿貴（筑波大学人間系），萩原賢太（Friedrich Miescher Institute），天野大樹（北海道大学大学院薬学研究院），古屋敷智之（神戸大学大学院医学研究科），松尾直毅（九州大学大学院理学研究院），新田淳美（国立大学法人富山大学学術研究部薬学･和漢系･薬物治療学研究室），春日優佑（理化学研究所脳神経科学研究センター），疋田貴俊（大阪大学蛋白質研究所），泉尾直孝（富山大学学術研究部薬学･和漢系薬物治療学），人羅（今村）菜津子（熊本大学大学院生命科学研究部），齊藤　実（東京都医学総合研究所），中井彩加（国際統合睡眠医科学研究機構），小林暁吾（九州大学），岩城　拓（JST），林

悠（国立大学法人京都大学），渡部文子（東京慈恵会医科大学），野村憲吾（京都府立医科大学細胞生理学），山田大輔（東京理科大学薬学部），村田裕夢（名古屋大学大学院医学系研究科），上田修平（名古屋大学環境医学研究所），高橋泰伽（生理学研究所バイオフォトニクス研究部門），鳥越万紀夫（国立研究開発法人理化学研究所脳神経科学研究センター意思決定回路動態研究チーム），遠山　卓（東京慈恵会医科大学），設樂久志（三重大学大学院医学系研究科生化学講座），實木　亨（三重大学医学部），中島健一朗（生理学研究所），堀内　浩（自然科学研究機構生理学研究所），榎木亮介（生理学研究所/生命創成探究センター），浅岡由衣（京都大学霊長類研究所），竹田育子（名古屋大学大学院医学系研究科分子細胞学），金　叢芸（生理学研究所），植田大海（生理学研究所），竹本さやか（名古屋大学環境医学研究所），鍋倉淳一（生理学研究所），上原優子（生理学研究所 生殖･内分泌系発達機構研究部門），吉村由美子（自然科学研究機構生理学研究所），三島　零（神戸大学大学院医学研究科薬理学分野），谷口将之（神戸大学大学院医学研究科薬理学分野），永井裕崇（神戸大学），荒巻知子（大阪市立大学医学部神経生理学），山肩葉子（自然科学研究機構生理学研究所），佐野裕美（生理学研究所･生体システム研究部門），小澤貴明（大阪大学蛋白質研究所），日永田智絵（奈良先端科学技術大学院大学），本岡弓佳（神戸大学大学院医学系研究科薬理学分野），苅郷友美（カルフォルニア工科大学），鳴島　円（生理学研究所生体恒常性発達研究部門），諸隈誠一（九州大学），宮下知之（東京都医学総合研究所学習記憶プロジェクト），八代　海（筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構）

【概要】

脳科学，医学・生物学，心理学などの多様な領域の研究者が，「情動」という視点から各自の研究を見直し，研究成果発表と討論を行うことにより，「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探ることを目的として研究会「多様な視点から情動を捉え直す」を企画・開催した。不安，恐怖，嫌悪，抑うつなどの情動・気分に関する研究だけでなく，侵入者や仔マウスに対する攻撃性（易怒性）や，薬物依存，インターネットやゲームなどに対する行動嗜癖などに関する研究も加えた，幅広い研究テーマに関して，そのメカニズムに関する最新の研究成果 11 件が発表され，いずれの発表においても活発な質疑応答・討論がなされた。それにより，情動を多様な視点から捉え直し，その作動原理の理解を深めることができた。

（1）ストレスによる不安関連行動を制御する新たな神経回路

笠井淳司（大阪大学大学院 薬学研究科）

精神的なストレスは，不安亢進など負の情動の変化を引き起こす。このストレスによる不安関連行動の制御メカニズムを明らかにするため，講演者らは，精神的なストレス負荷マウスの脳全体の活性化神経細胞のマッピングと機械学習を組み合わせた仮説フリーな解析を行った。その結果，微小な神経核である前障がストレス負荷脳の特徴であることを見出し，ストレスに応答する細胞集団の特異的な活動操作によりストレス後の不安応答に前障の神経細胞が重要であることを明らかにした。また，逆行性ウイルスベクターによる脳全体のストレス応答性神経細胞の分布解析を実施し，前障には両側の扁桃体基底外側核のストレス応答性神経細胞からの入力が多いこと，扁桃体基底外側核―前障回路を特異的に光遺伝学的に活性化させると不安関連行動が惹起されることも示した。さらに，行動試験中のマウス前障のカルシウムイメージングを実施し，不安関連行動の直後に一部の特定の前障神経細胞の活動が亢進することを見出した。本講演では，不安関連行動に関わる前障の神経活動についての最新の知見が紹介され，情動制御の神経メカニズムについて議論がなされた。

（2）迷走神経を介した内受容感覚の情動への影響

佐々木拓哉（東北大学大学院 薬学研究科）

求心性の迷走神経は，迷走神経全体の75－90%を占め，各臓器からの局所情報（内受容感覚）を脳の選択的領域へ高速に伝達する。近年，様々な研究分野において，迷走神経と情動の関連が報告されつつある。例えば，迷走神経の電気刺激が，抵抗性うつ病などの治療に著効を示すことや，迷走神経障害や腸内環境の悪化が，不安など情動制御障害を誘発する等の知見が挙げられる。これらの報告は，末梢由来の迷走神経を介した情報伝達が，脳活動に対して重要な影響を及ぼすことを示唆するが，その詳細な生理機構は未解明である。講演者らは，マウスの多数の脳領域，呼吸リズム，迷走神経の活動電位に加え，心電図や筋電図を同時に計測する技術，求心性迷走神経を選択的に光操作する技術を確立し，迷走神経活動が脳活動にどのような影響を及ぼすか調べてきた。その結果，情動行動や社会性行動時に迷走神経の活動頻度が一過的に増大し，特に前頭前皮質や扁桃体の脳波の特定周波数帯のパワー変動と強く相関することが示された。こうした正常な生理活動は，社会的敗北ストレスの負荷により変化した。これらの知見は，迷走神経を介した内受容感覚が情動を司る脳活動に重要な影響を及ぼすことを示唆している。本講演では，これらの研究成果発表に対する質疑応答に加え，今後どのような研究手法が必要か，また，得られた実験的知見をどのような統合的な理論で捉えればよいかについて議論がなされた。

（3）恐怖記憶を支える海馬・扁桃体・前頭前野のセル・アセンブリ同期活動

水関健司（大阪市立大学大学院 医学研究科）

恐怖記憶の形成と消去には，海馬・扁桃体・前頭前野などの領域の神経細胞の集団（セル・アセンブリ）の活動が関わることが明らかとなってきた。各脳領域のセル・アセンブリは単独で働くのではなく，領域横断的に相互作用をして記憶という現象を生み出していると考えられる。しかし，セル・アセンブリが領域をまたいでどのように相互作用して恐怖記憶の獲得・固定・想起・消去の一連の過程に関わるのかはよく分かっていない。講演者らは，多脳領域同時・大規模電気生理学計測を使って，恐怖記憶の形成前から消去後まで連続して，海馬・扁桃体・前頭前野からそれぞれ約 100 個の神経細胞の活動を記録した。こうして得られたデータを数理的に解析し，恐怖記憶の獲得・固定・想起・消去の基盤となるセル・アセンブリの時間的・空間的ダイナミクスを明らかにすることを目指している。これまでの研究成果で，恐怖条件付け学習後の睡眠時に海馬のリップル波，扁桃体の高周波数オシレーションに伴って，海馬―前頭前野，扁桃体―前頭前野の間でセル・アセンブリが同期活動していることが示唆されている。本講演では，セル・アセンブリ同時活動の際に海馬から前頭前野，扁桃体から前頭前野へ情報が伝達されて記憶が固定されるという仮説が紹介され，質疑応答と議論がなされた。

（4）側坐核における報酬・忌避の神経機構

疋田貴俊，マクファーソン トム，西岡忠昭（大阪大学 蛋白質研究所）

ヒトや動物は周囲の情報をもとに報酬・忌避行動を選択する。これまでに特定神経回路操作により側坐核の直接路を構成する D1 ドーパミン受容体発現神経細胞が報酬行動に，間接路を構成する D2 ドーパミン受容体

発現神経細胞が忌避行動に重要であることが示されている。しかしながら，最近の報告でより複雑な神経回路機構が明らかになってきており，詳細な機能解析が必要である。講演者らは，側坐核の D1/D2 ドーパミン受容体発現神経細胞のそれぞれに特異的にカルシウムインジケーターを発現させ，脳内顕微鏡により一細胞レベルの神経活動記録を行った。本講演では，報酬とそれを予測させる音刺激あるいはエアパフとそれを予測させる音刺激に対する神経活動に関する計測データ，さらに，報酬と結びつかない選択肢を回避する戦略を要する報酬学習課題における側坐核の一細胞レベルの神経活動の計測データが示され，側坐核における報酬・忌避の神経機構について議論がなされた。

（5）物質依存に対する Key 分子の発見

新田淳美（富山大学 薬学･和漢系）

覚醒剤依存の形成メカニズムには不明のことが多い。そのため，物質依存が精神疾病の 1 つと考えられるようになってからも，明確な予防・治療の手段がないままである。講演者らは，今までに想定されていなかった治療ターゲットを探索し，マウスへの覚醒剤連続投与によって，脳で発現量が増大する新規分子 Shati/Nat8l，Piccolo および TMEM168 を見出している。これら分子は，ドパミン遊離やトランスポーターを制御し，覚醒剤の嗜好性を変化させること，また，依存様疾患の患者では，Piccolo の一遺伝子多型があること，覚醒剤乱用患者では，SHATI/NAT8L の遺伝子の特定部位での修飾率に変化があることも見出し，マウスおよび患者において，これら分子の生理機能との関連を明らかにしてきている。さらに，興味深いことには，これらの分子は，物質依存に対して関与しているだけでなく，他の精神疾患とも関連しており，遺伝子操作を行うことで，うつ病や統合失調症のモデルマウスとしての有用性がある。本講演では，物質依存の治療ターゲットだけでなく，他の精神疾患の発症にも関与している可能性のあるこれら分子についての研究成果が報告され，“依存”を切り口とした精神疾患・情動障害の研究について議論がなされた。

（6）行動依存症の情動機能の特徴

後藤幸織（京都大学 霊長類研究所）

行動依存症は，不利益な結果になるにも関わらず，特定の行動を衝動的かつ強迫的に繰り返す障害と定義される。近年，スマートフォンやインターネットなど新しいテクノロジーに対する依存などで脚光を浴びているが，その概念は新しいものであり，十分な知見は得られていない。事実，精神疾患診断マニュアルでは，行動依存症とみなされているものの多くは，衝動制御障害として依存症とは別のカテゴリーに分類されている。講演者らは，行動依存症であると一般的に考えられているが，先行研究の乏しい窃盗症及び性嗜好障害を持つ行動依存症患者を対象に，情動機能を調査した。行動依存症患者では，質問紙を用いた自己評価による負の情動（不安，うつ，ストレス）は健常者よりも高く，また，他者による客観的な評価と血中ストレスホルモン計測による評価とも一致した。攻撃性に関する調査では，行動依存症患者は自己の攻撃性を健常者よりも高く評価する一方，心理課題を用いた黙示的な攻撃性の評価ならびに血中テストステロン計測による評価では健常者と変わらなかった。窃盗症及び性嗜好障害などの行動依存症では，負の情動に関しては，薬物依存やギャンブル依存と共通して高いことが示唆され，一方，攻撃性に関しては，薬物・行動依存症の先行研究とは異なり，攻撃性そのものの高まりは見られず，自己認識の困難が関わっていることが示唆されるとの報告があり，質疑応答と討論がなされた。

（7）多様な快情動とそのメカニズム

池田和隆（東京都医学総合研究所）

食欲，睡眠欲，性欲など欲求が満たされて快情動が発現することもあれば，ギャンブルや飲酒などで発現することもあり，快情動は様々な場面で感じられる。また，興奮するような快情動もあれば，ゆったりと満足感を覚える快情動もある。さらに，快情動を感じるために日々努力して幸せな人生を送る人もいれば，快情動を求めて生活が破綻して依存症となる人もいる。世界保健機関の定義によると，英語での Dependence は物質によって引き起こされる現象と限定されているので，ギャンブルやゲームなどにはまることは Behavioral addiction（行動嗜癖）と呼ばれる。物質依存と行動嗜癖の両者を含む概念がアディクションである。アルコール依存や覚醒剤依存などの物質依存が深刻なことはもちろんのこと，スマートフォンの普及などによりゲームにはまる人が増えるなど，行動嗜癖も医学的にも社会的にも大きな問題となっており，世界保健機関の疾病分類である ICD-11 ではゲーム障害が新たな疾患となった。本講演では，アディクションの多様性が紹介され，物質依存と行動嗜癖のメカニズムの類似点と相違点などについて，モデル動物解析結果を中心に話題提供がなされ，質疑応答と議論がなされた。

（8）ケタミンの即効性抗うつ作用を担う神経回路基盤

篠原亮太（神戸大学大学院 医学研究科）

うつ病（大うつ病性障害）は，抑うつ気分，興味の喪失，認知機能低下などの症状を特徴とし，全世界で 3 億人を超える人々が罹患している。現在の標準的に使用されている抗うつ薬は，治療効果発現までに数週間から数ヶ月を要する。さらに，患者の約 3 分の 1 は数種類の抗うつ薬を使っても効果が得られない治療抵抗性のうつ病である。これら治療効果のタイムラグと有効性の限界は，希死念慮のある患者では特に深刻であり，即効性のある抗うつ薬の開発が望まれている。ケタミンは NMDA 受容体拮抗薬であり，長らく静脈麻酔薬として使用されてきた。一方で，麻酔用量に満たない低用量ケタミンの単回投与が，治療抵抗性のうつ病患者において，迅速（投与後数時間）かつ持続的（1 週間程度）な抗うつ効果を示す。げっ歯類では，低用量ケタミンは内側前頭前皮質でグルタミン酸やドパミンを増加させ，興奮性シナプスの密度と機能を増強する。講演者らは，マウスで光遺伝学と化学遺伝学を用い，内側前頭前皮質のドパミン D1 受容体発現神経細胞の活性化がケタミンの抗うつ作用に必須であることを示した。さらに，抗うつ作用における内側前頭前皮質ドパミン D1 受容体発現神経細胞の標的脳領域として扁桃体基底外側核と分界条床核の役割を見出した。講演では，即効性抗うつ薬の神経回路レベルでの作用を中心に講演者らの最新の知見が紹介され，質疑応答と議論がなされた。

（9）仔マウスへの行動選択に影響する内側視索前野への入力シナプスの解析

天野大樹（北海道大学大学院 薬学研究院）

性成熟後の雄マウスは仔マウスに対して喰殺と呼ばれる攻撃行動を示すが，性行動および妊娠雌との同居を経験することで次第に攻撃割合は低下し，出産後にはほとんどの雄マウスが巣への連れ戻しなどの養育行動を示す。このような行動選択の変化が起こるメカニズムについては不明な点が多い。内側視索前野は養育

行動に対して中心的な役割を果たしているが，どのように内側視索前野が機能制御され，行動選択につながっているのか明らかでない。本講演では，主に GABA 作動性投射を内側視索前野に送る内側扁桃体後背部についての研究成果が紹介された。交尾未経験および交尾経験を持つマウスの内側扁桃体後背部に光感受性イオンチャネルを発現させ，内側視索前野細胞からパッチクランプ記録を行った。青色光照射によって興奮性・抑制性両方のシナプス電流が現れたが，興奮・抑制バランスが交尾経験後のマウスでは興奮側へとシフトしていた。また交尾未経験雄マウスの内側扁桃体後背部－内側視索前野経路を光遺伝学的手法により抑制した状態で仔マウスを暴露すると，攻撃行動は低下する傾向がみられた。内側扁桃体後背部－内側視索前野経路のシナプスは父親になる過程で子供に対する行動変化をもたらす重要な機能を担っている可能性が示され，質疑応答と議論がなされた。

（10）攻撃性の個体差に免疫系が及ぼす影響

高橋阿貴（筑波大学 人間系）

近年，精神疾患と免疫系の関係が徐々に明らかになってきており，統合失調症，うつ病など様々な精神疾患において免疫系の異常が報告されている。様々な精神疾患の周辺症状の 1 つに攻撃性（易怒性）があり，炎症性サイトカインの血中レベルは，攻撃性との相関が報告されている。しかしながら，免疫系がどのように神経系に作用し，攻撃行動に影響を与えるかは，ほとんど分かっていない。講演者らは，免疫系と攻撃行動の関係とその作用メカニズムを，雄マウスの攻撃行動の個体差に着目して解析を行っている。雄マウスはなわばり性の動物であるため，別の雄が侵入してきたときに攻撃により追い払おうとする（攻撃個体）。しかし，攻撃性には個体差が存在し，一部の個体は侵入者に対して全く攻撃行動を示さない（非攻撃個体）。血中のサイトカイン濃度を調べたところ，攻撃個体も非攻撃個体もともに，攻撃的出会い場面で複数のサイトカインで上昇が見られた。一方，脳内のインターロイキン 1β（IL-1β）量については，背側縫線核（DRN）において特異的に，IL-1β 量が非攻撃個体では攻撃個体よりも多かった。この DRN の IL-1β はミクログリアに由来し，セロトニンニューロンの活動を変化させることで攻撃行動に影響を与えることが示された。講演では，これらの実験からみえてきた，攻撃行動における免疫系と神経系のクロストークについて紹介がなされ，質疑応答と議論がなされた。

（11）The Fear Circuit Revisited: Contributions of the amygdala-midbrain di-synaptic pathway to conditioned fear.　温故知新 ~古くて新しい恐怖回路~

萩原賢太（Friedrich Miescher Institute / University of Basel）

恐怖学習には扁桃体亜核である扁桃体基底外側核（BLA）および扁桃体中心核（CeA）が必要であり，防御行動の表出には中脳水道周囲灰白質（PAG), とりわけ腹外側 PAG（vlPAG）が重要であることがこれまでの研究で明らかにされてきた。解剖学的な結合を元に BLA→CeA→vlPAG という情報の流れがキーであることが長年示唆されてきたが，実際に経路自体の重要性を実験的に示すことは技術的制約により難しかった。講演者らは，改変狂犬病ウィルスを用いた経路特異的な神経操作および計測技術を確立し，Di-synaptic Activity Recording und Manipulation (DARuMA) 法と名付けた。この達磨メソッドを適応することにより，後外側 BLA (BLAp) に空間的に局在するごく一部の BLA 細胞が細胞種特異的に CeA を介して vlPAG に入力を供給しており，この細胞集団の活動が恐怖学習に必要であること，また，学習依存的な特異的活動変化を示すことが明らか

となった。ヘテロな細胞集団を含む脳領域のキャラクタライズには投射細胞の投射先を限定した解析が重要であることがこれまで示されてきたが，本講演では，リッチなターゲットを持つ脳領域の精査に，直接の投射先のみならず 2 シナプス先の下流を考慮することが重要であることが報告され，質疑応答と議論がなされた。

25. 極限環境適応

2021 年 11 月 11 日－11 月 12 日

代表・世話人：金　尚宏（名古屋大学 トランスフォーマティブ生命分子研究所）
所内対応者：榎木亮介（生理学研究所/生命創成探究センター バイオフォトニクス）

（1）能動的低代謝による極限環境適応：マウスを用いた休眠研究
砂川玄志郎（理化学研究所 生命機能科学研究センター）

（2）体内時計の温度特性を担う祖先的な低温応答シグナル
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）

（3）植物の長距離・高速情報伝達を視る
豊田正嗣（埼玉大学大学院 理工学研究科）

（4）ターコイズキリフィッシュの発生休眠機構の解明
荻沼政之（大阪大学 微生物病研究所）

（5）極限環境生物クマムシはどのようにして生と死のはざまを生きるか
荒川和晴（慶應義塾大学 先端生命科学研究所）

（6）海底アーキアの生き方から考える私たち真核生物の成り立ち
井町寛之（海洋研究開発機構 超先鋭研究開発部門）

（7）動物集団による状態転移と高分解能ライトフィールド顕微鏡開発
杉　拓磨（広島大学大学院 統合生命科学研究科）

（8）女王アリの長期間にわたる精子貯蔵メカニズムの解明に向けて
後藤彩子（甲南大学 理工学部）

（9）季節や月のリズムと動物の環境適応戦略
吉村崇（名古屋大学 トランスフォーマティブ生命分子研究所）

(10) 冬眠する哺乳類が示す低温耐性
山口良文（北海道大学 低温科学研究所）

(11) 極低温環境における概日時計中枢のリズム発振
榎木亮介（生理学研究所／生命創成探究センター）

【参加者名】

井上智好（京都工芸繊維大学），廣　蒼太（生命創成探究センター／生理学研究所），高橋泰伽（生命創成探究センター／生理学研究所），上原一将（生理学研究所），長野　凌（名古屋大学），山口大輝（名古屋大学），宮入　栞（名古屋大学），中山友哉（名古屋大学），池内明香（広島大学），小林耕平（名古屋大学），伊藤彰啓（名古屋大学），祖田祐希（名古屋大学），依田真一（基礎生物学研究所），杉　拓磨（広島大学），東島眞一（基礎生物学研究所），中川颯也（宮崎大学），西田萌那（大阪大学），龜枝佑紀（大阪大学），谷本勝一（分子科学研究所），Du Qian（大阪大学微生物病研究所），張　菁圃（生理学研究所），佐々木陸（大阪大学），山下　映（基礎生物学研究所），増田雄一朗（東京大学），長澤裕太郎（生理学研究所），青木一洋（基礎生物学研究所），四宮　愛（基礎生物学研究所），丸山迪代（名古屋大学），今村隆輝（熊本高等専門学校），王　幸慈（名古屋大学），片田祐真（名古屋大学），榎木亮介（生命創成探究センター/生理学研究所），任　亮（名古屋大学），渡我部ゆき（生理学研究所），田中　冴（生命創成探究センター），加藤　愛（基礎生物学研究所），松浦光佑（名古屋大学），蓑田裕美（国立科学博物館認定サイエンスコミュニケータ・アソシエーション），松田直樹（基礎生物学研究所），谷川未来（名古屋大

学），山肩葉子（生理学研究所），藤原正幸（ヤンマーホールディングス㈱），加塩麻紀子（生理学研究所），尾納隆大（基礎生物学研究所），山口良文（北海道大学），中川　哲（北海道大学），石本太我（北海道大学），平野楓佳（名古屋大学），山内彩加林（北海道大学），中嶋悠一朗（東京大学），山﨑匡太郎（鳥取大学），根本知己（生命創成探究センター／生理学研究所），杉浦健太（群馬大学），村田和義（生命創成探究センター／生理学研究所），石井宏和（生命創成探究センター／生理学研究所），中田開人（生命創成探究センター／生理学研究所），北村美帆（名古屋大学大学院），堤　元佐（生命創成探究センター／生理学研究所），小野宏晃（理化学研究所），荒川和晴（慶應義塾大学），井町寛之（国立研究開発法人海洋研究開発機構），荻沼政之（大阪大学），後藤彩子（甲南大学），金　尚宏（名古屋大学），砂川玄志郎（理化学研究所），豊田正嗣（埼玉大学大学院），吉村　崇（名古屋大学），前多裕介（九州大学）

【概要】

地球上に生命が誕生して以来，生命はダイナミックな環境変動に適応して進化を遂げ，幾度の氷河期や気候変動などの極限環境をも乗り越えてきた。例えば生命は昼夜の明暗や温度の変化，年間を通して起きる季節変動など，環境変化を予期して行動する生物時計の仕組みを獲得し，さらに寒冷や飢餓のような生命の存続が脅かされるような極限環境では，休眠や冬眠にみられるような能動的に低体温や低代謝状態を発動して危機を乗り切る。

本研究会では，生命の極限環境への適応戦略に焦点を当て，冬眠・休眠・生物時計・体温調節・ホルモン分泌・代謝・睡眠覚醒などの恒常性メカニズムから，極限環境への適応メカニズムについて議論することを目的に開催した。

第一回目となる本研究会は，2021 年 11 月 11 日～12 日の日程でオンラインと岡崎（山手 9 F セミナー室 B）のハイブリッドで開催した。計 70 名超の参加登録があり，ハイブリッド会場には 10 名の参加があった。参加者から非常に多くの質疑応答があり，特に学生からの積極的な参加により活発な研究会となった。研究会では，哺乳類，魚類，昆虫，線虫，微生物など，多種の生物種における環境適応機構に関する講演があった。所内はもとより全国を見渡しても同様の趣旨の研究会はなく，来年度からも継続して開催して，新分野創設や共同研究の発展へと繋げて行きたい。

（1）能動的低代謝による極限環境適応：マウスを用いた休眠研究

○砂川玄志郎 [1,2]

（[1] 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，
[2] 理化学研究所 生命機能科学研究センター 網膜再生医療研究開発プロジェクト）

一部の哺乳類は冬になると自らの基礎代謝を低下させる。この能動的な低代謝・低体温状態を休眠とよび，特に数ヶ月に及ぶ休眠を冬眠とよぶ。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，体温も環境温度に近くなるが，このような極限環境に置いても何ら組織障害を伴うことなく自発的に元の状態に戻ることができる。冬眠の持つ極限環境適応は“制御された低代謝”であり，疾患によって組織が受けるダメージを回避できる可能性など，人間への応用が期待されている。しかし，冬眠のメカニズムはほとんど分かっていない。冬眠研究を困難にしている理由の一つが，実験動物として任意のタイミングで冬眠を誘導することができる動物がいないことであった。私たちは，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た（Takahashi TM, Nature, 2020）。この神経細胞群を Q 神経（Quiescence-inducing neurons：休眠誘導神経）と名付け，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する。行動解析・組織学的解析では QIH の前後で異常が見らなかった。また，QIH は同一個体でくりかえし誘導することができる。本研究に

よって，非冬眠動物に冬眠様状態を誘導できることが明らかとなり，マウスというポピュラーな実験動物にて任意のタイミングで冬眠様状態を誘導できることから，休眠研究に大きく寄与できると考えている。本研究会では，人類が冬眠できる可能性など，今後の展望について議論した。

（2）体内時計の温度特性を担う祖先的な低温応答シグナル

○金　尚宏[1,2]，王　幸慈[1,2,3]，岩本隆宏[4]，吉村　崇[1,2]，深田吉孝[5]
（[1]名古屋大学 トランスフォーマティブ生命分子研究所（ItbM），[2]名古屋大学大学院 生命農学研究科
[3]東京大学大学院 理学系研究科，[4]福岡大学 医学部，[5]東京大学大学院 医学系研究科）

約一日の生物リズムである概日リズム（circadian rhythm）は概日時計に駆動されており，動物では睡眠・覚醒リズム，アカパンカビでは胞子形成リズム，植物では葉の開閉運動リズム，シアノバクテリアでは光合成の活性リズムがよく知られている。概日リズムが多様な生物種に観察されることは，地球上の生物にとって一日の環境変化の予測が非常に重要であることを示している。概日時計は特徴的な温度特性・温度補償性を有し，様々な環境温度において，ほぼ一定の周期を刻み続ける。

真核生物における概日リズムの生成は時計遺伝子による転写・翻訳フィードバックループで説明されてきた。しかし，転写や翻訳などの生化学反応は，温度が 10 度上がると反応速度は 2-3 倍になる。そこで私たちは，概日リズムを温度補償するためには，温度変化に応じて転写ループの振動速度を調整する反応が必要であろうと考えた。哺乳類の培養細胞を用いて低分子化合物による探索を行ったところ，概日リズムの温度補償性には，Na^+/Ca^{2+} 交換輸送体（NCX）による温度応答性の細胞内 Ca^{2+} シグナリングが重要であることが分かった。詳細な解析から，NCX は温度低下に伴って Ca^{2+}/カルモジュリン依存性タンパク質キナーゼ II（CaMKII）を活性化することで，転写フィードバックループの振動速度の低下を補償（加速）することが分かった。

（3）植物の長距離・高速情報伝達を視る

○豊田正嗣[1,2,3]
（[1]埼玉大学大学院 理工学研究科
[2] Suntory Rising Stars Encouragement Program in Life Sciences (SunRiSE), Suntory
[3] Department of Botany, University of Wisconsin-Madison）

細胞内のカルシウムイオン（Ca^{2+}）は，動植物を問わず，多くの生物種においてセカンドメッセンジャーとして働いており，その細胞内濃度変化（Ca^{2+} シグナル）は，神経伝達物質の放出や筋収縮，内分泌などの様々な生理学的反応に利用されている。植物においても，Ca^{2+} シグナルは様々な環境応答に関与しており，乾燥や低温，塩害のような非生物学的ストレスや，病原菌や害虫などの生物学的ストレスの感知から応答を制御していると考えられている。

我々は，高感度かつ高輝度な蛍光タンパク質 Ca^{2+} センサーである GCaMP および広視野蛍光顕微鏡システムを用いて，モデル植物であるシロイヌナズナが害虫に捕食された時や，物理的に傷つけられた時に起こる長距離・高速 Ca^{2+} シグナルの可視化に成功した。タバコなどの他の植物種を用いた研究の結果，Ca^{2+} シグナルは，傷害や接触などの機械刺激を感知するプロセス，すなわちストレス応答の初期段階において，普遍的かつ中心的な役割を果たしていることが見えてきた。

これまで我々の Ca^{2+} シグナルの研究では，刺激直後の秒オーダーで発生する初期応答に着目してきたが，概日リズムのような時間オーダーの反応も存在するのではないかと考えられてきた。現在，このようなゆっ

くりとした植物の Ca^{2+} シグナルをイメージングするための多波長・広視野蛍光顕微鏡を構築している。本研究会では，植物の成長に連動した Ca^{2+} シグナルを可視化するための長時間・定量的 Ca^{2+} イメージングシステムについても紹介した。

（4）プログラムされた細胞内酸性化（Programmed Cell Acidification）：多細胞生物の細胞を保存，維持する新規生命現象？

○荻沼政之，西田萌那，石谷　太
（大阪大学 微生物病研究所）

生物の生命活動は一生を通じて，時間の流れに沿って不可逆的に進行する。一方で，一部の生物では生命活動の時間の流れを一時的に休止する現象「休眠」が観察される。ターコイズキリフィッシュはアフリカ原産の卵生メダカであり，短い雨季に一時的に現れる池に生息する。このような特殊な環境下に適応するために，キリフィッシュは胚発生途中で休眠状態に移行し，乾季の６ヶ月もの長期間，状態を安定に維持し，翌年の雨季に正常に胚発生を再開することができる。驚くべき事にこのような休眠を介したとしても，寿命などその後の生命活動には全く影響を与えない事が分かっており，キリフィッシュの休眠は究極の生体保存機構といえる。しかしながら，その分子機構はほとんど明らかになっていない。

我々はキリフィッシュの休眠現象を解く鍵は細胞内代謝制御にあると考え，様々な代謝経路を可視化するレポーターキリフィッシュを作製し，休眠時の代謝状態を可視化解析した。その結果，休眠時には胚の細胞内 pH が大きく酸性化することを発見し，さらに胚の細胞内 pH を人為的に酸性化させると，休眠に似た状態を誘導できることも分かった。つまり，休眠に伴う胚の自発的な細胞内酸性化が細胞内の化学環境を改変し休眠に必要な分子機構を制御する可能性を見いだした。本研究会ではこのような多細胞生物における新しい生命現象であるプログラムされた細胞内酸性化（Programmed Cellular Acidification）を紹介し，それを介した休眠制御メカニズムについて議論した。

（5）極限環境生物クマムシはどのようにして生と死のはざまを生きるか

○荒川和晴 [1,2,3,4]
([1]慶應義塾大学 先端生命科学研究所 生理学研究所，[2]慶應義塾大学 環境情報学部
[3]慶應義塾大学大学院 政策・メディア研究科，[4]自然科学研究機構 生命創成探究センター)

生物と非生物の違いとは何だろう。生命「動態」はいつ，どのように自己組織化して，どこが境界線なのか。この問いに答えるためには，可逆的に「生」と「死」を行き来できる対象を観察する必要がある。そこでクマムシである。クマムシは体長 1mm 以下の微少動物で，私たちの身近な環境でも比較的簡単に見つけることができるが，その多くは完全に脱水し，生命活動を完全に停止することができる。この「乾眠」と呼ばれる状況では，宇宙真空への暴露をはじめ，さまざまな極限環境に耐えることができ，さらに給水によって速やかに生命活動を再開することができる。よって，クマムシの乾眠は「生」と「死」のはざまの第三の生命状態であると言える。水は全ての生物にとって必須であり，体内の水分を完全に失うことは通常「死」を意味する。生物は動き続けることを前提としているシステムで，通常代謝の停止も「死」を意味する。よって，クマムシの乾眠はよって生物学における未踏のフロンティアであり，生物学を問いただす絶好の材料である。このようなクマムシの乾眠について，これまでに明らかとなってきた知見を紹介した。

（6）海底アーキアの生き方から考える私たち真核生物の成り立ち

○井町寛之
（海洋研究開発機構 超先鋭研究開発部門）

最初の真核生物細胞は，原核生物であるアーキア（古細菌）が同じく原核生物であるバクテリア（真正細菌）を細胞内に取り込み，共生することで誕生したとされている。この異種生物の共生とその一体化，すなわち真核生物の誕生の最大のきっかけとなったのは，約 27 億年前に起きた大酸化イベント光合成をするバクテリアの登場による酸素の放出とされている。それまでの地球には酸素は無く，無酸素環境下で生きていた生物にとって反応性の高い酸素は猛毒であった。多くの原核生物が死滅していく中で，私たちの祖先となったアーキアは酸素の存在という“極限環境”に適応するため，酸素呼吸ができるミトコンドリアの祖先バクテリアと共生することで酸素を解毒するという，原核生物としては革新的な生存戦略をとった生物であったと思われる（通常の原核生物であれば環境の変化に適応するために自身で酸素呼吸能を獲得して進化する）。本研究会では，真核生物の誕生に関係するとされるアスガルドアーキアの世界初の培養株について紹介し，培養株から見えてきたことや最近考えていることについて紹介した。

（7）動物集団による状態転移と高分解能ライトフィールド顕微鏡開発

○杉　拓磨[1]，前岡遥花[1]，執行航希[1]，臼杵　深[2]
（[1]広島大学大学院 統合生命科学研究科，[2]静岡大学 電子工学研究所）

動物は集団を形成することにより，単独のときには見られない機能を創発し，極限環境に適応しようとする。我々は過去に線虫 *C. elegans* の耐性幼虫が乾燥への耐性を高めるため，集団で秩序だった行動をすることを発見した（*Nature Commun*, 2019）。最近，この実験系をさらに観察していると，運動を停止した全線虫が無秩序に運動を再開するのではなく，1 個体からの刺激をきっかけに一斉に同期して運動状態に転じる現象を見出した。

この集団が静から動へ状態転移するメカニズムについて，現在，神経科学と物理学の両側面から研究している。特に神経科学的には集団を形成することで，神経回路が刺激に過敏な「臨界状態」になっている可能性が予想される。しかし，既存の共焦点顕微鏡などによる神経回路の計測では空間スキャンして撮影する必要があるため，行動中の神経回路動態を高速に撮影する新たな技術が必要と考えた。そこで我々は三次元空間をスキャンレスにシングルショット撮影可能なライトフィールド技術に着目し，その汎用化を妨げていた低解像度の問題を解決する画期的な技術の開発に成功した。これにより，自由行動する *C. elegans* の神経回路をシングルショットでナノ分解能撮影することを可能にした。本研究会では，生物学的な集団行動とその解析のための光工学的な技術の両方について議論した。

（8）女王アリの長期間にわたる精子貯蔵メカニズムの解明に向けて

○後藤彩子
（甲南大学 理工学部 生物学科）

女王アリは羽化後まもない時期にしか交尾をせず，その時に受け取った精子を精子貯蔵器官「受精嚢」に寿命が続く限り貯蔵し，産卵時に必要な数の精子のみを取り出し受精させている。女王アリは他昆虫と比較

して極めて長寿であることが知られており，多くの種で 10 年以上，記録では 29 年生存する種も報告されている。これはつまり，女王アリは巨大コロニーメンバーを生産するだけの大量の精子を常温で長期間生存させているということである。通常，動物のオスの精子は射出後，数時間から数日で著しく劣化し，受精能力も低下するため，女王アリの精子貯蔵能力は極めて特殊であるが，その仕組みは不明である。

私は，女王アリの長期間の精子貯蔵メカニズムを明らかにすることを最終目標に，精子を直接保護している受精嚢の機能に着目した。本研究会では，これまでに明らかになったことや今後の展開を紹介した。

（9）季節や月のリズムと動物の環境適応戦略

○吉村　崇[1,2]

（[1]名古屋大学 トランスフォーマティブ生命分子研究所（WPI-ItbM）

[2]名古屋大学大学院 生目農学研究科）

生命は誕生以来，一日，一月，一年など，太陽，地球，月の天体運動がもたらす環境変動にさらされてきた。生物はこれら繰り返し訪れる周期的な環境変動に，より良く適応するために，進化の過程で様々な周期の体内時計を獲得してきた。このうち，約１日のリズムを刻む概日時計については，過去数十年の研究で大幅に理解が進んだが，月単位，年単位など，１日よりも長い周期を刻む「インフラディアンリズム」の分子機構は未だ未解明である。

概日リズムの研究ではショウジョウバエ，マウスなどのモデル動物が大きく貢献してきたが，これらの動物は明瞭な季節応答を示さないため，約１年のリズムを刻む「概年時計」や季節適応機構の解明に最適なモデルとはいえない。そこで我々は明瞭な季節応答を示す「非モデル動物」に着目することで，脊椎動物の季節適応機構について研究してきた。

本研究会ではメダカやアカゲザルをモデルとした脊椎動物の季節適応戦略について紹介するとともに，最近取り組んでいるクサフグの半月周リズムに関する取り組みについて紹介した。

（10）冬眠する哺乳類が示す低温耐性

○山口良文

（北海道大学 低温科学研究所 冬眠代謝生理発達分野）

哺乳類の冬眠は，低代謝と低体温により食料の枯渇する厳しい寒冷環境を乗り切る生存戦略である。冬眠する哺乳類（以後，冬眠哺乳類）が耐えることの出来る長期間の低体温は，冬眠しないヒトやマウス・ラットなどの非冬眠哺乳類にとっては致死的である。しかし，こうした低温耐性の違いを生み出す仕組みは未解明である。

低温耐性の違いは細胞レベルでも観察される。私たちは，マウス由来の初代培養肝細胞は低温誘導性細胞死を生じるのに対し，冬眠哺乳類シリアンハムスター由来の細胞は長期間生存可能な低温耐性を有することを見出した。驚いたことに，この初代培養肝細胞の低温耐性は，シリアンハムスターを飼育する餌を変えると消失した。この初代培養肝細胞の低温誘導性細胞死は，ネクローシス様の形態，活性酸素の生成，脂質過酸化，それに鉄イオン要求性と，制御された細胞死フェロプトーシスの特徴を満たしていた。そこでシリアンハムスターとマウスの肝細胞の膜リン脂質組成を比較したところ，予想に反してマウス肝細胞の方が高度多価不飽和脂肪酸を多く含有しており，脂質過酸化に脆弱な可能性が示唆された。検討の結果，シリアンハムスターは，食餌由来のビタミン E である α-Tocopherol を肝臓や血中に高濃度で含有することで，脂質過酸化を防止し肝細胞の低温耐性を発揮していることが明らかになった。興味深いことに，

冬眠中の個体では血中 α-Tocopherol 濃度が上昇しており，冬眠と連関して α-Tocopherol 濃度を制御する何らかの機構の存在が示唆された。以上の結果は，マウスとシリアンハムスターの低温耐性の差異には，食餌由来の α-Tocopherol 利用能の差異が寄与することを示唆する。

（11）極低温環境における概日時計中枢のリズム発振

○榎木亮介[1,2]，根本知己[1,2]
（[1]生理学研究所 バイオフォトニクス研究部門，
[2].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）

哺乳類の冬眠中の深部体温は外気温程度まで低下するものの，動物種によっては深部体温や酸素消費などの生理機能に概日リズムが見いだされることから，概日時計中枢である視交叉上核は低温でもリズムを継続することが推察された。しかしながら，時計遺伝子の転写振動の有無に対しては研究室ごとに見解が分かれており，長年議論が続いている。従来の解析法では時間点ごとに異なった個体を用いて解析しており，リズム解析の精度を著しく低下させる問題が指摘されている。さらに概日時計は何千もの遺伝子のリズムを生み出していることから，冬眠時の概日時計の挙動を理解する上で，「時計機能を評価する本質的なリズム指標は何か？」が長らく議論となっていた。我々はこれまで確立した概日時計の長期光イメージング法を駆使し，低温環境下における視交叉上核組織の光イメージング計測を行った。様々な温度環境下での転写振動と細胞内 Ca^{2+} 動態を計測した結果を報告した。

26. スポーツからみる日常と非日常の神経生理学

2022 年 3 月 28 日

代表・世話人：宮崎　真（静岡大学･学術院情報学領域）
所内対応者：戸松彩花（認知行動発達機構研究部門）

（1）日常動作の出現

多賀厳太郎（東京大学大学院･教育学研究科）

（2）感覚運動制御系に働きかける非言語的な歩容改善支援システム

平島雅也（未来 ICT 研究所･脳情報通信融合研究センター）

（3）アスリートの機能不全を動作から読み解く

廣瀬統一（早稲田大学･スポーツ科学学術院）

（4）リアルスポーツと e スポーツからみる知覚認知スキル

加藤貴昭（慶応義塾大学･環境情報学部）

（5）無意識的な同調と調整

渡邊克己（早稲田大学･理工学術院）

（6）パラアスリートにみる脳の可塑性

中澤公孝（東京大学大学院･総合文化研究科）

【参加者名】

多賀厳太郎（東京大学大学院･教育学研究科），平島雅也（未来 ICT 研究所･脳情報通信融合研究センター），廣瀬統一（早稲田大学･スポーツ科学学術院），加藤貴昭（慶応義塾大学･環境情報学部），渡邊克己（早稲田大学･理工学術院），中澤公孝（東京大学大学院･総合文化研究科），梅原　潤（情報通信研究機構･脳情報通信融合研究センター），岡田征剛（東京大学大学院教育学研究科），ハギオ ショウタ（京都大学大学院人間･環境学研究科），平田恵介（東京家政大学健康科学部），中川剣人（早稲田大学スポーツ科学学術院），武井智彦（玉川大学脳科学研究所），久代恵介（京都大学大学院人間･環境学研究科），金　東敏（東京大学･情報理工学系研究科），吉田暁人（東京大学･情報理工学系研究科），ジョン インヒョク（早稲田大学大学院･スポーツ科学研究科），横山慶子（名古屋大学総合保健体育科学センター），林　勇樹（追手門学院大学･社会学部），伊藤直樹（伊藤歯科医院／北海道大学病院），桐本　光（広島大学大学院･医系科学研究科），石川慶一（東京大学大学院･総合文化研究科），丹羽雅之（東京都教育庁学校教育部特別支援教室），高橋泰伽（生理学研究所バイオフォトニクス研究部門），西島和俊（生理学研究所･動物資源共同利用研究センター），大島惇史（同志社大学大学院スポーツ健康科学研究科），藤尾公哉（国立障害者リハビリテーションセンター研究所運動機能系障害研究部），四津有人（東京大学大学院工学系研究科），上林清孝（同志社大学スポーツ健康科学部），青山敏之（茨城県立医療大学理学療法学科），吉田純一朗（国立精神神経医療研究センター･身体リハビリテーション部），木下昭二（ミズノ㈱･グローバルイクイップメントプロダクト部），郷原皓彦（立命館大学 BKC 社系研究機構），森将輝（慶應義塾大学環境情報学部），櫻木麻衣（慶應義塾大学文学部），栗原勇人（早稲田大学大学院人間科学研究科），板口典弘（慶應義塾大学文学部），正木宏明（早稲田大学･スポーツ科学学術院），松橋拓努（帝京大学･先端総合研究機構），水野寛太（早稲田大学スポーツ科学研究科），北村美穂（㈱イデアラボ），花田恵介（大阪府立大学），廣瀬智士（追手門学院大学心理学部），沖塩尚孝（蘇生会総合病院），江川史朗（理研 BDR 形態進化研究チーム），内野すみ江（聖徳大学･音楽学部），北地　雄（総合東京病院･リハビリテーション科），綾瀬　泉（慶應義塾大学政策･メディア研究科），山田千晴（早稲田大学･総合人文科学研究センター），則武　厚（生理学研究所･認知行動発達

機構研究部門），門馬　博（杏林大学保健学部），岡田和樹（日本大学大学院理工学研究科），山本健太郎（九州大学），山崎稜一郎（慶應義塾大学大学院･政策･メディア研究科），金沢星慶（東京大学情報理工学系研究科），奥内蒼馬（京都大学総合人間学部），植松明子（生理学研究所･認知行動発達機構研究部門），植松　梓（追手門学院大学社会学部），村田　弓（産業技術総合研究所･人間情報インタラクション研究部門），鵜野裕基（大阪大学大学院医学系研究科），志水弘典（北里大学薬学部），田中観自（九州大学･基幹教育院），ワカツキ ツバサ（中京大学スポーツ科学部），吉田　聡（自営業），須崎在（慶応義塾大学），小笠原一生（大阪大学大学院医学系研究科），ミネ コウタロウ（国立成育医療研究センター），中野英樹（京都橘大学大学院健康科学研究科），コガ ユキコ（大阪大学大学院医学系研究科），小池　誠（マイクロ特許事務所），児玉謙太郎（東京都立大学･大学教育センター），大須理英子（早稲田大学･人間科学学術院），古川大晃（東京大学大学院総合文化研究科），後藤　拓，後藤　卓（慶應義塾大学･文学部），鈴木貴子（埼玉県立大学･作業療法学科），鈴木　誠（東京家政大学･健康科学部），小川健二（北海道大学），後藤太一（筑波大学大学院ニューロサイエンス学位プログラム），関根和生（早稲田大学人間科学学術院），水口暢章（立命館大学･総合科学技術研究機構），えそ谷侑史（森口クリニック），永田裕美（香川大学大学院），西薗良太（NTT コミュニケーション科学基礎研究所），松岡隆浩，小野健太郎（広島大学脳･こころ･感性科学研究センター），山川瑠也（新倉敷メディカルスクエア），福田　森（慶應義塾大学･ 基礎理工学研究科），福原和伸（東京都立大学･人間健康科学研究科），丸山真幸（筑波大学附属久里浜特別支援学校），田島賢次（デイサービスいろり），アヅマ カズミ（東京大学大学院総合文化研究科），中村まみ（徳島大学･医科学教育部医科学専攻），居相良介（筑波大学大学院），伊藤南奈美（大山リハビリテーション病院），中村直人（読売新聞東京本社･編集局科学部），小島芹香（くまもと成仁病院），佐藤晋也（船橋整形外科クリニック），比嘉なつみ（熊本大学薬学部），木島章文（山梨大学），本田一暁（慶應義塾大学政策･メディア研究科/NTT コミュニケーション科学基礎研究所），高尾沙希（ヨーク大学･心理学部），加藤えみか（京都産業大学現代社会学部），久保田　潤（独立行政法人日本スポーツ振興センター 国立スポーツ科学センター），下田代 祐輔（広島大学大学院人間社会科学研究科），桐山良太（名古屋大学･情報学部），髙梨泰彦（京都産業大学現代社会学部），劉　凌駿（広島大学･総合科学研究科），横山　修（東京都医学総合研究所･脳機能再建プロジェクト），新屋裕太（東京大学大学院教育学研究科），Jeong inhyeok（早稲田大学大学院スポーツ科学研究科），青山千紗（大阪大学医学系研究科），小島　哲（Sensory and Motor Systems Research Group, Korea Brain Research Institute），秋澤健介（特別養護老人ホームふじあざみ），中川裕美（東北福祉大学総合福祉学部），山崎雄大（筑波大学），渡邉観世子（国際医療福祉大学･保健医療学部），阪場みく，ノガミ ノブコ（兵庫教育大学大学院），白川和希（釧路短期大学），政二　慶（Toronto Rehabilitation Institute），木村岳裕（金沢大学･国際基幹教育院），酒井美園（東京国際大学），米満文哉（広島大学大学院･人間社会科学研究科），松木田健斗（早稲田大学･人間科学研究科），太田一岳（東京大学･教養学部），河野友勝（北海道大学理学院），佐藤恭子，志牟田美佐（東京慈恵会医科大学），藤平　遼（東京大学大学院･教育学研究科），大塚昭兵（新幹線メンテナンス東海㈱），高橋睦（日本歯科大学新潟生命歯学部），井出拓見（中京大学大学院スポーツ科学研究科），橋口　伸（和泉市立総合医療センター），小笠原香苗（生理学研究所･心理生理研究部門），崎田嘉寛（北海道大学･大学院教育学研究院），並木隆浩（北海道大学大学院保健科学院），本多康宏（中京大学スポーツ科学研究科），染谷　晋（ナックイメージテクノロジー），金子隆生（山形県立こころの医療センター），片寄正樹（札幌医科大学･保健医療学部），宮原克典（北海道大学人間知･脳･AI 研究教育センター），松島俊也（北海道大学理学研究院），谷口圭吾（札幌医科大学保健医療学部），坂本将基（熊本大学･大学院教育学研究科），岩下大悟（追手門学院大学心理学部），奥野日向汰（北海道大学･医学部保健学科），中本浩揮（鹿屋体育大学体育学部），松川智哉（追手門学院大学心理学部），三摩朋弘（慶應義塾大学環境情報学部），小笠原佑衣（大阪体育大学大学院スポーツ科学研究科），田中美吏（武庫川女子大学･健康･スポーツ科学部），髙見采加（大阪大学大学院･生命機能研究科），米田　貢（金

沢大学･医薬保健研究域），田中佑真（静岡大学），Kevin Widjaja（静岡大学自然科学系教育部），加瀬川智皓（静岡大学情報学部），今井里穂（静岡大学情報学部），夏目　柊（静岡大学大学院･総合科学技術研究科），嶋田直樹（静岡大学情報学部），田渕規之（ミズノ㈱），福士珠美（東京通信大学），大内田　裕（大阪教育大学･特別支援教育部門），吉川昌則（青森大学総合経営学部），長谷川弓子（岩手大学人文社会科学部），佐良土　晟（早稲田大学理工学術院），伊藤直樹（伊藤歯科医院），武田美咲（東京工業高等専門学校），西薗良太（日本電信電話㈱･コミュニケーション科学基礎研究所），吉岡大貴（静岡大学創造科学技術大学院），山脇ユミ（静岡大学･情報学部），小嶋岳（筑波大学），藤永　拓（静岡大学大学院 総合科学技術研究科），朝日南々香，西村陽平（静岡大学情報学部），梶原聖矢，堀之内峻之（広島大学大学院医系科学研究科），青木信裕（札幌医科大学保健医療学部），齋藤琢矢（筑波大学大学院），赤阪夢久（静岡大学情報学部），長雄　希（筑波大学人間総合科学研究群体育学学位プログラム），中村　統（東京大学大学院･総合文化研究科），横山　祐（札幌医科大学大学院），村上由佳（医療法人社団蔵王会･精神科病院），菊地　豊（脳血管研究所附属美原記念病院），女川亮司（早稲田大学･理工学術院），吉江路子（産業技術総合研究所情報･人間工学領域），梅野和也（静岡大学創造科学技術大学院），平井宏明（大阪大学･基礎工学研究科），阿部香苗（北海道大学環境健康科学研究教育センター），岡田裕斗（㈱CyberneX），小林明美（日本電信電話㈱･NTT コミュニケーション科学基礎研究所），柚木孝敬（北海道大学大学院教育学研究院），彦坂幹斗（中京大学大学院），北城圭一（生理学研究所･神経ダイナミクス研究部門），内山仁志（島根県立大学･人間文化学部），安藤瑠称（静岡大学総合科学技術研究科），牧野勇登（東京大学教育学研究科），伊藤佳奈実（広島大学･医系科学研究科），佐田静香（慶應義塾大学大学院），喜田安哲（恵泉女学園大学･人間社会学部），人見利玖（静岡大学情報学部），桜井伸二（中京大学スポーツ科学部），岡本拓弥（魚谷眼科医院），脇口恭生（神奈川県立こども医療センター発達支援部），山崎稜一郎（慶應義塾大学大学院政策･メディア研究科），山田陽平（愛知学泉大学家政学部），松田直祥（北海道大学教育学院），福井隆雄（東京都立大学･システムデザイン学部），会津直樹（藤田医科大学･リハビリテーション学科），佐々木悠介（北海道大学教育学部），山中　航（順天堂大学･スポーツ健康科学部），田中みのり（北海道大学医学部），國部雅大（筑波大学），三枝　巧（山形大学･地域教育文化学部），小川景子（広島大学大学院総合科学研究科），東川拓治（㈱ナックイメージテクノロジー），豊田平介（医療法人社団永生会），石井清一（㈱ナックイメージテクノロジー），村上宏樹（中京大学），藤井進也（慶應義塾大学）

【概要】

スポーツとは，運動技能の粋を極める試みであると言え，運動技能を極めることは様々な生理機能の変化・改善・高度化と密接に関わる。本研究会では，日常的な動作の発現からトップアスリートの卓越した動作制御に至るまでを取り扱う多面的な研究を網羅することを主眼に話題提供者を選び，御登壇いただいた。研究会は完全オンラインにて二部制で行い，第一部は Daily Movement と題して，①多賀先生による新生児の運動発現メカニズムの探索から話題をスタートし，②平島先生による歩行動作への implicit な働きかけによる動作改善に関する話題，そして③広瀬先生による女子サッカー日本代表のコーチングにおいて研究的な視点をどのように取り入れ，より望ましい動作を導いていくかといった包括的な話題へと発展していただいた。第二部は Extraordinary Performance と題して，④加藤先生による野球や剣道，サッカー，e スポーツなどの多彩な一流選手が視覚的な情報を得る際に共通する特徴に関する話題をベースにトップアスリートの能力の解析方法に関して議論し，⑤渡辺先生より対人・社会的な環境が運動パフォーマンスに及ぼす影響をどのように測定し評価するかが提案され，そして⑥中澤先生により一流パラスポーツ選手の脳活動計測から判明した，ダイナミックな神経可塑性と高度なパフォーマンスとの関連性が示された。すべての話題提供者の内容とキーワードが互いにリンクし，全体としてまとまりのある構成であった。事後の参加者アンケートにおいても，話題内容の豊富さと構成の良さに高い満足度が示された。また，第一部と第二部の間にポスター発表を設け

たところ，計 23 題の発表があり，オンラインながら多くの聴衆が参加した。若い人向けの発表の場を設けたことで，研究会全体が活気付き，講演に対する活発な質問などに結びついたと考えられる。

27. 新たなステージへと高度化するクライオ電子顕微鏡解析

2021 年 11 月 16 日

代表・世話人：岩崎憲治（筑波大学）
所内対応者：村田和義（生理学研究所）

（１）氷包埋試料作製の新手法

加藤貴之（大阪大蛋白研）

（２）電顕運用の効率化 ～多種類のサンプルを処理するために～

江原晴彦（理研 BDR）

（３）高速，高効率データ収集のための自動データ取得ソフトウエア

重松秀樹 （理研播磨）

（４）高オンザフライ解析を運用してわかった 3 つのこと

牧野文信（大阪大生命機能／日本電子）

（５）電高分解能構造決定のためのデータ解析支援

守屋俊夫（高エネ研）

（６）クライオ電子顕微鏡の創薬応用に向けた利用と期待値

平泉将浩 （田辺三菱製薬／東京大学）

【参加者名】

講演者を含め　２４４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，学会等主たる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ことは明らかである。

（1）氷包埋試料作製の新手法

加藤貴之（大阪大学蛋白研究所）

With the adoption of direct electron detection cameras, the resolution of cryo-electron microscopy has dramatically improved and is now becoming a mainstream tool for structural analysis. Currently, by the automatic image acquisition

software and advanced image analysis programs with simple usage, even users who are not familiar with electron cryomicroscopy are able to take beautiful images and perform high-resolution analysis. Especially the single particle Cryo-EM is already an existing technique. So we can say that the single particle analysis with cryo-EM is already a mature technique. On the other hand, the method of preparing ice-embedded samples has made little progress since Jacques Dubochet developed it about 40 years ago, and is the next area for improvement. Normally, we use a plunger such as the Vitrobot (Thermo Fisher Scientific) or EM-GP (Leica) to prepare the ice-embedded samples. In this device, the solution sample is manually placed on a grid, excess solution is blotted off with a filter paper, and the sample is quickly frozen by plunging it in liquid ethane to produce an ice-embedded sample. Although this method is used by cryoEM users all over the world, it is difficult to control the thickness of the ice and poor reproducibility is often a problem. The recently developed VirtoJet (CryoSol) (Fig 1) employs a pen-printing technique that uses a very small stylus to print a solution sample onto a grid without blotting with filter paper, allowing for high reproducibility and control of ice thickness. Unfortunately, the engineers were not able to come to Japan due to the COVID-19, which delayed its launch. In this presentation, I would like to introduce the evaluation we did in a small amount of time. However, even if such devices are used to create sufficiently thin ice for high resolution structural analysis, we may face problems such as denaturation of proteins at the air-water interface and preferred orientation. Namba Lab at the Graduate School of Frontier Biosciences and Inoue Lab at the Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Osaka University, are trying to solve these problems by using a unique oxidation technique to covalently bond proteins to the graphene surface. In this presentation, the results of the new graphene grid, named "EG-grid" (Fig 2), will also be presented.

（2）電顕運用の効率化 ～多種類のサンプルを処理するために～

江原晴彦（理研 BDR クライオ電子顕微鏡維持管理･共用促進チーム）

クライオ電子顕微鏡を用いた単粒子データセットの収集は近年目覚ましい進歩を遂げており，ハードウェア，ソフトウェアの両面から，自動連続測定のハイスループット化が進んでいる。しかし，現実の構造解析においては，サンプル調製やグリッド作成における様々な困難を乗り越える必要があり，その過程において，クライオグリッドの頻繁なチェックやスクリーニング測定が要求される。スクリーニングは手間や時間を要することが多く，研究の律速となりがちである。また，成功するかどうか先が見えない場合も多く，例えば，新しい研究テーマ，新しいサンプルに取り組もうとしたとき等に，障壁となりやすい。これらの問題を軽減するため，我々は，複数グリッドからの連続自動測定を整備，活用することによって，多種類のグリッドから少しずつデータを取る，といった実験を日常的に行うようになっており，本研究会では，それらの取り組みについて説明したい。また，電顕の進歩に伴い，（良好なグリッドが存在するという条件では）研究における律速が，データ測定から，解析や IT インフラ面に移行しつつあると感じており，それらについても簡単に議論したい。

（3）高速，高効率データ収集のための自動データ取得ソフトウエア

重松秀樹（理化学研究所 放射光科学研究センター）

クライオ電子顕微鏡が構造解析の手法として注目され，日本国内でもクライオ電子顕微鏡を外部共用に供している施設が増えている。大型放射光施設 SPring-8 でも，2021 年 9 月よりクライオ電子顕微鏡をタンパク質結

晶構造解析ビームラインの付帯設備として外部共用を開始している。クライオ電子顕微鏡単粒子解析は，S/N の悪いデータを画像解析により平均化する必要があるため，大量のデータを取得する必要がある。S/N の良い単電子検出を実現する検出器においては，データの読み出し速度の向上が実現されており，データ取得のスループットが向上している。さらに，データ取得時に物理的に試料ステージを動かす頻度を減らし，光学的に視野を移動してスループットを向上させる画像取得方法が取り入れられることで，高速，高効率なデータ収集が実現してきている。Thermofisher Scientific 社製 EPU，日本電子製 JADAS，アカデミアで開発されている Leginon，SerialEM などが代表的な自動データ取得ソフトウエアである。電子顕微鏡メーカー製ソフトは，GUI を多用したユーザーフレンドリー

なインターフェースが特徴であるが，その一方で，問題なく装置制御が行われるような仕組みのため，動作が遅いと感じられることが多い。アカデミアで開発されたソフトは，多機能で最新の技術の搭載が早いものの，操作が複雑で自動データ取得を問題なく実行するためには習熟が必要である。本講演では，最新の自動データ取得ソフトウエアの特徴と機能について紹介する。

（4）高オンザフライ解析を運用してわかった３つのこと

牧野文信（大阪大学大学院 生命機能研究科／日本電子㈱）

In single particle image analysis of cryo-electron microscopy, remarkable improvement in the throughput of data collection more than 10,000 images per day has been achieve. What has driven this is the evolution of cameras and the improvement of data collection methods in the TEM hardware since around 2019. While the throughput is improved, the next bottleneck is shifting to data analysis. Therefore, many laboratories are adopting on-the-fly real-time data analysis tools as a solution to accelerate the data analysis. Today, I will describe three things that we have learned from using JEOL CRYO ARM 300 and the on-the-fly system installed at Osaka University over 10th months.

First: The on-the-fly system is essential for efficiently running the cryoTEM because it allows us to examine preferred orientation and potential for 3D reconstruction, which we could not tell by screening only a few images, and to immediately make the next plan with our client users. In addition, it saves time of data analysis.

Second: In many cases, we tend to continue data collection regardless of the results of on-the-fly analysis. Ideally, only a few hundred images to determine whether or not the specimen grid is sufficiently high quality for 3D reconstruction at high resolution. These results will be used to make decisions about sample exchange. However, the results may vary depending on the pickup program and the method of image analysis used. As a result the data collection is continued in many cases.

Third: The on-the-fly system makes the human even busier. If the data analysis is done by the on-thefly system, we see the results in a few hours, so we often stay there and wait for the results to come out because we may want to change the data collection method or sample grid conditions depending on the results. For this reason, it is difficult to leave, and we tend to stay because of our curiousity. I also show a comparison of results by using three diffent applications (RELION, cryoSPARC, and Warp).

（5）高分解能構造決定のためのデータ解析支援

守屋俊夫（高エネルギー加速器研究機構）

近年，国内でも最新鋭クライオ電顕の導入やデータ測定の効率化と自動化が進み，急速に単粒子解析の利用が広まっているが，短期間で取得される膨大なデータを処理する計算資源の確保が喫緊の課題になっている。同時に律速となったデータ解析の効率化と自動化を進めることも求められている。そこで我々は，測定から高分解能構造の決定をシームレスにつなぐために，クライオ電顕，測定者，解析計算機，解析者を繋ぐ構造解析現場の IoT 化である GoToCloud 環境の構築に取り組んでいる。現在，On-the-fly の前処理を介して，IoT 化のハブとして無尽蔵の計算資源を提供するパブリッククラウドへ自動でデータを転送し，そこで全ての解析計算を行うことで，その工程の全てを一元的にモニターできる仕組み作りを行っている。本発表では，我々のこれまで行った GoToCloud 環境の構築，ベンチマークテスト，Streptavidin (EMPIAR-10641) の < 2.0 Å 分解能構造決定から得られた知見，そして今後の展望を紹介する。

（6）クライオ電子顕微鏡の創薬応用に向けた利用と期待値

平泉将浩（田辺三菱製薬㈱･創薬本部／東京大学大学院･理学系研究科･生物科学専攻）

クライオ電子顕微鏡（Cryo-EM）を用いた単粒子構造解析では，精製試料を凍結した状態で電子顕微鏡観察により様々な向きの粒子像を取得し，計算機上で 3 次元像を再構成することで分子の内部まで構造解析が可能である。近年の電子直接検出器の登場によって，これまで困難であった巨大膜タンパク質や超複合体の構造を 2〜4 Å の高分解能で決定する手法として広く用いられるようになってきている。単粒子構造解析では，X 線結晶構造解析と異なり結晶化の必要がないことから，結晶パッキングなどの影響を受けない Native な状態に近い構造を捉えることが可能である。また，最近登場した新型検出器である Falcon4 や K3 カメラは高速読み出し・高 DQE の性能を有し，イメージシフトによる撮影法と併用することで従来よりも高い速度での撮影が可能となった。本発表では初めにこの撮像能が大幅に向上した新型直接検出器の特性を生かし解明した P4-ATPase の動的な脂質輸送サイクルについて紹介する（M. Hiraizumi et al., Science, 2019）。

2 つ目に，分子量が 100 kDa より小さい標的の Cryo-EM による単粒子構造解析について紹介する。分子量が小さい場合，非晶質の氷に包埋された際のコントラストが弱いため，単粒子再構成・高分解能での構造解析に課題があるが，最近，我々はグリッド調製を工夫することで分子量が 4 量体で 52.8 kDa の streptavidin を分解能 1.93 Å での単粒子構造解析に達成した（M. Hiraizumi, PSSJ Archives, 2021）。最後に，上記の知見と合わせて Cryo-EM を用いた創薬応用の可能性について，論文で報告されている創薬標的を例に発表していくことで考えていきたい。

28. 情動の脳科学的理解に基づく人文系学問の再構築

2021 年 11 月 5 日－11 月 6 日

代表・世話人：持橋大地（統計数理研究所）
所内対応者：近添淳一（生理学研究所 システム脳科学研究領域）

（1）個人の美的嗜好を模倣する機械

近添淳一（㈱アラヤ･脳事業研究開発室）

（2）脳機能操作による情動処理の理解

南本敬史（量子科学技術研究開発機構）

（3）認知・脳情報処理による人間らしい言語処理モデルの開発

大関洋平（東京大学）

（4）深層学習を援用した脳内情報解読への取り組み

小林一郎（お茶の水女子大学）

（5）比喩に関わる認知機構の解明

内海　彰（電気通信大学）

（6）確率的潜在意味スケーリング

持橋大地（統計数理研究所）

（7）パネルディスカッション「情動の可視化技術が人文系学問をどう変えるのか，あるいはどのような技術が人文系にブレークスルーをもたらすのか」

司会：持橋，近添

（8）脳機能研究から美学的概念を考える

石津智大（関西大学）

（9）脳の統計学習に基づく音楽の芸術的感性と創造性の理解

大黒達也（東京大学 国際高等研究所 ニューロインテリジェンス国際研究機構）

(10) 未来への期待の効用を反映する脳機構：神経科学は行動経済学に貢献できるのか？」

地村弘二（慶應義塾大学）

(11) 行動経済学における動学的意思決定の実証

萱場　豊（東京大学）

(12) メカニズムが不明ないくつかの経済学実証研究の結果

渡辺安虎（東京大学）

【参加者名】

持橋大地（統計数理研究所･准教授），渡辺安虎（東京大学・教授），石津智大（関西大学･准教授），南本敬史（量子科学技術研究開発機構･グループリーダー），地村弘二（慶應義塾大学･准教授），小林一郎（お茶の水女子大学･教授），大関洋平（東京大学･講師），萱場　豊（東京大学･講師），大黒達也（東京大学国際高等研究所ニューロインテリジェンス国際研究機構･特任助教），内海　彰（電気通信大学･教授），近添淳一（自然科学研究機構生理学研究所･准教授／㈱アラヤ 脳事業研究開発室･チームリーダー）

【概要】

2021 年 11 月 5 日（金）～6 日（土），生理研研究会「情動の脳科学的理解に基づく人文系学問の再構築」シンポジウムを生理研会場，及び Zoom にて開催した。近年では，機能的 MRI の発展と統計モデルの高度化により，脳活動から潜在的な情動状態を推定することが可能となりつつあり，このような技術を積極的に活用

することにより，人文系・社会系学問が今後どのように発展していくことができるかを，本研究会で幅広く議論した。オンライン参加も含め，172 人の多数の参加登録があり，盛会となった。

二日間に分けて行われた本シンポジウムは，科学研究費・学術変革領域 (B) に 2021 年秋に採択された同名の研究プロジェクトのキックオフを兼ねており，メンバーの専門性も多岐にわたることから，シンポジウムでは本プロジェクトに関係すると考えられる各メンバーの研究紹介を行い，地固めを行うこととした。脳計測をベースとして，言語学・経済学・美学の立場から情動の問題にどのようにアプローチできるのかを議論した。情動や「美」は，生物が個体あるいは集団維持のために有利な形質として発展してきたと考えられることから，そのモデル化は脳科学だけでは不充分であり，行動経済学および自然言語処理の技術と，美学の立場からの検討を欠かすことができない。パネルセッションも行い，大変有意義な議論となった。発表動画はパネルセッションを除き，科研費プロジェクトのホームページで公開しており，一般の興味ある聴衆（会社員も多く含まれる）に資することとした。シンポジウム開催にあたり，生理学研究所からは多くの支援を受けた。この場を借りて，感謝申し上げたい。

（1）個人の美的嗜好を模倣する機械

近添淳一（㈱アラヤ･脳事業研究開発室／生理学研究所･生体機能情報解析室）

人工知能と生体脳の類似と相違は，神経科学研究と人工知能研究を融合させる上で，欠くことのできない，重要なトピックとなっている。今までのところ，このような議論は，主に画像認識研究においてなされるのみで，情動を対象とした研究においてなされることはなかった。本セッションでは，油絵を評価する人工知能と，音楽を評価する人工知能を作成し，これらの内部的情報表現と，生体脳での情報表現の対応を調べた研究を紹介する。これらの研究において発見した，生体脳の基本的な情報処理構造と人工知能の情報処理構造の類似性から，情動をもつ人工知能の作成可能性やその意義などについて，広く議論したい。

（2）脳機能操作による情動処理の理解

南本敬史（量子科学技術研究開発機構･脳機能イメージング研究部･システム神経回路研究グループ）

仕事や勉強，スポーツなど，日常の多くの行動を支え，その結果を大きく左右するモチベーション（ = 意欲・やる気）は，古くから心理学における主要テーマの一つであるとともに，経済学，医学，教育，経営など様々な分野で取り上げられてきた。神経科学の分野においても脳内でのモチベーションの仕組みについて研究され，その制御の鍵を握るドーパミンなどの脳内物質や神経回路について理解が進んでいる。私たちはヒトと近縁で発達した脳をもつサルをモデルとして，報酬を獲得するための行動の意欲レベルについて期待報酬量や報酬を欲する内的状態を説明変数とする計算アルゴリズムを導出し，脳内の処理プロセスのモデルを提案してきた。さらにサルの脳機能を薬理学的・化学遺伝学的に操作した際の行動変容をモデルと照らし合わせて解析することで，意欲制御に関わる脳神経回路と分子の関与について明らかにしてきた。講演では，不安やムードなどに関わることが知られている脳内伝達物質であるセロトニンを操作した際の意欲行動に及ぼす影響について調べた研究を紹介し，（脳情動情報の解読に加えて）脳情報の操作というアプローチによるモデルの因果性検証の可能性など，脳科学や動物実験に接続する意義などについて議論したい。

（3）認知・脳情報処理による人間らしい言語処理モデルの開発

大関洋平（東京大学大学院 総合文化研究科 言語情報科学専攻／理化学研究所 革新知能統合研究センター）

本研究では，自然知能研究としての言語の認知・脳科学と人工知能研究としての自然言語処理を融合することで，認知・脳情報処理に学んだ，人間らしい言語処理モデルを開発することを目的とします。具体的には，クラウドソーシングと脳機能イメージングで計測される人間の言語処理と，記号的生成モデルと深層ニューラルネットワークで実装される機械の言語処理を対照する過程で，言語処理のリバースエンジニアリングを目指します。

（4）深層学習を援用した脳内情報解読への取り組み

小林一郎（お茶の水女子大学 基幹研究院 自然科学系）

ヒト大脳皮質の階層情報表現と深層学習の階層情報表現に相同性が認められ，大脳皮質の動作原理を知る手がかりとして深層学習の有効性が指摘されて以来，深層学習を作業モデルとしてヒト脳の情報処理機構を解明する多くの研究が進められている。本発表では，画像に対するキャプション生成における深層学習モデルを援用することにより，視覚刺激下の脳活動状態を自然言語で表現する脳内情報解読手法の紹介，予測符号化の深層学習モデルである PredNet を用いた予測画像生成モデルの中間層に現れる特徴表現と動画視聴時の脳活動データの相関性を定量的に評価し，脳活動データから予測画像を生成する試み，および，視覚や言語などのモダリティを処理する深層学習モデルによって抽出した特徴量からの脳内状態推定に対してモダリティ間の差異などの調査に関する取り組み，等について紹介する。

（5）比喩に関わる認知機構の解明

内海　彰（電気通信大学大学院 情報理工学研究科 情報学専攻）

比喩はあるものごと（被喩辞）を別のものごと（喩辞）で喩える表現であり，ものごとを明瞭にわかりやすく説明したり，詩的な情感を喚起するために用いられる。本講演では，後者の目的である詩的効果の喚起に関わる比喩の認知過程を中心に，計算論的手法による比喩理解過程の解明や，その基盤となる単語ベクトル（単語埋め込み）に関する発表者の研究を紹介する。

最初に，「言語表現上のずれを解消するような，豊かで多様な解釈を行うことで詩的効果が生じる」という「ずれの解消」モデルが，比喩の詩的情感を喚起するメカニズムであるという仮説を検証する。「怒りは海だ」という形式の名詞比喩 40 個を対象とした心理実験の結果，理解しやすい比喩の場合には，ずれの程度の指標である被喩辞・喩辞間の非類似度と，解釈の豊かさの指標であるエントロピーに基づく解釈多様性の間に正の相関，また解釈多様性と詩的度の間にも正の相関が成立した（Utsumi, 2005; 2006）。一方，理解しにくい比喩の場合には，そもそも多様な解釈が生成できないためにこのメカニズムは作動せず，その詩的度は比喩表現そのものの感情価が影響することもわかった。

では，多様な解釈を生み出すような比喩理解はどのような認知過程で行われるのだろうか。比喩理解にはカテゴリ化と対比の二種類の異なる処理が使い分けられていると言われている。そこで，カテゴリ化が多様な解釈を生み出すメカニズムであるとの仮説を立て，その妥当性を心理実験と意味空間モデル（単語ベクトル）に基づく計算モデリングの両面から検討した。その結果，いずれの検証においても，解釈多様性の高さ

によってカテゴリ化と対比の使い分けが予測可能であることと，喩辞の慣習性（Bowdle & Gentner, 2006）もその使い分けに関与することが明らかになった（Utsumi, 2007; 2011）。

次に，上記の研究で計算モデルとして用いられているコーパスからの学習に基づく単語ベクトルに，そもそもどのような知識が内在しているかを調べるために，単語ベクトルから神経基盤が知られている 65 個の属性による概念ベクトル表現（Binder et al., 2016）をニューラルネットワークで予測する実験を行った。その結果，社会性や認知に関する属性は高い精度で予測可能で，感情に関する属性がそれに続き，五感や時空間に関する属性は相対的に低い予測精度となった（Utsumi, 2020）。これらの内在する情報をより強調するように単語ベクトルを精緻化することで，比喩理解の計算モデリングへの応用が期待できる。

（6）確率的潜在意味スケーリング

持橋大地（統計数理研究所 数理･推論研究系）

本講演では，テキストをある極性について連続的に測ることのできる，確率的潜在意味スケーリング（PLSS）についての講演者の最近の研究を紹介する。テキストを単に分類するだけでなく，特定の潜在的な軸に沿って連続的に測定することは，本研究計画にとっても有益な基盤的技術だと考えられる。

このために政治学方法論の分野において開発されてきた LSS（潜在意味スケーリング，渡辺 2015,2020）の方法を確率的にとらえ，心理統計学における項目反応理論（IRT）を用いて学習を行うことで，理論的に見通しの良い定式化と，より精密な測定が得られることを示す。本研究は，項目反応理論の一般テキストへの拡張と考えることができ，現代的なニューラル単語ベクトルを使用することで，よりロバストな推定が可能となる。

（8）脳機能研究から美学的概念を考える

石津智大（関西大学 文学部 心理学専修／京都大学 オープンイノベーション機構）

神経美学とは，実験心理学研究，脳機能研究，そして人文学的研究からなる学際領域である。芸術知覚と感性判断に関する脳機能の検討から始まった当分野について，これまでの成果を簡単に概観する。続いて，崇高・畏怖畏敬や美的悲哀といった，特にネガティブな感情価をともなう美的感性について，基礎的研究と心理的効果に基づいた応用可能性についてお話する。これらの研究をとおして，人文学的・美学的概念を，脳機能研究を利用し議論する試みを紹介する。

（9）脳の統計学習に基づく音楽の芸術的感性と創造性の理解

大黒達也（東京大学 国際高等研究所 ニューロインテリジェンス国際研究機構）

脳には，統計学習という意図や意識に関わらず行われる潜在学習システムがある。統計学習の基本メカニズムは，音楽や言語などの系列情報の統計的確率と不確実性を計算し，その確率分布に基づいて将来の情報を予測することである。ヒトは環境や発達に応じて，統計学習を通して脳内の確率分布とその不確実性を逐一更新することで，文化や時代に適合した知識や感性を獲得している。近年の研究により，聴覚統計学習は

音楽的創造性にも強く寄与していることが示されている（Wiggins, 2019; Daikoku et al., 2021）。本研究は計算論的手法と神経科学的手法を用いて，脳の統計学習からどのようにして音楽創造性が生まれるのかを理解する。また，神経科学的知見に基づく「階層的統計学習」の計算モデルによって，音楽的感性の個性と創造性を可視化するシステムを開発する。それを用いて，中世から現代を通してどのように音楽創造性が変化してきたか，そして今後どのような音楽が創造されるのかをシミュレーションによって推定する。一連の神経科学・計算論研究を通して，音楽学の人文社会系学問分野に，脳の統計学習の観点から議論していくことで，音楽学のさらなる発展と強化を目指す。

（10）未来への期待の効用を反映する脳機構：神経科学は行動経済学に貢献できるのか？

地村弘二（慶應義塾大学 理工学部 生命情報学科）

効用は，行動経済学では選択行動によって測定され，神経科学的研究によって神経活動に反映されていることが示されてきた。それでは，選択行動で測定することが難しい効用を定義し，神経活動として調べることに科学的な意味はあるだろうか？予期効用理論（anticipatory utility; Loewenstein 1987）は望ましい将来を待つこと自体に効用があるという考え方であり，「待つことの楽しみ」を反映するとされている。しかし，待ち続けているときに効用がどのように変化するのかを行動から測定することは容易ではない。そこで私たちの研究では，ヒトが遅延する報酬を待っているときの脳活動を測定し，脳活動の時間変化を予期効用理論に基づいてモデル化した。異時的選択における遅延時間では，予期効用を反映する信号が前頭前野で観察され，長期間の報酬獲得を最大化するような自己制御が強い被験者ほど大きかった。この信号は，将来の報酬獲得が未知の状態でも観察され，自己制御選択の形成にも関わっていることがわかった。予期効用は，採餌行動における選択傾向で行動的に確かめられ，報酬遅延時間における脳活動は，採餌行動の戦略に関わっていることがわかった。以上の結果は，予期効用が反映するような脳活動の存在を示し，報酬選択行動における自己制御や行動戦略に関係していることを示唆している。そして，行動経済学における効用理論に神経科学的研究が貢献できることを例示している。

（11）行動経済学における動学的意思決定の実証

萱場　豊（東京大学大学院 経済学研究科）

発表者がこれまで行ってきた行動経済学の研究で，① 目の動きのデータを，状態変数のノイズ付き変数とすることで動学的意思決定を推定したプロジェクト，② 繰り返しゲーム，特に，imperfect monitoring と呼ばれる，相手の取った行動が不完全にしか観察できない状況において，仕返し戦略における仕返しの強度を明らかにしたプロジェクト，及び③ E-learning のデータを用いて，宿題に取り組む高校生の，その進捗に見られた先送り行動を明らかにしたプロジェクト，の３つを紹介する。

一つ目のプロジェクトは，心理学や認知神経科学でよく用いられる実験パラダイムである Two-armed Bandit Task において，当たりの出やすいスロットマシーンが経時的に変化する Probabilistic Reversal Task と呼ばれる実験課題を利用し，スロットマシーンの選択とその結果に応じて，どちらのスロットマシーンが良いものであると考える信念がどのように更新されていくのかを推定した。その際に，被験者の目の動きを計測し，それを状態変数のノイズ付き変数として利用して，説明力の高いモデルを構築することに成功した。

二つ目のプロジェクトにおいては，いわゆる囚人のジレンマと呼ばれる代表的なゲームを繰り返して行う

場合において，相手が裏切る行動を取ったというシグナルが観察された場合に，用いられる戦略がどのようなものであるのかについて幅広いクラスを網羅して推定し，generous-TFT が多いことを明らかにした。さらに g-TFT の性質を利用して，その仕返しの強度を明らかにしたところ，均衡戦略とは一定の乖離が見られることを明らかにした。

三つ目のプロジェクトにおいては，E-learning の学習ログが持つ，宿題の進捗を日次ベースで仔細に記録することができる性質を利用し，ある高校において出された冬休みの課題における進捗の記録を解析したところ，大部分が最後の３日に集中するという，極端な先送り行動が明らかになり，高校性の宿題の進捗におけるセルフ・コントロール能力の一端を明らかにした。

（12）メカニズムが不明ないくつかの経済学実証研究の結果

渡辺安虎（東京大学大学院 経済学研究科）

発表者がこれまで行ってきた経済学の実証研究のうち，個人の意思決定や選好について結果が得られたもののうち，その詳細なメカニズムがわからないものについて 3 つの研究を紹介する。

一つ目の研究はタイムプレッシャーのある状況下での，商品選択に商品オススメが及ぼす影響について分析したものである。この研究では，タイムプレッシャー下ではおすすめの効果が弱まることをフィールド実験で示したうえで，その影響の程度を消費者の Attention がタイムプレッシャーに影響されると仮定したモデルを推定し，反実仮想分析を行った。しかし，Attention 自体が観察されているわけではなく，メカニズムをあくまで仮定した分析である。

二つ目の研究はリスク選好が自然災害のショックによりどのように変化を受けるかを分析したものである。東日本大震災前，直後，6 年後の時点でのリスク選好に関する質問を含むパネルデータからリスク選好の変化を分析したところ，震度 4 以上の地域の在住者について，女性には変化はないものの，男性についてはよりリスク愛好的になることが見いだされた。しかしながら，どのようなメカニズムでこのような男女差が生ずるかについては不明である。

三つ目の研究はなぜ（自分の一票が結果に及ぼす確率は限りなくゼロに近い）大きな選挙で投票をするのか，だれがより投票するのかについての分析である。政治経済学で長年議論されているも関わらず未だにコンセンサスのないこの問いについて，この研究では集計された投票データから主観的な確率評価と投票コストの役割について一定の関係を示したものである。しかし，この主観的な確率評価や投票の負のコスト（社会的役割の達成からの効用等）がどのように形成されているのかは不明である。

【各種シンポジウム】

第 51 回　生理研国際シンポジウム

The 51st NIPS International Symposium
“Frontiers in Epithelial Cell Biology”

第 51 回生理研国際シンポジウム “Frontiers in Epithelial Cell Biology” を 2021 年 12 月 6 – 8 日にオンラインで開催した。本シンポジウムは，様々な器官の構築と生理機能に中心的な役割を果たす上皮の重要性に着目し，様々な切り口で進められている最先端の上皮細胞研究の知見を集めて議論して新しいアイデアを創出することを目指して，古瀬幹夫教授を中心に細胞構造研究部門のスタッフが共同で企画した。海外講演者 8 名（女性 2 名），国内講演者 13 名（女性 4 名）による招待講演と，海外 7 題を含む 32 題のポスター発表があり，ポスターの中からも優れた 5 題を講演にピックアップした。上皮細胞生物学の中でも，細胞極性，細胞間接着，上皮バリアと輸送，上皮恒常性，形態形成，メカノバイオロジー，上皮関連疾患に焦点をあてた結果，各トピックできわめてレベルの高い研究成果が紹介され，講演ごとに示唆に富む議論が交わされた。特に，従来の細胞生物学的手法に加え，メカノバイオロジー，超解像イメージング，精緻なライブイメージングと画像解析，数理モデリングが研究分野の最先端を牽引していること浮き彫りとなったことは印象的であった。参加登録者 154 名のうち 46 名が海外からの参加であり（シンガポール 10，アメリカ 9，オーストラリア 6，フランス・ドイツ各 5，イギリス 3，スイス・インド各 2，メキシコ・カナダ・ポルトガル・チリ各 1），本格的な国際学術集会となったことはオンライン開催ならではと言える。懇親会が開催できなかったことが惜しまれるが，講演の質疑応答は PC 画面上で顔を突き合わせて行い，ヴァーチャル会議室を使ったポスター発表でも研究者同士が直接会話して議論する時間を十分に確保することにより，研究者間の交流に配慮した。一方，時差への対応として，ポスター会場は 24 時間閲覧可能とし，参加登録者に限り，講演の録画を期間限定で配信した。

The 51st NIPS International Symposium "Frontiers in Epithelial Cell Biology" was held online December 6 - 8, 2021, focusing on the epithelium, which plays a central role in the architecture and physiological functions of various organs. The symposium was organized by Professor Mikio Furuse and the staff of the Division of Cell Structure. It aimed to generate new ideas by gathering and discussing knowledge from cutting-edge research from various aspects in epithelial cell biology. There were 32 invited lectures by 8 overseas speakers (2 women) and 13 domestic speakers (4 women), and 32 poster presentations, including 7 from overseas. In addition, 5 excellent posters were selected to give talks. Within epithelial cell biology, the symposium selected topics including cell polarity, intercellular adhesion, epithelial barriers and trafficking, epithelial homeostasis, morphogenesis, mechanobiology, and epithelial-related diseases. As a result, a high level of research results were presented in each topic, and thought-provoking discussions were exchanged at each lecture. It was impressive to see that mechanobiology, super-resolution microscopy, sophisticated live imaging, and mathematical modeling, in addition to conventional cell biological methods, are driving the state-of-the-art of the research field. Of the 154 registered participants, 46 were from overseas (Singapore 10, U.S.A. 9, Australia 6, France 5, Germany 5, U.K. 3, Switzerland 2, India 2, Mexico, Canada, Portugal and Chile 1 each), making it a full-fledged international scientific meeting, thanks to online. To facilitate interaction among participants, the Q&A sessions of the talks were conducted face to face on the PC screen. Even in the poster presentations, sufficient time was reserved for direct conversation and discussion in a virtual meeting space. To cope with time differences, the poster room was open 24 hours a day, and recordings of presentations were made available to registered participants.

The 51st NIPS International Symposium

Frontiers in Epithelial Cell Biology

December 6-8, 2021

Program

Time: JST: UTC+9:00

December 6th, Monday (Day 1)

10:45 Opening remarks by Junichi Nabekura (Director General, NIPS, Japan)

10:50 Introduction by Mikio Furuse (Organizer, NIPS, Japan)

Session 1
Chair: Ann Miller

11:00 **S1-1**
Mechanotransduction at adherens junctions: its role in epithelial homeostasis
Alpha Yap (University of Queensland, Australia)

11:35 **S1-2**
Mechanisms of paracellular sealing at tricellular contacts in vertebrate epithelial cells
Mikio Furuse (NIPS, Japan)

12:10 **S1-3**
Dissecting molecular and physical mechanisms underlying cell rearrangement
Kaoru Sugimura (University of Tokyo, Japan)

12:45 **S1-4 (P15)**
Tiling mechanisms of the compound eye through geometrical tessellation
Makoto Sato (Kanazawa University, Japan)

13:00-14:00 Break

14:00 **Poster session (Gather)**

Session 2
Chair: Alpha Yap

15:30 **S2-1 (P22)**
Autophagy suppression by TORC1 maintains epithelial plasma membrane integrity
Parisa Kakanj (University of Cologne, Germany)

15:45 **S2-2**
Adjusting Tension sensitivity of α-catenin for epithelial morphogenesis
Shigenobu Yonemura (Tokushima University, Japan)

16:20　S2-3
Roles of membrane lipids in tight junction formation
Junichi Ikenouchi (Kyushu University, Japan)

16:55　S2-4
The supra-molecular structure of the apical junctional complex in MDCK cysts
Alf Honigmann (MPI-CBG, Germany)

December 7th, Tuesday (Day 2)

Session 3
Chair: Alexander Ludwig

11:00　S3-1
The tight-junction apical complex: A new point of view that increases our understanding of epithelial barriers and biological systems
Sachiko Tsukita (Teikyo University, Japan)

11:35　S3-2
Maintenance and remodeling of epithelial cell-cell junctions during cell shape changes
Ann Miller (University of Michigan, USA)

12:10　S3-3
The epidermal tight junction barrier maintaining homeostasis of the skin
Akiharu Kubo (Kobe University, Japan)

12:45　S3-4 (P14)
Anti-inflammatory peptides promote tissue-repair by reinforcing epithelial barrier
Yukako Oda (Kyoto University, Japan)

13:00-14:00　Break

14:00　Poster session (Gather)

Session 4
Chair: Tatsushi Igaki

15:30　S4-1
Decoding the spatial pattern of apoptosis-induced compensatory proliferation
Yusuke Toyama (Mechanobiology Institute, Singapore)

16:05　S4-2
Mechanochemical feedback control in collective epithelial migration
Tsuyoshi Hirashima (Kyoto University, Japan)

16:40　S4-3 (P25)
Collective ERK/Akt activity waves orchestrate epithelial homeostasis by driving apoptosis-induced survival
Paolo Armando Gagliardi (University of Bern, Switzerland)

16:55　S4-4
Engineering Morphogenesis with Optogenetics
Stefano DeRenzis (EMBL Heidelberg, Germany)

December 8th, Wednesday (Day 3)

Session 5
Chair: Shigenobu Yonemura

11:00 **S5-1 (P19)**
Dynamic yet strong: sliding anchors as novel organizers of the cell cortex
Elgin Korkmazhan (Stanford University, USA)

11:15 **S5-2**
Mechanisms of polarized exosome release from epithelial cells
Mitsunori Fukuda (Tohoku University, Japan)

11:50 **S5-3**
Organisation and spatio-temporal control of the Crumbs-associated polarity network in mammalian epithelial cells
Alexander Ludwig (Nanyang Technological University, Singapore)

12:25 **S5-4**
Roles of Rabs and SNAREs in epithelial cell polarity in vivo
Akihiro Harada (Osaka University, Japan)

13:00-14:00　Break

Session 6
Chair: Kaoru Sugimura

14:00 **S6-1**
Mechanical perspective of collective cell movement in epithelial morphogenesis
Erina Kuranaga (Tohoku University, Japan)

14:35 **S6-2**
Genetic dissection of cell competition: how to eliminate unfit neighbors in the epithelium
Tatsushi Igaki (Kyoto University, Japan)

15:10 **S6-3**
Epithelial cell clusters undergo a new mode of collective migration
Fanny Jaulin (Gustave Roussy, France)

15:45 – 16:15　Break

Session 7
Chair: Junichi Ikenouchi

16:15 **S7-1**
New insights on the role of claudin-10 in renal tubular transport function
Markus Bleich (Kiel University, Germany)

16:50 **S7-2**
Induction of 3D bladder epithelial organoids using the support of splanchnic mesoderm
Minoru Takasato (RIKEN BDR, Japan)

17:25 **S7-3**
Renal microenvironments regulating renal injury, inflammation and fibrosis
Motoko Yanagita (Kyoto University, Japan)

18:00　Concluding remarks by Alpha Yap (University of Queensland, Australia)

Poster Program

P01
Optogenetic relaxation of actomyosin contractility uncovers mechanistic roles of cortical tension during cytokinesis
Kei Yamamoto (NIBB, Japan)

P02
Image-based statistical inference of mechanical parameters governing epithelial morphogenesis
Goshi Ogita (Kyoto University, Japan)

P03
Occludin and tricellulin regulate the complexity of tight junction strand network and epithelial barrier function
Tomohito Higashi (Fukushima Medical University, Japan)

P04
Characterisation of Pals1 dynamics during epithelial polarity development
Eleanor Martin (Nanyang Technological University, Singapore)

P05
The effect of claudin-15 deletion on paracellular Na+ transport in the cecum and large intestine
Wendy Hempstock (University of Shizuoka, Japan)

P06
Protective effects of flavonoids against weak UVB-induced barrier dysfunction via suppressing nitric oxide production and mislocalization of claudin-1 in HaCaT cells
Yuta Yoshino (Gifu Pharmaceutical University, Japan)

P07
Functional rescue for disease-associated CFTR-mutations frequently found in Japanese CF patients by the CFTR correctors for Caucasian mutants
Yoshiro Sohma (International University of Health and Welfare, Japan)

P08
The role of the paracellular barrier in stem cell homeostasis in the *Drosophila* gut
Yasushi Izumi (NIPS, Japan)

P09
Keratin intermediate filaments in mechanotransduction of keratinocytes and the pathophysiology of epidermolysis bullosa simplex
Sachiko Fujiwara (NIPS, Japan)

P10
The roles of claudins and JAM-A in providing tight junction-dependent mechanical resistance
Thanh Phuong Nguyen (NIPS, Japan)

P11
Roles of the cytoskeleton in the accumulation of cholesterol at tight junction regions
Kenta Shigetomi (Kyushu University, Japan)

P12
Tricellulin plays an essential role for the barrier function at tricellular junctions by interacting with actomyosin
Yuma Cho (Kyushu University, Japan)

P13
Roles of Homer family proteins in the formation of circumferential actin ring in epithelial cells
Ryoya Fujinaga (Kyushu University, Japan)

P14 (S3-4)
Anti-inflammatory peptides promote tissue-repair by reinforcing epithelial barrier
Yukako Oda (Kyoto University, Japan)

P15 (S1-4)
Tiling mechanisms of the compound eye through geometrical tessellation
Makoto Sato (Kanazawa University, Japan)
P16
Study on the expression of Angiotensin converting enzyme 2, ACE2 in the primary culture of human nasal and bronchial epithelial cells
Kasane Yasuoka (Ritsumeikan University, Japan)

P17
De-wetting of cortical myosin-II facilitates the reconnection of junctions during cell rearrangement
Keisuke Ikawa (University of Tokyo, Japan)

P18
TBA
Tara Finegan (Syracuse University, USA)

P19 (S5-1)
Dynamic yet strong: sliding anchors as novel organizers of the cell cortex
Elgin Korkmazhan (Stanford University, USA)

P20
Epithelial adhesions modulate apical domain contraction to drive cell shape change
Kenji Matsuzawa (Kyushu University, Japan)

P21
Roles of Ezrin in regulation of ciliary beating in airway ciliary cell
Kotoku Kawaguchi (Ritsumeikan University, Japan)

P22 (S2-1)
Autophagy suppression by TORC1 maintains epithelial plasma membrane integrity
Parisa Kakanj (University of Cologne, Germany)

P23
Linking epithelial morphogenesis and oncogenic PI3K/Akt signaling
Agne Frismantiene (University of Bern, Switzerland)

P24
A unique mode of functional cell death in stratum granulosum cells, corneoptosis
Takeshi Matsui (Tokyo University of Technology)

P25 (S4-3)
Collective ERK/Akt activity waves orchestrate epithelial homeostasis by driving apoptosis-induced survival
Paolo Armando Gagliardi (University of Bern, Switzerland)

P26
Competitive elimination of tight junction deficient cells regulate epithelial barrier homeostasis
Tetsuhisa Otani (NIPS, Japan)

P27
Epithelial tissue compression is mediated by a novel lateral non canonical E-Cadherin associated basal supra cellular acto-myosin cortex in *Drosophila* pupal trachea
Rojalin Pradhan (National Institute of Science Education and Research, HBNI, India)

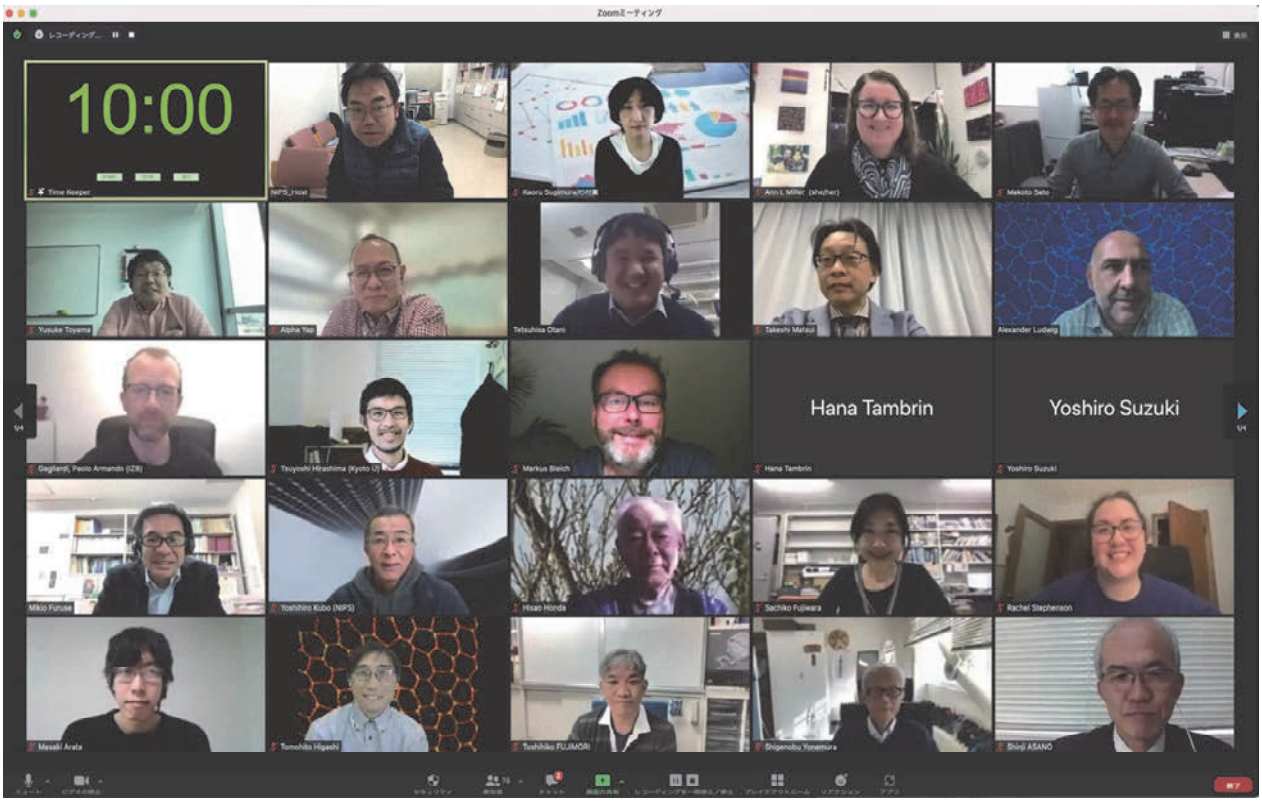
P28
Remodeling of the luminal epithelium of the uterus during implantation of mouse embryos
Jun Sakurai (NIBB, Japan)

P29
mTORC2 suppresses cell death induced by hypoosmotic stress by promoting sphingomyelin transport
Yumiko Ono (Kyushu University, Japan)

P30
Defects in Tricellular Junction Triggers Tumor-Suppressive Cell Competition
Haolin Xie (Kyoto University, Japan)

P31
Research on the regulatory factor related to differentiation of multiciliated ependymal cells
Takuya Hirao (Ritsumeikan University, Japan)

P32
Transcriptional profiles along cell programming into corneal epithelial differentiation
Maria-Teresa Ortiz-Melo (Universidad Nacional Autonoma de Mexico, Mexico)



【トレーニングコース】

第 32 回生理科学実験技術トレーニングコース

2021 年 8 月 2 日－8 月 6 日

担当：箕越靖彦（生殖･内分泌系発達機構研究部門）

【概要】

生理科学実験技術トレーニングコースは，今年で 32 回目を迎え，8 月 2 日（月）より 8 月 6 日（金）までの 5 日間，生理学研究所の明大寺･山手両キャンパスで開催された（担当：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。昨年度は，新型コロナウイルス感染症のため開催をやむなく中止した。本年度は，感染症予防のため，一部コースをオンライン開催したほか，現地開催コースも受け入れ人数を縮小して実施した。また，例年初日に実施している動物実験教育訓練をオンラインで事前に行うなどの対策を行った。下記 19 コースの募集を行ったところ 135 名の応募があった。118 名が採択され，7 月に発出された緊急事態宣言のため宣言該当地域の 18 名の受講をお断りしたものの，98 名が下記のコースを受講された。受講者の約 7 割が大学院生・学部学生で，他は大学や企業の研究者であった。本トレーニングコースは，日本生理学会の共催として実施した。実習指導には生理研の職員を中心として，他大学からの講師も含めて，約 80 人の研究者があたった。

【実習内容】

1. In vitro 発現系を用いたイオンチャネル・受容体の機能解析
2. パッチクランプ法を用いた温度感受性 TRP チャネル解析
3. スライスパッチクランプ法を用いた神経活動・シナプス・回路解析
4. 培養細胞と組織凍結切片の蛍光免疫染色法
5. クライオ電子顕微鏡によるタンパク質の単粒子構造解析
6. 海馬神経初代培養法とシナプス超解像観察
7. 2 光子顕微鏡による細胞内分子活性化の FRET イメージング
8. 2 光子励起顕微鏡を用いた生体イメージング法
9. 生体蛍光イメージングの原理から先端まで
10. In vivo 4 次元心循環機能計測と心筋細胞の機能評価
11. ウイルスベクターの作製と導入遺伝子の発現観察
12. ゲノム編集技術による遺伝子改変動物作製のための発生工学技術
13. マウスの基本的実験手技と学習・記憶行動解析入門
14. 脳特定部位内への薬物微量注入法と摂食行動解析入門
15. 覚醒下実験動物からの神経活動記録法入門
16. 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
17. SPM を用いたヒト脳の fMRI データ解析入門　（オンライン開催）
18. 脳波ダイナミクスのデータ解析入門　（オンライン開催)
19. 生体アンプ回路工作と機械工作入門

各コースのさらに具体的な内容に関しては，以下を参照されたい。

https://www.nips.ac.jp/training/2021/courses.html

トレーニングコース終了時には, 例年参加者からアンケートをいただいている。下記 URL にアンケートの集計結果を示す。

https://www.nips.ac.jp/training/2021/questionnaire/TC2021Q.pdf

【セミナー報告】

セミナー報告

1. 岡崎におけるクライオ電子顕微鏡導入計画

村田和義（生理学研究所　生体分子構造研究部門）

(2020.4.2)

4 月から発足しました生体分子構造研究部門では，主にクライオ電子顕微鏡法（以降，クライオ電顕）を用いた生体分子，特にタンパク質の構造解析を行います。これは 2017 年にノーベル化学賞のテーマにも選ばれた方法で，試料の結晶化や同位体ラベルなどを行わずに，タンパク質の構造決定が行える画期的な構造解析手法です。岡崎でも今年度，タンパク質の構造決定が可能なハイエンドのクライオ電顕の導入が予定されています。本セミナーでは，現在，生理研に設置されている 200kV のクライオ電顕とこれから導入される 300kV クライオ電顕では何が異なるのか，これらを組み合わせることでどのような解析ができるか，今後どのような研究が展開されるか，などをこれまでの成果を踏まえて紹介したいと思います。

2. マカクザルへのオプトジェネティクスの応用 ～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～

佐野裕美（生理学研究所　生体システム研究部門）

(2021.6.25)

マカクザルを用いた研究においてもウイルスベクターを利用した遺伝子導入が普及してきており，光遺伝学や化学遺伝学が利用されている。しかし，マカクザルの大脳皮質運動野において，オプトジェネティクスを利用して光刺激で神経活動の興奮あるいは抑制には成功した報告があるものの，げっ歯類を用いた研究で報告されているような上肢の運動の誘発には成功例の報告が無かった。そこで，私たちはマカクザルを用いた研究においてもオプトジェネティクスを有効なツールとして利用していくため，マカクザルの大脳皮質運動野に channelrhodopsin-2 を発現させ，光刺激により神経活動の興奮だけでなく上肢の運動を誘発しようと試みた。

今回のセミナーでは，大脳皮質運動野への光刺激によるマカクザルの上肢の運動の誘発の成功例について紹介する。更に，特定の神経経路に遺伝子導入するために開発した逆行性の遺伝子導入法についても紹介する。

3. 感覚免疫学

丸山健太（生理研特別協力研究員・昭和大学医学部講師）

(2021.8.10)

侵害刺激によって活性化される神経や受容体は皮膚・腸をはじめとする上皮に分布することで痛みを感知し，生体防御の一翼を担っている。一方，病原体を認識して排除することを目的とする免疫系は上皮において発達しているため，上皮を場とする免疫反応は感覚系に影響を与えうる。しかし，感覚系と免疫系の研究は古来より独立した分野として発展を遂げており，両者の相互作用は殆ど研究されてこなかった。そこで我々は，上皮における感覚系と免疫系のクロストークを理解するための研究に着手した。その結果，皮膚の真菌感染によって生じる炎症と骨破壊が痛覚神経によって抑制されていることを見出した。また，痛覚神経とケラチノサイトの双方に真菌受容体が発現し，これらが協調しながら真菌感染随伴疼痛を発生させている分子機構の全貌を解明し

たほか，腸上皮に発現する機械刺激受容体が腸内細菌由来のリボ核酸を認識することで，腸炎や骨代謝を制御している一面を明らかにしてきた。一連の成果は上皮における感覚系と免疫系が多彩な分子を共有しながら互いに相互作用することで全身の生理機能を調節していることを示しており，生理学と免疫学を融合させた「感覚免疫学」ともいうべき学際領域の提唱に至っている。本講演では，生体の表面を場とする感覚免疫系の研究をつうじて新たな鎮痛薬・免疫調節医薬の創発を目指す我々の試みを紹介したい。

4. ①ネガティブ情動の美的範疇について
②舌でナトリウムを感知する化学感覚細胞とその仕組み

①石津　智大（関西大学文学部心理学科）
②野村　憲吾（京都府立医科大学　大学院医学系研究科　細胞生理学）

(2021.8.20)

要旨無し

5. 抗てんかん作用を発揮する LGI1-ADAM22 複合体の量的制御機構の解明

横井　紀彦（生理学研究所　生体膜研究部門）

(2021.8.20)

多くの遺伝性疾患においては，標的蛋白質の量や機能がある閾値を下回ると，臨床症状が出現する。したがって，疾患蛋白質の発現量と症状出現との関連性を定量的に明らかにし，その蛋白質の発現制御機構を解明することは，疾患治療において重要となる。本研究室では，てんかん原因遺伝子産物である，神経分泌蛋白質 LGI1 と膜蛋白質 ADAM22 がシナプスにおいて複合体を形成すること，そして，変異による複合体の減少がてんかんを誘引することを報告してきた。今回，LGI1-ADAM22 の量を制御する分子機構として，ADAM22 のリン酸化依存的な蛋白質間相互作用を新たに見出した。さらに，LGI1-ADAM22 を様々な量で発現するマウス系統群を作製することで，この複合体がてんかん発症を抑える必要量を明らかにした。以上の結果をもとに，ADAM22 のリン酸化機構を利用することによる，てんかんの新たな治療法を提案し，議論したい。

6. 遠隔炎症ゲートウェイ反射とストレスゲートウェイ反射による病態制御

長谷部理絵（北海道大学遺伝子病制御研究所・講師）

(2021.8.24)

ゲートウェイ反射（以下，G 反射）は組織特異的な炎症病態を制御する神経回路である。私たちはこれまでに重力，痛み，ストレス，電気刺激，光刺激により誘導される G 反射を報告している。本講演では，新たに発見した「遠隔炎症 G 反射」と 2017 年に発見された「ストレス G 反射」について紹介する。遠隔炎症 G 反射は，関節リウマチ，乾癬，間質性肺炎などで左右対称性に遠隔部位に生じる炎症病態の分子機構であり，炎症局所の ATP シグナルが，感覚神経-脊髄介在神経-感覚神経回路を介して，原発とは離れた部位で炎症反応を誘導する。この遠隔炎症 G 反射では，ATP が神経伝達物質かつ炎症増悪因子として作用し，Nav1.8＋感覚神経と脊髄のプロエンケファリン陽性デコリン陽性介在神経から構成される神経回路が重要であった。また，ストレス G 反射では，それ自体では何ら病態を誘導しない軽度のストレスでも，血中に一定数のミエリン抗原を認識する自己反応性

CD4+T 細胞が存在すると，視床下部室傍核交感神経が活性化し，神経終末でノルアドレナリンが放出され，特定血管周囲で微小炎症が誘導される。ここでも炎症により産生される ATP により視床下部背内側核・前核が活性化し，迷走神経背側運動核の活性化，副交感神経を介して上部消化管炎症，心臓の機能不全，突然死が誘導される。G 反射に関連する神経回路の活性化，経路を解明し，G 反射の人為的な制御によるヒト炎症性疾患の予防・治療法を開発したい。

7. ウサギの初期胚と多能性幹細胞を用いた生殖系列への運命決定過程の追跡

小林俊寛（行動・代謝分子解析センター遺伝子改変動物作製室）

(2021.9.29)

たった 1 つの細胞である受精卵は，分裂とそれに伴う様々な細胞への運命決定を繰り返し私たちの身体を作り上げる。生殖系列への運命決定はその過程の中でも最も早く起こるイベントの一つで，次世代に遺伝情報をつなぐ唯一の細胞である生殖細胞か，その他すべての体細胞かを選択する岐路ともいえる。哺乳類ではこれまでに遺伝子改変の簡便性からマウスを用いてそのメカニズムの解明が進められてきたが，最近になって発生初期の構造が異なるマウス含む齧歯類と，ヒトを含む齧歯類以外の動物種では，そのメカニズムにも大きな違いがあることが判ってきた。一方で，大型動物や非ヒト霊長類などヒトに近い動物の発生学的な解析は実験動物ほど容易ではない。そこで私たちは，実験動物の中でもヒトに近い初期胚の構造をとるウサギに着目した。本セミナーでは，これまでの研究背景と共に，私たちが進めてきたウサギの初期胚と多能性幹細胞を使った研究を紹介したい。

8. ゲートウェイ反射を制御する神経回路解析とニューロモデュレーション医療への応用

山﨑剛士（北海道大学遺伝子病制御研究所・特任講師）

(2021.10.8)

「ゲートウェイ反射」では，特定の神経回路が活性化することで特定の血管部位に自己反応性 T 細胞の血液中から組織への侵入口である「血管ゲート」が形成され，組織特異的な慢性炎症病態が進行する。現在までに，重力・電気・痛み・光・ストレス・炎症の 6 つの刺激によるゲートウェイ反射が報告されている。2012 年に報告された「重力ゲートウェイ反射」では，マウスの後肢最大の抗重力筋であるヒラメ筋が重力刺激を受けることにより，第 5 腰椎レベルの後根神経節（L5 DRG）から投射する感覚神経が活性化し，続いて L5 交感神経節神経細胞が活性化する。その結果，L5 背側血管周囲に分布する交感神経終末よりノルエピネフリンが分泌され，同部位の血管内皮細胞で NFkB が増幅・過剰となり，ケモカイン産生，タイトジャンクション分子の発現低下から血管ゲートが形成されてミエリンを認識する自己反応性 T 細胞が脊髄に侵入し，微小炎症が誘導される。また，2017 年に報告された「ストレスゲートウェイ反射」では，ストレス刺激により視床下部室傍核交感神経が活性化し，神経終末でノルアドレナリンが放出され，脳の特定血管周囲で血管ゲートが形成される。ここでも血中のミエリンを認識する自己反応性 T 細胞の浸潤によって微小炎症が誘発され，産生される ATP により視床下部背内側核・前核が活性化し，迷走神経背側運動核の上部消化管に分布する副交感神経の過剰な活性化から上部消化管炎症，心臓の機能不全，突然死が誘導される。本講演では，これら 2 つのゲートウェイ反射を中心に，血管ゲート形成及び病態発現を制御する神経回路，これを標的としたニューロモデュレーション医療の可能性について紹介する。

9. 時を刻む脳

榎木亮介（生理学研究所　バイオフォトニクス研究部門）

(2021.10.28)

私たち哺乳類では，ストップウォッチで計測する様な秒単位の早いスケールの時間感覚から，一生（寿命）という二度と繰り返されない時間まで，実に様々な時間スケールの生物時計が存在している。私たちの全身の細胞は時計機能を有しており，生理機能に周期的なリズムをもたらし，時刻や季節の認識や時間感覚にも重要な役割を持っている。

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，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，組織としての安定性や頑強性は多数の細胞の相互作用により生み出されると考えられている。

私はこれまで，日から週単位の長期間で撮像する為の蛍光イメージング計測法を確立し，視交叉上核の概日リズム発振メカニズムの解析を行ってきた。本ランチセミナーでは，概日リズムの可視化の研究の試みに加え，岡崎に着任してから開始した冬眠研究のプロジェクトについても紹介したい。

10. 海馬台（subiculum）の形態と機能

石原義久（シャリテ医科大学　統合神経解剖学分野　Imre Vida 研究室：ドイツ・ベルリン）

(2021.11.8)

海馬台（subiculum）は海馬体の主要な出力部に当たり，記憶形成にとって重要であるとともに，病理学的にもアルツハイマー病や癲癇との関りも深い脳部位です。しかしながら，その細胞構築は，同じ海馬体の歯状回やアンモン角と比べると不明な部分が多く，生理学的研究の妨げとなってきました。そこで私はこれまで免疫組織化学的手法および注入実験を用いて海馬台の詳細な領域区分および神経結合について解析を進めてきました。その結果，NOS, PCP4, VGluT2, ZnT3 などの chemical marker の分布の違いから，背側海馬台と腹側海馬台の内部構造が大きく異なっていることを見出しましたので，紹介します。さらに，現在の所属先のドイツ，シャリテ医科大学の Vida 教授研究室で実施したパッチクランプ記録法による海馬台の単一神経細胞染色像の形態観察結果についても紹介致します。

11. 運動学習時における大脳皮質の神経回路選択的リモデリング

孫　在隣（生理学研究所・脳機能計測・支援センター 電子顕微鏡室）

(2021.11.8)

大脳皮質は多様な情報処理を行うが，それを可能とする根幹となるのは，多様なニューロンの織りなす複雑な神経回路である。これまでも神経解剖学者らが脳の神経回路地図の作成に努めてきており，現代においても詳細な神経回路地図の作成が進んでいる。この神経回路地図は脳の構造基盤として重要であるものの，その中にある配線の１つ１つがどのような機能に貢献しているのかまでは不明である。特に，動物は成体となっても環境に適応すべく，その神経回路は接続を変化（リモデリング）させている。学習の際にどの神経回路がリモデリングを起こしているのかを観察することで，その配線の機能的意義が明らかになると考えられる。

私は現在，運動学習中の大脳皮質運動野神経回路のリモデリングを観察している。大脳皮質には皮質内での神経回路と，皮質下との連絡が複雑に絡み合っているが，それらの神経回路が運動学習中にどのように変化して

いるのかについては不明である。大脳皮質運動野には，特に高次運動皮質などからの皮質-皮質間連絡（cortico-cortical, CC）と，運動性視床核を経由した皮質下からの入力（thalamo-cortical, TC）が存在する。それらは運動野錐体細胞の樹状突起にある棘突起（スパイン）にシナプスを形成する。このシナプスは学習中に出現・消失を起こすことが知られており，神経回路が接続変化を起こしていることを示唆している。運動学習中のスパイン動態を生体 2 光子イメージングにて観察した後，固定脳標本を作成して post-hoc 免疫組織化学や光学顕微鏡・電子顕微鏡相関解析（correlated light and electron microscopy, CLEM）を行い，そのシナプス前終末の形態・由来を同定した。それにより，トップダウン性の CC 入力と皮質下からの TC 入力を受けるスパインはそれぞれ異なる動態を示すことが判明した。

本セミナーでは，このようなアプローチによって明らかになった神経回路選択的リモデリングを元に，神経回路地図の配線が持つ機能的意義を考察したい。

12. アストロサイト GPCR シグナリングの行動神経学的意義

長井　淳（理研 CBS・チームリーダー）

(2021.11.21)

This seminar will report the latest insights on astrocyte signaling in the adult neural circuits, by using multiple integrated approaches, including calcium imaging, electrophysiology, opto/pharmaco-genetics, mouse behavioral tests, RNA-seq and new astrocyte manipulation tools that we recently developed. First, I will describe mechanisms of bi-directional neuron-astrocyte communications in the striatum that lead to hyperactivity and disrupted attention via a synaptogenic cue1. Second, I will present how astrocytes respond to distinct perturbations and how we can use the molecular signaling information for phenotypic benefits in neurodegenerative disease mouse models, e.g. Huntington's disease2. Third, I will report a validation work for a new effective, specific and consequential attenuation tool of astrocyte Gq-GPCR signaling in vivo3. Taken together, our findings show that signaling from astrocytes to neurons is sufficient per se to alter synapses, circuits and behavior. We also provide new tools to study such astrocyte-neuron dynamics.

References:

1. Nagai J et al., Hyperactivity with disrupted attention by activation of an astrocyte synaptogenic cue. Cell 2019
2. Yu X and Nagai J et al., Context-specific striatal astrocyte molecular responses are phenotypically exploitable. Neuron 2020
3. Nagai J et al., Specific and behaviorally consequential astrocyte Gq GPCR signaling attenuation in vivo with ibARK. Neuron 2021

13. 橋渡し研究を目指したげっ歯類の MRI 脳機能計測

釣木澤 朋和（産業技術総合研究所 人間情報インタラクション研究部門）

(2021.11.16)

近年の高磁場 MRI の発展により, ヒトだけでなくサルやげっ歯類でも高分解能での fMRI 計測が可能となり, MRI を横串とした橋渡し研究が期待される。しかし，多くの小動物 MRI 研究では撮像時の動きやストレスを抑制するために麻酔を用いているため, 覚醒下のヒト fMRI 研究との比較が難しい。そこで，げっ歯類における無麻酔 MRI プロトコルを確立することで, より直接的にヒト―動物間での脳機能の比較を可能にした。さらに，従来の BOLD fMRI 以外にも神経活動やアストロサイト活動をより直接的に計測できないか，新規計測法の開発を行っている。

14. Development of the infant sensory-motor cortex during early days of human life

Vaidehi Natu（Department of Psychology, Stanford University, USA）

(2021.11.16)

Development of cortical tissue during infancy is critical for the emergence of typical brain functions in cortex. However, how cortical microstructure develops during infancy remains unknown. We measured the longitudinal development of cortex from newborns to six-months-old infants using quantitative imaging of cortical microstructure. Our findings show that infants' cortex undergoes profound microstructural tissue growth during the first six months of human life. Comparison of postnatal to prenatal transcriptomic gene expression data reveals that myelination and synaptic processes are dominant contributors to this postnatal microstructural tissue growth. Importantly, our findings propose a hypothesis that cortical myelination is a key factor in cortical development during early infancy, which has important implications for diagnosis of neurodevelopmental disorders and delays in infants.

15. 光操作と蛍光イメージングでひも解く海馬シナプスの動作原理

村越秀治（生理学研究所　脳機能計測・支援センター）

(2021.12.15)

近年，光受容タンパク質を利用してタンパク質活性を光操作することにより細胞活動を操作することが可能になった（光遺伝学）。しかしながら，現在までに様々な光操作ツールが開発され神経科学の分野で広く使用されているものの，まだまだ発展の余地がある。例えば，神経細胞上では個々のシナプスは独立して動作するため，単一シナプスレベルの光操作を可能にすることは神経細胞の動作機構や記憶の研究にとって極めて重要な課題であった。しかしながらこれまで，神経細胞レベル（数十 μm）で光操作が可能なオプトジェネティクスツールの開発は進んでいたものの，シナプスのような微小領域（1 μm 以下）を操作するためのツール開発は，多くのトライ＆エラーや経験が必要で難易度が高いため進んでいなかった。最近私達は，植物の光受容タンパク質である Phototropin 1 の光受容部位を Ca2+/カルモジュリン依存性プロテインキナーゼ II（CaMKII）と遺伝子工学的に融合することで，470 nm 付近の青色光あるいは近赤外（700-950 nm）の 2 光子励起によって活性化する光応答性 CaMKII（photoactivatable CaMKII: paCaMKII）の開発に成功した。

昼食セミナーでは，paCaMKII の紹介（Shibata et al. Nature Communications 2021）と共に paCaMKII のシナプス可塑性研究への応用（Ueda et al. Cell Reports, accepted）についても紹介したい。

16. 先端光技術を駆使した細胞内ダイナミクスの可視化限界の拡張と応用

石井宏和（生理学研究所　バイオフォトニクス研究部門）

(2021.12.23)

個体発生や脳機能といった生命機能の分子基盤を理解するには，細胞内における分子やオルガネラ，細胞骨格などの時空間ダイナミクスをありのままに，高解像度で可視化することが重要である。本セミナーでは，講演者がこれまでに取り組んできた生体分子の向きや並び方を生細胞内で観察できる蛍光偏光顕微鏡の生物応用，さらには生体深部「ナノ」イメージングを目指した二光子顕微鏡の超解像化と今後の可能性について紹介し，議論したい。

17. 末梢 B 細胞運命決定機序

黒﨑　知博（大阪大学ＷＰＩ免疫フロンティア研究センター・大阪大学感染症総合教育拠点・
理化学研究所統合生命医科学研究センター）

(2022.1.28)

抗体の多様性形成に関する分子的研究の目覚ましい進展に比べて，末梢 B 細胞が抗原刺激を受けて，どのような機序で，プラズマ細胞・メモリーB 細胞へと分化するのか，又，T 細胞のように機能的に異なるサブセットが形成されるのかどうか，このような問題の解決は残念ながらあまり進んできたとは言えない状況であった。抗体の多様性は，先ず，骨髄で生じる遺伝子再編成によってもたらされるわけであるが，T 細胞とは異なり，B 細胞の場合，再度，末梢で抗原によって，胚中心（GC）反応が誘導され，その中で，突現変異（SHM）により，２度目の多様性創出が生じ，affinity maturation が生じる。それと同時に GC B 細胞からメモリーB 細胞及び長期生存プラズマ細胞という，液性免疫記憶を支える２つの細胞コンパートメントが生成されてくる。最近，この複雑な GC 反応中に生じる細胞運命決定機構が明らかにされつつある。この点に的を絞り，最近の私たちの研究成果を中心に，どこまでわかりつつあるのか，又将来どのような課題が重要になるのかを議論していきたい。

18. 味覚と栄養の神経科学

中島健一朗（生理学研究所　生殖・内分泌系発達機構研究部門）

(2022.2.8)

摂食はヒトを含め動物が生きていくために最も重要な行動の 1 つである。しかし，近年，世界規模で過食が肥満や糖尿病を引き起こす要因として大きな問題となっている。また，日本など先進国では過食に加え，老化に伴う食欲不振や若年性の摂食障害も顕在化しており，食と健康の関係は基礎研究のみならず社会的にも注目されている。

食物は味や匂いなどの感覚成分と栄養成分の両方を併せ持つという特徴がある。一方，これら様々な情報を脳が感知する仕組みについては最近までよくわかっていなかった。また，食欲を制御する神経ネットワークの研究はめざましく進んでいるものの，味や食物の好みを決める脳内メカニズムについては未だ不明な点が多いままとなっている。昼食セミナーではこれらの話題について筆者らの研究を中心に紹介したい。

19. HCP パイプラインによる fMRI データの前処理：既存の前処理との違いに焦点を絞って

山本哲也（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）

(2022.2.14)

HCP パイプラインは，Washington University in St. Louis を中心とした Human Connectome Project (HCP) が開発・提供するヒト MRI データの統合解析プラットフォームである。この中で大きな比重を占める fMRI データの前処理パイプラインは，近年のマルチバンド撮像技術の展開による高解像化や撮像高速化の結果，代償として生じる画像歪みや時系列データの SN 比低下等，多くの問題への対処の必要性から複雑化する前処理を容易かつ包括的に適用できる。研究の本質ではない前処理について十分な知識を有さない研究者が，正しく前処理を行うために多大な労力を割かずに済む点でも非常に有益である。一方，決められた撮像プロトコルで取得したデータをパイプラインに流し込みさえすれば，高度な前処理を遂行できてしまうため，高度な前処理工程がブラックボックス化し，基本的な理解すらままならなくなる問題も孕んでいる。そこで，本セミナーでは，fMRI データ解

析に広く用いられている FreeSurfer や SPM との違いを中心に，HCP の構造画像処理と fMRI データ前処理の 2 つのパイプラインについて，その特色を解説する。

参考文献

Glasser MF, Sotiropoulos SN, Wilson JA et al. The minimal preprocessing pipelines for the Human Connectome Project. Neuroimage. 2013 Oct 15;80:105-24. doi: 10.1016/j.neuroimage.2013.04.127.

Glasser MF, Coalson TS, Robinson EC et al. A multi-modal parcellation of human cerebral cortex. Nature. 2016 Aug 11;536(7615):171-178. doi: 10.1038/nature18933.

※2 つ目の論文については，本セミナーで関係するのは Supplementary Methods の部分のみ

(https://static-content.springer.com/esm/art%3A10.1038%2Fnature18933/MediaObjects/41586_2016_BFnature18933_MOESM328_ESM.pdf)

20. マーモセット前頭前野における"population connectivity"の重要性について

渡我部昭哉（理研 CBS）

(2022.3.4)

The expansion of the prefrontal cortex (PFC) is a hallmark of primate brain evolution. Whereas the increase in the number of neurons leads to the formation of more complex neural circuits, the burden of wiring costs becomes more severe. Here we propose a model of "population connectivity" that may explain the neural architecture of the enlarged cortex. In our group, we use marmosets as a primate model for a projectome analysis of the PFC. In this study, we have succeeded in quantitatively describing the complex projection patterns of the PFC by classifying them into two types: one is the focal type, in which axon terminals are concentrated in a narrow region of a submillimeter scale, and the other is the spread type, in which projections are sparse but spread over a wide area. The projection from each point of the PFC is thought to be a mixture of both and can be explained by a topographic model based on the injection coordinate. Functionally, these two types of projections involve different populations of neurons with differential effects. The focal type is responsible for localized and highly efficient neurotransmission, while the spread type would be effective only when neural activity is widespread and synchronized. Comparison with mouse data suggests that the refinement of the population connectivity may have been an important factor in enabling efficient neurotransmission in the enlarged primate cortex.

21. THIK-1 チャネル活性化に関する分子基盤

石井宏和（生理学研究所　バイオフォトニクス研究部門）

(2022.3.11)

HIK-1 チャネルは 4 つの膜貫通部位と 2 つのポア領域を有し，２量体を形成してカリウムチャネルとして機能する。麻酔薬であるハロタンにより抑制され，アラキドン酸により活性化されるという特長以外，チャネルの制御分子や生理的役割などは長らく不明であった。近年，THIK-1 チャネルが Gi/o 共役型受容体により活性化されること，microglia に発現し重要な役割を果たすことが報告された。我々は，Gi/o 共役型受容体に加え Gq 共役型受容体が THIK-1 チャネルを活性化することを見出し，さらに，光架橋アミノ酸を用いてチャネル活性化に関わる第 4 膜貫通部位のアミノ酸残基を同定した。これらの新知見について紹介したい。

【大学院特別講義】

大学院特別講義

1. 第 242 回（2021.5.19）※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　磯田昌岐　教授
   演題：社会的脳機能の生理学的理解

2. 第 243 回（2021.6.2）※WEB 配信
   演者：生体機能調節研究領域　心循環シグナル研究部門　西田基宏　教授
   演題：自律神経系を介した心循環機能調節

3. 第 244 回（2021.7.7）※WEB 配信
   演者：脳機能計測・支援センター　多光子顕微鏡室　村越秀治　准教授
   演題：シナプス可塑性の分子イメージング

4. 第 245 回（2021.8.4）※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　榎木亮介　准教授
   演題：生物時計と脳：生命が時を刻む仕組み

5. 第 246 回（2021.10.13）※WEB 配信
   演者：システム脳科学研究領域　生体システム研究部門　南部　篤　教授
   演題：大脳基底核の機能とその異常

6. 第 247 回（2021.11.17）※WEB 配信
   演者：生体機能調節研究領域　心循環シグナル研究部門　西村明幸　特任准教授
   演題：ミトコンドリア品質管理から読み解く心血管機能調節

7. 第 248 回（2021.12.8）※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　平林真澄　准教授
   演題：発生工学技術アラカルト

8. 第 249 回（2022.1.26）※WEB 配信
   演者：分子細胞生理研究領域　生体膜研究部門　深田正紀　教授
   演題：パルミトイル化サイクルによるシナプス機能制御

生理学研究所年報　第４３巻

発　　行　　2022 年 12 月 22 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