

第 24 回 活性アミンに関するワークショップ

日時: 2022 年 8 月 27 日 (土) 10:00~18:00

会場: 大阪大学 銀杏会館

阪急電鉄・三和銀行ホール (吹田キャンパス)

〒565-0871 大阪府 吹田市山田丘 2-2

TEL: 06-6879-3006

会費: 一般 5000 円

学生 1000 円

世話人会: 昼食時に銀杏会館にて開催いたします。

主催: 第 24 回「活性アミンに関するワークショップ」世話人会

共催: 大阪大学大学院医学系研究科保健学専攻

協賛: 社団法人日本薬理学会

後援: 日本神経科学学会、日本生理学会

世話人(敬称略、五十音順)

荒井 裕一郎	(元東京有明医療大・保健医療)
池本 桂子	(いわき市医療センター)
石毛 久美子	(日大・薬・薬理)
一瀬 宏	(東工大院・生命理工)
大澤 匡弘	(名市大・院薬・神経薬理)
小山内 実	(大阪大・院医・保健学・生体物理工)
大橋 晶子	(日大・歯・解剖学第 I 講座)
加香 孝一郎	(筑波大・生命環境系・生命領域学際研究センター)
笠原 二郎	(徳島大学・薬・神経病態解析)
川崎 和夫	(元エフピー(株)・創薬研究所)
杵鞭 宏育	(昭和大・医・薬理・医科薬理)
小西 史朗	(元徳島文理大・香川薬・薬理)
酒井 規雄	(広島大院・医歯薬総合・神経精神薬理)
櫻井 栄一	(元徳島文理大・薬・薬剤学)
櫻井 映子	(元国際創生大・薬・薬学科)
笹川 展幸	(上智大・理工・情報理工学科)
杉本 由美	(姫路燭協大・薬・医療薬学科・薬理)
只野 武	(いしかわクリエイトラボ)
丹野 孝一	(東北医薬大・薬・薬理)
富樫 廣子	(元北海道医療大・薬・病態生理)
中川西 修	(東北医薬大・薬・薬理)
成田 正明	(三重大院・医・発生再生医学)
西 昭徳	(久留米大・医・薬理)
長谷川 宏幸	(日大・医・機能形態学)
蜂須 貢	(昭和大・薬・臨床精神薬学)
平賀 義裕	(ゼリア新薬工業(株)中央研究所)
平藤 雅彦	(国際創生大・薬・薬学科)
廣野 守俊	(和歌山県医大・生理学第 2)
益岡 尚由	(金沢医科大・薬理)
村上 由希	(関西医科大・医・衛生・公衆衛生)
村越 隆之	(埼玉医科大・生化学)
村松 郁延	(金沢医科大・薬理)
山中 創	(沖縄科学技術大学院大・神経回路ユニット)

第 24 回世話人代表: 小山内 実

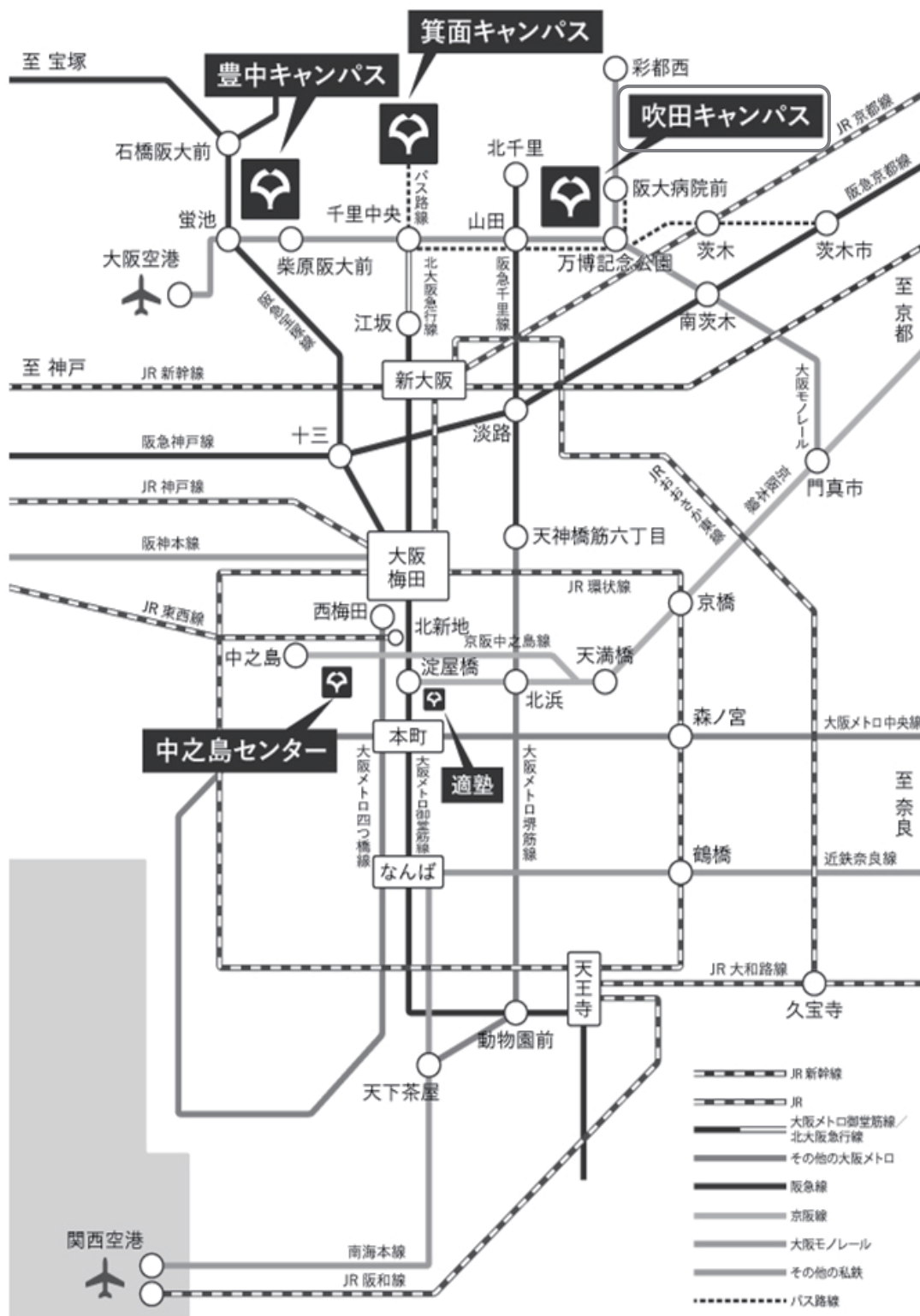
〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 1-7

大阪大学大学院医学系研究科保健学専攻 生体機能イメージング研究室 内

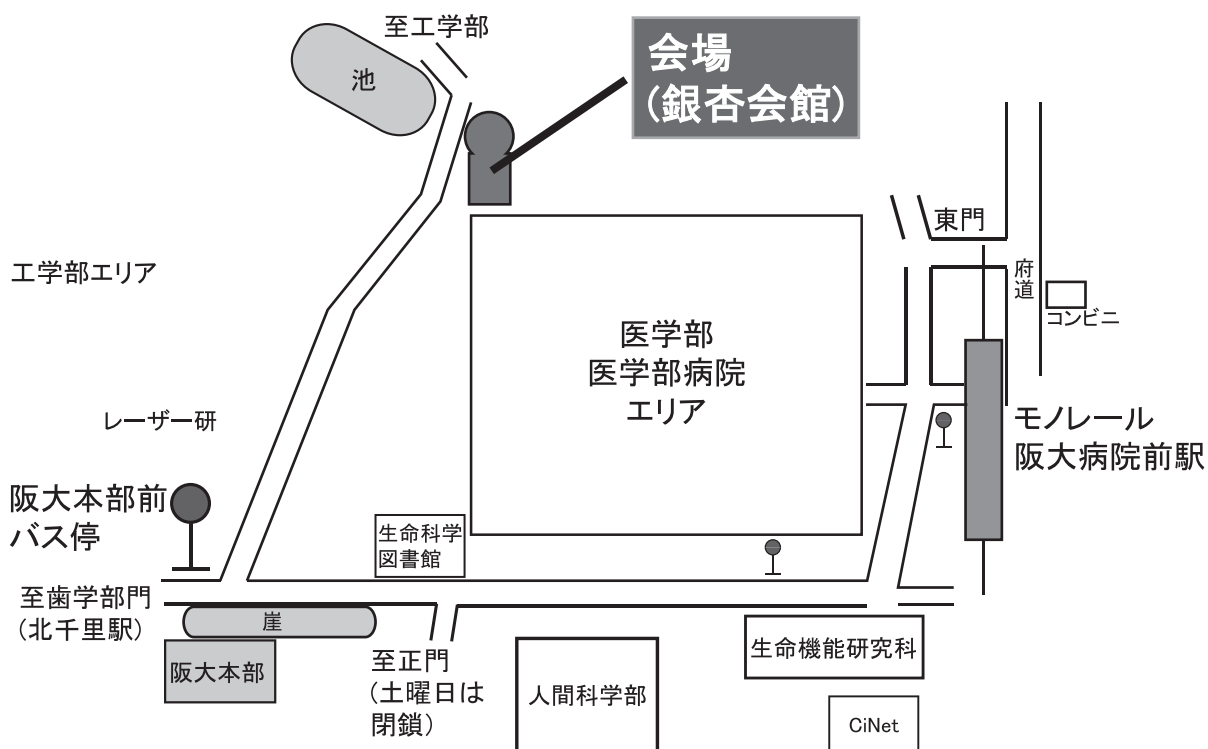
Tel: 06-6879-2571, Fax: 06-6879-2574

E-mail: amine2022@sahs.med.osaka-u.ac.jp

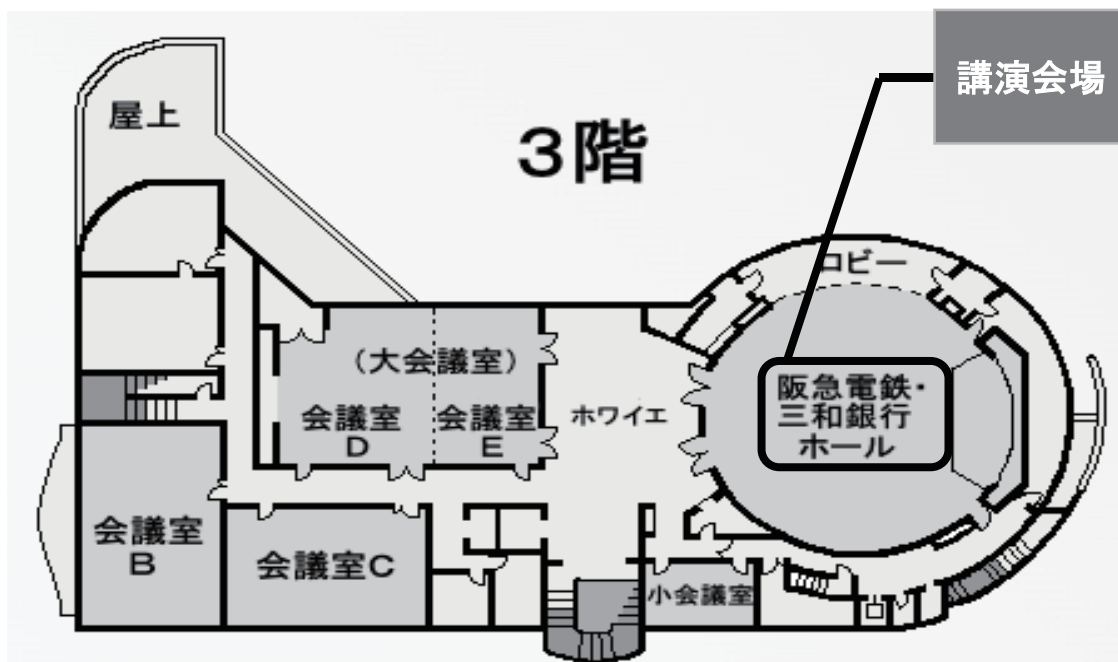
大阪大学 吹田キャンパスのご案内



銀杏会館のご案内



銀杏会館フロアマップ



参加者へのご案内

受付:会場入り口で受付をお済ませいただき、ネームカード入りのホルダー、領収書と講演要旨集をお受け取りください。当日参加申込の方は、氏名、所属、email アドレスを当日参加者リストにご記入の上、参加費 5000 円 (一般) 1000 円 (学生) をお支払いください。

ドリンクサービス: 受付にドリンクコーナーを設けますのでご利用ください。(数に限りがございます。)

飲食スペース: 昼食時は飲食スペースを用意しておりますのでご利用ください。参加申込時にご注文いただいたお弁当もこちらで配布いたします。

インターネット接続: 銀杏会館内では無線 LAN として eduroam がご利用いただけます (教育・研究機関にご所属の方限定)。接続方法については皆様のご所属機関にお問い合わせください。

原則、eduroam のご利用をお願いしておりますが、教育・研究機関にご所属でない方を対象に、odins-visitor-1x (ID: omakoto1, Password: 66Y3kQx3) もご利用いただけます。eduroam, odins-visitor-1x 共に講演会場 (阪急電鉄・三和銀行ホール内) では接続が不安定となっております。接続できない場合、ご面倒をおかけいたしますが、講演会場の外でのご利用をお願いいたします。

発表者へのご案内

一般公演は、発表 10 分、討論 5 分です。

特別公演は、発表 40 分、討論 10 分です。

- ・パソコンとプロジェクターを用いた発表に限らせていただきます。
- ・会場には Windows 10 Pro をインストールしたノート型パソコンに、発表用ソフトウェアの Microsoft Power Point 2013 をインストールしてご用意してあります。ご自身の発表用ファイルは USB フラッシュメモリーなどに保存してご持参ください。
- ・当日、受付時またはご発表前の休憩時間にパソコンにコピーして動作確認をお願いします(発表後はこちらで責任をもって消去いたします)。

注意 1) ほかの OS あるいはほかのバージョンの Microsoft Power Point をご使用されたい方や Mac を使用したい方は、ご自身のパソコンをご使用ください。

Mac の場合は HDMI もしくは VGA コネクターもご持参ください。

注意 2) 動画の使用を希望される方や特殊なフォントをご利用の方は、ご自身のパソコンの使用をお勧めします。

プログラム

9:30 開場、受付開始

9:55 開会の挨拶

一般講演

セッション 1 10:00 – 11:00 座長: 田村 篤史 (大阪大学)

- 10:00 O-1) 定量的活動依存性マンガン造影 MRIによる協調運動時全脳神経活動計測
○上村 優輝¹⁾、松下 知佳¹⁾、島崎 未海¹⁾、首藤 敦志¹⁾、
圓見 純一郎^{2),3)}、田村 篤史¹⁾、吉岡 芳親^{2),3)}、
小山内 実^{1),3),4)}
(大阪大・医・生体機能イメージング¹⁾、大阪大・生命機能²⁾、
情報通信研究機構・大阪大学脳情報通信融合研究センター³⁾、
東北大・医⁴⁾)
- 10:15 O-2) パーキンソン病モデルマウスの運動症状に対するイマチニブの薬効
○笠原 二郎¹⁾、周 禹¹⁾、後藤 恵²⁾
(徳島大・院・医歯薬学研究部(薬学域)・神経病態解析学
分野¹⁾ 立命館大・総合科学技術研究機構²⁾)
- 10:30 O-3) うつ病研究の現状と新しいうつ病研究の起爆剤
○山中 創
(沖縄科学技術大学院大学 神経回路ユニット)
- 10:45 O-4) アンジオテンシン変換酵素阻害薬の抗うつ作用メカニズムについて
○中川西 修¹⁾、小平 貴代¹⁾、小野 涼太郎¹⁾、
高橋 浩平²⁾、根本 互¹⁾、若生 美春¹⁾、小野木 弘志³⁾、
只野 武⁴⁾、丹野 孝一¹⁾
(東北医薬大・薬・薬理¹⁾、国際医療福祉大・薬・薬理²⁾、
東北福祉大・健康科学・保健看護³⁾、金沢大・院医薬保健・
環境生態医・公衆衛生⁴⁾)

11:00 – 11:10 休憩 (10 分)

一般講演

セッション 2 11:10 – 12:10

座長: 笠原 二郎 (徳島大学)

- 11:10 O-5) **マウスの報酬予測行動における脳内ドーパミン放出動態の解析**
○柴田智弘^{1),2)}、小澤貴明¹⁾、松本悠真^{1),2)}、
Tom Macpherson¹⁾、疋田貴俊¹⁾
(大阪大学蛋白質研究所¹⁾、大阪大学大学院理学研究科²⁾)
- 11:25 O-6) **報酬予測中のマウス前頭前皮質におけるドーパミン放出
ダイナミクスの解析**
○松本悠真^{1),2)}、小澤貴明^{1),2)}、尾山賀信^{1),2)}、
岩本涼太郎^{1),2)}、柴田智弘^{1),2)}、Macpherson Tom^{1),2)}、
疋田貴俊^{1),2)}
(大阪大学 理学研究科¹⁾、大阪大学 蛋白質研究所²⁾)
- 11:40 O-7) **恐怖条件づけ時の縫線核ドーパミントランスポーター(DAT)
およびセロトニントランスポーター(SERT)陽性神経の活動**
○古山 貴文¹⁾、山本 亮¹⁾、小野 宗範¹⁾、益岡 尚由²⁾、
加藤 伸郎¹⁾
(金沢医科大学 医学部 生理学¹⁾、金沢医科大学 医学部
薬理学²⁾)
- 11:55 O-8) **Distinct Role of Dopamine in the PFC and NAc During
Exposure to Cocaine-Associated Cues**
○河原幸江¹⁾、大西克典¹⁾、大西陽子¹⁾、河原博²⁾、
西 昭徳¹⁾
(久留米大学医学部薬理学講座¹⁾、鶴見大学歯学部
歯科麻酔学講座²⁾)

12:10 – 13:20 昼食 (12:20-13:10 世話人会)

一般講演

セッション 3 (13:20 – 14:20)

座長: 中川西 修 (東北医科薬科大学)

- 13:20 O-9) **p-ヒドロキシアンフェタミン誘発性プレパルス抑制障害に対するセロトニン神経系の関与**
○小野木 弘志¹⁾、中川西 修²⁾、根本 互²⁾、三反崎 聖³⁾、丹野 孝一²⁾、只野 武⁴⁾
(東北福祉大・健康科学・保健看護¹⁾、東北医薬大・薬・薬理²⁾、高崎健康福祉大・薬・分子神経科学³⁾、金沢大・院医薬保健・環境生態医・公衆衛生⁴⁾)
- 13:35 O-10) **脊髄性自発活動における 5-HT の作用について**
○高坂 侑希¹⁾、榎谷 直子¹⁾、内田一西山 千晶¹⁾、大岡 裕隆¹⁾、荒田 晶子¹⁾
(兵庫医科大学 生理学・生体機能部門¹⁾)
- 13:50 O-11) **小脳グロビュラー細胞への GABA 作動性シナプス伝達に対するモノアミンの抑制作用**
○廣野 守俊¹⁾、柳川 右千夫²⁾
(和歌山県立医科大学・医学部・生理学第二講座¹⁾、群馬大学大学院医学系研究科・遺伝発達行動学分野²⁾)
- 14:05 O-12) **15q11-13 重複自閉症モデルマウスの前頭前皮質第 V 層錐体細胞における興奮性/抑制性バランス異常の成因機序**
○齋藤 文仁、鈴木 秀典
(日本医科大学 薬理学)
- 14:20 O-13) **TAAR1 アゴニスト、SEP-363856 (Ulotaront) の有効性は「統合失調症の D-細胞仮説」を検証する**
○池本桂子
(いわき市医療センター精神科)

14:35 – 14:45 休憩 (10 分)

特別講演

特別講演 1 (14:45 – 15:35)

座長: 小山内 実 (大阪大学)

- 14:45 **パーキンソン病における α シヌクレイン研究**
望月 秀樹、木村 康義 先生
(大阪大学大学院医学系研究科 神経内科学)

15:35 – 15:45 休憩 (10分)

一般講演

セッション 4 (15:45 – 17:00) 座長: 廣野 守俊 (和歌山県立医科大学)

15:45 O-14) 線条体投射ニューロンの周波数応答特性へのドーパミン D2 受容体活性化の影響

○田村 篤史¹⁾、末岡 智己¹⁾、藤江 春花¹⁾、稲垣 良¹⁾
笹川 正人²⁾、小林 和人³⁾、小山内 実^{1),2),4)}、
(大阪大・医・生体機能イメージング¹⁾、東北大・医²⁾、福島
医大・医・生体機能研究部門³⁾、情報通信研究機構・大阪大
学脳情報通信融合研究センター⁴⁾)

**16:00 O-15) グルコルチコイド投与マウスにおける前帯状回神経回路
オシレーションに対するドーパミン修飾作用とプレパルス抑制
(PPI)変化間の相関と左右半球差**

○村越隆之¹⁾、伊藤吏那¹⁾、松永洗昂²⁾、小松睦実²⁾、
伊藤建治²⁾、北條泰嗣¹⁾
(埼玉医科大学・医学部・生化学¹⁾、埼玉医科大学・医学部²⁾)

16:15 O-16) 下行性ノルアドレナリン神経を介した痒み行動の制御

○古賀 啓祐¹⁾、古江 秀昌¹⁾、津田 誠²⁾
(兵庫医科大学 神経生理部門¹⁾、九州大学 薬学研究院
薬理学分野²⁾)

16:30 O-17) 細胞内局在性 GPCR 活性化のリアルタイム観察

○宇和田 淳介¹⁾、中澤 瞳¹⁾、村松 郁延¹⁾、益岡 尚由¹⁾
(金沢医科大学 医学部 薬理学¹⁾)

**16:45 O-18) マーモセット自閉症モデルとヒト自閉症サブタイプにおける
モノアミン関連遺伝子発現変動の解析**

○渡邊 恵¹⁾、小賀 智文¹⁾、中垣 慶子¹⁾、一戸 紀孝¹⁾
(国立精神・神経医療研究センター 微細構造研究部¹⁾)

17:00 – 17:10 休憩 (10分)

特別講演

特別講演 2 (17:10 – 18:00)

座長: 小山内 実 (大阪大学)

17:10 学習と動機付けを制御する神経回路の仕組み
小林 和人 先生
(福島県立医科大学医学部生体機能研究部門)

18:00 学生優秀発表賞 表彰式

18:05 次回開催案内
西 昭徳 先生
(久留米大学医学部薬理学講座)

18:10 世話人報告・閉会の挨拶

18:15 終了

特別講演

特別講演 パーキンソン病における α シヌクレイン研究
1 ○望月秀樹、木村康義
大阪大学大学院医学系研究科 神経内科学

パーキンソン病 (PD)、レビー小体型認知症 (DLB) や多系統萎縮症(MSA)では、 α シヌクレインの蓄積と凝集が、細胞毒性と神経変性を引き起こすとされ α シヌクレインopathyと定義されている。しかし、臨床症状も病理所見も全く異なり、同一病態と考えて良いかは疑問が残る。 α シヌクレインが蓄積するレビー小体を有する神経細胞も、PD では主体が黒質のドパミン神経細胞で、DLB では皮質の神経細胞と異なる。また MSA では、線条体のグリア細胞に GCI(glial cytoplasmic body)として、 α シヌクレインの異常蓄積を認める。これらの病態で、 α シヌクレインの構造や機能は、全く同じとは考えにくい。我々は、 α シヌクレイン構造の違いによる細胞死や伝搬の異なるモデル動物の確立や剖検脳で PD や MSA において α シヌクレインの構造を同定することにより、それら疾患の発症機序の解明や治療薬の開発を進めている。また、進展や伝搬の機序に関しては、動物モデルを用いて小山内先生との共同研究を推進しており、一部紹介する。

特別講演
2

学習と動機付けを制御する神経回路の仕組み
○小林 和人
福島県立医科大学医学部生体機能研究部門

われわれの脳は、学習や経験に依存して行動を獲得し、環境に応じて適切な行動を実行する。環境に変化が生じた場合、既得の行動を新しい行動に柔軟に切り替える。このような行動の学習や切り替えの基盤として意欲や動機付けが必要となる。学習行動や動機付けには、大脳皮質—基底核—視床を結ぶ神経ネットワークが重要な役割を持ち、これらの回路の調節にドーパミン伝達に関わることが知られている。複雑な神経回路が行動制御をどのように媒介し、回路のどのような変化が病態に結びつくのかを解明することが重要な課題である。

本講演では、第一に、刺激を弁別する行動課題を用いて、学習のプロセスが進行するにつれて、背側線条体において活動の亢進する亜領域が変化し、異なる皮質基底核サブグループを介して、刺激と反応の連合を学習する神経回路の機構を紹介する。弁別学習の中期には前方の背外側線条体 (aDLS) が、学習の後期には後方の腹外側側線条体 (pVLS) の活動が高まり、aDLS は反応—結果の連合を抑制するとともに刺激と反応の連合を形成するように働き、pVLS は刺激と反応の連合を強化する役割を持つ。これらの亜領域をめぐるサブグループは並列的に動作するとともに、互いに相互作用することによって、学習の獲得の促進に寄与することが示唆される。

第二に、行動経済学的オペラント行動課題を用いて、中脳腹側のドーパミン神経系が動機づけ行動を媒介する神経回路の機構を紹介する。この課題では、報酬を得るためのエフォートの量を増加させ、それに対する報酬獲得量を評価することによって、動物の行動の動機づけレベルを定量化する。腹側被蓋野 (VTA) に起始核を持つドーパミン神経は、背内側線条体 (DMS) や側坐核のシェルとコアと呼ばれる脳領域に投射する。VTA の活動亢進は、これらの領域におけるドーパミン分泌の増加を誘導するが、イオン透過型チャネルによる化学遺伝学を用いた活動操作の影響から、特に、VTA から側坐核コアに連絡する経路が動機づけ行動に重要な役割を持つことが示唆される。

一般演題

O-1) 定量的活動依存性マンガン造影 MRI による協調運動時全脳神経活動計測

○上村 優輝¹⁾、松下 知佳¹⁾、島崎 未海¹⁾、首藤 敦志¹⁾、
圓見 純一郎^{2), 3)}、田村 篤史¹⁾、吉岡 芳親^{2), 3)}、小山内 実^{1), 3), 4)}
大阪大・医・生体機能イメージング¹⁾、大阪大・生命機能²⁾、
情報通信研究機構・大阪大学脳情報通信融合研究センター³⁾、
東北大・医⁴⁾

協調運動能力に関与する脳領域について多くの議論がされてきたが、どの脳領域が協調運動に寄与し、それらの神経活動がどのように運動能力に関連しているのかは明らかになっていない。この問題を解明することは、運動機能の発現メカニズムと運動能力に関連する脳・神経疾患の病態生理学を理解するために重要である。そこで我々は、定量的活動依存性マンガン造影 MRI (qAIM-MRI) を使用して、健常マウスの協調運動時の全脳神経活動の履歴を計測および分析した。

qAIM-MRI は、全脳神経活動を非侵襲的にイメージングすることができる手法である。qAIM-MRI の原理は、 Mn^{2+} の持つ次の 2 つの性質に基づいている。(1) Mn^{2+} は、 Ca^{2+} 流入の代理マーカーとして働き、神経活動が高い細胞に多く蓄積される。(2) Mn^{2+} は、 H^+ の縦緩和時間 (T1) を短縮し、T1 は MRI で定量化することができる。したがって qAIM-MRI は神経活動の履歴を計測することができる。本研究では、qAIM-MRI を適用して協調運動課題中の神経活動を計測し、神経活動と協調運動能力との関係を解明することを目的とした。

協調運動課題としてローターロッドテストを使用した。マウスは、ローターロッドテスト中にホームケージに留まらせたコントロール群と、ローターロッドテストを実施したテスト群に分けた。コントロール群とテスト群の神経活動を比較すると、テスト群で有意に高い神経活動を示した脳領域はなかったが、いくつかの脳領域は有意に低い神経活動を示した。一方、運動に関連していると考えられている脳領域の神経活動はローターロッドの成績と正の相関を示し、負の情動と関連していると考えられている脳領域の神経活動はローターロッドの成績と負の相関を示した。

脳全体の神経活動と協調運動能力との相関関係を示した研究は初めてであり、これらの結果は運動機能の発現メカニズムおよび運動能力に関連する神経障害の病態生理学の解明に貢献していくと考えられる。

O-2) **パーキンソン病モデルマウスの運動症状に対するイマチニブの薬効**
○笠原 二郎¹⁾、周 禹¹⁾、後藤 恵²⁾
徳島大・院・医歯薬学研究部(薬学域)・神経病態解析学分野¹⁾
立命館大・総合科学技術研究機構²⁾

非受容体型チロシンキナーゼ c-Abl (Abelson チロシンキナーゼ) は、チロシンリン酸化シグナルを介して細胞増殖や生存に関わる一方、その遺伝子 ABL1 と BCR 遺伝子が融合したフィラデルフィア染色体遺伝子産物 Bcr-Abl は、慢性骨髄性白血病 (CML) や急性リンパ性白血病 (ALL) をもたらす。メシル酸イマチニブは、プロテインキナーゼ阻害薬として初めて臨床適応を得た薬剤であり、c-Abl, v-Abl, Bcr-Abl, c-kit, PDGF 受容体などに対して阻害活性を示し、CML, ALL および KIT 陽性消化管間葉腫瘍 GIST に適応を有する。

パーキンソン病 (Parkinson's disease; PD) においては、黒質ドパミン神経細胞内で c-Abl の過剰活性化が生じ、その基質である parkin や PARIS などのリン酸化亢進を招き、それらが α -シヌクレイン蓄積を促進して神経変性脱落が進行することや、c-Abl 阻害薬は神経変性脱落と PD 病態進行の抑制をもたらす、PD 疾患修飾薬として有効である可能性が示唆されている。

一方、私たちはこれまでに、神経毒 MPTP 急性全身投与による PD モデルマウスを用いて、c-Abl 阻害薬のイマチニブやニロチニブの腹腔内単回投与が、線条体中型有棘細胞内における c-Abl 活性とその下流リン酸化シグナル (Cdk5/DARPP-32) を抑制して、レボドパ同様に運動症状を改善することを報告してきた。しかし、臨床応用に際して血液脳関門透過性を考慮すると、末梢から c-Abl 阻害薬を繰り返し慢性投与することは、有害事象の発現が憂慮され、好ましくないと予想される。そこで私たちは brain infusion system を用いて、イマチニブの背側線条体への直接投与を試みた。6-OHDA 片側 PD モデルマウスの背側線条体を標的に、iPRECIO[®] マイクロインフュージョンポンプを使って、イマチニブを低用量から連続投与したところ、運動症状は用量依存的に改善された。以上の結果は、背側線条体を標的にした c-Abl 活性阻害が、PD 運動症状に対する対症療法として有効であることを強く示唆しており、これまで報告されている黒質ドパミン神経を標的とした PD 疾患修飾効果と併せて、c-Abl 阻害薬の PD 臨床応用に向けた今後の研究展開が期待される。

0-3) うつ病研究の現状と新しいうつ病研究の起爆剤

○山中 創

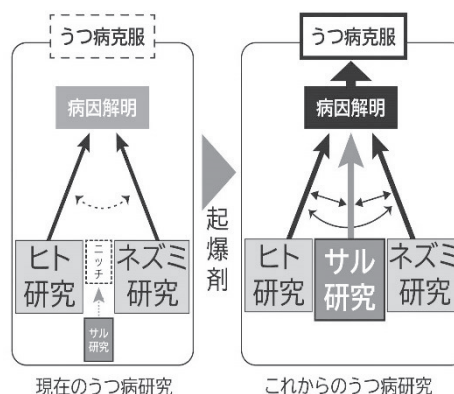
沖縄科学技術大学院大学 神経回路ユニット

発症率が高いうつ病は、休職や自殺の原因となることから大きな社会問題となっている。抗うつ薬を中心とした治療が行われているものの、効果出現の遅延や難治性タイプの存在などの未解決な問題が山積している。これらを解決するために、病因解明が精力的に進められてきたが、仮説の域を超える病因はいまだ見つかっていない。

うつ病研究はげっ歯類を用いた「ネズミ研究」と臨床検体を用いた「ヒト研究」の2大研究戦略が中心となって進められてきたが、病因解明に辿り着いていない。「ネズミ研究」では、特に薬剤や遺伝子操作を駆使したうつ病様行動の評価により、数多くの病因仮説を報告してきた。また、抗うつ薬開発がうつ病研究を大きく発展させたものの、うつ病を完全にコントロールできる薬は開発されていない。一方、「ヒト研究」では遺伝的な素因を前提としたビッグデータの遺伝子解析が精力的にすすめられた。これには、科学技術の飛躍的發展や世界標準となった「精神障害の診断および統計マニュアル (DSM)」診断基準の普及が大きく貢献した。しかし、大規模なうつ病のゲノムワイド関連研究 (GWAS) からは決定的な成果は得られていない。

うつ病の病因が未解明なことによる閉塞感がうつ病研究分野に蔓延している。これを打開する起爆剤となる技術革新が「うつザルテストバッテリー」である。このバッテリーは、ヒトに近縁なサルを用いて、DSMに基づく多面的な評価が短期間で行なえ、個体ごとの診断ができるといった3つの特徴を持つ (第22回本ワークショップにて発表)。レセルピンモデルをこのバッテリーに適用したところ、臨床報告と同等の発症率となった。サル研究自身の活性化だけではなく、同時に橋渡しの役割を担い、ヒトとネズミ研究との連携を密にすることによって、うつ病研究全体の活性化を促す。

このように、2大研究戦略でのうつ病研究は精力的に行われているも、現状は病因解明までには至っていない。そこで、「うつザルテストバッテリー」を起爆剤としてサル研究を推し進め、うつ病の病因を解明する。同じ考えを持つ賛同者と共に、この病気に怯えることのない「うつ病克服社会」を創り上げたいと願う。



O-4) アンジオテンシン変換酵素阻害薬の抗うつ作用メカニズムについて

○中川西 修¹⁾、小平 貴代¹⁾、小野 涼太郎¹⁾、高橋 浩平²⁾、
根本 亙¹⁾、若生 美春¹⁾、小野木 弘志³⁾、只野 武⁴⁾、丹野
孝一¹⁾

東北医薬大・薬・薬理¹⁾、国際医療福祉大・薬・薬理²⁾、東北福祉大・
健康科学・保健看護³⁾、金沢大・院医薬保健・環境生態医・公衆衛生
4)

近年、既存医薬品から新規作用を見出すエコファーマという試みが行われている。高血圧を併発しているうつ病患者にアンジオテンシン (Ang) 変換酵素阻害薬を投与することで抑うつ状態を改善することが報告されている。また AngII代謝産物である Ang (1-7) が Mas 受容体に作用することにより AT₁ 受容体の反応に対し拮抗すること、Ang(1-7)の脳室内投与により抗うつ作用が認められること、さらに、AT₁ 受容体遮断薬 Valsartan の投与により海馬歯状回の神経新生を促進し抗うつ作用を示すことが報告されている。これらの報告から、エコファーマという観点を加味し海馬 Ang 系を標的として Captopril の抗うつ作用について検討した。

うつ病モデル動物として嗅球摘出 (OBX) マウスを作製した。行動薬理的試験として Tail-suspension test (TST) 及び Splash test (ST) を用いてうつ様行動を評価した。使用薬物は Captopril、AngII、Ang (1-7) 及び Mas 受容体遮断薬の A779 を用いた。海馬神経新生の変化は免疫組織化学的染色後、共焦点顕微鏡を用いて観察した。海馬における Ang (1-7) 分布及び定量は、Map Analyzer を用いて測定した。

OBX 術後 21 日目において、TST 及び ST においてうつ様行動が観察された。そのうつ様行動は、OBX 術後 14 日目からの 7 日間 Captopril の投与により有意に改善した。OBX マウスの海馬歯状回における未熟神経新生細胞数は有意な減少を示し、その減少は Captopril の反復投与により有意に抑制された。過去の報告より Captopril の抗うつ作用には Ang (1-7) の増加が関与していることから、naïve マウスに Ang (1-7) を脳室内投与した際、無動時間は有意に減少した。さらに、Captopril 処置 OBX マウスに対し A779 を脳室内へ持続注入した際、Captopril による抗うつ作用は消失した。また OBX マウスの海馬において Ang (1-7) は有意に低下し Captopril により改善した。

本研究の結果より、Captopril は海馬 Ang (1-7) を増加させ Mas 受容体に作用することにより海馬歯状回における神経新生を促進させ抗うつ作用を示す可能性を明らかにした。

O-5) マウスの報酬予測行動における脳内ドーパミン放出動態の解析
○柴田智弘^{1),2)}、小澤貴明¹⁾、松本悠真^{1),2)}、Tom Macpherson¹⁾、
疋田貴俊¹⁾
大阪大学蛋白質研究所¹⁾、大阪大学大学院理学研究科²⁾

動物にとって有益な報酬の獲得は、手がかりに基づいた将来の報酬の予測に対する学習、目標指向的な行動の形成を強く促す。一方、ある報酬希求行動の結果として引き起こされる好ましくない出来事は、その行動を抑制し、さらに報酬獲得のむけた戦略変更や行動変化を促進する。中脳辺縁系ドーパミンニューロン、特に線条体に投射するニューロンは、動物の柔軟な報酬希求行動を支える必須の制御機構であると考えられてきた。特に、中脳辺縁系ドーパミンニューロンは、予測された報酬と比較して予測外の報酬が与えられると強く活性化し、また期待された報酬が得られなかった場合に強く抑制されることから、「報酬予測誤差」を表現していると考えられてきた。しかし、報酬予測手がかりと食物報酬の関連性学習における線条体ドーパミン放出の正確なダイナミクスと学習に伴う遷移については、依然として不明な点が多い。この問題を解決するために、我々は蛍光ドーパミンセンサーGRAB_{DA}を利用して、15日間にわたる聴覚性古典的条件づけ中のマウスの線条体ドーパミン放出を経時的に記録した。GRAB_{DA}は、ヒトのドーパミン受容体の細胞内ループにcpGFPを結合して作製され、内在性ドーパミンの結合により蛍光をより強く発する。本研究では、頭部固定下のマウスにおいて、聴覚刺激（CS-High）の後に80%の確率で液体報酬（無条件刺激、US）を与え、もう一方の聴覚刺激（CS-Low）の後に低確率（20%）で報酬を与えるという、パブロフ型聴覚性条件づけ訓練を行った。その結果、条件づけ数日後のCS+の音呈示期間に線条体のドーパミン放出が有意に活性化されることが判明した。重要なことに、線条体のドーパミン放出は、中脳ドーパミンニューロンで観察されている典型的な報酬予測誤差と類似した活動を示していた。しかし一方で、学習に応じた対CS応答の変化と対US応答変化は必ずしも同時に起こっていないことが分かった。これらの結果は、線条体ドーパミン放出の経験依存的な変化が、マウスの適応的な報酬希求行動に重要である可能性を示唆している。

O-6) 報酬予測中のマウス前頭前皮質におけるドーパミン放出ダイナミクスの解析

○松本悠真^{1), 2)}、小澤貴明^{1), 2)}、尾山賀信^{1), 2)}、岩本涼太郎^{1), 2)}、柴田智弘^{1), 2)}、Macpherson Tom^{1), 2)}、疋田貴俊^{1), 2)}

大阪大学 理学研究科¹⁾、大阪大学 蛋白質研究所²⁾

周囲の環境に存在する手掛かりを使って報酬を予測することは動物にとって生存に必要な適応行動であり、報酬予測に伴った行動選択を可能にする。この報酬予測には神経伝達物質のドーパミンの働き、特に中脳ドーパミンニューロンの重要性が示されている。中脳の一部である腹側被蓋野 (VTA) に存在するドーパミンニューロンは複数の領域に投射しており、主な投射先である側坐核 (NAc) におけるドーパミン放出は、報酬予測学習を引き起こす教師シグナルとして働くことがわかっている。また、他にも前頭前皮質 (PFC) に投射するドーパミンニューロンがあることがわかっているが、この領域におけるドーパミンの放出が報酬予測学習にどのような働きを持っているのかはわかっていない。そこで本研究では、報酬予測課題中に PFC のドーパミン放出動態を計測し、その放出ダイナミクスが報酬予測とどのような関係を持っているか解析した。

本研究では、体重制限を行った動物に対し、頭部固定下で2種類の音を条件刺激 (CS-High, CS-Low)、給餌チューブから与えられる液体エサ (コンデンスミルク) を無条件刺激 (US) とする条件づけを行った。CS-High の後には報酬が高確率 (蛍光計測時 80%) で与えられる一方で、CS-Low の後には報酬は低い確率 (蛍光計測時 20%) しか与えなかった。また、学習の前後において、高速蛍光ドーパミンセンサーである GRAB-DA を用いて課題遂行中の PFC、および NAc のドーパミン放出変化を同時に測定した。数日間の条件づけの後、すべてのマウスにおいて CS-Low と比較して CS-High の提示中に、US 提示に先行した給餌チューブ舐め行動が観察された。このことから、マウスは予測される報酬確率に基づいた分化条件づけを獲得したと考えられる。次に、課題中のドーパミン変化量を解析したところ、CS に対しては、PFC と NAc のどちらにおいても、学習依存的なドーパミン放出量増加が観察された。しかし、US に対しては、NAc では先行研究に見られるような予測誤差シグナル様のドーパミン変化が生じた一方で、PFC では、予想の有無によるドーパミンの US 応答性の変化は観察されなかった。以上の結果から、PFC におけるドーパミン放出ダイナミクスは NAc とは異なる側面から報酬予測学習に貢献していると考えられる。

O-7) 恐怖条件づけ時の縫線核ドーパミントランスポーター(DAT)およびセロトントランスポーター(SERT)陽性神経の活動
 ○古山 貴文¹⁾、山本 亮¹⁾、小野 宗範¹⁾、益岡 尚由²⁾、加藤 伸郎¹⁾
 金沢医科大学 医学部 生理学¹⁾、金沢医科大学 医学部 薬理学²⁾

恐怖条件づけは、危険に対して生存率を上げるために必要な学習であるが、場合によっては心的外傷後ストレス障害などの精神疾患の原因にもなりえる。縫線核領域には、セロトニンおよびドーパミン神経が存在しているが、これらのモノアミン神経が恐怖条件づけにどのように関与しているかは、未だに不明な点が多い。そこで本研究では、恐怖条件づけ時における縫線核モノアミン神経の活動を記録し、その役割を明らかにすることを目的とした。

被験体として、DAT-cre および SERT-cre マウスを用いた。それぞれのマウスの縫線核領域に AAV8-FLEX-GCaMP7f もしくは AAV9-FLEX-GCaMP8f を注入した。DAT-cre マウスでは、縫線核、分界条床核、扁桃体中心核に光ファイバーを留置した。SERT-cre マウスでは、縫線核、中脳腹側被蓋野に光ファイバーを留置した。2-4 週間後、被験体の頭部を固定し、飲水行動(Lick)の訓練をした。その後、5 秒間の 8 kHz のトーンバースト(CS、250 ms、10 回、duty 比 50%)提示後に 2 秒間の Air puff (US)を提示し、その際の Lick と蛍光変化量を計測した。

その結果、縫線核領域の DAT 陽性細胞は、US に対して蛍光強度が上昇した。さらに、その投射先である分界条床核および扁桃体中心核においても US 刺激に対して蛍光強度が上昇した。一方、縫線核領域の SERT 陽性細胞は、CS および US に対して、蛍光強度が上昇した。さらに、中脳腹側被蓋野において、US に対して蛍光強度が減少および上昇した個体が観測された。

これらの結果から、縫線核領域の DAT 陽性細胞は、BNST および CeA に嫌悪刺激の情報を送っている可能性が示唆された。一方、縫線核領域の SERT 陽性細胞は、salience を反映している可能性が示唆された。

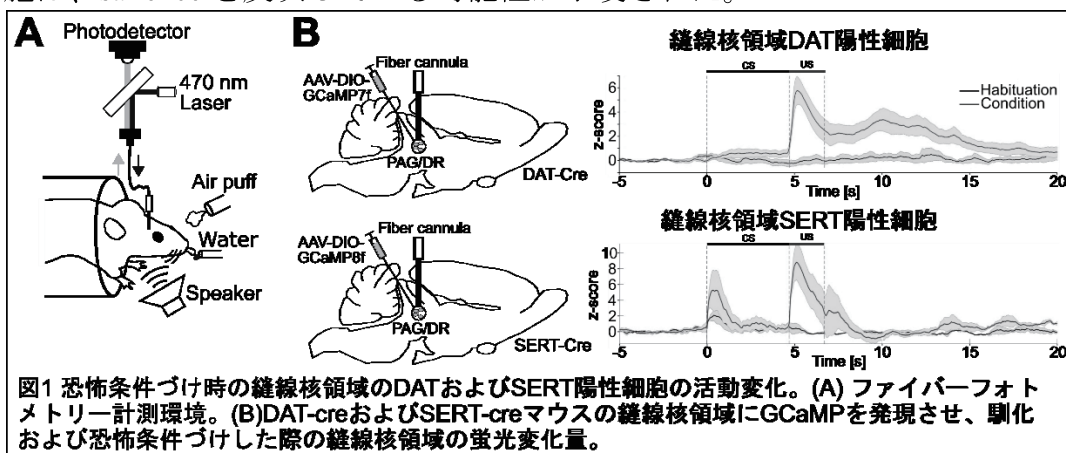


図1 恐怖条件づけ時の縫線核領域のDATおよびSERT陽性細胞の活動変化。(A) ファイバーフォトメトリー計測環境。(B) DAT-creおよびSERT-creマウスの縫線核領域にGCaMPを発現させ、馴化および恐怖条件づけした際の縫線核領域の蛍光変化量。

O-8) **Distinct Role of Dopamine in the PFC and NAc During Exposure to Cocaine-Associated Cues**

○河原幸江¹⁾、大西克典¹⁾、大西陽子¹⁾、河原博²⁾、西 昭徳¹⁾
久留米大学医学部薬理学講座¹⁾、鶴見大学歯学部歯科麻酔学講座²⁾

Background: Dopamine neurotransmission plays a critical role in reward in drug abuse and drug addiction. However, the role of dopamine in the recognition of drug-associated environmental stimuli, retrieval of drug-associated memory, and drug-seeking behaviors is not fully understood.

Methods: Roles of dopamine neurotransmission in the prefrontal cortex (PFC) and nucleus accumbens (NAc) in the cocaine-conditioned place preference (CPP) paradigm were evaluated using in vivo microdialysis.

Results: In mice that had acquired cocaine CPP, dopamine levels in the PFC, but not in the NAc, increased in response to cocaine-associated cues when mice were placed in the cocaine chamber of an apparatus with 2 separated chambers. The induction of the dopamine response and the development of cocaine CPP were mediated through activation of glutamate NMDA (N-methyl-D-aspartate)/AMPA (α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid) receptor signaling in the PFC during conditioning. Activation of dopamine D1 or D2 receptor signaling in the PFC was required for cocaine-induced locomotion, but not for the induction of the dopamine response or the development of cocaine CPP. Interestingly, dopamine levels in the NAc increased in response to cocaine-associated cues when mice were placed at the center of an apparatus with 2 connected chambers, which requires motivated exploration associated with cocaine reward.

Conclusions: Dopamine neurotransmission in the PFC is activated by the exposure to the cocaine-associated cues, whereas dopamine neurotransmission in the NAc is activated in a process of motivated exploration of cues associated with cocaine reward. Furthermore, the glutamate signaling cascade in the PFC is suggested to be a potential therapeutic target to prevent the progression of drug addiction.

O-9) *p*-ヒドロキシアμφエタミン誘発性プレパルス抑制障害に対するセロトニン神経系の関与

○小野木 弘志¹⁾、中川西 修²⁾、根本 亙²⁾、三反崎 聖³⁾、丹野 孝一²⁾、只野 武⁴⁾

東北福祉大・健康科学・保健看護¹⁾、東北医薬大・薬・薬理²⁾

高崎健康福祉大・薬・分子神経科学³⁾、金沢大・院医薬保健・環境生態医・公衆衛生⁴⁾

アンフェタミン代謝物である *p*-ヒドロキシアμφエタミン (*p*-OHA) は、乱用薬物によって誘発されるような異常行動を引き起こすなど、多くの薬理作用を有することが示されている。私たちはこれまで、げっ歯類の感覚運動機能に対する *p*-OHA の特性を明らかにするために、マウスのプレパルス抑制 (PPI) に対する *p*-OHA の効果を検討し、*p*-OHA の脳室内投与により用量依存的に PPI 障害が誘発されること、*p*-OHA 誘発性 PPI 障害にドパミン神経系が関与することを報告している。本研究では *p*-OHA 誘発性 PPI 障害に対するセロトニン神経系およびノルアドレナリン神経系の関与を検討した。その結果、ケタンセリン (5-HT_{2A/2C} 受容体拮抗薬)、MDL100,907 (選択的 5-HT_{2A} 受容体拮抗薬)、5,7-dihydroxytryptamine (5-DHT, セロトニン神経毒)、*p*-chlorophenylalanine (PCPA, 5-HT 合成阻害薬)、プラゾシン (選択的 α_1 受容体拮抗薬) は *p*-OHA 誘発性 PPI 障害を緩和させ、DSP-4 (NA 神経毒) は影響を及ぼさなかった。これらのことから、*p*-OHA 誘発性 PPI 障害にはセロトニン神経系が強く関与し、ノルアドレナリン神経系の関与は弱いことが示唆された。

O-10) 脊髄性自発活動における 5-HT の作用について

○高坂 侑希¹⁾、梶谷 直子¹⁾、内田-西山 千晶¹⁾、大岡 裕隆¹⁾、
荒田 晶子¹⁾

兵庫医科大学 生理学・生体機能部門¹⁾、

延髄の縫線核から分泌されるセロトニン (5-HT) は、覚醒を促進し、急性眼球運動 (REM) 睡眠を阻害するように機能することが現在、知られている。また、5-HT 受容体がてんかんに関与するネットワークに発現していることやバルプロ酸により、てんかんが抑制されることが知られている。しかし、脊髄性活動において、REM 睡眠中の脊髄性運動の抑制やてんかんによる運動興奮が、どのように 5-HT と関連しているのか、未だよく分かっていない。そこで今回、本来は抑制を受けている脊髄性の体動性活動を指標として、GABA_A やグリシンによる抑制系を調整して、その条件での 5-HT の働きについて検討した。実験には、0~2 日齢のラット摘出延髄-全脊髄標本の C4 と L4 前根からそれぞれ呼吸性活動、体動性活動として神経活動を記録した。まず、呼吸性活動、体動性活動において GABA 及びグリシン遮断薬により、それぞれの抑制系を遮断した状態で 5-HT の作用を検討した。GABA_A 遮断薬であるビククリン及び、グリシン遮断薬であるストリキニンの投与により、呼吸性活動は速くなるが、大きな違いは見られなかったが、ビククリンまたはグリシン存在下で L4 脊髄性活動では体動性活動が出現するようになった。ビククリン存在下で 5-HT を投与すると、体動性活動が規則的になり、それに加えて小さな周期性リズムが発現した。そのリズム活動は発達とともに減少した。一方、ストリキニン存在下で 5-HT を投与すると、体動性活動はビククリン存在下よりもリズムが規則的で大きな活動となり、P0 では呼吸と体動が連動して出現していたものが、P2 では呼吸との連動性は減少し体動性活動のみが増加した。以上の結果から、脊髄性神経回路において、発達とともに抑制性の制御が増強したと考えられた。ビククリン存在下の 5-HT 投与により生じた異なる脊髄性リズムは若年性てんかんの発生の原因となるリズムとも考えられる。また、ストリキニン存在下の 5-HT 投与により生じた体動性活動は、5-HT による REM 睡眠時のグリシンによる脊髄への下降性抑制の阻害状態となり、REM 睡眠行動異常症に関与している可能性がある。

O-11) 小脳グロビュラー細胞への GABA 作動性シナプス伝達に対する
モノアミンの抑制作用

○廣野 守俊¹⁾、柳川 右千夫²⁾

和歌山県立医科大学・医学部・生理学第二講座¹⁾、群馬大学大学院
医学系研究科・遺伝発達行動学分野²⁾

小脳は運動学習のほか、認知や情動、報酬にもかかわることが知られている。小脳顆粒細胞層にはセロトニン (5-HT) で活動電位を発火する抑制性介在ニューロンのルガロ細胞が存在する。また近年、ルガロ細胞のサブタイプであるグロビュラー細胞がプルキンエ細胞層直下に同定された。グロビュラー細胞は 5-HT とノルアドレナリン (NA) の両方で発火するが、5-HT に関してはどのサブタイプの受容体を介するか不明である。また、プルキンエ細胞軸索側枝を介した強い GABA 作動性シナプス伝達を受けるものの、モノアミンによって如何に修飾されるのかは明らかでない。そこで本研究では、GAD67/GFP ノックインマウスの小脳切片を用いて、モノアミンによるグロビュラー細胞の電気生理学性質への修飾作用を明らかにすることを試みた。

これまでルガロ細胞の発火については 5-HT₂ 受容体と 5-HT₆ 受容体の関与が示唆されてきた。この可能性を検証するため、5-HT₂ 受容体のアゴニストをグロビュラー細胞に投与したところ、活動電位が生じた。この発火は 5-HT_{2A} 受容体のアンタゴニスト ketanserin で阻害された。また、5-HT_{2C} 受容体や 5-HT₆ 受容体の各アゴニストでは発火は誘導されなかったことから、グロビュラー細胞は 5-HT_{2A} 受容体を発現し、この受容体の活性化で活動電位を生じるものと示唆された。次にグロビュラー細胞から微小抑制性シナプス後電流 (IPSC) を記録しながら、5-HT や NA を各々投与すると、いずれも頻度を低下するものの振幅には影響を与えなかった。これらの作用は 5-HT_{1B} 受容体や α_2 受容体のアゴニストによって再現された。ゆえに、プルキンエ細胞の軸索側枝末端には、5-HT_{1B} 受容体や α_2 受容体が発現し、これらの受容体の活性化はグロビュラー細胞への GABA 作動性シナプス伝達を減弱して、興奮をしやすくするものと考えられる。

形態学的な先行研究により、ルガロ/グロビュラー細胞の軸索は小脳の内外側方向にミリメートルオーダーで伸長し、この軸索が介する抑制性シグナルは、バスケット/ステレート細胞やゴルジ細胞を抑制し、結果的にプルキンエ細胞の興奮を促進すると考えられる。5-HT によるルガロ/グロビュラー細胞の発火は、プルキンエ細胞群の活動を微小帯域間で同期させ、いくつかの筋活動を組み合わせた協調運動に寄与するのではないかと推測される。

[文献]

Hirono M, et al. (2021) Front Neural Circuits 15, 661899.

O-12) 15q11-13 重複自閉症モデルマウスの前頭前皮質第 V 層錐体細胞における興奮性/抑制性バランス異常の成因機序
○齋藤 文仁、鈴木 秀典
日本医科大学 薬理学

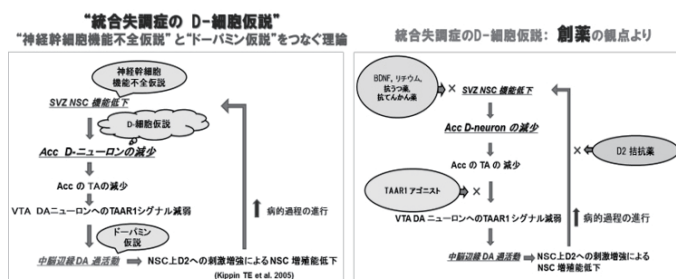
自閉症スペクトラム障害 (ASD) は、社会的コミュニケーションや相互作用の欠落および反復行動を特徴とする神経発達障害である。ASD 患者のなかにはゲノム異常を有する場合があります、特に 15 番染色体において重複異常が頻出することが知られている。我々はこれまでに染色体 15q11-13 父方重複 (15q dup) マウスは、ASD 様行動の中核症状を有し、脳内の低セロトニン (5-HT) 状態と、背側縫線核(DRN)ニューロンの活動が低下していたことを見出した。また、出生後早期に SSRI フルオキセチンを投与すると、成人期の 5-HT レベルが正常化して DRN の電気生理学的特性の異常と社会的行動も改善されたことを報告した (Nakai et al, 2017)。本研究は意思決定や社会的行動など広範囲な高次機能を制御する前頭前皮質 (PFC) を関心領域として、セロトニン作動性修飾の差異を第 V 層錐体細胞において検討した。8-12 週齢マウスから PFC 領域を含む冠状断スライスを作製し、ホールセルパッチクランプ法を用いて、第 V 層の皮質-橋投射型錐体細胞から記録を行った。PFC の神経回路におけるシナプス興奮性/抑制性 (E/I) バランスは 15q dup で興奮性に傾いていた。この結果は体性感覚野における E/I バランス異常と一致する結果だった。さらに PFC におけるバランス異常の機序を調べると錐体細胞に入力するフィードフォワード抑制回路におけるパルブアルブミン陽性高頻度発射抑制性介在ニューロン (FSINs) に対する興奮性入力の低下が関与していることがわかった。野生型マウスの PFC では、FSINs 上の 5-HT_{2A/2C} 受容体が持続的に活性化されており、5-HT_{2A/2C} 受容体活性化により FSINs の GABA 放出による抑制が働いていることが示唆された。すなわち、細胞外 5-HT レベルは FSINs の興奮性を制御することで FSINs が投射している錐体細胞の E/I バランスが調整される。15q dup マウスでは 5-HT レベルの低下が FSINs の興奮性を低下させて錐体細胞の E/I バランスが興奮性へシフトしていると考えられる。なお、5-HT レベルの低下は代償性に PFC 錐体細胞上の 5-HT_{1A} 受容体応答を増大させている。以上の結果から、発達期脳内セロトニン神経系が ASD の病態に関与していることを示しているとともに、セロトニン神経系を標的とした早期治療介入の可能性についても有用な情報を与えると考えられる。

O-13) TAAR1 アゴニスト、SEP-363856 (Ulotaront)の有効性は「統合失調症の D-細胞仮説」を検証する

○池本桂子¹⁾

いわき市医療センター精神科

D2 受容体に結合しない新規抗精神病薬、TAAR1 アゴニストである SEP-363856 (Ulotaront)は、統合失調症死後脳の側坐核におけるTAAR1 リガンドニューロン、D-ニューロン (AADC-only neuron, トレースアミンニューロン 1 型、dopa-decarboxylating neuron) の脱落所見 (Ikemoto et al. 2003) と日常の臨床的観察に基づいた「統合失調症の D-細胞仮説」 (Ikemoto2012) を基に開発された。Ulotaront は、TAAR1 であると同時にセロトニン 1A 受容体のアゴニストでもある。D-neuron はヒトの死後脳において、抗精神病薬の作用部位である線条体、側坐核に局在したが、サルの上同部位には分布していなかった (Ikemoto et al. 1997)。D-neuron の局在する側坐核の下縁は、NSC の存在する側脳室脳室下帯 (SVZ) に一致する。「統合失調症のD-細胞仮説」は、1. 死後脳の組織化学的研究から発展した精神疾患病態仮説であり、2. 統合失調症の NSC 機能障害仮説とドーパミン (DA) 仮説をつなぎ、3. 中脳辺縁 DA 過活動の分子基盤を示し、4. 統合失調症の進行性病態を説明する。また、5. 新規抗精神病薬としての TAAR1 アゴニストの有望性を示す。死後脳における AADC 免疫組織化学、D-ニューロンの可視化は困難な手法であり、統合失調症死後脳における側坐核の D-ニューロン脱落について、国内外において追試されていないとはいえ、Ulotaront の有効性は、「統合失調症の D-細胞仮説」の検証となった。ヒトの脳に特異的な領域を解析することは、精神疾患の病態解明と治療法開発において重要な手法であり、D-ニューロンの研究は必須である。



Acc: nucleus accumbens (側坐核) TA: trace amine (トレースアミン (微量アミン)) VTA: ventral tegmental area (中脳腹側被蓋野) TAAR1: trace amine-associated receptor 1 (トレースアミン関連受容体 1 型)

O-14) 線条体投射ニューロンの周波数応答特性へのドーパミン D2 受容体活性化の影響

○田村 篤史¹⁾、末岡 智己¹⁾、藤江 春花¹⁾、稲垣 良¹⁾、笹川 正人²⁾、小林 和人³⁾、小山内 実^{1), 2), 4)}、
大阪大・医・生体機能イメージング¹⁾、東北大・医²⁾、福島医大・医・生体機能研究部門³⁾、情報通信研究機構・大阪大学脳情報通信融合研究センター⁴⁾

線条体は運動制御関連領域の一つである大脳基底核の主な入力部である。線条体の投射ニューロンはその投射先により直接路と間接路の 2 つに分類され、それぞれ運動の開始と停止に関与すると考えられている。脳波計測では運動の計画時や実行時にベータ波帯域 (~13-30 Hz) の周波数の振動が感覚運動皮質で観測されることが知られているが、脳波周波数の変化と大脳皮質の投射先である線条体の投射ニューロンの出力の関係は明らかになっていない。そこで、大脳皮質ニューロンの活動周波数と線条体の二種類の投射ニューロンの出力の関係とそのドーパミン依存性をマウスの急性脳スライス標本に対する Ca^{2+} イメージングにより計測した。線条体の直接路と間接路の投射ニューロンは、それぞれドーパミン D1、D2 受容体を発現していることから、D1 もしくは D2 受容体陽性細胞に蛍光タンパク質を発現する遺伝子組換えマウス (mDrd1-YFP, Drd2-YFP マウス) から大脳皮質と線条体を含む矢状断スライス切片を作製し、大脳皮質を 1-50 Hz の範囲の異なる周波数で電気刺激した際の、線条体投射ニューロンの細胞内 Ca^{2+} 濃度を計測した。複数の細胞から計測した Ca^{2+} 濃度変化の振幅を最大刺激周波数である 50 Hz での Ca^{2+} 濃度変化の振幅で正規化し比較した結果、約 11 Hz の刺激周波数付近で、直接路ニューロンは間接路ニューロンよりも刺激周波数の変化に対してより急峻に応答することがわかった。しかし、D2 受容体 agonist の sumanirole を投与した条件で同様の実験を行うと、直接路と間接路のニューロンの周波数応答の間に有意な差はなかった。この結果は、大脳皮質の神経活動周波数の変化に対する線条体投射ニューロンの出力の応答特性は D2 受容体を介して調節されることを示唆している。

O-15) **グルココルチコイド投与マウスにおける前帯状回神経回路オシレーションに対するドーパミン修飾作用とプレパルス抑制(PPI)変化間の相関と左右半球差**

○村越隆之¹⁾、伊藤吏那¹⁾、松永洗昂²⁾、小松睦実²⁾、伊藤建治²⁾、北條泰嗣¹⁾

埼玉医科大学・医学部・生化学¹⁾、埼玉医科大学・医学部²⁾

神経回路オシレーションは、情動・認知等に関与する前帯状回（ACC）を始め脳内の諸部位を機能的に連携させる特徴を有し、アミン系修飾物質と共に高次機能の遂行にとり重要な役割を担うと考えられる。一方 ACC 等、前頭前皮質では様々なストレス負荷に対応して機能・分子・形態的变化が起こるが、その際しばしば脳の半球間での非対称性が報告されている。グルココルチコイド（GC）放出は種々ストレスの最終経路に位置し、過剰な分泌により脳内シナプスの退縮等の影響が知られている。

本報告で我々は、GC 慢性投与後のマウスを用いて、感覚-運動統合活動として統合失調症のエンドフェノタイプともされるプレパルス抑制（PPI）試験をストレス負荷後の認知行動変化の指標とし、同じマウスからの ACC スライス標本を用いて、カイニン酸（KA）灌流刺激による神経回路オシレーションを局所電場電位活動として記録し、併せてドーパミン（DA）、ノルアドレナリン（NA）の KA 誘発オシレーション修飾作用を解析した。

GC（コルチコステロン、25 µg/mL）の飲水または皮下注射 1 週間投与により、PPI が一部条件下で減少し GC 投与量と逆相関した。ACC 浅層でのオシレーション活動は多くの周波数帯で減少した。中でも α 帯域（8–12 Hz）のオシレーションパワーと PPI は正の相関を示した。ドーパミン（10 µM）はコントロール群において KA 誘発オシレーションの遅い周波数成分のパワーを増強したが、その修飾作用の程度は右半球の ACC でのみ PPI と相関した。NA については、有意なオシレーション修飾作用、並びに GC 変化を示さなかった。

以上の結果は、ストレス負荷の ACC 神経回路とアミン性高次機能調節への影響が、オシレーション活動を介し、また半球特異的に認知行動の変容へと導いている可能性を示唆するものと考えられる。

O-16) 下行性ノルアドレナリン神経を介した痒み行動の制御

○古賀 啓祐¹⁾、古江 秀昌¹⁾、津田 誠²⁾

兵庫医科大学 神経生理部門¹⁾、

九州大学 薬学研究院薬理学分野²⁾

痒みは搔破により外界の寄生虫等の有害物の付着を除去することで生体恒常性維持の役割を担うが、慢性的な痒みは慢性的で耐え難く、睡眠障害や過度の肉体疲労、精神的ストレスをもたらし QOL を著しく低下させる。また、痒みの感受性は抑うつ状態や緊張などの精神状態によって影響を受けるなど、中枢神経による痒み感覚の調節機構が存在するが、脳から脊髄後角への下行性入力による痒み感覚の調節機構の詳細は未だ不明なことが多い。そこで本研究では、脊髄後角神経を下行性に調節するノルアドレナリン (NA) 神経に着目し、投射特異的遺伝子操作技術により、急性および慢性の痒み調節における役割解明、そのかゆみ伝達の制御メカニズムについて検討を行った。脊髄後角に投射する下行性ノルアドレナリン神経の特異的な活性化及び抑制は、急性の痒み行動をそれぞれ有意に抑制もしくは増強した。また、下行性ノルアドレナリン神経の活性化は、慢性的な痒み行動も優位に抑制した。さらに、ノルアドレナリンによる痒み抑制のメカニズムについて脊髄スライスを用いたパッチクランプ法により検討を行った。ノルアドレナリンや受容体アゴニストの還流処置の検討から、ノルアドレナリンは脊髄後角痒み特異的神経の抑制性シナプス後電流を α_{1a} -アドレナリン受容体 (α_{1a} -AR) を介して増強することが明らかとなった。そこで、抑制性神経特異的な α_{1a} -AR 欠損マウスを用いて痒み行動の検討を行ったところ、 α_{1a} -AR はヒスタミン非依存性のかゆみ行動の制御に特異的に関与していることが明らかになった。以上の結果から、下行性ノルアドレナリンシグナルは脊髄後角かゆみ特異的神経の調節を介して痒み行動の調節に関与しており、下行性ノルアドレナリン神経の制御が新たな急性および慢性の痒み治療薬の開発に繋がることが期待される。

O-17) 細胞内局在性 GPCR 活性化のリアルタイム観察

○宇和田 淳介¹⁾、中澤 瞳¹⁾、村松 郁延¹⁾、益岡 尚由¹⁾
金沢医科大学 医学部 薬理学¹⁾

モノアミンなどの神経伝達物質・ホルモンを受容する G タンパク質共役型受容体 (GPCR) は、細胞表面に局在することによってそれらの物質を受容し活性化を受ける、と一般的に理解されている。一方で、いくつかの GPCR では細胞の内部においてもリガンドを受容して活性化される細胞内局在性 GPCR として存在することが報告されてきている。我々は、アセチルコリン受容体であるムスカリン M1 受容体が細胞内部にも局在することを明らかにしており、その細胞内における活性化に伴い惹起されるシグナリングや神経活動への影響、細胞内局在メカニズムなどを報告してきた。しかしながら、このムスカリン M1 受容体を含め細胞内局在性 GPCR の活性化の検出はリガンドの細胞膜透過性の違いを利用した間接的な手法が主で、細胞レベルで実際にリガンドが取り込まれ細胞内局在性 GPCR を活性化する様子をリアルタイムに捉える試みは行われてこなかった。しかし、最近では GPCR 活性化の検出に有用な様々なツールが開発され、それを利用した細胞内局在性 GPCR のリアルタイム観察に成功した事例が報告され始めている。我々は新しいアプローチとして、循環置換型の蛍光タンパク質 (cpGFP) をムスカリン M1 受容体に導入し (M1-cpGFP)、活性化による構造変化が蛍光量に与える変化を元にアセチルコリンの細胞内 M1 受容体への作用を捉えようと試みた。

作製した M1-cpGFP を培養細胞で発現させアセチルコリンによる刺激を行ったところ、細胞表面の M1-cpGFP で活性化に伴う蛍光の増強が観察されたものの、細胞内の M1-cpGFP では変化がなかった。細胞膜透過性の低いアセチルコリンの細胞内への到達には何らかのトランスポーターの発現が必須であると予想されたため、候補トランスポーターを探索し、M1-cpGFP と共発現させたところ、細胞内においてもアセチルコリンによる蛍光の増強が観察された。以上のことから、実際にアセチルコリンが細胞内のムスカリン M1 受容体に作用しうることが示された。この cpGFP を利用した手法は、他の細胞内局在性 GPCR 活性化のリアルタイム観察においても応用可能であると考えられる。

O-18) マーモセット自閉症モデルとヒト自閉症サブタイプにおけるモノアミン
関連遺伝子発現変動の解析
○渡邊 恵¹⁾、小賀 智文¹⁾、中垣 慶子¹⁾、一戸 紀孝¹⁾
国立精神・神経医療研究センター 微細構造研究部¹⁾

自閉スペクトラム症（ASD）は非常に頻度の高い疾患であり、治療法の開発が求められている。ASD の臨床症状は多様であるため、層別化を行った上で、サブタイプに対応した動物モデルを研究するアプローチが有効と考えられる。

抗てんかん薬であるバルプロ酸を妊娠中に摂取すると、子どもが ASD を発症するリスクが上昇することが知られている。我々は小型霊長類であるマーモセットの妊娠個体にバルプロ酸を投与することにより ASD モデル（胎生期バルプロ酸曝露モデル）を作成した。このモデルは ASD 様の社会性行動の異常と、シナプス発達や可塑性の異常を示した。またこのモデルは齧歯類モデルより広範にヒト ASD と類似しており、トランスレーショナル・リサーチにおける重要性が示唆された（Watanabe et al., Nat. Commun. [2021]）。我々はさらにヒト ASD 大脳皮質のトランスクリプトームを用いたクラスター解析により、ヒト ASD が発現変動の強いグループ（G1、G2）と発現変動の弱いグループ（G3）に分かれることを見いだした。このうち G1 における発現変動はモデルマーモセットと最も類似した発現変動を示し、モデルマーモセットがヒト ASD のおよそ 1/3 の病態を再現していることが示唆された。

ASD ではうつ病などが二次障害として併存していることが多く、モノアミン系の関与が示唆されている。ヒト ASD の G1 および G2 ではモノアミン酸化酵素である MAOA と MAOB の発現増加がみられたが、G3 では発現変動はわずかであった。一方モデルマーモセットでも G1、G2 と同様に MAOA と MAOB の発現増加がみられた。さらにモデルマーモセットは、ヒト ASD における MAOA と MAOB の発現変動の年齢依存性もよく再現していた。興味深いことにモデルマーモセットは唾液中のコルチゾールが高く、うつ傾向の存在がうかがわれる（Nakamura et al., Front. Behav. Neurosci. [2022]）。

以上の結果から、ASDモデルマーモセットはヒト ASD の一部のサブタイプのモノアミン関連病態を再現していることがわかった。今後 PET 画像などを用いて臨床的に G1-G3 の ASD サブタイプの区別が可能になれば、モデルマーモセットの知見に基づく ASD の精密医療・治療の実現につながると期待される。

参加者名簿(敬称略、五十音順)

氏名	所属
荒田 晶子	兵庫医科大学 生理学・生体機能部門
池本 桂子	いわき市医療センター精神科(リエゾン科)
一瀬 宏	東京工業大学 生命理工学院
岩本 涼太郎	大阪大学 蛋白質研究所 高次脳機能学研究室
上村 優輝	大阪大学 大学院医学系研究科 生体物理工学講座
宇和田 淳介	金沢医科大学・医学部・薬理学講座
小山内 実	大阪大学 大学院医学系研究科 生体物理工学講座
小澤 貴明	大阪大学 蛋白質研究所 高次脳機能学研究室
小野木 弘志	東北福祉大学・健康科学部・保健看護学科
笠原 二郎	徳島大学・大学院医歯薬学研究部(薬学域)・ 神経病態解析学分野
河原幸江	久留米大学医学部薬理学講座
岸川 由紀	西九州大学リハビリテーション学部リハビリテーション学科
高坂 侑希	兵庫医科大学 生理学・生体機能部門
古賀 啓祐	兵庫医科大学 医学部 生理学 神経生理部門
小松 秀俊	アステラス製薬株式会社
齋藤 文仁	日本医科大学 薬理学
櫻井 航輝	大阪大学 蛋白質研究所 高次脳機能学研究室
篠江 徹	理研 脳神経科学研究センター, シナプス可塑性・回路制御 研究チーム
柴田 智弘	大阪大学 蛋白質研究所 高次脳機能学研究室
Shan Sohail	大阪大学 蛋白質研究所 高次脳機能学研究室

戴 毅	兵庫医科大学
竜田 晃佑	名古屋市立大学 薬学研究科 神経薬理分野
田村 篤史	大阪大学 大学院医学系研究科 生体物理工学講座
寺田 一樹	姫路獨協大学 薬学部 薬物治療学研究室
Tom Macpherson	大阪大学 蛋白質研究所 高次脳機能学研究室
中川西 修	東北医科薬科大学薬学部薬理学教室
中曾根 美奈	名古屋市立大学 薬学研究科 神経薬理分野
西 昭徳	久留米大学医学部薬理学講座
疋田 貴俊	大阪大学 蛋白質研究所 高次脳機能学研究室
廣野 守俊	和歌山県立医科大学・医学部・生理学第二講座
古山 貴文	金沢医科大学・生理学1
益岡 尚由	金沢医科大学・医学部・薬理学講座
松嶋 ゆかり	姫路獨協大学 薬学部 薬物治療学研究室
松本 悠真	大阪大学 蛋白質研究所 高次脳機能学研究室
村越 隆之	埼玉医科大学・医学部・生化学
山中 創	沖縄科学技術大学院大学 神経回路ユニット (吉田ユニット)
山本 亮	金沢医科大学・生理学1
渡邊 恵	国立精神・神経医療研究センター 微細構造研究部

令和4年8月12日 現在

謝辞

本ワークショップを開催するにあたり、下記の企業、団体にご協力、ご支援をいただきました。深く感謝して御礼を申し上げます。

株式会社 otobe

ショーシン EM 株式会社

ソーラボジャパン株式会社

ナカライテスク株式会社

日本クレア株式会社

第 24 回活性アミンに関するワークショップ

世話人代表 小山内 実

第 24 回活性アミンに関するワークショップ

世話人代表: 小山内 実

事務局: 大阪大学大学院医学系研究科 保健学専攻

生体機能イメージング研究室

〒565-0871大阪府吹田市山田丘 1-7

Tel: 06-6879-2571, Fax: 06-6879-2574

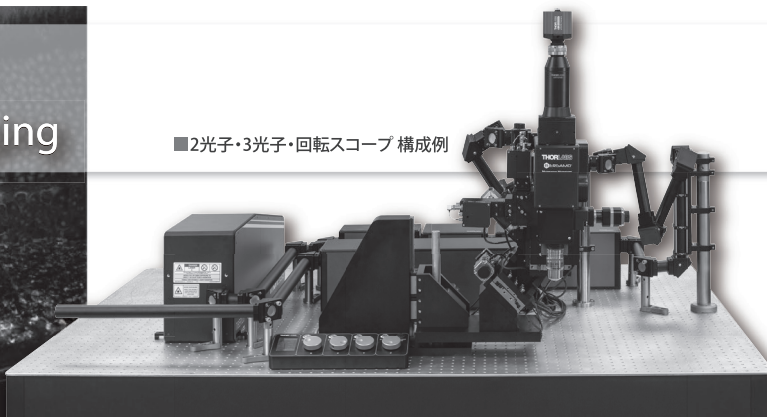
E-mail: amine2022@sahs.med.osaka-u.ac.jp

多光子顕微鏡プラットフォーム Bergamo II

多様な実験用途に対応 – モジュール式多光子顕微鏡システム



■2光子・3光子・回転スコープ 構成例



特長

- 最先端 *in vivo* イメージングを実現する3つのオプション
 - ベッセルビームを用いた高速ボリューム画像取得
 - 800~1800 nmの広帯域をカバーする3光子励起用光学系
 - 空間光変調器(SLM)を用いた同時多点光刺激
- 実験用途に合わせて顕微鏡を構成できる高い柔軟性
- 回転スコープ仕様はあらゆる角度から試料を観察($\Delta \theta$ 最大100°)
- 共焦点イメージング機能を追加可能
- 複数のスキャナを有するデュアル走査システムに対応

■エントリーモデル 構成例



■ 主なオプション一覧

- 走査系
 - ・ シングル/デュアル走査
 - ・ ガルバノ-レゾナント、ガルバノ-ガルバノ、レゾナント-ガルバノ-ガルバノ (RGG) スキャナ
 - ・ 空間変調モジュール (SLM) を用いた同時多点光刺激
 - ・ ベッセルビームを使用したボリュームイメージング
 - ・ スーパー広帯域補正走査光学系:
 - 光刺激/光照射アンケーシング
 - 2光子・3光子イメージング
- 顕微鏡本体の移動制御
 - ・ 用途に応じて3種から選択 (XYZ+回転、XYZ、Z)
 - ・ ペリスコープがレーザーアライメントを維持
- モーションコントロール用アクセサリ
 - ・ ピエゾ式対物レンズホルダ
 - ・ XYプラットフォーム
 - ・ Z軸ピエゾステージ
- PMT検出モジュール
 - ・ 冷却または非冷却 GaAsP PMT
 - ・ 最大4チャンネルの同時反射検出系
 - ・ 透過2チャンネルの同時透過検出系
- ワイドフィールド観察・撮像
 - ・ 三眼鏡筒およびサイエンティフィックカメラ
 - ・ 最大6個のダイクロイックミラー用落射蛍光照明装置
 - ・ 高出力LEDまたは液体ライトガイド光源
 - ・ 手動または電動式ダイクロイックチェンジャ
- 透過照明イメージング
 - ・ Dodtコントラスト
 - ・ レーザ走査によるDodtコントラスト
 - ・ 微分干渉顕微法 (DIC)
 - ・ ドライまたは高NA油浸コンデンサ (Nikon製)

※仕様は予告なく変更される場合がございます。予めご了承ください。

www.thorlabs.co.jp

E-mail: sales@thorlabs.jp

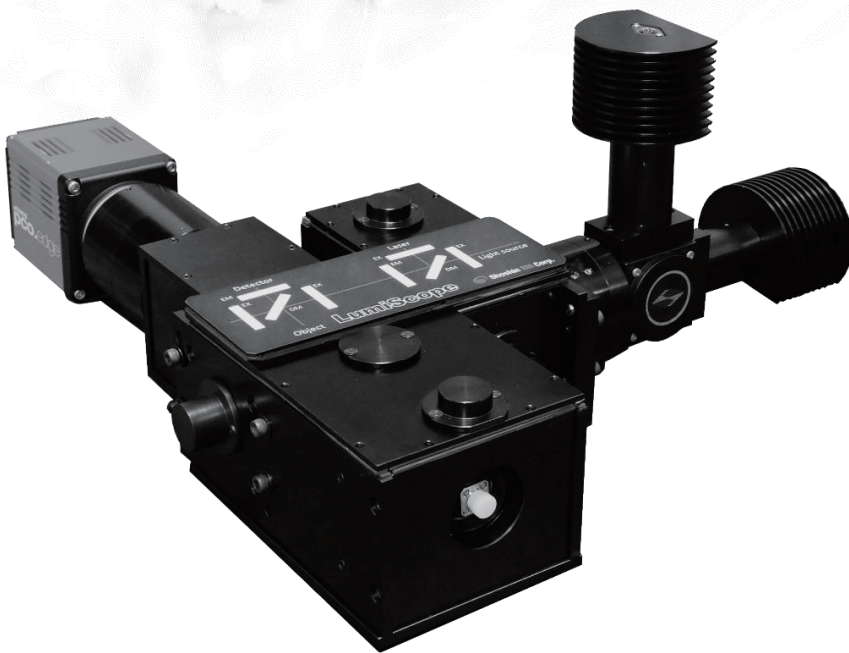
THORLABS ソーラボジャパン株式会社 ・ 〒179-0081 東京都練馬区北町3-6-3 ・ TEL : 03-6915-7701

Shoshin EM Corp.

LumiScope

in vivo
マイクロ エンドスコープ

光学顕微鏡で観察することが出来なかった脳深部の神経細胞の活動や生体内深部の単一細胞レベルでの変化をin vivoで観察及び輝度計測が可能です。直径500 μm の極微細なGRINレンズと1万本をアレイ状に配列したイメージングファイバーにより2 μm レベルの空間分解能を実現し、各種蛍光タンパク、蛍光カルシウムインジケータを用いた実験やChR2やNpHR等の光感受性タンパク質への光刺激による特定神経の活動制御が可能です。



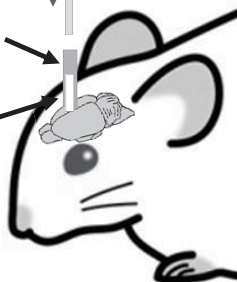
LumiScopeの詳細情報
こちらをチェック！

イメージングファイバー

出し入れ可能

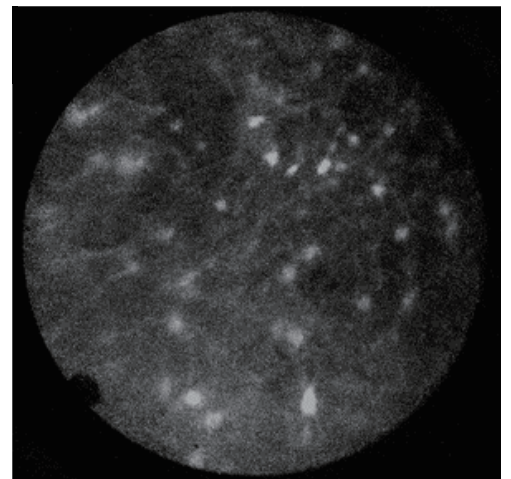
専用カニューレ

GRINレンズ



大阪大学 大学院医学系研究科
保健学専攻 医用物理学講座
小山内実先生がJST, AMEDの補助を受け、
開発された成果をもとに製品化した極微細
蛍光内視鏡(U-FEIS)を採用しています。
国内特許、PCT 特許出願中。

当該システムは、先端モデル動物支援プ
ラットホームの支援対象システムです。



$\phi 600 \mu\text{m}$ イメージングファイバーで取得

データ提供

富山大学大学院 医学薬学研究部 生化学講座
井ノ口馨研究室 鈴木章円様 中山翔太様
獨協医科大学 先端医科学統合研究施設
認知・記憶研究部門 大川宜昭准教授

製品のお問い合わせ、デモンストレーションの依頼は下記までお願いします。

 ショーシン EM 株式会社

〒444-0241 愛知県岡崎市赤浜町蔵西1番地14
TEL: 0564-54-1231 FAX: 0564-54-3207
www.shoshinem.com info@shoshinem.com



私たちが日本クレアは、生命のあらゆる可能性を探求し発展させる基盤として、動物愛護のグローバルな視点に立った世界最高品質の実験動物を提供して参ります。

新しい発見を変わらない品質で

マウス・ラット・マーモセット

●クローズドコロニー

- マウス Jcl:ICR
- ラット Jcl:SD, Jcl:Wistar, BrlHan:WIST@Jcl(GALAS)

●近交系

- マウス C3H/HeNjcl, C3H/HeJcl*, C57BL/6Njcl, C57BL/6Jjcl*, BALB/cAjcl, BALB/cByJcl*, FVB/Njcl, DBA/2Jjcl*, 129^{Ter}/Svjcl
- ラット F344/Jcl

●ハイブリッド系

- マウス B6C3F1/Jcl, B6D2F1/Jcl, MCH(ICR)/Jcl (Multi Cross Hybrid)

●疾患モデル

免疫不全モデル

- マウス BALB/cAjcl-nu, C.B-17/1cr-scld Jcl, NOD/Shjic-scld Jcl, ALY[®]/Nscjcl-aly
- ラット F344/Njcl-rnu

1型糖尿病モデル

- マウス NOD/Shjicld

2型糖尿病モデル

- マウス KK/Tajcl, KK-A³/Tajcl, BKS.Cg-m+/+Lepr^{db}/jcl*
- ラット GK/Jcl, SDT/Jcl, SDT fatty/Jcl

アスコルビン酸合成能欠如モデル

- ラット ODS/Shjicld-od

●疾患モデル

網膜変性疾患モデル

- ラット RCS/Jcl-rdy

関節リウマチモデル

- マウス SKG/Jcl

外用保湿剤・外用殺菌消毒薬効果検証モデル

- マウス NOA/Jcl

ヒトDuchenne型筋ジストロフィーモデル

- マウス C57BL/10-mdx/Jcl

●遺伝子改変動物

短期発ガン性試験モデル

- マウス CByB6F1-Tg(HRAS)2jic

乳腺がん高感受性モデル

- ラット Hras128/Jcl

膵がん短期発ガンモデル

- ラット Kras301/Jcl

生体恒常性維持機構解析モデル

- マウス α-Klotho KO/Jcl

- マウス klotho/Jcl

アレルギーモデル

- マウス OVA-IgE/Jcl (卵アレルギー), TNP-IgE/Jcl (化学物質アレルギー)

●Germ free

- マウス MCH(ICR)/jcl[Gf], C57BL/6Njcl[Gf], BALB/cAjcl[Gf]

●コモンマーモセット

- Jcl:C.Marmoset(jic) (国内生産)

その他の取り扱い動物

●(公財)実験動物中央研究所維持系統

●フェレット(輸入販売)

生産地：中華人民共和国/輸入販売代理店 (株)野村事務所)を通じて国内販売

実験動物用飼料

一般動物用飼料/家畜・家禽試験用飼料/放射線滅菌飼料/特殊配合飼料/成分分析

器具・器材

飼育ケージ/飼育機・ラック/自動飼育システム/クリーンエアシステム/バイオハザード対策システム/空調設備・排水処理システム/管理・実験機器/施設計画コンサルティング

受託業務

微生物学的クリーニング/遺伝子改変マウスの作製/モノクローナル抗体作製/受精卵採取・凍結処理/凍結受精卵の供給/系統維持及び生産/各種処置動物作出/マイクロバイオーム研究のサポート(無菌動物・ノトバイオートマウス作製および受託試験)/各種受託試験 他

関連業務

動物輸出入/微生物モニタリング/遺伝モニタリング/各種データ/情報サービス

業務提携

Physiogenex社(仏):代謝性疾患領域に特化した薬効薬理試験受託サービス
(株)ジービーシー研究所:イメージングマウスの作製サービス

* This substrain is at least (a number>20 by definition) generations removed from the originating JAX[®] Mice strain and has NOT been re-inflused with pedigreed stock from The Jackson Laboratory.*



日本クレア株式会社

www.CLEA-Japan.com

東京 A D 部 〒153-8533 東京都目黒区東山1-2-7 TEL.03-5704-7050
 大阪 A D 部 〒564-0053 大阪府吹田市江の木町6-5 TEL.06-4861-7101
 【動物・飼料のご注文先: AD受注センター TEL.03-5704-7123】
 東京 器材部 〒153-8533 東京都目黒区東山1-2-7 TEL.03-5704-7600
 大阪 器材部 〒564-0053 大阪府吹田市江の木町6-5 TEL.06-4861-7105
 札幌出張所 〒063-0849 北海道札幌市西区八軒九条西10-4-28 TEL.011-631-2725
 仙台出張所 〒983-0014 宮城県仙台市宮城野区高砂1-30-24 TEL.022-352-4417
 名古屋出張所 〒465-0093 愛知県名古屋市中区一社3-121-1 TEL.052-715-7580