

一般演題要旨

B会場

B-1-1 記憶想起を調節するヒスタミン神経活動動態



○井筒 蓮太郎¹、森下 良一¹、高村 侑希^{1,2}、西村 京華²、横井 雄斗¹、人羅(今村) 菜津子^{2,3}、南 雅文²、野村 洋^{1,2}

¹名古屋市立大・院医・認知機能病態学、²北海道大・院薬・医療薬学部門 医療薬学分野 薬理学研究室、³熊本大・院生命科学・(薬学系)薬物活性学分野

認知症では記憶想起が重度に障害されて思い出すことが困難になり、日常生活に大きな影響を及ぼす。脳内ヒスタミンは結節乳頭核に局在するヒスタミン神経で産生され、覚醒や摂食リズム、認知機能など多くの生理機能を調節する神経伝達物質として知られており、記憶想起にも関係している。これまでに私たちは、ヒスタミンH₃受容体拮抗薬が嗅周皮質におけるヒスタミン放出を増強させ、失われた記憶の想起を回復させることを明らかにした。しかし、ヒスタミン神経の活動状態と記憶想起との関係性は不明であった。そこで本研究では、音報酬条件付けによる記憶行動課題と光遺伝学的手法を用いて、ヒスタミン神経の活動操作が想起成績に与える影響を解析した。その結果、手がかりである音 (CS) 提示の直前にヒスタミン神経活動を光遺伝学的に抑制すると報酬条件付け記憶の想起成績が低下することが観察された。一方、ヒスタミン神経活動の光遺伝学的抑制による音驚愕反応やプレパルスインヒビション (PPI) への有意な影響は観察されていないことから、ヒスタミン神経活動の光遺伝学的抑制はマウス個体の聴力やCSに対する注意力に影響を及ぼさず、記憶想起を減弱させることが示唆された。以上の結果は、ヒスタミン神経の活動動態が記憶想起の重要な調節因子であることを示唆している。

B-1-2 ヒスタミンH₃受容体逆作動薬/拮抗薬による大脳皮質広域神経活動の調節



○貝田 千太郎、高村 侑希、平野 匡佑、森下 良一、野村 洋

名古屋市立大・院医・認知機能病態学分野

大脳皮質広域の自発的な神経活動は記憶・学習や意思決定などの認知機能と関わり、その異常は神経・精神疾患の病態と関連する。ヒスタミン神経は大脳皮質を含む脳広域に投射し、記憶・学習や睡眠覚醒など多様な脳機能の調節に寄与する。そのため、ヒスタミン神経系の活性化が大脳皮質広域の神経活動に及ぼす影響は、脳機能の調節において重要であると考えられるが、そのメカニズムは不明である。そこで本研究では、ヒスタミン神経系を活性化させるヒスタミンH₃受容体 (H₃R) 逆作動薬/拮抗薬が大脳皮質広域の神経活動をどのように調節するかを調べた。C57BL/6Jマウスの大脳皮質広域の神経細胞に蛍光Ca²⁺センサー-GCaMP8mを発現させるため、眼窩静脈叢にAAV-PHP. eB-hsyn-GCaMP8mを投与した。投与から3週間以上経過した後、頭蓋骨を露出させ、背側皮質全域のGCaMP8m蛍光を経頭蓋的に測定した。H₃R逆作動薬/拮抗薬であるPitolisant (20 mg/kg)、Thioperamide (20 mg/kg)あるいは生理食塩水を1日毎に腹腔内投与し、投与10分前と投与30分後からそれぞれ10分間の安静時神経活動を取得した。投与する薬物によって大脳皮質全体の神経活動に違いが生じるか調べるため、機械学習によって投与群を識別できるか検証した。投与後の神経活動を10秒ごとに分割し、どの薬物を投与したかラベリングした。この神経活動データセットの一部を用いてサポートベクターマシンによる学習を行い、残りの神経活動データから投与薬物の予測を行った。その結果、3つの薬物を68%の正答率で識別することができ、これは投与前の神経活動を用いた予測よりも高い正答率だった。さらに、各脳領域におけるCa²⁺イベントを検出し、薬物投与前後で比較した。その結果、薬物投与後のCa²⁺イベントの大きさの分布が投与群間で異なっていた。特に、Pitolisant、Thioperamide投与群では生理食塩水投与群に比べて、脳梁膨大後部皮質や体性感覚野において大きなイベントが増加し、小さなイベントが減少していた。Ca²⁺イベントの頻度はどの領域においても差が認められなかった。これらの結果から、H₃R逆作動薬/拮抗薬は大脳皮質広域の神経活動を調節し、特に脳梁膨大後部皮質や体性感覚野における神経活動が強調されることが示唆された。

B-1-3 神経保護的ミクログリアにおけるTLR4の発現量変化とTLR4下流シグナルの検討

○神垣 真由美、内園 望未、大堂 翔、石原 熊寿

広島国際大・薬・病態薬理学

【背景・目的】

ミクログリアは先天的な中枢神経系のマクロファージ様細胞であり、神経保護的・傷害的な働きを有するとの報告がある。先行研究において、ラット新生児の脳から作製した初代培養ミクログリアをアストロサイトから単離すると無刺激では48時間以内にほぼ死滅する。一方、アストロサイトから単離したミクログリアにリポポリサッカライド(LPS)を処置した場合には濃度依存的に急速な細胞死を示すが、死を免れた一部のミクログリアは長期間生存する。このLPS処置による長期生存には顆粒球マクロファージ・コロニー刺激因子(GM-CSF)の自己産生が関与している。加えて、これらの長期間生存ミクログリアは神経保護効果を示す。しかし、LPS処置によるToll様受容体4(TLR4)の活性化から、長期生存・神経保護に至るシグナル経路には不明な点が多い。そこで、LPS処置によるTLR4の発現量の変化を検討した。さらに、TLR4の下流に存在するNF- κ B、p38MAPKに着目し、GM-CSF受容体下流に存在するSTAT5のリン酸化、および保護的ミクログリアのマーカーであるArginase-1の発現にNF- κ Bおよびp38MAPKが関与するか検討した。

【方法】

ラット初代培養ミクログリアは、新生仔脳から作成した。初代培養ミクログリアにLPS (30 ng/mL)単独処置、LPS無処置/処置+BAY11-7082 (NF- κ B阻害薬)処置、LPS無処置/処置+SB202190 (p38MAPK阻害薬)処置条件にて24時間処置したサンプルにてウェスタンブロットを行った。

【結果】

LPS処置ミクログリアにおいてTLR4の発現が増加し、この増加はBAY11-7082(2 μ M)またはSB202190(5 μ M)を併用処置により抑制された。また、LPS処置によりSTAT5のリン酸化が生じたため、GM-CSF受容体が活性化することが確認できた。このSTAT5のリン酸化は、BAY11-7082またはSB202190の併用処置により抑制された。さらに、Arginase-1の発現もLPS処置により増加し、この増加はBAY11-7082またはSB202190の併用処置により抑制された。

【考察】

LPS処置ミクログリアの長期生存・神経保護的性質の発現には、TLR4の下流に存在するNF- κ Bおよびp38MAPKシグナル系だけでなく、TLR4の発現増加が関与することが示唆される。

B-1-4 卵巣摘出マウスへのエリスロポエチン製剤の投与は、血管新生に影響を及ぼすことなく、運動パフォーマンスを向上させる

○居場 嘉教¹、山田 幸佳¹、佐和田 真一¹、山田 晋太郎¹、山下 葉平¹、石田 善行²、中田 大介²、寺尾 啓二²

¹摂南大・理工、² (株) シクロケムバイオ

【背景・目的】 エリスロポエチン (EPO) 製剤は、ドーピング禁止薬物に指定されているが、赤血球の増加と運動パフォーマンス向上との因果関係は、科学的に証明されている訳ではない。これまでに、持続型EPO製剤であるダルベポエチン α (DPO) による運動パフォーマンス向上効果には性差があり、雌性マウスでのみ効果が認められることを明らかにしている。本実験では、性ホルモンの関与を明らかにする目的で、卵巣摘出マウスを用いてDPO投与による運動パフォーマンス向上効果を調べた。

【方法】 5週齢時に卵巣摘出を行ったFVB/Nマウスに、7週齢時から強制回転かごを用いた1時間の運動を週5日間負荷した。遊泳能力が均等になるように2群に分け、コントロール群には生理食塩液を、DPO投与群には、DPO (10 μ g/kg/week) を2週間皮下投与した。強制遊泳試験は週1回行い、遊泳試験終了後にヘマトクリット (Hct) 値を計測した。最終遊泳の翌日に腓腹筋を摘出し、PGC-1 α mRNA発現、筋線維横断面積および毛細血管密度を比較した。

【結果】 卵巣摘出マウスへのDPOの投与は、Hct値を投与1週間後から有意に増加させ、無処置の雌性マウスの場合よりも、顕著な運動パフォーマンス向上効果を示した。DPOの投与は、腓腹筋においてPGC-1 α mRNA発現を有意に増加させた。また、DPOの投与は、腓腹筋の筋線維横断面積を有意に増加させたが、毛細血管密度には影響を及ぼさなかった。

【結論】 女性ホルモンは、DPOによる運動パフォーマンス向上効果に対してむしろ抑制的に作用していると考えられた。卵巣摘出マウスで認められたDPO投与による運動パフォーマンス向上効果には、腓腹筋におけるPGC-1 α mRNA発現の亢進および筋肥大の関与が示唆されたが、血管新生は関与していないと考えられた。

B-1-5 フェンシクリジン連続投与マウスの社会性および認知行動におけるニコチン性アセチルコリン受容体の役割

○野田 幸裕¹、内田 美月¹、北垣 伸治²、久島 周³、尾崎 紀夫⁴、吉見 陽¹

¹名城大・薬・病態解析 I、²名城大・薬・薬化学研究室、³名古屋大・医・ゲノム医療セ、⁴名古屋大・院医・精神疾患病態解明

【目的】統合失調症 (SCZ) 患者の習慣的な喫煙は、喫煙から摂取したニコチン (NIC) が中枢神経系のニコチン性アセチルコリン受容体 (nAChR) を刺激することで、患者自身の精神症状の改善、あるいはNICへの精神的な依存に対する脆弱性の形成に関与すると考えられている。本研究では、SCZ様モデルマウスを用いて、習慣的な喫煙が治療効果を得るためのものか、あるいは精神的依存によるものか、さらにnAChRサブユニットがどのように関与しているかを検討した。

【方法】 ddY系雄性マウスにフェンシクリジン (PCP : 10 mg/kg/day) を14日間連続投与して、SCZ様モデルマウスを作製した。PCP最終投与の翌日から (-)-NICやリスペリドン (RIS) を11日間連続投与し、最終投与30分後に行動実験を実施した。選択的 $\alpha 7$ nAChR拮抗薬のメチルリカコニチン (MLC) と選択的 $\alpha 4 \beta 2$ nAChR拮抗薬のジヒドロ- β -エリスロイジン (Dh β E) を (-)-NIC投与の15分前に投与した。PCP最終投与12日後に脳を摘出し、nAChRサブユニットのmRNAやタンパク質の発現を解析した。

【結果】 PCP連続投与マウスでは社会性や認知機能の行動障害、前頭前皮質の $\alpha 7$ や $\alpha 4$ nAChRサブユニットの発現減少、側坐核の $\alpha 7$ 、 $\alpha 4$ や $\beta 2$ nAChRサブユニットの発現増加が認められた。これらの変化は、条件場所嗜好性行動に影響を与えずに (-)-NIC連続投与によって緩解され、両行動障害に対する緩解作用はMLCやDh β Eによって抑制された。PCP連続投与マウスに (-)-NIC無作用量とRIS弱作用量を併用投与すると、行動障害が相乗的に緩解され、(-)-NIC連続投与により行動感作とハロペリドール誘発性カタレプシー軽減作用が認められた。

【結論】 PCP連続投与マウスではnAChRサブユニットの発現が変化していたこと、(-)-NICによって行動障害が緩解されたが、報酬効果は示さなかったことから、SCZ患者の習慣的な喫煙はnAChRサブユニット刺激によって精神症状や副作用を軽減するためであると示唆される。PCP連続投与マウスでは、(-)-NICに対するドパミン神経の感受性が増加していたことから、これらの緩解作用にはnAChR刺激によるドパミン神経の活性化が関与している可能性がある。

B-1-6 フルオロクエン酸によるアストロサイトの不活性化がペンチレンテトラゾール誘発けいれんに及ぼす影響

○國澤 直史、清水 佐紀、大野 行弘

大阪医科薬科大学・薬・薬品作用解析学

【目的】 アストロサイトは、空間的K⁺緩衝機構による細胞外K⁺濃度調節、シナプス部の神経伝達物質の取り込み、グリオトランスミッターの遊離などを介して神経興奮を制御している。また、アストロサイトの機能異常はてんかん発作の発症制御に関与していることが知られている。本研究では、アストロサイト選択的抑制剤フルオロクエン酸 (FC) によるアストロサイトの不活性化がペンチレンテトラゾール (PTZ) 誘発けいれんに与える影響を評価した。

【方法】 実験には7~8週齢のSD系雄性ラットを用い、FC (1 nmol) あるいは生理食塩水 (対照) は右側脳室に微量注入した。FC投与から2時間後、灌流脳摘出を行い、後日、アストロサイトの活性化マーカーであるGFAPの免疫組織染色を行った。さらに、FC投与による海馬内グルタミン酸遊離量変化を *in vivo* microdialysis法により測定した。けいれん感受性評価では、FC投与から2時間後にPTZ (40 mg/kg, i. p.) を投与し、15分間のけいれん行動観察を行った。また、PTZ投与から2時間後に脳摘出を行い、神経興奮マーカーであるFosタンパク質の免疫組織染色に用いた。

【結果】 FC脳室内投与により、嗅周-嗅内皮質、梨状葉皮質 (PirC)、扁桃体外側基底核 (BLP)、海馬CA2、海馬歯状回 (DG) におけるGFAP陽性アストロサイトの発現が有意に減少した。また、FC投与により海馬内グルタミン酸濃度の一過性の増加がみられた。PTZにより誘発されるけいれん発作に対するFCの影響を評価した結果、FCを投与された動物ではPTZ誘発けいれんは増強し、また、BLP、DGにおけるFos発現が有意に増加していた。

【結論】 本研究結果より、FCは扁桃体および海馬におけるアストロサイトの機能を抑制し、過剰な神経興奮をもたらすことでPTZ誘発けいれんの感受性を亢進させることが示唆された。

B-1-7 アルツハイマー病モデルマウスにおけるミクログリアのカンナビノイド受容体2型を介した神経炎症調節と認知機能改善機序について

○祖父江 顕^{1,2}、小峯 起¹、遠藤 史人¹、齊藤 祐子³、村山 繁雄^{3,4}、斉藤 貴志^{1,5}、西道 隆臣⁶、山中 宏二¹

¹名古屋大・環境医学研究所・病態神経科学分野、²名古屋大・環境医学研究所・MIRAIC-未来の医学研究センター、³東京都健康長寿医療セ研・高齢者ブレインバンク、⁴大阪大・大学院連合・子どものこころの分子統御機構研究センター、⁵名古屋市立大・院医・脳神経科学研究所・認知症科学、⁶理研・脳神経科学研究所・神経老化制御チーム

認知症の主要な原因疾患であるアルツハイマー病(Alzheimer's disease; AD)の中核となる病理は、アミロイドβ(Aβ)・タウ蛋白の異常蓄積であり、これらは神経変性につながる主要因子である。一方、AD脳の老人斑に集簇するグリア細胞の一種であるミクログリアはAβクリアランスや神経炎症に寄与し、ADの病態に関与することが注目されてきている。しかし、AD病態に関わる神経炎症因子とその制御については不明な点が多い。

本研究ではAD 病理脳の楔前部およびAD患者脳内のアミロイドの蓄積を忠実に再現するApp^{M-G-F/M-G-F}マウス(App-KIマウス)から磁気細胞分離法で単離したミクログリアを用いて次世代シーケンズを行い、神経炎症関連遺伝子の発現変化を解析したところ、主に免疫関連細胞に発現し、炎症調節に関与するカンナビノイド受容体2型(CB2)が共通して上昇していることが確認できた。このことから、脳内におけるミクログリアのCB2の機能を解析する目的で、5ヶ月齢のApp-KIマウスにJWH133を6ヶ月間連続飲水投与し、新奇物体探索試験およびバーンズ迷路試験を用いて認知機能への影響を解析した。その結果、App-KIにおいて低下した認知機能はJWH133投与により有意に改善することが明らかとなった。一方で、オープンフィールド試験によりJWH133投与は情動や自発運動量には影響しないことが明らかとなった。さらに、JWH133連続投与後に大脳皮質を摘出し、磁気細胞分離法でミクログリアおよびアストロサイトを単離し、定量RT-PCRを行った結果、単離ミクログリアにおいて活性化アストロサイトの誘導因子である*C1q*や単離アストロサイトにおいて活性化アストロサイトのマーカーである*H-2d*および*Psm80*の発現の低下などが確認できた。また、JWH133を投与したApp-KIマウスの大脳皮質において、神経変性突起のマーカーであるBACE1(β-site amyloid precursor protein cleaving enzyme 1)の有意な発現低下が確認できた。これらのことからミクログリアにおけるCB2の刺激によりアストロサイトの活性化が抑制され、それによって神経炎症および認知機能の低下が改善されることが示唆された。

B-2-1 プロポフォールによる小胞体の形態変化と細胞内カルシウム動態



○野口 颯真、和田 花月、原田 佳奈、秀 和泉、田中 茂、酒井 規雄

広島大・院医・神経薬理学研究室

【背景】

静脈麻酔薬プロポフォールは麻酔の導入・維持や鎮静に用いられるが、副作用として血管痛、血圧低下などを引き起こすことが知られている。さらに、長時間、高用量のプロポフォールの使用は、致死的なプロポフォール注入症候群(PRIS)を生じることがある。我々の過去の研究で、高濃度のプロポフォールは細胞内カルシウム上昇を惹起し、同時に小胞体の形態変化を伴うことを報告した。このことからプロポフォールの細胞内カルシウム上昇の機序は、小胞体からのカルシウム漏洩によるものと推察された。

本研究では細胞内小器官カルシウムインジケータCEPIAを利用した小胞体のCa²⁺動態のイメージングから、プロポフォールによる細胞内カルシウム上昇の機序とプロポフォールが小胞体に引き起こす形態変化をさらに明らかにすることを目的とした。

【方法】

小胞体のカルシウム濃度変化は、CEPIA1erを電気穿孔法により一過性に発現させたHeLa細胞を用いた。小胞体の形態変化はER-Tracker™ Redを用いた。これらの蛍光変化を共焦点レーザー顕微鏡で同時観察した。

【結果と考察】

プロポフォールは、濃度依存的に小胞体のカルシウム濃度を減少させ、同時に細胞質内のカルシウム濃度を上昇させた。また、小胞体の構造変化と小胞体のカルシウム濃度の減少は同期していた。

超解像度での観察では、小胞体のthree-way junctionにおいてER-Tracker™ Redが凝集する様子が見られた。一方、CEPIA1erで示される残存する小胞体内カルシウムはER-Tracker™ Redの凝集部位とは一致しなかった。

これらの結果から、プロポフォールによる小胞体構造変化に伴い小胞体内のカルシウム分布が変化し、その後細胞質へのカルシウム流出が起きたことが強く示唆された。

B-2-2 神経炎症を伴う認知機能障害に対するKir4.1チャンネル阻害薬の作用評価



○石崎 悠斗、清水 佐紀、田原 拓真、妹尾 帆夏、波部 寛和、武藤 瑠里、大野 行弘

大阪医科薬科大・薬・薬品作用解析学

内向き整流性カリウム4.1 (Kir4.1) チャンネルはアストロサイトに発現し、うつ病やアルツハイマー病など様々な疾患の発症・進行に関与することが報告されている (Int. Mol. Sci., 22, 10236, 2021)。また、神経疾患に共通する重要な因子として知られる神経炎症においてアストロサイトの役割が注目されている (Nat. Rev. Neurol., 19, 395, 2023)。本研究では、神経炎症におけるKir4.1チャンネルの機能を明らかにするため、lipopolysaccharide (LPS) による神経炎症性の認知機能障害に対するKir4.1チャンネル阻害薬の作用を評価した。実験にはBALB/c系雄性マウスを使用し、LPS (0.4 mg/kg, i.p.) を7日間 (Day1~7) 反復投与した。Kir4.1チャンネル阻害薬としてはquinacrine (10, 30 mg/kg, s.c.) およびVU0134992 (3, 10 mg/kg, s.c.) を用い、LPS投与の30分前に7日間投与した。行動薬理学的評価として、反復投与終了後 (Day8, 9) に新奇物体認識 (NOR) 試験を行った。また、行動試験後 (Day10) に脳を摘出し、免疫染色によってGFAPおよびNeuNの発現解析を行った。さらに、LPSおよびquinacrine (30 mg/kg, s.c.) を3日間反復投与した際のGFAP発現も同様に免疫染色により評価した。NOR試験においてLPSの反復投与は認知機能の有意な低下を示し、quinacrine (30 mg/kg, s.c.) およびVU0134992 (3 mg/kg, s.c.) ともにLPSによる認知機能障害を有意に改善した。また、免疫染色においてLPSの3日間および7日間の反復投与は海馬領域におけるGFAP発現を有意に増加させた。一方で、quinacrine (30 mg/kg, s.c.) およびVU0134992 (3 mg/kg, s.c.) はともに、LPSによるGFAP発現の上昇を有意に抑制した。さらに、両薬物はLPSの7日間反復投与によるNeuN免疫応答性の有意な低下に対して、改善傾向を示した。以上のことから、Kir4.1チャンネルの阻害はLPSによるアストロサイト活性化の抑制および神経傷害を軽減し、神経炎症性の認知機能障害を改善することが示唆された。

B-2-3 肥満を伴う糖尿病状態のラット脳内におけるオレキシン受容体発現の変動

○相原 慎和¹、幸田 祐佳¹、松村 人志¹、古川 初花¹、畑 涼子¹、小島 千穂¹、花本 京香¹、藤岡 央¹、中村 有結¹、田中 早織¹、福石 信之²、加藤 隆児¹

¹大阪医薬大・薬・薬物治療、²金城学院大・薬・薬理

[目的] 肥満、糖尿病そして睡眠障害は、関連した一連の病態と捉えられる。睡眠・覚醒、摂食行動に関与するオレキシン神経系は、空腹時に活性化して、覚醒状態を維持し、摂食行動を促す役割を担う。我々は、糖尿病ラットにおいてオレキシンの血漿中濃度が上昇することを報告している。今回、肥満・2型糖尿病モデルであるOtsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) ラットの脳内におけるオレキシン受容体発現の変動について検討した。

[方法] 5週齢のOLETFラットと対照群であるLong-Evans Tokushima Otsuka (LETO) ラットを38週齢まで飼育観察し、収縮期血圧の測定はテイルカフ法により行った。肥満の指標として、体重および内臓脂肪の重量を測定した。OLETFラットとLETOラットは麻酔下にて採血を行い、空腹時血糖値を測定、その後、脳組織を摘出した。オレキシン血漿中濃度はELISA法により測定し、脳組織からはRNA抽出を行った。肥満・糖尿病ラットの脳内におけるオレキシン受容体発現は、PCR法とアガロースゲル電気泳動法により検討した。

[結果および考察] 38週齢のOLETFラットでは、対照群のLETOラットと比較して、体重、内臓脂肪、収縮期血圧および空腹時血糖値の顕著な上昇がみられたことから、肥満ならびに糖尿病状態であると考えられる。肥満を伴う糖尿病モデルであるOLETFラットにおいて、摂食、睡眠、覚醒を制御する神経ペプチドであるオレキシンAの血漿中濃度が上昇する結果が得られた。OLETFラットでは、LETOラットと比較して、脳組織内におけるオレキシン1型受容体発現の上昇がみられた。不眠症治療薬としてオレキシン受容体拮抗薬が臨床的有用性を発揮していることを考え合わせると、OLETFラットはオレキシンの上昇による覚醒が持続し、脳内におけるオレキシン受容体発現の変動は、睡眠障害のみならず肥満を伴う糖尿病の病態に関与する可能性が考えられる。

B-2-4 Orexin neurons mediates motivation under reward-based motivative behavior



○DONG YUTAO¹、溝口 博之^{1,2}、山中 章弘³、山田 清文¹

¹名古屋大・院医・医療薬学講座、²名古屋大・環境医学研究所、³Chinese Institute for Brain Research

Orexin neurons in the hypothalamus regulate physiological functions, including energy homeostasis and wakefulness, and are also related to motivation. Here, we examined the roles of orexin neurons in motivated behaviors. We measured the activities of orexin neurons related to motivated behavior under the fixed ratio (FR) schedule and progressive ratio (PR) test of a touchscreen-based automated operant task using fiber photometry. We found that under FR5 conditions in which rats were able to obtain a food pellet by touching the screen consecutively five times, the orexin neuron activity peaked approximately 1.65 sec before rats obtained the reward, and then decreased after reward intake. Moreover, such changes in orexin neuron activity were gradually increased in the PR schedule test. On the other hand, temporal and momentary optogenetic suppression of the increased orexin neuron activity inhibited the reward-seeking behavior in FR5 schedule and reduced the breakpoint in the PR test. These observations suggest that the activity of orexin neurons is associated with the amount of effort to obtain reward in motivated behaviors, and that dynamic changes in orexin neuron activity may be related to craving and reward prediction, and satisfaction.

B-2-5 妊娠期低酸素曝露はラット大脳皮質内神経の発達に影響を与える

○徳留 健太郎¹、植木 正明²、本間 拓二郎¹、松永 慎司¹、大野 行弘³、富田 修平¹

¹大阪公立大学・院医・分子病態薬理、²西脇市立西脇病院・麻酔科、³大阪医科薬科大・薬・薬品作用解析学

妊娠初期の母胎の低酸素状態は精神発達障害の一要因である。これまでに、妊娠中の低酸素負荷によって仔が精神発達障害様の行動表現型を示すラットモデルの樹立に成功し、この動物の帯状回皮質において神経細胞密度の減少を観察している。本研究では、上記ラットモデルの行動異常の原因を探索すべく、さらなる検討を加えた。

実験には、妊娠したF344ラットに低酸素負荷を施し、その母ラットより生まれてきた仔あるいは胎仔を使用した。ラットモデルより得られた脳より冠状切片を作成し、免疫組織化学染色を行なった。また、仔ラットの帯状回皮質における神経伝達機能を細胞外記録法により、集合電位を記録した。さらに、同実験方法にてシナプス応答性について評価し、それぞれを対照動物と比較した。

妊娠期の低酸素負荷ラットモデル (Hypoxiaラット) の帯状回皮質を構成する神経サブタイプへの影響を調べた。その結果、妊娠期低酸素曝露は介在神経密度に影響を与えることなく、グルタミン酸神経細胞である錐体細胞密度の減少を引き起こすこと、そして、これらの変化は既に新生仔期の帯状回皮質で観察されることが明らかになった。また、帯状回皮質の神経機能を評価した結果、定常状態における集合電位はHypoxiaラットにおいて有意な低下を示した。加えて、Hypoxiaラットの帯状回皮質ではpaired-pulse応答および長期増強現象の異常が観察され、妊娠期低酸素曝露は帯状回皮質でのシナプス応答性を障害することが明らかになった。さらに、低酸素曝露直後の胎仔新皮質における神経新生への影響について検討した結果、妊娠期の低酸素曝露は神経幹細胞の増殖活性を上昇させることにより、神経新生の初期段階を妨げられることが明らかになった。

以上、本研究結果より、妊娠期の低酸素曝露は帯状回皮質内の興奮性神経の発達を障害することによって、上記領域の神経伝達異常を引き起こすことが示された。

B-2-6 生後発達期ラットの大脳皮質領域における血液脳関門(BBB)形成段階の分類

○最上(重本) 由香里、北村(中山) 貴美子、佐藤 薫

国衛研・薬理

脳の血管は血液脳関門(BBB)とよばれるバリア機能を有しており、末梢血液と脳組織液の物質交換を制限することで、中枢神経系特有の薬物動態と恒常性を維持している。BBBは、脳毛細血管を構成する血管内皮細胞のTight Junction(TJ)蛋白質による密着結合と、トランスポーターによる配向性、さらに血管周囲を取り囲むペリサイトや脳側細胞により制御された、Neurovascular Unitとよばれる複合的な組織である。近年、脳血管に近接しているアストロサイトやミクログリアなどのグリア細胞がBBB機能を制御していることが報告されている。しかしながらこれらのグリア細胞とBBB形成・成熟との関連は未だ不明である。本研究では、P1~P30のラット大脳皮質毛細血管のBBB発達過程に注目し、脳血管のBBB形成と、アストロサイト、ミクログリアの局在を解剖学的に解析した。まず、成熟したBBBを通過しないエバンスブルーと組織固定型ビオチンを用いて、BBB形成時期を調べた。脳実質へのエバンスブルーおよび組織固定型ビオチンの漏出の程度は、P4まで高く、徐々に低下し、P15で最低値となりP30まで変化しなかった。次に、生後ラットの大脳皮質毛細血管とグリア細胞の免疫染色データをIMARIS 3D解析し、BBBの形成過程におけるアストロサイトとミクログリアの血管被覆率を検討した。その結果、アストロサイト終足は毛細血管と直接接触しており、その被覆率は出生後に急速に増加し、P15でプラトーに達し、P30まで変化しなかった。さらに、ミクログリアも毛細血管と直接接触しており、その被覆率は生後増加し、P15で最も高くなり、P30で安定化することが明らかになった。本研究は、傍細胞輸送とグリア細胞の接触変化の観点より、BBB形成期間がP4~P15であることを明らかにした。同時に、BBB形成過程において、ミクログリアが構造的、機能的に重要な役割を果たしている可能性を示した。

B-3-1 マウスの慢性社会ストレスによる行動変化には好中球動員が重要である



○久末 敏博¹、祝 晴¹、石川 由香¹、加藤 太郎²、石井 慎一³、片山 義雄³、田井中 一貴⁴、山口 勇太¹、篠原 亮太¹、古屋敷 智之¹

¹神戸大・院医・薬理、²住友ファーマ、³神大病院・血液内科、⁴新潟大・脳研・システム脳病態学

社会または生活習慣に起因する慢性的なストレスは認知情動変容を誘発し、うつ病など精神疾患の発症や再発を促す。中枢神経系のみならず、末梢における炎症反応もうつ病の病態生理に関与すると考えられている。我々はマウスの慢性社会ストレスモデルを用い、ストレスが脳や末梢への持続的な好中球の動員を促すことを示した。しかし、この好中球動員が慢性社会ストレスによる認知情動変容に関与するのかは明らかでない。本研究では、好中球動員に関与するケモカイン受容体であるC-X-Cモチーフ・ケモカイン受容体2(CXCR2)を薬理的に阻害または好中球選択的に欠損させ、慢性社会ストレスによる好中球動員と認知情動変容への関与を検討した。CXCR2阻害薬を慢性社会ストレス中および後に連日投与すると、好中球動員の減弱と共に、認知情動変容の誘導が抑制された。好中球選択的にCreを発現するhMrp8-CreマウスとCxcr2-floxマウスの交配で得られた好中球選択的CXCR2欠損マウスでは、慢性社会ストレスによる認知情動変容が消失することを見出した。また、神経活動レポーターマウスであるArc-dVenusマウスの組織透明化による全脳イメージングにより、慢性社会ストレス中のCXCR2阻害薬の投与は、広域な脳領域で慢性ストレスによるストレス応答性の減弱を抑制することを見出した。以上の結果は、慢性社会ストレスによる神経活動変化や認知情動変容にCXCR2を介した好中球動員が重要であることを示している。

B-3-2 マウスの慢性ストレスによる骨髄・脾臓での遺伝子発現・細胞組成・脂質メディエーターの変化



○堀川 伊和¹、永井 裕崇¹、谷口 将之¹、陳 国威¹、篠原 正和^{2,3}、鈴木 知秀⁴、石井 慎一⁴、片山 義雄⁴、北岡 志保⁵、古屋敷 智之¹

¹神戸大・院医・薬理学、²神戸大・院医・分子疫学、³神戸大・院医・質量分析総合センター、⁴神戸大・医学部附属病院・血液内科、⁵兵庫医科大・医・薬理学

ストレスやうつ病の病態においては末梢や中枢の炎症が重要であり、その制御には脂質メディエーターの関与が示唆されている。しかし、ストレスによる炎症応答において脂質メディエーターが担う役割や、脂質メディエーターに生じる変化は殆ど明らかでない。本研究では、成体のC57BL/6Nオスマウスを慢性社会挫折ストレスに供し、急性ストレスや慢性ストレス、慢性ストレス後の休息期間の後に骨髄や脾臓を回収し、トランスクリプトーム解析、フローサイトメトリー解析、リピドーム解析を行うことで、ストレスのタイムコースに応じて造血・免疫器官に生じる遺伝子発現、細胞集団、脂質メディエーターの変化を調べた。骨髄では慢性ストレスによってリンパ球の減少と骨髄系細胞の増加が持続的に誘導され、細胞集団の変化と一致した遺伝子発現変化を示した。遺伝子発現変化は、抗炎症性脂質メディエーターである15-deoxy-d12,14-prostaglandin J2の減少と関連していた。脾臓においても慢性ストレスによってリンパ球の減少と骨髄系細胞の増加が誘導されたが、骨髄と異なり一過性の変化であった。加えて、脾臓においては髄外造血を示す遺伝子発現の変化も認めた。脾臓における細胞集団や遺伝子発現の変化は抗炎症・炎症収束性脂質メディエーターである12-HEPEやレゾルビンの減少と関連していた。これらの結果から、慢性ストレスによって誘導される骨髄と脾臓の免疫反応において、抗炎症・炎症収束性脂質メディエーターが重要な役割を果たすことが示唆された。これらの知見は、内因性脂質メディエーターがストレスやうつ病の免疫機構に果たす役割の解明に資する。

B-3-3 背側縫線核セロトニン神経の活性化は悲観的な意思決定を改善した



○野口 拓馬¹、安藤 千紘¹、西谷 直也²、白川 久志¹、金子 周司¹、永安 一樹¹

¹京都大・院薬・生体機能解析学分野、²金沢大・院医薬保健・薬理学研究室

【背景】うつ病患者の症状の一つに、不運な結果を過大に評価してしまう意思決定の悲観的バイアスが挙げられる。近年、この悲観的な意思決定がセロトニン神経伝達の亢進/減弱により制御されている可能性が示唆されているが、その詳細な機序は未解明である。そこで本研究では、悲観的な意思決定を評価できる確率的逆転学習課題（PRL）を用いて、セロトニン神経伝達の寄与を薬理学的および化学遺伝学的手法を用いて検討した。

【方法】摂食制限を行ったC57BL/6J系雄性マウスを使用した。PRLは餌ペレットを報酬として2レバーオペラント装置を用いて行った。訓練期間終了後、正しいレバーを押しても報酬が得られない確率（pPCR）を0, 0.1, 0.2, 0.3の各条件に設定し、薬物処置後に30分間のテストを行った。悲観的な意思決定の指標として、正しいレバーを押したが報酬が得られなかった時、反対のレバーにシフトする割合（Negative Feedback Sensitivity；NFS）を用いた。薬物投与時の神経活動性の変化はc-fosの免疫染色により評価した。

【結果・考察】抗うつ薬（SSRI）であるcitalopram（10 mg/kg, i.p.）を投与したところ、pPCR = 0.1, 0.2の時のNFSが有意に低下した。またこの時、意思決定に深く関与する内側眼窩前頭皮質（mOFC）においてc-fos陽性細胞数が増加していた。さらに、逆行性トレーサーであるRetrobeadsをmOFCに局所投与した検討から、mOFCが主要なセロトニン神経核である、背側縫線核および正中縫線核の双方から神経投射を受けていることが示唆された。それぞれの縫線核において活性型人工受容体であるhM3Dqをセロトニン神経特異的に発現させ、リガンドであるdeschloroclozapin（1.0 μg/kg i.p.）を投与してセロトニン神経を活性化させた。その結果、正中縫線核セロトニン神経の活性化はNFSに有意な影響を与えなかった一方で、背側縫線核セロトニン神経の活性化によりNFSが有意に低下した。以上の結果は、背側縫線核から内側眼窩前頭皮質へのセロトニン神経投射の活性化がうつ病患者で見られる意思決定の悲観化を改善する可能性を示唆している。

B-3-4 幻覚薬DOIを用いたマウス大脳皮質におけるメゾスケールのカルシウムイメージング

○新谷 勇介¹、中井 信裕¹、早田 敦子^{2,3,4}、橋本 均^{2,3,5,6,7}、内匠 透¹

¹神戸大・医学研究科・生理学分野、²大阪大・院薬・薬理、³大阪大・院歯・薬理、⁴大阪大・院医・連合小児、⁵大阪大・データビリティフロンティア機構、⁶大阪大・先導的学際研究機構、⁷大阪大・院医・薬理

【研究背景】

リゼルギン酸ジエチルアミド (LSD) やシロシビン、±2,5-dimethoxy-4-iodoamphetamine hydrochloride (DOI) などの幻覚薬は、使用者に一時的な幸福感をもたらすと同時に、幻覚体験を引き起こす。これら幻覚薬により、視覚野や聴覚野、体性感覚野などの大脳皮質の神経活動が促進されることから、大脳皮質の活動異常が幻覚の原因である可能性が考えられている。しかし、大脳皮質のどの領域の活動異常が幻覚体験に必要なかどうかは明らかにはなっていない。本研究では、メゾスケールの大脳皮質カルシウムイメージング法と、薬理遺伝学的手法を用いた行動薬理学解析を実施することで、幻覚の分子基盤の理解を深めることを目的とした。

【方法】

カルシウムセンサータンパク質 GCaMP6f を大脳皮質に広範に発現する Emx-Cre/Ai95 ダブルトランスジェニックマウスにDOI を腹腔内投与し、大脳皮質のカルシウム応答の変化を観察した。また、薬理遺伝学的手法により、DOIにより惹起されるマウスの首振り応答に聴覚野の神経活動が与える影響を解析した。

【結果・考察】

DOIの投与により、運動野や聴覚野、体性感覚野と他の皮質領域の神経結合性が増加することを見出した。また、聴覚野の薬理遺伝学的抑制は、DOIにより惹起されるマウスの首振り応答を有意に抑制した。これらの結果から、マウスの幻覚様行動において聴覚野が重要な役割を果たしている可能性が示された。今後、より詳細な行動薬理学解析・神経生理学解析を実施することで、幻覚体験における聴覚野の役割が詳細に明らかになり、本研究成果が幻覚の神経基盤の理解が深まることが期待される。

B-3-5 FADS1/2遺伝子欠損による双極性障害モデルマウスの表面妥当性と神経機能の評価

○窪田 悠力¹、Hadler Sristy²、河谷 昌泰²、衣笠 智裕³、周 昕竹¹、張 心健¹、坪井 大輔⁴、毛利 彰宏⁵、吉本 潤一郎³、貝淵 弘三⁴、岩田 伸生⁶、山下 貴之²、永井 拓¹

¹藤田医科大・精神・神経病態解明センター・神経行動薬理学、²藤田医科大・医・生理学II講座、³藤田医科大・医・医用データ科学講座、⁴藤田医科大・医科学研究センター・神経・腫瘍のシグナル解析プロジェクト、⁵藤田医科大・院保健・レギュラトリーサイエンス、⁶藤田医科大・医・精神神経科学

【目的】近年、精神疾患全ゲノム関連解析 (GWAS) によりfatty acid desaturase 1/2 (FADS1/2) が双極性障害の関連遺伝子として同定された。FADS1/2は多価不飽和脂肪酸代謝においてドコサヘキサエン酸およびエイコサペンタエン酸の合成に重要な酵素である。FADS1/2ヘテロ遺伝子欠損 (FADS1/2 KO) マウスでは、双極性障害の躁病およびうつ病様エピソードを模倣する輪回し行動の変化が認められている。しかしながら、FADS1/2 KOマウスにおける情動および認知機能については不明である。本研究では、行動テストバッテリーによりFADS1/2 KOマウスにおける双極性障害モデル動物の表面妥当性を評価した。また、脳スライスを用いた電気生理学的解析によりFADS1/2 KOマウスの神経伝達機能を評価した。

【方法】情動機能は社会性行動試験および強制水泳試験、認知機能は新奇物体認知試験、Y迷路試験およびT迷路試験で評価した。内側前頭前皮質 (mPFC) の脳スライス標本を用いて、第2/3層に存在する錐体細胞から興奮性シナプス後電流 (EPSC) と抑制性シナプス後電流 (IPSC) をパッチクランプ法により記録し、興奮性-抑制性のバランス (E/I balance) を解析した。

【結果】野生型マウスと比較して、FADS1/2 KOマウスでは強制水泳試験の無動時間が延長し、Y迷路試験の自発的交替行動およびT迷路試験の正答率が減少した。新奇物体認知試験の探索嗜好性に有意な変化は認められなかったが、総探索時間がFADS1/2 KOマウスで増加した。社会性行動は両群間に有意な変化が認められなかった。FADS1/2 KOマウスのmPFC錐体細胞ではEPSCの発火頻度が減少し、E/I balanceが抑制側へシフトした。

【考察】FADS1/2 KOマウスでは、うつ様行動、物に対する過度な興味と好奇心、作業記憶障害など双極性障害に関連する行動障害が認められたことから双極性障害モデル動物としての表面妥当性が示された。E/I balance が抑制側にシフトしていることからmPFCの活動低下が示唆された。現在、ケモジェネティクス法を用いてFADS1/2 KOマウスの行動表現型とmPFCの活動低下との間の因果関係について解析を進めている。

B-3-6 Phosphodiesterase 4D のアロステリック阻害は学習によって活性化されるシグナル経路と関連した記憶亢進作用を示す

○神尾 航平^{1,2}、宮本 啓補¹、蒲原 智絵¹、畝村 千恵¹、吾郷 由希夫²、堀口 直剛¹

¹塩野義製薬・NS 3G、²広島大・院医（歯）・細胞分子薬理

【背景と目的】Phosphodiesterase 4 (PDE4)のサブファミリーのうち、PDE4Dに選択的に作用するPDE4D negative allosteric modulator (NAM)は、非臨床試験においてPDE4阻害薬と同様に記憶能を向上させるが、他のPDE4阻害薬で問題となる嘔吐の出現が少ないことが報告されている。しかし、PDE4D NAMのcAMP代謝に対する作用と認知機能、嘔吐との関係についての詳細は不明である。そこで、代表的なPDE4D NAMであるD159687を用いて、記憶、嘔気に対するPDE4D NAMの作用と、海馬CA1領域におけるcAMPシグナル経路に対する作用を解析した。【結果】恐怖条件付け学習試験において、D159687は3 mg/kgの用量で文脈記憶の亢進作用を示したが、より低用量の0.3 mg/kg、高用量の30 mg/kgでは亢進作用はみられなかった。この二相性の反応は、スコポラミン誘発の健忘モデルにおいても認められた。次に、嘔吐のスクリーニングモデルであるketamine/xylazine誘発の麻酔時間に対する作用を解析したところ、高用量の30 mg/kgのD159687を投与した場合にのみ麻酔時間が短縮し、嘔気様行動が確認された。記憶亢進作用を示した3 mg/kgのD159687は、ホームケージ内でマウスに投与した際にはcAMP濃度を変動させず、学習刺激と併用することでcAMP濃度を増加させた。一方、高用量の30 mg/kgは、ホームケージ、学習刺激時ともにcAMP濃度を増加させた。cAMP/PKA経路の下流に位置し、記憶形成に関わるCREB、SNAPおよびNR2Aタンパク質のリン酸化について検討したところ、3 mg/kgのD159687は学習刺激後のCREB、SNAP、NR2Aのリン酸化を増加させたが、30 mg/kgでは変化はみられなかった。【結論】PDE4D NAMによるcAMP濃度の学習依存性な調節が記憶亢進作用に重要であること、またそれはCREB、SNAP、NR2Aのリン酸化といったシグナル経路の活性化と関連していることが明らかになった。本研究から、PDE4D NAMの投与量を学習時にのみcAMP濃度が増加する用量域に設定することで、副作用の発現を抑え、記憶能を向上させる有効な治療法の確立につながる可能性が示された。