

YNBP2012 The Japanese Young Researcher's Society of
Neurobehavioral Pharmacology

第21回

神経行動薬理

若手研究者の集い

要旨集

**疾患の治療戦略と
QOLの向上を目指したアプローチ**

会期 **平成24年 3月13日** 火

会場 **コープイン京都**

会長 **石塚 智子** 大阪歯科大学 薬理学講座

後援 **公益財団法人 日本薬理学会**

<http://www.osaka-dent.ac.jp/ynbp/>

第21回 神経行動薬理若手研究者の集い

〔 疾患の治療戦略と
QOL の向上を目指したアプローチ 〕

日時 ● 平成24年 3月13日〔火〕

会場 ● コープイン京都

〒604-8113 京都市中京区柳馬場蛸薬師上ル井筒屋町 411

会長 ● 石塚 智子 大阪歯科大学 薬理学講座

<http://www.osaka-dent.ac.jp/ynbp/>

後援 ● 公益財団法人 日本薬理学会

世話人会

世話人代表 小野寺憲治(横浜薬科大学 医療薬学科 薬物治療学研究室)

以下50音順

アドバイザー 成田 年(星薬科大学 薬理学教室)

山田 清文(名古屋大学 大学院医学系研究科 医療薬学・病院薬剤部)

世話人 浅沼 幹人(岡山大学 大学院医歯薬学総合研究科 神経情報学分野)

石毛久美子(日本大学 薬学部 薬理学ユニット)

石塚 智子(大阪歯科大学 薬理学講座)

稲津 正人(東京医科大学 医学総合研究所)

大澤 匡弘(名古屋市立大学 大学院薬学研究科 中枢神経機能薬理学分野)

小澤 寛樹(長崎大学 大学院医歯薬学総合研究科 精神神経科学分野)

桂 昌司(安田女子大学 薬学部 薬理学分野)

金子 雅幸(千葉科学大学 薬学部 薬理学教室)

北市 清幸(岐阜大学 医学部付属病院 薬剤部)

小嶋 純(日本大学 医学部 脳神経外科教室)

佐藤 信範(千葉大学 大学院薬学研究院 臨床教育学研究室)

島添 隆雄(九州大学 薬学研究院 臨床薬学部門 医療薬科学専攻)

十川 紀夫(岡山大学 大学院医歯薬学総合研究科 歯科薬理学分野)

丹野 孝一(東北薬科大学 薬理学教室)

辻 稔(国際医療福祉大学 薬学部 薬理学)

津田 誠(九州大学 大学院薬学研究院 医療薬科学部門 薬理学分野)

西山 信好(兵庫医療大学 薬学部 薬理学分野)

野田 幸裕(名城大学 薬学部 病態解析学研究室)

松田 佳和(日本薬科大学 臨床薬学教育センター)

溝口 広一(東北薬科大学 機能形態学教室)

森 友久(星薬科大学 薬品毒性学教室)

山口 拓(長崎国際大学 薬学部 薬理学研究室)

運営事務局 大阪歯科大学 薬理学講座

〒573-1121 大阪府枚方市楠葉花園町8-1

TEL : 072-864-3058, FAX : 072-864-3158

e-mail : ynbp2012@cc.osaka-dent.ac.jp

Web : <http://www.osaka-dent.ac.jp/ynbp/>

実行委員会

第21回世話人(第21回会長)

石塚 智子(大阪歯科大学 薬理学講座)

プログラム担当責任者 十川 紀夫(岡山大学 大学院医歯薬学総合研究科 歯科薬理学分野)

庶務担当責任者 室谷 知孝(神戸大学 医学部 神経内科学/分子脳科学)

運営担当責任者 十川 千春(岡山大学 大学院医歯薬学総合研究科 歯科薬理学分野)

監査担当責任者 乾 千珠子(大阪歯科大学 口腔解剖学講座)

交通案内



会場へのアクセス

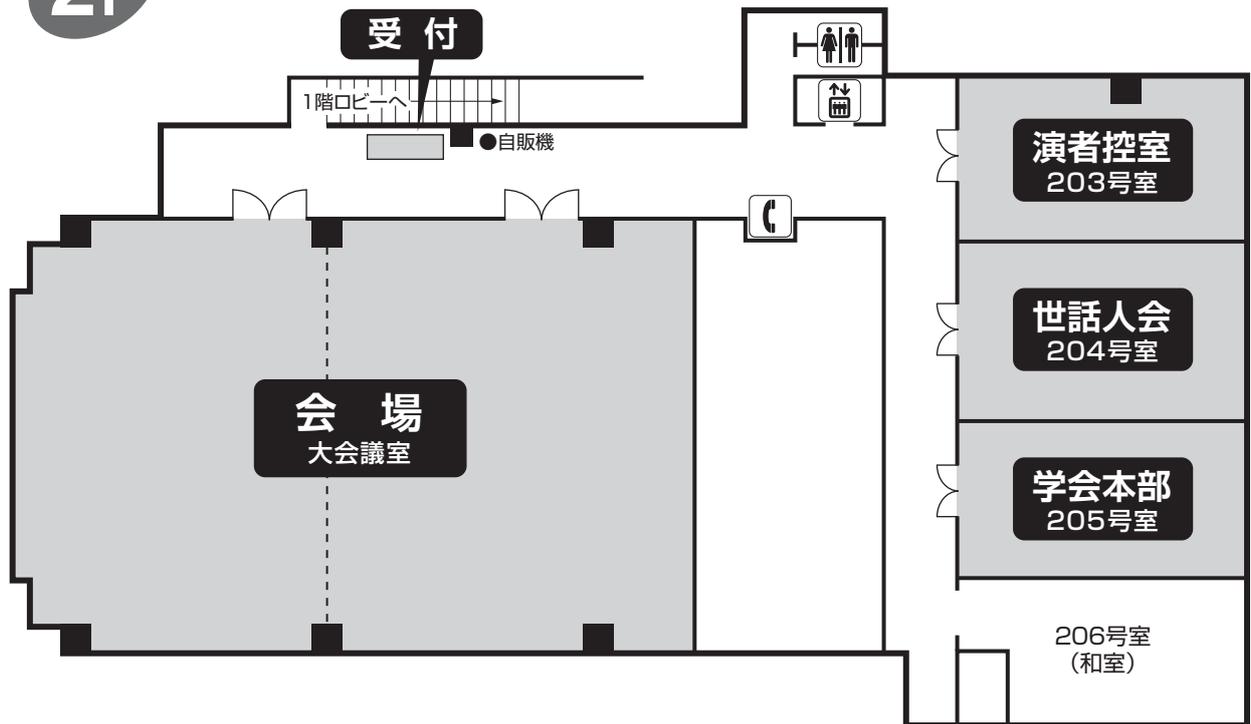
- **空港から**
 - 伊丹空港 → リムジンバス → 京都駅(南口)
 - 関西空港 → 特急はるか → JR京都駅
- **電車で**
 - JR「京都駅」→地下鉄烏丸線→「四条」下車、(13番出口から)徒歩5分
(大丸のエスカレーターで地上へ出ることも出来ます。)
 - 阪急電車「烏丸」駅(13番出口から)徒歩5分
 - 京阪電車「三条」駅(三条通西へ、京都YMCAを左折)徒歩16分
 - JR京都駅よりタクシーで10分
 - JR京都駅より市バスA-2のりば(5番系統に乗車)「四条高倉」で下車、徒歩10分
- **お車で**
 - 名神高速 南インターもしくは東インターよりお車で約20分。

※駐車場は宿泊のお客様専用です。
出来るだけ公共の交通機関かタクシーをご利用ください。

会場案内

コープイン京都

2F



ご 案 内

参加者の方々へ

1. 午前9時より受付を2F・大会議室前にて行います。すでに事前参加登録および参加費の払い込みがお済みの方は受付の必要はありません。名札をご携帯の上、直接講演会場にお越し下さい。当日、研究集会および懇親会への参加をご希望の方は受付にてお申し込み下さい。

参加費 一般：5,000円

学生：3,000円

2. 講演要旨集を余分にご希望の方は1冊1,000円にて販売致します。受付にお申し付け下さい。
3. クロークは用意しておりません。お荷物は会場内にお持ちください。
4. 全館禁煙となっております。喫煙は、1F ロビーの喫煙コーナーにてお願い致します。
5. 本会の申し合わせの通り、参加者は「先生」ではなく「さん」づけでお呼び下さい。活発な議論をお願い致します。
6. カメラ・ビデオ等による会場内におけるスライドの撮影はご遠慮ください。
7. 取材を希望されるマスコミ・プレスの方々は事前に事務局にお知らせください。
8. 日本歯科医師会生涯研修事業の単位取得をご希望の先生は、受講研修登録用 IC カードを受付にお持ちいただき、ご登録をお願いいたします。カードをお忘れの場合はその旨お伝えください。

9. 懇親会は研究集会終了後、午後6時30分より以下の会場にて開催致します。

店 名：灯－ AKARI － ※会場から徒歩5分程度です

住 所：京都市中京区烏丸通六角下ル東側カラスマプラザ21 B1 奥

T E L：050-5816-7492

懇親会費 一般：5,000円

学生：3,000円

発表される方々へ

1. 発表時間

- 一般演題 発表8分・質疑応答5分
シンポジウム 発表25分・質疑応答5分
講演時間を厳守してください。

2. 発表について

- ① 本学会における発表は、パソコンと液晶プロジェクターを用いた発表に限ります。スライド、OHP、ビデオ等での発表はできませんのでご注意ください。音声の使用はできません。
- ② 発表は、原則として発表者ご自身のパソコンをお持込みいただきます。受付は必要ございません。発表の順番が参りましたら、演台にてご自身のパソコンを備え付けのケーブルに接続してください。
- ③ 文字化けや文送りのずれを防ぐため、下記フォントなどのデフォルトのフォントを使用してスライドを作製することをお奨め致します。
日本語フォント …… MS ゴシック、MS 明朝、MSP ゴシック、MSP 明朝
英語フォント …… Arial, Arial Black, Century, Century Gothic, Times New Roman
- ④ Windows 版の PowerPoint2000/XP/2003/2007 で作成された発表データを USB メモリあるいは CD-R にて持ち込まれる場合に限り、事務局にて用意したコンピューター (Windows 7, PowerPoint 2007) を使用してご講演いただくことが可能です。データのみをお持込みいただく場合には、事前に事務局までご連絡ください。
- ⑤ Macintosh は用意しておりません。Macintosh をご利用の方は必ずご自身のパソコンをご持参下さい。(機種によりコンピューター側の差し込み口が異なりますのでモニターケーブルを必ずご用意下さい。)
- ⑥ 患者の個人情報を開示する可能性のある内容は、患者あるいはその代理人からインフォームド・コンセントを得た上で、患者の個人情報が特定されないよう十分留意して発表してください。

座長の方々へ

各セッションの進行は、座長の方々にお任せ致します。円滑な進行と活発な討議をお願い致します。

世話人の方々へ

昼休みに世話人会を 204 号室小会議室にて開催致します。昼食を準備しております。

タイムスケジュール

2012年 3月13日(火) コープイン京都

	2F 大会議室	2F 204号室
9:00	9:00～ 開 場	
	9:25～9:30 開会の辞：会長挨拶	
10:00	9:30～10:22 一般演題 1 (疼痛・ストレス) 座長：溝口 広一 (東北薬科大学 薬学部 機能形態学教室) 中本賀寿夫 (神戸学院大学 薬学部 臨床薬学部門 臨床薬学研究室)	
11:00	10:32～11:24 一般演題 2 (生体恒常性・味覚) 座長：谷田 守 (立命館大学 生命科学部 応用生理学研究室) 裕 哲崇 (朝日大学 歯学部 口腔機能修復学講座 口腔生理学分野)	
12:00	11:30～12:30 昼 食	11:30～12:30 世話人会
13:00	12:30～14:30 シンポジウム 〔 新たな疼痛治療へのアプローチ 〕 〔 ～慢性疼痛のメカニズム解明に向けた新知見～ 〕 オーガナイザー： 石毛久美子 (日本大学 薬学部 薬理学ユニット) 津田 誠 (九州大学大学院 薬学研究院 医療薬科学部門 薬理学分野)	
14:00		
15:00	14:45～15:37 一般演題 3 (脳虚血・情報伝達) 座長：森 友久 (星薬科大学 薬学部 薬品毒性学教室) 稲津 正人 (東京医科大学 医学総合研究所)	
16:00	15:47～16:39 一般演題 4 (学習・生体リズム) 座長：野田 幸裕 (名城大学薬学部 病態解析学I) 島添 隆雄 (九州大学大学院薬学研究院 臨床育薬学分野)	
17:00	17:00～18:00 特 別 講 演 〔 食行動と脳内物質 〕 山本 隆 (畿央大学 健康科学部 健康栄養学科) 座長：石塚 智子 (大阪歯科大学 薬理学講座)	
18:00	18:00～ 閉会の辞／次回大会長挨拶	
	18:30～ 懇 親 会 (会場：灯 -AKARI-)	

プログラム

平成24年3月13日(木) コープイン京都

開会の辞 9:25～

会長：石塚 智子 大阪歯科大学 薬理学講座

一般演題1 [疼痛・ストレス] 9:30～10:22

座長：溝口 広一 東北薬科大学 薬学部 機能形態学教室

中本賀寿夫 神戸学院大学 薬学部 臨床薬学部門 臨床薬学研究室

9:30～9:43

0-01 Etoposide の反復経口投与による腸管 P-glycoprotein の発現誘導機構における RhoA の関与とこれらの変化が経口 Morphine の鎮痛効果に及ぼす影響

○小堀 宅郎、小林 真菜、松本 和磨、原田 慎一、中本 賀寿夫、藤田 和歌子、
徳山 尚吾
神戸学院大・薬・臨床薬学

9:43～9:56

0-02 慢性疼痛時における長鎖脂肪酸受容体 GPR40 を介した新規疼痛制御機構の関与

○西中 崇¹⁾、松本 健吾¹⁾、中本 賀寿夫¹⁾、万倉 三正²⁾、小山 豊³⁾、徳山 尚吾¹⁾
1) 神戸学院大・薬・臨床薬学、2) 池田糖化工業、3) 大阪大谷大・薬・薬理

9:56～10:09

0-03 μ 受容体作動薬 ADAMB の脊髄における抗侵害作用発現機序

○青木 祐太、溝口 広一、渡辺 千寿子、米澤 章彦、櫻田 忍
東北薬科大学 機能形態学教室

10:09～10:22

0-04 予測不能慢性ストレスにより生じる無快感症様行動と Npas4 および Bdnf mRNA の発現変化

○青山 雄紀^{1,2)}、永井 拓¹⁾、鍋島 俊隆^{2,3)}、山田 清文¹⁾
1) 名古屋大学大学院医学系研究科医療薬学・医学部附属病院薬剤部、
2) 名城大学大学院薬学系研究科薬品作用学、
3) 名城大学学術フロンティア推進事業・比較認知科学研究所

休憩 10:22～10:32

一般演題2 [生体恒常性・味覚] 10:32～11:24

座長：谷田 守 立命館大学 生命科学部 応用生理学研究室

裕 哲崇 朝日大学 歯学部 口腔機能修復学講座 口腔生理学分野

10:32～10:45

0-05 ガセリ菌含有乳酸菌の経口投与によるラット脂肪分解促進効果

○解 クリスティナ、谷田 守
立命館大学 生命科学部 応用生理学研究室

10:45～10:58

0-06 ニコチンによる血圧および体重調節における内臓求心性自律神経の役割

○箭木 慎太郎、谷田 守

立命館大学 生命科学部 応用生理学研究室

10:58～11:11

0-07 ドセタキセル誘発食欲不振発症における脳内 IL-1 β 、COX-2の役割

○山本 浩一、伊藤 唯、松川 直樹、大和谷 厚

大阪大学大学院 医学系研究科 保健学専攻 医療技術科学分野 薬理学

11:11～11:24

0-08 歯科口腔外科領域で使用される3薬剤の味覚神経応答への影響

○谷口 敬祐¹⁾、安松 啓子²⁾、安尾 敏明²⁾、式守 道夫¹⁾、畚 哲崇²⁾

1)朝日大学歯学部口腔病態医療学講座口腔外科学分野、

2)朝日大学歯学部口腔機能修復学講座口腔生理学分野

世話人会、昼食 11:30～12:30

シンポジウム 12:30～14:30

オーガナイザー：石毛久美子 日本大学 薬学部 薬理学ユニット

津田 誠 九州大学大学院 薬学研究院 医療薬科学部門 薬理学分野

**新たな疼痛治療へのアプローチ
～慢性疼痛のメカニズム解明に向けた新知見～**

12:30～13:00

S-01 脊髄ミクログリア細胞から探る慢性疼痛メカニズム

○津田 誠、井上 和秀

九州大学大学院薬学研究院薬理学分野

13:00～13:30

S-02 脊髄後角での免疫応答と帯状疱疹性アロディニア

○佐々木 淳、篠田 篤、安東 嗣修、倉石 泰

富山大学大学院医学薬学研究部(薬学)、応用薬理学研究室

13:30～14:00

S-03 S-ケタミンによる脊髄ミクログリア Ca²⁺活性型 K⁺チャネルを介した新規鎮痛メカニズムの解明

○林 良憲、中西 博

九州大学大学院歯学研究院・口腔機能分子科学

14:00～14:30

S-04 一次体性感覚野における慢性疼痛メカニズムの解明

○江藤 圭、鍋倉 淳一

生理学研究所 生体恒常機能発達機構研究部門

休憩 14:30～14:45

一般演題3 [脳虚血・情報伝達] 14:45～15:37

座長：森 友久 星薬科大学 薬学部 薬品毒性学教室
稲津 正人 東京医科大学 医学総合研究所

14:45～14:58

0-09 一過性脳虚血による行動変容に対する人工酸素運搬体の改善効果

○山口 拓^{1,2)}、濱舘 直史¹⁾、掛端 仁¹⁾、富樫 廣子³⁾、泉 剛¹⁾、吉田 隆行¹⁾、
大村 優¹⁾、吉岡 充弘¹⁾

1) 北海道大学大学院医学研究科神経薬理学分野、2) 長崎国際大学薬学部薬理学研究室、
3) 北海道医療大学薬学部薬理学講座病態生理学

14:58～15:11

0-10 脳虚血後高血糖および神経障害発現に対する視床下部 orexin-A の影響

○原田 慎一、藤田 和歌子、徳山 尚吾

神戸学院大・薬・臨床薬学

15:11～15:24

0-11 Lipopolysaccharides (LPS) によるミクログリアの活性化が
methamphetamine 誘発報酬効果に及ぼす影響

○増川 太輝、芝崎 真裕、秋田 由花子、三竹 真里子、森 友久、鈴木 勉

星薬科大学 薬学部 薬品毒性学教室

15:24～15:37

0-12 *Mecp2* ヘテロ欠損雌マウスの視床下部外側野におけるノルアドレナリン神経伝達の特徴

○滝口 旗一¹⁾、青野 悠里²⁾、三枝 禎²⁾、越川 憲明²⁾、白川 哲夫¹⁾

1) 日本大学歯学部小児歯科学教室、2) 日本大学歯学部薬理学教室

休憩 15:37～15:47

一般演題4 [学習・生体リズム] 15:47～16:39

座長：野田 幸裕 名城大学薬学部 病態解析学 I
島添 隆雄 九州大学大学院薬学研究院 臨床育薬学分野

15:47～16:00

0-13 臼歯喪失ラットの受動的回避実験と海馬グルタミン酸の同時分析

○奥田 恵司、松野 彰仁、國場 幸恒、加山 智規、西崎 宏、岡崎 定司

大阪歯科大学 欠損歯列補綴咬合学講座

16:00～16:13

0-14 マウスの情動・認知機能におけるグリア型グルタミン酸トランスポーターの役割

○谷口 将之¹⁾、肥田 裕丈¹⁾、毛利 彰宏^{1,2,3)}、萩野 由里恵¹⁾、鵜飼 麻由¹⁾、
山田 清文³⁾、尾崎 紀夫⁴⁾、田中 光一⁵⁾、鍋島 俊隆²⁾、野田 幸裕¹⁾

1) 名城大学薬学部 病態解析学 I、2) 名城大学薬学部 薬品作用学研究室、
3) 名古屋大学大学院医学系研究科医療薬学、4) 名古屋大学大学院医学系研究科精神医学、
5) 東京医科歯科大学大学院疾患生命科学研究所

16:13～16:26

0-15 マンガン造影 MRI 法を用いた味覚嫌悪学習の想起時の神経経路の可視化

○乾 千珠子^{1,3,5)}、乾 賢^{2,5)}、志村 剛²⁾、岩井 康智¹⁾、大澤 五住^{3,5)}、吉岡 芳親^{4,5)}

1)大阪歯科大学 口腔解剖学講座、2)大阪大学 大学院人間科学研究科、

3)大阪大学 大学院生命機能研究科、4)大阪大学 免疫学フロンティアセンター、5)CREST JST

16:26～16:39

0-16 体内時計機構におけるマウス視交叉上核での calbindin 発現リズムの検討

○古田 聡¹⁾、小林 大介^{1,2)}、窪田 敏夫^{1,2)}、佐藤 英次郎¹⁾、山川 裕介¹⁾、石原 絵理¹⁾、菅原 尚子¹⁾、岩切 詩子²⁾、島添 隆雄^{1,2)}

1)九州大学薬学部・臨床育薬学分野、2)九州大学大学院薬学研究院・臨床育薬学分野

休憩 16:39～17:00

特別講演 17:00～18:00

座長：石塚 智子 大阪歯科大学 薬理学講座

食行動と脳内物質

山本 隆 畿央大学健康科学部

閉会の辞 18:00～

会長：石塚 智子 大阪歯科大学 薬理学講座

次回大会長挨拶

山口 拓 長崎国際大学薬学部薬理学研究室

懇親会 18:30～

(会場：灯 - AKARI -)

特別講演

17:00 ~ 18:00

[食行動と脳内物質]

山本 隆

畿央大学健康科学部

座長：石塚 智子 大阪歯科大学 薬理学講座

食行動と脳内物質

山本 隆

畿央大学健康科学部

食行動とは「生きるために必要な栄養素、エネルギー源を経口的に摂取する行動」である。体内のホメオスターシスは適正な食行動により保たれることを考えれば、食行動は厳密にコントロールされなければならないが、その一方で、おいしいものなら必要以上に食べ過ぎてしまうなどコントロール不可能な事態も日常的に経験するところである。味覚・嗅覚、本能と学習、脳内物質といったことをキーワードにして食行動の種々相を考えてみたい。

1. 化学感覚の重要性

食行動に最も重要な感覚は味覚と嗅覚である。まとめてフレーバー（風味）と呼ばれるこれらの化学感覚は、質的認知とともに快・不快の情動を強く発現することが特徴である。甘味、うま味、低濃度の食塩、油脂などは本能的に好ましい味であり物質である。また、経験、学習により、好ましくなったり、まずくなったり、後天的に嗜好性が変化することも知られている。

2. フレーバー嗜好学習

飲食物はそれぞれのフレーバーがあり、それを摂取したとき快感を覚えると、そのフレーバーとの間で連合学習が成立し、以後、そのフレーバーを手掛かりにして、その飲食物に対する嗜好性が増強されることをフレーバー嗜好学習という。快感には、口腔内に取り込んだとき生じる感覚によるものと、摂取後の内臓感覚や吸収後の状態によるものがある。我々の行っている研究として、ラットにコーヒーを好きにさせる実験、離乳期の嗜好学習実験の結果を紹介する。

3. フレーバー嫌悪学習

逆に不快感が生じると、その食べ物のフレーバーを記憶に留め、そのフレーバーを有する飲食物の摂取を拒否し、嫌悪行動を示すようになる。不快感には、苦味など本能的な忌避性味覚、摂取後の内臓不快感、催

吐（感）などがある。嫌悪学習に関する我々の一連の研究につき、その成果のエッセンスを紹介する。不快感とフレーバーの連合学習獲得に重要な脳部位は、結合腕傍核、扁桃体（とくに基底外側核）、大脳皮質味覚野であり、嫌悪行動発現に重要な部位は、報酬系（腹側被蓋野、側坐核、腹側淡蒼球）、視床（中位核群）、乳頭体上核、海馬などである。電気生理学的に単一ニューロン活動を記録すると、学習したフレーバーに特異的に応答性を増大させるニューロン（長期増強ニューロン）が、結合腕傍核、扁桃体、大脳皮質味覚野に見出されている。

4. おいしさに関与する脳内物質

おいしいと感じるのは味の情報が脳の前頭葉の眼窩前頭皮質に送られて処理される数秒以内の速さである。その後、あるいはそれと同時に活動する β -エンドルフィン、カンナビノイドなどの脳内物質の働きもおいしさに関わる。これらの物質は報酬系の側坐核に作用する。 β -エンドルフィンには甘味刺激で生得的に分泌されるとともに、嗜好性の高まったコーヒーの摂取により上昇することも明らかになった。

5. おいしいものを求める脳内物質

おいしいものをもっと食べたいという欲求とそれを獲得するための行動に関わる脳部位は報酬系である。脳内物質としては、中脳の腹側被蓋野の神経細胞で作られ、側坐核や前頭連合野全体に運ばれるドーパミンが挙げられる。サッカリンなど、動物にとって好ましい味の溶液を摂取したとき、側坐核で測定したドーパミン量は増加する。おいしいから増加するというよりは、そのおいしいものをもっと欲しいという欲求を反映したものと考えられる。逆に、まずい味と連合した香りを嗅がせると、ドーパミン量が減少する。この結果は、ドーパミンが摂取に対する期待感、意欲に関与することを示唆する。

6. おいしいものを積極的に取り込ませる脳内物質

おいしいものを手にすれば、次には実際にそれを食べることになる、つまり、摂食行動が生じる。脳の視床下部からは数種の摂食促進物質が分泌されるが、摂食中枢の細胞からはオレキシンが産生され脳内に広く送られ、覚醒作用、自発活動や摂食の亢進、消化管機能の促進などが生じる。

おいしさは食欲の増進とともに、心身の健康に必要であるが、上記脳内物質の相互作用は満腹中枢のブレーキ以上のアクセルの作用をするので、食べすぎから肥満を引き起こす危険性をはらんでいる。とくに、過剰なオレキシンの分泌は、咀嚼運動にも影響を及ぼし、早食いのもとになることが示されている。

【参考文献】

- 1) 山本 隆、おいしさから過食へ、化学と生物 45(1) : 21-26, 2007.
- 2) 山本 隆、味覚行動の脳機構、生体の科学 60(1) : 39-48, 2009.
- 3) Yamamoto T, Ueji K. Brain mechanisms of flavor learning. Front. Systems Neurosci. 5 : 1-7, 2011..

シンポジウム

12:30 ~ 14:30

新たな疼痛治療へのアプローチ
～慢性疼痛のメカニズム解明に向けた新知見～

オーガナイザー：石毛久美子 日本大学 薬学部 薬理学ユニット
津田 誠 九州大学大学院 薬学研究院 医療薬科学部門 薬理学分野

脊髄ミクログリア細胞から探る慢性疼痛メカニズム

○津田 誠、井上 和秀

九州大学大学院薬学研究院薬理学分野

痛みは、外傷などの存在を生体に認識させる重要な生体防御反応である。しかし、神経の障害や機能不全により、既存の鎮痛薬に抵抗性を示す神経障害性疼痛が発症する。神経障害性疼痛の発症維持メカニズムは依然として不明であるため、有効な治療薬の開発も遅れているのが現状である。

従来の研究では、神経の障害が原因で発症する慢性疼痛であることから、神経細胞での変化のみが主に注目されてきた。しかし我々は、細胞外 ATP により活性化する細胞膜イオンチャネル P2X 受容体の研究から、神経障害性疼痛動物モデルの脊髄後角で、P2X4 受容体が非神経細胞であるミクログリアで高発現し、その受容体を遮断する薬物で触刺激誘発疼痛アロディニアが抑制されることを明らかにした (Nature 2003, PNAS 2009)。さらに、アロディニア発現に重要なニューロン機能異常がミクログリア由来因子で誘発されることも明らかにした (Nature 2005)。これらの成果は、神経損傷により活性化したミクログリアが神経障害性疼痛の原因細胞である可能性を示唆している。ミクログリア細胞は、神経損傷などに応答してさまざまな遺伝子を発現し、活性化状態へと移行する。しかし、その遺伝子発現メカニズムは不明であった。最近我々は、神経損傷後に脊髄で発現増加する遺伝子として数種類の転写因子を検出し、その中で interferon regulatory factor 8 (IRF8) がミクログリア特異的であること、さらに IRF8 の欠損により ATP 受容体や炎症性サイトカインなど神経障害性疼痛に関連する遺伝子発現が抑制され、アロディニアの発症も抑制されることを見出した。

本シンポジウムでは、上述した現在までに得られた研究成果を、ミクログリア転写因子 IRF8 に関する研究を含めて紹介し、ミクログリアから見た慢性疼痛のメカニズムを議論したい。

脊髄後角での免疫応答と帯状疱疹性アロディニア

○佐々木 淳、篠田 篤、安東 嗣修、倉石 泰

富山大学大学院医学薬学研究部(薬学)、応用薬理学研究室

帯状疱疹は、初感染後感覚神経節に潜伏感染していた水痘・帯状疱疹ウイルスが再増殖することで発症し、増殖した神経の支配領域に沿って帯状に出現する皮疹と激しい疼痛が特徴である。また、帯状疱疹患者の一部では帯状疱疹後神経痛を発症し、皮膚病変の治癒後も長期にわたって疼痛に悩まされる。自発痛に加え、通常は痛みを生じない刺激により疼痛が生じるアロディニアを生じるが、既存の鎮痛薬では効果的な除痛は困難である。帯状疱疹の原因ウイルスである水痘・帯状疱疹ウイルスは種特異性が高く、ヒトと同様な感染様式を示す動物モデルはないが、同じヘルペスウイルス科に属する単純ヘルペスウイルス I 型 (herpes simplex virus type-1, HSV-1) をマウスに経皮接種すると、接種部位を神経支配する感覚神経に感染、増殖し、帯状疱疹に類似した皮膚病変を発症する。我々は、このマウスで自発痛とアロディニアが生じることを見出し、帯状疱疹性疼痛の発生機序に関する研究を行ってきた。本シンポジウムでは、脊髄後角に HSV-1 が感染、増殖することによって引き起こされる免疫応答が帯状疱疹性アロディニアに関与する可能性と、その機序についての研究成果を紹介する。

ウイルス感染により生じる免疫応答は、感染防御やウイルス排除に重要な役割を果たすが、神経組織あるいはその周囲にウイルス感染が生じた場合には、免疫応答が神経機能に影響し、疼痛を含めた種々の神経症状に関与する可能性が考えられる。帯状疱疹性疼痛マウスでは、HSV-1 は感覚神経節で増殖した後、皮膚のみならず、中枢神経組織である脊髄後角にも伝播し、感染、増殖することから、免疫応答は一次感覚神経レベルにとどまらず脊髄後角にも及ぶ。近年、神経障害性疼痛に脊髄後角のミクログリアが関与することが注目されているが、ミクログリアは中枢神経系の免疫担当細胞でもある。そこで、HSV-1 増殖に反応したミクログリアの活性化がアロディニアに関与する可能性を考えた。HSV-1 接種マウスの脊髄後角におけるミ

クログリアの活性化を調べたところ、アロディニアのスコアが急激に増加する接種後5日目からミクログリアの活性化が生じ、さらに HSV-1 増殖領域に活性化ミクログリアが集積する像が観察された。また、ミクログリアの活性化は、アロディニアが最大となる接種後7日目に最大となり、ミクログリアの疼痛関連分子として報告されている p38MAPK の著明なリン酸化も生じた。p38MAPK 阻害薬の髄腔内投与により帯状疱疹期のアロディニアが抑制されたことから、ミクログリアの活性化がアロディニア発生に一部関与していることが示唆される。最近では、帯状疱疹性疼痛マウスの脊髄後角に T リンパ球が著明に浸潤することを見出し、アロディニア発生との関係を調べている。これまでに、T リンパ球にアロディニア誘発作用があることを見出しており、その分子メカニズムに関する知見も集まりつつある。ミクログリアのみならず T リンパ球を含めた免疫応答と脊髄後角細胞を繋ぐ分子機構の詳細を明らかにすることは、帯状疱疹性アロディニアの発生機序の解明、さらには新規鎮痛薬の標的分子の同定に繋がるものと期待される。

S- ケタミンによる脊髄ミクログリア Ca^{2+} 活性型 K^+ チャンネルを介した新規鎮痛メカニズムの解明

○林 良憲、中西 博

九州大学大学院歯学研究院・口腔機能分子科学

神経障害性疼痛に代表される慢性疼痛には既存の鎮痛薬が奏効しないことから新たな鎮痛薬の開発が望まれている。しかしながら治療薬の開発には非常に長い年月を要するため効果的な治療法を迅速に臨床に届ける事も非常に重要な観点である。難治性疼痛において除痛困難な場合にはケタミンが使用されているのだが、幻覚等の副作用を示すことから使用に難が残る。ケタミンは光学異性体であるS体とR体が等量含まれるラセミ体が臨床使用されている。主な副作用の原因はR体である事が示唆されている事からS体のみの使用が臨床的には理想である。これまで、我々は不斉合成法によるS体ケタミンの純合成を確立していることから、本薬物を用いた鎮痛効果を検討した。主な作用部位であるNMDA受容体に対してS体がR体に比べ約2倍強い阻害効果を示す一方で、鎮痛効果は約4倍強い効果を示した。この作用強度の差はニューロンのNMDA受容体の抑制効果だけでは説明できない事から、神経障害性疼痛に多大な寄与をもたらすミクログリアに対する影響を検討した。

L4脊髄神経切断モデルにおいて脊髄後角で活性化するミクログリアはS体ケタミン投与により有意に抑制された。活性化した脊髄ミクログリアでは顕著な外向き K^+ 電流を示し、カリブドトキシン感受性である一方で、アパミン抵抗性であった事から、高コンダクタンス Ca^{2+} 活性型 K^+ チャンネル(BKチャンネル)の関与が示唆された。更にこの電流はS体ケタミンにより有意に抑制された。NS1619(BKチャンネル活性化剤)により誘発されるミクログリアにおけるBK電流はR体、ラセミ体に比べS体が最も強い抑制効果を示した。また、NS1619の髄腔内単回投与により誘発される疼痛閾値の低下はS体ケタミンにより有意に抑制された。一方で、神経障害性疼痛モデルにおける疼痛閾値の低下はカリブドトキシンにより有意に改善され、ミクログリア活性化の指標であるP2X4受容体およびBDNFの発現もカリブドトキシンにより有

意に低下した。最終的にBKチャンネルは脂質であるリゾフォスファチジン酸(LPA)により活性化され、これらはS体ケタミンにより有意に抑制された。以上の事からケタミンはこれまで考えられているニューロンのNMDA受容体だけでなくミクログリアBKチャンネルも同時に抑制することで強力な鎮痛効果を発揮することが明らかになった。更にミクログリアBKチャンネルが慢性疼痛の新規ターゲットとなりうる可能性を示唆する結果となった。

一次体性感覚野における慢性疼痛メカニズムの解明

○江藤 圭、鍋倉 淳一

生理学研究所 生体恒常機能発達機構研究部門

慢性疼痛は末梢組織の炎症や末梢神経系の損傷がきっかけとなって生じ、その発生・維持過程に脊髄を含む中枢神経系の異常が関与していることが示唆されている。大脳皮質において、侵害刺激に対して複数の領域が応答し、慢性疼痛時にはこれらの脳領域活動が亢進することから、単一の脳領域のみならず、複数の脳領域間の相互作用も慢性疼痛処理に関与する可能性が示唆されている。大脳皮質の中でも一次体性感覚野(S1)は痛みの強度、部位、刺激時間を認知する役割を担う。また、慢性疼痛時には触刺激で誘発される活動が亢進することやシナプス構造が劇的に変化することから、S1は慢性疼痛でも重要な役割を担うと考えられる。S1は6層構造からなり、興奮性神経細胞と抑制性神経細胞が存在する。その中でも第2/3層興奮性神経細胞は、末梢からの痛み情報を統合し、S1の第5層細胞や、他の大脳皮質領域へと伝達する出力細胞の役割を持つ。一方、抑制性神経細胞は興奮性神経細胞の活動を調節することにより、感覚情報処理に関与する。しかし、これまで、慢性疼痛時にこれらの細胞群の活動がどのように変化し、疼痛行動にどのように関与するか不明であった。そこで、本研究では、2光子顕微鏡を用いた *in vivo* イメージング、行動実験を組み合わせ、慢性疼痛における一次体性感覚野興奮性、抑制性神経細胞の役割について調べた。

第2/3層興奮性細胞の感覚刺激、第4層電気刺激誘発カルシウム応答は慢性疼痛時に亢進していた。2/3層の興奮性伝達を抑制すると疼痛行動が減弱し、逆に亢進させると増強することから、慢性疼痛行動がS1神経活動に依存することが明らかになった。S1出力細胞の過剰活動が疼痛行動を誘発する機序として別の疼痛関連領域、特に前帯状回(ACC)との皮質間相互作用に着目した。慢性疼痛時にはACC神経活動が亢進しており、S1活動を抑制することでACC活動が抑制された。正常マウスのS1活動を亢進させるとACC活動が亢進した。さらに、ACC活動抑制が鎮痛

作用を示した。これらの結果から、慢性疼痛時にはS1の興奮性神経細胞の活動が皮質内可塑的变化により亢進し、その結果、ACC神経活動が亢進することで慢性疼痛行動が惹起される事が明らかになった。

次に抑制性神経細胞の役割について調べた。慢性疼痛時にはS1の2/3層抑制性細胞の感覚刺激、4層刺激誘発カルシウム応答が増強していた。S1のGABA_A受容体を阻害すると、2/3層興奮性細胞の4層刺激誘発カルシウム応答が増強し、その増強の程度は正常群に比べ慢性疼痛群で増大した。慢性疼痛時に抑制性細胞活動が亢進し、興奮性回路に対する抑制も増強しているにもかかわらず興奮性細胞の過剰活動を抑制できない機構としてシナプスレベルでの抑制に着目した。2/3層抑制性細胞から興奮性細胞への抑制性シナプス伝達は変わっていなかったが、興奮性細胞のカリウム-クロライド共輸送体(KCC2)の機能が減弱することで細胞内クロライド濃度が増加していた。これらの結果から、慢性疼痛時には、S1抑制性細胞の活動が増強するが、興奮性細胞のKCC2機能減弱によりシナプスレベルでの抑制効果が減少するため、過剰な興奮性神経活動、疼痛行動を抑制できないことが明らかになった。

一般演題

1 [疼痛・ストレス] 9:30～10:22

座長：溝口 広一 東北薬科大学 薬学部 機能形態学教室
中本賀寿夫 神戸学院大学 薬学部 臨床薬学部門 臨床薬学研究室

2 [生体恒常性・味覚] 10:32～11:24

座長：谷田 守 立命館大学 生命科学部 応用生理学研究室
裕 哲崇 朝日大学 歯学部 口腔機能修復学講座 口腔生理学分野

3 [脳虚血・情報伝達] 14:45～15:37

座長：森 友久 星薬科大学 薬学部 薬品毒性学教室
稲津 正人 東京医科大学 医学総合研究所

4 [学習・生体リズム] 15:47～16:39

座長：野田 幸裕 名城大学薬学部 病態解析学Ⅰ
島添 隆雄 九州大学大学院薬学研究院 臨床育薬学分野

Etoposide の反復経口投与による腸管 P-glycoprotein の発現誘導機構における RhoA の関与とこれらの変化が経口 Morphine の鎮痛効果に及ぼす影響

○小堀 宅郎、小林 真菜、松本 和磨、原田 慎一、中本 賀寿夫、藤田 和歌子、
徳山 尚吾

神戸学院大・薬・臨床薬学

【目的】 がん治療早期からの緩和ケア実施の必要性が掲げられ、抗がん剤治療と並行して、医療用麻薬の経口投与による疼痛緩和が推奨されている。しかしながら一方では、抗がん剤を反復投与することにより、薬物代謝酵素や薬物トランスポーターの発現誘導が引き起こされ、種々の薬物の体内動態に影響を及ぼすことが問題視されている。したがって、抗がん剤の併用投与が医療用麻薬の薬物動態へ及ぼす影響についてエビデンスを構築していくことは重要な課題であると考えられる。これまでに我々は、抗がん剤 Etoposide (ETP) の反復経口投与により、腸管において薬物排出トランスポーターである P-glycoprotein (P-gp) の発現が誘導され、経口投与した Morphine の鎮痛効果を減弱させることを報告しているが、ETP による P-gp の発現誘導機構については未だ不明である。

近年、低分子量 G タンパク質である RhoA の活性低下によって P-gp 発現量が低下するとの報告がなされており、P-gp の発現制御に RhoA が関与していることが示唆されている。そこで本研究では、ETP の反復経口投与による腸管 P-gp の発現誘導機構における RhoA の関与と、これらの変化が経口 Morphine の鎮痛効果に及ぼす影響について検討を行った。

【方法】 実験には4週齢の ddY 系雄性マウスを用い、ETP (10mg/kg, p.o.) は1日1回7日間反復投与した。RhoA 活性化の指標となる細胞膜移行を抑制する Rosuvastatin (5mg/kg, p.o.) は ETP と同時に投与した。また、腸管 P-gp ならびに細胞膜と細胞質における RhoA のタンパク質発現量を western blot 法、腸管 P-gp の Rhodamine123 (Rho123) 排出能を *in situ* closed loop 法によりそれぞれ解析した。Morphine (50mg/kg, p.o.) の鎮痛効果は tail-flick 法により評価した。

【結果・考察】 ETP の反復投与終了後において、腸管 P-gp の発現および Rho123 排出能は、コントロール群と比較して有意に上昇した。同条件下において、腸管 RhoA の発現量は、細胞膜画分において有意に上昇し、細胞質画分では減少した。これらの発現誘導作用は、Rosuvastatin の併用投与によって阻害された。さらに、ETP の反復投与によって引き起こされる Morphine 鎮痛効果の減弱作用も同様に Rosuvastatin の併用投与によって用量依存的に抑制され、その鎮痛効果はコントロールレベルまで回復した。

以上の結果から、ETP 反復投与による腸管 P-gp の発現誘導機構に RhoA の活性化が関与し、これらの変化が経口 Morphine の鎮痛効果を減弱させた可能性が考えられる。

慢性疼痛時における長鎖脂肪酸受容体 GPR40 を介した 新規疼痛制御機構の関与

○西中 崇¹⁾、松本 健吾¹⁾、中本 賀寿夫¹⁾、万倉 三正²⁾、小山 豊³⁾、徳山 尚吾¹⁾

1) 神戸学院大・薬・臨床薬学、2) 池田糖化工業、3) 大阪大谷大・薬・薬理

【背景】慢性疼痛は、原因となる病態が改善してもなお、痛みが遷延する状態で、慢性痛で悩まされている患者は2,000万人以上とされている。現在、既存の医薬品では、慢性疼痛に対して、十分な治療効果が得られない場合や、副作用によって、その使用を制限されてしまう場合がある。そのため、新たな鎮痛薬や疼痛制御機構の解明に関する研究が社会的な課題である。

近年、n-3系脂肪酸が関節リウマチ、関節炎および神経障害性疼痛などにおける痛みを抑制するとの報告がなされ、脂肪酸が疼痛制御に関与している可能性が提唱されている。我々はこれまでに、ドコサヘキサエン酸(DHA)が抗侵害作用を示すこと、さらに、DHAなどの長鎖脂肪酸が作用する受容体GPR40を介して β -エンドルフィンを遊離させ疼痛制御に関与していることを報告している。これらの結果から、脂肪酸受容体が生体内の疼痛制御機構において重要な役割をしている可能性が考えられている。しかしながら、慢性疼痛下におけるこれら脂肪酸受容体の関与については全く不明である。そこで本研究においては、慢性疼痛炎症モデルマウスを用いて、中枢神経系におけるGPR40のタンパク質発現変化について検討を行った。

【方法】4週齢のddY系雄性マウスを使用した。慢性炎症性疼痛モデルは、マウスの右後肢足蹠内へ0.5mg/kgのcomplete Freund's adjuvant(CFA)を投与し作製した。Sham群には生理食塩水を投与した。疼痛評価には、von Frey test(機械的刺激)およびPlantar test(熱的刺激)を用いた。GPR40の蛋白質発現はウエスタンブロット法および免疫組織染色法により解析した。

【結果・考察】CFA投与によって、投与1日目から足の腫脹、機械的および熱的刺激に対する疼痛過敏反応が認められた。この条件下におけるマウス脳内GPR40の蛋白質発現を測定したところ、CFA投与1および3日目では、GPR40のタンパク質発現は何ら変化が認められなかった。興味深いことに、CFA投与7日目においてsham群と比較して、延髄および視床下部領域では有意に増加し、中脳においても増加傾向を示した。一方、大脳皮質ではその発現変化は認められなかった。

以上の結果から、慢性疼痛時には脳内の疼痛制御機構に関与している領域のGPR40が発現変動し、疼痛の制御を行っている可能性が示された。

μ 受容体作動薬 ADAMB の脊髄における抗侵害作用発現機序

○青木 祐太、溝口 広一、渡辺 千寿子、米澤 章彦、櫻田 忍
東北薬科大学 機能形態学教室

【目的】 μ オピオイド受容体作動薬である N^a-Amidino-Tyr-D-Arg-Phe-Me β Ala-OH (ADAMB) は、dermorphine の N 末端 tetrapeptide 誘導体であり、皮下投与、経口投与において morphine よりも強力で持続的な抗侵害作用を示すことが明らかにされている。しかし、ADAMB の抗侵害作用の詳細なメカニズムは未だ明らかにされていないことから、本研究においては ADAMB の脊髄における抗侵害作用発現メカニズムを検討した。

【方法】 実験には、体重 22-26g の雄性 ddY、C57BL/6J、prodynorphin-knockout マウスを用い、ADAMB の抗侵害作用は tail-flick 法を用いて測定した。すべての薬物は、脊髄クモ膜下腔内 (i.t.) 投与した。

【結果】 Tail-flick 法において、ADAMB (0.5pmol, i.t.) は投与後 15 分をピークとして約 3 時間にも及ぶ強力で持続時間の長い抗侵害効果を示した。この抗侵害効果は、 μ オピオイド受容体選択的拮抗薬 β -funaltrexamine、CTOP によって拮抗されたことから、 μ オピオイド受容体を介して発現していることが明らかとなった。また、ADAMB は μ オピオイド受容体選択的作動薬であるにもかかわらず、その抗侵害作用は κ オピオイド受容体選択的拮抗薬である nor-binaltorphimine、 δ オピオイド受容体選択的拮抗薬である naltrindole によっても拮抗された。一方 ADAMB の抗侵害作用は、内因性 κ オピオイドペプチド dynorphin A、dynorphin B、 α -neo-endorphin の各抗体、内因性 δ オピオイドペプチド [Leu⁵] enkephalin、[Met⁵] enkephalin の各抗体で抑制された。さらに、prodynorphin-knockout マウスにおいて、wild-type マウスと比較して ADAMB の抗侵害作用は減弱した。

【考察】 以上本研究において、ADAMB は μ オピオイド受容体に対する直接作用だけではなく、 μ オピオイド受容体の刺激を介して内因性 κ オピオイドペプチドである dynorphin A、dynorphin B、 α -neo-endorphin、内因性 δ オピオイドペプチドである [Leu⁵] enkephalin、[Met⁵] enkephalin を遊離するといった、従来の μ オピオイド受容体作動薬とは異なる機序で抗侵害作用を発現することが明らかとなった。

予測不能慢性ストレスにより生じる無快感症様行動と Npas4 および Bdnf mRNA の発現変化

○青山 雄紀^{1,2)}、永井 拓¹⁾、鍋島 俊隆^{2,3)}、山田 清文¹⁾

1) 名古屋大学大学院医学系研究科医療薬学・医学部附属病院薬剤部、

2) 名城大学大学院薬学系研究科薬品作用学、

3) 名城大学学術フロンティア推進事業・比較認知科学研究所

【目的】 Npas4 は塩基性 helix-loop-helix PAS ドメインを有する脳特異的転写調節因子ファミリーの1つであり、脳高次機能に重要な大脳皮質や海馬に高発現している。また、神経活動依存的に発現が誘導され、抑制性 GABA 作動性神経の分化・成熟および脳由来神経栄養因子 (Bdnf) の発現調節に関与することが報告されている。これまでに我々は、長期隔離ストレスあるいは慢性拘束ストレスを負荷したマウスでは学習記憶と情動行動に異常が生じ、海馬における神経新生が低下することを明らかにし、ストレス誘発性脳機能障害に関連する遺伝子として Npas4 を見出した。本研究では、うつ病などの気分障害における Npas4 の関与について明らかにするため、予測不能慢性ストレスモデルマウスにおける Npas4 および Bdnf の発現変化について検討した。

【方法】 実験には雄性 C57BL/6J マウスを使用した。8週齢より予測不能慢性ストレス (CMS) を2週間または4週間負荷し、sucrose preference test を行った。さらに定量的リアルタイム RT-PCR 法を用いて前頭前皮質および海馬における Npas4 および Bdnf 発現量を比較定量した。

【結果】 Sucrose preference test において、コントロールマウスの飲水量は水よりも sucrose 水の方が多く、sucrose に対する嗜好性が観察された。CMS を2週間負荷したマウスは sucrose に対する嗜好性がコントロール群と比べて有意に減少しており、無快感症様行動の発現が観察された。一方、CMS を4週間負荷したマウスはコントロール群と同程度の sucrose に対する嗜好性が観察された。Npas4 mRNA の発現量は CMS を2週間負荷したマウスの海馬で有意に低下し、Npas4 mRNA の発現低下は CMS を4週間負荷したマウスの前頭皮質および海馬でも認められた。一方、Bdnf mRNA の発現量は CMS を4週間負荷したマウスの海馬でのみ有意な発現低下が認められた。

【考察】 CMS による C57BL/6J マウスの無快感症様行動は一過性であり、ストレス耐性が形成された。Npas4 および Bdnf 発現量は CMS により有意に低下したことから、Npas4 および Bdnf は脳機能制御に関するストレス応答性因子である可能性が示唆された。今後は、CMS による Npas4 発現変化が抑うつ様行動において重要な役割を果たしているかどうかを Npas4 ノックアウトマウスを用いて明らかにする予定である。

ガセリ菌含有乳酸菌の経口投与によるラット脂肪分解促進効果

○解 クリスティナ、谷田 守

立命館大学 生命科学部 応用生理学研究室

【目的】 これまで我々は、乳酸菌(NCC533、NCC2461)の生理的効果について検討し、ラットの腸内に乳酸菌を投与すると、自律神経が変化して、血圧、血糖、熱産生、体重調節に有効であることを報告した(Tanida M et.al, 2011)。最近、ヒト試験においてガセリ菌含有乳酸菌を長期的に摂取すると内臓脂肪量が減少することがわかっているが、この乳酸菌効果に自律神経系が関与しているか否かよくわかっていない。そこで本研究では、覚醒下ラットの脂肪分解機能に及ぼすガセリ菌含有乳酸菌の効果を検討し、その調節メカニズムに自律神経系が関与するか否か検討した。

【方法】 Wistar 系雄ラット(体重約250g)の大腿動脈に留置したカテーテルより採血し、経口ゾンデを用いて試験物質(水、ガセリ菌含有ヨーグルト、ビフィズス菌含有ヨーグルト)を覚醒下で投与した。投与前、投与後30分、60分、90分、120分で、血中グリセロール濃度を測定した。また、自律神経系の関与を検討するために、遠心性交感神経遮断薬であるプロプラノロール(20mg/kg)を腹腔内投与したラットや内臓の求心性副交感神経をカプサイシンでブロックしたラットを用いた試験も行った。またウレタン麻酔下ラットの白色脂肪交感神経活動へ及ぼすガセリ菌含有乳酸菌効果について電気生理学的に検討した。

【結果】 水又はビフィズス菌含有ヨーグルト投与に比べて、ガセリ菌含有ヨーグルトを投与すると有意に血中グリセロール濃度が上昇した。またこの効果はプロプラノロール投与又は内臓副交感神経カプサイシン塗布により消失した。さらにガセリ菌含有ヨーグルトを胃内投与すると白色脂肪交感神経活動が増大した。

【考察】 本研究では、ガセリ菌含有乳酸菌投与が自律神経系を介する脂肪促進効果を新たに見出した。特に、ガセリ菌による脂肪分解メカニズムに、内臓求心性副交感神経-中枢神経系-白色脂肪遠心性交感神経といった末梢と中枢をクロストークする仕組みが存在する可能性を示唆するものである。

ニコチンによる血圧および体重調節における内臓求心性自律神経の役割

○箭木 慎太郎、谷田 守

立命館大学 生命科学部 応用生理学研究室

【目的】喫煙が高血圧の要因として指摘されている背景には、たばこの主成分であるニコチンによる血圧調節作用の関与があることがわかっている。またニコチンには摂食量を抑え、体重を減少させる作用もあることがわかっている。内臓組織にニコチン受容体が存在するため、血液中で増えたニコチンが内臓組織に作用し、内臓を支配する求心性自律神経を介して脳へ情報伝達している可能性が考えられるがよくわかっていない。そこで、本研究では、ラットへのニコチン投与による血圧上昇反応を確認し、このニコチン作用に求心性自律神経が関与するか否か検討する目的で、内臓自律神経切除ラットを用いて検討した。次に、ニコチンによる体重及び摂食量の変化についても検討した。

【方法】Wistar系雄ラット(体重約250g)の大腿静脈に留置したカテーテルよりニコチン(50 μ g/0.2ml)を投与し、大腿動脈に留置したカテーテルより覚醒下で血圧、心拍数を測定した。同様に大腿静脈カテーテルよりニコチン(50 μ g/0.2ml、2回/日、3日間)を投与し、体重と摂食量を測定した。また、求心性迷走神経の役割を検討するために求心性迷走神経(胃枝、肝臓枝、腹腔枝)を外科的に切除したラットやカプサイシンでブロックしたラットを用いて検討した。

【結果】ニコチンを覚醒下ラットの静脈内に投与すると生理食塩水投与に比べて血圧が有意に上昇した。迷走神経切除ラットへニコチンを静脈内投与すると、投与10分後～60分後まで血圧上昇反応は抑制された。また、覚醒下ラット静脈内へのニコチン投与は、投与後二日目まで有意に体重と摂食量を減少させたが、求心性迷走神経ブロックラットへニコチンを投与しても、摂食と体重抑制作用は消失しなかった。

【考察】本研究では、血圧及び体重調節においてニコチンの静脈内投与が血圧を上昇させ、摂食量と体重を減少させることを確認し、ニコチンによる血圧調節作用には内臓求心性迷走神経の関与があることを示唆した。現在、求心性交感神経の役割について検討しており、そのデータについて紹介する予定である。

ドセタキセル誘発食欲不振発症における脳内 IL-1 β 、COX-2 の役割

○山本 浩一、伊藤 唯、松川 直樹、大和谷 厚

大阪大学大学院 医学系研究科 保健学専攻 医療技術科学分野 薬理学

【目的】 癌治療を受ける患者の多くが辛い有害反応として挙げるものに、抗悪性腫瘍薬投与後に現れる悪心・嘔吐、食欲不振など消化器症状がある。これらの有害反応で発症初期に現れる悪心・嘔吐は迷走神経終末のセロトニン5-HT₃受容体が関与する病態であるため、オンダンセトロンなど5-HT₃受容体遮断薬が標準治療薬として用いられる。しかし、この種の薬物を用いても、食欲不振は未だ改善できていない。

ところで、感染や炎症に伴って産生されるインターロイキン(IL)-1 β はシクロオキシゲナーゼ(COX)-2を誘導しプロスタグランジン(PG)E₂の産生を促して発熱を惹起するが、同時にPGE₂は視床下部のPGE₂受容体を介して食欲不振を誘発するとの報告がある。このことから、われわれは抗悪性腫瘍薬による食欲不振の発症にはIL-1 β 、COX-2誘導とそれに続くPGE₂産生増加が関与するのではないかと考え、食欲不振を強く惹起する抗悪性腫瘍薬のドセタキセルを投与するとラットの摂餌量や視床下部内のIL-1 β 、COX-2mRNA 遺伝子発現量にどのような変化が現れるか検討するとともに、これら変化に対してCOX-2阻害剤がどのような作用を有するかを検討した。

【方法】 雄性 Wistar 系ラットを自動摂餌量測定装置(FDM700S)内で飼育した。実験環境に馴化させた後、ドセタキセル(10mg/kg)を暗期直前に腹腔内投与し、投与24時間の摂餌量を1時間ごとに経時的記録した。また、選択的COX-2阻害剤のNS-398(30mg/kg)ならびにセレコキシブ(30mg/kg)をドセタキセル投与前に処置することで、ドセタキセルによる食欲不振に対する抑制作用を確認した。さらに、ドセタキセル投与後の視床下部でのIL-1 β 、COX-2のmRNA 発現量の経時的変化をRT-PCR法を用いて解析し、この発現量の変化に対するCOX-2阻害剤の効果についても併せて解析した。

【結果】 ドセタキセル投与により投与8時間後から摂餌行動は抑制され、それ以降摂餌量が増加しなかった。摂餌量が減少したドセタキセル投与8時間後、18時間後の視床下部内ではIL-1 β ならびにCOX-2 mRNAの有意な発現増加が見られた。NS-398ならびにセレコキシブを前処置するとドセタキセルによる摂餌量減少を有意に回復させることができ、さらに視床下部内IL-1 β ならびにCOX-2 mRNAの発現増加を抑制することができた。

【考察】 以上の結果から、ドセタキセル投与後に惹起される食欲不振発症には視床下部でのIL-1 β ならびにCOX-2の発現増加が関与していることが確認され、COX-2阻害剤は抗悪性腫瘍薬による食欲不振の治療に応用できることが示唆された。

歯科口腔外科領域で使用される3薬剤の味覚神経応答への影響

○谷口 敬祐¹⁾、安松 啓子²⁾、安尾 敏明²⁾、式守 道夫¹⁾、裕 哲崇²⁾

1) 朝日大学歯学部口腔病態医療学講座口腔外科学分野、

2) 朝日大学歯学部口腔機能修復学講座口腔生理学分野

【目的】 味覚は人間の食生活にとって欠かせない重要な感覚であり、味覚障害の出現は生活の質を著しく低下させることになるが、歯科領域において使用されている抗菌薬の中には、味覚を抑制させるものが存在するという報告がある。実際、歯科口腔外科領域では、様々な薬剤が消毒剤や含嗽剤として使用されるが、これらが味覚器に対して及ぼす影響については、ほとんど調べられていない。そこで本研究では、口腔内に対して頻用される薬剤を舌に作用させ、基本味溶液に対する鼓索神経応答がどのように変化するかを電気生理学的手法を用いて検討した。

【方法】 実験動物には8～12週齢の C57 BL/6JmsSlc 雄性マウス (n=42) を用いた。ペントバルビタールナトリウム (ソムノベンチル、シェリング・ブラウ・アニマルヘルス社) を 64.8mg/kg 腹腔内投与して深麻酔をかけ、ポリエチレンチューブで気道確保した。通法に従い右側鼓索神経応答を生体電気増幅器で増幅し、積分計 (時定数0.3秒) を通して PowerLab (AD インスツルメント社) に記録し解析した。舌処理に用いる薬剤として、アクリノール水和物 (アクリノール消毒液、0.1%、丸石製薬社；以下 AC)、ベンゼトニウム塩化物 (ネオステリン[®]グリーンうがい液、0.2%、日本歯科薬品社；以下 BEN)、グルコン酸クロルヘキシジン (コンクール F、0.05% 未満、ウェルテック社；以下 CHX) を使用した。基本味溶液には、0.1M 食塩、0.01-1.0M ショ糖、0.01M 塩酸、0.02M 塩酸キニーネ、0.1M グルタミン酸カリウムを用い、AC、BEN、CHX の1分間舌処理前後でのこれらの基本味溶液に対する鼓索神経応答を比較した。神経応答の大きさは、各味溶液による刺激開始から15秒後の鼓索神経束積分応答の大きさを、0.1M 塩化アンモニウムに対する応答の大きさを1.0とした相対応答値として比較検討した。本研究は、朝日大学歯学部動物実験倫理委員会の承認のもとに行った (No. 10-025)。

【結果】 AC および BEN の1分間の舌処理により、用いた味溶液のうちショ糖応答のみを特異的に抑制した ($p < 0.001$; t -test) が、この抑制は、AC または BEN 洗浄後、約2分ではほぼ舌処理前まで回復した。また、この抑制は0.5M 以上の高濃度領域で顕著であった ($p < 0.001$; t -test)。CHX は、実験に用いたどの味溶液に対する応答も抑制しなかった ($p > 0.05$; t -test)。

【考察】 AC および BEN 舌処理で味覚器、特にショ糖 (甘味) 受容器に対する応答が、非常に短時間であるが、抑制されることを明らかとした。歯科臨床で使用する際には、薬剤による味覚器への影響を考慮する必要があるかもしれない。

一過性脳虚血による行動変容に対する人工酸素運搬体の改善効果

○山口 拓^{1,2)}、濱舘 直史¹⁾、掛端 仁¹⁾、富樫 廣子³⁾、泉 剛¹⁾、吉田 隆行¹⁾、大村 優¹⁾、吉岡 充弘¹⁾

1) 北海道大学大学院医学研究科神経薬理学分野、

2) 長崎国際大学薬学部薬理学研究室、

3) 北海道医療大学薬学部薬理学講座病態生理学

【背景および目的】 医療の高度化に伴い輸血医療の重要性が増加するのに対して、急速な少子化・高齢化を背景とする献血人口の減少により、輸血用血液製剤の需給バランスの悪化が懸念されている。また、輸血時のウイルス感染の回避や大規模災害時等、緊急時の輸血対応を目的として、血液型のクロスマッチの必要がなく、長期保存が可能な輸血用血液製剤が求められている。このような社会的要求を背景として、人工酸素運搬体 (Liposome-encapsulated hemoglobin : LEH) の開発が進められてきた。さらに、LEH は単なる輸血代替物としてのみならず、虚血性疾患における“酸素治療”といった新たな臨床応用への展開が期待されている。

本研究は、一過性脳虚血モデルラットにおける脳機能障害としての行動変容に対する LEH である TRM-645 の効果について検討した。

【実験方法】 一過性脳虚血 (脳虚血再灌流) モデルラットには、両側総頸動脈を閉塞した 2- 血管閉塞 (2VO) ならびに 2VO の処置に加えて両側椎骨動脈を永久閉塞した 4- 血管閉塞 (4VO) モデルを用いた。両側総頸動脈閉塞直後に TRM-645 (p50 = 35.9mmHg、ヘモグロビン濃度 : 6%) あるいは生理食塩水 (対照群) を経尾静脈的に投与した。

【結果および考察】 2VO ラットは高架式十字迷路試験において不安様行動を示し、この行動変容は脳虚血中に投与した TRM-645 によって改善された。また、2VO による海馬内組織酸素分圧 (PtO₂) の低下は、TRM-645 によって抑制された。これらのことから、2VO による不安様行動に対する TRM-645 の改善機序として、2VO による脳血流の低下状態に TRM-645 による側副血行路を介した酸素供給が図られたことが考えられる。

一方、4VO ラットは文脈的恐怖条件付け試験において長期記憶障害を示し、この行動変容も TRM-645 によって改善された。さらに文脈的恐怖条件付け試験後の海馬 CA1 領域におけるリン酸化 cAMP response element binding protein (CREB) の発現は減少しており、この変化は TRM-645 の投与によって有意に改善した。また、TRM-645 は脳虚血中の著明な海馬内 PtO₂ の低下に対して変化を示さなかったが、脳虚血後に観察された過酸素状態に対して有意な抑制効果が認められた。これらのことから、4VO による長期記憶障害ならびに海馬におけるリン酸化 CREB の発現減少に対する TRM-645 の改善作用は、脳虚血直後に認められる海馬内の過酸素状態を TRM-645 が正常化することによって発現することが示唆された。

【結論】 TRM-645 は、2種類の一過性脳虚血モデルラットが示す行動変容、すなわち 2VO による不安様行動および 4VO による長期記憶障害を改善することが明らかとなった。以上の結果から、TRM-645 を含む LEH は急性脳梗塞の治療薬ならびに脳虚血性疾患に対する酸素治療という臨床応用としての可能性が示された。

脳虚血後高血糖および神経障害発現に対する視床下部 orexin-A の影響

○原田 慎一、藤田 和歌子、徳山 尚吾

神戸学院大・薬・臨床薬学

【目的】 現在、脳卒中の発症に関与する因子は数多く報告されており、中でも、糖尿病または高血糖状態が重要な危険因子であることはよく知られている。最近では、糖尿病の既往歴のない人でも、脳卒中発症後に高血糖を呈し、それを制御することにより死亡率が抑制されるという報告がなされている。我々はこれまでに、脳虚血ストレス負荷後に、肝臓における insulin 感受性の低下が一過性の耐糖能異常（虚血後高血糖）を誘発し、神経障害を悪化させることを明らかにしてきた。さらに、視床下部から産生される神経ペプチドである orexin-A の脳室内投与によって、肝臓における insulin シグナル系の賦活化による虚血後の血糖値上昇が抑制されることで、神経障害の発現抑制に寄与する知見を得てきている。そこで、本研究では、orexin-A の視床下部を介した役割を検討するために、視床下部内局所投与した orexin-A が脳虚血ストレス負荷後の血糖値変化ならびに神経障害発現に及ぼす影響について検討した。

【方法】 一過性脳虚血モデルの作成は5週齢の ddY 系雄性マウスを用いて、2時間の中大脳動脈閉塞法 (MCAO) により作成した。偽手術 (sham) は、塞栓子を挿入しないものとし、その他は MCAO と同様に行った。神経障害発現は、梗塞巣形成、行動障害、ならびに学習・記憶障害をそれぞれ 2, 3, 5-triphenyltetrazolium chloride 染色、神経学的欠損スコア、ならびに step-through 法により評価した。Orexin-A (5pmol/mouse) は、MCAO 後に単回視床下部内局所投与した。Orexin-1 受容体拮抗薬 SB334867 (200pmol/mouse) は、orexin-A 投与30分前に投与した。MCAO 後の血糖値変化として空腹時血糖値 (FBG) を測定し、各種タンパク質の発現変化は western blot 法により解析した。延髄における c-Fos 発現は、免疫組織染色により評価した。

【結果】 Orexin-A の視床下部内局所投与により、MCAO 3日後の梗塞巣形成、行動障害、ならびに学習・記憶障害発現は有意に抑制された。さらに、MCAO 1日後の FBG の上昇は有意に抑制された。同時に、肝臓における insulin 受容体の発現減少ならびに糖新生関連酵素 (phosphoenolpyruvate carboxykinase および glucose-6-phosphatase) の発現上昇は、有意に抑制された。この作用は、SB334867 により有意に拮抗された。加えて、正常マウスにおいて、orexin-A を視床下部内局所投与することにより、延髄弧束核における c-Fos の陽性細胞数が増加した。

【考察】 本研究により、脳虚血ストレス負荷後早期に、肝臓における insulin 感受性の低下を介した糖新生の亢進による血糖値上昇が、orexin-A の視床下部内投与によって抑制されること明らかとなった。すなわち、視床下部の orexin-1 受容体は末梢組織における insulin 感受性の改善に重要な役割を担っていると考えられる。さらに、orexin-A の視床下部内投与により、肝臓を支配する迷走神経の起始核である弧束核において、神経の活性化が認められたことから、orexin-A による中枢から末梢組織へのシグナル伝達に迷走神経が関与している可能性が示唆された。

Lipopolysaccharides (LPS) によるミクログリアの活性化が methamphetamine 誘発報酬効果に及ぼす影響

○増川 太輝、芝崎 真裕、秋田 由花子、三竹 真里子、森 友久、鈴木 勉
星薬科大学 薬学部 薬品毒性学教室

【目的】 薬物依存症は、精神疾患の1つであり、薬物が脳内報酬系に作用した結果、その薬物摂取への強迫的な欲求を持つ状態のことである。覚せい剤をはじめとした依存性薬物に対する精神依存形成時には、脳内報酬系である腹側被蓋野から側坐核に投射する中脳辺縁 dopamine 神経系の可塑的变化が誘導されることが知られている。一方、覚せい剤依存患者において感染抵抗性の低下が引き起こされることや、マクロファージを活性化させる薬剤により薬物依存症の退薬症状が抑制されることが報告されていることから、薬物依存の治療における免疫機能の重要性が示唆されている。しかしながら、薬物依存症における神経免疫系のメカニズムについては未だに不明な点が多い。そこで本研究では、薬物依存症における免疫機能の関与について検討する目的で、免疫系を活性化させるグラム陰性菌細胞外膜の構成成分である LPS を用いて methamphetamine 誘発報酬効果に対する影響を行動薬理的、生化学的に検討を行った。

【方法】 精神依存の評価は、条件づけ場所嗜好試験法を用い、LPS (1mg/kg) を前処置した際の methamphetamine 報酬効果に対する影響を検討した。ミクログリアおよびその活性化マーカーである Iba1 および Garectin-3 タンパク発現量の変化は、Western blot 法を用い検討を行った。

【結果】 Methamphetamine の処置により有意な報酬効果の形成が認められた。一方、LPS を前処置することにより、methamphetamine 誘発報酬効果は有意に抑制された。このような条件下において、methamphetamine および LPS 処置によるミクログリアおよびその活性化マーカーである Iba1 および Garectin-3 タンパク発現量の変化について検討を行った。その結果、methamphetamine 処置では変化が認められないが、LPS を処置することにより、Iba1 および Garectin-3 タンパク発現量の有意な増加が認められた。

【考察】 本研究の結果より、LPS を前処置することにより methamphetamine 誘発報酬効果が減弱することが明らかとなった。また、LPS を処置することにより、Iba1 および Garectin-3 タンパク発現量の増加が認められたことから、LPS は脳内ミクログリアの活性化を惹起することが示唆された。以上のことから、LPS による methamphetamine 誘発報酬効果の抑制には脳内ミクログリアの活性化が一部関与している可能性が示唆された。

*Mecp2*ヘテロ欠損雌マウスの視床下部外側野におけるノルアドレナリン神経伝達の特徴

○滝口 旗一¹⁾、青野 悠里²⁾、三枝 禎²⁾、越川 憲明²⁾、白川 哲夫¹⁾

1) 日本大学歯学部小児歯科学教室、

2) 日本大学歯学部薬理学教室

【目的】 *Mecp2*は、DNAのメチル化を介したエピジェネティクス機構で主要な役割を担うメチル化DNA結合タンパク (*MeCP2*) をコードする遺伝子である。*MeCP2*はおもに神経細胞に認められ、視床下部の *Mecp2* の選択的な除去を行ったマウスでは、摂餌量と体重が増加する (Feyffe *et al.*, 2008)。また、*Mecp2* ノックアウトマウスでは脳内モノアミン神経の異常が報告されている (Santos *et al.*, 2010)。一方、多くの *Mecp2* ヘテロ欠損雌マウス (*Mecp2*^{+/-}) は肥満を起すものの、その発症に関わる中枢神経機構は明らかでない。

そこで本研究は、視床下部外側野 (LHA) に投射して摂餌行動を制御することが示されているノルアドレナリン (NA) 神経に注目し、摂食抑制ペプチドの cholecystokinin (CCK) の腹腔内投与が *Mecp2*^{+/-} の LHA の細胞外 NA 量に及ぼす効果を指標として同部位の NA 神経伝達の特徴について検討した。次に、選択的 NA トランスポーター (NAT) 阻害薬の reboxetine の LHA への局所投与が誘発した同部位の細胞外 NA 量の促進効果の観察を行うとともに、LHA における NA 神経のマーカーとして NAT の発現を解析した。また LHA には孤束核 (NTS) からの NA 神経が投射することが知られていることから (Rinaman, 2011)、NTS におけるチロシン水酸化酵素 (TH) 含有細胞の分布を検索した。

【方法】 実験には *Mecp2*^{+/-} と、対照として野生型雌マウス (WT) を用いた。LHA の細胞外 NA 量は、*in vivo* 脳微小透析法で 20 分毎に測定した。CCK (10 μg/kg) は saline に溶解して腹腔内投与し、reboxetine (24 pmol) は透析プローブから逆透析で LHA へ局所灌流投与した。LHA において蛍光免疫染色を行い NAT の発現を解析し、延髄では免疫染色を行い TH 陽性細胞の分布を検索した。

【結果】 *Mecp2*^{+/-} と WT の間で LHA から回収した基礎的な細胞外 NA 量に差が認められなかった。CCK の腹腔内投与、または、reboxetine の LHA への局所灌流投与により、*Mecp2*^{+/-} と WT の LHA の細胞外 NA 量は増加したが、いずれの処置の効果も *Mecp2*^{+/-} の方が WT よりも低かった。また、LHA における NAT 陽性 puncta の個数と面積値、NTS の TH 陽性細胞数は、いずれも *Mecp2*^{+/-} の方が WT に比べ少なかった。

【考察】 *Mecp2*^{+/-} と WT とでは安静時の LHA の細胞外 NA 量に違いがないことが示された。また、*Mecp2*^{+/-} では CCK ならびに reboxetine の LHA の NA 放出に対する効果が WT に比べ低下していることが示された。この *Mecp2*^{+/-} の LHA の NA 神経伝達の低下には、同部位における NAT の発現および NTS からの NA 神経入力への減少が関与する可能性が示された。また、*Mecp2*^{+/-} の示す摂餌量の増加を伴う肥満へ LHA における NA の放出と取り込みの低下が関与する可能性が示唆された。

臼歯喪失ラットの受動的回避実験と海馬グルタミン酸の同時分析

○奥田 恵司、松野 彰仁、國場 幸恒、加山 智規、西崎 宏、岡崎 定司
大阪歯科大学 欠損歯列補綴咬合学講座

【目的】 臼歯喪失が学習記憶にもたらす影響を明らかにすること目的として、テレメトリーグルタミン酸バイオセンサーを用い、受動的回避実験時のラット海馬グルタミン酸放出量測定を行った。

【方法】 5週齢SD系雄性ラットを実験動物として用いた。全身麻酔下で上顎臼歯を全て抜歯したEXT群(n=8)、同量の麻酔のみを施し無処置としたCON群(n=8)の2群とした。受動的回避実験は獲得試行と保持試行で構成され7週齢時に行った。さらに回避実験と同時に海馬グルタミン酸の測定を行った。まず獲得試行としてラットを明室に入れ、そこから暗室に入るまでの反応潜時を測定した。暗室に入った直後にショックジェネレーターにて暗室の床から電撃刺激を与えた。24時間後再度明室に入れ保持試行を行い、反応潜時を測定した。その後両試行の反応潜時を比較した。なお海馬グルタミン酸放出量の測定にはバイオセンサーシステムを用い、各試行開始前後の計70分間のグルタミン酸放出量を比較した。

【結果】 受動的回避実験の反応潜時は、獲得試行では実験群間で有意差はなかった。保持試行では獲得試行に比べ両群とも延長したものの、CON群に比較してEXT群が有意に短かった。また海馬グルタミン酸放出量は獲得試行ではEXT群が有意に少なく、保持試行では両群に有意差はなかった。

【考察】 臼歯喪失が学習記憶の障害を誘発する一要因になりうる可能性が明らかとなった。

マウスの情動・認知機能におけるグリア型グルタミン酸トランスポーターの役割

○谷口 将之¹⁾、肥田 裕丈¹⁾、毛利 彰宏^{1,2,3)}、萩野 由里恵¹⁾、鶴飼 麻由¹⁾、
山田 清文³⁾、尾崎 紀夫⁴⁾、田中 光一⁵⁾、鍋島 俊隆²⁾、野田 幸裕¹⁾

1)名城大学薬学部 病態解析学 I、2)名城大学薬学部 薬品作用学研究室、
3)名古屋大学大学院医学系研究科医療薬学、4)名古屋大学大学院医学系研究科精神医学、
5)東京医科歯科大学大学院疾患生命科学部

【目的】 グルタミン酸は興奮性神経伝達物質として、記憶形成などの高次機能に重要な役割を果たしているが、過剰なグルタミン酸は神経毒性を示し、様々な神経精神疾患の発症に関与している。グルタミン酸トランスポーターは、神経終末から放出されたグルタミン酸を取り込み、シナプス間隙のグルタミン酸濃度を調整する機能分子であるが、その機能低下が高次機能にどのような影響を与えるかについてはほとんど知られていない。本研究では、グルタミン酸トランスポーターの一つであるグリア型グルタミン酸トランスポーター (GLAST) 遺伝子欠損マウスを用いて、高次機能における GLAST の役割について検討した。

【方法】 GLAST 遺伝子欠損マウス (東京医科歯科大学 田中光一教授らにより作製・供与：10～12週齢) の情動機能および認知機能について、種々の行動試験 (情動機能：高架式十字迷路試験、強制水泳試験、社会性行動試験および新奇環境下自発運動量測定；認知機能：新奇物体認知試験および恐怖条件付け学習試験) を用いて調べた。また、C57BL/6J 系妊娠マウスから生まれた新生仔マウス (生後2日齢) にグルタミン酸トランスポーター阻害薬の dl-threo- β -benzyloxyaspartate (DL-TBOA：5nmol/ μ L/day) を5日間、脳室内に隔日投与し、10週齢時 (成体期) における認知機能を調べた。

【結果および考察】 GLAST 遺伝子欠損マウスの情動機能を調べたところ、ヘテロおよびホモ接合体マウスにおける高架式十字迷路試験でのオープンアーム滞在時間、強制水泳試験での無動時間および社会性行動試験での社会性行動時間は、野生型マウスのそれらと差はなかった。また、新奇環境下における自発運動量を経時的に測定したところ、時間経過に伴う探索時間の短縮に差は認められなかった。したがって、GLAST 遺伝子の欠損は、情動・社会性行動および探索行動・馴化に影響を与えないことが示唆された。次に、認知機能について検討したところ、新奇物体認識試験においてホモ接合体マウスは、野生型およびヘテロ接合体マウスとは異なり、保持試行での新奇物体に対する探索嗜好率の低下と恐怖条件付け学習試験での装置暴露に対するすみ行動時間の短縮が認められ、GLAST 遺伝子の欠損は、物体認知記憶および連合学習 (認知機能) に影響を与えることが示唆された。一方、成体期の野生型マウスの前頭前皮質に DL-TBOA を新奇物体認知試験の訓練試行前に注入しても物体認知記憶には影響を与えなかったが、新生仔期マウスの脳室に DL-TBOA を隔日投与したところ、成体期における物体認知記憶は障害されていた。以上の結果から、GLAST は認知機能に重要な役割を果たしており、成体期の GLAST 遺伝子欠損マウスに認められる認知機能障害は、発達過程における GLAST の機能不全による過剰なグルタミン酸が神経機能障害を惹き起したことによるものと示唆された。今後は、脳機能変化を神経化学的に検討し、これらの知見を基に種々の神経精神疾患の発症や病態生理の解明および治療・予防法の開発につなげていきたい。

マンガン造影 MRI 法を用いた味覚嫌悪学習の想起時の神経経路の可視化

○乾 千珠子^{1,3,5)}、乾 賢^{2,5)}、志村 剛²⁾、岩井 康智¹⁾、大澤 五住^{3,5)}、吉岡 芳親^{4,5)}

- 1) 大阪歯科大学 口腔解剖学講座、2) 大阪大学 大学院人間科学研究科、
3) 大阪大学 大学院生命機能研究科、4) 大阪大学 免疫学フロンティアセンター、
5) CREST JST

【目的】 味覚嫌悪学習 (conditioned taste aversion, CTA) は、味覚情報 (条件刺激: conditioned stimulus, CS) と内臓不快感 (無条件刺激: unconditioned stimulus, US) の連合によって起こると考えられている。CTA の獲得後に CS を呈示すると記憶が想起され、忌避行動が生じる。この想起過程のメカニズムについては、側坐核から腹側淡蒼球への情報伝達が CTA の想起時に機能する神経機構の一部である可能性がこれまでの研究において示唆されている。そこで、活動依存性神経トレーサーとしての性質を持ち、また造影剤としての役割をもつマンガンイオンの特性を利用したマンガン造影 MRI 法を用いて、CTA の記憶想起時に側坐核から腹側淡蒼球への神経投射路が活性化するかどうかを調べた。

【方法】 Wistar 系雄性アルビノラットを用いた。麻酔下にて側坐核へのマンガン注入のためのガイドカニューレの留置、および味溶液呈示用の口腔内カニューレを留置する手術を行った。回復後、蒸留水を摂取させる飲水トレーニングを行った。その後、5mM サッカリン溶液 (CS) を 10 分間呈示し、直後に 0.15M 塩化リチウムあるいは生理食塩水を腹腔内に注射した (US)。テストでは、塩化マンガンを側坐核に注入し、30 分後に CS あるいは蒸留水を 10 分間呈示した。塩化マンガン注入終了から 60 分後に麻酔し、1 時間後と 2 時間後に 11.7 T MR 装置を用いて撮像した。条件づけ時の US とテストでの呈示刺激の要因から動物を 4 つの群 (US が塩化リチウムで、テストで CS または蒸留水を呈示された群 (CTA-CS 群と CTA-DW 群)、US が生理食塩水で、テストで CS または蒸留水を呈示された群 (対照-CS 群と対照-DW 群)) に分けた。

【結果】 溶液呈示テストにおいて、CTA-CS 群は対照群に比べて chin rubbing などの嫌悪性味覚反応を多く示した。信号輝度の比較においては、得られた画像を脳図譜と照らし合わせると、マンガンが腹側淡蒼球の位置へと移動していた。いずれの群においても 1 時間後より 2 時間後の輝度が高くなっていた。群間で比較すると、CTA-CS 群における輝度の上昇が最も大きかった。

【考察】 CTA-CS 群は CTA を獲得し、CS の呈示によって嫌悪性味覚反応を示した。全ての群で、1 回目より 2 回目の画像の方が腹側淡蒼球の輝度が高かった。このことから、溶液摂取行動により、あるいは自発的なニューロン活動によって、側坐核のマンガンは腹側淡蒼球へと運ばれることが示された。群間で比較すると、CTA-CS 群は他の群に比べて、腹側淡蒼球の輝度の上昇が最も大きかった。したがって、CTA-CS 群は側坐核から腹側淡蒼球へと運ばれるマンガンの量が最も多かったと考えられる。本研究によって、CTA の記憶の想起時に、側坐核から腹側淡蒼球への遠心性投射ニューロンが活性化することが示された。

体内時計機構におけるマウス視交叉上核での calbindin 発現リズムの検討

○古田 聡¹⁾、小林 大介^{1,2)}、窪田 敏夫^{1,2)}、佐藤 英次郎¹⁾、山川 裕介¹⁾、
石原 絵理¹⁾、菅原 尚子¹⁾、岩切 詩子²⁾、島添 隆雄^{1,2)}

1)九州大学薬学部・臨床育薬学分野、

2)九州大学大学院薬学研究院・臨床育薬学分野

【目的】脳視床下部に存在する視交叉上核 (suprachiasmatic nucleus, SCN) は、哺乳類における体内時計機構の中核としての役割を果たしていると考えられている。体内時計機構は発振機能と同調機能を有しており、ヒトの体内時計の1日は24時間より長いことが知られている。これを24時間に正確に合わせる同調機能は、生物の恒常性維持において極めて重要である。この同調機能は、さらに光同調と非光同調に分類されるが、その詳細は未だ解明されていない。

一方、Ca²⁺ 結合タンパクである calbindin (CalB) は Ca²⁺ イオンの恒常性維持、感知に関わっている。SCN における光同調機能には Ca²⁺ イオンが重要な役割を果たすことが示唆されている。そこで本研究では、SCN 内の神経繊維における CalB 動態の日内変動を調べ、同調機能における役割について検討した。

【方法】

神経繊維内 CalB 発現の日内変動の検討：

C57BL6/J 雄性マウスを自由摂食摂水、12時間明暗周期条件下で2～3週間飼育して同調を完了させ、明期開始4時間後 (Zeitgeber Time (ZT) 4) および暗期開始2時間後 (ZT14) に脳を取り出し、SCN を含む20 μ m/枚の切片を作成したのち抗 CalB 抗体で処理し、diamino-benzidine (DAB) 染色を行った。

CalB 含有線維の観察：

SCN における CalB 陽性線維を×400条件下で観察し、接眼レンズ上に置いた200 μ mグリッドを通過した回数を計測した。

【結果】免疫染色法によって SCN 内の CalB 陽性線維を染色し、顕微鏡下200 μ mグリッドを通過した回数を測定したところ、ZT4に比べてZT14で有意に上昇が見られ、その形態には日内変動が存在することが観察された。

【考察】以上のことから、マウスにおいて CalB は夜間にその発現が増加し、SCN 内の線維を移動することにより Ca²⁺ イオンの輸送・貯蔵に影響を与え、Ca²⁺ イオンによる光同調機能に関与していることが推測される。

謝 辞

本会の開催にあたり、下記の企業・団体からご協力・ご支援をいただきました。

ここに深甚なる感謝の意を表します。

株式会社 エイコム

公益財団法人 武田科学振興財団

(50音順)

第21回神経行動薬理若手研究者の集い 事務局

第21回神経行動薬理若手研究者の集い

運営事務局：大阪歯科大学 薬理学講座
〒573-1121 大阪府枚方市楠葉花園町8番1号
担当：石塚 智子
TEL：072-864-3058 FAX：072-864-3158
E-mail：ynbp2012@cc.osaka-dent.ac.jp

出版： 株式会社セカンド
<http://www.secand.com/>
〒862-0950 熊本市水前寺4-39-11 ヤマウチビル1F
TEL：096-382-7793 FAX：096-386-2025