

薬理学講座

教授： 舩山 俊彦	中枢シナプスの生理学および薬理学
教授： 木村 直史	呼吸・循環調節の生理学・薬理学, 医学教育
講師： 大野 裕治	内分泌薬理学
講師： 西 晴久	内分泌薬理学, アレルギー学
講師： 石川 太郎	中枢神経の生理学および薬理学
講師： 川村 将仁	中枢神経の薬理学

教育・研究概要

I. 大脳基底核・前脳基底核シナプス伝達に関する研究 (舩山俊彦)

前脳基底核は中枢アセチルコリン性ニューロンの起始核であり, 記憶, 学習, 注意等の生理的機能と密接に関係するとともに, その病的状態としてアルツハイマー病との関連が示唆されている。また, 線条体は運動制御を司る中枢として, パーキンソン病等大脳基底核関連疾患と関連している。これらの中枢部位の興奮性および抑制性シナプス伝達機構および修飾機構につき, ニューロン同定の新たな手法を導入しつつ, 電気生理学的解析および形態学的解析を行ない, 伝達物質遊離制御におけるセロトニン受容体の機能を明らかにした。また, ドーパミン受容体ノックアウトマウスを用いて, 生理的に遊離されたドーパミンのシナプス伝達における機能, および行動制御における機能を明らかにした。現在, 大脳基底核, 前脳基底核シナプス伝達における転写因子等の情報伝達系の関与, フェロモン受容に関与する新規チャネル結合型受容体の機能を解明すべく, 研究を進めている。さらに, 局所神経回路機能の解析をより精密に行うために, 特定のニューロンを光刺激によって活性化する新たな技法を導入しつつある。

大脳基底核シナプスおよび神経回路の再生機構の詳細は不明である。パーキンソン病モデルラットを用いて, 傷害された線条体神経細胞, シナプス再生経過および再生機構を明らかにする目的で, 形態学および電気生理学的解析を行なった。本プロジェクトによる基礎的データが, 神経変性疾患に対する新たな治療法開発につながることを期待したい。

II. 脊椎動物の神経性呼吸調節に関する研究 (木村直史)

あくびは, 哺乳類において長い吸気と短い呼気を伴うことから, 呼吸に関連した行動と信じられてきた。しかしながら, 水生のカメ目, 両生綱, および肺を有する空気呼吸魚は, あくびの間, 喉頭口を開口しない。肺を欠くサメ類もあくび様行動を発現することが知られている。サメ類の‘あくび’は(第一鰓弓に由来すると考えられる)顎と残る鰓弓の伸展によって特徴づけられる。そこで, サメ類のあくびに類似した行動をより原始的な無顎類のヤツメウナギで探索した。ヤツメウナギは, 水槽の壁を吸引するのを止めたとき, 時に鰓弓と体の吻側部を伸展した。脊椎動物の‘あくび’は, 鰓弓もしくは鰓弓由来の構造物の伸展運動として再定義されるかもしれない。一方, 鳥類のダチョウ目のあくびにおいては喉頭の開口を示す証拠を得た。今後は, 各々呼吸様式の異なるワニ目, 有鱗目(トカゲ・ヘビ類)の呼吸運動とあくびとの関連について検討したい。

III. エンドセピンに関する研究 (大野裕治)

エンドセピンは中枢神経系においてベンゾジアゼピン受容体に結合し, GABA-A 受容体におけるGABA 結合を阻害し, 不安を引き起こす物質として知られている。このような細胞外での機能以外に我々は副腎皮質細胞内でエンドセピンまたはその代謝産物が産生され, 作用していることを発見した。ウシ副腎皮質細胞よりこのタンパク質をクローニングし, 大腸菌に産生させたが, 機能が発揮できないことがわかり, 糖鎖結合等の翻訳後修飾が関与していることも考えられるので, ヒト胎児腎細胞由来のHEK293細胞等に発現させ, 精製後, 副腎 mitochondria における機能を用いて検討したい。

IV. ヒト由来肥満細胞のプリン受容体に関する研究 (西 晴久)

ヒト株化肥満細胞のLAD2を用い, 脱顆粒作用におけるプリン受容体の機能を検討した。本研究では, 同細胞に発現するP2Y₁₁受容体とP2Y₁₄受容体の特性に着目することで, 以下の知見を得た。

1. P2Y₁₁ 選択的アゴニストのATP_γSは, LAD2の細胞内Ca²⁺動員を起し, 細胞内リン酸化酵素のPI3KおよびAktをリン酸化した。また, ATP_γSは高親和性IgE受容体FcRIへの刺激を介したアレルギー惹起性脱顆粒を相乗的に増強した。

2. UDP-glucoseによるP2Y₁₄受容体を介した刺激は細胞内Ca²⁺動員とは連関せず, PI3K, Akt

いずれもリン酸化しなかったが、LAD2細胞の脱顆粒を(IgE刺激無くとも)単独で惹起した。

以上より、肥満細胞に発現するプリン受容体サブタイプには、異なる細胞内伝達経路を介して脱顆粒と連関するものがあることがわかった。本研究結果は、肥満細胞のプリン受容体を標的にしたアレルギー症状軽減法の実現性を示唆するものである。

本研究は第88回日本薬理学会年会(平成27年3月、名古屋)にて報告した。

V. 大脳小脳連関における小脳縦縞構造の意義(石川太郎・志牟田美佐)

小脳皮質には末梢からの感覚信号に加えて、大脳からの下行性の信号が入力している。しかし、これら2系統の入力が小脳の神経回路においてどのように統合され、どのような役割を果たしているのかわかっていない。さらに、小脳には解糖系酵素アルドラーゼCの発現により同定される複数の矢状方向の区画(いわゆる縦縞構造)が存在するが、その区画ごとの入力経路の違いは詳しくわかっていない。そこで、私たちはアルドラーゼC陽性細胞に蛍光タンパクVenusを発現するノックインマウス(東京医科歯科大学・杉原 泉教授より提供)を用いて、小脳の縦縞構造を可視化同定したうえで、麻酔下において小脳crus II領域の顆粒細胞層と大脳皮質体性感覚野から同時に電場電位記録を行った。その結果、小脳での応答には2相性のピークがあり、第1と第2のピークがそれぞれ末梢からの直接経路と大脳皮質を介した間接経路による応答であることが明らかになった。さらに、アルドラーゼ・バンド「5-」領域において直接経路の信号が最も強く、最も外側の「7+」領域においては逆に間接経路の割合が大きいたことが判明した。さらに、ホールセルパッチクランプ記録により、個々の顆粒細胞から興奮性シナプス後電流(EPSC)を記録したところ、直接経路と間接経路に対応する2相性のEPSCが記録された。このことから、2経路の苔状線維入力は同一の顆粒細胞に収束的に入力していることが初めて示された。これらの知見を元に、大脳小脳連関の機序を明らかにするための研究を継続している。

VI. ケトン食療法における抗けいれん作用の機序解明(川村将仁)

抗てんかん療法の1つであるケトン食療法は高脂肪、低炭水化物食により血中ケトン体を増加させ、擬似絶食状態を引き起こす食事療法であり、近年、薬剤耐性の難治性てんかん患者にも効果があること

が報告されてからその有用性が注目されつつある。しかしながら、ケトン食療法の抗けいれん作用の機序は未解明である。コントロール食または高ケトン食施行ラットおよびマウスより急性海馬スライス標本を作成し、細胞外記録を用いてbicuculline-induced burstingに対する両者の作用を比較・検討した。高ケトン食施行スライス標本では細胞外グルコース濃度低下によりbicuculline-induced burstingが有意に抑制された。一方、コントロール食施行スライス標本では、細胞外グルコース濃度を低下してもbicuculline-induced burstingは抑制されなかった。この高ケトン食施行標本における抑制作用はアデノシンA₁受容体の拮抗薬にて消失し、アデノシンA₁受容体ノックアウトマウスで観察されなかったことからアデノシンA₁受容体の活性化を介していると考えられた。抗てんかん療法であるケトン食療法は脳内代謝変化を経て、アデノシン受容体を活性化することにより神経活動を修飾することが示された。

「点検・評価」

1. 教育

教職員は全員、講義・薬理学実習および症候学演習に参加している。初山は教学委員、基礎医科学IIコースのユニット生体と薬物、機能系実習および臨床基礎医学コースのユニット病態と薬物のユニット責任者、基礎医科学II総合試験委員をつとめた。木村は教学委員、試験委員会委員長、カリキュラム委員会副委員長、医学総論IおよびIIのコース責任者、医学総論I演習およびII演習のユニット責任者、基礎医科学I・生体調節のしくみのユニット責任者等をつとめた。大野は症候学演習運営委員、西は医学卒業総括試験委員、基礎医科学II総合試験委員等をそれぞれつとめた。石川は基礎医科学II口頭試験委員をつとめ、川村は基礎医科学II口頭試験委員および症候学演習運営委員をつとめた。薬理学実習については、長年の積み重ねによりin vivo, in vitro共に充実した実習となっている。研究手法の進歩により、古典的薬理学解析手法に習熟した研究者、教員が全国的に減少しているが、実習を通じて古典的手法を継承し続けたいと考えている。

2. 研究

本講座では、中枢シナプス伝達に関する研究をはじめとする上記I~VIの各研究が、各々独立した小グループによって行なわれている。

研究に関係した委員会関係では、初山は動物実験委員、木村はJikeikai Medical Journal編集委員長、

東京慈恵会医科大学雑誌編集委員をつとめた。大野は遺伝子組換え実験安全対策委員および遺伝子組換え実験安全対策委員会の安全主任者をつとめた。

研究業績

I. 原著論文

- 1) Nakamura T¹⁾, Sato A²⁾, Kitsukawa T¹⁾, Momiyama T, Yamamori T¹⁾ (¹National Institute for Basic Biology), Sasaoka T²⁾ (²Kitasato Univ). Distinct motor impairments of dopamine D1 and D2 receptor knockout mice revealed by three types of motor behavior. *Front Integr Neurosci* 2014; 8: 56.
- 2) Kawamura M Jr, Ruskin DN¹⁾, Geiger JD (Univ of North Dakota), Boison D (Legacy Research Institute), Masino SA¹⁾ (¹Trinity College). Ketogenic diet sensitizes glucose control of hippocampal excitability. *J Lipid Res* 2014; 55(11): 2254-60.

II. 総説

- 1) Masino SA¹⁾, Kawamura M Jr, Ruskin DN¹⁾ (¹Trinity College). Adenosine receptors and epilepsy: current evidence and future potential. *Int Rev Neurobiol* 2014; 119: 233-55.

III. 学会発表

- 1) Nishijo T, Momiyama T. Serotonin-induced inhibition of excitatory transmission onto cholinergic neurons in the rat basal forebrain. 9th FENS (Federation of European Neuroscience Research) Forum of Neuroscience. Milan, July.
- 2) 西條琢真, 初山俊彦. セロトニンによる前脳基底核コリン作動性ニューロンへの非NMDAグルタミン酸性シナプス伝達の抑制. 第37回日本神経科学大会. 横浜, 9月. [Neurosci Res]
- 3) Kawamura M Jr., Ruskin DN¹⁾, Masino SA¹⁾ (¹Trinity College). Adenosine-based anticonvulsant mechanisms underlying ketogenic diet. *Neuroscience* 2014 (44th Annual Meeting of the Society for Neuroscience). Washington, D.C., Nov.
- 4) 石川太郎. (包括脳支援シンポジウム: 分子と回路をつなぐ基盤的脳研究の新潮流) 小脳苔状線維入力系における大脳小脳連関. 生理学研究所研究会: シナプス・神経ネットワークの機能ダイナミクス. 岡崎, 12月.
- 5) 木村直史. あくびの系統発生的起源. 第42回自律神経生理研究会. 東京, 12月.
- 6) Nishijo T, Momiyama T. Serotonin inhibits non-NMDA glutamatergic transmission onto rat basal

forebrain cholinergic neurons via 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} receptors (セロトニンは5-HT_{1A}と5-HT_{1B}受容体を介して前脳基底核アセチルコリン性ニューロンへの非NMDAグルタミン酸性シナプス伝達を抑制する). 第88回日本薬理学会年会. 名古屋, 3月. [J Pharmacol Sci 2015; 128(3 Suppl.): S111]

- 7) Nishi H, Niyonsaba F (Juntendo Univ). The effects of ATPgammaS on allergic activation in the human-derived mast cell line, LAD2 (ヒトマスト細胞株LAD2のアレルギー活性化におけるATP_γSの作用). 第88回日本薬理学会年会. 名古屋, 3月. [J Pharmacol Sci 2015; 128(3 Suppl.): S210]
- 8) Kawamura M. Adenosine-based mechanisms underlying anticonvulsant effects of ketogenic diet (ケトン食療法におけるアデノシンを介した抗けいれん作用の機序解明). 第88回日本薬理学会年会. 名古屋, 3月. [J Pharmacol Sci 2015; 128(3 Suppl.): S154]
- 9) 木村直史. (講演2) あくびの起源と呼吸運動. 第28回呼吸ディスカッションの会. 神戸, 3月.
- 10) 初山俊彦. (シンポジウム58: 伝達物質および受容体から見た大脳基底核神経回路機能) 線条体シナプス伝達におけるドーパミンおよびドーパミン受容体の生理的機能. 第120回日本解剖学会総会・全国学術集会/第92回日本生理学会大会合同大会. 神戸, 3月. [J Physiol Sci 2015; 65(Suppl.1): S92]
- 11) Shimuta M, Sugihara I (Tokyo Medical and Dental Univ), Ishikawa T. Convergence of multi-pathway signals in single cerebellar granules cells in vivo (In vivo 単一小脳顆粒細胞への複数経路信号の収束). 第120回日本解剖学会総会・全国学術集会/第92回日本生理学会大会合同大会. 神戸, 3月. [J Physiol Sci 2015; 65(Suppl.1): S266]

IV. 著書

- 1) 初山俊彦訳. Part 3: シナプス伝達 第11章: シナプス伝達の調節: セカンドメッセンジャー. 金澤一郎 (国際医療福祉大), 宮下保司 (東京大) 監修. *カンデル神経科学*. 第5版. 東京: メディカル・サイエンス・インターナショナル, 2014. p.232-57.
- 2) 木村直史. I. 呼吸って いろいろあるんですね Trivia 6. オピオイドペプチド-皮膚に強力なオピオイドペプチドを含んでいる動物は? IV. 大先輩, よろしく Trivia 14. 植物の根の呼吸-植物の根はどうやって呼吸をするのか? 塩谷隆信 (秋田大), 千原幸司 (静岡病院), 桑平一郎 (東海大), 小林弘祐 (北里大) 編. *呼吸のトリビア3: レスピ・サピエンス*. 東京: 中外医学社, 2014. p.18-21, 66-8.