

研究業績

III. 学会発表

- 1) Oguro A, Matsufuji S. Analyses of the binding manner of in vitro selected RNA to polyamine. RNA 2011 (16th Annual Meeting of the RNA Society and RNA Society of Japan 13th Annual Meeting). Kyoto, June.
- 2) Matsufuji S. Regulation of c-Myc by antizyme 2 and its biological significance. Gordon Research Conference on Polyamines. Waterville Valley, June.
- 3) Murai N, Matsufuji S. Novel c-Myc degradation pathway mediated by antizyme 2. Gordon Research Conference on Polyamines. Waterville Valley, June.
- 4) Murakami Y, Ohkido M, Murai N, Matsufuji S. (Poster) Expression analysis of antizyme inhibitor 1. Gordon Research Conference on Polyamines. Waterville Valley, June.
- 5) Oguro A, Matsufuji S. Binding Manner of in vitro Selected RNA against Spermine. Gordon Research Conference on Polyamines. Waterville Valley, June.
- 6) 大城戸真喜子, 原 孝彦 (都医学研), 松藤千弥. 限界希釈法を用いた AZ1 ノックアウトマウス胎仔肝由来 KSL 細胞の増殖能の検討. 第 4 回トランスグルタミナーゼ研究会 & 日本ポリアミン学会合同学術集会. 京都, 9 月.
- 7) 松藤千弥. アンチザイムの分子進化. 第 84 回日本生化学会大会. 京都, 9 月.
- 8) 村井法之, 松藤千弥. アンチザイム 2 による c-Myc の分解促進. 第 84 回日本生化学会大会. 京都, 9 月.
- 9) 村上安子, 大城戸真喜子, 滝沢浩子, 村井法之, 松藤千弥. アンチザイムインヒビター 1 の発現解析. 第 128 回成医学会総会. 東京, 10 月.
- 10) Oguro A, Matsufuji S. Isolation and evaluation of anti-polyamine aptamer as a diagnostic tool. 2011 Cold Spring Harbor Laboratory Meeting on RNA & Oligonucleotide Therapeutics. Cold Spring Harbor, Dec.
- 11) Oguro A, Matsufuji S. Binding manner of anti-spermine aptamer reveals a preferential RNA structure for spermine. 第 34 回日本分子生物学会年会. 横浜, 12 月.
- 12) 小黒明広, 松藤千弥. RNA アプタマーを用いたスベルミン結合モチーフの解明. 日本ポリアミン学会第 3 回年会. さいたま 1 月.
- 13) 藤枝裕大¹⁾, 柳田明日美¹⁾, 小黒明広, 松藤千弥, 河合剛太¹⁾(¹千葉工大). スベルミンに結合する RNA アプタマーの結合様式の解析. 日本ポリアミン学会第 3 回年会. さいたま 1 月.

薬理学講座

- 教授： 初山 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

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 (初山俊彦)

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。これらの中脳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特定のドーパミン受容体と特定のカルシウムチャネルの選択的共役, およびその生後発達変化を明らかにした。また, 細胞内リン酸化酵素系の異常によって大脳基底核機能, シナプス伝達の異常が生じることを明らかにした。今後は大脳基底核, 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, さらにはフェロモン受容に關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。

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。実験的に脳虚血状態を起こしたラットおよび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, 脳梗塞等の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. 水生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, ほぼ全ての脊椎動物にみられる共通の突発的な定型行動である。有羊膜類とその外群動物

のあくび行動について比較検討した。系統発生学的に哺乳綱より後に分岐したカメ目と、前に分岐した脊椎動物：両生綱、ハイギョ亜綱、条鰭綱およびサメ類（軟骨魚綱板鰓亜綱）のあくび行動を観察した結果、これらの下等脊椎動物のあくび行動は最大限の開口と口腔底を大きく引き下げる運動から構成されていた。水生のカメ類、両生類および空気呼吸魚（ハイギョ、ガーおよびポリプテルス）は、哺乳類とは異なり、あくびの間、決して喉頭口を開口することはなかった。これらの観察結果は、あくびが顎のある脊椎動物に共通の行動であり、肺呼吸よりも原始的な行動であることを示唆する。喉頭口の開口は、哺乳綱のような脊椎動物のあくび行動の特徴であると考えられる。哺乳類があくびの間に喉頭口を開口するのは、祖先的哺乳類への進化の過程において、横隔膜を駆動するために口腔底を引き下げる神経構造の一部を利用したことに起因するのかも知れない。

III. 分泌型タンパク質の設計（大野裕治）

マウス IL-31 を HEK 細胞に発現させると、ほぼ 100% が細胞外に分泌された。そこでこの性質を利用し、緑色蛍光タンパク質 (EGFP) と融合タンパク質にしても分泌されることを確認した。さらに IL-31 の分泌シグナルを検討したところ、シグナルペプチドと最初の糖鎖結合部位までの 28 アミノ酸が重要であった。核移行シグナルを持つ p53 や膜タンパク質であるアクアポリンなどのタンパク質もこの 28 個のアミノ酸を N-末に結合させることにより、細胞外に分泌された。

IV-1. ヒト株化肥満細胞を用いたプリン受容体による脱顆粒修飾機構に関する研究（西 晴久）

ヒト株化肥満細胞の LAD2 を用い、FcεRI への刺激を介したアレルギー性脱顆粒に対する細胞外プリンによる脱顆粒制御に関し、その細胞内機構を検討した。その結果、LAD2 のアレルギー性脱顆粒反応に対する修飾作用（促進/抑制）は、プリン受容体刺激後の細胞内カスケード中のホスファチジルイノシトール 3 キナーゼ (PI3K) からセリン/スレオニンキナーゼの Act の間の経路からの何らかの作用が、FcεRI 刺激の下流リン酸化に対して作用を呈することで発揮されることが示唆された。以上の結果は、プリン作動性システムの調節が I 型アレルギーの新しい治療法に繋がる可能性が示唆された。

IV-2. ヒト株化副腎皮質細胞を用いたプリン受容体刺激による糖質コルチコイド産生に関する研究（西 晴久）

ヒト株化副腎皮質細胞の H295R を用い、副腎皮質のステロイド産生に果たすプリン受容体の機能について調べた。その結果、H295R にサブクラスが複数種発現しているプリン受容体は細胞内 Ca^{2+} 上昇を引き起こし、中でも P2Y₁ 型は、糖質コルチコイド産生に必要と考えられる細胞外からの Ca^{2+} 流入へと繋がる SOCE（容量依存性 Ca^{2+} 流入）の活性化と連関することがわかった。一方で、H295R に発現するいくつかのプリン受容体サブタイプの中には、やはり糖質コルチコイド産生に重要であるサイクリック AMP 産生と連関するものもあることがわかった。以上より、ヒト副腎皮質でプリン受容体刺激により、細胞内セカンド・メッセンジャーのクロストークを介してステロイド産生がなされる可能性が示唆された。

V. 大脳小脳連関における橋核ニューロンの発火パターン（石川太郎）

大脳皮質からの体性感覚信号は橋小脳路を介して小脳へ送られる。これまでの研究において、ラットのヒゲおよび口唇部皮膚への体性感覚刺激により、小脳投射線維（苔状線維）に高頻度のバースト発火が惹起されることが知られていたが、このような高頻度発火がどのような細胞機構で生成されるか知られていなかった。そこで、我々は急性脳スライス標本および麻酔下動物の橋核ニューロンから記録を行い、活動電位発火とシナプス電流を調べたところ、これらの細胞は脱分極により高頻度発火が可能である一方で、低頻度のシナプス入力によっては発火しないことが明らかになった。現在は、これら橋核ニューロンの発火特性を詳細に検討している。

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）

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。ケトン食療法は、(1) 血中ケトン体増加を引き起こす。しかし、ケトン体自身は神経活動に直接影響を及ぼさない、(2) 低血糖を引き起こし、その程度はケトン食療法の抗けいれん作用と相関する、(3) 脳内 ATP の増

加を引き起こすことが報告されている。ケトン食療法における抗けいれん作用の機序を解明するために、ラット急性海馬スライス標本において、CA3錐体細胞より全細胞パッチクランプ記録を行った。海馬CA3錐体細胞において細胞内ATP濃度が十分もしくは高濃度存在する時は、細胞外グルコース濃度低下により pannexin-1 チャンネルが開口しATPが細胞外に放出され、アデノシンに加水分解された後アデノシン A₁ 受容体を活性化し、CA3錐体細胞に過分極を引き起こすことが示された。この細胞外グルコース濃度低下により引き起こされる海馬CA3錐体細胞のオートクリン調節はケトン食療法における抗けいれん作用の機序の一つと考えられた。

Ⅶ. 小脳傍片葉領域における視覚応答について (志牟田美佐)

我々のこれまでの研究により、小脳の傍片葉領域には視覚系の信号が入力しており、顆粒細胞の大部分が視覚刺激に応答することが知られていたが、この領域におけるプルキンエ細胞の応答は詳しく調べられていなかった。そこで我々は麻酔下ラットのプルキンエ細胞から記録を行った。その結果、視覚刺激によりプルキンエ細胞の「単純スパイク」の発火頻度に変化が起こることが示されたが、複雑スパイクが誘発されることはなかった。現在は、大脳皮質視覚野を直接的に電気刺激する方法を用い、単純スパイクと複雑スパイクを独立的に誘発する刺激方法を探索しており、これによりプルキンエ細胞における視覚応答の特徴を抽出できるものと期待される。

「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科学Ⅰ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、医師国家試験対策実行委員、コース医学総論ⅠおよびⅡのコース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-Ⅶ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、木村は東京慈恵会医科大学雑誌編集委員長、Jikeikai Medical Journal 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) Mitsumori T¹⁾, Furuyashiki T¹⁾, Momiyama T, Nishi A²⁾, Shuto T²⁾ (²Kurume Univ.), Hayakawa T¹⁾, Ushikubi F (Asahikawa Med. Coll.), Kitaoka S¹⁾, Aoki T¹⁾, Inoue H¹⁾, Matsuoka T¹⁾, Narumiya S¹⁾ (¹Kyoto Univ.). Thromboxane receptor activation enhances striatal dopamine release, leading to suppression of GABAergic transmission and enhanced sugar intake. *Eur J Neurosci* 2011; 34(4): 594-604.
- 2) Kawamura M Jr., Kawamura M. Long-term facilitation of spontaneous calcium oscillations in astrocytes with endogenous adenosine in hippocampal slice cultures. *Cell Calcium* 2011; 49(4): 249-58.
- 3) Ruskin DN¹⁾, Ross JL¹⁾, Kawamura M Jr., Ruiz TL¹⁾, Geiger JD (Univ. North Dakota), Masino SA¹⁾ (¹Trinity College). A ketogenic diet delays weight loss and does not impair working memory or motor function in the R6/2 1J mouse model of Huntington's disease. *Physiol Behav* 2011; 103(5): 501-7.
- 4) Masino SA¹⁾, Kawamura M Jr., Plotkin LM¹⁾, Svedova J¹⁾ (¹Trinity College), Dimario FJ Jr. (UConn Health Center), Eigsti IM (Univ. Connecticut). The relationship between the neuromodulator adenosine and behavioral symptoms of autism. *Neurosci Lett* 2011; 500(1): 1-5.

Ⅲ. 学会発表

- 1) Kimura N. The origin of yawning behavior in vertebrates and inspiratory activity in mammals. 8th International Congress of Comparative Physiology and Biochemistry. Nagoya, May. [比較生理生化 2011; 28 (Suppl.): 152]
- 2) Momiyama T, Sato A¹⁾, Katsuki M (Natl. Inst. Basic Biol.), Sasaoka T¹⁾ (¹Kitasato Univ. Sch. Med.).

- Motor activity and GABAergic synaptic transmission of D1 and D2 receptor knock-out mice. 8th IBRO World Congress of Neuroscience. Florence, July.
- 3) 初山俊彦, 佐藤朝子¹⁾, 勝木元也 (基生研), 笹岡俊邦¹⁾(¹北里大). ドーパミンD1およびD2受容体ノックアウトマウスにおける行動および線条体GABA性シナプス伝達の解析. 第34回日本神経科学大会. 横浜, 9月. [Neurosci Res 2011; 71(Suppl.): e87]
- 4) Ishikawa T, Shimuta M, Li WB (Hebei Medical Univ.). The origin of high-frequency firing pattern of the cerebellar mossy fibers. 第34回日本神経科学大会. 横浜, 9月. [Neurosci Res 2011; 71(Suppl.): e246]
- 5) Kawamura M. Long-term facilitation of spontaneous astrocytic calcium oscillations with endogenous adenosine in the hippocampus of the rats. 第34回日本神経科学大会. 横浜, 9月.
- 6) Ishikawa T. Signalling patterns of sensory afferent to the cerebellum. Invited Lecture in Hebei Medical University. Shijiazhuang, Sept.
- 7) 西 晴久. 肥満細胞におけるプリン受容体を介した脱顆粒制御機構. 第125回日本薬理学会関東部会. 船橋, 10月. [日薬理誌 2012; 139(1): 18P]
- 8) 川村将仁. アデノシン受容体の活性化を介した海馬アストロサイト自発的カルシウム・オシレーション頻度の長期増強. 生理学研究所研究会: 情報伝達物質としてのプリンの意義. 岡崎, 10月.
- 9) 初山俊彦. ラット中脳ドーパミン性ニューロンからのドーパミン遊離とニューロン活動の同時記録. 第85回日本薬理学会年会. 京都, 3月. [J Pharmacol Sci 2012; 118(Suppl. 1): 40]
- 10) Nishi H. Purinergic receptors modulate degranulation in LAD2 cells. 第85回日本薬理学会年会. 京都, 3月. [J Pharmacol Sci 2012; 118(Suppl. 1): 173]
- 11) 初山俊彦, 佐藤朝子¹⁾, 勝木元也 (基生研), 笹岡俊邦¹⁾(¹北里大). ドーパミン受容体ノックアウトマウスにおける行動および線条体抑制性シナプス伝達の解析. 第89回日本生理学会大会. 松本, 3月. [J Physiol Sci 2012; 62(Suppl. 1): S94]
- 12) 木村直史. あくびの起源と吸息性活動. 第89回日本生理学会大会. 松本, 3月. [J Physiol Sci 2012; 62(Suppl. 1): S193]
- 13) Shimuta M, Ishikawa T, Li WB (Hebei Medical Univ.). Firing frequency of pontine neurons projecting to the cerebellar hemisphere. 第89回日本生理学会大会. 松本, 3月. [J Physiol Sci 2012; 62(Suppl. 1): S102]
- Kawamura M Jr., Dimario FJ Jr. (UConn Health Center), Eigsti IM (Univ. Connecticut). Chapter6: Adenosine and autism—Recent research and a new perspective. In Eapen V, editor. Autism: A neurodevelopmental journey from genes to behavior. Rijeka: InTech, 2011. p.103-22.

IV. 著 書

- 1) Masino SA¹⁾, Svedova J¹⁾(¹Trinity College),