

令和 2 年 6 月 4 日現在

機関番号：13802

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K08523

研究課題名(和文) ストレスによる生殖機能低下をおこすGnRHニューロンへのGABA入力の変容

研究課題名(英文) Changes in GABAergic inputs to GnRH neurons causing stress induced reproductive dysfunction

研究代表者

渡部 美穂 (Watanabe, Miho)

浜松医科大学・医学部・助教

研究者番号：10399321

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：性周期を制御しているGnRHニューロンではGABAが興奮性に作用しているが、GnRHニューロンでKCC2を発現させ、細胞内クロライド濃度を低下させることにより、カルシウムオシレーションがみられなくなったことから、ストレスによりGnRHニューロンの細胞内クロライド恒常性維持機構が破綻し、GABAによる制御が正常に行われないことが、生殖機能の低下を引き起こす可能性が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究ではGnRHニューロンの機能不全による生殖機能低下のメカニズムの一端を明らかにすることができた。ストレスや栄養状態の低下による体重減少などにより、視床下部-下垂体の機能が低下し、無月経や無排卵になる。中枢性排卵障害の原因の一つにGnRHニューロンの機能不全が考えられる。ヒトのGnRHニューロンへもGABA入力があることがわかっており、細胞内クロライド濃度維持機構の破綻とGnRHニューロンの機能不全との関連性を示唆した本研究の成果は無排卵や不妊症などの治療、新たな治療薬開発への貢献が考えられる。

研究成果の概要(英文)：The GnRH neurosecretory system constitutes the final common pathway in the neuroendocrine control of reproduction. GABA acts excitatory on GnRH neurons. Overexpression of KCC2 inhibited calcium oscillations in GnRH neurons. Stress may cause the disruption of intracellular chloride homeostasis in GnRH neurons, thereby lead to reproductive dysfunction.

研究分野：神経内分泌学

キーワード：GABA GnRHニューロン KCC2 生殖 視床下部

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

生殖機能は内外環境要因に強く影響を受け、さまざまな心理的、肉体的ストレスにより生殖機能が低下することがよく知られている。脳による生殖内分泌調節の最終共通路は視床下部に存在する生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン(GnRH)ニューロンである。卵巣から分泌されるエストロジェンの作用により、GnRHニューロンからGnRHが大量分泌され、その結果、下垂体から黄体形成ホルモン(LH)が大量分泌され、排卵が引き起こされる(視床下部-下垂体-生殖腺軸(HPG axis) (図1))。通常、GnRHおよびLHはパルス状に分泌されており、卵胞成熟に関与している。ストレスにより、GnRHが正常に分泌されず無排卵になる中枢性排卵障害の原因の一つにGnRHニューロンの機能不全が考えられる。しかしながら、ストレスが生殖機能制御に関わる神経回路にどのような影響を及ぼし、最終的にGnRHニューロンの活動性に変化をもたらすのか、未だに十分に解明されていない。ストレスによる神経回路の変化に脳内の主要な抑制性伝達物質であるGABAが関与することが示唆されている。急性/慢性ストレスにより、視床下部、海馬、大脳皮質などでGABAやGABA合成酵素のGAD発現量が変化すること、GABA<sub>A</sub>受容体を構成するサブユニットの発現が変化することが報告されており、我々の研究室でも脳内のGABA量が約半分になっているGAD67-GFPノックインヘテロマウスがストレス脆弱性を示すことを明らかにしている。ストレス負荷により視床下部-下垂体-副腎皮質軸(HPA axis)が活性化されるが、慢性ストレスにより視床下部に存在する副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン(CRH)ニューロンのGABA応答が抑制性から興奮性に変化すること、CRHニューロンへのGABAシナプスで長期増強が起こることが報告され、ストレスによる神経回路変化にGABAシナプスの可塑的变化が関与する可能性が示唆されている。一方で、HPG axisの制御にもGABAが重要な役割を持ち、これまでに我々はGnRHニューロンではGABAが成熟動物においても興奮性に作用するという特異な性質を持つことを報告している。GABAが興奮性であるか抑制性であるかは細胞内クロライド濃度により決定され、Cl<sup>-</sup>を細胞内にくみ入れるNa<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-2Cl<sup>-</sup>共役担体(NKCC1)の発現が高く、Cl<sup>-</sup>を細胞外にくみ出すK<sup>+</sup>-Cl<sup>-</sup>共役担体(KCC2)の発現が低く、細胞内Cl<sup>-</sup>濃度が高いとGABAは興奮性に作用し、NKCC1の発現が低く、KCC2の発現が高いと、細胞内Cl<sup>-</sup>濃度が低くなり、GABAは抑制性に作用する。ストレスによりCRHニューロン、海馬錐体細胞や顆粒細胞でKCC2の機能が低下することが報告されている。ストレスによる生殖機能の低下にGABAの関与が示唆されており、感染ストレスによるLHパルス状分泌の低下がGABA<sub>A</sub>受容体阻害剤により阻止されること、GnRHニューロン近傍のGABAニューロンはCRH受容体を発現しており、拘束ストレスにより活性化されることから、ストレス情報はGABAニューロンを介してGnRHニューロンに伝えられ、生殖機能に影響を及ぼす可能性が考えられるが、これまでにストレスによるGnRHニューロンへのGABA入力の可塑的变化を調べた報告はない。

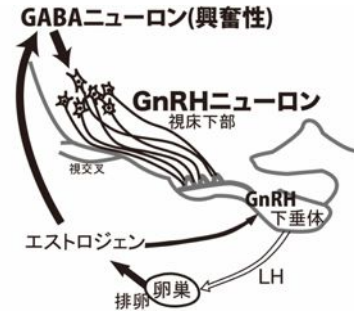


図1. 性周期は視床下部-下垂体-生殖腺軸で制御される。GABAニューロンはGnRHニューロンに興奮性に作用する。

受容体を構成するサブユニットの発現が変化することが報告されており、我々の研究室でも脳内のGABA量が約半分になっているGAD67-GFPノックインヘテロマウスがストレス脆弱性を示すことを明らかにしている。ストレス負荷により視床下部-下垂体-副腎皮質軸(HPA axis)が活性化されるが、慢性ストレスにより視床下部に存在する副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン(CRH)ニューロンのGABA応答が抑制性から興奮性に変化すること、CRHニューロンへのGABAシナプスで長期増強が起こることが報告され、ストレスによる神経回路変化にGABAシナプスの可塑的变化が関与する可能性が示唆されている。一方で、HPG axisの制御にもGABAが重要な役割を持ち、これまでに我々はGnRHニューロンではGABAが成熟動物においても興奮性に作用するという特異な性質を持つことを報告している。GABAが興奮性であるか抑制性であるかは細胞内クロライド濃度により決定され、Cl<sup>-</sup>を細胞内にくみ入れるNa<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-2Cl<sup>-</sup>共役担体(NKCC1)の発現が高く、Cl<sup>-</sup>を細胞外にくみ出すK<sup>+</sup>-Cl<sup>-</sup>共役担体(KCC2)の発現が低く、細胞内Cl<sup>-</sup>濃度が高いとGABAは興奮性に作用し、NKCC1の発現が低く、KCC2の発現が高いと、細胞内Cl<sup>-</sup>濃度が低くなり、GABAは抑制性に作用する。ストレスによりCRHニューロン、海馬錐体細胞や顆粒細胞でKCC2の機能が低下することが報告されている。ストレスによる生殖機能の低下にGABAの関与が示唆されており、感染ストレスによるLHパルス状分泌の低下がGABA<sub>A</sub>受容体阻害剤により阻止されること、GnRHニューロン近傍のGABAニューロンはCRH受容体を発現しており、拘束ストレスにより活性化されることから、ストレス情報はGABAニューロンを介してGnRHニューロンに伝えられ、生殖機能に影響を及ぼす可能性が考えられるが、これまでにストレスによるGnRHニューロンへのGABA入力の可塑的变化を調べた報告はない。

### 2. 研究の目的

これまでに、GnRHニューロンへのGABA入力を興奮性から抑制性に変化させることができる遺伝子改変マウスを作成し、このマウスでは性周期が乱れ、排卵がみられず妊娠が認められないことを示し、GnRHニューロンへの興奮性GABA入力は生殖機能制御において重要な役割を持つことを報告している。GABAが興奮性に作用していることから、GnRHニューロンではNKCC1の発現が高く、KCC2の発現が低くおさえられているが、NKCC1およびKCC2の機能は発達や障害によりダイナミックに変化することから、ストレスによりGnRHニューロンのNKCC1およびKCC2の発現が変化し、細胞内クロライド恒常性維持機構が破綻し、GABA入力が正常に行われないことが、生殖機能の低下を引き起こす可能性が考えられる。そこで、本研究ではストレス負荷による生殖機能低下の要因として、GnRHニューロンへのGABA入力の可塑的变化に着目し、細胞内クロライド恒常性維持機構の破綻し、GABA入力が興奮性から抑制性に変化することでGnRHニューロンの機能低下が起こる可能性について検討を行った。

### 3. 研究の方法

マウスへのストレス負荷方法の確立を行った。GnRHニューロンの株細胞であるGT1-7細胞を用いて、カルシウムイメージングを行い、GnRHニューロンの活動性の指標としてカルシウムオシレーションを記録し、オシレーションのメカニズム、KCC2の強制発現による細胞内クロライド濃度の低下がオシレーションに及ぼす影響を調べた。また、GnRHニューロンでカルシウムセンサーであるGCaMP3またはGCaMP6fを発現するマウスを作成し、カルシウムオシレーションを記録し、KCC2を発現させた時のオシレーションの変化を検討した。さらに、GnRHニューロンでNKCC1を欠失させたマウスを作成し、細胞内クロライド濃度を低下させた時の生殖機能への影響を調べた。

#### 4. 研究成果

ストレス負荷方法の確立を行った。野生型マウスに 50 ml の遠沈管に入れる拘束ストレス(1 回 45 分間を 1 日 3 回)を負荷し、その後採血を行い、血中コルチコステロンの変化をラジオイムノアッセイ法により調べた。その結果、拘束ストレス負荷により血中コルチコステロンの上昇がみられ、ストレスが負荷されていることを確認できた。

GnRH ニューロンの活動性の指標として GnRH ニューロンが示すカルシウムオシレーションの記録を行った。まずは GnRH ニューロンの株細胞である GT1-7 細胞より、カルシウム蛍光指示薬である Oregon Green 488 BAPTA-1 AM を用いてカルシウムイメージングを行い、カルシウムオシレーションを記録した。カルシウムオシレーションは R 型電位依存性カルシウムチャネルを介した細胞外からのカルシウム流入により起きており、細胞外のカリウム濃度を増やし脱分極させるとオシレーションが強められ、電位依存性ナトリウムチャネルの阻害によりオシレーションが抑制されたことから、オシレーションには電位依存性があり、電位依存性ナトリウムチャネルからのナトリウム流入が関与していることがわかった。GT1-7 細胞に KCC2 を強制発現させることにより細胞内クロライド濃度を低下させ、GABA 作用を興奮性から抑制性に変化させた時の影響を調べたところ、カルシウムオシレーションがみられなくなった。よって、細胞内クロライド濃度の破綻により、GT1-7 細胞の活動性が低下することが示唆された。次に、視床下部 GnRH ニューロンを用いて同様の実験を行った。Oregon Green 488 BAPTA-1 AM を用いて急性スライス標本の GnRH ニューロンからのカルシウムオシレーションの記録を試みたが、指示薬の細胞への取り込みが悪く記録を行うことが出来なかった。そこで、GnRH ニューロンで遺伝子組換え酵素の Cre を発現する GnRH Cre マウスと GCaMP3 flox マウスを交配し、GnRH ニューロンでカルシウムセンサーである GCaMP3 を発現するマウス(GnRH Cre::GCaMP3 マウス)の作出を行った。免疫組織染色法により、GnRH ニューロンで GCaMP3 が発現することを確認できた(図 2)。このマウスより視床下部の急性スライス標本を作製し、カルシウムイメージングを行なったが、GABA や高カリウム刺激により GnRH ニューロンを強く活性化させると細胞内カルシウムの上昇がみられたが、カルシウムオシレーションでみられる小さなカルシウムの変化を記録することができなかった(図 3)。GCaMP3 の発現が弱い可能性を考え、GCaMP3 の発現量を増加させるために、GnRH Cre::GCaMP3 マウスのホモ化を行った。また、GCaMP3 より高感度で大きな蛍光シグナルを発する GCaMP6f を GnRH ニューロンで発現させ、カルシウムオシレーションを記録することを検討し、GnRH ニューロンでテトラサイクリン制御性トランス活性化因子(tTA)を発現するマウス(GnRH-tTA マウス)と共同研究者より供与いただいた tet0-GCaMP6f マウスを交配させ、GnRH ニューロンで GCaMP6f を発現するマウス(GnRH-tTA::tet0-GCaMP6f マウス)の作出を行った。さらに、GnRH ニューロンで細胞内クロライド維持機構を破綻させた時の GnRH ニューロンの活動性へ影響を検討するために、GnRH ニューロンで KCC2 を発現させることにより細胞内クロライド濃度を低下させ、GABA 入力を興奮性から抑制性に変化させた時のカルシウムオシレーションへの影響を調べた。GnRH ニューロンで GCaMP6f と KCC2 を発現するマウス(GnRH-tTA::tet0-GCaMP6f::tet0-KCC2 マウス)を作出し、視床下部の脳スライス標本を作製し、GnRH ニューロンよりカルシウムオシレーションを記録し、オシレーションの頻度、同期を示す細胞数について MATLAB を用いて解析を行った。ストレス負荷による GABA 作用の変化を阻害することで、生殖機能の低下を阻止できるかを検討するために、GnRH-tTA マウスと NKCC1 の翻訳開始部位直前に tet0 配列をノックインしたマウスを交配させ、GnRH-tTA::NKCC1-tet0 マウスを作出した。このマウスでは GnRH ニューロンで GABA の興奮性を維持する NKCC1 の発現誘導を特定の時期に可逆的に行うことができる。さらに、生殖機能は視床下部-下垂体-性腺系を中心にホルモンのフィードバックにより維持されており、脳スライス標本を用いた *in vitro* の解析に加えて、個体レベルでの解析が必須であることから、個体レベルで GnRH ニューロンの活動を測定するために、二光子顕微鏡を使用し、Gradient refractive index(GRIN)レンズを用いた視床下部の *in vivo* カルシウムイメージングの技術を共同研究者よりご教示いただき、立ち上げを行った。

GnRH ニューロンでクロライドを細胞外にくみ出す KCC2 を発現させることにより、GnRH ニューロンへの GABA 作用を興奮性から抑制性に変化させた Tet off システムを用いた遺伝子改変マウスでは性周期が乱れ、排卵、妊娠が認められず生殖機能が低下することをこれまでに報告している。細胞内クロライド恒常性維持機構の破綻と GnRH ニューロンの機能不全との関連をさらに検討するために、GnRH ニューロンのみでクロライドを細胞内にくみ入れる NKCC1 の発現を阻害し、GABA 作用を興奮性から抑制性に変化させた時の生殖機能への影響を調べた。GnRH Cre マウスと NKCC1 flox マウスを交配させ、GnRH ニューロンで NKCC1 の発現を欠失させたマウス(GnRH Cre::NKCC1 flox マウス)を作出した。まだ例数が少ないが、雌マウスでは妊娠が認められ、雄マウスの繁殖能力も正常であり、NKCC1 機能喪失による細胞内 Cl<sup>-</sup>濃度維持機構の破綻は生殖機能に影響を与えないという結果が得られた。しかしながら、このマウスでは発生の初期から NKCC1 が欠失していることから、何らかの代償作用が働いた可能性も考えられた。また、GnRH ニューロンで KCC2 機能が低いメカニズムとして、KCC2 機能のリン酸化による制御を考え、KCC2 の 906 番目と 1007 番目のスレオニン残基のリン酸化状態を模倣したマウスを作出し、解析を行ったところ、クロライドくみ出し能が低下しており、てんかん発作が認められた。KCC2 機能がリン酸化により抑制されることが明らかになり、生後すぐに死亡するため生殖機能への影響を解析できなかったが、GnRH ニューロンでは KCC2 機能がリン酸化により抑制されており、ストレスにより脱リン酸化され機能し始める可能性が考えられた。

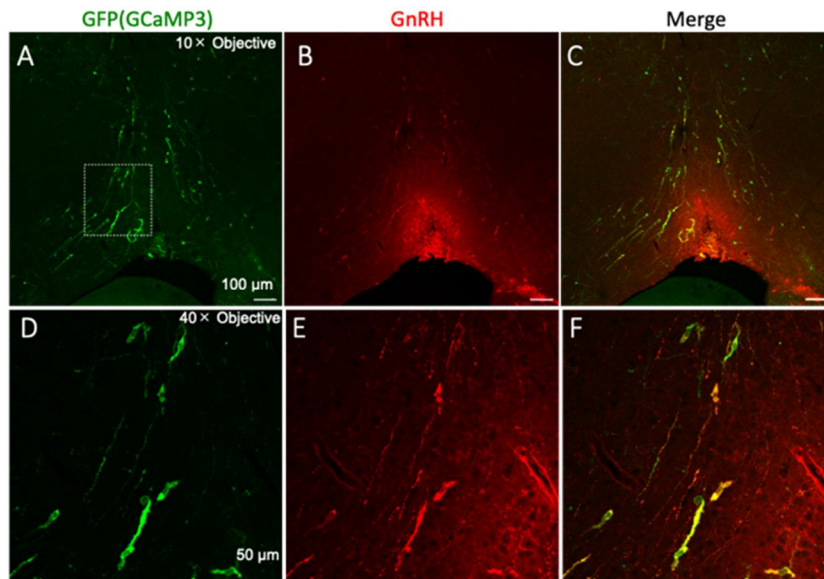


図 2. 免疫組織染色法により、GnRH Cre::GCaMP3 マウスの GnRH ニューロン(赤)で GCaMP3(緑)が発現することを確認できた。A、B、C の拡大が D、E、F。

Acute slice

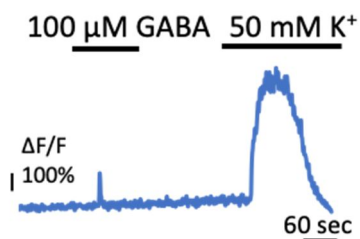
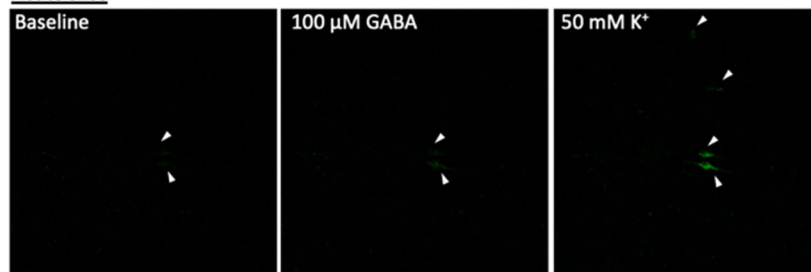


図 3. GnRH Cre::GCaMP3 マウス視床下部の急性スライス標本を用いてカルシウムイメージングを行なった。GABA や高カリウム刺激により細胞内カルシウムの上昇はみられたが、カルシウムオシレーションを記録することはできなかった

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Watanabe M, Zhang J, Mansuri MS, Duan J, Karimy JK, Delpire E, Alper SL, Lifton RP, Fukuda A, Kahle KT	4. 巻 12
2. 論文標題 Developmentally regulated KCC2 phosphorylation is essential for dynamic GABA-mediated inhibition and survival.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Science Signaling	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1126/scisignal.aaw9315.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Fukuda A and Watanabe M	4. 巻 1710
2. 論文標題 Pathogenic potential of human SLC12A5 variants causing KCC2 dysfunction.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Brain Research	6. 最初と最後の頁 1-7
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.brainres.2018.12.025. Epub 2018 Dec 18.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Watabe T, Xu M, Watanabe M, Nabekura J, Higuchi T, Hori K, Sato MP, Nin F, Hibino H, Ogawa K, Masuda M, Tanaka KF	4. 巻 7
2. 論文標題 Time-controllable Nkcc1 knockdown replicates reversible hearing loss in postnatal mice.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Science Reports	6. 最初と最後の頁 13605-14007
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-017-13997-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kakizawa K, Watanabe M, Mutoh H, Okawa Y, Yamashita M, Yanagawa Y, Itoi K, Suda T, Oki Y, Fukuda A	4. 巻 2
2. 論文標題 A novel GABA-mediated corticotropin-releasing hormone secretory mechanism in the median eminence.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 e1501723
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1126/sciadv.1501723	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Saito H#, Watanabe M#, Akita T# (#contributed equally to this work), Ohba C, Sugai K, Ong WP, Shiraishi H, Yuasa S, Matsumoto H, Beng KT, Saitoh S, Miyatake S, Nakashima M, Miyake N, Kato M, Fukuda A	4. 巻 6
2. 論文標題 Impaired neuronal KCC2 function by biallelic SLC12A5 mutations in migrating focal seizures and severe developmental delay.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 30072
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/srep30072	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計27件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 9件)

1. 発表者名 Watanabe M, Fukuda A
2. 発表標題 Excitatory GABAergic inputs to GnRH neurons are required for estrous cyclicity.
3. 学会等名 The 19th Kyungpook-Hamamatsu Joint Medical Symposium Hamamatsu Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Watanabe M, Kahle KT, Fukuda A
2. 発表標題 Developmentally regulated KCC2 phosphorylation is essential for dynamic GABA-mediated inhibition and survival.
3. 学会等名 第97回日本生理学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 渡部美穂、柿沢圭亮、福田敦夫
2. 発表標題 発達期のCRHニューロン制御機構におけるGABAの役割
3. 学会等名 NINS分野融合型共同事業ワークショップ
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Watanabe M, Fukuda A
2. 発表標題 Excitatory GABAergic inputs to GnRH neurons are required for female reproduction.
3. 学会等名 Society for Neuroscience 49th Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 渡部美穂、Kahle KT、福田敦夫
2. 発表標題 抑制性神経伝達を維持するカリウム-クロライド共役担体(KCC2)のリン酸化による制御の役割
3. 学会等名 第66回中部生理学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Watanabe M, Zhang J, Mansuri M, Duan J, Kahle KT, Fukuda A
2. 発表標題 A KCC2 phospho-switch is essential for dynamic GABA-mediated inhibition and postnatal survival.
3. 学会等名 第42回日本神経科学大会、第62回日本神経化学会大会、新潟
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Watanabe M, Nabekura J, Fukuda A
2. 発表標題 Excitatory GABAergic inputs to GnRH neurons are required for female reproduction.
3. 学会等名 The 18th Kyungpook-Hamamatsu Joint Medical Symposium Hamamatsu Meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Watanabe M, Zhang J, Mansuri M, Duan J, Kahle KT, Fukuda A
2. 発表標題 Developmental regulation of KCC2 phosphorylation is essential for GABA signaling and survival.
3. 学会等名 9th Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies Congress (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yesmin R, Watanabe M, Fukuda A
2. 発表標題 CRH release regulation by GABAergic projection from arcuate nucleus using chemogenetic model.
3. 学会等名 9th Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies Congress (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 渡部美穂、Zhang J、Mansuri M、Duan J、Kahle KT、福田敦夫
2. 発表標題 GABAによる抑制性伝達におけるカリウム-クロライド共役担体(KCC2)のリン酸化による機能制御の役割
3. 学会等名 第65回中部生理学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yesmin R, Watanabe M, Fukuda A
2. 発表標題 Development of chemogenetic model to study physiological roles of the GABAergic projection from arcuate nucleus to the CRH nerve terminals
3. 学会等名 第65回中部生理学会
4. 発表年 2018年



1. 発表者名 渡部美穂、鍋倉淳一、福田敦夫
2. 発表標題 生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン(GnRH)ニューロン特異的にKCC2を発現させたマウスでは生殖機能に異常がみられる
3. 学会等名 第95回日本生理学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Watanabe M, Duan J, Mansuri M. Zhang J, Fukuda A, Kahle KT.
2. 発表標題 Constitutive phosphomimetic inhibition of KCC2 at Thr906/Thr1007 causes GABAdependent network excitability, seizure, and early postnatal death.
3. 学会等名 Society for Neuroscience 47th Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Fukuda A, Watanabe M, Akita T.
2. 発表標題 KCC2 dysfunction underlying infantile and neonatal seizures in an animal model.
3. 学会等名 第51回日本てんかん学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 渡部美穂、鍋倉淳一、福田敦夫
2. 発表標題 生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン(GnRH)ニューロンの制御における興奮性GABA入力役割
3. 学会等名 第64回中部日本生理学会
4. 発表年 2017年

1 . 発表者名 Watanabe M, Nabekura J, Fukuda A
2 . 発表標題 The role of excitatory action of GABA in the regulation of reproduction
3 . 学会等名 The 94th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan
4 . 発表年 2017年

1 . 発表者名 Akita T, Saito H, Watanabe M, Matsumoto N, Fukuda A
2 . 発表標題 Mild functional impairment of neuronal K <sup>+</sup> -Cl <sup>-</sup> cotransporter KCC2 by biallelic mutations causes migrating focal seizures and severe developmental delay
3 . 学会等名 The 94th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan
4 . 発表年 2017年

1 . 発表者名 Watanabe M, Akita T, Saito H, Matsumoto N, Fukuda A
2 . 発表標題 Impaired neuronal KCC2 function by biallelic SLC12A5 mutations in migrating focal seizures and severe developmental delay
3 . 学会等名 The 13th Korea-Japan Joint Symposium of Brain Sciences, and Cardiac and Smooth Muscle Sciences
4 . 発表年 2016年

1 . 発表者名 Fukuda A, Kakizawa K, Watanabe M, Mutoh H, Okawa Y, Yamashita M, Yanagawa Y, Itoi K, Suda T, Oki Y
2 . 発表標題 A novel excitatory GABAergic input from the arcuate nucleus to the median eminence involved in CRH release
3 . 学会等名 The 13th Korea-Japan Joint Symposium of Brain Sciences, and Cardiac and Smooth Muscle Sciences
4 . 発表年 2016年

1. 発表者名 Goulton CS, Wang K, Khoshaba A, Watanabe M, Nabekura J, Moorhouse AJ
2. 発表標題 Conditional upregulation of the KCC2 membrane transporter in a transgenic mouse and the effects on neuronal excitability in vitro
3. 学会等名 Society for Neuroscience 46h Annual Meeting
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Cheung DL, Goulton CS, Watanabe M, Nabekura J, Moorhouse AJ
2. 発表標題 The effect of upregulated KCC2 expression on chemically induced seizures and diazepam therapy in vivo
3. 学会等名 Society for Neuroscience 46h Annual Meeting
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 渡部美穂、秋田天平、才津浩智、松本直通、福田敦夫
2. 発表標題 乳児焦点移動性部分発作はSLC12A5遺伝子の両アレル変異によるカリウム-クロライド共役担体(KCC2)機能の低下により引き起こされる
3. 学会等名 第63回中部生理学会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 渡部美穂、秋田天平、才津浩智、松本直通、福田敦夫
2. 発表標題 Partial loss of neuronal KCC2 function by biallelic SLC12A5 mutations causes migrating focal seizures and developmental delay
3. 学会等名 The 39th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society
4. 発表年 2016年

1 . 発表者名 Fukuda A, Kakizawa K, Watanabe M, Mutoh H, Okawa M, Yamashita M, Yanagawa Y, Itoi K, Suda T, Oki Y
2 . 発表標題 The excitatory GABA action at the median eminence maintains the steady-state release of corticotropin-releasing hormone
3 . 学会等名 10th Forum of European Neuroscience
4 . 発表年 2016年

1 . 発表者名 Goulton C, Watanabe M, Cheung D, Khoshaba A, Inada H, Eto K, Wake H, Nebekura J, Moorhouse A
2 . 発表標題 Conditional upregulation of KCC2 enhances inhibition during seizures in mice, Developmental regulation of KCC2 phosphorylation is essential for GABA signaling and survival.
3 . 学会等名 9th Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies Congress ( 国際学会 )
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Cheung D, Goulton C, Watanabe M, Nabekura J, Moorhouse A
2 . 発表標題 Upregulating KCC2 as a target for seizure therapies.
3 . 学会等名 9th Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies Congress ( 国際学会 )
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Fukuda A, Watanabe M, Zhang J, Mansuri M, Duan J, Kahle KT
2 . 発表標題 Regulated phosphorylation of KCC2 at Thr906/Thr1007 is essential for activity-dependent Cl <sup>-</sup> extrusion during normal brain development.
3 . 学会等名 11th FENS Forum of Neuroscience ( 国際学会 )
4 . 発表年 2018年

## 〔図書〕 計1件

1. 著者名 Miho Watanabe, Atsuo Fukuda	4. 発行年 2020年
2. 出版社 Elsevier	5. 総ページ数 -
3. 書名 Neuronal Chloride Transporters in Health and Disease Chapter 11. Post-translational modification of neuronal chloride transporters	

## 〔産業財産権〕

## 〔その他〕

浜松医科大学神経生理学講座 研究活動  
<https://www.hama-med.ac.jp/education/fac-med/dept/neurophysiology/res-act/index.html>

## 6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	福田 敦夫  (Fukuda Atsuo)  (50254272)	浜松医科大学・神経生理学講座・教授    (13802)	