

自然科學研究機構

生理學研究所年報

第33卷



2012

はじめに

生理学研究所年報第33巻をここに刊行し、平成23年(2011)年度における共同利用研究機関としての生理学研究所の事業活動、研究成果の報告をさせていただきます。

生理学研究所は、1977年5月に開設されて本年で35年目を迎えました。そして、2004年4月より大学共同利用機関法人自然科学研究機構を構成する5研究機関の1つとし、法人化されて8年目(第2期の2年度目)となりました。「法人化」の後に、生理学研究所はいくつかの組織改編を行いながら、「人体基礎生理学の研究と研究者育成のための唯一の大学共同利用機関」としての役割を果たしてまいりました。2011年度から5年間、「ヒトとモデル動物の統合的研究による社会性の脳神経基盤の解明」プロジェクトが特別経費として予算措置されました。更には2011年度から2年間にわたって「生理学研究所実験研究棟改修」が認められ、耐震性や経年劣化の問題が一举に解決する運びとなりました。そして、多様な安全衛生管理業務を担うために、2011年度から「安全衛生管理室」を設置しました。2011年度におきましても、コミュニティ研究者の皆様のご協力と、所員一同の努力によって、多数(総件数は史上最大の169)の共同研究・共同利用実験を行いつつ大きな成果をあげることができたものと自負していますが、関係者の皆様のご評価・ご判定を仰ぐ次第であります。

生理学研究所の第1の使命は、人のからだと脳の働き、そしてそれらの仕組みについて、世界トップレベルの研究を進めることにあります。幸い、生理学研究所は、生理科学・脳神経科学の分野で高い評価(例えば、2005-2009年ISI論文引用度指数:神経科学分野第1位、総合分野第4位)を受ける研究を展開してまいることができました。第2の使命は、このような世界トップレベルの研究を基礎にして、全国の研究者コミュニティの方々との共同利用実験・共同研究を進めるということにあります。2011年度は、「一般共同研究」41件、「計画共同研究」43件、超高圧電子顕微鏡、機能的磁気共鳴画像装置(fMRI)、脳磁計(MEG)を供しての「共同利用実験」52件、「研究会」23件、「国際シンポジウム」1件、「国際研究集会」1件の事業を進め、国内外から多数の研究者の方々にご参加いただくことができました。更には、東日本大震災後ただちに被災地域研究者支援のための「共同利用研究特別プロジェクト」を立ち上げ、2011年度には被災機関から研究者やモデル動物の受け入れの事業を計9件実施しました。本研究所の第3の使命は、若手研究者を発掘・育成することにあります。総合研究大学院大学(総研大)の基盤機関として大学院生の指導にあたると共に、全国からの多数の大学院生を受託する形で指導もしています。因みに、先述の論文引用度指数:神経科学分野第5位は総研大であり、私達の教育レベルの高さを示しているものと思います。更には、生理科学実験技術トレーニングコースを開催し、全国から150名以上の若手研究者・院生・学生を受け入れて教育すると共に、「多次元共同脳科学推進センター」を中心として、分野をまたぐ若手脳科学研究者の育成のための異分野連携的脳科学に関する多次元トレーニング&レクチャーを開催しました。加えて、「せいらけんニュース」隔月発刊や「せいらけん市民講座」5回開催や出前授業やその他講演会47回の開催など、未来の研究者を発掘するための多種の情報発信活動も「広報展開推進室」が中心となって行っており、2011年秋の「一般公開」は生理研が担当し、2200名以上の参加者を得て、好評のうちに終わることができました。

所員一同「生体を対象に分子、細胞、器官、個体レベルの研究を推進し、究極において人体の機能を総合的に解明することを目指す」という創設来の基本姿勢を堅持しながら、主として脳の働きと生体恒常性の仕組みについての世界トップレベルの研究を推進し続けることができるよう、引き続き努力を重ねてまいりたいと考えております。皆様方のご支援・ご鞭撻を心よりお願い申し上げます。

平成24年9月4日

生理学研究所長 岡田泰伸

生理学研究所年報

〔 目 次 〕

職 員 (2011 年度)	i
研究活動報告	
分子生理研究系	12
細胞器官研究系	19
生体情報研究系	28
統合生理研究系	36
大脳皮質機能研究系	49
発達生理学研究系	62
個別研究・特別研究	73
行動・代謝分子解析センター	78
多次元共同脳科学推進センター	83
脳機能計測・支援センター	84
動物実験センター	87
技 術 課	90
研究発表	
発 表 論 文	103
学 会 発 表	119
一般共同研究報告	143
計画共同研究報告	173
磁気共鳴装置共同利用実験報告	199
超高压電子顕微鏡共同利用実験報告	223
生体磁気計測装置共同利用実験報告	241
研究会報告	249
国際研究集会	507
特別プロジェクト	517
各種シンポジウム	
平成 23 年度生理研国際シンポジウム	525
トレーニングコース	
第 22 回生理科学実験技術トレーニングコース	531
セミナー報告	535
大学院特別講義	561

職員 (2011 年度)

所 長

岡 田 泰 伸

分子生理研究系

神経機能素子研究部門

教 授 久 保 義 弘
 准 教 授 立 山 充 博
 助 教 中 條 浩 一
 生理研研究員 KECELI, Batu
 (2011.10.1～)

日本学術振興会外国人特別研究員 KECELI, Batu
 (～2011.9.30)

大 学 院 生 藤 井 大 祐
 技術支援員 浅 井 友理子

分子神経生理研究部門

教 授 池 中 一 裕
 准 教 授 等 誠 司
 (～2011.11.30)
 助 教 田 中 謙 二
 (～2012.3.31)
 特 任 助 教 吉 村 武
 NIPS リサーチフェロー 石 野 雄 吾
 (2011.10～)
 研 究 員 稲 村 直 子
 (2011.9～)
 大 学 院 生 臼 井 紀 好
 " 清 水 崇 弘
 " 杉 尾 翔 太
 " Salma Jasmine
 (～2011.8)

大 学 院 生 Wilaiwan Wisessmith
 (2011.4～)

" 鳴 海 麻 衣
 (2011.4～)

技術支援員 伊 藤 磯 子
 " 前 田 ちづ子
 " 稲 葉 香 代
 " 小 西 乃理子
 (～2011.6.30)

" 塚 本 真由美
 (～2012.3.31)

" 田 口 理 恵
 (2011.11.16～2012.3.31)

事務支援員 清 水 葉 月
 技 官 小 池 崇 子

ナノ形態生理研究部門

准教授(併任) 村 田 和 義

細胞器官研究系

生体膜研究部門

教 授 深 田 正 紀
 准 教 授 深 田 優 子
 助 教 則 竹 淳
 (～2011.6.30)
 NIPS リサーチフェロー 奥 慎一郎
 (2011.10.1～)

日本学術振興会特別研究員 横 井 紀 彦
 大 学 院 生 大 川 都史香
 技術支援員 鈴 木 由 美
 " 渡 邊 聖 愛
 (2011.4.1～)

機能協同研究部門／所長室

所 長 岡 田 泰 伸
 准教授(併任) 小 泉 周
 特任准教授 岡 田 俊 昭

助 教 久木田 文 夫
 特 任 助 教 秋 田 天 平
 NIPS リサーチフェロー 佐 藤 かお理

研 究 員 ISLAM, Md. Rafiqul
(2011.12.16～2012.3.31)
所 長 秘 書 岡 安 友 美
技 術 支 援 員 重 本 久 実

技 術 支 援 員 安 井 尚 美
" 森 藤 暁
" (併任) 林 めぐみ

神経細胞構築研究部門

客 員 教 授 瀬 藤 光 利

細胞生理研究部門

教 授 富 永 真 琴
准 教 授 山 中 章 弘
(～2012.3.31)
助 教 鈴 木 喜 郎
特 任 助 教 齋 藤 茂
" 内 田 邦 敏
(2011.4.1～)
研 究 員 梅 村 徹
(～2012.3.31)
日 本 学 術 振 興 会 特 別 研 究 員 常 松 友 美
(2011.4.1～)
" 加 塩 麻 紀 子
(2011.4.1～)
大 学 院 生 周 一 鳴
" 高 山 靖 規
" 田 淵 紗 和 子
" 新 宅 健 司

大 学 院 生 橘 高 裕 貴
(2011.4.1～)
" 孫 武 平
(2011.10.1～)
" Gupta Rupali
(2011.10.1～)
特 別 共 同 利 用 研 究 員 渡 邊 成 樹
(2011.10.1～)
技 術 支 援 員 伊 藤 嘉 美
(～2011.6.15)
" 福 田 阿 由 子
" 杉 浦 由 佳
(～2011.5.27)
" 齋 藤 くれあ
" 西 村 慶 子
事 務 支 援 員 伊 藤 嘉 美
(2011.6.16～)

生体情報研究系

感覚認知情報研究部門

教 授 小 松 英 彦
准 教 授 伊 藤 南
(～2012.3.31)
助 教 郷 田 直 一
特 任 助 教 横 井 功
NIPS リサーチフェロー 安 川 涼 子
(2011.4.1～)
研 究 員 橘 篤 導

大 学 院 生 西 尾 亜 希 子
" 岡 澤 剛 起
" 波 間 智 行
技 術 支 援 員 太 田 知 宏
" 庭 木 由 紀
" 大 久 保 三 奈
特 別 訪 問 研 究 員 鯉 田 孝 和

神経シグナル研究部門

教 授 井 本 敬 二
准 教 授 古 江 秀 昌
助 教 佐 竹 伸 一 郎
" 山 肩 葉 子
特 任 助 教 歌 大 介

NIPS リサーチフェロー 加 勢 大 輔
日 本 学 術 振 興 会 特 別 研 究 員 東 島 (宍 戸) 恵 美 子
(2011.4.1～)
大 学 院 生 箱 崎 敦 志
(2011.10.1～)

大学院生(韓国, Hur Sung Wong
Seoul 国立大学) (～2011.10.31)

特別共同利用研究員 舟 井 優 介
(2011.4.1～2012.3.31)

技術支援員 田 中 美 穂

神経分化研究部門

教 授 吉 村 由美子
准 教 授 東 島 眞 一
助 教 森 琢 磨
NIPS リサーチフェロー 足 澤 悦 子
" 石 川 理 子
研 究 員 木 村 有希子
" 佐 藤 千 恵

技術支援員 鈴 木 幸 子
" 伊 木 志成子
" 伊 藤 浩 子
" 寺 澤 洋 子
" 石 神 久美子
事務支援員 比 賀 昌 子

統合生理研究系

感覚運動調節研究部門

教 授 柿 木 隆 介
准 教 授 乾 幸 二
特任准教授 岡 本 秀 彦
助 教 三 木 研 作
特 任 助 教 望 月 秀 紀
(2011.5.1～)
" 守 田 知 代
" 和 坂 俊 昭
" 仲 渡 江 美

特 任 助 教 松 本 敦
NIPS リサーチフェロー 大 鶴 直 史
(2011.10.1～)
大 学 院 生 岡 さ ち 子
(～2011.9.30)
" Keceli Sumru
事務支援員 加 藤 三津子
" 廣 岡 裕 子
" 中 村 和 子

生体システム研究部門

教 授 南 部 篤
助 教 畑 中 伸 彦
" 橘 吉 寿
" 知 見 聡 美
特 任 助 教 佐 野 裕 美
" 瀬 瀬 大 輔
研 究 員 高 良 沙 幸

大 学 院 生 高 原 大 輔
(～2012.3.31)
" 金 子 将 也
" Dwi Wahyu Indriani
(2011.4.1～)
技術支援員 宮 本 香 奈

計算神経科学研究部門

客 員 教 授 合 原 一 幸

大脳皮質機能研究系

脳形態解析研究部門

教 授 重 本 隆 一
准 教 授 田 渕 克 彦
助 教 深 澤 有 吾
(～2011.8)
" 松 井 広

NIPS リサーチフェロー 江 頭 良 明
(～2011.7)
日本学術振興会特別研究員 佐々木 拓 哉
(2011.4～)

日本学術振興会外国人特別研究員	Wang, Wen (～2011.6)	技術支援員	澤 栄 恵
		〃	山 田 幸 子
大 学 院 生	Wajeeha Aziz	〃	兵 藤 智栄美
〃	Laxmi Kumar Parajuli	〃	小 鹿 郁 子
〃	Timotheus Budisantoso	〃	池 田 充
〃	Dwi Wahyu Indriati	〃	永 吉 美代子
〃	Chang Wen Hisn (2011.4～)	〃	赤 間 亜希子 (2011.11～)
〃	別 府 薫 (2011.4～)	特別訪問研究員	Hassan Ahamed Ahamed Mohammed (～2011.12)
〃	Nur Farehan Mohamed Asgar (2011.10～)	NIPS リサーチフェロー	原 田 春 美 (2012.4～)
〃	Sebnem Kesaf (2011.10～)		
〃	Matthew Julian Case (2011.10～)		

大脳神経回路論研究部門

教 授	川 口 泰 雄	日本学術振興会外国人特別研究員	Chao-Hua Huang (2012.1～)
准 教 授	窪 田 芳 之		
助 教	大 塚 岳	技術支援員	犬 塚 小百合
〃	森 島 美絵子	〃	小 島 滋 美
NIPS リサーチフェロー	植 田 禎 史	〃	渡 邊 美 香
研 究 員	荻 部 冬 紀 (～2012.3.31)	〃	北 啓 子
〃	牛 丸 弥 香	〃	塩 津 千 尋 (2012.3.31～)
〃	畠 中 由美子 (2011.4～)	〃	服 部 宣 子 (2012.3～)

心理生理学研究部門

教 授	定 藤 規 弘	研 究 員	大 塩 り つ (～2011.4)
外国人研究職員	Bosch Bayard Jorge Francisco (2011.9～2012.2)	〃	小 池 耕 彦
助 教	田 邊 宏 樹	日本学術振興会特別研究員	佐々木 章 宏
〃	北 田 亮	大 学 院 生	牧 田 快
特 任 助 教	田 中 悟 志 (～2012.3.31)	〃	岡 本 悠 子
〃	川 道 拓 東	〃	吉 田 優美子
〃	松 永 昌 宏	〃	菅 原 翔
研 究 員	山 崎 未 花 (～2011.5)	〃	島 田 浩 二
〃	吉 原 一 文	〃	高 橋 陽 香
〃	岡 崎 俊太郎	〃	荒 田 真実子 (2011.4～2011.10)
		技術支援員	竹 中 邦 子

技術支援員 岩 瀬 恵

特任専門員 木 村 玲 子

発達生理学研究系

認知行動発達機構研究部門

教 授 伊 佐 正
准 教 授 西 村 幸 男
(2011.4.1～)

助 教 吉 田 正 俊
特 任 助 教 木 下 正 治

” Penphimon
Phongphanphanee
(2011.4.1～2012.3.31)

” 丸 山 めぐみ
” 大 塩 り つ
(2011.5.1～)

研 究 員 渡 辺 秀 典
” 坂 谷 智 也
(～2011.7.15)

” 加 藤 利佳子
” 梅 田 達 也
” 笠 井 昌 俊
(2011.4.1～)

” 笹 田 周 作
(2011.10.1～)

” 今 津 杉 子

大 学 院 生 加 藤 健 治
(2011.4.1～)

” 高 桑 徳 宏
(2011.4.1～)

生体恒常機能発達機構研究部門

教 授 鍋 倉 淳 一
准 教 授 石 橋 仁
特 任 助 教 金 善 光
(～2012.2.29)

NIPS リサーチフェロー 江 藤 圭
研 究 員 稲 田 浩 之
” 平 尾 顕 三
(2011.10.1～)

大 学 院 生 山 口 純 弥
(～2012.3.31)

” 平 尾 顕 三
(～2011.9.30)

特別共同利用研究員 笹 田 周 作
(2011.4.1～2011.9.30)

” 澤 田 真 寛
(2011.10.1～)

” 酒 井 陽
(2011.10.19～)

技術支援員 高 橋 伸 明
” 伊 佐 かおる

” 加 藤 智 子

” 柴 田 あゆみ

” 山 西 ユ ミ

” 新 家 さおり
(2011.6.16～)

” 清 水 琴 未
(2011.6.16～)

” 嶋 田 弘 子
(2011.8.1～)

” 高 柳 礼 香

” 高 田 和 子

” 内 藤 知津江
(2011.11～2012.3.31)

事務支援員 久 保 奈 美
(～2011.6.30)

” 柴 田 真 希
(2011.6.25～)

大 学 院 生 中 畑 義 久

” 宮 本 愛喜子

技術支援員 大 場 多津子
” 東海林 麻 美
(2011.12.16～)

” 市 橋 結 貴
(2011.12.16～)

” 蜂須賀 由香里

事務支援員 齋 藤 永 子

生殖・内分泌系発達機構研究部門

教 授 箕 越 靖 彦
助 教 岡 本 士 毅

NPS リサーチフェロー 戸 田 知 得
技術支援員 永 谷 恵

環境適応機能発達研究部門

客 員 教 授 矢 田 俊 彦

個別研究・特別研究

個別研究 (村上グループ)

准 教 授 村 上 政 隆

大 学 院 生 魏 飛

個別研究 (大橋グループ)

助 教 大 橋 正 人

個別研究 (毛利グループ)

毛 利 達 磨

個別研究 (樫原グループ)

助 教 樫 原 康 博

技術支援員 野 村 智 美

特別研究 (永山グループ)

特 任 教 授 永 山 國 昭
研 究 員 香 山 容 子
(~2011.11.30)

事務支援員 小 瀧 弘 子
(2011.4.16~)

事務支援員 河 口 美 江
(2011.4.16~2011.7.31)

行動・代謝分子解析センター

遺伝子改変動物作製室

准 教 授 平 林 真 澄
助 教 富 田 江 一
(~2011.6.30)

技術支援員 糸 川 貴 世
" 山 内 恵 子
(2011.5.16~)

特 任 助 教 富 田 江 一
(2011.7.1~)

派遣職員:技術支援員 山 内 奈央子
技術支援員 田 村 千 尋

特別共同利用研究員 後 藤 哲 平
(2011.4.1~)

代謝生理解析室

教授 (併任) 箕 越 靖 彦

准教授 (併任) 山 中 章 弘

行動様式解析室

客 員 教 授 宮 川 剛
准教授 (併任) 木 村 透
特任准教授 高 雄 啓 三

技術支援員 大 吉 とみ枝
(~2012.3.31)
特任専門員 木 瀬 環

多次元共同脳科学推進センター

技術支援員 岩 月 美 緒
 " 今 井 篤 子
 " 石 川 美 香
 (2011.4.16～)

技術支援員 中木原 敦 子
 (2011.4.16～)
 事務支援員 高 松 香
 特別訪問研究員 林 愛

事務支援員 土 井 優

脳科学新領域開拓研究室

教授(併任) 井 本 敬 二
 " 鍋 倉 淳 一
 客員教授 宮 田 卓 樹
 " 西 田 眞 也
 " 曾 良 一 郎

客員教授 銅 谷 賢 治
 " 高 橋 良 輔
 " 持 田 澄 子
 " 桃 井 眞里子
 客員准教授 酒 井 邦 嘉

脳内情報抽出表現研究室

教授(併任) 伊 佐 正
 客員教授 川 人 光 男
 " 横 井 浩 史

客員教授 北 澤 茂
 " 佐 倉 統
 " 加 藤 天 美

霊長類脳基盤研究開発室

教授(併任) 南 部 篤
 " 山 森 哲 雄
 客員教授 高 田 昌 彦
 " 小 林 和 人
 " 笹 井 芳 樹
 特任助教 小 松 勇 介
 技術支援員 平 山 由 香
 " 高 藤 充 絵
 (～2011.5.20)

技術支援員 梶 谷 智 樹
 (2011.6.13～)
 " 高 橋 陽 一
 (2011.8.15～)
 研 究 員 畑 克 介
 " 高 司 雅 史
 " 竹 田 悠 太

NBR事業推進室

教授(併任) 伊 佐 正
 特任准教授 稲 垣 晴 久
 研 究 員 山 根 到

研 究 員 浜 井 美 弥
 事務支援員 岡 本 友 紀

流動連携研究室

客員教授 最 上 秀 夫
 (2011.4.1～2011.9.30)

客員助教 宮 崎 太 輔
 (2011.4.1～2011.9.30)

脳機能計測・支援センター

形態情報解析室

准 教 授 村 田 和 義
 助 教 古 家 園 子

技術支援員 林 めぐみ

技術支援員 伊藤直子
(2012.3.1～2012.3.31)

生体機能情報解析室

教授(併任) 定藤規弘
准教授 達本徹

技術支援員 村井理絵
(～2012.3.31)

多光子顕微鏡室

教授(併任) 鍋倉淳一

准教授 村越秀治
(2011.7～)

岡崎共通研究施設

(生理学研究所関連)

岡崎統合バイオサイエンスセンター

時系列生命現象研究領域

(神経分化研究部門 併任)

戦略的方法論研究領域

(ナノ形態生理研究部門 併任)

生命環境研究領域

(細胞生理研究部門 併任)

動物実験センター

准教授 木村透
事務支援員 坂本愛
(2011.5～)

浦川裕乃
技術支援員 松永知子
(～2012.1.31)

水野みどり

井上久子

松永ゆう子

古山真基子
(2012.2～)

技術支援員 不退久恵
榎藤清志
(～2011.4.30)

鈴木敏文

塚本裕子
(2011.5～)

原佳恵
(2011.11.6～)

動物実験コーディネータ室

特任教授 佐藤浩

事務支援員 鈴木邦子

技術課

課長 大河原浩

研究系技術班

班長 市川修

分子生理研究系技術係

係長 佐治俊幸
係員 山本友美

係員 小池崇子

細胞器官研究系技術係

係 長 山 口 登
係 員 福 田 直 美

係 員 高 橋 直 樹

生体情報研究系技術係

係 員 森 将 浩
" 高 木 正 浩

係 員 石 原 博 美

統合生理研究系技術係

主 任 竹 島 康 行

係 員 佐 藤 茂 基

大脳皮質機能研究系技術係

係 長 伊 藤 嘉 邦

係 員 神 谷 絵 美

発達生理学研究系技術係

係 長 戸 川 森 雄
主 任 齊 藤 久美子

係 員 吉 友 美 樹

研究施設技術班

課長補佐(班長) 小 原 正 裕

脳機能計測・支援技術係

係 長 前 橋 寛

係 員 山 田 元

情報処理・発信技術係

係 長 永 田 治
主 任 吉 村 伸 明

係 員 村 田 安 永

動物実験技術係

係 長 伊 藤 昭 光
主 任 廣 江 猛

係 員 窪 田 美津子

行動・代謝分子解析技術係

係 長 加 藤 勝 己

係 員 三 寶 誠

多次元共同脳科学推進技術係

係長(併任) 加 藤 勝 己

特定技術職員 木 瀬 環

技術支援員 伊 藤 磯 子

" 犬 塚 小百合

" 岩 瀬 恵

技術支援員 松 永 知 子
(~2012.1.31)

" 水 野 みどり

" 高 田 和 子

技術支援員	澤	栄 恵
"	大 西	皆 子
"	浅 井	友理子
"	田 中	美 穂
"	福 田	阿由子
"	大 場	多津子
"	宮 本	香 奈
"	安 井	尚 美
"	石 神	久美子
"	永 谷	恵
"	村 井	理 絵
"	不 退	久 恵
"	松 永	ゆう子

事務支援員	向	和 子
"	松 澤	敬 子
"	浅 井	明 代
"	坂 本	愛
"	柴 田	利 江
"	小 澤	祐 子
"	芝 村	賞 子

技術支援員	三ツ井	康 雄
"	林	めぐみ
"	鈴 木	由 美
"	大久保	三 奈
"	井 上	久 子
"	鈴 木	敏 文
"	内 藤	千津江 (2011.11.1～)
"	原	佳 枝 (2011.11.16～)
"	古 山	真基子 (2012.2.1～)

事務支援員	長 尾	法 子
"	大和田	みゆき
"	浦 川	裕 乃
"	高 松	香
"	内 山	千保美
"	澤 内	和 子 (2011.6.1～2011.11.30)

【 研 究 活 動 報 告 】

研究活動報告

〔 目 次 〕

分子生理研究系

神経機能素子研究部門	12

概 要

スプライシングの違いによりオーファン代謝型受容体蛋白と分泌蛋白がつくられる Prnt3 の機能解明に向けた,

遺伝子破壊ヘテロマウスを用いた行動解析

(山本友美, 久保義弘, 服部聡子, 宮川 剛, 中尾和貴, 清成 寛)

ムスカリン受容体の活性化に対する膜電位の効果

(立山充博, 久保義弘)

Gq 蛋白質による受容体活性化構造安定化作用の解析

(立山充博, 久保義弘)

KCNE3 による KCNQ1 機能調節に重要なフェニルアラニン残基の機能解析

(中條浩一, 久保義弘)

タンデムコンストラクトによる KCNQ1-KCNE1 チャネルの活性化機構の解析

(中條浩一, 久保義弘)

全反射赤外分光法によるイオンチャネル機能の解析

(中條浩一, 久保義弘, 塚本寿夫, 古谷祐詞)

ATP 受容体チャネル P2X₂ 三量体の活性化時のシグナルフローとサブユニットの寄与の

3 タンデムリピートコンストラクトを用いた解析

(Batu Keceli, 久保義弘)

ATP 受容体チャネル P2X₂ の活性化時の構造変化の Cys accessibility 解析

(Batu Keceli, 久保義弘)

分子神経生理研究部門	16

概 要

グリア細胞の発生・分化

(臼井紀好, 池中一裕)

オリゴデンドロサイトの機能と病態

(田中謙二, 清水崇弘, Wilaiwan Wisessmith, 池中一裕)

アストロサイトの機能と病態

(稲村直子, 田中謙二, 杉尾翔太, 池中一裕)

神経幹細胞の生成と維持

(等 誠司, 石野雄吾, 橋本弘和, 池中一裕)

N 結合型糖鎖の構造決定と機能解析

(吉村 武, 鳴海麻衣, 等 誠司, 小池崇子, 伊藤磯子, 池中一裕)

ナノ形態生理研究部門	18

概 要

細胞器研究系

生体膜研究部門	19

概 要

PSD-95 パルミトイル化酵素によるシナプス機能制御

(深田優子, 深田正紀)

新規パルミトイル化基質 Neurochondrin の同定と性状解析 (奥慎一郎, 深田優子, 深田正紀)	
てんかん関連リガンド LGI1 の作用機構の解析 (横井紀彦, 大川都史香, 深田正紀, 深田優子)	
LGI ファミリー分子, LGI2 の生理機能の解明 (深田優子, 深田正紀, Hannes Lohi)	
辺縁系脳炎における抗 LGI1 抗体の作用機構の解明 (大川都史香, 深田優子, 渡邊 修, 深田正紀)	
機能協関研究部門	21
概 要	
低浸透圧条件下において脳内に分泌されるバソプレシンの役割の解明 (佐藤かお理, 岡田泰伸, 沼田朋大, 斉藤 健, 上田陽一)	
「Ca ²⁺ ナノドメイン」を介する細胞容積感受性外向整流性アニオンチャネル (VSOR) 活性化機構の発見 (秋田天平, 岡田泰伸, Fedorovich Sergei V)	
成熟哺乳類網膜組織培養法の確立と網膜神経回路の解析 (森藤 暁, 小泉 周)	
CFTR アニオンチャネルのボアの ATP 水解/非水解依存性の構造変化 (岡田泰伸, KRASILNIKOV Oleg V, SABIROV Ravshan Z)	
神経細胞構築研究部門	23
概 要	
細胞体と軸索における脂質組成比較, 及び軸索内における脂質分子勾配 (梁 賢正, 瀬藤光利)	
灰白質と白質の境界部における脂質組成変化 (由木 大, 瀬藤光利)	
細胞生理研究部門	24
概 要	
TRPM2 のインスリン分泌機構への関与の解析 (内田邦敏, 富永真琴)	
TRPA1 活性化機構の解析 (内田邦敏, 富永真琴)	
糖尿病神経症への TRPV1 関与の解析 (Violeta Ristoiu, 柴崎貢志, 内田邦敏, 周 一鳴, 富永真琴)	
カエル TRP チャネルの遺伝子クローニングと機能解析 (齋藤 茂, 福田直美, 富永真琴)	
食道上皮細胞 TRPV4 による機械・温度刺激受容と ATP 放出 (三原 弘, Ammar Boudaka, 富永真琴)	
睡眠覚醒を調節する神経回路の動作原理解明 (山中章弘, 田淵紗和子, 常松友美)	
様々な細胞種に光遺伝学を適用できる遺伝子改変マウスの作製 (常松友美, 山中章弘)	

生体情報研究系

感覚認知情報研究部門	28
概 要	
下側頭葉皮質における光沢選択性ニューロンの性質 (西尾亜希子, 郷田直一, 小松英彦)	
質感表現の神経メカニズムにおける初期視覚系の寄与の研究 (伊藤 南)	

触覚経験が視覚的素材カテゴリー弁別に与える影響

(横井 功, 橘 篤導, 小松英彦, 南本敬史)

fMRI によるサル視覚野における光沢応答領域と顔応答領域・物体応答領域との比較

(岡澤剛起, 郷田直一, 小松英彦)

サル下側頭皮質の色選択性応答に対する輝度コントラスト変化の影響

(波間智行, 小松英彦)

2 色型色盲ザルの色覚特性の行動的研究

(横井 功, 岡澤剛起, 小松英彦, 鯉田孝和, 宮地重弘)

神経シグナル研究部門 30

概 要

大脳基底核からの抑制性出力による情報伝達機構の解明

(加勢大輔, 井本敬二)

蛋白質リン酸化によるシナプス可塑性, 学習・記憶の制御

(山肩葉子, 柳川右千夫, 井本敬二)

ジストニア病態モデルマウス *Atp1a3*^{+/−} のシナプス伝達特性

(佐竹伸一郎, 井本敬二, 川上 潔, 池田啓子)

脊髄における痒み情報の伝達と調節機構の解明

(歌 大介, 井本敬二, 古江秀昌)

痛覚伝達の *iv vivo* 中枢性抑制機構の解明

(古江秀昌, 杉山大介, 井本敬二, Pickering Anthony Edward)

発達障害における行動介入の神経科学的分析と応用

(宍戸恵美子, 井本敬二)

神経分化研究部門 33

概 要

大脳皮質二次視覚野の経験依存的発達

(石川理子, 吉村由美子)

大脳皮質の選択的神経結合形成におけるクラスター型プロトカドヘリン群の関与

(足澤悦子, 吉村由美子, 平山晃斉, 八木 健)

神経回路網を解析するための糖タンパク質欠損狂犬病ウイルスベクターの開発

(森 琢磨, 吉村由美子)

ゼブラフィッシュ脊髄・脳幹運動系神経回路の機能解析

(木村有希子, 佐藤千恵, 東島眞一)

統合生理研究系

感覚運動調節研究部門 36

概 要

随意運動中における体性感覚誘発電位成分の短潜時成分・長潜時成分の関係性

(中田大貴, 坂本貴和子, 湯本真人, 柿木隆介)

伝記的情報の事前提示が顔刺激への脳磁場反応に与える影響

(辻本悟史, 横山武昌, 野口泰基, 喜多伸一, 柿木隆介)

運動遂行時の視覚-体性感覚-運動統合

(和坂俊昭, 柿木隆介)

変化に関連した自動的反応としての聴覚 N1

(西原真理, 乾 幸二, 元村英史, 大鶴直史, 牛田享宏, 柿木隆介)

強度変化に対する体性感覚野応答に先行刺激が与える影響

(大鶴直史, 乾 幸二, 山代幸哉, 浦川智和, Sumru Keceli, 柿木隆介)

体性感覚における時間統合窓

(山代幸哉, 乾 幸二, 大鶴直史, 浦川智和, 柿木隆介)

輪郭や内部のパーツが倒立した際の顔認知への影響 (三木研作, 竹島康行, 渡邊昌子, 本多結城子, 柿木隆介)	
携帯音楽プレーヤーが周波数特異性に与える影響 (岡本秀彦, Teismann Henning, 柿木隆介, Pantev Christo)	
視覚認識における特徴統合の神経メカニズムに関する研究 (野口泰基, 下條信輔, 柿木隆介, 實珠山稔)	
音源位置変化に対する自動変化関連脳活動 (秋山理沙, 山代幸哉, 乾 幸二, 柿木隆介)	
近赤外分光法による生後 7-8 ヶ月児の母親顔に対する脳活動 (仲渡江美, 大塚由美子, 金沢 創, 山口真美, 本多結城子, 柿木隆介)	
ヒト聴覚皮質における変化関連応答 (山代幸哉, 乾 幸二, 大鶴直史, 柿木隆介)	
乳児における笑顔と怒り顔への異なるヘモグロビン血流量の反応 —近赤外分光法による検討— (仲渡江美, 大塚由美子, 金沢 創, 山口真美, 柿木隆介)	
視覚誘発神経反応の注意変調の動的特性 (木田哲夫, 乾 幸二, 田中絵実, 柿木隆介)	
刺激の大きさが脳内視覚性運動情報処理に与える影響について: 脳磁図による検討 (浦川智和, 金桶吉起, 柿木隆介)	
刺激の大きさおよびコヒーレンスが視覚性運動検出に与える影響 (浦川智和, 乾 幸二, 柿木隆介)	
表情変化に対する誘発脳波の発達による変化 (三木研作, 渡邊昌子, 照屋美加, 竹島康行, 浦川智和, 平井真洋, 本多結城子, 柿木隆介)	
視覚特徴統合における非線形特徴協働効果の神経機構 (木田哲夫, 田中絵実, 竹島康之, 柿木隆介)	
速度情報を伴わないヒト脳での運動方向処理: ランダムドット仮現運動刺激による脳磁場研究 (岡さち子, 浦川智和, 柿木隆介, 金桶吉起)	
生体システム研究部門	44
概 要	
運動課題遂行中のマカサル運動野および体性感覚野のフラビンイメージング (畑中伸彦, 高良沙幸, 金子将也, 南部 篤)	
大脳基底核—視床—大脳皮質ループにおける運動制御機構 (知見聡美, 南部 篤, 川口泰雄, 木村 實)	
光遺伝学を利用した大脳皮質—線条体経路の神経生理機能の解明 (佐野裕美, 知見聡美, 南部 篤, 加藤成樹, 小林憲太, 小林和人)	
光遺伝学を利用した線条体投射ニューロンの神経生理機能の解明 (佐野裕美, 南部 篤, 田中謙二)	
マーモセット大脳皮質 3a 野における神経生理学および解剖学的解析 (瀧澤大輔, 畑中伸彦, 南部 篤)	
BMI 駆動型脳深部刺激療法の開発 (高良沙幸, 南部 篤, 西村幸男)	
大脳基底核出力核に置ける興奮性・抑制性の活動調節 (金子将也, 畑中伸彦, 橘 吉寿, 南部 篤)	
視覚情報を運動発現に変換する神経回路の解明 (高原大輔, 南部 篤, 星 英司, 高田昌彦)	
計算神経科学研究部門	47
概 要	
シナプス統合における Dale 則の破れと前シナプス制御の影響に関する研究 (渡辺啓生, 合原一幸)	
神経細胞の異常な同期状態の緩和について (西川 功, 合原一幸)	

大脳皮質機能研究系

脳形態解析研究部門	49
概 要	
シナプスを取り巻く微細構造空間のシナプス伝達特性への影響	
(松井 広, Timotheus Budisantoso, 深澤有吾, 重本隆一)	
Calyx of Held シナプス成熟過程における受容体配置の変化と機能	
(原田春美, 釜澤尚美, 松井 広, 重本隆一)	
シナプス接着因子 Neuroligin/Neurexin を標的とした自閉症モデル動物の評価・確立	
(Wen-Hsin Chang, Nur Farehan Mohamed Asgar, 田渕克彦)	
シナプス-グリア複合環境の動的変化による情報伝達制御	
(松井 広)	
細胞種選択的にチャネルロドプシン 2 を発現した遺伝子改変マウスの開発	
(松井 広, 佐々木拓哉)	
グリア細胞刺激による神経活動および個体行動の制御	
(佐々木拓哉, 別府 薫, 深澤有吾, 重本隆一, 松井 広)	
電位依存性カルシウムチャンネルの神経細胞膜上分布	
(Laxmi Kumar Parajuli, 深澤有吾, 重本隆一)	
海馬における長期増強現象とグルタミン酸受容体の密度変化	
(深澤有吾, 重本隆一)	
大脳神経回路論研究部門	53
概 要	
大脳皮質 FS 細胞による錐体細胞抑制のドメイン限局性	
(窪田芳之, 荻部冬紀, 畑田小百合, 北 啓子, 川口泰雄)	
皮質抑制性介在細胞サブネットワークへの興奮性シナプス入力	
(大塚 岳, 川口泰雄)	
前頭皮質 5 層錐体細胞と抑制性細胞の結合特性	
(森島美絵子, 川口泰雄)	
前頭皮質第 1 層 GABA 作働性細胞の形態分化と選択的分子発現	
(荻部冬紀, 山口 登, 川口泰雄)	
前頭皮質と海馬傍領域をつなぐサブネットワークの多様性	
(平井康治, 川口泰雄)	
心理生理学研究部門	55
概 要	
二台の MRI 同時計測による主導的および応答的共同注意の神経基盤の解明	
(田邊宏樹, 小池耕彦, 岡崎俊太郎, 島田浩二, 吉原一文, 佐々木章宏, 定藤規弘)	
触覚と視覚による素材識別に関する神経基盤	
(北田 亮, 佐々木章弘, 岡本悠子, 荒田真美子, 河内山隆紀, 定藤規弘)	
経頭蓋直流電気刺激による脳卒中片麻痺患者の下肢運動機能の改善	
(田中悟志, 定藤規弘)	
援助行動の動因に関する神経基盤	
(川道拓東, 田邊宏樹, 高橋陽香, 定藤規弘)	
評判の神経基盤	
(川道拓東, 佐々木章宏, 高橋陽香, 田邊宏樹, 定藤規弘)	
前向き認知的再評価の神経基盤と主観的幸福感との関連	
(松永昌宏, 川道拓東, 吉原一文, 吉田優美子, 定藤規弘)	
右下前頭回の「読唇効果」への影響	
(山崎未花, 田中悟志, 菅原 翔, 定藤規弘)	
恐怖刺激による末梢体温の変化に関連する脳内機序	
(吉原一文, 田邊宏樹, 川道拓東, 小池耕彦, 山崎未花, 定藤規弘)	

- ゲームインタラクション中の頭部運動同期現象と自閉症傾向
(岡崎俊太郎, 大塩立華, 安梅勅江, 定藤規弘)
- 2 台の fMRI 同時計測による相互注視の神経基盤
(小池耕彦, 田邊宏樹, Jorge Bosch, 岡崎俊太郎, 佐々木章宏, 島田浩二, 吉原一文, 定藤規弘)
- 動作表象に関わる脳内ネットワーク
(佐々木章宏, 河内山隆紀, 杉浦元亮, 田邊宏樹, 定藤規弘)
- 音韻ループによって促進される外国語語彙学習時における右小脳と左紡錘状回の働き
(牧田 快, 山崎未花, 田邊宏樹, 河内山隆紀, 小池耕彦, 横川博一, 吉田晴世, 定藤規弘)
- 表情の相互模倣の神経基盤
(岡本悠子, 北田 亮, 高橋陽香, 八幡憲明, 吉田優美子, 河内山隆紀, 田邊宏樹, 定藤規弘)
- 予告効果における神経基盤: 機能的 MRI 研究
(吉田優美子, 田邊宏樹, 林 正道, 河内山隆紀, 定藤規弘)
- 小学生における睡眠時間と技能定着の関係
(菅原 翔, 田中悟志, 田中大介, 関あゆみ, 内山仁志, 岡崎俊太郎, 小枝達也, 定藤規弘)
- 単語学習に対する共同注意の効果の検討
(島田浩二, Hirotani Masako, 岡崎俊太郎, 田邊宏樹, 定藤規弘)
- 涙を付加したことによる悲しみ評定の変化とその神経基盤
(高橋陽香, 北田 亮, 佐々木章宏, 川道拓東, 定藤規弘)

発達生理学研究系

認知行動発達機構研究部門	62
概 要	
第一次視覚野損傷ザルにおける express saccade (吉田正俊, 高浦加奈, 伊佐 正)	
In vivo study of the ArchT-suppressing tecto-thalamo-striatal pathways in rat (Penphimon Phongphananee, Tadashi Isa)	
光遺伝学的手法を用いたサルの精密把持運動の制御 (木下正治, 伊佐 正)	
遺伝子導入による経路選択的伝達遮断法を用いたサル脊髄固有ニューロン機能の解析 (木下正治, 伊佐 正)	
サル運動野における脳活動信号を用いた電動義手の随意制御 (渡辺秀典, 伊佐 正, 西村幸男)	
第一次視覚野損傷後の視覚誘導性サッケードの制御に寄与する脳部位: PET による脳活動測定 (加藤利佳子, 吉田正俊, 伊佐 正)	
感覚フィードバック型 BMI の実現 (梅田達也, 伊佐 正, 西村幸男)	
神経活動依存的刺激による随意歩行機能再建 (笹田周作, 加藤健治, ステファン J グロイス, 門脇 傑, 宇川義一, 小宮山伴与志, 西村幸男)	
ブレインマシーンインターフェース技術を用いた運動・体性感覚機能の同時再建 (加藤健治, 笹田周作, 西村幸男)	
運動機能回復を支えるモチベーションの神経基盤 (澤田真寛, 尾上浩隆, 伊佐 正, 西村幸男)	
生体恒常機能発達機構研究部門	66
概 要	
in vivo 多光子顕微鏡を用いた大脳皮質神経細胞の微細構造の可視化 (加藤 剛, Kim Sun Kwang, 江藤 圭, 宮本愛喜子, 石川達也, 鍋倉淳一)	
幼若期大脳皮質における GABA ニューロンの移動とそのメカニズムの解明 (稲田浩之, 鍋倉淳一)	

<i>in vivo</i> 多光子顕微鏡を用いたミクログリアによる大脳皮質神経回路再編機構の解析 (宮本愛喜子, 江藤 圭, 加藤 剛, 鍋倉淳一)	
In Vivo 多光子顕微鏡を用いた慢性疼痛形成期における大脳皮質体性感覚野神経回路再編 (金 善光, 江藤 圭, 稲田浩之, 石川達也, 鍋倉淳一)	
細胞内 Cl^- 制御分子 KCC2 の発現制御と生体機能 (Andrew Moorhouse, 鍋倉淳一)	
伝達物質のスイッチングのメカニズムと細胞応答 (山口純弥, 中畑義久, 石橋 仁, 鍋倉淳一)	
発達期の聴覚中継路におけるモノアミンの神経回路機能に対する役割の解明 (平尾顕三, 石橋 仁, 鍋倉淳一)	
生殖・内分泌系発達機構研究部門	69
概 要	
非放射性 2-デオキシグルコースを用いたグルコース利用速度測定法の開発 (斉藤久美子, 箕越靖彦)	
DNA メチル化による転写調節因子 SF-1/AD4BP の視床下部腹内側核ニューロン特異的発現機構 (岡本土毅, 箕越靖彦, Marit Bakke, Ulrich Boehm, 諸橋憲一郎)	
視床下部弓状核 AgRP ニューロンにおける PDK1-FOXO1 の調節機構 (岡本土毅, 箕越靖彦, 中江 淳)	
非 B リンパ球の発達に及ぼす飢餓の影響とレプチンの中樞作用が果たす役割 (戸田知得, 箕越靖彦, 小川佳宏)	
AMPK α 2 サブユニットと AMPK キナーゼ CaMKK2 の X 線結晶解析 (戸田知得, 箕越靖彦, 横山茂之)	
環境適応機能発達研究部門	71
概 要	
グレリンによる β 細胞 cAMP シグナルを介したグルコース誘発インスリン分泌抑制 (出崎克也, Boldbaatar Damdindorj, 矢田俊彦)	
オキシトシンの末梢投与による抗肥満・抗メタボリックシンドローム効果 (前島裕子, 岩崎有作, Sedbazar Udval, 矢田俊彦)	
個別研究・特別研究	
個別研究 (村上グループ)	73
概 要	
唾液分泌における傍細胞輸送と細胞内信号による調節 (村上政隆, 魏 飛, 成田貴則, 福島美和子, 橋本貞充, 渋川義幸, 佐藤正樹)	
種々の漢方薬の灌流ラット顎下腺に対する水分分泌促進機構 (村上政隆, 魏 飛, 王 平, 魏 睦新)	
個別研究 (大橋グループ)	74
概 要	
エンドソーム-ゴルジ細胞内膜系の選別輸送のメカニズムと発生シグナル制御 (大橋正人, 木下典行)	
個別研究 (毛利グループ)	75
概 要	
ウニ卵受精時の Ca^{2+} 増加, ミトコンドリアの活性化, 一酸化窒素遊離, 細胞内 ATP 変化 (毛利達磨, 広橋教貴, 経塚啓一郎)	
個別研究 (樫原グループ)	75
概 要	
生後ラット運動神経細胞のチャネル発現 (樫原康博, 野村智美)	

特別研究 (永山グループ)	76
概 要	
電子顕微鏡用位相板開発	
(永山國昭)	
位相板応用	
(永山國昭)	

行動・代謝分子解析センター

遺伝子改変動物作製室	78
概 要	
ラット人工多能性幹 (iPS) 細胞の樹立	
(平林真澄)	
大脳皮質第一次視覚野上に存在する遠近感の認知に必須の機能ユニット	
「眼優位カラム」の形成メカニズムの解明に向けて	
(富田江一, 三宝 誠)	

代謝生理解析室	79
概 要	
TRP チャネルが担う中枢性呼吸調節機構の解明	
(平田 豊, 鈴木喜郎, 富永真琴)	
視床下核アストロサイトによる運動制御機構の電気生理的解析	
(和中明生, 辰巳晃子, 奥田洋明, 佐野裕美, 南部 篤)	
慢性疼痛における大脳皮質感覚野内応答領域の探索	
(Kim Sun Kwan, 江藤 圭, 鍋倉淳一)	
エネルギー消費機構における褐色脂肪組織, 骨格筋, 交感神経の生理学的意義	
(高木一代, 箕越靖彦)	
視床下部オレキシン神経の代謝生理における役割について	
(山中章弘)	

行動様式解析室	81
概 要	
マウスを用いた脳表現型データベースの開発と応用	
(高雄啓三, 宮川 剛)	
C57BL/6 亜系統マウスの行動特性解析	
(高雄啓三, 宮川 剛)	
Schnrri-2 欠損マウスの脳表現型解析	
(高雄啓三, 宮川 剛)	

多次元共同脳科学推進センター	83
概 要	

脳機能計測・支援センター

形態情報解析室	84
概 要	
クライオ位相差電顕トモグラフィーによる興奮収縮連関の構造的基盤の解明	
(村田和義, 國安明彦)	

消化管機能における小腸絨毛上皮下線維芽細胞の役割の解析 (古家園子)	
生体機能情報解析室	85
概 要	
大脳皮質フィールド電位における律動波の研究 (達本 徹)	
多光子顕微鏡室	85
概 要	
シナプス内キナーゼ分子の活性化可視化解析 (村越秀治)	
光制御可能な CaMKII 阻害分子の開発とシナプス可塑性研究への応用 (村越秀治)	
動物実験センター	87
概 要	
技術課	90
概 要	
(大河原浩)	
施設の運営状況	
①統合生理研究系	
(1) 生体磁気計測装置 (竹島康行)	
②脳機能計測・支援センター	
(1) 形態情報解析室 (山田 元, 加藤勝己)	
(2) 生体機能情報解析室 (佐治俊幸, 山本 忍)	
(3) 多光子顕微鏡室 (前橋 寛)	
(4) 電子顕微鏡室 (生理研・基生研共通施設) (小原正裕, 山田 元)	
(5) 機器研究試作室 (生理研・基生研共通施設) (佐治俊幸)	
③情報処理・発信センター	
(1) ネットワーク管理室 (吉村伸明, 村田安永)	
④岡崎共通研究施設	
(1) 動物実験センター (伊藤昭光, 廣江 猛, 窪田美津子)	

分子生理研究系

神経機能素子研究部門

【概要】

イオンチャネル, 受容体, G 蛋白質等の膜関連蛋白は, 神経細胞の興奮性とその調節に重要な役割を果たし, 脳機能を支えている。本研究部門では, これらの神経機能素子を対象として, 生物物理学的興味から「その精妙な分子機能のメカニズムと動的構造機能連関についての研究」に取り組み, また, 神経科学的興味から「各素子の持つ特性の脳神経系における機能的意義を知るための個体・スライスレベルでの研究」を進めている。

今年度, これまでに引き続き, 神経機能素子の遺伝子の単離, 変異体の作成, tag の付加等を進め, 卵母細胞,

HEK293 細胞等の遺伝子発現系における機能発現の再構成を行った。また, 2 本刺し膜電位固定法, パッチクランプ等の電気生理学的手法, 細胞内 Ca^{2+} イメージング・全反射照明下での FRET 計測や, 一分子イメージング等の光生理学的手法, 細胞生物学的研究手法により, その分子機能調節と構造機能連関の解析を行った。また, 外部研究室との連携により, 遺伝子改変マウスの作成も継続して進めている。以下に, 今年度行った研究課題とその内容の要約を記す。

スプライシングの違いによりオーファン代謝型受容体蛋白と分泌蛋白がつけられる Prrt3 の機能解明に向けた, 遺伝子破壊ヘテロマウスを用いた行動解析

山本友美, 久保義弘

服部聡子, 宮川 剛 (藤田保健衛生大学総合医科学研究所システム医科学)

中尾和貴 (理研 CDB, 東大院医), 清成 寛 (理研 CDB)

我々は, スプライシングの違いにより同一遺伝子から, オーファン代謝型受容体 (Long-Prrt3) と, その N 末端の細胞外部分のみからなる分泌蛋白 (Short-Prrt3) の両方がつけられる機能未知の新規分子 Prrt3 の解析に取り組んでいる。機能に関する手がかりを得るために, 昨年度, B6 マウス由来の ES 細胞を用いて, Prrt3 遺伝子破壊 (KO) マウスの作成を行った。KO ホモマウスは, 同腹の仔に比して顕著に成長が遅れ, 1 週間以内にほとんどすべてが死亡したが, 早い時点で KO ホモマウス以外の仔を除いて飼育すると, まれに成体まで生育した。KO ヘテロマウスは順調に生育するため, 今年度, 週齢の揃った十分な個体数を確保し, KO ヘテロマウスの網羅的行動解

析を行った。

その結果, Barnes maze 試験において, 空間記憶自体には異常はみられないが, その長期保持が, 野生型に比して有意に低下していることが明らかになった。さらに, 恐怖条件付け試験においても, 恐怖条件付け自体には異常は見られないが, その長期保持が, 野生型に比して有意に低下していることが明らかになった。

破壊された Prrt3 遺伝子座に挿入された LacZ 遺伝子は, 海馬の錐体細胞と小脳のプルキンエ細胞に最も強い発現が見られたことと併せて, 今後, 機能解明に向けたさらなる解析を行う計画である。

ムスカリン受容体の活性化に対する膜電位の効果

立山充博, 久保義弘

ムスカリン受容体 1 型 (M1R) は神経伝達物質の一種アセチルコリンの代謝型受容体であり, Gq 蛋白質を介してシグナルを細胞内に伝達する。近年, M1R を介するシグナル伝達が膜電位の影響を受けることが報告され, 受容体構造が膜電位により変化するという可能性が示された。そこで, 我々は, M1R の活性状態をレポートするコンストラクトを作製して, 受容体活性化に対する膜電位の影響について検討した。コンストラクトは, M1R の細胞内第 3 ループ (i3) と C 末端 (tail) にそれぞれ YFP と CFP という蛍光蛋白質を付加した (m1R-i3-YFP/tail-CFP) コンストラクトで, リガンドとの結合により蛍光共鳴エネルギー遷移 (FRET) 効率の減少を示した。この FRET 変化は受容体の活性化に対応すると考えられたことから,

m1R-i3-YFP/tail-CFP を発現している細胞に whole cell patch clamp を適用し, 膜電位制御下での FRET 効率の変化を記録した。リガンドがない場合, 脱分極や過分極による FRET 効率の変化は認められなかった。この結果は, 膜電位の変化は受容体を活性化しないという結果と矛盾しない。一方, リガンドによる FRET 減少は, 脱分極により増大し過分極により減弱した。また, 高時間分解能 FRET 解析から, リガンド結合による FRET 減少は脱分極時に促進されるが, リガンド除去による FRET 回復は膜電位の影響を受けないことが明らかとなった。以上の結果から, M1R の活性化構造への移行が脱分極時に促進されることが示唆された。

Gq 蛋白質による受容体活性化構造安定化作用の解析

立山充博, 久保義弘

7 回膜貫通型受容体は, リガンド結合により活性化され G タンパク質を介して細胞内へシグナルを伝達する。これまでの放射性リガンドを用いた結合実験から, 受容体の活性化構造はリガンド結合により安定化するが, さらに G 蛋白質と結合することでより安定化すると考えられている。そこで, リガンド結合による各種 Gq 結合型受容体の構造変化を蛍光共鳴エネルギー遷移 (FRET) 効率変化として捉えることにより, 活性化構造への Gq 蛋白質の影響を検討した。受容体としてムスカリン受容体 3 型 (M3R), 代謝型プリン受容体 1 型 (P2Y₁R), neurokinin 受容体 1 型 (NK1R) を用い, それぞれの細胞内第 3 ループ (i3) に YFP という蛍光蛋白質を付加したコンストラ

クトを作製し Gq 蛋白質と機能的に結合することを, 先ず, 検討した。その結果, M3R と P2Y₁R のコンストラクトが Gq 蛋白質との機能的結合を示した。そこで, M3R と P2Y₁R の各コンストラクトの C 末端に, さらに, 蛍光蛋白質 CFP を付加し FRET 変化を観察した。両コンストラクトとも, リガンド投与による FRET 効率の減少を示したが, Gq 蛋白質の共発現により M3R では FRET 減少が増大し P2Y₁R では変化しなかった。この結果は, Gq 蛋白質は M3R の活性化構造を安定化するが, P2Y₁R の活性化構造には影響を与えないということを示唆するものである。この差異の分子基盤について, 今後解析を進める計画である。

KCNE3 による KCNQ1 機能調節に重要なフェニルアラニン残基の機能解析

中條浩一, 久保義弘

電位依存性カリウムチャネルの KCNQ1 チャネルは,

腸などにおいて KCNE3 タンパク質と複合体を構成し,

電位依存性を失った常時開状態のカリウムチャネルを構成する。前年度までにヒト KCNQ1 チャネル S1 セグメント上に並ぶフェニルアラニン Phe127, Phe130 が、特に KCNE3 による機能修飾に重要な働きを持つことを明らかにした。KCNE3 はこれらのフェニルアラニン残基と相互作用することで、KCNQ1 チャネルを開状態に安定化していると考えられる。引き続きこれらフェニルアラニ

ン残基の変異体解析を行った。F127A/F130A, F127L/F130L, F127V/F130V 等の二重変異体により、KCNE3 による機能修飾作用は完全に失われた。一方これらの変異体は KCNE1 に対してはほとんど効果がなかった。KCNQ1 に対し、KCNE1 と KCNE3 が異なる領域を標的とし、それによって機能が大きく異なっていることを明らかにすることができた。

タンデムコンストラクトによる KCNQ1-KCNE1 チャネルの活性化機構の解析

中條浩一, 久保義弘

電位依存性カリウムチャネル KCNQ1 は、心臓において1回膜貫通型のタンパク質 KCNE1 とイオンチャネル複合体を構成し、心筋の興奮性制御に寄与している。これまでに我々は、各イオンチャネル複合体中に含まれる KCNE1 サブユニットの数を直接数えることに成功し、その結果4量体の KCNQ1 チャネルに結合する KCNE1 サブユニットの数は0-4個とフレキシブルであること、KCNE1 の結合数は KCNQ1 と KCNE1 の相対発現密度に依存することを示した。この相対発現密度依存的なストイキオメトリの変化がチャネル機能に与える影響を、KCNE1 と KCNQ1 を直鎖上につないだタンデムコンストラクトを作成することにより解析した。ストイキオメ

リーが4:4になる KCNE1-KCNQ1 (EQ) コンストラクトは膜電位依存性が大きく脱分極側にシフトしており、非常に開きにくい。一方4:2になる KCNE1-KCNQ1-KCNQ1 (EQQ) コンストラクトは野生型の KCNQ1 と KCNE1 に近い性質を示した。また KCNE1 と KCNQ1 の間をつなぐリンカーを18アミノ酸から300アミノ酸の範囲で変化させたところ、EQ, EQQ ともに活性化のキネティクスはリンカーが長くなるほど遅くなる傾向を示した。このリンカー依存的なチャネルキネティクスの変化が、KCNE1 と KCNQ1 間の相互作用の膜電位依存的変化に由来するものであるかどうか、引き続き検討していく予定である。

全反射赤外分光法によるイオンチャネル機能の解析

中條浩一, 久保義弘

塚本寿夫, 古谷祐詞 (分子科学研究所)

赤外分光法はタンパク質のイオン結合状態を赤外差スペクトルの取得により解析する非常に鋭敏な方法で、ロドプシンを中心とした構造機能連関研究に大きな成果を上げてきている。この方法をイオンチャネル、特に哺乳類のイオンチャネルに適用し、イオンの透過機構や分子間相互作用などを明らかにすることを目指した。赤外分光法はX線結晶構造解析ほどのタンパク質量は必要としないが、それでも哺乳類培養細胞等である程度効率良く細胞膜上に発現することを確認する必要がある。

本年度はこれまで中條が扱ってきた KCNQ1 について、GFP タグを用いた Fluorescence Detection Size Exclusion Chromatography (GFP-FSEC) を用いて、細胞膜におけるタンパク質発現を検討した。残念ながら、KCNQ1 は細胞膜上での発現が非常に少なく、KCNE1 を共発現してもあまり改善は見られなかった。今後 KCNQ1 を使用することは断念し、カリウムチャネルを中心に、X線結晶構造解析などで実績のあるイオンチャネルから候補を探す予定である。

ATP 受容体チャネル P2X₂ 三量体の活性化時のシグナルフローとサブユニットの寄与の 3 タンデムリピートコンストラクトを用いた解析

Batu Keceli, 久保義弘

我々は、これまでに、ATP 受容体チャネル P2X₂ が、ATP の結合と膜電位の変化を複合的に感知し活性化する受容体チャネルであることを明らかにしてきた。その活性化の機構、特に、二つの情報が分子内をどのように流れ、どのように集約されるのか、また、3 量体の 3 個のサブユニットのいくつがそのシグナルの流れに寄与するかは、興味深い課題である。この点にアプローチするためには、3 量体中に、数と位置を規定して変異を導入することが必要である。そこで、Uracil Specific Excision Reagentを用いる USER 法により、ATP 結合部位の K308A 変異、リンカー領域の D315A 変異、膜貫通部位の T339S 変異を数をコントロールして導入した tandem trimeric construct (TTC) を高効率に作成した。

(1) ATP 結合能を失う変異 K308A を、1, 2, 3 個導入した TCC を用いた実験により、ATP による活性化にも膜電位依存的活性化にも、2 個の ATP 結合部位が必要かつ充分であることが明らかになった。(2) ATP 結合部位とチャネルポアの存在する膜貫通部位をつなぐリンカー領

域に位置する D315 に、[ATP]- 応答関係に膜電位依存性の異なる 2 コンポーネントを出現させる D315A 変異を、1, 2, 3 個導入した TCC を用いた実験においても、1 個の変異では際だった変化がみられず、2 個の変異により、著しい変化が見られた。(3) 膜電位依存性を失いどの電位でも活性化できるようになる膜貫通部位の変異 T339S を、1, 2, 3 個導入した TCC を用いた実験においては、膜電位依存的活性化が、導入した変異の数により段階的に変化することが明らかになった。

以上の結果から、3 量体に対する 2 分子の ATP の結合情報が、リンカー部位までは 2 個のサブユニットをそのまま流れ、膜貫通部位において 3 つのサブユニットに均等に拡散することが示唆された。今後、K308A と T339S の 2 つの変異を、同一サブユニット上（シス）に導入した TCC と、異なるサブユニット上（トランス）に導入した TCC の性質を比較し、また、D315A と T339S についても同様の実験を行うことにより、P2X₂ 分子内の活性化シグナルの流れに関する結論を導く計画である。

ATP 受容体チャネル P2X₂ の活性化時の構造変化の Cys accessibility 解析

Batu Keceli, 久保義弘

P2X₂ は、ATP の結合により活性化される受容体チャネルに認識されてきたが、我々は、これまでに、P2X₂ が、ATP 投与後の定常状態において膜電位を変化させた時に膜電位依存的ゲーティングを示すこと、すなわち、P2X₂ が、ATP 結合と膜電位変化を統合的に感知し活性化することを見いだした。この機能解析の知見と合致するような、ATP 結合と膜電位変化に依存する動的構造変化の検出は興味深い課題である。そこで、我々は、構造変化を導入した Cys 残基の修飾の速さの差として捉える解析を行った。まず、zebrafish P2X₄ の結晶構造を元に作成した rat P2X₂ のホモロジーモデルを元に、構造変化を検出するのに至適の Cys 残基の導入位置を検証し、細胞外 ATP 結合部位と膜貫通部位を結ぶリンカー領域の D315

と、それに近接する I67 に Cys 残基を導入することとした。このコンストラクトでは、還元剤 DTT の投与により電流が増加し、Cys 間に架橋する Cd²⁺ の投与によって電流が減少した。この変化は、D315C 変異のみ、I67C 変異のみではみられなかったため、315C-67C 間でボンドが形成されて電流変化が起きていることが示された。さらに、前述の tandem trimeric construct (TTC) を用いた実験により、同一サブユニット上ではなく、隣同士のサブユニットの 315C と 67C がボンドを形成していることが示された。ATP 存在下で、P2X₂ が、活性化しやすい過分極電位、もしくは活性化しにくい脱分極電位に膜電位固定して Cd²⁺ を投与したところ、過分極では電流の変化が速く、脱分極では、電流の変化が遅かった。また、膜電位依存

性を示さない T339S 変異体で同様の実験を行ったところ、 Cd^{2+} 投与による電流変化の速さは、膜電位依存性を示さ

なかった。以上より、 P2X_2 が膜電位に依存する構造変化を示すことが明らかになった。

分子神経生理研究部門

【概要】

分子神経生理部門では哺乳類神経系の発生・分化、特に神経上皮細胞（神経幹細胞）からどのようにして全く機能の異なる細胞種（神経細胞、アストロサイト、オリゴデンドロサイトなど）が分化してくるのか、について研究を進めている。また、得られた新しい概念や技術は臨床研究への応用を視野に入れながら、病態の解析にも努力している。

脳神経系では他の組織とは異なり多様性が大である。大きさに言えば、神経細胞は一つ一つが個性を持っており、そのそれぞれについて発生・分化様式を研究しなければならない程である。また、均一であると考えられてきたグリア細胞にも性質の異なる集団が数多く存在する

ことも明らかとなってきた。そのため、他組織の分化研究とは異なり、細胞株や脳細胞の分散培養系を用いた研究ではその本質に迫るには限界がある。われわれは *in vitro* で得られた結果を絶えず *in vivo* に戻して解析するだけでなく、神経系の細胞系譜の解析や移動様式の解析をも精力的に行っている。

近年、成人脳内にも神経幹細胞が存在し、神経細胞を再生する能力を有することが明らかとなった。この成人における神経幹細胞数の維持機構についても研究している。

糖蛋白質糖鎖解析法を開発し極めて微量な試料からの構造解析が可能となった。脳内において、新しい糖鎖構造を発見し、その生理学的意義について検討している。

グリア細胞の発生・分化

臼井紀好, 池中一裕

中枢神経系において、神経細胞の多様性は発生期に形成されることが知られている。その一方でグリア細胞の発生メカニズム、発生起源、及び発生期に規定付けられる機能的多様性については未だ不明な点が多い。

本研究室ではグリア細胞の発生を規定する分子として *Olig2* 転写因子に着目し、グリア細胞の発生・分化機構

の解明を試みている。グリア細胞において *Olig2* がどのような分子機構で発生・分化を制御するかは未だ不明な点が多い。これらを解明するために *yeast two hybrid* 法や *in vitro pull down* 法により *Olig2* 結合蛋白質の解析を進めた。その結果、*Olig2* のリン酸化状態により、オリゴデンドロサイトの発生を制御していることが明らかとなった。

オリゴデンドロサイトの機能と病態

田中謙二, 清水崇弘, Wilaiwan Wisessmith, 池中一裕

脱髄疾患の慢性脱髄巣においては神経変性疾患と異なり、なぜ髄鞘再生が起きないかを知る必要がある。われわれは髄鞘再生中には発現するが、再生抑制時にはその発現が停止するシスタチン F に着目して研究している。

本年度はその遺伝子発現を人為的に操作できるマウスを作製した。現在シスタチン F 発現がない時、また過剰発現している時に脱髄症状がどのように変化するのか検討している。

アストロサイトの機能と病態

稲村直子, 田中謙二, 杉尾翔太, 池中一裕

近年, グルタミン酸と ATP がアストロサイトから放出され, シナプス伝達を調節することが提唱されているが, そのメカニズムについては不明な点が多い。東京大学廣瀬謙造教授の開発したプローブを用いて培養アストロサイトから放出されるグルタミン酸を可視化し, また名古屋大学曾我部正博教授のグループと共同で, ルシフェリン発光を利用し, 培養アストロサイトから放出される ATP の可視化にも成功した。薬理学的実験から ATP 放出には複合したメカニズムが関わっていることがわかった。今後は, ATP とグルタミン酸との同時測定が課題と

なった。また, アストロサイト系譜細胞に発現し, ヒトの白質ジストロフィー (MLC 病) の原因遺伝子の一つである MLC1 の機能解析を行った。Mlc1 過剰発現マウスを作成し解析するとヒト MLC 病に類似した表現系が認められた。また北海道大学渡辺雅彦教授, 生理学研究所深田正紀教授との共同研究より, Na^+/K^+ ATPase α サブユニットが Mlc1 と結合することを明らかにした。今後は, Mlc1 過剰発現により, Na^+/K^+ ATPase にどのような機能変化がおこるのかが課題となった。

神経幹細胞の生成と維持

等 誠司, 石野雄吾, 橋本弘和, 池中一裕

神経幹細胞は全ての神経細胞・グリア細胞の供給源であり, 脳の構築に非常に重要であるにも関わらず, その生成の分子機構は不明な点が多い。本グループでは神経幹細胞の誘導に Notch シグナルの活性が必須であることを明らかにしてきたが, その活性化には glial cells missing 1/2 遺伝子が担っていることを示した。この遺伝子は, Notch シグナルの下流で働く Hes5 遺伝子のプロモーター領域で, DNA メチル化を外すことによりエピジェネティックに遺伝子発現制御を行なっていることを明らかにし

た。

また, 神経幹細胞の増殖や分化に重要な遺伝子として Bre1 を同定した。この遺伝子はヒストンにユビキチン化を施すことで様々な遺伝子の発現をエピジェネティックに制御している。我々は, Bre1 の機能喪失により神経幹細胞の増殖や分化が抑制されることを, 培養下の神経幹細胞およびマウス発生期脳の神経幹細胞を用いて明らかにした。

N 結合型糖鎖の構造決定と機能解析

吉村 武, 鳴海麻衣, 等 誠司, 小池崇子, 伊藤磯子, 池中一裕

糖鎖を有する分子は細胞表面や細胞外に存在し, 細胞間相互作用やシグナル伝達に深く関わっている。これまでに我々は脳内糖鎖発現パターンが発生時期に劇的に変化することや, 大脳皮質の発達過程において劇的に変化する新規シアル酸化糖鎖構造が存在することを明らかにした。本年度は, 微量な試料からの N 結合型糖鎖の網羅的解析方法を確立し, この手法と SDS-PAGE を組み合わ

せて目的蛋白質に修飾されている N 結合型糖鎖を解析する方法を確立した (Yoshimura et al., Anal Biochem, 2012)。この解析法を用いて, 我々が見出した新規シアル酸化糖鎖構造の詳細な解析を行った。脳内 N 結合型糖鎖解析過程で Lewis X 糖鎖構造の合成に関わる新規フコシル基転移酵素 FUT10 を見出した。そして, FUT10 が Lewis X 糖鎖合成を制御し, 神経細胞移動に関与することを明らか

にした。また、中枢神経系および末梢神経系髄鞘の糖鎖の比較解析を行い、酸性糖鎖比率に大きな違いを見出し

た。末梢神経障害に関わる髄鞘糖蛋白質 P0 の糖鎖に着目し、その主要な糖鎖構造を明らかにした。

ナノ形態生理研究部門

【概要】

「構造と機能」という分子生物学のパラダイムは生物の機能が生体高分子、特に蛋白質の独自の構造によって支えられていることを明かにしてきた。本部門では細胞内超微小形態を高分解能、高コントラストで観察する新しい電子顕微鏡の開発を背景に細胞の「構造と機能」を研究している。その一つは、位相差電子顕微鏡の開発とその応用である。蛋白質複合体やウイルスの電子線構造解析，“複雑な”生物試料への Zernike 位相差法の応用、低

温トモグラフィーの生物応用を行っている。二つ目は、線形加速器を導入した加速電圧 500kV の Linac TEM による厚い生物試料の三次元観察である。本研究部門は、現在形態情報解析室の村田和義准教授が併任しており、前述の最先端機器は、計画共同研究“先端電子顕微鏡の医学・生物学応用”で使用されている。詳細は、形態情報解析室の項を参照。

細胞器研究系

生体膜研究部門

【概要】

AMPA 型グルタミン酸受容体は脳内の興奮性シナプス伝達の大部分を司る。当部門では AMPA 受容体の動態や機能を制御する機構を以下の 2 点に着目して解明し、シナプス可塑性およびてんかんなどの脳神経疾患発症のメカニズムの理解を目指す。

(1) パルミトイル化脂質修飾機構の全容解明

パルミトイル化修飾は、多くの蛋白質にみられる代表的な翻訳後脂質修飾であり、外界刺激に応答してシナプス蛋白質のシナプス膜局在を制御し、シナプス伝達効率や細胞内情報伝達を調節する。我々は独自に発見したパルミトイル化酵素群をツールにシナプス活動に応答した AMPA 受容体の動態制御機構および新規のパルミトイ

ル化基質蛋白質の同定とその性状解析を進めている。

(2) てんかん関連蛋白質 LGI1 によるシナプス伝達制御機構の解明およびてんかん病態機構の解明

我々はシナプス後部の足場蛋白質 PSD-95 の蛋白質複合体として同定したてんかん関連リガンド LGI1 の機能に関して精力的に解析を進めている。これまでに分泌蛋白質 LGI1 の脳内受容体として ADAM22 と ADAM23 を見出し、LGI1 が ADAM22 との結合を介して AMPA 受容体機能を増強することを見出している。一方、LGI1 欠損マウスにおいて AMPA 受容体を介したシナプス伝達が減弱し、致死性てんかんが必発することを見出している。以下に今年度行った研究課題とその内容の要約を記す。

PSD-95 パルミトイル化酵素によるシナプス機能制御

深田優子, 深田正紀

足場タンパク質 PSD-95 は AMPA 受容体をシナプス後部膜にアンカリングすることにより、興奮性シナプス伝達を制御する。これまでに、パルミトイル化酵素 P-PAT (DHHC2, 3, 7, 15) サブファミリーのうち DHHC2 がポストシナプスおよび樹状突起に局在し、その局在が神経活動抑制時にポストシナプス膜近傍に移動し、PSD-95 のパルミトイル化を促進することを見出した。今年度は

DHHC2 が細胞膜（シナプス膜）に直接挿入されることを見出し、パルミトイル化酵素が細胞膜で局所的に特殊な膜マイクロドメイン PSD を形成するのに重要な役割を担っていることを明らかにした。さらに、パルミトイル化 PSD-95 を特異的に認識する抗体の作製に成功し、初めて生細胞レベルでパルミトイル化 PSD-95 の動態を可視化することに成功した。

新規パルミトイル化基質 Neurochondrin の同定と性状解析

奥慎一郎, 深田優子, 深田正紀

蛋白質のパルミトイル化脂質修飾は外界刺激依存性に蛋白質の膜局在を制御する。私共は CSS-Palm 2.0 というパルミトイル化部位予測プログラムを利用して、*in silico* 解析によりパルミトイル化基質蛋白質をゲノムワイドに探索し、数多くの新規パルミトイル化基質を同定した。

これらの中で、シナプス可塑性や神経突起の伸長に重要な役割を果たす Neurochondrin に着目した。私共は Neurochondrin の責任酵素をパルミトイル化酵素ライブラリーからスクリーニングし同定した。さらに、Neurochondrin のパルミトイル化が Neurochondrin の細胞

内局在や神経突起の伸長活性に重要な役割を果たすことを見出した。

てんかん関連リガンド LGI1 の作用機構の解析

横井紀彦, 大川都史香, 深田正紀, 深田優子

当部門ではこれまでに、家族性側頭葉てんかんの原因遺伝子として考えられている LGI1 という分子に着目して研究を進めている。LGI1 がどのようにしてシナプス伝達を制御しているのか、そしてその変異が何故、てんかんという病態を引き起こすのかを明らかにするために、LGI1 の変異体解析を進めている。側頭葉てんかん家系で見られる LGI1 の変異体を網羅的に作成し、野生型 LGI1 との機能の違いをLGI1の i) 分泌能, ii) ADAM 蛋白質と

の結合能, iii) 細胞内局在等の観点から解析した。すでに、LGI1 変異体をいくつかのカテゴリーに分類することに成功している。また、変異体に特異的に結合する蛋白質の同定にも成功している。さらに、これら変異を有する病態モデルマウス群の作製も終了している。これらの解析を通じて LGI1 の作用機構と病態機構を明らかにする。

LGI ファミリー分子, LGI2 の生理機能の解明

深田優子, 深田正紀, Hannes Lohi

LGI には LGI1-4 からなる遺伝子ファミリーが存在し、脊椎動物にのみ保存されている。我々は Finland (ヘルシンキ大学) の Lohi 博士との共同研究により、イヌの遺伝性てんかんの原因遺伝子として、LGI2 遺伝子を同定した。LGI2 は視床網様核に強く発現し、海馬に強く発現する LGI1 や小脳に強く発現する LGI4 と異なるパターンを示すメンバーで、その機能はこれまで分かっていなかった。さらに、私どもは LGI2 の脳内受容体が LGI1 と同様に

ADAM22 という膜蛋白質であることを明らかにした。LGI1 と LGI2 は脳内の異なる領域で ADAM22 に結合して、脳の興奮性を広く制御する重要な蛋白質群であると考えられた。いったんこの LGI2 および LGI1 とその受容体 ADAM22 の結合が阻害されると、マウス、イヌ、ヒトにおいててんかんが引き起こされることを見出した (PLoS Genet)。

辺縁系脳炎における抗 LGI1 抗体の作用機構の解明

大川都史香, 深田優子, 渡邊 修, 深田正紀

ごく最近、亜急性の記憶障害やけいれん症状を主訴とする“辺縁系脳炎”の患者血清の多くに LGI1 に対する自己抗体が存在することが報告された。我々は鹿児島大学医学部の渡邊博士との共同研究により、日本国内の辺縁系脳炎の多くの患者血清中に抗 LGI1 抗体が存在する

ことを見出した。また、LGI1 抗体以外にも多数の新規自己抗体の標的分子を同定した。さらに、診断に有用と考えられる簡便で高感度な ELISA 法を確立した。現在、抗 LGI1 抗体がどのような機序で病態を引き起こすのかに関して検討を進めている。

機能協同研究部門

【概要】

私達は容積調節や環境情報受容、網膜光受容など最も一般的で基本的な細胞活動のメカニズムを、膜機能分子の働きとして細胞生理学的に解明し、それらの異常と疾病や細胞死との関係についても明らかにしようとしている。主たる研究課題は次の通りである。

(1)「細胞容積調節の分子メカニズムとその生理学的役割」: 細胞は（異常浸透圧環境下においても）その容積を正常に維持する能力を持つ。これに関与する容積調節性膜機能分子、特に容積感受性外向整流性クロライドチャンネル (VSOR) やそのシグナルの分子同定を行い、その活性メカニズムと生理学的役割を解明する。

(2)「アポトーシス、ネクローシス及び虚血性細胞死の誘導メカニズム」: 容積調節能の破綻は持続性の容積変化をもたらして細胞死を誘導する。多くの細胞のアポトーシス、ネクローシス、更には脳神経細胞や心筋細胞の虚

血性細胞死の分子メカニズム、特にイオンチャンネルの関与とそのメカニズムを明らかにする。

(3)「バソプレシンニューロンにおける体液浸透圧検知・バソプレシン分泌調節メカニズムの解明」: 特に、これらの過程におけるイオンチャンネルやニューロングリア相互作用の役割を解明する。

(4)「バイオフィンセンサーチャンネルの分子メカニズムの解明」: 特に、アニオンチャンネルや ATP 放出チャンネルや TRP カチオンチャンネルの容積センサー機能、メカノセンサー機能およびストレスセンサー機能の分子メカニズムを解明する。

(5)「網膜における視覚情報処理のメカニズム解明」: 特に網膜神経節細胞での視覚情報の統合処理について、網膜組織培養法を活用したバイオフィンセンサーの遺伝子操作および電気生理学的手法を用いて明らかとする。

低浸透圧条件下において脳内に分泌されるバソプレシンの役割の解明

佐藤かお理，岡田泰伸

沼田朋大（京都大学）

斉藤 健，上田陽一（産業医科大学）

抗利尿ホルモンであるアルギニンバソプレシン (AVP) は、脳下垂体後葉から血中へ分泌される事が知られており、体液の浸透圧が減少（低浸透圧化）すると血中への分泌量が減少する事が知られている。近年、AVP は AVP 産生ニューロン（AVP ニューロン）の細胞体や樹状突起からも分泌される事が報告されたが、私達は、低浸透圧条件下におけるその分泌量は血中への分泌量の変化とは異なり、増大するという驚くべき現象を発見し、その分泌メカニズムは、低浸透圧刺激による皮質アクチンの脱重合が引き金になっている事を明らかにした。更に、低浸透圧条件下において脳内に分泌された AVP は、AVP

ニューロンの細胞体・樹状突起の形質膜に発現する V2 レセプターを刺激し、アデニル酸シクラーゼ-cAMP シグナルを介して容積感受性外向整流性 Cl⁻ チャンネル (VSOR) の活性をさらに促進させる事、そしてそれによって低浸透圧刺激で膨張した細胞の容積を元に戻す働き（調節性容積減少：RVD）を促進する事が明らかとなった。このように、低浸透圧条件下において脳内に分泌された AVP は、低浸透圧により膨張する細胞容積のネガティブフィードバック作用の役割がある事が示唆された。これらの結果は次の論文に報告：Sceince Signal 4 (157) : ra5, 2011。

「Ca²⁺ナノドメイン」を介する細胞容積感受性外向整流性アニオンチャネル (VSOR) 活性化機構の発見

秋田天平, 岡田泰伸

Fedorovich Sergei V (National Academy of Sciences of Belarus)

細胞容積感受性外向整流性アニオンチャネル (VSOR) は、あらゆる種類の細胞において細胞容積調節時の細胞膜陰イオン (アニオン) 透過性をもたらす主たるイオンチャネルである。かつて我々は、脳内の主要なグリア細胞であるアストロサイトにおいて、炎症時初期に生成されるブラジキニンが作用すると VSOR が活性化されることを見出したが、今回我々はその VSOR 活性化が、細胞内 Ca²⁺濃度上昇をもたらす個々の Ca²⁺透過型イオンチャネル開口部の極めて近傍、数十ナノメートル以内に形成される高 Ca²⁺濃度領域「Ca²⁺ナノドメイン」内での、プロテインキナーゼ C や活性酸素種生成酵素 NOX 等の Ca²⁺依存性酵素系の活性化を通じて誘起されていることを新たに発見した。さらに、同様な VSOR 活性化機序は、

種々の刺激に応じてアストロサイトから放出される ATP のアストロサイト自身への作用によっても誘起されることが判明し、それが例えばアストログリアの細胞膨張時の VSOR 活性化に寄与することも明らかとなった。この Ca²⁺ナノドメインを介する VSOR 活性化機序は、細胞の形態変化時の局所的な容積調節や、VSOR を通じて放出されるアミノ酸を介して行われる細胞間シグナル伝達が細胞の一部分でも精密に行われるための基盤機序であると考えられる。なお、本研究の一部は、松前国際友好財団の研究者招聘プログラムに基づく国際的共同研究を通じて行われた。これらの成果は次の論文に報告: *J Physiol* **589**: 3909-3927, 2011; *Cell Physiol Biochem* **28**: 1181-1190, 2011。

成熟哺乳類網膜組織培養法の確立と網膜神経回路の解析

森藤 暁, 小泉 周

網膜は視覚情報処理を担う最初の神経組織であり、多くの異なる機能をもった神経細胞が複雑な神経回路をつくり、色や形・動きといった様々な視覚情報の特徴抽出を行っている。網膜のこうした複雑な神経回路を解析するためには、網膜の神経回路をありのまま残した組織の状態で生理学的解析をすすめる必要があるが、昨年度、我々はマウスやラットなどのげっ歯類成熟網膜を組織ごと培養する手法を確立させた。今回、遺伝子銃による遺

伝子導入法も併用することにより、網膜神経回路を形成する様々な神経細胞のシナプス結合を可視化することにも成功した。とくに興奮性シナプスの局在を PSD95-GFP の発現により可視化し、その理論的解析を行った。また、網膜内にバソプレシン (AVP) を放出するアマクリン細胞が存在することを明らかにした。これらの結果は次の論文に報告: *J Comp Neurol* **519**: 341-357, 2011; *Mol Vis* **17**: 3254-3261, 2011。

CFTR アニオンチャネルのポアの ATP 水解/非水解依存性の構造変化

岡田泰伸

KRASILNIKOV Oleg V (Pernambuco University)

SABIROV Ravshan Z (Academy of Science, Uzbekistan)

消化管や気道の上皮細胞からの Cl⁻分泌に関与する PKA 賦活性・ATP 作動性 Cl⁻チャネルとして知られる

CFTR の、イオンの通り道 (ポア) の構造は不明でした。今回、パッチクランプ単一チャネル記録法と非電解質排

除法を、CFTR 強制発現 HEK293T 細胞に適用して、種々の大きさの PEG の影響を観察することによって、ポアサイズの計測を行った。その結果、CFTR チャンネルポアの細胞内側入口の半径は 1.19 nm, 外側入口の半径は 0.7 nm という非対称性を示すこと、更には CFTR への ATP の非水解性結合によって開ロック状態を取った時には、内側入口の大きさは不変だが、外側入口の半径が 0.93 nm に

まで拡大することを発見した。即ち、ATP が水解されずに結合している状態と ATP が水解後に解離している状態との間の転換を繰り返しながら活動している CFTR チャンネルは、ポアの細胞外側入口サイズを大きく変化させながら活動していることが明らかになった。この結果は次の論文に報告： *J Physiol Sci* **61**: 267-278, 2011。

神経細胞構築研究部門

【概要】

本研究部門では神経細胞の極性や微小領域特性確立を支配する分子基盤解明を目指して研究を進めている。独自に開発した質量顕微鏡法を駆使して、極性決定や微小領域確立に寄与する物質、とりわけ脂質や脂質代謝物の特異的局在情報の蓄積を進めている。集められた膨大なデータを元に統計学的手法（やバイオインフォマティクスを融合させ、これまでにない新しい視点から神経細胞

の極性決定、微小領域確立に関与する分子基盤解明に挑戦している。加えて、極性決定や微小領域確立における細胞骨格の寄与にも注目し、アクチン繊維や微小管による脂質局在の制御などを新しいテーマとして研究に取り組みだしている。また、微小管に見られるユニークな翻訳後修飾による神経細胞極性の決定、微小領域の確立についてもひきつづき研究を行っている。

細胞体と軸索における脂質組成比較、及び軸索内における脂質分子勾配

梁 賢正（浜松医大）、瀬藤光利

神経細胞は細胞体、樹状突起、軸索と三つの異なる部位に分かれている。とりわけ軸索は、活動電位を伝搬させるなど他の二つの部位と大きく異なる。軸索と細胞体、さらには軸索基部と遠位部で物質的組成が異なることが容易に想像できる。これまでの研究はタンパク質の組成に関するものばかりであり、脂質組成やそれらの脂肪酸組成に関するものは皆無であった。われわれは質量顕微鏡を用いて、上頸神経節の細胞体と軸索を観察し、様々

な脂肪酸組成のホスファチジルコリンの軸索内分布を解析した¹⁾。興味深いことに、高度不飽和脂肪酸であるアラキドン酸 (AA) を含むホスファチジルコリンの存在比が、軸索基部から先端部にかけて増加していた。さらに、この AA 含有ホスファチジルコリンの軸索内勾配はアクチンフィラメントの動的不安定性に依存していることを見出した。今後、この分子メカニズムに迫っていきたい。

1. Yang et al. *J Biol Chem* (2012) 287: 5290-5300.

灰白質と白質の境界部における脂質組成変化

由木 大（ライオン）、瀬藤光利

神経細胞の細胞体と軸索は、大脳において灰白質と白質という明瞭に異なる部位を形成する。クリューバー・バレラ染色など既存の手法によりその境界は容易に可視

化することができる。一方で、灰白質と白質における脂質分子種の差異を詳細に解析した研究は少ない。われわれは質量顕微鏡を用いて、灰白質と白質における、また

その境界における脂質分子種の組成変化を解析し、スルファチドの修飾状態について興味深い知見を得た²⁾。灰白質から白質に移行する部位で、ヒドロキシル化された脂肪酸とヒドロキシル化されていない脂肪酸を含むスルファチドの比率が逆転した。これらの皮髄境界における

ヒドロキシル化・非ヒドロキシル化脂質の比率逆転はアルツハイマー病の脳においても保たれていた。今後、脂質分子種の分布差や疾患脳におけるそれらの分布異常を見いだしていきたい。

2. Yuki et al. Neuroscience (2011) 193: 44-53.

細胞生理研究部門

【概要】

細胞は、それを取り巻く環境の大きな変化の中で、その環境情報を他のシグナルに変換し、細胞質・核や周囲の細胞に伝達することによって環境変化にダイナミックに対応しながら生存応答を行っている。細胞が存在する臓器・組織によって細胞が受け取る環境情報は異なり、従って細胞が持っている環境情報を受信する機能も異なる。それらセンサー蛋白質は環境の変化に応じてダイナミックに感受性や発現等を変化させてセンシング機構の変化からよりよい生存応答を導く機能を有している。これらのセンサー蛋白質は種々の化学的、物理的情報を受容し、センサー間の相互作用を行い、多くは最終的に核への情報統合を行う。そして、それは細胞の、組織の、さらには個体の環境適応をもたらす。したがって、これらの細胞環境情報センサーの分子システム連関を解明し

ていくことは、個体適応の理解のための基本単位である「細胞の生存応答」を解明するうえで極めて重要である。この細胞外環境情報を感知するイオンチャネル型のセンサー蛋白質の構造機能解析、活性化制御機構の解析を通して細胞感覚の分子メカニズムの解明を目指している。特に、侵害刺激、温度刺激、機械刺激の受容機構について TRP チャネルに焦点をあてて解析を進めている。センサー蛋白質の進化解析によって、いかに生物が環境変化に適応してきたかも解析している。

また、本能機能を司る視床下部ペプチド作動性神経に注目し、遺伝子工学、電気生理学、組織化学、行動薬理学および、光遺伝学を組み合わせた多角的解析によって、摂食行動や睡眠覚醒を制御する神経機構について明らかにする研究を行っている。

TRPM2 のインスリン分泌機構への関与の解析

内田邦敏，富永真琴

膵臓β細胞に発現する TRPM2 が体温下で活性化してインスリン分泌に関わっていることを以前に報告した。TRPM2 のインスリン分泌への関与を個体レベルで検討するために、TRPM2 欠損マウスと野生型マウスの比較解析を行った。TRPM2 欠損マウスにおいて野生型マウスと比較してグルコース負荷によるインスリン分泌低下による耐糖能異常が観察された。単離膵臓β細胞でもグルコース負荷による細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇が TRPM2 欠損細

胞で有意に小さかった。さらに、膵島からのグルコース依存的インスリン分泌が TRPM2 欠損膵島で有意に少なく、また、インクレチンに対する応答も有意に減弱していることが判明した。こうした結果から、膵臓β細胞に発現する TRPM2 は体温下で、グルコース取り込み、インクレチン受容体活性化の両シグナルの下流で活性化してカルシウム流入をもたらす、インスリン分泌に関わっているものと考えられた。

TRPA1 活性化機構の解析

内田邦敏, 富永真琴

オリーブオイルやサイクロオキシゲナーゼ阻害剤 ibuprofen は喉に灼熱感をもたらすことが知られている。ワサビ受容体 TRPA1 を培養細胞に発現させた系やマウス感覚神経細胞の系でパッチクランプ法やカルシウムイメージング法を用いて、オリーブオイルの成分

oleocanthal や ibuprofen が TRPA1 を特異的に活性化させることが明らかになった。さらに、この TRPA1 の活性化にはこれまで明らかになっているシステイン残基の共有結合修飾が関与しないことが判明した。

糖尿病神経症への TRPV1 関与の解析

Violeta Ristoiu, 柴崎貢志, 内田邦敏, 周一鳴, 富永真琴

糖尿病神経症の初期は痛みを伴うことが知られているが、その分子メカニズムは十分には明らかになっていない。低酸素、高グルコースで一晩培養するだけでラット後根神経節細胞のカプサイシン活性化電流が有意に大きくなることが分かった。HEK293 細胞を用いた解析では、低酸素、高グルコースでカプサイシン活性化電流の大きさに変化はないものの脱感作が有意に減弱することが観察された。これらの現象は、TRPV1 の感作によると考えられ、事実、TRPV1 の PKCε によるリン酸化の基質の変異させた TRPV1 変異体では低酸素、高グルコースの効果が観察されず、また、低酸素、高グルコースで培養し

た細胞ではリン酸化 TRPV1 量が著しく増大した。この結果と一致して、HEK293 細胞やラット感覚神経細胞で低酸素、高グルコースによる PKCε の強い形質膜への移行が観察され、PKCε の膜移行を阻害する薬剤によって低酸素、高グルコースによる TRPV1 の感作は抑制された。これらの効果では低酸素が一義的な原因になっていることが明らかになり、低酸素だけで PKCε の細胞膜移行が観察された。こうした結果から、糖尿病性神経症における痛みの増強に低酸素、高グルコースによる TRPV1 の感作が関与しているものと考えられた。

カエル TRP チャネルの遺伝子クローニングと機能解析

齋藤 茂, 福田直美, 富永真琴

温度感受性 TRP チャネルの進化解析によって TRPV3 が両生類で出現することから、ニシツメガエル TRPV3 を遺伝子クローニングしてアフリカツメガル卵母細胞 2 電極電位固定法で解析した。その結果、哺乳類では TRPV3 は温かい温度で活性化するが、ニシツメガエル TRPV3 は約 17 度の低温刺激で活性化することが明らかとなった。2-APB 感受性は哺乳類 TRPV3 と同様であっ

たが、哺乳類 TRPV3 を活性化させる camphor や eucalyptol はニシツメガエル TRPV3 を活性化しなかった。ニシツメガエル TRPV3 mRNA は哺乳類 TRPV3 と同じように皮膚での発現が観察され、皮膚で侵害性冷刺激受容に関与しているものと考えられた。進化の過程で TRPV3 は活性化温度閾値を逆転させ、いくつかの化学物質感受性も変化したものと考えられた。

食道上皮細胞 TRPV4 による機械・温度刺激受容と ATP 放出

三原 弘, Ammar Boudaka, 富永真琴

これまで、表皮ケラチノサイトと膀胱扁平上皮がそれぞれ温度あるいは機械刺激を感知して ATP を放出し、その情報を感覚神経に伝達していることを報告してきた。マウス食道上皮に TRPV4 が強く発現し、化学物質刺激、機械刺激、温度刺激によって活性化することを、パッチクランプ法とカルシウムイメージング法を用いて見いだした。これらの応答は TRPV4 欠損食道上皮細胞では観察されなかった。また、小胞 ATP トランスポーター VNUT も食道上皮細胞に共発現していることが分かった。

TRPV4 活性化刺激（化学刺激・温度刺激）によって ATP 放出が観察され、その放出は小胞輸送の阻害剤で抑制され、TRPV4 欠損食道上皮細胞では有意に小さかった。これらのことから、TRPV4 活性化によって流入した Ca^{2+} が VNUT を発現する小胞の細胞膜への fusion を促進させて exocytosis によって ATP 放出がもたらされるものと推定され、この現象は胃食道逆流症等の病態に関与することが示唆された。

睡眠覚醒を調節する神経回路の動作原理解明

山中章弘, 田淵紗和子, 常松友美

我々は毎日数回睡眠覚醒を繰り返し、また人生の約 1/3 もの時間を睡眠に費やしているが、睡眠覚醒を調節するメカニズムについては良く分かっていない。視床下部のオレキシンを産生する神経細胞（オレキシン神経）が脱落すると、過眠症の一つであるナルコレプシーを発症することから、オレキシン神経は覚醒の維持において重要な役割を担っていることが分かってきている。オレキシン神経は、脳のほとんどの領域に軸索を投射しているが、特に縫線核、青斑核、結節乳頭体核といったモノアミン作動性神経の起始核に密に投射し、オレキシン受容体を介してこれらの神経をいずれも強く活性化させる。一方、オレキシン神経の電気生理学的解析から、オレキシン神

経細胞はセロトニン、ノルアドレナリンなどのモノアミン神経伝達物質で強く抑制されることが報告されている。そこで、これらのモノアミン神経細胞からの抑制性入力に睡眠覚醒調節においてどのような役割を担っているのかについて明らかにするために、オレキシン神経細胞において、セロトニン受容体発現量を可逆的に制御するマウスを作製した。オレキシン神経特異的にセロトニン 1A 受容体を過剰発現させると、夜間の活動期において睡眠覚醒が分断化したが、昼間はほとんど影響が見られなかった。このことから、縫線核セロトニン神経からオレキシン神経細胞への抑制性入力は、夜間の活動期において機能していることが明らかとなった。

様々な細胞種に光遺伝学を適用できる遺伝子改変マウスの作製

常松友美, 山中章弘

光遺伝学は、チャネルロドプシン2 (ChR2) やハロロドプシン (Halo) などの光によって活性化され、膜電位を変化させる光活性化膜電位変換分子を特定の細胞に発現させ、光によって細胞機能の制御がする技術である。この手法を用いると高い時間精度で、特定の神経活動を制御

出来る。しかし、その適用の成功には光活性化膜電位変換分子を十分量細胞膜に発現させる必要がある。そこで、様々な細胞種にこれらの光活性化膜電位変換タンパク分子を発現誘導出来る遺伝子改変マウスの作製を行った。テトラサイクリン遺伝子発現誘導システムを応用し、

TetO と光活性化膜電位変換タンパク分子の配列をハウスキーピング遺伝子の遺伝子座にノックインしたマウスを作製した。様々な tTA マウスラインと交配させた結果、光活性化膜電位変換タンパク分子を様々な細胞種において十分量発現させることに成功した。視床下部のオレキシン神経特異的に tTA を発現する遺伝子改変マウスとの

交配では、オレキシン神経特異的に光活性化膜電位変換タンパク分子の発現が認められた。さらにスライスパッチクランプを用いた機能確認において、光活性化膜電位変換タンパク分子が正しく機能することを確認した。今後はこれらのマウスを用いて、神経活動操作と行動発現機序について解析を進める予定である。

生体情報研究系

感覚認知情報研究部門

【概要】

感覚認知情報部門は視知覚および視覚認知の神経機構を研究対象としている。我々の視覚神経系は階層的に構築された複雑な並列分散システムである。そこでは低次領域で検出された比較的単純な特徴が高次領域で統合されて、生体にとって意味のある情報が取り出されて行動に利用される精巧な仕組みがあると考えられる。また視覚系で取り出された情報は、体性感覚や聴覚など他の感覚情報と統合されて外界の事物についての多感覚間で整合性のある理解が生み出される仕組みがあると考えられる。

視知覚に関するこれらの問題を解明するために、大脳皮質を中心とするニューロンの刺激選択性と特定の視覚情報の脳内分布様式および行動との関係を調べている。具体的な課題として (1) 物体表面質感の重要な要素である光沢の表現, (2) サルの素材識別における視覚と触覚の統合, (3) 大脳皮質高次視覚野における色と輝度コントラストの関係, (4) 色相や彩度の表現様式と知覚との関係および (5) L 錐体欠損のサルの色覚の特性, などについての研究を行った。

下側頭葉皮質における光沢選択性ニューロンの性質

西尾亜希子, 郷田直一, 小松英彦

光沢知覚の神経メカニズムを明らかにするために、様々な光沢物体画像に対するサルの下側頭葉皮質ニューロンの反応を調べた。その結果、特定の光沢に選択性を持つニューロンが存在する事が分かった。さらに光沢選択性ニューロンの知覚的な光沢と神経活動の関係を詳細に調べるために、知覚的な光沢が均一に変化する光沢空間上でパラメータを均等に变化させた刺激を作成し、これらの光沢刺激に対する IT ニューロンの反応を記録した。その結果、光沢空間上でニューロンの反応が規則的

に変化しており、ニューロンの反応は光沢空間上で良く説明できることが分かった。それぞれのニューロンの選択性を定量的に調べるために、光沢空間上で最も感度の高い方向を求めたところ、チューニングの方向はニューロンによって様々であった。しかしその分布は一様ではなく、チューニングを示すニューロンが存在しない方向も見られた。これらの不均一性は光沢知覚と物理パラメータの関係を反映している可能性が考えられる。

質感表現の神経メカニズムにおける初期視覚系の寄与の研究

伊藤 南

物体を認識する過程において、物体の輪郭の形状に加えて、面部分の表現が重要な手がかりとなる。その神経メカニズムを明らかにするために、面が示す質感の表現に初期視覚野がどのように寄与するのかに着目した。そこで、まずモデル動物が質感の情報を知覚し利用するこ

とを示すことが必要であると考えた。本年度は 4 種類の素材（金属、布、樹皮、ゲル状樹脂）の質感を手掛かりとする弁別課題をサルに行わせ、心理物理学的手法によりヒトと同等の質感の知覚を期待できるかどうかを明らかにすることを計画した。(1) 小さく仕切られた棚状のえ

さ箱に4種類の素材を貼り付け、仕切内の飼料を探して食べさせることで、日常的にこれらの素材に触れることを期待した。(2)4種類の素材をレバーに貼り付けて、触感の手がかりを含む弁別課題をデザインしてサルを訓練した。形状により弁別させた後、徐々に形状手がかりを

廃して素材による弁別へと誘導した。現在、樹皮、布の弁別成績は90%を越しているが、まだ金属とゲル樹脂を混同する傾向がある。サルは4択の弁別課題を学習したが、質感を手がかりとする弁別行動に汎化させるためにさらに訓練を継続する必要がある。

触覚経験が視覚的素材カテゴリー弁別に与える影響

横井 功, 橘 篤導, 小松英彦, 南本敬史 (放射線医学総合研究所)

我々は見ることによって対象の視覚的特徴だけでなく、ひんやり感や重たさといった視覚以外の情報も得ることが出来る。視覚系以外の情報は過去の経験に由来し、視覚的な素材弁別にも影響を与えていると考えられる。触覚経験が視覚的な素材弁別に与える影響とその神経基盤を調べるために、触覚経験課題とその前後での行動実験と生理実験を計画し、その実験に着手した。触覚経験課題では実物体刺激をサルに触らせ触覚経験を与える。9

つの素材カテゴリー(石、金属、布など)についてそれぞれ4種類の円柱形の実物体を用意した。コンピュータ制御によって実物体を呈示できる刺激呈示装置を開発し、さらにサルを用いた予備実験において装置と課題の最適化を行った。また行動実験によって素材カテゴリーを測定するために素材弁別課題を設定し、触覚経験がない状態での素材識別のカテゴリ性について調べている。

fMRIによるサル視覚野における光沢応答領域と顔応答領域・物体応答領域との比較

岡澤剛起, 郷田直一, 小松英彦

光沢やテクスチャなどの物体表面特性は、物体の素材や状態を知る上で重要な手がかりである。そこで本研究では、2頭のマカクザルにおいて機能的核磁気共鳴画像法(fMRI)により表面光沢に応答する脳領域の同定を試み、また従来、下側頭皮質にあることが知られている顔・物体応答領域との比較を行った。光沢応答領域の同定のため、光沢のある画像とない(マット)画像を作成した他、それらの画像の局所的な位相をランダム化したスクランブル画像を用意した。光沢画像への応答が、それ

以外の画像への応答よりも高かった領域を同定したところ、下側頭皮質の後部(PIT)と中心部(CIT)に活動が見られた。これとは独立に顔・物体領域をそれぞれサルの顔画像、物体画像を呈示することで同定し比較検討した結果、顔・物体領域はいずれも光沢領域とオーバーラップはあるが活動のピークは異なる位置にあることが分かった。これは光沢と顔・物体が下側頭皮質の異なる領域で処理されていることを示唆する。

サル下側頭皮質の色選択性応答に対する輝度コントラスト変化の影響

波間智行, 小松英彦

色の見えは輝度コントラストにより影響を受けることがある。色知覚のメカニズムを理解するためには、色知

覚に深い関係があると考えられている視覚野の色選択性ニューロンで色情報と輝度情報がどのような関係にある

かを明らかにすることが重要である。本研究では、下側頭皮質 (IT) の色選択性ニューロンにおいて、色刺激の輝度コントラスト変化がニューロンの色選択性にどのような影響を与えるかを検討した。背景よりも高輝度の色刺激セットと低輝度の色刺激セットを用いて、サルの前部下側頭皮質色領域 (AITC) および後部下側頭皮質色領域 (PITC) から色選択性ニューロンの活動を記録した。高輝

度コントラストと低輝度コントラストの色刺激に対するニューロンの色選択性応答の変化を視野ごとに比較した結果、PITC は AITC に比べて輝度コントラストの影響がより強く見られた。特に、PITC では無彩色の刺激 (白色点) およびその周辺の低彩度色で輝度コントラスト変化の強い影響がみられた。

2 色型色盲ザルの色覚特性の行動的研究

横井 功, 岡澤剛起, 小松英彦, 鯉田孝和 (豊橋技術科学大学)
宮地重弘 (京都大学霊長類研究所)

2 色型色盲ザルはヒトの 3 色型色覚のメカニズムを解明するための重要な生物資源である。

遺伝学的に同定された 2 色型色盲ザル (L 錐体欠損) の色覚特性を明らかにするために 2 種類の行動実験を行った。2 種類の波長 (592nm と 660nm) の LED を箱形の視覚刺激呈示装置に入れ、前面に設けた穴 (直径 8mm) からディフューザーを介して照射した。様々な輝度の刺激を呈示して検出閾値を測定した。3 色型正常ザルと比べ 2 色型色盲ザルでは 660nm のときに検出閾値の上昇が見られた。次に石原式検査表を模した視覚刺激を用いて

色弁別課題を行った。視覚刺激は複数のドットによって構成され正方形の外形を持つ。この視覚刺激を水平に 3 つ並べて液晶ディスプレイ上に呈示し、そのうちの 1 つについて環状の部分に含まれるドットの色を変化させターゲット刺激とした。さまざまな色相のターゲット刺激を用いて実験を行った。2 色型色盲ザルでは混同色線上的色相で検出率の低下が見られ、3 色型とは異なる傾向を示した。これらの結果は 2 色型色盲ザルの色覚特性を反映していると考えられる。

神経シグナル研究部門

【概要】

これまで電気生理的測定の対象を細胞からスライスへ、スライスから *in vivo* へと拡げて来たが、今年度は脳幹青斑核からの *in vivo* パッチクランプ技術を確認する等、新しい技術の開発が進められた。また *optogenetics* の技術

を取り入れるため、所内だけではなく海外のグループとの共同研究も行った。責任病巣に関する論争が未だに続いているジストニアの病態を明らかにするために、ジストニアモデルマウスの解析を共同研究で行った。

大脳基底核からの抑制性出力による情報伝達機構の解明

加勢大輔, 井本敬二

本研究では大脳基底核から出力された抑制性投射が、投射先の視床の活動を制御する機構について解明する事を目的としている。我々はこれまでに大脳基底核の出力

領域である黒質網様部から、その投射先である視床 VM 核への投射が保存されるスライス標本を開発し、視床 VM 核において黒質由来の抑制性入力の詳細及び解析を

行ってきた。しかし記録された抑制性入力には先行研究から期待されるシナプス強度よりも明らかに小さく、本入力の情報伝達機構については先行研究で予測された機構と異なる可能性が考えられ、更なる解析が必要となった。

2011 年度は神経活動のシミュレーションを行うために、VM 核神経細胞の細胞膜の性質について記録、解析を行い、実際の VM 核神経細胞と同じ性質を示す神経細胞モデルを構築した。まず VM 核神経細胞に発現しており、細胞の活動特性に強い影響を持つイオンチャネル電流（過分極活性型陽イオンチャネルと低閾値型電位依存

性カルシウムチャネル）を記録した。これらのデータと細胞膜の基本的パラメータを活用し、実際の VM 核神経細胞と同様の応答を示す神経細胞モデルを構築し、黒質網様部由来の抑制性入力 VM 核神経細胞に与える影響を検討した。その結果、大脳基底核由来の抑制性入力には先行研究で考えられていた機構とは異なる仕組みで、視床 VM 核へ情報を伝達している事が予測された。現在、この予測を実際の脳で確認すべく、*in vivo* の実験系においてシミュレーションの結果を検証する実験を開始している。

蛋白質リン酸化によるシナプス可塑性、学習・記憶の制御

山肩葉子，柳川右千夫（群馬大学），井本敬二

Ca^{2+} /カルモジュリン依存性プロテインキナーゼ II α (CaMKII α) は、特に海馬に多く発現する蛋白質リン酸化酵素で、脳機能の調節に重要な役割を果たしている。我々は、CaMKII α のキナーゼ活性をなくした不活性型ノックインマウス [CaMKII α (K42R)] を用いて、CaMKII α による蛋白質リン酸化が直接制御する脳機能について調べている。これまでに、海馬依存性のシナプス可塑性、学習・記憶には、このキナーゼ活性が必須であるが、扁桃体依

存性の学習・記憶には必ずしも必須ではないことがわかってきた。本年度は、運動学習について検討したところ、このマウスでは、まったく障害が認められず、CaMKII α のキナーゼ活性が、海馬依存性の学習・記憶に特化した機能分子である可能性が示唆された。今後さらに、異なるタイプの学習・記憶について検討を行い、その分子基盤の違いを探る予定である。

ジストニア病態モデルマウス Atp1a3^{+/-} のシナプス伝達特性

佐竹伸一郎，井本敬二

川上 潔（自治医科大学分子病態治療研究センター）

池田啓子（兵庫医科大学医学部）

ナトリウムポンプ $\alpha 3$ サブユニット (Na-K ATPase $\alpha 3$) は、ジストニアパーキンソン病原因遺伝子の一つとして知られている。また、これまでジストニアの責任病巣は大脳基底核であると考えられてきたが、近年は小脳の関与を指摘する報告も増えてきている。こうした背景に基づき、 $\alpha 3$ サブユニット遺伝子 (Atp1a3) の欠損がジストニアを引き起こす分子的基盤を明らかにするとともに小脳が担う役割を検討するため、Atp1a3 ヘテロノックアウトマウスと野生型マウスから小脳スライスを作製し、パッチクランプ法を適用してシナプス伝達特性の比較を

行った。その結果、ヘテロ型マウスにおいて、分子層介在ニューロン（籠細胞、星状細胞）からプルキンエ細胞への抑制性伝達がシナプス前性機構により有意に促進していることを発見した。一方、平行線維や登上線維を介してプルキンエ細胞に入力する興奮性伝達には、野生型とヘテロ型の間で有意な変異は認められなかった。この抑制性シナプス特異的な表現型は、 $\alpha 3$ サブユニットが籠細胞のシナプス前終末 (pincheau 構造) に集積していることと強く関連していると考えられた。こうして得られた基礎データに基づき、引き続きジストニアの発症メカニ

ズムを追究するとともに、今後は治療法の新規開発も視野に研究を進展させていきたいと考えている。

脊髄における痒み情報の伝達と調節機構の解明

歌 大介, 井本敬二, 古江秀昌

時に痒みは痛み以上に耐えがたい感覚であるにも関わらず、痛みに比べ脊髄における痒みの情報の伝達やその調節機構については不明なことが多い。

そこで、脊髄後角での痒み伝達と処理機構について行動薬理学的解析及び電気生理学的解析を行った。近年、動物の行動で痒みと痛みを識別する方法として **check** モデルが報告されている。そこで、ラットにおいてセロトニン塗布にて痒み行動が誘発されるかどうかを検討した。その結果、セロトニンの頬への塗布では、痒み行動を示す後肢による掻き動作が生じ、痛み行動である擦り動作は生じなかったことから、セロトニン塗布により痒み行動が誘発される事が明らかとなった。続いて、脊髄後角から *in vivo* パッチクランプ記録を行いセロトニン塗布による痒み応答が記録できるかを検討した。その結果、

約 30%の細胞でセロトニンにより振幅の大きな自発性の興奮性シナプス後電流 (EPSC) の発生頻度が著明に増大した。この応答は数十分にわたって持続した。この結果は行動薬理学的実験で得られたものと一致した。更に、振幅の大きな自発性 EPSC は、電位依存性 Na チャネルの阻害薬であるテトロドトキシンにより完全に抑制された。以上の結果から、皮膚へのセロトニン塗布によって痒み行動が誘発されること、末梢で発生した活動電位が脊髄の表層の細胞にシナプス入力し振幅の大きな EPSC の発生頻度を著明に増加させることが明らかとなった。今後、セロトニンに応答した細胞に入力する末梢神経の種類を同定する研究を進め脊髄における痒みの伝達機構の詳細を調べていきたい。

痛覚伝達の *in vivo* 中枢性抑制機構の解明

古江秀昌, 杉山大介, 井本敬二

Pickering Anthony Edward (ブリストル大学生理薬理学)

痛みの内因性抑制機構、特に詳細が不明の事の多い下行性痛覚抑制系の解析を行った。新規に開発した *in vivo* パッチクランプ法を用い、下行性抑制系の起始核の 1 つである青斑核ノルアドレナリン神経から膜電位記録に加え電位固定下に興奮性および抑制性シナプス電流の記録に成功した。青斑核ニューロンは皮膚への生理的な痛み刺激により、発火頻度を一過性に増大しその後頻度を低下する 2 相性の反応を示すが、その応答には緩徐な内向

き電流が発生し、シナプス入力はあまり寄与しないことを明らかにした。また、青斑核からの記録や脊髄後角からの *in vivo* パッチクランプ法を組み合わせ、鎮痛薬や鎮静薬が下行性抑制系に及ぼす影響を統合的に解析した。また、レンチウイルスを用いてオプトジェネティクにノルアドレナリン神経を特異的に活性化する手法の開発にも着手した。

発達障害における行動介入の神経科学的分析と応用

宍戸恵美子，井本敬二

発達障害の幼児に適切な行動介入をしてコミュニケーションの促進や問題行動の低減を計ることは重要であるが，その方法や効果についてはまだ分からないことが多い。本研究では発達障害のうち主に自閉症スペクトラムの幼児に行動介入を導入して記録を取った。また，視覚情報処理に基づいた教材を使い，効果の測定やビデオによる分析を行った。現在，記録を集計してケースレポー

トして発表する準備を行っている。さらに，行動介入の原理となるフリーオペラントについてはあまり理論的モデルが作られていない。本年度はフリーオペラントの基礎となる齧歯類の報酬実験より得られたパターンを簡素な記述のプログラムで再現することができた。漠然と行うのではなく，理論的裏付けがある行動介入プログラムを組み立てることが可能になると考えている。

神経分化研究部門

【概要】

吉村を中心とするグループは，大脳皮質で行われている情報処理の基盤となる神経回路やその形成のメカニズムを明らかにする目的で，大脳皮質の切片標本を用いた神経回路の機能解析，麻酔動物を用いた視覚生理実験，ウイストレーサーによる形態学的解析を組み合わせ研究を行っている。本年度は，大脳皮質二次視覚野の経験依存的発達，大脳皮質の選択的神経結合形成におけるクラスター型プロトカドヘリン群の関与についての研究を進めるとともに，越シナプストレーサーによる形態学

的解析手法をほぼ確立した。

また，東島らを中心とするグループは，ゼブラフィッシュを用い，脊髄・脳幹神経回路の形成機構および，回路の作動機構の解析を進めている。特定のクラスの神経細胞を GFP 等の蛍光タンパク質により可視化し，それら蛍光タンパク質陽性細胞の発生と機能を追求している。また，チャネルロドプシンやハロロドプシンなどの光遺伝学的ツールを積極的に用いて運動系神経回路の機能解析を進めている。

大脳皮質二次視覚野の経験依存的発達

石川理子，吉村由美子

大脳皮質視覚野ニューロンの選択的視覚反応性は，生後の視覚経験に強く依存して成熟することが知られている。これまでに，生後発達期の開眼直前に両眼の眼瞼を縫合し，形の情報を遮断されたまま成熟したラットを用い，一次視覚野ニューロンの視覚反応特性を解析した。その結果，正常な視覚体験を経たコントロール動物では，ほとんどの細胞がバンドパス型の空間周波数特性を示したが，眼瞼縫合したラットにおいては，ほとんどの細胞が低い空間周波数の刺激にのみ反応するローパス型の反応特性を示した。一方，それぞれの記録細胞に最適な方位と空間周波数の視覚刺激を用いると，一次視覚野細胞

の最大発火頻度は両群において有意な差異は認められなかった。

今回は，上記のラットを用いて，視覚機能を行動学的に解析した。Y字型水迷路の前方に2つのモニターを設置し，一方には縦縞正弦波の視覚刺激を，もう片方には一様な輝度の灰色画面を提示し，両者を弁別する課題を用いた。コントロール群では，トレーニング開始2日目から正答率が上昇し，4日目まで学習曲線がプラトーに達した。眼瞼縫合ラットにおいては，一次視覚野細胞に強い反応を誘発した低空間周波数の視覚刺激を使用してトレーニングを行ったが，6日間のトレーニング後も弁別

課題はできなかった。

弁別課題ができない可能性のひとつに、一次視覚野から高次視覚野への信号伝達が減弱していることが考えられる。そこで、麻酔下で、二次視覚野ニューロンから細胞外記録を行い、その視覚反応を調べた。両眼遮蔽したラットを用いて解析した結果、個々の二次視覚野ニューロンは一次視覚野ニューロンと同様な程度の反応選択性

を示したが、平均発火頻度は一次視覚野の 25%程度にまで減弱していた。このような発火頻度の減弱はコントロール動物では観察されなかった。以上の結果は、一次視覚野から高次視覚野への皮質間信号伝達は生後の視覚体験に依存して発達すること、二次視覚野への情報伝達が阻害されると行動レベルの視覚機能が低下することを示唆する。

大脳皮質の選択的神経結合形成におけるクラスター型プロトカドヘリン群の関与

足澤悦子, 吉村由美子

平山晃斉 (大阪大学), 八木 健 (大阪大学)

大脳皮質におけるニューロン間の神経結合はランダムに形成されているのではなく、特定の細胞集団を選択的に結合し、微小神経回路網を形成していることが、我々を含む複数の研究室から報告されている。しかしながら、特異的な神経結合を規定する分子メカニズムについてはほとんど分かっていない。標的認識分子であるクラスター型プロトカドヘリン (cPcdh) には 57 種類のアイソフォームが存在し、個々のニューロンにランダムな組み合わせで発現して 4 量体を形成していることが知られている。cPcdh の多様な発現は CTCF (CCCTC binding factor) により制御されており、CTCF を大脳皮質特異的にノックアウトしたマウスのニューロンでは、cPcdh 発現の多様性が著しく低下していることが見出されている。昨年度に引き続き、このマウスのバレル野神経回路を形態学的、電気生理学的手法を用いて解析した。CTCF ノックアウトマウスのバレル野では、2/3 層錐体細胞の樹状突起の長さや分岐数がコントロールに比べて有意に減少していた。またスパイン密度も減少していたことから、シナプ

ス形成が進んでいないと考えられる。そこで、大脳皮質バレル野のスライス標本を作製し、その 2/3 層にある錐体細胞よりホールセル記録を行い、ケージドグルタミン酸による光スキャン刺激法で記録細胞へ興奮性入力している細胞の分布とシナプス結合強度を調べたところ、ノックアウトマウスではシナプス結合を形成する細胞が全層にわたり激減しており、シナプス反応が記録された場合もその振幅が小さいことが見出された。さらに結合特異性を調べる目的で、4 層内にある 2 個のニューロンから同時にホールセル記録を行い、細胞間のシナプス結合を詳細に解析した。光スキャン刺激法の結果と一致して、シナプス結合の検出確率はコントロールの約半分に低下していた。また、双方向性結合している割合がチャンスレベルより低下していたことから、シナプス入力する相手に選択的に入力を返すような特異性が障害されていると考えられる。以上の結果は、cPcdh の多様な発現は、シナプス結合形成とその特異性に重要であることを示唆する。

神経回路網を解析するための糖タンパク質欠損狂犬病ウイルスベクターの開発

森 琢磨, 吉村由美子

中枢神経系を構成する神経回路の機能構造を詳細に同定する目的で、糖タンパク質欠損狂犬病ウイルスの作成方法を確立した。現在、広く使用されている動物ワクチン株は細胞毒性があり、期間の短い急性実験にしか使用

できない。そこで、より低い細胞毒性の期待できるヒトワクチン株を基にしたウイルス粒子の作成を目指した。その過程で、ウイルス粒子の形成に関わる糖タンパク質細胞内領域を改変する事で、効率的なウイルスが作製で

きる事が明らかとなった。このことは、ゲノム内の変異が蓄積しやすい RNA ウイルスである狂犬病ウイルスにおいて、糖タンパク質のわずかなアミノ酸変異がウイルス粒子形成に重要である事を示唆している。作製されたウイルスベクターを用いて、特定の脳領域に投射する神

経細胞群、また特定の神経細胞に直接シナプス結合する神経細胞群を、それぞれ可視化することに成功した。現在、大脳半球の反対側に投射している 2/3 層錐体細胞がどの領域にあるどのタイプのニューロンからシナプス入力を受けているかについての解析を進めている。

ゼブラフィッシュ脊髄・脳幹運動系神経回路の機能解析

木村有希子，佐藤千恵，東島眞一

脊髄・脳幹内運動系神経回路の解剖学的な記載を進めるため、発生期の一部の神経細胞で発現する遺伝子を用い、BAC トランスジェニック法により、多くのトランスジェニックフィッシュを作製した。各トランスジェニックフィッシュに関して、蛍光タンパク質陽性細胞の解剖学的記載を体系的に進めている。今年度は特に、転写因子 *dbx1* を発現する神経前駆体細胞から由来する脊髄内神経細胞(以下、V0 ニューロン)に関する解析を行った。その結果、V0 ニューロンは、(1) すべて交叉型神経細胞であること、(2) 興奮性と抑制性の双方が存在すること、および、(3) 興奮性 V0 ニューロンは少なくとも 3 種類に分類できることを明らかにした。また、複数のクラスの V0 ニューロンの分化に、前駆体レベルでの多様性形成機構と、発生時間に依存した神経分化機構の双方が関与することを明らかにした。

解剖学的解析と並行して、チャネルロドプシンやハロロドプシンなどの光遺伝学ツールを用い、特定のクラスの神経細胞の活動を光により制御して、神経回路の機能解析を進めている。今年度は転写因子 *Chx10* を発現する細胞の解析を中心に研究を行った。*Chx10* 発現細胞にチャネルロドプシンを発現する魚を作製し、様々な領域に光照射を行った。その結果、後脳の後方部から脊髄の前方部にわたる領域において、光刺激により遊泳行動の誘発が可能であることが示された。特に後脳後半部は光刺激に最も強く反応した。また、カルシウムイメージングや電気生理学的解析により、後脳 *Chx10* 細胞が仮想遊泳行動時に活動することを明らかにした。この結果は、後脳後半部の *Chx10* 細胞群が遊泳行動の開始・維持に重要な役割を果たしていることを示唆している。

統合生理研究系

感覚運動調節研究部門

【概要】

初めに 2011 年の人事異動を列挙する。4 月に仲渡江美さんと松本敦君がポスドクから特任助教に昇進した。5 月に望月秀紀君がハイデルベルグ大学より帰国し、特任助教となった。

2011 年も他施設との共同研究が順調に進んでいる。国内では中央大学文学部 (山口教授), 日本大学脳外科 (片山教授, 山本教授), 大阪大学脳外科 (齋藤教授), 三重大学精神科 (元村英史先生), 愛知県身障者コロニー (中村みほ先生), 早稲田大学スポーツ科学学術院 (中田大貴先生), 東京大学医学部 (湯本真人先生, 坂本貴和子先生), 神戸大学文学部 (辻本悟史先生, 野口泰基先生), 愛知医科大学 (西原真理先生, 牛田享宏先生), 名古屋大学医学部 (寶珠山稔先生), また国外では, カナダ Rotmann Institute (Prof. Ross), イタリア Chieti 大学 (Prof. Romani), ドイツ Munster 大学 (Prof. Pantev), ドイツ Haiderberg 大学 (Prof. Treede) との共同研究を行っている。

医学 (神経内科, 精神科, 小児科など), 歯学, 工学, 心理学, 言語学, スポーツ科学など多様な分野の研究者

が, 体性感覚, 痛覚, 視覚, 聴覚, 高次脳機能 (言語等) など広範囲の領域を研究しているのが本研究室の特長であり, 各研究者が自分の一番やりたいテーマを研究している。こういう場合, ややもすると研究室内がバラバラになってしまう可能性もあるが, 皆互いに協力し合い情報を提供しあっており, 教室の研究は各々順調に行われている。脳波と脳磁図を用いた研究が本研究室のメインテーマだが, 最近はそれに加えて機能的磁気共鳴画像 (fMRI), 近赤外線分光法 (NIRS), 経頭蓋磁気刺激 (TMS) を用いた研究も行い成果をあげている。

2008 年度から, 私が領域代表者として 5 年間の予定でスタートした, 文部科学省新学術領域研究「学際的研究による顔認知メカニズムの解明」も順調に活動が進んでいる。他に文部省科研費, 厚生労働省, 環境省などからの研究費を含めて, 多くの競争的外部資金を得ている。研究員一同, より一層の努力を続けて質の高い研究を目指していきたいと思っている。

随意運動中における体性感覚誘発電位成分の短潜時成分・長潜時成分の関係性

中田大貴 (早稲田大学スポーツ科学学術院), 坂本貴和子 (東京大学大学院医学系病態診断医学講座)

湯本真人 (東京大学医学部), 柿木隆介

一般的に, 体性感覚誘発電位 (SEPs) の短潜時成分の振幅は随意運動中に減少し, 反対に長潜時成分の振幅は増大するとされているが, 本研究では随意運動中における SEPs の短潜時成分と長潜時成分の関係性について検討した。SEPs は 11 人の一般成人より, 左手の正中神経刺激を行って記録した。随意運動中の SEPs の振幅の変化率を明らかにするため, ①安静条件, ②随意運動条件の 2 条件を行い, N20 成分, P25 成分, N35 成分, P45 成分,

N60 成分, frontal N30 成分, vertex N140 成分のそれぞれの振幅の相関を検討した。その結果, frontal N30 成分の振幅の変化率と, vertex N140 成分の振幅の変化率において, 有意な正の相関を示した。これらの結果から, 体性感覚-運動に関する脳内神経ネットワークにおいて, 随意運動に関連する神経活動は, frontal N30 成分と vertex N140 成分の発生に関わる神経活動に対し同様の影響を与えることが示された。(NeuroReport 22: 1000-1004, 2011)

伝記的情報の事前提示が顔刺激への脳磁場反応に与える影響

辻本悟史（神戸大学），横山武昌（神戸大学）

野口泰基（神戸大学），喜多伸一（神戸大学），柿木隆介

ある人物の顔を記憶するとき，顔だけでなくその人物に付随する伝記的情報（biographical information 例：「この人は大学生だ」「数学を専攻している」）もセットにして覚えた方が，後から顔を想起するのが容易になる。本研究ではこの現象の背後にある神経メカニズムを，脳磁計を用いて調べた。伝記的情報を先行提示してから顔の写真を見せる実験条件と，伝記的情報の代わりに無意味文字列を提示してから顔を見せる統制条件を用い，顔刺激に対する視覚誘発反応を記録・比較した。その結果，

顔刺激の提示後約 50-150 ms の期間に前頭葉付近で，250-350 ms の期間に両側の後頭側頭葉付近で，統制条件よりも実験条件の方で強い活動を示す特徴的な脳磁場反応が見られた。これらの結果は，伝記的情報の事前提示が前頭葉から腹側高次視覚野である後頭側頭葉へのトップダウン信号を引き起こし，結果として提示された顔の記憶（記銘）を促進していることを示唆する。（European Journal of Neuroscience 34: 2043-2053, 2011）

運動遂行時の視覚-体性感覚-運動統合

和坂俊昭，柿木隆介

身体部位の運動の状態は，視覚や体性感覚情報のフィードバックとして大脳へ伝わり運動情報と統合される。本研究はそのメカニズムを解明することを目的として，運動遂行中に実際の運動とは異なる身体部位の視覚情報が提示されたときの脳磁場反応を計測した。被験者にはミラーボックス内に両手を挿入させ，右手の鏡像が左手の位置に映るように調整させた。その後，左正中神経刺激を無視しながら自発的な左拇指の屈曲伸展を行わせ（右手は安静），運動している左手が運動を行っていない

ように見えるときの体性感覚領域の活動を記録し，ミラーボックスがない正常な条件と比較した。視覚のフィードバックが予測したものと異なるとき，二次体性感覚野，頭頂葉，島の活動に変化がみられた。二次体性感覚野における運動に関連する活動が視覚情報の影響を受ける結果は，本研究における新たな知見であり，これらの領域が予期していた運動情報と実際の感覚フィードバックの統合に関与することが明らかとなった。（NeuroImage 59: 1501-1507, 2011）

変化に関連した自動的反応としての聴覚 N1

西原真理（愛知医科大学），乾 幸二，元村英史（三重大学）

大鶴直史，牛田享宏（愛知医科大学），柿木隆介

先行研究において，聴覚刺激による大脳誘発電位 N1/P2 には変化に依存する変化関連応答が含まれていることが示されてきた。そこで本研究では音圧変化に対する N1/P2 について On 反応と比較を試みた。実験は 1) 逸脱音を一定にし，先行するより小さな基準音を徐々に変化させた場合の N1/P2 振幅・潜時の記録，2) 逸脱音を

5-50db まで変化させた場合に同様の解析を行った。この結果，N1/P2 は音圧変化に対して非常に敏感であり，音圧変化が大きくなるにしたがって，その振幅は変化の対数に比例して増大し，潜時は短縮することが分かった。この挙動は 2) で行った On 反応とほぼ同様であった。また変化幅と On 反応の比較からは，この N1/P2 は物理的

刺激量そのものには依存していないと考えられた。これらの結果とこれまでの所見を合わせると, On 反応はゼロからの変化と捉えることができ, N1/P2 には少なくとも

明瞭な変化関連電位が含まれていると解釈が可能である。(Neuroscience Research 71:145-148, 2011)

強度変化に対する体性感覚野応答に先行刺激が与える影響

大鶴直史, 乾 幸二, 山代幸哉, 浦川智和, Sumru Keceli, 柿木隆介

触覚の強度変化に対する体性感覚野応答の挙動について検討した。変化探知システムは, 先行状態と現在の状態の比較が必要であり, 感覚記憶と密接に関わっていると考えられる。すなわち, 先行刺激からの変化量が大きいほど, または先行刺激の感覚記憶への蓄積時間が長いほど, 変化探知システムの応答は大きくなると考えられる。そこで, 先行刺激の強度および持続時間を変化させ, 突然の触覚刺激強度変化に対する応答を脳磁図で計測し

た。結果, 刺激強度変化に対して約 100ms 後に記録される第一次および第二次体性感覚野の応答は, 先行刺激からの変化量および先行刺激の持続時間に比例して振幅を増加させるという知見が得られた。これらの結果から, この第一次および第二次体性感覚野の活動は, 末梢からの刺激依存型の反応ではなく, 先行刺激との比較を反映した変化関連応答であることが示唆された。(Neuroscience 182 : 115-124, 2011)

体性感覚における時間統合窓

山代幸哉, 乾 幸二, 大鶴直史, 浦川智和, 柿木隆介

ヒトには時間的に連続する事象を統合する神経基盤が必要である。聴覚・視覚系には 150-200ms 以内に呈示された音情報や視覚情報を 1 単位として処理する時間統合窓 (Temporal window of integration; TWI) が存在することが報告されている。TWI は全ての感覚モダリティに共通する機能と推察される。本研究は異なる 4 種類の刺激間隔時間 (Inter-stimulus intervals; ISIs) のトレイン電気刺激の Offset を用い, 体性感覚野の時間統合窓の長さとその責任部位について脳磁図を用いて検討した。その結果,

刺激の Offset から約 100 ミリ秒後に M100 が誘発され, その責任部位は第一次体性感覚野 (Primary somatosensory cortex; SI) と第二次体性感覚野 (Secondary somatosensory cortex; SII) であった。また, この反応は ISI が 50 ミリ秒を超えると顕著に減衰し, 100 ミリ秒で完全に消失した。このことから, SI および SII が体性感覚モダリティの時間統合機能に関与し, 時間統合窓の長さは 50~75 ミリ秒の間にあることが示唆された。(Clinical Neurophysiology 122 (11): 2276-2281, 2011)

輪郭や内部のパーツが倒立した際の顔認知への影響

三木研作, 竹島康行, 渡邊昌子, 本多結城子, 柿木隆介

今回, 正立顔と倒立顔, および両者の中間のような刺激を提示し, 輪郭と内部のパーツを倒立させた際, 顔認知に関連する脳活動がどう変わるかを検討した。以下の条件を用いた。(1) U&U: 輪郭も内部のパーツも正立の

もの, (2) U&I: 輪郭は正立しているが, 内部のパーツがその相対的位置関係を変えずに倒立したもの, (3) I&I: 輪郭と内部が倒立したもの。それぞれの条件で誘発された脳磁場反応の活動部位は, 静止顔認知時に活動する下

側頭部（紡錘状回に相当）であった。3 条件の間で、頂点潜時を比較したところ、右半球では U&I 条件と I&I 条件において、U&U 条件に比べ有意に延長していた。また、左半球では、U&I 条件において、そのほかの条件に比べ、有意に延長していた。このことから、右半球の静止顔認知の処理には内部のパーツの向きが、左半球の静止顔認知の処理には輪郭と内部のパーツの相対的位置関係が関係しており、静止顔認知の際、左右半球の役割が異なる可能性が示唆された。次に、前述の刺激を用いて、目が

動いた際に誘発される脳活動が、輪郭や内部のパーツの向きによってどのように変化するかを検討した。その活動部位は左右の後頭側頭部 (MT/V5 野に相当) であった。その頂点潜時に条件間で有意差はなかった。しかし、その活動の大きさは、右半球において、I&I 条件では他の条件に比べ有意に大きくなっていた。このことから、顔の動き認知の処理には輪郭の向きが重要であり、その情報処理は主に右半球で行われている可能性が示唆された。(Brain Research 1383:230-241, 2011)

携帯音楽プレーヤーが周波数特異性に与える影響

岡本秀彦, Teismann Henning (ミュンスター大学), 柿木隆介
Pantev Christo (ミュンスター大学)

現在、技術の進歩により携帯音楽プレーヤーを用いて好きな時、好きな場所で音楽を楽しむことが可能となった。しかしながら、大音量・長時間の携帯音楽プレーヤー使用がヒト聴覚に与える影響はいまだ不明な点が多い。この実験では通常の聴覚検査で聴力低下が認められない被験者を 2 つのグループ（携帯音楽プレーヤー使用群、非使用群）に分けて、音に注意を向けている時と向けていない時の周波数特異性を脳磁計で調べた。その結果、音に注意を向けている状態では周波数特異性に有意な差は認められなかったが、音に注意を向けていない時では、携帯音楽プレーヤーを長時間・大音量で使用していたグループでは有意な周波数特異性の低下が認められた。聴

覚神経回路においては、抑制系の神経回路の方が興奮性の神経回路より、騒音による障害を引き起こしやすい。自覚症状がないまま、まず抑制系回路の障害により周波数特異性（音の鮮明さ）が落ち、続いて興奮系の回路の障害により、聴力低下を引き起こす可能性がある。音に注意を向ける必要がある聴覚検査では、注意により音の鮮明さを補完することが出来るのでこのような周波数特異性の低下を判別できない。そのため、例え一般的に行われる聴覚検査が正常であっても、携帯音楽プレーヤーの不適切な使用は聴覚にダメージを与える可能性があり、特に若い世代で注意が必要であると考えられる。(PLoS ONE 6:3, e17022, 2011)

視覚認識における特徴統合の神経メカニズムに関する研究

野口泰基 (神戸大学), 下條信輔 (カリフォルニア工科大学)
柿木隆介, 寶珠山稔 (名古屋大学)

ある物体を視覚的に認識するには、その物体が持つ色や形・運動情報など種々の特徴を統合する必要がある。この特徴統合の処理において、従来は対象の物体に注意を向ける必要があるという説が主流であった (Feature integration theory of attention)。本研究ではそのような注意依存的メカニズムとは別に、注意を要しないもう一つの特徴統合メカニズムがあるという仮説を検証した。具体的に

は、最近の研究で示された誤結合錯視 (misbinding illusion) を用いた。従来、この錯視は周辺視に対する中心視の優位性から生じると考えられてきたが、本研究では同じ錯視が中心視野でも起こることを示した。これにより、誤結合錯視の本質的な原因が中心視の優位性ではなく、注意に依存しない新しい特徴統合の神経メカニズムにあることが示された。(Psychological Science 22: 153-158, 2011)

音源位置変化に対する自動変化関連脳活動

秋山理沙 (ワシントン大学), 山代幸哉, 乾 幸二, 柿木隆介

先行研究で、オンセット応答、オフセット応答、変化応答 (周波数) を観察した際、どの応答も変化までの時間に対して同じ挙動を示した。従ってどれも感覚記憶に基づく「変化」イベント応答であり、発生は共通していると考えられた。本研究では、周波数と音圧を一定にしたままの音刺激が、呈示方法のみを変えた場合でも変化関連活動を惹起するか否かを、脳磁図を用いて検討した。

音源位置の変化を施すために、片耳にわずか 0.5 ミリ秒の無音を挿入した。結果は、音刺激のオンセットおよび音源位置変化に先行する無音の時間の長さが変化すると、変化応答の振幅もその時間に比例して変化することがわかった。すなわち、突然の変化に対する応答は記憶痕跡との照合によるものであることを示した。(Neuroscience Letters 488(2):183-187, 2011)

近赤外分光法による生後 7-8 ヶ月児の母親顔に対する脳活動

仲渡江美, 大塚由美子 (東京女子医科大学)

金沢 創 (日本女子大学)

山口真美 (中央大学), 本多結城子, 柿木隆介

乳児が日常最も接している母親の顔と、未知の女性の顔を見ている際の左右両側頭部での脳血流量の変化を、近赤外分光法 (Near infrared-spectroscopy; NIRS) を用いて計測した。実験参加者は、一般的に人見知りが始まる時期の生後 7-8 ヶ月の乳児 15 名であった。その結果、未知の女性顔では右側頭部での脳血流量が増加、一方で、母親顔に対しては右側頭部とともに左側頭部でも、脳血流量の増加が認められた。未知顔でも母親顔でも、顔を見ると右側頭部での活動が増加したことから、これまでの

NIRS を用いた乳児の顔認知研究と同じく、顔処理における右側頭部での活動の優位性が示された。また、母親顔を観察中のみ、言語を司る脳の領域である左側頭部での活動が増加し、乳児が母親顔に対し言語コミュニケーションをとろうとしている可能性が示された。今回の研究により、生後 7-8 ヶ月頃の乳児の脳では母親の顔と他人の顔に対し異なる反応を示すことが明らかになり、脳科学的に“人見知り”の始まりを説明することができると考えられた。(Early Human Development 87(1), 1-7, 2011)

ヒト聴覚皮質における変化関連応答

山代幸哉, 乾 幸二, 大鶴直史, 柿木隆介

ヒトが生存していくためには感覚系に発生したあらゆる変化を素早く察知し、適切な行動へのドライブを発生させる神経基盤が必要である。聴覚 N1m は刺激の Onset のみならず、Offset によっても誘発され、刺激に対する変化探知系を反映すると考えられる。本研究は N1m が感覚記憶との照合により誘発される変化探知系であるか否か、変化が起こるまでの前事象の長さで刺激の種類 (Onset, Offset, Change) を変化させ、N1m の生理学的意

義について脳磁図を用いて検討した。その結果、N1m の反応は刺激の種類に関わらず、前事象が長ければ長いほど大きくなることが示され、全ての刺激により誘発される N1m のダイポール位置は左右の上側頭回付近であった。さらに、刺激の種類間で誘発される N1m 反応の振幅値には有意な相関が認められた。このことから、聴覚 N1m は感覚記憶との照合により誘発される変化関連応答であり、その活動の大きさは前事象の長さに依存する

ことが示唆された。(Psychophysiology 48: 23-30, 2011)

乳児における笑顔と怒り顔への異なるヘモグロビン血流量の反応 一近赤外分光法による検討一

仲渡江美, 大塚由美子 (東京女子医科大学)

金沢 創 (日本女子大学)

山口真美 (中央大学), 柿木隆介

非言語的コミュニケーションの中で重要な役割を果たす表情認知の発達について, 近赤外分光法 (Near infrared-spectroscopy; NIRS) を用い生後 6-7 ヶ月児の脳反応を計測した。顔以外の刺激として 5 枚の野菜の画像, 顔刺激として 5 名の未知の女性の笑顔と怒り顔を提示した。計測位置は, 成人での表情認識に関与する部位である上側頭回 (STS) を中心とした左右両側頭部であった。計測の結果, 1) 笑顔では顔刺激の提示終了後も脳反応の活動が継続していたのに対し, 怒り顔では顔刺激の提

示終了後, 急速に脳反応が低下した。2) 笑顔に対しては左側頭部, 怒り顔では右側頭部で脳反応の増加がみられた。すなわち, 笑顔と怒り顔では, 脳血流量の活動パターン, 活動位置がそれぞれ異なることが明らかになった。これらの結果から, 生後 6 ヶ月以降の乳児では, 笑顔 (ポジティブ表情) と怒り顔 (ネガティブ表情) が左右異なる半球で処理され, さらに表情によって処理過程が異なることが示唆された。(Neuroimage 54 (2), 1600-1606, 2011)

視覚誘発神経反応の注意変調の動的特性

木田哲夫, 乾 幸二, 田中絵実, 柿木隆介

空間的注意により行動反応が促進するとともに神経活動が増大することはよく知られている。私たちは先行研究で視覚性空間的注意による体性感覚誘発脳磁場の増大を認め, 空間的注意には視覚から触覚へと感覚系を超える影響があることを明らかにした (Kida et al. 2007, J Neurophysiol)。本研究では逆方向すなわち触覚から視覚への影響について視覚誘発脳磁場を用いて検証した。視覚刺激と触覚刺激を右視野 (右手) と左視野 (左手) に約 1 秒間隔でランダム順に提示した。注意条件は右触覚注意, 左触覚注意, 右視覚注意, 左視覚注意の 4 条件であった。視覚刺激後 150ms で後頭側頭部 (M150ot) に, 180ms で外側前頭部 (M180f) に脳磁場反応が認められた。

M150ot 反応は視覚系内空間的注意と感覚系間注意によって増大するだけでなく, 視覚刺激が入力される空間と同じ場所に触覚性注意を向けたときにも増大した。一方 M180f 反応は視覚系内空間的注意と感覚系間注意によって増大したが, 触覚性空間的注意の影響を受けなかった。信号源推定により, M150ot 反応は中後頭回 (MOG) と側頭頭頂接合部 (TPJ) から, M180f 反応は中前頭回 (MFG) と下前頭回 (IFG) から生じると考えられた。これらの結果から, 空間的注意における触覚から視覚への連関は後頭側頭部の脳磁場反応に反映されることが示唆された。(Journal of Neurophysiology 105:674-686, 2011)

刺激の大きさが脳内視覚性運動情報処理に与える影響について：脳磁図による検討

浦川智和, 金桶吉起, 柿木隆介

心理実験により、刺激の大きさは視覚性運動知覚に影響を与え、ある大きさに達すると物体の運動としてではなく、観察者自身が運動しているように知覚されることが報告されている。これらのことから刺激の大きさ増加は、運動刺激検出に段階的に影響を与えと考えられ、刺激提示後時間的に早い段階（潜時：150-200 ミリ秒付近）で hMT/V5+付近で生じる脳磁場反応は、刺激の大きさ増大とともに変わっていく可能性が考えられる。このことを検討するため、 2.2×2.9 - 44.8×57.4 deg の 4 段階の大きさと、 2.9 - 23.5 deg/s の 4 段階のスピード条件のもと、正弦波状運動刺激を作成し検討した。結果、どのスピード条件においても大きさが 2.2×2.9 deg から 16.8×22.4 deg に増大していくと反応潜時が短縮していくが、 44.8

$\times 57.4$ deg に達すると逆に延長し、U 字型変化が存在することが明らかになった。更にこの結果が運動刺激によるものか明確にするために、空間周波数、大きさおよび時間周波数をそろえた flicker 刺激を用いて検討すると、どの時間周波数条件でも刺激の大きさとともに単調に潜時は短縮し、U 字型変化は認められなかった。これらの結果から、視覚性運動刺激検出は刺激の大きさが 16.8×22.4 deg 付近に達すると変化すると考えられ、刺激の detectability と反応潜時の短縮が対応しているとする、本研究の結果は、刺激の大きさが 16.8×22.4 deg 付近において最適な視覚性運動刺激検出が脳内視覚情報処理において行われている可能性を示唆する。(Clinical Neurophysiology 122(6): 1238-1245, 2011)

刺激の大きさおよびコヒーレンスが視覚性運動検出に与える影響

浦川智和, 乾 幸二, 柿木隆介

視野全体に広がる一方向への視覚性運動刺激 (wide field coherent motion) は我々自身の運動を検出する上で重要な情報であり、その脳内での検出過程は、その他の視覚性運動刺激のそれとは異なると考えられる。このことについて本研究では脳磁図を用いて検討した。視覚性運動刺激は、coherent 刺激（運動方向が一方向に統一された刺激）と incoherent 刺激（運動方向が統一されてい

ない刺激）を大きさ 19.9×28.1 deg および 50.2×75.1 deg (wide field) のそれぞれで作成した。実験の結果、頭頂付近で刺激が wide field となると incoherent-coherent 間の差が顕著になることが明らかになった。この結果から、wide field coherent motion の検出には、頭頂付近の領野が関与することが示唆された。(Neuroscience Letters 488: 294-298, 2011)

表情変化に対する誘発脳波の発達による変化

三木研作, 渡邊昌子, 照屋美加, 竹島康行
浦川智和, 平井真洋, 本多結城子, 柿木隆介

今回、7-10 才、11-14 才、成人（22-33 才）を被験者にして表情変化に誘発される脳波を計測し検討した。以下の条件を用いた。(1) N-H：無表情の顔から喜んだ顔へ変化する（正の表情の表出）、(2) H-N：N-H を逆にしたもの（正の表情の消失）、(3) N-A：無表情の顔から怒った

顔へ変化する（負の表情の表出）、(4) A-N：N-A を逆にしたもの（負の表情の消失）。表情変化後、7-10 才では約 235 ミリ秒後、11-14 才では約 220 ミリ秒後、成人では、約 170 ミリ秒後に明瞭な陰性波が、左側頭部の T5、T5' (T5 より 2cm 下)電極ならびに右側頭部の T6、T6' (T6 より

2cm 下) 電極でみられた。この陰性波の頂点潜時と最大振幅に関して、成人では、7-10 才、11-14 才に比べ有意に短かつ小さくなっていた。またそれぞれの年齢でこの陰性波の各条件間に関して比較検討した。7-10 才では、左右両側頭部の T5', T6' 電極において、N-H 条件と N-A 条件が他の条件に比べ、最大振幅が有意に大きくなっていた。11-14 才では、左右両側頭部の T5', T6' 電極にお

いて、N-H 条件が H-A 条件、A-N 条件に比べ有意に大きくなっていた。成人では、右側頭部の T6, T6' 電極において N-H 条件が他の条件に比べ有意に大きくなっていた。この結果から、表情変化を認知するパターンは、14 才の時点では成人のパターンに達していない可能性が示唆された。(Clinical Neurophysiology 122: 530-538, 2011)

視覚特徴統合における非線形特徴協働効果の神経機構

木田哲夫, 田中絵実, 竹島康之, 柿木隆介

異なる視覚特徴次元の相互作用的な(非線形の)協働的な効果は特徴協働効果 (feature synergy) と呼ばれる。本研究では脳波を用いて特徴協働効果の神経機構を検証した。ディスプレイ上に 27×27 の配列で 729 個のガボールパッチを提示した。これを用いて 2 種類の視覚刺激を作成した。ひとつは刺激全体が均一で、分離される部分が無い刺激(標準刺激)、もうひとつは、中央部の 9×9 の部分にあるガボールパッチの空間周波数もしくは傾きの平均が、周辺部とは異なる刺激であった(標的刺激)。また、標的刺激において空間周波数と傾きがともに周辺部とは異なる刺激も作成した(2 重定義刺激)。被験者は中央部が周辺部と異なるか否かを弁別し、Yes/No 形式で答えた。信号検出理論を用いて弁別度 d' を算出した。 d'

は単一定義刺激と比較して 2 重定義刺激の場合に増加したことに加え、加重効果の理論値より増加し、特徴協働効果を示した。このとき、下側頭部において刺激提示後 130ms に始まる陰性波が記録された。この陰性波は、単一特徴次元における特徴コントラストの操作による弁別度の増減によつては変化しなかった。また、2 重定義刺激の個々の特徴コントラストが単一の特徴次元において元々高かった場合には、特徴協働効果も陰性波も認められなかった。これらの結果から、視覚特徴協働効果には時間的に比較的速い段階から下側頭部における脳波反応が関与する可能性が示唆された。(NeuroImage 55: 669-680, 2011)

速度情報を伴わないヒト脳での運動方向処理：ランダムドット仮現運動刺激による脳磁場研究

岡さち子, 浦川智和, 柿木隆介, 金桶吉起

仮現運動はパラパラ漫画の様な不連続な視覚刺激であり、速度情報がないにも関わらず滑らかな運動知覚を生み出す。我々は脳磁場計測においてヒト脳が仮現運動に対しどのような反応を示すのかを調べた。脳磁場の頂点潜時と頂点磁場強度には仮現運動の方向ごとの有意差は見られなかったが、相互情報エントロピー mutual information entropy (IE) が視覚刺激の約 36ms 後に有意に増加していることから、仮現運動に対する脳磁場反応には方向の情報が含まれていることが分かった。方向情報のみで速度情報を持たない仮現運動と、方向と速度の情

報を持つ連続する視覚刺激への脳磁場反応を比較すると、仮現運動への IE の最大潜時は連続する視覚刺激へのそれに比べ有意に長いということが分かった。先行研究との比較から、方向情報は仮現運動による脳磁場反応にも現れているがその方法が異なるということが判明した。仮現運動では脳における情報処理の過程が、連続する視覚刺激とは異なるものであることが示唆された。(Open Journal of Molecular and Integrative Physiology, 1(2): 17-22, 2011)

生体システム研究部門

【概要】

私達を含め動物は、日常生活において周りの状況に応じて最適な行動を選択し、あるいは自らの意志によって四肢を自由に動かすことにより様々な目的を達成している。このような随意運動を制御している脳の領域は、大脳皮質運動野と、その活動を支えている大脳基底核と小脳である。逆にこれらの領域に異常があると、パーキンソン病やジストニアに見られるように、随意運動が著しく障害される。本研究部門においては、大脳基底核を中心に、このような随意運動の脳内メカニズムおよびそれらが障害された際の病態、さらには病態を基礎とした治

療法を探ることを目的としている。

そのために、①大脳基底核を巡る線維連絡を調べる、②課題遂行中の霊長類の神経活動の記録を行う、③大脳基底核疾患を中心とした疾患モデル動物（霊長類・げっ歯類）からの記録を行う、④このような疾患モデル動物に様々な治療法を加え、症状と神経活動の相関を調べる、⑤様々な遺伝子改変動物の神経活動を記録することにより、遺伝子・神経活動・行動との関係を調べることを行っている。

運動課題遂行中のマカクサル運動野および体性感覚野のフラビンイメージング

畑中伸彦，高良沙幸，金子将也，南部 篤

フラビン蛋白はミトコンドリアに存在する電子伝達系蛋白の一つで、神経活動の亢進に伴い還元型から酸化型に変化する。この酸化型フラビン蛋白は青色励起光によって緑色自家蛍光を発するため、神経活動の亢進をイメージングすることが出来る。これまでフラビンイメージングは頭蓋骨、脳硬膜の薄いラットやマウスでなされてきたが、マカクサルで行われた実験は非常に少ない。マカクサルの発達した大脳皮質は、わたしたちヒトと同様に様々な機能を持つ脳領域に分化しており、ヒトの脳

活動を研究する上で重要な研究対象である。われわれは遅延期間付き上肢到達運動課題をトレーニングしたサルの前頭葉に、一次体性感覚野から運動前野全体をカバーする大型で透明度の高い観察用人工硬膜を設置しフラビン蛍光の記録を行った。その結果、運動前野は遅延期間中から活動を開始しており、一次運動野では運動開始から800ms程度遅れて上肢領域に局限した活動強度の上昇が観察された。今後は脳表に電極を置き、フラビンイメージングと皮質脳波記録との関係を明らかにする予定である。

大脳基底核－視床－大脳皮質ループにおける運動制御機構

知見聡美，南部 篤，川口泰雄（大脳神経回路論）

木村 實（玉川大学）

大脳基底核は、大脳皮質からの入力を受け、処理を行った後の出力を、視床を介して大脳皮質に戻すループ回路を形成している。大脳基底核を介した情報伝達が、運動制御において重要な役割を果たすことは広く知られているが、運動制御機構の詳細は不明である。本研究では、大脳基底核の出力が、視床および大脳皮質の活動に対してどの様に作用するのかを明らかにするために、正常な

サルにおいて、大脳皮質運動野に投射する視床外側腹側核 (VL) のニューロンを同定し、活動を記録した。大脳皮質運動野に投射する VL ニューロンの多くは、自発発火頻度が低く 10 Hz 以下であることがわかった。大脳基底核の出力部である淡蒼球内節に電気刺激を加えると、これらの VL ニューロンは、短潜時の抑制とそれに続く興奮という 2 相性応答を示した。今後、運動課題遂行中

における VL ニューロンの活動を記録し、大脳基底核－視床－大脳皮質ループにおける運動制御機構明らかにしたい。

光遺伝学を利用した大脳皮質－線条体経路の神経生理機能の解明

佐野裕美，知見聡美，南部 篤

加藤成樹，小林憲太，小林和人（福島県立医科大学）

大脳皮質運動野から大脳基底核への入力経路として大脳皮質－線条体経路と大脳皮質－視床下核経路が知られている。従来の大脳皮質運動野への電気刺激では両者の経路が刺激を受けてしまう。そこで、逆行性の遺伝子導入が可能な狂犬病の糖タンパクを持つレンチウイルスベクター（RV-G レンチウイルスベクター）と光遺伝学を利用して、大脳皮質－線条体経路に光受容体を発現させ、光照射により選択的な興奮を誘導し、大脳皮質－線条体経路の神経生理機能を解明しようと試みた。チャンネルロドプシン (ChR2) を搭載した RV-G レンチウイルスベク

ターをマウス線条体に注入したところ、大脳皮質、視床束傍核、黒質緻密部などに ChR2 の発現が認められたが、発現量が低かった。そこで、テトラサイクリン遺伝子発現誘導系を利用した RV-G レンチウイルスベクターをマウス線条体に注入したところ、大脳皮質、視床束傍核、黒質緻密部などで ChR2 を発現するニューロンの数は少なかったが、個々のニューロンでの発現量は非常に高かった。更に、大脳皮質で光照射と神経活動を記録したところ、光照射に応じた興奮が認められ、大脳皮質－線条体経路の同定と特異的な興奮誘導に成功した。

光遺伝学を利用した線条体投射ニューロンの神経生理機能の解明

佐野裕美，南部 篤

田中謙二（分子神経生理研究部門）

テトラサイクリン遺伝子発現誘導系を利用した遺伝子組換えマウスを用いて、線条体投射ニューロンに光受容体を発現させ、光遺伝学により線条体投射ニューロンの神経活動を操作し、線条体投射ニューロンの神経生理機能を解明しようと試みた。線条体投射ニューロンにチャンネルロドプシン (ChR2) を発現する遺伝子組換えマウスの線条体に光照射すると、光照射に応じた興奮の誘導が認められた。また、線条体に光照射したとき、線条体の投射先である淡蒼球外節や黒質網様部で神経活動を記録したところ、光照射に応じた抑制が認められ、抑制性の

線条体－淡蒼球投射ニューロンと線条体－黒質投射ニューロンの興奮が示唆された。更に、自由行動下で片側の線条体に光照射すると、回転運動などの行動変化が認められ、線条体投射ニューロンの興奮による行動変化が観察できた。

一方で線条体－淡蒼球投射ニューロンに選択的に光受容体を発現させるため、テトラサイクリン遺伝子発現誘導系を利用した遺伝子組換えマウスの作製を試みた。その結果、線条体－淡蒼球投射ニューロン特異的に光受容体を発現するマウスを得ることができた。

マーモセット大脳皮質 3a 野における神経生理学および解剖学的解析

瀬戸大輔, 畑中伸彦, 南部 篤

覚醒下のマーモセットに対して、皮質内微小電気刺激 (ICMS) と感覚刺激に対する細胞応答を記録することで、大脳皮質の運動関連領野と体性感覚関連領野の神経生理学的皮質マッピングを行った。そして、このマッピングをもとに 3a 野に神経トレーサーを注入し、運動-体性感覚関連領野との投射関係を神経解剖学的に検索した。3a 野は運動関連皮質（一次運動野、運動前野、補足運動野）と、体性感覚関連皮質（3b 野、1/2 野、二次感覚野）か

らの入力を受けていた。また視床との神経連絡では、VL 核（一次運動野に出力している）と VP 核（一次体性感覚野に出力している）から投射を受けていた。3a 野は神経生理学的にも四肢の深部刺激に対して応答するだけでなく、ICMS によって筋肉の収縮を誘発し、運動野に似た特徴も併せ持つ。したがって、3a 野は感覚情報の入力だけではなく、運動情報と感覚情報の統合にも関与していると考えられる。

BMI 駆動型脳深部刺激療法の開発

高良沙幸, 南部 篤
西村幸男（認知行動発達機構）

通常の大脳深部刺激療法 (DBS) は常時一定の電気刺激を行う方法で、パーキンソン病でみられる固縮や振戦といった症状の抑制に効果がある。しかし長期間 DBS を行うと治療効果が減少することが報告されている。パーキンソン病の症状は運動開始や運動実行中に強く現れる傾向があるので、運動の開始や実行に関係した神経活動を抽出し、それを電気刺激に変換して DBS を行うという、ブレインマシーンインターフェイス (BMI) の考え方を使った方法を開発することを目的に、パーキンソン病モデルサルで有効性を検討した。

まず MPTP を投与によりパーキンソン病モデルサルを作製し、運動の開始や実行に関連する神経活動を大脳皮質運動野と視床下核 (STN) から記録した。神経活動の記録と電気刺激を同時に行うことができる電極を作製し、STN から記録と DBS を同時に行った。また、DBS の効果を判定するため行動解析系の改良改善を行い、反応時間、運動時間から到達運動課題遂行能力を測定した。その結果、運動関連の神経活動を用いた DBS により、パーキンソン病モデルサルの上肢運動の回復がみられ、この方法が有効であることが分かった。

大脳基底核出力核に置ける興奮性・抑制性の活動調節

金子将也, 畑中伸彦, 橘 吉寿, 南部 篤

淡蒼球内節と黒質網様部は、大脳基底核の出力核であり、その活動は大脳基底核-大脳皮質連関に大きく影響を与えると考えられる。その淡蒼球内節には時間的に異なる 3 つの入力が大脳皮質よりもたらされる。1) 大脳皮質-視床下核-淡蒼球内節（ハイパー直接路）は淡蒼球内節ニューロンを短潜時で興奮させる。2) 大脳皮質-線条体-淡蒼球内節（直接路）が続いて蒼球内節ニューロ

ンを抑制する。3) 大脳皮質-線条体-淡蒼球外節-視床下核-淡蒼球内節（間接路）が再び淡蒼球内節ニューロンを興奮させる。淡蒼球内節ニューロンは拮抗する興奮性・抑制性入力によってどのように調節されているかを調べるために、運動課題遂行中のサル淡蒼球内節ニューロンにおいて、単一ユニット記録とグルタミン酸作動性受容体、GABA 作動性受容体の神経遮断薬の微量注入を

併用し、興奮性・抑制性入力それぞれがどのように関わっているか検討している。

視覚情報を運動発現に変換する神経回路の解明

高原大輔，南部 篤

星 英司（東京都医学総合研究所）

高田昌彦（京都大学・霊長類研究所）

私たちは日常生活において、呈示された視覚物体を知覚して、それに基づいて適切な運動を選択・実行している。このような条件付き視覚運動変換課題には、前頭連合野のうち前頭前野腹外側部 (vIPFC) と運動前野背側部 (PMd) が必須であることが示されているが、これらの間には直接投射が存在しないことが分かっている。そこで、vIPFC と PMd の間には複数のシナプスを介した投射があるという仮説のもとに、解剖学的研究を実施した。同一個体において、PMd へ逆行性トレーサーを注入し、

vIPFC へ順行性トレーサーを注入したところ、前頭前野背側部 (dPFC)、前頭皮質内側面 (dmFC)、運動前野腹側部 (PMv) などにおいて、PMd へ投射する細胞の分布と vIPFC 細胞の神経終末の分布に重なりがあることが明らかとなった。また、狂犬病ウイルスを越シナプス性逆行性神経トレーサーとして用い PMd に注入したところ、注入後 3 日で 2 次ニューロンが vIPFC で観察された。これらのことから、vIPFC からの情報は、dPFC、dmFC、PMv を介して 2 シナプス性に PMd に至ると考えられた。

計算神経科学研究部門

【概要】

計算神経科学研究部門では、神経細胞・神経回路網の非線形ダイナミクスが、脳機能にいかに関わっているかを解明することを目指している。中でも記憶や注意などの高次機能の発現に、多安定性、引き込み、カオス、遷移ダイナミクスなど、非線形動力学系の豊かな特質がいかに活かされているかについて、数理モデルによる解析

を行い、実験的に検証可能な予測を試みている。また conductance injection (dynamic clamp) 法を用いた数理的方法と in vitro 生理学の融合や、in vivo データの非線形解析手法の開発なども行い、現実に即した数理モデル化の方法を探索している。

シナプス統合における Dale 則の破れと前シナプス制御の影響に関する研究

渡辺啓生（東京大学）、合原一幸

脳内では多数の神経細胞が主にシナプス結合でつながっている。従来、一つの神経細胞は興奮性あるいは抑制性のいずれか一種類のシナプス結合のみ持つという Dale 則に従うとされてきたが、近年これが破られる可能性が示唆された (Ren et al., 2007)。我々は Dale 則の破れが神経細胞のネットワークのダイナミクスに与える影響を数値実験により検証した。その結果、Dale 則の破れを

許したネットワークは、外部入力の変化に非常に敏感に反応するなど興味深い性質が多数見られた。特に、前シナプス制御を想定した結合強度の変化を与えることで、一つのネットワークが同期的なものからカオス的なものまで、豊富な活動パターンを示すことを明らかにした。現在は、モデルに実際の脳内で見られる構造をより詳細に組み込み、前シナプス制御の効果が及ぶ範囲や持続時

間の違いによる影響を検証中である。

神経細胞の異常な同期状態の緩和について

西川 功 (東京大学), 合原一幸

神経細胞の異常な同期は様々な精神疾患にも関わっている可能性がある。我々は、同期現象を記述する可解モデル (蔵本モデル, 蔵本・大同モデル) を通し、異常な同期状態を緩和するための知見を模索してきた。これまで、蔵本モデルにおいて、系が同期を示しているとき、微小な結合強度の減少が異常な同期状態の緩和に大きな効果があることが知られていた (Daido, 1990)。我々は、

蔵本モデルを拡張した蔵本・大同モデルにおいても同様の性質の成立を示唆する結果を得た。さらに、振幅変数を持つより現実的なモデルにおいても同様の結果を得た。これらの結果は、系の結合強度を安定的に下げる方法があれば、その減少が微小でも異常な同期状態の緩和には効果が高いことを示唆している。

大脳皮質機能研究系

脳形態解析研究部門

【概要】

脳形態解析部門では、神経細胞やグリア細胞の細胞膜上に存在する伝達物質受容体やチャネルなどの機能分子の局在や動態を観察することから、シナプス、神経回路、システム、個体行動の各レベルにおけるこれらの分子の機能、役割を分子生物学的、形態学的および生理学的方法を総合して解析する。特に、各レベルや各方法論のギャップを埋めることによって脳の機能の独創的な理解を目指している。

具体的な研究テーマとしては、1) グルタミン酸受容体および GABA 受容体と各種チャネル分子の脳における電子顕微鏡的局在を定量的に解析し、脳機能との関係を

明らかにする。2) これらの分子の発達過程や記憶、学習の基礎となる可塑的变化に伴う動きを可視化し、その制御メカニズムと機能的意義を探索する。3) 電依存性カルシウムチャネルの脳内微細構造上の局在を明らかにし、カルシウムシグナルにより制御されている種々の生理現象の分子基盤を明らかにする。4) 脳のシナプスやグルタミン酸受容体局在の左右差とその生理的意義を探索する。5) シナプス-グリア複合環境の動的変化による情報伝達制御のメカニズムを明らかにする。6) シナプス接着因子 Neuroligin/Neurexin の機能を明らかにし、これらを標的とした自閉症モデル動物を確立する。

シナプスを取り巻く微細構造空間のシナプス伝達特性への影響

松井 広, Timotheus Budisantoso, 深澤有吾, 重本隆一

脳内の情報処理は、細胞間を信号が次々と受け渡される過程を通して進むと考えられている。伝達物質がどのように放出されるのかといったシナプス前性の要因、及び、受容体がどのような伝達物質濃度に対して反応するのかといったシナプス後性の要因に関して、研究が進んでいる。しかし、薄い細胞間隙の複雑に入り組んだ迷宮を伝達物質が拡散し、細胞表面に発現している受容体が次々と活性化する様子は、直接可視化されていない。この狭い空間に、脳における情報処理の本質の多くが詰まっているわけであり、シナプス形態のわずかな違いや、発現している分子の数・分布等のほんの少しの揺らぎによって、信号伝達特性が大きく変わることが予想される。逆に、それぞれのシナプスの果たす生理的役割に従って、これらの構造が生体内で最適化されているとも考えられる。そこで、シナプスの微細構造が神経細胞間の信号伝達特性にどんな影響を与えるのか調べ、生理的機能を果たすのにどう役立っているのか明らかにすることを目的とし、研究を行っている。

中枢神経系における主要な興奮性信号伝達機構として

は、グルタミン酸作動性シナプスが挙げられる。我々は外側膝状体 (LGN) 中継細胞のグルタミン酸作動性シナプスに注目した。視覚情報は、網膜から大脳皮質に伝えられる途中で、LGN を経由する。網膜神経節細胞と LGN 中継細胞間のシナプスは、神経信号の単純な中継ぎをしているわけではない。このシナプスでの顕著な短期性の可塑的な変化は、視覚情報処理の一端を担っていると考えられる。網膜神経節細胞はある程度の速い周波数で発火することがあるので、放出一応答連関は、発火毎の独立した事象ではなく、直前の履歴を引きずることになり、シナプス伝達の短期可塑性の一部は、細胞間隙における伝達物質の振る舞いに影響される可能性がある。我々はラット急性脳スライス標本を作製し、この短期可塑性のメカニズムを電気生理学的手法を用いて明らかにすることを目指した。また、超薄切片の電子顕微鏡像の三次元再構築や凍結切断レプリカ免疫標識法 (SDS-digested freeze-fracture replica labeling, SDS-FRL) を用いて、このシナプスの微細環境を解析し、シナプス伝達に影響を与える構造的要素（個々のシナプスの間の距離、AMPA 受容

体の発現様式、シナプスに対するグリア細胞膜配置様式等)を明らかにした。これを元に、伝達物質の拡散およびシナプス後細胞に生じる応答をシミュレーションし、電気生理学的に記録される応答と照らし合わせた。この

ような研究を通して、伝達物質濃度推移の時空間特性を理解し、数ミクロン以内の狭い空間で、ミリ秒単位で制御される信号の受け渡し過程の全貌をつかむことを目指している。

Calyx of Held シナプス成熟過程における受容体配置の変化と機能

原田春美, 釜澤尚美, 松井 広, 重本隆一

脳における情報処理が正常に機能するためには、シナプス伝達効率の最適化が必須である。聴覚系のシナプスでは特に、数百 Hz 以上の速度で送られてくる信号を正確に伝達する機能が必要である。ラットでは、生後3週間で聴覚系の機能が完成するが、それまでの間にシナプスの成熟が迅速に行なわれる。我々は、聴覚伝導路に位置する calyx of Held (前蝸牛核神経終末端)と MNTB (台形体核) 主要神経細胞が形成する巨大シナプスの発達過程に着目し、シナプス後膜における受容体配置、およびシナプス前細胞における伝達物質放出部位の最適化の過程を解析した。

Calyx of Held と MNTB 細胞体上に形成されるグルタミン酸作動性シナプスは、凍結切断レプリカ像では、大きな細胞体とその周囲に密着した扁平な構造として観察されるため、細胞膜上に発現する受容体やチャネルの二次元的配置を解析するのに適している。Calyx of Held から放出されるグルタミン酸に対して、MNTB 主要細胞の AMPA 受容体・NMDA 受容体が反応すると考えられているが、まずは、これらの受容体配置をレプリカ標識法により解析した。レプリカ標識法による AMPA 受容体・NMDA 受容体に対する標識は、主要細胞の細胞体 E-face 上に存在する膜内粒子 (IMP) のクラスターとその周辺に認められた。生後1週間の時点では、受容体標識が認められる IMP クラスターにおける IMP の密度は低く、抗 AMPA 単独、抗 NMDA 単独で標識されるクラスターと、両者に対する標識が混在するクラスターが観察された。生後3週間では、クラスター内における IMP の凝集密度は上昇し、AMPA 受容体標識のみが認められ、NMDA 受容体に対する標識はほとんど存在しなくなった。同様の発育段階のスライス標本で、MNTB 主要細胞から電気生理学的記録を行ったところ、ひとつひとつのシナプス小胞の開口放出に対する応答 (mEPSC) が検出され、AMPA

受容体、NMDA 受容体それぞれに由来する成分が、生後2週間の段階では検出されることを確認したので、生後発達に伴い、各成分がどのように変化するかを解析する予定である。さらには、得られた構造的情報を基に、二次元的に広がる細胞間隙における伝達物質拡散、および、シナプス後膜上に分布する受容体応答をシミュレーションし、電気生理学的に記録される応答と照らし合わせることで、生後発達に伴う受容体分布変化の生理的意義を解明することを試みている。

伝達物質を含んだシナプス小胞の開口放出は、電位依存性カルシウムチャネルによって、精緻に制御されていることが知られている。これらのチャネルがシナプス前膜上にどのように分布しているかを調べることで、伝達物質放出を制御する重要な構造的基盤を解明できると考えられる。多くのシナプスでは、伝達物質放出には、P/Q 型のカルシウムチャネル ($\alpha 1a$) が主要な役割を果たしていると考えられているが、新規に得られた抗 $\alpha 1a$ 抗体がレプリカ標識に適用できることを発見したので、これまで誰も見ることはできなかったシナプス前膜における $\alpha 1a$ の二次元分布を可視化することに初めて成功した。解析の結果、生後1週目では細胞膜に散在していたカルシウムチャネルが、生後2週目に開口放出部位 (アクティブゾーン) に局在する様子が明らかになった。シナプス前細胞におけるカルシウムチャネルの局在変化の過程は、シナプス後細胞における受容体の凝集過程とよく一致しており、聴覚系における正確で素早いシナプス伝達を実現するために、シナプス前後細胞が協調して構造のチューニングを行なっていることが解明された。

今後は、calyx of Held におけるカルシウムイメージングデータと照らし合わせることで、カルシウムチャネルの局在と、チャネルを通してシナプス前細胞内に流入したカルシウムイオン濃度の広がりとの関連を明らかにす

るとともに、アクティブゾーン内でのシナプス小胞融合部位とカルシウムチャネルの位置関係等の詳細な形態学的情報を追究することを検討中である。これらの情報が得られて初めて、ひとつひとつのカルシウムチャネルの開閉が、シナプス小胞の開口放出をいかに制御しているのかを明らかにすることが可能になる。具体的な手法と

しては、スライス標本に対する薬剤処理などによって、開口放出過程の各段階を制御することを試み、電気生理学的に検討した後、スライス標本を用いたレプリカ標識法を工夫することで、カルシウムチャネルの開閉と開口放出との連関を支える構造的基盤をさらに追求する予定である。

シナプス接着因子 Neuroligin/Neurexin を標的とした自閉症モデル動物の評価・確立

Wen-Hsin Chang, Nur Farehan Mohamed Asgar, 田渕克彦

Neuroligin/Neurexin は異なるファミリーに属する細胞接着因子で、Neuroligin はシナプス後終末、Neurexin はシナプス前終末に局在し、これらがカルシウム依存的に結合することにより、シナプスの形成及び機能的成熟に寄与していると考えられている。近年、Neuroligin およびNeurexinの遺伝子異常が自閉症患者から発見されたことから、これらの分子の機能異常が自閉症の原因と関係しているのではないかと考え、ヒトの自閉症患者から見つかったこれらの変異を再現した遺伝子改変マウスを作成し、自閉症の病態と関連づけて解析を行っている。我々は以前の研究で、Neuroligin-3 の細胞外のアセチルコリンエステラーゼ様ドメイン内の 451 番目のアルギニンがシステインに置換した変異は、マウスにおいても自閉症特有の社会行動の異常と、空間学習記憶能力の増強を引き起こすことを見出している。現在進行中の研究として、このマウスのシナプス機能を調べたところ、R451C 変異

は大脳皮質においては抑制性シナプス機能の増強を引き起こすのに対し、海馬では興奮性シナプス機能の増強を引き起こすという、脳の領域ごとに異なる効果を示すことを見出した。さらなる詳細な電気生理学的解析により、大脳皮質では GABA 受容体機能、海馬では NMDA 受容体 2B サブユニットの機能亢進が見られることがわかってきた。また自閉症患者から見つかった別の変異である R704C 変異（細胞内領域の 704 番目のアルギニンがシステインに置換された変異）を再現した Neuroligin-3 のノックインマウスでは、R451C マウスとは異なり、海馬において AMPA 受容体機能の減弱が認められたが、GABA 受容体機能に変化は見られなかった。今後、これらの受容体の局在を電顕レベルで解析すると同時に、Neurexin との相互作用を含めた分子メカニズムについても解析していく予定である。

シナプス-グリア複合環境の動的変化による情報伝達制御

松井 広

シナプス前終末部から放出された伝達物質は細胞外空間を拡散し、その広がり方によって、神経細胞間の情報伝達の特性は決定される (Matsui and von Gersdorff, 2006)。伝達物質の拡散を制御し、学習や記憶に重要とされるシナプス辺縁の受容体の活性化を制御できる格好の位置に、グリア細胞が存在する。我々は、シナプス-グリア複合環境の動的変化が、伝達物質濃度の時空間特性にどう影響するのか調べている。これまで、シナプス前細胞からグ

リア細胞のほうに向けて異所性のシナプス小胞放出があり、これがニューロン-グリア間の素早い情報伝達を担っていることを示してきた (Matsui and Jahr, 2006)。この情報伝達によってグリア細胞の形態や機能が制御されている可能性を、二光子励起イメージングによって解析している (Matsui, 2006)。グリア細胞によるシナプスの包囲率の相違が、シナプス伝達にどんな影響を与えるのかを、電気生理学・電子顕微鏡法も組み合わせて解明する。

細胞種選択的にチャネルロドプシン 2 を発現した遺伝子改変マウスの開発

松井 広, 佐々木拓哉

近年の神経科学研究において、光遺伝学（オプトジェネティクス）的な研究ツールが注目され、これまで以上に、神経活動と動物の個体行動との因果関係が解析可能になりつつある。本研究では、遺伝子ノックイン技術を用いて、テトラサイクリン制御性の遺伝子発現システムを改良し、多様な細胞種選択的に、光感受性タンパク質チャネルロドプシン 2 (C128S 変異体) を高発現する遺伝子改変マウスの作製に成功した。本マウスは、細胞種選択的プロモータ下においてテトラサイクリン制御性因子 (tTA) を発現する遺伝子改変マウスと、tTA により活

性化されるプロモータ (tetO プロモータ) 下においてチャネルロドプシン分子を発現する遺伝子改変マウスの 2 つを掛け合わせることによって得られる。我々は、ニューロンだけでなくグリア細胞にも本発現システムを適用し、in vivo 条件下において、これらの細胞活動を操作することに成功した。本システムでは、細胞種選択的に多様な機能分子を発現させることができるため、神経科学のみならず、生命科学分野において、重要な実験ツールになると期待される。本研究は分子神経生理研究部門の田中謙二助教らとの共同研究として行われた。

グリア細胞刺激による神経活動および個体行動の制御

佐々木拓哉, 別府 薫, 深澤有吾, 重本隆一, 松井 広

脳における情報処理は、ニューロン活動によって担われていると考えられている。ニューロンはグリア細胞と密接な連絡を取っているが、グリア細胞の脳内情報処理における役割を証明するには、グリア細胞からニューロンへのシグナル伝達の実態が解明される必要がある。本研究では、チャネルロドプシン 2 をアストロサイトに選択的に発現した遺伝子改変マウスを用いて、この課題に取り組んだ。In vivo の条件下において、これらのアストロサイトを光刺激すると、神経活動が誘発された。また、スライス標本を用いた解析から、グリア細胞の光刺激に

より、グルタミン酸が放出され、小脳プルキンエ細胞の AMPA 受容体を活性化させることが明らかになった。また、平行線維-プルキンエ細胞間のシナプスにおいては、グリア細胞の光刺激により、長期的な可塑性が観察された。さらに個体行動の解析から、グリア細胞の光刺激により誘発された神経活動は、小脳依存性の運動学習を制御するのに十分であることが示された。以上の結果から、グリア細胞が神経活動や個体行動を制御し、脳内の情報処理において重要な役割を担っていることが示唆された。

電位依存性カルシウムチャネルの神経細胞膜上分布

Laxmi Kumar Parajuli, 深澤有吾, 重本隆一

神経細胞の興奮性は細胞膜上に発現しているイオンチャネルにより制御されている。中でも電位依存性カルシウムチャネルは神経細胞の活動依存的にカルシウムを流入することによって、細胞の電氣的な興奮と細胞内セカンドメッセンジャー系の両方を調節し、種々の神経細胞の現象に関与する重要な分子である。しかし、その分布

を正確に解析することは、電気生理学的にも解剖学的にも困難であり、不明な点が多く残されている。我々はシナプス可塑性やてんかん発作の発生に関与が指摘されている R 型カルシウムチャネル、alpha1E サブユニットの特異抗体を樹立し、マウス脳内の発現分布と共に海馬 CA1 錐体細胞の細胞膜上の分布を免疫電子顕微鏡法を

用いて定量的に解析した。この結果、この電位依存性カルシウムチャンネルが樹状突起や樹状突起スパインの細胞膜上に非常に低密度で、散在的に発現していること、また、そのスパイン内の発現数はスパインの体積と正の相

関を示すことが明らかになってきた。また、このスパインにおけるチャンネルの発現数は樹状突起の発現密度とは独立していることを見出している。

海馬における長期増強現象とグルタミン酸受容体の密度変化

深澤有吾，重本隆一

神経細胞はシナプスを介して機能的に結合し、情報伝達することで、脳の情報処理機構を担い、また、その機変化が学習・記憶の細胞レベルの素過程であると考えられている。グルタミン酸を介したシナプス伝達は、脳内の主要な興奮性シナプス伝達であり、シナプス前細胞から放出されたグルタミン酸がシナプス後細胞のグルタミン酸受容体に結合することで、興奮が伝達される。従って、シナプス後に発現するグルタミン酸受容体の種類や量、また、その分布が個々のシナプスでの伝達特性の調節に深く関与し、これらの変化が記憶形成に重要な役割を持つと考えられる。本研究課題では、AMPA 型グルタミン酸受容体を中心にグルタミン酸受容体の細胞膜上分布を凍結切断レプリカ標識法を用いて明らかにすると同時に、学習時や実験的シナプス可塑性（長期増強現象）誘導時の受容体局在を観察することで、記憶・学習現象と受容体局在との関連性や因果関係を明らかにすることを目的としている。これまでに海馬歯状回シナプスの長

期増強現象誘導後にシナプス内 AMPA 受容体密度が一過性に増加することを見出し、また、シナプスが形成される樹状突起スパインとシナプスのサイズ及び受容体局在との関係を解析し、シナプス機能の増強に伴いスパインの形態変化と受容体増加及びシナプス面積増加が短時間で起きることを確認した。現在、より生理的な刺激条件下でのシナプス内グルタミン酸受容体密度がどの様に変化するかを検討しており、受容体密度調節の生理的意義を解析している。

シナプスに発現する AMPA 受容体密度変化が短期的な記憶痕跡であれば、AMPA 受容体密度変化を可視化することで記憶形成領域を可視化できる可能性があるため、脳内の広範な領域で短期記憶痕跡をマップ化し、学習・記憶形成の場を明らかにできる可能性が有る。将来的にはシナプスの機能的変化と神経細胞のネットワーク活動との関連や、それがどのように記憶形成に関与するのかについて明らかにしたいと考えている。

大脳神経回路論研究部門

【概要】

大脳皮質は多くの領域から構成され、それらが機能分担をすることで知覚、運動、思考といった我々の知的活動を支えている。大脳皮質がどのようにしてこのような複雑な情報処理をしているかは未だに大きな謎になっている。この仕組みを知るためには、皮質内神経回路の構造と機能を明らかにする必要がある。新皮質回路を構成するニューロンは形態的に極めて多様であることが知られているが、この多様性を理解することが皮質機能の解明には不可欠であると考えている。本部門では、皮質出力がどのように作られるという観点から、皮質局所回路

の構築原理を解明することを目標としている。そのために、多様な皮質領域や皮質下構造に投射する前頭皮質を構成する錐体細胞や GABA 作働性介在細胞のニューロタイプを、分子発現・生理的性質・軸索投射・樹状突起形態など多方面から同定した上で、これらの神経細胞間のシナプス結合を電気生理学・形態学の技術を組み合わせで調べている。皮質振動現象におけるニューロタイプの発火様式や、皮質外シナプス入力パターンの解析も行っている。本年度は、第 1 層ニューロンの形態・分子発現、FS 細胞による錐体細胞抑制のドメイン限局性、

皮質抑制性介在細胞局所サブネットワークへの興奮性シナプス入力, 前頭皮質 5 層錐体細胞と抑制性細胞の結合

特性, 前頭皮質・海馬傍領域間の広域サブネットワークについて解析を行った。

大脳皮質 FS 細胞による錐体細胞抑制のドメイン限局性

窪田芳之, 荏部冬紀, 畑田小百合, 北 啓子, 川口泰雄

錐体細胞への興奮性シナプスの殆どは樹状突起に作られるのに対して, GABA 作動性入力も樹状突起だけでなく, 細胞体にも多く見られる。細胞体・樹状突起 GABA 入力の相互作用を理解するために, 主要な GABA 細胞である FS バスケット細胞から錐体細胞への抑制性入力様式を, 単一抑制性電流のホールセル記録と, そのシナプス構造の電子顕微鏡による定量化を組み合わせで解析した。カリウムを主にした内液で記録した場合, FS 細胞か

ら錐体細胞に IPSC が惹起された場合には, そのシナプスの中には細胞体, またはそこから 40 μm 以内に分布するものが含まれていた。一方, 40 μm より離れたシナプスしか含まれていないペアーでは, 細胞体記録では FS 細胞からの IPSC は検出できなかった。この観察は, 錐体細胞の細胞体は, そこから 40 μm より離れた GABA 作動性シナプスからは電位変化による抑制は受けないことを示唆している。

皮質抑制性介在細胞サブネットワークへの興奮性シナプス入力

大塚 岳, 川口泰雄

大脳皮質の主要な抑制性介在細胞である Fast-Spiking (FS) 細胞は, 互いに電氣的に結合しサブネットワークを形成していることが知られている。FS 細胞の活動がどのように制御されているのかを理解するために, 錐体細胞の FS 細胞サブネットワークへの興奮性入力パターンについて脳切片を用いて解析した。5 層内の錐体細胞から FS 細胞ペアへの共通入力確率について比較した結果, 電気結合している FS 細胞ペアにおいて共通入力が多く見ら

れた。次に, 共通入力によって引き起こされる活動の FS 細胞ネットワーク内の伝播について計算機シミュレーションを併用して検討した。その結果, 入力を受けた細胞の活動は近傍にある FS 細胞には, 膜電位が脱分極時には抑制性として, また過分極時には興奮性として作用した。以上の結果から, FS 細胞ネットワークはネットワークの状態に依存して, 錐体細胞によって局所的に制御されていることが示唆された。

前頭皮質 5 層錐体細胞と抑制性細胞の結合特性

森島美絵子, 川口泰雄

前頭皮質 5 層には投射先が異なる 2 種類の錐体細胞, 橋核投射細胞 (CPn 細胞) と対側線条体投射細胞 (CCS 細胞) がある。この二種類の錐体細胞では, シナプス結合選択性と伝達特性が異なる。近年, 新皮質 GABA 細胞が錐体細胞に対して, ランダムに抑制性シナプスを作ることが報告されているが, 投射サブタイプに依存した選

択的抑制があるかどうか不明である。この点を検討するため, GABA 細胞の主要なサブタイプである FS 細胞と, 逆行性蛍光標識法により同定した錐体細胞サブタイプからの二細胞ホールセル記録法で, シナプス結合様式と伝達特性を調べた。FS 細胞から錐体細胞への抑制結合性確率, 及び, 錐体細胞からの興奮細胞への結合確率は, CPn

細胞と CCS 細胞の間で殆ど差が見られなかったが、短期可塑性は、CPn 細胞からの FS 細胞への興奮性シナプス

の方が、CCS 細胞からのものに比べてより促進型であった。

前頭皮質第 1 層 GABA 作働性細胞の形態分化と選択的分子発現

荏部冬紀, 山口 登, 川口泰雄

新皮質第 1 層 GABA 細胞の多くがアルファアクチニン 2 (AAC), またはカルレチニン (CR) を発現する。今回、免疫組織化学とホールセル記録により、ラット前頭皮質 1 層細胞の分子発現と発火特性、形態について検討した。他層の AAC 陽性細胞の多くがニューロペプチド Y を発現していたのに対して、1 層 AAC 陽性細胞ではその発現が見られず、一部の細胞では AAC/CR が共発現していた。AAC 陽性細胞は他層では遅延発火型であるが、1 層では

必ずしも遅延型ではなかった。CR 陽性細胞は樹状突起を 1 層全体に伸ばし、軸策を 2 層にも伸ばすのに対して、AAC 単独陽性細胞では、細胞体のあるサブレイヤーに樹状突起と軸策が限局し、軸策は水平方向に広がる傾向が見られた。これらのことから、1 層 AAC 細胞は異なる入力源に対応して分化しており、1 層サブレイヤー選択的に抑制をかけると考えられる。

前頭皮質と海馬傍領域をつなぐサブネットワークの多様性

平井康治, 川口泰雄

本前頭皮質は、海馬傍領域の一つである嗅周皮質との結合を使って陳述記憶の形成・検索に関与する。この投射構成を理解するため、ラット前頭皮質から嗅周皮質へ投射する錐体細胞の投射サブタイプを同定して、皮質内結合を解析した。2/3 層上部からは主に嗅周皮質 35 野へ、5 層上部からは嗅周皮質 36 野へ投射していた。2/3 層の一部は扁桃体へも投射し、5 層のものには対側線条体へも軸索を伸ばしていた。同じ 5 層上部にある嗅周皮質と視床へ

投射する細胞とでは、電気的性質や樹状突起・軸索形態が異なっていた。前頭皮質の中では、2/3 層嗅周皮質投射細胞からは、5 層の嗅周皮質と視床投射細胞へ同じようなシナプス結合を作るのに対して、5 層からのバック結合は、嗅周皮質投射細胞同士の間で見られた。従って、各層の特定のニューロンサブタイプの間でレイヤー間相互興奮結合が作られると考えられる。

心理生理学研究部門

【概要】

認知、記憶、思考、行動、情動などに関連する脳活動を中心に、ヒトを対象とした実験的研究をすすめている。脳神経活動に伴う局所的な循環やエネルギー代謝の変化をとらえる脳機能イメージング（機能的 MRI）と、時間分解能にすぐれた電気生理学的手法、更には眼球カメラや motion capture による定量的行動計測手法を統合的にもちいることにより、高次脳機能を動的かつ大局的に理

解することを目指す。最近、言語・非言語性のコミュニケーションを含む人間の社会行動の神経基盤とその発達過程に重点をおいて研究を進めている。特に、生理研究段階に導入された 3 テスラ MRI 2 台を用いて、社会的相互作用時の 2 個体同時脳機能計測というユニークな研究を推進して、社会能力の発達上極めて重要な共同注意の神経基盤をあきらかにしつつある。

二台のMRI同時計測による主導的および応答的共同注意の神経基盤の解明

田邊宏樹, 小池耕彦, 岡崎俊太郎, 島田浩二, 吉原一文, 佐々木章宏, 定藤規弘

共同注意には、自己が視線などを用いて他者と同一のモノ等に対し注意を共有する主導的共同注意 (IJA) と、他者が発する視線などの情報を読み取り他者と注意の共有を図る応答的共同注意 (RJA) があるが、その神経基盤の違いについては不明な点が多い。我々はオンラインでお互いの顔を見合うことができる二台の機能的MRI同時計測系を立ち上げ、IJAとRJAに関わる神経基盤の同定を試みた。実験の結果、IJAにおいて社会的意図に関

わるとされる前補足運動野→前帯状回、前部島皮質、楔前部、右下頭頂小葉、右運動前野、右前頭前野背外側部に強い脳活動が見られた。一方、相手の視線を理解し同じモノを見るRJAでは、視線処理に関わる上側頭溝、注意関連領域である側頭-後頭葉領域、上頭頂小葉、前頭前野背外側部、小脳の活動が観察され、IJAとRJAではその機能を担う神経基盤がかなり異なることが示唆された。

触覚と視覚による素材識別に関する神経基盤

北田 亮, 佐々木章弘, 岡本悠子, 荒田真美子, 河内山隆紀 (京都大学), 定藤規弘

ヒトは触覚や視覚を用いて素材の質感を知覚できる。しかし触覚と視覚から得られる素材の質感が脳でどのように結びつくのかについては不明である。そこで本研究では、視覚と触覚で得られた素材情報の統合に関わる神経基盤をfMRIを用いて同定した。本実験のために、素材の中央に異なる方位の長方形を接着した刺激表面を製作した。被験者は視覚と触覚でこの刺激を知覚し、(1) 素材が視覚と触覚で同じかどうかを回答する課題 (素材課

題) と (2) 長方形の方位が視覚と触覚で同じかどうかを回答する課題 (統制課題) を行った。その結果、視覚と触覚刺激の異同に関わらず、統制課題に対して素材課題では、紡錘状回を含む腹側視覚経路の賦活が観察された。視覚と触覚で素材が同じ条件に比べて、異なる条件では紡錘状回ではなく内側上頭頂小葉が賦活した。この結果は、多感覚領域である内側頭頂間溝が視覚と触覚刺激の誤差検知に関与していることを示している。

経頭蓋直流電気刺激による脳卒中片麻痺患者の下肢運動機能の改善

田中悟志 (名古屋工業大学), 定藤規弘

頭蓋の外に置いた電極から微弱な電流によって電極直下の神経細胞を刺激する経頭蓋直流電気刺激は、ヒトの脳活動を安全に修飾することのできる手法として基礎研究や臨床応用に注目が集まっている。今回、8名の慢性期の脳卒中片麻痺患者において、下肢の一次運動野をターゲットとして電気刺激を与えることで麻痺のある下肢の筋力が一時的に向上することが二重盲検法を使った

実験において示された。この結果は、脳への電気刺激を機能訓練と組み合わせることで脳卒中後のリハビリテーション効果を増強することの出来る可能性を示唆するものである。

本研究成果は、リハビリテーション分野でトップのインパクトファクターをもつ *Neurorehabilitation & Neural Repair* 誌に掲載された。

援助行動の動因に関する神経基盤

川道拓東，田邊宏樹，高橋陽香，定藤規弘

援助行動は、ヒトの社会的紐帯を醸成し、高度な社会を形成するために重要である。援助行動の動因には、その行動を行うことに起因したポジティブな感情である温情効果が重要な働きを行う。しかし、この動因がどのように援助行動につながるかは十分わかっていない。そこで、我々は、温情効果が共感を介して援助行動の動因となるという仮説をたて、二台の fMRI により検証を行った。本研究においては、恋愛関係にある被験者 2 人が他

の 2 人とボールを PC 上でパスするタスクを課し、一人がパスから排斥される状況を実験的操作により作り出した。結果として、排斥されたプレーヤーへのパス増加という援助行動がみられると共に、援助をすることで報酬を表象する線条体が有意に賦活した。この線条体の活動は、親密度に応じて異なる共感尺度と相関した。この結果は、援助行動が、共感を介した温情効果として線条体に表象される、すなわち、動因であることを示す。

評判の神経基盤

川道拓東，佐々木章宏，高橋陽香，田邊宏樹，定藤規弘

ヒトが社会生活を円滑に行うためには、評判を適切に処理することが重要である。評判の処理においては、評判の表象とそれに伴う価値判断が行われることが示されている。しかしながら、評判の表象はどのように実現されているかは十分わかっていない。自己の評判の処理においては、他者の形成した評価を推測し自己が下した評価と照らし合わせることで、自己観が形成されることが提唱されている。ここから、評判の表象においては、自

己が下した評価が重要となると仮説をたて、2 台の fMRI で計測した。この仮説を確認するために、親密度が自己の下した評価の有無につながることに着目して実験を実施した。結果として、評判の表象は内側前頭前野によってなされ、自己、パートナーのときと同様に賦活することが示された。こうしたことから、評判の神経基盤において内側前頭前野が重要な役割を果たし、評判の処理においては、自己が下した評価が重要なことが示された。

前向き認知的再評価の神経基盤と主観的幸福感との関連

松永昌宏，川道拓東，吉原一文，吉田優美子，定藤規弘

認知的再評価は、直面した感情刺激の持つ、感情を喚起する特徴を変化させるために、その刺激に対する解釈を意図的に変化させる手法である。認知的再評価は不快感情を減少させることや、快感情を増大させることに用いることもできる。今回、我々は「直面した出来事は将来必ず自分を成長させてくれる良いものである」という解釈をする、前向き認知的再評価の神経基盤を fMRI を用いて明らかにすることを試みた。実験の結果、前向き

認知的再評価実施時には、吻側前部帯状回、左背外側前頭前野、海馬傍回、小脳が活性化していることが示された。これは、前向き認知的再評価には報酬予測関連の神経回路が重要な役割を担うことを示唆するものである。また、主観的幸福感が高ければ高いほど前向き認知的再評価が得意であることも示された。幸福感が高い人々は、幸せな記憶をもとに報酬予測回路をよく活性化させることができるのではないかと考えられる。

右下前頭回の「読唇効果」への影響

山崎未花, 田中悟志 (名古屋工業大学), 菅原 翔, 定藤規弘

騒音環境下での会話中, 相手の唇の動きを観察することにより音声理解が促進されるという現象はよく知られている。昨年度我々は, 音声と一致した口の動きが提示されることにより, 音声理解が促進される現象を「読唇効果」と定義して行った, 機能的MRI実験結果をもとに,

右下前頭回の「読唇効果」への関与を確認するため, 経頭蓋直流刺激 (tDCS) を用いて予備実験を行った。本年度は, 刺激部位の検討, 課題の試行回数の変更を行い, 再度予備実験を行った。

恐怖刺激による末梢体温の変化に関連する脳内機序

吉原一文, 田邊宏樹 (名古屋大学), 川道拓東, 小池耕彦, 山崎未花 (福井大学), 定藤規弘

恐怖刺激は交感神経を介して末梢体温を低下させる。その脳内機序として, 扁桃体を介して体温調整中枢に影響を与えると推察されているが, 詳細な脳内機序は明らかになっていない。そこで, 本研究では被験者がホラー映像および対照映像を視聴している時の脳活動をMRIを用いて調べ, 同時に指先の体温を測定した。MRIの撮像後は, 映像を再度3秒毎に視聴し, 最初に視聴した時に感じた恐怖感を評価してもらった。その結果, ホラー

映像視聴時の恐怖感の評価と指先の体温の変化率とは, 時間差を持って相関していた。また, 末梢体温調整に関連する脳部位として前帯状皮質や島皮質および前頭前皮質が同定された。さらに, ホラー映像視聴時の扁桃体と前帯状皮質や島皮質との機能的結合は, 対照映像視聴時のそれらと比較して増強した。これらの結果より, 恐怖刺激によって扁桃体と前帯状皮質や島皮質との結合が増強し, 末梢体温を変化させていることが示唆された。

ゲームインタラクション中の頭部運動同期現象と自閉症傾向

岡崎俊太郎, 大塩立華, 安梅勅江 (筑波大学), 定藤規弘

ヒトは他人に対して反射的かつ自動的な模倣行動を示すことが知られている。この模倣行動は自閉症患者や自閉傾向のある健常者で低減する。本研究では複数被験者の双方向コミュニケーション下における相互模倣が二人の自閉症傾向によってどのように修飾されるのかについて検討した。二人のプレイヤーが交互に切り替わる単純なゲームを行っているときの(左右方向)頭部運動をモーションキャプチャを用いて定量的に分析した。その結果,

プレイヤーと非プレイヤーの頭部運動間に有意な同期が見られ, この同期と双方の自閉症傾向に有意な相関が見られた。結果から, 実際のコミュニケーション下では, ターンに関わらず相互模倣が起こるため, この同期現象は双方の自閉症傾向を反映しているものと考えられる。本研究の知見は一般的なコミュニケーション構築において個々の社会能力がどのように寄与するかを知る上で重要な基礎的知見である。

2 台の fMRI 同時計測による相互注視の神経基盤

小池耕彦, 田邊宏樹, Jorge Bosch

岡崎俊太郎, 佐々木章宏, 島田浩二, 吉原一文, 定藤規弘

アイコンタクト（相互注視）は、社会的コミュニケーションの基盤となっている可能性がこれまでに明らかに
なりつつある。我々は二台の MRI 装置を用いて、健康人
がアイコンタクトをしている最中の脳活動を同時計測し、
その神経基盤について検討をおこなった。実験は二日間
にわけておこなわれた。二者間での脳活動時系列データ
初日、初対面の被験者間では、高次視覚領域においての
み二者間での脳活動の同期が見られた。被験者はその後、

協力して別の実験課題をおこない、別の日にふたたびみ
つめあい実験をおこなった。二日目には、高次視覚領域
のみならず、運動前野においても二者間で脳活動が同期
していた。この結果は、二者間の関係性の変化が、脳活
動の同期の変化として表れていることを示唆する。さら
に条件を変えて解析したところ、この二者間での脳活動
の同期は単純な表情模倣によるものではなく、二者間で
のループ状の情報伝達によることが明らかとなった。

動作表象に関わる脳内ネットワーク

佐々木章宏, 河内山隆紀（国際電気通信技術研究所）, 杉浦元亮（東北大学）, 田邊宏樹, 定藤規弘

自動模倣とは、動作のキネマティクスの自発的な模倣
を指し、対人コミュニケーションに重要だと考えられて
いる。本研究では自動模倣の基盤となる動作表象が、後
部上側頭溝（pSTS）から運動前野（PMv）への結合（逆モ
デル）と PMv から pSTS への結合（順モデル）により表
現されると仮説を立て、fMRI 実験により検証した。被験
者は他者による球の回転、または球が自動回転する動画
を見ながら球回転の運動を行うまたは動画観察のみをす

る課題を行った。動作遂行時には PMv を含む運動関連領
域の賦活が示され、他者動作の観察時には pSTS を含む
視覚領域の賦活が示された。また脳領域間結合解析から
動作遂行時には PMv から pSTS への結合、他者動作の観
察時には pSTS から PMv への結合が増強することが示さ
れた。これらの結果から手の動作は pSTS と PMv の結合
が順モデル、逆モデルとして働くことより表象されてい
ることが示唆された。

音韻ループによって促進される外国語語彙学習時における右小脳と左紡錘状回の働き

牧田 快, 山崎未花（福井大学）, 田邊宏樹, 河内山隆紀（国際電気通信技術研究所）

小池耕彦, 横川博一（神戸大学）, 吉田晴世（大阪教育大学）, 定藤規弘

外国語語彙習得は作業記憶の構成要素である音韻ルー
プにより促進されることが知られている。しかしながら、
この時、どのような神経基盤が関与しているのかは明ら
かでない。これを同定するため、我々は fMRI を用いて
実験を行った。課題は、音韻ループ介在条件或いは音韻
ループ妨害条件下で外国語音声と画像をペアで覚える学
習課題と、音声から画像を思い出す、又は画像から音声
を思い出す想起課題を行った。結果、学習が進むに伴い

右小脳、左紡錘状回、右下側頭回に活動減弱が見られた。
これらの領域の内、右小脳と左紡錘状回では単語を想起
する時に音韻ループ介在条件で覚えた単語を想起する時
の脳活動値が大きく、また学習成績と正の相関を示した。
以上より、外国語語彙学習時に音韻ループでの一過性で
脆い構音情報が右小脳でより耐久度の高いものに変換さ
れ、それが左紡錘状回で意味情報と統合、単語としてよ
り強固な記憶に繋がったと結論付けられた。

表情の相互模倣の神経基盤

岡本悠子, 北田 亮, 高橋陽香, 八幡憲明 (東京大学), 吉田優美子
河内山隆紀 (国際電気通信基礎技術研究所), 田邊宏樹, 定藤規弘

相互模倣 (模倣・被模倣) を通した他者とのコミュニケーションにおいて, 自他の動作の比較を行い, その同一性を検出することは重要な役割を果たす。これまでの fMRI 研究において, 手を用いたジェスチャーでは体部位の処理を行う視覚領域である Extrastriate body area (EBA) で自他の動作の同一性を検出することが明らかになった。しかし, 表情の同一性を検出する領域については未だ明らかになっていない。そこで本実験では fMRI を用い, 表情の相互模倣時の自他の表情の同一性の検出にかかわ

る神経基盤を検討した。被験者は表情表出を行い, 同様のビデオを観察した。1) 動作の同一性及び, 2) 自己と他者の動作順序を操作し, 2x2 の実験計画を作成した。その結果, 不一致条件と比較し一致条件で両側の EBA が強く活動した。この結果は, 表情の相互模倣時に自己の表情と他者の表情にかかわる情報が EBA 内で比較され, 両者の同一性の検出に關与する可能性を示唆するものである。

予告効果における神経基盤: 機能的 MRI 研究

吉田優美子, 田邊宏樹, 林 正道 (ヘルシンキ大学), 河内山隆紀 (京都大学), 定藤規弘

課題を行う際, ターゲットを提示する直前に予告刺激を提示すると, 反応時間が早まることが知られている (予告効果)。先行研究から, 予告効果は注意の警戒状態を引き起こし, 運動処理を増進することが明らかにされている一方で, ターゲットが現れるまでの時間予測を行っていることが示唆されている。そこで, 機能的 MRI を用いて, 予告刺激と Go/NoGo 課題を組み合わせる実験を行った。この結果, 右側頭-頭頂部接合部 (TPJ), 右上頭頂小

葉, 前補足運動野, 左小脳, 右運動前野, 左運動前野から一次運動野にかけてが予告刺激の際に賦活することが明らかとなった。Go 反応をする際の前補足運動野は, 事前に予告刺激が提示されなかった場合, された場合より活動が強まることが明らかとなった。以上より, 前補足運動野は予告提示時の注意ネットワークと反応時の運動コントロールの両者に対して重要な役割を担っていることが示唆された。

小学生における睡眠時間と技能定着の関係

菅原 翔, 田中悟志 (名古屋工業大学), 田中太介 (鳥取大学), 関あゆみ (鳥取大学)
内山仁志 (国際医療福祉大学), 岡崎俊太郎, 小枝達也 (鳥取大学), 定藤規弘

睡眠は成人の技能定着において重要な役割を担っている。しかし, 子どもでの技能定着と睡眠との関連については未だ明らかにされていない。本研究では, 25 名の小学生 (女子 11 名, 9.48 [M] ± 2.32 [SD] 歳) に協力を依頼し, 子どもの技能学習後の睡眠時間がオフラインでの技能定着と関連するかを検討した。まず, 参加者は系列手指運動を練習した。その後, 彼らの両親が子どもの練習

後の睡眠時間を記録した。翌日, 参加者は前日練習した系列運動を再生するように求められた。結果として, 再生時の系列運動の成績は練習時に比べて有意に高くなった ($F_{1,22} = 56.12, P < 0.001$)。さらに, オフラインでの技能改善率は練習後の睡眠時間と有意な正の相関関係にある事が示された ($\hat{\alpha} = 0.60, P < 0.01$)。これらの結果は, 成人と同様に, 子どもにおいても睡眠は技能定着と関連

する事を示唆している。

単語学習に対する共同注意の効果の検討

島田浩二, Masako Hirotsu (Carleton University), 岡崎俊太郎, 田邊宏樹, 定藤規弘

単語学習に対する共同注意（参加者が一緒に同じ方向の対象を見る）の効果は乳幼児を対象とした研究で明らかにされてきたが、大人でもその効果が見られるのかは未だ明らかでない。その効果を明らかにするため、学習とテストの繰り返し5回で構成される学習実験を実施した。学習場面では、参加者2名が共同注意を行いながら新規の単語音声と視覚物体を連合して覚える場面を設定した。学習中には眼球運動が計測された。テスト場面で

は学習進度を四肢強制選択の再認テストにより測定した。実験の結果、参加者2名が同じ方向の物体を見て単語を聞く共同注意条件では、異なる方向の物体を見て単語を聞く非-共同注意条件に比べて、再認テストの成績が4回目と5回目の学習後半で有意に高かった。視覚物体に対する注視時間に関して条件間の違いは認められなかった。それらの結果は、共同注意が大人の単語学習に対して促進的な効果を持つことを示唆している。

涙を付加したことによる悲しみ評定の変化とその神経基盤

高橋陽香, 北田 亮, 佐々木章宏, 川道拓東, 定藤規弘

感情の理解は、社会的に円滑なコミュニケーションを行う為に重要な役割を果たしている。社会的相互作用において他者の感情を理解する際には、顔から発信される信号としての基本6感情と共に文脈が重要な役割を果たす。このような文脈要素の一つに涙が挙げられる。本研究では涙を付加する事による悲しみ評定の変化とその神経基盤を、機能的MRIを用いて検討した。被験者は涙の見える顔画像、及びこれらの画像から涙を除去した画像

を観察し、悲しみの程度を評価した。その結果、悲しみ表情は無表情より悲しいと、また涙有り表情は涙無し表情より悲しいと評価された。脳活動測定の結果では、悲しみの主効果で膝下野、涙の主効果で両側後部上側頭溝に活動が見られた。これらの結果は、涙はそれ自体に悲しみを増幅させる効果を持つのではなく、感情の受け手側の他者理解を促進させる事により、表情をより悲しいと認知させる効果を持つ事を示唆している。

発達生理学研究系

認知行動発達機構研究部門

【概要】

平成 23 年度は、部門の人員構成については、数年ぶりに博士後期課程に 1 名、前期課程に 1 名の入学者があった。外国人研究者として、タイ国チュラロンコン大学の Thongchai Sooksawate 博士(13 度目の来日)と英国 Sheffield 大学の Peter Redgrave 教授がそれぞれ 3 か月滞在した。特に Redgrave 教授とは、同教授が発見した中脳上丘から黒質ドパミン細胞への投射系の機能を解析するため、我々が長年研究してきた片側一次視覚野損傷という「盲視」のモデルサルを用いて、障害視野に提示された手がかり刺激によって連合学習が起きるかどうかを調べた。研究プロジェクトとしては、脳科学研究戦略推進プログラムが 4 年目を迎え、伊佐が拠点長を務める課題 C においてウィルスベクターによる 2 重遺伝子導入法を開発し、霊長類で初めて特定経路の選択的・可逆的機能障害に成功し、行動に影響を与えることができた。また、ブレインマシンインタフェースの開発においては、西村准教授

を中心とし、脳の表面に設置した皮質脳波電極から深部の脳活動を推定する手法の開発や感覚フィードバック BMI の開発、さらに人工神経接続という、脳や末梢の特定部位間を直接記録-刺激システムでつなぎ、障害された神経系の補綴を行う開発研究が進み始めた。また、対外的には、吉田助教と伊佐がプログラム委員と委員長を務め、第 15 回国際意識科学会 (ASSC) を 6 月に京都で開催した(大会長: 松沢哲郎京都大学霊長類研究所教授)。東日本大震災の影響で多くの外国からの参加者にキャンセルが出たが、それでも過去最大規模に近い形で開催することができた。また、脳科学研究戦略推進プログラム事務局を運営し、プログラムの全体管理のサポートや内部会議の主催、一般市民や専門家向けのアウトリーチ活動としてシンポジウムやワークショップ、サイエンスカフェを開催し、広報冊子の出版やウェブサイト運営業務などを行った。

第一次視覚野損傷ザルにおける express saccade

吉田正俊, 高浦加奈, 伊佐 正

マカクザルの第一次視覚野 (V1) を除去して作成した盲視動物モデルを用いて、視覚誘導性サッカドがどの経路によって情報処理されているかを検討した。このため、ギャップ課題を用いた。この課題では、周辺視野に提示される視覚標的が、固視点消去後の 0 ms (ギャップなし条件) または 50-150ms (ギャップ条件) 後に点灯する。視覚標的を損傷と同側の視野に提示した場合にはギャップ条件で応答潜時 80-100ms 程度の狭い範囲に分布

を持つ express saccade が確認された。視覚標的を損傷と反対側の視野に提示した場合にも、同等の潜時を持つサッカドを見いだした。上丘からの単一神経細胞活動記録により、損傷と同側の上丘内でも、express saccade 時に視覚運動変換を行っていることを示唆する活動が記録された。Express saccade はその短潜時の性質から、V1 を介さずに皮質下の上丘内の回路で処理されているとする説が唱えられてきたが、本結果はこの説を支持している。

In vivo study of the ArchT-suppressing tecto-thalamo-striatal pathways in rat

Penphimon Phongphanphancee, Tadashi Isa

Transiently silencing the activity of specific neurons is the ideal strategy to investigate the brain function. Recently optogenetic approach using light to control the activity of neurons, that have been modified to express light-sensitive proteins, is the promising tool in the neuroscientific investigation. In this study, we have tested the new strain of ArchT, a light-driven outward proton pump that precisely suppresses the activity of the neuron exposed to yellowish green light, in the tecto-thalamo-striatal pathway. There are two parallel subcortical projections that convey the salient visual event from the superior colliculus (SC) to striatum: tecto-thalamo-striatal and tecto-nigro-striatal projections. Both of them convey the short-latency visual signal that is essential for corticostriatal plasticity. However, it is still unknown which pathway is critical for the sensory-related reinforcement learning. Therefore, we

performed the preliminary test using optogenetic technique to suppress the thalamostriatal projection in anesthetized rat. ArchT-containing vector was injected into the rat brain to transfect neurons in the parafascicular thalamic nucleus (Pf). The recording was performed 2-3 months after injection. The suppression was tested at cell location in Pf and at the terminals in striatum. We inserted the recording tungsten electrode attached with optic fiber into the Pf and striatum to record the local field potential (LFP) responses evoked by SC electrical stimulation. Comparing the responses between the condition when the 561-nm light was ON (1-sec duration) and OFF, we found the partial suppression of the LFP by the light at both Pf and striatum. However, complete suppression of Pf could not achieve may be due to incomplete transfection of the Pf neurons.

光遺伝学的手法を用いたサルの精密把持運動の制御

木下正治, 伊佐 正

Natronomonas pharaonis 由来の halorhodopsin (NpHR) は黄色光により活性化され細胞内に陰イオン (Cl⁻) を輸送する。近年、遺伝子導入により NpHR を発現させたニューロンに光照射することで、スパイク活動を抑制できる過分極応答を起こすことが報告された。

我々はサルの手指の精密把持運動をミリ秒オーダーで阻害することにより生じると予想される、短期的な適応

について調べることを目指し、まずアデノ随伴ウイルスベクターを用いてマカクザル大脳皮質一次運動野 (M1) のニューロンに改変型 NpHR を導入し、その効果を調べた。金属電極と光ファイバーを貼りあわせた *optrode* を用いて M1 ニューロン活動を記録しつつ光照射を行った結果、運動に関連した M1 ニューロンのスパイク活動および一部の手指筋の筋電活動を抑制することができた。

遺伝子導入による経路選択的伝達遮断法を用いたサル脊髄固有ニューロン機能の解析

木下正治, 伊佐 正

マカクザルには大脳皮質一次運動野から脊髄運動ニューロンへの経路として直接経路と頸髄中部に存在する脊髄介在ニューロン (PNs) を介した間接経路の少なくとも

も2つが存在する。従来は進化的に新しい直接経路が手の巧緻運動に本質的な役割を果たしていると考えられてきた。

我々は手の巧緻運動における PNs の役割を明らかにするため、京都大学のグループにより開発された高性能 Tet-ON システム、改変型破傷風毒素および福島県立医科大学のグループにより開発された高頻度逆行性レンチウイルスベクターを用い、経路選択的な遺伝子発現を可能とする 2 重感染法を開発した。マカクザルの PNs に選択

的に改変型破傷風毒素を可逆的に発現させ、手の巧緻運動に障害が現れることを示した。また PNs の信号伝達が遮断されていることを電気生理学的に証明した。これらの結果から PNs が手の巧緻運動に重要な役割を果たしていることが明らかになった。

サル運動野における脳活動信号を用いた電動義手の随意制御

渡辺秀典, 伊佐 正, 西村幸男

サルの脳活動によって制御された義手の動作成果に応じてサルに報酬が与えられるシステムを構築し、サルに訓練を開始した。サル左脳運動野に 15 極の皮質下硬膜下電極を留置した。サルの上肢の到達把持運動中の 15 極からの信号をリアルタイム解読によってサルの腕の動作と同期して電動義手が動作した。システムの作動確認の後に、義手が動作した場合のみにサルに報酬が与えられる報酬条件に変更し実験を開始した。実験において定位置におけるサル上肢の停止または解読機がサル上肢が定位置に配置されたと判断した信号の発生を試行開始とした。またシステムは試行開始信号発生から 10 秒以内の義手

の動作を成功としサルに報酬を与えた。この報酬条件によってサルは自身の上肢の動作に関係なく義手を動作させる脳活動を維持するように要求された。実験開始における義手の動作成功率は 88.4%であった。また最終実験日 (39 実験日経過) において、義手の動作成功率は 89.1%であった。実験経過中においては 9 実験日以降において成功率は急峻に減少した (62.5%) 後に、変動を伴い実験最終日まで徐々に上昇した。本実験を通じてサルが義手を随意制御できるように脳活動を変遷させる過程を計測し、外部デバイス使用時の脳の可塑的变化について究明する。

第一次視覚野損傷後の視覚誘導性サッケードの制御に寄与する脳部位：PET による脳活動測定

加藤利佳子, 吉田正俊, 伊佐 正

第一次視覚野 (V1) に損傷を受けると、障害視野に提示された視覚刺激が“見え”なくなる。しかし患者の中には、その意識に上らない刺激に対し定位行動が可能ながことが報告されてきた。この現象は“盲視”と呼ばれている。しかし、皮質のどの視覚運動経路が寄与するかについては、ほとんど明らかではない。そこで我々は、“盲視”のモデル動物として片側 V1 を除去したサルを用い、視覚誘導性サッケード中の脳活動を PET により調べた。

結果、V1 損傷後には損傷側の上丘および視床枕において視覚誘導性サッケードとの関連が見られ、損傷後の網膜視蓋経路の重要性が示された。また視覚野では、視床枕を介して上丘より強固な入力を受ける V3 でのみ関連した活動が見られ、背側皮質視覚経路の重要性が増したことが予想される。さらに、頭頂野では LIP 野、前頭野では dlPFC 野において関連が見られ、これらの領域の寄与が示唆された。

感覚フィードバック型 BMI の実現

梅田達也, 伊佐 正, 西村幸男

電気刺激を後根神経節 (DRG) に与える事で, 感覚フィードバックとなる人工的な感覚を誘発させる事を計画している。覚醒下のサルからの DRG 記録の解析を引き続き行っている。

2 つのマルチ電極アレイをサルの C7/8 の DRG に挿入し, 自発的な到達運動におけるニューロン応答を記録した。同時に, 手/腕運動の立体運動軌跡をモーション・キャプチャーシステムで取得した。14 個のユニット活動を

スパイクソーティングにより抽出し, そのうち多くが受動運動に応じることが明らかとなった。ATR 脳情報研究所開発のアルゴリズム (sparse regression) を応用して手/腕の運動軌跡を DRG ニューロン集団の発火パターンから高い精度で算出する事ができた。

また, 上肢運動軌道から刺激パターンに変換するシステムの開発を行った。

神経活動依存的刺激による随意歩行機能再建

笹田周作, 加藤健治

ステファン J グロイス, 門脇 傑, 宇川義一 (福島県立医科大学)

小宮山伴与志 (千葉大学教育学部)

西村幸男

脊髄損傷による歩行機能の喪失は, 腰髄にある下肢歩行中枢への下降性入力 of 遮断が原因である。そこで本課題では, 上位中枢からの腰髄への下降性入力を代償する方法として, 随意的な歩行様腕振り運動中に生じる上肢筋活動パターンに依存した腰髄への磁気刺激により上肢筋—腰髄間の人工神経接続を形成し, 上肢筋による下肢歩行様運動の随意制御が可能か否かを検討した。

上肢筋—腰髄間の人工神経接続は, 腕振り運動中に生

じる三角筋の筋電図活動量の振幅変化に比例して頻度・強度変調する刺激波形により, 下肢歩行中枢がある腰髄へ脊椎上磁気刺激を施すことによって達成した。人工神経接続下では, 腕振り運動により下肢の歩行様運動が生じ, 上肢筋活動を随意制御する事により下肢歩行様運動の開始・停止, 更にその歩調もまた変調可能であった。この成果は上肢筋—腰髄間の人工神経接続により上位中枢からの下降性入力を代償できる可能性を示している。

ブレインマシーンインターフェース技術を用いた運動・体性感覚機能の同時再建

加藤健治, 笹田周作, 西村幸男

脳活動や筋電図などの生体信号を記録し, それを単純変換させたものを電気刺激として生体に戻すことによって人工的な神経接続を形成させ, 生体がどのように適応していくのかその適応現象について解明することを目的とする。

記録した筋活動から特定の運動単位を抽出し, その発火頻度に応じた電気刺激を末梢神経に返す「筋—末梢神

経間の人工神経接続」を考案し, その人工神経接続によって筋活動が増幅されるのか, また, 運動適応が可能かどうか検討した。

15 名の健常成人において, 人工神経接続直後, 手首到達距離は増幅し, ターゲットから超えるものの, 徐々にその超過距離は減少し, 接続 300 回後には, ターゲット内に収めることが可能であった。適応後, 人工神経接続

を切断し、直後の筋活動を調べたところ、接続前に比べて明らかに減少していることがわかった。

これは、筋一末梢神経間の人工神経接続に対して、被

験者は筋活動を減少させることによって適応し、運動制御に積極的に人工神経接続を利用していること示唆している。

運動機能回復を支えるモチベーションの神経基盤

澤田真寛, 尾上浩隆, 伊佐 正, 西村幸男

抑うつ症状は脳、脊髄損傷の患者においてよく見られ、うつ症状によるモチベーションの減退は運動機能回復を妨げることは報告されている。しかしながら、その神経機序について未だ不明である。近年、我々は陽電子断層撮影装置 (PET) によって脊髄損傷からの機能回復後にモチベーションに関与していると考えられる腹側線条体の活動上昇が観られることを見いだした。腹側線条体の活動と運動機能回復との関連を明らかにするため、2頭のサルに対して脊髄損傷後のさまざまな時期において腹

側線条体を薬理的に一時的に不活性化し、手指の巧緻性への影響を調べた。脊髄損傷後に巧緻運動の障害が軽かったサルでは、手の巧緻運動に対して腹側線条体を不活性化の影響が観られなかったが、回復の遅いサルでは腹側線条体を不活性化により、手の巧緻性が大きく障害された。この結果は、障害程度に依存して、腹側線条体の活動が運動機能回復に貢献していることを示唆している。

生体恒常機能発達機構研究部門

【概要】

当部門は、発達および障害回復の過程で一旦形成された機能的神経回路に起こる再編成のメカニズムを回路レベルで解明することを主な目標に研究をしている。そのため、3つのサブテーマについて研究を進めている。1) 神経回路の可塑的变化を生体で観察するため、フェムト秒パルスレーザーを用いた多光子励起法を利用して、マウス大脳皮質細胞やシナプスの可視化技術の確立および技術向上をおこなった。その結果、マウス大脳皮質全層における神経細胞・グリア細胞およびその微細構造を可視化することが可能となった。これらの技術を利用して、現在、神経回路の微細構造の長期変化の観察およびグリア

の関与の解明を行っている。2) 細胞内イオン環境の変化による GABA の興奮性から抑制性へのスイッチとその制御機構について細胞内 Cl イオンくみ出し分子 KCC2 の機能制御を中心に、神経栄養因子、環境/回路活動による制御を検討している。3) 発達期における再編のメカニズムとして、シナプスレベルにおいて、GABA とグリシン間の伝達物質のスイッチングのメカニズムを観察している。人事として、本年2月に金善光特任助教が韓国慶熙大学に転出し、大学院生山口純弥が学位取得後企業へ就職した。

in vivo 多光子顕微鏡を用いた大脳皮質神経細胞の微細構造の可視化

加藤 剛, Kim Sun Kwang, 江藤 圭, 宮本愛喜子, 石川達也, 鍋倉淳一

神経回路の発達および脳障害の回復期における神経回路の可塑性の研究を遂行するにあたり、究極的に生体で

の観察が不可欠である。そこで生体における神経回路の可視化のため、超短パルスレーザーによる多光子励起法

を神経細胞に蛍光蛋白が発現している遺伝子改変動物に適用し、大脳皮質微細構造の可視化を行った。適切な光路の構築・調整や、頭蓋骨に適用する特殊アダプターの開発などを行い、マウスにおいて大脳皮質表面から1ミリの深部まで観察可能な技術を開発し、大脳皮質錐体細胞を全層にわたり、樹状突起、棘突起、軸索などの微細構造を観察することが可能となった。また、未熟期動物におけるイメージングを行うため、幼若マウス頭蓋骨に装

着する観察システムを開発し、出生直後のマウスの大脳皮質イメージングを行うことが可能となった。これらを用いて 1) ミクログリアとシナプス構造の監視機構、2) 新生マウスにおける大脳皮質 GABA ニューロンの細胞移動、3) 虚血動物におけるシナプスリモデリングを中心に観察を行っている。さらに、生体2光子励起観察法を用いて5件の共同研究を行った。

幼若期大脳皮質における GABA ニューロンの移動とそのメカニズムの解明

稲田浩之，鍋倉淳一

神経回路形成の機構を理解するには、まず生体内における現象の正確な記述が必要である。しかしながら、成体哺乳類を用いた2光子イメージング法は多数報告されているのに対し、発達期の哺乳類を用いた例はほとんど報告がない。そこでまず昨年度開発した幼若期マウス頭部固定法を VGAT-Venus トランスジェニックマウスに適用して、大脳皮質 GABA ニューロンの移動を生体で観察

した。その結果、各方向に移動する細胞数の割合は同程度であること、各方向に移動する細胞集団間で移動速度は同程度であること、移動細胞は細胞内 Cl⁻ 濃度が高く、細胞外 GABA は移動細胞は脱分極して、移動速度を促進していることを2光子励起顕微鏡や電気生理学的手法を持ちいて明らかにした。

in vivo 多光子顕微鏡を用いたミクログリアによる大脳皮質神経回路再編機構の解析

宮本愛喜子，江藤 圭，加藤 剛，鍋倉淳一

近年ミクログリアが大脳皮質興奮性シナプスの可塑的变化において重要な役割を果たしている可能性が明らかとなってきたが、このようなミクログリアのシナプス介入は神経活動や経験依存的事であることが示唆されている。そこで、まず回路形成の臨界期前後におけるミクログリアの挙動様式を観察する目的にて、幼若期の大脳皮質 2/3 層錐体細胞とミクログリア細胞の2光子顕微鏡法による同時可視化を試みた。胎仔マウスの錐体細胞前駆細胞に対し *in utero* electroporation 法を用いて Ds red 蛍光蛋白質を幼若期より恒久的に発現させることに成功した。本手法をミクログリア細胞が GFP で標識されて

いる Iba-1 eGFP マウスに適応することで、同一励起波長で錐体細胞及びミクログリア細胞を個別に蛍光標識した。このような2光子励起による特性の一つである同一励起波長による多重染色性を生かした観察により、今後ミクログリアのシナプス介入における詳細な解析が出来る事が期待される。また電気生理学的手法及び2光子顕微鏡法を用い、成体マウス大脳皮質錐体細胞の蛍光標識及び電流注入による活動電位の励起を施行し、神経活動依存性のミクログリア細胞の挙動変化の解析も進行中である。

In Vivo 多光子顕微鏡を用いた慢性疼痛形成期における大脳皮質体性感覚野神経回路再編

金 善光, 江藤 圭, 稲田浩之, 石川達也, 鍋倉淳一

慢性疼痛時における大脳皮質神経回路の再編機構を 2 光子顕微鏡や電気生理学的アプローチを駆使して行った。末梢感覚神経の部分傷害後に末梢感覚神経の過剰活動と痛覚過敏が持続する。痛覚過敏形成時には、大脳皮質錐体細胞のシナプスの盛んな再編が起こり、その後ターンオーバー率は傷害前の値に戻る。しかし、感覚過敏は長期にわたり持続する。その場合、傷害前に新生したシナプスの消失、傷害後に新生したシナプスの大きさの増大が観察された。また、慢性炎症性疼痛時には、大脳皮質

感覚野細胞の活動の増強が観察された。これに伴い、疼痛の emotional center である前部帯状皮質 (Anterior Cingulate Cortex, ACC) の活動が増強するが、体性感覚野の活動を薬理的に抑制すると痛覚過敏の行動は抑制された。これらから、慢性疼痛時における大脳皮質感覚野における回路再編が慢性疼痛発症の一因である可能性が示唆される。さらに、大脳皮質神経回路再編時にはアストロサイトの活動が亢進していることが判明し、アストロサイトによるシナプス再編の関与について検討を開始した。

細胞内 Cl^- 制御分子 KCC2 の発現制御と生体機能

Andrew Moorhouse, 鍋倉淳一

未熟期および虚血や痙攣時に GABA は興奮性伝達物質としての作用を獲得する。これは GABA_A 受容体に内蔵するチャネルを流れる Cl^- イオンの向きによって決定されるため、細胞内 Cl^- イオン濃度によって GABA は興奮性/抑制性が決定される。この細胞内 Cl^- イオン濃度は神経細胞特異的に発現する K^+-Cl^- トランスポーターである KCC2 によって主に決定されている。ドキシサイクリ

ンにより KCC2 発現をコントロール可能な tetO マウスを作成し、CAMK2-TTA マウスと交配し、大脳皮質および海馬錐体細胞における KCC2 の発現をコントロール化の可能なマウスを作成した。現在、痙攣モデル動物を用いて、KCC2 強制発現により痙攣の軽減が可能なのか検討を加えている。

伝達物質のスイッチングのメカニズムと細胞応答

山口純弥, 中畑義久, 石橋 仁, 鍋倉淳一

我々はラットおよびマウス聴覚中継路核である外側上オリブ核に内側台形体核から入力する伝達物質自体が未熟期の GABA から成熟期のグリシンに単一終末部内で発達変化することを報告した。この伝達物質のスイッチングは脊髄など他の中枢神経系の部位でも報告されているが、単一神経終末部から GABA とグリシンのどちらが放出されるかなど、その制御機構は十分には明らかになっていなかった。本研究課題では、脊髄および海馬の培養ニューロンを用いて、GABA およびグリシンを放出する機構を解明することを目的としている。本年度は、

神経回路活動が上昇すると、共放出シナプスにおける GABA 放出量が増加するが、グリシン放出は減少することが明らかとなり、両伝達物質の放出が神経回路活動に依存して変化することが示唆された。また、通常ではグリシン伝達が行われていない海馬においても、シナプス後膜にはグリシン受容体が存在し、シナプス前神経終末部からグリシンを放出させることによって、その受容体が機能的に働いていることも明らかとなっていたので、海馬ニューロンにおいて、シナプス前細胞内にグリシンを添加して GABA からグリシンへのスイッチングを検

討した。その結果、どちらの伝達物質がシナプス小胞内に取り込まれるかは、細胞質における伝達物質の濃度に依存するが、GABA がよりシナプス小胞に取り込まれやすいことがわかった。一方、シナプス伝達にはシナプス直下に存在する受容体も重要であるが、グリシン受容体拮抗薬のストリキニーネ存在下でニューロンを培養すると、シナプス直下のグリシン受容体が著明に減少したこ

とから、シナプス前神経終末部からの伝達物質の放出自体がシナプス後膜の受容体の集合に重要であることが示唆された。現在、これらの現象のメカニズムや生理的意義について検討を進めている。伝達物質による受容体発現・局在制御について、グリシン受容体動態を Q ドットを用いた 1 分子イメージング技術を構築し検討を行っている。

発達期の聴覚中継路におけるモノアミンの神経回路機能に対する役割の解明

平尾顕三, 石橋 仁, 鍋倉淳一

音源定位に関連する聴覚中継路核である外側上オリブ核において、神経回路の発達に、聴機能開始前では蝸牛での自発的神経活動に伴うシグナル入力、聴機能獲得後は音信号によって誘発されるシグナル入力が必要であることが知られている。以前の我々の研究から、興奮性神経伝達物質であるグルタミン酸と抑制性神経伝達物質である GABA が、それぞれ代謝型グルタミン酸受容体および GABA_B 受容体を介して、発達期の外側上オリブ核へのシグナル入力を調節している可能性が示唆され

ている。ここで我々はさらに、代表的なモノアミンであるノルアドレナリンが、聴機能獲得前に興奮性と抑制性入力の両方を調節している可能性を見出した。ノルアドレナリンは幼若マウスの内側蝸牛核から外側上オリブ核へのグルタミン酸作動性終末のアルファ 2 受容体を介し、伝達を抑制すること。その抑制は発達に従い減弱すること。ノルアドレナリン細胞毒である DSP4 を投与すると、同入力本数の発達除去が阻害差入れることが判明した。

生殖・内分泌系発達機構研究部門

【概要】

本研究部門は、視床下部による摂食行動の調節と末梢組織における代謝調節機構の解明を目指して研究を行っている。視床下部は、摂食行動（エネルギー摂取）とエネルギー消費機構（栄養代謝）を巧みに調節することによって生体エネルギーを一定に保つ重要な働きを担う。しかし、近年、この調節機構の異常が肥満、糖尿病、高血圧など、生活習慣病の発症と密接に関連することが明らかとなってきた。当部門では、視床下部における生体エネルギー代謝の調節機構を分子レベルで解明し、その分子機構を通して生活習慣病など様々な疾患の原因・治

療法を明らかにしたいと考えている。本年度実施した主たる研究課題は次の通りである。1) 非放射性 2-デオキシグルコースを用いたグルコース利用速度測定法の開発、2) DNA メチレーションによる転写因子 SF-1/AD4BP の視床下部腹内側核ニューロン特異的発現機構、3) 視床下部弓状核 AgRP ニューロンにおける PDK1-FOXO1 の調節機構、4) B リンパ球の発達に及ぼす飢餓の影響とレプチンの中樞作用が果たす役割、5) AMPK α 2 サブユニットと AMPK キナーゼ CaMKK2 の X 線結晶解析。

非放射性 2-デオキシグルコースを用いたグルコース利用速度測定法の開発

斉藤久美子, 箕越靖彦

各組織・細胞でのグルコース利用速度は、ラジオアイソトープ (RI) でラベルした 2-デオキシグルコース (2DG) が用いられている。しかし、RI 法は特別な施設が必要であり様々な制約がある。本研究では、非放射性 2DG を用いたグルコース利用速度測定法を開発した。微量の非放射性 2DG を実験動物あるいは培養細胞に投与し、組織、細

胞を採取する。細胞内の G6P をグルコース 6 リン酸脱水素酵素 (G6PDH) で完全に分解した後、細胞内に蓄積した 2DG6P を高濃度の G6PDH で処理、生成する NADPH を酵素サイクリング法により比色定量 (420nm) する。本法により 5-80pmol の 2DG または 2DG6P が定量可能である。

1. Saito K, *Analytical Biochem* **412**:9-17, 2011.

DNA メチル化による転写調節因子 SF-1/AD4BP の視床下部腹内側核ニューロン特異的発現機構

岡本土毅, 箕越靖彦

Marit Bakke (Dep of Biomed, Univ of Bergen, Norway)

Ulrich Boehm (Inst for Neural Signal Transduct, Center for Mol Neurobiol, Hamburg, Germany)

諸橋憲一郎 (九州大学大学院 医学研究院 分子生命科学系部門 性差生物学講座)

転写因子 SF-1/Ad4BP (nuclear receptor steroidogenic factor 1/adrenal 4 binding protein) は、視床下部、副腎、下垂体、性腺などの発達に関わる重要な転写調節因子である。現在、胎児副腎、下垂体ゴナドトロピン産生細胞、視床下部腹内側核 VMH に選択的な発現調節に関わるエンハンサーが同定されている。本研究は、これらのエンハンサー活性に DNA メチル化が関与することを報告した。VMH 選択的エンハンサーでは、VMH においてメチ

ル化が少なく、視床下部室傍核ではメチル化が多かった。同様に、下垂体ゴナドトロピン産生細胞、胎児副腎のエンハンサー領域においても、各々の組織ではメチル化が少なく、他組織ではメチル化が多かった。この実験結果は、SF-1/Ad4BP の組織特異的発現機構に選択的エンハンサー領域における DNA メチル化が関与することを示している。

1. Hoivik EA, *Endocrinology* **152**:2100-2112, 2011.

視床下部弓状核 AgRP ニューロンにおける PDK1-FOXO1 の調節機構

岡本土毅, 箕越靖彦

中江 淳 (慶應義塾大学医学部腎臓内分泌代謝内科)

インスリンとレプチンは、視床下部において PI3 キナーゼと PDK1 を共通のシグナルとして利用し、エネルギー代謝を調節している。しかし、摂食促進ニューロンである AgRP ニューロンにおいて、PDK1 がどのような調節を行っているかは不明である。本研究では、AgRP ニューロン選択的な PDK1 欠損マウスを作成して、エネルギー代謝に及ぼす効果を調べた。PDK1 欠損マウスは、摂食、体重共に低下した。次に、PDK1 の下流シグナル

の一つである転写調節因子 FOXO1 の役割を調べた。インスリンは、PDK1 を介して FOXO1 を核外に出して不活化することで、その作用を発揮する。AgRP ニューロン特異的に PDK1 と FOXO1 を欠損したマウスでは、PDK1 欠損マウスの表現型をほぼ回復した。さらに、視床下部 AgRP ニューロンを介して摂食を促進する胃産生ホルモングレリンの効果を調べた。その結果、PDK1 欠損マウスではグレリンによる摂食促進作用が消失したが、ダブ

ル欠損マウスではグレリンの作用が回復した。このことから、PDK1 と FOXO1 は、AgRP ニューロンのシグナル分子として、エネルギー代謝の調節に関与することが明

らかとなった。

1. Cao Y, *PLoS ONE* **6**:e18324, 2011.

非 B リンパ球の発達に及ぼす飢餓の影響とレプチンの中樞作用が果たす役割

戸田知得, 箕越靖彦

小川佳宏 (東京医科歯科大学 難治疾患研究所 分子代謝医学分野)

飢餓は、ヒト免疫機能を低下させ、感染症に罹患し易くすることが知られている。レプチンは、脂肪組織において産生され、脳、とくに視床下部に働いてエネルギー代謝を調節するホルモンであり、レプチンは、飢餓によって脂肪組織からの分泌が低下する。本研究では、飢餓によって、マウス骨髄において pro-B, pre-B 及び immature B リンパ球が低下し、成熟 B リンパ球が増加することを明らかにした。さらに、レプチンを脳室内に投与すると、

飢餓によって引き起こされる B リンパ球の発達異常を正常化することを見出した。飢餓によって引き起こされる B リンパ球の発達異常は、NPY ニューロンの活性化とそれに伴う副腎皮質ホルモンの分泌増加による。レプチンは、NPY ニューロンの活性化を抑え、副腎皮質ホルモンの分泌を低下させることによって、飢餓によって引き起こされる B リンパ球の発達異常を正常化する。

1. Tanaka M, *J Neurosci* **31**:8373-8380, 2011.

AMPK α 2 サブユニットと AMPK キナーゼ CaMKK2 の X 線結晶解析

戸田知得, 箕越靖彦

横山茂之 (理研横浜研究所生命分子システム基盤研究領域)

AMPK は、細胞内のエネルギー飢餓、あるいはレプチンなどのホルモンによって活性化し、エネルギー代謝を調節している。本研究において、AMPK の触媒サブユニット α 2 と AMPK キナーゼである CaMKK2 の X 線解析に成功し、特異的阻害剤である Compound C と STO-609 と

の結合様式を明らかにした。

1. Kukimoto-Niino M, *J Biol Chem* **286**:22570-22579, 2011.
2. Handa N, *Acta Cryst* **D67**:480-487, 2011.

環境適応機能発達研究部門

【概要】

本研究部門は摂食調節・糖代謝調節機構、肥満・糖尿病の成因を解明すべく、膵臓のインスリン分泌、および、中枢の摂食・代謝制御のメカニズムを明らかにすることを目的としている。特にグレリンによるインスリン分泌調節の β 細胞メカニズム、オキシトシンによる摂食・エ

ネルギー代謝調節とそのメカニズムに注目している。本年度実施した主たる研究課題は 1) グレリンによる β 細胞 cAMP シグナルを介したグルコース誘発インスリン分泌抑制、および、2) オキシトシンの末梢投与による肥満・メタボリックシンドローム改善効果である。

グレリンによるβ細胞 cAMP シグナルを介したグルコース誘発インスリン分泌抑制

出崎克也, Boldbaatar Damdindorj, 矢田俊彦

消化管ホルモンのグレリンは、摂食促進、脂肪蓄積、成長ホルモン放出に加え、インスリン分泌抑制作用を示すことが報告されている。我々はこれまでに、グレリンが生理的にインスリン分泌を抑制制御することにより血糖値調節を行っていることを明らかにしてきた。今回、グレリンによるインスリン分泌抑制機構を詳細に検討した結果、グレリンはラット膵島のグルコース誘発 cAMP 産生とインスリン分泌を抑制し、β 細胞の電位依存性 K⁺ (Kv) チャネル電流を増強しグルコース刺激による

[Ca²⁺]_i 上昇を抑制した。細胞膜透過性 cAMP アナログの 6-Phe-cAMP 存在下では、グレリンによるインスリン分泌抑制作用ならびに Kv チャネル電流活性化作用, [Ca²⁺]_i 抑制作用が消失した。以上より、グレリンによるインスリン分泌抑制機構には、β 細胞内 cAMP シグナルの抑制を介した Kv チャネルの活性化と [Ca²⁺]_i 低下が関与することを明らかにした¹。

1. Dezaki, K. et al. *Diabetes* 60: 2315-2324, 2011.

オキシトシンの末梢投与による抗肥満・抗メタボリックシンドローム効果

前島裕子, 岩崎有作, Sedbazar Udval, 矢田俊彦

オキシトシン (Oxt) は分娩や泌乳を促進するホルモンとして知られてきたが、近年ではその中枢作用として信頼・絆形成、摂食抑制作用が注目されている。本研究では Oxt の慢性投与の摂食・エネルギー代謝、糖代謝への効果を明らかにし、Oxt による肥満治療基盤を確立することを目的とした。

Oxt を末梢投与 (400 μg/kg) したマウスにおいて摂食抑制が見られ、摂食・エネルギー代謝中枢である視床下部弓状核と室傍核、延髄孤束核を含むいくつかの神経核に c-FOS タンパク発現の増加が見られた。皮下埋め込み式浸透圧ポンプからの徐放による 13 日間の Oxt 投与 (1600 μg/kg/day) は、高脂肪食誘発肥満 (DIO) マウスにおいて、

摂食量・体重・内臓脂肪量の低下、脂肪利用の亢進、脂肪肝・耐糖能障害の改善をもたらした。抗肥満・抗メタボリックシンドローム作用が観察された。一方、Oxt の長期投与は DIO マウスの正常血圧レベルおよび自発運動量には影響を与えなかった。DIO マウスへの 17 日間の Oxt の連日皮下投与 (1600 μg/kg/day) も摂食量・体重を有意に減少させ、さらに投与終了後も 1 週間以上にわたり有意な体重増加量の低下が持続した。本研究により末梢からの Oxt の長期投与は肥満・メタボリックシンドロームに対する有効な治療法となる可能性が考えられた¹。

1. Maejima, Y. et al. *Aging* (Albany NY) 3: 1169-1177, 2011.

個別研究・特別研究

個別研究（村上グループ）

【概要】

複数の細胞からなる上皮膜レベルでの水・基質輸送を主眼に研究している。ことに外分泌腺のモデルとして、水分分泌の多い唾液腺の機構を研究している。近年細胞内を通過する水分輸送量より細胞間隙をタイト結合を越えての水分輸送量が多いことが判明し、傍細胞水輸送を重点的に研究している。東京歯科大学および日本大学と

共同で高速共焦点顕微鏡により 1 秒毎の唾液腺腺房 3D 像を撮像を開始した。2 月開催の唾液腺と外分泌に関するゴードンカンファレンスにて村上は co-chair をつとめ、魏はポスター賞を受賞した。また南京医科大学との漢方薬による唾液分泌促進の研究も進めた。

唾液分泌における傍細胞輸送と細胞内信号による調節

村上政隆, 魏 飛

成田貴則（日本大学 生物資源科学部）

福島美和子（日本大学 松戸歯学部）

橋本貞充, 洪川義幸, 佐藤正樹（東京歯科大学 歯学部）

タイト結合開放は刺激開始に同期せず 30 秒遅れる。摘出ラット顎下腺を動脈より定流灌流し、1. 高速共焦点顕微鏡にて 1 秒毎の 3D 画像を撮像し、蛍光色素 Sulfo-rhodamin B が管腔に出現する時間経過、種々の自律神経受容体を個別に刺激した場合の管腔への色素出現と細胞容積の時間変化を計測した。一方、灌流液から唾液へシフトする蛍光色素量から傍細胞輸送を評価する高時間分解の測定法を開発した。2. 灌流速度を変え組織圧を変えた時の微量分泌速度変化を測定し傍細胞水輸送を検討した。その結果、傍細胞輸送成分には圧依存性成分と圧非依存性成分が存在し、前者は傍細胞水輸送のうち約 30%、後者は約 70%と推定された。圧依存水分分泌の水透過性はムスカリン受容体刺激で増加した。また、圧非依

存成分もムスカリン受容体刺激で増加した。3. 動静脈静水圧差から組織圧の変化を推定した。ムスカリン受容体刺激により毛細血管床拡大が起こり、同一個体では、ムスカリン受容体刺激に用いたカルバコール用量に依存して血管抵抗が減少した。しかし個体差が大きく、実験群間に統計的優位差なかった。4. ムスカリン受容体刺激により細胞内 Ca 濃度が上昇した場合、あるいは高浸透圧により細胞容積が収縮した場合の血管灌流ラット顎下腺を切り出し、液体ヘリウムで急速凍結固定を行い、凍結切断レプリカを作成した。このレプリカを透過型電子顕微鏡で観察した。その結果、ムスカリン受容体刺激ではタイト結合直下の細胞内骨格の格子間隔が減少していた。

種々の漢方薬の灌流ラット顎下腺に対する水分分泌促進機構

村上政隆, 魏 飛

王 平, 魏 陸新（南京医科大学第一附属医院 中医内科）

漢方薬の唾液腺分泌増強作用機構の研究のため南京医

科大学チームとラット血管灌流顎下腺を用いて実験した。

1. 唾液水分分泌と灌流圧の関係を検討した。そのために動静脈にそれぞれ圧 transducer を置き、分泌は電子天秤で測定した。ポンプの流速を上げ灌流流速を増加させ灌流圧を高くすると、水分分泌は分泌刺激薬がない場合でもわずかに分泌され、分泌速度は圧に比例した。この圧依存性分泌は傍細胞経路を通過する分泌と示唆された。
2. 甘草の唾液分泌促進作用を 2006 年に観察したが、今年度は観察できなかった。甘草の原産地の変更、収穫時期の違いなどに起因すると考えられた。今後研究開始

段階で十分量の漢方薬を準備し冷凍保存する必要がある。

3. 黄耆と玉竹には唾液分泌促進作用があることを観察していたが、灌流圧が及ぼす影響を検討した。その結果、黄耆と玉竹投与は還流圧を低下させた。これらの漢方薬は顎下腺の微小循環系に作用し灌流圧を低下させたが、血流を増加させ酸素供給を増加させている。この酸素供給増加はことに刺激持続期の唾液分泌速度を促進させることが示唆された。

個別研究（大橋グループ）

【概要】

当研究室では細胞内膜系の生理機能とそれを担うメカニズムをテーマに研究を行なっている。細胞内膜系では、膜の分裂・融合によってオルガネラを行き来するメンブレントラフィックにより物質の輸送、分配が行われている。分子は、その機能を発揮すべき細胞内外の正しい場所に送り届けられる。この「古典的な」生理機能に加え、近年、メンブレントラフィックが、一見無関係な細胞間、細胞内のシグナル伝達において、これまで考えられてきた以上に様々な役割を担っていることが注目され始めた。すなわち、細胞内分子の輸送選別が、シグナル伝達の方

岐選別に直結しており、細胞内膜系が位置情報を介してシグナル伝達の動的な制御の場を提供していることが、はっきりと意識され始めたのである。精力的な研究が展開されつつあるが、まだ多くのことがわかっていない。

我々は、現在、発生過程の形態形成における平面細胞極性 (PCP) 形成のシグナル制御に注目し、メンブレントラフィックに代表される細胞内膜系の動態がシグナル伝達においてはたす機能とその背後にあるメカニズムの研究を進めている。

エンドソーム-ゴルジ細胞内膜系の選別輸送のメカニズムと発生シグナル制御

大橋正人, 木下典行 (基生研)

PCP シグナルは、内耳の有毛細胞が一貫した方向性を示すように、組織全体のグローバルな極性を感知して個々の細胞の極性を生み出す役割を果たしている。我々は、上皮系細胞でエンドソーム-ゴルジ細胞内膜系分子の, fluorescence localization-based retrovirus-mediated expression cloning 法による探索をすすめた。得られた分子から、哺乳動物モデル細胞系とアフリカツメガエルの発生実験系を利用し、PCP シグナルを制御する細胞内膜系タンパク

質の候補を得た。これまでに、これらの制御分子のいくつかについて細胞内局在を規定する配列や局在を変化させる変異を同定することに成功し、細胞内局在と機能の相関を解析中である。一方、新たに、これらの制御分子の作用が、PCP シグナル下流の細胞骨格制御と関連していることを示唆するデータを得ており、今後さらに解析を進める。

個別研究（毛利グループ）

【概要】

性をもった生物の再生産の開始機構として受精という現象がある。その戦略は多様化されているように見えるが、雄性配偶子（精子）が雌性配偶子（卵）を活性化させるという現象は普遍的である。この精子が卵を活性化させる現象を広く受精と呼んでいる。しかしながら、その詳細な生理学的機構はほとんど解明されていない。つまり、どのように精子が卵に近づいてどのように活性化のシグナルを卵に伝えるのか、そのシグナルは何なのか、その後、卵内でどのような反応が引き起こされて発生のプログラムがどのように実行されているのかわかっていない。普遍的な現象として受精の時には卵内の Ca^{2+} が著

しく増加することが知られている。これまで私は、海産無脊椎動物ウニ卵、哺乳類マウス卵を用いて卵内で Ca^{2+} の変化が何によってどのように起こるのか調べてきた。哺乳類や鳥類についてはその引き金についてはある程度わかってきた。しかし、ウニ卵についてはまだ不明である。さらに卵内 Ca^{2+} 増加のシグナルに続いて引き起こされる NO 遊離やミトコンドリアの活性化現象を見つけたが、これらの現象がどのように Ca^{2+} 増加と関係しているのか現在研究している。本年度は NO 遊離、ミトコンドリア活性化と ATP 産生との関係を調べた。

ウニ卵受精時の Ca^{2+} 増加、ミトコンドリアの活性化、一酸化窒素遊離、細胞内 ATP 変化

毛利達磨，広橋教貴，経塚啓一郎

ウニ卵の受精時には一酸化窒素 (NO) 遊離が報告されている。この産生はミトコンドリア阻害剤 CN によって強く抑制されることからミトコンドリアの関与が示唆された。このことを明らかにする目的で、受精時のミトコンドリアの変化をミトコンドリア特異的電位依存性蛍光色素を用いて同定した。この蛍光色素変化からミトコンドリアは活性化しており、阻害剤存在下で抑制されたことから上記仮説を強く支持した。また受精時のシグナリ

ングとして細胞内 Ca^{2+} 増加、ミトコンドリアの変化、NO 遊離変化という時系列的な関係が明らかになった。さらに、ミトコンドリアの活性化と ATP 産生変化との関係を探るため新規合成の FRET-ベース ATP プローブ (ATeam) を注入して ATP の変化を測定したところ、増加が見られた。この変化はミトコンドリアの活性化パターンに良く似ていた。現在この変化を解析検討中である。

個別研究（樫原グループ）

【概要】

運動神経細胞の発生、分化は、その支配標的器官である筋との結合に依存することは古くよりよく知られている。この依存性は、運動神経細胞から筋へ作用する因子と筋から運動神経細胞へ作用する因子の相互作用によって調節されていると考えられている。生後、骨格筋は、速筋と遅筋に分化するが、これらに結合している運動神経細胞の種々の電気的性質も変化することは、よく検討されてきた。例えば、活動電位に続く後過分極 (AHP) の期間が遅筋を支配する運動神経細胞と、速筋支配運動神

経細胞で異なり、前者は後者に比べ長い。この遅筋運動神経細胞の AHP の期間は、運動神経細胞と筋との結合を絶つと短くなり、筋と再支配すると正常に戻る。また運動神経細胞の上位神経細胞からの入力を遮断しても遅筋運動神経細胞のみ、その AHP の期間は短縮する。すなわち、生後の運動神経細胞の AHP の期間は、運動神経細胞と筋の相互作用とともに上位神経細胞からの入力にも依存する。我々は、この電気生理学的知見に基づいて、生後動物の運動神経細胞の分化を運動神経細胞の AHP に

関与するチャネル分子発現を手がかりに解析している。

生後ラット運動神経細胞のチャネル発現

樫原康博, 野村智美

成熟ラットの速筋である長趾伸筋を支配する運動神経細胞と遅筋であるヒラメ筋を支配する運動神経細胞で、活動電位に続く後過分極 (AHP) に関与するチャネル発現が異なるかを検討するために、あらかじめ筋から逆向性に標識した脊髄細胞体のチャネル分子の発現とそれぞれの筋の神経終末に存在するチャネル分子を調べている。さらに、運動神経細胞が筋との結合を絶たれた場合と再

支配を許した場合の運動神経細胞体での AHP 関連チャネル分子発現を比較し、これらの筋依存性を検討している。運動神経細胞の上位入力を遮断すると、長趾伸筋に比べ、ヒラメ筋は著しい形態変化を示すことを確認している。この結果と概要の知見と併せて、上位入力による運動神経細胞のチャネル発現制御についての検討を企画している。

特別研究 (永山グループ)

【概要】

四次元脳・生体分子統合イメージング法を生体分子側からボトムアップに推進する特別研究において、200kV

と500kV電子顕微鏡システムの位相差法の高度化と安定作動に注力し開発および応用研究を行った。

電子顕微鏡用位相板開発

永山國昭

1947年のBoerschによる提案以来未解決であった位相板帯電防止に関する研究を継続した。2005年と2011年に帯電防止対策のエポックがあった。2005年対策は、帯電原因となる汚れの完全除去は不可能という前提に立ち、残留汚れを位相板材料である炭素膜でラッピングし電氣的に封じ込めるものであった。この対策以後位相板は有限の寿命ながら有効に性能を発揮し、多くの生物・医学応用例を生み出した。

2番目のエポックは2011年度に見出された電氣的不接合問題の解決である。位相板本体である非晶質炭素膜と支持基板である位相板用金属グリッドとの電氣的接合不良問題が浮上し、この接合不良を種々の工夫で改善した。特に生物試料が放出する汚れを回避する位相板加熱法自

体が接合不良の一因と分かり、加熱に耐える炭素材料と金属材料の接合法探索を行った。この結果長寿命化がある程度図られた。ハイクオリティの位相板を用いた生物応用として現在200kV電頭と500kV電頭を用いた研究を形態解析室村田准教授と行っている。

位相板応用における実践的問題として蛋白質、ウイルス、金コロイドコントラストのシュミレーションを行い、定量性をどう確保するか計算機実験と理論解析の比較を行った (Danev & Nagayama)。

開発された位相板を用いて200kV位相差電頭は安定的に運転されているが、500kV位相差電頭は生物応用への予備的調整を行っており、次年度に本格的応用を始めた。

位相板応用

永山國昭

Baylor 医科大の Wah Chiu 教授, Yale 大の Fred Sinworth 教授との共同研究を遂行し, 前者ではヘルペスウイルスの立体構造に関し, 特にゲノムである DNA 出入り口の新規構造の発見があった (Rochat et al.)。後者ではチャンネルを取り込んだリポリーム系を用いた膜電顕イメージン

グの研究を行った。リポリーム内外の電子顕微鏡像位相変化から膜電位を計測出来ることがわかった。位相差低温トモグラフィーの応用として, カンガルーラット腎臓由来の細胞 PtK2 の立体像を再構成し, 表面の膜蛋白質を同定できた (Fukuda & Nagayama)。

行動・代謝分子解析センター

遺伝子改変動物作製室

【概要】

脳が機能を発揮するという事は、個体の行動・精神活動に直結する。それ故、脳機能を研究する際には個体レベルでの解析が必須となる。特に、分子生物学的技術と発生工学的技術を駆使して作製する遺伝子改変動物を利用することは非常に有益な解析手段といえる。現在、特定の遺伝子を狙って破壊することが可能な動物種はマウスに限られ、他の動物ではコストが高く実用的ではない。ラットはマウスよりも大きいことから手術操作も容易であり、生物・医学分野の生理学的な研究に用いられ、実験データなどの蓄積もあるためノックアウト (KO) ラットの作製が切望されている。遺伝子改変動物作製室で

は遺伝子改変動物 (マウス, ラット) の作製技術を提供しつつ、遺伝子ターゲティングによるノックアウトラットの作製、さらには、作製した遺伝子改変動物の脳研究への積極的応用を目指している。研究課題のうち下記の 2 題について具体的に示す。内在遺伝子機能を封じたノックアウトラットを作製する新技術を開発するために取り組んだ、iPS 細胞の樹立に関する概要を紹介する。さらに、遺伝子改変マウスの脳研究への応用を目指して、大脳皮質第一次視覚野上に存在する遠近感の認知に必須の機能ユニット“眼優位カラム”の形成メカニズムの解明研究を進めたのでこれについても記載する。

ラット人工多能性幹 (iPS) 細胞の樹立

平林真澄

体細胞へ数種類の遺伝子を導入することでラットにおいても iPS 細胞株が樹立可能だが、生殖系列への寄与は証明されていない。本実験ではまず、初期化因子 (Oct4, Klf4, Sox2) および Ubc プロモーター下で EGFP を全身発現するよう設計した DNA コンストラクトをレンチウイルスベクターによって繊維芽細胞へ導入し、分化誘導シグナル伝達系の阻害剤 (FGF レセプター, MEK 活性化, GSK3) を添加した培養液を用いて計 7 ラインの iPS 細胞

株を樹立した。これらはいずれも内胚葉, 中胚葉および外胚葉を含むテラトーマを形成させたことから多分化能を持つことが確認され、4.5 日目胚腔内に継代 7~20 代目の iPS 細胞を顕微注入することで EGFP 陽性のキメラ個体が得られた。うち 4 ラインの iPS 細胞に由来するキメラ個体は、後代検定により生殖系列に寄与できることがわかった。

大脳皮質第一次視覚野上に存在する遠近感の認知に必須の機能ユニット 「眼優位カラム」の形成メカニズムの解明に向けて

富田江一, 三宝 誠

第一次視覚野において、同側眼から視覚入力を受ける神経細胞群と反対側眼から入力を受ける神経細胞群は別々にクラスターを形成しており、各々同側・反対側眼優位カラムと呼ばれる。この眼優位カラムは、遠近感の

認知に重要な機能ユニットである。当教室では、世界に先駆けて発見した、発生期から発達期にかけて同側眼優位カラムに特異的に発現しているシャペロン因子をフル活用し、同側・反対側眼優位カラムの分離形成過程を解

明しようと研究推進している。

眼優位カラムの形成が始まる出生直後から発生期の途中までは、イメージング法など既存の方法では眼優位カラムを可視化できない。かわりに同側眼優位カラム特異的シャペロンの発現パターンを指標にして、この期間眼

優位カラム形成の進行に伴いそのサイズやパターンがどのように変化するか組織学的検討を行ったところ、眼優位カラムの総数はほとんど変化せずにそのサイズが大きくなることが推測された。

代謝生理解析室

【概要】

研究所内外が作成、保有する遺伝子改変マウス及びラットの代謝、生理機能を詳しく解析し、標的遺伝子の機能と行動変異のメカニズムを明らかにすることを目的に本年度より新たに開設された。計測する代謝・生理機能と担当者は以下の通りである。(1) 運動系を中心とした、覚醒下での単一ニューロン活動など神経活動の計測（担当：生体システム研究部門、南部教授）、(2) 自由行動下における脳内特定部位での神経伝達物質の分泌計測（担当：生殖・内分泌系発達機構研究部門、箕越教授）、(3) フラビンおよびヘモグロビン由来の内因性シグナルを利用

した脳領域活動と膜電位感受性色素を用いた回路活動のイメージング（担当：生体恒常機能発達機構研究部門、鍋倉教授）、(4) 自由行動下における摂食行動、エネルギー消費の計測（担当：生殖・内分泌系発達機構研究部門、箕越教授）、(5) 自由行動下における体温、脈拍数、血圧の計測（担当：細胞生理研究部門、富永教授）、(6) 自由行動下における脳波測定（担当：細胞生理研究部門、山中准教授）。当面はマウスの解析を中心に行う。

本年度より計画共同研究「マウス・ラットの代謝生理機能解析」を新設し、所外研究者の共同利用を開始した。

TRP チャネルが担う中枢性呼吸調節機構の解明

平田 豊（兵庫医科大学 生理学生体機能部門）
鈴木喜郎，富永真琴

中枢性呼吸調節機構は、換気応答によって驚くべき厳密さで生体の P_{CO_2}/pH 変動を一定の狭い生理的範囲に調節している。この調節機構を担っている中枢化学受容細胞及びその化学受容器の分子実体は長い間謎であった。提案代表者は、これまでに脳幹・延髄由来のニューロン・グリア共培養細胞を用い、 CO_2/pH 負荷に対する細胞内応答を、 Ca/pH のイメージング、perforated patch-clamp 法により検討したところ、高 CO_2 負荷によりグリア細胞が Ca 応答をすることを見出してきている。この Ca 応答を引き起こす Ca チャネルの候補として、薬理学的スクリーニ

ングの結果、TRP チャネルのサブタイプが推定された。生理学研究所の富永教授と共に、TRP チャネルにおいて、どのサブタイプが換気応答の制御に関与するかを明らかにし、TRP チャネルが担う中枢性呼吸調節機構を解明することが本研究の目的である。推定されたサブタイプを含む、温度感受性 TRP チャネル欠損マウス群に対する高 CO_2 負荷による換気応答の変化を whole body plethysmography 法にて野生型マウスと比較した。その結果、高 CO_2 負荷による換気応答に有意な減弱が観察される温度感受性 TRP チャネル欠損マウスを見出している。

視床下核アストロサイトによる運動制御機構の電気生理的解析

和中明生, 辰巳晃子, 奥田洋明 (奈良県立医科大学医学部 第二解剖学講座)

佐野裕美, 南部 篤 (生理学研究所 生体システム研究部門)

和中らはオリゴデンドロサイト前駆細胞において発現する転写調節因子 *Olig2* に着目し, 成熟脳内における *Olig2* 陽性細胞の動態を *Olig2* プロモーター下に *eGFP* を発現するダブルトランスジェニックマウスを用いて解析を行ってきた。その結果, 1) 視床下核において *eGFP* 陽性のアストロサイトが集簇すること, 2) マウスにランニングホイールを用いた自発運動刺激を課すと, 視床下核での *eGFP* 陽性アストロサイトは, 対照群 (運動なし) と比べて突起を多数伸ばした複雑な形態を呈すること, 3) アストロサイト特異的な細胞毒である *Fluorocitrate* (FC) を視床下核に微量注入したマウスでの自発運動量を計測したところ, 対照と比べて有意に減少しているこ

と, などを見いだした。

そこで, 本共同研究ではこのアストロサイトによる神経機能調節の可能性を検証する目的で, FC 或いは等量の生理食塩水を視床下核に微量注入したマウスにおける視床下核及び大脳基底核回路を構成する淡蒼球, 大脳皮質運動野における神経活動を計測した。FC 注入群と対照群の間では予想されたような神経活動の有意な差は検出されなかった。今後は, FC の用量・細胞特異性を検討するとともに, 視床下核或いは淡蒼球内節におけるアストロサイトを特異的にターゲットする薬剤或いは遺伝子操作を用いて同様の解析を行う必要があると考えられた。

慢性疼痛における大脳皮質感覚野内応答領域の探索

Kim Sun Kwan, 江藤 圭, 鍋倉淳一

下肢皮膚感覚刺激に応答する大脳皮質神経細胞の長期連絡観察技術構築のため, 大脳皮質体性感覚野における下肢皮膚刺激に応答する部位の同定をフラビン蛍光による内因性シグナルを指標として行った。さらにこのシグ

ナルによる領域の範囲が正常でほぼ一定であり, 長期間の繰り返し観察を行う脳内神経細胞の同定に有用であることが判明した。

エネルギー消費機構における褐色脂肪組織, 骨格筋, 交感神経の生理学的意義

高木一代, 箕越靖彦

マウス個体全体のエネルギー消費量 (EE) には, 安静時基礎代謝 (RMR), 運動 (EX) および食事 (食餌誘導性非ふるえ熱産生, DIT) によるエネルギー消費量が含まれる。しかし, エネルギー消費量 (EE) に占める RMR, EX, DIT の割合は未だに不明であり, 摂食に伴いこれらの熱産生がどのように変化するかも明らかとなっていない。また, 主要な熱産生組織として褐色脂肪組織 (BAT) と骨格筋が知られているが, これらの組織が RMR, EX, DIT にどう寄与するかも不明である。本研究では, エネルギー

消費量における RMR, EX, DIT の算出法を確立すると共に, 摂食よってこれらのエネルギー消費量がどのように変化するかを調べた。また, 褐色脂肪組織の熱産生蛋白質である UCP1 のノックアウトマウス (UCP1^{-/-}), 骨格筋選択的に dominant negative AMPK を発現させ骨格筋 AMPK の機能を選択的に阻害したマウス (DN-AMPK^{+/+}), 及び両マウスを交配し得られたマウス (UCP1^{-/-}, DN-AMPK^{+/+}) を用いて, 褐色脂肪組織と骨格筋での熱産生の役割を調べた。その結果, UCP1^{-/-}と DN-AMPK^{+/+}

では食事による熱産生影響は無かったが、UCP1^{-/-}、DN-AMPK^{+/-}において、EX と DIT の熱産生が低下していた。このことから、食事によって惹起される熱産生に、

褐色脂肪組織 UCP1 と骨格筋 AMPK が共に関与することが明らかとなった。

視床下部オレキシン神経の代謝生理における役割について

山中章弘

視床下部のオレキシン産生神経（オレキシン神経）は、睡眠覚醒調節において特に覚醒の維持において重要な役割を担っている。オレキシン神経を脱落させた動物は、睡眠覚醒を頻繁に繰り返したり、突然脱力して動かなくなる発作（脱力発作）を呈する。これらはナルコレプシーに特徴的な症状であり、実際にナルコレプシー患者の脳では脳脊髄液中のオレキシン濃度が検出限界以下に低下しており、また、オレキシン神経だけが何らかの原因で脱落していた。ナルコレプシーでは、睡眠覚醒の異常だけでなく、代謝生理においても異常が認められる。患者の BMI は有意に増加していることが知られており、また、オレキシン神経を欠損させた動物でも摂食量に依存しな

い体重増加が認められている。これらの知見は、オレキシン神経細胞が代謝生理調節においても重要な役割を担っていることを示唆している。そこで、オレキシン神経の代謝生理における役割を明らかにするために、オレキシン神経特異的かつ時期特異的に細胞死を誘導し、除去することが可能な遺伝子改変マウスを作製し、オレキシン神経除去前後の睡眠覚醒パターンと代謝調節の変化を解析した。これらのマウスから脳波筋電図、自発行動量、体重、摂食量、摂水量、代謝量を持続的に測定した。オレキシン神経特異的な脱落には **tet-off** システムを用いて、餌中のドキシサイクリンの有無によって、神経細胞死誘導のタイミングを決定させた。

行動様式解析室

【概要】

マウスの遺伝子の 99% はヒトにもホモログ（対応する遺伝子）があり、さらに遺伝子ターゲティングなどの技術を応用することで、遺伝子を自由自在に操作することができる。マウスでは心理学的な解析をはじめとして、個体レベルでの多彩な解析技術が適用でき、ヒト脳の統合的理解のためのモデル動物として最適であると考えられる。全ての遺伝子の 80% 以上は脳で発現していると言われており、脳で発現する遺伝子の機能を調べるためにはその最終アウトプットである行動を調べることが必要

だと考えられる。我々は各種の遺伝子改変マウスに対して、知覚・感覚、運動機能、情動性などから記憶学習や注意能力など高次認知機能まで、幅広い領域をカバーした行動テストバッテリーを用いて解析し、各種遺伝子の新規機能の探索を行っている。国内外の多数の研究室との共同研究を行っており、これまでに行動様式解析室として 62 系統、3000 匹以上のマウスを解析している。この中には、精神疾患のモデルマウスとなるような系統も複数見つかっている。

マウスを用いた脳表現型データベースの開発と応用

高雄啓三，宮川 剛

藤田保健衛生大学や京都大学などでの活動を合わせ、

これまでに国内外 100 以上の研究室との共同研究で 164

系統 10000 匹以上の遺伝子改変マウスについて網羅的行動データを取得している。個体ごとの生データはデータベースに登録しており、これらを用いて各種行動の指標となる数値間にどのような関連性があるか、実験における各種のパラメータが行動データに及ぼす影響などについてインフォマティクスの解析を行うことが出来る。現在、論文発表された 39 系統 3034 匹分のデータおよび

各種遺伝子改変マウスの野生型コントロールとして使用された C57B/6 亜系統のマウスのデータ (1965 匹分) についてはデータベース <http://www.mouse-phenotype.org/> で公開している。さらに行動実験後の各個体の行動データが付属したマウスの脳や血漿サンプルについてもリソース化を進めている。

C57BL/6 亜系統マウスの行動特性解析

高雄啓三, 宮川 剛

遺伝子改変マウスのバックグラウンド系統として広く使われている C57BL/6 系統には、J, N, C の 3 つのよく知られた亜系統があるが、これら亜系統間の詳しい行動特性の違いは調べられてはいなかった。野生型コントロールマウスのデータを集めた C57BL6 Substrain Behavior Database を用いて C57BL6 の亜系統 J, N, C それぞれの行動特性を解析した。これらの亜系統は遺伝的

に近いにもかかわらず一部の行動では顕著な違いが見られた。例えばオープンフィールドテストでは J が N, C に比べて活動性高く、驚愕反応のプレパルス抑制は N が J, C に比べて高いことが明らかになった (Front. Behav. Neurosci. 2010, 4:29)。この論文は Frontiers in Neuroscience (2010, 5:10) で注目記事として紹介され、同雑誌ホームページのトップでも紹介された。

Schnurri-2 欠損マウスの脳表現型解析

高雄啓三, 宮川 剛

Schnurri-2 (Shn-2) は zinc finger 型の転写因子であり、Th2 細胞分化制御などの免疫反応に重要であるとされているが、脳での機能については不明であった。Shn-2 の脳における機能を調べるため Shn-2 欠損マウスについて網羅的行動解析を行ったところ、活動量の亢進、顕著な作業記憶障害、不安様行動の低下、プレパルス抑制の障害など一連の顕著な精神疾患様の行動異常を示した。Shn-2 欠損マウスの海馬について分子生物学的、電気生理学的、組織学的解析を行ったところ、海馬歯状回が未成熟な状態になっていること (未成熟歯状回: immature Dentate Gyrus, iDG) が見出された。Shn-2 欠損マウスに似た行動異常を示す他の精神疾患モデルマウスでも iDG

様の現象が見られており、iDG は精神疾患様の行動異常に伴う一般的な現象である可能性が高い。さらに Shn-2 欠損マウスの脳の解析を進めたところ、パルパルブミン陽性細胞の減少、皮質の厚みの低下など、統合失調症の死後脳で見られる現象が多く見られた。その他、Shn-2 欠損マウスの脳波は、ホームケージでの活動時に遅い周波数成分である θ 波が増強、早い周波数成分の β 波が減弱していることが明らかになった。これらの現象も統合失調症患者で報告されている。このように Shn-2 欠損マウスはきわめて妥当性の高い統合失調症モデルマウスであり、統合失調症の病因・病態の解明、治療法の探索を行う上で非常に有用であると考えられる。

多次元共同脳科学推進センター

【概要】

多次元共同脳科学推進センターは、全国の異分野研究者が参加し、BMIと霊長類遺伝子導入技術開発のための基礎研究及び異分野をまたぐ若手脳科学研究者の育成を行うネットワーク機構を構築し、サバティカル研究者の受け入れも行いながら、研究プロジェクトを推進するとともに人材養成を行う事業を推進している。

本センターは2008年4月に設置され、自然科学研究機構（生理学研究所、基礎生物学研究所）の複数の教授が併任し運営を開始した。併任教授に加えてプログラムオフィサーとして特任教授を置き、外部研究機関からも基礎的な脳科学及びその関連分野（臨床医学、工学、心理学、倫理学）を専門とする客員教授、客員准教授を選任し、外部の研究機関と連携した研究環境を整え運営されている。

またNBR事業推進室は、霊長類のナショナルバイオリソースの中核機関としての役割を担い、病原微生物学的にも安全で、馴化の進んだ実験用動物としてのニホンザルを繁殖・育成し、国内の研究者に安定して供給する体制を構築している。

2009年度には流動連携研究室を新設し、客員教授、客員准教授、客員助教を募集し、サバティカル的な制度を活用した長期滞在型共同研究の推進を図っている。

〈多次元ブレインストーミング〉

自然科学研究機構新分野創成センターブレインサイエンス研究分野との連携強化を進め、2つのテーマでブレインストーミングを実施した。将来の脳科学研究の方向性について、全国の様々な専門家（52名）から事前にインタビューを行い、そこで得られた情報にもとづいて、「機能分子ダイナミクスの定量的計測・操作技術」、「グリアと脳の機能・病態」をテーマにブレインストーミング

を行い、新たな脳科学研究の方向性について議論を行った。

〈ウイルスベクターによる霊長類脳内遺伝子導入技術の共同研究〉

霊長類脳基盤研究開発プロジェクトでは、今年度よりウイルスベクターを用いてニホンザルの脳内に遺伝子導入を行う共同研究を開始し、京都大学霊長類研究所、福島県立医科大学、自然科学研究機構基礎生物学研究所、自治医科大学との間で、特定の神経回路機能を操作し解析する研究成果を上げた。

〈2011 多次元トレーニング&レクチャー 感覚情報処理の神経回路の構造と機能〉

脳の研究を進めるに当たり、脳の解剖学的知識は非常に重要だが、若手研究者や様々な分野から参入しようとする異分野の研究者にとっては十分な講義や実習を受ける機会がなく、モデル動物としてマウス、ラット、サルが多くの研究に用いられているが、異なるモデル動物間やヒトとの種間の解剖学的な比較について学習する機会が殆どない。このような状況を踏まえて、感覚情報処理の神経回路を中心に異なる種間の脳の解剖学の講義・実習を実施した。また、解剖学の講義・実習と組み合わせ、感覚情報処理の機能に関する講義及び実験見学を実施した。

〈流動連携室の新設によるサバティカル事業の実施〉

今年度は、客員准教授として浜松医科大学健康プロデュース学部の最上秀夫准教授が、客員助教として北海道大学大学院医学研究科の宮崎太輔助教が、それぞれ6ヶ月、12ヶ月間滞在し、共同研究を実施した。

脳機能計測・支援センター

形態情報解析室

【概要】

形態情報解析室は、超高压電子顕微鏡室と組織培養標本室から構成される。超高压電子顕微鏡室では、国内で唯一の医学生物学専用超高压電子顕微鏡 H-1250M（日立製）を使用して、厚い試料の立体観察および三次元形態解析を行っている。本装置は、生理研を代表する共同利用実験機器の一つであり、毎年これを利用した研究課題を全国から募集している。平成 23 年度は外国からの 4 課題を含む合計 19 課題が採択された実施された。また、本年度から先端電子顕微鏡計画共同研究を実施し、生理研の独自開発技術であるゼルニケ位相差電子顕微鏡法を中心として、無染色無固定の凍結試料による直接クライオ観察とその三次元再構成も行っている。本研究室では、

これらの共同利用実験を支援するとともに、個々の課題を遂行するための付属装置の開発や電顕像からの効率的な立体再構成法の研究を行っている。

一方、組織培養標本室では、通常用および P2 用の培養細胞専用の培養機器と、各種の光学顕微鏡標本の作製の為のクライオスタットやマイクローム、および各種の光学顕微鏡を整備し、利用者に便宜を図っている。耐震工事の為に平成 23 年 8 月に 2 階から 5 階に移転し、24 年 6 月までの仮住まいであるが、ドラフトを移転し、培養機器一式、光学顕微鏡標本作製の為のクライオスタットやマイクローム等も整備して引き続き利用者の便宜を図っている。

クライオ位相差電顕トモグラフィーによる興奮収縮連関の構造的基盤の解明

村田和義，國安明彦（崇城大）

本研究では、ウサギ骨格筋から興奮収縮連関の構造的基盤であるトライアド膜をできるだけ保存の良い状態で抽出し、氷包埋してクライオ電子顕微鏡で直接観察する。そして、トモグラフィー解析によりトライアド膜タンパク質複合体全体の高分解能三次元構造解析を行う。

ウサギ骨格筋から抽出したトライアド膜は、液体窒素で凍結して生理研に輸送し、融解後できるだけ早く氷包埋して加速電圧 200kV のクライオ電子顕微鏡で観察した。

その結果、直径数ミクロンの膜断片を確認することができた。そして、この膜接合部にはカルシウム放出チャネル (RyR) と思われるスパイク上の構造物を多数確認することができた。しかし、この筋小胞体膜上の RyR が T 管膜上の DHPR と相互作用しているトライアドジャンクションの位置を特定することはできなかった。今後は、抗体蛍光染色法を使ってこの場所を特定し、トライアド膜タンパク質複合体の三次元構造解析を行う予定である。

消化管機能における小腸絨毛上皮線維芽細胞の役割の解析

古家園子

小腸絨毛には壁内神経の筋層間神経叢、粘膜下神経叢と外来性の神経線維（迷走神経、脊髄神経）が入力している。食物や水による機械的、化学的刺激により内在性及び外在性知覚神経が興奮し、摂食反射が引き起こされ

る。上皮細胞下で dye-permeable なギャップ結合でつながった細胞網を形成している上皮線維芽細胞は、機械的刺激に応答して ATP を放出するメカノセンサーである。また、この細胞は NK1 受容体を発現し、サブスタンス

P/非サブスタンス P 含有神経とシナプス様構造を形成しており、機械的刺激を内在性及び外来性知覚神経に伝達していると考えられる。小腸絨毛上皮下線維芽細胞の役

割を明らかにするため、シナプス様構造を形成している知覚神経のタイプの同定を試みている。

生体機能情報解析室

【概要】

随意運動や意志・判断・学習・睡眠などの中枢神経機構の研究が進められた。サルを検査対象として大脳皮質

慢性埋込電極を利用し、各種の認知運動課題を行う際や睡眠中の大脳皮質フィールド電位を記録解析した。

大脳皮質フィールド電位における律動波の研究

遠本 徹

これまでに「注意」の中枢神経機序を解明する目的で、サルの局所脳血流量を解析し、運動課題を行うサルの前頭前野 9 野・前帯状野 32 野・海馬の脳血流量が想定される意欲の変化と一致した変動を示すことを見出した。また、大脳皮質フィールド電位における律動波を解析して、自分のペースでレバー運動をするサルの前帯状野 32 野と前頭前野 9 野のシータ波活動がサルの「注意集中」に相関して増減していると解釈可能な知見を得た。両部位のシータ波は高いコヒーレンスを示し、これらの部位が機能的に一体となって活動していることを示唆する。サルにおけるこのシータ波活動は、ヒトの脳波で観察される Frontal midline theta rhythms に相当すると考えられる。

このことを裏付けする目的で、「予告付き反応時間運動課題」を行う際のシータ波の解析を行い、想定される「注意」の変動とシータ波の増減が一致することを確認した。これらの結果は、サルの前頭部のシータ波がヒトの Frontal midline theta rhythms のモデルとして使用可能なことを示唆している。現在、埋め込み電極による高い空間分解能を活かして、32 野と 9 野の間の情報の流れについて解析を行っている。また視野を広げれば、このような律動波が注意以外にも脳の多様な情報処理課程において役立っている可能性があるため、覚醒や睡眠の各種状態における大脳皮質フィールド電位の律動波を記録解析している。

多光子顕微鏡室

【概要】

2011 年 7 月に村越秀治が赴任し、2 光子蛍光顕微鏡を用いた共同研究を行うと共に、新たに 2 光子蛍光寿命イメージング顕微鏡を構築した。これによって、細胞の形態などの構造だけでなく、生きた細胞内で起こるシグナル伝達や分子間相互作用をイメージングすることができ

るようになった。最先端の光学技術に加え、新規蛍光タンパク質や光制御可能なタンパク質分子の開発も行っており、これらの技術を電気生理学的手法などと組み合わせることで、神経細胞およびグリア細胞の機能に関する研究を推進している。

シナプス内キナーゼ分子の活性化可視化解析

村越秀治

神経回路の形成、機能の基礎となるシナプス結合の可塑性は、シナプスの後端を形成するスパイン内の情報伝達系によって制御されていると考えられる。しかしながら、“スパイン内でどの分子がどのように活性化しているのか”といったことは調べる方法論がないためにこれまで殆ど分かっていなかった。本研究では、2 光子蛍光寿命イメージング法を用いることで、海馬組織内の CA1 領域にある神経細胞樹状突起上のスパイン内で起こるシ

グナル伝達過程を可視化し、シナプス可塑性の仕組みを解明することを目標としている。本年度は、自作の 2 光子蛍光寿命イメージング顕微鏡を構築し、HeLa 細胞を用いて顕微鏡の評価を行い、実際に細胞内で分子間相互作用にうよる FRET を観察できることを確かめた。現在は、キナーゼ分子である ROCK, PAK, LIMK, MLC, Cofilin 等の活性化を見るための FRET センサーを作製しているところである。

光制御可能な CaMKII 阻害分子の開発とシナプス可塑性研究への応用

村越秀治

一個のシナプス内部で、シグナル伝達分子の活性化を観察したり、自在に操作することができるようになりつつある。本研究では、シナプスの可塑性にとって重要な分子である CaMKII の活性化を光照射によって制御することができる分子の開発を行っている。本年度は、植物の光受容タンパク質キナーゼである Phototropin1 の LOV2 ドメインに CaMKII 阻害ペプチド (AIP2) を融合さ

ることによって、光制御可能な CaMKII 阻害分子を作製することに成功した。この分子は青色光照射によって、LOV2 に結合していた AIP2 が解離し、CaMKII のキナーゼドメインに結合することで活性を阻害する。今後は、この分子を用いて、単一スパインを刺激したときのスパイン形態の変化を 2 光子顕微鏡を用いて観察、解析することで CaMKII の機能を調べる予定である。

動物実験センター

【概要】

全般

本年度取り組んだ課題は、次の8点であった：1. 明大寺地区地下 SPF 施設の安定稼働、2. マウス・ラットの緊急避難一時飼養保管施設および MRI 撮影時の霊長類の一時的実験室の設置、3. 山手地区一時保管室の定期的消毒、4. 明大寺地区地下入り口でのハイクロシャワー：エミスタの設置、5. 明大寺地区地下の高圧蒸気滅菌器の更新、6. 東海地震対策、7. ニホンザルの血小板減少症によるサル導入・検疫業務への影響、8. 外部獲得資金による負担金の徴収。

1 の課題は、問題点が現れ、安定稼働にならず、2 の課題はなかなか歩みの遅い課題となってしまった。3, 5, 6 は予定通りにほぼ達成できた課題と思われる。4, 7, 8 の課題は手を着けたが今後試行錯誤しながら、改善しなければならない部分が多く、次年度以降に引き継ぐ案件となった。

以下に、各事項について説明する。

1. 明大寺地区地下 SPF 施設の稼働

本年度は明大寺地区地下 SPF 施設が本格的に稼働し、3 研究部門が利用した。作業性や労務の負担に問題があり、施設半分を閉めることになった。器具・機材の階上・階下への移動を極力減らし、洗浄・消毒が地下だけで完結できる省力的で衛生的なシステムを構築するひとつの手段として、高圧蒸気滅菌器の更新を今年度末までに実施した。今後は、地下両施設を稼働できるようにする予定である。

2. マウス・ラットの緊急避難一時飼養保管施設および MRI 撮影時の霊長類の一時的飼養保管施設の設置

駐輪場の跡地に2階建ての建物を平成22年度末までに増設した。一階を MRI 撮影時の霊長類の一時的実験室とし、二階はマウス・ラットの緊急避難一時飼養保管施設とした。2 階の飼養保管施設の目的はマウス・ラットに感染症が発生した場合に用いる緊急避難用シェルターとする。併せて、他の施設にどうしても導入できない実験動物やグレーゾーンの実験動物を受け入れて実験に供する施設と考えている。通常の施設に搬入できない実験動物の受入希望が多く、この施設が短期間でなく、かなり利用されそうである。未だ 1 階、2 階とも定常稼働段階

に至っていないが、使い捨てケージ・給水ビンなどの備品の整備に努めている。また、今後、施設利用方法の取り決めおよび施設内部の消毒法やドラフトの設置（ダクトレスも考慮に入れる）などを検討しなければならない。

3. 山手地区一時保管室の定期的消毒

一時保管室は、一年に一回清浄化という考えで、全面消毒を今年度も引き続き実施した。また、定期的モニタリングを他施設と同様に行うこととした。今年度は 2011 年 10 月と 2012 年 1 月の二期に分けて作業を実施し、完了した。消毒を行う前に利用者から希望を伺い、消毒のスケジュールを組むことで進めている。しかし、本年度も後日動物実験の予定が急遽変わり、消毒作業が研究の妨げになってしまうことが生じた。毎年のことながら、利用者とのスケジュール調整に苦慮する。また、外部に依頼する消毒費用の面なども次年度考えなければならない。ホルムアルデヒド薫蒸消毒ではなく、過酢酸を用いた水溶性消毒剤噴霧を適用し、効果と安全性が確認できたことは十分に評価できると思われた。今後消毒にかかる費用と時間を抑えるために、光触媒を応用した飼育室の抗菌加工を採用してみたいと考える。

4. 明大寺地区地下入り口でのハイクロシャワー：エミスタの設置

生理学研究所明大寺地区の耐震補強工事計画により、作業ワーキンググループが立ち上がり、当初ハイクロシャワー：エミスタを山手地区移転部門の出入りに設置する考えで進んだ。しかし、計画が変わり、山手地区玄関に設置する案も浮かんだが、適切な場所がなく、明大寺地区地下動物実験センター入り口に置くことになった。エミスタは生理学研究所から動物実験センターに移管され、その後の管理運営およびその費用を任されることになった。2011 年 10 月 20 日に説明会を開き、エミスタの概要や使用ルールなどを利用者に伝えた。

エミスタは動物実験施設の衛生管理に役立てることが第一の目的の装置である。しかし、エミスタの通常使用と異なることから、装置本来の効力が発揮できない点や故障や不具合が発生するなどの問題が起こった。人、実験動物、物品および死体などの動線、維持管理あるいはエミスタの使用そのものに種々の問題点が指摘され、改

善できるものは改善しなければならないと思われる。実験動物の死体置き場（霊安室）や廃棄物の一時保管場所を確保したいと考える。

明大寺地区での動物実験者が山手地区に戻ることができるようになることを第一義の使用目的とし、利用者に入浴・シャワー浴の負担をできるだけ軽減して研究が進められるように便宜を図りたい。山手地区 SPF 施設の防疫・衛生管理を向上させるため、胚操作を担当する技術支援員を2012年2月より採用して、業務を進め、技術の習得に傾注している。

5. 明大寺地区地下の高圧蒸気滅菌器の更新

明大寺地区地下の老朽化した高圧蒸気滅菌器が法定点検で更新すべきことを指導された。そのため、両研究所に更新のための予算負担をお願いし、2011年12月にこの高圧蒸気滅菌器の入札を実施した。本年度末に新しい機種が地下に設置され、日々の滅菌作業に利用されることになった。地下 SPF 施設における滅菌作業の効率化が図られるものと予想される。次年度から稼働を予定している。

6. 東海地震対策

2011年3月11日東日本大震災の教訓から、近い将来起こるであろうと予想される東海地震対策を計画的に実施することにした。災害対策のマニュアルをモデル生物研究センターと共に整備した。実験動物の飼育ラックの固定を山手地区 SPF 施設8室で行った。次年度で山手地区における残りのラックをすべて固定する計画である。ラックの転倒防止により、作業者の事故や実験動物の逸走を未然に防げるものと考えている。

7. ニホンザルの血小板減少症によるサル導入・検疫業務への影響

昨年、ニホンザルの血小板減少症が報告され、当センターもサル導入・検疫業務を一時見合わせた。2011年2月末日に導入を再開したが、導入したアカゲザルに血小板減少症の病原体ウイルスと目される SRV-5 が検出され、4頭の動物を安楽死し、検査に供した。このため、検疫業務が長引き、9月20日までかかってしまった。途中 NBR のニホンザルを受け入れる要望もあり、検疫業務に苦戦を強いられた。今年度は、検疫業務・臨床検査業務の対応力を強化することを事業計画としたが、実行できなかった。

一方、供給される NBR のサルが高品質になり、中継基地が整備されて検疫出荷業務も向上したため、当セン

ターでの検疫業務を年明けに再開することとした。2012年1月と3月に NBR ニホンザル導入を実施した。サルの死亡事故なども起きたが、NBR ニホンザル供給事業については、今後も変わらず協力体制をとる所存である。

8. 外部獲得資金による負担金の徴収

「自然科学研究機構岡崎共通研究施設動物実験センターの使用に係わる経費の負担に関する規則」を改正した。背景として、運営費交付金・寄附金による負担金の支払いに無理が生じて来たため、外部獲得資金：科研費などの適用が求められた。外部獲得資金の適用については教授会、運営委員会および3所長会議にて、審議・承認の手続きをとって進めた。負担金の支払いを科研費で行う場合は、各研究課題で用いた実験動物の管理費、飼料費および資材費に、その科研費を適用させることとした。これにより、運営費交付金および寄附金による実験動物の負担金を、科研費を主とする外部獲得資金で徴収できるように改めた。2011年10月31日に上記規則の改正に関する説明会を開催し、動物実験センターから変更点を説明した。この経費の負担に関する規則の改正は2011年4月1日に遡って適用とした。

科研費を適用することによって、各研究者が実験ノートに実験動物使用数（毎月）および搬入数と搬出数（毎日）を正確に記録する必要が生じた。また、外部飼育委託会社との契約金の変動に伴い、負担金は毎年変更されることになった。実際に運用してみると、実験動物の飼養保管頭数の計測や負担金の徴収作業が複雑になり、事務作業が増加したことや歳入金額の進捗状況がつかめないことなどの問題が現れた。軌道に乗るまでには、しばらく時間がかかりそうである。

9. その他として、教育訓練

教育訓練 Part2 として、「麻酔および疼痛管理」および「ヒトと動物の共通感染症」の教育訓練を行った。「麻酔および疼痛管理」は中型動物（イヌ、ネコ、サル）、小型動物（ウサギ、モルモット）、両生類、魚類およびげっ歯類（マウス、ラット）と動物種ごとに分けて実施した。「ヒトと動物の共通感染症」はマウス・ラットおよびサルについて教育訓練を実施した。また、サルの新入者研修も獣医学的立場より行った。今後テキストとして利用できるように便宜を図る予定である。また、獣医麻酔外科学会および日本実験動物学会が目指す「実験動物の麻酔のモニタリング指針」については、マウス・ラットの領域で参画した。

山手地区利用者講習会も例年通りほぼ毎月開催し、生理学研究所耐震補強工事による引越で受講者数は 43 名と増加した。

10. 平成 24 年度以降の課題

生理学研究所の耐震補強工事が第 2 期には、部門内で飼養保管している動物（サル）をセンター内に受け入れて預かる要請があり、サルの飼育施設に収容する。生理

学研究所の研究部門も一部、センター内に受け入れることも要求され、飼育室を一つ実験室として提供することとした。また、霊長類遺伝子導入実験室で計画共同研究が始まることから、本実験室を動物実験センター内の施設のひとつとした。動物実験センターと同じ管理者と実験動物責任者を置き、外部からの研究者などの受入や管理面で協力体制を整えた。

技術課

大河原浩

【概要】

今年度、生理学研究所では昨年度より準備が進められていた安全衛生管理室が設置された。昨年度安全衛生管理室準備室として安全衛生に関わる業務を整備してきた市川修班長を配置した。また永山國昭教授の退職に伴い位相差電子顕微鏡が形態情報解析室所属となったため、小原正裕課長補佐を電子顕微鏡室（主に山手地区）に配置するとともに、形態情報解析室の位相差電子顕微鏡維持管理業務を付加した。一方、山田元係員には山手地区における電子顕微鏡室業務を軽減し、形態情報解析室の超高圧電子顕微鏡維持管理業務を付加した。これにより、佐治俊幸係長の超高圧電子顕微鏡業務を解除した。

課の研究活動への寄与と貢献を一層進めるため下記の事業を実施した。

①生理科学実験技術トレーニングコースでの技術指導

生理学研究所が毎年主催し、実施している生理科学実験技術トレーニングコースで、『生理学実験のための電気回路・機械工作・プログラミング』をテーマに、『生体アンプとバスチェンバーの作製』と『C言語によるPICプログラミング』の2コースを企画し、それぞれ3名の受講者を受け入れた。

②生理学技術研究会の開催と表彰

全国の大学等技術職員の技術連携と交流を目的に第34回を、基礎生物学研究所・技術課と合同で平成24年2月16日-17日の2日間にわたり開催した。会では、口演発表が23題、ポスター発表が49題あり、研修講演として『CLE ペプチドを介した根粒形成の遠距離制御機構』（川口正代司、基礎生物学研究所 共生システム研究部門 教授）を行った。これらの報告は『生理学技術研究会報告（第34号）』にまとめた。

また今回初めて、長年にわたり優れた生理学実験技術を報告してきた発表者2名に対して生理学技術研究会功績賞を所長より表彰した。

③奨励研究採択課題技術シンポジウムの開催

時代要請に対応した技術認識と向上に立った技術職員の業務の社会的開示を推進するために奨励研究採択者による第7回の報告会（平成24年2月17日）を10演題で行った。この報告は『生理学技術研究会報告（第34

号）』にまとめた。

④自然科学研究機構技術研究会の参加

自然科学研究機構技術職員の業務の紹介と技術連携を目的に、第6回を国立天文台で開催した（平成23年5月26-27日）。会では30演題の発表があり、詳細は『第6回自然科学研究機構技術研究会集録』としてまとめた。

⑤東海北陸地区技術職員研修等の受講と参加

東海北陸地区大学等の技術職員の技術交流と向上を目的に毎年当番校により行われている技術研修で、複合領域コース（核融合研、1名）を受講した。東海・北陸地区技術職員合同研修に係わる技術職員代表者会議（名古屋工業大、1名）に参加し、今後の研修会開催について議論を進めていた。

また、国立大学法人動物実験施設協議会総会（金沢大、1名）、安全保障貿易管理説明会（名古屋、1名）、サル疾病ワークショップ（麻布大学、1名）、神経科学会（神奈川、1名）、生化学会（京都、1名）、天文学に関する技術シンポジウム（岐阜、1名）、簡易SEM性能評価（名古屋、1名）などに参加し、業務の研究支援力の強化を図った。

⑥放送大学利用による専門技術研修の受講

研究の高度化と多様化に対応するため技術職員の研修を推進している。今回放送大学研修科目として 社会と知的財産 '08（1名）、身近な統計 '07（1名）の2科目を選び2名が受講した。

⑦科学研究費補助金（奨励研究）の採択

業務を展開、推進していくための問題意識の養成、その解決のための計画および方法の企画能力の養成、さらにはその表現力と説明力の養成を通じて、業務上の技術力の総合的な向上を図ることを目的に標記の申請を行い、下記の1課題の採択を得た。

- (1) 佐治俊幸：生物学研究者のための機械工作逆引き
動画テキストの作製

⑧業務報告会とデータベース化事業の促進、および表彰制度の整備

課員の出向先研究部門での業務成果は技術課業務報告会で報告され、情報の共有化が図られている。また、

その成果は技術課主催の生理学技術研究会、出向先部門での学会発表により所外に発信されているが、より広く活用され、即時的に発信するために、優れた成果をデータベース化する事業を技術課が研究部門と進め、その一部を技術課ホームページで公開している。今年度も、その編集を技術班長による専任とし、その更新を進めた。こうした事業の推進のなかで、優れたデータベースにはデータベース賞として表彰授与を所長より行った。こうした事業の推進により、研究者との連携を深め、業務の活性化を進めた。

⑨安全衛生技能講習等の受講と参加

研究所の安全衛生を課業務として充実するために、第7回安全衛生情報交換会（核融合研、1名）、防火管理講習会（岡崎、1名）、防災管理講習（岡崎、1名）、地震対

策セミナー（名古屋、1名）を受講した。

⑩岡崎3機関技術課長会と機構技術代表者会議の開催

岡崎3研究所の動向の意見交換を、事務センターの総務課長、施設課長を交え毎月1回開催した。また核融合科学研究所、国立天文台も交え毎月1回、相互訪問またはテレビ会議による情報交換も行った。

⑪職場体験の受入れ等

広報展開推進室が推進する地域貢献活動を支援するため、岡崎中学校生徒（5中学校、16名）の職場体験を受入れ、電子顕微鏡室、ネットワーク管理室、機器研究試作室、動物実験センター、遺伝子改変動物作製室の技術職員が指導した。また、ひらめき☆ときめきサイエンスなどのアウトリーチ活動の支援も行った。

施設の運営状況

①統合生理研究系

(1) 生体磁気計測装置

竹島康行

【概要】

2011年度の生体磁気計測装置における研究成果については、統合生理研究系 感覚運動調節研究部門の研究活動報告と生体磁気計測装置共同利用実験報告に記載されている。

生体磁気計測装置の稼働率を下表に示す。装置は計測システムと解析システムから成るが、使用日数に解析システムの使用分は含んでいない。システム全体の保守は二ヶ月毎の定期点検を基本として、修理や調整をおこなっている。本年度は早急な対応が必要な事項は無かったが、経年劣化した解析システムのハードディスクを交換

した。第Ⅰ期耐震工事によるスペースの制限により、データサーバーと解析システムの一部を移設した。また、第Ⅱ期耐震工事中には保守機材の搬入が困難となるため、計測装置本体の保守点検（ハードサイクル）を予定より早くおこなった。

解析システムの OS（オペレーティングシステム）を順次更新しており、データサーバーについても OS の更新を進めている。

旧生体磁気計測装置（BTi 社製）の解析システムは引き続きスタンドアローンでの運用とした。

2011年度 生体磁気計測装置稼働率

年月	日数	休日	点検調整 日数	使用日数	稼働率 (%)	使用者数（人）		備考
						延べ総数	所外	
2011年 4月	30	10	0	12	60	13	4	
5月	31	12	3	12	75	15	13	HDD 障害対応、定期点検
6月	30	8	0	22	100	27	15	
7月	31	11	0	21	105	29	6	
8月	31	8	2	15	71	21	10	耐震工事対応、定期点検
9月	30	10	3	11	65	13	5	電源、HDD 障害対応、定期点検
10月	31	11	0	14	70	16	9	
11月	30	10	2	12	67	14	5	定期点検

12月	31	12	0	15	79	16	9	
2012年 1月	31	12	2	12	71	12	8	定期点検
2月	29	8	0	20	95	26	12	
3月	31	10	4	16	94	25	11	保守点検 (ハードサイクル)
	366	122	16	182	79	227	107	

*利用日数は装置を計測に使用した日数であり、保守作業などの計測外での使用は含んでいない。

*稼働率 = 利用日数 / (日数 - (休日数 + 点検日数)) × 100

*延べ総使用者数は所内使用者と所外使用者 (共同研究, 研究協力など) を合算したものである。

②脳機能計測・支援センター

(1) 形態情報解析室

山田 元, 加藤勝己

【超高压電子顕微鏡利用状況】

今年度における超高压電子顕微鏡共同利用実験は、合計 19 課題が採択され、一課題を除く課題が実施された。これらの共同実験の成果は、超高压電子顕微鏡共同利用実験報告の章に記述されている。超高压電子顕微鏡の年間の利用状況を表にまとめたので下記に示す。稼働率は、利用日数と使用可能日数より求めている。なお、調整日は、定期調整 (含清掃) 日と修理・改良等に要した日数を合わせた数である。本年度の主な超高压電子顕微鏡の改良・修理としては、真空漏れと思われる真空度変化に

よる鏡体分解, 洗浄, 組み立て, 調整及び O リング交換, 調整, 蛍光板損傷による蛍光板交換, 冷却水循環用ホース類の交換及び冷却水経路の洗浄, 写真撮影用マイクロスイッチの交換, 調整及びトランジスタ交換, 調整作業, ビーム遮断用シャッター交換及び調整作業 (2 回), ロータリーポンプ交換作業, LaB6 フィラメント交換作業 (2 回), 高压自動印加用マイクロモータ交換, 調整作業 (2 回), クライオ試料用トラップ取り付け作業, HV 共振点調整作業などが行われた。

2011 年度 超高压電子顕微鏡月別稼働率

年月	総日数	休日	調整日	使用可能日数	所内利用	所外利用	計	稼働率	備考
2011年 4月	30	10	6	14	3	2	5	36%	
5月	31	12	6	13	0	0	0	0%	
6月	30	8	8	14	3	3	6	43%	修理 4日
7月	31	11	9	11	1	10	11	100%	修理 7日
8月	31	8	6	17	2	5	7	41%	
9月	30	10	11	9	2	3	5	56%	修理 3日
10月	31	11	7	13	2	0	2	15%	
11月	30	10	6	14	0	3	3	21%	修理 2日
12月	31	12	4	15	2	13	15	100%	修理 2日
2012年 1月	31	12	8	11	2	9	11	100%	修理 4日
2月	29	8	5	16	0	16	16	100%	修理 2日
3月	31	10	6	15	4	11	15	100%	
計	366	122	82	162	21	75	96	59%	

フィラメント点灯時間 265.9 時間

使用フィルム枚数 2,502 枚

(2) 生体機能情報解析室

佐治俊幸, 山本 忍

【概要】

平成 23 年度の主な装置利用および整備状況は次の通りである。11 月に冷却ファンの交換および 1 月に酸素濃度計のセンサー交換を行い、建物の雨樋の修理も行った。

平成 23 年度は、生理研研究棟の耐震改修工事が開始され、その工事に伴う計画停電およびネットワーク遮断が複数回行われた。

【機器利用率】

平成 23 年度リアルタイム装置月別稼働率

年月	総 平日数	保守	使用可能 日数	所内利用 日数	所外利用 日数	計	利用率	備考
2011 年 4 月	20	1	19	0	0	0	0%	
5 月	19	1	18	0	3	3	17%	
6 月	22	1	21	0	3	3	14%	
7 月	20	1	19	0	0	0	0%	電源不具合
8 月	23	1	22	0	0	0	0%	停電
9 月	20	3	17	0	4	4	24%	計画停電
10 月	20	3	17	0	2	2	12%	計画停電
11 月	20	1	19	0	0	0	0%	
12 月	21	1	20	0	1	1	5%	停電
2012 年 1 月	20	1	19	0	0	0	0%	計画停電
2 月	21	1	20	0	0	0	0%	計画停電
3 月	21	1	20	0	4	4	20%	計画停電
計	247	16	232	0	17	17	7%	

*土・日に実施された実験は 0.5 日分を平日に振り替えて計算。

*同一日に利用者が複数あった場合でも、利用日数は 1 日とした。

(3) 多光子顕微鏡室

前橋 寛

【概要】

平成 22 年度に引き続き、多光子顕微鏡 2 台の点検および保守（冷却水交換、湿度除去用シリカゲル交換、除振台用コンプレッサ水抜き等）を生体恒常機能発達機構の 2 光子顕微鏡グループと共に行った。6 月下旬より生理研実験棟の耐震工事の為、共通棟 I 地階への移転が開始され、多光子顕微鏡室（511 号室、523 号室）から、防塵用へパフィルターのシステムが移転され、フィルター交換が行われた。多光子顕微鏡（1 号機）における月平均利用時間は移転前（2010.4～2011.6）も移転後（2011.8～2012.3）も約 190 時間でほとんど変わらなかった。

7 月から 新しく准教授（村越秀治）が着任すると共に、

2 光子蛍光寿命イメージング顕微鏡 (2pFLIM) の製作が開始され、自作 2pFLIM のパーツとして、PMT の電源（100V を 1200V に変換）、ガルバノミラーのための±24V 電源、レーザー強度をモニターするためのフォトダイオード等の製作が行われた。

ソフトウェア開発として、Image J マクロをベースにしたシナプス形態解析ソフトの開発等が行われた。

光学顕微鏡に関する勉強会（月 2 回程度）へ参加し、パルスレーザーの発振光路や 2 光子顕微鏡の原理等をより深めることができた。

(4) 電子顕微鏡室 (生理研・基生研共通施設)

小原正裕, 山田 元

【概要】

今年度の電子顕微鏡設置機器の稼働状況は以下の通りである。

明大寺地区に設置されている透過型電子顕微鏡 JEM-1200EX は冷却水循環装置が故障し、水道水を用いた緊急的な運用を行っている。走査型電子顕微鏡 S-800 は高圧発生部に故障が生じ、修理を行ったものの既に部品の供給がないため、10kV より高圧での利用は不可能の状態となっている。

山手地区の JEM-1010 は大きな故障も見られず正常に稼働している。新たに電子顕微鏡サンプルの3次元再構築が可能な 3D-SEM (SIGMA/VP) が導入され、試用を開始している。

他機器に関しては、長年不具合が連続してきた共焦点顕微鏡 LSM-510 は、顕微鏡の制御装置が故障し修理に多額の費用が必要な状況となった。そこで、近年の本機の

利用状況や他共通施設への新型共焦点顕微鏡導入などの事情を考慮し、以後本機の利用を停止することとした。

【活動】

本年度も例年通り中学生を対象とし、走査型電子顕微鏡を用いた職場体験を実施した。

明大寺電子顕微鏡室は、生理学研究所の耐震改修工事に伴い多くの部屋を供出した。これを機に、使用しなくなった物品の整理を行い、受入れの準備を行った。

なお、本状況は 2012 年度も続く予定である。

【研究内容一覧表】

本年度、電子顕微鏡室を利用した研究者は生理学研究所 30 人、基礎生物学研究所 8 人、機構外は 4 人の計 42 人であった。

下記に利用者の所属研究所、研究部門、研究内容の一覧を示す。

研究所, 大学	研究部門	研究内容
生理学研究所	脳形態解析	Morphological analysis of motor learning
		Localization of voltage-gated calcium channel in the brain
		Subcellular localization of calcium channel subunits in the brain
		シナプスの微細形態の解析
		神経伝達物質受容体の脳内局在性解析
		神経細胞膜上の分子分布の解析
		レプリカ標識法を用いたグルタミン酸受容体の局在解析
		SDS-FRL 法を用いたシナプス超微細構造の解析のため
		電子顕微鏡を用いたセプチンの脳内局在解析
		Analysis of synaptic structure
		Left/right asymmetry of neuronal circuits in the hippocampus
		Structural and molecular mechanisms of long term motor learning
		Quantitative localization of alpha1-A subunit P/Q type calcium in cerebellum
		SDS 凍結割断レプリカ免疫標識法の習得と技術改良
	生体膜	てんかん関連分子の局在解析
	分子神経生理	小脳および脳室面の形態解析
	形体情報解析室	小腸絨毛上皮腺維芽細胞の形態と機能
	大脳神経回路論	大脳皮質の神経回路の解析
		神経細胞の観察
	機能協働	げっ歯類網膜に対する遺伝子導入法を用いた網膜神経細胞の解析
	神経分化	カイニン酸型受容体の海馬神経細胞上における発現解析
	生体システム	大脳基底核の機能に関する研究における組織化学的解析のため
基礎生物学研究所	形態形成	Xenopus laevis の神経管形成の解析
	脳生物学	哺乳類対脳皮質神経細胞シナプス部の形態観察

	分子環境生物	オオミジンコの初期胚発生の経時的な観察
	生物進化	食虫植物の形態観察
		植物細胞における微笑管の観察
		植物の花器官の発生の観察
	高次細胞機構	高等植物の細胞内小器官の観察及び遺伝子産物等の細胞内局在の解析
東京歯科大学		還流唾液腺分泌終末の細胞間結合および直下細胞骨格の凍結切断による電子顕微鏡観察
名古屋大学		電子顕微鏡を用いたセプチンの脳内局在解析
中部大学		内耳有毛細胞の観察

(5) 機器研究試作室（生理研・基生研共通施設）

佐治俊幸

【概要】

機器研究試作室は多種多様な医学・生物学用実験機器の開発と改良，それに関わる技術指導，技術相談を室の役割とし，生理研・基生研の共通施設として運営されている。

新しい研究には新しい研究機器を作るという『ものづくり』が希薄になっている状況下，一方では，研究の多様化は室に新たな役割の模索が迫られている。そうした認識のもと，『ものづくり』能力の重要性の理解と機械工作ニーズの新たな発掘と展開を目指すために，2000年度から，医学・生物学の実験研究に使用される実験装置や器具を題材にして，機械工作の基礎的知識を実習主体で行う機械工作基礎講座を開講してきた。本年も汎用工

作機械の使用方法を主体に実習するフライス盤コース（リキャップ台）と旋盤コース（小物入れ），CAD コースの3コースを開講した。参加希望者は，3コース合わせ生理研9名，基生研15名で，各コース共に半日の講習を行った。また，生理学研究所では，山手地区に移転した研究室のために，2005年4月に工作室を開設し，利用者のための安全及び利用講習会を，毎年機器研究試作室が依頼を受けて実施している。

本年度は，一般工作室の旋盤にデジタル表示器を設置し，ユーザーの利便性を高めた。

なお，機器研究試作室の平成23年度の利用状況は，以下の通りである。

平成23年度 機器研究試作室 利用報告

機器研究試作室 部門別のべ利用状況

感覚認知情報	99 名	感覚運動調節	65 名	認知行動発達機構	41 名
テラベース	21 名	形態情報解析室	15 名	多光子顕微鏡室	15 名
ナノ形態生理	13 名	大脳神経回路論	6 名	広報展開推進室	5 名
生体恒常機能発達機構	3 名	生体システム	2 名	機能協関	1 名
NBR 事業推進室	1 名	心理生理学	1 名		

形態形成	14 名	所長室付	8 名	脳生物学	6 名
生物進化	5 名	時空間制御	4 名	環境光生物	4 名
RI 実験センター	2 名	統合神経生物	2 名	個別研究（定塚）	1 名
共生システム	1 名	分子発生	1 名	生物機能情報分析室	1 名

機器研究試作室 利用人数表

月	生理研	基生研	合計	延べ時間
4	48	14	62	97
5	27	5	32	24
6	42	6	48	87
7	25	4	29	41
8	49	5	54	98
9	34	2	36	53
10	6	2	8	11
11	31	0	31	54
12	28	4	32	51
1	30	5	35	85
2	33	1	34	49
3	31	1	32	53
合計	384	49	433	703

機器研究試作室 利用機器表 (件数)

月	フライス盤	ボール盤	横切盤	コンターマシン	NCフライス	旋盤	ベルトグラインダー	切断機	その他
4	25	27	20	18	0	8	7	9	6
5	11	7	5	8	0	4	1	3	6
6	19	10	9	11	0	8	3	8	7
7	11	11	5	6	2	7	4	5	1
8	30	23	18	14	4	6	3	0	10
9	15	9	3	6	0	10	2	3	9
10	4	0	2	3	0	0	2	0	2
11	21	9	2	13	0	6	1	1	3
12	17	10	4	12	5	6	4	2	5
1	17	12	3	12	0	4	1	2	2
2	13	8	7	9	5	4	1	2	5
3	18	10	4	7	10	4	0	2	5
合計	201	136	82	119	26	61	32	37	61

機器研究試作室 依頼製作品

マーモセット 体重測定箱	LED ファイバー照明	光刺激用マウス固定器
脂質人工膜用チェンバー	行動解析用十字迷路	パッチクランプ用チェンバー
ショウジョウバエ卵回収箱	マウス用防音暗箱	脳スライス標本台

③情報処理・発信センター

(1) ネットワーク管理室

吉村伸明, 村田安永

【概要】

生理学研究所における当施設の利用形態は, 生体情報解析システム (後述), 情報サービス (e-mail, WWW 等),

プログラム開発などに分類することができる。また, これらを円滑に運用していくためには, 所内 LAN の管理,

整備や情報セキュリティの維持も重要である。このような現状をふまえたうえで、岡崎情報ネットワーク管理室とも連携しながら、施設整備を進めている。

生体情報解析システムは、データ解析・可視化、信号処理、画像処理、数式演算、統計処理、電子回路設計などの多くのネットワークライセンス用アプリケーションを備えている。ネットワーク認証により各部門施設のPC上でこれらアプリケーションが供用できる。登録者は120名で、研究推進のための積極的な利用がある。

岡崎情報ネットワークは、MACアドレスベース、もしくは Web 認証ベースの動的 VLAN 機能を有する

④岡崎共通研究施設

(1) 動物実験センター

【概要】

本年度は、老朽化した設備の更新として、明大寺地区動物棟Ⅰの地下SPFエリアの高圧蒸気滅菌器を始め、自家発電機、照明器具、館内放送設備、ネットワーク設備等の設備更新が行われた。更にセンター地下入口には、エアシャワーの設置を行った。また、山手地区では、飼育室内の耐震対策を順次進めている。

明大寺の施設は、建設されてから32年あまりを経過しており、空調設備を始めとする設備の老朽化が著しく、また、研究内容の変遷とともに利用形態も大きく様変わりしているため、様々な設備の更新が必要と考えている。

実験動物の授受に関し、年間でのべ128件の導入と192件の供与があった。平均すると毎週6件の授受が行われており、それに伴い授受の条件や書類内容の確認、利用者へのアドバイスに費やされる時間が増大している。

【受精卵凍結・クリーンアップ事業】

実施件数としては、明大寺および山手とも合わせて、受精卵凍結保存がのべ38件、クリーンアップ兼受精卵凍結保存9件、融解・移植7件を行った。

行動実験用に、発生工学的手法を用いて生年月日をそろえたマウスを作製する依頼・相談が増加している。また、生理研耐震工事のため、行動様式解析室が、山手に移動したことに伴い、導入動物はSPF動物を求められ、一部凍結胚による導入を行った。今後、凍結胚によるマウス導入件数が増える事が予想され、凍結事業が圧迫される事が懸念されたため、2月から初期胚操作の人員の

1000BASE-T ネットワークで、利便性の向上とセキュリティの確保を両立している。今年度はバックボーン強化、ファイアウォール更新、ネットワークサーバー更新、特定施設の10Gbit化、構内全域での無線アクセスポイント配備などの増強を行った。

生理学研究所のネットワーク利用状況は、メール登録者が485名。WWW登録者が82名。LANの端末数が2,340台。所外からのメール受信数と、所外へのメール発信数は共に16,000通／週であった。WWWは20,000台／週の端末から60,000ページ／週の閲覧があった。

伊藤昭光，廣江 猛，窪田美津子

1名増員があり、トレーニングを行った。

【明大寺地区 陸生動物室】

平成23年度の飼育室利用部門数は、22部門（生理研14部門、基生研4部門、共通研究施設1部門、統合バイオサイエンスセンター3部門）であった。

動物のべ飼育数は、昨年度と比べ、マウスは増加し、ラットおよびイヌはほぼ同数、サルは減少した。サルは生理研耐震工事準備のため、導入数を一時的に制限したことが減少した原因と考えられる。その他、平成23年度はスナネズミ、ハムスター、モルモットおよびウサギの飼育を行った。

マウス、ラットの一般飼育室では、カテゴリーA、Bの病原微生物がいない飼育環境を目指しており、平成20年7月以降、3ヶ月に1度の微生物モニタリングを各飼育室で行っているが、カテゴリーA、Bに該当する病原微生物は検出されなかった。

マウス地下SPF室は、3部門2飼育室の利用があったが、平成23年9月に1部門撤退したため、2部門1飼育室の運用となった。平成21年6月以降、3ヶ月に1度の微生物モニタリングを行っているが、病原微生物は検出されなかった。

センター内で齧歯類の感染症が発生した場合の避難用飼育室として、緊急避難飼育室の整備を行い、平成23年1月より稼働を開始した。しかし、センターに直接導入できないと判断された動物を一時的に保管する飼育室

としても使用することとなった。今後は、飼育室使用後の、より安全な消毒方法の検討、灌流固定用のドラフト設置の検討などを行う必要がある。

ウサギ、モルモット飼育室の稼働は、それぞれ3年、4年ぶりのため、飼育室の清掃消毒、流水洗浄装置の動作確認、給水ノズルの交換、給水ラインの交換工事などを行い、整備を行った。

ニホンザルNBRPにおいて、ニホンザルで血小板減少症が発生し、原因はSRVであることが特定されたことを受け、SRVの全頭検査を実施した。検査室に導入されたアカゲザルおよび、一般飼育室で飼育されていたアカゲザルでSRV陽性個体が発見された。SRV陽性個体は、早急に隔離し、安楽死を行った。当センターの霊長類は、主にニホンザルを実験に使用しているため、今後の検査にはSRV検査も取り入れることになった。また、1年に1回程度の健康診断を進めていくことになった。

霊長類の一般飼育室において、糞線虫が検出された。糞線虫対策を行い、駆虫を行っている。

主な工事については、生理研の耐震工事に伴い、地下1F入口にハイクロシャワーの設置工事。自家発電装置の更新工事。ウサギ・モルモット飼育室の稼働に伴う、給水配管の更新工事。ネットワーク更新工事。非常用放送が聞こえにくいことによる、スピーカーの増設および更新工事。動物棟Ⅱ省エネルギーのため人感センサー付き照明交換工事。経年劣化による動物棟Ⅰ地下の高圧蒸気滅菌器の更新工事等を行った。特に高圧蒸気滅菌器は、動物棟Ⅰの2Fに設置されている2台と、今回更新された高圧蒸気滅菌器と同時期に導入された機器であるため、近い将来更新を行う必要が考えられた。

主なトラブルとしては、建物の老朽化による雨水の浸入が数件あり、そのためにボイラーが着火しないトラブルも起きた。空調機の排水ドレンの詰まりによる水漏れ。オートクレーブタイマー故障。ボイラーの蒸気圧コントロール不良。吸引ポンプ制御板取り替えなど、経年劣化が主な原因と思われるトラブルが発生した。

【山手地区 動物実験センター分室】

平成23年度の陸生動物利用部門数は、13部門（生理

研7部門、基生研1部門、統合バイオサイエンスセンター3部門、共通研究施設2部門）であった。

利用者講習会を毎月開催するとともに、実際の利用方法について別途実務講習会を実施している。各受講者はそれぞれ43名、26名であった。

実験による一時的なマウス飼育数増加の要望により、1室1部門の枠を越えて期限を区切り、エキストラでの使用を2部門に対して許可した。

全SPF飼育室およびマウス一時保管室1、マウス・ラット一時保管室2の病原微生物モニタリングが、3ヶ月に1回のペースで実施され、異常は検出されなかった。

オートクレーブ配管からの漏れに対する修理が多かった。建物外壁より施設内部に雨水の浸入は一度補修を行ったが改善にはいたらなかったため、引き続き原因の究明と修理を依頼している。

震災対策として、飼育室内の飼育ラック耐震固定工事を行い、ほぼ半分が終了した。

その他、職場体験の中学生2名を受け入れ、実習を行った。

【明大寺及び山手地区 水生動物室】

平成23年度の明大寺地区の利用状況は、生理研1部門、基生研3部門となっている。

基生研の耐震補強工事に伴う水生動物室の改修工事や飼育水槽等の再設置は行われたが、飼育水槽周辺のポンプや水温調節ユニットなどは老朽化したものを再利用しており、最近では修理・交換の頻度が増えてきている。

平成23年度の山手地区の利用状況は、明大寺生理研棟の耐震工事のため移転してきた2部門を加え、生理研2部門、基生研の1部門、統合バイオサイエンスセンター4部門、が水槽を利用している。

昨年、淡水の水質悪化のため、淡水高置水槽、海水高置水槽の清掃を実施したが、一時的な改善しかみられなかったため、淡水製造装置の活性炭交換作業を行った。

なお、水生動物の搬入数については、基生研の耐震補強工事後および生理研の耐震補強工事中であることもあり、正確な集計が取れていないため、集計表は割愛する。

陸生動物 部門別・動物種別搬入数（平成 23 年度）

動物種 部門	明大寺地区							山手地区	
	マウス	ラット	スナネズミ	ハムスター	モルモット	ウサギ	サル	マウス	ラット
神経機能素子	62								
生体膜	52							501	42
機能協関	17	10							
分子神経生理	109							1,453	1
神経シグナル								865	402
感覚認知情報							2		
生体システム	175	36					5		
認知行動発達	119	129					12		
脳形態解析	21				7	7		2,397	227
大脳神経回路論								56	279
形態情報解析室		15							
生体機能情報解析室							1		
広報展開推進室	1								
生殖内分泌系	771								
生体恒常機能	813	58							
NBR 事業推進室							2		
行動様式解析室	14							14	
動物実験センター	80	4	2	2				381	
統合神経生物学	1							104	
脳生物学	349	39					2		
細胞社会学	49								
光脳回路	324								
分子発生	105							615	
神経分化								195	63
個別研究		21							100
細胞生理	100							1,478	8
遺伝子改変動物作製室								1,492	617
合計	3,162	312	2	2	7	7	24	9,551	1,739

【 研 究 発 表 】

- a. 発表論文
- b. 学会発表

a. 発表論文

〔 目 次 〕

神経機能素子研究部門	104
分子神経生理研究部門	104
ナノ形態生理研究部門	105
生体膜研究部門	105
機能協関研究部門	105
細胞生理研究部門	106
感覚認知情報研究部門	107
神経シグナル研究部門	108
神経分化研究部門	108
感覚運動調節研究部門	109
生体システム研究部門	110
脳形態解析研究部門	111
大脳神経回路論研究部門	111
心理生理学研究部門	112
認知行動発達機構研究部門	113
生体恒常機能発達機構研究部門	113
生殖・内分泌系発達機構研究部門	114
個別研究（村上グループ）	115
特別研究（永山グループ）	116
遺伝子改変動物作製室	116
行動様式解析室	117
形態情報解析室	117
多光子顕微鏡室	118
動物実験センター	118

発 表 論 文

《神経機能素子研究部門》

1) 英文原著論文

1. Nakajo K, Nishino A, Okamura Y, Kubo Y (2011) KCNQ1 subdomains involved in KCNE modulation revealed by an invertebrate KCNQ1 ortholog. *J Gen Physiol* 138:521-535.
2. Tateyama M, Kubo Y (2011) The intra-molecular activation mechanisms of the dimeric metabotropic glutamate receptor 1 differ depending on the type of G proteins. *Neuropharmacol* 61:832-841.
3. Kurogi M, Miyashita M, Emoto Y, Kubo Y, Saitoh O (2011) Green tea polyphenol epigallocatechin gallate activates TRPA1 in an intestinal enteroendocrine cell line, STC-1. *Chem Senses* 37: 167-177.

2) 英文総説 (査読あり)

1. Nakajo K, Kubo Y (2011) Nano-environmental changes by KCNE proteins modify KCNQ channel function. *Channels* 5:397-401.

3) 研究関係著作

1. 久保義弘 (2011) 膜電位とイオンチャネル 総論。 “トランスポートソームの世界”(金井好克, 竹島 浩, 森 泰生, 久保義弘 編), 京都廣川書店 pp 16-25.
2. 久保義弘 (2011) 膜電位とイオンチャネル—K⁺チャネル。 “トランスポートソームの世界”(金井好克, 竹島 浩, 森 泰生, 久保義弘 編), 京都廣川書店 pp 33-42.

《分子神経生理研究部門》

1) 英文原著論文

1. Otani Y, Yamaguchi Y, Sato Y, Furuichi T, Ikenaka K, Kitani H, Baba H (2011) PLD4 is involved in phagocytosis of microglia: expression and localization changes of PLD4 are correlated with activation state of microglia. *PLoS ONE* 6:e27544.
2. Kawamura N, Piao H, Minohara M, Matsushita T, Kusunoki S, Matsumoto H, Ikenaka K, Mizunoe Y, Kira JI (2011) Campylobacter jejuni DNA-binding protein from starved cells in Guillain-Barre syndrome patients. *J Neuroimmunol* 240-241:74-78.
3. Gotoh H, Ueda T, Uno A, Ohuchi H, Ikenaka K, Ono K (2011) Expression of myelin genes in the developing chick retina. *Gene Expr Patterns* 11:471-475.
4. Kato S, Kuramochi M, Takasumi K, Kobayashi K, Inoue KI, Takahara D, Hitoshi S, Ikenaka K, Shimada T, Takada M, Kobayashi K (2011) Neuron-specific gene transfer through retrograde of lentiviral vector pseudotyped with a novel type of fusion envelope glycoprotein. *Hum Gene Ther* 22:1511-1523.

5. Kamitani-Kawamoto A, Hamada M, Moriguchi T, Miyai M, Saji F, Hatamura I, Nishikawa K, Takayanagi H, Hitoshi S, Ikenaka K, Hosoya T, Hotta Y, Takahashi S, Kataoka K (2011) MafB interacts with Gcm2 and regulates parathyroid hormone expression and parathyroid development. *J Bone Miner Res* 26:2463-2472.
6. Hitoshi S, Ishino Y, Kumar A, Jasmine S, Tanaka KF, Kondo T, Kato S, Hosoya T, Hotta Y, Ikenaka K (2011) Mammalian Gcm genes induce Hes5 expression by active DNA demethylation and induce neural stem cells. *Nat Neurosci* 14:957-964.
7. Kajigaya H, Tanaka KF, Hayashi A, Suzuki A, Ishibashi T, Ikenaka K, Baba H (2011) Increased numbers of oligodendrocyte lineage cells in the optic nerves of cerebroside sulfotransferase knockout mice. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci* 87:415-424.
8. Ma J, Tanaka KF, Shimizu T, Bernard CC, Kakita A, Takahashi H, Pfeiffer SE, Ikenaka K (2011) Microglial cystatin F expression is a sensitive indicator for ongoing demyelination with concurrent remyelination. *J Neurosci*

- Res 89:639-649.
9. Yawata T, Maeda Y, Okiku M, Ishida E, Ikenaka K, Shimizu K (2011) Identification and functional characterization of glioma-specific promoters and their application in suicide gene therapy. *J Neurooncol* 104:497-507.
 10. Inamura N, Ono K, Takebayashi H, Zalc B, Ikenaka K (2011) Olig2-lineage cells generate GABAergic neurons in the prethalamus nuclei, including the zona incerta, ventral lateral geniculate nucleus and reticular thalamic nucleus. *Dev Neurosci* 33:118-129.
 11. Kim WR, Chun SK, Kim TW, Kim H, Ono K, Takebayashi H, Ikenaka K, Oppenheim R, Sun W (2011) Evidence for the spontaneous production but massive programmed cell death of new neurons in the subcallosal zone of the postnatal mouse brain. *Eur J Neurosci* 33:599-611.
 12. Gotoh H, Ono K, Takebayashi H, Harada H, Nakamura H, Ikenaka K (2011) Genetically-defined lineage tracing of Nkx2.2-expressing cells in chick spinal cord. *Dev Biol* 349:504-511.
- 2) 研究関係著作
1. 池中一裕, 鳥居知宏, 吉村 武 (2011) 脳神経の発達と N 結合型糖鎖. *生化学* 83:212-215.

《ナノ形態生理研究部門》

形態情報解析室の項を参照

《生体膜研究部門》

- 1) 英文原著論文
 1. Seppala EH, Jokinen TS, Fukata M, Fukata Y, Webster MT, Karlsson EK, Kilpinen SK, Steffen F, Dietschi E, Leeb T, Eklund R, Zhao X, Rilstone JJ, Lindblad-Toh K, Minassian BA, Lohi H (2011) LIG2 Truncation causes a remitting focal epilepsy in dogs. *PLoS Genet* 7 : e1002194.
 2. Levy AD, Devignot V, Fukata Y, Fukata M, Sobel A, Chauvin S (2011) Subcellular Golgi localization of Stathmin family proteins is promoted by a specific set of DHHC palmitoyl transferases. *Mol Biol Cell* 22 : 1930 - 1942.

《機能協同研究部門》

- 1) 英文原著論文
 1. Akita T, Fedorovich SV, Okada Y (2011) Ca^{2+} nanodomain-mediated component of swelling-induced volume-sensitive outwardly rectifying anion current triggered by autocrine action of ATP in mouse astrocytes. *Cell Physiol Biochem* 28:1181-1190.
 2. Moritoh S, Sato K, Okada Y, Koizumi A (2011) Endogenous ATP positive retinal cells in AVP-eGFP transgenic rat identified by immunohistochemistry and RT-PCR. *Mol Vis* 17:3254-3261.
 3. Kurbannazarova RS, Bessonova SV, Okada Y, Sabirov RZ (2011) Swelling-activated anion channels are essential for volume regulation of mouse thymocytes. *Int J Mol Sci* 12:9125-9137.
 4. Akita T, Okada Y (2011) Regulation of bradykinin-induced activation of volume-sensitive outwardly rectifying anion channels by Ca^{2+} nanodomains in mouse astrocytes. *J Physiol (London)* 589:3909-3927.
 5. Krasilnikov OV, Sabirov RZ, Okada Y (2011) ATP hydrolysis-dependent asymmetry of the conformation of CFTR channel pore. *J Physiol Sci* 61:267-278.
 6. Sato K, Numata T, Saito T, Ueta Y, Okada Y (2011) V2

- receptor-mediated autocrine role of somatodendritic release of AVP in rat vasopressin neurons under hypo-osmotic conditions. *Science Signal* 4 (157):ra5.
7. Melanova NR, Kurbannazarova RSh, Merzlyak PG, Okada Y, Tashmukhamedov BA, Sabirov RZ (2011) Release of glutathione from thymocytes in normal conditions and under hypoosmotic stress. *Proc Uzbek Acad Sci No. 2*:63-66 (in Russian).
 8. Koizumi A, Jakobs TC, Masland RH (2011) Regular mosaic of synaptic contacts among three retinal neurons. *J Comp Neurol* 519:341-357.
- 2) 研究関係著作
1. 岡田泰伸 (編) (2011) “最新パッチクランプ実験技術法”, 吉岡書店, 京都。
 2. 岡田泰伸, 挟間章博, 小原正裕, 秋田天平 (2011) パッチクランプ法総論。“最新パッチクランプ実験技術法”(岡田泰伸 編), 吉岡書店, 京都, pp 19-32.
 3. サビロブ ラブシヤン, コルシェフ ユーリ, 岡田泰伸 (2011) スマートパッチ法。“最新パッチクランプ実験技術法”(岡田泰伸 編), 吉岡書店, 京都, pp 227-231.
 3. サビロブ ラブシヤン, 岡田泰伸 (2011) パッチクランプ法によるチャネルポアサイズ計測法。“最新パッチクランプ実験技術法”(岡田泰伸 編), 吉岡書店, 京都, pp 237-246.
 4. 久木田文夫, 老木成稔 (2011) 序論・イオンチャネル。“最新パッチクランプ実験技術法”(岡田泰伸 編), 吉岡書店, 京都, pp 7-18.
 5. サビロブ ラブシヤン, 森島 繁 (2011) パッチクランプ法の実験溶液。“最新パッチクランプ実験技術法”(岡田泰伸 編), 吉岡書店, 京都, pp 255-266.
 6. 岡田泰伸(監訳者)(2011) “ギャノング 生理学”(原書23版), 丸善, 東京。
- 3) その他
1. 岡田泰伸 (2011) 随想: 異分野連携による新しい電気科学研究の展開に期待する。電気学会誌 131, 401.
 2. 岡田泰伸 (2011) Vision (巻頭言): 2本足で立つ生理学研究者と日本生理学会に。日本生理学雑誌 73, 1.

《細胞生理研究部門》

- 1) 英文原著論文
1. Uchida K, Dezaki K, Damdindorj B, Inada H, Shiuchi T, Mori Y, Yada T, Minokoshi Y, Tominaga M (2011) Lack of TRPM2 impaired insulin secretion and glucose metabolisms in mice. *Diabetes* 60:119-126.
2. Peyrot des Gachons C, Uchida K, Bryant B, Shima A, Sperry J, Dankulich-Nagrudny L, Tominaga M, Smith III A, Beauchamp G, Breslin P (2011) Unusual pungency from extra-virgin olive oil is due to restricted spatial expression of oleocanthal's receptor. *J Neurosci* 31:999-1009.
3. Ristoiu V, Shibasaki K, Uchida K, Zhou Y, Thi Ton B-H, Flonta M-L, Tominaga M (2011) Hypoxia-induced sensitization of transient receptor potential vanilloid 1 involves activation of hypoxia-inducible factor-1 α and PKC. *Pain* 152:936-945.
4. Saito S, Fukuta N, Shingai R, Tominaga M (2011) Evolution of vertebrate transient receptor potential vanilloid 3 channels: opposite temperature sensitivity between mammals and western clawed frogs. *PLoS Genet* 7 (4):e1002041.
5. Mihara H, Boudaka A, Sugiyama T, Moriyama Y, Tominaga M (2011) Transient Receptor Potential Vanilloid 4 (TRPV4)-dependent calcium influx and ATP release in mouse esophageal keratinocytes. *J Physiol* 589.14:3471-3482.
6. Mori T, Saito K, Ohki Y, Arakawa H, Tominaga M, Tokuyama K (2011) Lack of transient receptor potential vanilloid-1 enhances Th2-biased immune response of the airways in mice receiving intranasal, but not intraperitoneal, sensitization. *Int Arch Allergy Immunol* 156:305-312.
7. Tsunematsu T, Kilduff TS, Boyden ES, Takahashi S, Tominaga M, Yamanaka A (2011) Acute optogenetic silencing of orexin/hypocretin neurons induces slow-wave sleep in mice. *J Neurosci* 31:10529-10539.
8. Asrar S, Kaneko K, Takao K, Negandhi J, Matsui M, Shibasaki K, Miyakawa T, Harrison RV, Jia Z, Salter

- MW, Tominaga M, Fukumi-Tominaga T (2011) DIP/WISH deficiency enhances synaptic function and performance in the Barnes maze. *Molecular Brain* 47:39.
9. Kageyama-Yahara N, Wang X, Katagiri T, Wang P, Yamamoto T, Tominaga M, Kadowaki M (2011) Suppression of phospholipase C γ 1 phosphorylation by cinnamaldehyde inhibits antigen-induced extracellular calcium influx and degranulation in mucosal mast cells. *Biochem Biophys Res Commun* 416:283-285.
 10. Hirashima N, Tsunematsu T, Ichiki K, Tanaka H, Kilduff TS, Yamanaka A (2011) Neuropeptide B induces slow wave sleep in mice. *Sleep* 34:31-37.
 - 2) その他
 1. Uchida K, Tominaga M (2011) TRPM2 modulates insulin secretion in pancreatic β -cells. *Islets* 3:209-211.
 2. Uchida K, Tominaga M (2011) The role of thermosensitive TRP channels in insulin secretion. *Endocr J* 58 (12):1021-1028.
 3. 林 誠二, 富永真琴 (2011) パッチクランプバイオセンサー法による ATP 放出計測。“最新パッチクランプ実験技術法” (岡田泰伸 編), 吉岡書店, pp 196-202.
 4. 富永真琴, 内田邦敏 (2011) パッチクランプバイオセンサー法による温度受容解析。“最新パッチクランプ実験技術法” (岡田泰伸 編), 吉岡書店, pp 203-209.
 5. 山中章弘 (2011) パッチクランプと単一細胞 RT-PCR/マイクロアレイ法。“最新パッチクランプ実験技術法” (岡田泰伸 編), 吉岡書店, pp 222-226.
 6. 富永真琴 (2011) 細胞内アルカリ化と痛み。医学のあゆみ 236:219-220.
 7. 富永真琴 (2011) 痛みに関するカプサイシン受容体 TRPV1—最近の展開—。ペインクリニック 32:399-404.
 8. 三原 弘, 富永真琴 (2011) 消化管の動きを調節する分子センサー。Medical Bio (8):68-71.
 9. 富永真琴 (2011) TRPV チャネルと疾患。細胞 3 (11):16 (424)-19 (427).
 10. 富永真琴 (2011) 温度受容のしくみ。理科通信サイエンスネット 42 号:2-5.
 11. 富永真琴 (2011) 温度受容の分子機構。医学のあゆみ 239:915-916.
 12. 三原 弘, 富永真琴 (2011) 消化器疾患の知覚受容機構の研究の進歩—TRPV チャネルについて何がわっているか—。分子消化器病 8 (4):304-309.
 13. 富永真琴 (2011) TRP チャネルと感覚—痛みと温度感覚に焦点をあてて—。顕微鏡 46:222-226.
 14. 齋藤 茂 (2011) 脊椎動物の温度感受性 transient receptor potential (TRP) チャネルの多様性と機能進化。比較生理生化学 28:259-266.
 15. 山中章弘 (2011) 覚醒を維持する神経ネットワーク。遺伝 65:92-99.

《感覚認知情報研究部門》

- 1) 英文原著論文
 1. Hiramatsu C, Goda N and Komatsu H (2011) Transformation from image-based to perceptual representation of materials along the human ventral visual pathway. *Neuroimage* 57:482-494.
 2. Okazawa G, Koida K and Komatsu H (2011) Categorical properties of the color term “GOLD”. *J Vision* 11 (8):4, 1-19.
 3. Ito M and Goda N (2011) Mechanisms underlying the representation of angles embedded within contour stimuli in area V2 of macaque monkeys. *Eur J Neurosci* 33:130-142.
- 2) 英文総説 (査読あり)
 1. Komatsu H (2011) Bridging gaps at V1: Neural responses for filling-in and completion at the blind spot. *Chinese J Psychol* 53:413-420.
- 3) 研究関係著作
 1. 小松英彦 (2011) 外側膝状体および大脳皮質。“新編色彩科学ハンドブック, 第3版” 第8章 3.4 (日本色彩学会 編), 東京大学出版会, pp 363-366.
 2. 小松英彦, 郷田直一 (2011) 色覚の諸現象の生理学的基礎。“新編色彩科学ハンドブック, 第3版” 第8章 3.5 (日本色彩学会 編), 東京大学出版会, pp 367-371.

3. 郷田直一 (2011) 非侵襲的脳活動計測。“新編色彩科学ハンドブック, 第3版”第8章2.4 (日本色彩学会編), 東京大学出版会, pp 350-354.
4. 郷田直一 (2011) 色彩知覚に与える空間的影響。“新編色彩科学ハンドブック, 第3版”第9章2.2 (日本色彩学会編), 東京大学出版会, pp 464-467.

《神経シグナル研究部門》

1) 英文原著論文

1. Nagumo Y, Takeuchi Y, Imoto K, Miyata M (2011) Synapse- and subtype-specific modulation of synaptic transmission by nicotinic acetylcholine receptor in the ventrobasal thalamus. *Neurosci Res* 69:203-213.
2. Lu J, Katano T, Uta D, Furue H, Ito S (2011) Rapid S-nitrosylation of actin by NO-generating donors and in inflammatory pain model mice. *Mol Pain* 7:101.

2) 研究関係著作

1. 古江秀昌 (2011) In vivo ブラインドパッチ法。“最新パッチクランプ実験技術法” (岡田泰伸 編), 吉岡書店, 京都, pp 115-120.
2. 山肩葉子, 井本敬二 (2011) 長期記憶の分子機構。 *Clinical Neuroscience* 29:777-781.
3. 穴戸恵美子 (2011) “教えて, のぼす! 発達障害をかかえた子ども” (平岩幹男 監修), 少年写真新聞社, 東京.
4. 森山芳則, 表 弘志, 佐竹伸一郎 (2011) 神経伝達物質とトランスポーター総論。“トランスポートソームの世界: 膜輸送研究の源流から未来へ” (金井好克,

竹島 浩, 森 泰生, 久保義弘 編), 京都廣川書店, 京都, pp 200-205.

5. 佐竹伸一郎 (2011) 神経伝達物質の細胞膜型トランスポーター。“トランスポートソームの世界: 膜輸送研究の源流から未来へ” (金井好克, 竹島 浩, 森 泰生, 久保義弘 編), 京都廣川書店, 京都, pp 214-225.
6. 佐竹伸一郎, 小西史朗, 井本敬二 (2011) ニューロン型グルタミン酸トランスポーターが制御する異種シナプス間クロストーク。 *脳* 21 14:320-325.
7. 杉山大介, 井本敬二, 川真田樹人, 古江秀昌 (2011) 下行性ノルアドレナリン神経による痛覚シナプス伝達の調節機構—青斑核からの in vivo パッチクランプ法—。 *Pain Res* 26:1-9.
8. 歌 大介, 古江秀昌, 井本敬二, 吉村 恵 (2011) Activation of TRPA1 on excitatory synaptic transmission in substantia gelatinosa of the adult rat spinal cord. *脊椎機能診断学* 33:24-29.
9. 穴戸恵美子 (2011) 自閉症療育をめぐる—自閉症とその療育—。“子育て支援ハンドブック”。日本小児科連絡協議会。

《神経分化研究部門》

1) 英文原著論文

1. Kinkhabwara A, Riley M, Koyama M, Monen J, Satou C, Kimura Y, Higashijima S, Fetcho J R (2011) A structural and functional ground plan for neurons in the hindbrain of zebrafish. *Proc Natl Acad Sci USA* 108:1164-1169.
2. Wibowo I, Pinto-Teixeira F, Satou C, Higashijima S, Lopez-Schier H (2011) Compartmentalized Notch signaling sustains epithelial mirror symmetry. *Development* 138 : 1143-1152.

3. Muto A, Ohkura M, Kotani T, Higashijima S, Nakai J, Kawakami K (2011) Genetic visualization with an improved GCaMP reveals spatiotemporal activation of the spinal motor neurons in zebrafish. *Proc Natl Acad Sci USA* 108:5425-5430.
4. Koyama M, Kinkhabwala A, Satou C, Higashijima S, Fetcho JR (2011) Mapping a sensory-motor network onto a structural and functional ground plan in the hindbrain. *Proc Natl Acad Sci USA* 108:1170-1175.

《感覚運動調節研究部門》

1) 英文原著論文

1. Kobayashi M, Otsuka Y, Nakato E, Kanazawa S, Yamaguchi MK, Kakigi R (2011) Do infants represent the face in a viewpoint-invariant manner? Neural adaptation study as measured by near-infrared spectroscopy. *Front Hum Neurosci* 5:Art153, 1-12.
2. Nakata H, Sakamoto K, Yumoto M, Kakigi R (2011) The relationship in gating effects between short- and long-latency SEPs. *NeuroReport* 22:1000-1004.
3. Tsujimoto S, Yokoyama T, Noguchi Y, Kita S, Kakigi R (2011) Modulation of neuromagnetic responses to face stimuli by preceding biographical information. *Eur J Neurosci* 34:2043-2053.
4. Teismann H., Okamoto H, Pantev C (2011) Short and intense tailor-made notched music training against tinnitus: The tinnitus frequency matters. *PLoS ONE* 6 (9):e24685.
5. Wasaka T, Kakigi R (2011) Conflict caused by visual feedback modulates activation in somatosensory areas during movement execution. *Neuroimage* 59:1501-1507.
6. Nishihara M, Inui K, Motomura E, Otsuru N, Ushida T, Kakigi R (2011) Auditory N1 as a change-related automatic response. *Neurosci Res* 71:145-148.
7. Takahashi K, Taguchi T, Tanaka S, Sadato N, Qiu, Y, Kakigi R, Mizumura K (2011) Painful muscle stimulation preferentially activates emotion-related brain regions compared to painful skin stimulation. *Neurosci Res* 70:285-293.
8. Otsuru N, Inui K, Yamashiro K, Urakawa T, Keceli S, Kakigi R (2011) Effects of prior sustained tactile stimulation on the somatosensory response to the sudden change of intensity in humans: An MEG study. *Neuroscience* 182:115-124.
9. Yamashiro K, Inui K, Otsuru N, Urakawa T, Kakigi R (2011) Temporal window of integration in the somatosensory modality: an MEG study. *Clin Neurophysiol* 122 :2276-2281.
10. Miki K, Takeshima Y, Watanabe S, Honda Y, Kakigi R (2011) Effects of inverting contour and features on processing for static and dynamic face perception: an MEG study. *Brain Res* 1383:230-241.
11. Okamoto H, Teismann H, Kakigi R, Pantev C (2011) Broadened population-level frequency tuning in human auditory cortex of portable music player users. *PLoS ONE* 6 (3):e17022.
12. Noguchi Y, Shimojo S, Kakigi R, Hoshiyama M (2011) An integration of color and motion information in visual scene analyses. *Psychol Sci* 22:153-158.
13. Akiyama LF, Yamashiro K, Inui K, Kakigi R (2011) Automatic cortical responses to sound movement: a magnetoencephalography study. *Neurosci Lett* 488:183-187.
14. Nakato E, Otsuka Y, Kanazawa S, Yamaguchi MK, Honda Y, Kakigi R (2011) I know this face: Neural activity during the mother's face perception in 7- to 8-month-old infants as investigated by near-infrared spectroscopy. *Early Hum Dev* 87:1-7.
15. Yamashiro K, Inui K, Otsuru N, Kakigi R (2011) Change-related responses in the human auditory cortex: An MEG study. *Psychophysiology* 48:23-30.
16. Nakato E, Otsuka Y, Kanazawa S, Yamaguchi MK, Kakigi R (2011) Distinct differences in the pattern of hemodynamic response to happy and angry facial expressions in infants -A near-infrared spectroscopic study-. *Neuroimage* 54:1600-1606.
17. Kida T, Inui K, Tanaka E, Kakigi R (2011) Dynamics of within-, inter- and cross-modal attentional modulation. *J Neurophysiol* 105:674-686.
18. Urakawa T, Kaneoke Y, Kakigi R (2011) Optimum stimulus size for the human brain to respond to motion: A magnetoencephalographic study. *Clin Neurophysiol* 122 :1238-1245.
19. Urakawa T, Inui K, Kakigi R (2011) Effects of stimulus field size and coherence of visual motion on cortical responses in humans: an MEG study. *Neurosci Lett* 488:294-298.
20. Miki K, Watanabe S, Teruya M, Takeshima Y, Urakawa T, Hirai M, Honda Y, Kakigi R (2011) The development of the perception of facial emotional change examined using ERPs. *Clin Neurophysiol* 122:530-538.

21. Kida T, Tanaka E, Takeshima Y, Kakigi R (2011) Neural representation of feature synergy. *Neuroimage* 55:669-680.
22. Oka S, Urakawa T, Kakigi R, Kaneoke Y (2011) Direction without speed information process in the human brain: A Magnetoencephalographic study using random dots apparent motion stimulus. *Open J Mol Integr Physiol* 1:17-22.
- 2) 研究関係著作
 1. 柿木隆介, 望月秀紀 (2011) 痛みと痒みの脳内認知機構. *神経研究の進歩* 63:987-994.
 2. 柿木隆介 (2011) 瞑想すると痛みを感じないのは何故か? *Clinical Neuroscience* 別冊 29 (2):237.
 3. 柿木隆介 (2011) 脳磁図を用いた「顔認知」の研究 心から見た脳, 脳から見える心ー最新の脳科学でわかってきたこと 3. *化学と工業* 64:132-134.
- 3) その他
 1. 柿木隆介 (2011) 今日までそして明日から (日本生体磁気学会会長として) 巻頭言. *低温工学* 46 (11):607.
 2. 柿木隆介 (2011) 脳を感じる: 痛みとかゆみの脳機能 第49回全国大学保健管理協会関東甲信越地方部会研究集会 平成23年度報告書 (脳・アレルギー講演録) pp 47-52.
 3. 柿木隆介 (2011) やっぱり「噛む」のはいいことだ 青淵(せいえん)財団法人 渋沢栄一記念財団(旧 渋沢青淵記念財団竜門社) pp 16-18.
 4. 柿木隆介 (2011) 脳の右側奥に顔を認知する場所がある お化け屋敷で科学する! (協力 日本科学未来館 フジテレビジョン), 扶桑社, pp106-111.
 5. 柿木隆介 (2011) 脳科学 赤ちゃんの顔認識 笑顔と怒り顔では脳の活動パターンと処理領域に違いが. *日経サイエンス (SCIENTIFIC AMERICAN 日本版)* 2011 02 p 20.

《生体システム研究部門》

- 1) 英文原著論文
 1. Takara S, Hatanaka N, Takada M, Nambu A (2011) Differential activity patterns of putaminal neurons with inputs from the primary motor cortex and supplementary motor area in behaving monkeys. *J Neurophysiol* 106:1203-1217.
 2. Tachibana Y, Iwamuro H, Kita H, Takada M, Nambu A (2011) Subthalamo-pallidal interactions underlying parkinsonian neuronal oscillations in the primate basal ganglia. *Eur J Neurosci* 34:1470-1484.
 3. Nishibayashi H, Ogura M, Kakishita K, Tanaka S, Tachibana Y, Nambu A, Kita K, Itakura T (2011) Cortically evoked responses of human pallidal neurons recorded during stereotactic neurosurgery. *Mov Disord* 26:469-476.
 4. Saga Y, Hirata Y, Takahara D, Inoue K, Miyachi S, Nambu A, Tanji J, Takada M, Hoshi E (2011) Origins of multisynaptic projections from the basal ganglia to rostrocaudally distinct sectors of the dorsal premotor area in macaques. *Eur J Neurosci* 33:285-297.
 5. Yumoto N, Lu X, Henry TR, Miyachi S, Nambu A, Fukui T, Takada M (2011) A neural correlate of the processing of multi-second time intervals in primate prefrontal cortex. *PLoS ONE* 6 (4):e19168.
- 2) 英文総説 (査読あり)
 1. Nambu A (2011) Somatotopic organization of the primate basal ganglia. *Front Neuroanat* 5:Art26.
 2. Nambu A, Chiken S, Shashidharan P, Nishibayashi H, Ogura M, Kakishita K, Tanaka S, Tachibana Y, Kita H, Itakura T (2011) Reduced pallidal output causes dystonia. *Front Syst Neurosci* 5:Art89.
 3. Nambu A (2011) GABA-B receptor: possible target for Parkinson's disease therapy. *Exp Neurol* 233:121-122.
 4. Darbin O (2012) The aging striatal dopamine function. *Parkinsonism Relat Disord* (in press).
- 3) 研究関係著作
 1. 南部 篤 (2011) 線条体における運動手続き記憶. *Clinical Neuroscience* 29:172-176.
 2. 南部 篤 (2011) 臨床に役立つ大脳基底核の解剖と生理. *神経治療学* 28:19-23.
 3. 南部 篤 (2011) 大脳基底核における可塑性. *Clinical Neuroscience* 29:782-786.

4. 南部 篤 (2011) 気になる脳部位 視床下核。分子 精神医学 11:203-206.

《脳形態解析研究部門》

1) 英文原著論文

1. Chan CS, Glajch KE, Gertler TS, Guzman JN, Mercer JN, Lewis AS, Goldberg AB, Tkatch T, Shigemoto R, Fleming SM, Chetkovich DM, Osten P, Kita H, Surmeier DJ (2011) HCN channelopathy in external globus pallidus neurons in models of Parkinson's disease, *Nat Neurosci*, 14:85-92.
2. Szabadits E, Cserép C, Szőnyi A, Fukazawa Y, Shigemoto R, Watanabe M, Itohara S, Freund TF, and Nyiri G. (2011) NMDA receptors in hippocampal GABAergic synapses and their role in nitric oxide signaling, *J Neurosci*, 31: 5893-5904.
3. Bond CT, Lujan R, Allen D, Lin MT., Wang K, Ballesteros-Merino C, Watanabe M, Shigemoto R, Stackman R, Maylie J, Adelman JP, (2011) The SK2-long isoform directs synaptic localization and function of SK2 channels, *Nat Neurosci*, 14: 744-749.
4. Etherton M, Fldy C, Sharma M, Tabuchi K, Liu X, Shamloo M, Malenka RC, Südhof TC (2011) Autism-linked neuroligin-3 R451C mutation differentially alters hippocampal and cortical synaptic function. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108:13764-9.
5. Etherton MR, Tabuchi K, Sharma M, Ko J, Südhof TC (2011) An autism-associated point mutation in the neuroligin cytoplasmic tail selectively impairs AMPA receptor-mediated synaptic transmission in hippocampus. *EMBO J* 30:2908-19.
6. Ballesteros-Merino C, Lin M, Wu WW, Ferrandiz - Huertas C, Cabañero MJ, Watanabe M, Fukazawa Y, Shigemoto R, Maylie J, Adelman JP, Luján R. (2011) Developmental profile of SK2 channel expression and function in CA1 neurons. *Hippocampus* 22: 1467-1480.

《大脳神経回路論研究部門》

1) 英文原著論文

1. Otsuka T, Kawaguchi Y (2011) Cell diversity and connection specificity between callosal projection neurons in the frontal cortex. *J Neurosci* 31:3862-3870.
2. Kubota Y, Shigematsu N, Karube F, Sekigawa A, Kato S, Yamaguchi N, Hirai Y, Morishima M, Kawaguchi Y (2011) Selective coexpression of multiple chemical markers defines discrete populations of neocortical GABAergic neurons. *Cereb Cortex* 21:1803-1817.
3. Morishima M, Morita K, Kubota Y, Kawaguchi Y (2011) Highly differentiated projection-specific cortical subnetworks. *J Neurosci* 31:10380-10391.
4. Kubota Y, Karube F, Nomura M, Gullledge AT, Mochizuki A, Schertel A, Kawaguchi Y (2011) Conserved properties of dendritic trees in four cortical interneuron subtypes. *Sci Rep* 1:89.
5. Chen JL, Lin WC, Cha JW, So PT, Kubota Y, Nedivi E (2011) Structural basis for the role of inhibition in facilitating adult brain plasticity. *Nat Neurosci* 14:587-594.
6. Shino M, Kaneko R, Yanagawa Y, Kawaguchi Y, Saito Y (2011) Electrophysiological characteristics of inhibitory neurons of the prepositus hypoglossi nucleus using Venus-expressing transgenic rats. *Neuroscience* 197:89-98.

《心理生理学研究部門》

1) 英文原著論文

1. Aramaki Y, Haruno M, Osu R, Sadato N (2011) Movement initiation-locked activity of the anterior putamen predicts future movement instability in periodic bimanual movement. *J Neurosci*, 31(27):9819-9823.
2. Iidaka T, Harada T, Sadato N (2011) Forming a negative impression of another person correlates with activation in medial prefrontal cortex and amygdala. *Soc Cogn Affect Neurosci*, 6:516-525.
3. Koeda T, Seki A, Uchiyama H, Sadato N (2011) Dyslexia: Advances in clinical and imaging studies. *Brain Dev*, 33(3):268-275.
4. Matsunaga M, Isowa T, Yamakawa K, Kawanishi Y, Tsuboi H, Kaneko H, Sadato N, Oshida A, Katayama A, Kashiwagi M, Ohira H (2011) Psychological and physiological responses to odor-evoked autobiographic memory. *Neuro Endocrinol Lett*, 32(6):774-780.
5. Matsunaga M, Isowa T, Yamakawa K, Tsuboi H, Kawanishi Y, Kaneko H, Kasugai K, Yoneda M, Ohira H (2011) Association between perceived happiness levels and peripheral circulating pro-inflammatory cytokine levels in middle-aged adults in Japan. *Neuroendocrinology Letters*, 32(4):458-463.
6. Matsunaga M, Murakami H, Yamakawa K, Isowa T, Fukuyama S, Shinoda J, Yamada J, Ohira H (2011) Perceived happiness level influences evocation of positive emotions. *Natural Sci*, 3(8):723-727.
7. Pawluk D*, Kitada R, Abramowicz A, Hamilton C & Lederman S. J (2011) Figure/Ground Segmentation via a Haptic Glance: Attributing Initial Finger Contacts to Objects or Their Supporting Surfaces. *IEEE Transactions on Haptics*, 4: 2-13.
*indicates corresponding author.
8. Sugiura M, Mano Y, Sasaki A, Sadato N (2011) Beyond the memory mechanism: person-selective and nonselective processes in recognition of personally familiar faces. *J Cogn Neurosci*, 23(3):699-715.
9. Takahashi K, Taguchi T, Tanaka S, Sadato N, Qiu Y, Kakigi R, Mizumura K. (2011) Painful muscle stimulation preferentially activates emotion-related brain

regions compared to painful skin stimulation. *Neurosci Res*, 70(3):285-293.

10. Takano Y, Yokawa T, Masuda A, Niimi J, Tanaka S and Hironaka N (2011) A rat model for measuring the effectiveness of transcranial direct current stimulation using fMRI. *Neurosci Lett*, 491: 40-43.
11. Tanabe HC, Sakai T, Morito Y, Kochiyama T, Sadato N (2011) Neural correlates and effective connectivity of subjective colors during the Benham's top illusion: a functional MRI study. *Cereb Cortex*, 21(1):124-133.
12. Tanaka S*, Sandrini M*, Cohen LG (2011) Modulation of motor learning and memory formation by non-invasive cortical stimulation of the primary motor cortex. *Neuropsychol Rehabil*, 21(5): 650-675.
*Two authors contributed equally.
13. Tanaka S, Takeda K, Otaka Y, Kita K, Osu R, Honda M, Sadato N, Hanakawa T, Watanabe K (2011) Single session of transcranial direct-current stimulation transiently increases knee extensor force in patients with hemiparetic stroke. *Neurorehabil Neural Repair*, 25(6):565-569.
14. Yoshihara K, Hiramoto T, Sudo N, Kubo C (2011) Profile of mood states and stress-related biochemical indices in long-term yoga practitioners. *Biopsychosoc Med*, 5(1):6.
15. Miyahara M, Harada T, Ruffman T, Sadato N, Iidaka T (2011) Functional connectivity between amygdala and facial regions involved in recognition of facial threat. *Soc Cogn Affect Neurosci* (in press).
16. Morita T, Kosaka H, Saito DN, Ishitobi M, Munosue T, Itakura S, Omori M, Okazawa H, Wada Y, Sadato N. Emotional responses associated with self-face processing in individuals with autism spectrum disorders: An fMRI study. *Soc Neurosci* (in press).

2) その他

1. 笠原和美, 田中悟志, 渡邊克巳, 花川 隆, 本田 学 (2011) 複数日連続した経頭蓋直流電気刺激により電極直下の皮膚に発赤を生じた2例. *臨床神経生理学* 39:24-27.
2. Sadato N (2011) The neural basis of social reward and

- decision-making. *New Frontiers in Social Cognitive Neuroscience*. Tohoku University Press, Sendai, pp137-145.
3. 田中悟志, 菅原 翔, 定藤規弘 (2011) 脳卒中後の認知・運動障害に対する経頭蓋直流電気刺激法の効果。臨床神経生理学 39:219-226.
 4. 松永昌宏, 金子 宏, 坪井宏仁, 川西陽子 (2011) 主観的幸福感に着目した心身相関の新展開。心身医学, 51(2):135-140.
 5. 定藤規弘 (2011) Dual functional MRI. 分子精神医学, 11(4):44-45.
 6. 北田 亮 (2011) 心理学研究法 知覚／大山 正監修 第1巻 知覚, 第6章 体性感覚, 誠信書房, pp 184-185 (分担執筆).

《認知行動発達機構研究部門》

- 1) 英文原著論文
 1. Sooksawate T, Isa K, Behan M, Yanagawa Y, Isa T (2011) Organization of GABAergic inhibition in the motor output layer of the superior colliculus. *Eur J Neurosci* 33:421-432.
 2. Phongphanphnee P, Mizuno F, Lee PH, Yanagawa Y, Isa T, Hall WC (2011) A circuit model for saccadic suppression in the superior colliculus. *J Neurosci* 31:1949-1954.
 3. Yamamoto T, Higo N, Sato A, Nishimura Y, Oishi T, Murata Y, Yoshino-Saito K, Isa T, Kojima T (2011) SPP1 expression in voluntary spinal motor neurons of the macaque monkey. *Neurosci Res* 69:81-86.
 4. Takaura K, Yoshida M, Isa T (2011) Neural substrate of spatial memory in the superior colliculus after damage to the primary visual cortex. *J Neurosci* 31:4233-4241.
 5. Kaneda K, Kasahara H, Matsui M, Katoh T, Mizukami H, Ozawa K, Watanabe D, Isa T (2011) Selective optical control of synaptic transmission in the subcortical visual pathway by activation of viral vector-expressed halorhodopsin. *PLoS ONE* 6:e18452.
 6. Alstermark B, Pettersson L-G, Nishimura Y, Yoshino-Saito K, Tsuboi F, Takahashi M, Isa T (2011) Motor command for precision grip in the Macaque Monkey can be mediated by spinal interneurons. *J Neurophysiol* 106:122-126.
 7. Kato R, Takaura K, Ikeda T, Yoshida M, Isa T (2011) Contribution of the retino-tectal pathway to saccade control after lesion of the primary visual cortex in monkeys. *Eur J Neurosci* 33:1952-1960.
 8. Nishimura Y, Onoe H, Onoe K, Morichika Y, Tsukada H, Isa T (2011) Neural substrates for the motivational regulation of recovery after spinal-cord injury. *PLoS ONE* 6:e24854.
 9. Umeda T, Isa T (2011) Differential contribution of rostral and caudal frontal forelimb areas to compensatory process after neonatal hemidecortication in rats. *Eur J Neurosci* 34:1453-1460.
 10. Ikeda T, Yoshida M, Isa T (2011) Lesion of Primary Visual Cortex in Monkey Impairs the Inhibitory but Not the Facilitatory Cueing Effect on Saccade. *J Cogn Neurosci* 23:1160-1169.
- 2) 研究関係著作
 1. 西村幸男, 伊佐 正 (2011) サルにおける皮質脊髄路損傷後の機能代償過程での一次運動野と側坐核の間の connectivity の変化。神経内科 74 (4):394-399.

《生体恒常機能発達機構研究部門》

- 1) 英文原著論文
 1. Takatsuru Y, Koibuchi N, Nabekura J (2011) Unilateral infarction of the visual cortex (VC) induced an increase in dendritic spine turnover in contralateral VC. *Neurosci Lett* 488:97-100.
 2. Jiang R, Miyamoto A, Martz A, Specht A, Ishibashi H, Kueny-Stotz M, Chassaing S, Brouillard R, de Carvalho LP, Goeldner M, Nabekura J, Nielsen M, Grutter T

- (2011) Retrochalcone derivatives are positive allosteric modulators at synaptic and extrasynaptic GABA (A) receptors in vitro. *Br J Pharmacol* 162:1326-1339.
3. Iohara K, Imabayashi K, Ishizaka R, Watanabe A, Nabekura J, Ito M, Matsushita K, Nakamura H, Nakashima M (2011) Complete pulp regeneration after pulpectomy by transplantation of CD105+ stem cells with stromal cell-derived factor-1. *Tissue Eng Part A* 17 (15-16):1911-1920.
 4. Kim SK, Nabekura J (2011) Rapid synaptic remodeling in the adult somatosensory cortex following peripheral nerve injury and its association with neuropathic pain. *J Neurosci* 31:5477-5482.
 5. Eto K, Wake H, Watanabe M, Ishibashi H, Noda M, Yanagawa Y, Nabekura J (2011) Inter-regional contribution of enhanced activity of the primary somatosensory cortex to the anterior cingulate cortex accelerates chronic pain behavior. *J Neurosci* 31:7631-7636.
 6. Sawada M, Kaneko N, Inada H, Wake H, Kato Y, Yanagawa Y, Kobayashi K, Nemoto T, Nabekura J, Sawamoto K (2011) Sensory input regulates spatial and subtype-specific patterns of neuronal turnover in the adult olfactory bulb. *J Neurosci* 31:11587-11596.
 7. Eto K, Kim SK, Nabekura J, Ishibashi H (2011) Taltirelin, a thyrotropin-releasing hormone analog, alleviates mechanical allodynia through activation of descending monoaminergic neurons in persistent inflammatory pain. *Brain Res* 414:50-57.
 8. Shen J, Ishii Y, Xu G, Dang TC, Hamashima T, Matsushima T, Yamamoto S, Hattori Y, Takatsuru Y, Nabekura J, Sasahara M. (2011) PDGFR- β as a positive regulator of tissue repair in a mouse model of focal cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab.*
 9. Kim SK, Kato G, Ishikawa T, Nabekura J (2011) Phase-specific plasticity of synaptic structures in the somatosensory cortex of living mice during neuropathic pain. *Mol Pain* 7:87.
 10. Inada H, Watanabe M, Uchida T, Ishibashi H, Wake H, Nemoto T, Yanagawa Y, Fukuda A, Nabekura J (2011) GABA Regulates the Multidirectional Tangential Migration of GABAergic Interneurons in Living Neonatal Mice. *PLoS ONE* 6(12): e27048.
 11. Wake H, Moorhouse AJ, Nabekura J (2011) Functions of microglia in the central nervous system - beyond the immune response. *Neuron Glia Biol.* 7: 47-53.
- 2) 英文総説 (査読あり)
1. Kim SK, Eto K, Nabekura J (2011) Synaptic structure and function in the mouse somatosensory cortex during chronic pain: In vivo two-photon imaging. *Neuronal Plast* (in press).
- 3) 研究関係著作
1. Moorhouse AJ, Nabekura J (2011) Cellular mechanisms of neuronal CI homeostasis by neuronal injury. “Inhibitory Synaptic Plasticity” (Eds. Woodin MA, Maffei A), Springer, pp 123-134.
 2. 鍋倉淳一, 石橋 仁 (2011) 穿孔パッチクランプ法。 “最新パッチクランプ実験技術法”, 吉岡書店, pp 50-59.
 3. 鍋倉淳一, 石橋 仁 (2011) 抑制性イオンチャネル。 “トランスポートゾームの世界—膜輸送研究の源流から未来へ—”, 京都廣川書店, pp 65-72.
 4. 加藤 剛, 江藤 圭, 金 善光, 鍋倉淳一 (2011) 中枢神経系の多光子励起 in vivo イメージング。 *実験医学* 20:2595-2601.

《生殖・内分泌系発達機構研究部門》

- 1) 英文原著論文
1. Matsuo E, Mochizuki A, Nakayama K, Nakamura S, Yamamoto T, Shioda S, Sakurai T, Yanagisawa M, Shiuchi T, Minokoshi Y, Inoue T (2011) Decreased intake of sucrose solutions in orexin knockout mice. *J Mol Neurosci* 43:217-224.
 2. Saito K, Lee S, Shiuchi T, Toda C, Kamijo M, Inagaki-Ohara K, Okamoto S, Minokoshi Y (2011) An enzymatic photometric assay for 2-deoxyglucose uptake in insulin-responsive tissues and 3T3-L1 adipocytes.

- Analytical Biochem 412:9-17.
3. Hoivik EA, Bjanesoy TE, Mai O, Okamoto S, Minokoshi Y, Shima Y, Morohashi K, Boehm U, Bakke M (2011) DNA methylation of intronic enhancers directs tissue - specific expression of steroidogenic factor 1/adrenal 4 binding protein (SF-1/Ad4BP). *Endocrinology* 152:2100-2112.
 4. Cao Y, Nakata M, Okamoto S, Takano E, Yada T, Minokoshi Y, Hirata Y, Nakajima K, Iskandar K, Hayashi Y, Ogawa W, Barsh GS, Hosoda H, Kangawa K, Itoh H, Noda T, Kasuga M, Nakae J (2011) PDK1-Foxo1 in Agouti-related peptide neurons regulates energy homeostasis by modulating food intake and energy expenditure. *PLoS ONE* 6:e18324.
 5. Tanaka M, Suganami T, Kim-Saijo M, Toda C, Tsuiji M, Ochi K, Kamei Y, Minokoshi Y, Ogawa Y (2011) Role of central leptin signaling in the starvation-induced alteration of B cell development. *J Neurosci* 31:8373-8380.
 6. Handa N, Takagi T, Saijo S, Kishishita S, Takaya D, Toyama M, Terada T, Shirouzu M, Suzuki A, Lee S, Yamauchi T, Okada-Iwabu M, Iwabu M, Kadowaki T, Minokoshi Y, Yokoyama S (2011) Structural basis for compound C inhibition of the human AMP-activated protein kinase $\alpha 2$ subunit kinase domain. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 67:480-487.
 7. Kukimoto-Niino M, Yoshikawa S, Takagi T, Ohsawa N, Tomabechi Y, Terada T, Shirouzu M, Suzuki A, Lee S, Yamauchi T, Okada-Iwabu M, Iwabu M, Kadowaki T, Minokoshi Y, Yokoyama S (2011) Crystal structure of the Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase kinase in complex with the inhibitor STO-609. *J Biol Chem* 286:22570-22579.
 - 2) その他
 1. 箕越靖彦 (2011) AMPK 制御と食欲。 *Medical Science Digest* 37:20-23.
 2. 戸田知得, 箕越靖彦 (2011) メタボリックシンドロームにおけるエネルギーバランス破綻のメカニズム。 *メタボリックシンドローム (第二版) 日本臨床 臨時増刊* 69:133-137.
 3. 戸田知得, 箕越靖彦 (2011) 生理活性ペプチド・ホルモンと AMPK。 *実験医学 臨時増刊* 29:759-765.
 4. 箕越靖彦 (2011) 視床下部における AMP キナーゼの摂食・代謝調節作用。 *生体の科学* 62:11-16.
 5. 箕越靖彦 (2011) 視床下部における AMP キナーゼの摂食調節機構。 *日本薬理学雑誌* 1372:172-176.
 6. 箕越靖彦 (2011) AMPK と脳におけるエネルギー代謝調節。 *医学のあゆみ* 237:677-682.
 7. 箕越靖彦 (2011) 摂食行動の脳内機構。 *Brain and Nerve*. 63:597-604.
 8. 戸田知得, 箕越靖彦 (2011) レプチンとレプチン抵抗性。 *最新医学* 66:13697-1379.
 9. 箕越靖彦 (2011) AMPK によるエネルギー代謝調節。 *内分泌・糖尿病・代謝内科* 33 (2):99-105.
 10. 志内哲也, 箕越靖彦 (2011) 視床下部を介したエネルギー代謝機構。 “Annual Review 2011 糖尿病・代謝・内分泌” (寺内康夫, 伊藤 裕, 石橋 俊, 編), 中外医学社 (東京), pp 4-11.

《個別研究 (村上グループ)》

- 1) 英文原著論文
 1. Seo Y, Satoh K, Watanabe K, Morita H, Takamata A, Ogino T, Murakami M (2011) Mn-bicine: A low affinity chelate for manganese ion enhanced MRI. *Magn. Reson. Med.* 65 : 1005-1012.
 2. Tochiwara K, Satoh K, Imaizumi K, Yokoi M, Murakami M, Seo Y (2011) Magnetic resonance imaging of the temporomandibular joint in the rat compared with low-powered light microscopy. *Arch. Oral Biol.* 56: 1382-1389.
 3. Seo Y, Takamata A, Ogino T, Morita H, Murakami M (2011) Lateral diffusion of manganese in the rat brain determined by T1 relaxation time measured by 1H MRI. *J. Physiol. Sci.* 61 : 259-266.
 4. Era S, Sogami M, Uyesaka N, Kato K, Murakami M, Matsushima S, Kinoshita Y (2011) Comparative intermolecular cross-relaxation studies of human hemoglobin in red blood cells and bovine serum albumin

- in solution. NMR in Biomed. 24 : 483-491.
5. Matsuki-Fukushima M, Hashimoto S, Murakami M, Ogata Y, Fujita-Yoshigaki J, Narita T, Sugiya H (2011) Role of aquaporin-6 in rat parotid secretory granules. J. Oral Biosci. 53 : 312-317.

《特別研究（永山グループ）》

1) 英文原著論文

1. Hosogi N, Shigematsu H, Terashima H, Homma M, Nagayama K (2011) Zernike phase contrast cryo-electron tomography of sodium-driven flagellar hook-basal bodies from *Vibrio Alginolyticus*. J Struct Biol 173:67-76.
2. Rochat R H, Liu X, Murata K, Nagayama K, Rixon F, Chiu W (2011) Seeing the genome packaging apparatus in herpes simplex virus type I (HSV-1) B-capsids. J Virology 85:1871-1874.
3. Hatakeyama H, Akita H, Ito E, Hayashi Y, Oishi M, Nagasaki Y, Danev R, Nagayama K, Kaji N, Kikuchi H, Baba Y, Harashima H (2011) Systemic delivery of siRNA to tumors using a lipid nanoparticle containing a tumor-specific cleavable PEG-lipid. Biomaterials 32:4306-4316.
4. Danev R, Nagayama K (2011) Optimizing the phase shift and the cut-on periodicity of phase plates for TEM. Ultramicroscopy 111:1305-1315.
5. Nagatani Y, Nagayama K (2011) Complex observation in electron microscopy VII: Iterative phase retrieval for

strong-phase objects by plural Hilbert differential contrast experiments. J Phys Soc Jpn 80 : 094402 - 1 - 094402-8.

6. Fukuda Y, Nagayama K (2011) Zernike phase contrast cryo-electron tomography of whole mounted frozen cells. 2012. Journal of Structural Biology, 177, 484-489.

2) 英文総説（査読あり）

1. Nagayama K (2011) Another 60 years in electron microscopy: development of phase-plate electron microscopy and biological applications. J Electr Microscopy 60 (supplement 1) :S43-S62.

3) その他

1. 永山國昭 (2011) 生物物理学の50年とこれから・生物物理 51:46-47.
2. 永山國昭 (2011) タンパク質と新しい水和理論。化学と工業 64:542-543.
3. 永山國昭 (2011) 電子顕微鏡による1分子DNAシーケンサー。現代化学 2011年11月号 36-37.
4. 永山國昭 (2011) 電子顕微鏡による生物物質の三次元イメージング。高分子 50:813-815.

《遺伝子改変動物作製室》

1) 英文原著論文

1. Hara H, Abdalla H, Morita H, Kuwayama M, Hirabayashi M, Hochi S (2011) Procedure for bovine ICSI, not sperm freeze-drying, impairs the function of the microtubule-organizing center. J Reprod Dev 57:428-432.
2. Kanatsu-Shinohara M, Kato-Itoh M, Ikawa M, Takehashi M, Sanbo M, Okada Y, Tanaka T, Morimoto H, Hirabayashi M, Shinohara T (2011) Homologous recombination in rat germline stem cells. Biol Reprod 85:208-217.

3. Hamanaka S, Yamaguchi T, Kobayashi T, Kato-Itoh M, Yamazaki S, Sato H, Umino A, Wakiyama Y, Arai M, Sanbo M, Hirabayashi M, Nakauchi H (2011) Generation of germline-competent rat induced pluripotent stem cells. PLoS ONE 6:e22008.

4. Yokota S, Hirayama T, Hirano K, Kaneko R, Toyoda S, Kawamura Y, Hirabayashi M, Hirabayashi T, Yagi T (2011) Identification of the cluster control region for the Protocadherin- β genes located beyond the Protocadherin - γ cluster. J Biol Chem 286:31885-31895.

2) 英文総説（査読あり）

1. Hirabayashi M, Hochi S (2011) Embryonic stem (ES) cells and induced-pluripotent stem (iPS) cells in rats *Reprod Med Biol* 10:231-238.
2. Hochi S, Abdalla H, Hirabayashi M (2011) Challenging endeavour for preservation of freeze-dried mammalian spermatozoa. *J Reprod Dev* 57:557-563.
- 3) 研究関係著作
 1. Hirabayashi M, Hochi S (2011) Rat embryonic stem cells: establishment and their use for transgenesis. “Methodological Advances in the Culture, Manipulation and Utilization of Embryonic Stem Cells for Basic and Practical Applications” (Ed. Atwood CA), InTech, Rijeka. pp 397-410.
 2. Hochi S, Abdalla H, Hirabayashi M (2011) Intracytoplasmic sperm injection in cattle. “In Vitro Fertilization” (Ed. Steiger SP), Nova Science Publishers, Hauppauge, pp 35-63.

《行動様式解析室》

- 1) 英文原著論文
 1. Yamada M, Ihara M, Okamoto Y, Maki T, Washida K, Kitamura A, Hase Y, Ito H, Takao K, Miyakawa T, Kalaria RN, Tomimoto H, Takahashi R (2011) The influence of chronic cerebral hypoperfusion on cognitive function and amyloid β metabolism in APP overexpressing mice. *PLoS ONE* 6(1):e16567.
 2. Yao I, Takao K, Miyakawa T, Ito S, Setou M (2011) Synaptic E3 ligase SCRAPPER in contextual fear conditioning: extensive behavioral phenotyping of Scrapper heterozygote and overexpressing mutant mice. *PloS ONE* 6(2):e17317.
 3. Takeuchi H, Iba M, Inoue H, Higuchi M, Takao K, Tsukita K, Karatsu Y, Iwamoto Y, Miyakawa T, Suhara T, Trojanowski JQ, Lee VM-Y, Takahashi R (2011) P301S mutant human tau transgenic mice manifest early symptoms of human tauopathies with dementia and altered sensorimotor gating. *PLoS ONE* 6 (6):e21050.
 4. Asrar S, Kaneko K, Takao K, Negandhi J, Matsui M, Shibasaki K, Miyakawa T, Harrison RV, Jia Z, Salter MW, Tominaga M, Fukumi-Tominaga T (2011) DIP/WISH deficiency enhances synaptic function and performance in the Barnes maze. *Molecular Brain* 4:39.
 5. Koshimizu H, Fukui Y, Takao K, Ohira K, Tanda K, Nakanishi K, Toyama K, Oshima M, Taketo M, Miyakawa T (2011) Adenomatous polyposis coli heterozygous knockout mice display hypoactivity and age-dependent working memory deficits. *Front Behav Neurosci* 5:85.

《形態情報解析室》

- 1) 英文原著論文
 1. Rochat RH, Liu X, Murata K, Nagayama K, Rixon FJ, Chiu W (2011) Seeing the portal in herpes simplex virus type 1 B capsids. *J Virol* 85:1871-1874.
- 2) 研究関係著作
 1. 村田和義, 重本隆一 (2011) 医学・生物学用超高圧電子顕微鏡。顕微鏡 46 (3):170-174.
 2. 村田和義 (2011) 特集分子イメージングの最先端電子顕微鏡による生体分子イメージングの現在。最新医学 66 (10):107-114.

《多光子顯微鏡室》

- 1) 英文総説 (査読あり) during plasticity of dendritic spines. Trends in Neurosci.
1. Murakoshi H, Yasuda R (2012) Postsynaptic signaling 35 : 135-143.

《動物実験センター》

- 1) 英文原著論文
 1. Kimura T (2011) Eosinophilic myositis resulted from Sarcocystis vinfection in prime marbled beef of Japanese black cattle. Vet World 4:500-502.
 2. Kimura T (2011) Hairless descendants of Mexican hairless dogs: An experimental model for studying hypertrophic scars. J Cutan Med Surg 15:329-339.
 3. Kimura T (2011) The effects of chitosan and chitin wound dressings in hairless dogs. Human Vet Med 3:66-75.
 4. Kimura T Successful treatment for idiopathic thrombocytopenic purpura in a Japanese monkey. Scand J Lab Anim Sci 39 (1) (in press).
 5. Kimura T Effective decontamination of laboratory animal rooms with vaporized hydrogen peroxide and peracetic acid. Scand J Lab Anim Sci 39 (1) (in press).
- 2) 和文原著
 1. 木村 透, 廣江 猛 (2010) 高圧蒸気滅菌工程の確認における化学的インジケータ Class 5 の有用性. 日比較医学会誌 18:22-26.
- 3) その他
 1. 木村 透 (2011)「獣医療技術専門職(動物看護師等)の現状と公的資格(免許)化を目指して」編集後記. アニテックス 23 (1):42.
 2. 木村 透 (2011)「空間正常」特集にあたって. アニテックス 23 (3):3-4.
 3. 木村 透 (2011)「神経病の比較病理学」編集後記. アニテックス 23 (4):342.
 4. 木村 透 (2011)「水の機能性」特集にあたって. アニテックス 23 (6):3-4.
 5. 木村 透 (2011)「水の機能性」編集後記. アニテックス 23 (6):34.

b. 学会発表

〔 目 次 〕

神経機能素子研究部門	120
分子神経生理研究部門	120
ナノ形態生理研究部門	121
生体膜研究部門	122
機能協関研究部門	122
細胞生理研究部門	123
感覚認知情報研究部門	125
神経シグナル研究部門	126
神経分化研究部門	127
感覚運動調節研究部門	128
生体システム研究部門	129
脳形態解析研究部門	130
大脳神経回路論研究部門	131
心理生理学研究部門	132
認知行動発達機構研究部門	134
生体恒常機能発達機構研究部門	136
生殖・内分泌系発達機構研究部門	137
個別研究（村上グループ）	138
個別研究（毛利グループ）	138
特別研究（永山グループ）	139
遺伝子改変動物作製室	139
行動様式解析室	140
形態情報解析室	141
多光子顕微鏡室	141
動物実験センター	141

学 会 発 表

《神経機能素子研究部門》

1. 中條浩一, Ulbrich MH, 久保義弘, Isacoff EY (2011.3.29) Density-dependent changes of the stoichiometry and function of KCNQ1-KCNE1 ion channel complex. シンポジウム「生体膜上の脂質および蛋白の局在と機能のダイナミクス」第 88 回日本生理学会大会・第 116 回日本解剖学会総会全国学術集会・合同大会 (横浜)
2. 藤井大祐, 久保義弘 (2011.3.28) Identification of the critical region for the slow deactivation of kv1.2 in high external K^+ solution. 第 88 回日本生理学会大会・第 116 回日本解剖学会総会全国学術集会・合同大会 (横浜)
3. Keceli B, Yamamoto T, Kubo Y (2011.3.28) Analyses of the signal flow in the P2X₂ trimer upon voltage and [ATP] dependent activation by three tandem repeat constructs. 第 88 回日本生理学会大会・第 116 回日本解剖学会総会全国学術集会・合同大会 (横浜)
4. 柳 (石原) 圭子, 村田祐造, 山本友美, 市島久仁彦, 福留健司, 塩谷孝夫, 増子貞彦, 久保義弘 (2011.3.28) Role of the pH-sensitive strong inward rectifier Kir2.3 in the heart. 第 88 回日本生理学会大会・第 116 回日本解剖学会総会全国学術集会・合同大会 (横浜)
5. 立山充博, 松下真一, 久保義弘 (2011.3.22) Ligand-induced structural rearrangements of G protein coupled receptors revealed by FRET analysis 第 84 回日本薬理学会年会 (横浜)
6. 中條浩一, Maximilian H Ulbrich, 久保義弘, Ehud Y Isacoff (2011.9.15) Density-dependent changes of the stoichiometry of KCNQ1-KCNE1 ion channel complex revealed by direct subunit counting using single molecule imaging 第 34 回日本神経科学大会 (横浜)
7. 立山充博, 久保義弘 (2011.9.17) FRET analyses of the interaction between m1 muscarinic receptor and Gq proteins. 第 34 回日本神経科学大会 (横浜)
8. Keceli B, Kubo Y (2011.9.17). Analyses of the signal flow and subunits' contribution in the P2X₂ trimer upon voltage- and [ATP]-dependent activation by three tandem repeat constructs. 第 34 回日本神経科学大会 (横浜)
9. 立山充博, 久保義弘 (2011.9.22) The intra- molecular activation mechanisms of the dimeric metabotropic glutamate receptor1 differ depending on the type of the coupled G-protein. シンポジウム「Structure and function of GPCR signaling system」第 84 回日本生化学大会 (京都)

《分子神経生理研究部門》

1. 田中謙二, 池田一裕 (2011.3.28) オプトジェネティクスを成功させるための遺伝子改変技術。第 88 回日本生理学会大会/第 116 回日本解剖学会総会・全国学術総会 合同大会 (横浜)
2. 小野勝彦, 上田貴之, 後藤仁志, 宇野 葵, 池田一裕 (2011.3.28) ニワトリ胚網膜におけるミエリンタンパク遺伝子の発現。第 88 回日本生理学会大会/第 116 回日本解剖学会総会・全国学術総会 合同大会 (横浜)
3. Hitoshi S, Ishino Y, Ikenaka K (2011.6.16) Mammalian glial cells missing genes induce HES5 expression by active DNA demethylation in early mouse embryos. ISSCR 9th Annual Meeting (カナダ) (ポスター)
4. 松本卓巳, 吉村 武, 池田一裕, 辻 崇一 (2011.7.11-13) ST6Gal-I N-glycan の役割の解析。第 30 回日本糖質学会年会 (長岡)
5. 小池崇子, 吉村 武, 山田 元, 池田一裕 (2011.7.11-13) 微量サンプルからの N 結合型糖鎖構造解析法。第 30 回日本糖質学会年会 (長岡)
6. 吉村 武, 鳴海麻衣, 矢木宏和, 北村邦男, Jan Sedzik,

- 加藤晃一, 池中一裕 (2011.7.11-13) 末梢神経髄鞘の主要構成蛋白質 myelin protein zero の糖鎖構造。第 30 回日本糖質学会年会 (長岡)
7. Inamura N, Lee HE, Tanaka KF, Furuya K, Sokabe M, Ikenaka K (2011.8.29) Mechanisms underlying ATP Release From Cultured Astrocyte. ISN-ESN 2011 23rd Biennial Meeting (Greece)
 8. Sugio S, Tanaka KF, Watanabe M, Ikenaka K (2011.8.29) The Role of Bergmann Glia in Cerebellar Development. ISN-ESN 2011 23rd Biennial Meeting (Greece)
 9. Usui N, Watanabe K, Ono K, Tamamaki N, Ikenaka K, Takebayashi H (2011.8.30) Role of Motoneuron-Derived NT-3 on Sensory Neuron Development. ISN-ESN 2011 23rd Biennial Meeting (Greece)
 10. Ikenaka K, Shimizu T, Jianmei M, Tanaka KF (2011.8.30) Role of Cystatin F in Demyelinating Diseases. ISN-ESN 2011 23rd Biennial Meeting (Greece)
 11. Yoshimura T, Narumi M, Yagi H, Kitamura K, Sedzik J, Kato K, Ikenaka K (2011.8.30) Structure Determination of N-Glycans on A Few Pmol Glycoprotein and Its Application to the Structural Analysis of N-Glycans on PO. ISN-ESN 2011 23rd Biennial Meeting (Greece)
 12. 等 誠司, 石野雄吾, 池中一裕 (2011.9.28) Glial cells missing 遺伝子による Hes5 遺伝子プロモーターの脱メチル化を介する神経細胞の誘導。第 54 回日本神経化学会 (石川) 大会 (加賀)
 13. ウィゼスミス ウィライワン, 清水崇弘, 田中謙二, 池中一裕 (2011.9.26) マウスにおける Cathepsin C 遺伝子の操作。第 54 回日本神経化学会 (石川) 大会 (加賀)
 14. 杉尾翔太, 田中謙二, 渡辺雅彦, 池中一裕 (2011.9.27) 小脳発生におけるバグマングリアの役割。第 54 回日本神経化学会 (石川) 大会 (加賀)
 15. 鳴海麻衣, 吉村 武, 鳥居知宏, 池中一裕 (2011.9.27) マウス脳内における新規シアル酸化糖鎖の解析。第 54 回日本神経化学会 (石川) 大会 (加賀)
 16. Shimizu T, Tanaka KF, Ma J, Ikenaka K (2011.9.26) Exploring the role of cystatin F in demyelination disease. 第 54 回日本神経化学会 (石川) 大会 (加賀)
 17. 成瀬雅衣, 石野雄吾, Akhilesh Kumar, 小野勝彦, 竹林浩秀, 山口正洋, 池中一裕, 等 誠司 (2011.9.16) 大脳皮質オリゴデンドロサイトの発生時期・期限の解析。第 34 回日本神経科学大会 (横浜)
 18. 稲村直子, 木村俊哉, 多田智史, 倉橋 崇, 柳川右千夫, 池中一裕, 村上富士夫 (2011.9.16) 内在性要因と環境が大脳皮質抑制性ニューロンの移動の停止を調節する。第 34 回日本神経科学大会 (横浜)
 19. 臼井紀好, 渡辺啓介, 小野勝彦, 富田江一, 玉巻伸章, 池中一裕, 竹林浩秀 (2011.9.15) 感覚神経発生における運動ニューロン由来 NT-3 の役割。第 34 回日本神経科学大会 (横浜)
 20. 小野勝彦, Carlos M Parras, 竹林浩秀, 嶋村健児, 後藤仁志, 池中一裕 (2011.9.15) Olig2 は間脳の軸索ガイダンス分子の発現調節を通して神経回路形成を制御する。第 34 回日本神経科学大会 (横浜)
 21. 後藤仁志, 小野勝彦, 竹林浩秀, 仲村春和, 原田英斉, 池中一裕 (2011.9.17) ニワトリ発生期脊髄における Nkx2.2 発現前駆細胞から発生する体性運動神経。第 34 回日本神経科学大会 (横浜)
 22. 小池崇子, 吉村 武, 山田 元, 鳥居知宏, 池中一裕 (2011.9.22) 微量サンプルからの N 型結合糖鎖構造解析法。第 84 回日本生化学会大会 (京都)
 23. 鳴海麻衣, 吉村 武, 鳥居知宏, 池中一裕 (2011.9.22) マウス脳内に発現する新規シアル酸化 N-結合型糖鎖の解析。第 84 回日本生化学会大会 (京都)

《ナノ形態生理研究部門》

形態情報解析室の項を参照

《生体膜研究部門》

1. Fukata M (2011.6.28) Dynamic protein palmitoylation in synaptic transmission. The 30th NAITO conference (札幌)
2. 深田正紀 (2011.8.22) てんかん関連蛋白質複合体の抗体作製・発現解析支援。包括型脳科学研究推進支援ネットワーク第2回夏のワークショップ (神戸)
3. 深田正紀 (2011.9.10) 脂質修飾による蛋白質の構造変化を認識するバイオセンサー。俯瞰ワークショップ「構造生命科学」(東京)
4. 深田正紀, 深田優子 (2011.9.17) ヒト側頭葉てんかん関連蛋白質 LGI1 の機能解析。第23回日本神経免疫学会学術集会 (東京)
5. 深田正紀, Dimitrov A, 則竹 淳, Vielemeyer O, Perez F, 深田優子 (2011.9.23) 構造特異的バイオセンサーによるパルミトイル化 PSD-95 の動態可視化。第84回日本生化学会大会 (京都)
6. 深田正紀 (2011.10.7) 新規てんかんモデル動物の紹介 LGI1。第45回日本てんかん学会 (新潟)
7. Fukata M, Watanabe O, Ohkawa T, Yokoi N, Fukata Y (2011.11.13) Systematic identification of autoantigens for immune-mediated neurological disorders. 41st Annual Meeting Neuroscience 2011 SFN (Washington DC, USA)
8. Fukata Y, Dimitrov A, Noritake J, Vielemeyer O, Perez F, Fukata M (2011.11.13) Visualization of endogenous palmitoylated PSD-95 reveals local palmitoyltransferase-induced nucleation of postsynaptic assembly. 41st Annual Meeting Neuroscience 2011 SFN (Washington DC, USA)
9. Yokoi N, Fukata M, Fukata Y (2011.11.16) Molecular and Cellular characterization of epilepsy-related LGI1 mutations. 41st Annual Meeting Neuroscience 2011 SFN (Washington DC, USA)
10. Fukata M, Dimitrov A, Noritake J, Vielemeyer O, Perez F, Fukata Y (2011.12.4) Local palmitoyltransferase activity induces nucleation of postsynaptic protein assembly. 51st Annual Meeting The American Society for Cell Biology (Denver, CO, USA)
11. Fukata Y, Yokoi N, Ohkawa T, Fukata M (2011.12.5) Molecular dissection of epilepsy-related neuronal secreted protein, LGI1. 51st Annual Meeting The American Society for Cell Biology (Denver, CO, USA)

《機能協関研究部門》

1. Sato K, Numata T, Saito T, Ueta Y, Okada Y (2011.9.6) Volume-regulatory autocrine action of vasopressin released from somato and dendrites in vasopressin neurons is mediated by the V2 receptor and cAMP. Hydration & Cell Volume Regulation: Cell Volume Regulation Meeting 2011 (Tübingen, Germany)
2. Akita T, Okada Y (2011.9.4) Ca^{2+} nanodomain-mediated Regulation of volume-sensitive outwardly rectifying (VSOR) anion channels in mouse astrocytes. Hydration & Cell Volume Regulation: Cell Volume Regulation Meeting 2011 (Tübingen, Germany)
3. 岡田泰伸 (2011.9.9) 生体内でクロールイオンはどんな働きをしているか? ソルト・サイエンス・シンポジウム 2011 (東京)
4. Sato K, Okada T, Okada Y (2011.9.13) The molecular identity of acid-sensitive outwardly rectifying Cl^- channel (ASOR) is different from the short N-terminal isoform of ClC-3 . 7th Congress of the Federation of The Asia and Oceanian Physiological Societies (FAOPS 2011) (Taipei, Taiwan)
5. Numata T, Sato K, Schmitz C, Hermosura MC, Perraud A-L, Mori Y, Okada Y (2011.9.13) TRPM7 is an essential regulator for the volume-sensitive outwardly rectifying anion channel (VSOR) activity. 7th Congress of the Federation of The Asia and Oceanian Physiological Societies (FAOPS 2011) (Taipei, Taiwan)
6. Okada T, Sato K, Okada Y (2011.9.13) Cloning and characterization of murine ClC-3 isoform d. 7th Congress of the Federation of The Asia and Oceanian Physiological Societies (FAOPS 2011) (Taipei, Taiwan)

7. Islam MR, Uramoto H, Okada T, Sabirov RZ, Okada Y (2011.9.13) Maxi-anion channel and the pannexin hemi-channel constitutes separate pathways involved in hypo-osmotic ATP release in murine L929 fibrosarcoma cells via their different molecular entities. 7th Congress of the Federation of The Asia and Oceanian Physiological Societies (FAOPS 2011) (Taipei, Taiwan)
8. Akita T, Fedorovich SV, Okada Y (2011.9.13) Ca^{2+} -mediated augmentation of volume-sensitive outwardly rectifying (VSOR) anion channel activity triggered by autocrine action of ATP in mouse astrocytes. 7th Congress of the Federation of The Asia and Oceanian Physiological Societies (FAOPS 2011) (Taipei, Taiwan)
9. Moritoh S, Tanaka FK, Jouhou H, Ikenaka K, Koizumi A (2011.9.12) Manipulating gene expression in organotypic tissue culture of adult rodent retina. 7th Congress of the Federation of The Asia and Oceanian Physiological Societies (FAOPS 2011) (Taipei, Taiwan)
10. 秋田天平, Fedorovich SV, 岡田泰伸 (2011.11.2) アストログリアにおける自己放出された ATP による細胞容積感受性外向整流性アニオンチャネル (VSOR) の Ca^{2+} 依存的な活性化. 第 58 回中部日本生理学会 (福井)
11. 小泉 周, 森藤 暁, 佐藤かお理, 岡田泰伸 (2011.11.2) ラット網膜における内在性 AVP (バソプレシン) 産生細胞の発見. 第 58 回中部日本生理学会 (福井)
12. Uramoto H, Okada T, Okada Y (2012.3.30) Molecular biological and pharmacological evidence for a protective role of cardiac CFTR in hypoxia/reoxygenation-induced necrotic cardiomyocyte injury in vitro. 第 89 回日本生理学会大会 (松本)
13. Ando-Akatsuka Y, Okada Y (2012.3.30) Changes in the intracellular localization of ACTN4 and ABCF2 after apoptotic stimulation. 第 89 回日本生理学会大会 (松本)
14. Akita T, Fedorovich S, Okada Y (2012.3.29) Ca^{2+} nanodomain-mediated component of swelling-induced volume-sensitive outwardly rectifying (VSOR) anion channel activity in mouse astrocytes. 第 89 回日本生理学会大会 (松本)
15. Okada T, Islam MR, Merzlyak P, Sabirov RZ, Okada Y (2012.3.29) Attempts to identify the gene encoding Maxi-anion channel. 第 89 回日本生理学会大会 (松本)
16. Sato K, Numata T, Lee E, Okada Y (2012.3.29) Exploration of the molecular identity of acid-sensitive outwardly rectifying Cl^- channel (ASOR). 第 89 回日本生理学会大会 (松本)
17. Islam MR, Uramoto H, Okada T, Sabirov RZ, Okada Y (2012.3.29) Maxi-anion channel serving as an ATP releasing pathway is distinct from connexin 43 hemi-channel in murine L929 fibrosarcoma cells. 第 89 回日本生理学会大会 (松本)
18. Okada Y (2012.3.31) Physiological research in an integrative and law-of-causality manner. 第 89 回日本生理学会大会 シンポジウム「生理学・生理学会大会の今日的役割: 多分野の交流と連携を訪ねて」(松本)
19. Ohbuchi T, Sato K, Okada Y, Suzuki H, Ueta Y (2012.3.30) Acid-sensing ion channels in body fluid homeostasis. 第 89 回日本生理学会大会 (松本)

《細胞生理研究部門》

1. Yamanaka A, Tsunematsu T (2011.2.7) An artificial control of sleep/wakefulness state using optogenetics in mice. 2nd International Symposium on Photonic Bioimaging (ニセコ)
2. Tsunematsu T, Kilduff TS, Boyden ES, Tominaga M, Yamanaka A (2011.2.7) Optogenetic silencing of orexin neurons induces slow wave sleep in mice. 2nd International Symposium on Photonic Bioimaging (ニセコ)
3. Tominaga M (2011.3.22) ATP-mediated information transmission downstream of TRP channel activation. 第 84 回日本薬理学会年会 (横浜)
4. Ogawa H, Takahashi K, Saito S, Tominaga M, Ohta T (2011.3.23) Change in intracellular Ca^{2+} concentration induced by hydrogen sulfide in mouse sensory neurons. 第 84 回日本薬理学会年会 (横浜)

5. Tabuchi S, Tsunematsu T, Sugio S, Tanaka K, Tominaga M, Yamanaka A (2011.3.23) Reversible gene expression control of serotonin receptor 1a in orexin neurons enable to regulate sleep/wakefulness pattern. 第 84 回日本薬理学会年会 (横浜)
6. 富永真琴 (2011.3.28) 感覚器官としての上皮-上皮に発現する TRP チャネルの機能一。第 88 回日本生理学大会 (横浜)
7. 三原 弘, 富永真琴 (2011.3.28) 消化管機能と TRPV チャネル。第 88 回日本生理学会大会 (横浜)
8. 齋藤 茂, 福田直美, 新貝鋤蔵 (2011.3.28) 浸透圧刺激により活性化されるニシツメガエル TRPV4 チャネルの比較解析。第 88 回日本生理学会大会 (横浜)
9. 藤田郁尚, 高石雅之, 内田邦敏, 富永真琴 (2011.3.28) 化学刺激は TRPA1 の活性化を介して痛みを引き起こす。第 88 回日本生理学会大会 (横浜)
10. 高石雅之, 藤田郁尚, 山本学志, 澤田真希, 畑井千裕, 清水真由美, 辻野義雄, 内田邦敏, 富永真琴 (2011.3.28) 新たな TRPA1 活性抑制剤の発見。第 88 回日本生理学会大会 (横浜)
11. 加塩麻紀子, 曾我部隆彰, 森 泰生, 富永真琴 (2011.3.28) 過酸化水素による TRPM2 チャネル温度感受性の増大。第 88 回日本生理学会大会 (横浜)
12. 常松友美, 富永真琴, 山中章弘 (2011.3.28) 覚醒維持におけるオレキシンニューロン活動の生理的役割。第 88 回日本生理学会大会 (横浜)
13. 内田邦敏, 出崎克也, Boldbaatar Damdindorj, 稲田 仁, 志内哲也, 森 泰生, 矢田俊彦, 箕越靖彦, 富永真琴 (2011.3.29) TRPM2 は細胞内 Ca^{2+} 濃度変化依存的及び非依存的にインスリン分泌を促進する。第 88 回日本生理学会大会 (横浜)
14. 鈴木喜郎, ヘディガー マティアス, 富永真琴 (2011.3.29) 母子間ミネラル輸送における TRP チャネルの役割。第 88 回日本生理学会大会 (横浜)
15. 高山靖規, 常松友美, 杉尾翔太, 田中謙二, 山中章弘, 富永真琴 (2011.3.29) マウスにおける交感神経系を介した熱産生は新規ペプチド QRFP によって促進される。第 88 回日本生理学会大会 (横浜)
16. 新宅健司, 内田邦敏, 高谷靖規, 周一鳴, 加塩麻紀子, 鈴木喜郎, 富永真琴 (2011.3.30) 辛いトウガラシの成分カプシエイトによる TRPA1 の活性化。第 88 回日本生理学会大会 (横浜)
17. Tominaga M (2011.5.16) Nociceptive mechanisms involving TRPV1 and TRPA1. The 4th Asian Pain Symposium (Shanghai, China)
18. Saito S, Fukuta N, Shingai R, Tominaga M (2011.6.2) Evolution of Thermosensor TRPV3 Channels: Opposite Temperature Sensitivity between Mammals and Western Clawed Frogs. 8th International Congress of Comparative Physiology and Biochemistry (Nagoya, Japan)
19. 山中章弘 (2011.6.29) オプトジェネティクスを用いた睡眠覚醒制御 第 63 回日本細胞生物学会大会 (札幌)
20. 鈴木喜郎 (2011.7.1) 胎仔骨石灰化のための母子間マグネシウム輸送に関与する分子の探索。第 22 回日本微量元素学会学術集会 (京都)
21. 富永真琴 (2011.7.21) TRP チャネルの侵害刺激受容と鎮痛薬開発標的の可能性。日本ペインクリニック学会第 45 回大会 (松山)
22. 新宅健司, 富永真琴 (2011.7.23) 辛いトウガラシ成分カプシエイトによる TRPA1 の活性化。第 33 回日本疼痛学会 (松山)
23. Saito M, Ohkita M, Sokabe T, Kadowaki T, Ohta T, Tominaga M (2011.7.28) Diversification and functional evolution of thermosensitive TRP channels. 日本進化学会第 13 回大会 (京都)
24. Saito S, Fukuta N, Shingai R, Tominaga M (2011.7.28) Functional Evolution of Thermosensor TRPV3 Channels: Opposite Temperature Sensitivity Between Mammals And Western Clawed Frogs. 2011 Annual Meeting of Society for Molecular Biology and Evolution (Kyoto, Japan)
25. Suzuki Y (2011.7.31) Roles of TRP channels for maternal-fetal mineral transport. International Joint Meeting of Cellular and Molecular Physiology in Epithelia (Tokyo, Japan)
26. 加塩麻紀子, 曾我部隆彰, 富永真琴 (2011.8.2) 温度感受性 TRPM2 の免疫機能への寄与。第 13 回免疫サマースクール (蔵王)
27. Tominaga M (2011.8.3) TRPM2 sensitization. The 6th International Conference of Neurons and Brain Diseases (富山)
28. 富永真琴 (2011.9.9) 哺乳類の温度受容の分子機構。日本ハイパーサーミア学会第 28 回大会 (名古屋)

29. Tominaga M (2011.9.12) Physiological significance of thermosensitive TRP channels. 7th FAOPS Congress (Taipei, Taiwan)
30. 富永真琴 (2011.9.15) 感覚神経・運動神経に発現する TRP チャネルの機能。第 34 回日本神経科学大会 (横浜)
31. 田淵紗和子, 常松友美, 杉尾翔太, 田中謙二, 富永真琴, 山中章弘 (2011.9.15) オレキシン神経特異的なセロトニン受容体 1A の可逆的発現制御を用いたセロトニン神経からオレキシン神経への抑制性入力の生理的役割。第 34 回日本神経科学大会 (横浜)
32. 高石雅之, 藤田郁尚, 山本学志, 澤田真希, 畑井千裕, 清水真由美, 辻野義雄, 内田邦敏, 富永真琴 (2011.9.17) 複数のアゴニストによる hTRPA1 活性に対する 1,8-シネオール抑制効果。第 34 回日本神経科学大会 (横浜)
33. 内田邦敏, 小松朋子, 藤田郁尚, 富永真琴 (2011.9.17) 第一級アルコールによる炭素数依存的な TRPA1 チャネル活性化機構。第 34 回日本神経科学大会 (横浜)
34. 富永真琴 (2011.9.21) 感覚神経および味神経における TRP チャネルによるプロトンセンシング。第 84 回日本生化学会大会 (京都)
35. Yamanaka A (2011.10.6) Optogenetics reveals physiological role of orexin neurons in sleep/wakefulness regulation. 第 23 回韓国分子細胞生物学会年会 (Seoul, Korea)
36. 常松友美, 富永真琴, 山中章弘 (2011.10.16) The transcriptome profiling of orexin/hypocretin neurons using microarray. 日本睡眠学会第 36 回定期学術集会 (京都)
37. Tabuchi S, Tsunematsu T, Fukazawa Y, Tominaga M, Yamanaka A. (2011.10.16) Positive regulation between orexin/hypocretin neurons. 日本睡眠学会 会第 36 回定期学術集会 (京都)
38. Yamanaka A (2011.10.19) Optogenetical approach to study regulatory mechanisms of sleep/wakefulness. World sleep2011 (京都)
39. Tsunematsu T (2011.10.19) Optogenetic manipulation of the activity of orexin neurons controls sleep/wakefulness state in mice. World sleep2011 (京都)
40. Tabuchi S, Tsunematsu T, Sugio S, Tanaka K, Tominaga M, Yamanaka A. (2011.10.19) Physiological significance of serotonergic inhibitory inputs to orexin neurons. World sleep2011 (京都)
41. Tominaga M (2011.10.23) Nociception and TRP channels. International Congress of Pain (Shenzhen, China)
42. 富永真琴 (2011.10.29) TRP チャネルと痒み・痛み。第 21 回国際痒みシンポジウム (大阪)
43. Yamanaka A (2011.10.29) Sleep/wakefulness control using optogenetics in mice. 第 8 回日独先端科学シンポジウム (東京)
44. Tominaga M (2011.11.2) Structure and function of thermosensitive TRP channels. 17th International Biophysics Congress (Beijing, China)
45. 富永真琴 (2011.11.10) 温度感受性 TRP チャネルと炎症。第 61 回日本アレルギー学会秋季学術大会 (東京)
46. Tabuchi S, Tsunematsu T, Sugio S, Tanaka K, Tominaga M, Yamanaka A. (2011.11.14) Physiological significance of serotonergic inhibitory inputs to orexin/hypocretin neurons on the regulation of sleep/wakefulness. Neuroscience 2011 (Washington DC, USA)
47. 富永真琴 (2011.11.19) TRP チャネルによる侵害刺激受容機構。第 4 回日本運動器疼痛学会 (大阪)
48. Yamanaka A (2011.12.13) Control of instinct behavior by manipulating the activity of hypothalamic neurons using optogenetics 第 34 回日本分子生物学会年会 (横浜)
49. Takaishi M, Fujita F, Yamamoto S, Sawada M, Hatai C, Shimizu M, Tsujino Y, Uchida K, Tominaga M (2011.12.14) 1,8-cineole causes comfortable cooling sensation by concomitant application with menthol. 世界化粧品学会 2011 (Bangkok, Thailand)

《感覚認知情報研究部門》

1. Goda N, Hiramatsu C, Komatsu H (2011.6.2-3) Neural representation of material categories in human visual

- cortex. Perception of material properties workshop (Ebsdorfergrund, Germany)
2. Komatsu H, Nishio A, Goda N (2011.6.4) Neural coding of glossiness in the macaque visual cortex. Perception of material properties workshop (Ebsdorfergrund, Germany)
 3. Hiramatsu C, Goda N, Komatsu H (2011.6.11) Image-based and perceptual representation of materials. The 15th Annual Meeting of the ASSC (京都)
 4. Koida K, Yokoi I, Okazawa G, Goda N, Hiramatsu C, Mikami A, Kanthi AW, Miyachi S, Togawa M, Takagi M, Komatsu H, (2011.7.2) Color discrimination performance of genetically identified dichromatic macaques. The 21 st symposium of the International colour vision society (Kongsberg, Norway)
 5. 伊藤 南, 浅川晋宏 (2011.8.29) 第二次視覚野における輪郭線表現の頑健さ。視覚科学フォーラム第 15 回研究会 (豊中)
 6. 西尾亜希子, 郷田直一, 小松英彦 (2011.8.29) サル下側頭皮質細胞の光沢選択性とその性質。視覚科学フォーラム第 15 回研究会 (豊中)
 7. 中園 貴之, 伊藤 南, 浅川晋宏, 大澤五住 (2011.8.30) V2 細胞の刺激位置を考慮した空間周波数の組み合わせに対する応答特性。視覚科学フォーラム第 15 回研究会 (豊中)
 8. Koida K, Yokoi I, Okazawa G, Goda N, Hiramatsu C, Mikami A, Kanthi AW, Miyachi S, Togawa M, Takagi M, Komatsu H (2011.9.16) Behavioral test of dichromatism in genetically identified dichromatic macaques. 第 34 回日本神経科学大会 (横浜)
 9. 西尾亜希子, 郷田直一, 小松英彦 (2011.9.16) サル下側頭皮質における光沢知覚空間の表現。第 34 回日本神経科学大会 (横浜)
 10. 中園 貴之, 伊藤 南, 浅川晋宏, 大澤五住 (2011.9.16) V2 細胞の刺激位置, 空間周波数の組み合わせに対する応答特性。第 34 回日本神経科学大会 (横浜)
 11. 伊藤 南*, 浅川晋宏 (2011.9.16) サル第二次視覚野における輪郭線中の折れ曲がり刺激の表現と半直線成分の空間的位置関係。第 34 回日本神経科学大会 (横浜)
 12. 岡澤剛起, 郷田直一, 小松英彦 (2011.9.17) サル視覚野における物体表面光沢への選択的活動: fMRI 研究。第 34 回日本神経科学大会 (横浜)
 13. Okazawa G, Goda N, Komatsu H (2011.11.14) Cortical regions activated by surface gloss in the macaque visual cortex localized using fMRI. Society for Neuroscience 41th Annual Meeting (Washington D.C., USA)
 14. Nishio A, Goda N, Komatsu H (2011.11.14) Neural selectivity and representation of gloss in the monkey inferior temporal cortex. Society for Neuroscience 41th Annual Meeting (Washington D.C., USA)
 15. Komatsu H, Nishio A, Goda N (2011.11.14) Relationship between neuronal activities in the macaque inferior temporal cortex and perceptual gloss space. Society for Neuroscience 41th Annual Meeting (Washington D.C., USA)

《神経シグナル研究部門》

1. 歌 大介, 古江秀昌, 井本敬二, 吉村 恵 (2011.2.5) TRPA1 受容体活性化によるラット脊髄後角膠様質細胞に対するシナプス伝達の作用解析。第 33 回脊髄機能診断研究会 (東京)
2. Uta D, Gotoh Y, Andoh T, Kuraishi Y, Imoto K, Furue H (2011.3.28) In vivo patch-clamp recording analysis of synaptic transmission in the spinal dorsal horn evoked by cutaneous application of a pruritogen serotonin. 第 88 回日本生理学会大会 (震災の為紙面開催)
3. 穴戸恵美子, 井本敬二 (2011.5.7) 発達障害における早期行動介入。第 11 回日本赤ちゃん学会学術集会 (各務原)
4. Yamagata Y (2011.5.14) The role of kinase activity of Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase II α in hippocampus- and amygdala-dependent memory. The 13th Annual Meeting of the International Behavioural and Neural Genetics Society (IBANGS) (Rome, Italy)
5. 歌 大介, 井本敬二, 古江秀昌 (2011.5.28) TRPA1 発現線維が入力する脊髄膠様質細胞の形態学的特徴。第 13 回ブレインサイエンス研究会 (熊本県 阿蘇村)

6. Hur SW, Sugiyama D, Kawamata M, Kim SJ, Imoto K, Furue H (2011.5.28) In vivo patch-clamp analysis of synaptic responses evoked in the rat locus coeruleus neurons. 第 13 回ブレインサイエンス研究会 (熊本県阿蘇村)
7. Yoshimura M, Duxie Xie, Uta D (2011.9.15) Functional role of the TRPV1 receptor expressed at the terminals of primary afferent C fibers in the spinal dorsal horn. 第 34 回日本神経科学大会 (横浜)
8. Kase D, Imoto K (2011.9.15) GABAergic inhibitory synaptic transmission from substantia nigra pars reticulata in murine ventral medial thalamus. 第 34 回日本神経科学大会 (横浜)
9. Yamagata, Y., Yanagawa, Y, Imoto, K (2011.9.15) Contribution of kinase activity of Ca^{2+} /calmodulin - dependent protein kinase II α to hippocampus- and amygdala-dependent memory formation. 第 34 回日本神経科学大会 (横浜)
10. Shishido E, Imoto K (2011.9.16) Motivation-based modeling of learning behavior with scheduled reinforcement. 第 34 回日本神経科学大会 (横浜)
11. Uta D, Gotoh Y, Andoh T, Kuraishi Y, Imoto K, Furue H (2011.9.17) In vivo patch-clamp recording analysis of a pruritogen serotonin-induced itching on synaptic transmission in substantia gelatinosa neurons. 第 34 回日本神経科学大会 (横浜)
12. Satake S, Imoto K (2011.9.17) Diversity in the presynaptic potentiation of excitatory neurotransmission from granule cells to molecular-layer interneurons in rat cerebellar cortex. 第 34 回日本神経科学大会 (横浜)
13. 佐竹伸一郎, 井本敬二 (2011.9.22) ラット小脳皮質において Gi/o 共役型受容体が仲介するシナプス前抑制における多様性. 日本動物学会第 82 回大会 (旭川)
14. 歌 大介 (2011.9.24) In vivo パッチクランプ法を用いた痛覚シナプス伝達の解析. 第 7 回若手の会セルセンサー研究の未来予想図 (岡崎)
15. 謝 篤傑, 歌 大介, 服部 剛, 笠原憲一, 吉村 恵 (2011.10.15) Naftoidil の脊髄膠様質細胞に対する作用の電気生理学的解析. 第 62 回西日本生理学会 (佐賀)
16. Kase D, Imoto K (2011.11.12) Inhibitory synaptic transmission from substantia nigra pars reticulata in the murine ventral medial thalamus. Neuroscience 2011 (Washington DC, USA)
17. Yoshimura M, Xie D, Uta D, Hachisuka J, Furue H (2011.11.14) Sensitization of TRPV1 receptors expressed at the central end of C afferents following inflammation. Neuroscience 2011 (Washington DC, USA)
18. Funai Y, Nishikawa K, Mori T, Asada A, Imoto K, Furue H (2011.11.16) Systemic injection of alpha-2 adrenergic agonist enhances inhibitory synaptic transmission in the rat superficial dorsal horn in vivo. Neuroscience 2011 (Washington DC, USA)
19. Sugiyama D, Imoto K, Pickering AE, Kawamata M, Furue H (2011.11.16) In vivo whole-cell patch-clamp analysis of synaptic responses evoked in locus coeruleus neurons in the rat brainstem. Neuroscience 2011 (Washington DC, USA)
20. Uta D, Gotoh Y, Andoh T, Kuraishi Y, Imoto K, Furue H (2011.11.16) In vivo patch-clamp analysis of pruriceptive and nociceptive synaptic transmission in the adult rat spinal dorsal horn. Neuroscience 2011 (Washington DC, USA)

《神経分化研究部門》

1. 石川理子, 吉村由美子 (2011.8.20) 大脳皮質視覚野の視覚反応と神経回路の経験依存的発達・第 2 回生理学研究所・名古屋大学医学部合同シンポジウム (名古屋)
2. Satou C, Kimura Y, Higashijima S (2011.9.8) Heterogeneities in p0 progenitors and the temporal regulation of cell differentiation contribute to the generation of neuronal diversity in spinal V0 neurons. 第 17 回小型魚類研究会 (三島)
3. Higashijima S, Kimura Y, Satou C (2011.9.15) Functional analysis of locomotor circuits in the spinal cord and brainstem in zebrafish. 第 34 回日本神経科学

大会 (横浜)

4. Satou C, Kimura Y, Higashijima S (2011.9.16) Heterogeneities in p0 progenitors and the temporal regulation of cell differentiation contribute to the generation of neuronal diversity in spinal V0 neurons. 第34回日本神経科学大会 (横浜)
5. Ishikawa A, Komatsu Y, Yoshimura Y (2011.9.17) Experience-dependent maturation of visual responsiveness and fine-scale networks in visual cortex. 第34回日本神経科学大会 (横浜)
6. 東島真一 (2011.10.21) ゼブラフィッシュ脊髄・脳幹

運動計神経回路の発生と機能。加齢研シンポジウムー発生生物学の適応放散ー (仙台市)

7. Satou C, Kimura Y, Higashijima S (2011.11.13) Heterogeneities in p0 progenitors and the temporal regulation of cell differentiation contribute to the generation of neuronal diversity in spinal V0 neurons. Neuroscience 2011 (Washington, DC)
8. Higashijima S, Kimura Y, Satou C (2011.12.13) Functional analysis of locomotor circuits in the spinal cord and brainstem in zebrafish. 第34回日本分子生物学会年会 (横浜)

《感覚運動調節研究部門》

1. Okamoto H (2011.12.3) Auditory processing in the brain. Germany-Japan Round Table 2011 (Heidelberg, Germany)
2. Mochizuki H (2011.12.3) Perception mechanism of itching. Germany-Japan Round Table 2011 (Heidelberg, Germany)
3. Nakato E, Kanazawa S, Yamaguchi MK, Kakigi R (2011.8.29) A near-infrared spectroscopy study on the mother's face perception in infants. 34th European Conference on Visual Perception (ECVP2011) (Toulouse, France)
4. Nakato E, Ichikawa H, Kanazawa S, Kanazawa S, Yamaguchi MK, Kakigi R (2011.5.10) A longitudinal study on infants' face perception by nearinfrared spectroscopy. Vision Science 11th Annual Meeting (VSS 2011), Naples Florida, USA
5. Morita T, Kosaka H, Saito ND, Isihtobi M, Munesue T, Itakura S, Omori M, Okazawa H, Wada Y, Kakigi R, Sadato N (2011.6.7) Self-conscious emotion associated with self-evaluative process in individuals with autism spectrum disorders: An fMRI study. The 15th annual meeting of the ASSC Satellite symposium, Kyoto, Japan
6. 仲渡江美, 金沢 創, 山口真美, 柿木隆介 (2011.12.4) 乳児における母親顔知覚時の脳血流量の変化ーNIRSを用いた検討2ー 第30回日本基礎心理学会 慶応義塾大学 (横浜)
7. 和坂俊昭, 柿木隆介 (2011.11.12) 身体部位の視覚情

報が体性感覚ー運動統合に与える影響 第41回日本臨床神経生理学会 静岡県コンベンションアーツセンター (静岡)

8. 岡本秀彦, Henning Teismann, Christo Pantev, 柿木隆介 (2011.11.12) 携帯音楽プレーヤー使用によるヒト聴覚野における周波数特異性の低下 第41回日本臨床神経生理学会 静岡県コンベンションアーツセンター (静岡)
9. 柿木隆介 (2011.11.11) 痛みと痒みの脳内認知機構 教育講演 第41回日本臨床神経生理学会 静岡県コンベンションアーツセンター (静岡)
10. 三木研作, 竹島康行, 渡邊昌子, 本多結城子, 柿木隆介 (2011.11.11) 輪郭や内部が塔律した際の顔の動き認知過程への影響 第41回日本臨床神経生理学会 静岡県コンベンションアーツセンター (静岡)
11. 柿木隆介 (2011.10.22) 脳は不思議がいっぱい!! 公開講演 第50回中部医学検査学会 (名古屋)
12. 守田知代, 田邊宏樹, 佐々木章宏, 島田浩二, 柿木隆介, 定藤規弘 (2011.10.6) 他者の存在が自己顔認知に与える影響: dual MRIを用いた検討 生理研研究会 社会神経科学研究会 (岡崎)
13. 三木研作, 竹島康行, 渡邊昌子, 本多結城子, 柿木隆介 (2011.9.23) 輪郭や内部が倒立した際の顔の動き認知過程への影響 第16回日本顔学会 (フォーラム顔学 2011) (新潟)
14. 三木研作, 渡邊昌子, 照屋美加, 竹島康行, 浦川智和, 平井真洋, 本多結城子, 柿木隆介 (2011.9.22) The

- development of the perception of facial emotional change examined using ERPs. 表情変化に対する誘発脳波の発達による変化 (BPES2011) (草津)
15. 岡本秀彦, 柿木隆介 (2011.9.22) 携帯音楽プレーヤーの光と影 A light and a dark side of portable music players. 第 26 回生体・生理工学シンポジウム (BPES2011) (草津)
 16. 仲渡江美, 市川寛子, 金沢 創, 山口真美 (2011.9.15) 近赤外分光法による乳児の顔認知に関する縦断的研究 日本心理学会第 75 回大会 日本大学文理学部 (東京)
 17. 岡本秀彦, Henning Teismann, Christo Pantev, 柿木隆介 (2011.8.20) 携帯音楽プレーヤーが周波数特異性に与える影響 第 2 回名古屋大学医学系研究科・生理学研究所合同シンポジウム (名古屋)
 18. 和坂俊昭, 柿木隆介 (2011.8.20) 運動制御における視覚-体性感覚-運動統合の解明 第 2 回名古屋大学医学系研究科・生理学研究所合同シンポジウム (名古屋)
 19. 柿木隆介 (2011.8.4) 脳が感じる：痛みとかゆみの脳機能 (シンポジウム) 第 49 回全国大学保健管理協会 関東甲信越地方部会研究集会 (東京)
 20. 柿木隆介 (2011.7.22) ヒトの脳内痛覚認知機構の解明 (シンポジウム) 日本ペインクリニック学会第 45 回大会・第 33 回日本疼痛学会 (愛媛ペイン 2011) (松山)
 21. 和坂俊昭, 柿木隆介 (2011.6.17) 運動の視覚情報が体性感覚-運動統合に与える影響 第 5 回 Motor Control 研究会 (岡崎)
 22. 岡本秀彦, Henning Teismann, Christo Pantev, 柿木隆介 (2011.6.4) ヒト聴覚野における周波数特異性に対する注意の効果 第 26 回日本生体磁気学会 (福岡)
 23. 仲渡江美, 大塚由美子, 金沢 創, 山口真美, 柿木隆介 (2011.6.4) 近赤外分光法 (NIRS) による乳児の笑顔と怒り顔に対する脳反応計測 第 26 回日本生体磁気学会 (福岡)
 24. Sumru Keceli, Koji Inui, Hidehiko Okamoto, Ryusuke Kakigi (2011.6.4) The effect of repetition rate on auditory sustained magnetic fields. 第 26 回日本生体磁気学会 (福岡)
 25. 岡本秀彦, Henning Teismann, Christo Pantev, 柿木隆介 (2011.6.3) 聴覚における側方抑制とその臨床応用 第 26 回日本生体磁気学会 (福岡)
 26. 山代幸哉, 乾 幸二, 大鶴直史, 浦川智一, 柿木隆介 (2011.6.3) 体性感覚における時間統合窓 脳磁図による検討 第 26 回日本生体磁気学会 (福岡)
 27. 大鶴直史, 乾 幸二, 山代幸哉, 浦川智和, Sumru Keceli, 柿木隆介 (2011.6.3) 強度変化に対する体性感覚野応答における先行刺激の影響 第 26 回日本生体磁気学会 (福岡)
 28. 鈴木雅也, 長江泉希, 乾 幸二, 柿木隆介 (2011.6.3) 屈折誤差のあるレンズ負荷時の MEG による V1 活動の解析 第 26 回日本生体磁気学会 (福岡)
 29. 三木研作, 竹島康行, 渡邊昌子, 本多結城子, 柿木隆介 (2011.6.3) 輪郭や内部が倒立した際の顔の動き認知過程への影響 第 26 回日本生体磁気学会 (福岡)
 30. 柿木隆介 (2011.5.19) 神経イメージ手法を用いた顔認知機構の解明 第 52 回日本神経学会学術大会 (名古屋)
 31. 柿木隆介 (2011.1.29) 「痛みと痒みの脳内認知機構」について 高知商工会館 高知いたみの研究会 (高知)

《生体システム研究部門》

1. 南部 篤 (2011.1.7) 大脳皮質-大脳基底核ループの機能と病態：今後の研究戦略。生理学研究所研究会「行動制御における脳領域間の機能連関」(岡崎)
2. 高良沙幸 (2011.2.25) Movement-related activity of striatal interneurons receiving inputs from cortical motor areas. 第三回NAGOYAグローバルリトリート (大府)
3. 南部 篤 (2011.2.27) モデルマウスから神経活動を記録することによりジストニアの発症機構を解析する。難病・希少疾患を理解し克服する (東京)
4. 畑中伸彦 (2011.3.12) 脳と口の不思議な関係。せりけん市民講座 (岡崎)
5. Nambu A, Chiken S, Shashidharan P, Nishibayashi H,

- Ogura M, Kakishita K, Tanaka S, Tachibana Y, Kita H, Itakura T (2011.5.12) What electrophysiology teaches us about the pathophysiology of dystonia. The International Behavioral and Neural Genetics Society (IBANGS) (Rome, Italy)
6. Chiken S, Ohta C, Sato A, Sasaoka T, Katsuki M, Kurokawa M, Nambu A (2011.6.2) Dopamine D1 receptor modulates neurotransmission through the basal ganglia. 8th International Congress of Comparative Physiology and Biochemistry (Nagoya)
7. 畑中伸彦 (2011.6.17) 開口筋・閉口筋を支配する神経ネットワーク:狂犬病ウイルスを用いた逆行性多シナプス解析。Motor Control 研究会。シンポジウム2「咀嚼機能研究の最前線」(岡崎)
8. 知見聡美, 南部 篤 (2011.7.3) 淡蒼球脳深部刺激療法の作用機序の検討。第26回日本大脳基底核研究会(箱根)
9. 畑中伸彦, 高良沙幸, 金子将也, 南部 篤 (2011.8.20) 運動課題遂行中のサルにおける淡蒼球ニューロン活動のグルタミン酸および GABA 作動性調節。名古屋大学医学研究科・生理学研究所合同シンポジウム(名古屋)
10. 佐野裕美, 知見聡美, 加藤成樹, 小林憲太, 小林和人, 南部 篤 (2011.8.22) 大脳基底核の生理機能解明への光遺伝学の応用。包括型脳科学研究推進支援ネットワーク 夏のワークショップ(神戸)
11. 南部 篤 (2011.9.2) 大脳皮質-大脳基底核ループと大脳基底核疾患。第11回秋田県神経変性疾患研究会(秋田)
12. 畑中伸彦, 金子将也, 高良沙幸, 高田昌彦, 南部 篤 (2011.9.15) 運動課題遂行中のサルにおける淡蒼球ニューロン活動のグルタミン酸および GABA 作動性調節。第34回日本神経科学大会(横浜)
13. 知見聡美, 一瀬千穂, 一瀬 宏, 近藤一直, 南部 篤 (2011.9.15) ドーパ反応性ジストニアモデルマウスにおける大脳基底核ニューロンの活動。第34回日本神経科学学会(横浜)
14. 佐野裕美, 知見聡美, 小林和人, 南部 篤 (2011.9.15) 線条体-淡蒼球投射ニューロンは淡蒼球外節および黒質網様部の応答パターンを介して運動を制御する。第34回日本神経科学大会(横浜)
15. 瀧澤大輔, 畑中伸彦, 伊佐 正, 南部 篤 (2011.9.16) 覚醒下マーモセットにおける運動関連領域の神経生理学的解析。第34回日本神経科学学会(横浜)
16. 知見聡美, 南部 篤 (2011.11.1) 淡蒼球脳深部刺激療法の作用機序の検討。第58回中部日本生理学会(福井)
17. 佐野裕美, 知見聡美, 小林和人, 南部 篤 (2011.11.1) 線条体-淡蒼球投射ニューロンが制御する運動調節機構の解明。第58回中部日本生理学会(福井)

《脳形態解析研究部門》

1. 重本隆一, (2011.03.30) 凍結切断レプリカ免疫標識法によるシナプス分子の微細局在解析。第88回日本生理学会大会・第116回日本解剖学会総会・合同大会(横浜)
2. 深澤有吾 (2011.05.16) 定量的分子局在解析と計算論的手法によるシナプス構造-機能連関の解析。日本顕微鏡学会 第67回学術講演会(福岡)
3. 釜澤尚美, (2011.05.16) SBFSEM の神経科学研究への応用。日本顕微鏡学会(福岡)
4. 村田和義, 重本隆一 (2011.05.17) 医学・生物学専用超高圧電子顕微鏡にできること。第67回日本顕微鏡学会(福岡)
5. 佐々木拓哉 (2011.06.18) アストロサイトによる神経回路活動の制御。生理学研究所研究会「グリア細胞機能から迫る脳機能解明(岡崎)
6. 松井 広 (2011.06.18) 脳回路光摂動法による記憶メカニズムの解明。生理学研究所研究会「グリア細胞機能から迫る脳機能解明(岡崎)
7. Aziz W, Wang W, Fukazawa Y, Shigemoto R (2011.07.15) Structural correlate of long-term motor memory formation in cerebellar cortex of mice. 8th IBRO world congress of neuroscience (Florence, Italy)
8. Shigemoto R, Armed H, Kawakami H, Fukazawa Y, (2011.07.16) Right hemisphere dominance of dentate

- granule cell activation after exploration of novel environment in wild-type and *iv* mutant mice. 8th IBRO world congress of neuroscience (Florence, Italy)
9. 松井 広 (2011.08.22) 光操作法による初期視覚回路特性の抽出と書き換えに伴う構造変化の解析. 新学術領域「メゾスコピック神経回路から探る脳の情報処理基盤」領域会議 (神戸)
 10. Ahmed H, Kawakami R, Fukazawa Y, Shigemoto R (2011.09.15) Right-hemispheric dominance of dentate granular cell c-fos expression after spatial exploration in split-brain mice. 第 33 回日本神経科学大会 (横浜)
 11. Kurita H, Fukazawa Y, Ageta-Ishihara N, Shigemoto R, Kinoshita M (2011.09.15) Ultrastructural localization analysis of septins in mammalian nervous system. 第 33 回日本神経科学大会 (横浜)
 12. Kuki T, Matuzaka Y, Fukazawa Y, Yawo H, Muchiaki H (2011.09.16) Analysis of functional connectivity among cortical layers during optogenetically induced perturbations. 第 33 回日本神経科学大会 (横浜)
 13. Parajuli LK, Fukazawa Y, Shigemoto R (2011.09.17) Presynaptic localization of R-type calcium channel in the interpeduncular nucleus. 第 33 回日本神経科学大会 (横浜)
 14. 松井 広 (2011.09.29) 光による記憶操作の可能性. 生理学研究所研究会「神経活動の光操作 (行動制御への応用)」(岡崎)
 15. Parajuli L, Kulik A, 重本隆一, 深澤有吾 (2011.10.14) R 型電位依存性カルシウムチャネル (Ca_v2.3) のマウス脳内微細局在. 第 71 回日本解剖学会中部支部学術集会 (名古屋)
 16. 松井 広 (2011.10.26) 光操作法による初期視覚回路特性の抽出と書き換えに伴う構造変化の解析. 新学術領域「メゾスコピック神経回路から探る脳の情報処理基盤」領域会議 (熱海)
 17. Ko Matsui (2011.11.13) Physiological impact of limited transmitter diffusion at a multisynapse contact. Society for Neuroscience (Washington DC, USA)

《大脳神経回路論研究部門》

1. Yasuo Kawaguchi (2011.1.29) Neocortical neuron types and local connectivity. Japan-Australia-New Zealand “Building a Functional Brain” Symposium (Auckland, New Zealand)
2. 牛丸弥香 (2011.2.25) Thalamocortical activities in the slow wave. 第 3 回 NAGOYA グローバルリトリート (愛知 知多郡)
3. 窪田芳之 (2011.3) 大脳皮質錐体細胞へのシナプス入力分布. 第 88 回日本生理学会, 第 116 回日本解剖学会 (誌上発表)
4. Andreas Schertel, Yoshiyuki Kubota (2011.8.10) Following the path of microtubules in bifurcated dendrites: Using FIB/SEM microscopy for ultrastructural volume reconstruction of cortical tissue. Microscopy & Microanalysis 2011 Meeting (Nashville, USA)
5. 森島美絵子 (2011.8.20) 前頭皮質における大脳皮質局所回路の解明. 第 2 回名古屋大学医学部研究科・生理学研究所合同シンポジウム (名古屋)
6. Naoki Shigematsu, Yoshiyuki Kubota, Takaichi Fukuda, Yasuo Kawaguchi (2011.9.16) Distribution patterns of corticocortical and thalamocortical excitatory inputs onto neocortical neurons in rat frontal cortex. Neuro2011 (横浜)
7. Takeshi Otsuka, Yasuo Kawaguchi (2011.9.16) Excitatory input patterns to electrically coupled fast spiking cells in cortical circuits. Neuro2011 (横浜)
8. Yumiko Hatanaka, Yamauchi Kenta (2011.9.16) Excitatory cortical neurons with multipolar shape establish neuronal polarity by forming a tangentially oriented axon in the intermediate zone. Neuro2011 (横浜)
9. Yoshiyuki Kubota, Andreas Schertel, Yasuo Kawaguchi (2011.11.13) Microtubule distribution in bifurcated dendrites. 2011 Annual Meeting Society For Neuroscience (Washington DC, USA)
10. Yoshifumi Ueta, Yasuo Kawaguchi (2011.11.16) Laminar specification of corticocortical and corticospinal neurons in rat motor cortical areas. 2011 Annual Meeting Society For Neuroscience (Washington DC, USA)

11. Yoshiyuki Kubota, Fuyuki Karube, Masaki Nomura, Allan T. Gullledge, Atsushi Mochizuki, Andreas Schertel, Yasuo Kawaguchi1 (2011.12.8) Conserved properties of

dendritic trees in four cortical interneuron subtypes. 生理研国際シンポジウム “Cutting edge in synapse research” (岡崎)

《心理生理学研究部門》

1. Sadato N (2011.1.16) The Neural Basis of Social Reward and Decision-Making. Proceedings of The First International Society for Social Neuroscience Symposium (Shanghai, China).
2. 大塩立華, 岡崎俊太郎, 田邊宏樹, 定藤規弘 (2011.2.5) 社会性をつかさどる行動特性・神経基盤の解明。第3回脳プロ公開シンポジウム「未来を拓く脳科学研究」(東京)
3. 定藤規弘 (2011.2.5) 心のふれあいと脳科学。第3回脳プロ公開シンポジウム「未来を拓く脳科学研究」(東京)
4. 定藤規弘 (2011.2.10) MRIを用いた脳機能イメージング研究。自然科学研究機構岡崎統合バイオサイエンスセンター10周年記念シンポジウム(岡崎)
5. 定藤規弘 (2011.2.19) 社会性の脳神経基盤解明を目指して。日本学術会議・心の先端研究と心理学専門教育分科会主催公開シンポジウム(京都)
6. 北田 亮 (2011.3.5) 「触覚による顔認知の神経基盤」。日本認知科学会研究分科会「パターン認識と知覚モデル」研究会(東京)
7. 川道拓東 (2011.4.24) 模倣行為と動機付けの連関における神経基盤の解明。ネアンデルタールとサピエンス交替劇の真相：学習能力の進化に基づく実証的研究 第3回研究大会(東京)
8. 田邊宏樹, 定藤規弘 (2011.4.24) 現代人脳機能地図生成：共同注意の神経基盤と社会的文脈における学習の関係。ネアンデルタールとサピエンス交替劇の真相：学習能力の進化に基づく実証的研究 第3回研究大会(東京)
9. 吉原一文 (2011.5.14) シンポジウム：アレルギー疾患の心理的側面 心療内科におけるアレルギー疾患の病態評価およびその治療ストラテジー。第23回日本アレルギー学会春季臨床大会(千葉)
10. Sadato N (2011.5.31) The Neural Basis of Social Reward and Decision-Making. 3rd GCOE International

Symposium of Animal Global Health (Obihiro, Japan)

11. 定藤規弘 (2011.6.3) 社会能力の発達過程：脳機能画像法によるアプローチ。第26回日本生体磁気学会(福岡)
12. Sasaki AT, Kochiyama T, Sugiura M, Tanabe HC, Sadato N (2011.6.11) Neural networks for action representation. The 15th annual meeting of the Association for the Scientific Study of Consciousness (Kyoto, Japan)
13. Hiroki C. Tanabe, Tomoko Sakai, Yusuke Morito, and Norihiro Sadato (2011.6.11) Neural correlates of subjective colors with Benham's stop: a functional MRI study. The 15th annual meeting of the ASSC (Kyoto, Japan)
14. Tanaka S, Takeda K, Otaka Y, Kita K, Osu R, Honda M, Sadato N, Hanakawa T, Watanabe K (2011.6.22) Non-invasive cortical stimulation enhances lower limb function in chronic stroke patients. 14th European Congress on Clinical Neurophysiology (Rome, Italy)
15. Kawamichi H, Tanabe HC, Takahashi HK, Shimada K, Sadato N (2011.6.27) Directed altruism induced by “warm-glow” through empathy: an fMRI study 17th Annual Meeting of the Organization on Human Brain Mapping (Quebec, Canada)
16. Tanabe HC, Kosaka H, Saito DN, Munetoshi, Okazawa H, Wada Y, Sadato N (2011.6.27) Joint attention between individuals with normal and autism spectrum disorders using dual fMRI. 17th Annual Meeting of the Organization on Human Brain Mapping (Quebec, Canada)
17. Hayashi MJ, Kanai R, Walsh V (2011.7.17) Parietal cortex mediates the interaction between numerosity and time. 8th IBRO World Congress of Neuroscience (Florence, Italy)
18. H. KAWAMICHI, R. KITADA, K. YOSHIHARA, H.K.

- TAKAHASHI & N. SADATO (2011.7.17) Activation of the reward system by joining hands with familiar person: an fMRI study. 8th IBRO World Congress of Neuroscience (Florence, Italy)
19. 田邊宏樹, 定藤規弘 (2011.8.13) 二台の機能的 MRI 同時計測による見つめ合い (mutual gaze) および共同注意 (joint attention) の神経基盤と二個体間の機能的結合。第二回名古屋大学・生理学研究所合同シンポジウム (名古屋)
 20. 北田 亮 (2011.8.22) 触覚による顔認知の神経基盤—晴眼者と視覚障害者の比較。2011 年包括脳夏のワークショップ (神戸)
 21. Yoshihara K (2011.8.27) Symposium: A Psychosomatic Approach to Chronic Fatigue Syndrome. The 21st World Congress on Psychosomatic Medicine (Seoul, Korea)
 22. 岡本悠子, 小坂浩隆, 北田 亮, 田邊宏樹, 棟居俊夫, 石飛 信, 林 正道, 齋藤大輔, 河内山隆紀, 谷中久和, 大森昌夫, 和田有司, 岡沢秀彦, 定藤規弘 (2011.9.1) 自閉症スペクトラムにおける EBA の機能低下—相互模倣時の自他の動作の比較に関わる神経基盤。第 13 回日本ヒト脳機能マッピング学会 (京都)
 23. 佐々木章宏, 河内山隆紀, 杉浦元亮, 田邊宏樹, 定藤規弘 (2011.9.1) 視覚運動的な動作表象を担う脳内ネットワーク, 第 13 回日本ヒト脳機能マッピング学会 (京都)
 24. 田中悟志, 関 啓子, 花川 隆, 西澤 円, 渡邊克巳, 定藤規弘, 本田 学 (2011.9.1) 右半球の損傷に右大脳半球の損傷により珠算式暗算が障害された一例: 機能的 MRI を用いた長期的研究。第 13 回日本脳機能マッピング学会 (京都)
 25. 吉田優美子, 田邊宏樹, 林正道, 河内山隆紀, 定藤規弘 (2011.9.1) 予告効果における補足運動前野を中心とするネットワーク: 機能的 MRI 研究。第 13 回日本ヒト脳機能マッピング学会 (京都)
 26. 岡本悠子, 小坂浩隆, 北田 亮, 田邊宏樹, 棟居俊夫, 石飛 信, 林 正道, 齋藤大輔, 谷中久和, 河内山隆紀, 大森昌夫, 和田有司, 岡沢秀彦, 定藤規弘 (2011.9.15) 自閉症スペクトラムにおける Extrastriate body area (EBA) の機能低下—相互模倣時の自他の動作の比較にかかわる神経基盤。第 34 回日本神経科学大会 (横浜)
 27. 北田 亮 (2011.9.15) fMRI による触覚研究—触覚コミュニケーションを例として—。日本心理学会 (東京)
 28. 田中智子, 高野祐治, 田中悟志, 花川 隆, 廣中直行, 小林和人, 本田 学 (2011.9.15) 経頭蓋直流電気刺激の線条体細胞外ドパミン濃度に対する遠隔影響。第 34 回日本神経科学大会 (横浜)
 29. 松永昌宏, 磯和勲子, 山川香織, 定藤規弘, 大平英樹 (2011.9.15) 日本人における主観的幸福感・内側前頭前野活動・炎症性サイトカイン・主観的社会階層の関連。第 34 回日本神経科学大会 (横浜)
 30. Tanabe HC (2011.9.16) Neural substrates and inter-individual functional connectivity during mutual gaze and joint attention using dual functional MRI. 第 34 回日本神経科学大会 (横浜)
 31. 堺 浩之, 高原美和, 本城尚美, 今西貴之, 土居俊一, 定藤規弘, 内山祐司 (2011.9.17) 前補足運動野の灰白質体積は高齢ドライバの事故リスク要因としての実行機能の個人差を予測する。第 34 回日本神経科学大会 (横浜)
 32. 川道拓東, 田邊宏樹, 高橋陽香, 定藤規弘 (2011.9.17) 温情効果を介して向社会行動の動因となる共感に親密さが与える影響。第 34 回日本神経科学大会 (横浜)
 33. 菅原 翔, 田中悟志, 岡崎俊太郎, 渡邊克巳, 定藤規弘 (2011.9.17) 社会的報酬は運動記憶の固定化を促進する。第 34 回日本神経科学大会 (横浜)
 34. 北田 亮 (2011.10.8) 脳機能イメージング研究から分かること。静岡理工科大学公開講座 (静岡)
 35. 内山祐司, 市川奈穂, 定藤規弘, 堺 浩之, 寺嶋立太, 辛 徳, 脇田敏裕 (2011.10.13) 居眠り反応遅れと視床・脳幹における脳活動の関係。自動車技術会 2011 年秋季大会 (札幌)
 36. Sadato N (2011.10.18) How the blind “see” Braille and the deaf “hear” sign : Lessons from fMRI on the cross-modal plasticity, integration, and learning. 12th International Multisensory Research Forum (Fukuoka, Japan)
 37. Kitada R, Okamoto Y, Sasaki A, Kochiyama T, Miyashita M, Lederman SJ, Sadato N (2011.10.19) Brain network involved in the recognition of facial expressions of emotion in the early blind. 12th International Multisensory Research Forum (Fukuoka, Japan)

38. 川道拓東, 北田 亮, 吉原一文, 佐々木章宏, 高橋陽香, 定藤規弘 (2011.10.24) fMRI を用いた手つなぎ時の脳活動計測。第16回認知神経科学会学術集会(福岡)
39. 定藤規弘 (2011.11.1) 社会能力の発達過程: 脳機能画像法によるアプローチ。第58回中部日本生理学会(福井)
40. 田邊宏樹, 定藤規弘 (2011.11.6) 社会的文脈における学習—社会的認知能力と創造性—。第65回日本人類学会大会(沖縄)
41. 數田俊成, 武田湖太郎, 田中悟志, 大須理英子, 大高洋平, 新城吾郎, 近藤国嗣, 松浦大輔, 上垣内梨恵, 川上路華, 倉片治郎, 里宇明元 (2011.11.11) 経頭蓋直流電気刺激が聴覚言語性短期記憶に及ぼす影響。第41回日本臨床神経生理学会(静岡)
42. 立本将士, 山口智史, 田中悟志, 大高洋平, 大須理英子, 近藤国嗣, 定藤規弘 (2011.11.12) 電極の貼付位置の違いが経頭蓋直流電気刺激による下肢運動皮質興奮性に及ぼす影響。第41回日本臨床神経生理学会(静岡)
43. Kasahara K, Tanaka S, Hanakawa T, Senoo A, Honda M (2011.11.14) Effects of bihemispheric transcranial direct current stimulation (tDCS) over the parietal cortex on a calculation task. The 41th Annual Meeting of the Society for Neuroscience (Washington DC, USA)
44. Kawamichi H, Sasaki AT, Takahashi HK, Tanabe HC, Sadato N. (2011.11.14) Empathy for social positive emotion activates cognitive empathy network. The 41th Annual Meeting of the Society for Neuroscience (Washington DC, USA)
45. Makita K, Yokokawa H, Tanabe HC, Yoshida H, Murase M, Sadato N (2011.11.14) The role of the right cerebellum during foreign language vocabulary learning enhanced by the phonological loop: an fMRI study. The 41th Annual Meeting of the Society for Neuroscience (Washington DC, USA)
46. Tanaka T, Takano Y, Tanaka S, Hanakawa T, Hironaka N, Kobayashi K, Honda M (2011.11.14) Long-term effect of the transcranial direct current stimulation on the extracellular dopamine levels in the striatum. The 41th Annual Meeting of the Society for Neuroscience (Washington DC, USA)
47. Sugawara S, Tanaka S, Okazaki S, Watanabe K, Sadato N (2011.11.16) Social praise enhances the off-line improvement of the procedural motor skill. The 41th Annual Meeting of the Society for Neuroscience (Washington DC, USA)
48. 吉原一文 (2011.11.26) アレルギー疾患における心身相関の評価および治療の実践。第16回日本心療内科学会総会・学術大会(東京)
49. 川道拓東 (2011.12.10) 模倣行為と動機付けの連関における神経基盤の解明。ネアンデルタールとサピエンス交替劇の真相: 学習能力の進化に基づく実証的研究 第4回研究大会(岡崎)
50. 田邊宏樹 (2011.12.10) 現代人脳機能地図作成: 社会的認知能力の萌芽としての共同注意—その神経基盤を探る—。ネアンデルタールとサピエンス交替劇の真相: 学習能力の進化に基づく実証的研究 第4回研究大会(岡崎)

《認知行動発達機構研究部門》

1. 伊佐 正 (2011.2.5) 神経回路をひも解く技術革命。第3回脳プロ公開シンポジウム(東京)
2. 伊佐 正 (2011.5.28) 脊髄損傷・視覚野損傷後の機能代償機構—霊長類モデルでの実験的検証—。第46回日本理学療法学会学術大会(宮崎)
3. 西村幸男 (2011.5.19) Brain-machine-interface はどこまで可能か? 第52回日本神経学会学術大会(名古屋)
4. Masatoshi Yoshida, Kana Takaura, Tadashi Isa (2011.6.12) Neural correlate of blindsight generated in the superior colliculus. ASSC15(京都)
5. 吉田正俊 (2011.6.13) Neural information processing in the superior colliculus of blindsight monkey. SSC15 Satellite Symposium “Neurophysiology of Attention and Awareness”(京都)
6. Rikako Kato, Kana Takaura, Takuro Ikeda, Masatoshi

- Yoshida, Tadashi Isa (2011.6.12) Retino-tectal pathway is essential for visually guided saccades after V1 lesion: an implication for neural network of 'blindsight'. ASSC15 (京都)
7. Kana Takaura, Masatoshi Yoshida, Tadashi Isa (2011.6.12) Spatial working memory in the monkeys with unilateral lesion of V1. ASSC15 (京都)
 8. 渡辺秀典, 佐藤雅昭, 鈴木隆文, 川人光男, 西村幸男, 南部 篤, 伊佐 正 (2011.6.17) サル一次運動野における ECoG による運動関連皮質内神経活動の推定。第 5 回 Motor Control 研究会 (岡崎)
 9. 梅田達也, 佐藤雅昭, 川人光男, 伊佐 正 (2011.6.17) Extraction of appropriate sensory receptor ensembles encoding forelimb joint kinematics in monkeys. 第 5 回 Motor Control 研究会 (岡崎)
 10. 加藤利佳子, 高浦加奈, 池田琢朗, 吉田正俊, 伊佐正 (2011.6.17) 第一次視覚野損傷後の視覚誘導性サッケードにおける網膜視蓋経路の役割 第 5 回 Motor Control 研究会 (岡崎)
 11. 西村幸男 (2011.7.2) 人工神経接続によるニューロリハビリテーションの可能性。Neurorehabilitation Conference (東京)
 12. M. Yoshida, K. Takaura & T. Isa (2011.7.15) Neural correlate of blindsight in the superior colliculus. IBRO 2011 (フィレンツェ, イタリア)
 13. 西村幸男 (2011.7.15) 人工神経接続によるブレインコンピューターインタフェイス。名工大ー自然科学研究機構第一回合同講演会 (名古屋)
 14. 伊佐 正 (2011.8.4) Dissecting the superior colliculus on the dish. Gordon Research Conference "Eye movement" (USA)
 15. 伊佐 正 (2011.8.20) 神経回路をひも解く技術革命ー経路選択的・可逆的神経伝達遮断法による手指巧緻運動制御系の解析。第 2 回名古屋大学医学研究科ー生理学研究所合同シンポジウム (名古屋)
 16. 西村幸男 (2011.8.20) 人工皮質脊髄路による運動機能再建。第 2 回名古屋大学医学研究科ー生理学研究所合同シンポジウム (名古屋)
 17. Tatsuya Umeda, Masahito Takahashi, Anusara Vattananjun, Kaoru Isa, Tadashi Isa (2011.8.20) Development of the ipsilateral corticospinal pathways for compensation of forelimb movements after the neonatal hemidecortication. 第 2 回名古屋大学医学研究科ー生理学研究所合同シンポジウム (名古屋)
 18. 木下正治, 松井亮介, 加藤成樹, 笠原洋紀, 伊佐かおる, 西村幸男, 渡辺 大, 小林 和, 伊佐 正 (2011.8.20) 遺伝子導入を用いた経路選択的なサル脊髄固有ニューロン活動の遮断による到達把持運動の阻害。第 2 回名古屋大学医学研究科ー生理学研究所合同シンポジウム (名古屋)
 19. 伊佐 正 (2011.9.17) マカクザル運動関連皮質領野における遺伝子発現のマイクロアレイ法による網羅的解析。第 34 回日本神経科学大会 (横浜)
 20. 木下正治, 松井亮介, 加藤茂樹, 笠原洋紀, 伊佐かおる, 西村幸男, 渡辺 大, 小林和人, 伊佐 正 (2011.9.17) マカクザル脊髄固有ニューロン活動の経路選択的な遮断による到達一把持運動の阻害。第 34 回日本神経科学大会 (横浜)
 21. 吉田正俊, 伊佐 正 (2011.9.15) エクスプレスサッカーには第一次視覚野は必須ではない。第 34 回日本神経科学大会 (横浜)
 22. 渡辺秀典, 佐藤雅昭, 鈴木隆文, 川人光男, 西村幸男, 南部 篤, 伊佐 正 (2011.9.15) サル一次運動野における ECoG による運動関連皮質内神経活動の再構成。第 34 回日本神経科学大会 (横浜)
 23. 坂谷智也, 渡邊秀典, 西村幸男, 南部 篤, 長谷川功, 鈴木隆文, 佐藤雅昭, 川人光男, 伊佐 正 (2011.9.15) 自発活動を用いた高密度皮質表面脳波からの皮質深部 LFP 推定。第 34 回日本神経科学大会 (横浜)
 24. 西村幸男 (2011.9.16) Primate corticospinal connections can be strengthened by an artificial corticospinal connection during free behavior. 第 34 回日本神経科学大会 (横浜)
 25. 梅田達也, 佐藤雅昭, 川人光男, 伊佐 正 (2011.9.16) 上肢運動軌跡をコードするサル後根神経節活動の解析。第 34 回日本神経科学大会 (横浜)
 26. 木下正治, 伊佐 正 (2011.9.29) 大型動物 (霊長類) の行動の制御を可能にする optogenetics の実現に向けて。第 3 回光操作研究会 (岡崎)
 27. 伊佐 正 (2011.10.15) 遺伝子導入法を駆使した新しい脳科学研究法の開発と応用。脳プロ公開シンポジウム in KANSAI (大阪)
 28. 伊佐 正 (2011.10.30) Structure and function of

- “unconscious” visuo-motor system. 第17回国際生物物理学会シンポジウム (北京, 中国)
29. 西村幸男 (2011.11.3) 人工神経接続による運動機能再建. 第48回日本リハビリテーション学会 (千葉)
30. 渡辺秀典, 佐藤雅昭, 鈴木隆文, 川人光男, 西村幸男, 南部 篤, 伊佐 正 (2011.11.1) サル一次運動

野における皮質脳波による運動関連皮質内神経活動の推定. 第58回中部日本生理学会 (福井)

31. 吉田正俊 (2011.11.14) Express saccade without V1. Annual meeting of the Society for Neuroscience (Washington DC, USA)

《生体恒常機能発達機構研究部門》

1. 渡部美穂, 鍋倉淳一 (2011.1.29) 発達/傷害によるカリウム-クロライド共役担体 (KCC2) の機能制御. 第1回放射線神経生物学研究集会 (群馬)
2. 鍋倉淳一 (2011.3) 脳障害における神経回路再編の生体内イメージング 第28回日本医学会総会 (Web発表 (大会中止のため))
3. Hirao K, Ishibashi H, Nabekura J (2011.3) Developmental change of synaptic input modulation in mouse lateral superior olive neurons. 第88回日本生理学会大会 (紙上開催)
4. Miyamoto A, Jiang R, Goeldner M, Nielsen M, Nabekura J, Ishibashi H (2011.3) Enhancement of synaptic and extrasynaptic GABA_A receptor function by flavonoid-derived retrochalcones 第88回日本生理学会大会 第116回日本解剖学会総会・全国学術集会合同大会 (紙上開催)
5. Kei Eto (2011.3.9) In vivo imaging of the activities of astrocytes and neurons in the primary somatosensory cortex under inflammatory chronic pain conditions. Gordon Research Conference; Glia Biology: Functional Interactions among Glia & Neurons (Ventura, U. S.)
6. Nabekura J (2011.6.8) Microglia Surveillance of Synapses. Interaction of the immune and neuroendocrine systems in health and disease (St. Petersburg, Russia)
7. Nabekura J (2011.8.1) Microglia Surveillance of Synapses and fate of damaged synapse. 第11回中国神経科学会 (鄭州, 中国)
8. Kei Eto (2011.8.3) Enhanced activity of mouse layer 2/3 inhibitory neurons in the primary somatosensory cortex in chronic inflammatory pain. 6th international conference of Neurons and Brain Disease in Toyama, Annual meeting of association for Neurons and brain

disease (富山)

9. Akiko Miyamoto, Ruotian Jiang, Maurice Goeldner, Mogens Nielsen, Thomas Grutter, Junichi Nabekura, Hitoshi Ishibashi (2011.9.13) Potentiation of phasic and tonic GABA_A response by flavonoid derivatives, The 7th FAOPS Congress (Taipei, Taiwan)
10. Yoshihisa Nakahata, Hitoshi Ishibashi, Kei Eto, Junichi Nabekura (2011.9.13) TASK channel-mediated excitation of locus coeruleus noradrenergic neurons by thyrotropin-releasing hormone. The 7th FAOPS Congress (Taipei, taiwan)
11. 渡部美穂, 加藤昌克, 佐久間康夫, 鍋倉淳一 (2011.9.16) GnRHニューロンにおける興奮性GABA作用の役割. 第34回日本神経科学大会 (横浜)
12. 江藤 圭, 和氣弘明, 石橋 仁, 渡部美穂, 鍋倉淳一 (2011.9.16) 一次体性感覚野と前帯状回の皮質間リモデリングにより慢性疼痛行動が亢進する. 第34回日本神経科学大会 (横浜)
13. 石橋 仁, 江藤 圭, 金 善光, 鍋倉淳一 (2011.9.17) TRHの慢性疼痛に対する作用とその機序. Taltirelin, a thyrotropin-releasing hormone analog, alleviates mechanical allodynia through descending pain inhibitory systems in a mouse model of inflammatory chronic pain. 第34回日本神経科学大会 (Neuroscience 2011) (横浜)
14. Nabekura J (2011.10.8) Remodeling of Neuronal Circuits in vivo. The 59th Annual Meeting of Japanese Association for Dental Research (広島)
15. Inada H, Watanabe M, Uchida T, Ishibashi H, Wake H, Nemoto T, Yanagawa Y, Fukuda A, Nabekura J (2011.11.15) GABA regulates the multidirectional tangential migration of GABAergic interneurons in living neonatal mice. 第41回北米神経科学会

(Washington, DC)

16. 渡部美穂, 鍋倉淳一 (2011.11.25) 細胞内クロライド調節分子 K^+Cl^- 共役担体 (KCC2) のリン酸化による機能制御。浜松医科大学セミナー (浜松)
17. 中畑義久 (2011.12.1) 神経伝達物質の変化に伴うグリシン受容体の局在と機能的変化。総合研究大学院大学 第8回生命科学リトリート (掛川)
18. 石川達也 (2011.12.1) 局所薬剤投与による活動依存的なスパイン運動性の変化。総合研究大学院大学生命科学リトリート (掛川)
19. 宮本愛喜子 (2011.12.1) ミクログリアの神経回路再編における役割の解明。Role of microglia in neural circuit formation and reorganization. 総合研究大学院

大学 生命科学リトリート (掛川)

20. 渡部美穂 (2011.12.4) GnRH ニューロンの機能制御。第17回「性と生殖」公開シンポジウム エストロゲンと本能行動 (東京)
21. 平尾顕三, 石橋 仁, 鍋倉淳一 (2011.12.5) 脳幹外側上オリーブ核におけるノルアドレナリン機能の発達変化。生理学研究所研究会「シナプス伝達概念志向型研究」(岡崎)
22. Watanabe M, Kato M, Sakuma Y, Nabekura J (2011.12.7) The role of excitatory action of GABA in adult GnRH neurons. 第2回国際放射線神経生物学会大会 The second meeting of International Society for Radiation Neurobiology (前橋)

《生殖・内分泌系発達機構研究部門》

1. 岡本土毅 (2011.1.22) 肥満マウスの食餌嗜好性に及ぼす視床下部室傍核 AMP キナーゼの調節作用。日本病態生理学学会 第2回サテライトセミナー (神戸)
2. Minokoshi Y, Shiuchi T (2011.3.28) Regulatory mechanism of hypothalamic orexin in energy metabolism in skeletal muscle. The 88th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan (Yokohama)
3. Tang L, Shiuchi T, Toda C, Okamoto S, Minokoshi Y (2011.3.28) Intracerebroventricular administration of Agouti-related peptide increases proinflammatory cytokine expression in epididymal white adipose tissue. The 88th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan (Yokohama)
4. Horio S, Kitaike S, Shiuchi T, Minokoshi Y, Sanbo M, Hirabayashi T, Yagi T, Kai N, Kobayashi K, Ueyama T, Fukui H (2011.3.28) Selective ablation of histamine H1 receptor-expressing neurons in the hypothalamus to study their role in the regulation of food intake. The 88th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan (Yokohama)
5. Uchida K, Dezaki K, Boldbaatar D, Nadav H, Shiuchi T, Mori Y, Yada T, Minokoshi Y, Tominaga M (2011.3.28) Involvement of TRPM2 in insulin secretion via intracellular Ca^{2+} -dependent and -independent mechanisms. The 88th Annual Meeting of the Physiological Society of

Japan (Yokohama)

6. Inagaki-Ohara K, Yoshimura A, Matsuzaki G, Kato S, Minokoshi Y (2011.3.28) Requirement of leptin/leptin receptor signaling for the development of gastric cancer induced by SOCS3 loss in mice. The 88th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan (Yokohama)
7. 箕越靖彦 (2011.5.25) 視床下部 AMP キナーゼによる摂食調節機構。日本分子生物学会第10回春季シンポジウム (金沢)
8. 箕越靖彦 (2011.6.10) 視床下部 AMPK によるエネルギー代謝調節機構。第30回成長ホルモン成長因子セミナー (東京)
9. Minokoshi Y, Shiuchi T (2011.8.14) Hypothalamic and sympathetic control of muscle metabolism. FASEB Summer Research Conferences Glucose transporters, signaling, and Diabetes (Colorado, USA)
10. 箕越靖彦 (2011.9.8) 食から肥満とやせのなぞを探る。～摂食と代謝調節の脳内機構～。第58回日本栄養改善学会学術総会, 教育講演 (広島)
11. 岡本土毅, 箕越靖彦 (2011.9) 食餌嗜好性に及ぼす視床下部室傍核 CRH ニューロンの AMP キナーゼ調節作用。第32回日本肥満学会, シンポジウム「摂食・エネルギー代謝調節」(淡路)
12. 戸田知得, 箕越靖彦 (2011.9.23) レプチンによる末

- 梢組織での糖代謝調節に関わる視床下部腹内側核のシグナル伝達機構。第 32 回日本肥満学会 (淡路)
13. 堀尾修平, 志内哲也, 箕越靖彦, 小林和人, 上山敬司 (2011.9.23) マウス視床下部室傍核のヒスタミン H1 受容体発現ニューロンの選択的死滅による摂食亢進。第 32 回日本肥満学会 (淡路)
14. 種子島幸祐, 岡本土毅, 中山由起, 多屋長治, 設楽

- 浩志, 石井理絵, 米川博通, 箕越靖彦, 原 孝彦 (2011.9.23) CXC ケモカイン CXCL14 を介した摂食調節機構の解析。第 32 回日本肥満学会 (淡路)
15. 箕越靖彦 (2011.10.29 及び 2011.11.12) メタボリックシンドロームはなぜ起こる? ~分子から解き明かす脳とからだの不思議な関係~。第 31 回コスモ・バイオプロダクトセミナー (東京及び大阪)

《個別研究 (村上グループ)》

1. Wei F (2011.2.7) Salivary fluid secretion induced by Chinese herb, Danshen. Gordon Research Conference Salivary Gland and Exocrine Biology (Galveston, USA)
2. Murakami M, Wei F (2011.3.30) Linear relation of hydrostatic pressure with fluorescent dye secretion and partially with fluid secretion in the isolated perfused submandibular salivary gland. 88th annual meeting of the Physiological Society of Japan (In: J Physiol Scis 61Suppl: S262)
3. Wei F, Murakami M (2011.3.30) Salivary fluid secretion induced by Chinese herb, Danshen. 88th annual meeting of the Physiological Society of Japan. (In: J Physiol Scis 61-Suppl: S210)
4. Seo Y, Satoh K, Watanabe K, Morita H, Takamata A, Ogino T, Murakami M (2011.3.30) A low affinity manganese chelate for manganese ion enhanced MRI. 88th annual meeting of the Physiological Society of Japan (In J Physiol Scis 61-Suppl: S273)
5. Murakami M, Wei F (2011.9.12) Driving force of paracellular fluid transport by the salivary gland of rat. The 7th Congress of FAOPS 2011 TAIWAN (Taipei, Taiwan)
6. Wei F, Murakami M (2011.9.12) Salivary fluid secretion induced by chinese herb, Danshen. The 7th Congress of FAOPS 2011 TAIWAN (Taipei, Taiwan)
7. Murakami M (2011.9.16) Assessment of paracellular transport by isolated, perfused mandibular salivary gland. Symposium on Epithelial Receptors, Signaling and Secretion (Manchester, UK)
8. 村上政隆, 魏 飛 (2011.12.3) 静水圧依存性水分分泌に及ぼすムスカリン/ β アドレナリン受容体刺激の影響。第 56 回日本唾液腺学会学術大会 (東京)
9. 魏 飛, 村上政隆 (2011.12.3) 漢方薬丹参の唾液分泌促進機構。第 56 回日本唾液腺学会学術大会 (東京)

《個別研究 (毛利グループ)》

1. Mohri T, Hirohashi N, (2011.9.10) Spatio-temporal changes in intracellular ATP and mitochondrial activation during sea urchin fertilization. The 65th annual meeting of the Society of General Physiologists (Woods Hole, MA USA)
2. 毛利達磨, 経塚啓一郎, (2011.3.30) ウニ卵受精時の一酸化窒素産生とミトコンドリアの活性化。第 88 回日本生理解剖合同学会 (誌上)
3. 毛利達磨 (2011.9.21) 新規 ATP プローブによるウニ卵受精時の細胞内 ATP 変化測定。第 82 回日本動物学会 (旭川)

《特別研究（永山グループ）》

1. Yi Chen, Hideki Shigematsu, Kuniaki Nagayama, Fred J. Sigworth (2012. 2) Measuring Membrane Potentials with Cryo-EM. The Biophysical Society Meeting (USA)
2. 関由起子, 萩原小百合, 村田和義, 永山國昭, 金子康子 (2011.9.18) 桿状シアノバクテリアの細胞分裂と細胞内構造の観察。日本植物学会第 75 回大会（東京）
3. 関由起子, 萩原小百合, 村田和義, 永山國昭, 金子康子 (2011.11.30) 桿状シアノバクテリアの細胞分裂と細胞内構造の変動。平成 23 年度生理学研究
4. 山田博之, Apoorva Bhatt, William R. Jacobs, Jr., 藤原永年, 前田伸司, 御手洗聡, 新田浩二, Radostin Danev, 永山國昭 (2011.5) 抗酸性を消失した *kasB* KO 結核菌 cell envelope の急速凍結法および Cryo-TEM による観察。日本顕微鏡学会第 67 回学術講演会（福岡）

《遺伝子改変動物作製室》

1. 後藤哲平, 深沼達也, 安部仁美, 富川順子, 三宝 誠, 富田江一, 平林真澄, 岡村裕昭, 東村博子, 前多敬一郎, 上野山賀久 (2011.4.23) 緑色蛍光タンパク (GFP) によるキスペプチンニューロン可視化マウスの作出。第 84 回日本内分泌学会（神戸）
2. 田村千尋, 三宝 誠, 加藤めぐみ, 小林俊寛, 中内啓光, 保地眞一, 平林真澄 (2011.5.25) 4 倍体胚補充による ES/iPS 細胞のみに由来するラット産仔作製の試み。第 58 回日本実験動物学会（東京）
3. 原 弘真, 森田 大, 桑山正成, 平林真澄, 保地眞一 (2011.5.22) 顕微授精, 精子凍結乾燥, 卵子ガラス化の各行程がウシ微小管形成中心の機能発現に及ぼす影響。第 52 回日本哺乳動物卵子学会（大田原）
4. Kobayashi T, Kato-Itoh M, Yamaguchi T, Hamanaka S, Hirabayashi M, Nakauchi M (2011.7.15) Generation of Rat Embryo in Mouse by Tetraploid Complementation Using Pluripotent Stem Cells. The 9th Annual Meeting of International Society for Stem Cell Research (Toronto, Canada)
5. 安部仁美, 後藤哲平, 深沼達也, 高瀬健治, 三宝 誠, 富田江一, 平林真澄, 今村拓也, 富川順子, 上野山賀久, 東村博子, 前多敬一郎 (2011. 8. 25) トランスジェニックマウスを用いたキスペプチンニューロンの機能解析。第 26 回日本下垂体研究会学術集会（倉敷）
6. 中村 翔, 柳原 萌, 平嶋 昂, 後藤哲平, 深沼達也, 三宝 誠, 富田江一, 平林真澄, 今村拓也, 富川順子, 上野山賀久, 東村博子, 前多敬一郎 (2011. 8.25) 性腺刺激ホルモン放出ホルモンパルス発生機構における弓状核キスペプチンニューロンの役割。第 26 回日本下垂体研究会学術集会（倉敷）
7. 平林真澄, 田村千尋, 三宝 誠, 後藤哲平, 加藤めぐみ, 小林俊寛, 中内啓光, 保地眞一 (2011.9.13) 4 倍体胚盤胞期胚に注入したラット ES 細胞の産仔発生能について。第 104 回日本繁殖生物学会（盛岡）
8. 臼井紀好, 渡辺啓介, 小野勝彦, 富田江一, 玉巻伸章, 池中一裕, 竹林浩秀 (2011. 9. 15) 感覚神経発生における運動ニューロン由来 NT-3 の役割。第 34 回日本神経科学大会（横浜）
9. 後藤哲平, 富川順子, 深沼達也, 安部仁美, 高瀬健志, 今村拓也, 三宝誠, 富田江一, 平林真澄, 東村博子, 前多敬一郎, 上野山賀久 (2011. 9. 16) Kiss1 遺伝子下流領域が前腹側室周囲核のキスペプチン発現に必須である。第 104 回日本繁殖生物学会大会（盛岡）
10. Goto T, Tomikawa J, Fukanuma T, Abe H, Takase K, Imamura T, Sanbo M, Tomita K, Hirabayashi M, Tsukamura H, Maeda K, Uenoyama Y (2011.10.10) Transgenic mice expressing GFP in two populations of kisspeptin neurons in the hypothalamus. The 2nd Meeting of World Congress on Reproductive Biology (Cairns, Australia)
11. 平山晃斉, 横田慎一, 平野敬三, 金子涼輔, 豊田峻輔, 河村佳見, 平林真澄, 平林敬浩, 足澤悦子, Niels Galjart, 吉村由美子, 八木 健 (2011.12.13) Gene regulation of the clustered Protocadherin and its disruption 第 34 回日本分子生物学会（横浜）

《行動様式解析室》

1. 森下裕貴, 吉岡靖雄, 高雄啓三, 山下浩平, 東阪和馬, 藤村真穂, 潘 慧燕, 小椋健正, 長野一也, 阿部康弘, 鎌田春彦, 角田慎一, 鍋師裕美, 伊藤徳夫, 吉川友章, 宮川 剛, 堤 康央 (2011.7.11~13) 非晶質ナノシリカの胎仔期曝露による次世代影響の基礎的検討. 第38回日本トキシコロジー学会学術年会 (横浜)
2. Takao K, Kobayashi K, Hagihara H, Ohira K, Toyama K, Shoji H, Nakamura H, Furuya S, Takagi T, Ishii S, Miyakawa T (2011.8.3~5) Mice lacking Schnurri-2 show schizophrenia-related phenotypes and inflammatory-like responses in the brain. The 6th International Conference of Neurons and Brain Disease (ICNBD) (富山)
3. Morisita Y, Yoshioka Y, Takao K, Yamashita K, Yoshikawa T, Itoh N, Miyakawa T, Tsutsumi Y (2011.8.28~31) Postnatal effects of prenatal treatment of amorphous nanosilica. The 47th Congress of the European Societies of Toxicology (Paris, France)
4. 辻川 幸, 高雄啓三, 宮川 剛, 二宮治明, 眞崎知生, 垣塚 彰 (2011.9.21~24) Involvement of MAGI1 c-fosin schizophrenia like behavioral abnormality. 第84回生化学会大会 (京都)
5. Yao I, Takao K, Miyakawa T, Ito S, Setou M (2011.9.21~24) F-box protein SCRAPPER and hippocampus-dependent fear memory formation. 第84回日本生化学会大会 (京都)
6. Takao K, Hagihara H, Kobayashi K, Ohira K, Toyama K, Takagi T, Ishii S, Miyakawa T (2011.9.14~17) Mice lacking Schnurri-2 displayed cortical abnormalities related to schizophrenia. 第34回日本神経科学大会 (横浜)
7. Kobayashi M, Miyake M, Motomiya M, Takao K, Koda T, Miyakawa T, Matsuoka I (2011.9.14~17) Alteration of BDNF expression in hippocampus of BRINP1-KO mice. 第34回日本神経科学大会 (横浜)
8. Nakamura H, Takao K, Toyama K, Takagi T, Ishii S, Miyakawa T (2011.9.14~17) Gene expression analysis of hippocampi from alpha-CaMKII heterozygous knockout (KO) mice and Schnurri-2 KO mice using public microarray databases. 第34回日本神経科学大会 (横浜)
9. Watanabe Y, Tsujimura A, Takao K, Miyakawa T, Tanaka M (2011.9.14~17) Behavior analysis of relaxin-3 deficient mice. 第34回日本神経科学大会 (横浜)
10. Takao K (2011.9.19~20) Deficiency of Schnurri-2 confers schizophrenia-related phenotypes and inflammatory-like phenomenon in the brain. KSBNS-MCCS-Asia Conference (Seoul, Korea)
11. Takeuchi H, Inoue H, Higuchi M, Takao K, Tsukita K, Karatsu Y, Iwamoto Y, Miyakawa T, Suhara T, Takahashi R (2011.9.26~28) P301S Mutant Human Tau Transgenic Mice Show Early Symptoms of Human Tauopathies with Dementia and Altered Sensorimotor Gating. 第54回日本神経化学会大会 (石川)
12. 渡邊彰大, 小河 匡, 高雄啓三, 友永省三, 平林義雄, 宮川 剛, 古屋茂樹 (2011.11.4) 脳内 L-Ser 合成不全が惹起する不安関連情動行動障害. 日本アミノ酸学会第5回学術大会 (名古屋)
13. Yao I, Takao K, Miyakawa T, Ito S, Setou M (2011.11.12~16) Synaptic E3 ligase SCRAPPER is crucial for hippocampus-dependent fear memory formation. Neuroscience 2011 (Washington DC, USA)
14. Takeuchi H, Iba M, Inoue H, Higuchi M, Takao K, Tsukita K, Karatsu Y, Iwamoto Y, Miyakawa T, Suhara T, Trojanowski J.Q, Lee V.M, Takahashi R (2011.11.12~16) P301S mutant human tau transgenic mice manifest early symptoms of human tauopathies with dementia and altered sensorimotor gating. Neuroscience 2011 (Washington DC, USA)
15. Takao K, Hagihara H, Ohira K, Toyama K, Takagi T, Ishii S, Miyakawa T (2011.11.12~16) Mice lacking Schnurri-2 displayed cortical abnormalities related to schizophrenia. Neuroscience 2011 (Washington DC USA)
16. 竹内啓喜, 井上治久, 樋口真人, 高雄啓三, 月田香代子, 唐津歆子, 岩本由美子, 宮川 剛, 須原哲也, 高橋良輔 (2011.12.13~16) Early symptoms of human tauopathies with dementia and altered sensorimotor gating of P301S mutant human tau transgenic mice. 第34回日本分子生物学会年会 (横浜)

《形態情報解析室》

1. 村田和義 (2011.2.18) ゼルニケ位相差低温電顕による生体分子の構造解析。大阪大学超高压電子顕微鏡センターセミナー (大阪)
2. 村田和義 (2011.2.28) 60 年を要した位相差電子顕微鏡の開発と生物応用の現状。日本学術振興会 169 委員会第 34 回研究会 (東京)
3. Kazuyoshi Murata (2011.3.15) Phase Plate Electron Microscopy for Structural Determination at nano- and subnanometer resolutions. International Symposium on Encounters and Leaps in Science (Nagoya)
4. 村田和義, 重本隆一 (2011.5.16) 医学・生物学専用超高压電子顕微鏡にできること。日本顕微鏡学会第 67 回学術講演会 (福岡)
5. 村田和義 (2011.6.19) 超高压電子顕微鏡のミクロ生物研究への応用。第 2 回西日本原生生物コロキウム (滋賀)
6. 村田和義 (2011.9.29) Zernike 位相差電子顕微鏡の原理と生物応用。日本顕微鏡学会第 55 回シンポジウム (高松)
7. 村田和義 (2011.11) 超高压電子顕微鏡の医学・生物学応用。第 1 回名古屋大学反応科学超高压電子顕微鏡ワークショップ (名古屋)
8. 村田和義 (2011.12.16) Zernike 位相差電子顕微鏡の原理と生物応用。日本顕微鏡学会平成 23 年度「マテリアル電子線トモグラフィ研究部会」講演会 (東京)
9. 古家喜四夫, 古家園子, 曾我部正博: Localization of NK1 receptors and roles of substance-P in subepithelial fibroblasts of rat intestinal villi 第 88 回日本生理学会大会生理学会 (2011.3.30) (横浜)

《多光子顕微鏡室》

1. 村越秀治 (2011.9.16) Imaging Rho GTPases activation in single dendritic spines by 2-photon fluorescence lifetime imaging microscopy. 第 49 回日本生物物理学会 (姫路)
2. 村越秀治, 安田涼平 (2012.3.29) 海馬神経細胞上のスパイン内での Rho GTPase 活性化イメージング。第 89 回日本生理学会 (長野)

《動物実験センター》

1. 木村 透 (2011.5.26) ワークショップⅡ「動物の麻酔モニタリング指針ー実験動物の麻酔について考察する」齧歯類の麻酔モニタリング指針。第 58 回日本実験動物学会総会 (東京)
2. 木村 透, 窪田美津子 (2011.5.25) 気化過酸化水素 (過酸化水素ガス) および過酢酸ミストを用いた実験動物室の効果的除染。第 58 回日本実験動物学会総会 (東京)
3. 木村 透 (2011.9.19) 血中の乳酸およびピルビン酸値に基づくサルの急性胃拡張症の診断。第 150 回日本獣医学会学術集会 (大阪)

【 一般共同研究報告 】

一般共同研究報告

〔 目 次 〕

1. イオンチャネル・受容体の機能とその調節機構の解析, および生体における役割の解明 (吉村 崇ほか) ...	147
2. 腸内の味覚成分を化学受容する仕組みの解明 (齊藤 修ほか)	147
3. マウス脳スライス標本を用いた ATP とグルタミン酸放出のリアルタイムイメージング解析 (柴崎貢志ほか)	148
4. 脳・神経系発生分化過程において時空間特異的な発現をする糖鎖の構造と機能の解析と医療への応用 (辻 崇一ほか)	149
5. グリア細胞の発生・再生過程の解析と, その脳高次機能における役割の探索 (竹林浩秀ほか)	149
6. fMRI による自律神経活動の四次元イメージング解析 (瀬尾芳輝ほか)	150
7. 唾液腺分泌終末における細胞間結合の調節機構: 細胞内信号系と神経系による調節 (杉谷博士ほか)	151
8. 脳の形成に必須の分泌蛋白質リリーンの分解制御機構解明 (服部光治ほか)	151
9. 新規 Cl^- チャネルファミリーTMEM16 の機能解析 (清水貴浩ほか)	152
10. アレルギー鼻炎における TRP チャネルの分子病態生理学的役割の検討 (門脇 真ほか)	152
11. フィブリノーゲンに対する膵 β 細胞応答 (最上秀夫ほか)	153
12. 細胞死刺激に対する感受性と細胞周期との関連性について (酒巻和弘ほか)	154
13. 新規神経ペプチド QRFP の睡眠-覚醒調節における役割の解明 (岡田ゆふ子ほか)	154
14. 質感認知の神経ネットワーク基盤の研究 (一戸紀孝ほか)	155
15. 掻痒シナプス伝達機序の <i>in vivo</i> パッチクランプ解析 (倉石 泰ほか)	155
16. うつ病モデルラットにおける痛覚変容のメカニズムに関する研究 ー脊髄 <i>in vivo</i> パッチクランプ記録法を用いた集学的アプローチ (神野尚三ほか)	156
17. 大脳皮質における錐体細胞間抑制の機能解析 (小松由紀夫ほか)	157
18. ゼブラフィッシュを用いた脳脊髄神経回路の成熟過程の生理学的・分子生物学的研究 (小田洋一ほか)	157
19. ゼブラフィッシュを用いたセロトニン神経回路の生理学的・分子生物学的研究 (前川真吾ほか)	158
20. 電気生理学的手法を用いた大脳皮質神経ネットワークの効率的な解析に向けた試験的研究 (星 英司ほか)	158
21. 辺縁皮質刺激に対する大脳基底核のニューロン応答 (佐藤澄人ほか)	159
22. 遺伝子改変サルモデルを用いた大脳基底核の機能と病態の解明 (井上謙一ほか)	159
23. 情動関連神経回路における慢性痛誘発シナプス可塑性固定化機構の解明 (加藤総夫)	160
24. 遺伝子改変動物を利用した抑制性ニューロンの特性についての研究 (柳川右千夫)	160
25. ラット前頭皮質における錐体細胞投射サブタイプの同定及び結合特異性の解析 (平井康治ほか)	161
26. 大脳皮質および大脳基底核による網様体脊髄路の制御 (高草木薫ほか)	161
27. 中脳上丘での視覚情報処理機構の解析 (金田勝幸ほか)	162
28. 人工神経代替装置によるニューロリハビリテーション法の開発 (小宮山伴与志ほか)	163
29. 局所脳梗塞後の健常側神経回路の再構築 (高鶴裕介ほか)	163
30. 二光子励起型 NO ドナー化合物による時間空間選択的な NO 投与法の開発 (中川秀彦ほか)	164
31. 摂食・代謝中枢ニューロンにおけるシグナル伝達機構と摂食行動連関 (前島裕子ほか)	164
32. 高スループット化電子線トモグラフィー法の生物試料のためのセグメンテーション法の開発 (馬場則男ほか)	165
33. 電子顕微鏡トモグラフィーによる核内クロマチン高次構造の解析 (加藤幹男ほか)	166
34. てんかん・発達障害原因遺伝子 CDKL5 ノックアウトマウスの網羅的行動テストバッテリー スクリーニングによる生体内分子機能解析 (田中輝幸ほか)	166
35. 左旋性光学異性体局所麻酔薬の作用機序に関する研究 (川真田樹人ほか)	167
36. 脊髄におけるグレリン応答性神経細胞の同定 (池田あずさほか)	167

37. 随意運動発言を司る神経機構の研究 (美馬達哉ほか)	168
38. ラットヒゲにおける一次感覚ニューロンの機能形態の同時追究 (榎原智美ほか)	168
39. 精神遅滞原因遺伝子 IL1RAPL1 欠損マウスの表現型解析 (安村美里ほか)	169
40. マーモセットにおける皮質脊髄路—脊髄運動ニューロン結合の電気生理学的解析 (牛場潤一ほか)	170
41. 脳損傷後の麻痺肢集中使用による中枢神経系再編への影響の解析 (飛田秀樹ほか)	171

1. イオンチャネル・受容体の機能とその調節機構の解析、および生体における役割の解明

吉村 崇，中根右介，太田 航（名古屋大学大学院生命農学研究科）
 岡村康司，藤原祐一郎（大阪大学大学院医学系研究科／生命機能研究科）
 西野敦雄（大阪大学大学院理学研究科）
 前嶋 翔（富山大学大学院理工学教育部）

吉村グループは前年度の研究で、マウスの脳で発現する光受容タンパク質「オプシン 5」を単離し、ツメガエルの卵母細胞を用いて機能を解析したところ、オプシン 5 は短波長光に応答する光受容器であることが明らかになった。今年度は、生体における役割を明らかにすることを目的とした。まずオプシン 5 の局在を明らかにするために、*in situ* ハイブリダイゼーション法により解析したところ、網膜の神経節細胞と脳の視索前野に発現が観察された。次にオプシン 5 遺伝子座に EGFP をレポーターとしてノックインしたオプシン 5 ノックアウトマウスを作製した。このマウスでは mRNA の発現が観察された視索前野に EGFP が発現していることが確認できた。現在 EGFP 陽性細胞においてスライスパッチクランプ解析を行っている。またオプシン 5 の欠損が概日リズムの光同調に及ぼす影響についても検討している。

また、岡村グループは電位センサー蛋白の VSP について、動物種間での分子機能の比較を行った。トリ、ゼブラフィッシュ、ホヤ、ヒトのオルソログ間で、HEK293T 細胞への強制発現系を用いて、whole cell patch 記録を行ったところ、ゲート電流の電位依存性の閾値が、ホヤ、ゼブラフィッシュ、トリの順番で高くなっており、ヒト

では、ゲート電流は記録されなかった。一方、細胞内酵素領域の特性を比較したところ、ホヤ、ヒト、ゼブラフィッシュでは、基質であるイノシトールリン脂質についてほぼ同様の基質特異性を示し、これまでホヤの VSP で知られていた PIP3, PI (4,5) P2 を脱リン酸化したが、トリの VSP では PI (4,5) P2 に対する脱リン酸化が著明に減弱していた。発現量や、電位センサー機能の相違の効果を除外する目的で、電位センサー領域をホヤのものに固定したキメラを作成し、酵素機能を、トリとヒトとホヤの間で比較した。その結果、トリ VSP の酵素は、PI (4,5) P2 に対して活性が弱いことが確認された。そこで、培養線維芽細胞にトリ VSP を強制発現させた。顕著な突起伸張を認め、S4 の変異体で、電位依存性を過分極側へシフトさせたものでは、さらに突起伸張が促進された。PTEN との共発現では、トリ VSP による突起伸張効果は減弱したことから、細胞内に PI (3,4) P2 が増加することにより細胞骨格系を変化させた結果として細胞形態が変化したと考えられた。一方、ホヤ VSP では、このような突起伸張効果は見られたものの、その程度は、トリ VSP の場合ほど顕著ではなかった。

2. 腸内の味覚成分を化学受容する仕組みの解明

齊藤 修，黒木麻湖，織田麻衣，宮田睦月（長浜バイオ大学バイオサイエンス学部）
 久保義弘（生理学研究所）

動物の消化管には食物成分を識別する化学受容の系が存在するが、その分子機構の詳細は殆ど明らかにされていない。一方、近年になり味覚と腸内成分センシングの類似性が主張されるようになり、我々は小腸内分泌細胞株 STC-1 を用いて味覚センサー系の探索を行った。結果、この細胞は味覚の 5 基本味の全てに反応し、さらには渋

み成分の茶カテキンにも応答する能力があることが判明した。今年度は、更に以下の研究を進めた。

【甘味応答】舌の甘味受容には、T1R ファミリーの T1R2 と T1R3 の二量体が受容体として働く。一方、甘味に応答する小腸細胞 STC-1 の T1R ファミリーの発現を解析した結果、T1R3 のみが検出された。即ち、STC-1 細胞には

舌とは別の甘味受容系が存在することが示唆される。そこで、STC-1 細胞に舌と全く同じ T1R3 が発現しているのか、さらには STC-1 細胞の甘味応答にこの T1R3 が実際に使われているのかどうか T1R3 の Knock Down 実験で検討した。結果、STC-1 細胞に発現しているのは、既知の T1R3 ではなく N 端 170 アミノ酸を欠失したバリエーションであることが判明した。また、shRNA 発現ベクターの導入によりこの T1R3 バリエーションの発現を抑えると、やはり甘味応答は消失した。以上のことから、小腸細胞 STC-1 には N 端欠失 T1R3 を使った特殊な甘味応答の仕組みが存在することが明らかになった。

【渋味応答】現在、味覚成分の渋味の受容体はまだ特定されていない。一方、我々は、マウス小腸細胞の STC-1 が茶カテキンに Ca^{2+} 応答する事を見つけ出し、そのカテキン応答を担う因子が TRPA1 チャンネルであることを昨年報告した。本年はまず、実際にお茶を飲むヒト、マウス、

さらに魚類のゼブラフィッシュでどの程度 TRPA1 のカテキン応答性があるのか解析した。結果、ヒトの方がマウスに比べ茶カテキンの特に EGCG への感受性が高いこと、更にゼブラフィッシュの二種の TRPA1a と b はどちらもカテキン応答性が全くないことが判明し、生物種特異的な応答であることが分かってきた。また、茶カテキンは時間経過と共に渋味が増すことが知られている。そこで、TRPA1 の活性化能が時間経過と共にどう変化するか検討を行った。すると、溶解してすぐの EGCG は、極めて活性が低く、溶解後 2 時間以降に顕著に TRPA1 を活性化することになること、更に酸化防止剤であるアスコルビン酸を添加しておくことこの変化は起こらないことが判明した。即ち、TRPA1 を活性化するのは EGCG そのものではなく、その酸化産物であることが分かってきた。現在、その分子の実体を捉える検討を行っている。

3. マウス脳スライス標本を用いた ATP とグルタミン酸放出のリアルタイムイメージング解析

柴崎貢志 (群馬大学大学院医学系研究科分子細胞生物学分野)

関野祐子 (国立医薬品食品衛生研究所薬理部)

中枢神経系には神経細胞だけでなく、神経細胞の数倍のグリア細胞が存在する。特に、数的優位を呈するアストロサイトは神経細胞と寄り添うように存在することから、神経細胞と機能関連していると想定され、近年の研究で、アストロサイトも積極的に神経情報伝達に貢献することがわかってきた。しかしながら、グリア細胞を用いた研究の進展は、神経研究に比べるとまだまだ発達段階にあり、グリア細胞の機能解析・分子レベルの研究の推進が急務である。そして、神経細胞とグリア細胞の研究結果が融合してこそ、脳機能を制御する分子メカニズムの実体を明らかとすることが出来る。

近年、アストロサイトが放出する重要なグリオトランスミッターとして ATP とグルタミン酸の 2 種類が同定された。これらグリオトランスミッターがニューロン機能の調節を行っているのは間違いないが、どのようなアストロサイトが ATP とグルタミン酸を放出するのか？あるいは、どのようなタイムコースで放出が行われるのかは全く不明である。この謎を解き明かすためには、特殊

なリアルタイムイメージング技術を必要とする。

生理学研究所 (池中一裕教授の研究室) には、上記のイメージングを可能とする超高感度画像取得システムが生理学研究共同利用機器として導入され、ルシフェリン・ルシフェラーゼによる化学発光を基盤とした細胞からのリアルタイム ATP イメージングが行われている。

今回、我々は、マウス海馬スライス標本からの ATP 放出リアルタイムイメージングを試みた。昨年度、柴崎は、生理学研究一般共同利用研究の課題で、2 種類の TRPV4 特異的なリガンドを投与したところ、おおよそ 1 割程度のアストロサイトから ATP 放出が起こることを観察している。今回、これらアストロサイトが海馬のどの部位に分布し、ATP を放出するのかを測定した。関野は、海馬スライス標本にグルタミン酸を投与した際に特定細胞から ATP 放出が認められることを見いだした。この ATP 放出は NMDA 受容体阻害剤に投与により減弱したため、NMDA 受容体の活性化を引き金にしていることが示唆された。この ATP 放出は TRPV4KO アストロサイ

トで次年度は、ATP 放出に関わる詳細な分子メカニズムを調べ、海馬における ATP 放出機構の解明とその生理学

的意義を解き明かしていく予定である。

4. 脳・神経系発生分化過程において時空間特異的な発現をする糖鎖の構造と機能の解析と医療への応用

辻 崇一¹，正木 勉²，松本卓巳¹，出口章広³，山中龍也⁴

(¹東海大学糖鎖科学研究所，²東海大学大学院工学系研究科，

³香川大学・医学部，⁴京都府立医科大学・医学部)

【はじめに】糖鎖は主に細胞表層に局在する糖タンパク質や脂質などに結合し，細胞間相互作用をはじめとして様々な役割を演じている。神経系の発生分化過程や病変に伴い，これら糖鎖の組成はダイナミックに変動することを示す状況証拠は多いが，その実態をまだ把握できていないのが現状である。そこで，糖鎖分析と糖鎖関連遺伝子群の発現解析を通じて発生分化過程の糖鎖変化を網羅的に把握すること，さらにこれらの知見を基に，様々な病気と糖鎖変化の関連を解析することも本研究の主たる目的とする。神経系の発生分化過程に参画する糖鎖関連遺伝子は少なくとも 200 前後はあると考えられるが，本共同研究ではまず手始めとしてシアル酸転移酵素ファミリーに焦点を絞って解析をする。それは，糖鎖の中でも非還元末端にシアル酸を持つ糖鎖が神経系機能や発生分化過程で様々な役割・機能を発現していると考えられているからである。同酵素ファミリーは少なくとも 20 種のメンバーからなるが，中には神経系発生分化過程で時空間特異的な発現をするものがあることが明らかになっている。その実態を詳細に把握するために，個々の遺伝子が何時何処で発現し，あるいはシャットダウンす

るのかをまず明らかにし，本研究の基盤整備を進める。

【研究結果・考察】マウス C57BL6 の神経系発生分化過程で発現時期が限定されていることが明らかになったシアル酸転移酵素メンバーについて，発現部位の特定をすすめた。今年度は ST3Gal-I と-II について解析を進めた。両酵素は基本的な受容体糖鎖特異性は良く似ているが，In vitro しかも界面活性剤存在下で見ると -I は糖タンパク質，-II は糖脂質をそれぞれ良い基質にするように見える。しかし，細胞あるいは組織・個体レベルで見ると特異性の差よりも，どちらかというが発現する時期・部位による差の方がより顕著であるらしいことが明らかになってきた。マウスの mRNA 発現で見ると，特に心臓を中心とする循環器系では ST3Gal-I はユビキタス型の発現をしているが，-II は胎児期には発現がみられるものの，生後その発現はほぼ完全に抑えられている。一方，マウスの心臓は胎児期，生後いずれもシアル酸を持つ糖脂質（ガングリオシド）が存在している。従って，-I，-II は基質特異性よりはもっと大きな何らかの役割分担がなされているものと考えられるに至った。

5. グリア細胞の発生・再生過程の解析と，その脳高次機能における役割の探索

竹林浩秀，渡辺啓介（新潟大学・医学部）

小野勝彦，後藤仁志（京都府立医科大学）

鹿川哲史（東京医科歯科大学・難治疾患研究所）

池田一裕（生理学研究所・分子神経生理部門）

グリア細胞は，従来，ニューロンのすき間を埋める補助的な細胞と考えられてきた。しかし近年の研究により，

シナプスの数の制御やシナプス伝達効率の制御を行うなど，神経活動の制御に積極的に関わっていることが知ら

れてきている。さらには、神経発生過程において特定の領域由来のグリア細胞が特異的な機能を持つ可能性も指摘されてきており、グリア細胞の発生機序、および再生過程を明らかにする事は、益々重要性を増している。

哺乳類の網膜には、中枢性のミエリン形成グリア細胞であるオリゴデンドロサイトは存在しないが、鳥類の網膜には存在することが知られている。3 つミエリン関連遺伝子 (proteolipid protein, PLP; myelin basic protein, MBP; cyclic nucleotide phosphodiesterase, CNP) の発現を *in situ* hybridization にて検出することにより、ニワトリ胚の網膜におけるオリゴデンドロサイトの発生過程を詳細に観察した。後期ニワトリ胚 (14 日) でこれらの発現が始まること、そして、ほとんどのオリゴデンドロサイトマーカー発現細胞が網膜の内側の視神経線維層と神経節細胞層に存在することを明らかにした (Gotoh et al., *Gene Expr Patterns* 2011)。従来より、ニワトリ胚網膜ではミュー

ラー細胞がミエリン形成を担うという考えがあったが、ミューラー細胞ではミエリン蛋白遺伝子の発現は見られなかった。

オリゴデンドロサイトの発生に必須の転写因子である Olig2 の遺伝子座にタモキシフェン誘導性 Cre 遺伝子を挿入した Olig2-CreER ノックインマウスを用いて、発生期の間脳における細胞系譜追跡実験をおこなった。胎生 10 日の早い時期の細胞系譜追跡実験により、抑制性ニューロンがほとんどを占める prethalamic nuclei (zona incerta, ZI; ventral lateral geniculate nucleus, vLG; reticular thalamic nucleus, RT) の GABA ニューロンが胎生 Olig2 陽性細胞から産み出される事を明らかにした (Inamura et al., *Dev Neurosci* 2011)。

現在は、グリア細胞が脳の高次機能に与える影響を調べるために、特定のグリア細胞で遺伝子発現を制御する実験系の確立を視野に入れて研究を進めている。

6. fMRI による自律神経活動の四次元イメージング解析

瀬尾芳輝, 佐藤慶太郎, 荻野孝史 (獨協医科大学 医学部)

森田啓之, 安部 力 (岐阜大学 大学院医学研究科)

鷹股 亮 (奈良女子大学 生活環境学部)

丸山 正, 藤倉克則 (海洋研究開発機構, 海洋生物多様性研究プログラム)

村上政隆 (生理学研究所)

脳機能画像法 (fMRI) により、自律神経中枢の神経活動を空間的・経時的に測定し解析する事を目標として実験を行った。その中で、新規 Mn 造影剤、および、深海性無脊椎動物についての研究成果を報告する。

マンガン造影脳機能画像法 (MEMRI) は高い検出感度を持つが、造影に Mn^{2+} イオンを用いるため、循環器系や脳神経活動の抑制が問題となる。 Mn^{2+} イオン濃度を抑制するために、低安定度定数の Mn キレートの利用を考えた。 Mn -citrate ($pK_a' = 4.0$), Mn -HIDA ($pK_a' = 5.0$) を候補とし、1) ラット循環機能への影響、2) 静脈投与後の脳実質への取り込み速度、3) 視床下部視索上核 (直径 300 μm) の神経活動の検出感度について、従来用いていた $MnCl_2$ と Mn -bicine ($pK_a' = 2.9$) と比較検討した。 Mn -citrate と Mn -HIDA は循環系・自律神経系への影響が小さく、脳実質への取り込み速度や MEMRI の検出感度も同程度であり、新たな MEMRI 造影剤として利用できることが

判明した。

深海性海洋生物は、その生息環境が特殊な環境であり、その生理機能制御系を明らかにすることにより、陸生動物の生理機能制御系の理解を深化するモデル系として期待できる。全く新規の研究対象であり、本年度は、三次元 MRI 計測および fMRI 計測に必要な MRI 測定技術の開発を行った。まず、固定標本を用い、シロウリガイ、ホネクイハナムシ、ハオリムシなどを T_1 強調三次元画像法により測定し、組織学的知見と比較検討した。生体については、パイロット実験として、ハマグリを 72 mm 径プローブに設置し、Biospec 4.7 T MRI により測定した。人工海水はイオン強度が 0.6 と高いため、哺乳動物測定用 (イオン強度 0.15) に調整されたプローブには負荷が大きく、貝周囲に人工海水を充満した状態では周波数同調できなかった。ハマグリは空気暴露にたいして耐性が高いので、貝を空气中に置き測定を行った。 T_2 強調 SE 画像

では、閉殻筋や中腸腺、消化管等が描出でき、良好な組織内コントラストが得られた。一方、 T_1 強調 GE 画像法は、GdDTPA 造影剤を用いると、殻内の人工海水や消化

管腔が T_1 強調画像でコントラストよく造影できることがわかった。今後、プローブの調整範囲限界にあわせた灌流システムを作成し、深海性生物の生体測定に挑む。

7. 唾液腺分泌終末における細胞間結合の調節機構： 細胞内信号系と神経系による調節

杉谷博士¹，福島美和子²，橋本貞充³，成田貴則¹，佐藤慶太郎⁴，瀬尾芳輝⁴，村上政隆⁵

(¹ 日本大学・生物資源科学部・獣医生化学研究室，² 日本大学・松戸歯学部・生理学講座，

³ 東京歯科大学・生物学講座，⁴ 獨協医科大学・生理学講座，⁵ 自然科学研究機構・生理学研究所)

細胞骨格構成タンパク質であるアクチンは様々な細胞機能に関わっている。単量体アクチンは集合してフィラメント状の F-アクチンを形成するが、Jasplakinolide は F-アクチン安定化剤として知られている。唾液腺腺房細胞においては、ムスカリン性受容体刺激はイオンおよび水分分泌を促進し、また β 受容体刺激はタンパク質分泌を促進するが、遊離ラット耳下腺腺房細胞を Jasplakinolide 処理すると、ムスカリン性アゴニストによる K^+ 分泌や β アゴニストによるアミラーゼ分泌が抑制された。phalloidin 染色による F-アクチンの局在の検討では、無処理の細胞での細胞表層と腺腔側の局在が Jasplakinolide 処理細胞では認められないことから、Jasplakinolide の効果は F-アクチンに対する以外にあると考えた。Jasplakinolide 処理細胞の形態観察では、細胞の萎縮と細胞膜の突出というアポトーシス様の変化が認められ、電子顕微鏡による Jasplakinolide 処理細胞の観察においても、核の凝集、核の断片化、細胞表面に泡状突起というアポトーシス様の形態変化が認められた。抗体を用いたアポトーシス DNA

である一本鎖 DNA の変化の検討では、Jasplakinolide 処理細胞において抗体陽性反応が促進された。また Jasplakinolide 処理細胞より抽出した DNA においてはアガロースゲル電気泳動法により断片化が確認された。アポトーシスにはカスパーゼの活性化が必要であることから、カスパーゼ阻害剤の存在下で Jasplakinolide 処理を行うと、アポトーシスの特徴である細胞萎縮や細胞膜の突出が抑制された。スペクトリンファミリーの 1 つであるフォドリンはアポトーシスの過程に関与することから、特異抗体を用いてイムノブロット法により検討を行ったところ、未処理の細胞で認められた 250 kDa のフォドリンの 120 kDa への分解が Jasplakinolide 処理で促進された。これらの結果から、Jasplakinolide はラット耳下腺腺房細胞にアポトーシスを引き起こし、唾液分泌機能低下をもたらすことが明らかとなった。唾液分泌機能低下を主訴とするシェーグレン症候群において唾液腺細胞のアポトーシスの関与があることから、病態機序解明に貢献できるモデル系と考えられる。

8. 脳の形成に必須の分泌蛋白質リーリンの分解制御機構解明

服部光治（名古屋市立大学・大学院薬学研究科）

深田優子，深田正紀

リーリン (Reelin) は脳の層構造形成や機能発現に必須の分泌蛋白質である。これまでに申請者はリーリンが細胞外で特異的な分解を受け、これにより完全に機能を失うことを証明している。本研究では、リーリン分解反応を触媒する酵素の同定および、その酵素の活性制御機

構を解明し、リーリンによる層構造形成制御機構の全貌を理解することを目指した。

私どもは脳皮質神経細胞の培養上清からリーリン分解活性を指標に複数のカラムクロマトグラフィーを用いて、標的プロテアーゼの部分精製に成功した。そして、

プロテアーゼ画分の銀染色により複数の候補蛋白質を検出した。生理学研究所、生体膜研究部門（深田博士）との共同研究にて、候補蛋白質を網羅的に質量分析法にて同定した。同定した蛋白質の中には新規の分泌型プロテアーゼが存在しており、現在その候補蛋白質の解析を精力的に進めている。また、候補蛋白質の神経細胞内や大

脳における分布を解析している。

さらに、リーリンはシナプス可塑性にも関与していることが報告されているので、生体膜研究部門において解析している分子群との相互作用に関しても引き続き検討していく予定である。

9. 新規 Cl⁻チャネルファミリーTMEM16 の機能解析

清水貴浩, 酒井秀紀 (富山大学大学院医学薬学研究部)

佐藤かおり, 岡田泰伸 (生理学研究所)

Transmembrane protein 16 (TMEM16) は、近年機能が同定された新規 Cl⁻チャネルファミリーであり、そのファミリーに属する TMEM16A と 16B は細胞内 Ca²⁺濃度の増加により賦活化される Ca²⁺依存性 Cl⁻チャネル (CaCC) として機能することが報告されている。昨年度までに、私達は TMEM16 ファミリーの一員である TMEM16F も CaCC として機能することを明らかにしている。しかしながら、最近他のグループが、TMEM16F がアポトーシス刺激時に活性化する外向整流性 Cl⁻チャネルとして機能すると報告した。したがって本年度は、TMEM16F がミトコンドリア系のアポトーシス誘導メカニズムに寄与しているのかについて検討した。TMEM16F を内在的に発現している HEK293T 細胞に、ミトコンドリア系アポ

トーシス誘導剤であるスタウロスポリンを処理すると、アポトーシス誘導に寄与する外向整流性 Cl⁻チャネルの活性化が観測された。一方で、HEK293T 細胞の TMEM16F を siRNA 処理によりノックダウンしても、スタウロスポリン処理により生じる Cl⁻チャネル電流に変化はなかった。また、TMEM16F を発現している HeLa 細胞においてスタウロスポリンにより生じるアポトーシス性容積減少 (AVD) をコールターカウンター法により測定したところ、スタウロスポリン処理後に誘導される AVD は、TMEM16F をノックダウンしてもコントロール細胞と同様に観測された。これらの結果から、TMEM16F はアポトーシス刺激時に活性化する外向整流性 Cl⁻チャネルとしては機能していないことが結論された。

10. アレルギー鼻炎における TRP チャネルの分子病態生理学的役割の検討

門脇 真, 織田 聡, 王 曉宇, 李 在敏 (富山大学和漢医薬学総合研究所)

内田邦敏, 富永真琴 (生理学研究所・岡崎統合バイオサイエンスセンター)

近年、温度感受性 TRP チャネルの免疫細胞における発現とその作用が明らかになりつつある。本一般共同研究では、生理学研究所の富永真琴教授と共に、マスト細胞に発現する温度感受性 TRP チャネルの生理学的機能とその病態生理学的意義を検討し、さらにアレルギー性疾患の新たな治療薬の創薬ターゲットとしての有用性を検討することを目的とした。

そこで、まずマウスの骨髄細胞由来マスト細胞 (BMMC) を作製して TRP チャネルの遺伝子発現を検討

したところ、TRPV2, V4, A1, M2 及び M4 の遺伝子発現が認められた。そこで、免疫系との関連が注目され始めた TRPM2 チャネルのマスト細胞の活性化への関与を検討するため、BMMC でのパッチクランプ法を用いた TRPM2 チャネル電流の測定及び抗原刺激脱顆粒反応により放出されたβ-hexosaminidase の酵素活性の測定を行った。さらに、マスト細胞の抗原刺激脱顆粒反応に必要な細胞内カルシウム濃度上昇を Ca-imaging 法を用いて測定した。

TRPM2 チャネル欠損マウスより得た BMMC (TRPM2KO-BMMC) と野生型 BMMC (wild-BMMC) との比較検討では, wild-BMMC で認められた TRPM2 チャネル電流が TRPM2KO-BMMC では殆ど観察することはできなかった。また, 抗原刺激によるマスト細胞の活性化に伴う細胞外カルシウムの流入による細胞内カルシウム濃度上昇は TRPM2KO-BMMC で有意に低かった。さらに, 抗原刺激脱顆粒反応は TRPM2KO-BMMC で有意に低かった。

化学構造の異なる 3 種類の TRPM2 チャネル阻害剤である econazole, flufenamic acid 及び 2-APB を用いた検討では, いずれの阻害剤も TRPM2 チャネル電流, 細胞外カルシウムの流入による細胞内カルシウム濃度上昇及び

抗原刺激脱顆粒反応を有意に抑制した。

そこで, TRPM2 チャネルの活性化の病態生理学的意義を明らかにするため, マスト細胞が原因細胞としてその発症や病態形成に関わるマウス食物アレルギー病態モデルで, TRPM2 チャネル阻害剤の効果を検討した。その結果, econazole および flufenamic acid はいずれも食物アレルギーの発症を抑制した。

以上より, 抗原刺激時には TRPM2 チャネルを介した細胞外カルシウムの流入が惹起され, 細胞内カルシウム濃度が上昇してマスト細胞が活性化すると考えられる。さらに, この TRPM2 チャネルによる細胞外カルシウムの流入は, アレルギーの発症や病態形成にも関与していることが明らかになった。

11. フィブリノーゲンに対する膵β細胞応答

最上秀夫 (浜松大学)

富永真琴, 加塩麻紀子 (生理学研究所・岡崎統合バイオサイエンスセンター)

膵島移植は, 経皮経肝的に膵臓から単離した膵島を門脈内に注入し, 患者の門脈支流からの血流を受けて膵島を機能させる方法である。手技的には単純であるが, 移植直後に 70% の膵島破壊 (細胞死) が惹起されることより成績は芳しくなく未だに臨床応用は試験段階のままである。しかも, その詳細な機構は不明で破壊防止策の手段は見いだされていない。一方, 血液凝固系のうち血小板を含まない最小系 (フィブリン網形成に必要なトロンビン, フィブリノーゲンの要素だけの系) でも膵島移植モデル細胞であるインスリン産生株化細胞群の細胞死を惹起するという事実が見いだされている。このことは, 産生されるフィブリン網による収縮力または伸展力が膵島細胞群の細胞死を惹起することを示唆している。即ち, 外部からの力学的変化が細胞膜上にあるインテグリン活性あるいはイオンチャネル活性の上昇を介して情報変換し細胞内に伝達され細胞死に至ると考えられる。この現

象の分子メカニズムを解明するために, 膵臓β細胞に強く発現して機械刺激感受性を有する TRPM2 イオンチャネルが関与するとの仮説をたてて実験を行った。

1) TRPM2 ノックダウン INS-1 細胞を作成して, 電気生理学的に ADPR による反応の低下と電位依存性 Ca^{2+} チャネルの機能が保持されていることを確認した。このノックダウン細胞に対するフィブリノーゲンの反応は明らかに低下しており, 過酸化酸素 (H_2O_2) による反応も低下していることを確認した。TRPM2 ノックダウン細胞において全血投与したときの PS 表出を確認中である。2) 原子間力顕微鏡を用いて, INS 細胞のカルシウムシグナル反応が惹起されることを確認した。3) 電子顕微鏡によるフィブリン網と細胞内骨格の分子構造するために, 血小板とフィブリノーゲン結合サンプルを用いて作成した金コロイド標識フィブリン抗体の有効性を確認中である。

12. 細胞死刺激に対する感受性と細胞周期との関連性について

酒巻和弘 (京都大学大学院生命科学研究科)

富永真琴 (生理学研究所細胞生理研究部門)

【目的】細胞死の一種アポトーシスの過程では、細胞死の刺激を受けた細胞が収縮や小胞形成などの形態変化を起こしながら最終的にアポトーシス小体を形成して死に至ることが知られている。ヒトやマウスなどの培養細胞を用いたこれまでの研究から、細胞死刺激に対する感受性が同じ細胞集団中の個々の細胞で異なることが知られている。この感受性の違いは細胞周期に依存している可能性が考えられた。本研究では、細胞周期を特定できる細胞株を用いて、外因性アポトーシス刺激に対する細胞の感受性を調べることで、細胞死と細胞周期との関係を明らかにする。またカスパーゼ標的分子の可能性が高い K2P チャネル-タンパク質に着目し、この分子の発現量とアポトーシス刺激に対する細胞の形態変化の関係を検証する。

【方法】(1) 細胞死刺激に対する細胞周期依存性の検討。細胞周期を特定できる Fucci2 細胞を用いて、アゴニスティック抗 Fas 抗体などの外因性アポトーシス刺激因子に対する反応を細胞の形態変化を指標として、周期特異的な感受性あるいは耐性の有無について In cell analyzer

を用いて統計的に解析する。(2) カスパーゼ標的分子と細胞形態の変動との関連性について。K2P チャネル-タンパク質は、アポトーシス実行因子のカスパーゼによって認識・切断される配列を有していることから、細胞死の過程において機能が変化することが考えられた。野生型とカスパーゼによって切断をされない変異型をそれぞれ細胞に発現させて、抗 Fas 抗体で細胞死刺激した際に見られる細胞の形態的变化を In cell analyzer を用いて解析する。

【成果・考察】抗 Fas 抗体によるアポトーシス刺激に対し、Fucci2 細胞ではいずれの細胞周期でも細胞死が観察された。これは、特定の細胞周期に限定されないことを示唆する。また、野生型の K2P チャネルを過剰発現した細胞は、親株あるいは非切断型 K2P チャネルを発現する細胞に比べ、アポトーシス刺激により細胞収縮の促進化が認められた。アポトーシスの際、K2P チャネルの構造変化が起こり、それが引き金となって細胞収縮が誘導された可能性を強く示唆する。

13. 新規神経ペプチド QRFP の睡眠-覚醒調節における役割の解明

岡田ゆふ子, 寺尾 晶, 富田潤一, 岡松優子, 木村和弘 (北海道大学大学院獣医学研究科)

山中章弘 (生理学研究所)

ピログルタミル化 RF アミドペプチド (QRFP) はオーファン受容体 GPR103 の内因性リガンドとして新規に同定された神経ペプチドである。QRFP は中枢神経系において視床下部に強く発現し、摂食促進および自発運動亢進作用を示すことから、睡眠・覚醒調節系への関与が示唆される。そこで本研究では睡眠・覚醒調節における QRFP の役割を解明することを目的とし、マウスを用いて外因性に QRFP を与えた場合と、QRFP を欠損させた場合の睡眠・覚醒について解析した。今年度で得られた実験結果の要点は下記のようにまとめられる。1) 野生型マウスに QRFP を側脳室内投与することで自発運動量の

亢進と共に、覚醒量が増加し、NREM 睡眠量、REM 睡眠量の減少が認められた。この時、覚醒エピソードの平均持続時間は大きく延長し、導入回数は減少した。逆に、NREM 睡眠、REM 睡眠エピソードの平均持続時間と導入回数は共に減少した。このことから、QRFP には覚醒系を増強する作用を有することが明らかとなった。2) QRFP 欠損マウスについて、網羅的睡眠表現型解析 (睡眠の概日リズム、睡眠・覚醒量、睡眠・覚醒のエピソード解析) を以下の3条件において実施し、結果を野生型マウスと比較した。i) 通常状態においては QRFP 欠損マウスと野生型マウスで顕著な相違を認めなかった。ii) 6

時間断眠実験を実施し、断眠処置後のリバウンド睡眠を解析したところ、QRPF 欠損マウスと野生型マウスで顕著な相違を認めなかった。iii) 生理的食塩水の腹腔内投与を施し、物理的なストレスを与えると、QRPF 欠損マウスは野生型マウスよりも有意に覚醒時間の延長を認め

た。このことから、QRPF がストレス応答経路に影響を与えている可能性が考えられた。今後は、QRPF のストレス応答経路を介した覚醒系増強作用に注目して研究を進めていきたいと考えている。

14. 質感認知の神経ネットワーク基盤の研究

一戸紀孝, 鈴木 航, 宮川尚久, 坂野 拓

(国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 微細構造研究部)

谷 利樹 (弘前大学大学院・医学研究科・生体構造医科学講座)

小松英彦 (生理学研究所 感覚認知情報研究部門)

小松らは、これまで視覚研究の中で欠落していた質感の研究において近年目覚ましい研究の発展・発表を行っている。視覚系の研究が形態の研究に、集中している中で、この方向性はユニークで画期的な研究である。しかし、質感は、必ずしもはっきりと定義し難いものであることや、その物理学的モデルの提案も遅れている困難なフロンティア領域である。小松らのグループは、この新しい視覚系の研究領域を確実な定義とマカクの電気生理学的研究およびマカクとヒトの fMRI を用いて、新しい道を開いて来た。

本共同利用の代表者の一戸のグループは主として、新世界ザルであるマーモセットを用いて、電気生理学的研究を行って来た。マーモセットを用いるメリットは、霊長類でありながら溝が少なく、存在してもかなり浅く表面からの電極刺入が可能であるからである。また、マーモセットは一戸グループの開発した、表面からの線維連絡可視化法に向いており、例えば質感に反応する部位が上側頭溝にあった際に、そこに投射する V2, V3, V4, TEO, MT, MST, IT 等を可視化し、それらの領域からの同時記

録も可能とし、質感情報形成のメカニズムに迫れる可能性があるからである。

本年度は、一戸研と小松研で協力して作成した質感視覚刺激（3つの形態と8つの質感、色の異なった3つの刺激）を用い、マーモセットの上側頭溝の後端からの、多点電極記録を試みた。2頭の動物を用いたが、特に上側頭溝の溝の深い領域においては、ANOVAにより質感のみに主効果がある細胞が多くみられ、かつそれらが反応する刺激は強い光沢を持つという特徴がみられた（例えば、ガラス、メタル）、それより腹側の細胞群は、やはり質感にのみ主効果がある細胞が、上記ほどではないが存在し、しかも明度の低い質感（例えば、レザー、毛）に特異的に反応する傾向が見られた。今後、例数を増やすと同時に領域を広げて、上側頭溝周囲において質感のマップを作っていきたいと考えている。また、そのマップが出来たら、トレーサーにより、情報の入ってくる領域を同定し、それらの領域とともに同時に記録して、質感の情報変換のメカニズムに迫りたいと考えている。

15. 掻痒シナプス伝達機序の in vivo パッチクランプ解析

倉石 泰, 安東嗣修 (富山大学大学院医学薬学研究部応用薬理学)

歌 大介, 古江秀昌, 井本敬二 (神経シグナル)

脊髄における痒み伝達機序の解明に向け、行動薬理学的解析に加え、in vivo パッチクランプ法による解析を試

みた。

【結果】ラットに serotonin (5-HT) を後肢足甲に塗布する

と塗布後 10~15 分をピークとして噛み動作 (biting, 痒み関連反応) が観察され, 5-HT 塗布後 40 分後までには消失した。一方, 舐め動作 (licking, 痛み関連反応) は, ほとんど観察されなかった。また, 5-HT をマウスの頬に塗布すると塗布後 5~10 分をピークとして後肢による掻き動作 (scratching, 痒み関連反応) が観察され, 塗布後 40 分後までには消失した。一方, 前肢による擦り反応 (wiping, 痛み関連反応) は, ほとんど観察されなかった。In vivo パッチクランプ法を用い -70mV の電位固定下に脊髄後角から記録し, 皮膚への 5-HT 塗布により誘起されるシナプス応答の詳細な解析を行った。その結果, 約 30% の脊髄後角細胞において振幅の大きな自発性興奮性シナプス後電流 (EPSC) の発生頻度が著明に増大し, その応答は数 10 分以上にわたり持続した。

【考察】Histamine は内因性痒み因子としてよく知られているが, ラットでは痒み反応惹起作用は非常に弱い。そこで本研究では, マウスとラットにおいて皮内注射によ

り痒み反応を誘発する 5-HT を用いた。また, 5-HT は痛覚増強作用も有することが知られているため, 5-HT 溶液の皮膚への塗布が痒みを生じ痛みは生じないか検討した。5-HT の塗布により, 痒み関連動作である噛み動作が誘発され, 痛み関連動作である舐め動作はほとんど起らなかった。近年, 動物の行動で痒みと痛みを識別する方法として cheek モデルが報告されている (Shimada and LaMotte: Pain, 2008)。頬への起痒物質の注射では後肢による掻き動作を示し, 発痛物質の注射では前肢による擦り反応を示す。5-HT の頬への塗布では, 後肢による掻き動作が生じ, 擦り反応は生じなかった。これらの結果を勘案すると, 5-HT 塗布は, ラットに痒み刺激を与えるが痛み刺激はほとんど与えないと考えられる。In vivo パッチクランプ法で得られた脊髄後角細胞での EPSC の持続時間が痒み反応の持続時間を一致したことから, 今回得られた EPSC は痒みに起因したものと考えられる。

16. うつ病モデルラットにおける痛覚変容のメカニズムに関する研究 ー脊髄 in vivo パッチクランプ記録法を用いた集学的アプローチー

神野尚三 (九州大学 大学院医学研究院 基礎医学部門 形態機能形成学分野)
古江秀昌, 井本敬二 (神経シグナル)

感覚情報の入り口である脊髄後角には, 末梢からの軸索終末に加えて, 視床への上行性投射ニューロン, 抑制性介在ニューロンや, セロトニンなど下行性の神経終末などが分布し, 複雑な神経回路網を形成している。昨年度までの予備的な研究に引き続いて, 今年度は脊髄後角における神経回路網について, 免疫蛍光多重染色を用い, 痛覚変容に重要な役割を果たす各種受容体分布の詳細な解析に取り組んだ。主な研究成果は以下の通りである。

(1) 新規に導入した抗体によって, カブサイシン受容体 Transient receptor potential cation channel subfamily V member 1 (TRPV1) は脊髄後角第二層を走行する C 線維に発現しており, 側索表層の背側部, および後索深層の正中側まで広がっていることを見出した。(2) 5HT1AR お

よび 5HT1DR が下行性の神経終末に発現していることを同定した。(3) 5HT1AR および 5HT1DR を発現している下行性軸索終末と, TRPV1 陽性線維との間には, シナプスは認められなかった。(4) 新規に導入した抗体を用いて, 免疫染色による脊髄後角 GABA ニューロンの同定に初めて成功した。(5) TRPV1 陽性 C 線維の軸索終末には, 脊髄後角の GABA 陽性ニューロンの樹状突起にシナプスを形成しているものが存在した。(6) 脊髄後角の GABA ニューロンの細胞体にシナプス形成している TRPV1 陽性軸索終末も少量ながら認められた。

これらの知見は, 脊髄における痛覚伝達に関わる神経回路について新たな基盤的な知見を与えるものである。

17. 大脳皮質における錐体細胞間抑制の機能解析

小松由紀夫, 丸山拓郎 (名古屋大学環境医学研究所)

吉村由美子

大脳皮質の単一ニューロンからの興奮性入力と比較的弱く、複数のニューロンからの入力がシナプス後細胞の細胞体・樹状突起に同期して収束すると、活動電位が発生し、次のニューロンに信号が伝達される。しかしながら、これまでに我々は、大脳皮質切片標本上の近接する2個の2/3層錐体細胞からホールセル記録を行い、一方の錐体細胞に活動電位を発生させると、他方の細胞に抑制性シナプス後電流 (IPSC) が誘発されることを見出した。この錐体細胞間抑制は、錐体細胞が抑制性細胞の樹状突起・細胞体を介さずに、その軸索終末を直接活性化し、GABAを放出させて生じていることを示唆する結果を報告した。一方、Scanzianiらは、光感受性陽イオンチャネルであるチャンネルロドプシン2 (ChR2) を発現したマウスを用いて解析した結果、錐体細胞間にみられる抑制は抑制性細胞の樹状突起・細胞体を介している可能性を報告しており、抑制性軸索終末を直接活性化することによる抑制の存在は必ずしも支持されていない。

そこで我々は、子宮内エレクトロポレーション法を用いて ChR2 を大脳皮質 2/3 層錐体細胞に発現させたマウスを用いて解析した。このマウスから作製した大脳皮質

切片標本上にある 2/3 層錐体細胞からホールセル記録を行い、光照射に伴い誘発される IPSC を EPSC の反転電位に膜電位固定して測定した。これまでに、我々は、錐体細胞間抑制を担うグルタミン酸受容体は主にカイニン酸型受容体であることを見出している。そこで、AMPA 受容体の阻害薬投与により、抑制性細胞の樹状突起・細胞体への興奮性入力を遮断した状態で光刺激したところ、なおも IPSC が記録された。

次に、外液の Ca^{2+} を Sr^{2+} に置き換えるとシナプス前終末からのグルタミン酸放出が非同期することが知られているので、これを利用して、スパイク閾値に達する脱分極が生じにくい条件で光刺激を行ったところ、非同期した IPSC が錐体細胞に誘発された。併せて記録した錐体細胞の近傍にある複数の非錐体細胞から細胞外記録をしたが、 Sr^{2+} ACSF では光照射に伴い発火した細胞はほとんどなく (16/17)、その後細胞内記録にして膜電位を計測しても弱い脱分極しか観察されなかった。

以上の結果は、大脳皮質には抑制性細胞の発火を伴わずに働く抑制が存在することを支持する。

18. ゼブラフィッシュを用いた脳脊髄神経回路の成熟過程の生理学的・分子生物学的研究

小田洋一 (名古屋大学大学院理学研究科生命理学専攻)

東島真一 (自然科学研究機構生理学研究部神経分化研究部門)

本研究では、脊椎動物の感覚運動モデルとしてゼブラフィッシュの逃避運動を対象として、神経回路の形態学的発達や機能的成熟を調べることを目的とした。これまでに我々は、ゼブラフィッシュの最も速い逃避運動が、発達初期 (遅くとも受精後 2 日) から後脳に左右 1 対存在するマウスナー (M) 細胞によって駆動されることと、発達初期には触覚入力が、受精後 3 日以降では聴覚入力が M 細胞による逃避運動を誘導する主要入力であることを見出している (Kohashi and Oda, *J Neurosci* 2008;

Kohashi et al., *J Neurosci* 2012)。本研究では、聴覚誘導性逃避運動の獲得時期における、第 VIII 神経の M 細胞への求心回路および聴神経-M 細胞間のギャップ結合の形成過程を形態学的・分子生物学的に調べた。

M 細胞に緑色蛍光タンパクを発現する遺伝子組み換えゼブラフィッシュを用いて、聴覚を受容する内耳の耳石器官 (球形嚢) へ蛍光トレーサー DiI を微量注入し聴神経をラベルすると、後脳第 4 分節に存在する M 細胞の側方樹状突起へ結合が観察された。キンギョ成魚では球形

囊からの聴神経は M 細胞の側方樹状突起の先端部から近位部まで広範囲を支配する (Nakayama and Oda, *J. Neurosci.* 2004; Szabo et al., 2007) のに対して、ゼブラフィッシュ仔魚 (受精後 5 日) では投射領域は樹状突起先端部に限られていた。したがって、聴神経の投射はこの時期でも未成熟であり、その後の発達に伴って樹状突起の遠位部から近位部へと広がることが示唆された。

聴神経と M 細胞の間のギャップ結合の形成過程については、ギャップ結合の構成分子 connexin35.1 および connexin34.1 の存在を *in situ* hybridization 法で調べ、仔魚の M 細胞に発現することを明らかにした。さらに抗 connexin35/36 抗体 (Pereda et al., 2003) を用いた免疫染色

によって聴神経-M 細胞結合部に点状の染色像を見出した。成魚では直径 5-10 μ m のパッチ状の染色像が観察されることと比較するとギャップ結合も発達に伴ってその形態を大きく変化させることが示唆された。

この求心繊維の投射様式およびシナプス構造の発達は神経回路の機能発達に重要な役割を果たすと考えられる。M 細胞は巨大な細胞体および樹状突起は発達に伴って増加し著しく入力抵抗が減少するため、活動電位の閾値に達するには強力なシナプス入力が必要になる。聴神経はシナプス後部の M 細胞の形態学的・機能的発達に伴って投射領域およびシナプス構造を発達させ、逃避運動を駆動する M 細胞の活動を制御することが示唆された。

19. ゼブラフィッシュを用いたセロトニン神経回路の生理学的・分子生物学的研究

前川真吾, 細川 浩, 藤岡俊治 (京都大学大学院情報学研究科)

東島真一

セロトニン作動性神経は精神疾患から睡眠, 運動, 呼吸といった生命活動に至るまで, 生物の行動に広く影響を与えることが知られているが, 運動や行動におけるセロトニン作動性神経の役割については未知な点が多い。本研究ではゼブラフィッシュをモデルとして, セロトニン作動性神経回路の運動や行動における生理学的な役割の解明を目的とした。本共同研究を通じて以下の3点の成果が得られた。

(1) ゼブラフィッシュセロトニン作動性神経特異的なエンハンサーの同定に成功した。

(2) (1) のエンハンサーを用いてセロトニン作動性神経に GFP を発現させた系統の作出に成功し, セロトニン作動性神経の発生過程を生きたまま観察することに成功した。

(3) (1) のエンハンサーを用いて, Gal4 をセロトニン作動性神経特異的に発現させた系統の作出に成功した。

現在, (2) で得られた系統を利用し, 縫線核に存在するセロトニン作動性神経の形態学および電気生理学的な解析を行っている。また, (3) で得られた系統と Gal4-UAS システムを用いて, チャネルロドプシンやハロロドプシンといった光遺伝学的ツールをセロトニン作動性神経特異的に発現させた系統の作出を予定している。今後これらの系統を用いて, 非侵襲的かつ人為的にセロトニン作動性神経の活動を制御し, その際のゼブラフィッシュの行動変化を解析する。以上の多面的な解析により, セロトニン作動性神経回路の運動や行動における役割の解明を目指す。

20. 電気生理学的手法を用いた大脳皮質神経ネットワークの効率的な解析に向けた試験的研究

星 英司 (東京都医学総合研究所 前頭葉機能プロジェクト)

知見聡美, 南部 篤 (生理学研究所 生体システム研究部門)

大脳皮質に存在する複雑な神経ネットワークが担う機能については未知の部分が多く, これを解明するために

は, 入出力関係を同定しながら複数の細胞活動特性を同時に調べる必要がある。本共同研究は, こうした解析手

法の発展に向けて、電気生理学的手法を用いて効率的かつ低侵襲的に皮質領域間ならびに皮質領域内の入出力関係を同定する手法を開発することを目的として行われた。脳局所の多点同時記録法と対側半球の電気刺激法を組み合わせたシステムを構築し、電気刺激のタイミングと合わせて複数の神経細胞活動の同時記録を行った。相互相

関解析法を用いて神経細胞間の情報伝達の流れを解析したところ、対側の電気刺激がトリガーとなって脳局所の神経回路網に活動の伝搬が起こることが明らかとなった。こうした結果は、本実験システムが極めて有用な研究ツールとなることを示しており、今後、これを用いて神経ネットワークの解析を行なっていきたい。

21. 辺縁皮質刺激に対する大脳基底核のニューロン応答

佐藤澄人（北里大学医学部 脳神経外科教室）

知見聡美，南部 篤（生理学研究所 生体システム研究部門）

大脳皮質－大脳基底核－視床－大脳皮質の並列回路における辺縁系ループについて調べることを目的に、辺縁皮質刺激に対する視床下核 (STN) ニューロン応答について検討した。

ニホンザル(n=2)の辺縁皮質 (32 野)，一次運動野（上肢領域，下肢領域，および顔面領域），補足運動野（上肢領域，顔面領域）に刺激電極を埋め込み，覚醒下に STN ニューロンの細胞外ユニット記録を行った。

STN ニューロンは，辺縁皮質，一次運動野，補足運動野のそれぞれの刺激に応じるニューロンに大別された。各群の自発発射パターン，平均発射頻度に有意差は認められなかった。皮質刺激に対する応答は各群において早期興奮・後期興奮の二相性パターンが観察され，潜時お

よび持続時間は，早期興奮・後期興奮ともに，辺縁皮質，補足運動野，一次運動野の順に長くなる傾向がみられた。

一次運動野の刺激に応答するニューロンは STN の外側部に，補足運動野の刺激に応答するニューロンは中央部に，辺縁皮質刺激に応答するニューロンは最内側部に位置していた。

一次運動野および補足運動野の皮質刺激に対する STN ニューロンの応答パターンは，早期興奮は皮質からの直接入力，後期興奮は皮質－線条体－淡蒼球外節を介した脱抑制，すなわち間接路の一部であることが既に明らかとなっている。辺縁皮質刺激においても同様の機序が示唆される。

22. 遺伝子改変サルモデルを用いた大脳基底核の機能と病態の解明

井上謙一，高田昌彦（京都大学霊長類研究所 統合脳システム分野）

額綱大輔，南部 篤（生理学研究所 生体システム研究部門）

大脳基底核を巡る神経回路の構築を詳細に検討するため，イムノトキシン神経路標的法和電気生理学的手法を組み合わせ解析を行った。マカクザルの視床下核にヒトインターロイキンタイプ 2 受容体遺伝子を組み込んだ逆行性レンチウイルスベクターを注入した。ヒトインターロイキンタイプ 2 受容体が大脳皮質に逆行性に発現すると思われる約 2 週間後に，イムノトキシンを大脳皮質運動野に注入した。その結果，大脳皮質から視床下核への直接投射（ハイパー直接路）のみが選択的に除去さ

れると期待される。

このようなモデルザルを用いて，イムノトキシン注入前後で大脳皮質運動野の電気刺激に対する淡蒼球内節ニューロンの応答を調べた。イムノトキシン注入前には，運動野刺激に対して淡蒼球内節ニューロンは，早い興奮，抑制，遅い興奮の 3 相性の応答を示した。それに対して，イムノトキシン注入後は，早い興奮が減弱し，抑制，遅い興奮はほとんど変化しなかった。

これらのことから，大脳皮質から視床下核への投射（ハ

イパー直接路)は、大脳皮質から大脳基底核の出力核である淡蒼球内節へ早い興奮を伝達していることがわかった。

23. 情動関連神経回路における慢性痛誘発シナプス可塑性固定化機構の解明

加藤総夫 (東京慈恵会医科大学 医学部)

脊髄後角浅層ニューロンの最も主要な投射標的が橋腕傍核である事実、および、腕傍核ニューロンが扁桃体中心核に投射する事実が明らかになり、この脊髄-腕傍核-扁桃体路が、侵害刺激によって生じる警告信号としての負情動の成立に関与する系である可能性が注目されるに至っている。この数年で、関節炎痛、大腸炎痛、神経障害性疼痛、筋痛、ホルマリン誘発炎症痛などさまざまな疼痛モデルでこの経路のシナプス可塑性が証明されてきた。

我々は、脊髄神経結紮神経障害性疼痛モデル (SNL モデル) で、腕傍核-扁桃体中心核シナプス伝達 (LPB-CeC 伝達) が増強する事実を報告している。その増強が、シナプス構造の変化、放出機構の変化、および、シナプス後受容体密度の変化を伴う事実をこれまでにこの共同研究により明らかにした。本年度、投稿に必要となる追加実験を行い、現在、投稿準備中である。

さらに本年度は、ストレプトゾシン誘発糖尿病性神経障害疼痛モデル (STZ モデル) における LPB-CeC 伝達の増強を詳細に解析し、SNL モデルと比較した。STZ モデ

ルにおいては、SNL モデルと異なり、左右両側の扁桃体でシナプス増強が認められた。この増強は、paired-pulse ratio の減少を伴っていた。一方、やはり SNL モデルとは異なり、外側基底核-中心核伝達 (BLA-CeC 伝達) の増強を生じなかった。SNL モデルでは、末梢神経障害の改善 1 週間後の疼痛行動消失時も LPB-CeC 伝達の増強が持続したが、STZ モデルにおいては 1 週間の insulin 投与後に疼痛行動は消失し、LPB-CeC 伝達増強も見られなくなった。この差異は、STZ モデルが BLA-CeC 伝達増強を伴わないためなのか、insulin にシナプス伝達増強を解消する効果があるのか、可能性を検索中である。STZ モデルは全身性に疼痛行動閾値低下を示すため、恐怖条件付け評価が可能であり、文脈刺激による恐怖条件付けに対し、刺激-学習閾値の低下および刺激-学習曲線の急峻化が認められた。STZ モデルにおいては電気ショック感受性が高まるとともに情動性連合学習が強化されている可能性がある。今後、SNL モデルと STZ モデルのシナプス微細形態の変化の解析も共同研究として進めたい。

24. 遺伝子改変動物を利用した抑制性ニューロンの特性についての研究

柳川右千夫 (群馬大学大学院医学系研究科)

抑制性ニューロンは中枢神経系に散在し、少数であり、形態も多様なので、in vivo あるいは in vitro で正確に同定するのは容易でない。一方、舌下神経前位核 (PHN) は視線制御に関与し、その機能には抑制性ニューロンの働きが重要であることが知られている。PHN においても抑制性ニューロンは散在し、形態学的、解剖学的に他のニューロンを区別することができないため、これまで抑制性ニューロンの解析がほとんど行われてこなかった。そこで本研究では、抑制性ニューロンに Venus という黄緑色

の蛍光分子が発現するトランスジェニックラット (VGAT-Venus ラット) を用いて蛍光顕微鏡下で抑制性ニューロンを同定し、そのニューロンの特性をホールセル記録と RT-PCR 法により調べた。蛍光を発するニューロンとしないニューロンのスパイク後過分極 (afterhyperpolarization, AHP) と発火パターンについて調べたところ、蛍光を発するニューロンでは一相性の AHP、スパイクの生成が遅れる発火パターンや発振を示す発火パターンが占める割合が高く、一方、蛍光を発しない

ニューロンでは二相性の AHP と発火頻度の低いパターンが多く観察された。PHN には GABA 作動性ニューロンのみならずグリシン作動性ニューロンの存在が知られていることから、ホールセル記録後 RT-PCR 解析を行ったところ、PHN の抑制性ニューロンは GABA 作動性か GABA とグリシン両方を持つタイプがほとんどで、グリシン作動性ニューロンが少ないことが初めて明らかになった。この結果は、GAD67 とグリシントランスポー

ター2のプロンプを用いて行った in situ hybridization 解析によっても確認された。GABA 作動性ニューロンと GABA とグリシン両方を持つニューロンとの膜特性の違いを検討したところ、「初めのスパイク間隔が後のスパイク間隔より広い特徴を持つ」発火パターンを示すニューロンのほとんどは GABA とグリシン両方を持つニューロンであることが明らかになった。

25. ラット前頭皮質における錐体細胞投射サブタイプの同定及び結合特異性の解析

平井康治（京都大学医学研究科）

重松直樹（熊本大学大学院生命科学研究部）

川口泰雄，窪田芳之（自然科学研究機構生理学研究所）

大脳皮質の興奮性細胞である錐体細胞は、他皮質領野・皮質下構造への投射様式が異なるサブタイプから成り、それらの間で電気的特性や樹状突起形態も分化している。錐体細胞投射サブタイプ間の結合則を明らかにすることは、皮質ニューロン分化と回路機能を繋ぐ一つの方向である。皮質間と皮質下投射系の局所回路内における分化・相互作用を理解するために、ラット前頭皮質の2/3層及び5層にある嗅周囲皮質投射細胞（PRC 投射細胞）、5層の視床投射細胞（CTh 細胞）の電気的・形態的性質を比較解析した上で、これらの層間結合の特異性を調べた。細胞体電流注入に対する発火応答と樹状突起形態が、これら3つのグループで定量的に異なっていた。逆行性標識実験から、5層 CTh 細胞群が橋核投射細胞群と、5層 PRC 投射細胞群が対側線条体投射細胞群と、そ

れぞれ部分的に重なることがわかったが、これに対応して、それぞれで発火特性にも共通の特徴が見られた。2/3層 PRC 投射細胞と5層 PRC 投射細胞・CTh 細胞間の層間結合を2細胞からの同時パッチクランプで調べると、2/3層 PRC 投射細胞から5層の両サブタイプへ興奮性結合が見られたのに対し、2/3層 PRC 投射細胞への逆方向結合は5層 PRC 投射細胞からしか検出できなかった。5層 PRC 投射細胞と CTh 細胞の皮質浅層での軸索分布を定量解析すると、深さ方向の依存性が異なっていた。従って、5層から2/3層への結合は、5層起始細胞のタイプ毎に分化していると思われる。これらの結果から、前頭皮質層間結合も投射サブタイプ特異的であり、特に5層から2/3層のフィードバック結合は2/3層から5層へのフォワード結合より選択的である可能性が考えられた。

26. 大脳皮質および大脳基底核による網様体脊髄路の制御

高草木薫¹，梅田達也²，伊佐 正²，畑中伸彦³，知見知美³，南部 篤³

（¹旭川医科大学・脳機能医工学研究センター，²生理研・発達生理学研究室，

³生理研・統合生理研究室）

手指の巧緻運動の制御には対側の大脳皮質一次運動野から下行する外側皮質脊髄路が重要な役割を担っている。一方、脳卒中や脊髄損傷に伴う運動麻痺からの回復過程において麻痺側肢と同側の一次運動野が活動することが

知られており、同側の一次運動野から脊髄への下行系も巧緻運動の制御に関わる可能性が指摘されている。しかし、大脳皮質一次運動野から同側肢の運動ニューロンに至る興奮性下行路は未だ同定されていない。

我々はサルを用いた神経生理学的研究において、抑制性神経伝達物質の一つであるグリシンの受容体拮抗薬であるストリキニンを systemic に投与し、運動細胞に対するシナプス後抑制を除去することにより、一次運動野から対側運動ニューロンへの多シナプス性経路が存在することを証明してきた。そこで本研究では、同様のパラダイムに基づき、運動ニューロンの細胞外および細胞内記録を用いて同側皮質から上肢運動ニューロンへの投射を媒介する興奮性下行路の同定を試みた。

延髄錐体に微小電気刺激を加えると、対側前肢筋を支配する運動ニューロンプール (motor nucleus) には単シナプス性の興奮性電場電位が誘発されるが、同側の motor nucleus には、興奮性電場電位は誘発されない。しかし、

ストリキニン投与後、同側の motor nucleus にも興奮性電場電位が誘発された。 α 運動細胞から細胞内電位を記録することにより、この興奮性電場電位が多シナプス性 EPSP によって誘発されていることが明らかとなった。次に、この興奮性作用が同側または反対側の腹側索を下行する網様体脊髄路ニューロンによって媒介されているか否かを検討した。上部頸髄レベルで同側の網様体脊髄路を切断すると、ストリキニン存在下において錐体刺激による多シナプス性 EPSP が誘発されたが、対側の腹側索切断を加えると、この EPSP は消失した。以上の成績は、サルの前肢運動ニューロンが、同側の一次運動野から網様体脊髄路ニューロンを介して、潜在的な興奮性作用を受け取っていることを示唆する。

27. 中脳上丘での視覚情報処理機構の解析

金田勝幸 (北海道大学大学院 薬学研究院)

伊佐 正 (生理学研究所 認知行動発達機構研究部門)

中脳の上丘浅層は網膜と皮質視覚野から視覚情報入力を受けているが、皮質視覚野損傷後の上丘においてどのような可塑的变化が誘導されるのかについては不明点が多い。そこで本研究では、この点をシナプス・細胞・回路レベルで明らかにすることを試みた。

まず、細胞および回路レベルにおける変化を明らかにする目的で、インビボマウス個体における上丘ニューロンの周辺抑制の程度の変化を検討した。周辺抑制とは小さな視覚刺激に対して強く応答し、刺激サイズが大きくなると抑制性入力のために弱い応答を示すようになる現象であり、細胞と回路レベルでの変化を調べる上で重要な指標となる。皮質視覚野を吸引除去したマウスの視覚刺激に対する上丘ニューロンの応答を細胞外記録により調べたところ、損傷約1週間後のマウスにおいて、周辺抑制が増強されていることが分かった。また、この周辺抑制の増強は損傷から約1ヶ月後には部分的に回復することも分かった。したがって、皮質視覚野損傷により上

丘ニューロンにおいて一過性に周辺抑制が増強されることが明らかとなった。

次に、この一過性の周辺抑制のメカニズムを明らかにするため、スライス標本を用いたホールセル記録法により興奮性および抑制性シナプス入力の変化を検討した。その結果、皮質視覚野損傷約1週間後のスライスにおいて細胞種依存的な変化が観察された。すなわち、興奮性ニューロンにおいてはEPSCの増大傾向とIPSCの有意な増大のため、興奮と抑制のバランスは抑制の方向にシフトしていた。一方、抑制性ニューロンにおいてはEPSCの有意な増大とIPSCの減少傾向が認められ、興奮-抑制のバランスは興奮の方向にシフトしていた。興奮-抑制バランスは細胞の発火活動の制御においてきわめて重要であることから、このようなシナプスレベルでの可塑的变化がインビボで観察された一過性の周辺抑制の増大のメカニズムになっている可能性が考えられた。

28. 人工神経代替装置によるニューロリハビリテーション法の開発

小宮山伴与志（千葉大学大学院 教育学研究科）

大塚裕之（千葉大学大学院 医学薬学府）

鈴木伸弥（東京学芸大学大学院連合学校教育学研究科）

本申請では日常生活下で非侵襲的に記録された生体情報に依存した電気刺激を末梢神経に施すことによって、脳梗塞や脊髄損傷患者への運動・感覚麻痺の回復のためのニューロリハビリテーション法の開発を目的としている。

歩行運動中のリズムカルで協調的な下肢運動の制御は脊髄上位機構からの下降性入力だけでなく、運動によって生じる体性感覚情報も歩行運動パターン形成に寄与していると考えられている。しかし、体性感覚情報が歩行中の運動位相に対して、如何に歩行運動パターン形成に貢献しているか不明である。そこで、健康成人被験者を対象に、歩行運動中の膝関節角度変化に依存した電気刺

激を同側肢の足底を支配する皮膚神経へ与える事により、人工的な皮膚感覚入力を誘発し、その皮膚感覚入力が歩行運動のパターン形成に与える影響を検討した。膝関節屈曲時に電気刺激強度が最大になる場合には、すべての被験者において共通に股関節屈曲運動が増幅された。一方、膝伸展時に電気刺激強度が最大になる場合には被験者間で共通した傾向が観られなかった。今後は、股関節や角速度などとなる生体情報に依存した刺激による歩行運動パターンへの影響を検討することにより、歩行運動生成機構の解明を目指す。

29. 局所脳梗塞後の健常側神経回路の再構築

高鶴裕介（群馬大学大学院・医学系研究科・応用生理学分野）

江藤 圭，鍋倉淳一（自然科学研究機構・生理学研究所・生体恒常機能発達機構研究部門）

高齢社会を迎え、脳梗塞の発症予防もさることながら、障害からの機能回復が臨床上大変重要な課題となってきた。特に、健常側を用いた機能回復は臨床比較的良好に知られている現象であるにもかかわらず、そのメカニズムについてはわかっていないことが多い。

これまでの研究で、マウスの局所脳梗塞モデル（体性感覚野障害）において、障害発生後1週間目での特異的なシナプス可塑性の亢進とそれを契機とした神経回路再編・過剰興奮鎮静、および機能回復が起こることが分かっている (Takatsuru et al., J. Neurosci., 2009)。この現象は視覚野障害でも1週間目で起こっていることが確認されている (Takatsuru et al., Neurosci., Lett., 2011)ことから、脳梗塞後の機能回復過程において、ある程度の普遍性を持った現象であることがわかっている。

昨年度に引き続き行われた今年度の共同研究では、健常側の機能回復過程で時期特異的（脳梗塞発症後1週間目）にグリア細胞（アストロサイト）の機能亢進が起こることが、*In vivo* Ca imaging の手法を用いた研究によっ

て確認できた。また、グリア細胞がシナプス伝達の過程で行っているグルタミン酸回収を阻害すると、脳梗塞後の機能回復が起こらないことが、群馬大学で並行して行った実験で明らかになった。さらに、この時期ではグルタミン酸の放出が過剰であるが、グリア細胞の働きによって適切な濃度に抑制されていることがわかった。以上より、グリア細胞によるグルタミン酸濃度の調整機能が、脳梗塞後の機能回復に極めて重要であることが示唆された（以上、論文投稿中）。

一連の研究から、脳梗塞後の機能回復に健常側のグリア細胞の役割が重要であることが示唆された。しかしながら今現在、急性期にグルタミン酸回収を促進する有効な薬剤は臨床に存在していない。さらなる追加研究が必要であるが、今後、グリア細胞をターゲットとした脳梗塞後の機能回復を促す薬剤の開発が有効である可能性が示唆されている。ゆえに、今回の共同研究の成果は、これまで脳梗塞後の十分な機能回復が得られなかった患者群に対する新たな治療法（健常側のグリア細胞の働きを促

す治療法)の確立を促すことにつながると考えられる。

30. 二光子励起型 NO ドナー化合物による時間空間選択的な NO 投与法の開発

中川秀彦, 菱川和宏 (名古屋市立大学大学院薬学研究科)

一酸化窒素 (NO) は様々な生理作用・病態生理作用に関与することが示唆されている生理活性分子であり、生体内では合成酵素 (NOS) により生合成され、その生成は高度に制御されている。NO の細胞内・組織内での生理作用や病態への関与メカニズムを精査するために、二光子励起の高い生体組織透過性および励起位置選択性と、二光子励起 NO 化合物を組み合わせ、高い時間空間分解能をもった NO 投与法を開発することを目的として研究を行った。

これまでに独自に開発した光作動型 NO ドナーを、培養細胞 (ヒト大腸がん由来 HCT116 細胞) に投与し、位置選択的なパルスレーザー照射により NO 放出を誘起した。生成する NO について NO 選択的蛍光プローブにより放出位置、範囲等を計測した。また、開発化合物の動物体内での NO 放出作用を検討するため、マウス脳内で、パルスレーザー照射による位置・時間選択的な NO 放出実験を行った。脳内でパルスレーザー依存的に放出された NO の作用を、NO によるミクログリア樹状突起の遊走作用および、脳内血管の NO による拡張作用を観測することで行った。

HCT116 細胞に開発化合物 Flu-DNB で前処理し、さら

に NO 蛍光プローブのプロドラッグ体である DAF-FM-DA を投与して一定時間インキュベートした。細胞培養液を PBS に置換し、多光子蛍光顕微鏡システムのパルスレーザー装置を使用して、735 nm のパルスレーザーを照射した。その結果、Region-Of-Interest (ROI) を任意の正方形領域に設定した場合、1 細胞に設定した場合、細胞内の 1 領域に照射した場合、いずれの場合も照射した領域のみで NO 生成を示す傾向増大が観察され、開発化合物が培養細胞系で利用可能な多光子 (二光子) 励起型 NO ドナー化合物であることが確認された。

さらにパルスレーザーの特性を利用し、*in vivo* で位置・時間選択的に化合物を二光子励起し NO 放出する実験を行った。マウス脳に Flu-DNB 投与し、多光子顕微鏡装置を用いて、パルスレーザー照射及び多光子蛍光観察を行ったところ、光照射に応じて、NO 依存性の脳内血管拡張作用を誘起することに成功した。また、NO 依存的にミクログリア遊走を誘導することに成功した。これらの結果から、パルスレーザーの特性と二光子励起型 NO ドナー化合物の組合せにより高時間空間分解能 NO 投与法を開発できた。

31. 摂食・代謝中枢ニューロンにおけるシグナル伝達機構と摂食行動連関

前島裕子, 矢田俊彦, 中田正範, Sedbar Udval, Gantulga Darambazar

(自治医科大学医学部生理学講座統合生理学部門)

箕越靖彦, 岡本土毅 (生理学研究所生殖・内分泌系発達機構研究部門)

摂食の一次中枢である視床下部弓状核における AMP キナーゼ (AMPK) の役割の解明は進んでいるのに比して、二次中枢である視床下部室傍核 (PVN) の AMPK の役割の解明は相対的に進んでいない。そこで、PVN における数種のニューロンの活性調節およびそのシグナル伝達機構を成熟ラットの PVN より単離したニューロンにおい

て Ca^{2+} 標識による蛍光イメージングを用いて調べたところ、AMPK 活性化剤である AICAR に応答する細胞種の約 50% が副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン (CRH) ニューロンであり、CRH ニューロンにおける AMPK シグナルが重要であることが明らかになった。また、CRH ニューロンにおける AICAR 誘導性の細胞内 Ca^{2+} ($[\text{Ca}^{2+}]_i$)

増加が、CPT-1 阻害剤および Nitrendipine, omega-conotoxin によりブロックされることから、AMPK 活性化による $[Ca^{2+}]_i$ 増加は CPT-1 および L 型、N 型 Ca^{2+} チャンネルを介していることが明らかになった。次に AMPK 活性化による $[Ca^{2+}]_i$ の増加の機序をさらに詳細に明らかにするために、CPT-1 の下流の産物である Palmitoy Carnitine を PVN CRH ニューロンに作用させると $[Ca^{2+}]_i$ が増加した。さらに Carnitine を Acyl-carnitine に変換する酵素である CPT-1

の阻害剤である Etomoxir によつては Palmitoy Carnitine による $[Ca^{2+}]_i$ 増加は抑制されなかった。本研究より AMPK による $[Ca^{2+}]_i$ 増加つまりニューロンの活性化には少なくともミトコンドリア内のシグナル伝達系および L、N 型の両 Ca^{2+} チャンネルを介していることが明らかになった。PVN CRH ニューロンにおける AMPK のシグナルが摂食行動やエネルギー代謝調節などの全身機能に如何に関与するかは今後の課題である。

32. 高スループット化電子線トモグラフィー法の生物試料のためのセグメンテーション法の開発

馬場則男（工学院大学 情報学科 コンピュータ科学科）

馬場美鈴（工学院大学 総合研究所 産学共同研究センター）

田村豪主，永山國昭，村田和義（生理学研究所）

本課題では、生物試料によく見られる連続した膜状の構造体を電子線トモグラフィーにより立体再構築し、なるべく人為的誤差が入らないような手法でセグメンテーションすることを目指す。ここでまず問題となるのが、電子線トモグラフィーに特有の試料傾斜角の制限による情報欠損問題、所謂「Missing Wedge」や、特に高傾斜画像で問題になる物体の重なりによる像のボケである。現状の電子線トモグラフィーでは、これらの問題により膜の形態の歪みや形状の一部に欠損が起り、正しくセグメンテーションすることが難しくなっている。本年度は、まず手始めとして、これらの問題解決を図るための三次元再構成ソフトウェアの生物試料への最適化を検討した。

申請者が開発した三次元再構成ソフトウェアは、非線形分散再構成法による反復解析をその解法とする。金属材料試料においては、特に前述の2つの問題に対して、その有効性が明らかになっている。今回は、この解析手法の生物試料への適用を試みた。テスト用の生物画像サンプルとして、氷包埋されたウィルスとリボソームの連続傾斜像シリーズを用いた。その結果、生物試料の場合には、金属材料のように単純にひとつの閾値を設定する

だけでは、背景と試料の分離が難しいことがわかった。これを解決するためには、何か他のセグメンテーション手法との組み合わせを考えるか、分離せず背景ともに再構成する新たなアルゴリズムを組み込むことも考える必要がある。これは、金属材料では、試料と背景のコントラスト差が大きく、その分離が容易であるが、生物試料、特に無染色の氷包埋試料では、試料と背景の氷とのコントラスト差が極めて小さいためである。また、今回用いた位相差電子顕微鏡像の場合には、像によって異なるフリッジの影響があり、フィルタリングなどの前処理が必要であることも分かった。

今後の計画としては、試料傾斜による像の重なり問題について、解析アルゴリズムに変更を加えることにより背景と試料の分離を容易にする。現在のソフトウェアは試料と背景の分離を2階調に制限しているが、これをより多くの階調に対応できるように改良を加える。そして、さらに多様な生物試料のトモグラフィー傾斜シリーズ画像を用いて動作確認を行い、このようにして得られた最適なトモグラムを用いて自動セグメンテーションソフトウェアの開発を進める予定である。

33. 電子顕微鏡トモグラフィーによる核内クロマチン高次構造の解析

加藤幹男 (大阪府立大学大学院理学系研究科)

根岸 豊 (横浜市立大学大学院生命ナノシステム科学研究科)

臼井健悟 (理化学研究所横浜研究所オミックス基盤研究領域)

村田和義 (生理学研究所)

これまでに単離微小核から得たクロマチンの位相差クライオ電子顕微鏡観察の結果から、個々のヌクレオソームの判別は可能となっていたが、それぞれの構造形成領域とゲノム情報における DNA 配列との対応付けは困難であった。そこで本年度は、特異的 DNA 配列の存在領域を同定するために、分裂期染色体のテロメア構造の解析と、短い二重鎖 DNA をモデル分子とする標識法について検討した。

テロメアは染色体の末端領域の部位であり、T ループと呼ばれる構造を形成していることが知られている。T ループを形成することで、DNA 修復機構による染色体融合を防いでおり、ゲノムの安定的保持において重要な役割を果たしている。そこで、染色体のテロメア配列の DNA を金クラスターで標識後、電子顕微鏡で観察し、染色体内におけるテロメアの高次構造を明らかにしようと試みた。臼井らは、蛍光/金クラスター同時標識プローブを開発し、蛍光顕微鏡にてテロメア領域のプローブによるラベル化を確認した相同染色体を、加速電圧を 80kV に設定した JEM-1010 を用いて観察した。その結果、相

同染色体末端に重金属が標識されていることが認められた。但し、蛍光観察では判断できなかった染色体サンプルの変性の可能性があること、JEM-1010 における電子線の透過度が染色体内部の構造を観察するのに十分でない等が課題として見出された。今後、クライオグリッドによる超高圧電子顕微鏡観察を行う予定である。

また、短い二重鎖 DNA (130 塩基対程度) を標的とし、ビオチン化オリゴ DNA をハイブリダイズさせた分子を、ストレプトアビジンと結合後に酢酸ウラン染色を施し、JEM-1010 を用いて観察した。その結果、標的の二重鎖分子の構造を保持したままビオチン化オリゴ DNA を結合した分子を検出することができたことから、オリゴ DNA を鎖置換によって標的部位に侵入させることで、特定配列の標識検出が可能になると期待された。今後は、重金属標識したオリゴ DNA 分子を用いて、単離クロマチンを穏やかな変成条件において標識することで、よりネイティブに近いクロマチン高次構造を維持した標識法について検証し、高次構造形成と配列情報を対応づけていく。

34. てんかん・発達障害原因遺伝子 CDKL5 ノックアウトマウスの網羅的行動テストバッテリースクリーニングによる生体内分子機能解析

田中輝幸, 奥田耕助 (東京大学大学院医学系研究科 発達医科学教室)

高雄啓三, 宮川 剛 (生理学研究所 行動様式解析室)

【目的】 *Cyclin-dependent kinase-like 5 (CDKL5)* は、West 症候群と非定型 Rett 症候群という、てんかんを伴う発達障害の原因遺伝子として近年同定された、Xp22 に位置する遺伝子であるが、その生体内分子機能と loss-of-function による病態機序はほとんど分かっていない。当研究室では、*CDKL5* 遺伝子変異による病態機序解明のため、*Cdkl5* ノックアウト (KO) マウスを作製し表現型解析を行っている。平成 22 年度、生理学研究所行動様式解析室との共

同研究によって *Cdkl5* KO マウスの網羅的行動解析を行い、不安様行動の亢進、うつ様行動の亢進、社会的行動の変化、恐怖条件付けにおける般化の亢進、24 時間活動性の変化、と言った行動異常パターンを同定した。本年度は、引き続き行動様式解析室との共同研究によって、更に本マウスの記憶・学習機能の評価を目的とした行動解析実験を行った。

【方法】 C57BL/6N バックグラウンドの *Cdkl5* KO 雄マウ

ス及び同腹仔の野生型雄マウスを各 20 匹用意し、バーンズ迷路試験を行った。

【結果】バーンズ迷路試験では、12 回のトレーニング後に最初のプローブテストを行ったが、KO マウスではターゲットの位置を記憶することが出来なかった。そのため更に 21 回まで過学習を行ったところ、KO マウスでターゲットの位置をコントロールマウスと同程度に記憶可能なことを確認した。最後のプローブテストの 30 日後に、再度プローブテストを行い、長期記憶保持の検査を行ったところ、KO マウスでは、コントロールマウスに比べ有意にターゲット位置に到達する時間・距離が長く、

エラー頻度が高いことが同定された。

【考察】*Cdkl5* KO マウスにおいて、学習の遅延、長期記憶の障害という異常が認められ、*CDKL5* が安定した情動に加えて、記憶学習機能に重要な役割を果たすことが、初めて明らかとなった。今後、本マウスにおいて T 字型迷路、Y 字型迷路等の試験により作業記憶等の評価を行い、認知機能の詳細な解析を行う予定である。更にこれらの行動異常の基礎メカニズムの解明を、薬物投与に対する反応の解析、海馬 LTP 等の電気生理学的検査、細胞生物学的検査等を組み合わせて、進めていく予定である。

35. 左旋性光学異性体局所麻酔薬の作用機序に関する研究

川真田樹人，坂本明之（信州大学医学部麻酔蘇生学講座）

古江秀昌，歌 大介，井本敬二（神経シグナル）

局所麻酔薬が痛みと非侵害性のその他の感覚を如何にして分離遮断するか、光学異性体に着目して脊髄感覚シナプス伝達に対する抑制機構を電気生理学的に調べた。末梢から感覚情報を伝える一次求心性線維の後根を付した脊髄スライス標本を作製し、痛みの伝達や調節に重要な役割を果たす脊髄後角表層（I-II 層）および後角深層（III-IV 層）からパッチクランプ記録を行い、後根誘起のシナプス応答に対する麻酔薬の抑制作用を解析した。

【結果および考察】後根を刺激すると、潜時の長い単シナプス性の興奮性シナプス後電流が脊髄表層のニューロンに誘起された。潜時や刺激強度から脊髄表層ニューロンにシナプス入力する線維を同定すると、脊髄表層のニューロンは主に痛みを伝える A δ 線維や C 線維からの単シナプス入力を受けた。一方、脊髄深層のニューロンから記録を行うと、潜時の短い単シナプス性の興奮性シ

ナプス後電流が誘起され、伝導速度からそのシナプス入力は触情報などを伝える A β 線維であった。右旋性の局所麻酔薬である R 体ブピバカインを投与すると、これら 3 種の興奮性シナプス後電流は区別なく抑制された。一方、興味深いことに、左旋性の光学異性体である同濃度のレボブピバカインは、同様に表層ニューロンに誘起される A δ および C 線維を介した興奮性シナプス後電流を抑制したが、深層ニューロンにおける A β 線維誘起の興奮性シナプス後電流はほとんど抑制しなかった。以上の基礎研究により、左旋性のレボブピバカインは、A β 線維を介する非侵害性の触覚伝達の抑制は弱く、A δ および C 線維を介した痛みの伝達を有効に抑制することが示唆された。また、臨床研究においても同様の傾向が得られ、左旋性の局所麻酔薬であるレボブピバカインが痛みを有効に抑制した。

36. 脊髄におけるグレリン応答性神経細胞の同定

池田あずさ，椎名貴彦，志水泰武（岐阜大学応用生物科学部 獣医生理学研究室）

古江秀昌，井本敬二（神経シグナル）

【背景と目的】消化管運動は、消化管内在神経系および中枢神経系の両者によって厳密に制御されている。これま

での研究により、脊髄（腰仙髄部）にグレリンを投与すると、大腸運動が活発になることが明らかになった。ま

た、中枢神経系におけるグレリンの作用経路にドパミンが関与すると言われているが、近年、ドパミンによる大腸運動制御が注目されている。本研究では、脊髄内に、グレリンあるいはドパミンに応答する神経細胞が存在することを証明し、大腸運動の亢進をもたらす神経回路を解明することを目的とした。

【材料と方法】神経シグナル研究部門で保有、管理されているスライサー及び脊髄スライスパッチクランプ用セットを利用した。ラット腰仙部の脊髄スライス標本を作製し、下部消化管を支配する副交感神経核からパッチクランプ記録を行った。脊髄標本にグレリンを作用させた場合に活動が亢進する神経細胞が存在するか検討した。また、ドパミンについても、グレリンと同様に検討を行った。

【結果】パッチクランプ法により腰仙部副交感神経核

ニューロンに誘起される膜電流を電位固定下に記録した。グレリンを適用したところ、膜電流の顕著な変化は確認できなかった。一方、ドパミンの適用により、外向き電流を発生する神経と内向き電流を発生する神経の2種類が確認された。

【考察】本研究では、グレリンに応答する神経細胞が脊髄内に存在することは確認できなかった。今後の研究では、スライス標本を作製する部位や、パッチ電極を挿入する位置を変えるなどする必要があると考えられる。一方、本研究の結果から、腰仙部副交感神経核にはドパミン感受性ニューロンが存在していることが明らかとなった。これは、ドパミンは脊髄排便中枢の副交感神経核ニューロンに作用し、大腸運動を制御している可能性があることを示唆している。

37. 随意運動発言を司る神経機構の研究

美馬達哉 (京都大学大学院医学研究科)

島津秀紀 (マサチューセッツ工科大学)

磯村宜和 (玉川大学)

豊田浩士 (理化学研究所)

遠本 徹

随意運動発現の中枢神経機構を解明する目的で、ニホンザルの大脳皮質フィールド電位を記録解析してきた。その一環として、上肢の運動中の一次体性感覚野と一次運動野のフィールド電位と上肢筋電図の関係を、多変量自己回帰モデルを用いて解析した。その結果、これらの間の情報伝達を示す有向伝達関数 (directed transfer function, 略して DTF) がベータ周波数領域 (14-30 Hz) で非対称性であることを見いだした。皮質筋電図間の DTF は、皮質から筋電図への方が逆方向よりも優位で、中心溝の前壁 (運動野) で一番大きい。また、皮質皮質間

の DTF については、感覚野から運動野への向きが、運動野から感覚野への向きよりも大きかった。これらの結果は、上肢運動中にはベータ周波数領域の神経活動を介して感覚野が運動野の活動を支配し、さらに運動野が筋活動を支配している可能性を示唆している。この神経活動は運動のフィードバックに関与している可能性がある。しかし、運動制御がベータ周波数領域だけで行われているとも考えにくい。そこでベータ周波数での神経活動とそれ以外の神経活動の相関を明らかにし、運動制御の中枢神経機構を解明する手掛かりを得たいと考えている。

38. ラットヒゲにおける一次感覚ニューロンの機能形態の同時追究

榎原智美, 熊本賢三, 外村宗達 (明治国際医療大学・医学教育研究センター・解剖学教室)

古江秀昌, 歌 大介, 井本敬二 (神経シグナル)

ラットの顔面洞毛部には多様な皮膚神経終末が密に分

布している (Ebara et al., JCN, 2002, Rice et al., JCN, 1996)。

感覚反応特性とその末梢および中枢端の構造の一致は古くからの素朴な謎であるが、未だ十分な説明はなされていない。本研究では単一神経細胞内記録標識システムと共焦点レーザ顕微鏡システムを用いて、成熟ラットヒゲの三叉神経系一次感覚ニューロンの生理学的かつ形態学的特性の同時説明を目指している。

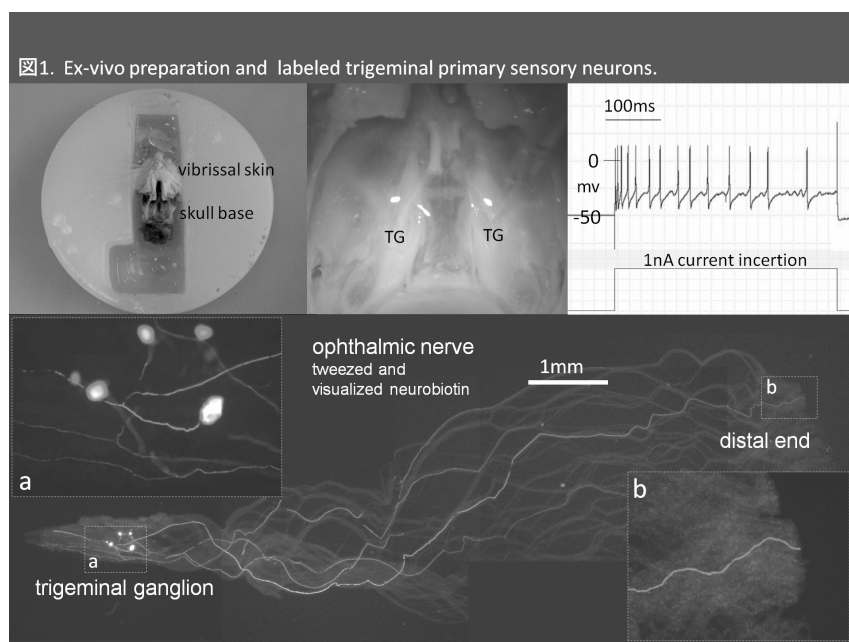
技術的に困難を伴う実験・解析を多く含み、目下、古江秀昌氏（神経シグナル研究部門）らの協力を得て研究を進めている。H24年度になり、ようやく *in vivo* で標識一次感覚ニューロンの末梢から中枢までの一連を可視化出来るに至った。ここでは、そこに至るまでの H23 年度の経過として、その間に試行錯誤して開発した三叉神経系 *ex-vivo* の研究成果について記す。

麻酔下のラットの三叉神経節を可視下に置き、*in vivo* で単一神経細胞記録のための外科的手術を確立していたが、手技的困難を見極め、*ex vivo* 系を開発した。麻酔下

のラット（3 週齢）を断頭後、脳幹を温存して大脳を除去し、両側の三叉神経節を露出し、頭蓋底をチャンパーに見立てて導出孔を開け、32℃で Krebs 液を灌流させた。神経節表面の硬膜を除去し、20-100M Ω のガラス電極を用いて、神経節細胞内記録および標識を行った。

その結果、(1) 神経細胞内電位を、灌流直後から約 8 時間、観察記録できること、(2) ごく希に眼窩周辺やヒゲに受容野を認める活動電位が記録できること、(3) neurobiotin を用いた神経標識は、約 15mm 末梢まで可視化できること、(4) 衛星細胞が標識される場合もあること、などが明らかとなった（図 1）。

しかし、ヒゲ皮膚の組織を新鮮に維持するため頸動脈を確保して同時灌流も試みたが、標識軸索は末梢の感覚神経終末まで到達しなかった。本研究における *ex vivo* 系の遂行を一旦中止し、再び、*in vivo* 系に切り替えた。



39. 精神遅滞原因遺伝子 IL1RAPL1 欠損マウスの表現型解析

安村美里，吉田知之，三品昌美（東京大学大学院医学系研究科 分子神経生物学）
高雄啓三，宮川 剛（生理学研究所 行動様式解析室）

神経回路網の基盤はシナプスであり、その破綻は精神疾患の発症に関与していると考えられている。IL1RAPL1 は X 染色体連鎖型非特異的精神遅滞の原因遺伝子として

同定され、自閉症家系においても変異が報告されている。我々の研究室では、培養神経細胞を用いた実験により、IL1RAPL1 が興奮性シナプスの形成能を有していること

を見出している。また、IL1RAPL1 遺伝子欠損マウスの海馬や大脳皮質でスパインの数が増加していることも観察しており、IL1RAPL1 遺伝子欠損マウスの脳高次機能に異常が起こっていることが予測される。IL1RAPL1 遺伝子欠損マウスが示す表現型を詳細に解析し、精神遅滞や自閉症の病態解明に有用なモデルマウスとなりえるのかどうかを検証するため、本共同研究において網羅的な

行動テストバッテリーを実施した。平成 23 年度は、IL1RAPL1 遺伝子欠損マウスは野生型マウスに比べ、活動量や社会性が上がっており、不安様行動が減少するという結果を得た。

今後は、八方向放射状迷路等の記憶・学習を見るテストを行い、参照記憶や作業記憶に障害が起きているか、さらに固執傾向を示すかどうかを見ていく予定である。

40. マーモセットにおける皮質脊髓路－脊髓運動ニューロン結合の電気生理学的解析

牛場潤一（慶應義塾大学理工学部生命情報学科）

宮崎裕大，吉原也真人（慶應義塾大学大学院理工学研究科）

関口智史（慶應義塾大学理工学部）

西村幸男，伊佐 正（生理学研究所 認知行動発達機構研究部門）

再生医療や遺伝子治療の研究に利用されはじめたマーモセットを対象に、皮質脊髓路と運動ニューロン間の神経回路とその性質を調べ、ヒトの神経損傷後の機能回復のメカニズムを理解する上で基盤となる機能解剖学的な知見を得ることを目的とした。

まず、ラットおよびマカクサルに対して確立した実験プロトコルを基に、マーモセットの体躯構造や体重にあわせて動物固定台や麻酔薬投与量を決定し、その有用性を確認した。具体的には、キシラジン 100 mg/kg にて鎮静、ケタミン 60 mg/kg 麻酔下にて気道確保、動脈、静脈を確保し、血圧を呼気中 CO₂ 濃度、直腸温をモニターした。術中はα-クロラロース 60 mg/kg で麻酔した。次に、頸椎 C3-C7 髄節および大脳皮質前頭上の頭蓋骨を除去し、脊髓を露出した。上肢の末梢神経を電気刺激する電極を装着した後、臭化パンクロニウム 0.2 mg/kg にて非動化し、人工呼吸下で、皮質、延髄レベルで錐体路あるいは末梢神経への電気刺激に対する脊髓運動ニューロンや介在ニューロンの応答をガラス管微小電極にて記録した。

つぎに、錐体路刺激時における神経応答を、頸椎 C3-C7 髄節で記録し、活動電位の潜時と伝導距離の関係から皮

質脊髓路の伝導速度を算出した結果、 25.4 ± 0.8 m/s ($N = 5$) となった。また、錐体路電気刺激時における個々の脊髓運動ニューロンの応答をガラス管微小電極にて記録した結果、複数回の電気刺激を加えたときのみ、脊髓介在ニューロンを介する二シナプス以上の投射構造を示す潜時の遅い興奮性シナプス後電位が観測された。

実験終了後、ペントバルビタールの大量投与後、パラフォルムアルデヒドの灌流を行い、脳・脊髓を取り出した後、切片標本を作製して、記録電極位置の確認をおこなった。

以上の実験から、マーモセットの皮質脊髓路に単シナプス投射は確認されず、脊髓介在ニューロンを介した二シナプス以上の投射構造を有していることが示された。また、脊髓伝導速度はラットよりも早く、マカクサルよりも遅い範囲であり、比較生物学的にも極めて妥当な結果であった。今後は、トレーサーを用いた皮質脊髓路の構造解析による結果などを整合して、マーモセットにおける皮質脊髓路と運動ニューロン間の神経回路特性を確定させ、再生医療や遺伝子治療のメカニズム理解に資することとしたい。

41. 脳損傷後の麻痺肢集中使用による中枢神経系再編への影響の解析

飛田秀樹, 石田章真 (名古屋市立大学大学院医学研究科脳神経生理学分野)

梅田達也, 伊佐かおる, 伊佐 正 (生理学研究所認知行動発達部門)

近年, 脳血管障害後の上肢運動機能障害に対する有効なリハビリテーション方策として, CI療法に代表される麻痺側上肢の集中的使用が注目されているが, その詳細な作用機序は明らかになっていない。本研究では, 内包出血モデルラットを用いて麻痺側前肢の集中使用が大脳皮質運動野の体部位再現に及ぼす変化について経時的に解析した。

方法として, Wistar 系雄ラットの運動野の前肢領域部に皮質内微小電流刺激用のチャンパーを取付けた。7 日後に同側内包部に collagenase (type IV, 15 U/ml, 1.4 μ l) を注入し内包出血モデルを作成した。出血後 1-8 日目に非麻痺肢を拘束し麻痺肢のみ使用を可能にした。出血後 12 日および 26 日目に運動機能評価(リーチ・ステップ機能)を行った。出血の 5 日前および 1, 10, 24 日後に皮質内微小電流刺激法にて出血側運動野のマッピングを行った。

その結果, 内包出血 1 日後には重篤な運動麻痺が生じ, 運動野の前肢領域において皮質内微小刺激に反応する部分は観察されなかった。自然回復群(n=5)では, 術後 10 日目に尾側運動野の比較的狭い範囲にて刺激に反応する

前肢領域が観察され, 術後 24 日目には同領域がやや拡大していた。一方, 麻痺肢集中使用群(n=6)では, 術後 10 日目から尾側および吻側運動野において自然回復群に比して広範な前肢領域の出現が確認され, 術後 24 日目には領域の更なる拡大が認められた。前肢運動機能の評価では, 自然回復群と比べ集中使用群では有意な機能改善が認められた。さらに, 出現した尾側・吻側前肢領域に muscimol (1 μ M, 1 μ l) を投与すると, 改善した運動機能が低下することが確認されたのでこれらの領域が機能回復に貢献していることが明らかになった。

以上の結果より, 内包出血後の麻痺肢集中使用は運動野前肢領域を拡大し, 運動機能回復を促進することが示唆された。現在は拡大した領域に神経トレーサーを注入し, 解剖学的な神経回路の変化の解析を行なっている。今後も麻痺側上肢の使用と中枢神経系の可塑的变化について経時的かつ多面的な解析を行い, より有効なリハビリテーション法の開発に繋がる知見を見出すべく研究を行う所存である。

【 計画共同研究報告 】

計画共同研究報告

〔 目 次 〕

1. TRPM7 と容積感受性クロライドチャネルの機能的相互作用とその分子同定 (沼田朋大ほか)	176
2. 膵島インスリン分泌における TRP チャネルの機能解析 (出崎克也ほか)	176
3. 内臓機械痛覚過敏における TRP チャネルの機能解析と機能性胃腸疾患病態との関連 (杉山敏郎ほか)	177
4. 筋機械痛覚過敏における TRP チャネルの役割 (水村和枝ほか)	178
5. TRP チャネルが担う中枢性呼吸調節機構の解明 (平田 豊ほか)	178
6. 温度感受性 TRP チャネルの活性化機構の解析と機能的役割 —変温動物における TRPV1 の機能— (太田利男ほか)	179
7. 代謝生理生体リズムに見られる超日周期リズムと脳内オレキシン神経系の役割の解明 (大塚曜一郎ほか) ..	179
8. 朝食の欠食が顔認知機能に及ぼす影響の検討 (澤井明香ほか)	180
9. 視床下核アストロサイトによる運動制御機構の電気生理的解析 (和中明生ほか)	180
10. 樹状突起依存的なシナプスとグルタミン酸受容体の可塑性変化に関する機能形態学的解析 (川上良介)	181
11. 運動学習記憶痕跡に関連するシナプス微小形態変化 (工藤もゑこほか)	181
12. 依存性薬物摂取に伴う側坐核の可塑性変化における MHC 抗原クラス I 分子の役割 (中原大一郎)	182
13. 脳の左右差が生じるしくみとその役割の解明 (伊藤 功)	183
14. 多光子励起法を用いた生体脳におけるドレブリンの可視化とその神経活動依存的局在変化の解析 (渡部美穂ほか)	183
15. 多光子顕微鏡を用いた嗅覚障害とその回復時における ニューロンのターンオーバーの可視化解析 (澤本和延ほか)	184
16. 再生・新生した腸管神経細胞機能の in vivo 可視化解析および神経新生機構の解析 (高木 都ほか)	184
17. 多光子励起顕微鏡を用いた骨リモデリングのインビボ光イメージング (今村健志ほか)	185
18. インスリン受容体シグナル異常による肥満抵抗性糖尿病発症機序の解明 (三木隆司ほか)	186
19. 光活性化型チャンネルを用いた塩分摂取行動の制御機構に関する研究 (檜山武史ほか)	186
20. 脳領域特異的なコンディショナルなメタスチンノックアウトマウスの作製とその解析 (前多敬一郎ほか) ..	187
21. 肥満・糖尿病発症メカニズムに関与する遺伝子発現調節領域の動物個体レベルにおける解析 (高橋信之ほか)	188
22. CNR/プロトカドヘリン遺伝子ジーンターゲットマウスの作製と機能解析 (八木 健ほか)	188
23. 滑脳症モデルマウスを用いたカルパイン阻害剤有効性の検証 (広常真治ほか)	189
24. コンドロイチン硫酸プロテオグリカンの合成抑制による脳高次機能の異常の解析 (五十嵐道弘ほか)	190
25. 乳幼仔・小児・成熟個体におけるナノマテリアルの情動・認知行動毒性学的評価 (森下裕貴ほか)	190
26. DBZ KO マウスを活用した精神疾患の中間表現型の解明 (服部剛志ほか)	191
27. 脳特異的セリン合成不全マウスを活用した精神疾患の中間表現型の解明 (古屋茂樹ほか)	192
28. Emx1-NDI マウスを活用した精神疾患の中間表現型の解明 (植田弘師ほか)	192
29. 先端電子顕微鏡による細胞内膜構造の形成・輸送機構の解明 (金子康子ほか)	193
30. ハイブリッド顕微鏡用環境制御セルの開発 (箕田弘喜ほか)	193
31. 光学・電子顕微鏡を用いた血小板活性化過程の統合イメージング (最上秀夫ほか)	194
32. 骨格筋トライアドジャンクションの三次元構造解析 (國安明彦ほか)	195
33. 摂食調節ペプチドによるエネルギー代謝調節の研究 (塩田清二ほか)	196
34. ATF5 ノックアウトマウスの行動解析 (梅村真理子ほか)	197
35. 骨形成因子 (BMP) 阻害蛋白質 CHRDL1 のコンディショナルノックアウトマウス作製 (山岸 寛ほか)	197

1. TRPM7 と容積感受性クロライドチャネルの機能的相互作用とその分子同定

沼田朋大, 森 泰生 (京都大学 工学研究科)

佐藤かお理, 岡田泰伸 (生理学研究所)

細胞は、たとえ異常な浸透圧条件下においても自らの細胞容積を調節することにより生命活動を維持している。低浸透圧液暴露による細胞膨張後の細胞容積調節過程、すなわち調節性容積減少 (Regulatory Volume Decrease: RVD) の過程には、細胞容積増大をセンスして開口する TRPM7 (Transient Receptor Potential Melastatin 7) および容積感受性外向整流性 Cl⁻チャネル (VSOR) が大きな役割を担っている。一方で高浸透圧液暴露による細胞縮小後の細胞容積調節過程である調節性容積増大 (Regulatory Volume Increase: RVI) の過程には、高浸透圧刺激活性化非選択的カチオンチャネル (Hypertonicity-Induced Cation Channel: HICC) の活性化が大きな役割を担っているがその分子同定はされていなかった。このことから細胞容積調節機構を体系的に理解するために細胞容積調節の起点として機能する HICC の分子同定が急務であると考え、その分子実体に迫った。今回、我々は HICC の薬理学的、電気生理学的性質から TRPM2 チャネルが HICC の分子実体と考え、siRNA を用

いた実験から同定を行った。はじめに内在的に HICC を発現している HeLa 細胞において TRPM2 をノックダウンさせた細胞を用いて高浸透圧刺激で活性化する HICC 電流をパッチクランプ法で確認した。その結果、HICC 電流が大きく抑制されることを見出した。次に HICC の分子実体を明らかにするため HeLa 細胞における TRPM2 をクローニングした結果、TRPM2 チャネルの C 末端細胞質 Nudix 領域一部欠失スプライスバリエント (TRPM2 Δ C) がその分子実体であることを発見した。さらにその活性化機構として HIV 感染や癌、II 型糖尿病、オキシトシン分泌などに関与する分子である CD38 (サイクリック ADP リボースヒドrolラーゼ) と相互作用し、協調して活性化することを見出した。最後に HICC の生理的役割として siRNA を用いた実験から RVI および細胞増殖に関与することが分かった。前年度までの研究で TRPM7 と VSOR の機能的相互作用が RVD に、今回の研究で TRPM2 と CD38 の分子的相互作用が RVI に重要であることが明らかとなった。

2. 膵島インスリン分泌における TRP チャネルの機能解析

出崎克也, Damdindorj Boldbaatar (自治医科大学医学部)

内田邦敏, 富永真琴 (生理学研究所・岡崎統合バイオサイエンスセンター)

生体の血中グルコース濃度は、血糖調節ホルモンによって厳密にコントロールされており、唯一の血糖低下ホルモンであるインスリンは血中グルコース濃度に応じて膵 β 細胞から分泌される。近年、膵 β 細胞において新規カルシウム透過性チャネル (TRP チャネル) がグルコースおよびホルモン情報を統合するキー分子として機能している可能性が報告されている。TRPM2 は、膵 β 細胞に発現してインスリン分泌に関与することが推察されているが、その分子機構や個体レベルでのインスリン分泌への関与は明らかではない。そこで、TRPM2-KO マウスから単離した単一 β 細胞の細胞内 Ca²⁺動態を蛍光指示薬 fura-2 を用いた蛍光画像解析により野生型マウスと比較検

討した。RT-PCR 法により mRNA 発現を検討した結果、野生型マウス膵島では TRPM2 を含む複数の TRP 群の mRNA が検出された。野生型 β 細胞では、グルコース濃度を 2.8 mM から 8.3-22.4 mM に増加させると大きな細胞内 Ca²⁺濃度の増加と Ca²⁺オシレーションが観察された。TRPM2-KO β 細胞では、16.8 mM または 22.4 mM グルコース刺激による細胞内 Ca²⁺濃度増加は低下しており、早期の大きな増加とその後の Ca²⁺オシレーションは、いずれも KO マウス β 細胞で有意に低下していた。一方、低グルコース濃度 (2.8 mM) での基礎的な細胞内 Ca²⁺濃度や ATP 感受性 K⁺チャネルブロッカーの Tolbutamide による細胞内 Ca²⁺濃度増加に差はみられなかった。また、イン

クレチンホルモンの Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) による細胞内 Ca^{2+} 濃度増加は、KO マウスでは大きく低下していた。さらに、TRPM2-KO マウスにグルコース負荷試験を行った結果、インスリン分泌の低下と耐糖能の悪化が観察された。以上より、グルコースおよび GLP-1 による膵 β 細胞内 Ca^{2+} 濃度増加やインスリン分泌に

TRPM2 が強く関与しており、 β 細胞 TRPM2 チャネルによるインスリン分泌を介した全身糖代謝調節が示唆される。

今後は、TRPM2 によるインスリン分泌制御の詳細な分子メカニズムおよび糖尿病態における TRPM2 の病態生理学的役割について検討を進めていく予定である。

3. 内臓機械痛覚過敏における TRP チャネルの機能解析と機能性胃腸疾患病態との関連

杉山敏郎，三原 弘，鈴木庸弘，山脇秀元（富山大学医学薬学研究部）
富永真琴（生理学研究所・岡崎統合バイオサイエンスセンター）

申請者らは、小腸の TRPV2 が消化管弛緩運動に関わっていること、食道の TRPV4 が ATP 遊離を介して機械刺激センサーとして機能していることを明らかにしてきた。本研究では消化管に発現する TRPV2, TRPV4 の分布と伸展刺激時の機能解析を行い、機能性胃腸疾患病態との関連を検討し、新規治療標的薬開発への道を切り拓くことを目的とする。

【検討 1】臨床研究から十二指腸液逆流が非びらん性食道逆流症の病態の一因であることが明らかにされている。この病態では第一選択治療薬であるプロトンポンプ阻害薬の効果も乏しく、食道過敏性が示唆されている。そこで十二指腸液に含まれるトリプシンが G 蛋白共役型受容体である PAR-2 活性化を介して、食道上皮 TRPV4 の感受性を亢進させるかを検討した。マウス食道上皮に PAR-2 が発現、トリプシンあるいは PAR-2-活性化ペプチド前処置で、食道上皮の Ca イオン流入および ATP 放出が有意に増加した。食道に逆流したトリプシンにより、食道上皮 TRPV4 の感受性が亢進、食道過敏性の一因となる可能性が推定される。

【検討 2】機能性ジスぺシアの特徴は胃の適応性弛緩障

害である。マウス胃の抑制性運動神経に TRPV2 が発現、TRPV2 刺激下での単離胃の伸展圧反応を圧トランスデューサーを用いて検討した。TRPV2 刺激により単離胃の適応性弛緩が促進された。TRPV2 活性化剤を同時に胃内に投与すると、対照群に比較して胃排出能が有意に促進された。胃の抑制性運動神経に発現する TRPV2 の活性化が適応性弛緩を促し、胃内容物の排泄促進に働く可能性が示唆された。

【検討 3】胃上皮における TRPV4 の発現・機能と *H. pylori* 菌感染の関連を検討した。マウス胃、ヒト胃生検標本において TRPV4 の発現が確認された。マウス胃上皮細胞では TRPV4 活性化による細胞内 Ca 濃度上昇、内向き電流が観察された。TRPV4 欠損マウスの胃排出能は低下していた。ピロリ菌感染ヒト胃では TRPV4 発現は低下し、胃排出能等の機能異常に関与している可能性が示唆された。

これらの結果から、機能性胃腸疾患における TRPV2, TRPV4 の関連が示唆され、これらが機能性疾患の新規治療標的分子の候補となり得ることが推測される。

4. 筋機械痛覚過敏における TRP チャネルの役割

水村和枝 (中部大学)

片野坂公明, 太田大樹 (名古屋大学環境医学研究所)

加塩麻紀子, 富永真琴 (生理学研究所・岡崎統合バイオサイエンスセンター)

温度センサーとして見つかった TRPV1, V4 が、機械痛覚過敏にかかわっているとの報告があり、水村らもまた伸張性収縮負荷による遅発性筋痛の機械痛覚過敏に TRPV1, V4 が関与していることを明らかにしてきた。遅発性筋痛は、運動中に遊離される Arg-ブラジキニン (rat) が B2 受容体を活性化して筋における NGF 産生を高め、この NGF が筋細径線維受容器を感作して痛覚過敏を起こす経路と、運動中に活性化された COX-2 を介して産生された PG によって筋における GDNF 産生が産生され、筋細径線維受容器を感作して機械痛覚過敏を起こす経路との 2 経路がある。本年度は、これらの TRPs が遅発性筋痛の発生過程のどのレベルで関与しているかを調べた。NGF による痛覚過敏は TRPV1 ノックアウト (KO) マウスでは殆ど見られなかったが、TRPV4KO では野生型と同様な筋機械痛覚過敏が見られた。一方、伸張性収縮負荷後に見られる筋に NGF mRNA 発現増大は、どちらの KO マウスでも見られた。これらの結果より、TRPV1 は侵

害受容器上にあって NGF によって感作され、筋機械痛覚過敏にかかわっているのに対し、TRPV4 はこの経路には関わっていないと考えられる。さらに COX-2-GDNF 系路への関与についても調べた。伸張性収縮負荷後の GDNF mRNA 発現増大は TRPV1KO では野生型同様見られたのに対し、V4KO では有意な変化ではなかった。GDNF による筋機械痛覚過敏は、V1, V4 両 KO で見られなかった。これらの結果より、TRPV1 は侵害受容器上にあって GDNF によって感作され、筋機械痛覚過敏にかかわっていると考えられる。この結果は GDNF による機械痛覚過敏が capsazepin では減弱しないというラットの実験結果と食い違う。種差の可能性はある。一方、TRPV4 は侵害受容器上にあって GDNF によって感作され、筋機械痛覚過敏にかかわっているばかりでなく、GDNF 産生経路にも関わっていると考えられる。GDNF 産生経路のどこに TRPV4 が関与しているかについては今後の研究課題である。

5. TRP チャネルが担う中枢性呼吸調節機構の解明

平田 豊 (兵庫医科大学 生理学生体機能部門)

鈴木喜郎, 富永真琴 (生理学研究所・岡崎統合バイオサイエンスセンター)

中枢性呼吸調節機構は、換気応答によって驚くべき厳密さで生体の P_{CO_2}/pH 変動を一定の狭い生理的範囲に調節している。この調節機構を担っている中枢化学受容細胞及びその化学受容器の分子実体は長い間謎であった。提案代表者は、これまでに脳幹・延髄由来のニューロン・グリア共培養細胞を用い、 CO_2/pH 負荷に対する細胞内応答を、 Ca/pH のイメージング、perforated patch-clamp 法により検討したところ、高 CO_2 負荷によりグリア細胞が Ca 応答をすることを見出してきている。この Ca 応答を引き起こす Ca チャネルの候補として、薬理的スクリーニングの結果、TRP チャネルのサブタイ

プが推定された。生理学研究所の富永教授と共に、TRP チャネルにおいて、どのサブタイプが換気応答の制御に関与するかを明らかにし、TRP チャネルが担う中枢性呼吸調節機構を解明することが本研究の目的である。推定されたサブタイプを含む、温度感受性 TRP チャネル欠損マウス群に対する高 CO_2 負荷による換気応答の変化を whole body plethysmography 法にて野生型マウスと比較した。その結果、高 CO_2 負荷による換気応答に有意な減弱が観察される温度感受性 TRP チャネル欠損マウスを見出している。

6. 温度感受性 TRP チャネルの活性化機構の解析と機能的役割 —変温動物における TRPV1 の機能—

太田利男, 高橋賢次, 大北真嗣 (鳥取大学農学部)

齋藤 茂, 富永真琴 (生理学研究所・岡崎統合バイオサイエンスセンター)

温度感受性 TRP チャネルの一つである TRPV1 はこれまで哺乳類や鳥類などの恒温動物において遺伝子クローニングがなされ、その機能解析が行われてきた。しかし、変温動物である両生類での機能は不明であった。そこで、提案代表者は生理学研究所の富永教授、齋藤特任助教らと共に、ニシツメガエル (*Xenopus tropicalis*) TRPV1 遺伝子 (xtTRPV1) をクローニングし、その発現・機能解析を細胞内 Ca イメージング法及び膜電流測定法により行った。合わせてニシツメガエル知覚神経細胞における内因性 TRPV1 と比較した。

xtTRPV1 のアミノ酸配列は他の脊椎動物 TRPV1 オルソログと約 60%の相同性を示した。xtTRPV1 を発現させた HeLa 細胞及び *Xenopus oocyte* において capsaicin, 酸及び熱刺激によりチャネル活性が生じた。ニシツメガエルより分離した知覚神経細胞においても、これらの刺激により活性が見られた。個体を用いた行動実験において、

capsaicin 及び熱により疼痛行動が生じた。これらの実験における capsaicin 反応閾値はほぼ一致していたが、その感受性は、多くの哺乳類 TRPV1 と比べて著しく低下していた。xtTRPV1 と哺乳類 TRPV1 とのアミノ酸比較を行い、xtTRPV1 遺伝子変異体を作成した。これらの変異体を用いた機能解析により、xtTRPV1 における capsaicin 感受性の低下の原因は、2 つのアミノ酸置換 (Tyrosine 523, Alanine 561) であることが示された。

以上の成績から、ニシツメガエル TRPV1 は哺乳類と同様にポリモーダル受容体として機能していることが明らかになった。また、第3及び第4膜貫通領域の2つのアミノ酸が capsaicin 認識部位として機能していることが示された。これらのことから、陸生脊椎動物の祖先種である両生類において TRPV1 が侵害受容センサーとして働いていること、更にその機能は進化の過程で維持されていることが示唆された。

7. 代謝生理生体リズムに見られる超日周期リズムと 脳内オレキシン神経系の役割の解明

大塚曜一郎 (鹿児島大学大学院医歯学総合研究科)

山中章弘 (生理学研究所)

これまで大塚はラットで褐色脂肪組織の代謝が約 100 分間隔いわゆる‘超日リズム’で増減すること、これに同期して体温、脳の温度、血圧、心拍などの自律神経系パラメータや行動、そして脳の覚醒状態が変化することを明らかにし、この‘超日リズム’が内因性基礎リズムであると提唱してきた。概日リズム調節に重要な脳内ニューロン群を破壊した後、この‘超日リズム’はより顕著になることから、この‘超日リズム’は概日リズムとは別の機構で作られるより基本的で重要な内因性リズムと考えられる。覚醒・睡眠制御系で重要な役割を持つ脳内神経伝達物質であるオレキシンを先天的に欠損したマウスで体温を計測すると体温の‘超日リズム’が減弱し

ている。それゆえオレキシン含有神経が‘超日リズム’の制御に関与している可能性がある。この可能性を探るためには正常マウスでオレキシン神経活動を制御する技術が鍵となる。そこで山中章弘准教授が開発した光刺激でオレキシン神経特異的にその活動を制御できるオレキシン神経-光操作システムを用いて‘超日リズム’の形成でのオレキシンの役割を明らかにすることを目指すために本研究を提案した。オレキシン神経特異的に光受容タンパク (チャネルロドプシンあるいはアーキオロドプシン) を発現した遺伝子改変マウスを用い、体温、心拍数、行動、摂食を計測した。光刺激でオレキシン神経の活動を特異的に亢進あるいは抑制させたところ種々の生

理パラメータに同期して見られる‘超日リズム’が乱れた。このことはオレキシン含有神経が‘超日リズム’の形成に関与していることを示唆する。すなわち本研究により‘超日リズム’研究でオレキシン神経に注目するというアプローチの有効性が得られた。今後はオレキシン

神経⇄光操作システムを用いた本研究をさらに推進させるとともに、次年度はこの光操作システムを睡眠覚醒制御系にかかわる他の脳内神経化学系に応用し‘超日リズム’の計画共同研究を継続したいと考えている。

8. 朝食の欠食が顔認知機能に及ぼす影響の検討

澤井明香 (千葉県立保健医療大学)

仲渡江美, 竹島康行, 柿木隆介 (生理学研究所)

【背景】ヒトの顔や表情の適切な認知はコミュニケーションに重要であるが、自閉症や非行少年での認知の問題を指摘するものもある。朝食の欠食者が増加しており、補導された非行少年の朝食欠食率の高さを指摘する報告もある。申請者は、これまでに欠食が暗算時の脳血流や自律神経活性に影響を及ぼすことを示している。

【目的】欠食と顔認知機能の関係を多チャンネルの近赤外光脳機能計測装置 (NIRS) にて検討する。

【方法】実験に先立ち予備的調査として、朝食摂取日と欠食日の両日に対象者 (大学生 35 名, 小学生 80 名) に顔認知 (再認・表情)・ストループ、暗算を実施し、課題の成績を比較した。

また、多極の NIRS を用いた場合の測定に適する課題の選定を行った。NIRS の調整をおこなったところ、経年劣化による動作不良により目的の計測を遂行するのは困難であったが、翌年度 (平成 24 年度) に後継機種 of NIRS が所内に納入されるとの情報を得たため、本年度は生理研の測定を延期し、2 極の NIRS による前頭部中心の予備測定を千葉県大にて実施した。

【結果】大学生に、暗算・ストループ・顔再認試験を各々 10 分ずつ回答すると、3 種類の課題は、いずれも欠食で

課題遂行数が有意に低下した。顔再認はさらに正解率も有意に低下した。

小学生に顔再認および顔表情試験を実施すると、怒り顔や恐怖顔は欠食時も課題の回答数は維持されたが、幸福顔や平静顔では有意に低下した。顔表情から受ける印象を主観的に点数をつけると、怒り顔、笑顔で評価点の平均値が低下したが、平静顔はかわらなかった。

朝食の常食習慣を持つ大学生に摂取日と欠食日に暗算と顔再認を実施し、心電計にて自律神経活動を、2 極の NIRS にて前頭部および側頭部血流を測定し、欠食日は暗算も顔再認も交感神経活性の上昇差が有意に上昇した。脳血流は、欠食日の安静時の左前頭部酸素化ヘモグロビン (Hb) および還元 Hb の平均値が低値を示した。暗算による上昇差は、酸素化 Hb は変わらず、還元 Hb は欠食日で平均値が低値を示した。顔再認は左右側頭部の還元 Hb の平均値が低値を示した。

以上より認知課題の成績と自律神経活性、脳血流は欠食の影響を受けたが、課題の種類差は、成績以外は顕著ではなかった。顔認知については、今回、主反応部位である側頭部の計測を機種都合により殆ど実施できなかったため生理研にて翌年度以降に取り組むこととする。

9. 視床下核アストロサイトによる運動制御機構の電気生理的解析

和中明生, 辰巳見子, 奥田洋明 (奈良県立医科大学医学部 第二解剖学講座)

佐野裕美, 南部 篤 (生理学研究所 生体システム研究部門)

申請者らはオリゴデンドロサイト前駆細胞において発現する転写調節因子 Olig2 に着目し、成熟脳内における

Olig2 陽性細胞の動態を Olig2 プロモーター下に eGFP を発現するダブルトランスジェニックマウスを用いて解析

を行ってきた。この解析過程で申請者らは視床下核において eGFP 陽性のアストロサイトが集簇することを見出した。視床下核は運動制御に働く大脳基底核回路において重要な役割を担っていることが知られている。そこでこのマウスにランニングホイールを用いた 2 週間の自発運動刺激を課し、視床下核での eGFP 陽性アストロサイトを観察したところ対照群（運動なし）と比べてアストロサイトが突起を多数伸ばした複雑な形態を呈することを見出した。運動刺激に応じた形態変化の機能的意義を探る目的で、アストロサイト特異的な細胞毒である Fluorocitrate (FC) を視床下核に微量注入したマウスでの自発運動量を計測したところ、対照と比べて有意に運動

量の減少が認められた。

本共同研究ではこのアストロサイトによる神経機能調節の可能性を検証する目的で、FC 或いは等量の生理食塩水を視床下核に微量注入したマウスにおける視床下核及び大脳基底核回路を構成する淡蒼球、大脳皮質運動野における神経活動を計測した。FC 注入群と対照群の間では予想されたような神経活動の有意な差は検出されなかったが、FC の用量の問題、FC の細胞特異性の問題など課題として考えられた。今後は視床下核或いは淡蒼球内節におけるアストロサイトを特異的にターゲットする薬剤或いは遺伝子操作を用いて同様の解析を行う必要があると考えられる。

10. 樹状突起依存的なシナプスとグルタミン酸受容体の可塑性変化に関する機能形態学的解析

川上良介（北海道大学・電子科学研究所）

シナプス可塑性の発現によりスパインの形態が変化し、特定のグルタミン酸受容体サブユニットのシナプス密度が変化すること等が明らかになっている。しかしながら、海馬錐体細胞では基底樹状突起と頂上樹状突起のスパインおよびシナプスのサイズ分布が異なる結果を得ている。このことは可塑性発現とシナプスの形態変化が樹状突起依存的に異なる可能性を示唆しており、本研究により、シナプス可塑性とスパイン形態および受容体の密度変化との関連を明らかにすることを目的とした。

金属電極による可塑性誘導はその刺激領域が限局されることから、電子顕微鏡レベルでその位置を同定することが困難である。そこで、まず始めに 2 光子顕微鏡並びに共焦点顕微鏡を用いてスパイン変化の観察および領域同定を試みた。しかしながら、新鮮スライス標本をホルマリン固定した場合、透過性の劣化により可塑性が誘導

されている領域と考えられる脳スライス標本中心部のイメージングは困難であった。そこで、新たに見出した透徹剤を適用することを試みた。透徹剤の諸条件を検討した結果、共焦点顕微鏡および 2 光子顕微鏡のどちらにおいてもスライス表層から 200 μ m 以上の深部スパインの可視化に成功した。本手法により、新鮮スライスにおいて誘導された可塑性を発現したシナプス領域を特定することが可能になった。現在、本手法を用いて高カリウム刺激、並びに GABA 受容体阻害剤による刺激を試みている。この成果を基とし、SDS-FRL および超薄切片をもちいた透過型電子顕微鏡観察によるシナプス形態の統計学的解析を行うことで海馬錐体細胞のシナプス可塑性発現メカニズムの樹状突起依存性を明らかに出来ると考えており、研究を継続中である。

11. 運動学習記憶痕跡に関連するシナプス微小形態変化

工藤もゑこ、永雄総一（独立行政法人・理化学研究所・脳科学総合研究センター・運動学習制御）

重本隆一（自然科学研究機構・生理学研究所・脳形態解析部門）

マウスの水平性視機性眼球反応 (HOKR) のゲインの

適応のパラダイムを用いた先行研究 (Shutoh et al.,

Neuroscience 139:767-77, 2006; Okamoto et al., *J Neurosci* 31:8958-8966, 2011) は, HOKR のゲインに適応が生じる時, はじめは小脳皮質の片葉に適応の記憶痕跡が存在するが, 適度な間隔 (休憩) をおいて練習を繰り返すことにより, 適応の記憶痕跡は片葉の出力先である前庭神経核に移動することを示唆する。この記憶痕跡のシナプス間移動は練習の開始から数時間程度で生じ, かつ休憩の時期に片葉で作られるタンパク質が必要であることが示唆されている。さらに, 休憩時に片葉にムシモールを局所投与し神経の自発発火を止めると, 記憶痕跡の移動が阻害される (Okamoto et al., *Neurosci Lett* 504:53-55, 2011) ことから, 休憩期間に小脳皮質で作られたタンパク質が, 軸索流によりプルキンエ細胞の軸索終末に輸送され, 神経発火により神経伝達物質の γ アミノ酪酸 (GABA) とともに放出され, シナプス後側の前庭核の神経細胞に可塑性変化を生じさせることが適応の記憶痕跡の移動の原因であるという作業仮説を提出した。また, 薬理と電気生理の実験により, プルキンエ細胞の軸索終末から GABA とともに放出される消化管ホルモンのモチリンは, 前庭神経細胞の GABA 受容体と K^+ -チャンネルの活性を修飾

することを見出した (Todaka et al., 投稿中)。今後さらに, 記憶痕跡の移動に関与する可能性のあるタンパク質やペプチドの作用について検討する予定である。

2011 年度は, この仮説を検証するために, 前庭核で, 適応の記憶痕跡が形態学的にどのように表現されているかを形態学的に調べる手法の開発を試みた。片葉に順行性のトレーサーを注入し, 片葉のプルキンエ細胞がシナプス結合をする前庭核神経細胞の樹状突起が, 経シナプ斯的にどの程度標識されるかを検討した。トレーサーには, 東大の宮下研究室で開発された WGA を強制発現させることのできるレンチウイルスを用いた。マウスの片葉にレンチウイルスを微量注入し, 2 週間及び 3 ヶ月後にマウスを灌流固定し, 前庭核の組織切片を作成した。光顕による観察では, 細胞体と近位樹状突起が WGA で経シナプ斯的に標識されている神経細胞が若干見られたが, 興奮性シナプスが分布する遠位樹状突起が標識されている神経細胞は見られなかった。現在, 遠位樹状突起における WGA の標識を電顕で検討するとともに, WGA の経シナプス標識の効率を高める実験条件を検討しているところである。

12. 依存性薬物摂取に伴う側坐核の可塑性変化における MHC 抗原クラス I 分子の役割

中原大一郎 (浜松医科大学医学部)

主要組織適合遺伝子複合体抗原 (MHC 抗原) クラス I は哺乳動物の細胞性免疫系の主要分子として広く知られているが, 最近になってこの分子が脳細胞に発現していることがわかり, すでに外側膝状体・海馬・小脳などでシナプス可塑性関連因子として働くことが示唆されている。一方, 薬物依存の形成は中脳腹側被蓋野および側坐核における可塑性変化を伴うことが報告されている。そこで, 本研究では薬物依存の形成に伴う側坐核シナプス可塑性の変化に MHC 抗原クラス I 分子が関与するか否かを明らかにすることを目的とした。

MHC 抗原クラス I は重鎖 ($\alpha 1 \sim \alpha 3$) と $\beta 2$ ミクログロブリン ($\beta 2m$) の軽鎖で構成され, $\beta 2m$ をノックアウトしたマウスでは細胞表面における MHC 抗原クラス I の発現が著しく減少することが報告されている。本研究ではまず $\beta 2m$ ノックアウトマウスおよび野生型マウスにコカ

インの慢性投与を施し, $\beta 2m$ ノックアウトマウスでは薬物依存形成の指標とされる行動感作が著しく増加することを確認した。さらに休薬後 14 日の時点での側坐核ニューロンにおける興奮性シナプス上の総 AMPA 受容体, およびそのサブユニットである GluR1, GluR2 の密度を SDS 処理凍結活断レプリカ標識法により解析した。その結果, 野生型マウスにおいては薬物依存形成後に GluR1 の密度の増加が認められた。一方 $\beta 2m$ ノックアウトマウスにおいては総 AMPA, GluR1, GluR2 すべてにおいて密度の増加が認められた。コカインの慢性投与を行わなかった統制群においては, 野生型と $\beta 2m$ ノックアウトの両群間で総 AMPA, GluR1, GluR2 の密度に差は認められなかった。これらの結果から, $\beta 2m$ がコカインにより誘起される側坐核ニューロン興奮性シナプス上の AMPA 受容体およびそのサブユニットの増加に関与しているこ

とが示された。さらに電気生理学的な解析を行ったところ、野生型マウスの側坐核スライス標本では低頻度刺激により LTD が誘起されるが、 $\beta 2m$ ノックアウトマウスでは同じ刺激で LTD が誘起されないことを確認した。コカイン依存の形成に密接に関連する LTD の消失が $\beta 2m$ ノックアウトにより生じることは興味深い。また、コカイン慢性投与処置を行った $\beta 2m$ マウスでは高頻度刺激により誘起される LTP が減弱することが確認された。これ

はコカイン慢性投与によりすでに側坐核興奮性シナプス上の AMPA 受容体が増加していることによる天井効果であると推測され、SDS 処理凍結活断レプリカ標識法で得られた結果と一致した。

今後は MHC 抗原クラス I の細胞表面への発現がより抑制された $\beta 2m/TAP1$ ダブルノックアウトマウスを用い、MHC 抗原クラス I の側坐核シナプス可塑性への作用メカニズムのさらなる解明を試みる。

13. 脳の左右差が生じるしくみとその役割の解明

伊藤 功（九州大学大学院理学研究院）

成獣マウスの海馬神経回路には NMDA 受容体 NR2B サブユニットの非対称なシナプス配置に基づく機能的・構造的左右非対称性が存在していることを我々は明らかにした。さらに、このような神経回路の非対称性形成に、MHCI/PirB 系が関与している可能性を示唆する結果が MHCI のサブユニットである $\beta 2m$ や PirB のノックアウトマウスを用いた生理学的解析によって得られつつある。そこで本共同研究は、解剖学的手法を用いて神経回路の非対称性形成における MHCI/PirB 系の関与を確認することを目的としている。

本年度は、 $\beta 2m$ ノックアウトマウスを用いた解剖学的解析を実施した。その結果、海馬シナプスのサイズや形

状の非対称性も消失している事が明らかになり、MHCI の機能阻害により海馬神経回路の機能的・構造的な非対称性が完全に消失する事が示された。これらの成果は、すでに国内学会において発表するとともに、論文として投稿中である。

現在、PirB のノックアウトマウスを用いた生理学的な解析が進行中であり、 $\beta 2m$ ノックアウトマウスの場合とほぼ同様の結果が得られつつある。今後は PirB のノックアウトマウスを用いてシナプス形態の解析を実施するとともに、MHCI や PirB のシナプスにおける局在を明らかにする事を試みる。

14. 多光子励起法を用いた生体脳におけるドレブリンの可視化とその神経活動依存的局在変化の解析

渡部美穂，白尾智明（群馬大学大学院医学研究科）

ドレブリンは脳内における主要なアクチン結合タンパクのひとつであり、樹状突起スパインに局限している。神経特異的ドレブリンの樹状突起スパインへの集積はスパイン形成過程の最初期に起こる現象であることから、スパイン形態形成の制御に密接に関与していると考えられる。本研究では、*in vitro* および *in vivo* におけるドレブリンの神経活動依存的局所的変化と樹状突起スパイン形態変化の関連を解析し、シナプス形成機構におけるアクチン細胞骨格制御の一端を明らかにすることを目指し

た。まず、マウス胎児の海馬初代培養神経細胞に GFP-ドレブリンを強制発現させ、まず共焦点レーザー顕微鏡により観察を行い、次に多光子励起顕微鏡により観察を行う技術を習得した。さらに、*in vivo* でドレブリンの局所的変化を解析するために、ドレブリンが GFP 標識されている GFP-ドレブリントランスジェニックマウスを用いて、多光子顕微鏡を用いて生体脳におけるドレブリンの可視化を試みた。しかし残念ながら、GFP-ドレブリントランスジェニックマウスにおけるシナプス部の

GFP 蛍光は微弱なもので有り、画像を得ることはできなかった。今後は GFP-ドレブリンノックインマウスを複製し、再び多光子励起法を用いた生体脳におけるドレブリンの可視化を目指したい。また、電気生理学および薬理的に神経活動を誘発した際に、ドレブリンの局在

に変化がみられるか観察を行う予定である。また、Thyl-YFP トランスジェニックマウスと GFP-ドレブリンノックインマウスを交配し得られるマウスを用いて、ドレブリンの局在変化と樹状突起スパインの形態変化の関連の解析を行う予定である。

15. 多光子顕微鏡を用いた嗅覚障害とその回復時におけるニューロンのターンオーバーの可視化解析

澤本和延, 金子奈穂子, 加藤康子, 澤田雅人 (名古屋市立大学大学院医学研究科再生医学分野)

哺乳類の脳室下帯では成体でも神経幹細胞が存在し、生涯にわたりニューロンを新生している。新生ニューロンが嗅覚の一次中枢である嗅球へと移動し、成熟して神経回路に組み込まれる一方で、古いニューロンは細胞死を起こしており、嗅球ニューロンは常に入れ替わっている。これまでの研究で、嗅球に到着した新生ニューロンの生存には嗅覚入力が必要であることが示唆されているが、生きた動物で同一ニューロンを長期間追跡することが困難であり、ニューロンのターンオーバーに嗅覚入力を与える影響は不明である。

近年、二光子顕微鏡を用いた *in vivo* イメージング法が発展し、生きた動物で蛍光標識された脳細胞を繰り返し観察することが可能になった。実際に、嗅球ニューロンの一種である傍糸球細胞は嗅球表層に位置し、二光子顕微鏡を用いて同一細胞を長期間追跡することでそのターンオーバーを観察出来ることが報告されている。

そこで本研究では、生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門及び名古屋市立大学大学院医学研究科再生医学分野の共同研究により、入力障害及び回復過程での嗅球ニューロンのターンオーバーの変化を多光子励起法に

より同一個体で経時的かつ詳細に解析し、嗅覚障害とその回復におけるニューロン新生の役割を解明することを目的とした。

始めに、傍糸球細胞が蛍光標識される遺伝子改変マウスを用いて、2 ヶ月以上の同一個体での嗅球生体観察法を確立した。次に、傍糸球細胞のターンオーバーにおける嗅覚入力の役割を解明するために、嗅覚入力を可逆的に制御できる外鼻孔閉塞プラグを用いて、嗅覚入力を制御した時の傍糸球細胞のターンオーバーの変化を詳細に解析した。その結果、入力遮断過程で傍糸球細胞が細胞死を起こした場所が、嗅覚入力再開後に新生ニューロンによって埋まることを見出した。さらに、この入力依存的な入れ替わりパターンは、二光子レーザーで一細胞を狙って焼灼した後にも観察された。以上の結果は、嗅覚入力成体嗅球ニューロンのターンオーバーを時空間的に制御していることを示唆している (Sawada et al., *J. Neurosci.*, 2011)。現在は、ターンオーバーの時空間制御に関するメカニズムをさらに明らかにするため、ニューロンと血管及びグリア細胞との相互作用について二光子イメージング法で解析中である。

16. 再生・新生した腸管神経細胞機能の *in vivo* 可視化解析および神経新生機構の解析

高木 都, 後藤 桂 (奈良県立医科大学分子病理学講座)
加藤 剛, 鍋倉淳一 (生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門)

我々はこれまでに 5-HT₄ 受容体作動薬クエン酸モサプリド (以下 MOS) は、下部消化管切離吻合後に損傷

した壁内神経系の再生・新生促進作用を有することを見いだしている。しかしながら、消化管切離吻合部の組織

修復過程で生じる肉芽組織深部の詳細な観察は、ホールマウント標本では共焦点顕微鏡励起光の深部到達度に限界がありこれまで不可能であった。

そこで本研究では、壁内神経細胞が蛍光標識された遺伝子改変マウス (Thy1 promotor GFP H-line mouse) を用い、高深部到達性かつ低侵襲性の赤外領域光を励起光源とする非線形光学系-2 光子励起顕微鏡 (以下 2PM) を用いて小腸切離吻合術 (SITRA) 後形成される肉芽組織深部の *in vivo* イメージングを用い、吻合部肉芽組織内の詳細な観察および損傷腸壁内神経系の再生・新生過程に対する MOS の効果の解析を試みた。

我々はまず、無処置群の麻酔下マウスにおいて 2PM で終末回腸の *in vivo* イメージングを実施し、縦走筋と輪走筋層の間に Auerbach 神経叢を確認することに成功した。その上で、術後 1 週間の SITRA 群と術後 1 週間の MOS 飲水投与を行った SITRA+MOS 群、さらに 5-HT₄ 受容体拮抗薬 SB-207266 (以下 SB) を同時に投与した SITRA+MOS+SB 群で肉芽組織深部の観察を行い、取得した画像を解析した。

その結果、まず 2PM を用いることでこれまで不可能であった吻合部深部までの観察が十分に可能であることが明らかとなった。さらには、定量的解析を進めて、取得した画像から新生したと思われる神経細胞数を三次元でカウントした結果、SITRA 群と SITRA+MOS+SB 群との間では有意差は認められなかったが、MOS 群では他の 2 群と比較し新生神経細胞が表面から約 100 μ m の深さに集中して有意に増加 (約 4 倍) しているという結果を得た。

これらの結果より、小腸切離吻合術後の肉芽組織深部を観察する上で 2PM の有用性が示唆され、また同時に損傷腸壁内神経系の再生・新生促進作用に対する MOS の効果が明らかとなった。

今後は、より長期間の観察が必要であることから同様の追加実験を予定している。さらには、取得した映像の三次元化や、GFP と波長の異なる蛍光色素でマーキングした神経幹細胞移植後のイメージングなどを実施し、神経新生あるいは腸管壁内神経系の再構築過程を明らかにする研究を行う予定である。

17. 多光子励起顕微鏡を用いた骨リモデリングのインビボ光イメージング

今村健志, 正田温彦 (愛媛大学 大学院医学系研究科 分子病態医学分野)

破骨細胞と骨芽細胞のカップリングが骨のリモデリングを制御する重要な機構であることが提唱されているが、その本体は明らかにされていない。本研究では、多光子励起顕微鏡を用いてインビボで骨芽細胞と破骨細胞の機能をイメージングする実験系を構築し、骨リモデリングのインビボ解析をおこない、破骨細胞と骨芽細胞のカップリングの分子メカニズムを明らかにすることを目的とする。

昨年度、I 型コラーゲンプロモーターの下流で蛍光タンパク質が発現するトランスジェニックマウスを作製し、実験を進め、マウスの頭蓋骨に破骨細胞誘導因子 RANKL を注射すると局所で骨吸収がおこるが、この時に活性型骨芽細胞を蛍光イメージングでトレースすると、RANKL 投与後約 2 週で活性型骨芽細胞が激減し、その後投与後約 4 週をピークにその数が増加し、投与後約 6 週で元に戻ることを明らかにした。今年度は、カテプシン K のプロモーターの下流で Cre が発現するトランスジ

ェニックマウスを準備し、Cre によって発光タンパク質と蛍光タンパク質が発現するトランスジェニックマウスと掛け合わせを開始したが、その過程で、Cre によって発光タンパク質と蛍光タンパク質が発現するトランスジェニックマウスの蛍光タンパク質の発現が検出できない状況に陥ったので、マウスの strain の問題と考え、改めてマウスのバッククロスを進めた。

さらに、昨年度、骨髄内に蛍光タンパク質を発現する細胞を移植し、2 光子励起顕微鏡を用いてインビボで細胞を観察することを試みたところ、予想以上に骨髄内イメージングが困難で、2 光子励起顕微鏡を用いても 150 μ m の深さまでしか観察できないこと (共焦点レーザー顕微鏡で 100 μ m) がわかったので、その改良を進めた。具体的には、モデル系としてはより観察しやすい頭蓋骨の観察のためのシステムを構築した。さらに、蛍光タンパク質としては、より長波長を選択した方がよいことを確認した。一方、蛍光試薬を使った骨代謝関連細胞のイメ

ーシングを進め、数種類の蛍光有機小分子で、インビボ 骨細胞イメージングに成功した。

18. インスリン受容体シグナル異常による肥満抵抗性糖尿病発症機序の解明

三木隆司, 李 恩瑛 (千葉大学大学院医学研究院代謝生理学)

櫻井健一 (千葉大学大学院医学研究院細胞治療内学)

戸田知得, 箕越靖彦 (自然科学研究機構生理学研究所)

インスリンシグナルは糖・エネルギー代謝の制御において中心的な役割を果たす。我々はインスリン受容体の変異体のノックインマウス (mIR マウス) が通常飼育下では耐糖能障害が見られないものの、高脂肪食負荷により顕性の糖尿病を発症することを見いだした。興味深いことに、mIR マウスでは高脂肪食負荷による肥満がほとんど誘導されず、日本人をはじめとするアジア諸国で多く見られる小太り型の糖尿病の病態を模した動物モデルと考え、病態の解明を目指し、解析を行っている。

高脂肪食負荷 mIR マウスは経口ぶどう糖負荷試験や経口食餌負荷試験で明らかな耐糖能異常を認めた。mIR マウスがインスリン抵抗性マウスであり、高脂肪食負荷はインスリン抵抗性を誘導することから、まずに、インスリン需要の増大に膵島からのインスリン分泌が代償しきれずに糖尿病を発症した可能性を考えた。これを検討するために、膵島量を定量したり、血中インスリン濃度を測定したところ、高脂肪食負荷 mIR マウスは著明な膵島の肥大と高度の高インスリン血症を示し、膵島の代償が不十分であるために、糖尿病が発症しているわけではないことが明らかになった。

次に、インスリンを分泌する膵島の特に糖負荷後に明らかな高血糖が誘発されたことから、骨格筋・脂肪細胞における糖取込みの低下や肝臓からの糖放出の増加の可能性について解析した。その結果、高脂肪食負荷 mIR マウスでは肝臓での糖新生が亢進しており、これが糖尿病発症の原因となっていることが示唆された。さらに、このマウスのエネルギー代謝状態を直接的に評価する目的で、mIR マウスの酸素消費量と呼吸商を、通常飼料と高脂肪食飼育下で測定した。その結果、野生型マウスでは昼夜の呼吸商の日内変動 (暗期で上昇し明期で低下する) パターンが見られたのに対し、mIR マウスでは日内変動パターンがほぼ消失していた。さらに検討を加えたところ、mIR マウスでは脂肪組織での脂肪分解が亢進しており、これが昼夜の呼吸商変動が消失していた原因と考えられた。

現在は、その他の臓器の糖・エネルギー代謝の制御状況を詳細に検討する必要がある。これらの解析結果を通じ、生体各臓器間の相互作用を介したインスリンによる糖・エネルギー代謝の制御システムを解明することを目指している。

19. 光活性化型チャンネルを用いた塩分摂取行動の制御機構に関する研究

檜山武史 (基礎生物学研究所)

富田江一, 平林真澄 (生理学研究所)

ナトリウムは体液を構成する主要なイオンであり、体液のナトリウムレベルは一定に保たれている。脳弓下器官には、体液ナトリウムレベルの監視と塩分摂取行動の制御に関わる中枢が存在する。しかし、塩分摂取行動の制御を担う神経細胞の実体はまだ明らかになっていない。本研究では、光活性化型チャンネルやトランスポーター

を脳弓下器官の特定の細胞に発現したマウスを作成し、神経活動の光制御と行動実験を組み合わせることにより、塩分摂取行動の制御に関わる神経細胞の同定を目指して実験をおこなった。

光活性化型チャンネルであるチャンネルロドプシン (ChR2) をテトラサイクリン応答因子 (Tre) 制御下に発現

する Tre-ChR2-EGFP マウス, 光制御型トランスポーターであるハロロドプシン (NpHR) を Tre 制御下に発現する Tre-eNpHR-EGFP マウス, 蛍光タンパク質 KusabiraOrange を発現し Cre リコンビナーゼの活性により ChR2 を発現する ChR2-floxed-KusabiraOrange マウスの 3 種類のトランスジェニックラインを作成した。Tre 配列を組み込んだ 2 系統に関しては, GABA 作働性ニューロンにおいてテトラサイクリントランスアクチベーター (tTA) を発現する GAD67-tTA マウスと交配した。このダブルトランスジェニックマウスの体内では, ドキシサイクリン依存的に tTA が Tre に結合し, GABA 作働性ニューロンに ChR2 や NpHR を発現することが期待される。しかし, 発現を調べたところ, ごく一部の細胞にしか発

現を確認することができなかった。特に, 実験の目的である脳弓下器官において発現が確認できず, 実験に使用することができなかった。また, floxed マウスについては, ネスチンプロモーター制御下に Cre リコンビナーゼを発現する Nestin-Cre マウスと交配した。こちらは, 神経系全てにおいて幅広く ChR2 を発現することが期待されたが, 残念ながら, こちらも一部でしか発現が確認できなかった。いずれの系統においても, ChR2 や NpHR を発現した細胞の一部に断片化や萎縮が観察され, 細胞死を起こしたと考えられたことから, ChR2 や NpHR の発現によって細胞毒性が生じた可能性を考えている。

現在, ウィルスを用いて脳弓下器官に局所的に遺伝子を発現させる手法に切り替えて, 実験を進めている。

20. 脳領域特異的なコンディショナルなメタスチンノックアウトマウスの作製とその解析

前多敬一郎, 東村博子, 上野山賀久, 富川順子, 深沼達也, 後藤哲平

(名古屋大学大学院生命農学研究科)

富田江一, 平林真澄 (生理学研究所)

メタスチン(キスペプチン) は GPR54 の内因性リガンドとして発見された神経ペプチドである。このペプチドを含むニューロンは, 性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) の分泌を制御し, 卵巣から分泌されるエストロジェンの GnRH ニューロンへのフィードバック作用を仲介するニューロンとして注目されている。

メタスチンニューロンは, 齧歯類の脳内ではふたつの集団を形成し, ひとつは前腹側室周囲核 (AVPV) に, もうひとつは視床下部弓状核 (ARC) にある。AVPV のキスペプチンニューロン集団はエストロジェンの正のフィードバックを仲介し, 排卵制御に関与し, ARC の集団は GnRH のパルス状分泌を制御しており, 卵巣発育を制御することで生殖機能全体の中核として機能していると考えている。本研究では, ふたつのメタスチンニューロン集団の生理的役割を明らかにするため, Cre/loxP システムを用い, それぞれのメタスチンニューロン集団で特異的にメタスチン発現を欠損するようなコンディショナル KO マウスの作出をめざし, Cre リコンビナーゼ発現マウスおよび *KissI*-floxed マウスを作製している。昨年

度までに, *KissI*-floxed マウスの作製に成功している。

一方, Cre リコンビナーゼ発現マウスのためには, 脳領域特異的な *KissI* 発現エンハンサー領域を同定する必要があり, 緑色蛍光蛋白質 (GFP) を用いた *in vivo* reporter assay を行ってきた。作製した複数系統の Tg マウスのなかに, 昨年度見いだした ARC 特異的な GFP 発現 Tg マウスに続いて, AVPV 特異的な GFP 発現 Tg マウスを見いだした。この結果は, AVPV あるいは ARC に特異的に Cre リコンビナーゼを発現する Tg マウスを作出するために必須である脳領域特異的な *KissI* 発現エンハンサー領域を同定したことを意味する。

これらの知見をもとに AVPV あるいは ARC に特異的に Cre リコンビナーゼを発現する Tg マウスを作製し, Cre リコンビナーゼの発現領域を再確認しつつ, すでに作成の完了した *KissI*-floxed マウスとの交配により, それぞれのメタスチンニューロン集団で特異的にメタスチン発現を欠損するようなコンディショナル KO マウス作成を進めている。

21. 肥満・糖尿病発症メカニズムに関与する遺伝子発現調節領域の動物個体レベルにおける解析

高橋信之, 後藤 剛, 金 英一, 坂本智哉, 木村梨乃, 丸野晃嗣, 高橋春弥

(京都大学大学院農学研究科)

富田江一, 平林真澄 (生理学研究所)

メタボリックシンドロームの原因となる脂肪組織でのインスリン抵抗性は、脂肪組織中の脂肪細胞とマクロファージなど免疫細胞との相互作用によるものである。そこで、インスリン抵抗性発症に伴い変動する遺伝子のプロモーター領域で蛍光タンパク質を発現させるトランスジェニックマウスを作製し、脂肪組織内での細胞間相互作用を動物個体レベルで検討し、インスリン抵抗性発症メカニズムを解析することを目的として、次のような実験を行った。

トランスジェニックマウス作製の前に、インスリン抵抗性発症に伴い発現が変化する遺伝子のプロモーター領域をクローニングした。まず脂肪細胞でインスリン抵抗性を誘導することが知られている $\text{TNF}\alpha$ 遺伝子に着目し、そのマウスプロモーター領域を PCR 法によりクローニングし、蛍光タンパク質 GFP をレポーター遺伝子として組み入れたレポータープラスミドを構築した。このプ

ラスミドを遺伝子導入したマクロファージ培養細胞株を使って、クローニングしたプロモーター領域が正常に機能するかどうかを細胞レベルで確認した。作製したマウス $\text{TNF}\alpha$ プロモーターレポータープラスミドをマクロファージ様培養細胞 RAW264 に導入し、LPS 刺激を行うと、レポーターである GFP の発現が有意に上昇し、このレポータープラスミドが、マクロファージにおける $\text{TNF}\alpha$ 遺伝子と同様の挙動を示すことが示された（これらの結果を 2011 年に論文として報告した：Sakamoto, et al. 2011 *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 75, 1582-1587）。

次に、このレポータープラスミドを使って、C57BL マウスのトランスジェニックマウスを生理学研究所にて作製した。この作製したマウスを用いて、動物個体内で $\text{TNF}\alpha$ の発現をモニターすることが出来るかどうか、現在、検討中である。

22. CNR/プロトカドヘリン遺伝子ジーンターゲティングマウスの作製と機能解析

八木 健, 平林敬浩 (大阪大学)

富田江一, 三宝 誠, 山内奈央子, 平林真澄 (生理学研究所)

クラスター型プロトカドヘリンはゲノム上の比較的狭い領域に特殊なクラスター構造を形成しており、この遺伝子からは多様化したプロトカドヘリン (Pcdh) α , Pcdh β , Pcdh γ 分子群が発現している。マウスではこれまでに Pcdh α が 14 分子種 ($\alpha 1$ - $\alpha 12$, $\alpha c1$, $\alpha c2$), Pcdh β が 22 分子種 ($\beta 1$ - $\beta 22$), Pcdh γ が 22 分子種 ($\gamma A1$ - $\gamma A12$, $\gamma B1$, $\gamma B2$, $\gamma B4$ - $\gamma B8$, $\gamma c3$ - $\gamma c5$) 存在することが知られており、いずれの分子種も一回膜貫通型タンパク質で中枢神経系において強く発現している。クラスター型プロトカドヘリンの発現様式を単一神経細胞に対する RT-PCR および *in situ* ハイブリダイゼーションで解析した結果、一つの細胞では Pcdh α , Pcdh β , Pcdh γ いずれも複数の

分子種を発現しており、その組み合わせは個々の細胞ごとに異なっていた。また、これらクラスター型プロトカドヘリンは Pcdh α , Pcdh β , Pcdh γ の各分子種が細胞膜上で複合体を形成し、Pcdh γ には分子ごとにホモフィリックな細胞接着活性があることが明らかになっている。

以上の結果から、クラスター型プロトカドヘリンは、その発現パターンによって、神経細胞に数百万通り以上の多様性を与えることが可能であり、同遺伝子ファミリーは脳神経系における神経細胞の多様化に寄与していることが予想されている。

これまでに全ての Pcdh α 遺伝子を欠損した遺伝子改変マウス (Pcdh α KO マウス) を作製し解析したところ嗅

球およびセロトニン神経投射に異常が観察された。

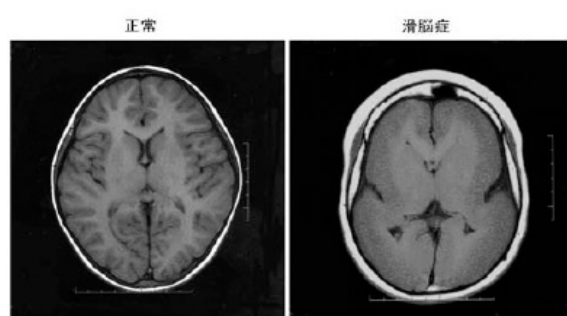
そこで本研究では神経投射に *Pcdh α* の分子的多様性がどのように寄与しているかを解析するために、可変領域エクソン数に変換した種々の遺伝子改変マウスの作製し、*Pcdh α* KO マウスで認められたセロトニン神経の異常投射が観察されるかを解析した。その結果、種々の遺伝子

改変マウスのうち、 $\alpha c2$ 遺伝子を欠損したマウスにおいて共通にセロトニン神経投射に異常が観察されたことから、セロトニン神経の正確な投射には $\alpha c2$ 分子種が必要であり、*Pcdh α* の分子的多様性は関与していない可能性が示唆された。

23. 滑脳症モデルマウスを用いたカルパイン阻害剤有効性の検証

広常真治 (大阪市立大学・大学院医学研究科・細胞機能制御学)

高雄啓三, 宮川 剛 (生理学研究所 行動様式解析室)

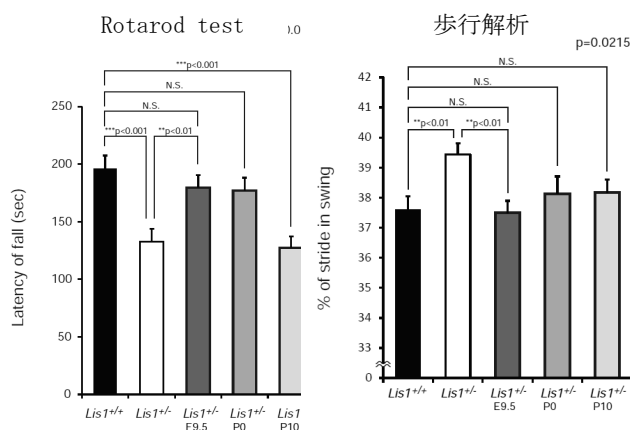


我々は中枢神経系の形成不全である滑脳症の研究に取り組んできた (図)。滑脳症は、60%はヒト染色体 17 番の *LIS1* のヘテロの変異によるもので、発生期の神経細胞遊走の障害に伴う平坦な大脳皮質と神経細胞の層構造の異常を特徴とする。原因遺伝子・*LIS1* はモータータンパク質である細胞質ダイニンの制御因子であることを明らかにしてきた。一方この研究の過程で *LIS1* はカルパインによって分解される半減期の短いタンパク質であることが分かった。そこで我々はカルパイン阻害剤によって *LIS1* のタンパク質分解を抑制すれば *LIS1* のタンパク質が回復し、滑脳症の新たな治療戦略になると考え、我々が確立した *LIS1* のヘテロ変異マウスを滑脳症モデルとしてカルパイン阻害剤投与による表現形の回復を解析した。

今回、製薬会社との共同で新たなカルパイン阻害剤の効果を滑脳症モデルマウスを用いて解析した。このカルパイン阻害剤細胞毒性が低くかつ血液脳関門を通過できる特長がある。本カルパイン阻害剤の有効性を検証するために *LIS1* ヘテロ変異マウスに対する胎生期間中、生

後直後からカルパイン阻害剤を投与し、組織学的解析を行った。その結果、胎生期、生後直後からの投与で組織学的な表現形の回復が認められた。一方、生後 10 日からの投与では既に神経細胞の遊走が完了しているため神経細胞の層構造の異常は回復しなかった。

機能的な回復を解析するためにマウスの行動解析を行った。行動解析としては General Health Screening (GHNS), Rotarod test, 歩行解析を行った。その結果、Rotarod test では胎生期、生後直後からの投与で回復が認められた (図)。さらに歩行解析では胎生期、生後直後だけでなく、生後 10 日からの投与でも回復が認められ、構造的な回復がなくても機能的な回復が期待されることが分かった。これらは本カルパイン阻害剤の持つ血液脳関門を通過できる特長が大きく寄与していると考えられた。これらのことから、カルパイン阻害剤を用いた滑脳症治療に関して生後の投与でも一定の機能的な回復が期待されることが分かった。



24. コンドロイチン硫酸プロテオグリカンの合成抑制による 脳高次機能の異常の解析

五十嵐道弘, 武内恒成, 比嘉 進, 渡邊裕美 (新潟大学)

高雄啓三, 宮川 剛 (生理学研究所 行動様式解析室)

コンドロイチン硫酸 (CS) は、プロテオグリカンの成分として脳内では perineuronal net (PNN) と呼ばれるシナプス周囲部に局在する糖鎖である。その機能は、軸索成長の抑制、神経幹細胞の分化抑制、脳損傷時の炎症の限局化など多岐にわたっており、シナプス可塑性への関与も報告されている。CS 機能の神経系の関与については、これまでその分解酵素コンドロイチナーゼ ABC を局所投与して研究することが通例であったが、これでは出来上がった系の擾乱ができるのみで、精密な議論は困難である。申請者は、これらの事象への CS の関与を直接的に証明するため、CS 合成酵素群のうち、CSGalNAcT-1/2 のノックアウトマウスを作成済みであるため、このマウスを用いて脳高次機能の異常を解析することを計画した。上記の 2 つの酵素は、CS 合成が他のプロテオグリカン合成とは共通性をもたない、独自経路の最初の反応を分担すると考えられているため、ユニークな結果が期待された。また両者は相同性の高いアイソフォームであるが、脊髄損傷を作成すると、後者は対照群とほとんど結果に変わりがなく、前者のみが顕著に損傷修復が改善されたことから、生理的には全く異なる機能や調節を CS 合成に関して行っていると思われる。

コンドロイチン硫酸の多様な脳機能調節機構を明らかにするため、コンドロイチン硫酸糖鎖合成の律速酵素 CSGalNAcGT1 および T2 の遺伝子改変マウスの高次脳機能に関して、行動バッテリーテストを解析することとし、まず胚操作によって T1-KO マウスを作成することとした。胚については、新潟大学脳研究所バイオリソースセンター動物資源部門で作成された胚を生理学研究所に送付して、マウスを作出した。しかし、予想に反してヘテロマウスに比べ、ホモマウスの作出数が少なかった。その原因について現在解析中である。当面、24 年度にはまず今回作出されたヘテロマウスの行動解析を生理学研究所で高雄らが行う予定であり、次いでホモマウスの準備ができ次第、これを行うこととした。

なお、両者のダブルノックアウトマウスは致死性であるので、今後は上記のマウスに加えて T1-/-T2+/- を行動解析する。これらのマウスの神経回路形成と、成熟脳神経新生の調節状況を別途解析して照合し、表現型との関連性を明らかにする。野生型マウスおよびで作出した遺伝子改変マウス各 20 匹を生理研に送付・飼育後、行動バッテリー装置一式を使用して、統計学的に解析処理する。

25. 乳幼仔・小児・成熟個体におけるナノマテリアルの 情動・認知行動毒性学的評価

森下裕貴, 吉岡靖雄, 吉川友章, 堤 康央 (大阪大学大学院薬学研究科 毒性学分野)

高雄啓三, 宮川 剛 (生理学研究所 行動様式解析室)

近年、ナノマテリアルが急速に開発・実用化される一方で、未知の生体影響を発現してしまうことが危惧されている。特に、こころの毒性学とも言うべき、情動・認知機能への影響評価は、重要課題であるものの、実験手法の困難さから未だ検討された例は皆無と言える。本研究は、ナノマテリアルの物性と情動・認知行動毒性との関連を追求し、安全なナノマテリアルの開発に必須の情

報を集積することを目的とする。具体的には、乳幼仔・成体・妊娠マウスに種々のナノマテリアルを静脈内・経鼻・経気道投与した後、網羅的行動テストバッテリーにより、不安様行動、社会的行動、記憶など、多岐に渡る情動・認知行動を解析するものである。平成 22 年度は、2011 年の Nat. Nanotechnol. 誌で報告したナノマテリアルの生殖発生毒性に関する知見をもとに、非晶質ナノシ

リカを静脈内投与した妊娠マウスの仔に関して、網羅的行動テストバッテリーの一部を実施した。その結果、これらのマウスが対照群と比較し、驚愕反応の亢進を示すことを明らかとした。平成 23 年度は、マウスの記憶、うつ様行動など多項目を検討し、これらのマウスがうつ様症状を生じている可能性を新たに明らかとした。さらに、10 nm 以下の素材であり、分子や粒子の中間的性質を示すと考えられるサブナノ素材の安全性評価にも着手し、サブナノ白金を静脈内投与した妊娠マウスの仔に関して、網羅的行動テストバッテリーの一部を実施した。その結果、これらのマウスが対照群と比較し、不安様行動などに異常を呈する可能性を明らかとするなど、順調

に、社会ニーズや緊急性の高い、世界レベルの研究成果を積み上げつつある。今後は、継続した共同研究のもと、生化学的解析、組織学的解析等を駆使し、ナノマテリアルやサブナノ素材の胎仔期曝露による情動・認知行動異常のメカニズムを追究する予定である。また、粒子径や表面修飾の異なる非晶質ナノシリカ、ナノ酸化チタン等を胎仔期曝露した新生仔の行動解析を通じて、ナノマテリアルやサブナノ素材の物性と情動・認知行動毒性の連関を追及すると共に、過剰量の静脈内投与によるハザード同定のみならず、実際の曝露実態を加味した検討を進める計画である。

26. DBZ KO マウスを活用した精神疾患の中間表現型の解明

服部剛志, 伊藤 彰 (大阪大学医学系研究科分子精神神経学 (大日本住友製薬) 寄附講座)

高雄啓三, 宮川 剛 (生理学研究所 行動様式解析室)

DBZ は精神疾患リスク因子 DISC1 の結合タンパクである。DBZ は脳特異的に発現しており、DBZ と DISC1 の結合は神経細胞の突起伸展 (樹状突起)、大脳皮質形成時の神経細胞の移動に関与していることが知られている。DISC1 の機能解析はこれまで多くの報告があるが、DBZ 単独の生体での機能は全く報告がないので、我々は DBZ KO マウスを作成し、その解析を行った。その結果、DBZ KO マウスでは、大脳皮質形成時の細胞移動の遅れ、樹状突起の伸展異常、スパイン形成異常、介在神経の発達異常が見られた。

DBZ KO マウスでの神経発達異常が行動に与える影響を検討するために行動テストバッテリーを用いて、マウスの行動を、特に精神疾患と関連のあるテストを中心に、体系的かつ効率的にスクリーニングを行った。

マウスの四角い箱での活動量を検討する Open Field Test では Test の初期の時間帯で箱の真ん中に滞在している時間の顕著な減少が見られた。このことは、KO マウスでの不安の増強が考えられる。また、記憶・学習の

Test である、Y Maze Test や Radial Maze Test では、学習自体には KO マウスと野生型マウスで差は見られなかったが、いずれの Test においてもマウスの行動量の減少が認められた。このことは、KO マウスでの新規環境での活動減少があることを示している。つぎに、新規環境での活動量減少を確認するために NIH (Novelty Induced Hypophagia) という Test を行った。この Test では普段飼育されている環境と異なる環境下での食行動を調べる者であるが、KO マウスでは明らかに新規環境での食行動の減少が認められた。このことは、DBZ KO マウスが野生型マウスより新規環境で不安をより多く感じている可能性が考えられる。しかしながら、不安指標を検討する他のテスト (Elevated Plus Maze Test, Light and Dark Test) では、行動異常が認められないという結果であったことより、特定の環境下での不安の感じ方に違いがある可能性が考えられる。今後、薬剤への感受性や記憶・学習、社会性などの項目も引き続き検討する予定である。

27. 脳特異的セリン合成不全マウスを活用した精神疾患の中間表現型の解明

古屋茂樹, 小河 匡, 渡邊彰大 (九州大学大学院 農学研究院 生命機能科学部門)

高雄啓三, 宮川 剛 (生理学研究所 行動様式解析室)

興奮性神経伝達を司るグルタミン酸受容体のサブタイプである NMDA 受容体は、シナプス形成、可塑性、学習、興奮毒性など、発生、高次機能から病態まで、重要な役割を果たしていることが知られている。NMDA 受容体はヘテロ 4 量体を構成し、リガンドであるグルタミン酸が結合する NR2 (A-D)サブユニットに加え、D-セリンまたはグリシンの結合サイトを持つ NR1 サブユニットを含む。NMDA 受容体の活性化には、NR1 サブユニットへの D-セリンまたはグリシンの結合が必須である。D-セリンは前脳に多く存在し、セリンラセマーゼ (Srr) によって L-体から合成される。NMDA 受容体拮抗薬であるフェンサイクリジン (PCP) の作用から、統合失調症の発症に同受容体の機能低下が関与するとの「グルタミン酸仮説」が提唱されているが、近年 L/D-セリンの変換系の異常と統合失調症の病態連関が注目されている。脳脊髄液中の D-セリン濃度が低下している一群の統合失調症患者の存在が報告され、L/D-セリンの変換・代謝系異常と統合失調症中間表現型との関連について、Srr や D-アミノ酸酸化酵素 (DAO) を中心に活発な研究が展開されている。

我々は、解糖系中間体 3-ホスホグリセリン酸からの L-セリン生合成経路において第 1 段階を触媒する 3-ホスホグリセリン酸脱水素酵素 (Phgdh) を脳特異的に不活性化させた KO マウス (BKO) を作製した。その解析から、脳内で生合成された L-セリンが D-セリンの主要な前駆体であり、L-体の合成不全は脳内 D-セリン含量の低下に直結すること、さらに NMDA 受容体機能を減弱させることを見いだした (Yang et al, 2010)。

本研究は BKO マウスを用い、脳内 L-セリン合成不全が神経機能の統合された表現型である行動にもたらす影響を包括的に理解することを目的とした。行動様式解析室のテストバッテリーに BKO マウスを供し、同腹正常対照に比べ複数の行動異常を持つことを見いだした。それらは不安行動、感覚フィルター機能、社会性行動、運動学習、作業記憶等において顕著であった。これらの変化は、Srr KO マウスについて論文報告されている行動異常より重篤かつ広範囲に渡る。本研究により、脳内での L-セリン合成不全が統合失調症の中間表現型である行動異常の原因となるだけでなく、他の脳高次機能も大きく損なうことが初めて示された。

28. Emx1-NDI マウスを活用した精神疾患の中間表現型の解明

植田弘師, 佐々木恵太 (長崎大学大学院医歯薬学総合研究科分子薬理学研究分野)

高雄啓三, 宮川 剛 (生理学研究所 行動様式解析室)

平成 22 年度に脳保護蛋白質プロサイモシン α のヘテロ KO マウス (MP-floxed NDI マウス) を用いた網羅的行動テストバッテリーの解析結果から、精神神経科学的表現型を有することを明らかにした。平成 23 年度 計画共同研究では、得られた精神神経科学的表現型の原因脳領域を特定するため、前脳・海馬神経細胞特異的にプロサイモシン α を欠損する Emx1-NDI マウスを作製し、網羅的行動テストバッテリーを駆使することで欠損脳領域特異的な行動学的変化を検討することとした。実験には Emx1-NDI マウス 20 匹、対照群に Emx1-cre マウス 20 匹

を用い、これらのマウスは行動様式解析室に搬入し 1 週間の環境順化の後に実験に用いた。網羅的行動テストバッテリーは、General health and neurological screening (GHNS), Light/Dark transition, Open field test, Elevated plus-maze test, Social interaction test (2 種), Hot plate test, Rota-rod test, Prepulse inhibition test, Startle response (Power dependence), Fear conditioning test, Novelty Induced Hypophagia test の 12 項目実施した。

その結果、Emx1-NDI マウスはプロサイモシン α ヘテロ KO マウスで確認された精神神経疾患様症状を同様に

有すること、ヘテロ KO マウスよりも重篤であることが明らかになった。本研究で得られた新規知見により、精神神経疾患様症状を発症する原因脳領域が前脳・海馬神経細胞領域であることを示唆するとともに、ヘテロ KO マウスよりも Emx1-NDI マウスが明瞭な表現型を示したことから、プロサイモシン α の発現量依存的な精神神経

機能の制御機構を有する可能性が示唆された。

今後は本研究によって同定された前脳・海馬領域における分子基盤の変調機構を解析するとともに、既に作製を終え、解析を進めている他の脳領域で特異的にプロサイモシン α を欠損したマウスの解析結果と比較・検討を行い、論文を作製する予定である。

29. 先端電子顕微鏡による細胞内膜構造の形成・輸送機構の解明

金子康子，米谷祐太，大平悠麻（埼玉大学）

村田和義（生理学研究所）

共生窒素固定を行うダイズ根粒の感染細胞では、根粒菌は植物細胞由来の共生体膜に包まれて共生体として存在する。共生体内の根粒菌は、空気中の窒素を固定しアンモニアとして植物に提供し、植物からは炭素化合物を受け取る相利共生の関係が成り立つ。植物細胞は根粒菌感染・侵入時に用いられ感染糸や、共生体膜、また窒素固定酵素ニトロゲナーゼの酸素による失活を防ぐためにヘモグロビンを合成するなど、共生関係の維持に多大な貢献をすることが分かっている。

ダイズ根粒が肥大成長する過程で、感染細胞も肥大化し、細胞内に含有する共生体数は増え続けるため、膨大な量の共生体膜が必要となる。発達中の感染細胞核付近に多量の膜とアクチン繊維が共存し、そこから放射状に繊維状の膜とアクチン繊維が伸びる現象が見つかった (Bulbul & Kaneko, 2009)。この膜とアクチン繊維が共存する構造の詳細を追究することを目指した。

ダイズ根粒を薄切して酵素処理により感染細胞を遊離させた後、低張液中で細胞を穏やかに溶解した。細胞溶解物中に Alexa568 ファロイジンと DiOC₆ で同時に染色される小胞とそこから伸長する突起様構造が観察できた。

この細胞溶解物をそのままグリッドに滴下して液化エタンで急速凍結し、低温電子顕微鏡 (JEM2200F, 加速電圧 200kV) で観察したところ、突起様構造を形成した膜小胞が確認でき、その中に太さ 5-8nm 程度の繊維状構造を含有していた。さらに、傾斜シリーズ画像を取得し、クライオ電子線トモグラフィーによる立体像の構築を試みている。この突起様膜構造が核近傍の膜形成蓄積部位から細胞辺縁部までの膜輸送に関与しているのではないかと考えた。

感染細胞内における膜の移動を確かめるために、感染細胞核近傍に存在する膜のパルス染色を試みた。マイクロインジェクションにより FM1-43 で核近傍の膜のみを蛍光染色し、蛍光顕微鏡で追跡したところ、約 30 分後に染色部位からおおよそ 15 μ m 離れた細胞辺縁部に点状の染色像が複数出現した。これらの実験結果は、ダイズ根粒感染細胞では、細胞中央に位置する核近傍で合成した膜を、アクチン繊維を利用して共生体まで運ぶしくみが存在すること、またこの時、アクチン繊維を軸として膜突起を形成するという、これまで知られていない新たな仕組みを用いる可能性があることを示唆する。

30. ハイブリッド顕微鏡用環境制御セルの開発

箕田弘喜，稲吉悠里（東京農工大学）

透過電子顕微鏡に光学顕微鏡を組み合わせた電子・光子ハイブリッド顕微鏡を開発した。これに環境制御型透過電子顕微鏡法 (E-TEM) を組み合わせて、浸水状態の

生体高分子の光学顕微鏡・電子顕微鏡同時直接観察を実現するために、環境制御セル（以下セルという）の設計製作を進めている。

透過電子顕微鏡観察には、生物試料の像コントラストの増強のために位相差顕微鏡法 (P-TEM) を利用する。したがって、水溶液中にある試料に対して P-TEM 法を適応できるセルの開発を進める必要がある。昨年度までの研究成果により、P-TEM 法と E-TEM 法の組み合わせにより、液中の生物試料に対するコントラスト増強効果は確認された。しかしながら得られた分解能は、溶液層の厚さが 100nm 程度の条件の場合 10nm 程度であった。この分解能は、生体高分子を観察する場合、十分とは言えない。試料周りの水分子やガス分子による散乱を考慮した簡単なモデル計算と比較したところ、計算から得られる分解能は 2nm 程度であったことから、実験的に得られた分解能と、計算によって予想される分解能には大きな隔りがある。

溶液中の試料を P-TEM 法で観察しようとする場合、得られる分解能は、試料周りの環境に大きく依存する。

十分な分解能が得られない原因の 1 つは、今まで開発を進めていたセルの構造的な問題である。従来は試料周りの水分の蒸発を抑えるために、飽和水蒸気ガスを試料溶液周りに循環させる構造であった。このため、ガス分子による電子散乱により、像のシグナルノイズ比 (S/N) が低下して像質を劣化させる。そこで、新しいセルとして、試料周りにガスを循環させず、極薄い溶液層を 2 枚の炭素の隔膜により完全に挟み込む構造のセルを開発した。

その結果、S/N の値によって分解能を定義する Rose 式を用いた見積もりから、従来方式のセルで得られる分解能に対して新しいセルでは分解能の向上が期待できることが分かった。この見積もりを受けて 2200FS を使用して行った実験では、約 100nm の水の厚さにおいて得られた分解能は 3nm 以下になることが確認でき、セルの改造の効果が明瞭に得られたとともに、その値は、先のモデル計算による見積もりとほぼ一致する結果となった。

31. 光学・電子顕微鏡を用いた血小板活性化過程の統合イメージング

最上秀夫 (浜松医科大学)

村田和義 (生理学研究所)

血栓止血機構は、血小板の血管障害部位への粘着より始まり、インテグリンを介したフィブリノーゲンを分子糊として血小板凝集塊が形成される。さらに、この凝集塊を足場として血液凝固過程が惹起され、最終的には、他の血球成分とともにフィブリン網に覆われて構造強化された血小板凝集塊が形成され止血が完了する。本研究目的は、血小板含有血漿を用いてフィブリン網形成に至るまでに血小板に生じる機能変化および形態・構造変化を全反射蛍光顕微鏡と低温位相差電子顕微鏡を組み合わせ可視化解析することである。

方法としては、蛍光標識フィブリノーゲンおよび蛍光標識インテグリン抗体を含んだ血小板含有血漿を刺激して、血小板活性化における形態変化と血小板膜状にあるインテグリンの活性化に伴う構造変化を表面反射干渉顕

微鏡で観察する。また、同様のサンプルを大きさの異なる 2 種類の金コロイド標識により作製して、電顕グリッド上で急速凍結し、低温位相差電子顕微鏡で観察する。

全反射蛍光顕微鏡観察では、時間経過に従って血小板をハブとしてその周囲にフィブリン繊維が網目状に形成されていくのが確認できた。また、低温電子顕微鏡観察では、血小板の周囲にフィブリン繊維が多数形成されているのが確認できた (図) が、2 種類の金コロイド抗体ラベルが十分に観察できなかったため、フィブリンとインテグリンとの相互作用の場所を特定することはできなかった。

今後は、金コロイド抗体ラベルが十分に反応できる条件を検討し、フィブリンとインテグリンの総合作用の位置を特定して構造解析できるようにしたいと考えている。

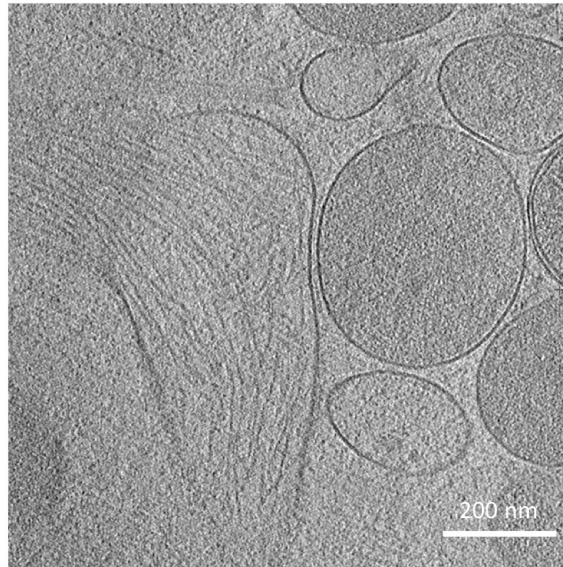


図 活性化血小板とフィブリン繊維の低温電子線トモグラフィー断面

32. 骨格筋トライアドジャンクションの三次元構造解析

國安明彦（崇城大学薬学部）

村田和義（生理学研究所）

骨格筋トライアドジャンクションは，筋小胞体とT管膜との間に形成された構造体で，T管膜上で神経興奮を感受した電位依存性カルシウムチャネル（DHPR）がこれと隣接する筋小胞体膜上のカルシウムリリースチャネル（RyR）を活性化することにより，筋収縮運動が開始される。本研究では，この興奮収縮連関の中心的構造体であるトライアドジャンクション膜断片をウサギ骨格筋より抽出し，これをそのまま急速凍結して氷包埋し，クライオ電子顕微鏡トモグラフィーにより三次元構造解析する。そして，この二つのカルシウムチャネルを中心とする機械的シグナル伝達の構造的基盤を明らかにすることをめざす。

トライアドジャンクション膜は，Mitchell らの方法（J. Cell Biol., 96, 1008 (1983)）に従いウサギ（日本白色種）骨格筋より抽出・分画した後，低温に保ったまま生理研に搬送し，直ちに膜穴グリッド（Quantifoil R3.5/1）上で急速凍結して，液体窒素保存容器中で保管した。そして，この凍結グリッドを電顕用クライオホルダーに装填して，

加速電圧 200kV の電子顕微鏡（JEM2200FS）で観察した。

その結果，視野内に多くの小胞が確認でき，その外側表面上にスパイク上に並んだカルシウムリリースチャネル（RyR）と考えられる構造が見られた（図）。このことからこれらの小胞が筋小胞体であることが同定できた。小胞の膜どうしが接触した構造体もいくつか観察されたが，現時点でこの部分がトライアドジャンクションであるかどうかの確証は得られなかった。Zernike 位相板を用いた位相差観察も試みたが，今回用いた膜穴 3.5 μm の Quantifoil 試料支持膜では，チャージアップの影響を受けやすく安定した位相差像が得られなかった。

今後は，穴径の小さな Quantifoil を用いることでチャージアップの影響を防ぎ，位相差像によってコントラストを高めて膜チャネルの詳細な構造を観察する。そしてさらに，T管膜特異的な蛍光抗体ラベル等を用いることで，確実にトライアドジャンクションの位置を同定できるようにしたいと考えている。

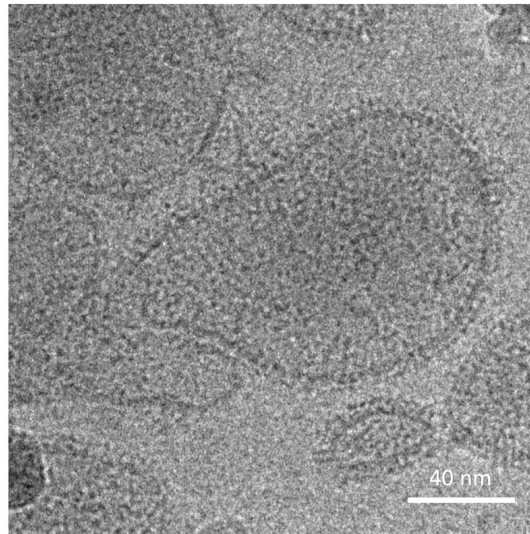


図 トライアドジャンクション膜断片のクライオ電子顕微鏡像

33. 摂食調節ペプチドによるエネルギー代謝調節の研究

塩田清二, 影山晴秋, 柴加奈子 (昭和大学医学部第 1 解剖学教室)

竹ノ谷文子 (星薬科大学薬学部運動生理学研究室)

摂食調節は種々の神経ペプチドによって精緻に調節されている。視床下部には多くの摂食調節ペプチドが存在しているが、特に我々が注目しているエネルギー代謝亢進と摂食抑制作用を持っているガラニン様ペプチド (GALP) について、その機序の解明および GALP と自発運動による代謝調節機構をしらべた。

カニニューレを側脳室に留置したマウスを回転かご式自発運動量・呼吸代謝測定装置または回転かごを取り外した呼吸代謝測定装置に馴化させ、それぞれを自発運動群と非運動群の 2 群とした。さらに暗期 4 時間前に GALP 脳室投与 (GALP 群) または生理食塩水脳室内投与 (生食群) を行った後、酸素消費量、発熱量および呼吸商を経時的に記録した。また投与 24 時間後の体重、摂食量と飲水量も測定した。投与 16 時間後における肝臓と骨格筋で GALP によるエネルギー代謝関連遺伝子の発現量を TaqMan PCR 法にて測定した。

非運動群では、GALP 群と生食群の間で酸素消費量と発熱量に有意な差を認めなかった。生食群の呼吸商は投与後から暗期直前まではタンパク質の代謝を示していた。暗期の前半は糖代謝を示し、後半はタンパク質の代謝を

示していた。一方 GALP 群の呼吸商は投与後から暗期直前までは脂質代謝、暗期中は糖代謝を示した。自発運動群の GALP 群では生食群に比し、酸素消費量と発熱量は暗期前半に上昇したが、暗期後半では減少した。この変化は走行距離の変化に対応しなかった。自発運動—GALP 投与群のみで体重は減少した。さらに自発運動群の GALP 群では、生食群に比し、糖新生に関与する PEPCK と脂肪酸合成に関与する SREBP-1 の遺伝子発現が有意に減少した。

非運動群では GALP 投与によって、休息期での脂質代謝と活動期での糖代謝を亢進させることから、GALP は脂質や糖代謝に深く関与している可能性がある。また自発運動によって基礎代謝機能が亢進した状態での GALP の投与は、脂質や糖代謝を促進することで、基礎代謝能をさらに亢進することが示唆された。GALP の静脈内投与は遠心性の交感神経活動の興奮や、自律神経系を介した骨格筋の糖取り込みをすでに我々は観察していることから、GALP による自律神経系への直接作用の影響も考えられる。

34. ATF5 ノックアウトマウスの行動解析

梅村真理子, 小倉多恵, 高橋勇二 (東京薬科大学 生命科学部)

高雄啓三, 宮川 剛 (生理学研究所 行動様式解析室)

ATF5 はストレス負荷により ATF5 mRNA 発現が誘導されるストレス応答性の転写因子である。近年, ATF5 が神経細胞の増殖分化, アポトーシスに関与することが見いだされたが, その生理的機能については未だ不明である。そこで, ATF5 の生体内における機能を明らかにするために, 私達は ATF5 ノックアウトマウスを作成した。ATF5 ノックアウトマウスは生後 2 日目までに 7 割が死に至り, 脳の形態異常が見受けられた。また, ATF5 ノックアウトマウスは, 雄マウス特有の縄張りを守るための攻撃性が低下しており, 行動レベルに異常があることが予想された。これらのことから, 行動解析室と共同で ATF5 ノックアウトマウスの行動・学習レベルを解析することを目的とし, 網羅的に行動様式を解析する「網羅的行動テストバッテリー」を行うことを計画した。これらの系統的行動様式解析から, ATF5 の脳における役割や行動・疾患との関係が明らかになるものと期待された。

「網羅的行動テストバッテリー」を行うために, 9~13 週齢の ATF5 ノックアウトマウス及び野生型マウスのオ

スをそれぞれ 26 匹ずつ準備した。そのマウスを行動様式解析室に搬入し, 1 週間慣らし飼育を行った。その後, 「網羅的行動テストバッテリー」を実施した。

昨年度までに, 活動量・不安様行動を測定する open field test, 新規環境における社会的行動を測定する social interaction test, などの解析を行ったところ, ATF5 ノックアウトマウスは不安様行動が亢進しており, 多動の傾向が見られた。また, 社会性行動が低下していることも示された。

本年度は, バッテリーの続きである作業記憶・参照記憶などを測定する eight-arm radial maze や T-maze, 鬱モデルを測定する tail suspension test などを行った。これにより, 鬱傾向や記憶・学習能力について解析できると考えられた。これらの解析から, わずかな固執傾向があることが分かった。一方で, ホームケージでの社会的行動には, 顕著な差はなかった。今後は, 行動試験に用いたマウス脳を採取し, 遺伝子発現解析や免疫組織化学的解析を行う予定である。

35. 骨形成因子 (BMP) 阻害蛋白質 CHRDL1 のコンディショナルノックアウトマウス作製

山岸 寛 (浜松医科大学 医学部)

富田江一, 平林真澄 (生理学研究所)

骨形成因子 (BMP) は, 骨形成だけでなく, 成長因子, サイトカイン, モルフォゲンとしても機能する重要な因子である。BMP は局所的に作用するが, 受容体を発現している細胞は多く存在するので, ターゲット以外の細胞に作用してしまう可能性がある。この副作用を抑制し, 適材適所で機能する為には, BMP の厳密な濃度調節が必要である。Chordin に代表される BMP 阻害因子は, 細胞外で BMP と結合することにより, BMP の効果を減弱し, 微妙な濃度調節を行っている。Chordin 以外の BMP 阻害因子としては, Noggin, follistatin, CHRDL が知られ

ている。

CHRDL1 は神経幹細胞からグリア細胞の分化を抑え, 神経細胞を分化させる機能が知られている¹⁾。また, 他の BMP 抑制因子の機能から, 胚軸形成や血管形成, 軸索伸張誘導にも関連していると予想される。しかしながら, 実際の機能は未解析であり, 不明な点が多い。

そこで我々は, 未だに CHRDL1 ノックアウトマウスの報告が無い事に注目し, CHRDL1 のコンディショナルノックアウトマウス作製し, 生体内での CHRDL1 の機能を明らかにすることとした。

CHRD1 コンディショナルノックアウトマウスのターゲティングベクターは、アメリカの KOMP (knockout mouse project) の一環として作製され、University of California, Davis (UC Davis) から購入した。ターゲティングベクターは X 染色体上にある CHRD1 の遺伝子 exon2, exon3 に loxP 配列が挿入され、Cre 存在下で組換えが生じ、結果フレームシフトを起こすようにデザインされている。また、ベクターには 4.5kb ずつのホモログスアーム、ネオマイシン耐性遺伝子、ジフテリア毒素遺伝子も含まれている。

ES 細胞へのエレクトロポレーションが行われ、2011 年度は 84 個のクローンが得られ、サザンブロットニングにより、スクリーニングが行われた。5' 側と 3' 側において 2 つの異なるプローブを用いて行われたが、残念ながら、明確なポジティブクローンは得られなかった。

今後は、再度エレクトロポレーションを行い、スクリーニング規模を拡大させる事、また、KOMP にて既に組換ええられた ES 細胞の入手を検討している。

1) Ueki et al., J. Neurosci., 2003

【 磁 気 共 鳴 装 置 共同利用実験報告 】

磁気共鳴装置共同利用実験報告

〔 目 次 〕

1. マルチモーダルな質感知覚の脳内情報処理機序（藤崎和香ほか）	202
2. 非侵襲統合脳機能計測技術を用いた高次視覚処理の研究（岩木 直ほか）	202
3. 嗅覚がストレスを緩和するヒト脳内メカニズムの解明—fMRIを用いた検討（柴田美雅ほか）	203
4. 語用論の神経基盤の解明に向けて（松井智子ほか）	204
5. Dual fMRI 装置を用いた会話コミュニケーション時の脳活動解明（湯浅将英ほか）	205
6. 言語的知性による能動的問題解決の神経基盤をさぐる（早川友恵ほか）	206
7. 磁気共鳴画像装置による脳賦活検査を用いたヒトの情動とストレス脆弱性に関する研究 （飯高哲也ほか）	206
8. 潜在的な動作不安定性と相関する大脳基底核の一過性活動（荒牧 勇）	207
9. 運動を行うヒトの意志に関わる脳活動部位の明確化（船瀬新王）	208
10. ヒトの表情による脳活動とその制御機序—Subliminal 画像を用いた研究（中村浩幸ほか）	209
11. プライミング効果に基づく L2 習熟度による神経基盤の解明（大石晴美ほか）	209
12. 他者との関係性に基づいて変容する感情・意思決定の神経機序—社会脳からのアプローチ （荳阪直行ほか）	210
13. 報酬予測課題遂行における神経ネットワークの解明（成本 迅）	211
14. フレーミングが統計情報理解へ与える影響とその神経基盤の解明（岡本雅子ほか）	211
15. 視・聴・触覚間の時間的同期判断を可能にする脳内情報処理機序の解明（藤崎和香ほか）	212
16. 非侵襲的脳機能検査による疲労・疲労感と学習意欲の評価法（渡辺恭良ほか）	213
17. サル MRI 標準脳画像の PET 分子イメージング研究への応用（尾上浩隆ほか）	213
18. 顔色処理の脳内メカニズムの解明（南 哲人ほか）	214
19. 他者の信頼性の判断（渡部 幹ほか）	214
20. 外国語運用能力の熟達に伴う言語理解・産出の自動化プロセスの神経基盤（横川博一ほか）	215
21. The role of social context in adult's word learning（Masako Hirotsu ほか）	215
22. 味の認知過程における自律神経系の活性化に関与する神経機構（姜 英男ほか）	217
23. 時間割引能力の発達とその脳機構の解明（田中沙織）	218
24. 触覚による速度識別に関わる脳内システムの同定（呉 景龍ほか）	219
25. 笑いとユーモアの神経基盤の解明（伊藤大幸ほか）	220
26. fMRI を用いた愛着形成の神経基盤の評価システム（友田明美ほか）	221

1. マルチモーダルな質感知覚の脳内情報処理機序

藤崎和香 (産業技術総合研究所 ヒューマンライフテクノロジー研究部門)

本吉 勇, 西田真也 (NTT コミュニケーション科学基礎研究所 人間情報研究部)

郷田直一, 小松英彦 (生理学研究所 感覚認知情報研究部門)

物体の材質についての情報は、視覚だけでなく聴覚など多くの感覚から得られる。例えば視覚的には物体の見た目から、それが硝子なのか金属なのかそれとも木なのかといったことを判断できる。同様に聴覚的にも、例えばその物体が叩かれた際の衝撃音を聴くことで、叩かれた物体の材質をある程度判断できる。しかしながら人間の脳がどのように、それぞれの感覚モダリティから得られた情報を統合して感覚間で一体感のある材質知覚を実現させているのかについては未解明である。そこで本研究では、fMRI と心理物理の両面からこの問題に迫り、感覚間で一体感のある材質知覚を実現しているマルチモーダルな質感知覚の脳内情報処理機序を明らかにすることを目的とする。

これまで、まず聴覚刺激を単独で提示した場合でもガラスや金属、石、木など素材の分類がある程度可能であること、またその素材の分類が視覚の心理物理実験で得られた分類に類似していることを予備実験により確認した。そのうえでさまざまな素材 (樹皮、陶器、ガラス、金属、石、木材など) を棒で叩く CG 動画を作成し、またさまざまな素材 (陶器、ガラス、金属、木材、石、プ

ラスチック、野菜、紙など) を実際に叩いて音刺激を作成して、映像と音の組み合わせをさまざまに入れ替えてマルチモーダルな質感知覚がどのように変化するかを心理物理実験により検討した。その結果、物理的に全く同じ視覚刺激に対して異なる聴覚刺激が組み合わさった場合に、知覚されるマルチモーダルな質感が大きく異なる刺激の組み合わせが存在すること、すなわち映像情報と音情報の双方に基づいた相補的なマルチモーダル材質知覚が生じていることを見いだした (成果の一部を The European Conference on Visual Perception (ECVP) および日本心理学会で 2012 年 9 月に発表予定)。現在は、心理物理実験によって絞り込まれた、物理的に全く同じ視覚刺激に対して異なる聴覚刺激が組み合わさった場合に、知覚されるマルチモーダルな質感が大きく異なる刺激の組み合わせを用いて、特定の質感知覚に関連した活動を示す脳部位を同定することを目標とした fMRI 実験を進めている。これまでに実験刺激を fMRI 装置内で再生した環境で遅延の測定や刺激の調整などを行い、さらに一部の刺激について予備的なデータを取得しており、現在解析を進めている。

2. 非侵襲統合脳機能計測技術を用いた高次視覚処理の研究

岩木 直, 須谷康一 (独立行政法人産業技術総合研究所)

3 次元物体を知覚する場合、低次視覚野から頭頂部へ至る背側視覚経路と側頭部へ至る腹側視覚経路の両方が寄与していると考えられる。本研究は、高次視覚情報処理にかかわる複数の脳領域間における神経活動の相互作用を、MEG と fMRI の両方を用いて得られる高精度な脳神経活動可視化技術を用いて、定量的に評価することを目的としている。今年度は、3 次元図形を心的に操作する課題を遂行中の脳活動を fMRI を用いて計測するための予備実験を少数の被験者に対して行った。

被験者は、fMRI スキャナ中で、図 1 に示すような一

対の図形を観察し、互いに回転対称あるいは鏡像の関係にあるか判定して、ボタン押しによって回答する課題を遂行した。この結果、被験者の心的操作課題遂行にともなって、後頭部と頭頂部の活動が観測された (図 2)。脳活動の空間的な分布は、これまでに心的回転課題を用いた fMRI および PET による研究と高い整合性を示した。

今後、fMRI 計測で得られた脳活動分布と、別に計測した MEG データを統合解析することにより、時間的にも空間的にも高い解像度を持つ心的回転脳活動の可視化を行い、活動する脳領域間の相関関係を調べる。

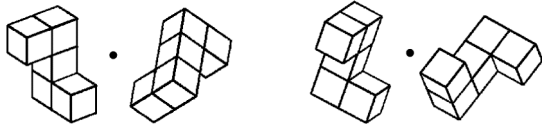


図 1 3次元図形の心的操作課題で用いた視覚刺激の例

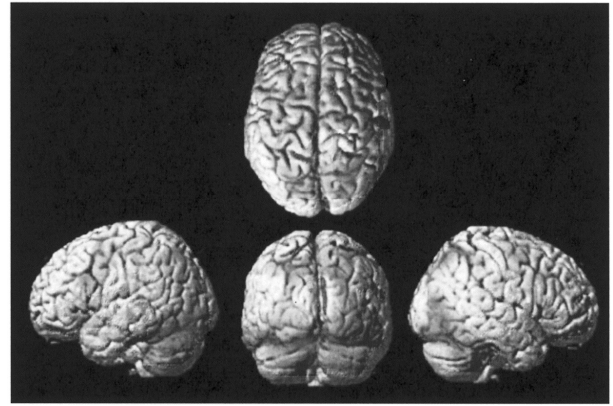


図 2 単一被験者における fMRI データに基づいた脳活動分布可視化結果例。後頭部，後頭-側頭部，後頭-頭頂部および上頭頂部の活動が観測された ($p < 0.05$ FWE corrected)。

3. 嗅覚がストレスを緩和するヒト脳内メカニズムの解明—fMRI を用いた検討

柴田美雅（産業医科大学 医学部 耳鼻咽喉科）

柿木隆介

情動ストレス負荷が，ラットの視床下部－下垂体－副腎 (HPA) 軸を亢進し，アロマセラピーにおいてリラックス効果があるとされるラベンダーオイルの嗅覚刺激が，その HPA 軸反応を修飾するという自験データを元に，ヒトにおいても同様に嗅覚刺激が情動ストレスによる脳内活動を修飾するか否かを，fMRI を用いて検討することを目的とした。

脳内活動を fMRI で調べる前に，まずは情動ストレスや嗅覚刺激を与えた際にどのような生理学的変化が現れるかを検討するため，嗅覚および鼻腔通気度が正常な被験者 10 名 (22-31 歳，女性) の収縮期血圧・拡張期血圧・心拍数・唾液アミラーゼ活性を非侵襲的に測定した。

日常のオフィスワークにおける精神的ストレスを模倣するため，外国語の単語の記憶を 4 分間行い，引き続き口頭試問を 1 分間行うことを情動ストレスとした。被験者には実験開始前よりマスクを着用させ，嗅覚刺激負荷はラベンダーオイルをマスクに塗布する方法で行った。室温 23℃ の条件下で，安静時→情動ストレス負荷 (5 分間) →安静 (5, 10, 15 分後) →情動ストレス+ラベンダ

ー嗅覚刺激負荷 (5 分間) →安静+ラベンダー嗅覚刺激負荷 (5, 10, 15 分後) の順で経時的に測定を行った。

実験前は，情動ストレス負荷により交感神経活動が亢進し，収縮期血圧・心拍数・唾液アミラーゼ活性の上昇が見られると予想していた。しかし，ラベンダー嗅覚刺激の有無によらず収縮期血圧は不変，心拍数は減少傾向を示した。これに対し，唾液アミラーゼ活性は，ストレス負荷直後に上昇傾向を示し，負荷解除後にすみやかに減少した。これらが意味するものが，情動ストレスの負荷が弱いまたは負荷時間が短いため，十分なストレス反応が誘発されていないのか，またはストレスに対する生理的反応を，上記の項目で測定するだけでは不十分であるのか，嗅覚刺激の投与方法は適切であったかは不明である。

また，ラベンダー臭に接する機会の多寡や感受性 (快・不快) にも個人差があるなど課題が多く，fMRI による脳内活動の適切な測定を行うためには，今後，更なる条件設定が必要である。

4. 語用論の神経基盤の解明に向けて

松井智子 (現：東京学芸大学国際教育センター／元：京都大学霊長類研究所)

内海 彰 (電気通信大学大学院情報理工学研究科総合情報学専攻)

菊知 充 (金沢大学大学院医学系研究科脳医科学専攻)

中村太戯留 (慶應義塾大学環境情報学部)

皮肉表現や比喩表現といった非字義的な表現の解釈は、ヒトに特有な語用論能力が機能することによって初めて可能となる。安立他 (2006) は、Asperger 障害の特徴として、比喩文理解が良好であるにもかかわらず、皮肉文理解が注意欠陥/多動性障害や高機能自閉症と比較して特異的に低いことを報告している。一方、内山他 (2012) は、成人を対象とした fMRI 実験にて、比喩理解では尾状核、皮肉理解では扁桃体が特別な役割を果たし、また両者に共通して内側前頭前野が関与することを報告している。

そこで本研究では、①成人を対象に磁気共鳴装置を用いた実験を行い、とくに情動伝達に関わる神経基盤を明らかにすることとともに、②その結果を、子供を対象とした小児用 MEG および NIRS による実験のための基礎データとして活用することを目的として推進している。本年度は、①の枠組みで、(A)「プロソディを含む皮肉発話の解釈課題」と(B)「パンチラインとしての隠喩表現の解釈課題」の二つの課題の fMRI 実験を実施した。これらの結果の解釈を深めるため、(C) 日本心理学会の全国大会において公開ワークショップを実施した。また、生理学研究所での研究会でのポスター発表も行った。

(A) 昨年度に作成した子どもの実験も射程に入れた刺激 (文脈とプロソディが一致/不一致を条件として含む) を用いた実験 (成人 20 名) を行った。結果、文脈とプロソディが一致しない場合には、左下前頭前野 (BA 47) の賦活が認められた。このことから、この部位において、

文脈情報とプロソディ情報の統合がなされている可能性が示唆された。

(B)「A と掛けて、B と解く。その心は、X」という形式の比喩的表現を刺激として用い、「面白い/面白くない」を判断してもらう実験 (成人 20 名) を実施した。結果、面白いと判断する際には両側の扁桃体の賦活が認められた。一方、面白くないと判断する際には、「その心は？」と聞いた段階で既に左扁桃体が賦活していた。このことから、扁桃体は「何かが分かった」という瞬間 (関連性理論の伝達の原理における最適な関連性が得られた瞬間) に賦活している可能性が考えられた。

次年度は、これらの結果をもとに論文投稿および国際会議での発表を行っていく。また、既存研究で報告されている他の部位との関連を調べる実験/調査、および②を射程に入れた予備実験/調査を予定している。

【引用文献】

安立多恵子・平林伸一・他 (2006)。比喩・皮肉文テストを用いた注意欠陥/多動性障害、Asperger 障害、高機能自閉症の状況認知に関する研究 脳と発達, **38**, 177-181.

Uchiyama, H. T., Saito, D. N., Tanabe, H. C., Harada, T., Seki, A., Ohno, K., Koeda, T. & Sadato, N. (2012). Distinction between the literal and intended meanings of sentences: A functional magnetic resonance imaging study of metaphor and sarcasm. *Cortex*, **48**, 563-583.

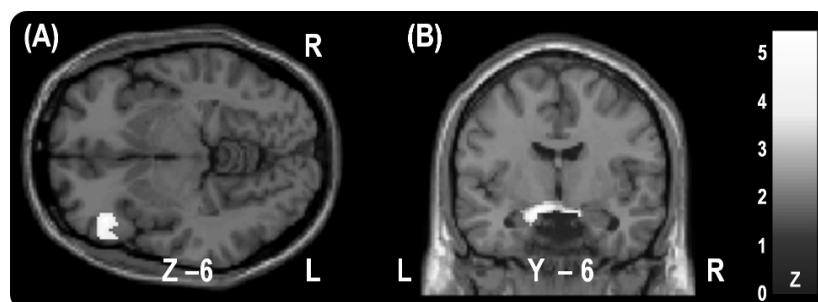


Fig.1 : (A) 皮肉理解における文脈とプロソディの不一致効果, (B) 比喩理解におけるパンチラインの鑑賞効果

5. Dual fMRI 装置を用いた会話コミュニケーション時の脳活動説明

湯浅将英, 豊村 暁 (東京電機大学 情報環境学部)

人が話を続けていく際には、話の展開や状況を理解することが重要であり、その仕組みを探ることは有用である。しかしながら、文章や物語の状況理解時の脳計測研究はあるが^{[1][2]}、会話の状況理解時の研究については、語用論等の理論的な考察に留まっている。そこで本研究では、会話の状況理解時の仕組みを脳活動計測から探る。さらに、会話の状況を理解する理論モデル、および神経の基盤について Dual fMRI 装置を用いた二者同時脳活動計測より探る。本報告では、Dual fMRI 装置の利用の前に実施した 1 台の fMRI 装置を用いた二者間会話時の実験を述べる。

実験では、fMRI 測定室内と室外の実験協力者 (A, B) らがマイクとヘッドフォンで互いの声が聞こえる環境を構築した。脳を撮像する時間を固定するために発話を制限し、室内の協力者 A が 3 秒ほど話をし、B が 3 秒話した後、2 秒の間を経て 3 秒間スキャンする。下記に協力者が利用した会話の例を示す。例では二者が会話することによって構築される状況が異なる。これらを比較することで状況理解の仕組みがわかる可能性がある。

【会話 I】 (展開のある会話)

A : 家に入れないって？
 B : 家を出るときに鍵を置き忘れた
 A : まずいことになったね
 B : 親は三日間旅行に出ている

【会話 II】 (単純な返答)

A : コピーをお願いしますか？
 B : はい、承知しました
 A : 書類のチェックをお願いします
 B : はい、やります

実験の結果、会話 II よりも会話 I のときに左中前頭

回、右上前頭回に有意な賦活が見られた。左中前頭回の賦活は、物語の状況理解時の賦活^{[1][2]}と一致し、二者間会話でも同様であるとした知見が得られた。他の会話パターンとの実験比較から、脳機能と対応する状況理解の段階や構造がある可能性も考えられた。

今後は、本実験デザインを基に視線を用いた会話時の脳計測を実施し、Dual fMRI 装置による脳活動計測に取り組む。さらに、得られた知見を人と機械を結ぶ対話インタフェースに応用することを試みる^[3]。

参考文献

- [1] Gallagher, H.L., Happe, F., Brunswick, N., Fletcher, P.C., Frith, U., Frith, C.D, 2011. Reading the mind in cartoons and stories: an fMRI study of ‘theory of mind’ in verbal and nonverbal tasks. J. Neuropsychologia. 38:11-21.
- [2] Ni, W, Constable, R. T, Mencl, et al., 2000. An event-related neuroimaging study distinguishing form and content in sentence processing. J. Cognitive Neuroscience. 12: 120-133.
- [3] 湯浅, 武川, 2009. fMRI による HAI のコミュニケーション設計. 人工知能学会誌. 24-6:840-847.



図 会話 I - 会話 II の賦活画像

6. 言語的知性による能動的問題解決の神経基盤をさぐる

早川友恵 (帝京大学 文学部 心理学科)

寺園 泰 (東京大学・新領域創成科学研究科)

本研究の目的は、獲得した知性を新たな情報に対してどのように適用するか、ヒトの脳における能動的な問題解決プロセスを検討することにある。

プライミング・パラダイムを用いた行動実験により、入力情報が劣化すると記憶がその理解を助けることが明らかにされている。日常における単語や物体イメージの認知過程では、完全な形で情報が与えられることは稀で、いくつかの情報処理段階で知覚的補完が行われて、認知に至る。本研究では、プライムによって他動的に引き起こされる記憶へのアクセスではなく、劣化情報が与えられた際に、実験参加者自らが持つ語彙記憶や物体記憶の概念に自発的にアクセスし、能動的に高次の知覚補完を行うプロセスを明らかにすることを目的に実施する。

本年度は、実験に使用する刺激作成およびその評価を行った。

1. 実験に使用する視覚刺激の作成

単語と物体標準画像を準備した。単語は日本語の語彙特性から、単語新密度およびカタカナでの標記妥当性の高い単語を選択した。また、抽出した語彙リストを使用して、本研究に適した物体標準画像を作成した。

2. 情報劣化のアルゴリズムの検討

行動実験はもとより fMRI 実験に使用予定の視覚刺激

呈示用スクリーンで再現可能な劣化方法を、画像分割、コントラスト変化の2点で検討した。その結果、効果的に劣化させる分割サイズは単語のフォントや物体像を描く線の太さに一致することが解った。次いで、グレースケール画像および二値画像で劣化を検討したところ、前者では刺激のコントラストが呈示装置変化で容易に変わることが分かった。一方、二値画像では刺激呈示環境が変化しても想定劣化が表現できた。本実験では、描出する線の太さが同じ単語と物体画の二値化画像を作成し、その画像を線の太さと同じピクセル単位で分割し、ランダムな位置に再配置する方法で劣化画像を作成した。

3. 能動的補完が誘導されやすい刺激条件の検討

本研究は視覚認知に至る入力情報と能動的な概念想起の関わりを、脳活動で明らかにする事にある。入力情報が劣化していない条件では、概念想起を繰り返さずとも認知的解を得ることができ、劣化していると概念記憶への検索負荷がかかるという仮説を立て、認知に至る反応時間を評価する。現在、上記の2条件を決定するために行動実験を進めている処である。

なお、研究に先立って実施した単語劣化の fMRI 計測の解析について検討し、本実験の実施に備えた。

7. 磁気共鳴画像装置による脳賦活検査を用いたヒトの情動とストレス脆弱性に関する研究

飯高哲也, 原田宗子 (名古屋大学 大学院医学系研究科)

顔の印象形成に関する fMRI 実験の結果が英文誌に掲載された (文献 1)。さらに昨年度から継続していた幾つかの研究が英文誌に受理された。1 つは顔の虚記憶に関する実験で、類似した顔に対する誤った記憶に扁桃体と前頭葉眼窩部の活動が関係していることを報告した (文献 2)。顔の向きを変えても顔の記憶が正しいことが、傍嗅内皮質の活動にかかわっていることを明らか

にした論文が掲載された (文献 3)。共同研究として行った、悪い印象の顔の認知に扁桃体と側頭葉の機能的結合性が関与している論文が受理された (文献 4)。さらにレビュー論文として、顔認知の脳内機構を主に上側頭溝の活動として調べた研究結果をまとめて報告した (文献 5)。顔認知の発達と社会性について、脳科学的な観点から研究をまとめた総論を発表した (文献 6)。

【文献】

- 1) Iidaka T, et al., Forming a negative impression of another person correlates with activation in medial prefrontal cortex and amygdala, *Social Cognitive and Affective Neuroscience* 6 (4) 516-525, 2011.
- 2) Iidaka T, et al., Neuroanatomical substrates involved in true and false memories for face. *NeuroImage* 62 (1), 167-176, 2012.
- 3) Iidaka T, et al., Distinct human face representations in the perirhinal cortex and fusiform gyrus. *Brain Research* 1452, 119-129, 2012.
- 4) Miyahara M, et al., Functional connectivity between amygdala and facial regions involved in recognition of facial threat, *Social Cognitive and Affective Neuroscience* (in press).
- 5) 飯高哲也。顔認知の脳内メカニズム：上側頭溝の機能を中心として。 *Brain and Nerve* 64 (7), 737-742, 2012.
- 6) 飯高哲也。社会脳科学の展望 脳から社会を見る：社会脳シリーズ1, 「顔認知の発達と情動・社会性」編集, 荻阪直行, pp 63-86, 新曜社, 2012.

8. 潜在的な動作不安定性と相関する大脳基底核の一過性活動

荒牧 勇（中京大学スポーツ科学部）

両手による周期的なタッピング運動は、左右の手の指の組み合わせによって動作の安定性が異なる。左右同じ指を同時に動かす鏡像運動は極めて安定であるのに対して、左右の同じ指を交互に動かす非鏡像運動は不安定であり意思とは無関係に突然、鏡像運動に遷移する。一方で、多くの人は、将来的には失敗する非鏡像運動を運動開始直後は比較的安定に動作を保つことができる。それゆえ、運動開始直後の運動から、その人が失敗するかどうかを予測するのは困難である。そこで本研究では、運動開始時の脳活動から、パターン遷移（運動のエラー）が起こるかどうかを予測することを試みた。

被験者は3Hzの速さのメトロノーム音にあわせて両手鏡像条件と両手非鏡像条件でタッピングを行った。鏡像条件はとても安定で、どの被験者もミスなくこなすことができるのに対し、両手非鏡像条件は両手鏡像条件に比べて不安定で、たとえ運動開始後数秒間はミスなくこなすことができても、30秒間の試行中にミスをする被験者がでてくる。ミスをする、タップとタップの間の時間間隔が乱れるので、これを運動パフォーマンスの乱れの指標とした。それぞれの条件での脳活動を磁気共鳴画像法により計測し、まず計測データを運動開始時の一過性の成分と運動の継続に関わる持続的な成分に分離した。次に、この運動開始時の一過性の脳活動を利用し

て、課題終盤の期間における運動の乱れを予測した。その結果、大脳基底核被殻前部の活動と将来（運動開始後約20秒経過時からの10秒間程度）の運動の乱れ具合との間に、相関係数0.81という非常に強い相関関係が見つかった。

これらの結果は両手強調運動が不得意な被験者の場合には、運動開始時の脳への負担が大きく、両手協調運動が得意な被験者の場合には脳への負荷が小さいことを示唆しており、大脳基底核の一過性の活動を見れば、高い精度で両手非鏡像運動の将来のパフォーマンスが予測できることを示している。

上述の結果は6試行のデータを利用した解析であったが、今年度はさらに、1試行でどの程度予測できるかを評価した。その結果、その試行がうまく行くかどうかは76%の確率で予測することができた。今後は予測の精度を高める方法の開発をすすめ、リアルタイムでの脳活動を用いたパフォーマンス予測をするシステムを開発していく。

Aramaki Y, Haruno M, Osu R, and Sadato R. Movement initiation-locked activity of the anterior putamen predicts future movement instability in periodic bimanual movement. *Journal of Neuroscience* 31 : 9819-9823, 2011.

9. 運動を行うヒトの意志に関わる脳活動部位の明確化

船瀬新王 (名古屋工業大学大学院工学研究科情報工学専攻)

本研究は、眼球運動を予測する脳波システム構築のために「眼球運動の運動決定に関連した fMRI による脳機能解析とその結果と脳波との関連」を明らかにすることを目標とした。23 年度は、fMRI による実験の準備段階として、脳波によって運動の意志に関連する脳波を明らかにするために、一般的な手足の自由運動時に計測される運動準備電位と眼球運動時に観測される運動準備電位との比較検討を行う。

一般的な手足の運動準備電位は、Cz と呼ばれる正中の電極において、運動の開始 2000 [ms] 程度前から上昇の傾向を示す。この電位のことを BP と呼ぶ。また、運動の対側における運動野の電極で、眼球運動の前 600 [ms] に大きな一つの峰 (SN') と呼ばれるものを持つ。

しかしながら、BP と NS' は自由運動時に観測されるものである。そのために、特に BP においてはヒトの意志に関連する運動の準備に関わる変動であると考えられている。

そこで本研究では、自由運動時の眼球運動 (Free-movement) と指示刺激を提示した上での眼球運動 (Cued-movement) 時の実験タスクを行う。

その結果を、図 1、図 2 に示す。図 1 は Cued-movement

実験の図 2 は Free-movement 時の Cz において観測された脳波データである。本データは加算平均データであり、on-set は眼球運動開始時刻である。また、0 [ms] は眼球運動開始時刻を示しマイナスの時刻は運動開始前の時刻を示している。

本データは、Cued-movement 時には、運動開始 1000 [ms] 前から 300 [ms] 前のデータまで上昇の傾向を持つことが分かる。これに対して、Free-movement 時にはこのような傾向を見ることができない。

このことは、従来の手足の運動準備電位とは異なる傾向を示していることが明らかになった。Free - movement 時の実験結果ではなく、Cued-movement 時の実験結果が手足の Free-movement 時の運動準備電位の BP と同等である。

このことは、何を示しているのかを現時点において明らかではない。しかしながら、Cued-movement 時にも BP 成分が観測されるということを示している可能性がある。

今後は、22 年度と 23 年度の結果をベースとして fMRI の実験課題を構築する予定である。

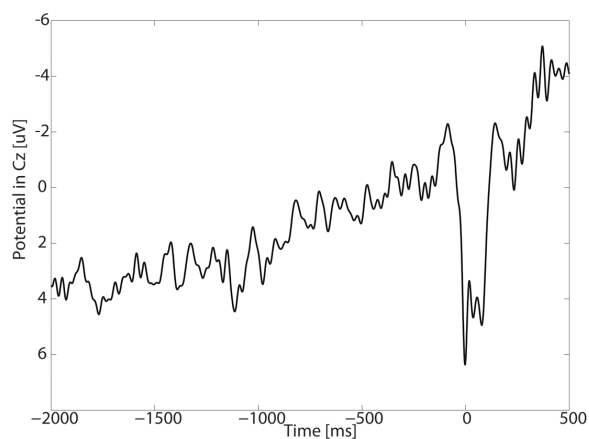


図 1

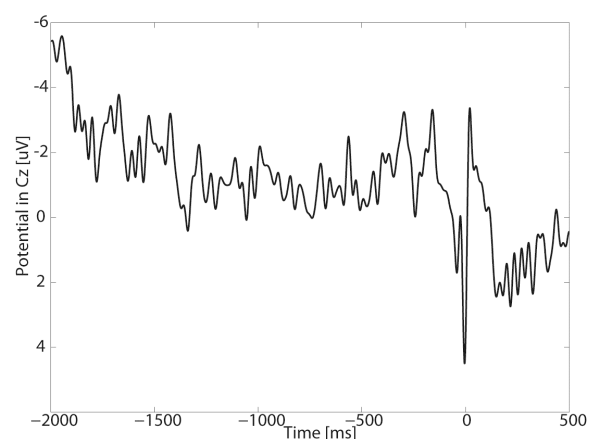


図 2

10. ヒトの表情による脳活動とその制御機序—Subliminal 画像を用いた研究

中村浩幸（岐阜大学大学院医学系研究科）

原田宗子（名古屋大学大学院医学系研究科）

木股竜太郎（岐阜大学医学部医学科）

ネガティブな刺激によって引き起されるストレス反応が「噛み締め」によって制御される機構を解明することが本研究の目的である。方法として、機能的磁気共鳴断層撮影 (fMRI) を用いてストレスによる扁桃体の活動と噛み締めの関係を検討する。

本年度は、(1) 刺激として用いるネガティブな顔表情画像と中性表情画像を作成、(2) fMRI スキャン中の噛み締め圧と扁桃体の活動との関係をネガティブ顔と中性顔で比較した。

ネガティブおよび中性表情画像は、テキサス大学ダラス校のパーク加齢精神研究室 (Park Mental Laboratory, 主任 Denise C. Park) において開発された「成人の顔刺激の生涯データベース」(A lifespan database of adult facial stimuli. Minear, M. & Park, D.C., Behavior Research Methods, Instruments, & Computers. 36, 630-633. <http://vitallongevity.utdallas.edu/stimuli/facedb.html>) を用いて作成した。刺激呈示用ソフトウェア Presentation (Neurobehavioral Systems, Inc.) を用い、ブロックデザインでネガティブ表情顔もしくは中性表情顔の画像を 15

枚ずつ連続で提示した。また、各ブロック直前に噛み締め圧 (0%, 30%, 60%) を指示した。撮像中に心電図と呼吸をモニタして、被験者の情動の指標とした。

噛み締め圧センサは、被験者の歯列模型に合わせて加工したクリアリテーナと、平板圧センサ (FlexiForce, Tekscan, MA, USA) を用いて作製した。クリアリテーナを装着した被験者に仰臥位で噛み締めてもらい、クリアリテーナの圧着点を確認後、同部位に平板圧センサを歯科用レジンで固定した。噛み締め圧は、アンプと USB ケーブルで MRI 前室のコンピュータに入力し、撮像中にモニタした。

fMRI の結果では、噛み締め圧と扁桃体の活動との間に負の相関の傾向が見られたが、ネガティブ顔と中性顔とで傾向に違いはみられなかった。したがって、刺激として顔画像を用いるのが妥当か否か検討する。さらに、被験者数を増やして、ネガティブ情動画像と中性画像とで実験を遂行し、結果の解析を行い、実験方針を確定する。

11. プライミング効果に基づく L2 習熟度による神経基盤の解明

大石晴美¹, 牧田 快², 木下 徹³, 島田浩二², 定藤規弘², 田邊宏樹²

(¹ 岐阜聖徳学園大学経済情報学部, ² 自然科学研究機構生理学研究所, ³ 名古屋大学大学院国際開発研究科)

【研究の背景】

Crinion *et al.* (2006) は、バイリンガルの場合、第一言語と第二言語の両言語において、意味プライミング効果が表れ、さらに二言語を司る脳の部位を推定している。しかし、これまでのところ、初級学習者ではそれらの関係は明らかにされていない。

【研究目的】

本実験の目的は、初級者、上級者を対象にし、語彙におけるカテゴリーの関連性が反応時間と脳活性状態においてプライミング効果を生じるかどうかを明らかにする

ことである。具体的には、プライム語とターゲット語で、語彙におけるカテゴリーの異同に注目し、習熟度ごとのプライミング効果を明らかにする。そして、どのような脳活性状態であるのかを磁気共鳴装置で観測し、その結果に基づき第二言語習熟度による神経基盤を解明する。

【研究課題】

本実験では、Crinion *et al.* (2006) の課題を修正し、1) 英語—英語、2) 英語—日本語、3) 日本語—英語、4) 日本語—日本語の 4 種類で、カテゴリーにおいて関連

性の無いペアと関連性の有るペアをランダムに組み合わせさせた。どのペアにおいても二つ目の単語について回答するよう指示した。

英語は常に大文字, 日本語はひらがな, カタカナ, 漢字で表示される。「生き物」には想像上のものも入り(ゴジラなど), 犬や猫の種類を表す単語(シェパードなど)も「生き物」とした。但し, チキンのような食材は生き物とはしない。

【実験参加者】

日本人英語学習者名

40名(初級者20名, 上級者20名)

【実験手順】

1. MRIについての説明: 10分
2. 課題説明: 5分
3. 実験同意書, 実験前質問紙への記入: 5分
4. MRIでの撮像: 約45分
 - 4.1: 練習課題: 3分
 - 4.2: 本課題: 30分
 - 4.3: 解剖画像撮像: 10分
5. 事後アンケート/英単語テスト: 10分

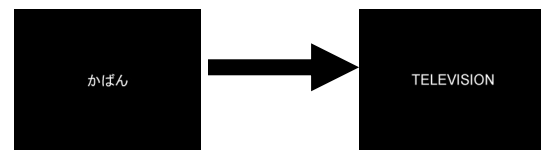


図1 課題提示例

「生き物」の場合左ボタン(緑色)

「生き物以外」の場合右ボタン(青色)
を押す。

【仮説】

英語の習熟度が高い学習者ほど, 英語を含むペアの課題を実施した場合, 同一カテゴリ間でプライミング効果が見られる。

【まとめ】

本年度は, 磁気共鳴装置による実験を開始した。実験終了次第, プライミング効果は用いる単語のカテゴリに関連性がある際に強くみられるかについて実験結果に基づき分析する。さらに, それにより第二言語の習熟度による神経基盤とその賦活状態を考察する。

12. 他者との関係性に基づいて変容する感情・意思決定の神経機序 —社会脳からのアプローチ—

荻阪直行¹, 荻阪満里子², 松吉大輔², 矢追 健¹, 源 健宏¹
(¹京都大学大学院文学研究科, ²大阪大学大学院人間科学研究科)

人間社会は重層的な社会的相互作用によって形成されているが, その基礎にあるのが二者間の相互作用である。近年, 機能的磁気共鳴画像を用いて, ヒトの社会的行動の神経基盤を探る「社会脳」的アプローチが勃興しつつあるが, それら研究のほとんどは1台のMRIを用いた「社会的刺激観察中の脳活動」を測定しているに過ぎず, 実際のヒトが行っている社会的相互作用からはほど遠い。

そこで本研究では, 2台のMRIを同時使用して2者間の相互作用を含む刺激観察・課題遂行中の脳活動を測定する事で, ヒトの社会的相互作用の神経基盤を探る。具

体的には, 二者間のアイコンタクト中の被験者間脳活動相関と, 質問紙や行動によって評価された二者間の関係性とが, どのような対応関係にあるかを明らかにすることで, 二者間の関係性のバイオマーカーとなる神経活動を同定したいと考えている。

このようなアプローチ方法は, 参考となる先行の認知・神経科学研究に乏しいため, 二者間のアイコンタクトに関する行動的証拠を集めた上で, fMRI研究に移ることが肝要であると考え, 現在は眼球運動測定装置等を用いた行動データ取得と解析方法の検討を23年度から24年度にかけて継続して行っているところである。

13. 報酬予測課題遂行における神経ネットワークの解明

成本 迅 (京都府立医科大学大学院医学研究科精神機能病態学)

報酬課題遂行に線条体が報酬予測に関与していることが報告されている。しかしながら、報酬課題には前頭前野をはじめとする広い神経ネットワークが関与していると考えられ、線条体が他の脳部位とどのように関連しながら報酬予測の役割を果たしているのかはいまだ十分には理解されていない。本研究では、健常者における報酬課題遂行中の線条体を中心とした神経ネットワークの活動を解明することを目的とした。さらに、線条体を中心とする神経ネットワークは、精神疾患、特に強迫性障害で障害されていることが報告されており、健常者と患者の比較を行った。

金銭報酬を用いた報酬予測課題遂行中の脳活動を磁気共鳴装置により計測し、得られた時系列データに対して数理モデル解析を行い異なる時間スケールでの報酬予測と相関する脳部位を同定した¹⁾。健常者において、金銭報酬課題で短期の報酬予測と長期の報酬予測に関連する部位は、一次報酬を用いて行われた先行研究と一致しており、腹側線条体が短期の報酬予測に、背側線条体が長期の報酬予測に関連しているという結果が得られた。次に、安静時 fMRI のデータを用いて、強迫性障害で障害が報告されている線条体、及び視床背内側核からの機能結合について解析した²⁾。結果、健常者、強迫性障害患者共に、視床背内側核から内側前

頭前野、前部帯状回、背外側前頭前野、線条体との機能結合が描出でき、強迫性障害患者においては、視床背内側核と被殻の機能的結合が症状の重症度と相関していることを明らかにした。

安静時の機能結合では課題遂行中のシステムとしての神経回路の活動が評価できないため、課題遂行中の時系列データを Dynamic Causal Modeling (DCM) を用いて解析を試みたが、刺激入力と駆動のポイントが設定しやすい視覚課題と比較して報酬予測課題では、どの脳部位に刺激入力と駆動を想定して解析するかが課題となることが明らかとなった。このため、現在 DCM による解析が可能な課題設計について検討中である。

【発表】

- 1) 酒井雄希, 成本 迅, 田中沙織, 他。金銭報酬を用いた異時点間の選択問題において、腹側線条体は短期の報酬予測、背側線条体は長期の報酬予測に関係した。平成 23 年度生理研研究会「今, 社会神経科学研究に求められていること」。
- 2) 酒井雄希, 成本 迅, 西田誠司, 他。安静時 fMRI を用いた無投薬強迫性障害患者における線条体-視床機能結合の変化。第 107 回日本精神神経学会学術総会。

14. フレーミングが統計情報理解へ与える影響とその神経基盤の解明

岡本雅子 (国立大学法人 帯広畜産大学 動物・食品衛生研究センター)

定藤規弘 (大学共同利用機関法人 自然科学研究機構 生理学研究所大脳皮質機能研究系)

「ある食品を食べることで癌を発症する確率」など、食品の安全性についても、確率を用いた情報伝達の機会が増えている。しかし、ヒトは確率の理解が得意ではなく、判断に矛盾を生じやすいことが指摘されており、ヒトの判断の性質の解明と、それを踏まえた、よりよい食品安全情報提供法の開発が求められている。

神経科学の分野では、近年、確率に基づく判断において感情を司る脳領域の関与が報告され、確率の判断にお

ける感情の役割が注目を浴びるようになった。しかし、感情と確率判断の関係には未解明な点が多く、特に、感情を喚起した場合に、判断と神経基盤にどのような影響が生じるかについては知見が少ない。そこで、確率表現の違いにより、数学的に同一の確率に異なる判断を下してしまうという、「フレーミング効果」を実験課題として、感情を操作した場合の判断と大脳活動への影響を検討することを計画した。

本年度は、Ratio Bias 課題、金銭ギャンブル課題など、フレーミング効果の関与する種々の実験課題について、日本人学生を対象とした行動実験を行い、実験条件と分析方法の検討を行った。しかし、今回対象とした日本人学生では、十分大きなフレーミング効果が認められない、関連するパラメータの推定値が安定しないなど、実験実施上、多くの困難があることが明らかになった。

そこで、本年度の検討結果を踏まえ、研究テーマの見直しを行うこととする。具体的には、私達の研究プロジェクトで進行中の、食品リスクに対する判断課題を用いて、その際の、感情や価値表象に関わる脳領域の関与を評価する。具体的な実験内容は、2012 年度の共同研究でさらに明らかにする予定である。

15. 視・聴・触覚間の時間的同期判断を可能にする脳内情報処理機序の解明

藤崎和香 (産業技術総合研究所 ヒューマンライフテクノロジー研究部門)

西田眞也 (NTT コミュニケーション科学基礎研究所 人間情報研究部)

天野 薫 (東京大学 大学院新領域創成科学研究科 複雑理工学専攻 科学技術振興機構)

田邊宏樹, 定藤規弘 (生理学研究所 心理生理学研究部門)

人間の脳が異なる感覚モダリティ間の時間を比較するためには、物理的・生物学的な時間のずれや、誤対応、組み合わせの爆発など、さまざまな困難を乗り越えなければならない。本研究の目的は、このような困難を乗り越えて異なる感覚モダリティ間の時間比較を可能にしている人間の脳内情報処理機序を心理物理学の実験手法と脳イメージング手法を組み合わせで解明することである。

知覚研究ではこれまで **what** 経路と **where** 経路が並列処理されていると考えられてきたが、さらに近年、**when** 経路も分かれているのではないかという議論が始まっている。本研究はクロスモダリティの心理物理と脳イメージングを組み合わせることによって、まず感覚モダリティの組み合わせに共通した **when** 経路の解明を目指す。

我々は近年、聴触覚の感覚モダリティの組み合わせでは、視聴覚、視触覚の組み合わせよりも、時間のずれが検知されやすい (同期・非同期弁別が容易である) ことを発見した (Fujisaki & Nishida, 2009, EBR)。またこの聴触覚の優位性は、バインディング課題では消失すること

を発見した (Fujisaki & Nishida, 2010, Proc R Soc B)。これらの心理物理の知見を基に、本研究では **fMRI** を用いて、特定の感覚モダリティの組み合わせ (特に聴触覚の組み合わせについて) の同期知覚に対応した脳部位の同定を試みるとともに、感覚モダリティの組み合わせに共通した同時性判断の責任中枢 (**when pathway**) の解明を目指す。

これまで、まず視覚刺激、聴覚刺激、触覚刺激を磁気共鳴装置内で可能な限り同期させて提示するための装置の選定、およびセットアップを行った。また共同利用実験者を含む3名のパイロットデータを取得した。パイロットデータの予備的な解析では特定の実験刺激条件に依存した反応を得るまでには至らなかったが、今後の方針を考えるうえで重要な、多くの情報が得られた。今後はベースラインの取り方や刺激の種類、タスクデザイン等を再考し、また触覚提示装置の消音化を行ったうえで、ひきつづき特定の感覚モダリティの組み合わせ (特に聴触覚の組み合わせについて) の同期知覚に対応した脳部位の同定を試みる。

16. 非侵襲的脳機能検査による疲労・疲労感と学習意欲の評価法

渡辺恭良, 水野 敬 (理化学研究所分子イメージング科学研究センター)

定藤規弘, 田邊宏樹 (自然科学研究機構生理学研究)

【疲労と意欲の神経基盤研究】疲労は達成感や意欲により軽減する。しかしながら、疲労と意欲の脳科学研究は、互いに接点が無いまま進められており、両者の関連性は未だ明らかでない。そこで、本研究では、意欲の抗疲労効果という観点から両者の関連性を非侵襲的脳機能計測により検証した。疲労誘発課題として 2-back task を用いた。45 分間の 2-back task 遂行中、内発的報酬あり [Intrinsic Reward (+), IR(+)] または内発的報酬なし [IR(-)] の呈示による賦活度を fMRI により計測した。負荷時間経過に伴い眼窩前頭野の活性がみられ、この活性は疲労感を反映していると考えられた (Tajima et al., 2010)。IR (+) により腹側線条体の賦活がみられた。さらに、IR (+) により意欲が喚起されたほど腹側線条体が賦活していたことを相関解析から見出した。また、腹側線条体と眼窩前頭野の賦活度は負の相関関係にあった。以上より、IR (+) による腹側線条体の活性は意欲喚起と関連し、か

つ、疲労感を抑える効果があることが示唆された。

【仮名拾いテストの神経基盤研究 (論文発表報告)】疲労により注意配分機能 (二つ以上のことを同時に遂行する能力、仮名拾いテスト成績等) が低下するが、仮名拾いテストの神経基盤は明らかでなかった。仮名拾いテスト遂行中に左下前頭回と左上頭頂小葉の賦活を fMRI により確認し、これらの脳領域が注意配分資源と関連することを見出した (Mizuno et al., 2012)。

【参考文献】

- Mizuno, K., Tanaka, M., Tanabe, H. C., Sadato, N., Watanabe, Y.: The neural substrates associated with attentional resources and difficulty of concurrent processing of the two verbal tasks. *Neuropsychologia*, 50 (8): 1998-2009, 2012.
- Tajima, S., Tanaka, M., Kataoka, Y., Kuratsune, H., Watanabe, Y., et al.: Medial orbitofrontal cortex is associated with fatigue sensation. *Neurol. Res. Int.*, 2010: 671421, 2010.

17. サル MRI 標準脳画像の PET 分子イメージング研究への応用

尾上浩隆, 横山ちひろ, 田原 強, (理化学研究所)

山森哲夫, 渡我部昭哉 (基礎生物学研究所)

高司雅史, 南部 篤, 綾瀬大輔, 畑中伸彦 (生理学研究所)

垣内岳春 (浜松ホトニクス (株) 中央研究所 PET センター)

shRNA を発現するウイルスベクターを脳実質に注入することにより、サル類 (マカクサル, マーモセット) においても遺伝子発現抑制が可能になってきた。PET (Positron Emission Tomography) による分子イメージング技術の適用し、in vivo での遺伝子発現の変化を非侵襲的に捉えるために、マカクサルとマーモセットの MRI 頭部画像を取得しウイルスベクターの注入を行った。

アデノ随伴ウイルス (AAV) を用い、マーモセットのドーパミン D1 または D2 受容体遺伝子の shRNA を組み込んだ遺伝子ベクターを作製し、麻酔下でステレオ固定装置固定下において MRI 画像を撮像した頭部画像をもとに

発現抑制ベクターを脳実質 (線状体) に注入した。

ドーパミン D1 受容体の発現変化は [^{11}C] SCH23390 を用いて、D2 受容体については [^{11}C] raclopride を用いて PWT による測定を行った。その結果、それぞれの目的の遺伝子発現が 4 割程度抑制されていること、目的外の遺伝子発現 (shD1 に対しては D2) に対しては影響がほとんどないことを in vivo で確認した。今後、同様の注入動物の個体数を増やすとともに、それらの動物の MRI 画像から標準画像を作成し、PET による定量結果とそれぞれの個体の行動解析結果との関連を解析する予定である。

18. 顔色処理の脳内メカニズムの解明

南 哲人 (豊橋技術科学大学 エレクトロニクス先端融合研究センター)

中島加恵 (豊橋技術科学大学 電子・情報工学専攻)

顔色は他者の健康状態や感情を読み取る上で重要な情報のひとつである。脳波研究によって、顔色の違いにより顔選択的脳波成分 N170 が変調され、顔色の処理が顔処理の早期段階に影響を及ぼすことが示されている (Minami et al., 2011, Nakajima et al., 2012) が、脳波計測法は空間分解能に乏しく、顔色の処理に関係する脳領域を特定するには限界がある。そこで、本研究では空間分解能の優れた神経画像法である fMRI を用いて、顔色処理に関係する脳領域を特定することを目的とした。

実験条件は形状 (顔 vs. スクランブル) と色 (自然色 vs. 不自然色) の2条件とし、自然/不自然 (自然な顔色の反対色) な顔色の顔画像、それらの顔画像の色情報のみを残して顔の形状情報を除去したスクランブル画像を実験刺激とした。これらの刺激にダミーターゲットとなるサルの顔画像を加え、ランダムな順番で呈示した。刺激呈示時間、刺激間隔 (ISI) とともに 1500ms とした。被験者 25 名 (女性 5 名、平均年齢 25.24 ± 5.52) の脳画像データを 3 テスラ磁気共鳴装置 (Allegra, シーメンス社

製) を用いて取得した。

全体脳解析の結果、顔刺激に対して応答する領域 (自然な顔色の顔画像 vs. 自然な顔色のスクランブル画像) として、左右紡錘状回顔領域 (FFA: fusiform face area) と左右後頭顔領域 (OFA: occipital face area) が得られた ($p < 0.00001$, uncorrected)。これらの顔選択的領域における MR 信号の変化を求め、形状と色を要因とする反復測定分散分析を行った。その結果、左 FFA でのみ有意な形状と色の交互作用があり [$F(1,22) = 6.256$, $p < 0.05$], 形状が顔の場合に不自然な顔色に比べ自然な顔色に大きな活動が見られた ($p < 0.001$)。

左項側頭部での脳波成分 N170 は顔色の違いを反映し (Nakajima et al., 2012), N170 の発生源は FFA であるとも言われている。また、右半球の FFA と OFA は顔の形状に敏感に応答し、左半球では顔の形状と表面情報の両方を処理することが示唆されている。顔色も顔の表面情報のひとつであり、本研究は顔色の処理は特に左 FFA に関係することを示唆した。

19. 他者の信頼性の判断

渡部 幹 (早稲田大学政治経済学術院)

坪井 翔 (京都大学大学院文学研究科)

経済的・社会的交換の際、新たな交換パートナーとの相互依存関係を拡大するためには、信頼が重要な役割を果たすが、同時にそれは他者に搾取されるリスクも増やすことになる。そのリスク低減のためには、信頼できる他者とそうではない他者を見極める必要があり、実際我々は日常生活の中で、そのような行動をとっている。

しかし、他者の信頼判断の際の生理学的プロセスについての知見はまだ少ない。そこで昨年度、我々は対象の人物が過去にどのように振る舞ったかという「信頼性についての評判情報」を与えられた 20 名の実験参加者に、対象人物の信頼性を判断してもらい、その際の脳の賦活を計測した。コントロール条件として、評判情報と同様

の文の濁点を数えるタスクを設定し、信頼判断に特有の賦活領域の特定を行ったところ、PFC, PFC, ACC, TPJ の活動が見られた。これらの領域は Theory of Mind (ToM) 課題時に活動する領域と同じであった。このことから、他者の信頼性推定プロセスは、他者の視点を取得し、他者の行動をシミュレートすることを通じて行われている可能性が明らかになった。

しかし、賦活部位は明らかになったものの、この研究では、信頼性判断値と、これらの部位の賦活程度の関係については、はっきりとしたデータが得られず、パラメトリックな分析を行うことができなかった。その理由は、信頼性判断の測定方法にあると考えられた。

このため今年度は、信頼性判断の測定方法の精緻化を行うべく、新たな実験プロシージャの開発とそのためのプログラミングを行った。具体的には、これまで信頼程度を 0 から 100 のレンジで、口頭で述べてもらっていたが、個人によって使用する最大値、最小値、インクリメ

ントが異なり、また「信頼できるかどうかわからない」のアンカーについても不確かであった。このため、信頼性判断をスライドバーによって行い、より厳密な測定を行うべく、開発を進めている。

20. 外国語運用能力の熟達化に伴う言語理解・産出の自動化プロセスの神経基盤

横川博一¹、吉田晴世²、島田浩二³、牧田 快³、山崎未花⁴、田邊宏樹⁵、定藤規弘³

(¹神戸大学, ²大阪教育大学, ³自然科学研究機構生理学研究所, ⁴福井大学, ⁵名古屋大学)

外国語習得においては、言語情報処理の「自動化」(automatization) が重要な役割を果たすことは広く認識されており、語彙ならびに統語といった低次の言語処理の不十分な自動化が、円滑な外国語運用を妨げている要因として指摘されている。しかし、そのような自動化の神経基盤はほとんど明らかにされていない。

外国語学習での語彙習得において反復模倣が効果的であることが知られている。外国語の語彙学習と音韻ループは密接なかわりをもつが、外国語語彙学習において重要な役割を果たすと考えられる発声模倣の神経基盤を明らかにするため、学習者にとって未知言語であるウズベク語を用いて fMRI 実験を行った。

日本語を母語とする大学生・大学院生を対象に、音声

と意味の対応づけを学習してもらった。その際に、音声模倣を行った場合と聞き取りをしながら数の復唱を行った場合の脳賦活パターンの経時変化を比較することによって、語彙獲得における反復模倣の効果に対応する神経活動パターンを検出した。つまり、記銘の際、ウズベク語単語を音声提示し、それに対応する物体を視覚提示され、顕在的に反復する音韻リハーサル条件および数字を反復する音韻リハーサル抑制条件を設定した。

その結果、音韻リハーサルは記銘のパフォーマンスを増大させ、学習の進行に伴って、左紡錘状回、左下側頭回、右小脳の活動が低減することが明らかとなった。このことは語彙習得における手続き記憶の関与を示唆する。

21. The role of social context in adult's word learning

Masako Hirotsani¹, Koji Shimada^{2,3}, Shuntaro Okazaki², Hiroki C. Tanabe^{2,3}, and Norihiro Sadato^{2,3,4}

(¹School of Linguistics and Language Studies, and Institute of Cognitive Science, Carleton University,

²Division of Cerebral Integration, Department of Cerebral Research, National Institute for Physiological Sciences (NIPS),

³Department of Physiological Sciences, The Graduate University for Advanced Studies (Sokendai),

⁴Biomedical Imaging Research Center (BIRC), University of Fukui)

Social context plays a significant role in infants' word learning. In particular, the joint attention that arises when an adult directs and shares an infant's attention towards some outside object or event has been shown to facilitate infants' learning of new words. The aim of the present study was to investigate the role of joint attention in adults' word learning. Specifically, it examined the extent to which a number of the

parameters associated with joint attention (e.g., the direction and timing of eye gaze between two learners and a target object) help adults learn new words (i.e., map new target objects to new sounds that serve as their labels). The study adopted a novel experimental paradigm in which live interactions between two adult learners were facilitated in specific ways so as to induce four different social contexts in

which word learning took place (see Figure 1). An eye-tracker recorded learners' eye gaze during the experiment.

The results showed that adults' word learning was enhanced at the highest level when the direction as well as the timing of their eye gaze towards target objects were shared between two learners, as they attended to the objects and heard their labels

(see Figure 2). In addition, it was shown that word learning initiated by a learner alone, without sharing eye gaze with another learner, could not match the level of learning attained when eye gaze was shared. Overall, this study provides clear support that joint attention is effective in maximizing adults' learning of novel words.

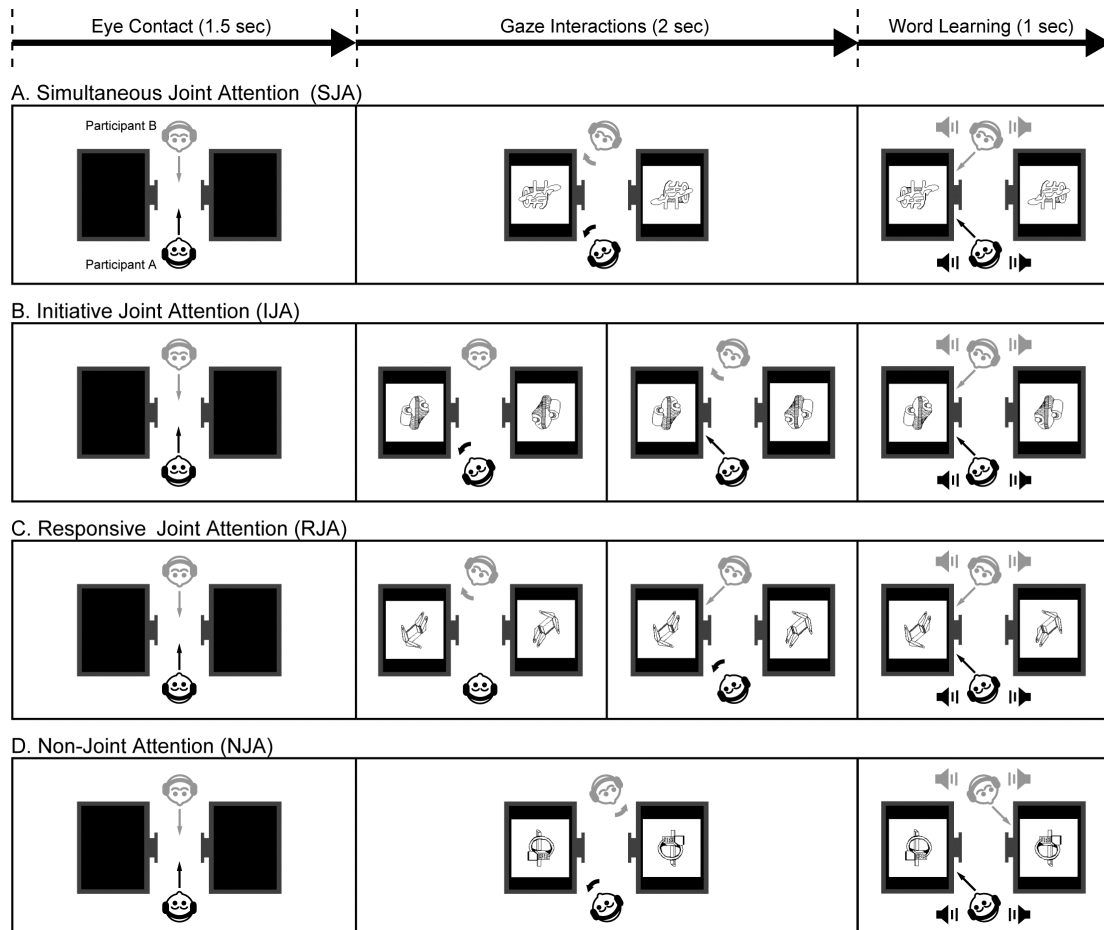


Figure 1 Illustration of the four learning contexts.

Each trial started with two learners making eye contact. 1.5 seconds were allocated to this part ("Eye Contact") to ensure sufficient time for eye contact between the learners. Then, the learners engaged in one of the four following "Gaze Interactions" for two seconds. In Simultaneous Joint Attention (SJA), the two learners simultaneously turned their head and eye gaze towards the same display. In Initiative Joint Attention (IJA), one of the learners turned his or her head and eye gaze towards one of the displays, followed by the other learner. In Responsive Joint Attention (RJA), one of the learners turned his or her head and eye gaze towards one of the displays in response to the other learner. In all SJA, IJA and RJA contexts, the two learners looked at the same object presented on the same display. In Non-Joint Attention (NJA), the two learners turned their head and eye gaze at the same time but in opposite directions and looked at the same picture presented on different displays. Learners were exposed to the objects and sounds that served their labels ("Word Learning") for approximately one second.

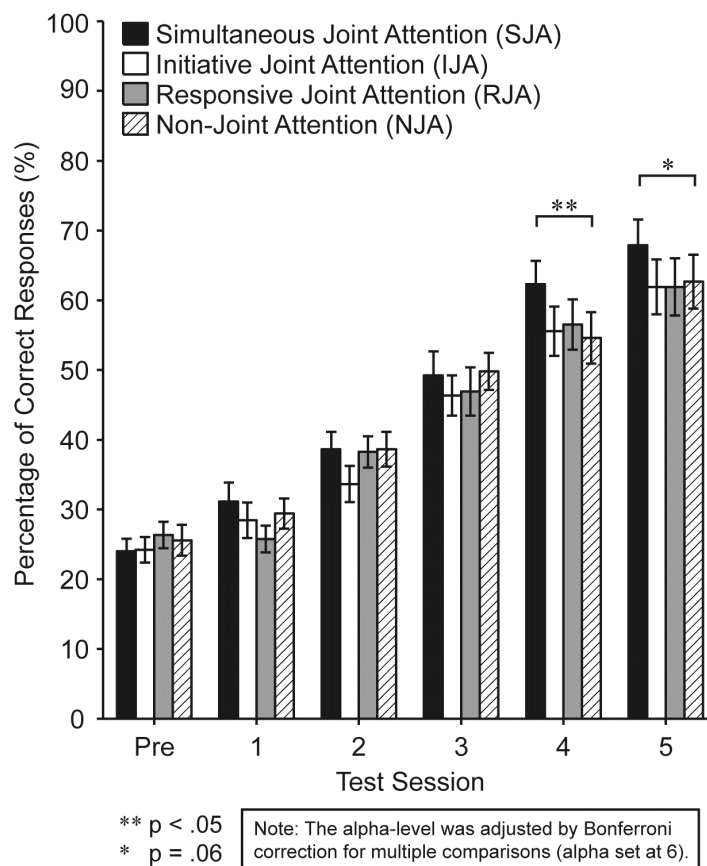


Figure 2 The mean percentage of correct responses to the questions on the word tests.

The vertical axis presents the mean percentage of correct responses given for each condition (i.e., each learning context) and for each test session (including the “pre”-test session conducted before the first learning session). The horizontal axis shows test sessions. Error bars represent standard errors of the mean.

22. 味の認知過程における自律神経系の活性化に関与する神経機構

姜 英男¹, 定藤規弘², 田邊宏樹², 佐々木章宏², 佐藤 元¹, 川上晋平¹

(¹大阪大学大学院歯学研究科 高次脳口腔機能学講座・高次脳口腔機能統合学,

²自然科学研究機構生理学研究所 大脳皮質機能研究系・心理生理学部門)

カプサイシン (CAP) を含むスパイシーな食物を摂取すると、顔面からの発汗、唾液分泌、呼吸数・心拍数上昇等の様々な生体反応が生じることが広く経験されている。これらの現象は、消化器粘膜内の痛覚線維が CAP 刺激により活性化され、その結果、交感神経系が活性化される自律神経反射であるとされてきた。実際、呼吸・血管運動中枢である孤束核や延髄吻側腹外側核へ CAP を微量注入することにより、呼吸・心拍等が促進される

ことが示され、痛覚系の関与が示唆された (Geraghty & Mazzone, 2002)。一方、舌味蕾細胞や口腔内粘膜にも、TRPV1 受容体を発現する CAP 感受性求心性神経終末が高密度に存在する (Ishida et al., 2002)。CAP 含有食物の摂取が、こうした求心性神経を活性化し、大脳皮質味覚野 (島皮質吻側部異顆粒皮質) で辛味として認知されるが、その尾側部島皮質は内臓感覚運動野であることから、島皮質内での味覚野－内臓感覚運動野間の機能協

関によりそうした自律神経反射が生じる可能性も考えられる。そこで本研究では、ヒト被験者の舌背にトウガラシエキス（香辛料抽出物 65 μ M）または食塩水（0.75M）の味溶液および水を滴下し、その際の脳賦活領域を測定した。また、実験中、指尖ドップラー血流量および指尖体温を計測し、自律神経活動と関連する脳領域を特定することで、トウガラシエキス投与によって引き起こされる島皮質味覚野と内臓関連領域における脳賦活領域を調べた。トウガラシエキス投与後、指尖ドップラー血流量が上昇し、トウガラシエキスを洗い流す過程で徐々に投与前の状態に戻ることから、トウガラシエキスの投与により、交感神経系が活性化されていることが確認された。

個人解析では、トウガラシエキス投与時の脳賦活領域が、食塩水や水投与時の脳賦活領域に比べて広範囲になる傾向が認められた。しかしながら、集団解析では、個人差によるばらつきが大きかったためか、現時点では、味溶液投与時から水投与時の脳活動を差し引いた脳活動において、有意な脳領域が検出されなかった。今後の解析では、トウガラシエキス投与により自律神経系が活性化された被験者のみを解析対象として、又、トウガラシエキス投与時のブロックのみではなく、複数のブロックを解析対象とし、どのような時間経過の脳活動を示すかを明らかにする必要がある。

23. 時間割引能力の発達とその脳機構の解明

田中沙織（大阪大学社会経済研究所）

年齢や社会的要素が大きく関わる異時点間の意志決定を調べるために、平成 22 年度に引き続き、「主観的効用」を調べるための fMRI 実験を新たに 10 名の被験者を対象に行った。これまでの報酬に基づく意思決定を扱う研究では、主観的効用は絶対的な報酬値と同じものとして扱ってきた。しかし、個人の属性によってこれらの関係は変わってくる、という経済学的な概念を取り入れることで、より現実の社会行動に即した意思決定のメカニズムを扱うことができると考えられる。主観的効用の代替変数として近年注目されているのが、「どれぐらいうれしいか」などを報告させる「幸福度」である。しかし、現在の幸福度調査で主に用いられている 5 段階などの「スケール」を用いた「序数的」な報告値が、真の主観的効用を反映しているのかどうかという疑問が残る。我々の fMRI 実験では、「幸福度」の報告パターンが、報告値および脳活動に影響を与えるかどうかを調べた。実験課題には、ある金額をもらった時のうれしさを答えさせる

「テスト条件」と、単なる視覚情報処理を行うコントロール条件として、モザイク状の正方形が表示された後、モザイクの多さを回答する条件を用意した。どちらの条件にも、9 段階のスケールでの回答（序数条件）と、フリースケールでの回答（基数条件）の 2 つの回答パターンを用意した（図 1）。平成 22 年度に 20 名、平成 23 年度に 10 名の被験者の fMRI データを収集し、合計 30 名のデータを解析した。スケールでの回答の試行では、フリースケールでの報告を指示された試行に比べて、テスト条件およびコントロール条件で頭頂皮質が強く活動していた（図 2）。さらに、テスト条件とコントロール条件での比較では、線条体や眼窩面皮質などのいわゆる「報酬系」がテスト条件でより強く活動していた（図 3）。この結果は、基数として入力された報酬情報を、序数での「主観的効用」に変換する際には、報酬系と頭頂皮質の間のネットワークが重要であることを示唆している。

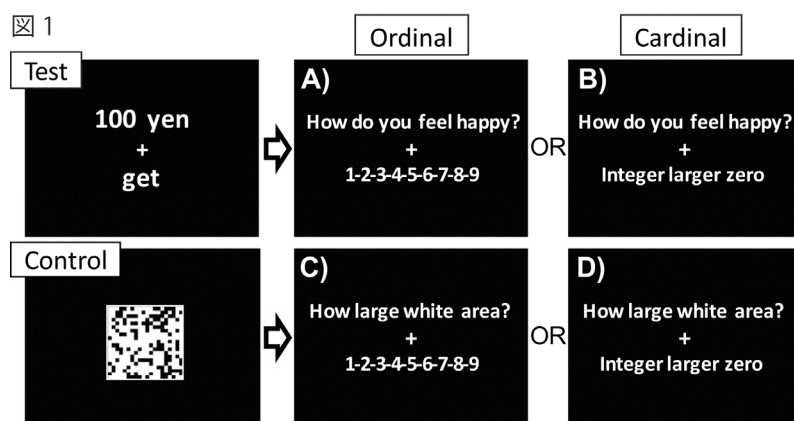
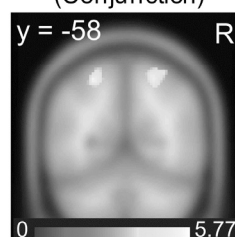
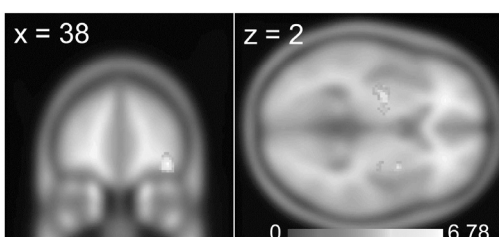
図 2 (A-B) & (C-D)
(Conjunction)

図 3

(A-B) vs. (C-D)



24. 触覚による速度識別に関わる脳内システムの同定

呉 景龍, 楊 家家 (岡山大学 大学院自然科学研究科)

定藤規弘, 北田 亮 (自然科学研究機構 生理学研究所)

河内山隆紀 ((株)ATR - Promotions 脳活動イメージングセンタ)

人間は視覚と触覚を用いて、対象物の運動を検知でき、速度変化の知覚もできる。先行研究により、人間に視覚運動刺激を与えると第一次視覚野に入力し、さらに高次視覚野を経由して、MT/V5 領域で運動刺激の速度や運動方向などの処理を行うと指摘されている^[1]。一方、視覚運動処理に関する脳イメージング研究に比べ、触覚運動知覚の脳内処理に関する研究は少ないことが現状である。その理由の一つは、高磁場環境で使える触覚刺激提示装置の開発が困難であると考えられる。

近年、技術の進歩に伴い、MRI 環境に使用できる触覚刺激提示装置が開発され、触覚による速度認識に関する脳内活動調査も行われるようになった。先行研究^[2,3]では、触覚で速度を認識する時に、体性感覚野のような古典的に触覚に関与する脳領域に加えて、視覚野と考えられる MT/V5 での賦活が観察された。また、最近の研究^[4]により、触覚による速度識別は、接触面上のドット刺激の配列が周期性があるかどうかの影響されることが分か

った。しかし、接触面の周期性の差異によって、どのような脳内処理の差異が現れるかは、未だ解明されていない。

本研究の目的は、fMRI を用いて触覚による速度識別の脳内処理部位を同定し、接触面の周期性変化による脳内処理の差異を明らかにすることである。実験では、二種類のドットを配置したテクスチャ表面（規則的なドットとランダムドット）を用いて、触覚による速度弁別と同時に脳内活動を記録した。そして、運動刺激の表面周期性がありとないセッションを比較し、脳内賦活の差異を観察した。

その結果、触覚による速度識別を行うときに、表面の周期性に関係なく、左右の第一次と第二次体性感覚野、補足運動野、頭頂連合野及び下前頭回の賦活が見られた。さらに、触覚運動刺激の表面周期性がありとない場合の脳内賦活を比較したところ、右脳の下前頭回において有意な差が見られた。従って、触覚運動刺激の表面周

期性の変化にかかわらず、類似した脳内活動ネットワークが観察されたが、右脳の下前頭回の賦活は運動刺激の周期性に依存すると考えられる。

現在、更なる詳細解析を行い、触覚運動処理に関する脳内処理ネットワークを検討している。今後、触覚刺激の運動速度変化に関する脳内賦活の調査実験を追加し、触覚運動処理に関する脳内メカニズムを解明することを

目指している。

- [1] Nassi and Callaway, Nat Rev Neurosci, (2009) 10, 360-372.
- [2] Hagen et al. Eur J Neurosci, (2002) 16, 957-964.
- [3] Matteau et al. Brain Res Bull, (2010) 82(5-6):264-270.
- [4] Depeault et al. J Neuropsychol, (2008) 99, 1422-1434.

25. 笑いとユーモアの神経基盤の解明

伊藤大幸, 小俣 圭 (浜松医科大学子どものこころの発達研究センター)

感情反応としてのユーモアとそれに伴う笑いは、人間の社会生活においてきわめて高頻度で生じ、また精神的・身体的・社会的に重要な役割を担っていることが示されてきた。しかし、ユーモアと笑いが、いかなる心理学的・神経学的メカニズムによって生起するかについては、未だ統一的な見解が得られていない。近年、機能的磁気共鳴画像法 (fMRI) を用いた検討もなされるようになったが、必ずしも心理学領域における従来の議論を十分に考慮しておらず、整合的な知見が得られていないのが現状である。

申請者はこれまでユーモアの生起メカニズムに関して認知心理学的アプローチによる検討を行ってきた。その中で、約40年にわたりユーモア研究者を二分してきた2つの心理学的モデルを矛盾なく統合する包括的なモデルを提唱している。このモデルでは、従来のモデルの概念図式を整理し、内的不適合 (状況は理解可能か否か)、外的不適合 (状況は特異的か否か)、非重大性 (状況は個人的・社会的に重大な意味や価値を持つか否か) という3つの要因によってユーモアの生起が規定されることを想定している。

そこで本研究では、fMRI 実験を実施するための予備的検討として、実際にこれら3要因がユーモアの程度を

規定するかを心理学的実験によって定量的に検討した。

181名の大学生に、16のユーモアエピソードを提示し、内的不適合、外的不適合、非重大性、ユーモアの4要素について評定を求めた。この16のエピソードのそれぞれについて、内的不適合、外的不適合、非重大性の3要因を各2水準で操作した8バージョンを作成した。

まず操作確認として、3要因の操作がそれぞれの要因の評定を選択的に変動させたことを3要因分散分析により確認した。さらに、各要因の評定値がユーモアの評定値をどの程度の精度で予測するかを、3分割交差検定により検討した。その結果、3パターン of 訓練事例のいずれにおいても、同様の重回帰式が推定され、その重回帰式によってテスト事例の変動の60%前後 (59~67%) が予測された。また、3要因間の相関係数は小さく ($r = -.09 \sim .20$)、多重共線性の可能性は低いことが示された。以上の結果から、モデルにおいて想定される3要因を選択的に操作可能であること、また、その3要因によってユーモアの大部分が規定されることが示された。

今後、このデザインを fMRI 実験に組み込み、3要因の処理とユーモアの生起に関わる脳部位の同定を目指す。

26. fMRI を用いた愛着形成の神経基盤の評価システム

友田明美¹，杉山登志郎²，水野 敬³，山崎未花¹，浅野みずき⁴，
栗山貴久子⁵，加藤志保⁵，山村淳一⁶，野村和代⁶

(¹ 福井大学 子どもの発達研究センター，² 浜松医科大学 児童青年期精神医学講座，

³ 独立行政法人 理化学研究所 分子イメージング科学研究センター，⁴ 福井大学医学部附属病院 神経科精科，

⁵ あいち小児保健医療総合センター 心療科，⁶ 浜松医科大学 児童青年期精神医学講座)

愛着障害は、注意欠陥多動性障害と同様の多動性衝動性障害を呈することが知られているが、その神経基盤の類似性・相違性については研究がされていない。本研究では、機能的磁気共鳴画像法 (fMRI) を用いて、母子間の愛着形成の歪みにより引き起こされる愛着障害の神経基盤を明らかにすることを目的に、研究を行った。

研究対象者は、浜松医科大学及びあいち小児保健医療総合センターで受診している小児期の虐待・ネグレクトによって愛着障害 (DSM-IV-TR313.8) と診断された児童・生徒及び、愛着障害ではないと診断され、他の疾病にて受診している児童・生徒とし、対象年齢は 10～18 歳とした。被験者の選定は、浜松医科大学及びあいち小児保健医療総合センターの医師が行い、診察時のインタビュー、生育歴、診察時および心理場面での行動観察より DSM や ICD の診断項目を基準に、PDD を除外し愛着

障害を選定した。MRI 実験参加時には、CDC, A-DES, TSCC-A, 内的作業モデル尺度 (愛着), 小学生のストレスフル・ライフイベント尺度, 小学生用コーピング尺度, ADHD-RS, 内発的・外発的動機づけ測定尺度, 気質・性格尺度 (JTCl), SDS うつスコア, バールソンうつスコア質問紙のほか、子どもの行動チェックリスト, 利き手質問表を提出してもらい、被験者の状態を把握した。

本研究では、各グループ 20 名の被験者による MRI データの収集を予定していたが、本年度は、fMRI 実験への参加の同意が得られなかったため、MRI データの収集は叶わなかった。実験準備は十分整っており、被験者が決定すればすぐにでも MRI 実験を行える状態にあるため、引き続き、被験者のリクルートを行う予定である。

【超高压電子顕微鏡 共同利用実験報告】

超高压電子顕微鏡共同利用実験報告

〔 目 次 〕

1. バクテリア細胞内クロモソーム DNA の立体構造の解明 (金子康子ほか)	226
2. 深海微生物の微細形態と進化に関する研究 (山口正視ほか)	226
3. 鼻腔粘膜上皮細胞内の滑面小胞体についての超高压電子顕微鏡を用いた三次元解析 (高見 茂)	227
4. 超高压電子顕微鏡を使った微小管・アクチン・膜系ダイナミクスの解析 (唐原一郎ほか)	227
5. 抑制性網膜アマクリン細胞間の電気シナプスの機能と三次元形態構造の対応 (日高 聡ほか)	228
6. 大脳基底核ネットワークのシナプス解析 (藤山文乃)	229
7. ギャップ結合タンパク質 (イネキシン) などの細胞膜タンパク質の細胞局在に関する 超高压電子顕微鏡 3 次元画像解析 (遠藤泰久ほか)	230
8. 細菌べん毛基部体の細胞内構造の立体観察 (加藤貴之ほか)	231
9. 脂肪滴と細胞小器官 (特に小胞体) との立体関係についての細胞化学的研究 (継続) (野田 亨)	232
10. 原生生物の細胞構造の解析 (洲崎敏伸ほか)	233
11. 超高压電子顕微鏡を使ったバクテリアセルロース合成機構の解析 (峰雪芳宣ほか)	233
12. 精神疾患モデル動物を用いた脊髄内運動ニューロンの形態変化 (坂本浩隆ほか)	234
13. 嗅覚系新生ニューロンの遊走・分化過程における形態変化の三次元微細構造解 (樋田一徳ほか)	236
14. AAA シャペロンによる細胞内構造形態制御機構の解明 (江崎雅俊ほか)	236
15. 3-dimensional analysis of p53 protein oligomerization structure under environmental toxicant (Young Rok Seo)	237
16. 3-D Reconstruction of Plastid Crystalline Bodies during C-3 Cellular Differentiation (II) (InSun Kim)	238
17. Ultrastructure of antenna in chironomidae brain (Se Jin Park ほか)	239

1. バクテリア細胞内クロモソーム DNA の立体構造の解明

金子康子, 関由起子 (埼玉大学)

村田和義 (生理学研究所)

シアノバクテリア *Synechococcus elongatus* PCC 7942 は明暗周期下で培養すると細胞分裂周期が同調し, 明期の終りに分裂する。細胞内にはチラコイド膜, ルビスコの集合体であるカルボキシソーム, ポリリン酸体などの特徴的な構造と共に, 1 細胞あたり 2~5 コピーのクロモソーム DNA を保持することが知られている。これらの構造は細胞内に規則的に配置し, 細胞分裂時に 2 個の娘細胞に均等に分配される。Hoechst 33342 で DNA を蛍光染色して観察したところ, 暗期には細胞内に拡散していた DNA は, 明期途中から凝集し始め, 太いひもが波打つような構造を呈した後, 細胞が分裂した。本研究では, この細胞分裂直前期の DNA の立体構造を明らかにすると共に, 規則的に変化するポリリン酸体と DNA との関係を追究することを目指した。

明暗周期下で培養し Hoechst 33342 で染色した DNA が太いひも様の構造をとる分裂直前の細胞を回収してグリッドに載せ, 液化エタンで急速凍結した。氷包埋した細胞はそのままクライオトランスファーを装着した超高圧電子顕微鏡で観察した。さらに, 傾斜シリーズ画像を取得し, クライオ電子線トモグラフィーにより立体像を構

築した。

氷包埋した細胞内で, 凝集状態の DNA と球形のポリリン酸体を電子密度の違いにより観察することができた。太いひも様の DNA は内部のポリリン酸体を包み込むようにねじれた構造をとり, 両者が密接に関連する様子が明らかになった。DNA 合成にはポリリン酸体に含まれるリン酸が用いられることを示す研究報告もあり, 生命維持に必須のリン酸を蓄積するポリリン酸体と DNA が細胞分裂時に相互に関わりながら, 均等に分配される仕組みが存在することが推察できる。

本研究を行う過程で, 通常は 2 細胞に分裂増殖する細胞が, 稀に十字型に 4 細胞を形成する現象を見つけた。蛍光顕微鏡観察では, 2 分裂中の細胞の分裂面を横切るように DNA が出現し, それを核として分裂軸と直角に新たに 2 つの細胞が形成されるように見えた。初めに分裂する 2 細胞と, 後から形成される 2 細胞の立体的位置関係を明らかにするために, クライオ電子線トモグラフィーを試みた。氷包埋試料中に複数の十字型分裂細胞が確認でき, 形成された 4 個の細胞は 1 点で交わっていることが分かった。より詳細な立体構造を解析中である。

2. 深海微生物の微細形態と進化に関する研究

山口正視 (千葉大学・真菌医学研究センター)

村田和義 (生理学研究所)

地球上には, 二重膜で包まれた核をもつ真核生物と, これをもたない原核生物の 2 つの種類の生物しか存在していない。真核細胞は, 原核細胞の 1 万倍の体積をもち, ミトコンドリアや葉緑体をはじめ, さまざまなオルガネラをもっていて, 複雑な細胞構造を呈する。真核生物は原核生物から進化して生まれたとされるが, 両者の細胞の違いはあまりにも大きく, 真核生物がどのようにして原核生物から生じたかは, 生物学上, 最大のなぞの一つである。われわれは, 真核生物の起源のなぞを解くために, 原核生物から真核生物への進化の途上にある生物を

見つけ出し, その生物の微細構造, DNA, 構成する分子種などを詳しく解析することによって, この問題を解決したいと考える。超高圧電子顕微鏡は, 生物の微細構造を立体的に把握する上で, 非常に有用である。

2010 年 5 月に, 研究船「なつしま」に乗船し, 伊豆諸島の明神海丘の海域および初島沖で, 水深 800~1,200 メートルの海底からウロコムシやウミケムシなど多種類の小動物を採集した。試料は, 船上で 1mm 角に細切し, グルタルアルデヒドで固定した。固定した試料を研究室に持ち帰り, 樹脂に包埋し, 小動物に共生している微生物

を超薄切片法で観察した。微生物が存在する試料については、もう一度、急速凍結置換固定法を用いて再固定を行い、アーティファクトの少ない試料を調製した。

現在まで、さまざまな微細形態をもつ微生物を電子顕微鏡撮影している。また、この試料ブロックから、1～

3mmの厚切り切片を作製して、超高压電子顕微鏡でトモグラフィー撮影を行なった。撮影した画像を、コンピュータに取り込んで微生物の三次元再構築を行なった。今後さらに観察数をふやし、進化のなどを解く画像データを解析していきたい。

3. 鼻腔粘膜上皮細胞内の滑面小胞体についての超高压電子顕微鏡を用いた三次元解析

高見 茂（酒井電子顕微鏡応用研究所）

多くの哺乳類の嗅覚系には、内分泌系や自律神経系に影響を及ぼすケモシグナル、フェロモン、を受容する副嗅覚（鋤鼻）系が一般的な「匂い」を受容する主嗅覚系とは独立して存在する。フェロモンを受容する鋤鼻受容細胞（VRC）は鋤鼻器内の鋤鼻感覚上皮（VNSE）内に存在し、多くの種の VRC の細胞質は、極めて良く発達した滑面小胞体（SER）が含まれている。ラット VNSE 樹脂切片を用い、VRC 細胞質に含まれる SER（VNSE-SER）を、超高压透過電子顕微鏡（HVTEM）を用いて電子線トモグラフィーを行なったところ、ヒモ状の構造が細かいループを繰り返し形成していること、を昨年度、我々は報告した。本年度は、この構造の微細形態上の特徴を明らかにするため、昨年度と同様の厚みの樹脂切片（約 200 nm）と、さらに厚い（500 nm 程度）樹脂切片上で HVTEM により観察、そして解析を行った。なお、鋤鼻器は化学固定後にタンニン酸を処理してから樹脂包埋したもの（TA+）と、処理しなかったもの（TA-）を用いた。

その結果、TA+鋤鼻器では、500 nm 程度の厚さの VNSE エポキシ樹脂切片においても、VNSE-SER のループ状の

構成成分を鮮明に視覚化することができた。一方、TA-鋤鼻器では、200 nm 厚の VNSE 樹脂切片内の VRC-SER のループ構造は解析可能であったが、500 nm 厚では解析不能であった。これらの解析は、10,000 倍あるいは 15,000 倍で撮影されたネガフィルムからの情報をもとにおこなった。さらに、TA+鋤鼻器内に含まれる VRC-SER の内部構造の詳細を観察するために、±8 度傾斜させて 35,000 倍で撮影されたネガフィルムよりステレオ画像をつくって観察を行った。その結果、VRC-SER の細かいループ構造の形態を保持するような「微細骨格構造」が存在することが明らかになった。この微細骨格構造には、それぞれのループを構成する単位膜を貫通する足場ドメインと、足場ドメイン同士をつなぐフィラメント小束ドメインが少なくとも含まれていることがわかった。このような微細骨格構造は、VRC 細胞質内の他の単位膜を含む細胞小器官、例えば粗面小胞体には観察されなかった。したがって、この構造は VRC-SER を特徴付けるものであり、そこで行われるステロイド合成の場の安定化をもたらしていると考えられる。

4. 超高压電子顕微鏡を使った微小管・アクチン・膜系ダイナミクスの解析

唐原一郎，栗林剛正，荒内亮介（富山大学大学院理工学研究部）

峰雪芳宣，竹内美由紀（兵庫県立大学大学院生命理学研究科）

【目的】分裂準備帯は主に微小管からなる構造であり、高等植物の体細胞分裂前期に核周辺の細胞表層に観察される。分裂準備帯は細胞分裂面位置の決定に関わるが、その位置決定の機構や分裂準備帯自身の形成機構などにつ

いて未解明の点が多い。そこで二軸電子線トモグラフィー法により分裂準備帯の微小管と膜系のダイナミクスを立体的に解析することを目指す。これまで微小管に付随する微細構造の検出を目的に三次元像を作製しているが、

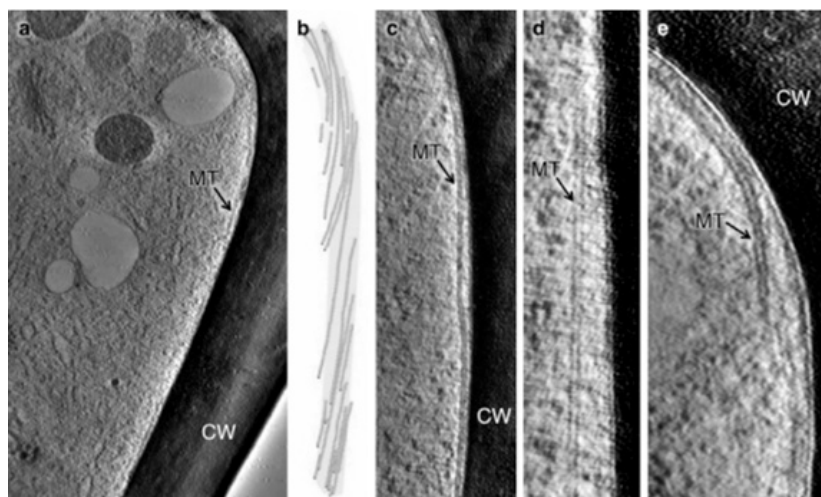
今回は広い範囲における微小管自体の配置を観察することを目的とした。

【実験方法】タマネギ実生の子葉を加圧凍結・凍結置換固定した後、Spurr 樹脂に包埋した。厚さ 1 μ m の連続切片を作製し、酢酸ウラニル (20 min)、クエン酸鉛 (4 min) による二重染色を行った。分裂前期の時期にある表皮細胞を選び、その細胞の核中央部を含む切片を超高圧電子顕微鏡観察に供した。細胞表層部を -60°~60° 回転させて撮影した。このとき回転試料ホルダーを使用して撮影視野上で、微小管が試料の回転軸付近に分布し、その配向が試料の回転軸方向に一致するように視野を設定した。IMOD ソフトウェアを使用して三次元像の再構築を行った。

【結果】タマネギ子葉の表皮細胞の分裂準備帯では幅が約 3~十数 nm 程度の微小管 (MT) の帯が観察される。今回は厚さ 1 μ m の切片を用い、微小管の配置についてより広い範囲での観察を行うことを目指した。傾斜像から再構

築した三次元像上では厚さ 250nm や 500nm の切片から作製した三次元像に比べやや不鮮明ながら、微小管を検出することができ (図 a, b)、長いものでは 2~3 μ m にわたって微小管を追跡することができた (図 c)。今回観察した細胞は分裂前期のごく初期のものであり、微小管は細胞膜直下から深さ約 100nm の領域に観察された。これらの微小管は、追跡できた範囲において細胞膜とほぼ平行に配置しているものの他、一本の微小管内で位置によって細胞膜との距離が異なるものも存在していた (図 d, e)。このことから、細胞膜から離れた位置にある微小管でも、ある領域に置いては細胞膜により配置の制御を受けている可能性が考えられる。

今後は三次元像を用いて、今回のような広範囲の微小管の配置と微小管に付随する微細構造の両面から、分裂準備帯における微小管配置の制御について検討を進める予定である。



5. 抑制性網膜アマクリン細胞間の電気シナプスの機能と三次元形態構造の対応

日高 聡 (藤田保健衛生大学医学部生理学教室)

村田和義 (生理学研究所)

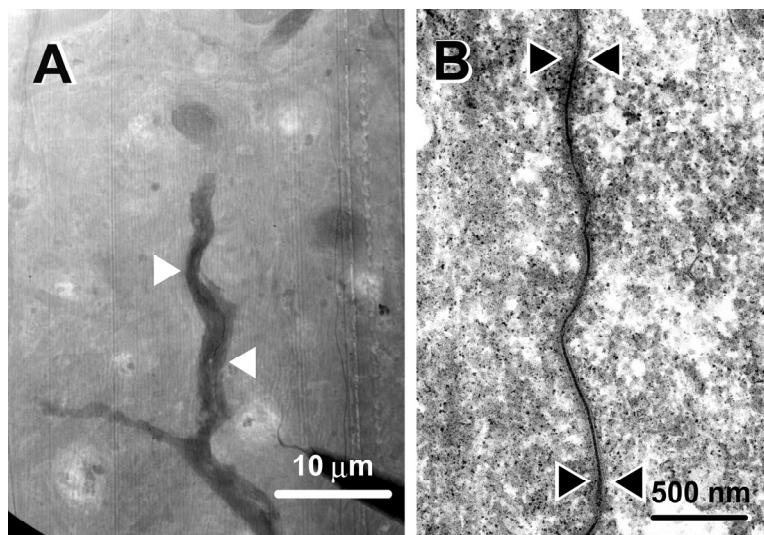
ニューロン間の電気シナプスの働きを明らかにするためには、ギャップ結合の微細形態の同定や樹状突起の間でのギャップ結合の存在部位の同定を行う必要がある (Hidaka 等, 2004)。神経系では特徴ある巨大なギャップ結合 (直径 10 μ m) を形成している網膜アマクリン細胞に

注目して、微細形態とその生理機能との関係を調べた。電気生理学実験を行なった細胞に、Neurobiotin を注入して発色すると、色素カップリングの形成から、樹状突起間のギャップ結合部位を同定できる。Neurobiotin の注入と同時に、電極内にシグナル伝達系の調節物質を充填し

て注入すると、ギャップ結合の調節を観察できる。今回、高濃度の環状 AMP (cAMP) が網状層間アマクリン細胞 (interstitial amacrine cells) 間のギャップ結合を遮断することを明らかにした (Hidaka, 2012)。シグナル伝達の調節物質を充填しない場合は、アマクリン細胞間で強い色素カップリング (homotypic coupling) が観察され、同型の細胞が樹状突起の先端同士で結合していた。電極内に 5mM cAMP を充填すると、細胞内注入によって色素カップリングは完全に遮断されたが、電極内の 5mM cGMP や、細胞外からの 100 μ M dopamine と 2mM 8-bromo-cAMP は色素カップリングに影響しなかった。dual whole-cell patch clamp 法で電気シナプスを流れる細胞間電流を調べた。コントロールでは細胞間電流の測定から、平均 2.02nS の細胞間コンダクタンスが測定されたが、電極内に 5mM cAMP を充填した場合には細胞間電流は遮断され、細胞間コンダクタンスは 0.23nS になった。

高濃度の cAMP が遮断する網状層間アマクリン細胞間のギャップ結合の微細形態を明らかにするために、コントロール下で強い色素カップリングを示した標本を用いて、同型の細胞間の樹状突起の先端同士の結合形態を解析した。網膜標本をエポン樹脂に包埋し、網膜水平断の厚さ 5 μ m の切片を作成し、1,000kV の加速電圧から超高压電子顕微鏡下で観察した。超高压電子顕微鏡の試料ステージの傾斜によって 2° づつ+60° で撮影し、IMOD プログラムを用いてその立体再構成を行った。網膜網状層間アマクリン細胞の樹状突起間の結合を図1と2に示す。[文献]

- 1) Hidaka, S. et al., (2004) *Journal of Neuroscience*, Vol 24 (46): pp 10553-10567.
- 2) Hidaka, S. (2008) *Journal of Integrative Neuroscience*, Vol 7 (1): pp 29-48.
- 3) Hidaka, S. (2012) *Brain Res.* Vol 1449: pp 1-14.



図の説明：図 A：厚さ 5 μ m 切片での 1,000kV の加速電圧を用いた超高压電子顕微鏡観察による、網膜網状層間アマクリン細胞間の巨大なギャップ結合。
図 B：網膜網状層間アマクリン細胞間のギャップ結合の超薄切片像。

6. 大脳基底核ネットワークのシナプス解析

藤山文乃（同志社大学大学院 脳科学研究科）

申請者はこれまで大脳基底核のネットワークを形態学的に調べるために、膜移行性シグナルをつけた遺伝子改変ウイルスベクターによる単一ラベルニューロントレース

と、特定のニューロンの樹状突起膜をラベルする遺伝子改変動物を用いてきた。どちらの手法も、軸索や樹状突起の細胞膜を特異的にラベルしているので、これらのニ

ニューロンの入力部位および出力部位を超高圧電顕を用いて三次元的に解析することによって、層構造やカラム構造をもたない大脳基底核の局所回路の解析をしたいと考え、超高圧電子顕微鏡共同利用実験を申請した。

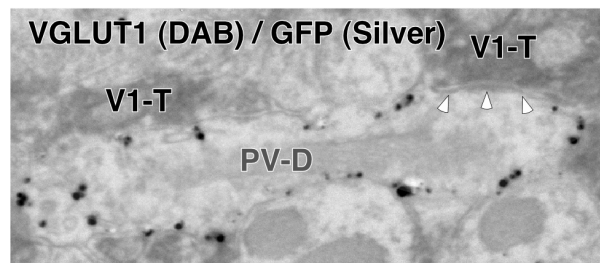
まず膜移行性シグナル (myristoylation signal: Myr) と樹状突起発現シグナル (low-density lipoprotein receptor: LDLR) の両者をつけたパルブアルブミン発現細胞特異的に緑色蛍光色素 (Green Fluorescent Protein: GFP) を発現し、ゴルジ染色様に可視化する遺伝子改変動物を作製した (Kameda et al., Eur J Neurosci, 2012)。このマウスの線条体のサンプルに抗 GFP 抗体を用いて免疫染色し、DAB 発色もしくは銀増強反応を行った切片を電子顕微鏡観察のために包埋・重合のプロセスの後、薄切したものを超高圧電子顕微鏡で観察した。超高圧電子顕微鏡の使用および観察においては、所内対応者の村田和義先生のご指導のもと行った。

観察の結果、線条体のインターニューロンのひとつで

あるパルブアルブミン発現細胞の樹状突起膜に一致して DAB あるいは反応銀の分布がみとめられたが、組織のコントラストが 75kV の透過型電子顕微鏡で撮影したもの (写真 1) より若干低かったため、京都大学に戻ってサンプルの調整をやり直すことになった。また、Cre-loxP system を用いて特定のニューロンの軸索を隅々まで可視化することができる遺伝子改変動物を開発中であったため、このサンプルとあわせて、超高圧電子顕微鏡を用いた研究を続行するつもりであった。

しかしながら、共同利用期間中に申請者の異動が決まり、現在は脳科学研究科自体が各種実験の許可申請からのスタートということになり、このプロジェクトも中断を余儀なくされた。現在このプロジェクトの再開日程に関しては明確な目処がたっていないため、超高圧電子顕微鏡共同利用もこの年度で一旦終了させていただくことになった。

皮質線条体終末と パルブアルブミン陽性インターニューロン との興奮性シナプス



V1-T: VGLUT-1 Terminal,
PV-D: Parvalbumin Dendrite,
◁ : Postsynaptic Density ◀ : Apposition

7. ギャップ結合タンパク質 (イネキシン) などの細胞膜タンパク質の 細胞局在に関する超高圧電子顕微鏡 3 次元画像解析

遠藤泰久, 伏木大輔, 吉村亮一 (京都工芸繊維大学・応用生物学部門)

ギャップ結合は多細胞動物のすべてで、血球などの遊離細胞以外のほとんどの細胞間に形成される斑点状の結合装置で、2-3nm のわずかな gap が存在することから命

名された。電気シナプスはギャップ結合によるものとされている。脊椎動物ではコネキシンがギャップ結合の構成に関与し、6 個集まってチャネル (コネクソン) を形

成し、2 細胞間で向かい合いイオンなどの低分子が通過可能な通路を形成するとされている。

昆虫や線虫などの無脊椎動物にもギャップ結合は存在するが、脊椎動物のコネキシンに相同の遺伝子は見つからず、ショウジョウバエの変異体から同定されたイネキシン (innexin) がギャップ結合関連タンパク質と考えられている。イネキシンは4回膜貫通型と想定されるがアミノ酸配列にコネキシンと相同性がない。最近、イネキシンに相同性のある遺伝子群が脊椎動物で同定されパネキシン (pannexin) と命名され、コネキシンとは異なり血球にも存在することからヘミチャネルとしての機能が注目されている。

本研究はショウジョウバエの胚由来の培養細胞株 Kc167 を用い、イネキシンの細胞膜上での詳細な分布や構造の解析を目的とした。この細胞は血球由来であるが、形態形成ホルモン (エクダイソン) によって神経細胞様に分化する。ホルムバール支持膜を張った金メッシュ上で培養した細胞を抗イネキシン 2 抗体により ABC-HRP 法で免疫染色し、DAB, 硫酸ニッケルアンモニウムで発色し、超高压電子顕微鏡 (H-1250M 加速電圧 1,000kV) により、同一視野の傾斜連続写真を撮影し、IMOD によりイネキシン免疫反応部位の3次元画像解析を行った。

イネキシンの免疫反応は細胞膜上に凝集して見られた。Fig.1 はフリーな細胞表面におけるイネキシンの免疫反応を 8 nm の厚さで3次元再構築したものである。陽性反応は直径約 10nm のほぼ円形の電子密度の高い構造の集

合体としてみられた。個々の構造は酵素反応によって増感されていることを考慮すると、直径 6-8nm の円形構造と考えられる。この構造は凍結割断によって観察されるギャップ結合の膜内粒子の分布によく類似している。しかし、細胞同士が接着した部位ではなく、フリーな細胞表面においてイネキシンチャネルの集合が観察されたことは、イネキシンがギャップ結合だけでなく、ヘミチャネルとして機能する可能性を強く示唆している。

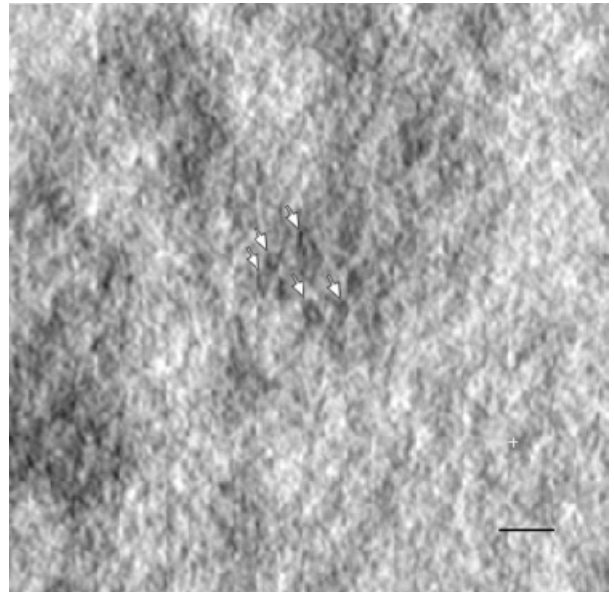


Fig.1. Innexin immunoreactivity in insect cell line Kc167. The reactions are seen as dense circular dots (arrowheads). Scale bar = 40 nm

8. 細菌べん毛基部体の細胞内構造の立体観察

加藤貴之, Juanfang Ruan, 宮田知子, 川本晃大, 難波啓一 (大阪大学大学院・生命機能研究科)

村田和義 (生理学研究機構・電子顕微鏡室)

海洋性バクテリア MO-1 は、磁場を感知できるマグネットソームと呼ばれる体内器官をもった磁性細菌で、2010 年に地中海沿岸で発見された。

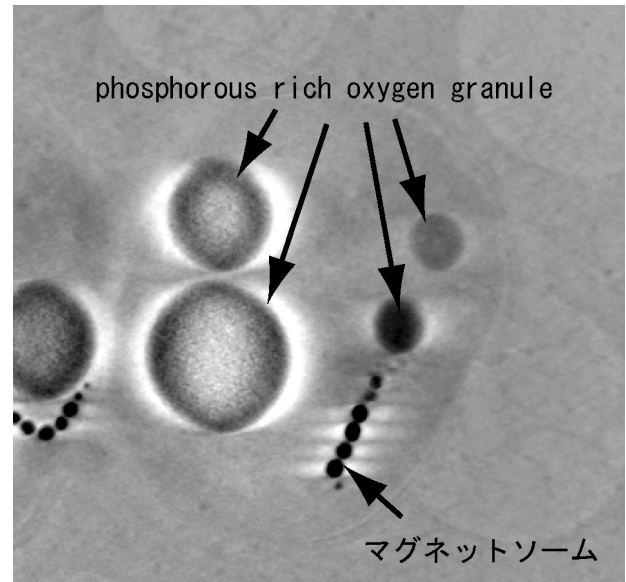
MO-1 の菌体は体長 2 μm 、直径 1.5 μm の楕円体で、長さ約 4 μm の比較的太いべん毛を両極付近に 1 本ずつ持ち、これらを回転させることで自分の好む環境に向かって泳ぐ。このべん毛は、実は鞘に包まれた 7 本のべん毛繊維の束で、極めて特殊な構造を持ったべん毛装置である。MO-1 の遊泳速度は 300 $\mu\text{m}/\text{s}$ と非常に高速で、大腸

菌やサルモネラ菌のおよそ 10 倍にも及び、最も高速に泳ぐ細菌の一つである。この高速遊泳はべん毛の付け根にある回転モーターによって達成されており、そのエネルギーは細胞膜内外に作られる電気化学ポテンシャル差であるが、それを回転エネルギーに変換するメカニズムは明らかにされていない。そこで、電子線トモグラフィーによる構造解析を行った。前述のとおり、試料の菌体は直径約 1 μm と厚く、加速電圧 300 kV の電子顕微鏡では十分な分解能を得ることは困難と考えられたため、

1MV以上の超高压電子顕微鏡を用いることとした。また、より機能状態に近い環境での構造解析を行うため、急速凍結水包埋試料の電子線トモグラフィーが可能な、国内で唯一の超高压電子顕微鏡である生理学研究所の電子顕微鏡を用いて構造解析を試みた。

培養した MO-1 分散水溶液試料を 2 μm の膜穴を持ったマイクログリッドに載せて薄膜とし、液体エタンで急速凍結後、低電子線量照射条件にて $-60^\circ \sim 60^\circ$ の傾斜像を 2° 刻みで撮影し、IMOD プログラムを用いて立体構造を解析した。その結果、マグネタイトが直線状に並んだマグネットソームや、Phosphorous rich oxygen granuleなどを明確に確認することができた(図1)。しかし、べん毛と回転モーター部分のコントラストは低く、トモグラフィーによる構造解析では立体像を可視化するに至らなかった。これは、通常は鞘で包まれているはずの7本のべん毛の束が鞘の破壊によりほどけていることと、MO-1のべん毛繊維がサルモネラ菌などに比べて細いためであると考えられる。MO-1のべん毛およびモーター部分の可視化には鞘の壊れていない細菌を探すことが必須となるが、本実験で用いた超高压電子顕微鏡には CCD あるいは CMOS カメラが導入されていないために、フィルム

を現像して像を確認するまで試料の良し悪しを判定できず、像収集の効率が非常に悪い。また、フィルムのフォーグレレベルの高さなどもコントラストが上がらない原因であると考えられる。生命系への応用で高画質像の収集効率を高めるためにも、電子線像を効率よく高感度で記録できる CCD あるいは CMOS カメラの投入は必須である。



9. 脂肪滴と細胞小器官(特に小胞体)との立体関係についての細胞化学的研究(継続)

野田 亨(藍野大学 医療保健学部 理学療法学科)

生体のエネルギー源、そして多様なはたらきを示すステロイドホルモンなど、生体の脂質の多くは種々の細胞内に脂肪滴として貯蔵され、必要に応じて血中に放出されている。皮下組織や内臓周囲に存在する脂肪細胞では中性脂肪が、生殖組織や副腎皮質などの内分泌組織にはコレステロールの誘導体である副腎皮質ホルモンや性ホルモンなどが脂肪滴に含まれている。我々はこれまで後者に属するラット精巣における間細胞内の脂肪滴とその周辺構造を ZIO 染色によって描出し、検討を加えてきた。昨年度は観察対象を副腎皮質に拡張し、同様の染色を行い、脂肪滴の観察を行った。

ラットの副腎を 2%グルタルアルデヒドの固定液で固定し、ヨウ化亜鉛オスミウム (ZIO) 液で染色、後固定を行った。その後、型の如く電子顕微鏡用の試料作成を行い、1 μm 厚の厚切り切片を作成した。試料は生理学研究

所の H-1250M で立体写真を撮影し、三次元構造を検討した。

副腎皮質は表面から髄質に向かって、球状帯、束状帯、網状帯という3層の異なる組織から構成されている。球状帯では束状帯で観察されるような典型的な大型の脂肪滴はあまり観察されなかった。しかし、ZIO 染色に染色される無数の小胞からなる様々なサイズの集塊が観察された。束状帯では大型の脂肪滴は ZIO 染色によって中等度の電子密度を示し、周囲に小管状の構造も高電子密度に染色されていた。この小管状構造は一ヶ所に集合している場合もあり、また散在してネットワークを形成している場合もあり、さらに一部の脂肪滴表面と連絡しているようにも観察された。網状帯の脂肪滴はほぼ束状帯の脂肪滴と同様に観察された。

副腎皮質は表面の球状帯に細胞分裂像が多く、アポトー

シス像は逆に網状帯に多いことなどから、副腎皮質では細胞は球状帯から束状帯を経て、網状帯に向かって移動しているとの説がある。この説に基づくならば、脂肪滴の形成に ZIO 染色される上記の小胞、小管状構造が脂肪滴の形成に重要な役割を演じていることが推測される。ただ、この小胞、小管状構造が小胞体由来であるかの確

認はできなかった。また束状帯に観察された小管構造は特異的な立体構造を呈し、細胞内の広い範囲にネットワークを形成している所見は厚切り試料を超高压電子顕微鏡で観察することで初めて捉えられた構造であると思われる、非常に意義深いと思われる。

10. 原生生物の細胞構造の解析

洲崎敏伸，ソチホン，早川昌志，清水美里，長澤 凌（神戸大学大学院理学研究科）
福田康弘（東北大学大学院農学研究科）

本研究課題では、平成 22 年度に引き続き、原生生物渦鞭毛虫類の染色体の立体構造と、ミドリゾウリムシ *Paramecium bursaria* などの原生生物の細胞内に存在する共生藻類の安定的維持にかかわる細胞表層への結合構造を、超高压電子顕微鏡を用いて解析した。複雑に入り組んだ核内の染色体の三次元的配行の解析や、細胞内での共生藻類の維持にかかわる各種オルガネラ・細胞骨格系との立体的位置関係を解析するには、超高压電子顕微鏡を用いた電子線トモグラフィー法がきわめて有用であり、渦鞭毛虫類や共生藻を持つ原生生物の進化に伴う細胞内構造の多様性の獲得に関する新たな知見を得ることが期待された。

渦鞭毛虫類の染色体の微細構造に関する研究は、主に福田が担当したが、平成 23 年度は所属する東北大学が震災の被害を受けたこともあり、大きな研究の進展は見られなかった。

一方で、ミドリゾウリムシなどの共生藻類と、宿主細胞のオルガネラとの微細構造的関連性に関しては、生理学研究所の H-1250M 型超高压電顕を用いた電子線トモグラフィーにより、様々な新たな知見を得ることができ

た。方法としては、ミドリゾウリムシを金属圧着法により急速凍結したのち、1% OsO₄ と 0.5% グルタルアルデヒドを含むアセトン置換液を用いて凍結置換固定を行った後、Spurr 樹脂に包埋し、厚切り切片 (0.2~5μm) を作製したものを超高压電顕で観察した。撮影した電顕写真から、電子線トモグラフィーを行い、得られた画像データから細胞内のオルガネラ間の立体的相互関係を解析した。その結果、共生クロレラはミドリゾウリムシの細胞表層に直接結合しているのではなく、ミドリゾウリムシの持つ防御性の分泌顆粒であるトリコシストやミトコンドリアに結合し、さらに繊毛基粒体に附属する小胞や食胞などとも連絡し合い、これらのすべてが複雑に結合しあったものがミドリゾウリムシの表層直下に保持されていることがわかった。また、これらの複合構造は、ミドリゾウリムシの表層とは、トリコシストの先端部と繊毛基粒体の部分でのみ結合していることがわかった。さらに、共生クロレラを取り囲む包膜とミトコンドリアとの間には、膜の部分的な融合を伴う特徴的な結合構造が見られ、ミトコンドリアが共生クロレラの細胞内共生に何らかの機能を果たしている可能性が示唆された。

11. 超高压電子顕微鏡を使ったバクテリアセルロース合成機構の解析

峰雪芳宣，中井朋則，玉置大介，藪内隆俊（兵庫県立大学大学院生命理学研究科）

【目的】セルロースを分解する酵素（セルラーゼ）がセルロース合成に重要な役割をしていることが最近分かって来たが、その機構は不明である。我々はセルロースを合

成する酢酸菌のセルラーゼ欠損株を使って、セルラーゼのセルロース合成での役割を研究している。膜状に配列して存在していると言われているセルロース合成酵素複

合体から合成されたセルロース繊維がどのようにしてセルロースの束を作っていくか、バクテリア表面で起っている現象を捉えるのが本研究の目的である。酢酸菌は直径 1 μ m 以下の大きさなので、切片の作製なしに超高圧電子顕微鏡法と電子線トモグラフィー法を組み合わせた観察が可能と思われる。今年度はクライオ電顕でそのまま氷包埋した試料について検討した。

【実験方法】 Quantifoil R3.5/1 mesh (Cu-200) 上に菌液を滴下後、必要量が残るように菌液をろ紙で吸い取り、自動浸漬凍結装置 LEICA EM CPC を使用して、液体エタンで急速凍結した。この mesh を JEM-2200FS で観察し、2° ごとに -70° から +70° の範囲で写真を撮影した。得られた写真から IMOD ソフトウェアを使用して三次元像の再構

築を行った。

【結果】 予想されたことではあるが、200kV の加速電圧で得られた像からは、酢酸菌の菌体内の構造を判定するのは難しかった (図 1)。しかし、菌体の外にあるセルロース繊維の構造は詳細に観察できることが分かった (図 2)。繊維が氷晶に埋まっているため、従来のネガティブ染色に比べ、個々の繊維の束の絡まり具合が詳細に観察できることが分かった。図 1 はトモグラムの全体像の一つの z 平面を、図 2 は、菌体に沿って走るセルロースの繊維束の拡大部分 (図 1 に示したボックス部分) を示す。

今後は、試料作製法を工夫し、セルラーゼ遺伝子の破壊された突然変異株の異常にねじれたセルロース繊維もトモグラフィーで観察し、野生株と比較する予定である。

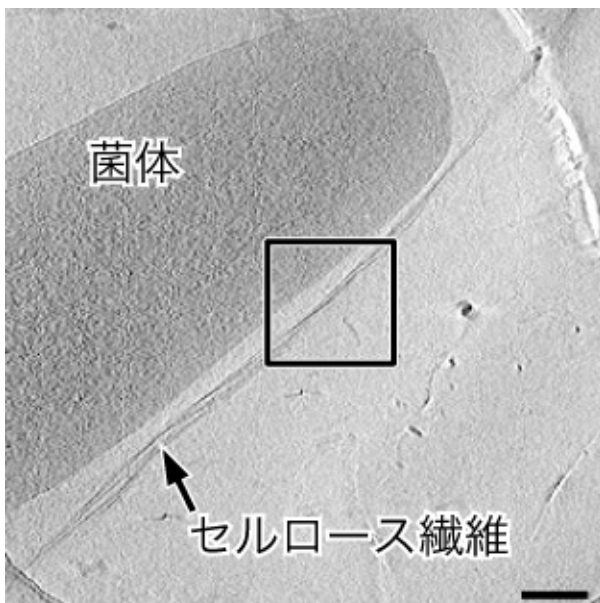


図 1 構築したトモグラム像
Bar : 20 nm

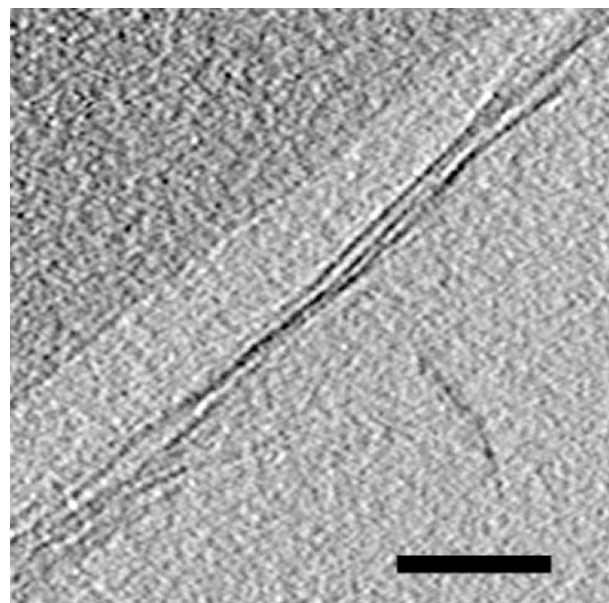


図 2 セルロース繊維束の拡大図
Bar : 10 nm

12. 精神疾患モデル動物を用いた脊髄内運動ニューロンの形態変化

坂本浩隆, 越智拓海, 齊藤和裕 (岡山大学大学院自然科学研究科理学部附属臨海実験所)

河田光博, 橋本 隆 (京都府立医科大学大学院解剖学・生体構造科学)

村田和義 (生理学研究所・脳機能計測センター・形態情報解析室)

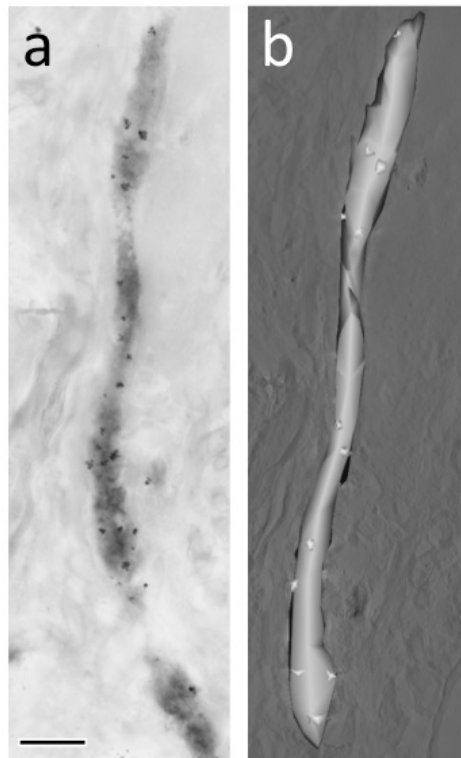
我々はこれまでに、脊髄 (腰髄) に存在する gastrin-releasing peptide (GRP) ニューロン系が雄優位な脊髄内局所神経ネットワークを構築し、自律神経系と骨盤

底筋群を同時に制御することにより、勃起、射精などの雄の性機能を調節していることを見出した (Sakamoto *et al.*, 2008, *Nature Neuroscience*)。一方、ラット球海綿体筋

を支配する球海綿体脊髄核 (SNB) は、腰部脊髄 (L5-L6) に存在し、雄優位の性的二型核を示す運動ニューロン群であり、陰茎勃起や射精など、雄の性行動に重要な役割を果たすことが知られている。我々はさらに、GRP 免疫組織化学法と SNB ニューロンの逆行性標識法とを組み合わせることにより、超微形態学的に SNB ニューロンの樹状突起上に GRP 作動性のシナプス入力が存在するかを、超高压電子顕微鏡を用いて明らかにしている (Sakamoto, Arai, Kawata, 2010, *Endocrinology*)。一方の免疫組織化学法を従来のジアミノベンジジン法で、また他者をナノゴールド銀増感法によって、超高压電子顕微鏡下で 2 者を区別する免疫二重電顕を試みてきた。さらに今回は、本技法を電顕トモグラフィー法へ応用し、三次元立体

再構築による効率的な解析を行う先端の技法を確立した (図)。本技法により、脊髄 GRP ニューロンから脊髄内の自律神経核である仙髄副交感神経核への投射を電顕的かつ効率よく解析することに成功した (Oti *et al.*, 2012, *Histochemistry and Cell Biology*)。現在、この先端の技法を応用して、脳-脊髄神経回路網の多角的な解析を進めている。

以上の結果は、*Anatomy Research International* 誌、および *Histochemistry and Cell Biology* 誌から発表した。さらに、第 38 回日本神経内分泌学会学術集会、および第 14 回日本行動神経内分泌研究会でデータの一部を発表し、大きな反響を得た。



(Oti *et al.*, 2012, *Histochem Cell Biol*より改変)

図説 : (a) 厚さ 1μm 切片での、1,000 kV の加速電圧の超高压電子顕微鏡観察による、GRP ニューロン線維の仙髄副交感神経核への投射。(b) IMOD プログラムを用いた、GRP ニューロン線維の仙髄副交感神経核への投射の三次元立体再構築。スケールバー = 2 μm

13. 嗅覚系新生ニューロンの遊走・分化過程における形態変化の三次元微細構造解

樋田一徳 (川崎医科大学解剖学)

哺乳類の中樞神経系では、生後もニューロンが新生することが知られている。その中で嗅覚系ニューロンは、一次ニューロンである嗅受容細胞と、一次中枢である嗅球内の介在ニューロンの一部は、生後に新生して嗅球神経回路に組み込まれる。特に介在ニューロンは、その起源は少し離れた前頭内の側脳室下帯であり、そこから吻側遊走経路 (rostral migratory stream; RMS) に沿って走行し嗅球へ向かう。その起源、走行経路、細胞分化について分子機構を中心とした解析が多くなされているが、その間の形態変化とニューロン種の表現型発現については未だに不明な点が多い。報告者らは昨年度より、この遊走過程の細胞の形態的特徴を、その化学的性質発現とともに解析を試みている。今年度は、新生領域に定位脳手術により各種のトレーサーを注入して新生細胞を特異的に標識し、更に標識した細胞が RMS に沿って走行し嗅球へ向かう細胞群を超高圧電子顕微鏡で観察を試みた。細胞標識のトレーサーは、Choleratoxin-beta, Biotynylated

dextran amine, Sindbisvirus (pal-GFP) などを用いた。これらは最終的に metal 増感 DAB に置換染色可能なものである。これにより得られた細胞は RMS の各領域に観察され、進行方向 (嗅球へ向かう方向) とその逆方向 (起源の脳室下帯への方向) にそれぞれ突起を伸ばしている。この部位の超高圧電顕では、特に進行方向への突起は先が多様に分枝あるいは薄膜状に微細に分岐しているのが観察された。現在、更に標識法をコントラストのより高いものへ改善するとともに、同一細胞の超薄切片観察により周辺組織との関係の解析を進めている。また RMS 部位における突起を主体とした微細形態変化の可能性もあり、現在、トモグラフィー解析を含めて形態計測を計画している。更に、嗅球へ到達した新生細胞が放射状に嗅球各層へ分布する際の形態変化、特に astroglia との関係を目視して、astroglia の微細構造とともに超高圧電顕での解析を行っている。

14. AAA シャペロンによる細胞内構造形態制御機構の解明

江崎雅俊, 小椋 光 (熊本大学)

村田和義 (生理学研究所)

AAA タンパク質は、基質タンパク質のアンフォールディングや脱会合を行う分子シャペロンである。重篤な疾患の原因因子になるものも多く、原因因子にはミトコンドリアなどの細胞内構造の形態異常を引き起こすものも多い。我々は、蛍光顕微鏡を用いた解析によって、サイトゾルの必須 AAA タンパク質である Cdc48p の機能を欠損した酵母変異株において、異常に凝集したミトコンドリアが観察されることを見いだした。本共同利用研究では、超高圧電子顕微鏡を用いてその形態異常の詳細を立体的に解析する。

前年度は、オスミウム酸によるブロック染色した樹脂切片および直接氷包埋した酵母細胞のクライオ観察を行ったが、細胞内オルガネラを可視化できるほど十分なコントラストが得られなかった。そこで、今年度は、細胞

内構造のより高いコントラストが期待できる方法として過マンガン酸カリウムによるブロック染色を試みた。酵母細胞を十分な密度になるまで培養した後、2%のグルタルアルデヒドで化学固定し、続いて1.5%の過マンガン酸カリウム溶液で4時間染色した。そして、これを脱水・樹脂包埋して、その薄切片を加速電圧 1000kV の超高圧電子顕微鏡で観察した。

その結果、厚さ1ミクロンの切片においても細胞壁、細胞膜、そして細胞内の核、液胞、ミトコンドリアの構造が明瞭に観察できた。そこで、この試料から±60°で傾斜像シリーズを撮影し、三次元再構成を行った (図1)。得られたトモグラムにおいてそれぞれの細胞内小器官を注意深くセグメンテーションしたところ、野生株では、核、液胞の周りにミトコンドリアが紐状に存在すること

がわかった (図 2)。

今後は、この方法を他の AAA タンパク質欠損株に適

用し、ミトコンドリアの形態異常の詳細を解析する予定である。

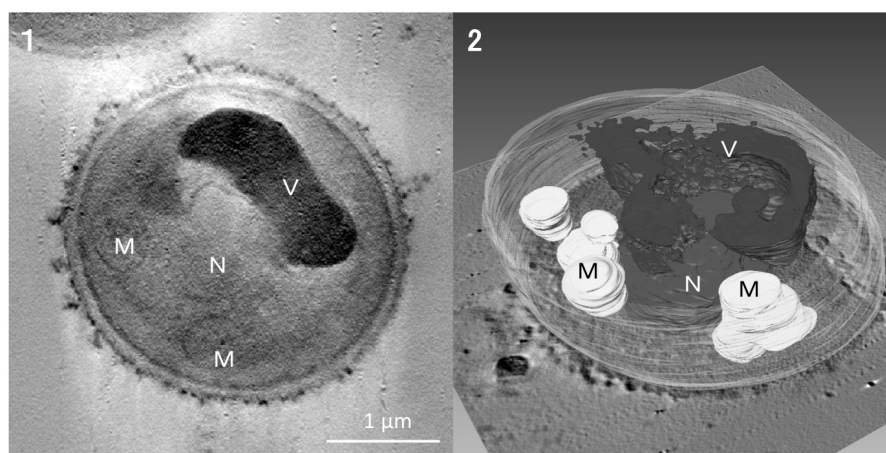


図1 過マンガン酸カリウム処理した出芽酵母野生株の1ミクロン切片からの超高压電顕像を使ったトモグラムスライス。N:核、V:液胞、M:ミトコンドリア。図2 三次元再構成像からの細胞内小器官のセグメンテーション。

15. 3-dimensional analysis of p53 protein oligomerization structure under environmental toxicant

Young Rok Seo

(Department of Life Science, Dongguk University, Seoul 100-715, Republic of Korea)

Nickel has been recognized as carcinogenic heavy metal by epidemiological studies in humans. Accumulative evidences have reported the association between occurrence of nasal and lung cancer and nickel exposure to the workers in the nickel refining industry. Studies on several animal models exposed to nickel via various routes have revealed that nickel compounds appear to stimulate lung tumors and local sarcomas in different species. One of the nickel-induced carcinogenesis mechanisms is thought to be interference with DNA repair process. Consistently, our group has investigated phenomenological study for p53-mediated DNA repair inhibition interfered by nickel (not published yet). Many researchers have already proved that p53 mainly forms as tetramer through the carboxy-terminal oligomerization domain, which facilitates and stabilizes its transcriptional

activity. However, the effect of nickel on p53-mediated DNA repair activity has not been clearly elucidated yet. In this study, we thus aimed at investigating the relationship between protein function and oligomer structure of p53 under nickel exposure by using electron microscopic techniques. Our result from transmission electron microscopy showed that diverse forms of p53 including monomer, dimer and tetramer were observed with certain ratio in non-treated group while nickel-treated group showed increased population of monomer and dimer forms rather than tetramer. For obtaining better refined actual protein structure, three-dimensional reconstruction of p53 protein structure is in progress. Our result might suggest a novel approach to understand p53-mediated DNA repair activity against environmental toxicant.

16. 3-D Reconstruction of Plastid Crystalline Bodies during C-3 Cellular Differentiation (II)

InSun Kim (Keimyung University)

High voltage electron microscope has been used to investigate the structural pattern and development of the plastid crystalline inclusions in halophytic *Salicornia herbacea*, a salt marsh plant growing in saline wet soil. It is one of the most salt tolerant plants that exhibit peculiar morphology having tuberous and succulent stems without leaves. The present study has focused mainly on the plastids developed in mesophyll and epidermal cells of the chlorenchymatous stem that exhibits C-3 photosynthetic mode. The resulting data has been compared with those of other C-3, C-4, and CAM species examined previously for better understanding of the plastid crystalline inclusions.

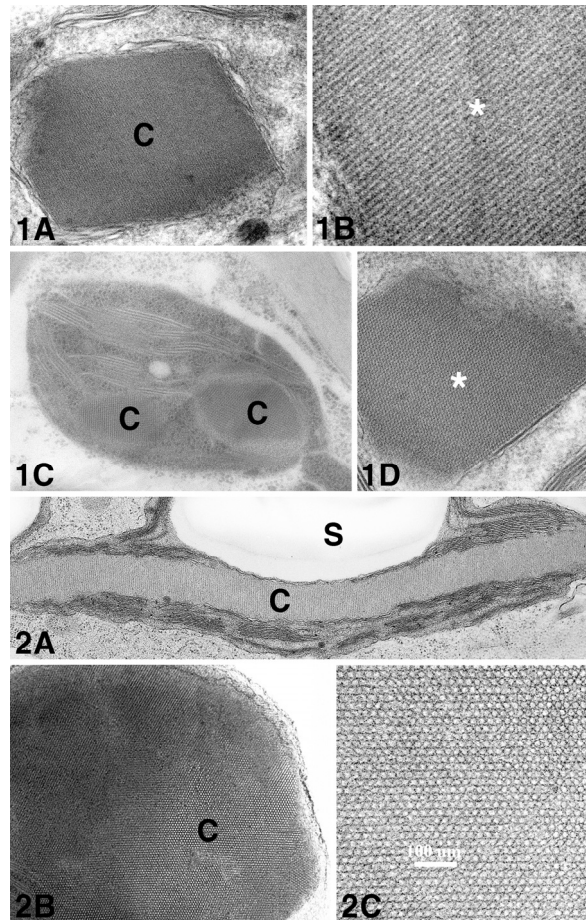
In *Salicornia*, crystalline inclusions were formed both in the mesophyll and epidermal plastids, but they were found frequently in the epidermis. One but usually small inclusions were detected in the mesophyll plastid (Figs. 1A-1B), while one or two inclusions, occupying more plastid volume, were often encountered in the epidermal plastid (Fig. 1C). They exhibited both paralleled and paracrystalline arrangement internally that were closely associated with thylakoidal membranes (Fig. 1D). The distance between membranous elements was approximately 10-12 nm, although it was rather irregular at distal region where new membranous elements added to the existing ones at the periphery. The new membranous elements were originated from the proximal thylakoidal membranes located at various orientations. The developmental pattern of the inclusion in both plastid types was similar in this species. In fact, similarity of the distance among membranous elements was noticed when C-3, C-4 and CAM epidermal plastids were compared. However, development of crystalline inclusion pattern in mesophyll

plastids was different especially in those of CAM type. In mesophyll plastids of CAM performing *Sedum*, 3-4 or more large aggregates of tubular elements formed initially as a cluster having different periodicity distances among elements. These elements rearranged into evenly-spaced, approximately 17-19 nm, tubular bodies and became a homogenous structure during plastid development (Figs. 2A-2C).

It has been well-known that CAM and C-4 photosynthetic mode has evolved much later relative to C-3 mode during plant evolution. They all, however, develop the epidermis and the mesophyll cells during foliar development. Based on the current and previous data concerning the crystalline inclusions within plastid of C-3, C-4, and CAM, it has been strongly suggested that the crystalline inclusion probably formed first in the epidermal plastid, more likely in the ancestral C-3 type and further developed into the mesophyll cells during CAM and/or C-4 tissue differentiation.

Figs. 1A-1D: *Salicornia herbacea*, Figs. 2A-2C: *Sedum rotundifolium*.

Fig. 1A: Crystalline inclusion (C) formed within mesophyll plastid. Fig. 1B: A higher magnification of the crystalline inclusion (asterisk) in the mesophyll plastid. Fig. 1C: Two crystalline inclusions (C) formed within the epidermal plastid. Fig. 1D: A higher magnification of the crystalline inclusion (asterisk) in the epidermal plastid. Fig. 2A: An extended crystalline inclusion (C) formed within the mesophyll plastid of CAM performing *Sedum*. S; starch grain. Fig. 2B: Large crystalline inclusion (C) exhibiting paracrystalline arrangement within mesophyll plastid. Fig. 2C: Tubular elements, ca. 17-19 nm in diameter, of the mesophyll plastid in *Sedum*.



17. Ultrastructure of antenna in chironomidae brain

Se Jin Park, Sung Sik Han

(School of Life Sciences and Biotechnology, Korea University)

Insects are highly dependent on their olfactory system. The antennae of insects have many types of sensilla with different functions, which play important roles during their lifetime. Despite their simple basic morphology, sensilla are functionally extremely diverse. Minute differences in the structural characteristics of individual cells can enable sensilla to receive a wide range of different stimuli, sound, touch, smell, and temperature their environment.

Chironomidae are important and abundant macroinvertebrates. Males of chironomidae are easily recognized by their pulmose antennae.

In this study, we studied comparison with antenna of female and male. By using HVEM which has been effectively applied to study three-dimensional structure, we have attempted to make a 3D-reconstruction of antennal structure of chironomidae using IMOD software.

【 生体磁気計測装置 共同利用実験報告 】

生体磁気計測装置共同利用実験報告

〔 目 次 〕

1. 脳磁図を用いた発話時のフィードバック機構とヒト脳機能の研究 (軍司敦子ほか)	244
2. ヒト脳内における情報処理の神経連絡に関する研究 (寶珠山稔)	244
3. ウィリアムズ症候群並びにその他の先天異常症候群における認知機能 (中村みほほか)	245
4. 脳磁場計測による視覚的短期記憶・物体認知メカニズムの解明 (松吉大輔ほか)	245
5. 非侵襲統合脳機能計測技術を用いた高次視覚処理の研究 (岩木 直ほか)	246
6. 視覚を中心とした物体認識に関わる脳磁場信号の計測 (野口泰基ほか)	246
7. 脳波と脳磁図による聴覚の変化探知メカニズムの解明 (元村英史ほか)	247

1. 脳磁図を用いた発話時のフィードバック機構とヒト脳機能の研究

軍司敦子, 稲垣真澄 (国立精神・神経医療研究センター精神保健研究所)

岡本秀彦, 柿木隆介 (統合生理研究系)

自己発声音のモニタリング機能の解明を目指し, 変換聴覚フィードバック (TAF) によって変化する発話中の聴性脳磁場反応について検討した。

健康成人を対象に, 母音/a/の持続発声 (5 秒) における脳磁場 (MEG) 反応を記録した (発声実験)。発声開始 1-2 秒後に発話音声の位相を反転して両耳へフィードバックし, その 1.5 秒後には元の位相に戻してフィードバックした。聴取実験では, 発声実験で録音された声を両耳に提示した。

位相反転時点を基準に加算平均波形を算出したところ, およそ 120ms 後に頂点を示す, 聴覚連合野由来の N1m

様成分が出現した。その振幅 (RMS) は, 発声—聴取実験間に有意差はなかった。一方で, 発声開始時点および位相反転が解除された時点を基準に解析すると, およそ 100 ms, 180 ms 後にそれぞれ頂点を示す, 聴覚連合野由来の N1m 様成分が出現した。その RMS は, 発声実験よりも聴取実験で顕著に増大した。

以上から, 発話時の聴覚フォーワード情報とフィードバック情報の不一致は, 外界の音を聴取する際と同様に発話中の聴性反応を賦活させるが, フォーワード情報への回帰には, 通常の発話時に見られる自己発声音の聴覚抑制が生じると示唆された。

2. ヒト脳内における情報処理の神経連絡に関する研究

寶珠山稔 (名古屋大学大学院医学系研究科)

複数の感覚刺激が同時に存在すると相互の干渉により情報の抑制や増高が認められる。感覚情報処理過程における異なる感覚モダリティー間の相互の影響を時間的・空間的に高い分解能をもつ脳磁計を用いて解析した。

本研究では, 感覚情報処理の逸脱反応 (mismatch field, MMF) の計測を用いて多モダリティー間の情報処理を観察した。被験成人 10 名 (男性 6 名, 女性 4 名, 年齢 24-48 歳) を被験者として, 逸脱刺激を含む聴覚刺激列により MMF を誘発し, その聴覚刺激に視覚刺激あるいは体性感覚刺激を同期・非同期させることにより, MMF の変化を観察した。

測定は, 標準 (1000Hz, 80%) および逸脱 (2000Hz, 20%) の聴覚刺激をイヤークューブにより呈示しつつ, 被験者前方のスクリーン上の周辺視野にはパターンリバーサル視覚刺激を聴覚刺激に同期あるいは非同期させて呈示し, 対照条件は静止視覚刺激に聴覚刺激のみを与えた合計 3 条件で MMF を計測した。別の系列にて視覚刺激に代えて右正中神経刺激を聴覚刺激に同期あるいは非同期させ MMF を記録した。左右それぞれの半球の側頭葉を中心とした 50ch から記録された誘発脳磁場のうち逸脱

刺激後の反応から標準刺激後の反応を減算し MMF を得た。刺激後 100-200ms の区間での root - mean - square が最大となる潜時前後の 20ms の区間について電流源および電流値を推定し, 聴覚のみ, 聴覚—視覚同期, 聴覚—視覚非同期, 体性感覚同期, 体性感覚非同期の 5 条件について多重比較を用いて比較した。

標準刺激後約 100ms に生じる N1m 成分では右半球にて視覚同期条件で潜時が有意に短縮し, MMF の頂点潜時も視覚同期条件では短縮した ($P=0.016$)。また, 半球では MMF の電流は有意に増大した ($P=0.008$)。体性感覚の条件刺激では対照条件と有意差は認められず, MMF の電流源にも条件による差は認められなかった。

聴覚—視覚の同期により MMF の増大と潜時の短縮が生じ, MMF 生成には聴覚刺激の量的な刺激逸脱のみならず, 刺激の弁別には聴覚—視覚のモダリティー刺激間の連絡が刺激後 100-200ms 以前で生じていること, 聴覚—視覚の複合刺激により逸脱脳反応を生じる成分があること, が考えられた (本研究結果は, 専門国際雑誌にて投稿中である)。

3. ウィリアムズ症候群並びにその他の先天異常症候群における認知機能

中村みほ, 平井真洋 (愛知県心身障害者コロニー 発達障害研究所)

我々は愛知県心身障害者コロニーにおいて縦断的にその発達を観察中のウィリアムズ症候群 (以下 WS) 患者について、その認知機能を心理学的手法、神経生理学的手法を用いて検討を続けてきた。また近年はその知見と検討の手法をカブキ症候群, 22q11.2 欠失症候群等の疾患を持つ患者にも応用し、それぞれの疾患の病態解明を図ると同時に、ヒトの認知メカニズムへの解明への貢献を目指している。今年度実施事項は以下の通りである。

1. WS における顔認知の検討について発表した (Nakamura et al. Brain & Development in press)。定型発達成人に見られるような顔の倒立効果 (倒立顔の処理が正立顔の処理に比べてより難しいこと) が見られるか否かに着目した神経生理学的検討を行い、WS 患者では、倒立顔に対する反応がコントロール群と異なり倒立効果を示さない例と、同年齢の定型発達コントロール群の反応と差がない例が混在することを確認した。この倒立効果の有無を、認知所見の縦断的データと比較検討したところ、顔倒立効果を認める例においては、視空間認知 (特に 3 次元知覚) の発達が比較的良好なことわかった。WS においては視空間認知障害はほぼ全例で認められるものの、

その発達過程には様々なばらつきがあることがすでわかっている (Nakamura et al 2009)。今回の知見は、視覚認知腹側経路が主体であるとされるヒトの顔認知のメカニズムに、視覚認知の背側経路にかかわるとされる視空間認知機能がかかわっている可能性を示唆するものであり、ヒトの視覚認知機能の解明に重要なヒントを与える知見であるとともに、これまでの各報告間の顔倒立効果の有無についてのばらつきを説明しうるものと考えられた。

2. これまでに報告してきた WS における認知機能の検討手法をカブキ症候群, 22q11.2 欠失症候群に応用してデータを収集しており、一部発表準備中である。

3. WS における顔への注意の惹かれやすさを客観的に評価するため、eye tracker を用いた視覚刺激提示の際の視点の動きを計測し、定型発達児との比較実験を実施中である。

4. WS における過度のなれなれしさと表現される社会性の認知の特徴を評価するため、視点取得課題と心の理論の発達を定型発達児と比較検討する実験を実施中である。

4. 脳磁場計測による視覚的短期記憶・物体認知メカニズムの解明

松吉大輔, 荻阪満里子 (大阪大学大学院人間科学研究科)

ヒトが一度に記憶できる情報には制約があり、視覚物体に換算して 3 つから 4 つ程度しか保持できない事が知られている。大脳の後部頭頂葉から外側後頭部にかけての領域は、記憶に保持している物体個数に対応して上昇し、3-4 つで飽和する事から、視覚的短期記憶に関与する領域であると考えられており、脳波 (EEG) や機能的磁気共鳴画像 (fMRI) による研究が多く行われている。

本研究では、この脳活動を従属指標とし、視覚的短期記憶・物体認知に関する諸現象のメカニズムを、空間解像度・時間解像度の両面において優れる脳磁場 (MEG) を計測することで明らかにしようとするものである。

23 年度においては、特に、物体の陰影が物体認知に与

える影響を検討した。物体の背後につく陰影は、通常であれば、特段我々の注意をひくものではないが、それが生態学的に妥当な形で配置されていない場合には、視覚系にとっては無視できない外乱要素となる。例えば、物体正面に光を当てた場合、通常、影はそれが投影される地面と物体下部とが繋がった形で表出するが、その影を物体上部と繋がるように画像加工を行う (逆さまにする) と、前者の影は視覚処理において負荷とならないに対し、後者のような「ありえない影」はもはや無視できる要素ではなくなり、その影を処理するための処理資源が必要となる。

本研究では、このような逆さまの影が視覚神経系にと

って本当に負荷となっているかを検討するため、脳磁場計測によって、通常の正立影が配された物体と、逆さまの倒立影が配された物体とをそれぞれ短期的に記憶させる課題中の脳磁場を計測し、後者が後部頭頂葉から外側後頭部にかけての視覚的短期記憶関連活動に与える影響

を計測した。

現在、8名について実験を終え、そのデータについては解析中である。今後、被験者数を増やし、また他の解釈の可能性を排除するためにも、実験の追加を計画している。

5. 非侵襲統合脳機能計測技術を用いた高次視覚処理の研究

岩木 直, 須谷康一 (独立行政法人産業技術総合研究所)

3次元物体を知覚する場合、低次視覚野から頭頂部へ至る背側視覚経路と側頭部へ至る腹側視覚経路の両方が寄与していると考えられる。本研究は、高次視覚情報処理にかかわる複数の脳領域間における神経活動の相互作用を、MEGとfMRIの両方を用いて得られる高精度な脳神経活動可視化技術を用いて、定量的に評価することを目的としている。今年度は、3次元図形を心的に操作する課題を遂行中のMEGを計測し、被験者の3次元図形処理のパフォーマンスと脳活動の相関関係を解析する研究を行った。

被験者は、下記に示すような一対の図形を観察し、互いに回転対称あるいは鏡像の関係にあるか判定し、ボタン押しによって回答する課題を課し、反応速度と正答率を記録しながらMEG信号を計測する実験を行った。被験者の正答率をもとに被験者を2群に分け、両グループ間で、計測されたMEG信号に含まれる自発脳活動成分の事象(図形呈示)に同期した強度の時間変化を比較した。この結果、課題遂行パフォーマンスが高いグループでは、低次視覚野と上頭頂部をカバーするMEGセンサにおける、30 Hz前後の γ 帯域自発脳活動の事象関連同期(event-related synchronization: ERS)が優位に増大するこ

とを明らかにした。

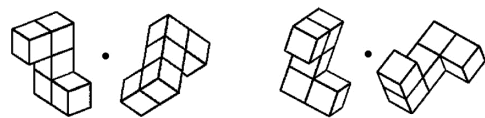


図1 3次元図形の心的造作課題で用いた視覚刺激の例

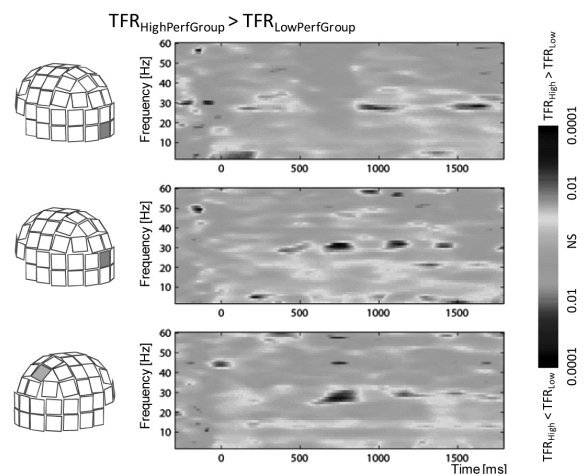


図2 3次元図形の心的造作課題随行中に計測したMEGデータの、図形呈示に同期したスペクトル強度の変化。上図に示すのは、課題遂行パフォーマンスが高い被験者群と、それ以外の被験者群との差のt検定結果。

6. 視覚を中心とした物体認識に関わる脳磁場信号の計測

野口泰基, 喜多伸一, 松本絵里子, 辻本悟史, 横山武昌 (神戸大学)

ある刺激をまとまりのある「物体」として認識した時、ヒトの脳は特有の神経活動パターンを示す。fMRIなどを用いた過去の研究により、これら物体認識に関わる脳領域の位置(空間)情報は詳細に調べられてきた。一方で

物体認識に関わる神経活動の時間的な流れは、未だ不明な点が多い。本研究課題では脳磁計の優れた時間分解能を活かし、視覚を中心とした物体認識に関わる神経活動の流れを詳細に追うことを目的として研究を進めてきた。

今年度は以下の2点をテーマとして実験を行った。

1. 意識的視覚表象発生時の脳磁場反応計測

「意識的知覚内容と連動した神経活動が、脳のどこで最初に生じるか」という問題は未解決のテーマの1つである。視覚の場合、両眼視野闘争と電気生理的手法を組み合わせた研究により、サル IT や V4 といった腹側系高次視覚野が意識的視覚表象の形成に主導的な役割を果たすことが示されている (Leopold & Logothetis, 1996)。だが fMRI を使った最近の研究では、ヒト V1 さらには LGN における血流反応も意識的知覚と連動した動態を示すことが報告されており (Haynes et al. 2005), 意識の発生場所に関する低次派 vs. 高次派の論争が行われている。本実験ではこの問題を検討するため、意識的表象が発生する「瞬間」の神経活動を、脳磁計を用いて計測した。その結果、視覚情報の意識化に関係する最初の脳磁場反応は腹

側系高次野で検出され、高次派を支持する結果を得た。

2. 共感覚者の脳における視覚性脳磁場反応の計測

「共感覚 (synaesthesia)」は限られた人にもみられる稀有な能力で、ある刺激に対して通常は起こり得ない感覚が共起される現象を指す。たとえば普通の人間の場合、紙に黒字で「A」と欠いてあれば、その文字は黒にしか見えない。しかし共感覚の持ち主は、その黒い字に、普通の人には見えない特殊な色 (たとえば赤) を常時感じることが出来る。そのような「幻の色」が見える仕組みを調べることは、物体認識のメカニズムを解明する上での手掛かりになることが期待される。本実験では様々な文字や単語に対する視覚性脳磁場反応を記録し、共感覚者と通常人との間でそれらの反応を比較した。その結果、色認識に関わる腹側系視覚野の他、左脳の頭頂葉・前頭葉などの領域で、共感覚者に特有の脳磁場反応が見られた。

7. 脳波と脳磁図による聴覚の変化探知メカニズムの解明

元村英史 (三重大学医学部附属病院精神科神経科)

乾 幸二

脳内では知覚探知→認識→判断→実行とミリ秒単位で感覚情報処理が進められる。最初期段階に位置する変化検出は極めて重要かつ基本的な情報処理活動であり、独立した情報処理システムであると考えられる。我々はイベント発生後約 100 ms にみられる比較的大きな誘発脳活動 (N1, N1m) は変化関連脳活動に他ならないという仮説を持ち、共同研究を進めている。本年度は N1, N1m について以下のことを明らかにした。

1. 変化関連脳活動には感覚記憶が関与する

音源を突然に変化させた逸脱刺激と標準刺激による oddball パラダイムを用い、逸脱刺激呈示頻度と N1 を標準とした変化関連脳活動強度の関連を検討した。逸脱呈示頻度が減少するほど変化関連脳活動強度は高まった。逸脱刺激呈示頻度の減少はすなわち繰り返し呈示されて登録される標準刺激の情報(記憶)が強まると考えられる。本研究の結果から感覚記憶が変化関連脳活動に関連することが明らかとなった (Ohoyama, et al., 2012)。

2. 音圧の減弱と変化関連脳活動について

すでに音圧の物理的増加量に依存して変化関連脳活動強度が強まることを報告した (Inui et al., 2010; Nishihara

et al., 2011) が、本年度は脳磁図を用いて、連続する white noise を突然に音圧減少 (-5, -10, -15 dB) させた時に誘発される N1m と音圧減弱の物理的変化量の関連について検討した。音圧減弱の程度が大きいくほど誘発される脳活動強度は大きく、この誘発脳活動の信号源は聴覚領域 (おそらく上側頭回) に推定された。変化物理量に依存する結果は音圧増強時にみられる変化関連脳活動強度の挙動と類似していた。

音圧減弱により誘発される変化関連脳活動は蝸牛における検出とは考えにくい。我々は、変化させる音特性 (音圧, 周波数, 音源) やイベント自体 (音の始まり, 音の終わり, 突然の変化) により誘発される N1m は同一神経細胞群が担当するであろうことを報告してきた。今回の結果を加味すると、感覚記憶のもとで物理的変化をモニターして変化検出を担う神経細胞群が大脳皮質に存在する可能性が考えられる。

Ohoyama K, Motomura E, Inui K, Nishihara M, Otsuru N, Oi M, Kakigi R, Okada M. Memory-based pre-attentive auditory N1 elicited by sound movement. *Neurosci Res* 73: 248-251, 2012.

【 研 究 会 報 告 】

研究会報告

〔 目 次 〕

1. 超階層シグナル伝達研究の新展開	
(代表者：永井健治 2011年9月29日－9月30日)	253
2. 心血管イオンチャネル・トランスポーター研究の新展開：基礎研究と臨床研究の融合	
(代表者：南沢 享 2011年11月29日－11月30日)	264
3. 作動中の膜機能分子の姿をとらえる－静止画から動画へ－	
(代表者：相馬義郎 2011年9月8日－9月9日)	276
4. グリア細胞機能から迫る脳機能解明	
(代表者：和中明生 2011年6月16日－6月18日)	287
5. シナプス可塑性の分子細胞基盤	
(代表者：榎本和生 2011年6月16日－6月17日)	298
6. 痛みの病態生理と神経・分子機構	
(代表者：岩田幸一 2011年12月21日－12月22日)	305
7. 温熱生理研究会	
(代表者：松村 潔 2011年9月1日－9月2日)	325
8. 第7回 TRP チャネル研究会	
(代表者：西田基宏 2011年6月2日－6月3日)	338
9. 睡眠研究の新展開（新しい睡眠研究の発見）	
(代表者：裏出良博 2011年10月24日－10月25日)	351
10. 視知覚の理解へ向けて－生理，心理物理，計算論による探求	
(代表者：金子寛彦 2011年5月19日－5月20日)	362
11. グローバルネットワークによる脳情報処理	
(代表者：田中真樹 2012年1月6日－1月7日)	371
12. 感覚刺激・薬物による快・不快情動生成機構とその破綻	
(代表者：喜田 聡 2011年10月5日－10月6日)	379
13. 大脳皮質局所回路の機能原理	
(代表者：宋 文杰 2011年12月1日－12月2日)	387
14. 社会神経科学研究会「今，社会神経科学研究に求められていること」	
(代表者：松田哲也 2011年10月6日－10月7日)	391
15. 第5回 Motor Control 研究会	
(代表者：星 英司 2011年6月16日－6月18日)	399
16. 情報伝達物質としてのプリンの意義	
(代表者：二ノ宮裕三 2011年10月21日－10月22日)	443
17. 上皮細胞の恒常性維持機構におけるイオン・物質輸送の新しい分子生理	
(代表者：酒井秀紀 2011年11月21日－11月22日)	451
18. シナプス伝達概念志向型研究	
(代表者：持田澄子 2011年12月5日－12月6日)	460

19. 中枢・末梢臓器連関による生体恒常性と仲介分子機構 (代表者：矢田俊彦 2012年2月10日-2月11日)	470
20. 電子顕微鏡機能イメージングの医学・生物学への応用 -3Dイメージングの最先端- (代表者：臼田信光 2011年11月30日-12月1日)	478
21. 神経活動の光操作 (行動制御への応用) (代表者：尾藤晴彦 2011年9月29日-9月30日)	491
22. 病気の進化研究会シンポジウム (代表者：中山裕之 2011年12月1日-12月2日)	501

1. 超階層シグナル伝達研究の新展開

2011年9月29日－9月30日

代表・世話人：永井健治（北海道大学・電子科学研究所）

所内対応者：久保義弘（生理研・神経機能素子）

- (1) 生体分子可視化のための蛍光プローブの効率的作製法の開発
瀧川健司，並木繁行，坂本寛和，廣瀬謙造（東京大・院医・神経生物学分野）
- (2) 神経ネットワークの活動を可視化する *in vivo* 4次元 Ca^{2+} イメージング
寺本孝行，石原 健（九州大学・理学研究院・分子遺伝学研究室）
- (3) Expanding the repertoire of genetically-encoded Ca^{2+} indicators
永井健治（北海道大学・電子科学研究所，JST・さきがけ）
- (4) CaMK シグナリングの新規イメージング解析
井上昌俊，藤井 哉，竹本-木村さやか，奥野浩行，尾藤晴彦
（東京大・院医・神経生化学分野）
- (5) イオン透過を捉える：1 イオンの動きは見えるか
老木成稔，岩本真幸，炭電享司，三田建一郎（福井大学・医学部・分子生理）
- (6) Gq 共役型受容体活性化過程の FRET 解析
立山充博，久保義弘（生理学研究所・神経機能素子研究部門）
- (7) 細胞内自己組織化による自発的な運動シグナルの生成－Organized randomness－
上田昌宏（大阪大学大学院・生命機能研究科，理化学研究所・QBiC，JST・CREST）
- (8) 粘菌のエソロジー
中垣俊之（はこだて未来大学）
- (9) 哺乳類概日時計：遅れを持った負の転写フィードバック機能と組織レベル解析へ向けて
山田陸裕，鶴飼-蓼沼磨貴，上田泰己（理研発生・再生センター）
- (10) 腎集合管水輸送調節におけるバソプレシン V2R/V1aR シグナル
安岡有紀子，河原克雅（北里大学・医学部生理学）
- (11) 大脳皮質体性感覚野における後シナプス側イノシトール 1,4,5 三リン酸シグナルを介した
前シナプス機能維持
久保田淳，大久保洋平，飯野正光（東京大・院医・薬理）
- (12) シナプス前末端の cAMP 動態解析に向けた試み
斎藤直人，堀 哲也，高橋智幸（同志社大学・生命医科学部・神経生理学研究室）
- (13) スフィンゴ脂質によるカリウムチャネル機能制御
古谷和春^{1,2}，倉智嘉久^{1,2}
（¹ 大阪大学大学院医学系研究科分子・細胞薬理学・² 大阪大学臨床医工学融合研究教育センター）
- (14) 神経ステロイドによるアルツハイマー病の予防/治療法の可能性
曾我部正博^{1,2}，陳 玲³
（¹ 名古屋大学・大学院医学系研究科・細胞生物物理学，
² 名古屋大学・革新ナノバイオデバイス研究センター，³ 南京医科大学・生理学）
- (15) 酸性環境下における破骨細胞応答のメカニズム
久野みゆき，酒井 啓，森浦芳枝，川脇順子，日野佳子
（大阪市立大学・大学院医学研究科・分子細胞生理学）

(16) Excitation-epigenetics coupling

清中茂樹^{1,2}, 三木崇史¹, Ronjat Michel³, De Waard, Michel³, 森 泰生^{1,2}

(¹京大・地球環境, ²京大・工, ³Inserm U835, France)

(17) B細胞における STIM 依存的カルシウム流入の生理的役割

松本真典, 黒崎知博, 馬場義裕 (阪大・免疫学フロンティア, 理研免疫・アレルギーセンター)

(18) 脂肪細胞における活性酸素産生と GLUT4 分解を惹起するインスリン・シグナル機構

柴田 宏, 馬 金輝, 小島 至 (群馬大・生体調節研究所)

【参加者名】

河原克雅, 安岡有紀子 (北里大学・医学部), 石原 健, 寺本孝行 (九州大学理学研究院・生物科学部門分子遺伝学研究室), 馬場義裕, 松本真典 (大阪大学・疫学フロンティア研究センター・分化制御研究室), 中西節子 ((独) 沖縄科学技術研究基盤整備機構 高橋ユニット), 曾我部正博 (名古屋大学大学院・医学系研究科), 老木成稔 (福井大学医学部・分子生理), 廣瀬謙造, 並木繁行, 瀧川健司, 菅生厚太郎, 伊佐真幸, 岸 俊輔 (東京大学大学院・神経生物学分野), 尾藤晴彦, 井上昌俊, 上條諭志, 柳下-姜楠 (東京大学・医学部 3 号館・神経生化学教室), 久野みゆき (大阪市立大学・大学院医学研究科), 高橋智幸, 齋藤直人, 堀 哲也 (同志社大学・生命医科学部 医生命システム学科), 古谷和春 (大阪大学大学院医学系研究科・分子・細胞薬理学), 永井健治, 新井由之 (北海道大学・電子科学研究所・ナノシステム生理学研究分野), 柴田 宏 (群馬大学生体調節研究所・

細胞調節分野), 水中 賢 (オリンパスエンジニアリング株式会社), 森 泰生, 清中茂樹 (京都大学大学院工学研究科・合成・生物化学専攻), 辻本哲宏 (同志社大学・生命医科学部・神経生理学研究室), 橋本浩一 (広島大学・医歯薬学総合研究科・神経生理学), 飯野正光, 大久保洋平, 金丸和典, 久保田淳 (東京大学大学院・細胞分子薬理学教室), 山田陸裕 (理化学研究所 発生再生科学総合研究センター・システムバイオロジー研究プロジェクト), 中垣俊之 (公立はこだて未来大学中垣研究室), 上田昌宏 (大阪大学・バイオ関連多目的研究施設・細胞シグナル動態研究グループ (上田研)), 宮本愛喜子 (生理研・生体恒常), 吉村 武 (生理研・分子神経生理), 内田邦敏 (統合バイオ・細胞生理), 深澤有吾 (名古屋大学・医学部・分子細胞), 久保義弘, 立山充博, 中條浩一, Keceli Batu (生理研・神経機能因子)

【概要】

細胞内小器官, 細胞などミクロな構成要素から組織・器官・個体などのマクロな構造的秩序, そして生命の最も高次な機能発現ともいえる「思考」「学習」「行動」まで, あらゆる構造的・機能的階層において生体分子が司るシグナル伝達システムが働いている。今日, 生命システムを構成する生体分子の種類とその配列がほぼ完全に明らかとなり, 生命科学は物質科学としての生体分子科学に立脚しながらも, その集合体をシステムとしてとらえた「超階層システム生理学」へと急激に変貌しつつある。この新しい展開を実験的に支えているのが, トランスクリプトームやメタボロームなどに代表される網羅的計測技術に加えて, システムの状態の時空間情報

を与えるイメージング技術である。本研究会では, 単細胞運動, 免疫, 循環, 神経系といった, 異なる分野においてシグナル伝達機構に関連した問題に取り組んでいる研究者, 及びシステムとしての生命現象を解明するのに適した新しいイメージング技術の開発やその利用方法・解析方法に関して, 注目すべき成果を上げている研究者を集め, 各々の研究分野における成果とその成果を得るための戦略をプレゼンテーションしたうえで分野横断的に討論を行い, 階層間を超えたシグナル伝達の動的な理解を目指した新たな戦略の創出につなげることを目的とした。

(1) 生体分子可視化のための蛍光プローブの効率的作製法の開発

瀧川健司, 並木繁行, 坂本寛和, 廣瀬謙造 (東京大・院医・神経生物学分野)

蛍光プローブを用いた生細胞イメージングは様々な細胞機能を理解する上で非常に優れた戦略であるが、蛍光プローブの整備が十分ではなく、イメージングが可能な生体分子は限られている。我々は可視化できる分子を拡充するうえで、リガンド結合タンパク質と小分子蛍光色素からなるハイブリッド型の蛍光プローブが有望であると考えた。本研究では、リガンド結合依存的に大きな蛍光変化を示すハイブリッド型蛍光プローブを迅速に作成するために、リガンド結合タンパク質上での標識位置を様々な変えた蛍光複合体を網羅的に生成・評価することができるハイスループットシステムの構築を目指した。このシステムにおいては、システイン残基をリガンド結

合タンパク質に導入し、チオール反応性の蛍光色素を利用することで、蛍光色素の標識位置を制御することとした。また、システイン変異体作製、大腸菌でのタンパク質の発現、蛍光色素の標識反応、蛍光複合体の精製からなるすべてのプロセスを通じ 96 ウェルプレート上で多検体同時処理を実現することで開発プロセス全体の大幅な効率化を行った。実際にこのシステムを用いてグルコース、グルタミン酸、ATP に対する蛍光プローブの作製を試みたところ、いずれの分子についても 2 週間以内に複数の蛍光プローブを得ることができ、培養神経細胞が活動依存的に放出するグルタミン酸を単一シナプスレベルという高解像度で可視化することに成功した。

(2) 神経ネットワークの活動を可視化する *in vivo* 4 次元 Ca^{2+} イメージング

寺本孝行, 石原 健 (九州大学・理学研究院・分子遺伝学研究室)

神経ネットワーク (脳) は、多数のニューロンからなる情報演算装置と考えられ、行動や学習、記憶といった生命活動における高次機能を制御している。脳は非常に複雑なシステムであり、そこで行われている情報処理のメカニズムは、ほとんど解明されていない。仮に、神経ネットワークを構成する個々のニューロンの活動を、*in vivo* で可視化できれば、情報処理メカニズムを解明する大きな糸口になると思われるが、それを実現する立体・高速イメージング技術は、必ずしも確立されているわけではない。

私たちは、共焦点光学ユニットと高感度カメラを組み合わせた顕微鏡光学系と、画像の S/N 比を改善する画像

処理アルゴリズムの開発を進め、それらを統合することで、4 次元イメージングシステムの構築を目指している。

今回、私たちは、わずか 302 個のニューロンで学習や記憶などの高次な情報処理を行っている線虫 *C.elegans* をモデルとして、蛍光 Ca^{2+} センサー YC3.60 を利用し、頭部ニューロンの 4 次元イメージングを行い、複数のニューロンが自発的な活動を示すことを発見した。自発的なニューロンの活動は、ほ乳類の脳では学習や記憶に重要な役割を果たしていると考えられており、入力刺激に対する活動パターンの変化や、線虫の行動との関連性を明らかにできれば、神経ネットワークの情報処理メカニズムの理解への突破口になることが期待される。

(3) Expanding the repertoire of genetically-encoded Ca^{2+} indicators

永井健治 (北海道大学・電子科学研究所, JST・さきがけ)

Fluorescent indicators for the quantification of intracellular Ca^{2+} have remained indispensable tools of cell biology for

three decades; yet the need for new indicators has continued to grow towards longer wavelength, higher sensitivity, higher

signal-to-noise, and, since the advent of green fluorescent protein, genetically encodable. One important class of genetically encoded Ca^{2+} indicators (GECI) is the Förster resonance energy transfer-based cameleon-type. Although many cameleon variants with different Ca^{2+} affinity have been developed, it is still short to detect subtle Ca^{2+} changes at lower concentrations (< 100 nM). To increase the Ca^{2+} affinity, we modified the Ca^{2+} sensing domain in the cameleon so that we finally obtained ultra-sensitive Ca^{2+} indicators, yellow cameleon-Nano (YC-Nano), which have K_d s for Ca^{2+} ranging from 15 nM to 140 nM enabling Ca^{2+} imaging even at 10-150 nM ranges without affecting cellular viability¹⁾. Other class of GECI is the single GFP-based GCaMP/Pericam-type that are dim in the absence of Ca^{2+} and bright when bound to Ca^{2+} . However, despite a decade of availability, the palette of single FP-based GECI has remained limited to a single green hue. Therefore, we developed

GCaMP/Pericam-type red- and blue-emitting GECI, as well as an improved green-emitting GECI and an emission ratiometric version with an 11,000% ratio change²⁾. These new GECIs, which we dubbed GECOs (pronounced like geckos) to bring to mind the colorful family of lizards (or moon light). GECOs enable improved single-color Ca^{2+} imaging in neurons and transgenic *Caenorhabditis elegans*. In HeLa cells, Ca^{2+} was imaged in three subcellular compartments and, in conjunction with a cyan FP and yellow FP-based indicator, Ca^{2+} and ATP were simultaneously imaged. These YC-Nano and GECO series paint the way to a colorful new era of Ca^{2+} imaging.

- 1) Zhao Y et al. An expanded palette of genetically - encoded Ca^{2+} indicators. **Science** in press.
- 2) Horikawa K et al. Spontaneous network activity visualized by ultra-sensitive Ca^{2+} indicators, yellow cameleon-Nano. **Nature Methods** 7, 729-732, 2010.

(4) CaMK シグナリングの新規イメージング解析

井上昌俊, 藤井 哉, 竹本-木村さやか, 奥野浩行, 尾藤晴彦 (東京大・院医・神経生化学分野)

カルシウム (Ca^{2+}) シグナル伝達は様々な神経機能を制御している。近年, この中で, Ca^{2+} -カルモジュリン (CaM) - Ca^{2+} /CaM 依存性プロテインキナーゼキナーゼ (CaMKK) - Ca^{2+} /CaM 依存性プロテインキナーゼ (CaMK) I/IV カスケードが神経回路形成, 長期可塑性において重要な役割を果たしていることが示された。しかし, CaMKK の基質自身がキナーゼであるため, 基質へのリン酸化取り込み量を正確に定量することが困難であることから, 神経活動依存的に CaMKK の活性がどのように制御されているのか不明なことが多い。

このような制約を克服するために, (蛍光共鳴エネルギー移動) FRET 現象を用いて, CaMKK の活性化に伴う構造変化を直接検出し, 活性制御機構を検討した。CaMKK の活性化状態を示すインディケーターを開発するために

全長 CaMKK をセンサー部位とした FRET プローブを作製し, KK プローブと名付けた。CaMKK と KK プローブ間で, 神経細胞における局在とキナーゼアッセイによるキネティクスが相関することから, この KK プローブが本来の CaMKK の性質を有している可能性を示した。次に, Ca^{2+} /CaM による結合と自己リン酸化により, FRET シグナルが変化することを示した。さらに, この KK プローブを用いて, 光学的に CaMKK に対する薬理的解析が可能であることを示した。

このように FRET を用いた新しい酵素学的手法はこれまで見落とされていた酵素の重要な特性を与える可能性があり, CaMKK 以外の他の酵素にも適用可能なことから生化学に新しい解析法を与えるものと考えられる。

(5) イオン透過を捉える：1 イオンの動きは見えるか

老木成稔, 岩本真幸, 炭竈享司, 三田建一郎 (福井大学・医学部・分子生理)

イオンチャネル透過機構の解明はチャネル分子研究の最大の課題の一つである。チャネル蛋白質の結晶構造が明らかになって以来、立体構造をもとにイオン透過シミュレーションが具体的な透過のイメージを提供している。このことで、透過のダイナミックな機構はすべて解決済みの問題であるかのように考えられる傾向があるが、現状はイオンや水の流れの法則を抽出するまでには至っていない。もう一度原点に戻って、チャネルの透過実験を見直し、イオン透過機構を考える必要がある。そのような研究戦略の一つが1イオン測定である。現在の電気生理学的手法では1イオン流を直接捉えられるだけの時間分解能は備えていない。しかし一個一個のイオン

が流れる個別性を実験的に明らかにする方法はあり、ここではその一つであるイオンと水の流束比の測定を紹介する。カリウムチャネルの細い選択性フィルタ（直径 3 Å）の中ではイオンや水分子が一行になり、その長さ（12 Å）の中にはイオンか水分子が合わせて4分子しか収まらない。この限られた空間の中で取りうる配列により、イオンと水の流束比は単純な整数比になる。流動電位を測定することによりイオン－水流束比を実験的に求めることができる。KcsA カリウムチャネルの流動電位を様々なイオン条件で測定し、イオン透過がどのような反応経路をとるかを明らかにした。従来考えられてきた knock-on 機構は必ずしも重要ではない。

(6) Gq 共役型受容体活性化過程の FRET 解析

立山充博, 久保義弘 (生理学研究所・神経機能素子研究部門)

G 蛋白質共役型受容体 (GPCR) は、特異的リガンドとの結合により活性化され、三量体 G 蛋白質を介して多様な細胞内応答を惹起する。我々は、FRET を利用して、Gq 共役型受容体であるムスカリン受容体 1 型 (m1R) と Gq 蛋白質の会合、受容体活性化時の動的構造変化を解析した。その結果、細胞内第 3 ループと $G_{\alpha q}$ C 末端と $G\beta 1$ の間でリガンド投与による顕著な FRET 増加を、第 3 ループと $G\beta 1$ C 末端と $G_{\alpha q}$ 間では小さな FRET 増加を認めた。この結果から、受容体活性化時には $G_{\alpha q}$ が第 3 ループに、 $G\beta 1$ が C 末端に近接することが示唆された。また、m1R 自体の活性化時の分子内構造変化を解析するために、細胞内第 3 ループと C 末端にそれぞれ蛍光蛋白質を付加したところ、このコンストラクトは Gq 蛋白質活性化機能

を保持していた。このコンストラクトはリガンド投与により濃度依存的な FRET 減少を示したが、Gq 蛋白質との共発現により、この FRET 減少が増大した。また、Gq 蛋白質との共発現はリガンド除去に伴う FRET 回復相を遅延させた。これらの結果から、Gq 蛋白質の共発現には m1R の活性化構造を安定化する作用があることが示唆された。さらに、このような活性化構造安定化作用が他の Gq 共役型受容体でも見られるかを検証するため、ムスカリン受容体 3 型、ブリン受容体 1 型および substance P 受容体の同様なコンストラクトを作成して解析した。各コンストラクトはリガンド投与による FRET 減少を示したが、Gq 蛋白質による FRET 減少増強作用には、受容体の種類により差異が認められた。

(7) 細胞内自己組織化による自発的な運動シグナルの生成—Organized randomness—

上田昌宏 (大阪大学大学院・生命機能研究科, 理化学研究所・QBiC, JST・CREST)

細胞の様々な機能が分子反応ネットワークの自発的ダ

イナミクスから自律的に発現する仕組みの解明は、細胞

生物学における中心的な課題の一つである。我々は特に「熱ゆらぎの中で確率的に作動する生体分子からどのようにして運動機能や情報処理機能が発現するのか？」という問いに興味がある。細胞の自発的ダイナミクスが顕著に現われている現象として、細胞の自発運動が挙げられる。細胞は、しばしば環境に刺激が無くても自律的に運動装置を制御し、方向転換を繰り返しながら運動して、環境を広く探索する。刺激があつてはじめて環境を探索するのではなく、自発的な探索を行った上で刺激に応じてよりよい環境を見つけ出す。こうした自発運動を引き起こすためには、細胞内部で何らかのシグナルが自発的

に発生していると考えられる。最近我々は、細胞性粘菌 *Dictyostelium discoideum* のアメーバ細胞において、イノシトールリン脂質代謝系を構成する分子群が自己組織化反応を通して細胞の前後軸極性を動的に形成し、自発運動のシグナルを生成することを見出した。この代謝系の分子反応ネットワークを考慮する事で、反応拡散方程式を用いた数理モデル化にも成功している。この分子システムにおけるノイズロバストな運動機能・情報処理機能の発生メカニズム、及び、ノイズを利用した環境適応について議論したい。

(8) 粘菌のエソロジー

中垣俊之 (はこだて未来大学)

It has recently been reported that even single-celled organisms appear to be “indecisive” or “contemplative” when confronted with an obstacle. When the amoeboid organism *Physarum plasmodium* encounters the chemical repellent quinine during migration along a narrow agar lane, it stops for a period of time (typically several hours) and then suddenly begins to move again. When movement resumes, three distinct types of behavior are observed: The plasmodium continues forward, turns back, or migrates in both directions simultaneously. Here, we develop a continuum mathematical model of the cell dynamics of contemplative amoeboid movement. Our model incorporates the dynamics of the mass flow of the protoplasmic sol, in relation to the generation of pressure based on the autocatalytic kinetics of pseudopod

formation and retraction (mainly, sol-gel conversion accompanying actin-myosin dynamics). The biological justification of the model is tested by comparing with experimentally measured spatiotemporal profiles of the cell thickness. The experimentally observed types of behavior are reproduced in simulations based on our model, and the core logic of the modeled behavior is clarified by means of nonlinear dynamics. An on-off transition between the refractory and activated states of the chemical reactivity that takes place at the leading edge of the plasmodium plays a key role in the emergence of contemplative behavior.

REF. Kei-ichi Ueda et al., PHYSICAL REVIEW E 83, 021916 (2011).

(9) 哺乳類概日時計：遅れを持った負の転写フィードバック機能と組織レベル解析へ向けて

山田陸裕, 鵜飼-蓼沼磨貴, 上田泰己 (理研発生・再生センター)

生命活動は様々なリズムによって支えられている。哺乳類では睡眠・覚醒、ホルモン分泌などが約24時間周期の概日リズムを示す。近年の研究により、これらのリズムを生み出す転写制御ネットワークの複雑な構造が浮かび上がってきた。その中で *Cry1* と呼ばれるリプレッサー

遺伝子は遅れを持った負の転写フィードバックループを形成する。遅れを持った負の転写フィードバックループは振動子を構成する上で基本的なモデル構造であることから注目されたが、その遅れのメカニズムは不明であった。我々は解析の結果、1) *Cry1* 遺伝子は朝に活性をもつ

E-box 転写制御エレメント配列に加えて、昼に活性をもつ D-box 配列、夜に活性をもつ RRE 配列の転写制御を受けていること、2) これらの配列を人為的に組み合わせて遅れを大きくすると周期が長くなり、遅れを小さくすると周期が短くなること、を示した。これは複雑な概日時計システムの本質が遅れを持った負の転写フィードバックループを中心としたシンプルなモデルで理解できる可

能性を示すものである。現在、この知見を脳内の時計中枢である視交叉上核 (Suprachiasmatic nucleus; SCN) の解析に役立てるために、概日時計が化学物質刺激に応答する様子を *in vitro* で観察する実験系の構築を試みている。将来、環境時間が時計システムに内在化する仕組みの理解へ迫ることを目指している。

(10) 腎集合管水輸送調節におけるバソプレシン V2R/V1aR シグナル

安岡有紀子, 河原克雅 (北里大学・医学部生理学)

脳下垂体後葉ホルモン-バソプレシン (VP) は、腎集合管主細胞 (PC) 基底膜のバソプレシン V2 受容体 (V2R) に作用し、管腔膜水チャネル (AQP2) の発現量増加/活性化により水の再吸収を亢進する (VP-V2R-PKA-AQP2 軸)。一方、集合管の V1aR シグナル (VP-V1aR-Ca²⁺-PKC 軸) は、「V2R-AQP2 軸」に拮抗すると考えられているが、その細胞内メカニズムは不明である。われわれは、集合管水輸送における V1aR/V2R 拮抗作用を明らかにするため、V1aR KO マウス (KO) の水バランスと尿濃縮能について調べた。

【方法】WT・KO マウスを自由飲水/24 時間絶水し、尿・血液の浸透圧、血漿 AVP 濃度、尿中 AQP2 量 (Western blotting)、腎集合管 V2R mRNA の発現量 (Tyramide-ISH 法) と AQP2 蛋白の細胞内局在/発現量変化 (IHC 法) を調べた。

【結果】自由飲水時には差異は認められなかったが、絶水時の血漿浸透圧は、WT に比べ KO が有意に高かった (WT: 342, KO: 354 mOsm/kgH₂O)。絶水時の尿浸透圧 (尿濃縮能) は、WT に比べ KO が有意に低かった (WT: 3,610, KO: 3,361 mOsm/kgH₂O)。KO マウスの血漿 [AVP] (pg/ml) は、絶水で有意に増加したが、V2R mRNA 発現量 (腎皮質・髄質外層) は、同一条件下で増加しなかった。さらに、KO マウスの AQP2 発現量は、WT に比べ有意に低下していたが、絶水刺激で増加した。WT・KO マウスの集合管主細胞において、細胞内 AQP2 蛋白は脱水刺激に呼応して管腔膜に移行した。

【結論】V1aR は、V2R-AQP2 軸の基礎レベル発現に必要なであるが、脱水時の VP-V2R-PKA-AQP2 シグナル応答には必要がなかった。

(11) 大脳皮質体性感覚野における後シナプス側イノシトール 1,4,5 三リン酸シグナルを介した前シナプス機能維持

久保田淳, 大久保洋平, 飯野正光 (東京大・院医・薬理)

脳が長期間にわたり機能を維持し続けるためには、シナプス機能の維持が必要である。しかし、シナプス機能維持を担う分子機構は十分明らかになっていない。脳機能の維持には、例えば「勘が鈍る」という言葉に表されるように、持続的な経験依存性入力が必要であることが示唆される。そこで成熟マウスにおけるヒゲ除去実験により、持続的な感覚入力が必要である

るかまず検証を行った。5 日間のヒゲ除去により、対応する大脳皮質体性感覚野の第 4 層→第 2/3 層シナプスにおいて伝達物質放出確率が低下した。よって、持続的な入力が必要であることが明らかになった。次に、この分子機構を探るため、イノシトール 1,4,5 三リン酸 (IP₃) 産生共役型の I 型代謝型グルタミン酸受容体 (mGluR) に着目した。I 型 mGluR は高頻度グルタミン

酸放出により活性化されるので、感覚入力に伴う高頻度発火の検出器として機能し得ると考えたからである。mGluR アンタゴニスト及び IP₃ 分解酵素により mGluR-IP₃ シグナルを慢性的に抑制したところ、ヒゲ除去と同様に放出確率が低下した。興味深いことに、IP₃ 分解酵素を

後シナプス側錐体細胞に限定して発現させた場合でも前シナプスの放出確率が低下した。以上より、持続的感覚入力に伴う後シナプス側 mGluR-IP₃ シグナルが、何らかの逆行性シグナルを介して前シナプス機能を維持することが示唆された。

(12) シナプス前末端の cAMP 動態解析に向けた試み

斎藤直人, 堀 哲也, 高橋智幸 (同志社大学・生命医科学部・神経生理学研究室)

脳幹 Calyx of Held シナプスでは exchange protein directly activated by cAMP (Epac) の活性化に伴う cAMP 濃度上昇に応じて伝達物質放出の増強が引き起こされていると考えている。シナプス前末端の cAMP 濃度上昇が長期増強を引き起こすのか、一過性の増強を引き起こすのかは、何によって決定されているのかを調べるために、我々は cAMP 濃度をモニターできる蛍光タンパク質の開発を行うため、大腸菌の転写因子である cAMP receptor protein (CRP) 2 着目した。CRP は DNA 結合領域と cAMP

結合領域から成るが、CRP は通常ダイマーを形成しており、cAMP を結合することによって DNA 結合領域の相対的な位置が変化すると考えられている。そこで、この DNA 結合領域に circularly permuted GFP (cpGFP) を繋げた CRP-cpGFP を作成したところ cAMP 結合によって最大約 30%減光することが明らかになった ($K_d=2.3\mu\text{M}$)。さらに、CRP-cpGFP にテトラシステインタグを付加することによって、ReAsH-EDT2 を標識可能になり Ratiometric な測定への対応が可能になった。

(13) スフィンゴ脂質によるカリウムチャネル機能制御

古谷和春^{1,2}, 倉智嘉久^{1,2}

(¹大阪大学大学院医学系研究科分子・細胞薬理学, ²大阪大学臨床医工学融合研究教育センター)

スフィンゴ脂質は生体膜の脂質二重層を構成する脂質である。スフィンゴ脂質とコレステロールに富む膜マイクロドメインは脂質ラフトなどと呼ばれ、イオンチャネルなどの膜タンパク質の局在を決める重要な役割を果たす。また、スフィンゴ脂質は細胞内外に遊離されシグナル伝達分子として働くことも知られている。スフィンゴ脂質をリガンドとする GPCR や機能制御される酵素が存在し、分化、増殖、プログラム細胞死等に関与する。今回我々は、電気生理学的手法を用い、イオンチャネルの機能がスフィンゴ脂質によって制御されるか内向き整流性カリウムチャネルで調べた。培養哺乳類細胞に Kir チャネルを発現させ、パッチクランプ法を適用し機能解析

を行った。探索の結果、スフィンゴ脂質のスフィンゴシンが細胞内側から各種 Kir 電流を阻害することを見出した。この阻害に明確な電位依存性は見られない。通常、細胞において最も豊富に存在するスフィンゴ脂質は細胞膜のスフィンゴミエリンであり、スフィンゴシンはスフィンゴミエリンからセラミドを介して代謝的に生合成される。スフィンゴミエリンの加水分解により、スフィンゴシンの細胞内側直接投与と同様に、しかしゆっくりと Kir チャネル電流は減少する。この電流減少はスフィンゴシンの生合成経路の薬理的阻害により抑制され、細胞外刺激により生合成された内因性スフィンゴシンが Kir チャネルを阻害していると考えられた。

(14) 神経ステロイドによるアルツハイマー病の予防/治療法の可能性

曾我部正博^{1,2}, 陳 玲³⁽¹⁾名古屋大学・大学院医学系研究科・細胞生物物理学,⁽²⁾名古屋大学・革新ナノバイオデバイス研究センター, ⁽³⁾南京医科大学・生理学)

アルツハイマー病 (AD) の原因分子として、アミロイドβ (Aβ) が最有力候補とされているが、その機序は不明である。我々は、Aβの側脳室への慢性注入により学習障害と海馬の LTP 誘導障害を示す AD モデルラットの海馬スライスに膜電位イメージング法を適用して、Aβがシナプス前終末のα7nAChR 機能を阻害することがその原因であることを突き止めた。一方、神経ステロイド PREGS がこのα7nAChR を感作し、Aβとの同時注入で Aβによる障害を防止することを発見した。

最近、海馬における記憶形成には歯状回での神経細胞の新生が必要であることが分かってきた。AD モデル動物では、新生細胞数はむしろ増大するが、シナプス形成

が不全で大半の細胞が死滅して障害が生じる。そこで、新生細胞サイクルの様々な位相で PREGS を投与したところ、シナプス形成期直前の投与時期特異的にシナプス形成と細胞の生存率が大幅に改善した。電気生理学的解析により、それは前終末α7nAChR の持続的感作を介した後膜側の NMDA 受容体の持続的増強と NO 産生による前膜側への正のフィードバックによることが分かった。さらに PREGS は後膜側のσ1 受容体を介して Akt/PKB シグナル系を活性化して新生細胞の生存率を高めることも分かった。PREGS は成熟神経細胞と新生神経細胞の両者に対する Aβの攻撃を防止して、AD の発症と進行を防止する可能性がある。

(15) 酸性環境下における破骨細胞応答のメカニズム

久野みゆき, 酒井 啓, 森浦芳枝, 川脇順子, 日野佳子

(大阪市立大学・大学院医学研究科・分子細胞生理学)

破骨細胞は骨表面に接する Ruffled border から酸や酸性環境で活性化される lysozomal enzyme を分泌して骨基質を溶解する。その際、骨吸収窩の pH は 4 程度まで下がる。破骨細胞には酸感受性のチャネルや受容体が存在し、骨吸収能を調節していると考えられている。しかし“酸性環境”は細胞外で作られるだけではない。細胞外 pH (pHo) が低下すると細胞内 pH (pHi) も低下する。すなわち、“酸性環境下”では、細胞内外とも acidic となる。破骨細胞の骨吸収抑制機構である Ca 感受応答は pHi が低いほど増強するなど、pHi 変動も酸感受性応答に関わる重要なメカニズムのひとつである。本研究では、培養

破骨細胞の細胞膜を介する H⁺電流の酸性環境下での変化を測定した。pHo を 7.3 から低下させていくと液胞型 H⁺-ATPase (V-ATPase) や H⁺ channel を介する外向き H⁺電流が減少した。更に pHo を 5 以下にすると可逆的な内向き電流が生じた。pHo 7.3 に戻すと H⁺チャネルの増強 (rebound) が見られ、酸暴露時に pHi が低下していたと推測された。内向き電流の出現は細胞内外の pH 勾配 (ΔpH = pHo - pHi) に依存し、ΔpH < -2 で増大した。内向き電流は amiloride で抑制されず、ASIC channel 以外の pathway が考えられた。

(16) Excitation-epigenetics coupling

清中茂樹^{1,2}, 三木崇史¹, Ronjat Michel³, De Waard, Michel³, 森 泰生^{1,2}

(¹京大・地球環境, ²京大・工, ³Inserm U835, France)

電位依存性 Ca^{2+} チャネルは、膜電位の脱分極により活性化して高選択的に Ca^{2+} を細胞内に流入させる陽イオンチャネルである。神経系において、電位依存性 Ca^{2+} チャネルを介した Ca^{2+} 流入は、プレシナプスにおける開口放出への関与だけでなく、ポストシナプスにおける遺伝子発現制御に関わる。電位依存性 Ca^{2+} チャネルは α_1 , β , $\alpha_2\delta$, γ という5つのサブユニットから形成されており、我々のグループでは、細胞質に存在する β サブユニットに着目して研究を進めてきた。これまでに、チャネルの形質膜上での発現や機能の維持への重要性^{1), 2)}, さらに電位依存性 Ca^{2+} チャネルにおける足場タンパク質としての機能を明らかにした^{3), 4)}。今回、我々は、 β_4 サブユニットが複数の異なるタンパク質と相互作用することで、神経活動依存的な遺伝子の転写を直接制御していることを見出した。 β_4 サブユニットはホスファターゼ2A (PP2A) 副サブユニットである B56 δ と相互作用して核に移行し、そ

の相互作用は神経活動依存的に起こった。核内において、 β_4 サブユニットは、甲状腺ホルモン受容体 (TR α) と複合体を形成することで、チロシンヒドロキシラーゼ (TH) 遺伝子プロモーター領域に結合した。また、核内の β_4 サブユニット複合体は、PP2Aによるヒストン H3 の脱リン酸化を引き起こし、TH 遺伝子の転写を抑制した。すなわち、神経活動依存的な電位依存性 Ca^{2+} チャネルの活性化は、 Ca^{2+} 依存的な遺伝子発現制御だけでなく、 β_4 サブユニット複合体形成を介したエピジェネティック的な寄与により特定の遺伝子発現を厳密に制御すると考えられる。

1) Mori Y. *et al.*, *Nature*, **350**, 398(1991).

2) Bichet D. *et al.*, *Neuron*, **25**, 177(2000).

3) Kiyonaka Y. *et al.*, *Nature Neurosci.*, **10**, 691(2007).

4) Uriu Y. *et al.*, *J. Biol. Chem.*, **285**, 21750 (2010).

(17) B 細胞における STIM 依存的カルシウム流入の生理的役割

松本真典, 黒崎知博, 馬場義裕 (阪大・免疫学フロンティア, 理研免疫・アレルギーセンター)

免疫細胞における細胞内カルシウムの上昇は主に二つの異なる経路から供給される。一つは細胞内貯蔵庫である小胞体からのカルシウム放出であり、もう一つは細胞膜上のストア作動性カルシウム (SOC) チャネルを介した細胞外からのカルシウム流入である。特に B 細胞へのカルシウム流入は SOC 流入が主要なものであり、長時間の持続的カルシウムシグナルを維持する上で重要であると考えられている。近年、SOC 流入を誘導する分子として小胞体カルシウムセンサー STIM1 および STIM2 (STIM1 ホモログ) が同定されたことから、我々は B 細胞における STIM 依存的カルシウム流入の生理的役割を明らかにするために、B 細胞特異的に STIM1 および STIM2 の両者を欠損するマウスを作製して解析を行っ

た。B 細胞特異的 STIM 欠損マウスの B 細胞分化は正常であったが、B 細胞受容体刺激による SOC 流入は STIM 欠損 B 細胞で減弱した。また、LPS で活性化させた STIM 欠損 B 細胞では B 細胞受容体刺激による抑制性サイトカイン IL-10 の産生がほとんど観察されず、その際、NFAT の活性化が特異的に阻害されていた。そこで、B 細胞における SOC 流入が多発性硬化症のマウス実験モデルである脳脊髄炎に与える影響を検討したところ、B 細胞特異的 STIM 欠損マウスでは脳脊髄炎の増悪化が観察された。以上の結果から、B 細胞における STIM 依存的な SOC 流入は NFAT を介した IL-10 の産生を引き起こし、脳脊髄炎の抑制に必須の役割を果たしていると考えられた。

(18) 脂肪細胞における活性酸素産生と GLUT4 分解を惹起するインスリン・シグナル機構

柴田 宏, 馬 金輝, 小島 至 (群馬大・生体調節研究所)

インスリンが GLUT4 の分解を促進するという現象は、以前より知られている (Sargeant et al. 1993) が、そのメカニズムは不明であった。最近我々は、インスリンによる GLUT4 分解促進作用は、エンドソームから TGN への逆行性輸送 (retrieval) を担うレトロマー複合体の機能阻害による GLUT4 輸送方向のスイッチング (エンドソーム-TGN リサイクル経路からリソソーム分解系へ) によることを見出した。さらに、インスリンによるレトロマー機能阻害が NADPH オキシダーゼ Nox4 による過酸化水素 (HP) 産生亢進によることを明らかにした。興味深いこと

に、これら一連のインスリン作用は PI3 キナーゼや MAP キナーゼ活性に依存せず、G 蛋白や APS-Cbl-TC10 など、既知のインスリン・シグナル分子の関与も否定的であったことから、Nox4 の上流に未知のシグナル機構の存在が示唆された。そこで、この GLUT4 分解に関与するインスリン・シグナルについて検討した結果、ホスファチジルコリン特異的ホスホリパーゼ C (PC-PLC) が脂肪細胞においてインスリンによる HP 産生と GLUT4 分解のシグナル分子として機能していることを示唆するデータを得た。

2. 心血管イオンチャネル・トランスポーター研究の新展開： 基礎研究と臨床研究の融合

2011年11月29日－11月30日

代表・世話人：南沢 享（早稲田大学・先進理工学部・生命医科）

所内対応者：久保義弘（生理研・神経機能素子）

- (1) カルパスタチンのL領域は、Cav1.2 Ca²⁺チャネルのカルモジュリンによる活性化部位の
部分アゴニストとして働く

蓑部悦子, Hadhimulya Asmara, Zahangir A. Saud, 亀山正樹
(鹿児島大学・大学院医歯学総合研究科・神経病学講座・神経筋生理学)

- (2) アセチルコリン感受性カリウム電流における short term desensitization の機序の検討

村上慎吾, 倉智嘉久 (大阪大学・大学院医学系研究科・薬理学講座)

- (3) Na⁺/Ca²⁺交換体とアダプター蛋白質複合体因子の相互作用

岩本隆宏, 伊豫田拓也, 堀江一郎, 喜多紗斗美 (福岡大学・医学部・薬理学)

- (4) 心臓線維芽細胞における cardiac troponin T の発現・局在の調節機構

木内茂樹¹, 下山多映², 大塚文徳², 鈴木重人¹, 上園 崇¹, 栗原順一¹, 小野景義¹
(¹帝京大学・薬・薬理, ²帝京大学・薬・環境衛生)

- (5) Atypically-shaped cardiomyocytes (ACMs) の虚血耐性とオートファジー活性化

尾松万里子, 松浦 博 (滋賀医大・生理・細胞機能生理)

- (6) 脳血管内皮細胞の細胞増殖・細胞死を制御するカリウムチャネル

鬼頭宏彰¹, 山崎大樹^{1,2}, 山村寿男¹, 大矢 進¹, 浅井清文³, 今泉祐治¹
(¹名古屋市立大学・大学院薬学研究科・細胞分子薬効解析学分野,
²京都大学・大学院薬学研究科・生体分子認識学分野,
³名古屋市立大学・大学院医学研究科・分子神経生物学分野)

- (7) STIM1 ノックアウトマウスにおける心肥大抑制効果

大場貴喜^{1,2}, 渡邊博之¹, 伊藤 宏², 尾野恭一¹
(秋田大学・¹細胞生理学講座, ²内科学講座・循環器内科学分野)

- (8) Sarcalumenin ノックアウトマウスにおける心筋筋小胞体機能低下

焦 其彬¹, 竹島 浩², 石川義弘³, 南沢 享^{1,3}
(¹早稲田大学・先進理工学研究科・生命医科学専攻,
²京都大学・大学院薬学研究科・生体分子認識学,
³横浜市立大学・医学研究科・循環制御医学)

- (9) 心筋内 Ca 循環とリン酸化異常を標的とした心不全の遺伝子治療

池田安宏 (山口大学・大学院医学系研究科・器官病態内科学)

- (10) 硫化水素イオンによる心臓リモデリング抑制の分子機構

西田基宏 (九州大学・大学院薬学研究院・薬効安全性学分野)

- (11) 早期再分極を伴った特発性心室細動の遺伝子解析と機能解析

蒔田直昌¹, 渡部 裕²
(¹長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・内臓機能生理学, ²新潟大学・医学部・循環器内科)

(12) His-Purkinje 系特異的転写因子の遺伝的欠失はマウスで J wave 症候群類似の表現型を示す

小泉章子¹, 笹野哲郎², 黒川洵子¹, 木村 航³, 三浦直行³, 古川哲史¹

(1 東京医科歯科大学・難治疾患研究所・生体情報薬理学分野,

²東京医科歯科大学・循環器内科, ³浜松医科大学・医学部・生化学第二講座)

(13) SCN5A D1275N 変異チャネルの心筋細胞と培養細胞での機能解析結果の違い

渡部 裕¹, Tao Yang², Dina M. Stroud², John S. Lowe², Thomas C. Atack², Dao W. Wang²,Susan B. Hipkens², Brenda Leake², Lynn Hall², Sabina Kupersmidt², Nagesh Chopra², Mark A. Magnuson²,Björn C. Knollmann², Alfred L. George², Jr, Dan M. Roden², Louise Harris³, 田邊直仁⁴(1 新潟大学・大学院医歯学総合研究科, ²バンダービルト大学・臨床薬理学教室,³トロント大学・循環器学教室, ⁴新潟県立大学・人間生活学部・健康栄養学科)

(14) ホヤ KCNQ1 チャネルを用いた KCNE 作用部位の探索

中條浩一^{1,2}, 西野敦雄³, 岡村康司⁴, 久保義弘^{1,2}(1 生理研・神経機能素子, ²総研大・生理科学, ³大阪大院・理・発生物,⁴大阪大院・医・統合生理)

(15) 画像ベースによる収縮力と細胞外電位の同時計測技術の開発

金子智行¹, 庄司 亨², 野村典正¹, 南沢 享², 安田賢二¹(1 東京医科歯科大学・生体材料工学研究所・情報分野, ²早稲田大学・先進理工学部・生命医科学科)

(16) TRPC3/C6/C7 チャネルにおける PIP2 に対するサブタイプ特異的感受性と不活性化相関

齊 郷平^{1,2}, 今井裕子¹, 岡村康司³, 井上隆司², 森 誠之²(1 九州大学・大学院歯学府・全身管理歯科, ²福岡大学・医学部・生理学,³大阪大学・医学研究科・統合生理学)

(17) 動脈管閉鎖における低浸透圧センサー Transient Receptor Potential Melastatin 3 (TRPM3) チャネルの役割

青木理加¹, 横山詩子¹, 市川泰広¹, 熊谷 駿², 南沢 享², 石川義弘¹

(1 横浜市立大学・医学研究科・循環制御医学,

²早稲田大学・先進理工学研究科・生命医科学専攻)(18) 血管内皮における P2X₄ イオンチャネルを介した流れずり応力のメカノトランスダクションと循環調節山本希美子¹, 安藤謙二²(1 東京大学・大学院医学系研究科・システム生理学, ²獨協医科大学・医学部・生体医工学)

【参加者名】

西田基宏 (九州大学・大学院薬学研究院・薬効安全性学分野), 井上隆司, 齋 郷平 (福岡大学・医学部・生理), 今泉祐治, 大矢 進, 山村寿男, 鈴木良明, 藤井将人, 鬼頭宏彰, 大城隼也, 丸山史登, 伊奈山宗典, 清田恵子, (名古屋市立大学・大学院薬学研究科), 渡邊泰秀 (浜松医科大学・医学部看護学科), 岩本隆宏, 喜多紗斗美, 堀江一郎 (福岡大学・医学部・薬理学), 赤羽悟美 (東邦大学・医学部医学科), 山本希美子 (東京大学・大学院医学系研究科), 黒川洵子, 小泉章子 (東京医科歯科大学・難治疾患研究所・生体情報薬理学分野), 久場敬司 (秋田大学・大学院医学系研究科), 松浦 博, 尾松万里子, 丁 維光 (滋賀医科大学・生理学講座), 亀山正樹, 蓑部悦子,

楊 磊, 封 瑞, 于 麗鳳 (鹿児島大学・大学院医歯学総合研究科・神経筋生理学分野), 村上慎吾 (大阪大学大学院・医学系研究科), 市川泰広, 青木理加, 熊谷 駿, 梶村いちげ (横浜市立大学・医学部), 尾野恭一, 大場貴喜, 岡本洋介 (秋田大学大学院・医学系研究科・細胞生理学講座), 南沢 享, 焦 其彬, 劉 孟佳, 上杉 健, 中井 岳, 白石翔士 (早稲田大学・先進理工学部生命医科学科), 金子智行, 野村典正, 庄司 亨 (東京医科歯科大学・生体材料工学研究所), 蒔田直昌 (長崎大学大学院・医歯薬学総合研究科), 山川裕之 (慶應義塾大学・再生医学教室), 行方衣由紀, 恒岡弥生, 濱口正悟 (東邦大学・薬学部・薬物学教室), 小野景義, 木内茂樹 (帝京大

学・薬学部・薬理学教室), 渡部 裕 (新潟大学医学部・第一内科), 池田安宏 (山口大学大学院 医学系研究科・

器官病態内科学 循環器内科学), 久保義弘, 立山充博, 中條浩一, Keceli Batu (生理研・神経機能素子)

【概要】

平成23年度11月29日(火)・30日(水)の2日間, 生理学研究所コンファレンスセンター小会議室にて研究会を開催した。本年度はコアメンバーから14題, それ以外から4題の合計18演題が寄せられた。本年度は昨年度実施された生理研研究会「イオンチャネル・トランスポーターと心血管機能・細胞機能の分子機序とその統合的理解」の流れを汲み, 臨床研究やトランスレーショナルリサーチという新しい切り口を加える試みを行った。

内容は心臓血管系のイオンチャネル・イオントランスポーター蛋白を直接の研究テーマとするもの(Caチャネル, Kチャネル, TRPチャネル, P2X₄チャネル, Na/Ca輸送体)から始まり, ヒトやマウスでの遺伝子異常による不整脈の研究, 心疾患や加齢変化での心筋細胞内Ca動態調節因子の研究, 硫化水素イオンやSTIMタンパクによる心筋細胞への役割, 血管平滑筋の収縮制御, 創薬や循環器薬物の薬理作用, 心筋線維芽細胞や非典型的の心

筋細胞など心臓の分化・再生に関する研究など, 多岐にわたった。従来のメンバーに加え, 井上隆司(福岡大学), 山本希美子(東京大学)らイオンチャネル基礎研究者と池田安宏(山口大学), 渡部 裕(新潟大学)ら臨床研究者が新たに加わったことで, より一層多角的視点から議論を行い, 基礎研究と臨床研究やトランスレーショナルリサーチとの橋渡しを図ることができた。当日の研究会には61名の参加者があり, 特に例年以上に学部生5名, 大学院生14名と若手の参加が多く, 本研究会に活気を与えていた。多くの研究者が, 従来の研究成果のみならず研究の途中経過をも含めて研究報告しており, 本研究会での議論が今後の心臓血管系のイオンチャネル・トランスポーターの統合的理解のための研究進展に役立つことが期待される。また, 本研究会を契機に新たな共同研究の実施に至ることを期待したい。

(1) カルパスタチンのL領域は, Cav1.2 Ca²⁺チャネルのカルモジュリンによる活性化部位の部分アゴニストとして働く

養部悦子, Hadhimulya Asmara, Zahangir A. Saud, 亀山正樹
(鹿児島大学・大学院医歯学総合研究科・神経病学講座・神経筋生理学)

カルパスタチン(プロテアーゼであるカルパイン阻害タンパク, CS)とカルモジュリン(CaM)は, ATP共存下でCav1.2 Ca²⁺チャネルの活性化作用を持つ。CaMはチャネルに直接作用すると考えられ, 1サイトモデルや2サイトモデルなどの仮説が提唱されているが, 統一した見解はない。CSについては, チャネル活性化作用がLドメイン(CSL)にあること以外は不明である。本研究では, モルモットの心筋Ca²⁺チャネルの活性維持における, CSとCaMの関係を調べた。Inside-outパッチモードにおいて, CSL(1-10 mM)は, CaM(1.22 mM)存在下で濃度依

存的にチャネルの活性を抑制した。この結果から, CSがCaM結合部位に対し, partial agonistとして作用することが示唆された。そこでチャネルC末端部配列のGST融合ペプチドを作成し, pull-down法とgell-shift法により, CSLの結合部位を調べたところ, CaMの結合部位でもあるIQ領域であることが判明した。また, whole-cellでの記録においても, 細胞内にCSLを付加するとチャネルの活性が低下した。よって, 生理的条件(CaM存在下)においてCSは抑制的に働き, 遊離CaMやCSの濃度変化は, チャネルの活性に影響することが示唆された。

(2) アセチルコリン感受性カリウム電流における short term desensitization の機序の検討

村上慎吾, 倉智嘉久 (大阪大学・大学院医学系研究科・薬理学講座)

アセチルコリンがムスカリン性カリウムチャネルを活性化させることで、心臓のアセチルコリン感受性カリウムチャネル電流 (I_{KACH}) は増加するが、この増加した電流は徐々に減少して数秒程度で早期の定常状態に達する。この現象は short term desensitization と呼ばれており、その機序と心臓での生理的な役割については、いまだ議論的である。実験的には、定常状態での電流成分はアセチルコリンの生理的な濃度内で飽和するが、一時的なピーク電流成分は増加し続ける。これらの特性から、我々は I_{KACH} が G 蛋白質の $\beta\gamma$ サブユニットに対する親和性が異なる 2 つの成分に分けられると仮定を置き、アセチルコ

リンによる I_{KACH} 活性化過程を数学的モデルとして構築した。構築されたモデルは様々な実験的な特性を定量的に再現した。このモデルは short term desensitization が起きるためのアセチルコリン閾値の電位依存的なシフトも予測した。この I_{KACH} 活性化モデルを洞房結節モデルに導入すると、過剰なアセチルコリンによる自発的な活動電位の停止が数秒で終わった。これらの結果より、親和性の違うチャネルが short term desensitization の機序となっており、心臓の安全のためのメカニズムとして働いていると考えられる。

(3) Na^+/Ca^{2+} 交換体とアダプター蛋白質複合体因子の相互作用

岩本隆宏, 伊豫田拓也, 堀江一郎, 喜多紗斗美 (福岡大学・医学部・薬理学)

最近、私達は 1 型 Na^+/Ca^{2+} 交換体 (NCX1) の細胞内ドメインを bait 蛋白質とした酵母 Two-hybrid スクリーニングを実施し、NCX1 がアダプター蛋白質複合体因子 (AP 因子) と相互作用することを見出した。AP 因子の GST 融合蛋白質と NCX1 細胞内ドメインの様々な領域の His タグ蛋白質を用いた GST-pull down アッセイにより AP 因子の結合部位を解析したところ、細胞内ドメインの CBD1 領域に結合することを明らかにした。一方、相同配列を有する CBD2 領域には結合しなかった。さらに、CBD1 領域内の変異解析を実施し、その結合配列を同定

した。興味深いことに、この AP 因子との相互作用は Ca^{2+} 濃度依存性であり、低 Ca^{2+} 濃度状態において結合量が増大した。CBD1 領域には制御 Ca^{2+} 結合部位が存在し、CBD1 は CBD2 と共に NCX1 の不活性化機構に関わることが知られている。また、最近の X 線結晶構造解析から、CBD1 に Ca^{2+} が結合すると NCX1 の細胞内ドメインが大きく構造変化することが示されている。そこで、AP 因子との相互作用はこの細胞内ドメインの構造変化と関連している可能性が高いと考えられた。

(4) 心臓線維芽細胞における cardiac troponin T の発現・局在の調節機構

木内茂樹¹, 下山多映², 大塚文徳², 鈴木重人¹, 上園 崇¹, 栗原順一¹, 小野景義¹
(¹帝京大学・薬・薬理, ²帝京大学・薬・環境衛生)

我々は成獣洞房結節細胞 (SANC) が心臓線維芽細胞 (GCF) を心筋細胞へ transdifferentiate させる能力を有することを見出した。一方、GCF そのものも、cTnT 等の心筋遺伝子を高発現するが、そのタンパク質は翻訳後速やかに

プロテアソームで分解されることが判明した。更に、GCF では、心筋タンパク質が核に移行し、自身の転写を抑制するフィードバック機構が備わっていることが判明した。

野生型 cTnT (WT) を HeLaS3, HepG2 及び H9c2 細胞に

それぞれ強制発現し、その細胞内での局在を比較した。結果、cTnT-WT が HeLaS3 では核に局在し、HepG2 及び H9c2 では細胞質に局在した。また、HeLaS3、HepG2 及び H9c2 では cTnT は分解されず、cTnT を翻訳直後に分解する機構は GCF に特異的であることも明らかとなった。cTnT を細胞質に局在させるために必要な因子を特定

する目的で、6 種の欠失変異体を強制発現した。核移行シグナル配列を欠く cTnT 変異体 ($\Delta 191-223$) は細胞質に局在し、tropomyosin 及び cTnI 結合ドメインを欠く変異体 ($\Delta 101-184$ 及び $\Delta 229-273$) は核に局在した。以上より、tropomyosin 及び cTnI との結合が cTnT を細胞質に局在させるのに必要であることが示唆された。

(5) Atypically-shaped cardiomyocytes (ACMs) の虚血耐性とオートファジー活性化

尾松万里子, 松浦 博 (滋賀医大・生理・細胞機能生理)

ランゲンドルフ灌流による成体マウス心室筋細胞単離の最終段階で得られた「心筋細胞を含まない分画 (cardiomyocyte-depleted fraction, CMDF)」を集めて培養したところ、枝分かれした突起を有した形態に変化するとともに自動的に拍動する細胞が出現することを見出し、atypically-shaped cardiomyocytes (ACMs) として新規に同定した。ACMs は新生仔期から老齢にいたるまで心臓に存在し、atrial natriuretic peptide (ANP) や T 型 Ca^{2+} チャンネル ($\text{Ca}_v3.2$) などの心筋胎児型遺伝子産物を発現していた。CMDF 細胞を致死的な低酸素状態に曝露した後に培養すると、拍動を開始した ACMs の数は正常酸素条件で

得られた細胞数の約 50% であった。また、単離した心臓に対して虚血・再灌流をおこなった後に細胞を調整すると、拍動する ACMs の細胞数は無処理の心臓から得られた細胞の約 90% であった。電子顕微鏡を用いて ACMs の微細構造を観察したところ、細胞内に自食泡 (autophagosome) が多数存在し、細胞膜には autophagosome 内残存物の細胞外への放出に伴う乳頭状突起 (papillae) が見られた。ACMs におけるオートファジーの恒常的活性化は、自動的拍動、ANP の発現、虚血耐性とともこの細胞の特徴の 1 つと考えられた。

(6) 脳血管内皮細胞の細胞増殖・細胞死を制御するカリウムチャンネル

鬼頭宏彰¹, 山崎大樹^{1,2}, 山村寿男¹, 大矢 進¹, 浅井清文³, 今泉祐治¹

(¹名古屋市立大学・大学院薬学研究科・細胞分子薬効解析学分野,

²京都大学・大学院薬学研究科・生体分子認識学分野,

³名古屋市立大学・大学院医学研究科・分子神経生物学分野)

脳血管内皮細胞は定常的に種々の刺激に晒されるため細胞のターンオーバーが比較的早く、そのことが血液脳関門機能維持において重要であると考えられる。我々は、脳血管内皮細胞における細胞増殖に小コンダクタンス Ca^{2+} 活性化 K^+ チャンネル (SK2) が寄与することを明らかとしており (JBC, 2008), 細胞ターンオーバーへの K^+ チャンネルの関与が示唆された。そこで本研究では、細胞増殖に加え細胞死における K^+ チャンネルの寄与を解明し血液脳関門の恒常性に対する K^+ チャンネル機能を検討した。

脳血管内皮細胞への ATP 適用は SK 活性化による過分

極を引き起こす一方で、一部の細胞では内向き整流性 K^+ チャンネル (Kir2.1) 活性化を介して、より深い過分極を誘発した。細胞増殖を抑制した無血清条件下、ATPase 適用で誘導された細胞死は Kir 阻害薬により抑制された (AJP, 2011)。さらに詳細に細胞死への Kir の寄与を検討するために、小胞体ストレス誘導性細胞死において検討した。その結果、Kir2.1 の機能発現が上昇し、ストレス誘導性細胞死に部分的に寄与することが明らかとなった (BBRC, 2011)。通常時、脳血管内皮細胞では SK と Kir2.1 のバランスが細胞数制御に深く係わり、血液脳関門維持

に寄与する。一方、病態時等に細胞ヘストレス負荷が生じると、Kir2.1 機能発現増大により、細胞死を促進する

機構の存在が示唆された。

(7) STIM1 ノックアウトマウスにおける心肥大抑制効果

大場貴喜^{1,2}, 渡邊博之¹, 伊藤 宏², 尾野恭一¹

(秋田大学・¹細胞生理学講座, ²内科学講座・循環器内科学分野)

【背景】これまで我々は心筋肥大の形成における Ca^{2+} 流入経路として transient receptor potential (TRP) チャネルの関与を報告してきた。STIM1 は TRP チャネルから構成される Ca^{2+} 流入経路の活性化因子として知られているそこで今回, in vitro および in vivo における STIM1 の心肥大への関与を報告した。

【方法と結果】新生仔ラット心筋細胞に対し Endothelin-1 による肥大刺激を 48 時間行ったところ, TRPC1 発現量, SOCE, NFAT, BNP 発現量, 細胞表面積の増加を認めたが, STIM1 の発現量に明らかな変化を認めなかった。一方 STIM1 siRNA を処置した細胞では, これらの反応は抑制されており, STIM1 ノックダウンによる心肥大抑制が示唆された。次に STIM1 hetero-knockout (KO) マウスに対

し, transverse aortic constriction (TAC) 手術を行い, 圧負荷による心不全モデルを作製した。Sham では血圧, 心拍数, 心収縮能に有意差は認めなかったが, KO では TAC による心肥大が有意に抑制された, さらには生存率の上昇も認められた。この 4 群(野生型 sham, 野生型 TAC, KO sham, KO TAC) の左心室自由壁の組織を用いて RT-PCR 解析, DNA マイクロアレイ解析, Western blot 解析を行った。その結果, KO は BNP などの胎児性遺伝子の発現量の増加がないことや, TRPC 発現量の増加が抑制されていることが示された。

【結論】心肥大の形成過程において, STIM1 と TRP チャネルが重要な働きをしていることが考えられた。

(8) Sarcalumenin ノックアウトマウスにおける心筋筋小胞体機能低下

焦 其彬¹, 竹島 浩², 石川義弘³, 南沢 享^{1,3}

(¹ 早稲田大学・先進理工学研究科・生命医科学専攻, ² 京都大学・大学院薬学研究科・生体分子認識学,

³ 横浜市立大学・医学研究科・循環制御医学)

Heart failure represents one of the major causes of morbidity and mortality in the senescent population. Impaired Ca^{2+} reuptake into the sarcoplasmic reticulum (SR) underlies a primary pathogenesis of heart failure in the aging heart. Sarcalumenin (SAR), a Ca^{2+} -binding protein located in the longitudinal SR, regulates Ca^{2+} reuptake by interacting with cardiac SR Ca^{2+} -ATPase (SERCA2a). We found that the expression levels of both SAR and SERCA2 proteins were downregulated in an age-dependent manner and that downregulation of SAR protein preceded downregulation of SERCA2 protein. The expression levels of SERCA2 and other Ca^{2+} handling proteins were significantly decreased in

senescent SARKO mice. Senescent SARKO mice exhibited several typical findings of heart failure such as increased sympathetic activity, impaired exercise tolerance, and upregulation of biomarkers of cardiac stress. We also found that the expression levels of endoplasmic reticulum (ER) degradation enhancing α -mannosidase-like protein, inositol requirement 1, and x-box binding protein 1 mRNAs were significantly increased in senescent SARKO mice, indicating that senescent SARKO mice exhibited ER stress. Thus the present study uncovered the important role of SAR in maintaining Ca^{2+} transport activity of SERCA2a and cardiac function in the senescent population.

(9) 心筋内 Ca 循環とリン酸化異常を標的とした心不全の遺伝子治療

池田安宏 (山口大学・大学院医学系研究科・器官病態内科学)

【背景】我々は、心不全でみられる Ca 循環制御蛋白のリン酸化異常に着目し、その原因と考えられる Protein phosphatase 1 (PP1) の活性を調節する心不全治療ができないかどうか研究を重ねてきた。末期心不全では PP1 β が著明に発現が上昇する (Aoyama et al Cardiovasc Res 2011) が、本研究では、心不全特異的 PP1 β 遺伝子抑制が心筋症マウスの心機能を改善しうるかどうかを検討した。

【方法】BNP プロモーターで誘導され PP1 β shRNA を発現するアデノ随伴ウイルスベクター (AAV9 BNP EmGFP PP1 β shRNA) を作成し、尾静注で遺伝子導入を行った。3 ヶ月後に心エコーによる心機能評価を行い、左室内圧測定、蛋白発現レベルとリン酸化状態の解析を行った。

【結果】遺伝子導入効率は約 20%、ウエスタンブロッティン

グで行った PP1 β 遺伝子抑制効率は 24% であった。BNP プロモーターで誘導された GFP は心筋以外には発現しておらず、心筋特異的かつ心不全特異的に遺伝子導入が可能であった。PP1 β 遺伝子抑制群では遺伝子導入 3 ヶ月後での %FS の改善がみられた。また左室内圧の解析では PP1 β 抑制群で negative dP/dt と Tau の改善がみられた。さらにリン酸化解析では PP1 β 遺伝子抑制群において Ser16-Phospholamban (PLN) のリン酸化レベルの上昇がみられ、心筋内に発現する BNP は減少していた。

【結論】心不全特異的な遺伝子導入に成功した。不全心での PP1 β 発現上昇を抑制することで心筋症マウスの心機能を改善させることができ、心不全の有望な治療標的になり得る可能性があると考えられた。

(10) 硫化水素イオンによる心臓リモデリング抑制の分子機構

西田基宏 (九州大学・大学院薬学研究院・薬効安全性学分野)

硫化水素 (H_2S) は、NO や CO に続く第 3 の内因性ガスメディエーターとして注目を集めている。高血圧や虚血などの負荷により生じる心臓の形態構造改変 (リモデリング) に酸化/ニトロ化ストレスが関与すること、およびこの過程に誘導型 NO 合成酵素が関与することも示されている。 H_2S は酸化ストレス障害を抑制することで虚血性心不全を改善させると考えられているものの、その詳細な分子機構についてはわかっていない。本研究では、心臓リモデリングにおける NO シグナリングの役割および H_2S の保護効果の分子機構について解析を行った。心筋梗塞 4 週間後および圧負荷 6 週間後の肥大心臓において、NO が核酸と反応することで生じる親電子物質 (8-nitro-cGMP) の顕著な量的増加が観察された。8-nitro-cGMP の蓄積は NaHS 投与により完全に抑制され

た。ラット新生児心筋細胞に 8-nitro-cGMP を刺激すると、H-Ras の活性化に依存して細胞老化が誘導された。8-nitro-cGMP は H-Ras の Cys184 残基を修飾 (S-グアニル化) すること、および H-Ras の Cys184 をセリンに置換することで、8-nitro-cGMP 刺激による細胞老化が有意に抑制された。さらに、 H_2S 処置により 8-nitro-cGMP を介した H-Ras の活性化および細胞老化が完全に抑制され、心筋梗塞後の心拡張および心機能低下も有意に改善された。 H_2S の酸解離定数 (pKa) は 6.7 と低く、pH7.4 の培養液中では H_2S の 80% 近くが SH^- として存在する。そのため、 H_2S はガスではなく、求核性の高いイオン (SH^-) として親電子物質を消去することにより酸化ストレス障害を軽減しうることが示された。

(11) 早期再分極を伴った特発性心室細動の遺伝子解析と機能解析

蒔田直昌¹, 渡部 裕²¹長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・内臓機能生理学,²新潟大学・医学部・循環器内科)

これまで良性の心電図所見とみなされていた J 波は、心室細動 (VF) のリスクを伴う早期再分極症候群 (ERS) として注目されている。ERS の一部には、KATP チャネルや L 型 Ca チャネルの遺伝子変異が報告されているが、多くの症例では原因不明である。我々は、VF の既往があり下壁・側壁誘導に J 波をもつ 50 人の ERS (男性 44 人、平均年齢 45 歳) の心電図解析と遺伝子解析を行った。Brugada 症候群は Pilsicainide 負荷試験で除外した。ERS 群は心拍数が有意に低く、PR 時間 QRS 時間とも延長しており、伝導障害の存在が示唆された。3 人に SCN5A 変

異 (A226D, L846R, R367H) が同定された。変異チャネルを tsA201 細胞にトランスフェクションし、whole cell patch clamp で Na 電流を測定したがすべて無機能だった。共焦点顕微鏡では A226D に trafficking 異常が観察された。これらの変異はいずれもチャネルの主要構造である S4, S5, および S5-S6 ループに存在しており、変異による構造変化によって機能が消失したと思われるが、A226D はさらに trafficking 異常も有していた。ERS の病態には心筋 Na チャネルの機能低下にともなう伝導障害が関与していると考えられた。

(12) His-Purkinje 系特異的転写因子の遺伝的欠失は、マウスで J wave 症候群類似の表現型を示す

小泉章子¹, 笹野哲郎², 黒川洵子¹, 木村 航³, 三浦直行³, 古川哲史¹¹東京医科歯科大学・難治疾患研究所・生体情報薬理学分野,²東京医科歯科大学・循環器内科, ³浜松医科大学・医学部・生化学第二講座)

【背景】心電図で下方・側方誘導で異常 J 波が記録され、特発性心室細動を引き起こす例を J wave 症候群 (JWS) という。異常 J 波は特発性心室細動の 3 割-6 割に見られ、健常者の 1-2% にも記録される。心筋梗塞急性期の心室頻拍 (VT) 発生との関連も示唆されているが、その発生機序は不明である。我々は His-Purkinje 系 (HPS) に特異的に発現する転写因子 KO マウスを用いて解析を行った。

【方法】体表面および心内心電図を KO および WT で記録した。サブグループとして薬剤・運動負荷、心筋梗塞 (MI) モデルで検討し、さらに免疫組織染色および RT-PCR にて比較した。

【結果】KO マウスでは、心電図で有意に J 波高の増高を

認め、J 波は 30℃の低体温により有意に増高した。KO マウスで認めた現象として、安静時および負荷心電図での高度房室ブロック (AVB) や非持続性 VT、心内心電図で His 束-QRS 終末幅の有意な延長、心筋梗塞モデルでの持続性 VT であった。免疫組織染色および RT-PCR において、KO において有意に心内膜側の connexin40 の発現低下を認め、connexin43 は変化がなかった。

【考察】HPS 特異的な伝導障害モデルマウスにてにおいて、J 波の増高、低体温による J 波高の増大、MI 後の持続性 VT など JWS にきわめて類似した表現型が見られ、今後の JWS のメカニズム解明に役立つと考えられる。

(13) SCN5A D1275N 変異チャネルの心筋細胞と培養細胞での機能解析結果の違い

渡部 裕¹, Tao Yang², Dina M. Stroud², John S. Lowe², Thomas C. Atack², Dao W. Wang², Susan B. Hipkens², Brenda Leake², Lynn Hall², Sabina Kupersmidt², Nagesh Chopra², Mark A. Magnuson², Björn C. Knollmann², Alfred L. George², Jr, Dan M. Roden², Louise Harris³, 田邊直仁⁴
(¹新潟大学・大学院医歯学総合研究科, ²バンダービルト大学・臨床薬理学教室,
³トロント大学・循環器学教室, ⁴新潟県立大学・人間生活学部・健康栄養学科)

【背景】ナトリウムチャネル遺伝子 (SCN5A) D1275N 変異は心臓伝導障害, 心房性並びに心室性不整脈といった様々な不整脈と拡張型心筋症に関係する。しかし, 培養細胞に発現させた機能解析において D1275N 変異チャネルによるナトリウム電流はほとんど異常を示さない。このため D1275N 変異が臨床像を来す機序は明らかではない。【方法と結果】我々は D1275N 変異を洞機能不全, 心房粗動, 心房静止ならびに心臓伝導障害を有する症例において同定した。CHO 細胞並びに tsA201 細胞における機能解析では, $\alpha 1$ サブユニットの有無にかかわらず D1275N チャネル電流特性は野生型 SCN5A チャネルとほぼ同様であった。そこで *in vivo* での D1275N チャネルの機能を検討するために, 我々はマウスの *Scn5a* の代わりに野生型 (H) ないしは D1275N (DN) ヒト SCN5A を発現するマ

ウスを作成した。DN アレルを発現しているマウスは伝導障害, 房室ブロック, 心房細動, 心室頻拍ならびに拡張型心筋症を来した。ナトリウムチャネル蛋白量は DN/DN マウス, DN/H マウス, H/H マウスの順に減少していた。心室筋細胞におけるナトリウムチャネルの免疫染色では, DN アレルは細胞膜表面の発現量の低下に関係していた。単離心室筋細胞における電気生理検査では, 活動電位間隔は DN/DN マウス, DN/H マウス, H/H マウスの順に延長し, ナトリウム電流は DN/DN マウス, DN/H マウス, H/H マウスの順に減少していた。

【結語】D1275N 変異は培養細胞では大きなナトリウム電流の異常を示さなかったが, マウス心筋細胞では著明な異常を来した。

(14) ホヤ KCNQ1 チャネルを用いた KCNE 作用部位の探索

中條浩一^{1,2}, 西野敦雄³, 岡村康司⁴, 久保義弘^{1,2}
(¹生理研・神経機能素子, ²総研大・生理科学, ³大阪大院・理・発生物, ⁴大阪大院・医・統合生理)

KCNQ1 チャネルはさまざまな臓器で発現する電位依存性 K^+ チャネルであるが, 1 回膜貫通型修飾サブユニット KCNE の種類によってその性質を大きく変える。心臓では KCNQ1 と KCNE1 がイオンチャネル複合体を作ることで I_{Ks} と呼ばれる非常にゆっくりとしたゲーティングを持つ電流を担っているが, 一方で腸などでは KCNQ1 と KCNE3 が複合体を構成しており, 電位依存性を失った常時開状態の K^+ チャネルを構成している。

カタウレイボヤ (*Ciona intestinalis*) のゲノムには 2 種類の KCNQ 遺伝子が存在するが, KCNE の遺伝子は存在しない。そこでホヤの KCNQ1 ホモログである

Ci-KCNQ1 をクローニングし, その電流を解析した結果, Ci-KCNQ1 は哺乳類の KCNE による修飾が正常に機能しないことがわかった。そこでヒト KCNQ1 と Ci-KCNQ1 のキメラを作成し, KCNE の作用部位について検討したところ, KCNE1 にとってはポア領域 (S5-S6 セグメント) のいくつかの疎水性アミノ酸が重要であるが, KCNE3 にとっては電位センサードメインの一部である S1 セグメント上のフェニルアラニン残基が重要であることがわかった。KCNE の種類によって大きく異なる修飾機構は, KCNQ1 に対する作用部位の違いによって説明できることを示唆している。

(15) 画像ベースによる収縮力と細胞外電位の同時計測技術の開発

金子智行¹, 庄司 亨², 野村典正¹, 南沢 享², 安田賢二¹(¹ 東京医科歯科大学・生体材料工学研究所・情報分野, ² 早稲田大学・先進理工学部・生命医科学科)

薬剤スクリーニングにおいて心臓への毒性の有無は重要な検査項目となっている。これまで、*in vitro* のアッセイ系では hERG アッセイやモルモット乳頭筋の活動電位での測定が行われているが、最近ではヒト ES 細胞や iPS 細胞から分化した心筋細胞を用いた細胞外電位の計測が行われている。さらに、電位計測だけではわからない心筋細胞の収縮能・弛緩能に及ぼす影響についても注目されつつある。そこで我々は細胞外電位と同時に画像ベースでの心筋細胞の収縮・弛緩を測定できるデュアル計測システムを開発した。

マウス胎児の心臓からコラゲナーゼを用いて単離した心筋細胞をアガロース加工した多電極基板上に播種し、心筋細胞の直線モデルを作製した。培養 3 日目にデュアル計測システムで、画像ベースによる心筋細胞の収縮・

弛緩と細胞外電位を同時計測した。細胞外の電位変化と実際の心筋細胞の拍動をリンクして解析することにより、細胞外電位と拍動の相関関係が明らかとなった。次に、薬剤の応答反応を測定するために、カルシウムチャネル阻害薬を加え、細胞外電位から解析した Interspike interval (ISI) は濃度依存的に短縮した。心筋細胞の収縮力も同様に濃度依存的に減少し、細胞外電位は発生しているにもかかわらず、拍動が停止する現象も観察された。これらのことから、デュアル計測システムは細胞外電位の計測だけでは不明であった心筋細胞の拍動の様子を同時に計測可能なシステムであり、心筋収縮・弛緩のアッセイ系として利用でき、さらに電気生理と組み合わせることにより詳細なメカニズム解明やスクリーニング系として利用できる可能性が示唆された。

(16) TRPC3/C6/C7 チャンネルにおける PIP2 に対するサブタイプ特異的感受性と不活性化相関

齊 郷平^{1,2}, 今井裕子¹, 岡村康司³, 井上隆司², 森 誠之²(¹ 九州大学・大学院歯学府・全身管理歯科, ² 福岡大学・医学部・生理学,³ 大阪大学・医学研究科・統合生理学)

TRPC3/C6/C7 チャンネルは血管平滑筋の収縮を制御し、血圧調整に関与するカチオンチャンネルである。これらのチャンネルは G 蛋白質共役型受容体などの活性化に伴い、ホスホリパーゼ C (PLC) の働きにより、ホスホイノシチドの一種である P I(4,5) P2 (PIP₂) から産生されるジアシルグリセロール (DAG) によって活性化される。我々はホスホイノシチドの役割について電位作動性ホスホイノシチドホスファターゼ (DrVSP) を用いた検討を行った。その結果、C3/C6/C7 チャンネルそれぞれにおいて DrVSP の活性化 (PIP₂ 枯渇) に伴う抑制 (VMI) が共通して認められた。しかし、その抑制強度、出現・回復時間はサブタイプ別に異なり、C7>C6>C3 の順であった。また、ム

スカリン性受容体 (M1R) を過剰発現させ、PLC を強く活性化すると、DrVSP による抑制 (VMI) とほぼ同様の順でチャンネル活性が速く不活性化 (減衰) された。このことから VMI と受容体刺激による不活性化の関連性を見出した。

また、FRET (蛍光共鳴エネルギー移動) を用いた PIP₂ と TRP 電流の同時測定を行なった。この結果、PIP₂ 枯渇に対する感受性がチャンネルごとに異なることで、カチオン (カルシウムなど) 流入に差を生じるだけでなく、グローバルな PIP₂ 枯渇の程度にも差異を生じることなどが示唆された。

(17) 動脈管閉鎖における低浸透圧センサーTransient Receptor Potential Melastatin 3 (TRPM3) チャンネルの役割

青木理加¹, 横山詩子¹, 市川泰広¹, 熊谷 駿², 南沢 享², 石川義弘¹

(¹ 横浜市立大学・医学研究科・循環制御医学,

² 早稲田大学・先進理工学研究科・生命医科学専攻)

生後の動脈管閉鎖を促進する環境因子として酸素分圧や pH の変化などが知られている。我々は出生前後の血清浸透圧の変化に注目し、先行実験でラット新生仔およびヒト新生児（在胎 24-35 週児）において生後一過性に血清浸透圧が低下することを明らかにした。本研究では、生後の血清浸透圧の低下が、浸透圧センサーである TRPM (Transient Receptor Potential Melastatin) 3 チャンネルを介して動脈管の収縮を促進するという仮説を立て、検討を行った。

ラット動脈管では TRPM3 mRNA が大動脈と比較して高発現し (2.9 倍, $n=5$, $p<0.001$), TRPM3 蛋白の発現を認めた。ラット血管を用いた張力実験において低浸透圧刺激 (270 および 250mOsm/kg) により動脈管張力は有意に増加した (KCl の 17.4%, 29.8% $p<0.01$, $n=8$)。さらに、

TRPM3 刺激薬 Pregnenolone Sulphate により、動脈管血管張力は増強した ($n=6$, $p<0.001$)。fura2 を用いた細胞内カルシウム濃度 $[Ca^{2+}]_i$ 測定において低浸透圧刺激により動脈管平滑筋細胞では $[Ca^{2+}]_i$ は上昇したが大動脈平滑筋細胞では変化しなかった (動脈管細胞で 340/390 比が 1.81 ± 0.16 から 2.44 ± 0.25 へ増加)。siRNA を用いて TRPM3 の発現を抑制すると低浸透圧刺激による動脈管平滑筋細胞の $[Ca^{2+}]_i$ の上昇は 54%抑制された ($n=6$, $p<0.01$)。また、高濃度食塩水を腹腔内投与し高浸透圧刺激をしたラット新生仔では、動脈管収縮が 53%抑制された ($n=5$, $p<0.001$)。一方、ラット胎仔に対する TRPM3 刺激薬 Pregnenolone Sulphate 投与では動脈管の収縮がみられた ($n=9$, $p<0.05$)。

これらの結果より生後の血清浸透圧の低下は TRPM3 を介して動脈管収縮を促進すると考えられた。

(18) 血管内皮における P2X₄ イオンチャンネルを介した流れずり応力のメカノトランスダクションと循環調節

山本希美子¹, 安藤譲二²

(¹ 東京大学・大学院医学系研究科・システム生理学, ² 獨協医科大学・医学部・生体医工学)

血管内面を一層に覆う血管内皮細胞 (ECs) には血流に起因する流れずり応力が作用し、血管の機能を調節している。以前我々はヒト肺動脈内皮細胞 (HPAECs) にずり応力を負荷すると、内因性 ATP が細胞外へ放出され、細胞膜に発現する ATP 受容体である P2X₄ の活性化を介して細胞内へカルシウム (Ca^{2+}) を流入させる情報伝達経路が存在し、一酸化窒素の産生や血圧の調節、血流依存的な血管拡張反応やリモデリングなど、循環機能を調節していることを明らかにした。本研究では、ずり応力依存的な ATP 放出が細胞のどこから起こるかを検討する為に、遺伝子工学的に合成したバイオチン化ルシフェラーゼ蛋白を細胞膜に結合し、細胞外に放出した ATP により細胞表面で発生する化学発光をリアルタイムで画像化し

た。

ルシフェラーゼ蛋白でラベルした HPAECs に ATP を作用させると、濃度依存的に化学発光量が増大し、本方法の定量性が確認された。そこで、HPAECs にずり応力を作用させると、直後に細胞の辺縁局所に高濃度の ATP が観察された。灌流液にデキストランを加えて粘性を増加させると化学発光量も増大したことから、ATP 放出はずり応力依存的であることが示唆された。ATP 放出局所とカベオラのマーカー蛋白である caveolin-1 の発現部位を比較した所、両者が良く一致していることが確認された。また、同じ細胞に Ca^{2+} 蛍光指示薬である Fluo4 を負荷し、ずり応力に伴う Ca^{2+} 反応を測定した所、ATP 放出局所と Ca^{2+} 波の発火部位が一致し、さらに、ATP 放出が

Ca^{2+} 反応に先行して起こることが明らかになった。以上の結果から P2X_4 を介するずり応力依存的な Ca^{2+} 反応に、

カベオラから起こる ATP 放出が重要な役割を果たしていると考えられる。

3. 作動中の膜機能分子の姿をとらえるー静止画から動画へー

2011年9月8日ー9月9日

代表・世話人：相馬義郎（慶應義塾大学・医学部）

所内対応者：久保義弘（生理研・神経機能素子）

- (1) ヒダントイン輸送体 Mhp1 の基質輸送中の動き

島村達郎, 岩田 想（京都大学大学院医学研究科）

- (2) リン酸アナログによる Na/K pump-channel の細胞質側ゲーティング制御

竹内綾子^{1,2}, David C Gadsby²（¹京大院・医・細胞機能制御, ²米ロックフェラー大）

- (3) 大腸菌機械受容チャネル MscL の開口過程における構造変化と水の役割に関する分子動力学的解析

澤田康之¹, 曾我部正博^{2,3}（¹名大院・医・DC4, ²名大院・医, ³JST・ICORP/SORST）

- (4) 電位依存性ホスファターゼ VSP の作動原理：基質特異性とオルソログ分子の解析

黒川竜紀, 坂田宗平, 岡村康司（大阪大学医学系研究科統合生理学）

- (5) 内向き整流性カリウムチャネルの開閉を支える構造的要因

稲野辺厚（大阪大学大学院医学系研究科薬理学講座）

- (6) イオン透過におけるイオンー水分子間, イオンーイオン間相互作用について

老木成稔, 岩本真幸, 炭竈享司, 三田建一郎（福井大学医学部分子生理）

- (7) プロトンポンプとプロトンチャネル：proton flux による起電力と pH 変動

久野みゆき, 森浦芳枝, 川脇順子, 日野佳子, 酒井 啓

（大阪市立大学大学院医学研究科分子細胞生理学）

- (8) 大気圧電顕による水中免疫ラベルと透過電顕単粒子解析によるタンパク質ダイナミズムの解析

三尾和弘¹, 丸山雄介¹, 西山英利², 須賀三雄², 佐藤主税¹（¹産業技術総合研究所, ²日本電子）

- (9) EGF 受容体の 1 分子動態と会合体形成メカニズム

廣島通夫, 佐甲靖志（理化学研究所・基幹研究所）

- (10) 微生物ロドプシンタンパク質における特異な光異性化反応

須藤雄気^{1,2}, 本間道夫¹（¹名古屋大学大学院理学研究科, ²JST・さきがけ）

- (11) 膜タンパク質の隠されたダイナミクスを見るー過渡回折格子法と光受容タンパク質

井上圭一, 神取秀樹（名古屋工業大学・工学研究科）

- (12) 光学顕微鏡技術で解き明かす分子モーターの作動原理

西坂崇之, 政池知子, 須河光弘（学習院・物理）

- (13) 高速 AFM による膜タンパク質の動態観察

山下隼人¹, 柴田幹大¹, 内橋貴之¹, 井上圭一², 神取秀樹², 安藤敏夫¹

（¹金沢大学, ²名古屋工業大学）

- (14) ATP 結合および ATP 加水分解により誘起される ABC トランスポーターの構造とダイナミクス変化

櫻井 実, 萩谷朋佳, 渡辺百合香, 古田忠臣（東京工業大学 バイオ研究基盤支援総合センター）

- (15) CFTR チャネルにおける NBD エンジンとチャネルゲート間のルーズカップリング

相馬義郎¹, T.-C. Hwang²（¹慶應義塾大学・医, ²米国ミズーリ大学・医）

【参加者名】

佐甲靖志, 廣島通夫（理化学研究所・基幹研究所）, 竹内綾子（京都大学大学院・医学研究科）, 須藤雄気（名古屋

大学・大学院理学研究科）, 稲野辺厚（大阪大学大学院・医学系研究科）, 久野みゆき（大阪市立大学・大学院医学

研究科), 岡村康司, 藤原祐一郎, 黒川竜紀 (大阪大学・医学系研究科), 山下隼人 (金沢大学・理工研究域), 櫻井 実, 古田忠臣 (東京工業大学・バイオ研究基盤支援総合センター), 島村達郎 (京都大学大学院・医学研究科), 相馬義郎 (慶應義塾大学・医学部), 行武良哲 (慶應義塾大学・医学部), 曾我部正博, 澤田康之 (名古屋大学大学院・医学系研究科細胞情報医学専攻), 老木成稔, 岩本真幸, 炭竈享司, 三田建一郎 (福井大学医学部・分子生理), 佐藤主税, 三尾和弘 (産総研・バイオメディカル研究部

門), 神取秀樹, 井上圭一, 片山耕大, 佐々木賢吾, 福田哲也 (名古屋工業大学・大学院工学研究科), 西坂崇之 (学習院大学・理学部), 本間道夫 (名古屋大学・大学院理工学部), 中川 大 (中部大学・応用生物化学科), 古谷祐詞, 木村哲就, 塚本寿夫 (分子科学研究所・生命・錯体分子科学研究領域), 内田邦俊 (統合バイオ・細胞生理), 久保義弘, 立山充博, 中條浩一, Keceli Batu, (生理学研究所・神経機能素子)

【概要】

今年度第3回目にあたる平成23年度生理学研究所研究会「作動中の膜機能分子の姿を捉えるー静止画から動画へー」は、予定通り2010年9月8日(木)・9日(金)の2日間にわたって行われた。参加者は計38名、発表演題数は15題であり、一演題あたり約40分間の発表・討論時間を確保した。

本研究会のテーマである作動中の膜機能分子の「姿を捉える」とは、単に分子構造を解くことを意味するのではなく、対象分子の動的構造変化を強く意識した機能研究も、本研究会の非常に重要な構成要素である。最終年度となる今年度も、結晶構造解析の専門家から電気生理学者まで幅広い分野にわたる研究者が一堂に会して、各自の「姿を捉える」測定技術およびそれによって捉えられた「膜機能分子の姿」を静止画から動画への展開を目指すというコンセプトのもとに最新の研究成果の発表・討論がおこなわれた。

今年度の参加人数および演題数はほぼ昨年と同じであったが、本年はそのうち約半数の8演題が新規の内容のものに置き換わった。新規の演題としては、ヒダントイン輸送体 Mhp1 の外向き、内向きおよびそれらの中間状態(両閉じ)の3状態の結晶構造の解明、リン酸アナ

ログを用いた $\text{Na}^+\text{-K}^+$ pump の細胞内側ゲートの開閉メカニズム、過渡回折格子法を用いたロドプシンの新しい中間体の発見、独自の光学顕微鏡を用いた分子モーターの微小構造変化の検出技術、高速 AFM を用いた機能分子の膜中における集散と1分子の構造・機能の変化の関連性の可視化など、それぞれの研究分野における最新かつ重要な研究内容の発表が行われた。また、昨年度と同じテーマの発表においても、それぞれこの1年間になされた進歩についての発表が行なわれた。

本研究会での各発表は、測定法の観測パラメータの違い、空間・時間分解能および測定可能環境条件の違い、研究の対象とする機能分子の違い、さらに捻れや回転などの対象分子の運動様式の違いなど、多くの違いがあったが、同じ膜機能分子の動作機構の研究を行っている研究者同志で活発な討議がなされ、時間的・空間的に非常に広範のスケールでさまざまな膜機能分子の動作機構についての最新の知見を、参加者一同が共有することができた。懇親会においても和やかな雰囲気の中にも熱心な議論が続き、本研究会を成功裡に終えることができた実感した。

(1) ヒダントイン輸送体 Mhp1 の基質輸送中の動き

島村達郎, 岩田 想 (京都大学大学院医学研究科)

輸送体は、膜を隔てた物質の取り込み/排出を行う膜蛋白質である。各種輸送体は、Alternating Access Model という共通の輸送機構で輸送を行う。このモデルでは、輸送体の中央部分に基質結合部位が存在し、この部位が膜

の両側に交互に開閉し輸送を行うとされている。

Microbacterium liquefaciens 由来の Mhp1 は、Na イオンの濃度勾配を駆動力とし、ヒダントインを細胞内へ輸送する二次性能動輸送体である。我々は、Mhp1 を用いて、

Alternating Access Model における「外向き構造」, 「閉じた構造」, 「内向き構造」を X 線結晶構造解析により決定し, 更に分子動力学計算も行い, Mhp1 がどのように動いて基質を輸送するのかを明らかにした。

構造を解いた結果, 最初の 10 本 (TM1~TM10) の膜貫通ヘリックスが基質の輸送に関与し, 更に, N 末端の 5 本 (TM1~TM5) と次の 5 本 (TM6~TM10) が同様な構造を維持しながら疑似二回対称性を保ち配置されているこ

とが分かった。そして, TM1, TM2, TM6, TM7 からなる “bundle motif” に対し, TM3, TM4, TM8, TM9 からなる “hash motif” が剛体として動くことで, Mhp1 は外向き構造から内向き構造へ変化し, 基質を輸送していることが分かった。Mhp1 の構造解析から明らかとなった基質輸送時の構造変化は, 類似の構造を持つ他の輸送体でも同様であると考えられた。

(2) リン酸アナログによる Na/K pump-channel の細胞質側ゲーティング制御

竹内綾子^{1,2}, David C Gadsby² (¹京大院・医・細胞機能制御, ²米ロックフェラー大)

Na/K ポンプを介したイオン輸送は, 細胞膜内外からイオン結合部位に至る通路が交互に開閉するコンフォメーション変化により起こる。即ち Na/K ポンプは 2 つのゲートが交互に開閉する一種のイオンチャネルと捉えられる。両ゲートはパリトキシン毒素 (PTX) が作用すると同時に開口し, ポンプは非選択的陽イオンチャネルへと変化する。PTX 結合型 Na/K ポンプチャネルは, 細胞外ゲートが大きく開いた E2P と呼ばれるリン酸化状態に準じた構造をとると考えられている。一方, 結晶構造解析から, Na/K ポンプと同一ファミリーに属する SERCA Ca ポンプが安定した E2P 型構造をとるためには, リン酸アナログ BeF_xが必要であることが知られる。従って BeF_xは, PTX 結合型 Na/K ポンプチャネルにおいても E2P 型構造

の安定化に寄与すると予想される。そこで, リン酸アナログと PTX 結合型 Na/K ポンプの相互作用を詳細に調べた。

BeF_x存在下では PTX による Na/K ポンプチャネルの開口が完全に抑制された。また, PTX 結合型 Na/K ポンプチャネルは, BeF_xの添加により速やかに閉じた。この効果は Na/K ポンプの細胞質側ゲートの開口確率の増大に応じて弱くなったことから, BeF_xは Na/K ポンプの細胞質側ゲートを制御することが示唆された。これらの結果から, リン酸アナログ BeF_xは, 細胞外側ゲートの開口ではなく細胞質側ゲートを固く閉じることで, Na/K ポンプをはじめとする P 型 ATP アーゼファミリーに属するポンプの E2P 型構造の安定化に寄与することが推察された。

(3) 大腸菌機械受容チャネル MscL の開口過程における構造変化と水の役割に関する分子動力的解析

澤田康之¹, 曾我部正博^{2,3} (¹名大院・医・DC4, ²名大院・医, ³JST・ICORP/SORST)

大腸菌機械受容チャネル MscL は, 細胞膜に発生した張力を直接感受して活性 (ゲーティング) するイオンチャネルである。MscL はホモ 5 量体であり, それぞれのサブユニットには 2 つの膜貫通 α -ヘリックス (TM1, TM2) を有し, 閉状態の 3D 構造が解かれている。MscL のゲーティングに関して残された課題は, MscL の張力受容部位の同定と, それに続くゲート開口機構の解明である。本研究では, 原子・分子レベルでの解析が可能な分子動

力学 (MD) シミュレーションを用いて, 脂質膜内に埋め込まれた MscL の閉状態モデルに対して張力を膜内に発生させて開口を誘発させ, その開口挙動を解析した。開口時の MscL タンパクと周辺の脂質分子との相互作用エネルギーを計算した結果, 脂質膜面と接している TM2 ヘリックス内のアミノ酸残基のうち, 脂質膜外葉の油水界面に位置する F78 のみが特に強い相互作用を示すことが分かり, これを張力感知部位の最終候補とした。また,

5つのTM1ヘリックスが互いに交差してポアを形成しているが、その最狭部（ゲート）は閉口時には疎水性相互作用によってロックされている。開口時には、F78が円周方向に引っ張られることで膜貫通ヘリックスが傾斜し、それに伴ってゲートが徐々に広がる様子が観察された。

その際、疎水ロックはゲートを形成するアミノ酸残基の骨格部位と水分子の水素結合が形成され、その結果疎水ロックが解除された。それにより水分子のゲートへの浸入が可能となり、一気に水分子の透過が起きた。

(4) 電位依存性ホスファターゼ VSP の作動原理：基質特異性とオルソログ分子の解析

黒川竜紀，坂田宗平，岡村康司（大阪大学医学系研究科統合生理学）

Voltage sensing phosphatase (VSP) は、電位依存性チャネルの電位センサードメインと相同性が高い膜貫通領域と、ガン抑制タンパク質 PTEN と相同性を示すホスファターゼ領域から構成されている⁽¹⁾。PTEN は、PI(3, 4, 5)P₃ の3位のリン酸基を脱リン酸化するが、PI(4, 5)P₂ を基質にすることはできない。一方、これまでのホヤ由来の Ci-VSP の研究から、VSP は細胞膜の脱分極により、PI(3, 4, 5)P₃ と PI(4, 5)P₂ の5位のリン酸基を脱リン酸化することが示されており^(2,3)、PTEN が3' 特異的ホスファターゼであるのに対して VSP は5' 特異的ホスファターゼであると信じられてきた。そこで VSP の基質特異性を PTEN と比較して調べるために、アフリカツメガエルの卵母細胞に全長の Ci-VSP と PI(3, 4)P₂ と特異的に結合することが出来る TAPP の PH ドメインと GFP の融合タンパク質 TAPP-PH-GFP を共発現させ、脱分極に伴う細胞内の PI(3, 4)P₂ のレベルを解析した。脱分極により、TAPP-PH-GFP の蛍光強度が減少する場合があることが

示された。このことは、VSP は PI(3, 4)P₂ の3位を脱リン酸化する能力があることを示している。ホヤ以外の VSP オルソログ分子でも PI(3, 4)P₂ を基質にすることが明らかになり、VSP に共通する特性であると考えられる。また最近、大阪大学蛋白質研究所との共同研究により、Ci-VSP のホスファターゼ領域の X 線結晶構造解析に成功し、PTEN との分子構造の比較が可能になった⁽⁴⁾。こうした立体構造を基盤とした VSP の基質特異性のメカニズムについて議論を行なった。

(1) Murata Y et al: Nature (2005) 435: 1239-1243.

(2) Murata Y and Okamura Y: J. Physiol. (2007) 583: 875-889.

(3) Iwasaki H et al: Proc. Natl. Acad. Sci. USA (2008) 105: 7970-7975.

(4) Matsuda M et al: J. Biol. Chem. (2011) 286: 23368-23377.

(5) 内向き整流性カリウムチャネルの開閉を支える構造的要因

稲野辺厚（大阪大学大学院医学系研究科薬理学講座）

内向き整流性カリウム (Kir) チャネルは静止膜電位の形成、細胞の興奮性の制御に機能する。Kir チャネルは4つのサブユニットから構成され、それぞれのサブユニットは2つの機能ドメイン（膜貫通領域と細胞質領域）の形成に寄与する。Kir チャネルは様々な細胞質内の低分子や蛋白質によって活性が制御されるリガンド作動性イオンチャネルであり、その細胞質領域はこれら制御分子の結合部位として機能する。そのため、細胞質領域で生

じる構造変化は、膜貫通領域におけるゲートの開閉調節に極めて重要であるが、その詳細は未だ不明な点が多い。

Kir チャネルは細胞質側から Cd²⁺などの重金属を含むチオール修飾剤によって活性が抑制される。無機重金属は他のチオール修飾剤と比して占有体積が小さいため、チャネルの構造変化に対して最小限の効果で、チャネルを抑制していると考えられた。そこで、我々は Cd²⁺をプローブとして、Kir チャネルのゲート調節に関与する構

造的要因の検討を行った。

まず G 蛋白質制御 Kir チャネル分子 Kir3.2 中の細胞質に露出する 4 つの Cys のうち、 Cd^{2+} による抑制に関与する Cys の同定を試みた。4 つの Cys のうち 3 つに変異を導入した 4 種類の変異体の機能解析を行い、細胞質領域中に Cd^{2+} に対して高親和性の Cys65 と低親和性の Cys321 を同定した。次に Kir3.2 の細胞質領域と Cd^{2+} の共結晶を作製し、両者の結合状態の解明を試みた。結晶構造中には一つのサブユニットにつき一つの Cd^{2+} と推定される強い電子密度の peak が観察された。Cys65 のチオール基を含む N 末端や C 末端のアミノ酸と水が peak と共に 6 配位錯体として結合していることが判った。Cys65 は Kir チャネル間で高く保存されている。そのため、 Cd^{2+} と Kir チャネルの高親和性結合の分子基盤がこの 8 面体型錯体の形成であると推定された。

の形成であると推定された。

Kir チャネルの細胞質領域では、一つのサブユニットの N 末端が隣のサブユニットの C 末端と結合する。これまでに我々は G 蛋白質制御 Kir チャネルの活性化機序において、このサブユニット間のイオン結合がチャネル活性を抑制すること、チャネル活性化因子はこのイオン結合を切断することによって、チャネルの PIP_2 感受性の増大を引き起こし、チャネルを活性化に導くことを提案している。つまり、 Cd^{2+} は N 末端と C 末端間に結合することによって、サブユニット間のイオン結合と同様にチャネルを閉状態に安定化させる働きをしていると考えられる。そのため、 Cd^{2+} は Kir チャネルにおいて逆アゴニスト様作用によってチャネルを抑制していると考えられた。

(6) イオン透過におけるイオン-水分子間、イオン-イオン間相互作用について

老木成稔, 岩本真幸, 炭竈享司, 三田建一郎 (福井大学医学部分子生理)

チャネルを透過するイオンはイオン-水分子間、イオン-イオン間など複雑な相互作用を起こしている。この相互作用こそイオン透過機構の秘密を解き明かす手掛かりとなるものである。たとえばイオン-水分子間相互作用は一列透過という様式の中で特異な配列を取る。私達はこの配列を KcsA カリウムチャネルの流動電位を測定することにより明らかにし、イオン透過様式がカリウム濃度によってどう変化するかを離散状態モデル上で解析した。一方、イオン-イオン間相互作用に関しては長い実験の歴史がある。イオンがチャネルを透過するとき、複数のイオンがポア内に共存することを Hodgkin と Keynes はアイソトープ流束の実験で明らかにした。これが複イオンポアという概念の始まりである。膜の一方にのみ透過イオンのアイソトープを加えその一方向流束を測定し、さらに他方にのみ加えたアイソトープの逆向きの一方向流束を測定する。この 2 つの流束の比を流束比と呼び、透過イオンの非対称分布下や電位差の存在下で測定する。この時彼らはアイソトープ流束比の結果を解釈するために流束比指数という概念を導入した。同時に彼らはイオン透過において共存するイオン間の静電的反

発が寄与する可能性を示唆し knock-on 機構と呼んだ。これらの成果はイオン透過を理解するために今に残る重要な概念である。私達はイオン透過機構を明らかにするための理論的解析を進める過程で、過去 concepts を洗い直し、そこで流束比指数の解釈上の問題点に遭遇した。この問題は Ussing の流束比式にまでさかのぼるが、Ussing の式自体に問題があるのではなく、この式をアイソトープ流束実験の解釈に適用することに問題があることが判明した。一方向アイソトープ流束では一方向サイクル流束（正味の電荷移動あり）と交換流束（正味の電荷移動なし）の和が測定できるが、Ussing の式では交換流束は考慮されていない。またアイソトープは非アイソトープと同等のキネティックな振る舞いをする、という前提を拡大解釈して適用している。そもそもアイソトープ流束比実験で明らかになるのは何かという問題についての検討を行なった。

Oiki, S., M. Iwamoto, T. Sumikama, *PLoS ONE* 6: e16578, 2011.

Iwamoto, M. and S. Oiki, *J. Neuroscience* 2011, in press.

(7) プロトンポンプとプロトンチャネル：proton flux による起電力と pH 変動

久野みゆき，森浦芳枝，川脇順子，日野佳子，酒井 啓
(大阪市立大学大学院医学研究科分子細胞生理学)

細胞膜には多様な proton 輸送体が発現し，それらの働きの“総合結果として”細胞内外 pH 環境が調節されている。酸分泌細胞である破骨細胞の細胞膜には，起電性の H^+ 輸送体である液胞型 H^+ -ATPase (V-ATPase, H^+ ポンプ) と脱分極によって開口する電位依存性 H^+ チャネル (H^+ チャネル) が共存し，それぞれの H^+ flux を同一測定条件下で H^+ 電流として同定することができる。このモデルを用い，異種の H^+ 輸送体による proton flux の干渉を定量的に検討してみた。 H^+ ポンプ， H^+ チャネル共に，functional output は H^+ の排出による細胞内アルカリ化(細胞外酸性化)であるが，ここに“起電性”という性質が加わるため，pH と膜電位の変化(過分極)が同時に起こる。内外溶液から Na^+ , K^+ , Cl^- を除去し，高濃度の buffer

で細胞内外溶液の pH をコントロールしながら，特異的ブロッカー (Bafilomycin A1) 投与時に生じる脱分極から V-ATPase の起電力を測定した。起電力は pH_o / pH_i 7.3/5.5 で平均 ~ 40 mV (最大 220 mV) となり， pH_o 低下あるいは pH_i の上昇で減少した。Bafilomycin を投与すると 2/3 の細胞で H^+ チャネル電流が増加した。 H^+ チャネルの増強は voltage-clamp 下で見られたことから，起電力以外に pH 変化の関与が推定された。実際 H^+ チャネルの逆転電位は過分極方向にシフトしており，膜の pH 勾配の減少が確認できた (~ 0.2 pH unit)。これらの結果より，共存する起電性 H^+ 輸送体間では pH と電位を介した抑制的な干渉が生じると考えられる。さらに細胞内 pH 緩衝作用が H^+ flux の干渉に与える影響などを検討した。

(8) 大気圧電顕による水中免疫ラベルと透過電顕単粒子解析によるタンパク質ダイナミズムの解析

三尾和弘¹，丸山雄介¹，西山英利²，須賀三雄²，佐藤主税¹ (¹産業技術総合研究所，²日本電子)

細胞の膜タンパク質は互いに結合し，様々な複合体・超複合体を形成しながら機能を果たす。その局在はダイナミックに変化し，細胞骨格も関連して複合体形成・解離を行い，生理機能と対応して絶妙にコントロールされている。複合体は精製状態で安定とは限らず，多くは不安定なものである。ここでは，筋小胞体の膜においてイオンを透過する MG23 チャネルの構造を，透過電子顕微鏡 TEM と 3 次元再構成法により単粒子解析した。その結果，MG23 チャネルは full complex として中心に空洞を有する 36 量体の 6 回対称構造を有することが判明した。構造はこの 1 種類だけではなく，準安定状態として，6 両体からなる非対称な部分構造が存在した。そのため，溶液中ではこれら 2 状態の間を行き来していると思われる。この他にも，膜タンパク質や分泌タンパク質の生合

成過程において，シグナルペプチドを切断するために必須な膜タンパク質である Signal Peptide peptidase (SPP) の構造解明に成功した。単粒子解析法は，精製したタンパク質像を捉えるため，サンプルへの要求性は低く，ダイナミックな複合体構造を捉えやすい方法である。しかし，多くの複合体において，構成タンパク質間の結合は弱く，可溶化剤を使った精製で容易に解離してしまう。これらの問題を克服するために，直接水溶液中の細胞を開放環境で観察できる大気圧電子顕微鏡 (ASEM) を開発した。本顕微鏡では，走査型電子顕微鏡は逆立ちしており，電子線透過薄膜越しに直上の細胞を観察する。これまでの疎水処理を伴う複雑なサンプル調製が不要であるため，抗原性が良く保護され，免疫電顕において特に利点を発揮した。

(9) EGF 受容体の1分子動態と会合体形成メカニズム

廣島通夫, 佐甲靖志 (理化学研究所・基幹研究所)

上皮成長因子 (EGF) と結合した細胞膜上の受容体 (EGF Receptor, EGFR) は, EGFR 分子間で会合体となり互いにリン酸化しあって活性化し, 他の細胞内分子にシグナルを伝達していく。しかし, 会合体形成の過程といった細胞膜上での EGFR の詳細な動態と, 活性化などシグナル伝達の調節機構との関係については, まだ十分な知見は得られていない。

そこで本研究では, 細胞膜上での EGFR-EGFP 分子の1分子蛍光イメージングから得られた画像を解析し, 細胞膜上での EGFR-EGFP 分子の拡散軌跡から運動状態を, 蛍光強度から EGFR の会合体サイズ (会合分子数) を推定し, それらの関連を調べた。

従来の1タンパク質分子の並進拡散の解析においては, 全ての蛍光輝点の重心軌跡をまとめて統計処理をおこなっていたため, 結果の解釈が複雑になる場合があった。さらに各状態の空間的な分布もわからなかった。そこで

本研究では, 隠れマルコフモデルを拡散過程に適用し, 変分ベイズ法によって解くことで1フレーム (30 ミリ秒) 毎に拡散の状態を推定した。その結果, 受容体分子の拡散には速さ (拡散係数) や拡散範囲の異なる3つの状態があり, 分子はそれらの状態を遷移しながら拡散していることがわかった。また, 蛍光強度についても同様の解析手法を用いることで, EGFR 分子の拡散状態と会合体サイズの変化を同時に知ることができるようになった。その結果, 拡散範囲が制限される脂質ドメイン内に滞在している際に, 会合体の形成や構成分子の組み換えがおこなわれていることを示唆する結果が得られた。EGF の結合がこの相互作用を増加させることから, 脂質ドメインが細胞内シグナル伝達における反応の場のひとつである可能性が考えられる。さらに EGF 非存在下で弱いながらも同様の相互作用がみられることから, 自発的な活性化が生じていることも示唆された。

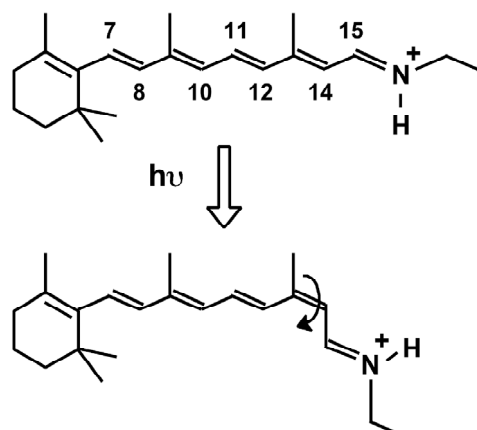
(10) 微生物ロドプシンタンパク質における特異な光異性化反応

須藤雄気^{1,2}, 本間道夫¹ (¹名古屋大学大学院理学研究科, ²JST・さがけ)

ロドプシンタンパク質とは, レチナール (ビタミン A のアルデヒド型) を発色団とする7回膜貫通型タンパク質の総称で, 教科書に登場する光駆動 H⁺ポンプ・バクテリオロドプシン (BR) や, 視覚を司るロドプシン (Rh) などに代表される。微生物から高等生物まで幅広く存在するロドプシンタンパク質群は, 4000 種以上に及び, 様々な機能を発揮する。光で反応を開始できる特性から, 不活性状態 (静止画) から活性状態を経てもとに戻る「動画」を様々な手法により捉えることが可能で, 機能性タンパク質研究のフロンタラインとして注目されている。

レチナールタンパク質は, Type-1 (微生物) 型と Type-2 (動物) 型に大別され, 両者に進化的な関係性は無いと考えられている。すなわち, 生物は進化の過程で2度レチナールを見つけ, 利用してきたとされている^[1]。ロドプシンの初期光反応はレチナールの異性化であり (図参照),

一般に Type-1 型で all-trans→13-cis, Type-2 型で 11-cis→all-trans への反応が起こる。この違いも, 進化的無関係さを反映する一つの傍証とされている。また, Type-1 と Type-2 でアミノ酸配列に類似性が無く, 機能面でも G タンパク質と共役する Type-2 に比べ, 単独でイオン輸送を担ったり, キナーゼと共役する Type-1 には違いがある。しかしながら, 共通する構造 (7本の膜貫通 α ヘリックス) や, Type-1 型にも G タンパク質活性化能があるなど, 関連性も指摘されている。私たちは Type-1 ロドプシン間での機能変換を通じ, 分子進化過程を研究している^[2-5]。本年度は, 昨年度報告した MR (ミドルロドプシン)^[6]において, 時間分解分光法を用いて, Type-1 型ロドプシンで初めて all-trans から 11-cis への異性化反応を発見したので, その生理的・進化的意義も含めて議論を行なった。

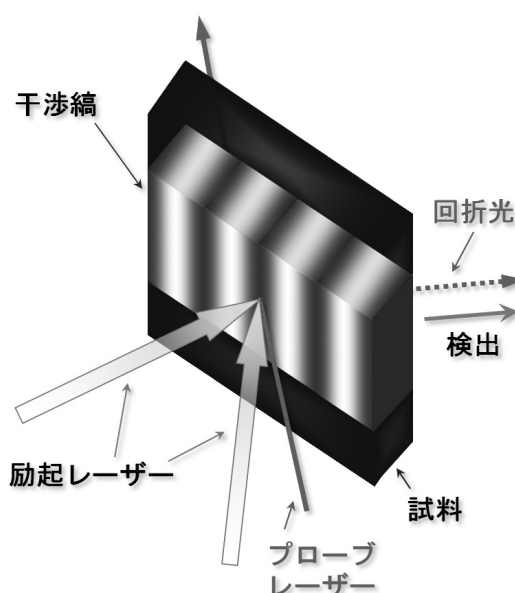


- [1] Sudo, Y. (2011) CRC Handbook of Organic Photochemistry and Photobiology, in press.
- [2] Sudo, Y., et al. (2001) Biophys. J., **80**, 916-922.
- [3] Sudo, Y., et al. (2006) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **103**, 16129-16134.
- [4] Sudo, Y., et al. (2007) J. Biol. Chem. **282**, 15550-15558 [cover paper].
- [5] Sudo, Y., et al. (2011) J. Biol. Chem. **286**, 11328-11336.
- [6] Sudo, Y., et al. (2011) J. Biol. Chem. **286**, 5967-5976.

(11) 膜タンパク質の隠されたダイナミクスを見るー過渡回折格子法と光受容タンパク質

井上圭一，神取秀樹（名古屋工業大学・工学研究科）

生物は自身の生存のために、太陽から降り注ぐ光を様々な形で利用する。そしてその中でエネルギー生産や視覚などの生理活動において重要な役割を果たすのが光受容型の膜タンパク質であるロドプシンである。そして我々はこれまで多様なロドプシンの中で、古細菌や真正細菌などの微生物の細胞中において光情報の伝達を行う、センサリーロドプシンについて研究を行ってきた。センサリーロドプシンには正負それぞれの走光性を引き起こすセンサリーロドプシン I (SRI) とセンサリーロドプシン II (SRII) の二種類が知られており、これらは脂質膜中でトランスデューサータンパク質と複合体を形成し、吸収した光の情報を細胞内部のタンパク質群へ伝達する。センサリーロドプシンおよびトランスデューサーの行う信号伝達過程がどのようにして行われているのか、その機構は不明な点が多く、十分な理解が得られていない。これらの信号伝達機構を明らかにするには、まずは反応ダイナミクスの理解が必要であるが、これまでの光受容タンパク質のダイナミクス研究は、フラッシュフォトリシス法が中心であり、タンパク質中の発色団の吸収変化を測定して反応中間体を同定することが行われてきた。しかしこの手法では巨大なタンパク質分子の発色団から離れた部分の変化をモニターすることが難しく、またタンパク質分子全体の構造については情報がほとんど得られない。そこで我々は試料の屈折率変化を測定することができる、過渡回折格子法 (TG 法, 図) をセンサリーロドプシンのダイナミクス研究に適用した。TG 法は分



子の拡散定数変化や体積変化などを測定することができ、その結果 SRI の光反応過程において、フラッシュフォトリシス法では観測できない、新たな中間体が発見された。そして TG 法を使ったカロリメトリーにより、中間体のエンタルピーを決定することに成功した^[1]。一方 SRII とトランスデューサーの複合体では、活性化状態において α -ヘリックスの大きな構造変化があることを、拡散係数変化から明らかにした^[2]。我々は今後他の多様なロドプシンタンパク質へ TG 法を適用することで、それらの反応機構についても新たな知見が得られると期待している。

[1] Inoue et al., (2008) *J. Mol. Biol.*, **376**, pp 963-970.

2542-2547.

[2] Inoue et al., (2011) *J. Phys. Chem. B*, **112**, pp

(12) 光学顕微鏡技術で解き明かす分子モーターの作動原理

西坂崇之, 政池知子, 須河光弘 (学習院・物理)

キネシン・ミオシン・ダイニンといったリニア分子モーターの最大の特徴であり魅力は、化学エネルギーをそのまま力学エネルギーに変換するという点にある。ATP 合成酵素はプロトンの濃度勾配と ATP の化学エネルギーをカップルさせているが、その間にも軸の強制回転というトルクを伴う運動を介在させ、同様の変換を行っている。人間の設計する機械や素子で、こういった特徴を持つものは皆無であり、わずか数ナノメートルのデバイスがその機能を実現する「理屈」が明らかになれば、基礎という枠組みを超えて大きなインパクトを科学全体にもたらすことができるはずである。まずは最小単位の動作する瞬間を捉えようとする試みとして、1 個の分子を対象にした研究がこの 20 年の間に急速に進歩を遂げた。本研究グループでは、1 分子レベルの化学反応、構造、そしてリニアモーターにおける回転運動といった研究課題について、独自の光学顕微鏡技術を用いて解明に取り組んでいる。

(A) 単頭キネシンが発生するトルクに関する研究を、3 次元の位置検出を可能にする新しい顕微鏡技術を用いて行った。微小管の上を連続的に滑り運動する双頭のキネシンは、微小管のフィラメント構造を正確にたどるため、トルクは発生しない。しかし単頭にした複数のヘッドを

相互作用させると、その集積としてトルクが発生することが報告されており、この詳細を調べる目的で新しい実験系と観察技術の構築を行った。ピッチはキネシンの密度や滑り速度、さらにはキネシンの種類に依存せず、 ~ 300 nm であることが明らかになった。

(B) ATP 合成酵素の部分複合体である $\alpha_3\beta_3\gamma$ (以下 F_1) について、軸の回転を駆動する触媒サブユニット β の構造変化を 1 分子レベルで検出した。C 末ドメインの特定のアルファヘリックスにラベルした蛍光色素 1 分子の角度について、高い精度で検出することによって、化学状態の変化に伴った $\sim 40^\circ$ の構造変化が明らかとなった。現在、カメラによって受像する光を偏光に同期させて偏光する新しい原理の顕微鏡の開発を進めており、これを構造変化の検出に応用する計画である。

(C) F_1 の回転軸の微細な動きを可視化し、回転半径の変化の検出を試みた。1 個のビーズによる回転観察では、 0° dwell (ATP の結合を待っている状態) に比べ 80° dwell (加水分解待ちの状態) の方が優位に回転半径が大きくなり、これは軸の $\sim 4^\circ$ の倒れによって説明できる。将来的には、複合体全体の 0° dwell と 80° dwell における構造と相互作用の関連を明らかにする重要な研究に発展すると考えられた。

(13) 高速 AFM による膜タンパク質の動態観察

山下隼人¹, 柴田幹大¹, 内橋貴之¹, 井上圭一², 神取秀樹², 安藤敏夫¹

(¹ 金沢大学, ² 名古屋工業大学)

タンパク質の機能発現と構造変化は密接に関係している。それ故、タンパク質のダイナミックな振る舞いを高い空間・時間分解能で直接可視化できれば、その動画映像はタンパク質の機能メカニズムを理解する有力な手掛かりになるに違いない。そこで、金沢大学の安藤研究室

では、イメージング速度は遅いものの、生理溶液中でタンパク質の構造をナノメータースケールの空間分解能で観察できる原子間力顕微鏡 (AFM) のイメージング速度を飛躍的に向上させる開発を進めてきた^[1]。ようやく最近になり実用レベルの高速 AFM が完成し^[2], 機能してい

る生体分子の動的変化の撮影に成功した^[3,4]。

本研究では、膜タンパク質の集合メカニズムや集合構造と機能との相関を明らかにするために、膜中でのバクテリオロドプシン (bR) のダイナミクスを可視化した。bR は高度好塩菌の細胞膜中で、紫膜として知られる 2 次元結晶を形成し、光駆動プロトンポンプの機能をもつ。これまでに、2 次元結晶端における bR3 量体のダイナミックな結合解離過程^[5]や光照射に伴う bR1 分子の構造変化^[6]の撮影に成功している。今回更に、機能に密接に関わる bR の構造変化に対して 2 次元結晶構造が果たす役割を明らかにするために、変異導入により 2 次元結晶を

形成しない bR の作製に取り組んだ。本研究会では、これまでに得られた高速 AFM による観察結果をもとに bR の集合構造と機能との相関について議論した。

- [1] T. Ando *et al.* (2001) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98, 12468.
- [2] T. Ando *et al.* (2008) *Prog. Surf. Sci.* 83, 337.
- [3] N. Kodera *et al.* (2010) *Nature* 468, 72
- [4] T. Uchihashi *et al.* (2011) *Science* 333, 755
- [5] H. Yamashita *et al.* (2009) *J. Struct. Biol.* 167, 153.
- [6] M. Shibata *et al.* (2010) *Nature Nanotech.* 5, 208.

(14) ATP 結合および ATP 加水分解により誘起される ABC トランスポーターの構造とダイナミクス変化

櫻井 実, 萩谷朋佳, 渡辺百合香, 古田忠臣 (東京工業大学 バイオ研究基盤支援総合センター)

ABC トランスポーターは、ATP の加水分解エネルギーを利用して様々な基質を細胞内外へ輸送する膜タンパク質である。しかしながら、分子論的に見たとき ATP がどのような役割をしているのか必ずしも明確ではない。本研究では、ATP のタンパク質への結合とその後の加水分解の 2 つの過程に分け、それぞれにおいてタンパク質の構造やダイナミクスがどのような変化を受けるかを計算機シミュレーションから調べ、ATP の役割を考察した。

ATP 結合過程について調べる際は、inward-facing 構造に対して ATP 結合状態と非結合状態のシミュレーションを行い比較検討した。具体的には、ABCB1 (P-Glycoprotein) の結晶構造とそれを鋳型にした Cystic fibrosis transmembrane conductance Regulator (CFTR) のホ

モロジーモデリング構造を出発構造としたシミュレーションを実行した。その結果、いずれのタンパク質でも、ATP 結合状態では 2 つのヌクレオチド結合ドメインが outward-facing 構造に向かって閉じようとする構造変化が見られた。

ATP 加水分解過程について調べる際は、Sav1866 の outward-facing 構造に対し、i) ATP 結合状態、ii) (ADP+Pi) 結合状態、iii) ADP 結合状態、iv) ヌクレオチド非結合状態を初期構造としたシミュレーションを行い、どの段階で outward-facing 構造へ回帰する運動が生じるかを調べた。その結果、加水分解直後ではなく iii) もしくは iv) の段階であることが示唆された。

(15) CFTR チャネルにおける NBD エンジンとチャネルゲート間のルーズカップリング

相馬義郎¹, T.-C. Hwang² (¹慶應義塾大学・医, ²米国ミズーリ大学・医)

ABC トランスポータは、Nucleotide Binding Domain (NBD) を共通して持つ蛋白スーパーファミリーである。NBD は、ATP2 分子を挟み込んだ二量体の形成および ATP の加水分解に続発する二量体解離を繰り返すことにより、ABC トランスポータの機能発現のための機械的駆

動力を発生している。NBD エンジンが発生した駆動力は、Intra-Cellular Loop (ICL) を介して、各 ABC トランスポータに固有の構造を持つ Membrane Spanning Domain (MSD) に伝達され、それぞれに固有の機能が発現される、と考えられているが、その詳細なメカニズムは未だ不明

である。

我々の共同研究グループは、通常の NBD エンジンの 2 つの ATP Binding Pocket (ABP) のうちのひとつ ABP1 には、常時 ATP が結合してその周辺部は二つの NBD が結合しており、ABP2 でのみ ATP の結合・加水分解・解離のサイクルが回り、それに伴って ABP2 周辺部のみ 2 つの NBD の結合・解離が起こるというパーシャル・ダイマー（部分二量体）モデルを提唱してきた。CFTR チャネルでは、この NBD 部分二量体の ABP2 に ATP が結合して完全二量体が形成されることによってチャネルゲートが開口し、部分解離によって閉口すると考えている。

従来、NBD エンジンにおける ATP 依存性の構造変化

サイクルと MSD におけるチャネルゲートの開閉サイクルは、比較的タイトにカップリングしているとは考えられてきたが、定量的な解析は試みられていなかった。最近、CFTR チャネルのゲートが開口状態のまま、ABP2 に結合していた ATP が pyrophosphate (PPi) に入れ替わることが可能であることを示唆するチャネル電流データを得た。このことは、ゲートが開口したまま 2 つの NBD が（部分）解離している状態が存在していることを示唆している。本研究会では、この電流データに基づいたゲーティングシミュレーションを行い、CFTR チャネルにおける NBD エンジンとチャネルゲート間のカップリングについて検討した。

4. グリア細胞機能から迫る脳機能解明

2011 年 6 月 16 日－6 月 18 日

代表・世話人：和中明生（奈良県立医科大学 解剖学教室）

所内対応者：池田一裕（生理学研究所 分子神経生理）

- (1) シュワン細胞におけるイノシトール 1,4,5 三リン酸シグナルを介したミエリン鞘形成機構
 稲生大輔¹, 金丸和典¹, 大久保洋平¹, 石井邦明², 大倉正道³, 飯野正光¹
 (¹ 東京大学大学院医学系研究科細胞分子薬理, ² 山形大学医学部循環薬理,
³ 埼玉大学脳科学融合研究センター)
- (2) 先端質量分析による脳エネルギー代謝の可視化
 杉浦悠毅（慶應大学医化学教室・JST さきがけ）
- (3) 発生期小脳において prominin-1 陽性細胞は苔状線維との接触によりオリゴデンドロサイトを産み出す
 横山就一, 柴崎貢志, 池澤貴之, 成瀬雅衣, 倉知 正, 石崎泰樹
 （群馬大学大学院 医学系研究科 分子細胞生物学）
- (4) 登上線維シナプス発達のメカニズム解明に有用な小脳－延髄共培養系の確立とその応用
 三國貴康, 上阪直史, 狩野方伸（東京大学大学院医学系研究科神経生理学）
- (5) 転写因子 IRF8 によるミクログリアの活動性制御および神経障害性疼痛における役割
 増田隆博¹, 津田 誠¹, 吉永遼平¹, 齊藤秀俊¹, 田村智彦², 井上和秀¹
 (¹ 九州大学大学院薬学研究院薬理学分野, ² 横浜市立大学大学院医学研究科免疫学教室)
- (6) 脱髄性疾患におけるシスタチン F の機能解析
 清水崇弘（総合研究大学院大学／生理学研究所 分子神経生理部門）
- (7) 海馬サブタイプ神経特異的な神経回路形成の発見
 Yuichi Deguchi, Flavio Donato, Ivan Galimberti, Erik Cabuy and Pico Caroni Friedrich Miescher Institute
 （京都大学大学院医学研究科神経細胞薬理学教室）
- (8) シナプス接着分子 LRRTM2 欠損型マウスの解析
 湊原圭一郎（京都大学大学院理学研究科 生物物理学教室 構造生理学学科）
- (9) マウス歯状回顆粒細胞－苔状細胞シナプスにおける 2 arachidonoylglycerol を介した
 逆行性神経伝達抑制のための分子形態学的基盤
 内ヶ島基政, 渡辺雅彦（北海道大 院・医・解剖発生）
- (10) 感覚入力による成体嗅球ニューロンターナーオーバーの時空間的制御
 澤田雅人¹, 金子奈穂子¹, 稲田浩之², 和気弘明², 加藤康子¹,
 柳川右千夫³, 小林和人⁴, 根本知己⁵, 鍋倉淳一², 澤本和延¹,
 (¹ 名古屋市大, ² 生理研, ³ 群馬大, ⁴ 福島医大, ⁵ 北海道大)
- (11) オレキシン神経特異的なセロトニン 1A 受容体の可逆的発現制御による睡眠覚醒調節に関わる
 神経回路機能の解明
 田淵 Colleen 紗和子, 常松友美, 杉尾翔太, 田中謙二, 富永真琴, 山中章弘（生理研）
- (12) 興奮性および抑制性アストロサイトの局在と産生機序解明
 木下真直, 小泉修一（山梨大学医学部薬理学講座）
- (13) 神経幹細胞の分化・増殖におけるヒストン H2B ユビキチン化酵素 Bre1 の役割
 石野雄吾^{1,2}, 成瀬雅衣^{1,2}, 等 誠司^{1,2}, 池田一裕^{1,2}
 (¹ 総合研究大学院大学・生命科学研究科・生理科学専攻, ² 生理学研究所・分子神経生理部門)

(14) てんかん脳における異常発芽形成への cAMP の役割

中原聡一郎¹, 田中謙二², 鍋倉淳一², 伊関峰生³, 渡辺正勝⁴, 松木則夫¹, 小山隆太¹

(¹ 東京大学 大学院薬学系研究科 薬品作用学教室, ² 自然科学研究機構 生理学研究所,
³ 東邦大学 薬学部 薬品物理分析学教室, ⁴ 総合研究大学院大学 先端科学研究科)

(15) 多機能遺伝子改変の応用: 疾患モデルマウス作成

田中謙二 (生理学研究所 分子神経生理部門)

(16) アストロサイトによる神経回路活動の制御

佐々木拓哉 (生理学研究所・脳形態解析研究部門)

(17) 脳回路光摂動法による記憶メカニズムの解明

松井 広 (生理学研究所・脳形態解析研究部門)

(18) 軸索起始部の Na チャネル分布の入力依存的制御

久場博司 (京大・医・生理)

【参加者名】

和中明生 (奈良県立医科大学解剖学教室), 小泉修一 (山梨大学大学院医学工学総合研究部薬理学教室), 工藤 佳久 (東京薬科大学), 久場博司 (京都大学大学院医学研究科神経生物学), 内ヶ島基政 (北海道大学大学院医学研究科解剖学講座解剖発生学分野), 杉浦悠毅 (JEST さきがけ研究員/慶応義塾大学医学部医化学教室), 稲生大輔 (東京大学大学院医学系研究科細胞分子薬理学教室), 増田隆博 (九州大学大学院薬学研究院薬理学分野), 湊原圭一郎 (京都大学大学院理学研究科生物科学専攻生物物理学系), 三國貴康 (東京大学大学院医学系研究科神経生理学教室), 澤田雅人 (名古屋市立大学大学院医学研究科再生医学分野), 高露雄人 (九州大学大学院薬学研究院薬理学分野), 中原聡一郎 (東京大学薬学系研究科薬品作用学教室), 木下真直 (山梨大学大学院医学工学総合研究部薬理学教室), 関口俊之 (京都大学大学院理学研究科生物科学専攻生物物理学系), 出口雄一 (京都大学大学院医学研究科神経細胞薬理学教室), 犬束 歩 (新潟大学大学院医歯学総合研究科分子ニューロイメージング部門), 鹿川哲史 (東京医科歯科大学難治疾患研究所幹細胞制御分野), 柴崎貢志 (群馬大学大学院医学系研究科分子細胞生物学分野), 横山就一 (群馬大学大学院医学系研究科分子細胞生物学分野), 松本英孝 (群馬大学医学部眼科), 田淵 Colleen 紗和子 (生理研), 別府 薫 (生理研), 高山靖規 (生理研), 松井 広 (生理研), 佐々木拓哉 (生理研), 加塩麻紀子 (生理研), 内田邦敏 (統合バイオ), 深沢有吾 (生理研), 吉村由美子 (生理研), 窪田芳之 (生理研), 浜 清 (生理研), 池中一裕 (生理研), 等 誠司 (生理研), 田中謙二 (生理研), 吉村武 (生理研), 稲村直子 (生理研), 石野雄吾 (生理研), 杉尾翔太 (生理研), 清水崇弘 (生理研), 橋本弘和 (生理研), 鳴海麻衣 (生理研), Wilaiwan Wisessmith (生理研)

【概要】

今回の研究会は「グリア細胞機能から迫る脳機能解明」という題で特に神経科学の分野で活躍中の若手 (大学院生~助教レベル) を中心に 6 月 16 日と 17 日の二日間に最新の成果を発表していただき, 最終日の 18 日は少しシニアの研究者のまとまった話を聞くという構成であった。今回のプログラムを通して感じた印象は, 脳機能に迫る新しい方法論, ブレークスルーが着実に成果に繋がってきているという現場を見ることが出来たということである。ノックアウト以降のテクノロジーとして複雑を極める神経系の機能を見るために開発された

二光子蛍光顕微鏡, 光摂動法の実際応用に加えて, 今回はまだ揺籃期にある質量分析顕微鏡を用いた新しい脳エネルギー代謝の可視化についても知ることが出来た。

個人的には一日目の東大三国氏のエキスプラント共培養系を用いた神経回路の再構成の仕事に興味を引かれた。二日目の山梨大木下氏のアストロサイトの産生, 機能解析や東大中原氏のてんかん脳における神経軸索の異常発芽のメカニズム解析は木下氏がまだ学部学生であり, また中原氏が大学院に在学中ということを見ると相当な仕事の量, 質を持ち合わせていることに驚い

た。また最終日の講演で生理学研究所の松井氏が紹介された透過型電子顕微鏡の連続イメージ取得と再構成による脳の3次元像の話は解剖学を専門とする者として新たな解剖学の到来を予感させ、感銘を受けた。

3日間を通して、非常に活発な質疑応答が交わされたのも今回の成果の一つである。おそらく通常の学会では交差しないであろう(標的の脳機能, 分子が異なるため)

若手研究者がお互いの発表に刺激を受けて文字通りブレインストーミングを行ったと考える。以上のことから今回の研究会は大変意義深いものであり、生理学研究所からの援助に対してここに深謝し、今後とも継続的にこのような研究会を育てていただきたいと願うものである。

(1) シュワン細胞におけるイノシトール 1,4,5 三リン酸シグナルを介したミエリン鞘形成機構

稲生大輔¹, 金丸和典¹, 大久保洋平¹, 石井邦明², 大倉正道³, 飯野正光¹

(¹ 東京大学大学院医学系研究科細胞分子薬理, ² 山形大学医学部循環薬理,

³ 埼玉大学脳科学融合研究センター)

シュワン細胞によるミエリン鞘形成は、跳躍伝導を介した末梢神経の高速な情報伝達を可能とする。ミエリン鞘形成には軸索-シュワン細胞間の相互作用が必須であることが提唱されているが、その詳細な機構は不明な点が多い。ATP は末梢神経における神経伝達分子として広く知られるが、神経活動依存的に軸索からも放出されることが近年明らかになりつつあり、新たな軸索-シュワン細胞間シグナルとして注目されている。そこで我々はATPを介したシグナル伝達のミエリン鞘形成における生理的意義を解析した。まず、ATPのシュワン細胞への作用を解析するために新生児ラットの坐骨神経を用いてCa²⁺イメージングを行なった。ATPを投与するとイノシ

トール 1, 4, 5 三リン酸 (IP3) 産生を介した細胞内Ca²⁺上昇がシュワン細胞において惹起された。次に、ミエリン鞘形成中のシュワン細胞において上記シグナルの阻害を行ない、ミエリン鞘形成における生理的意義を解析した。生体内において慢性的なシグナル伝達の阻害を達成するため、電気穿孔法による坐骨神経のシュワン細胞への遺伝子導入法を新規に開発した。遺伝子導入によりATPによるIP3依存性細胞内Ca²⁺上昇の慢性的阻害を行なったところ、ミエリン鞘の形成が抑制された。以上の結果から、ATPを介したシュワン細胞におけるIP3-Ca²⁺シグナルがミエリン鞘形成を促進することが初めて明らかとなった。

(2) 先端質量分析による脳エネルギー代謝の可視化

杉浦悠毅 (慶應大学医化学教室・JST さきがけ)

質量分析の技術開発の進展により、脳内の膨大な低分子代謝分子群を、プローブを介すことなく直接定量、また局在可視化することが可能となってきた。前者の微量分子一斉定量系にはキャピラリー電気泳動 (Capillary Electrophoresis, CE) 質量分析 (MS) が、後者の組織内局在イメージングツールとしてはイメージング質量分析 (Imaging mass spectrometry, IMS) が有用なツールとして応用され始めている。例として、グルタミン酸アナログであるカイニン酸投与時、マウス海馬のアデニンヌクレ

オチドの動態、特にATP、ADPのCA3選択的な枯渇をIMSにより可視化する事ができた。またCE-MSによるメタボローム解析は、代謝されたATPはADP、AMPに留まらずアデノシン、イノシンにまで急速に代謝されることを明らかにした。発表者らは分析化学のバックグラウンドからこれらの技術の神経化学への導入を試みている。しかしIMSの空間分解能がニューロン/グリアを区別するに至らない等、まだまだ問題も多い。本発表において、これらの技術の可能性と乗り越えるべきハードル

について議論できれば幸いです。

(3) 発生期小脳において prominin-1 陽性細胞は苔状線維との接触によりオリゴデンドロサイトを産み出す

横山就一, 柴崎貢志, 池澤貴之, 成瀬雅衣, 倉知 正, 石崎泰樹
(群馬大学大学院 医学系研究科 分子細胞生物学)

本研究では、発生期小脳をモデルとして、神経幹細胞からオリゴデンドロサイトへの分化メカニズムを調べた。生後1週目のマウス小脳から MACS を用いて調製した prominin-1 陽性細胞を用いて実験を行った。In vitro において、この細胞は EGF 存在下に増殖し、神経幹細胞様の性質を示す。多分化能を有するものの、デフォルトでアストロサイトへ分化しやすい細胞であることを突き止めた。そのため、小脳アストロサイトの発生源の一つではないかと考え、EGFP-Tg マウス由来の prominin-1 陽性細胞を生後1週目の小脳白質に移植し、ほとんどアストロサイトへと分化するのかわかるところが、この in

vivo 実験では半数がアストロサイトに分化したものの、残りの半数はオリゴデンドロサイトへと分化した。これらの結果より、前述した in vitro 実験ではオリゴデンドロサイト分化因子が欠失していたために選択的にアストロサイトへと分化したことが考察された。つまり、小脳白質に prominin-1 陽性細胞をオリゴデンドロサイトへと分化させる何らかの因子が存在すると考えられた。そこで、prominin-1 陽性細胞と小脳白質を構成している様々な細胞を共培養し、その因子の同定を試みた。その結果、苔状線維と接触している場合に於いてのみオリゴデンドロサイトへの分化が促進することが判明した。

(4) 登上線維シナプス発達のメカニズム解明に有用な小脳-延髄共培養系の確立とその応用

三國貴康, 上阪直史, 狩野方伸 (東京大学大学院医学系研究科神経生理学)

生後発達期において機能的な神経回路が形成されるメカニズムの解明は、神経科学における重要な課題の一つである。機能的な神経回路が形成される過程では、一旦過剰なシナプスが形成され、それらが神経活動依存的に強化・除去される。このシナプスの選択的強化・除去のメカニズム解明に先導的な役割を果たしているモデル系の一つに、小脳の登上線維-プルキンエ細胞シナプスの生後発達がある。従来、登上線維シナプスの発達のメカニズム解明のために、脳内薬物投与や遺伝子改変動物が利用されてきた。しかしながら、これらの方法は非常に時間と手間を要することなどの問題点がある。一方、in vitro 培養系では、薬理学的操作や遺伝子導入操作が確実かつ簡便なうえに、形態観察や電気生理などの実験も非常に容易である。我々は、シナプスの選択的強化・除去の細胞分子メカニズムの解明を目指し、登上線維-プルキンエ細胞シナプスの発達を再現できる in vitro 共培養

系を開発した。登上線維の起始である下オリーブ核を含む延髄ブロックと小脳スライスを共培養したところ、in vivo と同様に登上線維-プルキンエ細胞シナプスが形成され、培養経過の中で強化・除去されることを形態学および電気生理学的に確認した。さらに、培養液内への薬物投与や培養神経細胞への遺伝子導入を行うことにより、脳内薬物投与や遺伝子改変動物と同様のシナプス発達の変化を認めた。この in vitro 共培養系を用いることで、発達期小脳シナプスの形成・除去に関わる機能分子の網羅的探索を迅速に行うことができる。さらに、内在性のイオンチャネルの発現制御や、光遺伝学的手法を用いて時間的・空間的に神経活動を制御することにより、シナプス発達に関わる神経活動の同定を行うことができる。このような in vitro 小脳-延髄共培養系の応用に関して、議論したい。

(5) 転写因子 IRF8 によるミクログリアの活動性制御および神経障害性疼痛における役割

増田隆博¹, 津田 誠¹, 吉永遼平¹, 齊藤秀俊¹, 田村智彦², 井上和秀¹

(¹九州大学大学院薬学研究院薬理学分野, ²横浜市立大学大学院医学研究科免疫学教室)

神経損傷などに伴う中枢性疾患発症時, ミクログリアは細胞機能を司る受容体や細胞内シグナル分子を過剰発現させ, 炎症性サイトカインなどの生理活性液性因子を過剰産生・放出するなど, 劇的に functional phenotype shift を遂げ, 「過活動」状態になる。こうしたミクログリアは, 神経障害性疼痛発症においても重要な役割を果たしていることは明らかになっているが, ミクログリアを過活動状態へと移行させる遺伝子発現メカニズムは未だ明らかになっていない。今回, 我々は Interferon regulatory factor-8 (IRF8) がミクログリアの過活動状態への移行に重要な役割を果たしていることを見出した。

末梢神経損傷後, 脊髄内でミクログリア特異的に IRF8

の発現増加が観察された。一方, レンチウィルスベクターを用いて培養ミクログリア細胞に IRF8 を強制発現させたところ, 機能分子の発現増加など, 過活動状態ミクログリアに見られる特徴的变化を示した。しかし, DNA 結合能力の消失した変異体 IRF8 を遺伝子導入した際には, こうした変化は見られなかった。また, IRF8 欠損マウスにおいては, 野生型マウスと比較して, 神経損傷後のミクログリア関連分子の発現増加および疼痛症状が有意に抑制された。以上の結果から, 末梢神経損傷後に脊髄ミクログリアで発現増加した IRF8 は, ミクログリアの過活動状態への移行に関与し, 神経障害性疼痛発症に重要な役割を果たしていると考えられる。

(6) 脱髄性疾患におけるシスタチン F の機能解析

清水崇弘 (総合研究大学院大学/生理学研究所 分子神経生理部門)

脱髄性疾患は神経軸索の外周に形成する髄鞘が変性, 脱落して様々な神経症状を呈する疾患である。中枢神経系の慢性脱髄巣ではオリゴデンドロサイト前駆細胞が豊富に観察され, 髄鞘形成直前のオリゴデンドロサイトも観察されているが, 髄鞘の再形成は阻害されている。この阻害の原因は未だよくわかっていない。先行研究の脱髄性疾患モデルマウスの解析によりシステインプロテアーゼインヒビターのひとつであるシスタチン F が髄鞘再生期特異的にミクログリア細胞で発現することを明らかにした。また, 近年, シスタチン F がシステインプロテアーゼの一つであるカテプシン C の機能を特異的に抑制することが報告されており, これまでの解析で脱髄

性疾患モデルマウスの慢性脱髄巣ではシスタチン F の発現はなくなる一方でカテプシン C の発現は残ることを明らかにした。さらに, このカテプシン C が炎症性サイトカインの産生を制御するという報告と, 炎症性サイトカインが髄鞘の変性や再形成に関わるということより, 本研究では炎症性サイトカインの産生に着目し, シスタチン F の髄鞘再形成における役割を明らかにすることを目的としている。シスタチン F, カテプシン C の過剰発現と機能欠損の両方の遺伝子操作ができるマウスをすでに作製済みであり, RNA レベル, タンパクレベルでの発現パターンを確認した。これらのマウスを脱髄性疾患モデルに応用し, さらなる解析を進めている。

(7) 海馬サブタイプ神経特異的な神経回路形成の発見

Yuichi Deguchi, Flavio Donato, Ivan Galimberti, Erik Cabuy and Pico Caroni Friedrich Miescher Institute

(京都大学大学院医学研究科神経細胞薬理学教室)

末梢神経系である嗅覚神経系などにおけるサブタイプ神経の同定はその領域の神経回路構造ひいては機能を理解することに大きく貢献した。一方、中枢神経系における興奮性神経細胞のサブタイプ神経の同定はアプローチが困難なこともあり未知な部分が多い。海馬は主に3つのサブ領域（歯状回，CA3，CA1）から構成されていることが知られているが，それぞれのサブ領域を形成する興奮性神経細胞においてサブタイプ神経が存在するかどうかは未知であった。

Caroni 研究室では神経細胞の可視化を目的として，Thy1 プロモーターによって GFP を発現するトランスジェニックマウス系統が作製された。このうち二つのマウス系統では海馬各サブ領域において 5~20%ほどの興奮

性神経細胞のみが GFP を発現していた。これらのマウス系統での海馬における GFP 発現細胞が未知のサブタイプ神経を反映している可能性について，網羅的遺伝子発現解析，シナプス形成パターンに着目した組織学的解析，発現カセットの染色体上の位置の特定などのゲノムレベルの解析の三つの手法により検証した。その結果，海馬各サブ領域において特異的な遺伝子発現を示すサブタイプ神経が存在し，各サブ領域間においてサブタイプ神経特異的にシナプス形成が行われていることを発見した。さらに中枢及び末梢神経系において染色体上の嗅覚受容体遺伝子群付近でのサブタイプ神経特異的な遺伝子発現制御が存在することも同時に発見した。

(8) シナプス接着分子 LRRTM2 欠損型マウスの解析

湊原圭一郎（京都大学大学院理学研究科 生物物理学教室 構造生理学学科）

Neurexin や Neuroligin などのシナプス接着分子は，シナプス結合の形成や成熟，可塑性において重要な役割を果たすと考えられている。ラット前脳のシナプス後肥厚 (PSD) 画分に対する我々のプロテオーム解析により，PSD 画分に強く濃縮する新規分子として，一回膜貫通型の膜タンパク質である Leucine-rich repeat trans-membrane neuronal protein (LRRTM) が同定された。LRRTM ファミリーには脳内における発現領域の異なる LRRTM1-4 の4つのサブタイプが存在する。最近の研究により LRRTM は Neuroligin と同様に，プレシナプスに存在する Neurexin と結合し，プレシナプスの形成を促進することが報告された。我々は生体内でのシナプス結合における LRRTM の機能を調べるために，4つのサブタイプの中で最も脳

の広範囲に発現し，かつ，シナプス形成能の最も高いサブタイプである LRRTM2 の欠損マウスを作製した。LRRTM2 欠損マウスは妊娠，出産，保育などを正常に行い，明らかな表現型の異常は観察できなかった。また，脳の構造や，LRRTM2 以外の PSD 構成分子の存在量にも，野生型マウスとの顕著な差は見られなかった。さらに，海馬錐体細胞の分散培養において，LRRTM2 欠損型の神経細胞が形成するシナプスの数は，野生型神経細胞のものと変化がなかったが，シナプス部位へのシナプス小胞タンパク質の集積効率が低下していた。この結果は，LRRTM2 のみを欠損させても脳の発達に大きな影響はないが，シナプス小胞の集積といったシナプス情報伝達の制御・調節に LRRTM2 が関与する可能性を示唆する。

(9) マウス歯状回顆粒細胞－苔状細胞シナプスにおける 2-arachidonoylglycerol を介した逆行性神経伝達抑制のための分子形態学的基盤

内ヶ島基政, 渡辺雅彦 (北海道大院・医・解剖発生)

内因性カンナビノイド 2-arachidonoylglycerol (2-AG) は、ポストシナプスにて合成、放出され、プレシナプス側のカンナビノイド CB1 受容体に逆行性伝達することで、神経伝達抑制を引き起こす。一方、2-AG の拡散可能な性質とシナプスの密な分布から、あるシナプスから放出された 2-AG が隣接するシナプスに伝達する可能性が考えられる。この可能性を形態学的に追求するため、内因性カンナビノイドのてんかん予防効果が指摘されている歯状回の苔状細胞－顆粒細胞シナプスを用いて、2-AG の合成酵素 diacylglycerol lipase α (DGL α)、標的受容体 CB1、分解酵素 monoacylglycerol lipase (MGL) の局在と隣接シナプス間の空間的位置関係を解析し、以下の結果を得た。
①DGL α は、顆粒細胞スパイン基部を中心としてポスト

シナプス選択的に局在した。②CB1 は、苔状細胞終末とその近傍部に集積した。③MGL はアストロサイトと抑制性終末で発現した。④顆粒細胞スパインは、それ自身に inputs する苔状細胞終末や別のスパインへ inputs する苔状細胞終末により広く覆われていたのに対し、アストロサイトや抑制性終末による被覆は乏しかった。以上の結果は、ある顆粒細胞スパインから放出された 2-AG が、アストロサイトや抑制性終末での分解を逃れ、2-AG を放出したスパインに inputs する苔状細胞終末のみならず、隣接する苔状細胞終末上の CB1 にも作用し、各々の苔状細胞－顆粒細胞シナプスにおける神経伝達が抑制されることを示唆する。

(10) 感覚入力による成体嗅球ニューロンターノオーバーの時空間的制御

澤田雅人¹, 金子奈穂子¹, 稲田浩之², 和気弘明², 加藤康子¹,
柳川右千夫³, 小林和人⁴, 根本知己⁵, 鍋倉淳一², 澤本和延¹
(¹名古屋市大, ²生理研, ³群馬大, ⁴福島医大, ⁵北海道大)

哺乳類の脳室下帯 (subventricular zone: SVZ) では成体でも神経幹細胞が存在し、嗅覚の一次中枢である嗅球のニューロンを生涯にわたり新生している。新生ニューロンが嗅球内で成熟して神経回路網に組み込まれる一方で、成熟ニューロンは細胞死を起こしており、嗅球ニューロンは常に入れ替わっている。これまでに、嗅球に到着した新生ニューロンの生存に嗅覚入力が必要であることが報告されているが、生きた動物で同一ニューロンを長期間追跡することが困難であるため、嗅覚入力に嗅球ニューロンのターノオーバーに影響を与えるかどうかは不明だった。

そこで我々は、嗅球ニューロン的一种である傍糸球細胞

に着目し、そのターノオーバーにおける嗅覚入力の役割を解明するために、嗅覚入力を可逆的に制御出来る外鼻孔閉塞プラグ及び二光子顕微鏡を用いた *in vivo* イメージング法を用いて、嗅覚入力を制御した時の傍糸球細胞のターノオーバーの変化を解析した。その結果、嗅覚入力の遮断及び再開によって、傍糸球細胞のターノオーバーが大きく変化することを生きた動物で明らかにした。また、傍糸球細胞が細胞死を起こした場所は、嗅覚入力依存的に新生ニューロンによって埋まることを見出した。以上の結果から、嗅覚入力に嗅球ニューロンのターノオーバーを時空間的に制御していることが示唆された。

(11) オレキシン神経特異的なセロトニン 1A 受容体の可逆的発現制御による 睡眠覚醒調節に関わる神経回路機能の解明

田淵 Colleen 紗和子, 常松友美, 杉尾翔太, 田中謙二, 富永真琴, 山中章弘 (生理研)

神経ペプチド「オレキシン」は、視床下部のみに存在する少数の神経において産生され、覚醒の維持に重要な役割を担っている。オレキシン神経は、古くから睡眠覚醒調節に関わることが知られている縫線核セロトニン神経に密に投射し、これを活性化する。一方、オレキシン神経はセロトニン神経から投射を受け、セロトニン 1A 受容体 (Htr1a) を介して抑制される。このことから、両神経の間には負の調節回路の存在が示唆されていた。しかし、睡眠覚醒調節におけるこの回路機能は十分明らかにされていない。この回路機能を明らかにするために、

Tet-off システムを用いてオレキシン神経特異的に Htr1a 発現量の可逆的制御を行った。オレキシン神経に Htr1a を過剰発現させた状態では、暗期初期の活動期において頻繁に睡眠と覚醒を繰り返すことが観察された。このマウスにドキシサイクリン (DOX) を投与し、Htr1a 発現量を正常に戻すと野生型と同様に覚醒を持続させたものの、再び DOX を除去すると暗期初期の覚醒が分断化された。このことから、オレキシン神経とセロトニン神経の間に存在する負の調節回路は、主に暗期初期に機能していることが示唆された。

(12) 興奮性および抑制性アストロサイトの局在と産生機序解明

木下真直, 小泉修一 (山梨大学医学部薬理学講座)

Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) は神経栄養因子の一つで、中枢神経系の成長、分化、維持、可塑性などにおいて重要な役割を果たす。うつ病の誘発因子であるストレスは海馬での BDNF の発現を低下させることが多くの動物実験から分かっている。また BDNF はうつ病患者死後脳や患者血中에서도減少しており、抗うつ薬や他の治療法によってその発現レベルが回復する。このように BDNF はうつ病の分子病態において重要な分子であり、そのコントロールはうつ病の重要な治療戦略であると考えられる。これまで BDNF は神経細胞由来であると考えられてきた。現在、抗うつ薬の第一選択薬として頻用される選択的セロトニン再取り込み阻害薬 (SSRI) は、シナプス間隙におけるセロトニンの再取り込みを阻害し、セロトニン神経機能を亢進させるとともにセロトニン受容体依存的に神経細胞における BDNF の発現を増加させる。

中枢に到達した SSRI はグリア細胞にも作用していると考えられるが、SSRI のグリア細胞への作用に関する知見は乏しい。我々は、海馬アストロサイトにおいて、代表的な SSRI である fluoxetine が BDNF を産生すること、それは神経細胞と異なり、セロトニン非依存的であることを明らかにした。興味深いことに、fluoxetine に暴露されたアストロサイトはグリア伝達物質 ATP を放出し、ATP 受容体 P2Y₁₁ 受容体及び ATP 分解産物アデノシンの受容体 A2b 受容体に作用することで BDNF を産生していた。アストロサイトは通常では BDNF を発現していないこと、神経細胞の 10 倍も細胞数が多いことを考慮すると、fluoxetine による BDNF の供給源として、また抗うつ薬の標的として、アストロサイトが重要な役割を担っていることが示唆される。

(13) 神経幹細胞の分化・増殖におけるヒストン H2B ユビキチン化酵素 Bre1 の役割

石野雄吾^{1,2}, 成瀬雅衣^{1,2}, 等 誠司^{1,2}, 池田一裕^{1,2}

(¹ 総合研究大学院大学・生命科学研究科・生理科学専攻, ² 生理学研究所・分子神経生理部門)

神経幹細胞は自己複製能を有すると同時に神経細胞及びグリア細胞への多分化能を持った細胞である。その分化制御に細胞内在性のメカニズムとして、エピジェネティックな DNA やクロマチン修飾などの関与が明らかになってきている。我々は、ヒストン H2B のユビキチン化酵素である Bre1 に着目した。Bre1 が H2B のモノユビキチン化を施すことによってクロマチンの構造変化が起こり、遺伝子発現が制御されていると考えられている。この Bre1 がマウス胎生期の神経幹細胞においてどのような役割を担っているか解析した。

in vitro 及び in vivo において Bre1-shRNA を用いた機能喪失実験を行った。in vitro の解析では、胎児脳を用いた

ニューロスフェア法によって、Bre1 のノックダウンが神経幹細胞の増殖に与える影響を検討した。shRNA 導入後に継代操作することによって増殖能を調べたところ、Bre1 が抑制されることによって neurosphere の形成が顕著に減少することが明らかとなった。続いて in vivo の解析では、胎生期の脳皮質へエレクトロポレーション法を用いて shRNA を導入した。その結果、細胞の radial migration が障害されると共に、神経前駆細胞のマーカーである Tbr2 陽性細胞が異所的に intermediate zone において多数観察された。以上の結果から、神経幹細胞の増殖や分化が Bre1 による調節を受けていることが示唆された。

(14) てんかん脳における異常発芽形成への cAMP の役割

中原聡一郎¹, 田中謙二², 鍋倉淳一², 伊関峰生³, 渡辺正勝⁴, 松木則夫¹, 小山隆太¹

(¹ 東京大学 大学院薬学系研究科 薬品作用学教室, ² 自然科学研究機構 生理学研究所,

³ 東邦大学 薬学部 薬品物理分析学教室, ⁴ 総合研究大学院大学 先端科学研究科)

内側側頭葉てんかん患者の海馬歯状回において、顆粒細胞の軸索である苔状線維は、異常発芽と呼称される異所性神経回路を頻繁に形成する。本研究では細胞内 cAMP 量の変動が異常発芽の形成に関与する可能性を検証した。海馬切片培養系において、GABA_A 受容体阻害薬であるピクロトキシンの処置によりてんかん様状態を誘導したところ、異常発芽の形成が観察された。なお、同現象は、cAMP の拮抗薬である Rp-cAMPs の共処置により阻止された。また、cAMP の類似体である Sp-cAMPs の単独処置により、異常発芽が形成された。この時、異

常発芽の形成前に苔状線維内でミトコンドリア密度の上昇が観察され、発芽形成との関連が示唆された。また同現象は光感受性アデニル酸シクラーゼを培養切片内の顆粒細胞に強制発現し、光照射により cAMP を生成することによって模倣された。さらに、薬物誘導性けいれんモデル動物の顆粒細胞層において cAMP 量の上昇および異常発芽の形成が観察された。また、同モデル動物において、異常発芽形成後には慢性的な自発発作が観察された。以上の結果から、てんかん脳における異常発芽の形成に顆粒細胞内 cAMP 量の上昇が関与することが示唆された。

(15) 多機能遺伝子改変の応用：疾患モデルマウス作成

田中謙二 (生理学研究所 分子神経生理部門)

メンデル遺伝に従う疾患の情報は、NCBI の OMIM か

ら得ることが出来る。更に、どのような遺伝子のどの変

異が報告されているかもそこには細かく記されている。疾患モデルマウスを作成するときにはこれらの情報が必要となるが、十分ではない。変異が多数報告されている場合はどの変異のマウスを作成すればよいか絞りきれないからないからである。

生理研 池中ラボがこれまでに取り組んできた2つのグリア病、Pelizaeus-Merzbacher病と Alexanderr 病の歴史について紹介し、モデルマウスをどのように作成してき

たか紹介する。次いで、その作成方法の問題点について論じ、それらの問題点を克服するために開発された多機能遺伝子改変システム、Flexible accelerate STOP-tetO knockin (FAST システム) について説明する。最後に、このシステムを用いて現在モデルマウス作成を試みているグリア病 megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts を紹介し、モデルマウス解析からどのような新しい知見が得られたか報告する。

(16) アストロサイトによる神経回路活動の制御

佐々木拓哉 (生理学研究所・脳形態解析研究部門)

アストロサイトは神経回路活動を積極的に制御する計算ユニットの一員である。アストロサイトは、数秒から数十秒持続する細胞内カルシウム活動により、ニューロンとは異なる時間スケールで、神経回路の記憶保持や情報コーディングに関与している可能性が推測される。この課題に取り組むため、本研究では、海馬スライス標本において、カルシウムイメージング法、カルシウムアンケーシング法、パッチクランプ記録法を適用し、アスト

ロサイト集団が呈する活動パターン、およびそれらが神経活動に与える影響を解析した。その結果、(i) アストロサイトは局所的に同期した活動パターンを示し、(ii) この活動がニューロンの樹状突起や軸索の演算処理を調節する可能性を見出した。現在は、これらの実験結果を数理モデルに組み込み、アストロサイト-ニューロン相互作用の導入により、脳回路全体としてどのような情報表現が実現可能になるか追求している。

(17) 脳回路光摂動法による記憶メカニズムの解明

松井 広, 佐々木拓哉, 別府 薫 (生理学研究所・脳形態解析研究部門)

脳神経回路を理解するのは、仕様書のない電子回路基盤を読み解くのに似ている。個々の素子の性能は比較的容易に理解できるが、それらが組み合わさってどのような機能を果たすのか。本研究では、光を使って特定の神経やグリア細胞の活動を操作することで、回路に摂動を与え、情報の流れを変えろという手法を用いて、回路に本来備わっている機能を解明する。脳回路が電子回路と違う点の一つは、脳では周りからの働きかけに応じて回路自体が柔軟に変化する点である。といっても、ハードな配線自体は変わらず、素子同士をつなぐ信号伝達効率の可塑的变化に従い、信号の流れが変わるのだと考えられる。本研究では、信号の流れが変わる際に、素子を結

ぶシナプスにおいて、どのような分子的・形態的な変化が伴うかを観察する。また、脳には、神経細胞間を行き交う情報と並列して、グリア細胞の織り成す複雑なネットワークを伝わる情報もあることが明らかになってきた。脳機能の多くは前者によって担われていると考えられがちであるが、グリアの状態は刻々と変化し、周囲の神経活動をモニターすると同時に、神経活動レベルを細かく遷移させていることが示唆されている。従来、グリア細胞を選択的に刺激することは容易でなかったが、グリア細胞の活動を光で制御する方法を用いて、脳内で圧倒的な数を占めるグリアが脳機能においてどんな役割を持つのか、解明を目指した。

(18) 軸索起始部の Na チャネル分布の入力依存的制御

久場博司 (京大・医・生理)

神経回路機能が発現するしくみを理解する上では、その機能素子である個々の神経細胞の働きを明らかにすることが重要である。特に、神経細胞の樹状突起や軸索では多様な情報処理が行われる。軸索起始部は、Na チャネルが高密度で分布することにより活動電位の発生に関わる。近年、我々は音の方向を特定すること（音源定位）に関わるトリ脳幹の聴覚神経細胞において、軸索起始部での Na チャネル分布の位置や長さが処理する音の周波

数に応じて異なることを明らかにした。このことは軸索起始部の Na チャネル分布が、従来考えられてきたように画一的なものではなく、シナプス入力や回路機能に応じて細胞毎に精巧に調節されていることを示している。発表では、軸索起始部の Na チャネル分布が脳幹の聴覚神経回路の機能発現に果たす役割を示すとともに、その入力依存的な制御についても紹介したい。

5. シナプス可塑性の分子細胞基盤

2011年6月16日－6月17日

代表・世話人：榎本和生（大阪バイオサイエンス研究所 神経細胞生物学部門）

所内対応者：深田正紀（生体膜研究部門）

（1）光技術と分子遺伝学から探るシナプス伝達の暗号

久原 篤（甲南大学 理工学部，名古屋大学大学院 理学研究科）

（2）改良型 GCaMP を用いたゼブラフィッシュ生体脳機能イメージング

武藤 彩（国立遺伝学研究所 初期発生研究部門）

（3）神経機能の制御における電位依存性 Ca^{2+} チャンネルの担う新たな役割

森 泰生（京都大学大学院 地球環境学堂及び工学研究科）

（4）生後脳・成体脳におけるニューロン新生

今吉 格（京都大学ウイルス研究所，京都大学白眉センター，JST さきがけ）

（5）運動神経細胞の発生における Rho/Rho-kinase シグナル伝達系の役割

小林憲太（福島県立医科大学 医学部 生体機能研究部門）

（6）報酬・忌避行動における大脳基底核神経回路の制御機構

疋田貴俊（大阪バイオサイエンス研究所 システムズ生物学部門，JST さきがけ）

（7）鳥の歌学習におけるカドヘリン分子の役割

松永英治（理化学研究所 脳科学総合研究センター 象徴概念発達研究チーム）

（8）細胞接着因子 Neuroligin の2種類の自閉症変異がシナプス機能に及ぼす作用の比較

田淵克彦（生理学研究所 脳形態解析研究部門）

（9）ショウジョウバエ嗅覚情報処理の信頼性と柔軟性

風間北斗（理化学研究所 脳科学総合研究センター 知覚神経回路機構研究チーム）

（10）嗅覚神経地図の形成メカニズム

今井 猛（理化学研究所 発生・再生科学総合研究センター 感覚神経回路形成研究チーム）

【参加者名】

深田正紀（生理学研究所），深田優子（生理学研究所），
横井紀彦（生理学研究所），大川都史香（生理学研究所），
高橋直樹（生理学研究所），奥慎一郎（生理学研究所），
飯塚幸彦（名古屋大学大学院），今井 猛（理化学研究所），
今吉 格（京都大学ウイルス研究所），植田誉志史（京都大学），
江島亜樹（京都大学），榎本和生（大阪バイオサイエンス研究所），
大塚稔久（山梨大学），風間北斗（理化学研究所），木下 専（名古屋大学），
清中茂樹（京都大学），久原 篤（甲南大学），黒田啓介（名古屋大学），
古泉博之（大阪バイオサイエンス研究所），小林憲太（福島県立医科大学），
坂本雅行（京都大学ウイルス研究所），佐野慶和（東京大学），
澤村晴志朗（京都大学），菅谷佑樹（東京大学），高田宜則（京都大学），田淵克彦（生理

学研究所），堤新一郎（東京大学），中尾章人（京都大学），
服部光治（名古屋市立大学），疋田貴俊（大阪バイオサイエンス研究所），
尾藤晴彦（東京大学），藤岡洋美（大阪バイオサイエンス研究所），
松尾直毅（京都大学），松永英治（理化学研究所），真鍋俊也（東京大学），
武藤 彩（国立遺伝学研究所），森 泰生（京都大学），森 大輔（名古屋大学），
佐野裕美（生理学研究所），久保山和哉（基礎生物学研究所），
深澤有吾（生理学研究所），久保義弘（生理学研究所），
橋富裕貴（生理学研究所），高雄啓三（生理学研究所），
笠井昌俊（生理学研究所），大塚 岳（生理学研究所），
直水秀人（基礎生物学研究所），井本敬二（生理学研究所），
原田春美（生理学研究所），仲袖友貴（基礎生物学研究所），
中條浩一（生理学研究所）

【概要】

脳の機能とその破綻から生じる病態を理解する上で、シナプス可塑性の分子機構と生理的意義を解明することは不可欠である。しかし、一口に「シナプス」といっても、その構造や機能は多種多様であり、当然、脳神経シナプス全体における役割や重要性は異なっているであろう。一方、一部の分子の構造や機能は、動物種や神経シナプスを超えてほぼ完全に保存されているようにも思われる。シナプス可塑性におけるこのような「多様性」と「普遍性」を、誤解無く理解するためには、マウ

スからトリ、ショウジョウバエ、線虫に至るまで様々な動物種・システム・実験手法を用いる研究者が一堂に会し、フランクに話し合う機会が必要不可欠である。本研究会では、シナプス可塑性とその周辺領域に関わりを持つ研究者を幅広く集め、最新の研究成果を発表して頂くとともに、議論に十分な時間を割くことで、今後のシナプス可塑性及び関連分野の新展開を模索したいと考えている。

(1) 光技術と分子遺伝学から探るシナプス伝達の暗号

久原 篤 (甲南大学 理工学部, 名古屋大学大学院 理学研究科)

神経科学分野において、脳の神経回路を流れる複雑な情報が、個々の神経細胞内でどのように混線することなく伝達され、複雑な行動や思考を調節しているかを解明することは重要な課題である。我々は最近、線虫 *C. elegans* の温度応答行動をモデル系として (文献 1)、従来の分子遺伝学と最新の光学操作技術を組み合わせた解析から、単一の温度感知ニューロンが単一の介在ニューロンに対して、「促進性」と「抑制性」の 2 種類の神経伝達を行なっていることを明らかにした (文献 1)。さらに、温度感知ニューロンにおける Ca^{2+} 濃度の変化率が、促進

性と抑制性の神経伝達の「切り替えスイッチ」として機能し、行動の逆転を引き起こすことを明らかにした (文献 3)。

本発表では、研究結果の紹介だけでなく、光技術を行動の実験系に応用するための装置の開発の経緯や、時々刻々と進化する技術をどのタイミングで取り込むべきかを悩んだ経緯などについてもお話ししたい。

文献 1 Kuhara et al., *Science*, 2008.

文献 2 Ohnishi, Kuhara et al., *EMBO J.*, 2011.

文献 3 Kuhara et al., under revision.

(2) 改良型 GCaMP を用いたゼブラフィッシュ生体脳機能イメージング

武藤 彩 (国立遺伝学研究所 初期発生研究部門)

脳の働きや動物の行動を機能的神経回路と結び付けて理解するためには、多数の神経細胞集団の活動を同時計測することが必要である。我々は膜電位を直接測定するかわりに、活動電位の発生に伴うカルシウムイオンの細胞内流入をカルシウムイメージングにより記録測定することにより、神経細胞集団の機能可視化を行っている。カルシウムプローブとして DNA でコードされるタンパク質 (DNA-encoded calcium indicators, DECI) を用いると、遺伝学的に同定された神経集団からの特異的な蛍光シグナルを測定できるという利点がある。しかしながら、こ

れまでの DECI は、低分子蛍光プローブと比べて生体内でのシグナル強度が弱いという難点があった。そこで我々は、既存の GCaMP2 にアミノ酸変異を導入することによりフォールディング活性、生体内での発現量、カルシウムイオンとの親和性などを改善した改良型の GCaMP を作製した。そして、この改良型 GCaMP の脊椎動物生体脳機能プローブとしての有用性を検証した。

我々の研究室では大規模な Gal4 エンハンサー・遺伝子トラップ系統を作成している。その中の神経特異的な Gal4 系統と UAS : 改良型 GCaMP トランスジェニック

フィッシュとを掛け合わせるにより、脳内の様々な部位での神経機能イメージングが再現性良く実現できる。まず改良型 GCaMP の有効性を確認する目的で、ゼブラフィッシュ胚の運動時における脊髄運動神経細胞のカルシウムイメージングを行った。その結果、複数の体節にまたがる広範囲な領域において運動神経細胞集団を機能的に可視化することができ、発生期の自発運動に 관련된神経活動パターンが検出できた。

次にゼブラフィッシュの摂食行動において重要である視覚機能のイメージングを試みた。網膜神経節細胞の軸索は視蓋へトポグラフィックに投射することが解剖学的に示されている。GCaMP 蛍光イメージングによりこのトポグラフィックマップが機能的にも確かめられた。そこ

でさらに、自然な視覚刺激としてゾウリムシを用い、これが視覚系の神経活動としてどのように表現されるかを検討した。その結果、視界のゾウリムシの動きにより生じた脳内の活動部位が、同様の機能的トポグラフィックマップとして観察された。このほか、発生期の前脳、中脳、小脳、などで活発な神経活動が存在することが明らかにになり、これらの神経活動の意義について検討している。

今回開発した改良型 GCaMP により、遺伝学的に同定された神経回路の機能イメージングが脊椎動物生体脳で可能になった。この方法を今後、動物行動を作り出す脳の働きの解明に役立てたい。

(3) 神経機能の制御における電位依存性 Ca^{2+} チャンネルの担う新たな役割

森 泰生 (京都大学大学院 地球環境学堂及び工学研究科)

活動電位を Ca^{2+} シグナルに変換し、神経伝達物質放出を始め多様な神経応答を制御するというのが、神経細胞における電位依存性 Ca^{2+} チャンネル (VDCC) の役割に関する理解である。私達は、この正統的な VDCC の理解に立脚した上で、主サブユニット $\alpha 1$ の cDNA クローニングから VDCC の分子・機能的解析を展開し、最近、唯一の細胞内サブユニットである β サブユニットの相互作用タンパク質の 2-hybrid 法による同定を行ってきた。その過

程で、 β サブユニット結合タンパクが前シナプスにおける機能だけでなく、それ以外のユニークな機能も有することを示唆する知見が得られるようになってきた。今回は、それらの中でも VDCC (β サブユニット) と epigenetics や membrane trafficking との関係を示唆する未発表データを紹介したい。シナプス可塑性の観点も含め、VDCC (サブユニット) の有する非正統的とも言える機能について議論を深めることができれば非常にありがたい。

(4) 生後脳・成体脳におけるニューロン新生

今吉 格 (京都大学ウイルス研究所, 京都大学白眉センター, JST さきがけ)

従来、脳の神経ネットワークを構成するニューロンの産生は発生期においてしか行われないと考えられていたが、ヒトを含めた哺乳類の生後脳・成体脳においても神経幹細胞が存在し、側脳室周囲の脳室下帯や海馬の歯状回といった特定の領域では、ニューロンの新生が一生継続している事が解ってきた。生後脳・成体脳において新たに産出される多くの新生ニューロンは既存の神経回路に組み込まれるが、このようなニューロン新生が個体にとってどのような生理的意義を持っているのかはほとん

ど明らかになっていない。記憶や学習などの高次脳機能との関係についても多くの議論がなされているが、実験的なアプローチがなされた例は少ない。また、脳の発達不全や機能障害によって引き起こされる発達障害や精神疾患は、病態の原因となる決定的な脳責任領域は未だ同定されていないが、これらの疾患とニューロン新生の関与も議論されているが、実験的な証拠は乏しいのが現状である。

我々は、遺伝子改変マウス技術を駆使して新生ニュー

ロンを蛍光たんぱく質で標識し、生後脳・成体脳におけるニューロン新生の全体像を明らかにする事を目指している。また、ニューロン新生を選択的に阻害するモデルマウスを作製し、ニューロン新生が高次脳機能や発達障害・精神疾患にどのように関与しているか明らかにする事を目標としている。これまで、Nestin-CreERT2 と Rosa26-stop-ECFP ダブルトランスジェニックマウスを用いて、成体脳ニューロン新生を標識し、長期間に渡って経時的観察した結果、海馬・歯状回では、新生ニューロンの組み込みにより、神経細胞数が12ヶ月の間に15%増加している事が解った。また、嗅球の顆粒細胞層では、ほとんどのニューロンが新しく新生ニューロンによって

置き換わっていた。また、NSE-stop-DTA ニューロンマウスを用いて新生ニューロンを除去したマウスを作製し、行動学的解析を行った結果、ニューロン新生阻害マウスは空間記憶の長期維持能力が低い事が解った。しかし、細かいにおいの識別能力や嗅覚記憶は保たれており、嗅球でのニューロン新生は海馬・歯状回とは異なった役割を担っている事が解った。また、興味深い事に、ニューロン新生阻害マウスは雄マウス・雌マウス特異的な行動に異常が見られた。本発表では、これらの知見とともに、Young adult 脳、及び、副嗅球でのニューロン新生の標識実験から得られた新規知見と合わせて、ニューロン新生の機能的意義について議論したい。

(5) 運動神経細胞の発生における Rho/Rho-kinase シグナル伝達系の役割

小林憲太（福島県立医科大学 医学部 生体機能研究部門）

低分子量 GTP 結合タンパク質 Rho は、神経細胞の生存、軸索パターンニング、シナプス形成など種々の重要な生理機能を制御している。Rho の主要な標的タンパク質の一つである Rho-kinase は、Rho の下流で様々な細胞応答を担っている。本研究では、運動神経細胞の発生における Rho/Rho-kinase シグナル伝達系の役割を解析した。最初に、ドーパミンβ-ヒドロキシラーゼ (DBH) 遺伝子のプロモーターの下流に Cre 遺伝子を連結したトランスジェーンを有するトランスジェニックマウス (DBH-Cre マウス) と、CMV プロモーターの下流に loxP 配列では含まれたクロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ (CAT) 遺伝子、RhoA のドミナントネガティブ変異体 (RhoA DN) あるいは Rho-kinase のドミナントネガティブ変異体 (Rho-K DN) を順次連結したトランスジェーンを有するトランスジェニックマウス (それぞれ、CAT-RhoA DN マウスと CAT-Rho-K DN マウス) を作製した。次に、発生過程の運動神経細胞で特異的に Rho あるいは

Rho-kinase の活性を抑制するために、DBH-Cre マウスと、CAT-RhoA DN マウスあるいは CAT-Rho-K DN マウスを交配してダブルトランスジェニックマウス (それぞれ Cre+/RhoA DN+マウスと Cre+/Rho-K DN+マウス) を作製した。胎生期の Cre+/RhoA DN+マウスでは、脊髄運動神経細胞に顕著なアポトーシスの誘導が観察された。菱脳運動神経細胞では、somatic motor neuron において軸索パターンニングとシナプス形成の異常が観察されたが、それ以外の脳神経である branchiomotor/visceral motor neuron の軸索パターンニングは見かけ上正常であった。一方、アポトーシスの誘導は全ての菱脳運動神経細胞で観察された。Cre+/Rho-K DN+マウスにおいてもこれらと同様の表現型が認められた。以上の結果から、Rho/Rho-kinase シグナル伝達系は、発生過程における運動神経細胞の生存と軸索パターンニングに重要な役割を果たしている事が明らかになった。

(6) 報酬・忌避行動における大脳基底核神経回路の制御機構

正田貴俊（大阪バイオサイエンス研究所 システムズ生物学部門, JST さきがけ）

大脳基底核は運動のバランスの制御部位であるのみならず、

好ましいものを求める報酬行動、不快なものを避

ける忌避行動、報酬か忌避かを選択する意志決定を支配する必須の脳部位である。大脳基底核神経回路は大脳皮質—線条体/側坐核—黒質網様部—視床の神経経路で形成され、さらに海馬体や扁桃体から記憶や情動の情報入力を受ける。大脳基底核は黒質緻密部及び腹側被蓋野からのドーパミンによって制御を受け、パーキンソン病はドーパミンの枯渇によって、また薬物依存症はドーパミンの異常亢進によって誘発され、精神神経疾患を理解する上でも重要な脳部位である。大脳基底核の主要な神経回路である線条体から黒質への直接路と、淡蒼球などを介する間接路の 2 つの伝達経路があるが、これらの機能に対する役割については、それぞれの経路の線条体細胞

が形態学的に同一であるために 2 つの経路を介した基底核神経回路の制御機構の多くが不明であった。そこで、直接路と間接路を構成する線条体神経細胞のそれぞれに特異的に破傷風菌毒素を発現させ、テトラサイクリン依存的に神経伝達を遮断/再開できる可逆的神経伝達阻止法を開発した。直接路遮断と間接路遮断は共に精神刺激薬による急性賦活行動量を抑制した。しかし、報酬学習とコカイン依存行動には直接路神経伝達が、忌避行動には間接路神経伝達がそれぞれ特異的に必須であった。報酬・忌避行動においてドーパミンを介した大脳基底核神経回路のスイッチング機構を考察する。

(7) 鳥の歌学習におけるカドヘリン分子の役割

松永英治 (理化学研究所 脳科学総合研究センター 象徴概念発達研究チーム)

鳥類の中でも、鳴禽類に属する鳥は、幼鳥期に親鳥を真似て、囀り (歌) を学習することから、ヒトの言語発話学習モデルとされる。歌を学習する鳥の脳内には、「歌制御系」と呼ばれる神経回路網が存在しており、歌の学習と生成に関わることが知られる。しかしどのような分子機構により鳥の歌学習が制御されているかは、明らかにされていない。鳥の歌学習を支える分子基盤を探るため、本研究では、まず、鳴禽類のジュウシマツを用いて、*in situ hybridization* 法により、歌制御系に関連して発現する因子群の探索を行った。発達過程を追って詳細に様々な遺伝子群の発現パターンを調べたところ、歌の生成に関わる前運動核の RA 核において、親鳥の歌を聴いて覚える感覚学習期から、自ら親の歌を真似て試行錯誤を繰り返して歌を習得していく感覚運動学習期へと移行する過程で、発現する type-II cadherin 分子のサブタイプが cadherin-7 (Cad7) から cadherin-6B (Cad6) へと変化することが明らかとなった。そこで歌学習における cadherin の機能を探るため、幼鳥期のジュウシマツの脳内に cadherin-7 を発現するレンチウイルスを導入し、歌学習への影響を解析した。様々な音響特性の解析をおこなった

ところ、コントロールの GFP を強制発現させた鳥は、親鳥の歌を習得したが、cadherin-7 を強制発現させた鳥では、幼鳥から成鳥に至る過程で獲得されるはずの倍音構造を持った音素の習得に異常が見られることがわかった。

また、Type-II cadherin 分子は、ニューロンの電気的活動に関わることが報告されているので、発現する cadherin 分子が、どのような機構により鳥の歌学習に影響を与えるのかを探るため、ラット海馬由来の神経細胞に cadherin 分子を発現させ、電気生理学的解析を行った。コントロールの GFP を発現させた細胞に比べ、Cad6 を発現させた細胞では、樹状突起のスパイン数と mEPSCs (miniature Excitatory Synaptic Currents) の発生頻度の増加が見られたが、Cad7 を発現させた細胞では、逆にスパイン数と mEPSCs の発生頻度に減少が見られた。

これらの結果をあわせて考えると、鳥の歌の発達過程では、発現する cadherin 分子のサブタイプが Cad7 から Cad6B へと変化することにより、シナプス数が増加し、神経可塑性が増大され、これが歌の感覚運動学習を可能にする可能性が示唆された。

(8) 細胞接着因子 Neuroligin の 2 種類の自閉症変異がシナプス機能に及ぼす作用の比較

田淵克彦（生理学研究所 脳形態解析研究部門）

Neuroligin はシナプス後終末に局在する細胞接着因子で、シナプス前終末の Neurexin と結合することによりシナプスの形成および成熟に寄与していると考えられている。ヒトでは 5 種類の neuroligin 遺伝子が存在し、これらは細胞外領域にアセチルコリンエステラーゼ様ドメイン、細胞内領域に PDZ 結合配列を有する 1 回膜貫通型タンパク質をコードしている。近年、Neuroligin や Neurexin、さらにはこれらと細胞内で直接的、間接的に相互作用する分子の遺伝子異常が自閉症患者から相次いで発見された。自閉症は精神・神経疾患の中でも特に遺伝学的素因との関連が強い疾患であるが、多くのものは多因性遺伝性であると考えられ原因の特定が困難であった。このため、自閉症を発症前に診断して未然に防ぐ方法や、発症後の根本的治療法は未だに確立されていない。もしこれらの分子の異常がそれぞれ単独で自閉症を引き起こすことがわかれば、それらがモデル動物において引き起こす病態を解析することで、自閉症の原因解明の道が開けるのではないかと期待できる。我々は、これまでの研究において、自閉症患者から見つかった Neuroligin-3 のアセチルコリンエステラーゼ様ドメイン内の 451 番目のアルギニンがシステインに置換された変異(R451C 変異)をノックインしたマウスを作成し、この変異がマウスで自閉症様行動を再現することを確認した。また、このマ

ウスは正常に発生成長し、シナプス以外で目立った異常が認められないことから、シナプス異常が自閉症病理の最小構成要素である可能性が示唆された。我々は、現在このマウスのシナプス機能について更に詳しく解析を行っている。電気生理学的に、このマウスでは大脳皮質の体性感覚野で抑制性シナプス機能の選択的な増強が認められ、海馬の CA1 領域のシナプスにおいては、抑制性シナプス機能の異常はみられないが、逆に興奮性シナプス機能の増強が認められた。この増強は、AMPA 受容体機能よりも NMDA 受容体機能でより顕著であった。レプリカ免疫電顕法 (SDS-FRL 法) を用いてシナプス後膜面における NMDA 受容体の密度を調べたところ、GluN1 の密度の上昇がみられた。自閉症患者から見つかったもう一つの Neuroligin 変異である R704C は、これまで見つかった Neuroligin の変異のうち、唯一細胞内領域に存在する変異である。R451C 変異と異なり、この変異は *in vitro* でシナプス形成能に異常はみられない。この変異をノックインしたマウスでは、海馬の CA1 領域のシナプスにおいて、R451C 変異とは異なり AMPA 受容体機能の低下が認められた。本研究会では、Neuroligin の R451C と R704C の二つの変異がシナプスに及ぼす作用をそれぞれ比較しながら議論したいと考えている。

(9) ショウジョウバエ嗅覚情報処理の信頼性と柔軟性

風間北斗（理化学研究所 脳科学総合研究センター 知覚神経回路機構研究チーム）

一般に、神経回路が持つべき情報処理の特性とは何であろうか？ まず、計算の信頼性が高いことである。もし、回路の出力が試行ごとに変わるようでは、情報は正確に伝えられない。同時に、回路が様々な環境下で効果的に機能するためには、計算様式を柔軟に変更できる必要がある。例えば、神経細胞の損傷等からある入力レベルが低下した場合、回路の他の要素が可塑的に変化することで、その入力の低下を補える。これら、信頼性・柔

軟性という一見相反する性質は、多くの神経回路のアイデンティティとも言える。しかしながら、同一回路において、どのようにこれら二つのことが実現されているかは、まだよく理解されたとは言い難い。本セミナーでは、ショウジョウバエの嗅覚情報処理一次中枢である触覚葉（脊椎動物の嗅球に相当）を対象として、これら二つの特性を生み出すメカニズムを、シナプス・細胞・回路レベルで議論する。

(10) 嗅覚神経地図の形成メカニズム

今井 猛 (理化学研究所 発生・再生科学総合研究センター 感覚神経回路形成研究チーム)

哺乳類の嗅覚系において、個々の嗅神経細胞は約 1,000 種類の嗅覚受容体 (OR) 遺伝子の中から 1 種類のみを発現し、その軸索投射先は発現する OR の種類によって規定される。従って、匂いの情報は嗅球上の神経地図に二次元的に展開される。この嗅覚地図が発生過程でどのようにして出来るのかは長い間謎であったが、我々は、「OR の違い」が、cAMP シグナルを介して軸索ガイダンス分子の転写レベルへと変換されることで軸索投射位置が規定されることを見出した (Imai et al., 2006)。更に、これらのガイダンス分子は、軸索間相互作用を介して神経地図形成を制御していることが明らかとなった (Imai et al., 2009)。これらの知見は、神経地図がこれまで考えら

れてきた以上に、末梢入力どうしの自己組織化によって生じるものであるということを示唆している。

このようにして作られた嗅覚神経地図が二次神経細胞にどのように伝えられ、嗅皮質でどのように読み解かれるのか、またそのための神経回路がどのように作られるのか、といった問題はこれからの重要な問題である。これらの問いに対する我々の試みについても紹介したい。

References:

- Imai et al., Cold Spring Harb Perspect Biol. (2010) 2:a001776.
- Imai et al., Science (2009) 325:585-590.
- Imai et al., Science (2006) 314:657-

6. 痛みの病態生理と神経・分子機構

2011 年 12 月 21 日－12 月 22 日

代表・世話人：岩田幸一（日本大学歯学部生理学教室）

所内対応者：富永真琴（岡崎統合バイオサイエンスセンター細胞生理部門）

- (1) 教育講演 1: The Itching Line- The Cellular Basis of Itch Detection and Transmission

Alexander Binshtok (The Hebrew University Medical School)

- (2) 線維筋痛症モデルにおける皮膚侵害受容器活動の解析

田口 徹¹, 水村和枝²

(¹名古屋大学環境医学研究所神経系分野 II, ²中部大学生命健康科学部理学療法学科)

- (3) ラット下腿筋膜の侵害受容組織としての特性

安井正佐也¹, 田口 徹², 水村和枝³, 木山博資¹

(¹名古屋大学大学院医学系研究科機能形態学講座機能組織学分野,

²名古屋大学環境医学研究所神経系分野 II, ³中部大学生命健康科学部理学療法学科)

- (4) 神経成長因子はヒトの持続性筋痛とトリガーポイント形成に関与する

林 功栄^{1,2}, 水村和枝³, Thomas Graven-Nielsen⁴, 尾崎紀之¹

(¹金沢大学医薬保健研究域医学系機能解剖学分野,

²名古屋大学大学院医学系研究科機能形態学講座機能組織学分野,

³中部大学生命健康科学部理学療法学科, ⁴Center for Sensory-Motor Interaction, Aalborg University)

- (5) 歯髄炎により発症する異所性疼痛異常の末梢機構

松浦慎吾¹, 清水康平^{1,3}, 篠田雅路^{2,4}, 小木會文内^{1,3}, 岩田幸一^{2,4}

(¹日本大学歯学部保存学教室歯内療法学講座, ²生理学教室,

³総合歯学研究高度先端医療研究部門, ⁴総合歯学研究機能形態部門)

- (6) 延髄侵害受容性ニューロン応答特性の変調へのアストログリアの関与

坪井美行（日本大学歯学部生理学教室）

- (7) 咀嚼が顔面皮膚の体性感覚に及ぼす影響

岡安一郎, 大井久美子（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科臨床病態生理学分野）

- (8) 帯状疱疹関連疼痛マウスモデルの動的アロディニア発生における脊髄後角への T リンパ球浸潤の関与

佐々木淳, 篠田 篤, 倉石 泰（富山大学大学院医学薬学研究部応用薬理学研究室）

- (9) Bortezomib 誘発性疼痛の動物モデルの作製とその特徴

北村 亮, 安東嗣修, 溝口静香, 倉石 泰

（富山大学大学院医学薬学研究部応用薬理学教室）

- (10) Intrathecal Administration of Botulinum Neurotoxin Type A Attenuates Formalin-Induced

Nociceptive Responses in Mice

Hyun Jeong Kim

(Department of Dental Anesthesiology and Dental Research Institute,

School of Dentistry, Seoul National University, Seoul, Republic of Korea)

- (11) 神経障害性疼痛におけるモルヒネ先制鎮痛一下行性抑制系を介するリゾホスファチジン酸合成の抑制

永井 潤, 植田弘師（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科分子薬理学分野）

- (12) モルヒネ鎮痛耐性を制御するミクログリアを介したアンチオピオイド機構の解明

西 建也, 植田弘師（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科分子薬理学分野）

- (13) *In vivo* パッチクランプ法により明らかとなった下行性疼痛抑制系を介した
dexmedetomidine の新規鎮痛作用
舟井優介^{1,2}, 西川精宣², 森 隆², 井本敬二^{1,3}, 古江秀昌^{1,3}
(¹生理学研究所神経シグナル研究部門, ²大阪市立大学大学院医学研究科麻酔科学,
³総合研究大学院大学生理学)
- (14) 神経障害性疼痛下における内因性 GABA 伝達効率低下に起因した睡眠障害
山下 哲¹, 堀内 浩¹, 柳瀬 諒¹, 鈴木 勉², 成田 年¹
(¹星薬科大学薬理学教室, ²星薬科大学薬品毒性学教室)
- (15) 教育講演 2: 口腔顔面領域の不明痛の最近の知識
今村佳樹 (日本大学歯学部口腔診断学講座)
- (16) 脊髄後角における非侵害受容性神経終末-II 層興奮性介在細胞コンタクトの解析
八坂敏一¹, Sheena YX Tiong², Erika Polgár², 藤田亜美¹, 熊本栄一¹, Andrew J Todd²
(¹佐賀大学医学部生体構造機能学講座, ²グラスゴウ大学 IBLS 脊髄グループ)
- (17) 成熟ラットの脊髄後角における痛み伝達制御におけるオキシトシンの役割
熊本栄一, 蔣 昌宇, 藤田亜美, 柳 涛, 徐 年香, 水田恒太郎,
井上将成, 川崎弘貴, 八坂敏一, 上村聡子, 松下晋大
(佐賀大学医学部生体構造機能学講座 (神経生理学分野))
- (18) 脊髄後角での神経可塑性の神経活動イメージングによる解析
池田 弘, 村瀬一之 (福井大学大学院工学研究科知能システム工学専攻)
- (19) 僧帽筋炎に随伴した顎顔面部の異所性異常疼痛発症における fractalkine の関与
清本聖文¹, 篠田雅路², 今村佳樹¹, 岩田幸一²
(¹日本大学歯学部口腔診断学講座, ²日本大学歯学部生理学教室)
- (20) 慢性椎間板性腰痛機序の検討
宮城正行, 石川哲大, 大鳥精司, 井上 玄, 鴨田博人, 新井 玄,
鈴木 都, 佐久間詳浩, 及川泰宏, 高橋和久, 川上 守
(千葉大学大学院医学研究院整形外科学)
- (21) 腰椎椎間板ヘルニアの病態と治療—ラット髄核留置モデルを用いての検討—
関口美穂, 菊地臣一, 紺野慎一 (福島県立医科大学医学部整形外科学講座)
- (22) 神経障害性疼痛における転写因子 IRF5 の役割
吉永遼平¹, 津田 誠¹, 増田隆博¹, 西本奈央¹, 齋藤秀俊¹, 田村智彦², 井上和秀¹
(¹九州大学大学院薬学研究院薬理学分野, ²横浜市立大学大学院医学研究科免疫学教室)
- (23) 末梢神経障害後早期に脊髄後角ミクログリアに特異的に発現する新規転写因子の役割
増田潤哉, 齋藤秀俊, 米田聡介, 津田 誠, 井上和秀 (九州大学大学院薬学研究院薬理学分野)
- (24) 舌神経圧迫モデルラットに発症する機械的および熱痛覚過敏に対する satellite glial cell における
P2Y₁₂ receptor の関与
片桐綾乃^{1,2}, 篠田雅路², 豊福 明¹, 岩田幸一²
(¹東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科歯科心身医学分野, ²日本大学歯学部生理学教室)
- (25) 痛みによる不快情動生成における分界条床核の役割
南 雅文 (北海道大学大学院薬学研究院薬理学研究室)

(26) 仔マウスが親に運ばれる時に示す輸送反応：制御機構および侵害受容応答変化の検討

吉田さちね¹, Gianluca Esposito¹, 恒岡洋右¹, 大西竜子¹, 菊水健史², 加藤忠史³, 黒田公美¹(¹ 理化学研究所脳科学総合研究センター黒田研究ユニット, ² 麻布大学獣医学部伴侶動物学研究室,³ 理化学研究所脳科学総合研究センター精神疾患動態研究チーム)

(27) ラット培養後根神経節細胞の機械感受性電流の低 pH による感作機構について

久保亜抄子^{1,2}, 水村和枝²(¹ 名古屋大学環境医学研究所神経系分野 II, ² 中部大学生命健康科学部理学療法学科)

(28) 光学異性体の痛覚伝達に対する選択的抑制効果

歌 大介¹, 井本敬二^{1,2}, 古江秀昌^{1,2}(¹ 生理学研究所神経シグナル研究部門, ² 総合研究大学院大学 生理科学)

(29) 辛いトウガラシの成分, カプシエイトによる TRPA1 活性化

内田邦敏, 新宅健司, Zhou Yiming, 鈴木喜郎, 富永真琴

(岡崎統合バイオサイエンスセンター 細胞生理研究部門)

(30) TRPM2 を介した炎症性および神経障害性疼痛発症のメカニズム

勇 昂一¹, 原口佳代¹, 河本 愛¹, 朝倉佳代子¹, 白川久志¹, 森 泰生², 中川貴之¹, 金子周司¹(¹ 京都大学大学院薬学研究科生体機能解析学分野,² 工学研究科合成・生物化学専攻分子生物化学分野)

(31) カプサイシンを生後 2 日, 15 日目投与マウスの炎症誘発後の侵害刺激に対する応答の変化

樋浦明夫¹, 中川 弘², 江口 寛³(¹ 徳島大学歯学部口腔組織学教室, ² 徳島大学病院障害者歯科, ³ 徳島大学病院歯科麻酔)

【参加者名】

南 雅文 (北海道大学), 関口美穂 (福島県立医科大学), 半田隼一 (福島県立医科大学), 吉川博之 (新潟大学), 照光 真 (新潟大学), 舟久保恵美 (慶應義塾大学), 片桐綾乃 (東京医科歯科大学大学院), 山下 哲 (星薬科大学), 田辺光男 (北里大学), 笠井慎也 (東京都医学総合研究所), 岩田幸一 (日本大学), 篠田雅路 (日本大学), 坪井美行 (日本大学), 今村佳樹 (日本大学), 清本聖文 (日本大学), 松浦慎吾 (日本大学), Alex Binshtok (The Hebrew University Medical School), HyungJeong Kim (国立ソウル大学), 西須大徳 (慶應義塾大学), 宮城正行 (千葉大学), 吉田さちね (理化学研究所), 佐々木淳 (富山大学), 北村 亮 (富山大学), 織田 聡 (富山大学), 尾崎紀之 (金沢大学), 易 勤 (金沢大学), 堀紀代美 (金沢大学), 林 功栄 (金沢大学), 村瀬一之 (福井大学), 池田 弘 (福井大学), 松田 輝 (中部大学), 水村和枝 (中部大), 佐藤 純 (名古屋大学), 田口 徹 (名古屋大学), 安井正佐也 (名古屋大学), 久保亜抄子 (名古屋大学), 溝口博之 (名古屋大学), 片野坂公明 (名古屋大学), 古江秀昌 (生理学研究所), 歌 大介 (生理学研究所), 箱崎敦志 (生理学研究所), 中川貴之 (京都大学), 趙 萌

(京都大学), 勇 昂一 (京都大学), 榊山 実 (京都大学), 岩下成人 (滋賀医科大学), 舟井優介 (大阪市立大学), 山崎広之 (大阪市立大学), 眞下 節 (大阪大学), 杉村光隆 (大阪大学), 丹羽 均 (大阪大学), 神田浩里 (兵庫医科大学), 高露雄太 (九州大学), 増田潤哉 (九州大学), 吉永遼平 (九州大学), 高野行夫 (福岡大学), 本多健治 (福岡大学), 岡安一郎 (長崎大学), 永井 潤 (長崎大学), 西 建也 (長崎大学), 熊本栄一 (佐賀大学), 八坂敏一 (佐賀大学), 蔭 昌宇 (佐賀大学), 樋浦明夫 (徳島大学), 岡村智雄 (東レ株式会社), 臼井健司 (JT 医薬総合研究所), 小林淳一 (キッセイ薬品工業株式会社), 吉見洋志 (吉見歯科・口腔外科クリニック), 奥山佳代子 (田辺三菱製薬 (株)), 田矢廣司 (丸石製薬株式会社), 西川幸俊 (小野薬品工業水瀬研究所), 渡邊修造 (ラクオリア創薬 (株)), 西 洋平 (ラクオリア創薬 (株)), 鈴木木克也 (味の素株式会社), 物井則幸 (ライオン株式会社), 小松孝行 (旭化成ファーマ株式会社), 富永真琴 (岡崎統合バイオ), 山中章弘 (岡崎統合バイオ), 鈴木喜郎 (岡崎統合バイオ), 齋藤 茂 (岡崎統合バイオ), 内田邦敏 (岡崎統合バイオ), 加塩麻紀子 (岡崎統合バイオ), 常松

友美 (岡崎統合バイオ), 梅村 徹 (岡崎統合バイオ), 周 一鳴 (岡崎統合バイオ), 高山靖規 (岡崎統合バイオ), 田淵紗和子 (岡崎統合バイオ), 橋高裕貴 (岡崎統合バイオ)

【概要】

本研究会は「痛みの病態生理と神経・分子機構」と題して、岡崎統合バイオサイエンスセンターにおいて、平成 23 年 12 月 21 日および 12 月 22 日の 2 日間にわたって開催された。本研究会では教育講演として 2 つのテーマを企画した。一つは Hebrew 大学の Alexander Binshtok 先生から “The Cellular Basis of Itch Detection and Transmission” というタイトルで講演がなされ、かゆみのメカニズムに関して、histamine が関与するかゆみ、および histamine の関与がないかゆみに対する新たな分子メカニズムが提唱された。また、臨床面からの講演ということで、日本大学歯学部の中村佳樹教授から “口腔顔面領域の不明痛の最近の知識” と題して、口腔顔面領域に発症する疼痛異常に関する最近の臨床知見が紹介され

た。一般講演では、炎症、神経損傷あるいは薬物による様々な疼痛モデル動物に関して、末梢神経系から中枢神経系に至るまで、最新の知見が数多く発表された。特に、様々な慢性疼痛発症に対して重要な役割をなすと考えられているグリアに関する発表が複数みられ、疼痛研究の新たな展開を垣間見ることができた。また、様々な疾患の病態に関しても、あらゆる視点から詳細な研究が進められており、それぞれに関する分子機構が解明されつつあることに感銘を受けた。演題数が予想以上に多く、一つひとつの講演に対して 15 分という短い時間しか確保することができないにもかかわらず、非常に活発な討論がなされ、新たな慢性疼痛治療の可能性をうかがい知ることができ、大変有意義な研究会になった。

(1) 教育講演1 : The Itching Line: The Cellular Basis of Itch Detection and Transmission

Alexander Binshtok (The Hebrew University Medical School)

Itch is a complex cutaneous sensation evoked by variety of factors. Pharmacologically, inhibition of histamine H1 receptors by antihistamine administration is an effective treatment for many types of itch. However, antihistamines cannot effectively reduce histamine-independent itch including itch caused by liver disease, kidney failure, diabetes, cancer, or itch induced by the malaria drug chloroquine. In primary afferent neurons, distinct signal transduction pathways have been identified for various pruritogens including histamine, the MrgprA3 agonist chloroquine (CQ), and the MrgprC11 agonist bovine adrenal medulla 8-22 (BAM8-22) peptide. While the molecular pathways for histamine-evoked itch and histamine independent itch are clearly distinct, the transduction pathways for histamine-dependent itch and histamine - independent itch may still share a common cellular identity. Indeed, the MrgprA3 receptor was found to be expressed among neurons that co-expressed histamine receptors, while

MrgprC11 was observed in a subset of neurons that expressed receptors for both MrgprA3 and histamine. *Is it possible, instead, that the distinct itch-modalities responsive to unique pruritogens represent cellularly discrete labeled lines for histamine itch and histamine-independent itch?*

Another puzzling findings demonstrated that itch is modulated by an array of noxious stimuli. *Does this mean that pain and itch share common detection and transmission mechanisms?*

To settle these dilemmas the method that will temporarily but reversibly block specific itch or pain transmitting fibers form is needed. Here we adapt the method we previously reported for achieving pain-selective peripheral nerve block by targeting the charged, membrane-impermeable lidocaine derivative *N*-ethyl-lidocaine (QX-314) through capsaicin - activated transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) channels to electrically silence functional subsets of itch-sensing neurons. By blockade of signal transmission of select

populations of peripheral itch fibers we reveal that distinct populations of itch-specific primary afferent fibers mediate

histamine-dependent and histamine-independent itch independent of pain or tactile sensation.

(2) 線維筋痛症モデルにおける皮膚侵害受容器活動の解析

田口 徹¹, 水村和枝²

(¹名古屋大学環境医学研究所神経系分野 II, ²中部大学生命健康科学部理学療法学科)

線維筋痛症 (fibromyalgia, FM), または線維性筋痛症候群 (fibromyalgia syndrome, FMS) は全身性の痛みを主症状とし, 種々の自律神経症状や精神症状を随伴する慢性難治性疾患である。近年, FM の動物モデルがいくつか開発され, 有効薬物の探索を目的とした行動薬理実験が行われているが, FM の神経機構, 特に, 末梢神経機構は未解明である。本研究では, 生体アミンの枯渇剤である reserpine 投与による FM モデル [Nagakura et al. *Pain* 146: 26-33, 2009] を用い, 皮膚細径線維 (A δ , および C 線維) の侵害刺激受容特性, および軸索伝導特性を体系的に調べた。FM モデルにおけるもっとも顕著な変化は, 機械感受性 C 線維侵害受容器の割合の低下, およびこれに伴う機械感受性のない C 線維受容器の割合の増加であ

った。一方, 残存したと思われる機械感受性 C 線維侵害受容器の一般的特性 (受容器タイプの割合, 伝導速度, 自発放電, 受容野の分布), および侵害刺激 (機械・化学・温度刺激) に対する反応特性に有意な変化はなかった。また, FM モデルの神経軸索では, 繰り返し電気刺激 (5 Hz, 10 sec) による活動依存的伝導速度変化 (activity - dependent change of conduction velocity, ADCCV) が有意に小さかった。これらの結果より, reserpine 投与による FM モデルでは, 機械感受性皮膚 C 線維侵害受容器の多くが機械感受性を失うが, 一方で, 軸索の伝導特性は温存されると考えられた。今後, 上述の変化がどのように本モデルにおける痛覚過敏行動を惹起するか検討する必要がある。

(3) ラット下腿筋膜の侵害受容組織としての特性

安井正佐也¹, 田口 徹², 水村和枝³, 木山博資¹

(¹名古屋大学大学院医学系研究科機能形態学講座機能組織学分野,

²名古屋大学環境医学研究所神経系分野 II, ³中部大学生命健康科学部理学療法学科)

近年, 筋・筋膜性疼痛の病態メカニズムが解明されつつあるが, その主たる研究対象は筋組織である。一方, 筋膜は支持組織としての認識が強く, 侵害受容に関する報告は少ない。我々は筋膜に起因する侵害受容の末梢神経機構を解明する目的で, 1) ラット下腿筋膜の正常構造, 2) 侵害受容線維の分布, 3) 細径線維受容器の電気生理学的反応特性, について体系的に調べた。下腿筋膜は近位部と中間・遠位部において, 線維芽細胞層に挟まれた 1 層, もしくは 2 層のコラーゲン層を有し, 部位による正常構造の違いが観察された。また, 神経線維マーカーである PGP9.5 陽性線維は下腿筋膜全体に分布していたが, 侵害受容線維マーカーである CGRP 陽性線維は

下腿筋膜の遠位 1/3 に密に分布していた。電気生理学的に下腿筋膜へのピンチ刺激に応じる細径線維受容器が存在したが, このうち A δ 線維の受容野は下腿筋膜全体に分布し, 主として機械刺激のみに応じた。一方, C 線維の受容野は下腿筋膜の遠位 1/2~1/3 に密に分布し, その多くはブラジキニンや侵害熱刺激に応じるポリモーダル受容器であった。下腿筋膜での CGRP 陽性線維の分布は, 電気生理学実験で観察された C 線維の受容野とよく一致した。下腿筋膜は正常時の侵害受容を担うことが明らかになり, これまで骨格筋の他動的な支持組織としてしか捉えられていなかったが, 侵害受容組織としても生体においてアクティブな役割を果たしていると考えられた。

(4) 神経成長因子はヒトの持続性筋痛とトリガーポイント形成に関与する

林 功栄^{1,2}, 水村和枝³, Thomas Graven-Nielsen⁴, 尾崎紀之¹

(¹ 金沢大学医薬保健研究域医学系機能解剖学分野,

² 名古屋大学大学院医学系研究科機能形態学講座機能組織学分野,

³ 中部大学生命健康科学部理学療法学科, ⁴ Center for Sensory-Motor Interaction, Aalborg University)

【背景】筋・筋膜性疼痛症候群 (MPS) は 1) 持続性筋痛, 2) 筋硬結の触知, 3) 関連痛を誘発する痛覚過敏点 (トリガーポイント) の存在が特徴的な筋痛病態で, 有病率は約 3%と報告されており, 慢性的な頸肩部痛や腰痛の原因となっているがその病態メカニズムの詳細は不明である。我々はこれまでに, ラットへの伸張性収縮運動の連日負荷により MPS の特徴である筋硬結を伴う持続性筋痛動物モデル (MPS 様モデル) を開発し, 本モデルにおける筋の機械性痛覚過敏に神経成長因子 (NGF) が関与することを明らかにした (Hayashi et al., 2011)。一方, ヒト実験において, NGF の単回筋内投与が一過性の筋の機械性痛覚過敏を引き起こすことが報告されている。そこで今回, ヒトの前脛骨筋に NGF を連日筋内投与することで MPS の特徴である持続性筋痛と関連痛を誘発するトリガーポイントが生じるかどうか調べた。

【方法】本実験は二重盲検ランダム化比較試験で行った。健康な成人被験者 (平均年齢 30 歳, 男性 7 名, 女性 5 名) の前脛骨筋に NGF または生理食塩水 (コントロー

ル) を 3 日間連日注射 (1 日 1 回 5 μ g/0.2 ml) し, 筋の圧痛閾値, Likert scale diary (筋痛スケール), 関連痛放散領域について調べた。

【結果】NGF の 3 日間連日筋内投与により, 10 日間持続する有意な圧痛閾値の低下と, 筋痛スケールを用いた評価において 16 日間持続する有意な筋痛が観察された。また, NGF 注射部位に, 圧迫により広範な関連痛が誘発されるトリガーポイント様痛覚過敏点が形成された。

【結論】ヒトへの NGF の連日筋内投与により MPS の特徴である持続性筋痛と関連痛を誘発するトリガーポイントが形成された。NGF は MPS の発症に関与する重要な因子と思われる。

参考文献

Hayashi K, Ozaki N, Kawakita K, Itoh K, Mizumura K, Furukawa K, Yasui M, Hori K, Yi SQ, Yamaguchi T, Sugiura Y. Involvement of NGF in the rat model of persistent muscle pain associated with taut band. J Pain 2011;12:1059-1068.

(5) 歯髄炎により発症する異所性疼痛異常の末梢機構

松浦慎吾¹, 清水康平^{1,3}, 篠田雅路^{2,4}, 小木會文内^{1,3}, 岩田幸一^{2,4}

(¹ 日本大学歯学部保存学教室歯内療法学講座, ² 生理学教室,

³ 総合歯学研究所高度先端医療研究部門, ⁴ 総合歯学研究所機能形態部門)

【目的・方法】歯髄炎が引き起こされると, 患歯だけでなく隣在歯や口腔顔面領域に異所性の疼痛異常が誘導されることがある。本研究では歯髄炎モデルラットを作製し, 隣在歯の歯髄刺激により活性化される三叉神経節 (TG) 細胞をリン酸化 ERK (pERK) を指標に検索し, 歯髄炎によって引き起こされる異所性疼痛異常の末梢神経機構の一端を解明することを目的とした。ラットを麻酔後, 右側上顎第一臼歯歯髄 (M1) を露髄し起炎物質 CFA を塗布し仮封した。3 日後に同ラットの同側上顎第二臼歯歯髄

(M2) を露髄し, 10mM カプサイシン (Cap) 刺激し 5 分後に灌流固定して TG を摘出し, pERK 陽性細胞の発現様式を解析した。さらに, 神経トレーサーである FG 及び Dil をそれぞれ M1 及び M2 に注入し, 一つの TG 細胞が複数歯を支配する可能性を検証した。

【結果】M1 と M2 歯髄を支配する TG 細胞の内, 5.8%が両歯髄を支配していた。M1 に炎症が起こると M2 への Cap 刺激により pERK 陽性細胞が増加し, M1 を支配している TG 細胞でも活性化が認められた。

【結論】1) 複数歯を支配する TG 細胞が存在し、歯髄炎を引き起こした歯髄を支配する TG 細胞が隣在歯をも同時に支配しており、隣在歯における侵害情報伝達が亢進さ

れた可能性が考えられる。2) 炎症を引き起こした歯髄を支配する TG 細胞が隣接した他の歯髄を支配する TG 細胞に作用し、興奮性を異常に亢進する可能が示された。

(6) 延髄侵害受容性ニューロン応答特性の変調へのアストログリアの関与

坪井美行（日本大学歯学部生理学教室）

慢性歯髄炎モデル動物の三叉神経脊髄路核尾側亜核侵害受容ニューロンの反応性の変化へのアストログリアの関与を明らかにすることを目的にした。実験には SD 系雄性ラットを用い、7 週齢時に 2%ハロタン麻酔下でデンタルドリルを使用し、左側下顎第 1 大臼歯の咬合面を切削し歯髄を露出させ、歯髄炎を発症させた。術後 1, 3, 5, 7, 14, 21, 28 日目に von Frey Filaments を用いてオトガイ部皮膚を定量的に機械刺激し、逃避行動閾値を測定した。機械刺激に対する逃避閾値は、歯髄開放後 3 日目より有意に低下し、5 日目から 7 日目をピークに 28 日目続いた。三叉神経脊髄路核尾側亜核 (Vc) より、全身麻酔下 (urethane (1 g/kg) と α -chloralose (50 mg/kg) の混合液を i.p.) で、左側の下歯槽神経支配に受容野を持つ単一侵害受容ニューロン活動を記録した後、グルタミン合成酵素の抑制剤である methionine sulfoximine (MSO) を脳

脊髄液に添加した後の誘発反応を調べた。さらに、ガス麻酔下で MSO を硬膜内注射し機械刺激に対する逃避行動の変化を調べた。歯牙を切削していない動物をコントロールとした。コントロール動物と比較して、露髄させた動物の Vc 侵害受容ニューロンの誘発反応の有意の増加と受容野の拡大が認められ、MSO の延髄への投与で刺激誘発反応の増加の抑制が認められた。コントロール群で記録された侵害受容ニューロンの誘発反応は、MSO の投与による有意な変化は記録できなかった。MSO を硬膜内注射した後、機械刺激に対する逃避行動閾値の有意の上昇が認められた。以上のことから、歯髄開放による慢性歯髄炎モデル動物における機械刺激に対する閾値の低下は、三叉神経脊髄路核尾側亜核ニューロンの感作により引き起こされている可能性が示唆された。

(7) 咀嚼が顔面皮膚の体性感覚に及ぼす影響

岡安一郎，大井久美子（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科臨床病態生理学分野）

【目的】ガム咀嚼が顔面皮膚の感覚閾値、痛覚閾値に及ぼす影響を調べることを目的とした。

【方法】被験者は健康ボランティア 14 名（男性 7 名，女性 7 名，年齢 27 歳～40 歳）とした。精神物理学的手法の一つである stair-case method を用いて、顔面皮膚 (cheek skin: CS) ならびに手指の皮膚 (thenar skin: TS) の感覚閾値 (ent-prick pain detection threshold: FPT) を、5 分間のガム咀嚼前後（条件 1）と、コントロールとして、5 分間の下顎安静位前後（条件 2）で測定し、比較を行った。

【結果】実験条件の違いに関わらず、全ての測定部位において、5 分後に TDT の上昇が認められた。FPT に関して

は、実験条件間で 5 分後の反応に違いが認められた。すなわち、実験条件 1 では、5 分後、FPT が上昇あるいは変化しないのに対して、実験条件 2 では、FPT の減少が認められた。さらに、左右の CS において、二つの実験条件間で、5 分後の FPT に有意差が認められた。

【考察】5 分後における TDT の上昇と FPT の減少は、それぞれ、非連合学習である「慣れ」と「感作」によるものであるが、ガム咀嚼後では「感作」は認められなかった。この咀嚼に伴う体性感覚の変調の仕組みを解明するために、今後、基礎と臨床の両面からさらに研究を進めていく必要がある。

(8) 帯状疱疹関連疼痛マウスモデルの動的アロディニア発生における脊髄後角への T リンパ球浸潤の関与

佐々木淳, 篠田 篤, 倉石 泰 (富山大学大学院医学薬学研究部応用薬理学研究室)

ヒトヘルペスウイルス 1 の経皮接種により作製する帯状疱疹関連疼痛のマウスモデルを用いて, 動的アロディニア発生における脊髄後角への T リンパ球浸潤の関与を検証した。帯状疱疹痛期の脊髄後角に T リンパ球 (ヘルパー T 細胞およびキラー T 細胞) の著明な浸潤が認められ, T リンパ球の浸潤と対応して T リンパ球走化性ケモカイン CCL5 の mRNA 発現増加も認められた。T リンパ球の浸潤は帯状疱疹期で最大となった後徐々に減少したが, 帯状疱疹後神経痛期でも浸潤が認められた。リンパ球遊走阻害薬 FTY720 を 0.3mg/kg の用量でウイルス接種の翌日から 1 日 1 回繰り返し経口投与すると動的アロディニアの発生が有意に抑制された。また, 帯状疱疹痛マウスの脾臓から分離したヘルパー T 細胞を 37℃ のリン酸

緩衝生理食塩水中で 1 時間インキュベーションし, その細胞懸濁液あるいは遠心後の上清を健常マウスに髄腔内投与すると動的アロディニアが生じ, キラー T 細胞の細胞懸濁液の髄腔内投与では動的アロディニアは生じなかった。帯状疱疹痛初期の脊髄後角において, ヘルパー T 細胞の代表的なサイトカインであるインターフェロン γ の mRNA 発現が顕著に増加し, インターフェロン γ を健常マウスに髄腔内投与すると動的アロディニアが生じた。以上から, T リンパ球, 特にヘルパー T 細胞の脊髄後角への浸潤が帯状疱疹による動的アロディニアの発生に重要な役割を果たすこと, ヘルパー T リンパ球が産生するインターフェロン γ が動的アロディニア誘発分子の一つである可能性が示唆される。

(9) Bortezomib 誘発性疼痛の動物モデルの作製とその特徴

北村 亮, 安東嗣修, 溝口静香, 倉石 泰
(富山大学大学院医学薬学研究部応用薬理学教室)

Bortezomib (Bzb) は多発性骨髄腫等に用いられている抗癌薬であり, 末梢神経障害とそれに伴う疼痛が問題となっている。しかし, その予防・治療法は確立されていない。本研究では, Bzb 誘発疼痛のマウスモデルを作製し, その薬理学的特徴について検討した。実験には雄性 C57BL/6Ncr 系マウスを用いた。Bzb (0.03~0.3 mg/kg) は, 単回尾静脈内注射した。機械的アロディニアは von Frey 線維による凹み刺激, 冷ディセスセジアは acetone による冷刺激誘発される疼痛様行動をスコア付けして行なった。また, 熱的痛覚過敏は輻射熱照射による熱刺激に対する反応潜時を測定することで評価した。Bzb は投与後 12 日目をピークとした機械的アロディニアを生じたが, 熱的痛覚過敏及び冷ディセスセジアは観察されなかった。Bzb 誘発機械的アロディニアは, morphine 及び

gabapentin の単回投与で抑制されたが, diclofenac では抑制されなかった。また, Bzb 投与日より毎日 1 回 limaprost を繰り返し投与は, 機械的アロディニアを抑制しなかった。上記の結果は, これまでの研究における oxaliplatin, paclitaxel 及び vincristine で誘発される機械的アロディニアに対する morphine と diclofenac の効果とは類似していた。しかし, gabapentin と limaprost が, oxaliplatin 及び paclitaxel による機械的アロディニアを抑制したが, vincristine 誘発の疼痛様行動を抑制しなかった知見を勘案すると, Bzb 誘発アロディニアの薬物反応性は, 他の抗癌薬誘発で誘発されるアロディニアの薬物反応性とは異なっていた。これらのことから, Bzb 誘発アロディニアの発生の機序が少なくとも一部は他の抗癌薬とは異なることが示唆される。

(10) Intrathecal Administration of Botulinum Neurotoxin Type A Attenuates Formalin-Induced Nociceptive Responses in Mice

Hyun Jeong Kim

(Department of Dental Anesthesiology and Dental Research Institute, School of Dentistry,
Seoul National University, Seoul, Republic of Korea)

【BACKGROUND】 Botulinum neurotoxin type A (BoNT/A) has been used as an analgesic for controlling chronic pain. Although an antinociceptive effect of central or peripheral administration of BoNT/A is suggested, the effect at the spinal level is still unclear. In this study, we evaluated the antinociceptive effect of intrathecally administered BoNT/A on the ICR mice during the formalin test.

【METHODS】 BoNT/A (0.01 U/mouse) was injected intrathecally in ICR mice, and we observed formalin-induced inflammatory pain behaviors at days 1, 4, 7, 10, 14, 21, and 28 after the injection. We also examined the level of calcitonin gene-related peptide (CGRP), phosphorylated extracellular signal-regulated kinases (p-ERK), and phosphorylated Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase type 2 (p-CaMK-II) using immunoblot or immunohistochemical analyses before

and after BoNT/A intrathecal injection.

【RESULTS】 Even a single intrathecal injection of BoNT/A significantly decreased the nociceptive responses in the first phase (10 and 14 days later) and in the second phase of the formalin test at 1, 4, 7, 10, and 14 days later ($P < 0.05$) without any locomotor changes. Interestingly, intrathecal BoNT/A attenuated the expression level of CGRP, p-ERK, and p-CaMK-II in the 4th and 5th lumbar spinal dorsal horn at 10 days after injection in comparison with control.

【CONCLUSIONS】 We showed that intrathecally administered BoNT/A may have a central analgesic effect on inflammatory pain through the modulation of central sensitization. BoNT/A, with its long-lasting antinociceptive effect, may be a useful analgesic for controlling inflammatory pain. (Anesth Analg 2011;112:228-235)

(11) 神経障害性疼痛におけるモルヒネ先制鎮痛一下行性抑制系を介する リゾホスファチジン酸合成の抑制

永井 潤, 植田弘師 (長崎大学大学院医歯薬学総合研究科分子薬理学分野)

我々は、末梢神経障害によって生じる神経障害性疼痛の初発原因分子として、脂質メディエーターであるリゾホスファチジン酸 (LPA) を同定している (Nature Medicine, 2004)。この分子は脊髄後角で産生され、LPA₁受容体を介して疼痛関連分子の発現増加や知覚神経の脱髄現象を誘発する。しかしながら、この LPA 産生が神経障害時に生じる疼痛刺激によって産生されているかは不明のままであった。

一方、我々は神経障害の処置前にモルヒネの全身投与を行ったところ、その後に続く慢性疼痛の形成は抑制され、神経障害後にモルヒネ投与を行ったマウスにおいては、神経障害性疼痛は抑制されないことを見出している。実際、先制鎮痛という治療法において、術中などのあら

かじめ予想される侵害刺激に対して予防的にモルヒネなどの鎮痛薬を処置し、神経障害発症初期のメカニズムを抑制することで術後痛などに効果をあげている。本研究では、このモルヒネによる先制鎮痛が神経障害時の LPA 産生を抑制するかを坐骨神経障害モデルマウスにおいて検討した。脳脊髄液では、LPA 合成酵素であるオートタキシン (ATX) が豊富に存在しており、前駆体であるリゾホスファチジルコリン (LPC) の合成が LPA 産生の律速段階であると考えられているため、ここでは LPC の定量を行った。LPC の定量については、マトリックスを用いない NALDI-TOF-MS 法を用いて複数の LPC 分子種の一斉解析を行ったところ、神経障害 75 分後の後根神経と脊髄において、16:0,18:0,18:1-LPC が増加していた。また、

この LPC 産生増加はモルヒネを脳室内に前投与することにより、ほぼ完全に抑制された。以上のことから、神経障害時に生じる強力な痛み刺激が LPA を合成し、神経

障害性疼痛の形成に重要な役割を果たしていることを明らかにした。

(12) モルヒネ鎮痛耐性を制御するミクログリアを介したアンチオピオイド機構の解明

西 建也, 植田弘師 (長崎大学大学院医歯薬学総合研究科分子薬理学分野)

これまでの国内外の研究からモルヒネ鎮痛耐性には様々な分子機構が報告されているが、我々はグルタミン酸-NMDA 受容体を介するアンチオピオイド機構が重要な役割を担うことを証明してきた。具体的には、モルヒネ慢性投与は中脳水道周囲灰白質 (PAG) におけるグルタミン酸-NMDA 受容体機能の活性化、いわゆるアンチオピオイド機構の亢進による補償機構 (counter balance) を介して鎮痛耐性を生じる、という考え方である。本研究ではこのアンチオピオイド機構を亢進するメカニズムの解明を目的とし、BDNF とミクログリアの関与について検討した。BDNF 抗体を脳室内投与することでモルヒネ鎮痛耐性を抑制することを報告しており、鎮痛耐性における脳内 BDNF の関与について明らかにしている

(Neuroreport, 2009)。ここで、Cre-loxP システムを用いた領域特異的 BDNF 欠損マウスを用いてより詳細な検討を行ったところ、PAG 特異的 BDNF 欠損マウスにおいて鎮痛耐性の抑制が認められた。また、モルヒネ投与により PAG 領域においてミクログリアの活性化が見られたため、脳内ミクログリアの関与について検討した。ミクログリア活性抑制剤ミノサイクリンを脳室内投与したとき、モルヒネ鎮痛耐性が抑制され、また BDNF 産生上昇が消失した。同様なモルヒネ鎮痛耐性抑制は活性化ミクログリア除去剤クロドロネートリボソームの脳室内投与によっても観察された。以上のことから、BDNF を介する神経グリアネットワークがアンチオピオイド機構において重要な役割を果たす可能性が示唆された。

(13) *In vivo* パッチクランプ法により明らかとなった下行性疼痛抑制系を介した dexmedetomidine の新規鎮痛作用

舟井優介^{1,2}, 西川精宣², 森 隆², 井本敬二^{1,3}, 古江秀昌^{1,3}

(¹ 生理学研究所神経シグナル研究部門, ² 大阪市立大学大学院医学研究科麻酔科学, ³ 総合研究大学院大学生理科学)

Dexmedetomidine (DEX) は選択性の高い α_2 アドレナリン受容体作動薬であり、鎮静薬として使用されるが鎮痛作用も併せ持つと考えられている。スライス標本を用いた電気生理学的研究から、痛みの伝達や調節に重要な役割を果たす脊髄後角第 II 層、膠様質において DEX は α_2 受容体を介して細胞を過分極することが報告されている。しかし、DEX が実際に *in vivo* でどのような鎮痛作用を有するか詳細は不明であるため、今回我々は *in vivo* パッチクランプ法を用い、静脈より投与した DEX の鎮痛作用をシナプスレベルで詳細に検討し、新たな鎮痛機序を見出した。

成熟雄性ラットをウレタン麻酔下に腰部脊髄を露出し、膠様質細胞からホールセルパッチクランプ記録を行った。DEX は静脈より投与し、その他の薬剤は Krebs 液に溶解し脊髄表面に灌流投与した。まず、von Frey test により鎮痛効果を示す用量を測定すると、1 $\mu\text{g/kg}$ から逃避行動の閾値が上昇した。しかし、*in vivo* パッチクランプ記録を行って膠様質細胞の過分極を測定すると、10 $\mu\text{g/kg}$ 以上の高用量が必要であった。一方、興味深いことに 0.01~10 $\mu\text{g/kg}$ の低用量で DEX は用量依存性に抑制性シナプス電流 (IPSC) の頻度と振幅を著明に増加させた。この DEX の IPSC 増加作用はノルアドレナリンの脊

髄投与に対する応答と類似し、 $\alpha 1$ 受容体拮抗薬で抑制された。また、頸髄を半切したラットでは DEX の作用は見られなかった。以上の結果より、DEX の臨床量での全

身投与はノルアドレナリン下行性疼痛抑制系の活性化を介し、脊髄膠様質で抑制性シナプス伝達を増加させて鎮痛作用を現すことが示唆された。

(14) 神経障害性疼痛下における内因性 GABA 伝達効率低下に起因した睡眠障害

山下 哲¹, 堀内 浩¹, 柳瀬 諒¹, 鈴木 勉², 成田 年¹

(¹ 星薬科大学薬理学教室, ² 星薬科大学薬品毒性学教室)

慢性疼痛患者は、その痛みのために睡眠障害に陥ることが多く、そのために不安やうつ症状の悪化、さらに QOL の低下を引き起こすことが临床上問題となっている。そこで本研究では、疼痛による睡眠障害機構について神経機能解剖学的解析を行った。神経障害性疼痛モデルマウスにおける睡眠パターンを検討した結果、睡眠障害が認められた。次に、fMRI を用いて神経の活性変化の可視化を試みたところ、結紮群の帯状回領域において活性化が認められた。このような条件下、帯状回領域におけるグルタミン酸遊離量を測定した結果、増加が認められた。続いて、疼痛下におけるアストロサイトの形態変化と gaba transporter-3 (GAT-3) の局在を検討したとこ

ろ、帯状回領域において、アストロサイトの突起伸展および伸展した突起上 GAT-3 の免疫活性が認められた。また、マウス大脳皮質由来初代培養グリア細胞にグルタミン酸を加えた後、アストロサイトに存在する GAT-3 の細胞内挙動を観察したところ、膜への移行が観察された。さらに、帯状回領域に GAT-3 inhibitor を微量注入した際の脳波を測定した結果、結紮群においてみられた睡眠障害の改善が認められた。以上、本研究の結果より、帯状回領域の活性化に伴うグルタミン酸遊離量の増加に起因した GABA 神経系機能変化が、睡眠障害を引き起こすものと考えられる。

(15) 教育講演2：口腔顔面領域の不明痛の最近の知識

今村佳樹（日本大学歯学部口腔診断学講座）

口腔顔面領域は診断のつかない難治性疼痛が多いと言われている。これら不明痛を主訴に受診する患者において、診断可能なもので最も多いのは、筋筋膜痛に伴う関連痛である。筋筋膜痛が生じる原因は、患者それぞれの噛み合わせの習慣にあり、この悪習慣は本人が気づかないところで行っている。弱い噛み合わせを常時行うことで噛み合わせの筋を疲労させており、その悪習慣を気づかせ筋をストレッチさせることで疼痛の軽減が可能である。一方、口腔内の不明痛としては、筋筋膜痛の関連

痛では説明のつかない不明痛が存在し、非定型歯痛、パーニングマウス症候群として診断される。これらは、すべての器質的疾患が除外診断されたあとに診断をつけるもので、心因的な疼痛の一種として考えられてきた。しかし、近年これらの疼痛が一種の神経障害性疼痛ではないかと考えられるようになってきた。その根拠となっているものは、定量感覚検査における口腔領域の感覚異常の証明にある。

(16) 脊髄後角における非侵害受容性神経終末-Ⅱ層興奮性介在細胞コンタクトの解析

八坂敏一¹, Sheena YX Tiong², Erika Polgár², 藤田亜美¹, 熊本栄一¹, Andrew J Todd²

(¹佐賀大学医学部生体構造機能学講座, ²グラスゴウ大学 IBLS 脊髄グループ)

脊髄後角は末梢からの感覚情報を脳へと中継すると同時にその情報を修飾している。侵害受容性線維からの入力を受けるⅠ層の投射細胞やⅡ層の介在細胞には、GABA_A受容体阻害薬存在下で観察されるポリシナプス性の入力があり、脱抑制による痛覚閾値低下との関連が示唆されている。Ⅱ層には多様な形態を持つ興奮性や抑制性の介在細胞が存在し、感覚情報の修飾に重要な役割を担っている。それらは形態学的に4つのグループに分類できるが、その中で、興奮性細胞の一種 vertical cell は、細胞体が膠様質浅層部に位置し、樹状突起を深層へ、軸索をⅠ層の投射細胞へと伸ばしている。一方、後角へ入力する侵害受容性 A δ 線維はⅠ層へ、非侵害受容性 A β 及び A δ 線維はⅡ-Ⅲ層境界から深層へと投射している。ま

た、前者の終末には小胞型グルタミン酸輸送体 2 (vGlut2)、後者の終末には vGlut1 が選択的に発現している。上述の vertical cell は A 線維の入力を受けるが、どの A 線維から入力を受けているのかは明らかでない。そこで、今回 vertical cell が vGlut1 とコンタクトしているかどうかを調べた。その結果、調べた複数の細胞で、そのスパインと vGlut1 終末がコンタクトしていることを観察することができた。このことは、vertical cell が、非侵害受容性線維からの入力をポリシナプス性にⅠ層投射細胞(侵害受容性線維からの入力を持つ)へ伝えている可能性があり、興味深い。痛覚異常のメカニズムにこの‘非侵害受容性 A 線維-vertical cell-Ⅰ層投射細胞’の神経回路が関わっている可能性が示唆される。

(17) 成熟ラットの脊髄後角における痛み伝達制御におけるオキシトシンの役割

熊本栄一, 蔭 昌宇, 藤田亜美, 柳 涛, 徐 年香, 水田恒太郎,
井上将成, 川崎弘貴, 八坂敏一, 上村聡子, 松下晋大
(佐賀大学医学部生体構造機能学講座 (神経生理学分野))

オキシトシンは9残基のアミノ酸からなるペプチドであり、視床下部のニューロンで合成された後に下垂体後葉から神経分泌され、子宮筋収縮や射乳の作用を持つことはよく知られている。オキシトシンは男性にも存在しているが、その生理作用は不明であった。最近、オキシトシンが学習や記憶、社会認識、心血管系の調節、ストレス反応および痛みに関与していることが報告されるなど、上記以外の作用が注目されている。オキシトシン作動性神経は視床下部から脊髄後角へ投射しているが、このペプチドが痛み伝達に及ぼす作用の細胞レベル機序はまだ十分に調べられていない。今回、成熟雄性ラットの脊髄横断スライス標本にパッチクランプ法を適用して、痛み伝達の制御に重要な役割を果たす後角Ⅱ層(膠様質)ニューロンに及ぼすオキシトシンの作用を調べた。保持膜電位-70 mV で灌流投与したオキシトシン (0.5

μ M) は内向き膜電流を生じる一方、自発性興奮性シナプス伝達に影響を及ぼさなかった。この内向き膜電流は、灌流投与中から脱感作を示し、除去後に脱感作から回復するのに1時間以上を要した。このような応答は、0.01~5 μ M の範囲で濃度の増加と共に大きくなり、電位作動性 Na⁺チャネルやグルタミン酸受容体の阻害薬および無 Ca²⁺溶液による影響を受けなかった。また、オキシトシン応答は、オキシトシン受容体阻害薬の存在下で消失し、オキシトシン受容体作動薬はオキシトシンと同様な作用を示した。細胞内から GDP- β -S を投与するとオキシトシン応答は消失した。以上より、オキシトシンは、その受容体を直接活性化して膜を脱分極させ、膜興奮性を増加させると考えられる。この作用は、多くの内因性鎮痛物質の作用と異なることから、疼痛に寄与することが示唆される。

(18) 脊髄後角での神経可塑性の神経活動イメージングによる解析

池田 弘, 村瀬一之 (福井大学大学院工学研究科知能システム工学専攻)

痛覚過敏は、脊髄後角ニューロンの可塑的变化によって興奮性が増強するために起きると考えられている。近年、グリア細胞が痛覚過敏および可塑性に関与していることが多く報告されている。本研究では、炎症性痛覚過敏と損傷性痛覚過敏のモデル動物を作成し、それらの脊髄後角神経興奮の増強へのグリア細胞の関与を、膜電位イメージングとカルシウムイメージングによって調べた。実験の結果、後根への単発刺激によって起きる脊髄後角での神経興奮は、コントロールに比べて炎症、損傷のどちらのラットでも増大していた。このような増強にグリア細胞が関与しているかをグリア細胞の抑制剤、p38MAPK, JNK の抑制剤、および、P2X₄受容体の拮抗薬

を還流することによって調べた。実験の結果、神経損傷ラットの神経興奮増強には、ミクログリアが深く関与しており、炎症ラットの神経興奮増強にはアストロサイトが深く関与していることがわかった。また、神経損傷ラットでは、ATP の還流によってカルシウムシグナルを示す細胞の数がコントロールに比べて顕著に増大していた。また、このようなカルシウムシグナルは、ミクログリアの抑制および P2X₄ 受容体の拮抗によって抑制された。これらの結果は、神経損傷によって起きる増強には、主にミクログリアが関与しており、炎症によって起きる増強には、主にアストロサイトが関与していることを示唆する。

(19) 僧帽筋炎に伴った顎顔面部の異所性異常疼痛発症における fractalkine の関与

清本聖文¹, 篠田雅路², 今村佳樹¹, 岩田幸一²(¹ 日本大学歯学部口腔診断学講座, ² 日本大学歯学部生理学教室)

顎顔面に異常疼痛を訴える患者の多くは、僧帽筋痛を伴っていることから、僧帽筋痛と顎関節部の異常疼痛との間には、何らかの関与があると考えられるがその発症期所の詳細は不明である。そこで、microglia に発現する fractalkine receptor に注目し、僧帽筋炎に伴った顎顔面皮膚の異所性疼痛に対するメカニズムを検証した。ラットの僧帽筋へ Complete Freund's Adjuvant (CFA) を注入し、筋炎モデルラットを作成した。von Frey filament を用いて顎顔面皮膚への機械刺激に対する頭部逃避閾値 (HWT) の経日的変化を観察した。投与後 3,4,5 及び 7 日目にて、HWT は有意に低下し、4 日目にて、延髄・上部頸髄の Iba1 陽性細胞発現が有意に増加した。蛍光染色の

結果から、fractalkine receptor は microglia に局在していることが確認された。また Western blot にて fractalkine receptor の発現に変化は認められなかった。僧帽筋 CFA 投与し、fractalkine receptor 中和抗体の髄腔内持続投与を行ったものでは HWT 及び Iba1 陽性細胞発現が有意に抑制された。さらに fractalkine 単独髄腔内持続投与後 4 日目の HWT は有意に低下し、Iba1 陽性細胞発現が活性化された。以上の結果から、microglia に発現する fractalkine receptor が神経-グリア間の相互関係に寄与していると考えられ、僧帽筋炎に伴った顎顔面皮膚の異常疼痛は、fractalkine による延髄・上部頸髄の microglia の活性化が関与することが示唆された。

(20) 慢性椎間板性腰痛機序の検討

宮城正行, 石川哲大, 大鳥精司, 井上 玄, 鴨田博人, 新井 玄,
鈴木 都, 佐久間詳浩, 及川泰宏, 高橋和久, 川上 守
(千葉大学大学院医学研究院整形外科)

椎間板性腰痛の基礎研究において, 当教室の篠原が 1970 年にヒト椎間板性腰痛患者から摘出した椎間板に自由神経終末が内層に侵入すると報告したのが椎間板性腰痛の病理に関する最初の記載である。その後, 変性椎間板内の炎症性サイトカインの上昇が報告され, これらのことが椎間板性腰痛の一因と考えられている。我々はまず, 変性椎間板内の炎症性サイトカインの動向と支配感覚神経の特性変化の動向の関係についてラット腰椎椎間板傷害モデルを用いて検討した。結果, ラットの腰椎椎間板傷害により椎間板内の炎症性サイトカインの上昇は一過性であるのに対し, 支配感覚神経での疼痛関連神経ペプチドの発現上昇は 8 週間持続することが分かった。しかし, この研究において 2 点問題点が存在した。一つは, 腰椎椎間板傷害モデルがヒトの変性椎間板

を再現する生理的なモデルではないこと, もう一つは腰痛の行動評価ができないことであった。これらの問題点は椎間板性腰痛の基礎研究の限界とされてきたが, これらを解決するため我々はまず, ヒト変性椎間板に起こる外傷とメカニカルストレスを再現するためにラット尾椎椎間板傷害, 動的圧迫モデルを開発し, 椎間板内で上昇する炎症性サイトカインの動向と, 支配感覚神経における特性の変化の動向について検討した。さらに, 動物モデルの新たな腰痛行動評価法を確立するため, 我々は近年疼痛歩行の解析ツールとして注目される CatWalk システムを導入し, 歩行解析を行った。これらの研究結果より, 慢性椎間板性腰痛機序について理解を深めることができた。

(21) 腰椎椎間板ヘルニアの病態と治療—ラット髄核留置モデルを用いての検討—

関口美穂, 菊地臣一, 紺野慎一 (福島県立医科大学医学部整形外科講座)

代表的な腰椎疾患の 1 つに, 腰椎椎間板ヘルニアがある。腰椎椎間板ヘルニアの疼痛発生には, ヘルニア塊(機械的圧迫因子)が神経を圧迫することと, 炎症性サイトカイン等(化学的因子)が関与している。両因子の作用の強さや関与時期は様々で, 複雑である。臨床研究では, 両因子の作用を明確に区分することは困難である。基礎研究においては, 両因子をできる限り区別し, その単独の作用や両方の作用を観察できるモデルを用いることで, 各因子の影響度を別々に検討することができる。我々が用いているラット髄核留置モデル作製手技と工夫を紹介する。また, 本モデルでの, 疼痛発現の病態と薬物投与効果について結果について紹介する。

全身麻酔下に, 左第 5 腰部脊髄神経 (L5) を展開する。尾椎の椎間板より髄核を採取し, 展開した L5 神経に髄核を留置する(髄核留置モデル)。手術時の工夫としては, つり上げ器を用いてラットを固定する。つり上げ器は,

臨床で腰椎手術を実施するときに用いているフレームの利点を生かして作成した。つり上げ器を用いることで, 術野の確保, 腹圧を減少, および出血を少なくするという利点がある。

髄核が神経に接触すると神経内血流が低下し, 後根神経節の内圧が上昇する。また, 疼痛関連行動では, 髄核や化学因子 (TNF- α またはセロトニン) を神経に投与すると疼痛閾値は低下する。疼痛閾値の低下時には, DRG の神経細胞またはサテライト細胞で, 虚血 (HIF-1 α), 神経損傷 (ATF3) あるいはアポトーシスが認められ, 疼痛関連物質 (TNF- α , PGE2, ephrin など) が発現する。リドカインを神経に投与すると, 血流低下と内圧上昇が抑制され, 疼痛閾値低下を抑制する。抗 TNF 抗体, セロトニン受容体拮抗薬, プロスタグランジン受容体拮抗薬を投与すると疼痛閾値低下は改善し, 疼痛関連物質の発現も減少する。髄核留置モデルを用いることで, 経時的に疼

痛関連行動，組織学的検討，分子生物学的検討で，腰椎椎間板ヘルニアの病態や疼痛のメカニズムや治療標的に

ついて検討することができる。

(22) 神経障害性疼痛における転写因子 IRF5 の役割

吉永遼平¹，津田 誠¹，増田隆博¹，西本奈央¹，齋藤秀俊¹，田村智彦²，井上和秀¹
(¹九州大学大学院薬学研究院薬理学分野，²横浜市立大学大学院医学研究科免疫学教室)

神経障害性疼痛は，糖尿病や末期癌などに伴う神経の損傷や機能障害に伴って引き起こされ，非侵害性の触刺激をも激しい痛みと感じるアロディニアを主徴とする。その発症過程において，過活動状態となった脊髄後角ミクログリアが重要な役割を果たすことが明らかになっているが，過活動状態への移行を司る遺伝子制御メカニズムは明らかになっていない。最近，我々は，神経損傷を起因として発現誘導される転写因子 interferon regulatory factor-8 (IRF8) が，過活動状態への移行において重要な役割を果たすことを明らかにした。一方，神経障害性疼痛モデルマウスの脊髄内では，IRF8 と同様，IRF5 の顕著な発現増加が観察された。しかしながら，IRF5 の中枢神経系における発現細胞およびその役割は，これまで全く

明らかになっていない。そこで本研究では，IRF5 の神経障害性疼痛における役割を明らかにすることを目的として，詳細に検討を行った。末梢神経損傷後の脊髄内における時空間的な IRF5 の発現変化を検討したところ，損傷側脊髄内でミクログリア細胞特異的かつ持続的な発現増加が観察された。脊髄の IRF5 発現を siRNA 脊髄腔内投与により抑制したところ，アロディニアの有意な抑制が見られた。さらに，培養ミクログリア細胞において IRF5 の発現を抑制したところ，P2X₄ 受容体などの疼痛関連分子の発現抑制が観察された。以上の結果から，末梢神経損傷後に脊髄ミクログリア特異的に発現増加した IRF5 が，疼痛関連分子の発現制御を介し，神経障害性疼痛発症に重要な役割を果たしていると考えられる。

(23) 末梢神経障害後早期に脊髄後角ミクログリアに特異的に発現する新規転写因子の役割

増田潤哉，齋藤秀俊，米田聡介，津田 誠，井上和秀（九州大学大学院薬学研究院薬理学分野）

近年，神経障害性疼痛の発症メカニズムに脊髄ミクログリアの活性化が深く関与することが報告されている。末梢神経障害後早期に活性化する脊髄ミクログリアは様々な受容体の発現および活性レベルを亢進させ，細胞増殖や炎症性サイトカインの発現誘導といった応答を引き起こすことで，ニューロンの異常興奮ならびに疼痛症状に寄与すると考えられている。しかしながら，ミクログリアのそのような機能変化をもたらす引き金については不明な点が多い。そこで本研究では，ミクログリアの機能制御を担う新たな候補因子として転写因子 MafB に着目した。

第四腰髄神経を切断することにより作製した神経障害性疼痛モデルマウスの脊髄内において，MafB 遺伝子

発現量を定量解析したところ，神経非損傷側の脊髄に対して損傷側の脊髄で有意な発現増加が認められた。また免疫組織染色により，神経損傷側の脊髄後角内における MafB 陽性細胞数および MafB 発現強度が損傷後 1 日目から顕著に増加し，その陽性細胞はミクログリアであることが観察された。さらに，マウスの脊髄くも膜下腔内に MafB の siRNA を前投与したところ，末梢神経損傷によるアロディニア行動が有意に抑制され，脊髄内での疼痛関連遺伝子の発現量も減少することが確認された。

以上の結果から，神経障害性疼痛発症メカニズムにおける活性化ミクログリアは，神経損傷後早期に惹起される MafB タンパクの発現を介した疼痛関連遺伝子の発現制御により疼痛形成に関与することが示唆された。

(24) 舌神経圧迫モデルラットに発症する機械的および熱痛覚過敏に対する Satellite glial cell における P2Y₁₂ receptor の関与

片桐綾乃^{1,2}, 篠田雅路², 豊福 明¹, 岩田幸一²

(¹東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科歯科心身医学分野, ²日本大学歯学部生理学教室)

【目的】臨床において、舌神経損傷によりしばしば舌に神経因性疼痛が発症することが知られているがその病態は不明である。今回、我々は舌神経圧迫 (lingual nerve crush : LNC) モデルラットを作製し、舌の侵害刺激に対する逃避閾値の経時変化を解析し、三叉神経節 (TG) における satellite glial cell (SCG) に発現する P2Y₁₂ receptor (P2Y₁₂R) の関与について検討した。

【結果】ラットの舌神経を圧迫 (30 g, 30 sec) 後、浅麻酔下にて舌へ機械刺激および熱刺激を与えた。機械刺激に対しては舌神経圧迫 13 日後、熱刺激に対しては 17 日後まで逃避閾値が低下。三叉神経節第 III 枝 (V3) 領域において、舌神経圧迫後 3・9・15 日目に glial fibrillary acidic

protein (GFAP) 陽性細胞 (活性型 SGC) に囲まれる神経細胞の有意な増加が認められた。さらに、LNC ラットの TG への P2Y₁₂R antagonist (MRS2395) 連続投与により、舌の機械・熱刺激に対する逃避閾値の低下および V3 領域における GFAP 陽性細胞に囲まれる神経細胞の増加が抑制された。また、P2Y₁₂R agonist (2Me-SADP) を naive ラットの TG へ連続投与すると、機械・熱刺激に対する痛覚過敏発症と V3 領域における GFAP 陽性細胞に囲まれる神経細胞の増加が認められた。

【結論】舌神経圧迫によって舌に発症する機械および熱痛覚過敏は、三叉神経節における P2Y₁₂ receptor を介した SGC の活性化が関与する可能性が示された。

(25) 痛みによる不快情動生成における分界条床核の役割

南 雅文 (北海道大学大学院薬学研究院薬理学研究室)

「痛み」は痛いという感覚的成分と、不安、嫌悪、抑うつといった情動的成分よりなるが、情動的成分を担う神経基盤に関する研究は未だ緒についたばかりである。我々はこれまでに、腹側分界条床核 (vBNST) におけるβアドレナリン受容体を介したノルアドレナリン神経情報伝達亢進が、痛みによる不快情動生成に重要であることを報告している (J. Neurosci., 28: 7728-7736 (2008))。また、2008 年の本研究会では、背外側分界条床核 (dlBNST) におけるコルチコトロピン放出因子 (CRF) 神経情報伝達が、痛みによる不快情動生成に関与していることを示し

た。本研究では、dlBNST における CRF 神経情報伝達亢進による不快情動生成を、神経ペプチドである neuropeptide Y (NPY) が抑制することを示す研究結果を紹介する。さらに、vBNST におけるノルアドレナリン神経情報伝達および dlBNST における CRF 神経情報伝達の亢進が分界条床核神経活動に及ぼす影響を検討した電気生理学的研究の結果を示すとともに、分界条床核から腹側被蓋野に投射する神経路の組織学的解析の結果を紹介し、痛みによる不快情動生成に関与する神経回路を考察する。

(26) 仔マウスが親に運ばれる時に示す輸送反応：制御機構および侵害受容応答変化の検討

吉田さちね¹, Gianluca Esposito¹, 恒岡洋右¹, 大西竜子¹, 菊水健史², 加藤忠史³, 黒田公美¹¹ 理化学研究所脳科学総合研究センター黒田研究ユニット, ² 麻布大学獣医学部伴侶動物学研究室,³ 理化学研究所脳科学総合研究センター精神疾患動態研究チーム)

四足歩行のほ乳類の仔の多くは母親に口でくわえられて運ばれる。輸送中、仔は四肢を縮めたコンパクトな姿勢でおとなしくしている。この仔の反応は輸送反応 (Transport Response, TR) と呼ばれ、TR には親による仔の輸送を助ける働きがあるとされるが、その制御機構については不明な点が多い。そこで本研究ではマウスを用いて TR の発達と制御機構を詳細に解析した。マウス TR は離乳期前に見られ、不動と姿勢制御という要素に大別できた。不動反応には背部の触覚および固有覚受容が必

要であり、姿勢制御には小脳の関与が示唆された。また、本来ならまだ TR を示す日齢でも環境変化やハンドリング操作といったストレスを与えると TR が減弱した。さらに tail pinch テストを行ったところ TR 中は非 TR 中に比べ、侵害受容応答を示す個体数が有意に減少し、この変化はナロキソンを投与したマウスの TR 中でも同様に観察された。これらの結果からマウス TR は脊髄反射や仔の発達に伴う運動能力の変化ではなく、複数の脳部位を介して起こる仔特有の応答であることが示唆された。

(27) ラット培養後根神経節細胞の機械感受性電流の低 pH による感作機構について

久保重抄子^{1,2}, 水村和枝²¹ 名古屋大学環境医学研究所神経系分野 II, ² 中部大学生命健康科学部理学療法学科)

運動・虚血・細胞壊死などにより引き起こされる組織内 pH の低下は、機械刺激に対する末梢求心性神経の感受性を高めることが報告されているが、その感作機構は明らかになっていない。そこで今回、本感作機構について細胞レベルでの解析を行なった。新生ラットから単離培養した後根神経節細胞の細胞体膜を先端径 3-5 μm のガラスピペットで直接機械刺激することで順応時間の異なる 3 種類の機械刺激応答電流が惹起された (速順応型: RA, 中間型: IA, 遅順応型: SA) が、これらの電流は、pH7.0, 6.6, 6.2 の低 pH 溶液投与により有意に増強された。機械刺激応答電流が増強された細胞の割合は pH 依存적であり、コンドロイチン硫酸糖蛋白質であるパーシカンが発現している細胞 (IB4 陽性細胞) で有意に高

かった (IB4 陽性: 58% (n=73) vs. IB4 陰性: 16% (n=57), pH6.2, $p < 0.001$, χ^2 test)。RA の低 pH による増強は、カプサゼピン 1 μM 投与によって抑制されたがアミロライド 20 μM では抑制されなかった。IA および SA の増強はこれらの阻害剤では抑制されなかった。細胞外液への 0.1-0.3%コンドロイチン硫酸溶液添加によって IB4 陽性細胞での機械刺激応答電流増強は抑制されたが、IB4 陰性細胞での増強は抑制されなかった。さらに、コンドロイチナーゼ ABC によって前処理した IB4 陽性培養細胞では、低 pH によって機械刺激応答電流が増強された細胞の割合は有意に低下した。以上より低 pH による機械感作には、TRPV1 や細胞膜糖蛋白質であるパーシカンなど、複数の機構が関与していることが示唆された。

(28) 光学異性体の痛覚伝達に対する選択的抑制効果

歌 大介¹, 井本敬二^{1,2}, 古江秀昌^{1,2}

(¹生理学研究所神経シグナル研究部門, ²総合研究大学院大学 生理科学)

今までの研究から, 局所麻酔薬の光学異性体は中枢神経毒性や心毒性に対して異なる作用を持つことが示されている。例えば, bupivacaineのS (-) 体はR (+) 体に比べ, 循環系および中枢神経系に対する毒性が低いことが知られている。また, 行動薬理学的研究からS (-) 体は, R (+) 体より運動神経を抑制しにくく, 感覚伝達を選択的に抑制すると考えられている。しかし, その抑制作用の詳細は明らかになっていない。

そこで本研究では, 感覚伝達, 特に痛覚伝達に対する局所麻酔薬光学異性体の抑制作用を詳細に検討した。まず, 細胞内記録法を用い後根神経節細胞における活動電位の伝導に対する作用を解析した。S (-) bupivacaine (レボブピバカイン) は, R (+) 体に比してAδおよびC線維における活動電位の伝導を選択的に抑制した。また, パッチクランプ法により後根神経節細胞に発生する電位依存

性Na⁺電流に対する抑制効果を検討すると, S (-) 体は小型細胞に発生するTTX非感受性Na⁺電流を著明に抑制したが, 大型細胞に発生するTTX感受性Na⁺電流に対してほとんど抑制作用を示さなかった。一方, 同濃度のR (+) 体はTTX感受性および非感受性Na電流の双方に対し著明な抑制作用を示した。次に, *in vivo*パッチクランプ記録法を用い, 痛みの中枢への入り口である脊髄後角においてS (-) 体の選択的痛み抑制能を検討した。その結果, S (-) 体は機械的痛み刺激によって誘起された興奮性シナプス後電流を抑制したが, 非侵害性の触刺激によって誘起された興奮性シナプス後電流はほとんど抑制しなかった。以上より, S (-) bupivacaineはTTX非感受性Na電流を選択的に抑制してAδおよびC線維における活動電位の伝導を遮断し, 脊髄への痛みの伝達を選択的に抑制することが示唆された。

(29) 辛い味トウガラシの成分, カプシエイトによる TRPA1活性化

内田邦敏, 新宅健司, Zhou Yiming, 鈴木喜郎, 富永真琴
(岡崎統合バイオサイエンスセンター 細胞生理研究部門)

辛い味唐辛子「CH-19 甘」の成分であるカプシエイトはカプシノイドに分類され, 構造がカプサイシンと類似している。また, メカニズムは不明であるが, カプシエイトは交感神経系を活性化することによりエネルギー代謝を増強させることや炎症を抑制することが報告されている。我々はカプシエイトがカプサイシン受容体である TRPV1 を活性化することを以前報告している。しかし, 他の TRP チャネルへの関与に関しては検討されていない。そこで本研究は, TRPV1 以外の, 特に感覚神経に発現する TRP チャネルへのカプシノイドの作用について検討した。

その結果, 我々はカプシノイドが TRPA1 も活性化することを見いだした。また, TRPA1 におけるカプシノイドの反応は TRPV1 の反応よりも弱いものであった。カプシノイドは水溶液中で容易に加水分解されることが知

られている。そこで, カプシノイドの分解産物による TRPA1 活性化の有無を検討した結果, 活性化は認められずカプシノイド自身が TRPA1 を活性化していることが示唆された。共有結合の形成や亜鉛による TRPA1 の活

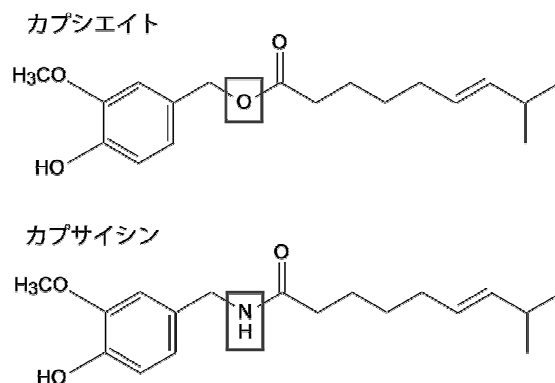


図 カプシエイト及びカプサイシンの構造
□部分の構造が異なる構造。

性化に関わると考えられているアミノ酸残基の変異体でもカプシノイドの活性化は認められ、カプシノイドによる TRPA1 の活性化にこれらの残基は関与しないことが示唆された。

以上の結果より、カプシエイトは TRPV1 及び TRPA1 をともに活性化することが明らかとなった。カプシエイトの生理的作用に TRPA1 が関与している可能性があると考えられる。

(30) TRPM2を介した炎症性および神経障害性疼痛発症のメカニズム

勇 昂一¹, 原口佳代¹, 河本 愛¹, 朝倉佳代子¹, 白川久志¹, 森 泰生², 中川貴之¹, 金子周司¹

(¹ 京都大学大学院薬学研究科生体機能解析学分野, ² 工学研究科合成・生物化学専攻分子生物化学分野)

TRPM2 チャンネルは、C 末端に Nudix モチーフを有し、過酸化水素により開口することが知られている。また、単球系、顆粒球系細胞やミクログリアでの発現が認められており、近年、炎症性疾患との関連が注目されている。本研究では、炎症性および神経障害性疼痛において、マクロファージやミクログリアに発現する TRPM2 が果たす役割について、主に TRPM2-KO マウスを用いて検討した。カラゲニン足底内投与による炎症部位や坐骨神経部分結紮による神経損傷部位において、マクロファージやミクログリアの TRPM2 mRNA 発現量が有意に増加した。また、TRPM2-KO マウスでは、機械的アロディニアや熱痛覚過敏が減弱するとともに、マクロファージからの CXCL2 ケモカイン産生および好中球の浸潤が有意に

低下していた。また、腹腔マクロファージの足底内投与による機械的アロディニアは、TRPM2-KO マウス由来マクロファージでは効果が弱かった。さらに、神経損傷後の脊髄後角ミクログリア活性化が TRPM2-KO マウスで顕著に減弱していた。また、培養マクロファージや培養ミクログリアを用いた検討においても、TRPM2-KO により、細胞刺激時の CXCL2 産生、NO 産生などが有意に低下した。これらの結果から、TRPM2 を介したマクロファージやミクログリアの活性化が、末梢性感作や中枢性感作に寄与する神経炎症応答の一部に関与し、炎症性および神経障害性疼痛の発症に寄与していると考えられる。

(31) カプサイシンを生後2日、15日目投与マウスの炎症誘発後の侵害刺激に対する応答の変化

樋浦明夫¹, 中川 弘² (¹ 徳島大学歯学部口腔組織学教室, ² 徳島大学病院障害者歯科)

生後 2 日目と 15 日目のマウスにカプサイシン (CAP, 50mg/kg) を皮下投与した。対照群には溶媒のみを投与した。CAP 投与後 20 日目に λ -carrageenan (carr., 2%, 20 μ l) を右足底に投与した。Carr. 投与前 (Base 値) と投与後 24 時間に Hargreaves 法 (強度 20) で侵害熱刺激 (NTS, 右足底), von Frey 法で機械的刺激 (右足底) を行い、それらに応答するまでの時間と強さを測定した。

【結果】生後 2 日目 CAP 投与マウス (6 匹): 対照群 (8 匹) の NTS に対する応答は Base 値 (2.3 $\pm$ 0.3 秒) と carr 投与後で有意差がなかった。CAP 投与群では、carr. 投与後の NTS に対する応答は対照群と Base 値 (3.2 $\pm$ 0.6) に比べて有意に遅延した (6.2 $\pm$ 0.6, carr. は効かなかった)。Von

Frey に対しては、対照群, CAP 投与群共に carr. により有意に敏感になった。生後 15 日目 CAP 投与マウス (12 匹): 対照群 (9 匹) では、carr. 投与によって Base 値 (4.2 $\pm$ 0.4) と比べて有意に NTS の反応時間が短縮した (3.0 $\pm$ 0.3)。CAP 投与群では、Base 値 (7.5 $\pm$ 0.6) が対照群に比べて有意に遅延した。しかし、CAP 投与群内では、carr. 投与後の NTS は Base 値に比べて短縮した (4.9 $\pm$ 0.4, carr. が効いている)。Von Frey に対しては、CAP 投与群で carr. 投与後に Base 値と比べて敏感になった (対照群の Base 値と同レベル, carr. 投与の効果)。生後 2 日目 CAP 投与群での NTS に対する carr. 投与後の応答遅延は CAP による TRPV1 陽性ニューロンの減少との関わりを示唆する。ま

た, 生後 15 日目 CAP 投与群の NTS に対する carr. 投与後の反応時間短縮は, TRPV1 ニューロンの関与を示唆す

る。von Frey に対しては, TRPV1 ニューロンに関わりなく carr. の効果が表れるようである。

7. 温熱生理研究会

2011年9月1日－9月2日

代表・世話人：松村 潔（大阪工業大学工学部）

所内対応者：富永真琴（岡崎統合バイオサイエンスセンター 細胞生理）

- (1) 暑熱負荷時の皮内におけるアセチルコリン放出量
芝崎 学（奈良女子大学大学院人間文化研究科）
- (2) 暑熱馴化の形成に関与する脳内機序
松崎健太郎，片倉賢紀，原 俊子，橋本道男，紫藤 治（島根大学医学部環境生理学）
- (3) 高浸透圧負荷による温熱的感觉の変容
時澤 健^{1,2}，中村真由美^{2,3}，田中佑輝²，林 政賢^{1,2}，内田有希²，永島 計^{1,2}
（早稲田大学¹GCOE アクティヴライフ，²人間科学学術院・体温/体液研究室，³University of Wollongong）
- (4) 食餌タンパク質による核心体温の概日性制御
山岡一平（株式会社大塚製薬工場 研究開発センター）
- (5) ストレス性高体温症について－基礎から臨床まで－
岡 孝和（九州大学大学院医学研究院心身医学）
- (6) 神経賦活に伴う血流動態および局所脳温度変化の解析
乾千珠子^{1,2,6}，志村 剛³，大澤五住^{2,6}，精山明敏^{4,6}，岩井康智¹，吉岡芳親^{5,6}
（¹大阪歯科大学 口腔解剖学講座，²大阪大学 大学院生命機能研究科，³大阪大学 大学院人間科学研究科，⁴京都大学 大学院医学研究科，⁵大阪大学 免疫学フロンティア研究センター，⁶CREST, JST）
- (7) 社会的敗北ストレスで活性化される体温調節性交感神経プレモーターニューロン
中村和弘¹，Battuvshin Lkhagvasuren²，中村佳子¹，岡 孝和²
（¹京大大学生命科学系キャリアパス形成ユニット，²九州大学大学院医学研究院心身医学）
- (8) 体温調節性交感神経プレモーターニューロンの制御に関わる延髄 GABA ニューロン群の探索
中村佳子¹，中村和弘¹，柳川右千夫²，Shaun F Morrison³
（¹京都大学 生命科学系キャリアパス形成ユニット，²群馬大学大学院医学研究科，CREST，³Oregon Health and Science University, USA）
- (9) 過酸化水素による TRPM2 温度感受性のモーダルシフトと免疫応答への寄与
加塩麻紀子，曾我部隆彰，富永真琴（岡崎統合バイオ（生理研），細胞生理）
- (10) 適応性熱産生と脂肪酸結合タンパク質 3 の役割
山下 均¹，紺谷靖英²，楠堂達也¹
（¹中部大学生命健康科学部生命医科学科，²南九州大学健康栄養学部食品健康学科）
- (11) TRP チャネル刺激による褐色脂肪の活性化
斉藤昌之¹，米代武司²，会田さゆり¹，松下真美¹
（¹天使大学大学院 看護栄養学研究科，²北海道大学大学院 医学研究科）
- (12) 皮膚メンソール塗布により活性化される脳領域
松村 潔¹，中村和弘²，小林茂夫³
（¹大阪工業大学・工・生命工学，²京大大学生命科学系キャリアパス形成ユニット，³京都大学・院・情報学・知能情報学）

(13) Allyl isothiocyanate 胃内投与による温度受容 TRP チャネルを介したマウスのエネルギー代謝の変化

森 紀之^{1,2}, 松村成暢², 細川 浩³, 小林茂夫³, 灘本知憲¹, 伏木 亨²

(¹滋賀県立大学 人間文化学部 生活栄養学科,

²京都大学大学院 農学研究科 食品生物科学専攻,

³京都大学大学院 情報学研究科 知能情報学専攻)

(14) 熱性けいれんの臨床と病態生理

福田光成 (愛媛大学医学部附属病院小児科)

(15) 温度依存性性決定の分子メカニズム

北野 健 (熊本大学大学院自然科学研究科)

(16) 新しい実験システムを用いた高浸透圧負荷マウスの暑熱下行動性体温調節の評価

—脱水時にわれわれは暑さをいかに感じているのか?—

永島 計, 林 政賢, 森 久恵, 時澤 健

(早稲田大学人間科学学術院 人間科学部 統合生理(体温・体液)研究室,

GCOE アクティブライフ, 応用脳科学研究所)

(17) 遺伝的高温耐性 FOK ラットの高温耐性獲得に伴う生理的特性の探索

古山富士弥¹, 池本 敦², 村上政隆³, 八幡剛浩⁴, 紫藤 治⁵,

三好一郎⁶, 増田和彦⁷, 宮澤大介⁸, 飛田秀樹¹

(¹名古屋市立大学大学院脳神経生理, ²秋田大学教育文化学部, ³岡崎統合バイオ(生理研)ナノ形態生理,

⁴市立名寄大学, ⁵島根大学医学部環境生理学, ⁶名古屋市立大学大学院医学研究科病態モデル医学分野,

⁷名古屋市立大学大学院医学研究科麻酔・危機管理医学(救急部), ⁸金城学院大学薬学部)

【参加者名】

齊藤昌之(天使大学), 永島 計(早稲田大学), 時澤 健(早稲田大学), 内田有希(早稲田大学), 朝水美鈴(放送大学学園), 山下 均(中部大学), 古山富士弥(名古屋市立大学大学院), 山口秀明((株)アイシン・コスモス研究所), 森 紀之(滋賀県立大学), 松村 潔(大阪工業大学), 乾千珠子(大阪歯科大学), 中村和弘(京都大学), 中村佳子(京都大学), 芝崎 学(奈良女子大学), 松崎健太郎(島根大学), 田村 豊(福山大学), 門田麻由子(福山大学), 山岡一平(株式会社 大塚製薬工場), 福田光成(愛媛大学医学部附属病院), 岡 孝和(九州大

学大学院), 北野 健(熊本大学), 中武 真(熊本大学), 廣井理人(キッセイ薬品工業株式会社), 橋本公男(サンスター株式会社), 木下和樹(花王株式会社), 富永真琴(岡崎統合バイオ), 山中章弘(岡崎統合バイオ), 鈴木喜郎(岡崎統合バイオ), 齋藤 茂(岡崎統合バイオ), 内田邦敏(岡崎統合バイオ), 加塩麻紀子(岡崎統合バイオ), 常松友美(岡崎統合バイオ), 梅村 徹(岡崎統合バイオ), 周一鳴(岡崎統合バイオ), 高山靖規(岡崎統合バイオ), 田淵紗和子(岡崎統合バイオ), 橘高裕貴(岡崎統合バイオ)

【概要】

H23年度の温熱生理研究会(代表 大阪工業大学松村(以下敬称略))には, 生理学, 生化学, 心療内科, 小児科に至る様々な分野の研究者が参集し, 最新の研究成果を発表した。その内容は以下の4つに分類できる。

①温度環境に対する生体反応: 奈良女子大・芝崎は暑熱負荷時の皮内アセチルコリン放出をヒトで測定することに成功した。早稲田大・時澤らはヒトにおいて高浸透圧負荷が温熱的感覚を修飾すること, 永島らはその現象

をマウスで解析する実験を報告した。名古屋市大・古山らは遺伝的高温耐性 FOK ラットの生理的特性を報告した。

②中枢神経系: 島根大・松崎らは暑熱馴化の形成に視床下部の神経新生が関与することを示した。大阪歯大・乾は神経活動による局所脳温の変化を報告した。京都市大・中村和弘らは社会的敗北ストレスで活性化される交感神経プレモーターニューロンについて, 中村佳子らは

交感神経プレモーターニューロンの制御に関わる延髄 GABA ニューロンについて、大阪工大・松村らは皮膚メントール刺激で活性化する脳領域について報告した。

③分子機構：熊本大・北野は魚類における温度依存性性決定の分子メカニズムを、大塚製菓・山岡は食餌タンパクが体温の概日リズムに及ぼす影響を報告した。岡崎統合バイオ・加塩らは過酸化水素による TRPM2 の温度感受性の変化と、免疫応答への寄与を、中部大・山下らは脂肪酸結合タンパク質 3 の適応性熱産生への関与を報

告した。天使大・斉藤らはヒトで TRP チャンネル刺激が褐色脂肪の活性化をもたらすこと、滋賀県立大・森らは allyl isothiocyanate の胃内投与が TRPV1 を介してエネルギー代謝に影響することを示した。

④体温の変動を伴うヒト疾患：九州大・岡はストレス性高体温症、愛媛大・福田は熱性けいれんの臨床と基礎について総説し、自身の研究を発表した。2 日間にわたり活発な質疑応答が行われた。

(1) 暑熱負荷時の皮内におけるアセチルコリン放出量

芝崎 学（奈良女子大学大学院人間文化研究科）

皮内マイクロダイアリス法は、ヒトの体温調節の研究においても多くの研究グループが利用するようになってきた。皮膚の体温調節効果器はノルアドレナリン作動性神経とコリン作動性神経によって支配されているため、その調節メカニズムは複雑である。そのため、マイクロダイアリスによる微量薬物投与は非常に有効である。一方、暑熱負荷時に亢進する皮膚交感神経活動はマイクロニューログラムによって測定することができるが、定量化もしくは標準化することができないため、個人内比較以外の比較実験には不向きである。本研究室では皮内マイクロダイアリスを用いた神経伝達物質の測定に取り組み始めた。

【実験 1】前腕外側部に 2 本のリニア型マイクロダイアリスプローブを留置し、90 分以上リンゲル液を毎分 2 μ l で灌流した後、片側に抗コリンエステラーゼであるネオスチグミン (1×10^{-3} M) を灌流した。それぞれのプローブ

の真上に皮膚血流量測定用プローブと発汗量測定用カプセルを固定し、水循環服を用いて舌下温を $1.05 \pm 0.10^{\circ}\text{C}$ 上昇させた。透析サンプルは 15 分毎に回収し、高速液体クロマトグラフィによってサンプル内のアセチルコリン (ACh) を測定した。リンゲル液のみを灌流した方では ACh はほとんど検出できなかったが、ネオスチグミン投与部位では体温の上昇とともに ACh は増加した。

【実験 2】サンプリング頻度を向上するため、前腕外側部に 2 本のプローブを 3mm の幅で平行に留置し、いずれにもネオスチグミンを投与して 1 つのチューブにサンプリングした。加えて、腓側部にも同様に 2 本のプローブを留置してサンプリングを行った。暑熱負荷は、水循環服を用いて鼓膜温を $1.20 \pm 0.08^{\circ}\text{C}$ 上昇させた。局所発汗量と ACh は、いずれの部位も体温の上昇とともに増加した。発汗量は前腕部の方が下腿部よりも多く、ACh も同様の部位差が確認された。

(2) 暑熱馴化の形成に関与する脳内機序

松崎健太郎，片倉賢紀，原 俊子，橋本道男，紫藤 治（島根大学医学部環境生理学）

【目的】ヒトやラットでは、持続的な暑熱環境への暴露により自律的な熱放散機能の亢進を特徴とする暑熱馴化が形成されるが、中枢における制御機構は明らかになっていない。これまでに我々は長期暑熱馴化が形成されたラットの視床下部で神経前駆細胞の分裂と分化が促進され

ていることを見出した。本研究では、長期暑熱馴化したラット視床下部で新生した神経前駆細胞の局在や分化、熱刺激への応答性を解析した。さらに、暑熱暴露による神経新生を阻害した場合に暑熱馴化が形成されるか否かを解析し、新生した神経細胞の暑熱馴化形成への関与につ

いて検討した。

【方法】Wistar 系雄性ラット (5 週齢) を明暗周期 12:12 時間, 自由摂食・摂水下, 環境温 24℃で 2 週間飼育した後, 32℃の暑熱環境に暴露した。暴露開始直後から bromodeoxyuridine (BrdU; 50 mg/kg/day) を腹腔内へ 5 日間連続投与した。また, ラット脳室内には細胞の分裂阻害薬である cytosine-β-arabinoside (Ara-C) を持続的に投与した。なお, Vehicle には生理食塩水を用いた。40 日間の暑熱暴露による長期暑熱馴化形成後に耐暑熱性の確認を行った。その後, ペントバルビタール麻酔下でラット脳を摘出し免疫組織学的に解析した。

【結果・考察】暑熱暴露により新生した神経細胞は前視床

下部/視索前野 (AH/POA) や視床下部背内側核 (DMH), 視床下部腹内側核 (VMH) に多く発現していた。これら視床下部で新生した細胞のうち, 約 16%が GABA 作動性神経細胞マーカーで染色され, 約 11%が glutamate 作動性神経細胞マーカーにより染色された。また, Ara-C を脳室に持続投与したラットでは, vehicle 投与ラットに比較して対暑熱性が減弱する傾向を示した。さらに, 暑熱馴化形成後に再度暑熱負荷をかけたところ, 新生した細胞の一部に c-Fos 二重陽性像を認めた。以上の結果より, 暑熱暴露により新生した神経細胞が長期暑熱馴化形成時の体温調節機能の向上に関与する可能性が示唆された。

(3) 高浸透圧負荷による温熱的感覚の変容

時澤 健^{1,2}, 中村真由美^{2,3}, 田中佑輝², 林 政賢^{1,2}, 内田有希², 永島 計^{1,2}
(早稲田大学¹GCOE アクティヴライフ, ²人間科学学術院・体温/体液研究室,
³University of Wollongong)

【背景】脱水は暑熱環境における自律性体温調節反応を抑制する。これには血漿浸透圧の上昇が関与することが報告されている。我々は, ラットへの高張食塩水投与により暑熱逃避行動が促進されることを明らかにしている。一方でヒトにおいて, 運動後の脱水時に暑熱環境における温度感覚が抑制されることを最近明らかにした。脱水による行動性体温調節の変容メカニズムを解明するため, 本研究ではヒトを対象として高張食塩水負荷による温熱的感覚の変化を検証した。

【方法】健康成人男性 8 名を対象に, 0.9%または 3.0%生理食塩水 (NaCl) を経静脈的に 2 時間投与した。下肢温浴を 34.5℃または 42.0℃で行い, それぞれにおいて着用したサーマルスーツに 33.0℃, 36.0℃, 39.0℃の温水を段階的に還流させ, 温熱的感覚 (温度感覚, 快・不快感) を

VAS にて評価した。

【結果】3% NaCl 試行において, 血漿浸透圧は 5.0 mOsm/kg H₂O 上昇した。34.5℃の下肢温浴時には, 温熱的感覚に試行間の差は見られなかった。42.0℃の下肢温浴において, 食道温は 0.9% NaCl 試行で 0.5℃, 3.0% NaCl 試行で 0.7℃上昇し, 発汗率および皮膚血流の上昇は 3.0% NaCl 試行で抑制されていた。サーマルスーツの還流温度 33.0℃および 36.0℃において, 温度感覚は 0.9% NaCl 試行と比べ 3.0% NaCl 試行で有意に低値を示した。快・不快感に試行間に差は認められなかった。

【結論】血漿浸透圧の上昇は, 高体温時において中程度の温熱負荷に対する温度感覚を抑制することが示唆された。脱水は, 自律性にも行動性にも体温調節反応を減弱させることが考えられる。

(4) 食餌タンパク質による核心体温の概日性制御

山岡一平 (株式会社大塚製薬工場 研究開発センター)

一日の体温は, 覚醒時に高く睡眠時には低い二相性のパターンを形成するが, このリズム形成に食餌摂取が大

きく影響することが明らかにされている。食事摂取後のエネルギー消費への影響は, その栄養素特性について

の知見は集積されてきた。なかでも、アミノ酸やタンパク質を多く含んだ食事がエネルギー消費を最も効率よく上昇させることが知られるが、熱の収支の表現型である体温の一日の変動まで影響を与えているかもしれない。

食餌性タンパク質は栄養代謝応答と副次的なタンパク質栄養状態に関連した生理応答の双方から体温を調節し、その制御は概日性に影響を受けるとの仮説を検証した。無タンパク質食を自由に摂取させたラットと、通常タンパク質含量の飼料を無タンパク質食飼育下ラットの摂取エネルギー量と等しくなるよう与えたラットで、無麻酔無拘束下に腹腔内温度、行動量、酸素消費量、二酸化炭素消費量の変動を比較検討した。無タンパク質食飼育したラットの腹腔内温度は通常食時に比して、活動期に上昇し非活動期には逆に低下し、食餌タンパク質は体温の概日振幅の制御に寄与することを明らかとした。この活動期の体温上昇には行動量の経日的増加に伴うエネルギー消費の増加と連動して変化する部分とエネルギー消費の変動とは一致しない部分が散見された。一方、非

活動期においては、呼気ガス分析の差異は僅かであった。

食餌性タンパク質はその摂取によってエネルギー消費を増やすだけでなく満腹感を向上し減量効果をもたらす。通常タンパク質含量の飼料で飼育したラットでは摂餌量の減少により核心温は昼夜低下するも、高タンパク質食飼育下のラットでは減量した摂餌下においても腹腔内温度は通常タンパク質含量食を自由に摂取した時とほぼ同レベルの体温推移であることを明らかとした。このとき暗期における食餌の探索行動も減り、満腹間の向上も示唆され体重減少も認められた。

これまで、体温の概日リズム形成における各栄養素の役割に焦点を当てた研究は見当たらなかった。今回の研究成果により、食餌タンパク質はエネルギー消費のみならず体温の概日性変動というアウトプットにまで影響を及ぼすことが明らかとなり、栄養源としてタンパク質摂取を肝要とする所以が新たな生命兆候の側面からも示された。

(5) ストレス性高体温症について—基礎から臨床まで—

岡 孝和（九州大学大学院医学研究院心身医学）

心理的ストレスによって急性、もしくは慢性に高体温をきたす患者が存在することは、少なくとも 1910 年代には知られており、psychogenic fever もしくは neurogenic fever と呼ばれてきた。若い女性に多く、情動ストレスによって 39-40℃ の高熱を生じる者がいる一方で、慢性ストレス状況下で 37-38℃ 台の微熱が数ヶ月以上、持続する者もいる。いずれにしてもストレス性の高体温は炎症反応を伴わず、通常の解熱薬（シクロオキシゲナーゼ阻害薬および副腎皮質ステロイド）では体温が低下しないという特徴があるが、ヒトにおいて、心理的ストレスが、どのようにして体温を上昇させるのかという点に関しては、いまだ不明な点が多い。

恒温動物では、多くの心理的ストレスが核心温 (core body temperature, Tc) を上昇させることはよく知られている。例えば自分より大きいラットと同じケージの中に 1 時間入れるというストレスを加えたラットの Tc は約

2℃ 上昇する。ただ、この Tc 上昇反応は一過性であり、数時間後にはベースラインに戻る。近年、このような急性ストレスモデルを用いて、ストレス性体温上昇反応に関与する神経伝達物質や脳内部位が、次第に明らかになってきている。またストレスを繰り返し加えると、ストレス暴露終了後も、conditioned hyperthermia（ストレスに暴露された時間帯、もしくはその直前に Tc が上昇する）や、Tc 日内リズムの失調（コントロールラットに比べて明期、暗期ともに Tc が高くなる）を生じるなど、ストレスは体温に対して長期的な影響を及ぼすようになることも明らかになってきた。

本シンポジウムでは、1) 感染、炎症による体温上昇（発熱）とストレス性高体温症の機序の違い、2) 急性、繰り返し、慢性ストレスが体温に及ぼす影響、3) ヒトの心因性発熱の臨床的特徴と、その治療法について概説した。

(6) 神経賦活に伴う血流動態および局所脳温度変化の解析

乾千珠子^{1,2,6}, 志村 剛³, 大澤五住^{2,6}, 精山明敏^{4,6}, 岩井康智¹, 吉岡芳親^{5,6}

(¹大阪歯科大学 口腔解剖学講座, ²大阪大学 大学院生命機能研究科,

³大阪大学 大学院人間科学研究科, ⁴京都大学 大学院医学研究科,

⁵大阪大学 免疫学フロンティア研究センター, ⁶CREST, JST)

【背景および目的】脳機能や脳活動を評価する場合、脳活動で変化すると思われるパラメーターに注目して、刺激の無い安静時（安定状態）と刺激時（活動時）との差を基にする事が多い。脳機能を正確に評価するためには、安定状態を一定の基準で捉える必要がある。生体機能の生理的指標の一つである温度は、個人差はあるがほぼ一定に保たれていると考えられている。特に脳温度は神経活動や血流変化により非常に安定性高く保たれていると考えられる。この脳温度の恒常性については、脳温度、神経活動および血流動態がどのように相互作用しているのか、そのメカニズムは明らかではない。そこで我々は、神経活動の記録電極、熱電対および血流計を束ねたプローブによる同時計測を行い、脳温度の恒常性維持の理論的・生理学的裏付けを試みた。そして、脳局所温度が脳機能の安定状態を評価する基準になりうるかを検証した。

【材料・方法】麻酔下において、Wistar 系雄性ラットの舌

先端部への電気刺激（刺激強度；0.4 mA, 刺激間隔；100～800 ms, 刺激回数；10 回, 主刺激間隔；120 秒）、味覚刺激（甘味、酸味、苦味、塩味）、またはカプサイシン、メンソールによる感覚刺激を行った。計測脳部位は、島皮質とした。測定用マルチプローブは、神経活動記録用電極、血流計測用プローブおよび温度測定用プローブを合わせたもので、直径約 0.3 mm であった。

【結果および考察】いずれの刺激においても、脳活動の増大と温度の上昇がほぼ対応した。刺激部位に対応する脳の温度上昇は神経活動開始から 2～4 秒の遅れで 0.02～0.14℃上昇した。血流は神経活動開始とほぼ同時に急増し、その後速やかに戻った。温度は比較的長時間持続して上昇しており、上昇の程度は刺激の強さに対応した。これらの結果は、刺激に伴い神経活動および血流動態が変動することによって、局所脳温度が変化したことを示す。それゆえ、脳局所温度を指標として脳機能を検知することができる可能性があると考えられる。

(7) 社会的敗北ストレスで活性化される体温調節性交感神経プレモーターニューロン

中村和弘¹, Battuvshin Lkhagvasuren², 中村佳子¹, 岡 孝和²

(¹京大生命科学研究系キャリアパス形成ユニット, ²九州大学大学院医学研究院心身医学)

心理ストレスによって交感神経性の体温上昇が生じることはよく知られているが、その中枢神経メカニズムはほとんど分かっていない。体温調節中枢から褐色脂肪組織などの体温調節効果器への指令は、交感神経プレモーターニューロンを介して交感神経節前ニューロンから出力される。そこで我々は、ラットに心理ストレスモデルの一つである社会的敗北ストレスを与えることで生じる体温上昇反応に関わる交感神経プレモーターニューロンの同定を試みた。社会的敗北ストレスを与えられたラットでは、2℃程度の体温上昇を認め、このストレス性体温上昇は、抗不安薬であるジアゼパムの前投与により

大きく減弱した。また、β3 アドレナリン受容体の拮抗薬の前投与でも減弱したことから、このストレス性体温上昇に褐色脂肪組織熱産生の亢進が寄与することが示唆された。ストレス負荷群の延髄縫線核吻側部（吻側淡蒼縫線核およびその周囲）を観察すると、体温調節に関わる交感神経プレモーターニューロンとして知られる、小胞性グルタミン酸トランスポーター (VGLUT3) 発現ニューロンが Fos を発現し、活性化されたことが分かった。一方、縫線核に豊富に存在するセロトニンニューロン群における Fos の発現は少なかった。こうした、延髄縫線核吻側部の VGLUT3 発現ニューロン群およびセロトニ

ンニューロン群におけるストレス負荷による Fos の発現は、ジアゼパム投与により有意に減少した。これらの結果は、社会的敗北ストレスなどの心理ストレスが、延髄縫線核吻側部の体温調節性交感神経プレモーターニュー

ロンを活性化させ、それによって褐色脂肪組織などへの交感神経出力を亢進させ、体温上昇を引き起こすことを示している。

(8) 体温調節性交感神経プレモーターニューロンの制御に関わる延髄 GABA ニューロン群の探索

中村佳子¹, 中村和弘¹, 柳川右千夫², Shaun F Morrison³

(¹京都大学 生命科学系キャリアパス形成ユニット, ²群馬大学大学院医学研究科, CREST,

³Oregon Health and Science University, USA)

延髄縫線核吻側部に存在する交感神経プレモーターニューロンは、褐色脂肪組織の熱産生や皮膚血管の収縮を調節する脊髄の交感神経節前ニューロンを直接制御することによって、体温調節及び感染性発熱の中枢性制御に重要な役割を果たす。延髄縫線核吻側部にビククリン (GABA_A 受容体の拮抗薬) を注入すると、褐色脂肪組織による熱産生が強く惹起されるとともに、皮膚血管の収縮を介した熱放散抑制が生じる。従って、延髄縫線核吻側部の交感神経プレモーターニューロンは、GABA 入力によって持続的に抑制されていると考えられるが、そうした入力の由来は不明である。私達は、GAD67-GFP knock-in マウスを用いた神経トレーサー実験を行うことで、延髄中間網様核 (IRt) と小細胞性網様核 (PCRt) に分布する GABA 作動性ニューロンが、延髄縫線核吻側部の

小胞性グルタミン酸輸送体 3 (VGLUT3) 発現交感神経プレモーターニューロンに直接投射していることを見いだした。麻酔下ラットにおいて IRt/PCRt の神経細胞を刺激すると、視索前野に発熱メディエーターであるプロスタグランジン E2 を注入することによって引き起こされる褐色脂肪組織交感神経活動の上昇ならびに熱産生が抑制された。一方、延髄縫線核吻側部にビククリンを注入することで生じる褐色脂肪組織熱産生反応は、IRt/PCRt の神経細胞を刺激しても抑制されなかった。以上の結果から、IRt/PCRt に存在するニューロンが GABA 作動性の神経投射を介して、延髄縫線核吻側部の交感神経プレモーターニューロンを抑制し、その作用によって熱産生抑制を行っていることが示唆された。

(9) 過酸化水素による TRPM2 温度感受性のモーダルシフトと免疫応答への寄与

加塩麻紀子, 曾我部隆彰, 富永真琴 (岡崎統合バイオ (生理研), 細胞生理)

TRPM2 (Transient Receptor Potential Melastatin 2) は温度感受性の非選択性陽イオンチャネルである。TRPM2 は過酸化水素 (H₂O₂) により活性化されることが知られているが、その活性化メカニズムには細胞内オルガネラからの TRPM2 内因性リガンド (ADP リボース) の産生を介する間接的な作用であるという報告と、直接作用し得るとの相反する報告がある。本研究の結果、H₂O₂ の作用にはその両者が関与し、通常生理的温度域以上に保たれている TRPM2 の活性化温度閾値を生理的温度域にモーダルシフトさせる (感作) ことで活性化を可能とし

ていることが明らかとなった。

TRPM2 は、脳、腎臓、膵臓、免疫細胞などに発現するが、それらの発現部位は温度変化の小さい深部組織である。前述のとおり、TRPM2 は体温以上の温度域で活性化するため、TRPM2 は温度に対する“感受性”を変化させることで、体温をチャネル開口の有効刺激とし、その生理機能を発揮すると考えられる。さらに、近年シグナル分子として認識されつつある H₂O₂ が、そのモーダルシフトのトリガーとして働くのかもしれない。

本研究では、体温 (発熱等) が生理機能に大きく関わ

る免疫細胞のうちで, TRPM2 を発現し, 異物貪食に伴う H_2O_2 産生能をもつマクロファージを用いて, TRPM2 感作が担う生理的役割を検討した。細胞内 Ca^{2+} 濃度測定, ホールセルパッチクランプ測定の結果, 野生型マウス腹腔内マクロファージでは H_2O_2 による熱応答の感作が確認されたが, TRPM2 欠損では同様の現象は見られなかつ

た。さらに, サイトカイン遊離, 貪食などの生理機能においても TRPM2 依存性の調節機構が存在した。したがって, 貪食に伴い産生される H_2O_2 は異物処理に用いられるのみならず, TRPM2 の感作を介して免疫能の調節に寄与すると考えられる。

(10) 適応性熱産生と脂肪酸結合タンパク質3の役割

山下 均¹, 紺谷靖英², 楠堂達也¹

(¹ 中部大学生命健康科学部生命医科学科, ² 南九州大学健康栄養学部食品健康学科)

適応性熱産生 (adaptive thermogenesis) は, 食事や寒冷暴露などの環境変化に適応する際に誘導される熱産生メカニズムの一つと考えられ, エネルギー代謝や体温調節における役割, あるいは肥満や糖尿病などと関連して興味もたれてきた。古くから, 褐色脂肪組織や骨格筋がこの適応性熱産生の主要組織と考えられ, これらの組織に発現するミトコンドリア脱共役タンパク質 (UCP) の役割などの研究が行われてきた。

我々は環境温度と褐色脂肪組織の熱産生機能に関する研究において, 低温暴露により UCP1 と同様に著しく誘導される分子として脂肪酸結合タンパク質 3 (FABP3) を見出した。FABP は細胞内における脂肪酸輸送に重要な役割を果たすと考えられ, 組織分布の異なる種々のホモログが存在する。FABP3 は心筋や骨格筋において高レベルに発現する FABP であり, 寒冷暴露によって褐色脂肪組織で強く誘導されることから適応性熱産生との関連が示唆された。また, 寒冷耐性の低下した UCP1-KO マウスでは 23°C 環境下においても褐色脂肪組織において FABP3 の高い発現が認められた。

次に, 食事誘導性熱産生との関連から FABP3 の発現

とその役割について高脂肪食負荷モデルマウスや培養細胞を用いて検討を行った。その結果, 褐色脂肪組織, 心臓, 骨格筋において FABP3 の発現レベルが体重増加と相関することが判明した。特に, 骨格筋における FABP3 の発現誘導が肥満と強い相関を示した。さらに, 骨格筋における糖取込みやインスリン抵抗性と FABP3 との関連について, アデノウイルス発現系を用いて C2C12 骨格筋細胞にヒト FABP3 を導入し検討を行った。FABP3 の発現増加自体は分化した骨格筋細胞に遺伝子レベルでの影響を与えなかったが, ヒト FABP3 導入細胞では 2-デオキシグルコースの取込みが有意に上昇した。シグナル解析から, FABP3 発現レベルの上昇が AMPK や Akt のリン酸化を介して AS160 のリン酸化を促進しグルコース取込みを高める可能性が示唆された。

以上の結果から, 適応性熱産生の活性化にともない誘導された FABP3 は脂肪酸の取込みを亢進するだけでなく, 肥満の進展においては糖取込みやインスリン抵抗性を改善するように作用することを示すものと考えられた。

(11) TRP チャネル刺激による褐色脂肪の活性化

斉藤昌之¹, 米代武司², 会田さゆり¹, 松下真美¹

(¹ 天使大学大学院 看護栄養学研究科, ² 北海道大学大学院 医学研究科)

ヒトの褐色脂肪は fluorodeoxyglucose-positron emission tomography/computed tomography (FDG-PET/CT) によっ

て機能的に評価できる。我々は, 2006 年から 2011 年 3 月までに 200 名余りの健常者 (20-72 歳) で FDG-PET/CT

検査を行い、1) 温暖条件では検出されないが2時間の寒冷刺激で活性化・検出され、その頻度は、2) 夏季よりも冬季に増える、3) 男女で違いは認められない、4) 若年者では半数以上になるが壮高年者では激減するなどを報告し¹⁾、更に、5) 褐色脂肪が実際に寒冷暴露や食事摂取後のエネルギー消費亢進に寄与しており²⁾、6) 褐色脂肪の減少が加齢に伴う肥満進展の一因になることなども明らかにした³⁾。本研究では、TRP チャンネルを活性化する食品由来物質による褐色脂肪の活性化について以下の通り検討した。

若年の成人男性29名を対象とし、寒冷刺激(室温19℃、薄着)2時間後にFDG-PET/CTを行い、褐色脂肪検出群(+群、N=14)と非検出群(-群、N=15)に分けた。別の日に、同被験者を対象とし呼気分析法によってエネルギー消費量(EE)を測定した。19℃でのEEは+群の方が-群に比べて約20%高値であったが、その差は27℃では

僅かとなり、30.5℃では両者に差が無いことが分かった。従って、環境温度が30.5℃よりも低下すると褐色脂肪による熱産生が起こると推定された。寒冷刺激はTRP チャンネルを介して作用すると思われるので、それを活性化することが知られている食品由来物質(カプサイシン類縁体であるカプシノイドなど)の経口投与効果を検討したところ、+群では数時間にわたってEEが亢進したが-群では変化しなかった。一方、プラセボ投与では両群共に特段の変化は認められなかった。これらの結果は、カプシノイドなどのEE亢進効果は褐色脂肪の活性化によることを示しているため、長期投与の効果と併せて報告する。

1) Saito M, et al.: Diabetes 2009, 58: 1526-1531.

2) Yoneshiro T, et al.: Obesity 2011, 19: 13-16.

3) Yoneshiro T, et al.: Obesity 2011 (in press).

(12) 皮膚メンソール塗布により活性化される脳領域

松村 潔¹⁾、中村和弘²⁾、小林茂夫³⁾

(¹⁾大阪工業大学・工・生命工学、²⁾京大生命科学系キャリアパス形成ユニット、

³⁾京都大学・院・情報学・知能情報学)

【背景と目的】皮膚へのメンソール塗布は冷感と対寒反応を引き起こす。この反応はメンソールが皮膚感覚神経のTRPM8陽イオンチャンネルを活性化することで始まる。TRPM8の活性化は感覚神経に活動電位が発生させ、その信号がシナプスを經由して冷感と対寒反応に関わる中枢神経部位に伝達される。しかし、その求心経路は解明されていない。この問題を解決するため、マウス皮膚へのメンソール塗布によって活性化される脳領域をcFOS免疫染色で検討した。

【方法】無麻酔下でC57B6マウス(雄8週齢)の右後肢を10%メンソール溶液に5秒間浸し、飼育ケージに戻した。90分後にペントバルビタール麻酔し、10%ホルマリン溶液で灌流固定した。対照群として右後肢を100%エタノール(メンソールの溶媒)に浸したマウス、無処置マウスを用いた。脳と脊髓の凍結切片を作成し、cFOS免疫組織化学を施した。

【結果と考察】メンソールはマウスにとって新規な刺激である。そのため脳全体の覚醒レベルが上昇し、求心経路以外の神経細胞にもcFOSが発現することが考えられる。求心経路を正しく特定するために、メンソール刺激を右後肢に限局し、cFOS発現に明確な左右差がある部位を探索した。その結果、脊髓の後角、橋のPB(Parabrachial Nucleus: 傍小脳脚核)、大脳皮質の一次体性感覚野・補足体性感覚野でcFOS陽性細胞数に左右差が確認できた。脊髓では刺激と同側(右側)の後角の表層に活性化した神経細胞が認められた。橋のPBでは刺激と反対側(左側)により多くの活性化した神経細胞が認められた。エタノール群ではメンソール群と比べPBのcFOS陽性細胞は少なかったが、左右差は認められた。無処置群でcFOS発現ほとんど見られなかった。この結果は、PBがTRPM8発現感覚神経からの信号の求心経路の一部であることを示す。

(13) Allyl isothiocyanate 胃内投与による温度受容 TRP チャネルを介した マウスのエネルギー代謝の変化

森 紀之^{1,2}, 松村成暢², 細川 浩³, 小林茂夫³, 灘本知憲¹, 伏木 亨²

(¹滋賀県立大学 人間文化学部 生活栄養学科,

²京都大学大学院 農学研究科 食品生物科学専攻,

³京都大学大学院 情報学研究科 知能情報学専攻)

食品には摂取により身体を温めたり冷やしたりする働きがあることが考えられてきたが, 詳細な作用機序については未だ不明な部分が多い。近年, 温度受容に関する受容体として TRP (Transient receptor potential) スーパーファミリーが同定されているが, 興味深いことに温度受容 TRP チャネルは温度以外にも様々な食品成分も受容することが明らかになっている。TRP チャネルのアゴニストとなる食品成分には, 摂取により熱産生やエネルギー代謝変化を生じるものがあり, これまでの報告から TRP チャネルの活性化が熱産生やエネルギー代謝変化に関与している事が示唆されている。このような TRP チャネルの活性化と熱産生やエネルギー代謝変化との関与についてはカプサイシンなどの一部の食品成分ではよく研究されているが, わさびの主な辛味成分であり, TRP チャネルのアゴニストとなる allyl isothiocyanate (AITC) ではあまりなされていなかった。本研究では, AITC の胃内投与によるマウスのエネルギー代謝への影響について検討し, AITC 投与によるエネルギー代謝変化への TRP チャネルの関与について詳細に検討することを目的とし

た。

マウス (C57BL/6) に AITC を胃内投与し, 呼気ガス分析装置によってエネルギー代謝の変化を測定した。AITC の胃内投与により呼吸交換比の上昇, 糖質酸化量の増加, 脂質酸化量の減少が確認された。従って AITC は胃内投与により糖質エネルギー代謝を亢進することが明らかとなった。AITC は TRPA1 を活性化することが報告されており, 糖質エネルギー代謝の亢進と TRPA1 の関与について TRPA1KO マウスを用いた検討を行ったところ, TRPA1KO マウスにおいても糖質エネルギー代謝の亢進が確認され, AITC 投与による糖質エネルギー代謝の亢進に TRPA1 の関与は小さい事が考えられた。細胞等を使った検討から新たに TRPV1 の関与が考えられたため, TRPV1KO マウスを用いた検討を行ったところ, ワイルドタイプマウスにみられた糖質エネルギー代謝の亢進が消失した。よって, AITC 投与による糖質エネルギー代謝の亢進は TRPV1 を介した反応であることが示唆された。

(14) 熱性けいれんの臨床と病態生理

福田光成 (愛媛大学医学部附属病院小児科)

熱性けいれんに関する研究での主要なテーマを2つ挙げるとすれば, 「①けいれんの発生機序」と「②内側側頭葉てんかん発症との関連」である。まず「①けいれんの発症機序」を考える際に重要なのは「感染に伴う免疫反応」と「体温上昇」の2つである。感染症に伴い上昇する IL-1 β 等のサイトカインはけいれん準備性を左右する重要な因子となる。熱性けいれんの動物モデルを用いた研究や, ヒトでの熱性けいれん患者を対象としたサイトカイン遺伝子プロモーター領域の遺伝子多型について

の検討で, IL-1 β は熱性けいれんの発症を促進し, IL-10 は逆に抑制することが示唆されている。また純粋な「体温上昇」自体もけいれん誘発の重要な因子であり, 一部のてんかんや熱性けいれんの患児では, 入浴等による純粋な温熱負荷でも発作が誘発される。また前述のように, 動物実験では特に遺伝子異常を持たないラット, マウス, ネコ等の幼弱動物でも, 温熱負荷を行うことによりけいれんを誘発することができる。これには神経ペプチドの産生や, 温度感受性イオンチャネルの活性化等が

関与している可能性がある。次に乳幼児期の熱性けいれん重積と「②内側側頭葉てんかん発症との関連」についてだが、これには未だ議論があり幾つかの仮説が考えられている。その中でも2ヒット仮説、つまり先天性の構造的異常や遺伝的素因から熱性けいれん重積発作が発生し、障害を受け易い環境にある海馬がその重積発作で障害を受け、海馬硬化つまりは後の内側側頭葉てんかんが発症するという仮説が考え易い。例えば、ヒトでの海

馬硬化を伴う内側側頭葉てんかん患者の遺伝子多型の検討や、幼弱ラットを用いた熱性けいれん重積モデルでの研究結果からは、IL-1 β は熱性けいれん重積後の内側側頭葉てんかん発症を促進させる可能性が示唆されている。熱性けいれん重積やその後の後天性てんかん原性獲得に対しては、治療介入ができる可能性があり今後の課題である。

(15) 温度依存性性決定の分子メカニズム

北野 健（熊本大学大学院自然科学研究科）

脊椎動物の性は、主に遺伝的要因により決定されるが、一部の爬虫類、両生類、魚類では、水温依存的に性が決定されることが知られている。この温度依存性性決定は、その分子機構も含めて未解明な部分が多く残されている。

XX/XY 型の性決定システムを持つ魚種であるヒラメの遺伝的雌 (XX) は、性分化時期に 18℃で飼育すると雌へ、27℃で飼育すると雄へとほぼ完全に分化するため、この温度依存性性決定の分子機構を解析するための優れた実験動物である。我々は、ヒラメ生殖腺の培養実験の結果から、温度は生殖腺に直接、影響を与えているわけではなく、生殖腺以外の因子を介して影響している可能性が考えられた。そこで、高温ストレスにより合成量が上昇する因子の一つであるコルチゾルに着目し、ヒラメ性分化におけるこの影響を解析した。その結果、コルチゾルを投与した XX 個体においては、50%の個体が雄化していることが判明した。また、生殖腺の器官培養系

にコルチゾルを添加した結果、雌化マーカーの発現が抑制され、雄化マーカーの発現が誘導された。これらのことから、コルチゾルは高水温によるヒラメの雄化に深く関与している可能性が示唆された。

さらに、これらの機構が他の魚種でも保存されているかを確認するため、ヒラメと同様に、高温飼育により雄化するメダカを用いてコルチゾル及びコルチゾル阻害剤（メチラポン）の影響を解析した。その結果、コルチゾルを投与した XX 個体においては 48%の個体が雄化した一方、高温飼育下でメチラポン処理した XX 個体は全く雄化しなかった。これらの結果から、高水温による雄化にはコルチゾル量の増加が関与していると考えられた。

現在、高温ストレスによるコルチゾル分泌の制御機構を解明すべく、ストレス中枢であるメダカ視床下部を用いた遺伝子発現の網羅的解析を行っている。

(16) 新しい実験システムを用いた高浸透圧負荷マウスの暑熱下行動性体温調節の評価 —脱水時にわれわれは暑さをいかに感じているのか？—

永島 計，林 政賢，森 久恵，時澤 健

（早稲田大学人間科学学術院 人間科学部 統合生理（体温・体液）研究室，
GCOE アクティブライフ，応用脳科学研究所）

【目的】行動性体温調節は未だメカニズムが明らかでない生理反応である。研究ではマウスの行動性体温調節を定

量的に評価するシステムを開発し、脱水時に生じる高浸透圧時の行動性体温調節を評価した。

【方法】実験装置はアクリル板で作成したチェンバー (50x19x12cm) と底面に位置する 5 枚のコンピュータで個別に温度制御できるペルチエ板 (10x10cm), 動物の位置を検出する赤外線センサーよりなる。温度制御は以下条件で 90 分間おこなった。1) オペラント行動; 39℃セット, マウスが左 2 枚のペルチエに位置した際, 1 分間右端のペルチエを 20℃に制御した。2) 温度モザイク; 15, 22, 29, 35, 39℃のいずれかの温度 (各々別の温度になるよう) に制御し, 6 分毎に変更した。8 週令 ICR マウスを用いて行い, 腹腔内のロガーつき温度センサーで深部体温を連続測定した。マウスは行動測定を行う前に生理食塩水もしくは 2.5M 高張食塩水を 2ml/kg 皮下に注入した。

【結果】1) マウスは高張食塩水を負荷すると 1), 2) いずれの実験条件においても体温が上昇した。また 1) の条件では 20℃の寒冷報酬をうけるオペラント行動が低下した。2) の条件ではマウスはいずれの食塩水注入においても 35℃のボードを選択した。

【考察】今回用いた実験装置はプログラムを変更するだけで, 様々な行動実験の設定が出来るとともに, 定量的な評価が可能であった。高張食塩水負荷は, 寒冷報酬行動の抑制, また高体温にもかかわらずより低温環境を求めるといった代償行動が見られなかった。このことは脱水時の高血漿浸透圧が体温のセットポイントを発熱と同じように上昇させる働きがある可能性が示唆された。

(17) 遺伝的高温耐性 FOK ラットの高温耐性獲得に伴う生理的特性の探索

古山富士弥¹, 池本 敦², 村上政隆³, 八幡剛浩⁴, 紫藤 治⁵,
三好一郎⁶, 増田和彦⁷, 宮澤大介⁸, 飛田秀樹¹

(¹名古屋市立大学大学院脳神経生理, ²秋田大学教育文化学部, ³岡崎統合バイオ (生理研) ナノ形態生理,
⁴市立名寄大学, ⁵島根大学医学部環境生理学, ⁶名古屋市立大学大学院医学研究科病態モデル医学分野,
⁷名古屋市立大学大学院医学研究科麻酔・危機管理医学 (救急部), ⁸金城学院大学薬学部)

最初にラットの急性の生存限界体温は, 43.1-43.3℃である事を明らかにした。続いて, 急性に 42.5℃まで体温上昇しても中性温度域 (25℃) へもどせば生殖が可能であることがわかったので, 各ラットを体温 42.5℃まで急性暴露して選抜しかつ交配した。この処置を累代反復した結果, FOK ラットは遺伝的に高温耐性を獲得する一方他の生理的特性をも獲得したことが明らかになった。『高温耐性』: 標準環境温度 42.5℃で, FOK ラットの体温上昇は途中で数時間 40±1℃で平衡するように温熱性唾液分泌によって調節されていた。温熱性唾液分泌は, 脱水に抗して行なわれ, 脱水は体重の 14%にも及んだ。FOK ラットの大量かつ長時間の温熱性唾液分泌は, 主として atropine によっておこった。ただし, FOK ラットでは, 体温 40.0℃-41.5℃の範囲では alpha-adrenergic pathway が部分的に関与していた。FOK ラットのこの活発な温熱性唾液分泌の原因は唾液腺の分泌能力ではなく, 体温調節系にあることがわかった。FOK ラットの視床下部遺伝子では, AIM-1 等が増え, benzodiazepine receptor 等が減っていた。『随伴する特性変化』: FOK ラットの臓器の

うちで脳, 精巣, 胸腺, 脾臓, 内蔵白色脂肪等が対照系統よりも大きかった。FOK の褐色脂肪組織では多価不飽和脂肪酸 DHA が先天的に増加していた。血中脂質組成では, 中性温度域で飼育しているにもかかわらず中性脂肪が著しく低く, これは暑熱反応に多いパターンである。リン脂質は先天的に増加しており, その DHA が増加していた。これは寒冷適応の特徴と同じである。脳の脂肪酸組成には変化がなかった。他方, 血中 glucose 濃度は正常であった。FOK の内蔵脂肪は, 対照ラットよりも 20%大きかった。FOK ラットは, 新規環境に対する心理的ストレスによる体温上昇 (stress-induced fever) が大きな系統の一つであった。FOK ラットの明暗ボックスをつかった受動的回避学習能力は, 著しく低かった。中性温度域においては, FOK の全身の熱産生量は対照ラットとまったく差がなかった。しかし, FOK は先天的に寒冷耐性であった。急性寒冷暴露に反応して, 熱産生が対照系ラットよりも大きく上昇した。さらに最近, FOK ラットが寒冷適応すると, 急性寒冷暴露に反応して熱産生が更に大きく増加することがわかった。これらの特性の変化

の中には、急性高温暴露に長時間耐える能力と共通の基盤の上に起こっているものがある可能性がある。

8. 第 7 回 TRP チャネル研究会

2011 年 6 月 2 日－6 月 3 日

代表・世話人：西田基宏（九州大学大学院薬学研究院・薬効安全性学分野）

所内対応者：富永真琴（岡崎統合バイオサイエンスセンター・細胞生理部門）

(1) TRP チャネルの酸素感受性

高橋重成（京都大学 大学院工学研究科 合成・生物化学専攻）

(2) TRPA1 の 3 次元構造解明と水中免疫電顕法を中心とした ASEM の展開

佐藤主税（産業技術総合研究所 バイオメディカル研究部門）

(3) 肺動脈性肺高血圧症に対する新規治療法としての TRPC 阻害の可能性 ―動物モデルにおける検討―

木下秀之（京都大学 大学院医学研究科 内分泌代謝内科）

(4) 化学構造に由来する SNO 化活性化化合物の合成と生物応答への応用

大和田智彦（東京大学 大学院薬学系研究科 分子薬学専攻）

(5) 受動的軸索伸長の分子機構：メカノセンサー・TRPV2 の関与

柴崎貢志（群馬大学大学院 医学系研究科 分子細胞生物学分野）

(6) 膵内分泌細胞の分化における TRPV2 チャネルの役割

小島 至（群馬大学 生体調節研究所）

(7) 温度受容体 TRPV3 チャネルの脊椎動物における機能進化

齋藤 茂（岡崎統合バイオサイエンスセンター 生命環境領域 細胞生理部門）

(8) 口腔粘膜における TRP チャネルの役割

城戸瑞穂（九州大学大学院歯学研究院口腔常態制御学講座分子口腔解剖学分野）

(9) オキサリプラチン誘発末梢神経障害急性期における TRPA1 の関与

趙 萌（京都大学 大学院薬学研究科 生体機能解析）

(10) 受容体作動性 Ca^{2+} 流入機構における Ca^{2+} 流入経路としての、TRPC チャネルと

Na/Ca 交換輸送体の重要性

森島 繁（福井大学 医学部 薬理学領域）

(11) 眼内平滑筋の受容体作動性陽イオンチャネル研究におけるマウス材料の適合性

高井 章（旭川医科大学 生理学講座 自律機能分野）

(12) ニシツメガエル Transient receptor potential vanilloid1 は侵害刺激を受容する

大北真嗣（鳥取大学 農学部 獣医薬理学分野）

(13) ラット脊髄後角表層の神経終末におけるグルタミン酸自発放出の促進に働く TRP チャネル

熊本栄一（佐賀大学 医学部 生体構造機能学講座 神経生理学分野）

(14) STIM/Orai を介する B リンパ球カルシウムシグナル

黒崎知博（大阪大学 WPI 免疫学フロンティア研究センター 分化制御研究室）

(15) STIM 依存性カルシウム流入による T 系列細胞の分化制御

大洞将嗣（東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 分子情報伝達学分野）

(16) ヒト気道平滑筋細胞における STIM-1 による store-operated Ca^{2+} entry および遊走能の制御機構

伊藤 理（名古屋大学 医学部 呼吸器内科）

(17) 貯蔵部作動性 STIM1 リン酸化反応とカルシウム流入制御

平野勝也（九州大学 大学院医学研究院 分子細胞情報学分野）

(18) 膜翅目昆虫特異的な TRPA チャネルの進化と生理機能

河野景吾 (名古屋大学 大学院生命農学研究科)

(19) 母子間ミネラル輸送における TRP チャネルの役割

鈴木喜郎 (岡崎統合バイオサイエンスセンター 細胞生理研究部門)

(20) 脳出血傷害時に惹起されるアストロサイト活性化における TRPC1 および TRPC3 の病態生理学的役割

白川久志 (京都大学 大学院薬学研究科 生体機能解析分野)

(21) ホスホイノシチド代謝と連繋した TRPC3/6/7 チャネル群における自律的制御機構の解明

今井裕子 (福岡大学 医学部 生理学教室)

(22) 心不全における TRPC3 を介した活性酸素シグナル制御

西田基宏 (九州大学 大学院薬学研究院 薬効安全性学分野)

【参加者名】

堀之内孝広 (北海道大学大学院医学研究科), 高井 章 (旭川医科大学), 宮津 基 (旭川医科大学), 赤尾鉄平 (旭川医科大学), 柴崎貢志 (群馬大学大学院医学系研究科), 小島 至 (群馬大学生体調節研究所), 中川祐子 (群馬大学生体調節研究所), 大和田智彦 (東京大学大学院薬学系研究科), 佐藤主税 (産業技術総合研究所), 大洞将嗣 (東京医科歯科大学), 森島 繁 (福井大学医学部), 三原 弘 (富山大学医学部), 伊藤 理 (名古屋大学医学部), 高原 紀博 (名古屋大学大学院医学系研究科), 菅沼伸一 (名古屋大学医学部), 門脇辰彦 (名古屋大学大学院生命農学研究科), 波多野紀行 (愛知学院大学薬学部), 鈴木裕可 (愛知学院大学薬学部), 富永真琴 (岡崎統合バイオサイエンスセンター), 山中章弘 (岡崎統合バイオサイエンスセンター), 鈴木喜郎 (岡崎統合バイオサイエンスセンター), 齋藤 茂 (岡崎統合バイオサイエンスセンター), 内田邦敏 (岡崎統合バイオサイエンスセンター), 加塩麻紀子 (岡崎統合バイオサイエンスセンター), 梅村 徹 (岡崎統合バイオサイエンスセンター), 高山靖規 (岡崎統合バイオサイエンスセンター), 田淵紗和子 (岡崎統合バイオサイエンスセンター), 周一鳴 (岡崎統合バイオサイエンスセンター), 新宅健司 (岡崎統合バイオサイエンスセンター), 橘高裕貴 (岡崎統合バイオサイエンスセンター), 佐藤かお理 (生理学研究所), 太田利男 (鳥取大学農学部獣医学科), 大北真嗣 (鳥取大学農学部獣医学科), 白川久志 (京都大学大学院薬学研究科), 崎元伸哉 (京都大学

大学院薬学研究科), 趙 萌 (京都大学大学院薬学研究科), 桑原宏一郎 (京都大学大学院医学研究科), 木下秀之 (京都大学医学部附属病院), 中川靖章 (京都大学大学院医学研究科), 柴田純子 (京都大学大学院医学研究科), 森 泰生 (京都大学大学院工学研究科), 中尾章人 (京都大学大学院工学研究科), 沼田朋大 (京都大学地球環境学), 小林良平 (京都大学大学院工学研究科), 植田誉志史 (京都大学大学院工学研究科), 小山祥平 (京都大学大学院工学研究科), 香西大輔 (京都大学大学院工学研究科), 田中里奈 (京都大学大学院工学研究科), 高橋重成 (京都大学大学院工学研究科), 黒崎知博 (大阪大学免疫学フロンティア研究センター), 成瀬恵治 (岡山大学医歯薬学総合研究科), 高橋 賢 (岡山大学医歯薬学総合研究科), 森 誠之 (福岡大学医学部), 今井裕子 (九州大学大学院歯学府), 北島直幸 (九州大学大学院薬学府), 西田基宏 (九州大学大学院薬学研究院), 平野勝也 (九州大学医学研究院), 斎木翔太 (九州大学大学院薬学府), 合島怜央奈 (九州大学大学院歯学研究院), 熊本栄一 (佐賀大学医学部), 川崎弘貴 (佐賀大学大学院医学系研究科), 柴崎利英 (キッセイ薬品工業), 森村浩三 (田辺三菱製薬株式会社), 田中英一 (旭化成ファーマ株式会社), 跡部公和 (旭化成ファーマ), 下里大輔 (旭化成ファーマ株式会社), 金政利幸 (塩野義製薬), 高石雅之 (株式会社マダム), 遠藤俊弥 (持田製薬), 白石征士 (味の素製薬株式会社)

【概要】

細胞の膜電位に依存しない Ca^{2+} 流入を担うイオンチャネルの分子実体として Transient Receptor Potential (TRP) チャネルが注目されている。TRP チャネルは、細胞外の

様々な物理的・化学的刺激によって活性化される Ca^{2+} 透過型カチオンチャネルであり、幅広い動物種に発現している。遺伝子改変動物を用いた研究から、体性感覚、特

殊感覚, 平滑筋運動, 呼吸, 生殖, 免疫など, 生体の多彩な機能の調節に関わっていることが明らかにされている。さらに, 多くの疾患モデル動物を用いた解析から, 心不全, 高血圧, 腎不全, 神経疾患, 慢性炎症など, 様々な病態において TRP チャネル群が関与することもわかってきた。こうした経緯から, TRP チャネルは未だ有効な治療法のない様々な疾患に対する薬物治療の有望な分子標的として強い関心を集めている。その一方で, TRP チャネルはストア作動性 Ca^{2+} チャネルの構成分子である Orai や STIM とも複合体を形成し, 容量性 Ca^{2+} 流入を調節するなど, タンパク質間相互作用による TRP タンパク

シグナル複合体 (シグナルソーム) 形成の意義も明らかにされてきた。本研究会では, 各 TRP チャネル群のセンサー機能, 膜輸送, 複合体形成の分子機構や単粒子構造解析に関する最新の研究成果を提供し合うことで, TRP チャネル群の基本動作原理に対する共通の理解を見出すための議論が熱く交わされた。さらに, 様々な疾患モデルを用いた研究成果から TRP チャネルが様々な組織の炎症に関わっていることも明らかとなり, TRP チャネル創薬を実現させるための具体的な標的疾患や病態が浮き彫りにされてきた。

(1) TRP チャネルの酸素感受性

高橋重成, 清中茂樹, 沼田朋大, 香西大輔, 森 泰生
(京都大学大学院 工学研究科 合成・生物化学専攻)

酸素は好気性生物が生きていく上で必要不可欠だが, 取り入れた酸素に由来する活性酸素種が極めて高い反応性を有するため, 細胞に障害を与える。哺乳動物においては体内に取り入れる酸素分圧を感知し, 組織への酸素供給を厳密に制御する機能が備わっている。しかし, 酸素毒性を感知し, 体内への酸素供給を制御するセンサーは同定されていない。本研究では, TRP チャネルの酸化感受性を網羅的に評価することにより, TRPA1 が酸素濃度の変化を感知することを見出した。高酸素による TRPA1 の活性化にはシステイン残基の酸化が重要であり, また低酸素による活性化には酸素依存的なプロリン

水酸化酵素の阻害が関与することを明らかにした。*Trpa1* 遺伝子欠損 (*Trpa1* KO) マウスを用いた *in vivo* 実験により, 高酸素ガス及び低酸素ガス吸入に伴う迷走神経活動の増大, またそれに伴う呼吸反射が *Trpa1* KO マウスでは著しく抑制されることを確認した。注目すべきことに, *Trpa1* KO マウスは通常酸素濃度下においても肺障害, 肺高血圧症の症状を示し, 本症状はそれぞれ高酸素濃度下及び低酸素濃度下での飼育により, より重篤化することを見出した。以上の知見により, TRPA1 は酸素センサーとして機能し, 体内への酸素供給を制御することが示された。

(2) TRPA1の3次元構造解明と水中免疫電顕法を中心とした ASEM の展開

守屋俊夫¹, 丸山雄介¹, 三尾和弘¹, 沼田朋大², 香西大輔², 高橋重成²,
清中茂樹², 西山英利³, 須賀三雄³, 森 泰生², 佐藤主税¹

(¹産業技術総合研究所バイオメディカル研究部門, ²京都大学大学院工学研究科生物化学, ³日本電子(株))

単粒子解析法は, タンパク質の結晶サンプルを必要としない構造決定法である。そのため, 結晶化の困難なタンパク質の構造解析に必須の手法となりつつある。本手法では必要とされるタンパク質量は $1\mu\text{g}$ -数十 ng であり, これまで我々が開発してきた画像処理法や分類法を用い

ればタンパク精製も完全である必要はない。本方法により, 結晶化が難しい真核生物の TRPC3, TRPM2, 電圧感受性 Na チャネル, IP3 受容体などの 6 回膜貫通型チャネルの三次元構造を中心に解明してきた。TRPA1 は活性酸素種の感知に関わり熱感受との関連が深く, イオン選

択性が低い陽イオンチャネルである。そのユニークな特徴として、N末端に17回繰り返されたアンキリンリピートを有し、分子のサイズが510kDaとTRPC3とTRPM2の中間サイズである。しかし、これら2つのチャネルよりもTRPA1はコンパクトで、高さが少し低く細身であった。分子全体はベル形であり、内部に空洞のある細胞質構造が特徴的である。さらに、中心空洞は数本の特

微的な通路構造によって分子外へと繋がっていた。一方、ASEMを用いた液中免疫電顕法も開発した。標的タンパク質はgold結合抗体を用いてラベルされ、その金シグナルを検出する。通常の電顕の様に真空中で観察する必要がないため、水溶液中で柔らかな試料構造や抗原性が保持される。この水中免疫電顕法を用いて、様々なタンパク質の局在を高分解能で可視化することに成功した。

(3) 肺動脈性肺高血圧症に対する新規治療法としてのTRPC阻害の可能性 —動物モデルにおける検討—

木下秀之¹, 桑原宏一郎¹, 清中茂樹², 森 泰生², 柴田純子¹, 山田千夏¹,
南 丈也¹, 中尾一泰¹, 山田優子¹, 栗原佳宏¹, 保野慎治³, 宇佐美覚¹,
中川靖章¹, 錦見俊雄¹, 上嶋健治³, 中尾一和¹

(¹ 京都大学大学院医学研究科内分泌代謝内科,

² 京都大学大学院工学研究科合成・生物化学専攻分子生物化学分野, ³ 京都大学 EBM 研究センター)

肺高血圧における肺血管平滑筋細胞の増殖にTRPC6が関与している可能性が報告され、肺動脈性肺高血圧症の発症・進行におけるTRPC6の役割に注目が集まっている。従来肺動脈性肺高血圧症モデル動物としては、ラットにおけるmonocrotaline投与による肺高血圧モデルが用いられてきた。マウスに対しても、monocrotaline投与による肺高血圧モデルの作製も少数ながら試みられたが、ラットとの代謝の違いから、大容量を慢性的に投与する必要があり、モデルとしての効率性に欠けていた。今回我々は、monocrotalineの活性代謝物であるmonocrotaline pyrrole (MCTp)を直接マウスに投与することにより、肺高血圧モデルマウスの作成を行い、さらに、これらの肺高血圧モデル動物を用いて、TRPC阻害が肺動脈性肺高血圧症に対する治療法として有効であるかどうか検討を

行った。

C57BL6/JマウスにMCTp投与を行ったところ、肺動脈圧の上昇、右室肥大を認め、MCTp投与マウスの肺ではTRPC6と3の遺伝子発現の亢進を認めた。TRPC阻害薬であるPyrazole2投与にて、MCTp投与マウスにおける肺高血圧・右室肥大の改善を認めた。選択的TRPC3阻害薬であり、生体内ではTRPC3/6複合体の活性を抑制することが報告されているPyrazole3も同様に、MCTp投与マウスの肺高血圧・右室肥大を改善した。次にmonocrotaline誘発性肺高血圧モデルラットにおいても同様の検討を行ったところ、pyrazole2, pyrazole3共に、monocrotaline誘発性肺高血圧モデルラットの肺高血圧、右室肥大を改善した。TRPC3/6阻害は肺動脈性肺高血圧症に対する新たな治療法となると考えられる。

(4) 化学構造に由来するSNO化活性化合物の合成と生物応答への応用

大和田智彦¹, 唐木文霞¹, 樺澤洋治¹, フィルマン¹, 尾谷優子¹, 香西大輔²,
エベルト・マキシミリアン², 高橋重成², 沼田朋大², 清中茂樹², 森 泰生²

(¹ 東京大学 大学院薬学系研究科 分子薬学専攻, ² 京都大学 大学院工学研究科 合成生物化学専攻)

種々のタンパク質の特定のシステイン残基がS-ニトロソ化(SNO化)されることで、そのタンパク質の機能

が制御されていることが近年明らかになってきた。S-ニトロソ化試薬としてSNAPが利用されるが、SNAP自体

はNOを自発的に発生し、SNO化の作用とNOの作用の2つが共存する。そのため、S-ニトロソ化反応だけを選択的に引き起こす化合物の創製は、生物学研究に有用であると考えられる。私たちは、二環性骨格である7-アザビシクロ [2.2.1] ヘプタン構造を有する N-ニトロソアミン (以下、二環性ニトロソアミン) が、自発的にNOを発生せず、チオールが存在するとチオールと反応しS-ニトロソ化合物を生じる反応性 (S-トランスニトロソ化能) を持つことを見いだした。この反応性はその二環性構造の構造特性に由来して、ニトロソアミンのN-NO結合が

減弱しているためであると考えられる。

SNAPで活性化される種々のTRPチャネルについて二環性ニトロソアミンによるチャネル活性化の有無を調べたところ、TRPA1だけが二環性ニトロソアミンによって強く活性化されることが判明した。このことから、少なくともTRPA1チャネルの活性化にSNO化が関与していると考えられる。SNO化試薬の種類によるTRPチャネル活性化の相違は今まで議論されておらず、SNO化されるシステイン残基の性質や周辺環境の相違を反映しているものと考えられる。

(5) 受動的軸索伸長の分子機構：メカノセンサー・TRPV2の関与

柴崎貢志¹, 岩田裕子², 若林繁夫², 石崎泰樹¹, 小野勝彦³, 富永真琴⁴

(¹群馬大学大学院 医学系研究科 分子細胞生物学分野, ²国立循環器病センター 循環分子生理部,

³京都府立医大 神経発生生物学, ⁴岡崎統合バイオ/生理研 細胞生理研究部門)

発表者は、発生期に伸長中の脊髄運動神経とDRG感覚神経軸索が自分自身の伸び具合を膜伸展刺激として感知し、メカノセンサーTRPV2を活性化することで軸索伸長が促進することを証明した。また、損傷した末梢神経の再生過程にTRPV2が関与する可能性も見いだした。このことは、成体では侵害熱刺激センサー・TRPV2 (52℃以上で活性化) として機能しているチャネル分子が、発達期には膜伸展刺激感知センサーとして軸索伸長を促進する分子となる機能変化 (モーダルシフト) することを意味している。

一方、動物は体の成長に応じて、神経回路の長さを調節する機構も有しており、この「受動的軸索伸長」にもメカノセンサー・TRPV2が関与する可能性が高いと考え

られる。発表者は、実験材料として孵卵2日目のニワトリ胚を用いた。まずこのニワトリ胚の神経管の片側にのみ、EGFPのみ、TRPV2+EGFP、TRPV2ドミナントネガティブ変異体 (TRPV2DN)+EGFPを発現させ、24時間後、ニワトリ胚を滅菌した培養皿に移し、それぞれの群におけるEGFPラベルされた運動神経伸長の様子をタイムラプスイメージングで観察を行った。ニワトリ胚の筋肉部分にガラスキャピラリーから陽圧を吹きつけ、神経外部からのメカノストレスが高まった場合に、運動神経の伸長がどのように変化するのかを定量的に解析した。

さらに、脊髄運動神経とDRG感覚神経特異的にTRPV2を欠損させたTRPV2CKOマウスでは表現型異常 (末梢への軸索投射異常) が観察された。

(6) 膵内分泌細胞の分化におけるTRPV2チャネルの役割

小島 至¹, 山田聡子¹, 小寺 力^{1,2}, 中川祐子, 長澤雅裕¹

(¹群馬大学生体調節研究所, ²防衛医科大学校第3内科)

TRPV2チャネルは胎生期の膵導管に存在する膵幹細胞や内分泌前駆細胞に発現している。成体においては主に膵島のβ細胞に発現しているが、β細胞が何らかの障害を受けた後に起こる「膵再生」時には、新たに出現す

る内分泌前駆細胞に発現する。したがって、膵内分泌細胞の分化・再生において何らかの役割を果たしていることが推測される。そこで膵前駆細胞のモデル細胞であるAR42J細胞を用いて、膵内分泌細胞の分化における

TRPV2 チャンネルの役割について検討を行った。膵幹細胞様の性質をもつ AR42J 細胞は、アクチビン A の作用により増殖が止まり、膵ポリペプチドを産生する内分泌細胞に分化する。さらにベータセルリン (BTC) あるいは BTCδ4 の作用によりインスリン産生細胞へと分化する。BTC や BTCδ4 によるインスリン産生細胞への分化には持続的な Erk 活性化が必要かつ十分である。BTC や

BTCδ4 による Erk 活性化には細胞外 Ca^{2+} が必須で、Erk 活性化も細胞外 Ca^{2+} に依存している。BTC や BTCδ4 は TRPV2 を介して Ca^{2+} の流入を促進するが、TRPV2 を抑制すると Erk 活性化もインスリン産生細胞への分化も消失する。以上の結果から、BTC や BTCδ4 は TRPV2 を活性化し、分化を誘導すると考えられる。

(7) 温度受容体 TRPV3 チャンネルの脊椎動物における機能進化

齋藤 茂¹, 福田直美¹, 新貝御蔵², 富永真琴^{1,3}

(¹ 岡崎統合バイオ, 生命環境, 細胞生理, ² 岩手大, 工, 応用化学・生命工学, ³ 総合研究大学院大学, 生理科学専攻)

TRPV3 チャンネルは哺乳類において皮膚に発現し温かい温度 (>33~39°C) を受容する。本研究では脊椎動物の進化過程における温度受容体の機能進化を解明するため、両生類であるニシツメガエル、および、爬虫類であるグリーンアノールの TRPV3 遺伝子を単離し、比較解析を行った。脊椎動物の複数種の TRPV3 チャンネルのアミノ酸配列を比較したところ、哺乳類、ニワトリ、グリーンアノールの TRPV3 は全領域についてアミノ酸配列が類似していたが、一方、ニシツメガエルでは両端の領域が他の陸上脊椎動物と比べて著しく異なっていた。また、ニシツメガエル TRPV3 mRNA の組織分布を調べたところ、皮膚に発現していた。次に、チャンネル特性を調べるために、アフリカツメガエル卵母細胞に TRPV3 を発現

させ 2 電極膜電位固定法により各種の刺激に対するイオン電流を測定したところ、グリーンアノール TRPV3 はユーカリプトール、2-APB により活性化され、哺乳類と類似した特性を示した。一方、ニシツメガエル TRPV3 はカンフル、ユーカリプトールでは活性化されず、2-APB でのみ活性化され、化学物質に対する感受性が哺乳類/グリーンアノールとニシツメガエルでは異なっていることが分かった。次に、温度感受性を調べたところ、ニシツメガエル TRPV3 は温かい温度では活性化されなかったが、16°C 以下の低温で活性化され、哺乳類とニシツメガエルでは逆向きの温度変化に感受性があることが示された。

(8) 口腔粘膜における TRP チャンネルの役割

城戸瑞穂¹, 王 冰¹, 鍛冶屋浩², 合島怜央奈^{1,3}, 西田基宏⁴, 高尾知佳¹,
張 旌旗¹, 岡本富士雄², 岡部幸司², 野田百美⁵, 大崎康吉¹

(¹ 九州大学大学院歯学研究院口腔常態制御学講座分子口腔解剖学分野, ² 福岡歯科大学細胞生理学, ³ 佐賀大学医学部歯科口腔外科, ⁴ 九州大学大学院薬学研究院薬効安全性学・⁵ 病態生理学)

口腔はとても敏感な感覚を示すことが知られている。口腔での感覚受容が適切に行われてこそ食べる・飲み込む・咀嚼するなど私たちの基本的な行動が可能となる。口腔では、形や大きさ・食物の性状・温度など様々な刺激が敏感に認識されている。これらの感覚は、教科書的

には口腔粘膜に分布する神経により受容され伝達されると考えられてきた。しかし、神経は非常に密に分布している部位はあるものの口腔粘膜全体に分布しているというわけではない。そこで私たちは広く口腔を被う上皮自体が感覚機能を備え、神経へと伝える方が理に適ってい

るのではないかという仮説を立て、外界環境センサーとして知られている TRP チャネルの口腔上皮における機能を調べた。

ラット口腔粘膜上皮には、TRPV1, TRPV2, TRPV3, TRPV4, TRPV6, TRPM2, TRPM5, TRPM8, TRPA1 の mRNA 発現が確認できた。また口腔内の部位により発現様式に差があることがわかった。カルシウムイメージング或いはパッチクランプ法による解析により、TRPV チ

ヤネル作用薬である capsaicin, camphor, 2-APB, 4- α PDD, GSK1016790A, menthol, 低浸透圧刺激により活性化され TRPV channel 阻害薬 ruthenium red あるいは RN1734 により反応が抑制されたことから、TRP チャネルを介して口腔上皮細胞自身が化学刺激を受容していることが示唆された。我々は口腔の上皮細胞が口腔内を被覆する上皮としてだけでなく、口腔内環境の感知に関わり情報を伝達していると考えている。

(9) オキサリプラチン誘発末梢神経障害急性期における TRPA1 の関与

趙 萌, 白川久志, 中川貴之, 金子周司 (京都大学 大学院薬学研究科 生体機能解析)

転移性大腸癌治療薬として使用される白金製剤 oxaliplatin (OHP) は、投与直後からほぼ全例において寒冷刺激で誘発、増強されるしびれや疼痛が惹起されることが知られている。本研究では、急性期 (投与数時間内) の OHP 誘発末梢神経障害における温度感受性 TRP チャネルの関与について検討した。マウスに OHP (5 mg/kg) を腹腔内投与すると、投与 2 時間以内に有意な冷痛覚過敏が惹起された。培養 DRG 神経に OHP (100 μ M) を 1~4 時間処置すると、TRPA1 アゴニスト AITC に応答 (細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇) する DRG 神経の割合が有意に増加したのに対し、TRPV1 アゴニスト capsaicin および

TRPM8 アゴニスト menthol に応答する DRG 神経の割合は変化しなかった。また、OHP 腹腔内投与 (5 mg/kg) 2 時間後、AITC 及び menthol の足底内投与により惹起される疼痛行動が有意に増加したが、capsaicin 足底内投与による疼痛行動に変化は認められなかった。さらに、OHP 投与 2 時間後に認められる冷痛覚過敏は、TRPA1 阻害薬 HC-030031 (100 mg/kg. i.p.) により有意に抑制された。これらの結果から、OHP の単回投与により、投与数時間内において、DRG 神経の TRPA1 が選択的に機能増強され、OHP による急性期の末梢神経障害に関与することが示唆される。

(10) 受容体作動性 Ca^{2+} 流入機構における Ca^{2+} 流入経路としての、TRPC チャネルと Na/Ca 交換輸送体の重要性

森島 繁 (福井大学 医学部 薬理学領域)

私たちは、受容体の活性化後、Snapin を介して TRPC チャネルが細胞膜表面に開口することにより、細胞外からの Ca^{2+} の流入が起きることを示してきた。多くの研究により、TRPC6 チャネルはほぼ非選択的なカチオンチャネルであることが明らかにされており、 Na^+ イオン流入により、持続的な脱分極を起こす可能性が高い。まず、RT-PCR 法により PC12 細胞に TRPC6, TRPC3 チャネルが発現していることを確認した。次に、電位感受性色素 RH795 を用いて α_1 アドレナリン受容体 (α_1 -AR) を発現させた PC12 細胞をアゴニストにより活性化させ、その電

位の変化を調べた。静止膜電位の変化は 90% の細胞で -60mV から、+10mV 以内の上昇にとどまった。この変化は ouabain による変化よりもやや少なく、活動電位を引き起こすには十分ではないと考えられた。

一方、Na/Ca 交換輸送体の阻害薬 KB-R7943 をあらかじめ投与しておくと、細胞内 Ca^{2+} 上昇は、持続しなくなった。静止膜電位の変化は、コントロールと比較して、違いを認めなかった。一方、TRPC6 ノックダウン細胞では Ca^{2+} 流入は大きく減少し、残った Ca^{2+} 流入は KB-R7943 によってほとんど阻害されなかった。

免疫沈降法により, Snapin と Na/Ca 交換輸送体は相互作用すること, ならびに, アゴニスト刺激により, その相互作用が増大していることも確認された。

以上のことから, Snapin を介する受容体作動性 Ca^{2+} 流

入には, TRPC6 チャネルのみならず, Na/Ca 交換輸送体による Ca^{2+} 輸送も関与していること, また Na/Ca 交換輸送体による Ca^{2+} 輸送には, TRPC チャネルが必須であることが示唆された。

(11) 眼内平滑筋の受容体作動性陽イオンチャネル研究におけるマウス材料の適合性

赤尾鉄平, 宮津 基, 竹谷浩介, 高井 章 (旭川医科大学・生理学講座・自律機能分野)

毛様体筋や瞳孔括約筋のムスカリン受容体刺激に応じた収縮の持続相においては, 他の多くの平滑筋におけるのと同様, 細胞外から流入する Ca^{2+} が重要な役割を演じている。先にわれわれは電気生理学的実験により, 膜電位依存性 Ca^{2+} チャネルが発現していないことを特徴とする毛様体筋において, この Ca^{2+} 流入が 2 種類の単位コンダクタンスの大きく異なる非選択性陽イオンチャネル (NSCCL と NSCCS) を介して起ることを示した。一方, RT-PCR 法や免疫染色により, 分子候補としての TRPC1, TRPC3, TRPC4, TRPC6 や Orai1 などの毛様体平滑筋細胞における発現を確認している。従来, そのあまりの小ささからこの分野の生理学的研究にほとんど用いられてこ

なかったマウス眼球の毛様体-虹彩領域において, われわれはすでに M_3 型ムスカリン受容体などの発現している平滑筋細胞の同定に成功している。また, 輪状に摘出した微小な瞳孔括約筋標本において carbachol 刺激による張力応答を安定的に記録する方法も確立した。さらに, 単離した瞳孔括約筋細胞における細胞内 Ca^{2+} 測定にも取り組み, ほぼ安定的に記録が可能な段階に漕ぎ着けている。また, intact なマウス個体において瞳孔括約筋の収縮を, 瞳孔のビデオ観察により実時間記録する方法を開発した。これは, 実験に用いるのに有用な遺伝子改変マウスを手早くスクリーニングする有用な方法を提供するものと期待される。

(12) ニシツメガエル Transient receptor potential vanilloid1は侵害刺激を受容する

大北真嗣¹, 齋藤 茂², 富永真琴², 高橋賢次¹, 今川敏明³, 太田利男¹

(¹ 鳥取大学・農学部・獣医薬理学, ² 岡崎統合バイオサイエンスセンター・細胞生理,

³ 北海道大学・先端生命科学院・生物化学)

両生類ゲノムとして初めて塩基配列が解明されたニシツメガエル (*Xenopus tropicalis*) は飼育が容易, 多産, サイズの小さい 2 倍体ゲノムを持つなどの理由から実験動物として注目されている。哺乳類や鳥類など恒温動物の TRPV1 は既に機能解析されているが, 両生類 TRPV1 の機能解析は行われていない。そこで, 我々はニシツメガエル TRPV1 (xtTRPV1) の遺伝子クローニングを行い, その機能的役割を検討した。

xtTRPV1 のアミノ酸配列は他の脊椎動物 TRPV1 オルソログと約 60% の相同性を示した。xtTRPV1 を HeLa 細胞に一過性に発現させたところ, capsaicin, 酸, 熱刺激に対して細胞内カルシウム濃度 ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) の上昇が見られ

た。また, xtTRPV1 を発現させたアフリカツメガエル卵母細胞において, 酸, 熱刺激により内向き電流が生じた。内因性 xtTRPV1 を発現しているニシツメガエル背根神経節ニューロンにおいても, capsaicin, 酸, 熱により $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 増加が生じた。さらに個体を用いた行動実験において, capsaicin, 熱刺激により疼痛回避反応が生じることが明らかになった。これらの実験系における capsaicin 反応閾値はほぼ一致していた ($\sim 30 \mu\text{M}$)。ニシツメガエル TRPV1 の capsaicin に対する感受性は, 多くの哺乳類 TRPV1 と比べて低下していた。xtTRPV1 変異体を用いた実験により, これは capsaicin 感知部位の 2 か所のアミノ酸が置換しているため生じることが示された。

ニシツメガエルの知覚神経細胞は、反応閾値が低いものの、バニロイド感受性があること、xtTRPV1 は哺乳類

と同様にポリモーダル受容体として機能していることが明らかになった。

(13) ラット脊髄後角表層の神経終末におけるグルタミン酸自発放出の促進に働く TRP チャネル

熊本栄一, 楊 柳, 岳 海源, 井上将成, 藤田亜美, 朴 蓮花,
蔣 昌宇, 八坂敏一, 川崎弘貴, 水田恒太郎
(佐賀大学 医学部 生体構造機能学講座)

1 次感覚ニューロンの細胞体で TRPV1 チャネルを活性化させるオイゲノール (月桂樹成分), ジンゲロン (生姜成分), オルバニル (合成カプサイシンアナログ), およびピペリン (黒胡椒成分) が, 1 次感覚ニューロンの中枢端においても同様に TRPV1 チャネルを活性化するかどうか知る目的で, これらの物質が膠様質ニューロンにおけるグルタミン酸作動性の自発性興奮性シナプス伝達に及ぼす作用を調べた。

実験は, 成熟ラット脊髄横断スライスの膠様質ニューロンへ通常のブラインド・ホールセル・パッチクランプ法を適用し, -70 mV の保持膜電位で膜電流を記録することにより行った。オルバニル ($0.11\sim 20\text{ }\mu\text{M}$) は自発性興

奮性シナプス伝達に作用しなかった。一方, ジンゲロンとピペリンは可逆的および濃度依存的に自発性興奮性シナプス後電流 (sEPSC) の発生頻度を増加させ, それらの EC_{50} 値は, それぞれ 1.53 mM と 0.052 mM であった。これらの作用は, 20 分の時間間隔で繰り返し見られた。オイゲノールも可逆的および濃度依存的 ($1\sim 5\text{ mM}$) に sEPSC の発生頻度を増加させた。以上より, 1 次感覚ニューロンの細胞体において TRPV1 作動薬はその中枢端において TRPV1 チャネルを, ジンゲロンやオイゲノールは TRPV1 ではなく TRPA1 チャネルを活性化させて膠様質ニューロンへ起こるグルタミン酸の自発放出を促進することが明らかになった。

(14) STIM/Orai を介する B リンパ球カルシウムシグナル

黒崎知博, 松本真典, 馬場義裕
(大阪大学 WPI 免疫フロンティア研究センター分化制御研究室
理化学研究所免疫アレルギー科学総合研究センター 分化制御グループ)

従来, *in vitro* 実験系・阻害剤を用いて, カルシウムシグナルの重要性が検定されてきたが, 果たして *in vivo* でどのような生理的意義を担っているのかは, 依然として不明のままであった。私たちは, B リンパ球特異的 Stim1/Stim2 ノックアウトマウスを用いて以下のことを明らかにした。

1) Stim/Orai システムが抗原受容体を介するカルシウムシグナルに必須である。2) Stim/Orai を介するカルシウムシグナルは B リンパ球の発生, 及び外来性抗原の免疫

応答には必須ではない。3) しかしながら, この B 細胞におけるカルシウムシグナルが欠損すると, 自己免疫疾患のモデルである EAE (実験的自己免疫性脳脊髄炎) の症状が悪化し, この原因は B 細胞から抑制性サイトカイン IL-10 が産生されないためである。

以上の結果は, カルシウムシグナルは, 生物学的には, むしろ positive な役割が予測されていたが, 抑制性サイトカイン制御により, negative な役割も担っていることが明らかになった。

(15) STIM 依存性カルシウム流入による T 系列細胞の分化制御

大洞将嗣^{1,2,3}, 小松紀子², Anjana Rao⁴, 高柳 広^{1,2,5}(¹東京医科歯科大学 歯と骨のグローバル COE プログラム,²東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 分子情報伝達学,³科学技術振興機構 (JST) 戦略的創造研究推進事業 (さきがけ),⁴Harvard Medical School Immune Disease Institute,⁵科学技術振興機構 (JST) 戦略的創造研究推進事業 (ERATO))

我々は, STIM1 とそのファミリー分子 STIM2 の T 細胞特異的なノックアウトマウスを CD4Cre マウスとの交配によって作製し, STIM 分子が T 細胞のエフェクター機能に重要であること, T 細胞受容体刺激による細胞外カルシウム流入が殆ど検出されないことを報告した。さらに, 胸腺における T 細胞の分化は正常であるという全く予期せぬ結果が得られた。そこで, 一般的な T 細胞である $\alpha\beta$ TCR 陽性 T 細胞に加えて, 転写因子 Foxp3 陽性の制御性 T 細胞 (Treg 細胞), invariant NKT (iNKT) 細胞, 腸管上皮細胞間リンパ球 (IEL) の分化における STIM 依存性ストア作動性カルシウム流入の役割を解析した。その結果, $\alpha\beta$ TCR 陽性 T 細胞は, 細胞数, CD4/CD8 の比率だけでなく, 胸腺における選択も正常であった。しか

し, 胸腺器官培養や OP9-DL1 細胞を用いた *in vitro* の分化システムにおいて, $\alpha\beta$ TCR 陽性 T 細胞の分化にはカルシニューリンを活性化させる細胞外カルシウムが必須であり, その流入は高濃度の 2-APB によって阻害されることが判明した。一方, Treg 細胞, iNKT 細胞, IEL 細胞は末梢で細胞数が激減するだけでなく, 胸腺において前駆細胞の数も著減していた。さらに, これらのうち iNKT 細胞は STIM2 の発現レベルによって, 分化障害の程度が変化することも明らかとなった。以上の結果から, 強い刺激で選択される Treg 細胞等の分化には STIM 依存性ストア作動性カルシウム流入による持続的なカルシウムの供給が分化に必須であると考えられた。

(16) ヒト気道平滑筋細胞における STIM-1 による store-operated Ca^{2+} entry および遊走能の制御機構伊藤 理¹, 菅沼伸一¹, 曾我部正博², 長谷川好規¹(¹名古屋大学 医学部 呼吸器内科, ²名古屋大学 大学院医学系研究科 細胞生物物理学)

STIM-1 は SOC を制御する分子として同定され, 気道平滑筋細胞においてもその存在が報告されている。我々は STIM-1 によるヒト気道平滑筋細胞の SOC および遊走能の制御について検討した。培養ヒト気道平滑筋細胞は STIM-1 の mRNA, 蛋白をいずれも発現していた。細胞外 Ca^{2+} 非存在下 (Ca^{2+} -free) で筋小胞体 (SR) Ca^{2+} -ATPase 阻害剤 thapsigargin により SR からの Ca^{2+} 放出を誘導した後, 細胞外に Ca^{2+} (2 mM) を負荷したところ, 細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇すなわち SOC の誘導を認めた。Thapsigargin による SOC は細胞外 Ca^{2+} -free により消失し, STIM-1 siRNA 導入によって有意に抑制された。PDGF 投与は細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇を生じたが, この Ca^{2+} 濃度上昇も STIM-1

siRNA 導入によって有意に抑制された。一方で, endothelin-1 による Ca^{2+} 濃度上昇は STIM-1 siRNA で抑制されなかった。PDGF は有意に細胞遊走を促進した。PDGF による細胞遊走能の増強は STIM-1 siRNA 導入, EGTA および Ca^{2+} 流入阻害剤 SKF96365 により有意に抑制された。PDGF により誘導されるヒト気道平滑筋細胞遊走能の増強には, STIM-1 により制御される SOC 活性化が関与している。細胞内 Ca^{2+} は気道平滑筋細胞の機能を制御するのみならず, Ca^{2+} ホメオスタシス異常と気管支喘息との関連が考えられており, STIM-1 の気道平滑筋細胞遊走への影響を介した気道リモデリング病態への関与が推測される。

(17) 貯蔵部作動性 STIM1 リン酸化反応とカルシウム流入制御

平野勝也, 平野真弓 (九州大学 大学院医学研究院 分子細胞情報学分野)

本研究では, SOC 制御における STIM1 のリン酸化の役割を解析した。ブタ大動脈内皮細胞 (PAEC) および HeLa 細胞を用いた。STIM1 のリン酸化は, Phos-tag SDS-PAGE 法を用いて評価した。化合物 Phos-tag はリン酸基特異的に結合する特性を有し, これを含むポリアクリルアミドゲルで電気泳動を行うと, 蛋白質の移動度はリン酸化の程度に応じて遅くなり, 非リン酸化体から分離される。Phos-tag SDS-PAGE 上, 静止期にある PAEC の STIM1 は 2 つのバンドとして検出された。セリン/トレオニン脱リン酸化酵素阻害剤カリキュリン A 処理により, 移動度の早いバンドの密度は低下し, 移動度の遅いバンドの密度が増加した。また, いずれのバンドも STIM1 のノックダウンにより消失した。さらに, 細胞周

期を同調させた PAEC において, G_0 期, G_1 期と比べて, S 期, G_2/M 期でリン酸化が増加し, 分裂期では 1 分子当たりのリン酸化数も増加した。これらの結果から, 移動度の早いバンドが非リン酸化体 STIM1 に, 遅いバンドがリン酸化体 STIM1 に相当することが示唆された。PAEC においては, トロンビンも STIM1 のリン酸化レベルを増加させ, また, STIM1 依存性に SOC を引き起こした。トロンビン刺激で認められた STIM1 のリン酸化は, タブシガルギン刺激の場合と異なり, Ca^{2+} 再添加により刺激前のレベルにまで低下した。小胞体の貯蔵 Ca^{2+} 量の低下により STIM1 が可逆的にリン酸化されることが明らかとなった。STIM1 のリン酸化は SOC の活性化の持続性に関与することが示唆された。

(18) 膜翅目昆虫特異的な TRPA チャネルの進化と生理機能

河野景吾¹, 曾我部隆彰², 松浦宏典¹, 富永真琴², 門脇辰彦¹

(¹名古屋大学 大学院生命農学研究科,

²自然科学研究機構 岡崎統合バイオサイエンスセンター (生理学研究所) 細胞生理部門)

昆虫は比較的体積が小さく, また変温動物であるためにその体温は外環境温度の変化に大きく依存する。しかしながら, 膜翅目昆虫であるミツバチは単独ではその他の昆虫と同様に体温は外環境温度に依存するが, 集団では巣内温度を 32-36°C に保ち恒温動物のように振舞う。ミツバチの温度に関する行動については 50 年以上の研究の歴史があるが, ミツバチがどのようにして外環境温度を感知しているかは未知であった。そこで我々は, ミツバチの温度応答性 TRP チャネルをスクリーニングした結果, 膜翅目昆虫に特異的な TRPA (HsTRPA) である AmHsTRPA チャネルの同定に成功した。AmHsTRPA は 34°C 以上の温度とカンフル等の昆虫の忌避物質によって活性化する。AmHsTRPA は触角第 3 節で発現しており,

これらの切除や活性化阻害剤の注入はミツバチの高温忌避行動を阻害する。また, ミツバチのシロ糖液に対する応答は高温や昆虫の忌避物質により減衰するが, AmHsTRPA 活性化阻害剤の存在下では回復する。これらの結果から, AmHsTRPA がミツバチの高温と昆虫の忌避物質センサーとして機能することが示唆される。また, 膜翅目昆虫は古代忌避物質センサーである TRPA1 を欠失しているが, AmHsTRPA はショウジョウバエ TRPA1 の機能を相補することができる。以上の結果は, ミツバチでは Water witch (ショウジョウバエにおいて湿度上昇に応答する TRP チャネル) の重複により生じた HsTRPA が高温と昆虫忌避物質応答性を獲得したことにより, 同等な機能を持つ古代 TRPA1 が欠失したと考えられる。

(19) 母子間ミネラル輸送における TRP チャネルの役割

鈴木喜郎^{1,2}, Matthias Hediger³, 富永真琴^{1,2}(¹ 岡崎統合バイオサイエンスセンター 細胞生理研究部門,² 総合研究大学院大学 生理科学専攻, ³ スイス・ベルン大学 生化学分子医学研究所)

我々は昨年の TRP 研究会において、非常に高い Ca^{2+} 選択性を有する TRPV6 が食物からの小腸 Ca^{2+} 吸収に関与すること、および gain of function 型の TRPV6 ハプロタイプが小腸 Ca^{2+} 過剰吸収に由来する尿路結石症の発症に関与することを報告した。今回我々は前回とは逆に、TRPV6 の loss of function によって起こると想定される Ca^{2+} 欠乏症に着目した。TRPV6 が胎盤において高発現していることから *Trpv6* ノックアウト胎仔を解析した結果、血中・羊水 Ca^{2+} 濃度および総ミネラル重量が WT 胎仔に比べ有意に減少していた。血中および羊水中の Mg^{2+} 濃度は変化しなかった。また、母親から胎仔への Ca^{2+} 輸

送能は WT に比べ約 40% 減少していた。さらにマウス胎盤において TRPV6 は intraplacental yolk sac および visceral layer of yolk sac に局在し、胎仔の骨の石灰化が行われる妊娠終期 (E15 から E18) に合わせて顕著に増加した。以上のことから TRPV6 はマウスにおいて、胎仔の骨石灰化のための母子間 Ca^{2+} 輸送に関与することが強く示唆された。また残りの 60% の輸送 (管腔膜 Ca^{2+} 流入路) については別の分子の関与が同時に示唆されたため、候補分子においてスクリーニングを行った結果、TRPM6 がその機能を担い得ることが明らかになった。

(20) 脳出血傷害時に惹起されるアストロサイト活性化における TRPC1 および TRPC3 の病態生理学的役割

白川久志, 金野真和, 宗像将也, 崎元伸哉, 中川貴之, 金子周司

(京都大学 大学院薬学研究科 生体機能解析)

当研究室では以前、アストロサイトのトロンビン受容体 PAR1 を刺激することにより TRPC3 を介した Ca^{2+} 流入が惹起され、TRPC3 自身の発現上昇を介してアストログリオシスが惹起されることを報告した。本研究では、TRPC3 とヘテロマルチマーを形成しうる TRPC1 に着目し検討を行った。RT-PCR, 定量的 RT-PCR, Western blot により培養アストロサイトに TRPC1 が豊富に発現していることが明らかになった。さらに、TRPC3 が重要な役割を果たしていると考えられるトロンビン誘発 Ca^{2+} 応答、形態変化、S100B および増殖が TRPC1 特異的な siRNA を導入したアストロサイトにおいても有意に抑制された。免疫沈降実験の結果より、TRPC1 は TRPC3 と結合していることが示された。さらに、マウス脳出血傷害モデルに対する TRPC3 選択的阻害薬 pyrazole-3 の作用

を検討した。マウス脳出血傷害モデルは線条体内にコラゲナーゼ (0.025 U/0.5 μL) を微量投与することにより作製した。Pyrazole-3 を i.c.v および i.p. 投与し、3 日後に解析した結果、投与部位周辺である bregma 及び出血領域が最大となる bregma 後方 0.4mm での血腫のサイズは pyrazole-3 投与群で顕著に減少していた。さらに、pyrazole-3 投与群では、運動協調性の増悪が有意に改善し、アストロサイト活性化の指標である GFAP および S100B の upregulation が抑制される傾向を示した。以上の結果より、TRPC3 選択的阻害薬 pyrazole-3 がマウス脳出血傷害モデルにおいて保護的な作用を示すことが明らかになり、そのメカニズムの一部にはアストロサイト活性化抑制作用が関与していることが示唆される。

(21) ホスホイノシチド代謝と連繋した TRPC3/6/7チャンネル群における自律的制御機構の解明

今井裕子^{1,2}, 齋 郷平^{1,2}, 岡村康司³, 井上隆司¹, 森 誠之¹

(¹福岡大学 医学部 生理学, ²九州大学大学院 歯学府 全身管理歯科,

³大阪大学 医学研究科 統合生理学)

TRPC3/6/7 チャンネル群は神経、消化管、心血管系など広範囲に発現し、細胞の興奮性の一端を担う受容体作動型の非選択的カチオンチャンネルである。これらのチャンネルはホスホイノシチド (PIPs) の一種、PIP2 の代謝産物であるジアシルグリセロール (DAG) により活性化されることが知られている。そこで、我々はこれらのチャンネル群に対する PIPs の関与について役割について、電位感受性 PIPs 脱リン酸化酵素 (VSP) を用いその作用を検討した。昨年、本研究会において、VSP による PIP2 の枯渇

の結果、TRPC6 チャンネルにおいて強い抑制作用を引き起こすことを報告した。今回、TRPC3, C7 について同様の実験を行い、得られた知見について報告する。C3/C7 チャンネルでも PIP2 の枯渇は C6 と同様に抑制を示したが、その程度はチャンネルごとに異なっていることを見出した。また、本研究から TRPC3/6/7 チャンネル群において PI (4,5) P2- DAG 系による自律的制御機構は共有して存在していることが明らかとなった。

(22) 心不全における TRPC3を介した活性酸素シグナル制御

西田基宏¹, 北島直幸¹, 齊木翔太¹, 清中茂樹², 佐藤主税³, 森 泰生², 黒瀬 等¹

(¹九州大学 大学院薬学研究院 薬効安全性学分野,

²京都大学 大学院工学研究科 合成生物化学専攻,

³産業技術総合研究所 バイオメディカル研究部門)

虚血や高血圧などの負荷によって起こる心臓の形態構造改変 (リモデリング) は、心不全を増悪させる要因として注目されている。我々はこれまで、圧負荷や神経液性因子によって誘発される心筋の肥大応答に、脂質活性化 transient receptor potential canonical (TRPC) チャンネル (TRPC3 と TRPC6) が関与することを明らかにしてきた。しかしその一方で、心肥大に付随して起こる線維化を TRPC6 が抑制するのに対し、TRPC3 は誘導する方向に働く可能性も見出してきた。しかし、TRPC3 と TRPC6 を介する Ca²⁺シグナリングを区別化する機構については良くわかっていない。そこで本研究では、拡張型心筋症における心拡張に対する TRPC3 の役割を解析した。

Muscle LIM protein を欠損させた MLP-KO マウスは生後成長に伴って拡張型心筋症を呈する。このマウスに TRPC3 選択的阻害薬 (pyrazole-3) を投与すると、左心室の拡張と壁厚の薄化、およびこれに伴う心機能の低下が改善された。MLP-KO マウスの心臓では活性酸素の生成が亢進しており、pyrazole-3 は活性酸素生成を強く抑制した。さらに、NADPH オキシダーゼ (NOX2) が TRPC3 と複合体を形成すること、および diacylglycerol 誘導体刺激による活性酸素生成が TRPC3 のノックダウンにより抑制されることが明らかとなった。以上の結果から、TRPC3 が NOX2 の活性化による酸化ストレスを介して心臓リモデリングを進行する可能性が示された。

9. 睡眠研究の新展開（新しい睡眠研究の発見）

2011 年 10 月 24 日－10 月 25 日

代表・世話人：裏出良博（大阪バイオサイエンス研究所）

所内対応者：山中章弘（生理学研究所 細胞生理研究部門）

- (1) マウス視覚野における睡眠・覚醒状態に依存した機能的神経結合の抑制系制御
宮本浩行（理化学研究所・神経回路発達研究チーム）
- (2) 脳内マストセルの睡眠覚醒制御における役割
近久幸子（徳島大学大学院・ヘルスサイエンス研究部）
- (3) 睡眠中の脳活動と視覚運動学習
玉置應子（ATR 脳情報研究所・神経情報学研究室）
- (4) “お腹がすいて目が覚める” サーカディアンリズム制御機構
中村 渉（大阪大学大学院歯学研究科・口腔時間生物学研究室）
- (5) 抗ヒスタミン薬を介した睡眠誘発作用：第三脳室連続微小注入法を用いた検証
池田真行（富山大学理学部生物学科・生体制御講座）
- (6) オレキシニューロンと睡眠覚醒制御システムのコネクトミクス
櫻井 武（金沢大学大学院医学系研究科 分子神経科学・統合生理学分野）
- (7) 生体リズム障害に関連した睡眠障害の診断と治療
三島和夫（国立精神神経医療研究センター・精神生理研究部）
- (8) ナルコレプシー疾患関連遺伝子の探索
本多 真（東京都医学総合研究所・睡眠障害研究室）
- (9) 小児の睡眠時歯ぎしりと精神的ストレスとの関連
高原 円（福島大学共生システム理工学類・人間支援システム専攻）
- (10) レム睡眠期の大脳皮質シータ波の情動記憶の固定に関する研究
西多昌規（東京医科歯科大学・精神行動医科学講座）
- (11) in vivo Ca^{2+} イメージング法
村山正宜（理化学研究所・行動神経生理学研究チーム）
- (12) 二光子励起機能的 Ca^{2+} イメージング法を用いた大脳皮質視覚野神経回路網の解析
惣谷和広（理化学研究所・大脳皮質回路可塑性研究チーム）
- (13) in vivo two-photon imaging approach to sleep and memory
金 善光（生理学研究所・生体恒常性機能発達機構研究部門）
- (14) オプトジェネティクスを用いた睡眠覚醒制御
常松友美（生理学研究所・細胞生理研究部門）

【参加者名】

裏出良博（(財)大阪バイオサイエンス研究所）、永田奈々恵（(財)大阪バイオサイエンス研究所）、吉田麗子（(財)大阪バイオサイエンス研究所）、高田陽子（(財)大阪バイオサイエンス研究所）、宮本浩行（理化学研究所）、近久幸子（徳島大学）、志内哲也（徳島大学）、玉置應子（(株)国際電気通信基礎技術研究所）、中村 渉（大阪大学歯学

研究科）、池田真行（富山大学大学院）、海野雄哉（富山大学大学院）、櫻井 武（金沢大学）、佐々木功（金沢大学）、三島和夫（国立精神・神経医療研究センター）、本多 真（東京都医学総合研究所）、高原 円（福島大学）、小山純正（福島大学）、外館圭司（福島大学）、松田翔平（福島大学）、西多昌規（東京医科歯科大学大学院）、村山

正宜 (理化学研究所), 惣谷和広 (理研・BSI), 高橋和巳 (福島県立医科大学), 辛島彰洋 (東北大学), 寺尾 晶 (北海道大学), 山中章弘 (岡崎統合バイオサイエンスセンター), 常松友美 (岡崎統合バイオサイエンスセンター), 田淵紗和子 (岡崎統合バイオサイエンスセンター), 富永真琴 (岡崎統合バイオサイエンスセンター), 鈴木喜郎 (岡崎統合バイオサイエンスセンター), 内田邦敏 (岡崎統合

バイオサイエンスセンター), 加塩麻紀子 (岡崎統合バイオサイエンスセンター), 高山靖規 (岡崎統合バイオサイエンスセンター), 周一鳴 (岡崎統合バイオサイエンスセンター), 橋高裕貴 (岡崎統合バイオサイエンスセンター), 鍋倉淳一 (生理学研究所), 金 善光 (生理学研究所)

【概要】

我々は人生の 1/3 もの時間を睡眠に費やすにもかかわらず、その生理的意義や調節する仕組みについては、長年の研究にもかかわらず十分解明されていない。このことは、これまでの睡眠研究手法の枠にとらわれず、最先端の研究手法・技術を睡眠研究に導入することや、異なる分野からの研究者の参入の必要性を示唆している。しかしながら、個体でしか生じ得ないという「睡眠」の特殊性のために、多くの研究者が興味を有しているものの、実践には至っていないのが現状である。一方、最新のイメージング法を用いた脳研究を行う研究者において、睡

眠時の脳活動測定解析を可能にする新しい手法や技術の開発が行われており、従来不可能であった解析による睡眠調節における新知見が得られている場合もある。そこで本研究会では、これまで睡眠を中心に研究していた研究者のみならず、睡眠研究に興味を持っている研究者や、これからの睡眠研究の展開において重要な手がかりを得ている研究者及び、新しい解析技術を開発している研究者らが一堂に会し、技術と知識を融合させることにより、新たな睡眠研究を提案することによって、停滞する睡眠研究のブレークスルーを目指すことを目的としている。

(1) マウス視覚野における睡眠・覚醒状態に依存した機能的神経結合の抑制系制御

宮本浩行 (理化学研究所 脳科学総合研究センター・科学技術振興機構 さきがけ)

シナプス可塑性を通じて睡眠は記憶の固定化や脳の発達などに積極的に関与すると考えられているが、その神経回路メカニズムは未だ明らかではない。そこでマウス視覚野をモデルとして睡眠中の神経活動、情報処理、シナプス可塑性と神経回路網変化との関係を調べた。この視床一皮質回路は覚醒時には視覚情報を処理し、睡眠時には同期した神経活動パターンを生み出すとともに経験依存的な可塑性を有することが知られている。

行動するマウス視覚皮質から睡眠・覚醒時のマルチニューロン活動を記録した結果、睡眠中においても覚醒時

とは異なる視覚応答が存在し、神経活動から推定された単シナプス性の機能的結合が徐波睡眠中に促進されていた。さらに抑制系が減弱した GAD65 ノックアウトマウスでは睡眠の機能的結合が阻害されている一方、抑制伝達を薬理的に強化すると機能的結合が回復した。視覚野の可塑性 (眼優位性) を示さない GAD65 ノックアウトマウスは抑制系を強化することで可塑性が回復することから、抑制系によって制御される視覚入力と睡眠時の機能的結合の促進が可塑性の発現に寄与していることが示唆された。

(2) 脳内マストセルの睡眠覚醒制御における役割

近久幸子（徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・統合生理学分野）

西野精治（スタンフォード大学・睡眠生体リズム研究所）

マストセル（肥満細胞）は免疫反応や炎症などの生体反応において重要な役割を果たす。脳内マストセルは、髄膜や脳室周囲器官の血管周辺、視床や海馬などに存在し、ヒスタミン、サイトカイン、プロスタグランジン D2 など、睡眠に影響を及ぼす様々なメディエーターを含有している。特にヒスタミンについては、脳内含有量のうち 40%以上がマストセル由来だといわれている。脳内マストセルは様々なストレスや行動変化によってその増加するが知られているが、その生理的機能は不明である。本研究では、マストセル欠損マウスを用い、脳内マストセルの睡眠覚醒制御における役割について、ヒスタミンシステムとの関連性から探ることを目的とした。

実験動物にはマストセル欠損 (Kitw/w-v; DEF) と野生型 (WT) の雄性マウスを用い、H1 受容体のアンタゴニストである triprolidine, mepyramine の腹腔内投与、マストセルからのヒスタミンリリーサーである Compound 48/80 の脳室内投与を行い、睡眠・覚醒量、活動量、体温の記録を行った。また、6 時間の断眠、24 時間の絶食時における睡眠・覚醒量の変化についても観察も行った。

ベースラインでは DEF マウスと WT マウスに睡眠・覚醒量に大きな違いは認められなかった。しかし H1 受容

体のアンタゴニスト投与により、WT マウスでは覚醒量の減少およびノンレム睡眠量の増加が認められたのに対し、DEF マウスではそのような変化は認められなかった。Compound 48/80 の投与においても、WT マウスでは覚醒量の増加とノンレム睡眠量の減少が認められたのに対し、DEF マウスでは変化がみられなかった。これらのことから、マストセル由来のヒスタミンにも覚醒作用があり、H1 受容体アンタゴニストを介した睡眠誘発作用にも関与している可能性が考えられる。

次に 6 時間の断眠によるリバウンドを観察したところ、DEF マウスでは WT マウスに対して断眠後のノンレム睡眠量の増加が小さかった。また、暗期の開始から 24 時間の絶食を行ったところ、WT マウスでは絶食中に覚醒量の増加と睡眠量の減少が認められるのに対し、DEF マウスでは睡眠・覚醒量に変化が認められなかった。これらのことから、脳内マストセルは、睡眠ホメオスタシスや、絶食時の覚醒・探索行動増加などの神経・行動調節に関与している可能性が示唆された。

本研究の結果から、脳内マストセルは、脳内ヒスタミンシステムに関与するとともに、睡眠・覚醒制御に重要な役割を果たすことが明らかとなった。

(3) 睡眠中の脳活動と視覚運動学習

玉置應子（(株) 国際電気通信基礎技術研究所）

睡眠中の自発脳活動が記憶の固定化に関与することが指摘されている。睡眠後には、とりわけ運動技能に大幅な向上がみられることから、睡眠中の自発脳活動は運動記憶の固定化に寄与する可能性がある。しかし、その神経基盤は十分に解明されていない。われわれは、睡眠中の自発脳活動の一種である睡眠紡錘波と視覚運動学習の関係を検討してきた。睡眠紡錘波とは、ノンレム睡眠中に出現する、10-16Hz の周波数で振動する紡錘形の形態をもつ脳波活動である。近年、睡眠紡錘波が、睡眠中の記憶の固定化に関与する可能性が指摘されている。睡

眠紡錘波は、周波数及び頭皮上分布から、約 14Hz の fast spindle と約 12Hz の slow spindle の 2 種類に分類されている。そこで、睡眠紡錘波を 2 種類に分類し、それぞれの睡眠紡錘波の活動性変化と睡眠後の視覚運動技能の向上との関係を検討した。視覚運動課題を睡眠または覚醒の前後で実施し、課題成績の変化を検討したところ、トレーニング後に睡眠をはさんだ場合のみ、成績は向上した。次に、fast spindle の活動性を、運動課題を実施した学習夜と実施しなかった非学習夜で比較した結果、学習夜では非学習夜より、fast spindle の振幅は高く持続時間は長

かった。そして、技能の向上率と fast spindle の活動性の間に有意な正の相関関係がみられ、技能の向上率が高い人ほど、fast spindle の振幅は大きく、持続時間は長いという結果が得られた。一方で slow spindle の活動性には、学習夜と非学習夜とで有意差はみられず、課題成績との

間に有意な相関関係もみられなかった。これらのことから、睡眠中の運動記憶の固定化には、睡眠紡錘波の中でも fast spindle の活動性変化が関与することが示唆された。

(4) “お腹がすいて目が覚める” サーカディアンリズム制御機構

中村 渉 (大阪大学大学院歯学研究科・口腔時間生物学研究室,
JST さきがけ「脳神経回路の形成・動作と制御」)

我々ヒトの生活基盤、生理機能には、自然や社会の 24 時間周期に引き込まれた (同調した) 内因性の概日リズム (サーカディアンリズム) が存在する。睡眠覚醒リズムはサーカディアンリズムの代表的出力であり、通常ヒトの場合昼間 (明期) に活動して夜間 (暗期) に眠る。視床下部・視交叉上核 (Suprachiasmatic Nucleus; SCN) は、その破壊実験によってあらゆる生理機能のサーカディアンリズムが消失することから、絶対的な体内時計中枢であると考えられてきた。その一方で、生理機能の概日リズムを駆動する体内時計が複数存在することが実験的に示唆されている。ヒトを時間隔離環境下においた場合、深部体温やメラトニン・コルチゾール等のホルモンリズムと、睡眠覚醒のサーカディアンリズムが乖離する「内的脱同調」が生じることが報告されている。一方のリズムは SCN 依存性の特性を示すことから、内的脱同調はリズム中枢 SCN と睡眠覚醒リズム制御との乖離として捉える事ができる。本研究では、SCN から独立した睡眠覚醒タイミング制御機構について、サーカディアンリズム学的視点からアプローチする。

げっ歯類の食餌可能時間を一日定刻の数時間に制限

すると、給餌時刻の 1~2 時間前から行動の活発化、体温上昇、血中コルチコステロン上昇等、「給餌予知活動」が生じる。この活動は、げっ歯類本来の活動休止期 (昼間、明期) でもみられること、恒常光環境下では SCN 依存性のサーカディアンリズムと乖離すること等から、SCN 非依存性睡眠覚醒タイミング制御機構が働いていると考えられる。給餌予知行動は単に“お腹がすいて目をさます”という反応的な行動現象であろうか？ これまでの行動実験によれば内因性サーカディアン振動体による振動現象であるという仮説が有力である。しかしながら、近年サーカディアンリズム発振分子機構が明らかになったことを背景に、時計遺伝子 KO マウスを用いた行動解析により、分子時計不全マウス (ex. Bmal1 KO, Cry1/Cry2 KO, Per1/Per2 KO マウス) は明瞭な給餌予知行動を示すとの報告が相次いでいる。やはり時間制限給餌条件下における睡眠覚醒リズムは反応性に生じているのか？ それとも内因的な体内時計による振動性を有するのか？ 今回、複数の時計遺伝子 KO マウスを用いた古典的行動解析により、SCN 非依存性サーカディアン振動体の睡眠覚醒タイミング制御機構を明らかにしたい。

(5) 抗ヒスタミン薬を介した睡眠誘発作用：第三脳室連続微小注入法を用いた検証

池田真行 (富山大学大学院理工学研究部 (理学)・大学院生命融合科学教育部)

d-クロロフェニラミン (d-CPA), ジフェンヒドラミン等の第一世代 H1 ヒスタミン受容体 (H1R) アンタゴニストは、抗アレルギー薬や抗炎症剤として広く用いられている。これらの薬は、中枢移行性が高く、服用すると眠

気を催すことが知られている。今日では、この副作用を利用し、ジフェンヒドラミンは入眠薬としても販売されている。H1R アンタゴニストによる眠気の誘発作用は、以下に述べるノンレム睡眠制御を担う神経回路 (仮説)

に矛盾しないものである。つまり、ヒスタミン神経の起始核である後視床下部結節乳頭核 (TMN) の活動が、覚醒の維持に必要であり、一方で、ノンレム睡眠の発現中枢である視索前野腹外側核 (VLPO) は、GABA などの抑制性神経伝達物質を用いて TMN の活動を抑え込むことにより、覚醒の抑制（つまりはノンレム睡眠の誘発）を引き起こすのではないかという説である。これまでのところ、この説は、HIR ノックアウトマウスを用いた様々な研究によって支持されているが、一方で、HIR ノックアウトマウスに観察されるほぼ正常な睡眠覚醒リズムの表現型は、ヒスタミン神経系に依存しない睡眠覚醒制御機構が内在することを示唆している。また、HIR アンタゴニストの作用についても、今なお不明な点が多い。なぜなら、中枢移行性の高い第一世代アンタゴニストの特異性は低く、たとえ眠気を誘発したからと言って、その原因を HIR に帰結することが難しい。また、特異性の高い第二・第三世代のアンタゴニストは、中枢移行性が低く、眠気を出しにくいのである。

これらの背景から、本研究では、第一世代 HIR アンタゴニストである d-CPA と第三世代 HIR アンタゴニストであるセチリジンをラット第三脳室に連続微小注入することにより、その作用を比較検討した。また、第三脳室に投与したセチリジンが脳内でどのような分布を示すの

かを明らかにするために、セチリジン蛍光コンジュゲートを作成し、ノンレム睡眠発現時間帯に、脳内のどの部位でセチリジンが作用しているのかを推定した。その結果、(1) 夜間 10 時間のセチリジン注入は、持続的なノンレム睡眠の増加と、レム睡眠の消失を引き起こした。一方で、(2) 夜間 10 時間の d-CPA 注入は、ノンレム睡眠の有意な増加を引き起こさず、覚醒との中間的な状態である「まどろみ」を増加させた。(3) ノンレム睡眠の増加時間帯における、セチリジン蛍光コンジュゲートの分布は、視索前野内側部 (MPO) に最も多く、中脳水道を経て脳幹にまで到達していた。一方で、VLPO を含む視索前野外側部には到達していなかった。これらの結果を踏まえて、培養 MPO ニューロンにおいて、d-CPA とセチリジンの作用をさらに検討したところ、(4) *in vivo* 実験で用いられる比較的高い濃度の d-CPA ($>100 \mu\text{M}$) には、抗ヒスタミン効果とは別の、細胞内 Ca^{2+} 濃度増加作用が存在することが明らかになった。

結論として、本研究結果は、これまでに提唱されてきたノンレム睡眠制御を担う神経回路学説を支持するものであるが、同時に、これまでに報告されてきた第一世代 HIR アンタゴニストの睡眠促進作用については、再検証が必要であることを示唆している。

(6) オレキシニューロンと睡眠覚醒制御システムのコネクトミクス

櫻井 武（金沢大学大学院医学系研究科 分子神経科学・統合生理学分野）

睡眠は、心身の健康を保つために必須の生理的過程である。しかし、現在、睡眠に問題を抱える人は 5 人に一人に上ると言われている。睡眠・覚醒の制御システムを解明し、改善策やその科学的基盤を提供することは、社会的な要請とも言える。しかし、睡眠覚醒の制御機構には未知の部分の多く残されている。とくに、睡眠の恒常性の制御機構や、眠気をもたらす機構、ノンレム睡眠とレム睡眠のスイッチングの機構などはまったく未解明のまま残されている。

申請者らのグループが発見したオレキシンは、覚醒を維持するために不可欠の分子であることが明らかになっている。とくに、睡眠障害を主徴とする疾患ナルコレプシーの病態にオレキシ神経の変性が関わっていること

が確立しており、オレキシ欠損動物は、睡眠・覚醒状態が分断化し、レム睡眠が不適切なタイミングで現れるなど、きわめて異常な睡眠・覚醒パターンを示す。このことから、オレキシンは睡眠・覚醒の構築の維持・制御やレム睡眠の制御に重要な役割を持っていると考えられている。私たちは、オレキシニューロンへの入力系および出力系の生理的機能を解析することを足がかりに、その入出力系のコネクトームを描出し、睡眠・覚醒制御のメカニズムを解明することを目的として研究をすすめている。オレキシ産生ニューロンを中心とした神経回路を読み解くことにより、睡眠と覚醒を制御する神経回路の理解されることが期待できる。

(7) 生体リズム障害に関連した睡眠障害の診断と治療

三島和夫 (国立精神神経医療研究センター・精神保健研究所・精神生理研究部)

睡眠障害はその病態から約 100 種類に分類されるが、その中には生物時計の調節障害のために慢性的な不眠・過眠症状と多様な随伴精神体症状を呈する疾患群があり、概日リズム睡眠障害 (Circadian rhythm sleep disorders; CRSD) と総称される。睡眠障害の専門外来を受診する難治性不眠を呈する患者の約 20%は CRSD に該当するとされる。CRSD の睡眠時間帯の異常は、患者自身がもつ生物時計機能の異常のために出現する場合 (睡眠相前進型、後退型、不規則型など) と、時差飛行や交代勤務のために睡眠時間帯を人為的にずらした結果として生じる場合がある。

CRSD 以外の睡眠障害の症状形成にも生物時計は深く関連している。現在の診断基準では不眠症は CRSD とは異なる病態と捉えられているが、不眠症患者の中には個々が有する生物時計の特性が自らが生活する社会的スケジュール (就床時刻、起床時間) にマッチしないために入眠・覚醒困難や早朝覚醒など不眠症状に陥っている一群が存在する。これらの患者は本人にとって望ましい

時間帯であれば睡眠の質と量に大きな問題が生じない点で一般的な不眠症とは異なる。このようなタイプの不眠症には時間療法や生活指導が有効であることも臨床的に重要である。

CRSD の病態生理の大部分は現時点では不明であるが、概日リズム同調 (位相反応) の異常、サーカディアン周期 (τ) の極端な長短、視交叉上核や効果器官の障害 (脳器質障害など) のいずれによっても生じ得る。全盲患者でのフリーラン、Per2, CK1 ϵ の変異による短い τ を有する家族性睡眠相前進型家系、アルツハイマー病での不規則型睡眠覚醒などはその端的な例である。

CRSD に対してはベンゾジアゼピン系睡眠薬など従来の不眠症治療薬は無効であり、高照度光やメラトニン受容体作動薬等を用いた時間療法が有効である。ただし、時間療法は施行・投与時刻により作用特性や有効性が顕著に変化するため、慎重な投与設計が求められる。そのためにも、個々の患者における生物時計機能の同定が重要となる。

(8) ナルコレプシー疾患関連遺伝子の探索

本多 真 (財団法人東京都医学総合研究所・精神行動医学研究分野・睡眠研究プロジェクト)

ナルコレプシーは居眠り病とも呼ばれる代表的過眠症で、耐え難い強い眠気で眠り込んでしまう過眠症状と、特徴的な情動脱力発作の 2 つを中核症状とする。ナルコレプシーの λ_s (同胞での発症率/一般人口中での発症率) は日本人で 7 倍、白人では 20-40 倍と強い遺伝性を示し、このうちナルコレプシーと密接な関連をもつ HLA 遺伝子型 (DQB1*0602) の寄与が 3 倍と計算されている。これはナルコレプシーに HLA 以外の遺伝因子の関与を示唆し、家系研究によればナルコレプシーは多因子遺伝形式をとることが想定されている。なおオレキシン神経系の機能低下がナルコレプシーの病態基盤であることが判明し、すぐれた病態モデルも提唱されているが、オレキシン神経伝達系分子には疾患と関連する遺伝子異常は見出されておらず、なぜオレキシン神経系の機能低下が起こ

るのか未解明である。

我々はナルコレプシー関連遺伝子の探索を 1. 死後脳組織を用いた遺伝子発現研究 2. 末梢血白血球を用いた遺伝子発現研究 3. 全ゲノム遺伝子多型関連研究により行い、新たなナルコレプシー関連遺伝子の同定を進めてきた。新規機能解析を行うことにより、ナルコレプシーの不思議な症状の背景にある睡眠覚醒制御異常を明らかにすることが目標である。

1. 死後脳における遺伝子発現研究

オレキシン神経の細胞体が局在する後部視床下部、およびその他の睡眠覚醒中枢を、死後脳 (ナルコレプシー 6 例および対照群 8 例) 内に同定し、関心部位における遺伝子発現を Genechip を用いて網羅的に解析した。後部視床下部で疾患特異的な 7 遺伝子の発現低下が確認され

た。オレキシシン前駆体の発現は約 1/60 と著減していた。また IGFBP3 はオレキシシン神経細胞に共存すること、IGFBP3 発現がオレキシシン転写を抑制的に制御すること、そして IGFBP3 欠損マウスにおいて活動期の最後の覚醒維持が不十分となることを見出し、IGFBP3 がオレキシシンの転写制御調節を通じて睡眠覚醒制御に関わることを見出した。(Honda PLoS ONE 2009)

2. 末梢血における遺伝子発現研究

ナルコレプシーと HLA 遺伝子型との高い関連を根拠に、自己免疫疾患仮説が根強く信じられている。免疫関連遺伝子の発現変化を検出する白血球における遺伝子発現量の比較を ACPprimer を用いた differential display 法で行い、HLA 遺伝子型によってウイルス感染関連遺伝子 MX2 が変動することを見出した。(Tanaka Sleep 2008)

3. 遺伝子多型関連解析研究

全ゲノム関連解析により新たなナルコレプシー関連遺伝子座が見出されている。日本人 (case222, control389) を用いた解析および追試 (case159, control190) により 22 番染色体上の 1SNP (rs5770917) が見出された。この遺伝子多型は脂肪酸 β 酸化の律速酵素である CPT1B の発現を遺伝子型特異的に変化させること、さらに発現に疾患特異性も確認された。(Miyagawa NatGenet 2008) さらに CPT1 の産物であるアシルカルニチン分画を血清中で比較すると、ナルコレプシー群で以上低値を示す割合が有意に高かった。(Miyagawa Sleep 2011) これはナルコレプシーにおいて脂肪酸 β 酸化によるエネルギー供給が適切に行われないことを示し、ナルコレプシーにおける肥満傾向など、エネルギー代謝異常の背景となることが示唆された。この他遺伝子多型関連解析に基づき複数のナルコレプシー関連遺伝子 (遺伝子座) が同定されている。

(9) 小児の睡眠時歯ぎしりと精神的ストレスとの関連

高原 円 (福島大学共生システム理工学類・人間支援システム専攻)

睡眠時歯ぎしり (Sleep Bruxism or tooth grindings) は、小児に頻発する脈眠随伴症とされている。近年急増している睡眠不足の子どもが問題視されているがとくに、乳歯列が完成した時期の子どもにおいて歯ぎしりが顕著に出現することが臨床的に広く知られている。また、歯ぎしりに伴う微小な覚醒が正常な睡眠を阻害し、そのことが覚醒中の適切な行動を阻害し、知能低下や注意欠陥・多動性障害 (ADHD) の危険性を高める因子となることが示された (Herrera et al., 2006)。日本の小児における歯ぎしりの発生に関わる睡眠習慣と生活習慣などの社会的要因を知ることを目的として、平成 19 年に横断的調査を実施した (Suwa et al, 2009)。歯ぎしり頻度の生活習慣、社会的要因の影響は、学年毎に異なっており、低学年においては、学童保育参加 (オッズ比 1.98) と 1 日 3 時間以上のテレビ・ゲーム等の視聴 (オッズ比 2.78) が、高頻度歯ぎしり発生の危険因子であった。これらは、親子の生活の夜型化による睡眠習慣の悪化と心理的ストレスの影響が考えられた。我々は、睡眠直前のストレス作業と夜間睡眠内容、咬筋活動との間に直接的な因果関係が認められるか否かについて明らかにすることとした。

【方法】

実験参加者：6～8 歳の児童 8 名 (女児 2 名) を対象とした。すべての保護者に対し、調査の必要性和目的に関する説明を果した上で、書面での同意を得た。実験手続き：課題条件夜と非課題条件夜があり、課題条件では、持続的な注意集中を要する視覚性持続処理課題および知覚的認知葛藤を惹起するストループ課題を約 20 分行わせた。非課題条件夜では、同じ時間を、参加児童自身の好きな本を読み、ビデオを鑑賞して過ごした。記録：携帯型脳波計を用い、対象となる児童の自宅に向いて、睡眠ポリグラフ、咬筋筋電図 (Polymate API000, ティアック株式会社)、心拍数 (アクティブトレーサー AC-301A, 株式会社ジーエムエス)、BruxChecker (簡易歯ぎしり評価装置) の同時測定を行った。歯ぎしりは、咬筋筋電図を用い、覚醒時の最大振幅を基準とし 20% 以上の活動について、対象とした。睡眠構造の変化、心拍変動による自律神経活動の変化、起床後の睡眠感について評価した。

【結果】就寝前に課題を負荷した場合に、心拍数の上昇や交感神経系活動の高まりが観察され、実験の操作が意図通りに行われたこと確認し、夜間の比較を行った。睡眠

の質は、夜間を通して悪化していた。一方で、就寝前の課題の影郷が、歯ぎしりに費やす時間が増えることや、睡眠構造そのものに及んでおり、特に第一周期と第四周期のレム睡眠量の減少となって現れていることが示された。

【まとめ】小児において、就寝直前の急性の交感神経活動の亢進による自律神経活動の変化は、その晩の自律神経系活動、および、歯ぎしり活動に影響を与え、睡眠の質を低下させる可能性があることがわかった。

(10) レム睡眠期の大脳皮質シータ波の情動記憶の固定に関する研究

西多昌規 (東京医科歯科大学大学院 精神行動医科学分野)

東日本大震災が発生して 4 ヶ月が経とうとしており、被災者の中には外傷後ストレス障害 (PTSD) に苦しむ人も増えていると推察される。不快な情動記憶が過剰に固定されると考えられている PTSD は、不快な記憶が急激によみがえるフラッシュバック現象や、体験したトラウマ記憶を主題とした悪夢を見るのが特徴である。

PTSD はいまだに病態生理がはっきりしない疾患であり、治療法についても統一性を欠くのが現状である。したがって、情動記憶の処理過程を基礎的に研究し解明していくことは、PTSD の治療を進展させていくためにも、重要であると考えられる。

情動記憶の固定は、扁桃体-海馬で記録されたものが、時間経過とともに長期記憶として前頭前野に移行していくことが、人間の神経画像研究から明らかになってきている。睡眠中においては、レム睡眠中において選択的に情動記憶の固定、強調の過程が行われていることも、先行研究からも明確になりつつある。

動物実験においては、情動記憶による負荷をかけると、扁桃体にシータ律動が発生するという報告がいくつかある。人間においては、機能画像研究が電気生理学的研究を先行している。機能画像研究で認められる扁桃体

の活性化は、可視的であり理解しやすい結果である。しかし、扁桃体含めて大脳皮質で生じている電気生理学的な活動については、事実はいまだ少なく、扁桃体の基礎的な神経活動に迫れない状況である。

発表の内容としては、シータ律動と記憶・学習との関連性を概説する。さらに、レム睡眠中の特徴的律動としてのシータ律動について、振り返る。認知、シータ律動、レム睡眠について説明を深めたところで、睡眠依存性の情動記憶固定の研究を紹介する。情動記憶は、レム睡眠中に選択的に強化されている結果が出ており、電気生理学的指標としてはシータ律動がいちばん考えられうる要素である。もちろん電気生理学だけでなく、神経伝達物質や内分泌的な要素も、考慮に入れていく必要がある。

冒頭で述べた PTSD に限らず、うつ病など気分障害や不安障害の治療にあたっても、負不快な情動記憶への固着は、治療やリハビリテーションにおいてマイナスであることは明らかである。電気生理学上のシータ律動の神経基盤が明らかになり、患者の情動記憶処理において臨床上の指標として利用価値はないかどうか、今後の研究の期待を述べたい。

(11) in vivo Ca^{2+} イメージング法

村山正宜 (独立行政法人理化学研究所脳科学総合研究センター 行動神経生理学研究チーム)

Very little is known about dendritic activity in living animals and even less about sensory processing and its relationship to behavior. Here, we measured dendritic calcium activity in layer 5 (L5) pyramidal neuron in the sensorimotor

cortex of awake and anesthetized rats following sensory stimulation by using a fiberoptic imaging method. Dendrites of L5 pyramidal cells in somatosensory area were bolus-loaded with Ca^{2+} -sensitive dye. Hind limb stimulation

evoked bi-phasic (fast and slow) dendritic responses. The strength of sensory stimulation was encoded in the fast dendritic calcium response of a local population of L5 pyramidal cells in a graded manner. Using various forms of pharmacological interventions we could show that the slope of the stimulus-response function was under the control of a particular subset of inhibitory neurons (Martinotti cell) activated by synaptic inputs predominantly in L5. Recordings from single apical tuft dendrites in vitro showed that activity in L5 pyramidal neurons disynaptically coupled via interneurons directly blocks the initiation of dendritic calcium spikes in neighbouring pyramidal neurons. A model of the results revealed that the microcircuit is organized so that local populations of apical dendrites can adaptively encode bottom-up sensory stimuli linearly across their full dynamic range.

In the awake state, there was a prominent slow, delayed response whose integral was ~14 fold larger than in the anesthetized state. These changes were confined to layer 5 pyramidal dendrites and were not reflected in the activity of layer 2/3 neurons in general. Inactivating a higher cortical, supplementary motor area (SMA) with tetrodotoxin suppressed dendritic activity as did transecting the region between the two cortical areas. Conversely, stimulation of the supplementary motor area resulted in increases in dendritic activity. Anterogradely labeling of L5 neurons with a neural tracer in the SMA showed corticocortical projections to primary sensory area. These physiological and anatomical findings demonstrate the SMA drives the large dendritic activity in sensory area. We conclude that during the awake state, top-down connections control the duration of dendritic activity which is functionally related to behavior.

(12) 二光子励起機能的 Ca^{2+} イメージング法を用いた大脳皮質視覚野神経回路網の解析

惣谷和広

(独立行政法人理化学研究所脳科学総合研究センター大脳皮質回路可塑性研究チーム
独立行政法人科学技術振興機構・さきがけ「脳神経回路の形成・動作と制御」領域)

大脳皮質神経回路網は大別すると、抹消の感覚器官によって受容された情報を伝達する興奮性ニューロン、興奮性ニューロンの活動を制御する抑制性ニューロン (GABA ニューロン) および大脳皮質内の恒常性維持に関わっていると考えられているグリア細胞の三種類の細胞群からなる。

その中でも、近年、GABA ニューロンの機能は、興奮性ニューロンの特徴選択的な視覚情報処理や生後発達初期の臨界期に見られる可塑性発現といった、神経回路網の動作制御機構において、非常に重要な役割を果たすことが想定されている。

さらに、今まで、神経回路網の構造 (特に抑制系の作用範囲や興奮性・GABA ニューロンの配置など) とニューロンの活動様式や機能を同時計測し解析することは、技術上の問題からアプローチすることが困難であったが、今後、脳神経回路の動作制御機構を理解する上で、この

神経回路網の「構造と機能」を探索していくことは、非常に重要な問題であると考えられる。

そこで今回の発表では、以上の点を踏まえ、抑制性ニューロン群と興奮性ニューロン群、そしてアストログリア細胞群の三種類の異なった細胞群の活動を同時に 3 次元的に高時空間分解能でモニターできる「In vivo 二光子励起機能的 Ca^{2+} イメージング法」を紹介し、実際のマウス大脳皮質視覚野における興奮性ニューロンと GABA ニューロンの方位選択性の違いや眼優位性の違いといったマウス大脳皮質視覚野神経回路網の解析例を紹介する。また、発表者の研究室で、最近になってようやく計測可能となりつつある「In vivo 二光子励起機能的 Ca^{2+} イメージング法」を用いた覚醒ラット大脳皮質ニューロンの活動計測法も紹介することで、今後の睡眠研究への足がかりになればと考えている。

(13) *In vivo two-photon imaging approach to sleep and memory*

金 善光 (生理学研究所・生体恒常性機能発達機構研究部門)

Recent advances in two-photon microscopy and fluorescence labeling techniques have enabled us to see neurons and glia, even synaptic structures, a few hundred micrometers deep in the brain of living animals. In this talk, I would introduce several examples for *in vivo* two-photon imaging approaches that my lab has established, especially my previous works as shown below.

Our previous study demonstrated, using long-term *in vivo* two-photon imaging of the same dendritic spines, that formation of postsynaptic dendritic spines in the mouse primary somatosensory cortex (S1) markedly increased in an early induction phase of neuropathic pain following peripheral nerve injury, but returned to the baseline level in a late maintenance phase of neuropathic pain. Compared to new spines generated before injury, more new spines that formed in the early phase of neuropathic pain became persistent and substantially increased their volume during the late phase. However, it remains unknown whether and how the other

members of ‘tripartite synapse’, presynaptic axonal boutons and astrocytes, in the S1 change after nerve injury. We found that formation and elimination of axonal boutons slightly increased and decreased, respectively, only in the early phase of neuropathic pain. Furthermore, *in vivo* two-photon Ca^{2+} imaging experiments showed that the frequency and amplitude of astrocytic Ca^{2+} activity significantly increased in the early phase and subsequently, but not completely, decreased in the late phase of neuropathic pain. These results suggest that the correlated, phase-specific changes in the S1 astrocytes and synaptic structures may play a role in neuropathic pain development.

In addition, we started in this year the new project, ‘*In vivo* two-photon imaging approach to sleep and memory’. As a beginner of sleep research, a process of trial and error during the preparation of the new project would be introduced. Any comments or suggestions would be welcomed.

(14) オプトジェネティクスを用いた睡眠覚醒の制御

常松友美 (生理学研究所・細胞生理研究部門)

神経ペプチド、オレキシンを産生する神経（オレキシン神経）は、視床下部外側野に少数が散在しており、睡眠覚醒の調節に非常に重要な役割を担っている。睡眠覚醒は個体のみで生じる生理現象であるため、睡眠覚醒を調節している神経回路の動作原理を統合的に理解するためには、個体を用いた研究が必須である。

本研究では、近年進歩が著しい新技術である‘オプトジェネティクス’を用い、光によってオレキシン神経の活動を制御することで、オレキシン神経の睡眠覚醒調節における役割を解明することを目的とした。私たちは、ハロロドプシン (Halo) もしくは、アーキロドプシン 3 (Arch) をオレキシン神経特異的に発現する遺伝子改変マウス (orexin/Halo, orexin/Arch) の作成に成功した。Halo はクロライドポンプを形成しており、橙色光によって膜

電位を過分極させて神経活動を抑制することが出来る分子であり、一方、Arch はプロトンポンプを形成しており、黄緑色光刺激により Halo 同様に膜電位を過分極させることが可能な分子である。

Orexin/Halo マウスを用いて、睡眠覚醒を繰り返す意識下において、両側視床下部に刺入した光ファイバーを介し、任意のタイミングでオレキシン神経を橙色光照射により 1 分間抑制した。オレキシン神経抑制によって脳波は徐波を示し、筋電図が小さくなったことから徐波睡眠が誘導されたと考えられた。オレキシン神経活動と睡眠覚醒調節機構についてさらに詳しく解析するために、オレキシン神経の投射先であり、睡眠覚醒の調節に関与していることが明らかとなっている縫線核セロトニン神経の活動を、*in vivo* 細胞外記録法によって確認した。オレ

キシシン神経活動を橙色光で抑制すると、徐々にセロトニン神経の自発発火が抑制されるという結果が得られた。これらの結果から、オレキシシン神経活動を光によって急性抑制すると、セロトニン神経活動を低下させ、結果として徐波睡眠を誘導しうる事が明らかとなった。

また、Arch は Halo と同様神経活動を抑制することが可能であるが、Halo と比較して、光感度が高いだけでなく、繰り返し抑制や、長時間抑制などすべての点において Halo よりも優れていた。そのため今後は Arch を用い

た解析を中心に進めていく予定としている。本研究から、Halo および Arch といった光活性化タンパク質が特定神経の活動を抑制するツールとして非常に有用であること、さらに個体における特定神経活動を制御することによって特定の行動を制御出来ることを示しており、今後オレキシシン神経以外にもオプトジェネティクスを適用していくことで、個体での睡眠覚醒調節回路の動作原理への理解が大きく深まっていくことが期待される。

10. 視知覚の理解へ向けて－生理, 心理物理, 計算論による探求

2011年5月19日－5月20日

代表・世話人：金子寛彦（東京工業大学大学院総合理工学研究科）

所内対応者：小松英彦（生理学研究所）

- (1) 物体回転のイメージと知覚における空間参照枠
朝倉暢彦（京都大学大学院情報学研究科）
- (2) 初期視覚野における輪郭線表現の構築
伊藤 南（生理学研究所感覚認知情報研究部門）
- (3) キャラクタとのふれあいのための注意のシミュレーションによる反応動作の生成
長谷川晶一（東京工業大学精密工学研究所）
- (4) 視覚経路階層位置による細胞および神経回路の特異性
藤田一郎（大阪大学大学院生命機能研究科）
- (5) 意識的視覚表象発生時の脳磁場反応計測
野口泰基（神戸大学大学院人文学研究科）
- (6) 皮質脳波法で読み解く物体視の脳メカニズム
長谷川功（新潟大学医学部生理学第一教室）
- (7) 食品に関する視知覚の実験心理学的検討－典型色と鮮度知覚を例として－
和田有史（食品総合研究所）
- (8) 視覚注意における脳領域間信号伝達－健康人を対象とした研究－
坂井克之（東京大学 大学院医学系研究科）
- (9) ネコ外側膝状体における刺激コントラストに依存しない方位選択性形成メカニズム
内藤智之（大阪大学大学院医学系研究科）
- (10) 光沢の視知覚と脳機能メカニズム
安藤広志（情報通信研究機構 ユニバーサルコミュニケーション研究所）
- (11) 視野闘争時の知覚と瞳孔反応
木村英司（千葉大学 文学部）
- (12) 両眼網膜像差の大域補正の仕組み
光藤宏行（九州大学人間環境学研究院）
- (13) 生体内線維連絡可視化法を用いた顔認知の研究
一戸紀孝（国立精神神経医療研究センター）
- (14) 視覚的注意の逆行性の影響
渡邊克巳（東京大学先端科学技術研究センター）

【参加者名】

朝倉暢彦（京都大学大学院）、長谷川晶一（東京工業大学精密工学研究所）、藤田一郎（大阪大学大学院）、野口泰基（神戸大学大学院）、長谷川功（新潟大学）、和田有史（食品総合研究所）、坂井克之（東京大学大学院）、内藤智之（大阪大学大学院）、安藤広志（情報通信研究機構）、木村英司（千葉大学）、光藤宏行（九州大学）、一戸紀孝

（国立精神神経医療研究センター）、渡邊克巳（東京大学先端科学技術研究センター）、金子寛彦（東京工業大学大学院）、三武裕玄（東京工業大学）、竹村 浩昌（東京大学）、天野 薫（東京大学）、篠森敬三（高知工科大学）、林 隆介（産業技術総合研究所）、佐藤雅之（北九州市立大学）、福田一帆（東京工業大学）、篠原浩一郎（東京工

業大学), 吉田和輝 (東京工業大学), 宮原祐樹 (東京工業大学), 遠藤大介 (東京工業大学), 田村 匠 (東京工業大学), 沼田 藍 (東京工業大学), 石黒けい (東京工業大学), 平松千尋 (京都大学), 寺尾将彦 (東京大学), 宇和伸明 (株式会社イングレッサ), 鈴木 航 (国立精神神経医療研究センター), 坂野 拓 (国立精神神経医療研究センター), 山下和香代 (中央大学), 大野義典 (東京大学), 萬田 暁 (東京大学), 福島邦彦 (ファジィシステム研究所), 林 秀彦 (鳴門教育大学), 寺島裕貴 (東京大学), 市川寛子 (中央大学研究開発機構), 坂庭秀紀 (日立製作所), 玉田靖明 (北九州市立大学), 田中 翼 (東京工業大学), 伊波 慧 (東京工業大学), 門野泰長 (東京工業大学), 稲上 誠 (東京工業大学), 前川 亮 (東京工業大学), 金成 慧 (東京工業大学), 安田康二 (東京工業大学), 木村 翔 (東京工業大学), 笠原悠司 (東京工業大学), 大森敏明 (東京大学), 針本哲宏 (豊橋技術科学大学), 西田真也 (NTT), 蘆田 宏 (京都大学), 上崎麻衣子 (京都大学), 一川 誠 (千葉大学), 澤山正貴 (千葉大学), 岡和論希 (東京大学), 曾根竜彦 (東京大学), 稲田祐奈 (日本女子大学), 金沢 創 (日本女子

大学), 山口真美 (中央大学), 永福智志 (富山大学), 花田陽子 (大日本印刷), 永井岳大 (豊橋技術科学大学), 喜多伸一 (神戸大学), 堺 浩之 (豊田中央研究所), 岡部昌子 (大同大学), 志堂寺和則 (九州大学), 阪本清美 (パナソニック株式会社), 熊野弘紀 (順天堂大学), 南 哲人 (豊橋技術科学大学), 棚橋重仁 (早稲田大学), 柳 淳二 (千葉大学), 大澤健郎 (オリンパス), 永田賢二 (東京大学), 鈴木一隆 (浜松ホトニクス), 山下 樹 (東京大学), 朝野侑希 (東京大学), 大脇崇史 (豊田中央研究所), 観音隆幸 (理研), 岡田真人 (東京大学), 宇賀貴紀 (順天堂大学), 斉 亮 (東京大学), 小賀智文 (大阪大学), 前多瑞希 (花王), 陶山史朗 (徳島大学), 行松慎二 (東京大学), 高橋伸子 (愛知淑徳大学), 鈴木栄二 (東海光学), 河邊隆寛 (NTT), 定金 理 (基礎生物学研究所), 仲神友貴 (基礎生物学研究所)

以下, 生理学研究所 笠井昌俊, 橋 吉寿, 石川理子, 大鶴直史, 松本 敦, 加藤利佳子, 高橋陽香, 川口泰雄, 荒田真実子, 小松英彦, 伊藤 南, 郷田直一, 鯉田孝和, 横井 功, 安川涼子, 橋 篤導, 西尾亜希子, 岡澤剛起, 波間智行

【概要】

平成 23 年度生理学研究所研究会「視知覚の理解へ向けて—生理, 心理物理, 計算論による探求—」は, 平成 23 年 5 月 19, 20 日に岡崎コンファレンスセンター中会議室において開催された。生理学・脳計測 7 件, 心理物理学 6 件, 工学 1 件の合計 14 件の講演があり, 参加者は 113 名であった。初日は, まず朝倉氏が物体を心的回転する際の空間参照枠に関する知見を報告した。次に伊藤氏が V2 野における折れ曲がり刺激に対する選択性を示す細胞の特性について報告した。長谷川 (晶一) 氏は, 注意状態の変化をシミュレーションした動作反応の生成手法およびそのデモを示した。藤田氏は, 視覚経路の各階層における細胞の解剖学的, 生理学的特徴についてそれらの発達的な側面も含めて報告した。野口氏は, 意識的表象について脳磁場計測に基づいたデータにより議論し, 長谷川 (功) 氏は, 皮質脳波計測手法の詳細とその手法に基づいたデータにより物体視について議論した。

和田氏は, 鮮度など食品に関わる知覚認知についての知見を報告した。坂井氏は, 脳領域間の信号伝達の解析による視覚的注意に関わる脳活動について議論した。二日目は, まず内藤氏が, LGN における刺激方位選択性を示す細胞の特性について報告した。安藤氏は, 物体の光沢感について心理物理および脳計測に基づくデータにより議論した。木村氏は, 視野闘争の知覚と瞳孔反応の関連により瞳孔制御メカニズムについて考察した。光藤氏は, 心理物理データに基づいた面の傾き知覚のための垂直網膜像差処理メカニズムのモデルを提案した。一戸氏は, 生体内線維連絡可視化法と電気生理学的手法によるデータにより顔認知メカニズムを考察した。最後に渡邊氏が, 視覚的空間の知覚における注意の逆行性に関する報告をした。異なるアプローチによる様々な視知覚研究が堪能できる非常に有意義な研究会であった。

(1) 物体回転のイメージと知覚における空間参照枠

朝倉暢彦 (京都大学大学院情報学研究科)

心的回転 (メンタルローテーション) とは、呈示されている物体が回転したときの見えのイメージを生成する認知機能である。この機能により、異なる方位に呈示された物体間の形状の相違の判断が可能となる。直感的には物体の任意の回転が等しくイメージできるように思えるが、イメージ生成の効率は回転軸が設定される空間参照枠によって異なることが明らかにされている。すなわち、効率よく心的回転が行えるのは、物体中心参照枠で定義される物体固有の主軸 (物体の長軸や最小回転軸)、環境中心参照枠で定義される主軸 (特に垂直軸)、およびそれらが一致するような軸回りの回転の場合のみである。さらに、この参照枠の効果は、心的回転のみならず物体の回転運動の知覚においても生じる。以上の知見は、参照枠が単なる外界の対象および事象の記述に留まらず、心的イメージ生成および運動知覚に本質的な役割を担っている可能性を示唆している。本研究では、回転軸が曖昧な心的回転刺激および仮現運動刺激を用いて、異なる参照枠がどのように協調あるいは競合して心的回転

や回転知覚に寄与しているかを検討した。その結果、回転軸が曖昧な心的回転刺激に対して、回転角度の大きさによらず環境内の垂直軸回りの回転が極めて優勢にイメージされること、および垂直軸回りの回転が不可能な場合には物体固有軸回りの最小回転運動が選択的にイメージされることが明らかとなった。また、回転軸が曖昧な仮現運動刺激に対して、回転角度が小さい場合には物体固有軸回りの最小回転が優勢に知覚されるのに対し、回転角度が大きくなると環境軸が優勢に知覚され、その効果は水平軸よりも垂直軸の方が多大であることが明らかとなった。さらに、各参照枠で生じる物体運動を予測するための内部モデルの機能を取り入れたベイズ推定モデルを構築し、心的回転および仮現運動における空間参照枠の最適選択方略を統一的に説明する枠組みを提案した。この枠組みは、心的イメージ生成および回転運動知覚の基盤が、身体移動による物体の相対運動に関する統計的性質を取り込んだ内部モデルであることを示唆するものである。

(2) 初期視覚野における輪郭線表現の構築

伊藤 南 (生理学研究所感覚認知情報研究部門)

線成分の傾きのような一次情報からどのような過程を経て物体の輪郭線の形状が認識されるのであろうか？ 私たちは受容野を横切る輪郭線刺激に着目し、サル V2 野の II/III 層より細胞外記録を行った。多くのニューロンが 2 本の半直線の組み合わせによる折れ曲がり刺激に選択的な反応を示した。さらに麻酔下で選択性を詳細に調べ、同じ刺激セットを用いて V1 野でも記録した。本研究では個々の半直線成分が果たす役割について報告す

る。最適刺激は Single stopped neurons と受容野外からの興奮性ないし抑制性の修飾作用との組み合わせにより表されることが示された。反応選択性は個々の半直線成分の位置関係に対して頑健であり、加算モデルにより選択性がよく再現されることと合致した。V1 野においてもこのような選択性形成の原型を見ることができるが、より多彩な輪郭線の折れ曲がりの表現が V2 野において実現されていることが示された。

(3) キャラクタとのふれあいのための注意のシミュレーションによる反応動作の生成

長谷川晶一（東京工業大学精密工学研究所）

アニメ・ゲームなどの多くでキャラクタはストーリーを紡ぎ感情移入を呼び起こすなど重要な役割を果たす。ゲームではユーザ操作に反応する必要がある、その行動・動作はルールベース AI に合わせて、役者やアニメーターがつくりこんだ動作を再生するなどの手法で生成されてきた。しかし、ペットとのふれあいのような身体性の高いインタラクションを実現するには、多様な入力に応じた生き物らしい反応動作の生成が必要になる。ゲーム

でも使われている多関節モデルのシミュレーションは物理的に正しい動きを生成するが、それだけでは生き物らしい動きにはならない。我々は役者が役の意図や注意を理解し再現することに着目し、心理学の知見を頼りに、注意のシミュレーションによる反応動作生成を試みた。この結果、力覚インタフェースを用いた精緻なインタラクションに対して、多様で生き物らしい反応動作が生成でき、多くの体験者を惹きつけ楽しませることができた。

(4) 視覚経路階層位置による細胞および神経回路の特異性

藤田一郎（大阪大学大学院生命機能研究科）

霊長類の大脳皮質視覚野は 30 を超える異なる領野からなる。各領野を構成する神経細胞は、同じ層、同じタイプに注目すれば、同様の形態と膜生理学的性質を持つと仮定されることが多いが、実際には、樹状突起や軸索の構造、膜の生理学的特性、シナプス伝達の性質、これらの生後発達過程は領野によって異なる。本講演では、サルの腹側視覚経路（物体視経路）を構成する領野、とくに、初段の一次視覚野 (V1) と後段の連合野である TE

野を比較した研究結果を紹介する。V1 野細胞は、TE 野細胞に比べて、樹状突起野が小さく、枝別れが少なく、スパイン密度および総数が小さい。また、V1 野細胞は、膜抵抗が高く、膜容量が小さく、脱分極性サグ電位が大きく、活動電位発火閾値が低く、最大発火頻度が高い。これらの性質は、V1 野の方が TE 野に比べて、生後早い時期に成熟する。視覚情報処理において、両者の神経細胞が示すこれら対照的な性質の意義を議論する。

(5) 意識的視覚表象発生時の脳磁場反応計測

野口泰基（神戸大学大学院人文学研究科）

「意識的知覚内容と連動した神経活動が、脳のどこで最初に生じるか」という問題は未解決のテーマの 1 つである。視覚の場合、両眼視野闘争と電気生理的手法を組み合わせた研究により、サルの IT や V4 といった腹側系高次視覚野が意識的視覚表象の形成に主導的な役割を果たすことが示されている (Leopold & Logothetis, 1996)。だが fMRI を使った最近の研究では、ヒト V1 さらには LGN

における血流反応も意識的知覚と連動した動態を示すことが報告されており (Haynes et al. 2005), 意識の発生場所に関する低次派 vs. 高次派の論争が行われている。本実験ではこの問題を検討するため、意識的表象が発生する「瞬間」の神経活動を、脳磁計を用いて計測した。その結果、視覚情報の意識化に関係する最初の脳磁場反応は腹側系高次野で検出され、高次派を支持する結果を得た。

(6) 皮質脳波法で読み解く物体視の脳メカニズム

長谷川功 (新潟大学医学部生理学第一教室)

霊長類において物の視覚的認知には脳の側頭葉が重要な役割を果たすことが示唆されている。しかし、どの程度の規模の神経集団の活動が物体視を担っているかについては十分に解明されていない。わたしたちは、脳の表面に「網をかける」ように張りめぐらせる電極をマイクロマシン技術の応用により開発し、皮質脳波 (Electrocorticogram: ECoG) 広範囲記録の手法を確立した。この手法を軸として、ラットやマカクザルの動物モ

デルでの実験的研究からヒトを対象とした臨床研究まで進めている。まず動物実験で従来法との比較において、網状電極による皮質脳波法の技術的妥当性を検証した。次に柔軟電極をマカクザルの広範囲の脳表/脳溝への留置する手術法を開発した。さらに、ラット・サル・ヒトそれぞれにおいて視覚連合野からの ECoG 多点記録を進め、物の形態に選択的な神経活動がみられることが明らかに becoming つつある。

(7) 食品に関する視知覚の実験心理学的検討—典型色と鮮度知覚を例として—

和田有史 (食品総合研究所食認知科学ユニット)

人間が食品を食べるとき、口に物を入れる以前に“それを口に入れるかどうか、おいしそうかどうか”という重要な判断を行っている。このような判断に視覚の果たす役割は大きい。この発表では、こうした食に関する視覚の効果についての心理物理学的な研究を紹介する。Hansen ら (2006) は CRT に提示される典型的な色を持つ果物や野菜の画像 (例えば黄色のバナナ) を観察者に提示し、それが無彩色に見えるように調整させた。その結果、画像が無彩色に見えるポイントは、物理的な無彩色よりも典型色の逆の方向に偏っていた。これは提示された食品の色の見え方は感覚入力のみではなく、人間がこれまでに経験してきた物体と色との組み合わせが影響することを示している。我々は食品のブランドロゴについて同様の実験を行なった結果、よく知られている食品関連のブランドロゴに関しては同様の典型色の効果が存在することを見出した。すなわち、食品ブランドの色も、野菜の色のような典型色の効果を持ちうるのである。また、日常的に、人間は食品の鮮度などのさまざまな質感を視覚情報に基づいて判断しているが、鮮度評価の手がかりとなる光学的なパラメータは特定されていなかった。そこで、我々は、光沢感における輝度分布の歪度の

ように、画像統計学的な変数が野菜の鮮度知覚に影響を与えるかどうかを検討した。まずキャベツの葉を 32 時間にわたって撮影し、それらの画像の一部を取り出したパッチの光学的パラメータの劣化時間に伴う変化を分析した。その結果、輝度分布の歪度、標準偏差、尖度などの複数のパラメータがキャベツの劣化時間の関数として変化することを示した。また、実験参加者の視覚的な鮮度評価も時間の負の関数として変化した。さらに、輝度分布の変化が視覚的な鮮度評価に影響するかどうかを調べるために、鮮度が高い状態のキャベツ画像にさまざまな時間の輝度分布を貼り付けた人工画像を作成した。その画像の鮮度の評価を行なわせた。その結果、鮮度劣化初期に関しては、オリジナル画像と、その輝度分布を持つ人工画像に対する鮮度評価の間に差がなかった。この結果は、輝度分布の変化は食品の鮮度の評価の手がかりの一つであることを示している。

このように食品の視知覚を心理物理学的に検討することで、近年集積された視覚的現象とその発生メカニズムが人間の日常においても機能していることを明示でき、ひいては食品の感性的な評価と成分変化などをつなぐ基礎理論の構築に役立つと考えている。

(8) 視覚注意における脳領域間信号伝達—健常人を対象とした研究—

坂井克之（東京大学大学院医学系研究科認知言語神経科学分野）

健常人を対象とした、視覚注意における脳領域間信号伝達の解析を紹介する。まず磁気刺激と脳波を用いた実験では、指示に従って異なった視覚次元に注意を向ける課題において前頭眼野を刺激すると、誘発された神経インパルスが課題特異的なパターンで後方連合領域に伝達されることが明らかとなった。この結果は前頭葉から後方連合領域に対して **prospective** な制御を行っていることを示唆する。また一方で、前頭葉活動は後方連合領域か

らのボトムアップ信号を受けて適応的に変化するものとも考えられる。**Stroop** 課題を用いた **fMRI** 実験では、後方連合領域の活動の試行ごとの変動に応じて外側前頭前野の活動が変化すること、またこの現象は **incongruent** 条件でより強く見られることが明らかとなった。この結果は視覚情報処理の **conflict** に応じて前頭前野が **reactive** に適応制御を行っていることを示唆する。

(9) ネコ外側膝状体における刺激コントラストに依存しない方位選択性形成メカニズム

内藤智之、佐藤宏道（大阪大学大学院医学系研究科）

一次視覚野 (V1) ニューロンは、特定の方位に傾きをもつ視覚刺激に顕著に応答する刺激方位選択性を示す。刺激方位選択性は、網膜や外側膝状体 (LGN) のニューロンにはみられず一次視覚野において初めて生じる特徴選択性であると考えられてきた。しかし我々は、麻酔非動化したネコにおいて、90%以上の LGN ニューロンが高空間周波数でかつ古典的受容野よりも大きなグレーティング刺激に対して有意な刺激方位選択性を示すことを見出した。方位選択性の空間周波数チューニングからの受容野推定と逆相関法を用いた受容野解析から、LGN ニューロンの古典的受容野は真円ではなく、最適方位に延びた楕円形をしていることが明らかとなった。さらに、多くの LGN ニューロンは古典的受容野の外に提示された刺激によって抑制性の修飾を受けるが、この抑制性修飾効果は方位選択的であり、最適方位では弱く、最適方位と直交方位で強いことが明らかとなった。古典的受容野の楕円性と受容野周囲からの方位選択的抑制性修飾が LGN ニューロンの方位選択性を形成していることが示唆される。また、LGN ニューロンの方位選択性は刺激コントラ

ストに依存せず、常に一定の選択性を維持することが明らかとなった。我々は LGN ニューロンの方位選択性に対する視床内抑制の役割を検討するため、**GABA_A** 受容体の拮抗阻害薬であるビククリン投与下における方位選択性を計測した。その結果、低コントラスト条件ではビククリンの投与は方位選択性を変化させなかったが、高コントラスト条件では刺激方位選択性が有意に減弱した。すなわち、ビククリン投与下において方位選択性は刺激コントラストに依存して変化した。以上の結果は、LGN ニューロンの方位選択性は網膜の段階で受容野の楕円性と方位選択的な受容野周囲抑制により形成されており、LGN の局所 **GABA** 抑制はコントラストに依存しない選択性の形成に関与していることを示唆する。LGN ニューロンが方位選択性を示す刺激パラメータは V1 ニューロンの最適刺激とよく一致していたことから、V1 ニューロンが方位選択的に応答している条件では、その入力源である LGN ニューロンの多くもまた方位選択的であることが示唆された。

(10) 光沢の視知覚と脳機能メカニズム

安藤広志 (情報通信研究機構ユニバーサルコミュニケーション研究所)

人が感じる物の質感において、物体表面の光沢の視知覚は重要な役割を果たしている。近年、光沢知覚に関する多くの研究が進められているが、これらのほとんどの研究は、単一網膜像から得られる「単眼性の静的な情報」(輝度分布、輝点の強さ・大きさ、周囲の映り込み等)に基づく光沢知覚に限定されている。我々は、両眼および視点変化によって得られる「複数の網膜像から得られる情報」が、光沢知覚に少なからず影響を及ぼすことを心理物理実験により明らかにしてきた(坂野, 安藤, 2008; Sakano & Ando, 2008a; Sakano & Ando, 2008b; 坂野, 安藤, 2009; Sakano & Ando, 2010)。一般に、単眼性の静的な情報だけを用いると、光沢は必ずしも正しく推定できない。そこで、「複数」視点で得られる像から光沢を推定することの妥当性を計算論的に示し、両眼間の網膜像の違い(両眼性手がかり)や頭部運動に伴う網膜像変化(時間変化手がかり)が光沢知覚に大きな影響を与えていることを示した。この結果は、複数視点からの情報が物体表面の輝度分布の解釈における曖昧性を解消し、より

正確で安定した光沢知覚を生み出していることを示唆している。一方、光沢知覚に関わる脳部位の特定に関する研究は非常に少ない。我々は、fMRI(機能的磁気共鳴撮像法)により、光沢知覚に関わるヒトの脳部位の特定を試みてきた。刺激(光沢の強さ)を条件にした実験では、単眼性の静的な手がかりに基づく光沢知覚に関して、光沢がより高い表面に対して V3A や hV4 が賦活されることを発見した(Wada, Sakano, & Ando, 2008; 和田, 坂野, 安藤, 2008)。また、課題を条件にした実験では、物体の形状・方位判断と比較して光沢の強さ判断の課題を行なったときに腹側後頭部(hV4 から紡錘状回後部)がより賦活されることを見出した(和田, 坂野, 安藤, 2009; Wada, Sakano, & Ando, 2010a)。一方、両眼性手がかりに基づく光沢に関しては、課題を条件にした実験を行ない、光沢判断時に後部腹側後頭部および紡錘状回が関与する可能性が示唆された(和田, 坂野, 安藤, 2010)。今後、これら一連の研究を発展させることで、より包括的な光沢知覚の脳神経モデルの構築が期待される。

(11) 視野闘争時の知覚と瞳孔反応

木村英司 (千葉大学文学部)

瞳孔は、輝度変化に対してだけでなく、色度、空間パターン、運動など、さまざまな視覚属性の変化に対しても応答する。そして、瞳孔反応が視知覚反応と類似した特性を示すことから、瞳孔反応を客観的・非侵襲的指標として利用した視覚研究の可能性が指摘されている。この講演では、近年我々が取り組んでいる瞳孔反応を用いた異眼間抑制効果の研究について紹介する。研究 1 では、永続的抑制(高コントラストの縞刺激を一方の眼に提示することにより、他方の眼に提示された刺激の見えが抑制される現象)を利用して、異眼間抑制事態における瞳孔反応を検討した。その結果、抑制条件下では輝度変化と色度変化に対する瞳孔反応の両方が弱まり、その抑制の生じ方は知覚に基づく検出閾における抑制ときわめてよく対応することが明らかとなった。この結果は、異眼

間抑制効果の客観的指標として瞳孔反応を利用できることを示している。また、輝度変化に対する瞳孔反応は皮質下経路により駆動されることから、皮質で生じる異眼間抑制が皮質下での視覚処理に対して阻害効果を及ぼすことが示唆された。研究 2 では、視野闘争を利用して同一の刺激系列に対して異なる知覚変化を生じさせ、瞳孔反応が知覚変化に対応した変化を示すか否かを検討した。実験では、白刺激と黒刺激の離眼提示により視野闘争を生じさせ、一方の刺激が優勢となった後に、第二刺激として両眼に白刺激もしくは黒刺激を提示した。例えば、視野闘争により黒刺激が優勢となった後に第二刺激として白刺激を提示すると見えの変化は黒→白となるが、白刺激が優勢な場合には同じ刺激変化が白→白の知覚変化を生じさせることになる。実験の結果、刺激系列

が同一であっても、見えが白→白の場合と比較して黒→白の場合の方が大きな縮瞳反応が生じ、黒→黒の場合と比較して白→黒の場合の方が大きな散瞳反応が生じることが明らかとなった。この結果は、視野闘争による知覚変化の客観的指標として瞳孔反応を利用できることを示唆するものである。ただし、縮瞳が生じるか散瞳が生じ

るかは刺激の物理的变化によって規定されているため、知覚処理の基盤となる神経活動が直接的に瞳孔反応を駆動しているというよりも、瞳孔反応の駆動は皮質下経路によりなされ、そこでの視覚処理が皮質での異眼間抑制の影響を受けて変調されているという解釈と一貫するものである。

(12) 両眼網膜像差の大域補正の仕組み

光藤宏行（九州大学人間環境学研究院）

水平方向の網膜像差に加えて垂直方向の網膜像差もまた、奥行き知覚の重要な手がかりであることはよく知られている。ただし、水平像差と垂直像差はどのような仕組みで統合されるのかについては良く分かっていない。この問題を検討するため、局所的な像差が多義的となる2次元パターンを用いて、誘導効果が得られるかを検討した。誘導効果とは、ある模様とそれを全体的に垂直方向に拡大したパターンを両眼融合すると、垂直軸まわりの面の傾きが知覚される現象である。心理物理学的測定

の結果、局所的像差の多義性に関わらず、類似した誘導効果が得られた。つまり、網膜上での局所的な水平像差ではなく、大域的な垂直像差が見かけの傾きを決める要因であることが分かった。この結果は、視覚系は垂直像差を優先的に処理し、その後、補正された水平像差を使って見かけの奥行きを作り出していることを示唆する。実験結果を説明できる計算論的モデルについても紹介する。

(13) 生体内線維連絡可視化法を用いた顔認知の研究

一戸紀孝（国立精神神経医療研究センター）

蛍光逆行性トレーサーコレラトキシン-Alexa 555 をサル脳に少量注入し、約 500 μm （機能カラムサイズ）の注入部位を作り、1-2 週間置いた後に、蛍光実体顕微鏡で脳表を観察すると、注入部位に投射するスポット状の領域を生体内で脳表から同定することが出来る（生体内線維連絡可視化法）。この手法と電気生理学的手法を組み合わせ、サル下側頭葉皮質における顔認知メカニズムを解明する試みについて本研究会で報告したい。サル下側頭葉皮質は、顔を含む物体認知に関わる腹側視覚経路の最終段階にあり、前部にあたる TE 野と後部にあり、一段階前の領野と考えられる TEO 野に分かれる。我々は、まず TE 野の顔に強く反応するスポットを同定し、そこにトレーサーを注入し、生体内線維連絡可視化法より、その顔スポットに投射する小領域を TEO 野内に生体内で同定し、これらのスポットおよびランダムに選んだス

ポットの視覚刺激に対する反応性を調べた。その結果、TEO 野の投射スポットの視覚反応性は、ランダムに選んだ TEO 野のスポットに比べて、トレーサー注入部位である TE 野のスポットの視覚反応性とより高い相関を示した。しかし、TE 野のスポットは、顔の構成パーツ（目、鼻、口）をシャッフルしたもの（シャッフル顔）よりも顔に対して有意に強く反応していたが、この傾向は、この部位に投射する TEO 野のスポットにはなかった。これらの結果と、報告されている TEO 野の小さな受容野をあわせて考えると、TEO 野は顔の部分の情報を TE 野に送っているという考えを支持すると思われた。事実、TEO 野において、reduction process を用いて critical feature を決めると、サルの髪の毛の texture や、目と思われる feature である例が観察された。また、TEO 野の投射スポットに抑制性神経伝達物質 GABA アゴニスト・ムシモルを注入

することにより, TE 野のトレーサー注入部位のスポットの視覚反応性が大きく変わることを観察した。この大きな変動は, 注入部位ではない TE 野の記録では起こらず, また, TEO 野内の任意の部位へのムシモル注入では, 起

こらないことを確認した。上記の結果は, TEO 野から TE 野への投射が強い影響力を持っている事を示唆している。これらの結果に基づき, 本発表で, TE 野の顔反応性への TEO 野の寄与について考察したい。

(14) 視覚的注意の逆行性の影響

渡邊克巳 (東京大学先端科学技術研究センター)

注意が向けられた場所では, その場所での視覚的処理が促進したり, 物体の見えが変化したりする。しかし, 特定の位置への注意の移動は, それ以外の場所での処理にも影響を与える。例えば, 瞬間呈示された標的の位置を答える際に, 直前に標的の周辺に注意を向けさせると, 標的位置は実際の位置よりも注意のあった位置から遠ざかる方向にずれて知覚される (Suzuki & Cavanagh, 1997)。

本研究では, 標的呈示の“後”に注意の移動を起こすことによって, 視覚的空間の知覚に与える注意の逆行性の影響を調べた。実験の結果, 標的呈示の直後に注意の移動が起きるような状況では, 標的位置は実際の位置よりも直前に注意のあった位置に, 近づく方向にずれて知覚された。この結果は, 注意が逆行的に (時間を遡って) 空間知覚に影響を及ぼしうることを示している。

11. グローバルネットワークによる脳情報処理

2012 年 1 月 6 日－1 月 7 日

代表・世話人：田中真樹（北海道大学医学研究科）

所内対応者：南部 篤（生体システム）

（1）前頭前野外側部のワーキングメモリ再考

辻本悟史（神戸大学大学院人間発達環境学研究科）

（2）マカクザルの前頭前野におけるタスクフェーズの多重表現

佐賀洋介（玉川大学脳科学研究所）

（3）マカクザルの MT および V4 への多シナプス性入力様式

二宮太平（京都大学霊長類研究所）

（4）運動制御にかかわる大脳基底核回路を再考する

橘 吉寿（生理研・生体システム）

（5）「あっちむいてほい」と大脳基底核

渡邊雅之（関西医科大学 医学研究科）

（6）Well-trained rhesus monkeys are risk averse for fluid rewards: Relating risk preference and thirst

山田 洋（国立精神神経医療研究センター）

（7）物体指向性サッカードにおける尾状核尾部の役割

山本慎也（産業技術総合研究所 システム脳科学）

（8）運動のタイミングを制御する神経機構

國松 淳（北海道大学医学研究科）

（9）自己と他者の行動情報処理

磯田昌岐（沖縄科学技術大学院大学）

（10）サル脚橋被蓋核における周期的活動とその変調

岡田研一（大阪大学大学院 生命機能研究科）

（11）Graded coding of subjective confidence in the pluvial

小村 豊（産業技術総合研究所 システム脳科学）

【参加者名】

田中真樹, 松山 圭, 國松 淳, 松嶋藻乃（北海道大学）, 伊澤佳子（東京医科歯科大学）, 辻本悟史（神戸大学）, 磯田昌岐（沖縄科学技術大学院大学）, 小川 正, 大淵 藍, 藤本 淳, 西田知史（京都大学大学院）, 高田昌彦, 宮地重弘, 松本正幸, 井上謙一, 瀬占雅史, 石川直樹, 二宮太平（京都大学霊長類研究所）, 星 英司, 山形朋子, 佐賀洋介, 中山義久, 橋本雅史（東京都医学総合研究所）,

関 和彦, 一戸紀孝, 山田 洋（国立精神・神経医療研究センター）, 小村 豊, 山本慎也（産業技術総合研究所）, 渡邊雅之（関西医科大学）, 岡田研一（大阪大学）, 加藤 莊志（広島大学）, 鯉田孝和（豊橋技術科学大学）, 南部 篤, 伊佐 正, 川口泰雄, 吉田正俊, 加藤利佳子, 加勢 大輔, 畑中伸彦, 橘 吉寿, 知見聡美, 佐野裕美, 瀬瀬 大輔, 高良沙幸, 金子将也, Dwi Wahyu Indriani（生理研）

【概要】

本会はシステム神経科学の研究者が中心となって長年にわたって続けている研究会であり、今年度は比較的若い研究者に講演をお願いした。主として霊長類を用い

た研究を行っている研究者同士で最新の知見を紹介し合うとともに、関連した研究室の研究員や学生を集めて盛んな議論を行った。

最初、天候不良のためフライトが遅れ、世話人が遅刻するなど多少のハプニングがあったものの、予定通りに講演が行われた。初日は大脳連合野による高次脳機能に関した 1 つのセッションと、基底核関連の 2 つのセッションがあった。7 名のスピーカーはいずれも 30 歳代半ば以下の若手研究者であり、すでに多くの論文業績のある者はこれまでの研究を大きなストーリーにまとめ上げ、留学から帰国したばかりの者は帰朝報告をし、これから留学を予定している者は学位論文の内容やその続編を紹介した。いずれもレベルの高い発表であり、中でも物体指向性行動と尾状核尾部の神経活動を調べた山本氏の研究、リスクに対する行動選択を行動レベルで調べた山田氏の研究など、新たな分野を開拓しようとする野心的で興味深い研究発表があった。2 日目は 2 つのセッション

があり、大学院生・ポスドクが各 1 名ずつと、40 歳代前半の 2 名の若きリーダーが講演をした。いずれも最新の知見であり、とくに磯田氏による社会性と前頭葉内側部に関した研究、小村氏の視床枕とメタ認知に関した研究は、その新規性、完成度の高さ、データとロジックの美しさから多くの関心を集めた。

各講演の後に 10 分間の討論時間を設けていたが、両日とも大変盛んな議論がみられ、プログラムは終始遅れ気味であった。若手の参加者から次々に質問の手が上がり、活発な議論を楽しむことができた。講演者のトークのレベルが高かったことももちろん関係しているに違いないが、例年よりも小さめの会場であったため、ややクロードな雰囲気が発言する閾値を低くしていたのかもしれない。

(1) 前頭前野外側部のワーキングメモリ再考

辻本悟史 (神戸大学大学院人間発達環境学研究科)

脳内のグローバルネットワークの中で、前頭前野外側部の機能的役割は未だに不明な点が多いが、解剖学的な結合関係や機能脱落による遅延反応課題の障害などから、霊長類では、感覚情報の一時的保持とそれに基づく行動制御を中心としたワーキングメモリ説が広く支持されてきた。しかし一方で、巧妙に工夫された行動課題を用いた神経生理学的研究によると、前頭前野のニューロン群は単なる情報の一時的保持のみならず、より複雑で多様な役割を担っているようである。

私たちは最近、未公開の薬理学的研究を再解析し、破壊実験と神経生理学的知見の間にあるギャップをつなぐ事実を見出した (Tsujimoto and Pestle, in revision)。この実験では、GABA_A 受容体の選択的アンタゴニストである bicuculline が、眼球運動による遅延反応課題を遂行中のサルの前頭前野外側部に注入された。その結果、従来の報告と一致して、課題の正答率の有意な低下が見られた。しかし、エラーの直後の眼球運動を調べてみると、本来選択されるべきであったターゲットへ向かうサッカード

(corrective saccade) が頻繁に観察された。このような行動は位置を忘れていれば不可能であることから、遅延反応課題の誤答は、必ずしも位置情報の保持の障害によるものではないことが示された。さらに、最初のサッカード (エラーと判断されたもの) の方向を詳しく調べたところ、一つ前のトライアルに関連する位置 (cue が提示されていた位置あるいはサルが選択していた位置) に向かう割合が有意に高かった。つまり、前のトライアルの情報が干渉し、誤答につながったようである。

これらの結果と、近年の私たちのニューロン活動記録実験 (Tsujimoto et al. 2008, 2009, 2011) の結果などを組み合わせて解釈を試み、前頭前野のワーキングメモリは、単一のトライアルにおける感覚情報の保持としてとらえるのではなく、トライアルを超えて、過去の情報と未来の情報を明確に区別してコードし、かつ過去の履歴に基づいて適切な未来へ結びつけてゆく、より時間的に大きくダイナミックな過程としてとらえられるべきだと結論した。

(2) マカクザルの前頭前野におけるタスクフェーズの多重表現

佐賀洋介（玉川大学脳科学研究所・東京都医学総合研究所・日本学術振興会）

日常生活において段取りよく複雑な行動を遂行する能力は極めて重要である。損傷を受けるとこの能力に重大な問題が生じることから、前頭前野がその中心的な役割を担っていると考えられる。しかし、依然としてその神経メカニズムには不明な点が多い。我々は、前頭前野の障害で数を数えることが難しくなるという病態に注目し、前頭前野の重要な一つの機能として、行動の段階（タスクフェーズ）をコードすることがあるのではないか、という作業仮説をたてて本研究を行った。

2頭のサルに、以下の行動課題を学習させた。この課題では、右手でボタンを押すと課題が開始され、1秒の感覚刺激が約0.7～2.4秒の遅延期間をはさんで断続的に提示された。そして、4回目の刺激が1秒間提示されている間にボタンを放すと、報酬（ジュース）が与えられた。感覚刺激として、視覚・聴覚・体性感覚の3つの感覚モダリティを用いた。この課題を遂行中のサルの前頭前野側部より細胞活動を記録したところ、4つのグループの細胞活動が見出された。第一グループの細胞は、感覚刺激が提示された後、短潜時(<200ms)で感覚モダリティ選択的に応答していた。更に、感覚モダリティ選択性細胞の空間的分布は感覚連合野からの解剖学的な入力分布によく合致していた。第二グループの細胞は、感覚様式に関係なく1回目、2回目、3回目、あるいは、4回

目の刺激提示回数に選択的に応答し、タスクフェーズを表現していた。第二グループ細胞の応答潜時は、第一グループ細胞の応答潜時よりも長かった。第三グループの細胞は、感覚様式に関係なく遅延期間中にタスクフェーズ選択的に応答しており、遅延期間の全体にわたって持続する活動を示していた。更に、第二、第三グループのなかには、2つあるいは3つのタスクフェーズを連続して表現しているものもあった。そして、第四グループの細胞は、感覚モダリティ選択的にタスクフェーズを表現していた。

従って、前頭前野は、解剖学的ネットワークに沿って各種感覚情報を短潜時で受け取り、それを、感覚モダリティに依存しない抽象的レベルのタスクフェーズ表現へと変換していることが示唆された。また、各フェーズは1つのフェーズに選択的な活動に加えて、2または3つの連続したフェーズに選択的な活動、感覚モダリティとフェーズの両者に選択的な活動といった、複数の活動特性を持つグループによって多重に表現されていることが明らかとなった。さらに、前頭前野は多段階からなるタスクフェーズ全体を逐次モニターしていることも明らかとなった。こうしたタスクフェーズ全体に渡る多重表現は、前頭前野が複数の段階からなる行動を企画し実行する際の重要な神経基盤であるということが示唆された。

(3) マカクザルの MT および V4 への多シナプス性入力様式

二宮太平（京都大学霊長類研究所）

霊長類の脳における視覚情報処理は1次視覚野(V1)から始まり、その後頭頂葉へと向かう背側経路と、側頭葉へと向かう腹側経路という機能の異なる2つの経路に沿って行われる。例えば、背側路に属するMTは主に動きや奥行き情報を処理し、腹側路に属する4次視覚野(V4)は主に色や形の情報を処理している。また一方で、これらの領野の神経活動は、前頭葉などから送られてくるtop-downシグナルの影響を強く受けることが知られている。視覚情報処理機構を理解する上で、bottom-up

およびtop-downシグナルを伝達するネットワーク全体を解明することは非常に重要である。

本研究では、マカクザルのMTおよびV4に対して逆行性超シナプスの神経トレーサーである狂犬病ウイルスを用いて、V1および前頭葉からの多シナプス性入力様式を解析した。

V1におけるニューロンラベルの分布に関して、主な入力層である4C層を中心に解析した。MTへのウイルス注入後3日の例では2次ニューロンラベルが4Ca層に観察

された。一方、V4 へのウイルス注入後 3 日の例では、2 次ラベルが 4A 層に観察された。ウイルス注入後 4 日の例では 3 次ラベルが 4C α 、4C β 層に観察された。これらのことから、MT は V1 の 4C α 層から 2 次入力、V4 は 4C α 層と 4C β 層の両方から 3 次入力をそれぞれ受けていると考えられる。

前頭葉においては、MT、V4 どちらの注入例でも直接結合のある前頭眼野 (FEF) に加え、2 次ラベルが 46 野腹側部 (46v 野) に観察された。さらに MT への注入例では、補足眼野 (SEF) にも 2 次ラベルが見られた。次に、前頭葉から入力を送るニューロン集団は共通しているのか独立しているのか調べるために、MT と V4 に逆行性ト

レーサーである Fast blue と Diamidino yellow をそれぞれ注入した。前頭葉からの入力の中継部位と考えられる FEF、外側頭頂間野いずれでも二重ラベルはほとんどなかった。以上の結果から前頭葉から MT への 2 次入力は 46v 野と SEF に、また V4 への 2 次入力は 46v 野に由来すること、およびそれらの入力異なるニューロン集団を介していることが明らかになった。

以上の結果は、MT および V4 は bottom-up シグナルについても、top-down シグナルについてもそれぞれ異なるネットワークを介して受け取っていることを示唆し、このような解剖学的構造の違いが MT および V4 の機能的差異の基盤となっていると考えられる。

(4) 運動制御にかかわる大脳基底核回路を再考する

橘 吉寿 (生理研・生体システム)

運動制御において大脳基底核が何をしているのかという問いに対しては、神経科学の分野において様々なアプローチがなされてきた。歴史的にみて、パーキンソン病・ハンチントン病を代表とする大脳基底核疾患との関わりから、とくに随意運動の企画・遂行に関与する大脳基底核の機能研究が発展した。演者も同様に、大脳基底核運動疾患モデルザルを用いて、電気生理学、薬理学、解剖学的手法を中心に、運動機能にまつわる大脳皮質-基底核-視床ループ回路の解明に従事した。また最近では、大脳基底核は運動遂行のみならず、運動学習に大きく寄与する事も明らかとなっている。なかでも、中脳ドーパミンニューロンとその投射先である背側線条体を中心に研究が進んでいる。背側線条体は主に大脳皮質運動関連領野から入力を受け、淡蒼球外節、視床下核背外側部、淡蒼球内節、黒質網様部といった領域と局所回路を形成している。他方、これら大脳基底核の背側経路に対し、腹側線条体・腹側淡蒼球といった大脳基底核の腹側経路

は、比較的なじみが薄いのではないだろうか。これら大脳基底核の腹側部は、辺縁系との線維連絡が強く、欧米では、薬物依存との関連から、薬理学的手法を用いた行動実験が数多く行われてきた。しかしながら、単一神経細胞レベルでの運動制御に関する知見は数少ない。演者は、米国留学中、NIH 彦坂ラボにて、状況に応じて報酬量を変化させる眼球運動課題遂行中の覚醒ザルから、腹側淡蒼球の単一神経細胞記録ならびにムシモールを用いた不活化実験を行った。その結果、これまでに報告されたことが無い、運動と密接に関連した報酬予測信号が腹側淡蒼球で表現されている知見を得たのでここに紹介したい。また、腹側淡蒼球と相互的な線維連絡をみとめる視床下核腹内側部からも単一神経細胞記録を行ったので、その結果についても報告したい。最後に、これまでに得られた知見から、大脳基底核の運動情報処理機構に関しても考察を加えたいと考えている。

(5) 「あっちむいてほい」と大脳基底核

渡邊雅之 (関西医科大学 医学研究科)

高速な視線の移動であるサッカード眼球運動は、様々

な精神・神経疾患 (統合失調症など) によって異常が生

じる。これより、サッカードは精神・神経疾患のバイオマーカーとして期待されており、脳機能イメージングや脳深部刺激を応用した臨床研究が盛んに行われている。しかし、ヒトを対象とした臨床研究では技術的、倫理的な限界からサッカード制御のメカニズムを詳細に明らかにすることは困難である。そこで我々は、様々なサッカード課題でヒト同様の行動を示すサルを対象とし、数多く

の精神・神経疾患の原因領域とされる大脳基底核のサッカード制御メカニズムを神経回路レベルで明らかにすることを試みている。臨床研究で盛んに用いられているアンチサッカード（あっちむいてほい）課題を遂行中のサルに対して、大脳基底核のサッカード制御の入力段階である尾状核を対象とした神経生理実験を行った。本研究会ではこの成果を中心に紹介する。

(6) Well-trained rhesus monkeys are risk averse for fluid rewards: Relating risk preference and thirst

山田 洋（国立精神神経医療研究センター・ニューヨーク大学）

Standard economic techniques allow us to evaluate human risk-attitudes, although it has been technically difficult to relate these measurements to the overall wealth levels standard models employ as a critical variable. Previous work has, however, applied these techniques to animals to answer two questions: 1) Do our close evolutionary relatives share both our risk attitudes and our economic rationality? 2) How does satiety state (or wealth level in the language of economics) change risk-attitudes? Previous studies have provided conflicting answers to these questions. To address these issues, we employed standard techniques from human experimental economics to measure monkey risk-attitudes (utility function curvature) for water rewards in captive rhesus

macaques as a function of blood osmolality (an objective measure of water wealth). Overall, our monkey subjects were slightly risk-averse in a manner reminiscent of human choosers, but only after significant training. Monkeys consistently violated expected utility theory (violating first order stochastic dominance) early in training, indicating that traditional economic models cannot be used to describe their behavior at that stage. Once these choosers were rational, measured risk-attitudes were thirst-dependent. But unexpectedly, as the animals became thirstier risk-aversion actually increased, a finding that may be incompatible with some standard economic models.

(7) 物体指向性サッカードにおける尾状核尾部の役割

山本慎也（（独）産業技術総合研究所 システム脳科学）

我々は、外界を把握するために、さまざまな物体に向けて、急速眼球運動（サッカード）を行う。サッカードを開始する脳内機構に関しては、これまでさまざまな研究がなされてきたが、ある特定の物体に向けてサッカードが生じるメカニズムに関しては、未だ十分な解明がなされていない。特定の物体に向けたサッカードが生じさせる脳内メカニズムが満たすべき必要条件として、1) どこに (where) 何が (what) あるかを符号化すること、および、2) サッカードを誘発する能力を有すること、が挙げ

られる。また、日常世界において、我々は、重要なものに目を奪われる。特に、報酬と関連した物体に向かうサッカードが引き起こされるように、過去の経験に依存してサッカードのターゲットが変わることは、生存確率を高めるという観点からも、理にかなっている。そこで、3つ目の必要条件として、3) 報酬経験に依存してその神経活動を変化しうること、が挙げられる。

このような条件を満たす領域として、我々は解剖学的な観点から、尾状核尾部に注目した。尾状核尾部の解剖

学的な特色として、1') 側頭葉を中心に大脳皮質視覚関連領域から入力を受け取っている、2') 上丘に多くのニューロンが投射することが知られている黒質網様部の背外側部へ投射している、3') ドーパミンニューロンの投射を受けている、ことが挙げられる。これらの解剖学的な特徴は、特定の物体に向けたサッカードを生じさせるメカニズムとしての必要条件に対応していると考えられる。

(8) 運動のタイミングを制御する神経機構

國松 淳 (北海道大学・大学院医学研究科)

自発的な運動の開始には、外部の刺激に反応して行動を開始する場合とは異なった神経機構が存在することが多くの先行研究によって示唆されてきた。例えば、基底核の疾患であるパーキンソン病の患者は、外部からの運動のタイミングの指示がない状況で、自分から進んで運動を開始することは困難である。最近になって、視床の運動準備期間の神経活動が自発性眼球運動のタイミング制御に関与していることが示された (Tanaka 2007)。この準備期間に電気刺激を行い、運動のタイミングを操作することができれば、その因果関係を証明することができる。

そこで私たちは、視覚刺激に応じて即座に眼球運動を開始させる課題 (Triggered 課題) と、視覚刺激の提示後、一定の遅延期間をおいて自発的に眼球運動を開始させる

本発表では、これらの観点に基づき、尾状核尾部が特定の物体に向けたサッカードを誘発する神経基盤であることを示す電気生理学的な証拠を提示する。さらに、尾状核尾部のニューロンの、報酬経験による発火パターンの変化の時定数が非常に長いことを示し、報酬による適応はさまざまな時定数の脳内機構が並行して実現されている可能性を議論する。

課題 (Self-timed 課題) をサルに行わせ、視床の信号を受け取っていると考えられる前頭葉背内側部に皮質内微小電気刺激を行った。運動準備期間での刺激効果は Triggered 課題よりも Self-timed 課題で有意に大きかった。加えて、いくつかの部位に対する刺激では、ゴールの場所に関わらず Self-timed 課題でサッカードが促進された。今回の結果は、前頭葉内側部の運動準備活動は自発的なサッカードの方向ではなく、そのタイミングを調節していることを示唆している。視床大脳経路でみられる自発的な眼球運動の準備期間の活動はそのタイミング制御に不可欠であり、この神経機構によって私たちが日常的に行っている意図的な行動のタイミング制御が可能となっているのかもしれない。

(9) 自己と他者の行動情報処理

磯田昌岐 (沖縄科学技術大学院大学)

人間は自己の行為によって行動の目的を達成する一方、他者の行為の観察を通じて他者固有の行動意図、信念、欲求を推測する。社会適応的な行動を企画・実行するうえで、自己の行為も他者の行為も等しく重要である。行動制御の神経基盤に関する従来の研究は、被験者を「孤立した自己」として取り扱ってきたが、実在する他者を行動課題環境に導入した新しい実験パラダイムを用いることで、脳内に存在する複数の行動関連領域の機能を、

自己と他者の関係のなかで再構築できるかもしれない。

我々は、自己の行動情報に加え、他者の行動情報の処理も要求される課題を考案し、ニホンザル前頭葉内側部の神経細胞活動を解析した。そして、同部位には自己の行動情報の処理を担う神経細胞群と他者の行動情報の処理を担う神経細胞群が混在することを見出した。自己の行動と他者の行動を同時にモニターし、互いの行動情報を統合しながら自己の行動を決定する状況において、前

頭葉内側部の細胞活動が使われている可能性がある。前頭葉内側部と他の脳領域をつなぐ広域ネットワークがそ

れを可能にすると推測される。

(10) サル脚橋被蓋核における周期的活動とその変調

岡田研一（大阪大学大学院 生命機能研究科）

私たちはサッカードと呼ばれる高速な眼球運動によって視線を動かし、外界をスキャンすることで物を見ている。サッカードに伴って視覚系は運動刺激を受け取っているが、私たちがそれを知覚することはない(サッカードに伴う知覚抑制)。これまでの研究により視覚処理の初期段階に位置する視床の LGN ですでに、サッカードに伴うニューロンの反応性の低下とその後のリバウンド活動が報告されているが、そうした活動修飾のメカニズムについては未だ明らかでない。いっぽう過去の研究により LGN へのアセチルコリン作動薬の投与や脳幹網様体への電気刺激によって、LGN ニューロンの反応性が変わることが報告されてきた。しかし、実際にサッカードをしている動物の脳内で脳幹網様体のニューロンがどのような活動を示すのかは不明なままだった。

我々は脳幹網様体の主要なアセチルコリン性細胞の核である脚橋被蓋核 (Pedunculopontine tegmental nucleus; PPNT) に着目し、サッカード課題遂行中のサル PPNT ニューロンの活動を記録した。1 群の PPNT ニューロンが課題遂行中に規則的な発火パターンを示し、さらにそのうちで 10Hz 程度の低頻度で活動するニューロン群がサ

ッカードに伴う活動の変化を示した。これらのニューロンの周期的活動はサッカード遂行中に停止し、サッカードの方向・振幅によらずに活動の停止がみられた。また活動の停止は、課題中の光点へのサッカードでも、課題間の暗闇でのサッカードでも、注視中のマイクロサッカードでも起こった。活動停止のタイミングを詳細に調べたところ、実際のサッカードの開始に先立って活動は停止し、その後サッカードの終了後まで持続しており、知覚抑制を引き起こすために必要な信号特性を備えていた。さらにこれらのニューロンはサッカードの終了後にリバウンド応答を示し、サッカードの前後で周期的活動の位相が変調されていた。これは、サッカードの終わり(新しい注視の始まり)のタイミングで PPNT のニューロン群が同期して信号を送っていることを示している。また、このニューロン群から記録されたスパイク波形は幅が広いもので、過去に報告されているアセチルコリン性ニューロンのスパイク波形の特徴と一致した。これらの結果は脳幹網様体からのアセチルコリン入力 LGN でのサッカード抑制とサッカード後の視覚情報処理に寄与している可能性を示唆している。

(11) Graded coding of subjective confidence in the pulvinar

小村 豊（産業技術総合研究所・ヒューマンテクノロジー研究部門）

私たちの知覚意識には、二つの側面がある。一つは、「紫のデラウェアぶどう」といった知覚カテゴリーに代表される内容に関するものである。もう一つは、「その知覚内容を、間違いなく知っている」という確信度に関するものである。知覚カテゴリーは、外界から抽出した情報に基づいているが、知覚の確信度は、その時の知覚カテゴリーの状態をモニターしていなければ成立しない。したがって、前者は、知覚意識の一次性表現、後

者は二次性表現を反映しているとみなすことができる。これまで、知覚意識において、視床が、何らかの役割を果たしているという指摘は、しばしばなされてきたが、具体的な機能については、不明であった。

今回、我々は、視覚系の二つの視床領域、外側膝状体と視床枕が、それぞれ視覚意識の一次性・二次性表現において、どのような役割を果たしているのかを明らかにするために、サルに知覚カテゴリー課題（一次性）と

知覚確信度課題（二次性）を遂行させて、ニューロン活動を記録した。すると、視床枕領域において、課題に関するモジュレーションを示すニューロン応答が、多数認められた。なかでも顕著だったのが、知覚カテゴライズ内容に、選択性はないものの、刺激の曖昧さにしたがって、応答強度を減弱させたニューロン群である。この群の同一視覚刺激に対する応答に着目すると、サルが自分のカテゴライズ弁別に自信がないときに選ぶ逃避行動トリアルにおいて、その応答強度が減弱していた。さらに、視床枕領域にムシモールを注入すると、サルは、確

信度課題において、逃避行動を頻繁に選ぶようになったが、カテゴライズ課題の二者択一行動には、ほとんど影響がなかった。

以上の結果から、視床枕は、一次性の視覚意識の下流に位置し、二次性の視覚意識（確信度）の形成に不可欠であることが分かった。本発表では、二次性の視覚意識のみが欠損していると考えられる盲視・半側空間無視や、確信度の計算モデルとの関連についても、議論していきたい。

12. 感覚刺激・薬物による快・不快情動生成機構とその破綻

2011 年 10 月 5 日－10 月 6 日

代表・世話人：喜田 聡（東京農業大学・応用生物科学部）

所内対応者：重本隆一（脳形態解析研究部門）

（1）道具的条件付けを調節する脳内神経回路のメカニズム

小林和人（福島県立医大）

（2）中枢性オキシトシン受容体の社会行動制御に於ける役割：

遺伝子 KO マウスと Oxt^r-Venus ノックインマウスから判った事

西森克彦（東北大学大学院農学研究科・応用生命科学専攻）

（3）社会性情動行動発達の神経基盤理解にむけて

中村 俊（東京農工大学）

（4）幼少期母子関係による情動神経系の発達変化

菊水健史（麻布大学獣医学部）

（5）情動行動・社会行動の調節を司る神経内分泌機構

小川園子（筑波大学）

（6）痛みによる不快情動生成の脳内メカニズム

南 雅文（北海道大学 薬学研究院 薬理学研究室）

（7）依存性物質の作用機序と快・不快情動のメカニズム

池田和隆（財団法人東京都医学総合研究所）

（8）側坐核の可塑性と薬物依存；ドーパミン，グルタミン酸に続く因子

戸田重誠（金沢大学附属病院神経科精神科）

（9）双極性障害の神経生物学的基盤の探索

加藤忠史（理化学研究所脳科学総合研究センター）

（10）脳内蛋白質チロシンリン酸化シグナルによるストレス応答制御

大西浩史（群馬大学生体調節研究所 バイオシグナル分野）

【参加者名】

池田和隆（東京都医学総合研究所），岩下成人（滋賀医科大学），大西浩史（群馬大学生体調節研究所），岡田辰太郎（東京農業大学），小川園子（筑波大学），甲斐大輔（東京農業大学），笠井慎也（東京都医学総合研究所），加藤忠史（理化学研究所），加藤総夫（東京慈恵会医科大学），菊水健史（麻布大学），喜田 聡（東京農業大学），河野恭平（東京農業大学），小林和人（福島県立医科大学），

斎藤有澄（東京農業大学），重本隆一（生理学研究所），菅谷 渚（東京都医学総合研究所），關川 豊（東京農業大学），戸田重誠（金沢大学），中里杏菜（東京農業大学），中谷憲一（東京農業大学大学院），中村あずみ（東京農業大学），中村 俊（東京農工大学），西森克彦（東北大学），野中綾子（東京大学大学院），深澤有吾（名古屋大学），藤生康広（東京農業大学），松尾直毅（京都大学），三浦

大樹 (東京農業大学), 南 雅文 (北海道大学), 森下良一 (東京農業大学大学院), 山田晴菜 (東京農業大学), 吉原一文 (生理学研究所), 佐々木拓哉 (生理学研究所),

松井 広 (生理学研究所), 野田昌晴 (基礎生物学研究所), 原田春美 (生理学研究所), 富永真琴 (生理学研究所), 橘 吉寿 (生理学研究所)

(1) 道具的条件付けを調節する脳内神経回路のメカニズム

小林和人 (福島県立医科大学・生体機能研究部門)

動物の行動は、学習や経験に依存して環境に適合するために変化する。道具的学習は、行動の結果得られる強化因子 (報酬など) が動物の行動に影響を与える学習の様式であり、反応が強化因子を得るための手段 (すなわち道具) になっているという意味から、このように表現される。道具的学習は、意思決定、行動選択などの多くの随意的な行動の基盤であると考えられている。道具的学習の獲得と実行にはさまざまな脳領域が関与する。特に、目標達成型行動には、前頭前野皮質や海馬から腹側線条体へ入力する回路や前頭前野皮質と背内側線条体を連関する回路が関与する。習慣学習には背外側線条体と運動野や感覚運動野皮質と連関する回路が関与する。このような学習に関与する脳領域は明らかになってきたものの、神経回路を構成するニューロンタイプや神経連絡の機能的な役割など、学習の基盤となる神経機構については十分に理解されていない。

道具的学習の機構の解明において、特定の遺伝子や細胞タイプの機能を改変した動物モデルは有益な実験系を提供する。我々の研究グループは、独自の遺伝子改変技術を利用して、行動制御を媒介する脳神経回路の仕組みを明らかにするための研究を進めてきた。学習と行動の制御に関わる脳領域として、大脳皮質と基底核を連携する神経ネットワークは中心的な役割を持つ。中脳 (黒質) から線条体へ連絡するドーパミン神経系は、刺激に応じて行動を選択する弁別学習に必須であり、実際に線条体

を損傷した動物では行動選択の正答率と反応速度に障害が認められる。線条体にはこの学習の獲得や実行に関わるさまざまなニューロンタイプが存在する。線条体投射ニューロンは、代表的な2種類の経路 (直接路と間接路という) に分類され、下流の神経回路を調節することによって行動の発現を制御する。今回、我々は遺伝子改変技術を用いて、直接路と間接路をそれぞれ選択的に遮断した遺伝子改変動物を作製し、弁別学習の実行において2種類の経路は協調し、正しい反応を迅速に行うために機能していることを明らかにした。

最近、我々のグループは、線条体への入力情報の役割を研究するために、高頻度逆行性遺伝子導入ベクターという新規の脳内遺伝子導入技術を開発した。このベクターを利用し、さまざまな誘導因子に対して反応するタンパク質を神経細胞へ導入し、その後、特定の脳領域へ誘導因子を作用させることによって、神経路の機能を選択的に改変することが可能となる。このベクターを細胞標的と組み合わせることにより、特定の神経路を除去する、あるいは、光遺伝学的手法と組み合わせることにより、特定の神経路活動を促進あるいは抑制することが可能となる。今回、視床の神経核から線条体へ入力する神経路の選択的遮断に成功し、視床線条体路は、刺激弁別の獲得と実行に必須の役割を持つことを示した。この技術は、皮質線条体路など、特定の神経路の役割を解析するために重要なアプローチを提供する。

(2) 中枢性オキシトシン受容体の社会行動制御に於ける役割： 遺伝子 KO マウスと Oxt^{-/-}Venus ノックインマウスから判った事

西森克彦（東北大学大学院農学研究科・応用生命科学専攻）

ナノペプチドホルモン族は下等種から我々哺乳類に至る多様な動物種に保存され、哺乳類はオキシトシン (OXT) とバソプレッシン (AVP) を持つ。末梢ではホルモンとして分娩や射乳に働く OXT であるが、最近の研究結果は、中枢での OXT は神経伝達因子 (neurotransmitter)、或いは神経修飾因子 (neuromodulator) として働く事を示し、その作用は母性行動や社会的認知、ペアボンドイングなどの社会行動に於いて特に重要な役割を果たしていることが明らかに成りつつある。

我々は中枢に於ける OXT とその受容体 (OXTR) の生理作用、特に行動・生理制御機能に焦点を絞り、OXT 遺伝子欠損 (Oxt^{-/-}) マウス⁽¹⁾、OXTR 遺伝子欠損 (Oxtr^{-/-}) マウス⁽²⁾、Oxt^{-/-}Venus ノックインマウス⁽³⁾等を開発、研究を行ってきた。

Oxt^{-/-}マウスは、社会的認知行動の異常を示し、Oxtr^{-/-}マウスは OXTR が社会的認知行動や母性行動、母子関係行動などの社会行動制御と密接に関わることを示した^(2,4)。また、Dr. B. Chini らとの共同研究⁽⁵⁾により、OXTR のヘテロ KO (Oxt (+/-)) マウスの社会行動等にも異常を見出し、ヒト OXTR の遺伝子異常が自閉症の病因の一つとして疑われている状況下、ヒトに於ける OXTR 遺伝子の異常がその行動や情動に影響を与える可能性の高いこと

を動物実験レベルで見出すことに成功した。

一方、OXTR に対する良好な抗体がない為、長い間脳内の特定領域や特定ニューロンでの OXTR の発現分布に関して正確な情報は得られていなかった。我々はこれを解決する為に Oxt^{-/-}Venus ノックインマウスを開発し、脳内での Oxtr の詳細な分布を解析した。その結果、領域的には社会行動や情動制御に係わる海馬、扁桃体、視索前野、外側中隔、嗅球など広汎な脳領域での Oxtr の特異的な発現が見出された。また、ニューロン種別での OXTR 発現に関しても、神経の興奮抑制や鬱病との係わりが注目される正中縫線核、背側縫線核のセロトニンニューロンや、海馬の GABA ニューロンなど、興味深い領域・ニューロン種での OXTR の特異的な発現も確認され、OXT・OXTR 系が特定の神経回路の興奮・抑制を介して社会行動の制御にかかわる機構の全容が徐々に明らかに成りつつある。

(1) Nishimori, K. et al., PNAS. 93;11699, (1996).

(2) Takayanagi, Y. et al., PNAS. 102;16096, (2005).

(3) Yoshida, M., J.Neuroscience 29;2259, (2009).

(4) Ferguson, J. N., et al., Nature Genet. 25; 284 (2000).

(5) Sala, M. et al., Biol Psychiatry 69; 875 (2011).

(3) 社会性情動行動発達の神経基盤理解にむけて

中村 俊（東京農工大学大学院工学研究院）

生物個体は社会的関係のなかで生まれ発達する。そこでは、情動の表出と他者の情動の理解がコミュニケーションを成り立たせている。

人間の乳幼児は泣くこと、生理的な頬笑み、ほとんど反射的な表情の模倣などを「武器」に生存のためのケアを引き出し、7 ヶ月までには自分の動作が模倣されていることを理解する。しかし、この発達は直線的ではなく、2 歳児の will of self と呼ばれる時期は、他者との葛藤の時期でもあり、「仲間意識」が育つには、遊びが構造的

になる 3 歳をまたなければならない。したがって、1 歳以下の社会性情動行動と 2 歳以後の、他者との葛藤を経た「自己理解」の間には質的な差異があり、ヒトへの進化の溝が存在するといっても過言ではない。この「溝」の質を神経科学的に解明することは発達障害の理解のみならず、ヒトの生物種としての特質を理解するための鍵となる。

動物モデルを用いて、社会性情動行動の発達を研究してみると、1 歳までの乳幼児のそれと共通性が高いこと

に気づく。すなわち、ニワトリのヒヨコは、鳥類でよく知られている「刷り込み」学習による他個体への「なつき」の時期を経て、扁桃体の発達を基盤とする「恐怖」を学び、一緒に餌を食べるなどの体験によって他個体への親和性を最終的に獲得する。小型霊長類であるマーモセットも親子間の社会的相互作用に加え、同年齢個体との「遊び」体験を経て、マーモセットに典型的なコミュニケーションのための音声活用や行動様式を獲得する。Biological motion の理解がヒヨコ、マーモセット、2 歳児

に共通してみられることもよく知られている。

これらの観察から生物種間で普遍性の高い社会親和性行動、共感性機能は、自他の行為を重ね合わせるミラーシステムの「共鳴」機能を基盤としていと考えられるが、ヒトの 2 歳以後の「自他理解」は、表象機能、外的世界のモデルを内的に構成する機能などに深く結び付いており、それとミラーシステムとの統合や、社会性行動制御における独自の役割などに関しさらに研究が必要である。

(4) 幼少期母子関係による情動神経系の発達変化

菊水健史 (麻布大学獣医学部)

動物は独自に進化した社会生活を営み、社会的手掛かりを基にコミュニケーションを行うことで、群れ生活を構築している。例えば母子間のコミュニケーションにおいて、匂い情報と共に超音波領域の音声コミュニケーションをとることが知られており、これらのやりとりを介して、相互依存的な絆が結ばれていく。この母子間の絆を基に、仔の正常な社会性や情動行動の発達がエビジェネティックなメカニズムを介してなされることが知られつつある。これまで筆者らは早期に母子間を分離する早期離乳によって、不安行動の上昇、攻撃性の上昇と共にストレス内分泌反応は亢進することを明らかにしてきた。またこれら行動変化に伴い、扁桃体特異的なミエリン形成の早期化、海馬神経新生の低下、前頭葉における

脳由来神経栄養因子 (BDNF) の発現量の低下を見出した。さらに、早期離乳された仔マウスにおける 48 時間以上にわたるグルココルチコイドの上昇を認め、これが早期離乳による成長後の不安増強の原因因子であることを同定した。さらにこの発達期の過剰なグルココルチコイド暴露は前頭葉における永続的な高グルココルチコイド状態を誘導すること、この上昇を抑制することで不安行動が改善可能であることが明らかとなった。またこれら変化と並行するエビジェネティクス変化も検出されつつある。これらのことから、母子間の絆の略奪のもたらす動物の社会性や情動行動の発達への影響は多大であり、その神経科学的なメカニズムのさらなる解明が期待される。

(5) 情動行動・社会行動の調節を司る神経内分泌機構

小川園子 (筑波大学大学院人間総合科学研究科)

我々の研究室では、性行動、攻撃行動、養育行動、社会的認知などの社会行動や、個体の活動性や不安・情動性の基盤となる神経内分泌機構についての解析を進めている。主に卵巣から分泌される性ステロイドホルモンであるエストロゲンは、雌の性行動のみならず、雄・雌の両性において、活動性、情動性、不安のレベルや、攻撃、仔育て、さらには社会的認知・記憶の制御に関与している。これらのエストロゲンの働きには、視床下部、大脳

辺縁系、中脳、脳幹などの神経細胞内に存在するエストロゲン受容体 (ER) が重要な役割を果たしている。転写制御因子である ER は、これらの脳部位において種々の遺伝子の発現に関与し、多様な行動の表出をコントロールしていると考えられている。中枢神経系には少なくともふたつのタイプの ER、アルファ (ER- α) とベータ (ER- β) が存在することが知られている。我々はこれまでに、各々の遺伝子を欠損させたマウスでの行動解析や、脳部位特

異的に各 ER の発現を操作する方法を用いて、情動・社会行動の制御に果たす 2 種の ER の役割分担とその責任部位の特定に向けた解析を行ってきた。本講演では、これらの研究結果について概説した後、情動・社会行動の制御の神経内分泌機構について、特にマウスの攻撃行動や社会的認知行動に着目して我々が進めている最新の研

究の成果を報告する。さらに、胎仔期から新生仔期における、環境および内分泌要因の操作が後の行動表出に及ぼす影響についても言及し、エストロゲンをはじめとする性ステロイドホルモンが個体の一生を通じて情動・社会行動の制御に重要な役割を果たしていることを解き明かす。

(6) 痛みによる不快情動生成の脳内メカニズム

南 雅文 (北海道大学 薬学研究院 薬理学研究室)

痛みは、侵害刺激が加わった場所とその強さの認知に関わる感覚的成分と侵害受容に伴う不安、嫌悪、抑うつ、恐怖などの負の情動（以下、不快情動と呼ぶ）の生起に関わる情動的成分からなる。痛みによる不快情動は、生体警告系としての痛みの生理的役割にとって重要であるが、慢性疼痛では、痛みにより引き起こされる不安、抑うつ、恐怖などの不快情動が、患者の QOL を著しく低下させるだけでなく、精神疾患・情動障害の引き金ともなり、また、そのような精神状態が痛みをさらに悪化させるという悪循環をも生じさせる。しかしながら、慢性疼痛による情動機構の可塑的変化のメカニズムはおろか、痛みによる不快情動生成の神経機構についてもほとんどわかっていないのが現状である。

我々は、痛みによる不快情動生成機構について、「extended amygdala」を構成する脳領域である分界条床核

に着目して研究を進めている。過去 3 年間の本研究会では、腹側分界条床核内ノルアドレナリン神経情報伝達および背側分界条床核内 CRF 神経情報伝達の亢進が、アデニル酸シクラーゼ-PKA 系の活性化を介して、痛みによる不快情動生成に関与していることを示す研究結果を報告している。本研究会では、1) バロスタットを用いた内臓刺激による腹側分界条床核内ノルアドレナリン神経情報伝達亢進とそれに対する事前のストレス負荷の影響の検討、2) 分界条床核から腹側被蓋野への神経投射に関する解剖学的検討、3) 背側分界条床核内 CRF 神経情報伝達に拮抗する神経ペプチドの効果に関する行動薬理的・電気生理学的検討を行った結果について、プレミナリーではあるがデータを紹介し、ご意見・ご批判を伺いたい。

(7) 依存性物質の作用機序と快・不快情動のメカニズム

池田和隆 (財団法人東京都医学総合研究所・依存性薬物プロジェクト)

快・不快情動は、生活の質 (QOL: quality of life) や人類の幸福と深く関わっている。しかし、快・不快などの情動は、主観的で定量化が難しく、分子レベルでの研究は難しい。一方、依存性物質は快情動を引き起こすことで依存性を有しており、依存性物質の使用を中断すると不快情動が現れる。依存性物質は、そのもの自体が分子であり、さらに、その生体内標的分子は依存性物質ごとに特異的であることが明らかになってきている。標的分子が次にどのような分子に作用して快・不快情動を引き起

こすのか、分子カスケードを順々に解明することで、快・不快情動の分子レベルでの解明に繋がる可能性が期待できる。従って、依存性物質の作用機序の解明は、快・不快情動のメカニズムを解明する上で重要な糸口の一つであると考えられる。研究会では、以下の 2 つの分子を中心に、最近の演者らの研究を紹介したい。

依存性物質の作用機序は依存性物質ごとに異なっているが、いくつかの依存性物質で共通する作用機序もある。G 蛋白質活性型内向き整流性カリウム (GIRK, Kir3) チャ

ネルは、Gi/o 型の G 蛋白質と共役する受容体のシグナル伝達におけるエフェクターの一つであり、オピオイド受容体や D2 タイプのドーパミン受容体、カナビノイド受容体など、いくつかの依存性物質の作用機序において重要な役割を果たしている。また、アルコールは直接 GIRK チャンネルに作用してこのチャンネルを開口させることが明らかとなった。演者らは、GIRK チャンネルサブユニットの遺伝子多型と依存性薬物感受性との関連することを、マウスおよびヒトにおいて見出した。GIRK チャンネルを抑制することで依存性薬物への嗜好性を減弱させる可能性が考えられたので、GIRK チャンネルを阻害する薬物を広く探索した結果、選択的セロトニン再取り込み阻害剤 (SSRI) であるフルオキセチンとパロキセチンに、GIRK チャンネル阻害能が認められた。一方、SSRI であるフルボキサミンには認められなかった。そこで、薬物条件付け場所嗜好性試験を用いてマウスのメタンフェタミン嗜好性に対するこれらの SSRI の効果を調べたところ、フルオキセチンとパロキセチンにはメタンフェタミン嗜好性

を減弱させる効果が認められ、フルボキサミンには認められなかった。GIRK チャンネルは快・不快情動を制御する重要な分子の一つであり、薬物依存の治療標的としても注目すべき分子であると考えられる。

幻覚剤も依存性物質であるが、その作用機序は未解明な部分が多い。幻覚剤であるフェンサイクリジン (PCP) の主要な作用点が NMDA 受容体チャンネルであることは知られているが、NMDA 受容体チャンネルのどのサブユニットが PCP の効果発現を担っているのかは不明であった。そこで、NMDA 受容体チャンネルサブユニットの GluN2A と GluN2D の遺伝子欠損マウスにおいて、移所運動量試験とマイクロダイアリス分析による細胞外ドーパミン量の測定を行った。野生型マウスや GluN2A 欠損マウスでは、PCP 投与後に活動量の亢進および細胞外ドーパミン量の上昇が見られるのに対して、GluN2D 欠損マウスでは、このような PCP の効果が全く見られなかった。GluN2D サブユニットは、PCP の効果発現において必須の分子であると言える。

(8) 側坐核の可塑性と薬物依存；ドーパミン、グルタミン酸に続く因子

戸田重誠（金沢大学附属病院神経科精神科）

側坐核（＝腹側線条体）は脳基底核の入り口に位置し、新皮質及び皮質下からの入力（グルタミン酸とドーパミン）を統合する役割を司る。同神経核は、同様の機能と構造を担う背側線条体と異なり、酸化ストレス誘導性の神経変性疾患に抵抗性である一方、慢性の心理的ストレスや依存性薬物暴露には脆弱で、薬物依存や大うつ病などの精神疾患の責任神経核の 1 つと見なされている。では、側坐核は本当に酸化ストレスと無縁なのだろうか。それとも、側坐核で誘導される酸化ストレスは、背側線条体と異なっているのだろうか。

依存性薬物の 1 つであるコカインは、覚せい剤に比べ、細胞毒性が低く、通常の慢性投与では細胞死などを誘導することは稀である。我々は、慢性コカイン投与が側坐核の酸化ストレス系に与える影響を調べる目的にて、側坐核における総グルタチオン量を正常群と慢性コカイン投与群で比較したところ、差は認めなかったが、還元型グルタチオンに対する酸化型グルタチオン比は慢性コカイン投与群で低下していた。さらに、細胞内グルタチ

オン合成系の律速段階となる酵素が慢性コカイン投与群で強く誘導されていること、この酵素を特異的に阻害すると、シナプス関連タンパク質の代謝に影響を与えることを確認した。一方、酸化ストレス作用で知られ、臨床でも広く解毒に用いられる N-acetylcysteine (NAC) は、コカイン依存動物モデルにて薬物欲求行動を抑制するのみならず、慢性コカイン投与で障害された側坐核での長期増強現象や長期抑制現象を正常化するが、NAC を急性投与すると、慢性コカイン投与動物のみにてシナプス関連タンパク質の分解が強く誘導されることを確認した。最近、慢性コカイン投与群の側坐核で、タンパク質の酸化防止システム兼細胞内グルタチオンプールとして働くグルタチオン化タンパク質の増加も報告されている。以上の結果は、慢性コカイン投与群の側坐核で酸化ストレスが誘導され、シナプス関連タンパク質の分解に影響を与えることで、側坐核の神経可塑性や薬物依存行動に影響を与えている可能性を示唆している。

(9) 双極性障害の神経生物学的基盤の探索

加藤忠史（理化学研究所脳科学総合研究センター）

双極性障害は、躁状態または軽躁状態とうつ状態を繰り返す、大きな社会生活の障害を来す精神疾患である。治療には、リチウム、バルプロ酸、カルバマゼピン、ラモトリギンなどの気分安定薬や、オランザピン、クエチアピン等の非定型抗精神病薬が用いられる。

双極性障害に遺伝子が関与することは、双生児研究などから明らかである。最近のゲノムワイド関連研究により、ANK3, CACNA1C, RASGRP1 などとの関連が確認された。CACNA1C は L 型電位依存性カルシウムチャネルのサブユニットを、ANK3 はイオンチャネルを細胞骨格につなぎ止める蛋白を、RASGRP1 は、 Ca^{2+} およびジアシルグリセロール結合部位を持つ GDP/GTP 交換因子をコードしており、これまで、双極性障害で Ca^{2+} シグナリング異常が指摘されてきたことと一致する結果である。脳画像研究のメタ解析では、脳室拡大、皮質下高信号、および前部帯状回と島の灰白質体積減少が指摘されており、リチウムはこの灰白質体積減少を予防あるいは回復させると考えられた。磁気共鳴スペクトロスコピー (MRS) による研究では、31P-MRS によるクレアチンリン酸の低下、細胞内 pH の低下、1H-MRS による乳酸の上

昇など、ミトコンドリア機能障害が示唆されている。生検嗅上皮を用いた研究では、 Ca^{2+} 反応の低下、細胞死の増加が報告されている。培養リンパ芽球様細胞などの末梢血由来細胞の研究では、細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇、小胞体ストレス反応の低下、低グルコース培地に対するミトコンドリア関連遺伝子群の発現上昇反応の欠如などが報告されている。死後脳では、ミトコンドリア関連遺伝子の発現低下などが報告されている。一方、リチウムとバルプロ酸は、イノシトール枯渇作用、GSK-3 β 阻害作用などを共通に持ち、これらを介して、神経細胞保護作用、神経可塑的变化の促進作用を持つと考えられている。これらのことから、双極性障害には細胞レベルの脆弱性が関与している可能性が示唆される。

双極性障害は経過と共に次第に再発までの期間が短縮していくことが知られていることから、我々は、脳内に気分を調節する神経系が存在し、この神経系が進行性に異常を来していると考え、この「気分安定神経系」を探索すべく、モデルマウスを用いた検討を進めている。

当日は、最近の研究の結果について報告する。

(10) 脳内蛋白質チロシンリン酸化シグナルによるストレス応答制御

大西浩史（群馬大学生体調節研究所 バイオシグナル分野）

ストレスは脳内に様々な変化を誘導する。ストレスによって誘導される脳内シグナルの変化を捉え、その機能を解析することは、気分障害や PTSD（心的外傷後ストレス）など、ストレスに起因する精神疾患、精神障害の病態解明に重要な知見を与えることが期待される。

我々の研究グループが解析を進める SIRP α は、イムノグロブリンスーパーファミリー (IgSF) に属する受容体型膜蛋白質で、成熟した神経系に強く発現し、その細胞内領域がチロシンリン酸化を受けて細胞質型チロシンホスファターゼ Shp2 と相互作用し、これを活性化する。SIRP α の細胞外領域は、同じく IgSF に属する 5 回膜貫通型蛋白質 CD47 の細胞外領域と相互作用し、細胞間相互

作用シグナル CD47-SIRP α 系を形成する。我々は、SIRP α KOマウス、および CD47 KO マウスが、動物のうつ傾向の評価に用いられる強制水泳 (FS) テストにおいて、うつ傾向の指標となる無動時間の増加傾向を示し、さらに野生型マウス脳において、FS ストレスに伴って SIRP α のチロシンリン酸化が強く誘導されることを見出した。このリン酸化には、FS ストレスに伴う Src ファミリーチロシンキナーゼ (SFK) の活性化が、重要な役割を果たすと考えられた。一方、FS ストレスは、SFK 依存性に NMDA 受容体の GluN2B サブユニット、電位依存性 K^{+} チャネルの Kv β 2 サブユニットのチロシンリン酸化を誘導し、SIRP α KO マウスでは、これらのチロシンリン

酸化状態に異常が見られた。FS による SFK の活性化と、その下流シグナルとしての SIRP α のチロシンリン酸化は、NMDA 受容体や K⁺チャネルなどの分子のチロシンリン酸化の制御に係わることで、ストレス応答行動を制御する新しいシグナルシステムとして機能する可能性が

考えられた。

さらに現在、SIRP α の下流シグナル分子である Shp2 について、前脳特異的 KO マウスの行動解析を行い、新たな知見が得られつつあるので、その成果についても紹介したい。

13. 大脳皮質局所回路の機能原理

2011 年 12 月 1 日－12 月 2 日

代表・世話人：宋 文杰（熊本大学 大学院生命科学研究部）

所内対応者：川口泰雄（生理学研究所 大脳神経回路論研究部門）

(1) カルシウムイメージングによる神経活動の可視化

小山内実（東北大学 大学院医学系研究科）

(2) 皮質自発発火活動の起源と機能：EPSP 振幅の対数正規分布と情報伝達の最適化

寺前順之介（理化学研究所 脳科学総合研究センター）

(3) 皮質回路のシナプス結合特異性

大塚 岳（生理学研究所 大脳神経回路論研究部門）

(4) 単シナプス性神経回路を可視化する狂犬病ウイルスベクター

森 琢磨（生理学研究所 神経分化研究部門）

(5) バレル皮質における視床－皮質投射，GABA 抑制の発達とそれに伴う可塑性メカニズムの変化

木村文隆（大阪大学 大学院医学系研究科）

【参加者名】

宋 文杰，福田孝一，重松直樹（熊本大学 大学院生命科学研究部），木村文隆（大阪大学 大学院医学系研究科），金子武嗣，藤山文乃，日置寛之，古田貴寛，中村 悠，孫 在隣，柴田憲一，早川 隆（京都大学 大学院医学研究科），一戸紀孝，宮川尚久（国立精神・神経センター 微細構造研究部），寺前順之介，坪 泰宏（理化学研究所 脳科学総合研究センター），田中琢真（東京工業大学 総合理工学研究科），舟山健太（東京大学大学院 薬学研究

科），小島久幸（東京医科歯科大学 医歯学総合研究科），山下晶子（日本大学 医学部），村越隆之，向井秀夫（埼玉医科大学 医学部），小山内実，田村篤史，菊地琴美（東北大学 大学院医学系研究科），佐々木哲也，田中康代，田中康裕，正水芳人，定金 理（基礎生物学研究所），森琢磨，後藤哲平，吉田正俊，川口泰雄，窪田芳之，大塚岳，森島美絵子，植田禎史，牛丸弥香，荻部冬紀，畠中由美子（生理学研究所）

【概要】

平成 23 年度の「大脳皮質局所回路の機能原理」研究会は12月1日と2日に開催された。まず小山内実先生（東北大学）が視覚皮質局所回路における活動伝搬について発表された。Ca²⁺イメージング法を用いて、皮質スライスにおける活動伝播とそれにおける抑制性シナプスの役割を示された。また、線条体で非常にゆっくりとしたCa²⁺濃度変動を見出されており、その機能解明が期待される。続いて、寺前順之介先生（理研 BSI）が大脳皮質の自発活動に関する研究成果を発表された。近年、皮質の自発活動はランダムでなく、何らかの機能を持つと考えられるようになった。寺前先生が錐体細胞の性質と、自発EPSPの振幅の分布に注目し、自発活動の維持と機能におけるその分布の重要性を示された。一方、大塚岳先生（生理学研究所）が対側半球への出力が皮質内回路でどの

ように形成されているかの問題について、細胞標識とスライス電気生理および計算機シミュレーションの方法を組み合わせた解析結果を示され、特に多様な抑制性介在細胞の役割に関する解析が印象深いものであった。森琢磨先生（生理学研究所）が神経回路を可視化するウイルスベクターの開発について発表された。あるニューロンが投射先の何個の、どの種類のニューロンにシナプス結合するのかの問題は、局所回路研究の最も基本的な問題であるが、その解決手法はない。森先生の研究が神経科学全体に影響を与えると期待される。最後に、木村文隆先生（大阪大学）がバレル皮質の可塑性メカニズムの変化について発表され、臨界期の開始は、視床から皮質各種ニューロンへの入力タイミングと、スパイクタイミング依存性シナプス可塑性およびその変化で、説明でき

ることを示された。これらの研究発表に対し、会場から大変活発な質疑応答がなされた。多くの若手研究者が研

究会に参加し、積極的に討論に加わった。

(1) カルシウムイメージングによる神経活動の可視化

小山内実 (東北大学 大学院医学系研究科)

脳の神経回路は、無数のニューロンから構成されている。この動作原理を知るためには、神経回路を構成している複数のニューロンの状態を知ることが重要である。その方法の一つとして、蛍光色素を用いた光学イメージングがある。

ニューロンでは活動電位が発生すると電位依存性カルシウムチャネルが開き、細胞内カルシウム濃度が急激に上昇する。この原理により、多細胞のニューロン活動を同時に記録することができ、神経回路における情報伝播経路を明らかにすることができる。我々はこの方法を利用して、一次視覚野神経回路の信号伝播を可視化し、抑制性シナプス伝達が信号伝播経路制御に重要であるこ

とを見出した。

一方、ニューロンあるいはグリア細胞では、代謝型受容体などの活性化に伴い、細胞内カルシウムストアからのカルシウム放出が起こる。カルシウムが細胞内の種々のタンパク質の活性を調節していることを考えると、細胞の状態を規定している因子であることが考えられる。我々は大脳基底核線条体で、非常にゆっくりとした時間経過で細胞内カルシウムが変動する「自発カルシウムリズム」を発見した。この自発カルシウムリズムの機能に関してシミュレーション解析を行ったところ、カルシウム依存性カリウムチャネルを介して細胞の状態制御を行っていることが推測された。

(2) 皮質自発発火活動の起源と機能：EPSP 振幅の対数正規分布と情報伝達の最適化

寺前順之介 (理化学研究所 脳科学総合研究センター)

外界からの刺激がなくても、大脳皮質の神経細胞群は発火率の低い不規則な活動を続けている。この活動は自発発火活動と呼ばれ、皮質神経情報処理の基盤として、感覚刺激により変調をうけ認知に影響を与える事、不確実な感覚刺激を推定する際の先見知識を表現する事など様々な脳活動に関連する事が明らかにされて来た。しかし皮質回路がこの自発発火活動を維持するメカニズムは実験的にも理論的にも未解明であり、この活動が持つ様々な特徴（低い発火率、高い不規則性、非同期性、興奮抑制バランス、興奮性脱分極 (UP state)、高精度発火時系列の存在等）を統合的に説明することは出来なかった。本発表では、皮質興奮性細胞間に稀に非常に大きい EPSP (興奮性シナプス後電位) が存在するという最新の知見を

考慮すればこれらの問題が一挙に解決出来る事を報告した。皮質興奮性細胞間の EPSP 振幅は典型的には 1mV 以下と小さいのに、稀に 10mV に迫る大きな EPSP が観測され、その結果 EPSP 振幅の分布は右に長い裾を引く対数正規分布で記述される。この強弱シナプスの共存が自発発火活動を説明する鍵となり諸問題が解決出来る事を理論的に示した。興味深い事に、この理論は、自発発火活動の生成メカニズムと性質を統合的に説明するのみならず、自発発火活動の機能を明らかにし、皮質情報処理に対する新しい仮説を自然に提示した。可塑性や振動、抑制性細胞の役割など関連する最新の結果についても報告した。

(3) 皮質回路のシナプス結合特異性

大塚 岳（生理学研究所 大脳神経回路論研究部門）

脳機能は、神経細胞を素子とし、シナプスを介した神経回路によって機能を発揮する。従って、脳の情報処理様式を明らかにするには回路を構成する個々の細胞の機能を同定すると共に、機能的な結合を明らかにする必要がある。脳の高次機能を担う大脳皮質は外界からの情報を視床を介して受け、皮質内回路で処理した後に皮質下構造や他の皮質領野に多様な出力を送る。投射先に対応した多様な出力は、皮質内回路でどのように情報を処理・形成されるのであろうか？ 遠所投射システムの一例として、対側の大脳皮質への情報出力が皮質内回路でどのように形成されているのかについて今回検討した。

大脳皮質は左右の半球間で情報交換・統合しており、半球間の結合が阻害されると知覚欠損などが起こる。従って、対側の大脳皮質への情報出力が皮質内でどのように処理・形成されるのかを知ることは重要である。そこで、対側の皮質に投射する交連性細胞を逆行性蛍光トレーサーを用いて同定し、細胞の性質と層内・層間のシナプス結合特異性について脳切片を用いて解析した。

また、大脳皮質の局所回路は多様な抑制性介在細胞によって活動が制御されている。抑制性介在細胞は、錐体細胞からどのように入力を受け、活動を制御されているのかについても解析した。

(4) 単シナプス性神経回路を可視化する狂犬病ウイルスベクター

森 琢磨（生理学研究所 神経分化研究部門）

脳の情報処理は、シナプス結合する複雑な神経回路によって達成されている。この複雑な神経回路は、ある単一のニューロンとそれにシナプス入力するシナプス前細胞から構成される微小神経回路、単シナプス性神経回路の集合として考えられる。シナプス結合する神経回路を解析するツールの1つとして、狂犬病ウイルスがある。我々は狂犬病ウイルスの遺伝子を操作することで、1つだけしかシナプスを越えない狂犬病ウイルスベクターを作成した。そして、狂犬病ウイルスを選択的に導入された単一ニューロンに、プラスミドを用いて外来的に糖タンパク質を発現させることで、欠損した越シナプス能をそのニューロンで回復させることで、単シナプス性神経回路を選択的に可視化した。狂犬病ウイルスベクターを

もちいた解析法をさらに発展させるために、GFPで可視化するだけでなく、神経活動をモニターするG-CaMP3、神経活動を光操作できるチャネルロドプシン2、そして遺伝子発現を人為的に操作できるrtTAなどを発現させる遺伝子改変狂犬病ウイルスを開発した。また、より使用しやすいウイルストレーサーとして、狂犬病ヒトワクチン株、HEP-Flury株に基づく糖タンパク質欠損狂犬病ウイルスを開発した。糖タンパク質欠損狂犬病ウイルスの作成効率は、転写活性、リボザイム活性そして欠損遺伝子の補完が重要であることが、これら異なる実験株に由来する糖タンパク質欠損狂犬病ウイルスの作成から明らかになった。

(5) バレル皮質における視床－皮質投射、GABA抑制の発達とそれに伴う可塑性メカニズムの変化

木村文隆（大阪大学 大学院医学系研究科）

齧歯類の体性感覚皮質は生後発達の一時期に、入力に依存して神経回路を編成する可塑性が知られているが、

可塑性な時期（臨界期）がどのようにして開始されるかについては未だに不明である。臨界期の開始にはGABA

回路の発達が必要とされているが、抑制性細胞の発達がどのようなメカニズムで臨界期の開始を導くのかは知られていない。バレル皮質においては、受容野の変化を導く臨界期可塑性は生後 12-14 日以降におこり、4 層-2/3 層 (L4-L2/3) 間シナプスが重要であると考えられている。L4-L2/3 シナプスの可塑性の重要な特徴の 1 つは、可塑性の大きさ、方向性がシナプス前後の細胞の発火順序に依存する、スパイクタイミング依存性可塑性 (Spike timing-dependent plasticity, STDP) を示すことである。最近、我々は視床-皮質シナプス伝達において、GABA 細胞への投射が生後 12-14 日以降、潜時がわずかに短縮し、これが 4 層, 2/3 層細胞の発火順序を制御するのに重要な役割を果たしている可能性を示した (J. Physiol 2010)。す

なわち、ヒゲ刺激は生後 12-14 以降に初めて 4- >2/3 順の発火をもたらすことになる。では、生後 12 日以前では STDP ルールに変化がないのであろうか？ これを調べると、発火順序の確率と同時に STDP ルールも劇的に変化していることを見出した。このような発火順序と STDP の同期した変化は、発達に従い、まず遺伝的情報の元に活動依存的に過剰な投射が形成され、次に発火順序に従って必要な投射が選択的に残存していく過程を非常にうまく説明する。このように、視床皮質投射, GABA 回路の発達, 4-2/3 層の発火順序の確率と可塑性ルールの変化はすべて深く関連して臨界期開始を導いていることを紹介した。

14. 社会神経科学研究会「今、社会神経科学研究に求められていること」

2011 年 10 月 6 日－10 月 7 日

代表・世話人：松田哲也（玉川大学脳科学研究所）

所内対応者：定藤規弘（生理心理学研究部門）

（1）社会脳研究における諸課題

定藤規弘（自然科学研究機構生理学研究所生理心理学研究部門）

（2）社会的判断におけるモデルベースプロセスとモデルフリープロセス

坂上雅道（玉川大学脳科学研究所）

（3）共感と社会的相互作用

亀田達也（北海道大学文学部社会心理）

（4）欲求と合理性

信原幸弘（東京大学大学院総合文化研究科科学史・科学哲学研究室）

（5）サルにおけるデフォルト脳活動

渡邊正孝（東京都医学総合研究所）

（6）チンパンジーにおける社会的認知

友永雅己（京都大学霊長類研究所思考言語分野）

（7）罰の進化：その理論的検討と課題

大槻 久（総合研究大学院大学先導科学研究科生命共生体進化学専攻）

（8）実験室の中の“社会性”：表情同調研究から

吉川左紀子（京都大学こころの未来研究センター）

（9）出生コホート研究の現状と脳科学研究との連携

山縣然太郎（山梨大学医学工学総合研究部社会医学講座）

（10）視線操作による顔の選好判断過程の神経基盤の解析

伊藤岳人（玉川大学脳科学研究所）

（11）ユース期の社会神経科学としての統合失調症研究

笠井清登（東京大学大学院医学系研究科精神医学）

（12）統合失調症の社会認知に関する構造的 MRI 画像研究

村井俊哉（京都大学大学院医学研究科精神医学教室）

（13）時間・リスク選好の経済学的な測定 ～喫煙に関する調査を例として～

後藤 励（甲南大学経済学部）

（14）教育・社会心理学と脳科学とのリンク

松元健二（玉川大学脳科学研究所）

（15）ニューロイメージングで人間の社会行動の何がわかるか

加藤淳子（東京大学大学院法学政治学研究科）

【参加者名】

水落亮平（甲南大学），門地里絵（花王株式会社），堺 浩之（豊田中央研究所），松尾 篤（畿央大学），酒井雄希（京都府立医科大学），芦塚あおい（京都大学），中野英樹（畿央大学大学院），松永昌宏（生理学研究所），橋本直樹（北海道大学大学院），原田宗子（名古屋大学大学院），大住倫弘（畿央大学），請園正敏（明治学院大学大学院），

川道拓東（生理学研究所），美馬達哉（京都大学），大森隆司（玉川大学），ユ リラ（京都大学霊長類研究所），陳 韻如（慶應義塾大学），竹澤正哲（上智大学），辻本多恵子（東大阪山路病院），青木智子（畿央大学），池田和隆（東京都医学総合研究所），河本愛子（東京大学），磯崎三喜年（国際基督教大学），内田由紀子（京都大学），

高橋征仁 (山口大学), 山本真規子 (慶應義塾大学), 能田由紀子 (ATR-Promotions), 後藤雅敏 (神戸大学大学院), 長塚昌生 (大阪大学), 松井智子 (東京学芸大学), 中村太戯留 (慶應義塾大学), 山田克宣 (大阪大学), 眞田和恵 (花王株式会社), 廣澤六映 (京都府立医科大学), 荻原祐二 (京都大学), 北田 亮 (生理学研究所), 鹿内 学 (京都大学), 横山諒一 (東北大学), 吉原一文 (生理学研究所), 阿部匡樹 (東京大学), 守田知代 (生理学研究所), 中原裕之 (理化学研究所), 岡本悠子 (総合研究大学院大学), 一戸紀孝 (国立精神・神経医療研究センター), 吉田優美子 (総合研究大学院大学), 菅原 翔 (総合研究大学院大学), 高野裕治 (NTT コミュニケーション科学基礎), 高橋伸彰 (NTT コミュニケーション科学基礎研究所), 高橋陽香 (総合研究大学院大学), 岡崎俊太郎 (生理学研究所), 中村光宏 (東京大学), 工藤恵理子 (東京女子大学), 田邊宏樹 (生理学研究所), 平井真洋 (愛知県心身障害者コロニー), 小池耕彦 (総合研究大学院大学), 清河幸子 (中部大学), 島田浩二 (総合研究大学院大学), 牧田 快 (総合研究大学院大学), 田中祐輔 (京都大学), 服部裕子 (京都大学), 田中章浩 (早稲田大学), 富田 尚 (ソニー株式会社), 肥前洋一 (北海道大学), 大谷保和 (筑波大学), 小倉有紀子 (北海道大学), 高岸治人 (東京大学), 水野 敬 (独立行政法人理化学研究所), 中村國則 (東京工業大学), 上原依子 (大阪大学), 米田紘康 (大阪大学), 樋口さとみ (北海道大学), 佐々木章宏 (生理学研究所), 鈴木春香 (玉川大学大学院), 伊藤文人 (東北大学), 小俣 圭 (浜松医科大学), 菅原裕輝 (名古屋大学), 山田真希子 (独立行政法人放射線医学総合研究所), 菅谷 渚 (東京都医学総合研究所), 林 幹也 (明星大学), 蓬田幸人 (玉川大学), 佐藤 剛 (グロービス経営大学院大学), 井出野尚 (早稲田大学), 菊水健史 (麻布大学),

永澤美保 (麻布大学), 倉山太一 (千葉大学), 石井敬子 (神戸大学), 長池 淳 (九州大学), 松尾和代 (九州大学), 小川園子 (筑波大学), 南本敬史 (放射線医学総合研究所), 加藤陽子 (放射線医学総合研究所), 櫻井芳生 (鹿児島大学法文学部), 江口洋子 (放射線医学総合研究所), 須恵明音 (関西福祉科学大学), 安梅勅江 (筑波大学大学院), 土屋泰広 ((株)コンボン研究所), 伊藤嘉邦 (生理学研究所), Bosch Bayard F. Jor (生理学研究所), 小泉英明 (日立製作所 研究開発本部), 佐久間康夫 (日本医科大学), 杉浦元亮 (東北大学 加齢医学研究所 脳機能), 多賀巖太郎 (東京大学大学院教育学研究科), 加藤淳子 (東京大学大学院法学政治研究科), 伊藤岳人 (玉川大学脳科学研究所), 大槻 久 (総研大先端科学研究科), 亀田達也 (北海道大学文学部社会心理), 友永雅己 (京都大学霊長類研究所思考言語分野), 山縣然太郎 (山梨大学医学工学総合研究部), 笠井清登 (東京大学大学院医学系研究科精神神経科), 渡邊正孝 (東京都医学総合研究所), 信原幸弘 (東京大学大学院総合文化研究科), 吉川佐紀子 (京都大学こころの未来研究センター), 村井俊哉 (京都大学大学院医学研究科精神医学), 後藤 励 (甲南大学経済学部), 定藤規弘 (生理学研究所), 坂上雅道 (玉川大学脳科学研究所), 松元健二 (玉川大学脳科学研究所), 高橋英彦 (京都大学大学院医学研究科), 松田哲也 (玉川大学脳科学研究所), 田中悟志 (生理学研究所), 植田 想 (京都大学), 磯部昌憲 (京都大学大学院), 山本筑萬 (コンボン研究所), 井本敬二 (生理学研究所), 植木美及 (名古屋市立大学), 園田淑子 (玉川大学), 平理一郎 (東京大学), 岡本英彦 (生理学研究所), 郷田直一 (生理学研究所), 橘 吉寿 (生理学研究所), 浜井美弥 (生理学研究所), 吉田正俊 (生理学研究所), 大鶴直史 (生理学研究所)

【概要】

これまで生物学的・医学的側面から研究されてきた脳は、いまや研究対象が脳機能 (心) の社会的側面にまで広がりをみせてきた。ヒトが自然環境だけでなく、社会環境にも適応して生きているということは、ヒトの脳機能が自然だけでなく社会にも適応していることを意味する。ヒトを理解するためには、生物学的な機能に加えて脳の社会的機能も明らかにしなければならない。したがって、新しい脳科学は生物学的な手法を用いて、ヒトとヒト、ヒトと社会の関係を説明していかなければならな

い。哲学・心理学・経済学といった人文社会科学は、ヒトとヒト、ヒトと社会の関係を研究してきた長い歴史がある。欧米では、脳科学とそのような人文社会科学を統合した、神経経済学、神経倫理学といった新しい学問分野がうまれている。つまり、学問間の壁を取り除き、新しい視点でヒトの社会的心について科学的に理解することが求められている。日本においても、近年ヒトの社会的こころに関する研究について継続的に議論できる機会を設ける必要がある。

そこで、ヒトの社会的心に関連する、既存の学問分野を超えた新しい視点での研究を行っている研究者による講演を実施し、日本におけるこの分野の研究の推進に貢

献することを目的として第一回社会神経科学研究会を開催した。

(1) 社会脳研究における諸課題

定藤規弘（自然科学研究機構生理学研究所生理心理学研究部門）

我々はいかにして社会的存在となるのか？ この発達社会心理学的な問いは、様々な領域の研究者を惹きつける。また科学技術の加速度的な発展による社会環境の劇的な変化を特徴とする現代社会において、高次脳機能である社会性の神経基盤を明らかにすることは、その問題の多くが関連する人間の精神や社会的行動の解明に必要かつ喫緊の研究である。主な課題を挙げ、議論に供したい。脳科学領域の進展は急速であるが、その知見の大部分は動物実験等に基づいているため、その結果を社会に

適用するためには人での検証研究が必須である。さらに社会的必要性に直面することによって基礎研究が飛躍的な変化を遂げることも考えられる。つまり、実社会で実証しつつ、その結果を基礎研究にフィードバックするという連携研究を推進するための枠組みの整備が急務である。応用と基礎の連携研究を実現するプラットフォームとして、脳科学を基盤とした発達コホート研究が、その枠組を与えうる。

(2) 社会的判断におけるモデルベースプロセスとモデルフリープロセス

坂上雅道（玉川大学脳科学研究所）

脳科学研究の結果を拙速に制度設計に反映させることはあつてはならない。中途半端な理解は過ちにつながるし、そもそも我々の社会制度は科学的事実にだけ依拠するものではない。脳科学的事実は我々の社会と制度を議論する上で極めて有用な材料となるが、社会制度は人類の長い歴史の上で蓄積されてきた経験と知識に裏打ちされるものであるし、多くの人々の共通理解の上に成り立っている。ただ、人文社会科学と脳科学を融合させた新しいヒトと社会に関する科学の発展は急がなくてはならない。欧米では、これまでの「常識」とは異なる私たち自

身に関する新しい事実が、新しい脳科学研究によって明らかにされつつある。ここでは、意思決定に関する脳科学研究の例を示すことにより、新しい人間観・新しい社会観の形成に脳科学がどのように貢献できるかを考えてみる。特に、我々の意思決定の多くが、潜在（無意識）的プロセスによって担われているかもしれないという最近の研究結果は、個人の判断の意識性を前提とした現代社会の諸制度にどのような影響をもたらすのであろうか。関連する脳科学研究の最新の成果を紹介する。

(3) 共感と社会的相互作用

亀田達也（北海道大学文学部社会心理）

共感の重要性は様々な学問領域において繰り返し指摘されてきた。アダム・スミスは人が持つ「同感

(sympathy)」は社会関係と道徳心を生み出す基礎ブロックを構成すると論じた (Smith, 1759)。ダーウィンは他者

の感情を自分の中に再現する共感能力が、利他性や道徳性の基盤にあると主張している (Darwin, 1871)。また、他者の心的状態を理解する“視点取得”, つまり他者がどのような行動をとるかを認知的に予測する能力は、人間にとっても (Humphrey, 1976), 霊長類にとっても (de Waal, 1996), 社会生活を円滑に営む上で重要な能力とされる。しかし、長きにわたり様々な分野で注目されてきた概念である一方、「共感とは何か」についての基礎的なコンセンサスは今日もなお得られておらず、レベルの異なる

様々な認知・感情・行動要素が「共感現象群」として未整理のまま混在しているという問題が繰り返し指摘されている (Davis, 1983; Preson & de Waal, 2002)。本発表では、共感をめぐる問いを整理した上で、さまざまな共感現象群が、多くの哺乳類と共有されている自動的過程から、認知的な制御を必要とする“高次”の過程まで複数の層を形成するという見方を紹介し (de Waal, 2009), こうした観点と整合する2つの心理学実験を報告する。

(4) 欲求と合理性

信原幸弘 (東京大学大学院総合文化研究科科学史・科学哲学研究室)

われわれは、自分のもつ互いに葛藤する欲求のなかで、もっとも強い欲求を実現するような行為をなすように思われる。つまり、われわれの行為はわれわれのもつ欲求の強さによって決定されるように思われる。もっとも強い欲求に抗して合理的な行為を行うさいの鍵となるのは意志の力である。意志はどのようにして欲求のあり方を変えることができるのだろうか。第一に、意志は誘惑として働くもっとも強い欲求を一時的に抑止して、他の欲求がそれよりも大きくなる時間的余裕を作ることができる。第二に、複数の欲求を束ねて、個々の欲求ではなく、欲求の束を比較するようにすることができる。第三に、もっとも強い欲求から注意をそらすことに

より、その欲求を消去することができる。第四に、行為の各選択肢から新たな帰結を導き出して、それらの帰結にたいする欲求が生じるようにさせることができる。第五に、自分の欲求を自覚することにより、自分の欲求を消し去りたいという二階の欲求を生じさせることができる。意志はこのようなさまざまな仕方でも欲求のあり方を変えることにより、当初のもっとも強い欲求を変えることができ、それゆえ遂行される行為を変えることができる。こうして欲求の原理が成り立つとしても、欲求とは別の意志の力によって、当初のもっとも強い欲求に抗した合理的な行為が可能となるのである。

(5) サルにおけるデフォルト脳活動

渡邊正孝 (東京都医学総合研究所)

最近のヒトにおける非侵襲的脳機能測定法による研究では、「知的作業中よりも、何もしていない安静時に大きな活動（デフォルト脳活動）を示す脳部位がある」ことが注目されている。これらの活動は前頭連合野や頭頂連合野の内側部で主に見られる。デフォルト脳活動は「自分が過去にしたことを想起する」、「ここに浮かぶことにとりともめもなく思いをめぐらす」などの「内的思考過程」に関係していることが知られている。アルツハイマー病、うつ病、統合失調症、自閉症、ADHD の患者

ではデフォルト脳活動に異常が見られている。

内的思考過程ということになると、高等哺乳類である類人猿ですら存在せず、類人猿にはデフォルト脳活動は見られないと予想される。しかしニホンザルを用いて PET 実験をした結果、サルにもヒトと同様に前頭連合野や頭頂連合野の内側部にデフォルト脳活動が見られた。近年の研究で示される類人猿の様々な認知能力を考えると、得られた結果は、ヒトの内的思考過程の萌芽的なものが類人猿で出現している可能性を示すもので、ヒト

の知的機能の進化的起源を考える上で重要な意味があると考えられる。

(6) チンパンジーにおける社会的認知

友永雅己（京都大学霊長類研究所思考言語分野）

1) 視線の認知：チンパンジーは、同種他個体や人間の視線方向や注意の状態をどのように知覚しているのだろうか。この点について視覚探索課題などを用いて検討を行った。その結果、チンパンジーにとってはヒトの視線方向（虹彩の位置）の弁別がきわめて難しいことが明らかとなった。また、「私とあなた」の間でやり取りされる視線だけでなく、第三者間でやり取りされる視線の検出について検討したところ、第三者の注意がそれている状態の方が何かに注意を向けている状態よりも検出しやすいことが示唆された。

2) 自己顔の認知：人間では自分自身の顔が他の既知顔や未知顔とは異なる特異な役割を果たしていることが

示唆されている。しかしながら、チンパンジーなどヒト以外の霊長類を対象とした研究では自己顔の認知に関する研究はほとんど見られない。そこで、未知顔－既知顔－自己顔を用いた視覚探索課題を自己鏡映像認識の明らかな証拠があるチンパンジーを対象に実験を行った。その結果、既知顔の方が未知顔よりも見つけやすいという既知性に関する探索非対称性が見いだされた。さらに、自己顔の探索は既知顔と同程度に効率的な場合によっては既知顔よりも正確であることが示され、チンパンジーにおいても自己顔が特殊な役割を担っていることが示唆された。

(7) 罰の進化：その理論的検討と課題

大槻 久（総合研究大学院大学先導科学研究科生命共生体進化学専攻）

進化の視点から罰行動の役割を俯瞰する。罰(punishment)は協力や信頼の促進に対して重要な役割を果たすと考えられている。例えば de Quervain et al. (2004) はコストのかかる「利他的な罰」、つまり将来の自分に見返りが来ないような罰行動、を行使した際に脳の報酬系が活性化することを明らかにした。罰にこのような神経生理学的基盤があることは、この行動が進化的な適応機構として獲得された可能性を示唆している。一方で、理論的には利他的な罰は進化し得ないとされている。な

ぜなら罰にコストがかかる場合、わざわざ自らコストを払って他者を罰するよりも、何も払わず他人に罰を任せの方が有利だからである。本発表では、罰の進化に関する最近の理論モデルをいくつか紹介し、罰が進化するのには極めて限定的な場合であることを説明する。また、協力の促進以外の目的で使われる「非社会的罰」(anti-social punishment) の話題を取り上げ、実験と理論の間に存在する大きな乖離をどう説明すれば良いかを議論したい。

(8) 実験室の中の“社会性”：表情同調研究から

吉川左紀子（京都大学こころの未来研究センター）

日常生活での人の社会行動の「本気度」「真剣度」を実験室で再現することは大変困難である。一方、私たち

が一番知りたいことは、「人が日常の社会的場面で、他者のこころをどのように理解しているのか」「その場にふ

さわしい態度でふるまい、他者と適切なやりとりを円滑に進めることができるのは、どのような心的機能があるからなのか（そうした行動ができないのは、どのような心的機能が低下しているからなのか）」という問いへの答えである。研究者が実験室で行う課題との距離は大きい。

対面コミュニケーション場面で重要なのは、自身の表情表出や発話によって、相手に対して適切に応答するこ

とである。実験室の課題としてよく用いられる、相手の表情をいくつかのカテゴリーに分類したりその強度を評価することは、そうした能力に関連はしていても、それを直接測るものではない。本報告では、表情知覚時の無意図的な表情表出研究、実人物とスクリーン提示の人物に対する情動認知の比較研究を例としてとりあげながら、実験室での「社会性」研究における留意点について考察したい。

(9) 出生コホート研究の現状と脳科学研究との連携

山縣然太郎（山梨大学医学工学総合研究部社会医学講座）

甲州プロジェクトは 1987 年に開始した地域保健活動を基盤とした出生コホート研究である。妊娠届出時から、乳幼児健診において質問票による調査を実施しており、2007 年からは思春期調査として小学校 4 年生から中学校 3 年生を対象に調査をしている。これまでに、妊娠中の喫煙が思春期の肥満のリスクとなることや思春期の心も健康と妊娠中の飲酒の関連などを明らかにした。エコチル調査は全国から 10 万人の妊婦をリクルートし、生まれてくる子どもが 13 歳になるまで追跡して、環境と健康との関連を明らかにする大規模出生コホート研究である。特に妊娠中の化学物質による曝露をはじめ生

活する環境による曝露と先天異常やアレルギー疾患、発育状況、発達障害などとの関連の解明をめざしている。2010 年から 2030 年までの研究期間が予定されている。出生コホート研究は対象が発達過程の子どもであることから、1 臨界期、感受期、誘導期および潜伏期の概念、2 リスクの蓄積、3 リスクの修飾をどのような解析モデルとするかが課題であり、欠損データの処理、繰り返しデータの解析など新たな統計モデルが必要となる。社会実装研究のために学際的な大規模出生コホート研究（ライフコースリサーチ）の構築が必要である。これは政策立案、評価の科学的根拠にもなる。

(10) 視線操作による顔の選好判断過程の神経基盤の解析

伊藤岳人（玉川大学脳科学研究所）

下條らは、顔の選好判断における視線操作に関する生理的な現象を報告した。しかし、その神経生理的なメカニズムまでは明らかにされなかった。本研究では、fMRI を用いることで選好判断過程における視線操作の影響を明らかにすることを目的とした。同じ顔の組み合わせによる二者択一の選択課題を行い、より魅力的な顔を選択してもらった。各群とも、選択課題の約 6 割で、同じ顔の組み合わせによる選択課題を 2 度行ってもらい、この場合においてのみ、1 回目と 2 回目の選択課題の間に視線操作を行った。2 枚の顔を画面の左右にランダムに呈示し、それぞれの顔の呈示時間を 300 ミリ秒、900 ミ

リ秒とした。実験後、選択課題を 2 度行った試行中で、1 回目と 2 回目の間で選択が変わった試行数の割合を比較した。3 群の中で選択が変わった割合を比較すると、選好の選択が変わった場合と変わらなかった場合とを比較すると、Caudate の活動の時間変動に興味深い違いが見られた。選択が変わる場合においてのみ、最終的に選択する顔が呈示されたときの Caudate の活動が高く、しかもその活動は最初から持続して高い状態にあった。本研究は、以前の報告を再現すると同時に、“心変わり”に関する興味深い知見を得ることができた。特に、心変わりの予兆が Caudate の活動に表れることが示唆された。

(11) ユース期の社会神経科学としての統合失調症研究

笠井清登（東京大学大学院医学系研究科精神医学）

統合失調症は、一般人口の約 1%が罹患する非常に頻度の高い精神疾患であり、自我の障害を中核とし、社会性・意欲（内発性）の障害も伴う。統合失調症のもう一つの本質的特徴は、ライフステージ上思春期（ユース期）に好発することである。ヒトは、霊長類からの進化の過程で、前頭前野を格段に発達させ、自我、その言語による自己制御、将来の予測に基づく内発的行動、主観的価値の形成、などのヒト独自の精神機能を持つに至った。この前頭前野とそれが担う高度な精神機能は、個体発達上も、ユース期に社会・他者とのコミュニケーションや言語による精神機能の自己制御によって成熟を遂げる。このように、ユース期における精神機能の自己制御にもとづく脳機能の可塑的変化の変調という、脳機能と精神機能の双方向的パラダイムで統合失調症をとらえるなら、その支援法開発の将来として、脳機能への直接的働

きかけ（例:薬物、栄養物質などの薬理学的アプローチ）、言語や社会・他者との交通による精神機能の自己制御への働きかけ（心理社会的アプローチ）の双方が統合されるというパースペクティブが見えてくる。脳科学は、知覚・認知 (cognitive neuroscience) →情動 (affective neuroscience) →社会性・内発性 (social neuroscience) の順で発展し、それらの統合の上に成り立つ人間独自の精神機能である自我・自己意識の解明を目指す、『自我脳』の段階にきた。したがって、統合失調症の研究推進は、ユース期の自我機能をいかに育み、その障害をいかに予防・修復するかを、神経科学、精神医学、人文社会諸科学との学際的連携によって支える「ユースメンタルヘルス」とでもいうべき総合的人間科学を構築する営みにほかならない。

(12) 統合失調症の社会認知に関する構造的 MRI 画像研究

村井俊哉（京都大学大学院医学研究科精神医学教室）

機能的神経画像研究が進歩した今日でも、形態学的な解析は、統合失調症の神経画像研究の中で重要な位置を占める。形態学的な脳画像研究の結果を正しく解釈するには、年齢・性別・頭蓋内容積などの共変量の影響を慎重に検討する必要がある。発表の前半では、当教室で最近解析を終えた構造画像研究の中から、1) 大脳皮質・白質体積と頭蓋内容積の関連について、2) 年齢依存性の皮質厚の変化、3) 白質構造の左右半球非対称性について、

の解析結果を紹介したい。発表の後半では、統合失調症の社会認知に関して当教室で進めている一連の研究の中から、最近解析を終えた、1) alexithymia, 2) autistic quotient, と灰白質体積との関連の研究を中心に紹介したい。統合失調症における社会認知障害と脳構造異常の関連は、社会認知のドメインごとにそれぞれ異なっており、シンプルな機能局在仮説で統合失調症の社会性障害を理解することの困難さを示している。

(13) 時間・リスク選好の経済学的な測定 ～喫煙に関する調査を例として～

後藤 励（甲南大学経済学部）

生活習慣病が疾病の中心になるにつれて、禁煙や食事の節制、運動といった予防行動が医療とりわけ医療費に与える影響が注目されている。予防行動は、現在の行動

が将来の疾病リスクを軽減することになるが、確実に減るというわけでもない。したがって経済学的には、予防行動を異時点間の選択とリスク下の選択であるにとら

え、個人の多様性を、時間選好率や危険回避度の違いで説明しようと試みてきた。筆者らは、近年環境経済学・医療経済学の分野で使われている Discrete Choice Experiment (離散選択実験) の方法を応用し、10 問程度の質問で、時間選好率と危険回避度を同時に推定する方法を開発した。700 名の喫煙者・非喫煙者に対して調査したところ、過去喫煙者、生涯非喫煙者、現在喫煙者の順で時間選好率が高くなる、つまり現在の利益を重視する選好を持つことがわかった。また、危険回避度に関し

ては、過去喫煙者、生涯非喫煙者、現在喫煙者の順で危険回避度が低くなる、つまりリスクを過小評価する選好を持つことがわかった。また、600 名の過去 1 ヶ月間に禁煙を開始した喫煙者を追跡調査したところ、途中で禁煙を失敗したものは時間選好率が高まり、禁煙に成功したものは時間選好率が低まることがわかった。生活習慣と時間・リスク選好との関連や、その変化についての知見は、予防動向に関するインセンティブ付けの方法に対しても示唆を与えるものである。

(14) 教育・社会心理学と脳科学とのリンク

松元健二 (玉川大学脳科学研究所)

教育心理学を専門とする研究者や社会心理学を学んだ後で神経科学を始めた研究者との共同研究により、従来は教育心理学や社会心理学のトピックであった「内発的動機づけの外的報酬によるアンダーマイニング効果」や「達成目標の動機づけへの影響」、あるいは社会心理学においてその真偽に関して議論の起きていた「選択による選好変化」の神経基盤にアプローチした。心理学の分

野で行動として実証されてきた現象の神経科学的な実体を明らかにすることにより、その真偽がより明確となり、ときにはその真偽が決められる。このように教育・社会心理学と脳科学とのリンクによって、実社会においても重要な心理学的現象を、より完全な理解に導くことになったと思われる私たちの研究の例を紹介する。

(15) ニューロイメージングで人間の社会行動の何がわかるか

加藤淳子 (東京大学大学院法学政治学研究科)

人間の行動や決定は、社会科学、自然科学を問わず、重要な研究対象である。社会科学は、制度や社会の環境に焦点をあて、それらが人間の行動や決定にどのような影響を与えるかを研究対象としてきた。国、国際関係のレベルにおける、法的ないし物理的強制力を持つ決定も、人間の心理・認知過程に大きく影響される。これらを研究対象とする政治学において、心理・認知過程に直接関わるデータを得ることはできなかったことは大きな制約条件であった。この意味で、価値判断や認知に関わる脳活動を分析の対象とできる脳神経科学実験は、人間の社会行動や決定についての理解を深める上で魅力的である。しかしながら、実験的状況と現実との差異、また複雑な人間行動に関わる結果の解釈などの課題は多い。fMRI (機能的磁気共鳴画像法) によるニューロイ

メージングを含む非侵襲的脳機能計測技術の進歩にもかかわらず、プロスペクト理論、時間割引モデル等、行動経済学モデルを応用したニューロエコノミクス分野を除けば、実際の現象に即した形での社会行動や決定に関わる脳神経科学実験は、いまだ限られる。特に政治行動や決定においては、象徴や価値に関わる行動や決定を、脳活動や脳内現象とどう関係づけるかが大きな課題となっている。ここでは、政治学者である筆者らが、脳神経科学者と共同で行った fMRI 実験や既存研究の結果から得られる含意を紹介することで、この新しく生まれつつある分野の現状を具体的に示す。研究において実際に遭遇する問題から、新しく確立しつつある分野を、社会科学者の立場から、学際的にアプローチする

15. 第5回 Motor Control 研究会

2011年6月16日－6月18日

代表・世話人：星 英司（東京都医学総合研究所）

提案代表者：関 和彦（国立精神・神経医療研究センター）

所内対応者：伊佐 正（生理研・認知行動発達）

（特別講演）Cortical motor areas

丹治 順（東北大学脳科学センター）

シンポジウム

（シンポジウム1）非侵襲脳機能計測による運動制御研究の基礎と臨床

（S1）運動の実行と想像

花川 隆（国立精神・神経医療研究センター）

（S2）運動機能の喪失と回復

服部憲明（森之宮病院）

（S3）運動の開始と停止

美馬達哉（京都大学）

（S4）随意運動の正常と異常：運動障害疾患における随意運動制御障害の神経生理研究

花島律子（東京大学）

（シンポジウム2）咀嚼機能研究の最前線

（S5）Multi modal approach to neural signal analysis on mastication system- gateway to complex discrete-continuous hybrid dynamical model analysis

高橋和貴（University of Chicago）

（S6）三叉神経運動ニューロンを制御する神経機構 Neuronal Mechanisms Controlling Trigeminal Motoneurons

吉田 篤（大阪大学）

（S7）開口筋・閉口筋を支配する神経ネットワーク：狂犬病ウイルスを用いた逆行性多シナプス解析

Neuronal networks innervating jaw-opener and jaw-closer muscles: A retrograde transneuronal tracing study with rabies virus in rat

畑中伸彦（生理学研究所）

（S8）新生マウス脳幹摘出標本におけるリズム的な顎運動の誘発 Rhythmic jaw movement in the isolated brainstem preparation from neonatal mice

中山希世美（昭和大学）

（シンポジウム3）四肢の筋肉骨格系の特徴とその特性をうまく利用した運動制御

（S9）ナメクジウオからヒトに共通する拮抗筋制御 Antagonistic pair muscle control systems, consistently exist from Lancelet to Human. ー上陸劇を演出した二関節筋ー -Unique control properties of Bi-articular muscle directed the Landing drama-

熊本水頼（京都大学）

（S10）筋骨格構造を利用したヒト型ロボットの跳躍

細田 耕（大阪大学）

(S11) 最適フィードバック制御モデルと筋骨格系への適用 Optimal Feedback Control Model and the Application to Musculoskeletal Systems

植山祐樹 (東京工業大学)

(S12) 最適制御と運動学習

井澤 淳 (ATR 脳情報研究所)

(シンポジウム 4) 最新技術を用いた神経システム研究

(S13) 上丘をめぐる神経回路のユニークな解析法

金田勝幸 (北海道大学)

(S14) 光制御法とイメージングを用いた運動野研究の進展

松崎政紀 (基礎生物学研究所)

(S15) 経路選択的・可逆的神経伝達遮断法を用いた随意運動出力経路の解析

伊佐 正 (生理学研究所)

一般口演

(1) 運動軌跡情報をコードする末梢神経の検出

梅田達也 (生理学研究所)

(2) サルの神経活動から指先の力を予測する研究

辛 徳 (東京工業大学)

(3) fMRI 脳活動を用いた 2 つの異なる複雑な指系列運動の判別

南部功夫 (情報通信研究機構未来 ICT 研究所)

(4) サル一次運動野における ECoG による運動関連皮質内神経活動の推定

渡辺秀典 (生理学研究所)

(5) 多関節外骨格構造を有するラット神経-車体インターフェース RatCar-Ex を用いた
歩行制御系のモデル化に関する検討

深山 理 (東京大学)

(6) BMI 型上肢アシストスーツによる多様なリハビリ運動実現のための多関節制御手法

櫻田 武 (国立障害者リハビリテーションセンター研究所)

(7) バイオフィードバック刺激装置の開発

加藤健治 (総合研究大学)

(8) iSLR : fMRI デコーディングのための新たなパターン識別法の提案

廣瀬智士 (国際電気通信基礎技術研究所)

(9) 経頭蓋直流電気刺激を用いた線条体細胞外ドパミン濃度の調節

田中智子 (国立精神・神経医療研究センター)

(10) 単相性 4 連発磁気刺激法が刺激直下の脳血流に与える影響の検討

グロイス純 (福島県立医科大学)

(11) 咀嚼運動リズムの随意的調節の変化が脳機能に及ぼす影響をみるための基礎的検討 I

松浦康之 (福井大学)

(12) サル脚橋被蓋核ニューロンの周期発火とサックード抑制応答

岡田研一 (大阪大学)

(13) 第一次視覚野損傷後の視覚誘導性サックードにおける網膜視蓋経路の役割

加藤利佳子 (生理学研究所)

- (14) 眼球運動のタイミング制御における前頭葉背内側部のはたらき
國松 淳 (北海道大学)
- (15) 健常者における膝歩きと歩行の運動特性の違い
倉山太一 (東京湾岸リハビリテーション病院)
- (16) ヒトとニホンザルの二足歩行における脚関節間協調の比較
垣内田翔子 (山口大学)
- (17) 歩行周期間の運動ゆらぎに基づく関節間協調を介した歩行制御機構の検討
船戸徹郎 (京都大学)
- (18) α -キメラリノックアウトマウスの歩行中枢における腰髄局所回路の出力パターン解析
西丸広史 (筑波大学)
- (19) 正常歩行と揃い型歩行時の大脳皮質活動の違い
植田耕造 (畿央大学)
- (20) 曲線上歩行による歩行非対称性の改善
河島則天 (国立障害者リハビリテーションセンター研究所)
- (21) 同一速度下の歩行・走行間における学習効果の転移の有無
小川哲也 (国立障害者リハビリテーションセンター研究所)
- (22) Microvascular endothelial cells transplantation improves the locomotor function after lacunar infarction
in the rat internal capsule
Puentes Sandra (国立精神・神経医療研究センター)
- (23) 人工神経接続を利用した歩行様運動の随意制御
笹田周作 (生理学研究所)
- (24) 運動の視覚情報が体性感覚-運動統合に与える影響
和坂俊昭 (生理学研究所)
- (25) 実行訓練後と運動イメージ後の両側間転移効果の比較について
雨宮 薫 (東京大学)
- (26) 近赤外分光法 (NIRS) を用いたニューロフィードバックによる運動想像時の脳活動変
三原雅史 (社会医療法人大道会 森之宮病院)
- (27) マカクザルの前頭前野におけるタスクフェーズの多重表現
佐賀洋介 (玉川大学・脳科学研究所)
- (28) 他者の動きを予測する？ 倒立振子モデルを用いたアプローチ
藤井慶輔 (京都大学)
- (29) パーキンソン病患者では Libet 課題での運動開始意図の認識に異常がある
梶 勇人 (京都大学)
- (30) Effect of endpoint error on trajectory adaptation during force field learning: experiment
Ganesh Gowrishankar (情報通信研究機構・未来 ICT 研究所)
- (31) Effect of endpoint error on trajectory adaptation during force field learning: Model
池上剛 (NICT/ATR 脳情報研究所)
- (32) 円運動における上肢運動の左右差の解析
大山剛史 (岡山県立大学)
- (33) 連続的目標追従運動においてみられる運動制御の間欠性
阪口 豊 (電気通信大学)

- (34) 手話翻訳実験によるジャーク最小規範に基づく経路点の抽出法の検討
猪狩晋平 (豊橋技術科学大学)
- (35) 両手運動と鏡像錯覚に着目した運動制御に関する研究
坂尻太司 (名古屋工業大学)
- (36) 視覚フィードバックの遅れによる視覚運動課題の学習低下が、遅れに適応することで軽減される
本多卓也 (東京大学)
- (37) 視覚運動変換学習における潜在的な複数の視覚エラー処理過程
春日翔子 (東京大学)
- (38) 視野移動の段階的導入はプリズム順応の長期効果を促進するか？
内村元昭 (順天堂大学)
- (39) 心理社会的ストレスがピアノ演奏中の筋活動及び事象関連脱同期に及ぼす影響
吉江路子 (順天堂大学)
- (40) サル頸髄に留置された電極アレイによる刺激効果の長期的変化
矢口博彬 (東京大学)
- (41) 覚醒動物の随意運動制御における脊髄反射回路の機能
金 祉希 (国立精神・神経医療研究センター)
- (42) 把握運動の筋シナジー形成に関わる脊髄介在ニューロン活動
武井智彦 (国立精神・神経医療研究センター)
- (43) 手首運動課題中のサル小脳プルキンエ細胞の単純スパイク活動の変化
石川享宏 (東京都医学総合研究所)
- (44) チャネルロドプシン2を用いた光刺激マッピングによる前肢運動野と運動野間機能的結合の同定
大久保文貴 (総合研究)
- (45) 動作の企画、準備、実行を反映する細胞活動の6つの運動領野内の分布
中山義久 (玉川大学)
- (46) RMPモデルを用いた人間の動作バランスの解析：重心まわりの角運動量の影響
SUNG ChangHyun (名古屋大学)
- (47) 手先振動抑制の関節間協調に視覚情報は影響するのか
東郷俊太 (名古屋大学)
- (48) 二肢協調運動の制約が発生する要因
中川剣人 (早稲田大学)
- (49) 三次元キネマティック・シナジーの抽出法
藤原祐介 (電気通信大学)
- (50) ゴール指向性共同課題の運動学習：相手を知己を知ることの影響
阿部匡樹 (東京大学)
- (51) 「褒められること」によって手続き運動技能は身に付きやすくなる
菅原 翔 (総合研究大学)
- (52) 神経細胞の冗長性は運動学習の速度を最大化する
瀧山 健 (東京大学)
- (53) 力場学習に伴う皮質脊髄路の興奮性の変化
門田 宏 (東京大学)
- (54) 第一次運動野損傷後の把握動作回復に対する運動前野腹側部の役割
村田 弓 (産業技術総合研究所)

- (55) Independent activation of primate corticomotoneuronal cells and target muscles demonstrated by operant conditioning

西村幸男 (生理学研究所)

- (56) Changes in directional tuning of motor cortex cells driving an artificial corticospinal connection in monkeys

西村幸男 (生理学研究所)

- (57) Primate corticospinal connections can be strengthened by prolonged spike-triggered stimulation of spinal cord during free behavior

西村幸男 (生理学研究所)

【参加者名】

芦塚あおい (京都大学), 阿部匡樹 (東京大学), 雨宮 薫 (東京大学), 荒牧 勇 (中京大学), 猪狩晋平 (豊橋技術科学大学), 池上 剛 (NICT/ATR), 伊佐 正 (生理学研究所), 井澤 淳 (ATR 脳情報研究所), 伊澤佳子 (東京医科歯科大学), 石川享宏 ((財)東京都医学総合研究所), 井関一海 (東北大学), 伊藤孝佑 (東京大学), 井上雅仁 (順天堂大学), 今川弘章 (京都大学), 植田耕造 (畿央大学), 上原信太郎 (京都大学), 植山祐樹 (東京工業大学), 内村元昭 (順天堂大学), 宇野洋二 (名古屋大学), 梅田達也 (生理学研究所), 大久保文貴 (総合研究), 太田 憲 (慶應義塾大学), 大屋知徹 (国立精神・神経医療研究センター), 大山剛史 (岡山県立大学), 岡田研一 (大阪大学), 岡林亜紀 (東京医科歯科大学), 小川哲也 (国立障害者リハビリテーションセンター研究所), 奥村 哲 (静岡理工科大学), 垣内田翔子 (山口大学), 香川高弘 (名古屋大学), 笥 慎治 ((財)東京都医学総合研究所), 春日翔子 (東京大学), 加藤健治 (総合研究大学), 加藤孝基 (早稲田大学), 加藤利佳子 (生理学研究所), 門田 宏 (東京大学), 門田浩二 (大阪大学), 金沢星慶 (京都大学), 金田勝幸 (北海道大学), Ganesh Gowrishankar (情報通信研究機構 未来 ICT 研究所), 川合 悟 (帝塚山大学), 河島則天 (国立障害者リハビリテーションセンター研究所), 菊地 豊 (脳血管研究所美原記念病院), 岸淵 薫 (京都大学), 木内隆裕 (京都大学), 金 祉希 (国立精神・神経医療研究センター), 木村大輔 (大阪大学), 國松 淳 (北海道大学), 久保拓哉 (誠愛リハビリテーション病院), 熊本水頼 (京都大学), 倉山太一 (東京湾岸リハビリテーション病院), グロイス純 (福島県立医科大学), 後藤遙介 (京都大学), 小林 康 (大阪大学), 五味裕章 (NTT コミュニケーション科学基礎研究所), 小山総市朗 (河村病院), 斉 亮 (東京大学), 佐賀洋介 (玉川大・脳科学研究), 阪口 豊 (電気通信大学), 坂尻太司 (名古屋

工業大学), 櫻田 武 (国立障害者リハビリテーションセンター研究所), 笹田周作 (生理学研究所), 篠田義一 (東京医科歯科大学), 下門洋文 (筑波大学), 鄭 柱錫 (東京大学), 辛 徳 (東京工業大学), 菅原 翔 (総合研究大学), 杉内友理子 (東京医科歯科大学), 鈴木隆文 (東京大学), 関 和彦 (国立精神・神経医療研究センター), SUNG ChangHyun (名古屋大学), 高田宗樹 (福井大学), 高橋和貴 (University of Chicago), 高橋恵一 (早稲田大学), 高橋 真 (広島大学), 高橋真有 (東京医科歯科大学), 瀧山 健 (東京大学), 武井智彦 (国立精神・神経医療研究センター), 橘 吉寿 (生理学研究所), 田中智子 (国立精神・神経医療研究センター), 田中真樹 (北海道大学), 田中みき (愛知県済生会病院), 梶 勇人 (京都大学), 玉那覇迅 (誠愛リハビリテーション病院), 丹治 順 (東北大学), 東郷俊太 (名古屋大学), 内藤栄一 (情報通信研究機構), 中川剣人 (早稲田大学), 長坂泰勇 (理化学研究所), 中畑頼枝 (誠愛リハビリテーション病院), 中山希世美 (昭和大学), 中山義久 (玉川大学), 南都智紀 (県立広島大学), 南部功夫 (情報通信研究機構未来 ICT 研究所), 西丸広史 (筑波大学), 西村幸男 (生理学研究所), 野崎大地 (東京大学), 野村浩之 (高邦会 高木病院), 則武 厚 (関西医科大学), 橋爪善光 (山口大学), 畑中伸彦 (生理学研究所), 服部憲明 (森之宮病院), 花川 隆 (国立精神・神経医療研究センター), 花島律子 (東京大学), 浜岸信治 (豊橋技術科学大学), 平理一郎 (東京大学), 平松佑一 (大阪大学), 廣瀬智士 (国際電気通信基礎技術研究所 (ATR)), Puentes Sandra (国立精神・神経医療研究センター), 深山 理 (東京大学), 福谷充輝 (早稲田大学), 福富利之 (リハビリテーション花の舎病院), 福村直博 (豊橋技術科学大学), 藤井慶輔 (京都大学), 藤原祐介 (電気通信大学), 淵 雅子 (誠愛リハビリテーション病院), 船戸徹郎 (京都大学), 星 英司

(東京都医学総合研究所), 細田 耕 (大阪大学), 本多卓也 (東京大学), 前田和孝 (近畿大学), 正水芳人 (基礎生物学研究所), 松浦康之 (福井大学), 松崎政紀 (基礎生物学研究所), 松本和久 (明治国際医療大学), 水口暢章 (早稲田大学), 三原雅史 (社会医療法人大道会 森之宮病院), 美馬達哉 (京都大学), 宮下英三 (東京工業大学), 宮地庸祐 (三仁会あさひ病院), 宮本 順 (東京医科歯科大学), 村田 哲 (近畿大学), 村田 弓 (産業技

術総合研究所), 森 洋貴 (京都大学), 矢口博彬 (東京大学), 山内真帆 (札幌医科大学), 山越聖子 (東北大学), 山下大地 (京都大学), 山本真史 (京都大学), 山本千鶴 (社会福祉法人日吉たには会 老人保健施設はぎの里), 山本洋之 (姫路獨協大学), 山脇 学 (東京大学), 横井惇 (東京大学), 吉井裕八 (京都大学), 吉江路子 (順天堂大学), 吉田 篤 (大阪大学), 和坂俊昭 (生理学研究所), 渡辺秀典 (生理学研究所)

【概要】

平成 23 年度の本研究会には 148 名の参加があった。世話人は東京都医学総合研究所の星英司であった。参加者の平均学位習得後年は約五年であり, また工学・体育・リハビリテーションなど学際分野からの参加者が大半をしめた。従って, 若手・中堅中心の学際分野を含めた参加者が多数集まるという目的は今年度も達成されていると考えられる。また本研究会ではボトムアップ的な運営

を行うという方針から, 希望者には全員発表をしてもらうという新たな試みを行った。その結果, 合計 57 の口演+ポスター発表があり, 活気のある議論が行われた。特別講演では世界のシステム神経科学研究を長年リードされてきた丹治順先生にお願いし, 若い世代研究者にとっては今後の研究生生活のよい指針となった。

シンポジウム

(シンポジウム1) 非侵襲脳機能計測による運動制御研究の基礎と臨床

オーガナイザー: 花川 隆 (国立精神・神経医療研究センター)

(S1) 運動の実行と想像

花川 隆 (国立精神・神経医療研究センター)

運動の想像とは筋活動を発生させずに運動を心内でシミュレーションする機能と定義され, 通常意識的に行う場合を指す。筋活動を伴わないことから運動実行とは一線を画する認知操作の一種である一方で, 運動実行との共通点も多いことから, 運動機能と認知機能の関係を考える上で多くの研究者の興味を引いている。(1) 運動想像に要する時間は身体的制約を受ける (例えば, 身体的に困難な運動の想像には時間がかかる)。(2) 運動想像

中に運動野に経頭蓋磁気刺激を与えると誘発筋電図が増大する。(3) 運動想像中の脳活動をイメージングすると運動関連脳領域の活動が見られ, しかも特定の身体部位の想像により運動野の身体図式に一致する活動が観察される。これらの特徴から運動想像をリハビリテーションに併用したり, 運動想像中の脳活動を計測し brain-machine interface に使用したりする社会応用の試みが積極的に行われている。

(S2) 運動機能の喪失と回復

脳血管障害による運動障害と回復過程における神経イメージング研究

服部憲明（森之宮病院 神経リハビリテーション研究部）

脳血管障害は日本人の死因の第3位を占め、身体障害者、要介護に至る原因として最大の疾患である。従って、超高齢化社会において、脳血管障害の一次、二次予防とともに、発症した患者の予後、特に運動機能予後を改善させることは非常に重要な課題である。脳血管障害の急性期から亜急性期にかけては、局所の浮腫や虚血、ペランブラなどの病理学的な要因が改善されることで、ある程度運動機能が回復することは一般にみられる。さらに、この時期を過ぎても、*use-dependent*に機能回復が続く例があることが経験的に知られているが、その背景に機能的再編成などの脳の可塑的な変化が起きていることが基礎研究、神経生理学的あるいは神経イメージングによる臨床研究から明らかになってきた。そして、現在、この可塑的变化を促進させる手法 (*neuromodulator*) を見

いだすことが神経リハビリテーション研究の大きなテーマになっている。PET、機能的MRIや機能的近赤外線分光計 (*fNIRS*) などの神経イメージング研究により、運動機能の改善に伴い、麻痺肢の運動に際し、両側性の運動野の活動が一側性で限局した、正常に近いパターンに収束していく傾向があることが明らかになっている。我々は、*neuromodulation* の対象となるリハビリテーションという運動学習経験がそもそもどのように脳活動に影響を与えているのか、また、*neuromodulator* としての運動想起や *neurofeedback brain machine interface (BMI)* の脳活動やパフォーマンスへの影響について、神経イメージングによる検討をおこなっている。本シンポジウムでは、これまでに得られた成果について報告する。

(S3) 運動の開始と停止

ヒト抑制機能の脳内機構 TMS と fMRI による検討

美馬達哉, Reda Badry, 梶 勇人, 福山秀直（京都大学大学院医学研究科附属脳機能総合研究センター）

複雑な状況の下での行動の統御の場合、運動の実行と抑制とがともに必要とされる。抑制機能の研究で、Go/No-Go 課題と並んでよく用いられるものに、Stop-signal 課題がある。これは、被験者は、Go 刺激の直後 (50-300 ミリ秒) に stop 刺激が与えられた際に、準備中の運動を抑制して反応しないことが求められるものである。この実験課題では、個人の反応時間にあわせて Go 刺激と stop 刺激の時間間隔を調節することで、課題の難易度を標準化して、正答反応を 50%程度にすることができる。この Stop-signal 課題を遂行中の脳活動について、正常被験者を対象として、事象関連 TMS (経頭蓋的磁気刺激法) と fMRI による検討を行った。事象関連 TMS の実験では、stop 刺激と一定の時間差で、上肢または下

肢の一次運動野 (M1) に TMS を施行して、本課題での抑制機能が M1 興奮性を能動的に抑制しているかどうかを検討した。その結果、一方の上肢での抑制であっても、左右上肢はもちろん下肢の M1 興奮性の低下も生じていることを発見した。事象関連 fMRI の実験では、上肢または下肢を用いて同じ Stop-signal 課題を遂行して、SPM5 を用いて解析した。その結果、運動抑制の体部位にかかわらず、両側腹側前頭前野 (VLPFC) 前補足運動野 (pre-SMA) の活性化が認められた。このいずれの部位でも、上下肢での体部位局在は見だし得なかった。以上の結果は、運動抑制機能での体部位局在は明確でなく、個別の体部位での運動遂行に対して高次の統御機能を反映していることを示唆する。

(S4) 随意運動の正常と異常:運動障害疾患における随意運動制御障害の神経生理研究

花島 律子 (東京大学医学研究科神経内科)

随意運動の速やかな遂行には、動きに必要な筋肉の収縮と不要な筋肉の収縮の抑制が行われ、筋肉の収縮は正確なリズムを保ち、複数の筋肉間の正しい連携が必要であると考えられる。中枢神経内のこれらの調節が正しく機能しない場合には、運動の遂行が拙劣もしくは不可能になるほかに、意図しない異常な運動が生じるということがある。異常な運動、即ち不随意運動という症状である。不随意運動の発生機序はまだ不明な点も多いが、不

随意運動の生理学的機序を解明することで、逆に正常な運動調節を知ることができるであろう。最近では、経頭蓋的磁気刺激法を用いて非侵襲的にヒトの運動野の興奮性変化を検査することが可能になり、種々の不随意運動での運動調節の変化が検討されてきている。今回は、皮質性ミオクローヌスや局所性ジストニア、振戦、舞踏運動を示すハンチントン病などで知られている知見を紹介する。

(シンポジウム2) 咀嚼機能研究の最前線

オーガナイザー: 高橋和貴 (シカゴ大学)

Mastication systems include a complex array of neural and musculoskeletal structures. These are powerful model systems for studies of various important themes in motor control, such as coordination of multiple oscillating components and differences between control of discrete and rhythmic systems. Disorders of these systems, such as dysarthria, TMDs, orofacial pain and dysphagia, have a wide range of etiologies with far-reaching consequences for large

numbers of people. Despite their clinical and scientific importance mastication systems are not as well represented in motor control community and communication between traditional ” motor control and mastication has not been well established. In this symposium, we will have a line of speakers presenting state of the art approaches to understand/characterize and integrate various components involved in mastication systems.

(S5) Multi modal approach to neural signal analysis on mastication system - gateway to complex discrete-continuous hybrid dynamical model analysis

Kazutaka Takahashi, Kevin Brown, Jose Iriarte-Diaz, Nicholas Hatsopoulos, Callum Ross
(Department of Organismal Biology and Anatomy, University of Chicago)

The orofacial area of the primary motor cortex (M1) is involved in control of voluntary, semiautomatic and rhythmic movements of the tongue and jaw during ingestion, chewing and swallowing behaviors. Yet, its operations and functions have never been studied through simultaneously recorded neuron populations and local field potentials (LFPs). We implanted a Utah array in M1 on the left hemispheres of two macaque monkeys. While the monkeys were performing a

manual feeding task, both unit spiking activities and LFPs were recorded while tongue and jaw kinematics were captured using videofluoroscopy and a 3D motion tracking system at spatially and temporally high resolutions. LFP results show that multiple frequency bands signal transitions between feeding behaviors (e.g., ingestion to chewing). First, beta oscillations (15-30 Hz) increase its power immediately before swallow following a preferred unilateral chew cycle.

Second, two bands of gamma oscillations (40–55 Hz and 65–85 Hz respectively) increase their power around the time of transitions from food manipulations to the first chewing cycle. Third, both beta and gamma oscillations are spatiotemporally organized and form planar waves that propagate along the rostrocaudal axis on the cortex. Fourth, the delta range (1–2 Hz) increases its power around transitions between chewing and swallowing, and the number of the delta cycles with high power appears to be related to specific types of kinematic event transitions. Population spiking analysis, using the generalized linear model framework in combination with dimensionality reduction techniques, shows that it is possible to decode jaw and tongue kinematics better from a population of neurons as opposed to responses of single neurons and furthermore, various discrete quantities

such as kinematic cycle transitions as well as chew numbers are encoded in the population response. If time allows, recent results on changes in causally related networks of subpopulations of neurons around the cycle transitions will be presented. Taken together, our results suggest that combinations of different bands of LFPs indicate specific cycle/context changes and spiking activities at a population level follow similar behavior in addition to encoding of continuous kinematics. Combinations of our methods enable us to characterize both discrete states and continuous kinematics that are blended in a very complex manner in mastication system. Furthermore, approaches like ours may enable us to theoretically characterize and analyze inherently hybrid dynamical systems such as mastication systems.

(S6) 三叉神経運動ニューロンを制御する神経機構 Neuronal Mechanisms Controlling Trigeminal Motoneurons

吉田 篤（大阪大学大学院歯学研究科高次脳口腔機能学講座（口腔解剖学第二教室））

質の高い QOL のためには顎運動が健全であることが極めて重要であり、そのためにも、顎運動を支配している神経機構を明らかにすることは有意義である。顎運動は開口筋と閉口筋の活動によって引き起こされる。我々はこれまで、ネコまたはラットを用い、開口筋運動ニューロンと閉口筋運動ニューロンを制御している中枢性および末梢性の神経機構の研究を行ってきた。本口演では、単一閉口筋運動ニューロンがどのようにして興奮性または抑制性の入力を受けて制御されているのかについて説明したい。我々はまず、単一閉口筋運動ニューロンの細胞体および樹状突起上に接合する興奮性終末お

よび抑制性終末の分布を調べ、後肢を支配する運動ニューロンよりも接合が多いことを見つけた。次に、閉口筋運動ニューロンを興奮させる単一中脳路核ニューロンの神経機構と抑制する単一三叉神経吻側核ニューロンの神経機構を調べた。両入力機構を比較した結果、単一興奮性ニューロンは少数の閉口筋運動ニューロンを興奮させるが、単一抑制性ニューロンは多数の閉口筋運動ニューロンを抑制することが明らかになった。このような神経機構が、精緻な顎運動の発現にとって重要であると考えられる。

(S7) 開口筋・閉口筋を支配する神経ネットワーク：狂犬病ウイルスを用いた逆行性多シナプス解析 Neuronal networks innervating jaw-opener and jaw-closer muscles: A retrograde transneuronal tracing study with rabies virus in rat

畑中伸彦（生理学研究所）

開口筋・閉口筋に投射する神経系を狂犬病ウイルス

(CVS-11) で逆行性多シナプス解析を行った。狂犬病ウイ

ルスを顎二腹筋前腹、もしくは咬筋に注入し、84 から 120 時間の 12 時間ごとのステップで生存期間を設けた。注入された狂犬病ウイルスは逆行性に伝播した。皮質下構造体の感染状態で 5 つのステージに分けた。その結果、ステージ 1 では三叉神経運動核のみに、ステージ 2 では運動核に直接投射している中脳脳幹網様体や内側結合腕傍核、Klilker-Fuse 核三叉神経感覚核群の細胞が感染していた。ステージ 3 では一つ細胞を介して運動核に投射

している、大脳皮質や扁桃核、視床下核、不確帯、視床髄板内核群、脚内核、黒質網様部、小脳核群、中心灰白質、上丘、赤核の細胞が感染していた。ステージ 4 ではさらに、小脳皮質や線条体、淡蒼球の細胞に感染が広がっていた。開口筋、閉口筋への投射領域が大きく違っている所は少なかったが、線条体背外側部は開口筋だけに関連していた。

(S8) 新生マウス脳幹摘出標本におけるリズムミクな顎運動の誘発 Rhythmic jaw movement in the isolated brainstem preparation from neonatal mice

中山希世美, 伊原良明, 井上富雄 (昭和大学歯学部口腔生理学教室)

吸啜は哺乳類の新生仔に見られる顎のリズムミクな運動である。この運動は、口唇や口腔内の触刺激によって誘発される反射であることが知られている。我々は、口唇や口腔粘膜の触・圧覚を伝える神経が通る三叉神経感覚根を電気刺激することにより、新生マウスの脳幹摘出標本においてリズムミクな顎運動、および、それに対応する三叉神経運動根でのバースト発射を誘発することに成功した。このようなバースト発射は、顔面神経核

の尾側で延髄を横切断することにより消失した。また、脳幹摘出標本に神経伝達物質の受容体拮抗薬を投与したところ、NMDA 型グルタミン酸受容体拮抗薬である APV によりバースト発射は消失し、GABA_A 受容体拮抗薬である SR95531 によりバースト数が増加した。このことから、バースト発射の形成に NMDA 型グルタミン酸受容体と GABA_A 受容体を介した入力が関与していることが示唆された。

(シンポジウム3) 四肢の筋肉骨格系の特徴とその特性をうまく利用した運動制御

オーガナイザー：宮下英三 (東京工業大学)

(S9) ナメクジウオからヒトに共通する拮抗筋制御 ー上陸劇を演出した二関節筋ー

熊本水頼 (京都大学名誉教授)

古生代カンブリア紀の初め、凡そ 5 億 7 千万年前に現れて現世まで殆ど変わらぬ姿で泳ぎ回っている脊索動物のナメクジウオ (Lancelet) からヒトに至る進化史を運動制御という視点から検証すると拮抗筋ペアの神経支配回路システムが共通する運動制御基本原理となっている。ナメクジウオは水生動物だが原始魚類へと進化し、肉鰭類の一部が上陸に成功して原始両生類へと進化

する。その時、四肢に拮抗一関節筋、拮抗二関節筋を装備することが出来たので、原始両生類の貧弱な中枢でもその制御に成功した。爾来、ヒトを始め陸上動物の四肢リンク機構には拮抗二関節筋は不可欠の存在で、動物特有の出力特性、制御機能特性の発現に貢献している。このことを工学モデルによって検証した結果を紹介するのが本論文の主旨である。

(S10) 筋骨格構造を利用したヒト型ロボットの跳躍

細田 耕（大阪大学大学院情報科学研究科）

ヒトの身体は、骨格、関節、腱、筋肉からなっており、本質的に非常に冗長な構造をしている。このような構造は、適応的な運動を生成するために大きく貢献していると考えられる。ロボットによって、このような筋骨格構造を再現し、その機能を確かめることによって、ヒトの

運動知能を理解できるのではないだろうか。本講演では、このような立場に立って、下肢の5対9筋構造を模したロボットで跳躍を実現することにより、跳躍に関するヒトの運動知能に迫る研究を紹介する。

(S11) 最適フィードバック制御モデルと筋骨格系への適用

植山祐樹（東京工業大学大学院 総合理工学研究科 知能システム科学専攻）

上肢到達運動における運動計画に関する研究は、1980年以降、盛んに実施されるようになり、その軌道を実現するために、多くの計算モデルが提案されている。その中の代表的なモデルとして、終端位置制御仮説、仮想軌道制御仮説、躍度最小モデル、トルク変化最小モデル、運動指令最小化モデル、終端誤差分散最小モデル、そして最適フィードバック制御モデルがある。

終端位置制御仮説および仮想軌道制御仮説は、筋のばね特性を利用し、主働筋と拮抗筋の釣り合う平衡位置により、軌道が決定されるというものであるが、1990年代に入り運動中の腕の機械的剛性が計測可能となったことで、筋の平衡位置に基づいた軌道は曲がりくねらないと直線的な軌道を実現できないことが示された。

躍度最小モデルおよびトルク変化最小モデルは、ともに軌道の滑らかさを評価指標としたモデルである。躍度最小モデルがデカルト空間上におけるキネマティクスのみを考慮しているのに対し、トルク変化最小モデルは関節空間におけるダイナミクスを考慮したものとなっている。しかし、これらのモデルでは、筋による作用が考慮されていないため、腕の機械的インピーダンス（剛性、粘性および慣性）の変化を説明することができない。運動指令変化最小モデルは、筋へ入力される神経インパルス等の運動指令の総和を最小化するものであり、インピーダンスの変化についても説明することができるが、このモデルによると筋活動は常に最小化されているため、タスクの差異によって発生する筋の同時活性を説明することができない。

運動指令には、SDN (Signal Dependent Noise) と呼ばれる運動指令の大きさに比例したノイズが加わることが確認されており、終端誤差分散最小モデルはSDNの存在を仮定した上で、終端誤差の分散を最小化するための運動指令を推定する。終端誤差分散最小モデルは、眼球運動に対しても、簡潔かつ統一的な計算原理を与えており、Fittsの法則として知られている実験結果とも一致する。これにより、要求される運動の精度が高くなると筋の同時活性が発生することは説明することはできるが、一方で、終端誤差分散最小モデルが正しいと仮定すると、腕のインピーダンスは、運動の要求精度が変わらなければ常に最適化されたものとなるはずである。しかし、運動の要求精度を変えずに意図的に腕の剛性を高めた状態で到達運動を実施した場合にも、終端誤差の分散が小さくなることが報告されている。したがって、SDNが運動計画に大きな役割を果たしていることは推測できるものの、終端誤差のみを評価するだけでは不十分だと考えられる。

最適フィードバック制御モデルは、運動計画または制御に関するモデルの中では最も新しいモデルである。最適フィードバック制御モデルでは、終端誤差分散モデルと同様にSDNの存在を仮定した上で、タスクに求める要件を評価関数として運動が生成される。本稿では、最適フィードバック制御モデルについて説明するとともに、腕の2関節6筋モデルに対するシミュレーション結果について紹介する。

(S12) 最適制御と運動学習

井澤 淳 (ATR 脳情報研究所)

脳が生成する運動指令は、「身体—道具—環境」が相互作用する動力学に対して状態の変化を導く。その結果、脳は運動指令に対して二つの異なる情報を受容する。一つは、視覚や固有受容器で観測する感覚情報の変化。もう一つは、状態変化の結果としてタスクが成功したか否かに関する報酬情報の変化である。運動学習とは本質的に、この二つの異なる情報を基に、運動制御機構のパラメータを更新し、タスクの成功率を高める過程である。

例えば、陸上競技の高跳びを考えてみると、1900年ごろはオリンピックにおいてもいわゆる“ハサミとび”が主流であった。選手たちが、“より楽に高く”，跳躍することを目標に様々な技術が試みられ、1960年ごろはお腹を地面に平行にする“belly-down”が主流になる。しかし、1964年に Dick Fosbury が初めて、これまでとは全く異なる背中を地面に平行にする方法 (Fosbury flop) を試みて以来、現在では、この背面跳びが最も高い記録を出すことのできる技術として認知されている。このように、ある目的を達成するための運動軌道は無限に存在する。脳はこの無限に存在する運動軌道の中から最適な軌道を試行錯誤を通じて選択する。

これは我々の日常生活に関わるような単純な運動にも当てはまる。たとえば、コーヒークップを持つために手を伸ばすような到達運動を考える。コップを持つためには、直線的な到達運動も成り立つし、右方向に曲線的に手を伸ばしても、上方向からも到達できる。我々は、日常生活において、特定の目標を実現するために、試行錯誤を繰り返し、この無限に存在する軌道の中から最適な解を選択している。すなわち、運動学習の主要な問題の一つは冗長性を解決することである。

運動制御における冗長性を代表する現象のうちの一つは、運動時間の冗長性である。先のコップに対する到達することを例にとれば、到達時間が短くても（例えば 300ms）、長くても（例えば 1s）、到達するという目標自体は達成できる。しかし、あまりに短い到達時間を設定すると、コップに到達し損ねる頻度が高くなる。Itts (1954) は被験者に対して手に持ったペンをゴール領域に出来るだけ速く出来るだけ正確に移動させるようなタスクを課した。このとき、到達時間は到達距離の対数に比例した。

この時この関係がゴールの大きさに依存することは Fitts's law (speed-accuracy tradeoff) として知られている。すなわち、大きなゴールに対しては素早く到達できるが、小さなゴールに到達するためには遅い運動が計画される。しかし見落とされがちではあるが、もう一つの無視できない要素は、ペンの慣性パラメータである。重いペンを持った時には軽いペンを持った時よりも遅い運動が計画されることが観測されている (Fitt's 1954, Shadmehr 2008)。この実験結果が示唆するのは、運動制御に含まれる冗長性の解決過程は、タスクに求められる運動の精度に拘束されるだけではなく、必要な筋力を抑え効率的な運動を行うという目標にも拘束をうけていることである。つまり、最適な運動制御は動力学のパラメータに拘束を受けることを無視することは出来ない。言い換えれば、運動学習は「身体—道具—環境」が形成する動力学を知ること、そしてこの動力学をどのように使って目標を達成するか二つのプロセスによって構成されている。

それでは、運動学習がこの2つの要素によって構成される論理的根拠とは何だろうか。この20年の間、生体運動制御研究は制御工学やロボット工学などの工学的な枠組みを用いてモデル化することで発展してきた。例えば先に挙げた Fitts's law はゴール付近での分散を最小化するような最適化問題1題の解として導かれた (Harris 1999)。この理論をより一般化し、Todorov (2002) はタスクの関連領域 (task relevant area) ではタスクに関連しない領域 (task irrelevant area) に比較すると、分散値が小さくなる事実を、確率最適制御の枠組みを用いて説明した。ここで、協調したいのは、いずれの理論も、最適化問題を解く際に、身体の動力学が拘束条件として必要不可欠である点である。脳が、学習を伴って最適な運動制御を行うとき、この最適解は、脳が持つ身体モデルによって拘束を受けているのである。実際、Izawa (2008) は環境に干渉粘性場を与えたときの運動学習後に、運動軌道が学習した環境に対する運動生成力の二乗和を最小にするような軌道が選択されることを示し、運動学習が軌道の最適化と環境の同定の二つのプロセスによって成り立っていることを明らかにした。

それでは実際に、脳はどのように「身体—道具—環境」動力学の同定と、同定されたモデルに拘束された最適化問題を、学習によって解いているのであろうか。これを明らかにするために、Izawa (2011) では、被験者に単純な視覚運動変換タスクを課したこの時、手先運動に対する視覚フィードバックとタスクの成否に関する情報の二つを同時に提示するグループ (ERR) と手先運動に対する視覚フィードバックを与えないで、タスクの成否に関する情報を提示するグループ (RWD) の二つのグループの比較を行った。視覚運動変換に対する適応は ERR および RWD 両グループ共に同程度観察された。しかし、運動記憶の空間的汎化パターンは、ERR に比較して RWD は優位に尖鋭的な形をしており、同じ運動学習に対する記憶であっても、手先軌道に関するフィードバックが無い場合には、記憶が周辺に汎化しにくいことが発見された。また、学習後に、運動方向の知覚を計測する実験では、ERR では学習中に自分実際の手先から大きく外れた

位置を自分の手先位置と知覚するような学習の副作用が観測されたのに対して、RWD では、実際の手先を正確に知覚した。これらの実験結果は ERR と RWD によって駆動される学習メカニズムは異なっており、少なくとも二つの異なるシステムが脳内で運動学習に関わっていることを示唆している。さらに、ERR では、手先の知覚が変化したことから、視覚フィードバックによって環境のモデルが学習されたことがわかる。この二つの現象は、運動学習を最適化プロセスとしてとらえる「optimal learner model」によって上手く説明できることが分かった。

運動学習に関する研究を行う際には、環境や身体の同定プロセスと、同定した対象に対する最適化問題の二つのプロセスが同時に駆動していることを意識し、観測している現象がそのどちらに関わっているのかを明らかにしながら研究を進めることが必要不可欠である。

(シンポジウム4) 最新技術を用いた神経システム研究

企画提案者：武井智彦（国立精神・神経医療研究センター神経研究所）

神経システム研究において、これまで侵襲的および非侵襲的方法を含め様々な神経活動記録手法が用いられてきた。これらの手法がはらむ問題として、(1) 神経活動と機能の相関関係としてしか捉えられず“因果関係”に迫ることができない、(2)「個々の神経活動」と「ネットワークとしての機能」を関連づけることが困難であるといった方法論的な限界が挙げられる。本シンポジウムで

は、神経システム研究における最新の技術（操作脳の実験手法、神経ネットワークイメージング手法）によって、従来の研究手法では困難であった神経システムの解析がどのように可能になるのか。最先端の現場で研究をされている先生方に現状と展望についてご自身の研究内容を含めてご解説いただく。

(S13) 上丘をめぐる神経回路のユニークな解析法

金田勝幸（北海道大学大学院薬学研究院薬理学研究室）

中脳上丘は視覚—運動情報変換の要であり、眼球サッケード運動の制御に重要な神経核である。過去十余年にわたるインビトロスライス標本を用いた研究により、その局所神経回路の動作原理に関する知見が蓄積されてきた。本トークでは主にスライス標本を用いた上丘をめぐる神経回路のユニークな解析法について紹介したい。上

丘中間層ニューロンのバースト発火は眼球サッケード運動の開始に重要である。このバースト発火の生成には黒質網様部由来のトニックな GABA 作動性入力からの脱抑制が重要であると考えられている。しかし、上丘中間層には興奮性投射ニューロンだけでなく GABA 作動性ニューロンも存在することから、黒質による上丘活動の

制御機構を理解するためには、黒質からの投射が上丘中間層 GABA 作動性ニューロンも抑制しているのか否かを明らかにすることが重要である。そこでトークの前半では、遺伝子改変動物に解剖学的・電気生理学的手法を適用することで、黒質-上丘 GABA 作動性ニューロン投射が実際に存在することを証明した研究について紹介したい。

一方、上丘の浅層は網膜と皮質一次視覚野から視覚情報入力を受けているが、それぞれの入力がどのように上丘の活動を制御しているのかは必ずしも明らかではな

い。この点を明らかにするには、各入力の選択的なブロックが有効であるが、従来の損傷や薬理学的手法では代償機構の誘導や時空間的解像度の点で問題があった。これらの問題点を克服するために、近年注目を集めている optogenetics に着目した。トークの後半では、軸索に発現させたハロロドプシンの光照射により網膜-上丘経路選択的に神経伝達を遮断する方法を開発したので紹介したい。以上の研究手法は今後 Motor Control 研究の領域でも活用できると期待される。

(S14) 光制御法とイメージングを用いた運動野研究の進展

松崎政紀 (基礎生物学研究所)

我々は約5年前から光遺伝学的手法を取り入れ、チャネルロドプシン2 (ChR2)、ハロロドプシン (NpHR) の光刺激を個体マウス大脳運動野に適用することで、運動領野やシナプス結合のマッピング、四肢運動の誘発制御が可能であることを示してきた。一方、2光子カルシウムイメージング法によって、覚醒マウス脳内の多数の細胞

活動を単一細胞レベルで同時計測することも報告され始めた。このことは運動関連細胞の時空間分布や学習過程における活動変化を追跡することも可能であることを示しており、細胞種ごとの活動を光制御することで、細胞活動と行動の因果関係の解明にも迫りうることが期待される。これらの現状と展望についてお話したい。

(S15) 経路選択的・可逆的神経伝達遮断法を用いた随意運動出力経路の解析

伊佐 正 (自然科学研究機構生理学研究所)

随意運動の指令は大脳皮質運動関連領野から皮質脊髓路を介して出力される。皮質脊髓路は高等霊長類では運動ニューロンに直接接続するようになり、この直接経路が、手指の精密な運動制御に重要であるとされている。一方で、ネコなどのより下等な哺乳類では、皮質脊髓路は直接運動ニューロンには接続せず、脊髓固有ニューロンなどの中継ニューロンを介して、最短で2シナプス性の経路によって間接的に接続する。そこでこのような系統発生的に「古い経路」である間接経路が霊長類においてはどのような機能を果たしているのかが問題になる。一つの仮説は、脊髓介在ニューロン系は多数の運動ニューロンに広汎な投射をするので、精密な筋活動の制御にはむしろ邪魔になるので積極的に抑制されているという説であり、それに対して、直接結合だけでは筋を駆

動するのには不十分なので、間接経路を介して皮質脊髓路の信号は増幅されているとする仮説がある。これまでに、我々はサルにおいて C4/C5 髄節で脊髓側索背側部を切断することで、直接経路を完全に遮断し、間接経路だけ残した場合に、数週間で手指の精密把持運動が脊髓固有ニューロン系の働きによって回復することを示してきた。しかし、このことは間接経路が直接経路の損傷後の機能代償に貢献することは示していても、通常の状態では何をしているかについてはまだ何も言えていない。そのことを知るためには、やはり脊髓介在ニューロン系を選択的かつ可逆的に遮断して行動への影響を観察する必要がある。

今回、我々は福島県立医大小林研、京大渡辺研、基生研山森研と共同し、ウィルスベクターの2重感染法を用

いて特定の経路を可逆的に遮断する方法を開発した。まずサル C6-Th1 髄節の前角にテタヌストキシンと EGFP を TRE 配列の下流に配置・搭載した高頻度逆行性レンチウイルスベクターを注入し、さらに C2-C5 髄節中間帯に増強型 Tet-ON 配列を搭載した AAV ベクターを注入した。このようにすることにより、C2-C5 髄節にあって手指の運動核に投射する脊髄固有ニューロンだけが 2 重感染し、そこでテトラサイクリン誘導体 Dox の投与によってテタヌストキシンと EGFP が翻訳されることになる。上記 2 種類のベクター注入後 1-2 カ月経過してから Dox をサルに投与すると数日後に手指の精密把持運動が障害

された。その後、灌流固定して脊髄を観察すると、従来より皮質脊髄路入力を運動ニューロンに中継することが知られている脊髄固有ニューロンが存在すると知られている中間帯外側部に EGFP の蛍光を発するニューロン群が観察された。以上のように、今回、経路選択的・可逆的に神経伝達を遮断し、かつ行動に影響を与えることができ、かつ遮断された細胞を可視化する方法論をサルにおいて確立でき、それによって皮質脊髄路から運動ニューロンに至る間接経路が通常から精密把持運動の制御に重要な役割を果たしていることを示すことができた。

一般演題

(1) 運動軌跡情報をコードする末梢神経の検出

梅田達也, 佐藤雅昭, 川人光男, 伊佐 正

(生理学研究所・認知行動発達機構, ATR 脳情報研究所, ATR 脳情報通信総合研究所)

末梢ニューロンの活動は正確に四肢の位置と動きをコードしていると考えられている。しかしながら、皮膚受容体や筋受容体といった種々の感覚ニューロンが、集団としてどのように運動軌跡をコードするか明確ではない。私達は、サルの後根神経節 (DRG) の多数のニューロン活動を同時に記録することで、上肢の運動軌跡がこれらのニューロン集団活動でどうコードされるか調べた。

2つのマルチ電極アレイを麻酔下サル頸部の DRG に挿入した。指/手首/肘関節における受動運動、及びブラシによる触覚刺激を与え、そのときのニューロン活動を記録した。手/腕の運動軌跡は、モーション・キャプチャーシステムで記録した。スパイクソーティングで 200 個以上のユニット活動を抽出し、それぞれのユニットを刺激に対する応答から皮膚受容体・筋受容体に分類した。初

めに、リニアールグレッションにより、DRG ニューロンの発火パターンから関節角度、角速度、および角加速度の経時変化を推定することができた。次に、スパースレグレッション (SR) を用いることで、より少ない数のユニットで運動軌跡情報を推定できた。SR による抽出されたユニットは、筋受容体に加え皮膚受容体を含んでいた。そこで、皮膚受容体が運動軌跡をコードしているか解析すると、皮膚受容体だけからでも適度に関節角度・角速度の経時変化を推定でき、更に、皮膚受容体の情報を加えることで筋受容体だけより精度よく推定できた。以上、SR によって運動軌跡をコードする末梢ニューロンを抽出することで、四肢の位置と動きの検知に皮膚受容器が機能していることが明らかとなった。

(2) サルの神経活動から指先の力を予測する研究

辛 徳, 武井智彦, 神原裕行, 小池康晴, 関 和彦

(東京工業大学, 精密工学研究所, 小池康晴研究室, 国立精神・神経医療研究センター)

ブレイン・マシン・インターフェース (BMI) とは、障害者のための機能ツールを提供する外部デバイスと脳の間を直接的な繋ぐ経路である。これまでの BMI のアプローチは神経活動から直接的に関節角度や方向を予測することに焦点を当てている。しかし、環境とのインタラクション時にデバイスの力制御を行うには不十分である。我々の脳は、物体を操作する際には筋肉の粘弾性を巧みに調節している。一方、筋肉の粘弾性情報は、筋電図から推定することが可能である。したがって、神経活動から筋電信号の予測が可能であれば、再構築した筋電信号から力情報や粘弾性情報を得ることでき、デバイスを自らの身体のように操作可能である。最近の研究によって M1 の活動から筋電信号を推定できることが示されているものの、粘弾性情報や力までを予測する研究は行われていない。本研究では神経活動から筋電信号を再構

築し、再構築した筋電信号を用いて指先の力を予測する新しい BMI システムを提案する。まず、ピンチングタスク中のニホンザルの M1 から単一神経活動と指の筋電信号を記録し、合計 6 組のデータセットを取得した。そして、スパース線形回帰を用いて、114 個の神経活動から 8 個の筋電信号を再構築した。再構築した筋電信号と計測したものを比較した結果、決定係数がピンチング開始時では 0.984 ± 0.004 であり、ピンチング終了時では 0.908 ± 0.099 であった。その後、筋肉骨格系の数式モデルを用いて、再構築した筋電信号から親指と人差し指の力を予測した。そして、予測した力と実際の力を比較した結果、決定係数は親指と人差し指それぞれに関して 0.9321 ± 0.031 と 0.906 ± 0.059 になった。このことから、M1 の神経活動から力の推定が高精度で行えることが示された。

(3) fMRI 脳活動を用いた2つの異なる複雑な指系列運動の判別

南部功夫, 羽倉信宏, 廣瀬智士, 川人光男, 内藤栄一

(情報通信研究機構 未来 ICT 研究所 脳情報通信研究室, UCL, JSPS, ATR 脳情報通信総合研究所)

近年、fMRI 脳活動パターン (multi-voxel pattern) からヒトの知覚・運動状態を予測する fMRI デコーディングが注目を集めている。これまでの fMRI デコーディング研究から、異なる効果器を使った比較的簡単な運動の予測 (左右の手の判別など) が可能であることが示されているが、同じ効果器を異なる順序で組み合わせるような複雑な運動に関しては調べられていない。ヒトは非常に複雑な運動であっても正確な運動を実現できることから、複雑な運動も脳内において異なる特有の表現を持っているのではないかと考えられる。そこで我々は、2 つの異なる複雑な指系列運動を fMRI 信号から判別することを試

みた。参加者には事前に学習しておいた右手の 3 つの指 (人差し指, 中指, 薬指) を使った異なる 2 つの系列をできる限り素早く実行してもらい、そのときの脳活動を fMRI によって計測した。スパースロジスティック回帰を用いて、脳活動パターンからどちらの系列を実行しているのかを判別したところ、対側感覚運動領域で 2 つの複雑な系列が判別でき、さらに運動前の脳活動からも判別ができることがわかった。このことから、複雑な運動スキルは特定の異なる脳活動パターンによって表現されていることが示唆される。

(4) サル一次運動野における ECoG による運動関連皮質内神経活動の推定

渡辺秀典, 佐藤雅昭, 鈴木隆文, 川人光男, 西村幸男, 南部 篤, 伊佐 正
(生理学研究所, ATR 脳情報解析研究所, 東京大 情報理工学 システム情報学
ATR 脳情報研究所, 生理学研究所 認知行動発達, さきがけ, 総研大
生理研 生体システム, 総研大, 生理学研究所 認知行動発達, 総研大)

ブレインマシンインターフェース (BMI) においては比較的低侵襲で高周波数の情報を検出できる硬膜下皮質電位 (ECoG) の適用が期待されている。一方で皮質内から記録される局所電位 (LFP) は電極近辺の神経細胞膜の発生電流に起因する実質的な神経活動であり, 運動に関する直接的な情報を与える。しかし LFP 記録は脳実質への侵襲を伴い, 長期の安定記録も容易ではない。それに対して ECoG 信号から皮質内深部 LFP の推定が可能となれば BMI に有益である。そこで我々は ECoG から皮質内 LFP 信号の推定を試みた。使用するデータとしてサル到達把持運動時の神経活動を用いた。サルの上肢運動は

モーションキャプチャによって検出し, 同時に対側第一運動野から 32 極 ECoG (regular grid with 1mm inter-electrode distance) と 64 極 LFP (0.2mm inter-electrode distance with linear arrangement. 16 electrodes in a probe) を記録した。Sparse linear regression によって推定された LFP は実際の LFP に対して高い相関を得た ($r = 0.71 \pm 0.02$ at 0.2mm from the cortical surface)。加えて推定 LFP は上肢の運動状態に応じたベータ (10-35Hz) と高ガンマ (80-170Hz) 帯域の信号をよく再現した。我々の結果は Sparse linear regression によって ECoG から高精度の運動関連 LFP 推定を実現し得ることを示している。

(5) 多関節外骨格構造を有するラット神経-車体インターフェース RatCar-Ex を用いた歩行制御系のモデル化に関する検討

深山 理, 鈴木隆文, 満渕邦彦 (東京大学大学院情報理工学系研究科システム情報第7研究室)

運動出力型 Brain-Machine Interface において, 脳・神経系から得られた情報と目的動作の対応付けは, 安定した信号計測の実現と並び, 性能向上の鍵を握っている。個々の組織・領域の機能を解明し, これらの関係を記述していくことが正攻法ではあるが, 生理学研究として妥当な実験系と BMI が用いられる実環境との間には大きな乖離があるのが現状である。これに対し, 制御対象となる身体を模した人工運動器を構築し, 生来の身体動作との誤差を最小化することによって対応付けを実現する, 構成論的アプローチもまた, 有望な手法の一つである。我々の開発する車体型 BMI 「ラットカー」システムは, 運動系神経信号のパターンに基づき, 車体下部の車輪を駆動することでラット歩行動作の代替を目指すものである。

これまでに, 自由行動下での歩行軌跡 (速度・方向変化) と大脳運動皮質から計測された神経信号を線型モデルによって相関付け, 両者の差異を最小化するようなモデルパラメータの同定を行ってきた。この枠組みは, 中枢神経系あるいは車輪状駆動装置以外にも容易に拡張可能である。本発表では, 身体動作の指令源として, 中枢神経系に加え坐骨神経などの末梢神経信号の情報を複合的に用い, 制御対象として多関節外骨格構造を有するデバイス RatCar-Ex (Exoskeletal scheme) を用いた実験系について紹介する。このような系におけるシステム同定の手法, 将来的に実現しうる BMI プラットホームの可能性について考察したい。

(6) BMI 型上肢アシストスーツによる多様なリハビリ運動実現のための多関節制御手法

櫻田 武, 高野弘二, 小松知章, 神作憲司

(国立障害者リハビリテーションセンター研究所 脳機能系障害研究部 脳神経科学研究室)

脳卒中等に伴う上肢運動機能障害に対するリハビリ装置が提案されているが、障害者が把持した装置上のハンドルを動作させるなど、その多くで実現できる運動は単純なものに限られていた。我々は、脳波により駆動するBMI 型上肢アシストスーツを開発している(特願 2005; Komatsu ら, 2009)。この装置は指・手首・肘・肩に計8自由度を装備し、複雑な作業療法様の上肢運動が構成可能である。さらに、アシストスーツを両側に装着して制御し、両手運動を行うことも可能である。これまで、制御器に事前登録された複数の動作パターンの中からP300 様脳波を用いることで一つを選択しその一連の動作を再生させるシステムを作成し、四肢麻痺の障害者が脳からの信号で把持運動等を行うことに成功した(池上

ら, 2009)。今回我々は、脳波検出の時間短縮を目指してP300 とSSVEP を複合利用し(Sakurada ら, 2011)、さらに制御の柔軟性を高める目的で、動作途中での一時停止や動作の逆再生などを任意のタイミングで指令できるようソフトウェア部を改変し実装した。また、ある姿勢における関節角度からの相対変化角を指令値として扱えるようにし、上肢運動の細かな調節を可能にした。これらの改良により、脳波から検出される装着者の意図は、運動開始時に加え運動中にも反映できるようになり、アシストスーツの操作性の向上が期待される。今後は、多関節制御によって実現される多様な運動パターンの中から、大脳神経の可塑的变化を効率的に誘導するリハビリ運動内容を検証したい。

(7) バイオフィードバック刺激装置の開発

加藤健治, 笹田周作, 西村幸男

(生理学研究所 認知行動発達機構研究部門 総合研究大学院大学 生命科学専攻,

生理学研究所 認知行動発達機構研究部門,

生理学研究所 認知行動発達機構研究部門 科学技術研究機構 さきがけ)

近年、脊髄損傷や脳梗塞などの中枢神経障害後に、バイオフィードバックを用いたリハビリテーションによって機能回復する例が報告されている。しかし、現状のシステムは、大掛かりな装置であり、日常生活で利用できるものではない。本研究では、携帯型ワイヤレス生体信号計測機器を考案し、患者さん自身の脳や筋活動を用いた汎用性の高いバイオフィードバックトレーニングシステムのプロトタイプを開発した。システムは、1) 記録ユニット、2) バイオフィードバック用タブレット型PCで構成されている。記録ユニットは(本体: 13×7 cm)は、2チャンネルの高インピーダンスアンプと3軸のジャイロセンサー、AD変換器(2 kHz サンプリング)、バンドパ

スフィルター(10-1000 Hz, 70-300 Hz)、3V バッテリー、bluetooth 通信機能(転送速度: 57.6 kbps, 通信距離: 最大10 m)を内蔵し、筋電図、脳波、LFP、神経細胞が記録可能である。PCに転送された生体信号の振幅を、PC画面上のカーソルのXY軸に割り当て、カーソルを随意的に動かすことができる。また、要求されたようにタスクが成功すると、パルス信号をUSBより出力でき、それを用いて外部装置を制御できる。この装置は、患者だけでなく、無拘束自由行動下のサルから記録された生体信号を用いたオペラント条件付けにも応用できる。将来的には、電気刺激装置を付加した神経代替装置としてのシステムを目指す。

(8) iSLR : fMRI デコーディングのための新たなパターン識別法の提案

廣瀬智士, 南部功夫, 内藤栄一

(ATR, 認知機構研究所, 情報通信研究機構, 脳情報通信研究室, 大阪大学, 医学系研究科)

近年, fMRI を用いた脳情報復号化 (fMRI decoding) が注目を浴び始めている。fMRI decoding とは, 教師あり学習を用いて, fMRI で計測された信号から被験者が観察している刺激, 被験者の行う運動の情報を抽出する fMRI 信号の解析手法である。他の教師あり学習問題に比べ, fMRI decoding は, 観測可能な信号の自由度 (ボクセル数: 数万) に対して, 観測数 (試行数: 数十〜数百) が非常に小さく, “over-fitting” (脳内の真の情報表現ではなく, 観測データ内で偶然起こった脳活動と情報の関係を捉えてしまい, 情報抽出の精度が低下すること) に陥りやすい。

近年 fMRI decoding のために開発された Sparse Logistic Regression (SLR: Yamashita et al., 2008) というアルゴリズムは, 少数の必要なボクセルを選択し, 残りのボクセルを捨てることで効果的に over-fitting を回避できるという利点を持つ。しかし一方で SLR は, 情報を持つ多くのボクセルも捨ててしまうという弱点 (over-pruning) も持

っている。本研究では, 捨てられたボクセルを利用して, SLR の情報抽出精度を向上する手法を提案する。

提案手法の Iterative SLR (iSLR) では, SLR による学習を繰り返し行う。それぞれの SLR 学習では, それ以前の SLR 学習で選択されたボクセルは除外され, 同一のボクセルを選択することはできない。この繰り返し学習のうち, 複数の SLR 学習の結果を統合し, 脳内の情報を抽出する。

iSLR をシミュレーションデータに適応したところ, 1) ボクセル数が非常に多くても, iSLR は SLR 同様に, 効果的に over-fitting を回避できること, 2) 情報抽出に有用なボクセルが多い場合, SLR を上回る情報抽出精度を得られること, の二点が明らかになった。また実際の fMRI decoding 実験において, iSLR は, 従来手法 (SLR, SVM) より高い精度が得られることが分かった。

以上より, 本提案手法 (iSLR) は fMRI decoding に有用な手法であると考えられる。

(9) 経頭蓋直流電気刺激を用いた線条体細胞外ドパミン濃度の調節

田中智子, 高野裕治², 田中悟志³, 花川 隆, 小林和人⁴, 廣中直行², 本田 学

(国立精神・神経医療研究センター神経研究所疾病研究第七部, ²NTT コミュニケーション科学基礎研究所,

³自然科学研究機構生理学研究所, ⁴福島県立医科大学)

非侵襲脳刺激法の一つである経頭蓋直流電気刺激 (transcranial direct current stimulation: tDCS) は, さまざまな神経疾患の治療や加齢に伴う運動・認知機能障害の補強手段として, 医療・福祉分野での応用が期待されている。しかしながら, その作用点や影響を受ける神経ネットワークに関する基礎研究はほとんど実施されておらず, より安全かつ有効な臨床応用のためにも, tDCS の効果発現メカニズムの解明は急務である。そこで本研究では, tDCS のパーキンソン病への臨床応用を視野に入れ, 運動野への tDCS 処置がラットの線条体細胞外ドパミンならびにセロトニン濃度に対してどのような影響を与えるかを, In vivo microdialysis 法を用いて検討した。ウレ

タン麻酔下のラットへ陰極電極を用いて 800 μ A の tDCS を印加することにより, 線条体におけるドパミン濃度の有意な増加が認められ, この増加は 400 分以上維持されていた。一方, 陽極電極を用いた 800 μ A の tDCS を印加しても, ドパミン濃度に有意な変化は認められなかった。線条体におけるセロトニン濃度においては, 両極性の tDCS を印加しても, 有意な変化は認められなかった。本研究の結果は, 運動野への陰極 tDCS 処置が, 線条体に投射するドパミン神経に直接または間接の影響を与える可能性を示唆している。特にドパミン濃度が刺激後長時間にわたって継続したことから, パーキンソン病のような大脳基底核疾患への tDCS を用いた非侵襲的治療法の

開発が期待される。

(10) 単相性4連発磁気刺激法が刺激直下の脳血流に与える影響の検討

グロイス純, 望月仁志, 古林俊明, 小林俊輔, 榎本 雪, 中村耕一郎, 杉浦嘉泰, 宇川義一
(福島県立医科大学医学部神経内科学講座)

【目的】反復磁気刺激により誘発される脳血流や代謝変化を測定する脳機能イメージングを用いた研究はいくつか報告されているが, 刺激パラメーターの違いなどにより相反する結果も見られる。そこで光トポグラフィー (Near Infrared Spectroscopy: NIRS) を用いて, 刺激頻度に依存する形で大脳皮質の長期可塑性を2方向に誘導し得る単相性4連発磁気刺激法 (Quadripulse stimulation: QPS) が刺激直下の脳血流に与える影響を検討した。

【方法】健康成人10名を対象とし, 長期増強を誘導する Interstimulus Interval (ISI) を5msとした高頻度QPS (QPS 5ms), 長期抑圧を誘導するISIを50msとした低頻度QPS (QPS 50ms), そしてシャム刺激を左運動野に行い, NIRSをもって刺激中の脳血流変化を評価した。また刺激直下の血流の測定を可能にする特別な刺激コイル及び測定ブ

ローブが開発された。

【結果】QPS 5msでは運動皮質の酸素化ヘモグロビン (oxy-Hb) が有意に低下し, 脱酸素化ヘモグロビン (deoxy-Hb) が変化しない抑制パターンを認めた。QPS 50msではoxy-Hb, deoxy-Hb共に有意な変化は認められなかった。

【結論】この結果はQPSが大脳皮質に与える影響は刺激頻度に依存することを示唆する。しかし, QPSにより誘導される2方向性の長期可塑性とは異なり, QPS刺激中の脳血流変化は2方向性ではなかった。刺激中の効果は膜電位の変化などの短期的なものに基づき, 長期効果は蛋白合成を含めたシナプス可塑性の誘導が機序であると考える。

(11) 咀嚼運動リズムの随意的調節の変化が脳機能に及ぼす影響をみるための基礎的検討1

松浦康之, 宮尾 克, 大森正子, 高田宗樹
(福井大学産学官連携本部, 名古屋大学大学院情報科学研究科,
神戸女子大学家政学部家政学科, 福井大学大学院工学研究科)

咀嚼回数の増加が肥満予防に有効であるという報告が散見されるように, 近年, 咀嚼運動は栄養学など広い分野で着目されている。一方, 運動による脳血流の増加についてはいくつかの研究がなされており, 運動強度に比例して脳血流が増加する可能性が示唆されているが, ヒトの咀嚼運動時における循環動態に関する報告は少なく, 特に, 脳血流動態については詳細に確認されていない。そこで, 咀嚼運動リズムの随意的調節に着目し, その変化が脳機能に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。本研究では, その基礎的な検討を行うために, 健康若年者1名(24歳・男性)を対象とし, 自然な運動リズムに従ったキシリトールガム(ロッテ)の咀嚼時に

おける脳内血中酸素化ヘモグロビン濃度変化(oxy-Hb)を計測, 記録した。前頭葉・後頭葉および頭頂葉の脳活動計測には近赤外光脳機能イメージング装置FOIRE-3000(島津製作所)を使用し, それぞれ3×5(22ch), 3×5(22ch)と3×10(47ch)のプローブを配置した。尚, 本実験については名古屋大学大学院情報科学研究科倫理委員会の承認を得ている。被験者は座位にて実験を行い, 最初に, 安静状態で5分間の計測を行った。次に, 1試行を前安静30秒, タスク(咀嚼運動)を30秒, 後安静を30秒として, 9試行繰り返した。ここで, 2粒のガムを, 1, 4, 7試行前安静時に口に含み, 3, 6, 9試行後安静時にガムを口から出した。最後に, 安静状態で3分間の計

測を行った。その結果、前安静と比較して、咀嚼運動時において有意に賦活化した部位が前頭葉および頭頂葉に

分布した ($p<0.05$)。

(12) サル脚橋被蓋核ニューロンの周期発火とサッカード抑制応答

岡田研一 (大阪大学大学院, 生命機能研究科, 視覚神経科学研究室)

小林 康 (JST さきがけ)

私たちはサッカードと呼ばれる高速な眼球運動によって視線を動かし外界をスキャンすることで物を見ています。サッカードに伴って視覚系は運動刺激を受け取っていますが、私たちがそれを知覚することはありません(サッカード抑制)。このようなサッカード抑制に対応する神経活動は、視覚処理の初期段階に位置する視床の LGN をはじめとした多くの視覚領野で報告されていますが、そのメカニズムについては未だ明らかではありません。いっぽう過去の研究により、脳幹網様体からのアセチルコリン入力が見床の活動調節に重要な役割を果たすことが示唆されてきました。

我々は脳幹網様体の主要なアセチルコリン性細胞の核である脚橋被蓋核 (PPTN) に着目し、サッカード課題遂行中のサル PPTN ニューロンの活動を記録しました。そ

の結果、1 群の PPTN ニューロンが課題遂行中に規則的な発火パターンを示し、さらにその中でも 10Hz 程度の低頻度で発火するニューロン群が、サッカード抑制的な応答を示すことを見出しました。PPTN のサッカード抑制応答の特徴として、(1) サッカード開始前から始まり終了後まで続く活動の停止と、(2) サッカード終了後のリバウンド活動とわずかな発火頻度の上昇、がみられました。また、このニューロン群から記録されたスパイク波形は幅が広いもので、過去に報告されているアセチルコリン性細胞のスパイク波形の特徴と一致しました。

今回明らかになった PPTN でのサッカード抑制応答は LGN でみられるものと非常に良く似ており、脳幹網様体からのアセチルコリン入力が見床の活動調節でのサッカード抑制に寄与している可能性を示唆しています。

(13) 第一次視覚野損傷後の視覚誘導性サックードにおける網膜視蓋経路の役割

加藤利佳子, 高浦加奈, 池田琢朗, 吉田正俊, 伊佐 正

(生理学研究所 認知行動発達機構研究部門)

第一次視覚野 (V1) に損傷のある患者の中には、損傷された視野に提示された視覚対象に対し、その対象を見えるという認識がないにも関わらず、強制されると、眼を向けたり手を伸ばしたりといった定位行動が可能な事例があり、この現象は、「盲視」として知られている。この「盲視」には、V1 損傷により失われた視覚入力を補償する経路として、網膜視蓋経路の寄与が示唆されてきた。しかし、その直接的な証拠は未だ少ない。我々は、V1 損傷後の視覚情報の入力に、この経路が寄与しているかを明らかにする目的で、片側 V1 を除去したサルの上丘に GABA_A 受容体のアゴニストであるムシモルを注入し、視覚誘導性サックードに対する影響を調べた。V1 損傷側

と反対側の正常視野に対応した上丘にムシモルを注入し、その活動を抑制した場合、サルは注入部位対応視野に提示された視覚目標に向かってサックード可能であった。これに対し、V1 損傷側と同側上丘の活動を抑制した場合、抑制部位に対応した視野に提示された視覚目標を定位することが出来なかった。しかし、この同側上丘の抑制効果は、サックードの運動機能の障害が原因である可能性もある。この可能性を検討するために、視覚情報に依存しない暗闇における自発性サックードへのムシモル注入効果を調べた。その結果、同側上丘へのムシモル注入後も、注入部位へ向う自発性サックードの頻度に変化は見られなかった。これらの結果は、視覚誘導性サッ

ケーードへの同側上丘抑制の効果は主に視覚機能の障害に依存していたことを示しており, V1 損傷後の視覚誘導性

サッケードの遂行には, 網膜視蓋経路を介した視覚情報の入力が必要であるとの結論に達した。

(14) 眼球運動のタイミング制御における前頭葉背内側部のはたらき

國松 淳, 田中真樹 (北海道大学医学研究科認知行動学分野)

自発的な運動の発現に, 前頭葉背内側部が関与しているとの報告がこれまで多くされてきた。しかし, 自発運動のタイミングがどのような神経機構によって制御されているのかは未だ明らかになっていない。最近, 眼球運動の準備期間に徐々に増強する神経活動が運動性視床において報告され, これが自発性眼球運動のタイミング制御に関与することが示唆されている。解剖学的な結合から, これら視床の信号は前頭葉背内側部に送られ, 自発運動のタイミングを制御している可能性がある。これを検証するため, 視覚刺激に応じて即座に眼球運動を開始させる課題 (Triggered 課題) と, 視覚刺激の提示後, 一定の遅延期間において自発的に眼球運動を開始させる課題 (Self-timed 課題) を 3 頭のサルに訓練した。刺激実験に先立って, 補足視野を含む前頭葉背内側部から集合電

位を記録したところ, 陰性の運動準備電位が記録された。これらの活動が記録された部位の近傍で, 運動準備期間中に閾値以下の微小電気刺激を行った結果, 73 ヶ所で運動開始時間に有意な変化がみられた。そのうち約 75% の部位では電気刺激によって Self-timed 課題での運動開始時間が遅延したが, のこりの部位では運動が促進された。この促進効果は指標を提示する場所を変えても同様にみられた。一方で, 前頭眼野で同様の刺激実験を行った場合には Self-timed 課題において有意な影響はみられなかった。これらの結果から, 前頭葉背内側部の運動準備期間中の徐々に増加していく神経活動は, 運動の方向ではなく, 自発的な運動のタイミング制御に関与していることが明らかとなった。

(15) 健常者における膝歩きと歩行の運動特性の違い

倉山太一, 田所祐介, 宮内美緒, 栗田美奈, 橋爪善光, 大高洋平
(東京湾岸リハビリテーション病院, 千葉大学医学研究院, 山口大学大学院, ATR)

【目的】膝立ち位を利用した運動は脳卒中患者に対する理学療法として臨床で頻繁に用いられるが, その効果や特性については明らかでない。本研究は健常者を対象に膝歩きと歩行の運動特性の違いについて検討することを目的とした。

【方法】20 名を対象に体幹・下肢の筋活動量ならびに重心変位について測定した。測定課題は treadmill を使用し, 1) 通常歩行 (主観的快適速度), 2) 最速歩行, 3) 膝歩き (主観的快適速度) とした。表面筋電図は右の腹直筋, 脊柱起立筋, 大殿筋, 中殿筋, 半腱様筋, 大腿直筋より測定した。重心変位は第 3 腰椎棘突起上の光学マーカーにより測定した。筋活動量の解析は 30 歩分のデータから root mean square (RMS) を計算し, さらに基準課題を元に

その比率 (RMS 比) を算出して規格化した。重心変位は上下左右方向の最大移動距離を算出した。

【結果】膝歩き中の RMS 比は通常歩行よりも有意に高く, 最速歩行とは差が無かった。左右方向での重心変位は膝歩き課題において, 通常歩行, 最速歩行よりも有意に大きくなった。

【考察】膝歩きにおける体幹・下肢近位部の筋活動量は最速歩行と差が無く, 通常歩行よりも高かった。これより, 膝歩きは, 自然な速度で行うだけでも体幹・下肢近位部の筋活動量を高める可能性が示唆された。膝歩きで見られた筋活動の高まりは, 膝立ち位により姿勢が制限され, 通常の歩行に比べて体幹と骨盤を大きく引き上げて遊脚クリアランスを得ていると推察された。なお最速歩行

と膝歩きで同程度の筋活動量の増加が観察されたが、最速歩行における筋活動増加は、単に運動エネルギーの増大に起因することから、その増加の機序は異なることが

示唆される。今後は脳卒中片麻痺患者を対象に検討する予定である。

(16) ヒトとニホンザルの二足歩行における脚関節間協調の比較

垣内田翔子, 橋爪善光, 荻原直道, 西井 淳

(山口大学大学院理工学研究科, 山口大学大学院理工学研究科,
慶応義塾大学理工学部, 山口大学大学院, 理工学研究科)

ヒトが行う様な直立二足歩行は、四足以上で体幹を支える歩行様式に比べて不安定であり、その実現には巧みな制御機構が必要である。ヒトは、例えば膝関節が伸びすぎたら足関節を曲げるというように、互いの関節の動きを補い合うように協調的に動かすことで、外乱に柔軟に対応して転ばずに歩行をしていることが近年の研究結果により示唆されている。ニホンザルも訓練により長時間二足歩行を続けることができるようになるが、その歩行様式にはヒトと異なる点があることが報告されている。そこで本研究では、関節間協調の視点によりヒトとニホンザルの歩行様式を比較・検討し、両者の歩行制御戦略に相違点があるかを探った。その結果、ヒト、ニホンザルに共通して、遊脚中期の脚を振り抜く際の最も指先と床が近づく瞬間に関節間協調が強く働いていること

がわかった。このことは関節間協調の活用によりつまづきを防いでいることを示唆する。一方で、遊脚終期の着地前の関節運動にはヒトとニホンザルで違いが見られた。ヒトの場合、着地時の脚姿勢及び各関節角速度の一步毎のばらつきは小さいが、関節間協調はあまり活用していない。それに対しニホンザルでは、毎回の着地姿勢のずれはヒトのそれより大きい。遊脚終期から関節間協調を活用することで着地時の足先の高さ及び速度の鉛直成分を調節していることがわかった。衝撃を伴う着地の際に足先の位置や速度を調節することは、転ばずに歩行を続けていくために重要であると考えられるが、ヒトとニホンザルの二足歩行では接地の際の歩行の制御様式が違うことを本結果は示唆している。

(17) 歩行周期間の運動ゆらぎに基づく関節間協調を介した歩行制御機構の検討

船戸徹郎, 青井伸也, 富田 望, 土屋和雄

(京都大学大学院工学研究科, 京都大学大学院工学研究科, JST CREST, 同志社大学理工学部)

歩行運動は CPG によるリズム運動パターンが感覚情報を介したフィードバック制御によって調整されることで実現する。脊髄から小脳へと体性感覚情報を送る dorsal spinocerebellar tract (DSCT) では節間のキネマティックな協調関係である片足の関節間協調と相関の高い信号が観察されており (Poppele RE, J Neurophysiol, 2002.), 感覚系と運動系の両方の面で協調関係を示す回路構造の存在が示唆されている。本研究では全身の関節間協調が体性感覚を凝縮し、凝縮された低自由度の信号をフィードバックする制御構造が存在すると仮定する。

(1) 全身の関節間協調が DSCT の信号、及び片足の関節間協調のパターンに相関が高い足の回転・伸縮動作のパターンに相当するか？を調べることで全身の関節間協調が DSCT の信号として使われている可能性を調べ、(2) 関節間協調の歩行周期ごとのばらつき (ゆらぎ) が足の各関節のゆらぎ、重心、足先、頭を動かす運動のゆらぎより小さいか？を調べる。その結果、関節間協調は DSCT で観察されたものと同じ、足の回転・伸縮で構成されていること、両足支持期、片足支持期、step の期間で関節間協調のゆらぎは関節運動のゆらぎより小さく、両足支

持期, 及び両足支持期と片足支持期を併せた期間で関節間協調のゆらぎは他の運動に比べて最も小さいことが分かった。制御されている運動ではゆらぎが抑えられて小さくなるという uncontrolled manifold (UCM) 解析で用い

られる考えを元にして考えると, 本研究で得られた結果は, 歩行運動において関節間協調を介して低自由度下された体性感覚情報のフィードバック制御が存在する可能性が, 重心や足先の制御以上に高いことを示している。

(18) α -キメリンノックアウトマウスの歩行中枢における腰髄局所回路の出力パターン解析

西丸広史, 谷由加利, 柿崎美代, 岩里琢治, 糸原重美

(筑波大学大学院人間総合科学研究科, 遺伝研 形質遺伝, 理研 脳科学総合研究センター)

哺乳類の歩行の際の左右肢および交代性の活動パターンは脊髄に局在する歩行中枢パターン発生器 (Central Pattern Generator (CPG)) によって生み出されていることが知られているが, 私たちヒトを含めた哺乳類の歩行 CPG を構成する局所回路を構成するニューロンの性質やその結合については依然として不明な点が多い。本研究では, 左右肢が同期したウサギ様跳躍歩行を示す α -キメリンノックアウト (キメリン KO) マウスに着目した。 α -キメリンは, 脊髄の正中において神経軸索の伸長を抑制するエフリン B3-EphA4 シグナリングにおいて不可欠な分子である。これを欠損しているキメリン KO マウスの脊髄では, 通常ならば左右のうち片側のみに軸索を投射するはずのニューロンが, 正中を超え反対側にも投射している。このマウスの脊髄摘出標本において, NMDA と 5-HT の灌流投与によって誘発された歩行運動様リズム

ム活動は左右で同期した活動パターンを示すことから, その歩行異常は脊髄内の軸索の左右混線が原因となっていることが示唆されている (Iwasato et al. 2007)。本研究ではキメリン KO マウスの左右同期したパターンが, 歩行 CPG を構成する局所回路における左右結合の異常に起因するのかどうかを調べることを目的に, マウス腰髄の 1 髄節を単離し, 誘発される歩行運動様リズム活動の左右の活動パターンを解析した。その結果, 全脊髄標本と同様の左右同期したパターンと共に, 左右交代性のパターンも観察された。また, この左右交代性のパターンは抑制性シナプス伝達を遮断すると消失した。以上のことから, キメリン KO マウスの歩行 CPG を構成する局所回路では, 主に左右の興奮性神経結合の異常によって同期したパターンが形成されていることが示唆された。

(19) 正常歩行と揃い型歩行時の大脳皮質活動の違い

植田耕造, 信迫悟志, 森岡 周 (畿央大学大学院健康科学研究科)

近年, 脳機能イメージング装置によりヒトの歩行運動中, 歩行運動イメージ中の脳活動が調べられているが, トレッドミル歩行以外の歩行様式中の脳活動を報告したものは少ない。本研究では, 機能的近赤外分光イメージング (fNIRS, FOIRE-3000, Shimadzu) を用い, 平地での正常歩行と揃い型歩行時の脳活動を測定した。

健常者 7 名を対象とした。歩行課題は, 30m の正常歩行, 15m の揃い型歩行 1, 揃い型歩行 2 の 3 条件を, 各 3 回ずつこの順序で, 全て任意速度にて行った。揃い型歩行 1 は, 3 名は右足から, 4 名は左足から振り出し, 揃い

型歩行 2 は各々その逆の足から振り出した。計測は, 安静 20 秒後に各歩行課題を行った。fNIRS は, 横 5×縦 6 でファイバーを配列し, 左右前頭から頭頂を含む 49 チャンネルで測定した。測定項目は酸素化ヘモグロビン濃度長 (oxy-Hb) とし, 解析は安静時 5 秒間, 歩行時 1 から 5 歩目, 5 から 10 歩目で, チャンネルごとに effect size を算出し, 左右感覚運動野, 補足運動野, 左右運動前野, 左右頭頂領域における ROI 解析を実施した。その後, 歩行課題間の統計分析には一元配置分散分析を用い, 各歩行課題時の 1 から 5, 5 から 10 歩目の比較には Wilcoxon

符号順位と検定を用いた。

一元配置分散分析の結果、有意差は認められなかったが、多くの領域で正常歩行と揃い型歩行 2 に比べ揃い型歩行 1 で oxy-Hb の増加傾向を示し、特に左右運動前野においてその傾向が顕著であった。Wilcoxon 符号順位と検定の結果は、1 から 5 歩目は 5 から 10 歩目と比較し、

全ての歩行課題において左右運動前野領域に oxy-Hb の有意な増加を認めた ($P<0.05$) が、右感覚運動野では有意差は認められなかった。歩行パターンの修飾には運動前野の活動が必要と考えられ、大脳皮質の活動は歩行初期に高くなることが示された。

(20) 曲線上歩行による歩行非対称性の改善

河島則天, 小川哲也 (国立障害者リハビリテーションセンター研究所・運動機能系障害研究部)

曲線に沿って歩く場合、進行方向が円の内側寄りにシフトし、重心を曲線上に移動させる必要性から、内側脚の立脚時間の増加、外側脚の遊脚時間およびストライド長の増加などの非対称性が生じる。これらの特性は曲線上を歩く際の物理的な制約によって生じるものであるが、多少の歩きづらは生じるものの歩行運動そのものは円滑に実行できる。本研究では、曲線上歩行の特性を利用して、脳卒中片麻痺患者の歩行非対称性 (gait asymmetry) の改善を図る、新たな歩行リハビリテーション方法の可能性を検討することを目的とした。脳卒中片麻痺患者 22 名を対象として、直線上および異なる 3 種類の曲線上 (半径 1.5, 2.5, 3.5m) の歩行を麻痺側が内側・外側となる各条件下で行った。歩行運動中には立脚時間

(時間因子)、足部に懸かる総荷重量 (荷重因子) を計測し、これら変数の健患側比を歩行非対称性の評価指標とした。立脚時間、荷重量のいずれも直線上歩行時には顕著な左右非対称性が認められた一方で、曲線上を歩行する際には、麻痺側を内側とすることで麻痺側への荷重量増加が生じる (非対称性が改善される) 結果が得られた。特に、緩やかな曲線上を麻痺側を内側として歩行する際には、歩行の安定性を損なうことなく、かつ明確な意図を伴わずに麻痺側への荷重印加が実現できることが明らかにされ、同方法を用いることで脳卒中片麻痺患者の歩行非対称性を合目的的に改善できる可能性が示唆された。

(21) 同一速度下の歩行・走行間における学習効果の転移の有無

小川哲也, 河島則天, 中澤公孝, 緒方 徹

(国立障害者リハビリテーションセンター研究所, 東京大学大学院総合文化研究科)

歩行の速度を増加させると、ある速度を境に走行へと移行する (walk-run transition)。この連続性ゆえに、歩行と走行はそれぞれ、互いの延長として捉えられることが多い。本研究では、これまで主に上肢の到達運動を対象に調べられてきた運動学習効果の転移と消去 (ウォッシュアウト) の概念を基盤として、同一の速度条件下における歩行と走行間の運動制御過程の独立性 (もしくは、共有性) について議論する。今回は特に、走行で獲得した学習効果の歩行への転移と、歩行による消去の有無について検討した。

左右のベルトがそれぞれ独立の速度 (2.0 ms⁻¹ と 1.0 ms⁻¹) で動作する split-belt トレッドミル上における 10 分間の走行を学習課題として設定し、その前後における通常 (ベルト速度が左右対称: 1.5 ms⁻¹) 歩行と走行の比較により、1) 走行についても先行研究で示された歩行と同様の学習が成立するか、2) 走行によって獲得した (すると見込まれる) 運動パターンがその後の歩行に転移するか、3) 走行によって獲得した運動パターンがその後の歩行によって消去されるか、について調べた。運動パターンの転移と消去の指標として、トレッドミルに内蔵され

た床反力によって計測した地面反力の前後成分を解析の対象とした。

結果, 1) 走行についても歩行と同様に学習が成立する, 2) 走行によって獲得した新規の運動パターンはその

後の歩行では顕在化しにくい, 且つ, 3) 歩行では消去されにくい, ことが明らかとなり, 歩行と走行それぞれの運動制御過程の独立性を示す一端となる結果が得られた。

(22) Microvascular endothelial cells transplantation improves the locomotor function after lacunar infarction in the rat internal capsule

ブエンテス サンドラ, 倉知 正¹, 柴崎貢志¹, 成瀬雅衣¹,
三國雅彦², 好本裕平³, 今井英明⁴, 石崎泰樹¹

(独立行政法人国立精神神経医療研究センター神経研究所 モデル動物開発研究部,

¹群馬大学大学院医学系研究科分子細胞生物学, ²群馬大学大学院医学系研究科神経精神医学,

³群馬大学大学院医学系研究科脳神経外科, ⁴東京大学大学院医学系研究科脳神経外科)

Ischemic insults affecting the internal capsule (IC) result in sensory-motor disabilities which severely affect the patient's life. Cerebral endothelial cells may exert a protective effect against ischemic brain damage, so the transplantation of healthy microvascular endothelial cells (MVECs) might have a beneficial effect on the outcome. In this study, we injected Endothelin-1 into the left IC of SD male rats stereotactically. Seven days later, we performed footprint analysis, and found an increment in the limb rotation of all ET-1 injected animals when compared with non-operated animals ($P<0.01$). At the same day, MVECs were transplanted into the IC using the same coordinates. Meningeal cells (MCs) or vehicle (BSA) were injected as controls. At day 21, we performed footprint analysis, and obtained a significant difference in limb rotation (angle correction) of the MVEC group when compared with day 7, MC and BSA groups ($p<0.01$). No significant differences were found between MVEC group and non-operated animals. Transplanted MVECs survived, but

they neither migrated nor proliferated. Only a few of them were incorporated into the host vasculatures. Serial slices were stained with luxol fast blue to calculate the volume of IC. We found a reduction of 20% in the volume of IC in MC and BSA groups; on the other hand, MVEC group showed a reduction of only 3%, suggesting that MVEC transplantation induces remyelination of IC. We also evaluated the inflammatory response using an activated microglia marker (ED-1), and found fewer activated microglial cells in MVEC group than in MC and BSA groups. This finding was confirmed by RT-PCR. Our data indicate that MVEC transplantation induces remyelination, suppresses the inflammatory response, and improves the locomotor function. Elucidation of the mechanisms by which MVEC ameliorates the ischemic damage of white matter may provide important information for the development of effective therapies for brain ischemia.

(23) 人工神経接続を利用した歩行様運動の随意制御

笹田周作, 加藤健治, 宇川義一, 小宮山伴与志, 西村幸男

(生理学研究所 認知行動発達機構研究部門; 東京学芸大学大学院連合学校教育学研究科,
総合研究大学院大学生命科学研究科, 福島県立医科大学医学部神経内科, 千葉大学教育学部,
生理学研究所認知行動発達機構研究部門, 科学技術振興機構さきがけ)

脊髄損傷による歩行機能の喪失は脊髄にある下肢の歩行中枢 (CPG) への下降性入力 of 遮断が原因の一つと考えられる。しかし, 損傷領域の上流である大脳皮質や脳幹にある上位歩行中枢および, 下流である脊髄内神経回路網は機能を残しており, それらを人工的に神経接続できれば, 随意歩行機能再建の可能性はある。本研究は随意的に活動させた上肢筋の筋活動パターンに依存した腰髄への脊髄上磁気刺激 (Activity dependent stimulation : ADS) による上肢筋から腰髄への人工神経接続により下肢歩行様運動の随意制御を試みた。

上肢の EMG による ADS は, 三角筋後部 (PD) の EMG 振幅に比例した刺激波形を AM・FM (1-15 Hz) 変調し, 脊髄上磁気刺激 (Th10-L3) および腓腹神経へ電気刺激のアイソレーターを駆動することによって達成した。健康成人男性 4 名に対して, 歩行運動に関わる上肢筋 (PD) の

活動パターンによる腰髄脊髄上への ADS を行ったところ, 下肢の屈筋伸筋群間で交代性の EMG パターンが出現し, 下肢の歩行様運動が誘発することができた。また, それは皮膚刺激を加える事で更に増大した。随意的に上肢筋の筋活動を変調させることにより, 歩行様運動リズムは変調可能であった。一定周波数 (15 Hz) での脊髄及び皮膚刺激では歩行様運動がほとんど生じない, あるいは非常に小さかった。

この結果は, ヒトにおいても脊髄内に歩行運動の CPG が存在することを示すものである。また, 人工神経接続を利用し, 下肢歩行様運動を随意制御することが可能であることを示した。この上肢筋から腰髄への人工神経接続は下部頸髄-胸髄レベルでの脊髄損傷患者への随意歩行運動の機能再建をする方法として期待が持てる。

(24) 運動の視覚情報が体性感覚-運動統合に与える影響

和坂俊昭, 柿木隆介 (生理学研究所 統合生理研究系)

スポーツを行っているとき, 「今日は調子が悪くて, 身体をうまくコントロールできない」という感覚を経験したことがあることでしょう。運動を行うとき, 体性感覚や視覚の感覚情報は, 運動の遂行に伴い出力される運動指令のコピーと統合されるが, 運動のコントロールに変調がみられるときには, 感覚運動統合がうまく行われていないと考えられる。本研究では, 身体部位の感覚情報と運動情報が統合されるメカニズムを解明することを目的として, 実際の運動の感覚情報とは異なる情報がフィードバックされたときにみられる脳活動の変化を脳磁図で計測した。

被験者には Mirror Box 内に両手を挿入させ, 右手の鏡像が左手の位置に映るように調整させた (Mirror 条件)。その後, 左正中神経刺激を無視しながら自発的な左拇指

の屈曲伸展を行わせ (右手は安静), 運動している左手の視覚情報のフィードバックが運動を行っていないように見えるときの体性感覚領域の活動を記録し, 安静状態の反応と比較した。また Mirror Box が無い正常な状態でも同じ課題を行わせた (NoMirror 条件)。

安静条件と比較して左手の運動によって一次体性感覚野の活動は減少し, 両側の二次体性感覚野の活動は増大した。さらに興味深いことに, 視覚フィードバックが実際のものと異なるとき (Mirror 条件) と視覚フィードバックが正常なとき (NoMirror 条件) では, 二次体性感覚野, 頭頂葉, 島皮質の活動に変化がみられた。これらの領域は, 運動のコントロールに際して, 運動情報と体性感覚情報ばかりではなく, 視覚情報との統合を行っていることを示している。

(25) 実行訓練後と運動イメージ後の両側間転移効果の比較について

雨宮 薫, 小嶋祥三, 山嵜達也 (東京大学院医学研究科, 慶応義塾大学 Carls)

ある一側での運動学習は, 体側の運動学習効果の促進効果をもたらす。この般化効果を学習の転移と言い, この転移の能力により, ヒトは一つ一つの学習の労力から解放され, 効率的な学習が可能となると考えられる。

運動学習の転移には, 学習における効果器非依存 (学習した四肢非依存) の認知的要因が転移に関連するとも考えられており, 本先行研究において, 四肢を実際には動かさない運動イメージにおいても学習の転移が可能であることを示した。

本実験では, 実際の運動学習と運動イメージそれぞれの効果器依存性 (学習した四肢に特有の学習効果) および効果器非依存性を比較するため, 機能的磁気共鳴画像

法 (fMRI) を用いて転移中の活動と学習中の活動の共通領域を検討した。

実行訓練後における転移効果と運動イメージ訓練後による転移効果を比較すると, 転移効果自体に群間差は認められず, 両者ともに転移テスト中の賦活として, 背外側運動前野および下頭頂領域の重複がおおく認められた。しかし, 運動イメージ後のテスト時には, 運動前野背側部の活動がより前方に局限して見られること, また転移が運動イメージ訓練だけでも可能であるとの行動結果から, 特に運動前野背側部の前方領域が転移に重要となる, 効果器非依存の認知学習と関連しているのではないかと考えられる。

(26) 近赤外分光法 (NIRS) を用いたニューロフィードバックによる運動想像時の脳活動変化

三原雅史, 服部憲明, 宮井一郎 (森之宮病院 神経リハビリテーション研究部)

ニューロフィードバックとは, 被験者の脳活動を逐次的に提示し, 被験者自身が随意的に脳活動を変化させる手法である。今回われわれは, 近赤外分光法 (NIRS) 信号を real-time で解析するシステムを開発し, ニューロフィードバックシステムとしての有効性を検討した。まず5名の健康成人を対象に conventional な手法による解析と, real-time での解析とを比較し, real-time NIRS としての妥当性を検証し, 両者の間には高い相関を認めた。次に, 21名の健康成人を対象に運動想像による脳活動が

feedback によって変化するかどうかを検討した。対側運動野付近からの脳活動をフィードバックすることで, Motor Imagery 中の賦活が対側運動前野で上昇し, 頭頂連合野 (Precuneus) 付近で低下することが明らかになった。これにともなう運動知覚性 Motor Imagery Score にも変化が認められたことから, 対側運動野付近からのニューロフィードバックには, 運動知覚的な Motor Imagery を促進させる効果があることが示唆された。

(27) マカクザルの前頭前野におけるタスクフェーズの多重表現

佐賀洋介, 射場美智代, 丹治 順, 星 英司
(玉川大学脳研・東京都医学研, ペンシルベニア大学, 東北大学)

前頭前野は, 短期記憶や行動の企画といった多様な認知的な情報処理に関わっていることが知られているが, その神経メカニズムには未解明の部分が多い。本研究では, 前頭前野が損傷すると複数の手順からなる行動の制

御に問題が生じるという臨床症状に注目し, その神経基盤を調べることを目的とした。まず, マカクザルに以下の行動課題を学習させた。1) 右手にてボタンを押すと課題が開始され, 2) 1秒間の感覚刺激が約2秒の遅延期間

をはさんで断続的に提示され、3) 4 回目の刺激が提示されている間にボタンを放すと、4) 報酬（ジュース）が与えられた。感覚刺激には、視覚・聴覚・体性感覚の3つの感覚様式を用いた。続いて、単一細胞外記録法にて、課題遂行中のサルの前頭前野から細胞活動を記録したところ、いくつかの興味深い知見を得ることができた。1) 感覚刺激が提示されて短潜時 (<200ms) で感覚様式選択的に応答する細胞群、2) 感覚様式に関係なく 1 回目、2 回目、3 回目、あるいは、4 回目の刺激提示に選択的に応答する細胞群と 3) 感覚様式に関係なく遅延期間中に選

択的に応答する細胞、そして 4) 感覚様式選択的且つ、回数選択的細胞群と遅延期間選択的細胞群が見出された。これらの回数選択的に応答する細胞の潜時は感覚様式選択的に応答する細胞群より遅かった。また、感覚様式選択性細胞の分布は解剖学的な細胞分布に従っていた。これらの結果は、前頭前野内において感覚情報がまず入力され、その後、抽象的なレベルで行動の段階を多重表現していると考えられ、前頭前野が行動までの複数の段階を様々な形で制御を行っている神経基盤が存在することが示唆された。

(28) 他者の動きを予測する一倒立振子モデルを用いたアプローチ

藤井慶輔, 進矢正宏, 山下大地, 神崎素樹, 小田伸午

(京都大学大学院人間・環境学研究科, 東大院, 総合文化, 京大院, 人間・環境学, 京大院, 人間・環境学, 関大, 人間健康学)

他者の未来の動きを予測する際、ヒトは関連した情報を知覚し、抽象化を行う。この典型例は、球技選手が相手の動きを予測するところに見ることができる。本研究はヒトがどのようにして他者の動きを知覚し、予測するのかを心理学的手法とバイオメカニクス的手法を用いて検討した。まず心理学のアプローチにより、被験者（防御者）に他者（攻撃者）の方向転換動作が撮影された映像刺激を見せることで、いつ防御者が手がかりを知覚し、反応を行ったかを推定した。次に、動作分析により抽出された身体重心と足圧中心情報から、倒立振子モデルを構成し、順動力学シミュレーションを行った。倒立振子が初めて左右に倒れる初期値を与える時刻を、倒立振子モデルの判定時刻と定義した。最後に、防御者の知覚時

刻と、重心情報に基づく判定時刻、重心+足情報に基づく判定時刻、倒立振子モデルの判定時刻をそれぞれ比較した。結果、防御者は攻撃者が方向転換を行う 340ms 前には関連した手がかりを知覚していることが明らかになった。また、倒立振子モデルの判定時刻は、重心情報に基づく判定時刻よりは有意に早く、重心+足情報に基づく判定時刻と変わらないことが明らかになった。このことから、予測における重心と足の情報の重要性およびその力学的根拠が示された。さらに、倒立振子モデルの判定時刻と攻撃者の意思決定時刻との間に有意な正の順位相関が認められた。この結果から、ヒトが倒立振子の挙動を順方向にシミュレートすることで他者の身体重心の移動方向を予測している可能性が示唆された。

(29) パーキンソン病患者では Libet 課題での運動開始意図の認識に異常がある

梶 勇人, 麻生俊彦, 高橋良輔, 福山秀直, 美馬達哉

(京都大学大学院医学研究科附属脳機能総合研究センター, 京都大学大学院医学研究科脳病態生理学講座臨床神経学)

パーキンソン病 (PD) 患者は運動緩慢を示し、とくに運動開始に強い障害があることが知られている。しかし、運動障害に運動開始意図を発生するメカニズムの障害を

伴っているかどうかは知られていない。

この仮説を検証するため、我々は、PD 患者 11 名 (HY1 ~3 度) と年齢をマッチさせた高齢健常者 12 名を対象と

して、PDでの運動開始意図の異常の有無をLibetの時計課題によって検討した。

Libetの時計課題 (Libet B, 1983) では、被験者は画面上の時計をみながら、自発的なタイミングでボタンを押す。そしてボタン押しをすることを欲したと意識した時刻 (W課題)、また実際に自分の体が動いたと意識した時刻 (M課題) を事後に確認し、ボタンの押された時刻と比較した。対照課題として、皮膚に電気刺激を与えてその時刻を述べさせるS課題も行った。なお、若年健常者ではボタン押しの時刻よりW課題で200 ms、M課題で90ミリ秒先行する時刻と報告される。

高齢健常者ではS課題83 ms、W課題385 ms、M課題154 msで、PD患者ではS課題83 ms、W課題243 ms、M課題131 msであった。W-M時間は高齢健常者で235 ms、PD患者で112 msであった。W課題時刻とW-M時間はPD群では有意に短縮していた ($p < 0.05$)。

これは、PD患者では、運動開始意図の認識が運動開始の認識に比べて相対的に遅れていることを示唆する。この所見は、運動関連脳電位や脳機能イメージングで指摘されている一次運動野や補足運動野の活動低下と関連する可能性がある。

(30) Effect of endpoint error on trajectory adaptation during force field learning: experiment

G. Ganesh, T. Ikegami, T. Gibo, T. Yoshioka, M. Kawato, R. Osu (NICT, ATR-CNS, Johns Hopkins University)

To elucidate how the CNS uses error information to drive motor learning, most force field target studies have utilized the velocity-dependent force field (curl field), which induces large trajectory deviations around the mid-point of reaching movement but only small endpoint errors near the target. Surprisingly, little is known about how the error at the final hand position near the target (endpoint error), which is normally most relevant to the task goal, affects motor adaptation. To answer this question, we examined reaching movement in five force fields, including two that induced

substantial endpoint error. The results show that that trajectory adaptation pattern changes significantly in the presence of endpoint error. Furthermore, de-adaptation after exposure to an endpoint error inducing field results in a persistent new trajectory in the null field environment, which is substantially different from the null trajectory before the force field adaptation. In this poster we show experimental data and in the partner poster we examine the possible neural mechanisms by developing a new computational model.

(31) Effect of endpoint error on trajectory adaptation during force field learning: Model

池上 剛, G. Ganesh, T. Gibo, 吉岡利福, 川人光男, 大須理英子 (NICT, ATR, Johns Hopkins Univ.)

本研究会において共同で発表する Ganesh らの行動学研究では、終点誤差 (運動終了時の手先とターゲットとの差) を生じる力場環境下で到達運動を学習する際、1) 終点誤差が運動軌道に比べて極めて早く収束すること、2) 運動軌道が非単調な適応過程を示すこと、3) 学習の前後において、力場なし環境で生成される運動軌道が異なることを報告する。本研究では、これらの結果を説明する数理モデルを構築する。我々は、Franklin らの運動学習モデル (2008, J Neurosci) を拡張したモデルを考案した。

Franklin のモデルは、運動のスタート地点とターゲットを結ぶ直線を理想軌道と仮定し、その理想軌道と実際の運動軌道の差を減らすように試行毎に運動指令を修正する。まずは、このモデルを用いて終点誤差を生じる力場の学習過程のシミュレーションを行った。我々の実験結果とは異なり、運動軌道は単調的に直線軌道に収束した。さらに、力場を切った後に生じる後効果はすぐに消えて学習前と同じ運動軌道に戻ることを予測した。そこで、我々は、Franklin のモデルを拡張し、理想軌道が試行毎

の終点誤差によって修正されるという仮定を導入した。それによって、終点誤差を生じる力場における、早い終点誤差の収束、運動軌道の非単調な適応過程、力場なし環境における学習前後の運動軌道の変化を全て説明する

ことができた。我々のモデルは、終点誤差に応じて調整される理想軌道が、課題を素早く達成するために計画されていることを示唆する。

(32) 円運動における上肢運動の左右差の解析

大山剛史（岡山県立大学情報工学部スポーツシステム工学科認知行動科学研究室）

ヒトの左右の上肢は関節の可動範囲や発揮できる力などでは大きな差がないにもかかわらず、それぞれの上肢が生成する運動は巧緻性や正確さにおいて差がある。一般的にはよりパフォーマンスの高い側が利き手として扱われている。本研究はヒトの上肢運動が利き手と非利き手でどのように異なるのかについて調べるために、ペンタブレットによる円運動を計測・解析した。健常な右利きの 19-21 歳の被験者が実験に参加した。円の直径は 1, 4, 16 cm の 3 種類を設定した。運動中の視覚フィードバックの影響を見るためにペン先の表示に 2 通りの条件を設けた。実験 1 では円の経路とペン先の位置はモニタに常に表示されていた。実験 2 では円の経路は常に表示されるが、ペン先の位置は被験者が運動を開始すると消えるように設定した。計測した円運動の軌道について、軌跡

の手本円との誤差、軌道の曲率、速度の最大値、計算機シミュレーションによって抽出した経由点のばらつき、経由点を仮定した躍度最小軌道との誤差を調べた。これらの値に関する分散分析は以下を明らかにした。視覚フィードバックがないときには軌跡の誤差に左右差はない、曲率への視覚フィードバックの影響は左腕にのみある、経由点を仮定した躍度最小軌道による軌道の再現性に左右差はないがそのときの経由点のばらつきについては視覚フィードバックがないときに左右差がある、接線速度の最大値は視覚フィードバックの影響を受けるが左右差はない。これらの結果より、利き手と非利き手による運動の違いの要因として、運動中のフィードバック制御の巧みさの差、運動計画において求める経由点の正確性の差などがあると推測する。

(33) 連続的目標追従運動においてみられる運動制御の間欠性

阪口 豊（電気通信大学大学院情報システム学研究科人間情報学講座）

生体の運動制御ループには神経伝達経路や筋収縮など種々の時間遅れ要素が含まれている。このような遅い運動制御系を用いて脳が運動を実時間で遂行するメカニズムは運動制御研究の重要な問題である。このような運動制御の実時間性の要請は（到達運動のような弾道的運動よりも）追従運動のような連続的運動において切実である。なぜならば、脳は、課題遂行に必要な感覚情報を得、それに応じて運動指令を生成し、その結果を観察するという過程を休みなく続けなくてはならないからである。脳はこの問題をどのようにして解決しているのであろうか？ この問いに答える作業仮説として、本研究では「脳は時間軸を適応的に分節し、分節内においてフィードフ

ォワード制御を行なっている」という「間欠的制御モデル」を設け、この仮説を検証するために目標追従課題を題材とする行動実験を行なった。

実験では、1 次元の目標追従課題を実行中の手の動きを解析した。目標の動きが低周波 (<0.5Hz) の正弦波である条件や目標の動きの予測が難しい条件では、手の運動の速度波形には時間幅数百 ms 程度の多数のベル型成分が観察された。このことは、連続的な追従運動が（少なくとも部分的には）到達運動様の離散的な運動の繰り返しによって実行されていることを示唆している。一方、目標の動きが高周波 (>1Hz) の正弦波である条件では、手の動きが目標の動きに先行する傾向に加えて被験者が周

期単位で運動の調整を行なっている様子が観察された。これらの結果は、脳が運動を 100ms オーダーの離散的な

区間に分節し、それを単位として運動を前向きに計画・遂行していることを示唆している。

(34) 手話翻訳実験によるジャーク最小規範に基づく経路点の抽出法の検討

猪狩晋平, 福村直博 (豊橋技術科学大学大学院情報・知能工学専攻生体運動制御システム研究室)

ヒト腕の運動は複数の経路点が拘束条件として加わる運動規範に従って生成されるという仮説が提唱されている。しかし、この経路点による運動表現の妥当性の検証は十分でない。本研究では手話運動から抽出される経路点情報を用いた単語翻訳実験を通して、この経路点表現の妥当性を検証する。手話が3次元運動であることを考慮し、ジャーク最小規範に基づいて経路点抽出を行う。手話運動の照合は複数の運動データの経路点平均を用いて作成した照合用データベースとの比較で行われるため、抽出された経路点がばらつく場合、翻訳の正解率が減少する。よって、手話運動の特徴を表し、かつばらつきが小さくなる経路点を抽出するアルゴリズムを提案する。(1) 計測軌道に曲率のピークが存在する場合、その位置を経路点の初期位置とし、その経路点を通過するジ

ャーク最小軌道との誤差が小さくなる方向へ経路点をずらして最適な経路点の探索を行う。(2) 曲率のピークが存在しない場合、計測軌道を等分割した点を経路点の初期位置とし、(1)と同様の探索を行い、面積誤差が閾値以下になるまで経路点数を増加しながら探索を繰り返す。提案した経路点抽出アルゴリズムによって抽出した経路点の位置による翻訳実験を行った。70種類の手話運動データを用い、手話単語ごとに5個のデータで照合用データベースを作成し、残り5個のデータで翻訳を行った結果、97.14%という高い正解率を示した。この結果はジャーク最小規範に基づく経路点がヒト腕の運動の特徴を表すのに適した情報であることを示すと共に、この手法は計算時間も極めて短いことから、リアルタイムでの手話翻訳についても有効性を確認できた。

(35) 両手運動と鏡像錯覚に着目した運動制御に関する研究

坂尻太司, 田中由浩, 佐野明人 (名古屋工業大学大学院工学研究科機能工学専攻)

本研究では、両手運動と鏡像錯覚に着目し、上肢運動制御を解明することを目的としている。なお、両手運動の一つとして、車のステアリング操作を念頭においているが、実験ならびに考察は幅広い条件下で行っている。ステアリング操作は基本的に両手操作であり、しかも重力下での操作となる。一方の手は重力に従い、もう一方は重力に逆らう逆相運動を行うことにより、操舵という回転運動を行っている。ここで、左右それぞれの手を独立に調べられるように、左右独立構造のステアリングを独自開発し用いている。さらに、左右の中央に鏡を取り

付け、一方の手の鏡像を提示するユニークな操作環境を形成することで、新たな知見の獲得を試みている。鏡像を提示しているため、鏡裏の手が拘束(グリップが固定)されていても、視覚情報から両手で回しているように見える。なお、回す以外に両手を上げる同相運動を行ったり、通常姿勢に加え仰向け姿勢での実験も行なった。実験の結果、条件によって鏡像錯覚の有無が変わり、またある種の違和感を伴う場合があった。本稿では、錯覚の生起パターンから、上肢の位置あるいは力制御について議論した。

(36) 視覚フィードバックの遅れによる視覚運動課題の学習低下が、遅れに適應することで軽減される

本多卓也，平島雅也，野崎大地（東京大学大学院教育学研究科 野崎大地研究室）

視覚フィードバックに遅れがあると，到達運動における視覚運動変換の学習率が低下する事が知られている。一方，ある一定遅れに暴露されるとその遅れ時間の認知が実際よりも短く感じられる事が，心理物理実験で確かめられている。この時間認知の短縮が，時間遅れに対する適應の結果得られるならば，一定遅れに暴露しておく事で，視覚運動変換学習率の低下が軽減されると予測できる。本研究では，その点を調べた。

水平スクリーン上のスタート点から，同じ平面上のターゲット（1 セット 6 方向シュドランダムに提示）に向かって手を動かす到達運動を行った。被験者の手はスクリーン下にあり直接観察する事は出来ない。ベースラインは 20 セット，学習期 30 セット，ウォッシュアウト

20 セットの計 70 セット（約 40 分）であった。学習期のみ，1 セットにつき 1 度の増加率でカーソルが実際の手の位置から反時計回りに回転して提示された。被験者は，カーソルがターゲットからずれるのでそれを補償しようとターゲットに対して時計回りの方向に到達運動をするように学習する。この学習率を，終始遅れなし・終始遅れあり・学習期以降で遅れありの 3 条件で比較した（ここで遅れは全て 200ms）。

その結果，学習期から遅れを挿入した場合は他の 2 条件に比べて有意に学習率が低い事が示された。これは，視覚フィードバックの遅れにより学習率が低下する事，また，あらかじめその遅れに暴露した後だと学習率低下が軽減される事を示唆している。

(37) 視覚運動変換学習における潜在的な複数の視覚エラー処理過程

春日翔子，平島雅也，野崎大地（東京大学大学院・教育学研究科・野崎研究室）

新奇な環境に身体運動を適應させる能力は，動作に伴うエラー情報をもとに，フィードフォワード制御器（内部モデル）の状態が適切修正されるメカニズムによって支えられている。このようなエラー情報の参照と運動修正は，意識に上らない潜在的な過程で処理される (Mazzoni & Krakauer, JNS 2007)。それでは，エラー情報と制御器との対応関係が一对一でない場合，たとえば，動作に伴って複数の視覚的なエラーが同時に生じる状況では，エラー情報はどのように運動修正に用いられるのだろうか。

この問題を検討するため，片腕リーチング運動中に 5～6 試行に 1 回，手先の位置を表すカーソルを，スタート位置を中心に回転させ，1 個または 2 個表示した。回転角度は 0 度， ± 15 度， ± 30 度， ± 45 度の中からランダムに選択した。運動修正度合いの指標として，回転変換試行

の次の試行で生じる回転と逆方向への運動方向を定量化した（後効果）。回転変換角度と後効果の間に線形な関係を仮定し，各々のエラーによって運動方向がどれくらい修正にされたかを推定した。カーソルが 1 個呈示される条件では，回転変換角度が小さいほど，変換角度に対する修正の比率が高まるという関係が観察された。この回転角度と修正比率の関係は，カーソルを 2 個呈示した条件でも保たれていたが，その絶対値は約 1/2 となっていた。さらに，カーソルを 3 個に呈示する追加実験によって推定された修正比率はカーソル一個の場合の約 1/3 であった。

これらの結果は，複数の視覚エラー情報が，同時に，しかし加算平均という単純な様式で，運動修正に利用されることを示している。

(38) 視野移動の段階的導入はプリズム順応の長期効果を促進するか？

内村元昭, 井上雅仁, 北澤 茂 (順天堂大学大学院医学系研究科生理学第一講座)

視野をプリズムで平行移動すると目標に手を伸ばす到達運動に誤差を生じるが、運動を繰り返すことで減少する。プリズムを外すと、逆方向の誤差が生じる（残効）。視野の移動を 1 段階で導入した場合、250 試行繰り返すだけでは 24 時間後には残効が消えるが、500 試行繰り返すと 72 時間後にも残効があることが知られている。本研究では、視野移動を徐々に多段階で導入することで、プリズム順応の長期効果が促進されるか否かを 2 頭のサルを用いて検討した。実験は導入法 2 条件（1 段/多段導入）×試行数 2 条件（少数回/多数回）の 4 条件で行った。1 段導入条件では、30mm の視野移動を導入し 250 回もしくは 500 回到達運動を繰り返した。多段導入条件では、

30mm の視野移動を 490 回かけて段階的に導入した後 10 回もしくは 260 回続けて到達運動を行った。多数回条件における視野移動の積算量（30mm×500 回もしくは $30 \times (490/2 + 260)$ ）は、少数回条件の積算量（ 30×250 , $30 \times (490/2 + 10)$ ）の約 2 倍となっている。24 時間後の残効は、 $2.6 \pm 5.8\text{mm}$ （1 段×少数回）、 $14 \pm 3.5\text{mm}$ （1 段×多数回）、 $3.9 \pm 1.2\text{mm}$ （多段×少数回）、 $15 \pm 3.6\text{mm}$ （多段×多数回）であった。二元配置分散分析を適用したところ、試行数（少数/多数）の主効果は有意 ($F(1,25) = 8.763, p < 0.01$) だったが、導入法も交互作用も有意ではなかった。これらの結果は、長期残効は視野移動量の積算値のみに依存し、1 段か多段かの導入法には依存しないことを示す。

(39) 心理社会的ストレスがピアノ演奏中の筋活動及び事象関連脱同期に及ぼす影響

吉江路子, 三浦哲都, 工藤和俊, 井澤修平, 木村健太, 大築立志, 中澤公孝
(University of Sussex, Brighton and Sussex Medical School, Clinical Imaging Sciences Centre・
順天堂大学大学院医学研究科・日本学術振興会, 東京大学大学院総合文化研究科,
労働安全衛生総合研究所, 関西学院大学大学院文学研究科)

音楽公演場面では、演奏不安（いわゆる“緊張・あがり”）によって演奏者の運動パフォーマンスが損なわれることがあり、プロ・アマチュアを問わず多くの演奏家を悩ませている。本研究では、心理社会的ストレスがピアノ演奏のパフォーマンスに及ぼす影響を媒介する生理心理学/運動生理学的機構を検討した。事前の質問紙調査に基づき、熟練ピアノ奏者 17 名（高不安群 9 名、低不安群 8 名）を実験参加者としてリクルートした。参加者に、ストレス/コントロールの 2 条件下で、第 4, 5 指を用いたトリル課題を弾いてもらい、主観的不安強度、唾液中コルチゾール濃度、上肢表面筋電図、脳波を測定した。その結果、高不安群のみで主観的不安やコルチゾール濃度

の増加が認められ、心理/生理的にストレスが喚起されることが確認された。また、高不安群のみにおいて、前腕と肩の筋活動強度及び前腕拮抗筋同士との共収縮レベルの増加が認められ、筋活動の変化がパフォーマンス低下の一因であることが示唆された。さらに、演奏開始直前?演奏中の脳波の分析により、こうした両群の反応の違いの背景には、感覚運動関連領域におけるミュー・リズムの事象関連脱同期 (event-related desynchronization) の変化があることが明らかとなった。本研究結果より、心理社会的ストレスによる感覚運動情報処理様式の変化が、演奏者の運動パフォーマンスに影響を及ぼす可能性が示唆された。

(40) サル頸髄に留置された電極アレイによる刺激効果の長期的変化

矢口博彬^{1,2}, 大屋知徹², 武井智彦², 満洲邦彦¹, 関 和彦²(¹ 東京大学大学院, 情報理工学系研究科, 満洲・鈴木研究室,² 国立精神・神経医療研究センター, 神経研究所, モデル動物開発研究部)

四肢の運動機能に障害を持つ患者の運動再建には、自力での運動が著しく困難な場合、筋や末梢神経への FES が用いられてきた。しかし、この方法は、多関節協調運動の誘発は困難、疲労に弱い、といった欠点が存在する。我々は、脊髄刺激によってこれらの問題を克服できると考え、サルの頸髄に対して微小電気刺激を行い、機能的な運動の誘発・制御を行っている。本研究では、運動再建術としての臨床応用において必須となる、刺激効果の長期安定性について調べた。32ch のフローティング電極アレイ（電極径 50 μ m, 長さ 3mm, チャンネル間 400 μ m）をサル脊髄の C8 に刺入し、単一チャンネルからの刺激を行った。刺激は電極埋め込みの 85 日後より開始し、以後、刺激効果の経時的変化を観察した。刺激列は、biphasic, 200 μ s の矩形パルスで周波数 50Hz にて 25 パルスとした。

刺激振幅は 50-500 μ A である。5/32ch では、最も小さな刺激強度で左第 1 指の屈曲運動が誘発されたため、その閾値を計測した。電極埋め込みより 85 日後には、閾値は 150 $\pm$ 50 μ A であった。220 日頃より閾値は上昇し、285 日後には 3 つのチャンネルで閾値が >500 μ A となった。この時、他の 2 チャンネルの閾値は 500 $\pm$ 10 μ A であった。27/32ch では、振幅 500 μ A の刺激によって誘発される運動の種類を記録した。刺激により第 1 指の屈曲、他の指の MCP 関節屈曲/PIP 関節伸展、肘の屈曲/伸展等が誘発された。特定のチャンネルからの刺激によって誘発される運動の種類は日によって変化した。これらの結果は、多チャンネル電極による脊髄長期刺激が実現可能であることを示唆する。

(41) 覚醒動物の随意運動制御における脊髄反射回路の機能

金 祉希, 武井智彦, 関 和彦

(国立精神神経医療研究センター神経研究所, モデル動物開発研究部)

従来の脊髄反射に関する生理学的知見ほとんどが麻酔・除脳動物を対象として行われてきた。そのため、これまでの膨大な研究によって確立されてきた脊髄反射回路の、覚醒動物の随意運動制御における機能についてはほとんど知られていない。そこで、我々は随意運動制御における脊髄反射回路の機能を検討するために、覚醒行動下サルから筋感覚神経由来の反射回路における脊髄介在ニューロンを同定し、その発火活動を記録した。3 頭のサルに手首の屈曲伸展運動を行わせ、主に前腕の伸筋群を支配している神経、橈骨神経深枝 (DR) から短潜時入力を受ける脊髄介在ニューロンを同定し、spike-triggered averaging 方法により筋に対する出力効果を調べた。その結果、DR から短潜時入力を受けている 66 個の脊髄介在ニューロンの中、32 個が筋に対し、促進効果 (n=22)、抑

制効果 (n=7) もしくは、同時に促進と抑制効果 (n=3) を及ぼした。促進効果を及ぼした介在ニューロンの大部分が (n=18)、伸筋群に対し出力した (autogenetic facilitation)。それらの発火活動は、手首を伸展方向にトルクを出す運動局面と、トルクを一定に維持する運動局面において、高まった。一方、DR から短潜時入力を受けているが、筋に対し出力効果を持っていない脊髄介在ニューロン (n=34) の発火活動は、トルクを出す運動局面で高まるが、トルクを一定に維持する運動局面においては、有意に減少した (P>0.01)。これらの結果から、筋力を一定に維持する事が求められる運動時に、随意的筋活動を自動的に高めるために、自原性の興奮性反射回路が使われている可能性が示唆された。

(42) 把握運動の筋シナジー形成に関わる脊髄介在ニューロン活動

武井智彦, 関 和彦 (国立精神・神経医療研究センター 神経研究所)

霊長類の把握運動は 27 個もの筋肉が関わる非常に複雑な運動である。これまで把握運動中の筋活動が数個の基本的な協働活動パターン (筋シナジー) の組み合わせによって説明可能であることが示されてきている。しかし、この筋シナジーが中枢神経系によってどのように生み出されているのかは未だに明らかではない。本研究では、脊髄に存在する前運動性介在ニューロン (premotor interneurons, PreM-IN) に着目し、PreM-IN 活動が筋シナジーの活動とどのような時間・空間的な相関を持つのかを検討した。2 頭のサルに把握運動課題を行わせ、その際の手指に関わる筋活動 (12 個) を記録した。筋シナジーを同定するため、筋活動群の時系列パターンに対して非負値因子分解を行なったところ、3 つの時系列信号 (シナジー活動) の線形和によって 12 個の筋活動の分散の 85% 以上が説明できることが明らかになった。さらに、同時

に記録した PreM-IN の筋出力効果を筋活動の spike-triggered averaging によって同定した結果、PreM-IN は平均 2.1 ± 1.5 個の筋肉へ発散したシナプス投射 (muscle field, MF) を持つことが分かった。そこで、PreM-IN MF と筋シナジーの重み付けの筋肉空間での広がりを比較したところ、PreM-IN MF は 3 つのうち 1 つの筋シナジーと選択的に高い相関を示すことが分かった (最適シナジー)。さらに、この PreM-IN と最適シナジーの時系列活動の相関を調べたところ、その他のシナジーの時系列活動に比べて有意に高い相関を示すことが明らかとなった。この結果は PreM-IN の活動が把握運動中の協働筋活動パターンの形成に貢献していることを強く示唆するものである。様々な下行性・求心性入力収束する PreM-IN が協働筋活動を作り出すことによって、より上位の運動中枢の制御負荷が軽減されていると考えられる。

(43) 手首運動課題中のサル小脳プルキンエ細胞の単純スパイク活動の変化

石川享宏, 戸松彩花, 角田吉昭, 李 鍾昊, 寛 慎治

(東京都医学総合研究所 運動失調プロジェクト, 理研 BSI 運動学習制御ラボ)

小脳が運動制御に重要な役割を果たすことは多くの研究者により繰り返し示されてきた。しかし、実際に運動の準備や遂行において小脳の神経回路が何をどのように計算しているのか未だ明らかでない。本研究では小脳皮質から小脳核への唯一の出力細胞であるプルキンエ細胞の活動様式を明らかにすることを目的として、手首運動課題を遂行中のサル小脳皮質から単一ニューロン記録を行ない、単純スパイク活動の課題関連変化を分析した。本研究では、サルは 2 自由度マニピュランダムを手首で操作し、モニター上の中央に保持したカーソルを、周辺の 8 方向のいずれかに表示されるターゲットの枠内に素早く移動することが求められる。3 匹のニホンザルから記録した 150 個のプルキンエ細胞の単純スパイク活動を分析した結果、Go の合図から実際に運動が開始されるま

での間の活動には、3 つのタイプがあることが確認された。1 番目のタイプでは、全ての方向の運動でスパイク活動が減少するか、または変化がみられなかった。このタイプの活動は小脳核に対して脱抑制による興奮作用を及ぼすと考えられ、3 匹のサルに共通して最も多く見られた。一方、2 番目のグループでは全ての方向で単純スパイク活動の増加が見られ、小脳核を抑制すると考えられた。さらに、3 番目のグループでは、ある方向ではスパイク活動が減少し、別の方向では増加した。以上から、手首運動の遂行に関連するプルキンエ細胞から小脳核ニューロンへの作用は脱抑制による興奮制作用が優位であり、以前から存在が疑問視されている苔状繊維の軸索側枝からの強い興奮性入力を前提としなくても小脳核ニューロンを興奮させ得ることが明らかとなった。

(44) チャネルロドプシン2を用いた光刺激マッピングによる前肢運動野と運動野間機能的結合の同定

大久保文貴, 平理一郎, 河西春郎, 松崎政紀

(基礎生物学研究所松崎研究室, 東京大学医学系研究科疾患生命工学センター構造生理学部門)

(※河西春郎教授のみ。他共同研究者は発表者所属と同一)

随意運動においては, 複数の運動領野で運動のタイミングに同期した神経細胞の発火が見られる。げっ歯類も複数の運動領野をもち, caudal forelimb area (CFA) と rostral forelimb area (RFA) の二つの運動領野が存在することが皮質内微小電気刺激により示されている。解剖学的には両者は相互に投射があることが示されており, 運動時においても協調して働くことが考えられる。しかしこの二つの運動領野間において, 一方の領野の活動がもう一方の領野の活動を誘起するような機能的シナプス結合が存在するのかについては調べられていない。そこで本研究では, channelrhodopsin-2 (ChR2) を用いた大脳皮質光刺激マッピングを行い, そのような機能的シナプス結合が存在するのかを調べた。まず, ChR2 が新皮質第 5

層に強く発現しているトランスジェニックマウス (ChR2 マウス) の脳表に青色レーザーを網羅的に照射して前肢運動の応答によりマッピングを行うことで, 前肢運動領野を同定した。これにより, マウスにおいて, CFA の前方に分離して RFA が存在することを見出した。これらの領域は皮質内微小電気刺激によっても確認された。次に, RFA から CFA への機能的シナプス結合を調べるため, CFA に電極を刺入して同様に網羅的光刺激を行い, 光刺激領域からのシナプス入力による活動電位応答でのマッピング (optogenetic functional tracing) を行った。その結果, CFA にシナプス入力する領域として RFA と一致した領域が見出され, RFA 第 5 層から CFA に機能的シナプス結合が存在することが明らかになった。

(45) 動作の企画, 準備, 実行を反映する細胞活動の6つの運動領野内の分布

中山義久, 山形朋子, 有村奈利子, 丹治 順, 星 英司

(玉川大学脳科学研究所 星研究室, 東京都医学総合研究所, 東北大学脳科学センター)

本研究は, 前頭葉の運動関連領域の機能的特性を明らかにすることを目的として, 視覚運動課題 (Nakayama et al., J Neurosci, 2008) を遂行中のニホンザルの 6 つの運動関連領域から細胞活動を記録した。記録部位は, 一次運動野 (MI), 運動前野背側部の F2 領域の吻側部 (PMdr) と尾側部 (PMdc), F7 領域の前方位 (pre-PMd), 運動前野腹側部 (PMv), 帯状皮質運動野尾側部 (CMAc) であった。細胞活動を標準化したものについてクラスター分析 (k 平均法) を行ったところ, 6 つのクラスターに分類され, そのうちの 5 つが, 動作の企画, 準備, および実行に関わると考えられた。第 1 および第 2 グループの細胞は動作の計画に関与すると考えられ, これらの細胞は

pre-PMd, PMdr, PMdc に多く見られた。運動の準備に関わると考えられる第 3 グループの細胞は 6 領域に広く見られたものの, 運動の方向選択性は主として PMdc, PMv, MI に強く反映されていた。運動の開始に関わる第 4 グループの細胞は主に PMv, CMAc, MI に見られ, ターゲットへの到達の際に活動を上昇させる第 5 グループの細胞は, CMAc と MI に多く見られた。第 4 および第 5 グループの細胞において PMv と MI は運動の方向選択性を強く示したが, CMAc の方向選択性は非常に弱いものであった。これらの結果は, 動作の企画, 準備, 実行の過程において, 前頭葉の各領域がそれぞれ異なる役割を担うということを示すものである。

(46) RMP モデルを用いた人間の動作バランスの解析：重心まわりの角運動量の影響

SUNG ChangHyun, 香川高弘, 宇野洋二 (名古屋大学大学院 工学研究科 宇野研究室)

歩行などの身体動作における安定性の指標としては、身体の重心 (COM) と圧力中心 (COP) がよく用いられる。人間の身体動作の解析によく用いられる倒立振子モデルは COM と COP のみに注目し、各関節の動きを無視したモデルである。一方、ヒューマノイドロボットの制御においてバランス保持は重心まわりの角運動量 (CAP) の変化量に依存していることが指摘されている。動作バランスと密接に関係がある CAP はロボットに限らず人間の動作においても考慮する必要があると考えられる。しかし、単純な倒立振子モデルでは身体のバランスと密接に関係する重心まわりの角運動量を表現できない。近年、重心まわりの角運動量を考慮したヒューマノイドの力学モデルとして、RMP (Reaction Mass Pendulum) モデル

が提案された。RMP モデルは COP と COM を結ぶ脚と楕円型の胴体で構成されている。楕円型の胴体は各主軸の両端に Reaction Mass がついており、その Reaction Mass から CAP を表現している。本研究では、RMP モデルを用いて人間の物持ち上げ動作の力学的解析を行った。3 次元位置計測装置と床反力計を用いて、被験者がしゃがんでいる状態から物を持って立ち上がる動作と、また物の重さを変化させたとき、物を持たずに立ち上がる動作をそれぞれ計測した。実験データを解析した結果、人間は物を持ち上げるとき、物を持たずに立ち上がるときより、バランス保持における CAP の影響が大きい結果を示し、CAP を利用していることが示唆された。

(47) 手先振動抑制の関節間協調に視覚情報は影響するのか

東郷俊太, 香川高弘, 宇野洋二 (名古屋大学大学院 工学研究科 機械理工学専攻 宇野研究室)

人間には自然に行うことの出来る、巧みな動作がたくさんある。その中でも本研究では、コップの水をこぼさずに運ぶ、すなわち歩行中の手先振動を抑制するというタスクに注目し、人間がどのような方策を用いてこの巧みな動作を実現させているのかを解析した。手先振動の抑制中に視覚を遮断する実験を行い、タスクを達成するのに重要であると考えられる変数である、手先のジャークとコップの角度がどのように変化するかを調べた。また、関節間の協調動作を定量的に評価するために UCM 解析を用いた。UCM 解析とは冗長性を持つ多要素 (各関節) の分散を性能変数 (手先ジャーク, コップ角度) に直接性能を与えない UCM 成分と、直接影響を与える ORT 成分の異なる二つの分散成分に分ける。また、この

二つの成分から協調度を定義し、視覚の有無によって協調度がどのように変化するかを調べた。結果として、手先ジャークに関しては性能変数の値、協調度共に視覚遮断による影響は受けず、コップ角度に関しては視覚の遮断により性能変数の値が変化し、協調度が低下した。以上の結果から、コップの角度を協調的に制御するために、視覚情報が必要であることがわかった。また、手先のジャークに関しては、視覚遮断の影響を受けなかったことから、視覚情報のフィードバックによる制御は行われていないことがわかった。さらに、この視覚遮断実験とは別の、手先振動抑制中にコップに外乱を加える実験の結果から、外乱に対する応答の方策の違いや、人腕のインピーダンス特性についても考察していく。

(48) 二肢協調運動の制約が発生する要因

中川剣人, 村岡哲郎, 彼末一之¹

(早稲田大学大学院スポーツ科学研究科スポーツ神経科学研究室 日本大学経済学部,

¹早稲田大学スポーツ科学学術院)

ヒトが周期的に二肢を動かすとき、同方向に動かすときは安定し、逆方向では不安定になるという動作方向の制約が発現する。この現象の発現要因を探るため、二肢が動く際の運動指令を送る肢の数(実験1)、体性感覚情報の干渉(実験2)、二肢の組み合わせ(実験3)の影響を検討することを本研究の目的とした。実験1は、同側手足の矢状面上協調運動をモデルに行い、二肢とも能動的に動かすタスクと受動的に動かされる足関節に合わせて手関節を動かすタスクを同方向、逆方向のそれぞれで比較した。その結果、両タスクとも方向の制約が発現した。よって、運動指令を送る肢の数は方向の制約には関

係しないと考えられる。実験2では、足関節からの体性感覚情報の干渉が方向の制約を生むかを検討するため、受動的に動かされる足関節とは独立に手関節を動かしたが、方向の制約は現れなかった。これらのことから、二肢が動く際、方向の制約が発現する要因は、二肢からの体性感覚情報をフィードバックして、それらを利用するという連動制御過程を経ることであると結論づけられた。この仮説を検討するために、両手協調運動をモデルにした実験3を行ったところ、その妥当性が確かめられた。

(49) 三次元キネマティック・シナジーの抽出法

藤原祐介, 阪口 豊(電気通信大学 大学院情報システム学研究科)

ヒトの身体は多数の身体パーツより構成され高い自由度を持つが、それらの身体パーツは別々に変化するのではなく、運動に応じて特定の協調構造を保ちながら変化する。このような身体パーツの協調構造はキネマティック・シナジーと呼ばれる。その協調構造を調べるために、計測した関節角データを統計的に次元縮約して理解しようとする研究が行われてきた。しかし、これまでのキネマティック・シナジーを調べる研究では、ヒトの関節が三次元の自由度を持っているにも関わらず、二次元平面内の運動に限定して解析が行われてきた。その理由の一つとして、シナジー解析において一般に用いられる主成分分析では三次元の回転を扱えないことが挙げられる。

三次元回転は幾何学的に結びついた少なくとも三つの変数によって表現されるが、主成分分析ではそれら関連のある変数を独立に扱ってしまうため、三次元回転の幾何学的な構造が壊れてしまう。本研究では、主成分分析がもつこの問題点を解決し、三次元回転の幾何学的特性を考慮した新しいシナジー解析法を提案する。提案手法では、関節の三次元回転角を四元数により表現し、四元数の空間において次元縮約を行なう。これにより、複数の関節の三次元回転角時系列データを、関節数よりも少ない数の三次元回転角時系列に次元縮約する。本発表では、提案手法をいくつかの身体運動データに適用した解析結果を示す。

(50) ゴール指向性共同課題の運動学習：相手を知り己を知ることの影響

阿部匡樹, 渡邊克己(東京大学先端科学技術研究センター認知科学分野)

二人の動作の統合結果のみが提示されるゴール指向性

共同課題において、提示された結果にどの程度各個人が

貢献しているかは常に曖昧である。また、結果が誤差を含んでいる場合、その修正には二人がどのようにも関与できる。このような冗長な状況下での共同課題の運動学習に関して、本研究では自身および相手のパフォーマンスに関する事前知識がその学習過程に及ぼす影響を調べた。

二人一組のペアが、一過性把持力のピーク値を標的力に合わせる課題を2種類行った。個別課題においては各々の把持力を10Nに一致させる課題、その後行われた統合課題においては二人の合計把持力を20Nに一致させる課題が課された(単位:ニュートン)。両課題ともに試技数は60回で、試技中には把持力の変化は提示されず、試技後にそのピーク値のみが提示された。相互のパフォーマンスの事前知識の影響を調べるため、個別課題の

試技中および全試技終了後にお互いの結果が提示される事前知識群と、個別課題の試技中も全試技終了後も相手のパフォーマンスに関する情報が提示されない対照群が設定された。

定常状態到達後の平均誤差は、個別課題においては事前知識群および対照群の間に差が見られなかったが、統合課題においては対照群の誤差が事前知識群の誤差よりも有意に小さかった。また、事前知識群では、個別および統合課題間の分散の変化や共同課題時の誤差修正率において事前知識提示との関連が示された。これらの結果は、自身および相手のパフォーマンスに関する事前知識の提示が、その後の共同課題の運動学習過程を修飾することを示唆した。

(51) 「褒められること」によって手続き運動技能は身に付きやすくなる

菅原 翔, 田中悟志, 岡崎俊太郎, 渡邊克巳, 定藤規弘

(総合研究大学院大学 生命科学研究科, 生理学研究所 心理生理学研究部門,
東京大学 先端科学技術研究センター)

「褒めて伸ばす」や「褒めて育てる」とはよく聞く言葉ですが、果たして本当でしょうか。この疑問に答えるため、本研究では「褒められること」によって手続き運動技能の定着(consolidation)が促進されるかを実験的に検討しました。

被験者(n=38)は系列ボタン押しの学習課題を行いました(Walker et al., 2002)。30秒間の間に決められた順序で出来るだけ多くボタンを押すという課題を学習しました。課題学習後、被験者は成績のフィードバックの仕方の違いによって3群に分けられました。(1)自己成績称赞群は被験者自身の学習課題の成績について称赞が与えられる映像を観察する群、(2)他者成績称赞群は観察する映像自体はまったく自己成績称赞群と同一であるが、その映像は同じ研究に参加した別の被験者の成績に対するも

のであると教示される群、(3)非称赞群では被験者自身の学習課題の成績が称赞なしで呈示される群でした。

翌日に被験者は学習した運動系列を突然再度遂行することが求められました。前日の学習課題終了時の成績からどれくらい成績が向上しているかを3群間で比較しました。その結果、他者成績称赞群や非称赞群に比べて、自己成績称赞群の成績が有意に向上していました($p<.01$)。前日に学習していない運動系列の課題成績には3群間で有意に差がありませんでした。

学習直後に「褒められること」によって運動技能の学習や定着に重要な脳基底核が活動することにより、学習した系列の定着が促進されたと考えられます。本研究結果から、手続き運動技能は「褒められること」により身に付きやすくなる可能性が示唆されました。

(52) 神経細胞の冗長性は運動学習の速度を最大化する

瀧山 健, 岡田真人

(東京大学大学院新領域創成科学研究科岡田真人研究室, 東京大学大学院, 理化学研究所)

我々が運動するとき, 様々な種類の冗長性が種々の機能的役割を果たしている。例えば, 関節角度の冗長性は姿勢の維持, 筋肉の冗長性はインピーダンスコントロールという機能的役割を果たしている。運動システムは神経細胞の冗長性を内在する。すなわち, 筋肉の数は高々400個であることに對し, 一次運動野は1億個以上ものニューロンを含み, 目標とする筋活動を実現するニューロン活動は一意に定まらない。しかしながら, この神経細胞の冗長性が果たしている機能的役割は未だ明らかでない。我々はニューラルネットワークモデルを用い, モデルニューロンの数をパラメータとして扱うことで, 神経細胞の冗長性が果たす機能的役割を議論した。その結果, 神経細胞の冗長性は運動学習の学習速度を最大化す

る必要十分条件であることを解析的に示した。この解析結果はニューロン集団の最適方位の分布に依存しない。すなわち, 電気生理実験から示唆されている一様分布, 歪んだ分布のいずれにおいても, 神経細胞の冗長性は学習速度を最大化する。加えて, 神経細胞の冗長性はシナプス可塑性の更新則と, 心理物理実験から示唆されている運動指令の更新則とが等価になる必要十分条件であることも示した。つまり, 我々の解析結果は行動実験結果をも説明することができる。さらに, チューニングカーブの高さの分布が非対称であること, そして運動学習速度を最大化する力場の種類の種類は従来用いられている回転外乱, 鞍点外乱であることを予測結果として示唆した。

(53) 力場学習に伴う皮質脊髓路の興奮性の変化

門田 宏, 平島雅也, 野崎大地 (東京大学大学院教育学研究科身体教育学コース)

サルを対象とした研究によれば, 腕到達運動中の運動方向に依存した一次運動野ニューロン活動度のチューニング特性は, 新奇な力場環境の学習前後で変化する。したがって, 一次運動野ニューロンは, 運動学習に関与する内部モデルの構成要素の1つであると考えられる。本研究では, 学習に伴う個々のニューロンの活動特性の変化が, よりマクロな皮質脊髓路興奮性の変化としてヒトでも観察されるかどうか, また, こうした変化が運動実行前の準備段階においても観察されるのかどうか検討した。

被検者は, 右手首関節を使ってロボットマニピュラタムを操作し, ディスプレイに表示されたカーソルをターゲットに向かって動かす運動課題を行った。また,

このとき, 動作速度依存性の時計回り回転力場に適応してもらった。動作実行前に左一次運動野に経頭蓋磁気刺激を加え, 手首運動に関与する筋から運動誘発電位(MEP)を誘発した結果, MEPは運動学習に伴う至適方向の時計回りの回転変化が観察された。さらに, 片手運動で時計回りの力場, 両手運動で反時計回りの力場, と同時に二つの力場を学習する課題を行った場合にも, 学習したコンテキストに応じた皮質脊髓路興奮性の変化が運動準備段階において観察された。これらの結果は, 新たな内部モデルの構築過程を, 皮質脊髓路興奮性の運動方向依存性という形で取り出せること, 獲得された内部モデルが運動準備段階で系統的かつ柔軟に想起されることを示している。

(54) 第一次運動野損傷後の把握動作回復に対する運動前野腹側部の役割

村田 弓, 肥後範行, 西村幸男, 林 拓也, 杉山容子, 大石高生, 塚田秀夫, 伊佐 正, 尾上浩隆
(産総研ヒューマンライフテクノロジー, 生理研認知行動発達, 理研分子イメージング科学研究センター,
京大霊長研分子生理, 浜松ホトニクス中央研究所)

脳卒中などで脳が損傷を受けた際に起こる運動麻痺の回復のためにリハビリ訓練が行われるが, その回復の背景にある脳内メカニズムは明らかになっていない。機能回復に関わる脳領域を特定するために, サルの第一次運動野手領域損傷モデルを用いて脳活動と薬物注入による抑制実験を行った。まず, PET (陽電子放出断層撮影法) を用いて, 精密把握 (親指と人差し指の先端でつまむ動作) を行っている時の脳活動を, 第一次運動野 (M1) の損傷前と, 損傷後に把握動作が回復した時期 (損傷後 1 ヶ月後と 3 ヶ月後) に調べた。その結果, 回復時には, 損傷前と比べて損傷半球の運動前野腹側部 (PMv) の活動が上昇する傾向が認められた。次に, この損傷半球の PMv で見られた活動上昇が精密把握の機能回復に関わ

っているかを調べるために, 損傷半球 PMv の手の領域に GABA_A レセプターのアゴニストであるムシモールを投与して脳活動を一時的に不活性化する実験を行った。その結果, 損傷前は動作手と反対側の PMv の脳活動を抑制しても精密把握はほとんど影響が認められなかったが, 損傷後 1 ヶ月の精密把握が回復した時期に損傷半球 PMv を抑制すると, 回復していた精密把握が困難となった。この傾向は損傷後 3 ヶ月後に行っても同様であった。このことから, 損傷半球の PMv が M1 損傷後の精密把握の回復に重要であることが示唆された。PMv から生じる皮質脊髄路が強化され, M1 損傷によって失われた経路のバイパス経路となることが, 精密把握の回復の背景にあると推察される。

(55) Independent activation of primate corticomotoneuronal cells and target muscles demonstrated by operant conditioning

Yukio Nishimura, R. W. EATON, S. I. PERLMUTTER, E. E. FETZ
(生理学研究所・認知行動発達, ワシントン大学・医学部・生理・生物物理学)

In primates, corticomotoneuronal (CM) cells have sufficiently strong synaptic linkages to motoneurons to mediate post-spike facilitation in spike-triggered averages of muscle activity. We investigated whether activity of CM cells and their target muscles could be independently controlled by operantly conditioning their relative activation levels. In two *Macaca nemestrina* monkeys, single cortical neurons were recorded with moveable microwires chronically implanted in the caudal bank of the pre-central gyrus. Activity of 12 distal forelimb muscles was recorded with sub-cutaneously implanted pairs of wires in each muscle in one monkey. Spike-triggered averages of rectified EMG were compiled while the monkeys performed a force step-tracking task about the wrist. Nineteen CM cells, with post-spike effects (PSPs) were selected for operantly conditioning the relative activity

of the CM cell and a target muscle. Cell and muscle activity controlled the position of a cursor on a screen, with x and y positions determined by cell spike rates and EMG activity of a target muscle (M). Monkeys received rewards for holding the cursor in target positions requiring all possible combinations of activation (+) and inactivation (-), namely CM+M+; CM+M-; CM-M+ and CM-M-. The monkeys learned to reciprocally activate cells and target muscles exhibiting post-spike facilitation, in both directions. For muscles with post-spike suppression, monkeys learned to co-activate these cell-muscle pairs. PSPs compiled during periods of cell-muscle co-activation could differ in magnitude from those generated during reciprocal activation. These results indicate that cortical cells with strong synaptic linkages to motoneurons can be flexibly activated relative to their target

muscles.

(56) Changes in directional tuning of motor cortex cells driving an artificial corticospinal connection in monkeys

YUKIO NISHIMURA, S. I. PERLMUTTER, E. E. FETZ

(生理学研究所・認知行動発達, ワシントン大学・医学部・生理・生物物理学)

In primates, corticospinal (CS) connections are essential to control forelimb movements. Patients with damaged CS pathways exhibit severe motor deficits, and might benefit from artificial connections. We investigated the effects of introducing novel CS connections in 2 intact monkeys. Microwires were chronically implanted in motor cortex to record neural activity and in cervical spinal cord to deliver electrical stimuli during voluntary wrist movements. Action potentials of 92 single cells were used to trigger stimuli at spinal sites, using laboratory instrumentation. The activity-dependent stimulation (10-400 μ A, 1-3 pulses/spike) produced responses in multiple finger and wrist muscles (both activation and suppression), and modulated hand movements. Monkeys performed a 2D center-out torque tracking task about the wrist, with and without the artificial CS connection.

Many cells changed their tuning properties in the flexion-extension and radial-ulnar plane during operation of the novel CS connection. Changes in tuning properties depended upon spinal output effects. The depth of tuning tended to decrease or increase when the preferred directions of cell and spinal output were matched or mismatched, respectively. One group of cells resumed their baseline tuning properties after the artificial connection was turned off. A second group maintained the pattern of activity acquired during the connection, even after it was turned off. These changes occurred when the connection was established for short periods (30-60 min) in the lab. These results indicate that changes in CS control can be induced by artificial CS connections, and suggest a potential neuroprosthetic treatment for patients with damaged motor pathways.

(57) Primate corticospinal connections can be strengthened by prolonged spike-triggered stimulation of spinal cord during free behavior

YUKIO NISHIMURA, R. W. EATON, S. I. PERLMUTTER, E. E. FETZ

(生理学研究所・認知行動発達, ワシントン大学・医学部・生理・生物物理学)

Previous studies documented that intracortical spike-triggered stimulation produces Hebbian synaptic plasticity, which can strengthen physiological connections (Jackson et al., Nature 2006). We investigated whether corticospinal connections can be strengthened by an artificial recurrent connection between a single corticomotoneuronal (CM) cell and a related spinal site in freely behaving monkeys. The artificial connection was produced by an autonomous head-fixed brain-computer interface that operated continuously during free behavior in the home cage. The

so-called “Neurochip” was programmed to detect action potentials of a single CM cell recorded by a wire electrode in motor cortex and to deliver spike-triggered electrical stimuli at a cervical spinal site. The synaptic efficacy of CM connections was assessed by the magnitude of post-spike effects (PSPs) in spike-triggered averages of rectified EMG. The relative amplitudes of PSPs were compared before, during and after 19-23 hours of conditioning with spike-triggered stimulation. We investigated the effects of this conditioning paradigm in 19 different sessions, using 12

different pairs of CM cells and spinal sites in two monkeys. The amplitudes of both post-spike facilitation and suppression were found to increase or emerge after overnight conditioning. The increased output effects were sustained through multiple successive days of conditioning. However the PSpEs returned to their original amplitudes after the artificial connection was terminated for 24 hours. These

conditioning effects could be produced only with delays of 15-25ms between the action potentials and stimuli. These results indicate that corticospinal synaptic connections can be potentiated by activity-dependent Hebbian plasticity. This protocol suggests a possible neurorehabilitative treatment for patients with damaged corticospinal pathways.

16. 情報伝達物質としてのプリンの意義

2011 年 10 月 21 日－10 月 22 日

代表・世話人：二ノ宮裕三（九州大学大学院歯学研究院口腔機能解析学）

所内対応者：鍋倉淳一（生体恒常機能発達機構研究部門）

（1）神経発生における P2Y-Ca 動員系の役割

山下勝幸（奈良県立医科大学第一生理）

（2）TGF- β 1 によるがん細胞運動能亢進における VNUT の関与

高井英里奈（東京理科大学大学院薬学研究科）

（3）培養マウスアストロサイトにおける P2X₇ 受容体活性制御への splice variant の関与

ーマウス系統間における比較検討

長澤一樹（京都薬科大学生命薬科学系衛生化学分野）

（4）P2X₇ 受容体を介した炎症反応における P2X₄ 受容体の関与

河野鮎美（東京理科大学大学院薬学研究科）

（5）特別講演：ATP 研究に関する最近の話題

井上和秀（九州大学大学院薬学研究院薬理学分野）

（6）膵臓癌由来細胞の遊走能に対する細胞外ヌクレオチドの作用

伊藤政明（高崎健康福祉大学薬学部薬効解析学研究室）

（7）ミクログリアにおける ATP の作用に対する抑制効果とそのメカニズム

野田百美（九州大学大学院薬学研究院病態生理学分野）

（8）ATP 情報が発信されるメカニズム

小泉修一（山梨大学大学院医学工学総合研究部薬理学講座）

（9）味覚情報伝達における ATP の役割

吉田竜介（九州大学大学院歯学研究院口腔機能解析学）

（10）UDP 誘発性マクロピノサイトーシスにおける PKD の関与

上杉歩未（九州大学大学院薬学研究院薬理学分野）

（11）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

川村将仁（東京慈恵会医科大学薬理学講座）

（12）転写因子 IRF8 を介したミクログリア ATP 受容体発現制御および神経障害性疼痛における役割

増田隆博（九州大学大学院薬学研究院薬理学分野）

【参加者名】

岩槻 健（味の素（株）イノベーション研究所味覚・消化管研究グループ）、山下勝幸（奈良県立医科大学医学部生理学第一講座）、岩永ひろみ（北海道大学大学院 医学研究科組織細胞学分野）、高井英里奈（東京理科大学大学院薬学研究科薬学専攻放射線生命科学研究室）、長澤一樹（京都薬科大学薬学部衛生化学分野）、河野鮎美（東京理科大学大学院薬学研究科 薬科学専攻放射線生命科学研究室）、原田 均（鈴鹿医療科学大学薬学部分子毒性学）、

松岡 功（高崎健康福祉大学薬学部薬学科薬効解析学研究室）、伊藤政明（高崎健康福祉大学 薬学部、薬学科薬効解析学研究室）、野田百美（九州大学 大学院 薬学研究院病態生理）、古家喜四夫（名古屋大学革新ナノバイオデバイス研究センター）、加藤総夫（東京慈恵会医科大学医学部神経生理学）、井上和秀（九州大学大学院薬学研究院薬理学）、小泉修一（山梨大学医学部薬理学講座）、森澤陽介（山梨大学大学院医学工学総合研究部薬理学）、津田

誠 (九州大学大学院薬学研究院薬理学), 柴田圭輔 (山梨大学医学工学総合研究部薬理学講座), 井村誉史雄 (山梨大学大学院医学工学総合研究部薬理学講座), 篠崎陽一 (山梨大学大学院医学工学総合研究部薬理学講座), 齊藤秀俊 (九州大学薬学研究院薬理学分野), ニノ宮裕三 (九州大学大学院歯学研究院口腔機能解析学分野), 吉田竜介 (九州大学大学院歯学研究院口腔機能解析学分野), 今井利安 (日本ケミファ株式会社創薬研究所), 仁木麻由 (九州大学歯学研究院口腔形態制御学専攻口腔機能解析学講座), 増田隆博 (九州大学大学院薬学研究院薬理学分野), 吉永遼平 (九州大学大学院薬学研究院薬理学分野), 西本奈央 (九州大学大学院薬学府創薬科学専攻薬理学教室), 落石龍太郎 (九州大学大学院創薬科学専攻薬理学講座), 増田潤哉 (九州大学大学院薬学研究院薬理学), 上杉歩未 (九州大学大学院薬学研究院薬理学分野), 鍋倉淳一 (生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門), 山口純弥 (総合研究大学院大学大学院生命科学研究科生理科学専攻生体恒常機能発達機構研究部門), 高露雄太 (九州大学大学院薬学研究院薬理学分野), 米田聡介 (九州大学大学院薬学研究院創薬科学専攻薬理学分野), 川村将仁 (東京慈恵会医科大学薬理学講座), 山下智大 (九州大学大学院薬学研究院薬理学分野), 岩本祥佑 (九州大学大

学院薬学研究院薬理学分野), 下山裕 (九州大学大学院薬学研究院薬理学分野), 中畑義久 (総合研究大学院大学大学院生命科学研究科生理科学専攻), 宮田広行 (九州大学大学院薬学研究院薬理学分野), 小嶋ちなみ (九州大学大学院薬学研究院薬理学), 川田竜 (九州大学大学院薬学研究院薬理学), 宮本愛喜子 (総合研究大学院大学大学院生命科学研究科生理科学専攻生体恒常機能発達機構研究部門), 坂口瑛美 (九州大学大学院薬学研究院薬理学教室), 苑政一 (九州大学大学院薬学研究院医療薬科学部門薬理学分野), 井上裕雅 (九州大学薬学部薬理学研究室), 南絵美子 (九州大学大学院薬学研究院医療薬科学部門薬理学分野), 石橋仁 (生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門), 加藤剛 (生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門), 金善光 (生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門), 江藤圭 (生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門), 稲田浩之 (生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門), 平尾顕三 (生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門), 石川達也 (生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門), 加塩麻紀子 (生理学研究所細胞生理研究部門), 高山靖規 (統合バイオサイエンスセンター細胞生理), 森山芳則 (岡山大学薬学部), 南雅文 (北海道大学薬学部)

【概要】

本研究会は, 「情報伝達とプリン」をキーワードとして, 生理学的あるいは病態生理学的な状況における ATP・アデノシンを介した情報伝達に関する基礎・臨床研究において優れた研究成果をあげている研究グループが一堂に会して情報交換を密にするとともに, 最新の研究状況について情報交換することにより, 我が国の ATP・アデノシン情報伝達研究のレベル向上を図るべく企画された。特別講演として, 九大・井上が ATP 研究に関する歴史, および最近の知見を紹介した。一般講演として, 神経発生における P2Y-Ca 動員系の役割について奈良医大・山下が, がん細胞の運動能亢進に VNUT 依存的 ATP 開口放出が関与する可能性について東京理大・高井が, アストロサイトにおける P2X₇R の活性制御における splice variants の関与について京都薬大・長澤が, P2X₇ を介した炎症反応における P2X₄ の関与について東京理大・河野が, 膵臓癌由来細胞の遊走能に対する細胞外ヌ

クレオチドの作用について高崎健康福祉大・伊藤が, ミクログリアの ATP 作用に対するオレキシンの抑制効果について九大・野田が, アストロサイト, ミクログリア, 膀胱上皮, 皮膚における ATP シグナリングについて山梨大・小泉が, 味細胞-味神経間の情報伝達物質としての ATP の役割について九大・吉田が, PKD による UDP 誘発性マクロピノサイトーシスおよびファゴサイトーシスの抑制について九大・上杉が, アデノシン受容体を介する海馬アストロサイトの自発的カルシウムオシレーション頻度の長期増強について東京慈恵医大・川村が, ミクログリアの過活動状態への移行に重要な転写因子について九大・増田が, それぞれ発表した。各演者は, 最新のさまざまな分子・細胞レベルの手法を駆使した他領域にわたる研究成果を報告し, これらに対して, さらなる研究の深化をもたらすべく, 多様な視点から活発な討論が交わされた。

(1) 神経発生における P2Y-Ca 動員系の役割

山下勝幸（奈良県立医科大学第一生理）

P2Y 型受容体を介する細胞内 Ca 上昇は、発生過程の極めて早期から起こる。中枢神経の発生過程では、幹細胞に相当する神経上皮細胞において、P2Y-Ca 動員系の応答が顕著に生じる。今回、神経発生における P2Y-Ca 動員系の役割に関して、1) 増殖、2) 神経活動の同期化、3) 軸索ガイダンス、の 3 点について最新の知見を含めて紹介した。

1) P2Y 型受容体の活性化は、神経上皮細胞の増殖を促進する。ATP を網膜器官培養系の培養液に添加すると増殖が促進し、逆に ATP 受容体のアンタゴニストを加えると増殖が阻害される。2) 細胞内 Ca ストアを形成する核

膜の膜電位は、Ca 放出にともない変動する。この膜電位変動は、核膜と細胞膜のキャパシタンスを介して細胞間で同期し、この容量性結合により神経活動が同期化する。3) 神経上皮組織では基底膜の内側直下に、Ca 動員に起因すると考えられる正の直流電位が存在する。この電位は増殖活動が盛んな部位において大きく、神経上皮内で細胞外電位勾配が生じる。この電位勾配に沿って分化直後のニューロンが軸索を伸長すると考えられる。なお、上記 2) の内容は、Yamashita, M. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 406:107-111 (2011) として発表した。

(2) TGF- β 1 によるがん細胞運動能亢進における VNUT の関与

高井英里奈¹，月本光俊¹，原田 均²，澤田啓介³，森山芳則³，小島周二¹

(¹東京理科大学大学院・薬学研究科，²鈴鹿医療科学大学薬学部，

³岡山大学大学院医歯薬学総合研究科)

TGF- β 1 はがん組織で多く産生されているサイトカインで、転移能亢進などがん悪性化に関与する。また、がん微小環境において多量の ATP の放出蓄積が報告されている。最近、ATP 開口放出に重要である vesicular nucleotide transporter (VNUT) が同定されたが、がんを含めた病態における役割については明らかでない。そこで、今回我々は TGF- β 1 による細胞運動能亢進過程における P2 受容体および VNUT 依存的 ATP 開口放出の関与について検討を行った。TGF- β 1 によるヒト肺がん A549 細胞の運動能亢進およびアクチンストレスファイバー形成は apyrase, P2X 受容体アンタゴニスト，および P2X₇ 受容

体選択的アンタゴニストの処置によって抑制された。また、TGF- β 1 刺激により A549 細胞からの ATP 放出が認められ、これは開口放出によるものであると推測された。そこで shRNA を用いて VNUT のノックダウンを行ったところ、TGF- β 1 による ATP 放出は顕著に抑制され、VNUT ノックダウン細胞においては TGF- β 1 による細胞運動能亢進およびアクチンストレスファイバー形成も抑制された。以上の結果から VNUT 依存的 ATP 開口放出が TGF- β 1 によるがん細胞の運動能亢進に寄与していることが明らかとなり、がんの悪性化に VNUT が重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

(3) 培養マウスアストロサイトにおける P2X₇受容体活性制御への splice variant の関与 —マウス系統間における比較検討—

長澤一樹, 木戸悠佳, 河原知世, 寺井易子, 深川愛未,
松浦末工, 宮本優里, 松尾剛明, 西田健太郎
(京都薬科大学生命薬科学系衛生化学分野)

極めて fighting 傾向が強い SJL 系マウス由来の培養アストロサイト (SJL-アストロサイト) において, P2X₇ 受容体 (P2X₇R) の恒常的活性化が認められたが, その活性制御機構は不明である。今回, 比較的気性の穏やかな ddY 系マウス由来アストロサイト (ddY-アストロサイト) における P2X₇R の活性化状態を調べるとともに, これらアストロサイトにおける P2X₇R の活性制御における splice variants の関与を比較検討した。SJL-アストロサイトにおける P2X₇R のポア活性は, ddY-アストロサイトの場合よりも高かった。両アストロサイトにおける P2X₇R 並びにポア形成の実体とされる pannexin-1 の発現量はほ

ぼ同じであり, それら cDNA 塩基配列にも違いはなかった。P2X₇R splice variants の発現について検討した結果, SJL-アストロサイトにおける variant-3 及び 4 の mRNA 発現量は, ddY-アストロサイトにおけるそれらよりも有意に低かった。さらに, P2X₇R とその variant-3 を共発現させた細胞におけるポア活性は, P2X₇R のみを発現させた細胞の場合と比較して低かった。したがって, SJL-及び ddY-アストロサイトにおける P2X₇R 活性化状態の差異は, 少なくとも一部, P2X₇R variant-3 の発現量の違いに起因することが示された。

(4) P2X₇受容体を介した炎症反応における P2X₄受容体の関与

河野鮎美¹, 月本光俊¹, 原田 均², 小島周二¹
(¹ 東京理科大学大学院薬学研究科, ² 鈴鹿医療科学大学薬学部)

P2X₇ 受容体は, リンパ球やマクロファージなど免疫系細胞の細胞膜上に多く発現しており, 免疫応答において重要な役割を担っている。近年, P2X₇ 受容体と P2X₄ 受容体は免疫細胞に限らず多くの細胞で同時発現しており, 機能的相互作用をもつことが報告されてきた。そこで, 本研究ではマクロファージ様 RAW264.7 細胞を用いて, P2X₇ 受容体活性化による細胞死誘導及びそれに伴う炎症性核内蛋白質 High Mobility Group Box 1 (HMGB1) 放出における P2X₄ 受容体の関与について検討した。

LPS により分化誘導した細胞へ ATP を処置したところ, 1 mM ATP 処置後 3 時間以降において乳酸脱水素酵素 (LDH) 及び HMGB1 の放出が認められた。この LDH・

HMGB1 放出は P2X₇ 受容体アゴニストである BzATP によっても誘導され, P2X₇ 受容体選択的阻害薬の処置により抑制された。これらの結果より, マクロファージにおける P2X₇ 受容体を介した細胞死誘導と HMGB1 放出が確認された。P2X₄ 受容体の関与を検討するため, shRNA を導入して P2X₄ 受容体のノックダウンを行ったところ, ATP 処置による LDH 及び HMGB1 放出は, P2X₄ 受容体ノックダウン細胞において顕著に減少した。

以上の結果より, P2X₇ 受容体を介した細胞死及び HMGB1 放出誘導に P2X₄ 受容体が機能的に相互作用することが示唆され, ATP-P2X₇ 受容体を介した炎症反応における P2X₄ 受容体の重要性が示唆された。

(5) 特別講演：ATP 研究に関する最近の話題

井上和秀（九州大学 大学院薬学研究院 薬理学分野）

近年、ATP およびアデノシンなどを細胞間シグナル分子とする情報伝達の生理的および病態生理的役割の解明が急速に進み、細胞外プリンが、驚くほど多様な臓器の多様な細胞間での基幹の情報伝達分子であることが理解されつつある。しかも、そのメカニズムは従来の教科書的な概念の枠を超えており、ATP と関連プリン類の生体機能制御に関して新しい研究領域の扉が開かれようとしている。ここで最も重要なことは、解明された多くの知見が日本の研究グループから生み出されたことである。例えば、P2X₄ 受容体刺激によるミクログリアからの BDNF 遊離と神経因性疼痛発症に関する発見 (Tsuda et

al., Nature 2003; Coull et al., Nature 2005), 血流ずり応力に対する血管内皮細胞応答 (Yamamoto et al., Nat Med 2006), P2Y₆ 受容体刺激によるミクログリアの食食誘発 (Koizumi et al., Nature 2007), さらに腸内細菌が放出する ATP が難病クローン病を誘発する発見 (Atarashi et al., Nature 2008), 心機能障害を引き起こす線維化への P2Y₆ の関与 (Nishida et al., PNAS 2011) など、生体の病態生理において細胞外プリンが幅広く関与しているという新事実が私たちの仲間により次々に明らかにされている。これらを紹介することにより、我が国の若手の研究者が一層士気を高め、研究に精進されることを望む。

(6) 膵臓癌由来細胞の遊走能に対する細胞外ヌクレオチドの作用

矢部晴香, 伊藤政明, 松岡 功（高崎健康福祉大学・薬学部・薬効解析学研究室）

細胞外ヌクレオチドはプリン作動性受容体を介して多様な生理機能を調節するメディエーターとして重要な役割を果たしている。今回、我々は癌細胞の細胞遊走能と細胞外ヌクレオチドの作用に焦点を当てて検討した結果を発表した。

転移能が高いことが報告されているヒト膵臓癌由来 PK9 細胞におけるプリン受容体の遺伝子発現を解析した結果、Gq 蛋白共役型である P2Y₂ 受容体の顕著な発現が認められた。また、Boyden Chamber 法により PK9 細胞の各種ヌクレオチドに対する遊走能を評価した結果、特に ATP, UTP に対して高い遊走活性が認められ、それらの応答は P2Y₂ 受容体および Gi/o 蛋白質依存的であるこ

とが示唆された。一方、P2Y₂ 受容体刺激が Gi/o シグナルを伝達する機構として、受容体の細胞外第 1 ループの RGD 配列が、受容体の活性化に伴いインテグリンと相互作用することが必要であることが確認された。これらの結果から、膵臓癌由来 PK9 細胞は ATP, UTP によって細胞遊走が亢進し、その応答には特に P2Y₂ 受容体がインテグリンとの相互作用により Gi/o 蛋白質と共役することが重要であることが示唆された。また、本研究の成果からプリン作動性シグナルを標的とした新しい癌の治療戦略に繋がる可能性があると考えられた。

本研究会では、以上の成果報告に対して多くの意見を交換することができ非常に有意義であった。

(7) ミクログリアにおける ATP の作用に対する抑制効果とそのメカニズム

野田百美（九州大学 大学院薬学研究院 病態生理学分野）

我々は、ミクログリアの特記すべき機能の一つであり、様々な病態時に重要となる遊走能のメカニズムを解明してきた。ミクログリアの遊走能に影響を与える因子には、

ATP の他、ブラジキニンやニューロテンシン等のニューロペプチドが挙げられる。ミクログリアにはニューロペプチド受容体が多数発現しており、ミクログリアが様々

なニューロペプチドを厳密に見分け、病態時の脳機能を極めて巧妙に制御している可能性が示唆される。我々は、これらニューロペプチドがミクログリアの遊走能に及ぼす影響を模索すべく、網羅的に検討を行ってきた。これまでに報告されているミクログリアの遊走能に関与するニューロペプチドはすべて、その遊走性を増加させるものであったのに対し、オレキシンはそれ自身では何ら影響がなかったが、ATPによるミクログリア遊走能を顕著に抑制した。オレキシンはオーファンG蛋白質共役型受

容体に対するリガンドとして1998年に同定された新規生理活性ペプチドであり、摂食や睡眠に深く関わっている上に、自発運動量の亢進、交感神経系の活性化、さらにはうつ病や痛みとの関連も報告されている。神経系ではATPの作用と逆の作用があることが報告されており、本研究では、免疫系において拮抗作用があることが示唆された。今後、オレキシン特有のシグナル系とATPとの拮抗作用を解明する予定である。

(8) ATP 情報が発信されるメカニズム

小泉修一¹，藤下加代子¹，中込宙史²，井上かおり¹，井村誉史雄¹，小松龍平¹，
柴田圭輔¹，篠崎陽一¹，平山友里¹，森澤陽介¹，武田正之²，森山芳則³

(¹山梨大学大学院医学工学総合研究部薬理学講座，

²山梨大学大学院医学工学総合研究部泌尿器科学講座，³岡山大学大学院医歯薬総合研究科)

多くの細胞が種々の刺激によってATP等ヌクレオチドを放出するが、その放出メカニズムには不明な点が多い。本研究では、2008年に森山らが報告したVNUTの切り口から、各種細胞のATP放出メカニズムについて検討を行った。アストロサイト：アストロサイトには開口放出関連分子及びVNUT陽性シグナルが存在し、開口放出によりATPが放出され、周辺細胞の機能を制御していることが明らかとなった。ミクログリア：ミクログリアの機能は複数のP2受容体で異なる制御を受けているが、ミクログリア自身も開口放出によりATPを放出し、

オートクラインメカニズムにより自身の機能制御を行っている可能性が示唆された。膀胱上皮：膀胱に尿が溜まり伸展すると、膀胱上皮からVNUT依存的な開口放出によりATPが放出された。このATPが一次求心性神経上のP2X受容体を刺激することで、尿意が伝わる事が予想される。皮膚：皮膚は機械刺激や、光、熱に晒される機会が多い。皮膚はこれらの刺激、VNUT依存的なATP開口放出に変換し、周辺細胞の機能制御を行っている可能性が示唆された。

(9) 味覚伝達におけるATPの役割

吉田竜介¹，仁木麻由¹，村田芳博²，二ノ宮裕三¹

(¹九州大学大学院歯学研究院口腔機能解析学，²高知大学医学部生理)

近年、ATPは、味細胞-味神経間の主要な伝達物質として注目されている。ATPは、味蕾内の細胞のうちII型細胞からヘミチャネル(connexin43およびpannexin1)を介して放出される可能性が示唆されており、我々はルーズパッチ法とルシフェラーゼアッセイを組み合わせ、味細胞応答とそれにより放出されるATPの定量を同時に行った。その結果、甘味、うま味、苦味刺激に応答する

II型細胞からは味刺激によるATP放出が検出されたが、酸味、塩味刺激に応答するIII型細胞では味刺激によるATP放出が検出できなかった。ATP放出量は味細胞の発火頻度に依存して増大し、pannexin1の阻害剤カルベノキソロンで抑制された。また、テトロドトキシン投与により活動電位を抑制すると、II型細胞からのATP放出量が、約3分の1に減少した。これらの結果から、味刺激で生

じる活動電位により II 型細胞からの ATP 放出が増強されることが示唆された。またマウスの血中 ATP 投与により、濃度依存的な鼓索神経の神経活動の上昇を認めた。味神経には、これまでに ATP 受容体として $P2X_2$, $P2X_3$, $P2X_{2/3}$ が確認されており、これらの阻害剤である

TNP-ATP により ATP 投与による鼓索神経活動の上昇は抑制された。以上のことから、ATP が、甘味、うま味、苦味応答細胞から味神経線維への情報伝達物質として機能している可能性が示唆された。

(10) UDP 誘発性マクロピノサイトーシスにおける PKD の関与

上杉歩未, 片岡彩子, 齊藤秀俊, 津田 誠, 井上和秀 (九州大学大学院薬学研究院薬理学分野)

ミクログリアは常に突起を伸縮させて脳内の環境を監視しており、死細胞や有害な細胞外物質を即座に除去することにより中枢神経系の恒常性維持に貢献している。今回は、細胞外物質の取り込み機構として知られる食作用と飲作用の中でも、特に飲作用に着目して研究を行った。

ミクログリアに UDP 刺激を行うと、細胞膜の運動性が亢進し、刺激 1 時間後には多くの細胞で細胞膜成分由来の液胞が形成された。形成された液胞の周囲には PKD が集積しており、液胞の内部には細胞外溶液由来の FITC-Dextran が取り込まれていた。UDP 刺激後にみられた液胞形成の増加やデキストラン溶液の取り込み増加、

および液胞周囲への PKD の集積は、全て PKD の選択的阻害薬 (CID755673) により抑制された。これらの結果から、液胞形成は細胞外物質の取り込みに重要であり、この過程に PKD が関与していることが示された。また、UDP 刺激によりミクログリアの食食作用が促進される、という過去の報告と一致し、UDP 刺激によりオプソニン化ビーズや可溶性 $A\beta$, デキストラン溶液の取り込みは有意に増加し、この取り込み促進作用は PKD 阻害薬により抑制された。オプソニン化ビーズや可溶性 $A\beta$ は、デキストランと同様に細胞内の液胞やその周囲に多く取り込まれていたことから、これらの取り込みはマクロピノサイトーシスの機構である可能性が示唆された。

(11) 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

川村将仁 (東京慈恵会医科大学・薬理学講座)

アストロサイトが自発的カルシウム・オシレーションを引き起こすことはグリア細胞において観察される自発活動の一例として知られている。しかしながら、神経細胞-グリア間伝達物質であるアデノシンおよび ATP がおよぼすアストロサイトの自発的カルシウム・オシレーションの調節機構およびその機能的役割については未解明である。本研究では海馬アストロサイトにおける自発的カルシウム・オシレーションの調節機構を解明するために、細胞外 ATP の影響について、海馬スライス培養標本によるカルシウム・イメージング法を用いて検討した。細胞外 ATP 投与は 20 分以上持続する自発的カルシウ

ム・オシレーションの頻度増加を引き起こした。この自発的カルシウム・オシレーション頻度長期増強はアデノシン受容体作動薬である NECA 投与によっても引き起こされ、アデノシン受容体拮抗薬によって抑制された。また、NECA は luciferin-luciferase 法により測定した外液中の ATP 濃度をアデノシン受容体の活性化を介して減少させた。アデノシン受容体の活性化は内因性 ATP からアデノシンへの加水分解を調節することにより、海馬アストロサイトの自発的カルシウム・オシレーション頻度を制御していると考えられる。

(12) 転写因子 IRF8を介したミクログリア ATP 受容体発現制御 および神経障害性疼痛における役割

増田隆博¹, 津田 誠¹, 吉永遼平¹, 齊藤秀俊¹, 田村智彦², 井上和秀¹

(¹九州大学大学院薬学研究院薬理学分野, ²横浜市立大学大学院医学研究科免疫学教室)

神経障害性疼痛を含めた種々の中枢性疾患発症時, ATP受容体など様々な細胞内シグナル分子を過剰発現させるなどして劇的な functional phenotype shift を遂げた過活動ミクログリアが, その病態発症・維持に重要な役割を果たしていることが明らかになっている。しかしながら, ミクログリアの過活動状態への移行を司る遺伝子発現メカニズムは未だ明らかになっていない。本研究で, 我々は転写因子 Interferon regulatory factor-8 (IRF8) がミクログリアの過活動状態への移行に重要な役割を果たしていることを見出した。

末梢神経損傷後, 脊髄内でミクログリア特異的に IRF8

の顕著な発現増加が観察された。一方, 培養ミクログリア細胞に IRF8 を強制発現させたところ, P2X₄受容体や P2Y₁₂ 受容体の顕著な発現増加が観察されるなど, 過活動状態ミクログリアに見られる特徴的变化を示した。また, IRF8 欠損マウスにおいては, 野生型マウスと比較して, 末梢神経損傷後に観察されるミクログリア関連分子 (P2X₄ 受容体や P2Y₁₂ 受容体など) の発現増加および疼痛症状が有意に抑制された。以上の結果から, 脊髄ミクログリアで発現増加した IRF8 は, ミクログリアの過活動状態への移行に関与し, 神経障害性疼痛発症に重要な役割を果たしていると考えられる。

17. 上皮細胞の恒常性維持機構におけるイオン・物質輸送の新しい分子生理

2011 年 11 月 21 日－11 月 22 日

代表・世話人：酒井秀紀（富山大学大学院医学薬学研究部）

所内対応者：鍋倉淳一（生体恒常機能発達機構研究部門）

- (1) トロンボキサン A₂ により誘導されるヒト大腸癌細胞増殖における Kv7.1 K⁺チャネルの役割
清水貴浩（富山大学大学院医学薬学研究部（薬学）・薬物生理学）
- (2) 水電解質代謝におけるマクラデンサ細胞のプロスタグランジン受容体の役割
福田英一（北里大学医学部生理学）
- (3) CFTR の R ドメインへの結合分子による CFTR 機能制御
杉田 誠（広島大学大学院医歯薬学総合研究科・創生医科学専攻病態探究医科学講座（口腔生理学））
- (4) アクチン結合タンパク質エズリンの上皮輸送，組織構築に対する働き
浅野真司（立命館大学薬学部）
- (5) アルドステロンは p38 依存的な ENaC エンドサイトーシスを介して Na⁺再吸収を制御する
新里直美（京都府立医科大学大学院医学研究科細胞生理学）
- (6) Micropuncture による単離睪導管からの HCO₃⁻分泌測定
石黒 洋（名古屋大学大学院医学系研究科健康栄養医学）
- (7) ヒト及びラット大腸粘膜の陰イオン分泌における TRPA1 チャネルの関与
加治いづみ（静岡県立大学大学院・環境科学研究所 環境生理学研究室）
- (8) プロカテロール刺激時 PDE1 によるマウス細気管支線毛運動の周波数と振幅の調節
中張隆司（大阪医科大学生理学）
- (9) 陰イオン輸送体 SLC26A3 の細胞膜表面の発現並びに蛋白質分解からの保護における糖鎖の役割
林 久由（静岡県立大学食品栄養科学部生理学研究室）
- (10) 足場タンパク質 PDZK1 上における Na⁺依存アニオン輸送体 SMCT2 と
尿酸-アニオン交換体 URAT1 の機能共役
永森収志（大阪大学大学院医学系研究科生体システム薬理）
- (11) 胎盤上皮細胞における尿酸輸送機構
木村 徹（杏林大学医学部薬理学）
- (12) タンパク質ホメオスタシス容量の制御機構
中井 彰（山口大学大学院医学系研究科医化学分野）
- (13) prostasin による腎尿細管における Na 再吸収の調節機構
實吉 拓（熊本大学大学院生命科学研究部腎臓内科）
- (14) ABC トランスポーター・CFTR チャネルにおける ATP 依存性ゲーティング機構：
ATP 加水分解サイクローボアゲーティングサイクル間のカップリング様式
相馬義郎（慶應義塾大学医学部，米国ミズーリ大学医学部）
- (15) Function and Regulation of Epithelial Barrier

Hong LUO

(Faculty of Medicine, Tottori University, Chinese Academy of Medical Science, Amsterdam University)

【参加者名】

石黒 洋（名古屋大学大学院医学系研究科健康栄養医学）， 浅野真司（立命館大学薬学部分子生理学研究室），櫻井裕

之 (杏林大学医学部薬理学教室), 相馬義郎 (慶應義塾大学医学部薬理学教室), 丸中良典 (京都府立医科大学大学院医学研究科細胞生理学), 北川真希 (京都府立医科大学医学部細胞生理学), 早田洋樹 (京都府立医科大学大学院医学研究科細胞生理学教室), 加藤 剛 (生理学研究所発達生理学系生体恒常機能発達機構研究部門), 稲田浩之 (生理学研究所発達生理学系生体恒常機能発達機構研究部門), 平尾顕三 (生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門), 宮本愛喜子 (総合研究大学院大学生理学専攻生体恒常機能発達機構研究部門), 木村 徹 (杏林大学医学部薬理学教室), 中畑義久 (生理学研究所発達生理学系生体恒常機能発達機構研究部門), 近藤志保 (名古屋大学大学院医学系研究科健康栄養医学研究室), 江藤圭 (生理学研究所発達生理学系生体恒常機能発達機構研究部門), 中井 彰 (山口大学大学院医学系研究科医化学分野), 加治いづみ (静岡県立大学生活健康科学研究科・環境科学研究所環境生理学研究室), Kim Sun Kwang (生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門), 小川侑記 (京都府立医科大学大学院医学研究科細胞生理学), 林久由 (静岡県立大学食品栄養科学部生理学研究室), 石川達也 (総合研究大学院大学生命科学研究科生体恒常機能発達研究部門), 北村健一郎 (熊本大学腎臓内科), 鈴木

裕一 (静岡県立大学食品栄養科学部生理学研究室), 新里直美 (京都府立医科大学大学院医学研究科細胞生理学), 福田英一 (北里大学医学部生理学), 河原克雅 (北里大学医学部生理学), 中張隆司 (大阪医科大学医学部生理学), 山口純弥 (総合研究大学院大学生理学研究科生体恒常機能発達機構研究部門), 孫 紅昕 (京都府立医科大学医学研究科細胞生理学), 永森收志 (大阪大学大学院医学系研究科生体システム薬理), 酒井秀紀 (富山大学大学院医学薬学研究部薬物生理学), 清水貴浩 (富山大学医学薬学研究部 (薬学)薬物生理学), 杉田 誠 (広島大学大学院医歯薬学総合研究科口腔生理学研究室), 實吉 拓 (熊本大学生命科学研究部腎臓内科学), 植田美紀 (熊本大学腎臓内科), 金井好克 (大阪大学大学院医学系研究科生体システム薬理学), 鍋倉淳一 (生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門), 石橋 仁 (生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門), 桑原厚和 (静岡県立大学大学院・環境科学研究所環境生理学研究室), 中島謙一 (京都府立医科大学医学研究科細胞生理学), 山口 誠 (名古屋大学医学系研究科健康栄養医学研究室), 鈴木喜郎 (自然科学研究機構岡崎統合バイオサイエンスセンター細胞生理部門), Hong LUO (鳥取大学医学部), 芦原英司 (京都府立医科大学細胞生理)

【概要】

上皮細胞は、基底側壁膜および頂部膜を有しており、多種の膜輸送タンパク質により、体内環境恒常性維持のためのイオン輸送や物質輸送が行われている。これらのタンパク質は、単分子で機能するもの、サブユニット構造をとるもの、異種のタンパク質で機能複合体を形成するものなど様々である。各種機能体の調節に関与する生理活性物質、リガンドも多種に及ぶ。加えて、基底側壁膜と頂部膜をつなぐ上皮細胞固有の種々の細胞内情報伝達系や細胞内オルガネラにおけるイオン・物質輸送系も重要である。これらの点が系統的に明らかになれば、上皮細胞の機能異常や破綻により引き起こされる様々な病態のメカニズムが解明でき、創薬基盤の確立につながる可能性がある。

本研究会は、平成23年11月21日～22日に開催し、上皮関連分野で活躍する国内の一流研究者が集まり、より深いレベルでの意見交換を行うことを目的とした。研究会では、15題の講演 (発表20分, 討論10分) が行われ、非常に活発で有益なディスカッションが行われた。

特に若手研究者の積極的な姿勢が目立った。

講演では、大腸癌細胞におけるトロンボキサンとKv7.1 K⁺チャネルの病態生理機能、マクラデンサ細胞のプロスタグランジン受容体の役割、CFTRのRドメインへの結合分子によるチャネル生成制御、エズリンの上皮輸送、組織構築に対する機能解析、腎皮質集合管細胞におけるp38によるENaCのエンドサイトーシスとNa⁺再吸収の制御機構、マイクロパンクチャー法による単離腺導管からの重炭酸イオン分泌測定、大腸粘膜のアニオン分泌におけるTRPA1チャネルの関与、PDE1による細気管支線毛運動の周波数と振幅の調節機構、Cl⁻/HCO₃⁻交換輸送体SLC26A3の細胞膜表面への発現ならびに蛋白質分解酵素からの保護に対する糖鎖の役割、PDZK1におけるNa⁺依存アニオン輸送体SMCT2と尿酸-アニオン交換体URAT1の機能共役、胎盤上皮細胞における尿酸輸送機構、熱ショック因子HSF1による蛋白質ホメオスタシス容量の制御機構、prostinによる腎尿細管におけるNa⁺再吸収の調節機構、CFTRにおけるNBDエンジンと

チャネルゲート間のカップリング様式、上皮バリアの制御機構等についての最新の研究成果が発表された。

今後、本研究分野のさらなる発展、若手研究者のますますの活躍、ならびに共同研究の推進等が期待できる。

(1) トロンボキサン A_2 により誘導されるヒト大腸癌細胞増殖における $Kv7.1 K^+$ チャネルの役割

清水貴浩, 高橋祐太, 藤井拓人, 竹口紀晃, 酒井秀紀
(富山大学大学院医学薬学研究部 (薬学)・薬物生理学)

本研究では、 TXA_2 により誘導されるヒト大腸癌細胞増殖に対する $Kv7.1$ カリウムチャネルの役割を明らかにすることを目的とした。まずヒト大腸の正常組織と癌組織における $Kv7.1$ カリウムチャネルの発現量の比較を行ったところ、 $Kv7.1$ カリウムチャネルがヒト大腸癌組織において高発現していることが明らかとなった。次に、ヒト大腸癌培養細胞 (KM12-L4) において、 TXA_2 が $Kv7.1$ カリウムチャネルの発現量に影響を与えるのかを検討したところ、 STA_2 を 2 日間処理した KM12-L4 細胞において、 $Kv7.1$ カリウムチャネルの発現量が有意に増加していた。パッチクランプホールセル記録法を用いて、

$Kv7.1$ カリウムチャネルの機能的発現を観測すると、 STA_2 処理した KM12-L4 細胞では、コントロールの細胞に比べ、より大きな電位非依存性カリウムチャネル電流が観測された。このチャネル電流は、 $Kv7.1$ カリウムチャネルの特異的阻害剤のクロマノール 293B に感受性であった。さらに、 TXA_2 誘導性細胞増殖に対する効果を検討したところ、クロマノール 293B は STA_2 により誘導されるヒト大腸癌細胞の増殖を濃度依存的に抑制した。以上の結果から、ヒト大腸癌において産生される TXA_2 は、 $Kv7.1$ カリウムチャネルの発現および機能を亢進し、細胞増殖に重要な役割を果たすことが示唆された。

(2) 水電解質代謝におけるマクラデンサ細胞のプロスタグランジン受容体の役割

福田英一, 河原克雅 (北里大学医学部生理学)

慢性的な体液量減少時、マクラデンサ (MD) 細胞の COX-2 発現が増加し、傍糸球体装置領域にプロスタグランジン E_2 (PGE_2) が放出される。 PGE_2 は尿細管糸球体フィードバック (TGF) 機構の感受性を低下させ、糸球体濾過量の基礎値を確保する。我々はマウス MD 由来不死化細胞株 (NE-MD) を用いて、細胞外 PGE_2 が COX-2 発現を持続的に亢進させる“正のフィードバック機構”の存在を明らかにした。

【方法】EP 受容体 (EP4) 特異的アンタゴニストを用い、MD 細胞における COX-2 発現のフィードバック機構修飾に関与する EP 受容体を明らかにした。

【結果】NE-MD 細胞の PGE_2 誘導 cAMP 産生量は、濃度依存的に増加した。 PGE_2 の EC_{50} 値は 4.5 nM で、EP4 を

発現させた CHO 細胞の EC_{50} 値により近かった ($EP2=25$ nM, $EP4=3.9$ nM, Nishigaki et al, 1996)。また、 $0 Cl^-$ 誘導 (5 時間) による PGE_2 産生は、AH-23484 (EP4 特異的アンタゴニスト) 濃度依存的に阻害された (100 μM AH-23484 添加時には 17.9%に低下した)。

【結論】NE-MD 細胞の COX-2 発現調節における“正のフィードバック機構”には、EP4 が重要な役割を果たしている。更に、持続的な PGE_2 産生における本フィードバック機構の“寄与率”(AH-23484 添加によって PGE_2 産生が減少する割合) は、全 PGE_2 産生量の 80%以上だった。

【展望】今後は、COX-2 発現量や cAMP 産生などにおいても AH-23484 添加の影響を測定し、本フィードバック機構の生理学的意義を明らかにしたい。

(3) CFTR の R ドメインへの結合分子による CFTR 機能制御

杉田 誠, 柴 芳樹

(広島大学大学院医歯薬学総合研究科・創生医科学専攻病態探究医科学講座 (口腔生理学))

粘膜上皮細胞の腺腔側膜 Cl^- チャンネルとして働く CFTR の遺伝的機能不全症 (嚢胞性線維症) は, 呼吸器感染を誘発する致死率の高い疾患である。変異型 (ΔF508) CFTR は細胞内の ER で異常分解され, 結果として粘膜上皮細胞の腺腔側細胞膜に CFTR Cl^- チャンネルが存在しないために疾患が誘発される。従来の研究で CFTR の R ドメインに結合する分子によって CFTR の生成・分解が制御されることが示唆されたため, yeast two-hybrid system により R ドメインに接着する分子を探し, 遺伝子ファミリーを形成する 3 種の分子 (the CFTR

R-domain Interacting Protein (CRIP): CRIP1・CRIP2・CRIP3) を得た。CRIP1・CRIP2・CRIP3 は, N 末端領域に Zinc Finger を有し, C 末端領域に Zinc Ring Finger を有する。3 種間で相同性が非常に高く Zinc Ring Finger を有する C 末端領域で CFTR の R ドメインに結合する。CRIP1・CRIP2・CRIP3 は主に核内もしくは核周囲領域に存在するが, 一部は細胞質にも存在する。CRIP1・CRIP2・CRIP3 は, ALLN 感受性プロテアーゼにより切断修飾を受け細胞内局在を変化させながら, CFTR の分解と成熟型 CFTR 生成の双方を多角的に制御することが示唆された。

(4) アクチン結合タンパク質エズリンの上皮輸送, 組織構築に対する働き

波多野亮¹, 田村 淳², 月田早智子², 向所賢一³, 服部隆則³, 浅野真司¹

(¹立命館大学薬学部, ²大阪大学大学院生命機能, ³滋賀医科大学医学部)

エズリンは, 消化管や腎尿細管などの上皮組織の刷子縁膜に発現して, 膜タンパク質とアクチン細胞骨格とをクロスリンクするタンパク質である。私達は, 遺伝子改変によってエズリンの発現を抑制したノックダウン ($\text{Vil2}^{\text{KD/KD}}$) マウスを用いて, *in vivo* 条件でのエズリンの機能を検討した。

胃粘膜においてエズリンは胃壁細胞に発現する。 $\text{Vil2}^{\text{KD/KD}}$ マウスでは, 分泌小胞と頂端膜との融合が阻害され, 胃酸分泌障害が観察された。血漿中のガストリン濃度が上昇し, 被蓋上皮細胞の過形成が認められた。また, 胃腺の萎縮や胃壁細胞の減少が認められた。さらに, 副細胞から主細胞への分化が阻害され, 主細胞数が減少し, 副細胞が増殖する擬幽門腺化生が観察された。

腎臓において, エズリンは糸球体や近位尿細管の刷子縁膜に高発現する。 $\text{Vil2}^{\text{KD/KD}}$ マウスでは, 尿中へのリン酸排泄の亢進と, 血漿中のリン酸濃度, Ca^{2+} 濃度の低下, 活性化ビタミン D 濃度の上昇が見られた。近位尿細管におけるリン酸の再吸収は, おもに Na^+ との共輸送を行う NaPi-IIa 輸送体によって行われる。 $\text{Vil2}^{\text{KD/KD}}$ マウスでは, 足場タンパク質 NHERF1 と NaPi-IIa の刷子縁膜へのトラフィッキングが障害され, リン酸の再吸収が妨げられた。また, $\text{Vil2}^{\text{KD/KD}}$ マウスの成長遅滞や骨格の矮小化と合わせて, 骨密度の低下や骨石灰化の障害が見られ, ビタミン D 抵抗性のくる病に対応する所見が観察された。このように, エズリンは上皮組織の構築や上皮組織における物質輸送に深く関与することが確認された。

(5) アルドステロンは p38 依存的な ENaC エンドサイトーシスを介して Na^+ 再吸収を制御する

新里直美, 太田麻利子, 丸中良典 (京都府立医科大学大学院医学研究科細胞生理学)

腎臓での Na^+ 再吸収は, 体液量や血圧調節に重要な役

割を担っている。アルドステロン (ALD) は, Na^+ 再吸収

を制御する主要なホルモンであり、上皮型 Na^+ チャネル (ENaC) の遺伝子発現亢進したり、serum and glucocorticoid-induced kinase (SGK) 1・Nedd4-2の活性制御を介してENaC膜発現量を増大し、 Na^+ 再吸収を亢進することが知られている。*Xenopus laevis* 皮質集合管モデル細胞株 (A6細胞) において、我々は、ADLがp38を活性化し、p38阻害剤はADLにより亢進した Na^+ 再吸収を著しく抑制することを見出した。本研究では、p38シグナル抑制がENaC遺伝子発現には顕著に影響しないことから、ENaC traffickingを介した膜発現制御に注目し、p38の役割について検討したところ、ADLにより亢進した Na^+ 再吸収に

p38阻害剤を添加すると Na^+ 再吸収は急速に減少した。このp38シグナル抑制による Na^+ 再吸収減少は、プロテアソーム阻害剤であるMG132によりほぼ回復し、p38活性化はENaCエンドサイトーシスを遅延させている可能性が示唆された。一方、p38はAktの活性化を介してSGK1・Nedd4-2の活性制御をしていることが示唆された。以上の結果より、p38-Akt依存的なシグナルは、Nedd4-2のリン酸化を介してENaCのユビキチン化を抑制し、ENaCの膜発現量の増大に貢献し、ALDによる Na^+ 再吸収亢進メカニズムとして機能していると考えられる。

(6) Micropunctureによる単離腓尿管からの HCO_3^- 分泌測定

石黒 洋, 山本明子, 中荻みゆき, 衣 蘭娟,
石黒真理子, 山口 誠, 近藤志保, 持丸由香
(名古屋大学大学院医学系研究科健康栄養医学)

モルモットの腓臓から直径 $\sim 100\mu\text{m}$ の小葉間腓管を単離して、数時間培養すると、両端が自然に閉じる。この単離腓管を 37°C の HCO_3^- - CO_2 緩衝液で表層灌流すると、fluid secretionにより管腔が拡大する。secretinで(最大)刺激すると、 $2\sim 3\text{ nl min}^{-1}\text{ mm}^{-2}$ (上皮面積当たり)のfluid secretionが観察される。管腔内にBCECF-dextranあるいはABQ-dextranを注入すると、 HCO_3^- 分泌(+条件によっては Cl^- 吸収)に伴う管腔内 HCO_3^- 濃度の上昇 $\rightarrow$ 管腔

内pH (pH_L)の上昇、管腔内 Cl^- 濃度 ($[\text{Cl}^-]_L$)の低下が観察される。管腔容積を同時に測定すれば、 HCO_3^- fluxと Cl^- fluxが算出される。secretin最大刺激下に、表層灌流液に1mMのethanolを加えると、fluid secretionは約60%増加し、 pH_L はわずかに低下し、 $[\text{Cl}^-]_L$ の低下は止まった。分泌液の HCO_3^- 濃度と Cl^- 濃度を計算すると、secretin刺激中は $\sim 150\text{mM}$ と $\sim 0\text{mM}$ 、ethanolを加えると $\sim 80\text{mM}$ と $\sim 70\text{mM}$ であった。

(7) ヒト及びラット大腸粘膜の陰イオン分泌におけるTRPA1チャネルの関与

加治いずみ, 唐木晋一郎, 桑原厚和
(静岡県立大学大学院・環境科学研究所 環境生理学研究室)

これまで我々は、ヒト及びラット大腸粘膜において、短鎖脂肪酸受容体FFAR、苦味受容体T2R、及び嗅覚受容体ORファミリーの発現を確認し、また、そのリガンドが誘発する起電的陰イオン分泌作用について報告した。この中で、温度感受性TRPチャネルの一つ、TRPA1の大腸粘膜における機能的発現が示唆された。そこで今回は、TRPA1が大腸管腔内容物の認識機構に関与する可能性を検討した。

ヒト及びラット大腸の粘膜-粘膜下組織標本を用いたUssing chamber法により、管腔側のTRPA1活性化は、腸管神経系に依存しないprostaglandin産生経路により Cl^- 及び HCO_3^- 分泌を惹起することが示唆された。さらに、単離cryptを用いたRT-PCR, *in situ* hybridization及び免疫組織化学法を用い、大腸上皮細胞の頂端膜にTRPA1が発現することを確認した。

(8) プロカテロール刺激時 PDE1によるマウス細気管支線毛運動の周波数と振幅の調節

中張隆司 (大阪医科大学生理学)

丸中良典 (京都府立医科大学大学院医学研究科細胞生理学)

末梢気道粘液線毛クリアランスは、吸入異物を粘液層で捉え、線毛運動により輸送している。本研究では、マウス単離末梢気道線毛細胞の運動線毛を、高速度カメラ (500Hz) により観察した。Procaterol (β_2 刺激薬) は cAMP を介し線毛運動周波数 (CBF) と振幅 (CBA) を増加させた。Procaterol 濃度依存性から、CBA 曲線が CBF 曲線から低濃度側へシフトしていることが明らかとなった。CBA の低濃度シフトは forskolin でも観察された。一方で、非選択性 phosphodiesterase (PDE) 阻害剤の IBMX では CBA の低濃度シフトは観察されなかった。このことは、CBF と CBA を調節している microdomain における PDE subtype が異なる可能性を示唆している。

PDE1 阻害剤 (8-Methoxymethyl IBMX) は CBA 増加なしに CBF 増加を引き起こした。PDE1 は $[Ca^{2+}]_i$ 増加により活性化されることから、iomomycin 存在下に procaterol 刺激を行った。Procaterol は、CBF 増加なしに CBA 増加を引き起こした。免疫電顕は、PDE1 が軸索中の 9 対の microtubules に存在することを示していた。

一方で、*Chlamydomonas* の研究から outer dynein が CBF を、inner dynein が CBA を調節していることが報告されている。今回の結果は、末梢気道線毛では PDE1 が outer dynein を調節している microdomain の cAMP を調節していることが示唆された。

(9) 陰イオン輸送体 SLC26A3の細胞膜表面の発現並びに蛋白質分解からの保護における糖鎖の役割

林 久由, 山下裕香理, 鈴木裕一 (静岡県立大学 食品栄養科学部 生理学研究室)

SLC26A3 は消化管に発現している Cl^-/HCO_3^- 交換輸送体であり、 Cl^- 吸収に重要であると考えられている。SLC26A3 の細胞外ドメインは N 結合型糖鎖付加を受けることが想定されているが、その生理的な機能については検討されていない。このため本研究では N 結合型糖鎖付加抑制剤、点変異体の作製により SLC26A3 の糖鎖付加を抑制し検討を行った。脱糖鎖酵素処理実験により、成熟した糖鎖が付加した SLC26A3 は細胞膜表面に発現しており、すべての糖鎖は SLC26A3 の細胞外ループに付加していることが示された。糖鎖除去により、SLC26A3 のイオン輸送活性は低下したが、依然として大きな細胞内 pH 変化は観察され、イオン輸送活性には糖

鎖は絶対的に必要ではないことが示唆された。細胞膜表面の SLC26A3 をビオチン化で定量化した。糖鎖除去により細胞膜上の SLC26A3 の発現の低下が観察された。SLC26A3 は消化管に発現しており、多くの消化酵素に晒されている。このため糖鎖が SLC26A3 を消化酵素から保護しているか検討を行った。成熟した糖鎖付加を受けた SLC26A3 はトリプシン処理では蛋白分解を受けなかったが、糖鎖除去した SLC26A3 ではトリプシン処理により蛋白分解を受けた。以上より SLC26A3 の糖鎖は細胞膜表面への発現並びに蛋白分解酵素からの保護に重要な役割をしていることが示唆された。

(10) 足場タンパク質 PDZK1 上における Na^+ 依存アニオン輸送体 SMCT2 と 尿酸-アニオン交換体 URAT1 の機能共役

永森收志¹, 梅村康浩¹, Pattama Wiriyaerkmkul¹, 中込咲綾¹, 西中由美子¹,
高藤和輝¹, 大垣隆一¹, 木村 徹², 金井好克¹
(¹大阪大学大学院医学系研究科生体システム薬理, ²杏林大学薬理学)

トランスポーターは、膜を超えて基質を輸送するために、膜を隔てて存在する電気化学的勾配を利用する。ほ乳類細胞の細胞膜においては、ナトリウムの化学的勾配が存在するため、多くの細胞膜トランスポーターはナトリウム濃度勾配を利用することでナトリウムと基質を共輸送し基質を細胞内に取り込む。一方、交換輸送体は、細胞内外の基質を交換することにより基質の輸送を行う。通常、細胞膜全体に対して安定して大きな濃度勾配を保つナトリウムと異なり、これらの交換輸送体の基質の多くは、その存在量の少なさや不安定さ・不均一性から、輸送に適した化学的勾配を作り出すには不利である。この弱点を補い安定して基質の輸送を行うため、交換輸送体は他のトランスポーター、特にナトリウム依存的トランスポーター、と近接して存在し、そのトランスポーターが作り出した基質の化学的濃度勾配を利用する必要があるが、この機能共役の実例は示されていない。

そこで本研究では、その一例として、 Na^+ 依存アニオン輸送体と尿酸-アニオン交換体の機能共役を明らかにした。マウス腎皮質から尿酸-アニオン交換体である URAT1 (SLC22A12) を免疫沈降したところ、 Na^+ 依存アニオン輸送体である SMCT2 (SLC5A12) と足場タンパク質である PDZK1 が URAT1 と共沈降してくることを、プロ

テオミクス解析により明らかにした。したがって足場タンパク質である PDZK1 を介して URAT1 と SMCT2 が複合体を形成していることが強く示唆される。次に生細胞イメージングによる FRET 解析を行ったところ、PDZK1 存在下において URAT1 と SMCT2 の複合体形成は、顕著に促進することが示された。そこで、複合体形成による輸送活性への影響、すなわち複合体におけるトランスポーターの機能共役を実証するため、URAT1 および SMCT2 を精製し、同様に精製した PDZK1 存在下・非存在下でプロテオリポソームに再構成し、尿酸の取り込み活性を測定した。その結果、尿酸のプロテオリポソームへの取り込み初速度は、PDZK1 存在下においてはナトリウムの添加によって上昇したが、PDZK1 非存在下においてナトリウムによる初速度の変化は見られなかった。この結果は、URAT1 が PDZK1 を介して SMCT2 近接に存在しうるときのみ、尿酸の取り込み初速度を上昇させたことを現しており、SMCT2 がナトリウムと共に取り込んだアニオンを、URAT1 が交換基質として利用して尿酸を取り込んでいる機能共役の存在を強く示唆するものであり、これは新しい上皮細胞の恒常性維持機構におけるイオン・物質輸送の分子生理を提唱するものである。以上を 2011 年度生理研研究会において報告した。

(11) 胎盤上皮細胞における尿酸輸送機構

木村 徹 (杏林大学医学部薬理学)

妊娠高血圧症候群 (PIH) 発症時や多胎妊娠時に併発する高尿酸血症発症メカニズムの解明を最終目標として、未だ不明な点が多い胎盤での尿酸輸送機構の解析を行った。杏林大学医学部付属病院において帝王切開を受ける患者から、インフォームドコンセントを取得の上、母体血、臍帯血、胎盤を採取した。母体血および臍帯血の血清尿酸値の測定を行い、両者を比較した。また RT-PCR

と免疫組織染色により、胎盤における尿酸トランスポーターの発現解析を行った。PIH や双胎妊娠において、母体血の血清尿酸値が上昇することを確認した。母体血と臍帯血の血清尿酸値に大きな差は見られず、胎盤において母体・胎児間の尿酸輸送が積極的に行われていることが示唆された。免疫組織染色の結果から、ABCG2 は合体栄養膜細胞の母体側、OAT4 は合体栄養膜細胞の胎

児側, OAT10 は合胞体栄養膜細胞全体, URATv1-short isoform は合胞体栄養膜細胞の母体側と血管内皮細胞, URATv1-long isoform は血管内皮細胞と結合組織にそれぞれ発現が見られた。双胎妊娠や PIH において, これら

トランスポーターの極在部位に変化が見られていないことから, 尿酸トランスポーターの発現部位の違いによって高尿酸血症を発症するというのではないと考えられる。

(12) タンパク質ホメオスタシス容量の制御機構

藤本充章, 高木栄一, 瀧井良祐, Ramachandran Prakasam, 譚 克, 林田直樹, 中井 彰
(山口大学大学院医学系研究科医化学分野)

上皮細胞を含むすべての細胞内のタンパク質ホメオスタシスの容量は, それぞれ一定に保たれている。その容量は老化の進行とともに減少し, 生理的な容量の減少に伴って神経変性疾患などのタンパク質ミスフォールディング病の病態が進行する。従って, その容量の調節はイオンチャネルなどを含む全てのタンパク質の機能発現に重要で, 熱ショック応答がその調節機構として重要である。熱ショック応答は, タンパク質のフォールディングを介助する熱ショックタンパク質 (HSP), ならびに分解等に関連するタンパク質の発現誘導による恒常性維持機構で, 熱ショック因子 (HSF) によって転写レベルで制御される。これまでの研究から, 非ストレス条件下で, HSF1

は非活性型の単量体として存在し, 熱ストレスにより活性型の三量体 (DNA 結合型) へ転換すると信じられてきた。しかし, 最近の研究から, オリゴマー構造の転換を伴うことなく, HSF1 がタンパク質凝集体形成を抑制していることが分ってきた。今回, 非ストレス条件下で HSF1 が転写制御を行う分子機構を明らかにした。HSF1 が DNA 複製・修復に関わる因子を介してゲノム DNA に安定に結合して転写を促進しており, その機構がタンパク質ホメオスタシスの維持に必要であった。本研究は, HSF1 が生理的なタンパク質ホメオスタシス容量を規定することを初めて明らかにし, タンパク質ミスフォールディング病の新たな治療ターゲットを示唆している。

(13) prostasin による腎尿細管における Na 再吸収の調節機構

實吉 拓, 柿添 豊, 脇田直樹, 富田公夫, 北村健一郎
(熊本大学大学院生命科学研究部腎臓内科学)

prostasin は腎尿細管細胞を始めとする上皮細胞に多く発現するセリンプロテアーゼである。近年, 上皮型 Na チャネル (ENaC) の γ -subunit の細胞外ループの二か所がそれぞれ furin 及び prostasin によって切断を受けることにより ENaC の不活性化領域が切り出され, ENaC を活性化させるメカニズムが明らかにされた。また, prostasin は ENaC と同様に aldosterone により正の発現調節を受ける。

私達は prostasin 阻害活性を持つ合成セリンプロテアーゼ阻害薬であるメシル酸カモスタット (CM) を aldosterone 負荷モデルラットへ投与した。CM は γ ENaC の二ヶ所のうちの二ヶ所の切断を阻害し, ENaC 活性を低下させた

と考えられた。また, aldosterone 負荷により, prostasin の尿中排泄が亢進した。以上より prostasin は aldosterone 依存性 Na 感受性高血圧において, 重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

マウス集合尿細管細胞株である M1 細胞に NO donor を作用させると, ENaC の活性や prostasin の発現を濃度依存的に抑制した。また, NF- κ B の inhibitor を作用させると, 著明に ENaC 活性と prostasin の発現を抑制し, また両薬剤は NF- κ B の核移行を阻害した。さらに, NO donor はリン酸化 IkB α を減少させた。以上の結果より, prostasin は, NO がリン酸化 IkB α の減少を介する NF- κ B の核移行を阻害することにより, その発現が減少し,

ENaC 活性を低下させることが示唆された。

prostasin は aldosterone や NO による調節を受け、様々

な病態における腎集合尿細管の Na 再吸収の調節機構に

おいて、重要な役割を果たしていることが示唆された。

(14) ABC トランスポーター・CFTR チャンネルにおける ATP 依存性ゲーティング機構： ATP 加水分解サイクルーポアゲーティングサイクル間のカップリング様式

相馬義郎（慶應義塾大学医学部，米国ミズーリ大学医学部）

T.-C. Hwang（米国ミズーリ大学学部）

ABC トランスポーターは，Nucleotide Binding Domain (NBD) を 2 つ共通して持つ蛋白スーパーファミリーである。2 つの NBD は，その接合面に 2 つの ATP Binding Pocket (ABP1&2) を形成しており，ABC トランスポーターの機能発現のための機械的駆動力を発生していると考えられているが，その詳細なメカニズムは未だ不明である。

CFTR チャンネルでは，ABP1 に常時 ATP が結合して NBD 部分二量体を形成しており，ABP2 においてのみ ATP の結合・加水分解・解離プロセスが起こり，完全二

量体が形成されることによってチャンネルゲートが開口し，部分解離によって閉口すると考えている。

最近，CFTR チャンネルのゲートが開口状態のまま，ABP2 に結合していた ATP が pyrophosphate (PPi) に入れ替わることが可能であることを示唆するチャンネル電流データが得られた。このことは，ゲートが開口したまま 2 つの NBD が (部分) 解離している状態が存在しており，NBD エンジンとチャンネルゲート間のカップリングがルーズであることを示唆している。

(15) Function and Regulation of Epithelial Barrier

Hong LUO

(Faculty of Medicine, Tottori University, Japan

Chinese Academy of Medical Science, China

Amsterdam University, Netherlands)

1. The gastrointestinal mucosal homeostasis plays an important role in keeping health, in which unstirred layer (precellular) and epithelium are main barriers.

2. The barriers prevent the diffusion of toxins, allergens, and pathogens from the gastrointestinal lumen into the tissue not only, but also control the absorption in intestine.

3. The epithelial tight junctions and gap Junction constitute the major components of paracellular barriers; on the other hand transporter and channel are the mainly determinative

factors of transcellular barriers.

4. It was observed that the activities of transporter and channel not only affected on transcellular barrier function but also regulated paracellular as well as precellular barrier functions.

5. Cytoskeleton manipulated through protein kinase C and myosin light-chain kinase pathway could be involved in the regulations.

18. シナプス伝達概念志向型研究

2011年12月5日－12月6日

代表・世話人：持田澄子（東京医科大学細胞生理学講座）

所内対応者：鍋倉淳一（生体恒常機能発達機構研究部門）

(1) シナプス小胞再充填のメカニズム

高森茂雄（同志社大学 生命医科学部 分子神経生物学研究室）

(2) 中枢シナプスにおける興奮性神経伝達物質の小胞充填機構

堀 哲也（同志社大学 生命医科学部 神経生理学研究室）

(3) シナプス小胞開口放出に関するシナフィンの役割

得丸博史（徳島文理大学 香川薬学部）

(4) 神経伝達物質放出の Ca^{2+} センサーシナプトタグミンの SNARE 膜融合複合体からの解離

西木禎一（岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 細胞生理学）

(5) 生後発達に伴う PKG 依存性小胞エンドサイトーシス制御機構の変化とその役割

江口工学（沖縄科学技術大学院大学 細胞分子シナプス機能ユニット）

(6) 交感神経ダイナミンアイソフォームの役割

谷藤章太（東京医科大学 細胞生理学講座）

(7) 脳幹外側上オリーブ核におけるノルアドレナリン機能の発達変化

平尾顕三（生理学研究所 生体恒常機能発達機構研究部門）

(8) 長期増強における AMPA 受容体動態の光不活化法による解析

神谷温之（北海道大学 医学研究科 神経生物学分野）

(9) シナプス後 GluD2 によるシナプス前可塑性制御

山下愛美（京都大学大学院 理学研究科 生物物理学教室）

(10) 小脳プルキンエ細胞 LTD の新たな PKC 依存性メカニズム

山口和彦（理化学研究所 脳センター 運動学習制御）

(11) 植物由来の生理活性物質によるラット脊髄後角ニューロンへの自発性グルタミン酸放出促進

—TRP チャンネルの関与

熊本栄一（佐賀大学 医学部 生体構造機能学講座）

(12) シナプス伝達のモノカルボン酸輸送依存性に影響する因子

永瀬将志（東京慈恵会医科大学 神経科学研究部 神経生理学絵研究室）

(13) アストロサイト長期培養によるニューロンのサイレントシナプス発現

桂林秀太郎（福岡大学 薬学部 臨床疾患薬理学教室）

(14) カルバコール誘導 β 振動のサーカディアンリズムによる変動

中司弘樹（九州工業大学大学院 生命体工学研究科 脳情報専攻 夏目研究室）

(15) ラット海馬における逆行的可塑性

太田宏之（防衛医科大学校 医学教育部 生理学講座）

(16) 培養ラット小脳顆粒細胞の生存に対する共存橋核の影響：代謝型グルタミン酸受容体の関与

長谷川卓也（大阪大学大学院 生命機能研究科 神経可塑性生理学研究室）

(17) アンジェルマン症候群における小脳顆粒細胞 tonic inhibition の低下と小脳機能障害

江川 潔（浜松医科大学医学部・生理学第一講座）

【参加者名】

高木 博（沖縄科学技術研究基盤整備機構高橋ユニット）、平野丈夫（京都大学理学研究科生物物理）、高森茂雄（同志社大学生命医科学部分子神経生物学研究室）、佐々木哲也（基礎生物学研究所脳生物学研究部門山森哲雄研究室）、福田敦夫（浜松医科大学医学部生理学第一講座）、神谷温之（北海道大学医学研究科神経生物学分野）、坂場武史（同志社大学）、中畑義久（生理学研究所発達生理学系生体恒常機能発達機構研究部門）、江藤 圭（生理学研究所発達生理学系生体恒常機能発達機構研究部門）、稲田浩之（生理学研究所発達生理学系生体恒常機能発達機構研究部門）、山口純弥（生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門）、平尾顕三（生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門）、江川 潔（浜松医科大学医学部生理学第一講座）、山下愛美（京都大学大学院理学研究科生物物理学教室機能統合学講座機能構造認識分野（平野研究室））、江口工学（沖縄科学技術大学院大学細胞分子シナプス機能ユニット）、高橋智幸（同志社大学生命医科学部神経生理学研究室）、三木崇史（同志社大学生命医科学部神経生理学研究室）、中村行宏（同志社大学生命医科学部神経生理学研究室）、石川達也（総合研究大学院大学（生理学研究所）生命科学研究科生体恒常機能発達研究機構）、中司弘樹（九州工業大学大学院生命体工学研究科脳情報専攻夏目研究室）、西木禎一（岡山大学大学院医歯薬学総合研究科細胞生理学）、増本年男（岡山大学医歯薬学総合研究科細胞生理学）、得丸博史（徳島文理大学香川薬学部薬理）、太田宏之（防衛医科大学校医学教育部生理学講座）、石川大介（東京大学大学院薬学系研究科薬品作用学教室）、長谷川卓也（大阪大学大学院生命機能研究科神経可塑性生理学研究室〈小倉研究室〉）、堀 哲也（同志社大学生命医科学部神経生理学研究室）、山口和彦（理

化学研究所脳センター運動学習制御）、八尾 寛（東北大学生命科学研究科脳機能解析分野）、熊本栄一（佐賀大学医学部生体構造機能学講座（神経生理学分野））、桂林秀太郎（福岡大学薬学部臨床疾患薬理学教室）、夏目季代久（九州工業大学大学院生命体工学研究科神経回路情報処理）、水田恒太郎（佐賀大学医学部生体構造機能学講座）、小西史朗（徳島文理大学香川薬学部病態生理学講座）、持田澄子（東京医科大学細胞生理学講座）、鍋倉淳一（生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門）、石橋 仁（生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門）、加藤 剛（生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門）、Kim Sun Kwang（生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門）、宮本愛喜子（生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門）、川口真也（京都大学大学院理学研究科生物物理平野研究室）、山田順子（弘前大学大学院医学研究科脳神経生理学講座）、加藤総夫（慈恵医大神経科学研究部神経生理学研究室）、永瀬将志（東京慈恵会医科大学神経科学研究部神経生理学絵研究室）、栗生俊彦（徳島文理大学香川薬学部病態生理学講座）、高橋由香里（東京慈恵会医科大学神経生理学研究室）、谷藤章太（東京医科大学細胞生理学講座）、窪田寿彦（東北大学歯学研究院歯科薬理学）、河野幸幸（福岡大学薬学研究科臨床疾患薬理学）、小倉明彦（大阪大学大学院生命機能研究科）、廣野守俊（理化学研究所・BSI）、佐竹伸一郎（生理学研究所神経シグナル）、山肩葉子（生理学研究所神経シグナル）、松井 広（生理学研究所脳形態解析）、別府 薫（生理学研究所脳形態解析）、原田春美（生理学研究所脳形態解析）、川本恭平（筑波大学大学院フロンティア医科学専攻）、久保義弘（生理学研究所神経機能素子）、重本隆一（生理学研究所脳形態解析）

【概要】

脳の働きについて理解を深めるために、異なる分野からの様々なアプローチを有機的に統合し、シナプス伝達機構に関する新しい概念の形成を推進することを目的として、多様な分野において多様な方法論を用いてシナプス研究に取り組んでいる研究者の間で、共同研究の推進を視野に入れた徹底的な議論を行い、情報交換を通しての相互理解を深める機会として企画された「シナプス伝達概念志向型研究」と題した本研究会には、50名を超える参加者があった。研究会では、最先端の研究発表と

ともに若い研究者の発表を多く採用し、新たなシナプス研究の方向性を探るために多角的な討論を行った。シナプスでの神経伝達物質の小胞充填メカニズム、シナプス小胞開口放出制御、小胞再取り込みのメカニズム、シナプス前・後細胞受容体の動態と制御、チャネルや輸送体の活性化制御、逆行性シナプス制御、神経を取り囲むグリア細胞の機能解析、さらにシナプス可塑性やサーカディアンリズムとの関連などを、電気生理学と分子生物学の融合、電気生理学と光生理学の連携、さらにシナプ

ス機能とシステムレベルの脳機能の因果関係などを模索している生理学者や、新たなシナプス局在分子からその生理機能を追求している分子生物学者、シナプス局在分子の形態や分布と機能の連関を追求している形態学者によって解析された研究成果が発表された。それに対して活発な質疑応答や助言がなされ、たいへん密度の濃い議論が参加者相互の間で展開された。本研究会では、シナ

プス研究に不可欠であるにもかかわらず、近年、非常に少なくなりつつある電気生理学的手法を用いた成果が多数発表され、緻密な機能解析結果から得られた生理現象の理論的見解が熱く討議された。企画された時間内では収まりきらずに、コーヒーブレイクや懇親会会場でも、活発な議論が繰り広げられるとともに、情報交換がなされ、共同研究の可能性が討議されていた。

(1) シナプス小胞への神経伝達物質再充填のメカニズム

高森茂雄 (同志社大学生命医科学部)

神経終末において一度エキソサイトシスに使われたシナプス小胞は、エンドサイトシスによって新たに合成され、神経伝達物質が再充填されることで次のエキソサイトシスに備える。神経伝達物質の再充填過程は小胞膜上に存在する起電性の液胞型プロトン ATPase (V-ATPase) が作るプロトン電気化学勾配によって駆動される。プロトン電気化学勾配は、電気勾配 ($\Delta\psi$) と化学勾配 (ΔpH) に分けられるが、その比は小胞内外の塩化物イオン濃度によって決まる。すなわち、塩化物イオンが無い場合は $\Delta\psi$ が優位に形成され、高濃度の塩化物イオンが存在する時は ΔpH が優位に形成される。現在まで

に、シナプス小胞膜の塩化物イオン透過性を司る塩化物イオンチャネルの分子実体に関してコンセンサスは得られていない。更に、興奮性神経伝達物質であるグルタミン酸のシナプス小胞への取込は、小胞外塩化物イオン濃度に対して二層性の効果を示すが、そのメカニズムの詳細や塩化物イオンチャネルの寄与に関しては不明であった。本講演では、グルタミン酸のシナプス小胞への取り込みに対する塩化物イオンの作用機序とエネルギー依存性に加えて、近年議論されている抑制性神経伝達物質である GABA 再充填の塩素イオン依存性に関しても議論する。

(2) 中枢シナプスにおける興奮性神経伝物質の小胞充填機構

堀 哲也, 高橋智幸 (同志社大学生命医科学部神経生理学教室)

小胞へのグルタミン酸取り込みは小胞性グルタミン酸トランスポーターVGLUT を介して行われ、前末端細胞内から小胞内に約 10 倍の濃縮を行う。生化学的な方法で測定されたシナプス小胞のグルタミン酸充填時間は数分ないし 10 分と推定されている。一方、培養海馬シナプスにおいては、高頻度刺激中のシナプス抑制をグルタミン酸取り込み阻害薬が増強するとの結果から、充填時間が 1-2 秒と推定されている。これらの実験根拠はいずれも間接的であり、前末端において直接小胞充填時間を測定することが必要である。

我々は、げっ歯類脳幹部台形体内側核の聴覚中継シナプス calyx of Held において、前末端にてケイジドグルタ

ミン酸 (MNI-caged glutamate) 光分解を用いてシナプス前末端内のグルタミン酸濃度を急速に操作し、シナプス小胞への伝達物質充填時間を測定した。室温では、小胞充填時定数は約 15 秒であり、生理的温度では約 8 秒であった。この効果は、液胞性 ATPase 阻害剤である BafilomycinA1 投与により阻害された。また、充填時定数の生後発達依存性と細胞質 Cl^- 濃度依存性が観測された。

小胞充填に必要な時間は小胞の再利用に必要な時間を規定するため、小胞充填機構は、シナプス伝達における重要な律速段階と考えられる。

(3) シナプス小胞開口放出に関するシナフィンの役割

得丸博史（徳島文理大学香川薬学部薬理）

シナプス小胞開口放出には Ca^{2+} 濃度を感知して迅速に小胞と形質膜を融合させる仕組みが必要である。小胞と形質膜の間で形成される SNARE 複合体によって 2 種類の膜は融合可能な距離まで接近する。一方、シナプトタグミン 1 (Syt1) は Ca^{2+} を感知して融合を誘導する。開口放出のスピードが極めて速いことを考慮すると、 Ca^{2+} 流入前に Syt1 は SNARE 複合体と結合していると想定されるが、 Ca^{2+} 非存在下における両者の結合親和性は低いいため、 Ca^{2+} を感知する仕組みはよく解っていない。

神経終末の可溶性蛋白質、シナフィン/コンプレキシンは SNARE 複合体と結合し神経伝達物質放出を制御する。

我々は、シナフィンが SNARE 複合体と Syt1 の両方に結合し、Syt1 と SNARE 複合体の結合を促進することを見出した。さらに、Syt1 が結合する C 末端配列を除いたシナフィン (Syp Δ C) は Syt1 と SNARE 複合体の結合の促進効果が消失すること、Syp Δ C を過剰発現させた PC12 細胞からの開口放出は約 90% 阻害されることを示した。以上の結果から、我々はシナフィンと結合した SNARE 複合体が Syt1 の高親和性受容体となり、 Ca^{2+} 流入前に Syt1 を積極的に動員することが開口放出に重要であると考えている。

(4) 神経伝達物質放出の Ca^{2+} センサーシナプトタグミンのスネア膜融合複合体からの解離

西木禎一，増本年男，鈴木孝一朗，松井秀樹
(岡山大学大学院医歯薬学総合研究科細胞生理学)

神経伝達物質放出機構を解明するために、 Ca^{2+} センサーシナプトタグミンと膜融合装置スネア複合体の結合を解析した。ラット脳から可溶化したシナプトタグミンとスネア複合体は Ca^{2+} 非存在下で結合し、 Ca^{2+} 濃度依存的に解離した。組換えタンパク質同士の結合実験において、シナプトタグミンはスネアの 3 種類の構成因子のうちシンタキシンとのみ結合し、 Ca^{2+} により解離した。シナプトタグミンの 2 つの C_2 ドメイン (C_2A , C_2B) の Ca^{2+} 結合部位は、5 つのアスパラギン酸から構成されている。これらのアミノ酸残基をアスパラギンに置換した変異シナプトタグミンを用いた実験から、スネアからの解離に

は C_2B への Ca^{2+} 結合が必須であることが明らかとなった。この結果は、神経細胞からの伝達物質放出におけるシナプトタグミンの C_2 ドメインの役割と良く一致する。以上の結果から、私達は次のようなモデルを提唱する。シナプス小胞がドッキング後、シナプトタグミンがシンタキシンを介してスネア複合体に結合する。この時、シナプトタグミンはスネアによる膜融合を Ca^{2+} 流入まで抑制していると考えられる。 Ca^{2+} がシナプトタグミンに結合するとスネア複合体から解離することで抑制が解除され、伝達物質が放出される。

(5) 生後発達に伴う PKG 依存性シナプス小胞エンドサイトーシス制御機構の変化とその役割

江口工学¹，高橋智幸^{1,2}

(¹ 沖縄科学技術大学院大学細胞分子シナプス機能ユニット，

² 同志社大学大学院生命医科学研究科神経生理学教室)

神経伝達物質を格納したシナプス小胞は、シナプス前

末端膜へと融合・開口することで、神経伝達物質を細胞

外へと放出する。その後、融合した小胞膜は前末端内に取り込まれ（エンドサイトーシス）、小胞として再生される。本研究において、PKG 阻害剤を脳幹の calyx of Held シナプス前末端に注入したところ、エンドサイトーシスの時間経過を顕著に遅延させることが明らかになった。PKG 阻害剤の効果は聴覚獲得後のシナプスでのみ見られ、獲得前の未成熟なシナプスでは見られなかった。さらに、これと同様な抑制効果が、NO 吸収剤の投与によって惹起された。このことから、Calyx of Held の後シナプス細胞から放出された NO が前シナプス末端内の PKG

を活性化し、エンドサイトーシスを加速する逆行性調節メカニズムの存在が示唆された。

PIP₂の前駆体である PIP の合成酵素 PI キナーゼの阻害剤をシナプス前末端に注入したところ、PKG 阻害剤と同様小胞エンドサイトーシスを抑制した。このことは、PKG が PIP₂を制御することによって小胞エンドサイトーシスを加速することを示唆する。以上の結果から、NO-PKG-PIP₂ 経路による小胞エンドサイトーシスが calyx of Held シナプスの成熟過程において出現し、情報伝達効率の向上に寄与しているものと考えられる。

(6) 交感神経ダイナミンアイソフォームの役割

谷藤章太, 持田澄子 (東京医科大学細胞生理学講座)

小胞エンドサイトーシスの鍵分子として機能し、再取り込み小胞を形質膜から切断するダイナミンには3種のアイソフォームが知られており、ノックアウトマウス大脳皮質シナプスでの機能解析は、シナプス活動中にダイナミン1と3が、活動後にダイナミン2が異なる小胞エンドサイトーシス経路を駆動すると報告している。交感神経では、これまでに、シナプス活動に依存したクラスリンコート小胞エンドサイトーシスとシナプス活動に依存しない速い小胞再利用エンドサイトーシスにダイナミンが関わることを確認している。そこで、siRNAを導入して各アイソフォームの機能を阻害したシナプスでの活動電位発火パターンに応じたシナプス伝達を記録して、それぞれの役割を解析した結果、各アイソフォームの駆動

様式が中枢神経系とは異なり、①ダイナミン1がクラスリンコート小胞エンドサイトーシスに、ダイナミン3が速いエンドサイトーシスに選択的に関わり、ダイナミン2が両者に関わること、②ダイナミン1を介する小胞エンドサイトーシス→RRP 充填の経路は、活動電位発生後に0.05-5秒のタイムウインドウを持って活性化されること、③頻回シナプス活動中には、ダイナミン3を介する小胞エンドサイトーシス→RRP 充填経路だけでなく、ダイナミン1を介するエンドサイトーシス経路→RRP 充填も活性化されること、④頻回シナプス活動後にはダイナミン1を介するエンドサイトーシスが活性化されることが判明した。

(7) 脳幹外側上オリーブ核におけるノルアドレナリン機能の発達変化

平尾顕三¹, 石橋 仁¹, 永井 拓², 鍋倉淳一¹

(¹生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門, ²名古屋大学大学院医学研究科医療薬学)

中枢聴覚神経系の核である外側上オリーブ核 (LSO) は、音の周波数に依存した処理領域を持つが、これは発達期に形成されることがわかっている。実際生後二週以内の LSO において、聴覚系の神経活動に依存して、LSO に投射する線維終末や LSO ニューロンの樹状突起が pruning を起こすこと、単一線維あたりのシナプス入力

が増強されることが報告されている。

ノルアドレナリン (NA) は発達初期から成熟期にかけて、神経活動を調節し回路発達に寄与していることが報告されている。更に LSO は、脳幹背側部に位置する青斑核からの投射を受けている。したがって NA が、聴覚系の神経活動を調節することで、LSO 回路の発達に寄与し

ている可能性が考えられる。

本研究では生後二週以内のマウス LSO を用いて、興奮性入力の変容変化に対する NA の役割を調べた。スライスパッチクランプ法を用いた電気生理学的検討の結果、NA がプレシナプスの $\alpha 2$ 受容体活性化を介し興奮性シナプス伝達を抑制すること、この作用が生後二週以内に局限していることが分かった。次に生後の時期に神経毒

DSP-4 投与により内因性 NA を不可逆的に除去した状態で、その後の LSO ニューロンへの興奮性軸索の投射数と強度を検討した。その結果、DSP-4 を投与したマウスでは、正常発達に伴い認められる軸索の elimination と単一軸索あたりの入力の強化が有意に阻害されていた。

以上の結果から、ノルアドレナリンは LSO 神経回路の発達に重要であると考えられる。

(8) 長期増強に伴う AMPA 受容体動態の光不活化法による解析

神谷温之（北海道大学医学研究科神経生物学分野）

脳の興奮性シナプス伝達を担う AMPA 型グルタミン酸受容体のシナプス局在は動的に制御されていることが示されてきた。シナプス下膜の AMPA 受容体の局在は、細胞内プールからシナプス後膜への (1) 膜移行 exocytosis や、シナプス外からの (2) 側方拡散 lateral diffusion, シナプス後肥厚の受容体スロットに固定化される (3) 拡散捕捉 diffusional trapping の 3 つのステップが関わることが示唆されている。このグルタミン酸受容体トラフィックの 3 ステップモデルは、従前のモデルでは説明できない多くの実験結果を整合的に説明できることから、グルタミン酸受容体のシナプス移行に関する統一モデルとなると考えられている。しかしながら、(1)-(3) のそれぞれが長期増強の発現においてどのタイミングで

活性化するか、どのステップがグルタミン酸受容体のシナプス移行における律速的過程として機能するか、などの詳細については不明な点が多い。そこで本研究では、光反応性 (caged) グルタミン酸受容体ブロッカーである ANQX の光分解を脳スライス標本に適用し、シナプス後部のグルタミン酸受容体を光照射で不活化した後のシナプス応答の回復の時間経過を測定することで、海馬シナプスでの「内在性」グルタミン酸受容体の生理的な分子動態の解明を試みた。入力線維に高頻度刺激を与え長期増強を誘発した後に、様々なタイミングで光不活化を行い、神経活動依存的なシナプス移行の加速がどの時点で見られるかについて解析を行った。

(9) シナプス後 GluD2 によるシナプス前可塑性制御

山下愛美, 川口真也, 平野丈夫（京都大学大学院理学研究科生物物理学教室）

イオン透過型グルタミン酸受容体 $\delta 2$ サブユニット (GluD2) は、小脳平行線維-プルキンエ細胞間シナプス後部特異的に発現しており、小脳長期抑圧に必須の分子である。GluD2 欠損マウスが作成されており、シナプス後部で起こる長期抑圧不全だけでなく、シナプス前部で起こる短期可塑性 (Paired Pulse Ratio; PPR) も変化していることが報告されている。シナプス後部に発現している GluD2 がどのようにシナプス前部での放出確率の変化に影響を与えるかを調べた。実験と理論的検討により GluD2 欠損マウスでは、シナプス前部への Ca^{2+} 流入が減

少している可能性が考えられた。野生型マウスでは、R-type Ca^{2+} チャンネルブロッカーによりシナプス前部への Ca^{2+} 流入が減少して PPR が大きくなるが、GluD2 欠損マウスでは R-type Ca^{2+} チャンネルブロッカーによる PPR の変化が観察されなかった。またシナプス前部で起こる長期増強が阻害されていることもわかった。この長期増強には P/Q, N-type Ca^{2+} チャンネルは関与せず、R-type Ca^{2+} チャンネルがはたらくマイクロドメインでの Ca^{2+} 流入が必須であることが報告されている。以上の結果は、シナプス後部の GluD2 がシナプス前部の R-type Ca^{2+} チャンネルの機能

または局在に影響を与えていることを示唆している。

(10) 小脳プルキンエ細胞 LTD の新たな PKC 依存性メカニズム

山口和彦 (理化学研究所脳科学総合研究センター運動学習制御)

小脳の平行線維 (PF) -プルキンエ細胞 (PC) 間シナプスの長期抑圧 (LTD) の分子メカニズムとして、PKC による GluA2-C 末端のリン酸化により、GluA2 はシナプス膜から脱安定化され、エンドサイトーシスにより内在化されるというメカニズムが提案されている。しかし、この「脱安定化仮説」の定量的な検討はなく、AMPA 受容体トラフィッキングに関する反応速度も不明であった。ラット小脳スライス標本にパッチクランプ法を適用し、ケージ化阻害ペプチドのアンケーシングにより、GluA2 エキソサイトーシスを阻害し、エンドサイトーシス速度を測定したところ、 0.8 min^{-1} であった。また LTD はこのエンドサイトーシス速度に影響を与えないことが示さ

れた。一方、ダイナミン阻害剤を用いてエンドサイトーシスを阻害し、受容体エキソサイトーシスを単離して測定したところ、LTD 刺激により、AMPA 受容体エキソサイトーシスは著しく抑圧されていた。PKC 阻害剤を投与した場合は、LTD も、この AMPA 受容体エキソサイトーシスの抑圧も生じなかった。この AMPA 受容体エキソサイトーシスの抑圧と脱安定化のデータを用いてシミュレーションしたところ、生理的な LTD を十分に説明できた。PKC の下流に、脱安定化に加え、AMPA 受容体エキソサイトーシスの抑圧というメカニズムがあることが結論された。

(11) 植物由来の生理活性物質によるラット脊髄後角ニューロンへの自発性グルタミン酸放出促進 -TRP チャンネルの関与

熊本栄一, 藤田亜美, 岳 海源, 井上将成, 楊 柳, 蔣 昌宇,
徐 年香, 柳 涛, 水田恒太郎, 川崎弘貴, 松下晋大
(佐賀大学 医学部 生体構造機能学講座 (神経生理学分野))

我々は、今まで、1 次感覚ニューロンを通して痛み情報が伝えられる脊髄後角第 II 層 (膠様質) のニューロンにパッチクランプ法を適用し、1 次感覚ニューロンの中枢端に発現している transient receptor potential (TRP) V1 や TRPA1 が植物由来成分により活性化されると膠様質ニューロンへのグルタミン酸の自発放出が促進されることを明らかにしてきた。今回、生姜成分ジンゲロン、月桂樹成分オイゲノールおよび黒胡椒成分ピペリンの作用について報告する。実験は成熟雄性ラットの脊髄スライス標本の膠様質ニューロンにパッチクランプ法を適用して行った。ジンゲロン、オイゲノール、ピペリンのいず

れもグルタミン酸の自発放出を促進し、それらの EC_{50} 値は、それぞれ 1.5 mM, 3.6 mM, 0.052 mM であった。TRPV1 阻害薬のカプサゼピンや TRPA1 阻害薬の HC-030031 を用いた実験により、ジンゲロンとオイゲノールは TRPA1 を、ピペリンは TRPV1 を活性化することが示された。カプサイシンと同様にバニロイド化合物であるジンゲロンとオイゲノールは、1 次感覚ニューロンの細胞体で TRPV1 を活性化することが報告されており、今回示された中枢端における結果と異なっていた。以上の植物由来生理活性物質の結果は、その中枢端に存在する TRP の性質を知るのに役立つことが期待される。

(12) シナプス伝達のモノカルボン酸輸送依存性に影響する因子

永瀬将志¹, 渡部文子^{1,2}, 加藤総夫¹(¹ 東京慈恵会医科大学神経生理学研究室, ² 科学技術振興機構さきがけ)

アストロサイトで産生されたラクテートはモノカルボン酸トランスポーター (MCT) によってニューロンへ輸送され、ニューロンの活動を支えるエネルギー源となりうる。しかし、このようなラクテート輸送のシナプス伝達の維持における意義は大部分未解明である。MCT 発現が報告されている延髄孤束核を用いて、シナプス後電流におよぼす MCT 阻害薬 α -cyano-4-hydroxycinnamic acid (4-CIN) の影響を評価した。4-CIN によるシナプス後電流振幅の抑制率は、(1) 高頻度のシナプス伝達、(2) 外向き電流よりも内向き電流 (AMPA 受容体電流の場合)、(3) 総

電荷移動量 (等電流起電力で記録した AMPA 受容体電流の場合) が大きい電流、および、(4) 抑制性よりも興奮性シナプス、で有意に高値を示した。一方、NMDA 電流と AMPA 電流の違い、あるいは、温度、電流起電力、および、放出確率の実験的变化などは有意な差をもたらさなかった。以上より、アストロサイトから供給されるラクテート由来エネルギーは、主にシナプス伝達時のシナプス局所的イオン環境恒常性の維持に用いられている可能性を報告した。

(13) アストロサイト長期培養によるニューロンのサイレントシナプス発現

桂林秀太郎 (福岡大学薬学部臨床疾患薬理学教室)

脳が老化すると、ニューロンのみならずグリア細胞にも加齢的变化が生じると考えられる。ニューロンの数十倍存在すると言われるグリア細胞、中でもその多数を占めるアストロサイトの老化は、脳全体の老化に多大な影響を与える可能性がある。そこで本研究では、アストロサイトを長期間培養した加齢標本作製し、老化アストロサイトがシナプス伝達とシナプス形成にどのような影響を与えるかをパッチクランプ法と免疫染色法を用いて検討した。パッチクランプ法により、アストロサイトを長期培養すると、開口放出可能なシナプス小胞数は減少したが、シナプス伝達確率や Ca^{2+} 感受性、シナプス小胞放出確率は不変であった。興奮性シナプスを VGlut1 抗体

で染色したところ、その数は不変であったが、FM1-43FX にて同定した開口放出可能シナプスはアストロサイトの長期培養により減少していた。一方、シナプス後膜の NMDA 受容体や APMA 受容体特性は不変であった。以上の結果より、アストロサイトを長期培養することで、シナプス後膜由来ではなく神経終末部に起因したサイレントシナプスが発現する可能性が示唆された。神経終末部由来のサイレントシナプスの存在は既に知られているものの、その導入因子や発現機序は全く不明である。今回の結果を基軸とし、今後は老化アストロサイト由来のサイレントシナプス導入分子を探索したいと考えている。

(14) カルバコール誘導 β 振動のサーカディアンリズムによる変動

中司弘樹, 西村基志, 夏目季代久 (九州工業大学大学院 生命体工学研究科)

脳は、おおよそ 24 時間周期で振動するサーカディアンリズムを持っており、神経活動に影響を及ぼすと考えられている。海馬では、様々な神経リズムが観測されてお

り記憶・学習に関わっている。海馬スライスにアセチルコリン受容体作動薬であるカルバコール (CCh) を投与すると、間欠的な β 振動が発生する。本研究では、サー

カディアンリズムが β 振動にどのように影響するかを調べた。

実験は、Wistar 系雄のラットを明期 (L 期) と暗期 (D 期) の 2 グループにわけた。L・D 期における海馬スライスに CCh (30 μ M) を投与すると、間欠的に発生する β 振動の inter burst interval (IBI) が D 期に比べ L 期の方が有意に長かった。この β 振動に GABA_A 受容体の阻害薬である SR95531 を投与すると、L 期で有意に短くなった。この結果は、L・D 期における β 振動の IBI の差に、GABA_A

受容体が関与している事を示唆している。また L 期の β 振動の IBI は、メラトニンの投与によって短くなった。

この結果は、L 期の海馬においてメラトニン受容体を介してメラトニンが抑制性神経活性を調節して D 期に移行している可能性を示唆している。

以上の結果より、海馬内では、松果体から放出されたメラトニンによって抑制性神経の活性化が制御され、その結果、海馬神経回路で発生する β 振動の発生がサーカディアンリズムで変化していると考えられる。

(15) ラット海馬における逆行的可塑性

太田宏之^{1,2}, 酒井誠一郎^{2,3}, 伊藤 信^{2,3}, 石塚 徹^{2,3}, 深澤有吾⁴, 煙山健仁⁵,
晝間 恵⁵, 虫明 元^{2,3}, 佐藤義昭⁵, 八尾 寛^{2,3}, 西田育弘⁵

(¹ 防衛医科大学校生理学講座, ²CREST JST, ³ 東北大学大学院生命科学研究科,
⁴ 自然科学研究機構生理学研究所, ⁵ 防衛医科大学校生理学講座)

我々は、チャネルロドプシン 2 発現ラットと局所光刺激手法を用い、海馬スライスにおいてシナプス前ニューロンの応答性が、シナプス後ニューロンとのペアリング刺激のタイミングに依存して変化することを発見した。近年、ペアリング刺激に対応したシナプス前ニューロンの応答性の変化 (逆行的可塑性) に関するエビデンスが若干ながら報告されつつある。逆行的可塑性を捉えるためには、多電極のパッチクランプが必要であるため主に培養環境下で実験が行われてきたが、ネットワーク構造が維持された環境下での逆行的可塑性の実態は不明であった。そこで、我々は海馬スライス上において逆行的可塑性を捉えるため、チャネルロドプシン 2 発現ラットと

局所光刺激手法を用い、ペアリング刺激のための 2 点の局所光刺激と、時間幅を持った光刺激による刺激応答特性の簡易な細胞外記録を実現した。CA3 soma と CA1 alveus に対して局所的に光によるペアリング刺激を行い、その前後における CA3 soma への 200 ms の光刺激に対する細胞外スパイク応答頻度を記録した。結果、ペアリング刺激が CA3, CA1 の順である場合 CA3 の応答は増大し、逆の場合減弱した。また、これらの変化は AP5 によって消失したため、NMDA 受容体が関与していることが示された。さらに、colchicine によっても CA3 応答の変化が消失したため、本現象には何らかの軸索輸送が関与していることが示唆された。

(16) 培養ラット小脳顆粒細胞の生存に対する共存橋核の影響：代謝型グルタミン酸受容体の関与

長谷川卓也, 富永恵子, 小倉明彦 (大阪大学大学院生命機能研究科)

発生期の脳では、神経細胞は過剰に生産され、正しくシナプス結合を形成しえたものだけが生き残る「活動依存的な淘汰」の過程がある。その機構を解析するモデル系として、ラット小脳顆粒細胞 (CGN) の分散培養がしばしば用いられる。CGN は、KCl やグルタミン酸 (Glu) の添加でシナプス活動を模擬しないと長期生存しない。当

研究室では、CGN への本来の興奮性入力源の一つである橋核 (PN) と共存培養すると、CGN が KCl や Glu の添加なしでも長期生存し、この生存に AMPA 型 Glu 受容体が関与することを報告した (Morita et al., 2005)。今回、この生存に、代謝型 Glu 受容体 (mGluR) も関与することを見出した。Wistar/ST ラット PN の組織小片と同系ラット

CGN の分散細胞を共存させると、PN の突起と接している CGN は、そうでない CGN と比べて生存率が高い。このとき group I mGluR の阻害剤を投与すると、生存率が低下した。そこで一つの可能性が浮上する。CGN とその出力先プルキンエ細胞とのシナプス可塑性では、mGluR

により AMPAR の動態が調節される。今回の mGluR の生存作用も、mGluR の直接効果ではなく、AMPA の調節を介している可能性がある。しかし、CGN 単独の分散培養で mGluR 作動薬と AMPAR 作動薬の効果を定量的に検討したところ、想定した干渉作用はみられなかった。

(17) アンジェルマン症候群における小脳顆粒細胞 tonic inhibition の低下と小脳機能障害

江川 潔¹, 井上浩一¹, 斉藤伸治², 木住野達也³, 福田敦夫¹

(¹ 浜松医科大学生理学第一講座, ² 名古屋市立大学小児科,

³ 長崎大学・先端生命科学研究支援センター・ゲノム機能解析分野)

今回, AS における小脳機能障害メカニズムの解明を目的として, 母性 *Ube3a* 欠失マウス (以下 AS マウス) 小脳急性スライスを用いた電気生理学的検討について報告した。

小脳顆粒細胞 (CGC) におけるシナプス性 GABA 抑制には変化を認めなかったもののシナプス外 GABA_A 受容体を介する持続抑制 (tonic inhibition) が AS モデルマウスで有意に低下していることを報告した。GABA transporter 1 (GAT1) inhibitor, NO711 投与による tonic conductance の上昇が AS マウスで有意に大きく, GAT1 up-regulation による ambient GABA 濃度の減少が, tonic inhibition 減弱の

機序と考えられた。WB にて小脳 GAT1 蛋白発現が亢進, GAT1 RT-mRNA1 には差が見られなかったことから, *Ube3a* が GAT1 の degradation に関与している可能性を提示した。

減少したトニックコンダクタンスを GABA 受容体δサブユニット選択的アゴニスト, THIP で補完すると, 小脳機能障害は in vivo, in vitro でレスキューされることを示した。GAT1 発現の制御不全による CGC tonic inhibition の低下が, AS における小脳機能障害の原因である可能性を提示した。

19. 中枢・末梢臓器連関による生体恒常性と仲介分子機構

2012年2月10日－2月11日

代表・世話人：矢田俊彦（自治医科大学 医学部）

所内対応者：箕越靖彦（生殖・内分泌系発達機構）

（1）多彩な機能を示し始めた Nesfatin-1 precursor Nucleobindin-2

岡田秀一¹，森 昌朋²

（¹群馬大学医学部附属病院 肝臓代謝内科，²群馬大学大学院医学系研究科病態制御内科学）

（2）食物選択行動に及ぼす視床下部室傍核 AMP キナーゼ調節作用

岡本土毅，箕越靖彦

（生理学研究所 発達生理学研究系 生殖・内分泌系発達機構研究部門，
総合研究大学院大学 生命科学研究科 生理科学）

（3）摂食により海馬 CA1 ニューロンの可塑性は増大する

大村 裕¹，片淵俊彦¹，福永浩司²

（¹九州大学医学部統合生理学，²東北大学薬学部薬理学）

（4）ヒスチジンによる肝糖新生抑制作用

井上 啓（金沢大学フロンティアサイエンス機構）

（5）希少糖 D-ブシコースの2型糖尿病ラット OLETF の抗糖尿・抗肥満作用

徳田雅明¹，Hossain Akram¹，飯田哲郎¹，平田裕子¹，豊田行康²

（¹香川大学医学部細胞情報生理学，²名城大学薬学部病態生化学）

（6）D-ブシコース及び希少糖含有シロップの抗肥満作用

豊田行康¹，田中茉衣¹，小西美穂¹，渡邊崇平¹，川口真奈¹，山田貴子²，飯田哲郎²，徳田雅明³

（¹名城大・薬，²松谷化学工業株式会社研究所，³香川大学・医）

（7）末梢オキシトシン投与は摂食量，内臓脂肪，体重を減少させる

前島裕子，岩崎有作，荒井 健，Udval Sedbazar，Darambazar Gantulga，矢田俊彦

（自治医科大学医学部生理学講座統合生理学部門）

（8）摂食調節における GLP-1 とレプチンの相乗効果に関する研究

伊達 紫

（宮崎大学フロンティア科学実験総合センター・生命科学研究部門・生理活性物質機能解析分野）

（9）Rapid, reversible activation of AgRP neurons drives feeding behavior in mice

幸田修一（アスピオファーマ株式会社）

（10）POMC・AgRP ニューロンでの Sirt1 過剰発現マウスの摂食・エネルギー消費調節機構

佐々木努，北村忠弘（群馬大学生体調節研究所 代謝シグナル研究展開センター）

（11）インスリンによるエネルギー代謝のスイッチング機構

三木隆司（千葉大学大学院医学研究院代謝生理学）

（12）白色脂肪組織 TNF- α の mRNA 発現に及ぼす AgRP 及び交感神経の調節作用

唐 麗君，箕越靖彦

（生理学研究所 発達生理学研究系 生殖・内分泌系発達機構研究部門，
総合研究大学院大学 生命科学研究科 生理科学専攻）

（13）Nesfatin-1 neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus are regulated by meal-evoked factors

Darambazar Gantulga，前島裕子，中田正範，矢田俊彦（自治医科大学医学部生理学講座統合生理学部門）

【参加者名】

井上 啓 (金沢大学フロンティアサイエンス機構), 中林肇 (金沢大学), 佐々木努, 北村忠弘 (群馬大学 生体調節研究所), 岡田秀一 (群馬大学), 伊達 紫, 秋枝さやか, ペ・チョロン (宮崎大学 フロンティア科学実験総合センター), 島津 孝 (愛媛大学), 大村 裕 (九州大学), 徳田雅明, 飯田哲郎 (香川大学), 豊田行康 (名城大), 金子慶三, 片桐秀樹 (東北大学 大学院), 堀尾修平, 志内哲也 (徳島大学 大学院), 新福摩弓 (群馬大学

生体調節研究所), 蔡 明倫 (鹿児島大学 大学院), 幸田修一 (アスビオファーマ株式会社), 山田貴子 (松谷化学工業株式会社研究所), 三木隆司, 李 恩瑛 (千葉大学大学院), 矢田俊彦, 前島裕子, 岩崎有作, Udval Sedbazar, Darambazar Gantulga (自治医科大学), 箕越靖彦, 岡本土毅, 戸田知得, 横田繁史, 唐 麗君, 上条真弘, 高木一代, Eulalia Coutinho, 佐藤達也, 斉藤久美子 (生理学研究所)

【概要】

本研究会は「中枢・末梢臓器連関による生体恒常性と仲介分子機構」をテーマとした。室傍核 AMP キナーゼによる食物選択行動の変化, 室傍核 Nesfatin-1 ニューロンの食後因子の感受機構, 海馬 CA ニューロンのグルコースによる可塑性増大が報告され, 栄養成分の中枢神経への作用における分子機構とそれと関連した摂食調節・食物選択性・学習記憶機構が明らかにされつつある。摂食中枢の視床下部において, 最新の遺伝子改変・導入技術を応用した動物を用いた弓状核 AgRP ニューロンによる摂食調節解析, 弓状核 POMC ニューロンと AgRP ニューロンの Sirt-1 が摂食とエネルギー代謝をそれぞれに調節していること, 中枢 AgRP が交感神経活動の低下により白色脂肪組織中の TFN- α mRNA を増大させること, 末梢ヒスチジン投与が中枢神経系を介して肝糖新生を低下させること, 低用量 GLP-1 とレプチンの相乗効果によ

る中枢メラノコルチン-AMPK 経路を介した摂食抑制機構が紹介され, 中枢神経からの摂食行動や末梢臓器機能に関する仲介分子とその機能が報告された。摂食抑制性神経ペプチド Nesfatin-1 の前駆ペプチド NUCB2 が細胞増殖や脂肪分化に関連していることが紹介された。代謝異常における予防・治療の観点から, 食品成分の D-ブシコース摂取やオキシトシン末梢投与が肥満モデル動物や高脂肪食誘発のメタボリックシンドロームを改善することが新たに報告された。さらに, インスリン受容体変異マウスが肥満を呈さずに糖尿病を発症することが紹介され, 新たな代謝疾患モデル動物として有用であることが示唆された。大学院生や若手研究者も活発に討議に参加し, 種々の異なる手法・アプローチによる研究成果の情報交換を行い, 懇親会では世代を超えた研究者間の親睦を深め, 実り多い研究会となった。

(1) 多彩な機能を示し始めた Nesfatin-1 precursor Nucleobindin-2

岡田秀一 (群馬大学医学部附属病院 肝臓代謝内科)

森 昌朋 (群馬大学大学院医学系研究科病態制御内科学)

Nucleobindin 2 (NUCB2) は Nesfatin-1 の precursor であるが, NUCB2 自身も分泌蛋白であり, 実際に血中や培養液中に存在することから独自の生理作用を有すると推測されている。実際, 今日迄に, インスリン分泌の調節に関与することが示唆されている。我々は, 一連の実験過程で複数の新たな NUCB2 の生理機能を見出す機会に恵まれた。

1. 細胞増殖促進作用: NUCB2 は EGF 刺激下において, PP2A 活性を低下させ MEK, Erk 活性を選択的に上昇さ

せて細胞増殖を促進していることを見出した。

2. この現象の重要性は以下の点から窺い知れる。Preadipocyte から adipocyte へ分化する際に, EGF 受容体の発現や EGF シグナルが減少することが必要であるが, NUCB2 はその過程で down regulate されており, 血中濃度にほぼ等しい濃度の NUCB2 を細胞培養液中に添加した時や, NUCB2 を恒常的に過剰発現させると 3T3-L1 細胞の脂肪分化が抑制されることから, 脂肪分化の過程において, 「NUCB2 の発現減弱による EGF シグナルの減

弱」が重要であることを明らかにした。

3. また、NUCB2 はヒト肺癌組織に特異的に発現しており、肺癌との関連が強く示唆される結果を得ている。

4. 更に、NUCB2 が senescence を抑制していることも

見出している。

以上の様に、NUCB2 は多彩な機能を有する可能性が強く、生体にとって非常に重要な分子であることを我々は明らかにしつつある。

(2) 食物選択行動に及ぼす視床下部室傍核 AMP キナーゼ調節作用

岡本土毅, 箕越靖彦

(生理学研究所 発達生理学系生殖・内分泌系発達機構研究部門,
総合研究大学院大学 生命科学研究科 生理科学)

視床下部室傍核 (PVH) は、摂食量及び食餌嗜好性の調節に関与することが知られている。我々は、マウス PVH 神経細胞にレンチウイルスを用いて活性型 AMPK を発現させると、炭水化物食に対する嗜好性が高まり通常食や高蔗糖食の摂食量が増加して肥満すること、反対に、高脂肪食では過食とならず肥満しない事を見出し、PVH における脂肪酸酸化と脂肪酸酸化関連遺伝子の変化が食餌嗜好性の調節に関わることを報告した。また、マウスを1日絶食させると PVH の AMPK 活性が高まり、脂肪酸酸化が亢進する事によって炭水化物食を多く摂取することを見出した。この効果は PVH に CPT1 阻害剤を選択的に投与すると消失した。

今回、AMPK に対する shRNA を PVH に発現させると絶食による PVH での脂肪酸酸化亢進作用、食物嗜好性への効果が消失すること、さらに AMPK を介する食餌嗜好性の変化は PVH に存在する CRH ニューロンを介することを報告する。一方、KKAy 肥満マウスや高脂肪食負荷肥満マウスでは、PVH での AMPK 活性、脂肪酸酸化が低下すると共に、CRH mRNA レベルも減少しており、高脂肪食に対する嗜好性が亢進していた。以上から、肥満マウスでは PVH 内の CRH ニューロンにおいて AMPK-脂肪酸酸化調節機構に異常を来とし、その結果、高脂肪食に対する食餌嗜好性が高まると考えられる。

(3) 摂食により海馬 CA1ニューロンの可塑性は増大する

大村 裕, 片淵俊彦 (九州大学医学部統合生理学)

福永浩司 (東北大学薬学部薬理学)

摂食によりラットの 3mM 血糖値は2倍になる。海馬切片標本で 6mM のグルコースリンガーを CA1 領域に投与すると、Schaffer 刺激による EPSPs 振幅が優位に増大する。また Paired-pulse facilitation 実験でも節前繊維からの伝達物質遊離が優位に増大している。これらの増大は同領域 Ca-calmodulin 由来の protein kinase II (CAMKII) により、また伝達物質増大は節前繊維の synapsin リン酸化

の増大による。NMDA および AMPA を CA1 ニューロンに electrophoretic application すると、EPSPs 振幅は 6mM グルコースで優位に増大している。Schaffer の高頻度刺激で CA1 領域の LTP は 3mM グルコースでは起らないが、6mM で回復する。行動でも 6mM グルコースの CA1 領域注入で water maze が優位に促進する。これらのことから摂食は脳の可塑性に重要な要素である。

(4) ヒスチジンによる肝糖新生抑制作用

井上 啓（金沢大学フロンティアサイエンス機構）

【目的】ヒスチジンは、摂食抑制や血糖上昇抑制を介し、個体エネルギー代謝調節と関与していることが知られている。ヒスチジン摂取後の血糖上昇抑制作用については、中枢神経ヒスタミン作用の関与が知られているが、末梢臓器における糖代謝変化については、十分な解明はなされていない。そこで、本研究では、ヒスチジンによるマウス糖代謝改善作用について、肝糖産生調節を中心とした検討を行った。

【方法・結果】マウス個体へのヒスチジン投与は、糖負荷試験において、軽度に耐糖能を改善した。高インスリン正常血糖クランプ法・肝臓遺伝子発現解析では、肝糖

産生の減少、肝糖新生酵素遺伝子発現の抑制を示した。ヒスチジン投与により、高インスリン正常血糖クランプ下における肝臓 STAT3 活性化は増強したが、肝臓 Akt 活性は変化を示さなかった。初代培養肝細胞へのヒスチジン処理は、肝臓 STAT3 活性化・肝糖新生酵素遺伝子発現に変化を認めなかった。中枢神経ヒスチジン投与によって、肝臓 STAT3 が活性化し、肝糖産生が抑制された。

【結論】ヒスチジン投与は、中枢神経作用を介して、肝糖産生を抑制し、個体糖代謝を改善する可能性を見出した。

(5) 希少糖 D-プシコースの2型糖尿病ラット OLETF の抗糖尿・抗肥満作用

徳田雅明, Hossain Akram, 飯田哲郎, 平田裕子（香川大学医学部細胞情報生理学）

豊田行康（名城大学薬学部病態生化学）

D-プシコースは D-フラクトースの C3 エピマーであり、ノンカロリーで砂糖の 7 割程度の甘味を有する希少糖（自然界に微量にしか存在しない単糖）である。我々は 2 型糖尿病および肥満を呈するラットである OLETF を用いて、D-プシコースの作用を検討した。D-プシコースは、OGTT において濃度依存性に血糖の上昇を抑制した。またインスリン抵抗性を改善するとともに、膵臓におけるβ細胞の変性を抑えた。さらに肝臓においてグルコキナーゼの核から細胞質への移行を促進し、グリコーゲンの合成を高めた。また、D-プシコースの摂取により、OLETF の体重の過剰な増加（肥満）を著しく改善した。

腹腔内および肝臓など内臓内の脂肪の蓄積を抑制した。血液中のコレステロールやトリグリセライドの低下作用が認められた。血中の TNF- α 値が有意に低下していた。またレプチン値も有意な低下を示した。D-プシコースは血管内皮細胞からの MCP-1 の分泌を抑制するとともに、コレステロール逆転送系で重要な肝臓の CLA-1 の高血糖状態での発現低下を防止することから、動脈硬化症に対しても良い効果が期待できる。D-プシコースによる副作用は認められなかった。今後はさらに D-プシコースの抗糖尿・抗肥満のメカニズムの解明を目指していく。

(6) D-プシコース及び希少糖含有シロップの抗肥満作用

豊田行康¹, 田中茉衣¹, 小西美穂¹, 渡邊崇平¹, 川口真奈¹,

山田貴子², 飯田哲郎², 徳田雅明³

(¹名城大・薬, ²松谷化学工業株式会社研究所, ³香川大学・医)

希少糖 D-プシコースをラットへ自由飲水下で長期投

与し、その抗肥満作用について検討を行った。5 週齢の

Wistar 系雄性ラットを無作為に 2 群に分け、3.75% D-ブシコースを飲水投与した。対照群として水を投与した。飼料は AIN-93G を用いた。D-ブシコース投与 8 週後にインスリン負荷試験を施行した。10 週後に内臓脂肪量の測定及び糖負荷試験 (2g/kg D-グルコース) を施行した。D-ブシコース投与群のインスリン感受性は対照群より有意な増強を認めた。精巣上皮、腎周囲脂肪、及び腸管膜脂肪量は対照群より有意に低下した。D-ブシコース投

与群の血中アディポネクチン濃度は対照群より有意に高く、逆に血中レプチン濃度は有意に低かった。糖負荷後の尾静脈血糖値及びインスリン濃度は、いずれも D-ブシコース投与群において対照群より有意に低かった。希少糖含有シロップ投与ラットにおいても、内臓脂肪量の低下を認めた。D-ブシコースの摂取は肥満の予防や治療に有用である可能性が示唆された。

(7) 末梢オキシトシン投与は摂食量、内臓脂肪、体重を減少させる

前島裕子, 岩崎有作, 荒井 健, Udval Sedbazar, Darambazar Gantulga, 矢田俊彦
(自治医科大学医学部生理学講座統合生理学部門)

オキシトシンは、分娩、射乳など、周産期に深く関連する古典的ホルモンであるが近年、その中枢作用として信頼・絆形成、摂食抑制作用が注目されている。本研究は、オキシトシンの末梢投与による摂食抑制、抗肥満作用を検討した。

オキシトシンの末梢投与により摂食・エネルギー代謝中枢である視床下部弓状核 (ARC) と室傍核 (PVN)、延髄孤束核 (NTS) を含むいくつかの神経核に c-FOS タンパク発現の増加が見られた。皮下埋め込み式浸透圧ポンプからの除放による 13 日間のオキシトシン投与は、高脂肪食誘発の肥満 (DIO) マウスにおいて、摂食量・体重・内臓脂肪量の低下、脂肪利用の亢進、脂肪肝・耐糖能障害の

改善をもたらし、抗肥満・抗メタボリックシンドローム作用が観察された。一方、オキシトシンの長期投与は DIO マウスの正常血圧レベルおよび自発運動量には影響を与えなかった。DIO マウスにおいて 17 日間のオキシトシンの皮下連日投与も摂食量・体重を有意に減少させ、さらに投与終了後も 1 週間以上にわたり有意な体重低下が持続し、遺産効果が示された。以上の結果は、末梢投与オキシトシンの摂食・体重減少作用を明らかにし、その作用の少なくとも一部は PVN, ARC, NTS などの摂食・代謝中枢を介している可能性を示唆する。末梢からのオキシトシンの長期投与は肥満・メタボリックシンドロームに対する有効な治療法となる可能性がある。

(8) 摂食調節における GLP-1 とレプチンの相乗効果に関する研究

伊達 紫
(宮崎大学フロンティア科学実験総合センター・生命科学研究部門・生理活性物質機能解析分野)

GLP-1 は、インスリン分泌作用とともに摂食抑制にも機能する消化管ホルモンである。脂肪細胞で産生されるレプチンは、摂食抑制・エネルギー代謝亢進作用を有し、生体の恒常性維持に重要な役割を果たしている。今回、私たちは、単独では摂食抑制に機能しない用量の GLP-1 とレプチンをラット腹腔内に同時投与すると、有意に摂食量が減少することを見出した。両ホルモンの同時投与により、視床下部における STAT3 のリン酸化は影響を

受けなかったが、AMPK のリン酸化は減少した。また、同時投与により、視床下部 POMC mRNA 発現が有意に増加し、弓状核の POMC ニューロンで Fos タンパクの発現を認めた。MC4 受容体アンタゴニストである AGRP および SHU9119 をラット脳室内に前投与すると、GLP-1 およびレプチンの相乗効果は消失したことから、両ホルモンの相乗効果には、視床下部の POMC/MC4 受容体システムの活性化およびそれに伴う AMPK の抑制が重要な分

子機構であると考えられた。さらに、同時投与による摂食抑制、AMPK リン酸化の抑制、POMC ニューロンの活性化は、脳幹から視床下部への神経路を遮断した中脳切断ラットでは、全く見られなくなった。これらの結果は、低用量 GLP-1 とレプチンの同時投与によるシグナルは、

脳幹部の first-order ニューロンで統合された後、視床下部に伝達され、POMC/MC4 受容体システムおよび AMPK の抑制を介して摂食抑制をもたらす可能性を示唆している。

(9) Rapid, reversible activation of AgRP neurons drives feeding behavior in mice

幸田修一（アスビオファーマ株式会社）

AgRP ニューロンは摂食促進・体重増加調節において重要な役割を果たしていると考えられているが、これまでの報告はこれを明確に証明しているとは言い難い。Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drugs (DREADD) テクノロジーはマウスの神経活性を細胞特異的に調節する事ができる研究ツールである。DREADD には Gq カップリング GPCR と Gi カップリング GPCR が存在する。それをアデノ随伴ウィルスを用いて Cre-recombinase 誘導性に目的の神経細胞特異的に発現させ、この GPCR 特異的なリガンドである Clozapine-N-Oxide を作用させることで、神経細胞を Gq-pathway を介して活性化したり、Gi-pathway を介して抑制したりする

ことができる。我々は、目的の神経細胞を簡便かつ自由に、薬物依存的に操作できる DREADD テクノロジーを使用し、急性に AgRP ニューロンを特異的に活性化すると急速かつ劇的に摂食を促進し、エネルギー消費を低下させ、脂肪の蓄積を亢進する事を明らかにした。対照的に、暗期直前に、AgRP ニューロンの活性を抑制すると摂食が著明に低下した。以上より、AgRP ニューロンの活性化は摂食を誘発するのに必要かつ十分であることがわかった。また、上記手法と mouse genetics を組み合わせて AgRP ニューロンの摂食調節シグナルを伝達する神経伝達物質や upstream, downstream の神経核を同定する試みについても議論させて頂きたい。

(10) POMC・AgRP ニューロンでの Sirt1 過剰発現マウスの摂食・エネルギー消費調節機構

佐々木努，北村忠弘（群馬大学生体調節研究所 代謝シグナル研究展開センター）

【目的】NAD⁺依存性タンパク脱アセチル化酵素である Sirt1 の POMC・Agrp ニューロンを介した全身のエネルギーバランス制御機序を検討した。

【方法】Sirt1 コンディショナルノックイン (KI) マウスを Pomc-Cre または Agrp-Cre マウスと交配し、摂食量・体重変化・呼吸代謝・遺伝子発現を検討した。

【結果】雄の Pomc-Sirt1-KI マウスは普通食飼育下で太らず、精巣周囲白色脂肪は軽く、脂肪細胞が小型化していた。摂食量は変わらず、基礎代謝亢進と血漿甲状腺ホルモン (T4) の有意な上昇を認めた。褐色脂肪細胞では、

PGC-1b, Tfam, Ucp1, Ucp2 の発現亢進を認めた。それに対し、雄の Agrp-Sirt1-KI マウスでは、基礎代謝と自発運動に変化はなく、摂食量の抑制による体重抑制を認めた。また、酵素不活性型の Sirt1 (H355Y) を発現するメスの Agrp-Sirt1 (H355Y)-KI マウスは、摂食量の増加を認めた。

【結論】Sirt1 は、POMC ニューロンでは視床下部一下垂体-甲状腺系と交感神経系を介してエネルギー消費を調節し、AgRP ニューロンでは摂食を調節し、エネルギーバランスを負に制御する。

(11) インスリンによるエネルギー代謝のスイッチング機構

三木隆司 (千葉大学大学院医学研究院代謝生理学)

インスリンは糖および脂質の代謝制御に重要な役割を果たしている。われわれは、インスリン抵抗性を示すインスリン受容体変異マウスに高脂肪食を負荷したところ、肥満の発症は抑制されていたにもかかわらず、明らかな糖尿病を発症することを見いだした。本マウスにおける糖尿病発症機序を解析したところ、糖および脂質の異化の制御機構が障害されており、高脂肪食負荷時には糖質を処理できずに糖尿病が発症することが明らかになった。高脂肪食は脳の視床下部で感知されることが報

告されている。したがって、本マウスでは高脂肪食に応じて代謝状態を調節し、血糖値を維持できない可能性が示唆される。欧米に比較し、日本人をはじめとするアジア人では高度な肥満は多くはないものの、脂肪摂取量の増加と共に糖尿病患者は急増している。本マウスは、肥満抵抗性だが脂肪食により発症が誘発されるアジア型の糖尿病の動物モデルと考えられ、現在詳細な代謝病態を解析中である。

(12) 白色脂肪組織 TNF- α の mRNA 発現に及ぼす AgRP 及び交感神経の調節作用

唐 麗君, 箕越靖彦 (生理学研究所 発達生理学系生殖・内分泌系発達機構研究部門, 総合研究大学院大学 生命科学研究科生理科学専攻)

肥満動物における TNF- α の過剰産生は、インシュリン抵抗性と深く関わることで知られている。これまで、白色脂肪組織における TNF- α の過剰産生は、脂肪組織の肥大とそれによって引き起こされるマクロファージの浸潤によると考えられてきた。しかしながら、TNF- α の過剰産生に、脳がどのような調節作用を営むかは不明である。本研究において、我々は、摂食促進ペプチドである AgRP を脳室内に投与すると、副睾丸脂肪組織においてマクロファージの浸潤を促進することなく、TNF- α mRNA

発現が亢進することを見出した。交感神経は、脂肪組織に存在するマクロファージの $\beta 2$ 受容体-PKA 経路を介して TNF- α の発現を抑制しており、AgRP は交感神経活動を抑制することによって TNF- α の発現を高める。一方、高脂肪食誘導性肥満マウスの脂肪組織では、ノルエピネフリンによる抑制作用は認められなかった。以上の実験結果から、脂肪組織における TNF- α の過剰産生は、肥満の結果だけでなく、脳-交感神経- $\beta 2$ 受容体経路の異常によって引き起こされることが示唆される。

(13) Nesfatin-1 neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus are regulated by meal-evoked factors

Darambazar Gantulga, 前島裕子, 中田正範, 矢田俊彦 (自治医科大学医学部生理学講座統合生理学部門)

Nesfatin-1, an anorectic peptide, is expressed in the neurons in specific brain areas including the hypothalamic paraventricular nucleus (PVN), which is the integrative center for feeding regulation. Nesfatin-1's downstream anorectic neural pathway has been well investigated. In contrast, the regulation of nesfatin-1 neurons in the PVN has been little

studied. Since starvation decreases and refeeding stimulates nesfatin-1 expression specifically in the PVN, we examined direct effects of meal-evoked metabolic factors, glucose, insulin and cholecystokinin (CCK), on PVN nesfatin-1 neurons. Glucose (10 mM), insulin (10^{-13} M) and CCK (10^{-13} M) induced increases in cytosolic calcium concentration

($[Ca^{2+}]_i$) in 16.6%, 12.9% and 20.5% of single PVN neurons tested, respectively. Moreover, 58% of glucose-responsive, 63% of insulin-responsive, and 50% of CCK-responsive neurons were immunocytochemically identified as nesfatin-1 neurons. Intracerebroventricular injection of CCK (30 pmol) significantly increased nesfatin-1 mRNA expression in the PVN and inhibited feeding. These results demonstrate that

glucose, insulin and CCK directly interact with and increase $[Ca^{2+}]_i$ in PVN nesfatin-1 neurons, and that the nesfatin-1 neuron is the major target for all of them in the PVN. Postprandial activation of the PVN nesfatin-1 neurons could be mediated by these meal-evoked nutritional/endocrine/neural factors, which potentially contributes to generation of satiety.

20. 電子顕微鏡機能イメージングの医学・生物学への応用 —3D イメージングの最先端—

2011年11月30日—12月1日

代表・世話人：臼田信光（藤田保健衛生大学）

所内対応者：村田和義（生理学研究所）

- (1) 二光子蛍光寿命イメージング法による神経細胞内シグナル分子活性化観察
村越秀治（生理学研究所 脳機能計測・支援センター）
- (2) 光シート型顕微鏡によるマウス全胚のライブイメージング
野中茂紀（基礎生物学研究所 時空間制御研究室）
- (3) CLSM による細胞内構造要素の四次元解析
村山 尚（順天堂大学 医学部薬理学講座）
- (4) Correlated CLSM-EM による神経科学
福田孝一（熊本大学大学院 生命科学研究部 形態構築学）
- (5) 共焦点顕微鏡を利用した脳神経回路の三次元再構成解析
伊藤 啓（東京大学 分子細胞生物学研究所）
- (6) FIB-SEM による組織・細胞メソスケール構造解析
太田啓介（久留米大学 医学部 解剖学講座 顕微解剖・生体形成部門）
- (7) マウス脳連続切片における高精細 SEM 画像の自動取得と巨大モンタージュ作成の試み
小倉一道（日本電子(株) SM 事業ユニット）
- (8) X 線顕微鏡によるマウス大脳皮質のナノ分解能 3 次元構造観察
水谷治央（東京大学 新領域創成科学研究科）
- (9) 500Kv Linac TEM の開発と現状
永谷幸則（生理学研究所 特別研究室）
- (10) Cryo STEM トモグラフィによる細胞構造の解析
青山一弘（日本 FEI (株) アプリケーションラボラトリー）
- (11) 超高压電顕の神経科学への応用
清蔭恵美（川崎医科大学 解剖学）
- (12) アクチン細胞骨格の空間構造
臼倉治郎（名古屋大学 エコトピア科学研究所）
- (13) 水和した細胞のクライオ電子線トモグラフィ
岩崎憲治（大阪大学 蛋白質研究所）
- (14) 低温電子顕微鏡による多様な試料の構造解析
光岡 薫（産業技術総合研究所 バイオメディシナル情報研究センター）
- (15) 電子顕微鏡画像自動収集
加藤貴之（大阪大学 生命機能研究科）
- (16) 電子トモグラフィの省力化・自動化の現状—ソフトウェアでできること—
古河光弘（(株) システムフロンティア）
- (17) ミラー電顕による量子定量解析をめざして
岡本 洋（秋田県立大学 システム科学技術学部 電子情報システム学科）

(18) Mathematical morphology に基づく画像情報解析

木森義隆 (新分野創成センター イメージングサイエンス研究分野)

(19) 電顕画像解析ソフト Eos の開発

安永卓生 (九州工業大学大学院 情報工学研究院 生命情報工学系)

(20) 医療用 CT における画像再構成法の進歩—部分領域再構成問題—

工藤博幸 (筑波大学 システム情報系)

(21) 疎な対象物に適した CT 像再構成法と位相差電顕への適用方針

寺西 大 (広島工業大学 情報学部 知的情報システム学科)

(22) 情報欠落に影響されない新たな非線形離散濃度諧調再構成法

馬場則男 (工学院大学 情報学部 コンピューター科学科)

(23) 電顕 CT を想定した大規模悪条件問題に対する数値解析的なアプローチについて

細田陽介 (福井大学大学院 工学研究科)

(24) 生物電子顕微鏡のフロンティア—分子の生物世界の真の姿

永山國昭 (生理学研究所 特別研究室)

【参加者名】

永山國昭 (生理学研究所), 臼田信光 (藤田保健衛生大学), 村越秀治 (生理学研究所), 野中茂紀 (基礎生物学研究所), 村山 尚 (順天堂大学), 福田孝一 (熊本大学), 伊藤 啓 (東京大学), 太田啓介 (久留米大学), 小倉一道 (日本電子 (株)), 水谷治央 (東京大学), 永谷幸則 (生理学研究所), 青山一弘 (日本 FEI (株)), 清蔭恵美 (川崎医科大学), 臼倉治郎 (名古屋大学), 岩崎憲治 (大阪大学), 光岡 薫 (産業技術総合研究所), 加藤貴之 (大阪大学), 古河光弘 ((株) システムフロンティア), 岡本 洋 (秋田県立大学), 木森義隆 (新分野創成センター), 安永卓生 (九州工業大学), 工藤博幸 (筑波大学), 寺西 大 (広島工業大学), 馬場則男 (工学院大学), 細田陽介 (福井大学), 宮崎直幸 (大阪大学), 我妻竜三 (九州工業大学), 宮田知子 (大阪大学), 阮 娟芳 (大阪大学), 川本晃大 (大阪大学大学院), 峰雪芳宣 (兵庫県立大学), 玉置大介 (兵庫県立大学), 田村豪主 (東京大学大学院), 保國恵一 (総合研究大学院大学), Maniette Yves (TVIPS GmBH), 早川昌志 (神戸大学大学院), 武田隆顕 (国立天文台), 金子康子 (埼玉大学), 関由起子 (埼玉大学), 米谷祐太 (埼玉大学), 高内幸一 ((株) 日本ローパー), 木下 専 (名古屋大学), 栗田浩之 (名古屋大学), 荒牧慎二 (九州工業大学), 重松直樹 (熊本大学), 馬場美鈴 (工学院大学), 美崎佳寿代 (理化学研究所), 奈良高明 (電気通信大学), 速水 謙 (国立情報学研究所), 岩間尚文 (大同大学),

藤山文乃 (京都大学), 木村博之 (オリンパス (株)), 重中義信 (広島大学), 安藤 繁 (東京大学), 長澤 凌 (神戸大学), 佐々木哲也 (基礎生物学研究所), 大井 泉 (日本電子 (株)), 清水美代子 ((株) システムフロンティア), 芹澤 実 (科学振興機構), Park Sejin (KOREA UNIVERSITY), 越智拓海 (岡山大学), 鈴木良典 (川崎医科大学), 樋田一徳 (川崎医科大学), 鈴木克之 (日本電子 (株)), 須賀三雄 (日本電子 (株)), 神谷由紀子 (分子科学研究所), 大田繁正 (日本電子 (株)), 西山嘉男 (分子科学研究所), 清水美里 (神戸大学大学院), 五十嵐健輔 (筑波大学大学院), 川本克巳 ((株) システムフロンティア), 石村貴暢 ((株) マックスネット), 相馬崇裕 (理化学研究所), 川崎正博 (JEOL USA Inc), 山口正規 (千葉大学), 花市敬正 (花市電子顕微鏡技術研究所), 森下尚活 ((株) 国際バイオインフォマティックス研究所), 田渕克彦 (生理学研究所), 北舘 祐 (基礎生物学研究所), 松崎政紀 (基礎生物学研究所), 稲熊あすみ (分子科学研究所), 畠中由美子 (生理学研究所), 桧山武史 (基礎生物学研究所), 真野善有 (名古屋大学), 窪田芳之 (生理学研究所), 重本隆一 (生理学研究所), 前橋 寛 (生理学研究所), 東島眞一 (生理学研究所), 谷口美恵子 (名古屋大学), 香山容子 (テラベース (株)), 甲斐憲子 (テラベース (株)), 斎藤善平 (テラベース (株)), Seok Won Jeong (KyngHee 大学), 村田和義 (生理学研究所)

【概要】

細胞・組織内の物質を可視化する研究手法の進展は目覚ましい。GFP を始めとする蛍光蛋白による細胞内の蛋白質に対する遺伝子レベルでの標識法や、小分子化合物により細胞内の特定の物質を化学的に標識する bio-orthogonal labeling の開発が進んでいる。標識物質としての Qdot は電顕と光顕の双方に用いることが可能であるが他の標識法はいずれか一方にのみ用いることが可能である。標識法の進歩とともに進みつつある、1 台の

顕微鏡で電子・光子の同時観察ができるハイブリッド顕微鏡の開発は、細胞内の標識された物質の局在を nm から mm レベルの広範囲で示すことができるようになった。本研究会においては、これら 2 つの技術の融合により達成できる近未来の細胞形態機能観察法、「電顕と光顕の双方に用いることができる標識法」と「電子・光子の同時観察ができるハイブリッド顕微鏡」による high throughput な研究法について議論した。

(1) 二光子蛍光寿命イメージング法による神経細胞内シグナル分子活性化観察

村越秀治 (自然科学研究機構 生理学研究所)

シナプスの後端を形成するスパインの形状や大きさの変化は、シナプス結合の増強や収縮にともなって起こる。スパインの形態は主にアクチンの動態により決定されている。アクチンの重合と脱重合を制御する中心的な分子として Cdc42 や RhoA などの Rho GTPase がよく知られているが、スパインへの入力刺激時にこれらの分子がどのように活性化しスパインの形態変化に関与しているのかは殆ど分かっていない。本研究では、2 光子蛍光寿命イメージング顕微鏡法を用いて、単一のスパインをケイジドグルタミン酸で刺激したときの Cdc42 と RhoA の活性化の時空間的特性を調べた。Cdc42 と RhoA は刺激開始後 20 秒程度で、スパインサイズの増大が始まるよりも前にスパイン内で活性化し始め、活性は 30 秒以上持続し

た。また、Cdc42 の活性化は刺激されたスパイン内に局在化するが、RhoA の活性化はスパインから近隣のスパインへと広がることが分かった。PAGFP を用いて Rho GTPase のスパイン内での滞在時間を調べたところ、どちらも数秒程度の滞在時間であった。このことから、Cdc42 と RhoA の活性化の空間分布の違いは拡散によるものではなく、Cdc42 の不活化が RhoA よりも早く起こることによるためであることが示唆された。次に、単一シナプスに長期増強を誘起したときの Rho GTPase の機能を薬剤処理や shRNA を用いて調べたところ、RhoA の活性化はスパイン体積増大の引き金として、また、Cdc42 は体積増大を維持するために必要であることが分かった。

(2) 光シート型顕微鏡によるマウス全胚のライブイメージング

野中茂紀 (自然科学研究機構 基礎生物学研究所)

現代の発生生物学における典型的な顕微鏡観察は、蛍光タンパク質を発現する胚または組織といった厚みのある生きた試料について、長時間にわたる高頻度のタイムラプス撮影を行う。このような解析に使われる顕微鏡は深部到達能、低光毒性、高速性が高い次元でバランスしている必要がある。観察用対物レンズの焦点面のみに試料側面から励起光を照射する光シート型顕微鏡法はこの点において優れており、その一種であるデジタルスキャ

ン光シート顕微鏡 (DSLM) は既にゼブラフィッシュ胚のイメージングに成果をあげている。一方で、マウス胚発生への応用は、主に試料のマウント方法の制限によって阻まれてきた。我々はこの問題を解決することで、原腸陥入期のマウス胚をほぼ 1 日間にわたって培養しつつ 1 細胞レベルで可視化することに成功した。この観察から得られる 4D 画像はマウス胚のすべての細胞の移動と分裂に関する時空間情報を含んでおり、いまだ解析途上で

はあるが、原条で生成され移動していく中胚葉細胞の移動パターン、原始外胚葉（エピプラスト）における細胞周期依存的な核のエレベーター運動 (interkinetic nuclear

movement, INM) など、いくつかの興味深い現象を含んでいる。今回はこれらの解析結果と、さらに幅広い試料に応用できる光シート型顕微鏡の試みを紹介したい。

(3) CLSM による細胞内構造要素の四次元解析

村山 尚¹, 呉林なごみ¹, 武田隆顕², 木森義隆³

(¹順天堂大・医・薬理, ²国立天文台・天文シミュレーションプロジェクト,

³自然科学研究機構・新分野創成センター)

生きた細胞では、タンパク質をはじめとした細胞内構造要素は常にダイナミックに動いている。運動や分裂といった細胞自身に大きな形態変化が起こる際には細胞骨格をはじめとした構造要素の大規模な再編成が起こる。これらは神経突起の伸長やがんの浸潤といった多くの生命現象を理解する上で極めて重要である。最近の共焦点レーザースキャン顕微鏡 (CLSM) の進歩により、Z スタック画像を取得しながら高速タイムラプス撮影を行う「四次元 (4D) イメージング」が強力なツールとなってきた。得られた膨大な 4D データから生物学的に意味

のある情報を得るためには幅広い画像処理技術が必要となるが、既存技術では必ずしも十分とは言えない。われわれは、培養細胞の細胞内構造要素を蛍光ラベルしてニポウディスク型高速 CLSM により 4D イメージングを行い、数理形態学 (Mathematical Morphology) を基盤とした対象構造要素の抽出、三次元再構成、および抽出構造要素のトラッキング等の画像処理技術を駆使した 4D 解析を行っている。本研究会では、培養細胞における細胞骨格および細胞内小器官の 4D 解析の成果を紹介したい。

(4) Correlated CLSM-EM による神経科学

福田孝一 (熊本大学大学院生命科学研究部形態構築学分野)

シナプスの発見を初め、中枢神経系の構造を解明するために電子顕微鏡は大きな役割を果たしてきた。しかし脳の重要な特質として、組織空間内に三次元的に広がるさまざまなスケールの構造があり、それらが重層的に組み合わされたシステムを形成している。大事なことは、自分が見ているものをその中に適切に位置づけて解析することである。すなわち微細形態学的にしか検出できない構造であっても、それをいかにして微細形態学を越える perspective の中に正しくとらえるかという問題意識をもって、これまで私は研究を進めてきた。ニューロン間に形成されるギャップ結合は、電子顕微鏡がその同定にもっとも威力を発揮してきた構造の一つである。先駆的

な電子顕微鏡により、海馬や線条体の parvalbumin (PV) 含有 GABA ニューロンが、お互いの樹状突起間にギャップ結合を形成することが示されてきた。私は大脳皮質や線条体の PV ニューロンがギャップ結合を介して、組織空間の中でどのような三次元的連結を形成し、それが機能と関連づけられている既知の構造といかなる空間的關係を有するかという課題に取り組んできた。この目的を達成するために、共焦点レーザ顕微鏡の高い分解能と光学顕微鏡としての広い視野を有効に組み合わせ、さらに同一構造物の電子顕微鏡観察により方法論の妥当性を検証し、脳組織空間に広がる樹状突起の密な網状構造を初めて可視化した。

(5) 共焦点顕微鏡を利用した脳神経回路の三次元再構成解析

伊藤 啓 (東京大学・分子細胞生物学研究所)

脳内の複雑な三次元空間を縦横に走る神経回路の構造を解析するには、脳の連続断層撮影像を重ね合わせた三次元再構成が欠かせない。厚さ 200 μm 程度までの標本であれば、蛍光標識した標本のレーザー共焦点顕微鏡撮影像がもっとも効率的かつ高精度に神経回路を可視化できる。我々は、ショウジョウバエの脳を用いてさまざまな神経細胞で特異的に蛍光タンパクを発現させ、神経投射の総体 (プロジェクトーム) を解析している。細胞質全体に分布する蛍光タンパクとシナプス小胞に結合するタグ付き蛍光タンパクを共発現させることで、各神経の投射の全貌と出力シナプスの分布を同時に可視化している。脳の手前から奥まですべてのシグナルを同レベルで撮影するには、レーザー強度や検出器感度を手動で細かく微調整する。暗いシグナルと明るいシグナルを

同時に取得するため、露出の異なる画像を合成する HDR (High Dynamic Range) 法を併用する。異なる標本から取得した画像は大きさや傾きが微妙に異なるため、神経組織全体をラベルした対染色像を用いて正規化 (warping) を行う。連続切片像の三次元再構成では、アルゴリズムの違いが画質を大きく左右する。当研究室 OB の大綱らが開発したソフト Fluorender は、GPU による計算を用いてリアルタイムに高精度のレンダリングを行う。さらに、一つの標本にはさまざまな神経がラベルされるため、解析対象以外の神経のシグナルを消去する必要があるが、Fluorender はこれを効率よく行う機能を備えている。これら高精度な三次元構造解析に不可欠な技術を解説する。

(6) FIB-SEM による組織・細胞メゾスケール構造解析

太田啓介 (久留米大学医学部 解剖学講座 顕微解剖・生体形成部門)

細胞内のオルガネラの空間的配置やニューロンなど細胞間の空間的關係などを知るためには 3 次元的な解析が必要である。細胞、組織の個々の構造は様々な顕微鏡により詳しく調べられているものの、大きさ数 μm ～数 100 μm の領域の立体空間を可視化するためには、これまでは透過型電子顕微鏡 (TEM) による連続超薄切片法など極めて困難な研究が必要であった。このようなメゾスケール構造を解析する手法として近年 serial block face scanning electron microscope (SBF-SEM) 法や focused ion beam-scanning electron microscope (FIB-SEM) を用いた立体再構築法が注目されている。これらの方法は、組織を数 nm レベルの分解能で 0.1mm の空間を完全に再構築す

ることが可能であり、細胞から組織へのメゾスケールを定量的に解析することができる。どちらの方法も、試料の表面を連続的に数 nm ずつ切削し、反射電子による組成コントラストを得る作業を自動的に繰り返すことで組織構造の再構築を行う。現在我々は専用の樹脂を開発し FIB-SEM を用いた解析を行っており、オルガネラの構造解析 (厚さ分解能 10 nm) や神経系および間葉系組織の構造解析を行っている。これらのデータは TEM 連続切片法に比べ厚さ分解能が高く、且つ定量性を持つ点で優れている。今回、これらの例を示しつつ、この手法の利点を解説する。

(7) マウス脳連続切片における高精細 SEM 画像の自動取得と巨大モンタージュ作成の試み

小倉一道, 山田 貢 (日本電子)

シナプスのネットワーク構造を3次元解析するためには、連続切片を作製して各切片の画像を収集し、得られた画像を3次元再構築しなければならない。しかし各切片の画像を収集する際に、細胞内の構造が十分に観察できる倍率（最低でも2万倍程度）が求められた場合、各切片において膨大な枚数の画像をつなぎ合わせてモンタージュを作る必要がある。我々は、Harvard 大学の Lichtman 教授とともに、50nm の厚みのマウス脳の連続切片に対して、各切片の同一視野で任意の枚数のつなぎ写真を自動取得し、それぞれの切片のモンタージュを作

成する手法を確立した。マウス脳は化学固定～オスミウム染色～包埋の後、Harvard 大が開発した ATLUM (Automatic Tape Collecting Laithe Ultramicrotome) 装置により連続切片となり、導電性テープの上に自動的に並べられた。このテープをシリコンウエハーに貼り付けたものを観察対象とした。各切片の画像の取得にはショットキー電子銃 SEM (JSM-7001F) の反射電子像を用いた。さらに我々はモンタージュのでき具合（隣り合う画像のつなぎ精度や歪など）の評価方法も確立した。

(8) X 線顕微鏡によるマウス大脳皮質のナノ分解能3次元構造観察

水谷治央 (東京大学・新領域創成科学研究科)

X 線顕微鏡は、測定対象物を広い範囲で、かつ高い空間分解能で3次元的に観察することが可能な装置である。X 線光源として輝度の高い放射光を利用することで、撮像時間の短い高感度な X 線顕微鏡を構築することができる。今回、脳内に含まれる神経ネットワークの解剖学的構造を解き明かす手段として、結像型 X 線顕微鏡を用いたトモグラフィ法を適用し、マウス大脳皮質の3次元高分解能観察を行った。マウスの神経組織は、電子顕微鏡で観察する時とほぼ同様な方法により染色することで、微細構造の画像化を行うことができる。軟 X 線領域では、特に高分解能・高感度な画像取得が可能であり、得られた X 線顕微鏡の空間分解能は 25nm に達した。こ

のとき、大脳皮質内の神経線維の走行が確認できたとともに、シナプス小胞やミトコンドリアを含む細胞小器官を描出することができた。また、硬 X 線領域では、比較的厚い試料を観察することが可能となるが、空間分解能とコントラストがやや低下するため、感度のより高い位相差 X 線顕微鏡を構築して標本の CT 解析を行った。その結果、1 辺 22nm の等方ボクセルで脳組織のイメージデータを取得することに成功し、神経線維やシナプス構造などの非破壊的な3次元画像化が実現した。よって、X 線顕微鏡を使用したトモグラフィ法は、脳神経回路網の配線図を解読するうえで、今後有用な手法の一つになると期待される。

(9) 500kV LinacTEM の開発と現状

永谷幸則 (生理研)

透過電子顕微鏡 (TEM) において、厚い切片試料の観察には 500kV 以上の高い加速電子ビームが必要となる。近年はトモグラフィ法による3次元立体構造の観測など、厚い切片試料の観察への要求が高まってきているが、従

来型の高加速 TEM は加圧した絶縁ガスを詰めた大型で重量のある高圧タンクを高精度に設置する必要などの為、一般に10億円を越える極めて高価かつ大型の装置になってしまう難点があった。生理研ではテラベース株式

会社など多くの企業の協力を得て、線形加速器の技術を電子顕微鏡に導入することにより、巨大な高压タンクを不要とする方式の 500kV 電子顕微鏡を開発し、最終的な調整を行なっている。これは、市販の 200kVTEM の試料部と対物レンズの前後に線形加速器と線形減速器挿入す

る事により、試料部と対物レンズのみを高加速化するのであり、大幅な低コスト化と小型化を実現するのもである。本講演では、この 500kV LinacTEM の技術と開発の現状について報告するとともに、超電導加速技術を用いた 5MV TEM の将来計画についても紹介する。

(10) Cryo STEM トモグラフィによる細胞構造の解析

青山一弘¹，小川瑠璃子²，岩根敦子²

(¹ 日本エフイー・アイ(株) アプリケーションラボラトリー，² 大阪大学大学院生命機能研究科)

生物の分野においてSTEMは最近までなじみの薄い結像法であったが、トモグラフィと組み合わせた場合、数々のメリットがあることはすでに広く受け入れられていると思う。そこで、急速凍結による無染色の細胞試料を用いた細胞レベルのトモグラフィを試みた。試料となる細胞は電子顕微鏡のグリッド上に直接培養され、浸漬法による急速凍結のあとクライオトランスファーにより電子顕微鏡内に直ちに持ち込まれる。観察には大阪大学の Titan Krios (FEI) を用いた。クライオにおいても通常の TEM トモグラフィと比較して以下のような優位性がある

と考えられる。1) 対物レンズの色収差に起因する像のボケがないため、試料の厚さに対して強い。2) 傾斜時にも全視野にフォーカスが合う。3) 対物レンズの球面収差の影響を受けにくく、コントラストがリニアである。4) プローブの収束角を小さくすれば、被写界深度を深くできる。また、最近注目されているシリアルブロックフェース SEM 法においては Cryo 試料では像のコントラストを得ることが非常に困難であることから、この手法に対しても優位性があると考えられる。

(11) 超高压電顕の神経科学への応用

清蔭恵美，樋田一徳（川崎医科大学解剖学）

嗅覚の一次中枢の嗅球について、マウス及びラット嗅球の糸球体層ニューロンとグリアの三次元的な微細構造について、超高压電子顕微鏡（電顕）、レーザー顕微鏡、及び電顕連続切片再構築法を組み合わせた解析を進めてきた。

糸球体層の glutamic acid decarboxylase 65KDa (GAD65) と tyrosine hydroxylase (TH) ニューロンのうち、1～2 個の糸球体内で突起の伸長が留まっている GAD65 ニューロンは 0.1-0.4 mm 径の不規則な突起が複雑に折れ曲がり、2 次、3 次の分枝が絡み合いながら糸球体内に蜂の巣状構造を呈していた。一方、多数の糸球体に突起を伸長していた TH ニューロンは 0.4-0.8 mm 径のやや太い突起が大

きく蛇行し、部分的に数珠状に糸球体内に、一部は傍糸球体領域へ伸長していた。これらの突起は 2 次分枝に留まり、3 次分枝はまれであった。

顆粒細胞層のアストロサイトは特異的な形態を示す。ゴルジ超高压電顕立体トモグラフィ像では、細胞体から派生する一次突起と更に分枝する二次突起及び薄いシート状の構造が観察され、これは隣接の顆粒細胞の細胞体を断続的に覆っている。顆粒細胞は数十個単位で島状に集塊しており、この島をグリアが不完全に取り囲んでいた。

ニューロンの微細構造解析には超高压電子顕微鏡は非常に有用であり、今後も詳細な解析を行っていきたい。

(12) アクチン細胞骨格の空間構造

臼倉治郎 (名古屋大学エコトピア科学研究所)

南方志帆 (名古屋大学大学院工学研究科)

アクチン細胞骨格はこれまで蛍光顕微鏡による観察を基盤に行われてきた。生きている状態の変化を捕捉することはできるが、ストレス線維のような蛍光強度の強い線維束の周囲では1本1本のアクチン線維を観察することはできない。また対物レンズの近傍以外では蛍光の減少と広がりにより十分な分解能が得られないのが普通である。そこで、我々は幾つかの unroofing 技術と電子顕微鏡観察技術とを組み合わせ、膜細胞骨格から細胞質細胞骨格に至までの空間構造観察に成功した。膜細胞骨格については膜面に対する空間的位置関係から3種類に分類でき、それらに対するアクチン結合タンパク質

(制御タンパク質)についても同様な空間特異性が存在することが明らかとなった。また、細胞質細胞骨格は顕微鏡観察とは異なり極めて豊富で有り、各所で集合離散を行い細胞質を多数のドメインに分けていた。特に我々は核膜から派生する多くのアクチン線維を捉えることができた。その一部はストレス線維も形成していた。これらのアクチン線維は核膜を覆う中間径線維と複雑に絡み合っていた。M期に入る直前に核膜は消失するが、その時間は1分間と極めて短いため、アクチン線維が関与していると考えられる。一方、分裂後核膜が回復するまでの時間は多少長く、10分程度を必要とした。

(13) 水和した細胞のクライオ電子線トモグラフィ

岩崎憲治, 宮崎直幸 (大阪大学・蛋白質研究所, CREST)

単離精製した蛋白質の構造解析が様々な手法により進む一方で、細胞というコンテキストの中で働いている分子の姿をとらえることが、細胞生物学での次の命題となっている。点としてではなく形を捉え、ターゲット分子だけでなく周辺構造も同時に観察できる電子顕微鏡技術は、他のイメージング法と相補的な役割を果たしながら、ここにおいて大きな貢献をすると期待できる。我々は、水溶液というよりも、むしろゲルに近い細胞内環境あるいは、細胞外マトリクスにおいて、特に数十ナノの大きさをした超分子構造に焦点を当て、電子顕微鏡イ

メージング技術を駆使してその形を捉えることに努力を注いでいる。CEMOVIS (Cryo-Electron Microscopy of Vitreous Sections) と呼ばれる非晶質凍結切片法や、クライオ電子線トモグラフィ法 (Cryo-ET)、蛍光-電子相関顕微鏡法 (CLEM) を駆使することで、分子分解能イメージングを試みている。CEMOVIS法の適用が効果的に働いた例としてミドリムシの光センサー器官であるPFB (Paraflagellar body) の解析を、Cryo-ETの例としてウイルスのライフサイクル解明への適用を紹介する。

(14) 低温電子顕微鏡による多様な試料の構造解析

光岡 薫 (産業技術総合研究所)

二次元結晶を用いた電子線結晶構造解析は、膜タンパク質の高分解能の構造を決定できる方法の一つであり、タンパク質が脂質二重層中にあることから、天然の状態に近い構造が得られることが期待できる。講演では、プ

ロトンポンプである V-ATPase とグリセロールチャネルである AQP3 という異なる膜タンパク質を例としてとりあげ、その投影像からどのような構造情報が得られるか、研究結果を紹介する。V-ATPase に関しては、その膜貫通

部分について二次元結晶を得て、その投影像から、12サブユニットから構成されていることを明らかにした。その結果を機能解析と組み合わせることで、種で異なるサブユニット数の理由について検討した。また、AQP3についても電子回折が得られる結晶を得ることができた。

その結果から得られた投影像からの情報を紹介するとともに、AQP3の熱安定性に関する測定結果を示し、その二次元結晶化に関する知見について述べる。以上の結果から、多様な試料に対する低温電子顕微鏡法の応用について議論する

(15) 電子顕微鏡画像自動収集

加藤貴之, 宮田知子, Jaunfang Ruan, 難波啓一 (大阪大学大学院・生命機能研究科)

低温電子顕微鏡を用いた構造解析手法は構造生物学において必須の技術になっている。中でも単粒子像解析法は、近年飛躍的に分解能が改善し、ウィルスなど対称性の高い分子ではX線結晶構造解析と遜色のない分解能での解析がなされている。しかし、対称性の低い分子ではヘリックスが解像できる分解能 7Å以上の解析には数万~数十万もの粒子像が必要となるため、多くの領域を自動で撮影する画像収集システムの利用が重要である。一方、電子線トモグラフィー法は細胞中での分子の構造

解析ができる唯一の方法である。そのデータ取得は視野範囲を変えることなく $-70^{\circ}\sim 70^{\circ}$ 程度の範囲で傾斜して撮影するため、単粒子像解析とは違った自動データ取得が要求される。これまで様々な単粒子像解析法、電子線トモグラフィー法のための自動画像取得ソフトが開発されてきた。本研究会では Leginon (単粒子像解析) と Xplor3D (電子線トモグラフィー) について実例を交えて紹介する。

(16) 電子線トモグラフィーの省力化・自動化の現状—ソフトウェアでできること—

古河弘光 (株式会社システムインフロンティア・furukawa@ieee.org)

TEMの連続傾斜シリーズから三次元再構成を行えるソフトウェアパッケージとしてとして Boulder Laboratory (University of Colorado) から IMOD が発表されて 15 年。今日、電子線トモグラフィーは分野を問わず広く知られるようになり、多くのトモグラフィー用ソフトウェアが繚乱の様を呈している。特に最近の 3-4 年間を見ると、ソフトウェア自体の改良に加え、顕微鏡本体においても機構の最適化やシステムとの親和性が改善され、“そこそこに条件の良い”試料であれば全自動で撮影できることが常識となっている。また、再構成や可視化といった後工程に関しても、連続傾斜像の読み込みから三次元の観察まで簡単なマウス操作だけで可能なまでに進化した。原理的には、各種計算にパラメータは必要であるが、それらはソフトウェアによって自動的に最

適化されるので、操作者はその存在すら意識する必要は無い。

しかし TEM の観察対象は様々であり、物理的な条件が決してトモグラフィー向きとは言えないケースも多い。こうした観察対象の場合、そのソフトウェアがどこまで操作者の意図を反映できるかが、撮影の成否にかかわってくる。また、収録した傾斜シリーズの特徴によっては、計算のパラメータを手動で調整する必要も生じてくる。

本研究会においては、普段はあまり論じられる事の無い“自動化の難しい”ケースについて、弊社製品である TEMography (www.temography.com) を例にその使いこなしのポイントについて解説させていただこうと思う。

(17) ミラー電顕による量子定量解析をめざして

岡本 洋 (秋田県立大学)

イメージ解析というと通常はすでに実験的に得られたデータの解析を指すが、ここでは実験プロセスそのものに積極的に介入するようなイメージ解析の可能性を議論する。クライオ電顕ではサンプルの損傷によって分解能が決まっているため、最小の電子数で最大の情報を得ることが至上課題となる。そこでは一見無関係な量子情報分野で注目されている効率よい量子測定手法の研究が意味を持ってくる。ここでは筆者が近年理論的観点から提案している、電子ミラー装置を組み込んだ新しい TEM

構成による高効率データ取得法について紹介する。電子ミラーは静電界により電子を跳ね返す、古くから研究が続けられている装置であり、我々の提案では電子の跳ね返り点近傍に微細構造素子を配置することによりイメージングに用いる電子波を能動的に操作する。具体的には、量子的イメージ“確認”法^[1]、適応量子測定を使った分解能改善法^[2,3]、超伝導回路を用いて量子もつれを作り出し、これを利用する新手法^[4]について報告する。

(18) Mathematical morphology に基づく画像情報解析

木森義隆 (自然科学研究機構・新分野創成センター)

武田隆顕 (国立天文台)

村山 尚 (順天堂大学・医学部)

生物医学研究においては、現象の客観的理解のために画像の定量解析が重要となる。これには、解析対象から、形、位置、大きさ、向きなどの特徴を抽出し、計量する画像処理手法が必須である。しかし、この処理は、対象の形状を直接的に取り扱うことが必要であるため、線形フィルタを用いる一般的な画像処理では実現が困難な場合があった。そこで、我々は以前より、形状に基づく処理手法を提供しうる、Mathematical morphology (以下モルフォロジ) と呼ばれる論理体系を用いて、画像解析手法を開発してきた。モルフォロジは、1960 年代中頃、G. Matheron と J. Serra らによって考案されて以来、処理対象画像と構造要素との集合演算に基づく非線形処理手法の多くが、科学、工学、産業分野等で使用されてきた。

しかし、通常モルフォロジ演算を生物医学画像に適用した場合、構造要素の作用方向の制限により、生物試料の微細かつ複雑な構造が変形、破壊されるという問題が知られていた。我々は、この問題を解決すべく、より頑健な新規モルフォロジ演算を考案し、それを用いた特徴抽出手法を開発した。現在、この画像処理手法を細胞の蛍光顕微鏡像に適用し、細胞骨格などオルガネラの構造特徴を抽出することによって、細胞のマルチスケールな動的構造の定量解析を行っている。本発表では、細胞骨格ネットワークと細胞核の空間的配置ならびに相互関連についての解析事例とともに、本解析手法の詳細について説明する。

(19) 電顕画像解析ソフト Eos の開発

安永卓生 (九州工業大学・大学院情報工学研究院生命情報工学系)

3 次元電子顕微鏡法において、画像処理法は未だ改善し続けられているフロンティアである。これまでも、我々

は電子顕微鏡画像のための画像解析ソフトウェア Eos (Extensible object-oriented system) を開発してきた。汎用的

な画像処理法に加え、コントラスト変調関数の補正、らせん対称性を用いた画像処理、単粒子解析、トモグラフィ解析、ランダムコニカルティルト法などを makefile 等を用いて統合化処理可能なシステムとしてきた。また、画像の統計的処理、三次元再構成法の改善なども手がけてきた。これらの成果の一部は、Source Forge 上にオープンソースとして公開している。しかし、これまでも一部は GUI をもつものであったが、決してユーザビリティの高いシステムとはいえなかった。今回、新たに、「研究

成果展開事業 先端計測分析技術・機器開発プログラム」事業・ソフトウェア開発タイプ【プラットフォーム開発】の採択を受け、ユーザ、及び、ベンダーが開発・利用するための画像処理プラットフォームとして整備し、ネットワークを介したプロセス制御のためのプロトコルをもち、GUI の展開も意図したプラットフォームを目指している。今回は開発の方向を示すと共に、今回の参加者の意見を、適切なプラットフォーム開発を目指す足がかりとしたい。

(20) 医療用 CT における画像再構成法の進歩 一部分領域再構成問題一

工藤博幸 (筑波大学システム情報系)

2000 年以降の医療用 CT における画像再構成の進歩は目覚ましく、多くのブレイクスルーが存在する。例えば、部分領域再構成問題の厳密解の発見、厳密なコーンビーム再構成法の発見、圧縮センシングを用いた少数方向投影データからの画像再構成、などの大発見がある。本講演では、その中から、被曝量低減や測定データ削減を実現する新手法として期待されている『部分領域再構成』と呼ばれる問題について解説する。この問題は、心臓や乳房など物体の一部関心領域 (ROI) のみを撮影した場合に、ROI を通過する投影データのみを用いて ROI を厳

密に再構成する問題である。この問題は 2004 年までは解が一意に定まらなないと考えられていたが、フィルタ補正逆投影法とは異なる微分逆投影 (Differentiated Backprojection) 法と呼ばれる画像再構成が発見されて以来、ROI の配置や被写体に関する微少な事前情報があれば厳密な画像再構成が可能であることが解明された。1973 年に CT 装置が発明されて以来 30 年間誰も解くことに成功しなかった問題がエレガントに解けていく過程を、分かりやすく解説する予定である。

(21) 疎な対象物に適した CT 像再構成法と位相差電顕への適用方針

寺西 大¹, 岩間尚文², 工藤博幸³, 村田和義⁴

(¹ 広島工業大学, ² 大同大学, ³ 筑波大学, ⁴ 生理学研究所)

位相コントラストの強調により鮮明な投影像が得られる位相差電子顕微鏡トモグラフィは、現在の電顕トモグラフィが抱えている投影角欠損および低 S/N 問題を解決することにより、鮮明な 3 次元構造を得られると期待できる。近年、対象物の空間構造が疎な性質を利用してトモグラフィ像の画質を改善する圧縮センシング法が提案され、医療用 CT の画質改善で成果を上げている。本報告では電顕トモグラフィに有効と考えられる 2 つの圧縮センシング法について説明し、位相差電顕トモグラフィへの適用方針について述べる。

圧縮センシング法は、データフィッティング計算に L1-ノルムを用いることで、投影経路方向に広がるアーティファクトを軽減し空間的に疎な像を再構成する。再構成像の計算には逐次反復で像を修正する Row-action 方式を用いる。

位相差電顕トモグラフィに圧縮センシング法を適用するに際して、乗り越えるべき主要な課題点である位相差電顕特有の物理量測定原理と積分投影との整合、ならびに低 S/N データへの対策について述べる。

(22) 情報欠落に影響されない新たな非線形離散濃度諧調再構成法

馬場則男 (工学院大学)

逆問題において、一般に情報欠落（試料傾斜角度制限）を伴う電子線 CT は、悪条件問題 (ill-posed) である。これを適切化 (well-posed) する汎用性のある拘束条件を見出した。それは「理想断層画像の濃度量子化諧調ごとの断面（2 値化像）は連続領域から構成される」である。これを拘束条件とする再構成法が実現すれば、試料に依存せず多くの材料で情報欠落による劣化のない断層像が得られる。さらに、少ない投影方位数（例えば通常の約 5 分の 1）でも可能となり、撮影時間が大幅に削減でき、電子線損傷に弱い材料の再構成や投影データの取得が難

しい元素・組成分析トモグラフィ、更には、時間経過を含めた 4D トモグラフィの応用が期待できる。これを実現するために、新奇な演算法を考案した。それは画素の濃度量子化単位（1 デジタル値）を使う演算方法である。ここでは平面上にこの単位のブロックを積み上げた状態を画像とし、このブロックは単独に、発生、消滅、移動操作可能とした。この演算法をナノ粒子の再構成に応用したところ、情報欠落の劣化をほぼ完全に払拭した 3 次元断層像が得られた。

(23) 電顕 CT を想定した大規模悪条件問題に対する数値解析的なアプローチについて

細田陽介 (福井大学)

阿部邦美 (岐阜聖徳学園大学)

電子顕微鏡 CT 像再構成問題は大规模疎行列を係数行列に持つ連立一次方程式として定式化される。このとき、問題はデータ欠損を伴うため行列は横長となり、さらに積分方程式の性質から悪条件となる。現在、このような問題に対する数値計算法は ART や SIRT に代表される定常反復法が主流であるが、これらの方法は収束が遅いと

いう欠点をもつ。大規模問題に対する数値計算法には定常反復以外に非定常反復法があり、非定常反復の方が収束が速いことが多い。しかし、非定常反復は悪条件性に弱いという特性もある。本報告では、大規模悪条件線形問題に対する非定常反復を用いたアプローチについて報告する。

(24) 生物電子顕微鏡のフロンティア：分子的生物世界の真の姿

永山國昭 (生理学研究所)

10 年以上に亘る位相差顕微鏡の歴史を振り返ると常に生物電子顕微鏡のフロンティアの淵に立っていた己の姿が思い浮かぶ。位相差電顕を生物電顕の最先端でこそ働かせたいという思いが常にあった。大局的に見れば 3 次元電子顕微鏡が最大のフロンティアだったと言えるだろう。それは生物の活動を分子世界の真の姿として見たいという人々の共通願望の表れとも言える。実際この 10 年間で、蛋白質複合体、ウイルスの電子線 1 粒子解析、細胞、組織の電子線トモグラフィさらには神経系

の自動連続切片 SEM 観察などで大きな成果が上がっている。ただし電顕は生物の活性動態を見るのは不得意であり、この点で分子生物学手法と結びついた蛍光蛋白質利用の蛍光顕微鏡法に比し生物学の本流になれない弱みを持っている。強みを伸ばすのかそれとも弱みを克服するのか生物電顕のフロンティアは岐路に立たされている。このジレンマを解く糸口となる 2 つの新技术、位相差 3 次元電顕と電子線励起発光顕微鏡、を紹介したい。前者は位相差法の 1 粒子解析やトモグラフィへの応用

で本シンポジウムにおいて他の演者からの報告がある。後者は 2006~2009 年に遂行された CREST プロジェクトにおける再発見でかつてテレビのブラウン管に多用されたカソードルミネッセンス (CL) の顕微鏡応用である。CL 顕微鏡そのものはすでに市販され鉱物学の分野で応

用されている。我々はこれが有機物でも可能であることを見出した。この発見が蛍光蛋白質の利用と結びつけば電頭・光頭融合の 1 つの形として先のジレンマを解決し、分子的生物の真の姿をとらえられると期待したい。

21. 神経活動の光操作（行動制御への応用）

2011 年 9 月 29 日－9 月 30 日

代表・世話人：尾藤晴彦（東京大学大学院 医学研究科）

所内対応者：小泉 周・田中謙二（生理学研究所）

- (1) 光感受性電位変換色素発現マウスの現状
田中謙二（生理学研究所 分子神経生理部門）
- (2) 光による記憶操作の可能性
松井 広（生理学研究所・脳形態解析研究部門）
- (3) がんの生体光イメージング
今村健志（愛媛大学大学院医学系研究科 分子病態医学分野）
- (4) 生体多光子励起イメージングによる骨髄・免疫細胞の動態解析
石井 優（大阪大学免疫学フロンティア研究センター・細胞動態学分野, JST・CREST）
- (5) 2 光子レーザー顕微鏡を用いた免疫細胞動態の解析
木梨達雄, 片貝智哉, 植田祥啓, 羽廣克嘉（関西医科大学附属生命医学研究所分子遺伝学部門）
- (6) Arc の活動依存的遺伝子発現とシナプス局在機構
奥野浩行（東大・院医・神経生化学）
- (7) G-CaMP によるカルシウムイメージングと線虫神経細胞の光操作
中井淳一（埼玉大学 脳科学融合研究センター）
- (8) ケージド化合物開発の現状と展望
古田寿昭（東邦大学理学部生物分子科学科）
- (9) 生体分子を見る技術・操作する技術
佐藤守俊（東京大学大学院総合文化研究科）
- (10) ビジュアルサーボ顕微鏡における画像処理と Z 追跡
橋本浩一（東北大学大学院情報科学研究科）
- (11) 光第二高調波イメージングの生理学研究への応用
塗谷睦生（慶應義塾大学医学部薬理学教室）
- (12) 神経回路の自発性を光観測・操作する
池谷裕二（東京大学・大学院薬学系研究科）
- (13) 光ファイバーを用いた神経活動の操作と観察
村山正宜（理化学研究所 BSI 行動神経生理学研究チーム）
- (14) 大型動物（霊長類）の行動の制御を可能にする optogenetics の実現に向けて
木下正治, 伊佐 正（生理学研究所 認知行動発達）
- (15) 神経活動の光操作による行動制御を用いた睡眠覚醒調節に関わる神経の動作機構解明
山中章弘, 常松友美（生理学研究所 細胞生理研究部門）
- (16) 新型光源 (Lumencor Light Engine) を用いた光刺激
東生宗樹（株式会社オプトライン）
- (17) フリームービング光刺激の動向（オプティカルシーベルの近況）
幸村裕治（株式会社ルシール）
- (18) ワイヤレス光刺激装置の開発
枝村光浩（バイオリサーチセンター株式会社）

(19) 多点独立光刺激装置 (MiLSS) の開発

上野賢一, 長沼恒雄 (アスカカンパニー株式会社)

(20) Optogenetics 用照明装置を組合せた顕微鏡

斎藤良治 (株式会社オリンパスエンジニアリング)

【参加者名】

大村 優 (北海道大学), 吉田隆行 (北海道大学大学院), 高橋亮介 (岩手大学), 八尾 寛 (東北大学), 橋本浩一 (東北大学), 竹内大吾 (東京大学), 尾藤晴彦 (東京大学), 奥野浩行 (東京大学), 池谷裕二 (東京大学), 堤新一郎 (東京大学), 堀金慎一郎 (東京大学大学院), 金 亮 (東京大学大学院), 石川大介 (東京大学), 舟山健太 (東京大学), 小林千晃 (東京大学), 飯野雄一 (東京大学), 佐藤博文 (東京大学大学院), 小田茂和 (東京大学), 佐藤陽介 (東京大学大学院), 大城洋明 (東京大学), 澤村佳之 (東京大学), 佐藤守俊 (東京大学), 鈴木秀幸 (東京大学大学院), 富田太一郎 (東京大学), 喜田 聡 (東京農業大学), 長野慎太郎 (東京都医学総合研究所), 塗谷睦生 (慶應義塾大学), 菊水健史 (麻布大学), 茂木一孝 (麻布大学), 増山 郁 (東京大学大学院), 古田寿昭 (東邦大学), 能瀬聡直 (東京大学), 大森敏明 (東京大学), 板倉由季 (東京大学大学院), 松永光幸 (東京大学), 中井淳一 (埼玉大学), 鶴野 瞬 (理化学研究所), 村山正宜 (理研 脳科学総合研究センター), 黒木 暁 (理研 BSI), 柳川右千夫 (群馬大学), 森澤陽介 (山梨大学), 大川宜昭 (富山大学), 岩里琢治 (国立遺伝学研究所), 岩田亮平 (国立遺伝学研究所), 吉野彬子 (国立遺伝学研究所), 鈴木亜友美 (国立遺伝学研究所), 高橋阿貴 (国立遺伝学研究所), 浅川和秀 (国立遺伝学研究所), 植木孝俊 (浜松医科大学), 植木美乃 (名古屋市立大学), 塚田祐基 (名古屋大学大学院), 小田洋一 (名古屋大学), 岡崎史子 (名古屋大学), 高木 新 (名古屋大学), 井上摩耶 (名古屋大学), 谷本昌志 (名古屋大学), 神取秀樹 (名古屋工業大学), 松本正幸 (京都大学), 井上謙一 (京都大学霊長類研究所), 石井 優 (大阪大学), 賀川義規 (大阪大学 免疫学フロンティア研究センター), 参加者名井之上幸範 (大阪大学大学院), 菊田順一 (大阪大学免疫学フロンティア研究センター), 深見美和 (大阪大学免疫学フロンティア研究センター), 檀上輝子 (大阪バイオサイエンス研究所), 林勇一郎 (大阪バイオサイエンス研究所), 木梨達雄 (関西医科大学), 松尾直毅 (京都大学), 出口雄一 (京都大学), 笠原洋紀 (京都大学), 田中康代

(京都大学), 田川義晃 (京都大学), 和中明生 (奈良県立医科大学), 辰巳晃子 (奈良県立医科大学), 竹田 秀 (慶應義塾大学), 荒田晶子 (兵庫医科大学), 井上 剛 (岡山大学), 今村健志 (愛媛大学大学院医学系研究科), 本蔵直樹 (愛媛大学大学院), 利嶋奈緒子 (九州大学), 新里 直 (九州大学大学院), 宮崎勝彦 (沖縄科学技術研究基盤整備機構), 宮崎佳代子 (沖縄科学技術研究基盤整備機構), 松崎政紀 (基礎生物学研究所), 正水芳人 (基礎生物学研究所), 田中康裕 (基礎生物学研究所), 大久保文貴 (基礎生物学研究所), 平理一郎 (基礎生物学研究所), 村越秀治 (生理学研究所), 鍋倉淳一 (生理学研究所), 植田禎史 (生理学研究所), 畠中由美子 (生理学研究所), 稲田浩之 (生理学研究所), 佐野裕美 (生理学研究所), 知見聡美 (生理学研究所), 木下正治 (生理学研究所), 笠井昌俊 (生理学研究所), 望月秀紀 (生理学研究所), 東島眞一 (岡崎統合バイオ), 松井 広 (生理学研究所), 佐々木拓哉 (生理学研究所), 別府 薫 (生理学研究所), 高雄啓三 (生理学研究所), 小泉 周 (生理学研究所), 森藤 暁 (生理学研究所), 毛利達磨 (生理学研究所), 田中謙二 (生理学研究所), 稲村直子 (生理学研究所), 石野雄吾 (生理学研究所), 杉尾翔太 (生理学研究所), 山中章弘 (生理学研究所), 鈴木喜郎 (岡崎統合バイオサイエンスセンター), 内田邦敏 (岡崎統合バイオサイエンスセンター), 常松友美 (生理学研究所), 加塩麻紀子 (生理学研究所), 周 一鳴 (生理学研究所), 高山靖規 (生理学研究所), 田淵サワコ (生理学研究所), 橘高裕貴 (生理学研究所), 波多野仁 (オリンパス株式会社), 田村恵祐 (オリンパス), 斎藤良治 (株式会社オリンパスエンジニアリング), 小林 茂 ((株)オリンパスエンジニアリング), 上野牧男 (オリンパス株式会社), 本村伸二 (オリンパス株式会社), 宮蘭侑也 (オリンパス株式会社), 幸村裕治 (株式会社ルシール), 小島太郎 (株式会社ルシール), 永井健彦 (株式会社ルシール), 渡部重夫 (浜松ホトニクス株式会社), 建部益美 (浜松ホトニクス株式会社), 枝村光浩 (バイオリサーチセンター株式会社), 石井淳一 ((株)オプトライン), 東生宗樹 ((株)オプトライン),

幸田修一（アスビオファーマ（株））、長沼恒雄（アスカカンパニー株式会社）、上野賢一（アスカカンパニー株式

会社）、福島絵里子（ライオン株式会社）

【概要】

イメージングの進歩により、特定の神経活動そのものの、神経活動に伴う形態変化など光を使って記載できるようになってきた。記載された現象の背後に潜むメカニズムを明らかにするためには、その活動を恣意的に制御・操作し、得られた現象の変化を記載する必要がある。この目的に現在もっともかなうツールが光感受性電位変換色素を用いたオプトジェネティクスである。オプトジェネティクスの成功には、プローブ分子の十分な発現と有効な光照射の2つが最低必要であるが、ほ乳類でこれを達成するのは容易ではない。本研究会において、ほ乳類神経系でオプトジェネティクスに成功している研究者および明確な biological question を持ちオプトジェネティクスをこれから応用したいと考えている研究者を一堂に

会し、光操作を成功させるための情報交換および良い question を解くに資する光操作の応用について議論した。

一方で、光操作の技術は神経科学にとどまらない可能性が指摘された。なぜならばグリア細胞のような non-excitabile な細胞の機能をも光で操作できることが本研究会での議論から明らかになってきたからである。イメージング技術の発展が著しい免疫、がん分野の最前線で活躍している研究者をも招聘した本研究会で、光操作技術を non-excitabile な免疫担当細胞やがん細胞、がん幹細胞の細胞機能操作にどのように利用可能か、どのような連携が可能か議論を深めることが出来た。

（1）光感受性電位変換色素発現マウスの現状

田中謙二（生理学研究所 分子神経生理部門）

チャネルロドプシンをはじめとする光感受性電位変換色素を自分の好きな神経細胞に発現させて、自分の研究を進展させたいと誰もが願う。Karl Deisseroth や Ed Boyden は論文になり次第、発現ベクターをばらまいてくれる。これは大変ありがたいことだが、その発現ベクターを用いて自分でエレクトロポレーションをするなり、ウイルスを精製して感染させるなりしないと先に進めない。分子生物学になじみがないものにとっては垣根が高い。ひとたび、誰かが遺伝子改変マウスを作ってしまう

ば、それを手に入れて再現性の高い実験が可能になる。本トークでは、Guoping Feng が作成した遺伝子改変マウスを含めて、これまでに作成された遺伝子改変マウスを紹介する。そして生理研のグループで樹立しつつある ChR2 (C128S) 発現レパトリーについて紹介する。どのシステムが一番良いのか結論づけるのは難しいが、是非、動いているマウスを手に入れて予備実験を行い、研究を展開してもらいたい。

（2）光による記憶操作の可能性

松井 広（生理学研究所・脳形態解析研究部門）

記憶する能力は、健康な社会生活を営む上で不可欠であり、そのことは障害や加齢によって失われた場合に顕著になるが、そもそも記憶が形成・定着されていく過程で、脳内の何がどのように変化するのかといった基礎的

な事柄に関しては、実は明らかになっていない点が多い。動物の脳を取り出して作製したスライス標本では、神経細胞を人為的に電気刺激すると、神経細胞同士をつなぐシナプスでの信号伝達が可塑的に変化することは知られ

ている。しかし、生きたままの動物の脳内でも同様の変化が生じ、それが記憶形成と直結していることを示した研究は未だない。また、スライス標本からはせいぜい数時間程度の記録しか取れないため、シナプスの可塑性変化が、数日を経る間にどのように定着していくのか、明らかではない。我々は、近年開発された光感受性タンパク質 (channelrhodopsin-2; ChR2 等) を神経細胞やグリア細胞に発現させる技術を使って、生体脳内の神経細胞の

興奮状態を光で操作し、神経活動がどのように記憶に結び付いていくのかを解明することを目指している。本研究会では、小脳顆粒細胞やバーグマングリア細胞に ChR2 を発現させたトランスジェニック動物を使って、小脳依存性運動学習に関わる平行線維-プルキニエ細胞間のシナプス伝達の長期抑制を光によって操作することに成功した事例を示し、in vivo での実験へとつなげる構想を紹介する。

(3) がんの生体光イメージング

今村健志 (愛媛大学大学院医学系研究科 分子病態医学分野)

がんは日本人の疾患別死亡者数第一位であり、その大きな要因はがん転移が克服されていないことであると言っても過言ではない。がん転移とは、原発巣で増殖したがん細胞が悪性化し、血行性・リンパ行性に遠隔臓器に転移し、転移巣で新たな増殖・浸潤を開始することであり、その治療法は未だ確立されていない。また、最近のがん研究のトピックスとして、がん微小環境の重要性が挙げられる。すなわち、がん細胞そのものだけでなく、周囲の微小環境が、発がんやがんの悪性化に大きな影響を及ぼしていることがわかってきた。よって、がんの病態解明には、組織や細胞を固定したりすりつぶしたりする解析だけではなく、生体でがん細胞機能やがん微小環境を時空間的かつ統合的に解析することが必須であると考えられる。このように、細胞や生体分子の動態および機能を、生きている動物の中で解析して理解することは、がん研究分野のみならず現在の生命科学研究分野の最も

重要な課題の一つであるといっても過言ではない。

近年、動物が生きた状態で細胞や生体分子を可視化する生体光イメージングが急速に進歩した。本発表では、がん研究領域への生体光イメージングの応用について、最近の我々のデータを紹介する。具体的には、生きているマウスでのがんの増殖と転移、およびがん細胞内のシグナル伝達系のモニタリング、がんの血管新生、リンパ管新生およびセンチネルリンパ節などのイメージングを紹介する。さらに、分子プローブを用いたプロテアーゼ活性の生体イメージングやがん細胞の細胞周期の生体イメージングの実例を紹介する。以上を踏まえ、光イメージング技術を用いた新たながん研究戦略の近未来の展望について考察し、さらに、光操作技術をがん細胞、がん幹細胞やがん微小環境の細胞群の細胞機能操作にどのように利用可能かについて議論したい。

(4) 生体多光子励起イメージングによる骨髄・免疫細胞の動態解析

石井 優 (大阪大学免疫学フロンティア研究センター・細胞動態学分野, JST・CREST)

血液・免疫細胞は「動き」が重要なシステムである。多種多様な細胞の遊走・位置決めは時空間的に極めて精緻にコントロールされている。このようなシステムの研究には、従来の組織学的解析法では不十分であった。固定・薄切した組織観察では、細胞の「形態」や「分子発現」などを解析することはできるが、細胞の「動き」を

解析することはできない。細胞の動きを見るためには、「生きた細胞」を、「生きた組織」の中で観察する必要がある。さらには、免疫細胞のように血流を介して細胞が流入するシステムの解析のためには、「摘出した生かした」組織ではなく、個体そのものを生かした状態、即ち「生きた個体」の中で観察する必要がある。本演者は

深部組織の観察に適した多光子励起顕微鏡を駆使して、実験動物を生かしたままの状態で組織・臓器を観察する研究を行っている。特に、従来極めて困難であると考えられていた、生きた骨組織・骨髓腔の内部を高い時空間分解能で観察することに世界に先駆けて成功し、古い骨を吸収して骨代謝回転を調節する破骨細胞の *in vivo* で

の活性制御機構を解明した。本講演では、これら最新の研究成果の解説に加えて、最近演者が取り組んでいるその他の組織・臓器（皮膚、腸管、呼吸器など）の多光子励起ライブイメージングの方法論の実際や今後の発展性について議論し、特に本方法論におけるオプトジェネティクスの応用について討論を行う。

(5) 2光子レーザー顕微鏡を用いた免疫細胞動態の解析

木梨達雄，片貝智哉，植田祥啓，羽廣克嘉

（関西医科大学附属生命医学研究所分子遺伝学部門）

リンパ球の生体内動態は生体防御や様々な免疫疾患の病態に大きな影響を与えている。低分子量 G 蛋白質 Rap1 とそのエフェクター分子である RAPL, Mst1 はリンパ球インテグリン LFA-1 を介する血管内皮や抗原提示細胞への接着，組織内遊走に関与し，自己寛容の成立や維持にも関与していることがノックアウトマウスの解析から示唆されている。生体内での Rap1 シグナルの役割を検討するにはリンパ球の動態を可視化して解析する必要があるが，2 光子レーザー顕微鏡によってリンパ球移動の解析ができるようになった。我々はリンパ組織内での観察

系として，*in vivo* 系である *intravital* 法，リンパ節を取り出して観察する *explant* 法に加えて，組織内に直接アプローチ可能なリンパ節スライス法を確立して解析を進めている。組織内移動を比較検討した結果，スライス法は他の方法同様に活発な T リンパ球の移動を再現でき，この系を用いることによってリンパ節ストローマ細胞がリンパ球の組織内移動に重要な役割を果たしており，Rap1 シグナルが関与している Gi 依存性の LFA-1/ICAM-1 を介する接着と LFA-1/ICAM-1 に依存しない接着様式が介在していることが明らかになった。

(6) Arc の活動依存的遺伝子発現とシナプス局在機構

奥野浩行（東大・院医・神経生化学）

神経特異的前初期遺伝子の一つである Arc（または Arg3.1）はシナプス活動によって極めてすばやく（5 分以内）転写誘導され，その mRNA および遺伝子産物は脳において神経活動に非常に良く関連した発現パターンを示す。このことから Arc は認知活動等によって活性化される神経細胞群の分子マーカーとして，主にげっ歯類の行動心理学的研究分野で頻繁に用いられている。この Arc の神経活動依存的な発現制御の分子機構に関しては解明が遅れていたが，近年，我々はシナプス活動依存的発現を担うゲノム機構の一端を明らかにした（Kawashima, Okuno et al., PNAS 2009）。現在，我々はこの Arc の活動依存的ゲノムエレメントを利用することによ

り，マウスやラットの個体脳において神経活動をモニタリングする系の構築を行っている。また，我々は並行して，神経活動によって誘導された Arc タンパクがどのようにシナプスへ運ばれ，どのように機能するかについての解明に力をいれてきた。本研究会では，Arc のシナプス局在は PSD タンパクとのタンパク間相互作用によって制御されており，さらにこの相互作用がシナプス活動によって調節されていることを見出したので報告したい（Okuno et al., under revision）。また，これらの研究に対して光操作技術をどのように利用して進めていくのかについて論じたい。

(7) G-CaMP によるカルシウムイメージングと線虫神経細胞の光操作

中井淳一 (埼玉大学 脳科学融合研究センター)

線虫は、神経細胞数が 302 個と少なく、神経回路接続が電子顕微鏡レベルで解明されているため、行動と神経回路機能の研究が行いやすい優れたモデル生物である。線虫は固体培地上では S 字状の形態をとり規則的なリズム活動を行なって移動する。我々は Green Fluorescent Protein (GFP) を用いて Ca^{2+} イオンに感受性を持つ蛍光カルシウムセンサー (G-CaMP) を開発し、このセンサーを用いて線虫の運動出力系の解析を行った。

G-CaMP4 を体壁筋、または GABA 作動性運動神経細胞に発現させた野生型または GABA 合成酵素 (GAD) 欠損株 (*unc-25*) を用いて、運動時の体壁筋および GABA 作動性運動神経細胞の活動について解析を行った結果、筋

肉活動および GABA 作動性運動神経細胞の活動が行動依存的にダイナミックに変化していることが明らかになった。GABA 作動性運動神経細胞にチャネルロドプシンを発現させ光刺激を与えたところ、体壁筋が弛緩するのが観察された。レチノールを含まない培地で飼育した線虫では光刺激を与えても体壁筋の弛緩は観察されなかった。

G-CaMP4 を用いた Ca^{2+} イメージングは、行動と神経回路機能の関係を研究する上で非常に有効であった。チャネルロドプシンによる光刺激を組み合わせることによりさらに詳細な解析が可能になると期待される。

(8) ケージド化合物開発の現状と展望

古田寿昭 (東邦大学理学部生物分子科学科)

細胞の生理機能を観察および操作するためには、目的に最適なプローブ分子の選択が欠かせない。分子量の小さな有機化合物性のプローブ分子には、遺伝子でコードされた分子とは異なる特性が期待できる。両者の相違点を理解して効果的に使い分けることで、光操作技術はさらに発展すると考えられる。そこで、有機化合物性の光感受性分子であるケージド化合物について、開発者の立場から現状を紹介し、今後の展望を議論する。主な内容は以下を予定している。まず、ケージド化合物の基礎を

概説する。続いて、我々のグループの研究を中心に、ケージド化合物に変換できる分子と光制御できる生理現象の例を紹介する。さらに、現在手に入る主なケージド化合物の化学的な性質を解説して、新しい化合物開発の現状と問題点を考える。最後に、脳スライスやモデル生物個体で実用的に用いるためには何が求められているのか、またそれは実現可能であるのかを明らかにして、今後の開発課題を明確にする。

(9) 生体分子を見る技術・操作する技術

佐藤守俊 (東京大学大学院総合文化研究科)

光を使った可視化計測技術は、様々な生体分子が細胞のどこで・いつ・どの程度生成し機能しているのかを高い時間・空間分解能で探索する上で極めて強力なツールを提供する。この可視化計測には、細胞内に数多ある生体分子の中から、目的の分子を特異的に捕まえて、それ

により光学特性を変化させる機能性分子 (プローブ) の開発が必要となる。筆者らは、タンパク質ドメインを分子認識素子として活用し、遺伝子工学的アプローチに基づいて、セカンドメッセンジャーと呼ばれる種々の生体小分子、各種生体脂質、タンパク質リン酸化など、細胞

の生理機能や疾患の理解に重要な生体分子のプローブを開発し、それらが細胞内で生起する分子過程の可視化計測において強力なツールになることを実証してきた。筆者らは最近、上述の可視化計測を実現するプローブに加えて、生体や細胞の中で生起するシグナル伝達等を光操

作するための新しいプローブの開発研究にも従事している。本講演では、可視化計測や光操作に関係したプローブの開発研究に関して筆者らの最近の成果を紹介し、今後の展開等について議論したい。

(10) ビジュアルサーボ顕微鏡における画像処理とZ追跡

橋本浩一（東北大学大学院情報科学研究科）

私たちのグループでは、ロボットビジョンの研究を行ってきた。とくに、高速ビジョンシステムの開発に携わってからは、機械の性能をビジョンが超える体験をどのように伝えるか、ロボットを用いたデモを考案してきた。東京大学石川正俊研究室におけるロボットフィンガーの妙技やロボットバッティングなどは、2000年前半の「どのようにすればビジョンが速いことが伝わるか？」をテーマとして考案したデモである。同時に、「マイクロな世界には速いものがあるらしい」とのうわさをもとに、作成したのがゾウリムシ1個体のトラッキングシステムである。野球のボールを追いかけることを得意としていたので、さほど困難はなかったが、Z方向の推定には新しい方法の開発が必要であった。

現在は、線虫を対象として、神経細胞の発する蛍光を観察しようとしている。アプローチはふたつある。高速であるけれども透過光の観察しかできない CCD カメラ

を用いる方法。もうひとつは蛍光を観察している EMCCD カメラの画像を追跡にも使う方法である。前者は透過光のあまり特徴のないパターンを画像処理する必要がある。対象が変形したり Z 方向に動いたりするので、なかなか厄介である。一方で、蛍光はバックグラウンドとの差が大きく、明るい場所を抜き出せば神経細胞を見失うことはない。しかし、Z に関する条件が失われ（ているように思う）、高いフレームレートでは退色の問題も気になる。

この研究会では、私たちが使っている「高速なパターンマッチング」と「変形を推定して元に戻す画像処理」を上記の問題にどのように利用しているかを紹介し、「高倍率で対象の狙った場所を追いかける」技術の現状を報告します。この技術が光操作技術と一体化した時になにか新しい方向性が見えてくるのか、どのような連携が可能なのか、いろいろ教えていただきたいと思います。

(11) 光第二高調波イメージングの生理学研究への応用

塗谷睦生（慶應義塾大学医学部薬理学教室）

第二高調波発生 (Second Harmonic Generation: SHG) は、2つの光子が中心対称性を欠いて分布する極性物質と相互作用した後、入射光のちょうど2倍のエネルギーを持ち半分の波長の1つの光子へと変換される2光子現象である。生体内においては、整然と規則正しく並んだ分子からなる微小管やコラーゲン繊維などが内因性の SHG 物質として働き、超短パルスレーザーを用いた SHG イメージングによりラベルをする事無く可視化される。一方、外因性の色素を加えた細胞においては、色素が中

心対称性を崩して分布する界面、特に形質膜においてそのシグナルが強く観測される。このように、SHG は無染色での生体構造のイメージングや形質膜での生理的変化の特異的な計測などにおいて、通常の2光子励起顕微鏡とは全く異なるイメージングを可能にする。我々はその1つの応用として、SHG の形質膜特異性と膜電位応答性を利用した神経細胞の定量的な膜電位変化計測を試みた。これにより、神経細胞のスパインや軸索における電位変化を計測することに成功した。今回の発表ではこれ

らの結果に合わせ、他の研究者らにより行われている 様々な試みや SHG 応用の可能性についても紹介する。

(12) 神経回路の自発性を光観測・操作する

池谷裕二 (東京大学・大学院薬学系研究科)

神経回路を特徴づける性質の一つは自発活動である。外部からの入力がなくとも、回路は内発的に活動している。その活動パターンは無秩序ではなく、回路構築を反映しながら自己組織的に内部構造を創発したプロセスが反映されている。近年の研究からそのパターンは感覚応答の事前分布をなしていることが示唆されている。今回の発表では、脳幹スライス標本が生み出す呼吸リズムの

発生と、海馬ニューロンの樹状突起スパインの活動時空間パターンの創発のメカニズムを、オプトジェネティクスの手法を用いて解析した例を紹介したい。前者は非興奮細胞を光操作によって刺激することで、後者はシナプス可塑性の履歴を光標識することで、自発活動のメカニズムとそこに潜むルールに迫った。

(13) 光ファイバーを用いた神経活動の操作と観察

村山正宜 (理化学研究所 BSI 行動神経生理学研究チーム)

動物の行動時における神経活動を記録するため、我々は潜望鏡型蛍光顕微鏡を開発した。これは、脳内に刺入する光ファイバーと落射型蛍光顕微鏡で構成された顕微鏡である。我々は光ファイバーの端面にマイクロプリズムを接着してこれを脳内に刺入し、もう一方の端面を顕微鏡の対物レンズ下に設置した。神経細胞はあらかじめ脳内に負荷したカルシウム蛍光指示薬で染色した。光フ

ァイバーを介して励起光を神経細胞に照射し、神経活動に由来する蛍光を同じ光ファイバー介して蛍光顕微鏡に取り付けた CCD カメラで記録した。本研究会では潜望鏡型顕微鏡を用いた研究例と、本装置の利点と欠点を説明し、その欠点を補う新しい装置の紹介を行う。また本研究会では明確な biological question に答えるための光を用いた神経活動の操作例も紹介する。

(14) 大型動物 (霊長類) の行動の制御を可能にする optogenetics の実現に向けて

木下正治, 伊佐 正 (生理学研究所 認知行動発達)

光刺激によりニューロン活動をコントロールすることを可能にする optogenetics は、単に機能とニューロン活動の相関関係を示すのではなくニューロン活動と機能の因果関係を解き明かす上で非常に重要なツールとなる。我々は optogenetics の中でも主にハロロドプシンなどの過分極応答を引き起こす opsin を用いて、特定のニューロン群の活動を抑制しその機能を調べることで、さらには高次脳機能研究のためにサル の行動を制御することを目指している。

げっ歯類に比べてはるかに巨大な脳を有するサル の行動の制御に関連して、大脳皮質第一次運動野への光照射により筋電図に抑制が見られた。しかし行動制御については現状ではさらなる改善を要する。optogenetics の効率改善のためには少なくとも 1) 高効率な opsin を用いること、2) 目標細胞群への遺伝子導入効率を高めること、3) 導入細胞での遺伝子発現効率を高めること、などが必要と考えられる。これらの問題点に関連する最近の成果について報告する。具体的には eNpHR と ArchT をマウス

の網膜-上丘系に導入し比較した結果, ArchT でより強い抑制効果が確認された。また opsin を導入した実験ではないが, 最新の改良型 Tet-ON システム, 逆行性ウイル

スペクターなどを用いて経路選択的にテタヌストキシンを発現させ, サルの精密把持運動を変容させることに成功したので報告する。

(15) 神経活動の光操作による行動制御を用いた睡眠覚醒調節に関わる神経の動作機構解明

山中章弘, 常松友美 (生理学研究所 細胞生理研究部門)

オレキシンは視床下部に存在する少数の神経細胞において産生される神経ペプチドである。オレキシンを欠損した動物は, ヒトの睡眠障害「ナルコレプシー」酷似した表現型を呈したことから, オレキシ神経が睡眠覚醒調節において, 重要な役割を担っていることが明らかになってきた。

我々は, これまで電気生理学的解析を用いて, オレキシ神経を中心とした神経回路を明らかにしてきた。しかしながら, 睡眠覚醒は個体でのみ生じる現象であるため, この神経回路がどのように機能して睡眠覚醒を調節しているのかがよく分かっていない。オプトジェネティクスは, 特定神経の活動を光で制御するため, 個体を用いた神経回路機能研究に大変適している。我々は, 睡眠

覚醒調節に重要なオレキシ神経やセロトニン神経特異的に光活性化タンパク質を発現する遺伝子改変マウスを作成した。これらのマウスを用い, インビボにおいてそれらの神経活動を制御したときに表出する睡眠覚醒状態変化と縫線核神経活動を同時に記録した。その結果, オレキシ神経活動特異的な抑制によって, 縫線核神経活動が抑制され, 脳波の徐波成分が増加することを見いだした。この結果は, 縫線核神経活動がオレキシ神経活動に強く依存していることを示しており, また, オレキシ神経活動の抑制によって徐波睡眠が誘導されることから, 覚醒維持におけるオレキシ神経の重要性が明らかとなった。

(16) 新型光源 (Lumencor Light Engine) を用いた光刺激

東生宗樹 (株式会社オプトライン)

チャネルロドプシンなどの光感受性タンパク質を光刺激するための光源として新型光源 Lumencor 社 Light Engine を紹介する。

ランプ, レーザー, LED とは全く違う発光方式の新型光源は, 高出力, 安定性, 耐久性の良さ, 高速波長切り替えが可能で光刺激用途においてその使い易さが実証さ

れています。コンパクトな本体に 1 波長から最大 7 波長を搭載でき, 同軸からの出射を実現。蛍光顕微鏡への接続はもちろん, in vivo における POF への接続も可能です。各波長の ON-OFF を TTL で制御する Stimulator への接続も専用ハーネスで行えます。低価格で高性能な新型光源を提案します。

(17) フリームービング光刺激の動向 (オプティカルシーベルの近況)

幸村裕治 (株式会社ルシーベル)

チャネルロドプシンなどの光感受性タンパク質をフリームービング下で光刺激するためのオプティカルシー

ベルを発表して約一年。オプティカルシーベル, ディスポファイバー, 及び周辺機器は様々なご実験の条件に合

わせて改造・改定・進化を遂げてきました。今回はその代表例をご紹介します。また、新たにフリームービング用脳神経活動蛍光測定装置 (Model COME2-MM シリーズ) を発表いたします。

- ・バイラテラル用小型オプティカルシーベル
- ・ディスプレイファイバー (250um POF, 100um Silica,)
- ・フリームービング用脳神経活動蛍光測定装置
- ・サイドビューファイバー

(18) ワイヤレス光刺激装置の開発

枝村光浩 (バイオリサーチセンター株式会社)

オプトジェネティクスの浸透に伴い、マウスなどの小動物を覚醒下、自由行動下で光刺激したいという需要が高まってまいりました。弊社では生理学研究所・山中章

弘先生と共同で、マウスに装着できるほどに小型かつ軽量の、ワイヤレスの光刺激装置を開発いたしました。

(19) 多点独立光刺激装置 (MiLSS) の開発

上野賢一, 長沼恒雄 (アスカカンパニー株式会社)

近年神経科学における研究手法として光遺伝学的手法が注目されている。この手法では、チャネルロドプシンなどの光感受性タンパクを発現させた神経系に光刺激を加えて、局所的に活動を修飾できる。この装置は顕微鏡下で複数の点に、独立した照射タイミングおよび面積の

異なる関心点を設定し、時間的・空間的に高い精度で刺激することで、神経科学における光遺伝学的研究手法をより簡便で使いやすくそれぞれの研究に役立てられるようにとの目的で東北大学大学院・生命科学研究科・八尾寛先生と共同で開発したシステムです。

(20) Optogenetics 用照明装置を組合せた顕微鏡

斎藤良治 (株式会社オリンパスエンジニアリング)

顕微鏡下での Optogenetics 用照明方法は 30~500Hz 程度のパルス照射可能な光源装置と組合せて、4 つの方法に分類できます。

オリンパスでは、ハロロドプシンの応用が発表された 2007 年よりオリンパスエンジニアリングを中心に研究者の要望に応じて、様々な Optogenetics 用照明装置を組合せた顕微鏡を開発してきました。

【MVX10 マクロ全体照明顕微鏡】

明るいシングルズームマクロ蛍光顕微鏡に Hg パルス照明を組合せた顕微鏡

【FV1000 エリア走査照明顕微鏡】

レーザ走査型顕微鏡 FV1000 のセカンドスキャナ部を改造し、細胞 1 個分程度の大きさを走査照明できる顕微鏡

【DMD 利用パターン照明顕微鏡】

デジタルマイクロミラー (DMD) を利用して、任意の位置を任意のパターンで照明できるようにした顕微鏡

様々なニーズに合わせた顕微鏡を提供することが可能ですので、ぜひご相談下さい。

22. 病気の進化研究会シンポジウム

2011 年 12 月 1 日－12 月 2 日

代表・世話人：中山裕之（東京大学大学院農学生命科学研究科）

所内対応者：木村 透（自然科学研究機構動物実験センター）

1. 乳腺腫瘍の比較病理学

(1) ヒトの乳腺腫瘍の臨床と病理

秋山 太（がん研究会・がん研究所病理部）

(2) 犬と猫の乳腺腫瘍の病理

尾崎清和（摂南大学薬学部）

(3) イヌの乳腺腫瘍における間葉性組織分化と骨形成性因子の発現

内田和幸（東京大学大学院農学生命科学研究科・獣医病理学）

(4) 犬の乳腺腫瘍の分子病理学

道下正貴（日本獣医生命科学大学・獣医病理学）

2. 皮膚腫瘍の比較病理学

(5) ヒトの皮膚腫瘍の臨床と病理

真鍋俊明（滋賀県成人病センター・研究所）

(6) 犬と猫の皮膚腫瘍の臨床

永田雅彦（ASC 動物皮膚病センター）

(7) 犬と猫の皮膚腫瘍の病理

代田欣二（麻布大学・獣医病理学）

【参加者名】

中山裕之（東京大学）、内田和幸（東京大学）、ジェームズ・ケン・チェンバース（東京大学）、代田欣二（麻布大学）、永田雅彦（ASC 動物皮膚病センター）、道下正貴（日本獣医生命科学大学）、秋山 太（がん研究所）、渋谷 淳（東京農工大学）、山手丈至（大阪府立大学）、尾崎清和（摂南大学）、真鍋俊明（滋賀県成人病センター研究所）、木村 透（生理学研究所）、寸田祐嗣（北海道大学）、二瓶和美（日本動物高度医療センター）、土井邦雄（日本生物科学研究所）、谷合枝里子（東京農工大学）、林 仁美（東京農工大学）、渡邊謙一（東京大学）、坪井誠也（東京大

学）、陳 憲全（Animal Technology Institute Taiwan）、平野裕幸（保健科学東日本）、船橋諭美（名古屋大学）、山本雅義（岡崎市）、田中 慎、小野田秀和（中部科学資材）、寒川祐見（科研製薬）、竹林しづき（栗東指月病理診断科）、矢野智仁（保健科学）、山上哲史、荻原喜久美（麻布大学）、納谷裕子（麻布大学）、賀川由美子（ノースラボ）、佐藤純平（アイデックスラボラトリーズ）、山形葉子（生理研）、児玉吉正（ふしや動物病院）、三井伸二（名古屋大学）、後藤啓介（海南病院）

【概要】

病気は動物種、品種、性、年齢など生体内に内在する要因（内因）と生体外からの物理的、化学的、生物学的刺激（外因）とが複雑に関連しあって生じる。現在進化の極みにある人類は、感染体（外因）との争いに一応勝利し、個体寿命の延長を実現した。しかしながら、自らの体を構成している核酸・タンパク質分子の老化（内因）

までは制御できていない。その結果、核酸、タンパク質の老化（構造異常）がそれぞれ腫瘍、神経変性疾患（アルツハイマー病、パーキンソン病など）として顕在化してきたと考えられる。

分子生物学の隆盛により、病気の発生メカニズムが細胞・タンパク質・遺伝子レベルで説明できるようになっ

た。こうした還元論的病因論の威力を実感しつつも、近年、同時に分子反応の総体に注目したシステム生物学的思考も重要視されるようになった。「病気は生命の反応システムの異常である」とする現象論的な病因論を再評価すべき時なのかもしれない。

また、現在ヒトの疾患研究に利用されているモデル動物はほとんどが齧歯類であるが、そこで得られた成果をヒトに直接外挿するには両者の進化的距離が大きすぎる。ヒトと齧歯類との間に存在する牛、羊、馬、豚などの有蹄類、犬、猫などの肉食類の生理・病理についても検討し、進化を軸とした比較学問体系が確立すれば、こ

うした missing link も解消できると考えられる。

こうした観点から、「生物の進化にともなう病気の変遷」、すなわち「病気の進化学」という新しい研究分野の創成を目指して、「病気の進化研究シンポジウム」を企画した。昨年は、その第1回目として「神経病の比較病理学」と題したシンポジウムを行ったが、第2回目の今回は「乳腺腫瘍と皮膚腫瘍の比較病理学」を企画した。ヒトと動物（犬と猫）の乳腺腫瘍および皮膚腫瘍について、人医および獣医分野の病理学者と臨床医が知見を交換し、病気の進化を軸として有意義な議論を行った。

(1) ヒトの乳腺腫瘍の臨床と病理

秋山 太（がん研究会・がん研究所病理部）

乳癌診療のここ20年間の進歩に伴い、病理に求められる診断内容は大きく変化した。超早期乳癌の病理診断、治療方針決定のための病理診断など臨床の現場での必要性・重要性は格段に増加している。診断の変化としては画像診断による乳癌検診、針生検、治療の変化としては乳房温存療法、センチネルリンパ節生検、抗体治療薬、術前薬物療法が大きな出来事である。乳房温存療法では断端診断、センチネルリンパ節生検では詳細な検索（全割、OSNA法）による診断、抗体治療薬ではHER2診断、術前薬物療法では組織学的治療効果判定が求められる。免疫組織化学的方法によるホルモン受容体の診断も大きな変化である。

正しい情報を得るためには的確に病変が採取されるこ

と、適正に病理診断が行われることが重要である。乳腺針生検の病理診断は、病変が採取されているか否かの判断に始まり、可能な限り良悪性の鑑別診断を行うべきである。その際、悪性と診断すべき所見、良性と診断すべき所見、悪性と誤りやすい所見、良性と誤りやすい所見、良悪性の鑑別診断で無理をしてはいけない所見をしっかりと認識しておくことが大切である。画像診断による乳癌検診で発見される石灰化病変の病理診断は難しいことが多い。この診断の困難さは、部分像の観察による病理診断であること、非常に異型が弱い早期の非浸潤癌の病理診断であることに起因する。これらの病変をどのように診断しているのかを解説する。

(2) 犬と猫の乳腺腫瘍の病理

尾崎清和（摂南大学薬学部病理学研究室）

犬の乳腺腫瘍は、雌犬において最も発生率が高い腫瘍で約50%を占める。腫瘍発生と性ホルモンが関係しているため、初回発情前に避妊をすると発生率が著しく低下する。多くの場合、多発性であり、その組織像も様々、すなわち良性悪性をまじえて多種類の腫瘍が形成される。組織学的特徴は、筋上皮細胞の増殖が非常に旺盛で

間葉系組織に富むことである。筋上皮細胞が腫瘍化すると、紡錘形、多角形など様々な形状となり、腺上皮とは無関係に増殖しはじめる。粘液様物質を間質に蓄積し粘液腫様組織となり、軟骨が形成され、時に骨形成もみられる。このような間葉系組織の由来は筋上皮であると示唆されるが、様々な意見があり確定していない。間葉成

分を含む腫瘍は混合腫瘍として、上皮成分と間葉系組織がともに増殖し、軟骨、骨などを認めるものと定義されている。

猫の乳腺腫瘍は、雌猫において3番目に多い腫瘍である。猫も犬の場合と同様性ホルモンと関係しており、非避妊猫の腫瘍発生率は高い。孤在性あるいは多発性に形

成されるが、犬とは異なり、単一な組織像であることが多い。腫瘍の約80%は悪性で、周囲組織への浸潤に加えてリンパ節にも頻繁に転移する。組織学的な特徴は、腺上皮細胞の増殖が大部分を占めることで、犬とは異なり筋上皮細胞の増殖は目立たない。

(3) イヌの乳腺腫瘍における間葉性組織分化と骨形成性因子の発現

内田和幸（東京大学大学院獣医病理学研究室）

イヌの乳腺腫瘍の組織構築は極めて多彩であり、このため良性/悪性の判断についても診断機関によるばらつきが出やすいとされている。ここでは、特にイヌの乳腺における筋上皮細胞の変化に注目し、正常、単純型（腺上皮）腺腫/腺癌、複合型（腺上皮/筋上皮）腺腫/腺癌、良性混合腫瘍における筋上皮細胞の基本的な細胞骨格タンパク（サイトケラチン、ビメンチン、 α 平滑筋アクチン SMA）の発現変化を紹介する。さらにこれらの非腫瘍/腫瘍性病変における筋上皮細胞の骨形成因子 BMP やその受容体の発現の変化を検討した。検索の結果、正常な筋上皮細胞は、サイトケラチン、ビメンチン、SMA を発現しているが、複合型腺腫/腺癌では、基底膜との連続

性を失うと同時に、サイトケラチン、SMA の発現が減弱し、ビメンチンにのみ陽性を示す細胞が増殖巣の主体を占めるようになることが明らかになった。さらに、筋上皮細胞には正常時より BMP とその受容体が発現し、増殖性病変においては、特に軟骨や骨形成を伴う状態において、これらの分子が強発現することが明らかになった。これらの結果より、筋上皮細胞は増殖に伴いビメンチンのみを発現する間葉性細胞としての特性が明瞭となると同時に、BMP の産生や受容体の発現を維持し、BMP のオートクラインあるいはパラクライン機構により軟骨・骨形成を誘導すると考えられた。

(4) 犬の乳腺腫瘍の分子病理学

道下正貴（日本獣医生命科学大学 獣医病理学）

ヒト乳癌では、ER, PgR, HER2 などを用いた免疫組織化学によるタンパク発現に基づき、① Luminal A (ER and/or PgR 陽性, HER2 陰性), ② Luminal B (ER and/or PgR 陽性, HER2 陽性), ③ HER2-enriched (ER, PgR 陰性, HER2 陽性), ④ Basal-like (ER, PgR, HER2 陰性, cytokeratin 5/6 and/or HER1 陽性) に亜分類され、予後予測および治療法選択に有用とされている。犬の乳癌でも、上記のような分子病理学的分類が提唱されているが、ヒト乳癌と異なる点もみられる。例えば、ヒト乳癌では③および④は予後が悪いことが知られているが、犬では HER2 過剰

発現乳癌は正常レベルの HER2 発現乳癌と比べて予後が良い傾向にある。一方、④は①と比べて予後良好ないし不良と2つの研究グループ間で異なっている。

犬の乳癌においてもヒト乳癌幹細胞と同様の方法；①細胞表面マーカー (CD44/CD24) 解析, ② side population 解析, ③ sphere assay, ④ aldefluor assay を用いて同定することができ、免疫不全マウスへの皮下移植により高い腫瘍形成能を有する細胞集団であることが明らかになっている。

(5) ヒトの皮膚腫瘍の臨床と病理

真鍋俊明 (滋賀県立成人病センター 研究所 および 病理診断科)

皮膚は、表皮、真皮、皮下脂肪織に分けられ、皮膚附属器と呼ばれる特異な構造を有している。面白いことに、ヒトの皮膚構造は、いずれもがそれぞれに複雑であるのみならず、部位、年齢、性、生活条件によってかなり異なる。そのため、ヒトの皮膚に発生する腫瘍は実に多彩である。また、皮膚は目につきやすく触れやすい場所にあり、病変に気付きやすく、容易に切除、生検できる。従って、多くの腫瘍が組織学的に検索され、いろいろな腫瘍概念が形成、認識されてきた。今回は皮膚腫瘍の中でも、皮膚附属器に関連するものに焦点を当て、その臨床と病理について解説する。

腫瘍を理解するには、発生時および成熟時の正常皮膚の構造について詳しく知っておく必要がある。取り上げ

る腫瘍は以下の如くである。

毛包系腫瘍：

表皮嚢腫、軟毛嚢腫、皮膚嚢腫、脂漏性角化症、毛包腺腫、外毛根鞘腫、毛包癌 (外毛根鞘癌)、ケラトアカントーマ、毛包腫、増殖性毛包性嚢胞腫瘍、毛母腫、毛芽腫、基底細胞癌

脂腺系腫瘍：

脂腺嚢腫、脂腺腫、脂腺腺腫、脂腺癌

アポクリン・エクリン腺・管系腫瘍：

汗孔腫、汗孔癌、汗腺線維腺腫、汗腺腫、汗腺嚢胞腺腫、汗腺嚢腫、アポクリン腺腫、混合腫瘍、パジェット病、アポクリン腺癌、腺様嚢胞癌、粘液癌

(6) 犬と猫の皮膚腫瘍の臨床

永田雅彦 (ASC Animal Specialist Center 皮膚科)

犬や猫の皮膚はほぼ全身が被毛に覆われているも、その組織構造は本質的にヒトと共通している。動物においてもヒトと同様にそれぞれを原基とする腫瘍が発生し、その構造や機能的特性を反映した臨床がみられる。

表皮ケラチノサイトの良性腫瘍は外方へ増殖し、通常皮表の欠損なく境界明瞭な隆起として認められる。一方悪性腫瘍は境界不明瞭な病巣を認め、特に未分化細胞では接着構造の喪失によるびらん潰瘍を呈しやすい。毛包系良性腫瘍はその原基により臨床像が多彩であるも、孤立性の境界明瞭な隆起として認めることが多い。被覆表皮は常色ないし褐色で、疎毛や潰瘍を呈し、時に角化を伴う。脂腺系良性腫瘍は、通常皮表不整な丘疹状、乳頭

状、カリフラワー状の隆起を呈す。被覆表皮の色調は、常色、褐色、褪色、黒色と多彩である。また強固な構造を欠き外傷による出血や感染を併発しやすい。ごくまれに悪性腫瘍を認めるが、この場合局所浸潤により不整な境界を認める。汗腺系腫瘍はその部位によって深度や性状が様々であるも、良性腫瘍の多くは皮内および皮下に孤立性の境界明瞭な結節を呈する。被覆表皮はびまんないしムラのある青色ないし褐色を帯び、通常は毛を認めない。悪性腫瘍はまれであるが、高分化では不整な腫瘍、そして未分化では皮膚炎を思わせる炎症性癌を呈す。犬の皮膚メラノーマは悪性所見を有しているにも関わらず良性の挙動を示すことが多い。

(7) 犬と猫の皮膚腫瘍の病理

代田欣二 (麻布大学獣医学部 病理学研究室)

現在用いられている動物皮膚腫瘍の臨床および病理

分類や用語については、ヒトのそれと若干の違いがあ

る。また、皮膚腫瘍の原因，誘発因子についても，ヒトと動物では当然の事ながら相違が認められる。同じ診断名でも組織像に違いが認められる腫瘍もあり，比較病理学的に興味深い。

現在，動物の上皮系皮膚腫瘍の診断には下記の WHO 分類を採用しているが，WHO 分類に記載のない稀な腫瘍として，脂漏性角化症，Clear cell adnexal carcinoma，非上皮系腫瘍としてメラニン細胞由来腫瘍，肥満細胞腫，皮膚型リンパ腫，組織球増殖性疾患などが挙げられる。また，非腫瘍性嚢胞性病変，脂腺や肛門周囲腺の過形成も犬では発生頻度が高い。

—動物の皮膚上皮性腫瘍の分類（抜粋）—

1. 扁平上皮および付属器への分化を示さない上皮系腫瘍

- 1) 基底細胞上皮腫
- 2) 基底細胞癌

2. 表皮腫瘍

- 1) 良性腫瘍
 - ・乳頭腫（パピローマウイルス感染）
- 2) 悪性腫瘍
 - ・日光角化症
 - ・多中心性表皮内扁平上皮癌（ボーエン様疾患）
 - ・扁平上皮癌
 - ・基底扁平上皮癌

3. 付属器腫瘍

- 1) 毛包系腫瘍（良性・悪性）
- 2) 爪母腫瘍（良性・悪性）
- 3) 脂腺および変形腺の腫瘍（良性・悪性）
- 4) アポクリン汗腺および変形腺の腫瘍（良性・悪性）
- 5) エククリン汗腺腫瘍（良性・悪性）

4. 過誤腫

【国 際 研 究 集 会】

国際研究集会

〔 目 次 〕

1 . Cutting edge in synapse research
 (代表者：喜多村和郎 2011 年 12 月 8 日－12 月 9 日) 510

Cutting edge in synapse research

2011年12月8日－12月9日

代表・世話人：喜多村和郎（東京大学大学院医学系研究科）

所内対応者：重本隆一（脳形態解析研究部門）

- (1) Cbln1-GluD2 signaling induces dynamic axonal structural changes at the onset of cerebellar synapse formation
Aya Ito-Ishida (The University of Tokyo)
- (2) Presenilins are essential for regulating neurotransmitter release
Chen Zhang (Peking University, China)
- (3) Trafficking and Function of NMDA Receptors. A Tale of Two Receptors.
Andres Barria (University of Washington, USA)
- (4) Wiring specificity in the mouse olfactory circuits
Takeshi Imai (RIKEN, CDB)
- (5) Dendritic computation in cortical pyramidal cells
Tiago Branco (University College London, UK)
- (6) Effective coupling between synaptic inputs and axonal Na⁺ channels
Hiroshi Kuba (Nagoya University)
- (7) Co-existence of lateral and cotuned inhibitory configurations in auditory cortex
Alex Reyes (New York University, USA)
- (8) Heterogeneity and plasticity on the tonotopic map of the auditory cortex
Hirokazu Takahashi (The University of Tokyo)
- (9) Time determines the neural circuit underlying associative fear learning
Marta Moita (Instituto Gulbenkian de Ciência, Portugal)
- (10) Individual sensory synaptic inputs in mouse barrel cortex
Kazuo Kitamura (The University of Tokyo)

【参加者名】

AMANO, Taiju (Rutgers University), Barria Andres (University of Washington), Bito Haruhiko (University of Tokyo Graduate School of Medicine), Branco Tiago (University College London), Chang Wen Hsin (NIPS), Chen Zhang (Peking University), FUKAZAWA Yugo (Nagoya University School of Medicine), Hashimoto Kouichi (Hiroshima University), Hayashi Takashi (Graduate School of Medicine, University of Tokyo), Hayashi Yasunori (RIKEN), HAYASHI-TAKAGI Akiko (Faculty of Medicine, The University of Tokyo), Hirai Hirokazu (Gunma University Graduate School of Medicine), HOSOI Nobutake (Gunma University Graduate School of Medicine), HOSOKAWA TOMOHISA (RIKEN BSI), IMAI Takeshi (RIKEN Center for Developmental Biology), Irie Tomohiko (National

Institute of Health Sciences), Ishikawa Taro (Jikei University School of Medicine), Ito Shin (Tohoku University Graduate School of Life Sciences), Ito-Ishida Aya (Graduate School of Medicine and Faculty of Medicine, The University of Tokyo), Jitsuki Susumu (Yokohama City University Graduate School of Medicine), KANO MASANOBU (Graduate School of Medicine, The University of Tokyo), Kawamura Yoshinobu (Hiroshima University), Keceli Batu (NIPS), Kitamura Kazuo (The University of Tokyo), Komai Shoji (Nara Institute of Science and Technology), Kuba Hiroshi (Nagoya University), Kubota Yoshiyuki (National Institute for Physiological Sciences), LUO Hong (Tottori University), Masamizu Yoshito (National Institute for Basic Biology), Matsuo Naoki (Kyoto University), Misonou Hiroaki

(Doshisha University), Miura Yuki (Graduate School of Pharmaceutical Sciences The University of Tokyo), MIYATA Mariko (Tokyo Women's Medical Univ.), Moita Marta (Instituto Gulbenkian de Ciência, Portugal), Myeong Jeong CHOO (The University of Tokyo), Nakajima waki (Yokohama city university graduate school of medicine), Norimoto Hiroaki (Graduate School of Pharmaceutical Sciences The University of Tokyo), Nur Farehan Mohamed Asgar (NIPS), Oda Yoichi (Nagoya University), Oya daisuke (yokohama city university), Reyes Alex (New York University), Sasaki Takuya (NIPS), SHIGEMOTO Ryuichi (National Institute for Physiological Sciences), TADA Hirobumi (Yokohama City University), TAKAHASHI AOI

(Yokohama City University Graduate School of Medicine), Takahashi Hirokazu (The University of Tokyo), TANAKA YASUYO (National Institute for Basic Biology), TENG JINFENG (Graduate School of Medicine, Tokyo University), Timotheus Budisantoso (National Institute for Physiological Sciences), Tsutsumi Shinichiro (University of Tokyo), Yamagata Yoko (National Institute for Physiological Sciences), Yamane Masayuki (Yokohama city University, Graduate school of Medicine), Yamashita Naoya (Yokohama City University School of Medicine), Tanaka Yasuhiro (National Institute for Basic Biology), Yuzaki Michisuke (Sch. of Med., Keio Univ.), Amane KOIZUMI (NIPS)

【概要】

例年、生理研研究会として行われてきた「シナプス研究会」を、本年は生理研国際研究集会「Cutting Edge in Synapse Research」として2011年12月8日～9日の2日間、岡崎カンファレンスセンターにおいて開催致しました。

この研究集会では、シナプス研究における分子・細胞・システムの多階層に渡るトピックスについて9題の講演と19題のポスター発表を行いました。特に、講演者は全9名のうち5名を海外（アメリカ、中国、イギリス、ポルトガル）から招聘し、大変国際的な研究集会となりました。

「Molecular Basis of synaptic function」, 「Cellular physiology of synapses」, 「Synapse and Systems Neuroscience」の3セッション構成とし、各研究分野における気鋭の若手研究者

による講演が行われました。未発表データを含む最新の成果について発表が行われ、講演時間50分のうち半分程度を質疑応答に当てていたにもかかわらず、ほぼ全ての講演について、時間超過するほど活発かつ密度の高い議論が交わされ、シナプス研究が大変ホットな研究分野であることが実感できました。1日目の夜には懇親会が行われ、講演者と参加者、特に大学院生・ポスドクをはじめとする若手の間で交流が深まり、極めて意義深い会となりました。

研究集会は大変盛会のうちに終了し、講演者・参加者から高い評価を得ることができました。異なる視点や手法でシナプス研究を進めている研究者間で新たなネットワークが形成され、今後、世界に先駆けた研究が進展することが期待されます。

(1) Cbln1-GluD2 signaling induces dynamic axonal structural changes at the onset of cerebellar synapse formation

Aya Ito-Ishida¹, Taisuke Miyazaki², Eriko Miura³, Keiko Matsuda³,
Masahiko Watanabe², Michisuke Yuzaki³, Shigeo Okabe¹

(¹ The University of Tokyo, ² Hokkaido University, ³ Keio University)

Formation of functional synapses is achieved through bidirectional structural changes of presynaptic and postsynaptic components. Although pre-and postsynaptic differentiation must be coordinated by reciprocal interaction

across synapses, the mechanisms by which this process is regulated are not well understood. In the cerebellum, synapse formation between Purkinje cells (PCs) and parallel fibers (PFs) depends on presynaptically expressed Cbln1 and

glutamate receptor delta 2 (GluD2) in the spines. Recently, it was revealed that the tripartite protein complex formed by Cbln1, GluD2 and Neurexin serves as a unique synaptic organizer required for the formation and maintenance of the synapses *in vivo*. In the present study, we performed morphological analysis of PFs during PF-PC synapse formation *in vitro* and *in vivo*. Taking advantage of the strong synaptogenic effect of Cbln1, we performed dual time-lapse imaging of PFs and PCs to observe sequential events of synaptogenesis in the organotypic culture. We found that activation of Cbln1-GluD2 signaling induces axonal protrusions from PFs prior to the formation of presynaptic

boutons. Interestingly, PF protrusions frequently formed circular structures that encapsulated PCs spines. Immunohistochemical and electron microscopic analyses confirmed that such PF protrusions were observed in immature mouse cerebellum *in vivo* and some completely encapsulated the spines. Finally, we observed that encapsulation of the spines was associated with accumulation of postsynaptic GluD2. These findings indicate that Cbln1 released from presynaptic sites interacts with postsynaptic GluD2 to induce axonal morphological changes, which may further accumulate GluD2 to promote bidirectional maturation of PF-PC synapses by a positive feedback mechanism.

(2) Presenilins are essential for regulating neurotransmitter release

Chen Zhang (Peking University, China)

Mutations in the presenilin genes are the major cause of familial Alzheimer's disease (AD). Loss of presenilin activity and/or accumulation of amyloid- β peptides have been proposed to mediate the pathogenesis of AD by impairing synaptic function. However, the precise site and nature of synaptic dysfunction caused by loss of presenilins remain unknown. Here we employ a genetic approach to inactivate presenilins conditionally in either presynaptic (CA3) or postsynaptic (CA1) neurons of the hippocampal Schaeffer - collateral pathway. We found that long-term potentiation (LTP) induced by theta burst stimulation is decreased after presynaptic but not postsynaptic deletion of presenilins. Moreover, presynaptic but not postsynaptic inactivation of

presenilins impairs short-term plasticity and synaptic facilitation. Strikingly, depletion of endoplasmic reticulum calcium-stores by thapsigargin or inhibition of calcium - release from these stores by ryanodine receptor inhibitors mimics and occludes the effects of presynaptic presenilin inactivation. Collectively, these results reveal a selective role for presenilins in the activity-dependent regulation of neurotransmitter release and LTP induction via modulation of intracellular calcium-release in presynaptic terminals, and further suggest that presynaptic dysfunction might be an early pathogenic event leading to dementia and neurodegeneration in AD.

(3) Trafficking and Function of NMDA Receptors. A Tale of Two Receptors.

Andres Barria (University of Washington, USA)

NMDA-type glutamate receptors are major components of glutamatergic synapses. Unique properties, including calcium permeability, allow the NMDA-Rs to play a critical role during maturation of functional neuronal circuits, synaptic plasticity -a cellular model of learning and memory-, and

neuropathology. Not surprisingly, the number and properties of NMDA-Rs present at synapses must be well controlled in order to regulate calcium influx and signaling cascades associated with the receptor and its activation. Number and subunit composition of synaptic NMDA-Rs are dynamically

regulated by synaptic activity and different neuromodulators, including members of the Wnt-ligand family. Thus, the threshold necessary for induction of synaptic plasticity can be rapidly regulated and adjusted to the recent history of synaptic activity. Subunit composition of NMDA-Rs regulates biophysical aspects of the channel as well as interactions with signaling complexes and scaffolding proteins that compose the postsynaptic density. Recently, we have described that NR2B subunit increases spine dynamics and is necessary for

proper synaptogenesis. In contrast NR2A subunit, decreases spine dynamics and decreases the rate of synapse formation. These effects are not due to different ionotropic properties of NR2 subunits, but to their different carboxyl-termini, and in particular to their differential interaction with CaMKII. These findings highlight the structural role that NMDARs play in recruiting appropriated components of glutamatergic synapses.

(4) Wiring specificity in the mouse olfactory circuits

Takeshi Imai (RIKEN, CDB)

In the mouse olfactory system, odorants are detected by ~1,000 types of olfactory sensory neurons, each expressing a single type of odorant receptor (OR). Olfactory sensory neurons expressing a given type of OR converge their axons to a pair of glomeruli in stereotypical locations in the olfactory bulb. Thus, the receptor-topic olfactory map is formed in the olfactory bulb. We have previously reported that OR-derived cAMP signals control anterior-posterior (A-P) coarse targeting of axons through the transcriptional regulation of axon guidance molecules, Neuropilin-1 and Semapholin3A. This cAMP signaling is distinct from that for odorant recognition mediated by Golf. We found that cAMP signals for axonal projection is driven by another stimulatory G protein, Gs. In a reconstituted assay system, ORs generated high constitutive activities with Gs, but not with Golf, suggesting that OR constitutive activity may control axonal wiring specificity.

In the olfactory bulb, inputs to a single glomerulus are relayed to 20-50 second-order neurons, mitral and tufted (M/T) cells. It has remained unclear whether the odor information processing is redundant or independent among these “sister” M/T cells. We established a method to visualize the wiring diagram of sister M/T cells innervating a common glomerulus. We could visualize the entire neuronal processes from olfactory bulb through the olfactory cortex. In the olfactory bulb, sister M/T cells receiving excitatory inputs from a common glomerulus showed variable pattern of lateral dendrites, suggesting that sister cells are differentially inhibited by surrounding glomerular inputs. In the piriform cortex, each sister cells showed non-stereotyped and random axonal projection profiles. Our findings support the idea that each sister cells independently process and transfer the combinatorial odor information to the piriform cortex.

(5) Dendritic computation in cortical pyramidal cells

Tiago Branco (University College London, UK)

Cortical pyramidal neurons receive thousands of synaptic inputs, arriving at different dendritic locations with varying degrees of temporal synchrony and in different sequences. Using electrophysiological recordings combined with

two-photon glutamate uncaging, calcium imaging and compartmental modeling, we tested how different regions along single cortical dendrites integrate excitatory inputs, and whether they are sensitive to the sequence of synaptic

activation. We found that basal and apical oblique dendrites have a gradient of non-linear synaptic integration, whereby proximal inputs sum linearly and require precise temporal coincidence for effective summation, whereas distal inputs are amplified with high gain and integrated over broader time windows. The mechanism involves dendritic impedance gradients and non-linear synaptic NMDA receptor activation,

and also confers high sensitivity to the temporal input sequence, allowing dendrites to efficiently discriminate different sequences of synaptic activation. Pyramidal cell dendrites can thus exhibit multiple computational strategies in a single branch, and act processing compartments for detection of synaptic sequences, implementing a fundamental cortical computation.

(6) Effective coupling between synaptic inputs and axonal Na⁺ channels

Hiroshi Kuba (Nagoya University)

Localization of sound sources requires detecting a difference in sound arrival times between two ears (interaural time difference, ITD). In avian species, temporal information of sounds is carried by auditory nerve to nucleus magnocellularis (NM) and relayed to bilateral nucleus laminaris (NL). Projection fibers of NM neurons form delay lines, while NL neurons act as coincidence detectors of bilateral synaptic inputs. Consequently, each ITD is encoded as a place of the most active neuron within NL. In NM and NL, neurons are tuned to a specific frequency of sounds (characteristic frequency, CF) and arranged tonotopically

within the nuclei. Our recent studies in chicken brain slices have revealed that these neurons are specialized in their biophysical properties, including types of ion channels expressed, their number and location along the tonotopic axis, which enables the neurons to calculate ITDs with high acuity at each CF. Axon initial segment accumulates Na⁺ channels and initiates spikes in most neurons. The CF-specific distribution of Na⁺ channels at the axon initial segment in NM and NL neurons optimizes the signal processing of these neurons.

(7) Co-existence of lateral and cotuned inhibitory configurations in auditory cortex

Alex Reyes (New York University, USA)

The responses of neurons in primary auditory cortex (AI) depend on the summation of excitatory (*E*) and inhibitory (*I*) synaptic inputs. How the *E* and *I* inputs scale with stimulus depends on the network architecture, broadly classified either as the lateral inhibitory network (LIN) where the *E* inputs are more narrowly tuned than the *I* inputs, or the co-tuned network (CON) where the both are tuned equally. The underlying circuitry that gives rise to the CON and LIN is yet unclear. We use a combination of experiments and computer

simulations to show that the *same E-I* network gives rise to both. By changing the spatial extent of the input to the network, we show that the spatial extent of the input determined the configuration: LIN when the input was narrow and CON when broad. Coexistence of both configurations permits multiple operational modes, enabling the auditory cortex to process a wide range of stimuli under a variety of conditions.

(8) Heterogeneity and plasticity on the tonotopic map of the auditory cortex

Hirokazu Takahashi (The University of Tokyo)

Functional units for neural computation seem to be heterogeneous at all the level of hierarchy from individual neurons to entire brain. Such heterogeneity would be advantageous to achieve energy efficient computation. In the present study, we investigate in the auditory cortex of anesthetized rats how neural responses are heterogeneous across tonotopic columns, i.e., functional units in a place code of frequency, and how this heterogeneity alters through appetitive operant auditory training that induces map plasticity. At each recording site, mutual information (MI) between spike counts and test tone frequency was estimated from multi-unit responses. Consequently, we found that MI

was more variable in high BF columns than in low BF columns, suggesting that BF columns are heterogeneous, i.e., each BF column encodes a stimulus in different manners. In addition, training-induced map plasticity was associated with altered MI distribution such that MI variability increased in overrepresented columns, whereas decreased in underrepresented columns. Thus, the tonotopic map and plasticity in the auditory cortex is closely correlated with heterogeneity of neural responses. Moreover, each tonotopic column is likely to obtain heterogeneity on demand according to training and experience when serving as a functional unit of neural computation.

(9) Time determines the neural circuit underlying associative fear learning

Marta Moita (Instituto Gulbenkian de Ciencia, Portugal)

Ultimately associative learning is a function of the temporal features and relationships between experienced stimuli. Nevertheless how time affects the neural circuit underlying this form of learning remains largely unknown. To address this issue, we used single-trial auditory trace fear conditioning and varied the length of the interval between tone and foot-shock. Through temporary inactivation of the amygdala, medial-prefrontal cortex (mPFC) and dorsal-hippocampus in rats, we tested the hypothesis that different temporal intervals between the tone and the shock influence the neuronal structures necessary for learning. We show for the first time that the amygdala is critically involved in the acquisition of auditory fear learning when there is a temporal gap between the tone and the shock. Moreover, imposing a short interval (5 s) between the two stimuli also recruits the medial pre-frontal cortex (mPFC), while learning the association across a longer interval (40 s) becomes additionally dependent on a third structure, the dorsal-hippocampus. Thus, our results show that

increasing the interval length between tone and shock leads to the requirement of an increasing number of brain areas for the association between the two stimuli to be acquired. Since the hippocampus is required only when longer trace intervals were used, and as it is involved in episodic memory formation (i.e. coding of events in their spatio-temporal context), we hypothesized that the hippocampus is bridging the tone and shock by associating them to the same spatial context. To test this, we overexposed rats to the training environment, a manipulation that blocks the formation of an association between the context and shock delivery. We found that overexposure to the training context decreases fear of the tone to the same degree as hippocampal inactivation in the normal training paradigm, and that inactivating this structure in overexposed rats had no effect. These results suggest that indeed the hippocampus contributes to trace fear conditioning using contextual learning.

(10) Individual sensory synaptic inputs in mouse barrel cortex

Kazuo Kitamura (The University of Tokyo)

Neurons integrate thousands of synaptic inputs into spike output, and understanding the mechanism of this single neuronal computation is one of the most fundamental questions in neuroscience. To address this question, it is critical to uncover the spatiotemporal patterns of individual synaptic inputs in the intact brain. We used whole-cell patch-clamp recordings in combination with two-photon calcium imaging to visualize individual sensory synaptic inputs to layer 2/3 pyramidal neurons in the barrel cortex of mouse. Both spontaneous and sensory-evoked synaptic inputs were very sparse, consistent with the very low firing rate in

layer 4 and 2/3 neurons in the barrel cortex. We found that the spatiotemporal patterns of synaptic inputs were highly heterogeneous; 1) both spontaneous and sensory-evoked inputs tended to be locally clustered, 2) vast majority of sensory inputs were assigned to a small fraction of spines. The results indicate that functionally coupled neurons, which are synaptically connected or receiving common inputs, tend to innervate nearby spines. Co-activation of nearby spines might be an efficient way for integrating synaptic inputs from a given sensory stimulus.

【 特別プロジェクト 】

特別プロジェクト

〔 目 次 〕

1. ドレブリンノックアウトマウスを用いた神経細胞及び筋細胞の解析	
(梶田裕貴ほか)	520
2. 青斑核ノルアドレナリン神経が黒質・線条体系の機能とパーキンソン病の病態に及ぼす影響	
(井樋慶一ほか)	520
3. 小脳のオリゴデンドロサイトの発生機構の解析	
(成瀬雅衣)	521
4. ニューロングリア機能連関の分子機構解明	
(柴崎貢志)	521
5. Rho GTPase シグナル伝達系の高次脳機能における役割の解析	
(小林憲太ほか)	522
6. 脊髄損傷マーモセットを用いた大脳皮質一次運動野の同定および 神経トレーサーの注入による皮質脊髄路の可視化	
(吉野紀美香ほか)	522
7. GnRH ニューロンにおける興奮性 GABA 入力の影響	
(渡部美穂ほか)	523
8. 神経幹細胞に対するアラキドン酸とドコサヘキサエン酸の効果の解析	
(大隅典子ほか)	524

1. ドレブリンノックアウトマウスを用いた神経細胞及び筋細胞の解析

梶田裕貴, 白尾智明 (群馬大学大学院医学系研究科神経薬理学神経薬理学)

ドレブリンは神経組織や筋組織などの発生に関連して発現する蛋白質である。これらの組織におけるドレブリンのはたらきを知るために、ドレブリン遺伝子の相同組み換えによるノックアウトマウスを作製した。ノックアウトマウス組織のウェスタンブロット解析やRT-PCRではドレブリン蛋白, mRNAの欠損が確認された。ドレブリンアイソフォームのうち胎生期より発現するのはドレブリンEである。ドレブリンEは筋細胞の分化に伴って発現することがわかっている。また脳においても発達期にある神経細胞で多く発現している。これらの組織での組織化学的解析を行なうことによりドレブリンE欠失の効果を調べた。まず、骨格筋組織、心筋のヘマトキシリンエオジン染色像には特に目立った形態異常は認められなかった。同様に成体脳においても形態異常も認められなかった。

次にドレブリンEが多く発現する成体脳の新生ニューロンに注目した。成体脳においても海馬歯状回及び、脳室下帯など限られた部位でニューロンの新生が起こることが知られている。海馬歯状回での新生ニューロンは顆

粒細胞層の神経回路に組み込まれ、学習や記憶などに重要な役割を持っていると考えられている。脳室下帯で作られた新生ニューロンは吻側移動経路(RMS)を通り、嗅球へ移動し、そこで顆粒細胞へ分化して嗅覚の情報処理にはたらく。これまでの研究で、脳室下帯の新生ニューロン細胞体には、ドレブリンEが多く発現することがわかっている。ドレブリンノックアウトマウスを深麻酔後、灌流固定を行い、固定脳を凍結後、前顎断で凍結切片を作成し、幼若神経細胞のマーカーである抗ダブルコルチン(DCX)抗体で新生ニューロンを標識した。陽性細胞数を比較したところ、DXKOマウスのRMSで、有意に少ないことがわかった。海馬歯状回や脳室下帯での陽性細胞数に差がないことから、ドレブリンEは新生ニューロンの分裂、増殖や生存、には関与していないと考えられる。また、海馬歯状回の各切断部位での差も見られないことから、新生ニューロンの分化にも関与していないと考えられる。よって、RMSにおいて、DCX陽性細胞数の減少が見られたことは、ドレブリンEが新生ニューロンの移動速度に関係している可能性を示唆する。

2. 青斑核ノルアドレナリン神経が黒質・線条体系の機能とパーキンソン病の病態に及ぼす影響

井樋慶一 (東北大学 情報科学研究科 情報生物学分野)
佐野裕美, 南部 篤 (生理学研究所 生体システム研究部門)

Itoiらは最近、ドパミンβ-水酸化酵素プロモーター下にヒトインターロイキン2受容体α(hIL-2α)を発現させた transgenic mouse 青斑核(LC)にイムノトキシン(抗hIL-2Rα抗体Fc領域-緑膿菌体外毒素キメラ蛋白)を注入し、LC選択的NAニューロン破壊マウスを作成した(Itoi et al, J Neurosci, 31, 6132-6139, 2011)。このマウスを用いLC-NAニューロンが黒質・線条体系の機能とパーキンソン病の病態に及ぼす影響を検討する。

マウスは福島県立医大、小林和人博士から供与され、所定の手続きを経て東北大学動物実験センターで飼育・繁殖中であったが、東日本大震災で実験施設の稼働が困

難となり、施設復旧までの間、自然科学機構生理学研究所に供与され、ここで繁殖と系統維持が行われたものである。

生理研で行われた実験内容は以下のとおりである：

1. 東北大から搬入されたDBH-hIL2Rα (+/-) マウスを用い体外受精を行い、得られた仔マウスを代理母で哺乳し生育させる。
2. このようにして得られたDBH-hIL2Rα (+/-) マウスを野生型マウス(C57BL6N)と交配し児を得る。
3. 生後3週時に尾からDNAを採取し、PCR法を用いて核型を判別する。

4. このマウスはノルアドレナリンによる黒質・線条体系の機能修飾についての研究に有用なリソースなので、生理研南部研究室で繁殖を続け井樋との共同研究を行う。

5. 繁殖されたマウスは 2012 年 4 月東北大学医学系研究科附属動物実験施設に再度搬入され、震災で中断された東北大での実験が再開された。

3. 小脳のオリゴデンドロサイトの発生機構の解析

成瀬雅衣（群馬大学大学院医学系研究科 分子細胞生物）

オリゴデンドロサイトの発生様式は、脊髄、前脳でよく知られており、発生初期に Shh によって誘導されるオリゴデンドロサイト前駆細胞が腹側脳室層から産生され、発生後期には Shh に非依存的なオリゴデンドロサイト前駆細胞が背側部の脳室層から産生される。これらオリゴデンドロサイト前駆細胞は移動した後に軸索との interaction などによって成熟化する。一方で、小脳のオリゴデンドロサイトの発生様式は未解明な部分が多く、小脳脳室層から産生される可能性や、または小脳外から侵入する可能性など様々な報告がある。我々は生後発達期の小脳白質に神経幹細胞が存在する事に着目し、これら神経幹細胞からのオリゴデンドロサイトの産生機構に関して研究をおこなった。これまでアストロサイト前駆細胞のマーカーとされていた CD44 を発現する細胞を哺乳 3 日齢のマウス小脳から単離すると、神経幹/前駆細胞様の性質を持つ細胞が回収できた。これらの細胞は既存のオリゴデンドロサイトの培養に用いられる因子には反応せず FGF-2 によって増殖しオリゴデンドロサイトへ分化することが明らかになった。また、autoMACS を用い生後 7 日齢のマウス小脳より CD133 を指標に細胞を回

収すると自己複製能と多分化能を持つ神経幹細胞が単離できる。興味深い事にこの神経幹細胞は 90%以上がアストロサイトへ分化した。さらにオリゴデンドロサイト前駆細胞の増殖や分化に作用する PDGF, T3, FGF-2 などを添加してもオリゴデンドロサイトへは分化しなかった。しかしながらこの神経幹細胞を移植により小脳白質へ戻すと、半数近い細胞がオリゴデンドロサイトへ分化し未知のオリゴデンドロサイトへの分化誘導機構が存在する事が示唆された。そこで、これら神経幹細胞と小脳の有髄線維である橋核由来の苔状線維、プルキンエ細胞、さらに大脳皮質の神経細胞と共培養したところ、苔状線維と接触した神経幹細胞の一部はオリゴデンドロサイトへと分化した。一方で、プルキンエ細胞と接触した神経幹細胞はオリゴデンドロサイトへもアストロサイトにも分化しなかった。また、大脳皮質の神経細胞と共培養した神経幹細胞は多くがアストロサイトへと分化した。以上より小脳では白質に位置する神経幹細胞から他の領域とは異なるメカニズムでオリゴデンドロサイトの subpopulation が産生される可能性が示唆された。

4. ニューロングリア機能関連の分子機構解明

柴崎貢志（群馬大学大学院医学系研究科分子細胞生物学分野）

2011 年 3 月 11 日に発生した東日本大震災により、東北地域を中心に甚大な被害に見舞われた。前橋市の群馬大学医学部では建物の被害には見舞われなかった。しかしながら、大学事務部が実施する計画停電に伴い、1 日に 8 時間以上電力供給がシャットアウトされることが頻繁に続き、研究の遂行が不可能になった。今回、生理学

研究所の被災地支援プロジェクトにより、1 ヶ月近くの間、受け入れて下さったおかげで、研究活動を継続することが出来た。この紙面を借りて、心より御礼を申し上げる。

中枢神経系には神経細胞だけでなく、神経細胞の数倍のグリア細胞が存在する。このようなグリア細胞は神経

細胞と機能連関していると想定され、近年の研究で、積極的に神経情報伝達に貢献することがわかってきた。しかしながら、グリア細胞を用いた研究の進展は、神経研究に比べるとまだまだ発達段階にあり、グリア細胞の機能解析・分子レベルの研究の推進が急務である。

本被災地支援プロジェクトに伴う滞在中は、発生期小脳をモデルとして、神経幹細胞からオリゴデンドロサイトへの分化メカニズムを解析した。生後1週目のEGFP-Tgマウス小脳からMACSを用いて調製したCD133陽性細胞を群馬大学から持ち込み、実験を行った。*In vitro*において、この細胞はEGF存在下に増殖し、神経幹細胞様の性質を示すことを見いだしている。この細胞は、多分化能を有するものの、デフォルトでアストロサイトへ分化しやすい細胞であることを突き止めた。ところが、*ex vivo*の移植実験では、半数がアストロサイトに分化したものの、残りの半数はオリゴデンドロサイト

へと分化する結果を得た。これらの結果より、前述した*in vitro*実験ではオリゴデンドロサイト分化因子が欠失していたために選択的にアストロサイトへと分化したことが考察された。つまり、小脳白質にCD133陽性細胞をオリゴデンドロサイトへと分化させる何らかの因子が存在すると考えられた。

そこで、CD133陽性細胞と小脳白質を構成している様々な細胞を共培養し、その因子の同定を試みた。小脳橋核(苔状線維)、プルキンエ細胞、顆粒細胞、アストロサイトとの共培養を行い、どの細胞との共培養に伴い、オリゴデンドロサイトへの分化が促進するのかを検討した。

本研究結果を含む内容は現在学術論文に投稿中である。震災後に、スピーディーに受け入れをして下さった富永真琴教授、池中一裕教授をはじめ、関係者の方々に感謝致します。

5. Rho GTPase シグナル伝達系の高次脳機能における役割の解析

小林憲太, 小林和人 (福島県立医科大学医学部 附属生体情報伝達研究所 生体機能研究部門)
等 誠司, 池中一裕 (生理学研究所 分子神経生理研究部門)
佐野裕美, 南部 篤 (生理学研究所 生体システム研究部門)

特定の神経経路における Rho-GTPase シグナル伝達系の役割の解析を行うため、新たに開発した逆行性遺伝子導入ベクター (FuG-C レンチウイルスベクター) と、従来型の VSV-G レンチウイルスベクターの Maus 神経幹細胞への遺伝子導入効率を比較検討した。neurosphere 法を用いて GFP を導入することにより遺伝子導入効率を比較検討した結果、FuG-C レンチウイルスベクターは、VSV-G レンチウイルスベクターと比較して、神経幹細胞への遺伝子導入効率が顕著に低下していることが明らかになった。

かになった。

(発表論文)

Neuron-specific gene transfer through retrograde transport of lentiviral vector pseudotyped with a novel type of fusion envelope glycoprotein.

Kato S, Kuramochi M, Tkasumi K, Kobaashi K, Inoue K, Takahara D, Hitoshi S, Ikenaka K, Shimada T, Takada M, Kobayashi K.

Hum Gene Ther, 22 (12) : 1511-1523, 2012.

6. 脊髄損傷マーモセットを用いた大脳皮質一次運動野の同定および神経トレーサーの注入による皮質脊髄路の可視化

吉野紀美香, 近藤崇弘 (慶應義塾大学・医学部・生理学教室)
西村幸男, 伊佐 正 (生理学研究所 認知行動発達機構研究部門)

所属研究室ではこれまで、脊髄損傷モデルをマーモセ

ットで作成し、軸索再生阻害因子の阻害剤等の薬剤や細

胞移植などの脊髄損傷に対する治療法の開発を行ってきた。これまで、治療効果は運動機能の回復及び神経の可塑的变化をイメージングや形態学的方法で追跡する方法で評価してきたが、新生軸索などの機能回復メカニズムをより詳細に追跡する為には、電気生理学的なアプローチと解剖学的アプローチによる大脳皮質-脊髄運動ニューロン間の結合様式を明らかにする必要がある。一方、実験動物としては比較的新しいマーモセットではこれまで、大脳皮質-脊髄運動ニューロン間の結合様式は不明な点が多かった。

そこで、本研究はマーモセットの大脳皮質-脊髄運動ニューロン間の結合様式を明らかにするために、ケタミン麻酔下で皮質内微小電極刺激法 (ICMS) により、大脳皮質運動野の体部位再現を同定し、運動閾値の低い皮質

領域に対して、順行性の神経トレーサーである Biotinylated Dextran Amine を注入し、上肢の脊髄運動ニューロンが分布する頸髄における皮質脊髄路の投射様式を検討した。脊髄白質における軸索の分布は、トレーサーを注入した M1 に対して対側の背側側索部がもっとも多く、同側の背側側索及び後索にも少数の軸索が認められた。脊髄白質における軸索の分布は、手指の運動ニューロンが存在する第 8 頸髄の Rexed 第 IX 層では、まれに少数の軸索の投射がみられた。新世界サルのマーモセットは、旧世界サルのマカクサルに比較して、手指の巧緻性の低いことが知られており、おそらく、手指の運動ニューロンへの皮質脊髄投射の少なさを反映しているのではないかと考えられた。

7. GnRH ニューロンにおける興奮性 GABA 入力役割

渡部美穂（群馬大学先端科学研究指導者育成ユニット）

鍋倉淳一（生理学研究開発生理学研究系生体恒常機能発達機構研究部門）

成熟動物の脳内において主要な抑制性伝達物質である γ -アミノ酪酸 (GABA) が発達期や傷害時には興奮性伝達物質として働くことが近年注目されている。GABA が興奮性であるか抑制性であるかは細胞内 Cl^- 濃度により決定される。生殖内分泌調節において重要な働きを持つ生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) ニューロンでは、成熟動物においても GABA が興奮性に作用していることを我々はこれまでに明らかにしてきた。生殖機能は視床下部-下垂体-性腺軸を中心とした複雑な神経内分泌機構により維持されているが、GnRH ニューロンは下垂体からの黄体形成ホルモン分泌を制御し、この軸の中心を担っている。GnRH ニューロンが正常に機能することがいかに重要であるかは明らかであるが、その機能制御メカニズムについては未だに十分に解明されていない。

本年度は、神経機能における GABA 興奮性作用の役割について個体レベルで明らかにするために、GABA 応答の興奮/抑制を時空間的に限定して可逆的に行うことができる遺伝子改変マウスを作出した。作出した遺伝子改変マウスで、時期特異的、部位特異的に GABA 応答を抑制性にすることが出来ることを確認できた。また、GnRH ニューロンでも、GABA 応答を抑制性に变化させることが出来た。今後は、GnRH ニューロンで GABA の作用を興奮性から抑制性に变化させた時に、排卵や妊娠、性周期に変化がみられるか検討していく。また、GnRH ニューロンは嗅粘膜と鋤鼻期に由来し、胎生期に脳に入り、視床下部まで移動し定着することが知られているが、GnRH ニューロンの移動のメカニズムにおける GABA 興奮性作用の役割についても明らかにしていく。

8. 神経幹細胞に対するアラキドン酸とドコサヘキサエン酸の効果の解析

大隅典子, 酒寄信幸 (東北大学大学院医学系研究科)

等 誠司 (生理学研究所)

哺乳類の脳の発達過程において, 神経幹細胞の増殖や分化は厳密に制御され, 必要十分な神経細胞・グリア細胞が適切なタイミングで産生されている。神経幹細胞の増殖・分化の制御のメカニズムについて, 各種成長因子やサイトカイン, あるいは転写制御因子に関する研究が進んできた。しかしながら, 脳に多量に存在する脂肪酸の影響については, 解析が遅れている。協同研究者の大隅らは, ラット胎仔脳由来の神経幹細胞の培養系において, アラキドン酸 (ARA) またはドコサヘキサエン酸を添加し, 増殖能と分化能を評価することにより, これらの脂肪酸の神経幹細胞への影響を解析している。本研究ではこの研究を発展させ, マウス成体脳由来の神経幹細胞に対する脂肪酸添加の効果を解析した。さらに,

ARA の代謝を担う酵素であるシクロオキシゲナーゼや, これら脂肪酸の細胞内における運搬を担う脂肪酸結合タンパク質の神経幹細胞における機能についても解析している。

マウス成体脳側脳室下帯由来の神経幹細胞に ARA を添加し, その増殖能に対する効果を BrdU を取り込ませることにより解析した。ARA $10^{-5} \sim 10^{-8}$ M において, BrdU を取り込んだ細胞の割合に変化はなかった。以上の知見から, ARA はマウス成体脳側脳室下帯における神経幹細胞の増殖能に対し効果はもたないと考えられる。

現在は ARA が神経幹細胞の分化に及ぼす影響について解析を行っている。

【 各種シンポジウム 】

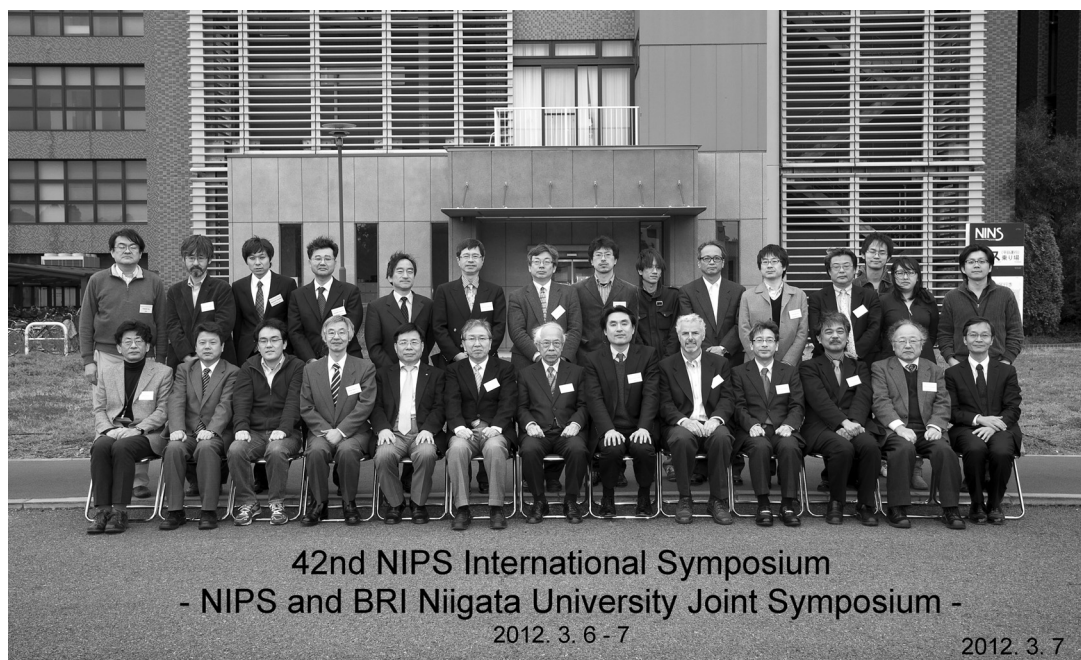
平成 23 年度生理研国際シンポジウム

42nd NIPS International Symposium
 - NIPS and BRI Niigata University Joint Symposium -
 “Advanced Research Areas for the Future Breakthrough in Neuroscience”

第 42 回生理研国際シンポジウムとして新潟大学脳研究所と共催で、「Advanced Research Areas for the Future Breakthrough in Neuroscience (明日の脳科学を拓く新領域)」(生理研担当者：池田一裕教授)が、2012 年 3 月 6、7 日の 2 日間、山手キャンパス大会議室他において開催された。本シンポジウムは、脳科学研究の推進における大学共同利用機関及び共同利用・共同研究拠点としての生理研と新潟大学脳研究所の活動について紹介し、将来的な共同利用・共同研究のさらなる活性化に向けて議論を行う目的で実施した。生理研、新潟大学脳研究所からは各 5 名の共同利用に関わる研究者が講演を行った。また、米国、韓国からも両国の共同研究の推進に関わっておられる研究者を招聘し特別講演を実施した。生理研のメンバーを含む脳科学を専門とする研究者・学生を中心に、60 名の参加者による活発な意見が交わされた。

講演は大きく分けて、1. Advanced Mouse Model, 2. Biological Fluctuations, 3. Advanced Analysis for Alzheimer's Disease, 4. Advanced Molecular Imaging, 5. Brain Imaging の 5 つのトピックスを対象としたセッションとし、両研究所の特徴である、齧歯類のモデル動物を利用した新しい研究手法、ヒト脳バンクを活用した疾患研究、分子レベルの新しい解析手法、最新の脳機能イメージングを用いた研究など、今後の脳科学研究に不可欠な研究内容について紹介する構成となっている。また、新たに機構内連携として実施されている自然科学研究機構プロジェクト「機能生命科学における揺らぎと決定」について、セッション 2 で現状の紹介を行った。また、1 日目の夕方には、生理研と新潟大学脳研究所の若手研究者を中心としたポスターセッションを実施し、研究現場での具体的な事例を紹介しつつ、共同研究の進め方などについて議論を行った。

人体の基礎生理学を中心とした生理研と神経疾患の臨床医学を元にした新潟脳研究所の研究実績を同時に発表や議論を行った本シンポジウムは、性格の異なる両研究所の相互理解を格段に深め、また、基礎生理学と臨床医学との間で有効な共同研究の可能性が見出される場を提供でき、今後の両研究所の連携や基礎と臨床を関連付けた共同利用・共同研究の取り組みにとって有意義であった。



**42nd NIPS International Symposium
- NIPS and BRI Niigata University Joint Symposium -
“Advanced Research Areas for the Future Breakthrough in Neuroscience”**

March 6 (Tue) - 7 (Wed), 2012

Yamate Conference Room, Seminar Room, Okazaki, Japan

INational Institute for Physiological Sciences (NIPS) is an inter-university research institute for research and education on human physiology. On the other hand, The Niigata University Brain Research Institute (BRI) is a Joint Usage / Research Center for the specific purpose of conducting basic neuroscientific research and clinical applications thereof to brain and brain-related disorders. Various cutting-edge approaches for basic neurophysiology and clinical medicine were discussed in the NIPS and BRI Niigata University Joint Symposium. It was interesting to pick up wide range of topics such as candidate disease genes, functional molecules, in-vivo neuron-glia interaction, brain imaging of healthy person and patient, social behavior, etc. Thus participants have understood both institutes from a multilateral standpoint.

During a two-day symposium, the following five topics have been discussed.

1. Advanced Mouse Model
2. Biological Fluctuations
3. Advanced Analysis for Alzheimer's Disease
4. Advanced Molecular Imaging
5. Brain Imaging

March 6 (Tue)

Welcome Remarks

Yasunobu Okada (Director-General, National Institute for Physiological Sciences)

Session I: Advanced Mouse Model Chair: Akiyoshi Kakita, BRI Niigata Univ.

“Systematic generation of gene manipulated mice using C57BL/6 ES cell RENKA”

Kenji Sakimura (Basic Neuroscience Branch, Department of Cellular Neurobiology, BRI Niigata Univ.)

“GABA accelerates the migration of cortical interneurons in vivo”

Junichi Nabekura (Section of Multiphoton Neuroimaging, Center for Brain Experiment, NIPS)

Session II: Biological Fluctuations Chair: Kazuhiro Ikenaka, NIPS

“Regulatory role of hypothalamic AMP-kinase in food selection behavior”

Yasuhiko Minokoshi (Section of Metabolic Physiology, Center for Genetic Analysis of Behavior, NIPS)

(Special Lecture)

“Molecular regulation of voltage-gated ion channel expression, localization and function in mammalian brain neurons”

James S. Trimmer (University of California, Davis)

Session III: Advanced Analysis for Alzheimer's Disease Chair: Keiji Imoto, NIPS

“Molecular dissection of Alzheimer's disease (AD) pathogenesis by analysis of familial AD-linked molecules”

Takeshi Ikeuchi (Center for Transdisciplinary Research, BRI Niigata Univ.)

“Genomics of Alzheimer disease”

Ryozo Kuwano (Department of Molecular Genetics, Center for Bioresource-based Researches, BRI Niigata Univ.)

(Special Lecture)

“Preventive and therapeutic effects of intravenously injected adipose-derived stem cells in Alzheimer’s disease and advanced human brain imaging in neurodegenerative diseases”

Yoo-Hun Suh (Seoul National Univ.)

Poster Session & Reception

March 7 (Wed)

Session IV: Advanced Molecular Imaging Chair: Ryuichi Shigemoto, NIPS

“High voltage electron microscopy for biological specimens”

Kazuyoshi Murata (Section of Brain Structure Information, Supportive Center for Brain Research, NIPS)

“Axonal distribution of lipids revealed by imaging mass spectrometry”

Mitsutoshi Setou (Division of Neural Cell Structure, Department of Cell Physiology, NIPS)

Session V: Brain Imaging Chair: Hitoshi Takahashi, BRI Niigata Univ.

“Surgical Pathologic Features of Epileptogenic Lesions”

Akiyoshi Kakita (Department of Digital Medicine, Center for Integrated Human Brain Science, BRI Niigata Univ.)

“Dynamics of water in brain: focusing on ischemic edema”

Hironaka Igarashi (Department of Biological Magnetic Resonance, Center for Integrated Human Brain Science, BRI Niigata Univ.)

“Inter-individual neural synchronization during eye-contact and joint attention”

Norihiro Sadato (Section of Brain Function Information, Center for Brain Experiment, NIPS)

Closing Remarks

Hitoshi Takahashi (Director, Niigata University Brain Research Institute)

【トレーニングコース】

第 22 回生理科学実験技術トレーニングコース

“生体機能の解明に向けて” —分子・細胞レベルからシステムまで—

2011 年 7 月 25 日－8 月 6 日

担当：定藤規弘（心理生理学研究部門）

【概要】

生理学研究所のトレーニングコースは、今年で 22 回目を迎え、大学院生やポストドクレベルの広い分野からの若い研究者が、生理科学における実験技術を学ぶ場として完全に定着した感がある。本年度は研究棟の耐震改修工事に伴い、開催の難しいコースもあったが、各部門の努力により受講希望者の数やコースの内容に例年に比べて大きな変化はなく、127 名の参加者を得て、好評のうちに終了することができた。本年も実習内容に関する満足度は極めて高く、アンケートにおいては「満足した」という回答が 96%を占めた。またトレーニングコースをきっかけとして、研究者間の交流が始まったり深まったりすることによって、共同研究に発展することも頻繁に認められる。このことは、生理学研究所の大学共同利用機関としての使命を果たしていく上でも、トレーニングコースが既に重要な位置づけを持っていることを示している。今後とも我が国における最先端の生理科学実験技術の普及、生理学研究のレベル向上、新たな共同研究の促進に、生理学研究所のトレーニングコースは大きな役割を果たしていくものと考えられる。

【講演】

受講者全員を対象とする講演：大脳皮質ニューロンタイプと局所・遠隔回路結合

川口泰雄（生理学研究所・大脳神経回路論研究部門）

【実習内容】

- (1) in vitro 発現系を用いたイオンチャネル・受容体の機能解析
- (2) 組織からの蛋白質複合体精製と質量分析による蛋白質同定
- (3) 免疫電子顕微鏡法
- (4) ジーンターゲットマウス作製の基礎から応用へ
- (5) パッチクランプ法
- (6-1) スライスパッチクランプ法
- (6-2) スライスおよび in vivo ブラインドパッチクランプ法
- (7) ゼブラフィッシュを用いた神経回路機能の解析
- (8) 麻酔下動物での急性電気生理実験
- (9) 慢性動物実験法入門
- (10) ポリアクリルアミドゲル中の目的タンパク質に修飾されている糖鎖の解析
- (11) 脳磁図によるヒト脳機能研究の基礎
- (12) ヒト脳機能マッピングにおけるデータ解析入門
- (13-1) 生理学実験のための電気回路・機械工作・プログラミング(1)
(生体アンプとバスチェンバーの作製)
- (13-2) 生理学実験のための電気回路・機械工作・プログラミング(2)
(C 言語による PIC プログラミング)
- (14) 超高压電顕トモグラフィ

各コースのさらに具体的な内容に関しては、以下を参照されたい。

<http://www.nips.ac.jp/training/2011/courses/syukai.html>

トレーニングコース終了時には、例年参加者からアンケートをいただいている。以下 URL に最近 5 年間のアンケートの主な質問項目に対する回答結果の集計を示す。ほとんどの項目について、毎年似かよった結果が出ており非常に安定した高評価を得ている。具体的なコメントについても公開されている。

<http://www.nips.ac.jp/training/2011/TC2011Q.pdf>

【アンケート結果】 受講者 127 名，うち回答者 122 名（回収率 96%）

【 セ ミ ナ ー 報 告 】

セミナー報告

1. 「Ca²⁺ナノドメイン」を介する細胞容積センサー外向整流性アニオンチャネル (VSOR) 活性化機構とその意義についての展望

秋田天平 (機能協同研究部門)

(2011.4.28)

細胞内 Ca²⁺を介する細胞機能発現は、Ca²⁺供給源となるチャネル分子と Ca²⁺センサー分子間の位置関係、さらに Ca²⁺供給の時間経過やセンサー分子の Ca²⁺感受性の違い等を通じて多様に制御されており、各細胞におけるその機能の役割に応じてそれらは合目的に配備されています。特に Ca²⁺チャネル開口部近傍数十ナノメートル以内に形成される高 Ca²⁺濃度領域は「Ca²⁺ナノドメイン」と呼ばれ、そのドメイン内でセンサー分子が活性化されることにより、1 細胞上の限局した部位でマイクロ秒オーダーの素早い機能発現がもたらされることが、神経の伝

達物質放出や心筋の興奮収縮連関においてはよく知られています。しかし、最近私たちは、分のオーダーで制御される細胞容積調節機構において重要な役割を担う細胞容積センサー外向整流性アニオンチャネル (VSOR) についても、Ca²⁺ナノドメインを介する制御に関わりうることを見出しました。

本セミナーではその詳細についてお話させていただき、その生理的意義や今後の研究の発展性等について議論させていただければ幸いです。

2. GABA_C receptors: How ligands interact within the GABA_C receptor binding site

Yamamoto Izumi (University of Sydney, Faculty of Pharmacy, Mary Collins Lab)

(2011.5.18)

GABA is the major inhibitory neurotransmitter in the CNS. GABA_C receptors (rho1-3) belong to the Cys-loop family of ligand-gated ion channels and can form homo-pentameric receptors. The agonist and/or competitive antagonist binding site is formed by residues located on five discontinuous regions of the N-terminal region referred to as loops A-E at the interface of two rho subunits. There is strong evidence suggesting all members of the Cys-loop family share similar 3D structure. There is also a lot of interest in developing homology models of GABA receptors using acetylcholine-binding protein (AChBP) crystal structure. Herein, we explore the conformation of how GABA binds to

GABA_C receptors using S- and R-enantiomers of 3-fluoro-GABA (S- and R-3F-GABA) expressed in *Xenopus* oocytes using two-electrode voltage clamp methods. Furthermore, we also explored the role of tyrosine 102 (Y102) located on loop D on rho1 receptors. The substitution of Y102 with serine (Y102S) produces constitutively active receptors and the antagonist 3-APMPA was shown to be an inverse agonist. Y102 was also mutated to serine, cysteine and alanine (Y102S, Y102C and Y102A), expressed in *Xenopus* oocytes to explore the effect of the receptor conformational changes on the activity of a range of structurally diverse GABA antagonists.

3. 宇宙医学研究のデザイン～軌道上実験を中心に～

山田 深 (宇宙航空研究開発機構 有人宇宙技術部宇宙医学生物学研究室)

(2011.5.19)

ガガーリンによる人類初の宇宙飛行から半世紀、国際宇宙ステーションが実運用を開始し、2011年6月からは古川聡宇宙飛行士の長期滞在ミッションが予定されている。人類が宇宙に出ても生存できるかどうかすら分かっていなかった時代から、微小重力や宇宙放射線に長期間曝されることに対する諸々の問題解決へと宇宙医学研究の目的はシフトし、宇宙環境を活かしたライフサイエンス研究とともに新しい道を拓きつつある。

宇宙航空研究開発機構 (JAXA) は筋の萎縮と骨量の減少、循環機能や起立耐性の低下、閉鎖空間における環境衛生管理や精神心理支援、放射線被曝管理、そして軌道上遠隔医療をとくに重要な研究対象として掲げ、数々の実験に取り組んでいる。軌道上実験では、宇宙飛行士が研究者の代わりとなって実験操作を行い、さらにヒト対象研究の場合は自らが被験者の役割も果たすことになる。

ミッション期間に研究に割ける時間の配分には限度があるとともに、倫理面の問題については極めて慎重な配慮が求められる。また、利用できる機器の制限、無重量環境での操作、サンプルの保管や輸送など技術的側面やコストの問題に加え、多くの国家が参画するプロジェクトでは様々な国際間の調整も必要となってくる。軌道上実験を実現するために乗り越えなければならないハードルは数多い。

宇宙医学研究が成果を挙げるためには、こうした特有の条件を理解した上で、綿密に研究計画を立案し、相応の準備をもって臨まなければならない。本セミナーではJAXA 宇宙医学生物学研究室が現在実施している軌道上実験を中心に現場のディテールを伝え、より多くの科学者が宇宙環境利用の枠組みを共有し、人類の知的探究心を満たしていくための道を展望する。

4. 活動電位は軸索の伝導中に制御される

佐々木拓哉 (脳形態解析研究部門)

(2011.5.24)

細胞体近傍で発生した活動電位は一定の強度で軸索を伝播すると考えられています。この基本概念に反し、近年の研究では、細胞体付近で発生する活動電位の大きさがアナログ的に変化し、より複雑な情報を伝播できるという可能性が示唆されつつあります。しかしながら、すでに発生した活動電位が、軸索を伝播する途中で調節されるかについては知られていません。これを検証するため、本研究では、新規に開発した蛍光パッチクランプ電極を用いることにより、海馬スライス標本においてCA3 野錐体細胞の軸索からパッチクランプ記録を試み

ました。神経伝達物質であるグルタミン酸を、軸索に局所適用すると、下流の軸索で記録される活動電位の幅が増大することが明らかになりました。また、軸索周辺に分布するアストロサイトを活動させた場合にも、同様の作用を認めました。さらに、シナプス結合を持つ2つの神経細胞からパッチクランプ記録を行うことで、活動電位の増幅が軸索終末でのシナプス出力の増強に繋がることを明らかにしました。セミナーでは、このような局所的な活動電位の調節が、軸索での高次な演算処理を担う可能性について考察してみたいと思います。

5. Striatal GABA-A control on local and cortical activity in monkeys

Olivier Darbin (Department of Neurology, University of South Alabama College of Medicine, Mobile, AL 36608, USA)

(2011.5.26)

The striatum is the major input nucleus of the basal ganglia

and receives glutamatergic inputs from cortex and thalamus.

This structure exhibits a complex gabaergic circuitry composed by different subpopulations of interneurons and collaterals arising from the output neurons of the striatum. Despite an extensive histological and neurochemical characterization of this nucleus, its functional contribution on the activities of the cortico-cortical loops remains unclear. To elucidate the role of ambient striatal γ -aminobutyric acid (GABA) in the regulation of neuronal activity in the basal ganglia-thalamocortical circuits, we studied the effects of blocking striatal GABA_A receptors on the electrical activities of single striatal neurons, on local field potentials (LFPs) in the striatum, and on motor cortical electroencephalograms (EEGs) in two monkeys.

Striatal LFPs were recorded with a device that allowed us to simultaneously record field potentials and apply drugs by reverse microdialysis at the same site. Administration of the GABA_A-receptor antagonist gabazine induced large -amplitude LFP fluctuations at the infusion site. These events were prevented by cotreatment with a GABA_A-receptor agonist (muscimol) or a combination of ionotropic glutamate receptor antagonists (CNQX and MK-801). Gabazine also increased the firing of single neurons recorded close to the

injection site, but in most cases there was no correlation between single-neuron activity and the concomitantly recorded LFP signals from the same striatal region. In contrast, intrastriatal application of gabazine increased the correlation between striatal LFPs and EEG, and resulted in the appearance of recurrent EEG events that were temporally related to the striatal LFP events.

These data provide electrophysiological evidence that a GABAergic “tone” in the monkey striatum controls the spontaneous activity of striatal neurons, as well as the level of striatal and cortical synchrony. Therefore, the modulation of the striatal GABAergic neurotransmission can be considered as a putative pharmacological target to control abnormal cortico-cortical synchronizations that occur in movement disorders or epilepsy.

Olivier Darbin 博士は、外国人研究員として4月から3ヶ月間の予定で、生体システム研究部門に滞在しています。これまでの博士の研究について、とくに霊長類の脳基底核における GABA 性コントロールについてのセミナーをお願いしました。是非、御来聴下さい。

6. 大脳皮質視覚野神経回路の経験依存的発達

吉村由美子（岡崎統合バイオサイエンスセンター 時系列生命現象研究領域・神経分化研究部門）

(2011.5.26)

大脳皮質一次視覚野の機能発達には生後の視覚体験が重要であることが知られており、その基盤として、視覚野の神経回路が神経活動に応じて調整されると考えられている。これまでに、我々は、ラット視覚野切片標本を用いた解析を行い、興奮性シナプスで結合している 2/3 層錐体細胞ペアは、その周辺の細胞からの興奮性入力

高い割合で共有しており、非常に微細なスケールの神経回路網を形成していることを報告した。本セミナーでは、この微小神経回路網形成の視覚体験依存性について、最近の解析結果を紹介するとともに、その機能的役割について議論したい。

7. Cortical representations of olfactory input by transsynaptic tracing

Kazunari Miyamichi (Liquan Luo lab, HHMI/Department of Biology, Stanford, CA, USA)

(2011.5.30)

In the mouse, each class of olfactory receptor neurons expressing a given odorant receptor has convergent axonal

projections to two specific glomeruli in the olfactory bulb, thereby creating an odor map. However, it is unclear how this

map is represented in the olfactory cortex. Here we combine rabies-virus-dependent retrograde mono-transsynaptic tracing with genetics to control the location, number and type of 'starter' cortical neurons, from which we trace their presynaptic neurons. We find that individual cortical neurons receive direct convergent input from multiple mitral cells representing broadly distributed glomeruli. Different cortical areas represent the olfactory bulb input differently. For example, the cortical amygdala preferentially receives dorsal olfactory bulb input, whereas the piriform cortex samples the whole olfactory bulb without obvious bias. These differences probably reflect different functions of these cortical areas in mediating innate odor preference or associative memory. This transsynaptic tracing method should be widely applicable to mapping connections throughout the mouse nervous system.

Future improvements of the system will be discussed. These include 1) a potential anterograde trans-neuronal tracer; 2) genetic modification of starter cells to combine circuit tracing with genetic loss- or gain-of-function experiments; 3) a novel strategy to select starter cells of tracing based on their receptive fields. These approaches will facilitate the investigation of not only connection diagrams, but also molecular basis and functional organization of neuronal connections within neural circuits.

Reference:

Miyamichi K, Amat F, Moussavi F, Wang C, Wickersham I, Wall NR, Taniguchi H, Tasic B, Huang ZJ, He Z, Callaway EM, Horowitz MA, Luo L. Cortical representations of olfactory input by trans-synaptic tracing. *Nature* 472, 191-196, 2011.

8. 抑制性シナプスの可視化と発生依存的な形態変化

栗生俊彦 (徳島文理大学香川薬学部病態生理学講座)

(2011.5.30)

中枢神経系の興奮性シナプスは、シナプス前部の varicosity とシナプス後部の spine との接触部位に形成され、発生および活動に依存して、その形態を変化することが知られている。一方、抑制性シナプスは、シナプス前部の varicosity と樹状突起 shaft との接触部位にシナプスを形成する。樹状突起 shaft 部に形成された抑制性シナプス後部には、足場蛋白質である gephyrin が集積しており、GABA 受容体や glycine 受容体の動きや数の調節に重要な役割を果たしている。Gephyrin は、樹状突起内で、秒・分単位でマイクロメートル以下の微小な動きを示し、その動きは活動依存的に制御されることが報告されている。

今回、私たちは、抑制性シナプス前部及び後部を同時に可視化し、時間・日にち単位での抑制性シナプスの形態変化について観察した。抑制性シナプスの動態を可視化するために、抑制性シナプス前部および後部を蛍光蛋白質を用いて標識した。Vesicular GABA transporter (VGAT) - Venus トランスジェニック・マウスの海馬神経細胞を分散培養すると、Venus 蛍光シグナルは抑制性神経細胞に特異的に発現しており、その軸索および varicosity にも蛍光が認められ、抑制性シナプス前部の形

態を可視化することができた。一方、抑制性シナプス後部の足場蛋白質である gephyrin に蛍光蛋白質 mCherry をつないだ遺伝子をアデノウイルスにより培養海馬ニューロンに導入発現させると、抑制性シナプス後部に局在した mCherry-gephyrin 分子の集積が見られた。遺伝子改変マウスを用いた抑制性シナプス前部 varicosity の標識と mCherry-gephyrin による抑制性シナプス後部の標識を組み合わせることで、抑制性シナプス前部および後部を同時に可視化することが可能となった。

コンフォーカル顕微鏡を用いた形態観察と電気生理学的測定から、培養日数に依存した抑制性シナプス密度の増加とそれと同期した mIPSC の頻度と振幅の増大が見られた。培養の各ステージで time-lapse imaging を行ったところ、培養初期 (9-11DIV) では、形成された抑制性シナプス前部・後部が顕著な形態変化していることが明らかになった。培養後期 (16-25DIV) ではこれらの形態変化は安定化された。シナプス形態の安定化が急速に進む時期とシナプス密度が上昇する時期はよく一致しており、その時期 (12-14DIV) に長時間の time-lapse imaging を行ったところ、特徴的な形態変化 (シナプスの融合、分裂、移動) が観察された。これらの結果は、抑制性シナプス

が培養初期からシナプス形成が活発な時期にかけて、顕著な形態変化をしながら、融合・分裂・移動を繰り返し

て、その配置や密度を調節することを示唆している。

9. ヒト TRPV4 チャンネルのアンキリンリピートドメインにおける ATP 結合によって

引き起こされる構造変化：TRPV チャンネルにおける構造比較

稲田 仁（ハーバード大学，分子細胞生物学）

(2011.5.30)

TRPV4 は TRP チャンネルファミリーに属する Ca^{2+} イオン透過性の高い陽イオンチャネルであり、浸透圧受容や機械刺激受容、皮膚のバリアー形成、骨の発達など、様々な生理機能に重要な機能を果たしている。最近、神経変性や骨形成異常を生じるヒトの遺伝病が、TRPV4 の変異によって引き起こされることが報告された。変異を含む TRPV4 は培養細胞において恒常的な活性を示し、この恒常的活性化による細胞内 Ca^{2+} の上昇が神経変性を引き起こすことが示唆された。

TRPV4 は低浸透圧刺激や体温近傍の温刺激、脂質などのリガンドによって活性化される。その活性は、細胞内 N 末に存在するアンキリンリピートドメイン (ankyrin repeat domain, ARD) に、ATP やカルモジュリンといった細胞内因子が結合することによって制御されることが、我々の研究グループによって報告された。我々は、ATP による TRPV4 活性制御の機構を明らかにするために、ATP 結合型/非結合型の TRPV4-ARD の構造を決定した。

TRPV チャンネル ARD の構造は、6 つのアンキリンモ

チーフ (ANK) とそれらの間をつなぐ 5 つのフィンガーグループ (Finger) からなる。TRPV4-ARD において ATP 結合型/非結合型の構造を比較したところ、3 番目のフィンガーグループ (Finger 3) に顕著な違いが観察された。このことは Finger 3 が ATP 結合における制御スイッチとして働くことを示唆している。さらに、生化学的解析から、ATP の結合は TRPV4-ARD の構造の安定化に寄与することが示唆された。興味深いことに、ATP 結合型の TRPV4-ARD の構造は、ATP 結合能を持たない TRPV チャンネルの ARD (TPV2-ARD および TRPV6-ARD) の構造に似ていた。また、ヒトの遺伝病に関与する変異を持つ 13 の TRPV4-ARD 変異体の熱安定性を解析したところ、ほとんどの変異体において熱安定性が顕著に減少していた。さらに、これら変異体の ATP 結合能を調べたところ、結合能が野生型よりも顕著に 1) 増加したもの、2) 減少したもの、3) 差がなかったもの分類された。これらの結果は、遺伝病を引き起こす TRPV4-ARD 変異体恒常的活性化の機構を説明できるかもしれない。

10. 下垂体後葉ホルモンの視床下部内外での発現～その生理作用の謎への挑戦～

視床下部室傍核における局所神経分泌、ニューロン連携と摂食行動調節

上田陽一（産業医科大学医学部第 1 生理学）、矢田俊彦（自治医科大学医学部生理学）

(2011.6.7)

【上田教授】

「下垂体後葉ホルモンの視床下部内外での発現～その生理作用の謎への挑戦～」

下垂体後葉ホルモンであるバゾプレッシンとオキシトシンは視床下部室傍核および視索上核に局在する細胞体で産生され、下垂体後葉に投射した軸索終末から循環血液中に分泌される。血中のバゾプレッシンは腎臓に作用して抗利尿ホルモンとして働き、オキシトシンは分娩

時の子宮筋の収縮や授乳時の射乳反射を引き起こす。バゾプレッシンは、視床下部内では上記の 2 つの核以外にも生体リズムの中核として知られる視交叉上核でも産生されている。視床下部外においては、嗅脳、青斑核および後根神経節においても産生されている。遺伝子改変技術を用いて下垂体後葉ホルモンを蛍光標識したラットを用いて、我々がこれまでに明らかにした視床下部内外における下垂体後葉ホルモンの発現動態からその生理作用

の謎に迫りたい。

【矢田教授】

「視床下部室傍核における局所神経分泌，ニューロン連携と摂食行動調節」

新規満腹ペプチド Nesfatin-1 (Nature 443:709, 2006) は視床下部に広範に局在するが，食事摂取は室傍核 Nesfatin-1 ニューロンを特異的に活性化する。室傍核において，Nesfatin-1 はオキシトシンと高頻度に共存する。Nesfatin-1 は，脳室内投与により室傍核オキシトシンニュー

ロンを活性化し，また単離したオキシトシンおよび Nesfatin-1 ニューロンを直接活性化する。室傍核スライスからのオキシトシン分泌は，外来 Nesfatin-1 添加により増加し，Nesfatin-1 中和抗体により低下する。Nesfatin-1 による摂食抑制はオキシトシンアンタゴニストにより阻害される (Maejima et al. Cell Metab. 10:355, 2009)。従って，室傍核 Nesfatin-1 ニューロンは食事により活性化され，paracrine/autocrine 作用によりオキシトシンニューロンを活性化し，オキシトシン放出により摂食を抑制する。

11. 公開ミニシンポ「脳内ホルモン研究の新展開」

講演者なし

(2011.6.7)

1. 「視床下部室傍核 CRH ニューロンによる食餌嗜好性調節機構」

岡本土毅（生殖・内分泌発達機構研究部門）

2. 「脳内に分泌される AVP の役割」

佐藤かお理（機能協関研究部門）

3. 「バソプレシン・オキシトシンによる覚醒レベルと自発行動量調節」

山中章弘（細胞生理研究部門）

4. 総合討論

with 上田陽一，矢田俊彦，箕越靖彦，前島裕子ら

12. Towards deciphering the neuronal circuits for visual object recognition

Gabriel Kreiman (Harvard Medical School)

(2011.6.8)

The remarkable pattern recognition abilities of primates (humans and non-humans) surpass the best computational algorithms available today.

The difficulty of visual recognition stems from the need to achieve high selectivity in hundreds of milliseconds while maintaining robustness to object transformations. We record neurophysiological activity from the human temporal lobe in subjects who suffer from intractable epilepsy; this provides a window of opportunity to examine activity in the human brain at high spatial and temporal resolution.

Recording activity from thousands of electrodes in tens of human subjects, we quantified at high temporal resolution the amount of information conveyed by intracranial field potentials in human visual cortex. Subjects were presented

with images containing one or more objects or with movies. We could accurately decode object category information in single trials as early as ~100 ms post-stimulus. Decoding performance was robust to changes in rotation, scale and clutter. Furthermore, visual information could also be decoded under dynamic viewing conditions during movies. The results revealed that physiological activity in the human temporal lobe can account for some of the key properties of visual recognition and provide strong constraints for computational models of human vision.

We compare the neurophysiological results against simple hierarchical and feed-forward models of visual object recognition.

13. Plastic changes of tripartite synapses in the somatosensory cortex of neuropathic pain mice

following peripheral nerve injury

金 善光 (Kim, Sun Kwang; 生体恒常機能発達機構研究部門)

(2011.6.9)

Peripheral nerve injury triggers maladaptive plastic changes along the somatosensory nervous system so that altered nociceptive signal processing, represented by neuropathic pain hypersensitivity (e.g. tactile allodynia (painful response to innocuous mechanical stimuli), occurs. Previous studies have suggested that structural and functional plastic changes in the primary somatosensory cortex (S1) following peripheral nerve injury contribute to neuropathic pain. However, remodeling of cortical connections following injury has been believed to take months or years, based on macroscopic imaging or static measurement; this is not temporally correlated with the rapid development of allodynia and S1 hyperexcitability. Recently, we first reported, by using long-term two-photon imaging of postsynaptic dendritic spines in living adult mice, that synaptic connections in the S1 are rewired within days following sciatic nerve ligation injury through phase-specific and size-dependent spine survival/growth. Spine turnover in the S1 area corresponding to the injured paw markedly increased during an early phase of neuropathic pain and restored in a late phase of neuropathic pain, which was prevented by immediate local blockade of the injured nerve throughout the early phase. New spines that generated before nerve injury showed volume decrease after injury, whereas more new spines that formed in the early phase of neuropathic pain became persistent and substantially

increased their volume during the late phase. Further, pre-existing stable spines survived less following injury than controls and such lost persistent spines were smaller in size than the survived ones that displayed long-term potentiation (LTP)-like enlargement over weeks. These results suggest that peripheral nerve injury induce rapid and selective remodeling of cortical synapses, which is associated with neuropathic pain development, probably underlying, at least partially, long-lasting sensory changes in neuropathic subjects.

However, it is still unknown whether and how the other members of 'tripartite synapse', presynaptic axonal boutons and astrocytes, in the S1 change after nerve injury. Here, we found that formation and elimination of axonal boutons slightly increased and decreased, respectively, only in the early phase of neuropathic pain. Furthermore, in vivo two-photon Ca^{2+} imaging experiments showed that the frequency and amplitude of astrocytic Ca^{2+} activity significantly increased in the early phase and subsequently, but not completely, decreased in the late phase of neuropathic pain. These results suggest that the correlated, phase-specific changes in the S1 astrocytes and synaptic structures may play a role in neuropathic pain development. The pyramidal neuron as an associative element - insights into the organizing principles of the cerebral cortex

14. Toward an understanding of how neural circuits regulate dopamine neuron activities

Naoshige Uchida (Center for brain Science, Department of Molecular and Cellular Biology Harvard University)

(2011.6.15)

Dopamine plays a key role in motivation and reward. It has been proposed that dopamine neurons in the ventral tegmental area signal the discrepancy between expected and actual rewards (i.e., reward prediction error) while those in the substantia nigra pars compacta signal salience. Despite their

importance, the mechanisms that regulate their activities remain elusive. In this talk, I will present our recent efforts toward understanding neural circuits that regulate dopamine neuron firing using a mouse model.

15. Two issues in neural value-decision making: emulating the other's decision processes,
and time representations

中原裕之 (理化学研究所 脳科学総合研究センター 理論統合脳科学研究チーム)

(2011.7.6)

I plan to present our two recent works in the fields of neural value-based decision making. The first topic concerns value-based decision making in social contexts, in which predicting another's decision making is often indispensable for making one's own decision.

How does our brain learn and emulate the other's value-based decision making, so as to incorporate it into one's own value-based decision making? To address this issue, we have been conducting a model-based fMRI study and I will summarize the results of this study (unpublished). In brief, we found that two different errors, emulated-other's reward and action prediction errors, contribute to learning for emulating the other; the errors are respectively correlated with neural signals in the ventromedial prefrontal and dorsolateral / dorsomedial prefrontal cortex.

The second topic is to refine the frameworks of reinforcement learning, or temporal difference (TD) learning,

for neural valuation processes.

Although the TD learning becomes a major paradigm for understanding value-based decision making and related neural activities (e.g., dopamine activity), the representation of time in neural processes modeled by a TD framework is poorly understood. I will present the formulation and possible consequences of a TD model (called internal-time TD model) that treats time of operator/neural valuation process separately from time of observer/experiments. The separation of the two times allows us to uncover so called operator-observer problems that intrinsically exist when applying TD models to neural value-based decision making: e.g., different expressions of TD error dependent upon both the time frame and time unit, and co-appearance of exponential and hyperbolic discounting at different delays in intertemporal choice tasks.

16. RNA structure confers substrate-specific interaction and processing by human Dicer

David Taylor (JSPS Summer program student, Yale University)

(2011.7.8)

17. 温度感受性 TRP チャネルの脊椎動物における機能進化

齋藤 茂 (細胞生理研究部門)

(2011.7.14)

温度感受性 TRP チャネルは、温度刺激だけでなく、複数の物理的・化学刺激や化学物質の受容に関わることから動物が外界の環境に適応する際に大きな役割を担っている。温度感受性 TRP チャネルの機能と生理的な役割はマウスなどの哺乳類で詳細な研究がなされているが、一方、他の脊椎動物種における情報は乏しく、機能の進化過程はあまり分かっていない。そこで、哺乳類とは系統的に遠縁な両生類であるニシツメガエル *Xenopus tropicalis* の温度感受性 TRP チャネルの機能解析を行い、哺乳類と比

較することにより脊椎動物における機能の進化過程を推定している。哺乳類では高温、酸、カプサイシンで活性化される TRPV1 はニシツメガエルにおいても高い熱刺激や酸に対する感受性は保持しており、侵害受容体としての機能が進化過程で保存されてきたことが分かった。一方、TRPV1 のカプサイシン感受性は哺乳類に比べニシツメガエルでは著しく低く、この差異は2つのアミノ酸置換が原因であった。次に、哺乳類において体温近傍の温かい温度の受容体である TRPV3 の機能解析を行った

ところ、ニシツメガエル TRPV3 は高温では活性化されず、むしろ低温で活性化され、その活性化温度の閾値は、ニシツメガエルにとって有害な温度域であることが分かった。TRPV3 の温度感受性は哺乳類およびニシツメガエルにおいてそれぞれの生理的な特性に適合するように進

化してきたと考えられる。また、時間に余裕があれば、TRPA1 の化学物質および温度刺激に対する感受性を複数の脊椎動物種間で比較した、最新の結果についても紹介したい。

18. ストレス応答における脳幹部ノルアドレナリン作動性ニューロンのはたらき

井樋慶一（東北大院 情報科学 情報生物学, 東北大院 医学系 神経内分泌学）

(2011.7.15)

「ストレス」という用語は Walter Cannon により医学・生物学の領域に導入されたが、Hans Selye は視床下部－下垂体－副腎 (HPA) 系の内分泌応答がストレスの種類によらず惹起されることを明らかにした。1981 年, Wylie Vale らにより視床下部に存在する副腎皮質刺激ホルモン放出因子 (CRF) が同定され、HPA 系調節メカニズムの研究が飛躍的に進んだ。

副腎皮質から分泌される糖質コルチコイドは最も重要なストレス防御因子である。しかしながら、ストレス情報がいかにして脳内で統合され、その結果、視床下部

CRF ニューロンからのホルモン放出がどのように調節されるのかについては未だ不明な点が多い。

これまで井樋研究室では脳内ノルアドレナリン作動性 (NA) ニューロンがストレス応答において果たす役割を明らかにしてきた。本セミナーでは従来の研究成果に加え、延髄の NA ニューロンに共存するプロラクチン放出ペプチドのはたらき、ストレスによって CRF ニューロンに誘導される最初期遺伝子産物 FosB の意義について考察する。また、最近開発された青斑核選択的 NA ニューロン破壊マウスについても紹介する。

19. 神経軸索の活動電位によるミエリンベシックプロテインの局所発現の制御

Hiroaki Wake (Nervous System Development & Plasticity Section National Institutes of Health)

(2011.8.3)

神経軸索の周囲のミエリンの形成は細胞間の結合・シグナルによって形成される。ミエリンは軸索内の神経伝達を 50 倍まで高めることができるため、感覚認知の情報処理に非常に重要な役割を持つ。しかしながら神経活動がどのようにこのミエリンの形成に関与するかは不明のままであった。今回われわれは、神経前終末とオリゴデ

ンドロサイト前駆細胞間の結合（広義のシナプス）を定義し可視化した後、この結合がどのようにミエリン化される軸索の選定にかかわるかを、もっとも重要なミエリン関連タンパクであるミエリンベシックプロテインの局所タンパク発現を可視化することにより明らかにした。

20. MRI of Cortical and Subcortical Microarchitecture at 7T

Robert Turner（マックス・プランク認知神経科学研究所）

(2011.8.30)

The high spin magnetization at 7T provides better MRI and fMRI than at lower field strengths. The goal of in-vivo Brodmann mapping of anatomically distinct regions of grey

matter, on the basis of MRI-visible myeloarchitecture, now appears to be at least partly feasible, which enables precise association of function with neuronal substrate. With

appropriate MRI methods, cortical layering due to the myelinated bands of Baillarger has been observed in several regions, such as primary visual cortex V1, and the visual motion area V5. A study of normally sighted and congenitally blind volunteer subjects reveals that the myelinated layer structure of V1, the Stria of Gennari, remains unaltered in blindness, showing that this structure is independent of visual input for development in childhood or maintenance in adulthood. At 7T, 350 micron resolution in-vivo images of human hippocampus allow unwrapping of its folded structure. The basal ganglia are visualized with unprecedented clarity, and their magnetic susceptibility can be mapped, indicating

iron content. MRI of the corpus callosum also shows unexpected fine-scale structure.

Novel fMRI methods enable an isotropic EPI resolution of 0.65 mm with enough SNR to measure localized BOLD signal changes. Good diffusion-weighted images with isotropic 1 mm resolution can also be obtained, showing grey matter anisotropy. We perform comparisons of cortical structure visualized with microscopy of stained cadaver brain sections, ex-vivo MRI and in-vivo MRI. Examples will be shown of the S1/M1 border, and a complete automated parcellation of primary visual cortex.

21. 膵島移植の現状と展望

後藤昌史 (東北大学)

(2011.8.31)

膵島移植は、血糖コントロールに苦しむ重症 1 型糖尿病患者にとり、まさに理想的な“患者にやさしい”治療法である。しかし、その目覚ましい進歩にも関わらず、依然一人の患者を治療するために複数のドナーを必要としているのが現状であり、まだ多くの課題を有している。その主たる原因の一つは、膵島自身に起因する inflammatory mediator によってグラフトと宿主血流との間で移植後即座に引き起こされる、IBMIR (instant

blood - mediated inflammatory reaction) である。膵島移植を今後より広く普及していくためには、IBMIR を効果的に抑制し得る臨床応用可能なアプローチを確立すべく、積極的にトランスレーショナルリサーチを展開していく必要がある。本講演においては、これまでの我々の取り組みに加え、今後の膵島移植の展望について見解を述べる。

22. Desynchronization of Multivesicular Release Enhances Purkinje Cell Output

Stephanie Rudolph (University of Alabama at Birmingham, Department of Neurobiology,
Evelyn Mc Knight Brain Institute, Birmingham, USA University of Freiburg, Germany)

(2011.9.5)

The release of neurotransmitter-filled vesicles after action potentials occurs with discrete time courses: submillisecond phasic release that can be desynchronized by activity followed by “delayed release” that persists for tens of milliseconds. Delayed release has a well-established role in synaptic integration, but it is not clear whether desynchronization of phasic release has physiological consequences. At the climbing fiber to Purkinje cell synapse, the synchronous fusion of multiple vesicles is critical for

generating complex spikes. Here we show that stimulation at physiological frequencies drives the temporal dispersion of vesicles undergoing multivesicular release, resulting in a slowing of the EPSC on the millisecond timescale. Remarkably, these changes in EPSC kinetics robustly alter the Purkinje cell complex spike in a manner that promotes axonal propagation of individual spikelets. Thus, desynchronization of multivesicular release enhances the precise and efficient information transfer by complex spikes.

23. Principles of neuronal network architecture: Insights from locomotor circuits in larval zebrafish

小山 実 (Dept of Neurobiology and Behavior Cornell University)

(2011.9.21)

Understanding the function and development of neuronal circuits is one of the major goals in neuroscience. Finding general principles of neuronal network architecture is essential to accomplish this goal. Despite the accumulating knowledge in a wide variety of circuits, it still remains elusive if there are such general principles. In search of such principles of neuronal networks, we found a relatively simple pattern throughout the hindbrain that contains variety of sensory-motor circuits in larval zebrafish. Neurons are arranged into stripes that represent broad neuronal classes that differ in transmitter identity, morphology and transcription factor expression. Within the stripes, neurons are organized according to their birth time as previously reported in spinal cord; older neurons have lower input resistance and are recruited during fast movements while younger have higher

input resistance and are active in slow ones. Furthermore, the extent and location of axonal projections differ across age groups. To see how this general patterning is used in functional circuits, I mapped hindbrain-spinal cord networks involved in fast and slow locomotion, the Mauthner and MiV1 circuits respectively, and examined their age, recruitment patterns and connectivity. I found each component of the networks arises from a predictable stripe and age group supporting the notion that the stripe patterning is the foundation of a variety of circuits in hindbrain. Furthermore, I found preferential connectivity among neurons in similar age groups. I will discuss the principles of neuronal network construction that emerge from these findings and their explanatory power in other systems.

24. シナプス内シグナル分子の活性化観察と操作

村越秀治 (脳機能計測・支援センター 多光子顕微鏡室)

(2011.9.22)

シナプスの後端を形成するスパインの形状や大きさの変化は、主にアクチンの動態により決定されている。アクチンの重合と脱重合を制御する中心的な分子として Cdc42 や RhoA などの低分子 G タンパク質 Rho GTPase がよく知られているが、スパインへの入力刺激時にこれらの分子がどのように活性化しスパインの形態変化に関与しているのかは殆ど分かっていなかった。これまでに我々は、2 光子蛍光寿命イメージング顕微鏡を用いて、

可塑的变化を引き起こしたスパイン中での、Cdc42 と RhoA の活性化の時空間的特性を可視化し、活性化メカニズムと機能を調べたので、これについて報告する。また、最近我々は、青色光で CaMKII の活性を 1 ミクロンの空間分解能と秒レベルの時間分解能で可逆的に操作することができる光感受性タンパク質の開発に成功したので、後半はこれについて報告する。

25. ゼブラフィッシュ幼魚を用いた、脊髄・脳幹運動系神経回路の機能解析

東島眞一 (岡崎統合バイオサイエンスセンター時系列生命現象研究領域・神経分化研究部門)

(2011.9.30)

脊椎動物の運動パターンの生成には、主に脳幹・脊髄内の神経回路が関与している。しかし、脳幹・脊髄内の実際の運動系神経回路に関する我々の知識は非常に限ら

れている。哺乳類の運動系神経回路が非常に複雑で解析が難しいことがその原因である。この背景のもと、我々は神経回路が比較的単純なゼブラフィッシュ幼魚を用い、

脊髄・脳幹運動系神経回路が運動パターンを作り上げている仕組みを調べている。脊椎動物全般に通用する概念を提唱していきたいと考えている。

本セミナーでは、逃避運動に関与する脊髄内交叉型抑制性神経回路と、脳幹内で遊泳運動の生成・維持に関与する同側興奮性神経回路を紹介したい。

26. TRP チャンネルを利用した選択的な痛覚伝達抑制

歌 大介 (神経シグナル研究部門)

(2011.10.4)

術後鎮痛や慢性疼痛の治療において局所麻酔薬を使用する際に、触覚や運動系を抑制することなく痛みだけを選択的に抑制することが望まれている。主に Na チャネルを阻害する局所麻酔薬は、非選択的に痛みだけでなく触覚や運動系を抑制してしまう事が多い。

今回のセミナーでは、まず、局所麻酔薬光学異性体が痛覚伝達に対して選択的抑制効果を持つことを見出したので報告する。さらに、痛みだけを選択的に抑制する新たな鎮痛薬のターゲットとして TRPA1 チャンネルにも着目した。TRPA1 は、侵害性の冷覚や炎症の痛みを伝達す

る一部のC線維に特異的に発現することが知られている。TRPA1 を活性化すると、痛み情報が入力する脊髄後角表層の一部の細胞において微小興奮性シナプス後電流の発生頻度は増加するものの、興味深いことに、C (Adeltaではなく) 線維によって誘起された単シナプス性興奮性シナプス後電流は抑制した。

本セミナーでは、現在行っている in vivo パッチクランプ法から得られたデータもあわせてお話させていただきます。多くのご意見を宜しくお願い致します。

27. 他者の視線に対する知覚精度と神経症傾向に代表される性格特性との相関

磯谷悠子 ((株)国際電気通信基礎技術研究所 (ATR) 脳情報研究所)

(2011.10.24)

人が人らしく生きるためには、他者との社会的な共同生活を欠くことはできず、そのためには絶えず他者の心や注意の動きを察知し理解し続ける必要がある。この他者の心の動きを類推する能力に関し、Simon Baron-Cohen は、意図検出器、視線検出器、注意共有の機構、心の理論の機構という4つの構成要素を提案している(心の理論)。この心の理論の発達は社会能力の発達に密接にかかわっており、社会性の根幹ともいえる心理状態(意図、注意、情動)の共有の前提である共同注意の発達の条件として、アイコンタクトが必須であることが指摘されている。アイコンタクトが他者の情動や意図の共有にも重要なものであることから、視線情報処理においては当然情動系の関連領域も関わっていると考えられる。特に快・不快や恐怖・怒りなどの情動反応を司る扁桃体は表情認知に深く関わることが知られており、視線知覚においても、特に相手の視線を真っ直ぐ受ける(直視)条件において賦活することが示唆されている。視線という社

会的シグナルを感受することは、情動と認知の統合処理の一種であると考えられる。前頭葉皮質は情動と認知の統合処理を行っている領域であり、視線感受能力と前頭葉皮質の脳活動とは何らかの関連を示すと考えられる。

本研究は人の社会的発達過程において重要な役割を演じていると考えられる視線知覚の精度と性格傾向及びその時の脳活動との関連を明らかにするため、まず行動実験手法により人の視線知覚精度と性格特性との関連を検証し、ついで光トポグラフィーを用いた脳活動計測により視線感受に対する脳活動差異の検証を試みた。

まず行動実験として、視線方向判断課題を用いた視線知覚精度の計測と4種類の質問紙調査(NEO-PI-R, STAI, CES-D, K6+)を実施した。視線知覚精度指標と各尺度得点との相関分析を行ったところ、男性においてのみ、視線知覚精度指標と質問紙調査の神経症傾向得点および特性不安得点との間に有意な相関が見られ、視線知覚精度と性格傾向との間に関連があることが示された。ついで、

光トポグラフィー装置を用いて被験者が 1-back 課題を遂行している時の前頭葉活動を計測した（前頭部 1~47 チャンネル）。直視条件（直視刺激 70%逸視刺激 30%で構成）と逸視条件（直視 30%逸視 70%で構成）を設定し、それぞれ 1-back 課題（今提示されている人物は 1 つ前に提示された人物と同じか否か）を実施した。課題遂行時間の前半区間と後半区間に分け、オキシヘモグロビン (Oxy-Hb) 信号の変化量を算出し、チャンネル毎に t-検定を用いて有意な脳活動信号が得られたかを検討した。その後、性別や視線知覚精度により群分けし、脳活動信号を比較したところ、1-back 課題による活動部位は、群間によりはっきりとした差異が見られた。男性の高視線知覚精度群においてのみ、有意な脳活動信号値の上昇が認められた。特に直視条件の課題前半区間において下前頭回付近（右半球の 42ch）をピークとして強く広範にわた

る脳活動が見られ、逸視条件においては前半区間に有意な活動は見られなかった。神経症傾向が強い＝視線知覚精度が高い男性は、他者の視線が自分を向いていることに敏感であり、自分に視線が向いているか否かを精密に処理していると考えられる。教示により視線に注意が向かない工夫された課題であったにも関わらず直視条件のときに特異的な活動パターンが見られたことから、この脳活動は直視刺激によって引き起こされたと考えられる。

以上、本研究は視線方向判断課題の精度と性格傾向との相関分析から、男性においては視線知覚精度には各自の性格特性である神経症傾向と関連した個人差があること、そして光トポグラフィーを用いた脳機能計測により、その脳内処理には右の下前頭回を中心とした広範な前頭皮質領野が関与することを明らかにした。

28. OPTOGENETIC MAPPING OF BRAIN CIRCUITRY

George J. Augustine (Director, Center for Functional Connectomics, KIST, Seoul, Korea Professor of Neuroscience and Behavioral Disorders, Duke-NUS Medical School, Singapore)

(2011.10.24)

Studies of the brain promise to be revolutionized by new experimental strategies that harness the combined power of optical techniques and genetics. This seminar will describe three examples of such optogenetic approaches. First, the light-activated ion channel, channelrhodopsin-2, can be genetically targeted to defined populations of nerve cells, allowing light to control neural activity in spatially and temporally precise patterns. Such “photostimulation” allows high-resolution mapping of brain circuitry both in vitro and in

living animals. Second, the light-activated chloride pump, halorhodopsin, can similarly be used to “photoinhibit” neuronal activity. Third, the fluorescent chloride indicator protein, clomeleon, permits mapping of the spatiotemporal dynamics of brain inhibitory synaptic circuitry. Using light to both control and monitor neural activity creates unprecedented opportunities to explore brain function, screen pharmaceutical agents, and potentially to use light to ameliorate psychiatric and neurological disorders.

29. 運動イメージの効果とその特異性について

雨宮 薫（東京大学大学院医学系研究科脳神経医学専攻）

(2011.10.31)

通常、随意運動の学習は、自身が計画・実行した動作と、実際に身体が行った動作との間に生じる誤差を修正する過程で成立する。一方、実際に運動を行わない運動イメージによっても、運動学習は可能である。しかし、

運動イメージによって、なぜ運動学習が成立するのかは、未だほとんど解明されておらず、従来の研究では、実際運動との行動、脳内神経機序などの類似性が強調されてきた。学習効果についても、実際運動との類似性に焦点

が当てられる反面、運動イメージによる学習効果は、実際の運動学習より低いというのが通説であった。しかし近年、運動イメージと実際の運動の脳内神経機序が相違することに注目が集まっている。このことから、運動イメージの学習の効果も、単に運動学習の縮小版ではない、異なる特異性が存在するのではないかと予測できる。本研究では、運動実行と運動イメージがどのような相違点を持つのかにとどまらず、運動イメージが、実際の運動や感覚のフィードバックと、どのような共通点を持ちながら、特有の領域を持つのか、3 者を比較することで、運動イメージの神経機序を細かく検討した。さらに、運動イメージ特有の学習効果とその関連領域を検討するため、実際の運動による学習効果と比較することで、特異領域の同定を試みた。最初に行ったのは、運動実行時の脳活動、運動感覚情報処理に関連する脳活動、そして運動イメージ時の脳活動の比較である。機能的磁気共鳴画像法 (fMRI) を用いて、右手首の屈曲伸張運動の (1) 実際の運動、(2) 運動錯覚による再現 (感覚フィードバック)、(3) 運動イメージを比較した。結果、運動イメージ中の脳活動は実際の運動と同様に、運動の指令にかかわる高次運動領域を中心とした活動がみられた。しかし補足運動野や運動前野などの高次運動領域はより、認知に関連することが

示唆されている前方領域に特化しており、運動感覚のフィードバックの賦活領域とも異なっていた。このことはつまり、運動実行や実際のフィードバック処理領域とは異なる領域で運動イメージを生成している可能性を示唆している。また、運動イメージは実際に四肢を動かさずに指令を行うという特異性に注目し、四肢非特異の運動学習効果を検討するため、運動イメージによる両側性転移の効果を検討した。両側性転移とは、ある学習した四肢の効果が他方の四肢などにも促進する効果をいう。系列学習運動を利用し、左手で (1) 実際の運動練習、(2) 運動イメージ訓練を比較し、各々の学習後、左手での学習効果と右手への転移効果を比較した。すると、運動を実際に行った群では左手 (学習側) に特化した訓練効果が見られたのに反し、運動イメージ群では学習側・非学習側に同等レベルの訓練効果が得られることが分かった。このことは、運動イメージ訓練が四肢に非依存な学習効果を持っている可能性を示唆する。さらに、運動イメージ群では前実験同様に、運動実行より前方の高次運動領域に特化した賦活領域が観察された。これらの領域は四肢非依存の運動との関連が示唆されていることから、運動イメージの特異性およびその特異的な効果が、四肢非依存性にある可能性を示唆する。

30. 二台の機能的 MRI 同時計測による見つめ合いおよび共同注意の神経基盤と二個体間の機能的結合

田邊宏樹 (心理生理学研究部門)

(2011.11.10)

ヒトの社会は遺伝的に無関係な個体の間での役割分担と共同により成立している。このような社会にあって円滑なコミュニケーションが出来ることはきわめて重要であり、近年その神経基盤の解明が進んでいる。しかし、これまでは社会的現象に対する個々の脳の働き (社会的認知) に関する研究が多く、リアルなコミュニケーション場面での視線や脳活動を計測する研究は、装置上の制約や困難性・解析手法の複雑さなどからほとんどなされてこなかった。そこで我々心理生理学研究部門では、二台の機能的 MRI 同時計測系 (dual functional MRI system) を立ち上げ、「視線のやりとり」を社会的インタラクションの例として、その神経基盤の解明を目指し研究を行っ

ている。今回のセミナーでは、福井大学と共同で開発した二台の MRI それぞれに被験者が入った状態でリアルタイムにお互いの目を見られるシステム (prototype dual fMRI system) を用いた見つめ合いおよび共同注意の神経基盤について、

(1) 健常ー健常ペア、

(2) 高機能自閉症ー健常ペアでの研究結果をお話しする。さらに昨年度から取り組んでいる生理研の二台の機能的 MRI 同時計測装置についてもその概要を簡単に紹介する。

防災訓練が 11 月 10 日になれば、開催時間を 12:00 - 12:50 に変更します。

31. Semantic and episodic-like memory signals in the medial temporal lobe

納家勇治 (ニューヨーク大学)

(2011.11.24)

Declarative memory, which depends on the medial temporal lobe (MTL) structures, consists of two sub-categories: semantic memory and episodic memory. The former refers to general knowledge of facts, while the latter refers to memories of autobiographical events containing items, times and places. In this talk, I will present neurophysiological data examining the two memories in macaque brains. Semantic memory was tested using an item-item association task in which subjects were required to retrieve a particular visual object when its paired object was presented as a cue stimulus. The single-unit data suggested that bidirectional signaling between the perirhinal cortex (PRC) of the MTL and visual association area TE is involved in the encoding and retrieval of item-item association

memories of visual objects (Naya, Yoshida and Miyashita, 2001 and 2003). On the other hand, episodic memory was tested using a temporal-order memory task in which subjects were required to encode two visual items and their temporal order. The data of single-unit and local-field-potential recording indicated that the hippocampus (HPC) provided incremental timing signals from one item presentation to the next while the PRC signaled the conjunction of items and their relative temporal order. These results suggest converging information flows that the continuous timing signal in the HPC is conveyed to the PRC where it is integrated with item information from area TE and converted into a discrete item-based temporal order signal (Naya and Suzuki, 2011).

32. ラット ES / iPS 細胞の樹立とその応用

平林真澄 (遺伝子改変動物作製室)

(2011.12.8)

ラットはマウスに比べて体が大きいことから手術等の操作性に優れ、ライフサイクルもマウスのそれとほぼ変わらないので、ヒトの生理機能や疾患を研究するモデル動物として広く利用されてきた。ラットにおける一連の生殖工学関連技術 (過剰排卵誘起, 胚採取, 胚移植, 胚の凍結保存, 体外受精, 顕微授精, 外来遺伝子導入など) は、マウス並の高いレベルの完成度にあると言える。

2003 年には体細胞クローン個体の誕生が報告され、2004 年には全ゲノム配列の解読 (BN 系統) も完了した。一方、遺伝子ターゲティングに必須な ES 細胞の開発

が遅れていたため、ノックアウト (KO) ラットを利用した研究はまったく進展しなかった。しかし 2008 年、ついにラットの ES 細胞株ならびに iPS 細胞株が樹立され、2010 年には p53 遺伝子 KO ラットの誕生が報告されるに至った。条件が整ったこれからは、ラットを用いた Reverse Genetics の研究が大きく発展するものと期待される。本セミナーでは、ラット ES/iPS 細胞の樹立とその応用として、KO ラットの作製と異種間キメラ動物の作製について紹介したい。

33. 表情と音声による多感覚情動知覚の比較文化研究

田中章浩 (早稲田大学高等研究所)

(2011.12.8)

他者とのコミュニケーションにおいて円滑な関係を維持するためには、相手の情動を正しく認知することが

不可欠である。話し手は言語内容に加えて、表情や声の調子などの非言語情報を利用して情動を表現しているが、

こうした多感覚的な情動表現の認知様式には文化差がある可能性がある。そこで、話し手の顔と声が表現する情動を独立に操作したときに、聞き手は相手の情動をどのように認知するのかを日本人とオランダ人の間で比較した。心理実験の結果、日本人は顔判断時には声からの影

響が大きいのに対して、声判断時には顔からの影響は小さく、一貫してオランダ人よりも声への依存性が高かった。この結果は、文化が多感覚統合における情報の重みづけに影響を与えることを示唆している。

34. クライオ電子線トモグラフィーによる細胞内分子分解能構造解析

宮崎直幸 (大阪大学蛋白質研究所 CREST)

(2011.12.28)

構造生物学においては、生体分子が実際に機能している細胞内で構造を決定することやそれらの分子間相互作用を直接見ることが、最終目標の一つだと考えられる。クライオ電子線トモグラフィーは、細胞内での生体分子の局在と構造を同時に観察出来る現在唯一の方法であり、その目標を達成する可能性を秘めているが、ハードウェアから解析まで、いまだ発展途上である。

我々は、本手法を用いて、分子の形状が分かる程の高分解能で細胞内超分子複合体やウイルスの構造を観察する為の観察方法の構築に取り組んでいる。そして、生体分子を実際に機能している細胞内で構造を決定することにより、機能している複合体状態やそれらの相互作用様式に関する知見を多数得ている。本セミナーにおいては、我々が最近行った、細胞間移動をしているウイルスやミドリムシの光センサーの構造解析等を例にして、本手法を使った細胞内での構造解析の現状を紹介したいと考えている。

ウイルスの細胞内侵入や細胞間移動では、電顕グリッド上で培養した細胞にウイルスを感染させ、液体エタンにより瞬時に凍結する(浸漬凍結法)ことで、その構造を水和した天然に近い状態で、尚かつ従来の方法よりも高い解像度で見ることが可能となった。一方、ミドリムシの光センサーの構造は、CEMOVIS (Cryo-electron microscopy of vitreous sections) 法によって観察することに成功した。CEMOVIS 法とは、非晶質に凍結した試料をクライオマイクロトームを使用して超薄切片に加工してクライオ電子顕微鏡で観察する手法である。このミドリムシの光センサーは、副鞭毛体と呼ばれ、ミドリムシの鞭毛の尾部で光センサータンパク質である PAC と呼ばれるタンパク質が集まった細胞内小器官である。我々は、CEMOVIS 法を用いて、ミドリムシの光センサーオルガネラの構造が、PAC が結晶状に並んだものであることを明らかにした。

35. 代謝性疾患治療薬創生に向けた胆汁酸受容体モジュレーターの開発

佐藤寛之 (愛媛大学 医学部内 総合科学研究支援センター)

(2012.1.6)

36. Mechanisms of excess androgen alteration in women's body weight regulation

野原一成 (Franck Mauvais-Jarvis Lab Division of Endocrinology,
Metabolism and Molecular Medicine Feinberg School of Medicine Northwestern University)

(2012.1.6)

37. 脳内シナプスの分子局在解析

足澤悦子（生理学研究所・神経分化研究部門）

(2012.1.11)

脳内における個々のシナプス結合は、機能に即したシナプス伝達特性を持ち、それが特定の神経細胞間で形成されることによって、情報処理機構の基盤を担う神経回路を形成していると考えられる。シナプス伝達特性の多様性やシナプス結合の特異性を支える分子メカニズムを解明することは、脳内情報処理機構の理解に必須である。そのためには、シナプス内に存在する機能分子の局在を知ることが重要であると考えられる。これまでに私は、SDS-digested Freeze-fracture Replica Labeling (SDS-FRL) 法を用いて、単一シナプスにおけるグルタミン酸受容体の局在様式とシナプス伝達特性の関係を解析してきたので、本セミナーではそれらの成果と今後の研究について紹介する。外側膝状体の中継細胞は、網膜と大脳皮質からグルタミン酸作動性シナプス入力を受けており、それぞれ異なるシナプス伝達特性を示す。この二種類のシナプスに着目し、AMPA 型受容体および NMDA 型受容体の発現様式を明らかにしたのでそれを紹介したい。次に、これまでに海馬を対象とした電気生理学的解析により、カイニン酸型受容体がシナプス伝達に関与することが報

告されているので、私は歯状回および CA3 の興奮性細胞上のシナプスでのカイニン酸型受容体の分布を解析し、入力経路特異的な発現を見出したので、その結果について報告する。最後に、特異的なシナプス結合を規定する分子メカニズムの解明を目的として、クラスター型プロトカドヘリンシナプス接着分子群に着目して現在行っている研究について紹介する。

大脳皮質には特異的な神経結合により微小神経回路網が形成されていることが明らかになってきているが、そのような特異的な神経回路形成の分子基盤についてはほとんど明らかにされていない。クラスター型プロトカドヘリンはその isoform の多様性に特徴があり、この接着分子群の多様性が神経回路形成の特異性を生み出している可能性がある。そこで、形態学的手法によりその単一シナプスレベルでの局在を解析するとともに、電気生理学的手法により、特定の isoform のみを発現する遺伝子改変動物に形成される神経回路を調べることで、特異的な神経回路形成メカニズムについて明らかにしていきたいと考えている。

38. Creating Rodent Models of Human Dystonia

P. Shashidharan (Department of Neurology, Mount Sinai School of Medicine, New York, NY 10029)

(2012.1.26)

私たちの部門は、Shashi 博士と日米脳の支援を受けて、大脳基底核疾患のひとつであるジストニアの病態生理に関する研究を行ってきました。今回、Shashi 博士は、米国側の日米脳の支援を受けて、共同研究のため来日され

ました。これまでの博士の研究について、とくにげっ歯類のジストニアモデルの作成についてセミナーをお願いしました。是非、御来聴下さい。

39. 一次体性感覚野を中心とした慢性疼痛メカニズムの解明

江藤 圭（生体恒常機能発達機構研究部門）

(2012.1.30)

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が機能的 MRI (fMRI) を用いた研究で明らかにされ

(Moisset and Bouhassira, 2007), 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のに重要な役割を担っており, 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が機能的核磁気共鳴法 (fMRI) を用いた研究で明らかになっている (Endo ら, 2008)。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。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, 本セミナーでは, 2 光子顕微鏡を用いた *in vivo* カルシウムイメージングや行動実験を組み合わせ得られた慢性疼痛時の興奮性, 抑制性神経細胞の役割についての知見を紹介したい。

40. In vivo evidence of astrocytic contribution to LTP in the cortex

高田則雄 (理化学研究所・脳科学総合研究センター 回路機能メカニズムコア・神経グリア回路研究チーム)

(2012.1.31)

Synaptic plasticity is postulated to be the basis of learning and memory. Although pre- and post-synaptic mechanisms of various forms of synaptic plasticity have been investigated in detail, the contribution of astrocytes has remained controversial. Electrical stimulation of the nucleus basalis of Meynert (NBM) transiently changes the synchronized EEG state (UP/DOWN states) to the desynchronized state in the cerebral cortex and such changes are abolished by the muscarinic acetylcholine receptor antagonist atropine. In urethane anesthetized C57BL/6 mouse barrel cortex, local field potential response to whisker deflection became significantly larger when the sensory stimulation was combined with electrical stimulation of the NBM. The enhancement of synaptic response was blocked by topical

application of atropine, suggesting that activation of the cholinergic projection plays a significant role.

Layer 2/3 cortical astrocytes showed increases of intracellular Ca^{2+} concentration in response to NBM stimulation, as observed with *in vivo* two-photon microscopy. Such Ca^{2+} increases were diminished by atropine or in inositol 1,4,5-trisphosphate receptor type 2 (IP3R2) knockout mice. Although IP3R2 knockout mice showed similar transient desynchronized EEG by NBM stimulation, conjunctive presentation of sensory stimulation and NBM stimulation did not produce an enhanced local field potential response in IP3R2 knockout mice. Our results provide *in vivo* evidence for possible involvement of astrocytic Ca^{2+} activity in the sensory and acetylcholine dependent synaptic plasticity.

41. 発達期化学物質曝露が脳神経発達に与える影響を鋭敏かつ包括的に評価し得る系の確立

根岸隆之 (青山学院大学理工学部化学・生命科学科)

(2012.1.31)

高次脳機能を支える脳の発達には胎児期から新生児期にかけて遺伝的因子・環境的因子の両者により絶妙にコントロールされている。

一方, 産業目的で日々何千種類という化学物質が開発され, その利用により我々の生活は成り立っている。ところがこれらの化学物質, 特に有機化合物の中には非意

図的に強い生理活性を有しているものもあり, 環境中に汚染しているものも多い。爆発的に進行する脳発達がこれら外来の化学物質により乱されると, たとえそれが致死的でなくとも脳機能の成熟, 高次脳機能等に影響を与え得ることは既に周知の事実となっている。しかしながらこの脳発達の異常を検出・評価するための方法が毒性

学的に完成しているとは言い難い。現在の化学物質に対する毒性評価系では、確かな、しかし微かな変化・影響を検出することは難しい。つまり毒性学を土台とした影響評価だけでは不十分で、神経科学の知見を巧みに利用した化学物質ばく露の脳発達影響評価系が望まれている。演者はこれまで化学物質汚染問題についてヒトにおけるリスク評価に役立つ実験動物を用いた脳発達影響評価系の確立を目指し、大きく分けて2つのアプローチを展開した。一つは通常毒性学で用いるげっ歯類とヒトの脳発達の系統発生的違いを意識し、ラットに加えて医学実験用霊長類であるカニクイザルを評価系に取り入れることでヒトにおけるリスク評価の際に問題となる種差の壁を低くする。もう一つは、化学物質ばく露に起因する微細な影響を的確に検出・評価し、その意味を適切に解釈するために *in vitro* (培養細胞) および *in vivo* (組織, 行動) レベルの評価を一連のバッテリーとし、影響の蓋然性を高めることである。医学実験用霊長類は言うまでもなくヒトの脳を理解する上で貴重な情報を与えてくれる。毒性学的にも医薬品等の前臨床試験でカニクイザル等のサル類が用いられるが、ここで求めているような脳発達に与える影響に焦点をあわせて評価することはあまり無い。そこで私はまず *in vitro* での影響評価系にカニクイザルを用いるために、カニクイザル胎齢 80 日胎仔大脳組織から神経細胞、アストロサイト、およびミクログリアの選択的培養系を確立した。これらの系は化学物質影響評価だけでなく、例えば霊長類でしか発現しない遺伝子の機能解析等にも有用である。次いで、*in vivo* レベルでの

化学物質曝露による脳発達影響評価を試みた。ここでは内分泌かく乱化学物質のひとつであるビスフェノール A の胎生期曝露により、オスの生後の行動がメス化することを明らかにした。また基礎的情報が少ないカニクイザルの脳発達を分子生物学的に解析した上で、新生仔期甲状腺ホルモン欠乏カニクイザルにおける抑制性神経伝達システム発達の遅延、樹状突起の形成異常等を明らかにした。結果、発達期カニクイザルは発達行動学的、分子生物学的、および組織学的に化学物質ばく露の影響評価系として利用可能であることが明らかとなった。

一方、*in vitro* (培養細胞) および *in vivo* (組織, 行動) レベルで一貫した評価系の確立を目指し、ビスフェノール A, 水酸化 PCB に加えて甲状腺ホルモンの影響等を評価する種々の実験を行ってきた。ここでは茨城県神栖市での井戸水ヒ素汚染による神経症状発症事故の原因物質と考えられるジフェニルアルシン酸が神経症状を発症させるメカニズムを解明するために細胞毒性、網羅的遺伝子発現解析、タンパク発現解析、形態学的評価等を *in vitro* および *in vivo* で包括的に検討した結果を紹介する。結論としてはアストロサイトがジフェニルアルシン酸により生じる酸化ストレスにตอบสนองして MAPK カスケードを活性化させ酸化ストレス因子を発現し、神経細胞を酸化ストレスから保護しようとするかたわら、MCP-1, FGF2, Adrenomedullin, Neuropeptide Y 等のペプチドを異常放出することで神経機能、脳血管機能を攪乱し神経症状を発症させる可能性が明らかとなった。

42. 神経外胚葉およびオリゴデンドロサイト系譜への発生分化を制御する分子機構の解析：

GSK3- β -catenin 経路と Mechanotransduction

清水健史 (MechanoBiology Institute (MBI), National University of Singapore)

(2012.2.1)

神経外胚葉およびオリゴデンドロサイト系譜への発生分化を制御する分子機構の解析：GSK3- β -catenin 経路と Mechanotransduction ■_要旨=オリゴデンドロサイト (以下 OL) の発生分化機構を明らかにすることは、脱髄性疾患の治療法の確立に向けて、内在性の OL 前駆細胞 (以下 OPC), 及び移植した OPC が、どのような分子メカニズムで脱髄部位において成熟した OL に分化し、効率よく髄鞘を再形成するのかを理解する上で極めて重要

である。和田ら (Wada et al., Dev Biol, 2000) により、マウス胚 OL の発生を抑制する未知の脊髄背側因子の作用が報告されていたので、その因子の同定を試みた。この背側抑制因子の活性変化と、脊髄背側における Wnt1, Wnt 3, Wnt 3a の発現変化が相関していることから Wnt タンパク質に着目した。マウス胚脊髄の分散培養と組織片培養において、Wnt タンパク質の添加、Wnt シグナルの下流因子 active β -catenin の遺伝子導入、および Wnt 阻害剤、

GSK3 阻害剤の添加を行い, OL の発生過程への影響を調べた。それらの結果, 液性因子 Wnt が canonical β -catenin 経路を活性化することによって, PDGFR α 陽性の OPC から O4 陽性の OL への分化ステップを抑制することを明らかにした。これらの結果によって, マウス脊髄腹側の Shh と, 脊髄背側の Wnt, BMP の双方の複合的なバランスによって, OL の発生が厳密に制御されることが示唆されるとともに, OL の発生が Wnt シグナルによって制御されることが初めて明らかになった。

近年, 液性因子のみならず, 機械的刺激による化学シグナルの活性化 (Mechanotransduction) によっても細胞の性質が制御されることが明らかとなってきた。中枢神経系の再生医療への応用が可能な多能性幹細胞であるマウス ES 細胞をモデル細胞として用い, その機械的刺激に対する応答, 及び活性化されるシグナリング経路について解析を行なった。まず異なった弾性硬度をもつポリアクリルアミドゲル基質上で ES 細胞を培養したところ, 特定の硬さの基質上から ES 細胞が抗力を受けた場合に, ES 細胞の形態が伸長し, Focal Adhesion Kinase

(FAK) -Src-ShcA-MAP kinase 経路が活性化され, ES 細胞の分化が誘導されることを見出した。次に, GSK3 と MAP kinase に対する 2 つの inhibitor (2i) を N2B27 培地に添加した状態下では, 血清と LIF を添加しなくてもマウス ES 細胞の未分化性が維持されることが知られているが, 弾性の柔らかい基質上で 2i 培養を行うと, ES 細胞が伸長し, その形態変化に伴った FAK-Src の活性化を介して, 神経外胚葉系への分化が誘導されることを見出した。最後に, Mechanotransduction 経路を遮断することによって ES 細胞の多能性が維持可能かどうかを解析したところ, GSK3 と Src の Dual inhibition (Alternative 2i) によっても維持可能であることが明らかとなった。これらの結果から, 液性因子のみならず Mechanotransduction を介しても ES 細胞の分化が誘導されることが明らかになり, 今後, 細胞骨格, 細胞形態, 細胞接着と関連した様々な生理現象における更なる研究の展開が期待できる。本セミナーでは, 上記二つの話題と共に, 今後展開する OL 研究についても議論したい。

43. Imbalance between basal ganglia circuits may affect anxiety-related behavior

Bongjune Yoon Section of Cell signaling, (School of Life Sciences and Biotechnology, Korea University)

(2012.2.8)

Recent developments in the neurobiology of anxiety have highlighted the neurotransmitter glutamate as an important element in anxiety-related behavior. Particularly, experimental evidences that support roles for glutamatergic synapses within the striatum in mood disorders are increasing. The striatum receives convergent excitatory inputs from the cortex and the thalamus and forms the efferent connection to the basal ganglia through the direct (striatonigral) and indirect (striatopallidal) pathways, which are involved in motor and cognitive function control. Because the basal ganglia provides input to the thalamus, and this input is modulated by the balance between the direct and indirect pathways, the regulation of corticostriatal synapses through which the

striatum receives major excitatory input seems to be critical for maintaining this balance. Here we examined the effect of altering glutamatergic synapses in the striatum of mice within the context of anxiety-related behavior. Mice that express the G2CT peptide, which interferes with AMPAR trafficking, specifically in the striatum show increased anxious behaviors in the several anxiety-related behavioral tests. Our results suggest that the alteration of glutamatergic synapses, especially the synaptic strength and structure in the striatum can affect anxiety-related behavior and that the tilted balance between the direct pathway and the indirect pathway may underlie these behavioral abnormalities.

44. Imbalance between basal ganglia circuits may affect anxiety-related behavior

Ja-Hyun Baik (School of Life Sciences and Biotechnology, Korea University)

(2012.2.8)

Recent developments in the neurobiology of anxiety have highlighted the neurotransmitter glutamate as an important element in anxiety-related behavior. Particularly, experimental evidences that support roles for glutamatergic synapses within the striatum in mood disorders are increasing. The striatum receives convergent excitatory inputs from the cortex and the thalamus and forms the efferent connection to the basal ganglia through the direct (striatonigral) and indirect (striatopallidal) pathways, which are involved in motor and cognitive function control. Because the basal ganglia provides input to the thalamus, and this input is modulated by the balance between the direct and indirect pathways, the regulation of corticostriatal synapses through which the

striatum receives major excitatory input seems to be critical for maintaining this balance. Here we examined the effect of altering glutamatergic synapses in the striatum of mice within the context of anxiety-related behavior. Mice that express the G2CT peptide, which interferes with AMPAR trafficking, specifically in the striatum show increased anxious behaviors in the several anxiety-related behavioral tests. Our results suggest that the alteration of glutamatergic synapses, especially the synaptic strength and structure in the striatum can affect anxiety-related behavior and that the tilted balance between the direct pathway and the indirect pathway may underlie these behavioral abnormalities.

45. Neural correlates of experience of visual and musical beauty

視覚と音楽における美の経験に関係する脳の活動

石津智大 (University College London)

(2012.2.20)

We studied the brain activity that correlates with the experience of beauty derived from two different sensory sources, visual and auditory stimuli, with the aim of learning whether activity in the same brain area(s) correlates with the experience of beauty when derived from different sources.

Activity in the brains of 21 participants from different cultural and ethnic backgrounds was studied using functional magnetic resonance imaging (fMRI). Participants rated pictures of paintings and musical excerpts on a scale of 1-9 before the scanning experiment. This allowed us to select three sets of stimuli - beautiful, indifferent and ugly - which subjects viewed and listened to, and rated in the fMRI scanner according to how beautiful they perceived each stimulus was, by pressing buttons at the end of each presentation.

Among the several areas that were active with each type of stimulus, only the medial orbit-frontal cortex (mOFC) was significantly active when subjects experienced beauty in both

visual and musical domains. A conjunction analysis to determine brain activity that was common to the experience of visual and musical beauty revealed that the same part of the mOFC correlated with the experience of beauty in both modalities. Moreover, we have found that the strength of activation in this area was proportional to the strength of the declared intensity of the experience of beauty.

We conclude that, as far as activity in the brain is concerned, there is a faculty of beauty that is not dependent to any specific modality but can be activated by at least two sources - visual and musical stimuli. In addition, our results reinforce earlier findings that the subjective experience of beauty can be objectively ascertained and its intensity quantitatively determined by measuring activity in the mOFC using brain imaging techniques.

※この講義は日本語で行います

46. 大脳皮質興奮性神経細胞の移動と軸索投射形成過程の解明

畠中由美子 (大脳神経回路論研究部門)

(2012.2.27)

大脳皮質、特に新皮質はほ乳類で高度に発達した脳の部位で、その発達が複雑な神経機能の基盤となっている。この部位の形態学的特徴としては領野や層構造を持つことがあげられ、これらは主に神経細胞の約 8 割を占める興奮性神経細胞の配置に依存している。近年の解析により、これら神経細胞は、大脳皮質の神経上皮に由来することが明らかになった。しかし、そこから、層形成に至る移動過程や、皮質内外への軸索投射形成過程については未解明の点も多い。そこで、エレクトロポレーション法を用いて *in vitro* または *in vivo* のもと、神経上皮細胞を GFP などの蛍光タンパク質で標識したのち、生じてく

る神経細胞の発達過程を固定切片上や、スライス培養下の time-lapse imaging 法などで解析している。今回、これらの細胞がどのように軸索を形成するかに焦点をあてて解析したところ、神経上皮から分化した幼弱細胞が、上皮の極性を失い、しばらくの間短い複数の突起を交互に伸縮させた後、突然軸索伸長を開始すること、そして層形成のための移動はその後に起こることを見いだした。

本セミナーではこの現象を紹介し、その後、大脳皮質内の脳領域を結ぶ連合・交連線維、皮質外への投射線維への発達過程について考察したい。

47. ストレス脆弱性における前頭前皮質ドーパミン系の役割とその制御機構

古屋敷智之 (京都大学大学院医学研究科 神経・細胞薬理学教室)

(2012.2.29)

ストレスはうつ病や統合失調症、PTSD など精神疾患のリスク因子とされる。しかしストレス脆弱性に関わる分子機序は不明であり、創薬標的として確立していない。近年、小動物ストレスモデルでの解析やうつ病患者の脳イメージングにより、前頭前皮質がストレス脆弱性に関与することが示唆されている。そこで我々は小動物うつ病モデルである反復社会挫折ストレスを用い、ストレスによる前頭前皮質の機能変化とそのメカニズムを調べた。情動制御にはモノアミン系が重要であることから、前頭前皮質と側坐核におけるモノアミン系の応答を、モノアミン放出の生化学的指標とされるモノアミン代謝回転と中脳ドーパミン細胞における *c-fos* 発現を指標に調べた。その結果、社会挫折ストレスにより前頭前皮質に選択的なドーパミン応答を認め、その皮質ドーパミン応答は社会挫折ストレスの反復により減弱した。

さらに、その減弱の度合いは反復社会挫折ストレスにより誘導される社会的忌避行動と正の相関を示した。前頭前皮質ドーパミン系の役割を調べるため、6-hydroxydopamine の局所投与により前頭前皮質へのドーパミン投射を選択的に破壊したところ、単回の社会挫折

ストレスによる著明な社会的忌避行動が誘導された。すなわち、皮質ドーパミン系は社会挫折ストレスへの脆弱性を抑制すると考えられる。さらに我々は反復ストレスによる皮質ドーパミン系抑制の分子基盤を探索し、プロスタグランジン PGE2 とその受容体 EP1 の関与を明らかにした。PGE2 はアラキドン酸由来の生理活性脂質であり、EP1 など G 蛋白共役型受容体に結合して作用を発揮する。EP1 欠損マウスでは、単回の社会挫折ストレスによる皮質ドーパミン応答は正常であるにも関わらず、反復社会挫折ストレスによる皮質ドーパミン応答の減弱が特異的に消失した。さらに EP1 欠損マウスでは、反復社会挫折ストレスによる社会的忌避行動や不安行動が惹起されず、この行動異常はドーパミン D1 受容体阻害薬 SCH23390 により正常化した。すなわち EP1 欠損マウスの行動異常は前頭前皮質ドーパミン系の脱抑制によると考えられる。

以上の結果から、PGE2-EP1 系による前頭前皮質ドーパミン系の抑制が反復ストレスによる情動行動可塑性に重要であることが明らかとされた。今後、前頭前皮質ドーパミン系制御に関わる分子群は精神疾患における新たな創薬標的になると期待される。

48. マーモセットは神経科学研究のモデル動物になりえるか？

～覚醒下マーモセットの神経生理学と遺伝子ノック・ダウン法の応用～

額額大輔（生体システム研究部門）

(2012.3.26)

マーモセットは小型の霊長類（体重 300-400 g）で扱いやすく、遺伝子改変マーモセットや脳障害モデルも報告されていることから、神経科学の分野におけるモデル動物としての利用が期待されている。しかし脳の構造をヒトやマカクザルなどと比べると大きさや脳溝など異なる点もあり、どの程度利用できるかは未知数である。当研究室では今後の神経科学での利用を見据えて、覚醒下での神経活動記録を確立した。そして運動関連皮質のマッピングをし、領野間の神経連絡を調べた。マカクザルで

はアプローチが難しい大脳皮質 3a 野の神経ネットワークについて解析を行った。また分子生物学的手法の応用はマーモセットの大きな利点である。運動の制御における大脳基底核のドーパミン投射の役割を解明するために、線条体のドーパミンの D1 受容体と D2 受容体のそれぞれを選択的にノック・ダウンしたマーモセットを作製し、行動の変化と大脳基底核の細胞活動の変化を測定した。本セミナーでは以上の研究から得られた結果と共にマーモセットの可能性についても紹介していきたい。

49. Sex differences in hippocampal memory formation

Keiko Mizuno (Institute of Psychiatry, King's College London, UK)

(2012.3.27)

Sex differences exist in brain function and behavior. Recent studies in rodents have started to reveal molecular mechanisms underlying sex differences in memory formation. It is becoming clear that sex differences are not only reflection of sex hormones, but also reflect differences in synaptic signaling mechanisms including the role of synaptic

kinases. My main focus on this talk will be that there are male-specific gene transcriptional regulations underpinning spatial and contextual fear memory, two types of hippocampus-dependent memories. These transcriptions are CREB-dependent and they involve regulation via the Ca^{2+} /calmodulin kinase cascade.

50. Mechanisms of memory formation: fast tracks and slow routes

Karl Peter Giese (Institute of Psychiatry, King's College London, UK)

(2012.3.27)

We have used mouse molecular genetic approaches to study memory mechanisms. We found that the autophosphorylation of alphaCaMKII (alpha-isoform of calcium / calmodulin - dependent kinase II), a major kinase in the excitatory post-synapse, is essential for NMDA receptor-dependent LTP (long-term potentiation) in hippocampal area CA1. This LTP deficit correlates with impaired one-trial learning in aversive conditioning tasks, suggesting that LTP is required for rapid,

one-trial learning. However, despite impaired CA1 LTP, memory can be formed in aversive conditioning tasks after multiple training trials. We found evidence that this memory is dependent on increased PSD-95 expression followed by the generation of multi-innervated spines, a type of synapse where a dendritic spine receives more than one presynaptic input. We suggest that generation of multi-innervated spines is a slow learning mechanism when LTP is impaired.

【 大 学 院 特 别 讲 义 】

大学院特別講義

1. 第 144 回 (2011.4.13)

演者：細胞器官研究系・細胞生理研究部門 山中章弘 准教授

演題：睡眠覚醒を調節する神経メカニズム

2. 第 145 回 (2011.5.18)

演者：細胞器官研究系・神経細胞構築研究部門（客員）/浜松医科大学 瀬藤光利 教授

演題：細胞は何種類あるか

3. 第 146 回 (2011.6.15)

演者：生体情報研究系・神経シグナル研究部門 古江秀昌 准教授

演題：In vivo パッチクランプ法を用いた内因性痛覚抑制機構の解析

4. 第 147 回 (2011.9.28)

演者：生体情報研究系・神経分化研究部門 東島真一 准教授

演題：ゼブラフィッシュ運動系神経回路の発生と機能

5. 第 148 回 (2011.10.19)

演者：発達生理学研究系・認知行動発達機構研究部門 伊佐 正 教授

演題：神経回路機能をひも解く新技術

6. 第 149 回 (2011.11.2)

演者：生体情報研究系・神経分化研究部門 吉村由美子 教授

演題：大脳皮質の、情報処理の基盤となる神経回路

7. 第 150 回 (2011.12.7)

演者：発達生理学研究系・環境適応機能発達研究部門（客員）/自治医科大学 矢田俊彦 教授

演題：食欲と代謝の新しい調節因子ネスファチンとオキシトシン

8. 第 151 回 (2012.1.18)

演者：分子生理研究系・分子神経生理研究部門 池中一裕 教授

演題：グリア細胞の機能と病態

9. 第 152 回 (2012.2.15)

演者：統合生理研究系・生体システム研究部門 南部 篤 教授

演題：大脳皮質—大脳基底核ループと大脳基底核疾患

10. 第 153 回 (2012.3.21)

演者：細胞器官研究系・生体膜研究部門 深田正紀 教授

演題：パルミトイル化脂質修飾によるタンパク質の局在決定機構

生理学研究所年報 第33巻

発行 2012 年 12 月 25 日
編集者 定 藤 規 弘
発行者 自然科学研究機構

生 理 学 研 究 所

〒444-8585 岡崎市明大寺町字西郷中 38
電話 〈0564〉 55-7700
FAX 〈0564〉 52-7913
URL: <http://www.nips.ac.jp/>

印刷製本 株式会社 エニウェイ
〒171-0014 東京都豊島区池袋 2-19-3
万葉ビル 2F
電話 〈03〉 3988-5656