

【 セ ミ ナ ー 報 告 】

セミナー報告

1. The rostral superior colliculus: What does it control ?

Michele Basso. (Wisconsin 大学医学部生理学教室 assistant professor, Wisconsin 地域霊長類センター)

(2001.4.2)

Neurons in the rostral superior colliculus of the monkey have been identified as “fixation” neurons due to their tonic activity during attentive fixation and their decrease in activity associated with the generation of large saccades. These neurons however, also have movement fields typically associated with small saccadic eye movements very close to the fovea. Because the locations close to the fovea are important for the guidance of smooth pursuit eye movements, I'll describe experiments in which we examined the relationship between the activity of the neurons and smooth pursuit eye movement generation. We found that these neurons correlated with smooth pursuit eye movements independent of saccades and are perhaps best viewed as

reflecting a position error signal relevant for, but independent of, ongoing behavior. I will also describe experiments in which the neurons in the rostral superior colliculus were inactivated with the GABA agonist, muscimol and activated with electrical microstimulation and the effects on smooth pursuit behavior were measured. The results of these experiments demonstrate that the signal provided by the rostral superior colliculus, rather than signaling a command to keep the eye still or fixate, signal small, parafoveal target locations that can be used to guide either saccades or smooth pursuit eye movements.

(担当 : 伊佐 正)

2. A molecular dissection of the node of Ranvier.

Matthew Neil Rasband. (ニューヨーク州立大学・生化学, 細胞生物学)

(2001.4.6)

Successful electrical signalling in the nervous system depends on the precise subcellular localization of ion channels. To facilitate rapid action potential conduction while minimizing space requirements, vertebrates have developed both myelin and a heterogeneous ion channel localization along axons. Specifically, the myelin sheath creates a high resistance, low capacitance barrier to transverse currents, and is interrupted at regularly spaced sites called nodes of Ranvier where Na^+ channels are clustered in very high densities. In contrast, K^+ channels are excluded from both the node and the paranode (the region where layers of myelin terminate and form axoglial junctions) but are clustered in adjacent, short 5-15 μm zones called the juxtaparanode. As a result, the node of Ranvier represents one of the most highly specialized

sites in the nervous system and is an excellent model for studying how channels and other neuronal and membrane proteins are targeted, clustered, and maintained in their appropriate subcellular domains, and for determining how neurons and glia reciprocally interact in subcellular differentiation. We have undertaken an ambitious project, using state of the art techniques in proteomics, monoclonal antibody development, and membrane protein biochemistry to perform a molecular dissection of the node of Ranvier and identify the complex community of proteins involved in node formation and channel clustering and maintenance. This lecture will describe recent results leading to the molecular dissection of the node of Ranvier.

(担当 : 池中一裕)

3. Neural basis of attention to object-tokens

Mitchell J. Valdes-Sosa. (Director, Cuban Neuroscience Center)

(2001.5.22)

When one sensory event occupies an observer, accurate perception of a second event is difficult until some time has elapsed. Part of this limitation may reflect the allocation of attention over time, a topic studied through paradigm like the "attentional blink" and "repetition blindness. Here we show that when attention is directed towards an event (a brief change in direction) that transforms one of the illusory surfaces perceived in transparent motion, it is difficult to discriminate a subsequent event affecting the other surface until some time has elapsed. This attentional dwell-time lasts about 500 ms. There is no interference between two successive events that transmute the same surface. The

two-surface cost was associated with a reduced event related potential, N1 (and in some circumstances P1) component, as well as reduced fMRI activity in early extra-striate visual cortex (near MT/MST and near V4). These results indicate attentional dwell-time corresponds to competitive effects at a pre-perceptual locus in early vision. This difficulty in switching attention rapidly between surfaces is not mediated by spatial mechanisms (2-D or 3-D) or filters based on elementary attributes. The effects are apparently mediated at the level of object-tokens.

(担当：定藤規弘)

4. 霊長類下部側頭葉における視覚記憶表現：「もの」の形を思い出すこと

納家勇治 (高次液性調節部門)

(2001.5.23)

陳述記憶の記銘と想起は新皮質と大脳辺縁系、さらにこれらの間の相互作用に依存する。視覚長期記憶の貯蔵庫と考えられる下部側頭葉は、TE野と傍嗅皮質という細胞構築学的に異なる2つの領域から構成されている。これら2つの隣接する領域は互いに多くの神経繊維を投射しているが、TE野が視覚腹側路の最終段階であるのに対し、傍嗅野は辺縁系の一部である。TE野から傍嗅皮質へ順方向に送られる視覚情報は記憶の記銘に作用すると考えられている。実際、我々は最近の研究で記憶の形成期に神経成長因子であるBDNFが傍嗅皮質に選択的に発現することを示した。

一方、傍嗅皮質からTE野への逆行性投射の働きについてはこれまであまり研究されてこなかった。我々はこ

の逆行性神経投射の働きを調べるため、視覚性対連合記憶課題遂行中のマカクザルにおいて、傍嗅皮質とTE野で知覚に関係する信号と記憶に関係する信号のタイムコースをそれぞれ調べた。その結果、手掛かり刺激の提示により活性化される知覚信号は傍嗅皮質よりも先にTE野へ到達し、知覚信号が順行性に伝達されることを確認した。一方、TE野ニューロンは記憶想起信号が傍嗅皮質に現れた後に、要求される選択刺激を次第にコードし始めた。この知見より、傍嗅皮質からTE野への逆行性投射が長期記憶から想起によって取り出される視覚オブジェクトを表現するよう、TE野ニューロンを活性化していることが示唆される。

(担当：靱山俊彦)

5. 「PKCターゲティング機構の解析」

酒井規雄 (神戸大学バイオシグナル研究センター 分子薬理分野)

(2001.6.18)

プロテインキナーゼC(PKC)は、細胞内情報伝達系において重要な役割を演ずる蛋白質リン酸化酵素で、様々

な細胞の機能調節、機能発現に関与していると考えられている。PKCには、12種類以上のサブタイプが存在する

ことが知られているが、これらサブタイプ間の機能的差異については未だ不明な点が多い。我々は、サブタイプ特異的な機能を検討する目的でPKCのトランスロケーション現象に注目して研究をすすめている。すなわち、PKC-GFP 融合蛋白質を各種培養細胞に発現させ、PKCのトランスロケーションを生細胞でリアルタイムに解析することにより、PKCは細胞内の他のコンパートメントに局在を変化させ、そこで標的の蛋白質を認識しシグナルを伝えるという、ターゲティング機構を有することを見いだした。さらに、PKCのターゲティングは、1) 刺激特異的、サブタイプ特異的であること、2) PKCがそ

の標的蛋白質をリン酸化するために必須の現象であること、3) PKCの活性化物質としてよく知られているジアシルグリセロール以外の脂質メデイエーター(セラミド、アラキドン酸など)によっても引き起こされること、が明らかになってきた。我々は、PKCターゲティング機構の解明が、PKCの細胞内情報伝達系での役割をさらに明らかにする上で重要な鍵を握ると考え、現在、この実験系を初代培養神経細胞や、トランスジェニックマウスにも応用させ、研究をすすめている。本セミナーでは、最近得られたPKCターゲティングに関する知見を紹介する。

(担当：坪川 宏)

6. Recovery of voluntary movement in the cat after selective spinal cord lesions.

Lars-Gunnar Pettersson(Department of Physiology, University of Göteborg, Sweden)

(2001.6.25)

(担当：伊佐 正)

7. NGF OVER-EXPRESSION IN THE SPINAL WHITE MATTER OF TRANSGENIC MICE LEADS TO ECTOPIC PEPTIDERGIC SENSORY FIBRE INNERVATION AND HYPERALGESIA

Ribeiro-da-Silva (Department of Pharmacology & Therapeutics, McGill University, Montreal, Canada)

(2001.6.26.)

A transgenic mouse has been developed which over-expressed nerve growth factor (NGF) during postnatal development under the control of a myelin basic protein promoter. The over-expression occurred in myelinating oligodendrocytes located in the white matter of the CNS, from the date of birth to the age of 2 months. These animals displayed ectopic networks of substance P (SP) containing sensory fibres in the white matter in several locations in the CNS, including the white matter of the spinal cord, from postnatal day 5 onwards. The ectopic SP-immunoreactive (IR) fibres occurred in bundles and persisted indefinitely after the age of 4 months, although NGF levels had returned to normal.

At the ultrastructural level, the ectopic SP-IR fibres established numerous synapses in the white matter of the spinal cord, preferentially on dendrites that expressed the SP receptor. Interestingly, no differences from control were detected in the SP innervation of the superficial dorsal horn. In behavioural studies, the transgenic mice displayed hyperalgesia, which was reversed by SP receptor and NMDA receptor antagonists. These results indicate that the ectopic fibres were functional and, despite their ectopic location, still preferentially innervated neurons expressing the SP receptor.

(担当：重本隆一)

8. 「目の動き」認知に関与するヒト後頭側頭葉の活動

渡邊昌子 (統合生理研究施設感覚・運動機能プロジェクト)

(2001.6.27)

私たちは日常生活の中で、常に他者の動きを読み取りその意味を理解している。特に顔、目の認知はヒトが他者とコミュニケーションを取る上で重要な機能のひとつである。我々は脳磁図を用いヒトの顔認知機構について研究を続けているが、今回「目の動き」を見ている時の脳活動について検討した。

仮現運動も含めた視覚性運動の認知には中側頭葉(MT)もしくはV5と呼ばれる部位が関わっている。ヒトを対象としたニューロイメージング的手法(fMRI, PET)を用いた研究によると、動きに感受性のある部位は後頭側頭境界付近に位置しており、ここがヒトのMT/V5野に相当すると考えられている。

今回の我々の研究では、仮現運動現象を用いることにより「目の動き」に対する誘発脳磁場を記録することが

できた。「目の動き」に対する誘発脳磁場の活動は「背景の模様の動き」に対する活動と比較し有意に潜時が延長していた。

「目の動き」に対して誘発された成分の活動源は、ヒトのMT/V5野とされる中側頭葉後部に位置推定された。これは我々の研究室で行っている運動視に関する研究と一致した所見であった。また、「背景の模様の動き」に対する活動源も中側頭葉後部に位置推定できたが、その位置は「目の動き」と比較し有意な違いが認められた。この結果は、ヒトのMT/V5野の中に刺激特異性の受容野分布があり、特に「目の動き」に特異的な部位が存在する可能性を示唆している。Watanabe S, Kakigi R, Puce A: Neuroimage 13: 351-363, 2001

(担当：初山俊彦)

9. SNAREs in pancreatic acinar exocytosis

Herbert Y. Gaisano (University of Toronto)

(2001.7.16)

(担当：河西春郎)

10. ファージミド抗体ライブラリーを用いた新しいプロテオーム解析手法開発の試み

金子清俊 (国立精神・神経センター神経研究所 疾病研究第七部)

(2001.7.18)

いよいよプロテオーム解析の世紀を迎えつつある昨今、より効率的な蛋白質解析手法の開発は重要である。中でも標的蛋白質に対する抗体を容易に得ることができ、かつそれを簡単に増幅し精製することができれば、研究効率の飛躍的な増大を実現することが可能であると考え、我々はファージミド抗体ライブラリーに注目した研究を

展開している。具体的には、ファージミド抗体ライブラリーを用いて、2次元電気泳動上に展開された蛋白質スポットから直接抗体を同定する試みや、スライドガラス上の組織切片を標的として、ミクロンオーダーの微細構造物から直接抗体を同定する方法の開発等を行っている。

(担当：重本隆一)

11. 視覚画像の最適符号化としての V4 野におけるテクスチャー感受性

花澤明俊 (高次神経性調節研究部門)

(2001.7.25)

視覚系の各情報処理段階で観察されるニューロンの挙動は、画像情報圧縮技術における直交化、ウェーブレット、ベクトル量子化あるいは相似性解析といったステップとよく対応しており、視覚系に限られた情報処理資源を最大限に活用する効率の高いシステムとしてデザインされていることを示している。木目や布目、あるいは岩の表面や生理研の壁に見られる、2 次元模様の細かい 3 次元凹凸の繰り返し構造は、テクスチャーとよばれる視覚属性に分類され、物体の識別や境界検出などの視覚認知および歩行や掌握といった運動制御に重要な情報である。画像圧縮においては、物体のテクスチャー部分とその境界部分を分けて処理すると圧縮効率が上がる、あるいは圧縮手法によっては、テクスチャーとその境界

は自律的に分かれて処理されることが知られている。このような情報論的必然性から、視覚画像を効率的に表現し、パターン認識や記憶に供する上で、生理学的によく研究されている画像中の境界線分の処理に特化したニューロン群の他に、テクスチャーの符号化に特化したニューロン群が存在する可能性が考えられる。画像中のテクスチャーの符号化をウェーブレット(V1 の単純型細胞、複雑型細胞) レベルの空間周波数による画像の符号化と区別するために、空間周波数構成に影響を与えず、知覚にのみ影響する「陰影」を組み込んだテクスチャーを視覚刺激として用い、テクスチャー符号化に特化したニューロン群の探索を V4 野において行った。

(担当：初山俊彦)

12. 随意運動に伴う皮膚感覚入力の抑制機構

関 和彦 (統合生理研究施設・高次脳機能研究プロジェクト)

(2001.9.13)

(担当：初山俊彦)

13. The multifunctional role of the vestibular system: from the brain stem to the cortex, and back

Werner Graf, Lab. Physiologie de la Perception et de l'Action, CNRS/College de France, Paris

(2001.9.17)

Self-motion perception in the so-called "dorsal stream" relays has largely been studied with reference to visual inputs arriving via the lateral geniculate-V1 pathway. However, for higher cortical processing in parieto-temporal regions, a single sensory quality by itself, such as vision, can no longer be of perceptual and behavioral importance, since every displacement of the head in space will stimulate labyrinthine receptors detecting either rotational (semicircular canals) or linear accelerations (otoliths) in addition to the visual, auditory and somatosensory peripheries. Furthermore, multisensory input could be used to disambiguate ambivalent monosensory information. Thus, signals carrying meaningful

messages are certain to contain multisensory information, and unequivocal interpretation of self-motion by the nervous system requires converging multisensory information that takes into account rotational and translational displacements of eyes, head and body in three-dimensional space. It also necessitates a comparison of congruent and conflicting input originating from different sensors. We have been trying to understand how sensory inputs leading to movement space perception/representation are combined at the level of single neurons in the primate neocortex, in particular the ventral intraparietal area (VIP). This area is located in the fundus of the intraparietal sulcus neighboring the medial and lateral

intraparietal areas (MIP and LIP, respectively). Its neurons respond selectively to the direction and speed of moving visual stimuli, and many of these also have direction-selective tactile sensitivity. VIP has been defined as the principal projection area from the medial temporal area (MT) and the medial superior temporal area (MST), and thus can be considered as intimately related to self-motion detection and analysis. We found indeed, that many neurons in VIP also have vestibular responses. Anatomically and functionally, the motion areas in the parieto-temporal regions are situated at an intermediate stage between lower-level motion analysis and motor output, and are involved in multisensory integration and perceptual and motor decision-stage operations. Vestibular input comes from all cortical areas that are considered "vestibular", notably the parieto-insular vestibular cortex (PIVC), and areas 3a and 2v. VIP also receives input

from the frontal eye fields (FEFs), and in turn also projects there, and to the superior colliculus. In addition, there is a direct projection from the FEFs to neurons in the central mesencephalic reticular formation in the neighborhood of the oculomotor nuclei. These neurons, in turn project to oculomotor motor neurons, notably abducens motoneurons. This newly discovered link thus constitutes one additional sensory-motor processing loop involved in spatial orientation, self-motion perception and compensatory eye movements. We propose that the eye movement system may be organized in several layered processing loops, each of which is involved in different functional contexts, such as orientation, goal-directed movements, saccade generation, reflex movements, motor learning, etc.

(担当：森 茂美)

14. Activity-dependent bidirectional plasticity of active synaptic integration in hippocampal pyramidal cells

Dominique Debanne.

(2001.9.17)

Integration of synaptic excitation to generate an action potential (EPSP-Spike coupling or E-S coupling) determines neuronal message. Bi-directional synaptic plasticity is well established in the hippocampus but whether active synaptic integration expresses bidirectional changes remains unclear. We show here that in the area CA1 long-term synaptic depression is associated with a NMDA receptor-dependent depression of E-S coupling. E-S depression is input specific and is still expressed in the presence of GABAA and GABAB

receptor antagonists. However, our preliminary data show that E-S depression is not expressed in the presence of T-type Ca^{2+} channel blockers. In single neurons, E-S depression is observed without change of postsynaptic passive properties. We conclude that a decrease in intrinsic excitability via a down regulation of T-type current underlies E-S depression and is synergic to glutamatergic long-term depression

(担当：伊佐 正, 坪川 宏)

15. Dendritic coincidence detection and the induction of synaptic plasticity

Michael Hausser (Department of Physiology, University College London)

(2001.9.21)

We describe a mechanism for coincidence detection mediated by the interaction between backpropagating action potentials and EPSPs in neocortical pyramidal neurons. At distal dendritic locations, appropriately timed EPSPs or oscillations could increase the amplitude of backpropagating

action potentials by three- to fourfold. This amplification was greatest when action potentials occurred at the peak of EPSPs or dendritic oscillations and could lead to somatic burst firing. The increase in amplitude required sodium channel activation but not potassium channel inactivation. The temporal

characteristics of this amplification are similar to those required for changes in synaptic strength, suggesting that this mechanism may be involved in the induction of synaptic

plasticity.

(担当：初山明子)

16. Mechanisms of distance-dependent synaptic scaling in hippocampal neurons

Dr. Jeffery Magee (Neuroscience Center, Louisiana State University Medical Center, U.S.A)

(2001.9.25)

Synaptic input is widely distributed along complex dendritic trees, which would result in a location dependence of synaptic input unless counterbalanced by some other factors. We have recently observed that a progressive 3-fold increase in the conductance of unitary excitatory synapses with distance from the soma is able to accomplish this counterbalancing. We are now investigating the underlying mechanisms of this novel distance-dependent synaptic scaling. Using rapid glutamate application to outside-out patches we have determined that the amount of AMPA and NMDA

receptors present at distant synapses increases two to three fold across the range of input. There does not appear to be any alteration in receptor modulation or subunit expression. We hypothesize that a greater number of larger area synapses as well as synapses with multiple release sites are present in the distant regions of the apical arborization.

Reference: Magee and Cook, Nature Neuroscience 3: 895-903 (2000)

(担当：坪川 宏, 川口 泰雄)

17. Firing rates and patterns in hippocampal pyramidal cells in vivo

Gyorgy Buzsaki (Center for Neuroscience, Rutgers, The State University of New Jersey, U.S.A)

(2001.9.29)

Cortical pyramidal cells fire single spikes and complex spike bursts. I will discuss the conditions in the intact brain that 1) may affect the threshold of spikes, 2) regulate firing rates and 3) determine the incidence of complex spikes.

Understanding the conditions that influence the initiation of action potentials in single neurons is an important step in determining the way information is processed by neural networks. We have investigated the properties of action potential thresholds using in vivo intracellular methods. We have found a large variability in the threshold voltage of spontaneously occurring action potentials. We have identified two separate factors that contribute to this variation in threshold: 1) fast rates of membrane potential change prior to the action potential are associated with more hyperpolarized threshold (increased excitability) and 2) the occurrence of other action potentials in the 1 s prior to any given action

potential is associated with more depolarized threshold (decreased excitability). We suggest that prior action potentials cause sodium channel inactivation that recovers with approximately a 1-s time constant and thus depresses action potential threshold during this period.

Pyramidal neurons fire not only single spikes but also bursts of spikes. However, the conditions necessary for burst induction are not known. CA1 pyramidal cell burst activity was examined in behaving rats. The fraction of bursts was not reliably higher in place field centers, but rather in places where discharge frequency was 6-7 Hz (theta oscillation frequency). Burst probability was lower, and bursts were shorter, after recent spiking activity than after prolonged periods of silence (100ms-1s). Burst initiation probability and burst length were correlated with extracellular spike amplitude and with intracellular action potential rising slope.

We suggest that bursts may function as "conditional synchrony detectors", signaling strong afferent synchrony after neuronal silence, and that single spikes triggered by a weak input may suppress the later induction of a burst by a strong input. This mechanism may provide a stabilizing mechanism and limit the excitability increase brought about by synaptic potentiation. How are the firing rate changes brought about? In a familiar environment, the discharge frequency of simultaneously recorded individual CA1 pyramidal neurons and the co-activation of cell pairs remain highly correlated across sleep-wake-sleep sequences. However, both measures

were affected when new sets of neurons were activated in a novel environment. Nevertheless, the grand mean firing rate of the whole pyramidal cell population remained constant across behavioral states and testing conditions. The findings suggest that long-term firing patterns of single cells can be modified by experience. We hypothesize that increased firing rates of recently used neurons are associated with a concomitant decrease in the discharge activity of the remaining population, leaving the mean excitability of the hippocampal network unaltered.

(担当：坪川 宏，川口 泰雄)

18. The role of the olivocerebellar system in the control of timing and amplitude of movements

Dr.Chris I. De Zeeu (Department of Neuroscience, Erasmus University, Rotterdam, The Netherlands)

(2001.10.1)

The olivocerebellar system is organised in separate modules. Each module controls the timing and amplitude of particular movement components about a particular axis in space. Dynamic regulation of electrotonic coupling between inferior olivary neurons, which provide the climbing fibers to Purkinje cells in the cerebellar cortex, has been proposed as one of the major mechanisms underlying the control of the timing of movements, while the induction of long term

depression (LTD) at the parallel fiber-Purkinje cell synapse is probably one of the major mechanisms underlying adaptation of the amplitude of movements. We have created and/or tested several mouse mutants in which the induction of cerebellar LTD or the electrotonic coupling between olivary neurons are disturbed. Both cellular mechanisms will be discussed and related to their roles in the control of movement.

(担当：重本隆一)

19. Neuronal Nicotinic Acetylcholine Receptors: Why is it a Hot in Neuroscience?

Professor Toshio Narahashi (Department of Molecular Pharmacology
and Biological Chemistry, Northwestern University Medical School, Chicago)

(2001.10.22)

Neuronal nicotinic acetylcholine receptors (nnAChRs) have become an extremely hot subject of investigations in neuroscience during the past several years. This is because their significance in the physiology, pharmacology, toxicology and pathophysiology of the brain is increasingly recognized. They are ubiquitously distributed in the brain, modulate the

release of many neurotransmitters, are the target sites of therapeutic drugs and newer insecticides, and are related to several neurological disorders. Our most recent studies of nnAChRs as related to Alzheimer's drugs and alcohol will be presented.

(担当：小幡邦彦)

20. 痛み刺激受容の分子機構

富永真琴（三重大学医学部生理）

(2001.10.24)

近年の分子生物学の進歩によって、感覚神経特異的に発現するいくつかのイオンチャネル型痛み刺激受容体の遺伝子クローニングがなされた。イオンチャネル型受容体は、痛み刺激受容がチャネルの開口から脱分極を引き起こし、神経細胞興奮による侵害刺激信号の伝達を非常によく説明する。この受容体のうち、トウガラシの主成

分カプサイシンの受容体 VR1 はカプサイシンのみならず痛みを惹起する熱（43 度以上）や酸（プロトン）によっても活性化する多刺激痛み受容体として機能することが明らかとなった。そこで、VR1 を中心とした痛み刺激受容機構について最新の知見を紹介した。

(担当：岡田泰伸)

21. 長期記憶の分子機構の解析：海馬歯状回の LTP をモデルとして

深澤有吾（脳形態解析部門）

(2001.10.30)

長期的な記憶の形成と維持には遺伝子発現が必要であると考えられています。私は、三菱化学生命科学研究所・井ノ口馨研究室の「活動依存的に発現する遺伝子の同定とその産物の動態を解析する事を通して、長期記憶の分子メカニズムを解明する」プロジェクトに約 4 年間参加し、主に 2 つのテーマに取り組みました。

1 つ目は、代謝型グルタミン酸受容体の足場タンパク質である *ves1/hom* ファミリー遺伝子群の同定と、その遺伝子の一つ、活動依存的遺伝子発現を示す *Vesl-1S/homer-1a* に着目しての、synaptic tag 現象の分子レベルでの検証でした。Synaptic tag 現象は Frey と Morris (1997) により、海馬スライスの CA1 LTP 実験の電気生理学的解析結果を元に提唱された仮説で、「印象的な出来事と一緒に日常的な出来事までが長い間記憶に残る」といった現象の細胞レベルのモデルと考えられている現象です。この検証の結果、synaptic tag 現象が *Vesl-1S* の免疫陽性反応の変化としても観察されることを明らかにし、synaptic tag 現象が分子生物学的に解析可能であることを見出しました。

2 つ目のテーマは、シナプス可塑性創出の場である樹状突起スパインには、アクチン細胞骨格が豊富で他の骨

格系が殆ど無いこと、また、活動依存的に発現誘導される遺伝子群の中にアクチン結合タンパクを見出したこと等の背景から始めた「アクチン細胞骨格系の長期記憶機構における役割」を解析する仕事でした。ここでは、スパインシナプスに存在するアクチン分子がシナプス入力依存的に重合化する事を明らかにすると同時に、アクチン動態の薬理学的な抑制が長期的な可塑的变化の維持を阻害する事を見出し、長期記憶の維持にアクチン細胞骨格系の制御系が深く関与していることを明らかにしました。

これらの研究は、神経伝達物質受容体や可塑性関連分子のシナプスへの局在調節機構に新たな知見を提供するだけでなく、一つの樹状突起への複数のシナプス入力が何処まで干渉しあい、また、独立性を保っているのか、すなわち樹状突起内の情報処理機構を分子レベルで解析できる実験系と知見を提示したものと考え、今後、さらに発展させていこうと考えています。

セミナーでは、これらの解析結果について紹介させていただきますので、ご意見、ご質問等お待ちしております。

(担当：靱山俊彦)

22. GROWTH FACTOR-INDUCED OLIGODENDROGENESIS FROM THE ADULT MOUSE SVZ:PERSPECTIVES FOR MYELIN REPAIR.

Francois Lachapelle (INSERM)

(2001.11.13)

Multiple sclerosis (MS) is the most common cause of neurological deficit in the young adult in Europe and USA. The cause of this multifactorial inflammatory demyelinating disease is presently unknown. However, the loss of myelin and of healthy axons are believed to be responsible for the irreversible damages. Myelin repair occurs in MS, however, the potential for remyelination decreases with the progression of the disease and the age of the patient. Although the causal agent which triggers the disease has not been identified yet, finding ways to promote remyelination would be beneficial for the patients and would improve their quality of life. Strategies for myelin repair can be based on substitutive engraftment of myelin-forming cells or activation of spontaneous remyelination. Among different candidates for myelin repair, the adult CNS contains stem-like cells localized in discrete areas I.E the subventricular zone. These cells generate neurons and astrocytes in normal conditions and in response to traumatic or neuronal injury.

In order to evaluate their potential to generate myelin-forming oligodendrocytes *in vivo*, fragments of the structure were dissected out of the brain of 6 months old normal mouse and transplanted into the brain of MBP-defective newborn shiverer mice. Without treatment few cells survived and were able to synthesize MBP+ myelin in the host brain. In order to try to promote oligodendrogenesis from this structure donors received then one unique intraperitoneal injection of 5ng/g of living weight of EGF and FGF-2 two growth factors known to promote proliferation in this area and PDGFAA whose receptors is expressed by the PSA-NAM- positive cells present in the structure. Afterward, their SVZ was dissected and processed for transplantation in the newborn shiverer mouse host brain 24 to 72 h. after treatment. The study evidenced that the 3 factors favored the survival of grafted cells. A 6 fold increase in the number of grafted brains containing MBP+ myelin was observed with EGF and a 16 fold with PDGF and FGF-2 compared to vehicle-injected controls used as donors. Tumourisation was observed with

EGF but neither with PDGF nor FGF. In addition, the effect of FGF-2 was maximum after 48h. and still present after 72h. Such effect was only observed when rostral part of the SVZ was used for transplantation, but neither with the caudal part of the structure nor with striatal fragments deprived of the wall of the lateral ventricle. Analysis of the dynamic of the cell population was performed by combining BrdU labeling for proliferation with growth factor treatment. When animals received BrdU (1mg/ g) 2h. before growth factor or vehicle injection (tracing study), most of the BrdU positive cells present in the SVZ and the rostral migratory stream were PSA-NCAM+ cells. PDGF and FGF treatment induced a twofold increase of the population of PSA/BrdU cells in both structure. When animals received BrdU 48h. after treatment (proliferation study) and were sacrificed 2 hours later, PDGF induced a twofold and FGF-2 a threefold increase in the total number of BrdU+ and BrdU+/PSA-NCAM+ proliferating cells in SVZ and RMS. In addition many BrdU+ cells could be observed in the corpus callosum migrating toward the cortex. But in contrast with the previous conditions, most of the BrdU+ cells were PSA-NCAM-, suggesting that the proliferating effect of both growth factors was linked with an effect on SVZ cells differentiation. Immunocharacterization of the dissociated cell population obtained from SVZ fragments to be grafted evidenced that PDGF and FGF promote a 50% increase of PSA-NCAM+ (40.2% and 45.2% respectively vs 27.3) and PSA- NCAM+/nestin+ cells (16.3% and 15.4% vs 10.5%) over their respective controls. Moreover the growth factors promoted a 3fold increase of the TuJ1+neuroblasts (15.9% for PDGF, 16.2% for FGF vs 5.5%) PDGF had no effect, but FGF-2 led to a 4.5 fold increase of the GD3+ population (0.9% and 2.17% vs 0.79%). In addition both factors increased the proportion of 04 cells (10.25% and 12.6% vs 6.23%). In contrast, nestin+ GFAP+ and GalC+ cell populations were not modified. In order to determine whether these cells could also remyelinate, fragments of MBP- LacZ tg mice were engrafted in the SVZ of normal

mice remoted from an LPC-induced demyelination of the corpus callosum. The study evidenced that FGF-2 treatment strongly increased the participation of grafted cells to remyelination. These results suggest that SVZ cells could participate in myelin repair in the adult providing that they

could be conveniently primed. In addition, they suggest that a convenient window of cell activation rather than a continuous exposure would favour generation of differentiating cells able to participate in the process of remyelination.

(担当：池中 一裕)

23. レドックスセンサーとしての G タンパク質

西田基宏（統合バイオ・生命環境研究領域）

(2001.11.20)

活性酸素種（Reactive Oxygen Species; ROS）は、細胞内の蛋白質、脂質、核酸などを非特異的に酸化し、生理機能の障害を引き起こします。心筋においても、虚血・再灌流や炎症時のサイトカイン刺激によって過剰な ROS が生成され、細胞死や心肥大を引き起こすことが知られています。その一方で最近、ROS が特定の蛋白質を酸化し機能修飾を与えることで細胞内情報伝達経路を活性化し、正常時の機能発現にも関与することが明らかにされていきています。私はこれまで東京大学大学院薬学系研究科の長尾拓研究室で黒瀬等助教授の指導の下、酸化ストレスが引き起こす情報伝達の活性化メカニズムおよびその生理的意義について研究してきました。

ROS で活性化される情報伝達経路の一つである MAP kinase (ERK)は、細胞の増殖・分化といった機能応答に重要であることが知られています。私は、ラット新生仔心室筋の初代培養細胞を用いて酸化ストレスによる ERK 活性化のメカニズムを調べた結果、受容体と共役する三量体 G タンパク質が ROS の標的分子となることを見出しました。受容体と共役する三量体 G タンパク質は Gs, Gi, Gq, G12 の 4 つのグループに分類されます。このうち Gi ファミリー (Gi, Go) の α サブユニットが直接活性酸素

により修飾され、その結果 G タンパク質が α サブユニットと $\beta \gamma$ サブユニットに解離し、遊離した $\beta \gamma$ サブユニットが ERK や Akt を活性化することを見出しました。活性酸素による G タンパク質の直接的な活性化とそれに引き続く ERK の活性化は、低酸素・再酸素化刺激においてもみられたことから、心筋の虚血・再灌流などの病態時においてもこの経路が活性化されると示唆されます。また、Akt や ERK は生存因子として知られていることから、このメカニズムは酸化ストレスに適応するための保護シグナルとして働く可能性が今後は、心筋細胞で明らかにした知見が普遍的なメカニズムであるかどうか他の細胞（主に神経細胞）を用いて明らかにしていこうと考えています。また、G タンパク質によって ERK だけでなく形質膜上に存在する channel も活性制御を受けることから、現在は酸化ストレスで活性化される Ca^{2+} channel の活性化機構に Gi/o を介した経路が関与するかどうかについて検討を行っています。セミナーでは、これらの解析結果について紹介させていただきますので、ご意見、ご質問等お待ちしております。

(担当：靱山俊彦)

24. サル前頭眼野の電気刺激による滑動性眼球運動のゲイン変化

田中真樹（北海道大学医学研究科）

(2001.12.3)

(担当：伊佐 正)

25. A NEW TRANSGENIC MODEL FOR STUDYING CORTICAL DEVELOPMENT AND NEURAL DEGENERATION.

Anthony T.Campagnoni.(Neuropsychiatric Institute UCLA School of Medicine)

(2001.12.4)

The myelin basic protein gene encodes two sets of products: the classic myelin basic proteins (expressed by myelin forming cells) and another family of proteins, called the golli proteins, which are expressed in neurons, oligodendrocytes and cells in the immune system. We prepared a transgenic mouse using the golli promoter of the myelin basic protein gene to target HSV thymidine kinase to cortical preplate neurons. Dams were injected at E11.5 and E12.5 with gancyclovir to ablate a portion of the subplate neurons. This resulted in the formation of a major post- natal cortical lesion, leading to hydrocephaly and death by P24-27. During embryonic development subplate neurons became relatively more dispersed than normal in the ablated mice. By E18, the cortex was clearly delaminated as assessed by cresyl violet stain immunostaining with a number of markers. By E18 reduced neuronal density within the cortex was evident in the ablated animals. Neurofilament staining indicated some misdirection of fibers by P1, as evidenced by an accumulation of fibers in the cingulate region of the cortex. Also, golli staining revealed substantial loss of fibers within the cortex and cortical-thalamo fibers coursing through the striatum by

this age. After birth, animals became hydrocephalic, with ventricles enlarging and the cortex becoming increasingly thinner with age. While TUNEL labeling showed some increased cell death in the cortex at E18.5 and P1, there was substantially increased cell death in the VZ and SVZ, as well as the striatum, which continued after birth. BrdU labeling at E13 and E15 clearly show impaired migration of neurons from the ventricular zone of the ablated mice into the intermediate zone and cortical plate. Immunocytochemical staining for radial glia alone and in combination with BrdU indicate reduced density of radial glia and truncated/disrupted fibers which probably contribute to the impaired migration of neurons out of the VZ. The increased cell death observed in the VZ may be due to the inability of cells to exit the VZ. Thus, the lowered cortical neuronal density and delamination in the ablated mice probably results from impaired neuronal migration from the SVZ & VZ. The data indicate that ablation of a percentage of preplate neurons is sufficient to cause severe developmental abnormalities in the cortex involving the radial glia as well as the subplate.

(担当：池中 一裕)

26. Voltage-gated sodium channelopathies: new molecular mechanisms

Mohamed Chahine(Laval Hospital, Quebec, Canada)

(2001.12.12)

電位依存性 Na チャネルは、細胞膜興奮性の機構の重要なターゲットとして研究されてきたが、近年ヒトで心臓や神経系に発現する Na チャネルサブタイプが遺伝病の原因となることが明らかとなり、その病態の分子機構が注目されている。

Chahine 博士は、骨格筋型及び心筋型 Na チャネルに

ついて点変異分子発現系を用いた電気生理学的解析を通して、病気成立の原因を解明する研究を行なっている。今回はチャネル分子のターゲティングに関わる病態など、最新の知見を含めて解説していただく。

(担当：岡村康司)

27. 膜電位依存性 Na^+ チャネル特異性を持つグラヤノトキシン (GTX) を用いて機能-構造相関問題にどこまで迫れるのか?

瀬山一正 (広島大学医学部生理)

(2001.12.12)

グラヤノトキシンGTXの主要な生理・薬理学的特性は
1) Na^+ チャネルの活性化曲線を過分極 (約 50 mV) 方向に移動させる, 2) 不活性化過程が取り除かれることである。この特性を利用しこのチャネルのゲート機構を解明する色々な試みを行った結果について報告した。特に, GTX は Na^+ チャネルの開状態のみを認識して結合し, 閉

状態からのみ解離することが明らかとなった。また, 種々の点変異 Na^+ チャネルや, 骨格筋型 Na^+ チャネルと心筋型 Na^+ チャネルの種々のキメラを作成し, それらに対する GTX の影響を調べた結果, GTX の結合部位及びその性質も明らかとなりはじめています。

(担当: 岡田泰伸)

28. The Power of Electron Microscopy and Crystallography to Solve the Structure of Membrane-bound Factor VIII and the Actin-bound Arp 2/3 Complex.

Svetla Stoilova-McPhie

(2001.12.18)

膜蛋白質 (チャネル, リセプター) の 2 次元結晶化法とその電子顕微鏡観察による “構造と機能” 解析を専門としている Svetla Stoilova-McPhie 博士に, 血小板による

血液凝固にかかわる分子機構を構造生物学の見地から解説していただいた。

(担当: 永山國昭)

29. Calyx of Held シナプスにおける放出可能なシナプス小胞プールの枯渇と補充

坂場武史 (マックス・プランク生物物理化学研究所 膜物理学部門)

(2001.12.27)

放出可能なシナプス小胞プールの枯渇と補充は, 短期シナプス可塑性, たとえばシナプス抑圧などに関与すると考えられている。最近, 高頻度の刺激によるシナプス前終末への Ca 流入によって, シナプス抑圧からの回復が早くなるとの報告がなされたが (Dittman and Regehr, 1998; Stevens and Wesseling, 1998; Wang and Kaczmarek, 1998), そのメカニズムに関しては見解が一致していない (Wu and Borst, 1999)。この問題に関して, calyx of Held を標本として用い, シナプス前後部からの同時記録をすることで検討をおこなった。EPSC から脱量み込み法を用いて伝達物質放出率を推定した結果, 伝達物質放出確

率は一様ではなく, 高確率で放出される (時定数 3 ms) が補充されるのに数秒を要する小胞群と, 低確率で放出され(時定数 20 ms)ただちに (200 ms 以内) 補充される小胞群に分離されることがわかった。さらに, 高確率で放出される小胞の補充に, Ca/calmodulin が関与していることがわかった。 Ca/calmodulin 依存性の小胞の補充は, 低確率で放出される小胞の補充とともに高頻度刺激に対する持続的なシナプス伝達を保証しているものと考えられる。

(担当: 井本敬二)

30. 大脳皮質非錐体細胞の神経終末のシナプス構造

窪田芳之 (大脳神経回路論研究部門)

(2002.1.17)

大脳皮質は高次脳機能の座として、我々の行動の根幹をなしていることが広く知られています。しかし、その基本単位である大脳皮質の局所微細神経回路がどのように働いているのかほとんど知られておりません。大脳皮質の神経回路は投射型の神経細胞である錐体細胞と介在型の神経細胞である非錐体細胞の 2 種類で構成されていることが広く知られていますが、その機能的構築を理解するために、私達はまず非錐体細胞のサブタイプの解析を進めています。現在は、それぞれのサブタイプの神経終末が形成するシナプスの構造に関して形態的な解析を行っておりますが、今回は、その途中結果を報告します。方法としては、ラットの前頭皮質のスライス標本を作成し、ホールセル記録法で記録した非錐体細胞にパイオサイチンを注入します。組織を固定した後、DAB 反応でその細胞のみを選択的に染色し、電子顕微鏡連続像 3 次元再構

築画像解析システム等を使って終末部分を観察、解析しました。その結果、fast-spiking 細胞とダブルブーケ細胞の神経終末のターゲットは、主に樹状突起、わずかに棘突起、細胞体でしたが、non-fastspiking \angle マルチノッティ細胞とlate \angle spiking \angle ニューログリアフォーム細胞は、より細い樹状突起と棘突起の頭部、細胞体でした。これらの棘突起頭部には、ほとんどの場合別の非対称性神経終末が入力していました。上記 4 種類の非錐体細胞の神経終末が形成するシナプス結合部位の面積は、シナプスを受ける樹状突起・棘突起の周径や体積に比例して増加しましたが、その比例係数はサブグループで異なっていました。以上の点から、これらのサブグループのシナプス後細胞への抑制作用は異なると推測しています。

(担当：舩山俊彦)

31. 免疫系アダプター分子 DAP12 の欠損マウスの解析：痴呆と骨嚢胞を伴う稀な劣性遺伝病 Nasu-Hakola との関係について

高井俊行 (東北大学加齢医学研究所・遺伝子導入研究分野)

(2002.1.22)

Nasu-Hakola 病は 1970 年代初頭に日本とフィンランドで独立に報告された、100 万人に 2 人程度の発症率を示す稀な劣性遺伝病であり、患者は骨嚢胞形成とともに進行性の精神異常を来し、ついには若年性痴呆を必発して死に至る。この原因遺伝子は最近、免疫系で見い出されていたシグナルアダプター DAP(DNAX Activating Protein)12 であることが報告された。しかしながらこれまで DAP12 欠損マウスで中枢神経系の異常は報告されていない。我々は独自に作製した DAP12 欠損マウスの行動解析を行ったところ、精神分裂病患者において観察される

感覚運動ゲート異常を見い出した。さらに脳切片の免疫組織染色および電顕解析により、視床中心性にミエリン低形成とシナプスの形態異常が観察された。さらに視床でのミエリン形成にはオリゴデンドロサイトでの DAP12 の発現が必要であることが示唆された。したがって DAP12 欠損マウスは精神分裂病の発症機構、および痴呆に至るプロセスを分子と細胞レベルで解析できる絶好のモデルになると思われる。

(担当：舩山俊彦)

32. 小胞体ストレス特異的なアポトーシス経路

中川敏幸 (岐阜大学 医学部 反射研究施設)

(2002.1.24)

カスパーゼは線虫から哺乳類まで相同遺伝子が存在し、アポトーシスを誘導するプロテアーゼとして中心的な役割を果たしている。基本的なアポトーシスの分子機構は生物間でよく保存されているが、哺乳類ではより複雑に調節されていると考えらる。たとえば、カスパーゼの相同遺伝子は哺乳類で少なくとも 14 個存在し、全てのカスパーゼが同時に活性化されるのではなく、細胞内局在が異なることから予想されるように、細胞死の経路-細胞膜上の受容体, ミトコンドリア, さらに小胞体を介する一特異的に限定的に活性化される。ノックアウトマウスの

解析から、それぞれの細胞死の経路は炎症反応、発生過程における器管形成、また神経変性疾患の発症機構に関与していることが示唆されている。セミナーでは、アルツハイマー病の原因の一つであるプレセニリンの作用する器官であり、さらに、ストレスを感知し細胞死を制御するシグナルの発信器官として注目されている小胞体の役割を、カスパーゼ活性化の分子機構という点から紹介したい。

(担当：池中一裕)

33. MRI Visualization of Neuronal Connections in the Macaque Monkey.

K.S. Saleem. (Washington University School of Medicine, Louis, USA)

(2002.1.28)

To date neuroanatomical connections have been mainly examined by means of degeneration methods and tracing techniques. Such studies require fixed processed tissue for the data analysis, and therefore they cannot be applied on the live animal. In the present study, we examined the neuronal connections in-vivo, particularly the output connections of striatum, and connections of the early visual pathways using MRI visible contrast agent that is transported anterogradely

through the axon, and subsequently trans-synaptically. The axonal transport of the contrast agent was monitored using a 4.7T Biospec (Bruker, Inc) NMR scanner. Successful tracking of such in-vivo connection will be of paramount importance for guiding electrophysiological experiments in the alert, trained monkeys. The detailed projection patterns observed in MRI will be discussed.

(担当：小松英彦)

34. 心不全の進展における心筋細胞アポトーシス

金井 恵理 (京都大学医学部内科)

(2002.1.28)

ラット心筋培養細胞に cAMP 刺激 (48 時間) するとアポトーシス死が促進されることが明らかとなり、その経路には A キナーゼの関与が証明された。これらは β アドレナリン刺激でのアポトーシス誘導のメカニズムの一つを形成しているものと考えられた。一方、心不全モデルラットでは Lectin-like oxidized LDL receptor-1 (LOX1) が発現することが明らかとなった。心筋培養細胞でもエン

ドセリン 1 やノルアドレナリン刺激で LOX1 の発現が見られた。また、LOX1 の強制発現によって心筋細胞はアポトーシス死を示すことも示された。この経路には H_2O_2 や p38 の関与する証拠も得られた。これは心不全下でのアポトーシス誘導のメカニズムの一部を証明するものと考えられた。

(担当：岡田泰伸)

35. Recent advances in studies of experience- and learning-induced cortical plasticity

Michael M. Merzenich (Coleman Laboratory, Departments of Otolaryngology
and Physiology, Keck Center for Integrative Neuroscience, University
of California at San Francisco & Scientific Learning Corporation, Berkeley)

(2002.2.1)

Results of recent experiments directed toward understanding learning-induced cortical plasticity shall be summarized. Our research focus has been on a) the documentation of changes in distributed cortical responses induced by experience and learning, b) the modulation of plasticity as a function of behavioral context, c) similarities and differences between pre-critical period and post-critical period plasticity, d) experimental and theoretical studies of the progressive self-organization of forebrain representational systems; e)

catastrophic developmental progressions attributable to brain plasticity mechanisms and accounting for catastrophic neurological and psychological "illness", and f) the contributions of plasticity-induced change progressions to variation in human performance abilities. These studies have led to the development of novel strategies for improving human performance capacities, principally applied to impaired child populations.

(担当：伊佐 正, 山森哲雄)

36. Characterization of neocortical neuronal types by single RT-PCR.

Bertrand Lambolez (CNRS Laboratoire de Neurobiologie)

(2002.2.7)

We have used single cell RT-PCR after patch-clamp to investigate neocortical cell-type diversity at the electrophysiological, molecular and morphological levels. Among neocortical interneurons, we have extensively characterized a VIPergic population which shows distinctive physiological molecular and morphological features. Their definition as a

distinct interneuron subtype is further substantiated by their specific integration of different neurotransmitter pathways. The relevance of defining neuronal types will be discussed with respect to possible specific functions in the neocortical circuitry.

(担当：窪田芳之)

37. Analyse de la Societe Francaise et de son dynamisme, tentee pour une recherche d'une plus grande originalite scientifique Japonaise

(Analysis of French society and its dynamism, attempted for a research of greater scientific originality in Japan)

Shigeru TSUJI (Departement de Cytologie, Institut des Neurosciences, Universite Pierre et Marie Curie,
75005-Paris, France ; Laboratory for Neural Architecture, Brain Science Institute,)

(2002.2.8)

- I) Histoire du contact entre Japon et l'Occident et de la place de la France dans cette histoire
- II) Histoire et Geographie de la France
- III) Organisation de l'Etat en France
- IV) Societe Francaise tournee vers l'exterieur
- V) L'esprit francais

- VI) Le Siecle des Lumieres (Enlightenment) et la Revolution Francaise
- VII) Religion en France
- VIII) Individualisme Francais
- IX) Travail en France
- X) Conflits en France

XI) Education en France

message culturel Conclusion

XII) Vision equilibree de laFrance sur le Japon et son

(担当：尾崎 毅)

38. Expression, function and phosphorylation of TRPC proteins in human Platelets

Kalwant S. Authi (Centre for Cardiovascular Biology and Medicine King's College London)

(2002.2.12)

血小板凝集の過程において、細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇は血小板の活性化に必須である。細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇は、 IP_3 受容体を介した小胞からの Ca 放出とこれに連動した細胞外からの Ca^{2+} 流入によって引き起こされる。Transient receptor potential channel (TRPC) は、受容体作動性カチオンチャネルとして最近同定され、形質膜越えの Ca^{2+} 流入に関わるチャネルの分子実体として考えられている。本セミナーでは、ヒト血小板に発現する TRPC1 および TRPC6 の機能解析を中心に、血小板における Ca^{2+} 動員の分子メカニズムについて紹介する。また、これまで不明であった TRPC 活性化の抑制機構についても述べる。

Ca^{2+} elevation is an important component of platelet activation. Conversely elevation of the cyclic nucleotides cAMP and cGMP (by PGI_2 and NO, respectively) serves to inhibit cell function with inhibition of Ca^{2+} elevation an identified mechanism. Ca^{2+} entry mechanisms are still not fully understood. Whilst the Ca^{2+} release channel of intracellular stores i.e. the inositol 1,4,5-trisphosphate receptor (IP_3R) is well established, the identity of the entry channel is still unknown. Recently transient receptor potential (TRP) proteins that are known to mostly code for non-selective cation channels have been suggested as candidates. In mammalian systems these have been subdivided into three main families namely the short or TRPC family, the long or

TRPM family and the vanilloid receptor like or TRPV family. To date 7 family members of mammalian TRPC genes have been identified with over-expression studies suggesting that most code for non-selective cation channels. This study was designed to examine the expression of TRPC proteins in platelets. Serine/threonine phosphorylation was investigated in [^{32}P] labelled platelets. Protein phosphorylation was analysed by autoradiography. When platelets were stimulated with thrombin (T, 2U/ml) there was an increase in the phosphorylation of pleckstrin but immunoprecipitated TRPC1 or TRPC6 was not phosphorylated. When the cells were incubated with BIMPS (an agent that activates cAMP-PK) platelets did not aggregate and analysis of lysates shows increased phosphorylation of the phosphoprotein VASP. This was also apparent when platelets are stimulated with 8-pCPT-cGMP (a cGMP-PK activator). Immunoprecipitation of TRPC1 after either incubation showed increased phosphorylation of associated proteins of molecular size 250, 120, 85 and 70 kDa. However a 100 kDa phosphoprotein was not observed. This suggested that TRPC1 was associated with substrates of cAMP- and cGMP-PKs of sizes 250, 120, 85 and 70 kDa. When immunoprecipitation was carried out with the anti-TRPC6 antibody, 2 prominent bands were observed. This work is supported by the British Heart Foundation.

(担当：西田基宏，森 泰生)

39. 情動と呼吸

本間生夫 (昭和大学医学部第二生理学教室)

(2002.2.18)

恐れなどさまざまな情動に伴って呼吸が不随意的に変化する。この情動に伴い変化する呼吸はヒトそれぞれにより異なるであろうか？我々はまず、ヒトそれぞれが持つ特性不安と不快な感覚刺激による呼吸の変化を調べた。ストレスとなる音刺激を与えたとき、呼吸数の増加が認

められたが、その増加は特性不安との間に正の相関を示し、特性不安が高いヒトほど呼吸数の増加が顕著であった。第二に特性不安と予期不安との関係を調べた。2分以内に電気刺激がくる、という予期不安の間、呼吸数は増加し、その増加はやはり特性不安と相関していた。こ

の呼吸と相関を示す情動変化が脳のどこで作られているか、EEG ダイポールトレーシング法 (EEG/DT) で調べた。

手術適応検査のため深部電極を留置している側頭葉てんかん患者において、EEG 同時記録により、そのスパイクの位置を比較した。深部電極で扁桃体にスパイクを認めた患者において、EEG/DT 法においても同部位に電源が推定された。予期不安時、呼吸に同期した電位変化が吸息開始 200-300msec に認められ、その電源は EEG/DT 法により側頭極と扁桃体に存在していた。この電位を

RAR(呼吸関連不安電位)となづけた。

日本人の伝統的文化の基になっているのは「心の内的表象」であり、「能」は、心の内を外的表象としてはあらわさない芸能である。態度も表情も変わることがない。しかし、唯一変化しているものは呼吸である。「隅田川」の子供を亡くした母親を演じているとき、シテの呼吸は乱れ、予期不安の時と同様吸息に同期して EEG 上に電位変化が認められた。この電位変化もやはり大脳辺縁系で作られていることが EEG/DT 法により明らかとなった。

(担当：小幡邦彦)

40. Topic 1: US Primate Research Centers: Mission and Organization Topic 2: BrainInfo: a Neuroanatomically Based Source of Information about the Brain

Douglas M. Bowden (Psychiatry & Behavioral Science)

(2002.2.19)

Douglas Bowden 博士は神経科学者であると同時に米国シアトルの Washington Regional Primate Research Center において長年 Director を努めてこられた方です。今回、筑波での講演の後、生理研に立ち寄っていただける事になりました。以下2つの話題でのお話をお願いしてあります。

Topic 1: US Primate Research Centers: Mission and Organization

米国が霊長類を対象とした研究に国としてどのように取り組んでいるのかを概説していただきます。

Topic 2: BrainInfo: a Neuroanatomically Based Source of

Information about the Brain

同博士が進めている"Brain Info"プロジェクトについてお話いただきます。"Brain Info" はサルの大脳神経の神経解剖学的に関する総合的な情報を提供する web ベースのシステムです。

(<http://www.braininfo.rprc.washington.edu/>)。実際のデモも含めてお話いただく予定です。なお、2/18-19の間に Bowden 氏と個人的に話をされたい方は時間をアレンジいたしますのでご連絡ください(kazuseki@nips.ac.jp)。

(担当：関 和彦)

41. CNR 分子群の脳における分子機能解析

先崎浩次 (高次神経機構研究部門)

(2002.2.20)

脳には莫大に多様化した細胞が存在し、それぞれの細胞が高度に組織化され神経回路を形成し機能している。シナプスは神経回路のつなぎ目であり、神経回路の形成・維持・再編成の基盤となる。神経回路を分子レベルで理解するには、シナプスの分子メカニズムを理解することが必要となる。シナプスに存在する非受容体型チロシリン酸化酵素 Fyn は多様な膜貫通型分子と複合体を形成することによりシナプスで多様な情報伝達を行っている

ことが想定されている。当研究室において、Fyn と結合する分子の検索から、マウス脳で発現し、シナプスに多様化して存在していることが明らかにされた新規カドヘリン型受容体(CNRs : cadherin-related neuronal receptors)が単離された。CNRs は神経回路の複雑さ、多様さを分子の多様性の観点から理解できる可能性を示している。また、興味深いことに、CNR はゲノム構造の解析より、免疫系での多様化に関わる免疫グロブリンやT細胞受容体

と類似の構造をとっており、クラススイッチ様の発現産物も同定されている。これらの観点から、CNR 発現には DNA 組換え等の特殊な発現系が予想されている。さらに、マウス大脳皮質層構造形成過程において、CNRs が Reelin の多重受容体として機能していることが明らかとなり、CNR が神経細胞の配置から神経回路形成に関与している

ことが示唆された。

以上のことから、CNR の分子多様性の解析は、脳の構築、神経回路形成の分子メカニズムの解明に貢献できるのではないかと期待している。

(担当：初山俊彦)

42. Visual perception at the time of saccadic eye movements

Choongkil Lee (Seoul National Univ.)

(2002.2.21)

It is widely assumed that successful vision integrates the information regarding eye movements as well as retinal input. In accordance with this, neurophysiological studies have documented modulation of neural activity in the visual cortex by an extraretinal source coupled to saccadic eye movements in the cat, monkey, and human, and psychophysical studies on human have reported modulation of spatial vision at the time of saccades. Understanding the mechanisms and strategies by which this extraretinal input is integrated is critical to a complete understanding of vision beyond understanding how

a representation of external world is accurately but passively formed from the retinal input. In this talk, I would like to present a recent finding that visual motion perception is systematically modulated by an extraretinal eye movement signal, and discuss on-going experiments to further study the related mechanisms.

Reference J Park, J Lee, & C Lee. (2001) Non-veridical visual motion perception immediately after saccades. Vision Research, 41:3751-3761.

(担当：小松英彦)

43. 「ドーパミンによる運動機能制御の分子細胞生物学」

小林和人 (福島医大・医・生体機能)

(2002.3.8)

ドーパミン神経伝達は、運動、情動、報酬などの重要な高次脳機能を媒介する。中脳腹側領域に存在するドーパミンニューロンは、線条体、側坐核、前頭葉皮質に投射し、複数の標的ニューロンの活動を促進性あるいは抑制性に制御する。一方、ドーパミンニューロンには、多くの領域から種々の神経伝達物質を含有する線維が入力する。ドーパミンの生理的な役割は周知の事実であるが、この神経伝達物質が一連の行動課題の中でどのように脳機能を調節しているのかについては十分に解明されていない。我々のグループはこの問題に着目し、ドーパミン標的領域における神経回路の機能制御と外来入力に依存するドーパミンニューロンの活動調節について、特にマウス遺伝子操作の技術を用いて分子細胞レベルからの研究を進めている。ドーパミンの標的領域の代表である線

条体には、2 種類の中型有棘細胞（線条体- 黒質ニューロンと線条体- 淡蒼球ニューロン）とアセチルコリンあるいは GABA を含有する無有棘介在細胞が存在する。これらの細胞はいずれもドーパミンに反応し、それぞれの活動は 促進性あるいは抑制性に制御される。ドーパミンに依存する運動制御の生理機構を理解するためには、線条体の局所回路におけるドーパミン作用の分子細胞機構の解明が必須である。我々は、イムノトキシン細胞標的法を用いてドーパミン D2 受容体を含有する線条体ニューロンを除去し、種々の行動および解剖学的な解析から、線条体- 淡蒼球ニューロンは自発運動には抑制的に、ドーパミン誘導性の運動には促進的に働き、ドーパミン刺激の程度に依存して大脳基底核機能を二方向性に制御することを見出した。また、このニューロンはドーパミン刺

激時において線条体-黒質ニューロンの十分な活性化を介して運動促進に関与する可能性を示唆した。ドーパミンニューロンの活動調節の仕組みを明らかにするためには、この機能に重要な役割を持つ因子の同定が必要である。我々は、Cre-loxP システムを用いてドーパミンニューロンに特異的な遺伝子ターゲティング系を確立し、本ニューロンに発現する転写因子やシグナル伝達分子の生理機能について検討した。また、ドーパミンニューロンの生理的特性を解析するために、このニューロンをドーパミンによる運動機能制御の分子細胞生物学GFPでラベル

したトランスジェニックマウスを作製し、ドーパミンニューロンの発生過程におけるGFPの特徴的な発現機構を見出した。

新しい分子細胞機能の解析システムは、ドーパミン作用に基づく脳機能の作動機序の理解に有用なアプローチを提供する。また、この機序の理解は、ドーパミン神経系の異常と関係する神経精神疾患の病態の解明や治療薬の開発に新しい方向性を与える。

(担当：柳川右千夫)

44. OREXIN NEURONS ACT AS A LINK BETWEEN PERIPHERAL METABOLISM AND CENTRAL MECHANISMS COORDINATING AROUSAL AND FOOD INTAKE

SAKURAI, Takeshi (Institute of Basic Medical Sciences, Tsukuba University)

(2002.3.8)

Behavior in animals is highly influenced by food availability, but pathways by which the brain regulates behavior in response to homeostatic metabolic input from the periphery have remained unclear. Neurons of the hypothalamus that express the neuropeptide orexin have been hypothesized to respond to changes in peripheral metabolism and regulate behavior in response to homeostatic need. We demonstrated that orexin-containing neurons are able to monitor peripherally generated indicators of nutritional state, and are necessary for normal augmentation of arousal in response to fasting. Electrophysiological studies of isolated orexin neurons, which are specifically labeled by expression of green fluorescent protein in orexin/EGFP transgenic mice, revealed that activity of these neurons is inhibited by extracellular glucose and the adipostat leptin, and stimulated by the recently characterized gastrointestinal peptide ghrelin.

Behavioral studies of orexin/ataxin-3 transgenic mice, in which orexin neurons are genetically ablated, demonstrated a failure of transgenic mice to increase wakefulness and motor activity during food deprivation compared to wildtype controls. We suggest a model in which reduced food availability alters circulating levels of glucose, leptin, and ghrelin, together leading to increased firing of orexin neurons. Orexin neurons promote wakefulness and locomotor activity to reinforce and support food-seeking behaviors. Simultaneously, orexin neurons activate hypothalamic feeding mechanisms, such as those mediated by neuropeptide Y neurons. Orexin neurons thus provide a unique and critical link between peripheral metabolism and central mechanisms coordinating arousal and food intake.

(担当：柳川右千夫)

45. GFPを用いたカルシウムプローブ

中井淳一 (液性情報部門)

(2002.3.19)

Green Fluorescent Protein(GFP)は蛍光蛋白質で現在ではマーカーとしてまたレポーター遺伝子として細胞生物学の実験に広く利用されている。最近ではGFPは単なるマー

カーにとどまらず機能性分子と結合させることにより、分子プローブとして機能するようなものが製作されるようになった。今回 GFP を用いた種々のカルシウムプロー

ブについて概説するとともに我々が開発したカルシウムプローブ G-CaMP について紹介する。

(担当： 舩山俊彦)

46. RESTORATION OF LOCOMOTOR FUNCTION IN A WHEELCHAIR-DEPENDENT SPINAL CORD INJURED

RICHARD HERMAN

(2002.3.20)

Spinal cord injury (SCI) in humans often leads to catastrophic impairment of functional locomotion. Of the approximately 250,000 chronic SCI in the U.S., nearly 50% are considered clinically incomplete i.e., there is some sensory sparing in the lower extremities associated with complete paralysis (ASIA B), non-functional muscle strength (ASIA C) or functional muscle strength (ASIA D) of the lower extremities. ASIA B and C category subjects are usually wheelchair-dependent and if they can ambulate short distances, they do so with considerable sense of effort and fatigue. We recruited a wheelchair-dependent 43 year old ASIA C subject who was 3 years post-cervical SCI, thus a quadriplegic. The intention was to implement a paradigm consisting of Partial Weight Bearing Therapy (PWBT) followed by Epidural Spinal Cord Stimulation (ESCS) of the lumbar enlargement of the spinal cord. During PWBT, the subject walked on a treadmill with his body weight partially supported in a harness. PWBT led to improved stereotypic walking patterns but was insufficient for over-ground walking in terms of safety, energy cost, and fatigue. PWBT with ESCS (sensory stimulation) generated immediate improvement in gait rhythm when appropriate stimulus

parameters were used. When compared to the non-stimulated condition, over-ground walking was featured by a reduction in time and energy cost of walking, sense of effort and a feeling of “lightness” of the legs. After a few months of training, performance in speed, endurance and metabolic responses (via indirect calorimetry) gradually converged with/without ESCS at a short distance (e.g., 15 m), suggesting a learned response to these conditions. However, at longer distances (e.g., 50-250 m), performance with ESCS was considerably superior.

Gas exchange data revealed ESCS was associated with an 8-fold-greater exercise-induced fat oxidation rate and reduced dependence of exercising muscle on glycolysis. Most importantly, the subject was able to perform multiple functional tasks within the home and the community with ESCS. We propose that ESCS induced sensory modulation of spinal circuits and augmented the use-dependent plasticity created by PWBT. Further, ESCS apparently elicited greater activation of an oxidative motor unit pool, thereby reducing the subject's sense of effort and energetic cost of walking.

(担当： 森 茂美)

※ Dr. Richard Herman is the Director of the Clinical Neurobiology and Bioengineering Laboratories at the Good Samaritan Regional Medical Center (GSRMC), Phoenix; Research Professor of Bioengineering, Arizona State University (ASU), Tempe; Research Professor of Pharmacology, Health Sciences Center, University of Arizona, Tucson. His medical specialty is Rehabilitation Medicine. This research is the result of collaboration between GSRMC and ASU.

47. 「物の形」を見分ける脳の仕組み

谷藤 学 (理化学研究所 脳科学総合研究センター 認知脳科学研究グループ)

(2002.3.22)

日常、私達が目にする様々な物体像を、脳はどのようにして捉えているのだろうか。「物を見る」というのは我々にとってありふれた行為のように思われるが、見る角度(視点)や照明方向、部分的な遮蔽などによって様々な様相を変える物体像を他と間違えることなく認識できるためには巧妙な仕組みがあるに違いない。高次視覚の研究の中心は、その仕組みを解き明かすことにある。この問題にアプローチする第一のステップは、物体像が脳の中にどのように表現されているかを明らかにすることであろう。私達のグループは、物体像の脳内表現を明らかにする試みを光計測 (Optical Imaging) という新しい手法によって取り組んでいる。

高次視覚の研究には、ヒトと似た視覚系を持つサルがしばしば用いられる。サルを用いた研究から、物体像そのものの知覚とその物体の動きや空間内での位置の知覚は別々の経路で処理されていることが明らかにされている。前者は後頭葉から側頭葉に至る腹側視覚経路であり、後者は後頭葉から頭頂葉に至る背側視覚経路である。そして腹側経路の最終段にあって、物体像の知覚と認識に中心的な役割を担うと考えられているのが側頭葉視覚連合野の TE 野である。この部位には、「顔」などの見なれた物体に応答する神経細胞がある一方で、複雑ではあっても物体像を特定するには不十分な「図形特徴」によく反応する神経細胞が数多くある。サルが日常目にする物体像はこのような神経細胞の反応の組み合わせとして表現されているに違いない。どう組み合わせられているかが問題である。

一般に、このような「情報の脳内表現」を明らかにするためには、多くの神経細胞の活動を同時に捉える技術が必要になる。私達が用いている光計測 (内因性信号のイメージング) もそのひとつである。一般に神経細胞が活動すると酸素が消費される。酸素消費は組織中のヘモグロビンの還元を促す。還元ヘモグロ빈は酸化ヘモグロビンより光をよく吸収するので、神経活動は脳表面の光の吸収の増大を引き起こす。これを内因性信号と呼び、この信号を CCD カメラでイメージングする技術が内因性信号のイメージングである。

私達はこの方法を TE 野における物体像表現の解明に用いている。具体的には、サル頭蓋骨と硬膜を一部除いて TE 野の脳表面を露出し、物体像やそれを単純化した視覚刺激などを提示したときの TE 野の光吸収の変化を空間パターンとしてイメージングするのである。この方法によって、私達は TE 野における様々な複雑な物体像の表現様式を示すのに初めて成功した。複雑な物体像やそれを単純化した図形刺激を用いて TE 野の活動をイメージングした結果、私達は、(1)一定の大きさの細胞集団が情報表現の単位になっていること(これをカラムと呼ぶ)。(2)カラムのひとつひとつは物体像に含まれる図形特徴に対応し、それらの組み合わせのパターンとして特定の物体が表現されていること。(3)顔のように我々にとって重要な意味を持つ物体像はそれ自体が、ひとつのカラムの活動として表現されること。などを明らかにしている。

(担当：大庭明生)