

# 【 セ ミ ナ ー 報 告 】

# セミナー報告

## 1. Specificity of $\text{Ca}^{2+}$ signaling in polarized epithelial cell

Prof Shmuel Muallem (Dept Physiology, Univ Texas, Southwestern Med Ctr, Dallas, USA)

(2002.4.3)

Professor Muallem discussed the role of G proteins and of the regulators of G protein signaling (RGS) proteins in generating receptor specific  $\text{Ca}^{2+}$  signals and the interaction between IP3 receptors and plasma membrane TRPC  $\text{Ca}^{2+}$  channels in the plasma membrane as part of the  $\text{Ca}^{2+}$

signaling complex especially using pancreatic acini.

Muallem 教授は膵外分泌腺, 唾液腺など外分泌腺を対象に, 分泌制御機構の研究を展開している。今回名古屋大学でのシンポジウムに来日の機会に, 生理学研究所の若い研究者との交流を希望し, 来所となった。

(担当: 村上 政隆)

## 2. 「やる気」と関係する（かもしれない）脳活動

達本 徹 助教授（脳機能計測センター）

(2002.4.23)

脳の入出力系から離れた領域は客観的な実験がやりにくいものであるが, 「やる気」と関係していると解釈可能な脳活動変動を偶然とらえたので紹介して検討を加えたい。運動課題を行うサル脳血流量を PET で繰返し計測して, 課題の違いによる脳活動の差異を検討していた。その際に, 課題の種類や成績とは無関係に, 1 日のうちで実験の初めから終わりに向かって脳血流量が漸減していく領域があることがわかった。前頭前

野 9 野, 前帯状野の前端, 海馬がその領域である。行動面での変化無しにおこる脳活動変化であるため, 実験系に潜む系統的な測定誤差か, あるいはサルの内的な変化と関係するものと考えられた。1 日の途中で報酬量を増加させると漸減していた脳血流量が回復することから, 前者は否定的で, サルの意欲との関連が示唆されるが, それ以上の詳細は不明である。

(担当: 伊藤 南)

## 3. 大脳皮質・大脳基底核ループの認知過程への関与

～パーキンソン病の認知速度低下 bradyphrenia の検討～

本田 学（大脳皮質機能研究系 心理生理学研究部門）

(2002.5.15)

近年, 代表的な大脳基底核疾患であるパーキンソン病において, なんらかの認知機能障害が広く認められることが報告されており, 臨床的側面からだけでなく, 大脳基底核が認知過程に果たす機能といった神経科学的な側面からも注目を集めている。なかでも bradyphrenia と呼ばれるパーキンソン病の認知速度低下を評価した報告が多くみられる。それらの研究では, 運動反応を要求する反応時間課題を用いて, 複雑な認知課題を行った時と単

純な認知課題を行った時の反応時間の差を, 純粹に認知的情報処理に要した時間とみなし, 対照群と比較検討するという手法をとっている。そこには, 反応時間は認知過程に要する時間と運動の準備・遂行過程に要する時間の単純な加算であるという仮定が存在するが, その妥当性には深刻な疑問が残る。そこで私たちは, 反応時間を用いずに認知速度を評価しうる心内表象操作課題を開発し検討をおこなった。その結果, パーキンソン患者では

健常者に比べ、認知的操作速度が有意に低下することが明らかになった。さらに心内表象の種類によって障害の程度に差が認められた。すなわち大脳基底核—補足運動野の活動に強く関連した言語表象を操作する課題の場合、外側運動前野の活動に強く関連した空間表象を操作する課題に比べ、障害の程度がより顕著であった。さ

らに認知的操作速度の低下は、大脳基底核の機能不全に密接に関与することが示された。これらの所見は、外側運動前野を含む神経回路と、補足運動野—大脳基底核を含む神経回路とが、運動制御のみならず、思考を含むさまざまな認知過程においても、異なった役割を果たすことを示唆するものと考えられる。

(担当：伊藤 南)

#### 4. Practical Tomography (電子顕微鏡による3次元断層法の実際)

Auke van Balen(FEI Electron Optics)

(2003.5.17)

It will be a pleasure for me to be at your lab in Okazaki next week. The presentation I would like to give is called "Practical Tomography" and, as the title indicates, is intended to give you and your staff the necessary guidelines and tips to successfully use Electron Tomography for your research. I think that my presentation will take about one hour, from 16:00 to 17:00 as I would like to show practical examples during the presentation. What is important, I think, but not so

very common in Japan, that people are not hesitating or even afraid to ask questions during the presentation. The presentation itself will be in English, as my slides are in English, but I hope that I can speak Japanese well enough to explain things in Japanese as well or to answer questions and comments.

After the presentation I think it would be useful if some of the staff can have "hands-on" experience in reconstruction.

(担当：重本 隆一)

#### 5. ウシ胎仔血清に由来する新規非タンパク性神経保護活性物質、

##### セロフェンド酸、の単離と作用機序の解析

赤池昭紀先生 (京都大学大学院 薬学研究科 薬品作用解析学分野)

(2002.5.22)

アルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症などの難治性神経疾患は、特定の時期に特定の脳・脊髄部位の神経細胞数が著明に減少することに特徴がある。脳虚血後の高次脳機能障害も終脳諸部位における神経細胞の著しい脱落を伴うことから神経疾患としての側面をもっている。したがって、これらの神経変性疾患における神経細胞死を制御する因子を解明することは、神経細胞死をターゲットとした神経疾患の予防・治療において重要な役割を果たすと考えられる。我々は代表的な興奮性アミノ酸であるグルタミン酸と一酸化窒素 (NO) などのフリーラジカルによる誘発される神経毒性を神経変性疾患時の神経細胞死のキー・ファクターの一つとし

てとらえ、ラット胎仔由来培養大脳皮質神経細胞を用いた invitro の実験系において、これらの内在性物質の神経毒性を抑制する因子を探索してきた。その結果、ニコチン性アセチルコリンやニューロトロフィン類などが NO を介するグルタミン酸神経毒性に対して著明な保護作用を発現することを明らかにした。さらに、培養線条体細胞の条件培地にも神経保護活性のあることを見出した。このような研究の過程において、我々は、培養細胞を維持するための培地に添加しているウシ胎仔血清 (FCS) にもグルタミン酸神経毒性に対する保護活性があること、さらに、その保護活性はエーテルで抽出される非タンパク性分画に含まれることを見出した。FCS エーテル

抽出物は NO 神経毒性も著明に抑制したことから、新規な非タンパク性物質を含有することが推定された。そこで、培養大脳皮質細胞で観察される NO 神経毒性に対する保護作用を指標に有効成分のスクリーニングを行った結果、新規な神経保護活性物質（分子量 382）の単離に成功し、serofendic acid（セロフェンド酸）と命名した。マス・スペクトリーおよび NMR の解析から、その化学構造には硫黄分子が含まれ、基本骨格がアチサンと呼ばれる環状ジテルペンであり、側鎖に dimethylsulfoxide 基、カルボキシル基などを持つことが明らかになった。セロフェンド酸は哺乳類ではじめて発見された環状ジテルペン化合物であり、その化学構造 (15-hydroxy-17-methylsulfolignan-19-oic acid) はこれまでに全く報告のない大変ユニークなものである。推定構造をもとに合成したセロフェンド酸は培養大脳皮質ニューロンにおけるグルタミン酸神経毒性と NO 神経毒性に対して著明な保護作用を

発現した。しかし、セロフェンド酸はパッチクランプ法で測定したグルタミン酸受容体応答自体には影響を与えなかった。電子スピン共鳴を用いた解析から、セロフェンド酸は NO ラジカルとは直接の反応を示さないが、NO 神経毒性のカスケードにおいて細胞毒性発現の実行分子として知られるヒドロキシラジカル ( $\text{OH}\cdot$ ) の生成を抑制することが明らかになった。これらの発見から、セロフェンド酸は、フリーラジカル誘発傷害を減弱することにより、中枢神経系のニューロン生存を促進する低分子量生理活性物質であることが推定される。セロフェンド酸は胎仔血清に比較的大量に含まれるが成熟動物の血清中では微量しか検出されないことから、胎生期の細胞の生存・分化・増殖に関与することが考えられる。さらに、神経細胞死を標的とした新しい神経変性疾患治療薬としての応用も期待される。

(担当：靱山俊彦)

## 6. DIFFUSION MRI: BRIDGING THE GAP BETWEEN BRAIN STRUCTURE AND FUNCTION

Denis Le Bihan (Service Hospitalier Frederic Joliot)

(2002.5.27)

Functional Magnetic Resonance Imaging (fMRI) has appeared as a powerful new tool which offers the potential to look at the dynamics of cerebral processes underlying cognition, noninvasively and on an individual basis.

Still, the real understanding of brain function requires direct access to the functional unit made of the neuron, so that one may look at the transient temporal relationships that exist between largely distributed groups of hundreds or thousands of neurons. Furthermore, communication pathways between networks, which are carried by brain white matter, must be identified to establish connectivity maps at the individual scale, taking into account individual variability.

In this respect, MRI of molecular diffusion may play a significant role. During their random, diffusion-driven displacements water molecules probe tissue structure at a

microscopic scale well beyond the usual image resolution. The observation of these displacements thus provides valuable information on the structure and the geometric organization of tissues. For instance, because diffusion is modulated by the spatial orientation of large bundles of myelinated axons running in parallel in brain white matter, an important potential application of diffusion MRI is the visualization of anatomical connections between different parts of the brain on an individual basis. This feature can be exploited to map out the orientation in space of the white matter tracks. Furthermore, recent data suggest that diffusion MRI could also be used to image brain activation by directly visualizing dynamic tissue changes associated with neuronal activation.

(担当：定藤 規弘)

## 7. 感覚運動変換における運動前野の役割

蔵田 潔 (弘前大学 医学部 第二生理)

(2002.5.28)

随意運動発現における脳のさまざまな情報処理は神経ネットワークのレベルで理解されようとしている。脳内の神経回路には、ある入力に対し固定的な出力へ変換するものだけではなく、状況に応じてその変換様式を動的に変えることのできる見えない層 (hidden layer) を有するものがあり、これが随意運動の多様性を実現するために重要な役割を果たしていると考えられる。本セミナーでは随意運動の動的調節に関わる神経回路が明らかになりつつある最適例として運動前野をとりあげ、この領域の特異的機能と考えられる動的感覚運動変換がどのような神経回路によって実現されるかを論じようとする。

運動前野は背側部と腹側部という少なくとも二つの領域から構成されており、それぞれが独自の高次感覚運動統合にもとづく随意運動の発現に寄与していると考えられる。いくつかの運動課題遂行中のサルにおけるニューロン活動の解析と、GABAA 作動薬 (ムシモル) の微小注入による一時的な局所機能脱失時の行動障害の観察から、運動前野背側部には少なくとも3つの重要な機能があることが明らかとなった。第一に、運動の実行系としての機能、第二に、行うべき運動の方向・大きさとい

ったパラメーターのプログラミング機能、そして第三に、抽象的意味を有する感覚信号 (視覚のみならず聴覚も含む) を対応する適切な運動へと変換する機能である。これら機能のうち、少なくとも第一と第三に対応するものがヒトの運動前野背側部にも存在することが、機能的MRIによって明らかになっている。

一方、運動前野腹側部は視覚空間情報を運動情報へと動的に変換することに重要な役割を果たしていると考えられる。すなわち、この領域に存在する運動関連ニューロンには、視覚座標系を反映するもの、運動座標系を反映するもの、さらにこれらの中間型が存在しており、この領域が視覚空間情報が運動空間情報への変換系として機能することを示すものと考えられる。また、プリズム適応としてよく知られている到達運動の学習が、運動前野腹側部へのムシモル微小注入により消失すること、およびプリズム適応時に運動関連ニューロン間の相互相関に特異的な変化を示すものが多数存在することが明らかとなった。これらの知見は、運動前野腹側部の局所神経回路における空間情報変換の動的変化がプリズム適応の成立に重要な役割を果たすことを示唆している。

(担当: 伊佐 正)

## 8. 頭頂連合野の機能 (運動のための視覚情報処理機構)

泰羅 雅登 (日本大学 医学部 生理学教室)

(2002.5.28)

ヒトやサルの視覚情報処理経路は、背側、腹側の2つの系路にわかれ、一次視覚野から頭頂連合野への背側視覚系路は空間視に関係しているという考えが今日では一般に受け入れられている。しかし、空間視という言葉は曖昧であり具体的な神経機構についてはよくわかっていない。これまでの研究の結果、頭頂連合野には対象を操作する際の視覚的制御機構があり、頭頂連合野 AIP 領域のニューロン群は対象物を操作する際に、その対象の三次元形状の視覚情報と運動指令を照合して操作運動をモニターし、腹側運動前野との間で操作運動のための神経ネットワークを形成していることがわかってきた。また、

対象の三次元形態を知覚する神経機構も頭頂連合野で見つかっている。三次元形態を脳内で再構成するための計算理論 (Marr) では、情報処理の初期段階での面の傾きの検出が重要であるとされているが、実際に頭頂連合野 CIP 領域には面の三次元的な傾きを識別しているニューロン群がある。これらのニューロンは様々な両眼視差手がかり、線遠近法、肌理の勾配などの絵画的奥行き手がかりを統合して面の傾きを識別している。このように、頭頂連合野には対象の三次元形態を知覚してその情報に基づいて手の運動を操作するための階層的な機構があると考えられる。また、最近では広い空間のナビゲーション

ンに関わるニューロンも見つかっており、これらの結果は背側視覚系路が運動のための視覚情報処理経路である

とする Goodale 達の仮説とよく一致する。

(担当：小松 英彦)

## 9. 大脳皮質—大脳基底核ループ回路と随意運動

南部 篤 (東京都神経科学総合研究所 統合生理)

(2002.5.29)

大脳皮質の広い領野に由来する情報は、大脳基底核で処理された後、大部分は視床を介して大脳皮質（とくに前頭葉）に戻るというループ回路を形成している。この回路の構成に関して、この 20 年間、いくつかの論争と概念の変革があり、そのうち我々が寄与したと思う 3 点について議論したい。ひとつは 1980 年代、大脳基底核の出力は主に補足運動野に終わるとされていたが、我々が一次運動野にも終止することを見出し (Exp Brain Res, 71: 658-662, 1988), その後、広く認められるようになった。2 つ目は、大脳皮質の異なる領野からの情報が、大脳基底核の中でどの程度、収束・統合されているかというのが、90 年代、論争となった。電気生理学的手法と解剖学的手法を組み合わせた我々の実験結果により、大脳皮質からの情報は線条体において、基本的には並列・分散処理されるが、機能的に関連のある領野からの情報は、ある程度、収束・統合されるということで、決着がつきつつある (Exp Brain Res, 120: 114-128, 1998; Eur J Neurosci, 14: 1633-1650, 2001)。第 3 に、大脳基底核の神経回路の中で、視床下核が重要なものと位置づけられるようになってきた。80 年代、視床下核は淡蒼球外節と局所的で付

随的な回路を構成しているだけであると考えられていたが、90 年、大脳基底核の神経回路を直接路・間接路に分けて考えようという説が出されて以来、間接路の中継核として認識されるようになった。

さらに 90 年代後半、視床下核は、線条体と並んで、大脳基底核の入力部を構成していると考えられるに至った。特に、我々は、大脳皮質—視床下核—淡蒼球路（ハイパー直接路）という神経回路が存在することを示し、この経路が直接路・間接路とともに働くことによって、大脳基底核の出力部である淡蒼球内節の活動をダイナミックに変化させ、随意運動を制御しているというモデルを提唱した (J Neurosci, 16:2671-2683, 1996; J Neurophysiol, 84: 289-300, 2000; Neurosci Res, in press)。このモデルによれば、パーキンソン病の病態や視床下核ブロックによる症状改善のメカニズムも、ある程度、説明することができる。このような研究を継続・発展させていくことは、大脳基底核の機能や基底核疾患の病態の解明と、より効果的な治療法の開発につながるものと期待できる。

(担当：伊佐 正)

## 10. The Spatial Precision of BOLD Contrast fMRI

Robert Turner (ロンドン大学)

(2002.5.29)

The draining vein problem is recognized as one of the most severe constraints on the spatial resolution of BOLD contrast fMRI, used widely in imaging neuroscience. Changes in blood oxygenation arising from local brain activity-related changes in blood flow propagate downstream in veins and can give rise to spurious activation at sites remote from neuronal activity. The geometry of the venous vasculature is quite regular in structure and is well depicted in photomicrographs.

Quantitative analysis of this geometry, together with hydrodynamic considerations, permit upper bounds dependent on the area of cortical neuronal activity to be derived for the spatial extent of draining vein contamination. It is estimated that an activated cortical area of 100 mm<sup>2</sup> will generate an oxygenation change in venous blood that extends without dilution along the vein no more than 4.2 mm beyond the edge of the activated area. At greater distances along the draining

vein this oxygenation change will be diluted. The model leads to a quantitative prediction of the functional form of this dilution.

On the basis of this calculation, upper limits to the spatial resolution of BOLD contrast fMRI can be estimated. These

vary according to the area of cortical neurons activated, giving rise to the recommendation that fMRI experiments should be designed in such a way that the differential activation of interest between conditions will be limited in extent, thus minimizing the draining vein effect.

(担当：定藤 規弘)

## 11. The Hypertonicity-Induced $\text{Na}^+$ Conductance of Rat Hepatocytes

Dr. Frank WEHNER (マックスプランク研究所準教授, 生理研客員教授)

(2002.6.3)

The initial event in the regulatory volume increase (RVI) of rat hepatocytes is an import of  $\text{Na}^+$  that is then exchanged for  $\text{K}^+$  via stimulation of  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase. In the present study, we first determined the process of RVI in the range of 9 to 50 % of hypertonicity and compared it in a quantitative fashion with the actual changes of cell  $\text{Na}^+$  and  $\text{K}^+$ .

We then defined the osmotic set-points of all  $\text{Na}^+$  transporters mediating RVI. It was found that  $\text{Na}^+$  conductance was clearly the dominant mechanism of  $\text{Na}^+$  import from 360 mosmol/l onwards.  $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$  symport exhibited a comparable activation profile but its actual contribution to RVI was significantly lower. Interestingly,  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiport was the most sensitive  $\text{Na}^+$  import mechanism with 65 % of its maximal activation at 327 mosmol/l, already. In total, a complete balance of  $\text{Na}^+$  import,  $\text{Na}^+$  export (via  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase), plus the actual changes of cell  $\text{Na}^+$  could be obtained for the entire range of hypertonicity tested.

With respect to the molecular correlate of  $\text{Na}^+$  conductance, it was found that it exhibits a relatively low affinity to amiloride with an apparent  $K_i$  of some 5 mmol/l. Surprisingly, EIPA was the most efficient blocker of  $\text{Na}^+$  conductance whereas benzamil and phenamil, the classic inhibitors of epithelial  $\text{Na}^+$  channels (ENaCs), were least effective. Nevertheless, it was found that rat hepatocytes express all three subunits of the ENaC and, based on an antisense-oligonucleotide protocol, it could be shown that at least  $\alpha$ -ENaC is, in fact, a functional component of the volume-activated  $\text{Na}^+$  conductance. Interestingly, the  $P_{\text{Na}}/P_{\text{K}}$  of this conductance was found to be as low as 1.4.

Concerning regulation, it could be shown that stimulation of  $\text{Na}^+$  conductance and  $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$  symport, but not  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiport, is mediated by PKC. Further upstream (and parallel) to this process, G proteins, tyrosine kinases, PI3 kinase, as well as the exocytotic insertion of channels into the plasma membrane appear to contribute to the activation process.

(担当：岡田 泰伸)

## 12. ラットにおける顕微授精ならびに体細胞核移植の技術確立

平林 真澄 (脳機能分子解析室)

(2002.6.12)

トランスジェニックラットはヒト疾患モデル動物として広く利用されているが、導入遺伝子が精巣で発現すると精子形成に異常を起こして雄性不妊となり、系統の継代が困難になることも少なくない。雄性生殖細胞を卵細胞質内に顕微注入すること (精子の場合: ICSI, 円形精

子細胞の場合: ROSI) でこのような不妊系統は救済できると期待されるが、ラットではこれらの顕微授精の成功例はなかった。またラットでは ES 細胞株の樹立そのものが困難なことから、外来遺伝子の導入はできても内在性の遺伝子を狙って破壊する「遺伝子ターゲティング」

もできなかった。しかしクローンヒツジ“ドリー”の誕生を契機に、核移植（クローン作製）技術を応用すれば体細胞等の細胞からキメラを介さないでもノックアウト動物が作製できる、と証明された。

ここではラットで確立した ICSI および ROSI の技術を紹介するとともに、ノックアウトラットの作製を目的に行ってきた体細胞クローンラット作製の試みの一部を紹介したい。

(担当：伊藤 南)

### 13. Assembly and molecular dynamics of excitatory

and inhibitory hippocampal synapses

Dr. Ann Marie Craig (Dept. of Anatomy and Neurobiology  
Washington University School of Medicine)

(2002.7.11)

It is widely appreciated that the AMPA type glutamate receptor is rapidly inserted and removed from synapses in response to activity. We find that the synaptic density of NMDA receptors is also modulated over a timecourse of minutes to days. Over a long timescale, activity homeostatically regulated targeting of NMDA receptors to synapses in cultured hippocampal neurons. Blockade-induced increases in synaptic NMDA receptors occurred by a mechanism requiring activation of cAMP-dependent protein kinase (PKA). In contrast, selective activation of protein kinase C (PKC) induced a rapid dispersal of NMDA receptors from synaptic to extrasynaptic plasma membrane.

The PKC-induced dispersal of NMDA receptors was accompanied by a reciprocal translocation of CaMKII to synapses. These rapid and reversible translocations reveal an unexpected dynamics in the molecular composition of

excitatory synapses. Altogether, our data indicate a role for activity and PKC in reducing levels of NMDA receptor at the synapse, and a role for activity blockade and PKA in enhancing synaptic targeting of NMDA receptors.

Compared with glutamatergic synapses, relatively little is known about the molecular composition of GABAergic synapses. We have studied a recently appreciated component of GABA synapses, the dystrophin-associated glycoprotein complex. Dystrophin and alpha- and beta-dystroglycan selectively colocalized with gephyrin and GABA-A receptor subunits at a subset of inhibitory synapses in culture. By analysis of cultures from mutant mouse lines, we found that gephyrin and dystroglycan form independent scaffolds at inhibitory synapses. Dystroglycan was not essential for assembly of GABA synapses but is likely involved in synapse modulation.

(担当：重本 隆一)

### 14. 脳による生体恒常性の維持機構—必須栄養素欠乏の認知と適応—

鳥居 邦夫（味の素株式会社 ライフサイエンス研究所）

(2002.7.11)

摂食に伴って生じる刺激は、味や食感さらに消化吸収過程で生じる内臓感覚として食欲、生体恒常性、情動行動に関連する中枢に投射される。消化呼吸後に生体恒常性の乱れなしに各栄養素に対する生理的欲求が満たされた時に満足感に至る。この繰り返しが食べる欲びであり健康を保つ基本である。動物は必須栄養素の不足に際し

食欲の抑制や嗜好性の変化により対応する。この行動の脳内機序を考えてみたい。大脳辺縁系の扁桃体を破壊すると、ラットは栄養のバランスの良い飼料を選択するが、味、色、形、匂にこだわらなくなる。一方、満腹中枢（視床下部腹内側核）を破壊したラットでは、栄養のバランスにはこだわらず、より味の良い飼料を選択摂取し満腹



感が生じないので過食により肥満となる。一方、摂食中枢（視床下部外側野）を破壊すると食思は廃絶し餓死するので嗜好性の評価は難しいが、満腹中枢とともに嗜好性を変化させて栄養バランス維持する機能を有すると考えられている。蛋白質の栄養状態の変動は摂取する蛋白質の量だけでなく必須アミノ酸の過不足など質的な問題によっても日常容易に生じる。日本から南アジアにいたる地域は夏期の高温多雨な気候により水稻耕作が行われ、世界の人口の 2/3 が生活している。西アジアからヨーロッパは小麦の生産と牧畜が中心の生活で面積の割に人口は少ない。コメの蛋白質はコムギに比べ必須アミノ酸のバランスが良く制限アミノ酸のリジン含量も高く、豆類の摂取で充分補足出来るので巨大な人口を支えて来た。しかしコムギの蛋白質に含まれるリジンは少なく、畜肉や乳製品を食べずに補足することはかなり難しい。まして、トウモロコシにはリジンやトリプトファンがほとんど含まれておらず、動物性蛋白質の摂取は必須条件となる。人口増加に加えて、天候不順や伝染病等で牧畜業が大きな打撃を受けると、蛋白欠乏もしくはリジン欠乏に陥ることになる。現在、穀物の収穫量は 60 億の人々が食べる分の 2 倍あり、家畜の飼料としては利用されているが、2040 年には人口は 90 億に達し、発展途上国を中心に蛋白欠乏、特にリジンやトリプトファンの欠乏に悩む人々が多数生じると予想される。我が国の食糧需要率は 40% 以下であり、必須アミノ酸の強化による栄養改善は重要な環境に関わるテーマである。

そこでリジン欠乏食をラットに与えると食欲が抑制され、同時にアミノ酸水溶液を自由に選択させると、各アミノ酸の味と摂取後の栄養効果により欠乏しているリジンを捜し出し、成長に必要な量のリジンを摂取し食欲

も正常化した。ラットはリジン欠乏食摂取に伴うストレスをリジン摂取により血中や脳内リジン濃度を一定に保ち、回避できる能力がある。リジン欠乏とその際のリジン摂取を認知する部位を機能型 MRI により調べたところ視床下部の摂食・満腹両中枢を含む狭い領域であった。リジン欠乏又は正常ラットの摂食中枢の単一神経細胞応答を多連微小ガラス電極にて無麻酔下で調べた。リジン欠乏では、全体の 3% 程度は電気泳動により微量投与したグルコース、食塩、アミノ酸等の栄養素に対して神経興奮物質であるグルタミン酸の他ではリジンのみに特異的に応答した。

又、リジンを意味する 2 秒間の手掛かり音を聞かせ、その直後 2 秒間の水溶液の摂取に伴ってリジンに特異的に応答する神経細胞も数%認められた。リジン欠乏への適応として、摂食中枢にリジン摂取を意味する味覚や聴覚に応答する神経細胞の出現が選択摂取行動を調節していると考えられる。特にリジン摂取に応答した神経細胞は、正常ラットが嗜好するグルタミン酸ナトリウム等のうま味物質にも応答する例が多い。即ち、ラットはリジン欠乏に際し、摂食中枢を含めうま味に応答する神経細胞が可塑性を惹起して嗜好性や食欲を調節しつつ、生体恒常性を維持していたのである。リジンを定量的に摂取する仕組みは満腹中枢におけるノルエピネフリン分泌により調節されていることも明らかになった。変化に富んだ食事は脳が本気になって生体恒常性を維持するので結果的に脳の機能を高めることになる。私はこれを「食情報調節機構」と呼び、生活習慣病の予防や治療に役立てたいと思う。尚、本研究は科学技術振興事業団鳥居食情報調節プロジェクトで実施された。関係者各位に感謝致します。

(担当：河西 春郎)

## 15. Distributed Processing in the Motor System: Data from the Spinal Cord of Behaving Monkeys

Steve Perlmuter (Department of Physiology and Biophysics,

and Regional Primate Research Center, University of Washington, USA)

(2002.7.12)

The reflex responses of spinal cord interneurons (INs) have been extensively characterized in anesthetized animals, but little is known about their function in normal voluntary movements. We are characterizing the discharge properties

of INs under normal conditions of feedforward and feedback control by recording single-unit activity in the spinal cord of awake monkeys performing trained hand movements. In many respects IN activity is well correlated

with motor output, as expected if INs are involved in the transformation of a motor command into muscle-centered coordinates. Other properties of INs, such as bidirectional

activity for reciprocal wrist movements and the widespread suppression of activity during an instructed delay period, attest to other functions mediated by spinal circuits.

(担当：関 和彦)

## 16. TRPM2 $\text{Ca}^{2+}$ -Permeable Channel Activated by Changes in Redox Status Confers Susceptibility to Cell Death

原 雄二 (統合バイオサイエンスセンター)

(2002.7.16)

細胞内における酸化還元状態は常に厳密に保たれているが、外界からの様々な刺激によりその恒常性が崩れた場合、細胞は障害を受け死に至る。細胞内の酸化レベルを上昇させる分子のひとつとして、活性酸素種が挙げられる。活性酸素種は様々な病態下における細胞死の有力な原因因子として知られている。この活性酸素により細胞死に至る有力な経路として細胞内カルシウム濃度異常が挙げられるが、その作用機序は未だ明らかでない。

我々は細胞外からの  $\text{Ca}^{2+}$  流入を担う分子を同定するため、形質膜に存在するチャネル分子、特にショウジョウバエの TRP (Transient Receptor Potential) 蛋白質の哺乳類ホモログに着目した。その結果、低濃度の活性酸素種に反応し、形質膜越えの  $\text{Ca}^{2+}$  流入を引き起こすチャネル TRPM2 を発見した。一過的発現系を用いて細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度測定や電気生理学的な測定を行なった結果、既知の  $\text{Ca}^{2+}$  チャネルでは活性化され得なかった低濃度の過酸化水素により、形質膜越えの急劇な  $\text{Ca}^{2+}$  流入が惹起された。さらに TRPM2 が活性酸素種により活性化されるメカニズムとして、 $\beta$ -ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド

( $\beta$ -NAD<sup>+</sup>) が関与すること、TRPM2 のカルボキシル末端に MutT モチーフと呼ばれるヌクレオチド結合モチーフが存在し、TRPM2 活性化には  $\beta$ -NAD<sup>+</sup> が MutT モチーフに結合することが必須であることをそれぞれ明らかにした。

我々は、TRPM2 の生理的機能の一つとして、活性酸素種に反応して細胞死を誘導することを明らかにした。内因的に TRPM2 を発現しているインスリノーマ細胞株 RIN-5F、単球細胞株 U937 において、低濃度の過酸化水素により TRPM2 が活性化され、細胞内カルシウム濃度上昇及び細胞死が引き起こされた。さらに細胞内で活性酸素種を発生することが知られている 腫瘍壊死因子 (TNF?) によっても TRPM2 が活性化され、細胞死を誘導することもあわせて見出した。これらの効果は、TRPM2 アンチセンスオリゴ適用により有意に抑制されたことから、TRPM2 は活性酸素種によりもたらされる、細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度上昇、細胞死に至る経路の原因分子の一つであるものと考えられる。

(担当：伊藤 南)

## 17. Cell Type Specificity of Neural Circuits in Visual Cortex

Dr. Ed Callaway (The Salk Institute for Biological Studies USA)

(2002.7.26)

We have studied the organization of local circuits within the primary visual cortex (V1) to better understand how neural circuits give rise to the visual response properties of cortical neurons and to cortical function in general. Intracellular labeling and reconstruction of axonal and dendritic arbors of individual neurons has revealed the cell

types present within the various layers of V1 and how they might be interconnected. Relating the axonal projection patterns to the laminar and columnar functional architecture of V1 provides insight into the functional influence of the various connections. We have used Photostimulation to identify which of the possible connections, inferred from

anatomical overlap of dendritic and axonal arbors, in fact exist. In these experiments, light is used to release caged glutamate and thus photostimulate small populations of neurons while recording from a single cell. This results in the identification of the locations of neurons presynaptic to the recorded cell. Analysis of functional input to individual neurons reveals that anatomically and physiologically distinct types of inhibitory and excitatory neurons typically receive input from distinctly different sources, even amongst neurons located in the same cortical layer. Thus, functional connectivity can not be predicted from the spatial overlap of axons and dendrites. Cell type specificity confers an even finer level of organization of functional

microcircuits than the laminar and columnar cortical organization. This specificity implies that future studies of relationships between circuits and function must match this level of organization.

For example, because differences in functional input are correlated with morphological differences, this provides the possibility of correlating circuits with single cell receptive fields in future studies. We are also developing methods using viruses and cell type specific promoters to allow quickly reversible inactivation of selected cell types. These methods will allow in vivo tests of the role of particular cell types within the functioning cortical network.

(担当：窪田 芳之)

## 18. 「奥行き計算における大脳皮質 MT 野の役割」

宇賀 貴紀 (Department of Anatomy and Neurobiology,  
Washington University School of Medicine, USA)

(2002.7.31)

大脳皮質視覚領域のいたるところに両眼視差に選択性を持つ細胞が存在することはよく知られているが、その機能的役割は未だよくわかっていない。本研究では、

MT 野に注目し、奥行き弁別におけるその役割について検討をする。

(担当：伊佐 正)

## 19. Hemispheric asymmetries in the somatosensory system

Ulf Baumgartner (Institute of Physiology and Pathophysiology Johannes Gutenberg University)

(2002.8.22)

Introduction: Although the human brain - in the first view - looks symmetrical, there are a number of anatomical and functional features displaying different specializations in each hemisphere. Best known examples are handedness and language representation. With respect to the somatosensory system, only little is known about hemisphere specialization. In a number of different experiments, we now evaluated functional asymmetries of the primary (SI) and secondary somatosensory cortex (SII). Methods: We used somatosensory evoked potentials from the foot (tibial nerve, none painful) and hand (median nerve, non painful) as well as laser evoked potentials (hand stimulation, painful) to compare source locations and

activities derived from multichannel EEG source analysis (BESA) between the two hemispheres. Using a similar experimental design, we additionally applied functional magnetic resonance imaging (fMRI).

Results: EEG source analysis revealed a left hemisphere dominance for representation of somatosensory stimuli in terms of stronger activations (higher dipole moments) following non painful electrical stimuli as well as painful laser stimuli. This was true for both SI and SII cortices. fMRI analysis confirmed a stronger representation for somatosensory stimuli in left SII. Modulation of attention on laser evoked potentials resulted in an increase of source activity, most prominently in the left operculum.

Conclusions: The left hemisphere dominance for early processing of somatosensory stimuli adds to other asymmetric phenomena of the human brain, such as

handedness and language representation.

(担当：柿木 隆介)

## 20. Tacto-visual Matching of Object Shapes: Contribution of Inferotemporal Cortex in the Monkey

長谷川 健（九州工業大学 生命体工学研究科）

(2002.8.29)

Takeshi Hasegawa 1), 2) and Keiji Tanaka 2)

1) Laboratory for Cognitive Behavioral Science, Division of Higher Brain Functions, Department of Brain Science and Engineering, Graduate School of Life Science and Systems Engineering, Kyushu Institute of Technology, Kitakyushu 808-0196, Japan

2) Laboratory for Cognitive Brain Mapping, RIKEN Brain Science Institute, Wako 351-0198, Japan

In order to reveal the neural substrate for crossmodal aspect of object recognition, we examined activity of cells in and around the inferotemporal cortex (area TE), while a Japanese monkey (*Macaca fuscata*) performed a tacto-visual matching task. A table with pulling switches of different 3D shapes (in total 18 stimuli) was placed in front of the monkey. The switches were hidden from the monkey's sight by an opaque plate. While the monkey kept pulling the switch, visual images of the switches were serially presented in a display. The monkey had to release the switch when the visually presented image matched the switch being pulled. We observed stimulus-specific increase/decrease in discharge rates of TE cells while the monkey was pulling the switch, but in prior to the visual

stimulus presentation. 11% of cells in the dorsal part of area TE (TEd) showed these kind of differential tactile responses, and this proportion of tactile responsive cells were significantly higher than those in ventral part of area TE (4%) and adjacent perirhinal cortex (1%). We also observed significant enhancement/suppression of visual responses by the tactile stimulus in 6% of TEd cells. In total 15% of TEd cells showed either influence of tactile stimuli. These cells encoded potentially useful information to distinguish the particular switch being pulled in a given trial. These results suggest that the inferotemporal cortex can directly contribute to the association between tactile and visual information in object recognition, in addition to its well-established role in visual memory.

(担当：伊佐 正)

## 21. 「ヒト律動的脳波活動と運動統御」

Oscillatory EEG activity in humans and its role in motor control

美馬 達也（京都大学 医学研究科 高次脳機能総合研究センター 臨床脳生理学）

(2002.9.3)

Gray and Singer (1989)の報告以来、神経系における律動的活動とその同期性（コヒーレンス）のもつ機能的意義についての関心が高まっている。非侵襲的脳研究の分野でも、脳電場や脳磁場でとらえられた律動的活動とそのコヒーレンスが、脳機能の統合に重要であると報告され

ている(Mima et al., J. Neurosci. 2001)。

近年、運動生理学の分野では、脳磁図・皮質脳波と筋電図の律動性活動の間のコヒーレンスが報告され、大脳皮質による筋活動の統御を解析する新しい非侵襲的方法として用いられ始めた。この cortical-muscular coherence

について、正常者での知見、多変量自己回帰モデルによ

る解析、運動障害患者への応用等に関して述べる。

(担当：柿木 隆介)

## 22. 神経活動と $\text{Ca}^{2+}$ /カルモジュリン依存性プロテインキナーゼ II

山肩 葉子 (神経化学研究部門)

(2002.9.18)

$\text{Ca}^{2+}$ /カルモジュリン依存性プロテインキナーゼ II (CaMKII) は、中枢神経系における細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  シグナルの主要な担い手として、記憶・学習を形成する上で必要な分子と考えられている。これまで試験管内や細胞・組織レベルの研究によって、多くの知見が集積されてきたが、CaMKII が実際に生体内でどのように調節を受け、どのような役割を果たしているかについての知見は乏しい。

そこで、生体における急性・持続性の神経活動活性化のモデルとしてラットのけいれんを取り上げ、これら神経活動に従って、CaMKII の活性状態がどのように変化するかを検討した。その結果、急性けいれんでは、CaMKII の脱リン酸化による活性化型の減少が急激かつ一過性に

起こり、一方、持続性けいれんでは、CaMKII の活性化型の減少に加えて不活性化が顕著となり、また、細胞内分布が大きく変化した。けいれん回復後に、これらの変化は消失したが、持続性けいれんの場合は、CaMKII 分子の減少が認められた。

以上の結果から、CaMKII の脱リン酸化による活性化型の減少は、一過性の回復可能な変動であるが、CaMKII の不活性化は、生理的範囲を逸脱した病的、不可逆的な変化を予測するものと考えられた。さらに、けいれん中の CaMKII の細胞内分布の変化も、CaMKII の過剰活性化を防ぐためのメカニズムとして作用している可能性が示唆された。

(担当：伊藤 南)

## 23. Growth factors and progenitor cell transplants improve oligodendrocyte function in myelin disorders of the central nervous system.

(和訳：神経幹細胞と成長因子の移植による脱髄性疾患の治療)

Jean de Vellis, (Professor of Neurobiology Director, Mental Retardation Research Center, University of California)

(2002.9.27)

Many neurologic diseases are associated with deficiency in myelination during development or demyelination in adult CNS, which can be the result of genetic, immune, traumatic injury and/or environmental factors. The underlying mechanisms of the disease process, the role of trophic factors, as well as the limitations of oligodendrocytes (OL) and the demyelinated CNS environment with respect to therapy are still poorly understood. OL injury, cytotoxicity, and failure to remyelinate are critical aspects of the neuropathology of demyelinating diseases. Given i) the identification of OL progenitors (OLP) in normal and diseased adult CNS ii) the

great advances in the understanding of molecular mechanisms of OL proliferation, survival and maturation; iii) the present knowledge of OL trophic factors (TF), a rational therapeutic approach to test in animal models is to deliver OL stimulating factors or/and OLP into lesions and attempt the improvement of remyelination. Treatment combinations of transferrin with IGF-1 or FGF-2 were found to synergistically improve OL maturation and myelinogenic properties in the CNS of myelin-deficient (md) rats compared to treatment with a single factor. Transplantation of rat OLP cells into md rat brains not only myelinated host axons, but also stimulated oligodendrocyte

specific gene expression in host OL cells as measured by mRNA in situ hybridization and immunocytochemistry. This also resulted in the improvement of other OL functions besides myelin. To correct myelin deficiency at the scale of the whole CNS it is important to have a large quantity of OLP of uniform and reproducible quality. For this purpose, neural stem cells (NSCs) were isolated from embryonic rat brains and cultured in a novel serum-free stem cell medium that selected for the growth of NSCs and against the growth of GFAP+ cells (astrocytes). Moreover, using an oligodendrocyte (OL) specification medium, NSCs differentiated into OL as evidenced by their morphology and expression of multiple oligodendrocyte/myelin-specific

markers. We also showed successful propagation and differentiation of NSC into OL following cryostorage, allowing for the later use of stored NSC. Preliminary experiments performed on normal and myelin deficient rats demonstrate that these cells survive and migrate extensively within both types of hosts. NSC grafted as such, as well as, cells derived from NSC exposed to selective OL specification prior to grafting, are able to differentiate within the host brain. This work was supported by NIH grant HD-06576 and NMSS RG 2751-A-2 and the Giannini family foundation.

(担当：池中 一裕)

## 24. 神経シナプス active zone 形成の分子メカニズム

大塚 稔久 (カン研究所)

(2002.10.4)

神経が適切に機能するためには、プレシナプス膜に存在する active zone において、カルシウム依存的な神経伝達物質の放出が効率良くかつ正確に行われる必要がある。この active zone を構成する細胞骨格 (CAZ: Cytomatrix at Active Zone) には、RIM1, Munc13-1 および bassoon などの蛋白質が特異的に存在することが知られているが、active zone の形成、構造維持および機能発現についてはほとんど明らかにされていない。最近、私共は、古典的

な生化学的手法と質量分析法を組み合わせることで、ラット大脳より active zone に特異的に局在する新規 CAZ 蛋白質を精製、同定することに成功した。そして本蛋白質を CAST(CAZ-associated structural protein)と命名した。本セミナーでは、CAST の機能解析を中心に、神経シナプス active zone 形成の分子メカニズムについて最新の知見を紹介したい。

(担当：重本 隆一)

## 25. インスリン開口放出をおこす融合細孔の動態と分子組成

高橋 倫子 (生体膜研究部門)

(2002.10.16)

インスリンは脊椎動物の成長や糖代謝に重要なホルモンで、その分泌不全は糖尿病の 主たる成因の一つである。神経伝達物質や他のホルモンと同様に、インスリンは分泌顆粒内部にあらかじめ蓄えられており、分泌刺激が与えられると顆粒膜と細胞膜が融合してできる小さな孔を通して細胞外へ放出される。しかし、この融合細孔の動態や 分子組成は謎に包まれてきた。私どもは厚みのある生体組織の観察に、現在最も適していると考えられる 2 光子励起断層画像法と水溶性蛍光色素を用いて、膵ラ

ンゲルハンス島内部におけるインスリン開口放出を観察する実験系を確立した。内分泌組織であるにもかかわらず、分泌は細胞の間質で多く起こっている事実を見出した。さらに、本励起法の光化学的特徴とインスリン顆粒の特殊性を生かすことにより、融合細孔の動態をナノメーターの空間解像度で解析する手法を確立し、細孔の内側が主に膜脂質で構成されている事実を明らかにしたので、その経緯について発表する。

(担当：伊藤 南)

## 26. Compensatory plasticity and sensory substitution in the cerebral cortex Josef P. Rauschecker

(ジョージタウン大学)

(2002.10.17)

Visually deprived animals can generally localize sounds in space with greater precision than normally sighted animals, and there is also compensation of the lost visual input through the tactile system. In cats, such crossmodal compensatory plasticity can be observed both on the behavioral and neurophysiological level (1). Neurons in areas of parietal association cortex normally activated by visual stimuli respond to sound after long-term visual deprivation. Thus, cortical maps in blind animals subserving auditory function are expanded significantly at the expense of formerly visual territory (2). At the same time, neurons in these areas are also more sharply tuned to the spatial location of a sound. Thus, an increased number and refined spatial filter functions of cortical neurons in the auditory “where” pathway (6, 7) seems to underlie the behavioral improvement of sound localization after early blindness.

In congenitally blind humans, strikingly similar results are seen with functional neuroimaging techniques (4). Using positron emission tomography (PET) it can be shown that activation maps in the inferior parietal lobules associated with auditory spatial processing are vastly expanded into occipital areas, where visual information is normally processed. Cross-correlation analysis between brain regions demonstrates that occipital areas receive auditory input from the superior temporal gyrus via the inferior parietal lobules. The take-over of visual brain regions by nonvisual input is found to a lesser degree for subjects who acquired their blindness later in life. These results from both animal and human studies demonstrate the vast plasticity of cortical maps, i.e. the capacity of the cerebral cortex to reorganize itself depending on the

demands of altered environmental conditions (3, 4, 7).

### 【References】

1. Rauschecker, J.P. (1995)  
Compensatory plasticity and sensory-substitution in the cerebral cortex. *Trends in Neurosciences* 18 (1), 36-43.
2. Rauschecker, J.P. (1997)  
Mechanisms of compensatory plasticity in the cerebral cortex. *Advances in Neurology* 73, 137-146.
3. Rauschecker, J.P. (1999)  
Auditory cortical plasticity: a comparison with other sensory systems. *Trends in Neurosciences* 22, 74-80.
4. Weeks, R., Horwitz, B., Aziz-Sultan, A., Tian, B., Wessinger, C.M., Cohen, L., Hallett, M. and Rauschecker, J.P. (2000)  
A positron emission tomographic study of auditory localization in the congenitally blind. *Journal of Neuroscience* 20(7), 2664-2672.
5. Rauschecker, J.P., and Tian, B. (2000)  
Mechanisms and streams for processing of “what” and “where” in auditory cortex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97 (22), 11800-11806.
6. Tian, B., Reser, D., Durham, A., Kustov, A. and Rauschecker, J.P. (2001)  
Functional specialization in rhesus monkey auditory cortex. *Science* 292, 290-293.
7. Rauschecker, J.P. and Shannon, R.V. (2002)  
Sending sound to the brain. *Science* 295, 1025-1029.
8. Rauschecker, J.P. (2002)  
Sensory deprivation. In: Ramachandran, V.S. (Ed.), *Encyclopedia of the Human Brain*, Academic Press: London.

(担当：定藤 規弘)

## 27. Activity dependent regulation of postsynaptic proteins

林 康紀 (Massachusetts Institute of Technology RIKEN-MIT

Neuroscience Research Center Picower Center for Learning and Memory)

(2002.10.28)

(担当：重本 隆一)

## 28. Volume Regulatory Mechanisms and the Control of Life and Death

John A. CIDLOWSKI (NIEHS, NIH)

(2002.10.28)

The loss of cell volume (apoptotic volume decrease) is an early and fundamental feature of programmed cell death or apoptosis, however, the mechanisms responsible for cell shrinkage are poorly understood. Studies in our laboratory have focused on determining if the apoptotic volume decrease (AVD) is a necessary component of cell death. In

addition we have sought to define the ion channels that function during the AVD.

Data were presented that shows that  $\text{Na}^+$  ions orchestrate cell shrinkage, whereas  $\text{K}^+$  ions control the life/death decisions of cells.

(担当：岡田 泰伸)

## 29. Scanning Ion Conductance Microscopy: Functional Study of Membranes in Living Cells

Yuri E. KORCHEV (Imperial College, School of Medicine,  
MRC Clinical Science Centre, London)

(2002.11.1)

We have developed a scanning patch-clamp technique that facilitates single-channel recording from small cells and sub-micrometer cellular structures that are inaccessible by conventional methods. The scanning patch-clamp technique combines Scanning Ion Conductance Microscopy (SICM) and patch-clamp recording through a single glass nanopipette probe. In this method the nanopipette is first scanned over a cell surface, using current feedback, to obtain a high-resolution topographic image. This same pipette is then used to make the patch-clamp recording. Because image information is obtained via the patch electrode it can be used to position the pipette onto a cell with nanometer precision. The utility of this technique is demonstrated by obtaining ion channel recordings from the top of epithelial microvilli and openings of cardiomyocyte T-tubules. Furthermore, for the

first time we have demonstrated that it is possible to record ion channels from very small cells, such as sperm cells, under physiological conditions, as well as recording from cellular microstructures such as sub-micrometer neuronal processes. In cardiac myocytes, as in most excitable cells, action potential propagation depends essentially on the properties of ion channels that are functionally and spatially coupled. We found that the L-type calcium and chloride channels are distributed and co-localized in the region of T-tubule openings, but not in other regions of the myocyte. In addition, chloride channels were found in narrowly defined regions of Z-grooves. This suggests a new synergism between these types of channels that may be relevant for action potential propagation along the T-tubule system and excitation contraction coupling.

(担当：サビロブ・ラブシャン, 岡田 泰伸)



### 30. Relationships between visual cortical maps of the cat.

Dr. Zoltan F. Kisvarday (Dept. Physiol. Ruhr University Laboratory for Cortical  
Organization Systematics Brain Science Institute, RIKEN)

(2002.11.11)

The visual cortex contains an orderly representation of a number stimulus parameters such as position, orientation preference and ocular dominance. Recent observations indicate that map formation follows a combination of the continuity and completeness constraints rendering the maps structurally related to each other. Here,

I will present cases from juvenile and adult cats for showing that map relationships are either weak or do not exist. In the first part, I will deal with the topographic relationship between orientation and ocular dominance maps. In the second part, I will demonstrate the independence of orientation and visuotopic maps.

(担当 : Peter Somogyi, 重本 隆一)

### 31. グリア研究の新しい展開

工藤 佳久 (東京薬科大学 生命科学部)

細胞内情報伝達におけるカルシウムの機能—その生理と病態像の解明へむけて—

御子柴 克彦 (東京大学医科学研究所 脳神経発生 分化分野)

(2002.11.15)

(担当 : 池中 一裕)

### 32. Diseases of the Dorsal Root Ganglion Cell

Benn E. Smith (Mayo Clinic, Scottsdale, AZ, USA)

(2002.11.20)

The dorsal root ganglion (DRG) cell is one of the most remarkable neurons in the mammalian nervous system. To convey sensory information from a Pacinian corpuscle in the distal hallux, the peripheral axon extends to the soma in the ipsilateral L5 intervertebral foramen, and then, without synapse, via the central axon to the nucleus gracilis at the craniocervical junction -- in some subjects spanning a distance which approaches two meters or more. This cell is also instructive in that certain categories of human disease show a regional predilection for affecting different topographic segments of the cell. These include the painfully common distal sensory neuropathies, uncommon and sometimes deadly sensory ganglionopathies, and the rare group of conditions which afflict the central sensory axon in isolation, the so-called central sensory syndrome. Each of these categories of disease of the dorsal root ganglion cell has

characteristic patterns of symptoms, physical signs, and laboratory abnormalities, which allow the astute clinician to diagnose them correctly and to recommend the best course of action for the particular disease at hand. Smith BE, Windebank AJ: Dorsal Root Ganglion Cell Disorders. In: Katirji B, ed. Neuromuscular Disorders in Clinical Practice. Butterworth-Heinemann, 2001 Smith BE, Bosch EP: Somatosensory evoked potential and quantitative sensory testing abnormalities in patients with spinal sensory loss. (Abstract) Clin Neurophysiol 112:S36, 2001 Smith BE, Bosch EP: Neurophysiological findings in patients with spinal sensory loss. (Abstract) Ann Neurol 50:S23, 2001 Smith BE, Windebank AJ, Dyck PJ: Nonmalignant inflammatory sensory polyganglionopathies. In: Dyck PJ, Thomas PK, Low PA, Griffin J, eds. Peripheral Neuropathy. Philadelphia: WB Saunders 1993

(担当 : 柿木 隆介)

### 33. 慢性炎症性疼痛における視床 mGluR1-PLC $\beta$ 4 カスケードの役割

宮田 麻理子（液性情報研究部門）

(2002.11.22)

末梢からの感覚情報は、主に視床の後腹側内側核群 (VB (VPL と VPM))を経由して、体性感覚野 4 層に投射される。一方、体性感覚野の 5-6 層から視床 VB へは somatotopy を保ちながら大脳皮質-視床投射シナプスを作り、VB の活動性を調節していると考えられている。近年の研究で、末梢から脊髄レベルでの痛覚修飾の分子基盤は明らかになってきたが、視床より上位中枢ではほ

とんど明らかになっていない。私達は、マウス視床の代謝型グルタミン酸受容体 1 型および phospholipase C $\beta$ 4 (PLC $\beta$ 4)が視床 VB の神経活動を調節する事によって、慢性炎症性疼痛の知覚に寄与することをみいだした。さらに、そこには皮質-視床投射シナプスの関与が示唆されたので、その経緯について話すとともに、今後の研究の方向性についても発表したい。

(担当：伊藤 南)

### 34. 脳磁図と視覚生理学

金桶 吉起（統合生理研究施設）

(2002.12.18)

私は 95 年に赴任して以来、脳磁図を使ってどのような研究をするべきかあるいは何ができるかについて自問自答してきた。ヒトを対象にした実験であるから、ヒト固有の高次な脳機能を研究すべきか？ 脳磁図では動物実験ほど詳細な生理学的研究はそもそもできないから、動物も持っているような脳機能をわざわざ脳磁図で研究

するべきでないか？ 今回の発表では、最近の我々の研究成果を紹介しながらみなさんと議論したい。研究内容は、運動速度の検出について、第一次運動と第二次運動の検出機構について、専門外の方にもわかりやすく説明する予定である。

(担当：伊藤 南)

### 35. Ca<sup>2+</sup>透過型 AMPA 受容体の情報伝達能を制御する Ca<sup>2+</sup>結合蛋白

岡戸 晴生（東京都神経科学総合研究所 分子神経生理）

(2002.12.24)

これまでラット前脳領域において、CalbindinD28k 等の Ca<sup>2+</sup>結合蛋白の発現と Ca<sup>2+</sup>透過型 AMPA 受容体の発現が相関することを見い出した。最近この発現相関の機能的意義の解明を目的とし、培養系を用いて実験をおこなった。その結果、CalbindinD28k は、1) Ca<sup>2+</sup>透過型 AMPA 受容体の膜表面発現を促進させ、その AMPA 受容体チ

ヤネルから流入した Ca<sup>2+</sup>によって、2) CalbindinD28k 自身が核に移行し、CREB のリン酸化を促進する、すなわち、CalbindinD28k が Ca<sup>2+</sup>透過型 AMPA 受容体を介したグルタミン酸刺激から遺伝子発現にいたる情報伝達系を協調的に制御していることが推察された。

(担当：岡村 康司)

### 36. カリックス型シナプスのシナプス伝達におけるアクチンの役割

坂場 武史 (マックス=プランク生物物理化学研究所 膜生物物理部門)

(2002.12.25)

放出可能なシナプス小胞のプールはいったん枯渇すると、数秒の時定数で補充される。小胞補充のメカニズムに関する手がかりを得るために、薬理的に小胞補充を阻害することを試みた。ATPγS が小胞補充のスピードを遅らせたが、NEM や staurosporine などは影響を与えなかった。一方で、latrunculin A は ATPγS と近似した効果

があった。latrunculin A の効果は phalloidin によって阻害されたが、phalloidin 自身は何も効果がなかった。シナプス小胞補充においては、アクチンのネットワークを維持するために ATP が必要であると推定した。また生理的条件下における複数の小胞のプールの役割についての検討を報告する。

(担当：井本 敬二)

### 37. An in vitro analogue for attention-regulated memory in the olfactory bulb, using electrophysiological and computational approach

井上 剛 (Case Western Reserve University, Department of Neurosciences 研究員)

(2003.1.17)

スパイク持続活動 (persistent spiking activity) は短期記憶 (もしくは作業記憶) の神経素子の候補として考えられている。短期記憶の興味深い一面はその記憶が注意力 (attention) によって制御を受ける点である。しかしどのようにして注意力が短期記憶を制御しているのか、その神経メカニズムについては未だよくわかっていない。今回私はラット嗅覚系をモデル系として、その神経メカニズムを調べた。ラットの注意力が上がったときにはスニフ行動に伴う数ヘルツのネットワーク振動が嗅球において観察される。すなわち注意力の神経活動の関与を調べる上で良いモデル系であると考えられる。

実験は嗅球スライスからパッチクランプ記録を行った。嗅球には主として二種類の神経細胞、顆粒細胞 (GC) と僧房細胞 (MC) が存在し、それらがフィードバック抑制シナプスを作っていることが分かっている。そこでまず GC から記録を行った。GC において一過性の興奮はスパイク持続活動を誘発することはできなかった。しかし GC に 2Hz の閾値以下の振動入力を与えた状態で一過性

の興奮を与えるとスパイク持続活動を誘発できることがわかった。加えてそのスパイク持続活動には低閾値型のカルシウムスパイク (Low-threshold Ca spike; LTS) が関与していることも分かった。すなわち振動入力によってドライブされる LTS がスパイク持続活動の維持に関わっている。

次に、MC におけるスパイク持続活動のメカニズムの機序について調べた。GC から MC へは GABA 性の抑制性のシナプスが存在していることが知られている。MC に閾値以下の振動入力を与えたところ、MC と GC の閾値以下の振動入力が入力に同期している時にのみ、MC でスパイク持続活動が生じることが明らかになった。それは MC における IPSP がスパイクの閾値直下ではリバウンドスパイクを転じるのが原因であった。

最後に MC-GC 間のシミュレーションを Hodgkin-Huxley model を用いて構築し、その妥当性を検討した。

(担当：井本 敬二)

### 38. $\text{Ca}^{2+}$ Independent but Voltage-dependent Secretion in DRG Neurons

Zhuan Zhou (Institute of Neuroscience, Shanghai Institutes of  
Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences)

(2003.1.21)

Depolarization can trigger the secretion of neurotransmitters via  $\text{Ca}^{2+}$  influx through voltage-gated  $\text{Ca}^{2+}$  channels in many neural and endocrine cells, but the possibility of secretion triggered by depolarization without  $\text{Ca}^{2+}$  is not excluded yet. In patch-clamped cell bodies of dorsal root ganglion (DRG) neurons, depolarization induces an increase of membrane capacitance ( $C_m$ ) in  $\text{Ca}^{2+}$ -containing solution, and this has been attributed to  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent somatic exocytosis.

We investigated  $\text{Ca}^{2+}$  dependent secretion (CDS) in DRG neurons, which secrete neuropeptides via exocytosis of dense-core vesicles. In addition, we found that rat DRG neurons also displayed a novel  $\text{Ca}^{2+}$  independent but

voltage dependent secretion (CIVDS), because depolarization induces  $C_m$  increase even in the absence of intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  (Zhang & Zhou, Nat. Neurosci, 2002). Here we investigate the kinetics of CDS vs. CIVDS. We found, the vesicles account for CIVDS can also be depleted by elevated  $[\text{Ca}]_i$ . The  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent  $C_m$  signal (CDS) shows apparent difference with CIVDS in the vesicles pool size and refilling rate. CDS didn't show rapid endocytosis, while CIVDS did and this rapid endocytosis could be modulated by frequency of action potentials.

Supported by grants from China NSF and "973" program

(担当：河西 春郎)

### 39. 中枢シナプス前ドーパミン受容体の機能

初山 俊彦 (脳形態解析研究部門)

(2003.1.22)

生理活性モノアミンの一つであるドーパミンは、中枢神経系の活動を制御する修飾物質として働いている。従来最も良く知られていた中枢神経系におけるドーパミンの作用は、中脳のドーパミン性ニューロン自身に対する抑制作用であった。即ち、外来性に投与したドーパミンにより、細胞体あるいは樹状突起に存在する D2 タイプ受容体が活性化され、内向き整流性カリウムチャネルの開口によって膜が過分極してドーパミン性ニューロンの活動が抑制される、という作用である。これに対して、

グルタミン酸や GABA 遊離を制御するシナプス前ドーパミン受容体の機能についてはこれまでほとんど知られていなかったが、近年のスライスパッチクランプ法の進歩により、シナプス後電流の解析を高解像度で行うことが可能になり、ここ数年で、特に大脳基底核およびその関連部位のシナプス前ドーパミン受容体の機能に関するデータが集まってきた。今回は、線条体を中心とする中枢ドーパミン系におけるシナプス前ドーパミン受容体の機能について、私の最近のデータを紹介する。

(担当：伊藤 南)

#### 40. Diversity of cortical GABAergic neurons and spike timing in the rat hippocampus

Peter Somogyi (Medical Research Council, Anatomical Neuropharmacology Unit,  
Department of Pharmacology, Oxford University, Mansfield Road, Oxford OX1  
3TH, UK, and Visiting professor, NIPS, Japan)

(2003.1.27)

The cerebral cortex is the largest neuronal mass of the brain and is organised in an as yet poorly defined modular manner. The basic cortical circuit includes:

1. A large population of spiny principal neurones reciprocally and differentially connected to the thalamus and to each other via axon collaterals releasing excitatory amino acids, and a smaller population of mainly local circuit GABAergic neurones.
2. Extensive and differential reciprocal connections amongst GABAergic neurones.
3. All extrinsic and intracortical glutamatergic pathways terminating on both the principal and the GABAergic neurones, differentially weighted according to the pathway.
4. Synapses of multiple sets of glutamatergic and GABAergic afferents subdividing the surface of cortical neurones and often co-aligned with each other on the dendritic domain.
5. A unique GABAergic neuron, the axo-axonic cell, influencing principal cells through GABAA receptors at synapses located exclusively on the axon initial segment.

The sets of GABAergic interneuron, which participate in the timing of the activity in a given population of principal cells, is difficult to delineate in the isocortex, due to diverse populations of principal cells in any cortical area. In the hippocampal formation a reasonably homogeneous population of principal cells allows the definition of interneurons needed for the basic cortical circuit. So far 11 types of interneuron innervating each pyramidal cell, and an additional 3 types innervating mainly other interneurons have been defined or predicted. As they usually innervate

distinct domains of the postsynaptic neuronal surface, such as the soma, the proximal or distal dendrites and the axon, they may act simultaneously, carrying out different operations by a spatial division of labour, depending on the requirements of the particular domain. However, some of them may be co-ordinated through a temporal division of labour acting either sequentially in the same brain state, or making a contribution to some but not all brain states. With my colleagues, Gyorgy Buzsaki, Philip Cobden, Thomas Klausberger, Peter Magill, Laszlo Marton and David Roberts we have been testing the differences in the spatio-temporal contribution of identified and immunocytochemically defined interneurons to the population activity of the CA1 hippocampal area in vivo.

In the hippocampus, behaviour-contingent oscillatory network activities at distinct frequencies have been implicated in encoding, consolidation and retrieval of information. Some GABAergic interneurons fire phase locked to theta (4-8 Hz), or sharp wave-associated ripple (120-200 Hz) oscillations that represent different behavioural states. Our results show that three distinct interneuron types, basket, axo-axonic, and O-LM cells, visualised and defined by synaptic connectivity as well as by neurochemical markers, contribute differentially to theta and ripple oscillations in anaesthetized rats. The firing patterns of individual cells of the same class are remarkably stereotyped and provide unique signatures for each class. The results demonstrate that the diversity of interneurons, innervating distinct domains of the pyramidal cells, emerged to co-ordinate the activity of pyramidal cells in a temporally distinct and brain state-dependent manner.

(担当：重本 隆一)

#### 41. Disrupting the brain to improve behavior (脳機能の干渉による行動の改善)

Alvaro Pascual-Leone (ハーバード医学校 神経学助教授)

(2003.1.28)

Paradoxical functional facilitation in patients with brain injuries and animal models demonstrate that behavior can be improved, rather than worsened by a focal brain disruption. Transcranial magnetic stimulation (TMS) provides a means for controlled modulation of cortical activity and correlation of brain-behavior relations. As such, TMS provides a means to systematically study

paradoxical functional facilitation mechanisms.

Studies in humans and animal models of attention and neglect provide a unique exemplary demonstration of this capability. Novel insights into fundamental mechanisms of brain function and possible therapeutic principles for neuromodulation can be derived.

(担当：定藤 規弘)

#### 42. 経脳硬膜超音波ドプラー法を用いた脳機能解析

畑中 伸彦 (東京都神経科学総合研究所・流動研究員)

(2003.2.6)

超音波診断装置を用いた経脳硬膜超音波ドプラー法は、脳局所における血流速度の変化による神経活動の観察だけでなく、賦活化された部位を超音波断層像から解剖学的に同定できるため、脳の機能的イメージングが可能である。われわれはこのような手法を用いて、両手及び片手のボタン押し運動課題を実行中のサルから大脳皮質運動関連領域の活動変化を経時的に記録した。その結果、課題に関連して血流変化を示す領域は、電気生理学的記録実験から得られた従来の所見とよく一致していた。ま

た、同様の課題を用いて運動学習の成立過程における大脳皮質の血流変化を解析した結果、補足運動野の活動が運動学習の成立に対応して活動が減少することが明らかになった。さらに、サルに提示する運動課題を両手あるいは片手の分別課題から、片手のみの単純課題に変化させると、補足運動野において緩徐な活動低下がみられた。これらの所見は、両手運動に補足運動野が強く関与することを示唆している。

(担当：南部 篤)

#### 43. ニューロンでの $\text{Ca}^{2+}$ 誘起性 $\text{Ca}^{2+}$ 遊離機構の生理学

久場 健司 (名古屋大学大学院 医学研究科 細胞情報医学 細胞生理学)

(2003. 2. 18)

細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  上昇の増強機構として、リアノジン受容体や  $\text{IP}_3$  受容体を介する  $\text{Ca}^{2+}$  誘起性  $\text{Ca}^{2+}$  遊離 (CICR) は、筋細胞、特に心筋においてその収縮に不可欠の役割をする。ニューロンでの CICR の役割については、 $\text{Ca}^{2+}$  依存性  $\text{K}^+$  チャンネルを介する細胞膜の興奮性制御や神経突起の伸長などが知られていたが、その詳細な機序は解っていなかった。しかし、最近の研究によれば、CICR がニューロンで多様な生理的な役割を発揮し、それぞれがユ

ニークな機構で制御されることが解かって来ている。このセミナーでは、約 30 年前にニューロンでのリアノジン受容体を介する CICR が最初に発見されて以来の初期の末梢自律神経節細胞での CICR 研究を少し紹介し、最近の主に生理学的手法により得られたデータに基づき、末梢自律神経節細胞での 2 種の  $\text{Ca}^{2+}$  依存性  $\text{K}^+$  チャンネルの活性化を介する CICR による細胞膜興奮性制御機構や CICR によるアセチルコリン受容体の感作の機構やシナ

プス前終末での伝達物質開口放出とその可塑性の制御における CICR の生理的役割についてお話した。特に、リアノジン受容体、電位依存性  $\text{Ca}^{2+}$  チャンネル、 $\text{Ca}^{2+}$  作用機能分子との緊密な三叉関連機構、細胞質での CICR

による新しい  $\text{Ca}^{2+}$  波の伝播機構、シナプス前終末でのリアノジン受容体の  $\text{Ca}^{2+}$  依存性のプライミング機構について紹介した。

(担当：岡田 泰伸・伊佐 正)

#### 44. サルV4野におけるトップダウン性注意によるボトムアップ性注意の制御機構

小川 正 (高次神経性調節研究部門)

(2003.2.19)

注意には、ボトムアップ性とトップダウン性の2種類がある。前者は白地のワイシャツに付着したケチャップソースのように、目立つ刺激が入力されることによって起動される受動的な注意であり、後者は刺激の色や形など刺激がもつ特定の性質に対して選択的に関心を向けることによって起動される能動的な注意である。視覚情報処理の神経機構において、これら2つの注意成分が果たしている役割を調べるため、多次元視覚探索課題をサルに行わせて V4 野からニューロン活動を記録した。課題では2種類の色と形から成る刺激が注視点周りに6個呈示されるが、それらには色及び形次元で目立つ刺激が1つずつ(目標、妨害刺激)含まれる(例えば、1つの赤四角、1つの緑丸、1つの緑四角)。サルは色、または形次元で目立つ刺激に向かってサッカードを行うと報酬がもらえるが、どちらの次元で目立つ刺激を目標とするかは試行ブロックごとに入れ替わる。この課題では、ボトムアップ性の注意によって目標となり得るべき刺激は2つ(色、または形次元で目立つ刺激)にまで絞り込まれる

が、2つの刺激から正しく目標を選ぶためには色(または形)次元に対して選択的に向けられたトップダウン性の注意が必要となる。得られたニューロン活動を解析した結果、V4 野ではニューロン活動がボトムアップ性とトップダウン性の両方の注意成分により独立に修飾されていた。ボトムアップ性の注意機構により、受容野に色または形次元で目立つ刺激が呈示されたときは目立たない刺激が呈示された場合に比べてニューロン活動が増強された。トップダウン性の注意機構は、ボトムアップ性の注意機構によるニューロン活動の増強作用を制御しており、刺激が目標となる特徴次元で目立つ場合はその増強作用がより強められたが、妨害となる特徴次元で目立つ場合はその増強作用が弱められた。探索するべき特徴次元が入れ替わるのに応じて、トップダウン性の注意機構によるボトムアップ性の注意機構に対する制御の効果は柔軟に変化した。

(担当：伊藤 南)

#### 45. 大脳基底核回路における淡蒼球の位置

喜多 均 (テネシー大学 医学部 解剖・神経生物学)

(2003.2.25)

従来、大脳基底核の神経回路において、淡蒼球とくに外節は付随的な構造と見られることが多かったようです。しかし、近年、喜多先生たちの研究グループの成果により、淡蒼球は大脳基底核全体の活動をコントロールしている重要な核であるという認識が広まりつつありま

す。今回、私たちのグループとの共同研究のため、1月より2ヶ月間生理研に滞在されているので、この機会に最新の成果について、お話を伺うという趣旨でセミナーを企画しました。

(担当：南部 篤)

#### 46. Identification of distinct glutamatergic receptor subtypes at the synapses of the different type of vesicular glutamate transporters in the rat striatum

藤山 文乃 (京都大学 医学研究科 高次脳形態)

(2003.2.27)

The basal ganglia are highly interconnected and the striatum receives glutamatergic inputs from the cerebral cortex and thalamus. By the double immunoelectron microscopy combined with anterograde tracing method, vesicular glutamate transporter 1 (VGluT1) and VGluT2 immunoreactivities were selectively localized in the corticostriatal terminals and thalamostriatal terminals, respectively. The thalamostriatal terminals were medium- sized to large and made asymmetrical synapses mainly with dendritic shafts (60%). In contrast, corticostriatal terminals were smaller and made asymmetrical

synapses mainly with spine heads (70%). The post-and pre-embedding immunoelectron microscopy revealed that ionotropic glutamate receptors (NR1, GluR1, GluR2/3 and GluR4) were observed at both VGluT1- and VGluT2-positive synapses, whereas mGluR7, which is a metabotropic glutamate receptor, was found only at VGluT1- positive synapses. Furthermore, it was an unexpected finding that GluR2/3 receptors were occasionally seen at presynaptic membrane sites of VGluT2- positive terminals.

(担当：重本 隆一)

#### 47. 「焦点刺激による中枢微小神経終末の機能解明」

赤池 紀扶 (九州大学大学院 医学研究院細胞 システム生理学分野)

(2003.3.13)

ラット中枢ニューロンを機械的に単離すると、このニューロン表面には1 μm以下の沢山の興奮性ならびに抑制性神経終末(ブートン)が付着している。これを'シナプス・ブートン標本'と呼ぶ。この一つのブートンのみを

焦点電気刺激することによって微小終末部の電位依存性チャネルや受容体の機能が解明できるようになった。今回はシナプス・ブートン標本の作製法、標本の特徴やブートンに存在するCaチャネルなどについて報告する。

(担当：岡田 泰伸, 井本 敬二)

#### 48. 中枢神経細胞樹状突起のスパイン形態とグルタミン酸受容体の機能発現

松崎 政紀 (生体膜研究部門)

(2003.3.13)

多くの中枢神経細胞ではグルタミン酸作動性入力(スパイン)は樹状突起のスパインに入力する。古くからスパインは形態的に著しく多形であることが知られ、シナプス伝達の部位として多くの研究がなされてきた。最近のイメージング技術の進歩により、スパイン形態が数分の時間スケールで変化することが明らかになってき、また *in vivo* では数ヶ月にもわたり形態が保持されるスパインが多数存在すると報告されている。しかし、これまで単一スパ

インの機能を調べる方法論がなく、スパインの形態と機能の関係は不明のままであった。そこで、我々は2光子励起可能なケイジドグルタミン酸を新規に合成して、局所的に2光子励起することによりシナプス前終末からのグルタミン酸放出とほぼ同等な時空間解像度でグルタミン酸を放出し、樹状突起表面のグルタミン酸感受性を単一スパインレベルで測定する技術確立した。この方法論を急性海馬スライス標本CA1錐体細胞に適用した結果、



AMPA 受容体の発現はスパインの頭部の大きさに強く相関し、頭部がないときにはないこと、一方、NMDA 受容体の発現とスパイン頭部の大きさには強い相関がないことを見出した。これは、スパイン形態によってグルタ

ミン酸受容体の分配が決まり、その様式は 2 種類の受容体で異なることを示唆する。スパインの形態可塑性に関する最近の結果も併せて発表したい。

(担当：伊藤 南)