

研究活動報告

〔 目 次 〕

分子生理研究系

神経機能素子研究部門.....	11
-----------------	----

概 要

スプライシングの違いにより同一遺伝子から作られる新規代謝型受容体蛋白と分泌蛋白の発現解析
(久保義弘, 山本友美, 中尾和貴, 清成 寛)

2 量体構造に由来する代謝型グルタミン酸受容体のマルチパス制御様式の解明
(立山充博, 久保義弘)

全反射照明下 FRET 解析による G 蛋白質活性化の可視化
(立山充博, 久保義弘)

KCNQ1-KCNE1 複合体中の KCNE1 のサブユニット数を数える
(中條浩一, 久保義弘, Maximilian Ulbrich, Ehud Isacoff)

KCNE サブユニットの種類に依存した KCNQ1 機能調節機構の違い
(中條浩一, 久保義弘, 西野敦雄, 岡村康司)

代謝型グルタミン酸受容体の点変異 E238Q を持つマウスの行動解析
(山本友美, 久保義弘, 饗場 篤)

TRPA1 チャンネルの種特異的カフェイン応答に関する機能決定部位の同定
(長友克広, 久保義弘)

FRET 解析による GABA_B 受容体の活性化機構の解明
(松下真一, 久保義弘, 立山充博)

P2X₂ チャンネルの膜電位と ATP 濃度に依存したゲート機構の分子基盤の解析
(Batu Keceli, 久保義弘)

ブルキンエ細胞における GABA_B 受容体により活性化される Cs⁺透過性 K⁺チャンネル KCNK13 の構造機能連関
(石井 裕, 中條浩一, 久保義弘, 柳川右千夫)

分子神経生理研究部門.....	15
-----------------	----

概 要

グリア細胞の発生・分化
(等 誠司, 後藤仁志, 臼井紀好, 池中一裕)

神経幹細胞の生成と維持
(等 誠司, Akhilesh Kumar, 石野雄吾, 池中一裕)

神経細胞の移動・軸索ガイダンス
(稲村直子, 臼井紀好, 池中一裕)

グリア細胞の機能と病態
(田中謙二, 李 海雄, 清水崇弘, 杉尾翔太, Seung-Up Kim, Elior Peles, 池中一裕)

N-結合型糖鎖の構造決定と機能解析
(吉村 武, 等 誠司, Akhilesh Kumar, Salma Jasmine, Jan Sedzik, 伊藤磯子, 小池崇子, 池中一裕)

ナノ形態生理研究部門.....	17
-----------------	----

概 要

Aharonov-Bohm 効果を応用した位相差電子顕微鏡用位相板の開発
(Radostin Danev, 永谷幸則, 永山國昭, 伊藤俊幸, 喜多山篤)

DNA/RNA 塩基配列の電子顕微鏡 1 分子計測法の開発
(香山容子, 永田麗子, 永山國昭, 片岡正典, 新田浩二)

膜タンパク質の構造解析

(重松秀樹, 細木直樹, 曾我部隆彰, 富永真琴, 永山國昭, 飯田秀利, 本間道夫)

位相差低温トモグラフィーの開発と応用

(Radostin Danev, 福田善之, 細木直樹, 永山國昭)

電子・光子ハイブリッド顕微鏡の開発

(飯島寛文, 永山國昭, 箕田弘喜)

唾液分泌における傍細胞輸送の駆動力と細胞内信号による調節

(村上政隆)

漢方薬-丹参-の灌流ラット顎下腺に対する水分分泌促進機構

(村上政隆, 魏 飛, 魏 陸新)

エンドソーム-ゴルジ細胞内膜系の選別輸送のメカニズムと生理機能

(大橋正人, 木下典行)

細胞器官研究系

生体膜研究部門..... 21

概 要

てんかん関連リガンド LGI1 の生理機能の解明

(深田優子, 横井紀彦, 岩永 剛, 深田正紀)

PSD-95 パルミトイル化酵素によるシナプス機能制御

(則竹 淳, 深田優子, 岩永 剛, 深田正紀)

Gαパルミトイル化酵素の同定と性状解析

(堤 良平, 深田優子, 深田正紀)

分泌蛋白質 BDNF, および LGI1 の分泌機構の解明

(松田尚人, 深田優子, 則竹 淳, 深田正紀, Mu-ming Poo)

神経細胞におけるパルミトイル化酵素ファミリーの制御機構の解明

(奥慎一郎, 則竹 淳, 深田優子, 深田正紀)

機能協同研究部門..... 23

概 要

マキシアニオンチャネルの活性化へのチロシン脱リン酸化の関与

(TOYCHIEV Abduqodir H, SABIROV Ravshan Z, LIU Hongtao, 岡田泰伸, 新谷隆史, 野田昌晴,

高橋信之, 赤塚結子)

容積感受性外向整流性アニオンチャネル (VSOR) を介する炎症時のグリアからニューロンへの情報伝達メカニズム

(LIU Hongtao, 秋田天平, 清水貴浩, SABIROV Ravshan Z, 岡田泰伸)

細胞生理研究部門..... 25

概 要

膀胱の機械伸展刺激感知に関与する TRPV4

(望月 勉, 曾我部隆彰, 富永真琴)

皮膚ケラチノサイトでの TRPV3 による温度感知メカニズム

(Mandadi Sravan, 曾我部隆彰, 柴崎貢志, 富永真琴)

DIP/WISH 欠損マウスの解析

(福見-富永知子, 松浦敦子, 兼子佳子, 松井 誠, 富永真琴)

オレキシン神経はオレキシンによって直接活性化される

(山中章弘, 常松友美)

光活性化タンパク質を用いたオレキシン神経活動の光制御による行動制御

(常松友美, 山中章弘)

生体情報研究系

感覚認知情報研究部門.....	28
概 要	
初期視覚系における輪郭線の折れ曲がりの表現	
(伊藤 南)	
サル下側頭皮質への電気刺激が色判断行動に及ぼす効果	
(鯉田孝和, 小松英彦)	
下側頭皮質色領域間の解剖学的結合	
(坂野 拓, 小松英彦, 一戸紀孝, Kathleen Rockland)	
素材識別に関わるヒト視覚領野:fMRI 研究	
(郷田直一, 平松千尋, 小松英彦)	
下側頭皮質ニューロンの光沢選択性	
(西尾亜希子, 郷田直一, 小松英彦)	
色変化による画像の明るさ向上現象(クリッピング錯視)の発見	
(鯉田孝和, 岡澤剛起, 小松英彦)	
「金色」のカテゴリカルな知覚	
(岡澤剛起, 鯉田孝和, 小松英彦)	
神経シグナル研究部門.....	30
概 要	
蛋白質リン酸化によるシナプス可塑性, 学習・記憶の制御	
(山肩葉子, 柳川右千夫, 井本敬二)	
ラット小脳顆粒細胞-分子層介在ニューロン間 EPSC ペアパルス増強の発現メカニズム	
(佐竹伸一郎, 井本敬二)	
In vivo バッチクランプ法を用いた痛覚シナプス伝達機構の解析	
(古江秀昌, 歌 大介, 井本敬二)	
Tottering マウスにおける欠神発作と大脳基底核回路との関係	
(加勢大輔, 井上 剛, 井本敬二)	
ダイナミッククランプ法の技術的改良	
(井本敬二, 井上 剛)	
神経分化研究部門.....	32
概 要	
情報処理の基盤をなす視覚野神経回路の解析	
(石川理子, 吉村由美子)	
ゼブラフィッシュ脊髄運動系神経回路網の機能解析	
(木村有希子, 佐藤千恵, 東島眞一)	

統合生理研究系

感覚運動調節研究部門.....	34
概 要	
乳児における正面顔と横顔の認識の発達-近赤外線分光法 (NIRS) による研究-	
(仲渡江美, 大塚由美子, 金沢 創, 山口真美, 渡邊昌子, 柿木隆介)	
咀嚼がヒト認知処理過程に及ぼす影響: 事象関連電位を用いた検討	
(坂本貴和子, 中田大貴, 柿木隆介)	
ランダムドットプリンキングを用いた顔認知に関連する誘発脳波	
(三木研作, 渡邊昌子, 竹島康行, 照屋美加, 本多結城子, 柿木隆介)	

ウィリアムズ症候群におけるバイオリジカルモーション知覚処理：脳磁場計測による検討 (平井真洋, 中村みほ, 金桶吉起, 柿木隆介)	
ヒトの体性感覚 OFF 反応 (山代幸哉, 乾 幸二, 大鶴直史, 木田哲夫, 柿木隆介)	
随意運動開始前における痛覚－運動統合処理過程 (中田大貴, 坂本貴和子, 本多結城子, 望月秀紀, 寶珠山稔, 柿木隆介)	
Focal hand dystonia における感覚皮質可塑性の障害 (田村洋平, 植木美乃, Peter Lin, Sherry Vorbach, Mark Hallett, 美馬達哉, 柿木隆介)	
2 通りに見えるあいまいな視覚情報が惹起する明瞭な知覚はどのように保持されるか？ (金桶吉起, 浦川智和, 平井真洋, 柿木隆介, 村上郁也)	
視覚的回旋刺激を用いた際の聴覚誘発脳磁場への影響 (三木研作, 木田哲夫, 田中絵実, 永田 治, 柿木隆介)	
視覚性運動情報が方向と速度の 2 つに分けて処理されている生理学的証拠 (金桶吉起, 浦川智和, 柿木隆介)	
バイオリジカルモーション知覚処理の発達的变化：事象関連電位計測による検討 (平井真洋, 渡邊昌子, 本多結城子, 柿木隆介)	
咀嚼がヒトの運動準備過程に及ぼす影響：CNV, MRCP を用いた検討 (坂本貴和子, 中田大貴, 本多結城子, 柿木隆介)	
顔の出現, 消失, 変化により誘発される共通皮質活動 (田中絵実, 乾 幸二, 木田哲夫, 柿木隆介)	
2 エージェントの相互作用するバイオリジカルモーションに対する神経活動 (平井真洋, 柿木隆介)	
ヒトの自動的聴覚 OFF 反応 (山代幸哉, 乾 幸二, 大鶴直史, 木田哲夫, 柿木隆介)	
痛覚刺激 Go/No-go 課題における事象関連電位 (中田大貴, 坂本貴和子, 乾 幸二, 寶珠山稔, 柿木隆介)	
多種感覚環境における変化駆動型皮質活動：脳磁図研究 (田中絵実, 木田哲夫, 乾 幸二, 柿木隆介)	
体性感覚刺激 Go/No-go 課題における Negative BOLD 効果 (中田大貴, 坂本貴和子, Ferretti A, Perrucci MG, Del Gratta C, Romani GL, 柿木隆介)	
ウィリアムズ症候群における視空間認知と漢字模写の縦断的発達 (中村みほ, 道勇さゆり, 水野誠司, 松本昭子, 熊谷俊幸, 渡邊昌子, 柿木隆介)	
痒みに関係する脳部位の神経活動経時変化：脳磁図・機能的 MRI 研究 (望月秀紀, 乾 幸二, 大鶴直史, 山代幸哉, 田邊宏樹, 佐々木章宏, 定藤規弘, 秋山理沙, 中田大貴, 柿木隆介)	
舌運動中の Negative BOLD 効果：fMRI を用いた検討 (坂本貴和子, 中田大貴, Perrucci MG, Del Gratta C, Romani GL, 柿木隆介)	
表皮内電気刺激による C 線維の選択的刺激 (大鶴直史, 乾 幸二, 山代幸哉, 宮崎貴浩, 大澤一郎, 竹島康行, 柿木隆介)	
喫煙は C 線維を介する痛覚関連電位を促進する (宮崎貴浩, 王 曉宏, 乾 幸二, Domino EF, 柿木隆介)	
生体システム研究部門.....	43
概 要	
運動課題遂行中のマカクサル視床下核の活動様式 (畑中伸彦, 高良沙幸, 金子将也, 橘 吉寿, 南部 篤)	
大脳基底核出力核における興奮性・抑制性の活動調節 (金子将也, 畑中伸彦, 南部 篤)	

- 大脳基底核内情報伝達におけるドーパミン D1 および D2 受容体の機能
 (知見聡美, 太田 力, 佐藤朝子, 笹岡俊邦, 勝木元也, 黒川 信, 南部 篤)
- 線条体ドーパミン D2 受容体発現細胞の運動調節機構
 (佐野裕美, 知見聡美, 小林和人, 南部 篤)
- 光遺伝学を利用した大脳基底核神経回路の調節機構の解析
 (佐野裕美, 知見聡美, 加藤茂樹, 小林憲太, 小林和人, 南部 篤)
- 大脳皮質から入力を受ける線条体介在ニューロンの運動関連活動
 (高良沙幸, 畑中伸彦, 南部 篤)

大脳皮質機能研究系

脳形態解析研究部門.....	47
概要	
シナプスを取り巻く微細構造空間のシナプス伝達特性への影響 (松井 広, Timotheus Budisantoso, 深澤有吾, 重本隆一)	
小脳運動学習の記憶痕跡 (王 文, Wajeeha Aziz, 足澤悦子, 深澤有吾, 重本隆一)	
記憶・学習とグルタミン酸受容体の局在調節機構の役割 (深澤有吾, 重本隆一)	
海馬シナプスの左右差 (篠原良章, 川上良介, 重本隆一)	
Calyx of Held シナプス成熟過程における受容体配置の変化と機能 (釜澤尚美, 松井 広, 重本隆一)	
シナプス-グリア複合環境の動的変化による情報伝達制御 (松井 広)	
シナプス接着因子 Neuroligin/Neurexin を標的とした自閉症モデル動物の評価・確立 (江頭良明, 原田春美, 田渕克彦)	
大脳神経回路論研究部門.....	51
概要	
新皮質抑制性細胞におけるニューロペプチド Y の発現特異性 (川口泰雄, 山口 登)	
大脳皮質非錐体細胞の樹状突起の形態解析 (窪田芳之, 荏部冬紀, 畑田小百合, 川口泰雄)	
前頭皮質における交連性投射ニューロンの性質と結合特異性 (大塚 岳, 川口泰雄)	
投射先に依存した前頭皮質 5 層錐体細胞の結合特性 (森島美絵子, 川口泰雄)	
心理生理学研究部門.....	53
概要	
二台の fMRI 同時計測による相互注視の神経基盤 (田邊宏樹, 齋藤大輔, 林 正道, 出馬圭世, 森戸勇介, 米田英嗣, 内山仁志, 定藤規弘, 小坂浩隆, 岡沢秀彦, 藤林靖久)	
触覚による顔表情の識別に関わる神経基盤 ― 晴眼者と視覚障害者の比較 ― (北田 亮, 岡本悠子, 佐々木章宏, 河内山隆紀, 宮原資英, Susan J. Lederman, 定藤規弘)	
母音識別課題中の「読唇効果」に関与する神経基盤 (村瀬未花, 田邊宏樹, 河内山隆紀, 定藤規弘)	

時間－数量間の相互作用に関わる神経基盤の解明

(林 正道, 田邊宏樹, 吉田優美子, 定藤規弘)

動作表象と視覚運動系の結合解析

(佐々木章宏, 河内山隆紀, 杉浦元亮, 田邊宏樹, 定藤規弘)

相互模倣の神経基盤－広汎性発達障害者と健常者の比較

(岡本悠子, 北田 亮, 林 正道, 田邊宏樹, 定藤規弘, 小坂浩隆, 石飛 信, 和田有司, 河内山隆紀, 斎藤大輔, 谷中久和, 岡沢秀彦, 棟居俊夫, 大森晶夫)

時間的予告効果の神経基盤の解明：機能的 MRI 研究

(吉田優美子, 田邊宏樹, 林 正道, 河内山隆紀, 定藤規弘)

単語の意識的、無意識的処理に対する注意の効果の検討

(松本 敦, 定藤規弘)

発達生理学研究系

認知行動発達機構研究部門..... 57

概 要

盲視サルにおける気づきと意思決定

(吉田正俊, 高浦加奈, 伊佐 正)

ウイルスベクターを介したハロロドブシンの発現によるマウス網膜－上丘シナプス伝達の経路特異的抑制

(金田勝幸, 笠原洋紀, 松井亮介, 加藤智子, 水上浩明, 小澤敬也, 渡邊 大, 伊佐 正)

一次視覚野を介する視覚情報は抑制性の行動調節に選択的に働く

(池田琢朗, 吉田正俊, 伊佐 正)

光遺伝学的手法を用いたサルの精密把持運動の制御

(木下正治, 伊佐 正)

サル前腕到達把持運動における一次運動野皮質内局所電位と ECoG 信号の関係

(渡辺秀典, 山下宙人, 澤畑博人, 坂谷智也, 戸川森雄, 吉田正俊, 戸田春男, 佐藤雅昭, 長谷川功, 鈴木隆文, 川人光男, 伊佐 正)

皮質脳波の多点同時計測による大脳皮質内部神経活動ダイナミクスの推定

(坂谷智也, 渡辺秀典, 戸川森雄, 吉田正俊, 伊佐 正, 長谷川功, 鈴木隆文, 山下宙人, 森本 淳, 佐藤雅昭, 川人光男)

第一次視覚野損傷後の視覚誘導性サッケードにおける網膜視蓋経路の役割

(加藤利佳子, 高浦加奈, 池田琢朗, 吉田正俊, 伊佐 正)

感覚フィードバック型 BMI の実現

(梅田達也, 伊佐 正)

The lateral interaction between two stimuli in the mouse superior colliculus (SC) slices

(Penphimon Phongphanphanee, Tadashi Isa)

生体恒常機能発達機構研究部門..... 60

概 要

In Vivo 多光子顕微鏡を用いた大脳皮質神経細胞の微細構造の可視化

(江藤 圭, 高鶴裕介, 鍋倉淳一)

幼若期大脳皮質における GABA ニューロンの移動とそのメカニズムの解明

(稲田浩之, 鍋倉淳一)

脳梗塞障害時における対側半球の回路再編機構

(高鶴裕介, 吉友美樹, 鍋倉淳一)

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

(金 善光, 江藤 圭, 鍋倉淳一)

細胞内 Cl^- 制御機構 KCC2 による GABA の興奮－抑制スイッチ制御の分子機構の解明
(渡部美穂, 鍋倉淳一)

発達期の聴覚中継路におけるモノアミンの神経回路機能に対する役割の解明
(平尾顕三, 石橋 仁, 鍋倉淳一)

生殖・内分泌系発達機構研究部門..... 63

概 要

レプチンによる糖代謝調節機構の解明

(戸田知得, 志内哲也, 李 順姫, 斉藤久美子, 岡本土毅, 箕越靖彦)

オレキシンによる糖代謝調節機構の解明

(志内哲也, 李 順姫, 戸田知得, 斉藤久美子, 岡本土毅, 箕越靖彦, 井上 剛, 井本敬二, 桜井 武,
柳沢正史, 塩田清二, 影山晴秋)

摂食調節に関わる視床下部生体分子センサーの研究

(箕越靖彦, 志内哲也, 岡本土毅, 中里雅光, 松尾 崇, 塩田清二, 影山晴秋, 矢田俊彦)

行動・代謝分子解析センター

遺伝子改変動物作製室..... 65

概 要

ラット前核期卵の体外作出行程は雄性ゲノムの能動的脱メチル化に影響する

(吉沢雄介, 加藤めぐみ, 平林真澄)

CAG/venus トランスジェニックラット胚盤胞に由来する ES 細胞株の樹立

(加藤めぐみ, 平林真澄)

大脳皮質第一次視覚野上に存在する遠近感の認知に必須の機能ユニット

“眼優位カラム” の可塑的形成メカニズムの解明に向けて

(富田江一, 三宝 誠, 山内奈央子, 平林真澄)

多次元共同脳科学推進センター..... 67

概 要

脳機能計測・支援センター

形態情報解析室..... 68

概 要

2 軸トモグラフィによるグリア細胞の S/V 比

(有井達夫, 濱 清)

超高压電子顕微鏡用クライオフォルダーの性能評価

(村田和義)

小腸絨毛上皮下線維芽細胞におけるサブスタンス P 受容体の局在

(古家園子, 重本隆一, 古家喜四夫)

生体機能情報解析室..... 69

概 要

注意に係る脳活動の研究

(遠本 徹)

多光子顕微鏡室..... 70

概 要

ベクトルレーザービームによる超解像イメージング法の開発

(根本知己, 日比輝正, 佐藤俊一, 横山弘之)

in vivo イメージング手法の展開

(根本知己, 日比輝正)

生体肝代謝活性の *in vivo* 測定法の開発

(根本知己, 岸本拓哉)

身体左右差獲得の Ca^{2+} イメージング

(根本知己, 野中茂紀)

動物実験センター	72
概 要	

計算科学研究センター	74
概 要	

ユニバーサル核酸の創生

(片岡正典)

全塩基修飾型核酸標識－塩基置換法

(片岡正典, 永山國昭)

全塩基修飾型核酸標識－塩基拡張法

(片岡正典, 永山國昭)

技術課	76
概 要	

(大河原浩)

施設の運営状況

①統合生理研究系

(1) 生体磁気計測装置室

(竹島康行)

②脳機能計測・支援センター

(1) 形態情報解析室

(加藤勝己)

(2) 生体機能情報解析室

(佐治俊幸, 竹内佐織, 佐藤茂基)

(3) 多光子顕微鏡室

(前橋 寛)

(4) 電子顕微鏡室 (生理研・基生研共通施設)

(山田 元)

(5) 機器研究試作室 (生理研・基生研共通施設)

(佐治俊幸)

③情報処理・発信センター

(1) ネットワーク管理室

(吉村伸明, 村田安永)

④岡崎共通研究施設

(1) 動物実験センター

(伊藤昭光, 廣江 猛, 窪田美津子)

分子生理研究系

神経機能素子研究部門

【概要】

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

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

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

スプライシングの違いにより同一遺伝子から作られる新規代謝型受容体蛋白と分泌蛋白の発現解析

久保義弘, 山本友美

中尾和貴, 清成 寛 (理研 CDB)

我々は, スプライシングの違いにより同一遺伝子から, オーフアン受容体 (Long-Prrt3) と, その N 末端の細胞外部分のみからなる分泌蛋白 (Short-Prrt3) の両方がつくられる機能未知の新規分子 Prrt3 の解析に取り組んでいる。Long-Prrt3 蛋白は小脳プルキンエ細胞層直下の basket 細胞のシナプス前終末がある部分 (cerebellar pinceau) や, 正中隆起の表面に存在する下垂体隆起葉において発現が見られ, Short-Prrt3 蛋白は, 脳室の脈絡膜上皮細胞にほぼ限定して発現が観察された。しかしながら, 現時点でそ

の機能に関する手がかりが全く得られていないため, 遺伝子破壊マウスの作成に踏み出すこととした。Prrt3 遺伝子のすべての exon が破壊され, 代わりに LacZ 遺伝子が挿入される相同組み替えの起きた B6 マウス由来の ES 細胞を受精卵に打ち込み, キメラマウスを得た。毛色から判断し, ES 細胞の寄与率は充分高いと考えられた。今後, 遺伝子改変ヘテロマウス, およびホモマウスを得, LacZ 発現を指標とした遺伝子発現部位の機能, さらに種々の行動解析を行う計画である。

2 量体構造に由来する代謝型グルタミン酸受容体のマルチパス制御様式の解明

立山充博, 久保義弘

代謝型グルタミン酸受容体 I 型 (mGlu1 α) は, 発現環境に応じて複数の G 蛋白質 (Gs, Gq, Gi) を活性化するマルチパス受容体として機能する。ホモ二量体で構成される mGlu1 は, リガンド結合サブユニットのみならず, 他方

のサブユニットを介しても Gq 経路を活性化することが知られていた。これに対し, 我々は, このようなサブユニット間での G 蛋白質活性化様式では Gi/o 経路や Gs 経路が活性化されないことを見出した。さらに, Gq 経路と

Gi/o 経路活性化における差異について検討を進めた結果、mGlu1 サブユニットの一つに G 蛋白質共役阻害変異を導入した場合、Gq 経路活性化は影響を受けないが、Gi/o 経路活性化が抑制されることが明らかとなった。同様な Gi/o 経路活性化減弱作用は mGlu2 受容体でも確認された

ことから、代謝型グルタミン酸受容体による Gi/o 経路の十分な活性化には両方のサブユニットがどちらも G 蛋白質と共役できる状態でなければならないということが示唆された。

全反射照明下 FRET 解析による G 蛋白質活性化の可視化

立山充博, 久保義弘

情報伝達において重要な役割を担う G 蛋白質共役型受容体 (GPCR) は、リガンドとの結合によりヘテロ三量体 G 蛋白質を活性化して細胞内に情報を伝達する。この過程を詳細に解析するために、受容体や G 蛋白質に蛍光蛋白を付加し、それらの蛍光共鳴エネルギー遷移 (FRET) を測定した。実験には、Gq 蛋白質と Gq 共役型受容体であるムスカリン受容体 (m1R) に蛍光蛋白を付加したものをを用いた。まず、受容体刺激による $G\alpha q$ と $G\beta 1$ サブユニットの解離は、i) $G\alpha q$ -CFP と YFP- $G\beta 1$ での FRET の減

少として検出された。次に、受容体と Gq 蛋白質の会合は、ii) C 末に YFP を付与した受容体 (m1R-YFP) と CFP- $G\beta \gamma$ での FRET 増加として検出された。このような FRET 変化は、Family A に属する m3R やプリン受容体でも再現されたが、Family C に属する代謝型グルタミン酸受容体 (mGlu1a) では再現できなかった。これには、mGlu1a の長い C 末端の関与が示唆された。さらに、受容体と Gq 蛋白質の会合を、iii) m1R-YFP と $G\alpha q$ -CFP での FRET 変化としても検出するために、研究を進めている。

KCNQ1-KCNE1 複合体中の KCNE1 のサブユニット数を数える

中條浩一, 久保義弘

Maximilian Ulbrich, Ehud Isacoff (カルフォルニア大学パークレー校)

電位依存性カリウムチャネルの KCNQ1 は、心臓において KCNE1 と複合体を構成し、心筋の興奮性制御に寄与している。KCNQ1 は他の電位依存性カリウムチャネルと同様、四量体でひとつのイオンチャネルを構成していると考えられるが、それに対し何個の KCNE1 サブユニットが結合するかについては長い間議論が続いていた。我々はカリフォルニア大学の研究グループと共同で、一分子レベルの蛍光 (GFP) の退色ステップを観察すること

で、複合体中に含まれる KCNE1 サブユニットの数を直接数えることを試みた。その結果、KCNE1 サブユニットは 1 イオンチャネル複合体中に最大 4 個含まれることがわかった。またその数は KCNQ1 と KCNE1 の細胞膜上での相対発現密度に依存して 0-4 個の間で変化することもわかった。今回の結果は、KCNQ1 チャネルの複合体構成が、相対発現密度などが変化することにより、細胞膜上で変化する可能性を示唆している。

KCNE サブユニットの種類に依存した KCNQ1 機能調節機構の違い

中條浩一, 久保義弘

西野敦雄 (大阪大院理), 岡村康司 (大阪大院医)

電位依存性カリウムチャネルの α サブユニットをコードする KCNQ1 チャネルは, 心臓では KCNE1 と複合体を構成し, 非常にゆっくりとしたキネティクスを持つ I_{Ks} と呼ばれる電流を担うが, 腸においては KCNE3 と複合体を構成し, 常時開状態のチャネルを構成する。

我々は, ホヤの KCNQ1 ホモログである Ci-KCNQ1 が KCNE サブユニットによって修飾を受けないことを利用し, KCNQ1 のどの部位が KCNE による修飾に重要であるか同定することを試みた。すると KCNE1 による修飾

においては, KCNQ1 のポア領域 (S5-S6) のアミノ酸が重要な役割を果たしているのに対し, KCNE3 による修飾においては, 電位センサードメインの一部に相当する S1 セグメントが重要な役割を担っていることがわかった。すなわち, KCNE はその種類によって KCNQ1 の異なる部位に作用していることを示唆しており, KCNE による KCNQ1 の修飾機構の違いを理解するうえで, 重要な知見となりうる。

代謝型グルタミン酸受容体の点変異 E238Q を持つマウスの行動解析

山本友美, 久保義弘

饗場 篤 (東京大院医)

代謝型グルタミン酸受容体 mGluR1 は, 小脳プルキンエ細胞に発現し, 長期抑圧等のシナプスの可塑的变化に重要な役割を果たす。我々は, mGluR1 が, グルタミン酸のみならず細胞外の多価陽イオンによっても活性化されることを見いだした。また, ホモ 2 量体の接触部にあるアミノ酸残基の点変異 Glu238Gln により, グルタミン酸に対する感受性は変わらず 3 価の陽イオンによる活性化が完全に失われることを観察した。3 価の陽イオンに対する感受性の生理的意義を明らかにするために

Glu238Gln 変異マウスを作成し, 小脳機能解析の予備実験を行ったところ野生型と比して明確な変化は見られなかった。そこで, より厳密な解析を行うために, これまで, B6 マウスに遺伝的背景を揃えるための交配を進めてきた。その交配がようやく 10 代を超えたので, E238Q ヘテロのオスとメスを多数得るための交配を開始した。今後, ここから, 同腹の野生型と E238Q ホモマウスを多数確保し, 来年度中に, 網羅的行動解析を実施する計画である。

TRPA1 チャネルの種特異的カフェイン応答に関する機能決定部位の同定

長友克広 (弘前大院医), 久保義弘

我々は, これまでにマウス腸由来神経内分泌細胞 STC-1 のカフェイン応答に, TRPA1 が関与していること, この TRPA1 チャネルのカフェイン応答には, 種差による違いがあり, マウス TRPA1 はカフェインにより活性化され, ヒト TRPA1 は抑制されることを見いだした。さらに, このカフェイン応答の種差を決定する部位を明

らかにするために, 種々のマウスとヒトのキメラチャネルを作成して解析を行い, 重要な部位がアミノ末端細胞内領域の 231-287A.A.にあることを明らかにした。今年度, マウス TRPA1 を土台に, この領域内のマウスとヒトのアミノ酸残基が異なる箇所をひとつずつヒト型に置換した点変異体を網羅的に作成し, 機能解析を行った。

その結果, Met268 を Pro に変異させたマウス TRPA1 は, ヒト TRPA1 と同様, カフェインによって抑制されることが観察された。この結果は, カフェインによる活性化に Met268 が重要な役割を果たしていることを示すもの

である。同時に, カフェインによる抑制効果は, 例えばポアブロックといったマウス・ヒトで共通の機構によっており, マウス TRPA1 では, 活性化効果によって抑制効果がマスクされているという可能性も示唆される。

FRET 解析による GABA_B 受容体の活性化機構の解明

松下真一, 久保義弘, 立山充博

抑制性神経伝達を担う GABA_B 受容体は, G 蛋白質共役型受容体であり Family C に属する。機能的に異なるサブユニット (GB1a および GB2) からなるヘテロ 2 量体である GABA_B 受容体の活性化機構を検討するため, GB1a および GB2 それぞれの細胞内ループに蛍光蛋白を付加し, それらの蛍光共鳴エネルギー遷移 (FRET) について解析した。その結果, GB1a のループ 2 と GB2 のループ 1 または 2 との間でのみサブユニット間 FRET の減少を確認した。これに対して, リガンド投与によるサブユニッ

ト内 FRET の変化は, GB1a および GB2 において検出されなかった。この結果は, リガンド投与によるサブユニット内 FRET の減少を示す Family A 受容体のムスカリン受容体とは異なるものであった。サブユニット内 FRET は変化せずサブユニット間 FRET が変化するという結果は, Family C の代謝型グルタミン酸受容体で得られたものと同じであり, Family C 受容体による G 蛋白質活性化にはサブユニット間の配置転換が重要な役割を占めることが示唆された。

P2X₂ チャネルの膜電位と ATP 濃度に依存したゲート機構の分子基盤の解析

Batu Keceli, 久保義弘

ATP 受容体チャネル P2X₂ は, 膜電位センサーを有しないが膜電位依存的活性化を示す。これまでに, その構造基盤を明らかにすることを目的として変異体解析を行い, ATP 結合部位の変異 (Lys308Arg) と, 膜貫通部位の細胞外側端の変異 (Thr339Ser) により, 膜電位依存性ゲーティングが劇的に変化することから, ATP-ATP 結合部位複合体と, 膜貫通部位細胞外側端が複合的に寄与していることを明らかにした。最近報告された P2X チャネルの結晶構造によると両領域は大きく離れている。そこで, 今年度, 両者がどのようにして機能的に連結しているか

にアプローチするため, 両者を結ぶ, β シート構造をとるリンカー領域に着目して網羅的変異解析を行った。その中の Asn315Ala 変異体は, [ATP]-応答関係において, EC₅₀ 値の異なる二成分を示した。そして, 低 ATP 濃度下では膜電位依存性が弱く恒常的に活性化しているのに対し, 高 ATP 濃度下では過分極側でより活性化する明確な膜電位依存性を示した。このことから, [ATP]-応答関係でみられた二成分が, 膜電位依存性の観点からも異なる性質を有することが示された。

プルキンエ細胞における GABA_B 受容体により活性化される Cs⁺透過性 K⁺チャネル KCNK13 の構造機能連関

石井 裕, 中條浩一, 久保義弘
柳川右千夫 (群馬大院医)

マウス小脳スライスにおいてプルキンエ細胞の GABA_B受容体を活性化すると外向き K⁺電流が観察される。この電流は、Cs⁺や tertiapin-Q によって阻害されないこと等から、GIRK チャネル電流ではないことが示され、Cs⁺透過性を有する KCNK13 チャネルが候補分子として同定された。今年度、KCNK13 チャネルの持つ二つのユニークな性質、すなわち Cs⁺透過性と G_{βγ}による活性化の構造基盤を明らかにすることを目的として、種々の変異体の作成と機能解析を行った。その結果、ボア領

域の Ser109Thr と Ser236Thr の二重変異により Cs⁺透過性がほぼ消失することから、このふたつのアミノ酸残基が、イオン選択性の決定に寄与していることが明らかになった。さらに、G_{βγ}結合モチーフに類似したアミノ酸配列がN端 (EDNA) およびC端 (SEMA) の細胞内領域に見いだされたので、このアミノ酸配列を AAAA に変異させたところ、どちらの場合も G_{βγ}の共発現による電流増加が消失した。このことから、この両方が G_{βγ}による活性化に必要であることが明らかになった。

分子神経生理研究部門

【概要】

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

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

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

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

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

グリア細胞の発生・分化

等 誠司, 後藤仁志, 臼井紀好, 池中一裕

中枢神経系において、神経細胞の多様性は発生期に形成されることが知られている。その一方でグリア細胞の発生メカニズム、発生起源、及び発生期に規定付けられ

る機能的多様性については未だ不明な点が多い。

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

の解明を試みている。グリア細胞において Olig2 がどのような分子機構で発生・分化を制御するかは未だ不明な点が多い。これらを解明するために yeast two hybrid 法や in vitro pull down 法により Olig2 結合蛋白質の解析を進めている。

また、昨年度に引き続き、前脳オリゴデンドロサイト

の背側と腹側の境界領域に位置する発生起源についても解析を進めるとともに、小脳オリゴデンドロサイトの発生起源についても解析を行っている。

更に、アストロサイトにも発生する場所に応じてサブタイプが存在する可能性を想定し、脊髄をモデルとした解析系の確立をニワトリ胚を用いて行っている。

神経幹細胞の生成と維持

等 誠司, Akhilesh Kumar, 石野雄吾, 池前一裕

神経幹細胞は全ての神経細胞・グリア細胞の供給源であり、脳の構築に非常に重要であるにもかかわらず、その生成の分子機構は不明な点が多い。本グループは早期胚の epiblast において神経幹細胞の前駆細胞である未分化神経幹細胞の培養に成功し、神経幹細胞の誘導に Notch シグナルの活性化が必須であることを解明した。さらに、Notch シグナルの活性化の初期段階を *glial cells missing 1/2* 遺伝子が担っていることを明らかにし、詳細な分子機構の解明を進めている。そこで得られた知見を ES 細胞に適応し、試験管内での ES 細胞から神経幹細胞の誘導を試みる。一方、神経幹細胞は成体脳においても

一部の領域(海馬や嗅球など)に新生神経細胞を供給し、脳機能維持に必要であることが示唆された。特に、海馬における神経新生は、記憶や学習といった脳の高次機能と関係する可能性が指摘されている。本グループでは、躁うつ病の治療に用いられる気分安定薬が成体脳における神経幹細胞の自己複製能を高めること、それが Notch シグナルの活性化によることを明らかにした。今後は、気分安定薬の Notch シグナルにおける分子標的の同定や、神経幹細胞の増加が気分を安定させるそのメカニズムの解明に取り組む。

神経細胞の移動・軸索ガイダンス

稲村直子, 臼井紀好, 池前一裕

脊髄の組織構築形成をモデルとして、回路網形成と細胞移動の制御機構を解析するために、脊髄の回路網形成および視床網様核の細胞の移動について研究を行った。今までに、一次求心性線維の脊髄内における回路網形成においては、脊髄背外側部で一過性に発現する netrin 1 が抑制的に作用して waiting period を形成することを明らかにした。今年度、増田知之博士(福島県立医大)との共同研究から、一次求心性繊維が後根神経節から脊髄背側部まで向かう際にも(つまり脊髄に入る前の段階でも)、netrin 1 が反発性因子として作用していることを見出した。また、感覚神経の軸索ガイダンスについては、Olig2

ノックアウトマウスで感覚ニューロンの軸索ガイダンスの異常がみられ、それが運動ニューロンの欠損によると推測され、詳しい解析を進めている。腹側視床の形成については、発生中の視床網様核において、Zona limitans intrathamica 周囲の Olig2 陽性細胞から分化したニューロンの局在が、発生が進むにつれて脳室側から外側方向(軟膜側)へと変化していた。このことは、発生中の腹側視床ではニューロンが脳室側から軟膜側へ移動して視床網様核を形成している可能性が考えられ、経時観察による解析を検討している。

グリア細胞の機能と病態

田中謙二, 李 海雄, 清水崇弘, 杉尾翔太, Seung-Up Kim, Elier Peles, 池中一裕

グリア細胞の重要な機能の一つにシナプス伝達の調節がある。近年、グルタミン酸とATPがアストロサイトから放出され、シナプス伝達を調節することが提唱されているが、その放出部位、放出頻度など不明な点が多い。名古屋大学（現 東京大学）廣瀬教授の開発したプローブを用いて培養アストロサイトから放出されるグルタミン酸を可視化することに成功した。また名古屋大学 曾我部教授のグループと共同で、ルシフェリン発光を利用し、培養アストロサイトから放出されるATPの可視化に

も成功した。これらのイメージングの解析から、ATP刺激によるグルタミン酸放出、グルタミン酸刺激によるATP放出が確認されたが、これらの放出は培養アストロサイトの1~10%の細胞だけで観察されること、その放出時間が数十秒あることなどが分かった。今後は、放出に関わる分子の同定、放出の観察されるアストロサイトの特徴抽出、ATPとグルタミン酸との同時測定が課題となった。

N-結合型糖鎖の構造決定と機能解析

吉村 武, 等 誠司, Akhilesh Kumar, Salma Jasmine, Jan Sedzik, 伊藤磯子, 小池崇子, 池中一裕

糖鎖を有する分子は細胞表面や細胞外に存在し、細胞間相互作用やシグナル伝達に深く関わっている。これまでに我々は(1)脳内糖鎖発現パターンが発生時期に劇的に変化すること、(2)いくつかの糖鎖の発現量が顕著に変化すること、(3)シアル酸付加糖鎖の構造解析から、大脳皮質の発達過程において劇的に変化する新規シアル酸糖鎖が存在することを明らかにした。本年度はHPLCを使ったN-結合型糖鎖の微量解析法を開発し、この解析法を

用いて生検資料や精製した中枢神経や末梢神経由来の髄鞘の糖鎖構造を決定した。また、ゲルから単一糖蛋白質を切り出し、高回収率で糖鎖を解析する技術を開発した。

我々はN-結合型糖鎖解析過程でLewis X糖鎖構造の合成に関わる新規フコース転移酵素FUT10を見出した。そして、糖蛋白質糖鎖にフコースを転移することや神経細胞移動に関与することを明らかにした。

ナノ形態生理研究部門

【概要】

「構造と機能」という分子生物学のパラダイムは生物の機能が生体高分子、特に蛋白質の独自の構造によって支えられていることを明らかにして来た。本部門では細胞内超微小形態を高分解能、高コントラストで観察する新しい電子顕微鏡の開発を背景に細胞の「構造と機能」を研究している。

永山グループは位相差電子顕微鏡の開発と、その応用として、DNA1分子の塩基配列直読法開発、チャネルを中心とした蛋白質の電子線構造解析、“複雑な”生物試

料へのZernike位相差法の応用、低温トモグラフィーの生物応用を行った。

物質輸送に関する研究が主眼である村上グループは、唾液分泌における傍細胞水輸送の駆動力と細胞内信号による調節機構を研究し、唾液中に血液側から種々の化学物質が出現する基本機構を明らかにした。また漢方薬の顎下腺に対する水分分泌促進機構研究を開始した。

大橋グループはエンドソームーゴルジ細胞内膜系の選別輸送のメカニズムと生理機能の研究を行った。

Aharonov-Bohm 効果を応用した位相差電子顕微鏡用位相板の開発

Radostin Danev, 永谷幸則, 永山國昭
伊藤俊幸, 喜多山篤 (テラベース (株))

昨年に続き, 薄膜位相板を用いた場合の電子線損失問題を解消できる, Aharonov-Bohm (AB) 効果を応用した位相板の開発を行った。AB 効果位相板は極めて細い一本の棒磁石を絞り孔に橋かけし, 磁石が作り出すベクトルポテンシャルを利用する。10 μ m 直径の白金線から刀様の極細線を FIB で切り出しその刃の上に永久磁石材料を蒸着する方法で製作した。500nm 幅 $\times$ 10 μ m 厚 $\times$ 50 μ m 長の刀様極細線を作る技術が確立し, その刃の上に 10~

20nm 厚の磁石材料 (コバルト, ニッケル) を蒸着できた。この AB 効果位相板の性能テストを 120kV 位相差専用電顕で行い, 位相変化を計測した。結果的に 2 つの難点が見つかった。1 つは細線表面の寄生帯電。もう 1 つは細線近傍の漏れ磁場。前者は厚めの炭素膜コーティングで解決することが分かった。後者は細線磁石の新規デザインで対応することとなり次年度に持ち越された。

DNA/RNA 塩基配列の電子顕微鏡 1 分子計測法の開発

香山容子, 永田麗子, 永山國昭
片岡正典 (計算科学研究センター)
新田浩二 (テラベース (株))

1 分子の DNA/RNA の塩基配列決定の高速化を図るため, 電子顕微鏡技術を基軸に新しい方法論を開発している。この方法は i) 全核酸塩基の化学修飾による体積・電子密度差の増幅と DNA/RNA の一本鎖への解離, ii) 完全伸長した多数の一本鎖 DNA/RNA 分子の一方方向整列によるアレイ作成, iii) アレイ化した一本鎖 DNA/RNA の電顕による観察と識別, iv) 修飾塩基間のコントラスト差から塩基配列の解読, の 4 つの要素技術により成り立っている。昨年 T と U を除く 3 種の構成塩基全てを塩基選択的に化学修飾することに成功し, 各塩基間の体積と電子密

度差の増幅が可能となった。今年はこの手法の修飾効率向上のための条件検討をおこなった。検討結果から修飾効率が DNA の鎖長に依存し, とくに 1Kb を超えるものでは鎖の切断といった副反応が生じることが明らかとなった。高度に修飾される反応条件と鎖長を最適化し, 修飾 DNA をカーボンナノホーンまたはグラフェンを基板として担持することで, 電子顕微鏡観察時の背景信号を限りなく少なくして一本鎖 DNA 分子の電子顕微鏡観察を試みた。

膜タンパク質の構造解析

重松秀樹, 細木直樹, 曾我部隆彰, 富永真琴, 永山國昭
飯田秀利 (統合バイオ客員教授), 本間 道夫 (名古屋大学大学院理学系研究科)

結晶化の困難な膜蛋白質の構造を電子顕微鏡像から決定する手法として単粒子解析に取り組んでいる。2 種類 (TRPV4, MCA2) の膜蛋白質については, 組み換え発現系を構築し, 精製蛋白質の構造を界面活性剤可溶化状態

で構造解析を行った。その結果 TRPV4 については 35 Å 分解能の立体構造が得られ, J. Biol. Chem. に投稿し受理された。また MCA2 についても 24 Å 分解能の立体構造が得られ, 学会発表行い, 論文投稿を行った。また, 昨

年度に続き、*Vibrio* 菌由来のモータ蛋白質基部複合体 HBB について、位相差低温トモグラフィーを開始し、立

体構造が得られた。結果を J. Str. Biol. に投稿した。

位相差低温トモグラフィーの開発と応用

Radostin Danev, 福田善之, 細木直樹, 永山國昭

CREST の経費で導入された 200kV 位相差電顕 (JEM2200F) を用いて低温トモグラフィーの開発を行い半自動化計測システムを構築した。このシステムを DNA・脂質複合体, 各種蛋白質 (*Vibrio* 菌由来の HBB, Dicer および Dicer/RNA 複合体), 各種ウィルス (TMV, ファージエプシロン 15, ファージ T4, インフルエンザ

ウィルス), 培養細胞系 (神経細胞) に適用し高いコントラストと高分解能の立体構造を得ることができた。通常法に比べ同一解像度で比較した場合 1/3 の粒子数で立体構造を起こせることがわかった。TMV (タバコモザイクウィルス) を用いた位相差低温トモグラフィーの結果は J. Str. Biol. に投稿した。

電子・光子ハイブリッド顕微鏡の開発

飯島寛文, 永山國昭

箕田弘喜 (東京農工大学工学部)

CREST 研究の一環として 2007 年より同一サンプル, 同一視野を同一時間に観察可能な蛍光顕と電顕が完全に一体化されたハイブリッド顕微鏡を 200kV 電顕を基に開発している。市販の長尺用対物レンズを側方から試料ステージ下部にはめ込み穴開き (1mm 径) ミラーを試料下部に設置し, 試料を下方から光照射しその蛍光像を得

ることができた。一方試料通過後の電子線は穴開きミラーの穴を通り通常の電顕像が得られる。こうして同一サンプルにつき同一視野同時観察するシステムが完成した。Qdot や蛍光染色シアノバクテリアを用いその性能が確かめられた。

唾液分泌における傍細胞輸送の駆動力と細胞内信号による調節

村上政隆

傍細胞輸送がどのような駆動力で維持されるのか, またいかなる細胞内信号で制御されるかを明らかにするため, 摘出血管灌流ラット顎下腺を用い実験した。2009 年度に実施した内容は, 1) 灌流動脈圧を計測する測定系により, 流速を 6ml/min から 25ml/min の間で変化させ, 80-250mmHg の間で流入圧が線形的に変化することを測定し, 流速と流入圧の関係から入力抵抗とゼロフローでの圧力 (毛細管圧) を求めた。種々のカルバコール濃度に対して入力抵抗は用量依存的に減少したが, ゼロフ

ロー抵抗は一定であった。このデータを基に分泌刺激中に流速を変化させることで静水圧が変化することになる。この静水圧変化は唾液分泌速度を変化させた。灌流圧に応じて, 水分分泌も蛍光マーカー (細胞内を通過しない Lucifer Yellow, mw=520) 分泌も変化し, 傍細胞輸送の駆動力に静水圧が寄与することが判明した。2) 灌流液から唾液中への色素移行と Ca の関係を種々の分泌刺激薬で調べた。その結果, 傍細胞輸送は Ca 依存性であることが判明した。3) ムスカリン受容体刺激で NO が産生され血

管抵抗が低下し血流を増加させる機構が提示されていた。L-NAME=0.3mM を与えると圧は140mmHg から180mmHg に上昇したが、CCh により 111±9mmHg に低下し、L-NAME がない場合の 103±5mmHg に対し有意差はなく、分泌刺激中の動脈圧は NO には依存しないことが判明した。4) 連携研究者/海外の研究協力者と共同研究を進め、タイト結合の凍結切断標本観察/SEM 観察、細胞内 Ca

測定、傍細胞輸送の静水圧による駆動の可能性を検討し、国内で開催の国際学会で発表した。

本研究により、唾液腺細胞の血液側から種々の溶質が唾液中に出現する基本機構が明らかになった。このことは唾液化学分析により血液化学組成を予測するための実験的な裏付けとなる。

漢方薬-丹参-の灌流ラット顎下腺に対する水分分泌促進機構

村上政隆, 魏 飛

魏 睦新 (南京医科大学第一附属医院 中医内科)

唾液腺の水分分泌を増加させる漢方薬のうち、この漢方薬のみで傍細胞経路の開閉を起す丹参 (DS) について、小さい分子を通す傍細胞経路がより活性化されることが見つかっていたが、水分分泌反応の用量依存性を調べると、用量が大きくなると反応の潜時が短くなり、受容体が唾液腺細胞の表面ではないことが示唆された。DS 水溶液

の HPLC パターンを検討すると、水溶性有効成分として報告されている Salvianolic acid B がもっとも大きなピークとして測定された。今後このピークを注目し、経口投与により血液中出现する濃度を検討し、摘出灌流腺の結果と対応させ、生体内での DS 用量依存性を推定する。

エンドソーム-ゴルジ細胞内膜系の選別輸送のメカニズムと生理機能

大橋正人

木下典行 (基生研)

エンドソーム-ゴルジ系などの細胞内膜系が、極性細胞の形態形成シグナル制御において果たす役割を解析している。上皮系細胞のエンドソーム-ゴルジ細胞内膜系分子の、FL-REX (fluorescence localization - based retrovirus - mediated expression cloning) 法による探索をすすめ、エンドソーム-ゴルジ系に局在することの判明した膜蛋白質の中から、初期発生シグナルに関与する新たな機能分子の候補を挙げることに成功した。

これまでに過剰発現やモルフォリーノオリゴなどの手法により解析を進めた結果、平面細胞極性 (planar cell polarity, PCP) シグナル経路との関連が分かってきた。PCP シグナルは Wnt 受容体 Frizzled や細胞質蛋白質 Dishevelled をはじめとするコア PCP タンパク質の作用に

よって伝達される。例えば内耳の蝸牛管のステレオシリアが同じ方向性を示すように、組織全体のグローバルな極性を感知して個々の細胞の極性を生み出す役割を果たしている。PCP シグナル作用において、シグナル分子の細胞内での動的局在、例えば、細胞膜での非対称な分布や、細胞内メンブレントラフィックによる制御が重要な役割を持っていることが示唆されている。

そこで現在、哺乳動物モデル細胞培養系とアフリカツメガエルの胚発生実験系による解析を相互にフィードバックさせながら利用し、上記のエンドソーム-ゴルジ細胞内膜系に局在する PCP シグナル制御分子の作用が、メンブレントラフィックとどのように関係しているのかについて解析を進めている。

細胞器官研究系

生体膜研究部門

【概要】

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

(1) シナプス膜蛋白質複合体の同定と機能解析

シナプス膜蛋白質（受容体、イオンチャネル、接着分子など）は足場蛋白質、シグナル蛋白質などと複合体を形成して、その機能を遂行することから、独自に開発した特異性の高い生化学的手法により、脳組織からシナプス蛋白質複合体の精製・同定をおこなう。同定したシナプス蛋白質複合体がシナプス伝達効率を制御する機構を

分子細胞生理学的、生化学的、遺伝学的手法を用いて統合的に明らかにする。

(2) パルミトイル化脂質修飾機構の全容解明

翻訳後脂質修飾であるパルミトイル化は、外界刺激に応答してシナプス蛋白質のシナプス膜局在を制御し、シナプス伝達効率や細胞内情報伝達を調節する。我々は独自に発見したパルミトイル化酵素群をツールにシナプス活動に応答した AMPA 受容体の動態制御機構およびアゴニスト依存的な 3 量体 G 蛋白質・サブユニットの局在制御機構を明らかにする。以下に今年度行った研究課題とその内容の要約を記す。

てんかん関連リガンド LGI1 の生理機能の解明

深田優子，横井紀彦，岩永 剛，深田正紀

最近、私どもはシナプス足場蛋白質 PSD-95 複合体として痙攣・てんかんに関連のある AMPA 受容体附属サブユニット Stargazin，膜蛋白質 ADAM22，および分泌蛋白質 LGI1 の 3 つを同定した。これまでに、私どもは LGI1 が ADAM22 のリガンドとして機能し、AMPA 受容体機能を促進することを報告した。今年度は LGI1 ノックアウトマウスの作製に成功し、1) 生後 2 週間後より激しいけいれん発作を示し 3 週間以内に致死となること、2) AMPA

受容体を介したシナプス伝達が LGI1 のノックアウトマウスで低下すること、および 3) ADAM22 とともに ADAM23 が脳内の LGI1 受容体として機能することを報告した。現在、LGI ファミリー (LGI2, -3, -4) および ADAM22 ファミリー (ADAM22, -23, -11) 同士の結合特異性、および機能相補性を明らかにし、新たなシナプス伝達制御機構およびてんかん発症の分子基盤の解明に取り組んでいる。

PSD-95 パルミトイル化酵素によるシナプス機能制御

則竹 淳，深田優子，岩永 剛，深田正紀

パルミトイル化脂質修飾は多くの機能蛋白質（シグナル蛋白質や足場蛋白質，膜蛋白質など）にみられる翻訳後脂質修飾で、蛋白質の細胞内局在や機能をダイナミックに制御している。私どもは AMPA 型グルタミン酸受容体のシナプスでの機能発現に必須な足場タンパク質、

PSD-95 のパルミトイル化酵素 P-PAT (DHHC2, 3, 7, 15) の活性が神経活動により制御されているか、また、P-PAT が何らかのシナプス可塑性を制御しているかを検討している。今年度は P-PAT サブファミリーのうち DHHC2 がポストシナプスおよび樹状突起に局在し、その局在が神

経活動抑制時にポストシナプス膜近傍に移動し、PSD-95 のパルミトイル化を促進することを見出した。さらに、この DHHC2 による神経活動依存的な PSD-95 のパルミトイル化が、神経活動抑制時に誘導される AMPA 受容体の

ポストシナプスへの集積 (AMPA 受容体恒常性維持) に必須であることを明らかにした。現在、DHHC2 の動態制御メカニズムの解析をおこなっている。

G α パルミトイル化酵素の同定と性状解析

堤 良平, 深田優子, 深田正紀

G 蛋白質 α サブユニット (G α) は分子スイッチとして細胞内情報伝達の中心分子として機能する。G α は古くからパルミトイル化を受けることが知られており、パルミトイル化が細胞膜への集積や機能の遂行に重要であることが示唆されてきた。私どもは G α パルミトイル化酵素として DHHC3 および DHHC7 を同定し、アゴニスト依存的な α_{1A} アドレナリン受容体・G α_q を介した情報伝達系に DHHC3 および DHHC7 が必須であることを見出した。

さらに、パルミトイル化 G α_q の細胞内動態を photoconversion 法や FRAP 法を利用し解析をおこなった結果、G α_q が常に細胞膜に静的に局在するのではなく、パルミトイル化依存的にゴルジー細胞膜間を双方向性に輸送されることを報告した。また、他の基質蛋白質のパルミトイル化酵素の同定といった海外研究者との共同研究も引き続きおこなっている。

分泌蛋白質 BDNF, および LIG1 の分泌機構の解明

松田尚人, 深田優子, 則竹 淳, 深田正紀

Mu-ming Poo (カリフォルニア大学バークレー校 分子細胞生物学部)

BDNF は脳の発達や神経活動依存的なシナプス可塑性に必須な分泌タンパク質として知られている。しかし、その分泌機構は、ほとんど明らかになっていない。今年度、私どもは全反射顕微鏡を用いたイメージングにより、樹状突起から分泌された BDNF の拡散してゆく瞬間を可

視化することに成功した。興味深いことに、軸索、樹状突起からの分泌過程は神経活動により、それぞれ異なる様式で制御されていることが明らかとなった。今後は同様の手法を用いて、てんかん関連分泌蛋白質 LIG1 の分泌制御機構の解明にも取り組んでいく。

神経細胞におけるパルミトイル化酵素ファミリーの制御機構の解明

奥慎一郎, 則竹 淳, 深田優子, 深田正紀

パルミトイル化修飾は外界刺激依存的に可逆的に代謝回転し、生体の恒常性や可塑性を精密に制御していると考えられている。最近、私どもはパルミトイル化脂質修飾酵素 (23 種類) をゲノムワイドに同定し、次々と新しい酵素-基質ペアを明らかにしている。しかし、パルミトイル化酵素群の活性制御メカニズムに関しては未だ殆ど

不明である。最近、私どもは 23 種類の酵素群がいくつかのサブファミリーに分類されることを見出し、サブファミリー毎に異なる局在、制御を受けることを見出しつつある。そこで、DHHC 蛋白質サブファミリー特異的な輸送・局在化メカニズムの解明を試みている。今年度は神経細胞に発現がみられる DHHC サブファミリー特異的

な結合蛋白質を網羅的に生化学的に精製，同定をおこなった。今後，これら結合蛋白質の性状解析を通じて新規

パルミトイル化酵素群のサブファミリー特異的な制御機構を明らかにする。

機能協関研究部門

【概要】

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

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

(2)「アポトーシス，ネクローシス及び虚血性細胞死の誘導メカニズム」：容積調節能の破綻は持続性の容積変

化をもたらして細胞死を誘導する。多くの細胞のアポトーシス，ネクローシス，更には脳神経細胞や心筋細胞の虚血性細胞死の分子メカニズム，特にイオンチャネルの関与とそのメカニズムを明らかにする。

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

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

マキシアニオンチャネルの活性化へのチロシン脱リン酸化の関与

TOYCHIEV Abduqodir H, SABIROV Ravshan Z, LIU Hongtao, 岡田泰伸

新谷隆史，野田昌晴（基礎生物学研究所）

高橋信之（京都大学）

赤塚結子（鈴鹿医療科学大学）

容積センサーの 1 つであるマキシアニオンチャネルは多くの細胞種に発現し，虚血や細胞膨張などの条件下で活性化し，細胞間シグナル ATP の細胞外放出に関与するなど，生理学的に重要な役割を果たしていることを明らかにした。しかしながらこのチャネル分子の本体も未だ不明であり，その活性化メカニズムも不明であった。今回，成熟マウス線維芽細胞(MAF) やマウス乳腺線維芽細胞(C127 株)において，その活性化メカニズムにチロシ

ン脱リン酸化が関与していることを明らかにした。また，MAF の場合には，レセプター型チロシン脱リン酸化酵素の 1 つである RPTP ζ が関与することが示唆された。本成果の一部は，機構内連携研究バイオ分子センサープロジェクトのもとでの共同研究により得られた。これらの結果は次の論文に報告：*Am J Physiol Cell Physiol* **297**: C990 - C1000, 2009; *J Physiol Sci* **59**: 3-21, 2009。

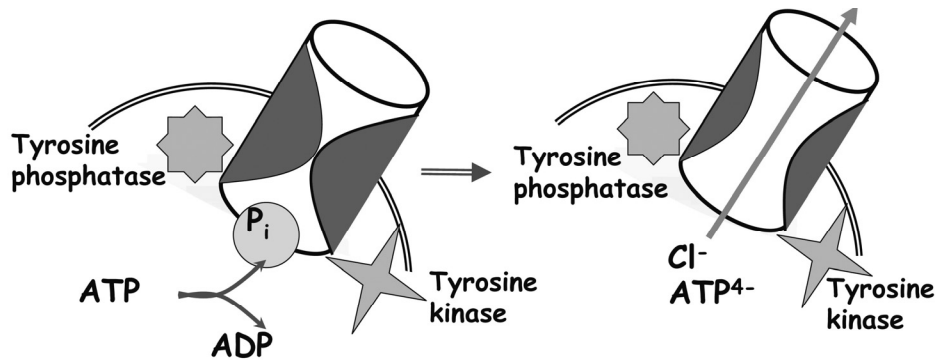


図1 チロシン脱リン酸化ーチロシンリン酸化によるマキシアニオンチャネルの開閉制御

容積感受性外向整流性アニオンチャネル (VSOR) を介する炎症時のグリアからニューロンへの情報伝達メカニズム

LIU Hongtao, 秋田天平, 清水貴浩, SABIROV Ravshan Z, 岡田泰伸

炎症時初期に生成されるブラジキニンが、脳内の主要なグリア細胞であるアストロサイトに作用すると、そこからグルタミン酸放出が誘起され、それが隣接するニューロン上の NMDA 受容体を活性化してそのニューロン内に Ca^{2+} 濃度上昇を引き起こすことを通じて情報伝達に寄与する。最近私達は、マウス大脳皮質由来のグリア・ニューロンにおいて、そのブラジキニンにより誘起されるグルタミン酸放出がアストロサイト上の容積感受性外

向整流性アニオンチャネル(VSOR)を通じて行われることを明らかにした。また、この VSOR 開口はブラジキニンの作用によりアストロサイト内に生成された ROS が細胞容積変化によらず直接 VSOR に作用することにより誘導されることが示唆された。この結果は次の論文と総説に報告：*J Physiol* 587:2197-2209, 2009; *J Physiol* 587:2141-2149, 2009。

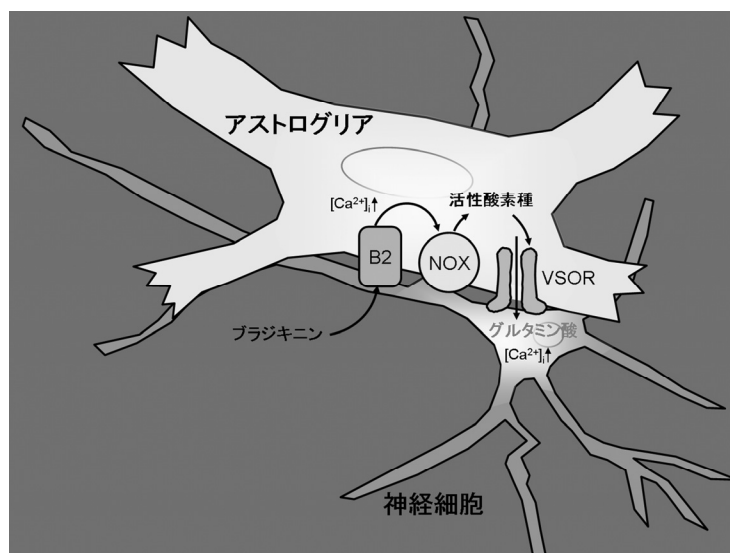


図2 ブラジキニンがアストロサイト上の B2 受容体に結合すると、NADPH oxidase (NOX) の活性化を通じて ROS が産生される。その ROS により VSOR が開口してグルタミン酸が放出され、ニューロン内に Ca^{2+} 濃度上昇が起こる。

細胞生理研究部門

【概要】

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

これらの細胞環境情報センサーの分子システム連関を解明していくことは、個体適応の理解のための基本単位である「細胞の生存応答」を解明するうえで極めて重要である。この細胞外環境情報を感知するイオンチャネル型のセンサー蛋白質の構造機能解析、活性化制御機構の解析を通して細胞感覚の分子メカニズムの解明を目指している。特に、侵害刺激、温度刺激、機械刺激の受容機構について TRP チャネルに焦点をあてて解析を進めている。

また、本能機能を司る視床下部ペプチド作動性神経に注目し、摂食行動や睡眠覚醒を制御する神経機構について明らかにする研究を行っている。

膀胱の機械伸展刺激感知に関与する TRPV4

望月 勉, 曾我部隆彰, 富永真琴

温度感受性 TRP チャネルファミリーに属する TRPV4 は温かい温度で活性化して Ca^{2+} や Na^{+} の流入をもたらす。膀胱移行上皮での TRPV4 の発現を抗 TRPV4 抗体を用いて検討したところ、野生型マウスの膀胱上皮での TRPV4 蛋白質の発現が確認され、TRPV4 欠損マウスでは発現がなかった。TRPV4 の野生型膀胱移行上皮での機能的発現は刺激物質である 4α -PDD に対する応答によっても確認された。野生型マウスと TRPV4 欠損マウスから調整された膀胱上皮細胞をシリコンチャンバーで培養して機械伸展刺激を加えたところ、野生型マウスから得られた細胞でのみ細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇が観察された。また、ルシフェリン・ルシフェラーゼ反応を用いて膀胱

上皮細胞からの ATP の放出を検討したところ、野生型マウスから得られた細胞で機械伸展刺激に対して有意に大きな ATP の放出が観察された。これらの実験事実は、膀胱が尿貯留による拡張に対して TRPV4 を活性化させて ATP を放出することを示しており、ATP によってその伸展情報が感覚神経に伝達される可能性を示唆している。そして、放出された ATP の受容体候補である P2X_3 受容体欠損マウスで膀胱機能異常が認められるとする報告と合致する。体温下での膀胱伸展を TRPV4 が感知して、その情報を ATP を介して感覚神経に伝達するという新しい感覚メカニズムを示したと言える。

皮膚ケラチノサイトでの TRPV3 による温度感知メカニズム

Mandadi Sravan, 曾我部隆彰, 柴崎貢志, 富永真琴

温度感受性 TRP チャネルファミリーに属する TRPV3, TRPV4 は表皮に強く発現し、温かい温度で活性化される。

この事実は、皮膚が最初の温度感知組織である可能性を示唆する。そこで、マウス表皮ケラチノサイトと感覚神

神経細胞の共培養系を確立して、ケラチノサイトに温度刺激を加えてケラチノサイトと感覚神経細胞での細胞内 Ca^{2+} 濃度変化を検討した。温度刺激に対してケラチノサイト、感覚神経細胞の両方で細胞内 Ca^{2+} 濃度が上昇したが、感覚神経細胞での細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇が約 1.2 秒遅延した。これは、ケラチノサイトから感覚神経細胞へ情報が伝達された可能性を示唆する。そこで、2 種類の ATP 受容体阻害剤を用いたところ、感覚神経細胞でのみ温度刺激に対する細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇が消失した。これは、ATP によってケラチノサイトから感覚神経細胞に情報が伝達されたことを示す。そこで、HEK293 細胞にイオンチャンネル型 ATP 受容体 P2X_2 を強制発現させたバイオセンサーを用いてケラチノサイトからの ATP 放出の検

出を試みた。バイオセンサーHEK293 細胞をケラチノサイトに近づけてから、ケラチノサイトに温度刺激を行ったところ、温度刺激に応じて内向き整流性という P2X_2 チャンネルに特徴的な電圧電流関係を示す電流の活性化が観察された。野生型マウス、TRPV3 欠損マウス、TRPV4 欠損マウスから調整したケラチノサイトを用いて実験したところ、TRPV3 欠損ケラチノサイトを用いたときに P2X_2 チャンネル電流が有意に小さかったことから、温度刺激に応じて主に TRPV3 チャンネルの活性化によってケラチノサイトから ATP が放出されているものと考えられた。そして、この ATP がケラチノサイトで感知された温度情報を感覚神経に伝達しているものと推定した。

DIP/WISH 欠損マウスの解析

福見-富永知子, 松浦敦子, 兼子佳子, 松井 誠, 富永真琴

DIP/WISH を低分子量 G 蛋白質 Rho の標的蛋白質の Dia と WASP と結合する蛋白質として見出し、Rho, Rac の活性制御することによって細胞運動を調節する重要なタンク質であることを明らかにしてきた。そこで、そのメカニズムを検証するために DIP/WISH を欠損するマウスを作製してその胎仔線維芽細胞を解析した。野生型線維芽細胞は PDGF 等の刺激に応じてよく動いたが、DIP/WISH 欠損線維芽細胞は、細長い形状をしており、

刺激前から Rho の活性が高く細胞の接着性が悪く、細胞尾の退縮不全によると思われる著しい細胞運動能の低下を示した。DIP/WISH 欠損細胞では Rho の活性化に一致してアクチン線維束の発達が観察された。以上の結果から、DIP/WISH は Rho の陰性制御分子として機能し、細胞接着に関与する分子群を制御することによって細胞接着能をコントロールしていると結論した。

オレキシン神経はオレキシンによって直接活性化される

山中章弘, 常松友美

オレキシンは視床下部の少数の神経(オレキシン神経)において産生される神経ペプチドであり、オレキシン神経は、脳のほとんどの領域に軸索を投射している。オレキシン遺伝子欠損マウスの解析から、オレキシンが睡眠覚醒調節に重要な役割を担っていることが明らかになってきた。すなわち、オレキシン神経への入出力系を明らかにすることによって、未だによく分かっていない睡眠覚醒調節に関わる神経回路網の解明が期待された。そこで、オレキシン神経特異的に緑色蛍光タンパク質を発現

する遺伝子改変マウスを作成し、スライスパッチクランプによって、入力する神経とその神経伝達物質に対する応答について解析を行った。オレキシンがオレキシン神経を強く活性化することを見いだした。この反応はオレキシン A でも B でも同程度であったことからオレキシン 2 受容体を介した反応が示唆され、受容体欠損マウスを用いた解析によって 2 受容体を介することを確認した。さらに電子顕微鏡をもちいた観察から、オレキシン神経同士が直接入力していることを確認した。この神経回路

はポジティブフィードバック回路を形成し、オレキシン神経活動を長時間高い状態に保つのに重要であり、この

機構によって覚醒を維持できるものと考えられた。

光活性化タンパク質を用いたオレキシン神経活動の光制御による行動制御

常松友美，山中章弘

近年，光によって神経活動の制御を可能にする分子であるチャネルロドプシン 2 (ChR2) やハロロドプシン (Halo)が報告された。摂食行動や睡眠覚醒などの本能機能は，個体でのみ生じる生理現象のため，それらを調節する神経機構の解明には，個体を用いた解析が欠かせない。そこで，睡眠覚醒調節に重要な視床下部のオレキシン神経特異的に光活性化タンパク質を発現させた遺伝子改変マウスを作成し，インビボにおいてその活動の制御を行い，その結果表出する行動を解析することによって，睡眠覚醒を調節する神経機構の解明を試みている。オレ

キシン神経特異的 ChR2 や Halo を発現する遺伝子改変マウスを作成しており，組織化学的手法を用いて特異的発現を確認している。また，スライスパッチクランプなどのインビトロ解析によって，オレキシン神経活動が光で制御できることを確認した。このマウスを用いて意識下行動中のマウスのオレキシン神経活動を任意のタイミングで制御すると，個体の睡眠覚醒を制御出来ることが分かった。光活性化タンパク質を用いた特定神経制御は，睡眠覚醒調節に関わる神経機構の個体を用いた解析に大変強力なツールとなることを証明した。

生体情報研究系

感覚認知情報研究部門

【概要】

感覚認知情報部門は視知覚および視覚認知の神経機構を研究対象としている。我々の視覚神経系は複雑な並列分散システムである。そこでは数多くの脳部位が異なる役割を果たしつつ、全体として統一のとれた視知覚を生じる精巧な仕組みがあると考えられる。また二次元の網膜像から世界の三次元構造を正しく理解できる仕組みもそなわっている。視知覚におけるこれらの問題を解明す

るために、大脳皮質を中心とするニューロンの刺激選択性や、異なる種類の刺激への反応の分布を調べている。具体的な課題として (1) 初期視覚野における輪郭とその折れ曲がりの表現, (2) 大脳皮質高次視覚野における色選択性ニューロンの局在や線維連絡に関する研究を行うと共に, (3) 質感知覚のメカニズムに関するいくつかの研究を行った。

初期視覚系における輪郭線の折れ曲がりの表現

伊藤 南

我々は物体の形状を認識する過程を明らかにする為に図形の輪郭に含まれる折れ曲がりに対する反応選択性を初期視覚野で調べている。昨年度より引き続き麻酔下の動物からの電気記録実験を継続し、第二次視覚野における抑制性入力拮抗阻害剤の局所投与による選択性の変化, および逆相関法による興奮性/抑制性入力の受容野内外における空間分布の偏りと折れ曲がりに対する選択性との対応関係を調べた。また折れ曲がり選択性と直線成分に対する反応選択性の関係を第一次視覚野および第二次視覚野で比較検討した。第一次視覚野からの細胞記録

をもとに Linear-Nonlinear 型のモデルによるシミュレーションを行った。折れ曲がり選択性が受容野内で決まる方位選択性とよく合致しており、最適な折れ曲がり刺激の一方の半直線成分の表現にシングルストップ型のエンドストップニューロンが関与していることが示唆された。他方の半直線成分はこのような抑制を回避するとともに特定方向の半直線成分を表現していることが示された。これらの結果は第二次視覚野およびその入力源である第一次視覚野がともに折れ曲がり刺激選択性形成に寄与することを示唆する。

サル下側頭皮質への電気刺激が色判断行動に及ぼす効果

鯉田孝和, 小松英彦

サル下側頭皮質前部には色選択性ニューロンが密集して存在する領域があり、この小さな領域が色認知に重要であると考えられる。この仮説を検証するために本研究では、微小電気刺激による色判断行動への効果を測定した。サルはサンプル色を見て、赤いか黄色いかなどの予め学習した判断基準に基づいて色を判断する課題を行う。電気刺激はサンプル色の呈示期間中に 50% の確率で行

った。その結果、微小 (20 μ A) な電気刺激であっても大きな色判断のシフトが生じることが分かった。大きな効果を生じるのは皮質上の限られた領域であり、その領域は色選択性ニューロンが密集している場所に対応していた。また色は二次元平面で記述されることから電気刺激の効果を色相方向と彩度方向でそれぞれ測定を行ったところ、電気刺激により色平面上で一貫した色判断のバイアスが

生じていることが明らかになった。さらに刺激部位のニューロンの色選択的応答と比較することで、下側頭皮質

のニューロン活動が色判断に因果関係を持っていることが示された。

下側頭皮質色領域間の解剖学的結合

坂野 拓, 小松英彦

一戸紀孝, Kathleen Rockland (理研 BSI)

サルの下側頭皮質前部領域および後部領域に強く鋭い色選択性を示すニューロンが集まる小領域が存在することを、我々はこれまでに報告してきた。下側頭皮質は腹側視覚経路の最終段階に位置することから、これらの色領域が解剖学的に結合し、色情報処理を行う経路を形成している可能性が考えられたが、機能的モジュール間を特異的に結合する投射があるのかどうかは不明であった。そこで我々は、色領域の位置を電気生理的に同定した上

でそれらの解剖学的結合関係を調べるためのトレーサー注入実験を行った。結果は色領域間に双方向性の解剖学的結合関係があることを示すとともに、後部色領域の背側領域と腹側領域における投射パターンの違いを示していた。この結果は、後部下側頭皮質から前部下側頭皮質への投射が機能特異的であるという仮説を支持するとともに、複数の色処理システムが下側頭皮質に存在する可能性を示唆するものである。

素材識別に関わるヒト視覚領野：fMRI 研究

郷田直一, 平松千尋, 小松英彦

我々は、日常的に、複雑な視覚入力から物体やシーンの情報を瞬時に抽出し理解している。このとき、多くの場合、物体の色や形状だけでなく、金属、プラスチック、木など、その多様な素材についても瞬時に認識することができる。本研究では、このような素材の認識機能が脳においてどのように実現されているか明らかにすることを目的とし、9 種類の異なるカテゴリからなる素材画像（金属、ガラス、セラミックス、毛、石、木目、樹皮、皮

革、布）を CG により作成し、被験者が各素材画像を観察している時の脳活動を機能的 MRI により計測した。機械学習の手法を用いて、脳の様々な領域の脳活動パターンに基づいて 9 種の素材をどの程度識別できるかを検討したところ、初期視覚野および腹側高次視覚野の広い範囲において脳活動に基づいて素材が有意に識別できることが示された。本結果は、素材を識別する情報は視覚野に広く分布することを示唆する。

下側頭皮質ニューロンの光沢選択性

西尾亜希子, 郷田直一, 小松英彦

光沢知覚の神経メカニズムを明らかにするために、光沢物体画像に対するサルの下側頭皮質ニューロンの反応を調べた。33 種の光沢物体画像を作り、これらの画像に対するニューロン活動の選択性を調べたところ、特定の光沢物体画像に選択的に応答するニューロンが存在した。

選択性を示したこれらのニューロンに対し、局所的な色や形は変化するが、光沢知覚は保たれるような条件でも同様に選択性を調べたところ、選択性は保たれた。一方、平均的な色や輝度は保たれるが、光沢知覚は変化するような条件では、選択性は変化した。この結果は、これら

のニューロンが局所的な形や平均的な色, 輝度ではなく, 特定の光沢に選択的に応答しているという事を示してお

り, 下側頭皮質で光沢情報が表現されているという可能性を示唆するものである。

色変化による画像の明るさ向上現象（クリッピング錯視）の発見

鯉田孝和, 岡澤剛起, 小松英彦

発光体や金属光沢を撮影すると入射光量が高すぎるため露出オーバーとなり, 画像には白とび, あるいは色ずれが生じる。われわれはこの露出オーバーによる色変化を模擬した画像処理により, 画像の輝度は同一のまま見えの明るさ感が大きく向上する現象を発見した。画像中の少数 (10% 程度) の高輝度ピクセルに対して輝度に相關した色変化を加えることで明るさ向上が生じる。明るさのマッチング実験により効果の大きさを測定したところ, 効果は色度変化量に比例しており, 最適条件では

140% の輝度上昇に相当することがわかった。この効果は元画像として風景, 物体, ガボールパッチのどれを用いても安定して生じた。効果を起こすためには最適な色変化方向があり, 元画像がオレンジであれば黄, 白方向が最適であった。逆方向に色を変化させると逆の効果が生じ暗く感じられた。この現象は既知の効果 (刺激の彩度による明るさ感向上) では説明できないことからクリッピング錯視と名づけ, 色と明るさに関する新しい恒常性知覚メカニズムを提案した。

「金色」のカテゴリカルな知覚

岡澤剛起, 鯉田孝和, 小松英彦

色は顕著なカテゴリカル知覚の特性を持ち, 11 基本色名により色空間全体が表現できる。一方, 物体表面は素材に依存した特有の光沢を持ち, 「金色」のように基本色に含まれない色名も用いられる。光沢が色カテゴリーにどのように影響するかを検討するため, 我々は物体表面に固有な色名である「金色」に焦点をあて, 基本色と同様なカテゴリー特性を持っているかどうかを検証した。実験には, 拡散・鏡面反射率と色度をパラメータとした

物体画像を用い, カテゴリカルカラーネーミングと呼ばれる心理物理学的手法により金色とネーミングされる色度領域を測定した。その結果, 高い鏡面反射率を持つ特定の色度を中心として金色がネーミングされ, カテゴリー性の指標である一致度, 安定度などにおいて基本色と同様な特徴を持つことが分かった。この結果から, 光沢のある物体に固有の色においてもカテゴリカルな知覚がなされていることが示唆される。

神経シグナル研究部門

【概要】

神経シグナル研究部門では, 分子レベルの研究からより生体に近づいた研究を目指し, *in vivo* 実験系の導入を進めてきた。*in vivo* パッチクランプの開発者である古江博士が昨年度 (2008 年度) に准教授として当部門に加わり, *in vivo* の実験を高い水準で行えることとなり, 今年度は, 多くの研究者, 大学院生が短期間・長期間の滞在

で *in vivo* パッチクランプを学ぶこととなった。従来から行ってきた脳スライスを用いた神経回路の詳細な研究と, *in vivo* の研究を巧みに組み合わせることにより, 神経系機能の理解がより一層深まると期待される。

また分子の異常とより高度な脳神経活動の関係を検討するには, さまざまな行動様式の解析が必要である。山

肩博士が長年にわたって作成・機能解析を行ってきた CaMKII ノックインマウスは著明な記憶力障害を呈して

おり、諸条件下における記憶力の検討を行うことにより、複雑な記憶過程の一環が明らかになってきている。

蛋白質リン酸化によるシナプス可塑性、学習・記憶の制御

山肩葉子, 柳川右千夫 (群馬大学), 井本敬二

Ca^{2+} /カルモジュリン依存性プロテインキナーゼ II α (CaMKII α) は、特に海馬に多く存在する蛋白質リン酸化酵素で、脳機能の調節に重要な役割を果たすと考えられている。我々は、CaMKII α のキナーゼ活性をなくした不活性型ノックインマウス [CaMKII α (K42R)] を作製し、その脳機能解析を行っている。このマウスにおいては、海馬シナプス可塑性と海馬依存性の学習・記憶が強く障害されていたことから、CaMKII α による蛋白質リン酸化が

これら分子メカニズムに不可欠であることがわかった。その学習・記憶障害について、恐怖条件付けを用いてさらに詳しく解析したところ、場所に関する条件付けがまったく成立しない一方で、音に関する条件付けについては、一定程度、学習・記憶が可能であることが判明した。この結果は、脳の部位によって、学習・記憶に関わる分子メカニズムに違いがある可能性を示唆している。

ラット小脳顆粒細胞—分子層介在ニューロン間 EPSC ペアパルス増強の発現メカニズム

佐竹伸一郎, 井本敬二

顆粒細胞（上向性線維）の2回連続刺激（ペアパルス刺激）に伴い、分子層介在ニューロンから記録される興奮性シナプス後電流 (EPSC) の2回目 EPSC の振幅値と減衰時定数が一過性に増大する現象を発見した（ペアパルス増強: PPF_{amp}, PPF_{decay}）。これら PPF の発現機序を明らかにするため、EPSC のキネティクスを初期相、ピーク相、減衰相に分けて詳しく解析した。2回目 EPSC（刺激間隔：30ms）では、刺激から EPSC 開始までの反応潜在時間が1回目 EPSC よりも顕著に短縮していた。一方、EPSC 開始点からピークまでの到達時間は延長していた。また、二重指数関数を適用して、EPSC 減衰相を急速減衰成分

(τ_{fast})と緩徐減衰成分 (τ_{slow}) に分けて検討し、PPF_{decay} は τ_{slow} の構成比率 (% τ_{slow}) 増大により惹起されていることを見出した。グルタミン酸輸送体阻害薬 TBOA は、 τ_{slow} と % τ_{slow} をともに増大させて PPF_{decay} を亢進した。一方、グルタミン酸受容体競合阻害薬 γ -DGG は、PPF_{amp} を促進するとともに、% τ_{slow} を減少させて PPF_{decay} を減弱した。こうした観察結果に基づき、①振幅増大はシナプス小胞の放出確率と放出多重性が増大したこと、②減衰時間増大は放出多重性増大に伴い大量に放出された伝達物質グルタミン酸がシナプス外領域に拡散・蓄積したことにより引き起こされたと結論した。

In vivo パッチクランプ法を用いた痛覚シナプス伝達機構の解析

古江秀昌, 歌 大介, 井本敬二

脊髄における痛覚シナプス伝達の調節機構を TRPA1 に着目して解析した。侵害性冷覚を受容する TRPA1 チャネルは痛みを伝える C 線維の脊髄内中枢端にも発現し、

活性化するとシナプス前性に微小グルタミン酸の放出を促進し、一方で C 線維誘起のグルタミン酸放出を予想外に抑制すること、GABA やグリシンを介した抑制性シナ

プス伝達には何ら影響を与えないことを見出した。形態学的解析も併せて行って TRPA1 を介した痛覚シナプス伝達抑制を担う脊髄神経回路の同定を行った。また、スライス標本から得られた成果に加えて in vivo パッチクランプ法を用いた生理的感覚刺激誘起の脊髄シナプス応

答の解析, 併せて記録細胞の免疫組織化学的検討を行い, 脊髄痛覚回路の統合的な解析に着手した。病態モデルを用いた解析にも着手し, がん性疼痛モデルの脊髄における興奮性シナプス伝達の異常を見出し, 行動から観察される痛覚過敏の成因を明らかにした。

Tottering マウスにおける欠神発作と大脳基底核回路との関係

加勢大輔, 井上 剛 (岡山大学), 井本敬二

本研究では欠神発作モデルマウスの tottering マウスを用いて, 欠神発作と大脳基底核回路との関係を in vivo 及び in vitro の実験により詳細に評価することを目的としている。

われわれは, これまでに in vivo の実験により大脳皮質-視床下核-黒質回路が欠神発作の発生に関与しているこ

とを示している。本年度は, 薬理学的および電気生理学的手法により in vivo で視床下核神経細胞の活性を二方向性に調節し, 大脳皮質-視床下核-黒質回路の欠神発作における役割を検討した。その結果, いずれの手法においても視床下核の活性の変化に伴い, 欠神発作の持続時間が二方向性に变化することが判明した。

ダイナミッククランプ法の技術的改良

井本敬二, 井上 剛 (岡山大学)

ダイナミッククランプ法は, 神経細胞から得られた信号をコンピュータ処理し, その情報を同一のあるいは別の神経細胞に与えることにより, 情報のやり取りを操作する方法である。そのためには信号のリアルタイム処理が必要とされる。われわれはこれまでにダイナミッククランプ法を大脳皮質第 4 層のフィードフォワード抑制システムに利用し, このフィードフォワード系の機能について検討してきた。

われわれがこれまでに使用してきたダイナミッククラ

ンプ法は, MS-DOS で作動するコンピュータを使用してきたが, 使用できるメモリサイズの制限が厳しいために, 単純な計算しか行えなかった。そのために MS-DOS からリアルタイム Linux への移行を行った。具体的には, Linux のリアルタイ化を RTAI を利用しておこない, AD コンバータ, DA コンバータを駆動するデバイスドライバを作成し, 20 kHz での稼働を確認した。今後の課題としては, マルチコア化が望まれる。

神経分化研究部門

【概要】

吉村を中心とする研究グループは, 大脳皮質視覚野の神経回路特性と経験依存的発達機構を明らかにする目的でラットやマウスから作成した脳切片標本や麻酔動物を用い, レーザー光局所刺激法や電気生理学的手法を組み合わせで解析している。本年度は主に, 神経活動に依存

して蛍光蛋白を発現する遺伝子改変マウスを用いて, 視覚機能と神経回路を対応付ける解析を行い, 同一の視覚刺激に対して反応する細胞群は選択的に神経結合している結果を得た。

また, 東島らを中心とするグループは, ゼブラフィッ

シユを用い、脊髄神経回路の形成機構および、回路の作動機構の解析を進めている。脊髄内の特定のクラスの神経細胞を GFP 等の蛍光タンパク質により可視化し、それから蛍光タンパク質陽性細胞の発生と機能を追求している。

本年度は従来までの研究に加えて、ChR2, NpHR などの光遺伝学的ツールを用いた神経回路の解析のための実験システムの立ち上げを行った。

情報処理の基盤をなす視覚野神経回路の解析

石川理子, 吉村由美子

これまでに、我々は、ラットやマウスの視覚野スライス標本を用いた神経回路の機能解析を行い、個々の神経結合の特異性や回路特性についての知見を報告している。本年度は、大脳皮質視覚野における神経回路と視覚機能を直接対応付けて解析する目的で、神経活動依存的に蛍光蛋白 Venus を錐体細胞に発現する遺伝子改変マウスを用いて、あらかじめ特定の視覚刺激に反応したニューロン群を蛍光ラベルした後、その視覚野からスライス標本を作製し、蛍光蛋白陽性細胞群が形成する神経回路を解析した。水平方向に傾きを持つ視覚刺激を 1 時間提示することにより、活動依存的な Venus の発現を誘導した。

その視覚野からスライス標本を作成し、蛍光顕微鏡観察下で 2/3 層にある Venus 陽性細胞からホールセルパッチ記録を行い、同じ 2/3 層内にある Venus 陽性細胞や Venus 非陽性細胞をグルタミン酸刺激により発火させ、記録細胞との間の神経結合を解析した。その結果、Venus 陽性細胞同士のペアでは、Venus 陽性-非陽性細胞ペアに比べて 2 倍以上の高い確率で興奮性神経結合が観察された。以上の結果は、同一の視覚刺激に反応したニューロンは選択的に神経結合していることを示しており、同じ情報処理に関与するニューロン群が特異的な神経回路を形成していることが示唆された。

ゼブラフィッシュ脊髄運動系神経回路網の機能解析

木村有希子, 佐藤千恵, 東島眞一

脊髄内運動系神経回路の解剖学的な記載を進めるため、発生期の一部の神経細胞で発現する遺伝子を用い、BAC トランスジェニック法により、多くのトランスジェニックフィッシュを作製した。各トランスジェニックフィッシュに関して、蛍光タンパク質陽性細胞の解剖学的記載を体系的に進めた。また、今年度より、ChR2, NpHR などの光遺伝学ツールを用い、特定のクラスの神経細胞の活動を光により制御して、神経回路の機能解析を進める研究を本格的に開始した。まず、alx 遺伝子に関して、ChR2, NpHR を発現するトランスジェニックフィッシュ

の作製を進めた。それと同時並行して、光刺激顕微鏡装置の開発を進めた。具体的には、デジタルマイクロミラーデバイス(DMD)を試料面と共役の位置に配置し、DMD をコンピューターによりコントロールすることで、任意の領域に任意の時間間隔で光刺激を行うことが出来るシステムを立ち上げた。また、顕微鏡下部を改造して対物レンズを取り付け、幼魚の行動の全体をハイスピードカメラでモニターできるようにした。組あがったシステムを用いて、alx 陽性細胞の運動系神経回路における機能を、光遺伝学によって解析している。

統合生理研究系

感覚運動調節研究部門

【概要】

2009 年には、かなり大きな人事異動があった。中田大貴君が早稲田大学に、坂本貴和子さんが日本大学に各々移動しました。また、平井真洋君がカナダのクイーンズ大学に、望月秀紀君がドイツのハイデルベルグ大学に留学した。新しい研究室での活躍を祈っている。逆に、4 月より、守田知代さんが特任助教、仲渡江美さんと松吉大輔君がポスドクとして新しく赴任してきた。さらに、大学院生 5 名が学位論文をまとめて、2010 年 3 月に卒業予定である。長年、共に研究してきた仲間が離れていくことには一抹の寂しさを感じるが、研究者の流動性は、研究室の activity を維持するのに必須であることも事実である。

2009 年も他施設との共同研究が順調に進んでいる。国内では中央大学文学部 (山口教授)、日本大学脳外科 (片山教授、山本教授)、大阪大学脳外科 (齋藤准教授)、三重大学精神科 (元村英史先生)、広島大学保健学科 (弓削類教授)、群馬大学保健学科 (酒井教授) また国外では、米国 NIH (Prof. Hallett)、米国カリフォルニア工科大学 (Prof. Shimojo)、カナダ Rotmann Institute (Prof. Ross)、イタリア Chieti 大学 (Prof. Romani)、ドイツ Munster 大学 (Prof. Pantev)、ドイツ Haiderberg 大学 (Prof. Treede) との

共同研究を行っている。

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

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

乳児における正面顔と横顔の認識の発達—近赤外線分光法(NIRS)による研究—

仲渡江美、大塚由美子、金沢 創 (日本女子大学)

山口真美 (中央大学)、渡邊昌子、柿木隆介

正面顔と横顔を見ている時の生後 5 ヶ月児と 8 ヶ月児の脳血流量を、近赤外線分光法(Near-Infrared Spectroscopy ; NIRS)を用いて計測した。乳児に、野菜の写真を 10 秒以上見せた後、5 名の女性の正面顔、または横顔の写真を 5 秒間ずつ提示し、それぞれ野菜を見た時と、顔写真を見た時のヘモグロビン量の差について分析した。その結果、正面顔に対しては、5 ヶ月児も 8 ヶ月児も、顔認識に重要な役割を果たす右側頭部位でヘモグロビンの変化量が

増加した。一方で、横顔に対しては、8 ヶ月児でのみヘモグロビンの変化量が増加した。この結果は、5 ヶ月児は正面顔だけを「顔」とし、横顔を「顔」として見ていない可能性がある一方で、8 ヶ月児は、正面顔も横顔も「顔」として見ている可能性を示すものであった。つまり、「横顔」を「顔」として判断するには、生後 5 ヶ月から 8 ヶ月にかけて発達的な変化が起こる可能性が考えられた。(Human Brain Mapping, 30(2):462-472, 2009)

咀嚼がヒト認知処理過程に及ぼす影響：事象関連電位を用いた検討

坂本貴和子，中田大貴（名古屋大学医学部保健学科），柿木隆介

よく噛むと頭がよくなる，という指摘を，誰しもが一度は受けたことがあると思う。日本咀嚼学会では，咀嚼によってリラックス，ストレス軽減，記憶力向上，ダイエット等，様々な効果が得られるとしているが，これまでの先行研究では咀嚼中の脳活動を記録したものはあるものの，咀嚼によって脳活動がどう変化するかを検討したものは殆どなかった。そこで今回我々は，聴覚を用いたオドボール課題中の P300 と，逸脱刺激が提示された際のボタン押しによる反応時間を同時に計測するタス

クを 1 つのタスクとし，合計 4 タスクの計測を行った。この際タスクとタスクの間に休憩を 5 分間はさみ，この間①安静，②ガム噛み，③指タッピング，④顎運動，の 4 つの手法で，それぞれ休憩を行ってもらった。結果，休憩中にガムを噛ませた場合のみ，P300 の潜時が早くなり，振幅は維持された。また反応時間の短縮が認められた。以上より，咀嚼動作には，覚醒やモチベーションの維持等，何らかの効果があることが示唆された。(Clinical Neurophysiology, 120(1):41-50, 2009)

ランダムドットブリンキングを用いた顔認知に関連する誘発脳波

三木研作，渡邊昌子，竹島康行，照屋美加，本多結城子，柿木隆介

初期視覚野の活動を抑えるランダムドットブリンキング(RDB)を用い，顔認知過程を反映する誘発脳波を調べた。以下の視覚刺激を用いた。(1)Upright：輪郭，目，口からなる模式的な正立顔。(2)Inverted：Upright 条件を逆にしたもの。正立顔としての全体性は失われているが，空間的配置は Upright と同じ。(3)Scrambled：Upright や Inverted と構成要素は同じだが，内部構造の空間的配置自体が異なる。左右側頭部の T5，T6 電極で，頂点潜時が刺激提示後 250 ミリ秒の陰性波 (N-ERP250) が各条件

でみられた。N-ERP250 の頂点潜時は，Inverted と Scrambled 条件で，Upright に比べ有意に延長していた。また最大振幅に関しては，条件間に有意な差はみられなかった。この結果より，正立顔を構成する要素が失われていくことで，顔認知過程において，正立顔では起こらない顔の部分の分析的情報処理が行われていることが示唆された。(Experimental Brain Research, 193(2):255-265, 2009)

ウィリアムズ症候群におけるバイオロジカルモーション知覚処理：脳磁場計測による検討

平井真洋，中村みほ（愛知県心身障害者コロニー），金桶吉起，柿木隆介

ウィリアムズ症候群は希少遺伝子病であり重度の空間認知障害があることが知られている。特に情報の統合に障害があることが報告されているため，各光点運動を統合してヒト運動として知覚することが必要なバイオロジカルモーション（以下，BM）知覚処理には困難が伴うと考えられてきたが，数例の行動研究により BM 知覚処理は異常が見られないとの報告がされている。しかしながら，ウィリアムズ症候群の患者に関して，BM 刺激に

対する神経活動に関してこれまで明らかにされてこなかった。本研究では脳磁図計(MEG)を用いてウィリアムズ症候群成人の BM 刺激に対する脳磁場反応を計測した。結果，ウィリアムズ症候群成人における脳磁場反応の最大振幅と潜時は正常な成人の平均値の 2 標準偏差以内に入った。これらの結果は，これまでの行動実験による研究と矛盾せず，神経活動においても障害が無い可能性が示唆された。(Neuroreport, 20(3):267-272, 2009)

ヒトの体性感覚 OFF 反応

山代幸哉, 乾 幸二, 大鶴直史, 木田哲夫, 柿木隆介

ヒトや動物は生存のために、身の周りに起こる変化を瞬時に検出する皮質ネットワークを備えていると推察される。変化検出の皮質ネットワークが存在するならば、文字通りの刺激の変化のみならず、刺激の呈示(ON)や刺激の消失(OFF)に対しても脳活動が記録されるはずである。本研究では、変化検出に関わる脳活動を記録するために数秒間持続するトレイン電気刺激のONとOFFを用いて実験を行った。結果、ON・OFF 刺激に共通して刺

激後 100-150ms 付近に陽性と陰性の脳活動(P100・N140)が記録された。脳が変化を検出するためには比較のための前事象が必要不可欠であり、ON 反応の場合は無刺激状態、OFF 反応の場合はトレイン刺激が前事象となり P100・N140 が誘発されたと考えられる。よって、これらの活動は短期記憶によって保持された変化前の事象と最新の事象との比較により誘発される変化検出反応であると示唆された。(Neuroimage, 44(4):1363-1368, 2009)

随意運動開始前における痛覚－運動統合処理過程

中田大貴 (早稲田大学スポーツ科学学術院), 坂本貴和子, 本多結城子
望月秀紀 (ハイデルベルグ大学), 寶珠山稔 (名古屋大学医学部保健学科), 柿木隆介

これまで我々は随意運動中の痛覚－運動統合処理過程について、脳磁図(MEG)と脳波(EEG)を用いて検討してきたが、本研究では随意運動前における痛覚－運動統合処理過程を検討した。聴覚刺激の2～3秒後に、YAG レーザーによる痛覚刺激を各被験者の左手の甲に与え、3つの実験課題を行った。①安静課題では何もしない(コントロール), ②動作課題では痛覚刺激後にできるだけ早く左手の第Ⅱ指を挙げる, ③計数課題では痛覚刺激の回数を数える, という課題を行なった。各課題 50 試行行い, 計 150 試行を計測した。その結果, 動作課題においては, 脳波における N2 成分の振幅と, 前帯状回 (ACC) に関す

る脳磁場強度が有意に減少したが, 計数課題ではそのような変動は見られなかった。追加実験として, 同様に①安静課題(コントロール), ②痛覚刺激後にできるだけ早く右手の第Ⅱ指を挙げる, ③痛覚刺激後にできるだけ早く左足の甲を挙げる課題を行った。その結果, 脳波の N2 成分の振幅の変動は見られなかった。本研究の結果は, 随意運動前の痛覚－運動統合処理過程において, 刺激部位と動作部位が一致する場合に, 前帯状回の脳活動が随意運動によって抑制を受けることを示唆した。(Neuroimage, 45, 129-142, 2009)

Focal hand dystonia における感覚皮質可塑性の障害

田村洋平 (東京慈恵会医科大学神経内科)
植木美乃, Peter Lin, Sherry Vorbach, Mark Hallett (米国立神経疾患・卒中研究所運動制御部門)
美馬達哉 (京都大学脳機能総合研究センター), 柿木隆介

Focal hand dystonia(FHD)における感覚皮質可塑性について検証した。対象は FHD 患者 10 名 (右利き, 患側は右側), 健常人 10 名 (右利き)。左第一次感覚皮質磁気刺激と右正中神経電気刺激を組み合わせた Paired -

associative stimulation(PAS)により感覚皮質可塑性を誘導した。0.1Hz で計 180 ペア施行した。PAS 施行前後で右正中神経刺激 SEP 計測を単発刺激, 二重刺激で行い, 興奮および抑制機能を検討した。FHD 患者では PAS 施行

後のSEP皮質成分の振幅増大の程度が健常人に比較して大きかった。またFHD患者において二重刺激で抑制の障害を認めたが、PASによって抑制が増強された。FHDで

は運動皮質と同様に感覚皮質においてもPASにより誘導される可塑性の変化が認められ。これは興奮と抑制の両側面において認められた。(Brain, 132(Pt 3): 749-755, 2009)

2 通りに見えるあいまいな視覚情報が惹起する明瞭な知覚はどのように保持されるか？

金桶吉起, 浦川智和, 平井真洋, 柿木隆介, 村上郁也 (東京大学大学院総合文化研究科)

2通りの運動知覚(上下または左右)が交代して起こる視覚刺激(仮現運動)をもちいて、その知覚が維持されるメカニズムを調べた。視覚刺激は1秒に4回の早さで与え続けると、250msごとにその刺激に対する反応が脳磁図(MEG)で記録される。刺激はまったく同じにも関わらず、被験者が上下の運動を知覚しているときの反応と左右の運動を知覚しているときの反応を比べると潜時160ms付近で明瞭な振幅の差が見られた。さらに驚くべきことは、刺激を物理的に変えて強制的に上下や左右の運動しか見えない刺激を与えて反応を記録しても、知覚も刺激も違うにもかかわらず反応には明瞭な差はみられなかった。よって、あいまいな刺激のみに反応が変化し

たことは方向選択性ニューロンの特性などでは説明できず、あいまい刺激から明瞭な知覚を得るときのみに起こる神経活動が存在し、それは初期視覚野にあることを示す。さらにその神経活動は、刺激を受けてから惹起されるわけではない。数十秒も同じ知覚が持続することは、視覚野のその刺激に対する反応特性がその間維持されていることを示す。つまり、250msごとに繰り返される刺激にどう反応するかあらかじめ決定されているのである。これは視覚野 neural network のシナプス特性に反応特性が刻み込まれていることを示唆する。(Neuroscience, 159(1):150-160, 2009)

視覚的回旋刺激を用いた際の聴覚誘発脳磁場への影響

三木研作, 木田哲夫, 田中絵実, 永田 治, 柿木隆介

視覚的回旋刺激を提示した際の聴覚誘発脳磁場について検討した。視覚刺激として、国際宇宙ステーション「きぼう」船内のバーチャルリアリティ画像を用いて、以下の条件を提示した。(1)RR:被験者が画像の真ん中を中心回旋しているように感じる。(2)VR:被験者が垂直方向に回旋しているように感じる。(3)HR:被験者が水平方向に回旋しているように感じる。(4)ST:画像自体は回旋しない。視覚刺激提示後10秒後に視覚刺激を提示したまま1000Hzの純音を提示し、聴覚誘発脳磁場を計測し

た。聴覚刺激提示後90ミリ秒後に明瞭な誘発脳磁場が認められ、Heschl's gyrus付近に活動源が推定された。活動の大きさ(最大値)においては、右半球ではST条件に比べ、RR条件とVR条件で有意に大きくなっていた。この結果より、視覚情報が直接的もしくは前庭系などを介して、間接的に聴覚野の活動へ影響を及ぼした可能性が示唆された。(Experimental Brain Research, 194(4):597-604, 2009)

視覚性運動情報が方向と速度の 2 つに分けて処理されている生理学的証拠

金桶吉起, 浦川智和, 柿木隆介

物体の運動はその速度と方向で現されるベクトルであるが、視覚的に物体の運動を認識する際の脳の処理過程では、局所で検出された運動の速度と方向がそれぞれ独立した神経系で処理されている可能性が指摘されている。今回の実験では、それを検証するためにヒトが運動を観察したときに生じる脳反応を脳磁場にて計測した。脳反応は、運動の速度や方向によってその特性が変化した。反応の潜時（運動が始まってから反応が起きるまでの時間）は、運動速度が速くなるほど短くなり、方向には依存しなかった。一方反応の波形は、方向によって有意に変化し、その変化は速度には依存しなかった。この結果はヒトの脳反応は速度と方向でそれぞれ独立に変化する

ことを示し、脳内で速度と方向が別々の神経機構で処理されていることを支持している。

自然界の複雑な運動を検出するための神経機構の探求は、これまで運動ベクトルを処理するとして多くの研究がなされてきた。しかしそれらにはいずれも解決されない重大な問題があった。運動ベクトルがいったん 2 つのスカラーとして処理されるとすると多くの問題がたやすく解決する可能性があり、脳の情報処理過程の真の姿にせまることができるかもしれない。またそのような処理方法は種々の画像処理に応用でき、画期的な技術開発につながる可能性がある。(Neuroscience, 160(3):676-687, 2009)

バイオリジカルモーション知覚処理の発達の変化：事象関連電位計測による検討

平井真洋, 渡邊昌子, 本多結城子, 柿木隆介

バイオリジカルモーション（以下、BM）刺激に対する神経活動の学童期における発達の変化を明らかにするため、7 歳から 14 歳までの児童 50 名と成人 10 名を対象に事象関連電位(ERP) 計測をした。実験にはヒトの歩行運動が知覚可能な BM 刺激と光点の空間位置をランダム化した scrambled motion (SM) 刺激の 2 種類の刺激を提示した。結果、刺激提示後 130, 200, 330 ミリ秒後にみられる 3 つの成分(P1, N1, N2) を両側後側頭部で計測した。P1 成分は BM のほうが SM よりも短く、また P1 成分の

振幅および N1 成分の潜時は年齢とともに線形に減少した。しかしながら N2 成分については発達に伴う変化はみられなかった。更に P1 と N1 成分の振幅の差分および N1 成分の潜時は 10 歳まで成人よりも有意に増大が認められたが、11 歳では有意差は認められなかった。これらの結果は BM 刺激に対する後側頭部における神経活動が 10 歳まで変化する可能性を示唆する。(Neuroscience 161(1):311-325, 2009)

咀嚼がヒトの運動準備過程に及ぼす影響：CNV, MRCP を用いた検討

坂本貴和子

中田大貴（名古屋大学医学部保健学科）、本多結城子、柿木隆介

本研究は、前述の事象関連電位を用いた検討にて、咀嚼には何らかの効果があるということが示唆されたことから、咀嚼の効果がヒトの認知処理過程にあるのか、それとも運動そのものにあるのかを明確にすることを目的

として行われた。実験は聴覚刺激を用いた随伴性陰性変動(Contingent Negative Variation: CNV)と、運動関連脳電位(Movement-Related Cortical Potential)を計測した。タスクはそれぞれ計 4 タスクずつ行い、前述の事象関連電位

の実験と同様、タスク間には5分間の休憩を挟んだ。休憩中は①ガムを噛む場合と、②安静にする場合の、それぞれ2パターンの休憩を行ってもらった。結果、タスク間にガムを噛んだ場合のみ、CNVの振幅が有意に増大したが、タスク間に安静を保った場合には変化が認められなかった。またMRCP課題を行った際は、休憩中にガム

を噛んだ場合も安静を保った場合も、どちらも振幅に有意な違いは認められなかった。この結果より刺激始動性の運動準備過程を反映しているCNVでのみガム噛みの効果が得られたことから、ガム噛みは刺激を認知・処理する過程へ効果をもたらすことが示唆された。
(Neuroscience Research, 64(3):259-266, 2009)

顔の出現、消失、変化により誘発される共通皮質活動

田中絵実, 乾 幸二, 木田哲夫, 柿木隆介

顔を見たときの皮質活動の時空間動態に含まれる様々な成分のうち、輝度関連、顔関連、感覚非特異的成分を抽出するために、我々は脳磁図により顔刺激の出現、消失、変化に対する皮質応答を計測した。その結果、一次・二次視覚野(V1/V2)の応答は輝度に依存する応答を示した。中後頭回(Middle Occipital Gyrus: MOG)と側頭頭頂接合部(Temporo-Parietal Junction: TPJ)は、三種の顔刺激すべてに150msで応答した。紡錘状回(fusiform gyrus: FG)

の応答は、顔の出現と変化に対して認められたが、消失では認められなかった。FGの応答は三相性の応答を示し、皮質直接記録と一致する結果であった。以上より、顔を見たときに誘発される皮質活動には、輝度関連活動(V1/V2)、物体(顔)認知関連活動(FG)、非特異的活動(MOG, TPJ)の少なくとも四つの成分が含まれていることが明らかとなった。
(BMC Neuroscience, 10(1):38, 2009)

2 エージェントの相互作用するバイオリジカルモーションに対する神経活動

平井真洋, 柿木隆介

これまでの行動実験により、2 エージェントの相互作用するバイオリジカルモーションはそうでない刺激に比べて検出成績が高いとの報告があるが、いつ、どのように2 エージェントの相互作用に関する情報が脳内において表象されるかについては不明であった。本研究では、相互作用するバイオリジカルモーションと2 エージェントの位置を入れ替えた刺激を用い、その提示方向を操作

し、それらの刺激に対する神経活動を調べた。結果、刺激提示後300-400ミリ秒において両側後頭部において脳磁場反応が見られ、その活動は相互作用、提示方向の要因によって変調された。特に左半球は2 エージェントの相互作用に関する情報を、右半球はエージェントの形態情報に関する情報を処理する可能性が示唆された。
(BMC Neurosci10(1):39, 2009)

ヒトの自動的聴覚 OFF 反応

山代幸哉, 乾 幸二, 大鶴直史, 木田哲夫, 柿木隆介

ヒトや動物は生存のために、身の周りに起こる変化を瞬時に検出する皮質ネットワークを備えていると推察される。変化検出の皮質ネットワークが存在するならば、

文字通りの刺激の変化のみならず、刺激の呈示(ON)や刺激の消失(OFF)に対しても脳活動が記録されるはずである。本研究では、変化検出に関わる聴覚誘発電位を同定

するために、1000Hz 純音と2種類のトレイン (ISI:50, 100ms) によって構成される持続音 (3~5s) のONとOFFを刺激として用いた。結果、ON・OFF刺激に共通するN1mが誘発された。脳が変化を検出するためには比較のための前事象が必要不可欠であり、ON反応の場合は無音状態、OFF反応の場合は持続音刺激が前事象となり

N1mが誘発されたと考えられる。本研究は、N1mが短期記憶によって保持された変化前の事象と最新の事象との比較により誘発される変化検出反応であることを明らかにした。(European Journal of Neuroscience, 30(1):125-131, 2009)

痛覚刺激 Go/No-go 課題における事象関連電位

中田大貴 (早稲田大学スポーツ科学学術院)

坂本貴和子, 乾 幸二, 寶珠山稔 (名古屋大学医学部保健学科), 柿木隆介

No-go 電位は Go/No-go 課題を行なった際、No-go 試行に特異的に誘発され、反応抑制に関与した電位であるとされている。これまで視覚・聴覚刺激を中心とした研究がなされてきたが、この電位が真に反応抑制を反映しているのであれば、刺激のモダリティには依存しないであろうと考えられる。我々の先行研究では、体性感覚刺激を用いた Go/No-go 課題を行ない、視覚・聴覚刺激と同様の No-go 電位を計測することができた。本研究ではさらに、痛覚刺激による Go/No-go 課題を用いて No-go 電位が計測されるのかを確かめた。痛覚刺激は表皮内電気刺激法を用い、左手の甲の内側を Go 刺激、外側を No-go 刺激とし、呈示確率を 50% : 50%にした。実験条

件は①安静課題、②Go/No-go 課題、③選択反応課題を行なった。Go/No-go 課題では Go 刺激時に右手のボタン押しを行なった。選択反応課題では、内側が刺激された場合は#1のボタン、外側が刺激された場合には#2のボタンを押す課題を行った。その結果、Go/No-go 課題での N2, P3 成分の振幅は、No-go 刺激時に Go 刺激時よりも有意に増大した。安静課題、選択反応課題において、有意な振幅の違いは認められなかった。痛覚刺激 Go/No-go 課題時においても、No-go 試行時に特異的な電位が誘発されることが示唆され、No-go 電位は刺激のモダリティには関係なく、共通した神経活動を反映していると考えられた。(Neuroreport, 20, 1149-1154, 2009)

多種感覚環境における変化駆動型皮質活動：脳磁図研究

田中絵実, 木田哲夫, 乾 幸二, 柿木隆介

人間をはじめとする霊長類にとって多種感覚環境において動的変化を素早く検出する能力は、危険な事象を察知し、生存を勝ち取るために不可欠である。これまでの研究で視覚、聴覚、触覚刺激によって多種感覚領域が活動することが示されてきた。本研究では、脳磁場計測により、視覚、聴覚、体性感覚刺激を用いた多種感覚環境において、単一感覚種の入力変化に応答する時变的皮質活動を検証した。その結果、側頭頭頂接合部 (Temporo-Parietal Junction: TPJ)、中・下前頭皮質 (Middle

and Inferior Frontal Gyrus: MFG/IFG) などの多種感覚領域において、どの感覚種の入力変化によっても駆動される皮質応答が記録された。これらの多種感覚応答は、個々の感覚領域における応答に後続して記録され、いずれも変化後 300ms 以内にあった。以上より、多種感覚環境において単一感覚種入力の変化に応答する神経過程は、初期の感覚領野から後期の多種感覚領野にまで異なる時間動態で分布することが明らかとなった。(Neuroimage, 48(2):464-474, 2009)

体性感覚刺激 Go/No-go 課題における Negative BOLD 効果

中田大貴（早稲田大学スポーツ科学学術院），坂本貴和子

Ferretti A, Perrucci MG, Del Gratta C, Romani GL（キエーティダヌンチオ大学生体応用工学部）

柿木隆介

不適切な行動を抑制することは、ヒトにおいて不可欠な能力であるが、この抑制過程に関わる脳部位については、まだ詳細に明らかにされていない。本研究では、事象関連型 fMRI を用い、体性感覚刺激 Go/No-go 課題における No-go 試行時の脳活動部位について、その血流が下がる Negative BOLD 効果を検討した。被験者は健康成人 15 名。課題は、Go 刺激が呈示された際にボタン押しを行なう①動作課題、Go 刺激の数を数える②計数課題を行なった。Go 刺激（左手正中神経）ならびに No-go 刺激

（左手尺骨神経）は 50% : 50% で、呈示された。その結果、2 つの課題において、No-go 刺激時に上前頭回 (SFG)（ブロードマン 8 野）の脳活動の血流が下がることがわかった。この脳部位は「ボタン押しをしない」「数を数えない」といった際に、共通して脳血流が下がる部位であることを示した。その詳細な機序については不明であるが、No-go 刺激時に血流が増加する背外側前頭前野 (DLPFC)、腹外側前頭前野 (VLPFC) の部位と関係があると推察される。(Neuroscience Letters, 462, 101-104, 2009)

ウィリアムズ症候群における視空間認知と漢字模写の縦断的発達

中村みほ，道勇さゆり（愛知県心身障害者コロニー・発達障害研究所）

水野誠司（愛知県心身障害者コロニー・中央病院）

松本昭子，熊谷俊幸（愛知県心身障害者コロニー・こぼと学園）

渡邊昌子，柿木隆介

ウィリアムズ症候群 (WS) は認知のばらつきが大きいことで知られている，図形の構成の障害をはじめとする視空間認知障害は中でも特徴的な所見とされており，本邦においては漢字模写にも影響をあたえることがある。

これまでの WS 研究はこれらの認知特性を横断的に検討することが多かったが，本検討においては長期にわたる研究協力の得られた被験者らを対象として視空間認知症状について縦断的な検討を実施しえた。

初診時 4 歳から 11 歳の WS 男児 4 名について，2 次元図形，3 次元図形，漢字の模写をはじめとする視空間認知課題を実施し，その縦断的な変化を検討した。また，経過観察最終時点で Benton 3D block construction tests や the Yerkes test を実施した。従来，ウィリアムズ症候群においては 2 次元図形の模写において，細かい構成要素の模

写は可能であるが，それらを適正に配置して大まかな形を形成することが苦手である (local processing bias) という所見が示されていたが，同様の所見を全例において経過観察の比較的初期に認めた。また，同時期に漢字模写に困難を示した。

しかしながら，上記所見は一過性であることが多く，3 名ではその所見に改善を認めた。

また，3 次元図形の模写については改善がおくれ，特に立方体透視図の模写は全例で困難なままであった。Yerkes test において，ブロックで作られた立体図形の奥に隠れた部分を推定することが困難であった所見と合わせ，WS において，長期的に存続する特徴的な認知特性を反映する所見と考えられた。(Pediatric Neurology, 41(2):95-100, 2009)

痒みに関係する脳部位の神経活動経時変化：脳磁図・機能的 MRI 研究

望月秀紀, 乾 幸二, 大鶴直史, 山代幸哉
田邊宏樹, 佐々木章宏, 定藤規弘 (生理学研究所大脳皮質機能研究系)
秋山理沙 (ワシントン大学心理・生物学部)
中田大貴 (名古屋大学医学部保健学科)
柿木隆介

痒みは掻きむしりたくなる不快な体性感覚である。これまでの痒みの脳機能画像研究から、前頭前野、体性感覚野、帯状回、島、頭頂葉、運動関連領域、線条体、小脳などが痒み刺激によって活動することが明らかとなった。しかしながら、これら脳部位が、どのような機能的つながりをもっているのか、すなわち、脳部位間の情報伝達については検討されていない。そこで我々は、高時間分解能を有する脳磁図と高空間分解能を有する機能的 MRI を組み合わせることにより、痒みの脳内情報伝達過程を可視化することを試みた。痒み電極を用いて痒みを

誘発したときの脳磁場反応は、主に、両側第二次体性感覚野(SII)/島と楔前部の神経活動に起因することが、脳磁図データと fMRI データの解析から明らかとなった。痛みの先行研究では痛み刺激に伴う楔前部の反応があまり観測されていないことから、この部位が痒みに選択性をもつことが示唆された。また、時間情報に注目した脳磁図データの解析から、脳梁を介した刺激対側 SII/島から刺激同側 SII/島への情報伝達経路が明らかとなった。
(Journal of Neurophysiology, 102(5):2657-2666, 2009)

舌運動中の Negative BOLD 効果：fMRI を用いた検討

坂本貴和子
中田大貴 (名古屋大学医学部保健学科)
Perrucci MG, Del Gratta C, Romani GL (キエーティ・ダヌンチオ大学生体応用工学部), 柿木隆介

本研究では、何らかの作業中に脳血流が増加する一般的な BOLD 効果ではなく、作業中に脳血流が減少する領域を検索した (Negative BOLD 効果)。通常手や足の運動を行った場合、対側の一次運動野等において血流の増加が認められるが、反対に同側の運動野にて血流の現象がみられることが知られている。では運動時に両側の運動野が活動する舌を運動させた際には、どの領域で血流の現象が認められるのか、それを調べるため実験を行った。fMRI の中で視覚刺激を提示し、緑ランプが点灯するタイミングに合わせて舌の前突運動を遂行してもらった。結

果として、一次運動一側性感覚両野、下頭頂小葉、島皮質、上側頭回、視床などにおいて脳血流の増加が認められたが、反対に後頭頂葉 (PPC)、楔前部、中側頭回において血流の現象が認められた。今回の実験では、手や足を両側同時に動作させた際の Negative BOLD 効果については検討していないため、考察を深めることはできないものの、明瞭な血流現象がみられた後頭頂葉や楔前部には、舌の運動に関連した神経ネットワークが存在することを反映しているのではないかと考えられる。
(Neuroscience Letter, 466(3): 120-123, 2009)

表皮内電気刺激による C 線維の選択的刺激

大鶴直史, 乾 幸二, 山代幸哉, 宮崎貴浩, 大澤一郎 (三重大学医学部), 竹島康行, 柿木隆介

従来の電気刺激では細径の C 線維のみを選択的に刺激することは困難であり, 細径神経機能を選択的に評価する方法は確立されていない。そこで本研究では, 我々の研究室で開発した表皮内針電極を用い, 特殊なパラメーターを用いることにより C 線維を選択的刺激が可能であるかを調べた。健常被験者 10 名から, 特殊な電気刺激パラメーターを用いた表皮内電気刺激による誘発電位を脳波計を用い Cz より記録した。2 箇所 (手背, 前腕) の刺

激により記録した誘発反応 (P1) 潜時の差から伝導速度を求めた。結果, 手背と前腕の刺激による平均 P1 潜時は各々, $1007 \pm 88\text{ms}$, $783 \pm 80\text{ms}$ であり, 2 箇所の P1 潜時差から求めた平均伝導速度は $1.5 \pm 0.7\text{m/s}$ であった。

得られた伝導速度は, マイクロニューログラフイーやレーザー刺激において報告されている C 線維の伝導速度と一致し, C 線維を選択的に刺激していることが示唆された。(The Open Pain Journal, (2):53-56 (4), 2009)

喫煙は C 線維を介する痛覚関連電位を促進する

宮崎貴浩, 王 曉宏, 乾 幸二, Domino EF (ミシガン大学薬学部), 柿木隆介

本研究は C 線維を介する痛覚認知に喫煙およびニコチンが与える影響を評価するため, レーザーによる C 線維の選択的刺激と痛覚関連電位を用いて検討した。実験は喫煙, 非喫煙の 2 条件で行った。喫煙条件では被験者はニコチン 1mg を含有するタバコを一本喫煙し, その前と 5, 20, 35 および 60 分後に痛覚関連電位を測定した。非喫煙条件では, 喫煙をしないことを除いて同様の方法で測定を行った。痛覚関連電位の主要な成分である N2, P2 成分の振幅には, 血漿中ニコチン濃度に相関した増加が認

められた。また N2, P2 成分の振幅は背景 α 帯域活動の周波数とも正に相関していた。本実験の結果は喫煙・ニコチンによる覚醒度の亢進が痛覚関連電位の振幅を増加させることを示唆するものと考えられる。この結果は A δ 線維に関して行った実験とは逆の結果であり, 喫煙・ニコチンが A δ 線維と C 線維を介する痛覚認知において異なる作用を示す可能性を示唆された。(The Open Pain Journal (2):71-75 (4), 2009)

生体システム研究部門

【概要】

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

療法を探ることを目的としている。

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

運動課題遂行中のマカクサル視床下核の活動様式

畑中伸彦, 高良沙幸, 金子将也, 橘 吉寿, 南部 篤

大脳基底核は大脳皮質－基底核連関の一部として、運動の遂行、企画、運動のイメージ、習慣形成などに関わるとされている。大脳基底核の入力核のひとつである視床下核は大脳皮質からの興奮性入力を受け、淡蒼球内節・外節と黒質網様部に興奮性の出力を送る（ハイパー直接路）。また視床下核は淡蒼球外節からの抑制性入力（間接路）を受けており、大脳基底核の出力核である淡蒼球内節および黒質網様部に時間的に差のある2種類の出力を送ることになる。このように、視床下核は大脳基底核の入力核でもあり、介在部でもある複雑な働きをして

いると考えられる。われわれはサル視床下核ニューロンを、大脳皮質一次運動野上肢近位領域および遠位領域、補足運動野上肢領域に対する刺激への応答様式から分類し、その後、遅延期間付き3方向への上肢到達運動課題を課し、そのニューロンの実行中の活動様式を記録した。さらに、単一ニューロン活動記録と薬物の微量注入を併用し、視床下核ニューロンへの興奮性・抑制性入力をブロックした場合の運動課題実行中の活動様式を観察し、興奮性・抑制性の入力がどのように影響を与えているかを検討している。

大脳基底核出力核における興奮性・抑制性の活動調節

金子将也, 畑中伸彦, 南部 篤

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

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

大脳基底核内情報伝達におけるドーパミン D1 および D2 受容体の機能

知見聡美, 太田 力, 佐藤朝子, 笹岡俊邦, 勝木元也（基礎生物学研究所）

黒川 信（首都大学東京）、南部 篤

大脳基底核は運動制御の高次中枢である。大脳基底核内のドーパミンが枯渇すると、パーキンソン病でみられるような重篤な運動障害を生じることから、ドーパミン神経伝達が運動制御において重要であることが知られているが、機能の詳細については不明な部分が多い。本研究では、大脳基底核内情報伝達におけるドーパミン D1 および D2 受容体の機能を明らかにすることを目的として、Dox 投与により D1 受容体の発現を調節できる遺伝子改変マ

ウス、D2 受容体のノックアウトマウスにおいて、大脳基底核の神経活動を覚醒下で記録した。淡蒼球内節および外節ニューロンの自発発火様式と、大脳皮質の電気刺激に対する応答様式の解析から、D1 受容体を介したドーパミン神経伝達は、線条体から淡蒼球内節に投射する直接路ニューロンに対して興奮性に働くのに対して、D2 受容体を介した伝達は、線条体から淡蒼球外節に投射する間接路ニューロンに対して抑制性に働くことが示唆された。

線条体ドーパミン D2 受容体発現細胞の運動調節機構

佐野裕美, 知見聡美, 小林和人 (福島医大), 南部 篤

線条体の投射ニューロンは、ドーパミン D1 受容体を発現し黒質網様部/淡蒼球内節に投射する線条体-黒質投射ニューロンと、ドーパミン D2 受容体を発現し淡蒼球外節に投射する線条体-淡蒼球投射ニューロンに分類される。イムノトキシン細胞標的法という遺伝子組換えマウスを利用したこれまでの解析から、線条体-淡蒼球投射ニューロンを除去すると運動量が増加することが明らかとなっている。しかし、線条体-淡蒼球投射ニューロンの除去により、どのように神経活動が変化して運動が増加したのかについては解明されていない。線条体-淡蒼球投射ニューロンが制御する神経活動と運動調節との関係を明らかにするため、線条体-淡蒼球投射ニュー

ロンを除去したマウスの淡蒼球外節と黒質網様部の神経活動を覚醒下で記録した。その結果、線条体-淡蒼球投射ニューロンの除去は淡蒼球外節や黒質網様部の発火頻度や発火パターンに影響を与えないことが明らかとなった。しかし、大脳皮質運動野の電気刺激に対して淡蒼球外節や黒質網様部で認められる早い興奮-抑制-遅い興奮という三相性の応答のうち、淡蒼球外節では抑制と遅い興奮が、黒質網様部では遅い興奮が消失する傾向が認められた。これらの結果から、大脳基底核の出力核である黒質網様部における遅い興奮の消失が運動量の増加に関与していることが示唆された。

光遺伝学を利用した大脳基底核神経回路の調節機構の解析

佐野裕美, 知見聡美, 加藤茂樹 (福島医大), 小林憲太 (福島医大), 小林和人 (福島医大), 南部 篤

Channelrhodopsin-2 (ChR2) や halorhodopsin (NpHR) 等の光受容体を利用した光遺伝学は、光照射により時間分解能良く神経活動の興奮や抑制を誘導することができるため、神経回路の情報処理機構を解明するための強力なツールである。光遺伝学を有効に活用するためには、複雑な神経回路において標的とする神経経路特異的に光受容体を導入する必要がある。新規に開発された狂犬病の糖タンパクを持つレンチウイルスベクターは注入部位から逆行性に遺伝子導入が可能であり、複雑な神経回路において標的の神経経路に遺伝子導入するための優れた手

段である。そこで、ChR2 の cDNA を組み込んだ狂犬病の糖タンパクを持つレンチウイルスベクターを作製し、マウスの線条体に注入した。その結果、大脳皮質、視床束傍核、黒質緻密部など線条体へ入力することがよく知られている領域において ChR2 の発現が認められた。さらに、大脳皮質において光照射と神経活動の記録を同時に行ったところ、光照射に応答して興奮の誘導が認められた。この結果は、大脳皮質-線条体経路を選択的に興奮誘導することができたことを示唆している。

大脳皮質から入力を受ける線条体介在ニューロンの運動関連活動

高良沙幸, 畑中伸彦, 南部 篤

線条体は大脳皮質運動野に生じた運動情報を受け取る大脳基底核の入力核のひとつで、GABA 作動性の投射ニューロンと少数であるが数種類の介在ニューロンから成り立つ。介在ニューロンは投射ニューロンの活動に大き

な影響を与えていると考えられているが、実際の運動中にどのような役割を担っているのかは、未解明である。線条体ニューロンのうち、1) 自発発射頻度が高く、2) スパイクの持続時間が短く、3) 大脳皮質刺激に対し短潜時で応

答するニューロングループがあり、これらはパルブアルブミン陽性 GABA 作動性の介在ニューロンと考えられる。サルに上肢到達運動課題を遂行させ、このニューロンの活動を調べた。その結果、運動時に発射活動が増加

し、その活動は到達運動の方向には依存しないことがわかった。このことは、この介在ニューロンが運動に際し、広く周囲の投射ニューロンを抑制している可能性を示唆する。

大脳皮質機能研究系

脳形態解析研究部門

【概要】

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

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

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

シナプスを取り巻く微細構造空間のシナプス伝達特性への影響

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

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

中枢神経系における主要な興奮性信号伝達機構として

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

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

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

小脳運動学習の記憶痕跡

王 文, Wajeeha Aziz, 足澤悦子, 深澤有吾, 重本隆一

ある種の運動の学習が行われる過程では、小脳における平行線維—プルキンエ細胞シナプスの長期抑圧現象が関与することが知られている。しかし、実際に学習した動物において、シナプスに存在する AMPA 受容体数やシナプスの構造にどのような変化が起こるのかは知られていなかった。我々は、マウスの水平性視機性眼球運動をモデルとして一時間の学習で引き起こされる短期適応が、小脳片葉の平行線維—プルキンエ細胞シナプスにおける AMPA 受容体の密度減少を伴っていることを、凍結割断

レプリカ標識法によって明らかにした。また、5 日間連続の一日一時間の学習によって引き起こされる長期適応は、AMPA 受容体ではなく平行線維—プルキンエ細胞シナプス自体の減少を伴っていることを明らかにした。これらの結果は、脳内に短期的に刻まれる記憶の痕跡が、長期的に安定化されるに従って、構造的な変化へと変換されることを示している。さらにこの変換に関わる分子メカニズムを解明することを目指している。

記憶・学習とグルタミン酸受容体の局在調節機構の役割

深澤有吾, 重本隆一

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

の受容体局在を観察することで、記憶・学習現象と受容体局在との関連性や因果関係を明らかにすることを目的としている。これまでに海馬歯状回シナプスの長期増強現象誘導後にシナプス内 AMPA 受容体密度が一過性に増加することを見出し、現在、その生理的な意義について検討している。シナプスに発現する AMPA 受容体密度変化が短期的な記憶痕跡であれば、AMPA 受容体密度変化を可視化することで記憶形成領域を可視化できる可能性があるので、脳内の広範な領域で短期記憶痕跡をマップ化し、学習・記憶形成の場を明らかにできる可能性が有る。将来的にはシナプスの機能的变化と神経細胞のネットワーク活動との関連や、それがどのように記憶形成に関与するのかについて明らかにしたいと考えている。

海馬シナプスの左右差

篠原良章, 川上良介, 重本隆一

脳の機能的な左右差はヒトでよく知られているが、その分子基盤はほとんど知られていない。我々は九州大学の伊藤功助教授らとの共同研究により、マウスの海馬 NMDA 受容体サブユニット NR2B が左右の海馬の対応するシナプスで非対称に配置されていることを発見した。さらにシナプス形態や他のグルタミン酸受容体の左右差を調べたところ、CA1 放射状層においては、右から入力を受けるシナプスが、左から入力を受けるシナプスに比べ、サイズが大きく mushroom type のスパインが多く、AMPA 型グルタミン酸受容体 GluR1 サブユニットの密度

が高いことを発見した。NR1, NR2A, GluR2 などその他のサブユニットは、これらのシナプスに同じ密度で分布しているが、サイズの違いから蛋白総量は右から入力を受けるシナプスの方で約 1.5 倍多くなっている。さらにこの非対称性の生理的意義を解明するために、左右の脳を分断したマウスで空間学習を調べたところ、右の海馬を用いた場合の方が、左の海馬を用いた時に比べ、学習能力が高いことが明らかになった。現在、これらの現象の因果関係を解明することを目指している。

Calyx of Held シナプス成熟過程における受容体配置の変化と機能

釜澤尚美, 松井 広, 重本隆一

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

Calyx of Held と MNTB 細胞体上に形成されるグルタミン酸作動性シナプスは、凍結切断レプリカ像では、大きな細胞体とその周囲に密着した扁平な構造として観察されるため、細胞膜上に発現する受容体やチャネルの二次元的配置を解析するのに適している。Calyx of Held から放出されるグルタミン酸に対して、MNTB 主要細胞の AMPA 受容体・NMDA 受容体が反応すると考えられているが、まずは、これらの受容体配置をレプリカ標識法により解析した。レプリカ標識法による AMPA 受容体・NMDA 受容体に対する標識は、主要細胞の細胞体 E-face 上に存在する膜内粒子 (IMP) のクラスターとその周辺に

認められた。生後 1 週間の時点では、受容体標識が認められる IMP クラスターにおける IMP の密度は低く、抗 AMPA 単独、抗 NMDA 単独で標識されるクラスターと、両者に対する標識が混在するクラスターが観察された。生後 3 週間では、クラスター内における IMP の凝集密度は上昇し、AMPA 受容体標識のみが認められ、NMDA 受容体に対する標識はほとんど存在しなくなった。生後 14 日のスライス標本で、MNTB 主要細胞から電気生理学的記録を行ったところ、ひとつひとつのシナプス小胞の開口放出に対する応答 (mEPSC) が検出され、AMPA 受容体、NMDA 受容体それぞれに由来する成分が、確認された。今後、生後発達に伴い、各成分がどのように変化するかを解析する予定である。さらには、得られた構造的情報を基に、二次元的に広がる細胞間隙における伝達物質拡散、および、シナプス後膜上に分布する受容体応答をシミュレーションし、電気生理学的に記録される応答と照らし合わせることで、生後発達に伴う受容体分布変化の生理的意義を解明することを試みている。

伝達物質を含んだシナプス小胞の開口放出は、電位依存性カルシウムチャネルによって、精緻に制御されていることが知られている。これらのチャネルがシナプス前膜上にどのように分布しているのかを調べることで、伝

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

今後は、calyx of Heldにおけるカルシウムイメージン

グデータと照らし合わせることで、カルシウムチャネルの局在と、チャネルを通してシナプス前細胞内に流入したカルシウムイオン濃度の広がりとの関連を明らかにするとともに、アクティブゾーン内でのシナプス小胞融合部位とカルシウムチャネルの位置関係等の詳細な形態学的情報を追究することを検討中である。これらの情報が得られて初めて、ひとつひとつのカルシウムチャネルの開閉が、シナプス小胞の開口放出をいかに制御しているのかを明らかにすることが可能になる。具体的な手法としては、スライス標本に対する薬剤処理などによって、開口放出過程の各段階を制御することを試み、電気生理学的に検討した後、スライス標本を用いたレプリカ標識法を工夫することで、カルシウムチャネルの開閉と開口放出との連関を支える構造的基盤をさらに追求する予定である。

シナプス-グリア複合環境の動的変化による情報伝達制御

松井 広

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

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

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

江頭良明, 原田春美, 田渕克彦

Neuroligin/Neurexin は異なるファミリーに属する細胞接着因子で、Neuroligin はシナプス後終末、Neurexin はシナプス前終末に局在し、これらがカルシウム依存的に結合することにより、シナプスの形成及び機能的成熟に寄与していると考えられている。近年、Neuroligin およびNeurexinの遺伝子異常が自閉症患者から発見されたこ

とから、これらの分子の機能異常が自閉症の原因と関係しているのではないかと考え、ヒトの自閉症患者から見つかったこれらの変異を再現した遺伝子改変マウスを作成し、自閉症の病態と関連づけて解析を行っている。我々は以前の研究で、Neuroligin-3の細胞外のアセチルコリンエステラーゼ様ドメイン内の451番目のアルギニンをし

ステインに置換した変異（R451C 変異）は、マウスにおいても自閉症特有の社会行動の異常と、空間学習記憶能力の増強を引き起こすことを見出している。現在進行中の研究として、このマウスのシナプス機能を調べたところ、R451C 変異は大脳皮質においては抑制性シナプス機能の増強を引き起こすのに対し、海馬では興奮性シナプス機能の増強を引き起こすと言う、脳の領域ごとに異なる効果を示すことを見出した。さらなる詳細な電気生理学的解析により、大脳皮質では GABA 受容体機能、海馬

では NMDA 受容体機能に異常が見られることがわかってきた。また別の自閉症患者から見つかった、細胞内領域の 704 番目のアルギニンがシステインに置換された変異（R704C 変異）を再現した Neuroligin-3 のノックインマウスでは、R451C 変異マウスとは異なり、海馬において AMPA 受容体機能の減弱が認められた。今後、これらの受容体の局在を電顕レベルで解析すると同時に、Neurexin との相互作用を含めた分子メカニズムについても解析していく予定である。

大脳神経回路論研究部門

【概要】

大脳皮質は多くの領域から構成され、それぞれが機能分担をすることで知覚、運動、思考といった我々の知的活動を支えている。大脳皮質がどのようにしてこのような複雑な情報処理をしているかは未だに大きな謎になっている。この仕組みを知るためには、皮質内神経回路の構造と機能を明らかにする必要がある。新皮質回路を構成するニューロンは形態的に極めて多様であることが知られているが、この多様性を理解することが皮質機能の解明には不可欠であると考えている。本部門では、皮質出力がどのように作られるという観点から、皮質局所回路の構築原理を解明することを目標としている。そのために、多様な皮質領域や皮質下構造に投射する前頭皮質を構成する錐体細胞野、GABA 作働性介在細胞のニュー

ロンタイプを、分子発現・生理的性質・軸索投射・樹状突起形態など多方面から同定した上で、これらの神経細胞間のシナプス結合を電気生理学・形態学の技術を組み合わせで調べている。皮質振動現象におけるニューロンタイプの発火様式や、皮質外シナプス入力パターンの解析も併せて行うことで、大脳システムでの前頭皮質局所回路の機能的役割を理解したいと考えている。現在は主に、各ニューロンタイプの樹状突起分枝ルール、その上のシナプス配置、錐体細胞投射サブタイプ間のシナプス結合特性、非錐体細胞サブタイプから錐体細胞サブタイプへの神経結合選択性、徐波におけるニューロン活動様式を定量的に解析している。

新皮質抑制性細胞におけるニューロペプチド Y の発現特異性

川口泰雄，山口 登

新皮質 GABA 細胞の多くは、パルブアルブミン、カルレチニン、ソマトスタチン、VIP、CCK、アルファアクチニン 2 の内、少なくとも一つを発現する。これらの発現と形態・発火特性には相関があるが、GABA 細胞に限られた数の基本的クラスからなるのか、連続分化した極めて多様な細胞群からなるのかには未だに議論がある。GABA 細胞には基本的マーカーの他に、ニューロペプチド Y (NPY) と副腎皮質刺激ホルモン放出因子 (CRF) が発

現する。以前に CRF が GABA 細胞の特異的グループに発現することを明らかにした。今回、NPY 細胞と基本的クラスとの関係を免疫組織化学で検討したところ、NPY はアルファアクチニン 2 とソマトスタチン細胞に含まれる特定のサブグループに発現していた。CRF 発現解析結果と合わせると、新皮質 GABA 細胞は限られた数の基本的クラスからなり、その中が更に階層的に組織化されていると考えられる。

大脳皮質非錐体細胞の樹状突起の形態解析

窪田芳之, 荏部冬紀, 畑田小百合, 川口泰雄

大脳新皮質の代表的な 4 種類の非錐体細胞の樹状突起の形態特性を計測した。ラットの大脳皮質を使った電気生理スライス実験で単一の非錐体細胞の生理的な特性を抽出した後、染色し、NeuroLucida で 3 次元的に樹状突起を再構築した。そして、電子顕微鏡観察によりその樹状突起を再構築し、その形態を詳細に測定した。その結果、樹状突起の太さは、細胞体からの距離には関連せず、むしろその部分から遠位部の樹状突起の総延長に相関して

太さが決まる事がわかった。また、樹状突起の分岐部分の前後でその形状を測定したところ、下記の 2 つの法則が同時に成立する事がわかった。(1) 親樹状突起の断面積は 2 つの娘樹状突起の断面積の和に等しい。(2) Rall model (親樹状突起のコンダクタンスは 2 つの娘樹状突起のコンダクタンスの和に等しいという法則) が成立する。さらに、樹状突起の断面は楕円形であるということもわかった。

前頭皮質における交連性投射ニューロンの性質と結合特異性

大塚 岳, 川口泰雄

大脳皮質は左右の半球間で情報交換・統合しており、半球間の結合が阻害されると知覚欠損などが起こる。従って、対側の皮質への情報出力が皮質内でどのように処理されるのかを知ることは重要である。今回、対側の皮質に投射する交連性細胞 (COM) を逆行性蛍光トレーサーを用いて同定し、細胞の性質と結合特異性について脳切片を用いて解析した。その結果、5 層 COM 細胞は発火特性が 3 種類に分類され、形態にも違いがみられた。

5 層細胞間の結合は、同じ細胞サブタイプペアで多くみられた。また、2/3 層から 5 層 COM 細胞への結合特異性を共通入力を受ける確率で比較した結果、同じサブタイプ間で共通入力が多く見られた。さらに、特定のサブタイプでは、同側の橋核に投射する細胞とのペアにおいても共通入力が多くみられた。以上から、COM 細胞は細胞サブタイプに依存してサブネットワークを形成し、対側の皮質に情報を出力していると考えられる。

投射先に依存した前頭皮質 5 層錐体細胞の結合特性

森島美絵子, 川口泰雄

前頭皮質には、異なる 2 種類の投射先を持つ 5 層錐体細胞、橋核投射細胞 (CPn 細胞) と対側線条体投射細胞 (CCS 細胞) があることが知られている。以前に CCS 細胞を中心とした皮質回路について調べたが、本年度は、CPn 細胞間について調べ、CCS 細胞間と比較した。それぞれの細胞について蛍光逆行性標識することによって同定し、2 細胞同時記録をすることによってシナプス結合特性について調べた。その結果、CPn 細胞間のシナプス

電流、及び、短期可塑性は、CCS 細胞間に比べ、有為に大きいことが明らかとなった。また、CPn 細胞間の方が、結合が見られたときに、両方向性の結合が高い確率でみられた。CPn 細胞間の神経回路は CCS 細胞間と比較し、より選択的で強い結合からできていることが示唆された。これらの結果より、前頭皮質錐体細胞の出力先に依存した特異的な局所回路が存在することが明らかとなった。

心理生理学研究部門

【概要】

認知、記憶、思考、行動、情動などに関連する脳活動を中心に、ヒトを対象とした実験的研究を推進している。脳神経活動に伴う局所的な循環やエネルギー代謝の変化をとらえる脳機能イメージング（機能的 MRI）と、時間分解能にすぐれた電気生理学的手法を統合的にもちいることにより、高次脳機能を動的かつ大局的に理解することを目指す。特に、機能局在と機能連関のダイナミック

な変化を画像化することにより、感覚脱失に伴う神経活動の変化や発達および学習による新たな機能の獲得など、高次脳機能の可塑性（＝ヒト脳のやわらかさ）のメカニズムに迫ろうとしている。最近、言語・非言語性のコミュニケーションを含む人間の社会行動の神経基盤とその発達過程に重点をおいて研究を進めている。

二台の fMRI 同時計測による相互注視の神経基盤

田邊宏樹，齋藤大輔，林 正道，出馬圭世，森戸勇介，米田英嗣，内山仁志，定藤規弘
小坂浩隆，岡沢秀彦，藤林靖久（福井大学医学部・高エネルギー医学研究センター）

アイコンタクト（相互注視）は人と人とを繋ぐコミュニケーションにとって非常に重要な役割を示し、また共同注意の発達を促すものと考えられている。我々は二台の MRI 装置をもちいて二個体の脳活動同時計測による相互注視の神経基盤について検討を行った。課題はベースラインとして相互注視を行い、共同注意課題時に視線の交換等を行うものであった。全ての共同注意課題関連

脳活動を、モデルにより取り除いた残差時系列を用いて二者の脳時系列データのボクセル毎の相関を取ったところ、右下前頭回においてペア（同時計測した二者）の方が非ペア（同時計測していない二者）よりも相関の高いことが分かった。このことはこの領域が相互注視している際の意図の共有に関与していることを示すものである。

触覚による顔表情の識別に関わる神経基盤—晴眼者と視覚障害者の比較—

北田 亮，岡本悠子，佐々木章宏
河内山隆紀（国際電気通信基礎技術研究所），宮原資英（University of Otago）
Susan J. Lederman（Queen's University），定藤規弘

Darwin の仮説によると顔の感情表現は普遍的で、先天的に獲得されたものである。もし顔の感情表現が先天的に獲得されているのならば、視覚経験がなくても表情は識別できるはずである。本研究では顔の感情表現に関する神経基盤が、視覚経験によって変化するかどうかについて、触覚を用いた課題で検討した。

早期失明者・中途失明者・晴眼者が基本的な感情を表出したマスクに触れ、その表情を識別したところ、どの感情でも正答率は chance より高く、正答率および反応時間のパターンも群間で類似していた。早期失明者と晴眼

者が顔の表情と靴の種類を触覚で識別したときの脳活動を fMRI で撮像したところ、視覚経験の有無に関係なく、顔表情の識別条件は靴の識別条件に対して、左側中側頭回・左側下前頭回・左側中心前回・左側上頭頂小葉・両側小脳を賦活させた。これらの領域のうち左側中側頭回・左側下前頭回は早期失明者と晴眼者の間で活動の差がなく、晴眼者が同じ課題を視覚で行ったときでも活動した。この結果は中側頭回と下前頭回が視覚経験によらず、顔の感情表現に重要な役割を果たしていることを示唆している。

母音識別課題中の「読唇効果」に関与する神経基盤

村瀬未花, 田邊宏樹

河内山隆紀 (国際電気通信基礎技術研究所), 定藤規弘

騒音環境下での会話中, 相手の唇の動きを観察することにより音声理解が促進されるという現象はよく知られている。本実験では, 音声と一致した口の動きが提示されることにより, 音声理解が促進される現象を「読唇効果」と定義し, その神経基盤を明らかにすることを目的とした。「読唇効果」は, 音声の聞き取りが難しくなるほど顕著となることから, 音声の聞き取り難さを 4 段階に変化させた母音識別課題を用い, 20 名の健常被験者を対象に機能的 MRI 実験を行った。解析の結果, 「読唇効

果」は音声と一致した口の動きが提示された条件でのみ観察され, 「読唇効果」に関与すると考えられる脳活動は右下前頭回で検出された。また, 「読唇効果」の増加に伴い, 左上側頭溝から左右の下前頭回への結合が強くなることが明らかになった。これらの結果から, 「読唇効果」は左上側頭溝と左右の下前頭回との結合変化により生じ, 右下前頭回は, 言語処理ネットワークにおいて, 視聴覚情報を効率的に処理するための調整的役割を担うことが示唆された。

時間-数量間の相互作用に関わる神経基盤の解明

林 正道, 田邊宏樹, 吉田優美子, 定藤規弘

時間知覚はヒトの運動制御, 意志決定, 音楽認知や音声言語の認知などにおいて重要であるが, その神経基盤はまだよくわかっていない。先行研究では, 時間の増減判断が同時に呈示されるドットの数量の増減に影響されることが示されていることから, 時間と数量が同様の神経基盤で処理されている可能性が示唆されてきた。そこで本研究では, この時間と数量の相互作用に関わる神経基盤を明らかにするため, 機能的 MRI を用いて実験を行った。被験者は提示される 2 つのドット刺激の呈示時間および数量の比較課題を行い, どちらの刺激の提示時間が

長かった (時間比較課題) か, もしくは数量が多かった (数量比較課題) か, をボタンで回答し, 遂行する課題とは無関係の特徴については無視するように指示された。時間と数量がともに増加, あるいは減少する場合を一致条件, 一方が増加, もう一方が減少する場合を不一致条件とした。脳機能画像解析の結果, 右下前頭回が一致・不一致条件間で異なる活動パターンを示すことが明らかとなった。この領域は数量を表現する神経細胞が存在する事などから, 右下前頭回が時間と数量の“共通のものさし”として機能している可能性が示唆された。

動作表象と視覚運動系の結合解析

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

後部頭頂葉は視覚運動情報の統合に重要な役割を果たすことが知られている。近年, ミラーニューロンと呼ばれる他者動作の視覚情報と動作遂行に関連した運動情報の両方に対して反応を示すニューロンが前頭葉と頭頂葉に存在し, 両者が構成するネットワークがヒトの模倣行為の神経基盤とされてきたが, 頭頂葉と前頭葉の機能的

差異については明らかとなっていない。我々は模倣に関連した他者動作の視覚情報と動作遂行のための運動情報が統合される脳領域を機能的 MRI 実験と脳領域間結合解析により検討した。動作遂行と他者動作の観察に共通した活動は左側下頭頂小葉 (IPL) および左側頭頂間溝前方部 (aIPS) で見られた。さらに, 領域間結合解析の結果

から動作遂行時には IPL, aIPS から前方に向かう経路、他者動作観察時には視覚領域を含む後頭葉から IPL, aIPS に向かう経路の結合が強まることが明らかとなった。また両者の相互作用が IPL と aIPS から一次運動野へ

向かう経路で結合が強まることが示された。これらの結果は IPL, aIPS で視覚情報が運動情報へと変換され動作遂行時に付加的な影響を与えることを示唆する。

相互模倣の神経基盤—広汎性発達障害者と健常者の比較

岡本悠子, 北田 亮, 林 正道, 田邊宏樹, 定藤規弘
小坂浩隆, 石飛 信, 和田有司 (福井大学・精神医学)
河内山隆紀 (国際電気通信基礎技術研究所)
斎藤大輔, 谷中久和, 岡沢秀彦 (福井大学・高エネルギー医学研究センター)
棟居俊夫 (金沢大学), 大森晶夫 (福井県立大学)

広汎性発達障害児は相互模倣(模倣/被模倣)に障害を持ち、相互模倣を用いた介入で社会性が向上することが明らかになっている。また、相互模倣の障害の原因として、自他の動作を比較する機構に障害があると考えられている。これまでの健常者の研究で、Extrastriate Body Area (EBA)が自他の動作が同じ時に(模倣/被模倣)、自他の動作が異なるときに比べ活動が高くなることが分かっており(同一性効果)、EBA が自他の動作の比較を行うことが示唆された。そこで、我々は fMRI を用いて健常者と広汎性発達障害者の相互模倣時の同一性効果を比較し、自他の動作の比較を行う EBA に機能低下があるか

検討した。被験者は右手を用いて数字を表す動作を行い同様のビデオを観察した。課題は 1) 動作の同一性(一致/不一致)及び、2) 自己と他者の動作順序(先行/後行)の 2×2 のファクトリアルデザインを用いた(先行一致:被模倣, 後行一致:模倣)。左の EBA 内に、健常者と比較し広汎性発達障害者で同一性効果が小さい領域が見つかり、この領域では同一性効果と自閉症傾向に負の相関がみられた。この結果は、広汎性発達障害者で自他の動作の比較を行う EBA に機能障害がある可能性を示唆するものと考えられる。

時間的予告効果の神経基盤の解明：機能的 MRI 研究

吉田優美子, 田邊宏樹, 林 正道, 河内山隆紀 (国際電気通信技術研究所), 定藤規弘

課題を行う際、ターゲットを提示する直前に予告刺激を提示すると、行動成績が向上することが知られている(予告効果, warning effect)。先行研究から、予告効果は注意の警戒状態を引き起こし、運動処理を増進することが明らかにされている一方で、運動の事前予測を行い、運動関連領域を事前に賦活することが示唆されている。そこで、機能的 MRI を用いて、予告刺激と Go/NoGo 課題を組み合わせ、先行研究より短い試行間隔で Go の頻度を多くして実験を行った。この結果、両側側頭一頭

頂部接合部 (TPJ)、補足運動前野、右運動前野、左小脳が予告刺激の際に賦活することが明らかとなった。さらに、Dynamic Causal model による解析によって、TPJ から補足運動前野、運動前野への結合が予告刺激によって強化されることが明らかとなった。これらの結果から、予告効果を説明するメカニズムの一つとして運動の事前予測が関与しており、TPJ が重要な役割を担っていることが示唆された。

単語の意識的, 無意識的処理に対する注意の効果の検討

松本 敦, 定藤規弘

人の脳は様々な情報を処理しているが, それは意識的にだけでなく無意識的にも行われている。単語の処理に関しても, 意識的な処理と無意識的な処理が存在することが知られている。今年度の研究では単語の処理における無意識的な処理に対する注意の影響と, その際の脳内での処理を functional MRI を用いて検討した。その結果, 単語を無意識に処理している際には, 単語の形態を処理している左半球の紡錘状回, 音韻を処理している島皮質等で活動がみられたが, これらの領域の活動は刺激

に注意を向けなかった時よりも, 刺激に注意を向けた時の方が高かったことが明らかになった。またこれらの領域の活動を調節しているのは, 左半球の前頭葉であることも, 領域間の影響を調べる Dynamic Causal Model を用いた解析で明らかになった。これらの結果は, これまで心理学領域で主張されていた「無意識的な処理は注意の影響を受けない」という主張を否定する大きな発見であると考ええる。

発達生理学研究系

認知行動発達機構研究部門

【概要】

2009年度は、科学技術振興機構の戦略的創造研究推進事業による5年間の研究と文部科学省特定領域研究「統合脳」による5年間の研究のいずれも最終年度だった。

これらの研究費により、(1)サルの前頭レベルでの皮質脊髄路損傷後の手指の精密把持運動の機能回復機構、特に大脳皮質レベルでの可塑的变化に関する研究、及び(2)一次視覚野損傷による盲視モデルサルのサッカード制御、注意・作業記憶などの認知機能に関する研究が大きく進展した。前者については産業技術総合研究所、理研ゲノム科学総合研究センター、理研分子イメージングセンター、京都大学霊長類研究所との共同で、行動解析、電気生理学、神経解剖学、in-situ hybridizationやマイクロアレイによる遺伝子発現解析、PETによる脳活動イメージングを統合した multidisciplinary な研究を展開できた。後者については、南カリフォルニア大学の計算論研究者との共同研究でサルが自然にものを見ている際の自発的

眼球運動の解析で saliency 検出機構に関して大きな進展が見られた。また、上丘スライス標本において、水平断切片を導入して局所回路での水平結合の解析が大きく進展してきた。一方、脳科学研究戦略推進プログラムも2年目に入り、自治医科大学、京都大学との共同研究により、ウィルスベクターを用いた霊長類一次運動野へのハロロドプシン発現による“optogenetics”研究が本格化してきた。さらにブレイン・マシーン・インタフェースに関する研究においても、ATR 脳情報研究所との共同研究により、皮質脳波 (ECoG) と大脳皮質深層の神経活動との関係を検討する研究、感覚フィードバック付き BMI の開発に関する研究が進展してきた。2009年度は人事異動も多く、関和彦助教が国立精神神経センターの部長で転出したことに伴い、武井、金、大屋の3名の研究員も一緒に異動した。また、総研大の博士課程学生だった高浦も無事修了し、玉川大学の博士研究員として転出した。

盲視サルにおける気づきと意思決定

吉田正俊、高浦加奈、伊佐 正

マカクザルの第一次視覚野を除去して作成した盲視動物モデルを用いて視覚的気づきの神経機構を明らかにすることを目的とした。視覚的気づきは検出報告課題を用いて評価した。この課題では損傷視野に標的刺激が現れる条件では標的にサッカードすれば報酬が与えられ、標的刺激が現れない条件 (ST-) では注視点が消えてからも注視を維持することによって報酬が与えられる。損傷側の半球の上丘中間層より課題遂行中のニューロン活動を

記録した。上丘ニューロン活動は、標的刺激が提示される条件 (ST+) のうち、正しく標的の提示を報告できた試行 (Hit) と報告できなかった試行 (Miss) とでは、標的提示時の視覚応答が Hit 試行でより大きくなっていた。また、このような活動は健常側の上丘では見られなかった。よって、このような神経活動の修飾は V1 切除によって特異的に引き起こされた視覚的気づきに対応した神経活動であると結論づけた。

ウイルスベクターを介したハロロドプシンの発現によるマウス網膜 —上丘シナプス伝達の経路特異的抑制

金田勝幸¹, 笠原洋紀², 松井亮介², 加藤智子¹,
水上浩明³, 小澤敬也³, 渡邊 大², 伊佐 正¹
(¹生理研・認知行動発達, ²京大院・医・生体情報,
³自治医大・分子病態治療・遺伝子治療)

上丘浅層は網膜と一次視覚野から入力を受ける。各入力の機能を明らかにするには、それぞれを選択的に抑制する必要がある。本研究では、光感受性 Cl⁻ポンプのハロロドプシン (eNpHR) を 2 型アデノ随伴ウイルスベクターを用いて網膜神経節細胞 (RGCs) とその軸索に発現させ、網膜-上丘シナプス伝達を選択的に抑制できるのかを検証した。マウス眼球硝子体内へのベクター注入 3 週間後、多数の RGCs が eNpHR を発現し、また、高密度の eNpHR

発現軸索が上丘浅層で認められた。スライス標本での上丘浅層ニューロンからのホールセル記録により、視神経層電気刺激で誘発される EPSC は黄色光照射により顕著に抑制されることを見出した。さらに、インビボ個体で視覚刺激誘発性の上丘浅層の発火応答は光照射により減弱した。以上の結果から、RGCs 軸索に発現させた eNpHR の光刺激で網膜-上丘シナプス伝達を選択的に抑制できることが分かった。

一次視覚野を介する視覚情報は抑制性の行動調節に選択的に働く

池田琢朗, 吉田正俊, 伊佐 正

外界の刺激に対して正対する定位運動は動物の最も基本的な行動のひとつである。これまでの研究から、定位運動はその運動の直前の知覚情報によって調節を受けることが明らかになっている。この調節には抑制性のものと促進性のものの 2 種類が存在し、視覚認知の効率化に寄与していると考えられているが、その神経基盤については不明な点が多い。

我々は一次視覚野を除去し、一次視覚野を介した皮質

系の視覚情報を制限したニホンザルを用いて、急速眼球運動 (サッケード) による定位反応への調節がどのように変化するかを調べた。解析の結果、一次視覚野の除去によって抑制性の調節が消失し、促進性の調節のみ残存することが明らかになった。これは、抑制性の調節が主に一次視覚野を介した皮質系の視覚情報に依存する一方で、促進性の調節が皮質下の視覚情報によって行われていることを示している。

光遺伝学的手法を用いたサルの精密把持運動の制御

木下正治, 伊佐 正

Natronomonas pharaonis 由来の光感受性クロライドイオンポンプ halorhodopsin (NpHR) は黄色光により活性化され細胞内に陰イオン (Cl⁻) を輸送する。近年、遺伝子導入によりニューロンに発現させた NpHR を光照射により活性化することで、スパイク活動を抑制するのに十分な過分極応答を引き起こすことが報告された¹。

我々はサルの手指による精密把持運動をミリ秒オーダーで阻害することにより生じると予想される、短期的な適応活動について調べることを目指して実験を行っている。

細胞膜への発現効率を高めた改変型 NpHR (eNpHR) をアデノ随伴ウイルス (AAV) を用いてマカクザル大脳皮

質第一次運動野 (M1) のニューロンに導入することに成功した。次に、金属電極と光ファイバーを貼りあわせた optorode を用いて M1 ニューロン活動を記録し、同時に光照射を行うことで数百ミリ秒にわたってスパイク活動

を抑制することができた。

今後サルに精密把持運動課題を行わせ、M1 ニューロンへの光照射による運動への効果を調べる。

1. Zhang et al, 2007, *Nature* **446**, 633-639.

サル前腕到達把持運動における一次運動野皮質内局所電位と ECoG 信号の関係

渡辺秀典¹，山下宙人¹，澤畑博人²，坂谷智也²，戸川森雄²，吉田正俊²，戸田春男²，
佐藤雅昭¹，長谷川功²，鈴木隆文³，川人光男¹，伊佐 正
(¹ATR・脳情報解析研究所，²新潟大・医・生理，³東大院・情報理工)

皮質内局所電位 (LFP) と硬膜下皮質電位 (ECoG) の関係を解明し、ECoG から推定される LFP を Brain-machine interface に適用する方法の確立を目指す。この目的のため三次元配列電極を開発し、一次運動野における ECoG と LFP を解析した結果、ECoG と脳表から 200 μ m に位置する電極の LFP 信号の関係について高ガンマ周波数帯域 (80-170Hz) 信号よりもベータ周波数帯域

(10-35Hz) 信号の相関が高い事実を明らかにした (gamma: $r = 0.27 \pm 0.03$, beta: $r = 0.71 \pm 0.03$)。一方で Sparse regression 法により 32ch-ECoG から LFP を推定し ($r = 0.71 \pm 0.02$ with 23-fold cross validation)，高ガンマ周波数帯域信号をベータ周波数帯域信号と同程度の推定を可能にした (gamma: $r = 0.76$, beta: $r = 0.63$)。

皮質脳波の多点同時計測による大脳皮質内部神経活動ダイナミクスの推定

坂谷智也，渡邊秀典，戸川森雄，吉田正俊，伊佐 正
長谷川功（新潟大学），鈴木隆文（東京大学）
山下宙人，森本 淳，佐藤雅昭，川人光男（国際電気通信基礎技術研究所）

本研究では皮質脳波 (ECoG) 駆動型の低侵襲・高精度ブレイン・マシーン・インターフェイスの実現にむけて、生理学的知見に立脚した脳情報解読技術の開発を目指している。

本年度はラットの複数のヒゲを高い時間解像度でそれぞれ独立に刺激する装置を新たに開発し、正確に制御された連続的な時空間パターンからなる複雑な刺激に対する応答を、第一次体性感覚野から ECoG 計測と皮質各層

の神経活動を多数同時記録することに成功した。そして機械学習の手法により、複数の ECoG 信号から皮質内部の電流源密度を高精度で推定するアルゴリズムを開発しました。さらに ECoG 信号と推定した皮質内部の神経活動に基づいて、刺激したヒゲを高い精度で判別することに成功した。

これらの成果は解剖学的情報を反映した頑健性の高い高精度な脳情報解読技術の開発につながると期待される。

第一次視覚野損傷後の視覚誘導性サッケードにおける網膜視蓋経路の役割

加藤利佳子，高浦加奈，池田琢朗，吉田正俊，伊佐 正

第一次視覚野 (V1) 損傷後の定位運動においては、網膜

から上丘への直接投射である網膜視蓋経路が視覚情報伝

達に対し寄与することが予想される。我々は、V1 損傷後の、網膜視蓋経路の役割を明らかにするため、片側 V1 を除去したサルの上丘にムシモルを微量注入し、視覚誘導性サッケードに対する影響を調べた。健常側上丘への注入は、速度低下などの軽微な影響にとどまるのに対し、損傷側上丘への注入は、注入位置に対応する視野内の目標に対するサッケードを抑制した。この抑制が注入によ

る運動機能の低下に起因する可能性を検討するため、暗闇での自発性サッケードへの注入効果を調べた。結果、損傷側上丘への注入後、注入位置に対応する視野への自発性サッケードが観察された。従って、注入による視覚誘導性サッケードの抑制は、主に視覚情報伝達の障害によると予測され、V1 損傷後の定位運動には、網膜視蓋経路が必須であることが明らかになった。

感覚フィードバック型 BMI の実現

梅田達也, 伊佐 正

電気刺激を一次感覚神経細胞が局在する後根神経節 (DRG) に与える事で、感覚フィードバックとなる人工的な感覚を誘発させる事を計画している。刺激パラメータを決定するため、手腕の運動や触覚等の各種体性感覚刺激に対する DRG における神経集団の応答を推定する事が必要である。これまで、主に麻酔下サルの頸髄 DRG において各種体性感覚刺激に対する神経活動を記録する実験を行った。

2つのマルチ電極アレイ (各 48 チャンネル) をイソフルレン麻痺下の 2 匹のサルの C7/8 の DRG に挿入した。

指/手首/肘の関節を受動的に動かしたときのニューロン応答を記録し、同時に、手/腕運動の立体運動軌跡をモーション・キャプチャーシステムで取得した。2 匹のサルから合計 200 個以上のユニット活動をスパイクソーティングにより抽出し、そのうち多くが受動運動に応じることが明らかとなった。ATR 脳情報研究所開発のアルゴリズム (sparse regression) を応用して手/腕の運動軌跡から DRG ニューロン集団の発火パターンを高い確度で算出する事ができた。更に、運動軌跡情報から DRG ニューロンの発火パターンを算出する事もできた。

The lateral interaction between two stimuli in the mouse superior colliculus (SC) slices

Penphimon Phongphanphancee, Tadashi Isa

To study the competitive process between visual stimuli, we made whole cell recordings from non-GABAergic neurons, and stimulated two locations in the mouse SC horizontal slice simultaneously. In the superficial layer (sSC), activation at the central and nearby locations showed

facilitation in non-linear manner, and a strong remote stimulus could overcome a weak local stimulus. This study support our hypothesis that inputs to the sSC compete with each other in a winner-take-all manner.

生体恒常機能発達機構研究部門

【概要】

当部門は、発達および障害回復の過程で一旦形成された機能的神経回路に起こる再編成のメカニズムを回路レベルで解明することを主な目標に研究をしている。そのた

め、3つのサブテーマについて研究を進めている。1) 神経回路の可塑的变化を生体で観察するため、フェムト秒パルスレーザーを用いた多光子励起法を利用して、マウ

ス大脳皮質細胞やシナプスの可視化技術の確立および技術向上をおこなった。その結果、マウス大脳皮質全層における神経細胞・グリア細胞およびその微細構造を可視化することが可能となった。これらの技術を利用して、現在、神経回路の微細構造の長期変化の観察を試みている。2) 細胞内イオン環境の変化による GABA の興奮性から抑制性へのスイッチとその制御機構について細胞内

Cl イオンくみ出し分子 KCC2 の機能制御を中心に、神経栄養因子、環境/回路活動による制御を検討している。3) 発達期における再編のメカニズムとして、シナプスレベルにおいて、GABA とグリシン間の伝達物質のスイッチングのメカニズムを観察している。人事として、本年 4 月に宮本愛喜子氏が総研大 5 年一貫制 1 年次大学院生として加わった。

In Vivo 多光子顕微鏡を用いた大脳皮質神経細胞の微細構造の可視化

江藤 圭, 高鶴裕介, 鍋倉淳一

神経回路の発達および脳障害の回復期における神経回路の可塑性の研究を遂行するにあたり、究極的に生体での観察が不可欠である。そこで生体における神経回路の可視化のため、超短パルスレーザーによる多光子励起法を神経細胞に蛍光蛋白が発現している遺伝子改変動物に適用し、大脳皮質微細構造の可視化を行った。適切な光路の構築・調整や、頭蓋骨に適用する特殊アダプターの開発などを行い、マウスにおいて大脳皮質表面から 1 ミリの深部まで観察可能な技術を開発し、大脳皮質錐体細胞を全層にわたり、樹状突起、棘突起、軸索などの微細

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

幼若期大脳皮質における GABA ニューロンの移動とそのメカニズムの解明

稲田浩之, 鍋倉淳一

神経回路形成の機構を理解するには、まず生体内における現象の正確な記述が必要である。しかしながら、成体哺乳類を用いた 2 光子イメージング法は多数報告されているのに対し、発達期の哺乳類を用いた例はほとんど報告がない。そこでまず幼若期マウス（生後 0-3 日齢）の頭部固定法の開発を行った。具体的には、1) 心拍と呼吸による揺れを軽減するために 4 方向から頭部を抑える拘束装置の開発、2) 血流の停止および細胞への障害を防ぐために観察領域の温度を一定に保つ事を目的とした温水灌流装置の開発である。

この固定法を、大脳皮質 GABA ニューロンで特異的に蛍光タンパク質が発現する VGAT-Venus トランスジェニ

ックマウスに適用し大脳皮質辺縁帯のタイムラプスイメージングを行い、細胞の移動過程を観察した。その結果、細胞は吻側・尾側・内側・外側のいずれかに移動する事、各方向に移動する細胞数の割合は同程度である事、各方向に移動する細胞集団間で移動速度は同程度である事、個々の細胞の移動方向は一定であることが明らかになった。以上の結果から、大脳皮質 GABA ニューロンは発達期に辺縁帯において多方向性の移動を行っている事が明らかになった。現在、その制御メカニズムと生理的意義を検討している。また、この固定法は細胞移動のみならず、軸索伸長やシナプス形成と云った他の神経回路形成の機構を理解するのににも有用であると考えられる。

脳梗塞障害時における対側半球の回路再編機構

高鶴裕介, 吉友美樹, 鍋倉淳一

脳梗塞後の回復期におこる機能代償機構の解明のため、レーザーによる光誘発血栓作成法を用いて片側大脳皮質感覚野に虚血脳梗塞を作成し、対側の体性感覚野におこるシナプス再編性および回路機能再編成と皮膚感覚回復過程の対応を行った。障害直後から対側感覚野全般の活動が上昇し、同側末梢四肢からの感覚入力が増進した。その後 1-2 週間の限定した期間にスパイン構造のターンオーバー率が亢進していることを 2 光子顕微鏡で観察し

た。その後、同側末梢刺激による大脳皮質における電気活動のパターンの再編がおこり、対側末梢四肢（正常入力側）からの入力処理パターンと類似したパターンが形成することが判明した。この新たな活動再編に伴い、障害された末梢感覚は回復した。この結果から、障害と対側の大脳半球で両側の末梢感覚を処理する回路が再編・形成されることが判明した。

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

金 善光, 江藤 圭, 鍋倉淳一

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

が観察された。また、慢性炎症性疼痛時には、大脳皮質感覚野細胞の活動の増強が観察された。これに伴い、疼痛の emotional center である前部帯状皮質 (Anterior Cingulate Cortex, ACC) の活動が増強するが、体性感覚野の活動を薬理的に抑制すると痛覚過敏の行動は抑制された。これらから、慢性疼痛時における大脳皮質感覚野における回路再編が慢性疼痛発症の一因である可能性が示唆される。

細胞内 Cl^- 制御機構 KCC2 による GABA の興奮-抑制スイッチ制御の分子機構の解明

渡部美穂, 鍋倉淳一

未熟期および虚血や傷害後早期に GABA は興奮性伝達物質としての作用を獲得する。これは GABA_A 受容体に内蔵するチャネルを流れる Cl^- イオンの向きによって決定されるため、細胞内 Cl^- イオン濃度によって GABA は興奮性/抑制性が決定される。この細胞内 Cl^- イオン濃度は神経細胞特異的に発現する K^+-Cl^- トランスポーター

である KCC2 によって主に決定されている。発達期や再生期における KCC2 の発現、およびその機構を検討している。KCC2 の発現制御に関して、障害により、KCC2 の脱リン酸化と内在化、その後の蛋白発現の消失により GABA 作用は短時間で脱分極作用へスイッチすることが判明した。細胞内制御分子の探索を行なっている。

発達期の聴覚中継路におけるモノアミンの神経回路機能に対する役割の解明

平尾顕三, 石橋 仁, 鍋倉淳一

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

核へのシグナル入力を調節している可能性が示唆されている。ここで我々はさらに、代表的なモノアミンであるノルアドレナリンが、聴機能獲得前に興奮性と抑制性入力の両方を調節している可能性を見出した。現在我々は、発達期マウス脳切片を用いてスライスパッチクランプ法を行い、聴機能獲得前の神経回路発達に対するノルアドレナリンの作用の解明を行っている。

生殖・内分泌系発達機構研究部門

【概要】

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

エネルギー代謝の調節機構を分子レベルで解明し、その分子機構を通して生活習慣病など様々な疾患の原因・治療法を明らかにしたいと考えている。本年度実施した主たる研究課題は次の通りである。1) レプチンによる糖代謝調節機構の解明、2) オレキシンによる糖代謝調節機構の解明、3) 摂食調節に関わる視床下部生体分子センサーの研究。

レプチンによる糖代謝調節機構の解明

戸田知得, 志内哲也, 李 順姫, 斉藤久美子, 岡本土毅, 箕越靖彦

我々は、レプチンが、摂食行動を抑制するだけでなく、視床下部－交感神経系を介して褐色脂肪組織や骨格筋などエネルギー消費器官でのグルコースおよび脂肪酸の利用を促進することを明らかにしている。今回我々は、レプチンによるグルコースの取り込み促進作用に視床下部のメラノコルチン受容体が必須であることを明らかにした¹。

さらに、レプチンが、視床下部腹内側核(VMH)に作用を及ぼすと、視床下部弓状核のメラノコルチンニューロンを活性化して、褐色脂肪組織並びに骨格筋、心臓でのグルコースの利用を促進することを見出した。また、メ

ラノコルチン受容体作動薬は、レプチンと同様に VMH に作用をさせると褐色脂肪組織並びに骨格筋、心臓においてグルコースの取り込みを促進させた。室傍核に作用させた場合には、褐色脂肪組織のグルコース取り込みのみを促進した。

以上の実験結果から、レプチンは、VMH ニューロンに作用を及ぼすと弓状核メラノコルチンニューロンを活性化し、その結果、腹内側核、室傍核のメラノコルチン受容体を活性化することによって末梢組織のグルコースの取り込みを促進することが明らかとなった。

1. Toda, C. et al. Diabetes 58:2757-2765, 2009.

オレキシンによる糖代謝調節機構の解明

志内哲也, 李 順姫, 戸田知得, 斉藤久美子, 岡本土毅, 箕越靖彦,
井上 剛, 井本敬二
桜井 武 (金沢大学医薬保健研究域医学系分子神経科学・統合生理学分野)
柳沢正史 (テキサス大学サウスウェスタン医学センター)
塩田清二, 影山晴秋 (昭和大学医学部第一解剖学教室)

神経ペプチドであるオレキシンは睡眠・覚醒調節や摂食行動だけでなく、交感神経活動や動機付け行動にも関与することが知られている。我々はオレキシン-Aを視床下部腹内側核(VMH)へ投与すると、骨格筋に投射する交感神経の選択的な活性化を伴って、骨格筋の $\beta 2$ アドレナリン受容体を介してグルコース代謝が亢進することを見出した¹。さらに、マウスに人工甘味料であるサッカリンを自発的に摂取させると、マウスのオレキシン神経が活性化すると共に、VMH-交感神経を介して骨格筋でのグルコースの利用を選択的に高めることを見出した。白色脂肪組織のグルコースの利用は促進しなかった。また、このようなオレキシン神経の活性化は、マウスに自発的

にサッカリンを摂取させること、数日間摂取を繰り返すことによって、実験開始の時刻を学習させることが必要であった。オレキシン遺伝子を欠損したマウスではサッカリンを自発的に摂取することを学習することが出来なかった。

以上の結果から、味覚(甘味)刺激とその「期待感」によってオレキシン神経が活性化され、VMH-交感神経- $\beta 2$ アドレナリン受容体経路を介して骨格筋におけるインスリン感受性を選択的に亢進することを明らかにした。この作用は、摂取した糖を骨格筋において優先的に利用する重要な生体調節機構であると考えられる。

1. Shiuchi, T et al. Cell Metabolism 10:466-480, 2009.

摂食調節に関わる視床下部生体分子センサーの研究

箕越靖彦, 志内哲也, 岡本土毅
中里雅光, 松尾 崇 (宮崎大学医学部内科学講座神経呼吸内分泌代謝学分野)
塩田清二, 影山晴秋 (昭和大学医学部第一解剖学教室)
矢田俊彦 (自治医科大学医学部生理学講座統合生理学部門)

我々は、AMP キナーゼが、レプチンやアディポネクチンなどホルモンによって活性化し、骨格筋における脂肪の利用を促進すること、視床下部 AMP キナーゼが摂食行動を制御することを明らかにしている。また、視床下部 AMP キナーゼによる生体エネルギー代謝の調節機構を明らかにするため、活性型 AMP キナーゼを視床下部にレンチウイルスを用いて発現させ、摂食行動に及ぼす

影響を調べた結果、マウス視床下部室傍核に活性型 AMP キナーゼを発現させると、摂食量が増加、肥満することに加え、食餌に対する嗜好性が変化することを見出した。今回、その作用発現には、室傍核神経細胞での脂肪酸酸化が亢進することによって、おそらくある種の脂肪酸代謝産物量が変化し、これにより神経活動を変化させることによることを見出した。

行動・代謝分子解析センター

遺伝子改変動物作製室

【概要】

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

しつつ、遺伝子ターゲティングによるノックアウトラットの作製、さらには、作製した遺伝子改変動物の脳研究への積極的応用を目指している。研究課題のうち下記の3題について具体的に示す。ラットの発生工学技術の高度化に向け、(1) 作製法が異なるラット前核期卵のDNA 脱メチル化動態について、ラットの遺伝子ターゲティングを目指し、(2) ラット胚盤胞に由来するES細胞株の樹立を試みた。さらに、遺伝子改変マウスの脳研究への応用を目指して、(3) 大脳皮質第一次視覚野上に存在する遠近感の認知に必須の機能ユニット“眼優位カラム”の可塑的形成メカニズムの解明研究を進めた。

ラット前核期卵の体外作出行程は雄性ゲノムの能動的脱メチル化に影響する

吉沢雄介, 加藤めぐみ, 平林真澄

エピジェネティック変化の1つであるDNAの脱メチル化現象は胚発生と密接な関係がある。本実験では前核期卵の作製方法と脱メチル化動態との関係が明らかにするため、ラット前核期卵を体内受精、IVF、ICSI、およびROSIによって作製し、雄性ゲノムDNAにおけるメチル化量の推移を調べた。その結果、体内受精区および体外培養区で20から24時間目にかけて平均RM値（同一卵子内の雌性前核の総輝度に対する雄性前核の総輝度の平

均）が有意に低下した。IVF、ICSI区でも同じ卵齢に相当する6から10時間目にかけて平均RM値の低下が起こった。サンプリング最終時点で、雄性ゲノムの脱メチル化が進行した前核期卵の割合は、体内受精、体外培養、IVF、ICSIそしてROSI区それぞれ、98、100、48、17そして0%だった。以上、ラットでは前核期卵を体外作出する技術の難度が上がるにつれ、能動的脱メチル化誘起に重篤な影響が現れた。

CAG/venus トランスジェニックラット胚盤胞に由来するES細胞株の樹立

加藤めぐみ, 平林真澄

従来からのマウスでの手法をラットに適用してもES細胞株を樹立することは困難だったが、3種類のインヒビター（FGFレセプター、MEK活性化およびGSK3）を添加した培養液を用いることによりラットES細胞株が

樹立できると報告された。本実験ではCAG/venus トランスジェニックラット由来の4.5日目胚盤胞からES細胞株の樹立を試みた。その結果、2ラインのアルカリフォスファターゼ陽性ES細胞株の樹立に成功した。In vivoで

の多分化能を調べるためヌードラットへ移植したところ、5 週間後に三胚葉を含むテラトーマの形成が確認できた。4.5 日目胞胚腔内に継代 6~8 代目の ES 細胞を顕微注入してキメラ作製を試みた結果、すべての E15.5 胎仔で

venus 遺伝子の発現が確認でき、出産産仔におけるキメラ率も極めて高かった。これらの 2 ラインの ES 細胞由来のキメラ個体は、後代検定により生殖系列に寄与することを確認した。

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

富田江一, 三宝 誠, 山内奈央子, 平林真澄

大脳皮質第一次視覚野において、同側眼から視覚入力を受ける神経細胞群と反対側眼から入力を受ける神経細胞群は別々にクラスターを形成しており、各々同側・反対側眼優位カラムと呼ばれる。この眼優位カラムは、遠近感の認知に重要な機能ユニットと考えられている。しかし、発生期から発達期にかけて同側・反対側眼優位カラムの分離を促す詳細な分子メカニズムは解明されていない。当教室では、世界に先駆けて発見した、発生期から発達期にかけて同側眼優位カラムに特異的に発現して

いるシャペロン因子に注目し、この分離形成過程を明らかにしようと研究推進している。このシャペロンは alternative splicing により少なくとも長さの違う 2 種類のフォームを持つことが最近分かった。今後は、この 2 種類のフォームのうちいずれが同側眼優位カラムに特異的に発現しているか検討し、より特異的なフォームの個体レベルでの機能解析を行い、同側・反対側眼優位カラムの分離形成メカニズムが明らかにしたい。

多次元共同脳科学推進センター

【概要】

多次元共同脳科学推進センターは、全国の異分野研究者が参加し、BMIと霊長類遺伝子導入技術開発のための基礎研究及び異分野をまたぐ若手脳科学研究者の育成を行うネットワーク機構を構築し、サバティカル研究者の受け入れも行いながら、研究プロジェクトを推進するとともに人材養成を行う事業を推進している。本センターは2008年4月に設置され、自然科学研究機構（生理学研究所、基礎生物学研究所）の複数の教授が併任し運営を開始した。併任教授に加えてプログラムオフィサーとして特任教授を置き、外部研究機関からも基礎的な脳科学及びその関連分野（臨床医学、工学、心理学、倫理学）を専門とする客員教授、客員准教授を選任し、外部の研究機関と連携した研究環境を整え運営されている。

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

2009年度には、サバティカル的な制度を活用した長期滞在型共同研究の推進を図るための流動連携研究室を新設し、客員教授、客員准教授、客員助教の募集を開始した。

＜多次元ブレインストーミング＞

現状での分子から細胞、回路、組織における脳情報表現解析手法を踏まえて、近未来の物質と情報をつなぐ脳科学研究像についてブレインストーミングを行った。全国の様々な分野の研究者を交えて、多次元ブレインストーミングを開催し意見交換を行った。多様なバックグラウンドの研究者による話題提供をきっかけに、「物質からどのようにして情報が形成されるのか」という根本的な視点から20年後にはどのような脳科学研究が展開されているかについてフリーディスカッションを行った。

＜多次元トレーニング&レクチャー＞

若手研究者（大学院生を含む）を対象に運動制御回路に焦点を絞り脳の構造と機能をマウス、ラット、サル、ヒトを比較しながらに講義、及び実習を行った。

＜流動連携室の新設によるサバティカル事業の実施＞

今年度は客員准教授として旭川医科大学の高草木薫准教授が3ヶ月間滞在し、認知行動発達機能研究部門、及び、生体システム研究部門との共同研究を実施した。

＜霊長類遺伝子導入施設の整備＞

霊長類脳基盤研究開発プロジェクトでは、霊長類遺伝子導入のための施設を整備し、共同利用施設としての活用に向けた準備を開始した。

＜国内の脳科学教育の連携についてのシンポジウム＞

第32回日本神経科学大会サテライトシンポジウムとして、国内の脳科学関連の大学院教育を組織的に展開している4大学（北大、東北大、東大、玉川大）と共に、各拠点の現状の紹介と将来展望について討論するワークショップ「脳科学教育の現状と理想ーバーチャル脳科学専攻設立を目指してー」を企画・開催した。

＜NBR活動＞

ニホンザル供給事業を実施し、全国の研究者から21件70頭の申請があった。審査の結果、21件68頭が採用された。また、ニホンザルを使用している研究者コミュニティとの連携協力、情報伝達と情報交換のための関連学会等での意見交換会の開催やポスター展示、ニュースレター等の発行を行った。広く社会に対しては、当該プロジェクトの意義や動物実験の意義を啓発するため、公開シンポジウム「霊長類の脳科学」を共催（3月20日）した。

脳機能計測・支援センター

形態情報解析室

【概要】

形態情報解析室は、形態に関連する超高圧電子顕微鏡室(別棟)と組織培養標本室(本棟 2F)から構成される。

超高圧電子顕微鏡室では、医学生物学用超高圧電子顕微鏡(H-1250M型;常用1,000kV)を、昭和57年3月に導入して同年11月よりこれを用いての共同利用実験が開始されている。平成21年度は共同利用実験計画が28年目に入ったことになる。本研究所の超高圧電顕の特徴を生かした応用研究の公募に対して全国から応募があり、平成21年度は最終的に14課題が採択され、13課題が実施された。このうち5件は、国外の研究者による研究あるいは国外の研究者が関係するものである。これらは、厚い生物試料の立体観察と三次元解析、薄い試料の高分解能観察等である。共同利用実験の成果は、超高圧電子顕微鏡共同利用実験報告の章に詳述されている。超高圧電子顕微鏡室では、上記の共同利用実験計画を援助するとともに、これらの課題を支える各種装置の維持管理及び開発、医学生物学用超高圧電子顕微鏡に関連する各種基礎データの集積および電子顕微鏡画像処理解析法の開発に取り組んでいる。電子線トモグラフィーによる手法

には、現在は、コロラド大で開発されたIMODプログラムでの方法などを用いて解析を進めている。2軸でのトモグラフィー解析においても、一定の成果をあげている。

これまで丸27年間、比較的安定に稼働してきたが年度当初に、経年劣化もあって故障が相次ぎ、6月から8月と11月後半から12月中旬に計3ヶ月半強の休止を余儀なくされた。その中でも、共同研究の形で2編の英文論文と1編の和文論文を総合報告している。

本年度の超高圧電顕の利用状況の内訳は、共同利用実験等99日、修理調整等122日である(技術課脳機能計測・支援センター形態情報解析室報告参照)。電顕フィルム等使用枚数は6,118枚、フィラメン点灯時間は452時間であった。平成21年度は、装置は83%の稼働率で利用され、修理後も、試料位置で10-6Pa台の高い真空度のもとに、各部の劣化に伴う修理改造を伴いながらも高い解像度を保って安定に運転されている。

組織培養標本室では、通常用およびP2用の培養細胞専用の培養機器と、各種の光学顕微鏡標本の作製および観察用機器の整備し、利用者に便宜を図っている。

2軸トモグラフィーによるグリア細胞のS/V比

有井達夫, 濱 清

電子線トモグラフィー手法に関しては、現在、米国コロラド大で開発されたIMODプログラムでの方法を用いて解析を進めている。ゴルジ染色したラット大脳におけるグリア細胞のデータ(J. Neurocytol. 33, 277-285 (2004); 2軸傾斜した一連の傾斜像)をIMODプログラムにより、2軸トモグラフィー解析することができる。このときに解析に取り入れる画素サイズを、1/2ないし1/4と解像度を向上させると、細胞の面積(S)/体積(V)比が増大する。これはグリア細胞の薄片状の構造に依存して面積、体積を算定するとき形状を考慮して画素サイズを

選ぶことも重要であることを意味している。現在、S/V比は、CT解析の場合、X2,000倍で撮影されたネガを用いて試料上での解像度12.7nm/pixelで1軸ないし2軸同時解析を行うと、(39-49)/ μm と、通常の透過電子顕微鏡での連続切片より計算した値19.7/ μm (Grosche et al (2002))をはるかにうわまっている。これは、超高圧電子顕微鏡を用いてトモグラフィー解析をする利点であると考えられる。

Grosche J, Kettenmann H, Reichenbach A (2002) J Neurosci Res 168, 138-149.

超高压電子顕微鏡用クライオホルダーの性能評価

村田和義

クライオホルダーを使った細胞全体の無染色氷包埋試料の超高压電子顕微鏡観察は、生理研超高压電顕の一つのセールスポイントとなり得る。そこで、この実験系を確立するために、米国ガタン社製超高压電顕用クライオホルダーの性能評価を行った。非晶質カーボン膜をクライオ試料ホルダーにのせ、電子顕微鏡にセットし、液体窒素で冷却後、ホルダーを十分に（約3時間）安定化させた。そして、カーボン膜のイメージを倍率5万

倍で記録し、フーリエ変換してそのパワースペクトルを観察した。その結果、パワースペクトルは、冷却前でもホルダー軸と垂直方向（Y方向）で、かなり弱かったが、冷却後にはこれがさらに顕著になった。このことから、現在の超高压用クライオホルダーはY方向の安定性が弱く、冷却によってこれが増強されることがわかった。今後は、このY方向の分解能の落ちを引き起こす要因を検討し、分解能の改善を図る予定である。

小腸絨毛上皮下線維芽細胞におけるサブスタンスP受容体の局在

古家園子、重本隆一（脳形態解析部門）、古家喜四夫（JST、細胞力覚プロジェクト）

消化管絨毛上皮の基底膜下で細胞網を形成する線維芽細胞は lamina propria を包んでいる特殊な筋線維芽細胞であり、血管や神経終末、平滑筋などと隣接しており、機械的刺激に応答して ATP を放出し、絨毛におけるシグナル伝達の要の役割を果たしている。この小腸絨毛上皮線維芽細胞の初代培養細胞はサブスタンスPにより細胞内 Ca^{2+} 濃度が上昇し、種々のアゴニスト、アンタゴニストの投与実験から、NK1 受容体を持つことがあきらかに

なった。又、NK1 受容体に対する抗体を使用し、光顕および電顕免疫組織化学を行うと、生後1ヶ月前後のラット小腸絨毛上皮細胞膜が強く染色された。しかし、小腸及び大腸陰窩の上皮下線維芽細胞には免疫反応は認められなかった。又、絨毛上皮下線維芽細胞はサブスタンスP含有神経（知覚神経）とシナプス様構造を形成していた。今後、小腸絨毛線維芽細胞と知覚神経間のシグナル伝達機構についての解析を進める。

生体機能情報解析室

【概要】

随意運動や意志・判断などの高次機能を司る中枢神経機構の研究が進められた。サルを検査対象として大脳皮

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

注意に関する脳活動の研究

達本 徹

これまでに「注意」の中枢神経機序を解明する目的で、サルの局所脳血流量や大脳皮質フィールド電位を解析してきた。その結果、運動課題を行うサルの前頭前野9野・

前帯状野32野・海馬の脳血流量が想定される意欲の変化と一致した変動を示すことを見出した。また、自分のペースでレバー運動をするサルの前帯状野32野と前頭前野9

野のシータ波活動がサルの「注意集中」に相関して増減していると解釈可能な知見を得た。両部位のシータ波は高いコヒーレンスを示し、これらの部位が機能的に一体となって活動していることを示唆する。この活動はヒトの脳波で観察される Frontal midline theta rhythms に相当

すると考えられる。埋め込み電極による高い空間分解能を活かして、現在、32 野と 9 野の間の情報の流れについて解析を行うとともに、「注意」が変動すると考えられる「予告付き反応時間運動課題」を行う際のシータ波の解析を行っている。

多光子顕微鏡室

【概要】

多光子顕微鏡室は 4 月から研究員（科学研究費）1 名（日比輝正博士）を新たに加え、専任の独立准教授 1 名（根本知己）、技術職員 1 名（前橋寛）及び、根本の獲得した競争的研究資金によって雇用する特定技術職員(JST) 1 名、技術支援員（科学技術研究費）1 名からなる部門となった。多種多様な由来を持つ光学顕微鏡関連機器を統一的に管理し効率的な運用を図る共に、研究所の内外への技術協力を行っている（技術相談、見学等 20 件以上）。

多光子顕微鏡は、低侵襲性で生体および組織深部の微細構造および機能を観察する装置であり、近年国内外で急速に導入が進んでいるが、安定的な運用を行うためには高度技術が必要であるため、共同利用可能な研究機関は本室が国内唯一である。またこの学際的な新手法を普及させるため、研究所枠を越えた勉強会、セミナー等を定期的 to 実施した。

研究課題は (1) 非線形光学や光化学を活用した新しいバイオ分子イメージング手法の開発、(2)小胞輸送、開口放出・分泌現象などの分子細胞生物学的基盤とその生理機能を中心とする。個々のテーマについては以下に記したが、他に、京都大学農学部高橋信之博士とグルコース輸送体の小胞輸送による生理機能制御についても、共同研究に着手した（科学研究費補助金）。また、ノックアウト動物による SNARE 分子複合体の機能、新規蛍光タンパク質の開発など、計画共同研究については別項に記載した。

尚、8 月末日を持って根本知己准教授は、日比輝正研究員は 12 月に退職した。その後根本は 9 月 1 日付けで北海道大学電子科学研究所教授に着任し、2010 年 3 月まで、兼任教授となった。

ベクトルレーザービームによる超解像イメージング法の開発

根本知己、日比輝正、佐藤俊一（東北大学）、横山弘之（東北大）

新しい光ベクトルレーザー光を用いて、古典的な光の回折限界を打ち破る蛍光ナノイメージング法の開発に着手した(JST,CREST)。ベクトルビームとは、強度、偏光、位相が、空間的な分布を持っているレーザービーム光で

ある。その中で高次多重リングモードをもつものを正立顕微鏡下で発生させることに成功した。このモードを用いて、超解像蛍光イメージングに成功した。

in vivo イメージング手法の展開

根本知己、日比輝正

レーザー光学系の独自の改良により、生体脳において

深さ約 1mm の構造を 1 μ m 以下の解像度で観察できる性

能を実現した。生体内神経細胞の Ca^{2+} 動態イメージング技術の確立および長時間連続イメージングのための生体

固定器具の開発を行うとともに、同一個体・同一微細構造の長期間繰り返し観察技術の確立を行った。

生体肝代謝活性の in vivo 測定法の開発

根本知己，岸本拓哉（ソニー株式会社）

ソニー（株）との共同研究により，新たに 2 光子 in vivo FRAP 法の開発に成功し，麻酔下のマウス生体肝細胞に

おける代謝活性を非侵襲的に定量することを可能とした。（特許申請中）。

身体左右差獲得の Ca^{2+} イメージング

根本知己，野中茂紀（基礎生物学研究所）

機構内連携バイオ分子センサープロジェクトによる共同研究として実施した。哺乳動物の身体の左右非対称性はノード流の一方向性に由来するが，その細胞生理学的

な分子機構は不明である。そこで，マウス初期胚の Ca^{2+} イメージングからその分子機構を検討し，非対称な Ca^{2+} 振動の存在が明らかになった。

動物実験センター

【概要】

1. 全般

本年度の大きな柱は、1) 明大寺地区地下 SPF 施設の本格稼働、2) 明大寺地区本館・新館施設における清浄化の維持および 3) 霊長類遺伝子導入実験室の設置に伴う動物実験センターの機能移転であった。

1) については漸く動き出し、個別喚起ケージ (IVC) システムの長所・短所を今後良く見極め、不具合の部分は改善を図りたい。IVC 使用希望者数は増え、明大寺地区と山手地区における利用者の交通整理が今後必要である。2) については一年間感染症の再発はなく、撲滅宣言として、完了する。この間、センター職員も微生物汚染に関してかなり神経を使い、多くの時間と労力を注いだ。3) は計画通りに仕事が進まず、新しい受理室を設置したことに留まり、次年度に引き継ぐ事項である。MRI 撮影時の動物の保管や微生物レベルが不明瞭な動物の受入などで、支障が生じている。

2. 明大寺地区地下 SPF 施設の稼働

2009 年 6 月から明大寺地区地下 SPF 施設は試験稼働から本稼働に移行した。2010 年 1 月から 3 月までエレベーター工事で一時休止する間に、器具機材の最終購入を図り、来期以降の利用促進を心がけた。

3. 長類遺伝子導入実験室に伴う動物実験センターの機能移転

当初予定していた受理室の建物では、建築が難しいことや建築費が高額であることがわかり、家庭用のバルコニーを応用する案を提出し、方針を変更した。新しい受理室の設置が大幅に遅れてしまい、その間実験動物や飼料の搬入に苦慮した。外気が直接侵入する問題が生じ、感染症の防疫対策で労力を割くこととなった。2009 年 10 月に漸く新受理室ができ、通常の受け入れ業務に移行した。ロボット掃除機による廊下の清掃や空気清浄機による空間の清浄化に注意を払っている。

マウス・ラットの緊急避難一時飼養保管施設の設置は、今期実現することができなかった。設計段階の話は済み、建築許可申請の手続きに向かっている。来年度秋期を目処にできる限り早めに設置稼働できるようにしたい。

動物実験センターの機能の移転は未だ十分ではないが、センターの業務および利用者の実験に支障が起きないよ

うに現在努力をしている。グレーゾーンの実験動物の搬入や空調・給排気のバランスの崩れなど今後残る問題もあり、対策を講じなければならない。平成 23 年度以降の生理学研究所の耐震補強工事計画に関係づけて改善が図れればと期待する。

4. 山手地区一時保管室の定期的消毒

これまで一時保管室は定期的モニタリングを行っていないので、一年に一回という考えで、全面消毒を今期実施した。研究のスケジュール上、一気に消毒を行うことができず、二期に分けて作業を実施した。ホルムアルデヒド薫蒸消毒ではなく、過酢酸および過酸化水素を用いた水溶性消毒剤噴霧を適用した。師走に完了したが、新しい消毒方法により良好な消毒成績を得た。代替消毒技術も今後確立させて、安全な消毒に努めたい。

5. 明大寺地区本館 2 階・新館 3 階のクリーン化および感染事故撲滅

Mouse hepatitis virus, *Mycoplasma pulmonis* および *Bordetella bronchiseptica* の感染について、昨年度第一期・二期に分けて、消毒作業を行い、2008 年 12 月末をもって終息をみた。その後も感染の広がりはなく、1 年間の定期的モニタリング成績からも異状は認められなかった。一連の微生物検査成績に基づき、上記感染症の完全撲滅宣言としたい。*Pasteurella pneumotropica* および消化管内原虫は残り、拡散方向に進んだが、これは致し方ないと考える。今後も、気をゆるめることなく、設備や機材の整備 (白衣、帽子、手袋、マスク、消毒薬、履き物等) に努めたい。ただし、定期的微生物モニタリングの協力件数が減ってきている点が気がかりではある。また、衛生資材の消耗品経費も増加し、廉価な物に切り換えるなどの努力をする。

6. 山手地区 SPF 施設の清浄度レベルの確認

国立大学法人動物実験施設協議会が示す Excellent status の項目を調べ、どのレベルまで達しているかを確認した。6 か月間の調査ではあったが、*Staphylococcus aureus* を除き、すべての項目で陰性であることがわかった。国内の SPF 施設の清浄度レベルとしては、最高レベルの状況で維持されている。特に、大学・公的研究機関の SPF 施設としては申し分がなく微生物統御がなされて

いると判断された。黄色ブドウ球菌 *Staphylococcus aureus* については、市販の SPF 動物が 20-70%ほど有する細菌のため、動物の導入に伴い施設に定着しているものと思われる。利用者のご協力に感謝申し上げるとともに、今後もこの高い清浄度レベルが維持できる様に努力する所存である。また、温水配管を設置し、冬期の手指洗浄に利便を図った。

通常の定期モニタリング成績では、山手地区 SPF 施設は Minimum status+蟻虫、*Pasteurella pneumotropica* は陰性であった。部門内の実験動物では、蟻虫と緑膿菌が検出された。明大寺地区の成績については、動物実験センター、行動様式解析室および研究部門内の実験動物はカテゴリ A, B の検査項目をクリアーしている。

7. 吸入麻酔機の導入

実験動物の苦痛の軽減、従事者の労働安全の確保および実験の精度・効率の向上を目指すために、齧歯類の吸入麻酔機を導入した。現在試行段階であり、従来のパルビツレート系注射麻酔に比べ、取り扱いが良いことは確かである。来期は、吸入麻酔法の経験を多くして、データを積み重ねることを目標にしたい。麻酔モニタリング

指針(案)の策定にも協力できる体制をとりたいと考える。

8. エレベーター・ダムウェーターの改修工事

動物実験センターの開設後、約 30 年が経過して、施設の老朽化がかなり目立ち始めている。とりわけ、エレベーター・ダムウェーターの障害は大きな問題となり、手直しを図り、機器の延命に努めて来た。今期マスタープランに則り、エレベーター・ダムウェーターの改修に漕ぎ着けた。事故（特に人身事故）が起こらずに済み、ホッとしている。ダムウェーターは人が乗降できるエレベーターに変わり利便性が高まった。エレベーターは清浄に心懸け汚染しない様にしている。今後、人や物品の動線もさらに改まることが期待できる。

9. 教育訓練

麻酔および疼痛管理の教育訓練を、動物実験委員会主催の教育訓練 part 2 として、4 回に分けて開催した。中型動物（イヌ、ネコ、サル）、小型動物（ウサギ、モルモット）、両生類、魚類およびげっ歯類（マウス、ラット）と動物種ごとに分けて実施した。今後テキストとして利用できるように便宜を図る予定である。山手地区利用者講習会は毎月定期的実施した。

計算科学研究センター

【概要】

様々な機能性生体様物質の創生を目指している。なかでも核酸の塩基対構造に注目し、4 種類の天然塩基を区別することなく塩基対を形成する動的構造変化型ユニバーサル塩基とそれをオリゴヌクレオチドに導入したユニバーサル核酸、高い塩基認識能と塩基対形成能および様々な機能を有する人工核酸塩基、核酸中の全塩基を塩基選択的に標識する手法を開発している。それら人工の

核酸塩基を利用して、塩基対構造を深く理解するとともに、電子顕微鏡をはじめとする各種計測装置を利用した一分子核酸配列解析技術への応用についても研究を進めている。人工核酸塩基と反応剤の設計・評価に計算科学研究センターに設置された大型計算機とプログラムライブラリーを利用する。

ユニバーサル核酸の創生

片岡正典

報告者の開発した、相対する塩基に呼応して動的に構造変化して天然型核酸塩基 4 種すべてと塩基対を形成しうる動的構造変化型ユニバーサル塩基をペプチド核酸型のオリゴヌクレオチドへの導入に成功した。天然のオリゴヌクレオチドとの会合体形成について吸収スペクトル

で調査したところ、如何なる配列であっても安定な複合体を形成することが明らかとなった。核酸配列を全く認識せず、核酸に対して特異的に複合体を形成する人工核酸の例はなく、その波及効果は計り知れない。

全塩基修飾型核酸標識－塩基置換法

片岡正典, 永山國昭

核酸中の同種の塩基全てを化学的に標識する手法を開発した。本法は塩基選択的に塩基を分解、遊離させてリボースを生成させる第一段階とリボースに対して標識剤を導入する第二段階からなり、一度の操作で核酸中の同種の塩基全てを標識できる。本法は塩基選択的の反応を組み合わせ、標識を 4 度繰り返すことで塩基ごとに異なる標識を施すことも可能である。また、1 級あるいは 2 級

のアミノ基を有している全ての標識剤を導入できるため、目的に応じて標識剤を自由に選択できる特長も有している。実際に本法を用いてオリゴヌクレオチドを 11 個の金からなる金属クラスターによって多点標識することに成功しており、透過型電子顕微鏡を用いた配列解析技術など様々な応用が期待される。

全塩基修飾型核酸標識－塩基拡張法

片岡正典, 永山國昭

核酸中の同種の塩基全てを化学的に標識する手法を開発した。塩基置換法に比して装置の要求度は高いものの

安価・簡便な操作で標識を完了し、高分解顕微鏡をはじめとする一分子観察技術を用いて 4 種の塩基を識別可能

とする。本法は塩基を構成するヘテロ環を増環する修飾反応に基づいており、塩基選択的であることから様々なパターンで各塩基を標識できる多様性も有する。また、解離剤を用いなくとも直接二重鎖 DNA を標識反応に供

することができ、標識後は自動的に一本鎖に解離する。本法は塩基置換法と同様に核酸中の同種の塩基全てを標識できる、これまでに類を見ない標識法である。

技術課

大河原浩

【概要】

今年度、大庭明生技術課長の定年退職に伴い、大河原浩研究系技術班長が技術課長へ昇任した。技術課組織の強化と研究支援体制の充実発展のため、4月1日付けで次の昇任および異動があった。小原正裕統合生理研究系技術係長は技術課長補佐（研究系技術班長）へ、戸川森雄発達生理学研究系技術主任は同技術係長へ、竹島康行統合生理研究系技術係員は同技術主任へ、齊藤久美子発達生理学研究系技術係員は同技術主任へ、吉村伸明脳機能計測技術係員は情報処理・発信技術主任へ、廣江猛動物実験技術係員は同技術主任へ昇任した。山口登脳機能計測技術係長は細胞器官研究系技術係長へ、前橋寛電子顕微鏡技術係長は脳機能計測・支援技術係長へ、永田治発達生理学研究系技術係長は情報処理・発信技術係長へ、加藤勝己工作技術係長は行動・代謝分子解析技術係長へ、福田直美生体情報研究系技術係員は細胞器官研究系技術係員へ、森将浩発達生理学研究系技術係員は生体情報研究系係員へ、三寶誠生体情報研究系技術係員は行動・代謝分子解析技術係員へ、佐藤茂基脳機能計測技術係員は統合生理研究系技術係員へ、佐治俊幸工作技術主任は脳機能計測・支援技術主任へ、山田元電子顕微鏡技術係員は脳機能計測・支援技術係員へ、村田安永脳機能計測技術係員は情報処理・発信技術係員へ異動した。また、加藤勝己行動・代謝分子解析技術係長は多次元共同脳科学推進技術係長併任となった。小原正裕技術課長補佐はナノ形態研究部門担当、永田治情報処理・発信技術係長は機能協関研究部門担当も命ぜられた。山口登細胞器官研究系技術係長は脳神経回路論研究部門、加藤勝己行動・代謝分子解析技術係長は形態情報解析室、佐藤茂基統合生理研究系技術係員は生体システム研究部門担当を命ぜられた。なお、今年度、技術課業務分掌規則が一部改定された。

課の研究活動への寄与と貢献を一層進めるため下記の事業を実施した。

①生理科学実験技術トレーニングコースでの技術指導

生理学研究所が毎年主催し、実施している生理科学実験技術トレーニングコースで、『生理学実験のための電気回路・機械工作・プログラミング』をテーマに、『生体アンプとバスチェンバーの作製』と『C言語によるPIC

プログラミング』の2コースを企画した。

②生理学技術研究会の開催

全国の大学等技術職員の技術連携と交流を目的に第32回を、基礎生物学研究所・技術課と合同で平成22年2月18日-19日の2日間にわたり開催した。会では、口演発表が27題、ポスター発表が44題あり、研修講演として『進化学における技術革新と今後の展望』（長谷部 光泰，基礎生物学研究所 生物進化研究部門 教授）を行った。これらの報告は『生理学技術研究会報告（第32号）』にまとめた。

③奨励研究採択課題技術シンポジウムの開催

時代要請に対応した技術認識と向上に立った技術職員の業務の社会的開示を推進するために奨励研究採択者による第5回の報告会（平成22年2月19日）を14演題で行った。この報告は『生理学技術研究会報告（第32号）』にまとめた。

④自然科学研究機構技術研究会の参加

自然科学研究機構技術職員の業務の紹介と技術連携を目的に、第4回を基礎生物学研究所で開催した（平成21年6月25-26日）。会では21演題の発表があり、詳細は『第4回自然科学研究機構技術研究会集録』としてまとめた。

⑤東海北陸地区技術職員研修等の受講と参加

東海北陸地区の大学等の技術職員の技術交流と向上を目的に毎年当番校により行われている技術研修で、電気・電子コース（福井大学）を1名が受講した。

また、高エネルギー加速器研究機構技術職員シンポジウム（高エネルギー加速器研究機構，1名）、電子顕微鏡使用法に関する講習会（東京，2名、浜松，3名）、MRIに関する講演会（東京，2名）、日本実験動物環境研究会（東京，1名）、日本神経科学大会（名古屋，2名）、天文学に関する技術シンポジウム（国立天文台水沢，1名）、日本肥満学会（浜松，1名）、日本分光学会（東北大学，1名）、糖鎖に関する研究会（大阪，1名）、著作権に関する講習会（東京，1名）、産学官人材育成セミナー（東京，1名）、情報セキュリティに関する説明会（東京，1名）、アプリケーション利用者セミナー（名古屋，2名）

などに参加し、業務の研究支援力の強化を図った。

⑥放送大学利用による専門技術研修の受講

研究の高度化と多様化に対応するため技術職員の研修を推進している。今回放送大学研修科目としてバイオサイエンスで豊かな暮らし（4名）、神経心理学（2名）、情報科学の基礎（1名）、科学的な見方考え方（1名）、疾病の成立と回復促進'05（1名）、都市と防災（1名）の6科目を選び10名が受講した。

⑦科学研究費補助金（奨励研究）の採択

業務を展開、推進していくための問題意識の養成、その解決のための計画および方法の企画能力の養成、さらにはその表現力と説明力の養成を通じて、業務上の技術力の総合的な向上を図ることを目的に標記の申請を行い、下記の2課題の採択を得た。

(1) 齊藤久美子：HPLCによる視床下部のアシル CoA の個別定量

(2) 石原博美：痛覚伝達を担うラット脊髄ニューロンの形態学的特徴の解析

⑧業務報告会とデータベース化事業の促進、および表彰制度の整備

課員の出向先研究部門での業務成果は技術課業務報告会で報告され、情報の共有化が図られている。また、その成果は技術課主催の生理学技術研究会、出向先部門での学会発表により所外に発信されているが、より広く活用され、即時的に発信するために、優れた成果をデータベース化する事業を技術課が研究部門と進め、その一

部を技術課ホームページで公開している。今年度も、その編集を技術班長による専任とし、その更新を進めた。こうした事業の推進のなかで、優れたデータベースにはデータベース賞として表彰授与を所長より行った。こうした事業の推進により、研究者との連携を深め、業務の活性化を進めた。

⑨安全衛生技能講習等の受講と参加

研究所の安全衛生を課業務として充実するために、第1衛生管理者講習（岡崎、2名）、第5回安全衛生情報交換会（土岐、2名）、第25回大学等環境安全衛生協議会（長崎、1名）、化学物質管理セミナー（岡崎、2名）、自衛消防業務講習会（名古屋、1名）を受講した。

⑩岡崎3機関技術課長会と機構技術代表者会議の開催

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

⑪他機関技術職員の研修受入れ

大学共同利用機関として他機関技術職員（1高専、1名）の研修を受入れ、電子顕微鏡室の技術職員が指導した。

⑫職場体験の受入れ等

広報展開推進室が推進する地域貢献活動を支援するため、岡崎中学校生徒（5中学校、10名）の職場体験を受入れ、電子顕微鏡室、ネットワーク管理室、機器研究試作室、動物実験センター等の技術職員が指導した。また、アウトリーチ活動の支援も行った。

施設の運営状況

①統合生理研究系

(1) 生体磁気計測装置室

竹島康行

【概要】

2009年度における生体磁気計測装置の稼働率を下表に示す。本装置における研究成果については、統合生理研究系 感覚運動調節研究部門の研究活動報告に記載されている。

装置全般の保守については、二ヶ月毎の定期点検の他に、計測システムのソフトウェアとOSの更新をおこなった。計測手順の改善をおこなった。解析システムについてもOSの更新を順次おこなう予定である。計測および解

析のワークステーションで発生した経年劣化によるビデオボードとハードディスクの障害部品の交換をおこなった。

解析環境の整備については、ファイルサーバーのRAIDシステムの容量増加をおこない、従来の約1.5倍のファイルを扱えるようになった。新たに、PCで動作する解析システムを導入した。これはMEGのメーカーが開発したもので、現在使用しているワークステーションのソフトウェアと同等の機能を有しておりオフラインでの

解析も可能である。

2009 年度 生体磁気計測装置稼働率

年 月	日数	休日数	点検日数	利用日数	稼働率 (%)	延べ利用者数	共同利用日数 (所内対応数)	備考 (保守点検の作業内容)
2009 年 4 月	30	9	1	9	45	10	7 (6)	定期点検
5 月	31	13	1	9	53	12	2 (1)	計測 WS 修理 (ビデオボード)
6 月	30	8	2	18	90	20	5 (4)	定期点検
7 月	31	9	1	21	100	24	0 (0)	SSP データ調査
8 月	31	10	1	14	70	15	8 (8)	NIS サーバ障害対応
9 月	30	11	2	15	88	15	5 (5)	定期点検, 計測システム更新
10 月	31	10	1	17	85	18	11 (10)	RAID システム容量増加
11 月	30	11	1	9	50	10	6 (3)	定期点検
12 月	31	12	1	15	83	17	15 (9)	
2010 年 1 月	31	12	1	19	106	21	12 (3)	定期点検, 解析 WS 修理
2 月	28	9	0	18	95	21	8 (4)	
3 月	31	9	1	9	43	11	0 (0)	定期点検, 解析システム導入

*利用日数は、計測装置を使用した日数であり、解析装置の使用日数は含んでいない。

また、保守作業などの計測外使用も含まない。

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

②脳機能計測・支援センター

(1) 形態情報解析室

加藤勝己

【超高压電子顕微鏡利用状況】

今年度における超高压電子顕微鏡共同利用実験は、合計 14 課題が採択され、全ての課題が実施された。これらの共同実験の成果は、超高压電子顕微鏡共同利用実験報告の章に記述されている。超高压電子顕微鏡の年間の利用状況を表にまとめたので下記に示す。稼働率は、利用日数と使用可能日数より求めている。今年度は、故障が多発し、休日利用があったため稼働率が 100%を超える場合があった。なお、調整日は、定期調整(含清掃)日と修理・改良等に要した日数を合わせた数である。本年度の主な超高压電子顕微鏡の改良・修理としては、フィルムナンバーカウンタの交換、サイドエントリーホル

ダーの点検、分解、洗浄、調整作業、500I および 1000I イオンポンプおよび電源の交換、蛍光板、ピントスクリーンの交換、レンズ電源部冷却用ファンおよび、ヒートセンサーの交換、修理作業能率化のための電源室内配置換え、高压タンク内フィラメント位置、角度調整用駆動部の分解、調整、修理、およびフィラメント交換、可動対物絞り及びコンデンサ絞り交換、高压タンク内高压用コンデンサの容量低下、絶縁不良に伴うコンデンサ交換及びバランス組み換え調整、高压タンク内ダイオード不良に伴うダイオード交換、写真撮影用マイクロスイッチの交換などが行われた。

2009 年度 超高压電顕月別稼働率

年 月	総日数	休 日	調整日	使用可能 日数	所内利用	所外利用	計	稼働率	備 考
2009 年 4 月	30	9	10	11	4	2	6	55%	
5 月	31	13	9	9	7	0	7	78%	
6 月	30	8	19	3	3	0	3	100%	修理 10 日
7 月	31	9	21	1	0	0	0	0%	修理 1 日

年 月	総日数	休 日	調整日	使用可能 日数	所内利用	所外利用	計	稼働率	備 考
8 月	31	10	20	1	1	0	1	100%	修理 20 日
9 月	30	11	5	14	6	2	8	57%	
10 月	31	10	6	15	4	5	9	60%	
11 月	30	11	10	9	4	3	7	78%	修理 1 日
12 月	31	12	14	5	2	5	7	140%	修理 14 日
2010 年 1 月	31	12	0	19	1	19	20	105%	
2 月	28	9	4	15	1	12	13	87%	
3 月	31	9	4	18	0	18	18	100%	修理 2 日
計	365	123	122	120	33	66	99	83%	

フィラメント点灯時間 452 時間

使用フィルム枚数 6,118 枚

(2) 生体機能情報解析室

佐治俊幸，竹内佐織，佐藤茂基

【概要】

平成 21 年度の主な装置利用および整備状況は次の通りである。

リアルタイム装置は、電源のユニットの装置本体用ブレーカーが故障し、交換部品の入手が困難で長期間にわたり装置が使用できない状況があった。9 月にシム装置の電源部分が故障し、一部部品を交換して対応したが 10

月に再度故障した為、シム装置ユニットを代替品と交換して対応した。

リアルタイム装置の所外利用者は 3 グループあり、装置利用の有効性から日程を重ねて使用している。

平成 21 年度のリアルタイム装置利用実績を別表に記す。

【機器利用率】

平成 21 年度リアルタイム装置月別稼働率

年月	総平日 数	保守	使用可能 日数	所内利用 日数	所外利用 日数	計	利用率	備考
2009 年 4 月	21	0	21	0	0	0	0%	
5 月	18	0	18	0	0	0	0%	
6 月	22	13	9	0	0	0	0%	装置ブレーカー故障 (6/16～8/10)
7 月	22	22	0	0	0	0	—	〃
8 月	21	6	15	0	0	0	0%	〃
9 月	19	1	18	0	3	3	17%	シム電源交換
10 月	21	1	20	0	0	0	0%	シム電源交換
11 月	19	0	19	0	2	2	11%	
12 月	19	0	19	0	2	2	11%	
2010 年 1 月	19	2	17	0	0	0	0%	
2 月	20	0	20	0	2	2	10%	
3 月	22	0	22	0	3.5	3.5	16%	
年間	243	45	198	0	12.5	12.5	6%	

*土・日に実施された実験は 0.5 日分を平日に振り替えて計算。

*同一日に利用者が複数あった場合でも、利用日数は 1 日とした。

(3) 多光子顕微鏡室

前橋 寛

【概要】

平成 21 年度は共同研究 (表 1 参照) および特定領域研究 (生体膜トランスポートソームの分子構築と生理機能), CREST 研究 (研究課題:ベクトルビームの光科学とナノイメージング) が行われた。

多光子顕微鏡の光源は近赤外 (720nm~910nm) 超短パルスレーザーである。パルス発振 (モードロック) させる時や波長を変更する時はレーザー内部のスリット幅やプリズム位置, ネガティブチャープ (パルス幅補正用) 内部のプリズム位置を変更する。その為, レーザーの光路調整が必要となり, IR スコープによる導入用鏡の角度および位置の調整が必要となり, レーザー起動毎に調整

をおこなった。

今年度の CREST 研究では正立の多光子顕微鏡システムが導入され, 既設の近赤外超短パルスレーザー光をハーフミラーにより 2 つに分けて実験が行われた。そのパルス光および LD レーザー光 (473nm) をベクトルビームに変換して光学顕微鏡への導入実験をサポートした。

また, 蛍光ビーズによる分解能測定をおこなった。

昨年度に引き続き, 光学顕微鏡に関する勉強会 (週一回), バイオイメージングの勉強会 (月 1 回程度) 参加, 分子研ピコ秒レーザーによる色素および蛍光タンパクの 2 光子励起測光実験の補助等を実施した。

表 1 平成 21 年度多光子顕微鏡室共同研究

所属	研究者名	課題名
ソニー (株)	岸本 拓哉	多光子励起過程法を用いたイメージングによる肝臓・代謝機能の研究
関西医大	木梨 達雄, 片桐 晃子, 片貝 智哉, 戎野 幸彦	多光子励起過程法を用いた in vivo イメージングによる免疫細胞動態の研究
東京医科歯科大	頼 建光, 太田 英里子	2 光子顕微鏡を用いた外分泌腺における開口放出・溶液輸送の分子機構と生理的機能に関する研究
群馬大学	原田 彰宏, 國井 政孝	2 光子顕微鏡を用いた外分泌腺における開口放出・溶液輸送の分子機構と生理的機能に関する研究
広島大学	兼松 隆	2 光子顕微鏡を用いた内分泌腺におけるホルモン分泌の分子機構と生理的機能に関する研究

(4) 電子顕微鏡室 (生理研・基生研共通施設)

山田 元

【概要】

明大寺地区に設置されている JEM-1200EX は保守契約を昨年度で解約し, 電子顕微鏡室にて主体的な保守を実施した。しかし, 機器の老朽化より, 様々な部分に不具合が見られ, 大幅な改良が必要となっている。

山手地区にて電子顕微鏡室が管理していた電子顕微鏡のうち JEM-1200EX は十分な動作が確認できなかったため, 本機は他大学への移管を行った。

もう一台の JEM-1010 に関しては 2k×2k の CCD カメラを新たに導入し, 利用環境の大幅な改善が見られた。

他の機器に関しては, 明大寺地区の走査型電子顕微鏡 S-800 に関してはオーバーホールを行い, 快調に動作し

ている。JEM-1010, S-800 並びにその試料作製機器に関しては多くの利用者により利用がなされている。

共焦点顕微鏡 LSM-510, 並びに蛍光顕微鏡に関しての利用は例年通りである。

【研究内容一覧表】

本年度, 電子顕微鏡室を利用した研究者は生理学研究所 37 人, 基礎生物学研究所 12 人, 機構外は 3 人の計 52 人であった。

下記に利用者の所属研究所, 研究部門, 研究内容の一覧を示す。

研究所，大学	研究部門	研究内容
生理学研究所	脳形態解析	神経伝達物質受容体の脳局在解析
		Left-light asymmetry in hippocampus
		Determining the morphological feature governing physiological aspects of synaptic transmission
		Immunohistochemical localization of low threshold channels
		Long term memory formation in motor learning
		To observe the synapses in the lateral capsular part of central nucleus of amygdala
		脳が左右非対称であることの生物学的基盤の確立
		シナプスの形態学的解析
		神経伝達物質受容体やイオンチャンネルの局剤と機能
		凍結切断レプリカ標識法を用いた共同研究
		脳の左右差が形成される仕組みを解明する目的としてβ2mKO マウス及びTARPIKO マウスの微細構造を解析する
		Septin 分子の脳内局在を免疫電子顕微鏡法を用いて明らかにする
		To investigate the mechanisms underlying short-and log-term motor learning and memory
	ナノ形態生理	位相差電子顕微鏡観察のための試料調整・予備観察
		血管還流唾液腺の細胞結合の形態観察
		タンパク質などのネガティブ染色像の取得
		位相差電顕用位相番のカーボン膜の厚さ測定のため
	生体膜	てんかん関連分子の局在解析
	形体情報解析室	小腸上皮下線繊維細胞の形態学的研究
	多光子顕微鏡室	ベクトルビームの評価
	神経機能素子	膜機能蛋白質の細胞内局在の解析
	大脳神経回路論	大脳皮質の神経回路の解析
	細胞生理	オキシレンによるオキシレン神経細胞活動調整
	機能協関	網膜におけるバイオ分子センサーの発現を免疫染色法によって確認する
		メラノプシン遺伝子の遺伝子銃によるラット網膜組織培養への導入
基礎生物学研究所	共生システム	マメ科植物都草の茎頂の形態解析
	植物発生遺伝学	葉の発生進化に関する研究
	形態形成	アフリカツメガエル初期胚発生における神経管閉鎖過程の分子機構の解析
	植物器官形成学	植物のメリステム付近の観察を行う
	高次細胞機構	高等植物におけるタンパク質の細胞内局在の解析
	生殖生物学	性的可塑性の分子メカニズムに関する研究
		Molecule sex-differentiation of the gonads in medaka
琉球大学		魚類の生殖腺の性的可塑性の形態学的研究

(5) 機器研究試作室 (生理研・基生研共通施設)

佐治俊幸

【概要】

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

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

の 2 コースを開講した。参加希望者は, 2 コース合わせ生理研 13 名, 基生研 14 名で, 初級コースは半日を 1 回, 応用コースはガイダンスの後, マンツーマンで 3 回の講習を行った。

本年度の委員会では, 従来より不明確であった委員会規定を明文化し, 機器研究試作室委員会の立場と存在を明確な物とした。

また, 生理学研究所では, 山手地区に移転した研究室のために, 2005 年 4 月に工作室を開設し, 利用者のための安全及び利用講習会を, 毎年機器研究試作室が依頼を受けて実施している。

なお, 機器研究試作室の平成 21 年度の利用状況は, 以下の通りである。

平成 21 年度 機器研究試作室 利用報告

機器研究試作室 部門別のべ利用状況

認知行動発達機構	128 名	電子顕微鏡室	9 名	多光子顕微鏡	3 名
感覚認知情報	112 名	機能協関	9 名	動物実験センター	2 名
ナノ形態生理	39 名	神経分化	8 名	生体恒常機能発達機構	2 名
形態情報解析室	18 名	行動様式解析室	7 名	NBR 事業推進室	1 名
心理生理学	18 名	神経シグナル	7 名	神経機能素子	1 名
生体システム	17 名	多次元共同脳科学推進センター	7 名	生殖内分泌系発達機構	1 名
大脳神経回路論	10 名	脳形態解析	4 名	分子神経生理	1 名
広報展開推進室	13 名	生体膜	3 名		

時空間制御	35 名	所長室付	2 名	植物器官形成	1 名
脳生物学	35 名	個別研究 (星野)	2 名	分析室	1 名
形態形成	24 名	統合神経生物学	2 名	植物発生遺伝学	1 名
ERATO 分化全能性進化	8 名	共生システム	2 名		
生物進化	5 名	大型スペクトル	1 名		

機器研究試作室 利用人数表

月	生理研	基生研	合計	延べ時間
4	40	3	43	76
5	42	4	46	84
6	43	10	53	100
7	44	13	57	122
8	28	24	52	76
9	32	16	48	64
10	27	9	36	58
11	28	10	38	77
12	26	7	33	45
1	27	4	31	51
2	24	8	32	43
3	28	2	30	66
合計	389	110	499	862

機器研究試作室 利用機器表（件数）

月	フライス盤	ボール盤	横切盤	コンターマシン	NCフライス	旋盤	ベルトグラインダー	切断機	その他	計
4	21	10	6	14	2	11	3	1	5	73
5	19	11	7	20	0	8	3	4	4	76
6	26	16	11	13	2	14	4	9	8	103
7	36	21	11	18	2	10	4	4	6	112
8	29	19	13	22	1	4	4	1	4	97
9	25	10	7	13	0	4	1	2	11	73
10	26	9	5	7	0	5	1	2	6	61
11	15	13	3	7	0	6	1	1	5	51
12	17	7	6	11	0	6	0	2	9	58
1	19	8	7	8	0	5	0	0	9	56
2	19	5	10	15	0	5	0	4	6	64
3	17	8	7	11	0	2	1	3	5	54
合計	269	137	93	159	7	406	22	33	78	878

機器研究試作室 依頼製作品

スライスパッチチェンバー	凍結切断装置 改造部品	DSLM チェンバー
ウォータージャケット	マイクロームカバー	移動式 2 連顕微鏡ステージ
マウス頭部固定器具	唾液腺用チェンバー	高架式十字迷路
行動解析ケージ	電気泳動用コーム	マーモセット解剖台
ヘッドアンプ固定具	メダカ卵用アガロース型	
トリミング 補助具	ヒドラ卵用アガロース型	

③情報処理・発信センター

(1) ネットワーク管理室

吉村伸明，村田安永

【概要】

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

プログラム開発及びメディア変換などに分類することができる。また、これらを円滑に運用していくためには、所内 LAN の管理、整備や情報セキュリティの維持も重要である。このような現状をふまえたうえで、岡崎情報ネットワーク管理室とも連携しながら、施設整備を進めている。岡崎情報ネットワークは、今年度新たに MAC アドレスベース、もしくは Web 認証ベースの動的 VLAN 機能を有する 1000BASE-T ネットワークを構築し、運用を開始した。

生体情報解析システムは、データ解析・可視化、信号処理、画像処理、数式演算、統計処理、電子回路設計な

どの多くのネットワークライセンス用アプリケーションを備えている。ネットワーク認証により各部門施設の PC 上でこれらアプリケーションが供用できる。登録者は 115 名で、研究推進のための積極的な利用がある。

生理学研究所のネットワーク利用状況は、メール登録者が 501 名。WWW 登録者が 80 名。LAN の端末数が 2,026 台。VPN サービスは 49 回/週、82 時間/週の利用があった。

所外からのメール受信数と、所外へのメール発信数は共に 14,000 通/週であった。WWW は 4,600 台/週の端末から 69,000 ページ/週の閲覧があった。

④ 岡崎共通研究施設

(1) 動物実験センター

【概要】

本年度は、明大寺地区陸生動物室の地下 SPF 飼育室の本格的な運用に向け、利用者による実際の飼育作業を行っていくとともに、SPF 飼育の担当者を含めた作業及び環境等の見直しも進めた。また、霊長類遺伝子導入実験施設の改修工事が終了し、施設の利用が開始されたが、施設の特異性や利用形態が研究室主体のため、センターによる把握が困難である。したがって、運用面や管理等の課題が残っている。なお、懸案であった小動物用の受理室は設置できたが、緊急時用一時飼育室の設置は次年度へ繰り越しとなっている。

明大寺の施設は、建設されてから 30 年あまりを経過しており、空調設備を始めとする設備の老朽化が著しく、また、研究内容の変遷とともに利用形態も大きく様変わりしているため、様々な設備の更新を必要としている。今年度は、幸にして動物棟 I のエレベーター関連の更新が通り、これにより飼育作業環境が改善されただけでなく、飼育作業者や利用者の安全確保もされたと考えている。

実験動物の授受に関し、年間でのべ 109 件の導入と 90 件の供与があった。平均すると毎週 4 件の授受が行われており、それに伴う条件や書類の確認、ユーザーへのアドバイスに費やされる時間が増大している。

【受精卵凍結・クリーンアップ事業】

実施件数としては、明大寺および山手とも合わせて受精卵凍結保存がのべ 29 件、クリーンアップ兼受精卵凍

伊藤昭光, 廣江 猛, 窪田美津子

結保存 24 件、過去に当センターで受精卵凍結した系統の融解・移植の依頼 4 件を行った。また外部で凍結された系統の融解・移植の依頼が 2 件あり、当センターとは異なる凍結方法であったが、融解・移植し、無事産仔を得ることが出来た。

また、山手の大型液体窒素タンクのリミットスイッチが故障し、液体窒素の供給がストップした。今回大事には至らなかったが、稼働後初めて、大形液体窒素タンクのオーバーホールを行った。

【明大寺地区 陸生動物室】

平成 21 年度の飼育室利用部門数は、21 部門（生理研 12 部門、基生研 4 部門、統合バイオサイエンスセンター 4 部門、共通研究施設 1 部門）であった。動物のべ飼育数は、昨年度と比べ、ラット飼育数は減少し、ウサギおよびネコは減少し、飼育頭数も 0 匹となった。一方、マウスおよびサル飼育数は増加している。

一般飼育室にカテゴリ A,B の病原微生物がいない飼育環境を目指しており、昨年度までに、マウスに関しては入室方法の変更、着衣の徹底、動線の明確化を行ったが、ラットでも本年度行い完了した。また、平成 20 年 7 月以降、3 ヶ月に 1 度の微生物モニタリングを各飼育室で行っているが、カテゴリ A,B に該当する病原微生物は検出されなかった。

地下 SPF 室を構築し、平成 21 年 6 月より運用を開始した。平成 22 年 1 月からダムウェーターおよびエレベーター

ターの改修工事があり、一時 SPF 室の運用を中断したが、微生物学的にも問題なく運用している。

動物棟Ⅰのダムウェーター及びエレベーターの老朽化に伴い、改修工事を行った。ダムウェーターは、人も乗降できるエレベーターに変更され、使用制限はあるものの、作業面で効率が向上した。

動物棟Ⅱで、建物の老朽化に伴い、北壁面に吹き付ける風雨の時には、壁面亀裂より雨水が飼育室へ侵入する事例が発生した。早急な補修工事の対応が望まれる。

【山手地区 動物実験センター分室】

平成 21 年度の飼育室利用部門数は、13 部門(生理研 5 部門、基生研 2 部門、統合バイオサイエンスセンター 6 部門、共通研究施設 1 部門)であった。

利用者講習会を毎月開催するとともに、陸生動物利用者には実務講習会を実施している。各受講者はそれぞれ 44 名、37 名であった。

統合バイオサイエンスセンターに新たに教授が着任したため、SPF 飼育室 1 室の使用を開始した。また、同 1 部門がマウス実験を終了したため、SPF 飼育室 1 部屋のクリーニングを行った。

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

山手地区の稼働後初めて、業者による一時保管室全部

屋のクリーンアップを行った。利用者の利便性を考え、2 回に作業を分けて、動物の飼育が続けられるよう配慮した。

SPF の室圧をコントロールしている ISS 定風量装置に不具合があったため、全機器の点検および故障箇所の交換・修理を行った。

稼働から 7 年を過ぎ、オートクレーブ、ケージウォッシャーなどの大型機器類の修理が多くなっており、修理費、部品代が年々増加し、運営費を圧迫している。

【明大寺及び山手地区 水生動物室】

平成 21 年度の明大寺地区は、基礎生物学研究所の耐震補強工事に伴う水生動物室の改修工事及び飼育水槽等の設置が完了したため、6 月より P1A の施設として運用を開始した。利用状況は、生理研 2 部門、基生研 3 部門となっている。

平成 21 年度の山手地区の利用状況は、統合バイオサイエンスセンター 4 部門と基生研の 1 部門が水槽を利用している。

淡水の水質悪化が時々おこっており、高置水槽内部の汚れが懸念されるため、予算の確保ができ次第、業者による洗浄を行う予定である。

なお、水生動物の搬入数については、耐震補強工事後の復旧期間のこともあり、正確な集計が取れていないため、集計表は割愛する。

陸生動物 部門別・動物種別搬入数（平成 21 年度）

	明大寺地区				山手地区	
	マウス	ラット	モルモット	サル	マウス	ラット
神経機能素子	49					
生体膜					759	214
機能協関	43	55				
分子神経生理	42				777	1
神経シグナル					1,966	550
感覚認知情報				4		
生体システム	136	1		3		
認知行動発達	156	83		23		
脳形態解析	140				1,728	362
大脳神経回路論					4	240
形態情報解析室	1	24	1			
多光子顕微鏡室	64	1				

	明大寺地区				山手地区	
	マウス	ラット	モルモット	サル	マウス	ラット
広報展開推進室		34				
生殖内分泌系	948	38				
生体恒常機能	569	139				
行動様式解析室	80					
動物実験センター	100				340	2
形態形成	10					
統合神経生物学	13				272	
脳生物学	380	11		2		
細胞社会学	90					
分子発生					543	
神経分化	41				155	61
ナノ形態生理		27				109
分子環境生物学	21				31	
細胞生理	81				2,455	19
遺伝子改変動物作製室					1,513	463
合計	2,964	413	1	32	10,543	2,021