

自然科学研究機構プロジェクト 合同シンポジウム

「脳神経情報の階層的研究」

「機能生命科学における揺らぎと決定」

日時 : 2013年3月5日(火)

場所 : 生理学研究所(山手地区) 3号館2階西大会議室

世話人: 「脳神経情報の階層的研究」 生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門 鍋倉淳一
「機能生命科学における揺らぎと決定」 生理学研究所神経機能素子研究部門 久保義弘

9:00 – 9:05 「挨拶」 所長

----- 第一部 「脳神経情報の階層的研究」 -----

9:05-9:10 「イントロダクション」
鍋倉淳一(生理学研究所・生体恒常機能発達機構研究部門)

9:10-9:35 [「大脳皮質 FS バスケット細胞から錐体細胞への抑制性シナプスの結合特性」](#)
窪田芳之(生理学研究所・大脳神経回路論研究部門)

9:35-10:00 [「脳神経とグリアの二階層間情報伝達過程の解明」](#)
松井 広(生理学研究所・脳形態解析研究部門)

10:00-10:25 [「活動電位発生に伴うミクログリア細胞突起の軸索への介入
及びその機能的役割の解析」](#)
加藤 剛(生理学研究所・生体恒常機能発達機構研究部門)

10:25-10:45 コーヒーブレイク

10:45-11:10 [「“We-mode” neuroscience: 2個人同時計測 MRI 研究」](#)
定藤規弘(生理学研究所・心理生理学研究部門)

11:10-11:50 [「随意運動中の運動野局所回路における神経細胞の動的活動」](#)
松崎政紀(基礎生物学研究所・光脳回路部門)

11:50 – 13:00 昼食

13:00-13:40 [「想起後の恐怖記憶制御のダイナミクス」](#)
喜田 聡(東京農業大学応用生物科学部)

----- 第二部 「機能生命科学における揺らぎと決定」 -----

- 13:40 - 13:45 「イントロダクション」
久保義弘(生理学研究所・神経機能素子研究部門)
- 13:45 - 14:25 「アリの採餌行動における決断とゆらぎ」
西森 拓(広島大学・理・数理分子生命理学専攻)
- 14:25 - 15:05 「生きていることの状態論——生命システムの可塑性と安定性」
金子邦彦(東大総合文化・複雑系生命センター)
- 15:05 - 15:45 「時計タンパク質の概日揺らぎの分子化学的解明を目指して」
秋山修志(分子科学研究所・
生命・錯体分子科学研究領域生体分子情報研究部門)
- 15:45 - 16:05 コーヒーブレイク
- 16:05 - 16:30 「シナプス伝達制御における揺らぎと決定
～PSD-95 パルミトイル化酵素によるポストシナプス膜ドメイン制御機構～」
深田正紀、深田優子(生理学研究所・生体膜研究部門)
- 16:30 - 16:55 「温度感受性 TRP チャネルの活性化温度閾値の変化(揺らぎ)のメカニズムと
生理学的意義」
富永真琴(岡崎統合バイオサイエンスセンター・細胞生理研究部門)
- 16:55 - 17:20 「細胞外アシドーシスがもたらす脳神経細胞障害へのアニオンチャネルの関与と、
それらへの温度変動の影響」
佐藤(沼田)かお理、沼田朋大、岡田泰伸
(生理学研究所・機能協関研究部門)
- 17:20 - 17:25 「シンポジウム全体の結び」 副所長

大脳皮質 FS バスケット細胞から錐体細胞への 抑制性シナプスの結合特性

窪田芳之(生理学研究所大脳神経回路論研究部門)

ラットの大脳皮質のスライス標本を用いて、FS バスケット細胞の発火により錐体細胞で観察される IPSC をペア電気生理記録法で解析し、シナプス接着位置やその PSD の大きさ等を Neurolucida を使った樹状突起と軸索の3次元解析、電子顕微鏡によるシナプス結合部分の3次元観察を組み合わせて行った。FS バスケット細胞の神経終末が、錐体細胞の細胞体から $40\mu\text{m}$ より近位にシナプス結合を持ったペアは IPSC を観察する事ができたが、それよりも遠くにシナプス入力するペアでは IPSC は検出できない事がわかった。それらのシナプス結合を電子顕微鏡連続切片観察によって3次元再構築し、シナプスジャンクション面積を測定した。その結果、細胞体に接着するシナプスの面積は大きく、樹状突起上のシナプス面積は小さく、棘突起上のシナプス面積はさらに小さい事がわかった。IPSC が遠くに伝導しない理由は、樹状突起や棘突起上のシナプスのコンダクタンスは小さい為と考えられる。

[【目次へ戻る】](#)

脳神経とグリアの二階層間情報伝達過程の解明

松井 広(生理学研究所・脳形態解析研究部門)

脳情報には、神経の担う情報とグリアの担う情報の二つの階層がある。脳機能は、もっぱら前者によって担われていると考えられてきたが、近年の研究により、生きている脳内のグリア細胞も刻々と活動状態が変化していることが明らかになり、独自の情報処理体系を担っていることが予想されている。しかし、筋肉は神経によって支配されており、目に見える行動の最終的な決定権は神経が担っている。したがって、グリアから神経への階層間情報伝達過程が存在しなければ、グリアの働きが心の機能に影響を与えるとは考え難い。本研究では、グリア細胞に光感受性膜タンパク質の channelrhodopsin-2 を発現した遺伝子改変マウスを使用した。小脳グリア細胞を光で選択的に刺激したところ、グリアからグルタミン酸が放出され、小脳依存性の運動学習に影響された。グリアの活動は神経回路の活動レベルを左右したり、神経回路の書き換えを促したりする作用があることが明らかになった。

[【目次へ戻る】](#)

活動電位発生に伴うミクログリア細胞突起の軸索への介入

及びその機能的役割の解析

加藤 剛¹、石川 達也¹、川本 恭兵¹、Andrew J. Moorhouse²、鍋倉 淳一¹

1, 生理学研究所 発達生理学研究系 生体恒常機能発達機構研究部門

2, Department of Physiology, School of Medical Sciences, University of New South Wales, Sydney

近年、ミクログリア細胞が樹状突起スパインや軸索終末部などに対し、神経活動や経験依存的に接触し、その活動をモニターしている可能性が明らかになった(Wake et al., 2009, Tremblay et al., 2010)。しかしながら、このようなミクログリアの挙動を制御するメカニズムや接触により修飾される神経機能に関しては未だ詳細不明な点が多い。我々はミクログリア細胞が蛍光標識されている Iba-1 eGFP マウス-大脳皮質スライス標本の S1 領域からシャドウパッチクランプ法(Kitamura et al., 2008)を用いて記録及び経電極の蛍光色素注入を行い、2光子顕微鏡下で神経及びその周辺部に存在するミクログリア突起の経時的挙動変化を観察した。大脳皮質 2/3 層の錐体細胞に活動電位を頻回発生させると(10 Hz, 0.33~9 分)、刺激の持続時間依存的な軸索の腫脹が生じ、これに相関する形でミクログリア細胞突起の軸索周辺領域への侵入が認められた。またこのような走化性には、容量依存性陰イオンチャネルより放出される ATP 及びグルタミン酸が直接的または間接的に誘因物質として関与している可能性が考えられた。また上記と同様の現象は樹状突起やその周辺部位では生じなかった。

活動電位を 6 分間頻回発生させた際に、25%(: 4/16)の錐体細胞で持続的(>10 分)かつ比較的大きな脱分極(>20 mV)を伴う、軸索の大きなネクロシス様の腫脹が認められた。ミクログリア細胞の突起はこのような腫脹に伴い軸索へと伸展するが、その際にネクロシス様変化を生じた部位への集中的な接触や貪食を行いその結果錐体細胞膜電位を過分極させ静止膜電位付近まで誘導する現象が認められた。また容量依存性陰イオンチャネルの阻害によりミクログリア細胞突起の軸索への接触の減少が認められ、過活動後の膜電位の上昇の持続により錐体細胞が細胞死に至る比率が増加した。これらの観察結果から、神経細胞の過活動に伴うミクログリア細胞突起の軸索特異的な接触や貪食は、神経細胞の細胞体に対して傷害性ではなくむしろ保護的に働くことが示唆された。

Wake H et al., *J Neurosci.* **29(13)**: 3974-80. (2009)

Tremblay ME et al., *Plos Biol.* **8(11)**: e1000527 (2010)

Kitamura K et al., *Nat Methods.* **5(1)**: 61-7. (2008)

[【目次へ戻る】](#)

“We-mode” neuroscience: 2 個人同時計測 MRI 研究

定藤規弘(生理学研究所心理生理学研究部門)

ヒトの社会性発達機構の研究は、子どもの発達過程を観察することによって様々な社会的行動特性を抽出し、対応する神経基盤を、機能的磁気共鳴画像(機能的 MRI)を用いて明らかにすることで展開してきた。しかし、これは個人が単独で特定の課題を行っている時の活動を計測するものであり(I-mode)、社会的相互作用の特徴である「双方向性」(We-mode)を計測するものではなかった。生理学研究所では、2台のMRIを用いて、コミュニケーションをとっている2名の神経活動を同時に計測することに成功した。これによって、対面する「私たち」は目がつながっていること、「私たち」は注意を共有することからコミュニケーションをはじめること、そしてその時の「私たち」の脳活動は、アイコンタクトで同期し、共同作業を通じてその同期は強まること が判明した。「私たち」の脳科学(We-mode neuroscience)が始まりつつある。

[【目次へ戻る】](#)

随意運動中の運動野局所回路における神経細胞の動的活動

松崎政紀(基礎生物学研究所光脳回路部門)

大脳運動野における情報処理機構を細胞レベルで明らかにすることを目標とし、頭部固定マウスの内発的前肢レバー引き運動課題を開発した。この課題をマウスに8-9日間かけて訓練させた後、課題遂行時にマウス運動野第2/3層において2光子カルシウムイメージングを行った。画像揺れ成分を除くアルゴリズムや細胞体抽出アルゴリズム等を開発し効率的に細胞活動の時系列データを統計数理解析できるようにし、レバー運動に関連する細胞を多数同定した。その結果、レバー引き期間にポピュレーション活動は空間的にクラスター化すること、クラスター内細胞集団はクラスター外集団に比べ、レバー運動情報をより多く保持しており、また活動相関が高く、従って、クラスター内での回帰性シナプス結合による活動上昇により安定した運動指令が生成される可能性が示唆された。

[【目次へ戻る】](#)

Dynamic regulation of fear memory after retrieval

Satoshi KIDA

Department of Bioscience, Tokyo University of Agriculture

Memory retrieval initiates opposite processes; memory reconsolidation and extinction. It is thought that memory reconsolidation is a process to maintain or strengthen original memory, while memory extinction is a process to weaken original memory. We have tried to understand the dynamic nature of memory after retrieval using contextual fear conditioning test. However, contextual fear conditioning allows to induce reconsolidation by re-exposure to the CS without US (CS-no US) in the experimental conditions where extinction is also induced. Therefore, it is difficult to investigate mechanisms by which the fate of memory is determined after retrieval; retrieved memory is either reconsolidated or extinguished. In this study, we have tried to understand these mechanisms using light-dark inhibitory avoidance task. We found that this task allows to discriminate reconsolidation and extinction phases at the time point when mice enter into the dark box from the light box; Re-exposure to light box led to enhancement of fear memory, while the subsequent re-exposure to the dark for 10 min after mice enter from light box led to memory extinction. More interestingly, the re-exposure to the dark box for 1 min following the re-exposure to light box was sufficient to abolish the enhancement of fear memory induced by re-exposure to light box. In the reconsolidation phase, we found that the re-exposure to the light box leads to enhancement of reactivated IA memory through proteasome-dependent protein degradation and new gene expression in amygdala (AMY), medial prefrontal cortex (mPFC) and hippocampus (HP). In contrast, we found that the re-exposure to the dark box leads to long-term extinction through new gene expression and proteasome-dependent protein degradation in the mPFC and AMY, but not HP. Thus we found critical roles of interactions among HP-AMY-mPFC in regulations of fear memory after retrieval.

「想起後の恐怖記憶制御のダイナミクス」

喜田聡（東京農業大学応用生物科学部）

記憶が想起されると、再び安定化されて貯蔵されるためには、固定化と類似した「記憶再固定化」が必要とされる。一方、恐怖記憶の場合、記憶が想起される時間が長くなると、恐怖記憶を軽減する「記憶消去」のプロセスが誘導される。我々は、受動的回避反応課題を用いて、恐怖記憶想起後の記憶制御プロセスの意義とそのメカニズムの解析を進めている。我々は、受動的回避反応課題では、マウスを明箱に戻して、記憶再固定化を誘導すると海馬、扁桃体、前頭前野における遺伝子発現を経て恐怖記憶が強化されることを明らかにした。一方、マウスが暗箱に滞在すると、扁桃体、前頭前野における遺伝子発現を経て恐怖記憶消去が誘導されることを明らかにした。本発表では、海馬、扁桃体、前頭前野を中心にして恐怖記憶制御基盤に関して発表する。

[【目次へ戻る】](#)

アリの採餌行動における決断とゆらぎ

西森拓（広島大学・理・数理分子生命理学専攻）

アリは、個別には比較的単純な作業の遂行能力しか備えていないにもかかわらず、集団として種々の複雑な振る舞いをする事が知られており、社会性昆虫の典型例と見なされている。アリの様々な集団行動のなかでも、採餌行動への関心は高く、特に、フェロモンと呼ばれる一連の誘因物質を利用した効率的な集団採餌は、実験・理論両面から広く研究されてきた。一方で、サバクアリなど、揮発性の高い地面で活動するアリは、フェロモンを利用するのではなく、主に太陽の偏光から進行方向を認識し、歩数カウンターと組み合わせることで、長距離採餌を可能にしている。

我々は、次のアリの採餌に関して次の二つの点に関心をもち研究を行っている。

1. 採餌経路選択における決断の機構
2. 採餌経路構築におけるゆらぎの効果

前者については、日本やヨーロッパの温帯地方にひろく棲息するトビイロケアリが、フェロモンへの走化性および視覚に関する情報の両者を利用し採餌行動を行っていることに注目し、これら二つの情報(視覚情報・化学情報)をどのように組み合わせて(あるいは取捨選択して)採餌行動を行っているか、実験・画像解析により定量的な考察を行った。これまでの結果として、

- 1) 採餌前の探索モードから採餌後の帰巣モードへの内部モードの切り替えが起こる事、
- 2) 帰巣モードにおいて頼るべき複数の方向情報が互いに矛盾している場合、「矛盾度」に応じて最優先情報を切り替えることなどがわかってきた。

後者については、走化性に基づく経路決定において、採餌集団に中で一定の判断ミス(=誤った方向への走化性)が働くことが、経路選択に有利になることがマルチ・エージェントモデルによる計算機実験により示唆されているので、これについて解釈を行う。

なお、本研究の多くは、我々の研究グループ(広島大・理・数理分子生命理学専攻)の昨年度までの大学院生の荻原悠佑氏が中心となって遂行されたものである。

[【目次へ戻る】](#)

生きていることの状態論——生命システムの可塑性と安定性

金子邦彦（東大総合文化・複雑系生命センター）

生命システムは分子、細胞、組織、個体といった階層性を持ち、その各階層が揺らぎながら増殖していくダイナミックな系である。ここで例えば、組織は細胞からなる一方で組織が各細胞の性質に影響する、というように部分と全体は相互に影響しあいながら変化し、階層間の整合性が形成される。その整合性維持のために課される制約を数理的に表現して、生命現象に普遍的に成り立つ法則を見出そうとするのが、われわれが進めている複雑系生命科学の立場である。複製、適応、発生、進化を例にとって、生命システムの可塑性、安定性、進化可能性を表現型のゆらぎや動態と関連づける研究の一端を紹介する。

具体的には、理論、実験両面の協働作業で、(1)細胞複製が続く際にタンパクの量の分布のみならず普遍的性質、(2)細胞成長と遺伝子発現の揺らぎの帰結としての一般的な適応の原理、(3)細胞内動態と細胞間相互作用によるダイナミックな細胞分化の仕組み、(4)発生過程でのノイズそして遺伝的変異に対する安定性の関係などを明らかにしてきた。これらの研究を、特に(3)(4)を中心として紹介し、生物学的可塑性とロバストネスについて議論したい。

参考文献

生命とは何か(第2版)——複雑系生命科学へ(東大出版会2009)

Life; An Introduction to Complex Systems Biology (Springer, 2006)

システムバイオロジー(岩波)第3章 2010

[【目次へ戻る】](#)

時計タンパク質の概日揺らぎの分子科学的解明を目指して

秋山 修志（分子科学研究所 生命・錯体分子科学研究領域 生体分子情報研究部門）

シアノバクテリアの生物時計は大変ユニークなもので、地球の自転周期をリズム的な生化学反応という形で、時計タンパク質 KaiC の分子内に取り込んでいる。KaiC は3種類ある Kai タンパク質の一つで、KaiA と KaiB が共存する試験管内で ATPase 活性やリン酸化状態を概日周期で変動させる。

これまでの研究結果は、周期決定機構が KaiC に秘められていることを示唆する。想定される可能性の1つは、遅くかつ温度補償された化学反応を用い、1日に1～数回程度のイベントをもって時を計る方法である。もう一つは、我々の知らない分周回路のような仕組みが KaiC に内在し、本質的に速い分子運動をカウントアップしている可能性である。

いずれにせよ、答えは KaiC の動的構造の内にある。2004年に KaiC のX線結晶構造が発表され、それ以降、リン酸化変異体についての続報があった。観察された KaiC の構造変化はリン酸化部位に限定された軽微なもので、周期決定機構の中核に迫り切れていない。いまこそ、質の高いX線結晶構造を土台に、より動的な計測を展開することが求められている。現在、①KaiC の ATPase 活性が負帰還制御下にあり、これが周期決定因子の有力候補であること、②その制御状態に呼応して KaiC の構造が概日周期で変化することを見出しつつある。本発表では、これらの結果をもとに Kai タンパク質時計の源振動について議論したい。

[【目次へ戻る】](#)

シナプス伝達制御における揺らぎと決定 ～PSD-95 パルミトイル化酵素によるポストシナプス膜ドメイン制御機構～

深田正紀、深田優子（生理学研究所・生体膜研究部門）

神経シナプス間の情報伝達効率は外界刺激によって動的に変化し、この性質は記憶や学習の分子基盤を成す。この神経シナプス間の情報伝達はある固定した入力情報に対し常に一定の出力がなされる単純なものではなく、パターンや強度が異なる様々な入力に応じて異なる出力を産み出す複雑で可塑的なシステムである。近年の研究からこのシナプスの“可塑性”という性質は脳内の興奮性シナプス伝達の大部分を司るAMPA型グルタミン酸受容体(AMPA受容体)のポストシナプス膜での発現量によって決定されていることが明らかになってきた。また、最近の私どもを含めた研究からこのAMPA受容体のポストシナプス膜での機能発現は足場蛋白質PSD-95のポストシナプスでの発現量によって制御されることが分かってきた。このような背景で今回、私共はパルミトイル化脂質修飾酵素DHHC2がシナプス膜における足場蛋白質PSD-95のパルミトイル化レベルを制御することで、PSD-95のシナプス発現量を制御し、ポストシナプス膜構造をダイナミックに制御することを報告する。

[【目次へ戻る】](#)

温度感受性 TRP チャンネルの活性化温度閾値の変化(揺らぎ)のメカニズムと生理学的意義

富永真琴 (岡崎統合バイオサイエンスセンター 細胞生理部門)

私たちは30度を超える温度変化の中で環境温度を感じながら生きている。これまでに、温度を感じて活性化する9つの温度感受性 TRP チャンネルが明らかになっており、その活性化温度閾値は最も高い TRPV2 の約52度から TRPA1 の約15度まで幅広い。また、9つのうち5つは温かい温度によって活性化するチャンネルである。個々の温度感受性 TRP チャンネルの活性化温度閾値がダイナミックに変化する(揺らぐ)ことで、さまざまな温度依存的な生理現象に対応できると考えられる。また、様々な細胞環境の変化で温度センサーの活性化温度閾値も大きく影響される可能性がある。加えて、地球上の生物は幅広い温度域に生息しており、異なる体温を有している。特に、恒温動物と変温動物は異なる環境温度感知システムを持っていると考えられる。進化の上で、同じ温度感受性 TRP チャンネルの活性化温度閾値の変化(揺らぎ)が起こり、その生物種に適した活性化温度閾値が決まったと推定される。そこで、温度感受性 TRP チャンネルの中で、1) 過酸化水素による酸化によって温度感受性を変化させた TRPM2、環境温度変化に対応して PIP2 感受性を変化させて活性化温度閾値を変化させる TRPM8、進化の過程で温度感受性を大きく変化させた TRPV3, TRPA1 を紹介して、温度感受性 TRP チャンネルの活性化温度閾値の秒～日オーダーのダイナミックな変化(揺らぎ)と進化という大きな時間の中での種を越えた変化(揺らぎ)から、その揺らぎの決定メカニズムとその意義について議論したい。

[【目次へ戻る】](#)

細胞外アシドーシスがもたらす脳神経細胞障害へのアニオンチャネルの関与と、それらへの温度変動の影響

佐藤(沼田) かお理¹, 沼田朋大², 岡田泰伸¹

(¹ 生理学研究所・機能協関部門、² 京都大学大学院・地球環境学堂・環境適応生体システム論)

脳虚血や激しい外傷性脳障害がもたらす細胞外アシドーシスは、脳浮腫を生じさせ、神経細胞やグリア細胞に不可逆的なダメージを与える結果、ネクローシス死を引き起こす事が知られている。近年、細胞外アシドーシス性脳傷害は、頭部の体温を低く保つと軽減されるという報告があるが、そのメカニズムはまだ解明されていない。本研究では、胎児のマウス大脳皮質神経細胞を用いて、細胞外アシドーシス条件下における神経細胞のダメージへの温度変動の影響を検討した。パッチクランプ法を用いて実験を行った結果、37°Cの酸性条件下において強い外向整流性と、脱分極刺激による時間依存性活性化キネティクスが特徴の酸感受性外向整流性 Cl⁻チャネル(ASOR)電流が測定された。この電流は、温度を低下させていくと約 26°Cの転移温度以下で著しく抑制され、その Q₁₀ 値は約 21 であった。神経細胞の断面積を測定した結果、37°Cの酸性条件下で観察された細胞膨張が、Cl⁻チャネル阻害剤存在下または低温条件(25°C)によって有意に抑制された。更に、細胞死検出をPI/Hoechst染色にて行った結果、37°Cの酸性条件下で観察されたPI陽性細胞の割合が、Cl⁻チャネル阻害剤存在下および低温条件下では減少した。Caspase-3の活性化は観察されなかったことから、酸性条件下による細胞死はネクローシスによるものであると考えられた。以上の結果より、マウス大脳皮質神経細胞にはASORが発現しており、これが細胞外アシドーシスによるネクローシス性細胞死誘導に関与している事が分かった。脳低温治療法は、温度感受性を持つASOR活性を抑制して脳神経細胞が受けるネクローシス性細胞死誘導を抑制している可能性が示唆された。

[【目次へ戻る】](#)