

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 : 2014年2月27日(木)

場所 : 生理学研究所(明大寺地区) 1階 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」 井本 敬二 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 「変化関連脳活動」

乾 幸二 (生理学研究所・感覚運動調節研究部門)

9:35-10:00 「脊髄損傷後の機能回復に関わる大脳皮質運動野と側坐核との機能連関」

西村 幸男 (生理学研究所・認知行動発達機構研究部門)

10:00-10:25 「神経活動依存性髄鞘化機構とその破綻による精神疾患の可能性」

和氣 弘明 (基礎生物学研究所・光脳回路部門)

10:25-10:45 コーヒーブレイク

10:45-11:10 「シナプス内シグナル分子の活性化イメージングと光操作」

村越 秀治 (生理学研究所・多光子顕微鏡室)

11:10-11:50 「位相差電子顕微鏡によるAMPA型グルタミン酸受容体機能構造の可視化」

永山 國昭、村田 和雄 (生理学研究所・特別研究・形態情報解析室)

11:50 - 12:50 昼食

12:50-13:40 「膜分子ダイナミクスから読み解くシナプス伝達制御機構」

坂内 博子 (名古屋大学大学院・理学研究科・生命理学専攻)

----- 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 - 14:35 「脳振動、ゆらぎと前頭葉における行動調節」
虫明 元 (東北大学大学院医学系研究科・生体システム生理学分野)
- 14:35 - 15:25 「細胞内シグナル伝達系におけるゆらぎの階層化」
上田 昌宏 (大阪大学大学院理学研究科、理化学研究所・生命システム研究セ)
- 15:25 - 15:45 コーヒーブレイク
- 15:45 - 16:10 「G タンパク質シグナリングの揺らぎによる心臓のストレス適応・不適応の調節機構」
西田 基宏 (統合バイオサイエンスセンター・心循環シグナル研究部門)
- 16:10 - 16:35 「イオンチャネル複合体のストイキオメリーの揺らぎと動的構造変化」
中條 浩一、久保 義弘 (生理学研究所・神経機能素子研究部門)
- 16:35 - 17:00 「マウス初期胚におけるゆらぎ」
藤森 俊彦 (基礎生物学研究所・初期発生研究部門)
- 17:00 - 17:25 「複雑な自然画像から規則性を見つけ出す脳の働き」
小松 英彦 (生理学研究所・感覚認知情報研究部門)
-
- 17:25 - 17:30 「シンポジウム全体の結び」 鍋倉 淳一 副所長

変化関連脳運動

乾 幸二

生理学研究所・感覚運動調整研究部門

私たちは、突然変化する感覚刺激に対する脳の自動応答について研究してきました。この応答には感覚記憶と、それを用いた過去と現在の比較過程が必要であり、リアルタイムに新奇事象をモニターする脳機能を反映すると考えています。脳波もしくは脳磁図を用いて非常に明瞭にこの活動を観察することができ、被験者は感覚刺激を無視して無音ビデオをみていればよく、再現性も良好であるので、安定した高次能の指標になり得ます。2008年頃にこの課題を開始してから現在までに、感覚記憶の計測や、感覚情報処理抑制系、臨床応用など、いくつかの方向で少しずつ知見を積み重ねてきました。これらをまとめて発表したいと思います。

脊髄損傷後の機能回復を支える側坐核と 大脳皮質運動野との機能連関

西村 幸男

生理学研究所・認知行動発達機構研究部門

脳梗塞や脊髄損傷後の鬱症状による意欲の減退は、機能回復を妨げることが臨床的に信じられている。我々は、脊髄損傷から回復したサルでは意欲や情動に関わる大脳辺縁系内の側坐核の活動が上昇し、また側坐核と大脳運動野(M1)との機能的連関が出現することを見出した。また、機能回復中における側坐核の不活性化は、精密把持中のM1の高帯域(150Hz以上)の低下、帯域(40-120Hz)の上昇を引き起こし、精密把持能力を障害させた。この側坐核の不活性化によるM1の活動の変化と精密把持の障害は、脊髄損傷前では観られない。これらは、側坐核がM1活動の生成に関わり、この機能的連関が脊髄損傷後の機能回復に重要な役割を持っていることを示唆している。

神経活動依存性髄鞘化機構と その破綻による精神疾患の可能性

和気 弘明

基礎生物学研究所・光脳回路部門

情動・認知といった高次脳機能に障害を呈する精神・神経疾患の病態解明治療法の開発が現代社会で早急に求められている。近年イメージング技術の革新からグリア細胞が神経回路の恒常性を維持し、その機能の破綻によって精神・神経疾患の形成に寄与することが報告されてきている。グリア細胞の中でもオリゴデンドロサイトは髄鞘を形成し神経伝導速度を制御する役割を持つ。神経伝導速度を制御することにより情報伝達を効率化する役割を持っていることがこれまで様々な研究によって示唆されている。さらに近年、統合失調症患者のスクリーニングから髄鞘タンパク質の発現に変化が認められることわかった。そこで今回は神経活動依存性の髄鞘化機構と髄鞘化維持機構が破綻した結果としての学習異常の可能性について議論したい。

シナプス内シグナル分子の活性化イメージングと光操作

村越 秀治

生理学研究所・多光子顕微鏡室

神経回路の形成、機能の基礎となるシナプス結合の可塑性は、シナプスの後端を形成するスパイン内のカルシウムシグナルによって制御されていると考えられている。しかしながら、スパインのサイズは0.1フェムトリットル程度と非常に小さく、しかも組織深部に位置するため、内部で起こるシグナル伝達過程は、これまで殆ど明らかにされてこなかった。最近、“2光子蛍光寿命イメージング法(2pFLIM)”や“光を用いた分子操作法”の進歩により、組織深部で分子活性を可視化したり、操作することが可能になり、入力刺激に対するシグナル分子の動態を詳細に調べることが可能になりつつある。本会ではPhototropin1のLOV2ドメインを用いたCaMKII活性の光操作、および2pFLIMによるシグナル分子活性化イメージングによって得られた結果を報告させて頂く。

位相差電子顕微鏡による AMPA 型グルタミン酸受容体機能構造の可視化

永山 國昭、村田 和義

生理学研究所・特別研究・形態情報解析室

AMPA 型グルタミン酸受容体のモデルとして、X 線結晶構造解析用に作製された組み換え GluR2 四量体を用い、GluR2 四量体のリガンド結合に伴う構造変化の可視化をクライオ電子顕微鏡法により試みた。試料として、界面活性剤で可溶化して精製された蛋白質を、脂質小胞に再構成して用いた。この脂質小胞に対して外部バッファを置換することで、種々の環境でのリガンド結合に伴う構造変化の観察を行った。その結果、GluR2 四量体は高濃度グルタミン酸存在下でも複数の構造をとっていることが確認された。そこで、単粒子解析法に加えて、位相差電子顕微鏡による高コントラストな電子線トモグラフィにより、複数の状態を一度に可視化することを試みた。

膜分子ダイナミクスから読み解くシナプス伝達制御機構

坂内 博子

名古屋大学大学院・理学研究科・生命理学専攻

細胞膜の構成要素である脂質・タンパク質は流体としての性質を持ち、側方拡散運動により自由に動く。自由拡散運動により脂質・タンパク質は均一に分布すると予想されるが、実際の細胞膜では膜分子の分布は一様ではない。シナプス後膜には神経伝達物質受容体が高密度で局在し、効率の良い神経伝達を可能にしている。いかにして神経細胞は、自由拡散運動に逆らって受容体の密度勾配を形成・維持し、シナプス伝達の制御を行っているのか？この課題に対し我々は、「量子ドット1分子イメージング」という技術で細胞膜上の受容体1分子のふるまいを「見る」ことにより取り組んで来た。抑制性神経伝達を担う GABA_A 受容体の海馬神経細胞膜上での動きやすさの変化が GABA 作動性シナプス可塑性の原因であることを証明し、細胞内カルシウムシグナルが受容体の動きの制御を行っていることを突き止めた。

脳振動、ゆらぎと前頭葉における行動調節

虫明 元

東北大学大学院医学系研究科・生体システム生理学分野

大脳皮質の局所電場電位には低周波から高周波までの帯域の振動やゆらぎを含んでいる。しかし振動現象と行動との関わりやそのメカニズムに関しては不明な点も多い。この講演では3つの研究を紹介する。

- 1) 前頭葉の内側運動野の補足運動野群の細胞活動の両手順序動作のグループ符号化と振動現象との関わり、特に順序造作の更新 準備 実行に関連した 局所電場振動高周波帯域と特徴と意義。
- 2) 振動現象への抑制細胞サブタイプの PV 細胞の寄与を調べる目的で PV 細胞 GAD67 のノックアウトした遺伝子組み換えマウスを用いたスローオシレーションと随伴する高周波振動への影響。
- 3) 迷路課題遂行中の前頭前野の細胞でゴール情報から行動情報に遅延期間中に変化する細胞のゆらぎを神経回路の相転移に随伴した現象ととらえ、その特性を神経回路モデルの安定性と臨界点ゆらぎとして解釈する視点を紹介する。

最後にこれらから、振動、ゆらぎによる脳の階層的な情報処理を議論したい。

細胞内シグナル伝達系におけるゆらぎの階層化

上田 昌宏

大阪大学大学院理学研究科、理化学研究所・生命システム研究センター

細胞スケールの小さな空間では、分子反応や分子運動の確率性に起因する「分子数ゆらぎ(分子数ノイズ, molecular noise)」がしばしば無視できない大きさとなり、シグナル伝達や遺伝子発現、細胞運動などの機能に影響することが知られている。細胞の複雑な動態の理解と操作を実現するには、分子レベルの変化が細胞レベルの動態に影響する仕組みを多階層にわたって明らかにし、確率論的ダイナミクスをも含めてその複雑な動態を予測する方法論の構築が必要となる。我々はこれまで、細胞内シグナル伝達系を対象として、分子反応や分子運動の確率性に着目した1分子レベルからの定量的イメージング解析技術と、そこで得られる不規則時系列データの統計解析法を開発し、実験結果に基づいた理論・数理モデルの構築を行ってきた。これにより、確率的にはたらく分子から構成された情報処理システムが情報処理機能や運動調節機能を発現する際の機能発現ダイナミクスを1分子・分子ネットワーク・細胞の各階層において時間的・空間的に追跡・解析することが可能になった。こうした方法論を走化性の情報処理システムに適用することにより、分子レベルでの「分子数ノイズ」が細胞レベルでの確率的な行動(ゆらぎ探索)を可能にし、変動する環境に対して柔軟な適応を実現していることが明らかになってきた。本発表では、分子レベルから細胞レベルへと階層を登りながら、各階層にみられる生物らしい機能発現とゆらぎの関係について報告する。ゆらぎは細胞の安定性を乱す邪魔者ではなく、むしろ細胞の環境適応性を高めるのに役立っている可能性について議論する。

G タンパク質シグナリングの揺らぎによる 心臓のストレス適応・不適応の調節機構

西田 基宏

統合バイオサイエンスセンター・心循環シグナル研究部門

心臓は血行力学的負荷をはじめ様々なストレスに適応することでポンプ機能を維持している。GTP 結合タンパク質(G タンパク質)は細胞外の神経液性情報を細胞内に伝達する分子スイッチとして働いており、その中でも低分子量 G タンパク質 H-Ras は心筋細胞の代償的肥大(心肥大)を仲介する分子となることが知られている。我々は H-Ras が酸化還元(レドックス)状態の変化によりその活性および局在を変化させるレドックスセンサータンパク質であることに着目した。心筋梗塞後において、H-Ras は一酸化窒素(NO)と核酸が反応することで生じる2次性の親電子物質(8-nitro-cGMP)と反応し、持続的に活性化していた。ヒト組換え H-Ras を用いた質量分析の結果、H-Ras のパルミトイル化修飾部位である Cys-184 残基が修飾(S-グアニル化)されることがわかった。H-Ras は脂質ラフトにより活性が負に制御されており、Cys-184 のパルミトイル化がラフトとの親和性増大に寄与することが知られている。そこで、ラット成熟心臓のラフト画分を精製し、8-nitro-cGMP を処置したところ、H-Ras が S-グアニル化依存的にラフトから解離することが確認された。以上の結果から、8-nitro-cGMP による H-Ras の親電子修飾は H-Ras を脂質ラフトによる負の制御から解除することで H-Ras を活性化することが示された。一方、ラット新生児心筋細胞に 8-nitro-cGMP を刺激すると、H-Ras の活性化に依存して細胞老化が誘導された。8-nitro-cGMP による H-Ras の活性化および細胞老化は、硫化水素(H₂S)を前処置することにより完全に抑制された。さらに、心筋梗塞後の心拡張および心機能低下もまた H₂S 処置により有意に改善された。H₂S の酸解離定数(pKa)は 6.7 と低く、pH7.4 の培養液中では H₂S の 80%近くが SH⁻として存在する。そのため、H₂S はガスではなく、求核性の高いイオン(HS⁻)として親電子物質を消去することにより酸化ストレス障害を軽減しうる可能性が示された。ところが、HS⁻自身の親電子物質との化学反応性は低く、H-Ras 存在下において親電子物質の消去作用が強まることを新たに見出した。このメカニズムとして、H₂S/HS⁻がタンパク質中のレドックス反応性 Cys チオール基と反応し、さらに求核性の高いポリ硫黄を形成していることが明らかとなった。これらの結果は、H-Ras の親電子/ポリ硫黄修飾が H-Ras シグナリングに揺らぎを与えることで、心臓のストレス適応・不適応を制御することを強く示唆している。

イオンチャネル複合体のストイキオメリーの揺らぎと動的構造変化

中條 浩一、久保 義弘

生理学研究所・神経機能素子研究部門

イオンチャネルは、一般に、厳密にデザインさせた完成度の高い分子機械であると認識されている。我々は、過去に、ATP 受容体チャネル P2X2 を対象に、イオンチャネルのイオン選択性といった根源的な性質までもが、細胞膜上での発現密度といった状況に依存して変化することを見出した。このことは、イオンチャネルが高い状況依存性を有していることを示している。

本発表で対象とする膜電位依存性チャネル KCNQ1 は、副サブユニット KCNE と会合して複合体を形成する。KCNQ1/KCNE1 複合体は、心筋の Isk 電流に寄与するチャネルで、その異常は、Long QT 症候群等の不整脈の病因となっている。

KCNQ1 と、KCNE1 の会合の量体数比(ストイキオメリー)について、4:2 であると考えられてきたが、我々は全反射証明単一分子イメージング下でブリーチングステップの数を計測することにより、4:4 の分子が確かに存在すること、4:2 と 4:4 の電気生理学的性質は明確に異なること明らかにした。さらに、そのストイキオメリーが、KCNQ1 の KCNE1 の相対的な発現密度の比に応じて変化するという状況依存性を示すことを見出した。また、KCNQ1 と KCNE1 を種々のリンカーを挟んでタンデムに結合させたコンストラクトを用いた実験を行ったところ、リンカー長に依存して性質が変化することから、これまでに想定されていたように、細胞内において副サブユニットが結合した複合体の完成型がつけられて細胞膜上に出現するばかりではなく、細胞膜上において、副サブユニット KCNE1 のダイナミックな結合と解離が起きている可能性が示唆された。

KCNE1 は、KCNQ1 の膜電位依存的活性化を著しく遅延させ、またコンダクタンス- 膜電位関係 (gV) を脱分極側にシフトさせるが、その分子機構の詳細は未解決である。今回、我々は、膜電位センサーである第 4 膜貫通部位 S4 にある Phe232、および S5 の Phe279 の「かさばり」が、重要な寄与をしていることを見出した。このアミノ酸残基の網羅的変異体を解析したところ、導入したアミノ酸残基の側鎖の大きさに依存して KCNE1 による gV シフトが起きた。この結果と、3 次元構造モデル上で、活性化時に Phe232 は、Phe279 を越えて上方に移動することと併せると、KCNE1 の共発現状態では、S4 の Phe232 と S5 の Phe279 のかさばりが物理的、エネルギー的な障壁となって、膜電位センサーの動きが抑えられていると考えられた。膜電位依存的構造変化を光学的に捉えた実験の結果も踏まえて考察を行う。

マウス初期胚におけるゆらぎ

藤森 俊彦

基礎生物学研究所・初期発生研究部門

ほ乳類の初期発生の様式は他の動物に比較して柔軟である。受精後細胞分裂を繰り返し、5回の細胞分裂を終えた32細胞期には体になる内部細胞塊と胎盤などになる栄養外胚葉という2種類の細胞がみられるようになり、更に一日後には内部細胞塊の中に将来体に寄与しない原始内胚葉が出現する。細胞の分化運命の揺らぎ、胚の中での相対的位置のゆらぎなどが含まれている状況の中で、確実に胚の中に将来の体をつくる情報を築きあげていく興味深い対象である。柔軟な発生様式でありながら、確実に分化細胞を確保する特徴的な発生はどのように成立しているのだろうか？

我々は、マウス着床前発生で重要な役割を果たしているいくつかの遺伝子について、その発現を可視化するマウスを作製した。これらのマウスの胚を培養下で連続観察し、細胞系譜と細胞分化を中心に解析を進めている。細胞の運命はどのように決まるか、そこにどのような揺らぎが含まれているかについて議論したい。

複雑な自然画像から規則性を見つけ出す脳の働き

小松 英彦

生理学研究所・感覚認知情報研究部門

我々は様々な自然物や人工物に取り囲まれて生活しており、環境に適応して生活していくためにそれらの物体を視覚的に認識して、それがどのようなものであるかを理解したり、その生物的な価値を判断して行動しています。そのような物体の視覚的な認識において物体の素材や表面状態の認知(質感認知)は非常に重要な役割を果たしています。物体がどのような素材でできているのかを認知することにより、素材に共通したさまざまな特性の知識が得られるし、また表面状態の認知により例えば表面がつるつるしているか、ざらざらしているかを判断して、物体を手でつかむ力のかけ方を制御します。このような質感認知の神経機構はまだよく分かっていませんが、特定の素材は特定の自然なテクスチャを持っていることが多いために、テクスチャを識別する機能が重要な役割を果たしていると考えられます。例えば樹皮や布、毛、岩などはそれらの素材を特徴づけるテクスチャを持っています。これらのテクスチャの重要な性質は、同じ素材の画像が二つあった時に、一点一点の色や明るさの細かい特徴は全く違うのに全体の印象は同じものであるということです。これは自然なテクスチャがもっている空間的な規則性にその原因があります。素材識別を行っている時に、我々の視覚系は画像からそのような規則性を何らかの方法で見つけ出していると考えられます。

我々の研究室では、素材識別の神経機構を理解するために、さまざまな素材の持つ自然なテクスチャが視覚野でどのように表現されているかを調べる研究を進めています。この問題を理解する鍵は、テクスチャの持っている規則性をどのようにとらえるかというところにありますが、我々は自然テクスチャを合成する工学的なアルゴリズムが、重要なヒントを与えていると考えています。特に我々が注目しているのは Portilla と Simoncelli (1999)が発表した視覚系の処理に類似した特性を持つアルゴリズムです。我々はこのアルゴリズムにしたがって合成したテクスチャ刺激に対するニューロンの応答をサルの上野から記録し、自然テクスチャが脳内でどのように表現されているかを調べています。視覚系がどのように画像に含まれる素材テクスチャの規則性を取り出しているかについて、この研究から見えてきつつある視覚野の情報処理についてお話しします。