

セミナー報告

1. Basic and clinical researches into the inhibitory neural interactions in the human auditory cortex

岡本秀彦 (Westfalian Wilhelms-University Muenster, Germany)

(2008.4.9)

An auditory stimulus (vibration of air in physical terms) is encoded into excitatory neural activities in the cochlea, transmitted through the auditory pathway and finally fed into the auditory cortex. In addition, inhibitory neural networks seem to play an important role in sharpening the frequency tuning. Here in the present talk, I would like to show the results of recent researches investigating the effects of auditory attention on the population-level

frequency tuning and the potential clinical use of lateral inhibitory interactions on tinnitus patients.

聴覚刺激（物理的には空気振動）は蝸牛で興奮性の神経活動に変換され聴覚経路を経て聴覚野に収束する。さらに抑制系の神経ネットワークが周波数調律の向上に寄与していると考えられる。このセミナーでは Attention が周波数調律に及ぼす影響と抑制系の神経ネットワークを利用した耳鳴患者の治療法に関して発表する。

2. Early neuronal and glial fate restriction of embryonic neural stem cells

Bernard Zalc (INSERM : フランス国立保健医学研究所)

(2008.4.11)

3. 神経幹細胞の発生はどこまでわかったか

等 誠司 (分子神経生理研究部門)

(2008.4.23)

神経幹細胞は胎仔期に大量の神経細胞・グリア細胞を産生して脳を構築するのみならず、成体脳にも存在して終生に亘って新生神経細胞を供給することが知られています。神経幹細胞の維持機構や成体脳の神経細胞新生の役割などがホットな研究対象となっている一方で、神経幹細胞自体の発生の分子機構は充分理解されていません。一般的には多能性の幹細胞(マウスで胎生 3.5~5.5 日胚)が徐々に他組織への分化能を失って神経幹細胞となり、

神経幹細胞からさらに未分化性を失って神経細胞やグリア細胞へと分化すると考えられていますが、本当でしょうか？ 私どもは神経細胞への分化はデフォルトであり、神経幹細胞の生成には何らかの誘導シグナルが必要であるという仮説をたて、検証してきました。結論を得るには至っていませんが、これまでのデータをお示ししてディスカッションしたいと思います。

4. Multiple single-unit study of pain and fear in the rat with an introduction of neuroscience

in National Taiwan University

Chen-Tung Yen (Neurobiology and Cognitive Science Center, National Taiwan University)

(2008.4.28)

Yen 教授は National Taiwan University の Neurobiology &

Cognitive Science Center の Director で当部門での共同研

究のため来日しています。National Taiwan University の新しい Neuroscience Center の取り組みの紹介に引き続き、Yen 教授の独創的 multiple single-unit recording を用いた痛覚に対するラット大脳皮質感覚野の細胞レベルのプロセ

シング、モルヒネに対する応答性の細胞間相違など、また、同手法を用いて、fear conditioning task 時における Anterior Cingulate Cortex の細胞活動について最新のデータを話していただきます。

5. 網膜の神経細胞は網膜上になぜ整然と並ぶことができるのか？

小泉 周 (生理学研究所 広報展開推進室)

(2008.5.14)

網膜の神経細胞は、どのサブタイプの神経細胞をとってきても、網膜上に規則正しく、一定の間隔をとってならんでいる。これは網膜のモザイク状構造といわれ、約40年前に見つかった現象だ。しかし、こうしたモザイク構造が、いったいどうして作られているのか、謎に包まれていた。今回、ジャクソン研究所とハーバード大学医学部の共同研究チームは、網膜のドーパミン・アマクリン細胞のモザイク配列には、DSCAM が関与しているこ

とをつきとめた。ジャクソン研究所が DSCAM の自然発症突然変異マウスを提供し、小泉らが空間周波数解析など統計解析を行った。DSCAM がいない場合には、ドーパミン細胞は、モザイク状に整列することができず、塊をつくったり、無作為に分布したりしていた。この結果は、網膜における神経細胞の整列には、発生初期段階で細胞を「間引く」メカニズムが存在していることを示唆している。

6. Roles of temporal and frontal cortices in predicting behavioral outcome values associated with visual stimuli

Barry J. Richmond (Section on Neural Coding and Computation, Lab Neuropsychol, NIMH, USA)

(2008.5.21)

Animals, including humans, easily learn that repeatedly encountered visual cues predict different outcomes, both good and bad, and behavior is adjusted in accordance with the predictions. To do this, the stimulus must be recognized, which requires that it be remembered, and the stimulus must become associated with the value of the predicted outcome. Using single neuronal recording and analysis of behavior after selective ablations, we have found that rhinal (perirhinal plus entorhinal) cortex is critical for making associations between visual stimuli and predicted reward contingencies in a reward schedule task. Further, we have shown by a selective knockdown that the dopamine D2 receptor is critical for this learning. The lateral and orbital prefrontal regions also play roles in predicting outcomes. We have carried out behavioral experiments to investigate the roles of these prefrontal areas

during reward schedules, also. We have found that ablations of orbital frontal cortex interfere with, but do not completely abolish, the ability of monkeys to assess the values of the stimuli, a result consistent with single neuronal recording data finding that neurons code for both value, and preceding and upcoming trial outcome. Lesions of the lateral prefrontal cortex only seem to impair complex or cross-dimensional associations. Thus, it appears that learning association of stimuli with outcomes requires the medial temporal structures, and assessing values that could drive this learning appears to require prefrontal areas. A question raised is whether orbitofrontal cortex, with an apparent value signal, and temporal cortex, which must be intact for this learning to occur, interact directly.

7. AMPA および NMDA 受容体のシナプス内発現様式とシナプス応答への影響

足澤悦子 (脳形態解析研究部門)

(2008.6.13)

中枢神経系の主要な興奮性シナプス伝達は主に AMPA および NMDA 受容体により担われている。これら受容体のシナプス内発現様式は入力線維の違いにより発現レベルや発現密度、シナプス内二次元分布の点で異なることが報告されているが、シナプス応答特性にどのように影響しているのかはわかっていない。そこで、ラット外側膝状体の中継細胞上に形成される 2 種類のグルタミン酸作動性シナプス、retinogeniculate (RG) シナプスと corticogeniculate (CG) シナプスにおいて、受容体の発現レベルや発現密度、またシナプス内二次元分布がどのように異なり、それらがシナプスの伝達特性にどのように影響するかを SDS-FRL 法 (SDS-digested freeze-fracture replica labeling 法) およびシミュレーションにより解析し

た。その結果、両シナプスには同レベルの AMPA 受容体が発現するが、AMPA 受容体密度やシナプス内二次元分布は異なることが明らかになった。一方 NMDA 受容体は両シナプス間で発現レベルは異なるが、二次元分布は類似していた。SDS-FRL 法から得られたシナプス内受容体分布情報をもとにシナプス応答のシミュレーションを行った結果、AMPA および NMDA 受容体応答の大きさは、どちらもその受容体発現数に依存することが示唆された。また、AMPA 受容体応答は NMDA 受容体応答に比べてシナプスの大きさや受容体密度、さらに、受容体のシナプス内二次元分布の影響を受けやすいことが示唆された。これらの受容体発現様式が個々のシナプス応答特性の基盤になっていると考えられる。

8. Dendritic excitability of neocortical pyramidal neurons imaged in awake rats

Jack Waters (Northwestern University)

(2008.7.7)

9. Neural correlates of sensory representation

Troy Margrie (Univeristy College of London)

(2008.7.7)

10. Synaptic vesicle recycling in central nerve terminals

Nobutoshi Charles HARATA (Iowa University)

(2008.7.7)

覚醒ラットの脳皮質錐体細胞活動、Kiss & Run などの伝達物質の開口分泌、などについて、2 光子励起法など多彩なイメージング技術を応用して最先端の神経回

路・シナプス研究を行っている最近独立ラボを立ち上げた若手研究者 3 名によるシンポジウムを開催いたします。

11. Role of Trpv1 gene in thermosensory and osmosensory transduction in vasopressin neurons

Charles W. Bourque (Centre for Research in Neuroscience
McGill University and Montreal General Hospital)

(2008.7.8)

Vasopressin (VP, the antidiuretic hormone) is released when plasma osmolality is elevated to increase renal water reabsorption. This hormone is also released in response to hyperthermia, to counter the impact of evaporative fluid loss during thermoregulatory cooling. Although the responsiveness of VP neurons to these stimuli depends in part on afferent signals originating from neurons in the preoptic area of the hypothalamus, recent studies in our laboratory have shown that these cells are also intrinsically sensitive to changes in osmolality and temperature. Both types of stimuli cause the activation of a cation permeable conductance in these cells. The inward current that results from this effect leads to membrane depolarization which contributes to the enhancement of action potential discharge under these

conditions. These responses are absent in VP neurons obtained from Trpv1-knockout (Trpv1-KO) mice. These animals also show impaired VP release in response to hypertonicity and hyperthermia *in vivo*, indicating that expression of the Trpv1 gene is required for normal homeostatic VP release. Finally, the electrophysiological responses observed in VP neurons obtained from wild type mice are blocked by inhibitors of Trpv1, indicating that the transduction channel comprises at least one subunit encoded by the Trpv1 gene. These studies indicate that osmosensory transduction and thermosensory transduction can be performed by single neurons, and that both sensory mechanisms depend on a channel comprising Trpv1-like protein.

12. T 歩行様活動中の中枢パターン生成器から運動ニューロンへの興奮性・抑制性シナプス入力の非対称性

遠藤利朗 (スウェーデン・カロリンスカ研究所)

(2008.7.14)

脊髄には、上位の中枢からの指令や感覚のフィードバックなしに歩行や泳ぎ、ひっかき反射の際の体幹・四肢の運動リズムと基本的な運動パターン（左右の筋および伸筋-屈筋の交互の活動）を生成することの出来る神経回路が内在しており、その神経回路は中枢パターン生成器 (Central Pattern Generator, CPG) と呼ばれている。これらの運動中に、四肢の伸筋と屈筋を支配する運動ニューロンは CPG からのシナプス入力を受け、それぞれ相互に逆位相となる律動的な活動を示す。CPG の基本的な構造については、互いに逆位相で活動する伸筋関連モジュールと屈筋関連モジュールがあり、それらの相互の結合によってリズムとパターンを生成する回路が形成されていると考えられている。しかし、内部の詳しい構造や、こ

れらのモジュールが相互に対称な関係なのかどうかといった点についてはいまだ議論が分かれている。本研究では、新生仔マウスから単離した腰髄標本を用いて、薬剤 (5-HT, NMDA, dopamine) によって誘発した歩行様活動中の運動ニューロンへの興奮性と抑制性のシナプス入力、すなわち CPG の出力パターンを定量的に解析することにより、CPG の構造と動作機序について推測することを試みた。その結果、各モジュールから運動ニューロンへのシナプス入力には、相互の相対的な大きさや歩行リズムとの位相関係において大きな非対称性が存在することが明らかとなった。この結果を基に、CPG の内部構造・動作機序について考察する。

13. The relationship between glutamatergic and dopaminergic innervation of the striatum

J Paul Bolam (MRC Anatomical Neuropharmacology,
Department of Pharmacology, University of Oxford)

(2008.7.14)

The basal ganglia are a group of subcortical nuclei that are involved in a variety of functions including motor, cognitive and mnemonic behaviours. Central to our understanding of basal ganglia function is the relationship between the glutamatergic projection from the cortex to the principal division of the basal ganglia, the striatum, and the dopaminergic innervation of the same region, derived from the substantia nigra pars compacta. Thus excitatory corticostriatal afferents mainly innervate the spines of medium-sized spiny projection neurons and the response of the postsynaptic structure is modulated by the release of dopamine at the neck of the spine. The molecular mechanisms underlying the modulatory role of dopamine are numerous and dependent on a variety of factors including the type of dopamine receptor, but the net outcome is a facilitation or attenuation of the excitatory transmission. In addition to the excitatory input from the cortex, the striatum also receives a major glutamatergic projection from the thalamus, principally the intralaminar nuclei. Extracellular recording and juxtacellular labelling revealed that thalamostriatal neurons in the central lateral and parafascicular nucleus have distinct electrophysiological and morphological properties and have different patterns of connection in the striatum. Although tracing studies have given some indication about the

magnitude of the thalamostriatal projection, the discovery that the vesicular glutamate transporters 1 and 2 are markers of cortical and thalamic terminals, respectively, has led to the demonstration that the number of thalamostriatal terminals is of a similar magnitude to the number of corticostriatal terminals. This raises the possibility that glutamatergic thalamostriatal synapses have the same spatial relationship with dopaminergic terminals as has been proposed for corticostriatal synapses and are thus in a position to be equally modulated by released dopamine. Double-immunolabelling of rat striatum to reveal vesicular glutamate transporters 1 and 2, as markers of corticostriatal and thalamostriatal terminals respectively, together with tyrosine hydroxylase to label the dopaminergic axons revealed that indeed, this is the case. Our analysis also revealed that all similarly sized structures within the striatum are equally likely to be apposed by a dopaminergic axon. We conclude that the sub-cortical input to the striatum from the thalamus underlies a rich and diverse complexity of function on a par with that of the corticostriatal projections, that the thalamostriatal terminals are in a position to be equally influenced by dopaminergic axons as corticostriatal terminals are and that the nigrostriatal projection is organised in such a way that every striatal structure has the potential to be influenced by dopamine.

14. How does the visual system achieve “invariant” object representation?

James J. DiCarlo (McGovern Institute for Brain Research, Dept. of Brain and Cognitive Sciences, MIT, USA)

(2008.7.14)

Although object recognition is fundamental to our behavior and seemingly effortless, it is a remarkably challenging computational problem because the visual system must somehow tolerate tremendous image variation produced by different views of each object (the “invariance” problem). To understand how the primate brain accomplishes this remarkable feat, we must understand how sensory input is

transformed from an initial neuronal population representation (a photograph on the retina), to a new, remarkably powerful form of neuronal population representation at the highest level of the primate ventral visual stream (inferior temporal cortex, IT). In this talk, I will review our results on the ability of the IT population representation to support position-, scale- and clutter-tolerant recognition. I will present a geometric

perspective for thinking about how this ventral visual stream constructs this representation (“untangling” object manifolds). Finally, I will show our recent neurophysiologic and psychophysical results that suggest that this untangling is driven by the spatiotemporal statistics of unsupervised natural visual experience. Our long term goal is to use the

understanding of this biological computation to inspire artificial vision systems, to aid the development of visual prosthetics, to provide guidance to molecular approaches to repair lost brain function, and to obtain deep insight into how the brain represents sensory information in a way that is highly suited for cognition and action.

15. 随意性サッカード制御に果たす尾状核の役割

渡辺雅之 (カナダ・クイーンズ大学)

(2008.7.17)

感覚入力に対して状況に応じた適切な行動を発現する能力は、我々の日常生活において重要な機能の一つである。この機能を評価する非常に単純な行動課題として、呈示された視覚刺激とは反対方向に視線を移動させるアンチサッカード課題が最近注目されている。アンチサッカードを成功させるためには、視覚刺激に視線を移動しようとする自動的なサッカード（プロサッカード）を抑制し、視覚刺激の反対方向への随意的なサッカードを促進する必要がある。パーキンソン氏病等の前頭葉—大脳基底核の神経回路に疾患を持つ患者は、このアンチサッカードに必要な抑制、促進に障害があることが示されている。前頭葉と大脳基底核の緊密な解剖学的関係を考慮すると、いずれか一方が障害を受けることにより類似した機能障害が生じることが予想される。様々な実験手法を用いて、アンチサッカード制御に対する前頭葉の関与について明らかにされてきた。しかし、大脳基底核の関

与については、ヒトの神経心理学的研究から矛盾する報告がなされている。そこで今回、大脳基底核のアンチサッカード制御に対する役割を明らかにするために、大脳基底核の入力段階である尾状核から神経細胞活動の記録をアンチサッカード課題遂行中のサルから行った。さらに尾状核の微量電気刺激、局所薬物注入（GABA_A受容体作動薬のムシモルによる活動のブロック）による神経細胞活動の人工的操作が与えるアンチサッカードへの影響を解析した。今回報告する実験結果は、尾状核の投射細胞が、サッカードを促進、抑制する信号を伝達していることを示し、大脳基底核がアンチサッカードの制御に関与している仮説を支持する。さらに、よく知られた大脳基底核の神経回路の構造に基づき、我々はこれらのサッカード促進、抑制信号は、二つの並列経路（直接路、間接路）によって制御されているという仮説を提案したい。

16. Amygdala function in pain: CRF1 receptors and amygdalo-cortical interactions

Volker Neugebauer (University of Texas Medical Branch)

(2008.7.22)

The central nucleus of the amygdala (CeA) plays an important role in pain-related emotional responses and anxiety-like behavior. An emerging novel concept is that the amygdala also contributes to emotion-based cognitive deficits associated with pain. Cognitive impairment such as the inability to make advantageous decisions is one of the consequences of persistent pain but the underlying neural mechanisms are not known. The role of the prefrontal cortex

in cognitive function, including decision-making and avoidance of emotion-based risky choices, is well established. Impaired prefrontal cortical function was recently shown in pain patients. A major source of input to the medial prefrontal cortex (mPFC) is the basolateral amygdala (BLA), a key element in the emotional-affective amygdala circuitry that also projects to the CeA. We hypothesize that the BLA contributes to pain-related emotional-affective behavior

(through projections to the CeA) and cognitive deficits (through connections with the mPFC). Evidence from ongoing studies in our laboratory suggests that pain leads to CRF1 receptor-dependent central sensitization and synaptic plasticity in the BLA and increases inhibitory transmission from the BLA to mPFC neurons. Pain-related inhibition of mPFC neurons can be reversed by deactivating the BLA with

a CRF1 receptor antagonist. Restoring normal function in the BLA by pharmacologic deactivation with a CRF1 antagonist improves pain-related decision-making deficits. We conclude that the amygdala impairs mPFC function resulting in pain-related decision-making deficits. Our data also suggest that CRF1 receptor antagonists may be useful tools to target affective and cognitive problems associated with pain.

17. ヒト線条体における社会的・金銭的報酬の処理

出馬圭世 (心理生理研究部門)

(2008.7.24)

自分が他者からどう見られているか (評判: reputation) は我々の普段の行動に多くの影響を持つ。「自分に対する良い評判」は、食事をおごる、同僚の仕事を手伝う、寄付をする、などの向社会的行動のインセンティブの一つであると考えられている。そこで、本研究では、「自分に対する他者からの良い評判は、金銭報酬と同様に脳の報酬系を賦活させる」という仮説を検討した。機能的核磁気共鳴装置 (fMRI) 内で、自分に対する良い評判と金銭報

酬を知覚させると、報酬系として知られる線条体の賦活が共通して見られた。これは、他者からの良い評判は、報酬としての価値を持ち、脳内において金銭報酬と同じように処理されているということを示している。この結果は、様々な異なる種類の報酬を比較し、意思決定をする際に必要である「脳内の共通の通貨」の存在を強く支持しており、複雑なヒトの社会的行動の神経科学的理解への重要な最初の一步である。

18. 神経シナプスにおける情報伝達のダイナミクス

安田涼平 (Neurobiology department, Duke University Medical Center)

(2008.8.12)

スパインは樹状突起状にある小さな (~0.1 フェムトリットル) 構造で、ほとんどの興奮性シナプスはこのスパイン上に存在する。スパイン内へのカルシウム流入は、100 種類を超えるたんぱく質からなる情報伝達ネットワークを活性化し、最終的にシナプスの伝達や構造の変化を引き起こす。私たちは、スパインにおける情報伝達のメカニズムを調べるために、2 光子蛍光寿命顕微鏡を用いて、個々のスパイン内部のたんぱく質の活性を可視化する技術を開発している。最近、この技術を用いて、シ

ナプス可塑性に重要なたんぱく質である Ras と CaMKII の活性を高い空間時間分解能で可視化することに成功した。これによって、CaMKII の活性はナノメートル単位で制御されているのに対し、Ras の活性は 10 マイクロメートル程度にわたり樹状突起上に広がることによって、複数のシナプスを同時に制御していることがわかった。このことから、CaMKII はシナプス特異性および刺激特異性に重要であり、Ras は 10 マイクロメートルにおよぶ比較的長距離の情報伝達に重要であることが示唆される。

19. Functional micro-architecture of visual cortex revealed by two-photon calcium imaging in vivo

大木研一 (Department of Neurobiology, Harvard Medical School)

(2008.8.13)

Neurons in the cerebral cortex are organized into

anatomical columns, with ensembles of cells arranged from

the surface to the white matter. Within a column, neurons often share functional properties, such as selectivity for stimulus orientation; columns with distinct properties, such as different preferred orientations, tile the cortical surface in orderly patterns. This functional architecture was discovered with the relatively sparse sampling of microelectrode recordings. Optical imaging of membrane voltage or metabolic activity elucidated the overall geometry of functional maps, but is averaged over many cells (resolution >100 micron). Consequently, the purity of functional domains and the precision of the borders between them could not be resolved. Here, we labelled thousands of neurons of the visual

cortex with a calcium-sensitive indicator in vivo. We then imaged the activity of neuronal populations at single-cell resolution with two-photon microscopy up to a depth of 400 micron. In rat primary visual cortex, neurons had robust orientation selectivity but there was no discernible local structure; neighbouring neurons often responded to different orientations. In area 18 of cat visual cortex, functional maps were organized at a fine scale. Neurons with opposite preferences for stimulus direction were segregated with extraordinary spatial precision in three dimensions, with columnar borders one to two cells wide. These results indicate that cortical maps can be built with single-cell precision.

20. Dynamic behavior-dependent monosynaptic interactions in rat prefrontal cortical neurons

藤澤茂義 (Center for Mol & Beh Neuroscience (Buzsaki lab), Rutgers, The State University of New Jersey)

(2008.9.3)

Most computation in the neocortical local circuits is performed by the formation and segregation of cell assemblies. How neurons interact each other flexibly by their synaptic connections is not well understood. Here we investigated the local network activity in rat prefrontal cortex (PFC) during an odor-based working memory task. We recorded simultaneously ~ 100 units in PFC, using 64-site two-dimensional silicon probes. Approximately 80% of PFC neurons had either cue-stimulus and/or behavior selectivity. Cross-correlation analysis revealed that about 0.2% cell-pairs has robust interactions in 2~3 ms delay (i.e. monosynaptic interactions). Importantly, the spike transmission probability between the presynaptic and postsynaptic neurons varied as a function of

behavior and/or the phase of the task. Statistical analysis revealed that these behavior-dependent changes of monosynaptic efficacy are often independent of the firing rates of the pair neurons. Spike transmission efficacies often depended on the spiking history of the presynaptic neurons, indicating that short-term synaptic plasticity (synaptic facilitation / depression) might contribute to the dynamic modification of functional connectivity. Furthermore, coincident firing of two or more neurons nonlinearly increased the efficacies of spike transmission. These results indicate that the efficacy of monosynaptic connections in the cortex is modified flexibly and dynamically, underlying cell assembly formations in fine time scale.

21. 脳幹細胞の分化とその分子機構

鮎 恵子 (スエーデン, イェーテボリ大学)

(2008.9.8)

幹細胞の応用について、現在までの発展とこれからの展望、鮎先生達の研究である神経幹細胞における PDGF,

BMP, MAP キナーゼなどによる分化機構シグナルの解析について話して頂いた。

22. 色の見方に応じて活動を変える下側頭皮質のニューロン

鯉田孝和 (感覚認知情報)

(2008.9.12)

「色」を認識するとき、例えばレタスもホウレン草の色もどちらも「緑色」というように、多くの場合われわれの認知はカテゴリー的である。その一方で、より新鮮な野菜を選ぶときなど、よく似た同じ名前の色でもさらに細かく見分ける場合もある。必要に応じて、これら二つの色の見方、つまりカテゴリー判断と細かい弁別の機能をわれわれは使い分けている。色覚におけるこれら二つの働きが脳内でどのように行われているかを調べるために、カテゴリー判断または細かい弁別を行っているときの下側頭皮質のニューロン活動を測定し比較した。いずれの課題でも赤から緑までの 11 個の色刺激から一つを選んで呈示し、サルに判断をさせる。色刺激呈示期間中の活動を課題間で比較したところ、多くの細胞が課題に応じて有意に活動が変化した ($n=79/124;64\%$)。そしてそ

の多くはカテゴリー課題を行っているときに活動が強かった ($n=61/79; 77\%$)。また、カテゴリー課題で強く活動する細胞の色選択性は、赤または緑といったそれぞれのカテゴリーを最もよく表す両極端の色に最大応答を示すことが多かった。課題間で応答強度に違いの見られた細胞であっても色選択性そのものは似ていた。これらの結果は、課題を表現する内的な信号によって、視覚野ニューロンの感覚情報が制御されていることを示している。そのような制御は下側頭皮質の色選択ニューロンにおいては、色のカテゴリー判断を行う時に活動を増強し、細かい識別を行う時には抑制するように働いていた。このことは下側頭皮質が色のカテゴリー判断に重要であることを示唆している。

23. Molecular Mechanisms of Fear Memory Consolidation: Genes, Cells and Networks

Oliver Stork (Department of Genetics & Molecular Neurobiology Institute of Biology, Otto-von-Guericke-University Magdeburg & Center of Behavioral Brain Sciences Magdeburg, Germany)

(2008.9.12)

Pavlovian fear conditioning is an established learning paradigm that allows to study neural mechanisms of memory formation in various species and that may be employed to emulate specific aspects of anxiety disorders. We investigated, in mice, molecular and physiological processes in the amygdalo-hippocampal system that are involved in the consolidation of such fear memory. Through gene expression analysis we identified several molecular factors (GABA synthesizing enzymes, neuropeptides, cell adhesion molecules and cytoskeleton-associated proteins) that appear to be in the experience-dependent modifications of neural activity and connectivity during this process. With the help of genetic

models we were able to determine the contribution of these factors to specific aspects of fear memory storage and the related information flow in the amygdalo-hippocampal system. Thus a key role of local GABAergic interneurons has emerged, which by modifying information flow in amygdalo-hippocampal circuits critically contribute to the consolidation of specific fear memories. Molecular analysis has now led to a more precise picture of the role of specific interneuron subpopulations in, e.g., contextual and cued aspects of fear memory, and to the identification of intracellular signalling pathways that are involved in the reorganisation of such local circuit function during fear memory formation.

24. Biophysical insights on the neurobiology of the 'Falling Sickness'

S.K. Sikdar (Molecular Biophysics Unit, Indian Institute of Science, India)

(2008.9.16)

Falling sickness is an old term for epilepsy. Epilepsy is characterized by highly synchronous activity of neurons. One of our research interests is directed at understanding this neurological disorder at the level of ion channels, single neurons and neuronal network, primarily using electrophysiological approaches.

At the single neuron level, epileptic activity manifests as 'paroxysmal depolarization shifts' in the membrane potential that last for seconds to minutes. Our studies on voltage gated sodium channels that are important in action potential initiation, indicate pseudo-periodic oscillation in the channel properties that is dependent on the duration of membrane depolarization. The results suggest alteration of ion channel properties following epileptic episodes and the probable role of these channels in the genesis of epileptic activity in turn. This was confirmed using whole-cell and single-channel patch-clamp recordings.

Epileptic seizures are associated with neuronal death and this follows high levels of intracellular calcium. In

experiments designed to understand the cellular changes in epileptic neurons, we have observed changes in the calcium dynamics and calcium diffusion co-efficients in the dendrites of autaptic hippocampal neurons that were made epileptic with kynurenate treatment. The 'subiculum', is at the transition zone between the hippocampus and the entorhinal cortex and has been implicated in epileptiform activity. Combined electrophysiological and Ca imaging experiments revealed distance dependent changes in the Ca^{2+} decay kinetics in the apical dendrites of subicular pyramidal neurons that are made epileptic.

In order to understand changes in neuronal network activity during epileptic seizures we have conducted studies on hippocampal neurons cultured on planar multi-electrode arrays containing 64 electrodes. Results suggest changes in neuronal network burst properties and neuronal network topology analyzed using Graph Theory approaches, in neuronal network cultures that are made epileptic.

25. 脊髄後角におけるモダリティ依存的なシナプス入力とその抑制回路

古江秀昌 (九州大学大学院 医学研究院 統合生理学分野)

(2008.9.25)

我々は痛みを感じる時にその患部を撫でる、あるいは息を吹き付けるなど触覚刺激を加えて痛みを和らげる行動をとる。この抑制機序は *in vivo* での抑制性シナプス応答の単離・解析が困難であったため明らかにされておらず、その基盤となる神経回路は同定されていない。In *vivo* パッチクランプ法を用い、痛みを伝える末梢 C 線維の密な興奮性シナプス入力を受ける脊髄後角表層から GABA を介する抑制性シナプス応答を解析した。その結果、機械的痛み刺激によって発生した活動電位が、その周辺部に加えた触刺激によって誘起された IPSC の発生頻度と振幅の著明な増大によって抑制された。後根の切

断実験から、この周辺抑制は介在ニューロンを介して髄節を越えた抑制性のシナプス入力、即ち IPSC の受容野の拡大によるものであった。また、提唱されている仮説と異なり触覚を伝える A beta 線維ではなく、意外にも C 線維を介してこの抑制系が活性化される事が明らかになった。本セミナーでは、機械的痛みや触、温度 (冷) などのモダリティ依存的なシナプス入力の病態時における変化、また、それらの入力とターゲットとなる細胞間のシナプス結合に必須の分子、*in vivo* パッチクランプ法の今後の展望などについて述べたい。

26. Interneuron Specification in the Vertebrate Spinal Cord

Kate Lewis (ケンブリッジ大学)

(2008.10.9)

Interneurons constitute most of the neurons in the vertebrate CNS and they function in almost all neuronal circuits and behaviors but we still know very little about how interneurons develop. The spinal cord is a particularly good system for studying interneuron specification because compared to the brain it is relatively simple. Zebrafish embryos are also a powerful model system for studying interneuron development as they have a relatively small number of different interneurons, all of which can be identified by their unique morphologies, we can observe the development of identified neurons in live embryos and both single genes and combinations of genes can easily be “knocked-down” in the same embryos.

We are interested in 3 distinct but related questions:

1. How do different classes of spinal interneurons form in their correct numbers and positions?
2. What are the functions of specific post-mitotically expressed transcription factors in regulating the distinct functional characteristics of spinal interneurons (e.g. their soma positions, morphologies, neurotransmitter phenotypes, synaptic connections and functions in particular behaviours)?
3. To what extent is spinal cord development conserved between zebrafish and other vertebrates

Recently, we have demonstrated that Pax2a, Pax2b and Pax8 transcription factors are redundantly required to specify the glycinergic and GABAergic fates of Circumferential Ascending (CiA) and other Pax2/8-expressing spinal interneurons. This function of Pax2/8 is very specific: in triple knock-down embryos CiAs lose expression of glycinergic and GABAergic (inhibitory) neurotransmitters, but they do not become excitatory (glutamatergic or cholinergic) and their morphologies and axon trajectories are unchanged (Batista and Lewis, 2008).

We have also been analysing V2 interneuron development. V2 cells are initially molecularly-identical. However, as they start to become postmitotic and differentiate they subdivide into two intermingled, molecularly-distinct populations, V2a and V2b cells. We have shown that these cells are conserved in zebrafish and amniotes. In zebrafish, V2a cells develop into excitatory Circumferential Descending (CiD) interneurons (Kimura et al., 2006) and we have now shown that V2b cells develop into inhibitory Ventral Lateral Descending (VeLD) interneurons (Batista et al., 2008; see also Kimura et al., 2008). We have also shown that Notch signalling is required for V2 cells to subdivide in this manner: in the absence of Notch signalling all V2 cells develop into CiDs.

27. 1 度創って 5 度おいしいマウス

田中謙二 (分子神経生理)

(2008.10.10)

心中しても良いと思った遺伝子に出会ったとする。その遺伝子の機能を *in vivo* で知る衝動にかられるだろう。その際には、gain of function study, loss of function study を立ち上げ、そこから表現型を絞り出そうと試みる。ではどうやって GOF, LOF を行うか。予算、スペース、時間、使う動物……様々な要素が頭を駆けめぐり、はじめの情熱が冷めてくるのが殆どだ。今回お話しする遺伝子改

変マウスは、straight knock out, Cre-mediated conditional rescue, tTA-mediated ectopic expression, tTA-mediated overexpression, tTS-mediated reversible knock out という 5 種類の遺伝子修飾を可能にする。マウス作製に 2 年近くを要するが、出来てしまえばかなりおいしい。それでも心中できないときは……出会いが悪かったと結論される。

28. Decision making as a competition mechanism between feedback loops in the cortex-basal ganglia loops

Thomas Boraud (Universite Victor Segalen-Bordeaux 2, France)

(2008.10.20)

Boraud 先生は、これまでサル・げっ歯類などの動物実験さらには理論神経科学など幅広い方法を用いて、大脳基底核の機能や大脳基底核疾患の病態について、成果をあげてられました。沖縄 OIST でのワークショップ Open Problems in Neuroscience of Decision Making に参加のあと、共同研究のため生体システム研究部門に2週間ほど滞在されましたので、セミナーをお願いしました。

Humans possess the unique capacity of being able to purposely select the behavioral actions in which they engage their bodies on the basis of conscious estimation of costs and benefits. This notion has already been elaborated in

economics, with a central supervisor comparing options at an abstract level, and making decisions that are then executed by slave systems (or motor effectors). In my talk, I propose to re-evaluate this concept with the presentation of an alternative view in which action selection relies on a direct competition between motor effectors which in turn signal the benefits (or expected values) of particular actions, with the "winner" then specifying the actual body movement performed. By focusing on the cortex-basal-ganglia loop, I will describe electrophysiological and fMRI studies in humans and non-human primates to support this novel theory.

29. 筋電信号を中心とした多自由度 BMI の開発

小池康晴 (東京工業大学 精密工学研究所)

(2008.10.23)

ブレイン・マシン・インタフェース (BMI) は、脳の神経活動を読み取り外部の機器を操作する新しいインタフェースである。エンゲルバートがマウスを発明したとき、コンピュータの画面上のカーソルを思い通りに動かすことができる画期的なデバイスだと感じたように、ブレイン・マシン・インタフェースも全く新しいインタフェースであり、その可能性は計り知れない。マウスを作成するためには、マウスの動作原理そのものに加え、その中で行われる信号処理や回路の知識が必要である。これと同様に、ブレイン・マシン・インタフェースを作成する

ためには脳の情報処理の仕組みが分かっている必要がある。「位置」のような物理的な意味の分かっている情報を処理するための回路を設計することは比較的容易であるが、脳の情報処理についてはまだまだ未知なことが多いため、どのように設計すればよいか、その方法論は確立されていない。本発表では、筋骨格系のモデルを用いたヒューマンインタフェースの設計について、脳からの信号を読む技術、筋肉の活動から動きを推定する技術、これらを用いたインタフェース技術について解説する。

30. EEG-based BCI for Communication and Control

Theresa M. Vaughan (Wadsworth Center and Helen Hayes Rehabilitation Hospital)

(2008.11.5)

Signals from the brain can provide nonmuscular communication and control channels, or brain-computer interfaces (BCIs), to people with amyotrophic lateral sclerosis (ALS), brainstem stroke, cerebral palsy, or spinal cord injury.

BCIs can allow people who are severely paralyzed, or even "locked in," to use brain signals to write, communicate with others, control their environments, access the Internet, or operate neuroprostheses. BCI research at the Wadsworth

Center has focused on the realization of clinically useful BCI systems by emphasizing work in three areas: (1) acquisition of brain signals; (2) signal processing; and (3) clinical implementation. To facilitate this work we have developed and disseminated to more than 200 research groups a general-purpose BCI software platform, called BCI2000. Using the BCI2000, we have evaluated: alternative brain signals, including electroencephalographic (EEG) and electrocortographic

(ECoG) signals; specific features of brain signals including sensorimotor rhythms (SMR) and the P300 evoked potential; and signal processing techniques, emphasizing time-space feature extraction methods, optimization schemes, and adaptation. Finally, we have developed the first BCI system designed for independent home use, and successfully tested this prototype in long-term home use by a small group of people severely disabled by ALS.

31. バイオイメージングのための新しいタンパク質ラベル化技術の開発

王子田彰夫 (京都大学・大学院・工学研究科・合成/生物化学専攻)

(2008.11.25)

GFPなどの蛍光タンパク質は今や蛍光バイオイメージングに必須のツールとなっています。しかし近年、蛍光タンパク質に代わる様々な新しいタンパク質ラベル化技術が開発されています。これらは、ラベル化されるタンパク質機能にできる限り影響を与えず、また任意のタイミングでラベル化可能であるなどの様々な特徴を持って

います。講演では化学的手法によるタンパク質ラベル化法の基礎的な例から最新のタンパク質ラベル化技術までを、講演者が研究を行っているペプチドタグ-小分子プローブによるラベル化法の研究開発例を交えながら様々に紹介したいと思います。

32. マカクザル盲視モデルにおける急速眼球運動と視覚的気づき

吉田正俊 (認知行動発達研究部門)

(2008.12.8)

第一次視覚野に損傷を持った患者では「盲視」という現象がみられることがある。この患者では損傷の反対側に視野欠損が起きており、欠損視野内に提示された視覚刺激は意識には上らないとされている。ところがこの患者は欠損視野内に提示された視覚刺激の位置を指差しや急速眼球運動（サッケード）によって偶然よりも高い確率で当てることができる。このように視覚的意識と視覚運動変換とが乖離する「盲視」という現象は意識のメカニズム解明の鍵として注目を浴びてきた。マカクザルの第一次視覚野を片側的に除去して作成した実験モデルでも人での盲視現象と同様に、視覚誘導性のサッケードの機能が残存していることが知られている。視覚運動変換は、視覚情報処理、意志決定、運動開始、運動中の軌道コントロールといった複数の過程から成り立っている。第一次視覚野の損傷が視覚情報処理以外のこれらの過程にどのような影響を及ぼすかは明らかになっていない。

そこで私は2頭のニホンザルで第一次視覚野の片側性損傷によって視覚誘導性サッケードがどのように影響を受けるかを調べた。

視覚誘導性サッケード課題の成績を調べたところ、損傷視野へのサッケードの成績は損傷後一時的に下がったが、2ヶ月程度で回復し、安定した成績を保った。しかし、サッケードの終止点の分布を調べたところ、損傷視野へのサッケードが不正確になっていることが明らかになった。サッケードの軌道を調べてみたところ、このような不正確なサッケードは、サッケード運動中の補償的な軌道コントロールがうまくいっていないことによることが示唆された。また、サッケードの応答潜時の分布の解析から、第一次視覚野損傷によって意志決定の過程が影響を受けていることを支持するデータを得た。以上のことから、第一次視覚野損傷が視覚情報処理だけでなく、サッケードのコントロールおよび意志決定にも影響を及

ぼすことが明らかになった。

第一次視覚野損傷サルが人での盲視と同じであるならば、サルは「視覚的気づき」の能力が減弱しているはずだ。このことを検証するために、損傷視野内に提示された光点の存在の有無を報告させる課題を行わせたところ、視覚的気づきの減弱を示唆する結果を得た。この課題のある試行では正しくそこにサックードすることができたが (hit 試行)、ある試行では刺激を無視して注視を続け

た (miss 試行)。上丘からのニューロン活動の記録によって、視覚応答が hit 試行と比べて miss 試行で減弱していることを見出した。両試行は視覚標的が提示されているという点ではまったく同じであり、違いはサルが標的に気づいたか気づかなかったかである。よってこのようなニューロン活動の違いは「視覚的気づき」に関連していると考えられる。

33. がん研究におけるインビボ分子生物学：光技術を駆使した細胞機能と生体環境のインビボ解析

今村健志 (財団法人癌研究会 癌研究所生化学部)

(2008.12.12)

生物個体内で働く生体分子の機能および動態を、生きている動物の中で解析し理解することは、現在の生命科学分野の最も重要な課題である。本発表では、がん研究領域への光技術の応用について、「細胞機能」と「生体環境」のイメージングというキーワードに沿って、最

近の我々のデータを紹介する。インビボ光イメージングの台頭は、これまでの要素還元論的分子生物学やインビトロ分子生物学に対して、新たな研究のフレームワークを提供し、「インビボ分子生物学」と言うべき研究領域を創成すると考える。

34. Developmental Regulation of PSD-95 in the Central Visual System

吉井 聡 (McGovern Institute for Brain Research, Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, Massachusetts, USA)

(2008.12.22)

PSD-95 is a scaffolding protein for the glutamate receptors that regulates synaptic plasticity. Eye opening (EO) is a key event during the development of the rodent visual pathway that causes a rapid increase of PSD-95 at the synapse (Yoshii et al. 2003). The increase of PSD-95 is tied to changes of synaptic function and structure that occur during the period bracketing EO. Previously, we showed that PSD-95 was transported to synapses in response to BDNF application (Yoshii and Constantine-Paton 2007). BDNF binds its receptor, TrkB which activates PI3 kinase/Akt pathway. This signaling cascade drives pan-dendritic delivery of PSD-95. While considerable details about how BDNF activates PSD-95 trafficking are known for cultured neurons, it is not known whether this trafficking mechanism occurs in vivo.

To this end, we are studying a transgenic mouse that has knock-in mutation in the TrkB receptor that has been

engineered so that chemical compound 1NM-PP1 binds to this mutation site and blocks the activation of TrkB (the TrkB F616A mouse; Chen et al. 2005). Using Elvax, a slow release polymer, we applied 1NM-PP1 to the surface of visual cortex before EO. The blockade of TrkB signaling suppressed a redistribution of PSD-95 associated with EO. This method will allow us to further study the role of BDNF/TrkB signaling on structural and functional changes in intact early postnatal animals. Furthermore, the correlation of molecular events at synapses to a developmental milestone will set a stage for studying neurodevelopmental disorders.

参考文献：

- 1: Yoshii, Sheng and Constantine-Paton. Proc Natl Acad Sci U S A. 2003 Feb 4;100(3):1334-9.
- 2: Yoshii and Constantine-Paton. Nat Neurosci. 2007 Jun; 10(6):702-11. Chen et al. Neuron. 2005 Apr 7; 46(1):13-21.

35. 溶液中の金微粒子へのレーザー照射により生ずる超高温高圧領域の生体分子分析への応用

武田佳宏 ((株) コンボン研究所 (参考: トヨタの自由発想に基づく研究所です))

(2008.12.22)

金微粒子はその光学的特性や生体分子に対する高い親和性、また生体分子と同程度の大きさを有することから生体分子プローブとして広範に使われている。さらに溶液中の金微粒子に対して、微粒子が吸収する波長のパルスレーザーを照射すると金微粒子が多光子吸収し電子励起される。この電子励起エネルギーは熱に変換され、さらに周囲の溶媒へと拡散し、金微粒子近傍に直径 100 nm 程度の超高温高圧領域を生成する。この領域では、衝撃波やキャビテーション発生、金微粒子の溶解や蒸発などが起こり、温度は数千 K、圧力は 108 N/m² 以上に達する。しかも領域外では室温であるという他の方法では実現できない非常に特異な領域である。この超高温高圧領域を利用して生体分子を選択的に分解する方法を研究した。

金微粒子の分散液にリゾチームと BSA を添加し、溶液の pH を変えて 10 ns のパルスレーザー照射をおこない、金微粒子の周囲に生ずる超高温高圧領域によるタンパク質の分解について調べた。pH が 7.0 から 11.0 付近ではリゾチームの総電荷が正となり、ゼータポテンシャルが負の金微粒子と相互作用すると同時にリゾチームの正の総電荷はそれ程大きくないため、リゾチームどうしの相互

作用も妨げられない。その結果、金微粒子の周囲に凝集したリゾチームのみ効率的に分解された。pH が 4.0 付近ではリゾチームの正の電荷量が大きくなり、リゾチーム分子どうしの反発は増加する。よって、金微粒子の周囲に多くのリゾチームが凝集できないので、分解効率は低下した。一方、BSA の総電荷は正となるので、金微粒子と相互作用し、効率的に分解された。

次に標的 DNA の選択的分解を行った。標的 DNA と塩基対を形成するプローブ DNA の結合した金微粒子を作製し、これを標的 DNA と非標的 DNA を含む溶液に添加した。プローブ DNA は標的 DNA にハイブリダイゼーションし、金微粒子は標的 DNA に特異的に配位する。その後、金微粒子にパルスレーザーを照射し、標的 DNA と非標的 DNA の量を PCR 法により測定した。その結果、レーザー強度が 1.5 mJ/pulse 以上 6.0 mJ/pulse 以下の時、標的 DNA のみが選択的に分解された。さらに DNA 分解の詳細なメカニズムについて検討した結果、主に超高温高圧領域中で発生するキャビテーションによって分解されることがわかった。

36. 下側頭葉皮質で表現されているもの

山根ゆか子 (理研 BSI-トヨタ連携センター)

(2009.1.9)

下側頭葉皮質は視覚的に提示された物体像によく反応するニューロンが多く存在することが知られており、視覚情報処理の最終段階と考えられている。下側頭葉皮質ニューロンは単純な線分に対しては反応せず、たとえば顔のような複雑な形に対して反応することから、ニューロンが抽出している図形情報が線分の長さや傾きのような簡単なパラメータでは表現できないことが予想される。そこで、下側頭葉皮質においては、物体は、複数の異なる図形情報からなる多次元空間 (shape space) で表現されていると考え、この多次元空間において効率的にニューロンの視覚刺激に対する選択性を調べるために、進化的アルゴリズムを用いた探索システムを開発した。本研究

では、物体の 3 次元形状に注目し、陰影と両眼視差を加えた 3 次元物体像を視覚刺激として用い、固視課題遂行中の覚醒サルの下側頭葉皮質ニューロンから記録をとった。刺激の 3 次元形状を決めるパラメータを、ニューロンの活動を記録しながら応答に応じて変化させ、新しい刺激セットを次々にオンラインで用意し、これを繰り返した。得られた個々のニューロンの個々の刺激に対する発火パターンを解析した結果、多くの細胞が刺激の 3 次元形状の一部の組み合わせに応じていることが示唆された。このことは、これまでよく調べられてきた 2 次元パターンのみならず、3 次元の物体形状も下側頭葉皮質で表現されている可能性を示すものである。

37. 運動課題遂行中のサルにおける淡蒼球内節ニューロン活動のグルタミン酸および GABA 作動性調節

畑中伸彦 (生体システム研究部門)

(2009.1.26)

大脳基底核は大脳皮質からの入力を受け、視床を介して大脳皮質、とくに前頭葉に戻るループ回路を形成している。ドーパミンニューロンの欠落によってパーキンソン病を発症すると強い運動障害が出現することからも、この大脳基底核を巡るループ回路は随意運動の発現やその制御に重要な役割を果たしていることは明らかである。また大脳基底核は運動の学習や行動の選択など、より高次な脳機能にも関与していることが示されている。淡蒼球内節は大脳基底核の出力核で、複数の大脳基底核内部経路からの情報が収束しており、その活動が大脳皮質-大脳基底核ループの機能の多くを表現していると考えられている。その淡蒼球内節には興奮性、抑制性の相反する入力があり、一つは視床下核を経由するグルタミン酸作動性の興奮性入力、もう一つは線条体と淡蒼球外節を経由する GABA 作動性の抑制性入力である。しかし、

この相反する入力を実際の運動中にどのように作用しているかは明らかではない。われわれは、遅延期間付き上肢運動課題を訓練したニホンザルの大脳皮質運動野に刺激電極を埋入し、淡蒼球ニューロンの入力源を同定したのち、運動課題を遂行させその活動様式を記録し、その後 ganazine (GABA_A レセプターアンタゴニスト) や、CPP (NMDA レセプターアンタゴニスト) と NBQX (AMPA/kainate レセプターアンタゴニスト) の混合物を記録している細胞周囲に微量注入し、大脳皮質電気刺激への応答性と運動中のニューロン活動がどのように変化するか観察した。その結果、淡蒼球内節ニューロンの運動に関連した活動は、イオンチャンネル型のグルタミン酸作動性の興奮性入力と GABA 作動性の抑制性入力の両者を反映していることが示唆された。

38. 鳥はどうやってさえずりを変えるのか？

－さえずり可塑性における大脳基底核経路の役割とそのメカニズム－

小島 哲 (Keck Center for Integrative Neuroscience University of California, San Francisco)

(2009.1.27)

キンカチョウなどの鳴鳥 (Songbird) は、言語を学習する人間と同様、自身の音声を手本となるさえずりにマッチさせることによりさえずりを学習・維持する。この聴覚フィードバックに依存したさえずりの可塑性には、さえずりの運動神経経路に投射する大脳基底核-視床-大脳皮質経路 (basal ganglia - thalamo-cortical circuit) が不可欠であるが、この大脳基底核経路の出力がどのようにさえずりの運動神経活動に影響を与え、さえずりの可塑性を引き起こしているのかは明らかになっていない。今回のセミナーでは、この大脳基底核経路の情報伝達機構およびさえずり時の神経活動パターンに関する私の最近の研究成果を紹介し、大脳基底核経路における特定のスパイクのパターン活動がさえずりの可塑性に不可欠であることを示す。またそれらの結

果が、人間の脳基底核経路における情報処理機構、および人間の言語学習機構の研究に応用できる可能性についても論じる。

【参考文献】

1. Kojima, S. and Doupe, A. J. (2007). Song selectivity in the pallial-Basal Ganglia song circuit of zebra finches raised without tutor song exposure. *Journal of Neurophysiology* 98, 2099-109.
2. Kojima, S. and Doupe, A. J. (2008). Neural encoding of auditory temporal context in a songbird basal ganglia nucleus, and its independence of birds' song experience. *European Journal of Neuroscience* 27, 1231-44.

39. Exploring the Superior Colliculus In Vitro

William C. Hall (Department of Neurobiology · Duke University Medical Center)

(2009.1.28)

40. G タンパク質パルミトイル化酵素の同定と性状解析

堤 良平 (生体膜研究部門)

(2009.2.9)

G タンパク質共役型受容体 (GPCR) はヒトでは 700 種類以上存在し、平滑筋収縮や神経シナプス伝達等、様々な生理機能を制御する。GPCR を介した情報伝達経路は気管支喘息治療薬等、多くの薬剤の標的となっており、GPCR 情報伝達経路の制御機構の解明は極めて重要である。3 量体 G タンパク質は α 、 β および γ サブユニット($G\alpha$ 、 $G\beta$ 、 $G\gamma$)から構成され、GPCR の下流における情報伝達に重要な役割を果たす。 $G\alpha$ は可逆的なパルミトイル化脂質修飾 (16 炭素鎖からなる飽和脂肪酸パルミチン酸が蛋白質に付加される翻訳後脂質修飾) を介して細胞膜に局在し、GPCR を介した外界シグナルを細胞内の標的蛋白質に伝達する。しかし、 $G\alpha$ のパルミトイル化反応は酵素に依存しないという説が古くから提唱されるなど、その存否には議論が絶えなかった。今回、私共は 23 種の DHHC パルミトイル脂質転移酵素群を独自に開発してきたスクリーニング法によりスクリーニングし、DHHC3

および DHHC7 が $G\alpha$ ($G\alpha_q$ 、 $G\alpha_s$ および $G\alpha_i2$) のパルミトイル化レベルを著しく亢進させることを突き止めた。また、DHHC3 および DHHC7 をノックダウン法により発現抑制させると $G\alpha_q11$ のパルミトイル化レベルが低下し、 $G\alpha_q11$ が細胞膜から細胞質へ移行することを見出した。一方、光変換 (photoconversion) 技術を用いて $G\alpha_q$ の細胞内動態の解析を行ったところ、 $G\alpha_q$ は細胞膜に静的に存在するのではなく、細胞膜と DHHC3/7 が局在するゴルジ装置の間をパルミトイル化依存的に双方向に行き来することを見出した。さらに、DHHC3/7 のパルミトイル化酵素活性が GPCR の一つである $\alpha1A$ アドレナリン受容体/ $G\alpha_q11$ を介した情報伝達に必須であることを見出した。以上の結果より、パルミトイル化脂質酵素 DHHC3/7 が $G\alpha$ の細胞内局在を規定することにより GPCR を介した情報伝達を新たな機構で制御していることが明らかとなった。

41. シナプス構築と脱構築を介した神経伝達制御

矢尾育子 (三菱化学生命科学研究所)

(2009.2.20)

シナプス両側の特殊化されたサイトには、足場タンパク質、神経伝達物質受容体、イオンチャネル、シグナル伝達分子などの複合体が集積し、効率的な神経細胞間の情報伝達を支えている。これらのタンパク質複合体の局在決定や量の調節は、シナプスの伝達効率や可塑性を調節する上で重要であると考えられるが、これらのシナプスタンパク質がどのように調節されているかは不明な点が多い。

シナプス構築分子：

私は神経後シナプス肥厚 PSD に局在する多数の新しい構成因子 SAPAP, BEGAIN (JBC 1998), S-SCAM (JBC

1998), synamon (JBC 1999), MAGUIN (JBC 1999, BBRC 2000)を同定し、NMDA 受容体の足場蛋白質を含む膜裏打ち蛋白質群であることを報告し、これらが神経シナプス接着分子や神経伝達物質受容体、可塑性に関わるシグナル分子等を神経シナプスに繫留する機構を解明した (JNS 2002, EJNS 2002, JNS 2002, GtoC 2003)。さらに、同定した裏打ちタンパク質の抗体を作成し、そのアイソフォームの局在を電子顕微鏡で検討した (MCB 2003)。

シナプス脱構築に関わるユビキチンリガーゼ：

次に、シナプス伝達調節に関わる分解系に着目し、新規の蛋白質翻訳後修飾酵素である SCRAPPER 蛋白質を

発見した (Cell 2007)。SCRAPPER はプレシナプスの可塑性調節因子 RIM1 に結合し、ユビキチン化を行い、プロテアソームでの分解に誘導する。Scrapper 遺伝子 KO マウスの脳を電子顕微鏡で野性型との比較定量解析を行い、シナプス小胞の密度分布のばらつきがあること、シナプス、小胞の数、PSD および active zone の長さには差がないことを明らかにした。我々の研究から、SCRAPPER は RIM1 のプロテアソーム依存的な分解を介したシナプスの活性の調節に重要であることが明らかとなった (Yao

et al., Cell 2007)。

質量顕微鏡法：

さらに、Scrapper 遺伝子 KO マウスをモデルとして、質量顕微鏡法による遺伝子改変マウスのプロテオーム解析を行った。多変量解析法の1つである主成分分析法を世界で初めて質量顕微鏡法に応用し、異常を検出することに成功している (Proteomics 2008)。今回、これらの知見をご紹介したい。

42. シナプス機能と自閉症：Neurologin/Neurexin の役割

田淵克彦 (Neuroscience Institute, Stanford University Medical School)

(2009.2.20)

シナプス後終末局在性細胞接着因子 Neurologin は、シナプス間隙においてシナプス前終末局在性細胞接着因子 Neurexin と結合することにより、シナプスの形成および機能獲得に寄与していると考えられている。

近年、neurologin 遺伝子の変異が複数、自閉症患者から発見された。このうち、Neurologin-3 の 451 番目のアルギニンをシステインに置換する変異 (neurologin-3 R451C) は、Neurologin-3 タンパク質の膜表面への局在を妨げ、正常な機能を障害していると考えられている。われわれは Neurologin-3 変異とシナプス機能、および自閉症との関連を調べることを目的とし、この変異を有するノックインマウスを作成し解析を行った。Neurologin-3 R451C 変異マウスは正常に発育し、形態学的異常は認められなかった。

電気生理学的にシナプス機能を解析したところ、変異マウスでは GABA 作動性シナプス機能の亢進が見られた。行動学的解析を行った結果、このマウスは自閉症患者特有の、社会行動の異常が見られた。驚いたことに、変異マウスでは、空間学習記憶能力がすぐれている結果が得られた。これは、自閉症患者で時折みられる、サバン症候群との関連から興味深い。これらの結果から、Neurologin-3 の R451C 置換は、GABA 作動性シナプスの異常をきたし、この変異が単独で自閉症を起こすことが示唆された (Tabuchi et al., Science 2007)。本セミナーでは、われわれの Neurexin に関する最新の研究についても概説する。

43. 行動シーケンス獲得・制御の神経機構

渡邊 大 (京都大学大学院生命科学研究所)

(2009.2.20)

我々ヒトは、様々な動作コンポーネントから構成される複雑な行動シーケンスを後天的に獲得する。passeriformes に属する鳥類 (songbird) は、複数のシラブル (音素コンポーネント) から構成される音声シーケンスを模倣学習のプロセスを経て獲得し、生涯にわたって維持することが出来る。songbird の音声制御系神経回路

が哺乳類の脳一基底核と相同な神経回路により構成されることから、これらの鳥類は後天的な行動シーケンス獲得・制御の中核神経機構を理解する上で魅力的なモデルを提供する。また分子生物学的、分子遺伝学的手法を含め様々なアプローチが songbird を対象とした研究で展開しつつある。

44. 多光子励起顕微鏡を駆使した骨組織内の *in vivo* ライブイメージング～骨吸収の新しい調節機序の発見

石井 優 (大阪大学・免疫学フロンティア研究センター・生体イメージング研究室)

(2009.2.25)

破骨細胞は単球・マクロファージ系血液細胞から分化する多核巨細胞であり、硬質の骨組織を融解・吸収する特殊な能力を有する。関節リウマチや骨粗鬆症などの骨吸収性疾患では、破骨細胞の機能亢進が病状形成に重要な役割を果たしている。これまでに、破骨細胞分化に関与する数多くの分子機構が明らかにされているが、これらの細胞がいかにして骨表面にリクルートされるのか、また具体的に *in vivo* でどのように機能しているのかなど、不明な点が多く残されている。演者はこれらの疑問を解決すべく、多光子励起顕微鏡を駆使して生きたマウスの骨組織内・骨髄内の *in vivo* イメージングを行い、破骨細

胞の遊走・接着が血中に豊富に存在する脂質メディエーターや、骨髄内に存在するケモカインなどによって統合的に制御されていることを解明した。本セミナーではこれらの最新の研究成果に加え、演者が立ち上げた骨組織内の *in vivo* ライブイメージングの方法論やその今後の応用について、多くの動画を交えて概説する。

【参考文献】

Ishii, M., *et. al.*, Sphingosine-1-phosphate mobilizes osteoclast precursors and regulates bone homeostasis. *Nature*, vol. 458, pp. 524-528 (2009).

45. 終脳パターンングにおける分泌性シグナル因子 FGF8 の機能

岡田俊昭 (理化学研究所 脳科学総合研究センター 小川正晴研究ユニット)

(2009.3.3)

終脳は高度に領域化された組織であり機能的、形態的に異なる多様な構造から成っている。終脳はその発生の初期に前後軸や背腹軸に沿ってパターン化され、結果として様々な領域が形成されるが、このパターンングには SHH, WNT, BMP, FGF 等の分泌性シグナル因子の働きが重要である。我々は終脳に発現するシグナル因子の一つ、FGF8 のパターンング機能について研究を行っている。FGF8 はまず大脳皮質の前後パターンを制御する機能を持つと報告された。その後、ミュータントマウスの解析からは終脳の *midline* と背腹パターン形成異常が報告され、それらの発生にも関与することが示されたが、詳しいメカニズムについては不明な点が多い。我々は FGF8

やその関連遺伝子をエレクトロポレーションにより終脳原基に導入し、まず *midline* において FGF8 がどのような機能を持つか検討した。結果として FGF8 は *midline* の発生に重要な複数の転写調節因子 (Zic2 や Vax1) の発現を制御する因子である事を示した。SHH ミュータントも重篤な *midline* の形成不全を示すことで知られるが、SHH は *midline* 転写調節因子の一部の発現のみを制御した。SHH シグナルは、FGF8 を介して終脳 *midline* の発生に関与する可能性が考えられる。現在は、FGF8 が終脳の背腹パターンングにどのように関与しているかについて研究を進めており、こちらもあわせて紹介する。

46. ニワトリヒナ臨界期における記憶形成の分子基盤

本間光一 (帝京大学薬学部病態生化学教室)

(2009.3.4)

私たちは、孵化直後の鳥類 (ニワトリ) 雛に見られる刻印付け (刷り込み) を記憶のモデル系として利用し、大脳における神経回路の変化を、分子レベルで明らかに

することを目指している。刻印付けの成立には、IMM (Intermediate and Medial Mesopallium) と呼ばれる領域が必要であるといわれているが、包括的な遺伝子発現の解

析は行われてこなかった。私たちは、cDNA マイクロアレイによって、刻印付けに依存して発現変化する大脳遺伝子群を同定した。また、in vivo エレクトロポレーション法を確立することにより、IMM をカバーする領域に遺伝子導入し、特定の遺伝子発現を神経細胞選択的に抑圧することに成功した。さらに、ルシフェラーゼ発光を利用した in vivo イメージングにより、目的遺伝子のプロモーター活性を測定することで、脳内での遺伝子発現変化をリアルタイムに追跡、定量する方法を確立した。本セミナーではまず、これらの方法について紹介する。つぎに、刻印付けに伴う遺伝子発現上昇が大きかった MAP2 に注目して解析した結果を紹介する。発現解析の結果、MAP2 は、刻印付けに伴い、IMM 領域と海馬の神経細胞でタンパク発現が高まっていることがわかった。興味深いことに、MAP2 が結合する β -tubulin も MAP2 と共に発現が上昇していたのに対し、MAP2 が結合しない Actin の発現は増加しなかった。この結果は、MAP2 が記憶形

成に伴い、神経回路を部分的に改編していることを示唆しており、 β -tubulin を介した細胞骨格の変更または新生が起こった可能性がある。そこで、in vivo エレクトロポレーション法を用いた RNA 干渉によって、MAP2 の発現を大脳神経細胞選択的に抑圧した。その結果、神経細胞体の細胞質と樹状突起に存在する MAP2 の劇的な減少が蛍光抗体法によって確認された。次に MAP2 発現抑圧個体に対して刻印付けトレーニングを行った。すると対照個体と比較して、オブジェクトに対する好みや運動量に差異は見られなかったが、記憶が成立したか否かを判定するためのテストを行うと、MAP2 発現抑圧個体では刻印付けが成立しなくなっていた。これらの結果は、MAP2 が刻印付けの成立に必要なタンパクであり、刻印付けに伴う神経回路の改編に関与する実働分子のひとつであることを示している。本セミナーでは、これらの分子的動態と形態レベルでの部分的改編とを結びつけるアイデアについて議論したい。

47. 局所脳梗塞モデルの健常半球に見られた神経回路再編と機能回復の関連性

高鶴裕介 (生体恒常機能発達機構研究部門)

(2009.3.5)

演者らは多光子励起レーザー顕微鏡を中心としたさまざまな手法を用いて、脳梗塞回復期における神経回路変化を研究している。今回はこのうち、健常側大脳皮質の機能代償における役割とその神経回路再編との関係を明らかにした研究を紹介する。片側体性感覚野を破壊すると2日後から1週間後の間で脳全体の活動亢進が観察され、この時、健常側の体性感覚野には患側肢からの入力が増加していることが電気生理学的実験により確認された。多光子励起レーザー顕微鏡を用いた in vivo

imaging の結果より、障害後1週間目での健常半球における特異的なシナプス可塑性の亢進が確認された。この可塑性亢進を境に体性感覚機能の回復が認められ、また、本来主に障害側半球に投射しているはずの患側肢からの入力も健常側半球で情報処理されている兆候が観察された。以上のことから、健常半球の回路再編により脳梗塞障害後の機能代償が起こっていることが推測された。

48. 新しいAMPA受容体制御タンパク質, Type II TARP の同定

加藤明彦 (Eli Lilly and Company, USA)

(2009.3.19)

イオンチャネルの多くはチャネルを形成する主要サブユニット (principal subunit) と、その活性を制御する補助サブユニット (auxiliary subunit) からなる。補助サブユニットは in vivo でのチャネルの性質を決定するのに重要で

あるのみならず、効果的な drug target でさえある。本セミナーでは AMPA タイプのグルタミン酸受容体の補助サブユニットである TARP (Transmembrane AMPA receptor regulatory protein) についてご紹介する。近年私共

が発見した Type II TARP は, AMPA 受容体の細胞表面出現, 薬理的性質, チャンネルの物理学的性質を, これまでに同定されていた TARP とかなり異なった様式で制御する。TARP の多様性により, AMPA 受容体にはさまざまな生理学的性質が与えられることを示している。

Dr. Akihiko S Kato, PhD. Eli Lilly and Company, USA
Discovery of new class AMPA receptor regulatory proteins
【Abstract】

Many ion channels comprise principal and auxiliary subunits. Auxiliary subunits modulate trafficking and channel properties, and are even effective drug targets. We will describe TARPs (Transmembrane AMPA receptor Regulatory Proteins) auxiliary subunits of AMPA-type glutamate receptors. TARPs dramatically regulate trafficking and pharmacology of AMPA receptors. We discovered another family of TARPs, whose regulation is different from

conventional TARPs, in terms of trafficking, gating kinetics and pharmacology of AMPA receptors. This diversity of TARP function provides AMPA receptors with distinctive physiological features.

【References】

1. Kato AS et al., AMPA receptor subunit-specific regulation by a distinct family of type II TARPs. *Neuron*. 2008 59:986-996
2. Kato AS, et al, New transmembrane AMPA receptor regulatory protein isoform, gamma-7, differentially regulates AMPA receptors. *J Neurosci*. 2007 27 : 4969-4977.
3. Kato A, et al, Activity-dependent NMDA receptor degradation mediated by retrotranslocation and ubiquitination. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005 102 : 5600-5605