自然科学研究機構

生理学研究所年報

第34巻

2013

はじめに

生理学研究所年報第 34 巻をここに刊行し、平成 24 年（2012）年度における共同利用研究機関としての生理学研究所の事業活動、研究成果の報告をさせていただきます。

生理学研究所は、1977 年 5 月に開設されて本年で 36 年目を迎えました。そして、2004 年 4 月より大学共同利用機関法人自然科学研究機構を構成する 5 研究機関の 1 つとし、法人化されて 9 年目（第 2 期の 3 年度目）となりました。「法人化」の後に、生理学研究所はいくつかの組織改編を行いながら、「人体基礎生理学の研究と研究者育成のための唯一の大学共同利用機関」としての役割を果してまいりました。2011 年度から 5 年間、「ヒトとモデル動物の統合的研究による社会性の脳神経基盤の解明」プロジェクトが特別経費として予算措置されました。更には 2011 年度から 2 年間にわたって「生理学研究所実験研究棟改修」が認められ、耐震性や経年劣化の問題が一挙に解決する運びとなりました。2012 年度におきましても、コミュニティ研究者の皆様のご協力と、所員一同の努力によって、多数（161 件；法人化以前の約２倍）の共同研究・共同利用実験を行いつつ大きな成果をあげることができたものと自負していますが、関係者の皆様のご評価・ご判定を仰ぐ次第であります。

生理学研究所の第 1 の使命は、人のからだと脳の働き、そしてそれらの仕組みについて、世界トップレベルの研究を進めることにあります。幸い、生理学研究所は、生理科学・脳神経科学の分野で高い評価（例えば、2005-2009 年 ISI 論文引用度指数：神経科学分野第 1 位、総合分野第 4 位）を受ける研究を展開してまいることができました。第 2 の使命は、このような世界トップレベルの研究を基礎にして、全国の研究者コミュニティの方々との共同利用実験・共同研究を進めるということにあります。2012 年度は、「一般共同研究」44 件、「計画共同研究」44 件、超高圧電子顕微鏡、機能的磁気共鳴画像装置（fMRI）、脳磁計（MEG）を供しての「共同利用実験」51 件、「研究会」21 件、「国際シンポジウム」1 件、「国際研究集会」1 件の事業を進め、国内外から多数の研究者の方々にご参加いただくことができました。本研究所の第 3 の使命は、若手研究者を発掘・育成することにあります。総合研究大学院大学（総研大）の基盤機関として大学院生の指導にあたると共に、全国からの多数の大学院生を受託する形で指導もしています。因みに、先述の論文引用度指数：神経科学分野第 5 位は総研大であり、私達の教育レベルの高さを示しているものと思います。更には、生理科学実験技術トレーニングコースを開催し、全国から 100 名以上の若手研究者・院生・学生を受け入れて教育すると共に、「多次元共同脳科学推進センター」を中心として、分野をまたぐ若手脳科学研究者の育成のための異分野連携的脳科学に関する多次元トレーニング＆レクチャーを開催しました。加えて、「せいりけんニュース」隔月発刊や「せいりけん市民講座」4 回開催や出前授業やその他講演会 34 回の開催など、未来の研究者を発掘するための多種の情報発信活動も「広報展開推進室」が中心となって行ってまいりました。

所員一同「生体を対象に分子、細胞、器官、個体レベルの研究を推進し、究極において人体の機能を総合的に解明することを目標とする」という創設来の基本姿勢を堅持しながら、主として脳の働きと生体恒常性の仕組みについての世界トップレベルの研究を推進し続けることができるよう、引き続き努力を重ねてまいりたいと考えております。皆様方のご支援・ご鞭撻を心よりお願い申しあげます。

平成 25 年 9 月 4 日

生理学研究所所長　井本敬二

生理学研究所年報

〔 目　　次 〕

職　員（2012 年度）…… i

研究活動報告

分子生理研究系 …… 11
細胞器官研究系 …… 18
生体情報研究系 …… 26
統合生理研究系 …… 33
大脳皮質機能研究系 …… 45
発達生理学研究系 …… 58
個別研究・特別研究 …… 70
行動・代謝分子解析センター …… 74
多次元共同脳科学推進センター …… 79
脳機能計測・支援センター …… 80
岡崎統合バイオサイエンスセンター …… 85
動物実験センター …… 86
技　術　課 …… 89

研究発表

発　表　論　文 …… 105
学　会　発　表 …… 121

一般共同研究報告 …… 153

計画共同研究報告 …… 185

超高圧電子顕微鏡共同利用実験報告 …… 215

生体機能イメージング共同利用実験報告 …… 233

研究会報告 …… 259

国際研究集会 …… 505

各種シンポジウム

平成 24 年度生理研国際シンポジウム …… 523

トレーニングコース

第 23 回生理科学実験技術トレーニングコース …… 535

セミナー報告 …… 539

大学院特別講義 …… 569

職員（2012 年度）

所　　長　　**岡 田 泰 伸**

分子生理研究系

神経機能素子研究部門

教　　授　久保義弘
准 教 授　立山充博
助　　教　中條浩一
生理研研究員　KECELI, Batu
NIPS リサーチフェロー　山本　泉（2012.9.1～）
大学院生　藤井大祐（～2012.9.30）
大学院生　北沢和寛
〃　条　慎一郎
技術支援員　浅井友理子（～2013.1.31）
〃　内藤知津江（2012.12.1～）

分子神経生理研究部門

教　　授　池中一裕
助　　教　清水健史（2012.4～）
特任助教　稲村直子（2012.8～）
NIPS リサーチフェロー　石井雄吾
大学院生　清水崇弘（～2012.6）
〃　杉尾翔太
〃　橋本弘和
〃　Wilaiwan Wisessmith
〃　鳴海麻衣
〃　江　文
大学院生　長内康幸（2012.4～）
〃　菊地原沙織（2012.4～）
技術支援員　伊藤磯子
〃　前田ちづ子（～2012.9）
〃　田口理恵
事務支援員　川上綾子（2012.4.16～）
〃　吉田寛子（2012.4.16～）

ナノ形態生理研究部門

准 教 授　村田和義

細胞器官研究系

生体膜研究部門

教　　授　深田正紀
准 教 授　深田優子
日本学術振興会特別研究員　横井紀彦
NIPS リサーチフェロー　奥　慎一郎
大学院生　大川都史香
〃　関谷敦志（2012.4.1～）
大学院生　村上達郎（2012.4.1～）
技術支援員　鈴木由美
〃　渡邊聖愛

機能協関研究部門／所長室

所　　長　岡田泰伸
所長秘書　岡安友美
准教授（併任）　小泉　周
特任准教授　岡田俊昭
特任助教　秋田天平（～2012.11.15）
NIPS リサーチフェロー　佐藤かお理
研究員　平沢　統（2012.10.16～）
技術支援員　重本久実
〃　安井尚美
〃　森藤　暁（～2012.9.30）
〃（併任）　林　めぐみ

神経細胞構築研究部門

客員教授　瀬藤光利

細胞生理研究部門

教　　授　富永真琴
助　　教　鈴木喜郎
特任助教　齋藤　茂
助　　教　内田邦敏（2012.11.1～）
特任助教　内田邦敏（～2012.10.31）
NIPS リサーチフェロー　加塩麻紀子（2012.4.1～）
日本学術振興会特別研究員　常松友美（～2013.3.31）
研究員　周　一鳴（2012.10.1～）
大学院生　周　一鳴（～2012.9.30）
〃　高山靖規（～2013.3.31）
大学院生　田淵紗和子
〃　新宅健司
〃　橘髙裕貴
〃　孫　武平
〃　Gupta Rupali
〃　西本れい（2012.4.1～）
〃　Kurganov Erkin（2012.4.1～）
特別共同利用研究員　渡邊成樹
事務支援員　伊藤嘉美
技術支援員　福田阿由子（～2013.3.31）
〃　齋藤くれあ
〃　西村慶子（～2013.3.31）

生体情報研究系

感覚認知情報研究部門

教　　授　小松英彦
助　　教　郷田直一
助　　教　横井　功（2012.7.1～）
特任助教　横井　功（～2012.6.30）
特別訪問研究員　鯉田孝和
NIPS リサーチフェロー　安川涼子
研究員　橘　篤導
〃　西尾亜希子（2012.4.1～）
大学院生　岡澤剛起
〃　波間智行
技術支援員　太田知宏
〃　庭木由紀
〃　大久保三奈（～2013.3.31）
〃　小林久美子（2012.11.1～）

統合生理研究系

神経シグナル研究部門

教授	井本敬二	共同研究員	川津領一（2012.10.1～）
准教授	古江秀昌		
助教	佐竹伸一郎	〃	上田勇輝（2012.11.9～）
〃	山肩葉子		
特任助教	歌大介	大学院生（総研大）	箱崎敦志（2012.10.1～）
NIPS リサーチフェロー	加勢大輔（～2013.2.26）	技術支援員	田中美穂
日本学術振興会特別研究員	東島（宍戸）恵美子（～2013.3.31）	〃	中村亜由美（2012.4.1～）

神経分化研究部門

教授	吉村由美子	研究員	西尾奈々（2012.4.1～）
助教	森琢磨		
特任助教	宮下俊雄（2012.10.16～）	技術支援員	安藤恵利（2012.12.1～）
日本学術振興会特別研究員	石川理子	事務支援員	比賀昌子

感覚運動調節研究部門

教授	柿木隆介	特任助教	鶴原亜紀
准教授	乾幸二	研究員	大鶴直史（～2012.4.30）
特任准教授	岡本秀彦		
助教	三木研作	大学院生	Keceli Sumru
特任助教	望月秀紀	事務支援員	加藤三津子
〃	守田知代	〃	廣岡裕子
〃	和坂俊昭	〃	中村和子

生体システム研究部門

教授	南部篤	大学院生	金子将也
助教	畑中伸彦		Dwi Wahyu Indriani
〃	橘吉寿		竹内佐織
〃	知見聡美	技術支援員	宮本香奈
特任助教	佐野裕美	〃	磯谷ひとみ（2013.3.16～）
〃	纐纈大輔		
研究員	高良沙幸（～2013.3.31）		

計算神経科学研究部門

客員教授	合原一幸

大脳皮質機能研究系

脳形態解析研究部門

教　　授　重本隆一（～2013.2）
准 教 授　田渕克彦（～2012.8）
助　　教　松井　広（～2012.12）
特別訪問研究員　Alsayed Abdelhamid Mohamed Alsayed（2012.7～2013.3）
大学院生　Wajeeha Aziz（～2013.3）
〃　Laxmi Kumar Parajuli（～2013.9）
〃　Timotheus Budisantoso（～2013.9）
〃　Dwi Wahyu Indriati（～2013.9）
〃　Chang Wen Hisn（～2013.3）
〃　Nur Farehan Mohamed Asgar
〃　Sebnem Kesaf（～2013.3）
〃　Matthew Julian Case（～2013.3）
大学院生　Pradeep Bhandari（2012.4～2013.3）
〃　別府　薫（～2013.7）
〃　Gopal Pramanik（2012.4～2013.3）
技術支援員　澤　栄恵（～2013.3）
〃　山田幸子
〃　兵藤智栄美（～2013.3）
〃　小鹿郁子
〃　池田　充（～2013.3）
〃　永吉美代子（～2012.9）
日本学術振興会特別研究員　佐々木拓哉（～2013.1）
NIPS リサーチフェロー　原田春美（～2013.3）
技術支援員　赤間亜希子（～2013.3）

大脳神経回路論研究部門

教　　授　川口泰雄
准 教 授　窪田芳之
助　　教　大塚　岳
〃　森島美絵子
研 究 員　植田禎史
〃　牛丸弥香
〃　畠中由美子
日本学術振興会外国人特別研究員　Chao-Hua Huang（～2012.9.28）
技術支援員　犬塚小百合
〃　小島滋美
〃　渡邊美香（～2012.12.31）
〃　北　啓子
〃　塩津千尋
〃　服部宣子

心理生理学研究部門

教　　授　定藤規弘
助　　教　田邊宏樹（～2012.6）
〃　北田　亮
特任助教　川道拓東
〃　松永昌宏
〃　原田宗子（2012.7～）

研究員 吉原一文
〃 岡崎俊太郎
〃 小池耕彦
〃 牧田快
（2012.10～）
NIPSリサーチフェロー 佐々木章宏
大学院生 牧田快
（～2012.9）
〃 岡本悠子
〃 吉田優美子
〃 菅原翔
大学院生 島田浩二
〃 高橋陽香
〃 橋口真帆
〃 濱野友希
（2012.10～）
特別共同利用研究員 石井徹
〃 中川恵理
〃 Rajaei, Nader
特定技術職員 木村玲子
技術支援員 竹中邦子
〃 岩瀬恵

発達生理学研究系

認知行動発達機構研究部門

教授 伊佐正
准教授 西村幸男
助教 吉田正俊
特任助教 木下正治
〃 丸山めぐみ
〃 大塩りつ
〃 小川正晃
（2013.3.16～）
研究員 渡辺秀典
〃 加藤利佳子
〃 梅田達也
〃 笠井昌俊
〃 笹田周作
〃 今津杉子
（～2012.9.30）
〃 市原俊
大学院生 加藤健治
〃 高桑徳宏
特別共同利用研究員 澤田真寛
〃 當山峰道
（2012.5.1～）
〃 加納史也
（2012.6.1～2013.3.31）
特定事務職員 高橋弘
技術支援員 高橋伸明
〃 伊佐かおる
〃 加藤智子
（～2012.8.31）
〃 柴田あゆみ
〃 山西ユミ
〃 清水琴未
〃 高田和子
〃 嶋田ゆう
（2012.6.1～）
〃 嶋田弘子
〃 寺嶋恵子
（2012.4.16～）
〃 草野浩
（2013.2.1～）
〃 高柳礼香
〃 柴田真希
〃 平岩淳子
（2012.11.5～）

生体恒常機能発達機構研究部門

教授 鍋倉淳一
准教授 石橋仁
（～2013.3.31）
助教 加藤剛
（～2013.3.31）
研究員 稲田浩之
（～2012.12.31）

特任助教　稲田浩之（2013.1.1～）
NIPS リサーチフェロー　江藤圭（～2012.7.31）
研究員　平尾顕三（～2012.8.31）
大学院生　中畑義久
〃　宮本愛喜子
〃　石川達也
〃　中村佳代（2012.4.1～）
〃　穐吉亮平（2012.10.1～）
大学院生　川本恭兵（2012.10.1～）
技術支援員　大場多津子
事務支援員　齋藤永子
技術支援員　東海林麻美（～2012.8.31）
〃　市橋結貴
〃　川本恭兵（2012.4.1～2012.9.30）
技術支援員　蜂須賀由香里

生殖・内分泌系発達機構研究部門

教授　箕越靖彦
助教　岡本士毅
特任助教　佐藤寛之（2012.4.1～）
NIPS リサーチフェロー　戸田知得（～2012.9.30）
〃　唐麗君
大学院生　上條真弘
〃　横田繁史
〃　髙木一代
〃　Eulalia Coutinho
〃　佐藤達也
技術支援員　永谷恵（～2013.3.31）

環境適応機能発達研究部門

客員教授　矢田俊彦

個別研究・特別研究

個別研究（村上グループ）

准教授　村上政隆
大学院生　魏飛
特別訪問研究員　FAN, Yao-fu（2012.10.23～2012.11.19）
特別訪問研究員　WEI, Muxin（2012.10.23～2012.11.19）

個別研究（大橋グループ）

助教　大橋正人

個別研究（毛利グループ）

助教　毛利達磨

個別研究（樫原グループ）

助教　樫原康博
技術支援員　野村智美

特別研究（永山グループ）

特任教授　永山國昭
事務支援員　小瀧弘子（～2012.9.30）
事務支援員　鈴木小百合（2012.8.1～）

行動・代謝分子解析センター

遺伝子改変動物作製室

准教授　平林真澄
特任助教　冨田江一（～2013.3.31）
〃　足澤悦子（2012.4.1～）
技術支援員　大西皆子
〃　糸川貴世（～2013.3.31）
〃　山内恵子
特別共同利用研究員　後藤哲平

代謝生理解析室

教授（併任）　箕越靖彦
助教（併任）　鈴木喜郎（2012.5.1～）

行動様式解析室

客員教授　宮川剛
准教授（併任）　木村透
特任准教授　高雄啓三
特別訪問研究員　林愛
技術支援員　岩月美緒（～2012.9.30）
技術支援員　今井篤子
〃　石川美香
〃　中木原敦子
特任専門員　木瀬環
事務支援員　高松香

多次元共同脳科学推進センター

センター長（併）　池中一裕（～2013.3.31）
特任教授　吉田明
事務支援員　土井優

脳科学新領域開拓研究室

教授（併任）　井本敬二（～2013.3.31）
〃（併任）　山森哲雄
客員教授　小林和人
〃　佐倉統
〃　高田昌彦
〃　西田眞也
〃　宮田卓樹
〃　望月秀樹（2012.8.1～）
客員准教授　小早川令子（2012.8.1～）
特任助教（プロジェクト）　小松勇介（2012.6.1～2013.3.31）
特任研究員　竹田悠太（2012.6.1～2013.3.31）
〃　髙司雅史（2012.6.1～2013.3.31）
〃　畑克介（2012.6.1～2013.3.31）
技術支援員　渡辺星太（2013.1.16～2013.2.28）
〃　岩瀬悦子（2013.1.16～2013.3.31）

脳情報基盤研究開発室

教授（併任）伊佐　正
〃（併任）鍋倉淳一
客員教授 川人光男
〃 銅谷賢治
〃 横井浩史
客員教授 大木研一（2012.8.1～）
〃 森郁恵（2012.8.1～）

社会的脳表現解析開発室

教授（併任）定藤規弘（2012.4.1～）
〃（併任）小松英彦（2012.4.1～）
客員教授 酒井邦嘉
客員教授 尾崎紀夫（2012.8.1～）
〃 友田明美（2012.8.1～）

流動連携研究室

客員教授 鈴木正隆（2012.4.1～2012.9.15）
客員助教 小平農

脳機能計測・支援センター

形態情報解析室

准教授 村田和義
助教 古家園子
研究員 宮崎直幸
技術支援員 林めぐみ
〃 伊藤直子（～2012.9.14）
技術支援員 永吉美代子（2012.10.1～）
〃 河口好江

生体機能情報解析室

教授（併任）定藤規弘
准教授 達本徹
技術支援員 山本忍（2012.4.16～）

多光子顕微鏡室

教授（併任）鍋倉淳一
准教授 村越秀治

電子顕微鏡室

教授（併任）重本隆一
准教授(併任) 村田和義
准教授(併任) 窪田芳之（2012.5.1～）

ウィルスベクター開発室

教授（併任）伊佐　正
〃（併任）南部篤
准教授 小林憲太
技術支援員 影山梨衣

霊長類モデル動物室

教授（併任）	伊佐　正	研究員	浜井美弥
研究員	山根　到	事務支援員	岡本友紀

情報処理・発信センター

センター長（併任）　定藤規弘

広報展開推進室

教授（併任）	定藤規弘	事務支援員	大和田　みゆき
准教授	小泉　周		内山千保美

点検連携資料室

教授（併任）	伊佐　正	准教授（併任）	村上政隆

医学生理学教育開発室（客員研究部門）

客員教授　渋谷まさと

安全衛生管理室

教授（併任）　柿木隆介

岡崎共通研究施設
（生理学研究所関連）
岡崎統合バイオサイエンスセンター　**時系列生命現象研究領域**

准教授	東島眞一	技術支援員	伊木志成子
研究員	木村有希子	〃	伊藤浩子
〃	佐藤千恵	〃	寺澤洋子
技術支援員	鈴木幸子		

戦略的方法論研究領域
（ナノ形態生理研究部門　併任）

生命環境研究領域
（細胞生理研究部門　併任）

動物実験センター

准教授	木村　透	技術支援員	塚本裕子（～2012.11.30）
事務支援員	坂本　愛		
〃	浦川裕乃	〃	原　佳恵（～2012.12.17）
技術支援員	水野みどり		
〃	井上久子（～2013.3.31）	〃	山中　緑（2013.3.16～）
〃	松永ゆう子	〃	柴田紀子（2012.11.16～）
〃	古山真基子		
〃	不退久恵	〃	都築正夫（2012.11.16～）
〃	鈴木敏文		

動物実験コーディネータ室　特任教授　佐藤　浩　　事務支援員　鈴木邦子

技術課　課長　大河原　浩

研究系技術班　班長　市川　修

分子生理研究系技術係
係長　佐治俊幸　　係員　小池崇子
係員　山本友美

細胞器官研究系技術係
係長　山口　登　　係員　髙橋直樹
係員　福田直美

生体情報研究系技術係
係員　森　将浩　　係員　石原博美
〃　髙木正浩

統合生理研究系技術係
主任　竹島康行　　係員　佐藤茂基

大脳皮質機能研究系技術係
係長　伊藤嘉邦　　係員　神谷絵美

発達生理学研究系技術係
係長　戸川森雄　　係員　吉友美樹
主任　齊藤久美子

研究施設技術班　課長補佐（班長）　小原正裕

脳機能計測・支援技術係
係長　前橋　寛　　係員　山田　元

情報処理・発信技術係
係長　永田　治　　係員　村田安永
主任　吉村伸明

動物実験技術係
係長　伊藤昭光　　係員　窪田美津子
主任　廣江　猛

行動・代謝分子解析技術係
係長　（未選考）　　係員　三寶　誠

多次元共同脳科学推進技術係

係長（併任）　（未選考）

特任専門員　木瀬　環

技術支援員　加藤勝己

〃　犬塚小百合

〃　岩瀬　恵

〃　水野みどり

〃　高田和子

〃　澤　栄恵

〃　大西皆子

〃　浅井友理子（～2013.1.31）

〃　田中美穂

〃　福田阿由子（～2013.3.31）

〃　大場多津子

〃　宮本香奈

〃　安井尚美

〃　石神久美子（～2012.11.30）

〃　永谷　恵（～2013.3.31）

〃　不退久恵

〃　松永ゆう子

〃　三ツ井康雄

〃　林　めぐみ

〃　鈴木由美

〃　大久保三奈

〃　内藤千津江（2013.2.1～）

〃　原　佳枝（～2012.12.17）

〃　古山真基子

〃　井上久子

〃　鈴木敏文

〃　塚本裕子（～2012.11.30）

〃　塩津千尋

〃　伊藤直子（～2012.9.14）

〃　田口理恵

技術支援員　山本　忍（2012.4.16～）

〃　永吉美代子（2012.10.1～）

〃　小林久美子（2012.11.1～）

〃　柴田紀子（2012.11.16～）

〃　都築正夫（2012.11.16～）

〃　比賀昌子（2012.12.1～）

〃　磯谷ひとみ（2013.3.16～）

〃　山中　緑（2013.3.16～）

事務支援員　向　和子（～2013.3.31）

〃　松澤敬子

〃　浅井明代

〃　坂本　愛

〃　柴田利江

〃　小澤祐子

〃　芝村賞子

〃　長尾法子

〃　大和田みゆき

〃　浦川裕乃

〃　高松　香

〃　内山千保美

〃　佐藤明子

〃　宮島洋美（～2013.3.31）

〃　岩瀬佐知（2012.12.16～2013.1.9）

〃　安井亜紀（2013.2.1～）

〃　後藤美穂（2013.3.16～）

【研究活動報告】

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
オーファン代謝型受容体Prrt3の機能解明に向けた，遺伝子改変マウスの作成
（山本友美，山本　泉，久保義弘，周　麗，夏目里恵，崎村建司，三宝　誠，平林真澄）
オーファン代謝型受容体Prrt3の機能解明に向けた，発現部位の同定と分子構造の解析
（山本　泉，山本友美，久保義弘，中尾和貴，清成　寛，今野幸太郎，渡辺雅彦）
Gi/o蛋白質のアデノシン受容体活性化構造安定化作用の解析
（立山充博，久保義弘）
ストイキオメトリーに依存したKCNQ1-KCNE1チャネルの活性化キネティクスの解析
（中條浩一，久保義弘）
全反射赤外分光法によるカリウムチャネル機能の解析
（中條浩一，久保義弘，塚本寿夫，古谷祐詞）
ATP受容体チャネル$P2X_2$三量体の活性化時のシグナルフローとサブユニットの寄与の3タンデムリピートコンストラクトを用いた解析
（Batu Keceli，久保義弘）
Kv4.2の不活性化からの回復速度はKChIP4の結合数に依存して変化する
（北沢和寛，中條浩一，久保義弘）
hERGチャネルの環状ヌクレオチド結合相同ドメインによる脱活性化過程の制御
（粂慎一郎，中條浩一，久保義弘）
分子神経生理研究部門 …… 15
概　要
オリゴデンドロサイトの機能と病態
（清水健史，長内康幸，國澤和生，清水崇弘，Wilaiwan Wisessmith，池中一裕）
アストロサイトの機能と病態
（稲村直子，杉尾翔太，菊地原沙織，池中一裕）
神経幹細胞の生成と維持
（等　誠司，石野雄吾，池中一裕）
脊髄神経発生におけるプロテオグリカンの役割
（石野雄吾，橋本弘和，江　文，池中一裕）
N結合型糖鎖の構造決定と機能解析
（吉村　武，鳴海麻衣，小池崇子，伊藤磯子，池中一裕）
ナノ形態生理研究部門 …… 17
概　要

細胞器官研究系

生体膜研究部門 …… 18
概　要
PSD-95パルミトイル化酵素によるシナプス機能制御
（深田優子，深田正紀）
新規パルミトイル化基質Neurochondrinの同定と性状解析
（奥慎一郎，深田優子，深田正紀）
脱パルミトイル化酵素の同定と性状解析
（関谷敦志，村上達郎，深田優子，深田正紀）
てんかん関連リガンドLGI1の作用機構の解析
（横井紀彦，大川都史香，深田正紀，深田優子）
自己免疫性辺縁系脳炎における抗LGI1抗体の作用機構の解明
（大川都史香，深田優子，横井紀彦，渡邊　修，深田正紀）
機能協関研究部門 …… 20
概　要
細胞容積調節におけるABCF2とα-アクチニン-4の分子間相互作用の役割
（岡田泰伸，赤塚結子，清水貴浩，沼田朋大）

高浸透圧活性化陽イオンチャネルHICCの分子実体同定
（佐藤かお理，岡田泰伸，沼田朋大，森　泰生，Frank Wehner）
心筋梗塞の進行を抑えるCFTRイオンチャネルの働き解明
（岡田俊昭，岡田泰伸，浦本裕美）
パネキシンヘミチャネルとは独立した細胞外ATP放出通路としてのマキシアニオンチャネル
（Md. Rafiqul Islam，岡田俊昭，岡田泰伸，浦本裕美，Ravshan Z. Sabirov）
新世界ザルの目の中にモーション・ディテクターと考えられる視神経細胞を発見―霊長類網膜短期培養保存法の確立および遺伝子導入で－
（小泉　周，森藤　暁，小松勇介）
神経細胞構築研究部門 …… 22
概　要
脊髄損傷病変部におけるリン脂質および脂質代謝物の時空間動態
（花田　充，瀬藤光利）
細胞生理研究部門 …… 23
概　要
ヒトTRPA1の第一級アルコールによる炭素鎖長依存的な活性化
（小松朋子，内田邦敏，藤田郁尚，周　一鳴，富永真琴）
日本ワサビのisothiocyanatesによるTRPA1活性化
（内田邦敏，三浦陽介，富永真琴）
自然に存在する鎮痛薬の探索
（高石雅之，藤田郁尚，内田邦敏，富永真琴）
TRPV4による表皮ケラチノサイトのバリア機能制御機構の解析
（木田尚子，曽我部隆彰，加塩麻紀子，富永真琴）
TRPM2の過酸化水素による感作機構の解析
（加塩麻紀子，曽我部隆彰，富永真琴）
カエルおよびトカゲTRPA1チャネルの遺伝子クローニングと機能解析
（齋藤　茂，福田直美，太田利男，富永真琴）

生体情報研究系

感覚認知情報研究部門 …… 26
概　要
下側頭皮質における光沢選択性ニューロンの性質
（西尾亜希子，郷田直一，小松英彦）
素材識別に関わるサル視覚領野：fMRI研究
（郷田直一，橘　篤導，岡澤剛起，小松英彦）
触覚経験が視覚的素材弁別に与える影響
（横井　功，橘　篤導，南本敬史，小松英彦）
織物の心理的距離の触覚経験による変化
（安川涼子，郷田直一，小松英彦）
マカクサルＶ４ニューロンの自然テクスチャ選択性を同定するための適応的サンプリング法の利用
（岡澤剛起，田嶋達裕，小松英彦）
2色型色盲ザルの色覚特性の行動的研究
（横井　功，鯉田孝和，岡澤剛起，宮地重弘，小松英彦）
神経シグナル研究部門 …… 28
概　要
青斑核を介した痛みの中枢性制御機構の解明
（古江秀昌，井本敬二，Pickering Anthony Edward）
脊髄における痒み情報の伝達と調節機構の解明
（歌　大介，井本敬二，古江秀昌）
エタノールの小脳異種シナプス間拡散性クロストーク阻害作用：メカニズムの検討
（佐竹伸一郎，井本敬二）
NMDA受容体によって誘発される大脳皮質スライスてんかん発射活動とERK1/2-MAPキナーゼの活性制御
（山肩葉子，兼子幸一，加勢大輔，石原博美，Angus C. Nairn ，小幡邦彦，井本敬二）
大脳基底核からの抑制性出力による情報伝達機構の解明
（加勢 大輔，井本 敬二）
発達障害における行動介入の神経科学的分析と応用
（宍戸恵美子，井本敬二）
神経分化研究部門 …… 30
概　要
大脳皮質視覚野微小神経回路網の機能的役割
（石川理子，吉村由美子）

クラスター型プロトカドヘリンによる大脳皮質神経結合特異性の制御
（足澤悦子，吉村由美子，平林真澄，三宝　誠，八木　健）
大脳皮質2/3層錐体細胞に入力する神経細胞分布の網羅的解析
（森　琢磨，吉村由美子）

統合生理研究系

感覚運動調節研究部門 …… 33
概　要
二次体性感覚野における感覚情報と運動情報の統合
（和坂俊昭，柿木隆介）
聴覚変化関連脳活動のprepulse 抑制
（乾　幸二，鶴原亜紀，小平　農，元村英史，谷井久志，西原真理，Kceli Sumru，柿木隆介）
乳児の脳における顔の大きさ不変の表象－NIRS順応パラダイムによる検討
（小林　恵，大塚由美子，金沢　創，山口真美，柿木隆介）
乳児期における身体運動認知の発達
（守田知代，Virginia Slaughter，片山伸子，北崎充晃，柿木隆介，板倉昭二）
視覚的ワーキングメモリにおける後部頭頂葉と後頭葉の異なった役割
（松吉大輔，池田尊司，澤本伸克，柿木隆介，福山秀直，苧阪直行）
意識的視覚表象が発生する瞬間の脳磁場反応計測
（野口泰基，横山武昌，鈴木恵美，喜多伸一，柿木隆介）
ニコチンが聴覚変化関連応答に及ぼす影響
（大鶴直史，鶴原亜紀，元村英史，谷井久志，西原真理，乾　幸二，柿木隆介）
音の周波数変化と経時変化により惹起された聴覚誘発脳磁場反応
（岡本秀彦，Teismann Henning，柿木隆介，Pantev Christo）
音源変化に基づく聴覚性N1には感覚記憶が関与する
（大山慶子，元村英史，乾　幸二，西原真理，大鶴直史，大井元泰，柿木隆介，岡田元宏）
筋張力発揮と弛緩時における感覚運動統合
（和坂俊昭，木田哲夫，柿木隆介）
双極子追跡法を用いた若年性後頭部徐波の信号源推定
（大山慶子，元村英史，乾　幸二，西村幸香，宇城研悟，松島信佳，前田正幸，谷井久志，鈴木　大，浜中健二，柿木隆介，岡田元宏）
周期的な音により惹起させる聴覚誘発Sustained反応
（Keceli Sumru，乾　幸二，岡本秀彦，大鶴直史，柿木隆介）
自閉症スペクトラム障害における自己顔プロセスに伴う情動反応
（守田知代，小坂浩隆，齋藤大輔，石飛　信，棟居俊夫，板倉昭二，大森昌夫，　岡沢秀彦，和田有司，定藤規弘）
双極子追跡法を用いたfrontal intermittent rhythmic delta activity (FIRDA)の信号源推定
（元村英史，乾　幸二，大山慶子，西村幸香，中川雅紀，前田正幸，松島信佳，宇城研悟，鈴木　大，柿木隆介，岡田元宏）
体性感覚刺激No-go電位と反応時間・反応のばらつきとの関係性
（中田大貴，坂本貴和子，柿木隆介）
乳児はアルチンボルドのだまし絵を顔として認識しているのか－行動実験および近赤外分光法（NIRS）による検討
（小林　恵，大塚由美子，仲渡江美，金沢　創，山口真美，柿木隆介）
運動に関する予期しない視覚フィードバックが体性感覚領域の活動を変化させる
（和坂俊昭，柿木隆介）
痛覚受容研究：表皮内電気刺激法の活用
（乾　幸二，柿木隆介）
生体システム研究部門 …… 40
概　要
運動課題遂行中のマカクサル赤核小細胞部ニューロンの活動様式
（畑中伸彦，金子将也，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，高良沙幸，畑中伸彦，南部　篤）
ハイリスク・ハイリターン，ローリスク・ローリターンを選択する神経基盤と調節因子
（橘　吉寿，南部　篤）
淡蒼球内節－脳深部刺激療法のメカニズムの解析
（知見聡美，南部　篤）
大脳皮質–線条体経路の神経生理機能の解明
（佐野裕美，加藤成樹，知見聡美，小林憲太，小林和人，南部　篤）
線条体投射ニューロンの神経生理機能の解明
（佐野裕美，田中謙二，竹林浩秀，Dwi Wahyu Indriani，南部　篤）

大脳基底核のハイパー直接路が運動情報処理に果たす機能の解明
（纐纈大輔，井上謙一，加藤茂樹，小林和人，高田昌彦，南部　篤）
計算神経科学研究部門 …… 43
概　要
シナプス統合におけるDale則の破れと前シナプス制御の影響に関する研究
（渡辺啓生，合原一幸）
神経細胞の異常な同期状態の緩和について
（西川　功，合原一幸）

大脳皮質機能研究系

脳形態解析研究部門 …… 45
概　要
シナプスを取り巻く細胞外空間におけるグルタミン酸濃度動態
（松井　広，Timotheus Budisantoso，深澤有吾，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
（原田春美，釜澤尚美，松井　広，重本隆一）
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
（Wen-Hsin Chang，Nur Farehan Mohamed Asgar，田渕克彦）
細胞種選択的光遺伝学タンパク質を発現した遺伝子改変マウスの開発
（松井　広，佐々木拓哉）
グリア細胞刺激による神経活動および個体行動の制御
（佐々木拓哉，別府　薫，深澤有吾，重本隆一，松井　広）
電位依存性カルシウムチャンネルの神経細胞膜上分布
（Laxmi Kumar Parajuli，深澤有吾，重本隆一）
海馬における長期増強現象とグルタミン酸受容体の密度変化
（深澤有吾，重本隆一）
小脳平行線維 - プルキンエ細胞間シナプス前神経終末における細胞膜上分子の局在
（原田春美，別府　薫，重本隆一，松井　広）
大脳神経回路論研究部門 …… 50
概　要
大脳皮質の非錐体細胞樹状突起分岐部でのRallの3/2乗則の検証
（窪田芳之，北　啓子，塩津千尋，川口泰雄，野村真樹）
大脳皮質の錐体細胞の抑制性シナプスと近傍の棘突起の動態解析
（窪田芳之，塩津千尋，川口泰雄，Jerry L. Chen，Katie L. Villa，Elly Nedivi）
皮質抑制性介在細胞ネットワークへの興奮性シナプス入力様式
（大塚　岳，川口泰雄）
初期軸索形成による大脳皮質興奮性細胞の分類
（畠中由美子，服部宣子，川口泰雄）
ラット運動関連皮質の同定と脊髄投射多様性
（植田禎史，川口泰雄）
脳波リズムと視床-皮質サブネットワークの活動解析
（牛丸弥香，川口泰雄）
錐体細胞結合特異性を導入した前頭皮質・基底核の行動価値計算回路モデル
（森田賢治，森島美絵子，川口泰雄）
心理生理学研究部門 …… 52
概　要
二台のMRI同時計測による共同注意の神経基盤の解明
（田邊宏樹，小池耕彦，岡崎俊太朗，定藤規弘）
視覚脱失が線条体外身体領域の形成に与える影響
（北田　亮，吉原一文，佐々木章宏，橋口真帆，河内山隆紀，定藤規弘）
共感的喜びに伴う援助行動の神経基盤
（川道拓東，田邊宏樹，高橋陽香，吉原一文，松永昌広，定藤規弘）
幸福感の神経基盤
（松永昌宏，川道拓東，小池耕彦，吉原一文，吉田優美子，高橋陽香，中川恵理，定藤規弘）
恐怖刺激による交感神経活動の変化に関連する脳内機序（第2報）
（吉原一文，田邊宏樹，川道拓東，小池耕彦，山崎未花，定藤規弘）
コミュニケーションの記憶：二者間の同期的脳活動からの研究
（小池耕彦，田邊宏樹，岡崎俊太郎，中川恵理，島田浩二，佐々木章宏，高橋陽香，吉原一文，Jorge Bosch Bayard，定藤規弘）
他第二言語の単語意味処理に及ぼす第二言語習熟度の影響：機能的MRI研究
（牧田　快，大石晴美，木下　徹，島田浩二，中川恵理，定藤規弘）

自他認識に関わる随伴性認知の神経基盤
（佐々木章宏，北田　亮，岡本悠子，定藤規弘）
予告効果の神経基盤：機能的MRI研究
（吉田優美子，田邊宏樹，林　正道，川道拓東，河内山隆紀，定藤規弘）
小学生の技能学習後の睡眠時間と技能定着との関連性
（菅原　翔，田中悟志，田中大介，関あゆみ，内山仁志，岡崎俊太郎，小枝達也，定藤規弘）
外国語運用能力の熟達に伴う音韻処理の効率化に関与する神経基盤
（島田浩二，横川博一，吉田晴世，牧田　快，山﨑未花，田邊宏樹，定藤規弘）
涙が悲しみ理解に及ぼす影響とその神経基盤
（高橋陽香，北田　亮，佐々木章宏，川道拓東，定藤規弘）
心理的な時間感覚伸縮の神経メカニズム
（橋口真帆，原田宗子，小池耕彦，岡崎俊太郎，守田知代，定藤規弘）
日本人英語学習者のL2文産出時における統語的プライミング効果
（中川恵理，横川博一，小池耕彦，牧田　快，島田浩二，定藤規弘）

発達生理学研究系

認知行動発達機構研究部門 …… 58
概　要
第一次視覚野損傷ザルにおけるサリエンシーに基づいた視覚探索
（吉田正俊，高浦加奈，加藤利佳子，池田琢朗，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）
皮質表面電位(ECoG)と皮質内局所電位(LFP)によるサル上腕運動の推定精度の比較
（渡辺秀典，佐藤雅昭，南部　篤，西村幸男，川人光男，伊佐　正）
意識に上らない視覚刺激による新しい行動の獲得過程：「盲視」モデルサルにおける強化学習
（加藤利佳子，高桑徳宏，　伊佐　正，Abdelhafid Zeghbib，Peter Redgrave）
感覚フィードバック型BMIの実現
（梅田達也，伊佐　正，西村幸男）
In vivo 2光子イメージングによる上丘視覚情報処理機構の解明
（笠井昌俊，伊佐　正）
神経活動に依存した刺激による四肢の随意運動制御
（笹田周作，加藤健治，西村幸男，ステファンJグロイス，門脇　傑，宇川義一，小宮山伴与志）
脳梗塞モデルサルにおける大脳皮質-筋間の人工神経接続による運動機能の再建
（加藤健治，澤田真寛，西村幸男）
意識に昇らない視覚刺激による連合学習
（高桑徳宏，加藤利佳子，Peter Redgrave，伊佐　正）
運動機能回復を支えるモチベーションの神経基盤
（澤田真寛，加藤健治，尾上浩隆，伊佐　正，西村幸男）
サル皮質脊髄路損傷後の手指巧緻性回復における脊髄固有ニューロンの寄与の検証
（當山峰道，伊佐　正，木下正治，松井亮介，渡邉　大，加藤茂樹，小林和人）
歯髄幹細胞を用いた脊髄損傷に対する再生治療研究
（加納史也，山本朗仁，伊佐　正，西村幸男）
マウス上丘－脳幹網様体経路におけるウィルス2重感染法を用いた選択的可逆的遮断法の解析
（Thongchai Sooksawate，松井亮介，渡邊　大，加藤成樹，小林和人，木下正治，小林憲太，伊佐かおる，伊佐　正）
生体恒常機能発達機構研究部門 …… 64
概　要
虚血脳障害後回復期における神経回路再編と制御機構の解明
（高鶴裕介，中村佳代，鍋倉淳一）
In Vivo多光子顕微鏡を用いたミクログリア・アストロサイトによる大脳皮質神経回路再編機構の解析
（和気弘明，宮本愛喜子，加藤　剛，穐吉亮平，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，稲田浩之，石川達也，鍋倉淳一）
細胞内Cl^-制御分子KCC2の発現制御と生体機能
（Andrew Moorhouse，鍋倉淳一）
伝達物質のスイッチングのメカニズムと細胞応答
（中畑義久，石橋　仁，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 …… 67
概　要

消化管での脂肪酸感知による摂食・食物嗜好性の調節機構
（岡本士毅，箕越靖彦，小川暢也，中里雅光）
消化管粘膜におけるレプチンシグナルのSOCS3による制御と胃癌発症
（岡本士毅，箕越靖彦，稲垣匡子，吉村昭彦）
α-synucleinによる脂肪細胞での糖取り込み促進作用
（箕越靖彦，Gerardo Rodriguez-Araujo，中神啓徳）
環境適応機能発達研究部門 …… 68
概　要
グレリンとGLP-1の相互作用によるインスリン分泌調節
（出崎克也，Boldbaatar Damdindorj，矢田俊彦）
Nesfatin-1ニューロンの食事因子による活性化
（前島裕子，Gantulga Darambazar，中田正範，矢田俊彦）

個別研究・特別研究

個別研究（村上グループ） …… 70
概　要
唾液分泌における傍細胞輸送と細胞内信号による調節
（村上政隆，魏　飛，成田貴則，福島美和子，橋本貞充，渋川義幸，佐藤正樹）
種々の漢方薬の灌流ラット顎下腺に対する水分泌促進機構
（村上政隆，魏　飛，範　養夫，魏　睦新）
個別研究（大橋グループ） …… 71
概　要
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発生シグナル制御
（大橋正人，木下典行）
個別研究（毛利グループ） …… 72
概　要
ウニ卵受精時のミトコンドリア活性化と一酸化窒素遊離との関連
（毛利達磨，経塚啓一郎）
個別研究（樫原グループ） …… 72
概　要
生後ラット運動神経細胞のチャネル発現の標的筋依存性
（樫原康博，野村智美）
特別研究（永山グループ） …… 73
概　要
電子顕微鏡用位相板の開発と応用
（永山國昭）

行動・代謝分子解析センター

遺伝子改変動物作製室 …… 74
概　要
4倍体胚補完によるES細胞のみに由来するラット産仔作製の試み
（平林真澄）
ラットRosa26遺伝子座にtdTomato遺伝子を導入したノックイン（KI）ラットの作製
（平林真澄）
代謝生理解析室 …… 75
概　要
TRPチャネルが担う中枢性呼吸調節機構の解明
（平田　豊，鈴木喜郎，富永真琴）
興奮性神経伝達による基底核神経回路の機能制御の解明
（渡邉　大，長谷川拓，西岡忠昭，南部　篤，知見聡美）
先天的な恐怖反応を制御する線条体神経回路の解明
（小早川令子，小早川高，佐野裕美，南部　篤）
エネルギー消費機構における褐色脂肪組織，骨格筋，交感神経の生理学的意義
（高木一代，箕越靖彦）
行動様式解析室 …… 77
概　要
マウスを用いた脳表現型データベースの開発と応用

（高雄啓三，宮川　剛）
Schnrri-2欠損マウスの脳表現型解析
（高雄啓三，宮川　剛）

多次元共同脳科学推進センター …… 79

概　要

脳機能計測・支援センター

形態情報解析室 …… 80
概　要
クライオ電子顕微鏡単粒子解析によるサポウイルスの単粒子構造解析
（宮崎直幸，David Taylor，村田和義，村上耕介，片山和彦）
クライオ位相差電顕トモグラフィーによる興奮収縮連関の構造的基盤の解明
（村田和義，國安明彦）
絨毛上皮下線維芽細胞を介した小腸絨毛におけるサブスタンスPとATPの相互作用
（古家園子）
生体機能情報解析室 …… 81
概　要
大脳皮質フィールド電位における律動波の研究
（遠本　徹）
多光子顕微鏡室 …… 82
概　要
シナプス内アクチン制御シグナル分子の活性化イメージング
（村越秀治）
光制御可能なCaMKII阻害分子の開発とシナプス可塑性研究への応用
（村越秀治）
光応答性CaMKII分子の開発とシナプス可塑性研究への応用
（村越秀治）
蛍光寿命イメージングのための新規蛍光タンパク質の開発
（村越秀治）
ウイルスベクター開発室 …… 83
概　要
脳機能解析に有用なウイルスベクターの開発と提供
（小林憲太）
特定神経路の機能解析
（小林憲太）
霊長類モデル動物室 …… 84
概　要

岡崎統合バイオサイエンスセンター

時系列生命現象研究領域 …… 85
概　要
ゼブラフィッシュ脊髄・脳幹運動系神経回路の機能解析
（木村有希子，佐藤千恵，東島眞一）

動物実験センター …… 86

概　要

技術課 …… 89

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
（竹島康行）
②大脳皮質機能研究系
（1）磁気共鳴装置
（伊藤嘉邦）
③脳機能計測・支援センター
（1）形態情報解析室
（小原正裕，山田　元，加藤勝己）
（2）生体機能情報解析室
（佐治俊幸，山本　忍）
（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）
（小原正裕，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）
④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）
⑤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・一分子イメージング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，遺伝子改変マウスの作成と行動解析，免疫組織化学的解析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。

オーファン代謝型受容体 Prrt3 の機能解明に向けた，遺伝子改変マウスの作成

山本友美，山本　泉，久保義弘
周　麗，夏目里恵，崎村建司（新潟大学脳研究所細胞神経生物学分野）
三宝　誠，平林真澄（生理学研究所，遺伝子改変動物作成室）

我々は，代謝型グルタミン酸受容体や $GABA_B$ 受容体と同じく，大きな N 末細胞外領域と 7 回膜貫通部位を持つ，Family C に属するオーファン代謝型受容体（Prrt3）の機能の解析に取り組んでいる。機能に関する手がかりを得るために，これまでに，Prrt3 遺伝子破壊 (KO)マウスを作成した。KO ホモマウスは，1 週間以内にほとんどすべてが死亡したが，まれに成体まで生育するものが得られたため，次項目の諸解析に用いた。昨年度，KO ヘテロマウスを用いて網羅的行動解析を行い，空間記憶，恐怖条件付け記憶の長期保持が低下していることを明らかにした。今年度，KO ホモマウスを用いた網羅的行動解析を行うことを目的として，条件的 KO マウスの作成を開始した。Flox マウスが得られたため, 今後, Emx1-Cre マウスや delta2-Cre マウスとの交配により，部位特異的 KO マウスを作成して，行動解析等を行う計画である。また，Prrt3 を含む分子複合体の精製と分子同定を目的として，FLAG と 6x His の dual tag を付加した Prrt3 を Thy1 プロモーターにより神経細胞に発現するトランスジェニックマウスの作成を開始した。今後，発現部位や発現レベルを確認した後，種々の解析に供する計画である。

オーファン代謝型受容体 Prrt3 の機能解明に向けた，発現部位の同定と分子構造の解析

山本　泉，山本友美，久保義弘
中尾和貴（理化学研究所発生・再科学総合研究センター，東京大学大学院医学系研究科疾患生命工学センター）
清成　寛（理化学研究所発生・再科学総合研究センター）
今野幸太郎，渡辺雅彦（北海道大学大学院医学研究科解剖学講座解剖発生分野）

これまで，Prrt3 に対する特異抗体の作成を行ってきたが，今年度，より特異性の高い抗体を得ることを目指し，抗原部位を変えて新たな抗体の作成を試みた。前項目で記した KO ホモマウスを用いて抗体の特異性を検証し，Western blot および免疫組織化学的解析で特異性が確定した抗体を得た。これらの抗体を用い，マウスでの Prrt3 発現部位の同定を行った。まず，各臓器から膜画分を抽出し，ウエスタンブロット解析を行い，主に脳に発現していることを，明らかにした。次に，マウス脳新鮮凍結標本を用いて脳内発現部位を解析したところ，視床，黒質，橋核，海馬等で，KO マウスで消失する特異的染色が観察された。

ウエスタンブロット解析で検出された，脳の Prrt3 は，HEK293 細胞に発現させた Prrt3 と比較して，約 20kDa 大きかった。その差異の基盤は，糖鎖修飾，リン酸化修飾ではないことは確定したが，未だ不明であるため，今後，解析を継続する。さらに，C 末端細胞内領域を抗原とする抗体を用いたウエスタンブロット解析により，特に視床において，大きな N 末端細胞外領域が切断された Prrt3 タンパク質が発現していることを見いだした。この知見は，Prrt3 が，細胞外プロテアーゼによって機能修飾を受ける受容体である可能性を示唆するため，切断プロテアーゼの同定等，解析を継続する計画である。

Gi/o 蛋白質のアデノシン受容体活性化構造安定化作用の解析

立山充博，久保義弘

7 回膜貫通型受容体は，リガンド結合により活性化され G タンパク質を介して細胞内へシグナルを伝達する。我々は，リガンド結合による受容体の活性化を，受容体の異なる細胞内領域に付加した蛍光蛋白質の間で起こる蛍光共鳴エネルギー遷移 (FRET) 効率の変化として捉えることに成功している。この手法を用いて，これまで，Gq 共役型受容体であるムスカリン受容体 1 型や 3 型の活性化構造が Gq タンパク質との結合により安定化することを明らかにした。今回，Gi/o タンパク質による Gi/o 共役型受容体活性化構造の安定化作用について検討した。Gi/o 共役型受容体として，アデノシン受容体 1a 型 (A1aR)とドパミン受容体 2 型を試した。受容体の細胞内第 3 ループ（i3）に蛍光タンパク質 YFP を挿入し，C 末端に CFP を付加しても Gi/o タンパク質との結合を機能的に保持したことから，A1aR を用いた。このコンストラクトは，リガンド投与により有意な FRET 変化を示さなかったが，Gi1 タンパク質の共発現時には，リガンド投与により有意な FRET 減少を示した。この結果は，Gi1 タンパク質との結合により A1aR の活性型構造が安定化することを示唆する。今後，他の Gi/Go タンパク質サブタイプについても検討する。

ストイキオメトリーに依存した KCNQ1-KCNE1 チャネルの活性化キネティクスの解析

中條浩一，久保義弘

電位依存性カリウムチャネル KCNQ1 は，心臓において 1 回膜貫通型のタンパク質 KCNE1 とイオンチャネル複合体を構成し，心筋の興奮性制御に寄与している。これまでに我々は，KCNE1 の結合数が KCNQ1 と KCNE1 の相対発現密度に依存することを示した。また KCNE1 の発現密度が高くなるほど，KCNQ1-KCNE1 チャネルの活性化キネティクスは遅くなることもわかった。この発現密度依存的なストイキオメトリーの変化と活性化キネティクスの変化の関係を明らかにする目的で，KCNE1 と KCNQ1 を直鎖上につないだタンデムコンストラクトを作成した。KCNE1 と KCNQ1 の間をつなぐリンカーを 18 アミノ酸から 268 アミノ酸の範囲で変化させたところ，KCNE1-KCNQ1 タンデムコンストラクト（4:4 チャネル）においては，リンカーが長くなるほどチャネルの活性化曲線（G-V カーブ）は脱分極側にシフトし，開きやすいチャネルになることがわかったが，KCNE1- KCNQ1-KCNQ1 タンデムコンストラクト（4:2 チャネル）においては，そのようなリンカーの長さに依存した変化は見られなかった。4:2 チャネルでは KCNE1 がスタティックに結合しているのに対し，4:4 のチャネルでは KCNE1 の結合がある程度ダイナミックであることが示唆された。

全反射赤外分光法によるカリウムチャネル機能の解析

中條浩一，久保義弘
塚本寿夫，古谷祐詞（分子科学研究所）

赤外分光法はタンパク質のイオン結合状態を赤外差スペクトルの取得により解析する非常に鋭敏な方法で，ロドプシンを中心とした構造機能連関研究に大きな成果を上げてきている。この方法をイオンチャネル，特に哺乳類のイオンチャネルに適用し，イオンの透過機構や分子間相互作用などを明らかにすることを目指している。赤外分光法はＸ線結晶構造解析ほどのタンパク質量は必要としないが，それでも哺乳類培養細胞等である程度効率良く細胞膜上に発現することを確認する必要がある。本年度は Fluorescence Detection Size Exclusion Chromatography (GFP-FSEC) を用い，約 20 種類のカリウムチャネル遺伝子について，細胞膜におけるタンパク質発現を検討した。その中で，KCNK1 とよばれる two-pore タイプのカリウムチャネルについて，多量体構造を保持しながらの精製が可能であることが判明した。現在，全反射赤外分光法による解析を行っており，すでに明らかとなっている KcsA チャネルの赤外分光スペクトルとの比較により，カリウムチャネルに共通のシグナルが存在することが明らかになりつつある。

ATP 受容体チャネル $P2X_2$ 三量体の活性化時のシグナルフローとサブユニットの寄与の 3 タンデムリピートコンストラクトを用いた解析

Batu Keceli，久保義弘

3 個の 2 回膜貫通型サブユニットで構成される ATP 受容体チャネル $P2X_2$ は，2 個の ATP の結合によって活性化されることが知られている。2 分子の ATP の結合による活性化シグナルが，3 量体中をどのように流れるかは未解決である。この点にアプローチするためには，3 量体中に，数と位置を規定して種々の変異を導入すること

が必要であるため，我々は，ATP 結合部位の K308A 変異，リンカー領域の D315A 変異，膜貫通部位ポア領域の T339S 変異を，数をコントロールして導入した tandem trimeric construct (TTC) を作成した。昨年度，(1) ATP 結合部位，リンカー領域のレベルでは，3 量体中で 1 個の変異では機能はあまり変化せず，2 個以上の変異で顕著に変わること，(2) ポア領域のレベルでは，3 量体中の変異の数に応じて機能が段階的に変化することを観察した。今年度，同一サブユニット(cis)，もしくは隣接サブユニット(trans) の 2 つのレベルに，それぞれの変異を 1 つづつ導入して性質を比較する実験を行った。その結果，(1) K308A と D315A の場合は，cis 導入したものは野生型に近く，cis 導入と tran 導入で機能が異なること，(2) K308A と T339S の場合，および，D315A と T339S の場合は，cis 導入と trans 導入で機能が類似していることを見いだした。以上の結果から，3 量体に対する 2 分子の ATP の結合情報が，リンカー部位までは 2 個のサブユニットをそのまま流れ，膜貫通部位において 3 つのサブユニットに均等に拡散することが示唆された。

Kv4.2 の不活性化からの回復速度は KChIP4 の結合数に依存して変化する

北沢和寛，中條浩一，久保義弘

電位依存性 K^+チャネルの一つ，Kv4.2 は，心筋細胞，神経細胞の樹状突起に発現し，細胞の興奮性を調節している。Kv4.2 には修飾サブユニットが存在し，K^+ Channel Interacting Protein 4 (KChIP4)は Kv4.2 の電流量を増加し，不活性化を遅くし，不活性化からの回復を速くする事が知られている。しかし，その調節機構は未だ完全には解明されていない。我々は，Kv4.2/KChIP4 複合体の量体数比（ストイキオメトリー）が Kv4.2 の性質に影響を与える可能性を検討した。まず，Kv4.2 と KChIP4 の RNA 量比を変化させて *Xenopus* 卵母細胞に打ち込み，Kv4.2 に対する KChIP4 の発現量を変化させた。Kv4.2 の性質を電気生理学的に評価した結果，不活性化からの回復が，KChIP4 の発現量に依存して速くなることが分かった。次に，Kv4.2 と KChIP4 のストイキオメトリーを 4:4(Kv4.2:KChIP4)及び 4:2 に固定するタンデムコンストラクトを作成し，両コンストラクトの性質を電気生理学的に解析した結果，4:4 チャネルは 4:2 チャネルよりも速い不活性化からの回復を示すことが明らかとなった。これらの結果は，Kv4.2 の不活性化からの回復速度が，Kv4.2/KChIP4 複合体のストイキオメトリーに依存して変化することを示している。

hERG チャネルの環状ヌクレオチド結合相同ドメインによる脱活性化過程の制御

粂慎一郎，中條浩一，久保義弘

電位作動性 K^+チャネル（Kv）の hERG チャネルは，他の Kv と比べて脱活性化が遅く，その機構には細胞内ドメインの関与が示唆されている。その一つ，環状ヌクレオチド（CN）結合相同ドメイン（CNBHD）は，オーソログの zELK チャネルから結晶構造が得られ，同ドメインのチロシンがリガンドのように CN 結合ポケットに入り込むことが分かっている。

我々はまず，hERG および zELK チャネルの CNBHD のホモロジーモデリングを行い，hERG チャネルの CNBHD のフェニルアラニン（Phe860）が同ドメインのポケットに入り込むモデルを得た。次に，*Xenopus* oocyte を使用した二本刺し膜電位固定実験により，Phe860 を他のアミノ酸へ置換した際の影響を調べた。その結果，アラニンとアルギニンへの置換は脱活性化を速くした。よって，Phe860 は hERG チャネルの遅い脱活性化を制御し，性質が異なるアミノ酸ではその機能を補えないことが示された。Phe860 がリガンドのように CN 結合ポケットに入り込んで機能する可能性が示唆された。

分子神経生理研究部門

【概要】

分子神経生理部門では以下に示す３つのテーマに関して研究している。

１）グリア細胞の機能とその病態解明。

２）哺乳類神経系の発生・分化。

３）脳機能発現における糖鎖の役割。

１）グリア細胞は神経回路同様にネットワークを作っているが，その情報伝達様式は神経伝達と全く異なっており，しかも神経回路とは独立している。このネットワークがどのように脳機能を制御しているのか研究する。

２）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，プロテオグリカンがモルフォゲンの分布を制御することにより神経発生を調節している可能性について検討している。

３）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。

オリゴデンドロサイトの機能と病態

清水健史，長内康幸，國澤和生，清水崇弘，Wilaiwan Wisessmith，池中一裕

オリゴデンドロサイト（以下 OL）は，ミエリン形成後もニューロンの活動電位の伝導速度を調節していることが明らかとなり，また一つの OL は複数の軸索に対してミエリンを形成することから，OL がニューロン間の情報伝達を仲介，調節している可能性が考えられている。この課題に取り組むため，OL-ニューロン間相互作用の分子機構の解明と，それら相互作用を生体内で標識する新規の技術開発を行っている。また OL-ニューロン間相互作用に破綻をきたすノックアウトマウスを用いて，ミエリン依存的なニューロン遺伝子の発現解析を行っている。一方で脱髄性疾患の病態解明も重要な課題である。

我々は髄鞘巣で特異的に発現するシスタチン F とカテプシン C を同定し，それら遺伝子発現を人為的に操作できる遺伝子改変マウスを作製し，脱髄性疾患への作用を明らかにしつつある。また脱髄誘導時に活性化される Wnt シグナルの機能解析も行っている。

アストロサイトの機能と病態

稲村直子，杉尾翔太，菊地原沙織，池中一裕

近年，伝達物質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，そのメカニズムについては不明な点が多い。東京大学廣瀬謙造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し，また名古屋大学曽我部正博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。薬理学的実験から ATP 放出には複数のチャネルが関わっていることを明らかにした。

また，アストロサイト系譜細胞に発現し，ヒトの白質ジストロフィー（MLC 病）の原因遺伝子の一つである Mlc1 の機能解析を行った。Mlc1 過剰発現マウスを作成し解析するとヒト Mlc1 病に類似した表現系が認められた。また北海道大学渡辺雅彦教授，生理学研究所深田正紀教授との共同研究より，Na^+/K^+ ATPase ・サブユニットが Mlc1 と結合すること，Na^+ポンプの活性を減少させていることを明らかにした。

神経幹細胞の生成と維持

等　誠司，石野雄吾，池中一裕

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，脳の構築に重要である。本グループは，神経幹細胞の誘導に Notch シグナルの活性が必須であることを明らかにしてきたが，その活性化には glial cells missing 1/2 遺伝子が担っていることを示した。この遺伝子は，Notch シグナルの下流で働く Hes5 遺伝子のプロモーター領域で，DNA メチル化を外すことによりエピジェネティックに遺伝子発現制御を行なっていることを証明した。また，神経幹細胞の増殖や分化に重要な遺伝子として E3 ユビキチンリガーゼである Bre1a を同定した。Bre1a はヒストン H2B をモノユビキチン化することによって，様々な遺伝子の発現をエピジェネティックに制御している。我々は，マウス発生期脳の神経幹細胞を用いて，Bre1a の機能喪失が神経幹細胞の未分化性を亢進させるとともに，細胞周期を調節していることを明らかにした。

脊髄神経発生におけるプロテオグリカンの役割

石野雄吾，橋本弘和，江　文，池中一裕

胎生期の脊髄では Wnt, BMP や Shh といった形態形成因子が分泌される。モルフォゲンと呼ばれるこれらの分泌因子は濃度勾配を形成し，その濃度に応じて様々な細胞応答を引き起こしていることが知られている。しかしながら，モルフォゲンの濃度勾配形成機構についてはいまだ不明な点が多い。

本研究室では新しいモルフォゲンの濃度勾配形成機構として酸性糖鎖による制御について提唱している。酸性糖鎖のうちコンドロイチン硫酸，ヘパラン硫酸，ケラタン硫酸，HNK-1 などに着目し，モルフォゲンと糖鎖の相互作用による細胞分化の制御機構の解明を試みている。これまでにケラタン硫酸やヘパラン硫酸合成関連酵素の欠損マウスの解析により胎生 12.5 日においてオリゴデンドロサイトの分化異常が明らかとなっている。このことより酸性糖鎖によるモルフォゲンのシグナリングへの影響が考えられる。

N結合型糖鎖の構造決定と機能解析

吉村　武，鳴海麻衣，小池崇子，伊藤磯子，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や，大脳皮質の発達過程において劇的に変化するシアル酸化糖鎖構造が存在することを明らかにした。また，微量な試料からのN結合型糖鎖の網羅的解析方法を確立し，この手法と SDS-PAGE を組み合わせて目的蛋白質に修飾されているN結合型糖鎖を解析する方法を確立した（Yoshimura et al., Anal Biochem, 2012）。この解析法を用いて，我々が見出したシアル酸化糖鎖構造が特定の蛋白質に結合していることを明らかにした。さらにこのシアル酸化糖鎖構造が結合するシグレックも同定しつつある。また，末梢神経における酸性糖鎖の比率が中枢神経に比べ高いことを見出した。

ナノ形態生理研究部門

【概要】

本研究部門では生体分子や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，生体における「構造と機能」の関係を研究している。その一つとして位相差電子顕微鏡の開発とその応用がある。蛋白質複合体やウイルス粒子などの単粒子構造解析，細胞などの“複雑な”生物試料への Zernike 位相差法と低温トモグラフィーの応用などを行っている。二つ目は，線形加速器を導入した加速電圧 500kV の Linac TEM による厚い生物試料の三次元観察である。本研究部門は，形態情報解析室の村田和義准教授が併任しており，前任の永山國昭特任教授と共同で研究を続けている。研究活動の詳細は，形態情報解析室および特別研究（永山グループ）の項で合わせて紹介する。

細胞器官研究系

生体膜研究部門

【概要】

AMPA 型グルタミン酸受容体（AMPA 受容体）は脳内の速い興奮性シナプス伝達の大部分を司る。当部門では AMPA 受容体の動態や機能を制御する機構として以下の 2 点に着目し，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）パルミトイル化脂質修飾機構の全容解明

パルミトイル化修飾は，多くの蛋白質にみられる代表的な翻訳後脂質修飾であり，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新規のパルミトイル化基質蛋白質の同定，性状解析を進めている。また，長年不明である脱パルミトイル化酵素の同定を試みる。

（2）てんかん関連蛋白質 LGI1 によるシナプス伝達制御機構の解明

我々はシナプス後部の足場蛋白質 PSD-95 の蛋白質複合体として同定したてんかん関連分泌蛋白質 LGI1 の機能に関して精力的に解析を進めている。これまでに，LGI1 が脳内で ADAM22，ADAM23 受容体と結合し，AMPA 受容体機能を増強すること, LGI1 欠損マウスにおいて AMPA 受容体を介したシナプス伝達が減弱し，致死性てんかんが必発することを見出している。今年度は LGI1 の変異体や自己免疫抗体を原因とする疾患の分子病態機構の解明を進めている。

PSD-95 パルミトイル化酵素によるシナプス機能制御

深田優子，深田正紀

足場タンパク質 PSD-95 は AMPA 受容体をシナプス後部膜にアンカリングすることで，興奮性シナプス伝達を制御する。これまでに，パルミトイル化酵素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。今年度は DHHC2 がシナプス膜に直接挿入され，細胞膜での局所的に特殊な膜マイクロドメイン PSD の形成に重要な役割を担うことを明らかにした。さらに，パルミトイル化 PSD-95 を特異的に認識する抗体の作製に成功し，初めて生細胞レベルでパルミトイル化 PSD-95 の動態を超解像顕微鏡を用いて可視化することに成功した。これによってシナプスがさらに小さなナノサイズの構造単位（ナノドメイン）が集まってできていることを発見し，DHHC2 がそのサイズと数を制御していることを明らかにした。

新規パルミトイル化基質 Neurochondrin の同定と性状解析

奥慎一郎，深田優子，深田正紀

蛋白質のパルミトイル化脂質修飾は外界刺激依存性に蛋白質の膜局在を制御する。私共は CSS-Palm 2.0 というパルミトイル化部位予測プログラムを利用して，*in silico* 解析によりパルミトイル化基質蛋白質をゲノムワイドに探索し，数多くの新規パルミトイル化基質を同定した。これらの中で，シナプス可塑性や神経突起の伸長に重要

な役割を果たす Neurochondrin に着目した。我々は Neurochondrin の責任酵素をパルミトイル化酵素ライブラリーからスクリーニングし，DHHC1，3，7，10 を同定した。DHHC1 および 10 が酵素として機能することを示した最初の例として重要な知見といえる。さらに，Neurochondrin のパルミトイル化が Neurochondrin の細胞内局在（Rab5 ポジティブな細胞内小胞）決定に必須であることを見出した。

脱パルミトイル化酵素の同定と性状解析

関谷敦志，村上達郎，深田優子，深田正紀

蛋白質パルミトイル化の修飾サイクルは DHHC ファミリーと脱パルミトイル化酵素により制御されるが，脱パルミトイル化酵素は，パルミトイル化サイクルの発見から 30 年あまりの長い間未同定であった。我々は脱パルミトイル化の反応機構からセリン加水分解酵素に着目し，機能未知の酵素群を網羅的に単離し，PSD-95 や癌遺伝子 HRas 等のパルミトイル化基質に対する反応活性を評価した。その結果，in vitro で，あるサブファミリーが脱パルミトイル化活性を示すことを見出した。これら酵素の生理的意義を明らかにすることで，蛋白質の局在制御機構についての包括的な理解が進むと期待される。

てんかん関連リガンド LGI1 の作用機構の解析

横井紀彦，大川都史香，深田正紀，深田優子

当部門ではこれまでに，家族性側頭葉てんかんの原因遺伝子として考えられている LGI1 に着目して研究を進めている。LGI1 がどのようにシナプス伝達を制御しているのか，そしてその変異が何故，てんかんという病態を引き起こすのかを明らかにするために，LGI1 の変異体解析を進めている。側頭葉てんかん家系で見られる LGI1 の変異体を網羅的に作成し，野生型 LGI1 との機能の違いを LGI1 の分泌能，ADAM 蛋白質との結合能，細胞内局在等の観点から解析した。すでに，LGI1 変異体をいくつかのカテゴリーに分類することに成功している。また，変異体に特異的に結合する蛋白質の同定にも成功している。さらに，これら変異を有する病態モデルマウス群を作製し，生化学的，組織学的調査により LGI1 変異体の分子病態機構を明らかにしつつある。また，その病態機構の知見より，モデルマウスのてんかんに対する治療薬の検討も進めている。

自己免疫性辺縁系脳炎における抗 LGI1 抗体の作用機構の解明

大川都史香，深田優子，横井紀彦，渡邊　修（鹿児島大学医学部），深田正紀

ごく最近，亜急性の記憶障害やけいれん症状を主訴とする“辺縁系脳炎”の患者血清の多くに LGI1 に対する自己抗体が存在することが報告された。我々は鹿児島大学医学部の渡邊博士との共同研究により，日本国内の辺縁系脳炎の多くの患者血清中に抗 LGI1 抗体が存在することを見出した。また，LGI1 抗体以外にも多数の新規自己抗体の標的分子を同定した。さらに，診断に有用と考えられる簡便で高感度な ELISA 法を確立した。現在，抗 LGI1 抗体，および新規自己抗体がどのような機序で病態を引き起こすのかに関して検討を進めている。

機能協関研究部門

【概要】

私達は容積調節や環境情報受容など最も一般的で基本的な細胞活動のメカニズムを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解析している。

(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，特に容積感受性クロライドチャネル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機構を明らかにする。

(3)「バソプレシンニューロンにおける体液浸透圧検知・バソプレシン分泌調節メカニズムの解明：特に，これらの過程におけるイオンチャネルやニューロン－グリア相互作用の役割を解明する。

(4)「バイオ分子センサーチャネルの分子メカニズムの解明」: 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機構を解明する。

(5)「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。

細胞容積調節における ABCF2 とα-アクチニン-4 の分子間相互作用の役割

岡田泰伸
赤塚結子（鈴鹿医療科学大学）
清水貴浩（富山大学）
沼田朋大（京都大学）

細胞膨張後の容積回復は調節性容積減少(RVD)と呼ばれ，これには容積感受性外向整流性アニオンチャネル(VSOR)によるアニオン排出が必須である。今回，アクチン結合蛋白質であるα-アクチニン-4(ACTN4)の関与を検討した。HEK293T 細胞における ACTN4 の内在性発現をノックダウンすると，RVD の過程は顕著に遅くなり，ACTN4 を大量発現させるとそれは有意に促進され，この時期に一致して細胞質内の ACTN4 が細胞膜へ移動することがわかった。ACTN4 の結合蛋白質をプロテオミクス的に探索した結果，細胞質型 ABC 蛋白質である ABCF2 と同定され，ABCF2 を大量発現した細胞では VSOR 電流と RVD が抑制されるのに対し，その発現をノックダウンした細胞では VSOR 電流と RVD が促進された。以上の結果から，低浸透圧条件下では VSOR 抑制制御蛋白質である ABCF2 が VSOR から離れて ACTN4 と結合することによって RVD を亢進することが結論された。これらの結果は次の論文に報告： *J Cell Physiol* **227**:3498-3510, 2012

高浸透圧活性化陽イオンチャネル HICC の分子実体同定

佐藤かお理，岡田泰伸
沼田朋大，森　泰生（京都大学）
Frank Wehner（マックスプランク研究所）

細胞縮小後の容積回復能力は調節性細胞容積増大（RVI）と呼ばれる。この機構は，細胞増殖や細胞死防止や浸透圧検知に大きくかかわっている。この RVI をもたらす Na^+流入に関与する hypertonicity-induced cation channel (HICC)の分子実体は不明のままであった。今回，TRPM2 チャネルの C 末端細胞質 Nudix 領域一部欠失スプライスバリアント(TRPM2ΔC)がその分子実体であることを発見した。TRPM2 チャネルはさまざまな器官に発現し，活性酸素種や温度刺激やサイクリック ADP リボースなどによって活性化されることが知られていたが，本研究によって，高浸透圧刺激においても，HIV 感染や癌，Ⅱ型糖尿病，オキシトシン分泌などに関与する分子である CD38（サイクリック ADP リボースヒドロラーゼ）と結合して相互作用をすることで，活性化されるという新たな機構が示された。これらの結果は次の論文に報告：*J Physiol* **590**:1121-1138, 2012

心筋梗塞の進行を抑える CFTR イオンチャネルの働き解明

岡田俊昭，岡田泰伸
浦本裕美（仁愛大学）

心筋細胞の形質膜には，CFTR（嚢胞性線維症膜コンダクタンス制御因子）と呼ばれるアニオンチャネルが発現しており，心筋細胞の電気活動や，心筋細胞の大きさの調節にかかわっていることが知られている。今回，マウスの心臓の左冠状動脈の虚血・血流再開（再灌流）に伴う心筋梗塞発症時に，CFTR がどのような働きをするのかを確かめた。心筋梗塞発症直後に CFTR アニオンチャネルを薬物で活性化させると，心筋の壊死の進行を抑えることができることがわかった。CFTR 遺伝子をノックアウトしたマウスでは心筋傷害は悪化し，CFTR 活性化剤投与によっても救済も改善もされなかった。つまり，心筋梗塞時の細胞破裂性（ネクローシス性）心筋細胞死は，CFTR アニオンチャネルの活性化によって防御・救済されることが判明した。これらの結果は次の論文に報告： *Cell Physiol Biochem* **30**:1023-1038, 2012

パネキシンヘミチャネルとは独立した細胞外 ATP 放出通路としてのマキシアニオンチャネル

Md. Rafiqul Islam，岡田俊昭，岡田泰伸
浦本裕美（仁愛大学）
Ravshan Z. Sabirov（ウズベキスタン科学アカデミー）

細胞外シグナルである ATP の放出は，エキソサイトーシスあるいはチャネル蛋白質ポアを介して行われる。ATP 放出性チャネルとしては，コネキシン(Cx)やパネキシン(Px)が形成するヘミチャネルや，巨大単一チャネルコンダクタンスを持つマキシアニオンチャネル(Maxi-Cl)が知られている。Maxi-Cl の分子実体は未同定であるので，最近 Cx や Px がその候補として注目されていた。今回，線維芽 L929 細胞において，①細胞膨張したときに見られる ATP 放出には，エキソサイトーシスや Cx43 や Px2 は関与せず，Maxi-Cl と Px1 の両方が並列的

に関与すること，②放出された ATP は RVD に不可欠であり，この役割を果たすのは Px1 ではなく Maxi-Cl から放出された ATP であること，③Maxi-Cl は Px1, Px2, Cx43 とは別個の分子であることを明らかにした。これらの結果は次の論文に報告： *Am J Physiol Cell Physiol* **303**: C924-C935, 2012

新世界ザルの目の中にモーション・ディテクターと考えられる視神経細胞を発見
—霊長類網膜短期培養保存法の確立および遺伝子導入で—

小泉　周
森藤　暁（東北大学）
小松勇介（基礎生物学研究所）

新世界ザル（マーモセット）と呼ばれるサルの目の中の神経組織である網膜には，種々の視神経細胞（網膜神経節細胞）がある。今回，この形態学的解析を行った。

本研究グループは，世界に先駆けて，新世界ザルの網膜を，まるごと取り出し，短期培養保存する方法の確立に成功していたが，これへの緑色蛍光タンパク質(GFP)の遺伝子導入によって，古くから知られている視神経細胞以外にも，多様な形態学的特徴をもった視神経細胞が種々あることを発見した。中でも，ウサギやネズミといった下等な哺乳類網膜で発見されているものと同様の形態学的な特徴を全てもったモーション・ディテクターと考えられる視神経細胞（方向選択性網膜神経節細胞）を見つけだした。こうしたモーション・ディテクターと考えられる細胞が，霊長類網膜で発見されたのははじめてである。これらの結果は次の論文に報告： *PLoS One* **8**:e54667, 2013

神経細胞構築研究部門

【概要】

本研究部門では神経細胞の極性や微小領域特性確立を支配する分子基盤解明を目指して研究を進めている。独自に開発した質量顕微鏡法を駆使して，極性決定や微小領域確立に寄与する物質，とりわけ脂質や脂質代謝物の特異的局在情報の蓄積を進めている。集められた膨大なデータを元に統計学的手法（やバイオインフォマティクスを融合させ，これまでにない新しい視点から神経細胞の極性決定，微小領域確立に関与する分子基盤解明に挑戦している。加えて，極性決定や微小領域確立における細胞骨格の寄与にも注目し，アクチン繊維や微小管による脂質局在の制御などを新しいテーマとして研究に取り組みだしている。また，傷害や変性疾患における神経細胞構築の破綻についても，脂質や代謝物に着目し，その分子基盤解明に向けた研究を展開している。

脊髄損傷病変部におけるリン脂質および脂質代謝物の時空間動態

花田　充（浜松医大），瀬藤光利

我々は，脊髄損傷の損傷部位にある神経細胞がどのように脱構築されていくのかを調べるために，ラット脊髄損傷モデルをイメージング質量分析法（IMS）で解析した。異なる脂肪酸組成を持つリン脂質が，損傷後の脊髄においてそれぞれ固有の分布パターンを示した．たとえば，ドコサヘキサエン酸（DHA）を含むホスファチジルコリン（PC）は損傷の一日後に急速に前角で上昇し，その後減少した。特に興味深いことに，アラキドン酸（AA）

を含む PC は，損傷後，後角で一週間上昇し，その後減少した。AA 含有 PC の上昇部位では，同じくリゾホスファチジルコリン（LPC）の増加が見られた。また，損傷部位ではプロスタグランジン E2（PGE2）の変動が，AA 含有 PC および LPC の時間的変動（上昇・減少パターン）とよく一致した。これらの結果は，損傷部位においてAA-PC が増加し，AA がリリースされることで LPC の増加をもたらし，リリースされた AA が代謝されることで PGE2 の上昇を引き起こすことを示唆する。今後，免疫細胞の浸潤を視野に入れた分子メカニズムに解明に迫っていきたい。

1. Hanada et al. Anal Bioanal Chem (2012) 403: 1873-1884.

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，センサーは進化の過程で環境変化に応じてその機能や発現を変化させて適応してきたと考えられ，センサー蛋白質の進化解析によっていかに生物が環境変化に適応してきたかも解析している。

ヒト TRPA1 の第一級アルコールによる炭素鎖長依存的な活性化

小松朋子，内田邦敏，藤田郁尚，周　一鳴，富永真琴

第一級アルコールが炭素鎖長依存的にヒト TRPA1 を活性化して痛みを惹起することを，パッチクランプ法の全細胞記録法および単一チャネル電流記録法を用いて明らかにした。この作用は，感覚神経に発現することが知られる TRPV1, TRPV2, TRPM8 ではあまり見られなかった。また，その活性化に TRPA1 アミノ末端の 665 番目のシステインとカルボキシル末端の 983 番目のヒスチジンが関与することがわかった。亜鉛が活性化に関わることも判明した。 一方，マウス TRPA1 は 1-hexanol や 1-octanol にあまり応答せず，行動解析でも痛み関連行動を惹起しないことがわかり，アルコールの TRPA1 に対する影響は種によって異なることも明らかになった。

日本ワサビの isothiocyanates による TRPA1 活性化

内田邦敏，三浦陽介，富永真琴

ワサビに含まれる２つの isothiocyanate 成分 6-(methylsulfinyl)hexyl isothiocyanate (6-MSITC) と 6-(methylthio)hexyl isothiocyanate (6-MTITC)が TRPA1 を活性化することを Ca^{2+}イメージング法を用いて明らかにした。この作用は感覚神経に発現することが知られる TRPV1, TRPV2, TRPM8 では観察されなかった。6-MSITC と 6-MTITC によるマウス TRPA1 の活性化はパッチクランプ法による膜電流記録でも確認された。また，マウス後根神経節細胞を用いた Ca^{2+}イメージング法による解析で 6-MSITC と 6-MTITC が野生型マウスの後根神経節細胞で細胞内 Ca^{2+}濃度増加をもたらすことを見いだしたが，TRPA1 欠損マウスの後根神経節細胞では観察されなかった。マウス後肢足底に 6-MSITC を投与して観察した痛み関連行動解析でも，6-MSITC は濃度依存的に痛み関連連行動を惹起して，その行動は TRPA1 欠損マウスで観察されなかったことから，6-MSITC は TRPA1 を介して痛み感覚を惹起しているものと結論した。

自然に存在する鎮痛薬の探索

高石雅之，藤田郁尚，内田邦敏，富永真琴

自然に存在する鎮痛薬を探索する目的で，ヒト TRPM8 を活性化してヒト TRPA1 に影響しない物質をフレグランスオイルから Ca^{2+}イメージング法を用いてスクリーニングしたところ，ユーカリオイルにそのような成分が含まれることが分かった。そして，ユーカリオイルの中の 1,8-cineole がそうした性質をもつことが明らかになった。1,8-cineole はヒト TRPV3 も活性化することが分かった。ヒト TRPV1, ヒト TRPV2, ヒト TRPA1 は活性化しなかった。興味深いことに，同じユーカリオイルに含まれる 1,4-cineole はヒト TRPA1 を活性化した。パッチクランプ法を用いて 1,8-cineole の作用を詳しく解析したところ，1,8-cineole は AITC, menthol, flufenamic acid, octanol によるヒト TRPA1 活性化電流を用量依存的に抑制した。この 1,8-cineole の TRPA1 阻害効果はマウス後根神経細胞でも確認された。さらに，ヒト感覚刺激試験で，1,8-cineole は octanol や menthol による皮膚刺激作用を有意に抑制した。よって，1 ,8-cineole は理想的な鎮痛薬になりうると考えられた。

TRPV4 による表皮ケラチノサイトのバリア機能制御機構の解析

木田尚子，曽我部隆彰，加塩麻紀子，富永真琴

マウス表皮ケラチノサイトで温かい温度で活性化する TRPV4 がβカテニン，E カドヘリンと複合体を形成してアドヘレンスジャンクションを強めて表皮バリア機能維持していることを以前に報告している。そこで，ヒト皮膚標本を用いて解析した。ヒト皮膚に TRPV3, TRPV4 遺伝子が発現していることを，RT-PCR 法で確認し，Ca^{2+}イメージング法でも機能的発現を確認した。ヒト皮膚培養細胞の細胞間接着は 33 度培養と比較して 28 度培養で明らかに遅れたが，28 度でも TRPV4 刺激薬 4α-PDD の投与で有意に改善した。経上皮電気抵抗（細胞接着能の指標）も 28 度より 33 度培養で有意に大きく，28 度でも 4α-PDD の投与で有意に大きくなった。siRNA による TRPV4KD によって経上皮電気抵抗は有意に小さくなった。Tape stripping による皮膚ダメージからのバリア機能の回復も温度依存的であり，2 つの TRPV4 刺激薬で低温でも有意に早く回復した。これらの結果から，マウスと

同様にヒト TRPV4 も表皮バリア機能に強く関わっていることが明らかになり，温度と TRPV4 化学物質によってダメージからの回復が大きく促進されることが判明した。

TRPM2 の過酸化水素による感作機構の解析

加塩麻紀子，曽我部隆彰，富永真琴

過酸化水素処理によって HEK293 細胞に発現させた TRPM2 の熱応答が増強されることが分かった。この増強は過酸化水素による TRPM2 の熱活性化温度閾値の低下（感作）によることが明らかになり，過酸化水素が TRPM2 に直接作用して起こっていることが分かった。そして，過酸化水素によって酸化される TRPM2 のメチオニン残基の点変異体を用いた解析によって酸化されるメチオニン（214M）を同定した。マウス腹腔マクロファージでも同様の過酸化水素による TRPM2 機能増強が観察され，TRPM2 欠損マクロファージでは消失していたことから，マウスの内因性 TRPM2 がこの感作に関与していることが明らかにいなった。TRPM2 欠損マウスのマクロファージでは，サイトカインの産生や微少な温度上昇による貪食能の増強が観察されなかったことから，TRPM2 は細菌感染時にマクロファージで産生される過酸化水素で酸化されて機能増強し，マクロファージ機能を増強させて 感染に対処するものと考えられた。

カエルおよびトカゲ TRPA1 チャネルの遺伝子クローニングと機能解析

齋藤　茂，福田直美，太田利男，富永真琴

温度感受性 TRP チャネルの１つ哺乳類 TRPA1 は冷刺激感受性をもつか温度感受性を持っていないと考えられている。TRPA1 は進化上で TRPV1 よりはるか古くからあり，昆虫では複数の TRPA1 が熱センサーとして機能することがわかっている。最近，毒ヘビ TRPA1 がピット器官での温度受容に関わっていることが報告されたので，ニシツメガエルとグリーンアノールトカゲの TRPA1 を遺伝子クローニングして，アフリカツメガエル卵母細胞の強制発現系での２電極膜電位固定法による膜電流解析を行った。その結果，どちらも 30-40 度（ニシツメガエル約 39 度，グリーンアノールトカゲ約 34 度）の熱刺激で活性化する熱センサーとして機能することが分かった。哺乳類 TRPA1 と比較して活性化濃度は高かったが，化学物質感受性は保存されていた。ニシツメガエルでは後根神経節細胞では，熱応答性のある多くの細胞がカプサイシン，シナモアルデヒドの両方に感受性を示しており，同じ感覚神経細胞が TRPV1, TRPA1 という２つの温度センサーをもっていると考えられた。行動解析によっても複数の TRPA1 活性化物質によってニシツメガエルで痛み関連行動が観察された。進化の過程で両棲類，爬虫類とも熱センサーとしての TRPA1 を持っており，同時に別の熱センサーTRPV1 を持っていると推定される。

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階層的に構築された複雑な並列分散システムである。そこでは低次領域で検出された比較的単純な特徴が高次領野で統合されて，生体にとって意味のある情報が取り出されて行動に利用される精巧な仕組みがあると考えられる。また視覚系で取り出された情報は，体性感覚や聴覚など他の感覚情報と統合されて外界の事物についての多感覚間で整合性のある理解が生み出される仕組みがあると考えらえる。視知覚に関す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と特定の視覚情報の脳内分布様式および行動との関係を調べている。具体的な課題として（１）物体表面質感の重要な要素である光沢の表現，（２）大脳皮質高次視覚野における色相や彩度の表現様式と知覚との関係，およびそのような色選択性が形成される過程についての研究を行うと共に，（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。

下側頭皮質における光沢選択性ニューロンの性質

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，様々な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。その結果，特定の光沢に選択性を持つニューロンが存在する事が分かった。次に，画像特徴による影響を調べるために，輝度コントラストや周波数のパワーなどの基本的な画像特徴は大まかに保ったまま，物体のハイライト部分を回転させて光沢感を操作した視覚刺激を作成し，それらの刺激に対する下側頭皮質細胞の反応を調べた。その結果，ハイライトの回転に伴い活動が減少するなど光沢知覚と対応した活動変化を示す細胞の存在が確認された。この結果から，このような細胞の応答は，輝度コントラストや周波数のパワーのみに因るものではなく，光沢知覚を反映しているものである可能性が高いと考えられる。

素材識別に関わるサル視覚領野：fMRI 研究

郷田直一，橘　篤導，岡澤剛起，小松英彦

本研究では，これまで，金属，プラスチック，木などの素材に関する視覚情報が脳においてどのように処理されるかについてヒトを対象として fMRI 研究を行ってきた。本年度においては，サルを対象として同様の fMRI 研究を進めた。様々な脳領域の活動パターンから，ある素材カテゴリ対がどの程度類似しているかを求め，ヒトの心理実験により求めた素材カテゴリ間の心理的印象の類似度と比較したところ，サル V4 及び後部下側頭皮質の活動が心理的印象と相関しており，またヒト腹側高次視覚野の活動とも類似していることが明らかになった。一方，低次視覚領野である V1,V2 は,ヒトの実験の結果と同様，素材カテゴリ間の画像的特徴の類似度と高い相関を示した。これらの結果から，サル V1 から V4 及び後部下側頭皮質に至る経路において素材カテゴリの基礎となる情報表現が形成されていることが示唆される。

触覚経験が視覚的素材弁別に与える影響

横井　功，橘　篤導，南本敬史（放射線医学総合研究所），小松英彦

素材の視覚的認知における触覚の影響を調べるために，触覚経験課題を設定し実験を行った。触覚経験課題では実物素材刺激が視覚的かつ触覚的に呈示される。サルの前面に実物刺激呈示装置を設置し，実物素材刺激を呈示した。実物素材刺激は９種類の素材カテゴリー（金属，ガラス，陶器，石材，樹皮，木目，皮革，布，毛）によって構成され，各素材カテゴリーについて４種類のサンプルが含まれている。サルは実物素材を一定時間注視しながら把持することで報酬を得る。課題の成功率は徐々に上昇し，経験開始から 15 日後にほぼ全ての素材について７５％以上に到達し，その後は安定した成功率を示した。成功率の上昇は素材カテゴリーごとに異なり，金属とガラスは経験初期から比較的高い成功率を示し，皮革と毛については比較的緩徐に上昇した。これらの結果は素材への親密度と触覚経験の影響を反映していると考えられる。

織物の心理的距離の触覚経験による変化

安川涼子，郷田直一，小松英彦

素材の質感認知は視覚と触覚･聴覚など複数の異なる感覚間の相互作用により生じると考えられる。私達は生活必須材料である布（織物）に着目し，布の質感認知における視覚と触覚の関係性や統合様式を明らかにするために，ヒトを対象に一対比較法及び SD 法による心理物理実験を触覚経験前後で行なった。刺激となる布（織物）の実物体サンプルは，糸の太さと目の粗さの違いで防縮加工（硬仕上げ）を施したグループに分け，各被験者に触覚経験を行わせた。触覚経験前では，目の粗さが似ている布同士で心理的類似性が示されていたが，経験後には硬さを手掛かりに糸の太さが似ている布同士のグループと目の粗さが似ている布同士のグループで判断が分かれた。この結果は，視覚的な質感判断が触覚経験に一致する形で変化を受けることを示している。

マカクサルＶ４ニューロンの自然テクスチャ選択性を同定するための適応的サンプリング法の利用

岡澤剛起，田嶋達裕（NHK 放送技術研究所），小松英彦

我々は視覚的に表面テクスチャを知覚できるが，テクスチャは空間周波数やコントラストなど膨大な画像特徴の組み合わせで成り立っている。本研究ではサル V4 野のテクスチャ選択的ニューロンがどのような画像特徴量の組み合わせに応答しているかを解明するために，刺激を効率よく呈示する手法である適応的サンプリング法の導入により高次元刺激空間でのチューニングの同定を試みた。実験では既存のパラメトリックなテクスチャ合成アルゴリズムを用いておよそ 10000 枚の自然テクスチャ画像を作成し，合成アルゴリズムに使うパラメータを変換して得た 7 次元空間上で刺激を定義した。このうち各ニューロンの活動を起こしやすい刺激を効率的に選ぶ適応的サンプリング法で選ばれた 250～500 枚の自然テクスチャ画像への応答を解析した。その結果，各ニューロンの応答は刺激の定義に用いた 7 次元空間上のチューニングとしてある程度フィットできることが分かり，この手法の有効性が認められた。

2 色型色盲ザルの色覚特性の行動的研究

横井　功，鯉田孝和（豊橋技術科学大学），
岡澤剛起，宮地重弘（京都大学霊長類研究所），小松英彦

遺伝学的に同定された 2 色型色盲ザル（L 錐体欠損）の色覚特性を明らかにするために石原式検査表を模した視覚刺激を用いて色弁別課題を行った。視覚刺激は複数のドットによって構成され正方形の外形を持つ。この視覚刺激を水平に 3 つ並べて液晶ディスプレイ上に呈示し，そのうちの 1 つについて環状の部分に含まれるドットの色を変化させターゲット刺激とした。ターゲット刺激の色は６４種類（16 色度×４彩度）から試行毎にランダムに選択した。３色型色覚のサルでは，ターゲットの検出率は彩度に依存し，いずれの色相においても高い検出率を示した。一方 2 色型色盲ザルでは，特定の色相において検出率の低下が見られ，検出閾値が上昇した。この色相はヒトの L 錐体欠損の混同色線上に位置していた。この結果は遺伝子型から予想される 2 色型色盲ザルの色覚特性と一致する。

神経シグナル研究部門

【概要】

昨年度に引き続き，分子，シナプス，生体，発達障害，計算論など，幅広い研究が行われた。これまでの外部評価で，研究が分散し過ぎでグループとしてのメリットを活かせていない，というコメントをいただいた。実際，個々の研究を重視するあまり，グループとしての力を示せていないという問題があった。この指摘を受けてから，部門内で協力できることはお互い出来るだけ協力するという努力を行った。例えば，2012 年の Satake et al. Journal of Physiology 論文では，詳細な電気生理学測定，ダイナミッククランプ，シミュレーションを組み合わせ，質の高い研究となった。今後もこの協力体制を強化して行く予定である。また in vivo パッチクランプ記録と optogenetics を組み合わせた実験を進めている。

青斑核を介した痛みの中枢性制御機構の解明

古江秀昌，井本敬二
Pickering Anthony Edward（ブリストル大学医学部生理薬理学）

痛みの中枢性制御機構，特に不明の事の多い青斑核を介した制御機構の詳細をオプトジェネティクスと in vivo パッチクランプ法を用いて解析した。ノルアドレナリン合成酵素のプロモータ下にチャネルロドプシンを組み込んだレンチウィルスベクターを作製し，青斑核特異的にチャネルロドプシンを発現させた。青斑核に留置したファイバを用いて光刺激を加えると，光刺激に伴って青斑核ノルアドレナリンニューロンの活動を in vivo で制御することに成功した。次いで，脊髄後角表層から in vivo パッチクランプ記録を行って青斑核の活動を高めると，脊髄における抑制性シナプス応答の発生頻度と振幅が著明に増大した。青斑核ノルアドレナリンニューロンは脊髄へと広範に投射し，GABA ニューロンを賦活化して鎮痛効果を現すことが明らかになった。

脊髄における痒み情報の伝達と調節機構の解明

歌　大介，井本敬二，古江秀昌

痒みは時に痛み以上に耐えがたい感覚であるにもかかわらず，痛みに比べ脊髄における痒みの情報の伝達やその調節機構については不明なことが多い。

そこで，脊髄後角での痒み伝達と処理機構について，成熟ラット脊髄後角から in vivo パッチクランプ法を用いラット後肢皮膚への痒み物質投与によるシナプス応答の解析を行った。その結果，約 30%の細胞でセロトニンの皮膚投与により振幅の大きな自発性の興奮性シナプス後電流 (sEPSCs) の発生頻度が著明に増大した。この応答は数十分にわたって持続した。更に，振幅の大きな自発性 EPSC は，テトロドトキシンや AMPA 受容体拮抗薬である CNQX を投与すると完全に抑制された。以上の結果から，皮膚へのセロトニン投与によって痒み行動が誘発されること，末梢で発生した活動電位が脊髄の表層の細胞にシナプス入力しグルタミン酸を介した興奮性シナプス応答を著明に増加させることが明らかとなった。

エタノールの小脳異種シナプス間拡散性クロストーク阻害作用：メカニズムの検討

佐竹伸一郎，井本敬二

脳幹の下オリーブ核から小脳プルキンエ細胞に投射する登上線維から放出された興奮性伝達物質（グルタミン酸 Glu と推定）は，プルキンエ細胞を強力に興奮させるとともにシナプス外領域にも拡散する。拡散した登上線維 Glu は，分子層介在ニューロン（籠細胞）軸索終末の AMPA 受容体 (GluA2/3)を活性化することにより，籠細胞 - プルキンエ細胞間の GABA 作動性伝達にシナプス前抑制を引き起こす。これまでに，この異種シナプス抑制が生理的濃度のエタノール (EtOH, 25-50 mM)によって阻害されること，EtOH の阻害作用はプルキンエ細胞特異的に発現するグルタミン酸輸送体 EAAT4 の選択的阻害薬 T3MG により減弱することなどを報告している。EtOH の作用機構を追究するため，登上線維からシナプス外に拡散した Glu の動態を，グルタミン酸輸送体電流を利用して観察した。EtOH (50 mM)は，登上線維を刺激してプルキンエ細胞に誘発したシナプス性輸送体電流 (synaptic transporter current, STC)を不可逆的に減弱させた。また，EtOH が STC を減弱させる作用は，protein kinase C (PKC)阻害薬 GF109203X (1 μM)の先行投与により完全に消失した。こうした結果に基づき，EtOH の異種シナプス抑制阻害作用には，①PKC を介したタンパク質リン酸化カスケードと②EAAT4 の機能亢進に伴う登上線維 Glu のシナプス外拡散の減弱という 2 つのプロセスが関与していると結論した。

NMDA 受容体によって誘発される大脳皮質スライスてんかん発射活動と ERK1/2-MAP キナーゼの活性制御

山肩葉子，兼子幸一（鳥取大学），加勢大輔，石原博美，
Angus C. Nairn (Yale University, Rockefeller University)，小幡邦彦，井本敬二

ERK1/2 (Extracellular signal-regulated kinase 1/2) は，MAP キナーゼのサブファミリーのひとつで，中枢神経系に多く存在し，様々な役割を担っていることから，その活性化の条件を知ることは重要である。本研究においては，ラット大脳皮質スライスを用いて，NMDA 受容体と ERK1/2 活性化との関連を解析した。外液中の Mg^{2+}濃度をゼロにして NMDA 受容体を活性化すると，てんかん様発射活動が起こるが，ERK1/2 の活性上昇は認められな

かった。一方，Mg^{2+}-ゼロと同時にピクロトキシンを加えて抑制性の $GABA_A$ 受容体を抑えると，てんかん様発射活動がさらに増大すると共に，ERK1/2 活性が大きく上昇し，基質蛋白のリン酸化が増大した。これらの結果から，大脳皮質神経回路レベルでの ERK1/2 の活性化には，興奮性シナプス伝達の選択的な増強が必要であることが判明した。

大脳基底核からの抑制性出力による情報伝達機構の解明

加勢 大輔，井本 敬二

本研究では大脳基底核から出力された抑制性投射が，投射先の視床の活動を制御する機構について解明することを目的としている。我々はこれまでに大脳基底核の出力領域である黒質網様部から，その投射先である視床 VM 核への抑制性出力の解析を行ってきた。しかし解析結果が示す抑制性出力は先行研究から期待されたシナプス強度よりも明らかに小さく，本出力による情報伝達機構については更なる解析が必要となった。

2012 年は視床網様核由来の抑制性出力と黒質網様部由来の抑制性出力が VM 核の神経細胞の発火率に与える影響を測定し，この結果をシミュレーションに反映させた。これまでのシミュレーションの結果より，黒質網様部は網様部のニューロンの同期性を調節することで，二種の機構により視床へ情報を伝達することが可能であることが予測されている。

発達障害における行動介入の神経科学的分析と応用

宍戸恵美子，井本敬二

発達障害の幼児に適切な介入によりコミュニケーションの促進や問題行動の低減を計ることは重要であるが，その方法や効果についてはまだ分からないことが多い。本研究では発達障害のうち主に自閉症スペクトラム障害の 3 歳〜7 歳の幼児約 10 名について記録を取り，介入の内容や効果についての調査を行った。主に発語内容や自発語についてビデオ解析によりその内容を詳細に調べた姿勢制御や手指の動きなど身体運動にも注目し，各ケースにおいてどのような多様性があり，半年〜1 年程度の時間経過とともに改善されているかどうかを調べた。個々のケースを詳しく検討することによって理論的裏付けがある行動介入プログラムを組み立てることが可能になると考えている。

神経分化研究部門

【概要】

大脳皮質の情報処理はその神経回路を基盤として成立している。機能的な神経回路の形成には，遺伝的プログラムに従って体験とは無関係に進む過程と，その神経回路の動作を体験・学習を通してより効率化する可塑的調整の２つの段階があり，後者の機構により，個々の生存環境に適合した脳機能が獲得されると考えられる。本研究部門では，大脳皮質で行われている情報処理の基盤となる神経回路やその形成のメカニズムを明らかにすることを目指して研究をおこなっている。神経回路形成に重要な分子の発現を操作したマウス，光遺伝学により大脳皮質のニューロン活動を操作できるマウス，生後発達期に視覚環境を操作して飼育した動物を使用し，大脳皮質

のスライス標本に光スキャン刺激法とホールセル記録法を適用した神経回路の機能解析，麻酔動物を対象に多点記録電極により複数のニューロンから同時に視覚反応を記録する視覚生理実験，水迷路を用いた視覚弁別課題による視力テスト，越シナプスウイルストレーサーによる形態学的解析を組み合わせて研究を行っている。また，本年度は，フラビン蛋白蛍光イメージング装置と 2 光子励起顕微鏡を用いたカルシウムイメージング装置を立ち上げたので，今後は種類を同定した細胞からの視覚反応記録を進める予定である。人事としては 4 月から西尾奈々研究員が，10 月から宮下俊雄特任助教が加わった。以下に本年度に行った研究内容の要約を記載する。

大脳皮質視覚野微小神経回路網の機能的役割

石川理子，吉村由美子

我々は，ラット大脳皮質一次視覚野(V1)切片標本を用いた解析により，V1 内に非常に微細なスケールの特異的神経回路網が埋め込まれていること，発達期に形態視を遮断すると微小神経回路網が消失することを見出している。この微小神経回路網の機能を明らかにするために，正常な視覚体験を経たコントロールおよび形態視遮断により微小神経回路網を欠くラットを麻酔し，多点電極を用いて V1 細胞の視覚反応を記録した。コントロール群では，多様な視覚反応特性をもつ神経細胞が存在し，視覚反応選択性が類似した神経細胞間でのみ同期性の高いスパイク発火が観察された。一方，形態視を遮断すると，視覚反応の多様性は減少し，反応選択性の類似度に関わらず同期性の高い発火は稀であった。以上の結果より，V1 内における微小神経回路網によって，多様な反応選択性を示す細胞の中で，類似した視覚反応性を示す細胞集団の活動の同期性が高められると考えられる。

クラスター型プロトカドヘリンによる大脳皮質神経結合特異性の制御

足澤悦子，吉村由美子
平林真澄，三宝　誠（遺伝子改変動物作製室）
八木　健（大阪大学大学院生命機能研究科）

我々は，細胞接着因子であるクラスター型プロトカドヘリン（cPcdh）に着目し，大脳皮質の特異的な神経結合形成に cPcdh が関与しているかについて検討した。cPcdh 全欠損マウスから iPS 細胞を樹立し，キメラマウスを作製した。大脳皮質バレル野 4 層の星状細胞から同時ホールセル記録を行い，シナプス結合確率を調べたところ，cPcdh 全欠損細胞間シナプス結合確率は，野生型細胞間と同レベルであったが，野生型細胞間では，約 7 割が双方向性にシナプス結合しているのに対し，全欠損細胞間では，3 割程度と有意に減少していた。4 層の星状細胞のバレル皮質内における興奮性シナプス入力様式をレーザースキャン光刺激法で網羅的に調べた結果，cPcdh 全欠損細胞は野生型細胞に比べ，興奮性入力の層特異性が低下していた。以上の結果より，cPcdh を欠損してもシナプスは形成されるが，結合特異性に影響を与えることが示唆された。

大脳皮質 2/3 層錐体細胞に入力する神経細胞分布の網羅的解析

森　琢磨，吉村由美子

我々は，狂犬病ウイルスワクチン株を基にした越シナプストレース法を確立し，その手法を用いて大脳皮質 2/3 層錐体細胞に入力するシナプス前細胞の分布を全脳レベルで解析した。性質が異なる狂犬病ウイルス糖タンパク質遺伝子によって可視化される細胞の分布は異なっていた。神経親和性の低い糖タンパク質を用いる事で，シナプスを形成している神経細胞とグリア細胞の一種であるアストロサイトを同時に可視化する事ができた。この結果は，我々が開発した越シナプストレース法が，神経細胞とアストロサイトが協調して機能するシナプス「tripartite synapse」の構造や機能の研究にも応用できる可能性を示している。また，大脳皮質 2/3 層錐体細胞は，アセチルコリンやセロトニン作動性神経細胞からのシナプス入力を受けていることを実証した。

統合生理研究系

感覚運動調節研究部門

【概要】

初めに 2012 年の人事異動を列挙する。鶴原亜紀さんが 4 月に特任助教として赴任した。生理学研究所の新たな試みとして開始されたサバティカル制度を利用して，鈴木正隆先生が金城学院大学より客員教授として，小平農先生が信州大学より客員助教として赴任された。逆に大鶴直史君が 5 月から広島大学助教として，仲渡江美さんが 9 月から大阪樟蔭女子大学講師として栄転した。2012 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（山口真美教授），三重大学精神科（元村英史先生），早稲田大学スポーツ科学学術院（中田大貴先生），神戸大学文学部（辻本悟史先生，野口泰基先生），愛知医科大学（西原真理先生，牛田享宏先生），また国外では，ドイツ Munster 大学（Prof. Pantev），Haiderberg 大学（Prof. Treede）との共同研究を行っている。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。私が領域代表者を務めている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」が最終年度を迎えた。その締めくくりとして，国際シンポジウムを 10 月 31 日から 11 月 3 日までの 4 日間，岡崎コンファレンスセンターで開催した。36 名の外国からの参加者を含めて計 149 名の参加を得て非常に盛況であった。

二次体性感覚野における感覚情報と運動情報の統合

和坂俊昭，柿木隆介

我々はこれまでに二次体性感覚野が運動遂行に対して重要な働きを担うことを報告してきた。本研究では，二次体性感覚野の感覚運動統合過程を明らかにするために，実際の運動とは異なる運動の視覚情報が提示されたときにみられる二次体性感覚野の活動を計測した。被験者にはミラーボックス内に両手を挿入させ，右手の鏡像が左手の位置に映るように調整させた。その後，左正中神経刺激を無視しながら左右の拇指の同位相（In-phase 課題）と異位相（Out-of-phase 課題）の屈曲伸展動作を行わせ，ミラーボックスがない条件時の体性感覚誘発磁場と比較した。ミラーボックス内で Out-of-phase 課題を行うと，左手の拇指は In-phase 課題を行っているような視覚情報が提示される。このとき二次体性感覚野の活動は有意に増大した。In-phase 課題では両条件間で変化はみられなかった。この結果は二次体性感覚野は運動部位からの感覚情報（体性感覚，視覚）と運動指令の統合に関与していることを示している。(BMC Neuroscience 13: (1), 138, 2012)

聴覚変化関連脳活動の prepulse 抑制

乾　幸二，鶴原亜紀，小平　農，元村英史（三重大学医学部），谷井久志（三重大学医学部），
西原真理（愛知医科大学医学部），Kceli Sumru，柿木隆介

Prepulse 抑制（PPI）は，統合失調症の生物学的基盤や治療薬を研究する上で非常に重要な指標である。通常，先行する弱い音（prepulse）が，その後の強い音刺激に対する驚愕応答を抑制する過程を，瞬目反射を指標にして

観察する。同様の現象は脳では全く知られていない。本研究は，聴覚変化関連脳活動を用いたパラダイムにより，PPI を脳で明瞭に観察した初めてのものである。

変化関連脳活動は 65dB の背景刺激から 10dB 増加する音圧増加パラダイムとした。突然の音圧増加は，120 ミリ秒付近に頂点をもつ明瞭な活動（Change-N1m）を惹起する。このテスト刺激に先行して，25 ミリ秒の prepulse を挿入した際の効果を検討した。その結果，1) prepulse が強いほど（0.5~5dB）抑制が強い，2) 至適な prepulse-test 間隔がある，3) 抑制の程度とベースラインの Change-N1m 振幅には正の相関がある，などが明らかとなった。Change-N1m は非常に安定して容易に記録でき，被験者の注意状態に影響を受けない。従って抑制系を直接脳活動で観察できる有用な手技になり得ると思われる。

(BMC Neuroscience 13: 135, 2012)

乳児の脳における顔の大きさ不変の表象－NIRS 順応パラダイムによる検討

小林　恵（中央大学大学院文学研究科，日本学術振興会），
大塚由美子（School of Psychology, The University of New South Wales），
金沢　創（日本女子大学人間社会学部），山口真美（中央大学文学部），柿木隆介

本研究では神経順応パラダイムを近赤外分光法（NIRS）計測に適用することで，生後 5-8 ヶ月の乳児の側頭領域が顔の大きさ変化に依存せずに人物同定を行っているか検討した。「同一人物の顔を，異なる大きさで提示する条件」と「複数人物の顔を，異なる大きさで提示する条件」における生後 5-8 ヶ月児の側頭領域における脳活動を比較した。その結果，（1）T5 および T6 を中心とする領域で「複数人物の顔を，異なる大きさで提示する条件」でのみ脳活動が上昇し，（2）これらの領域のでは，刺激の大きさ変化に関らず，複数人物の顔に比べ同一人物の顔の提示に対して脳活動が低下（神経順応）を示した。この結果は，乳児の側頭領域における人物同定が顔の大きさ変化に不変であることを示唆する。

(NeuroReport 23, 984-988, 2012)

乳児期における身体運動認知の発達

守田知代, Virginia Slaughter（University of Queensland），片山伸子（立命館大学文学部），
北崎充晃（豊橋技術科学大学情報知能工学系），柿木隆介，板倉昭二（京都大学文学研究科）

生後 6 ヶ月頃になると，目標に向かって手を伸ばすような行為を観察する際に，その行為は自己の運動表象にマッピングされて理解されることを示す証拠が得られている。しかし，目標物を伴わない身体の動きを観察する際にも同様に自己の運動表象が利用されているのかは不明である。本実験では，人が生体力学的に可能な腕の動きや不可能な腕の動きを行うアニメーション，またこれらの動きをロボットが行うアニメーションを用意し，9 ヶ月児，12 ヶ月児，成人がそれらを見ているときの視線位置および瞳孔径の変化を視線計測装置を用いて調べた。結果，12 ケ月児および成人はエージェントによらず，不可能な動きを呈する肘部分をより長い時間注視していた。また，成人では人の不可能な動きを見ているときのみ瞳孔径の拡大が見られたのに対して，9・12 ヶ月児ではこのような瞳孔径の拡大は見られなかった。この結果は，乳児では不可能な身体の動きに対する情動的な反応が生起しないことを意味している。このように，乳児が目標物を伴わない身体の動きを観察する際に，自己の感覚運動経験に基づかない身体運動認知が行われている可能性が示唆された。(Journal of Experimental Child Psychology 113, 401-414, 2012)

視覚的ワーキングメモリにおける後部頭頂葉と後頭葉の異なった役割

松吉大輔（大阪大学人間科学研究科），池田尊司（大阪大学人間科学研究科），
澤本伸克（京都大学医学研究科），柿木隆介，福山秀直（京都大学医学研究科），
苧阪直行（京都大学文学研究科心理学）

ヒトが一度に記憶できる情報には制約があり，視覚物体に換算して 3 つから 4 つ程度しか保持できない事が知られている。大脳の後部頭頂葉から背外側後頭葉にかけての領域は，記憶に保持している物体個数に対応して上昇し, 3-4 つで飽和する事から，視覚的ワーキングメモリに関与する領域であると考えられており，脳波 (EEG) や機能的磁気共鳴画像 (fMRI) による研究が多く行われている。

しかし，この広範な脳領域の活動を視覚的ワーキングメモリの指標として用いることは，近隣の領域であっても機能が劇的に変化する脳の神経生理学的特性を鑑みると，妥当なものではないと思われる。そこで本研究では, fMRI を用いた実験により, 後部頭頂葉と後頭葉における視覚的ワーキングメモリ表象の機能的分離を行った。

実験の結果，頭頂間溝は物体が課題と関連するか否かを問わず, 3-4 つまでの物体に活動を示したのに対し，背側後頭葉は課題と関連しない物体が呈示された時には，活動が低下することが明らかとなった。この結果は，頭頂間溝において容量限界までの物体を表象した後に，その情報を用いて課題関連情報を維持し，課題非関連情報を排除するよう後頭葉に対して情報伝達が行われている可能性を示すものである。(PLoS ONE 7:6, e38623, 2012)

意識的視覚表象が発生する瞬間の脳磁場反応計測

野口泰基（神戸大学），横山武昌（神戸大学），
鈴木恵美（神戸大学），喜多伸一（神戸大学），柿木隆介

目の前の物体に対する視覚イメージ（意識的視覚表象）は，脳の神経活動によって作られる。ただし物体からの光情報は最初に視覚野において機械的・自動的な処理（色や形の分析）を受け（無意識的処理段階), それから実感・イメージを伴う意識表象へと変換される（意識的処理段階）と考えられている。この無意識・意識処理の境界線に関しては未解明な部分が多く，特に意識表象が脳のどの領域で最初に形成されるかは研究者間でも見解が分かれていた。本研究では脳磁計の時間分解能と，連続フラッシュ抑制という心理学の実験手法とを組み合わせることで，無意識の神経活動が意識表象に変換される瞬間の脳活動を計測した。その結果，意識表象の発生には腹側の高次視覚野の神経活動が中心的な役割を果たしていることが示された。(Journal of Cognitive Neuroscience 24(10): 1983-1997, 2012)

ニコチンが聴覚変化関連応答に及ぼす影響

大鶴直史，鶴原亜紀，元村英史（三重大学医学部附属病院精神科神経科），
谷井久志（三重大学医学部附属病院精神科神経科），
西原真理（愛知医科大学学際的痛みセンター），乾　幸二，柿木隆介

ニコチンは注意や認知を促進することが知られている。我々はこれまでに，聴覚変化後 100－160 ms 後に，感覚記憶に基づいた前注意活動（変化関連活動）が出現することを示してきた。本研究では，ニコチンがこの変化関

連活動に及ぼす影響を検討した。被験者は全て非喫煙者で，ダブルブラインドのプラセボコントロールデザインで行った。ニコチンおよびプラセボガムを噛む前後において，突然の音圧増加（70 から 73dB）と音圧減少（70 から 64dB）に対する変化関連活動を記録した。その結果，変化関連活動より早期の聴覚変化後 50 ms 付近に出現する成分は，ニコチンによる有意な変化は認められなかった。一方，音圧増加および減少に対する変化関連活動の振幅は，ニコチンにより有意に増大した。また，その振幅増大は，個人の変化関連活動のベースライン振幅に関わらず一様に増大する傾向が認められた。これらの結果から，ニコチンは前注意過程における変化検出反応を促進することが示唆された。(Psychopharmacology 224: 327-335, 2012)

音の周波数変化と経時変化により惹起された聴覚誘発脳磁場反応

岡本秀彦，Teismann Henning（ミュンスター大学），柿木隆介，
Pantev Christo （ミュンスター大学）

音の情報は蝸牛において，周波数ごとに異なったピークを持つ基底膜の振動としてコードされ，またその神経活動が経時的に変化することで，特定の音として認識される。この実験では，振幅変調純音やパルストレインを特定の帯域周波数を有するようにフィルターをかけた音を用いて，音の周波数が変化したときと，経時的な情報が変化したとき，またその両方が同時に変化したときの聴覚誘発脳磁場反応を計測した。音に関しては巧みに組み合わせることにより，物理的な音刺激の総量は条件間で差がないようにした。その結果，音の周波数情報と経時情報が同時に変化した場合に誘発される聴覚誘発脳磁場反応は，音の周波数情報のみが変化した時の聴覚誘発脳磁場反応と酷似していた。それに対して，経時変化により惹起された聴覚誘発脳磁場反応は，潜時が優位に延長されていた。聴覚神経路において，周波数情報は主に末梢器官である蝸牛で処理されるのに対して，音の経時情報は中枢側で主に処理されている。今回の実験の結果は，周波数変化と経時変化が同時に起こった場合，より末梢側で処理される周波数変化に対する神経活動が先行することで，より中枢側で起こる経時変化に関連する神経活動はマスクされてしまう事を示していると考えられる。(Frontiers in Psychology 3: 149, 2012)

音源変化に基づく聴覚性 N1 には感覚記憶が関与する

大山慶子（三重大），元村英史（三重大），乾　幸二，西原真理（愛知医大 学際的痛みセンター）
大鶴直史，大井元泰（三重大），柿木隆介，岡田元宏（三重大）

連続音の音特性を突然に変化させると，約 100 ms 後に脳活動が誘発される（Change-N1）。この脳活動は新たな状態と先行する直前の状態の比較に基づくものであり，感覚記憶が関与すると考えられる。連続音の途中に片側のみ blank を設けることで，音が移動したように脳は察知する。本研究では，連続音の途中に blank を設けた逸脱刺激と blank のない標準刺激によるオドボール課題を用いて Change-N1 を測定し，逸脱刺激呈示頻度と N1 振幅の関連を検討した。逸脱刺激呈示頻度の減少とともに N1 振幅は高くなった。単に逸脱刺激中の音源移動を検知して Change-N1 が誘発されるのであれば，常に N1 振幅は同じはずである。逸脱刺激呈示頻度が減少することで，繰り返し呈示されて登録される標準刺激の記憶が強まり，N1 振幅が高くなると考えられる。感覚記憶が変化関連脳活動に関連することが明らかとなった。(Neuroscience Research 73: 248-251, 2012)

筋張力発揮と弛緩時における感覚運動統合

和坂俊昭，木田哲夫（早稲田大学高等研究所），柿木隆介

本研究では，筋張力発揮と弛緩に関わる神経機構の解明を目的として，両局面における体性感覚領域の感覚運動統合過程を検討した。被験者には一定の速度で動く目標ラインを自己の右手の把持筋力を示すラインで追従させる課題を行わせた。目標ラインは一定の速度で，最大発揮筋力の 0%から 20%へと上方へ移動した後（漸増的に筋出力を発揮する相：発揮相），20%から 0%へと下方へ移動した（漸減的に筋を弛緩する相：弛緩相）。両局面において，運動肢からの体性感覚誘発電位を記録し比較した。運動遂行中の体性感覚誘発電位は，安静条件と比較して発揮相，弛緩相ともに減少した。興味深いことに Fz の N30 と C3’の P27 は，弛緩相と比較して発揮相で有意な減少を示した。弛緩相と発揮相では，筋張力の平均発揮量は同じであるにも関わらず，体性感覚誘発電位に変化がみられたことから，筋出力の発揮様式に応じた感覚運動統合が行われることが明らかとなった。
(Experimental Brain Research 219: (2), 227-233, 2012)

双極子追跡法を用いた若年性後頭部徐波の信号源推定

大山慶子（三重大），元村英史（三重大），乾　幸二，西村幸香（三重大），宇城研悟（松阪市民病院），
松島信佳（三重大），前田正幸（三重大），谷井久志（三重大），鈴木　大（三重大），
浜中健二（鈴鹿メンタルクリニック），柿木隆介，岡田元宏（三重大）

若年性後頭部徐波はよく知られた脳波波形で，その出現は思春期にピークをむかえ，成人ではほとんどみられない。一般的に生理的範疇の所見とされるが，成人においてみられる場合には性格的未熟性や不適切な社会的行動との関連を指摘する報告もある。この脳波波形の生理学的意義はまだ明らかにされていない。本研究ではこの脳波波形の脳内信号源解析を行い，発生機序の解明を試みた。まず，脳波記録から若年性後頭部徐波を含む EEG エポックを視察的に抽出した。つぎに被験者ごとに徐波頂点をトリガーとして加算平均波形を作成し，加算平均波形について双極子追跡法を用いた単一信号源推定を行った。信号源は同側の紡錘状回・中後頭回およびその近傍に推定された。推定された信号源はいわゆる腹側皮質視覚路に位置する。この部位に関する若年性後頭部徐波の意義を明らかにする更なる研究が望まれる
(Psychiatry and Clinical Neuroscience 66: 582-586, 2012)

周期的な音により惹起させる聴覚誘発 Sustained 反応

Keceli Sumru 乾　幸二，岡本秀彦，大鶴直史，柿木隆介

ヒトの音の周波数に対する感受性には限界がある。非常にゆっくりとした周期的な音の変化は，蝸牛ではコードすることは不可能であるが，音声や音楽を認知するのに非常に重要な役割を果たしている。今回の実験では，5-, 10-, 50-, 200-, 500 Hz で白色雑音を繰り返し提示することで，音のパワーを一定に保ったまま，特定のピッチ感覚を惹起させることに成功した。また，その音をきいている時の聴覚誘発脳磁場 sustained 反応を計測比較した。その結果，周波数感受性の下限を下回る周期的なピッチの音に対して聴覚誘発脳磁場 sustained 反応の振幅が最大となることがわかった。この結果は，音声等の認識に重要な惑割を果たす低いピッチ感覚は，蝸牛ではコードされずに，比較的遅い潜時を有する聴覚中枢由来の聴覚誘発脳磁場 sustained 反応に反映されていること，また音声が

比較的多く含んでいる繰り返しの周波数にてその振幅が最大になることが明らかになった。この研究は，ヒト脳における音声知覚の解明に役立つものと考えられる。(BMC Neuroscience. 13: 7, 2012)

自閉症スペクトラム障害における自己顔プロセスに伴う情動反応

守田知代，小坂浩隆（福井大学医学部神経科精神科），
齋藤大輔（福井大学子供のこころの発達研究センター），
石飛　信（福井大学医学部神経科精神科），
棟居俊夫（金沢大学子どものこころの発達研究センター），
板倉昭二（京都大学文学研究科），大森昌夫（福井県立大学），
岡沢秀彦（福井大学高エネルギー医学研究センター），
和田有司（福井大学医学部神経科精神科），定藤規弘

自閉症スペクトラム障害（ASD）児は，自身の顔を見せられたときに，健常児が見せるような照れなどの表出が欠如していることが報告されている。しかし，これらの自己意識情動を支える神経メカニズムの ASD 特異性については不明である。本研究では，健常者および ASD 者を対象として，自己顔を見ている際の神経活動について機能的 MRI を用いて調べ, ASD 者に特徴的な反応を明らかにした。被験者自身および他者の顔写真の写真写りを評価している最中の脳活動を計測した。健常群では，自己顔への評価値はスキャン後に回答された恥ずかしさの程度と負の相関関係を示していた。それに対して, ASD 群ではその相関関係が弱く，自己顔に対する認知的な評価と情動反応とのリンクが弱い可能性が示された。また，後部帯状回および右側島皮質において, ASD 群に特有の反応が見られた。右側島皮質の課題関連活動が ASD 群では全般的に低下しており，特に自己顔に対する活動低下は，認知的な評価と情動反応とのリンクの弱さと関係していた。一方，後部帯状回の活動は, ASD 群では自己顔を見ているときのみ低下していた。これらの結果から，多様な情報を統合して情動経験を生み出すのに重要な右側島皮質，および自己の内的情報の処理に関わる後部帯状回の機能障害が，ASD 者の自己顔への自己意識情動の欠如の一因となっている可能性が考えられる。(Social Neuroscience 7, 223-239, 2012)

双極子追跡法を用いた frontal intermittent rhythmic delta activity (FIRDA)の信号源推定

元村英史（三重大），乾　幸二，大山慶子（三重大），西村幸香（三重大），中川雅紀（三重大）
前田正幸（三重大），松島信佳（三重大），宇城研悟（松阪市民病院）
鈴木　大（三重大），柿木隆介，岡田元宏（三重大）

Frontal intermittent rhythmic delta activity (FIRDA) は前頭部優位の 2-3Hz の両側同期性に 1-5 s 持続する単律動性の徐波活動である。本研究では，脳内信号源解析による FIRDA の発生機序の解明を目指した。まず，典型的な FIRDA を含む EEG エポックを視察的に抽出した。ひとつの FIRDA を構成する各徐波の電位マップは極めて類似している。徐波の peak をトリガーとして加算平均波形を作成し，双極子追跡法を用いた信号源解析を行った。脳内信号源は前帯状回およびその近傍に推定された。FIRDA は様々な病態レベルにおいて出現する。抗コリン作用を有する抗精神病薬やコリン作動性ニューロンの障害が強いレビー小体型認知症において FIRDA の出現頻度は高い。FIRDA の出現には前帯状回におけるコリン作動性ニューロンの機能不全が関与するのかもしれない。(Neuropsychobiology 65: 103-108, 2012)

体性感覚刺激 No-go 電位と反応時間・反応のばらつきとの関係性

中田大貴（早稲田大学スポーツ科学学術院），坂本貴和子（東京大学），柿木隆介

No-go 電位は Go／No-go 課題を行なった際，No-go 試行に記録される運動抑制過程に関連した事象関連電位である。我々はこれまでに体性感覚刺激 Go／No-go 課題を行なった場合に，視覚刺激，聴覚刺激を用いた際と同様に No-go 電位が記録されることを報告した。しかし，その電位特性は未だ明らかではない点が多いことから，本研究では電位の振幅と潜時が，運動遂行過程に関係する平均反応時間ならびに反応時間のばらつきとどのように関係しているのかを検討した。

Fz と C3 の電極部位において，No-go-P300 成分の振幅と平均反応時間との間に統計的に有意な負の相関が認められた。C3 の電極部位において，No-go-P300 成分の振幅と反応時間のばらつきとの間に有意な負の相関が認められた。Pz と C3 の電極部位において，Go-P300 成分の潜時と平均反応時間との間に有意な正の相関が認められた。Cz の電極において No-go-P300 成分の潜時と反応時間のばらつきとの間に有意な正の相関が，Fz, Cz, Pz, C3, C4 の電極において Go-P300 成分の潜時と反応時間のばらつきとの間に有意な正の相関が認められた。

体性感覚刺激 Go／No-go 課題において，No-go 試行に記録される No-go-P300 成分の振幅や潜時は，Go 試行における平均反応時間や反応時間のばらつきと有意に関係することが示された。これらの結果から，運動抑制過程における脳活動は，運動遂行過程と密接に関係していると考えられた。(European Journal of Applied Physiology 112, 207-214, 2012)

乳児はアルチンボルドのだまし絵を顔として認識しているのか
ー行動実験および近赤外分光法（NIRS）による検討

小林　恵（中央大学大学院文学研究科），
大塚由美子（School of Psychology, The University of New South Wales），
仲渡江美，金沢　創（日本女子大学人間社会学部），山口真美（中央大学文学部），柿木隆介

アルチンボルドのだまし絵は，野菜など顔ではない物体で描かれているにも関わらず顔の知覚を誘発する。本研究では選好注視法および近赤外分光法を用いて，乳児がアルチンボルドのだまし絵を顔として認識しているか検討した。

実験 1 では，生後 5-8 ヶ月の乳児に，正立と倒立のアルチンボルドのだまし絵を対提示し注視時間を計測した。実験の結果，生後 7-8 ヶ月児のみ正立のだまし絵を有意に選好した。実験 2 では，近赤外分光法を用いて，正立と倒立のアルチンボルドのだまし絵観察中の脳活動を計測した。実験 1 の結果から，生後 7-8 ヶ月児は正立と倒立のだまし絵観察時で異なる活動を示すと予測された。その結果，正立のだまし絵観察中のみ左側頭領域の脳活動が有意に上昇することが示された。

これらの実験の結果から，アルチンボルドのだまし絵から顔を知覚する能力は生後 7 ヶ月頃に発達し，その処理は左側頭領域が関与していることが示唆された。(Journal of Experimental Child Psychology 111, 22-36, 2012)

運動に関する予期しない視覚フィードバックが体性感覚領域の活動を変化させる

和坂俊昭，柿木隆介

本研究では，運動中の身体部位の感覚情報と運動情報が統合されるメカニズムを解明することを目的として，

実際の運動とは異なる身体部位の視覚情報が提示されたときにみられる脳磁場反応を計測した。被験者にはミラーボックス内に両手を挿入させ，右手の鏡像が左手の位置に映るように調整させ，自発的な左拇指の屈曲伸展を行わせた（右手は安静）。視覚のフィードバックが予期していた運動情報と異なるものが提示された時，二次体性感覚野，頭頂葉，島皮質の活動に変化がみられた。これまでに頭頂葉皮質が視覚情報と体性感覚情報の統合に関わる脳部位であることが報告されているが，二次体性感覚野が運動遂行に関わる視覚情報の影響を受ける結果は本研究における新たな知見である。この領域は自己の運動の認識や運動学習に対して重要な働きを有することが示唆された。 (NeuroImage 59: (2), 1501-1507, 2012)

痛覚受容研究：表皮内電気刺激法の活用

乾　幸二，柿木隆介

他の感覚系と比較して，侵害受容系の研究や検査に用いる刺激は選択が難しい。実際に組織を障害することがなく安全で，繰り返し同一の定量できる痛み刺激を呈示できることが必要である。誘発脳活動記録などに用いる場合には，立ち上がりが急峻であることも必要となる。また臨床での閾値検査などで利用するには，操作が簡便である，不要な不快感を被験者に与えない，安価である，などの条件を満たす手法が望ましい。我々の研究室ではこれらの要件を全て満たす刺激手法として，表皮内電気刺激法を開発してきた。長さが 0.2mm 程度の針電極を用いて表皮に位置する自由神経終末のみを刺激する方法で，特定刺激パラメーターを選択することによって A-delta 線維と C 線維の選択的刺激が可能である。大型の機器は不要で，外来やベッドサイドでの検査にも向いている。既に臨床研究も多施設で開始されており，痛覚研究のみならず臨床研究や臨床検査においても有効に活用されると期待される。(Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry 83: 551-556. 2012)

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，さらには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赤核小細胞部ニューロンの活動様式

畑中伸彦，金子将也，南部　篤

赤核は組織学的に上前方の小細胞部と下後方の大細胞部に分かれる。その中でも，小細胞部は大脳皮質運動野（６野と４野）から入力を受け，下オリーブ核に投射を送る。下オリーブ核は反対側小脳へ投射を送るので，その情報の一部は視床を介して大脳皮質に戻される。よって赤核小細胞部は，橋核と同じく，大脳皮質-小脳-視床-大脳皮質というループ回路の入力部にあたる。また，赤核小細胞部は小脳歯状核から視床への投射の軸索側枝も同時に受け取っており，赤核小細胞部と小脳の間には更に小さなループを形成する，複雑な神経連絡を持っている。これまで，運動課題遂行中のマカクサルで，赤核の活動を記録した報告はあるが，それらの活動が小細胞部なのか大細胞部なのかは不明であった。われわれは，ニホンザル大脳皮質上肢運動関連領域に埋め込み刺激電極を慢性的に設置し，大脳皮質からの入力を電気刺激によって同定した赤核ニューロン（つまり赤核小細胞部）の，上肢運動課題遂行中の活動様式を調べている。その結果，赤核小細胞部ニューロンは，大脳皮質刺激に対して興奮性だけでなく，抑制性にも応答した。短潜時の興奮性応答は主に大脳皮質からのグルタミン酸作動性入力，抑制性応答は，大脳皮質の脱促通，抑制性ニューロンを介した抑制性入力などが考えられる。遅延期間付き到達運動課題遂行中は，（１）運動時に興奮，（２）遅延期間中に持続的に興奮し，運動時に抑制，（３）遅延期間中に持続的に興奮し，運動時に興奮と抑制など，様々な活動を示した。この結果は，赤核小細胞部が運動制御により複雑に関与していることを示唆している。

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，高良沙幸，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，その活動は視床，大脳皮質の機能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，興奮性・抑制性入力それぞれがどのように関わっていたか検討している。

ハイリスク・ハイリターン，ローリスク・ローリターンを選択する神経基盤と調節因子

橘　吉寿，南部　篤

我々の日常生活は様々なレベルでの意思決定の連続から成り立っている。なかでも，ハイリスク・ハイリターンな状況を選ぶか，ローリスク・ローリターンな状況を選ぶかといった行動選択の局面は数多い。しかしながら，この行動選択の神経基盤については十分に分かっていない。

本研究においては実験動物に眼球運動を指標としたギャンブル課題を行わせ，サルの行動選択と大脳基底核の

神経活動との関連性を神経生理学的に明らかにしたい。またギャンブルのような行動選択において重要と示唆されてきたドーパミン・セロトニンが大脳基底核神経活動に対して及ぼす影響，さらには最終的な行動選択に与えうる影響についても薬理学的手法を用いて検討したい。

本年度は眼球運動測定を可能とする実験系を立ち上げ，独自に考案したギャンブル行動課題を実験動物に訓練した。実験動物は課題を概ね学習し終え，これから大脳基底核の神経活動記録を展開したいと考えている。

淡蒼球内節－脳深部刺激療法のメカニズムの解析

知見聡美，南部　篤

大脳基底核の出力部である淡蒼球内節（GPi）に慢性的に電極を埋め込み，高頻度連続刺激を与えるという淡蒼球内節－脳深部刺激療法（GPi-DBS）が，神経難病であるパーキンソン病やジストニアの治療に用いられている。しかしながら，電気刺激が近傍のニューロンを興奮させることにより効果を表すのか，もしくは，抑制することにより効果を表すのかなど，その作用メカニズムの詳細については明らかにされていない。本研究では，GPi-DBS の作用メカニズムを明らかにすることを目的として，正常なサルの GPi に２本の電極を刺入し，一方の電極を通して電気刺激を与えた際の近傍の神経活動を記録した。その結果，GPi-DBS は GPi に投射する GABA 作動性ニューロンの軸索末端を刺激することにより，GABA の放出を促して GPi ニューロンの活動を抑制するとともに，GPi を介する情報伝達を遮断することによって効果を表していることが示唆された。

大脳皮質−線条体経路の神経生理機能の解明

佐野裕美，加藤成樹（福島県立医科大学），
知見聡美，小林憲太，小林和人（福島県立医科大学），南部　篤

大脳基底核の入力核である線条体と視床下核は主に大脳皮質から入力を受ける。大脳皮質−線条体経路と大脳皮質−視床下核経路には各々に特異的に発現する受容体などは知られておらず，薬理学的方法では各々の経路の神経生理学的役割を解析することはできない。そこで，逆行性に遺伝子導入が可能なレンチウイルスベクター（FuG-C ベクター）とアデノ随伴ウイルスベクター（AAV ベクター）を利用して，大脳皮質−線条体経路のみで Cre-loxP システムを作動させ，大脳皮質−線条体経路特異的に光受容体のチャネルロドプシン（ChR2）を発現させた。そして，大脳皮質で光照射と神経活動の記録を行ったところ，光照射に応じた興奮が認められ，大脳皮質−線条体経路の同定と特異的な興奮誘導に成功した。さらに，大脳皮質を光刺激した際の神経活動を淡蒼球外節で記録したところ，光照射に応じて抑制あるいは抑制−興奮という一過性の応答が認められた。

線条体投射ニューロンの神経生理機能の解明

佐野裕美，田中謙二（慶応義塾大学），竹林浩秀（新潟大学），
Dwi Wahyu Indriani，南部　篤

線条体投射ニューロンの神経生理機能を解析するため，テトラサイクリン遺伝子発現誘導系を利用した遺伝子組

換えマウスを用いて，線条体投射ニューロンに光受容体であるチャネルロドプシン（ChR2）を発現させ，線条体投射ニューロンの神経活動を興奮させたときの，線条体における遺伝子発現とマウスの行動変化を調べた。片側の線条体で光照射と神経活動の記録を行ったところ，光照射に応じた興奮が認められた。そこで，ChR2 を介した興奮により誘導される immediately early genes を調べたところ, 光照射した線条体では c-fos の誘導は認められなかったのに対し，Npas4 が線条体投射ニューロンの興奮に応じて特異的に誘導されていた。さらに，片側の線条体に光照射したときのマウスの行動変化を調べたところ，回転運動などの行動変化が認められた。

大脳基底核のハイパー直接路が運動情報処理に果たす機能の解明

纐纈大輔，井上謙一（京都大学），加藤茂樹（福島県立医科大学），
小林和人（福島県立医科大学），高田昌彦（京都大学），南部　篤

細胞死を誘導する物質であるイムノトキシンの受容体であるヒトインターロイキンタイプ２受容体を発現するレンチウイルスベクターを利用して，霊長類の運動野から視床下核へ投射するニューロンを選択的に除去する技術の開発を目指した。運動野から視床下核を経由して，大脳基底核の出力部位である淡蒼球内節に至る経路はハイパー直接路と呼ばれているが，運動情報処理に果たす機能の詳細はまだ明らかになっていない。マカクザルの視床下核にウイルスベクターを注入し，次に運動野にイムノトキシンを注入した。その結果，運動野から視床下核に投射しているニューロンはイムノトキシンが結合することで細胞死が誘導され，ハイパー直接路の選択的除去に成功した。また淡蒼球内節の細胞活動を記録したところ，運動野から大脳基底核に運動情報が入力される際に，早いタイミングでみられる神経細胞の興奮活動が，このハイパー直接路を経由して起こることが明らかとなった。

計算神経科学研究部門

【概要】

計算神経科学研究部門では，神経細胞・神経回路網の非線形ダイナミクスが，脳機能にいかに関わっているかを解明し脳型コンピュータの基本原理を構築することを目指している。中でも記憶や注意などの高次機能の発現に，多安定性，引き込み，カオス，遷移ダイナミクスなど，非線形動力学系の豊かな特質がいかに活かされているかについて，数理モデルによる解析を行い，実験的に検証可能な予測を試みている。また conductance injection (dynamic clamp) 法を用いた数理的方法と in vitro 生理学の融合や，脳科学ビッグデータの非線形解析手法の開発なども行い，現実に即した数理モデル化の方法を探求している。

シナプス統合における Dale 則の破れと前シナプス制御の影響に関する研究

渡辺啓生（東京大学），合原一幸

脳内では多数の神経細胞が主にシナプス結合でつながっている。従来，一つの神経細胞は興奮性あるいは抑制性のいずれか一種類のシナプス結合のみ持つという Dale 則に従うとされてきたが，近年これが破られる可能性が示唆された(Ren et al., 2007)。また，各神経細胞間のシナプス結合は前シナプス制御と呼ばれる機構により，脳の

他の部位から神経修飾物質の投射を受けることで短い時間に強度などの性質を大きく変えることが知られてきた。我々はこれらの要素が神経細胞のネットワークのダイナミクスに与える影響を数値実験により検証した。その結果，Dale 則の破れを許したネットワークは，前シナプス制御を想定した結合強度の変化のもとで，非常に豊富な活動パターンを示すことが明らかになった。また階層性やクラスター性など，実際の脳に見られる構造を取り入れることで，上層からの抑制の強弱によるクラスター間の同期の変化など興味深い現象がいくつも見られた。これらの結果は，脳の活動の多様性と情報処理の機構の解明に役立つと期待できる。

神経細胞の異常な同期状態の緩和について

西川　功（東京大学），合原一幸

神経細胞の異常な同期は，様々な精神疾患にも関わっている可能性がある重要な非線形現象である。我々は，同期現象を記述する可解モデル（蔵本モデル）を通し，異常な同期状態を緩和するための知見を模索してきた。これまで，蔵本モデルにおいて，系が同期を示しているとき，微小な結合強度の減少が異常な同期状態の緩和に大きな効果があることが知られていた(Daido, 1990)。

本研究では，蔵本モデルに，より現実的な要素を加味した様々なモデルにおいても同様の性質の成立を示唆する結果を得た。具体的には，結合関数をより一般化したモデル，結合に時間遅れがあるモデル，時間変化する振幅変数を持つモデル，慣性項を考慮したモデルなどを扱った。これらの結果は，系の結合強度を安定的に下げる方法があれば，その減少が微小でも異常な同期状態の緩和には効果が高いことを示唆している。

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，システム，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変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る。3) 電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) 脳の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細胞外空間におけるグルタミン酸濃度動態

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，放出ー応答連関は，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割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。

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

原田春美，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，凍結割断レプリカ像では，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。同様の発育段階のスライス標本で，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，生後 2 週間の段階では検出されることを確認したので，生後発達に伴い，各成分がどのように変化するの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（α1a）が主要な役割を果たしていると考えられているが，新規に得られた抗 α1a 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のできなかったシナプス前膜における α1a 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

Wen-Hsin Chang，Nur Farehan Mohamed Asgar，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システインに置換した変異は，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いう，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 2B サブユニットの機能亢進が見られることがわかってきた。また自閉症患者から見つかった別の変異である R704C 変異（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)を再現した Neuroligin-3 のノックインマウスでは，R451C 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が，GABA 受容体機能に変化は見られなかった。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。

細胞種選択的光遺伝学タンパク質を発現した遺伝子改変マウスの開発

松井　広，佐々木拓哉

近年の神経科学研究において，光遺伝学（オプトジェネティクス）的な研究ツールが注目され，これまで以上に，神経活動と動物の個体行動との因果関係が解析可能になりつつある。本研究では，遺伝子ノックイン技術を用いて，テトラサイクリン制御性の遺伝子発現システムを改良し，多様な細胞種選択的に，光感受性タンパク質チャネルロドプシン 2(C128S 変異体)およびアーキオロドプシンを高発現する遺伝子改変マウスの作製に成功した。本マウスは，細胞種選択的プロモータ下においてテトラサイクリン制御性因子(tTA)を発現する遺伝子改変マウスと，tTA により活性化されるプロモータ(tetO プロモータ)下においてチャネルロドプシン分子等の光感受性分子を発現する遺伝子改変マウスの 2 つを掛け合わせることによって得られる。我々は，ニューロンだけでなくグリア細胞にも本発現システムを適用し，in vivo 条件下において，これらの細胞活動を操作することに成功し

た。本システムでは，細胞種選択的に多様な機能分子を発現させることができるため，神経科学のみならず，生命科学分野において，重要な実験ツールになると期待される。本研究は慶應義塾大学の田中謙二特任准教授・名古屋大学の山中章弘教授らとの共同研究として行われた。

グリア細胞刺激による神経活動および個体行動の制御

佐々木拓哉，別府薫，深澤有吾，重本隆一，松井　広

脳における情報処理は，ニューロン活動によって担われていると考えられている。ニューロンはグリア細胞と密接な連絡を取っているが，グリア細胞の脳内情報処理における役割を証明するには，グリア細胞からニューロンへのシグナル伝達の実態が解明される必要がある。本研究では，チャネルロドプシン 2 をアストロサイトに選択的に発現した遺伝子改変マウスを用いて，この課題に取り組んだ。In vivo の条件下において，これらのアストロサイトを光刺激すると，神経活動が誘発された。また，スライス標本を用いた解析から，グリア細胞の光刺激により，グルタミン酸が放出され，小脳プルキンエ細胞の AMPA 受容体を活性化させることが明らかになった。また，平行線維-プルキンエ細胞間のシナプスにおいては，グリア細胞の光刺激により，長期的な可塑性が観察された。さらに個体行動の解析から，グリア細胞の光刺激により誘発された神経活動は，小脳依存性の運動学習を制御するのに十分であることが示された。以上の結果から，グリア細胞が神経活動や個体行動を制御し，脳内の情報処理において重要な役割を担っていることが示唆された。

電位依存性カルシウムチャンネルの神経細胞膜上分布

Laxmi Kumar Parajuli，深澤有吾，重本隆一

神経細胞の興奮性は細胞膜上に発現しているイオンチャネルにより制御されている。中でも電位依存性カルシウムチャネルは神経細胞の活動依存的にカルシウムを流入することによって，細胞の電気的な興奮と細胞内セカンドメッセンジャー系の両方を調節し，種々の神経細胞の現象に関与する重要な分子である。しかし，その分布を正確に解析することは，電気生理学的にも解剖学的にも困難であり，不明な点が多く残されている。我々はシナプス可塑性やてんかん発作の発生に関与が指摘されている R 型カルシウムチャネル，alpha1E サブユニットの特異抗体を樹立し，マウス脳内の発現分布と共に海馬 CA1 錐体細胞の細胞膜上の分布を免疫電子顕微鏡法を用いて定量的に解析した。この結果，この電位依存性カルシウムチャネルが樹状突起や樹状突起スパインの細胞膜上に非常に低密度で，散在的に発現していること，また，そのスパイン内の発現数はスパインの体積と正の相関を示すことが明らかになってきた。また，このスパインにおけるチャネルの発現数は樹状突起の発現密度とは独立していることを見出している。

海馬における長期増強現象とグルタミン酸受容体の密度変化

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，また，シナプスが形成される樹状突起スパインとシナプスのサイズ及び受容体局在との関係を解析し，シナプス機能の増強に伴いスパインの形態変化と受容体増加及びシナプス面積増加が短時間で起きることを確認した。現在，より生理的な刺激条件下でのシナプス内グルタミン酸受容体密度がどの様に変化するかを検討しており，受容体密度調節の生理的意義を解析している。

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変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。

小脳平行線維 - プルキンエ細胞間シナプス前神経終末における細胞膜上分子の局在

原田春美，別府薫，重本隆一，松井広

シナプス前神経終末における電位依存性カルシウムチャネルの活性は，種々のプレシナプスタンパク群によって調整されていることが知られている。近年，プロテオミクスの手法を応用した解析から，数百種におよぶプレシナプスタンパク質が電位依存性カルシウムチャネルと直接的あるいは間接的に結合し，その活性の調節に関与している可能性が示唆された。特に，SNARE や RIM，CASK はカルシウムチャネルと直接相互作用し，シグナル複合体を形成していることが明らかになりつつある。さらに，Neurexin を含む細胞接着因子はシナプス前・後細胞をつなぐ細胞接着の役割のみならずカルシウムチャネルと相互作用してシナプス小胞の放出に関与していることが報告されている。しかし，それらのプレシナプス分子の詳細な局在分布については不明な点が多く残されている。

本研究では凍結割断レプリカ免疫標識法を用いてラット小脳における P/Q 型カルシウムチャネルおよび SNARE，RIM，CASK，Neurexin の詳細な分布を解析した。その結果，これらの分子が特にシナプス小胞開口放出部位に分布し，P/Q 型カルシウムチャネルと共局在していることを明らかにした。興味深いことに，RIM および P/Q 型カルシウムチャネルはシナプス小胞開口放出部位においてクラスター状に局在していたのに対して CASK および Neurexin ではそれらのマイクロクラスターは観察されず，放出部位内で均一な分布を示した。さらに，小脳平行線維特異的にチャネルロドプシン 2 を発現した遺伝子改変ラットを用いて，光刺激前後におけるこれらの分子局在の変化について解析を行っていく予定である。

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，それら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や，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て調べている。本年度は，運動関連領野の同定とそこからの脊髄投射パターン，錐体細胞の樹状突起構造や軸索伸長様式，抑制性細胞軸索のスパイン神経支配や興奮性入力様式，前頭皮質へ投射する多様な視床核の振動特性について解析を行うとともに，前頭皮質・基底核の行動価値計算回路モデルを提案した。

大脳皮質の非錐体細胞樹状突起分岐部での Rall の 3/2 乗則の検証

窪田芳之，北　啓子，塩津千尋，川口泰雄
野村真樹（理化学研究所）

神経細胞は，枝分かれして長く伸びる樹状突起や細胞体で，数千から数万個のシナプス入力を受取り，その入力信号を樹状突起で統合し細胞体に伝搬させ，最終的に細胞体の電位を閾値以上に上げてスパイクを発生させる。樹状突起の分岐部分の形態が，この興奮性信号の統合処理に，大きく影響を与える事が知られている。分岐部分での親樹状突起と２つの娘樹状突起の断面積は保存されている事，また，それは Rall の 3/2 乗則と同等である事を報告済みである。その法則を崩した場合，樹状突起の信号の統合にどのような変化をもたらすのかをシミュレーション解析を使って解析した。結果，樹状突起分岐部を Rall の 3/2 乗則に則って作製したモデル細胞では，樹状突起のどの部分に入力する興奮性信号も細胞体にほぼ等価の信号として伝導されるが，Rall の 3/2 乗則を崩して作製したモデル細胞では，大きくばらついた信号として伝導される事がわかった。

大脳皮質の錐体細胞の抑制性シナプスと近傍の棘突起の動態解析

窪田芳之，塩津千尋，川口泰雄
Jerry L. Chen, Katie L. Villa, Elly Nedivi（マサチューセッツ工科大学）

学習時等の興奮性神経のシナプス結合の再構成は，樹状突起上にある棘突起の動態観察で知られているが，抑制性シナプスでは知られていない。本研究では，マウスの大脳皮質視覚野の表層の錐体細胞の樹状突起上で起きる抑制性シナプス(gephyrin puncta)と棘突起の動態変化を，in vivo で，２光子レーザー共焦点顕微鏡観察により明らかにした。樹状突起の幹にある抑制性シナプスと棘突起に存在する抑制性シナプスは，ノーマル時と片眼遮蔽時で可塑的動態が異なる事を見つけた。さらに，片眼遮蔽時には，近傍にある抑制性シナプスと棘突起は同様の変化をする事を見いだした。これは，近傍にある興奮性入力と抑制性入力が同様に変化する事を in vivo で示

したと考えている。また，in vivo 二光子観察で同定した gephyrin puncta が実際に抑制性シナプス結合である事を，電子顕微鏡を使った３次元再構築法で確認した。

皮質抑制性介在細胞ネットワークへの興奮性シナプス入力様式

大塚　岳，川口泰雄

皮質の主要な抑制性介在細胞である Fast-Spiking（FS）細胞は, 選択的に電気結合しサブネットワークを形成し, 異なる機能カラムを越えて拡がっていることが知られている。FS 細胞の活動がどのように制御されているのかを理解するために, FS 細胞サブネットワークへの錐体細胞からの興奮性シナプス入力についてラットの脳切片を用いて解析した。その結果，5 層内の錐体細胞から FS 細胞ペアへの共通入力確率は，電気結合している FS 細胞ペアにおいて高かった。次に，共通入力によって引き起こされる活動の FS 細胞ネットワーク内の伝播についてシミュレーションも併用して検討した。入力を受けた細胞の活動は，近傍にある FS 細胞には膜電位が脱分極時には抑制性として，また過分極時には興奮性として作用した。以上の結果から，FS 細胞ネットワークはネットワークの状態に依存して，錐体細胞によって局所的に制御されていることが示唆された。

初期軸索形成による大脳皮質興奮性細胞の分類

畠中由美子，服部宣子，川口泰雄

大脳皮質の興奮性神経細胞はそれぞれの層毎に特徴的な投射パターンを示す。これらの投射パターンの形成過程を明らかにするため，少数の細胞を標識して，その初期軸索形成過程を調べた。その結果，これら細胞は分化直後, 皮質板に移動する前に, 軸索形成を開始すること，伸長方向は内側，外側かのいずれかであることがわかった。また，その方向性は時期依存的であり，早期に分化した細胞は外側方向に伸長し，その後分化したものは内側に伸長した。深層では，外側と内側方向に投射する細胞が混在するが，５層の神経細胞を対象にこれら細胞の誕生時期を調べたところ，やはり外側投射が先に，内側投射細胞が後に分化のピークを迎えていることがわかった。以上のことから，大脳皮質興奮性神経細胞はその初期軸索形成から，早期に分化する外側投射とその後分化する内側投射細胞に２分されると考えられた。

ラット運動関連皮質の同定と脊髄投射多様性

植田禎史，川口泰雄

前頭皮質は齧歯類でも複数の部位からできているが，各領野の機能的同定や，皮質間結合則はあまり分かっていない。そのために先ず，運動関連領野を客観的に同定する方法を確立した。脊髄投射するラット前頭皮質は，皮質内微小電流刺激から低閾値で運動が引き起こされる一次運動野(M1)と引き起こされない二次運動野(M2)に分けられ，この運動誘発が異なる二領域はニューロフィラメントに対する免疫組織化学染色の違いで区別できた。二つの領野は M1 の運動マップに対応するトポグラフィックな投射で繋がっていた。皮質脊髄路細胞の脱分極発火応答はどちらの領野でも順応が弱く，最初にダブレット発火するタイプが多かった。一方，脊髄投射様式は二

領域で異なり, M1 の前肢・後肢部位がそれぞれ頚髄・腰髄へ脊髄投射するのに対して, M2 では部位によらず頚髄投射までしか見られなかった。M2 はより間接的に運動発現に関与する高次前頭皮質と考えられる。

脳波リズムと視床-皮質サブネットワークの活動解析

牛丸弥香，川口泰雄

大脳皮質ニューロンは睡眠中に脱分極 (Up)と過分極 (Down)を繰り返している。この皮質徐波は外部入力を遮断しても起きるので，皮質内で作られると想定されているが, Up を開始・持続・終了させる機構については未だに不明なことが多い。視床は多様な核から構成され, Up への関与が核ごとに異なる可能性がある。そこで徐波とニューロン発火の関係を視床核ごとに解析し，さらに視床へ投射する５層錐体細胞とも比較検討した。視床では機能が大きく異なると考えられる３つの核（VA/VM 核, VL 核，網様核）から記録を行った。その結果，次のことが分かった。(1) 視床細胞は，視床へ投射する錐体細胞よりも Up 内時期選択的に発火する。(2) 特に, VA/VM 核や網様核には Up 開始付近で選択的に発火するものがある。これらから，前頭皮質１層に投射する VA/VM 核が Up 開始に深く関わることが示唆された。

錐体細胞結合特異性を導入した前頭皮質・基底核の行動価値計算回路モデル

森田賢治（東京大学），森島美絵子，川口泰雄

動物が適切な行動を選択していくためには，各行動の価値を更新していく必要がある。価値変更の指示は，黒質ドーパミン細胞が行うと考えられるが，行動価値評価の計算を行う具体的な神経機構については不明である。基底核内結合は直接路・間接路とよばれる，ドーパミン細胞への影響が異なる二つの経路からなる。前頭皮質の両側線条体投射細胞（CCS 細胞）は両経路に入力するがより直接路を，一方，橋核投射細胞（CPn 細胞）はより間接路を興奮させることが示唆されている。今回, CCS・CPn 細胞が作る階層性反響回路と, CCS・CPn 細胞から基底核内経路入力の偏りをとり入れて，行動価値を計算する皮質基底核モデルを提案した。この回路モデルを使えば，状態・行動価値関数の時間差を計算することや，選択された行動の実行とその価値判断を並行して行うことが可能である。更に，うつ病などの精神疾患病態の理解にも適用できる可能性も示唆した。

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すすめている。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シング（機能的 MRI）と，時間分解能にすぐれた電気生理学的手法，更には眼球カメラや motion capture による定量的行動計測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。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を明らかにするため，３テスラ MRI 2 台を用いて，社会的相互作用時の 2 個体同時脳機能計測を行い，共同注意を始めとする共同作業の神経基盤をあきらかにしつつある。

二台の MRI 同時計測による共同注意の神経基盤の解明

田邊宏樹，小池耕彦，岡崎俊太朗，定藤規弘

視線を介した他者との相互作用は社会的インタラクションに不可欠な要素の１つであり，この基盤があって三項関係（自己ー他者ーモノ）である「共同注意」が可能となる。共同注意には，自己が視線などを用いて他者と同一のモノやイベントに対し注意を共有する主導的共同注意(IJA)と，他者が発する視線などの情報を読み取り他者との注意の共有を図る応答的共同注意(RJA)があり，その神経基盤の異同の描出に関する研究を昨年より取り組んできた。解析の結果，IJA と RJA に共通する活動として右下前頭回(IFG)を含む複数の領域が確認された。さらにこの右**IFG**は特定の相手との見つめ合いによって両者の脳活動が同期する領域にも含まれており，目を使った共同注意に特に重要な意味を持つことが示唆された。

視覚脱失が線条体外身体領域の形成に与える影響

北田　亮，吉原一文（九州大学病院心療内科），佐々木章宏（大阪市立大学大学院 医学研究科），
橋口真帆，河内山隆紀（ATR promotions），定藤規弘

高次視覚野には体部位に対し選択的に強く活動する領域（線条体外身体領域, EBA)が存在する。晴眼者の EBA は触覚を用いて認識した体部位に対しても選択性を示すことを応用し，視覚脱失が EBA の形成に与える影響を検討した。視覚障害者が物体模型（身体部位・車・急須）を識別しているときの脳活動を fMRI で測定した。背側部の体部位選択性は失明年齢と無関係であり，晴眼者と差がなかった。腹側部は失明年齢に正相関した体部位選択性を示し，中後頭回では失明年齢によらず体部位選択性が失われていた。これらの結果は，EBA は視覚経験に依存する領域と依存しない領域から形成されていることを示している。

共感的喜びに伴う援助行動の神経基盤

川道拓東，田邊宏樹，高橋陽香，吉原一文，松永昌広，定藤規弘

困窮した他者の状況を改善する援助行動は，重要な社会能力の一つである。この援助行動の動因を調べるために，我々は，２名の男女の実験参加者が他の２名との間で仮想のボールをトスする課題を課した。この際に，実験参加者とは異性の他者がトスから排斥される状況を実験的操作により作り出した。二台の fMRI を用いた実験により，排斥されたプレーヤへのトスの増加が見られるとともに報酬系の一部である線条体が有意に賦活することを見いだした。さらに，この報酬系の活動がどのような心理的機構によるのかを調べるために，トス課題の前後に自身の気分のポジティブ度合いを評定する心理的実験を実施した。結果として，他者を助ける際には，援助者の心理的状況が改善することを確認した。これらの結果から，他者援助時の報酬系の活動が，他者の心的状況の改善を予想し，これに共感するという共感的喜びによるものであるということを示した。

幸福感の神経基盤

松永昌宏，川道拓東，小池耕彦，吉原一文，吉田優美子，
高橋陽香，中川恵理，定藤規弘

幸福には，経験した出来事に依存する短期的な幸福感（状態幸福感）と，出来事に依存しない比較的安定した幸福感（特性幸福感）の２つの側面がある。これらは相互に関連することが示されているが，その神経基盤は明らかではなかった。本研究では，状態幸福感の神経基盤を機能的 MRI を用いて，特性幸福感の神経基盤を構造的 MRI を用いて明らかにし，両者の関係の神経基盤を明らかにすることを試みた。その結果，状態幸福感は吻側前部帯状回の活性化に，特性幸福感は吻側前部帯状回の灰白質体積に表象されることが示された。また，吻側前部帯状回の灰白質体積が大きいほど吻側前部帯状回が強く活性化することが明らかとなった。これらの結果より，状態幸福感と特性幸福感の関連は吻側前部帯状回の活性化と灰白質体積との関連で説明できることが分かった。

恐怖刺激による交感神経活動の変化に関連する脳内機序（第 2 報）

吉原一文，田邊宏樹（名古屋大学），川道拓東，小池耕彦，
山﨑未花（福井大学），定藤規弘

昨年度の研究活動報告（第 1 報）において私たちは，恐怖刺激による交感神経活動の亢進に関連する脳内機序として，扁桃体と前帯状皮質や島皮質との機能的結合性が増強することを報告した。しかし，主観的な恐怖の程度に依存して，それらの結合性が増強するかどうかはわかっていない。そこで，本研究では被験者がホラー映像を視聴している時の脳活動を MRI を用いて調べ, 同時に指先の体温を測定した。MRI の撮像後は，映像を再度 3 秒毎に視聴し，最初に視聴した時に感じた恐怖感を評定してもらった。その結果，左扁桃体の活動と恐怖感の評定の交互作用のある脳領域として前帯状皮質が同定された。また，恐怖感の評定が小さい時と比較して大きい時に，左扁桃体と前帯状皮質との機能的結合性が増強することが明らかとなった。これらの結果より，恐怖の程度が大きくなる程，左扁桃体と前帯状皮質との機能的結合性が増強し, 交感神経活動が亢進することが示唆された。

コミュニケーションの記憶：二者間の同期的脳活動からの研究

小池耕彦，田邊宏樹，岡崎俊太郎，中川恵理，島田浩二，佐々木章宏，高橋陽香，吉原一文，
Jorge Bosch Bayard（Cuban Neuroscience Center），定藤規弘

他者とのコミュニケーションの経験は，「我々」という感覚の構築に影響を与えていると考えられるが，その神経基盤は，「我々」という感覚 を共 有している二者を一つの系として考えなければ理解できない。オンラインでお互いの顔を見合うことができる二台の fMRI 同時計測系を用い て，二者間の同期的脳活動という観点から，コミュニケーションの記憶の神経基盤を検討した。二者が初対面の状態であっても，互いに見合っている場合，二者の右中側頭回(MTG)での間で活動の相関が見られた。次に実験参加者に，視線でパートナーとコミュニケーションを取る共同注意課題をおこなわせ，その後，同じペアでもう一度みつめあいをさせると, 活動の相関は MTG のみならず右下前頭回(IFG)まで伸展した。この結果は，二者が共同作業をおこなったという，相手特異的なある種の記憶は，二者の IFG 間での同期的な脳活動として保持されていることを意味している。

第二言語の単語意味処理に及ぼす第二言語習熟度の影響：機能的 MRI 研究

牧田　快，大石晴美（岐阜聖徳学園大学教育学部），木下　徹（名古屋大学大学院国際開発研究部），
島田浩二，中川恵理（神戸大学），定藤規弘

有能な読み手は，認知的な努力を伴わない自動的な意味理解が可能である。母語におけるこのような現象が，第二言語（L2）においてはその習熟度を反映するものと想定して，その神経基盤を明らかにするために，機能的 MRI 実験を行った。日本語（母語）或いは英語（L2）の書字単語が画面上に２つ順番に提示された。先行語の 500 ms 提示後, 200 ms の間隔をおいて, 後続語が 1800 ms 提示された。課題は，先行語を無視して，後続語に対してのみ，それが生物であるか非生物であるかを判断することであった。先行語提示と後続語提示に関連する神経活動を計測したところ，それらに共通して左下前頭野に L2 特異的な賦活が見られ，先行語の処理中にのみ左下前頭野の賦活と L2 習熟度の間に正の相関を確認した。意味判断が課されていない，かつ呈示時間がより短い先行語の処理においてのみ相関が見られること，左下前頭野は音韻変換に関与することから，本結果は L2 習熟度上昇に伴って音韻変換を含む認知過程の自動化が進むことを反映していることが示唆された。

自他認識に関わる随伴性認知の神経基盤

佐々木章宏，北田　亮，岡本悠子，定藤規弘

社会性の発達にとって自己行為と他者の反応との間の因果関係（社会的随伴性）を認知する能力は重要である。随伴性の認知は自己行為とそのフィードバックの比較により行われ，当初は行為の自己主体感の認知に関与するが，発達に伴い社会的随伴性の認知にも関与すると考えられる。本研究では自己主体感と社会的随伴性認知に関わる神経基盤を機能的 MRI により検討した。被験者は MRI 撮像中に手指運動を行い，自己又は他者の動作を視覚フィードバックとして観察した。視覚フィードバックは動作の内容（一致，不一致）と呈示のタイミング（遅延なし，遅延あり）を変えて呈示した。脳機能計測の結果，左下前頭回は自己動作の呈示時には動作が同じで，遅延がない時に強く活動する一方で，他者動作の呈示時には動作が同じであるが，遅延がある時に強い活動を示した。このことから左下前頭回が動作の自己主体感と社会的随伴性認知の両方に関与することが示唆された。

予告効果の神経基盤：機能的 MRI 研究

吉田優美子，田邊宏樹，林　正道，川道拓東，河内山隆紀（国際電気通信基礎技術研究所），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）。先行研究により，予告効果には注意が関与すること，その効果は運動系の活動に関連することが示唆されていたが，その詳細は不明であった。本研究では予告刺激による局所脳活動が，ターゲット刺激提示による活動にどのように影響するかに着目し，機能的 MRI を用いて予告効果に関わる神経基盤を検証した。予告刺激によりターゲット刺激に対する反応時間は短縮し，右半球の注意関連領域とともに前補足運動野と左一次運動野の活動が増強した。それに対応してターゲット刺激による前補足運動野と左一次運動野の活動は減弱した。この結果から，予告効果は，予告刺激の惹起する注意が前補足運動野と左一次運動野の活動を増強し，続くターゲット刺激により引き起こされる運動の準備や選択を促通することによって引き起こされる，と解釈された。

小学生の技能学習後の睡眠時間と技能定着との関連性

菅原　翔（日本学術振興会特別研究員），田中悟志（名古屋工業大学），田中大介（鳥取大学）
関あゆみ（鳥取大学），内山仁志（国際健康福祉大学），岡崎俊太郎，小枝達也（鳥取大学），定藤規弘

睡眠は成人において，ある種の技能の固定化に資する事が多くの研究で示されている。一方で，子どもにおいては睡眠と技能固定化の関連は未だ議論の余地がある。そこで，睡眠との関連が成人においてよく知られている offline improvement という現象に着目し, 練習後の睡眠時間と offline improvement との相関関係を小学生において検討した。24 名の小学生 (9-11 歳) が 2 日間連続した実験に参加し，1 日目に sequential finger-tapping の練習を行った。その後，保護者に協力してもらい練習後の睡眠時間を観察によって記録した。翌日，再び実験室にて前日練習した運動技能を再生してもらった。結果として，練習終了時に比べ再生時の成績は有意に高く，練習後の睡眠時間と offline improvement の程度には有意な正の相関関係があることが示された。これらの結果は，子どもにおいても練習後の睡眠はある種の運動技能の固定化と関連することを示唆するものである。

外国語運用能力の熟達に伴う音韻処理の効率化に関与する神経基盤

島田浩二，横川博一（神戸大学），吉田晴世（大阪教育大学），牧田　快
山﨑未花（福井大学），田邊宏樹（名古屋大学），定藤規弘

外国語学習者は，音読や復唱をするときに，単なる文字列や音列を単語の音韻情報に基づき構造化し，それぞれの単語を発話しなければならない。その音韻情報処理は，学習や練習によって，正確かつ流暢に行うことができるようになると考えられる。本研究では，外国語運用能力の熟達に伴う音韻処理の効率化に関与する神経基盤を明らかにするため，fMRI 実験を行った。日本人英語学習者を対象に英語運用能力テストの成績（熟達レベル）に応じて 3 群（低，中，高）に区分し，音読と復唱課題を遂行中の脳活動を計測した。その結果，音読と復唱課題の両方において，左半球の下頭頂領域の活動に群間差があり，熟達レベルの上昇に伴う脳活動の減少が明らかになった。この結果は，外国語運用能力の熟達に伴う音韻処理の認知的負荷の低下を反映し，音韻処理の効率化が左下頭頂領域の脳機能の効率化によって表象されていることを示唆している。

涙が悲しみ理解に及ぼす影響とその神経基盤

高橋陽香，北田　亮，佐々木章宏，川道拓東，定藤規弘

他者の感情を理解すること（共感）は，対人関係の構築に不可欠である。感情の理解には，顔表情に基づく情動的共感(emotional empathy)のみならず, それ以外の社会的情報による認知的判断が影響する（認知的共感：cognitive empathy)と想定されている。本研究では社会的情報の一種である涙が悲しみ理解に及ぼす影響とその神経基盤を，fMRI を用いて検討した。参加者は，涙有り表情，及びこの表情から涙を除いた涙無し表情を観察し，悲しみの程度を評定した。その結果，涙有り表情は涙無し表情より悲しいと評定された。課題に関連した脳活動においては，悲しみ表情の主効果は内側眼窩前頭皮質，涙の主効果は両側後部上側頭溝に見られた。これらの領域間の機能的結合を psycho-physiological interaction という手法を用いて解析したところ，内側眼窩前頭野と左後部上側頭溝の神経活動の相関が，表情の悲しみの増加に伴い特異的に増強することが判明した。前者は感情評定

に，後者は心の理論に関連しているとされていることから，本結果は，認知的共感が複数領域の機能的結合により表象されることを示唆する。

心理的な時間感覚伸縮の神経メカニズム

橋口真帆，原田宗子，小池耕彦，岡崎俊太郎，守田知代（大阪大学大学院），定藤規弘

我々は，自己の内的・外的な状態によって心理的な時間感覚の伸縮が生じるように感じる。これまでに，多くの心理学実験により，恐怖画像は呈示時間の見積もりを長く感じさせることが示されている。近年，脳機能イメージング法を用い，時間感覚の伸縮メカニズムの解明が試みられている。しかしながら，自己の内的状態の影響により心理的な時間感覚の伸縮する場合の神経メカニズムには不明な点が多い。本研究は，自己の内的状態の 1 つである情動に注目し，心理的な時間感覚が伸縮する神経メカニズムの解明を目指す。昨年度は，時間感覚伸縮の定量的評価手法の確立と呈示刺激の選定を目的とした心理実験を行った。しかしながら，今回選択した情動喚起画像は慣れの効果が大きく，そのために心理的な時間感覚の伸縮は認められなかった。これより，情動喚起のための刺激を変更する必要があると思われた。

日本人英語学習者の L2 文産出時における統語的プライミング効果

中川恵理（神戸大学大学院），横川博一（神戸大学），小池耕彦，牧田　快，島田浩二，定藤規弘

人は直前に接触した文と同じ統語構造を持つ文を繰り返し使用する傾向があり，これは統語的プライミング(SP)効果と呼ばれている。母語話者では，同一の構造を持つ文に繰り返し接触することにより，左下前頭回等の文法処理に関わる脳領域の活動が低下することが明らかになっている。日本人英語学習者における同効果とその熟達度依存性を明らかにするため，機能的 MRI を用いた SP 実験を実施した。実験参加者は連続して表示される絵の内容を英語で表現した。その結果，同一構文を連続して産出する場合には反応時間が短縮され，直前に統語的な処理を行っている場合には左下前頭回，左補足運動野，両側の上頭頂小葉及び視覚領域における活動が低下することが明らかになった。また，SP 効果には熟達度依存性がある傾向が示された。この結果は，統語処理を繰り返すことにより英文産出の自動化が促進される可能性が示唆している。

発達生理学研究系

認知行動発達機構研究部門

【概要】

平成２４年度，認知行動発達機構研究部門では，７月から年度末を越えて耐震改修工事のために地下の電子顕微鏡室に動物実験室を移動，また居室や組織学実験室は２階の工事が既に終わっている部分に一時的に移動することを余儀なくされたが，そのような環境下においても最大限の努力をして研究を停滞させないように努力した。脳科学戦略推進プログラムの最終年度を迎えた。課題Ｃ「独創性の高いモデル動物の開発」では，京都大学，福島県立医科大学との共同で進めてきた「ウィルスベクター２重感染法による経路選択的・可逆的神経伝達遮断法」をサルに適用し，脊髄固有ニューロン系が手指の精密把持運動の制御に関与することを示した論文がNature誌に発表された。また，課題Ａ「ブレイン・マシーン・インターフェースの開発」では，人工神経接続技術の開発や，皮質脳波（ECoG）電極で記録された信号から上肢筋の筋電図活動を推定する手法の開発などで成果が見られた。

一方，米国南カリフォルニア大学，カナダ・クイーンズ大学と共同で進めてきた，長時間のビデオクリップを見ている際の片側盲視サルの膨大な数の自発性の眼球サッケード運動を解析し，自然な視覚環境下における盲視のサリエンシー検出機構を解析した研究が Current Biology 誌に発表された。

また，西村幸男准教授が文部科学大臣表彰・若手賞を受賞した。また，小川正晃博士が米国マサチューセッツ工科大学より特任助教として着任した。

第一次視覚野損傷ザルにおけるサリエンシーに基づいた視覚探索

吉田正俊，高浦加奈，加藤利佳子，池田琢朗，伊佐　正

マカクザルの第一次視覚野(V1)を除去して作成した盲視動物モデルを用いて，実験室での特殊な視覚刺激条件ではなく，日常生活のシーンの中でも，そうした盲視現象が生じるかどうかを，日常生活シーンの映像を利用して検証した。日常生活シーンの映像から，「動き」「明るさ」「色（赤―緑）」「色（青―黄）」「傾き」に関わる視覚情報の特徴を分析し，その映像を見ている時の視覚障害サルの目の動きとの比較が行われた。その結果，特に見えないはずの視野の中でも，「動き」「明るさ」「色」で目立つ部分には目を向けることができることが判明した。つまり，見えていないはずなのに，目の動きを見るだけで無意識にどこに注意を向けているのかを検証できることがわかった。正常のサルと視覚障害の盲視のサルの目の動きを比較したところ，盲視のサルでも「動き」「明るさ」「色（赤―緑）」の画像特徴を認識して，そこに目を向けることが判明。一方で，「傾き」については，盲視のサルでは注視しないこともわかった。これらのことは，サリエンシーの処理が第一次視覚野のみに依存しているわけではないことを示唆している。

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 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 NpHR を発現させたニューロンに光照射することで，スパイク活動を抑制できる過分極応答を起こすことが報告された。

我々はサルの手指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，短期的な適応について調べることを目指している。

前年度までにアデノ随伴ウイルスを用いてマカクザル大脳皮質一次運動野(M1)のニューロンに改変型 NpHR を導入し，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つつ光照射を行うことで，運動に関連した M1 スパイク活動を抑制することができた。

本年度はさらに改良したウイルスベクターを用い, M1 への光照射による筋電活動での効果を確認することができ，光遺伝学的手法を用いたサルの行動制御への可能性が示された。

皮質表面電位(ECoG)と皮質内局所電位(LFP)によるサル上腕運動の推定精度の比較

渡辺秀典，佐藤雅昭（ATR），南部　篤，西村幸男，川人光男（ATR），伊佐　正

硬膜下皮質電位（ECoG）は低侵襲の神経活動記録手法として注目されている。我々は回帰分析を使って ECoG から筋電位活動を推定することで ECoG に運動情報が含まれることを示唆した。一方で皮質内局所電位（LFP）は高侵襲であるが実質的な神経活動の情報を反映させている。そこで回帰分析を用いてサル到達把持運動時の皮質表面電位（ECoG）と一次運動野の皮質内局所電位（LFP）から 10 種の上腕運動と 12 筋電の推定精度を比較した。その結果 LFP と LFP 電極近位の ECoG からの推定精度は同程度であった（運動推定; LFP: R=0.79-0.43, ECoG: R=0.79-0.58, 筋電推定; LFP: R=0.79-0.48, ECoG: R=0.83-0.45）。また LFP よりも有意に推定精度が高い ECoG は運動と筋電共に一次運動野または体性感覚野から記録された。本結果は上腕運動について ECoG は LFP と同等の推定を可能にすることを示唆する。

意識に上らない視覚刺激による新しい行動の獲得過程 :「盲視」モデルサルにおける強化学習

加藤利佳子，高桑徳宏，　伊佐　正
Abdelhafid Zeghbib, Peter Redgrave（University of Sheffield）

本研究では意識に上らない視覚情報を手がかりとして，報酬を得るのに有利な新しい行動を学習できるかを明らかにすることを目的とし,「盲視」のモデル動物である片側 V1 損傷サルを用い，その障害視野に手がかり刺激を提示することにより，意識に上らない視覚刺激による学習過程の観察を試みた。学習課題としては，モリスの水迷路に代表される空間内の特定領域の探索を行う課題を設定した。結果，２頭の片側 V1 損傷サルにおいて，探し出すべき特定領域の手がかりとなる視覚刺激を障害視野に提示した場合も，健常視野に提示した場合と同様に試行数に伴った探索時間に顕著な短縮が見られた。これらの結果から, V1 損傷による障害視野に提示された視覚刺激を条件刺激が行動学習における二次強化子として働くことが明らかになり，意識に上らない視覚刺激による強化学習が可能であることが示唆された。

感覚フィードバック型 BMI の実現

梅田達也，伊佐　正，西村幸男

電気刺激を後根神経節（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。覚醒下のサルからの DRG 記録の解析を引き続き行っている。

2 つのマルチ電極アレイをサルの C7/8 の DRG に挿入し，自発的な到達運動におけるニューロン応答を記録した。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。14-16 個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/腕の運動軌跡を DRG ニューロン集団の発火パターンから高い確度で算出する事ができた。また，sparse regression を用いて，上肢運動軌道から刺激パターンを推定することができた。

In vivo 2 光子イメージングによる上丘視覚情報処理機構の解明

笠井昌俊，伊佐　正

上丘は視覚情報を変換し眼球運動情報に変換する際に鍵となる重要な神経核である。上丘の生理機能と局所神経回路を理解する際，in vivo で多数の細胞がいかに振舞うかを知ることは不可欠であり，近年発達してきた 2 光子顕微鏡を用いたカルシウムイメージング法はこれを可能にする方法である。しかしこれまでにこの方法を上丘に適用し生理的な応答を記録した例はなかった。今回我々は，上丘から 2 光子カルシウムイメージングをおこない，視覚刺激に応じた神経細胞の集団の活動を記録することに成功した。

さらに，視覚刺激のサイズを様々変化させると，刺激サイズが大きい場合は，刺激サイズが小さい場合に比べ，受容野の中心にあたる細胞の活動が減少することを確認した。これまでに脳スライス標本と電気刺激を組み合わせた研究で，上丘内の局所神経回路による側方抑制が示唆されているが，本研究の結果は，実際に視覚刺激によっても，上丘において側方抑制が働いていることを示唆している。

神経活動に依存した刺激による四肢の随意運動制御

笹田周作，加藤健治，西村幸男
ステファン J グロイス，門脇　傑，宇川義一（福島県立医科大学医学部）
小宮山伴与志（千葉大学教育学部）

本研究は上肢筋の随意筋活動により制御される連発磁気刺激を脊髄の歩行中枢へ行う事により上肢筋－腰髄間の人工神経経路を形成し “随意歩行” の再建を目指している。平成 24 年度に得られた成果は以下の 2 点である。

(1)歩行の誘発に最適な脊髄磁気刺激部位 : 随意的に制御された脊髄磁気刺激により誘発される歩行運動は刺激コイルの中心が腰椎第 1－第 2 椎間, 及び第 2－第 3 椎間に位置した場合，歩行運動を高確率（15 名中 12 名）で誘発出来る事を明らかにした。さらにこれらの椎間レベルで誘発される歩行運動パターンは，刺激コイルの中心が正中線よりも右方に位置した場合，右足が前方，左足が後方へ振り出される運動が誘発され，コイルが正中線よりも左方へ位置した場合，その誘発される運動方向は反対になった。これらの結果は歩行運動パターンを形成

する神経回路網が少なくとも 2 種類存在することを示している。この成果は，患者さんの残存する機能に合わせて刺激部位を変更することで，随意的な歩行運動を促進出来る可能性がある。

(2)上肢筋－腰髄間の人工神経接続による立位歩行：上肢筋―腰髄間の人工神経接続を免苛立位姿勢で適用することにより，刺激により随意制御された歩行運動で前方へ移動することに成功した（健常被験者 2 名）。これは脊髄損傷患者さんでも免苛することで人工神経接続を使用して自身の足で前に進むことが出来る可能性を示す結果である。

脳梗塞モデルサルにおける大脳皮質-筋間の人工神経接続による運動機能の再建

加藤健治，澤田真寛，西村幸男

脳梗塞や脊髄損傷後の運動麻痺は，皮質脊髄路の障害に起因する。しかしながら，損傷上位の大脳皮質や，下位の脊髄・末梢神経・筋等の機能は残存しており，残存した神経構造間で人工神経接続することで，失った運動機能を再建できる可能性がある。本研究では，脳梗塞モデルサルを用いて，大脳皮質から記録された脳活動依存的な電気刺激を筋へ送ることで，いわば「大脳皮質－筋間の人工神経接続」を形成し，失った上肢運動制御を再建できるかどうか検討した。人工神経接続は，以下のパラダイムで構成される。(i) 大脳皮質運動関連領野に留置した 45 極の ECoG より任意の 1 極を選び，そこから記録された脳活動を，運動関連周波数帯域 (high-γ 帯域：80-120 Hz) でフィルタリングする。(ii) high-γ 帯域脳活動における特徴的波形を検出し，検出波形頻度に応じて筋への電気刺激の強度と周波数を調整する。

人工神経接続後，サルは自らの脳活動を変化させながら電気刺激を反復的に増幅・減少させ，随意的に麻痺した筋を運動制御することができた。人工神経接続を施した 25 分間で，手首の力制御タスクのパフォーマンスは有意に向上し，サルが自ら人工神経接続に対して学習できることが明らかになった。また，人工神経接続に対する入力信号は，運動前野，一次運動野，一次体性感覚野のどの領域に対しても，自己学習が成立した。これらの結果は，サルが自ら脳活動を変化させて大脳皮質⇒筋間の人工神経接続を学習することで，失った手首運動機能の随意制御を再建できることを示唆している。

意識に昇らない視覚刺激による連合学習

高桑徳宏，加藤利佳子，Peter Redgrave（University of Sheffield），伊佐　正

動物は報酬を得るためにその手がかりとなる情報と報酬との関係を頻繁に学習している。この学習は連合学習と呼ばれている。一方，人間がとる行動の中には無意識に行われているものが多数含まれている。しかし，意識に上らない知覚情報によって連合学習が起こり得るか，また起こり得る場合のその神経機構はまだ明らかでない。

そこで，本研究では，片側第一次視覚野を損傷したサルの障害視野内に報酬を予告する視覚刺激(CS)を提示することで，意識に上らない視覚刺激とその刺激と組み合わさった報酬の関連を学習させた。そして，この CS をもとに，それに適した行動(licking:報酬の出るチューブを舐め始める行動）を予測的に行うようになるかを検証した。

その結果，２頭の片側第一次視覚野の障害視野内に提示される視覚刺激は，連合学習において報酬を予測させる条件刺激として機能することを示すことができた。また直後の多量の報酬を予測させる刺激と遅れて与えられる少量の報酬を予測させる刺激を入れ替えた場合にも逆転学習が観察された。これらの結果は，意識に上らない知覚情報によって連合学習が起こり得ることを示唆している。

運動機能回復を支えるモチベーションの神経基盤

澤田真寛，加藤健治，尾上浩隆（理化学研究所），伊佐　正，西村幸男

脳，脊髄損傷の患者は四肢の運動麻痺だけでなく，抑うつ症状を併発することがしばしば見られ，うつ症状によるモチベーションの減退は運動機能回復を妨げることが報告されている。しかしながら，その機能回復を支えるモチベーションの神経機序について未だ不明である。近年，われわれは脊髄損傷の回復程度に依存して，モチベーションに関与しているとされている腹側線条体（VSt）と大脳皮質運動野（M1）間の機能的神経結合が増強することを見いだした。また，脊髄損傷後の VSt の不活性化によって，一度回復した手指の巧緻性がふたたび障害されることを見出した。VSt から脊髄への直接投射は報告されていないため，これらのことから VSt が M1 の活動に対して影響を及ぼしているのではないかという疑問が生じる。これを検証するため，1 頭のサルにおいて脊髄損傷後の機能回復過程のさまざまな時期において VSt を不活性化すると同時に，運動関連皮質の皮質脳波を測定した。脊髄損傷の前では，VSt を不活性化しても M1 活動，手指の巧緻性ともに影響はみられなかった。しかし，手指の巧緻性が回復しはじめた脊髄損傷 2 週間後において VSt を不活性化したところ，一度回復した手指の巧緻性が障害されることを見出した。同時に運動時の皮質脳波において 120Hz 以上の周波数成分の減弱と，80Hz から 120Hz の成分の増強がみられた。このことは，VSt は脊髄損傷の回復期において，運動関連皮質の脳活動を制御し，運動機能の回復に貢献していることを示唆している。

サル皮質脊髄路損傷後の手指巧緻性回復における脊髄固有ニューロンの寄与の検証

當山峰道，伊佐　正，木下正治，
松井亮介，渡邉　大（京都大学），
加藤茂樹，小林和人（福島県立医科大学）

マカクザルには，大脳皮質一次運動野から脊髄運動ニューロンへの下行路として，直接経路と頚髄中部に存在する脊髄介在ニューロン（PNs）を介した間接経路の少なくとも 2 つが存在する。この内系統発生的に新しい直接経路が手指巧緻性に重要であると考えられてきた。しかし皮質脊髄路を第 5 頚髄で切断しても 1-3 ヶ月後には精密把持は回復する一方，第 2 頚髄で切断すると回復しなかった。この結果から，手指巧緻性の回復に PNs を介する間接経路の寄与が示唆されていた。そこで我々は，第 5 頚髄で皮質脊髄路を損傷したサル 1 頭に対して，ウイルスベクター2 重感染法により PNs に選択的に遺伝子導入を行い，破傷風毒素を発現させることでその神経伝達を阻害した（Kinoshita et al. Nature, 2012）。すると，精密把持は 4 ヶ月半経っても回復しなかった。これより PNs が皮質脊髄路損傷後の手指巧緻性回復に寄与することが示唆された。

歯髄幹細胞を用いた脊髄損傷に対する再生治療研究

加納史也，山本朗仁（名古屋大学）
伊佐　正，西村幸男

我々は歯髄幹細胞が神経分化能の高い事に着目し，脊髄損傷などの神経変成疾患などへの治療応用のため研究を，げっ歯類で行ってきた。本研究は前臨床研究として，ヒトと同じ解剖・生理・行動学的特徴を有するマカクサ

ルを用いて，頸髄 C5 での脊髄半切モデルに歯髄幹細胞移植を行い，移植群と非移植群で，その機能回復機序を解明するために，行動および解剖学的，組織学的評価，生理学的評価の比較検討を行った。移植群の損傷範囲が大きかったにも関わらず回復が良好であった。理由として，一旦切断された皮質脊髄路線維が損傷部位を越えて再生し，損傷部より尾側の脊髄神経回路に影響を与えるようになった可能性が考えられる。損傷後，機能回復に差が出るのに 2 カ月程度の時間を要したが，理由のひとつとして，このように損傷部位を越えて再生した軸索が下部頸髄まで達して回路を再編するのに時間がかかった可能性が考えられる。今回の結果で，霊長類の脊髄損傷に対する歯髄幹細胞の再生効果を及ぼす可能性が示唆された。この解析結果は，歯髄幹細胞がヒト脊髄損傷の治療に有用であることを示唆している。

マウス上丘－脳幹網様体経路におけるウィルス 2 重感染法を用いた選択的可逆的遮断法の解析

Thongchai Sooksawate（Chulalongkorn Univ.）
松井亮介，渡邊　大（京都大学医学系研究科）
加藤成樹，小林和人（福島県立医科大学）
木下正治，小林憲太，伊佐かおる，伊佐　正

昨年度我々はマカクサルにおいて，ウィルス 2 重感染法による経路選択的・可逆的な神経経路の遮断法によって脊髄の特定の介在ニューロン系の機能を阻害し，精密把持運動の影響を与えることに成功した。この技術は，神経回路機能の研究に有用なツールであると考えられるので，詳細な条件検討及び他の動物種や経路における有用性を確認するため，マウスを用いて詳細な技術的検討を行うことにした。今回，頭部を視覚刺激に向ける指向運動を制御する上丘-脳幹網様体の経路においてこのウィルス 2 重感染法によりシナプス伝達を遮断し，解析した。

改変型緑色蛍光タンパク質(GFP）と改変型テタヌストキシンを符号する遺伝子を，tetracycline response element 調節下に組み込み神経細胞特異的な逆行性ウィルス(NeuRet)に搭載し，標的とする細胞の投射先である左内側橋・延髄網様体に注入した。また，細胞体がある右側の上丘中間層深層には，増強型 Tet-ON 配列 rtTAV16 を搭載したアデノ随伴ウィルスベクターを注入した。5 週間後，ドキシサイクリン(Dox)を投与すると，左側への指向運動が障害され，上丘で GFP 陽性細胞が確認できた。さらに Dox 投与を一旦中止し 4 週間後に再開すると，この指向運動の障害が再び観察された。一方，抗 GFP 抗体の免疫組織学的反応により，破傷風毒素を発現していた細胞を可視化して観察したところ，それらは，Dox 開始後 3 日目にピークになり，投与期間中は持続。終了後は 4 週間後に消失していた。そして，抗 GFP 抗体の免疫組織化学では標識神経細胞全体が投射先末端部までトレースできた。以上の結果から本法がマウスでも使用可能であることと，Dox 投与中，投与後の破傷風毒素発現の時間経過が明らかになった。

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) フェムト秒パスル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。これらの技術を利用して，慢性疼痛時における大脳皮質感覚野神経回路の変化を検討するために，シナプスの長期変化の観察およびグリアの関与の解明を行っている。また，急性脳梗塞後の回復期における神経回路再編の検討のために，ペナンブラ領域におけるシナプス再編の可視化を行っている。加えて，各種グリア細胞のシナプス再編への制御について検討を行っている。2) 発達期や傷害後にダイナミックに変化して，活動回路の制御に重要な GABA 作動性回路の変化について。２つの観点から検討を加えている。一つは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。加えて，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，本年度中に石橋仁准教授が北里大学医療系研究科教授に，江藤圭研究員が米国ノースカロライナ大学研究員に，平尾顕三研究員が理化学研究所研究員に，加藤剛助教が佐賀厚生病院に転出した。一方，３名の大学院博士後期課程の大学院生が加わった。

虚血脳障害後回復期における神経回路再編と制御機構の解明

高鶴裕介（群馬大学），中村佳代，鍋倉淳一

急性脳障害の回復期には脳機能の大きな変化が観察される。その背景にある神経回路の長期変化を理解するために，脳虚血モデルマウスを用いて，ペナンブラと対側半球の相同領域における神経回路再編を検討するために，同部位へ２光子励起顕微鏡を適用している。特に，障害と対側半球の相同領域において，障害早期にアストロサイトの活動が上昇していることが判明した。さらに，このアストロサイトの活動とシナプス再編が亢進している時期が一致しているため，回復期におけるアストロサイト活動の亢進が，障害と対側半球の相同領域に代償回路が構築されるのに必要で或る可能性が示唆される。

現在，脳梗塞後の長期的な神経回路再編と機能回復の関連を検討するために，慢性障害モデルマウスの行動評価基準の構築を行っている。

In Vivo 多光子顕微鏡を用いたミクログリア・アストロサイトによる大脳皮質神経回路再編機構の解析

和気弘明（基生研），宮本愛喜子，加藤　剛，穐吉亮平，鍋倉淳一

近年グリアが大脳皮質興奮性シナプスの可塑的変化において重要な役割を果たしている可能性が明らかなってきている。今回，グリア細胞と神経回路長期再編について，主に２光子励起顕微鏡を用いて検討を加えている。発達期における神経回路再編について，回路形成の臨界期前後におけるミクログリアの挙動様式を観察する目的にて，幼若期の大脳皮質錐体細胞とミクログリア細胞の 2 光子顕微鏡法による同時可視化に成功した。ミクログリアの樹状突起への接触によりフィロポディアの形成が誘発されることを生体リアルタイムイメージング法を用いて観察した。さらに，ジフテリアトキシンをミクログリアに発達時期特異的に発現させ，ミクログリア細胞の

大部分を生後１週後期に死滅させると大脳皮質体性感覚野におけるシナプス数の減少が観察され，ミクログリアによるシナプス新生という新たな機能を見出した。また，ミクログリアによる障害神経細胞の軸索のラッピングにより神経細胞の膜電位の過剰脱分極から静止膜電位への戻ることが明らかになり，ミクログリアのよる障害細胞への接触は過剰興奮による細胞死の抑制作用を示していることが判明した。加えて，オリゴデンドロサイトによる神経細胞活動の同調性調節について，オリコデンドロサイト発現蛋白異常遺伝子改変マウスにレバー引き学習行動タスクを用いて検討を開始した。

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（Kyung Hee Univeristy），江藤　圭，稲田浩之，石川達也，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学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。さらに，大脳皮質神経回路再編時にはアストロサイトの活動が亢進していることが判明し，アストロサイトによるシナプス再編の関与について検討を開始した。また，障害末梢側と同側大脳皮質においてもアストロサイト活動が上昇していることが判明し，同部位におけるシナプス再編とミラーペインなどの行動評価を検討している。

細胞内 Cl^- 制御分子 KCC2 の発現制御と生体機能

Andrew Moorhouse，鍋倉淳一

未熟期および虚血や痙攣時に 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。ドキシサイクリンにより KCC2 発現をコントロール可能な tetO マウスを作成し，CAMK2-TTA マウスと交配し，大脳皮質および海馬錐体細胞における KCC2 の発現をコントロール化の可能なマウスを作成した。現在，痙攣モデル動物を用いて，KCC2 強制発現により痙攣の軽減が可能なのか検討を加えている。

伝達物質のスイッチングのメカニズムと細胞応答

中畑義久，石橋　仁，鍋倉淳一

我々はラットおよびマウス聴覚中継路核である外側上オリーブ核に内側台形体核から入力する伝達物質自体が未熟期の GABA から成熟期のグリシンに単一終末部内で発達変化することを報告した。この伝達物質のスイッチングは脊髄など他の中枢神経系の部位でも報告されているが，単一神経終末部から GABA とグリシンのどちらが放出されるかなど，その制御機構は十分には明らかになっていなかった。本研究課題では，脊髄および海馬の培養ニューロンを用いて，GABA およびグリシンを放出する機構を解明することを目的としている。本年度は，神経回路活動が上昇すると，共放出シナプスにおける GABA 放出量が増加するが，グリシン放出は減少することが明らかとなり，両伝達物質の放出が神経回路活動に依存して変化することが示唆された。また，通常ではグリシン伝達が行われていない海馬においても，シナプス後膜にはグリシン受容体が存在し，シナプス前神経終末部からグリシンを放出させることによって，その受容体が機能的に働いていることも明らかとなっていたので，海馬ニューロンにおいて，シナプス前細胞内にグリシンを添加して GABA からグリシンへのスイッチングを検討した。その結果，どちらの伝達物質がシナプス小胞内に取り込まれるかは，細胞質における伝達物質の濃度に依存するが，GABA がよりシナプス小胞に取り込まれやすいことがわかった。一方，シナプス伝達にはシナプス直下に存在する受容体も重要であるが，グリシン受容体拮抗薬のストリキニーネ存在下でニューロンを培養すると，シナプス直下のグリシン受容体が著明に減少したことから，シナプス前神経終末部からの伝達物質の放出自体がシナプス後膜の受容体の集合に重要であることが示唆された。現在，これらの現象のメカニズムや生理的意義について検討を進めている。伝達物質による受容体発現・局在制御について，グリシン受容体動態をＱドットを用いた１分子イメージング技術を構築し検討を行っている。

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ーブ核において，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が，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ー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。ノルアドレナリンは幼若マウスの内側蝸牛核から外側上オリーブ核へのグルタミン酸作動性終末のアルファ２受容体を介し，伝達を抑制すること。その抑制は発達に従い減弱すること。ノルアドレナリン細胞毒である DSP4 を投与すると，同入力本数の発達除去が阻害差入れることが判明した。

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）消化管での脂肪酸感知による摂食・食物嗜好性の調節機構，２）消化管粘膜におけるレプチンシグナルの SOCS3 による制御と胃癌発症，３）α-synculein による脂肪細胞での糖取り込み促進作用。

消化管での脂肪酸感知による摂食・食物嗜好性の調節機構

岡本士毅，箕越靖彦
小川暢也，中里雅光（宮崎大学医学部内科学講座神経呼吸内分泌代謝学分野）

消化管は栄養素を吸収するだけでなく，様々な栄養素を直接感知し，摂食に影響を及ぼすが，そのメカニズムは明らかではない。本研究では，消化管に脂肪酸を投与すると，摂食量が抑制されるが，少量の脂肪酸では脂肪に対する嗜好性が低下し，逆に炭水化物の嗜好性が高まることを明らかにした。また，この作用は，迷走神経求心路，孤束核からノルエピネフリンニューロンを介する視床下部室傍核への経路が関与することを明らかにした。

１．Ogawa, N et al, Metabolism 2012, 61: 1312-1320.

消化管粘膜におけるレプチンシグナルの SOCS3 による制御と胃癌発症

岡本士毅，箕越靖彦
稲垣匡子（国立国際医療研究センター　肝炎・免疫研究センター　消化器疾患研究部）
吉村昭彦（慶應義塾大学　医学部 微生物学免疫学）

SOCS3 はレプチンや IL-6 の細胞内抑制シグナルとして知られている。本研究では，消化管粘膜特異的に SOCS3 をノックアウトしたマウスが，生後すぐに 100% 胃腫瘍を発症することを明らかにした。形態学的特徴から胃癌と考えられる。胃粘膜ではレプチンが産生されていることが知られている。このマウスの胃粘膜ではレプチンシグナルが亢進しており，さらにレプチンの発現も高まっていた。IL-6 などのサイトカインはレプチンシグナルが亢進し，胃粘膜過形成が出来た後に高まった。レプチン抗体をマウスに投与すると，胃癌の発症は有意に抑制された。以上のことから，SOCS3 は胃粘膜においてレプチンシグナルを抑制しており，この機能が障害されることによって胃癌が発症すると考えられる。本研究は，胃癌発症機構の研究において重要な動物モデルになると考えられる。

１．Inagaki-Ohara, K et al, Oncogene 2012, advanced online publication.

α-synuclein による脂肪細胞での糖取り込み促進作用

箕越靖彦
Gerardo Rodriguez-Araujo（大阪大学 医学部　遺伝子治療学）
中神啓徳（大阪大学大学院 大阪大学・金沢大学・浜松医科大学連合小児発達学研究科健康発達医学）

α-synuclein は，脳において神経伝達物質の分泌に関与し，その異常はパーキンソン病の発症と関わることが報告されている。しかし，α-synuclein は，末梢組織でも産生され，血中に存在する。本研究では，α-synuclein が，脂肪細胞に作用してインスリンと同程度にグルコースの取り込みを高めることを明らかにした。また，この作用は，LPAR2-Gab1-PI3K-Akt 経路を介することを明らかにした。さらに，マウスに投与すると，脂肪組織だけでなく骨格筋においても同様の機構によってグルコースの取り込みが高まることを明らかにした。

1．Rodriguez-Araujo G et al, Cell Mol Life Sci 2013, 70: 1123-1133.

環境適応機能発達研究部門

【概要】

本研究部門は摂食調節・糖代謝調節機構，肥満・糖尿病の成因を解明すべく，膵臓のインスリン分泌，および，中枢の摂食・代謝制御のメカニズムを明らかにすることを目的としている。特にグレリンによるインスリン分泌調節のβ細胞メカニズム，オキシトシンによる摂食・エネルギー代謝調節とそのメカニズムに注目している。本年度実施した主たる研究課題は 1) グレリンと GLP-1 の相互作用によるインスリン分泌調節，および，2) Nesfatin-1 ニューロンの食事因子による活性化である。

グレリンと GLP-1 の相互作用によるインスリン分泌調節

出崎克也，Boldbaatar Damdindorj，矢田俊彦

消化管ホルモンのグレリンは，摂食促進，脂肪蓄積，成長ホルモン放出に加え，インスリン分泌抑制作用を示すことが報告されている。我々はこれまでに，グレリンは，膵β細胞 cAMP シグナルの抑制を介した電位依存性 Kv チャネルの活性化と$[Ca^{2+}]_i$低下によりインスリン分泌を抑制制御し，生理的に血糖値調節を行っていることを明らかにしてきた。

今回，さらにグレリンが，食事により腸から放出されてインスリン分泌を促進するインクレチンホルモンの Glucagon-like peptide-1（GLP-1）の作用に拮抗し，GLP-1 によるβ細胞インスリン分泌を抑制することを明らかにした。さらに，β細胞における GLP-1 とグレリンの相互作用の細胞内分子メカニズムを解明し，グレリンが GLP-1 によるβ細胞内 cAMP 産生を抑制することを明らかにした [1]。GLP-1 関連薬は，近年，新規糖尿病治療薬として注目されており，本研究成果により内因性グレリン阻害は GLP-1 関連薬の作用を増強し，より優れた糖尿病治療効果が期待される。

1. Boldbaatar, D. et al. *FEBS Lett* 586: 2555-2562, 2012

Nesfatin-1 ニューロンの食事因子による活性化

前島裕子，Gantulga Darambazar，中田正範，矢田俊彦

Nesfatin-1 (Nesf) は 2006 年に報告された摂食抑制ペプチドで，脳内の多くの神経核に分布するが，我々は室傍核(PVN)に存在する Nesf が摂食制御に重要であることを明らかにしてきた。PVN Nesf ニューロンは食事摂取により活性化されることが明らかになっているが，仲介分子機構は不明である。本研究では摂食により血中濃度が増加するグルコースおよびインスリンが仲介分子である可能性を想定し，これらのマウス PVN Nesf ニューロンへの作用を細胞内 Ca^{2+} ($[Ca^{2+}]_i$) イメージングと細胞免疫染色により解析した。高グルコース, インスリンの添加は，単離 PVN Nesf ニューロンのそれぞれ 17%，13%に$[Ca^{2+}]_i$ 増加を引き起こした。グルコース，インスリンに反応したニューロンの約 60%が Nesf ニューロンであった [2)]ことから，Nesf ニューロンはグルコースおよびインスリンの主要標的であることが明らかになった。さらに, グルコース又はインスリン単独では活性化されない Nesf ニューロンの一部は共添加により活性化され，グルコースとインスリンの協働作用が示された [2)]。本研究成果により，食事因子のグルコースとインスリンは摂食による PVN Nesf 活性化さらには満腹感形成を仲介する重要な因子であると考えられる。

2. Gantulga, D. et al. *Biochem Biophys Res Commun* 420: 811-815, 2012

個別研究・特別研究

個別研究（村上グループ）

【概要】

複数の細胞からなる上皮膜レベルでの水・基質輸送を主眼に研究している。ことに外分泌腺のモデルとして，水分分泌の多い唾液腺の機構を研究している。近年細胞内を通過する水分輸送量より細胞間隙をタイト結合を越えての水分輸送量が多いことが判明し，傍細胞水輸送を重点的に研究している。

分泌中の生理現象を観測するために，材料をできるだけ摘出血管灌流顎下腺の実験系に限定し，種々の観測データを重ね合わせ検討している。即ち Wistar/ST 系雄性ラットを用い，個体から顎下腺を摘出，動脈に挿管し血管灌流を実施。また分泌導管も挿管し，唾液を電子天秤秤量皿においたカップに誘導した。カップに溜まる唾液の重量を一定時間ごとに測定し値をコンピュータに転送，実験後時間微分して 分泌速度を計算した。この手法によりタイト結合を破壊せず，傍細胞水輸送と経細胞輸送を分離して観測すること可能にしている。

東京歯科大学および日本大学と共同で高速共焦点顕微鏡により 1 -2 秒毎の唾液腺腺房の３D 像を撮像を進めた。2 月開催の唾液腺と外分泌に関するゴードンカンファレンスにて村上は discussion leader をつとめ，また 3 月には IADR 2013 Distinguished Scientist on Salivary Research 賞を受賞した。また南京医科大学との漢方薬による唾液分泌促進の研究も進めた。

唾液分泌における傍細胞輸送と細胞内信号による調節

村上政隆，魏　飛
成田貴則（日本大学　生物資源科学部）
福島美和子（日本大学　松戸歯学部）
橋本貞充，渋川義幸，佐藤正樹（東京歯科大学　歯学部）

唾液腺水分分泌は経細胞輸送と傍細胞輸送が混合したものである。今回，高速共焦点レーザ顕微鏡により時間分解約１－ ２秒で3D 腺房画像を蛍光色素 Sulfo-rhodamin B の管腔への出現の観測に成功した。共焦点顕微鏡観察に際し，ステージに灌流顎下腺をセット，灌流状態で高速のスライスを実施し，約２秒間隔で z 軸方向 64 枚の 2D 画像を取り込み，実験後立体再構成あるいは管腔内（細胞間分泌細管内）の色素信号を計測した。その結果，1)カルバコール(1μM)投与で，管腔内に蛍光信号の増加が観察されたが，無刺激では増加は観測されず，イソプロテレノール(1μM)単独投与では，むしろ減少した。2)イソプロテレノール単独投与では血管流路の抵抗低下により圧力が低下したため水分泌の低下が観測されており，圧依存性の経路を通過する色素量が低下したものと考察された。3)共焦点レーザ顕微鏡で腺房の 3D 画像の時間経過を観測できた。

種々の漢方薬の灌流ラット顎下腺に対する水分泌促進機構

村上政隆，魏　飛
範　養夫，魏　睦新（南京医科大学第一付属病院　中医内科）

漢方薬の唾液腺分泌増強作用機構の研究のため南京医科大学チームとラット血管灌流顎下腺を用いて実験を2005 年より継続している。本年は黄耆(HQ)と玉竹(YZ)について検討した。①カルバコール 0.2μM の刺激中，HQ,YZ が分泌増強を起こす最少濃度はいずれも 1.58g/L，最大増強を起こす濃度は YZ で 15.8g/L,HQ で 10g/L であった。より高濃度では分泌は減少した。②Ca-free の灌流では，YZ,HQ はどちらも増強作用が確認できなかった。③Na-K-Cl 共輸送体の阻害剤 Bumetanide により，YZ,HQ の増強作用は完全に停止した。YZ,HQ の水分泌増強作用は通常の Cl-輸送機構を用いていることが示された。本年の研究は，漢方薬 YZ, HQ の有効濃度が明らかになり，作用機序の一部が理解された。

個別研究（大橋グループ）

【概要】

当研究室では細胞内膜系の生理機能とそれを担うメカニズムをテーマに研究を行なっている。細胞内膜系では，膜の分裂・融合によってオルガネラを行き来するメンブレントラフィックにより物質の輸送，分配が行われている。分子は，その機能を発揮すべき細胞内外の正しい場所に送り届けられる。この「古典的な」生理機能に加え，近年，メンブレントラフィックが，一見無関係な細胞間，細胞内のシグナル伝達において，これまで考えられてきた以上に様々な役割を担っていることが注目され始めた。すなわち，細胞内分子の輸送選別が，シグナル伝達の分岐選別に直結しており，細胞内膜系が位置情報を介してシグナル伝達の動的な制御の場を提供していることが，はっきりと意識され始めている。精力的な研究が展開されつつあるが，まだ多くのことがわかっていない。

我々は，発生過程の形態形成における平面細胞極性(PCP)形成のシグナル制御に注目した。PCP シグナルは，内耳の有毛細胞が一貫した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。現在，PCP シグナル伝達において，メンブレントラフィックに代表される細胞内膜系の動態がはたす機能と，その背後にあるメカニズムの研究を進めている。

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発生シグナル制御

大橋正人，木下典行（基生研）

我々は，上皮系細胞のエンドソーム-ゴルジ細胞内膜系分子の，fluorescence localization-based retrovirus-mediated expression cloning 法による探索をすすめた。得られた分子から，哺乳動物モデル細胞系とアフリカツメガエルの発生実験系を利用し，PCP シグナルを制御する細胞内膜系タンパク質の候補を得た。これまでに，これらの制御機能分子のいくつかについて細胞内局在を規定する配列や局在を変化させる変異を同定することに成功し，また，これらの機能分子の作用が，PCP シグナル下流の細胞骨格制御と関連していることを示唆するデータを得た。現在，さらに解析を進めるため，細胞レベルでのタンパク質機能阻害実験系を新たに工夫し，これら制御分子の細胞内局在と機能の相関を解析中である。

個別研究（毛利グループ）

【概要】

ヒトを含め多くの生物が性による生殖方法を取っている。その戦略は実に多様であるが，雄性配偶子（精子）が雌性配偶子（卵）を活性化させるという現象は普遍的である。この精子が卵を活性化させる現象とそれに引き続いて起こる短時間の多様な細胞内現象を受精と呼んでいる。私はこの受精機構の研究を主眼にしている。しかしながら, 受精機構の詳細はほとんど解明されていない。つまり，どのように精子が卵に近づいてどのように活性化のシグナルを卵に伝えるのか，そのシグナルは何なのか，その後，卵内でどのような反応が引き起こされて発生のプログラムがどのように実行されているのかわかっていない。普遍的な現象として受精の時には卵内の Ca^{2+} が著しく増加することが知られている。哺乳類や鳥類については卵内で細胞内 Ca^{2+} 変化が何によってどのように起こるのかある程度わかってきた。しかし，もっと単純なはずの海産無脊椎動物ウニ卵についてはまだ不明である。さらに卵内 Ca^{2+} 増加のシグナルに続いてどのようなシグナルが引き起こされるのか，いわゆるポストカルシウムシグナリングの問題がある。Ca^{2+} 増加の後の一酸化窒素（NO）遊離やミトコンドリアの活性化現象を見つけたが，これらの現象と Ca^{2+} 増加との関係を現在研究している。

ウニ卵受精時のミトコンドリア活性化と一酸化窒素遊離との関連

毛利達磨，経塚啓一郎

ミトコンドリア活性化と NO 遊離の関係を調べるためにミトコンドリア阻害剤 CCCP, FCCP, rotenone, antimycin A, oligomycin を用いて受精時 NO 遊離への影響を調べた。ミトコンドリアの変化は電位依存性蛍光色素(MitTracker Red CMXR),NO 遊離は蛍光色素 DAF-FM DA を用いて同定した。その結果 CCCP や FCCP は CN^- 同様, NO 遊離を強く抑制し，rotenone も対照実験に比べると抑制，antimycin A および oligomycin も抑制傾向を示した。このことから NO 遊離はミトコンドリアの複合体 IV と I に深く関わっていることが示唆された。また NO 遊離の阻害, NO 吸収剤 PTIO 存在下ではミトコンドリアの活性化は対照実験と比べて阻害されなかった。このことはミトコンドリアの活性化は NO 遊離の上流にあることが示唆された。

個別研究（樫原グループ）

【概要】

生後の運動神経細胞の生存・分化は，その支配標的器官である筋との結合に依存することは古くよりよく知られている。この依存性は，運動神経細胞から筋へ作用する因子と共に，筋から運動神経細胞へ作用する因子の相互作用によると考えられている。生後，骨格筋は，速筋と遅筋に分化するが，これらに結合している運動神経細胞の種々の電気的性質も変化することは，よく検討されてきた。例えば，活動電位に続く後過分極(AHP)の期間が遅筋を支配する運動神経細胞と，速筋支配運動神経細胞で異なり，前者は後者に比べ長い。この遅筋運動神経細胞の AHP の期間は, 運動神経細胞と筋との結合を絶つと短くなり，筋と再支配すると正常に戻る。また運動神経細胞の上位神経細胞からの入力を遮断しても遅筋運動神経細胞のみ，その AHP の期間は短縮する。すなわち，生後の運動神経細胞の AHP の期間は, 運動神経細胞と筋の相互作用とともに上位神経細胞からの入力にも依存する。我々は，この電気生理学的知見に基づいて，生後動物の運動神経細胞の分化を運動神経細胞の AHP に関与するチャネル分子発現を手がかりに解析している。

生後ラット運動神経細胞のチャネル発現の標的筋依存性

樫原康博，野村智美

成熟ラットの長指伸筋を支配する運動神経細胞とヒラメ筋を支配する運動神経細胞で，活動電位に続く後過分極 (AHP)に関与すると考えられるチャネル分子の発現が異なるかを検討するために，あらかじめそれぞれの筋から逆向性に標識された運動神経細胞体のチャネル分子の発現及び分布を調べた。現在，１）これらの運動神経細胞体での AHP 関連チャネルの分子発現が運動神経細胞の筋支配の有無に依存するか，２）さらに詳細に，長指伸筋，ヒラメ筋さらに内側腓腹筋の個々の筋線維を支配する運動神経細胞終末のチャネル発現が，結合している筋線維のファイバータイプに依存しているかの検討を進めている。

特別研究（永山グループ）

【概要】

生理研の目指す脳・生体分子統合イメージング法を生体分子側からボトムアップ的に推進する特別研究において，200ｋＶと 500ｋＶ電子顕微鏡システムの位相差法の高度化と安定作動に注力し開発および応用研究を行った。

電子顕微鏡用位相板の開発と応用

永山國昭

1947 年の Boersch による提案以来未解決であった位相差電子顕微鏡における位相板帯電防止に関する研究を継続した。2005 年と 2011 年に帯電防止対策のエポックがあった。2005 年対策は，帯電原因となる汚れの完全除去は不可能という前提に立ち，残留汚れを位相板材料である炭素膜でラッピングし電気的に封じ込めるものであった。この対策以後位相板は有限の寿命ながら有効に性能を発揮し，多くの生物・医学応用例を生み出した。

２番目のエポックは 2011 年度に見出された電気的接合問題の解決である。位相板本体である非晶質炭素膜と支持基板である位相板用金属グリッドとの電気的接合不良問題が浮上し, この接合不良を種々の工夫で改善した。特に生物試料が放出する汚れを回避する位相板加熱法自体が接合不良の一因と分かり，加熱に耐える炭素材料と金属材料の接合法探索を行った。この結果長寿命化がある程度図られた。帯電防止位相板を用いた生物応用として現在 200ｋＶ 電顕を用いた研究を形態解析室村田准教授と行っている。

200ｋＶ 位相差電顕は開発された位相板を用いて安定的に運転されているが, 500ｋＶ位相差電顕は生物応用への予備的調整を行った。

【位相板応用】

Baylor 医科大の Wah Chiu 教授, Yale 大の Fred Sigworth 教授との共同研究を遂行し，前者では位相板の性能検定による位相板開発支援をした。またシアノバクテリアにおけるシアノファージ感染過程をファージの立体構造変化として可視化した。後者ではチャネルを取り込んだリポリーム系を用いた膜電顕イメージングの研究を行った。位相差低温トモグラフィーの応用として，カンガルーラット腎臓由来の細胞 PtK2 の立体像を再構成し，表面の膜蛋白質を同定した (Fukuda&Nagayama, J.Struct. Biol.)。農工大との共同研究において筋肉蛋白質分子の常温常圧での位相差電顕観察に成功した (Inayoshi et al., Micron)

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ことは，個体の行動・精神活動に直結する。それゆえ，脳機能を研究する際には個体レベルでの解析が必須で，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有益な解析手段といえる。ラットはマウスに比べて体が大きいことから操作性に優れ，ライフサイクルもマウスのそれとあまり変わらないので，ヒトの生理機能や疾患を研究するモデル動物として広く利用されてきた。ラットにおける一連の生殖工学関連技術はマウスと同等の高い完成度にあるが，最近まで ES 細胞株の樹立方法が未開発だったので，ノックアウト (KO) ラットを利用した逆遺伝学的研究は遅々として進まなかった。しかし 2008 年，ラットの ES 細胞株ならびに iPS 細胞株の樹立が報告され，2010 年には p53 遺伝子 KO ラットの作製も実証された。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，昨年度はラット ES/iPS 細胞を樹立することに成功し，遺伝子ターゲッティングによる KO ラットの作製準備を進めてきた。ここでは次の 2 題について概要を紹介する。(1) 4 倍体胚補完法による ES 細胞由来のラット個体作製の試み，(2) ラット ROSA 遺伝子座に蛍光蛋白遺伝子を導入したノックイン (KI) ラットの作製。

4 倍体胚補完による ES 細胞のみに由来するラット産仔作製の試み

平林真澄

マウスでは ES 細胞と 4 倍体胚から再構築したキメラ胚を移植すれば ES 細胞のみに由来する産仔を作製できる。そこで生殖系列寄与が確認されたラット ES 細胞株を用い，4 倍体胚補完によるラット産仔の作出を試みた。ホスト 4 倍体胚盤胞は電気融合した 2 細胞期胚を体内培養することにより作製し，胞胚腔内に ES 細胞を顕微注入した後，レシピエント子宮内に移植した。胎齢(E)11.5，12.5，13.5，14.5 日ではそれぞれ，6，3，6，3%の割合で生存胎仔を回収できたが，分娩直前の E21.5 日では生存胎仔は認められなかった。一方，正常胚盤胞由来の内部細胞塊を単離して同ホスト胚盤胞との再構築胚を作製した場合，満期発育例を得ることができた。マウスでは 4 倍体胚補完による産仔の作製効率には ES 細胞の継代数や樹立元の系統が影響すると報告されている。よって，ラットでもこれらの点を考慮に入れたストラテジーの再検討が必要と思われた。

ラット Rosa26 遺伝子座に tdTomato 遺伝子を導入したノックイン（KI）ラットの作製

平林真澄

マウスにおいて目的の遺伝子を安定かつ全身性に発現させるため Rosa26 伝子座への遺伝子導入が有効だが，ラットではその遺伝子座が同定されていない。そこで，マウス遺伝子座との相同性検索によりラット Rosa26 遺伝子座を特定し，tdTomato と薬剤耐性遺伝子を含む標的ベクターを作成した。これをラットの ES/iPS 細胞に導入したところ，均一に tdTomato を発現する相同組換えコロニーを高頻度で得ることができた。さらに，相同組換え ES 細胞からキメラを介して KI ラットを作製した。KI ラットの血液や各臓器において，安定的かつ全身性に

tdTomato 遺伝子が発現していた。以上，ラット Rosa26 遺伝子座が目的遺伝子を安定的かつ全身性に発現させるために適切な遺伝子座であることが明らかとなり，この tdTomato を発現する KI ラットは移植細胞の動態を調べる研究ツールとしても有用であると思われた。

代謝生理解析室

【概要】

研究所内外が作成，保有する遺伝子改変マウス及びラットの代謝，生理機能を詳しく解析し，標的遺伝子の機能と行動変異のメカニズムを明らかにすることを目的に本年度より新たに開設された。計測する代謝・生理機能と担当者は以下の通りである。（1）運動系を中心とした，覚醒下での単一ニューロン活動など神経活動の計測（担当：生体システム研究部門，南部教授），（2）自由行動下における脳内特定部位での神経伝達物質の分泌計測（担当：生殖・内分泌系発達機構研究部門，箕越教授），（3）フラビンおよびヘモグロビン由来の内因性シグナルを利用した脳領域活動と膜電位感受性色素を用いた回路活動のイメージング（担当：生体恒常機能発達機構研究部門，鍋倉教授），（4）自由行動下における摂食行動，エネルギー消費の計測（担当：生殖・内分泌系発達機構研究部門，箕越教授），（5）自由行動下における体温，脈拍数，血圧の計測（担当：細胞生理研究部門，富永教授，鈴木喜郎助教）。当面はマウスの解析を中心に行う。平成 25 年度より計画共同研究「マウス・ラットの代謝生理機能解析」を新設し，所外研究者の共同利用を開始した。

TRP チャネルが担う中枢性呼吸調節機構の解明

平田　豊（兵庫医科大学 生理学生体機能部門）
鈴木喜郎，富永真琴

中枢性呼吸調節機構は，換気応答によって驚くべき厳密さで生体の P_{CO2}/pH 変動を一定の狭い生理的範囲に調節している。この調節機構を担っている中枢化学受容細胞及びその化学受容器の分子実体は長い間謎であった。提案代表者は，これまでに脳幹・延髄由来のニューロン・グリア共培養細胞を用い，CO_2/pH 負荷に対する細胞内応答を，Ca / pH のイメージング，perforated patch-clamp 法により検討したところ，高 CO_2 負荷によりグリア細胞が Ca 応答をすることを見出してきている。この Ca 応答を引き起こす Ca チャネルの候補として，薬理学的スクリーニングの結果，TRP チャネルのサブタイプが推定された。生理学研究所の富永教授と共に，TRP チャネルにおいて，どのサブタイプが換気応答の制御に関与するかを明らかにし，TRP チャネルが担う中枢性呼吸調節機構を解明することが本研究の目的である。推定されたサブタイプを含む，温度感受性 TRP チャネル欠損マウス群に対する高 CO_2 負荷による換気応答の変化を whole body plethysmography 法にて野生型マウスと比較した。その結果，高 CO_2 負荷による換気応答に有意な減弱が観察される温度感受性 TRP チャネル欠損マウスを見出しているが，個体差があるため解析を継続している。また O_2 濃度の条件を変えてその影響を検討している。

興奮性神経伝達による基底核神経回路の機能制御の解明

渡邉　大，長谷川拓，西岡忠昭（京都大学大学院生命科学研究科認知情報学講座）
南部　篤，知見聡美

視床下核は，淡蒼球内節および淡蒼球外節に対する唯一のグルタミン酸作動性の興奮性入力であり，ハイパー直接路として基底核のダイナミックな情報処理に関わると同時に，基底核間接路（淡蒼球外節）および直接路（淡蒼球内節）の興奮性制御に重要な役割を果たしていると考えられる。しかしながら視床下核が基底核の機能発現にどのように関わるかその詳細は不明である。遺伝子発現効率を高めた改変型破傷風毒素軽鎖遺伝子（eTeNT）を用いて，視床下核へ投射するニューロンの機能に影響を与えることなく，視床下核ニューロンの神経伝達を正確に遮断する実験系の確立を行った。

ラットの大脳皮質１次運動野の口腔・顔面および前肢支配領域を電気刺激し，これらの領域から入力をうける視床下核ニューロンを電気生理学的に正確に同定し，視床下核へeTeNTを発現するレンチウイルスベクターの投与を行った。その結果，１次運動野の電気刺激により誘発される淡蒼球内節および外節での 2 相性の興奮が視床下核の神経伝達遮断により抑制されることが明らかとなった。

視床下核の神経伝達遮断の効果を行動学的に解析するために，Turn preference 試験を行った。ウイルス投与前と投与後 4 週間後にラットに tail pinch（5 回）を１日２回，２日連続（tail pinch 計 20 回）を行い，スコアを算出した。その結果, 視床下核へ eTeNT を導入した個体では，パーキンソン病モデルでの報告とは逆方向へ旋回することが明らかとなった。以上の結果は，視床下核からのグルタミン酸作動性シナプス伝達を遮断することでパーキンソン病の病態を改善しうる可能性を示唆する。今後はこの系を用いて，視床下核による基底核の機能制御とパーキンソン病における視床下核の神経情報遮断の効果について解析するとともに，認知・情動に関する視床下核の機能について探索を行う予定である。

先天的な恐怖反応を制御する線条体神経回路の解明

小早川令子，小早川高（大阪バイオサイエンス研究所）
佐野裕美，南部　篤

先天的な恐怖の制御における線条体神経回路の機能は未解明である。マウスは肉食動物が発生する匂いに対して恐怖反応を示すことが知られている。恐怖情動は Freezing 行動を指標にして定量的に計測できる。天敵の匂いによって誘発される先天的な Freezing レベルは，後天的に誘発した Freezing に比較すると明らかに低い。私たちは，人工匂い分子ライブラリーのスクリーニングにより，特定の化学構造ルールを満たす一連の恐怖臭によって，極めて強力な先天的 Freezing が誘発できることを発見した。異なる種類の恐怖臭をもちいることで様々な強度で先天的な Freezing を誘発する技術を確立した。同等レベルの Freezing 行動を伴う，嗅覚入力による先天的と後天的な恐怖を制御する神経メカニズムを比較した。先天的な恐怖では，背骨を中心とした体表面温度と体深部温度の３℃もの同時低下と，心拍数の半減が誘発されたが，後天的な恐怖ではこれらの生理応答は全く誘発されなかった。嗅覚入力による先天的と後天的な恐怖，および，異なる種類の恐怖臭が誘発する３段階の強度の先天的恐怖によって誘発される c-fos と arc mRNA の発現を全脳６４領域に関して定量解析した。その結果，先天的と後天的な恐怖の違いを特異的に表現する脳領域と，先天的な恐怖のレベルを表現する脳領域が存在する可能性が示唆された。先天的恐怖のレベルを表現する脳領域の一つである，背側線条体では先天的な恐怖のレベルと，c-fos や arc mRNA の発現レベルが逆相関した。背側線条体へ muscimol を注入すると，Freezing の上昇と，心拍数や体深部温度の低下が誘発された。また，背側線条体へ muscimol を注入したマウスでは，恐怖臭が誘発する扁桃

体中心核の arc mRNA の発現上昇が大幅に促進された。以上の結果から，背側線条体の神経活動は先天的恐怖の定量表現に関与している可能性が示唆された。本研究の継続によって，背側線条体において先天的恐怖の制御に関与する特異的な神経回路の解明を目指す。恐怖臭を用いて様々なレベルの先天的恐怖を誘発した際の，背側線条体に存在する特定の種類の神経回路の活動を解析する。ドーパミン D1 と D2 受容体のアンタゴニストを背側線条体に注入すると, D1 受容体のアンタゴニストの注入のみが Freezing 行動へ影響を与えた。D1 受容体を発現する神経細胞の神経活動と先天的恐怖のレベルとの相関関係を解析する。また，この神経細胞の活動を制御した際の先天的恐怖への影響を，先天的恐怖を特異的に評価する多次元情動マーカーを活用して計測する。

エネルギー消費機構における褐色脂肪組織，骨格筋，交感神経の生理学的意義

高木一代，箕越靖彦

マウス個体全体のエネルギー消費量（EE）には，安静時基礎代謝（RMR），運動（EX）および食事（食餌誘導性非ふるえ熱産生，DIT）によるエネルギー消費量が含まれる。しかし, エネルギー消費量（EE）に占める RMR, EX，DIT の割合は未だに不明であり，摂食に伴いこれらの熱産生がどのように変化するかは明らかとなっていない。また，主要な熱産生組織として褐色脂肪組織（BAT）と骨格筋が知られているが, これらの組織が RMR, EX, DIT にどう寄与するかも不明である。本研究では，エネルギー消費量における RMR，EX，DIT の算出法を確立すると共に，摂食によってこれらのエネルギー消費量がどのように変化するかを調べた。また，褐色脂肪組織の熱産生蛋白質である UCP1 のノックアウトマウス（UCP1−/−），骨格筋選択的に dominant negative AMPK を発現させ骨格筋 AMPK の機能を選択的に阻害したマウス（DN-AMPK+/−），及び両マウスを交配し得られたマウス（UCP1−/−, DN-AMPK+/−）を用いて，褐色脂肪組織と骨格筋での熱産生の役割を調べた。その結果，UCP1−/−と DN-AMPK+/−では食事による熱産生影響は無かったが，UCP1−/−, DN-AMPK+/−において，EX と DIT の熱産生が低下していた。さらに，老齢化した UCP1−/−, DN-AMPK+/−では呼吸商が低下しており，脂質の利用に異常があることが分かった。以上のことから，食事によって惹起される熱産生と脂質の利用に，褐色脂肪組織 UCP1 と骨格筋 AMPK が共に関与することが明らかとなった。

行動様式解析室

【概要】

マウスの遺伝子の 99%はヒトにもホモログ（対応する遺伝子）があり，さらに遺伝子ターゲティングなどの技術を応用することで，遺伝子を自由自在に操作することができる。マウスでは心理学的な解析をはじめとして，個体レベルでの多彩な解析技術が適用でき，ヒト脳の統合的理解のためのモデル動物として最適であると考えられる。全ての遺伝子の 80%以上は脳で発現していると言われており，脳で発現する遺伝子の機能を調べるためにはその最終アウトプットである行動を調べることが必要だと考えられる。我々は各種の遺伝子改変マウスに対して，知覚・感覚，運動機能，情動性などから記憶学習や注意能力など高次認知機能まで，幅広い領域をカバーした行動テストバッテリーを用いて解析し，各種遺伝子の新規機能の探索を行っている。国内外の多数の研究室との共同研究を行っており，これまでに行動様式解析室として 67 系統，3500 匹以上のマウスを解析している。この中には，精神疾患のモデルマウスとなるような系統も複数見つかっている。

マウスを用いた脳表現型データベースの開発と応用

高雄啓三，宮川　剛

藤田保健衛生大学や京都大学などでの活動を合わせ，これまでに国内外 100 以上の研究室との共同研究で 164 系統 10000 匹以上の遺伝子改変マウスについて網羅的行動データを取得している。個体ごとの生データはデータベースに登録しており，これらを用いて各種行動の指標となる数値間にどのような関連性があるか，実験における各種のパラメータが行動データに及ぼす影響などについてインフォマティックス的解析を行うことが出来る。このデータベースを活用し，遺伝子改変マウスのバックグラウンド系統として最も多く使われている C57BL/6 J 系統についてのデータをまとめて，実験を行う時間や実験時の週齢，ケージ内の同居マウスの匹数などの各種変数が実験結果に与える影響を解析している。実験を行う時間が活動性に影響を与えることや，週齢が進むにつれて痛覚感受性が鈍くなることなどが明らかとなっている。これらの実験時における各種変数が行動に与える影響を明らかにすることで，行動解析のプロトコルの改良や標準化を推進していく。現在，論文発表された 43 系統 3375 匹分のデータおよび各種遺伝子改変マウスの野生型コントロールとして使用された C57B/6 亜系統のマウスのデータ（1965 匹分）については，データベース http://www.mouse-phenotype.org/ で公開している。この Web サイトではマウス用行動解析ソフトウェアの公開も行っている。この他，行動実験後の各個体の行動データが付属したマウスの脳や血漿サンプルについてもリソース化を進めている。

Schnrri-2 欠損マウスの脳表現型解析

高雄啓三，宮川　剛

Schnurri-2 (Shn-2) は zinc finger 型の転写因子であり，Th2 細胞分化制御などの免疫反応に重要であるとされているが，脳での機能については不明であった。Shn-2 の脳における機能を調べるため Shn-2 欠損マウスについて網羅的行動解析を行ったところ，活動量の亢進，顕著な作業記憶障害，不安様行動の低下，プレパルス抑制の障害など，一連の顕著な精神疾患様の行動異常を示した。Shn-2 欠損マウスの海馬について分子生物学的，電気生理学的，組織学な解析を行ったところ，海馬歯状回が未成熟な状態になっていること（未成熟歯状回: immature Dentate Gyrus, iDG）が見出された。Shn-2 欠損マウスに似た行動異常を示す他の精神疾患モデルマウスでも iDG 様の現象が見られており，iDG は精神疾患様の行動異常に伴う一般的な現象である可能性が高い。さらに Shn-2 欠損マウスの脳の解析を進めたところ，パルバルブミン陽性細胞の減少，皮質の厚みの低下など，統合失調症の死後脳で見られる現象が多く見られた。その他，Shn-2 欠損マウスの脳波は，ホームケージでの活動時に遅い周波数成分である θ波が増強，早い周波数成分のβ波が減弱していることが明らかになった。これらの現象も統合失調症患者で報告されている。このように Shn-2 欠損マウスはきわめて妥当性の高い統合失調症モデルマウスであり，統合失調症の病因・病態の解明，治療法の探索を行う上で非常に有用であると考えられる (Takao et al., ***Neuropsychopharmacology***, 2013, **38(8)**:1409-25.)。

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，脳内の様々な階層で生成されている情報を解析・操作したり，社会性をもたらす脳活動を明らかにする基盤的技術の研究開発，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。

2009 年度には流動連携研究室を新設し，客員教授，客員准教授，客員助教を募集し，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っている。

2012 年度には本センターの脳内情報抽出表現研究室, 霊長類脳基盤研究開発室及び NBR 事業推進室を廃止し, 霊長類脳基盤研究開発室及び NBR 事業推進室の役割は, 脳機能計測・支援センターに発展的に新設されたウイルスベクター開発室及び霊長類モデル動物室へと引き継がれた。そして脳内情報抽出表現研究室を拡大した脳情報基盤研究開発室と社会的脳表現解析開発室を新設した。

〈多次元ブレインストーミング･脳科学新分野探索フォーラム〉

自然科学研究機構新分野創成センターブレインサイエンス研究分野との連携強化を進め，3 つのテーマで 4 回のブレインストーミングを実施した。将来の脳科学研究の方向性について,全国の様々な専門家（64 名）から事前にインタビューを行い,そこで得られた情報にもとづいて,「システムロバストネス」,「メンタルオブジェクトの対象化と操作について」をテーマにブレインストーミングを行い，また，（独）科学技術振興機構研究開発戦略センターと連携した「若手研究者による脳科学分野俯瞰」をテーマにしたものを 2 回開催し，新たな脳科学研究の方向性について議論を行った。

〈2012 多次元トレーニング＆レクチャー　「ヒト, サル, ラットの脳解剖学から情動・判断の理解へ」〉

脳の研究を進めるに当たり,脳の解剖学的知識は非常に重要だが,若手研究者や様々な分野から参入しようとする異分野の研究者にとっては十分な講義や実習を受ける機会がない。モデル動物としてマウス,ラット,サルが多くの研究に用いられているが,異なるモデル動物間やヒトとの種間の解剖学的な比較について学習する機会が殆どない。このような状況を踏まえて，情動・判断の神経回路を中心に異なる種間の脳の解剖学の講義・実習を実施した。また,解剖学の講義･実習と組み合わせて, 情動・判断の機能に関する講義及び実験見学を実施した。

〈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，客員教授として金城学院大学人間科学部多元心理学科の鈴木正隆教授が，客員助教として信州大学医学部附属病院の小平農助教が，共同研究を実施した。

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，超高圧電子顕微鏡室と組織培養標本室から構成される。超高圧電子顕微鏡室では，国内唯一の医学生物学専用超高圧電子顕微鏡 H-1250M，低温位相差電子顕微鏡，連続ブロック表面 SEM などを使用して，生体組織などの厚い試料や，細胞，ウイルス，タンパク質などの無染色の氷包埋試料などから，立体再構成および三次元構造観察を行っている。H-1250M は，生理研を代表する共同利用実験機器の一つであり，毎年これを利用した研究課題を全国から募集している。平成 24 年度は，細胞に感染したウイルスから神経ネットワークの観察にいたるさまざまな生体の三次元形態研究について，外国からの 5 課題を含む合計 18 課題が採択され実施された。また，位相差電子顕微鏡法および低温電子顕微鏡法による共同研究では，サポウイルス様粒子の高分解能構造解析と分子構造モデリング，血小板活性化過程におけるフィブリン繊維の位相差像による直接観察など，無染色の凍結試料による高分解能クライオ観察とその三次元再構成により成果を得た。本研究室では，これらの共同研究を支援しつつ，個々の課題を達成するための付属装置の開発や，電顕像からの効率的な立体再構成法の研究も合わせて行っている。

一方，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の為のクライオスタットやミクロトーム，および各種の光学顕微鏡を整備し，利用者に便宜を図っている。

クライオ電子顕微鏡単粒子解析によるサポウイルスの単粒子構造解析

宮崎直幸，David Taylor，村田和義
村上耕介，片山和彦　（国立感染症研究所）

サポウイルス（SaV）は，カリシウイルス科に属すエンベロープのない小型の球状ウイルスで急性胃腸炎を引き起こす。本研究では，クライオ電子顕微鏡単粒子解析により，SaV キャプシドの高分解能三次元構造解析を行った。精製した SaV 様粒子を氷包埋してから，クライオ電子顕微鏡で観察した。そして，撮影した電子顕微鏡写真からウイルス様粒子を切り出し，コンピュータで三次元再構成した。その結果，SaV のキャプシドタンパク質の構造を８Å 分解能で決定することができた。さらに，ノロウイルスの構造を基にしたホモロジーモデリングを行い，それをクライオ電子顕微鏡の構造に一致するように精密化することで SaV のキャプシド構造のモデルを構築した。本研究により，SaV のキャプシドタンパク質のドメイン境界やウイルス表面に位置するアミノ酸残基，キャプシドタンパク質間の相互作用に関わっている残基を特定することができた。。

クライオ位相差電顕トモグラフィーによる興奮収縮連関の構造的基盤の解明

村田和義
國安明彦（崇城大）

本研究では，ウサギ骨格筋から興奮収縮連関の構造的基盤であるトライアドジャンクションを含むトライアド

膜断片を抽出し，クライオ位相差電子顕微鏡（電顕）トモグラフィーによりトライアドジャンクションタンパク質複合体全体の高分解能三次元構造解析を行う。これまでに，トライアド膜断片試料から筋小胞体と考えられる小胞をたくさん観察できたが，その中に含まれるトライアドジャンクションの位置を特定することができなかった。そこでトライアドジャンクションに含まれるジヒドロピリジン受容体の抗体を使って，トライアド膜断片を蛍光物質と金コロイド粒子でラベルし，これを氷包埋して観察した。その結果，蛍光顕微鏡観察では，部分的に強くラベルされる領域がみられた。また，クライオ電顕観察でも膜断片の中に金粒子がいくつか観察できた。この蛍光と金コロイドラベルの両方を比較しながらトライアドジャンクションの位置を特定する予定である。

絨毛上皮下線維芽細胞を介した小腸絨毛におけるサブスタンスＰとATPの相互作用

古家園子

小腸絨毛の上皮下でアクチンに富みギャップ結合で繋がった細胞網を形成している上皮下線維芽細胞は，ATP受容体，サブスタンスP受容体，エンドセリン受容体など多くの受容体を発現し，それらに反応してCa^{2+}応答と収縮を引き起こす。また，タッチやストレッチ等の機械的刺激に応答して，Ca^{2+}応答とともにATPを放出する。又，絨毛上皮下線維芽細胞は，サブスタンスP含有及び非含有の知覚神経終末とシナプス様構造を形成している。機械的刺激により放出されたATPが上皮下線維細胞自身のP2Y1を活性化する「オートクライン経路」と，P2X2/3型のATP受容体を持つIPAN (intrinsic primary afferent neuron)を経由してシグナルを周りの絨毛へと伝えると共にSPを放出し上皮下線維細胞のNK1を活性化する「神経経路」，この２つの経路によって絨毛の微妙な動きと絨毛間の協調した動きが制御されていることが明らかになってきた。

生体機能情報解析室

【概要】

随意運動や意志・判断・学習・睡眠などの中枢神経機構についての研究を継続している。ニホンザルを実験対象として大脳皮質フィールド電位を慢性埋込電極を用いて記録し解析した。

大脳皮質フィールド電位における律動波の研究

達本　徹

これまでに，サルの前頭前野9野と前帯状野32野で記録される大脳皮質フィールド電位におけるシータ周波数領域の律動波が同期しており，このシータ波の振幅が「注意集中」と相関していることを見いだした。このような脳の複数領域が同期して律動的に活動する現象は，注意集中以外にも脳の多様な情報処理過程において役立っている可能性がある。しかし，この点についての現在の知見は限られている。このため，覚醒や睡眠の様々な状況における大脳皮質フィールド電位の律動波を記録解析する実験を計画した。この目的のためにサルの頭部に設置できるテレメーター及びテレメーターと同期をとって撮影できる近赤外線ビデオ装置を開発製作した。実験は睡眠中の脳活動を記録することから開始した。その結果，サルの睡眠段階がヒトと同様に分類可能であること，ヒトの各睡眠段階を特徴づける睡眠紡錘波や頭頂鋭波やK複合波などの脳波活動と相同の皮質活動の電流発生源が

同定できることが明らかになった。また，睡眠紡錘波が複数の皮質領野で時間的相関関係をもって出現することも判明した。睡眠紡錘波は記憶や学習との関連が示唆されている。今後は，睡眠紡錘波とそれ以外の脳活動の関係を詳解し，それぞれの発生メカニズムを解明することを目標に研究を進めたい。

多光子顕微鏡室

【概要】

多光子顕微鏡室では，2 光子蛍光顕微鏡を用いた共同研究を行うと共に，新たに２光子蛍光寿命イメージング顕微鏡を構築した。これによって，細胞の形態などの構造だけでなく，生きた細胞内で起こるシグナル伝達や分子間相互作用をイメージングすることができるようになった。最先端の光学技術に加え，新規蛍光タンパク質や光制御可能なタンパク質分子の開発も行っており，これらの技術を電気生理学的手法などと組合せることで，神経細胞およびグリア細胞の機能に関する研究を推進している。

シナプス内アクチン制御シグナル分子の活性化イメージング

村越秀治

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情報伝達系によって制御されていると考えられる。しかし，“スパイン内でどの分子がどのように活性化しているのか”といったことは調べる方法論がないためにこれまで殆ど分かっていなかった。本研究では，２光子蛍光寿命イメージング法を用いることで，海馬組織内の CA１領域にある神経細胞樹状突起上のスパイン内で起こるシグナル伝達過程を可視化し，シナプス可塑性の仕組みを解明することを目標としている。本年度は，自作の２光子蛍光寿命イメージング顕微鏡を構築し, HeLa 細胞を用いて顕微鏡の評価を行い，実際に細胞内で分子間相互作用にうよる FRET を観察できることを確かめた。現在は，キナーゼ分子である ROCK, PAK, LIMK, MLC, Cofilin 等の活性化を見るための FRET センサーを作製しているところである。

光制御可能な CaMKII 阻害分子の開発とシナプス可塑性研究への応用

村越秀治

一個のシナプス内部で，シグナル伝達分子の活性化を観察したり，自在に操作することができるようになりつつある。本研究では，シナプスの可塑性にとって重要な分子である CaMKII の活性化を光照射によって制御することができる分子の開発を行っている。本年度は，植物の光受容タンパク質キナーゼである Phototropin1 の LOV2 ドメインに CaMKII 阻害ペプチド(AIP2)を融合することによって，光制御可能な CaMKII 阻害分子を作製することに成功した。この分子は青色光照射によって，LOV2 に結合していた AIP2 が解離し，CaMKII のキナーゼドメインに結合することで活性を阻害する。今後は，この分子を用いて，単一スパインを刺激したときのスパイン形態の変化を２光子顕微鏡を用いて観察，解析することで CaMKII の機能を調べる予定である。

光応答性 CaMKII 分子の開発とシナプス可塑性研究への応用

村越秀治

本研究では，シナプスの可塑性にとって重要な分子である CaMKII を光照射によって活性化することができる分子の開発を行っている。本年度は，CaMKII のヒンジ領域に植物の光受容タンパク質キナーゼである Phototropin1 の LOV2 ドメインを挿入することによって，光制御可能な CaMKII 分子を作製することに成功した。この分子は青色光照射によって，分子構造が大きく変化し，キナーゼ活性が上昇する。今後は，この分子を用いて，単一スパインを刺激したときのスパイン形態の変化を２光子顕微鏡を用いて観察，解析することで CaMKII の機能を調べる予定である。

蛍光寿命イメージングのための新規蛍光タンパク質の開発

村越秀治

本研究では，2 光子蛍光寿命イメージングによる蛍光共鳴エネルギー移動（FRET）の観察を高感度で行うことができる蛍光タンパク質の開発を行っている。エラー誘発 PCR をおこない EYFP にランダムに変異を導入し，大腸菌に形質転換しライブラリーを作製したのち，大腸菌コロニーの蛍光を観察することによりスクリーニングを行った。これによって，従来 FRET のアクセプターとしてよく用いられてきた mRFP と比べて 30%以上 FRET 効率を改善することに成功した。今後はこの分子の吸光計数，量子収率，スペクトル測定を行う予定である。

ウイルスベクター開発室

【概要】

遺伝子改変技術は，脳機能を解析するための必要不可欠なツールである。げっ歯類では，トランスジェニック法やノックアウト法といった優れた遺伝子改変技術を利用することが出来るが，霊長類では，現在のところこれらの技術を適用することは容易ではない。アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターやレンチウイルスベクターに代表されるウイルスベクターは，げっ歯類から霊長類に至まで広範な哺乳類に適用可能な非常に優れた遺伝子改変ツールである。2012 年 8 月に小林憲太が着任し, AAV ベクターとレンチウイルスベクターの大量精製システムが確立され，これらのウイルスベクターの提供体制も整備された。本研究室は，ウイルスベクターの提供拠点としての役割を担い，他研究室からの要望に応じて高品質なウイルスベクターの提供を行うことによって，共同研究を推進する。また，これらのウイルスベクターを駆使して，脳の複雑な神経回路網を構成する特定神経路の機能解析に取り組む。

脳機能解析に有用なウイルスベクターの開発と提供

小林憲太

光遺伝学は，脳科学の分野で急速に広まっている非常に強力な実験技術である。光遺伝学に利用されるチャネ

ルロドプシン，ハロロドプシン，アーキロドプシンといったイオンチャネル分子をより効率良く目的の脳領域に発現誘導出来るウイルスベクターの開発を行う。要望に応じてこれらのウイルスベクターの提供を行い，共同研究を推進する。また，脳機能に重要な役割を果たしていると考えられる分子の変異型遺伝子や microRNA などを搭載したウイルスベクターの作製・提供に関しても要望に応じて適宜対応する。

特定神経路の機能解析

小林憲太

我々は, これまでに AAV ベクターとレンチウイルスベクターを組み合わせた二重遺伝子導入システムの開発に成功した。このシステムを利用することにより，脳の複雑な神経回路網を構成している特定の神経路のみを解析することが可能となる。低分子量 GTP 結合タンパク質 Rho ファミリーとその関連分子は，様々な細胞反応を制御するが, 脳機能における役割は未だに不明な点が多い。本研究では，大脳基底核を含む神経回路網に焦点を当てて，大脳皮質− 線条体路や黒質− 線条体路などにおける Rho ファミリーとその関連分子の役割を網羅的に解析する。

霊長類モデル動物室

【概要】

平成 14 年に開始され, 自然科学研究機構が代表機関となって京都大学霊長類研究所（分担機関）と共同推進してきた文部科学省補助事業ナショナルバイオリソースプロジェクト（NBRP）「ニホンザル」推進のため，平成 19 年度に設置された旧「NBR 事業推進室」の業務を発展させ，コモンマーモセットを含む霊長類研究用モデルの活用基盤整備を目指し平成 24 年度に新設された。NBRP「ニホンザル」は，優れた認知能力を持ち，我が国の高次脳機能研究に不可欠なモデル動物であるニホンザルを，病原微生物学的にも安全かつ付加価値の高い実験用動物として繁殖育成し，国内の研究者を対象に安定的に供給する体制を構築することを目的としており，事業推進の柱として以下４つの業務を行っている。

（1）研究用ニホンザルの繁殖・育成体制の整備
（2）研究用ニホンザルの供給事業の実施
（3）研究用ニホンザルの特性に関するデータ収集
（4）プロジェクトの総合的推進

事業を円滑に運営するため，参画機関や研究者コミュニティとの連携や調整，情報の集積，提供事業に関係する諸手続など実務を担当する。また，解剖学，生理学，生化学，獣医学的データ，生態，行動特性などニホンザルに関する多様な知見及び研究動向，疾病関連遺伝子多型等のゲノム情報など，ニホンザルに関する調査とデータベースの作成を行う。

コモンマーモセットは南米産の小型霊長類で繁殖効率が高く，取り扱いも比較的容易であり，ウイルス感受性や薬物代謝など多様な生理機能でヒトとの高い相同性を示すなど，研究用モデル開発に適した特性を有する。また, 2009 年の遺伝子改変動物作製成功以来, 脳科学研究, 生理学，免疫，再生医学研究など多様な分野のトランスレーショナルリサーチへの貢献が期待されており，今後モデル動物としての開発を進めていく。

平成 24 年度の飼育実績は，繁殖群 318 頭，育成群 183 頭，合計 501 頭になる。

提供実績は，28 件 65 頭頭（うち生理研は，9 件 18 頭）となる。

岡崎統合バイオサイエンスセンター

時系列生命現象研究領域

【概要】

ゼブラフィッシュを用い，脊髄・脳幹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。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。また，チャネルロドプシンやハロロドプシンなどの光遺伝学的ツールを積極的に用いて運動系神経回路の機能解析を進めている。

ゼブラフィッシュ脊髄・脳幹運動系神経回路の機能解析

木村有希子
佐藤千恵
東島眞一

脊髄・脳幹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ている。今年度は特に，転写因子 dbx1 を発現する神経前駆体細胞から由来する抑制性神経細胞（以下，V0-iIN とよぶ）と，転写因子 dmrt3 を発現する抑制性神経細胞（以下，d6-iIN とよぶ）に関する解析を行った。その結果，V0-iIN と d6-iIN はともに交叉型介在ニューロンで，遊泳運動の左右の屈曲に関して相互抑制に関与する神経細胞であることが明らかとなった。

解剖学的解析と並行して，チャネルロドプシンやハロロドプシン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ている。今年度は転写因子 Chx10 を発現する細胞の解析を中心に研究を行った。Chx10 発現細胞に神経活動を活性化させるチャネルロドプシンを発現する魚を作製し，様々な領域に光照射を行った。その結果，後脳の中部および後部にわたる領域において，光刺激により遊泳行動の誘発が可能であることが示された。また，逆に，Chx10 発現細胞に神経活動を不活性化させるアーキロドプシン，および，ハロロドプシンを発現する魚を作製し，自発的に起こった遊泳運動を光照射によりストップさせることが可能であるかを検討した。その結果，後脳の中部および後部に光照射を行うことで，自発的に起こった遊泳運動をストップさせることができた。この結果は，後脳の中部および後部の Chx10 細胞群が遊泳行動の開始・維持に重要な役割を果たしていることを示唆している。

動物実験センター

【概要】

本年度は，*Pasteurella pnuemotropica, Psuedomonas aeruginosa*（緑膿菌），そしてマウス肝炎ウイルス(MHV)の感染が明大寺地区で発生し，これらの感染症対策に追われた。当初の課題としては，外部獲得資金による負担金の徴収，山手地区一時保管室の定期的消毒，東海地震対策としてのマウス・ラット飼育架台の固定およびサルの定期的健康診断などの継続的なテーマが主体であった。しかし，明大寺地区に上記感染症の侵入を許し，これまで維持してきた清浄レベルが崩れてしまった。MHV の感染被害は 5 年振り 2 回目の経験であった。

以下に，各事項について説明する。

1.　明大寺地区の MHV 感染事故

経緯

2012 年 10 月 23 日に行った定期モニタリングが 11 月 6 日付で検査が完了，11 月 7 日に当センターへ成績が報告された。動物実験センター明大寺地区，新館 331 室の飼育マウスから MHV 陽性成績が認められた。331 室および隣接する 330 室の動物，機材の移動を止め，衣類も使い捨て無塵衣に切り替えた。

11 月 6 日に，他の研究期間に供与したマウスがあり，速やかに搬入を止め，MHV を検査したところ陽性成績が得られた。以上の成績から，今回の MHV 感染症の事故は間違いないものと確定し，MHV 感染事故対策委員会を招集して事故処理に当たった。

対策

早急に行うべき対策として，下記のことを決定して処理を進めた。

1) 331 室の動物の処分と消毒

感染の拡大を防ぎ，早期解決を図るために，331 号室の動物をすべて処分して，部屋を消毒した。

2) 331 室から動物を搬入した研究部門の飼養保管施設，実験室の消毒

前回の MHV 対策と同様に，331 室から動物を搬入した研究部門飼養保管施設及び実験室を消毒することとした。

3) 共通の前室でつながる 330 室の対策

再度検査して陰性であることを確実に証明した後，他室と同じ扱いとした。

4) 331 室と 330 室で使い終わった器具機材の消毒，滅菌

ケージは高圧蒸気滅菌処理，給水ビンは次亜塩素酸ナトリウムに浸漬，使い捨て無塵衣を使用とした。オートクレーブ対応のケージ，給水ビンおよびインナーケージを早急に購入して，補充に当たった。

5) 331 室，330 室以外のマウスの MHV 検査

動物実験センターおよび研究部門内で飼養保管している他室のマウスもすべて MHV の検査をした。次いで，感染が広がっているかどうかを確かめるために，3 ヶ月間は毎月検査を実施する考えを示した。3 ヶ月間陰性であれば，MHV が広がっていないと判断し，通常のモニタリングスケジュールに戻すこととした。

6) 明大寺地区における動物，物品の移動を規制

331 室以外のすべての飼養保管施設のマウスが MHV 陰性であることが確認できたので，明大寺地区にも動物を搬入できるようにした。それまでは，明大寺地区に外部から動物を搬入しない方針で規制をかけた。

明大寺地区から外部への動物の搬出は，3 ヶ月間，毎月の MHV 検査で陰性が確認できてからとした。明大寺地区 SPF 施設の動物もこの 3 ヵ月間は搬出しないこととした。

7) 明大寺地区から山手地区への人の移動を規制

山手地区 SPF 施設を防御するため，動物実験センター（明大寺地区）および明大寺地区研究部門の飼養保管施設や実験室に入室した人は，入浴あるいはシャワー浴をしてから，山手地区に入ることとした。移動制限は，3 ヶ月間，毎月の MHV 検査で陰性が確認できた後，解除した。

8) 検疫室の設置

書類だけの判定では危険があるので，動物の検疫室を設置し，職員が検疫を担当できるよう検討する。対象は，原則，大学や研究機関からの搬入動物とする。

9) MHV 感染事故の終息

一年間のモニタリング成績で，MHV 陰性が保てたならばMHV 撲滅宣言を発する。

2. マウス・ラットの緊急避難一時飼養保管施設およびMRI 撮影時の霊長類の一時的飼養保管施設の設置

駐輪場の跡地に2 階建ての建物を平成22 年度末までに増設した。一階をMRI 撮影時の霊長類の一時的実験室とし，二階はマウス・ラットの緊急避難一時飼養保管施設とした。一階の実験室は本年も稼働に至らず，過酸化水素を用いて内部を完全に消毒し，内部を一度リセットした。二階の飼養保管施設の目的はマウス・ラットに感染症が発生した場合に用いる緊急避難用シェルターであったが，他の施設にどうしても導入できない実験動物やグレーゾーンの実験動物を受け入れて実験に供する施設となり，ほぼ常時使用された。今後は，実験動物の灌流固定を行うために，ドラフトまたはダクトレスヒュームフードの設置を検討しなければならない。

今次の感染症発生問題を鑑みて，マウス・ラットの緊急避難一時飼養保管施設の機能を見直す必要がある。

3. 山手地区一時保管室の定期的消毒

一時保管室は，一年に一回清浄化という考えで，消毒を今年度も引き続き実施した。今年度も二期に分けて，2012 年 10 月に半分の飼養保管室を従来通りに消毒作業を行った。2013 年 1 月には残りの部分を一時除染後，光触媒を部屋の壁と天井にコーティング加工を施した。光触媒（二酸化チタン）に光を照射することによって，ウイルス，細菌及び真菌などの微生物を分解する新しい研究成果を実験動物施設の衛生管理に実用化した。この加工により，ホルムアルデヒドなどで消毒をすることなく，可視光応答の光触媒で常に室内が浄化される仕組みになる。来年度も残り半分の部屋について光触媒加工を実施して，自浄システムを完成させる予定である。消毒作業で一時的にマウスの飼養保管業務を中断することがなくなり，また，外部に依頼する消毒費用も大幅に削減できることを期待している。

4. 東海地震対策

2011 年 3 月 11 日東日本大震災の教訓から，近い将来起こるであろうと予想される東海地震対策を本年度も継続した。本年度は山手地区 SPF 施設における実験動物の飼育ラックをすべて固定した。この安全対策により震災時に利用者がラックの転倒事故に巻き込まれることはなくなった。また，飼育ケージもラック内に留まり，遺伝子改変動物などの飼育動物が飛散することも防げるものと思われる。なお，明大寺地区については，改築・改修工事を見据え，飼育ラックの固定は行わないこととした。

5. サルの定期的健康診断

以前より要望のあったサルの定期的健康診断を実施することができた。全頭を対象として，血液学的検査，血清生化学的検査，糞分検査（寄生虫，細菌性赤痢），ツベルクリン反応による結核症の感染検査および B ウイルス検査を行った。健康診断は今後も継続して進め，サルの異状を確認する手段としたい。今回の健康診断を通じて，研究者が実験動物を大切に扱い，動物の健康に注意していることを改めて感じ，獣医学的支援を怠らないようにしたいと考える。次年度から獣医療費を予算に盛り込むこととした。

6. 外部獲得資金による負担金の徴収

実験動物の負担金の支払いに，外部獲得資金：科研費などの適用をするために，「自然科学研究機構岡崎共通研究施設動物実験センターの使用に係わる経費の負担に関する規則」を改正し，運用 2 年目の年度を迎えた。本年度も各実験動物の負担金を変更し，また検査費については大幅に改定して利用者の便に供した。以上の変更は教授会，運営委員会および 3 所長会議にて，審議・承認の手続きをとって進めた。

7. その他として，教育訓練

教育訓練 Part 2 として，本年度も「麻酔および疼痛管理」および「ヒトと動物の共通感染症」の教育訓練を行った。「麻酔および疼痛管理」は中型動物（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。

山手地区利用者講習会も例年通り毎月開催し，受講者数は安定した状況で推移している。

8. 平成 25 年度以降の課題

生理学研究所の耐震補強第 2 期工事の進捗状況によるが，平成 25 年度も暫くは部門内で飼養保管していた動物（サル）をセンター内に受け入れて預かることになると予想する。引き続き，サルの研究部門に対しては協力体制で臨む所存である。

本年度発生したMHVを1年間監視して完全に撲滅したことを確認しなければならない。再発を防ぐために，検疫体制や微生物学的クリーニング体制をを立ち上げなければならない。

平成 26 年度を目途に，動物実験センターの改修工事を立案し始めた。ワーキンググループを立ち上げ，方針としては本館をマウス・ラットの SPF 施設に，新館を中型・大型実験動物施設に改築・改修する予定である。平成 25 年度内に大枠の基本設計を作成し，概算要求に取りかかれるように準備する。

技術課

大河原浩

【概要】

今年度，多次元共同脳科学推進センターと脳機能計測・支援センターの改組に伴い，ウィルスベクター室と霊長類モデル動物室が設置された。これら室の整備等について，戸川森雄係長に業務付加した。

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，それぞれ 3 名と 2 名の受講者を受け入れた。

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 35 回を，基礎生物学研究所・技術課と合同で平成 25 年 2 月 21 日－22 日の 2 日間にわたり開催した。会では，口演発表が 24 題，ポスター発表が 42 題あり，研修講演として『神経回路形成機構を紐解くための可視化・操作技術－２光子蛍光寿命イメージング顕微鏡法－』（村越 秀治，生理学研究所 多光子顕微鏡室 准教授）を行った。これらの報告を『生理学技術研究会報告（第 35 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 8 回の報告会（平成 25 年 2 月 22 日）を 12 演題で行った。この報告を『生理学技術研究会報告（第 35 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 7 回を分子科学研究所で開催した（平成 24 年 5 月 23－24 日)。会では 21 演題の発表があり，詳細は『第 7 回自然科学研究機構技術研究会集録』としてまとめられた。

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（名古屋大，1 名）を受講した。さらに，東海・北陸地区技術職員合同研修に係わる技術職員代表者会議（静岡大，1 名）に参加し，今後の研修会開催について議論を進めた。

また，平成 24 年度実験動物関係高度技術研修（熊本大学，1 名)，第 38 回国立大学法人動物実験施設協議会総会参加のため（秋田，1 名)，日本実験動物科学・技術 九州 2012 （第 46 回日本実験動物技術者協会総会)（別府，1 名)，日本疼痛学会（熊本，1 名)，第 16 回予防衛生協会セミナー（つくば，1 名)，日本生化学会（福岡，1 名)，脳切片試料の SEM 用観察条件等の技術的打合せ(横浜，1 名)，第 1 回シナプス再編におけるグリア戦略研究会(静岡，1 名)，文部科学省情報セキュリティセミナー(東京，1 名)，分子細胞生物学研究所・医科学研究所 合同技術発表会（東京大学，1 名)，平成 24 年度愛媛大学総合技術研究会（愛媛大学，1 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物質・材料工学と社会('11)（1 名)，ネットワークとサービス（'12)（1 名)，都市と防災（2 名）の 3 科目を選び 4 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) 前橋 寛：神経回路とシナプスの動作機構を調べるための光遺伝学的ツールの開発

(2) 齊藤 久美子：マウス脳各部位における食餌による脂肪酸代謝の変化

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 8 回安全衛生情報交換会（核融合研，2 名），自衛消防業務講習会（名古屋，2 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，15 名）の職場体験を受入れ，ネットワーク管理室，機器研究試作室，動物実験センター, 遺伝子改変動物作製室の技術職員が指導した。また，ひらめき☆ときめきサイエンスなどの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

竹島康行

【概要】

2012 年度の生体磁気計測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と生体磁気計測装置共同利用実験報告に記載されている。

生体磁気計測装置の稼動率を下表に示す。本装置は計測システムと解析システムから成るが，使用日数に解析システムの使用分は含んでいない。システム全体の保守は二ヶ月毎の定期点検を基本におこなっており，本年度の定期点検以外の作業は，ハードサイクルによる計測装置本体の調整，不調をきたしたワークステイションのハードディスクの交換，以前から継続していたシステムの OS（オペレーティングシステム）とソフトウエアの更新をおこなった。解析システムは新旧二つのバージョンを運用する構成とした。BTi 社製の解析システムは引続きスタンドアローンでの運用とした。

耐震工事により計測室内に漏水が発生したが，シールドルームや機器類に被害はなかったので，実験計画に支障はなかった。

平成 2012 年度　生体磁気計測装置稼働率

年　月	日数	休日	点検調整日数	使用日数	稼働率（%）	使用者数（人）		備考
						延べ総数	所外	
2012 年　4 月	30	10	2	18	100	22	7	定期点検，解析ソフト更新
5 月	31	10	0	19	90	23	16	
6 月	30	9	2	17	89	24	19	点検，解析ソフト更新，HD 交換
7 月	31	10	0	18	86	25	18	
8 月	31	8	2	20	95	23	12	点検，解析ソフト更新，HD 交換
9 月	30	11	0	14	74	16	7	
10 月	31	9	2	15	75	22	15	定期点検
11 月	30	9	0	13	62	14	9	

年　月	日数	休日	点検調整日数	使用日数	稼働率（%）	使用者数（人）		備考
						延べ総数	所外	
12 月	31	11	5	14	93	17	13	定期点検，耐震工事対応（漏水）
2013 年　1 月	31	12	12	4	57	4	3	センサー調整（ハードサイクル）
2 月	28	9	0	14	74	17	6	
3 月	31	11	2	18	100	22	7	定期点検
計	365	119	27	184	82	229	132	（稼働率は平均値）

*利用日数は装置を計測に使用した日数であり，保守作業などの計測外での使用は含んでいない。
*稼働率 = 使用日数／（日数－（休日数＋点検日数））×100
*延べ総使用者数は所内使用者と所外使用者（共同研究，研究協力など）を合算したものである。

②大脳皮質機能研究系

(1) 磁気共鳴装置

伊藤嘉邦

【概要】

平成２４年度の磁気共鳴画像装置における研究成果については，大脳皮質機能研究系　心理生理学部研究部門の研究活動報告と生体機能イメージング共同利用実験報告に記載されている。

磁気共鳴装置は 3T（テスラ）の物が 3 台あり，その内訳は 2001 年度から共同利用実験に供されている Allegra と，2010 年度に導入された 2 台の Verio からなる世界唯一の Dual fMRI 実験装置がある。Dual fMRI 実験装置は，各種実験装置の調整期間を経て，2012 年度から共同利用が開始された。装置の保守に関しては，メーカーにより毎月 1 台ずつのペースで順番に行なわれている。また，それ以外に実験用の PC 等の実験装置の保守や空調機の点検等を定期的に行っている。それぞれの装置ごとの稼働率を次の表に示す。なお，2 台の Verio に関しては単体でも実験に使用できるため，便宜上 Vero_A，Verio_B として個々の稼働率を算出している。

平成 24 年度　磁気共鳴装置稼働率

Allegra

年　月	日数	休日	保守	使用日数	稼働率（%）	使用		備考
						所内	所外	
2012 年　4 月	30	10	0	20	95	8	11	
5 月	31	10	2	19	84	9	7	
6 月	30	9	4	17	59	8	2	
7 月	31	10	2	19	89	17	0	
8 月	31	8	3	20	95	13	5	
9 月	30	11	1	18	78	6	6	
10 月	31	9	2	20	73	5	8	
11 月	30	9	0	21	79	8	8	
12 月	31	12	1	18	100	6	12	
2013 年　1 月	31	12	3	16	91	8	4	
2 月	28	9	2	17	94	7	9	
3 月	31	11	0	20	85	3	14	
計	365	120	20	225	86	98	86	（稼働率は平均値）

Verio_A

年　月	日数	休日	保守	使用日数	稼働率（%）	使用日		備考
						所内	所外	
2012 年　4 月	30	10	10	10	0	0	0	
5 月	31	10	2	19	21	1	3	
6 月	30	9	6	15	50	1	6	
7 月	31	10	2	19	89	1	16	
8 月	31	8	2	21	81	9	8	
9 月	30	11	1	18	92	3	13	
10 月	31	9	0	22	82	2	16	
11 月	30	9	0	21	100	1	19	
12 月	31	11	0	19	100	3	16	
2013 年　1 月	31	12	0	19	97	1	16	
2 月	28	9	1	18	94	2	15	
3 月	31	11	1	19	89	10	7	
計	365	120	25	220	80	34	135	（稼働率は平均値）

Verio_B

年　月	日数	休日	保守	使用日数	稼働率（%）	使用日		備考
						所内	所外	
2012 年　4 月	30	10	8	12	33	4	0	
5 月	31	10	3	18	50	6	3	
6 月	30	9	3	18	56	3	7	
7 月	31	10	3	18	67	9	3	
8 月	31	8	2	21	81	9	8	
9 月	30	11	2	17	94	4	12	
10 月	31	9	0	22	55	5	7	
11 月	30	9	0	21	100	6	14	
12 月	31	11	0	19	100	4	15	
2013 年　1 月	31	12	2	17	79	2	11	
2 月	28	9	0	19	100	4	16	
3 月	31	11	0	20	88	16	1	
計	365	120	23	222	77	72	97	（稼働率は平均値）

③脳機能計測・支援センター

(1) 形態情報解析室

小原正裕，山田　元，加藤勝己

【超高圧電子顕微鏡利用状況】

今年度における超高圧電子顕微鏡共同利用実験は，合計１８課題が採択され，全課題が実施された。これらの共同実験の成果は，超高圧電子顕微鏡共同利用実験報告の章に記述されている。超高圧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。なお，調整日は，定期調整（含清掃）日と修理・改良と停電後のイオンポンプベーク等に要した日数を合わせた数である。本年度は，設置後３０年を経過した超高圧電子顕微鏡とは思われない程順調に稼働し，簡単な調整のみで，主たる改良・修理は行われなかった。

年度末には，長い間念願であった高度化の一環としてCMOS カメラが導入され，新年度からは，今までのフィルム写真撮影にかわり，より効率的な観察が期待される。

2012 年度　超高圧電顕月別稼働率

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
2012 年 4 月	30	10	4	16	1	3	4	25%	
5 月	31	10	7	14	4	0	4	29%	
6 月	30	9	4	17	12	2	14	82%	
7 月	31	10	5	16	2	2	4	25%	
8 月	31	8	4	19	1	8	9	47%	
9 月	30	11	6	13	0	7	7	54%	
10 月	31	9	7	15	5	0	5	33%	
11 月	30	9	4	17	0	2	2	12%	
12 月	31	12	5	14	0	7	7	50%	
2013 年 1 月	31	12	6	13	0	4	4	31%	
2 月	28	9	4	15	0	8	8	53%	
3 月	31	11	6	14	5	9	9	100%	
計	365	120	62	183	30	52	82	45%	

フィラメント点灯時間　235.2 時間
使用フィルム枚数　2,682 枚

【クライオ位相差電子顕微鏡利用状況】

今年度におけるクライオ位相差電子顕微鏡の共同利用実験は合計 17 課題が採択され，全課題が実施された。これに加え，テラベース（株）による受託観察も行われた。

稼働率は利用日数と使用可能日数より求めている。また，保守には位相板交換に要する日数を含んでいる。

本年度は大きなトラブルもなくほぼ順調に観察を行うことが出来たが，後半に入って頻繁に CCD カメラにノイズが出るなどの不具合が生じるようになったため，来期の稼働に関しては少々不安が残る。

平成 24 年度　クライオ位相差電子顕微鏡稼働率

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	フィラメント点灯時間	備考
2012 年 4 月	20	1	19	18	0	18	95%	106	位相板交換
5 月	21	2	19	8	5	13	72%	108	位相板交換, カメラ不調
6 月	21	2	19	11	0	11	58%	62	位相板ホルダー調整
7 月	21	1	20	14	0	14	70%	61	位相板交換
8 月	23	1	22	18	4	22	100%	122	位相板交換
9 月	19	2	17	17	0	17	100%	108	位相板交換, ゴニオトラブル
10 月	22	1	21	19	0	19	90%	145	位相板交換
11 月	21	1	20	11	0	11	55%	78	位相板交換
12 月	20	1	19	8	0	8	42%	50	位相板交換
2013 年 1 月	21	1	20	5	7	12	60%	65	位相板交換
2 月	19	2	17	16	0	16	94%	95	位相板交換, カメラ不具合
3 月	20	1	19	14	0	14	74%	79	位相板交換
計	248	16	232	159	16	177	76%	1,079	

(2) 生体機能情報解析室

佐治俊幸，山本　忍

【概要】

平成 24 年度の主な装置利用および整備状況は次の通りである。本年度から新たな実験として所内利用が行われる予定であった。しかし，6 月 24 日にマグネットがクエンチしたたため修理の準備に入ったが，導入後十数年が経過しておりメーカー側で修理部品や代替品，技術者の確保が出来ず，再立ち上げの保証もなかったため修理を断念した。

【機器利用率】

平成 24 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
2012 年 4 月	20	1	19	0	0	0	0%	
5 月	21	2	19	0	0	0	0%	
6 月	21	0	16	4	0	4	25%	24 日マグネット故障
7 月	21	0	0	0	0	0	0%	
8 月	23	0	0	0	0	0	0%	
9 月	19	0	0	0	0	0	0%	
10 月	22	0	0	0	0	0	0%	
11 月	21	0	0	0	0	0	0%	
12 月	20	0	0	0	0	0	0%	

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
2013 年 1 月	21	0	0	0	0	0	0%	
2 月	19	0	0	0	0	0	0%	
3 月	20	0	0	0	0	0	0%	
計	248	3	54	4	0	4	7%	

*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 24 年度, 多光子顕微鏡室は新しく恒温室仕様に改装された生理研実験棟 5 階南側（543,544 室，553,554 室）へ移転され，防塵用ヘパフィルターのシステムも移された。平成 23 年度からの生理研実験棟南側の耐震工事にともない，共通棟地下 1 階に一時的に，多光子顕微鏡室は退避され, 平成 24 年 3 月までに生理研実験棟南側の改装が終わり，パルスレーザー，顕微鏡，除振台等は，平成 24 年 6 月までには移転されセットアップされた。

平成 23 年 7 月から准教授（村越秀治）が着任し，2 光子蛍光寿命イメージング顕微鏡（2pFLIM）の製作が開始され，自作 2pFLIM のパーツ等の製作が行われ，それらは除振台が平成 24 年 5 月末に移転され，6 月初めにパルスレーザーがセットアップされ，固体ブルーレーザーと共に再セットアップされた。また，その翌年 1 月に 2 台目のパルスレーザーが設置され完成に至った。2pFILM では，レーザーを当てた時の分子間の相互作用による微弱な蛍光の変化をとらえ，生きた細胞内での分子間の結合や構造変化を可視化するため，目的タンパクに蛍光分子を付加する必要があり，その蛍光色素とタンパク質を細胞内で発現させるための DNA を作製する必要がある。安定にその DNA を作製するため，大腸菌を用いた形質転換，遺伝子導入，DNA 精製等の技術支援を行った。その他，ウェスタンブロッティング検出用 CCD カメラの暗箱，高輝度 LED を用いた電気泳動ゲル透過用光源，レーザーの光軸合わせ用治具，顕微鏡用ステージ，脳スライスの簡易型ペルチエ素子冷却ステージ等の作製に関する技術支援を行った。

ソフトウェア開発として，Image J マクロをベースにしたシナプス形態解析ソフトの開発や 2pFLIM の制御・解析に Matlab が使用されており, そのユーザーインターフェース作成法を習得する為，簡単な画像サイズを統一するソフトウェアの作成を行った。光学顕微鏡に関する勉強会（月 2 回程度）へ参加し，スピンディスク共焦点顕微鏡, 補償光学の顕微鏡応用や, 数学的モロフォロジー, 生物研究における画像解析・処理など，様々な方法における手法の原理や基礎を聞くことができ参考になった。

(4) 電子顕微鏡室（生理研・基生研共通施設）

小原正裕，山田　元

【概要】

今年度の電子顕微鏡設置機器の稼働状況は以下の通りである。

明大寺地区に設置されていた透過型電子顕微鏡 JEM-1200EX，走査型電子顕微鏡 S-800 は故障の為，十分な性能が発揮できていない旨の報告を前年度に行ったが，本年度透過型電子顕微鏡，走査型電子顕微鏡共に代替機器の導入の目途が立った為，廃棄を行った。

現在，明大寺電子顕微鏡室には透過型電子顕微鏡として JEM1010 が，山手地区には走査型電子顕微鏡としてカールツァイス社製ΣIGMA が導入されている

山手地区の JEM-1010 は大きな故障も見られず正常に稼働している。昨年度導入された電子顕微鏡サンプルの 3 次元再構築が可能な 3D-SEM（ΣIGMA/VP）は数度トラブルが発生したものの，現在は良好に稼働している。

また，本年度には 2 台目の 3D-SEM（MERLIN）が導入され，運用を開始している

【活動】

明大寺電子顕微鏡室は，生理学研究所の耐震改修工事に伴い多くの部屋を供出した。さらに来年度以降電子顕微鏡室のある共通施設棟 I の改修工事が決定し，流用備品の洗い出しと搬出，不要備品の廃棄，新しい電子顕微鏡室の設計等の業務をおこなった。

山手地区電子顕微鏡室では先述の通り，２台の 3D-SEM と走査型電子顕微鏡の運用が開始され，それらの機器の保守が既存の業務と併せて行われた。

【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 22 人，基礎生物学研究所 7 人，機構外は 5 人の計 31 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	Morphological analysis of motor learning
		Localization of voltage-gated calcium channel in the brain
		Subcellular localization of calcium channel subunits in the brain
		シナプスの微細形態の解析
		神経伝達物質受容体の脳内局在性解析
		神経細胞膜上の分子分布の解析
		レプリカ標識法を用いたグルタミン酸受容体の局在解析
		SDS-FRL 法を用いたシナプス超微細構造の解析のため
		電子顕微鏡を用いたセプチンの脳内局在解析
		Analysis of synaptic structure
		Left/right asymmetry of neuronal circuits in the hippocampus
		Structural and molecular mechanisms of long term motor learning
		Quantitative localization of alpha1-A subunit P/Q type calcium in cerebellum
		SDS 凍結割断レプリカ免疫標識法の習得と技術改良
	形態情報解析室	小腸絨毛上皮下腺維芽細胞の形態と機能
	大脳神経回路論	大脳皮質の神経回路の解析
		神経細胞の観察
	機能協関	げっ歯類網膜に対する遺伝子導入法を用いた網膜神経細胞の解析
基礎生物学研究所	形態形成	Xenopus laevis の神経管形成の解析
	脳生物学	哺乳類対脳皮質神経細胞シナプス部の形態観察
	分子環境生物	オオミジンコの初期胚発生の経時的な観察
	生物進化	食虫植物の形態観察
		植物細胞における微笑管の観察
		植物の花器官の発生の観察
	高次細胞機構	高等植物の細胞内小器官の観察及び遺伝子産物等の細胞内局在の解析
東京歯科大学		還流唾液腺分泌終末の細胞間結合および直下細胞骨格の凍結割断による電子顕微鏡観察
名古屋大学		電子顕微鏡を用いたセプチンの脳内局在解析
中部大学		内耳有毛細胞の観察

(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フライス盤コース（リキャップ台）と旋盤コース（小物入れ），CAD コースの 3 コースを開講した。参加希望者は，3 コース合わせ生理研 7 名，基生研 27 名で，各コース共に半日の講習を行った。

本年度は，老朽化していた小型 NC フライスが生理研予算にて更新され，生理研に設置されていた 3D プリンタが当室へ移設された。また，生理研の耐震補強工事に伴い貸し出されていた部屋が返還され，回路工作室として整備した。

なお，機器研究試作室の平成 24 年度の利用状況は，以下の通りである。

平成 24 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	136	名	感覚認知情報	102	名	生体恒常機能発達	41	名
心理生理	24	名	多光子顕微鏡室	19	名	広報展開推進室	15	名
神経機能素子	4	名	生体システム	4	名	大脳神経回路論	5	名
神経分化	2	名	生理研技術課	1	名	形態情報解析室	1	名
細胞生理	1	名	生殖内分泌	1	名	動物実験センター	1	名
神経シグナル	1	名						
脳生物	11	名	生物進化	6	名	形態形成	5	名
環境光生物	4	名	時空間制御	4	名	共生システム	2	名
分子発生	2	名	RI 実験センター	1	名	バイオリソース（メダカ）	1	名
基生研技術課	1	名	高次細胞機構	1	名	生物機能情報解析	1	名
生体機能情報分析（重信）	1	名	統合神経生物	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	38	0	38	64
5	35	1	36	59
6	33	5	38	99
7	20	4	24	54
8	24	3	27	58
9	25	4	29	57
10	40	8	48	99
11	26	5	31	60
12	48	2	50	97
1	29	2	31	60
2	19	4	23	43
3	20	3	23	44
合計	357	41	398	794

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
4	13	11	3	7	0	5	0	1	8
5	7	9	3	6	0	8	3	1	7
6	20	14	11	10	0	4	1	3	3
7	10	11	7	7	0	4	1	2	2
8	14	11	8	6	0	0	0	2	1
9	14	10	8	9	0	4	0	1	8
10	19	5	9	4	0	3	0	2	11
11	15	10	7	6	1	3	0	2	5
12	27	19	9	11	0	8	0	2	6
1	11	9	4	6	0	4	1	1	1
2	12	6	5	5	0	3	2	0	2
3	10	5	4	2	0	1	2	1	1
合計	172	120	78	79	1	47	10	18	55

機器研究試作室　依頼製作品

マッスルセンサー&５軸ロボットハンド	UV 蛍光撮影ボックス	行動解析用明暗箱
気体環流チェンバー	大量透析用フロート	マウス固定器
蛍光顕微鏡原理模型	マウス頭部固定プレート	3D クリスタル彫刻用照明

④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。

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 118 名で，研究推進のための積極的な利用がある。

岡崎情報ネットワークは，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 ネットワークで，利便性の向上とセキュリティの確保を両立している。また，構内全域での無線 LAN の利用が可能である。今年度は 5 月にメールサーバーの更新，7 月に WWW サーバーの更新を行った。

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 487 名。WWW 登録者が 85 名。LAN の端末数が 2,487 台。所外からのメール受信数は 2,300 通／日，所外へのメール発信数は 2,900 通／日であった。WWW は 2,600 IP ／日の端末から 12,000 ページ／日の閲覧があった。

⑤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

【概要】

本年度は，明大寺地区において，老朽化した設備の修理･更新を進めると共に，生理研実験研究棟の耐震工事に伴う設備更新工事，当該部門への飼育室･実験室等の供出に対応した。また，山手地区では，飼育室内の耐震対策が完了した。

明大寺の動物棟Ⅰは，建設されてから 33 年あまりを経過しており，設備の老朽化が著しく，また，研究現場の現状にそぐわなくなってきている。動物棟Ⅰ（マウス，ラット）と動物棟Ⅱ（サル，イヌ，ネコ等）を含む施設の機能改善および機能高度化を目的に，ワーキンググループによる話し合いが進められた。

実験動物の授受に関し，年間でのべ 207 件の導入と 99 件の供与があった。平均すると毎週約 6 件の授受が行われており，昨年とほぼ同件数となった。授受の条件や書類内容の確認，利用者へのアドバイスに時間を費やしている。

【受精卵凍結・クリーンアップ事業】

実施件数は，明大寺および山手とも合わせ，受精卵凍結保存がのべ 44 件，クリーンアップ兼受精卵凍結保存 11 件，融解・移植 13 件であった。昨年度と比較して全てにおいて増加した。

行動実験用に，発生工学的手法を用いて生年月日をそろえたマウスを作製する依頼を 2 件受け，大量のマウス凍結胚の融解・移植を行った。また，明大寺動物実験センターで微生物汚染が散見されたため，受精卵凍結保存およびクリーンアップが特に増加した。

【明大寺地区　陸生動物室】

平成 24 年度の飼育室利用部門数は，21 部門（生理研 16 部門，基生研 3 部門，共通研究施設 1 部門，統合バイオサイエンスセンター1 部門）であった。

動物のべ飼育数は，昨年度と比べ，マウスは病原微生物汚染があり，一時は動物数が減ったものの，年間ののべ飼育数では，ほぼ同数であった。ラットはやや減少，モルモットおよびウサギは減少し，飼育は 0 となった。イヌはほぼ同数であった。サルは生理研実験研究棟耐震工事のため，実験研究棟飼養保管施設からセンター飼養保管施設に移動したため増加した。

マウス，ラットの一般飼育室では，カテゴリーA,B の病原微生物がいない飼育環境を目指しており，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きた。しかし，カテゴリーA,B ではないものの，これまで確認されていなかった Pseudomonas aeruginosa が 5 月および 8 月に実施した定期モニタリングで確認された。感染症対策委員会が開催され，5 月に確認された飼育室については，飼養保管室および動物のクリーニングを行った。12 月より当該の飼養保管施設の稼働を始めたが，その後問題は起こっていない。また，カテゴリーB に該当する MHV が 10 月に実施した定期モニタリングで確認された。感染症対策委員会が開催され，直ちに飼養保管室および動物のクリーニングを行った。

マウス地下 SPF 室は，2 部門 1 飼育室の利用があった。平成 21 年 6 月以降，3 ヶ月に 1 度の微生物モニタリングを行っているが，病原微生物は検出されなかった。

施設の運用面としては，感染症対策の一環で，各部門内で安楽死した動物を，動物実験センターに持ち込まなくても良いように，生理研実験研究棟内に霊安室を設置し，1 月から稼働した。

P2A 実験室の安全キャビネットのフィルター交換を行うと同時に，風量測定を行ったところ，安全キャビネットの風量が足りていないことが判明した。当該の安全キャビネットは，飼育ラックと接続されていることが，風量不足の原因として考えられたため，安全キャビネットと飼育ラックを切り離し，安全キャビネットを循環型にするため，購入した。飼育ラックについては，次年度整備していくこととなった。

生理研実験研究棟の耐震工事のため，実験研究棟内の部門飼養保管施設で飼育されていたマカクザルを，7 月より一時的に動物実験センターで飼養保管することになった。飼養保管場所の確保のため，ネコ飼養保管室をサル飼養保管室に転用し，ネコケージの撤去および部門サルケージの設置を行い，運用した。部門飼養保管施設

の機能をセンター内に移設したことにより，実験を行うために動物実験センターと部門実験室間のマカクザル運搬が頻繁に行われることになった。また，大動物手術室の使用率も上がった。

生理研実験研究棟耐震工事のため，飼養保管施設の 1 室を 7 月より一時的に生理研部門実験室として転用し，運用した。

主な工事及び修理については，生理研実験研究棟の耐震工事に関係し，ネコ飼養保管室の飼育ケージ撤去と共にサルケージの設置工事，給水配管敷設時に異物混入したため異物除去工事を行った。その他，動物棟 I 給湯配管工事。空調機冷水 2 次側配管に穴があいた事による修理。動物棟Ⅱボイラー修理。動物棟 I SFD 誤作動の修理。コンセント更新工事。動物棟 I 空調熱源水制御用エアドライヤ取替工事。弱電配線敷設工事。放送設備設置工事。動物棟 I ボイラーセンサー交換修理。動物棟 I 空調用ポンプ交換工事。動物棟 I・Ⅱ全熱交換機附属給水ユニット交換工事など，施設の経年劣化からと思われる工事及び修理を行った。

【山手地区 動物実験センター分室】

平成 24 年度の陸生動物利用部門数は，13 部門（生理研 10 部門, 基生研 1 部門, 統合バイオサイエンスセンター 1 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，実際の利用方法について別途実務講習会を実施している。利用者講習受講者は 35 名であった。

全 SPF 飼育室およびマウス一時保管室 1，マウス一時保管室 2 の病原微生物モニタリングを 3 ヶ月に 1 回のペースで実施している。3 月の検査において SPF 飼育室の 1 室で Pasteurella pneumotropica が確認された。感染症対策委員会の決定により，直ちに飼養保管室のクリーニングを行った。それ以降，病原性微生物は検出されていない。

1 月にエレベータで人の閉じこめ事故が発生し，原因の究明とともに，点検回数を増やす措置をとった。

震災対策として昨年度に引き続き，飼育室内の飼育ラック耐震固定工事を行いすべて完了した。

一時保管室の 2 室で光触媒による抗菌加工を実施し，飼育環境の清浄化を図った。

明大寺地区と同様に霊安室を設け 3 月より稼働した。

職場体験の中学生 2 名を受け入れ，実習を行った。

【明大寺及び山手地区 水生動物室】

平成 24 年度の明大寺地区の利用状況は, 生理研 1 部門, 基生研 3 部門となっている。

基生研の耐震補強工事に伴い水生動物室の改修も行われたが，飼育水槽や周辺のポンプ・水温調節ユニットなどは老朽化したものを再利用している。年度後半に，老朽化した器材を含む，施設内の改修・更新の申し入れが基生研からあり，ワーキンググループによる話し合いが持たれた。

平成 24 年度の山手地区の利用状況は，生理研 1 部門, 基生研の 1 部門, 統合バイオサイエンスセンター3 部門, が水槽を利用している。

水槽用冷凍機の不具合等が発生しているため，予備の冷凍機をメンテナンスし，故障時に備えた。

陸生動物　部門別・動物種別搬入数（平成 24 年度）

動物種 / 部門	明大寺地区				山手地区	
	マウス	ラット	ウサギ	サル	マウス	ラット
神経機能素子	17					
生体膜	62				265	33
機能協関	2	2			10	
分子神経生理	31				510	53
神経シグナル					574	482
感覚認知情報				2		
生体システム	110	12		4		
認知行動発達	142	52		5		
脳形態解析	52				2,887	79
大脳神経回路論					50	171
形態情報解析室		7				
生体機能情報解析室				2		
広報展開推進室	23	3	11		6	34
生殖内分泌系	641				2	
生体恒常機能	458	28				
行動様式解析室	41				65	
動物実験センター	52	3			643	
統合神経生物学		18			18	147
脳生物学	358	6		3	1	
光脳回路	524				1	
神経分化	41				473	90
個別研究		6				89
細胞生理	127				1,795	20
遺伝子改変動物作製室					1,844	519
合計	2,681	137	11	16	9,144	1,717

【研　究　発　表】

a. 発表論文

b. 学会発表

a. 発表論文

〔 目　　次 〕

神経機能素子研究部門 106
分子神経生理研究部門 106
ナノ形態生理研究部門 106
生体膜研究部門 107
機能協関研究部門 107
細胞生理研究部門 108
感覚認知情報研究部門 109
神経シグナル研究部門 109
神経分化研究部門 110
感覚運動調節研究部門 110
生体システム研究部門 112
脳形態解析研究部門 112
大脳神経回路論研究部門 114
心理生理学研究部門 114
認知行動発達機構研究部門 115
生体恒常機能発達機構研究部門 116
生殖・内分泌系発達機構研究部門 117
個別研究（村上グループ） 117
特別研究（永山グループ） 117
遺伝子改変動物作製室 118
行動様式解析室 118
形態情報解析室 119
多光子顕微鏡室 119
ウイルスベクター開発室 119
時系列生命現象研究領域 120
動物実験センター 120

発　表　論　文

《神経機能素子研究部門》

1)　英文原著論文

1. Kurogi M, Miyashita M, Emoto Y, Kubo Y, Saitoh O (2012) Green Tea Polyphenol Epigallocatechin Gallate Activates TRPA1 in an Intestinal Enteroendocrine Cell Line, STC-1. Chem Senses. 37:167-177.
2. Uchiyama M, Maejima S, Yoshie S, Kubo Y, Konno N, Joss JMP (2012) The epithelial sodium channel in the Australian lungfish, Neoceratodus forsteri (Osteichthyes: Dipnoi) Proc R Soc B 279: 4795-4802.

2)　その他（総説（英文、邦文）、著作、邦文論文など）

1. 立山充博、松下真一、久保義弘 (2012) $GABA_B$受容体の構造と機能. 臨床神経科学 30 (12): 1349-1351.

《分子神経生理研究部門》

1)　英文原著論文

1. Gotoh H, Ono K, Nomura T, Takebayashi H, Harada H, Nakamura H, Ikenaka K (2012) Nkx2.2+ progenitors generate somatic motoneurons in the chick spinal cord. PLOS ONE, 7:e51581
2. Eto K, Ishibashi H, Yoshimura T, Watanabe M, Miyamoto A, Ikenaka K, Moorhouse A, Nabekura J (2012) Enhanced GABAergic activity in the mouse primary somatosensory cortex coupled with reduced potassium-chloride cotransporter function is insufficient to alleviate chronic pain behavior. J Neurosci, 32:16552-9
3. Kako E, Kaneko N, Aoyama M, Hida H, Takebayashi H, Ikenaka K, Asai K, Togari H, Sobue K, Sawamoto K (2012) Subventricular zone-derived oligodendrogenesis in injured neonatal white matter in mice enhanced by a nonerythropoietic erythropoietin derivative.Stem Cells, 30:2234-47
4. Tanaka KF, Matsui K, Sasaki T, Sano H, Sugio S, Fan K, Hen R, Nakai J, Yanagawa Y, Hasuwa H, Okabe M, Deisseroth K, Ikenaka K, Yamanaka A (2012) Expanding the repertoire of optogenetically targeted cells with an enhanced gene expression system. Cell Rep, 2:397-406
5. Inamura N, Kimura T, Tada S, Kurahashi T, Yanagida M, Yanagawa Y, Ikenaka K, Murakami F (2012) Intrinsic and extrinsic mechanisms control the termination of cortical interneuron migration. J Neurosci, 32:6032-42
6. Inamura N, Sugio S, Macklin WB, Tomita K, Tanaka KF, Ikenaka K (2012) Gene induction in mature oligodendorocytes with a PLP-tTA mouse line. Genesis, 50:424-8
7. Yoshimura T, Yamada G, Narumi M, Koike T, Ishii A, Sela I, Mitrani-Rosenbaum S, Ikenaka K (2012) Detection of N-glycans on small amounts of glycoproteins in tissue samples and SDS-polyacrylamide gels. Analytical Biochem, 423:253-60
8. Usui N, Watanabe K, Ono K, Tomita K, Tamamaki N, Ikenaka K, Takebayashi H (2012) Role of motoneuron-derived NT-3 in survival and axonal projection of sensory neurons during neural circuit formation. Development, 139:1125-32

《ナノ形態生理研究部門》

形態情報解析室の項を参照

《生体膜研究部門》

1) 英文原著論文

1. Kusuzawa S, Honda T, Fukata Y, Fukata M, Kanatani S, Tanaka DH, Nakajima K (2012) Leucine-rich glioma inactivated 1 (Lgi1), an epilepsy-related secreted protein, has a nuclear localization signal and localizes to both the cytoplasm and the nucleus of the caudal ganglionic eminence neurons. Eur J Neurosci 36:2284-2292.
2. Lu D, Sun HQ, Wang H, Barylko B, Fukata Y, Fukata M, Albanesi J, Yin HL (2012) Phosphatidylinositol 4-kinase IIα is palmitoylated by Golgi-localized palmitoyltransferases in cholesterol-dependent manner. J Biol Chem 287:21856-21865.

2) その他

1. Yokoi N, Fukata M, Fukata Y (2012) Synaptic plasticity regulated by protein-protein interactions and posttranslational modifications. Int Rev Cell Mol Biol 297:1-43.
2. Oku S, Fukata Y, Fukata M (2012) DHHC proteins. Encyclopedia of Signaling Molecules. 519-522.

《機能協関研究部門》

1) 英文原著論文

1. Numata T, Sato K, Christmann J, Marx R, Mori Y, Okada Y, Wehner F (2012) The ΔC splice-variant of TRPM2 is the hypertonicity-induced cation channel (HICC) in HeLa cells, and the ecto-enzyme CD38 mediates its activation. J Physiol (London) 590:1121-113.
2. Ando-Akatsuka Y, Shimizu T, Numata T, Okada Y (2012) Involvements of the ABC protein ABCF2 and α-actinin-4 in regulation of cell volume and anion channels in human epithelial cells. J Cell Physiol 227:3498-3510.
3. Dezaki K, Maeno E, Sato K, Akita T, Okada Y (2012) Early-phase occurrence of K^+ and Cl^- efflux in addition to Ca^{2+} mobilization is a prerequisite to apoptosis in HeLa cells. Apoptosis 17:821-831.
4. Islam MR, Uramoto H, Okada T, Sabirov RZ, Okada Y (2012) Maxi-anion channel and pannexin 1 hemichannel constitute separate pathways for swelling-induced ATP release in murine L929 fibrosarcoma cells. Am J Physiol Cell Physiol 303:C924-C935.
5. Hasegawa Y, Shimizu T, Takahashi N, Okada Y (2012) The apoptotic volume decrease is an upstream event of MAP kinase activation during staurosporine-induced apoptosis in HeLa cells. Int J Mol Sci 13:9363-9379.
6. Uramoto H, Okada T, Okada Y (2012) Protective role of cardiac CFTR activation upon early reperfusion against myocardial infarction. Cell Physiol Biochem 30:1023-1038.
7. Maeno E, Tsubata T, Okada Y (2012) Apoptotic volume decrease (AVD) is independent of mitochondrial dysfunction and initiator caspase activation. Cells 1:1156-1167.
8. Moritoh S, Eun CH, Ono A, Asao H, Okano Y, Yamaguchi K, Shimatani Z, Koizumi A, Terada R (2012) Targeted disruption of an orthologue of DOMAINS REARRANGED METHYLASE2, OsDRM2, impairs the growth of rice plants by abnormal DNA methylation. Plant J 71:85-98.
9. Matsumoto H, Shibasaki K, Uchigashima M, Koizumi A, Kurachi M, Moriwaki Y, Misawa H, Kawashima K, Watanabe M, Kishi S, Ishizaki Y (2012) Localization of acetylcholine-related molecules in the retina: implication of the communication from photoreceptor to retinal pigment epithelium. PLoS ONE 7: e42841.
10. Moritoh S, Komatsu Y, Yamamori T, Koizumi A (2013) Diversity of retinal ganglion cells identified by transient GFP transfection in organotypic tissue culture of adult marmoset monkey retina. PLoS ONE 8: e54667.

2) その他

1. Konishi M, Okada Y (2012) International and domestic activities of the Physiological Society of Japan. Jpn Med Assoc J 55:261-263.

2. Okada Y (ed) (2012) "Patch Clamp Techniques - From Beginning to Advanced Protocols" Springer, Tokyo, 439pp.
3. Akita T, Ohara M, Okada Y (2012) Patch-clamp techniques: General remarks. In, "Patch Clamp Techniques - From Beginning to Advanced Protocols" (ed Okada Y), pp21-42, Springer, Tokyo.
4. Sabirov RZ, Korchev YE, Okada Y (2012) Smart-patch technique. In, "Patch Clamp Techniques - From Beginning to Advanced Protocols" (ed Okada Y), pp379-388, Springer, Tokyo.
5. Sabirov RZ, Okada Y (2012) Ion channel pore sizing in patch-clamp experiments. In, "Patch Clamp Techniques - From Beginning to Advanced Protocols" (ed Okada Y), pp389-402, Springer, Tokyo.
6. 岡田泰伸 (2012) Vision（巻頭言）: 現代「生理学」再考（その１）－フクシマと生命原理－．日本生理学雑誌 74:1-3.
7. 岡田泰伸 (2012) Vision（巻頭言）: 現代「生理学」再考（その２）－人体機能への諸学の糾合－．日本生理学雑誌 74:25-27.
8. 岡田泰伸 (2012) Vision（巻頭言）: 現代「生理学」再考(その３)－知って生活と教育にいかす生理学－日本生理学雑誌 74:167-168.

《細胞生理研究部門》

(1) 英文原著論文

1. Ohkita M, Saito S, Imagawa T, Takahashi K, Tominaga M, Ohta T (2012) Molecular cloning and functiona characterization of Xenopus tropicalis frog transient receptor potential vanilloid 1 reveals its functional evolution for heat, acid and capsaicin sensitivities in terrestorial vertebrates. J. Biol. Chem. 287 : 2388-97.
2. Shintaku K, Uchida K, Suzuki Y, Zhou Y, Fushiki T, Watanabe T, Yazawa S, Tominaga M (2012) Activation of TRPA1 by a non-pungent capsaicin-like compound, capsiate. Br. J. Pharmacol. 165: 1476-1486.
3, Komatsu T, Uchida K, Fujita F, Zhou Y, Tominaga M (2012) Primary alcohols activate human TRPA1 channel in a carbon chain length-dependent manner. Pfluger Archiv. Eur. J. Physiol. 463: 549-59.
4. Usuda H, Endo T, Shimouchi A, Saito A, Tominaga M, Yamashita H, Nagai H, Inagaki N, Tanaka H (2012) Transient receptor potential vanilloid 1 – a polymodal nociceptive receptor – plays a crutial role in formaldehyde-induced skin inflammation in mice. J. Pharmacol. Sci. 118: 266-274.
5. Kida N, Sokabe T, Kashio M, Haruna K, Mizuno Y, Suga Y, Nishikawa K, Kanamaru A, Hongo M, Oba A, Tominaga M (2012) Importance of transient receptor potential vanilloid 4 (TRPV4) in epidermal barrier function in human skin keratinocytes. Pfluger Archiv. Eur. J. Physiol. 463: 715-25.
6. Kashio M, Sokabe T, Shintaku K, Uematsu T, Fukuta N, Kobayashi N, Mori Y, Tominaga M (2012) Redox signal-mediated sensitization of Transient Receptor Potential Melastatin 2 (TRPM2) to temperature affects macrophage functions. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 109: 6745-6750.
7. Kitagawa Y, Miyai A, Usui K, Hamada Y, Deai K, Wada M, Koga Y, Sakata M, Hayashi M, Tominaga M, Matsushita M (2012) Pharmacological characterization of (3S)-3- (hydroxymethyl)-4-(5-methylpyridin-2-yl)-N-[6- (2, 2, 2-trifluoroethoxy) pyridin-3-yl] -3, 4- dihydro -2H-benzo [b] [1, 4] oxazine- 8 -carboxamide (JTS-653), a novel Transient Receptor Potential Vanilloid 1 antagonist. J. Pharmacol. Exp. Ther. 342: 520-528.
8. Ogawa H, Takahashi K, Miura S, Imagawa T, Saito S, Tominaga M, Ohta T (2012) H(2)S functions as a nociceptive messenger through Transient Receptor Potential Ankyrin 1 (TRPA1) activation. Neuroscience 218: 335-43.
9. Saito S, Nakatsuka K, Takahashi K, Fukuta N, Imagawa T, Ohta T, Tominaga M (2012) Analysis of Transient Receptor Potential Ankyrin 1 (TRPA1) in frogs and lizards illuminates both nociceptive heat and chemical

sensitivities and coexpression with TRP Vanilloid 1 (TRPV1) in ancestral vertebrates. J. Biol. Chem. 287: 30743-30754.
10. Uchida K, Miura Y, Nagai M, Tominaga M (2012) Isothiocyanates from Wasabia japonica activate transient receptor potential ankyrin 1 channel. Chemical Senses 37: 809-818.
11. Takaishi M, Fujita F, Uchida K, Yamamoto S, Sawada M, Hatai C, Shimizu M, Tominaga M (2012) 1,8-cineole, a TRPM8 agonist, is a novel natural antagonist of human TRPA1. Molecular Pain 8: 86.
12. Nagai K, Saitoh Y, Saito S, Tsutsumi K (2012) Structure and Hibernation-associated Expression of the Transient Receptor Potential Vanilloid 4 Channel (TRPV4) mRNA in the Japanese Grass Lizard (Takydromus tachydromoides) Zoological Science. 29:185-190.

(2) その他

1. Tsunematsu T, Yamanaka A (2012) The role of orexin/hypocretin in the central nervous system and peripheral tissues. Vitam. Horm. 89:19-33.
2. 富永真琴 (2012) 酸味および辛み受容のメカニズム 香料 No. 254: 196-202.
3 富永真琴 (2012) 侵害受容性疼痛 整形外科 63: 712-716.
4 木田尚子、曽我部隆彰、金丸晶子、富永真琴 (2012) 皮膚の温度センサーTRPV4 を活性化する化粧品素材の開発 アレルギーの臨床 32: 659-665.
5 富永真琴 (2012) 刺激感受性：温度感受性 TRP チャネルの生理機能 日本香粧品学会誌 36: 1-7.
6 富永真琴 TRP チャネルによる侵害受容機構 日本運動器疼痛学会雑誌 2012; 4 : 14-19.

《感覚認知情報研究部門》

1) 英文原著論文

1. Nishio A, Goda N, Komatsu H (2012) Neural selectivity and representation of gloss in the monkey inferior temporal cortex. J Neurosci 32: 10780-10793
2. Okazawa G, Goda N, Komatsu H (2012) Selective responses to specular surfaces in the macaque visual cortex revealed by fMRI. NeuroImage 63: 1321-1333

2) その他

1. 小松英彦 (2012) 質感の科学への展望、映像情報メディア学会誌 65(5): 332-337
2. 小松英彦 (2012) 色と質感の知覚、Clinical Neuroscience 30(8): 897-901
3. 小松英彦 (2012) 質感認知の高次脳メカニズム、生体の科学 63(4): 284-294
4. 郷田直一 (2012) 光沢を伝える脳内機構、脳21 15(4): 137-140

《神経シグナル研究部門》

1) 英文原著論文

1. Kase D, Inoue T, Imoto K (2012) Roles of the subthalamic nucleus and subthalamic HCN channels in absence seizures. J Neurophysiol 107:393-406.
2. Sugiyama D, Hur SW, Pickering AE, Kase D, Kim SJ, Kawamata M, Imoto K, Furue H (2012) In vivo patch-clamp recording from locus coeruleus neurones in the rat brainstem. J Physiol (Lond) 590:2225-2231.
3. Takeuchi Y, Yamasaki M, Nagumo Y, Imoto K, Watanabe M, Miyata M (2012) Rewiring of afferent fibers in the somatosensory thalamus of mice caused by peripheral sensory nerve transection. J Neurosci 32:6917-6930.
4. Saito Y, Inoue T, Zhu G, Kimura N, Okada M, Nishimura M, Kimura N, Maruyama S, Kaneko S, Shigemoto R, Imoto K, Suzuki T (2012) Hyperpolarization-activated cyclic nucleotide gated channels: a potential molecular link between epileptic seizures and Aβ generation in Alzheimer's disease. Mol Neurodegener 7:50.
5. Satake S, Inoue T, Imoto K (2012) Paired-pulse facilitation of multivesicular release and intersynaptic

spillover of glutamate at rat cerebellar granule cell-interneurone synapses. J Physiol (Lond) 590:5653-5675.
6. Xie DJ, Uta D, Feng PY, Wakita M, Shin MC, Furue H, Yoshimura M (2012) Identification of 5-HT receptor subtypes enhancing inhibitory transmission in the rat spinal dorsal horn in vitro. Mol Pain 8:58.

2) その他

1. Kase D, Imoto K (2012) The Role of HCN Channels on Membrane Excitability in the Nervous System. J Signal Transduct 2012:619747.
2. Furue H (2012) In vivo blind patch-clamp recording technique, Patch Clamp Techniques: From Beginning to Advanced Protocols (Springer Protocols Handbooks)" (ed Okada Y) Springer-Verlag, Japan, pp171-182.
3. Furue H, Kato G (2012) Noradrenaline. Bone Joint Nerve 2:231-237.
4. 古江秀昌， 井本敬二， 杉山大介，川真田樹人，舟井優介，西川精宣 (2012) 下行性ノルアドレナリン痛覚抑制機構とその活動制御. 麻酔 61 増刊: S30-40.
5. 歌　大介，古江秀昌，水口-高瀬洋子，井本敬二，吉村恵 (2012) Morphological analyses of excitatory effect of TRPA1 agonists on synaptic transmission in spinal dorsal neurons. 脊髄機能診断学 34(1):58-64.
6. 宍戸恵美子 (2012) 自閉症スペクトラムとシナプス蛋白質のアンバランス． Brain Nerve 64:65-70.
7. 宍戸恵美子，井本敬二(2012) 幼児の早期行動介入はどうして有効なのか. 行動科学　51: 37-44.

《神経分化研究部門》

1) 英文原著論文

1. Miyata S, Komatsu Y, Yoshimura Y, Taya C, Kitagawa H (2012) Persistent cortical plasticity by upregulation of chondroitin 6-sulfation. Nature Neurosci 15(3), 414-422.
2. Hirayama T, Tarusawa E, Yoshimura Y, Galjart N, Yagi T (2012) CTCF is required for neural development and stochastic expression of clustered Pcdh genes in neurons. Cell Rep 2 (2), 345-357.

2) その他

1. 尾藤晴彦、松崎政紀、吉村由美子、吉田寿昭 (2012) 光技術を用いた神経回路機能の解読と操作　実験医学増刊 30(13): 100-106

《感覚運動調節研究部門》

1) 英文原著論文

1. Wasaka T, Kakigi R (2012) The effect of unpredicted visual feedback on activation in the secondary somatosensory cortex during movement execution. BMC Neurosci 13: 138.
2. Inui K, Tsuruhara A, Kodaira M, Motomura E, Tanii H, Nishihara M, Keceli S, Kakigi R (2012) Prepulse inhibition of auditory change-related cortical responses. BMC Neurosci 13: 135.
3. Kobayashi M, Otsuka Y, Kanazawa S, Yamaguchi MK, Kakigi R (2012) Size-invariant representation of face in infant brain: fNIRS-adaptation study. NeuroReport 23: 984-988.
4. Morita T, Slaughter V, Katayama N, Kitazaki M, Kakigi R, Itakura S (2012) Infant and adult perceptions of possible and impossible body movements: An eye-tracking study. J Exp Child Psychol 401-414.
5. Yamashita W, Kanazawa S, Yamaguchi MK, Kakigi R (2012) The effect of gaze direction on three-dimensional face recognition in infant brain activity. NeuroReport 23: 799-803.
6. Matsuyoshi D, Ikeda T, Sawamoto N, Kakigi R, Fukuyama H, Osaka N (2012) Differential roles for parietal and occipital cortices in visual working memory. PLoS One. 2012; 7: e38623.
7. Noguchi Y, Yokoyama T, Suzuki M, Kita S, Kakigi R (2012) Temporal dynamics of neural activity at the moment of emergence of conscious percept. J Cogn

Neurosci 24:1983-1997.

8. Otsuru N, Tsuruhara A, Motomura E, Tanii H, Nishihara M, Inui K, Kakigi R (2012) Effects of acute nicotine on auditory change-related cortical responses. Psychopharmacology 224: 327-335.
9. Pantev C, Okamoto H, Teismann H (2012) Tinnitus: the dark side of the auditory cortex plasticity. Ann N Y Acad Sci 1252: 253-258.
10. Okamoto H, Teismann H, Kakigi R, Pantev C (2012) Auditory evoked fields elicited by spectral, temporal, and spectral-temporal changes in human cerebral cortex. Front Psychol 3: 149.
11. Ohoyama K, Motomura E, Inui K, Nishihara M, Otsuru N, Oi M, Kakigi R, Okada M (2012) Memory-based pre-attentive auditory N1 elicited by sound movement. Neurosci Res 73: 248-251.
12. Wasaka T, Kida T, Kakigi R (2012) Modulation of somatosensory evoked potentials during force generation and relaxation. Exp Brain Res 219: 227-233.
13. Ohoyama K, Motomura E, Inui K, Nishimura Y, Ushiro K, Matsushima N, Maeda M, Tanii H, Suzuki D, Hamanaka K, Kakigi R, Okada M (2012) Source localization of posterior slow waves of youth by dipole modeling. Psychiatry Clin Neurosci 66: 582-658.
14. Lagemann L, Okamoto H, Teismann H, Pantev C (2012) Involuntary monitoring of sound signals in noise is reflected in the human auditory evoked N1m response. PLoS ONE 7: e31634.
15. Keceli S, Inui K, Okamoto H, Otsuru N , Kakigi R (2012) Auditory sustained field responses to periodic noise. BMC Neurosci 2012, 13:7.
16. Morita T, Kosaka H, Saito ND, Ishitobi M, Munesue T, Itakura S, Omori M, Okazawa H, Wada Y, Sadato N (2012) Emotional responses associated with self-face processing in individuals with autism spectrum disorders: An fMRI study. Soc Neurosci 7: 223-239.
17. Motomura E, Inui K, Ohoyama K, Nishimura Y, Nakagawa M, Maeda M, Matsushima N, Ushiro K, Suzuki D, Kakigi R, Okada M (2012) Electroencephalographic dipole source modeling of frontal intermittent rhythmic delta activity. Neuropsychobiology 65: 103-108.
18. Nakata H, Sakamoto K, Kakigi R (2012) The relationship between reaction time and response variability and somatosensory No-go potentials. Eur J Appl Physiol 112: 207-214.
19. Kobayashi M, Otsuka Y, Nakato E, Kanazawa S, Yamaguchi M K, Kakigi R (2012) Do infants recognize the Arcimboldo images as faces? Behavioral and near-infrared spectroscopic study. J Exp Child Psychol 111: 22-36.
20. Wasaka T, Kakigi R (2012) Conflict caused by visual feedback modulates activation in somatosensory areas during movement execution. NeuroImage 59: 1501-1507.

2) 英文総説

1. Ichikawa H, Tsuruhara A, Kanazawa S, Yamaguchi MK (2012) Two- to three-month-old infants prefer moving face patterns to moving top-heavy patterns. Jpn Psychol Res 55:254-263.
2. Pantev C, Okamoto H, Teismann H (2012) Music-induced cortical plasticity and lateral inhibition in the human auditory cortex as foundations for tonal tinnitus treatment. Front Syst Neurosci 6: 1-50.

3 Inui K, Kakigi R (2012) Pain perception in humans: use of intra-epidermal electrical stimulation. J Neurol Neurosurg Psychiatry 83: 551-556.

3） 研究関係著作

1. 柿木隆介 (2012) ヒトにおける痛みと痒みの脳内認知機構の解明,Pain Research 27:203-214.
2. 乾　幸二（2012）痛みの伝導路 Brain Nerve 64: 1215-1224.
3. 柿木隆介（2012）特集■顔認知の脳内機構 序―特殊の目的 Introduction Brain Nerve 64: 715-716.
4. 三木研作，柿木隆介（2012）特集■顔認知の脳内機構 脳磁図を用いた顔認知機構の解明 Mechanisms of Face Perception in Humans: An MEG Study. Brain Nerve64: 727-735.
5. 柿木隆介（2012）「脳科学」ブーム（バブル？） 近畿化学工業界（きんか）2012 2 月号:11-14.

《生体システム研究部門》

（１）英文原著論文

1. Inoue KI, Koketsu D, Kato S, Kobayashi K, Nambu A, Takada M (2012) Immunotoxin-mediated tract targeting in the primate brain: selective elimination of the cortico-subthalamic “hyperdirect” pathway. PLoS ONE 7(6): e39149.
2. Takahara D, Inoue KI, Hirata Y, Miyachi S, Nambu A, Takada M, Hoshi E (2012) Multisynaptic projections from the ventrolateral prefrontal cortex to the dorsal premotor cortex in macaque: anatomical substrate for conditional visuomotor behavior. Eur J Neurosci 36: 3365-3375.
3. Tanaka KF, Matsui K, Sasaki T, Sano H, Sugio S, Fan K, Hen R, Nakai J, Yanagawa Y, Hasuwa H, Okabe M, Deisseroth K, Ikenaka K, Yamanaka A (2012) Expanding the repertoire of optogenetically targeted cells with an enhanced gene expression system. Cell Rep 2(2): 397-406.
4. Bepari AK, Sano H, Tamamaki N, Nambu A, Tanaka KF, Takebayashi H (2012) Identification of optogenetically activated striatal medium spiny neurons by Npas4 expression. PLoS ONE 7(12): e52783.
5. Tachibana Y, Hikosaka O (2012) The primate ventral pallidum encodes expected reward value and regulates motor action. Neuron 76: 826-37.
6. Shin D, Watanabe H, Kambara H, Nambu A, Isa T, Nishimura Y, Koike Y (2012) Prediction of muscle activities from electrocorticograms in primary motor cortex of primates. PLoS ONE 7(10): e47992.
7. Watanabe H, Sato M, Suzuki T, Nambu A, Nishimura Y, Kawato M, Isa T (2012) Reconstruction of movement-related intracortical activity from micro-electrocorticogram array signals in monkey primary motor cortex. J Neural Eng 9:036006.

（２）その他

1. Nambu A (2012) GABA-B receptor: possible target for Parkinson’s disease therapy. Exp Neurol 233: 121-122.
2. Nambu A (2012) Dystonia. Neuroscience in the 21st Century. Eds Pfaff, Springer, vol 2: pp1143-1148.
3. 南部　篤(2012) 大脳基底核疾患の病態生理. 臨床神経学 52:1198-1200
4. 知見聡美、南部　篤（2012）大脳基底核の運動制御における抑制性ニューロン. Clinical Neuroscience 30: 1381-1384.
5. 南部　篤（2012）モデルマウスの神経活動からジストニアの病態を考える. 長谷川一子（編）ジストニア 2012 中外医学社, pp194-202.

《脳形態解析研究部門》

1) 英文原著論文

1. Ballesteros-Merino C, Lin M, Wu WW, Ferrandiz-Huertas C, Caba)ero MJ, Watanabe M, Fukazawa Y, Shigemoto R, Maylie J, Adelman JP, Luján R (2012) Developmental profile of SK2 channel expression and function in CA1 neurons. Hippocampus 22:1467-80.
2. Sasaki T, Beppu K, Tanaka KF, Fukazawa Y, Shigemoto R, Matsui K* (2012) Application of an optogenetic byway for perturbing neuronal activity via glial photostimulation. Proc Natl Acad Sci U S A, 109: 20720-20725. (* corresponding author)
3. Sasaki H, Togashi S, Karube R, Yanagawa T, Nakane S, Tabuchi K, Ishibashi N, Shinya Y, Ito H, Yamagata K, Onizawa K, Adachi K, Sekido M. and Bukawa H. (2012) Presurgical nasoalveolar molding orthopedic treatment improves the outcome of primary cheiloplasty of unilateral complete cleft lip and palate, as assessed by naris morphology and cleft gap. J Craniofac Surg. 23(6): 1596-601.
4. Tanaka KF*, Matsui K*, Sasaki T, Sano H, Sugio S, Fan K, Hen R, Nakai J, Yanagawa Y, Hasuwa H, Okabe M, Deisseroth K, Ikenaka K, Yamanaka A (2012) Expanding the repertoire of optogenetically targeted cells with an enhanced gene expression system. Cell Reports, 2:

397‐406. (* co-first author)
5. Budisantoso T †, Matsui K †*, Kamasawa N, Fukazawa Y, Shigemoto R (2012) Mechanisms underlying signal filtering at a multi-synapse contact. Journal of Neuroscience, 32: 2357-2376. († co-first author, * corresponding author)
6. Abrahamsson T, Cathala L, Matsui K, Shigemoto R, Digregorio DA (2012) Thin dendrites of cerebellar interneurons confer sublinear synaptic integration and a gradient of short-term plasticity. Neuron, 73: 1159-1172.
7. Parajuli L, Nakajima C, Kulik A, Matsui K, Schneider T, Shigemoto R, Fukazawa Y (2012) Quantitative regional and ultrastructural localization of the Cav2.3 subunit of R-type calcium channels in mouse brain. Journal of Neuroscience, 32: 13555-13567.
8. Sumegi M, Fukazawa Y, Matsui K, Lorincz A, Eyre MD, Nusser Z, Shigemoto R (2012) Virus-mediated swapping of zolpidem-insensitive with zolpidem-sensitive $GABA_A$ receptors in cortical pyramidal cells. Journal of Physiology, 590: 1517-1534.
9. Kaufmann WA, Matsui K, Jeromin A, Nerbonne J, Ferraguti F (2012) Kv4.2 potassium channels segregate to extrasynaptic domains in amygdala intercalated neurons and influence intrasynaptic NMDA receptor NR2B subunit expression. Brain Structure and Function.
10. Saito Y, Inoue T, Zhu G, Kimura N, Okada M, Nishimura M, Kimura N, Murayama S, Kaneko S, Shigemoto R, Imoto K, Suzuki T (2012) Hyperpolarization-activated cyclic nucleotide gated channels: a potential molecular link between epileptic seizures and Ab generation in Alzheimer's disease. Molecular Neurodegeneration 7(1):50.
11. Karube R, Sasaki H, Togashi S, Yanagawa T, Nakane S, Ishibashi N, Yamagata K, Onizawa K, Adachi K, Tabuchi K, Sekido M. and Bukawa H. (2012) A novel method for evaluating postsurgical results of unilateral cleft lip and palate with the use of Hausdorff distance: presurgical orthopedic treatment improves nasal symmetry after primary cheiloplasty. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 114(6):704-11.
12. Budreck EC, Kwon OB, Jung JH, Baudouin S, Thommen A, Kim HS, Fukazawa Y, Harada H, Tabuchi K, Shigemoto R, Scheiffele P, Kim JH. (2013) Neuroligin-1 controls synaptic abundance of NMDA-type glutamate receptors through extracellular coupling. Proc Natl Acad Sci U S A. 110(2):725-30.
13. Budisantoso T, Harada H, Kamasawa N, Fukazawa Y, Shigemoto R, Matsui K* (2013) Evaluation of glutamate concentration transient in the synaptic cleft of the rat calyx of Held. Journal of Physiology, 591: 219–239. (* corresponding author)
14. Indriati DW, Kamasawa N, Matsui K, Meredith AL, Watanabe M, Shigemoto R (2013) Quantitative localization of Ca(v)2.1 (P/Q-type) voltage-dependent calcium channels in Purkinje cells: somatodendritic gradient and distinct somatic coclustering with calcium-activated potassium channels. Journal of Neuroscience, 33: 3668-3678.

2) その他

1. Fukazawa Y, Shigemoto R (2012) Intra-synapse-type and inter-synapse-type relationships between synaptic size and AMPAR expression., Curr Opin Neurobiol. 22:446-52.
2. 松井　広 (2013) 心に占めるグリア細胞の役割－光操作技術のもたらすパラダイム・シフト. 実験医学, 31: 1712-1717.
3. 松井　広 (2013) マウスの心の光操作－脳細胞活動と心の機能の因果関係を探る. BRAIN and NERVE, 65: 609-621.
4. 松井　広 (2012) 視床：単なる中継核ではない - 生理学的基礎. Clinical Neuroscience, 31: 24-26.
5. 松井　広、田中謙二 (2012) 生きたままのマウスの脳細胞を光で操作する技術の開発. O plus E, 396: 1085-1090.
6. Deeba Noreen Baig, 柳川　徹, 田渕克彦 (2012) Analysis of Neuroligin-3R451C knock-in mice as models for autistic savant. 日本生物学的精神医学会誌 Vol.23.No.4:281-286.

《大脳神経回路論研究部門》

1) 英文原著論文

1. Ushimaru M, Ueta Y, Kawaguchi Y (2012) Differentiated participation of thalamocortical subnetworks in slow/spindle waves and desynchronization. J Neurosci 32: 1730-1746.
2. Hirai Y, Morishima M, Karube F, Kawaguchi Y (2012) Specialized cortical subnetworks differentially connect frontal cortex to parahippocampal areas. J Neurosci 32: 1898-1913.
3. Chen JL, Villa KL, Cha JW, So PT, Kubota Y, Nedivi E (2012) Clustered dynamics of inhibitory synapses and dendritic spines in the adult neocortex. Neuron 74: 361-373.
4. Morita K, Morishima M, Sakai K, Kawaguchi Y (2012) Reinforcement learning: computing the temporal difference of values via distinct corticostriatal pathways. (Opinion article) Trends Neurosci 35: 457-467.

2) その他

1. Hatanaka Y, Yamauchi K, Murakami F (2012) Formation of Axon-dendrite polarity in situ: Initiation of axons from polarized and non-polarized cells. Dev Growth Differ 54: 398-407.
2. 川口泰雄 (2012) 大脳皮質層構造と錐体細胞へのアセチルコリン作用. Clinical Neuroscience 30: 645-648.
3. 川口泰雄 (2012)新皮質における抑制性ニューロン. Clinical Neuroscience 30:1388-1390.

《心理生理学研究部門》

1) 英文原著論文

1. Asano Y, Hiramoto T, Nishino R, Aiba Y, Kimura T, Yoshihara K, Koga Y, Sudo N. (2012) Critical role of gut microbiota in the production of biologically active, free catecholamines in the gut lumen of mice. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 303(11):G1288-95.
2. Iidaka T, Harada T, Eifuku S, Nakata R, Sadato N (2012) Distinct human face representations in the perirhinal cortex and fusiform gyrus. Brain Res,1452: 119-129.
3. Iidaka T, Harada T, Kawaguchi J, Sadato N (2012) Neuroanatomical substrates involved in true and false memories for face. Neuroimage, 62(1):167-176.
4. Kitada R, Sadato N, Lederman S J (2012) Tactile perception of nonpainful unpleasantness in relation to perceived roughness: Effects of inter-element spacing and speed of relative motion of rigid 2-D raised-dot patterns at two body loci. Perception, 41(2):204-220.
5. Mizuno K, Tanaka M, Tanabe HC, Sadato N, Watanabe Y (2012) The neural substrates associated with attentional resources and difficulty of concurrent processing of the two verbal tasks. Neuropsychologia, 50(8):1998-2009.
6. Morita T, Kosaka H, Saito DN, Ishitobi M, Munesue T, Itakura S, Omori M, Okazawa H, Wada Y, Sadato N (2012) Emotional responses associated with self-face processing in individuals with autism spectrum disorders: An fMRI study. Soc Neurosci.7(3):223-229.
7. Sakai H, Takahara M, Honjo NF, Doi S, Sadato N, Uchiyama Y. Regional frontal gray matter volume associated with executive function capacity as a risk factor for vehicle crashes in normal aging adults. PLoS One.7(9): e45920.
8. Sasai S, Homae F, Watanabe H, Sasaki AT, Tanabe HC, Sadato N, Taga G (2012) A NIRS-fMRI study of resting state network. Neuroimage, 63(1):179-193.
9. Sasaki AT, Kochiyama T, Sugiura M, Tanabe HC and Sadato N (2012) Neural networks for action representation: a functional magnetic-resonance imaging and dynamic causal modeling study. Front. Hum. Neurosci. 6:236.
10. Sugawara SK, Tanaka S, Okazaki S, Watanabe K, Sadato N (2012) Social rewards enhance offline improvements in motor skill. PLoS One, 7(11):e48174.
11. Tanabe HC, Kosaka H, Saito DN, Koike T, Hayashi MJ, Izuma K, Komeda H, Ishitobi M, Omori M, Munesue T, Okazawa H, Wada Y, Sadato N (2012) Hard to "tune in":

neural mechanisms of live face-to-face interaction with high-functioning autistic spectrum disorder. Front Hum Neurosci. 6:268.

12. Tanaka S, Seki K, Hanakawa T, Harada M, Sugawara SK, Sadato N, Watanabe K and Honda M (2012) Abacus in the brain: a longitudinal functional MRI study of a skilled abacus user with a right hemispheric lesion. Front. Psychology, 3:315.
13. Uchiyama HT, Saito DN, Tanabe HC, Harada T, Seki A, Ohno K, Koeda T, Sadato N (2012) Distinction between the literal and intended meanings of sentences: A functional magnetic resonance imaging study of metaphor and sarcasm. Cortex, 48:563-583.
14. Uchiyama Y, Toyoda H, Sakai H, Shin D, Ebe K, Sadato N (2012) Suppression of brain activity related to a car-following task with an auditory task: An fMRI study. Transportation Research Part F: Traffic Psychology and Behaviour, 15(1):25-37.

2) その他

1. 吉原一文，久保千春 (2012) 慢性疲労症候群：知っておきたい内科症候群．臨床雑誌内科，109(6): 1513-1514.
2. 吉原一文， 須藤信行 (2012) 過換気症候群．臨床と研究 89:1195-1198, 2012.
3. 北田　亮（2012）触覚による社会的コミュニケーションの認知脳科学的メカニズム．日本ロボット学会誌 30:466-468.
4. 北田　亮（2012）視覚障害者の視覚野応答．Clinical Neuroscience 30:593-594.

《認知行動発達機構研究部門》

1) 英文原著論文

1. Kaneda K, Yanagawa Y, Isa T (2012) Transient enhancement of inhibition following visual cortical lesions in the mouse superior colliculus. European Journal of Neuroscience 36: 3066-3076.
2. Sooksawate T, Yanagawa Y, Isa T (2012) Cholinergic responses in GABAergic neurons in the intermediate gray layer of mouse superior colliculus. European Journal of Neuroscience 36: 2440-2451.
3. Watanabe H, Sato M, Suzuki T, Nambu A,Nishimura Y, Kawato M, Isa T (2012) Reconstruction of movement-related intracortical activity from micro-electrocorticogram array signals in monkey primary motor cortex.. Journal of Neural Engineering, 9:036006.
4. Kinoshita M, Matsui R, Kato S, Hasegawa T, Kasahara H, Isa K, Watanabe A, Yamamori T,Nishimura Y, Alstermark B, Watanabe D, Kobayashi K, Isa T(2012) Genetic dissection of the circuit for hand dexterity in primates.. Nature 487：235-238.
5. Yoshida M, Itti L, Berg D, Ikeda T, Kato R,Takaura K, White BJ, Munoz DP, Isa T(2012) Residual Attention Guidance in Blindsight Monkeys Watching Complex Natural Scenes. Current Biology 22: 1429-1434.
6. Shin D, Watanabe H, Kambara H, Nambu A, Isa T, Nishimura Y, Koike Y. (2012) Prediction of Muscle Activities from Electrocorticograms in Primary Motor Cortex of Primate. PLoS ONE, 7: e47992.
7. Umeda T, Seki K, Sato M, Nishimura Y, Kawato M, Isa T (2012) Population coding of forelimb joint kinematics by peripheral afferents in monkeys. PLoS ONE 7:e47749.
8. Seki K, Fetz EE (2012) Gating of sensory input at spinal and cortical levels during preparation and execution of voluntary movement. Journal of Neuroscience 32: 890-902.

2) 英文総説（査読あり）

1. Nishimura Y, Isa T (2012) Cortical and subcortical compensatory mechanisms after spinal cord injury in monkeys. Experimental Neurology, Special Issue "Plasticity after spinal cord injury" invited review 235:152-161.
2. Alstermark B, Isa T (2012) Circuits for skilled reaching and grasping. Annual Review of Neuroscience 35:559-78

3) 研究関係著作

1. Isa T (2012) Systems descending from the brainstems: functional recovery following damage. “Neuroscience

in the 21st Century” (ed Pfaff DW), Springer, Chapter 32, pp. 1115-1126
2. Isa T, Imoto K, Kawaguchi Y (2012) Slice Patch clamp. “Patch Clamp Techniques”(ed Okada Y), Springer, Chapter 7, pp. 121-136
3. Yokoi H, Sato K, Morishita S, Nakamura T, Kato R, Umeda T, Watanabe H,Nishimura Y, Isa T, Ikoma K, Miyamoto T, Yamamura O (2012) fMRI Analysis of Prosthetic Hand Rehabilitation Using a Brain-Machine Interface. “Advance in Therapeutic Engineering”, pp. 219-250
4. 伊佐　正 (2012) 皮質脊髄路と運動制御. Brain and Nerve 64(11):1331-1340
5. 吉田正俊 (2012) 盲視の神経科学. Clinical Neuroscience 30(8):955-957
6. 木下正治，伊佐　正 (2012) ニューロサイエンスの最新情報「オプトジェネティクスを用いた神経科学研究」. Clinical Neuroscience 30(1):106-107
7. 伊佐　正 (2012) 神経回路を自在に操作する技術について. 日本生物学的精神医学会誌 24(1):35-41
8. 西村幸男 (2012) 人工神経接続による運動機能再建. 脳 21. 16:30-36

4) その他

1. 木下正治 (2012) 霊長類の神経回路を分子遺伝学的に操作する－手指の器用な運動の制御－. 神経科学ニュース 2012.3，pp. 21-24
2. 木下正治，伊佐　正 (2012) マカクザルの前肢の巧緻な運動に必要な神経回路の新しい遺伝子導入法による選択的な遮断. ライフサイエンス新着論文レビュー（大学共同利用機関法人 情報・システム研究機構 ライフサイエンス総合データベースセンター）http://first.lifescience.jp/archives/5259.
3. 伊佐　正 (2012) インタビュー「霊長類の脳で、”下等な”動物の神経回路が果たしていた役割とは？」. nature ダイジェスト 2012 年 11 月号 pp.18-19
4. 伊佐　正，吉田正俊 (2012) 見えないはずなのにみえている？「盲視」. Newton 別冊「知能と心の科学」pp.54-55
5. Kinoshita M, Matsui R, Kato S, Hasegawa T, Kasahara H, Isa K, Watakabe A, Yamamori T, Nishimura Y, Alstermark B., Watanabe D, Kobayashi K, Isa T (2012) Genetic dissection of the spinal circuit for hand dexterity in macaque monkeys. Society for Neuroscience 42nd annual meeting Hot Topics p.84

《生体恒常機能発達機構研究部門》

1) 英文原著論文

1. Shen J, Ishii Y, Xu G, Dang TC, Hamashima T, Matsushima T, Yamamoto S, Hattori Y, Takatsuru Y, Nabekura J ,Sasahara M (2012) PDGFR-β as a positive regulator of tissue repair in a mouse model of focal cerebral ischemia. J Cereb Blood Flow Metab. 32(2): 353-367.
2. Eto K, Ishibashi H, Yoshimura T, Watanabe M, Miyamoto A ,Ikenaka K ,Moorhouse AJ ,Nabekura J (2012) Enhanced GABAergic Activity in the Mouse Primary Somatosensory Cortex Is Insufficient to Alleviate Chronic Pain Behavior with Reduced Expression of Neuronal Potassium-Chloride Cotransporter. J Neurosci 32(47): 16552-16559.

2) その他

1. Kim SK, Eto K, Nabekura J (2012) Synaptic structure and function in the mouse somatosensory cortex during chronic pain: in vivo two-photon imaging. Neural Plast. 2012: 640259.
2. Wake H, Moorhouse AJ ,Nabekura J (2012) Functions of microglia in the central nervous system-beyond the immune response. Neuron Glia Biol. 7: 47-53.
3. 稲田浩之, 加藤　剛, 江藤　圭, 鍋倉淳一 (2012) 中枢神経系の 2 光子励起 in vivo イメージング. 実験医学別冊 『in vivo イメージングの原理と実際』 : 171-180.

《生殖・内分泌系発達機構研究部門》

1) 英文原著論文

1. Ogawa N, Ito M, Yamaguchi H, Shiuchi T, Okamoto S, Wakitani K, Minokoshi Y and Nakazato M (2012) Intestinal fatty acid infusion modulates food preference as well as calorie intake via the vagal nerve and midbrain-hypothalamic neural pathways in rats. Metabolism 61:1312-1320.
2. Inagaki-Ohara K, Mayuzumi H, Kato S, Minokoshi Y, Otsubo T, Kawamura Y I, Dohi T, Matsuzaki G and Yoshimura A (2012) Enhancement of leptin receptor signaling by SOCS3 deficiency induces development of gastric tumors in mice. Oncogene doi:10.1038/onc. 2012.540.

2) その他

1. Minokoshi Y, Toda C and Okamoto S (2012) Regulatory role of leptin in glucose and lipid metabolism in skeletal muscle. Indian J Endocrinol Metab 16 : S562-S568.
2. 視床下部における細胞内代謝、AMPK、mTOR 活性と摂食調節．内分泌・糖尿病・代謝内科 34 : 14-20.
3. 箕越靖彦（2012）メトホルミンと AMPK．Diabetes Frontier 23 : 59-66.
4. 箕越靖彦（2012）脳における摂食・エネルギー代謝調節．PRACTICE Journal of Practical Diabetes 29 : 268-274.
5. 箕越靖彦（2012）摂食調節機構のここが分からない！？ AMPK と摂食調節. Diabetes Strategy 2 : 84-91.
6. 戸田知得，箕越靖彦（2012）中枢神経による代謝制御．糖尿病学イラストレイテッド―発症機序・病態と治療薬の作用機序（春日雅人編）羊土社 pp.150-160.

《個別研究（村上グループ）》

1) 英文原著論文

1. Matsuki-Fukushima M, Hashimoto S, Murakami M, Ogata Y, Fujita-Yoshigaki J, Narita T, Sugiya H. (2012) The actin-specific reagent jasplakinolide induces apoptosis in primary rat parotid acinar cells. Arch Oral Biol 57: 567-576, 2012
2. Seo Y, Satoh K, Morita H, Takamata A, Watanabe K, Ogino T, Murakami M (2013) Mn-citrate and Mn-HIDA: Intermediate-affinity chelates for manganese-enhanced MRI. Contrast Media & Molecular Imaging 8: 140-146.
3. Matsuki-Fukushima M, Fujita-Yoshigaki J, Murakami M, Katsunmata-Kato O, Yokoyama M, Sugiya H (2013) Involvement of AQP6 in the mercury-sensitive osmotic lysis of rat parotid secretory granules. J Memb Biol 246: 209-214.

2) その他

なし

《特別研究（永山グループ）》

1) 英文原著論文

1. Y. Fukuda and K. Nagayama (2012) Zernike phase contrast cryo-electron tomography of whole mounted frozen cells. J. Structural Biology 177:484-489.
2. T. Kimoto, Y. Arai, K. Nagayama (2012) Photoelectron emission from Cs_3Sb coated on a cathode tip. Applied Surface Science 258:5646-5653.
3. Y. Inayoshi, H. Minoda, Y. Arai, K. Nagayama (2012) Direct observation of biological molecules in liquid by environmental phase-plate transmission electron microscopy. Micron 43:1091-1096.
4. H. Yamada, A. Bhatt, R. Danev, N. Fujiwara, S. Maeda, S. Mitarai, K. Chikamatsu, A. Aono, K. Nitta, W. R. Jacobs Jr., K. Nagayama (2012) Non-acid-fastness in Mycobacterium tuberculosis ΔkasB mutant correlates with the cell envelope electron density. Tuberculosis

92:351-357.

2) その他

1. 永山國昭（2012）新著紹介 大沢文夫 大沢流手づくり統計力学.日本物理学会誌 67:353.
2. 永山國昭（2012）第 17 回 IUPAB 国際会議報告および若手報告. 生物物理 52：38-41.
3. 永山國昭（2012）世界と共に歩み進む学術. 生物物理 52：72-73.
4. 木下正弘、永山國昭（2012）タンパク質水和理論の新機軸Ⅰ.朝倉―大沢理論を越えて.生物物理 52:203-205.
5. 木下正弘、永山國昭（2012）タンパク質水和理論の新機軸Ⅱ. 新理論の応用展開.生物物理 52:250-253.
6. 木下正弘、永山國昭（2012）タンパク質水和理論の新機軸Ⅲ. 理論的考察.生物物理 52:300-303.

《遺伝子改変動物作製室》

1) 英文原著論文

1. Hara H, Hwang I-S, Kuwayama M, Hirabayashi M, Hochi S (2012) High incidence of multiple aster formation in vitrified-warmed bovine oocytes after in vitro fertilization. Theriogenology 77:908-915.
2. Zhang GX, Obata K, Takeshita D, Mitsuyama S, Nakashima T, Kikuta A, Hirabayashi M, Tomita K, Vetter R, Dillmann W, Takaki M (2012) Evaluation of left ventricular mechanical work and energetics of normal hearts in SERCA2a transgenic rats. Am J Physiol 62:221-231.
3. Tomikawa J, Uenoyama Y, Ozawa M, Fukanuma T, Takase K, Goto T, Abe H, Ieda N, Minabe S, Deura C, Inoue N, Sanbo M, Tomita K, Hirabayashi M, Tanaka S, Imamura T, Okamura H, Maeda K, Tsukamura H (2012) Epigenetic regulation of Kiss1 gene expression mediating estrogen positive feedback action in the mouse brain. Proc Natl Acad Sci USA 109:E1294-1301.
4. Hirabayashi M, Tamura C, Sanbo M, Goto T, Kato-Itoh M, Kobayashi T, Nakauchi M, Hochi S (2012) Ability of tetraploid rat blastocysts to support fetal development after complementation with embryonic stem cells. Mol Reprod Dev 79:402-412.
5. Kobayashi T, Kato-Itoh M, Yamaguchi T, Tamura C, Sanbo M, Hirabayashi M, Nakauchi H (2012) Identification of rat Rosa26 locus enables generation of knock-in rat lines ubiquitously expressing tdTomato. Stem Cell Dev 21:2981-2986.
6. Hirayama T, Tarusawa E, Yoshimura Y, Galjart N, Yagi T (2012) CTCF is required for neural development and stochastic expression of clustered Pcdh genes in neurons. Cell Rep 2: 345-357.

《行動様式解析室》

1) 英文原著論文

1. Shoji H, Hagihara H, Takao K, Hattori S, Miyakawa T (2012) T-maze forced alternation and left-right discrimination tasks for assessing working and reference memory in mice. J Vis Exp (60):3300.
2. Suzuki K, Zhou J, Sato T, Takao K, Miyakawa T, Oyake M, Yamada M, Takahashi H, Takahashi Y, Goto J, Tsuji S (2012) DRPLA transgenic mouse substrains carrying single copy of full-length mutant human DRPLA gene with variable sizes of expanded CAG repeats exhibit CAG repeat length- and age-dependent changes in behavioral abnormalities and gene expression profiles. Neurobiol Disease 46(2):336-350.
3. Lee HU, Yamazaki Y, Tanaka KF, Furuya K, Sokabe M, Hida H, Takao K, Miyakawa T, Fujii S, Ikenaka K (2012) Increased astrocytic ATP release results in enhanced excitability of the hippocampus. Glia, 22427.
4. Hattori S, Takao K, Tanda K, Toyama K, Shintani N, Baba A, Hashimoto H, Miyakawa T (2012) Comprehensive behavioral analysis of pituitary

adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) knockout mice. Front Behav Neurosci 6:58.

5. Nagura H, Ishikawa Y, Kobayashi K, Takao K, Tanaka T, Nishikawa K, Tamura H, Shiosaka S, Suzuki H, Miyakawa T, Fujiyoshi Y, Doi T (2012) Impaired synaptic clustering of postsynaptic density proteins and altered signal transmission in hippocampal neurons, and disrupted learning behavior in PDZ1 and PDZ2 ligand binding-deficient PSD-95 knockin mice. Mol Brain 5:43.
6. Komine Y, Takao K, Miyakawa T, Yamamori T (2012) Behavioral abnormalities observed in Zfhx2-deficient mice. PLoS ONE 7(12)e53114.

2) その他

1. 萩原英雄，高雄啓三，宮川　剛 (2012) 興奮性アミノ酸仮説におけるカルシニューリンの役割. 臨床精神薬理 15(5)657-664.

《形態情報解析室》

1) 英文原著論文

1. Oti T, Satoh K, Saito K, Murata K, Kawata M, Sakamoto T & Sakamoto H. (2012) Three-dimensional evaluation of the spinal local neural network revealed by the high-voltage electron microscopy: a double immunohistochemical study. Histochemistry and cell biology 138: 693-697.
2. Hansman G, Taylor D, McLellan J, Smith T, Georgiev I, Tame J, Park SY, Yamazaki M, Gondaira F, Miki M, Katayama K, Murata K & Kwong P. (2012) Structural basis for broad detection of genogroup II noroviruses by a monoclonal antibody that binds to a site occluded in the viral particle. J Virol 86: 3635-3646.
3. Furuya S, Furuya K. (2013) Roles of substance P and ATP in the subepithelial fibroblasts of rat intestinal villi. Int Rev Cell Mol Biol. 304:133-189.
4. Yi L, Naruse S, Furuya S, Yamamoto A, Nakakuki M, Nagao S, Yoshihara D, Ko SB, Wei M, Kondo T, Ishiguro H. (2012) Structure and function of the pancreas in the polycystic kidney rat. Pancreas. 41(8):1292-1298.
5. Aratake Y, Okuno T, Matsunobu T, Saeki K, Takayanagi R, Furuya S, Yokomizo T. (2012) Helix 8 of leukotriene B4 receptor 1 inhibits ligand-induced internalization. FASEB J. 26(10):4068-4078.

《多光子顕微鏡室》

1) 英文原著論文

1. Uezu A, Okada H, Murakoshi H, Del Vescovo CD, Yasuda R, Diviani D, Soderling S.（2012) A Modified SH2 Domain to Phototrap and Identify Phosphotyrosine Proteins from Subcellular Sites within Cells. Proc Natl Acad Sci U S A. 109：E2929- E2938.

《ウイルスベクター開発室》

1) 英文原著論文

1. Fukabori R, Okada K, Nishizawa K, Kai N, Kobayashi K, Uchigashima M, Watanabe M, Tsutsui Y, Kobayashi K (2012) Striatal direct pathway modulates response time in execution of visual discrimination. Eur. J. Neurosci. 35:784-797.

2) その他

1. 小林和人，加藤成樹，小林憲太（2012）ウイルスベクター技術によって脳神経回路の仕組みに迫る。脳 21, 15:125-132.

《時系列生命現象研究領域》

1)　英文原著論文

1. Jusuf, P.R., Albadri, S., Paolini, A., Currie, P., Argenton, F., Higashijima, S., Harris, W.A., and Poggi, L. (2012). Biasing amacrine subtypes in the Atoh7 lineage through expression of Barhl2. J. Neuroscience 32, 13929-13944.
2. Eklof-Ljunggren, E., Haupt, S., Ausborn, J., Dehnisch, I., Uhlén, P., S. Higashijima, S., and El Manira, A. (2012). Origin of excitation underlying locomotion in the spinal circuit of zebrafish. Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)109, 5511-5516.
3. Behra, M., Gallardo, V.E., Bradsher, J., Torrado, A., Elkahloun, A., Idol, J., Sheehy, J., Zonies, S., Xu, L., Shaw, K.M., Satou, C., Higashijima, S., Weinstein, B., and Burgess, S.M. (2012). Transcriptional signature of accessory cells in the lateral line, using the Tnk1bp1:EGFP transgenic zebrafish line. BMC Dev. Biol. 12, 6.
4. Satou, C., Kimura, Y., and Higashijima, S. (2012). Generation of multiple classes of V0 neurons in zebrafish spinal cord: progenitor heterogeneity and temporal control of neuronal diversity. J. Neuroscience 32, 1771-1783.

《動物実験センター》

1)　英文原著論文

1. Kimura T (2012) Mast-cell rich perivascular dermatitis accompanying the ulcerative lesions resulting from infection of Staphylococcus aureus in C57BL/6 mice. Human Vet Med 3: 66-75.
2. Kimura T (2012) Successful treatment for idiopathic thrombocytopenic purpura in a Japanese monkey. Scand J Lab Anim Sci. 39: 71-79.
3. Kimura T Effective decontamination of laboratory animal rooms with vaporized hydrogen peroxide and peracetic acid. Scand J Lab Anim Sci 39: 17-23.

B. 和文原著論文

1. 木村　透，廣江　猛 (2012) 新しい前培養および体外受精用培地を用いた凍結保存 C57BL/6J マウス精子に対する受精率の有意なる改善成績. 日比較医会誌. 20: 1-6.

b.　学会発表

〔　目　　次　〕

神経機能素子研究部門 122
分子神経生理部門 123
ナノ形態生理研究部門 124
生体膜研究部門 124
機能協関研究部門 125
細胞生理研究部門 126
感覚認知情報研究部門 128
神経シグナル研究部門 128
神経分化研究部門 130
感覚運動調節研究部門 130
生体システム研究部門 132
脳形態解析研究部門 134
大脳神経回路論研究部門 136
心理生理学研究部門 137
認知行動発達機構研究部門 138
生体恒常機能発達機構研究部門 143
生殖・内分泌系発達機構研究部門 144
個別研究（村上グループ） 145
個別研究（毛利グループ） 146
特別研究（永山グループ） 146
遺伝子改変動物作製室 147
行動様式解析室 148
形態情報解析室 150
多光子顕微鏡室 150
ウイルスベクター開発室 151
時系列生命現象研究領域 151
動物実験センター 151

学　会　発　表

《神経機能素子研究部門》

1. Kubo Y, Keceli B (2012.5) Analyses of the signal flow and subunits' contribution in the $P2X_2$ trimer upon voltage and [ATP]- dependent activation by three tandem repeat constructs. Purine 2012: International Symposium on Purinergic Signaling in New Strategy of Drug Discovery (Fukuoka, Japan)
2. 久保義弘，中條浩一 (2012.9.18) Dynamic aspects of the function and stoichiometry of ion channel complexes. シンポジウム「New approaches in functional molecular neurobiology」 第 35 回日本神経科学大会（名古屋）
3. 久保義弘，中條浩一 (2012.12.13) Dynamic aspects of the function and stoichiometry of ion channel complex. ワークショップ「Cutting-edge approaches to the structure, function and their dynamic aspects of membrane proteins」 第 35 回日本分子生物学会大会（福岡）
4. 立山充博，久保義弘 (2012.3.30) FRET analyses of G protein coupled receptors. シンポジウム「イメージングより明らかにされたGタンパク質共役型受容体のダイナミクス」 第 134 回日本薬学会年会（札幌）
5. 立山充博，久保義弘 (2012.9.18) Effects of the Gq coupling on the activated states of the receptor differ depending on the type of receptors. 第 35 回日本神経科学大会（名古屋）
6. 立山充博，久保義弘 (2012.11.16) 代謝型アセチルコリン受容体 1 型の電位依存的構造変化に関する FRET 解析，第 59 回中部日本生理学会（岡崎）
7. Koichi Nakajo, Atsuo Nishino, Yasushi Okamura, Yoshihiro Kubo (2012.2.26) Ci-KCNQ1, an ortholog of vertebrate KCNQ1 from *Ciona intestinalis*, has revealed that KCNE1 and KCNE3 utilize different domains of KCNQ1 for the modulation of gating. Biophysical Society 56th annual meeting (San Diego, USA)
8. 中條浩一, 西野敦雄, 岡村康司, 久保義弘 (2012.3.29) S1 segmetnt of KCNQ1 chanenl plays a critical role in gating modulation by KCNE3. 第89回日本生理学会大会（松本）
9. 中條浩一 (2012.8.21) イオンチャネル修飾サブユニットの追加による生理機能進化, ワークショップ「実験的アプローチによる生理機能進化の統合的な研究」第 14 回日本進化学会（八王子）
10. Keceli B, Kubo Y (2012.1) Analyses of the signal flow and subunits' contribution in the $P2X_2$ trimer upon voltage- and [ATP]- dependent activation by three tandem repeat constructs. Gordon Research Conference. Ligand recognition and molecular gating. (Ventura, USA)
11. Keceli B, Kubo Y (2012.3.29) Structural rearrangements of the β-sheets linking the ATP binding site to the transmembrane domains upon $P2X_2$ receptor channel gating. 8 第 89 回日本生理学会大会（松本）
12. Keceli B, Kubo Y (2012.5) Structural rearrangements of the linker region between the ATP binding site and the transmembrane domains upon $P2X_2$ receptor channel gating. Purine 2012: International Symposium on Purinergic Signaling in new strategy of drug discovery (Fukuoka, Japan)
13. 黒木麻湖, 河合　靖, 長友克広, 久保義弘, 齊藤　修, (2012.5.19) 緑茶カテキンによる TRPA1 及び TRPV1 の活性化, 第 59 回日本生化学会近畿支部例会（京都）
14. 黒木麻湖, 河合　靖, 長友克広, 久保義弘, 齊藤　修, (2012.10.3) 渋味センサー探索の試み，第 46 回日本味と匂学会（大阪）
15. 黒木麻湖, 河合　靖, 長友克広, 久保義弘, 齊藤　修, (2012.12.14) 渋味感覚における TRPV1 の役割, 第 85 回日本生化学会（福岡）

《分子神経生理部門》

1. Narumi M, Yoshimura T, Torii T, Ikenaka K (2012.1.11-12) Analysis of the novel sialylated N-glycan expressed in the mouse brain. GCEO International Symposium － Formation and Function of Brain Networks : From Genes to Behavior （国際シンポジウム「脳の設計図を解く」）（名古屋）（ポスター）
2. Tanaka K (2012.3.6) Expanding repertoire of optgenetically targeted cells in transgenic approaches. 42nd NIPS International Symposium－NIPS and BRI Niigata University Joint Synposium－ “Advanced Reasearch Areas for the Future Breakthrough in Neuroscience” (Okazaki)（ポスター）
3. Yoshimura T (2012.3.6) An analytical method for N-glycans on a few pmol glycoprotein and its application to the analysis of N-glycans on myelin protein zero. 42nd NIPS International Symposium－NIPS and BRI Niigata University Joint Synposium－ “Advanced Reasearch Areas for the Future Breakthrough in Neuroscience” (Okazaki)（ポスター）
4. Inamura N (2012.3.6) Mechanisms underlying ATP release from cultured astrocyte. 42nd NIPS International Symposium－NIPS and BRI Niigata University Joint Synposium－“Advanced Reasearch Areas for the Future Breakthrough in Neuroscience” (Okazaki)（ポスター）
5. Ishino Y (2012.3.6) The roles of Bre 1, a histone H2B ubiquitin ligase, in the neural precursor cell proliferation and differentiation. 42nd NIPS International Symposium－NIPS and BRI Niigata University Joint Synposium－“Advanced Reasearch Areas for the Future Breakthrough in Neuroscience” (Okazaki)（ポスター）
6. 臼井紀好 (2012.3.16) オリゴデンドロサイト分化における Olig2 リン酸化の役割。第 5 回神経発生討論会（福井）
7. 石野雄吾 (2012.3.15-16)Roles of Bre1, a histone H2B ubiquitin ligase, in the neural precursor cell proliferation and differentiation. 第 5 回神経発生討論会（福井）（ポスター）
8. 田中謙二，山崎良彦，池中一裕 (2012.3.15) 統合失調症のオリゴデンドロサイト機能不全仮説。第 85 回日本薬理学会年会（京都）（シンポジウム）
9. 等 誠司，石野雄吾，池中一裕 (2012.3.31) 哺乳類の Gcm 遺伝子は能動的 DNA 脱メチル化によって Hes５遺伝子の発言を誘導し，神経幹細胞の形成に寄与する。第 89 回日本生理学会（松本）（ポスター）
10. 田淵紗和子，常松友美，杉尾翔太，田中謙二，富永真琴，山中彰弘 (2012.3.31) 睡眠覚醒調節におけるオレキシン神経―セロトニン神経間ネガティブフィードバック回路の生理的役割の解明。第 89 回日本生理学会（松本）（ポスター）
11. Wilaiwan Wisessmith，田中謙二，清水崇弘，池中一裕 (2012.3.31) マウス個体におけるカレプシン C 遺伝子発現の操作。第 89 回日本生理学会（松本）（ポスター）
12. Yoshimura T (2012.4.29) Analysis of N-glycans on mouse myelin “Myelin Biology and Pathobiology of Myelinating Glia” (Italy) （ポスター）
13. Shimizu T (2012.4.29) Microglial cystatin F has supportive role in MOG EAE “2012 Myelin Biology and Pathobiology of Myelinating Glia” (Italy) （ポスター）
14. 橋本弘和 (2012.9.17) 胎生期脊髄における Wnt 及び酸性糖鎖間の相互作用の解析。 第 31 回日本糖質学会（鹿児島）（ポスター）
15. 池中一裕 (2012.9.20) 白質病態生理における新展開。第３５回日本神経科学大会（名古屋）（シンポジウム）
16. 稲村直子， Lee HE,田中謙二，古家喜四夫，曽我部正博，池中一裕 (2012.9.20) アストロサイトにおける ATP 放出のメカニズム。第 35 回日本神経科学大会（名古屋）
17. 吉村 武, 鳴海麻衣, 矢木弘和, 北村邦男, Sedzik J, 加藤晃一，池中一裕 (2012.9.18) マウス髄鞘蛋白質 PO の糖鎖解析。第 35 回日本神経科学大会（名古屋）（ポスター）
18. 池中一裕 (2012.9.28) 脳白質における神経情報統合と精神疾患。第 34 回日本生物学的精神医学会（神戸）（シンポジウム）
19. Ikenaka K (2012.9.29)Impaired remyelination in chronic demyelinated lesions” The 11th Biennial Meeting of the Asian-Pacific Society for Neurochemistry/55th Annual

Meeting of the Japanese Society for Neurochemistry” (Kobe)

20. Wisessmith W,Shimizu T,Tanaka KF,Chetsawang B,Ikenaka K (2012.10.1)Exploring the role of cathepsin C and cystatin F in demyelinating diseases ” The 11th Biennial Meeting of the Asian-PacificSociety for Neurochemistry/55th Annual Meeting of the Japanese Society for Neurochemistry” (Kobe) (Poster)
21. Hashimoto H, Ishino Y, Ikenaka K (2012.9.30)Analysis of interaction between Wnt and acidic sugar chains in the embryonic spinal cord ”The 11th Biennial Meeting of the Asian-Pacific Society for Neurochemistry/55th Annual Meeting of the Japanese Society for Neurochemistry” (Kobe) (Poster)
22. Yoshimura T, Narumi M, Yagi H, Kitamura K, Kato K, Ikenaka K (2012.9.30) Analysis of N-glycans on mouse myelinP0 ” The 11th Biennial Meeting of the Asian-Pacific Society for Neurochemistry/55th Annual Meeting of the Japanese Society for Neurochemistry” (Kobe) (Poster)
23. Inamura N, Lee HE, Tanaka KF, Furuya K, Sokabe M, Ikenaka K (2012.10.1) Analysis of gliotransmitter from cultured astrocyte ” The 11th Biennial Meeting of the Asian-Pacific Society for Neurochemistry/55th Annual Meeting of the Japanese Society for Neurochemistry” (Kobe) (Poster)
24. Ishino Y, Hitoshi S, Ikenaka K (2012.10.1) Roles of Bre1, a histone 2B ubiquitin ligase, in the neural precursor cell proliferation and differentiation ” The 11th Biennial Meeting of the Asian-Pacific Society for Neurochemistry/55th Annual Meeting of the Japanese Society for Neurochemistry” (Kobe) (Poster)
25. Narumi M, Yoshimura T, Torii T, Ikenaka K (2012.10.1) Studies on the novel sialylated N-glycan expressed in the mouse brain ” The 11th Biennial Meeting of the Asian-Pacific Society for Neurochemistry/55th Annual Meeting of the Japanese Society for Neurochemistry” (Kobe) (Poster)
26. Ishino Y,Hitoshi S,Ikenkaka K (2012.10.15)Roles of Brel,a histone H2B ubiquitin ligase, in neural precursor cell proliferation and differentiation “Neuroscience 2012 new oreans” (New orlens) (Poster)
27. Hashimoto H (2012.11,15)Keratan sulfate Regulates Oligodendrocyte Development in the embryonic spinal cord “The 4Th Global COE Symposium on Neuro-Tumor Biology and Medicine” (NAGOYA) (Poster)
28. Narumi M (2012.11.15) Studies on the novel sialylated N-glycan ezpressed in the mouse brain “The 4Th Global COE Symposium on Neuro-Tumor Biology and Medicine” (NAGOYA) (Poster)
29. 小池崇子，吉村　武，文堂昌彦，丸山和佳子，池中一裕 (2012.12.15) 脳脊髄液中に含まれる N 結合型糖鎖解析。第 85 回日本生化学会大会（博多）（ポスター）
30. 鳴海麻衣，吉村　武，鳥居知宏，池中一裕 (2012.12.15) マスス脳内に発現する新規シアル酸化 N 結合糖鎖の解析。第 85 回日本生化学会大会（博多）（ポスター）

《ナノ形態生理研究部門》

形態情報解析室の項を参照

《生体膜研究部門》

1. 深田正紀 (2012.3.29) Molecular mechanisms of epilepsy by LGI1 dysfunction. 第 89 回日本生理学会大会（松本）
2. Fukata Y (2012.4.25) New players in synapse regulation: Epilepsy-related ligand/receptor, LGI1 and ADAM22 and PSD-95 palmitoylating enzymes . Functional Connectomics Seminar Series (Seoul, Korea)
3. Fukata M (2012.6.8) Molecular basis of epilepsy by

LGI1 dysfunction. The 5th JES-KES Joint Symposium (Songdo, Korea)

4. 深田正紀 (2012.7.10) Molecular basis of epilepsy by LGI1 dysfunction. 鹿児島ニューロフォーラム（鹿児島）
5. 深田正紀 (2012.9.18) Observation of synapse with STED nanoscopy. 第 35 回日本神経科学大会ランチョンセミナー（名古屋）
6. Oku S, Takahashi N, Fukata Y, Fukata M (2012.9.19) Identification of palmitoyl substrate-enzyme pairs in neurons through in silico genome-wide screening. 第 35 回日本神経科学大会（名古屋）
7. Fukata M, Fukata Y (2012.9.20) Palmitoylating enzyme creates postsynaptic nanodomains. 第 35 回日本神経科学大会（名古屋）
8. Ohkawa T, Fukata Y, Watanabe O, Yokoi N, Fukata M (2012.9.21) Modes of action of anti-LGI1 autoantibodies in limbic encephalitis. 第 35 回日本神経科学大会（名古屋）
9. Yokoi N, Fukata M, Fukata Y (2012.9.21) Molecular mechanisms for the human epilepsy caused by LGI1 mutations. 第 35 回日本神経科学大会（名古屋）
10. Fukata Y (2012.11.8) Molecular pathogenesis of epilepsy by LGI1 dysfunction. The international NIPS symposium “Understanding of synapse pathology, from genome mutation to functional defects”（岡崎）

《機能協関研究部門》

1. Akita T, Fedorovich SV, Okada Y (2012.5.31) Autocrine actions of ATP and glutamate activate volume-sensitive outwardly rectifying (VSOR) anion channels via Ca^{2+} nanodomains in mouse astrocytes. International Symposium on Purinergic Signalling in New Strategy of Drug Discovery (Purine 2012) (Fukuoka)
2. Islam MR, Uramoto H, Okada T, Sabirov RZ, Okada Y (2012.5.31) Swelling-induced ATP release is mediated via maxi-anion channel and pannexin-1 hemichannel separately in murine L929 fibrosarcoma cells. International Symposium on Purinergic Signalling in New Strategy of Drug Discovery (Purine 2012) (Fukuoka)
3. Okada Y (2012.8.24) Multiple activation and regulation mechanisms of the volume-sensitive outwardly rectifying anion channel. 2012 International Ion Channel Conference "The New World of Anion and Cation Channels" (Jeju Island, Korea) [invited speaker]
4. Shimizu T, Iehara T, Sato K, Fujii T, Sakai H, Okada Y (2012.8.25) TMEM16F is an outwardly-rectifying Cl^- channel with distinct Ca^{2+} dependency. 2012 International Ion Channel Conference "The New World of Anion and Cation Channels" (Jeju Island, Korea)
5. Islam MR, Uramoto H, Okada T, Okada Y, Sabirov RZ (2012.8.25) Pannexin 1 hemichannel is functionally expressed in murine L929 fibrosarcoma cells and provides an ATP releasing pathway additive to the maxi-anion channel. 2012 International Ion Channel Conference "The New World of Anion and Cation Channels" (Jeju Island, Korea)
6. Okada Y (2012.10.12) Roles of volume-regulatory ion channels in cell survival-death switching. The 3rd Symposium of International Society for Proton Dynamics in Cancer (ISPDC) (Kyoto) [invited speaker]
7. 岡田泰伸 (2012.8.4) 細胞死のチャネルメカニズムとその病態生理学。第 22 回日本病態生理学会　細見記念講演（大分）
8. Akita T, Fedorovich S, Okada Y (2012.3.29) Ca^{2+} nanodomain-mediated component of swelling-induced volume-sensitive outwardly rectifying (VSOR) anion channel activity in mouse astrocytes. 第 89 回日本生理学会大会（松本）
9. Okada T, Islam MR, Merzlyak P, Sabirov RZ, Okada Y (2012.3.29) Attempts to identify the gene encoding Maxi-anion channel. 第89回日本生理学会大会(松本)
10. Sato K, Numata T, Lee E, Okada Y (2012.3.29) Exploration of the molecular identity of acid-sensitive outwardly rectifying Cl^- channel (ASOR). 第 89 回日本生理学会大会（松本）
11. Islam MR, Uramoto H, Okada T, Sabirov RZ, Okada Y

(2012.3.29) Maxi-anion channel serving as an ATP releasing pathway is distinct from connexin 43 hemi-channel in murine L929 fibrosarcoma cells. 第 89 回日本生理学会大会（松本）

12. Uramoto H, Okada T, Okada Y (2012.3.30) Molecular biological and pharmacological evidence for a protective role of cardiac CFTR in hypoxia/reoxygenation-induced necrotic cardiomyocyte injury in vitro. 第 89 回日本生理学会大会（松本）
13. Ando-Akatsuka Y, Okada Y (2012.3.30) Changes in the intracellular localization of ACTN4 and ABCF2 after apoptotic stimulation. 第 89 回日本生理学会大会（松本）
14. Ohbuchi T, Sato K, Okada Y, Suzuki H, Ueta Y (2012.3.30) Acid-sensing ion channels in body fluid homeostasis. 第 89 回日本生理学会大会（松本）
15. Okada Y (2012.3.31) Physiological research in an integrative and law-of-causality manner. 第 89 回日本生理学会大会　シンポジウム「生理学・生理学会大会の今日的役割：多分野の交流と連携を訪ねて」（松本）

《細胞生理研究部門》

1. 富永真琴 (2012.3.14) 治療標的としての皮膚の TRPV3, TRPV4. 第 85 回日本薬理学会年会（京都）。
2. 山中章弘 (2012.3.26) オプトジェネティクスを用いたオレキシン神経活動抑制は徐波睡眠を誘導する。第 117 回日本解剖学会全国学術集会（甲府）。
3. 富永真琴 (2012.3.29) 皮膚での環境温感知の分子メカニズム。第 89 回日本生理学会大会（松本）。
4. 鈴木喜郎 (2012.3.30) TRPM6 の母子間カルシウムおよびマグネシウム輸送における役割。第 89 回日本生理学会大会（松本）。
5. 齋藤　茂 (2012.3.31) 脊椎動物の温度感受性 TRP チャネルの機能進化：ニシツメガエル (Xenopus tropicalis) の TRPV1 と TRPA1 のクローニングおよび機能解析。 第 89 回日本生理学会大会（松本）。
6. 内田邦敏 (2012.3.31) 膵臓β細胞に発現する温度感受性 TRP チャネルの生理的意義の解明。第 89 回日本生理学会大会（松本）。
7. 内田邦敏 (2012.3.29) 膵臓β細胞に発現する温度感受性 TRP チャネルの生理的意義。第 89 回日本生理学会大会（松本）。
8. 加塩麻紀子 (2012.3.29) レドックスシグナルを介した TRPM2 感作の分子機構とマクロファージ機能への関与。第 89 回日本生理学会大会（松本）。
9. 梅村　徹 (2012.3.29) TRPM8 チャネル複合体と相互作用分子の機能相関。第 89 回日本生理学会大会（松本）。
10. 高石雅之 (2012.3.29) 複数のアゴニストによる hTRPA1 活性に対する 1,8-シネオールの活性抑制効果。第 89 回日本生理学会大会（松本）。
11. 田淵紗和子 (2012.3.31) 睡眠覚醒調節におけるオレキシン神経－セロトニン神経間ネガティブフィードバック回路の生理的役割の解明。第 89 回日本生理学会大会（松本）。
12. 山中章弘 (2012.3.30) オプトジェネティクスを用いた行動制御。日本薬学会第 132 年会（札幌）
13. Tominaga M (2012.6.27) Regulation of TRPA1 activity in pathological conditions. The 7th International Conference of Neurons and Brain Diseases (Montreal, Canada).
14. 富永真琴 (2012.6.8) 刺激感受性：温度感受性 TRP チャネルの生理機能。第 37 回日本香粧品学会（東京）
15. Saito S (2012.6.) Functional evolution of nociceptive receptors TRPA1 and TRPV1 in vertebrates. 2012 Annual Meeting of Society for Molecular Biology and Evolution (Dublin, Ireland)
16. Kashio M (2012.6.26) Redox signal-mediated sensitization of Transient Receptor Potential Melastatin 2 (TRPM2) to temperature affects macrophage functions. 4th International Congress on Cell membranes and Oxidative Stress (Isparta, Turkey)
17. 常松友美 (2012.6.28) オプトジェネティクスを用いた長時間神経活動操作と睡眠覚醒制御。日本睡眠学会第 37 回定期学術集会（横浜）
18. 田淵紗和子 (2012.6.29) セロトニン神経からオレキ

シン神経への抑制性入力の睡眠覚醒調節における役割。日本睡眠学会第 37 回定期学術集会（横浜）

19. Tsunematsu T (2012.7.18) Long time silencing of orexin/hypocretin neuronal activity using optogenetics in archaerhodopsin-3-expressing transgenic mice. 8th FENS Forum of Neuroscience (Barcelona, Spain)
20. 周　一鳴 (2012.7.21) マウス TRPA1 バリアントの炎症性および神経障害性疼痛への関与。第 34 回日本疼痛学会（熊本）
21. 富永真琴 (2012.7.14) 知覚に関わる TRP チャネルの薬剤標的の可能性。第 126 回日本薬理学会関東部会（東京）。
22. 齋藤　茂 (2012.8.21) 温度感受性 TRP チャネルの進化：痛み受容体 TRPV1 と TRPA1 の脊椎動物における機能進化。第 14 回日本進化学会（八王子）
23. Tominaga M (2012.8.25) Physiological significance of TRPM2 channel and evolutional changes in the structure and function of thermosensitive TRP channels. 2012 International Ion Channel Conference (Jeju, Korea).
24. Suzuki Y (2012.8.25) Epithelial TRP channels for maternal-fetal calcium transport. 2012 International Ion Channel Conference (Jeju, Korea).
25. Uchida K (2012.8.25) The role of TRPM2 channel in pancreatic b-cell functions. 2012 International Ion Channel Conference (Jeju, Korea).
26. Kashio M (2012.8.25) 2012 International Ion Channel Conference (Jeju, Korea).
27. Zhou Y (2012.8.29) A novel alternative splicing variant of mouse TRPA1 regulates its channel activity under physiological and pathological conditions. (Milan, Spain)
28. 富永真琴 (2012.9.15) TRP チャネルを介した侵害受容の分子機構。第 32 回鎮痛薬・オピオイドペプチドシンポジウム（東京）
29. 富永真琴 (2012.9.17) 動物におけるカルシウム透過性 TRP チャネルを介した環境温度受容。日本植物学会第 76 回大会（姫路）
30. 富永真琴 (2012.9.21) 感覚神経での温度感知の分子メカニズムとその進化。第 35 回日本神経科学大会（名古屋）
31. 鈴木喜郎 (2012.9.18) マウス TRPA1 の新規 Splicing variant の同定とチャネル活性の制御。第 35 回日本神経科学大会（名古屋）
32. 内田邦敏 (2012.9.20) ワサビから抽出される種々のイソチオシアネートによる TRPA1 の活性化。第 35 回日本神経科学大会（名古屋）
33. Suzuki Y (2012.9.20) Roles of TRPV6 and TRPM6 channels in maternal-fetal calcium transport. International Symposium on Epithelial Barrier and Transport 2012 （草津）
34. 藤田郁尚 (2012.10.2) 環境温度による TRPM8 の温度閾値は PIP_2 の結合を介して変化する。第 105 回近畿生理学談話会（大阪）
35. Tabuchi S (2012.10.15) New model mice for narcolepsy using timing controlled gene expression system in transgenic mice which induces specific ablation of orexin/hypocretin neurons. Neuroscience 2012 (New Orleans, USA)
36. Fujita F (2012.10.17) Modal shift of cool sensor TRPM8 by changing ambient temperature and its application to cosmetics. 27th Congress of International Federation of Societies of Cosmetic Chemists (Johannesburg, South Africa)
37. Tominaga M (2012.11.2) Molecular mechanisms of nociception through TRPA1 activation. International Conference of Physiological Sciences (Suzhou, China)
38. 富永真琴 (2012.11.10) TRPV1, TRPA1 チャネルを介した侵害受容とその制御機構。第 42 回日本臨床神経生理学会学術大会（東京）
39. Zhou Y (2012.11.15) Identification of a novel alternative spicing variant of mouse TRPA1 implicated in modifying TRPA1 activity under inflammatory and neuropathic pain conditions. 名古屋大学グローバル COE プログラム国際シンポジウム（名古屋）
40. 加塩麻紀子 (2012.11.16) レドックスシグナルによる TRPM2 感作機構とマクロファージ機能への寄与。第 59 回日本中部生理学会（岡崎）
41. 齋藤　茂 (2012.11.16) 侵害刺激受容体 TRPA1 と TRPV1 の脊椎動物における機能進化。第 59 回日本中部生理学会（岡崎）
42. 常松友美 (2012.11.16) オプトジェネティクスを用いた長時間神経活動抑制と睡眠覚醒制御。第 59 回日本中部生理学会（岡崎）
43. 田淵紗和子 (2012.11.16) 時期特異的オレキシン神経運命制御によるナルコレプシー発症メカニズムの

解明。第 59 回日本中部生理学会（岡崎）

44. 富永真琴 (2012.12.1) 感覚神経に発現する温度感受性 TRP チャネルの生理機能。第 1 回ニューロカンファレンス和歌山（和歌山）
45. Tsunematsu T (2012.12.2) Optogenetic manipulation of orexin neuronal activity affects sleep/wakefulness state in mice. The 7th Asian Sleep Research Society Congress (Taipei, Taiwan)

《感覚認知情報研究部門》

1. Okazawa G, Goda N, Komatsu H (2012.7.13) Localizing regions activated by surface gloss in macaque visual cortex by fMRI. 8th Asia-Pacific Conference on Vision (Incheon, Korea)
2. Namima T, Yasuda M, Banno T, Komatsu H (2012.7.13) Effect of luminance contrast on the color selective responses in the inferior temporal cortex neurons of the macaque monkey. 8th Asia-Pacific Conference on Vision (Incheon, Korea)
3. Nishio A, Goda N, Komatsu H (2012.7.13) Neural representation of gloss in the macaque inferior temporal cortex. 8th Asia-Pacific Conference on Vision (Incheon, Korea)
4. 鯉田孝和，横井 功，岡澤剛起，三上章允，カンティ A ウィダヤティ，宮地重弘，小松英彦 (2012.8.7) 遺伝子的に同定された 1 型 2 色覚サルの行動実験による色覚検査。日本視覚学会 2012 夏季大会（米沢）
5. Goda N, Komatsu H (2012.9.3) Relationship between visuotactile and affective/aesthetic qualities of natural materials. European Conference on Visual Perception (Alghero, Italy)
6. Nishida S, Fujisaki W, Goda N, Motoyoshi I, Komatsu H (2012.9.5) Not glass but plastic — Audiovisual integration in human material perception. European Conference on Visual Perception (Alghero, Italy)
7. 藤崎和香，郷田直一，本吉　勇，小松英彦，西田眞也 (2012.9.11) 物体の材質知覚における視聴覚情報統合-映像情報と音情報の双方に基づいた相補的なクロスモーダル材質知覚-.日本心理学会第 76 回大会（川崎）
8. Namima T, Yasuda M, Banno T, Komatsu H (2012.9.18) Comparison of the effect of luminance contrast on the neural responses between the anterior and posterior color selective regions in monkey inferior temporal cortex. 第 35 回日本神経科学大会（名古屋）
9. Komatsu H, Nishio A, Goda N (2012.9.20) Neural representation of gloss in the macaque visual cortex. 第 35 回日本神経科学大会（名古屋）
10. 小松英彦 (2012.9.14) 質感認知の神経機構へのアプローチ。第 22 回日本神経回路学会全国大会（名古屋）
11. 波間智行, 安田正治, 坂野 拓, 小松英彦 (2012.11.16) サル下側頭皮質の色選択性応答に刺激輝度コントラストの変化が与える影響。第 59 回中部日本生理学会（岡崎）

《神経シグナル研究部門》

1. 歌　大介，古江秀昌，吉村　恵，井本敬二 (2012.2.4) TRPA1 発現線維が入力する脊髄後角細胞の形態学的解析。第 34 回脊髄機能診断研究会（東京都東京）
2. Uta D (2012.2.24) Plastic changes in nociceptive excitatory synaptic transmission induced of bone cancer model mice, and selective antinociceptive actions of TRPA1 channel agonists and local anesthetics. 第 4 回 NAGOYA グローバルリトリート（愛知県知多郡）
3. 歌　大介，後藤義一，安藤嗣修，倉石　泰，井本敬二，古江秀昌 (2012.3.29) In vivo パッチクランプ記録法を用いた成熟ラット脊髄後角ニューロンにおける興奮性シナプス伝達に関する痒み物質セロトニンの皮膚投与における効果について。第 89 回日本生理学会大会（長野県松本市）
4. Furue H (2012.3.30) In vivo patch-clamp analysis of pontospinal descending inhibitory control of pain. 第 89

回日本生理学会大会（長野県松本市）

5. Hakozaki A, Imoto K, Hayashi Y, Kawatani M, Furue H (2012.3. 31) In vivo patch-clamp recording technique to investigate neuronal control of the lower urinary tract functions. 第 89 回日本生理学会大会（長野県松本市）
6. Sugiyama D, Imoto K, Kawamata M, Furue H (2012.3.29) In vivo patch-clamp recording from rat locus coeruleus neurons. 第 89 回日本生理学会大会（長野県松本市）
7. 井本敬二，伊藤英樹 (2012.3.31) 変異イオンチャネルのマルコフ過程パラメータ迅速最適化法。第 89 回日本生理学会大会（長野県松本市）。
8. 秋元　望，本多健治，歌　大介，古江秀昌，井本敬二，高野行夫，野田百美 (2012.6.2) CCL-1 の疼痛発現との連関, および神経細胞-グリア細胞連関の解明。第 14 回ブレインサイエンス研究会（鹿児島県霧島市）
9. 歌　大介，井本敬二，古江秀昌 (2012.6.2) In vivo パッチクランプ法を用いた痒みの研究。第 14 回ブレインサイエンス研究会（鹿児島県霧島市）
10. 村尾政彦，井本敬二，宍戸恵美子 (2012.6.2) 発達障害児における効果的な行動介入とペアレントトレーニング。日本赤ちゃん学会第 12 回学術集会（東京都町田市 玉川大学）
11. 礒谷真理，井本敬二，宍戸恵美子 (2012.6.2) 発達障害を抱える幼児に対するマンド・トレーニングを使った行動介入。日本赤ちゃん学会第 12 回学術集会（東京都町田市 玉川大学）
12. 古江秀昌 (2012.6.8) 神経生理学からみた内因性痛覚抑制機序とその減弱による疼痛発現機序。日本麻酔科学会第 59 回学術集会（兵庫県神戸市）
13. Funai Y, Nishikawa K, Mori T, Imoto K, Furue H (2012.6.9) A novel antinociceptive mechanism of systemically administered dexmedetomidine via the activation of noradrenergic descending inhibitory system. 日本麻酔科学会第 59 回学術集会（兵庫県神戸市）
14. Yamagata Y, Kaneko K, Nairn AC, Obata K, Imoto K (2012.7.15) Distinct activation of ERK1/2 mitogen-activated protein kinase in a cortical slice model of seizure activity. FENS (The Federation of European Neuroscience Societies) Forum 2012 (Barcelona, Spain).
15. 舟井優介，　井本敬二，　古江秀昌　(2012.7.20) Systemically administered α2 agonists facilitate inhibitory synaptic transmission in the rat spinal dorsal horn via α1 adorenoceptors. 第 34 回日本疼痛学会（熊本県熊本市）
16. 箱崎敦志，井本敬二，林　勧生，河谷正仁，古江秀昌 (2012.7.20) In vivo patch-clamp analysis of visceral nociceptive synaptic transmission and the spinal control of lower urinary tract function. 第 34 回日本疼痛学会（熊本県熊本市）
17. 歌　大介, 井本敬二, 古江秀昌 (2012.7.21) In vivo パッチクランプ法を用いた脊髄後角痛覚シナプス伝達に対する局所麻酔薬の分離遮断解析。第 34 回日本疼痛学会（熊本県熊本市）
18. 古江秀昌，箱崎敦志，林　勧生，河谷正仁，井本敬二 (2012.8.30) 下部尿路中枢制御機構解明のための in vivo パッチクランプ法の開発。第 19 回日本排尿機能学会（愛知県名古屋市）
19. 箱崎敦志，井本敬二，林　勧生，河谷正仁，古江秀昌 (2012.8.30) 腰仙部脊髄副交感神経核ニューロンにおける後根誘起シナプス応答の解析。第 19 回日本排尿機能学会（愛知県名古屋市）
20. Furue H, Pickering AE, Hickey LM, Ishihara H, Imoto K (2012.9.19) In vivo patch clamp analysis of spinal synaptic responses evoked by optoactivation of the locus coeruleus. 第 35 回日本神経科学大会（愛知県名古屋市）
21. Yamagata Y, Kaneko K, Nairn AC, Obata K, Imoto K (2012.9.19) Distinct activation of ERK1/2 mitogen-activated protein kinase in NMDA-receptor-induced seizure activity in cortical slices. 第 35 回日本神経科学大会　（愛知県名古屋市）
22. 宍戸恵美子，井本敬二 (2012.9.18) 自閉症の幼児に対する行動介入。第 35 回日本神経科学大会（愛知県名古屋市）
23. 歌　大介，安東嗣修，倉石　泰，井本敬二，古江秀昌 (2012.9.19) 皮膚へのセロトニン投与によって誘発される引っ掻き行動と in vivo 脊髄におけるシナプス応答の解析。第 35 回日本神経科学大会（愛知県名古屋市）
24. Hakozaki A, Imoto K, Hayashi Y, Kawatani M, Furue H (2012.9.20) In vivo patch-clamp analysis of spinal neruonal control of the lower urinary tract function. 第

35 回日本神経科学大会（愛知県名古屋市）

25. 佐竹伸一郎，井本敬二 (2012.9.21) 小脳顆粒細胞のシナプス小胞多重性放出における $Ca_v2.1$ チャネルの役割。Neuroscience 2012 （第 35 回日本神経科学大会）（愛知県名古屋市）
26. Uta D, Gotoh Y, Andoh T, Kuraishi Y, Imoto K, Furue H (2012.10.15) In vivo puritic synaptic responses elicited by cutaneous 5-HT application in the superficial spinal dorsal horn of adult rats. Neuroscience 2012 (New Orleans, USA)
27. Akimoto N, Honda K, Uta D, Furue H, Imoto K, Takano Y, Noda M (2012.10.17) The relationship between CCL-1 and neuron/glia in the neuropathic pain model. Neuroscience 2012 (New Orleans, USA)
28. 歌　大介，安東嗣修，倉石　泰，井本敬二，古江秀昌 (2012. 11.16) 痒み物質の皮膚塗布により誘起される行動学的解析と in vivo パッチクランプ記録法を用いた脊髄後角におけるシナプス応答の解析。第 59 回中部日本生理学会（愛知県岡崎市）
29. 箱崎敦志，井本敬二，林　勧生，河谷正仁，古江秀昌 (2012.11.16) In vivo パッチクランプ法を用いた脊髄における内臓知覚シナプス伝達および下部尿路中枢性制御機構の解析法の開発。第 59 回中部日本生理学会（愛知県岡崎市）
30. Yamagata Y, Kaneko K, Kase D, Ishihara H, Nairn AC, Obata K, Imoto K (2012.11.16) Regulation of ERK1/2 mitogen-activated protein kinase by NMDA-receptor-induced seizure activity in cortical slices. 名古屋大学グローバル COE プログラム　第 4 回国際シンポジウム（愛知県名古屋市）

《神経分化研究部門》

1. 森　琢磨 (2012.3.26) 遺伝子改変狂犬病ウィルスを用いた制限型逆行性越シナプストレース法とその応用。第 117 回日本解剖学会総会・神経解剖懇話会（甲府）
2. 森　琢磨，吉村由美子 (2012.3.31) 糖タンパク質の多様性が糖タンパク質欠損型狂犬病ワクチンベクター作成効率に与える影響。第 89 回日本生理学会（松本）
3. 吉村由美子 (2012.7.27) 光技術を用いた脳機能プロービング開発・支援活動：グルタミン酸アンケージング。2012 年度包括脳ネットワーク夏のワークショップ（仙台）
4. Ishikawa A, Yoshimura Y (2012.9.20) Visual deprivation reduces visual responsiveness of cortical neurons more prominently in the secondary than the primary visual cortex. 第 35 回日本神経科学大会（名古屋）
5. Ishikawa A (2012.11.16) The reduction in the visual responsiveness of cortical neurons resulting from visual deprivation is more prominent in the secondary than the primary visual cortex. Global COE Symposium on Neuro-Tumor Biology and Medicine (Nagoya)
6. 足澤悦子，丸山拓郎，小松由紀夫，吉村由美子 (2012.11.16) 大脳皮質視覚野可塑性における T 型 Ca2+ チャネルの役割。中部生理学会（岡崎）

《感覚運動調節研究部門》

1. Kakigi R (2012.2.25) The painful and itchy brain. The 1st NIPS / Tubingen University Joint Neuroscience Symposium February 25, 2012 Okazaki Conference Center, Okazaki, Japan
2. Tsuruhara A, Corrow S, Kanazawa S, Yamaguchi MK, Yonas A (2012.6.7) Young infants' perception of depth from a pictorial cue: Comparing monocular and binocular preferential-looking. XVIII Biennial International Conference on Infant Studies (ICIS2012), Minneapolis Minnesota, USA.
3. Kakigi R (2012.7.2) Plenary Talk #1: Investigation of human face perception and ecognition using EEG, MEG and NIRS. 2012 International Conference on Complex Medical Engineering (2012 ICME)

4. Okamoto H, Teismann H, Pantev C, Kakigi R (2012.8.27) Neural activity elicited by sound changes in human auditory cortex. The 18th International Conference on Biomagnetism (BIOMAG 2012) Paris, France.
5. Keceli S, Okamoto H, Kakigi R (2012.8.27) The effect of memory trace on auditory evoked magnetic fields. The 18th International Conference on Biomagnetism (BIOMAG 2012) Paris, France.
6. Okamoto H, Teismann H, Pantev C, Kakigi R (2012.9.2) Human auditory evoked fields elicited by sounds containing spectral, temporal, and spectral-temporal changes. 4th Conference on Auditory Cortex. Lausanne, Switzerland.
7. Keceli S, Okamoto H, Kakigi R (2012.9.2) Auditory steady state responses to amplitude periodic noise. 4th Conference on Auditory Cortex. Lausanne, Switzerland.
8. Tsuruhara A, Inui K, Kakigi R (2012.11.1) Geometrical aspects in the face inversion effect: an MEG study. 43rd NIPS International Symposium “Face Perception and Recognition” Okazaki, Japan.
9. Morita T, Tanabe HC, Sasaki AT, Shimada K, Kakigi R, Sadato N (2012.11.1) The roles of anterior insula and anterior cingulate cortex in emotional processing associated with self-evaluation of the face. 43rd NIPS International Symposium “Face Perception and Recognition” Okazaki, Japan.
10. Miki K, Kakigi R (2012.11.1) The development of the perception of facial emotional change examined using ERPs. 43rd NIPS International Symposium “Face Perception and Recognition” Okazaki, Japan.
11. Keceli S (2012.11.16) Human auditory cortex is highly sensitive to periodic sounds. The 4th International Symposium “Global COE Symposium on Neuro-Tumor Biology and Medicine” Nagoya, Japan.
12. Okamoto H (2012.11.16) Spectral change processing in human auditory cortesx dominates temporal change processing. The 4th International Symposium “Global COE Symposium on Neuro-Tumor Biology and Medicine” Nagoya, Japan.
13. Kakigi R (2012.11.29) The painful brain. The 2nd Joint Symposium of NIPS / Tubingen niversity, Tubingen, Germany.
14. 岡本秀彦，Henning Teismann, Christo Pantev, 柿木隆介 (2012.3.30) 聴皮質における階層的音信号処理 (Cascadic attentional effects on the human auditory evoked responses.) 第 89 回日本生理学会　松本市
15. 岡本秀彦 (2012.5.10) 周波数除去音楽による自覚的耳鳴の大きさと耳鳴に関連した脳活動の抑制　第 113 回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会 新潟市
16. 柿木隆介 (2012.5.11) 顔認知に関する最新脳科学研究　第 32 回日本脳神経外科コングレス総会　パシフィコ横浜　横浜市
17. 岡本秀彦，Henning Teismann, Christo Pantev, 柿木隆介 (2012.5.25) 周波数除去音楽を用いた耳鳴治療法 2012 聴覚研究会 京田辺市
18. 岡本秀彦，Henning Teismann, Christo Pantev,柿木隆介 (2012.5.31) ヒト聴覚野における階層的音信号処理 第 27 回日本生体磁気学会 東京
19. 鶴原亜紀，永田裕子，鈴木雅也，乾　幸二，柿木隆介 (2012.5.31) 視覚刺激誘発大脳活動に対する空間周波数の影響 : MEG による計測　第 27 回日本生体磁気学会　東京
20. 柿木隆介 (2012.6.8) 講演 神経イメージング手法を用いたヒト顔認知機構の解明　第 15 回日本薬物脳波学会　東京
21. 柿木隆介 (2012.7.1) 講演 脳磁図研究の最前線：特に睡眠中の脳活動解析について　第 16 回日本睡眠学会「睡眠科学研究講座」東京
22. 岡本秀彦,Henning Teismann,Christo Pantev,柿木隆介 (2012.7.8) 聴皮質における音信号処理の経時変化 第 7 回 ERA・OAE 研究会　東京
23. 柿木隆介 (2012.7.21) 「痛みと音楽」について　コメディカル講演会　第 34 回日本疼痛学会　熊本市
24. 岡本秀彦,Henning Teismann,Christo Pantev,柿木隆介 (2012.8.11) 耳鳴りに対する周波数除去音楽療法 第 1 回耳鳴り・難聴カンファレンス　東京
25. 岡本秀彦,Henning Teismann,Lothar Lagemann,Christo Pantev,柿木隆介 (2012.9.18) ヒト聴覚野における周波数特異性への注意の効果　第 35 回日本神経科学大会　名古屋市
26. 柿木隆介 (2012.9.6) 特別講演　神経イメージング手法を用いたヒト顔認知機構の解明第 10 回日本 Awake Surgery 研究会　横浜市

27. 守田知代，田邊宏樹，佐々木章宏，島田浩二，柿木隆介，定藤規弘 (2012.9.19) 恥ずかしさ経験における島皮質および帯状回皮質の役割第 35 回日本神経科学大会　名古屋市
28. 柿木隆介 (2012.9.21) 脳波，脳磁図，近赤外線分光法を用いたヒトの顔認知機構の解明 第 35 回日本神経科学大会　（名古屋市）
29. 柿木隆介 (2012.9.22) 痛みの脳内基盤と創薬への展望　平成 24 年度名古屋大学脳とこころの研究センターシンポジウム　（名古屋市）
30. 岡本秀彦 (2012.10.11) 大音量・長時間携帯音楽プレーヤーを使用する若年者のマクロレベルでの周波数特異性　第 57 回日本聴覚医学会総会　京都市
31. 柿木隆介 (2012.10.12) 脳は不思議がいっぱい　第 44 回日本臨床検査自動化学会学術集会　横浜市
32. 磯瀬沙希里，三澤園子，大森茂樹，渋谷和幹，関口緑，那須彩子，別府美奈子，三津間さつき，杉本一男，乾　幸二，柿木隆介 (2012.11.8-10) 「神経障害性疼痛の中枢機序に対する疼痛関連誘発電位によるアプローチ」第 42 回日本臨床神経生理学会学術大会　東京
33. 乾　幸二 (2012.11.8) ハンズオンレクチャー　侵害刺激誘発脳電位の記録　第 42 回日本臨床神経生理学会学術大会　東京
34. 和坂俊昭 (2012.11.8) 二次体性感覚野における感覚情報と運動情報の統合　第 42 回日本臨床神経生理学会学術大会　東京
35. 乾　幸二 (2012.11.9) シンポジウム慢性疼痛への神経生理学的アプローチ　痛みの脳内認知機構　第 42 回日本臨床神経生理学会学術大会　東京
36. 鶴原亜紀，永田裕子，鈴木雅也，乾　幸二，柿木隆介 (2012.11.9) 視覚刺激誘発大脳活動に対する空間周波数の影響 : 脳磁図計 (MEG) による計測　第 42 回日本臨床神経生理学会学術大会　東京
37. 岡本秀彦 (2012.11.9) 注意と音刺激の SN 比が聴覚誘発脳磁場反応に与える影響　第 42 回日本臨床神経生理学会　東京
38. 三木研作 (2012.11.10) 輪郭やパーツの顔認知のへの影響　第 42 回日本臨床神経生理学会学術大会　東京
39. 鶴原亜紀，永田裕子，鈴木雅也，乾　幸二，柿木隆介 (2012.11.16) 視覚刺激誘発大脳活動 (VEF) に対する空間周波数の影響 : 脳磁計 (MEG) による計測。第 59 回 中部日本生理学会 岡崎市
40. 和坂俊昭，柿木隆介 (2012.11.16) 二次体性感覚野における体性感覚- 視覚- 運動統合 第 59 回中部日本生理学会　岡崎市
41. 柿木隆介 (2012.11.18) ヒトの脳内痛覚認知機構の解明　第 17 回日本心療内科学会総会・学術大会　福岡市
42. 岡本秀彦,Henning Teismann,Christo Pantev,柿木隆介 (2012.11.23) ヒト聴覚野におけるマクロレベルでの周波数特異性　2012 年度聴覚研究会　豊橋市

《生体システム研究部門》

1. 橘　吉寿 (2012.1.6) 運動制御にかかわる大脳基底核回路を再考する。生理学研究所研究会「グローバルネットワークによる脳情報処理」（岡崎）
2. 南部　篤 (2012.2.4) 動物実験から大脳基底核疾患の病態を探る。芝蘭会愛知支部会（名古屋）
3. 橘　吉寿 (2012.2.10) 運動制御にかかわる大脳基底核回路を再考する。平成 23 年度日本大学歯学部大学院特別セミナー（東京）
4. 南部　篤 (2012.2.12) 古典電気生理学＋薬理学＋分子生物学的手法を用いた脳研究。第１１回生理学若手ウィンタースクール「高次脳機能研究の先端技術」（東京）
5. 南部　篤 (2012.2.15) 大脳基底核と揺らぎ。自然科学研究機構プロジェクト 「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」 合同シンポジウム（岡崎）
6. Tachibana Y, Iwamuro H, Kita H, Takada M, Nambu A. (2012.2.23) Subthalamo-pallidal interactions underlying parkinsonian neuronal oscillations in the primate basal ganglia. Frontiers in Primate Neuroscience Researches（東京）
7. Chiken S, Nambu A (2012.2.23) High-frequency pallidal

stimulation disrupts information flow through the pallidum by GABAergic inhibition. Frontiers in Primate Neuroscience Researches（東京）

8. Nambu A (2012.2.25) Cortico-basal ganglia loop and movement disorders. 第 1 回生理研-チュービンゲン大学合同神経科学シンポジウム（岡崎）
9. Tachibana Y, Iwamuro H, Kita H, Takada M, Nambu A. (2012.2.25) Subthalamo-pallidal interactions underlying parkinsonian neuronal oscillations in the primate basal ganglia. 第 1 回生理研-チュービンゲン大学合同神経科学シンポジウム（岡崎）
10. 南部　篤 (2012.3.3) 神経活動を記録することにより，大脳基底核疾患の病態に迫る。京都大学霊長類研究所共同利用研究会「行動特性を支配するゲノム基盤と脳機能の解明」（犬山）
11. 橘　吉寿 (2012.3.15) The ventral pallidum encodes expected reward value of future action. 京都大学霊長類研究所　第 40 回ホミニゼーション研究会「ドーパミンの役割：運動機能から高次機能へ」（犬山）
12. 橘　吉寿 (2012.3.28) The primate ventral pallidum encodes expected reward value and regulates motor action. 平成 23 年度 産業技術総合研究所 特別講演（つくば）
13. 畑中伸彦，金子将也，高良沙幸，高田昌彦，南部　篤 (2012.3.31) 運動課題遂行中のサルにおける淡蒼球ニューロン活動のグルタミン酸および GABA 作動性調節。第 89 回日本生理学会大会（松本）
14. 橘　吉寿，彦坂興秀 (2012.3.31) サル腹側淡蒼球は，行動がもたらす報酬期待値を表現する。第 89 回日本生理学会大会（松本）
15. 知見聡美，南部　篤 (2012.3.31) 淡蒼球内節－脳深部刺激療法の作用機序の解析。第 89 回日本生理学会大会（松本）
16. 佐野裕美，知見聡美，疋田貴俊，小林和人，南部　篤 (2012.3.31) 線条体− 淡蒼球投射ニューロンが制御する運動調節機構の解明。第 89 回日本生理学会大会（松本）
17. 渡辺秀典，佐藤雅昭，鈴木隆文，南部　篤，西村幸男，川人光男，伊佐　正 (2012.3.31) サル一次運動野における ECoG による運動関連皮質内神経活動の推定。第 89 回日本生理学会大会（松本）
18. 南部　篤 (2012. 5.24) 大脳基底核の機能と PD での異常神経活動。第 53 回日本神経学会学術大会　シンポジウム「パーキンソン病の病態生理」（東京）
19. 南部　篤 (2012.6.1) 大脳基底核における運動制御と学習機構から，パーキンソン病の病態を理解する。愛知県身体障害事例検討会（春日井市）
20. 橘　吉寿，彦坂興秀 (2012.7.1) 報酬情報を基にした腹側淡蒼球による運動制御。第 27 回日本大脳基底核研究会（東京）
21. 知見聡美，南部　篤 (2012.7.6-7) High- frequency pallidal stimulation disrupts information flow through the basal ganglia by GABAergic inhibition. 日本比較生理生化学会第 34 回大会（葉山）
22. 橘　吉寿 (2012.7.12) パーキンソン病モデルサルの大脳基底核における異常リズム生成機構。生理学研究所研究会「神経オシレーションカンファレンス」（岡崎）
23. Nambu A, Chiken S (2012.7.18) Deep brain stimulation disrupts information flow through the pallidum by GABAergic inhibition. 8th FENS Forum of Neuroscience (Barcelona, Spain)
24. Tachibana Y, Iwamuro H, Kita H, Takada M, Nambu A. (2012.7.18) Subthalamo-pallidal interactions underlying parkinsonian neuronal oscillations in the primate basal ganglia. 8th FENS Forum of Neuroscience (Barcelona, Spain)
25. Watanabe H, Sato M-A, Suzuki T, Nambu A, Nishimura Y, Kawato M, Isa T (2012.7.18) Reconstruction of movement-related intracortical potentials from micro-electrocorticogram signals in monkey primary motor cortex. 8th FENS Forum of Neuroscience (Barcelona, Spain)
26. 佐野裕美，加藤成樹，知見聡美，小林憲太，小林和人，南部　篤 (2012.7.26) 光遺伝学を応用した大脳皮質-線条体経路の神経生理機能の解析。包括型脳科学研究推進支援ネットワーク夏のワークショップ（仙台）
27. 知見聡美 (2012.7.26) 遺伝子改変マウスのニューロン活動を記録し，大脳基底核内ドーパミン神経伝達の機能を解析する。包括型脳科学研究推進支援ネットワーク夏のワークショップ（仙台）
28. 纐纈大輔 (2012.7.26) Neuronal connections with area 3 and motor cortex of marmoset. 包括型脳科学研究推進

支援ネットワーク夏のワークショップ（仙台）

29. 南部　篤 (2012.9.12) 大脳皮質− 大脳基底核ループと大脳基底核疾患。平成２４年度名医に学ぶセミナー（熊本）
30. 辛　徳, 渡辺秀典, 神原裕行, 吉村奈津江, 南部　篤, 西村幸男，伊佐　正，小池康晴 (2012.9.18) サル運動野の皮質脳波を用いた筋電信号の再構築。第 35 回日本神経科学学会（名古屋）
31. 森下壮一郎，佐藤圭太，西村幸男，渡辺秀典，加藤龍，南部　篤，伊佐　正，横井浩史 (2012.9.18) ロバスト統計に基づくサルの ECoG からの上腕電動義手の動作決定。第 35 回日本神経科学学会（名古屋）
32. 井上謙一, 纐纈大輔, 加藤成樹, 小林和人, 南部　篤, 高田昌彦 (2012.9.19) イムノトキシン神経路標的法を用いたサル皮質− 視床下核路の選択的除去。第 35 回日本神経科学大会（名古屋）
33. 橘　吉寿，彦坂興秀 (2012.9.20) サル腹側淡蒼球は報酬期待値を表現すると共にアクションを制御する。第 35 回日本神経科学大会（名古屋）
34. 佐野裕美，加藤成樹，知見聡美，小林憲太，小林和人，南部　篤 (2012.9.20) 光遺伝学と逆行性遺伝子導入を利用した大脳皮質-線条体経路選択的な興奮誘導。第 35 回日本神経科学大会（名古屋）
35. 纐纈大輔，畑中伸彦，伊佐　正，南部　篤 (2012. 9. 20) マーモセット大脳皮質3a野の神経生理学と解剖学的研究。第 35 回日本神経科学学会（名古屋）
36. 畑中伸彦, 金子将也, 高良沙幸, 南部　篤 (2012. 9. 21) ニホンザル運動関連領野のフラビンタンパク蛍光イメージング。第 35 回神経科学大会（名古屋）
37. Sano H, Chiken S, Murata M, Kobayashi K, Nambu A. (2012.10.2) Pathophysiology and therapy for basal ganglia diseases. The 11th Biennial Meeting of the Asian-Pacific Society for Neurochemistry / 第 55 回日本神経化学大会（神戸）
38. 南部　篤 (2012.10.12) 大脳基底核疾患の病態生理から，直接路・間接路理論を再考する。第６回パーキンソン病・運動障害疾患コングレス（京都）
39. Nambu A, Chiken S (2012.10.15) Globus pallidus deep brain stimulation disrupts information flow through the pallidum by GABAergic inhibition. Neuroscience 2012 (New Orleans, USA)
40. Chiken S, Ohta C, Sato A, Sasaoka T, Kurokawa M, Nambu A (2012.10.15) Dopamine D1 and D2 receptors differently modulate information processing through the basal ganglia. Neuroscience 2012 (New Orleans, USA)
41. Sano H, Chiken S, Kobayashi K, Nambu A. (2012.10.15) Striatopallidal neurons attenuate motor activity through the phasic response pattern in the basal ganglia. Neuroscience 2012 (New Orleans, USA)
42. Watanabe H, Sato M-A, Nambu A, Nishimura Y, Kawato M, Isa T (2012.10.14) Electrocorticogram signals carry reliable information about arm movement kinematics. Neuroscience 2012 (New Orleans, USA)
43. Shin D, Watanabe H, Kambara H, Nambu A, Isa T, Nishimura Y, Koike Y (2012.10.15) Reconstruction of muscle activities from a small number of electrocorticograms in primary motor cortex. Neuroscience 2012 (New Orleans, USA)
44. 橘　吉寿，彦坂興秀 (2012.11.16) Withholding of desired actions – a possible role of the subthalamic nucleus – 第 59 回中部日本生理学会（岡崎）
45. Chiken S, Nambu A (2012.11.16) High-frequency pallidal stimulation blocks local neuronal activity and information flow through the basal ganglia. GCOE 第 4 回国際シンポジウム（名古屋）
46. Nambu A (2012.11.29) Physiology and pathophysiology of cortico-basal ganglia loop. 2nd Joint Symposium NIPS and CIN (Tuebingen, Germany)
47. Koketsu D, Hatanaka N, Isa T, Nambu A (2012. 11. 29) Neurophysiological and anatomical studies of somatosensory cortical area 3a of marmoset. 2nd Joint Symposium NIPS and CIN (Tuebingen, Germany)

《脳形態解析研究部門》

1. 松井　広 (2012.07.26) グリアによって駆動される神経活動と神経回路の書き換え．新学術領域「メゾスコピック神経回路から探る脳の情報処理基盤」領域会議（仙台）

2. Matsui K (2012.09.19) Neuronal activity and behavior driven by astrocytes. 第 35 回日本神経科学大会（名古屋）
3. Nakamura Y, Harada H, Kamasawa N, Matsui K, Shigemoto R, Rothman JS, Angus S, DiGregorio DA, Takahashi T (2012.09.19) Multiple Ca Channels mediate fast synaptic transmission in CNS of matured animal. 第 35 回日本神経科学大会（名古屋）
4. Budisantoso T, Harada H, Kamasawa N, Fukazawa Y, Shigemoto R, Matsui K (2012.09.20) Estimation of the concentration and the time course of glutamate in the synaptic cleft. 第 35 回日本神経科学大会（名古屋）
5. Katsuhiko Tabuchi（2012 年 9 月 26 日）Synapse function and autism: The role of Neuroligins and Neurexins., 15th Annual Neuroscience Symposium The Korean Society for Brain and Neural Science（ソウル国立大学・韓国）
6. 佐々木拓哉（2012.09.28）光遺伝学的プローブを用いた細胞活動の可視化と操作. 第 4 回光操作研究会（岡崎）
7. 松井　広（2012.09.28）グリア光刺激を介した神経活動・行動の制御．第 4 回光操作研究会（岡崎）
8. 田渕克彦(2012 年 9 月 30 日)Analysis of Neuroligin mouse models relevant to pathophysiology of autism., 第 34 回日本生物学的精神医学会（神戸国際会議場・兵庫県神戸市）
9. Katsuhiko Tabuchi（2012 年 10 月 1 日）Synapse maturation and autism: The role of Neuroligins and Neurexins., The 11the Biennial meeting of the Asia Pacific Society for Neurochemistry（神戸国際会議場・兵庫県神戸市）
10. Matsui K, Sasaki T, Beppu K, Tanaka KF, Fukazawa Y, Shigemoto R (2012.10.13) Neuronal activity and behavior driven by astrocytes. Society for Neuroscience (New Orleans, USA）
11. Harada H, Beppu K, Matsui K, Watanabe M, Shigemoto R (2012.10.17) High resolution analysis of presynaptic protein distribution patterns with freeze-fracture replica immunolabeling. Society for Neuroscience (New Orleans, USA）
12. 松井　広（2012.11.07）光操作法による初期視覚回路特性の抽出と書き換えに伴う構造変化の解析．新学術領域「メゾスコピック神経回路から探る脳の情報処理基盤」領域会議（熱海）
13. Matsui K (2012.11.08) Estimation of glutamate concentration transient in the extracellular space. International Synapse Research Workshop 2012 (Okazaki）
14. 松井　広（2012.11.13）心の光操作 : 脳回路の働きを解き明かす新手法．第 9 回脳神経科学コアセンターセミナー（仙台）
15. Harada H (2012. 11. 16) High resolution analysis of P/Q-type voltage dependent calcium channels and their related proteins with freeze-fracture replica immunolabeling. Nagoya University Global COE Program, The 4th International Symposium （名古屋）
16. 松井　広（2012.11.26）オプトジェネティクスによりグリア機能に迫る．NIBB バイオイメージングフォーラム（岡崎）
17. Harada H, Beppu K, Matsui K, Watanabe M, Shigemoto R (2012. 12. 06) High resolution analysis of presynaptic P/Q-type voltage dependent calcium channels and their related proteins with freeze-fracture replica immunolabeling. JSPS Symposium “Mechanism of synaptic transmission”（京都）
18. Matsui K (2013.02.23) Optogenetic control of glia and mind. 高等研プロジェクト「ゲノム工学とイメージングサイエンスに基づく生命システム研究の新展開」研究会（京都）
19. 松井　広（2013.03.05）脳神経とグリアの二階層間情報伝達過程の解明．機構プロジェクト国際拠点形成「脳情報の階層的研究」研究報告会（岡崎）
20. Matsui K (2013.03.10) Building of brain function through intercellular communication. Systems Neurobiology Spring School 2013 (Osaka）
21. 田渕克彦，張　文欣，Nur Farehan Mohamed Asgar, Thomas C Sudhof, 重本隆一（2013 年 3 月 27 日）Synapse maturation and autism: The role of synapse adhesion molecules., 第 90 回日本生理学会大会（タワーホール船堀・東京都）
22. Beppu K, Sasaki T, Tanaka KF, Fukazawa Y, Shigemoto R, Matsui K (2013.03.28) Glia-driven neuronal activity and behavior. 第 90 回日本生理学会大会（東京）24.

    Matsui K (2013.03.29) Exploring the causal relationship between glial activity and mind. 第 90 回日

本生理学会大会（東京）

《大脳神経回路論研究部門》

1. Kawaguchi Y (2012.3.12) Thalamocortical subnetwork activities in slow waves and desynchronization. 第 59 回 NIBB conference（岡崎）
2. Kubota Y (2012.3.12) Conserved properties of dendritic trees in four cortical nonpyramidal cell subtypes. 第 59 回 NIBB conference（岡崎）
3. Hatanaka Y (2012.3.12) Excitatory cortical neurons with multipolar shape establish neuronal polarity by forming a tangentially oriented axons in the intermediate zone. 第 59 回 NIBB conference（岡崎）
4. 森島美絵子，川口泰雄 (2012.3.28) 前頭皮質における 5 層錐体細胞の結合特異性について．第 117 回日本解剖学会総会・全国学術集会（甲府）
5. 窪田芳之, 苅部冬樹, 野村真樹, 川口泰雄 (2012.3.28) 皮質非錐体細胞の樹状突起の形態に関する普遍的法則．第 117 回日本解剖学会総会・全国学術集会（甲府）
6. 森島 美絵子，川口 泰雄 (2012.3.30) 前頭皮質における 5 層錐体細胞の結合特異性について．第 89 回日本生理学会大会（松本）
7. 窪田芳之, 苅部冬樹, 野村真樹, 川口泰雄 (2012.3.30) 皮質非錐体細胞の樹状突起の形態に関する普遍的法則。第 89 回日本生理学会大会（松本）
8. Kawaguchi Y (2012.6.24) Pyramidal cell subnetworks and their GABAergic regulation. EMBO workshop "Cortical interneurons in health and disease (Mallorca, Spain)
9. Kubota Y, Kondo S, Nomura M, Hatada S, Kita H , Yamaguchi N, Karube F, Kawaguchi Y (2012.7.15) Locally limited IPSC conduction on cortical pyramidal cell induced by FS nonpyramidal cell. "S11 Inhibitory functional architecture in the cerebral cortex" in FENS Forum 2012 (Barcelona, Spain)
10. Kawaguchi Y (2012.9.10) Projection-specific subnetworks in rat frontal cortex. NeuroInformatics 2012 (Munich, Germany)
11. Morishima M, Kawaguchi Y (2012.9.19) Recurrent network connectivity between excitatory and inhibitory neurons in the layer 5 of frontal cortex. 第 35 回日本神経科学大会（名古屋）
12. Hatanaka Y, Yamauchi K, Namikawa T, Kawaguchi Y (2012.9.19) Cortical excitatory neuron are divided into two distinct groups by their initial projection patterns. 第 35 回日本神経科学大会（名古屋）
13. Ueta Y, Otsuka T, Kawaguchi Y (2012.9.19) Laminar structures and neuron type diversity in frontal cortico-cortical connections. 第 35 回日本神経科学大会（名古屋）
14. Karube F, Kawaguchi Y (2012.9.19) Layer 6 spiny neuron subtypes and their connection patterns in the rat frontal cortex. 第 35 回日本神経科学大会（名古屋）
15. Ushimaru M, Kawaguchi Y (2012.9.20) Firing activities of frontal cortical neuron types in slow wave oscillations and desynchronization. 第 35 回日本神経科学大会（名古屋）
16. Kubota Y, Karube F, Nomura M, Gulledge AT, Mochiduki A, Schertel A, Kawaguchi Y (2012.9.21) Conserved properties of dendritic trees in four cortical interneuron subtypes. 第 35 回日本神経科学大会（名古屋）
17. Morita K, Morishima M, Sakai K, Kawaguchi Y (2012.10.11) A putative circuit mechanism for the dopaminergic control of reward-seeking behavior. Cell symposia 'Neuromodulatrory Mechanisms' (New Orleans,USA)
18. Kubota Y, Hatada S, Kawaguchi Y (2012.10.13) An excitatory and inhibitory synapse density on various GABAergic nonpyramidal cells in the rat cerebral cortex. 2012 Annual Meeting Society For Neuroscience (New Oreans, USA)
19. Morita K, Morishima M, Sakai K, Kawaguchi Y (2012.10.15) Neural circuit mechanism for the computation of reward prediction error in the midbrain dopamine neurons. 2012 Annual Meeting Society For Neuroscience (New Orleans,USA)
20. Kubota Y, Karube F, Nomura M, Gulledge A, Mochiduki A, Schertel A, Kawaguchi Y (2012.11.3)Conserved properties of dendritic trees in four cortical nonpyramidal

cell subtypes. International Conference of Physiological Sciences 2012 （蘇州，中国）

21. Otsuka T (2012.11.8) Excitatory synaptic inputs to cortical fast-spiking cell subnetworks. 第24年度国際シナプス研究会“Understanding of synapse pathology, from genome mutation to functional defects” （岡崎）
22. Hatanaka Y (2012.11.15) Axonal development of excitatory cortical neurons. グローバルCOE第4回国際シンポジウム（名古屋）
23. 窪田芳之，野村真樹，苅部冬樹，川口泰雄 (2012.11.16) 大脳皮質非錐体細胞の樹状突起の形態機能解析。第59回中部日本生理学会（岡崎）

《心理生理学研究部門》

1. 堺　浩之，高原美和，本城尚美，今西貴之，土居俊一，定藤規弘，内山祐司 (2012.2.11) 高齢ドライバにおける実行機能の個人差と相関する脳の構造的特徴: a VBM study. 脳機能計測と在宅運動計測ワークショップ（大府）。
2. Kitada R. (2012.2.14) Neural substrates of haptic object perception. International Seminar on Time Series Modeling of Neuroscience Data (Okazaki, Japan).
3. Tanabe H.C. (2012.2.14) Inter-individual functional connectivity during eye contact and joint attention using dual functional MRI. International Seminar on Time Series Modeling of Neuroscience Data (Okazaki, Japan).
4. Sadato N (2012.3.7) "Inter-individual neural synchronization eye-contact and joint attention". 42nd NIPS International Symposium (Okazaki,Japan).
5. 定藤規弘 (2012.3.10) 脳機能画像法をもちいた社会能力発達過程へのアプローチ。第52回脳の医学・生物学研究会（名古屋）。
6. 内山祐司, 堺　浩之, 辛　徳, 市川奈穂, 定藤規弘, 寺嶌立太，脇田敏裕， (2012.3.12) 脳神経メカニズムに基づく居眠り検出法の開発。自動車技術会第８回トラフィックセイフティ委員会（東京）。
7. 定藤規弘 (2012.3.17) 社会能力の神経基盤：脳機能画像法によるアプローチ。第7回日本統合失調症学会（名古屋）。
8. 小池耕彦，吉原一文，定藤規弘 (2012.3.31) VBMとresting state network解析を用いた，特性不安の神経基盤の解明。第89回日本生理学会大会（松本）。
9. Sadato N (2012.5.26) Inter-individual neural synchoronization during eye-contact and joint attention. Social Interaction, Engagement and the Second-Person Perspective (Cologne, Germany).
10. Sasaki A.T, Kochiyama T, Sugiura M, Tanabe H.C, Sadato N (2012.5.26) Brain networks for automatic mimicry: an fMRI and DCM study Social Interaction, Engagement and the Second-Person Perspective (Cologne, Germany).
11. Tanabe HC, Koike T and Sadato N (2012) “Inter- and intra-brain functional connectivity during eye contact and joint attention: a hyper-scanning functional MRI study.” Social Cognition, Engagement and the Second-Person Perspective (Cologne, Germany).
12. 定藤規弘 (2012.6.29) 領域架橋的共同研究におけるMRIの役割。脳コミュニケーション研究センターシンポジウム：脳科学がもたらす未来社会（高知）。
13. Sadato N and Tanabe H.C (2012.7.2) Neural substrates and inter-individual functional connectivity during mutual gaze and joint attention using dual functional MRI.. 2012 ICME International Conference on Complex Medical Engineering (Kobe,Japan).
14. 島田浩二, 田邊宏樹, 横川博一, 吉田晴世, 牧田　快, 山﨑未花，定藤規弘 (2012.7.5) 第二言語音声処理の自動化に関わる前頭前野二領域の脳活動の可塑的変化。第14回日本ヒト脳機能マッピング学会（札幌）。
15. Hirotani, M.*, Shimada, K.*, Okazaki, S., Tanabe, H.C. & Sadato, N. (2012.8.4) The role of social contexts in adults’ word learning. The 34th Annual Meeting of the Cognitive Science Society (Sapporo, Japan). *Two authors are joint first authors.
16. Sadato N (2012.8.4) The role of the right cerebellum during foreign language vocabulary learning enhanced by the phonological loop: an event-related fMRI study. 第38回全国英語教育学会愛知研究大会（愛知）。
17. 吉原一文 (2012.8.26) 認定講座「心身医学」。平成24

年度日本統合医療学会九州支部大会（福岡）。

18. 北田　亮 (2012.9.11) 学際的な触覚研究の最前線 2－発達における触覚の役割－解説。日本心理学会第 76 回大会ワークショップ （東京）。
19. 松永昌宏 (2012.9.11) 内分泌・免疫活動と感情との関連。日本心理学会第 76 回大会ワークショップ「感情を測る―末梢神経系と内分泌系の測定―」（東京）。
20. 松永昌宏 (2012.9.11) 幸福感の神経基盤。日本心理学会第 76 回大会ワークショップ「幸福感研究の多面性―社会構造，対人的側面，神経基盤―」（東京）。
21. 堺　浩之，内山祐司，菅原　翔，田中悟志，定藤規弘， (2012.9.21) 前頭葉への経頭蓋直流電流刺激が単調運転に与える影響。第 35 回日本神経科学大会（名古屋）。
22. 定藤規弘 (2012.9.29) 社会脳研究における人文科学・脳科学・精神医学の連携：接点としてのイメージング研究。日本生物学的精神医学会（神戸）。
23. Shimada K, Tanabe HC, Yokokawa H, Yoshida H, Makita K, Yamazaki-Murase M & Sadato N (2012.10.14) Left prefrontal activations are modulated by proficiency in spoken foreign language processing. The 42nd Annual Meeting of the Society for Neuroscience (New Orleans, USA).
24. Takahashi HK, Kitada R, Sasaki AT, Kawamichi H, Sadato N (2012.10.15) Neural substrates of cognitive empathy for sadness modulated by tears: A functional MRI study. The 42nd Annual Meeting of the Society for Neuroscience (New Orleans, USA).
25. 北田　亮 (2012.10.26) 触覚の物体認知に関わる脳内メカニズム.快適性を考えるシンポジウム 日本繊維製品消費科学会（京都）。
26. Kitada R, Okamoto Y, Sasaki AK, Kochiyama T, Miyahara M, Lederman SJ, Sadato N (2012.11.1) Early visual experience and the recognition of facial expressions: Involvement of the middle temporal and inferior frontal gyri in haptic identification by the early blind. The 43rd NIPS International Symposium: Face Perception and Recognition (Okazaki, Japan).
27. Takahashi HK, Kitada R, Sasaki AT, Kawamichi H, Sadato N (2012.11.1) Neural substrates involved in recognition of tears on the face: a fMRI study. The 43rd NIPS International Symposium: Face Perception and Recognition (Okazaki, Japan).
28. Kitada R (2012.11.15) Neural Substrates Underlying Haptic Recognition of Face and Body parts. Tactile Research Group Meeting, a Satellite Meeting of Psychonomics Society (Minneapolis, MN, US).
29. 吉原一文，田邊宏樹，川道拓東，小池耕彦，山﨑未花，定藤規弘 (2012.11.17) 恐怖刺激による末梢体温の変化に関連する脳内機序。第 17 回日本心療内科学会総会・学術大会（福岡）。
30. 定藤規弘 (2012.11.18) 社会能力の発達過程：脳機能画像法によるアプローチ。第 17 回日本心療内科学会総会・学術大会（福岡）。
31. Kawamichi H, Yoshihara K, Kitada R, Matsunaga M, Sasaki A, Yoshida Y, Takahashi H, Sadato N (2012.11.24) Study implication related to sense of acceptance: Key factor of social learning. Interantional Conference on Replacement of Neanderthals by Modern Humans: Testing Evolutionary Models of Learning (Tokyo, Japan).
32. Takahiko Koike (2012.11.29) Inter-individual neural synchronization during eye-contact and joint attention. The 2nd Tübingen University/NIPS Joint Neuroscience Symposium (Tübingen, Germany).
33. Sasaki A.T. (2012.11.29) Neural substrates of Social Contingency. 2nd NIPS-Tuebingen University Joint Symposium (Tuebingen, Germany).

《認知行動発達機構研究部門》

1. 伊佐　正 (2012.1.12) 障害脳の機能回復戦略。富山大学大学院生命融合科教育部シンポジウム（富山市）
2. 加藤健治，佐々田周作，西村幸男 (2012.1.16) 筋 - 末梢神経間の人工神経接続による手首運動の随意制御。第 12 回冬のワークショップ　脳と心のメカニズム（北海道）
3. 笹田周作，加藤健治，グロイス純，門脇　傑，宇川義一，小宮山伴与志，西村幸男 (2012.1.17) 人工神

経接続を利用した下肢歩行運動の随意制御。第 12 回冬のワークショップ　脳と心のメカニズム（北海道）

4. 伊佐　正 (2012.1.31) 神経回路を操作して調べるということ。東北大学脳科学 COE セミナー（仙台市）
5. 伊佐　正 (2012.2.3) 脳損傷後の機能代償戦略。東京医科歯科大学大学院セミナー（東京）
6. 伊佐　正 (2012.2.6) 手の巧緻な運動を制御する回路の構造と障害後の機能代償機構について。先端医療振興財団セミナー（神戸）
7. 西村幸男 (2012.2.15)Toward the restoration of motor function via artificial neural connection. 14th Mind Brain Conference（浜松）
8. 伊佐　正 (2012.2.23)Geneticc dissection of descending pathway controlling hand dexterity in primates. Frontiers in Primate Neuroscience Researches（東京）
9. Hidenori Watanabe, Masa-aki Sato, Takafumi Suzuki, Mitsuo Kawato, Yukio Nishimura, Atsushi Nambu, Tadashi Isa (2012.2.23) Reconstruction of movement-related intracortical potentials from micro-electrocortigram signals in monkey parimary motor cortex. Frontiers in Primate Neuroscience Researches（東京）
10. Tatsuya Umeda, Kazuhiko Seki, Masa-aki Sato, Yukio Nishimura, Mitsuo Kawato, Tadashi Isa (2012.2.25) Encoding of forelimb joint kinematics by cutaneous and muscle afferents in monkeys. Frontiers in Primate Neuroscience Researches（東京）
11. 伊佐　正 (2012.2.25) Neuronal mechanism of blindsight. The 1st NIPS/Tubingen University Joint Neuroscience Symposium（岡崎）
12. Hidenori Watanabe, Masa-aki Sato, Takafumi Suzuki, Mitsuo Kawato, Yukio Nishimura, Atsushi Nambu, Tadashi Isa (2012.2.25) Reconstruction of movement-related intracortical potentials from micro-electrocortigram signals in monkey parimary motor cortex. The 1st NIPS/Tubingen University Joint Symposium（岡崎）
13. Tatsuya Umeda, Kazuhiko Seki, Masa-aki Sato,Yukio Nishimura, Mitsuo Kawato, Tadashi Isa (2012.2.25) Encoding of forelimb joint kinematics by cutaneous and muscle afferents in monkeys. The 1st NIPS/Tubingen University Joint Symposium（岡崎）
14. 西村幸男 (2012.3.8) 人工神経接続によるブレインコンピュータインターフェイス。マイクロ・ナノメカトロニクスシンポジウム　神経再生に迫る～再生医療からロボットまで～（名古屋）
15. 伊佐　正 (2012.3.15)Neuronal mechanism of functional compensation after brain and spinal cord injury-studies on non-human parimate model-. SNR2012（埼玉）
16. 西村幸男 (2012.3.29) 脊髄損傷後の運動機能回復戦略。第 89 回日本生理学大会（松本）
17. 渡辺秀典，佐藤雅昭，鈴木隆文，南部　篤，西村幸男，川人光男，伊佐　正 (2012.3.31) サル一次運動野における ECoG による運動関連皮質内神経活動の推定。第 89 回日本生理学大会（松本）
18. 笹田周作，加藤健治，グロイス純，門脇　傑，宇川義一，小宮山伴与志，西村幸男 (2012.3.31) 人工神経接続を利用した下肢歩行運動の随意制御。第 89 回日本生理学大会（松本）
19. 西村幸男，イートン・ライアン，ステイーブ・パルムッター，エバハード・フェッツ (2012.3.31) 皮質脊髄路細胞とそれに単シナプス性に支配される筋は独立に随意制御できる。第 89 回日本生理学大会（松本）
20. 西 村 幸 男　(2012.4.13) Time-dependent central compesatory mechanisms after spinal cord injury. The 8th Asia Pacific Symposium on Neural Regeneration（台湾）
21. 伊佐　正 (2012.5.27) 思春期の自己制御研究への期待-神経科学からのアプローチ。文部科学省新学術領域「精神機能の自己制御理解にもとづく思春期の人間形成支援学」公開シンポジウム (Kingston, Canada)
22. Takuro Ikeda, Masatoshi Yoshida, Tadashi Isa (2012.6.7)Role of Striatal visual pathway in attention capture and inhibition of return. Canadian Society for Brain Behaviour and Cognitive Science 22nd Annual Meeting（開催地）
23. 加藤健治 (2012.6.22) 筋-抹消神経間の人工神経接続による運動適応。第 6 回 Motor Control 研究会（岡崎）
24. 笹田周作 (2012.6.23) 人工神経接続を利用した下肢歩行運動の随意制御。第 6 回 Motor Control 研究会

（岡崎）

25. 加藤利佳子 (2012.6.23) 第一次視覚野損傷後の視覚誘導性サッケードに関連する一皮質および皮質下領域：Positron emission tomography (PET) による測定。第 6 回 Motor Control 研究会（岡崎）
26. 高桑徳宏 (2012.6.23) 皮質盲視野における連合学習。第 6 回 Motor Control 研究会（岡崎）
27. 梅田達也 (2012.6.23) サル後根神経節細胞から上肢運動軌道を読み解く。第 6 回 Motor Control 研究会（岡崎）
28. Yoshida M (2012.7.3)Saccadic Eye Movements in Blindsight. ASSC16 (UK)
29. 伊佐　正 (2012.7.5) 障害脳の機能回復過程における脳活動の変化とその機能-霊長類モデルでの検証-. 第 14 回ヒト脳機能マッピング学会（札幌）
30. 伊佐　正 (2012.7.14) 大学共同利用機関における共同研究について。第 21 回サル疾病ワークショップ（神奈川）
31. K.Kato, S.Sasada, Y.Nishimura (2012.7.18)Adaptation to an artificial neural connection between muscle and peripheral nerve in man． 8th FENS Forum of Neuroscience（バルセロナ，スペイン）
32. Watanabe H., Sato M.-A., Suzuki T., Nambu A., Nishimura Y., Kawato M. & Isa T. (2012.7.18) Reconstruction of movement-related intracortical potentials from microelectrocorticogram signals in monkey primary motor cortex．8th FENS Forum of Neuroscience（バルセロナ，スペイン）
33. Kinoshita M., Matsui R., Kato S., Hasegawa T., Kasahara H. , Isa K., Watakabe A., Yamamori T., Nishimura Y., Alstermark B., Watanabe D., Kobayashi K. & Isa T. (2012.7.18) Genetic Dissection Of The Spinal Circuit For Hand Dexterity In Macaque Monkeys. 8th FENS Forum of Neuroscience（バルセロナ，スペイン）
34. S.Sasada, K.Kato, G.J.Stefan, S.Kadowaki, Y.Ugawa, T.Kojima, Y.Nishimura (2012.7.18) Toward the restoration of volitional walking via an artificial-neural-conneciton between arm muscle and lumbar spinal cord after spinal cord injury． 8th FENS Forum of Neuroscience（バルセロナ，スペイン）
35. 西村幸男 (2012.7.27) Brain Computer Interface 技術を用いた人工神経接続による運動機能再建。包括脳夏のワークショップ（仙台）
36. 吉田正俊 (2012.7.27) ヒト盲視における視覚誘導性および記憶誘導性サッカード。包括脳夏のワークショップ（仙台）
37. 伊佐　正 (2012.8.4) 脳・脊髄損傷後の機能代償戦略。第 42 回新潟神経学夏期セミナー（新潟）
38. 笹田周作，加藤健治，ステファン J グロイス，門脇傑，宇川義一，小宮山伴与志，西村幸男 (2012.9.14) 上肢筋－腰髄間の人工神経接続を利用した下肢歩行運動の随意制御。第 67 回日本体力医学会（岐阜）
38. Oraphan Wanakhachornkrai, Tatsuya Umeda, Kaoru Isa, Mayuree Tantisira, Boonyong Tantisira, Tadashi Is (2012.9.18)Reorganization of somatosensory system after hemidecortication in neonatal rats. 第 35 回日本神経科学大会（名古屋）
39. 高桑徳宏，加藤利佳子，Redgrave Peter,伊佐　正 (2012.9.18) 皮質盲視野における連合学習。第 35 回日本神経科学大会（名古屋）
40. 澤田真寛, 尾上浩隆, 伊佐　正, 西村幸男 (2012.9.18) 脊髄損傷後の運動機能回復における腹側線条体の役割。第 35 回日本神経科学大会（名古屋）
41. 笹田周作，加藤健治，ステファン　J　グロイス，門脇　傑，宇川義一，小宮山伴与志，西村幸男 (2012.9.19) 人工神経接続を利用した下肢歩行運動の随意制御。第 35 回日本神経科学大会（名古屋）
42. 西村幸男 (2012.9.19) 人工神経接続による運動機能再建。第 35 回日本神経科学大会（名古屋）
43. 梅田達也，高草木薫，伊佐　正 (2012.9.19) 霊長類における大脳皮質から運動ニューロンに至る同側性神経回路の電気生理学解析。第 35 回日本神経科学大会（名古屋）
44. 吉田正俊，雨宮史織，伊佐　正 (2012.9.19) 霊長類における大脳皮質から運動ニューロンに至る同側性神経回路の電気生理学解析。第 35 回日本神経科学大会（名古屋）
45. 加藤利佳子，池田琢朗，尾上浩隆，河原正幸，尾上嘉代，林　拓也，吉田正俊，高浦加奈，塚田秀夫，伊佐　正 (20112.9.19) 第一次視覚野損傷後の視覚誘導性サッケードの制御に寄与する脳部位：PET による脳活動測定。第 35 回日本神経科学大会（名古屋）
46. 加藤健治，笹田周作，西村幸男 (2012.9.19) 筋一抹消神経間の人工神経接続による運動適応。第 35 回日

本神経科学大会（名古屋）

47. 伊佐　正 (2012.9.21)Neural substrates of the functional recovery after spinal cord injury and factor influencing the process. 第 35 回日本神経科学大会（名古屋）
48. 西村幸男 (2012.9.29) 脳とコンピューターを繋ぐ技術。名城大学総合学術研究科 10 周年記念講演（名古屋）
49. 高桑徳宏，加藤利佳子，Peter Redgrave，伊佐　正 (2012.9.29) 皮質盲視野における連合学習。第 3 回名古屋大学医学系研究科・生理学研究所合同シンポジウム（岡崎）
50. 澤田真寛, 尾上浩隆, 伊佐　正, 西村幸男 (2012.9.29) 脊髄損傷の回復期における腹側線条体の役割。第 3 回名古屋大学医学系研究科・生理学研究所合同シンポジウム（岡崎）
51. 木下正治，松井亮介，加藤茂樹，長谷川拓，笠原洋紀，伊佐かおる，渡我部昭哉，山森哲雄，西村幸男，Bror Alstermark，渡辺　大，小林和人，伊佐　正 (2012.9.29) ウイルスベクター二重感染法による選択的神経伝達遮断により明らかにした，マカクザル前肢巧緻運動における脊髄固有ニューロンの機能。第 3 回名古屋大学医学系研究科・生理学研究所合同シンポジウム（岡崎）
52. 梅田達也，高草木薫，伊佐　正 (2012.9.29) 霊長類における大脳皮質から同側運動ニューロンに至る多シナプス性神経回路の解析。第 3 回名古屋大学医学系研究科・生理学研究所合同シンポジウム（岡崎）
53. 渡辺秀典，佐藤雅昭，鈴木隆文，川人光男，西村幸男，南部　篤，伊佐　正 (2012.9.29) サル一次運動野における硬膜下皮質電位から運動関連皮質内神経活動の推定。第 3 回名古屋大学医学系研究科・生理学研究所合同シンポジウム（岡崎）
54. 笹田周作，加藤健治，ステファン　J　グロイス，門脇　傑，宇川義一，小宮山伴与志，西村幸男 (2012.9.29) 上肢筋 - 腰髄間の人工神経接続による下肢歩行運動の随意制御。第 3 回名古屋大学医学系研究科・生理学研究所合同シンポジウム（岡崎）
55. 吉田正俊，雨宮史織，伊佐　正 (2012.9.29) ヒト盲視における視覚誘導性及び記憶誘導性サッカード運動。第 3 回名古屋大学医学系研究科・生理学研究所合同シンポジウム（岡崎）
56. 加藤利佳子，池田琢朗，尾上浩隆，河原正幸，尾上嘉代，林　拓也，吉田正俊，高浦加奈，塚田秀夫，伊佐　正 (2012.9.29) 第一次視覚野損傷後の視覚誘導性サッケードに寄与する視覚ー運動関連領域：Positron emission tomography (PET) による測定。第 3 回名古屋大学医学系研究科・生理学研究所合同シンポジウム（岡崎）
57. Kenji Kato, Syusaku Sasada, Yukio Nishimura (2012.9.29)Motor Adaptation and Volitional control of wrist movement via an Artificial Neural Connection between Muscle and Peripheral Nerve in Man. 第 3 回名古屋大学医学系研究科・生理学研究所合同シンポジウム（岡崎）
58. 伊佐かおる，Thongchai Sooksawate，松井亮介，加藤茂樹，木下正治，渡辺　大，小林和人，伊佐　正 (2012.9.29) ウイルスベクター2 重感染法によるマウス指向運動に関する神経経路の選択的・可逆的制御。第 3 回名古屋大学医学系研究科・生理学研究所合同シンポジウム（岡崎）
59. 伊佐　正 (2012.9.30) 神経回路を自在に操作する技術について。第 34 回日本生物学的精神医学会シンポジウム（神戸）
60. 伊佐　正 (2012.10.11)Viral vector-mediated neural circuit dissection in non-human primates. Invited lecture Neuroscience Program (Louisville, USA)
61. R.Kato, T.Ikeda ,H.Onoe, M.Kawahara, K.Onoe, T.Hayashi, M.Yoshida, K.Takaura, H.Tsukada, T.Isa (2012.10.13)Change in visuomotor circuit after V1 lesion revealed by positron emission tomography. 42nd Annual meeting for society for Neuroscience (New Orleans, USA)
62. H.Watanabe, M.Sato, A Nambu, Y Nishimura, M. Kawato, T Isa (2012.10.14)Electrocorticogram signals carry reliable information about arm movement kinematics . 42nd Annual meeting for society for Neuroscience (New Orleans,USA)
63. Kinoshita M., Matsui R., Kato S., Hasegawa T., Kasahara H. , Isa K., Watakabe A., Yamamori T., Nishimura Y., Alstermark B., Watanabe D., Kobayashi K. & Isa T. (2012.10.14)Genetic dissection of the spinal circuit for hand dexterity in macaque monkeys. 42nd Annual meeting for society for Neuroscience (New Orleans,USA)

64. M.Sawada,T Isa,H Onoe,Y Nishimura (2012.10.15)Role of the basal ganglia for the motor recovery after spinal cord injury．42nd Annual meeting for society for Neuroscience (New Orleans, USA)
65. K.Kato,S.Sasada,Y.Nishimura (2012.10.16)Motor adaptation to an artificial neural connection between muscle and peripheral nerve in man．42nd Annual meeting for society for Neuroscience (New Orleans, USA)
66. S.Sasada, K.Kato, S.J.Groiss, S.Kadowaki, Y.Ugawa, T.Komiyama, Y.Nishimura (2012.10.16)Approach for the restoration of volitional walking via the artificial neural connection between descending command and lumbar spinal cord.．42nd Annual meeting for society for Neuroscience (New Orleans,USA)
67. T.Umeda, H.Watanabe,M.A-Sato, M.Kawato, T.Isa, Y Nishimura (2012.10.16)Population coding of the forelimb joint kinematics by peripheral afferents in behaving monkeys．42nd Annual meeting for society for Neuroscience (New Orleans,USA)
68 西村幸男 (2012.11.9)BMI を用いた最新の医学知見について。武田薬品工業株式会社講演会（藤沢）
69. 伊佐　正 (2012.11.12) 私たちの中の古い脳。平成 24 年度学融合推進センター・共同研究プロジェクト研究会「脳の進化-大脳新皮質の起源を尋ねて-」（葉山）
70. 伊佐　正 (2012.11.15) 障害脳が示す驚くべき能力。生理学研究所講演会（岡崎）
71. 木下正治，松井亮介，加藤茂樹，長谷川拓，笠原洋紀，伊佐かおる，渡我部昭哉，山森哲雄，西村幸男，Bror Alstermark，渡辺　大，小林和人，伊佐　正 (2012.11.16) ウイルスベクター二重感染法による選択的神経伝達遮断により明らかにした，マカクザル前肢巧緻運動における脊髄固有ニューロンの機能。第 59 回中部日本生理学会（岡崎）
72. 笹田周作，加藤健治，ステファン　J　グロイス，門脇　傑，宇川義一，小宮山伴与志，西村幸男 (2012.11.16) 上肢筋ー腰髄間の人工神経接続による下肢歩行運動の随意制御。第 59 回中部日本生理学会（岡崎）
73. 高桑徳宏，加藤利佳子，Peter Redgrave，伊佐　正 (2012.11.16) 皮質盲視野における連合学習。第 59 回中部日本生理学会（岡崎）
74. 加藤利佳子，池田琢朗，尾上浩隆，河原正幸，尾上嘉代，林　拓也，吉田正俊，高浦加奈，塚田秀夫，伊佐　正 (2012.11.16) 第一次視覚野損傷後の視覚誘導性サッケードの制御に寄与する脳部位：PET による脳活動測定。第 59 回中部日本生理学会（岡崎）
75. 梅田達也, 渡辺秀典, 佐藤雅昭, 川人光男, 伊佐　正，西村幸男 (2012.11.16) 自発運動中におけるサル頸髄 DRG 細胞活動の多電極記録。第 59 回中部日本生理学会（岡崎）
76. 吉田正俊，雨宮史織，伊佐　正 (2012.11.16) ヒト盲視における視覚誘導性及び記憶誘導性サッカード運動。第 59 回中部日本生理学会（岡崎）
77. 澤田真寛，尾上浩隆，伊佐　正，西村幸男 (2012.11.16) 脊髄損傷の回復期における腹側線条体の役割。第 59 回中部日本生理学会（岡崎）
78. 伊佐かおる，Thongchai Sooksawate，松井亮介，加藤茂樹，木下正治，渡辺　大，小林和人，伊佐　正 (2012.11.16) ウイルスベクター2 重感染法によるマウス指向運動に関する神経経路の選択的・可逆的制御。第 59 回中部日本生理学会（岡崎）
79. 石田章真，梅田達也，伊佐　正，飛田秀樹 (2012.11.17) 内包出血後の麻痺肢集中使用は運動野体部位再現における前肢領域を拡大させる。第 59 回中部日本生理学会（岡崎）
80. Masatoshi Yoshida (2012.11.22)A Saliency Computational Model Reveals Blindsight in Monkey. 12th China-Japan-Korea Joint Workshop on Neurobiology and Neuroinformatics（ソウル，韓国）
81. 伊佐　正 (2012.11.26)Dissecting the compensatory mechanism after partial spninal cord injury．EPFL Invited lecture (Lausanne, Switzerland)
82. 伊佐　正 (2012.11.27)Dissecting the compensatory mechanism after partial spninal cord injury．EPFL ETH Invited lecture．(Zurich, Switzerland)
83. Yukio Nishimura (2012.11.29)Restoring Volitional Control Via An Artificial Neural Connection．2nd NIPS Tubingen Joint Symposium (Tubingen，Germany)
84. Tadashi Isa (2012.11.29)Genetic Dissection of the Circuits for Manual Dexterity in Primates．2nd NIPS Tubingen Joint Symposium (Tubingen，Germany)
85. 吉田正俊 (2012.12.5)Blindsight in man and macaque.

高等研カンファレンス 2012（千葉）

86. 伊佐　正 (2012.12.10) 「無意識の視覚系」の実体を求めて。応用脳科学アカデミー（東京）

87. 伊佐　正 (2012.12.15) 「心の実装」を読み解くには？. 玉川グローバル COE 公開シンポジウム（東京）

《生体恒常機能発達機構研究部門》

1. Nabekura J (2012.1.17) Visualization of cortical circuits in vivo. WCI Seminar in Korean Institute of Science Technology (Seoul , Korea)
2. 江藤　圭 (2012.1.30) 一次体性感覚野を中心とした慢性疼痛メカニズムの解明。生理学研究所昼食セミナー（岡崎）
3. 中畑義久 (2012.2.24) Active receptor-dependent modulation of postsynaptic glycine responses. 第 4 回 NAGOYA グローバルリトリート（大府）
4. Nabekura J (2012.2.25) Remodeling of Cortical Synapses in vivo. The 1st NIPS/Tubingen University Joint Neuroscience Symposium（岡崎）
5. Nabekura J (2012.3.6) GABA accelerates the migration of cortical interneurons in vivo. 42nd NIPS International Symposium （岡崎）
6. Nabekura J, (2012.3.12) Dynamics of synapse remodeling and glia motility in vivo. Internal symposium "Neocortical Organization"（岡崎）
7. 江藤　圭，鍋倉淳一 (2012.3.13) 一次体性感覚野における慢性疼痛メカニズムの解明。第 21 回神経行動薬理若手研究者の集い（京都）
8. 鍋倉淳一，加藤　剛，加藤　剛，宮本愛喜子，江藤圭 (2012.3.26) ミクログリアによるシナプス監視再編。第１１７回日本解剖学会総会（甲府）
9. 石橋　仁, 山口純弥, 中畑義久, 鍋倉淳一 (2012.3.29) グリシンと GABA 共放出シナプスにおけるシナプス伝達制御機構。第 89 回日本生理学会大会（松本）
10. 平尾顕三，石橋　仁，鍋倉淳一 (2012.3.29) マウス外側上オリーブ核におけるノルアドレナリン機能の発達変化。第 89 回日本生理学会大会（松本）
11. 鍋倉淳一，江藤　圭，金善光 (2012.3.30) 慢性疼痛に伴う大脳皮質体性感覚野神経回路再編。第 89 回日本生理学会大会（松本）
12. 加藤　剛，小杉雅史，吉村　恵，ストラスマンアンドリュー (2012.3.30) Laser Scanning Photostimulation 法を利用した脊髄後角神経回路の解析。第 89 回日本生理学会（松本）
13. Nabekura J (2012.6.1) Microglia surveillce of Synapses. 2012 Annual Meeting of Korean Society for Biochemistry and Molecular Biology (Souel, Korea)
14. 加藤　剛, 小杉雅史, 鍋倉淳一, 岩本幸英, 吉村　恵, Strassman Andrew (2012.7.21) 光刺激法を用いた脊髄痛覚情報処理機構の機能的解析。第 34 回日本疼痛学会（熊本）
15. 石川達也，石橋　仁，金　善光，加藤　剛，鍋倉淳一 (2012.9.3) 大脳皮質が慢性疼痛の形成および維持に果たす役割とその機序の解明。第 14 回応用薬理シンポジウム（甲府）
16. 石橋　仁，江藤　圭，鍋倉淳一 (2012.9.3) 神経回路活動依存的な抑制性シナプス機能の変化とその慢性痛への関与。第 14 回応用薬理シンポジウム（甲府）
17. Nabekura J (2012.9.14) Chronic pain-induced somatosensory cortical plasticity. NIPS International Workshop: Central Neuroplasticity in Sensory-Emotional Link（岡崎）
18. 稲田浩之，前島隆司，中畑義久，山口純弥，鍋倉淳一，石橋　仁 (2012.9.21) 海馬 CA3 における内因性カンナビノイドシグナル伝達経路による抑制性シナプス伝達の修飾作用。第 35 回日本神経科学大会（名古屋）
19. 宮本愛喜子，江藤　圭，鍋倉淳一 (2012.9.29) In vivo イメージングを用いた発達期ミクログリアの観察。第 3 回名大・生理研合同シンポジウム（岡崎）
20. 稲田浩之，渡部美穂，内田　琢，福田敦夫，柳川右千夫，鍋倉淳一 (2012.10.1) GABA regulates the multidirectional tangential migration of GABAergic interneurons in living neonatal mice. 第 55 回日本神経化学大会（神戸）
21. Nabekura J (2012.11.2) Visualization of chronic pain-induced cortical plasticity. International Conference

of Physiological Sciences 2012 (Sozhou, China)

22. 石橋　仁，山口純弥，中畑義久，鍋倉淳一 (2012.11.16) 抑制性シナプスにおける GABA/グリシンスイッチングに関する電気生理学的解析。第 59 回中部日本生理学会（岡崎）
23. 宮本愛喜子，江藤　圭，鍋倉淳一 (2012.11.16) 発達期におけるミクログリアの形態的及び機能的特性の解明。第 59 回中部日本生理学会（岡崎）
24. Ishibashi H, Watanabe M, Uchida T, Fukuda A, Yanagawa Y, Nabekura J (2012.11.16) Dynamic regulation of glycine/GABA cotransmission at spinal inhibitory synapses via neuronal glutamate transporter. Nagoya University Global COE Program, The 4th International Symposium（名古屋市）
25. Inada H, Watanabe M, Uchida T, Fukuda A, Yanagawa Y, Nabekura J (2012.11.29) In vivo two-photon imaging of neuronal migration in neonatal mouse. NIPS-Tubingen University 2nd Joint Symposium (Tuebingen, Germany)
26. Nabekura J (2012.12.5) Glia and neuron interactions: their role in synapse remodeling in vivo. 2012 Joint Australian Physiological Society, The Physiological Society of New Zealand, and the Austlarian Society for Biophysics (Sydney, Australia)
27. Nakahata Y, Hirata H (2012.12.6) Analysis of glycine receptor dynamics on the cytoplasmic membrane. 第 9 回総研大生命科学リトリート（掛川）
28. 中村佳代 (2012.12.6) Effects of varying the potassium chloride cotransporter (KCC2)-expression level on mouse behavior. 第 9 回総研大生命科学リトリート（掛川）
29. 穐吉亮平，鍋倉淳一 (2012.12.6) 聴覚系をモデルとした環境による感覚情報処理機構の発達制御。第 9 回総研大生命科学リトリート（掛川）
30. 宮本愛喜子 (2012.12.6) ミクログリアの神経回路形成における役割の解明。Role of microglia in neural circuit formation. 第 9 回総研大生命科学リトリート（掛川）
31. 石川達也 (2012.12.6) 慢性疼痛発症時，S1 皮質における神経細胞およびアストロサイトの役割。第 9 回総研大生命科学リトリート（掛川）
32. 鍋倉淳一 (2012.12.13) シナプス再編とグリア動態の生体内ダイナミックス。第３５日本分子生物学会（福岡）

《生殖・内分泌系発達機構研究部門》

1. 箕越靖彦 (2012.2.4) 視床下部 AMPK による摂食調節機構。第 3 回 Cell Metabolism & Communication Conference, 特別講演（東京）
2. 箕越靖彦 (2012.3.1) メタボリックシンドロームと脳内ホルモン。社会福祉法人聖隷福祉事業団キャリアアップ研修，特別講演（浜松）
3. 箕越靖彦 (2012.3.3) 視床下部 AMPK による摂食調節機構。第 38 回近畿小児科内分泌研究会，特別講演（大阪）
4. Okamoto S, Minokoshi Y (2012.3.29-31) AMP-kinase in the paraventricular hypothalamus regulates food selection behavior in mice. The 89th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan（松本）
5. Toda C, Minokoshi Y (2012.3.29-31) The ventromedial hypothalamus (VMH) regulates insulin sensitivity in muscle and liver through distinct-leptin signaling pathways. The 89th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan（松本）
6. Horio S, Kitaike S, Minokoshi Y, Kai N, Kobayashi K, Ueyama T, Fukui H (2012.3.29-31) Selective ablation of histamine H1 receptor-expressing neurons in the hypothalamic araventricular hypothalamus increased food intake and body weight gain. The 89th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan（松本）
7. Uchida K, Dezaki K, Boldbaatar D, Mori Y, Minokoshi Y, Yada T, Tominaga M (2012.3.29-31) The role of thermoesensitive TRP channels in pancreatic β-cell functions. The 89th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan（松本）
8. 戸田知得，志内哲也，箕越靖彦 (2012.4.19-21) レプチンは視床下部腹内側核において異なるシグナル伝達因子を介して骨格筋および肝臓のインスリン感受

性を調節する。第 85 回日本内分泌学会（名古屋）
9. 齋藤久美子，志内哲也，戸田知得，上條真弘，岡本士毅，箕越靖彦 (2012.5.26) 非放射性 2-デオキシグルコースによる糖取込み速度の測定。第 76 回日本生化学会中部支部例会（岡崎）
10. 唐麗君，箕越靖彦 (2012.5.26) 白色脂肪組織 TNF-α の mRNA 発現に及ぼす AgRP 及び交感神経の調節作用。第 76 回日本生化学会中部支部例会（岡崎）
11. 戸田知得，志内哲也，箕越靖彦 (2012.5.26) レプチンは視床下部腹内側核において異なるシグナル伝達因子を介して骨格筋および肝臓のインスリン感受性を調節する。第 76 回日本生化学会中部支部例会（岡崎）
12. 箕越靖彦 (2012.5.30) 視床下部 AMPK による摂食調節作用。生命科学研究所・ヘルスサイエンスヒルズ合同成果発表会，特別講演（春日井）
13. 箕越靖彦 (2012.7.6) 視床下部 AMPK による摂食調節機構。第 1 回糖尿病治療の新時代～基礎と臨床を学ぶ～，特別講演（大阪）
14. 箕越靖彦 (2012.7.14) 視床下部 AMPK による摂食調節作用。第 20 回西日本肥満研究会，特別講演（松山）
15. 唐麗君，志内哲也，箕越靖彦 (2012.8.25) 白色脂肪組織 TNF-α発現に及ぼす AgRP 及び交感神経の調節作用。第 17 回アディポサイエンス研究会（豊中）
16. Minokoshi Y, Okamoto S (2012.9.29-30) Regulatory role of hypothalamic AMPK in feeding behavior. The 3rd Meeting of the Japan Branch of the International Neuropeptide Society (INPS)（小倉）
17. 唐麗君，志内哲也，箕越靖彦 (2012.10.11-12) 白色脂肪組織 TNF-α発現に及ぼす AgRP 及び交感神経の調節作用。第 33 回日本肥満学会（京都）
18. 岡本士毅，箕越靖彦 (2012.10.11-12) C57BL/6J と BALB/c マウスの食餌嗜好性に及ぼす視床下部室傍核 AMPK の調節作用。第 33 回日本肥満学会（京都）
19. Minokoshi Y, Okamoto S (2012.10.13-14) Regulatory role of hypothalamic AMPK in feeding behavior. International Symposium for the Study of Obesity Translational Science and Epidemiology on Adipomedicines; From Lipodystrophy to Obeisty（京都）
20. 唐麗君，志内哲也，箕越靖彦 (2012.10.16-17) 白色脂肪組織 TNF-α発現に及ぼす AgRP 及び交感神経の調節作用。第 59 回中部生理学会（岡崎）
21. 高木一代, 箕越靖彦 (2012.10.16-17) 個体全体の消費エネルギーにおける基礎代謝，運動，食事によるエネルギー消費量の算出法の確立と摂食の効果。第 59 回中部生理学会（岡崎）
22. 箕越靖彦, 岡本士毅 (2012.11.29-30) 視床下部 AMPK による摂食調節機構。大阪大学蛋白質研究所セミナー「エネルギー代謝制御の分子機構」（吹田）

《個別研究（村上グループ）》

1. 村上政隆 (2012.7.17) 生理学研究所におけるアーカイブズの現況と今後の構想。平成 24 年度第 1 回自然科学系アーカイブズ会合。核融合研究所アーカイブ室（土岐）
2. 村上政隆 (2012.10.5) 生理学研究所におけるアーカイブズの現況と今後の構想。平成 24 年度第 2 回自然科学系アーカイブズ会合。高エネルギー加速器研究機構（つくば）
3. 村上政隆 (2012.10.25) 生理研共同研究とリポジトリ。大学共同利用機関におけるリポジトリに関する情報交換会。民族学博物館（吹田）
4. Murakami M (2012.11.30)Contribution of paracellular transport to the whole fluid secretion by the salivary gland. 12th Yonsei Dental International Symposium. Yonsei College of Dentistry (Seoul Korea)
5. 福島美和子，村上政隆，魏　飛，成田貴則，橋本貞充，渋川義幸，佐藤正基 (2012.12.1) 唾液分泌における傍細胞輸送の分泌刺激による調節。第５７回日本唾液腺学会学術大会（東京）
6. 成田貴則，祁　兵，村上政隆，杉谷博士 (2012.12.1) 顎下腺水分泌に対するピロカルピンの効果。第５７回日本唾液腺学会学術大会（東京）
7. Murakami M, Narita T, Matsuki-Fukushima M, Hashimoto S, Shibukawa Y, Sato M, Wei F (2013.3.20-23)Confocal microscope observation pn paracellular fluid transport in salivary gland. 91st general

session of the IADR (Seattle USA)

8. Seo Y, Takamata A, Ogino T, Morita H, Murakami M (2013.3.27-29)Diffusion of manganese chelates in the rat brain measured by T_1-weighted MRI. 90th annual meeting of the Physiological Society of Japan. (In: J Physiol Scis. 63Suppl: S137)
9. Murakami M，Wei F, Narita T, Matsuki-Fukushima M, Hashimoto S, Shibukawa Y, Sato M (2013.3.27-29) Assessment of paracellular transport upon onset of secretory stimulation in the isolated perfused submandibular salivary gland. 90th annual meeting of the Physiological Society of Japan. (In: J Physiol Scis. 63Suppl: S209)
10. Wei F，Narita T, Sugiya H, Murakami M (2013.3.27-29) Effect of Danshen component , salvianolic acid B on intracellular Ca^{2+} level of rat submandibular gland. 90th annual meeting of the Physiological Society of Japan. (In: J Physiol Scis. 63Suppl: S211)
11. Yamazaki F, Imaizumi-Ohashi Y, Yokoi-Hayakawa M, Satoh K, Satoh K, Kondoh T, Murakami M, Seo Y (2013.3.27-29)Magnetic resonance imaging of the temporomandibular joint in the mouse．90th annual meeting of the Physiological Society of Japan. (In: J Physiol Scis. 63Suppl: S210)

《個別研究（毛利グループ）》

1. Mohri T, Kyozuka K, (2012.11.14) Mitochondrial activation and nitric oxide (NO) release at fertilization in echinoderm eggs. International Symposium on the Mechanisms of Sexual Reproduction in Animals and Plants Joint Meeting of the 2nd Allo-Authentication Meeting and the 5th Egg-Coat Meeting (Nagoya, Japan)
2. 毛利達磨，経塚啓一郎，(2012 年 9 月 15 日）ウニ卵受精時の Ca シグナリングにおけるミトコンドリア活性化と一酸化窒素遊離。日本動物学会　第 83 回大会（大阪）

《特別研究（永山グループ）》

1. Kuniaki Nagayama, (2012.01.06) An Answer to the 60-year Long Challenge in Phase Plate Electron Microscopy．International Symposium on Advanced Electron Microscopy (Beijing, China)
2. 永山國昭, (20120.01.20) 有機材料/生物材料観察用位相差電子顕微鏡の開発-60 年来の挑戦。材料の微細組織と機能性能第 133 委員会：第 212 研究会（神楽坂，日本）
3. 村田和義, 永山國昭, Yi Chen, Fred J. Sigworth, Hideki Shigematsu (2012.02.15) 位相差電子顕微鏡による膜電位計測。自然科学研究機構プロジェクト合同シンポジウム。(岡崎，日本）
4. Y. Chen, H. Shigematsu, K. Nagayama, F. J. Sigworth, (2012.02.26) 56th Biophys. Soc. Meeting (San Diego, USA)
5. Goshu Tamura, Naoki Hosogi, Yuya Shinohara, Kazuho Sakuma, Kuniaki Nagayama, Yoshiyuki Amemiya, (2012.02.26) 56th Biophys. Soc. Meeting (San Diego, USA)
6. Kuniaki Nagayama, (2012.02.06) The True Cause of Image Deterioration in Phase Plate TEM. APMC-10,ICONN2012&ACMM22 (Perth, Australia)
7. 飯島寛文，永山國昭，新井善博，寺川　進 (2012.05.14) オンライン光・電子相関クライオ顕微鏡。日本顕微鏡学会第 68 回学術講演会（筑波，日本）
8. 永谷幸則，新井善博，三宮　工，白井忠雄，相原龍三，飯島義市，永山國昭 (2012.05.15) 500kV Linac TEM の開発。日本顕微鏡学会第 68 回学術講演会（筑波，日本）
9. 永山國昭，伊藤俊幸，香山容子，斉藤善平，甲斐憲子，永谷幸則，新井善博，小原正裕，村田和義 (2012.05.15) 位相板帯電の真の原因と帯電化防止条件。日本顕微鏡学会第 68 回学術講演会（筑波，日本）
10. 永山國昭, (2012.06.22) 電子顕微鏡 DNA シークエン

サー開発の現状。ゲノムテクノロジー第 164 委員会第 39 研究会（赤坂，日本）

11. Hirofumi Iijima, Yoshihiro Arai, Susumu Terakawa, Kuniaki Nagayama, (2012.08.29) On-line Correlative Light and Electron Cryo-Microscopy. ICHC2012, ” Joint-Session of JPN Society for Laser Microscopy” (Kyoto, Japan)
12. K. Nagayama, T. Itoh, Y. Kayama, Z. Saitoh, M. Kai, Y. Nagatani, Y. Arai, M. Ohara, K. Murata, (2012.09.10) Phase Contrast Electron Microscopy with Anti-Charging Phase Plates. The 5th K H Kuo International Symposium on Cryo Electron Microscopy (Huangshan, China)
13. Kuniaki Nagayama, Toshiyuki Itoh, Yoko Kayama, Zenpei Saitoh, Yukinori Nagatani, Yoshihiro Arai, Masahiro Ohara, Noriko Kai, Kazuyoshi Murata (2012.09.22) 位相差電子顕微鏡用の帯電防止位相板 Anti-charging Phase Plates for Phase Contrast Electron Microscopy. 第 50 回日本生物物理学会（名古屋，日本）
14. Yukinori Nagatani, Yoshihiro Arai, Takumi Sannomiya, Tadao Shirai, Ryuzo Aihara, Giichi Iijima, Kuniaki Nagayama, (2012.09.22) 500kV Linac TEM の開発。Development of the 500kV Linac TEM. 第 50 回日本生物物理学会（名古屋，日本）
15. Naoyuki Miyazaki, David Taylor, Grant Houseman, Kosuke Murakami, Kuniaki Nagayama, Kazuhiko Katayama, Kazuyoshi Murata, (2012.09.24) 単粒子クライオ電子顕微鏡解析によるサポウイルスキャプシドの 8-Å 構造。8-Å structure of sapovirus capsid by single particle electron cryomicroscopy. 第 50 回日本生物物理学会（名古屋，日本）

《遺伝子改変動物作製室》

1. 中村　翔，柳原　萌，平嶋　昂，美辺詩織，出浦慎哉，家田菜穂子，後藤哲平，深沼達也，三宝　誠，冨田江一，平林真澄，今村拓也，冨川順子，上野山賀久，東村博子，前多敬一郎 (2012.4.20) Kiss1-floxed マウスを用いた弓状核キスペプチンニューロンの機能解析。第 85 回日本内分泌学会（名古屋）
2. 後藤哲平，冨川順子，深沼達也，安部仁美，高瀬健志，今村拓也，三宝　誠，冨田江一，平林真澄，岡村裕昭，東村博子，前多敬一郎，上野山賀久 (2012.4.21) 排卵制御中枢である前腹側室周囲核のキスペプチン発現制御機構。第 85 回日本内分泌学会（名古屋）
3. 小林俊寛，加藤めぐみ，山口智之，田村千尋，三宝誠，平林真澄，中内啓光 (2012.5.26) ラット Rosa26 遺伝子座の同定と全身性に tdTomato 遺伝子を発現するノックインラットの作製。第 59 回日本実験動物学会（大分）
4. 平林真澄，田村千尋，三宝　誠，加藤めぐみ，小林俊寛，中内啓光，保地眞一 (2012.5.26) ラット ES 細胞株の生殖系列への寄与条件に関する後方視的解析。第 59 回日本実験動物学会（大分）
5. Kobayashi T, Kato-Itoh M, Yamaguchi T, Tamura C, Sanbo M, Hirabayashi M, Nakauchi M (2012.6.14) Generation of ROSA26-Tomato knock-in rats via gene targeting of pluripotent stem cells. The 10th Annual Meeting of International Society for Stem Cell Research, （横浜）
6. 美辺詩織，出浦慎哉，春田つばさ，後藤哲平，三宝誠，冨田江一，平林真澄，上野山賀久，前多敬一郎，東村博子 (2012.8.10) 後脳上衣細胞レポーター遺伝子導入マウスの作製。第 27 回日本下垂体研究会学術集会（天童）
7. 原　弘真，能登一葉，山根伊織，香川則子，桑山正成，平林真澄，保地眞一 (2012.9.6) ガラス化・加温したウシ体外成熟卵子における細胞内グルタチオン濃度と精子星状体形成および胚盤胞発生との関係。第 105 回日本繁殖生物学会（つくば）
8. 池上花奈，後藤哲平，安部仁美，平林真澄，冨田江一，三寶　誠，前多敬一郎，東村博子，上野山賀久 (2012.9.6) 性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) パルス状分泌機構解明のための弓状核キスペプチンニューロン特異的 Cre リコンビナーゼ発現マウスの作製。第 105 回日本繁殖生物学会（つくば）
9. 後藤哲平，冨川順子，安部仁美，深沼達也，高瀬健

志，今村拓也，三宝　誠，冨田江一，平林 澄，岡村裕昭，東村博子，前多敬一郎，上野山賀久 (2012.9.7) 視床下部弓状核の組織特異的キスペプチン発現を制御する分子機構。第 105 回日本繁殖生物学会（つくば）

10. 田村千尋，後藤哲平，三宝　誠，加藤めぐみ，小林俊寛，中内啓光，保地眞一，平林真澄 (2012.9.7) ラット ES 細胞におけるインプリント遺伝子の DNA メチル化解析。第 105 回日本繁殖生物学会（つくば）
11. 上野山賀久，中村　翔，早川由起，池上花奈，冨川順子，美辺詩織，後藤哲平，家田菜穂子，田村千尋，三寶　誠，平林真澄，前多敬一郎，東村博子 (2012.9.28) Kiss1 ノックアウトラットを用いたキスペプチンの生殖機能制御における役割の証明。第 39 回日本神経内分泌学会学術集会（北九州）
12. Uenoyama Y, Nakamura1 S, Hayakawa Y, Minabe S, Tomikawa J, Goto T, Ieda N, Sambo M, Tamura C, Hirabayashi M, Maeda K-I, Tsukamura H (2012.10.16) Complete suppression of hypothalamo-pitutary-gonadal axis in Kiss1 knockout rats. The 42nd annual meeting of Society for Neuroscience (New Orleans, USA)
13. Minabe S, Deura C, Goto T, Sanbo M, Tomita K, Hirabayashi M, Uenoyama Y, Maeda K-I, Tsukamura H (2012.10.17) Generation of transgenic mice with vimentin-driven reporter fluorescence in the ependymocytes. The 42nd annual meeting of Society for Neuroscience (New Orleans, USA)
14. Abe H, Haruta T, Goto T, Fukanuma T, Takase K, Sambo M, Tomita K, Hirabayashi M, Imamura T, Tomikawa J, Uenoyama Y, Maeda K-I, Tsukamura H (2012.11.7) Establishment of primary Kiss1 neuron culture for the analysis of gonadotropin-releasing hormone pulse generating system using Kiss1-GFP transgenic mouse. The 2nd world conference on kisspeptin signaling in the brain （東京）
15. Nakamura S, Uenoyama Y, Ikegami K, Tomikawa J, Goto, T, Sanbo M, Tamura C, Hirabayashi M, Maeda K-I, Tsukamura H (2012.11.7) Kiss1 Gene is required for defeminization of the brain controlling sexual behaviors in rats. The 2nd world conference on kisspeptin signaling in the brain （東京）
16. Uenoyama Y, Nakamura S, Hayakawa Y, Minabe S, Tomikawa J, Goto T, Ieda N, Sanbo M, Tamura C, Hirabayashi M, Maeda K-I, Tsukamura, H (2012.11.8) Kiss1 knockout rats to define role of kisspeptin in regulating luteinizing hormone secretion. The 2nd world conference on kisspeptin signaling in the brain （東京）
17. Ikegami K, Uenoyama Y, Nakamura S, Tomikawa J, Goto T, Sambo M, Tamura C, Hirabayashi M, Maeda K-I, Tsukamura H (2012.11.8) Kisspeptin neurons mediate excitatory amino acid-induced luteinizing hormone secretion in rats. The 2nd world conference on kisspeptin signaling in the brain （東京）
18. Goto T, Tomikawa J, Abe H, Fukanuma T, Imamura T, Takase K, Sanbo M, Tomita K, Hirabayashi M, Tsukamura H, Maeda K-I, Uenoyama Y (2012.11.8) Kiss1 Upstream Region Regultes Hypothalamic Arcuate Nucleus-Specific Kisspeptin Expression. The 2nd world conference on kisspeptin signaling in the brain （東京）
19. 葉山智工，山口智之，加藤めぐみ，三寶　誠，田村千尋，海野あゆみ，瓦井麻美，佐藤秀征，小林俊寛，平林真澄，中内啓光 (2012.12.13) 免疫不全マウスを用いた異種異所発生によるラット始原生殖細胞からの生殖腺様組織誘導。第 35 回日本分子生物学会（福岡）
20. 加藤めぐみ，小林俊寛，山口智之，田村千尋，三寶誠，平林真澄，中内啓光 (2012.12.13) マウスおよびラットの多能性幹細胞を用いた異種間 4 倍体補完法による個体の作製。第 35 回日本分子生物学; Late-breaking Abstracts （福岡）

《行動様式解析室》

1. 橋本恵美奈，白川久志，榊山　実，高雄啓三，宮川剛，中川貴之，金子周司 (2012.3.14~16) TRPM2 欠損マウスの網羅的行動解析。第 85 回日本薬理学会年会（京都）
2. Takao K, Kobayashi K, Hagihara H, Ohira K, Toyama K, Shoji H, Nakamura HK, Esaki K, Furuya S, Takagi T,

Walton N, Hayashi N, Suzuki H, Matsumoto M, Ishii S, Miyakawa T (2012.5.15~19) Deficiency of Schnurri-2, an MHC enhancer binding protein, induces mild chronic inflammation in the brain and confers molecular, neuronal, and behavioral phenotypes related to schizophrenia. 14th Annual Meeting of the International Behavioural and Neural Genetics Society (Boulder,USA)

3. Takao K, Kobayashi K, Esaki K, Furuya S, Takagi T, Walton N, Hayashi N, Suzuki H, Matsumoto M, Ishii S, Miyakawa T (2012.6.3~7) Deficiency of Schnurri-2, an MHC enhancer binding protein, induces mild chronic inflammation in the brain and confers molecular, neuronal, and behavioral phenotypes related to schizophrenia. 28th CINP (The International Behavioural and Neural Genetics Society) World Congress of Neuropsychopharmacology, Stockholmsmässan, (Stockholm, Sweden)
4. Taga T, Kagawa T, Bizen N, Yamaguchi Y, Kokubu Y, Hattori S, Takao K, Miyakawa T, Inazawa J, Nakamura T, Nakano T (2012.6.13~16) Epigenetic regulation of mouse neural stem cell differentiation and functional brain development. ISSCR (International Society for Stem Cell Research)2012,10thAnnual Meeting（横浜）
5. 田賀哲也，鹿川哲史，備前典久，山口雄平，国分康博，服部聡子，高雄啓三，宮川　剛，稲澤譲治，中村肇伸，仲野　徹 (2012.7.5~6) DNA／ヒストンのメチル化制御による中枢神経系の発生制御：分子機構からヒト精神運動異常様行動を示す遺伝子変異モデルマウスまで。第 33 回日本炎症・再生医学会（福岡市）
6. Taga T, Kagawa T, Bizen N, Yamaguchi Y, Kokubu Y, Hattori S, Takao K, Miyakawa T, Inazawa J, Nakamura T, Nakano T (2012.9.18~21) Regulation of mouse brain development by DNA and histone methylation: From molecular basis to cognitive, behavioral, and motor abnormalities in gene-manipulated model mice. 第 35 回日本神経科学大会（名古屋）
7. Ichinose H, Sudo Y, Sanechika S, Tanda K, Takao K, Hara Y, Honda S, Shimaguchi S, Kojima M, Ichinose Sumi C, Nomura T, Kondo K, Miyakawa T (2012.9.18~21) Disturbance in the biosynthesis of monoamines and PTSD-like anxiety phenotype in the dihydropteridine reductase-defi cient mice. 第 35 回日本神経科学大会（名古屋）
8. Kobayashi M, Miyake M, Takao K, Koda T, Miyakawa T, Matsuoka I (2012.9.18~21) Involvement of BRINP1 and BDNF in neuroprotection from excitotoxicity in hippocampus. 第 35 回日本神経科学大会（名古屋）
9. Koshimizu H, Ohira K, Hagihara H, Takao K, Miyakawa T (2012.9.18~21) Upregulation of mature form BDNF and carboxypeptidase E, and ectopic expression of TrkB in thehippocampus of mice with maturation failure in dentate gyrus neurons. 第 35 回日本神経科学大会（名古屋）
10. Ogo T, Watanabe A, Tomonaga S, Hirabayashi Y, Takao K, Miyakawa T, Furuya S (2012.9.18~21) Deficits in sensorimotor gating and social behavior in brain-specific Phgdh knockout mice. 第 35 回日本神経科学大会（名古屋）
11. Takao K, Hagihara H, Ohira K, Toyama K, Shoji H, K Nakamura HK, Hattori S, Koshimizu H, Umemori J, Takagi T, Ishii S, Miyakawa T (2012.9.18~21) Deficiency of Schnurri-2, an MHC enhancer binding protein, induces mild chronic inflammation in the brain and confers molecular, neuronal, and behavioral phenotypes related to schizophrenia. 第 35 回日本神経科学大会（名古屋）
12. Ogo T, Watanabe A, Tomonaga S, Hirabayashi Y, Takao K, Miyakawa T, Furuya S (2012.9.30~10.2) Schizophrenic behavioral abnormalities in serine deficiency model mice. 第 55 回日本神経化学会（神戸）
13. Takao K, Kobayashi K, Hagihara H, Ohira K, Toyama K, Shoji H, Nakamura HK, Hattori S, Koshimizu H, Umemori J, Esaki K, Yamaguchi S, Furuya S, Takagi T, Walton N, Hayashi N, Suzuki H, Matsumoto M, Ishii S, Miyakawa T (2012.10.11-12) Deficiency of Schnurri-2, an MHC enhancer binding protein, induces mild chronic inflammation in the brain and confers molecular, neuronal and behavioral phenotypes related to schizophrenia. Eleventh Annual MCCS (The Molecular and Cellular Cognition Society) meeting (New Orleans, USA)
14. Koshimizu H, Ohira K, Hagihara H, Takao K, Takagi T,

Kataoka, Ishii S, Takahashi M, Miyakawa T (2012.10.13~17) Upregulation of mature form brain-derived neurotrophic factor and carboxypeptidase E, and ectopic expression of tyrosine kinase receptor B in the hippocampus of mice with maturation failure in dentate gyrus neurons. Neuroscience 2012 (New Orleans, USA)

15. Takao K, Hagihara H, Ohira K, Toyama K, Shoji H, Nakamura, HK, Hsttori S, Koshimizu H, Umemori J, Takagi T, Wslton N, Ishii S, Matsumoto M, Miyakawa T (2012.10.13~17) Deficiency of Schnurri-2, an MHC enhancer binding protein, induces mild chronic inflammation in the brain and confers molecular, neuronal, and behavioral phenotypes related to schizophrenia. Neuroscience 2012 (New Orleans, USA)
16. Takao K, Miyakawa T (2012.10.30) The Mouse Phenotype Database. INCF 日本ノードシンポジウム（和光）
17. Takao K, Isa T, Miyakawa T (2012.10.30) Comprehensive Brain Science Network Platform. INCF 日本ノードシンポジウム（和光）
18. 宮川　剛，高雄啓三，萩原英雄，大平耕司，昌子浩孝，服部聡子，小清水久嗣，梅森十三，高木　剛，石井俊輔 (2012.12.14) Deficiency of Schnurri-2, an MHC enhancer binding protein, induces mild chronic inflammation in the brain and confers molecular, neuronal, and behavioral phenotypes related to schizophrenia. 第 35 回日本分子生物学会年会（福岡）

《形態情報解析室》

1. 新井重勇，村田和義，山本悠太，太田繁正，山口正視，田中信夫 (2012.05.15). 超高圧電子顕微鏡による厚い生物試料の STEM 像と MPL TEM 像の比較。日本顕微鏡学会第 68 回学術講演会（つくば）
2. 関由起子，村田和義，金子康子 (2012.05.15) Synechococcus elongates PCC 7942 の細胞周期における十文字型の分裂現象。日本顕微鏡学会第 68 回学術講演会（つくば）
3. 米谷祐太，大平悠麻，村田和義，金子康子 (2012.05.15) ダイズ根粒感染細胞中の突起様膜構造とアクチン繊維。日本顕微鏡学会第 68 回学術講演会（つくば）
4. 永山國昭，伊藤俊幸，香山容子，斎藤善平，甲斐憲子，永谷幸則，新井善博，小原正裕，村田和義 (2012.05.16) 位相板帯電の真の原因と帯電化防止条件。日本顕微鏡学会第 68 回学術講演会（つくば）
5. 村田和義，関由起子，金子康子 (2012.05.16) クライオ超高圧電子顕微鏡トモグラフィーによるシアノバクテリア DNA 超構造の観察。日本顕微鏡学会第 68 回学術講演会（つくば）
6. 永山國昭，伊藤俊幸，香山容子，斎藤善平，永谷幸則，新井善博，小原正裕，甲斐憲子，村田和義 (2012.09.21) 位相差電子顕微鏡用の帯電防止位相板。第 50 回日本生物物理学会年会（名古屋）
7. 宮崎直幸, David Taylor, Grant Houseman, 村上耕介，永山國昭，片山和彦，村田和義 (2012.09.24) 単粒子クライオ電子顕微鏡観察によるサポウイルスキャプシドの 8-Å構造。第 50 回日本生物物理学会年会（名古屋）
8. 宮崎直幸，大村敏博，岩崎憲治，村田和義 (2012.11.20) クライオ電子線トモグラフィーによる細胞内ウイルスの高分解能観察。日本顕微鏡学会第 56 回シンポジウム（北海道）
9. 古家園子，古家喜四夫 (2013. 3. 28) 絨毛上皮下線維芽細胞を介した小腸絨毛におけるサブスタンス　P と ATP の相互作用　第 118 回日本解剖学会総会・全国学術大会（高松）

《多光子顕微鏡室》

1. 村越秀治，安田涼平 (2012.9.22)Duration of CaMKII activation required for plasticity of dendritic spines

revealed by photo-activatable CaMKII inhibitor. 第 50 回日本生物物理学会（名古屋）

2. 村越秀治，安田涼平 (2012.9.20)Duration of CaMKII activation required for plasticity of dendritic spines revealed by photo-activatable CaMKII inhibitor. 第 35 回日本神経科学学会（名古屋）

《ウイルスベクター開発室》

1. 小林憲太 (2012.9.28）逆行性遺伝子導入ベクターのオプトジェネティクスへの応用。第 4 回光操作研究会（岡崎）
2. 小林憲太, 加藤成樹, 佐野裕美, 南部　篤, 伊佐　正, 小林和人 (2012.11.27) 高頻度逆行性遺伝子導入ベクターのオプトジェネティクスへの応用。7th NIBB バイオイメージングフォーラム（岡崎）

《時系列生命現象研究領域》

1. Higashijima, S., Kimura, Y., and Satou, C. 2011 年 9 月 18 日。"Functional analysis of locomotor circuits in the spinal cord and brainstem in zebrafish"　第 35 回日本神経科学大会，名古屋

《動物実験センター》

1. 木村　透，塚本裕子。 (2012.9.19-9.21) 難消化性澱粉を用いた肥満犬の血糖値調節。第 154 回日本獣医学会学術集会（盛岡）。
2. 木村　透。 (2012.5.24-5.26) 空気清浄装置と光触媒加工を用いた飼養保管施設の除染。日本実験動物科学・技術　九州 2012　第 59 回日本実験動物学会総会（別府）。
3. 木村　透。 (2012.5.24-5.26) 火の国セミナー「麻酔学」小動物（齧歯類）の麻酔トラブルと対応。日本実験動物科学・技術　九州 2012　第 59 回日本実験動物学会総会（別府）。

【 一般共同研究報告 】

一般共同研究報告

〔 目　　次 〕

1. 腸内の味覚成分を化学受容する仕組みの解明（齊藤　修ほか）..... 157
2. イオンチャネル・受容体の機能とその調節機構の解析，および生体における役割の解明（吉村　崇ほか）.... 157
3. マウス脳スライス標本を用いた ATP とグルタミン酸放出のリアルタイムイメージング解析（柴崎貢志ほか）. 158
4. 脳・神経系発生分化過程において時空間特異的な発現をする糖鎖の構造と機能の解析と医療への応用
（等　誠司ほか）..... 159
5. 中枢神経系におけるグリア細胞の発生過程と機能構築形成への関与の解析（小野勝彦ほか）..... 159
6. 脳の形成に必須の分泌蛋白質リーリンの分解制御機構解明（服部光治ほか）..... 160
7. 内臓機械痛覚過敏における TRP チャネルの機能解析と機能性胃腸疾患病態との関連（杉山敏郎ほか）..... 161
8. 両生類及び鳥類における温度感受性 TRPA1 チャネルの機能的役割（太田利男ほか）..... 161
9. 光遺伝学ツールを用いたマウス成体脳ニューロン新生の機能的意義の解析（今吉　格ほか）..... 162
10. 質感認知の神経ネットワーク基盤の研究（一戸紀孝ほか）..... 163
11. ナトリウムポンプ ***Atp1a3*** 遺伝子ノックアウト／ジストニア病態モデルマウスのシナプス機能解析
（池田啓子ほか）..... 163
12. 同じ誕生日を有する小脳プルキンエ細胞の生理学的機能の解明（橋本光広）..... 164
13. 脊髄におけるグレリン応答性神経細胞の同定（池田あずさほか）..... 164
14. ラットヒゲにおける一次感覚ニューロンの機能形態の同時追究（榎原智美ほか）..... 165
15. 大脳皮質における錐体細胞間抑制の機能解析（小松由紀夫ほか）..... 166
16. ゼブラフィッシュを用いた脳脊髄神経回路の成熟過程の生理学的・分子生物学的研究（小田洋一ほか）..... 166
17. ゼブラフィッシュを用いたセロトニン神経回路の生理学的・分子生物学的研究（前川真吾ほか）..... 167
18. ドーパミン受容体ノックアウトマウスを用いた大脳基底核機能の解析（籾山俊彦ほか）..... 168
19. パーキンソン病の神経ネットワーク異常の解明を目指した試験的研究（星　英司ほか）..... 168
20. 辺縁皮質刺激に対する大脳基底核のニューロン応答（佐藤澄人ほか）..... 168
21. 長期運動学習の記憶痕跡に相当するシナプス構造の解析（工藤もゑこほか）..... 169
22. 神経細胞極性化を制御する因子の電子顕微鏡レベルでの機能解析（岸　将史ほか）..... 170
23. 脳内神経細胞の膜脂質分子の局在とその生理的役割に関する研究（深澤有吾）..... 170
24. 遺伝子改変動物を利用した抑制性ニューロンの特性についての研究（柳川右千夫）..... 171
25. 海馬顆粒細胞の入力情報統合機能の研究（相原　威ほか）..... 172
26. 大脳皮質第６層ニューロンの投射多様性解析（藤山文乃ほか）..... 172
27. 樹状突起形状とシナプス電流伝達の数理モデル研究（野村真樹ほか）..... 173
28. 異なる文脈における正直・不正直の道徳判断に関する神経基盤（板倉昭二ほか）..... 174
29. 味の認知過程における自律神経系の活性化に関与する神経機構（姜　英男ほか）..... 174
30. 大脳皮質および大脳基底核による網様体脊髄路の制御（高草木薫ほか）..... 175
31. 人工神経代替装置によるニューロリハビリテーション法の開発（小宮山伴与志ほか）..... 175
32. コモンマーモセットにおける皮質脊髄路―脊髄運動ニューロン結合の電気生理学的解析（伊佐　正ほか）... 176
33. 脳損傷後の麻痺肢集中使用による中枢神経系再編への影響の解析（飛田秀樹ほか）..... 177
34. ワイヤレス埋込装置を用いたマカクザルの脳信号計測・解析（平田雅之ほか）..... 177
35. 視床下部室傍核における摂食・代謝調節ペプチドの概日リズム形成機構と AMPK の役割（矢田俊彦ほか）.. 178

36. 情報欠落のない新たな生物試料電子線トモグラフィー法の開発と応用（馬場則男ほか）..... 178
37. DNA およびクロマチン高次構造の電子顕微鏡による解析（加藤幹男ほか）..... 179
38. 随意運動発現を司る神経機構の研究（美馬達哉ほか）..... 180
39. fMRI による自律神経活動の四次元イメージング解析（瀬尾芳輝ほか）..... 180
40. 唾液腺分泌終末における細胞間結合の調節機構：細胞内信号系と神経系による調節（杉谷博士ほか）..... 181
41. 精神遅滞原因遺伝子 IL1RAPL1 欠損マウスの表現型解析（安村美里ほか）..... 182
42. てんかん・発達障害原因遺伝子 CDKL5 ノックアウトマウスの網羅的行動テストバッテリースクリーニング
による生体内分子機能解析（田中輝幸ほか）..... 182
43. Neuropathic pain related protein (NPRP)欠損マウスを活用した精神疾患の中間表現型の解明（片野泰代ほか）.. 183
44. 霊長類味覚に対する TRP チャネルの役割（今井啓雄ほか）..... 183

1. 腸内の味覚成分を化学受容する仕組みの解明

齊藤　修，黒木麻湖，織田麻衣（長浜バイオ大学バイオサイエンス学部）
久保義弘（生理学研究所）

近年，味覚と腸内の成分センシングの類似性が主張されるようになり，我々は小腸内分泌細胞株 STC-１を用いて味覚センサー系の解析を行ってきた。結果，この細胞は味覚の５基本味の全てに反応し，さらには渋み成分の茶カテキンにも応答する能力があることが判明した。味覚の中で渋味については，詳しい研究が殆ど進んでいない。そこで，我々は，更に解析を進め，STC-１細胞のカテキン応答を担う因子が TRPA1 チャネルであることを見出した。また，TRPA1 を活性化するカテキン成分を詳しく検討すると，特に EGCG に活性があるが，実は EGCG そのものではなく，その酸化産物がチャネルを活性化する実体であることが分かってきた。そこで，今年度は更に以下の研究を進めた。

酸化カテキン:TRPA1 を活性化する EGCG の酸化産物は何か，時間経過した EGCG を HPLC で分析した。すると，時間経過に伴い複数の小さいピークが検出された。更に LC/MS を用いた分析を行った結果，出現ピークの中に多数の生理活性が知られる EGCG の二量体テアシネンシンが含まれている事が明らかになり，これが TRPA1 を活性化するリガンドの実体であると期待された。現在，テアシネンシンを精製し，応答解析を進めている。

TRPV1 のカテキン応答性:TRPA1 と同様に感覚神経に発現する TRPV1 についてもカテキン応答能があるか，検討を行った。すると，TRPV1 も，特に酸化 EGCG に高い応答性を示した。

各生物の TRPA1 及び TRPV1 のカテキン応答性：酸化 EGCG が TRPA1 を活性化する実体であることが判明したことから，昨年解析したゼブラフィッシュの二種の TRPA1a と b についても再度カテキン応答性を解析した。すると，TRPA1a のみが酸化 EGCG により活性化された。また，動物系統的視点からニワトリおよびガラガラヘビの TRPA1 と TRPV1 についてカテキン応答性を検討した。ニワトリ TRPA1 については，全長 c DNA をクローニングし，実験に用いた。結果，ニワトリ TRPV1 のみに酸化 EGCG への応答が観察された。即ち，TRPA1 では哺乳類から，TRPV1 では鳥類から酸化 EGCG への応答を示すと考えられた。ゼブラフィッシュは TRPA1 を特別に進化させたのかもしれない。今後，酸化カテキンへの応答性を担う分子基盤の研究が重要である。

2. イオンチャネル・受容体の機能とその調節機構の解析，および生体における役割の解明

吉村　崇，中根右介，太田　航（名古屋大学大学院生命農学研究科）
岡村康司，藤原祐一郎（大阪大学大学院医学系研究科／生命機能研究科）
西野敦雄（大阪大学大学院理学研究科）
前嶋　翔（富山大学大学院理工学教育部）
岡戸晴生，平井－坂本志伸（東京都医学総合研究所神経細胞分化プロジェクト）

吉村グループはスライスパッチクランプ法を用いてウズラのオプシン 5 陽性髄液接触ニューロンが光応答能を持つことを明らかにした。またサクラマスの血管嚢に存在し髄液接触ニューロンと類似の突起構造を持つ王冠細胞に複数のオプシンが発現していることを見出した。さらにノックアウトマウスの行動解析から，マウスのオプシン 5 が概日時計の光同調に関与していることを明らかにした。

岡村グループは，受精電位による多精子拒否のメカニズムと電位センサー蛋白の VSP との関係について，動物種間での分子機能の比較を行った。山口大学岩尾康宏教授のご好意により入手した，受精電位による多精子拒否

が明確なアカハライモリ，多精子拒否がみられないカスミサンショウウオからVSPのcDNAをクローニングした。イモリのVSPは，ツメガエル卵母細胞の発現系でゲート電流が検出され，膜電位依存的PIP2ホスファターゼ活性がみられたが，カスミサンショウウオのVSPではC末端側のC2ドメインの一部が欠けており，膜電位依存的酵素活性が全く観察されなかった。このC2ドメインの一部の欠失は，複数臓器由来のcDNAクローンにみられ，RACE法でのアーチファクトではなかった。一方カスミサンショウウオのVSPはゲート電流を示したことから電位センサーはイモリVSPと同様に機能することがわかった。これらの結果は両生類種間の受精電位による多精子拒否の違いとは対応しない結果となり，VSPが多精子拒否に関わるとする仮説を支持しない。

岡戸グループは，ホヤグルタミン酸受容体の機能をツメガエルの卵母細胞の発現系で解析した。ユウレイボヤ幼生から単離したAMPA型グルタミン酸受容体のホモログciGluAは，付属サブユニットであるホヤstargazinと共発現させると，グルタミン酸，カイニン酸，AMPAに応答し，カチオンチャネルとして機能した。ciGluRAにはC末に2種のスプライシングバリアント(AS-1,2)があるが，AS-1，AS-2，AS-1+AS-2で応答性に大きな差はなかった。ciGluAはマウスGluRAのようなQからRへのRNA編集が起きておらず，予想通り，内向き整流性とカルシウム透過性を示した。ciGluRAのQをRに変異させたciGluRA(R)を作製し解析したところ，リガンド応答性が小さく，内向き整流性とカルシウム透過性を消失した。

3. マウス脳スライス標本を用いたATPとグルタミン酸放出のリアルタイムイメージング解析

柴崎貢志（群馬大学大学院医学系研究科分子細胞生物学分野）
関野祐子（国立医薬品食品衛生研究所薬理部）
稲村直子，池中一裕（生理学研究所分子神経生理部門）

中枢神経系には神経細胞だけでなく，神経細胞の数倍のグリア細胞が存在する。特に，数的優位を呈するアストロサイトは神経細胞と寄り添うように存在することから，神経細胞と機能連関していると想定され，近年の研究で，アストロサイトも積極的に神経情報伝達に貢献することがわかってきた。しかしながら，グリア細胞を用いた研究の進展は，神経研究に比べるとまだまだ発達段階にあり，グリア細胞の機能解析・分子レベルの研究の推進が急務である。そして，神経細胞とグリア細胞の研究成果が融合してこそ，脳機能を制御する分子メカニズムの実体を明らかとすることが出来る。

近年，アストロサイトが放出する重要なグリオトランスミッターとしてATPとグルタミン酸の2種類が同定された。しかし，どのようなアストロサイトがATPとグルタミン酸を放出するのか？あるいは，どのようなタイムコースで放出が行われるのかは全く不明である。生理学研究所（池中一裕教授の研究室）には，ATPイメージングを可能とする超高感度画像取得システムが生理学研究所共同利用機器として導入され，ルシフェリン・ルシフェラーゼによる化学発光を基盤とした細胞からのリアルタイムATPイメージングが行われている。

我々は，昨年に引き続き，マウス海馬スライス標本からのATP放出リアルタイムイメージングを行った。柴崎は，2種類のTRPV4特異的な化学リガンド投与に対して生じる10%のアストロサイトからのATP放出が，野生型の標本でのみ認められ，TRPV4KO標本ではこの現象が認められないことを示した。つまり，海馬においてTRPV4活性化依存的に1部のアストロサイトからATP放出が惹起されることを明らかにした。今回，これらアストロサイトが海馬のどの部位に分布し，ATPを放出するのかを測定した。関野は，海馬スライス標本にグルタミン酸を投与した際に特定細胞からATP放出が認められることを見いだしている。このATP放出はNMDA受容体阻害剤に投与により減弱したため，NMDA受容体の活性化を引き金にしていることが示唆された。ごく最近，鬱病モデルマウス海馬においてアストロサイト由来のATP放出が減弱し，これが鬱病発症の引き金となっており，有望な創薬ターゲットであることが示された。我々

の知見は，海馬内においてどのアストロサイトがどういう刺激に応答して ATP 放出を引き起こすのかをクリアーに調べており，今後の臨床研究への応用が期待される。

4. 脳・神経系発生分化過程において時空間特異的な発現をする糖鎖の構造と機能の解析と医療への応用

等　誠司（滋賀医科大学医学部）
辻　崇一（東海大学 糖鎖科学研究所）
山中龍也（京都府立医科大学医学部）
正木　勉，出口章広（香川大学医学部）

糖タンパク質や糖脂質などに結合する糖鎖は，細胞間相互作用やシグナル伝達などにおいて様々な役割を演じている。中枢神経の発生・分化の過程や，病変に伴って糖タンパク質糖鎖の組成は大きく変動するが，その詳細な動態や意義についてはまだ充分に解明できていない。本共同研究は糖鎖関連遺伝子群の発現解析と糖鎖分析とを通じて中枢神経系の発生・分化の過程の糖鎖変化を網羅的に把握し，それを基に様々な神経疾患と糖鎖変化の関連を解析することを目的とする。

昨年度までに，時空間特異的な発現の見られる糖鎖関連遺伝子群の中から，新規フコース転移酵素遺伝子 Fut10 に注目し，発生・発達期のマウス脳における発現分布を調べた。その結果，神経幹/前駆細胞が集積している脳室周囲に強い発現を認めたため，Fut10 発現が神経幹細胞の機能に何らかの関わりがあるという仮説をたて，本年度の研究を行った。

Fut10 同様にα1,3 フコース転移酵素活性をもつ Fut9，およびα1,3 フコース転移酵素が生合成する LewisX エピトープの発現分布を詳細に検討した結果，神経幹/前駆細胞の発現する LewisX は Fut10 が主に生合成すること，神経幹細胞から分化した細胞が発現する LewisX は Fut9 が生合成していることを見いだした。

Fut10 が生合成する LewisX エピトープが，どのような N 結合型糖鎖に付加されているのか，池中研究室が長年にわたって開発をしてきた分析システムを駆使して解析を行った。その結果，例えば A2G2Fo2FB と表記されるような分岐型の糖鎖などが同定された。これらは脳の中では比較的マイナーな成分であり，神経幹/前駆細胞において特殊な機能を担っていると考えられる。今後，A2G2Fo2FB などの分岐型 LewisX 含有糖鎖を発現している糖タンパク質を同定することが，その機能を明らかにしていくために是非とも必要である。

神経幹細胞や ES 細胞は，Fut10 および LewisX を大量に発現し，これら分子は幹細胞の未分化性に関わると考えられているが，その詳細は不明である。本年度共同研究により，神経幹細胞や ES 細胞で Fut10 をノックダウンすると，確かに未分化性が維持できず，不適切な分化を誘導することがわかった。

今後，さらに Fut10 の神経発生における役割を解明するため，共同研究としてコンディッショナルノックアウトマウスを作製中である。

5. 中枢神経系におけるグリア細胞の発生過程と機能構築形成への関与の解析

小野勝彦，後藤仁志（京都府立医科大学大学院医学研究科　神経発生生物学）
竹林浩秀（新潟大学大学院医歯学総合研究科　神経生物・解剖学分野）

脊髄の発生過程では，モルフォゲン分子により，転写因子発現を指標とした背腹軸ドメインが形成される。脊髄を構成するニューロンとグリア細胞のサブセットは，この背腹軸ドメインに由来することが明らかになりつつ

ある。ドメインのうち最腹側部には Nkx2.2 陽性の p3 ドメイン, その背側には Olig2 陽性の pMN ドメインがある(図 1A, B)。我々は，オリゴデンドロサイトが pMN ドメインのみならず p3 ドメインからも生み出されることを明らかにした（Gotoh et al., 2011, Dev Biol）。この解析の過程で，p3 ドメインから脊髄前角運動ニューロンも希に標識されることを見出した。オリゴデンドロサイトと体性運動ニューロンが同じ細胞系譜であることは Olig2 を指標とした解析から明らかにしている（Masahira et al., 2006, Dev Biol）。我々は，pMN ドメインと p3 ドメインの細胞系譜の共通性を明らかにするため，Nkx2.2 陽性細胞を標識し，その系譜を解析した(図 1C 矢印)。

孵卵 2 日目（E2）の鶏胚にレトロウイルス受容体を p3 ドメイン特異的に電気穿孔法により導入・発現させ，E3 に EGFP 遺伝子をレトロウイルスによって導入した。E9 における GFP 陽性細胞の細胞種を調べたところ HB9 陽性運動ニューロンが認められた。より幼弱な時期の Nkx2.2 系譜細胞を解析するため，p3 ドメイン特異的に Cre を発現するプラスミドを限界希釈し（1ng/μL），flox-レポータープラスミド（LacZ, EGFP, または Brainbow）と電気穿孔法により E2 胚神経管に共導入した。E3 では，Nkx2.2 陽性細胞でレポーター分子が発現し，その系譜細胞が標識されることを明らかとした。経時的解析によって，幼弱時期の Nkx2.2 陽性細胞は V3 介在ニューロンとともに体性及び内臓性運動ニューロンに分化することを明らかとした。更に，逆行性トレーサーであるフルオロゴールド(FG)を筋肉に微量注入すると，脊髄の外に軸索を伸ばす標識細胞がトレーサー陽性となることから，p3 ドメイン由来の運動ニューロンは機能的であることが示唆された(図 1D-F)。

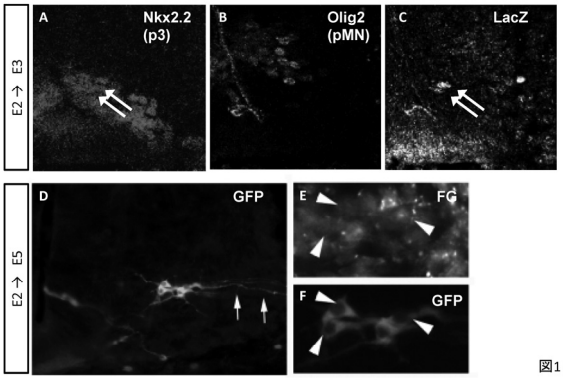


図1

これらの結果から，鶏胚では pMN ドメインの細胞と同様に p3 ドメインの細胞も運動ニューロン-オリゴデンドロサイトの共通系譜を持っていることが明らかにされた(図 2)。

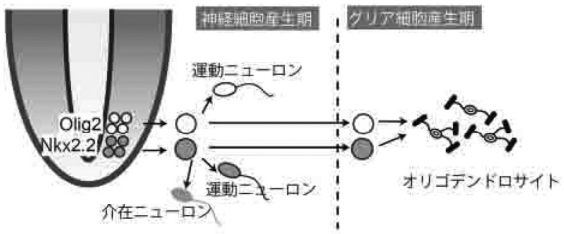


図2

6. 脳の形成に必須の分泌蛋白質リーリンの分解制御機構解明

服部光治（名古屋市立大学・大学院薬学研究科）
深田優子，深田正紀

リーリン（Reelin）は大脳の層構造形成や機能発現に必須の分泌蛋白質である。これまでに申請者はリーリンが細胞外で特異的な分解を受け，これにより完全に機能を失うことを証明している。本研究では，リーリン分解反応を触媒する酵素の同定および，その酵素の活性制御機構を解明し，リーリンによる層構造形成制御機構の全貌を理解することを目指した。

私どもは大脳皮質神経細胞の培養上清からリーリン分解活性を指標に複数のカラムクロマトグラフィーを用いて，標的プロテアーゼの部分精製に成功した。そして，プロテアーゼ画分の銀染色により複数の候補蛋白質を検出した。昨年度，生理学研究所，生体膜研究部門（深田博士）との共同研究にて，候補蛋白質を網羅的に質量分析法にて同定した。同定した蛋白質の中には，今までに得た知見と良く性質の合致する分泌型プロテアーゼが存在していた。今年度はその候補蛋白質の解析を in vitro, in

vivo の両側面から精力的に進めた。その結果，この候補分子はリーリンを特定の部位で分解すること，及び，分解部位に変異を導入したリーリンを分解できないことが判った。すなわち，この候補分子こそが，脳内でのリーリン不活化を担うプロテアーゼであることが強く示唆された。現在，この候補分子の神経細胞内や大脳における分布を解析している。さらに，この分子のノックアウトマウスを既に入手したので，発生時期や脳の部位別におけるリーリン分解への寄与を解析する予定である。

さらに，リーリンは LTP を代表とするシナプス可塑性にも関与していることが報告されているので，生体膜研究部門において解析している分子群（LGI1/ADAM22 や AMPA 受容体を含む蛋白質複合体）との相互作用に関しても引き続き検討していく予定である。

7. 内臓機械痛覚過敏における TRP チャネルの機能解析と機能性胃腸疾患病態との関連

杉山敏郎，三原　弘，山脇秀元，鈴木庸弘（富山大学大学院医学薬学研究部）
富永真琴（生理学研究所・岡崎統合バイオサイエンスセンター）

「研究目的」胃食道逆流症患者の一群では食道の温度・機械刺激感受性が亢進していること，機能性ディスペプシアでは食後の胃適応性弛緩低下が重要な異常病態であること，過敏性腸症候群は食事刺激後，早期に排便行動が生じることが報告されており，これらの病態形成に TRPV2 及び TRPV4 を介する内臓知覚過敏およびその応答が関連して病態が形成されている可能性が強く推定され，TRP チャネルはこれら疾患の新規の治療標的分子の候補となり得ることが推測される。そこで，食道，胃，結腸における TRPV2，TRPV4 チャネルの分布と伸展刺激，圧刺激時の詳細な機能解析を行い，機能性胃腸疾患病態との関連を検討，新規治療標的薬開発への道を切り拓くことを目的とする。「計画と結果」(1) マウス食道ケラチノ細胞に TRPV4，PAR-2(protease activated receptor-2) mRNA，蛋白質が発現していることを RT-PCR 法および免疫染色法により確認した。食道ケラチノ細胞の単層培養系を用いて，TRPV4 アゴニスト刺激をすると Ca イオン流入および ATP 放出が起こるが，トリプシン前処理あるいは PAR-2 活性ペプチド前処理をすると Ca イオン流入および ATP 放出が有意に増加した。これらの Ca イオン流入および ATP 放出は TRPV4 ノックアウトマウス食道ケラチノ細胞では全く見られなかった。すなわち，十二指腸液に含まれる膵液トリプシンの食道逆流によって PAR-2 が活性体となり，食道上皮 TRPV4 の感受性を亢進させ，わずかの圧刺激，機械刺激により TRPV4 活性化が起こり，Ca イオン流入，ATP 放出が有意に増強することが判明した。(2) マウス胃抑制性運動神経に TRPV2 が発現しているが，単離胃の伸展-圧反応を圧トランスデューサーを用いて検討すると，TRPV2 活性化剤により単離胃の適応性弛緩が促進される。更に，その胃弛緩促進効果が，TRPV2 阻害剤，L-NAME，Ca 拮抗薬により抑制されることも確認され，胃の適応性弛緩に抑制性運動神経に発現する TRPV2 が機能的に関与している可能性が強く示唆された。

8. 両生類及び鳥類における温度感受性 TRPA1 チャネルの機能的役割

太田利男，中塚一将，鳩澤永子，高橋賢次（鳥取大学農学部）
齋藤　茂，富永真琴（生理学研究所・岡崎統合バイオサイエンスセンター）

哺乳類 TRPA1 は感覚神経に発現する非選択的陽イオンチャネルであり，刺激性化学物質や冷刺激により活性化されることが知られている。しかし，両生類や鳥類における TRPA1 の機能は明らかにされていない。そこで，提案代表者は生理学研究所の富永教授，齋藤特任助教らと共に，ニシツメガエル（*Xenopus tropicalis*）TRPA1

（xtTRPA1）及びニワトリ TRPA1 (cTRPA1) 遺伝子の発現・機能解析を細胞内 Ca イメージング及び膜電流測定法により行った。合わせてニシツメガエル及びニワトリより分離した背根神経節（DRG）ニューロンにおける内因性 TRPA1 に対する作用も検討した。

xtTRPA1 を発現させた HEK293 細胞及び *Xenopus* oocyte において，cinnamaldehyde を始めとする TRPA1 アゴニストは xtTRPA1 チャネルを刺激した。xtTRPA1 チャネルは冷刺激には反応しなかったが，熱刺激により活性化した。ニシツメガエル DRG ニューロンもこれら刺激により活性化した。熱刺激に反応した DRG ニューロンの大部分は cinnamaldehyde 及び TRPV1 アゴニストの capsaicin に対しても反応性を示した。Cinnamaldehyde や種々の TRPA1 アゴニストはニシツメガエル個体に疼痛行動を引き起こした。同様な結果が cTRPA1 を発現させた HEK293 細胞，*Xenopus* oocyte 及びニワトリ DRG ニューロンにおいても得られた。

以上の成績から，両生類及び鳥類 TRPA1 は哺乳類 TRPA1 と同様に刺激性化学物質に対する感受性を有していたが，哺乳類とは異なり，熱刺激により活性化する侵害受容チャネルとして機能することが示された。また，他の熱感受性チャネルである TRPV1 と同一 DRG ニューロンに共存していたことから，両生類や鳥類において両チャネルは熱感知を補完しあっていると考えられる。このことは，これまで報告されている爬虫類に加え，両生類及び鳥類においても TRPA1 チャネルが侵害受容性熱センサーとして働き，更にその機能は進化の過程で維持されていることが明らかになった。

9. 光遺伝学ツールを用いたマウス成体脳ニューロン新生の機能的意義の解析

今吉　格（京都大学白眉センター・ウイルス研究所増殖制御学分野）
山中章弘（生理学研究所）

我々はこれまで，マウス成体脳の新生ニューロンの選択的標識と除去を行い，ニューロン新生の全体像と機能的意義の解明を行ってきた。ニューロン新生の生理的意義の全容解明には，神経回路レベルでのニューロン新生の意義についての理解も必須である。そのため，Optogenetics ツールを用いて，新生ニューロンと既存の神経回路との神経結合様式を解明し，ニューロン新生が高次脳機能に果たす役割の包括的理解を研究目標とした。

Optogenetics ツールを新生ニューロン特異的に発現させるために，Cre 及び Flp 組換え酵素による転写ストップカセット除去後に，改変型チャネルロドプシンやハロロドプシンを発現するマウスを作製した。我々は，Cre の組換えに加えて，Flp 組換え酵素の組換えを必要とする，ダブルストップカセットを持つ Rosa26 ノックインマウスを開発してきた。Cre に加えて Flp の選択を加える事で，脳の中で特定の神経細胞集団を極めて限局的にターゲットする事が可能となる。これらの遺伝子改変マウスを用いて，細胞生理研究部門の光照射用 LED 装置と脳スライスパッチクランプ装置一式を用いて，光照射依存的に新生ニューロンの神経活動の人工的な操作が可能であるか評価を行った。ArchT を発現するマウスでは，緑色光照射依存的に神経活動の抑制ができる事，C1V1 を発現するマウスでは，緑色光照射依存的に活動電位を誘導できる事を確認した。これらの研究結果は，今後 Optogenetics ツールを用いて，新生ニューロンの機能解析を行う際の基盤的データとなる事が期待される。

10. 質感認知の神経ネットワーク基盤の研究

一戸紀孝，鈴木　航，宮川尚久，坂野　拓（国立精神・神経医療研究センター・神経研究所・微細構造研究部）
谷　利樹（弘前大学大学院・医学研究科・生体構造医科学講座）
小松英彦（生理学研究所　感覚認知情報研究部門）

小松英彦のグループは，定量・定義の困難さ，動物における認識を知る事の困難さなどから，解明が遅れていた「質感」の認知に関する研究に精力的に取り込み，ヒトとマカク属サルの両方を平行に用い，さらに fMRI，電気生理，心理実験を巧妙に組み合わせて，この困難な分野に新しい大きな貢献を行って来ている。

これに対し，弘前大学の谷を含む国立精神・医療研究センターの一戸グループは，ほとんど溝のない新世界ザルマーモセットを用いて小松グループが上側頭溝（STS）内に見いだしたのとほぼ同様の領野と考えられる部位において脳表から多点電極を用いて電気記録を行い，形態に左右されず光沢のある物体（ガラスと金属）に反応する小さな領野（〜500 μ m）がある事を２頭のマーモセットで見いだした。この多点電極は，４本の 400 μ m 離れたシャンクからなり，１本のシャンクは 200 μ m 離れた８個のコンタクトから出来ている。光沢のある物体に反応するこの領野は，２本のシャンクのコンタクトからしか記録されず極めてコンパクトなカラム性を持っている事が分かった。この領域は FST と考えられ，他者の運動に反応するカラム上の構造を持っている事を我々は同時に見いだしている。この他者の運動に反応するカラムは，MT からの直接の投射または，FST からの投射を受けることが分かっており，この光沢のある物体に反応するカラムと，他者の行動に反応するカラムが，複雑なモザイクを作っている事が推定された。また，この領域には biological motion に反応する部位もある事も見いだしている。

この光沢のある物体に反応する領域へトレーサーを注入すると，MT の周囲にある MTc，V4, TE から強い投射を受ける事が分かった。背側視覚系に属する MT ではなく，腹側視覚系に属すると考えられる MTc, V4, TE からの投射を受けることは，この領域が腹側視覚系に属している事を示唆している。

一戸グループは，生体内で脳内の線維連絡を可視化する手法を開発したので(Ichinohe et al., Sci Rep, 2012), この光沢に反応する領野の細胞の反応特性を検討する事を予定している。他者の運動に反応する FST 領域へ投射する前頭葉からは，他者の運動のみならず，自己の運動にも反応するミラーニューロンが記録され, 新世界ザルにも，ミラーニューロンが存在する事を世界で初めて示した。

11. ナトリウムポンプ *Atp1a3* 遺伝子ノックアウト／ジストニア病態モデルマウスのシナプス機能解析

池田啓子（兵庫医科大学・生物学）
井本敬二，佐竹伸一郎（生理学研・神経シグナル）

ナトリウムポンプは，細胞膜内外の Na^+ と K^+ の濃度を調節する能動輸送酵素である。α，β，γのサブユニットから構成され，ほ乳類の脳ではα１，α２，α３が発現している。α３サブユニットはニューロンに特異的に発現する。最近, ヒトα３サブユニット遺伝子の変異は，急性発症性ジストニアパーキンソニズムと小児交互性片麻痺の原因であることが報告された。本研究では，α3 サブユニット遺伝子ノックアウトヘテロマウス (*Atp1a3*$^{+/-}$)を用いて，ジストニアパーキンソニズムの発症機序を解明することを目的とした。

我々は先行実験で，①小脳へのカイニン酸投与により誘発したジストニア症状は，*Atp1a3*$^{+/-}$では野生型に比べて増強すること, ②成長段階のマウス *Atp1a3* mRNA の発現は，小脳の方が基底核よりも高いこと，を見出していた。これらの結果より，小脳における神経伝達の変化がジストニアの原因であると推定し，小脳のスライス標本

を用いた電気生理学的手法により，種々の検討を行った。分子層の介在ニューロン（籠細胞と星状細胞）からプルキンエ細胞への抑制性シナプス後電流（IPSC）を全細胞パッチクランプ法にて記録し，その特性を野生型と *Atp1a3*$^{+/-}$の間で比較した。*Atp1a3*$^{+/-}$では，刺激強度に依存した IPSC の誘発促進と，mIPSC 頻度の上昇が見られた。一方，介在ニューロンの細胞体から記録した静止膜電位に著しい変化は観察されなかった。また，平行線維や登上線維からプルキンエ細胞への興奮性シナプス伝達には，野生型と *Atp1a3*$^{+/-}$の間で有意な差は認められなかった。以上の結果より，*Atp1a3*$^{+/-}$小脳では分子層介在ニューロンからプルキンエ細胞への抑制性伝達が特異的に亢進していると結論した。免疫組織法により，籠細胞の軸索終末がプルキンエ細胞の軸索起始部に結合する pinceaux 構造にα3 サブユニットが集積していることを見出した。*Atp1a3*$^{+/-}$で抑制性シナプス伝達が促進していたのは，ナトリウムポンプの発現量低下に伴い，介在ニューロン終末において脱分極と細胞内カルシウムイオン濃度の上昇が起きたためではないかと推定している（J. Physiol. 2013）。今後は，この伝達効率の促進が，小脳からの神経アウトプットにおよぼす影響やジストニア症状につながるメカニズムを中心に検討を行う予定である。

12. 同じ誕生日を有する小脳プルキンエ細胞の生理学的機能の解明

橋本光広（名古屋大学医学部医学系研究科細胞生物）

ラット小脳のスライス・パッチクランプ法を，教授していただき，小脳スライス上のプルキンエ細胞から電気生理学的計測が出来るようになった。小脳スライス上のプルキンエ細胞をランダムにパッチクランプし，電気生理学的計測を行ったが，計測したプルキンエ細胞間の電気生理学的違いを示すデータを得るまでには至っていない。しかし，最近，小脳プルキンエ細胞の *in vivo* フィールドポテンシャル計測によって，プルキンエ細胞の発火頻度に差異があり，その発火頻度の差異は，小脳内に形成される縦縞状の領域と相関関係があることが発表された。小脳内に形成される縦縞状の領域は，小脳プルキンエ細胞の誕生日によって規定される縦縞状領域と高い相関関係がある。そのことから考えて，Venus を発現するアデノウイルスベクターを用い，マウス胎生 10.5, 11.5, 12.5 日目生まれのプルキンエ細胞をそれぞれ蛍光ラベルし，蛍光ラベルされた同じ誕生日を有するプルキンエ細胞の電気生理学的特性を解析することによって，その差異を明らかにすることが可能であると予想される。現在，解析まで至っていないが，本共同研究で習得した電気生理学的技術の向上と，アデノウイルスベクターの技術を融合することによって，プルキンエ細胞の電気生理学的差異を明らかにすることが可能であると予想される。

自由行動下において，チャンネルロドプシン２を発現した神経細胞の活性を制御できる，ワイヤレス・脳留置型光刺激装置を独自に開発した。この装置は，３つのチップ LED を駆動することができ，それぞれの発光パターンをプログラムによって自由に変更することが出来る。現在，アデノウイルスベクターを用いて，胎生 12.5 日生まれのプルキンエ細胞へ選択的にチャンネルロドプシン２を発現させ，自由行動下の 4 週齢のマウスにおいて，プルキンエ細胞の活性を光刺激によって制御することを試みている。また，改良した光刺激装置を生理研の共同研究者に供給し，共同研究を進めている。

13. 脊髄におけるグレリン応答性神経細胞の同定

池田あずさ，椎名貴彦，志水泰武（岐阜大学応用生物科学部 獣医生理学研究室）

【背景と目的】消化管運動は，消化管内在神経系および中枢神経系の両者によって厳密に制御されている。これまでの研究により，脊髄（腰仙髄部）の排便中枢に相当する部位にグレリンを投与すると，大腸運動が活発にな

ることが明らかになった。また，ドパミンも同様に排便中枢に作用する可能性が示唆されている。本研究では，脊髄内に，グレリンあるいはドパミンに応答する神経細胞が存在することを証明し，大腸運動の亢進をもたらす神経回路を解明することを目的とした。

【材料と方法】神経シグナル研究部門で保有，管理されているスライサー及び脊髄スライスパッチクランプ用セットを利用した。ラット腰仙部の脊髄スライス標本を作製し，下部消化管を支配する副交感神経核からパッチクランプ記録を行った。脊髄標本にグレリンまたはドパミンを作用させた場合に活動が亢進する神経細胞が存在するか検討した。

【結果】パッチクランプ法により腰仙部副交感神経核ニューロンに誘起される膜電流を電位固定下に記録した。グレリンの適用により反応を示す細胞は確認できなかった。一方，ドパミンの適用に反応して，電流を発生する神経が確認された。ドパミンによって発生した電流は，神経遮断薬であるテトロドトキシンの影響を受けなかった。

【考察】本研究により，グレリンに応答する神経細胞は確認できなかったものの，ドパミンに反応する神経の存在が確認された。ドパミンによって生じた電流が神経遮断薬の影響を受けなったことは，電流が確認された神経細胞自身にドパミンが作用したことを意味している。今回確認されたドパミン感受性神経は，大腸運動の制御に関与している可能性がある。

14. ラットヒゲにおける一次感覚ニューロンの機能形態の同時追究

榎原智美，外村宗達，黒田大地，熊本賢三（明治国際医療大学・医学教育研究センター・解剖学教室）
古江秀昌，歌　大介，井本敬二（神経シグナル）

ラットの顔面部ヒゲには多種多様な皮膚感覚受容器が密に分布している（Ebara ら, JCN, 2002）。これらのほとんどは，三叉神経節に細胞体を局在させる偽単極性ニューロンである。しかし，各感覚受容器の生理学的反応特性とその末梢および中枢端の構造の一致は，古くからの謎であるが未だ十分な解明はなされていない。そこで，単一神経細胞記録標識システムと共焦点レーザ顕微鏡システムを用いて，成熟ラットヒゲの一次感覚神経細胞の生理学的かつ形態学的特性の同時解明を目指している。

これまでに，成熟ラットの頭部摘出標本において，三叉神経節を可視下におく ex vivo 系を確立し，単一神経細胞記録と標識を成功させた（生理研 2012 年報報告）。

引き続き，麻酔下の幼若ラット（3 週齢）の頭部で三叉神経節を可視下におく in vivo 系において，単一神経細胞記録と標識を確立させ，一次感覚ニューロンの皮膚刺激による電気生理学的特性と，感覚受容終末および中枢の神経終末の同時観察を成功させた。2013 年 3 月末現在，約 140 実験例中 10 例（7%）において，メルケル終末，棍棒状終末，および槍型終末が検出できている。なお，それぞれのニューロンの中枢枝は，三叉神経路を下行しつつ，頭尾側に長い三叉神経核の各亜核に幹軸索から段階的に約 20 本の側枝を出して終末していた（2013 年 3 月　日本解剖学会で発表）。

単一ニューロンの電気生理と形態観察の実験系がようやく確立し，成功例を増やしつつある。電顕的解析も進めている。多様な受容器が検出されつつある一方で，成熟ラットでの成功例がないこと，従来提唱されている即順応や遅順応の反応特性に必ずしも終末形態が一致しないこと，活動電位のオーバーシュートを検出しにくいことなどの問題点を抱える。今後，成功例の数を増やしつつこれらの点を見極め，一次感覚ニューロンの反応特性と末梢および中枢の終末の三次元的な広がりを含む形態的特徴とを詳細に比較し，感覚受容における機能形態上の明確な法則性を見いだしたい。

15. 大脳皮質における錐体細胞間抑制の機能解析

小松由紀夫，丸山拓郎，杉村岳俊（名古屋大学環境医学研究所）
吉村由美子

我々はマウス大脳皮質切片標本上の近接する２個の 2/3 層錐体細胞からホールセル記録を行い，一方の錐体細胞に活動電位を発生させると，他方に抑制性シナプス後電流（IPSC）が誘発されることを見出した。そして，錐体細胞が抑制性細胞の樹状突起・細胞体を介さずに，その軸索終末を直接活性化することにより錐体細胞間抑制を引き起こすことを示す結果を報告した。しかし，この抑制は抑制性細胞の樹状突起・細胞体を介して生じることを示唆する報告もあり，錐体細胞間抑制の機構に関しては結論に至っていない。

昨年度に引き続きこの抑制の神経回路の解析を行った。子宮内エレクトロポレーション法を用いて光感受性陽イオンチャネルである ChR2 を大脳皮質 2/3 層錐体細胞に発現させたマウスから切片標本を作製し，その 2/3 層錐体細胞からホールセル記録を行った。AMPA 受容体阻害薬存在下で光照射により 2/3 層錐体細胞を刺激すると IPSC が観察され，その反応はカイニン酸受容体を阻害するとほぼ消失した。この結果は，カイニン酸受容体が錐体細胞間抑制を仲介するという我々の報告を確認するものである。

錐体細胞間 IPSC のキネティクスから，この抑制は錐体細胞の細胞体近傍に入力する抑制性細胞を介して生じると考えられる。細胞体近傍に入力する抑制性細胞は PV 陽性細胞と CCK 陽性細胞である。従って，錐体細胞間抑制が抑制性細胞の細胞体・樹状突起を介する通常の２シナプス性抑制であるならば，上記の 2 種類の抑制性細胞から記録される興奮性シナプス後電流（EPSC）はカイニン酸受容体阻害により抑制されるはずである。この可能性を検証するために，PV 陽性細胞あるいは CCK 陽性細胞に選択的に GFP を発現する遺伝子改変マウスを使用し，これら 2 種類の抑制性細胞の細胞体から EPSC を記録した。どちらの細胞でも，EPSC はカイニン酸受容体を阻害しても影響を受けなかった。従って，上述の可能性は考えにくい。

また，抗 PV 抗体で PV 陽性抑制性細胞の軸索終末を，抗 VGluT1 抗体で錐体細胞の軸索終末を免疫組織学的に 2 重染色したところ，両終末は錐体細胞の細胞体近傍に隣接して存在することが分かった。抗 CCK 抗体と抗 VGluT1 抗体による 2 重染色においても同様な所見が得られた。以上の結果は，錐体細胞間抑制は PV 陽性細胞および CCK 陽性細胞の軸索終末を介することを強く示唆する。

16. ゼブラフィッシュを用いた脳脊髄神経回路の成熟過程の生理学的・分子生物学的研究

小田洋一（名古屋大学大学院理学研究科生命理学専攻）
東島眞一（自然科学研究機構生理学研究所時系列生命現象研究部門）

聴覚と平衡感覚は全く異なる感覚として知覚されるが，ともに内耳の有毛細胞の毛の動きによって刺激を感知する。蝸牛を持たない魚類は内耳の耳石器官で音や頭部の傾きを受容する。魚類の耳石器官の卵形嚢，球形嚢，壺嚢は，いずれも耳石と有毛細胞から構成されるよく似た構造の感覚器官であるが，どのように聴覚と平衡感覚を受容し分けるのだろうか。本研究では，ゼブラフィッシュを対象として，内耳感覚器と前庭・聴神経回路の機能分化を調べることを目的とした。

受精後 5 日のゼブラフィッシュ仔魚は壺嚢が未形成だが卵形嚢と球形嚢をもち，平衡感覚や聴覚性驚愕反射を示す。まず卵形嚢と球形嚢のどちらが音刺激を受容するかを調べた。微細手術によってそれぞれの耳石を有毛細胞上から除去して耳石器官の働きを阻害し，マイクロフォニック電位として記録される有毛細胞の音応答に対する効果を調べた。その結果，球形嚢の有毛細胞が選択

的に音を受容することが示された。

なぜ球形嚢のみが音に応答するのだろうか。受精後 5 日では球形嚢の耳石は卵形嚢の耳石の 2.5 倍の大きさを持っていた。耳石が大きく重いほど慣性によりその場にとどまり，有毛細胞との動きのずれが大きくなるため音受容に適しているはずである。そうならば，本来音を受容できない卵形嚢も耳石が大きくなれば音を受容する可能性がある。

それを検証するために，受精後 1 日に球形嚢から取り外した耳石を卵形嚢の耳石に融合させ，卵形嚢の耳石を巨大化させた。その結果，驚くべきことに，巨大化した耳石をもつ卵形嚢の有毛細胞が音に応答するようになった。このことから，耳石の大きさが有毛細胞の音感受性を左右する一つの要因であることが示された(Inoue et al., *Sci. Rep.*, 2013)。

次に内耳で受容された音情報がどのように脳へ伝達されるかを調べるため，卵形嚢・球形嚢からの求心性神経投射を受ける後脳のマウスナー(M)細胞の音応答を *in vivo* ホールセル記録して比較した。M 細胞で記録されるシナプス電位は卵形嚢の耳石を除去しても変化しなかったが，球形嚢の耳石を除去すると消失した。巨大化した卵形嚢で受容された音情報は確かに M 細胞で記録されたが，球形脳からのシナプス電位に比べて振幅は小さく開始潜時は長かった。従って，球形嚢からの求心性回路が音情報を M 細胞へ効率良く伝達することが明らかになり，求心性回路においても卵形嚢と球形嚢からの経路は機能的に分化していることが示唆された。

17. ゼブラフィッシュを用いたセロトニン神経回路の生理学的・分子生物学的研究

前川真吾，細川浩，藤岡俊治（京都大学大学院情報学研究科）
東島眞一

セロトニン作動性神経は精神疾患から睡眠，運動，呼吸といった生命活動に至るまで，生物の行動に広く影響を与えることが知られているが，運動や行動におけるセロトニン作動性神経の役割については未知な点が多い。本研究ではゼブラフィッシュをモデルとして，セロトニン作動性神経回路の運動や行動における生理学的な役割の解明を目的とした。

昨年度の研究により，tph2 遺伝子のプロモーター・エンハンサーを用いて，ゼブラフィッシュセロトニン作動性神経特異的に GFP を発現させた系統の作出に成功した。本年度は，このトランスジェニックフィッシュ系統を利用し，後部縫線核に存在するセロトニン作動性神経の電気生理学的な解析を中心に研究を行った。その結果，後部縫線核セロトニン作動性神経の発火頻度は遊泳開始直前に増大することがわかった。さらに，発火頻度は遊泳期間の前半では高く保たれ，その後，後半にかけて徐々に減少していくことが明らかになった。これらの結果は，後部縫線核セロトニン作動性神経の発火は遊泳運動の開始及び，持続を引き起こしている可能性を示唆している。

また，tph2 プロモーター・エンハンサーを用いて，セロトニン作動性神経特異的にチャネルロドプシンを発現させた系統を作出した。今後この系統を用いて，非侵襲的かつ人為的にセロトニン作動性神経の活動を制御し，その際のゼブラフィッシュの行動変化を解析する予定である。

18. ドーパミン受容体ノックアウトマウスを用いた大脳基底核機能の解析

籾山俊彦（東京慈恵会医科大学）
知見聡美，南部　篤（生体システム研究部門）

大脳基底核の機能に関与する神経伝達の障害，特に黒質―線条体ドーパミン系の障害によってパーキンソン症候群や舞踏病に代表される運動異常が観察される。これら運動異常の発症機序を理解するためには，大脳基底核の線条体と関連するシナプス伝達を解析することによって，神経回路の同定とその機能を解明する必要がある。本研究では，ドーパミン受容体各サブタイプ（D１ドーパミン受容体およびD２ドーパミン受容体）ノックアウトマウス線条体の各種ニューロン間のシナプス伝達の特性を明らかにするために，マウス脳スライスを用いたホールセルパッチクランプ法による解析および In vivo における電気生理学的解析を行なった。

平成 24 年度は，ドーパミン D2 型受容体ノックアウト(D2R KO)マウスの脳スライス標本を用いたホールセル記録により，以下の結果を得た。

1) 野生型マウスでは，線条体において刺激頻度依存的に GABA 遊離が抑制されるが，D2R KO マウスでは，この刺激頻度依存性抑制が阻害された。

2) 野生型マウスではシナプス前 D2R 活性化によって N 型カルシウムが選択的に遮断されて GABA 遊離が抑制されるが，D2R KO マウスでは，GABA 性シナプス伝達に関与する N 型チャネルの割合が有意に減少した。

以上から，GABA 遊離における内因性のドーパミンおよび D2R の機能，さらに D2R と N 型カルシウムチャネルの強固な選択的共役が示唆される（論文 revise 中）。

19. パーキンソン病の神経ネットワーク異常の解明を目指した試験的研究

星　英司（公益財団法人　東京都医学総合研究所）
知見聡美，南部　篤（生体システム研究部門）

パーキンソン病は大脳基底核の線条体へ投射するドーパミン細胞の消失によって誘発される代表的な基底核疾患とみなされている。しかし，ヒトのイメージング研究はパーキンソン病の患者において，基底核外の脳部位の活動変化を明らかにしている。そこで，本研究では，パーキンソン病における幅広い神経ネットワーク異常の解明に向けた実験系を立ち上げることを目指した。まず，MPTP の投与による一側性パーキンソン病のモデルサルを作製した。続いて，各脳部位について，健側と患側から細胞活動を記録し，平均発火頻度や活動パターンなどに注目しながら活動の比較を行った。その結果，複数の脳部位において，患側と健側の間で神経活動の違いを同定することに成功した。今後，本知見を手掛かりとして研究を展開することによって，パーキンソン病における広汎な神経ネットワーク異常の実態解明につながることが期待される。

20. 辺縁皮質刺激に対する大脳基底核のニューロン応答

佐藤澄人（北里大学医学部　脳神経外科）
知見聡美，南部　篤（生体システム研究部門）

パーキンソン病に対する視床下核刺激療法（STN-DBS）は，運動症状を改善する一方，認知機能や情動に対する副作用が指摘されている。本研究では，情動に影響を与えると考えられる，STN の辺縁系領域の

ニューロンについて調べることを目的とした。

大脳皮質－大脳基底核－視床－大脳皮質回路は，運動系ループ，連合系ループ，辺縁系ループで構成され，STN内においてそれぞれのループに対応する領域が存在する。実験はサルを用いて，覚醒下にSTNニューロンの細胞外ユニット記録を行い，自発発射および大脳皮質（一次運動野M1・補足運動野SMA・辺縁前野PL）の電気刺激に対する応答をPSTHで観察した。

STNニューロンは，M1，SMA，PLのそれぞれの刺激に応答するもの，いずれにも応答しないものに大別された。自発発射パターン・平均発射頻度は各群の間で有意差は認められなかった。皮質刺激に対する応答は，いずれも早期興奮・後期興奮の二相性パターンが観察され，潜時および持続時間は，M1，SMA，PLの順に長くなる傾向がみられた。また，M1刺激に応答するニューロンはSTNの外側部，SMAのそれは中間部，PLでは最内側部に存在していた。

早期興奮は，M1・SMAからの直接入力であることがすでに明らかにされている。最近，PLからSTN内側部へ直接投射することが解剖学的に示され，本研究では神経生理学的にそれを裏付ける結果となった。

STNの辺縁系領域は最内側部に位置しており，運動系ループと同様な情報処理が行われるが，その処理速度は遅いことが示唆された。

21. 長期運動学習の記憶痕跡に相当するシナプス構造の解析

工藤もゑこ，永雄総一（理化学研究所・脳科学総合研究センター・運動学習制御研究チーム）

本年度は遺伝子改変マウスを用いた生理実験を主に行った。G-protein coupled receptorの1つのGPCR7bは，結合するリガンドが同定されていないorphan受容体である。GPCR7bは小脳皮質のプルキンエ細胞と小脳核の神経細胞に発現しているが，その機能は知られていない。理化学研究所の脳センターの平林研究室で作成されたGPCR7b欠損マウスは，行動はほぼ正常で，野生型のマウスと同じ寿命をもつ。その小脳のプルキンエ細胞の軸索突起にはコブ状の突起が所々に見られ，透過型電子顕微鏡による観察では，コブ状の突起内に多数の小胞体が認められた。従って，GPCR7b欠損マウスのプルキンエ細胞の軸索輸送に異常があることが示唆される。GPCR7b欠損マウスにローターロッドの訓練を数日間にわたって行うと，1日に生じる運動学習は野生型とかわらないが，長期の運動学習は低下していた。さらに，水平性視機性眼球反応(horizontal optokinetic response, HOKR)の適応を，1時間800周期のスクリーンの回転による集中訓練と，200周期のスクリーンの回転を1時間の休憩期間をいれて4回行った分散訓練とで比較した。集中訓練による適応はGPCR7b欠損マウスと野生型マウスでは差は見られなかったが，分散訓練による適応は，GPCR7b欠損マウスでは有意に低下していた。次に，生後15－20日齢のマウスから得られたスライス標本を用いて，プルキンエ細胞と小脳核の神経細胞の電気生理学的特徴を調べた。GPCR7b欠損マウスと野生型マウスで，プルキンエ細胞の一般的性質や平行線維―プルキンエ細胞間シナプスのシナプス伝達可塑性（長期抑圧）には差は認められなかったが，苔状線維―小脳核細胞間のシナプス伝達の長期増強については，GPCR7b欠損マウスでは異常が認められた。先行研究により，分散訓練によるHOKRの適応には，小脳皮質のプルキンエ細胞におけるタンパク質の合成と，訓練直後の4時間程度のプルキンエ細胞の持続的な発火がともに必要であることが示唆されている。従って，GPCR7bの欠損マウスでは，プルキンエ細胞の軸索輸送が低下し，その結果，小脳核のシナプス伝達可塑性が障害されるとともに，長期の運動学習が障害されている可能性が示唆される。

22. 神経細胞極性化を制御する因子の電子顕微鏡レベルでの機能解析

岸　将史（新潟大学大学院医歯学総合研究科分子ニューロイメージング研究室）
重本隆一（生理学研究所大脳皮質機能研究系脳形態解析研究部門）

SAD キナーゼという蛋白キナーゼは，神経細胞の極性化に不可欠であることが遺伝学的に示されている数少ない分子の一つである。その in vitro での基質分子 S2 抗原の遺伝子欠損マウスを作製した結果，ホモ接合体が早期胎生致死であり，ヘテロ接合体が軽度の行動異常を示したが，その詳細は不明である。本共同研究は，S2 抗原の電顕レベルでの神経細胞内局在を調べること，ヘテロ接合体の PSD のサイズを計測しその異常の有無を明らかにすること，shRNA-S2 の in utero electroporation により遺伝子発現レベルを低下させた神経細胞に関し，その発生やシナプス形態を観察しその必要性を示すこと，の３点を目標に行われた。

（１）S2 抗原の電顕レベルでの神経細胞内局在

S2 抗原に対する市販の抗体 6 種類について，postembedding，preembedding 両方の手法を用いて解析を行ったが，電顕レベルで明確なシグナルを示す抗体を見出す事は出来なかった。現在，ニワトリをホストとする新たな抗体の作製を試みている。

（２）ヘテロ接合体の PSD のサイズ

SAD キナーゼはシナプスの形成にも不可欠な分子であるため，S2 抗原の遺伝子欠損マウスヘテロ接合体についてシナプスの大きさに異常がないかどうか，PSD のサイズを基準に解析を行った。結果としては，野生型との間に差は無い，という結論に至ったが，マウスのバックグラウンドを C57BL/6N に統一することでもう一度観察を試みる。本解析結果については論文での報告を予定している。

（３）shRNA-S2 導入神経細胞の解析

shRNA-S2 を CAGGS-EGFP と共発現させるような遺伝子導入ベクターを作製し，胎生 15 日齢にて海馬への electroporation を行った。出生後 21 日で灌流固定後，免疫電顕にて GFP 陽性細胞を確認しながらそれが有するシナプスの形態を観察する，という実験を行ったが，実際には GFP シグナルが強すぎて，シナプス部位自体が真っ黒で観察出来ない，という結果に終わった。もしかすると，もう少し時間的な余裕があれば，抗体量を減らしてもう一度チャレンジするということも可能であったかもしれないが，共同研究者の異動や，そういった工夫だけでは対処が難しいという可能性もあり断念するに至った。机上で考えるよりも遥かに難しい実験であった。

23. 脳内神経細胞の膜脂質分子の局在とその生理的役割に関する研究

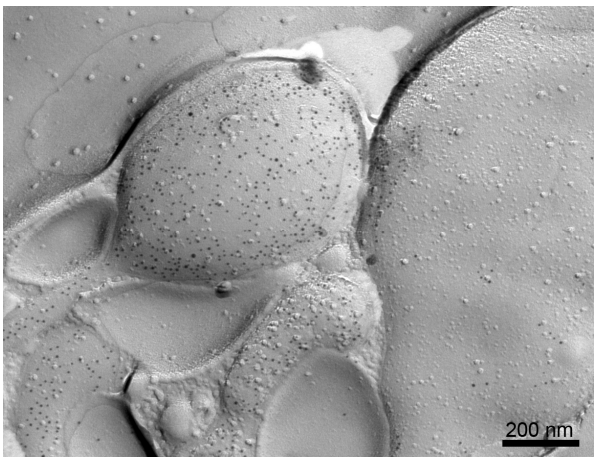
深澤有吾（名古屋大学・大学院医学系研究科）

生体膜を構成する脂質分子は多様であり，特定の脂質分子が細胞機能の制御に関与している。本課題では凍結割断レプリカ標識法を応用して脂質分子と機能タンパク質の微細形態上の局在関係を電子顕微鏡で解析する手法を確立し，神経細胞における脂質膜ドメインの同定とその重要性を明らかにすることを目的として行った。

脂質分子は形態や分子局在解析に通常用いられる化学固定剤に耐性であるため，生きている状態の神経細胞の脂質分布を明らかにするには，試料の急速凍結と凍結割断レプリカ法を組み合わせた免疫電子顕微鏡法が最適且つ唯一の方法である。そこで先ず始めに，培養海馬スライスを急速凍結する実験系の構築を行った。良好な凍結状態を得るためには，試料のサイズを小さくする必要が有ったため，実験にはマウス海馬を用いた。高圧凍結 HPM010 による試料凍結を行った後，凍結割断レプリカ装置 BAF060 を用いて，培養海馬スライスの凍結割断レプリカを作製した後，レプリカ膜に直接捕捉されない分子を SDS 処理により除去した。この様にして得たレプリカ膜を免疫タグとの融合タンパク質として発現・精製した脂質結合タンパク質の脂質結合ドメインと反応し，金コロイド標識二次抗体を用いた免疫標識を行った。今回の実験では phosphatidylinositol 4, 5-bisphosphate (PIP2)を

認識するPLCδ1のPHドメインをGSTとの融合タンパク質として発現したプローブを用いた。標識されたレプリカを透過型電子顕微鏡 JEOL1010 を用いて観察し，PIP2 分子の細胞膜上分布を解析した。

PIP 標識は細胞膜の内葉に特異的に観察された(図参照）。シナプス前終末，樹状突起スパイン，樹状突起，細胞体を区別して標識分布を評価すると，各ドメイン毎に平均標識密度が異なり，同一ドメインの間でも，標識密度に大きな差が見られた。この観察結果はPIP2濃度が機能ドメイン毎にダイナミックに制御されていることを示唆しているので，今後，神経活動のレベルとの相関や発現量変化の機能的意義に結び付けたいと考えている。



図説明：GST-PH プローブを用いた神経細胞膜上の PIP2 分布の可視化

樹状突起スパイン（左）とシナプス前終末（右）の細胞膜でＰＩＰ発現濃度が大きく異なることが，金標識（黒い点）の分布より分かる。

24．遺伝子改変動物を利用した抑制性ニューロンの特性についての研究

柳川右千夫（群馬大学大学院医学系研究科）

脳は興奮性ニューロンと抑制性ニューロンから構成される神経ネットワークの集まりからできている。GABAニューロンとグリシンニューロンが抑制性ニューロンの代表である。GABAニューロンは中枢神経系全体に，グリシンニューロンは脳幹と脊髄に分布する。しかし，GABAニューロンとグリシンニューロン両者とも比較的少数で散在しているので，生のスライス標本で同定するのは困難である。一方，小胞型GABAトランスポーター（VGAT）は抑制性ニューロン（GABAニューロンとグリシンニューロンの両方）に，グルタミン酸脱炭酸酵素（GAD; GAD65とGAD67の2型存在）はGABAニューロンに，グリシントランスポーター2（GlyT2）はグリシンニューロンにそれぞれ特異的に発現する。我々は，GlyT2 遺伝子内在性プロモーターを使用してグリシンニューロン特異的に蛍光タンパク質やチャネルロドプシンなどの機能プローブが発現する遺伝子改変マウスの作製を試みた。具体的には，GlyT2 遺伝子に Cre レコンビナーゼ（Cre）遺伝子をノックインしたマウス（GlyT2-Cre ノックインマウス）を作製した。次に，GlyT2-Cre ノックインマウスに挿入されている PGK-Neo 遺伝子が Cre の発現に障害を与えている可能性を考え，PGK-Neo 遺伝子を削除した GlyT2-Cre (Δneo)マウスを作出した。Cre のグリシンニューロン特異的発現を確認する目的で，GlyT2-Cre (Δneo)マウスとレポーターマウス（R26R マウス）とを交配して得られたダブルトランスジェニックマウスの脳切片と脊髄切片を X-gal 染色法で検討した。その結果，脳幹，小脳，脊髄に強い lacZ の発現が観察された。特に脳幹では，グリシンニューロンが多い前庭神経核や孤束核などに lacZ の発現が観察され，Cre の発現がグリシンニューロンにほぼ限局している可能性が示唆された。GlyT2-Cre (Δneo)マウスを蛍光タンパク質が発現するレポーターマウスと交配しており，今後はグリシンニューロン特異的に蛍光タンパク質が発現するダブルトランスジェニックマウス産仔を得，グリシンニューロンの特性を明らかにする。

25. 海馬顆粒細胞の入力情報統合機能の研究

相原　威（玉川大学工学部）
窪田芳之（生理学研究所）

背景と目的

海馬歯状回の顆粒細胞の樹状突起では，ボトムアップ型の匂いなどの非空間情報と場所などに関する空間情報が分離して入力していることが知られている。この 2 種類の情報はそれぞれ樹状突起の別々の場所へシナプス結合していることが報告されている。さらに広範囲調節系の情報として中隔核からアセチルコリン（ACh）を放出するコリン作動性神経の投射を受けていることが知られており，ACh により神経興奮性が高まることが報告されている。しかし，歯状回で嗅内野からの２つの性質の異なる情報がどのような相互作用があるのか，また ACh が情報統合にどのように作用しているのかはまだわかっていない。そこで本研究は，海馬歯状回顆粒細胞において異なる入力情報がどのように入力され，処理されかを実験（相原担当）およびコンピュータシミュレーション（窪田担当）により共同実験を通じて明らかにすることを目的とした。

実験

ラットの海馬急性スライス標本を用いて，パッチクランプ法によって顆粒細胞から電気的応答を記録した。そして，ボトムアップ型である感覚入力に相当する匂いなどの非空間情報と，場所などの空間情報が，どの様に情報処理されるかを調べるために，擬似的刺激として高速アンケージングシステムを使い時空間的に異なるアンケージング刺激を行った。また，シミュレーションにはシミュレータ NEURON を用いて行った。

結果

これまでの研究によって電気刺激を異なる入力層へ与えると，LPP，MPP それぞれの応答特性が違い，それぞれの入力層では異なったフィルタリング特性がある可能性が示唆されている。一方，アンケージング刺激を行い単一細胞で記録を行うと，入力層間での相互作用は小さいが代わりに樹状突起分岐周辺で特異的な入力応答を示すことが明らかとなった。具体的には，樹状突起分岐点から先端方向へ等距離でさらに近距離にある２点間へ入力が同期した場合にのみ，その応答が促進されることが分かった。さらにこの現象は入力層に依存しないことも確認された。以上より同じ入力層のへの同時入力が細胞の樹状突起単位で強調されることが示され，神経細胞の新たなメカニズムを発見することができた。またシミュレーションからはその機構に寄与するチャネルが推測された。

26. 大脳皮質第６層ニューロンの投射多様性解析

藤山文乃（同志社大学脳科学研究科）
苅部冬紀（同志社大学高等研究教育機構）

哺乳類の大脳皮質は６層から構成され，それぞれの層に特徴的な形態をもつ錐体細胞が存在する。近年の研究によって，皮質第５層では，投射部位の異なる錐体細胞サブタイプは局所的な結合においてもそれぞれに固有な回路を形成し，これによって皮質からの出力を制御していることが示されている。

大脳皮質第６層は第５層と並ぶ皮質下への出力細胞層である。第６層の錐体細胞は小型で，その多くは視床に投射することが知られているが，第５層の錐体細胞にみられるような投射多様性については明らかにされていない。最近の研究では，第６層細胞の局所回路が第５層細胞とは異なることも示唆されており，皮質からの出力を統合的に考えるうえで，第６層の細胞タイプと局所回路を明らかにすることは重要である。そこで本研究課題では，ラット前頭皮質を用いて第６層神経細胞の投射について解析し，以下の結果を得た。

1. 順行性および逆行性トレーサーにより，ラット前頭皮質第６層からの投射先を同定した。同側半球では，視

床の他に梨状様皮質・前嗅前頭皮質・前障への投射が比較的多く見られた。しかし，第５層の錐体細胞とは異なり，皮質領野間投射細胞の割合は少なかった。

2. 対側半球への投射では対側前頭皮質・対側線条体・対側前障へ投射する細胞群が存在することを見出した。対側皮質・対側線条体投射細胞には重なりが見られた。また，第６層下部には対側視床へ投射する細胞が見られた。

3. 白質の直上にある第７層（あるいは第６ｂ層と呼ばれる）の細胞は，他の第６層細胞とは形態的に異なるとともに，同側の皮質の幅広い領野へ投射していた。

4. これら投射細胞の第６層内における深さ分布を見ると，梨状様皮質・前嗅前頭皮質・対側線条体に投射する細胞は第６層の上層部にのみ見られるのに対し，前障に投射する細胞は第６層中層部に多くなる傾向が見られ，深さ分布が異なっていた。一方，視床以外への投射細胞の内，最も多く見られる対側皮質投射細胞は，第６層上層部から下層部へ向かってやや減少する傾向はあるが深い部位まで存在していた。また，視床投射細胞は第６層全層にわたって存在していた。

これらの結果は，第６層にも投射部位によるサブタイプとサブレイヤー構造があることを示している。今後はその局所回路を明らかにしたい。

27. 樹状突起形状とシナプス電流伝達の数理モデル研究

野村真樹（理化学研究所　免疫・アレルギー科学総合研究センター）
窪田芳之（生理学研究所　大脳神経回路論研究部門）

これまでの研究で，ラットの前頭皮質のスライスを用いて，錐体細胞と FS バスケット細胞のペアレコーディング電気生理実験を行い，錐体細胞の細胞体から 40 ミクロン以上離れた樹状突起にコンタクトしている抑制性シナプスの IPSC 信号は，細胞体まで伝搬してこないという結果を得ている。本研究では，電子顕微鏡を用いてそのシナプス接続部位のシナプスの面積を測定し，電気生理実験で測定した IPSC を基にしてシナプス単位面積あたりの IPSC の電荷量を算出した。また，電子顕微鏡を用いて錐体細胞の形態を詳細に計測して樹状突起の断面積や周囲長などのデータを得た。計測データを解析した結果，シナプスジャンクションの表面積はそれが接続している樹状突起の断面積と線形の関係がある事などが分かった。

続いて，得られた形態データをもとに神経細胞シミュレーションソフト「Neuron」上で錐体細胞を再構築した。また計測した IPSC データを用いて kinetic synapse モデルの各パラメータを算出し，「Neuron」上に構築した錐体細胞モデルへの IPSC 入力を再現した。

「Neuron」上に構築した錐体細胞モデルを用いて数値シミュレーションを行い，抑制性シナプス接続部位とその機能について調べた。シミュレーションを行った結果，

1. 細胞体に接続しているシナプス末端は大きく，錐体細胞の活動を効果的に制御している
2. 樹状突起基部に接続しているシナプス末端は小さく，局所的な抑制機能を持っている
3. 棘突起に接続しているシナプスは棘突起に入力している興奮性入力を特異的に抑制している

と言う結論を得た。

28. 異なる文脈における正直・不正直の道徳判断に関する神経基盤

板倉昭二（京都大学文学研究科）
Kang Lee（Dr. Erick Jackman Institute of Child Study, University of Tronto）

（研究目的）

本研究の目的は，日本人成人を対象に，異なる文脈における正直および不正直な振る舞いに対する，道徳的判断の神経基盤を調べることであった。先行研究から，日本では，文脈に応じて不正直な振る舞いに対して異なる見方をすることが分かっている。ある状況では，不正直に振る舞うことが奨励され，正直に振る舞うことが抑制されたりする。また，別の状況では，これと逆のことが生起し得る。このような，状況に応じた正直・不正直に対する道徳的判断の神経基盤については，十分に調べられているとは言い難い。脳機能イメージングの先行研究では，道徳的判断は，PFC や TP 領域のネットワークが関与していることが報告されているが，正直・不正直に関する判断において，どのようにこのネットワークが関与しているかは解明されていない。本研究では，こうしたギャップを埋めることを主たる目的とする。

（研究計画）

参加者：日本人成人を対象とする。

手続き：参加者は，まず，登場人物の顔写真が見せられ，次に短いストーリーを呈示される。ストーリーでは，登場人物がある場面で，嘘をつく，または本当のことを言う場面が呈示される。実験条件は，友人の利益のために嘘をつくまたは本当のことを言う条件であり，統制条件は，自分の利益のために嘘をつく，または本当のことを言う条件である。その後，登場人物の顔写真が再び呈示され，参加者は，その人物の言語行動が良いか・悪いかの判断および，それがどの程度良いか，どの程度悪いかが 5 段階尺度による評価が求められた。条件は，被験者内要因とする。実験は，すべて MRI スキャナーの中で実施され，1 回目に顔を見た時と，ストーリーが呈示された後の 2 回目に顔を見たときの BOLD 活動を記録する。また，人物の判断や評価時も同様に記録する。

（進捗および今後の展開）

まだ MRI の計測にまで至っていないが，呈示刺激としてのストーリーの妥当性等を検討しており，その後 MRI でのスキャンを実施する予定である。

29. 味の認知過程における自律神経系の活性化に関与する神経機構

姜　英男[1]，定藤規弘[2]，田邊宏樹[2]，佐々木章宏[2]，吉田優美子[2]，佐藤　元[1]，川上晋平[1]
([1]大阪大学大学院歯学研究科　高次脳口腔機能学講座・高次脳口腔機能統合学，
[2]自然科学研究機構生理学研究所　大脳皮質機能研究系・心理生理学部門）

カプサイシン (CAP) を含む食物を摂取すると，顔面からの発汗，唾液分泌，呼吸数・心拍数上昇等の様々な生体反応が生じることが広く経験されている。これらの現象は，消化器粘膜内の痛覚線維が CAP 刺激により活性化され，その結果，交感神経系が活性化される自律神経反射であるとされ，痛覚系の関与が示唆された（Geraghty & Mazzone, 2002）。一方，舌味蕾細胞や口腔内粘膜にも，TRPV1 受容体を発現する CAP 感受性求心性神経終末が高密度に存在する（Ishida et al., 2002）。CAP 含有食物の摂取が，こうした求心性神経を活性化し，大脳皮質味覚野（島皮質吻側部異顆粒皮質）で辛味として認知されるが，その尾側部島皮質は内臓感覚運動野であることから，島皮質内での味覚野-内臓感覚運動領野間の機能協関によりそうした自律神経反射が生じる可能性も考えられる。そこで本研究では，ヒト被験者の舌背にトウガラシエキス (香辛料抽出物 65 μ M) ，食塩水 (0.75M) の味溶液および人工唾液を滴下し，その際の脳賦活領域を測定した。Conjunction analysis により，舌への味溶液滴下を感知した感覚野の活動，その事を知らせるボタン押しを反映した運動野の活動，さらに，味溶液により引き起こされた味覚野の活動のすべてが認められた被験者 20 名において，以下の集団解析を行った。島皮質味覚野および内臓

感覚運動領野の ROI analysis を行った結果，トウガラシエキス投与は他の溶液投与に比べて有意に強い賦活を両部位で引き起こしたが，その応答は味覚野の方が大であることが明らかになった。さらに，同部位の time-course analysis を行った結果，3 種類の味溶液はともに 5 秒前後でピークに達する percent signal change (PSC) を引き起こすことが明らかになった。また，食塩水投与時の PSC から人口唾液投与時の PSC を差し引いて得られた相対的 PSC には顕著な応答は見られなかったが，同様にして得られたトウガラシエキス投与時の相対的 PSC は，溶液投与開始後 10 秒前後でピークに達した後，緩やかに減衰した。こうした所見は，トウガラシエキスの味覚受容により，島皮質味覚野および内臓感覚運動領野間で同期化した神経活動が引き起こされたことを示唆する。

30. 大脳皮質および大脳基底核による網様体脊髄路の制御

高草木薫（旭川医科大学・脳機能医工学研究センター）
梅田達也，西村幸男，伊佐　正（生理研・発達生理学研究系）

サルの一次運動野のニューロンは対側の脊髄運動ニューロンとシナプス結合を形成している。一方，運動ニューロンと同側の一次運動野が，脳卒中や脊髄損傷からの回復時に前肢の動きの間に活動することがよく知られている。しかしながら，同側皮質の興奮を運動ニューロンへと媒介する経路は，明らかとなっていない。我々はこれまでに，ストリキニン（グリシン受容体拮抗薬）の投与による抑制除去の後，運動野から対側運動ニューロンへの多シナプス性の経路の存在を発表した。本研究では，同じパラダイムに基づいて，運動ニューロンの細胞外および細胞内記録を用いて，同側皮質の興奮が運動ニューロンへと媒介される経路を検討した。

通常，延髄錐体への電気刺激によって刺激と同側の motor nucleus に興奮性のフィールド電位は誘発されないが，ストリキニンの投与後，興奮性フィールド電位が誘発された。さらに，刺激と同側の前肢運動ニューロンからの細胞内記録により，ストリキニン存在下で多シナプス性の EPSP が検出された。網様体ニューロンが同側皮質の興奮を運動ニューロンに媒介するかどうかを調べるために，同側または反対側の腹側索（網様体脊髄路）を上部頚椎レベルで切断した。同側の網様体脊髄路を切断した後でも，ストリキニンの存在下で錐体刺激による EPSP が一部のニューロンで検出された。さらなる反対側の腹側索の切断により，EPSP は検出されなくなった。以上の結果は，前肢運動ニューロンは，潜在的にサルの網様体ニューロンを介して同側の一次運動野からコマンドを受け取ることを示唆している。

今年度はこれまで 7 頭のサルから記録したデータを定量的に解析し，第 35 回日本神経科学大会で発表した。

31. 人工神経代替装置によるニューロリハビリテーション法の開発

小宮山伴与志（千葉大学大学院教育学研究科）
大塚裕之（千葉大学大学院医学研究院）
鈴木伸弥（東京学芸大学大学院連合学校教育学研究科）
笹田周作，伊佐　正（生理学研究所発達生理学研究系認知行動発達機構）

本申請では日常生活下で非侵襲的に記録された生体情報に依存した電気刺激を末梢神経に施すことによって，脳梗塞や脊髄損傷患者への歩行障害回復のためのニューロリハビリテーション法の開発を目的の一つとしている。

歩行中の下肢運動は股関節，膝関節そして足関節の屈曲伸展が協調的に繰り返される。この協調的な関節運動により，足部は身体上前方に振り出される遊脚相と身体後方に体重を支えながら蹴りだす立脚相を繰り返す。こ

の運動パターンは足底部への感覚入力により修飾される事が四足歩動物を用いた研究により明らかにされてきた。そこで本年度では健常成人被験者を用いて，歩行運動中の足底部へ歩行運動位相に依存した電気刺激を施すことにより人工的な足底の感覚入力を作り出し，歩行運動を促進しうるかを検討した。

足底への刺激は，随意的な歩行中の足部運動位相を遊脚相あるいは立脚相に分け，どちらかの運動位相で与えた。

遊脚相で刺激を行った場合，股関節及び膝関節屈曲が生じ，足部の身体上前方への運動が促進された。一方，立脚相での刺激では被験者間で共通した傾向が観られなかった。これらの結果は歩行中の遊脚相における足部の振り出し運動を促進し，歩行障害を持つ患者さんの歩行機能を改善しうる可能性を持つ。

32. コモンマーモセットにおける皮質脊髄路—脊髄運動ニューロン結合の電気生理学的解析

伊佐　正[1]，西村幸男[1]，牛場潤一[2]，吉原也真人[3]，関口智史[3]，小杉亮人[2]
([1]自然科学研究機構生理学研究所発達生理学研究系認知行動発達機構研究部門，
[2]慶應義塾大学理工学部生命情報学科，[3]慶應義塾大学大学院理工学研究科)

再生医療や遺伝子治療の研究に利用され始めたコモンマーモセットを対象に，皮質脊髄路と運動ニューロン間の神経回路とその性質を調べ，ヒトの神経損傷後の機能回復のメカニズムを理解する上で基盤となる機能解剖学的な知見を得ることを目的として，昨年度に引き続き本研究を実施した。具体的には，昨年度確立した以下の実験プロトコルにしたがい，脊髄伝導速度と脊髄内電位記録の測定をおこなった:キシラジン 100mg/kg にて鎮静，ケタミン 60mg/kg 麻酔下にて気道, 動脈, 静脈を確保し，血圧と呼気中 CO_2 濃度，直腸温をモニター。術中はα-クロラロース 60mg/kg で麻酔。頸椎 C3-C7 髄節および後頭骨を除去し，脊髄と小脳を露出。小脳を吸引除去し，露出した延髄に刺入した電極により錐体を刺激。また上肢の末梢神経を電気刺激するための電極を設置した後，臭化パンクロニウム 0.2mg/kg にて非動化。人工呼吸下で，延髄レベルでの錐体路あるいは末梢神経への電気刺激に対する脊髄運動ニューロンや介在ニューロンの応答を，脊髄表面電極および脊髄内に刺入したガラス管微小電極にて記録。

脊髄伝導速度は皮質脊髄路，網様体脊髄路，後索の 3 経路について測定し, それぞれ 25.5±0.8m/s, 66.2±5.9m/s, 33.2±6.9m/s を健常範囲と結論づけた。脊髄内電位記録に関しては，計 108 個のニューロンに対する細胞内電位応答からシナプス結合特性評価をおこない，82%の細胞において，セグメント内での 2 シナプス以上の興奮性投射構造を示唆する長潜時応答を観測した。また，局所電場電位に関して脊髄水平断面内分布を評価した結果についても，皮質脊髄路を染色した切片画像と照合し，外側皮質脊髄路からの単シナプス性の投射が中間層に多くみられること，および運動ニューロンプールが前角に局在していることなどの，解剖学的に妥当な結果が得られたことを確認した。

以上の実験から，健常マーモセットにおける脊髄伝導速度とセグメント内投射構造を同定し，実験動物として多様な用途が期待されるマーモセットの電気生理的特性を明らかにした。

33. 脳損傷後の麻痺肢集中使用による中枢神経系再編への影響の解析

飛田秀樹，石田章真（名古屋市立大学大学院医学研究科脳神経生理学分野）
梅田達也，伊佐かおる，伊佐　正（生理学研究所認知行動発達部門）

近年，脳血管障害後の上肢運動機能障害に対する有効なリハビリテーション方策として，CI 療法に代表される麻痺側上肢の集中的使用が注目されているが，その詳細な作用機序は明らかになっていない。前年度までの検討により，内包出血後の麻痺肢集中使用は運動野前肢領域を拡大し，運動機能回復を促進することが示唆された。本年度はそれを受け，拡大した運動野前肢領域からの軸索投射が中枢神経系の部位に投射しているかを確認した。

方法として，Wistar 系雄ラットの運動野の前肢領域部に皮質内微小電流刺激用のチャンバーを取付けた。7 日後に同側内包部に collagenase (type IV, 15 U/ml, 1.4μl) を注入し内包出血モデルを作成した。出血後 1-8 日目に非麻痺肢を拘束し麻痺肢のみ使用を可能にした。出血後 12 日および 26 日目に運動機能評価（リーチ・ステップ機能）を行った。出血の 5 日前および 1, 10, 24 日後に皮質内微小電流刺激法にて出血側運動野のマッピングを行った。全評価終了後，出血側運動野の吻側部および背側部に順行性トレーサーの biotin dextran amine (BDA) を注入し (0.5μl, 2 points)，3 週後に深麻酔下にて経心的に脱血および paraformaldehyde 固定を行い，脳及び脊髄を取り出した。クライオスタットを用いて 40μm 厚の冠状切片を作成した後, avidin-biotin complex 法および diaminobenzidine にて発色させた。その後，顕微鏡下にて染色された軸索を観察した。

その結果，内包出血を生じさせたラットでは皮質脊髄路が大きく傷害されており，頚髄まで到達する軸索は殆ど確認できなかった。内包出血後に麻痺肢を集中使用させたラットにおいても同様であり，大規模な皮質脊髄路の再生・再建は生じていない示唆された。しかし，麻痺肢集中使用群では，出血のみの群に比べ出血同側の赤核に豊富な投射が確認された。

以上の結果より, 内包出血後の麻痺肢集中使用により，運動野前肢領域が拡大し，その領域から同側赤核に向け豊富な投射が生じていることが示唆された。これらの成果を受けて，現在は伊佐研究室にて開発された，ウィルス二重感染による選択的経路遮断法 (Kinoshita et al., Nature, 2012) を用い，赤核を中心とした神経回路の再編と運動機能改善の因果関係を確認すべく研究を行っている。今後も麻痺側上肢の使用と中枢神経系の可塑的変化について多面的な解析を行い，より有効なリハビリテーション法の開発に繋がる知見を見出すべく研究を行う所存である。

34. ワイヤレス埋込装置を用いたマカクザルの脳信号計測・解析

平田雅之，松下光次郎（大阪大学大学院医学系研究科）
鈴木隆文，安藤博士（情報通信研究機構）
西村幸男，梅田達也，渡辺秀典（生理学研究所）

我々は現在，ヒト用体内埋込型ブレインマシンインターフェースに用いる高密度脳表電極とワイヤレス体内埋込型多チャンネル脳波計測装置を開発している。本研究では，試作した高密度脳表電極とワイヤレス体内埋込型多チャンネル脳波計測装置をマカクザルに長期間埋込み，その安全性を評価することを目的とした。

平成２４年１２月～３月にかけて，計４頭のマカクザルに全身麻酔下，高密度脳表電極とワイヤレス体内埋込型多チャンネル脳波計測装置の埋込手術を行った。

２頭とも術後経過良好で皮質脳波が安定して計測されたが，３頭目は術後８２日目以降, 埋込装置から脳波データが受信不可能となった。そこで，，装置を取り出し，故障原因を調べた。頭部の集積化アンプから腹部ワイヤレス通信回路へつながる皮下ケーブルの断線，もしくは浸水による集積化アンプ入力部の絶縁性低下が疑われた。４頭目は現在５ヶ月を経過しているが，良好に動作して

いる。

１ヶ月以上の長期埋込を行った３，４頭目に関して安全性を評価した。いずれも埋込期間中，埋込部に皮膚瘻孔形成を認めなかった。３頭目は埋込中明らかな安全性に関わる有害事象を認めなかった。４頭目は１４１日目に痙攣発作を生じた。

４頭目は６ヶ月終了まで引き続き評価を継続する予定である。

35. 視床下部室傍核における摂食・代謝調節ペプチドの概日リズム形成機構と AMPK の役割

矢田俊彦，Sedbazar Udval，中田正範，前島裕子，Gantulga Darambazar
（自治医科大学医学部生理学講座統合生理学部門）
箕越靖彦（生理学研究所生殖・内分泌系発達機構研究部門）

ヒト肥満・過食はリズム障害を伴うことが多いことが最近の研究で明らかにされている。従って，摂食概日リズムとその形成機構の理解は肥満・メタボリックシンドロームの成因解明に極めて重要である。Nesfatin-1(Nesf)は 2006 年に報告された摂食抑制ペプチドで, 脳内の多くの神経核に分布するが，摂食抑制作用においては室傍核(PVN)の Nesf が重要であることが知られている。本研究は，PVN Nesf の発現リズムと摂食パターン，その制御因子および肥満，過食との関係について調べた。

正常 Wistar ラットの摂食は，暗期に亢進し，明期に抑制される。PVN Nesf の日内変化は, 明期初期に PVN Nesf mRNA 発現は亢進しており, 暗期には低下していた。従って, PVN Nesf mRNA 発現リズムと摂食リズムは逆相関することが明らかになった。さらに明期に Nesf 中和抗体を脳室内投与すると摂食量が亢進し，暗期の投与は摂食に影響しなかった。これらのことから，明期の Nesf の発現上昇が摂食抑制をもたらすことが示唆された。さらに shRNA により PVN Nesf を局所的にノックダウンすると摂食量の亢進が見られた。以上の結果から，明期初期の PVN Nesf 発現上昇は，明期の摂食抑制をもたらし，摂食概日リズム形成に関与することが示された。

一方レプチン抵抗性を示す肥満・過食モデル動物である Zucker-fatty ラットにおいては，明期の PVN Nesf 発現上昇が障害されており，明期摂食量および 1 日摂食量の亢進が顕著であった。そこで明期に Nesf を脳室内投与すると，明期および 1 日の過食は軽減された。

次に PVN Nesf 発現を制御する因子について検討した。PVN Nesf ニューロンに食事誘発性因子であるインスリンおよび高グルコースを作用させると細胞内 Ca^{2+}の増加が見られた。この結果から PVN Nesf の発現リズムの制御因子の一つとしてインスリンやグルコースが考えられた。

以上の結果より, PVN Nesf 発現リズムが概日摂食リズムを形成する重要な要素であり, PVN Nesf 発現を制御する因子の一つに食事誘発性のインスリンやグルコースが示唆された。さらに Nesf の投与は，肥満に伴う摂食リズム障害および過食に対する有効な治療となる可能性が考えられる。

36. 情報欠落のない新たな生物試料電子線トモグラフィー法の開発と応用

馬場則男（工学院大学　情報学科　コンピュータ科学科）
馬場美鈴（工学院大学　総合研究所　産学共同研究センター）

電子線トモグラフィー法は，一般に試料傾斜角度制限による情報欠落問題("missing-wedge")を抱えており, 断層像における，奥行方向の解像度の劣化や偽像が課題となっている。特に複雑な構造体を有する生物試料においては課題が大きく，例えば，連続した膜構造があっても水平方向およびそれに近い領域の構造がほとんど再構成

されない。

本研究課題では，申請者が最近考案した非線形離散濃度階調再構成法をこのような生物系試料の課題を解決するために応用し，その再構成手法を改良・進展させることを目的とした。既に，その非線形再構成法を組成数の少ない（少ない階調数）ナノ複合体材料に応用して，情報欠落問題をほぼ解決できたが，連続階調から成る生物試料の断層像に適応するには，非線形再構成法の濃度階調数を充分に大きくしなければならない。この手法の改良が課題であった。

改良の結果，演算効率の良いアルゴリズムが考案された。本再構成法では，濃度表現の基本である量子化単位（画素単位）を，次の要件を満足するように画像内に配置して断層像を再構成する。要件１：全方位の投影データを満足する；２：等濃度断面は複数連続領域から形成される。このため，一般の 256 階調とするには，非常に多くの量子化単位（例えば数百万個）の配置演算を必要とするため, 単純な演算方法では処理時間が膨大になる。そこで，2 値化像から始めて 4，8 階調と階調数を累乗で増やす方法を考案した。それぞれの階調においても最小誤差規範による収束は可能である。従って，その収束後に，階調数を 2 倍にして（量子化単位も 2 倍）再び配置演算を収束するまで行う。これにより，演算ステップ数を概ね階調数の N から $\log_2 N$ に大きく削減した。シミュレーションとモデル試料（材料系）でこの方式がよく機能することを確認した。

今後の課題・計画：上記の改良をさらに実用化し，生物試料に応用する。これには更なる課題として，試料傾斜に伴い視野外が入り込む問題の解決がある。支持膜上の試料や切片試料がほとんどであることによるが，簡便な対処法として，再構成する範囲を視野外も含めて広くすることと，視野外の再構成部分について何らの画像処理等によって視野内に影響しないように工夫することが考えられる。少なくとも支持膜であれば厚みが無視できるので実現性が高い。これらについて重要性の高いものから進める予定である。

37. DNA およびクロマチン高次構造の電子顕微鏡による解析

加藤幹男（大阪府立大学高等教育推進機構）
根岸　豊（横浜市立大学大学院生命ナノシステム科学研究科）
臼井健悟（理化学研究所横浜研究所オミックス基盤研究領域）
村田和義（生理学研究所）

DNA は，ゲノム機能を発現する過程で，その立体構造が多様に制御されている。本研究では，高次の DNA-タンパク質複合体としてのテロメア構造と, DNA 配列そのものに由来する局所の DNA 立体構造の解析を電子顕微鏡によって行った。

テロメアは T-loop という特殊な高次構造を形成しゲノム DNA を保護することが知られているが，染色体内でのテロメア構造を観察した例は無い。我々は，テロメア DNA をビオチン化テロメア PNA プローブと蛍光／金粒子架橋ストレプトアビジンで標識後，超高圧電子顕微鏡(HVEM)で観察し，染色体内におけるテロメアの高次構造の可視化を試みた。これまで，観察時に染色体の変性が認められた点，低加速電圧では染色体内部における金粒子検出が不可能な点が問題であった。今年度は HVEM による染色体内部での金粒子標識の評価，及び金粒子標識法の改善による染色体変性への影響を調べた。HVEM による観察では, 染色体内部の金粒子の検出が達成され，テロメアが存在する染色体末端に金粒子の標識が認められた。しかし，染色体末端以外にも非特異的に標識された金粒子が散見された。次に染色体試料への PNA プローブ標識法について検討した。従来の液中での操作から，スライドグラス上での固定条件に変更した結果，電子顕微鏡観察において染色体構造の保持に改善が認められた。今後, 蛍光／金粒子標識時の特異性に関する検討を加え，これまでに決定した観察条件を踏まえた真のテロメアをより反映した構造観察を目指す。

局所の DNA 構造は，配列や環境（超らせん度，温度，イオン強度, pH など）に応じてダイナミックに変化する。そこで，局所の DNA 構造を高い分解能で観察するための方法を確立するため, 鎖長約 130 塩基対の二本鎖 DNA

をモデル分子として，一方の端からオリゴ DNA を侵入させた鎖置換構造を調製したものを観察の対象とした。侵入オリゴ DNA の 5’末端と，標的となる二本鎖 DNA のうちオリゴ DNA と同じ側の鎖の 5’末端にビオチン化標識を付け，さらにストレプトアビジン化したものを酢酸ウラン標識後，透過型電子顕微鏡にて観察した。その結果，130 塩基対に相当する長さ（約 40nm）の構造に，二個のストレプトアビジンと思われる径約 10nm の構造が付いたものが観察され，二本鎖 DNA の配列特異的な標識と検出が可能であることが示された。

学会発表（国際学会）

1. Negishi, Y., et al., Analysis of telomere structure in human chromosome by coherent X-ray diffractive imaging. Coherence 2012, International Workshop on Phase Retrieval and Coherent Scattering, 18-21-June, 2012, Fukuoka, Japan.

38. 随意運動発現を司る神経機構の研究

美馬達哉（京都大学大学院医学研究科）
島津秀紀（マサチューセッツ工科大学）
礒村宜和（玉川大学）
達本　徹

これまでに随意運動発現の中枢神経機構を解明する目的でニホンザルの大脳皮質フィールド電位を記録解析し，ベータ周波数領域の律動的神経活動が体性感覚野から運動野を経由して筋活動をコントロールしていると解釈できる知見を得た。律動的神経活動が中枢神経の情報処理機構において重要な役割を担っている可能性を示唆する結果である。この点をさらに検討する目的で，多様な状況下での律動的神経活動を測定するための研究を開始した。実験にはニホンザルを用い，自由行動中の大脳皮質フィールド電位を，脳内に埋め込んだ電極からテレメータを使用して記録した。また同時に，サルの行動を赤外線ビデオ装置を用いて記録した。解析の結果，睡眠相の変動と相関して，海馬のデルタ，シータ，ガンマの各周波数領域の律動波が相互に相関しながら特徴的な変動を示すことを見いだした。この変動が可塑性や学習などの睡眠の生理学的機能と考えられているものと関係しているのかどうかについて，今後さらに研究を進めたい。

39. fMRI による自律神経活動の四次元イメージング解析

瀬尾芳輝，佐藤慶太郎，荻野孝史（獨協医科大学　医学部）
森田啓之，安部　力（岐阜大学　大学院医学研究科）
鷹股　亮（奈良女子大学　生活環境学部）
丸山　正，藤倉克則，滋野修一（海洋研究開発機構，海洋生物多様性研究プログラム）
村上政隆（生理学研究所）

脳機能画像法(fMRI)により，自律神経中枢の神経活動を空間的・経時的に測定し解析する事を目標とし，ラットを用い，視床・視床下部・延髄における体液や循環などの自律神経機能中枢について解析してきた。また，深海性無脊椎動物（多毛類，貝類）をターゲットして，自律神経活動の四次元イメージング計測を進め，高イオン強度・高圧環境での MRI 測定に必要な技術開発，および，造影剤の開発も行う計画であった。年度当初から深海性無脊椎動物の実験が始動し，加えて，箕越研の遺伝子操作マウスの脂肪画像測定プロジェクトへの協力も開始され，順調な立ち上がりであった。

しかしながら，6 月末に超伝導磁石が突如クエンチし

た。メーカーによる調査の結果，主要にメーカーサイドの技術的問題により再励磁を諦めざるをえない事となった。幸いデータステーションや分光器は生きており，過去の測定データの分析を進め，Contrast Media & Molecular Imaging 8(2):140-146, 2013 などの論文として発表することができた。

19 年間の研究成果を総括するために，2013 年 2 月 28 日－3 月 1 日に「生理研磁気共鳴共同利用実験総括会議 2013」を行った。8 研究グループからの研究成果報告と討論を行い，技術課長およびメーカーからも，技術サポートの観点から，報告を頂いた。報告書を作成したので，ご希望の方は，村上政隆(masataka@nips.ac.jp)あてに連絡頂きたい。

プロジェクト途中での研究中断は，大変に残念ではあるが，今後も別な機会で再開できることをのぞんでいる。

40. 唾液腺分泌終末における細胞間結合の調節機構：細胞内信号系と神経系による調節

杉谷博士[1]，福島美和子[2]，成田貴則[1]，岡林　堅[1]，松浦幸子[1]，
佐藤慶太郎[3]，橋本貞充[4]，瀬尾芳輝[3]，村上政隆[5]
([1]日本大学・生物資源科学部・獣医生化学研究室，
[2]日本大学・松戸歯学部・生理学講座，
[3]獨協医科大学・生理学講座，
[4]東京歯科大学・生物学講座，
[5]自然科学研究機構・生理学研究所)

唾液分泌に関わる因子の機能を，唾液分泌不全動物を用いることにより検討した。従来唾液分泌低下症モデルとして用いられていた非肥満性糖尿病 （NOD）マウスを用いて，転写因子である E2f1 遺伝子をノックアウトした NOD.E2f1$^{-/-}$マウスが作成されていた。しかし，このマウスは唾液分泌低下は示したが，糖尿病を発症しているため，唾液分泌低下の原因を特定するのが難しかったため，さらに重度免疫不全（SCID）化により糖尿病を発症しない NOD/SCID.E2f1$^{-/-}$マウス（変異マウス）を作成した。変異マウスに唾液分泌促進薬であるピロカルピンの腹腔内投与を行い，分泌された唾液をペーパーポイントに吸収させ，その重量を測定することで唾液分泌量を測定すると，ピロカルピン刺激による唾液分泌量は変異マウス群では対照群に比べ低下した。唾液腺の組織学的検討により，変異マウス群の顎下腺では対照群に比べて導管の占める割合の若干の増加と，腺房の占める割合の若干の低下が認められた。唾液分泌はムスカリン性アセチルコリン受容体刺激により惹起されるため，ムスカリン性受容体のサブタイプ（M1~M3）の mRNA 発現をリアルタイム PCR にて検討を行ったところ，変異マウス群と対照群間に差は認められなかった。唾液腺における経細胞水輸送および傍細胞水輸送に関わるとされるタンパク質の発現をウエスタンブロット法により検討したところ，経細胞系水輸送において重要な役割を担うとされるアクアポリン 5 (AQP5)の発現が，対照群と比べ変異マウスの唾液腺において低下が認められた。AQP5 の局在を免疫組織学的に検討したところ，対照群では唾液腺腺房細胞の腺腔側膜に明確に局在するが，変異群においては細胞質側に拡散した像が観察された。抗 AQP5 抗体を用いて免疫沈降を行い，抗ユビキチン抗体で検出したところ，変異マウス唾液腺において AQP5 のユビキチンバンドが検出された。抗ユビキチン抗体で免疫沈降を行い，抗 AQP5 抗体による検出においても同様な結果が得られたことから，変異マウス唾液腺においては AQP5 のユビキチン化が起こっていることが示唆された。以上のことから，NOD/SCID.E2f1$^{-/-}$マウスが唾液腺機能不全マウスモデルとして利用できること，また，唾液腺分泌機能不全に AQP5 の局在の変化とユビキチン化が関与することが考えられた。

41. 精神遅滞原因遺伝子 IL1RAPL1 欠損マウスの表現型解析

安村美里，吉田知之，三品昌美（東京大学大学院医学系研究科　分子神経生物学）
高雄啓三，宮川　剛（生理学研究所・行動様式解析室）

神経回路網の基盤はシナプスであり，その破綻は精神疾患の発症に関与していると考えられている。IL1RAPL1 はＸ染色体連鎖型非特異的精神遅滞の原因遺伝子として同定され, 自閉症家系においても変異が報告されている。我々の研究室では，培養神経細胞を用いた実験により，IL1RAPL1 が興奮性シナプスの形成能を有していることを見出している。また，IL1RAPL1 遺伝子欠損マウスの海馬や大脳皮質でスパインの数が減少していることも観察している。平成２３年度より IL1RAPL1 遺伝子欠損マウスが精神神経疾患の病態解明に有用なモデルマウスとなりえるのかどうかを検証するため，本共同研究において網羅的な行動テストバッテリーを実施している。平成２４年度は，IL1RAPL1 の欠損がマウスの記憶・学習に与える影響について解析した。参照記憶や作業記憶への影響を見るために八方向放射状迷路，バーンズ迷路，T 字迷路を行った。その結果，IL1RAPL1 遺伝子欠損マウスは与えられた課題を行うことはできるが，野生型マウスに比べ学習速度が遅く，長期的に記憶を保持できず，記憶･学習に若干の障害があることがわかった。さらに，恐怖条件付け学習においても障害が起こっていることがわかった。また，バーンズ迷路と T 字迷路を用いて IL1RAPL1 遺伝子欠損マウスが固執傾向を調べたところ，バーンズ迷路では固執傾向を示さなかったが，T 字迷路では示すことがわかった。

今後は，本共同研究で明らかになった表現型がどの脳部位に発現している IL1RAPL1 に起因するのかを調べていく予定である。

42. てんかん・発達障害原因遺伝子 CDKL5 ノックアウトマウスの網羅的行動テストバッテリースクリーニングによる生体内分子機能解析

田中輝幸, 奥田耕助（東京大学大学院医学系研究科　発達医科学教室）
高雄啓三，宮川　剛（生理学研究所・行動様式解析室）

（目的）*Cyclin-dependent kinase-like 5 (CDKL5)*は，West 症候群と非定型 Rett 症候群という，てんかんを伴う発達障害の原因遺伝子として近年同定された, Xp22 に位置する遺伝子であるが, その生体内分子機能と loss-of-function による病態機序はほとんど分かっていない。当研究室では, *CDKL5* 遺伝子変異による病態機序解明のため, *Cdkl5* ノックアウト(KO)マウスを作製し表現型解析を行い，生理学研究所　行動・代謝分子解析センター　行動様式解析室との共同研究によって，これまでに *Cdkl5* KO マウスにおける不安様行動の亢進，うつ様行動の亢進，社会的行動の変化，恐怖条件付けにおける般化の亢進，24 時間活動性の変化と言った行動異常と，バーンズ迷路試験による長期記憶の障害を同定した。H24 年度は，更に本マウスの記憶・学習機能の詳細な評価と，情動異常のメカニズム同定を目的とした行動解析実験を行った。

（方法）C57BL/6N バックグラウンドの *Cdkl5* KO 雄マウス及び同腹仔の野生型雄マウスを各２０匹用意し，Y 字型迷路試験，T 字型迷路試験を行った。更に，benzodiazepine 系 GABA 受容体作動薬 diazepam を投与し，明暗選択試験，オープンフィールド試験，高架式十字型迷路試験を行った。

（結果）Y 字型迷路試験では，*Cdkl5* KO マウスは野生型コントロールマウスと比較して，全移動量の増加が認められたが，全移動量に対する正方向 arm への移動量には有意な変化はなかった。一方，T 字型迷路試験は，10 回の迷路試験を 1 トライアルとして，合計 3 トライアル行ったが，全てのトライアルにおいて，KO マウスでは正方向 arm を選択する割合が野生型マウスに比して有意に低い結果が得られた。diazepam 投与による明暗選択試験と高架式十字型迷路試験では，KO マウス，野生型マ

ウスとも diazepam による改善効果は認められなかった。

（考察）*Cdkl5* KO マウスは，T 字型迷路試験で有意な異常を示し，作業記憶の障害を持つことが明らかとなった。一方，GABA 作動性薬物では KO マウスの不安様行動の亢進は rescue されず，その異常メカニズムは興奮性シナプス，モノアミン系等，他の部位にあることが示唆された。今後，記憶障害及び情動異常のメカニズムの解明を，海馬，シナプス機能，モノアミン受容体解析などにより進める予定である。

43. Neuropathic pain related protein (NPRP)欠損マウスを活用した精神疾患の中間表現型の解明

片野泰代，伊藤誠二（関西医科大学・医化学講座）
高雄啓三，宮川　剛（生理学研究所・行動様式解析室）

難治性疼痛の一つである神経障害性疼痛は末梢神経損傷を起因として発症し，長期にわたってアロディニアなどの異常感覚を伴う中枢性感作が生じる。我々は，本病態に関わる分子として Neuropathic pain related protein (NPRP)を同定した。

NPRP の中枢神経系における生体内での機能を明らかにするために，「網羅的行動テストバッテリー」を実施し，創薬の標的分子としての有効性を評価することを目的とし実施した。

「網羅的行動テストバッテリー」では感覚・知覚，運動，情動，睡眠・リズム，注意，学習・記憶，社会的行動など，様々な行動領域で用いられている代表的なテストを組み合わせて実施することから，NPRP 欠損マウスにおける特徴と影響を鑑別できる。

行動解析ではヘテロ同士の交配によって得られる産仔の♂のみを解析動物として使用する。その際に得られた仔の遺伝子型は野生型，ヘテロ，ホモのそれぞれがおよそメンデルの法則に従って得られた。そのことから，発生には影響を及ぼさないと考えられる。また野生型とホモの NPRP 欠損マウスでは運動量，運動能力には有意差は認められなかった。しかしながら，NPRP 欠損マウスは，野生型に比べやや体重が軽く小さかった。さらに，Light/dark transition，Open field そして Elevated plus maze からやや不安様行動に乏しい傾向が認められた。

他方，神経傷害性疼痛における脊髄での中枢性感作は海馬における記憶・学習と同様の機序を有する事が知られている。その事から，NPRP は脊髄後角と海馬の両方でシナプスの可塑性に関連する可能性があり，記憶・学習の関連分子であることが予想される。

そのことから，Barnes maze による記憶・学習試験をおこなったところ短期の記憶に僅かに低下傾向を示している。そのことから，記憶・学習における NPRP 欠損マウスの影響を明らかにするために，2nd バッチを実施し来年度からの解析によって明らかにする予定である。

44. 霊長類味覚に対する TRP チャネルの役割

今井啓雄，鈴木南美（京都大学霊長類研究所）
齋藤　茂，富永真琴（自然科学研究機構生理学研究所）

本研究では霊長類の味覚に対する TRP チャネルの役割を検討するため，平成 24 年度は以下の実験を行った。

まず，ニホンザルの行動実験の結果，特定の苦味（Phenylthiocarbamide，以下 PTC）に対する受容体（TAS2R38）を遺伝的に欠損した個体［文献１］でも，高濃度の PTC に対して忌避反応を示すことが研究の発端となった。当初は，他の苦味受容体や嗅覚受容体がこの忌避反応に関与する可能性を考えていたが，富永教授・斎藤特任助教により，TRP チャネルが関わっている可能性を示唆され，ニホンザルのＴＲＰチャネルが PTC

受容に関わっている可能性を検討した。

そこで，ニホンザルの舌から調製した total RNA より TRP チャネル complementary DNA をクローニングし，アフリカツメガエル卵母細胞用の発現ベクター（pOX+）に組み込んだ。このベクターを基に生理学研究所で in vitro transcription により complementary RNA を作製し，それを卵母細胞に注入してタンパク質を強制発現させた。数日後に，電位固定法で様々なリガンドに対する応答を計測したところ，PTC に対しても反応する卵母細胞が複数観察された。来年度以降は，実験を継続して濃度―応答曲線を得て，行動実験の結果と比較するとともに，アゴニスト・アンタゴニスト等，他のリガンドに対する応答特性も検討し，ニホンザルの味覚に対する TRP チャネルの役割を検討する予定である。

［文献１］今井啓雄，鈴木南美（2013）「生息環境に応じた感覚受容体の機能進化」生物物理（印刷中)

【 計画共同研究報告 】

計画共同研究報告

〔 目　　次 〕

1. キメラ動物作製法を利用した小脳構築原理の解明（金子涼輔ほか）…… 189
2. 骨形成因子（BMP）阻害蛋白質 CHRDL 1 のコンディショナルノックアウトマウス作製（山岸　覚ほか）…… 189
3. 脳領域特異的なコンディショナルなメタスチンノックアウトマウスの作製とその解析（前多敬一郎ほか）…… 190
4. 肥満・糖尿病発症メカニズムに関与する遺伝子発現調節領域の動物個体レベルにおける解析（高橋信之ほか） 190
5. 神経回路形成におけるクラスター型プロトカドヘリンの機能解析（八木　健ほか）…… 191
6. コンドロイチン硫酸プロテオグリカンの合成抑制による脳高次機能の異常の解析（五十嵐道弘ほか）…… 192
7. 網羅的行動テストバッテリーを用いた *Septin* 欠損マウスの解析（上田(石原)奈津実ほか）…… 192
8. 視覚異常マウスを活用した中間表現型の解明（小池千恵子ほか）…… 193
9. 乳幼仔・小児・成熟個体におけるナノマテリアルの情動・認知行動毒性学的評価（森下裕貴ほか）…… 193
10. 脳特異的セリン合成不全マウスを活用した精神疾患の中間表現型の解明（古屋茂樹ほか）…… 194
11. Nestin-NDI マウスを活用した精神疾患の中間表現型の解明（植田弘師ほか）…… 195
12. オプトジェネティクスを用いた正中縫線核セロトニン神経による海馬 θ 波の制御メカニズムの解明
（大村　優ほか）…… 195
13. インスリン受容体シグナル異常による肥満抵抗性糖尿病発症機序の解明（三木隆司ほか）…… 196
14. 摂食調節ペプチドによるエネルギー代謝調節の研究（塩田清二ほか）…… 197
15. 筋機械痛覚過敏の発症と維持におけるイオンチャネルの役割（片野坂公明ほか）…… 197
16. 興奮性神経伝達による基底核神経回路の機能制御の解明（渡邉　大ほか）…… 198
17. 視床下核アストロサイトによる運動制御機構の電気生理的解析（辰巳晃子ほか）…… 198
18. 先天的な恐怖反応を制御する線条体神経回路の解明（小早川令子ほか）…… 199
19. TRP チャネルが担う中枢性呼吸調節機構の解明（平田　豊ほか）…… 200
20. 中枢性エネルギー代謝調節系における分子メカニズム基盤に関する生理学的研究（中里雅光ほか）…… 200
21. 代謝生理生体リズムに見られる超日周期リズムと脳内オレキシン神経系の役割の解明（大塚曜一郎ほか）… 201
22. 海馬神経回路の左右非対称性を生み出すメカニズムの解明（川上良介）…… 201
23. ハイブリッド顕微鏡用環境制御セルの開発（箕田弘喜ほか）…… 202
24. 光学・電子顕微鏡を用いた血小板活性化過程の統合イメージング（最上秀夫ほか）…… 203
25. 多光子顕微鏡を用いた嗅覚障害とその回復時におけるニューロンのターンオーバーの可視化解析
（澤本和延ほか）…… 204
26. 再生・新生した腸管神経細胞機構の in vivo 可視化解析および神経新生機構の解析（高木　都ほか）…… 204
27. 新規鞭毛輸送(IFT)タンパク質 MIP-T3 の細胞における機能解析（北里海雄ほか）…… 205
28. マカクサル運動皮質損傷後の機能回復にともなう代償的運動出力経路の解明（肥後範行ほか）…… 206
29. 遺伝子改変サルモデルを用いた大脳基底核の機能と病態の解明（高田昌彦ほか）…… 206
30. 霊長類脳遺伝子発現抑制実験への PET 分子イメージング法の応用（尾上浩隆ほか）…… 207
31. メラノプシンの構造揺らぎと機能発現の相関（古谷祐詞ほか）…… 207
32. マスト細胞に発現する TRP チャネルの分子病態生理学的役割の検討（門脇　真ほか）…… 208
33. 新規神経ペプチド QRFP の睡眠–覚醒調節における役割の解明（岡田ゆふ子ほか）…… 208
34. マウス脳幹・脊髄運動神経回路網の光遺伝学を用いた機能解析（西丸広史ほか）…… 209
35. 光操作によるセロトニン神経系の母性行動制御機構の解明（菊水健史ほか）…… 210

36．性周期制御における GABA 興奮性作用の役割（渡部美穂ほか）…… 210
37．母子解離マウスのマイクログリアがシナプス可塑性に与える影響について（高鶴裕介ほか）…… 211
38．DBZ KO マウスを活用した精神疾患の中間表現型の解明（服部剛志ほか）…… 212
39．コヒーシン欠損マウスを活用した精神疾患の中間表現型の解明（藤田　幸ほか）…… 212
40．QRFP 欠損マウスの行動解析による QRFP の生理学的役割の解明（山中章弘ほか）…… 213
41．電位センサーを持った機能未知タンパク質の記憶・学習に与える影響の解析（岡村康司ほか）…… 213
42．Cyclin-dependent kinase-like 5（CDKL5）ノックアウトマウスに対する薬物投与反応の行動解析による
機能障害パスウェイ同定（田中輝幸ほか）…… 214

1. キメラ動物作製法を利用した小脳構築原理の解明

金子涼輔（群馬大学大学院医学系研究科）
平林真澄（生理学研究所）

哺乳類の脳の形態やサイズは動物種ごとに異なる。しかし，その構築原理には不明な点が多い。本研究では動物種ごとに異なる脳形態が作られるメカニズムに着目し，哺乳類脳の形態形成に関わる新たなメカニズム解明を目的とする。まず，マウスとラットの小脳の差異をモデル解析系とする。そのため，キメラ動物作製法を用いてマウス頭蓋内にラット ES/iPS 細胞由来の小脳を作り，その形態を解析する。具体的には小脳欠損マウス（Cerebelless マウス，国立精神神経医療研究センター星野幹雄博士との共同研究）3.5 日胚にラット ES/iPS 細胞を注入し，異種キメラ動物を作製する。

今年度は異種キメラ動物の作製法および解析法の確立を目的として①Cerebelless マウス 3.5 日胚採取，②ラット ES/iPS 細胞株の選択，③小脳形態解析系の確立を行った。

①Cerebelless マウス 3.5 日胚採取：本実験では Cerebelless アリルをホモに有する 3.5 日胚が多数必要となる。まず，採取法の最適化を行った。ホモ Cerebelless マウスは不妊とされていたが，飼料および飼育法の最適化によりホモ接合体オスメス共に交配可能となった。しかし，ホモオスは精子状態が悪く自然交配・体外受精共に低成績であった。そのため，ヘテロオスとホモメスとの自然交配により 3.5 日胚を採取した。現在までに５１個の胚を凍結した。継続して採卵と凍結を実施している。

②ラット ES/iPS 細胞株の選択：野生型マウス胚とのキメラ率を指標として，最適なラット ES/iPS 細胞株を選択した。その結果，蛍光タンパク質 Venus を恒常的に発現するラット iPS 細胞株のうち１ラインが高寄与率キメラ動物作製に適していることを見いだした。

③小脳形態解析系の確立：野生型マウスを用いて小脳形態解析系の確立を行った，灌流固定した小脳の組織切片観察，各種マーカー抗体での免疫染色条件確立（カルビンジン，パルブアルブミン，VGAT，VGLUT2 およびラット細胞マーカーとして GFP），小脳ニューロンへの細胞内注入によるニューロン形態の可視化方法を検討した。いずれも実験条件が確立できた。

2. 骨形成因子（BMP）阻害蛋白質 CHRDL１の コンディショナルノックアウトマウス作製

山岸　覚（浜松医科大学　医学部）
冨田江一，平林真澄（生理学研究所）

骨形成因子(BMP) は，骨形成だけでなく，成長因子，サイトカイン，モルフォゲンとしても機能する重要な因子である。BMP は局所的に作用するが，受容体を発現している細胞は多く存在するので，ターゲット以外の細胞に作用してしまう可能性がある。この副作用を抑制し，適材適所で機能する為には，BMP の厳密な濃度調節が必要である。Chordin に代表される BMP 阻害因子は，細胞外で BMP と結合することにより，BMP の効果を減弱し，微妙な濃度調節を行っている。Cordin 以外の BMP 阻害因子としては，Noggin，follistatin，CHRDL が知られている。

CHRDL1 は神経幹細胞からグリア細胞の分化を抑え，神経細胞を分化させる機能が知られている [1)]。また，X 染色体関連巨大角膜症の発症に拘わっている事が報告されている [2)]。更には，他の BMP 抑制因子の機能から，胚軸形成や血管形成，軸索伸張誘導にも関連していると予想される。しかしながら，実際の機能は未解析であり，不明な点が多い。

そこで我々は，未だに CHRDL１ノックアウトマウスの論文報告が無い事に注目し，CHRDL１のコンディシ

ョナルノックアウトマウス作製し，生体内での CHRDL１の機能を明らかにすることとした。

CHRDL1 コンディショナルノックアウトマウスのターゲティングベクターは，アメリカの KOMP (knockout mouse project)から購入した。ターゲティングベクターはX染色体上にある CHRDL１の遺伝子 exon2, exon3 に loxP 配列が挿入され，Cre 存在下で組換えが生じ，フレームシフトを起こすようにデザインされている。

ES 細胞へのエレクトロポレーションが行われ，2012 年度は 144 個のクローンが得られ，サザンブロッティングによりスクリーニングが行われた。5'側と 3'側において２つの異なるプローブを用いて行い，３つのポジティブクローンを得る事ができた。

現在，キメラマウスを作製中であり，順次掛け合わせてジャームライントランスミッションを確認し，コンディショナルノックアウトマウスを得る予定である。

1) Ueki et al., J. Neurosci., 2003
2) Webb et al., Am. J. Hum. Gen., 2012

3. 脳領域特異的なコンディショナルなメタスチンノックアウトマウスの作製とその解析

前多敬一郎，束村博子，上野山賀久，美辺詩織，笹嶋俊介（名古屋大学大学院生命農学研究科）
平林真澄（生理学研究所）

メタスチン（キスペプチン）は GPR54 の内因性リガンドとして発見された神経ペプチドである。このペプチドを含むニューロンは，性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) の分泌を制御し，卵巣から分泌されるエストロジェンの GnRH ニューロンへのフィードバック作用を仲介するニューロンとして注目されている。

メタスチンニューロンは，齧歯類の脳内ではふたつの集団を形成し，ひとつは前腹側室周囲核 (AVPV) に，もうひとつは視床下部弓状核 (ARC) にある。AVPV のキスペプチンニューロン集団はエストロジェンの正のフィードバックを仲介し，排卵制御に関与し，ARC の集団は GnRH のパルス状分泌を制御しており，卵胞発育を制御することで生殖機能全体の中枢として機能していると考えている。本研究では，ふたつのメタスチンニューロン集団の生理的役割を明らかにするため，Cre/loxP システムを用い，それぞれのメタスチンニューロン集団で特異的にメタスチン発現を欠損するようなコンディショナル KO マウスの作出をめざし，Cre リコンビナーゼ発現マウスおよび Kiss1-floxed マウスを作製している。すでに，Kiss1-floxed マウスの作製に成功している。

一方，緑色蛍光蛋白質 (GFP) を用いた in vivo reporter assay を行い，ARC 特異的な GFP 発現 Tg マウスに続いて，AVPV 特異的な GFP 発現 Tg マウスの作出に成功し，メタスチンニューロンの各集団に Cre リコンビナーゼを発現させるための脳領域特異的な Kiss1 発現エンハンサー領域を同定した。続いて，この知見をもとに，AVPV あるいは ARC に特異的に Cre リコンビナーゼを発現する Tg マウスを複数系統作製し，すでに作成の完了した Kiss1-floxed マウスとの交配により，それぞれのメタスチンニューロン集団で特異的にメタスチン発現を欠損するようなコンディショナル KO マウスの作成を進めている。

4. 肥満・糖尿病発症メカニズムに関与する遺伝子発現調節領域の動物個体レベルにおける解析

高橋信之，坂本智哉，木村梨乃，飯塚みあき（京都大学大学院農学研究科）
平林真澄，冨田江一（生理学研究所）

近年，社会的に大きな問題となっているメタボリックシンドロームの原因となる脂肪組織でのインスリン抵抗

性は，脂肪組織中の脂肪細胞とマクロファージなど免疫細胞との相互作用によるものである。この細胞間相互作用は，培養細胞を用いた実験計で詳細に検討はされているが，動物個体を用いた検討は未だ行われていない。そこで，本研究課題では，インスリン抵抗性発症に伴い変動する遺伝子発現を指標として，動物個体レベルで脂肪組織中の細胞間相互作用メカニズムの詳細を明らかにすることを目的とし，平成 23 年度より共同研究を開始した。本年度は，インスリン抵抗性を引き起こすエネルギー代謝低下を動物個体内で観察するため，脂肪組織におけるエネルギー消費に重要な役割を担う脱共役タンパク質 1（UCP1）のプロモーター領域で蛍光レポータータンパク質を発現させるトランスジェニックマウスの作製・解析を行った。

UCP1 のプロモーターが脂肪細胞内で作動するかどうか検討するため，脂肪細胞培養株 10T1/2 を用いて検討したところ，3.7kbp の UCP1 プロモーターがアドレナリン刺激により正常に応答することを確認した（Sakamoto, et al. Am. J. Physiol. 2013, 304, C792-738）。このプロモーター領域を用いて，赤色蛍光タンパク質（RFP）をレポーターとして利用した UCP1P-RFP/Tg マウスを作製した。この Tg マウスは，寒冷刺激により脂肪組織における UCP1 タンパク質の発現誘導と同様に RFP の発現の誘導が認められた。そこで，現在，肥満状態での UCP1 発現をリアルタイムでモニタリングするため，高脂肪食負荷による食事誘導性肥満モデル系を用いて実験を継続している。

また，昨年度，作製した TNF-α（インスリン抵抗性を誘導する炎症性サイトカイン）のプロモーターを用いたレポーターシステムを利用し，抗炎症作用を有する食品成分の機能解析も実施した（Lin, et al. Mol. Nut. Food Res., 2013, 57, 571-579）。

5. 神経回路形成におけるクラスター型プロトカドヘリンの機能解析

八木　健（大阪大学）
平林真澄，足澤悦子，吉村由美子（生理学研究所）

多様化膜分子群であるクラスター型プロトカドヘリンは個々の神経細胞で差次的発現をし，神経回路におけるシナプスにおいて機能していることが示唆されている。

本研究では同分子群を Cre 遺伝子発現依存的に欠損するコンディショナル遺伝子改変マウス，およびクラスター型プロトカドヘリンを欠損した iPS 細胞を用いたキメラマウスを作製し，その分子的多様性がシナプス形成時の細胞選択や機能的回路形成にどのように関与しているかを明らかにする。

これまでに全てのクラスター型プロトカドヘリン遺伝子欠損マウスを作製，解析したところ，同マウスは生後まもなく死亡したため，生後の神経回路形成における機能解析が不可能であった。そこで本課題では，コンディショナルノックアウトマウスおよび全クラスター型プロトカドヘリンを欠損したマウスから樹立した iPS 細胞を用いてキメラマウスの作製・解析を行った。また，コントロールとして正常マウスから樹立した iPS 細胞を野生型マウス受精卵にマイクロインジェクションし，キメラマウスを作製してマウス大脳皮質体性感覚野におけるパッチクランプ法を用いて電気生理学的解析を行った。

その結果，皮質の４層に分布する星状細胞の結合確率は，iPS 細胞の由来に関係なくほぼ同程度のものであったが，その中にある双方向性の結合確率が iPS 細胞由来のもの同士で極めて高い状態であることが明らかとなった。一方，iPS 細胞由来の星状細胞と野生型由来の星状細胞との結合確率は低い状態であった。これらの結果から，体性感覚野４層の星状細胞の結合性が細胞系譜により決定されていることが明らかとなった。また，同実験をクラスター型プロトカドヘリン遺伝子欠損 iPS 細胞由来の星状細胞で行ったところ，正常 iPS 細胞由来で認められた高い双方向性結合確率が認められなかった。これらのことより，クラスター型プロトカドヘリン遺伝子が細胞系譜により決定される結合に関わっていることが強く示唆された。

6. コンドロイチン硫酸プロテオグリカンの合成抑制による脳高次機能の異常の解析

五十嵐道弘，武内恒成，吉岡　望（新潟大学医歯学系分子細胞機能学，同・超域学術院）
高雄啓三，宮川　剛（生理学研究所・行動様式解析室）

コンドロイチン硫酸(CS)はプロテオグリカンの成分として合成される，グリコサミノグリカン糖鎖である。脳内では perineural net (PNN) と呼ばれるシナプス周囲部に局在する構造に強く局在し，その機能は，軸索成長の抑制，神経幹細胞の分化抑制，脳損傷時の炎症の限局化など多岐にわたり，シナプス可塑性に関与する。申請者は，これらの事象への CS の関与を直接的に証明するため，CS 合成酵素群のうち，CSGalNAcT-1/2 (T1/T2)のノックアウトマウス(KO)を作成済みで，その機能を解析することとした。

T1-KO については既に軟骨の発生への異常を記載したが，脊髄損傷時に著しい回復が認められた（投稿中）。脳の形成は異常が発生時に生じているが，形態学的には回復が認められるため，層形成異常は出生後には認められなくなる。従って，当該マウスの脳機能解析では，免疫組織化学と行動解析が重要な方法論となる。

行動解析については，T1-KO に関して凍結胚を生理学研究所に送付し，これを胚操作で成体にしてもらった。ところが結果的にはかなり多数の胚を使ったにも関わらず，残念ながら行動解析に十分なホモマウス(KO)は得られなかったため，数がそろったヘテロマウスの行動解析を 24 年度に実施し，T1-KO のホモマウスは 25 年度の共同研究で実施することとした。生理学研究所での確実な胚操作が本研究の成功には必須であるので，この技術的克服を強く要望する。

24 年度に共同研究を実施したヘテロマウスについては，記憶学習，感覚，運動，不安様行動，うつ様行動には有意差は見られなかったが，社会的行動テストでは活動量が亢進しており，社会的アプローチも低下している可能性が示唆され，社会行動性の変化に有意の異常を結論付けるものであった。

組織化学的解析については，T1-KO ホモマウスは明らかに PNN の CS 濃縮障害が見出された。脳内の全体の CS 量は約 30－50%に減少したが，PNN では最も顕著であった。PNN は可塑性を調節する重要な分子構造であることから，PNN の分子構成や構造の異常が強く示唆された。

以上の結果は，T1-KO の高次機能の異常を強く示唆するものであり，ヘテロマウスですでに有意な異常が見られたことから，引き続きホモマウスの行動解析でさらなる大きな変化が明示できるものと思われる。一方既に作成済みの T2-KO については表現型の著変は認められていない。これも行動解析を行うことで高次脳機能変化を捉える事が可能であると推定しており，次年度の課題として検討している。

7. 網羅的行動テストバッテリーを用いた *Septin* 欠損マウスの解析

上田（石原）奈津実，澤田明宏，木下　専（名古屋大学大学院理学研究科）
高雄啓三，宮川　剛（生理学研究所・行動様式解析室）

胎生期から生後発達期にかけての脳組織でみられるニューロンやグリア細胞の分裂，移動，突起伸展などの現象には微小管やアクチン細胞骨格系による細胞形態と運動の制御が不可欠である。成体脳においてもアクチン細胞骨格系のリモデリングが長期可塑性の構造的基盤の一端を担うことが確立している。一方，重合性ヌクレオチド結合蛋白質ファミリーSEPT1-14 から成るセプチン細胞骨格系も神経系に大量に存在するが，その生理的意義には不明な点が多い。申請者らはこれまでに，セプチンがアクチン系やリン脂質２重膜と相互作用しつつ多様な形状に高次集合するユニークな活性を持ち，細胞分裂と分裂後の多様な細胞現象に関与することを示してきた。神経系においては大脳皮質形成時の細胞移動や培養ニューロンのスパイン形成におけるセプチン細胞骨格系の関

与が RNAi 実験から示唆されている。しかし，セプチン遺伝子破壊マウスの多くが胎生致死となるか軽微な異常しか示さないことも災いして，非分裂細胞におけるセプチン細胞骨格系の機能解析は十分になされていない。本研究では，生体脳におけるセプチンの機能を探索することを目的とし，*Septin* 欠損マウスの行動学的表現型を系統的にスクリーニングした。

C57BL/6J 系統，同性（雄），同腹，同生育環境の野生型および *Septin* 欠損マウス各 20 個体，計 2 群 40 個体に対して標準プロトコルに準拠した行動学的試験を系統的に施行し，以下の指標に関する定量的データを取得した：自発活動量，痛覚感受性，協調運動／平衡感覚，聴覚性驚愕反応，社会的行動，不安様行動，うつ様行動，絶望様行動。

スクリーニングの結果，野生型対照群と比較して，*Septin* 欠損マウス群では不安／緊張様行動などに異常を呈することが明らかとなった。25 年度は残りの評価項目（記憶・学習，恐怖条件付け）について実験を進めるとともに，有意差の出た行動学的試験について，新たに用意した野生型および *Septin* 欠損マウス各 20 個体，計 2 群 40 個体を用いて再検を行う予定である。

8. 視覚異常マウスを活用した中間表現型の解明

小池千恵子（立命館大学薬学部・大学院生命科学研究科）
高雄啓三，宮川　剛（生理学研究所・行動様式解析室）

遺伝子ターゲティング法は，遺伝子の機能を探る上で中心的な位置を占める方法であるが，遺伝子改変マウスを用いて，学習，記憶，注意，情動性，薬物感受性に関して詳細に調べられているケースは少なく，遺伝子の高次脳機能における未知の役割を見落としている場合が多いと推測される。我々は，行動テストバッテリーを用いて，視覚異常マウスの行動を体系的かつ効率的にスクリーニングすることにより，遺伝子と種々の行動・精神疾患との関係を明らかにしたいと考えた。

その結果，視覚異常マウスにおいては不安様行動の低下・社会性行動の低下などの様々な表現型を持つことが示された。

対象マウスは，General health and neurological screening, Rota-rod and Host plate test, Acoustic startle response & prepulse inhibition においては野生型とほとんど差がみられなかった。Light/Dark transition テストにおいては，視覚異常マウスでは野生型マウスと比較して明箱での滞在時間が長く，マウスの光感受性に依存した結果であると考えられた。さらに，自発運動活性の上昇，不安様行動の低下，社会性行動の低下が，Open field，Elevated plus maze，Social interaction テストにより明らかとなった。これらの反応は光感受性とは独立して生じるものと考えられた。

今回使用したマウスは視覚異常に特化していると考えていたが，表現型から視覚以外の経路にも発現があり，その結果，異常行動を示している可能性もある。今後は記憶と学習テストについて詳細に解析していく予定である。

9. 乳幼仔・小児・成熟個体におけるナノマテリアルの情動・認知行動毒性学的評価

森下裕貴，吉岡靖雄，東阪和馬，堤　康央（大阪大学大学院薬学研究科　毒性学分野）
高雄啓三，宮川　剛（生理学研究所・行動様式解析室）

従来素材とは異なる有用機能を発揮するナノ・サブナノマテリアルは，今後もさらなる市場拡大が期待される。一方で，その安全性については，ハザードの把握すら未だ不十分である。特に，こころの毒性学ともいうべき，情動・認知機能への影響評価は，重要課題であるものの，実験手法の困難さから未だ検討された例は皆無である。

本研究は，ナノ・サブナノマテリアルの物性と情動・認知行動毒性との連関を追求し，安全なナノ・サブナノマテリアルの開発に必須の情報を集積することを目的とする。具体的には，乳幼仔・成体・妊娠マウスに種々のナノ・サブナノマテリアルを静脈内・経鼻・経気道投与した後，網羅的行動テストバッテリーにより，多岐に渡る情動・認知行動を解析するものである。平成 23 年度までに，2011 年の Nat. Nanotechnol.誌で報告したナノマテリアルの生殖・発生毒性に関する知見をもとに，非晶質ナノシリカを妊娠期曝露したマウスの仔に関して，網羅的行動テストバッテリーを実施した。その結果，これらのマウスがうつ様行動・驚愕反応の亢進，社会的行動の低下を示す可能性を見出した。平成 24 年度は，ナノマテリアルよりもさらに微小化の進んだサブナノマテリアルを妊娠期曝露したマウスの仔に関して，網羅的行動テストバッテリーを実施した。その結果，サブナノ白金を妊娠期曝露したマウスが，うつ様行動・不安様行動の低下を示す可能性を明らかとした。さらに，これらナノ・サブナノマテリアルの妊娠期曝露が，仔の脳に及ぼす影響を，組織学的観点からも解析した。その結果，妊娠期のサブナノ白金の曝露が，胎仔の脳の神経新生を抑制する可能性を見出している。以上のように，ナノ・サブナノマテリアルの情動・認知行動毒性に関する知見を先駆けて見出し，順調に，社会ニーズや緊急性の高い研究成果を積みあげつつある。

今後は，継続した共同研究のもと，引き続き，これら情動・認知行動異常が生じるメカニズムを，脳科学的解析，生化学的解析，組織学的解析などを駆使して追及する予定である。また，ナノ・サブナノマテリアルに曝露した雄親が交配し，出生した仔の情動・認知行動解析など，毒性学における新領域にも取り組むと共に，粒子径や表面修飾の異なる各種ナノ・サブナノマテリアルを用いてこれら検討を実施することにより，物性と情動・認知行動毒性の連関を解析する予定である。

10. 脳特異的セリン合成不全マウスを活用した精神疾患の中間表現型の解明

古屋茂樹，友永省三，小河　匡，渡邉彰大（九州大学大学院・農学研究院）
高雄啓三，宮川　剛（生理学研究所・行動様式解析室）

提案代表者古屋が作成した脳特異的 *Phgdh* KO マウスは，L-セリン生合成経路第 1 段階を触媒する 3-ホスホグリセリン酸脱水素酵素（Phgdh）の遺伝子を脳のみで不活性することにより，成熟脳でのセリン合成不全の病態解析が可能なモデルである。これまでの解析から，脳内で生合成された L-セリンが D-セリンの主要な前駆体であり，L-体の合成不全は脳内 D-セリン含量の低下に直結すること，さらに NMDA 受容体機能を減弱させることを報告している（Yang et al, 2010）。一方でヒト統合失調症患者の解析より，L-セリン生合成経路第 2 段階を触媒するホスホセリンアミノトランスフェラーゼ (PSAT1) 遺伝子の染色体転座による不活性化を持つ例が報告されている (Ozeki et al., 2011)。そこで本研究は，脳内 L-セリン合成不全が統合失調症の中間表現型である行動異常の原因となる可能性を検証することを目的として実施した。

雄性脳特異的 *Phgdh* KO マウスと，対照となる同腹の雄性 Floxed のマウスをそれぞれ用意し，行動様式解析室のテストバッテリーに BKO マウスを供し。網羅的行動解析を行った。

今回の解析において脳特異的 *Phgdh* KO マウスは社会性行動，感覚フィルター機能，作業記憶，不安行動等において顕著な行動異常を持つこと，さらに海馬依存的な空間記憶が有意に損なわれていることも明らかになった。この結果は海馬での形態的変化と対応するものであった。これらの所見は L-セリンから合成する D-セリンをセリンラセマーゼ（Srr）の KO マウスの行動変化より重篤かつ広範囲に渡る。これらの行動異常が脳内 D-セリンの低下に起因するかを確認するため，D-セリン投与によって脳内 D-セリン含量が回復する条件を設定し，行動変化の緩和効果についても検討を行った。その結果，一部行動試験については D-セリンの急性投与によって異常が回復することが確認された。

本研究により，脳内での L-セリン合成不全が複数の統合失調症関連行動異常の原因となり，その症状は D-セリンの含量の低下に起因することが示された。

11. Nestin-NDI マウスを活用した精神疾患の中間表現型の解明

植田弘師，佐々木恵太（長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 分子薬理学研究分野）
高雄啓三，宮川　剛（生理学研究所・行動様式解析室）

虚血病態に対し脳保護能を有する核内タンパク質：プロサイモシンα（ProTα）は，中枢脳領域に高発現していることが知られているが，高次脳機能に対する役割は十分に明らかにされていない。

我々は，生体におけるプロサイモシンαの機能的役割を解明すべく，平成 22 年度計画共同研究にて，ProTαを全身性に半欠損したマウスを活用し，行動テストバッテリーを用いた網羅的な表現型解析を実施した。

さらに，平成 23 年度計画共同研究にて，前脳領域特異的に ProTαを欠損するコンディショナルノックアウトマウスを作出，表現型を解析することで ProTα半欠損マウスの表現型との比較を実施し，行動変化と脳領域の関連性を検討している。

本成果を更に発展するため平成 24 年度計画共同研究では，Nestin 陽性の神経細胞に特異的な ProTα欠損を示すコンディショナルノックアウトマウスを作出し，表現型を解析することとした。具体的には，Nestin プロモーター下流に組換え酵素：Cre を導入し，Tamoxifen 投与により任意の時期で Cre の発現を誘導する事が可能な Nestin-CreER^{T2} マウスと，Floxed-ProTαマウスを交配することで領域特異的な ProTα欠損マウス（Nestin-CreER^{T2}; Floxed-NDI）を作出することとした。これまでに，Tamoxifen 投与による胎生期での誘導法，成熟個体での ProTα欠損の誘導に成功している。しかしながら，平成 24 年度内で行動テストバッテリーに必要十分なマウス数を産出するに至らなかった。

現在は十分なマウス産出体制に移行し，計画共同研究に必要なマウス数を持続的に確保できるようになったことから，平成 25 年度計画共同研究として本課題を継続申請し，詳細な表現型の解析を実施したいと考えている。

12. オプトジェネティクスを用いた正中縫線核セロトニン神経による海馬θ波の制御メカニズムの解明

大村　優（北海道大学）
常松友美，山中章弘（生理学研究所）

提案代表者（大村）は，恐怖記憶想起時にラットの海馬腹側部においてセロトニン遊離量が上昇することを見出してきた。海馬θ波は記憶の符号化・想起に関与することが知られており，正中縫線核を非選択的に電気刺激することによって抑制される。正中縫線核はセロトニン神経の起始核であるが，半数以上はセロトニン神経以外の神経細胞である。本研究の目的は正中縫線核セロトニン神経がθ波を制御するメカニズムを探ることである。

そこで，生理学研究所の山中・常松の協力を得て，中枢セロトニン神経にのみ光受容体であるチャネルロドプシン 2 を発現した遺伝子改変マウスを用いた研究を実施した。正中縫線核に向けて光ファイバーを挿入し，同時に脳波測定のための金属ネジを頭蓋骨に埋め込む手術を行った。回復後，マウスの頭部を無麻酔下で固定し，青色光(475 nm)をファイバー先端より照射することにより正中縫線核セロトニン神経の活動を選択的に亢進させ，脳波の変化を記録した。

残念ながら，セロトニン神経の活動を亢進させても，脳波（α波，β波，θ波，δ波）に顕著な変化は生じなかった。しかしその一方で，予想外の行動変化を観察することができた。セロトニン神経活動を亢進させたマウスは，ホームケージに戻した後に摂食行動の増加が見られた。頭部拘束によるストレスの効果であった可能性を検討するため，自由行動下での実験（A 条件），拘束するがセロトニン神経刺激を行わない条件（B 条件）も検討した。その結果，A 条件では摂食行動の増加が見られず，B 条件では摂食行動の増加が見られるけれどもセロトニン神経を同時に刺激した時ほどの増加は見られなか

った。つまり，頭部拘束のストレスとセロトニン神経の活動の相互作用があったと考えられる。今後は適切なストレス条件の確立，セロトニン神経を抑制した場合にストレスの効果が減弱するかどうか，などを検討することが必要になる。

脳波については，今後海馬に直接電極を埋め込んで測定を行う必要がある。今回は簡便のために皮質から脳波を記録したが，セロトニン神経が海馬の脳波に選択的に影響する可能性は残されている。

このように，当初の仮説を支持する結果は得られなかったが，副産物として興味深い結果を得ることができた。当初の仮説の検証をさらに進めるとともに，副産物として得られた結果についても今後研究を進めて行きたいと考えている。

13. インスリン受容体シグナル異常による肥満抵抗性糖尿病発症機序の解明

三木隆司，李恩瑛（千葉大学大学院医学研究院代謝生理学）
櫻井健一（千葉大学大学院医学研究院細胞治療内科学）
箕越靖彦，戸田知得（自然科学研究機構生理学研究所発達生理学研究系　生殖・内分泌系発達機構研究部門）

糖尿病はインスリン分泌あるいは作用の障害によって発症する。近年，糖尿病患者数は急激に増加しており，その原因として食生活の変化，なかでも脂肪摂取量の増加の関与が考えられている。我々はインスリン受容体の変異体ノックインマウス（mIR マウス）が通常飼育下では耐糖能障害が見られないものの，高脂肪食負荷により顕性糖尿病を発症することを見いだした。平成 23 年度までの解析で，高脂肪食負荷 mIR マウス（mIR/HFD）では肝臓での糖新生が亢進しており，これが糖尿病発症の原因となっていることを見いだした。さらに mIR マウスの酸素消費量と呼吸商を，通常飼料と高脂肪食飼育下で測定したところ，mIR マウスでは暗期での脂肪燃焼が亢進していた。さらに肝臓での糖新生の動態を解明する目的で，糖新生基質であるピルビン酸とグリセロールを負荷したところ，mIR/HFD ではグリセロール負荷後の血糖上昇が亢進していた。このような結果に基づき，平成 24 年度には mIR/HFD で糖尿病が発症するメカニズムをより詳細に解析した。

グリセロールは主として脂肪組織における中性脂肪の加水分解により産生され，肝臓に取り込まれ，処理される。そこで，脂肪組織での脂肪分解の鍵となるホルモン感受性リパーゼ（HSL）の活性を，リン酸化 HSL(pHSL) のウェスタンブロット解析により評価したところ，mIR/HFD では有意に pHSL が増加していた。このことから，mIR/HFD では脂肪組織における脂肪分解が亢進し，肝臓へのグリセロールの供給が増加し，グリセロールからの糖新生が亢進して糖尿病を発症していることが明らかになった。このことをより直接的に証明する目的で，mIR に野生型の皮下脂肪を移植し，高脂肪食負荷を行ったところ，mIR/HFD の耐糖障害は明らかに改善した。野生型マウスにグリセロールを投与すると肝臓におけるグルコース 6 ホスファターゼ(G6Pase)の発現が著明に増加することから，mIR/HFD の肝臓での G6Pase 発現亢進は，肝臓へのグリセロール供給増加による二次的な応答であると考えられた。

ヒトの肥満合併糖尿病患者においても，食事の是正により，体重減少がほとんど見られないにもかかわらず，著明な血糖改善が見られるケースがよく見られ，この様な病態では脂肪組織からの過剰なグリセロール供給が糖尿病悪化に寄与している可能性が考えられた。

14. 摂食調節ペプチドによるエネルギー代謝調節の研究

塩田清二，平子哲史（昭和大学医学部解剖学講座顕微解剖学部門）
太田英司（昭和大学歯学部口腔解剖学講座）
影山晴秋（桐生大学医療保健学部栄養学科）
竹ノ谷文子（星薬科大学薬学部運動生理学研究室）
岡本士毅，箕越靖彦（自然科学研究機構生理学研究所）

視床下部には摂食調節やエネルギー代謝といった生命活動に深く関わる神経核があり，その神経核には摂食亢進系あるいは摂食抑制系ニューロンが存在しており相互に複雑な神経相関を作っている。ガラニン様ペプチド(GALP)は，60 アミノ酸残基からなり，種差を越えて高いホモロジーを有することが特徴である。GALP は，摂食調節やエネルギー代謝調節に関与しており抗肥満作用を有することが知られているが，その詳細なメカニズムは明らかにされていない。我々は，GALP の抗肥満効果を臨床応用するための基盤研究の一環として，これまでに GALP の点鼻投与によってマウスの体重および摂食抑制効果を明らかにした。さらに，GALP を脳室内に投与するとその直後に呼吸商が低下することを見出した。これは脂質代謝が亢進していることを示唆する結果であり，GALP の新しい生理作用として注目した。本研究では，GALP の抗肥満作用の機序を解明するために，脂質代謝に注目し，GALP を脳室内投与した後の肝臓での脂質代謝に及ぼす影響について検討した。

実験動物は C57BL/6 マウスを用い，脳室内に生理食塩水を投与した Vehicle 群あるいは GALP を投与した GALP 群を設けた。先行研究で呼吸商の差が最大となった投与後およそ 100 分後に解剖し，肝臓中の脂質代謝に関連する遺伝子の mRNA レベルを Real-time PCR 法により測定した。さらに肝臓を用いて脂質メタボローム解析を行った。脳室内投与後およそ 1 時間後から呼吸商が GALP 群で Vehicle 群と比較し有意に減少した。肝臓中の脂肪酸酸化に関与する遺伝子発現は Vehicle 群と比較し GALP 群で有意に増加し，脂肪酸合成に関与する遺伝子発現は有意に減少した。CYP7A1 遺伝子発現レベルは GALP 群で減少した。肝臓脂質メタボローム解析では，Vehicle 群と比較し GALP 群でパルミトイルカルニチンが増加し，多くの胆汁酸が GALP 群で減少した。本研究から GALP 投与により直後に呼吸商が減少したこと，また，脂肪酸合成及び酸化に関与する遺伝子発現レベルが変化し，さらに肝臓のパルミトイルカルニチンが増加したことから，GALP は摂食調節作用に加え新たなメカニズムとして肝臓での脂質代謝を改善することで抗肥満作用を示している事が示唆された。

15. 筋機械痛覚過敏の発症と維持におけるイオンチャネルの役割

片野坂公明，太田大樹，Luis Fernando Queme Cobar，田口　徹（名古屋大学環境医学研究所）
村瀬詩織，久保亜抄子，水村和枝（中部大学生命健康科学部理学療法学科）
加塩麻紀子，富永真琴（生理学研究所・岡崎統合バイオサイエンスセンター）

遅発性筋痛は，機械刺激に対する痛覚過敏を特徴としており，その発生メカニズムには不明な点が多い。これまで我々は，遅発性筋痛における筋機械痛覚過敏の発症機序を調べ，運動中に遊離される Arg-ブラジキニン(rat)が筋での NGF 産生を高め，この NGF が筋細径線維受容器を感作して痛覚過敏を起こすという経路（BK/NGF 経路）と，同じく運動中に活性化された COX-2 が PG 産生を介して筋での GDNF 産生を亢進させ，機械痛覚過敏を起こす経路（COX-2/GDNF 経路）との２経路があることを示してきた。さらに，これらの経路に TRP イオンチャネルである TRPV1,V4 および A1 が関わることを示し，各チャネルの関与過程について調べてきた。TRPA1 に関しては，NGF 経路への関与は明らかなものの，GDNF 経路への関与は不明であり，また COX-2/GDNF 経路の

痛覚受容器線維への作用についても不明であったため，今回の研究では，これらの二項目を重点的に検討した。

TRPA1 欠損マウスにおいて，GDNF を筋注したところ，野生型と同様に一過性の筋痛覚過敏が生じた．また COX-2/GDNF 経路のメディエーター分子の発現の推移を RT-PCR 法により調べたところ，マウス後肢の筋に伸張性収縮を負荷した直後に見られる COX2mRNA の産生は，TRPA1 欠損マウスにおいても野生型と同様に観察された。また，その下流で産生される GDNF mRNA にも TRPA1 欠損マウスで若干の減少傾向はあったものの，野生型との大きな違いは見いだせなかった。後者の結果は明瞭でなく，引き続き検討を必要とするが，TRPA1 の COX-2/GDNF 経路への寄与の程度は低く，一昨年までの結果と併せれば，TRPA1 は主として NGF 経路に関与すると考えられた。

また，ラットの単一神経記録法により，筋細径線維の機械応答に対する GDNF の作用を調べたところ，GDNF の投与により Aδタイプの細径神経線維で機械閾値の低下と機械応答の増大が観察され，機械感受性が亢進していることが明らかとなった。この GDNF による受容器線維の感作が，遅発性筋痛の一因であると考えられた。

16. 興奮性神経伝達による基底核神経回路の機能制御の解明

渡邉　大，長谷川拓，西岡忠昭（京都大学大学院生命科学研究科認知情報学講座）
南部　篤，知見聡美（生理学研究所　生体システム研究部門）

視床下核は，淡蒼球内節および淡蒼球外節に対する唯一のグルタミン酸作動性の興奮性入力であり，ハイパー直接路として基底核のダイナミックな情報処理に関わると同時に，基底核間接路（淡蒼球外節）および直接路（淡蒼球内節）の興奮性制御に重要な役割を果たしていると考えられる。しかしながら視床下核が基底核の機能発現にどのように関わるかその詳細は不明である。遺伝子発現効率を高めた改変型破傷風毒素軽鎖遺伝子（eTeNT）を用いて，視床下核へ投射するニューロンの機能に影響を与えることなく，視床下核ニューロンの神経伝達を正確に遮断する実験系の確立を行った。

ラットの大脳皮質 1 次運動野の口腔・顔面および前肢支配領域を電気刺激し，これらの領域から入力をうける視床下核ニューロンを電気生理学的に正確に同定し，視床下核へ eTeNT を発現するレンチウイルスベクターの投与を行った。その結果，１次運動野の電気刺激により誘発される淡蒼球内節および外節での 2 相性の興奮が視床下核の神経伝達遮断により抑制されることが明らかとなった。

視床下核の神経伝達遮断の効果を行動学的に解析するために，Turn preference 試験を行った。ウイルス投与前と投与後 4 週間後にラットに tail pinch（5 回）を１日２回，２日連続（tail pinch 計 20 回）を行い，スコアを算出した。その結果，視床下核へ eTeNT を導入した個体では，パーキンソン病モデルでの報告とは逆方向へ旋回することが明らかとなった。以上の結果は，視床下核からのグルタミン酸作動性シナプス伝達を遮断することでパーキンソン病の病態を改善しうる可能性を示唆する。今後はこの系を用いて，視床下核による基底核の機能制御とパーキンソン病における視床下核の神経情報遮断の効果について解析するとともに，認知・情動に関する視床下核の機能について探索を行う予定である。

17. 視床下核アストロサイトによる運動制御機構の電気生理的解析

辰巳晃子，森田晶子，奥田洋明，和中明生（奈良県立医科大学医学部　第二解剖学講座）
佐野裕美，南部　篤（生理学研究所　生体システム研究部門）

我々はグリア幹細胞に発現する転写因子 Olig2 に着目し，Olig2 プロモーター制御下に CreER を発現するマウ

スと ROSA locus に lox-stop codon-lo-GAP42EGFP を組み込んだリポーターマウスとを掛け合わせたダブル TG マウスを用いて，Olig2 陽性細胞 （Olig2/NG2 陽性グリア幹細胞）の細胞系譜追跡を行ってきた。脳各部位の Olig2 陽性細胞の挙動を解析する過程で，大脳基底核，特に間接経路の 神経核である視床下核，淡蒼球において EGFP 陽性細胞が多数存在し，且つ複雑な形態を呈することを見出した。これら細胞の機能的意義を検討する目的で，マウスケージに Running wheel を設置し，自発運動を２週間負荷すると，視床下核，淡蒼球における EGFP 陽性細胞は運動負荷を与えていないコントロールマウスと比べて，より 多くの２次，３次突起を有する複雑な形態を呈する。以上の事実は基底核回路の神経活動に対応して EGFP 陽性のグリア細胞（形態的特徴からアストロサイトと考えられる）が突起の複雑性を増している可能性を示唆している。そこで視床下核にアストロサイト特異的毒である Fluorocitrate (FC)を注入してから運動負荷を与えたところ，Sham コントロールに比して有意に回転運動が少なくなった。このような変化はどの神経細胞の活動変化によるものかについて検討する目的で FC 投与後の視床下核，淡蒼球，大脳皮質運動野における神経活動を測定したところ，コントロールに比して大きな神経活動の違いは認められなかった。

この実験系における FC の細胞特異性や非特異的毒性については問題があると考えられたので，淡蒼球アストロサイトにターゲットを変えて，このアストロサイトに比較的特異的に発現する Mlc-1 プロモーターを用いて ChR2 を発現させた TG マウスを用いて光摂動法によるアストロサイトの機能促進を現在検討中である。

18. 先天的な恐怖反応を制御する線条体神経回路の解明

小早川令子，小早川高（大阪バイオサイエンス研究所）
佐野裕美，南部　篤（生理学研究所　生体システム研究部門）

先天的な恐怖の制御における線条体神経回路の機能は未解明である。マウスは肉食動物が発生する匂いに対して恐怖反応を示すことが知られている。恐怖情動は Freezing 行動を指標にして定量的に計測できる。天敵の匂いによって誘発される先天的な Freezing レベルは，後天的に誘発した Freezing に比較すると明らかに低い。私たちは，人工匂い分子ライブラリーのスクリーニングにより，特定の化学構造ルールを満たす一連の恐怖臭によって，極めて強力な先天的 Freezing が誘発できることを発見した。異なる種類の恐怖臭をもちいることで様々な強度で先天的な Freezing を誘発する技術を確立した。同等レベルの Freezing 行動を伴う，嗅覚入力による先天的と後天的な恐怖を制御する神経メカニズムを比較した。先天的な恐怖では，背骨を中心とした体表面温度と体深部温度の３℃もの同時低下と，心拍数の半減が誘発されたが，後天的な恐怖ではこれらの生理応答は全く誘発されなかった。嗅覚入力による先天的と後天的な恐怖，および，異なる種類の恐怖臭が誘発する３段階の強度の先天的恐怖によって誘発される c-fos と arc mRNA の発現を全脳６４領域に関して定量解析した。その結果，先天的と後天的な恐怖の違いを特異的に表現する脳領域と，先天的な恐怖のレベルを表現する脳領域が存在する可能性が示唆された。先天的恐怖のレベルを表現する脳領域の一つである，背側線条体では先天的な恐怖のレベルと，c-fos や arc mRNA の発現レベルが逆相関した。背側線条体へ muscimol を注入すると，Freezing の上昇と，心拍数や体深部温度の低下が誘発された。また，背側線条体へ muscimol を注入したマウスでは，恐怖臭が誘発する扁桃体中心核の arc mRNA の発現上昇が大幅に促進された。以上の結果から，背側線条体の神経活動は先天的恐怖の定量表現に関与している可能性が示唆された。本研究の継続によって，背側線条体において先天的恐怖の制御に関与する特異的な神経回路の解明を目指す。恐怖臭を用いて様々なレベルの先天的恐怖を誘発した際の，背側線条体に存在する特定の種類の神経回路の活動を解析する。ドーパミン D1 と D2 受容体のアンタゴニストを背側線条体に注入すると，D1 受容体のアンタゴニストの注入のみが Freezing 行動へ影響を与えた。D1 受容体を発現する神経細胞の神経活動と先天的恐怖のレベルとの相関関係を解析する。また，この神経細胞の活動を制御した際

の先天的恐怖への影響を，先天的恐怖を特異的に評価する多次元情動マーカーを活用して計測する。

19. TRP チャネルが担う中枢性呼吸調節機構の解明

平田　豊（兵庫医科大学 生理学生体機能部門）
鈴木喜郎，富永真琴（生理学研究所・岡崎統合バイオサイエンスセンター）

中枢性呼吸調節機構は，換気応答によって驚くべき厳密さで生体の P_{CO2}/pH 変動を一定の狭い生理的範囲に調節している。この調節機構を担っている中枢化学受容細胞及びその化学受容器の分子実体は長い間謎であった。提案代表者は，これまでに脳幹・延髄由来のニューロン・グリア共培養細胞を用い，CO_2/pH 負荷に対する細胞内応答を，Ca / pH のイメージング，perforated patch-clamp 法により検討したところ，高 CO_2 負荷によりグリア細胞が Ca 応答をすることを見出してきている。この Ca 応答を引き起こす Ca チャネルの候補として，薬理学的スクリーニングの結果，TRP チャネルのサブタイプが推定された。生理学研究所の富永教授と共に，TRP チャネルにおいて，どのサブタイプが換気応答の制御に関与するかを明らかにし，TRP チャネルが担う中枢性呼吸調節機構を解明することが本研究の目的である。

昨年度に引き続き，推定されたサブタイプを含む，温度感受性 TRP チャネル欠損マウス群に対する高 CO_2 負荷による換気応答の変化を whole body plethysmography 法にて野生型マウスと比較した。その結果，高 CO_2 負荷による換気応答に減弱が観察されているが，個体差があるので解析を継続している。また，O_2 濃度の条件を変えて，その影響を検討している。

20. 中枢性エネルギー代謝調節系における分子メカニズム基盤に関する生理学的研究

中里雅光，山口秀樹，土持若葉，十枝内厚次，モイン アブサレ エムディ
（宮崎大学医学部内科学講座神経呼吸内分泌代謝学分野）

1) 我々は，セクレトペプチドーム解析によって同定された NERP-1 と NERP-2 が水代謝に機能するバソプレシンの分泌抑制に作用することを報告した。本研究では，その分子機序を解析した結果，NERP-1 はバソプレシン神経のシナプス前グルタミン酸神経終末からのグルタミン酸放出を抑制し，NERP-2 は GABA 介在神経を刺激してバソプレシン神経のシナプス前グルタミン酸神経の抑制することで，バソプレシン分泌抑制に機能することを明らかにした。また NERPs 陽性細胞は視床下部外側野で摂食亢進と覚醒に機能するオレキシン神経細胞と膵臓のベータ細胞に発現していた。我々は，NERP-2 がオレキシン系を介して摂食亢進に機能するとともに，膵ベータ細胞から高血糖時のインスリン分泌を増強する作用を明らかにした。NERP-2 は，中枢および末梢においてエネルギーの蓄積に機能すると考えられる。NERP-2 が高血糖時にのみインスリン分泌を刺激することから，NERP-2 は糖尿病治療薬の新たなシーズになりうる。また NERP-2 はオレキシンの機能も活性化することから，ナルコレプシーや過眠症の新たな治療および診断に役立つと考えられる。

2) ストレプトゾトシン（STZ）投与によって作出された糖尿病マウスは，末梢神経障害を引き起こし，求心性の感覚神経および遠心性の運動神経の伝導速度が低下する。STZ 投与後すぐにグレリンを投与することにより，感覚神経と運動神経の伝導速度の低下が抑制された。また末梢神経障害が発症したマウスへのグレリン投与は，正常マウスと同レベルに神経伝導速度を改善させた。グレリンは，末梢神経障害の治療と予防の両面で貢献できることが明らかとなった。その機序として，炎症時のグレリン投与が，好中球や単球の誘導を押さえ，炎症を制御することが考えられる。

3) セクレトペプチドーム解析により，新たに高血糖

時のインスリン分泌促進に機能する新規ペプチドを同定した。さらに，前駆蛋白変換酵素の標的部位の網羅的解析により，データベースに無い新規ペプチドを同定した。この新規ペプチドが生体内の主要な分子型であることを確認した後，ラット脳質内に投与した結果，暗期摂食を抑制した。この新規ペプチドは，交感神経活性を上昇させ，血圧や酸素摂取量の上昇にも寄与しており，新たなエネルギー代謝調節ペプチドであると考えられる。

21. 代謝生理生体リズムに見られる超日周期リズムと脳内オレキシン神経系の役割の解明

大塚曜一郎（鹿児島大学大学院医歯学総合研究科）
山中章弘（生理学研究所）

本研究の目的は‘超日リズム’の制御にかかわる脳内神経機構を探ることであり，平成 23年度からの継続研究である。ラットの体温や熱産生は約 100 分間隔（超日周期）で一過性に増加し，これに同期して血圧，心拍などの循環指標，脳の覚醒状態が変化する。興味深いことに，この変化から遅れて約１５分後に摂食行動が見られる。したがって，この‘超日リズム’は摂食などの刺激による二次的な現象ではなく，脳内で形成される内因性基礎リズムであると考えられる。平成 23年度は覚醒・睡眠制御系で重要なオレキシンに注目し‘超日リズム’形成でのオレキシンの役割を探ることが目的であり，本年度は生体リズムや睡眠に深く関与するセロトニンに注目し，セロトニン神経特異的に光受容タンパク（チャネルロドプシンあるいはアーキオロドプシン）を発現した遺伝子改変マウスを用いて‘超日リズム’へのセロトニン神経の関与を探ることが目的であった。したがって，今回はセロトニン関連遺伝子改変マウスでの光刺激の有効性を検討する予備実験を行った。光刺激で延髄縫線核に存在するセロトニン神経の活動を特異的に抑制させたところストレスで生じる頻脈反応が減弱した。一方，麻酔下のマウスで，光刺激で延髄縫線核セロトニン神経の活動を増加させると心拍数と体温が変化した。これらの結果は，光刺激−セロトニン関連遺伝子改変マウスの‘超日リズム’研究への応用の可能性を示唆する。今後は，この遺伝子改変マウスを当研究室に導入してセロトニン含有神経と‘超日リズム’の関わりの研究を行う予定である。最後に‘超日リズム’の生理学的意義が気になるところだが，残念ながら未だ不明である。餌が限られている野生環境では，エネルギー消費を最小限にするために概日や超日などの生体リズムに関わらず，常に安静状態すなわち寝ていることが動物にとって理想的なライフスタイルと言える。しかしながら，このライフスタイルは生存と繁殖という生物の主命題にはそぐわない。常時の安静は摂食や生殖の機会を逃すばかりか天敵に捕食される危険も出てくる。したがって睡眠から時折覚醒して外部環境をチェックする必要がある。そこで，どのくらいの間隔で覚醒するかが重要となってくる。エネルギー節約と摂食生殖の機会や捕食の危機を回避するそのバランスを考えて自然選択されてきた間隔が約 100 分間隔の‘超日リズム’なのかもしれない。

22. 海馬神経回路の左右非対称性を生み出すメカニズムの解明

川上良介（北海道大学・電子科学研究所・生体物理研究分野）

海馬シナプスにおいて，NR2B と GluR1 サブユニットが非対称に存在する。海馬 CA1 選択的 NR2BKO および GluR1 マウスの左右性を解析した結果，左右性が消失することが明らかになった。本研究では，SDS-FRL 法により各 KO マウスにおけるシナプスにおける各々の受容体密度を解析することで，海馬シナプスの左右性を形成するメカニズムの機序を明らかにすることを目的として研究を実施した。海馬における左右性の脳内表現として

見いだされているシナプスの左右性について，頂上樹状突起と基底樹状突起を比較解析した結果，頂上樹状突起で見いだされたシナプス形態の左右性が基底樹状突起では見いだされないことが明らかになってきた。シナプスにおける受容体密度は PSD の大きさが重要であり，海馬における左右性を明らかにするためにも各樹状突起でのスパイン分布を明らかにする必要がある。しかしながら，基底樹状突起のある St.Oriens 領域には基底樹状突起が複雑に絡み合っており，電子顕微鏡法では細胞体からの距離を正確に計測することが困難である。一方，通常の光学顕微鏡では固定脳切片を高解像度で観察することが困難である。そこで，新規透徹剤 TDE 処理による透明化と高 NA 対物レンズを組み合わせることで固定脳スライスにおける詳細なスパイン形態の観察を行った。TDE 濃度を調節することで蛍光タンパクへの影響を低減し，また，十分な透徹性を確保することに成功した。TDE 濃度６０％において共焦点顕微鏡による深さ４００μｍまでの透徹性を確認し，また，NA1.49 の対物レンズを用いることで固定脳スライス表面から１００μｍの深さまでのスパイン形態の詳細画像の取得に成功した。個々の細胞体からの樹状突起距離を基にスパイン形態を長軸，短軸として評価した結果，頂上樹状突起においては多様なスパイン形態を示したのに対し，基底樹状突起においては比較的ばらつきの少ないシナプス形態が観察されることが明らかになった。このことは，グルタミン酸受容体サブユニット分布の左右性は樹状突起においてその発現する機能が異なる可能性を示唆しており，このことを明らかにするために可塑性誘導，もしくは可塑性阻害により誘導されるシナプス形態変化を詳細に検討することが必要であると考えられる。

23. ハイブリッド顕微鏡用環境制御セルの開発

箕田弘喜，川名佑貴（東京農工大学）

透過電子顕微鏡に光学顕微鏡を組み合わせた電子・光子ハイブリッド顕微鏡に，液環境制御型透過電子顕微鏡法(E-TEM)を組み合わせて，浸水状態の生体高分子の光学顕微鏡・電子顕微鏡同時直接観察を実現するために，環境制御セル（以下セルという）の製作を進めている。ガス還流タイプの液中試料観察用の E-TEM 用ホルダーに対して性能評価を行ったが，ガス層があることにより，非弾性散乱の影響が大きく，十分な分解能が得にくいこと，加えて，真空シールが複雑で，再現よく動作させることが難しいという問題があった。そこで，ガス還流をせず，液中試料を封じ込めた状態で電顕内に持ち込み，観察を可能にする試料ホルダーを新たに開発し，このホルダーを用いた応用実験を進めている。その結果，得られた分解能は計算で予想される値と同程度の性能であることが確認されたので，さらに，電子線照射による試料ダメージの環境依存性を調べるために，クライオ条件下と液中条件下において，電顕観察された試料の像の時間変化から予備実験を行い，液中試料の位相差像観察を試みた。そして，時間変化についての解析をするのに適切な試料を用いて，次の解析を予定している。

一方，平行して電子・光子ハイブリッド顕微鏡を試料として eGFP について，その発光の挙動の電子線照射の影響を調べている。その結果，eGFP はタンパク質であり，電子線照射により破壊され，退色すると予想されたが，その予想に反し，電子線励起発光が見出された。また，eGFP からの光照射による蛍光についても，電子線照射をすることで，蛍光強度が増強するという驚くべき結果を得た。

見出されたこの現象の試料周りの環境に対する影響を調べるため，常温乾燥，低温（クライオ条件），液中の異なる条件で，同様の観察を行ったが，いずの条件でも，CL 発光，および，電子線照射後の蛍光強度の増強は観察された。蛍光増強効果は，電気的な効果，すなわち，帯電状態に影響がある可能性を考え，下地を SiN と炭素膜の 2 種類について同様な実験を行ったところ，SiN において，蛍光増強効果が顕著であることを見出した。この結果は，蛍光増強効果が帯電状態に依存することを示唆している。今後，GFP 色素を用いて，より制御した条件で，蛍光増強の機構を解明したいと考えている。

24. 光学・電子顕微鏡を用いた血小板活性化過程の統合イメージング

最上秀夫（浜松大学健康プロデュース学部）
村田和義（生理学研究所）

血小板活性化過程は，血小板の血管障害部位への粘着により始まり，血小板表面のインテグリンを介したフィブリノーゲンの活性化により血小板凝集塊が形成される。さらに，この凝集塊を足場として血液凝固過程が惹起され，最終的には，他の血球成分とともにフィブリン網に覆われて構造強化された血小板凝集塊が形成され，止血が完了する。本研究では，血小板含有血漿を用いて，フィブリン網形成に至るまでの血小板に生じる機能変化および形態・構造変化を，全反射蛍光顕微鏡と低温位相差電子顕微鏡とを組み合わせて可視化解析する。

方法としては，蛍光標識フィブリノーゲンおよび蛍光標識インテグリン抗体を含んだ血小板含有血漿を刺激した後，血小板活性化における形態変化と血小板膜状にあるインテグリンの活性化に伴う構造変化を表面反射干渉顕微鏡で観察する。また，同様のサンプルを電顕グリッド上で急速凍結し，低温位相差電子顕微鏡で観察する。

全反射蛍光顕微鏡観察では，血小板の活性化に伴って個々のフィブリノーゲンがフィブリン繊維を形成する様子が観察された（図 A）。また，これを低温位相差電子顕微鏡観察することにより，フィリン繊維の中で個々の分子がどのように配向しているかを観察することができた（図 B）。

今後は，本統合イメージングを用いてフィブルン繊維からの蛍光強度とフィブリン分子の数を相関付け，蛍光強度による定量的な解析ができるようにしたいと考えている。

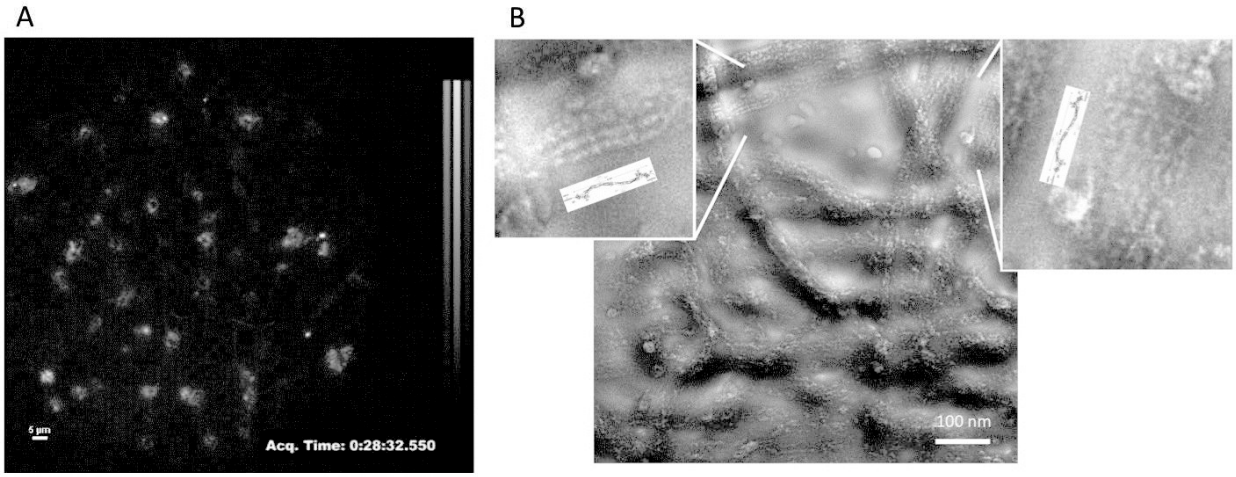


図　Alexa594標識フィブリノーゲンとフィブリノーゲンが結合した活性化血小板の全反射蛍光顕微鏡（TIRF）像（A）と、その低温位相差電子顕微鏡像（B）。フィブリンの分子構造を並べて表示。

25. 多光子顕微鏡を用いた嗅覚障害とその回復時における ニューロンのターンオーバーの可視化解析

澤本和延，金子奈穂子，澤田雅人
（名古屋市立大学大学院医学研究科再生医学分野）

哺乳類の脳室下帯では成体でも神経幹細胞が存在し，生涯にわたりニューロンを新生している。新生ニューロンが嗅覚の一次中枢である嗅球へと移動し，成熟して神経回路に組み込まれる一方で，古いニューロンは細胞死を起こしており，嗅球ニューロンは常に入れ替わっている。これまでの研究で，嗅球に到着した新生ニューロンの生存には嗅覚入力が重要であることが示唆されているが，生きた動物で同一ニューロンを長期間追跡することが困難であるため，ニューロンのターンオーバーに嗅覚入力が与える影響は十分に研究されていなかった。 近年，二光子顕微鏡を用いた in vivo イメージング法が発展し，生きた動物で蛍光標識された脳細胞を繰り返し観察することが可能になった。実際に，嗅球ニューロンの一種である傍糸球細胞は嗅球表層に位置し，二光子顕微鏡を用いて同一細胞を長期間追跡することでそのターンオーバーを観察出来ることが報告されている。

そこで本研究では，生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門及び名古屋市立大学大学院医学研究科再生医学分野の共同研究により，入力障害及び回復過程での嗅球ニューロンのターンオーバーの変化を多光子励起法により同一個体で経時的かつ詳細に解析した。

我々はまず，二光子顕微鏡を用いて嗅球ニューロンのターンオーバーを長期間観察する系を確立した。本手法の長所は，死んだ細胞と新たに加わる細胞の位置関係を同一個体で解析できる点にある。そこで，入れ替わるニューロンの位置関係と嗅覚入力の役割を解析した結果，死んだ嗅球ニューロンと同じ場所に嗅覚依存的に新生ニューロンが加わることが明らかになった。この結果は，嗅覚入力が嗅球ニューロンのターンオーバーを時空間的に制御していることを示唆する。本年度は，このメカニズムを詳細に解析するため，血管とニューロンのターンオーバーの同時イメージングを行い，嗅球ニューロンのターンオーバーにおける血管の重要性を明らかにした。

過去５年間の二光子顕微鏡による in vivo イメージング技術を用いた本共同研究によって，嗅球ニューロンのターンオーバーと嗅覚入力の関係を解析することが可能になった。この方法を用いて，成体脳におけるニューロン新生を制御する感覚入力依存的な新たなメカニズムを明らかにした（Sawada et al., J Neurosci., 2011）。

26. 再生・新生した腸管神経細胞機構の in vivo 可視化解析および神経新生機構の解析

高木　都，後藤　桂
（奈良県立医科大学分子病理学講座）
加藤　剛，石川達也，鍋倉淳一
（生理学研究所生体恒常機能達機構研究部門）

我々はこれまでに 5-HT_4 受容体作動薬クエン酸モサプリド （以下 MOS）は，下部消化管切離吻合術後に損傷した壁内神経系の再生・新生促進作用を有することを見いだしている。しかしながら，消化管切離吻合部の組織修復過程で生じる肉芽組織深部の詳細な観察は，ホールマウント標本では共焦点顕微鏡励起光の深部到達度に限界がありこれまで不可能であった。

そこで本研究では，壁内神経細胞が蛍光標識された遺伝子改変マウス（Thy1 promotor YFP H-line mouse）を用い，高深部到達性かつ低侵襲性の赤外領域光を励起光源とする非線形光学系-2 光子励起顕微鏡（以下 2PM）を用いて小腸切離吻合術後形成される肉芽組織深部の in vivo イメージングを用い，吻合部肉芽組織内の詳細な観察および損傷腸壁内神経系の再生・新生過程に対する MOS

の効果の解析，さらには損傷神経再構築機構の解明を試みた。

その結果，我々は平成 24 年度までに，2PM を用いることでこれまで不可能であった吻合部深部までの観察が十分に可能であることを明らかにした。さらには，定量的解析を進めて取得した画像から新生したと思われる神経細胞数を三次元でカウントした結果，MOS 群では他の 2 群（自然回復群，MOS の拮抗薬投与群）と比較し新生神経細胞が表面から約100 μm の深さに集中して有意に増加（約 4 倍）しているという結果を得た。これらの研究結果は，PLOS ONE 8 (1), e54814, 2013 に刊行した。

そして平成 25 年度には，損傷神経再構築機構を明らかにするため，MOS 群において手術直後に細胞蛍光標識色素でマーキングした神経幹細胞を尾静脈より移植し，一定の飼育期間後同様に吻合部 in vivo イメージングを実施した。また，イメージング後に採取した組織の切片標本を作製し，免疫組織学的解析を試行中である。

その結果，移植した神経幹細胞から分化した神経細胞（免疫組織学的にはまだ未確認）が肉芽組織表層（先に新生神経細胞が観察された部位と同様の部位）で観察された。このことから，MOS の作用により，神経幹細胞は，血流を介して肉芽組織の表層に動員されてくることが示唆された。

今後は，腸管壁内神経系の再構築過程の解明をさらに進めるために，神経幹細胞移植例数の増加および移植後より長期間飼育後の観察等の追加実験を予定している。

27. 新規鞭毛輸送(IFT)タンパク質 MIP-T3 の細胞における機能解析

北里海雄（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科）
沼田（佐藤）かお理，岡田泰伸（生理学研究所　機能協関研究部門）
村越秀治（生理学研究所　多光子顕微鏡室）

微小管を介した鞭毛内輸送 intraflagellar transport (IFT) は繊毛の形成，機能維持およびシグナル伝達に必須であり，生物の初期発生や細胞の恒常性維持に必須である。近年，多くの繊毛関連疾患 ciliopathy に IFT タンパク質が関与し，その重要性が注目されているが，各 IFT タンパク質の分子機能の解析が進んでいない。本研究では，IFT 複合体の新規構成成分として，その分子機能が依然不明な MIP-T3 タンパク質のヒト細胞内機能を解析し，特に細胞骨格のダイナミックの調節，細胞サイズの調節および細胞死誘導などにおける作用分子メカニズムを明らかにすることを目的とする。

申請者らはこれまで，細胞に MIP-T3 を遺伝子導入発現させると細胞のサイズが小さくなり，細胞内に多くのドット状の構造が観察され，アポトーシスが誘導されることが観察されたが，本計画研究ではヒト HeLa 細胞株に蛍光タンパク質融合 MIP-T3 遺伝子およびその変異体の導入発現により，細胞サイズ（容積）の調節とアポトーシス誘導との関連で，共同研究で進めた。その結果，遺伝子導入 48 時間以内で MIP-T3 及びその変異体のいずれの発現においても細胞容積調節に有意な変化が認められず，MIP-T3 による細胞死誘導は容積調節破綻との関連性が否定された。

一方，MIP-T3 の導入発現による細胞の微小管骨格のダイナミックスに及ぼす影響を本共同研究で，多光子励起法を用いる蛍光イメージング技術により，細胞骨格のダイナミクスを可視化し，時間的・空間的に定量解析を行った。その結果，MIP-T3 がアセチル化チューブリンに指向的に結合し，特にチューブリン 40 番のリジン (Lysine)アミノ残基のアセチル化が MIP-T3 と微小管との結合に極めて重要な役割を果たしていること，さらに MIP-T3 がチューブリンの脱アセチル化酵素である HDAC6 に結合することも 2 光子蛍光寿命イメージングによって始めて明らかにした。

これらの結果により，MIP-T3 が細胞の微小管のダイナミック調節とアセチル化修飾との関連性が強く示唆され，本共同研究の結果は今後の細胞における MIP-T3 の分子機能の解明に新しい方向性を示し，新たな研究の礎となった。

28. マカクサル運動皮質損傷後の機能回復にともなう代償的運動出力経路の解明

肥後範行（産業技術総合研究所）
大石高生（京都大学霊長類研究所）
林　拓也（理化学研究所）
村田　弓（産業技術総合研究所）
木下正治（生理学研究所認知行動発達機構研究部門）

これまでの研究により，マカクサルの第一次運動皮質を損傷した後に運動麻痺が生じるが，積極的な把握運動訓練を行うことにより把握機能の回復か生じること，またその過程で運動前野腹側部において神経活動の変化，および神経細胞の構造変化がみられることを明らかにした。すなわち機能回復の背景として，運動前野腹側部の出力変化を伴う機能代償があると考えられる。回復後の代償的運動経路の役割を明らかにするために，遺伝子導入技術を用いた経路選択的不活性化を行った。具体的には，大脳皮質第一次運動野手指運動の支配領域をイボテン酸の注入により不可逆的に破壊し，その後把握動作の回復が見られたマカクサルにおいて逆行性レンチウィルスベクターとアデノ随伴ウィルスベクターの 2 重感染を行った。大脳皮質に対するウイルスの感染効率が未だ低いため，今年度は運動前野腹側部からの出力経路と同様に，把握機能回復過程で構造的な変化が示唆された，赤核脊髄路に対してウィルスベクターの 2 重感染を行った。Tet-ON promotor により増強型テタヌストキシンを発現させることで赤核脊髄路の活動を阻害させたが手指の巧緻動作に顕著な障害は見られなかった。把握動作の機能代償に関わる可能性が考えられるもう一つの経路である赤核下オリーブ核路において同様の実験を行った結果，やはり手指の巧緻動作に顕著な障害が見られなかった。組織学的解析を行った結果，赤核においてアデノ随伴ウィルスベクターの感染を示す tTA（Tetracycline-controlled transactivator）の発現が見られたのに対し，2 重感染によって生じる GFP の発現は見られなかった。これらの結果から，逆行性レンチウィルスベクターの感染が不充分であったために，経路の不活性化が充分に生じなかった可能性が考えられる。今後は導入するウィルスベクターの感染効率等を再検討するとともに，当初の目的である運動前野腹側部から頸部脊髄へ至る出力経路を標的にした実験を行う予定である。

29. 遺伝子改変サルモデルを用いた大脳基底核の機能と病態の解明

高田昌彦，井上謙一（京都大学霊長類研究所），小林和人（福島県立医科大学医学部）
星　英司（東京都医学総合研究所），南部　篤

我々は，最近，狂犬病ウイルス CVS 株由来の高発現型ウイルスベクターの開発に成功し，神経回路の逆行性越シナプス的多重トレーシングを利用した機能解剖学的解析を進めている。平成２４年度は，波長の異なる蛍光タンパクをそれぞれ発現する狂犬病ウイルスベクターを作製し，これらのベクターを大脳皮質領野に注入した遺伝子改変サルモデルにおいて，大脳皮質―大脳基底核ループ回路の構造基盤の解明に関する研究をおこなった。具体的には，単一サル個体の運動関連領野や前頭前野に異なる狂犬病ウイルスベクターを注入し，三次ニューロンとして各蛍光タンパクでラベルされた線条体ニューロンの分布様式や，複数の蛍光タンパクで多重ラベルされた単一ニューロンの分布様式を解析することにより，線条体から前頭葉皮質に投射する多シナプス性出力に基づく線条体の機能マッピングを網羅的に実施している。

30. 霊長類脳遺伝子発現抑制実験への PET 分子イメージング法の応用

尾上浩隆，横山ちひろ，田原　強（理化学研究所）
山森哲夫，渡我部昭哉（基礎生物学研究所）
高司雅史，南部　篤，綾瀬大輔，畑中伸彦（生理学研究所）

【H24 報告書内容】

shRNA を発現するウィルスベクターを脳実質に注入することにより，サル類（マカクサル，マーモセット）においても遺伝子発現抑制が可能になってきた。昨年度に引き続き，PET (Positron Emission Tomography) による分子イメージング技術の適用し，in vivo での遺伝子発現の変化を非侵襲的に捉えるために，マーモセットの MRI 頭部画像を取得しウィルスベクターの注入を行った。

アデノ随伴ウイルス(AAV) を用い，マーモセットのドーパミン D1 または D2 受容体遺伝子の shRNA を組み込んだ遺伝子ベクターを作製し，麻酔下でステレオ固定装置固定下において MRI 画像を撮像した頭部画像をもとに発現抑制ベクターを脳実質（線状体）に注入した。

ドーパミン D1 受容体の発現変化は[^{11}C]SCH23390 を用いて，D2 受容体については [^{11}C]raclopride を用いて PET による測定を行った。その結果，昨年度同様。それぞれの目的の遺伝子発現が 4 割程度抑制されていること，目的外の遺伝子発現（shD1 に対しては D2）に対しては影響がほとんどないことを in vivo で追認した。現在，処置群の認知行動についての解析を霊長研にて行っており，今後，それぞれの個体の行動解析結果 PET による定量結果との関連を解析する予定である。

31. メラノプシンの構造揺らぎと機能発現の相関

古谷祐詞，塚本寿夫（分子科学研究所）
寺北明久，小柳光正（大阪市立大学理学研究科）
久保義弘（生理学研究所）

動物は外界の光情報を，視覚だけでなく体内（概日）時計の調節や瞳孔反射にも利用している。ヒトなど哺乳類の場合は，このような「視覚外」の光受容は視細胞と光感受性網膜神経節細胞によって行われることが明らかにされている。哺乳類の視細胞では，視物質と呼ばれる光受容タンパク質が最初に光シグナルを受け取る役割を果たすが，光感受性神経節細胞ではメラノプシンという別の光受容タンパク質が機能している。視物質とメラノプシンは同じオプシンファミリーに属するが，それぞれ異なるサブファミリーに分類される。すなわち，メラノプシンは，光感受性神経節細胞が「視覚外」の光受容を担うために適した光応答特性を持つように，視物質とは異なる分子特性や構造的特徴を示すと考えられる。しかし，これまで哺乳類メラノプシンを分子レベルで解析することは困難であったため，具体的にメラノプシン分子が示すどのような特徴が，光感受性神経節細胞の応答特性と連関しているのか明らかではなかった。

私たちはこれまでに，頭索類ナメクジウオのメラノプシンについて変異を導入することにより，精製したタンパク質を大量に調製することに成功し，その分子特性を明らかにすることに成功していた。この経験をもとに，ヒトやマウスなどのメラノプシンについても変異を導入することで，哺乳培養細胞で大量発現させて，得られたタンパク質を精製することに成功した。

ここで，導入した変異がメラノプシンの機能に大きな影響を与えていないことを確認するために種々のメラノプシン変異体をアフリカツメガエル卵母細胞に強制発現させ，光受容に伴う電気生理応答を野生型と比較した。これまでの研究から，メラノプシンは光を受容すると Gq タイプの 3 量体 G タンパク質を活性化することが知られている。そこで，卵母細胞に発現させたメラノプシンが光依存的に Gq を活性化することにより細胞内 Ca イオン濃度が上昇した結果，Ca イオン作動性 Cl イオンチャネルが開くことによって生じる電流を測定することに

取り組んだ。

その結果，マウス・ヒトメラノプシンの変異体を卵母細胞に発現させると光刺激に伴い Cl イオン電流が増加することを確認し，その応答が野生型とほぼ同じであることを見出した。このことは分子特性の解析のために導入した変異が，メラノプシンの機能には大きく影響していないことを示している。

今後は，ヒトやマウスなどの哺乳類メラノプシンについて，様々な変異を導入した時に，その分子特性や構造ゆらぎなどにどのような影響が出るのかを解析すると共に，卵母細胞に発現させた際の電気生理応答も解析することで，メラノプシンの分子レベルでの特徴と，細胞レベルの応答特性との相関を解析する予定である。

32. マスト細胞に発現する TRP チャネルの分子病態生理学的役割の検討

門脇　真，織田　聡，山本　武，林　周作（富山大学和漢医薬学総合研究所）
内田邦敏，富永真琴（生理学研究所・岡崎統合バイオサイエンスセンター）

マスト細胞に発現する温度感受性 TRP チャネルの生理学的機能とその病態生理学的意義を解明し，アレルギー性疾患の新たな創薬ターゲットとしての有用性を検討することを目的とした。

マスト細胞に発現する TRP チャネルの中で，TRPM2 チャネルは体温近傍の温度感受性だけでなく，分子が酸化されることにより感受性が増大することが知られている。そこで，TRPM2 チャネル欠損マウスのマウス骨髄由来肥満細胞 BMMC（TRPM2-KO-BMMC）及び 3 種類の TRPM2 チャネル阻害剤を用いて，TRPM2 チャネル電流，細胞内カルシウム濃度及び抗原刺激脱顆粒反応の検討により，TRPM2 チャネルがマスト細胞の脱顆粒に促進的に関与していることを明らかにした。脱顆粒反応における TRPM2 チャネルの関与するメカニズムを詳細に明らかにするため，細胞外カルシウム非存在下で BMMC を抗原刺激し，細胞内カルシウム濃度の上昇を検討した。TRPM2-KO-BMMC では，細胞外カルシウム非存在下での細胞内カルシウムストアからの放出による細胞内カルシウム濃度の上昇は，WT-BMMC（野生型 BMMC）と同等であった。その後，カルシウムを含む細胞外液に変えて細胞外からのカルシウム流入による細胞内カルシウム濃度の上昇を検討したところ，WT-BMMC と比較し TRPM2-KO-BMMC で有意に低かった。さらに，細胞内カルシウムストアの枯渇を引き起こす thapsigargin 刺激による脱顆粒は，WT-BMMC と比較し TRPM2-KO-BMMC で有意に低かった。TRPM2 チャネル活性化の病態生理学的意義を，マスト細胞が原因細胞としてその発症や病態形成に関わるマウス食物アレルギー病態モデルを用いて検討した。TRPM2 チャネル阻害剤 econazole および flufenamic acid はいずれも食物アレルギーの発症を抑制した。以上より，TRPM2 チャネルがマスト細胞の抗原刺激時に細胞外からのカルシウム流入に関与することにより脱顆粒を惹起すること，TRPM2 チャネルが食物アレルギーの発症や病態形成に関与していることが明らかとなった。

33. 新規神経ペプチド QRFP の睡眠-覚醒調節における役割の解明

岡田ゆふ子，寺尾　晶，富田潤一，岡松優子，木村和弘（北海道大学大学院獣医学研究科）
山中章弘（生理学研究所）

ピログルタミル化 RF アミドペプチド（QRFP）はオーファン受容体 GPR103 の内因性リガンドとして新規に同定された神経ペプチドである。QRFP は中枢神経系において視床下部に強く発現し，摂食促進および自発運動亢進作用を示すことから，睡眠・覚醒調節系への関与が示唆される。我々はこれまでの実験で，QRFP の脳室内投

与が覚醒持続時間の延長を伴う覚醒量の増加を引き起こすことを明らかにし，QRFP が脳内の覚醒調節系において促進的に作用する結果を得た。その一方で QRFP 欠損マウスを用いた解析結果からは，QRFP 欠損の睡眠・覚醒に及ぼす直接的影響を確認できなかった。しかしながら，QRPF 欠損マウスに生理的食塩水の腹腔内投与を施し，物理的なストレスを与えると，QRPF 欠損マウスは野生型マウスよりも有意に覚醒時間の延長，NREM 睡眠平均持続時間の短縮，NREM 睡眠潜時および REM 睡眠潜時の延長を認めた。

QRPF 欠損マウスでストレス刺激後に覚醒調節系の増強が示唆されたことから，過去の報告において QRFP との関連が示唆されている視床下部－下垂体－副腎系（HPA axis）がストレス刺激後の覚醒増強に関与しているのではないかと考え，HPA axis 構成因子に及ぼすストレス刺激および QRFP 欠損の影響を調べた。刺激前後の血中副腎皮質刺激ホルモン及びコルチコステロン濃度は両群ともに刺激直後に上昇したことから，ストレス刺激が HPA axis を活性化させたことを示したが，その経時的変化に野生型マウスとの相違はなかった。さらに QRPF 欠損マウスのストレス刺激後の視床下部コルチコトロピン放出ホルモン mRNA 発現量を調べたが，野生型マウスとの相違はなかった。

以上の結果から，QRFP 欠損マウスにおけるストレス刺激時の覚醒増強応答には，外因性 QRFP による覚醒増強とは異なる，HPA axis 以外の経路を介している可能性が示唆された。今後，QRFP の睡眠・覚醒調節系に及ぼす影響をさらに詳細に調べることにより，視床下部における睡眠・覚醒の調節機構を明らかにすることが期待される。

34. マウス脳幹・脊髄運動神経回路網の光遺伝学を用いた機能解析

西丸広史，小金澤禎史（筑波大学・医学医療系）
山中章弘（生理学研究所）

哺乳類の運動の発現には，脳幹に局在するニューロン，特にその軸索を脊髄に向かって下行性に投射するものによる脊髄運動神経回路の制御が重要な役割を担っていると考えられている。しかし，これらのニューロンが脊髄神経回路をどのように制御しているのかは明らかではない。本研究では，これらのニューロンのうち，セロトニンニューロンに着目した。特に延髄網様体に分布するセロトニンニューロンは脊髄の運動ニューロン群を含む脊髄前角に軸索を投射している。さらに，上位中枢からの司令で歩行運動を起こす神経経路は脳幹において延髄網様体のニューロンを経由して脊髄に達することが示されている。しかし局所回路レベルでは，これらのニューロンによる運動神経回路の制御様式についてほとんど明らかになっていない。本研究では光遺伝学を用いて脳幹に局在するセロトニン作動性ニューロンを，光遺伝学的手法を用いて特異的に制御する実験モデルを確立し，運動出力に対する効果を明らかにすることを目的とした。

現在までに報告者は山中らが作製したセロトニンニューロン特異的にチャネルロドプシンを発現するトリプトファンヒドロキシラーゼ 2(TPH2)-チャネルロドプシン（ChR2）マウス新生児の脳幹スライス標本において，光刺激によりセロトニンニューロンの膜電位を人為的に変化させ，興奮させることができることを見いだしている。また，同じマウスの脊髄摘出標本において，抑制性ニューロンへのシナプス伝達がセロトニンによって修飾を受けることを見いだした。

今後は，以上の結果より得られた，TPH2–ChR2 マウスを用いた実験モデルを駆使してセロトニンニューロンによる脊髄神経回路の制御様式を詳細に解析していく予定である。

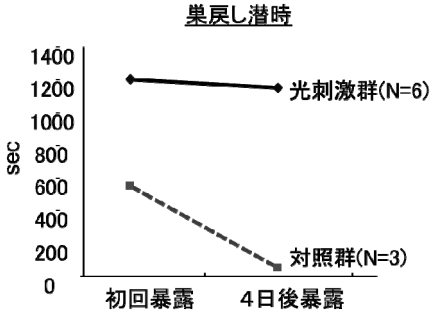
35. 光操作によるセロトニン神経系の母性行動制御機構の解明

菊水健史，岡部祥太（麻布大学獣医学部）
山中章弘（生理学研究所細胞生理研究部門）

【目的】申請者らはこれまで，養育経験による母性行動の発現に視床下部視索前野の背外側部が重要であることを同定した。この部位はセロトニン神経系の投射を強く受けること，またセロトニン神経系を障害されたマウスでは母性行動が低下することから，視索前野のセロトニン受容体を介した神経活動の制御が母性行動発現に重要であると仮説を立てた。生理学研究所の山中章弘准教授らは，セロトニン神経細胞特異的に光感受性蛋白質を発現させることに成功した。そこで，本課題では，セロトニン神経細胞の光操作による母性行動の障害あるいは促進の効果を見出すことを目的とした。

【手法】動物は性経験・育児経験のないメスマウス(ChR2 knock in mice)を使用した。また，感作実験時とその 4 日後の巣戻し行動試験時に C57BL/6 系統の生後 4－5 日齢の仔マウスを用いた。メスマウスの視床下部外側視索前野に両側性にガイドカニューレを挿入した。1 週間の回復期（ハンドリング期間 3 日を含む）の後，ChR2 を光刺激し(2Hz, 50ms)，弱感作実験（PD4-5 の仔マウス 3 匹を 20 分暴露）を開始した。その 4 日後に巣戻し行動試験を行い，本来は生じない弱感作による巣戻し行動の活性が生じるのか調査した。巣戻し行動実験では，ホームページ内の巣のない 3 箇所に子マウスを置き，巣に戻すまでの潜時を指標とした。

【結果と考察】初回仔マウス暴露時の巣戻し行動潜時が対照群と光刺激群間で異なった。対象群において 1 回しか仔マウス暴露していないにもかかわらず，4 日後の巣戻し行動潜時が短くなっており，逆に刺激群においては潜時の変化が見られなかった（下図）。また感作前の初回暴露においても，光刺激群では対照群と比較して，巣戻し潜時が延長した。これらの結果は予想と逆のものであり，当初想定していたセロトニン神経系の養育行動への関与は抑制的と考えられた。また光刺激群はオペの不手際，あるいは光刺激そのものが仔マウスへの関心を阻害していた可能性も考えられた。これら課題は手術の技術行動や光刺激装置の軽量化が進むことで改善されると思われ，今後の実験においては留意するべき点であると思われた。また対象群において 1 回暴露だけで巣戻し行動が活性化することがわかったが，このことは今後 Arch knock in mice を使った光刺激によるセロトニン神経系の抑制実験に適していると言えよう。



36. 性周期制御における GABA 興奮性作用の役割

渡部美穂（浜松医科大学医学部医学科神経生理学講座）
鍋倉淳一（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）

成熟動物の脳内において主要な抑制性伝達物質であるγ-アミノ酪酸(GABA)が発達期や傷害時には興奮性伝達物質として働くことが知られている。未熟な神経細胞では Cl^- を細胞内にくみ入れる Na^+-K^+-$2Cl^-$ 共役担体(NKCC1)の発現が高く，Cl^- を細胞外にくみ出す K^+-Cl^- 共役担体(KCC2)の発現が低いため，細胞内 Cl^- 濃度が高く，GABA は興奮性に作用する。発達に伴い，NKCC1 の発現が減少し，KCC2 の発現が増加するため，細胞内 Cl^- 濃度が低くなり，GABA の作用は興奮性から抑制性に変化する。排卵を制御している生殖腺刺激ホルモン放

出ホルモン(GnRH)ニューロンでは，成熟動物においても GABA が興奮性に作用するという特有な性質を示すことをこれまでに明らかにしてきた。GnRH ニューロンの機能制御における GABA 興奮性作用の役割について個体レベルで明らかにするために，テトラサイクリン遺伝子発現誘導系をマウス個体に応用し，GnRH ニューロンのみで特定の時期に KCC2 の発現誘導を可逆的に行うことのできる遺伝子改変マウスを作成した。このマウスではドキシサイクリン投与中止により，GnRH ニューロンで KCC2 mRNA および KCC2 タンパクが発現誘導され，ドキシサイクリン再投与で発現誘導されなくなることを確認できた。性成熟後，KCC2 を発現誘導させ GnRH ニューロンへの GABA 入力を抑制性に変化させたマウスでは，周期的にみられていた性周期が乱れ，妊娠率が低下することがわかった。この結果から，GnRH ニューロンへの興奮性 GABA 入力は性周期制御機構において重要な役割をはたしていることが示唆された。今後は GnRH ニューロンへの GABA 入力を抑制性に変化させた時の機能変化の要因について，GnRH ニューロンの細胞生理学的性質の変化を解析することで明らかにしていく。

37. 母子解離マウスのマイクログリアがシナプス可塑性に与える影響について

高鶴裕介（群馬大学大学院・医学系研究科・応用生理学分野）
石川達也，鍋倉淳一（自然科学研究機構・生理学研究所・生体恒常機能発達機構研究部門）

慢性ストレスおよびそれに起因する様々な精神疾患が社会問題になっている。一部の疾患は幼少期の生育環境によるものであることが知られており，例えば幼児虐待の被害者が Posttraumatic stress disorder (PTSD) を発症し，成人後も様々な精神疾患で苦しんでいるといわれている。しかしながら，背景にあるメカニズムは未知の部分が多く，これらの患者に対する効果的な治療法が確立されているとは言い難い。

研究提案者はこれまで PTSD 類似モデルとして知られている母子乖離マウスを用いた研究を続けており，同マウスにおける体性感覚野のシナプス可塑性の異常（シナプス構造の不安定化）および知覚過敏症の存在を報告している（Takatsuru et al., 2009）。その後の研究で，同マウスでは体性感覚野においてグルタミン酸の過剰放出が起こっており，電気生理学的な過剰興奮が起こっていることがわかっている（Takatsuru et al., unpublished data）。

近年，マイクログリアが脳において，シナプス構造に対し積極的な働きかけを行っていることが in vivo imaging の手法により明らかになっており，過剰興奮を起こしたシナプスを「刈り込む」役割があることが示唆されている （Wake et al., 2009）。この働きの誘因となる因子の一つとしてグルタミン酸濃度の上昇が重要であることも示唆されている （Kato et al., unpublished data）。

そこで本研究課題では，母子乖離マウスの体性感覚野におけるマイクログリアの動態について in vivo imaging の手法を用いて検証することを行った。母子乖離マウスおよび対照群について，約 15 分間の imaging を行い，次に，末梢刺激を 20 分間入力した後でのマイクログリアの突起伸長／退縮の様子について経時的に観察した。その結果，母子乖離マウスの体性感覚野において，単位時間当たりの突起伸長／退縮距離の増加および，変化速度の増加が認められた。同様の末梢刺激を行った際，母子乖離マウスのみグルタミン酸濃度の持続的な上昇が認められることも分かった。今後，本現象のメカニズムについて検証して行く予定である。

38. DBZ KO マウスを活用した精神疾患の中間表現型の解明

服部剛志，伊藤　彰（大阪大学医学系研究科分子精神神経学（大日本住友製薬）寄附講座）
高雄啓三，宮川　剛（生理学研究所・行動様式解析室）

DBZ は精神疾患リスク因子 DISC1 の結合タンパクである。DBZ は脳特異的に発現しており，DBZ と DISC1 の結合は神経細胞の突起伸展（樹状突起），大脳皮質形成時の神経細胞の移動に関与していることが知られている。DISC1 の機能解析はこれまで多くの報告があるが，DBZ の生体での機能は全く報告がないので，我々は DBZ KO マウスを作成し，その解析を行った。DBZ KO マウスでは大脳皮質形成時の細胞移動の遅れによる 6 層構造の乱れや大脳皮質内の錐体細胞の樹状突起形成場などが認められる。DBZ KO マウスの脳神経発達異常が行動に与える影響を検討するために行動テストバッテリーを用いて，スクリーニングを行った。解析には野生型マウス 24 匹，KO マウス 24 匹を用いた。DBZ KO マウスでは Fear Conditioning Test （恐怖条件づけ記憶）において短期間の恐怖記憶には変化が見られなかったが，1 か月後に行った長期記憶に関してはコントロールに対して劣っている結果となった。23 年度の実験より DBZ KO マウスでは不安が増強している可能性を示唆する結果が得られていたが，我々は，ベンゾジアゼピン（抗不安薬）を投与するとその不安が解消されるか否かを NIH という test で検討した。その結果，ベンゾジアゼピンを投与することによって DBZ KO マウスの不安の増強が緩和された。我々は，更にアンフェタミン（ドパミン作動薬）や MK801（NMDA 受容体阻害薬）の DBZ KO マウスへの影響を Open Field Test で検討したが，活動量などにコントロールマウスとの顕著な変化は認められなかった。今後は，不安や記憶に関係する部位である扁桃体や海馬，大脳皮質での神経細胞の異常がないか検討する予定である。

39. コヒーシン欠損マウスを活用した精神疾患の中間表現型の解明

藤田　幸，山下俊英（大阪大学大学院医学系研究科 分子神経科学）
高雄啓三，宮川　剛（生理学研究所・行動様式解析室）

本研究は，コヒーシン欠損マウスの行動解析を行い，コヒーシンの機能低下と精神遅滞などの高次脳機能障害との関連性を解明することを目的とする。ヒトでは，コヒーシン機能の低下により，Cornelia de Lange Syndrome (CdLS)という分化・発生異常をきたす。この疾患では，四肢の形成異常の他，精神遅滞を伴うことが報告されている。しかしながら，哺乳類の中枢神経系におけるコヒーシンの機能は明らかになっていない。行動テストバッテリーにより，当該マウスの行動異常を網羅的に検証することで，コヒーシンの機能低下と高次脳機能障害との関連を解明する。

野生型マウス，コヒーシン欠損マウス 9~10 週齢をそれぞれ 23匹準備し，以下の行動テストバッテリーを行った。

general health/neurological screen, wire hang/grip strength test, light/dark transition，open field, elevated plus maze, hot plate, social interaction (novel environment), rotarod, prepulse inhibition/startle response, Porsolt forced swim, Barnes maze, cued and contextual fear conditioning, 24 hour home cage monitoring

全ての動物実験は生理学研究所の動物実験規定を遵守し，動物の個体数や苦痛は最小限にとどめて行なった。

全ての行動解析を終了し，必要なデータを取得した後，再度 genotyping を行い，マウスの遺伝子型に間違いがないことを確認した。さらに，行動解析後のマウスから脳を採取し，遺伝子発現解析や免疫染色を行う予定である。

40. QRFP 欠損マウスの行動解析による QRFP の生理学的役割の解明

山中章弘（名古屋大学　環境医学研究所）
高雄啓三，宮川　剛（生理学研究所・行動様式解析室）

QRFP は 2003 年に初めてオーファン G タンパク質受容体であった GPR103 の内因性リガンドとして同定された神経ペプチドである。合成 QRFP の脳室内投与によって，摂食亢進作用，鎮痛作用などが僅かに報告されているものの，生理的役割についてはほとんど分かっていなかった。これまでに QRFP 特異的抗体の作製によって，QRFP 産生神経細胞の存在部位，投射先を組織化学的解析し，視床下部に細胞体が散在すること，大脳皮質や扁桃体に軸索を投射していることを示した。また，in situ hybridization を用いて受容体の発現分布様式についても明らかにしてきた。さらに詳細に生理的役割について個体レベルで解明するために，新たに QRFP 遺伝子欠損マウスを作成した。PCR，特異的抗体を用いた染色によって QRFP 遺伝子欠損を確認し，行動テスト用のマウスを準備した。これらのマウスを用いて多角的な行動テストバッテリーによって，これまで知られていない新たな生理的役割について見いだすことを試みている。これまでの所，QRFP 遺伝子欠損マウス群（雄 20 匹）と同腹仔野生型対照群（雄 20 匹）との間において行動レベルでの有意な差はほとんど観察されなかった。一方，体重などエネルギー恒常性における違いが認められたことから，今後はエネルギー代謝における役割についてさらに詳細に検討していく予定である。

41. 電位センサーを持った機能未知タンパク質の記憶・学習に与える影響の解析

岡村康司（大阪大学大学院・医学系研究科）
高雄啓三，宮川　剛（生理学研究所・行動様式解析室）

本研究では，膜電位センサーを含有していることが分かっているものの，これまでその機能が不明である voltage sensor only protein2 (VSOP2)に着目し，その機能の解明を目指した研究を行っている。我々のこれまでの研究結果から VSOP2 は神経細胞に発現し，とりわけ小脳において発現が強く認められる。そこで本研究では VSOP2 が運動・学習に及ぼす影響を考慮した行動学的解析を進めつつ，網羅的な行動様式解析を行うことで，本蛋白質が神経回路の情報処理にもたらす影響を調べることを目的とした。またその結果が，これまで困難であった VSOP2 の機能解明の契機となることを期待した。

実験動物には，新潟大学の崎村教授との共同研究によって作出された VSOP2 遺伝子ノックアウトマウスを使用した（本ノックアウトマウスでは VSOP2 遺伝子が neomycin 耐性遺伝子に置換されている）。VSOP2 遺伝子について各遺伝子型（ホモ，ヘテロ，野生型）の雄マウス 10 週齢 20 匹程度を準備してから生理学研究所へと搬入し，施設に既存の設備を用いて網羅的な行動学的解析を行った。行動実験は二カ月弱程行い，その種類は 15 種類程と多岐にわたった。実験の結果，残念ながら主に小脳領域の寄与すると考えられる gait analysis, rota rod test といったテストでは野生型とホモとの間に有意な違いを見出すことは出来なかった。しかし予想に反し，2 種類ほどのテストにおいて，両者に違いの見られる結果が得られた。

今後はこの今回行動学的解析によって異常が見られたテストに着目し，その行動に関わる神経領域についてまずは VSOP2 遺伝子の発現を再度詳細に確認する予定である。これらの細胞において発現が確認されたら，次に初期応答遺伝子 c-fos によるアッセイや電気生理学的解析を組み合わせて進めることで，VSOP2 によってもたらされる神経活動の変化を明らかにしていく。以上の内容が，今後膜電位センサー機能の新たな側面を理解するのにつながることを期待している。

42. Cyclin-dependent kinase-like 5(CDKL5)ノックアウトマウスに対する薬物投与反応の行動解析による機能障害パスウェイ同定

田中輝幸，奥田耕助（東京大学大学院医学系研究科　発達医科学教室）
高雄啓三，宮川　剛（生理学研究所・行動様式解析室）

（目的）*Cyclin-dependent kinase-like 5 (CDKL5)*は，てんかんを伴う発達障害の原因遺伝子として近年同定された遺伝子であるが，その生体内分子機能と loss-of-function による病態機序はほとんど分かっていない。当研究室ではこれらの解明のため，*Cdkl5* ノックアウト(KO)マウスを作製し，生理学研究所 行動・代謝分子解析センター行動様式解析室との共同研究によって，*Cdkl5* KO マウスにおける不安様行動の亢進，うつ様行動の亢進，恐怖条件付けにおける般化の亢進，等の情動異常と，長期記憶，作業記憶の障害を同定した。一方我々は，*Cdkl5* KO マウスのシナプス蛋白解析により，NMDA 受容体蛋白サブユニットの異常と，電気生理学的解析により，NMDA 受容体を介したシナプス伝達の異常を同定している。そこで本年度，このシナプス伝達異常がこれらの情動異常の基礎メカニズムの一つである可能性を考え，その検証のため，NMDA 受容体阻害薬を用いた行動解析を行った。

（方法）C57BL/6N バックグラウンドの *Cdkl5* KO 雄マウス及び同腹仔の野生型雄マウスを各２０匹用意し，NMDA 受容体阻害薬 Ifenprodil 1〜2 mg/kg 体重，あるいは MK-801 0.05 mg/kg 体重を腹腔内投与し，30 分後より明暗選択試験，オープンフィールド試験，高架式十字型迷路試験を行った。

（結果）Ifenprodil，MK-801 を投与された *Cdkl5* KO マウスは，明暗選択試験，オープンフィールド試験，高架式十字型迷路試験において，vehicle コントロールである生理食塩水投与群と比して不安様行動の有意な改善は示さなかった。しかし，KO マウスのオープンフィールド試験において，生理食塩水投与群では有意な行動量の増強を示したのに対し，Ifenprodil 及び MK-801 投与群では行動量が野生型マウスと同等であった。

（考察）今回の実験では，NMDA 受容体阻害薬投与によっても *Cdkl5* KO マウスの不安様行動亢進の改善は認められなかった。KO マウスの不安様行動亢進のメカニズムは NMDA 受容体を介した興奮性シナプス伝達亢進に因らない可能性と，今回の阻害剤投与では行動レベルに影響を及ぼすまで NMDA 受容体機能亢進が抑制されなかった可能性が考えられる。興味深いことに，KO マウスでは，生理食塩水注射後，ストレスによると思われる過剰運動が認められたが，それが NMDA 阻害剤投与で rescue された。NMDA 機能亢進が KO マウスの情動機能に影響を及ぼすためと考えられ，今後更に他の手法を用いてメカニズムの解明を進める。

超高圧電子顕微鏡
共同利用実験報告

超高圧電子顕微鏡共同利用実験報告

〔 目　　次 〕

1．超高圧電子顕微鏡を使った微小管・アクチン・膜系ダイナミクスの解析（唐原一郎ほか）…… 218
2．深海微生物の微細形態と進化に関する研究（山口正視ほか）…… 219
3．超高圧電子顕微鏡を用いた細胞内膜構造の形成と輸送機構の解明（金子康子ほか）…… 219
4．抑制性網膜アマクリン細胞間の電気シナプスの機能と三次元形態構造の対応（日髙　聰ほか）…… 220
5．超高圧電子顕微鏡を使った植物γチューブリンを導入した分裂酵母の全微小管端の解析（紅　朋浩ほか）…… 221
6．膵間質細胞の亜鉛動態に関する研究（野田　亨）…… 221
7．原生生物の細胞構造の解析（洲崎敏伸ほか）…… 222
8．超高圧電子顕微鏡を使ったバクテリアセルロース合成機構の解析（峰雪芳宣ほか）…… 223
9．精神疾患モデル動物を用いた脊髄内運動ニューロンの形態変化（坂本浩隆ほか）…… 224
10．葉緑体のチラコイド膜の構造変化と膜上に分布する光化学系Ⅱ関連タンパク質の動態（西村美保ほか）…… 225
11．嗅覚系新生ニューロンの遊走・分化過程における形態変化の三次元微細構造解析（樋田一徳）…… 225
12．AAA シャペロンによる細胞内構造形態制御機構の解明（江崎雅俊ほか）…… 226
13．フェロモン受容系構成ニューロンの超高圧電子顕微鏡を用いた三次元解析（高見　茂）…… 227
14．Investigation of Purkinje cell dendritic spines in Inositol trisphosphate 3-kinase knock out mice
（Hyun Wook Kim ほか）…… 227
15．Electron tomography of Herpes simplex virus-infected mammalian cells（Rebecca Lauder ほか）…… 228
16．Ultra structure of apoptosis in mouse liver using ApoPep-1 treatment（HAN Sung Sik）…… 229
17．3-dimensional structure analysis of mutant p53 protein oligomerization under nickel exposure（Young Rok Seo）…… 230
18．Structural Differentiation of Nuclear Crystals in Salvinia by High Voltage Electron Microscopy（InSun Kim）…… 230

1. 超高圧電子顕微鏡を使った微小管・アクチン・膜系ダイナミクスの解析

唐原一郎，栗原剛正（富山大学大学院理工学研究部）
竹内美由紀（東京大学大学院農学生命科学研究科）
峰雪芳宣（兵庫県立大学大学院生命理学研究科）
村田和義（生理学研究所）

目的

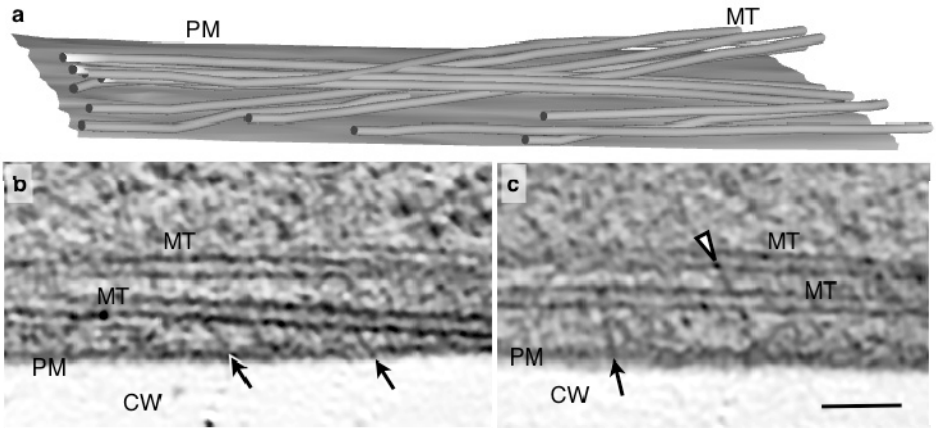
高等植物では，体細胞分裂前期に分裂準備帯と呼ばれる主に微小管からなる構造が観察される。分裂準備帯は細胞分裂面位置の決定に関わるが，その位置決定の機構や分裂準備帯自身の形成機構などについて未解明の点が多い。そこで本研究課題では電子線トモグラフィー法を用いて分裂準備帯の微小管と膜系のダイナミクスを立体的に解析することを目指す。

実験方法

タマネギ実生の子葉を加圧凍結し，2%四酸化オスミウム・アセトン溶液中で凍結置換固定を行った。さらに 5% 酢酸ウラニル・メタノール溶液によるブロック染色後，Spurr 樹脂に包埋した。包埋試料から子葉表皮断面の連続切片を作製し，酢酸ウラニル溶液（20 min），クエン酸鉛溶液（4 min）による二重染色を行った．直径 25nm の金粒子の塗布とカーボンコートを施した後，切片を超高圧電子顕微鏡観察に供した。分裂前期の時期にある表皮細胞を選び，分裂準備帯領域を倍率 1 万倍で，−60º~60º 回転させて撮影した。傾斜シリーズ画像から IMOD ソフトウエアを使用して三次元像の再構築を行った。

結果

タマネギ子葉の表皮細胞の分裂準備帯では幅が約 3~十数 nm 程度の微小管の帯が観察される。これまで厚さ 250~1000 nm の切片を用いて，分裂準備帯微小管について広範囲の三次元像を観察することを試みてきた。今回は予備観察も合わせて比較的扱いやすい 500nm 厚さの切片を使用した。再構成した三次元像上で分裂準備帯の微小管と細胞膜，あるいは微小管どうしの位置関係について観察した（図 a)。各微小管を長軸方向に追跡すると，細胞膜から約 20 ~ 200nm の細胞表層領域でときに細胞膜との距離を大きく変えながら配置しており，細胞膜との隣接部では細胞膜と微小管を繋いでいると考えられる構造が観察された（図 b, c 矢印)。この他，分裂準備帯内では，二本の微小管間に架橋構造が観察された（図 c 矢尻)。分裂準備帯の微小管は架橋されて束を形成していることがわかっている。これらの束化した微小管は，束全体としてその配置について細胞膜から何らかの制御を受けている可能性が示唆された。



図．三次元再構成像から作製した細胞膜(PM)と一部の微小管(MT)のモデル(a)。分裂準備帯内で微小管が配置を変える様子が観察された。また微小管の周辺に繊維状構造が観察され，微小管と細胞膜間の架橋（矢印）および微小管と微小管間の架橋（矢尻）と考えられる構造が見られた(b, c)。CW, 細胞壁。Bar = 100 nm

2. 深海微生物の微細形態と進化に関する研究

山口正視（千葉大学・真菌医学研究センター）
村田和義（生理学研究所）

地球上には，二重膜で包まれた核をもつ真核生物と，これをもたない原核生物の２つの種類の生物しか存在していない。真核細胞は，原核細胞の１万倍の体積をもち，ミトコンドリアや葉緑体をはじめ，さまざまなオルガネラをもっていて，複雑な細胞構造を呈する。真核生物は原核生物から進化して生まれたとされるが，両者の細胞の違いはあまりにも大きく，真核生物がどのようにして原核生物から生じたかは，生物学上，最大のなぞの一つである。われわれは，真核生物の起源のなぞを解くために，原核生物から真核生物への進化の途上にある生物を見つけ出し，その生物の微細構造，DNA，構成する分子種などを詳しく解析することによって，この問題を解決したいと考える。超高圧電子顕微鏡は，生物の微細構造を立体的に把握する上で，非常に有用である。

2010 年，2011 年に，研究船「なつしま」にて，伊豆諸島の明神海丘の海域および初島沖で，水深 800～1,200 メートルの海底からウロコムシなど多種類の小動物を採集した．試料は，船上で１mm 角に細切し，グルタルアルデヒドで固定した．固定した試料を研究室に持ち帰り，樹脂に包埋し，小動物に共生している微生物を超薄切片法で観察した．微生物が存在する試料については，もう一度，急速凍結置換固定法を用いて再固定を行い，アーティファクトの少ない試料を調製した。

現在まで，さまざまな微細形態をもつ微生物を電子顕微鏡撮影している。試料ブロックのいくつかから，１～３μm の厚切り切片を作製して，超高圧電子顕微鏡でトモグラフィー撮影を行なった。撮影した画像を，コンピュータに取り込んで微生物の三次元再構築を行なった。今後さらに，厚切りブロックを作製して，観察数をふやしたい。

3. 超高圧電子顕微鏡を用いた細胞内膜構造の形成と輸送機構の解明

金子康子，大平悠麻，関由起子（埼玉大学）
村田和義（生理学研究所）

ムジナモ (*Aldrovanda vesiculosa* L.) は稀少な水生の食虫植物で，水面下に浮遊し二枚貝葉の捕虫葉でミジンコなどの小動物を挟み込んで捕え，消化して養分を吸収する。捕虫葉上には特徴的な形態を有する 3 種類の腺毛が存在する。針状の感覚毛は獲物を感知して運動細胞の膨圧変化を瞬時に引き起こすシグナルを伝える。捕虫葉中央域に散在する消化腺毛からは，複数の消化酵素が分泌されることを明らかにしてきた。捕虫葉辺縁域に並ぶ X 型の吸収毛の機能は未解明であるが，急速凍結・凍結置換固定像で，ゴルジ体や小胞体などの多量の膜構造が観察され，膜輸送を介した活発な細胞活動が行われていることが示唆されてきた。

吸収毛細胞膜を蛍光試薬 FM1-43 で標識した後，捕虫葉による獲物の捕獲・消化過程を観察すると，捕虫葉閉合後 10～15 分後に辺縁部を密着させる狭窄過程において，蛍光標識された細胞膜由来の膜小胞が多量に形成され，細胞内を激しく動き回る様子が観察された。ムジナモ捕虫葉は，水中で密閉状態の袋を作出して，消化酵素を効率的に利用するために，捕虫葉間に挟みこんだ余分な水分を急速に排出すると考えられ，そのための機能を消化腺毛が担っている可能性がある。今後，電顕・光顕で追跡可能な膜標識を適用し，高圧凍結した試料から凍結切片を作成して超高圧電子顕微鏡観察，三次元立体構築を行い，消化腺毛の機能に関わる膜小胞や関連分子の動態を明らかにしたい。

並行してシアノバクテリアの十文字型分裂・増殖過程の観察を行った。桿状のシアノバクテリア *Synechococcus elongatus* PCC 7942 は通常 2 細胞に分裂することを繰り返して増殖するが，稀に十字型に 4 細胞を形成する現象を見出した。細胞膜を FM1-43 で蛍光標識して観察した

ところ，１つの細胞が２細胞に分裂する過程で，分裂面からこれらの細胞に直交する方向に新たに２細胞が形成される様子が観察された。試料を急速凍結した後，超高圧電子顕微鏡によるクライオ電子線トモグラフィーで 4 細胞相互の関わりを解析した。これら４細胞は同一平面状に配置しており，４細胞の交点付近では，２分裂中の細胞と新たに形成された細胞の境界は明確ではなく密着していた。今後，十文字型分裂・増殖時に新たに生成される細胞の細胞膜がどこからどのように形成されるのか解明することを目指したい。

4．抑制性網膜アマクリン細胞間の電気シナプスの機能と三次元形態構造の対応

日髙　聰（藤田保健衛生大学医学部生理学教室）
村田和義（生理学研究所）

ニューロン間の電気シナプスの働きを明らかにするためには，ギャップ結合の微細形態の同定や樹状突起の間でのギャップ結合の存在部位の同定を行う必要がある(Hidaka 等,2004)。神経系では特徴ある巨大なギャップ結合（直径　10μm）を形成している網膜アマクリン細胞に注目して，微細形態とその生理機能との関係を調べた。電気生理学実験を行なった細胞に，Neurobiotin を注入して発色すると，色素カップリングの形成から，樹状突起間のギャップ結合部位を同定できる。Neurobiotin の注入と同時に，電極内にシグナル伝達系の調節物質を充填して注入すると，ギャップ結合の透過性の調節や電気シナプスの制御を測定できる(Hidaka,2008)。これまでに，細胞内の高濃度の環状 AMP(cAMP)が網状層間アマクリン細胞(interstitial amacrine cells)間のギャップ結合を遮断し，電気シナプスを抑制することを明らかにした(Hidaka, 2012)。シグナル伝達の調節物質を電極内に充填しない場合は，細胞間で強い色素カップリング(homotypic coupling)が観察され，同型の細胞が樹状突起の先端同士で結合していた。電極内に 5mM cAMP を充填した場合に，細胞内注入によって色素カップリングは完全に遮断され，電気シナプスは抑制された。dual whole-cell patch clamp 法で細胞間コンダクタンスを調べた結果，コントロールの細胞間コンダクタンス（平均 2.02nS）に比べ，電極内に 5mM cAMP を充填した場合には細胞間コンダクタンスは抑制された（0.23nS）。細胞内の cAMP による電気シナプスの調節様式を調べる目的で，cAMP と共にギャップ結合に対する抗体を電極内に充填して，細胞間コンダクタンスを調べた。その結果，ギャップ結合蛋白の細胞内ドメインに対する抗体が，電気シナプスに対する cAMP による調節効果を打ち消すことが分かった（細胞間コンダクタンス：平均 0.98nS）。

上記のような性質を示すギャップ結合の微細形態を明らかにするために，ギャップ結合に対する抗体で染色した標本を用いて，細胞間の結合形態と微細構造を解析した。標本をエポン樹脂に包埋し，厚さ 5μm の切片を作成し，1,000kV の加速電圧から超高圧電子顕微鏡下で観察した。超高圧電子顕微鏡の試料ステージの傾斜によって 2° づつ $\pm 60^{o}$ で撮影し，**IMOD** プログラムを用いてその立体再構成を行って解析した。

［文献］

1) Hidaka, S. et al., (2004) ***Journal of Neuroscience***, Vol 24 (46)**:** pp 10553 – 10567**.**

2) Hidaka, S. (2008) ***Journal of Integrative Neuroscience***, Vol 7 (1): pp 29 - 48.

3) Hidaka, S. (2012) ***Brain Research***. Vol 1449: pp 1 - 14.

5. 超高圧電子顕微鏡を使った植物γチューブリンを導入した分裂酵母の全微小管端の解析

紅　朋浩（名古屋大学大学院医学系研究科）
堀尾哲也（日本体育大学体育学部）
村田和義（生理学研究所）

被子植物は中心体を持たず，他の生物と異なる微小管形成機構を持っていると考えられているが，その詳細はほとんど分かっていない。γチューブリンは真核生物の微小管形成に必須の分子である。分裂酵母のγチューブリンの代わりに被子植物のγチューブリンを分裂酵母で発現させると，分裂酵母の間期微小管のダイナミクスが異常になる。我々は，この異常が種々の下等な植物のγチューブリンで改善する事を見つけた。これら植物γチューブリンが分裂酵母の微小管にどのような影響を持つのかを調べることで，植物γチューブリンの特徴を理解することに役立つのではないかと思われる。共同利用実験者の峰雪らは, 樹脂包埋切片を250nm厚にすることで, 超高圧電顕を用いた電子線トモグラフィーにより微小管端の構造を明確に捉えることに成功している。そこでこの手法を分裂酵母に適用し，微小管の微細構造を細胞単位で理解することにより，様々な植物γチューブリンを発現させた分裂酵母の微小管端の構造と微小管ネットワークの関係を知ろうと考えた。間期の分裂酵母は細胞長軸方向に伸びる細胞質微小管を数本有し，全ての微小管を把握するには好都合であるが，それでもなお微細構造レベルですべてを捕捉するのは容易くない。微小管構造の差を明らかにするためにはある程度多検体を比較することが求められる。そこでまず，さらに厚い切片を作製し，切片数を減らしてトモグラム数を極力少なくした上で，微小管端の観察を試みた。野生株の分裂酵母を高圧急速凍結による固定後, 樹脂包埋した試料を用い, 250nm厚，300nm 厚，400nm 厚等の様々な厚みの切片を作製した。超高圧電子顕微鏡を用い，細胞全体を把握でき，かつ最大の拡大像が得られる倍率を選び，トモグラム解析のための撮影を行った。トモグラム解析には IMOD を使用した。

トモグラム処理の結果，核，ミトコンドリア，液胞，ゴルジ体といった膜系構造についてはほぼ問題ないと思われる像が得られた。一方微小管はほとんど認められなかった。微小管の保存性がよくないように思われたことから，固定に用いた高圧急速凍結で微小管がうまく保存されていなかった可能性が考えられた。今後は分裂酵母でより一般的に用いられてきた浸漬急速凍結固定法に変えて試料調製を行ない，再挑戦したいと考えている。

.

6. 膵間質細胞の亜鉛動態に関する研究

野田　亨（藍野大学医療保健学部理学療法学科）

亜鉛は生体の多くの代謝に関係する重要な微量金属である。膵において，亜鉛は外分泌細胞や内分泌細胞の分泌現象に深く関わっていることが知られている。しかし膵組織には分泌細胞の他に間質細胞も存在し，いくつかの疾病でその役割の重要性が指摘されている。本研究では膵間質細胞が膵組織全体の亜鉛代謝になんらかの役割を持つのではないかと考え，検討を加えた。

材料には亜鉛投与ラット，Caerulein 投与による実験的膵炎モデルラット，および無処置コントロールラットを用い，各膵組織に含まれるいくつかの亜鉛関連蛋白は免疫組織化学的に標識した。また亜鉛を検出するために Autometallography (AMG)という手法を用いて，膵組織に含まれる亜鉛を標識した。これらの試料から作製した超薄切片は通常の電顕で，厚切り切片は生理研の超高圧電顕（H1250M）で観察した。

亜鉛トランスポーター，亜鉛要求性酵素である Cu/Zn-Superoxide Dismutase 1 (SOD1)，亜鉛結合蛋白である metallothionein (MT)などは主として，膵外分泌細胞に

局在しており，亜鉛代謝が活発に行われていることを推測させた。

しかし，膵の間質に存在する細胞はコントロールラットや亜鉛投与ラットの膵組織ではその数も限定的であることもあり，上記の亜鉛関連蛋白の標識について多くの所見を得ることができなかった。ただ，免疫組織化学的所見で注目されたのは MT とα-smooth muscle actin (SMA)である。MT はコントロールの間質細胞では標識されなかったが，亜鉛投与群では MT 強陽性の細胞が増加し，膠原線維を分泌する MT 強陽性細胞を認めた。膵炎組織では間質に MT 標識強度の異なる細胞が混在していた。間質の細胞で MT の標識を示すものの中には紡錘形の他に血管周囲に長く細胞突起を伸ばした細胞も認められ，同様の細胞で SMA の標識も認められた。

また亜鉛の分布を示す AMG 標識では，コントロールでは間質細胞はあまり標識されなかったが，亜鉛投与群では膵間質細胞の中に AMG 強陽性の細胞が観察されていた。上記の所見を合わせると，MT 強陽性細胞が AMG 強陽性間質細胞である可能性はある。膵炎組織の場合，いまのところ，AMG に標識される間質細胞は少なく，MT 陽性であっても，実際には亜鉛はあまり含まれていない可能性がある。

7. 原生生物の細胞構造の解析

洲崎敏伸，ソンチホン，早川昌志，清水美里，長澤　凌（神戸大学大学院理学研究科）
福田康弘（東北大学大学院農学研究科）

ミドリゾウリムシなどの持つ共生生物（藻類や酵母）と，宿主細胞のオルガネラとの微細構造的関連性に関して，生理学研究所の H-1250M 型超高圧電顕を用いた電子線トモグラフィーにより，様々な新たな知見を得ることができた。方法としては，ミドリゾウリムシを金属圧着法により急速凍結したのち，1%OsO_4 と 0.5%グルタルアルデヒドを含むアセトン置換液を用いて凍結置換固定を行った後，Spurr 樹脂に包埋し，厚切り切片（0.2~5 μ m）を作製したものを超高圧電顕で観察した。撮影した電顕写真から，電子線トモグラフィーを行い，得られた画像データから細胞内のオルガネラ間の立体的相互関係を解析した[1)]。

その結果，共生クロレラはミドリゾウリムシの細胞表層に直接結合しているのではなく，ミドリゾウリムシの持つ防御性の分泌顆粒であるトリコシストやミトコンドリアに結合し，さらに小胞体，繊毛基粒体に附属する小胞，食胞などとも連絡し合い，これらのすべてが複雑に結合しあったものがミドリゾウリムシの表層直下に保持されていることが判明した。また，これらの複合構造は，ミドリゾウリムシの表層とは，トリコシストの先端部とミトコンドリア，小胞体，繊毛基粒体の部分で結合していることがわかった。さらに，共生クロレラの定着維持状態を化学固定法と凍結置換固定法という２つの異なる細胞固定法を用いて比較観察を行った。また，それぞれの固定法のもたらすアーティファクトについても検討した。共生クロレラを持つミドリゾウリムシを化学固定すると，共生クロレラの細胞壁とクロレラを包含する食胞由来の膜である PV 膜（peri-symbiont vacuole 膜）との間には平均約 190 nm の間隔のスペースが観察されたが，これは化学固定のアーティファクトである可能性が考えられた。それで，生きた細胞内のオルガネラの位置関係を最も保持すると考えられている固定法である凍結置換固定法を用いて固定し，観察したところ，このスペースは実際には 25 nm しかなく，クロレラの細胞壁と PV 膜とはきわめて近接していることがわかった。さらに，両方の方法によって固定したクロレラの直径を測定し，統計的に検定した結果，クロレラと PV 膜とのあいだのスペースが化学固定法の場合に拡がって見えたのは，PV 膜のサイズが拡大したためではなく，クロレラが化学固定の後の脱水過程において収縮していたことがわかった。

1) Song, C. and Suzaki, T. Improved preservation of organelles in *Paramecium bursaria* by freeze-substitution with glutaraldehyde and osmium tetroxide. J. Electr. Microsc. Technol. Med. Biol., 27(1): 1-8. (2013)

8. 超高圧電子顕微鏡を使ったバクテリアセルロース合成機構の解析

峰雪芳宣，中井朋則（兵庫県立大学大学院生命理学研究科）
庄　大地（兵庫県立大学理学部）
村田和義（生理学研究所）

目的

セルロースを分解する酵素（セルラーゼ）がセルロース合成に重要な役割をしていると考えられているが，その機構は不明である。我々はセルロースを合成する酢酸菌（*Gluconacetobacter xylinus*）を使ってセルラーゼのセルロース合成への役割について研究を行い，セルラーゼ遺伝子が欠損した株では，合成されたセルロース繊維が野生株に比べ著しくねじれていること見つけた。これは，セルラーゼが合成されたセルロース分子の配列に関与していることを示唆する。酢酸菌は直径 1μm 弱の大きさなので，切片の作製なしに超高圧電子顕微鏡法と電子線トモグラフィー法を組み合わせた観察が可能と思われる。本研究では，超高圧電子顕微鏡を使ってセルラーゼ遺伝子欠損株と野生株で，生産されたセルロース繊維と，セルロースが合成される菌体表面の構造がどのようになっているか明らかにすることを目的としている。今年度はそのまま氷包埋したセルラーゼ遺伝子欠損株についてクライオ電顕を使って観察を行った。また，野生株のセルロース繊維は，電子線トモグラムデータから繊維のモデル化を行った。

実験方法

Quantifoil R3.5/1 mesh (Cu-200)上に菌液を滴下後，全自動瞬間凍結装置 Vitrobot(FEI カンパニー社製）を使用して必要量が残るように菌液をろ紙で吸い取り，液体エタンで急速凍結し JEM-2200FS で観察した。トモグラム解析は IMOD を使用した。

結果

セルラーゼ欠損株のクライオ電顕観察を試みたが，今回の方法では，目的のセルロース繊維を持った菌体を見つけることができなかった。これは，セルラーゼ欠損株ではセルロースを生産している細胞数が非常に少ないためと考えられた。一方，野生株の生産するセルロース繊維の電子線トモグラムによるモデル化を行った。その結果，従来示唆されているリボン状の繊維を確認することができ，さらに複数のリボン状繊維の空間的配置を解明できる可能性が示唆された（図１）。

今後，超高圧電顕で観察するためには，メッシュに載せる菌体の濃度などの検討が必要である。セルラーゼ欠損株の生産するセルロース繊維の観察が可能になれば，電子線トモグラフィー観察によりその繊維の構造を調べ，野生株と比較検討する予定である。

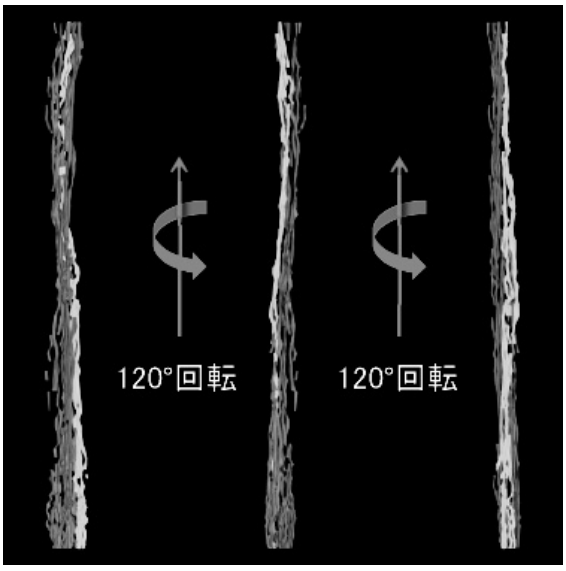


図１　野生株の生産したセルロース繊維モデル

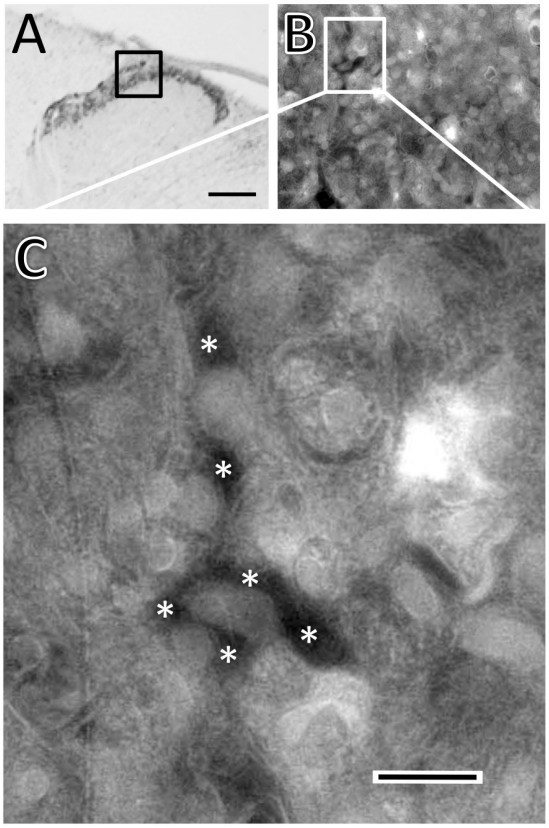
9. 精神疾患モデル動物を用いた脊髄内運動ニューロンの形態変化

坂本浩隆，越智拓海，佐藤慧太（岡山大学大学院自然科学研究科理学部附属臨海実験所）
河田光博，高浪景子（京都府立医科大学大学院解剖学・生体構造科学）
村田和義（生理学研究所・脳機能計測センター・形態情報解析室）

我々はこれまでに，脊髄（腰髄）に存在する gastrin-releasing peptide（GRP）ニューロン系が雄優位な脊髄内局所神経ネットワークを構築し，自律神経系と骨盤底筋群を同時に制御することにより，勃起，射精などの雄の性機能を調節していることを見出した（Sakamoto *et al*., 2008, ***Nature Neuroscience***）．そしてこれまで，GRP 免疫組織化学法と雄性性機能に関与する球海綿体脊髄核 SNB ニューロンの逆行性標識法とを組み合わせ，超微形態学的に SNB ニューロンの樹状突起上に GRP 作動性のシナプス入力が多数存在することを，超高圧電子顕微鏡（H-1250M）を用いて明らかにしている（Sakamoto, Arii, Kawata, 2010, ***Endocrinology***）．また，脊髄 GRP ニューロンから脊髄内の自律神経核である仙髄副交感神経核への投射について，多重免疫組織化学を超高圧電子顕微鏡に応用して，コンピュータトモグラフィー・三次元立体再構築法を確立し，学会および論文発表をしてきた（Oti *et al*., 2012, ***Histochemistry and Cell Biology***）．

ここで，最近，他のポピュレーションの脊髄内 GRP ニューロンシステムが痒み感覚を特異的に伝達することが報告された（Nature 2007）が，この脊髄感覚系 GRP システムに関する組織学解析は乏しい．そこで，我々は免疫組織化学法を用いて，成熟ラットの体性感覚神経系における GRP の発現解析を行い，脊髄後根神経節とその中枢性軸索入力部位である脊髄後角における GRP の局在解析を行った．その結果，すべてのレベルの脊髄後根神経節において，少数の小型細胞の細胞体に GRP 免疫陽性が確認され，脊髄後角表層においても，GRP 免疫陽性線維が確認された．そこで，この脊髄後角に発現する GRP 免疫陽性線維の由来を明らかにするために，片側の脊髄後根神経切除を行ったところ約 65%の免疫陽性強度が低下したため，その多くが一次感覚神経由来であることが示唆された（Takanami *et al*., 論文投稿中）．これまでの GRP ニューロンシステムを中心とした脊髄内雄性性機能回路の超微形態学的な研究展開の実績をもとに，現在，脊髄感覚系 GRP ニューロンについて，電子顕微鏡・超高圧電子顕微鏡（H-1250M）を用いて解析を実施している．

従来の免疫電子顕微鏡解析では，脊髄後角表層（図 A）において，明調性小胞や有芯性小胞を多く含む神経軸索終末に GRP 免疫陽性を多く認めた．超高圧電子顕微鏡観察では，GRP シグナルが，神経終末にそって帯状に存在し，多数の樹状突起や樹状突起スパインの間を走行する像が得られた（図 B, C）．今後は，痒みの伝達機構を明らかにするために，生理的に痒みを誘発した際，脊髄後角 GRP 神経軸索終末の超微細構造変化をコンピュータトモグラフィー・三次元立体再構築法を用いて，解析を進めていく予定である．



図説 A: ラットの頸髄後角表層における GRP 免疫陽性シグナル（スケールバー = 200 μm）．B: 厚さ 0.8μm 切片での，1,000kV の加速電圧の超高圧電子顕微鏡観察による弱拡大像．C: B の強拡大像．樹状突起やスパインに取り囲まれる神経軸索終末における GRP 免疫陽性シグナル（＊）（スケールバー = 1 μm）．

10. 葉緑体のチラコイド膜の構造変化と膜上に分布する光化学系Ⅱ関連タンパク質の動態

西村美保[1]，難波大介[1]，村田和義[2]，坂本浩隆[1]，山本　泰[1]
([1]岡山大学大学院自然科学研究科，[2]生理学研究所)

葉緑体のチラコイド膜は「光合成初期光化学反応の場」である。しかしその構造や動態については，いまだに不明な点が多い。チラコイド膜上には，水分子の分解を行う光化学系 II (PSII) 複合体をはじめ，多数の光合成関連タンパク質が存在している。光ストレス下では PSII 複合体の反応中心結合タンパク質 D1 が損傷を受けやすく，それにより光阻害が起こる。損傷 D1 タンパク質の分解には, チラコイド膜結合型の FtsH プロテアーゼが関与していると考えられている。本研究では，ホウレンソウチラコイド膜において, 金コロイドで免疫標識した FtsH プロテアーゼの分布を電子顕微鏡で観察した。光ストレス下で損傷 D1 タンパク質を速やかに分解するために D1 が豊富なグラナへの FtsH プロテアーゼの局在化が起きる可能性を検討した。その結果，暗順応させた葉ではストロマチラコイドとグラナマージンの両方に FtsH プロテアーゼが観察された。チラコイド膜に構造変化は起きておらず，重積した状態であった。一方，光照射後のチラコイド膜構造は大きく変化し，FtsH プロテアーゼがグラナマージンとグラナ層内部に局在していた。

光ストレス下では，活性酸素の発生を抑えて損傷 D1 タンパク質の分解を促進するためにチラコイド膜の構造が緩む（unstack）ことがこれまでに示唆されている。チラコイド膜の unstack が実際に起きているかどうかを電子顕微鏡観察し, チラコイド膜間距離の変化を測定した。光ストレス下のチラコイド膜は，グラナマージン付近の構造が緩み，膜間距離が増加していた。

今回，電顕観察に加えてチラコイド膜構造の三次元構築も行った。トモグラフィー撮影は−70 度から+70 度まで 1 度ずつ 141 枚行い，チラコイド膜の構造を三次元構築した。作製した三次元構築画像は「amira」を使ってカラー化と動画化した。チラコイド膜の三次元再構築像のデータと併せることにより，チラコイド膜の構造変化が光化学系 II の品質管理に寄与していることを示した。

11. 嗅覚系新生ニューロンの遊走・分化過程における形態変化の三次元微細構造解析

樋田一徳（川崎医科大学解剖学）

哺乳類の中枢神経系のうち嗅球介在ニューロンの一部は生後も側脳室下帯で新生し，吻側遊走経路（rostral migratory stream; RMS）に沿って走行し嗅球へ向かう。その起源，細胞分化について分子機構を中心とした解析が多くなされているが，遊走過程の形態変化とニューロン種の表現型発現の詳細は未だ不明な点が多い。我々は一昨年度より，遊走過程の細胞の形態的特徴を化学的性質発現とともに解析を試みている。具体的には新生領域に定位脳手術により各種のトレーサーを注入して新生細胞を特異的に標識し，嗅球へ向かう標識細胞群を時差的にレーザー顕微鏡で同定し，更に超高圧電顕で解析を行うものである。昨年度より様々な細胞標識のトレーサーを検討した結果, Cell Tracker Orange（CTO; Molecular Probe）の有用性が高いことが分かった。CTO は安定して標識でき，また GFP 標識のトランスジェニックマウスに使用可能なこと，更に Anti-Tetramethyl Rhodamine（Molecular Probe）による CTO に対する免疫染色などの利点がある。そして最終的に metal 増感 DAB に置換染色し，超高圧電顕解析が可能となる。本年度はこれらの新規の試薬を用いてレーザー光顕レベルの解析を進めた。RMS 中の遊走細胞は，進行方向（嗅球へ向かう方向）とその逆方向（起源の脳室下帯への方向）にそれぞれ突起を伸ばしている。進行方向への突起部分を超高圧電顕で観察すると，薄膜状に先端が微細に分岐し，その膜表面には微絨毛様の構造が認められた。また突起の細胞質には突起長軸に沿って微細管状の構造が認められた。現在，標識法を適度な

コントラストに改善するとともに，超薄切片により周辺組織との関係の解析を進めている。これら微細構造の超薄連続切片の再構築は実質的に難しく，超高圧電顕での厚い切片内の丸ごとの構造解析が有用である。嗅球ニューロンの化学的マーカーである tyrosine hydroxylase（TH）を標識した TH-GFP マウスに CTO を注入したところ，嗅球へ到達した新生細胞の TH 発現が認められ，現在超高圧電顕での解析を行っている。

12. AAA シャペロンによる細胞内構造形態制御機構の解明

江崎雅俊，小椋　光（熊本大学）
村田和義（生理学研究所）

AAA タンパク質は基質タンパク質のアンフォールディングや脱会合を触媒する分子シャペロンである。このタンパク質の異常が重篤な疾患の原因になることも多く，その要因として，ミトコンドリアなどの形態異常が報告されている。我々は出芽酵母の系を使って，AAA タンパク質の一つである p97 の機能欠損が様々なオルガネラの形態異常を引き起こすことを蛍光顕微鏡観察から見出した。本研究では，これらのオルガネラの形態異常の様子を超高圧電子顕微鏡トモグラフィーによる三次元構造解析によって解明する。

昨年までの研究から，ミトコンドリアの形態変化を三次元的に観察するためには，過マンガン酸カリウムによる再固定が効果的であることが分かった。この再固定により，ノイズとなる可溶性物質が抽出されるとともに脂質が高い電子密度で染色されるため，細胞全体を通した膜構造を観察することができる。今年度は，名古屋大学の超高圧電子顕微鏡施設と連携し，最先端の超高圧 STEM トモグラフィーも併用して，細胞全体を含む約 5 μm の樹脂切片からの三次元再構築を行った。その結果，細胞内の核，液胞，ミトコンドリアの三次元配置を 1 枚のトモグラムから解析することができた（図 1）。今後はこの方法を使って AAA タンパク質変異株におけるオルガネラの形態変化を観察する予定である。

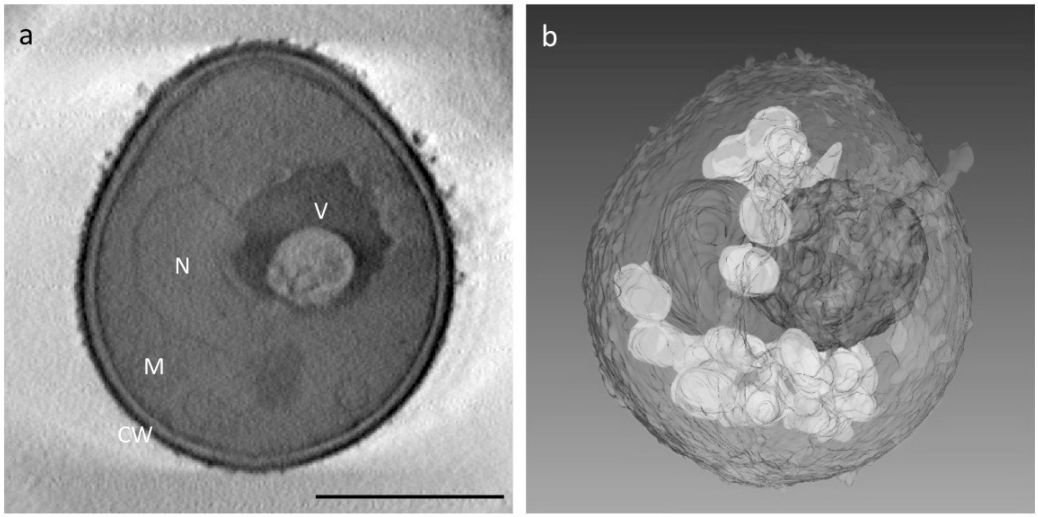


図1　超高圧電顕トモグラフィーによる出芽酵母の立体再構築。a) トモグラムの一断面。N：核、V：液胞、M：ミトコンドリア、CW：細胞壁。b) オルガネラのセグメンテーション。スケール2 μm

13. フェロモン受容系構成ニューロンの超高圧電子顕微鏡を用いた三次元解析

高見　茂（酒井電子顕微鏡応用研究所）

多くの陸棲脊椎動物は鼻腔化学受容系として鋤鼻系（副嗅覚系）をもち，その感覚器は鋤鼻器，その一次脳中枢は副嗅球である。鋤鼻系は種特異的な化学シグナルであるフェロモンを受容し，ヘビ類と齧歯類で特に発達し，主嗅覚系とは異なる機能的特性を有す。しかしそれらを説明する神経解剖学的・細胞形態学的知見が不足しており，形態学上，明瞭な鋤鼻系を欠く霊長類のフェロモン受容系の解明にも支障をきたしている。特に (1) フェロモン受容部位，および (2) フェロモン情報暗号化領域，についての形態学的解析が遅れている。

そこで平成 24 年度はまず，(1) についての解析を始めた。フェロモン受容部位とは，鋤鼻器内に存在し，それぞれ一本の樹状突起と軸索をもつ鋤鼻受容細胞 (VRC) の樹状突起終端から生える感覚性微絨毛の細胞膜であるが, フェロモン受容の細胞生理学的特性の裏付けとなる，VRC 1 個当たりの感覚性微絨毛の数や立体的配置などの基礎的情報が欠如していた。走査電子顕微鏡による観察では，各々の樹状突起終端から感覚性微絨毛は数 10 本生えるが, その数を正確に数えることはできなかった。現在までの HVEM による観察では, 感覚性微絨毛は樹状突起終端から放射状に伸び出しており，生え際は一本だが分岐するものもあった。(2) については，フェロモン情報暗号化領域である副嗅球における VRC 軸索終端部の三次元構造をまず解析する。本年度はそのための標本の選別を行った。迅速ゴルジ法により渡銀染色した VRC 軸索終端部を含む副嗅球標本から作成された樹脂切片（厚さ 100 ミクロン）内に，軸索終端部が明瞭に渡銀されているものを選んだ。迅速ゴルジ法は，ニューロンおよびグリア系細胞の形態学的特徴解明にこれまで大きな貢献をしてきたが, いまだ, 研究者が求める特定の領域・構造のみを特異的に視覚化できる条件設定は明らかになっていない。軸索終端部が明瞭に渡銀されていた切片では，VRC からの 1 本の軸索とそれから枝分かれし，ボタン状の構造を持った終末分岐がみられた。次年度は，上記の樹脂切片をさらに薄切し，電顕グリッドに載せて HVEM で観察したい。

【業績】高見　茂，村田和義，堀江沙和，佐原資謹，酒井俊男 (2013)　超高圧電子顕微鏡法による鋤鼻受容細胞滑面小胞体の三次元解析. 日本顕微鏡学会第 69 回学術講演会，一般口演，5 月 22 日，大阪府吹田市.

14. Investigation of Purkinje cell dendritic spines in Inositol trisphosphate 3-kinase knock out mice

Hyun Wook Kim, Sung Je Park,
Kazuyoshi Murata1, Keiji Imoto1, Im Joo Rhyu
Department of Anatomy, College of Medicine, Korea University, Seoul 136-707, Korea, 1National Institute for Physiological Sciences, Okazaki 444-8585, Japan.

The inositiol 1,4,5 tripshosphate 3-kinase(IP3K) is highly expressed in the Purkinje cell layer of the cerebellum. The IP3K plays important role in the regulation of the internal calcium concentration. Recently IP3K is supposed to be closely related to the function of microtubule and actin in the neuronal tissue. The dendritic spine is also regulated by microtubule and actin filament. Therefore, we hypothesized that there might be a morphological change in the status of IP3 null of the Purkinje cell.

The cerebellum of mice from wild type and IP3K KO at the age of 5 and 12 weeks were perfused for rapid Golgi preparation. The Golgi blocks were embedded in Epon-Araldite mixture and 100 micro meter section will be observed under the light microscope. The well stained

Purkinje cell will be cut in to 4 micrometers section and will be observed under the high voltage electron microscope.

The anaglyphic images were constructed based on stereo paired images and the density and length of Purkinje cell dendritic spines were measured.

We could not find any statistical difference between the experimental group in spine density and length. The spine shape analysis (thin, stubby and mushroom) of the each experimental group is under way.

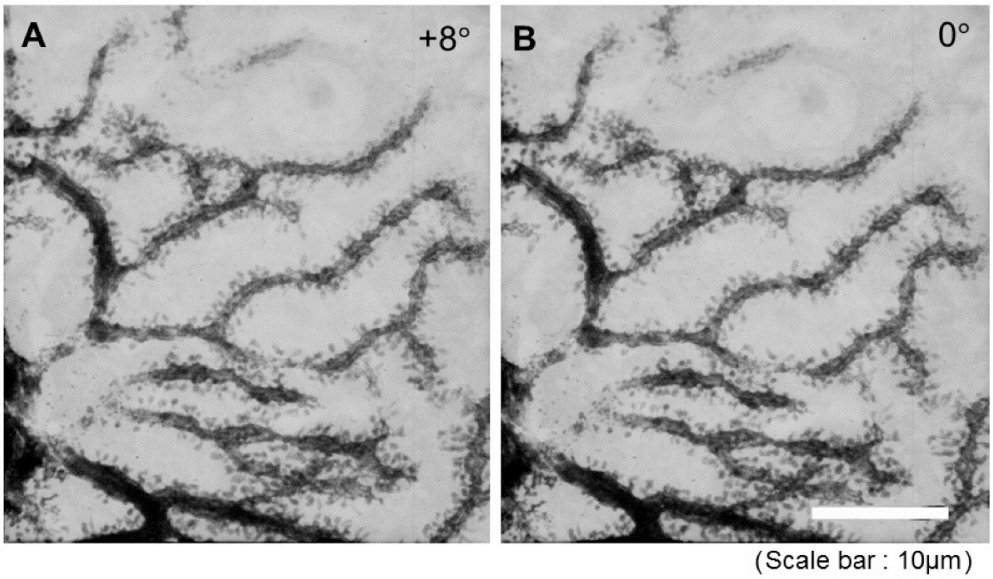


Figure 1. Represented image of Purkinje cell dendrite taken at +8 (A) and 0(B) degree.

15. Electron tomography of Herpes simplex virus-infected mammalian cells

Rebecca Lauder, Frazer Rixon
(MRC-University of Glasgow, Centre for Virus Research, Glasgow, United Kingdom)
Kazuyoshi Murata
(National Institute for Physiological Sciences, Okazaki, Japan)

Herpes simplex virus (HSV) replication in mammalian cells has both cytoplasmic and nuclear stages. The virus enters the cell by membrane fusion at the plasma membrane and the virus capsid is transported to the nuclear pore where the DNA genome is released into the nucleus. New DNA-containing capsids are assembled in the nucleus and bud through the nuclear envelope into the cytoplasm, where they undergo further maturation to form the infectious virus particle before leaving the cell by exocytosis. Although the structures of isolated virus particles have been extensively studied (Zhou et. al. 2000; Schmid et al. 2012), very little is known, at the structural level about the processes occurring inside the infected cell. The main reason for this is the large size of mammalian cells and the poor penetrating power of most electron microscopes. We are attempting to visualize virus structures inside infected cells using electron cryotomography. However, use of standard cryo-EMs (200-300KeV) means that imaging is limited to regions less than 300-500nm thick, which are only found at the periphery of the cytoplasm or in cellular processes (Ibiricu et al. 2011). To image events occurring in the thicker regions of the cell close to and inside the nucleus, we are attempting to use cryo-HVEM. Cells are

grown directly on gold EM grids and vitrified for imaging. Initial results confirm that the greater penetrating power of 1MeV electrons allows much thicker regions of the cell to be imaged. However, the low contrast of the images makes identifying structures difficult. Work is continuing to determine optimal imaging conditions and to examine methods for enhancing contrast.

Refs:

Ibiricu, I., Huiskonen, J.T., Döhner, K., Bradke, F., Sodeik, B. and Grünewald, K. (2011). Cryo Electron Tomography of Herpes Simplex Virus during Axonal Transport and Secondary Envelopment in Primary Neurons. Plos Pathog. 7(12): e1002406. doi:10.1371/journal.ppat.1002406

Schmid, M.F., Hecksel, C.W., Rochat, R.H., Bhella, D., Chiu, W. and Rixon, F.J. (2012). A Tail-like Assembly at the Portal Vertex in Intact Herpes Simplex Type-1 Virions. PLoS Pathog 8(10): e1002961. doi:10.1371/journal.ppat.1002961.

Zhou, Z.H., Dougherty, M., Jakana, J., He, J., Rixon, F.J. and Chiu, W. (2000). Seeing the Herpesvirus Capsid at 8.5Å. Science 288, 877-880.

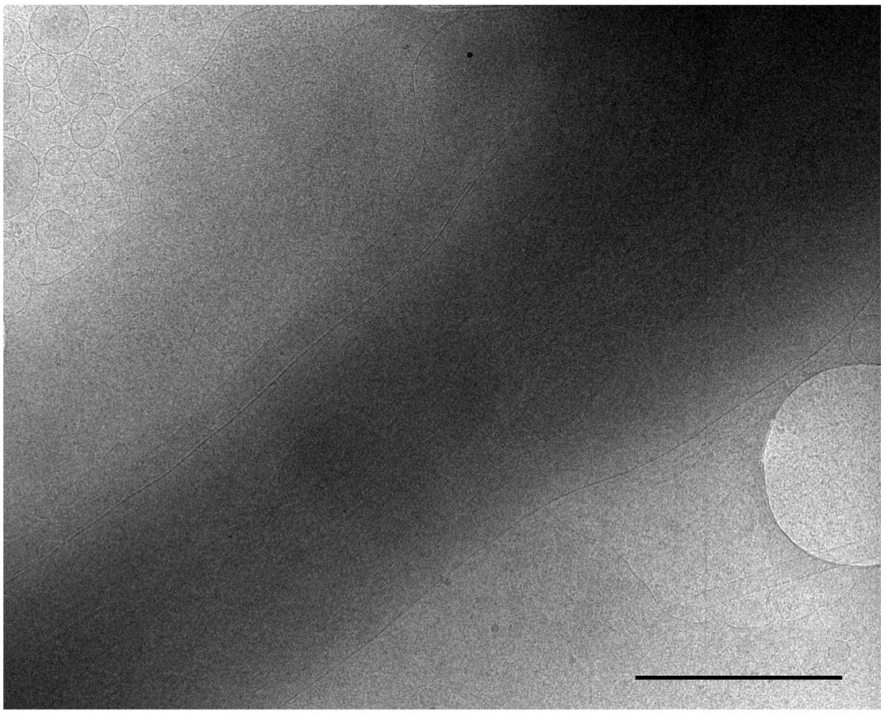


Figure 1. Representative HVEM image of a human fibroblast cell after whole mount grid preparation. Scale 1µm.

16. Ultra structure of apoptosis in mouse liver using ApoPep-1 treatment

HAN Sung Sik (Korea University School of life Sciences and Biotechnology)

17. 3-dimensional structure analysis of mutant p53 protein oligomerization under nickel exposure

Young Rok Seo
(Department of Life Science, Dongguk University, Seoul 100-715, Republic of Korea)

Nickel, one of the deleterious heavy metals, is classified to carcinogen by World Health Organization. Among diverse molecular mechanisms related with nickel-induced carcinogenesis, inhibition of DNA repair has been recently reported as one of the critical mechanisms. Many researchers have already proved that p53 mainly forms as tetramer through the carboxy-terminal oligomerization domain, which facilitates and stabilizes its transcriptional activity. However, the effect of nickel on p53-mediated DNA repair activity has not been clearly elucidated yet. Our group has investigated continuously p53-mediated DNA repair. Concerning with mechanism of nickel-induced carcinogenicity, we hypothesized that nickel might induce carcinogenesis by interference of p53-mediated DNA repair. In order to prove this hypothesis, we have undertaken phenomenological study using electron microscopy. As a part of this study last year, our group has examined the effect of nickel on p53 oligomerization by electron microscopy (EM). We have found the nickel interference on protein oligomerization of the purified wild type p53. To conduct further supportive experiment, we have determined the effect of nickel on protein oligomerization of purified mutant p53 using EM-based technique. Our result from transmission electron microscopy showed that diverse forms of mutant p53 protein including monomer, dimer and tetramer were observed in non-treated group, while zinc or nickel-treated group showed the protein population shifting to major forms of monomer and dimer rather than tetramer. For obtaining better refined actual protein structure, three-dimensional reconstruction of p53 protein structure is in progress. This result might suggest a novel molecular mechanism of p53-mediated DNA repair activity against environmental toxicant. However, number of single molecules of the mutant p53 protein was insufficient for studying a precise 3-dimensional structure. Therefore, the protein production and purification will be needed to be improved and further study will be carried out.

18. Structural Differentiation of Nuclear Crystals in Salvinia by High Voltage Electron Microscopy

InSun Kim (Keimyung University)

Crystalloid inclusions have been often reported in a wide variety of plant organelles including nuclei. Salvinia natans is a water fern that produces two different forms of floating and submerged leaves. The present study examined the nuclear inclusions detected in leaf mesophyll cells of S. natans. In particular, the sub-structural pattern and development of nuclear crystals within certain cell type has been investigated using the high voltage electron microscopy (HVEM). The presence of crystals was surveyed primarily in various tissues and developmental stages of floating and submerged leaves. Their formation was especially examined for each cell type during foliar structural differentiation of the submerged tissues.

The crystalline structures were mainly detected in the mesophyll cortex of both immature and mature submerged leaves. Conspicuous inclusions dispersed within the nucleoplasm of epidermis and mesophyll cell in the immature stage, while those structures were more evident in differentiated cells of outermost cortex of the submerged leaves. The nuclear inclusions almost disappeared in the mature floating leaves during development, but remained throughout growth especially in the outermost cortical layer

of the submerged leaves. The inclusions consisted of complete or incomplete tubules and were in close association with the nucleolus. All the crystalloid inclusions were not bounded by a limiting membrane and preferentially located near the nucleolus. The nuclei of young mesophyll cells usually contained one or more sizeable crystalloid inclusions where the sub-structural pattern and development exhibited quite different pattern upon sectioning. Up to eight aggregates, irregular in shape and variable in size, were encountered in young mesophyll tissues (Fig. 1). When they exhibited regularly arranged tubular substructures, there was about 13~15 nm distance between the two tubular structures. Further, the spatial relationship among aggregates was attained from the tilted images from ±60◦.

The electron microscopical analysis revealed a crystalline sub-structure consisting of intersected subunits of high order. These highly ordered structures were composed of regularly arranged tubule-like element that have the same appearance and internal sub-structures as in crystalloid inclusions encountered seldom within the cytoplasm. Their precise functions, in most cases, remain unknown, although they may represent reserve or storage forms of protein. Their proteinaceous in composition has been ascertained through histochemical and enzymatic digestion previously.

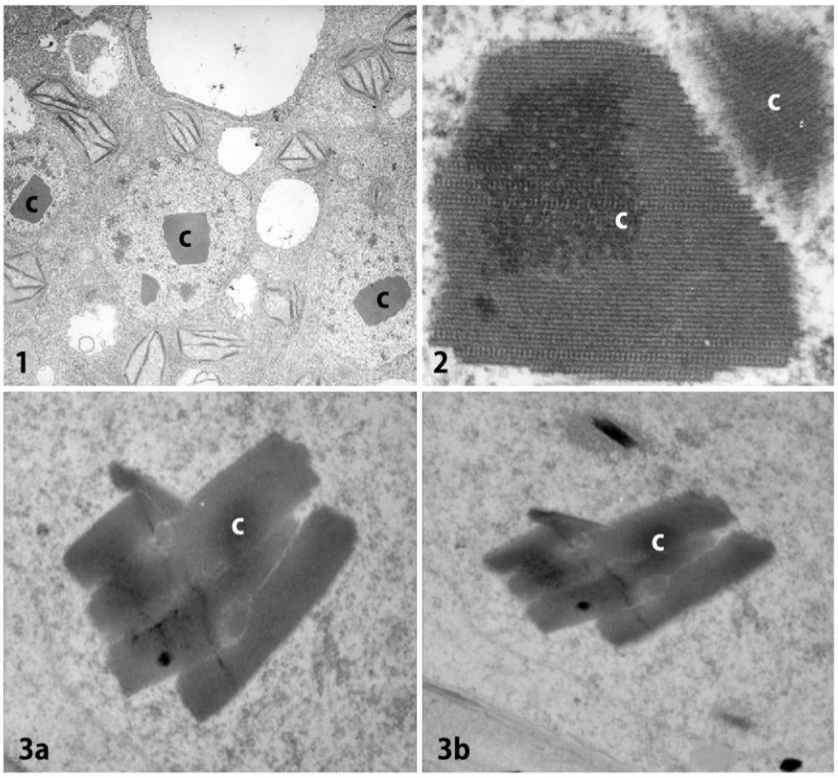


Fig. 1: Crystalline inclusion (C) formed within the cortical nuclei. Fig. 2: A higher magnification of the nuclear crystalline inclusion (C) showing tubular substructures. No membranes are surrounded around the crystalline structures. Fig. 3: Tilted images of several nuclear crystals within cortical cell. Eight crystalline structures are formed and their spatial relationship can be seen among them (3a; +60◦, 3b; -60◦).

【生体機能イメージング共同利用実験報告】

生体機能イメージング共同利用実験報告

〔 目　　次 〕

1．マルチモーダルな質感知覚の脳内情報処理機序（藤崎和香ほか）…… 236
2．脳磁図を用いた発話時のフィードバック機構とヒト脳機能の研究（軍司敦子ほか）…… 236
3．乳幼児および成人を対象とした様々な顔認知における脳活動の計測（山口真美）…… 237
4．Williams 症候群およびその他の発達障害を持つ患者の認知機能研究（中村みほほか）…… 237
5．皮質下から皮質に至る神経磁場活動に関する研究（寶珠山稔）…… 238
6．脳磁場計測による視覚的短期記憶・物体認知メカニズムの解明（松吉大輔ほか）…… 239
7．視覚を中心とした物体認識に関わる脳磁場信号の計測（野口泰基ほか）…… 239
8．フレーミングが統計情報理解へ与える影響とその神経基盤の解明（岡本雅子ほか）…… 240
9．視・聴・触覚間の時間的同期判断を可能にする脳内情報処理機序の解明（藤崎和香ほか）…… 241
10．Dual fMRI 装置を用いた会話コミュニケーション時の脳活動解明（湯浅将英ほか）…… 241
11．表情と音声による視聴覚情動知覚の文化差を生み出す神経基盤（田中章浩ほか）…… 242
12．共同把持力一致課題における２人組の同時脳活動計測：コミュニケーション形成の神経的基盤を探る
（渡邊克巳ほか）…… 243
13．fMRI を用いた愛着障害の神経基盤の評価システム（友田明美ほか）…… 244
14．語用論の神経基盤の解明に向けて（松井智子ほか）…… 245
15．ベルベットハンド錯触の神経基盤の解明（宮岡　徹ほか）…… 246
16．顔色処理の脳内メカニズムの解明（南　哲人ほか）…… 247
17．随意性の低い効果器の訓練による随意性向上と神経基盤の変化（荒牧　勇ほか）…… 248
18．スポーツと脳構造（荒牧　勇ほか）…… 248
19．磁気共鳴画像装置による脳賦活検査を用いたヒトの情動とストレス脆弱性に関する研究（飯高哲也ほか）… 249
20．運動を行うヒトの意志に関わる脳活動部位の明確化（船瀬新王）…… 250
21．プライミング効果による L2 習熟度別の神経基盤と賦活状態の解明（大石晴美ほか）…… 250
22．ヒトの表情による脳活動とその制御機序－Subliminal 画像を用いた研究（中村浩幸ほか）…… 251
23．他者との相互作用に基づく同調・非同調の神経機序―社会脳からのアプローチ（苧阪直行ほか）…… 252
24．時間割引能力の発達とその脳機構の解明（田中沙織）…… 252
25．外国語運用能力の熟達化に伴う文理解及び文産出の自動化プロセスの神経基盤（横川博一ほか）…… 253
26．非侵襲的脳機能検査による疲労・疲労感と学習意欲の評価法（渡辺恭良ほか）…… 254
27．視覚と触覚の速度知覚の脳内処理システムの同定（呉　景龍ほか）…… 254
28．脳波と脳磁図による聴覚の変化探知メカニズムの解明（元村英史ほか）…… 255
29．脳活動によるユーザ体感品質（Quality of Experience）の客観的評価に関する研究（岩田　彰ほか）…… 255
30．クロスモーダルな感覚情報の脳内表現様式の解明（宮脇陽一ほか）…… 256
31．ヒト特有の遊びの神経基盤の解明に関する機能的磁気共鳴画像法研究（三浦直樹ほか）…… 257
32．機能的 MRI との同時計測による経頭蓋直流電気刺激法の大脳ネットワークへの影響の検討（田中悟志ほか）257
33．マカクザルの脳構造撮影（鯉田孝和ほか）…… 258

1. マルチモーダルな質感知覚の脳内情報処理機序

藤崎和香（産業技術総合研究所　ヒューマンライフテクノロジー研究部門）
本吉　勇，西田眞也（NTT コミュニケーション科学基礎研究所　人間情報研究部）
郷田直一，小松英彦（生理学研究所　感覚認知情報研究部門）

物体の材質についての情報は，視覚だけでなく聴覚など多くの感覚から得られる。例えば視覚的には物体の見た目から，それが硝子なのか金属なのかそれとも木なのかといったことを判断できる。同様に聴覚的にも，例えばその物体が叩かれた際の衝撃音を聴くことで，叩かれた物体の材質をある程度判断できる。しかしながら人間の脳がどのように，それぞれの感覚モダリティから得られた情報を統合して感覚間で一体感のある材質知覚を実現させているのかについては未解明である。そこで本研究では，fMRI と心理物理の両面からこの問題に迫り，感覚間で一体感のある材質知覚を実現しているマルチモーダルな質感知覚の脳内情報処理機序を明らかにすることを目的とする。

平成 24 年度は，まず心理物理実験については，硝子，樹脂，金属，陶器，木材，樹皮，野菜，紙材，石材などさまざまな材質について，視覚刺激と聴覚刺激をさまざまに入れ替えた視聴覚動画セットを作成し，材質カテゴリー判断課題（e.g.，硝子らしい，紙らしい）と材質特性判断課題 (e.g., 見た目が透明, 音が響くなど) を行った。20-40 歳の 16 名の被験者が実験参加した。評価は 7 件法で行った。実験の結果，人間の知覚系は，巧みに多感覚の質感情報を統合していることが示されたが，材質のカテゴリー知覚と，材質の特性知覚では，統合のルールが異なっていることが判った。すなわち，材質カテゴリー知覚における視聴覚統合論理は，強い非線形ＡＮＤタイプの情報統合であることが示されたが，材質の特性知覚にはそのような非線形性は見られず，重みづけ平均で説明できることが示唆された。結果については現在論文化を進めており，間もなく投稿できる見込みである。

fMRI については，現在，物理的に全く同じ映像刺激に異なる音刺激を組み合わせた場合の視覚関連領域におけるそれらの刺激の判別率，物理的に全く同じ音刺激に異なる映像刺激を組み合わせた場合の聴覚関連領域におけるそれらの刺激の判別率，STS 等 multisensory 関連領域におけるそれらの刺激の判別率，脳活動データと心理データとの相関などについて, 予備的な解析を進めている。Allegra から Verio への移行に伴い，パラメータの再調整などに時間が必要であるが，準備ができ次第，本格的にデータ取得を開始する予定である。

2. 脳磁図を用いた発話時のフィードバック機構とヒト脳機能の研究

軍司敦子，稲垣真澄（国立精神・神経医療研究センター精神保健研究所）
岡本秀彦，柿木隆介（統合生理研究系）

自己発声音のモニタリング機能の解明を目指し，変換聴覚フィードバック（TAF）によって変化する発話中の脳磁場（MEG）反応について検討した。

健常成人における，母音/ə/の持続発声（5 秒）中の脳磁場反応を解析した。発声音は，発声開始 1-2 秒後に位相を反転して両耳へフィードバックされた。さらに，発声実験で録音された声を両耳に提示した聴取実験の脳磁場反応も解析した。発声・聴取の両実験において，条件毎に位相反転時点を基準にセンサ信号を加算平均し，解析ツール（Minimum Norm Estimation: MNE）を用いて Heschl 回付近の信号寄与について検討した。

音が聞こえてからおよそ 100 ms 後に頂点を示す Heschl 回付近の活動は，録音された声を聞いているときよりも，発話中の方が有意に減衰した（p=.038）。一方で，持続発声の途中で聴覚フィードバックが変化した時点から，およそ 140 ms 後に頂点を示す成分の Heschl 回付近における活動は，声の聴取よりも発話中の方が有意に増大した（p<.0001）。

以上から，発話時の聴覚フォーワード情報とフィードバック情報の不一致は，外界の音を聴取する以上に，発話中には聴覚野をより賦活させることが示唆された。

3. 乳幼児および成人を対象とした様々な顔認知における脳活動の計測

山口真美（中央大学文学部教授）

顔認知は，表情の知覚，人物の同定，顔の立体形状の知覚など，様々な側面を有する。これらに共通した脳活動および発達過程が見られるかを検討する目的で研究を行った。これまで乳幼児を対象とした近赤外線分光法を用いた研究で多くの成果を挙げてきたが，他の非侵襲的脳機能計測法を学ぶことで，それらの計測法の乳幼児を対象とした展開を検討する可能性につながると考える。

本研究の目的は，脳波（EEG），脳磁図（MEG），磁気共鳴画像（MRI），近赤外線分光法（NIRS）という非侵襲的脳機能計測法により，様々な側面を持つ顔認知における脳活動を計測し，発達学習過程を明らかにすることである。

なお，乳幼児を対象とした計測は，主に中央大学にある ETG-4000（日立メディコ製）を用いた近赤外線分光法（NIRS）によって実施している。中央大学では生後 8 ヶ月までの乳児を対象として近赤外線分光法（NIRS）を用いた脳活動の計測を実施している。主に顔認知における，側頭部の脳活動を計測し，メーカーと協力して乳児専用のプローブの開発も行なった。これまでの研究成果では，乳児でも成人と同様に，顔認知においては右側頭部の活動が活発となることなどを示し，Neuroscience Letters 誌，Journal of Experimental Child Psychology 誌，Frontiers in Human Neuroscience 誌などに研究論文として発表を行ってきた。最近の研究では，成人を対象に fMRI を用いた測定で示された同じ顔を繰り返し見るアダプテーションによる顔認知領域の活動低下を，乳児を対象とした NIRS を用いた測定でも示すことに成功している（Kobayashi et al. 2011）。

成人を対象とした計測では，近赤外線分光法（NIRS）に加えて，脳波（EEG），脳磁図（MEG），磁気共鳴画像（MRI）を用いた計測により，より詳細に脳活動部位を明らかにすることを目的として，計測は，生理学研究所の機器を使用して実施することを目標としている。中央大学での研究をベースに脳磁図（MEG），磁気共鳴画像（MRI）を用いた計測に展開すべく検討を行っている。

脳波（EEG），脳磁図（MEG），磁気共鳴画像（MRI）の被験者実験は次年度に持ち越すことなった。本実験による解析結果は次年度に報告する予定である。

4. Williams 症候群およびその他の発達障害を持つ患者の認知機能研究

中村みほ，平井真洋（愛知県心身障害者コロニー　発達障害研究所）

Williams 症候群（以下 WS）は認知能力のばらつきが大きく，視覚認知機能内部でも，運動視，位置，三次元知覚に関わるとされる背側経路の機能の障害が，顔，色，形の認知にかかわるとされる腹側経路の機能に比べ強い事，過度の人なつっこさ等特異な対人認知を示すことなどの特徴を持つ。

顔認知はこれらの認知特性が複雑に反映されている点で興味深い検討対象である。

顔の構造認知のメカニズムの解明の一環として，我々は倒立効果を糸口に脳磁図，脳波を用いた検討を行ってきた。比較的保たれているとされる腹側経路の機能である顔認知の発達においても，背側経路機能の発達が関与する可能性を示唆する成果を今年度発表した。

また，顔の表情認知，顔への注意の向け方については，特異な対人認知との関連から検討が必要である。

WS では特に顔への注意の強さが指摘されている。が，この現象が，顔にひきつけられやすい（engage）ゆえなのか，それともそれ以外の理由（例えば顔へいったん向

けられた注意を外す（disengage）ことがしにくいなど）によるものなのかはいまだ解明されていない。我々は 21 名（年齢 6 歳 11 か月～33 歳 5 か月，平均年齢 16 歳 5 か月）の WS 患者を対象に生活年齢と精神年齢を一致させた定型発達コントロール群（CA 群 21 名 MA 群 19 名）との比較のもとこの点について検討した。

アイトラッカー（Tobii ）を用いて，画面に円状に配置された 6 種類のオブジェクトの絵を一度に提示し，その中にターゲットである蝶の絵があるか否かを答えてもらう課題を実施し，それぞれのオブジェクトについてどのくらい視線がむくか（1. オブジェクトごとに視線が滞留する時間の割合。2. 初めに視線が向く頻度）を計測した。そのオブジェクトの中に顔が含まれる場合，他と比して視線の向き方にどのような特性を持つかを検討したが，課題遂行に当たっては，顔の存在に関しては全くコメントせず，「蝶を探す」という指示のみ行った。

結果として，以下が明らかとなった。

１．視線滞留時間の長さについては課題と無関係な顔に停留する時間が WS において有意に長い

２．はじめに顔に視線がひきつけられる割合が他のオブジェクトと比較して WS 患者において特異的に高いとは言えない

すなわち，WS において顔を見る時間が長いことが再確認され，それは顔にひきつけられやすいためではなく，他の理由によるものと考えられた。

5. 皮質下から皮質に至る神経磁場活動に関する研究

寶珠山稔（名古屋大学大学院医学系研究科・リハビリテーション療法学専攻）

本共同利用研究では，1）視覚誘発刺激に関する第一次視覚野での生理的および病態における計測，2）体性感覚野における初期反応の抑制過程，を行った。

1）若年者群（平均年齢 21.8±0.9（SD）歳）および高齢者群（63.7±7.1 歳），視覚路で変性変化が報告されている Parkinson 病患者群（PD, 66.6±4.7 歳）について視覚誘発能磁場（VEF）の皮質一次感覚野（V1）での反応を計測し V1 に至るまでの加齢性変化および病理的変化の検出を行った。V1 にて全被験者で安定して記録可能であった最初の V1 内での成分は潜時約 70ms での成分（1M）であった。パターンリバーサル刺激では，1M 潜時は PD 群で他群より有意に延長したものの（89.4±7.7ms, $p<0.01$），単純視野では群間に差は認められなかった。1M 以降の成分 2M（110ms）の潜時は若年群が高齢群および PD 群より短かったが，2M 成分の推定電流値には差が認められなかった。1M 成分の推定電流値ではいずれの視覚刺激でも群間に差は無かった。PD 群において，1M 潜時の延長は嗅覚テスト（OSIT-J）および URPDS と有意に相関した。各群の VEF より得られた 1M および 2M の潜時および推定電流値のより，加齢による脳内信号伝導の遅延，PD 群においては，PD の他の病態と相関する網膜～皮質下での視覚路の病変の存在が示された。

2）第一次体性感覚野（SI）における体性感覚誘発脳磁場（SEF）の抑制過程を若年者と高齢者において比較し，体性感覚の脳内プロセスを検討した。右手首正中神経刺激の単発および 2 連続刺激を行い刺激間隔（ISI）を 10ms～200ms に変化させ SEF の回復曲線を求めた。また，3T MR 画像を用い，T1 強調画像を矢状断で 192 スライス撮像し SPM8 にて脳の萎縮度を求め，SEF 変化と比較した。SEF 潜時 20ms での成分（1M）は，ISI 60～80ms での回復が高齢群で低下傾向を示したが，ISI 100 ms では有意に増大していた。SEF の潜時 30ms の 2M では有意差は認められなかった。高齢者における脳萎縮は両側 Brodmann area（BA）31，左の BA 23, 24 にみられたが，回復の度合いとの関連は傾向とどまった。高齢者では，SI におけるの抑制性活動が若年者と異なっていた。

いずれの成果も関連国際，国内学会（2013）にて発表する。

6. 脳磁場計測による視覚的短期記憶・物体認知メカニズムの解明

松吉大輔[1,2]，苧阪満里子[1]
（[1]大阪大学大学院人間科学研究科　[2]東京大学先端科学技術研究センター）

ヒトが一度に記憶できる情報には制約があり，視覚物体に換算して3つから4つ程度しか保持できない事が知られている。大脳の後部頭頂葉から外側後頭部にかけての領域は，記憶に保持している物体個数に対応して上昇し，3-4 つで飽和する事から，視覚的短期記憶に関与する領域であると考えられており，脳波（EEG）や機能的磁気共鳴画像（fMRI）による研究が多く行われている。

本研究では，この脳活動を従属指標とし，視覚的短期記憶・物体認知に関する諸現象のメカニズムを，空間解像度・時間解像度の両面において優れる脳磁場（MEG）を計測することで明らかにしようとするものである。

24 年度においては，特に，物体の陰影が物体認知に与える影響を検討した。物体の背後につく陰影は，通常であれば，特段我々の注意をひくものではないが，それが生態学的に妥当な形で配置されていない場合には，視覚系にとっては無視できない外乱要素となる。例えば，物体正面に光を当てた場合，通常，影はそれが投影される地面と物体下部とが繋がった形で表出するが，その影を物体上部と繋がるように画像加工を行う（逆さまにする）と，前者の影は視覚処理において負荷とならないに対し，後者のような「ありえない影」はもはや無視できる要素ではなくなり，その影を処理するための処理資源が必要となる。

本研究では，このような逆さまの影が視覚神経系にとって本当に負荷となっているかを検討するため，通常の正立影が配された物体と，逆さまの倒立影が配された物体の短期的記憶課題中の脳磁場計測を行った。EEG において視覚的短期記憶を測定する際に用いられる代表的パラダイムである半視野注意法（Vogel et al., 2004, Nature）を用い，後部頭頂葉から外側後頭部にかけての視覚的短期記憶関連活動が，陰影の正立・倒立によってどのように異なるかが検討された。実験の結果，半視野注意法による視覚的短期記憶関連活動の MEG 計測そのものが困難であることが判明した。EEG と MEG の技術的差異に起因している可能性が考えられたため，現在，別の実験パラダイムを使用や解析方法の変更等，対応方法を再考している。

7. 視覚を中心とした物体認識に関わる脳磁場信号の計測

野口泰基，喜多伸一，松本絵里子，辻本悟史，横山武昌（神戸大学）

ある刺激をまとまりのある「物体」として認識した時，ヒトの脳は特有の神経活動パターンを示す。fMRI などを用いた過去の研究により，これら物体認識に関わる脳領域の位置（空間）情報は詳細に調べられてきた。一方で物体認識に関わる神経活動の時間的な流れは，未だ不明な点が多い。本研究課題では脳磁計の優れた時間分解能を活かし，視覚を中心とした物体認識に関わる神経活動の流れを詳細に追うことを目的として研究を進めてきた。

今年度は以下の 2 点をテーマとして実験を行った。

1. 視覚刺激の無意識処理に関する脳磁場反応計測

日常生活において目にする刺激の殆どは，脳内で意識的に処理されている。つまり，視意識（その物体を「見ている」という実感）を伴うかたちで認識される。これに対し，意識的な見えや実感を伴わない知覚処理も存在する。「無意識知覚」または「潜在知覚」と呼ばれるこの知覚処理は，神経反応の強度や時間動態など様々な点において，意識的処理とは異なることが知られている。

今年度は脳内の視覚処理経路の中で最も無意識的な側面が強いとされる背側経路を対象にして，顔・家・道具など様々な物体刺激を知覚している時の脳磁場反応を記録した。同じ物体刺激を意識的に知覚している時と無意識的に知覚している時の神経反応を比べたところ，両者の時空間的なパターンには有意な類似性があることが示された。

2. オフセット信号によって発生する意識表象

ヒトが何らかの視覚刺激を認識する場合，通常はその刺激がスクリーンに出現した時（オンセット時），刺激の意識表象が脳内で発生する。反対に，その刺激がスクリーンから消えると（オフセット時），意識表象も消え，刺激が消滅したことが認識される。つまりオンセット信号は意識表象を発生させ，オフセット信号は意識表象を消滅させる。

この常識とは逆に，刺激のオフセット信号が意識表象の発生させる心理現象が近年発見された。本研究では，実際にその現象が起きている時の被験者の脳磁場信号を計測し，オフセット信号が意識表象の発生を促進させていることを示す神経科学的な証拠を得た。

8. フレーミングが統計情報理解へ与える影響とその神経基盤の解明

岡本雅子（国立大学法人　帯広畜産大学　動物・食品衛生研究センター）
定藤規弘（大学共同利用機関法人　自然科学研究機構　生理学研究所　大脳皮質機能研究系）

「副作用が生じる確率」など，確率情報を踏まえた意思決定の機会は日常生活に多々ある。しかし，ヒトは確率の理解が得意ではなく判断に矛盾を生じやすいことが指摘されており，ヒトの認知特性に対する更なる理解と，それに基づくリスクコミュニケーションの改善が求められている。

近年神経科学の分野では，確率に基づく判断に，感情を司る脳領域の関与が報告され，確率の判断における感情の役割が注目を浴びるようになった。しかし，感情と確率判断の関係には未解明な点が多い。そこで，表現の違いによって数学的に同一の確率に異なる判断を下してしまうという「フレーミング効果」を実験課題として，感情が意思決定と大脳活動に与える影響を検討することを計画した。

本年度は当初計画に沿った行動実験課題の検討，および，計画の見直しによる新しい実験課題の検討の 2 点を実施した。まず前者については，各種の心理実験用素材データベースより収集した，快・不快画像，表情画像などを感情操作刺激とし，複数の感情条件下における各種フレーミング課題の成績を検討した（N=22）。その結果，ポジティブな感情下で，フレーミング効果が増大する傾向が推定された。しかし，個人差が大きく推定値が安定しないという問題が発生した。

そこで研究計画を見直し，別の視点からの検討を開始した。リスクコミュニケーション研究の分野では，フレーミング効果の個人差を説明する認知特性として，「ニュメラシー」という概念が着目されている。ニュメラシーは，数値から情報の意味を理解する能力を指す。ニュメラシーが低い個人は，リスク情報を誤解しやすく，確率の判断において感情の影響を受けやすいことが指摘されている。ニュメラシーの概念を利用すると，被験者間比較デザインにより，感情と確率判断に関わる神経基盤を検討できる可能性がある。そこで，ニュメラシーを評価するための各種の心理尺度の作成と，その確率判断への影響の検討を行った（N=300~2000）。その結果，3 種類のニュメラシー尺度の日本語版が妥当化され，それらがフレーミング効果の個人差の説明に有効であることが明らかとなった。今後，これらのニュメラシー尺度を活用し，確率判断の神経基盤の検討を進めたい。（BMC Med. Inform. Decis. Mak. 2012.11;12:104.）

9. 視・聴・触覚間の時間的同期判断を可能にする脳内情報処理機序の解明

藤崎和香（産業技術総合研究所　ヒューマンライフテクノロジー研究部門）
西田眞也（NTT コミュニケーション科学基礎研究所　人間情報研究部）
天野　薫（情報通信研究機構　脳情報通信融合研究センター，科学技術振興機構）
久方留美（日本学術振興会特別研究員ＰＤ，NTT コミュニケーション科学基礎研究所）
田邊宏樹，北田　亮，原田宗子，定藤規弘（生理学研究所　心理生理学研究部門）

人間の脳が異なる感覚モダリティ間の時間を比較するためには，物理的・生物学的な時間のずれや，誤対応，組み合わせの爆発など，さまざまな困難を乗り越えなければならない。本研究の目的は，このような困難を乗り越えて異なる感覚モダリティ間の時間比較を可能にしている人間の脳内情報処理機序を心理物理学的実験手法と脳イメージング手法を組み合わせて解明することである。

知覚研究ではこれまで what 経路と where 経路が並列処理されていると考えられてきたが，さらに近年，when 経路も分かれているのではないかという議論が始まっている。本研究はクロスモダリティの心理物理と脳イメージングを組み合わせることによって，まず感覚モダリティの組み合わせに共通した when 経路の解明を目指す。

我々は近年，聴触覚の感覚モダリティの組み合わせでは，視聴覚，視触覚の組み合わせよりも，時間のずれが検知されやすい（同期・非同期弁別が容易である）ことを発見した（Fujisaki & Nishida, 2009, EBR）。またこの聴触覚の優位性は，バインディング課題では消失することを発見した（Fujisaki & Nishida, 2010, Proc R Soc B）。これらの心理物理の知見を基に，本研究では fMRI を用いて，特定の感覚モダリティの組み合わせ（特に聴触覚の組み合わせについて）の同期知覚に対応した脳部位の同定を試みるとともに，感覚モダリティの組み合わせに共通した同時性判断の責任中枢（when pathway）の解明を目指す。

平成 24 年度は，Allegra から Verio への移行に伴い，刺激提示装置の遅延や周波数特性等，パラメータの再計測を行った。さらに視聴覚，視触覚，聴触覚の同期・非同期弁別課題についてパイロット実験を行い今後の方針を考えるうえで重要な知見が得られた。予備的な解析の結果，視覚，聴覚については感覚野応答が見られたものの，触覚については明瞭な応答が見られなかった。また，GLM 解析では同期・非同期弁別の刺激条件の差が見られなかったため，今後はマルチボクセルパターン解析を試みる。平行して，ベースラインの取り方や刺激の強度，タスクデザイン等を再考して，ひきつづき特定の感覚モダリティの組み合わせ（特に聴触覚の組み合わせについて）の同期知覚に対応した脳部位の同定を試みる。

10. Dual fMRI 装置を用いた会話コミュニケーション時の脳活動解明

湯浅将英（湘南工科大学／東京電機大学）
豊村　暁（群馬大学／東京電機大学）

会話において，会話参加者らは話の進行状況やその展開を互いに理解しながら話が進んでいく。これまでに文章や物語を読み，状況を理解する際の脳計測がされてきたが，人同士が言葉を交換しながら状況を理解する会話時の脳活動は計測されていない。会話では相手が言った言葉を受けて，自らが発言し話が進んでいくため，文章や物語を読むときと異なる仕組みがあると考えられる。本研究では，会話の状況を理解する理論モデルを検討し，神経的基盤について Dual fMRI 装置を用いた二者同時脳活動計測より探る。本報告では，Dual fMRI 装置利用の準備のため実施した fMRI 装置 1 台を用いた二者間会話時の実験を述べる。

本実験では，fMRI 測定室内と室外の実験協力者（A,B）らが非磁性のマイクとヘッドフォンで互いの声が聞こえる環境を構築した。脳を撮像する時間を固定するために発話を制限した。室内の協力者 A が３秒ほど話をし，B

が３秒話した後，２秒の間を経て３秒間スキャンする。

下記に協力者が利用した会話例の一部を示す。これらは二者が旅行の計画を立てる会話である。

【会話Ⅰ】（状況が決定する会話）Ａ：どこに行こうか？，Ｂ：日本と海外どっちかな？，Ａ：海外がいいかな？，Ｂ：ハワイはどうかな，・・・・・，

【会話Ⅱ】（状況が決定しない会話），Ａ：海外がいいかな？, Ｂ:ハワイはどうかな, Ａ:どこに行こうか？，Ｂ：日本と海外どっちかな？，・・・・・

会話Ⅰでは旅行先が決まるが，会話Ⅱでは旅行先が決まらない。これらを比較することで状況理解の仕組みがわかる可能性がある。実験協力者 21 名の大学生を用いた fMRI 実験の結果, 会話Ⅱよりも会話Ⅰのときに左後部上側頭回，左角回付近に有意な賦活が見られた。先行研究との比較により，これらの部位で会話時の言葉から論理的に状況を判断し話の進行状況を理解している可能性が考えられた。

今後，本実験デザインを基に視線を用いた会話時の脳計測の実施と Dual fMRI 装置による脳活動計測を予定している。

11. 表情と音声による視聴覚情動知覚の文化差を生み出す神経基盤

田中章浩（東京女子大学 現代教養学部心理学専攻）
髙木幸子（東京女子大学 大学院人間科学研究科生涯人間科学専攻）
田部井賢一（三重大学 大学院医学系研究科認知症医療学講座）
定藤規弘，原田宗子（自然科学研究機構 生理学研究所 大脳皮質機能研究系心理生理学研究部門）

他者の情動を適切に知覚することは，円滑な社会的コミュニケーションをおこなう上で非常に重要である。Tanaka et al.（2010, Psychol Sci）は表情と音声の視聴覚統合様式に文化差があることを初めて明らかにし，日本人はオランダ人よりも声優位性が高いことを心理実験によって示した。本研究ではこの知見を踏まえ，fMRI を用いて視聴覚情動知覚の文化差の神経基盤を検討する。具体的には，日本人およびオランダ人の参加者を対象に，視聴覚情動知覚をおこなう際の脳活動を fMRI によって計測し，結果を文化間で比較する。平成 24 年度は，1）実験計画の議論と実験準備，および 2）予備実験の実施とデータ解析を実施した。

1）実験計画の議論と実験準備

実験に先立ち，実験パラダイムの最適化に関する議論をおこなった。具体的には，課題デザインはイベント型とし，要因配置を確定させた。また，エフィシエンシーを計算し，動画刺激の提示順を決定した。次に，動画刺激を編集加工し，MRI 装置内の環境を考慮した刺激の調整をおこなった。また，Presentation®Version16.0 を使用して，実験制御用プログラムを作成した。

2）予備実験の実施とデータ解析

日本人参加者を対象とした予備実験を実施した。実験では動画刺激（日本人およびオランダ人による喜びと怒りの情動表現）を視聴覚提示し，顔と声の情動価（一致／不一致）を操作した。参加者は顔または声のいずれかに注意を向けて，2 肢強制選択（喜び／怒り）で情動を判断した。上記に加えて，視覚単独提示／聴覚単独提示の条件も設けた。

解析の結果，視聴覚刺激を提示した際に予測される代表的な賦活領域の活性化が確認された。具体的には，視聴覚提示条件と視覚単独提示条件のコントラストでは聴覚野近傍に活動が認められた（Figure 1）。同様に，刺激の視聴覚提示条件と聴覚単独提示条件のコントラストでは視覚野近傍に活動が認められた（Figure 2）。以上の結果に基づいて，上記の実験パラダイムを用いて本実験を実施することを決定した。

先行研究を参考に，顔処理（紡錘状回），声処理（上側頭回），視聴覚統合（後部上側頭溝），情動処理（扁桃体）に関与する部位と，部位間の結合強度に着目した解析をおこない，視聴覚情動知覚に関与する脳部位および部位間の結合強度が，実験参加者の文化的背景によってどのように異なるのかを検討していく予定である。

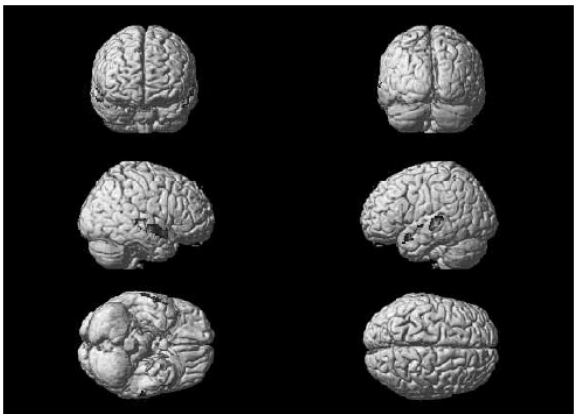


Figure 1. 視聴覚提示条件 > 視覚単独提示条件
（uncorrected, $p < .01$）

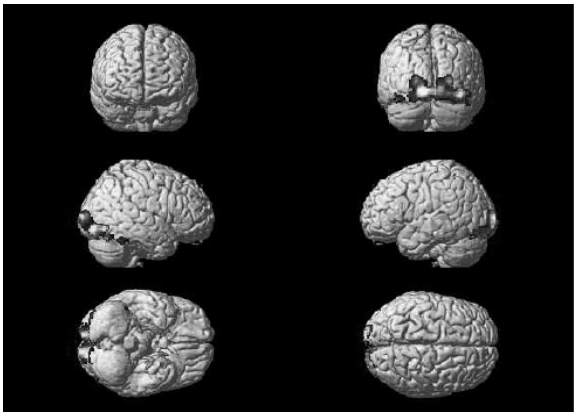


Figure 2. 視聴覚提示条件 > 聴覚単独提示条件
（uncorrected, $p < .01$）

12. 共同把持力一致課題における２人組の同時脳活動計測：コミュニケーション形成の神経的基盤を探る

渡邊克巳，高橋康介，阿部匡樹（東京大学先端科学技術研究センター認知科学分野）

本研究は，個人間コミュニケーションの典型例である共同運動課題に関して，その制御に関する神経基盤を探ることを目的とした。共同課題では個々の冗長な役割配分を個人間で自発的に決定しなければならない状況が少なからず生じるが，どのような法則に基づいてこの決定が行われているか，その制御にどのような神経基盤が関与しているのかは明らかにされていない。本研究では２人の把持力の合計を標的力に合わせる共同力発揮課題を用い，その力配分の決定および調整，またそれに関する脳活動を調べることでこの法則を明らかにすることを試みた。特に，今年度は dual fMRI 設定の利点を最大限に生かすための実験環境の構築に重点を置き，以下の進捗がみられた。

１．行動実験

行動実験は主に東大チーム側で展開され，その結果として１）共同課題時に生じる自発的な個人間の力配分には個々の運動能力だけでなく社会性が影響を及ぼしていること，２）個々の社会性が力配分に影響を及ぼす要因として，共同課題時のエラー修正が関与していること，が示唆された。この社会性の影響は個人課題でのエラー修正時には見られず共同課題時に特化して生じたため，この課題時特有の脳活動との関連が共同運動課題時の神経基盤を考察する上で重要な示唆をもたらすものと考えられた。

２．fMRI 実験

行動実験の結果に基づき fMRI 実験に適当な実験プロトコルや機材設定を議論し，dual fMRI を用いた予備実験を行った。しかしながら，最初の設定では dual fMRI に対するノイズ対策が不十分であり，把持力・fMRI のデータ共に解析に耐え得るものではなかった。そこで測定機器の再選定を行い，非金属製・fMRI 用特殊フィルター付把持力測定装置を特注で制作した。その結果得られたデータが解析に十分耐えられるレベルであることが確認されたため，両チームで再度議論を行い，今後の本番に向けての最終的な実験内容が確認された。

今年度は dual fMRI 設定という特殊な環境下においてデータ取得上の問題が生じたため，その対策に予定以上の時間を費やすこととなった。しかしながら，結果的に dual fMRI 環境の特性を詳細に把握できたこと，並列的に進められていた行動実験の進捗によって新たな知見が得られたことなど，今後の研究進展に大きな貢献をもたら

す成果が得られた。

13. fMRI を用いた愛着障害の神経基盤の評価システム

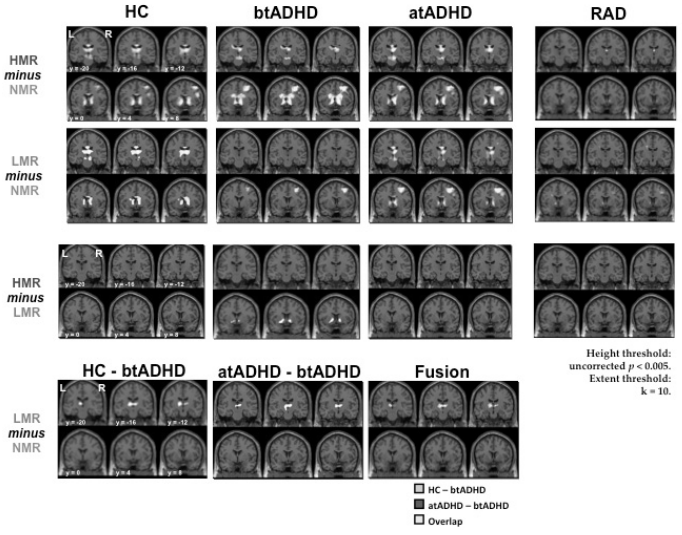
友田明美，滝口慎一郎，山﨑未花，浅野みずき（福井大学子どものこころの発達研究センター）
水野　敬（理化学研究所分子イメージング科学研究センター）
加藤志保，栗山貴久子（あいち小児保健医療総合センター）
定藤規弘（生理学研究所心理生理学研究部門）

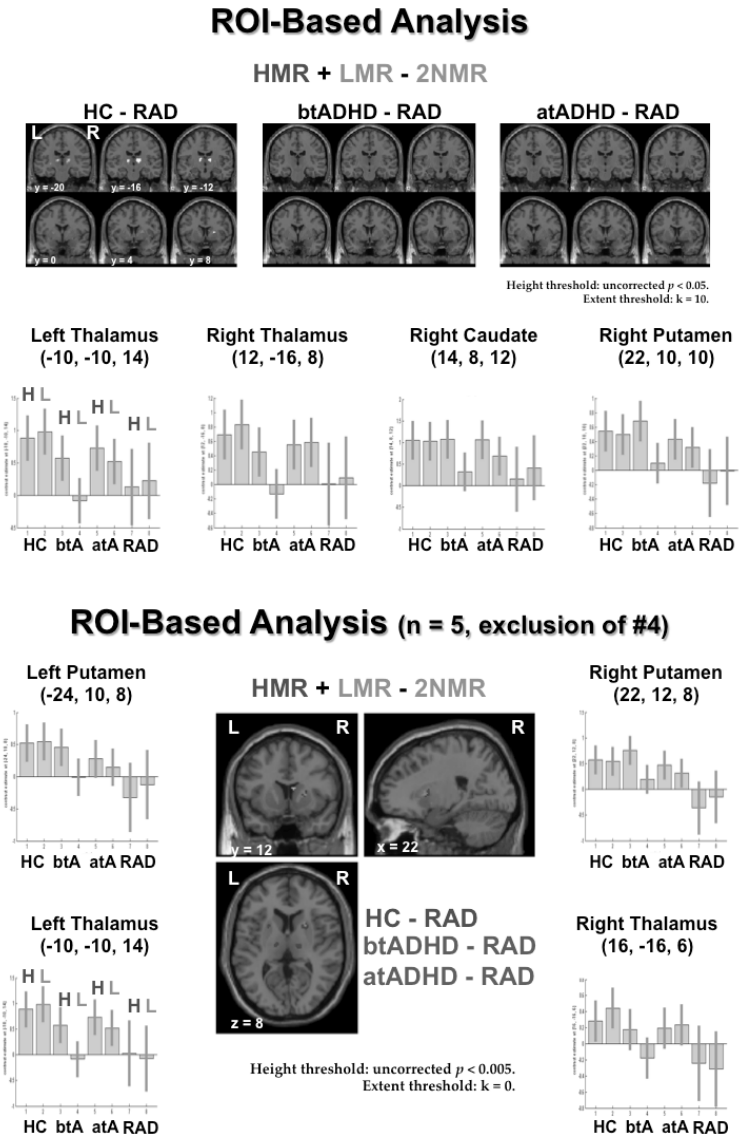
小児期の虐待・ネグレクトによって引き起こされる愛着障害（反応性アタッチメント障害，以下 RAD）の神経基盤を明らかにするために，福井大学と理化学研究所分子イメージング科学研究センター，あいち小児保健医療総合センター，自然科学研究機構生理学研究所の共同研究グループは，RAD 児と健常対照児を対象に，金銭報酬が得られる認知課題施行時の脳内報酬系の神経賦活度を fMRI を用いて測定した。また，注意欠陥多動性障害（ADHD）児 17 名のデータと比較することにより，脳画像・脳生理科学・行動学の手法により多面的に解析を行った。

対象は虐待・ネグレクトを過去に受けた RAD（反応性アタッチメント障害，DSM-IV-TR 313.89）患児である。10～16 歳の健常児 17 名（13.0 ± 1.9 歳）と RAD 患児 6 名（12.5 ± 1.9 歳），および未治療の ADHD 患児 17 名（13.3 ± 2.2 歳）を対象に金銭報酬を伴うカードめくりテストを行い，報酬系の刺激で活性化する脳部位を機能的磁気共鳴画像法（functional Magnetic Resonance Imaging, fMRI）で特定した。まず，ADHD 患児においては，健常児との比較から，高金額の報酬が期待できる時は，両者で同程度の腹側線条体の側坐核と視床の活性化が見られた。一方，低金額の報酬では ADHD 患児における側坐核と視床の活性化は健常児に比べて低いことがわかった。

しかしながら，RAD 患児では，健常児との比較から，報酬金額の高低にかかわらず背側線条体と視床の神経賦活度が健常児に比べて低いことが明らかとなった（図 1-3）。以上より，RAD 患児では報酬への反応性の低下が示唆された。この機能不全は，報酬の感受性の低下を示唆する，金銭報酬獲得時の ADHD 患児の側坐核と視床における賦活度低下とは明らかに異なっていた。

今回の成果は，fMRI を用いた脳機能診断が RAD や ADHD の客観的な病態評価に有用であり，治療法の開発に貢献することが期待できる。本研究は予後調査も含めて今後とも継続していく予定である。





14. 語用論の神経基盤の解明に向けて

松井智子（現：東京学芸大学国際教育センター／元：京都大学霊長類研究所）
内海　彰（電気通信大学大学院情報理工学研究科総合情報学専攻）
菊知　充（金沢大学大学院医学系研究科脳医科学専攻）
中村太戯留（慶應義塾大学環境情報学部）

語用論とは“われわれ人間が，他人の言うことを聞いてその話し手が伝えたいと思っている意味を理解できるのはどうしてか”を研究する学問と考えられている（Wilson & Wharton, 2009）。特に，話し手が文字通りの意味とは異なる意味を伝えたいと思っている場合には，文脈情報を手掛かりとしてその意味を推測する必要がある。また，必ずしも話し手が伝えたいと明確に思っていなくても，聞き手は文脈情報やプロソディ情報などを手掛かりとして意味を構成すると考えられている。

そこで本研究では，①成人を対象に磁気共鳴装置を用いた実験を行い，とくに情動伝達に関わる神経基盤を明らかにすることとともに，②その結果を，子供を対象と

した小児用MEGおよびNIRSによる実験のための基礎データとして活用することを目的として推進している。

本年度は，昨年度に①の枠組みで実施した（A）「プロソディを含む皮肉発話の解釈課題」と（B）「パンチラインとしての隠喩的表現の解釈課題」の fMRI 実験の結果の解釈を深めるため，日本心理学会の全国大会において公開ワークショップを実施した。（B）に関して国際会議で口頭発表を行った（中村他，2012）。生理学研究所での研究会でのポスター発表も行った。

Bohrn 他（2012）や Rapp 他（2012）は，比喩に関するイメージング研究のメタ分析を行い，比喩から字義を引き算した結果，左半球有意という結果を報告している。考察として，左下前頭回は意味的逸脱の検出，左中下側頭回は意味関係の照合，左内側前頭前野は意味関係の一貫性の推論をしている可能性が示唆された。右下前頭回に関して，柴田他（2012）は，何らかの比喩理解プロセス（おそらくは特徴抽出や統合）に関与している可能性を示唆している。また，内山他（2012）は，比喩文と皮肉文の直接比較をおこない，比喩文理解に特有の部位として皮質下領域の尾状核が賦活しており，様々な解釈の可能性が考えられる中で，字義通り以外の解釈の選択に関与している可能性を示唆している。それに対して，中村他 (2012) は, 比喩的表現の面白さを判断する際には，左偏桃体が重要な役割を果たす可能性を示唆している。

他に，①の（A）と②を射程に入れた予備実験も進めた。次年度は，この予備実験の解析方法の検討，および①の（A）と（B）の条件を追加した実験と論文投稿を行っていく。

引用文献

Bohrn, I. C., Altmann, U. & Jacobs, A. M.（2012）. Looking at the brains behind figurative language: A quantitative meta-analysis of neuroimaging studies on metaphor, idiom, and irony processing. *Neuropsychologia*, **50**, 2669-2683.

Nakamura, T., Matsui, T., Utsumi, A., Yamazaki, M., Makita, K., Tanabe, H. C. & Sadato, N.（2012）. The role of the amygdala in the process of humour appreciation. *In proc. of the annual meeting of the cognitive science society（CogSci2012）*, pp. 797-802.

Rapp, A. M., Mutschler, D. E. & Erb, M.（2012）. Where in the brain is nonliteral language? A coordinate-based meta-analysis of functional magnetic resonance imaging studies. *NeuroImage*, **63**, 600-610.

Shibata, M., Toyomura, A., Motoyama, H. Itoh, H., Kawabata, Y. & Abe, J. Does simile comprehension differ from metaphor comprehension? A functional MRI study. *Brain & Language*, **121**, 254-260.

Uchiyama, H. T., Saito, D. N., Tanabe, H. C., Harada, T., Seki, A., Ohno, K., Koeda, T. & Sadato, N.（2012）. Distinction between the literal and intended meanings of sentences: A functional magnetic resonance imaging study of metaphor and sarcasm. *Cortex*, **48**, 563-583.

Wilson, D. & Wharton, T.（2009）. *Recent Advances in Pragmatics*（「最新語用論入門 12 章」，今井邦彦編，大修館書店）.

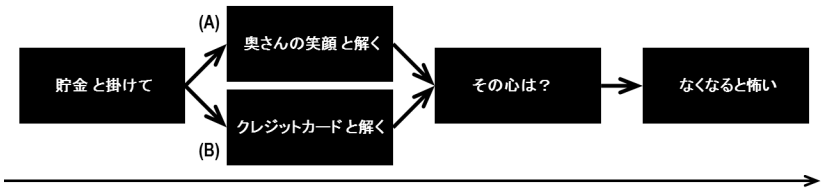


Figure 1. パンチラインとしての隠喩的表現の解釈課題のサンプル

15. ベルベットハンド錯触の神経基盤の解明

宮岡　徹（静岡理工科大学）
大岡昌博（名古屋大学）

Velvet Hand Illusion（VHI）とは，2 本の平行に張った棒を両手で挟んで 棒と直行方向に両手を同時に動かす

と，ベルベッドのよう滑らかな面が感じられる錯触である。この錯触は世界的によく知られているが，脳でどのように生起されるのかについては不明である。本研究課題では，機能的磁気共鳴法（fMRI）を使用し，VHI に関する神経基盤を明らかにすることを目指して，以下を研究目的とした。

①VHI による仮想的平面の知覚が，実在の物体の平面に触れたときの知覚と同じ神経基盤を賦活させるかどうかについて明らかにする。

②さらに，この仮想的平面と実在する物体の平面の知覚に関与する神経基盤が，触覚特異的であるのかそれとも他感覚による物体の平面の知覚にも関与するのかどうかについて明らかにする。

③VHI では，ベルベッドに触れたときのように被験者に快の情動やそれとは逆に不快の情動を引き起こすため，この情動に関連した神経基盤を同定する。

初年度は上記のうち①と③の目標を達成することを優先し，MRI 実験で使用可能なデバイスの開発と課題条件の開発を行った。

【デバイスの開発】MRI では磁性体が持ち込めず，装置の使用可能な空間がきわめて限られる。そこで申請者らがこれまでベルベットに関する心理物理学実験で使用した装置を改良し，MRI でも使用可能な刺激装置を製作した。より具体的には，非磁性体のエンジニアリングプラスチックを構造材料として，二本のワイヤを枠に固定して，その枠を往復運動機構で動かす装置を完成した。

【実験条件の確立】この装置を用いて，2 本の棒の間の距離を変化させることで，ベルベット錯触の強度を変化させ，それぞれ知覚強度に応じた脳活動の測定を行う実験条件を確立しつつある。MRI のパラメータは生理研で使用されはじめた Multiband sequence を用いることで，被験者に錯触の開始時間と強度の反応を報告してもらいつつ，頭部の動きによるアーチファクトを最小限におさえることに成功した。

この装置を用いて 3 名の被験者による予備実験を実施して，装置の不具合の修正および解析手法の妥当性を確認した。今後被験者を 20 名程度まで増員して，①と③の目標に関する実験を実施する予定である。

16. 顔色処理の脳内メカニズムの解明

南　哲人（豊橋技術科学大学　エレクトロニクス先端融合研究所）
中島加惠（豊橋技術科学大学　電子・情報工学専攻）

感情的中性刺激に対する嗜好評価が，直前に呈示された刺激の感情情報に引きずられる現象を感情誤帰属という。我々の脳波を用いた研究で，感情誤帰属効果が生じる被験者群と生じない被験者群では，早期 ERP 成分に有意な差が生じることを示した。このことから感情誤帰属に関する処理は比較的早い脳処理段階に生じることが明らかとなったが，その処理は脳のどの部分で行われているのだろうか。本研究では，感情誤帰属効果に携わる脳領域を特定することを目的とし，空間分解能に優れた fMRI を用いて実験を行った。

実験では，感情画像（プライム）呈示後に，感情的中性画像（ターゲット）を呈示し，被験者にはプライムは無視して，ターゲットが「好き」か「嫌い」かを応答するように指示した。プライム画像には IAPS から感情価の異なる 3 種類（不快，中性，快）の画像を，ターゲットにはロロ文字を使用した。被験者 29 名（女性 4 名）の課題遂行中の脳活動を fMRI で計測した。

ターゲットへの快応答率（ターゲットへの「好き」と応答した割合）を求め，プライムの種類（不快，中性，快）を要因とする反復測定分散分析を行った。その結果，ターゲット画像に対する快応答率は，不快プライムと中性プライムに比べ，快プライムの場合に有意に高く，中性プライムと不快プライムでは不快画像で有意に低いことが明らかとなった。この結果より，本実験において感情誤帰属効果が発生したと言える。

ターゲットへの快応答率を用いて，感情誤帰属効果の

$$M_{index} = (P_{posi} - P_{nega}) - |\frac{P_{posi} + P_{nega}}{2} - P_{neut}|$$

大きさを表す誤帰属指標を次式のように定義した。

P_x はプライムの感情価が x の場合の快応答率を，N_x はプライムの感情価が x の場合の不快応答率を表す。

プライムとターゲットが一致する条件（不快プライム後に呈示されたターゲットに対して嫌いと応答 + 快プライム後に呈示されたターゲットに対して好き応答）と不一致の条件（不快プライム後に呈示されたターゲットに対して好き応答 + 快プライム後に呈示されたターゲットに対して嫌い応答）の脳活動の差分を求め，得られた領域の VOI（voxel of interest: 座標点を中心とする半径 4mm の球内の第 1 主成分）と誤帰属指標との相関を求めた。その結果，左偏桃体（MNI 座標：-20, -4, -12）と誤帰属指標に正の相関が見られた（R=0。462, p=0。012）。

17. 随意性の低い効果器の訓練による随意性向上と神経基盤の変化

荒牧　勇 [1]，原田健次 [2]，大家利之 [2]
([1] 中京大学スポーツ科学部，[2] 中京大学大学院体育学研究科)

我々はどのようにして運動の随意性を獲得していくのか？本研究は，随意性の低い運動システムに対して，運動訓練，経頭蓋直流電気刺激，筋電気刺激，リアルタイム fMRI フィードバックなどの手法により，随意性を向上・獲得することを試み，その随意性の向上・獲得に伴う脳神経系の機能的・構造的変化を MRI を用いた脳機能画像解析，脳構造画像解析により明らかにすることを目的とする。

今年度の成果は以下のとおりである。

１．耳介筋の運動ホムンクルスの同定

本研究は，耳を動かす耳介筋の随意性の低さに注目し，耳介筋の随意収縮を獲得する過程の脳構造・脳機能の変化を明らかにすることを 1 つの目標としている。今年度は，そのための第一段階として，耳介筋の随意収縮の神経基盤を明らかにする実験をおこなった。耳介筋の随意収縮をすでに獲得している被験者に対して，耳介筋収縮時の機能的 MRI を計測し，耳介筋を支配する運動神経細胞が，一次運動野の体部位局在マップのどこに位置するかを検討した。その結果，一次運動野の体部位局在マップにおける耳の位置は，指と口の位置の中間に存在することが確認された。

２．サッカーのリフティング訓練による脳灰白質の局所的変化

スポーツ動作における随意性の向上と神経系の変化を明らかにするために，サッカーのリフティング訓練にともなう脳灰白質の局所的構造変化を調べた。週３回のリフティング訓練を１ヶ月間行ったところ，中側頭葉後部，および左小脳の灰白質の密度・体積が増加した。運動視の中枢である中側頭葉後部の発達は，動くボールを正確に認知する能力の向上を示唆している。また，身体同側の運動制御に関わる左小脳の発達は，左足の制御能の向上を示唆している。よって，これらの脳部位の局所的な発達が，訓練によるサッカーのリフティング回数の向上を支えていると考えられる。

18. スポーツと脳構造

荒牧　勇 [1]，原田健次 [2]，下嶽進一郎 [1]
([1] 中京大学スポーツ科学部，[2] 中京大学大学院体育学研究科)

スポーツと脳の形態・構造にはどのような関係があるだろうか？ 近年，脳の形態や構造が運動・認知スキルや気質・性格と関連すること，また，「経験」が脳構造を変化させることが明らかになりつつあるが，スポーツと脳構造の関係は未解明な点が多い。

スポーツには競技種目ごとに必要とされる運動機能・

認知機能・社会コミュニケーション機能・気質・性格などにそれぞれの特性がある。このため，競技者は，その競技の特性に必要な脳機能に関連する脳部位の形態や構造に特徴がある可能性がある。そこで本研究は，さまざまな競技種目の競技者の MRI 脳画像を計測し，競技ごとの脳形態･構造の特徴を明らかにすることを目的とする。

今年度は，陸上競技の短距離選手と長距離選手の脳構造の差異を明らかにする研究をおこなった。陸上競技長距離選手 17 名と短距離選手 21 名に対して，行動の動機づけ特性を測る行動抑制系・賦活系質問紙調査と，MRI による T1 強調脳解剖画像を計測した。脳解剖画像は，脳灰白質の局所的な体積・密度を調べる Voxel Based Morphometry の手法で解析した。

行動の動機づけ特性を測る質問紙による調査の結果，長距離選手群は短距離選手群より，損害回避による動機づけ傾向が有意に高かった。また，脳解剖画像の解析結果から，長距離選手群は短距離選手群よりも損害回避の行動選択に関わる大脳基底核尾状核の体積・密度が大きいことがわかった。

本研究の結果から，陸上長距離選手は，短距離選手と比較して，損害回避を行動の動機づけとする傾向が高く，その傾向は損害回避の選択に機能する大脳基底核尾状核の構造的特徴に支えられている可能性が示唆された。

19. 磁気共鳴画像装置による脳賦活検査を用いたヒトの情動とストレス脆弱性に関する研究

飯高哲也，原田宗子（名古屋大学　大学院医学系研究科）

顔認知に関する fMRI 研究では，既にエピソード記憶における顔の虚記憶が生じた場合に扁桃体の活動が関与することを報告している。今年度はそれに引き続き，短期記憶における顔の虚記憶が生じた場合でも，同様に扁桃体の活動が関与するかについて fMRI と健常被験者を用いて実験した。その結果では，エピソード記憶と同様に短期記憶（数秒の間隔）の領域でも，顔の虚記憶が生じており，その時に扁桃体の活動が関係していることが分かった。

次いで笑いと悲しみの表情を動画で呈示し，その同じ人物の真顔に対して反応する脳領域を検討した。この実験は相手の感情に対する共感性の脳内機構を検討し，感情の種類によって関係する脳領域が異なるかどうかを調べることが目的である。実験結果からは，相手の真顔を見ている場合に，その人物が感情を表出していれば前頭葉等を含むミラー・ニューロン・ネットワークが賦活することが分かった。一方で感情の種類（笑いと悲しみ）により，前頭葉内側部などでは活動する領域が異なることも分かった。以上の２つの研究結果は学会発表等を行い，今後論文化を進める予定である。

国際共同研究として，文化による感情の脳内機構の違いを fMRI を用いて検討している。今年度は同じ日本人の中でも，文化的価値観（自己解釈スタイル）により扁桃体の活動が異なることを示した。さらに文化的プライミングを用いると，扁桃体の活動に変化が生じる事も分かった。この結果は国際シンポジウムで招待講演を行い，現在は単行本の章として発刊準備が進んでいる。

さらに下記の２つの顔認知に関わる総説を発表した。

飯高哲也. 顔を科学する：適応と障害の脳科学，第 9 章 「顔は脳のどこで処理されているのか？」 編集，山口真美/柿木隆介，pp 155-170，東京大学出版会，2013

Iidaka T. Role of the fusiform gyrus and superior temporal sulcus in face perception and recognition: An empirical review. Japanese Psychological Research（in press）

20. 運動を行うヒトの意志に関わる脳活動部位の明確化

船瀬新王（名古屋工業大学大学院工学研究科）

本研究は，運動を行うヒトの意志に関わる脳活動部位を明らかにするために，特に眼球運動に着目して運動の意志に関わる脳波に着目した。

従来研究において，衝動性眼球運動時の脳波には，眼球運動の 1000[ms]前より緩やかな電位変動が計測される。この変動は運動準備電位の一種と考えられるが詳細な特定には至っていない。よって，本研究においては眼球運動の感覚が異なる２つのタスクを行い，この運動準備電位の性質を特定することを試みる。

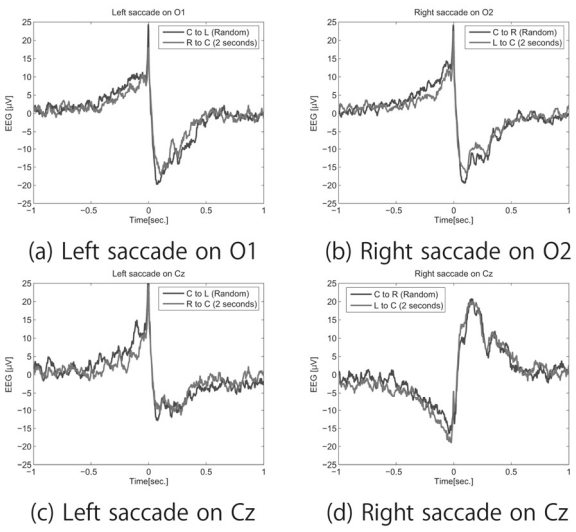
暗室のシールドルーム内のイスに被験者を座らせ，視覚刺激に向けて眼球運動を行った際の脳波を計測した。視覚刺激は, 被験者の前方に配置した LED を点灯することで与えられる。被験者には LED を用いて正面から左右，左右から正面方向への眼球運動を課し，それぞれ 50 回の電位変動を測定した。このとき，前者は直前の眼球運動から 2〜5 秒のランダム間隔, 後者は 2 秒の固定間隔で眼球運動を誘発させた。

図は加算平均信号であり，横軸の 0 が眼球運動開始時刻である。図（a）,（b）より，赤線に着目すると-500[ms]以前に緩やかな電位変動は観測されていない。一方青線は少なくとも赤線よりも前に電位変動が発生している。図（c）も同様の変動を観測しているが，図（d）は赤線，青線ともにほぼ同様の電位変動となっている。

上述の結果より，以下の事が考えられる。

後頭葉の変動は，眼球運動約 500[ms]前から観測されるものである。これは，刺激提示から眼球運動の開始まで約 250[ms]程度の潜時であることを考えると眼球運動前から発生している変動である。この変動は従来研究において視覚刺激の提示のみには観測されない変動であるために視覚刺激に関連した電位変動ではない。よって，時間間隔が一定の実験時には，次の眼球運動を行うタイミングを予測することが可能であるためにその運動準備に費やされている変動であると考えられる。また，眼球運動の間隔をランダム時間にした際には 2〜5 秒の間隔を持っている。よって，青線の徐緩性の脳波が発生するタイミングが 500[ms]よりも前であることも妥当であると言える。

本研究において，眼球運動前に発生する脳活動の一端を明らかにするために，眼球運動前に発生する徐緩性脳波の発生要因の考察を行った。本結果より発生要因を特定することはできないが，運動の準備に費やされている可能性を指摘した。



図：眼球運動時の脳波変動

21. プライミング効果による L2 習熟度別の神経基盤と賦活状態の解明

大石晴美[1]，牧田　快[2]，木下　徹[3]，島田浩二[2]，中川恵理[4]，定藤規弘[2]
（[1]岐阜聖徳学園大学教育学部，[2]自然科学研究機構生理学研究所，
[3]名古屋大学大学院国際開発研究科，[4]神戸大学大学院国際文化学研究科）

［研究の背景］

Crinion et al.（2006）は，バイリンガルの第一言語と第

二言語の両言語を司る脳の部位を推定している。また，Xue，et al.（2003）は，第二言語（L2）の単語処理において，概念表象と L2 語とのコネクションは習熟度応じて，段階的に発達すると報告している。ただ，その脳活性状態については，明らかにされていない。

［研究目的］

本実験の目的は，日本人英語学習者を対象にし，語彙におけるカテゴリーの異同に注目し，L2 の文字単語処理に L2 習熟度がどのように関与しているのか，それを媒介している神経基盤を磁気共鳴装置で観測し抽出することで機序を解明することである。

［研究課題］

Crinion *et al.*（2006）の課題を修正し，ランダムに単語を組み合わせ１）英語－英語，２）英語－日本語，３）日本語―英語，４）日本語－日本語の４種類を作成した。英語は常に大文字，日本語はかな，カナ，漢字で表示した。

［実験参加者］

日本語母語話者　13 名（男性 8 名，女性 5 名）

L2 習熟度測定には Versant English test を使用。

［実験手順］

MRI 及び課題説明を行った後，実験同意書へ記入した。課題遂行時に MRI で撮像した。課題は，画面に単語（具象名詞）を 2 つ，順番に表示した。1 つ目の単語（先行語）を 500ms 表示し，その後 2 つ目の単語（後続語）を 1800ms 表示した。実験参加者は 2 つ目に表示される単語が生物か非生物かを判断してボタンで回答した。事後に課題遂行時についてのアンケートおよび英単語テストを実施した。

［仮説］

L2 単語の処理に関わる脳内領域は L1 単語のそれよりも活動負荷が高く，またその活動は L2 習熟度に応じて変動する。

［結果］

本実験の結果，先行語の処理と後続語の処理に共通して左下前頭野（BA44 活動を示す領域）に賦活が見られた。また，L2 を後続語として処理している時には習熟度と脳賦活状態に有意な相関は見られなかったが，先行語の処理中に左下前頭野（BA44/ posterior IFG）の賦活と学習者の習熟度とに正の相関を示した。

［まとめ］

本研究結果から，左下前頭野（BA44/ posterior IFG）において，L2 語の処理時に習熟度が高い実験参加者の方が負荷が多く，より概念表象を活性化したと考えられる。

22. ヒトの表情による脳活動とその制御機序－Subliminal 画像を用いた研究

中村浩幸[1]，飯高哲也[2]，木股竜太郎[3]，加藤新英[3]
([1]岐阜大学大学院医学系研究科，
[2]名古屋大学大学院医学系研究科，[3]岐阜大学医学部医学科)

ネガティブなヒト表情による視覚画像によって引き起こされる脳活動が噛み締めによって制御されるか否かを調べるため，fMRI を用いた予備実験を行った。その結果，まず噛み締めそのものによる脳活動の変化を調べる必要性が明らかとなった。そこで，今年度は，噛み締め圧の変化に相関する脳活動を調べる目的で，３テスラのMRI（Siemens，Allegra）を用いてヒトを対象とした fMRI 実験を行った。

健康な成人（岐阜大学医学部学生）28 名を被験者として，噛み締め課題遂行中の脳活動を計測した。被験者にはあらかじめ研究内容に関する説明文書を読んでもらい，研究の目的・実験内容・fMRI 計測の安全性などを説明した。併せて，実験途中であっても，いつでも参加を取り止める権利があることを被験者に説明した。また，事前に問診および質問表を用いて，治療中の病気，薬剤使用，脳神経疾患歴，体内の金属などが無いことを確認した。

実験参加に関して, 各被験者から文書による同意を得た。実験中は，医師が実験室あるいは操作室に待機し，さらに生理研に所属する医師が研究室に待機した。

fMRI 計測前に被験者ごとに噛み締め圧の調整を行い，無理なく最も強く噛み締めることの出来る噛み締め圧に対して 10%，30%，60%の噛み締め圧を確認してもらった。fMRI 計測中は，被験者に噛み締め圧を音声にて指示し，10%，30%，60%の噛み締め圧で 20 秒間噛み締めた状態を維持してもらった。噛み締め圧センサを用いて被験者の噛み締め圧をリアルタイムで画面上に呈示し，被験者に噛み締め圧のフィードバックを与えた。噛み締め 20 秒，休憩 20 秒を交互に行うブロックデザインを用いた。それぞれの噛み締め圧ごとに 6 ブロック，合計 18 ブロックを 1 回のランで行い，被験者ごとに 3 ラン行った。fMRI 計測の撮像パラメータは，TR = 2500 ms，空間解像度 = 3 x 3 x 3.5 mm, スライス枚数 = 39 枚であった。

噛み締めの際に活動する脳領域は，1 次運動野，1 次および 2 次体性感覚野，外側溝上弁蓋，島皮質，下頭頂小葉，後頭葉，下側頭葉であった。これらの皮質の活動は噛み締め圧と正の相関を示した。扁桃体の活動は噛み締め圧と負の相関を示す傾向が見られ，噛み締めによって扁桃体の活動が抑制される可能性が示唆された。現在，引き続き 28 名のデータを解析中である。

23. 他者との相互作用に基づく同調・非同調の神経機序—社会脳からのアプローチ

苧阪直行 [1]，苧阪満里子 [2]，松吉大輔 [2,3]
([1] 京都大学大学院文学研究科,
[2] 大阪大学大学院人間科学研究科，[3] 東京大学先端科学技術研究センター)

人間社会は重層的な社会的相互作用によって形成されているが, その基礎にあるのが二者間の相互作用である。近年，機能的磁気共鳴画像を用いて，ヒトの社会的行動の神経基盤を探る「社会脳」的アプローチが勃興しつつあるが，それら研究のほとんどは 1 台の MRI を用いた「社会的刺激観察中の脳活動」を測定しているに過ぎず，実際のヒトが行っている社会的相互作用からはほど遠い。

本研究では，2 台の MRI を同時使用して 2 者間の相互作用を含む刺激観察・課題遂行中の脳活動を測定する事で，ヒトの社会的相互作用の神経基盤を探る事を目的としている。具体的には，二者間のアイコンタクト中の被験者間脳活動相関と，質問紙や行動によって評価された二者間の関係性とが，どのような対応関係にあるかを明らかにすることで，二者間の関係性のバイオマーカーとなる神経活動を同定したいと考えている。

このようなアプローチ方法は，参考となる先行の認知・神経科学研究に乏しい。このため，二者間のアイコンタクトに関する行動的証拠を集めた上で, fMRI 研究に移ることが肝要である。現在は眼球運動測定装置等を用いた行動データ取得と解析方法の検討を継続して行っており, 25 年度中に fMRI の予備実験開始を目指している。

24. 時間割引能力の発達とその脳機構の解明

田中沙織（大阪大学社会経済研究所）

「隣の芝生は青く見える」ように，いくら否定したくても，「他人」の存在が私たちにネガティブな影響を与えることは，どうやら疑いようがないようだ。われわれが意思決定を行う際に頼りにする価値や効用は，報酬の大きさや確率，時間遅れなどに影響を受けることが分かっている。近年はそれに加え，他者から得る 「社会的効用」の存在が提唱されている。

さらに，近年の実験経済学の発展におり，さまざまなゲーム的状況での意思決定のように，他者との相互作用がおこる状況で「社会的効用」が検証されている。「社

会的効用」の存在を支持するもう一つのアプローチが，社会的神経科学や，神経経済学である。これらの選好研究において，不公平や他者や，ジェラシーを感じる相手には不効用を感じ，彼らの不幸には効用を感じることを示唆する結果が報告されている。

相対効用は，効用が自分自身の消費・所得水準だけでなく，参照群の所得・所得水準にも依存する効用モデルの一つである。その依存の強さを表すのが社会効用パラメータである。我々は，選択による社会効用パラメータの推定パラダイムを，インターネットによる大規模調査で実施しており，男女間の社会効用の異質性を確認した（Yamada and Soto, 2013, Journal of Economic Behavior & Organization）。そこで，本年度は，社会効用パラメータが影響を与える脳部位の同定し，さらに先行研究で見られたような「男女差」があるのかを調べるために，書面調査で社会効用パラメータを推定し，社会効用パラメータの大小を基準に集めた被験者に対して fMRI 実験を実施した。

平成２２，２３年に実施した「主観的効用」を調べるための fMRI 実験をもとに，自己と他者の所得の選択によって社会的効用を調べる課題に改良し，成人健常者 25 名の fMRI 計測を行った。実験では，被験者は自分と他人の写真のペアを見せられる。それぞれの写真には，収入が書かれている。被験者は，右の状況と左の状況のどちらが良いかをボタン押しで選択する。

脳活動を解析した結果，相手の収入から自分の収入を引いた値との相関が頭頂皮質に見られた。さらに，この相関の強さと社会効用パラメータとの間に有意な相関が見つかった。また，「自分」と「相手」の所得のどちらに敏感かが，社会効用パラメータと性別で異なる可能性を示唆する結果が得られた。

25. 外国語運用能力の熟達化に伴う文理解及び文産出の自動化プロセスの神経基盤

横川博一[1]，吉田晴世[2]，島田浩二[3]，牧田　快[3]，田邊宏樹[4]，定藤規弘[3]
([1]神戸大学，[2]大阪教育大学，
[3]自然科学研究機構生理学研究所，[4]名古屋大学)

外国語運用能力の育成には，その基盤となる知識の形成と運用スキルの習熟を図ることが必要であり，言語処理の自動化が外国運用能力の熟達化にとって重要な役割を果たす。しかし，その認知メカニズムは十分に明らかにされておらず，言語情報のインプットを効率的に処理できる形式に変換し，インプットからアウトプットに到るプロセスにおける統語，意味処理の脳内メカニズムを明らかにすることが，外国語運用能力育成のカギともなる。

本研究では，統語産出や意味理解に関連するオンライン言語課題遂行中の脳活動を機能的 MRI によって計測し，英語運用能力の熟達度の異なる学習者群の脳活動の比較を行った。日本人英語学習者 28 名を対象に，英語運用能力テスト（Versant English Test : Pearson Education, Inc.）の得点に基づき，3 群に分けた（A2，B1, B2 の CEFR レベルに対応，Council of Europe, 2001）。実験課題には，3 つの語句を文形式にして並べ替えて発話する統語産出課題（例えば，“has got / a bird / the cat” を “The cat has got a bird” に並べ替える）および文章を聞いて理解する意味理解課題を用いた。

実験の結果，高熟達度群は低熟達度群に比べて，実験課題の成績がより高くなるだけでなく，左半球のブローカ野の活動パターンが異なることが明らかになった。つまり，統語産出課題ではブローカ野背側部の活動がより減少し，意味理解課題ではブローカ野腹側部の活動がより増加した。

統語産出課題のブローカ野背側部の活動低下は，単語を組み合わせて文形式を作る統語処理の認知負荷が低下していることを反映し（Friederici, 2012），熟達度の高い英語学習者の統語処理の自動化にとってこの領域が重要な役割を担っていることを示唆している。一方，意味理解課題のブローカ野腹側部の活動増加は，十分な意味理解に必要な語句に対する意味役割（thematic role）の付与を反映していると考えられる（Newman, Just, Keller, Roth, & Carpenter, 2003）。

また，この領域の活動パターンが「発話流暢さ」（英

語運用能力テストの下位指標の 1 つ）によって説明されることを合わせると，熟達度の高い英語学習者の言語処理プロセスの自動化が十分な意味理解に貢献していることを示唆している。

26. 非侵襲的脳機能検査による疲労・疲労感と学習意欲の評価法

渡辺恭良，水野　敬（理化学研究所分子イメージング科学研究センター）
定藤規弘，田邊宏樹，佐々木章宏（自然科学研究機構生理学研究所）

報酬感に伴う賦活回路同定の研究は，世界中で取り組まれている。この賦活作用は，報酬獲得による意欲喚起とも関連する。一方，明示的な報酬が得られない場合でも意欲が高い場合もある。例えば，達成困難な課題を与えられた場合，ヒトによっては非常に高い意欲をもって課題に取り組む（Yoshida, M. et al., Int. J. Neurosci., 118（10）: 1400-1411, 2008）。本研究では，明示的な報酬が得られない課題遂行時の賦活計測を行い，内発的意欲の神経基盤を検討した。ワーキングメモリ課題の難易度を 5 段階に設定し，各課題遂行時の賦活度を，fMRI により測定評価した。課題に対する意欲の主観的評価も行った。賦活度と意欲の主観値の相関解析を行い，課題に対する意欲が高いほど，線条体の活性が高いことがわかった。さらに，その線条体の活性は，質問票により算出した普段の学習意欲の程度と正の相関関係にあった。また，ここ数週間の疲労度とは負の相関関係にあった。線条体の賦活は学習意欲と関連することから（Mizuno, K. et al., Neuroimage, 42（1）: 369-378, 2008），課題に対する意欲は，明示的な報酬がない場合でも線条体を活性させ，学習意欲を高めることに寄与することが示唆された。また，学習意欲と表裏一体の関係にある疲労は，課題に対する意欲，すなわち，線条体の活性を低下させることが明らかとなった。

27. 視覚と触覚の速度知覚の脳内処理システムの同定

呉　景龍，楊　家家（岡山大学　大学院自然科学研究科）
定藤規弘，北田　亮（自然科学研究機構　生理学研究所）
河内山隆紀（京都大学　霊長類研究所）

人間は，視覚及び触覚によって対象物の運動速度を認知・判断することができる。従来研究では，運動方向が異なる触覚と視覚運動刺激を同時に提示した場合に，触覚運動弁別の正答率が著しく減少することが報告されている。また最近の研究報告では，視覚運動残効が触覚運動の識別に影響を与えることも証明されている。従って，人間の視覚と触覚速度知覚には共有する脳内領野が存在し，お互いの速度知覚に影響を与えている或いは補助していると考えられる。しかし，その脳内処理システムは未だ解明さていない。本研究は，視覚と触覚の速度知覚の脳内処理システムを同定することを目的としている。

これまでの実験で使用した MRI 環境に適応できる触覚運動刺激提示装置を改良して，視覚と触覚の両方の協調的及び非協調的情報による速度知覚の fMRI 実験を実施し，健常若年者 8 名分のデータを取得した。実験タスクは，視覚と触覚単独による速度知覚の脳内部位の同定タスクと，視覚と触覚のクロスモーダルな速度知覚タスクである。視覚と触覚単独タスクでは，各試行に二つの運動刺激を順次に提示し，その速さを弁別してもらう。クロスモーダルタスクでは，触覚運動刺と同時に，同じ或いは異なる運動方向の視覚刺激を呈示して，被験者に触覚刺激の速さを弁別してもらう。このような視覚刺激と触覚刺激の条件が整合の場合と不整合の場合の実験を行うことによって，速度知覚における視覚と触覚の相互作用・統合過程の脳内処理メカニズムを検討する。これまで取得した被験者 8 名のデータだけでは視覚と触覚の

クロスモーダルによる速度知覚に依存する反応を得るには至っていないが，今後の実験タスクの改良につながる重要な情報が得られた。今後は実験タスクを調整し，引き続き脳部位の同定を試みる。

28. 脳波と脳磁図による聴覚の変化探知メカニズムの解明

元村英史（三重大学医学部附属病院精神科神経科）
乾　幸二

ヒトが生存するためには環境の変化を速やかに察知する必要がある。我々は脳波および脳磁図を用い，イベント発生後約 100 ms にみられる変化関連脳活動について研究を進めている。本年度は以下の二つの課題を遂行した。

1. 変化関連脳活動と不安感受性

ヒトには固体固有の変化関連脳活動強度が存在すると考えられる。純音呈示の開始（ON）と終了（OFF）に誘発される Onset-N1 と Offset-N1 の測定と自己評価式不安尺度を用い，健常者を対象として不安特性と変化関連脳活動強度の関連を検討した。

Onset, Offset ともに N1 振幅は不安強度と正の相関がみられた。今後，うつ病や不安障害など精神疾患への臨床研究に発展させる予定である。

2. 感覚フィルタリングの左右差

変化検出を速やかに行うためには，情報の選別を前注意的（つまり無意識下）に行われなければいけない。様々な情報を脳内で効率的に処理する感覚フィルタリング機構（sensory gating）が存在すると考えられている。連発音刺激を呈示した場合，音呈示後約 50 ms にみられる P1m や 100 ms にみられる N1m の振幅は第 2 音目以降において第 1 音に比べて抑制される。本研究では，左右それぞれの片耳に連発音を呈示し，N1m 振幅の減衰率を指標として sensory gating における大脳半球差の解明を目指した。右利き健常者を対象とし，全頭型脳磁図計（Vectorview, ELEKTA Neuromag）を用いて左右それぞれの片耳に純音を 500 ms 間隔の連発音を呈示し，第 1 音に対する N1m 反応が最大の側頭領域センサーを左右それぞれ一つずつ選び，その振幅について測定し，統計学的解析を行った。

連発音それぞれの N1m 振幅自体は右側および刺激対側において有意に高かったが，N1m の第 2 音にみられる減衰率つまり sensory gating は刺激同側半球において有意に高かった。精神疾患における sensory gating 異常の報告は多いが，今後，その左右差を考慮することで精神疾患の病態の更なる解明を目指したい。

29. 脳活動によるユーザ体感品質（Quality of Experience）の客観的評価に関する研究

岩田　彰[1]，田中悟志[2]，石橋　豊[1]，伊奈嵩弘[1]，定藤規弘[3]
（[1]名古屋工業大学大学院　工学研究科，[2]名古屋工業大学　若手研究イノベータ養成センター，
[3]自然科学研究機構　生理学研究所）

【はじめに】近年，従来の視覚・聴覚メディアに加えて，触覚メディアなど五感メディアのネットワークが利用可能になり，急速にマルチモーダル通信が発達しつつある。マルチモーダル通信においては，メディア間の時間関係の乱れはユーザ体感品質（QoE）に大きな影響を与える。そこで本研究では，まず視聴覚メディアの同期性判断において脳のどの領域が活動するのかを同定することを目的とした実験を行った。そのような脳領域を明らかにすることで，被験者の主観的な判断を脳活動で定量化する際に，どの領域の脳活動に注目して今後分析を行っていくべきかの有力な手掛かりになると考えたからである。

【方法】20 名の健常者を対象とし，機能的磁気共鳴画像法（fMRI）を用いた。被験者は視聴覚刺激の同期性判断課題を MRI 装置の中で行った。試行の開始を警告する予告刺激が視覚的に提示された後，1000～2000ms の遅延をおいて視覚刺激と聴覚刺激を提示されるので，被験者はそれが同期していたか否かを強制二択で判断し，右手の手元にある非磁性体ボタンボックスで反応するように教示された。

【結果】安静時に比べて課題遂行時に，両大脳半球の前頭前野，島，運動前野，補足運動野，聴覚野，視覚野，背側及び腹側後頭頂皮質，小脳，視床および左半球の一次運動野など複数の領域が有意な活動を示していた。次に，被験者が同期と判断した試行および非同期と判断した試行の脳活動を直接比較する検討を行った。その結果，非同期と判断した試行に比べて，同期と判断した試行でより有意に活動を示した脳領域は，本研究で採用した有意水準では検出できなかった。一方，同期と判断した試行に比べて，非同期と判断した試行でより有意に活動を示した領域は，右半球の腹側後頭頂皮質を中心とした領域であった。

【考察】本研究の結果，視聴覚刺激が非同期であると被験者が判断した時に，右半球の腹側後頭頂皮質周辺が特異的に活動するという事が明らかになった。今回の研究成果は，マルチモーダル通信における脳活動を利用した新しい QoE 評価手法の確立に向けて，まずターゲットとすべき脳領域の候補を同定したという点で重要であると考える。今後，別の被験者グループを対象とした実験において，腹側後頭頂皮質における MRI シグナルの振幅の強弱などから異種感覚刺激間の同期判断の主観的内容を予測できるかを検討する必要がある。

30. クロスモーダルな感覚情報の脳内表現様式の解明

宮脇陽一（電気通信大学先端領域教育研究センター）
神谷之康（ATR 脳情報通信総合研究所）

ヒトは，視覚，聴覚，触覚などの複数の感覚を統合的に利用することによって，高精度かつ頑健な外界認識を行っている。本研究では，fMRI によってヒト脳活動を計測することにより，大脳皮質感覚野における異種感覚情報の相互作用および統合過程を調べ，ヒト脳内での多感覚情報の表現様式を解明することを目指す。

本年度では，まず，解析に必要な脳部位を同定するための実験を行った。触覚刺激を与える体部位を表現する体性感覚野，聴覚野，低次および高次視覚野を賦活させるための標準的な刺激を用いた fMRI 信号計測実験を，それぞれの感覚刺激ごとに独立したセッションとして実施した。触覚刺激は，fMRI 装置内で使用可能な非磁性触覚刺激装置によって作成し，被験者に提示した。fMRI の撮像は，冠状断面で行った。生じた脳活動に対応する領域をもって，上記脳部位を定義した。

次に，触覚刺激情報のクロスモーダルな脳内表現について調べるため，被験者の示指先端部に触覚刺激を与えた際の脳活動を fMRI で計測した。触覚刺激の空間パターンおよび振動パターンは，定量的かつ体系的に操作し，様々な条件下での脳活動パターンの計測を行った。計測した脳活動パターンと刺激条件との関係性を，マルチボクセルパターン解析の手法を用いて解析した。

これまで実施した予備解析結果では，先行研究と一致して，健常被験者においても触覚刺激時に視覚野の一部が賦活する可能性があることが示された。またマルチボクセルパターン解析の結果から，当該脳部位において触覚情報の特徴が表現されている可能性があることが示唆された。今後は，結果の再現性を確認するとともに，本現象をさらに多側面から検証していく予定である。

31. ヒト特有の遊びの神経基盤の解明に関する機能的磁気共鳴画像法研究

三浦直樹（東北工業大学工学部）
田邊宏樹（名古屋大学大学院環境学研究科）
定藤規弘，佐々木章宏（生理学研究所大脳皮質機能研究系心理生理学研究部門）

ヒトにとっての「遊び」とは他の生物種で観察される遊びとは異なり，生活とは全く関係ない行動であっても，行動そのものに楽しみを感じる事で遊びとして成立させる事が指摘されている。例えば，ゲームの点数のような生命維持には無価値な事象に対しても，自ら価値を想像し内発的報酬として感じる神経基盤がヒトに特有の遊び行動を創出していると予測される。従って，人間の知的活動の源泉は，ある行為そのものに対して感じる楽しさが内発的な報酬となって遊びが成立し，行為から得られた報酬をさらに追求していくために，自ら工夫をする事ではないかと仮説をおく事が出来る。

本研究ではこの仮説を検証するための基礎的研究として，遊びが成立し行動から内発的報酬が生じるための要素を，（1）自己効力感がある事，（2）ゴールへの到達度合が判断可能な即時フィードバックがある事と定義し，これらの要素の有無が内発的報酬に関与する大脳基底核の活動にどのように影響するかについて，機能的MRI を用いて脳機能計測を行った。

脳機能計測実験には，２３名の被験者が参加した。全ての被験者に対し口頭と文書を用いて説明を行い，実験参加の同意を得た。

実験課題としては，計時されているストップウォッチを指定時間に停止するストップウォッチ課題を用いた。ストップウォッチ課題において，遊びの要素として定義した，（1）自己効力感の有無：自分で停止操作を制御出来るか否か，（2）即時フィードバックの有無：停止した時間を被験者に提示するか否かを条件として組み合わせ，合計で４条件のストップウォッチ課題を設定した。また内発的な報酬の効果を検証するため，課題の成否は外的報酬とは無関係であるとした。

さらに低次の視覚刺激入力及びボタン押し運動を統制するコントロール課題と，ストップウォッチの表示時間の変化が停止した事に気づいたらボタン押しをする統制課題である課題を用意した。

データ解析の結果，ゴールへの到達度合が分かる即時フィードバックがある条件において，内発的報酬に関与する大脳基底核に有意な活動が認められた。この事は，外的には単なる文字列である停止時間のフィードバックを受ける事が課題に対する報酬になっていたと考えられ，ヒトは行動から得られる情報そのものが無価値だとしても，その情報に自ら意味付けを行い，情報を獲得する事に対して報酬を創出している事が示唆された。

32. 機能的 MRI との同時計測による経頭蓋直流電気刺激法の大脳ネットワークへの影響の検討

田中悟志（名古屋工業大学　若手研究イノベータ養成センター）
伊奈嵩弘（名古屋工業大学大学院　工学研究科）

近年，頭蓋の外から 1mA 程度の微弱な直流電流を与える経頭蓋直流電気刺激法（transcranial direct current stimulation: tDCS）が，経頭蓋磁気刺激法と同様に外科手術を行わずヒトの脳活動を修飾できる装置として，リハビリテーション分野で脚光を浴びている（総説として Tanaka & Watanabe, Brain Nerve 61, 53-64, 2009; Tanaka et al., Neuropsychol Rehabili 21, 650-675, 2011）。tDCS は電極直下の細胞外電位を変化させることにより，陽極刺激の場合は脱分極，陰極刺激の場合は過分極の方向に静止膜電位をシフトさせ，また行動学的には運動・感覚機能などに対する促進効果が報告されている（Nitsche and Paulus, J Physiol 527, 633-639, 2000）。これまで痙攣等の重篤な副作用は報告されておらず（Poreisz et al, Brain Res Bulletin 72, 208-214, 2007），また装置は文庫本程度で携

帯性に優れ，身体的拘束も少ない。これらを踏まえ，申請者は経頭蓋脳刺激法を用いたリハビリテーション医療への応用が現実味を帯びてきたと考えるに至った。

本研究の目的は，全脳の脳活動を計測できる機能的 MRI と経頭蓋直流電気刺激の同時計測により，経頭蓋直流電気刺激が脳領域間のネットワークに与える影響を全脳レベルで検討することである。経頭蓋直流電気刺激の作用機序に関しては，刺激電極直下の神経細胞の静止膜電位の変化の関与が動物実験から示唆されている一方で，不明な点も多い。特に，刺激直下の皮質領域と解剖学的な結合を介した皮質-皮質間または皮質-皮質下間への大局的なネットワークへの影響の検討は極めて萌芽的な段階にある。

本研究課題は，申請時期が遅かったこともあり，承認を受けたのが 2 月であった。そのため研究に取り組む時間が極めて限られていた。ファントムを使った予備検討では，機能的 MRI と経頭蓋直流電気刺激を行うと，電極直下の MRI 画像のシグナルが弱くなることが観察された。この点に関して，今後ノイズを軽減するような工夫が必要になってくることが明らかになった。

33. マカクザルの脳構造撮影

鯉田孝和（豊橋技術科学大学　エレクトロニクス先端融合研究所）
小松英彦（生理学研究所　感覚認知情報研究部門）

提案代表者は，視覚認知に関する神経基盤の理解のために，覚醒下マカクザルの脳神経細胞の活動を記録する実験を行っている。色と明るさの認知に関わる神経情報表現を単一神経細胞の応答として捕らえるために，微小電極を大脳皮質 TE 野に刺入記録する実験である。その際には，ターゲット脳領域に正しく電極先端を導く必要があるが，サルの脳には解剖学的な個体差があるため，個体ごとに脳の三次元構造を MRI により取得し，参照することが望ましい。提案代表者の研究機関ではマカクザルの長期飼育及び慢性実験が可能であるものの，MRI が配備されていない。そこでサルで撮影可能な生理研イメージング機器を共同利用することとした。

生理学研究所のイメージング機器（MRI）を用いて，2013 年 2 月 8 日に 6 時間の機器専有で，マカクザルの大脳構造画像を取得した。ナショナルバイオリソースから提供を受けたサルは既に，豊橋技科大において飼育馴化されているが，ヘッドホルダー取り付けなどの外科処置は行われていない。これらサル二頭を輸送用ケージ（豊橋市保健所許可取得済み）に入れ，生理学研究所まで業者（日本 SLC）による運搬を行った。到着後，ケタミン（10mg/kg）及びペントバルビタール（20mg/kg）により麻酔非動化し，MRI により脳構造画像の撮影を行った。画像取得後，サルを移動ケージに戻し，二頭目の撮影に入った。二頭目の撮影が完了し，麻酔復帰を確認し復路の運搬を行った。

撮影結果は良好であり，ターゲットとなる大脳皮質領域と脳溝が十分に目視可能であった。二頭のサルの脳の構造には明瞭な個体差があり，一方の個体では大脳左右半球で大きさや形に非対称性がみられた。

撮影データは解析ソフトにより耳道および眼窩下部を水平基準とした座標系に変換され，断面画像ならびに頭蓋等を除去した脳の 3D 画像として利用する。目的の記録部位を特定し，頭蓋骨など外部から参照可能な座標系と対応づけることで，記録用チャンバーの取り付け，ならびに電極刺入時の参照地図とする。

以上の解析は生理研の郷田直一助教が開発したソフトを利用することで極めて迅速に行うことが可能であった。共同利用機器による測定だけでなく，サルの MRI 撮影に特化した器具の供給，実作業の協力が揃ってこそ効果的な共同利用となることが実感された。

【研　究　会　報　告】

研究会報告

〔 目　　次 〕

１．超階層シグナル伝達研究の新展開
（代表者：永井健治　2012 年 10 月 1 日－10 月 2 日）…… 263
２．心血管イオンチャネル・トランスポーター研究の新展開：基礎研究と臨床研究の融合
（代表者：南沢　享　2012 年 11 月 21 日－ 11 月 22 日）…… 272
３．膜機能分子の機能・構造ゆらぎの時空間スペクトル解析
（代表者：老木成稔　2012 年 9 月 6 日－9 月 7 日）…… 284
４．シナプス可塑性の動作原理 ～分子から行動まで～
（代表者：松尾直毅　2012 年 6 月 14 日－6 月 15 日）…… 292
５．痛み研究の新たな展開
（代表者：岩田幸一　2012 年 12 月 13 日－12 月 14 日）…… 299
６．温熱生理研究会
（代表者：中村和弘　2012 年 9 月 4 日－9 月 5 日）…… 313
７．第８回 TRP チャネル研究会
（代表者：西田基宏　2012 年 6 月 14 日－6 月 15 日）…… 326
８．視知覚の理解へ向けて－生理，心理物理，計算論による探求
（代表者：金子寛彦　2012 年 10 月 4 日－ 10 月 5 日）…… 340
９．細胞センサーの分子機構・相互関連・ネットワーク研究会
（代表者：重村憲徳　2012 年 11 月 29 日－11 月 30 日）…… 350
10．神経オシレーション：共振とディスリズミア
（代表者：池田昭夫　2012 年 7 月 12 日－7 月 13 日）…… 362
11．グローバルネットワークによる脳情報処理
（代表者：田中真樹　2013 年 1 月 25 日－1 月 26 日）…… 374
12．大脳皮質の作動原理究明をめざして
（代表者：金子武嗣　2012 年 12 月 6 日－12 月 7 日）…… 382
13．第六回 Motor Control 研究会
（代表者：花川　隆　2012 年 6 月 21 日－6 月 23 日）…… 386
14．認知神経科学の先端 推論の脳内メカニズム
（代表者：小川　正　2012 年 10 月 26 日－10 月 27 日）…… 450
15．個体内の記憶回路の同定とその機能解析による学習記憶制御基盤の統合的理解（記憶回路研究会）
（代表者：喜田　聡　2012 年 11 月 20 日－11 月 21 日）…… 458
16．粘膜防御における上皮膜輸送の役割とその破綻による疾病発症メカニズム
（代表者：石黒　洋　2012 年 11 月 30 日－12 月 1 日）…… 465
17．神経シナプス伝達の時空間ダイナミクス
（代表者：坂場武史　2012 年 11 月 27 日－11 月 28 日）…… 476
18．電子顕微鏡機能イメージングの医学・生物学への応用―高次機能イメージングの最先端―
（代表者：臼田信光　2012 年 10 月 24 日－10 月 25 日）…… 486

19. リンパ腫と組織球系細胞・肥満細胞腫瘍の比較病理学シンポジウム
（代表者：中山裕之　2012 年 12 月 6 日－12 月 7 日）…… 493
20. 第２回社会神経科学研究会「社会の中で生きる心の理解」
（代表者：松田哲也　2013 年 1 月 31 日－2 月 1 日）…… 498

1. 超階層シグナル伝達研究の新展開

2012 年 10 月 1 日－10 月 2 日

代表・世話人：永井健治（北海道大学・電子科学研究所）
所内対応者：久保義弘（生理研・神経機能素子）

（1）神経伝達物質のシナプス小胞充填機構

堀　哲也[1,2]，高橋智幸[1,2]（沖縄科学技術大学院大学　細胞分子シナプス機能ユニット[1]
同志社大学　脳科学研究科[2]）

（2）電位依存性プロトンチャネル：active channel pool size の調節機構

久野みゆき，酒井　啓，日野佳子，清水有希子，川脇順子（大阪市立大学大学院　医学研究科）

（3）膵β細胞におけるグルコース作用：代謝に依存しないシグナル産生機構について

小島　至，中川祐子，大津義晃，長澤雅裕（群馬大学　生体調節研究所）

（4）腎集合管間在細胞の Ca センシング受容体（CaSR）の働き

安岡有紀子[1]，佐藤雄一[2]，河原克雅[1]（[1.] 北里大学　医学部，[2.] 北里大学　医療衛生）

（5）細胞内情報伝達をいかにして明らかにしていくか

石島秋彦（東北大学　多元物質科学研究所）

（6）一分子酵素反応実験における Dynamic disorder 解釈の虚実：我々は何を観ているのか？

小松崎民樹（北海道大学　電子科学研究所）

（7）遺伝子発現のノイズ性の起源

谷口雄一（理化学研究所　生命システム研究センター）

（8）タンパク質リン酸化酵素 Akt/PKB の光制御

桂　嘉宏，小澤岳昌（東京大学大学院　理学系研究科）

（9）アクチン線維：マイクロメートルスケールのメカノセンサー

早川公英[1]，榊原正太郎[2]，辰巳仁史[2]，曽我部正博[1,2]
（[1]名古屋大学　革新ナノバイオデバイス研究センター，[2]名古屋大学大学院　医学研究科）

（10）環状ヌクレオチド cGMP,cAMP シグナル伝達の可視化

鎌形貴範[1,2]，堀川一樹[2]
（[1]総合研究大学院大学，[2]徳島大学大学院　ヘルスバイオサイエンス研究部）

（11）カリウムチャネルのイオン選択透過とゲーティングの分子機構

老木成稔（福井大学　医学部）

（12）内向き整流性カリウムチャネルにおける G 蛋白質結合とゲート開閉の共役

稲野辺厚，倉智嘉久（大阪大学大学院　医学系研究科）

（13）カルシウムチャネル点変異マウス tottering の海馬における電気シグナル発生，伝播，可塑性の多点同時解析

中尾章人[1,2]，三木崇史[1]，下野　健[3]，井本敬二[4,5]，森　泰生[1,6,7]
（[1]京都大学大学院　工学研究科，[2]日本学術振興会　特別研究員，
[3]パナソニック株式会社，[4]生理学研究所　神経シグナル研究部門，
[5]総合研究大学院大学，[6]京都大学大学院　地球環境学堂，[7]CREST JST）

（14）大脳皮質におけるグルタミン酸蛍光イメージング

関谷　敬，坂本寛和，並木繁行，廣瀬謙造，飯野正光（東京大学大学院　医学系研究科）

（15）エキソサイトーシスのダイナミクスを可視化する酸性環境検出蛍光プローブ

浅沼大祐，高岡洋輔，並木繁行，浦野泰照，長野哲雄，廣瀬謙造（東京大学大学院　医学系研究科）

（16）生体組織内の任意の細胞での機能イメージングを可能にする光活性化型 Ca^{2+}センサーの開発

永井健治 [1]，松田知己 [1]，堀川一樹 [2]
（[1] 大阪大学　産業科学研究所，[2] 徳島大学大学院　ヘルスバイオサイエンス研究部）

【参加者名】

高橋智幸，堀　哲也（同志社大学　生命医科学部），中西節子（沖縄科学技術大学院大学），谷口雄一（理化学研究所　生命システム研究センター），森　泰生，中尾章人，澤村晴志朗（京都大学大学院　工学研究科合成・生物化学専攻），小松崎民樹（北海道大学　電子科学研究所），石島秋彦（東北大学　多元物質科学研究所），永井健治，新井由之，中野雅裕（大阪大学　産業科学研究所），小澤岳昌，遠藤瑞己（東京大学大学院　理学系研究科化学専攻），久野みゆき，川脇順子（大阪市立大学・大学院医学研究科），渡部重夫（浜松ホトニクス株式会社　システム事業部），廣瀬謙造，浅沼大祐，瀧川健司（東京大学　大学院医学系研究科），河原克雅，安岡有紀子（北里大学・医学部），堀川一樹，鎌形貴範（徳島大学　ヘルスバイオサイエンス研究部），大久保洋平，関谷　敬，鈴木純二（東京大学大学院　医学系研究科），小島　至，長澤雅裕，中川祐子，大津義晃（群馬大学　生体調節研究所），曽我部正博（名古屋大学大学院　医学系研究科），稲野辺厚（大阪大学大学院　医学系研究科），老木成稔（福井大学医学部・分子生理），齋藤直人，田坂侑美，中西冴香（同志社大学　生命医科学部），渡辺正勝（光産業創成大学院大学光バイオ分野），内田邦敏，橘高裕貴（生理研・細胞生理），久保義弘，立山充博，中條浩一，Keceli Batu，山本　泉，北沢和寛，粂慎一郎（生理研・神経機能素子）

【概要】

細胞内小器官，細胞などミクロな構成要素から組織・器官・個体などのマクロな構造的秩序，そして生命の最も高次な機能発現ともいえる「思考」「学習」「行動」まで，あらゆる構造的・機能的階層において生体分子が司るシグナル伝達システムが働いている。今日，生命システムを構成する生体分子の種類とその配列がほぼ完全に明らかとなり，生命科学は物質科学としての生体分子科学に立脚しながらも，その集合体をシステムとしてとらえた「超階層システム生理学」へと急激に変貌しつつある。この新しい展開を実験的に支えているのが，トランスクリプトームやメタボロームなどに代表される網羅的計測技術に加えて，システムの状態の時空間情報を与えるイメージング技術，さらにはシステム状態を任意の時空間で操作可能な光遺伝学的技術である。本研究会では，単細胞運動，遺伝子発現，免疫，循環，神経系といった，異なる分野においてシグナル伝達機構に関連した問題に取り組んでいる研究者，及びシステムとしての生命現象を解明するのに適した新しいイメージング技術・光遺伝学的技術の開発やその利用方法・解析方法，理論に関して，注目すべき成果を上げている研究者を集め，各々の研究分野における成果とその成果を得るための戦略をプレゼンテーションしたうえで分野横断的に討論を行い，階層間を超えたシグナル伝達の動的な理解を目指した新たな戦略の創出につなげることを目的とした。

（1）神経伝達物質のシナプス小胞充填機構

堀哲也 [1,2]，高橋智幸 [1,2]
（[1] 沖縄科学技術大学院大学　細胞分子シナプス機能ユニット　[2] 同志社大学　脳科学研究科）

シナプス小胞へのグルタミン酸取り込みは小胞性グルタミン酸トランスポーターVGLUT を介して行われ，前末端細胞内から小胞内に約 10 倍の濃縮を行う。我々は，calyx of Held シナプスにおいて，ケイジドグルタミン酸（MNI-caged glutamate）光分解により前末端細胞質内グルタミン酸濃度を急速に操作し，シナプス小胞への神経

伝達物質充填時間の測定を試みた。シナプス前終末細胞質グルタミン酸除去により，興奮性後シナプス電流（EPSC）は記録開始振幅の 20%以下に減弱した。MNI-glutamate 光分解により細胞質グルタミン酸濃度を急速に上昇すると，EPSC 振幅は速やかに増加し，記録開始直後の振幅まで回復した。室温でのグルタミン酸充填時定数は約 15 秒であった。充填速度は細胞質 Cl^-濃度が 30mM の時最大で，低濃度（0.02mM）では 7 倍，高濃度（130mM）では 1.4 倍遅く，二相性の Cl^-濃度依存性が観測された。また，高濃度および低濃度 Cl^-条件では，高頻度（100Hz）のシナプス伝達が維持できなくなることが観察された。小胞充填に必要な時間は小胞の再利用に必要な時間を規定するため，小胞充填機構は，シナプス伝達における重要な律速段階と考えられた。

（2）電位依存性プロトンチャネル：active channel pool size の調節機構

久野みゆき，酒井　啓，日野佳子，清水有希子，川脇順子
（大阪市立大学大学院　医学研究科）

電位依存性プロトンチャネルの活性は膜を介するプロトンの濃度勾配と膜電位の変動にすばやく応答して変化する。しかし，これらの factor が一定にも関わらず，whole-cell H^+電流は短時間でしばしば増減することから，細胞には active (readily-available) channel の pool size を変動させる仕組みがあると考えられている。NH_4Cl 負荷を行うと一過性に細胞内アルカリ化を引き起こし，それと同時に H^+チャネル電流が減少する。この状況が数分以上続くと NH_4Cl を washout しても H^+チャネル電流は負荷前の大きさまで戻らないことが多い。細胞内 pH や gating kinetics は wash 後直ちに完全回復することから，NH_4Cl exposure が active channel 数を減少させたと推測した。この現象を手掛かりに active channel の pool size を増減するメカニズムを検討した。予めダイナミンインヒビターを添加しておくと H^+チャネル電流の回復率が向上することから，ダイナミン依存性の膜ダイナミクスが active channel pool size の制御に寄与することが示唆された。

（3）膵β細胞におけるグルコース作用：代謝に依存しないシグナル産生機構について

小島　至，中川祐子，大津義晃，長澤雅裕（群馬大学　生体調節研究所）

最も重要なインスリン分泌刺激因子であるグルコースは，β細胞内に取り込まれて代謝され，産生された ATP による KATP チャネルの抑制，続く電位依存性 Ca^{2+}チャネルの活性化を経て分泌を惹起すると考えられてきた。実際，β細胞にグルコースを添加し，細胞内 Ca^{2+}濃度($[Ca^{2+}]c$)の変化を Fura2 でモニターすると，添加後まず $[Ca^{2+}]c$が低下し，引き続いて 1 ～数分後に大きな $[Ca^{2+}+]c$増加とそれに続くオシレーションが観察される。この数分間のタイムラグが代謝に要する時間と考えられてきた。我々はβ細胞に甘味受容体が発現すること，この受容体がグルコース作用の一部を担っていることを報告してきた。今回 Cameleon を用いてグルコースによる Ca^{2+}動態の変化を検討した。Cameleon を用いた場合にも，Fura2 と同様にグルコース添加後の$[Ca^{2+}]c$低下とそれに引き続く$[Ca^{2+}]c$ 増加が観察された。細胞膜にアンカーさせた Cameleon-nano を用いて細胞膜近傍の$[Ca^{2+}]c$変化をモニターすると，グルコース添加直後に一過性の素早い$[Ca^{2+}]c$上昇が観察された。この$[Ca^{2+}]c$増加は細胞外液 Ca^{2+}に依存し，甘味受容体シグナルを阻害するグルマリンで抑制された。グルコースは，添加直後に甘味受容体を介して Ca^{2+}シグナルを産生することが明らかになった。

（4）腎集合管間在細胞の Ca センシング受容体（CaSR）の働き

安岡有紀子[1]，佐藤雄一[2]，河原克雅[1]（[1]北里大学　医学部，[2]北里大学　医療衛生）

腎集合管は，水・電解質輸送を担う主細胞と酸・アルカリ分泌を担う間在細胞（IC-A; IC-B; non-A,non B）が，同一集合管軸上に存在し，超階層を形成している。Calcium-sensing receptor (CaSR)は，血中 Ca 濃度変化を感知し，副甲状腺ホルモン分泌を促す膜機能タンパクである。これまでに，①Henle’s loop の太い上行脚において，CaSR 活性化変異は，Bartter 症候群（V 型）を引き起こす，②主細胞の CaSR 活性化は，バソプレシンによる水再吸収亢進を阻害，③間在細胞 (IC-A)では H+-ATPase を活性化させ酸分泌を亢進させることが報告されている。我々はマウスの腎臓を摘出し，TSA-ISH 法により CaSR mRNA を染色し，抗 AQP3 抗体，抗 AE1 抗体と二重染色した。その結果，CaSR は，上行脚，マクラデンサ，遠位曲尿細管，間在細胞(IC-B)に発現し，IC-A には発現しないことが明らかになった。CaSR の発現量は，酸負荷の IC-B 細胞でのみ減少し，アルカリ・利尿薬負荷および他の細胞・セグメントでは変化しなかった。次に，①酸負荷，②アルカリ負荷，③ループ利尿薬投与時の CaSR 発現量の変化を調べたところ, CaSR は, 酸負荷時の IC-B においてアルカリ分泌を抑制しており，酸分泌を担う IC-A と機能的協調作用があることが示唆された。

（5）細胞内情報伝達をいかにして明らかにしていくか

石島秋彦（東北大学　多元物質科学研究所）

大腸菌は外部からの受容体への刺激をべん毛モーターの回転を時計・反時計回りの転換を制御する内部の情報伝達に変換する機能を持つ。我々は，高速度ビデオカメラを用いてべん毛モーターの回転を取得し，同一細胞の異なる二つのモーターの回転変換が，細胞内情報伝達物質，リン酸化 CheY(CheY-P)によって制御されていることを見いだした。転換は非常に高い協同性を持ち，極の受容体からの位置に関連したサブ秒の時間遅れを伴っていた。この協同的な変換は脱リン酸化酵素である CheZ を必要とすることも明らかになった。今回の結果は，受容体からの一過的なシグナル濃度の上昇，減少が必要となる。このことは濃度の変化が波のように伝わることを意味する。さらに，外部刺激に対する細胞の応答を高時間分解能で調べるために，ケージド化合物を用いた計測を試みた。CW 条件（誘引物質が存在しない場合）において，ケージド-セリンを発生させるために，リアルタイムでモーターの回転状況をモニターできる計測系を新たに解析し，CCW から CW へ変化した 60ms 後に，レーザーを照射することを可能とした。その結果，細胞が誘引物質であるセリンを感知し，モーターにその情報を伝える様子を計測することが可能となった。このように，現時点でのイメージング技術では計測が困難なリン酸化，脱リン酸化などによる細胞内における情報伝達を明らかにすることに成功した。

（6）一分子酵素反応実験における Dynamic disorder 解釈の虚実：我々は何を観ているのか？

小松崎民樹（北海道大学　電子科学研究所）

近年の観察技術の進歩は，反応が起っている最中に個々の酵素をリアルタイムに一分子観察することを可能にした。近年，一分子レベルで生起する酵素反応では，各素過程の反応速度定数は酵素分子がもつ多様な構造毎に異なり，酵素反応はゆっくりと変化する酵素分子の多型構造に由来して多様な時間スケールの揺らぎを持つと

解釈されている（Dynamic disorder と呼ばれている）(Nature Chem. Bio. 2, 87 (2006))。一分子蛍光分光法では，反応過程は，基質分子が酵素分子に結合する「オン」状態，基質分子が酵素分子から離れる「オフ」状態の 2 つの状態間の遷移の時系列データから評価される。もっともよく使われている状態同定法は，時間軸に沿ったフォトン列をある一定の時間幅でビニング処理を行って蛍光強度の時系列に変換したのち，適当な閾値を設定し，その閾値よりも高い（低い）蛍光強度をもつ時間領域をオン（オフ）状態と同定する。そして，そのオン・オフ状態の時系列データが有するキネティックスから酵素の構造多型性の重要性が提唱されてきた。本研究会では，従来法は誤った解釈を導く可能性が極めて高いこと，dynamic disorder をもつとされていた(-キモトリプシンにおいては，その存在は実は有意に認められないことなど，一分子動態解析には正しい解析手法が正しい解釈を与えるうえで本質的であることを紹介した。

（7）遺伝子発現のノイズ性の起源

谷口雄一（理化学研究所　生命システム研究センター）

単一細胞のレベルでは内在する mRNA 数とタンパク質数とがたえず乱雑に変動している。このため，ひとつひとつの細胞は，たとえ同じゲノムをもっていても，それぞれが個性的な振る舞いを示す。筆者らは，単一細胞内における mRNA とタンパク質の発現プロファイリングを単一分子検出レベルの感度で行うことにより，単一細胞のもつ特性の乱雑さをシステムワイドで定量化し，そこにあるゲノム共通の法則性を明らかにした。そのために，蛍光タンパク質遺伝子をそれぞれの遺伝子の C 末端に結合させた大腸菌ライブラリーを 1000 株以上にわたって作製し，マイクロチップ上で単一分子感度での計測をシステマティックに行うことにより，それぞれの遺伝子における mRNA とタンパク質の絶対個数，ばらつき，細胞内局在などの情報を網羅的に取得した。その結果，全体の 98%の遺伝子は発現するタンパク質数の分布において特定の共通構造をもっており，それらの分布構造の大きさは量子ノイズやグローバル因子による極限をもつことが判明した。

（8）タンパク質リン酸化酵素 Akt/PKB の光制御

桂　嘉宏，小澤岳昌（東京大学大学院　理学系研究科）

タンパク質リン酸化酵素 Akt/PKB は生体内において代謝，細胞の生存,分化など多様な生体機能に関与する細胞内シグナル伝達の軸となる分子である。我々は，Akt/PKB の活性を生細胞内で光制御可能とするタンパク質モジュールを開発した。Akt/PKB は細胞外からの成長因子等の刺激に応じて，細胞膜に局在することで活性化される。そこで，細胞内における Akt/PKB の局在を光で誘導することができれば，その活性を制御できるという仮説のもと，光によって Akt/PKB を細胞膜に誘導するシステムを構築した。細胞膜への誘導には，植物由来のタンパク質，CRY2-CIB1 を利用した。先ず作製した光活性型 Akt/PKB が光によって活性化されるかを検証した。結果，Akt/PKB の細胞内局在を高い分解能で光制御することに成功した。さらに，光によって活性化した Akt/PKB はその基質の 1 つである一酸化窒素合成酵素（eNOS）をリン酸化することを確認した。これらの光応答は可逆的反応であり，繰り返しの活性化が可能であることを実証した。さらに Akt/PKB が関わる生体機能のうちグルコース代謝，一酸化窒素の産生，細胞遊走をそれぞれ光によって制御できることを確認した。また，Akt/PKB 活性を時空間的に制御したときの下流分子の応答を定量的にとらえ，細胞内シグナルを定量的に解析した結果も紹介した。

（9）アクチン線維：マイクロメートルスケールのメカノセンサー

早川公英[1]，榊原正太郎[2]，辰巳仁史[2]，曽我部正博[1,2]
（[1]名古屋大学　革新ナノバイオデバイス研究センター，[2]名古屋大学大学院　医学研究科）

機械刺激は細胞の形態や運動を調節する。細胞には機械受容チャネルや接着関連分子（タリン，インテグリン）のような，ナノスケール/ミリ秒で応答するメカノセンサーが発現しているが，それらはどのようにしてマイクロスケール/秒〜分で変化する細胞応答を調節するのであろうか？この謎を解く鍵分子の一つはアクチン細胞骨格であるが，最近アクチン線維自体がマイクロスケール/秒〜分のメカノセンサーとして働くことが分かってきた。ここではそのメカニズムについて報告する。培養細胞を圧縮するとアクチンストレス線維が弛緩して数分後に消失する。これにはアクチン切断因子コフィリンの存在が必要充分であることが分かった。即ちコフィリンは弛緩したアクチン線維に選択的に結合してこれを切断し，ストレス線維の崩壊を導く。弛緩した単一アクチン線維の軸方向の回転（捻れ）ゆらぎは緊張したアクチン線維よりも大きく，このとき生じるアクチンモノマー間の隙間にコフィリンが結合すると思われる。コフィリンが結合するとアクチン線維が硬くなると推定されているが，マクロな回転ゆらぎはむしろ大きくなった。コフィリンの結合には空間的協同性があるため斑状に結合し，アクチン線維の機械特性があたかもヌンチャク（硬軟領域の交互分布）のように変化して巨視的な曲げ変形が増加したためと思われる。硬軟の境界には大きなストレスが生じて線維が切断される確率が上昇すると考えられた。

（10）環状ヌクレオチド cGMP,cAMP シグナル伝達の可視化

[1,2]鎌形貴範，[2]堀川一樹
（[1]総合研究大学院大学，[2]徳島大学大学院　ヘルスバイオサイエンス研究部）

cGMP は Ca^{2+} と同様に様々な生理反応に関与する重要なセカンドメッセンジャーであり，平滑筋細胞の弛緩，走化性さらにはシナプス可塑性などに必須とされる。すでに培養細胞を対象にした cGMP 動態の計測が実現されている一方で，動物個体を対象にした研究，つまり血圧調整，血管新生さらには神経ネットワーク全体の活動変化を対象とした cGMP 動態計測は大きく立ち遅れている。これは cGMP 動態を可視化するための既存技術が真に生理的条件下での計測を行うには不十分，つまり cGMP 指示薬のシグナル変化率や cGMP の乖離定数が *in vivo* での cGMP 計測を行うには最適ではないためである可能性が考えられた。そこでわれわれは *in vivo* での cGMP 動態計測を実現させることを目的に，従来の cGMP 指示薬を改変することで，シグナル変化が大きく，かつ真に生理的な刺激への応答反応を計測できる指示薬の開発を試みた。ヒト PKG 遺伝子の cGMP 結合領域をセンサーモチーフとする FRET 型指示薬のスクリーニングを行った結果，従来の指示薬に比べシグナル変化量が 1.5 倍向上し，細胞の自発的な cGMP 変動を効率よく計測できる改良型指示薬の開発に成功した。用いた手法は，同様の改良が待ち望まれていた cAMP 指示薬に対しても有効であったことから，*in vivo* 解析を目的とする指示薬改良時に普遍的な手法として適応できると考えられた。

（11）カリウムチャネルのイオン選択透過とゲーティングの分子機構

老木成稔（福井大学　医学部）

イオンチャネルの本質的な分子機構はイオン選択性透過とゲーティングであり，すべてのチャネルに共通の機構である。これらの機能はチャネルの膜貫通ドメインあるいはポアドメインで行われている。10 数年前 KcsA カリウムチャネルの結晶構造（とくにポア構造）が明らかになったことでこれらの問題がすべて解決されたと考えられているかもしれない。しかし結晶構造にも問題があり，多くの場合，膜に組み込まれた構造ではない（可溶化膜蛋白構造）こと，また大きくゆらぐ構造を解けないこと，などの欠点がある。とくに後者は，機能を発揮する部分がしばしば大きくゆらぎ，そのような部分の構造が解かれていないことは機能を明らかにする上で致命的である。たとえば最も構造情報の豊富な KcsA カリウムチャネルでも開ゲート構造では開口部の部分構造が解かれていない。ゲートの開構造はゲーティング機構を明らかにする上で不可欠であるだけでなく，溶液中のイオンが選択性フィルタにアクセスする重要な位置にあり，結晶構造の欠損部を補う必要がある。このような課題に対する私達のアプローチを示し，イオン透過や選択性の研究の現状を紹介した。

（12）内向き整流性カリウムチャネルにおける G 蛋白質結合とゲート開閉の共役

稲野辺厚，倉智嘉久（大阪大学大学院　医学系研究科）

マルチドメインから構成される蛋白質の機能は，各ドメインにおける構造的平衡とドメイン間のアロステリックな共役によって調節される。内向き整流性カリウム(Kir)チャネルは細胞質ドメインと膜貫通ドメインから構成される典型的なマルチドメイン蛋白質であり，その細胞質ドメインは多くの活性調節因子を結合し，膜貫通ドメインのゲートの開閉を調節する。今回我々は G 蛋白質制御 Kir チャネル Kir3.2 におけるドメイン間の機能的な共役について解析した。電気生理学的，構造生物学的検討によって，細胞質ドメインには細胞膜に面した 2 つの特徴的な構造成分（CD 成分と HI 成分）が存在することが判った。HI 成分はサブユニットの協働的な動きに関与し，ゲートの際に膜貫通ドメインと共に動いていた。一方，CD 成分は HI 成分とβシートを形成して隣接することで，HI 成分の動きを制限していた。G 蛋白質の結合は CD 成分の位置を変化させる。そのため，膜貫通ドメインと連動する HI 成分の動態の制御が，細胞質ドメインによる G 蛋白質依存性の Kir チャネルの活性化に重要であると考えられた。

（13）カルシウムチャネル点変異マウス tottering の海馬における電気シグナル発生，伝播，可塑性の多点同時解析

中尾章人[1,2]，三木崇史[1]，下野　健[3]，井本敬二[4,5]，森　泰生[1,6,7]
（[1]京都大学大学院　工学研究科，[2]日本学術振興会　特別研究員，
[3]パナソニック株式会社，[4]生理学研究所　神経シグナル研究部門，
[5]総合研究大学院大学，[6]京都大学大学院　地球環境学堂，[7]CREST JST）

ヒトにおいて，電位依存性カルシウムチャネル Cav2.1 の変異は欠神てんかんや発作性運動失調症 2 型を引き起こす。これらの疾患には，しばしば認知機能障害を伴い QOL 低下の原因となるが，そのメカニズムについては不

明である。今回我々は，欠神てんかんのモデルとして知られているカルシウムチャネル Cav2.1 点変異マウス *tottering* (*tg*)の，海馬における神経活動を解析した。神経ネットワークレベルでの評価のため，多点細胞外電位記録法を用いてコリン作動性オシレーションを測定した。このオシレーションは CA3 領域より発生し，CA1 および DG に伝播していくことが観察された。*tg* マウスにおいては，異常なてんかん様のオシレーションパターンが観察され，薬理学的実験により $GABA_A$ 応答の異常が予測された。実際，*tg* マウスの神経細胞においては，通常よりも細胞内 Cl^- 濃度が高く保たれており，神経細胞の未成熟化が原因であることが示唆された。また，*tg* マウスの海馬 CA1 におけるシナプス可塑性には異常がない一方で，海馬 CA3 苔状線維シナプスにおいては長期増強の有意な減弱が見られた。個体レベルでは，モリス水迷路試験において，*tg* マウスは空間記憶・学習が低下を示した。これらのことは，Cav2.1 の点変異が海馬 CA3 領域の神経活動の異常を引き起こし，記憶や学習といった高次脳機能に影響を及ぼすことが示唆された。

（14）大脳皮質におけるグルタミン酸蛍光イメージング

関谷　敬，坂本寛和，並木繁行，廣瀬謙造，飯野正光
（東京大学大学院　医学系研究科）

中枢神経系では，神経細胞が層構造やカラム構造と呼ばれる高次の構造を形成し，記憶・感覚・運動などの情報処理を行っている。これらの神経細胞の間には，興奮性や抑制性のシナプスが無数に存在し，複雑な演算ネットワークを形成している。このシナプスは情報処理の基本単位であり，その活動が神経ネットワークでの演算に非常に重要であるが，神経ネットワーク内におけるシナプスの活動を捉えることは難しく，十分には調べられていない。そこで我々は，神経ネットワーク内において神経伝達物質の動態を直接捉える研究を行った。中枢神経における代表的な興奮性伝達物質であるグルタミン酸に注目し，蛍光グルタミン酸インジケータ(EOS)を用いて，マウスの大脳皮質においてシナプスから放出されるグルタミン酸の動態を可視化する手法を確立した。そして，触覚情報を処理する生理的なシナプス活動によるグルタミン酸動態を可視化し，細胞内カルシウム動態と細胞外グルタミン酸動態の経時変化が類似していることを確認した。さらに，グルタミン酸イメージング法を電気生理学的手法と併用し，大脳皮質の自発活動である Slow Oscillation 時の細胞外グルタミン酸動態を捉えることにも成功した。

（15）エキソサイトーシスのダイナミクスを可視化する酸性環境検出蛍光プローブ

浅沼大祐，高岡洋輔，並木繁行，浦野泰照，長野哲雄，廣瀬謙造
（東京大学大学院　医学系研究科）

エキソサイトーシスは，神経伝達物質やケミカルメディエーター，ホルモンなど生体分子の放出を担う細胞現象であり，神経伝達や免疫応答で中心的な役割を果たしている。これらの現象を理解する上で，各々の分泌小胞がどのような時空間ダイナミクスで放出されるのかを明らかにする必要があるが，従来捉えることは困難であった。そこで，本研究では，エキソサイトーシスの時空間ダイナミクスをリアルタイムに感度良く可視化する新規蛍光プローブの開発を目的とした。我々はその検出原理として，エキソサイトーシスに際して生じる分泌小胞内の特徴的な pH 環境変化に着目した。通常，分泌小胞内は pH 5 程度の酸性環境であるが，放出時に細胞外界とつながり生理的 pH 7.4 へと変化する。我々は，これらの pH 環境変化を選択的に感知する蛍光プローブを開発し，免

疫応答のモデルとしてRBL-2H3細胞に応用を図った。その結果，各々の顆粒を選択的に蛍光標識し，薬剤刺激に応答した顆粒放出の時空間ダイナミクスを蛍光変化として可視化することに成功した。また，神経伝達現象のモデルとして海馬培養神経細胞へと応用を図ったところ，同様に電気刺激に対応したシナプス小胞放出のダイナミクスの可視化に成功した。開発した新規蛍光検出技術は，エキソサイトーシスの時空間ダイナミクスを可視化するツールとして応用可能であることが実証された。

（16）生体組織内の任意の細胞での機能イメージングを可能にする光活性化型 Ca^{2+} センサーの開発

永井健治[1]，松田知己[1]，堀川一樹[2]
（[1]大阪大学　産業科学研究所，[2]徳島大学大学院　ヘルスバイオサイエンス研究部）

個体内の特異的領域の生理機能を可視化する場合，組織特異的遺伝子プロモーターを用いて機能センサータンパク質を観察したい部位に発現させることが要求されるが，現在利用可能な遺伝子プロモーターで発現部位の任意性を保障する事は不可能である。そこで我々は蛍光タンパク質間のFRETを利用したCa^{2+}センサータンパク質TN-XLを基に，そのFRETドナー分子とアクセプター分子をそれぞれ光活性化蛍光タンパク質と無蛍光性色素タンパク質に置換することにより光活性化 Ca^{2+} センサーPA-TNXL を開発した。PA-TNXL を HeLa 細胞に発現させ，405nmのレーザー照射により任意の細胞を蛍光化して，ヒスタミン刺激を与えた時に生じるCa^{2+}濃度の振動を蛍光強度変化として可視化することができた。更に，PA-TNXL を発現させたラット海馬神経細胞のdissociation cultureの任意の細胞を光刺激によって蛍光化し，自発的な神経発火に伴うCa^{2+}濃度変化をイメージングすることに成功した。本センサーは，組織特異的イメージングに有用であると共に，神経細胞のような複雑に入り組んだ細胞集団内での任意の１細胞の Ca^{2+}イメージングを可能にし，発生・神経生物学研究のツールの１つとして研究に貢献することが期待された。

2. 心血管イオンチャネル・トランスポーター研究の新展開：基礎研究と臨床研究の融合

2012 年 11 月 21 日− 11 月 22 日

代表・世話人：南沢　享（東京慈恵会医科大学・細胞生理学講座）
所内対応者：久保義弘（生理研・神経機能素子）

（1）抗不整脈薬の hERG チャネルファシリテーション作用：分子機序と不整脈治療における意義
古谷和春，津元国親，陳　以珊，倉智嘉久（大阪大学大学院医学系研究科　分子・細胞薬理学）

（2）KCNQ1 と KCNE1 の相対発現密度に依存した IKs チャネル活性化キネティクスの変化
中條浩一，久保義弘（生理学研究所・神経機能素子研究部門）

（3）ラット肺静脈心筋に固有な過分極活性型 Cl^-電流の不整脈への関与
岡本洋介[1, 2]，中村優太[2]，尾野恭一[3]
（[1]アメリカ国立衛生研究所老化研究所心血管科学研究室，[2]秋田大学医学部
[3]秋田大学大学院医学系研究科細胞生理学講座）

（4）心筋 L 型 Ca^{2+} チャネルの Ca^{2+}依存性調節機構
赤羽悟美，中瀬古寛子，杉山　篤（東邦大学医学部・大学院医学系研究科薬理学講座）

（5）性ホルモンシグナル局在化による心筋 L 型カルシウムチャネル調節機構
黒川洵子，児玉昌美，五領田小百合，古川哲史
（東京医科歯科大学　難治疾患研究所　生体情報薬理学分野）

（6）Cav1.2 Ca^{2+}チャネルに ATP が直接結合する
封　瑞，徐　建軍，蓑部悦子，亀山亜砂子，はお麗英，亀山正樹
（鹿児島大学・大学院医歯学総合研究科・神経筋生理学）

（7）TRPC6 チャネルを巡る機械刺激受容伝達異常と家族性腎糸球体硬化症
井上隆司，市川　純，中川　緑（福岡大学医学部生理学）

（8）マウス腸間膜細動脈の筋原性収縮および血圧調節における TRPC3 の役割
喜多紗斗美，堀江一郎，岩本隆宏（福岡大学医学部薬理学）

（9）PMCA が媒介する心筋ローカル Ca シグナリングと Na/Ca exchanger
塩谷孝夫（佐賀大学医学部　生体構造機能学講座　器官・細胞生理学分野）

（10）狭心症治療薬ニコランジルの心室筋細胞の Na^+/Ca^{2+}交換体に対する作用
渡邊泰秀[1]，韋　嘉章[2]，竹内和彦[2]，山下寛奈[1]，喜多紗斗美[3]，岩本隆宏[3]，
山川知美[1,2]，渡邉裕司[2]，木村純子[4]
（[1]浜松医科大学医学部健康科学領域医療薬理学部門，[2]臨床薬理学，
[3]福岡大学医学部薬理学，[4]福島県立医科大学医学部薬理学）

（11）拍動培養心筋細胞 HL-1 におけるミトコンドリア Na^+-Ca^{2+}交換輸送体 NCLX の役割
竹内綾子[1]，金　鳳柱[2]，松岡　達[2]
（[1]京都大学医学研究科・細胞機能制御学，
[2]京都大学医学研究科・次世代免疫制御を目指す創薬医学融合拠点）

（12）洞房結節細胞による心筋細胞再生-その意義について
小野景義，木内茂樹
（帝京大学薬学部　薬効解析学研究室）

（13）HCN2 を心臓特異的に発現する遺伝子改変マウス心室筋のイソプロテレノール誘発自動能

大下健輔，井形幸代，栗原佳宏，桑原宏一郎，牛島一男，鷹野　誠
（久留米大学生理学）

（14）Atypically-shaped cardiomyocytes (ACMs)の成体マウス心筋組織内における探索：prion protein および platelet-derived growth factor receptor をマーカーとして

尾松万里子，松浦　博（滋賀医大・生理・細胞機能生理）

（15）代謝特性を利用したヒト多能性幹細胞由来心筋精製法

遠山周吾[1]，服部文幸[1]，佐野元昭[1]，村田光繁[1]，末松　誠[2]，福田恵一[1]
([1]慶應義塾大学医学部循環器内科，[2]医化学教室)

（16）cAMP シグナルによる心臓血管系の制御

石川義弘（横浜市立大学大学院医学研究科・循環制御医学）

（17）Gタンパク質のレドックス恒常性と心筋老化制御

西田基宏（九州大学大学院薬学研究院・創薬育薬産学官連携分野）

（18）心機能悪化で発現誘導される心不全遺伝子治療の開発

白石宏造，池田安宏，宮崎要介，吉村耕一，西野静香，
吉住朋哉，三浦俊郎，松﨑益徳，矢野雅文
（山口大学大学院医学系研究科・器官病態内科学）

（19）SERCA2a の調節蛋白であるフォスフォランバンを標的とする新しい脱リン酸化タンパク protein phosphatase 2Ce の働き

赤池　徹[1, 2]，Yibin Wang[2]
([1]東京慈恵会医科大学細胞生理学講座，
[2]University of California Los Angels, Department of Anesthesiology)

（20）平滑筋細胞における RyR2 及び RyR3 の機能解析

鈴木良明[1]，堀田真吾[1]，加藤大樹[1]，竹本将士[1]，松木克仁[1]，
山村寿男[1]，大矢　進[2]，竹島　浩[3]，今泉祐治[1]
([1]名古屋市立大学大学院薬学研究科・細胞分子薬効解析学分野，
[2]京都薬科大学病態薬科学系・薬理学分野，
[3]京都大学大学院薬学研究科・生体分子認識学分野)

【参加者名】

西田基宏（九州大学・大学院薬学研究院・薬効安全性学分野），岡本洋介（アメリカ国立衛生研究所・国立老化研究所），黒川洵子（東京医科歯科大学・難治疾患研究所），竹内綾子（京都大学大学院・医学研究科），渡邊泰秀（浜松医科大学・医学部看護学科），松岡　達（京都大学・医学研究科），古谷和春（大阪大学・大学院医学系研究科），松浦　博，尾松万里子（滋賀医科大学・生理学講座），遠山周吾（慶應義塾大学・循環器内科），岩本隆宏，喜多紗斗美（福岡大学・医学部・薬理学），鷹野　誠，伊藤政之，大下健輔（久留米大学・医学部生理学講座），行方衣由紀，濱口正悟（東邦大学・薬学部・薬物学教室），小野景義，木内茂樹（帝京大学・薬学部），宮津　基（旭川医科大学・生理学講座），塩谷孝夫（佐賀大学・医学部・生体構造機能学），南沢　享，草刈洋一郎，赤池　徹，志村大輔，大森衣里子（東京慈恵会医科大学・細胞生理学講座），亀山正樹，楊　磊，劉　書源（鹿児島大学・大学院医歯学総合研究科），池田安宏，白石宏造（山口大学大学院・医学系研究科），今泉祐治，山村寿男，鈴木良明，大城隼也，鬼頭宏彰，伊奈山宗典，清田恵子，梅田俊太郎，大羽輝弥，松木克仁（名古屋市立大学・大学院薬学研究科），赤羽悟美（東邦大学・医学部），石川義弘，梅村将就，梶村いちげ（横浜市立大学大学院・医学研究科），井上隆司（福岡大学・医学部），村田光繁（慶應義塾大学・再生医学教室），西本れい（生理研・細胞生理），井本敬二（生理研・

神経シグナル），久保義弘，立山充博，中條浩一，Keceli Batu，山本　泉，北沢和寛，粂慎一郎，藤田将史（生理研・神経機能素子）

【概要】

平成 24 年度 11 月 21 日（水）・22 日（木）の 2 日間，生理学研究所コンファレンスセンター小会議室にて研究会「心血管イオンチャネル・トランスポーター研究の新展開：基礎研究と臨床研究の融合」を昨年度に引き続き開催した。本年度はコアメンバーから 12 題，それ以外から 8 題の合計 20演題が寄せられた。昨年同様に心血管イオンチャネル・トランスポーターの基礎的な研究に加えて，臨床研究やトランスレーショナルリサーチへ展開してゆく研究の発表が行われた。

第一日目は心臓血管系のイオンチャネル・イオントランスポーター蛋白（Ca チャネル，K チャネル，TRP チャネル，Na/Ca 輸送体）を中心に，心血管や腎尿細管での細胞内外のイオン移動の制御機構に関する研究発表が行われた。第二日目は自動能を有する多様な細胞（洞結節細胞，atypically-shaped cardiomyocytes，多能性幹細胞由来心筋細胞など）の特性や心血管系での細胞内シグナル伝達系及び筋小胞体カルシウム調節に関する研究発表が行われた。

ヒトやマウスでの遺伝子異常からの逆トランスレーショナルな研究，従来の薬物においての新たな薬理作用を見出した研究，性ホルモンや硫化水素イオンなどがGタンパク質とのシグナル伝達系のクロストークによる心機能や不整脈制御機構に関する研究，イオンチャネルやトランスポーター機能を制御する新たな因子の役割に関する研究，心臓の分化・再生に関する研究など，多岐にわたった。特に今回の研究発表の中では，コンピューターシミュレーション，バイオインフォマティクス，量子力学的解析方法，メタボローム解析などを用いて，チャネルやシグナル制御機構に迫る研究が数題加わり，新たな研究の方向性を感じさせられた。

当日の研究会には 56 名の参加者があり，昨年同様に今年も若手の参加が多く，本研究会に活気を与えていた。本研究会での発表，議論によって，心臓血管系のイオンチャネル・トランスポーターでの基礎研究が，今後の臨床研究や臨床への応用への進展に役立つことが期待される。本研究会を契機に既にいくつかの共同研究が開始されているが，さらに多くの共同研究の契機となることを期待したい。

（1）抗不整脈薬の hERG チャネルファシリテーション作用：分子機序と不整脈治療における意義

古谷和春，津元国親，陳　以珊，倉智嘉久
（大阪大学大学院医学系研究科　分子・細胞薬理学）

電位依存性 K^+チャネルである hERG チャネルを阻害する薬物は，心室筋細胞の I_{Kr} 電流を抑制し活動電位持続時間を延長することから，心臓機能への抗不整脈作用と薬物性催不整脈作用の両面から関心が持たれている。Amiodarone や nifekalant などの第三群抗不整脈薬は hERG チャネルを阻害することが知られているが，近年，脱分極のコンディショニング後にはその電流を一過的に増強させる作用（ファシリテーション作用）を併せ持つことが分かってきた。我々は薬物の hERG チャネルファシリテーション作用の分子機序として，電位依存的な薬物-チャネル相互作用により，このチャネルの活性化ゲート機能を促進させていることを電気生理学的に実証した。生体内では，心臓の自動能により心筋細胞は繰り返し活動電位を発生する。解析の結果，活動電位様の脱分極は薬物のファシリテーション作用の誘導に十分な刺激であることが分かり，抗不整脈薬のファシリテーション作用は生体内でも起きていると考えられた。そこで次に心筋活動電位シミュレーションを実施し，第三群抗不整脈薬のように，薬物が hERG チャネル阻害作用に加えファシリテーション作用を併せ持つことの意義を調べた。その結果，ファシリテーション作用は活動電位の過度の延長と早期後脱分極を抑える働きを持ち，hERG チャネル阻害薬の投与による催不整脈リスクを軽減する可能性が示唆された。

（2）KCNQ1 と KCNE1 の相対発現密度に依存した IKs チャネル活性化キネティクスの変化

中條浩一，久保義弘（生理学研究所・神経機能素子研究部門）

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 は，心筋において修飾サブユニットである KCNE1 とイオンチャネル複合体を構成し，IKs と呼ばれる遅延整流性カリウム電流を担っている。KCNQ1，KCNE1 ともに QT 延長症候群の原因遺伝子であり，心筋の興奮性の制御に重要な役割を担っていると考えられる。我々は KCNQ1 と KCNE1 のストイキオメトリーが両分子の相対発現密度に依存して変化することを，一分子イメージングを用いたサブユニットカウンティングにより明らかにした(Nakajo et al, PNAS, 2010)。四量体である KCNQ1 チャネルに対し，最大 4 分子の KCNE1 分子が結合し，また KCNE1 の結合数が多いほど，KCNQ1 チャネルは開きにくくなる。今回我々は KCNE1 と KCNQ1 を直鎖上につないだタンデムコンストラクトを作成し，ストイキオメトリーを固定したうえで，相対発現密度が活性化キネティクスに与える影響を解析した。KCNQ1 と KCNE1 の活性化キネティクスは二重指数関数でフィットすることができ，早い方の時定数は約 3 秒，遅い方の時定数は 20 秒程度であった。両分子の相対発現密度を表現する目的で，KCNE1 と KCNQ1 の間をつなぐリンカーの長さを変化させると，リンカーの長さが長くなるほど早い時定数のコンポーネントの割合が小さくなり，全体として活性化のスピードが遅くなることがわかった。リンカーの長さに依存して活性化のキネティクスが変化することは，KCNQ1 と KCNE1 の間で結合解離がダイナミックに起こる可能性を示唆している。

（3）ラット肺静脈心筋に固有な過分極活性型 Cl^- 電流の不整脈への関与

岡本洋介[1, 2]，中村優太[2]，尾野恭一[3]
（[1]アメリカ国立衛生研究所老化研究所心血管科学研究室，[2]秋田大学医学部
[3]秋田大学大学院医学系研究科細胞生理学講座）

最も頻度の高い不整脈である心房細動は，その起源が肺静脈であることが知られている。近年，肺静脈心筋の細胞内カルシウム動態に関する研究が盛んに行われている一方，肺静脈に特徴的に存在するイオンチャネルは知られていない。私たちは単離した肺静脈心筋のパッチクランプによる電気生理学的な実験を繰り返す中で，ラット肺静脈心筋に過分極活性型 Cl^- 電流が存在することを見出した。当初，私たちはこの電流の時間依存性と内向き整流性より If 電流である事を想定したが，この電流は Cs^+ 投与や細胞外陽イオンの置換において電流振幅が変化せず，逆転電位の評価より Cl^- についての透過性が高いことが分かったので Cl^- 電流であると判断した。既知の Cl^- チャネルの中で，過分極活性型，内向き整流性で不活性化のないゆっくりとした時間依存性を示すものは ClC-2 だけであるが，今回観察した Cl^- 電流（I_{Cl}）は，ClC-2 とは違い細胞内 Cl^- 濃度を増加させると電位依存性が過分極側へシフトした。細胞外の酸性化や浸透圧に依存して電流振幅は増大し，この反応も ClC-2 とは異なっていた。また，定量 PCR の結果，肺静脈では ClC-2 の発現量は，腸管や腎臓に比べ有意に少ないことが分かった。これらの事から I_{Cl} は ClC-2 とは異なったイオンチャネルに由来すると判断した。I_{Cl} は 9-AC や DIDS などの Cl^- チャネル阻害剤によって抑制され，これらの薬剤はノルエピネフリンによって誘発される肺静脈心筋の自動能を抑制，または停止した。I_{Cl} は自動能の生成に関与していると考えられた。

（4）心筋 L 型 Ca^{2+} チャネルの Ca^{2+}依存性調節機構

赤羽悟美，中瀬古寛子，杉山　篤（東邦大学医学部・大学院医学系研究科薬理学講座）

電位依存性 L 型 Ca^{2+}チャネル（LTCC）は，心筋の興奮収縮連関において最初のステップ，すなわち Ca^{2+}流入と Ca^{2+}誘発性 Ca^{2+}放出（CICR）機構，の制御に重要な役割を担っている。LTCC は，心筋細胞の接合膜構造において近接するリアノジン受容体（RyR）との間のナノドメインにおける CICR と LTCC の Ca^{2+}依存性不活性化機構を介して筋小胞体 Ca^{2+}貯蔵量を感知し制御している。本研究では，さらにマイクロドメインの Ca^{2+}シグナルを介した LTCC の調節機構を明らかにする目的で，細胞内 Ca^{2+}キレート条件を変えて LTCC 電流とそのβ_1アドレナリン受容体/cAMP 刺激に対する応答を解析した。その結果，心室筋細胞におけるβ_1 アドレナリン受容体/AC5/cAMP を介した LTCC の調節機構は，LTCC を介した Ca^{2+}シグナルによって抑制的に制御されていることを明らかにした。さらに新たな LTCC の Ca^{2+}依存性調節機構の存在が示唆された。これに対し，心房筋細胞では，それらの Ca^{2+}依存性調節機構は観察されず，心室筋とは異なる LTCC 調節機構が作動していると考えられた。

（5）性ホルモンシグナル局在化による心筋 L 型カルシウムチャネル調節機構

黒川洵子，児玉昌美，五領田小百合，古川哲史
（東京医科歯科大学　難治疾患研究所　生体情報薬理学分野）

心電図 QT 間隔は性ホルモンの影響を受け，性周期で QT 間隔が変動する事が知られてきた。プロゲステロン受容体の非ゲノム経路を介し，プロゲステロンが心筋 IKs チャネルを活性化し心筋 L 型 Ca^{2+}チャネルを抑制して QT 間隔が短縮するというメカニズムで説明されてきた。我々は，プロゲステロンによる L 型 Ca^{2+}チャネルの抑制は cAMP 依存性であり，βアドレナリン受容体刺激下の条件で大きな抑制効果が見られることを見出した。次に，性ホルモン受容体非ゲノム経路を介した NO/cGMP 刺激により活性化する PDE2 が，性ホルモン受容体とβアドレナリン受容体のクロストークに関与することを阻害剤実験から示した。クロストークのメカニズムを調べるために，ショ糖密度勾配遠心法によりシグナル分子が存在する膜分画を調べたところ，ラフト分画への局在が観察された。そこで，シグナルクロストークの subcellular 局在を調べるために，ラフトと非ラフトそれぞれの膜成分への親和性が高いタグを付けた cAMP/PKA 感受性 FRET プローブをアデノウイルスにより新生児マウス心室筋細胞に導入し live-cell 蛍光観察実験を行った。全てのプローブにてβアドレナリン受容体刺激により FRET は上昇したが，ラフト選択的プローブではプロゲステロンによる FRET 抑制がより強い傾向にあった。以上の結果は，性ホルモン受容体とβアドレナリン受容体のクロストークには，局在化した cAMP/PKA 活性が関与していることを強く示唆した。

（6）Cav1.2 Ca^{2+}チャネルに ATP が直接結合する

封　瑞，徐　建軍，蓑部悦子，亀山亜砂子，はお麗英，亀山正樹
（鹿児島大学・大学院医歯学総合研究科・神経筋生理学）

Cav1.2 型 Ca^{2+}チャネルの活動は，細胞内ＡＴＰに依存するが，その機序は不明である。Cell-free パッチにおいて，ATP はカルモジュリン（CaM）共存下で Ca^{2+}チャネルの活動を維持するので，チャネルに直接結合すること

が示唆される。そこで，本研究では，ATP の Ca^{2+}チャネルへの結合を光親和性ラベル法で検証した。モルモット単離心筋細胞の inside-out パッチにおいて，ATP のリボースにビオチンを結合させたアナログ（EDA-ATP-Biotin，アナログ１）とγリン酸にビオチンを結合させたアナログ（6AH-ATP-Biotin，アナログ２）それぞれ１mM を１μM CaM と共に作用させたところ，アナログ１にチャネル活性化効果が認められた。そこで，アナログ１のアデニンにアジド基を付加した光親和性アナログを用いてチャネルへの結合実験を行った。アジ化アナログ１は，光照射によりモルモット心筋より分離精製した Ca^{2+}チャネルに結合した。その見かけの解離定数は約 0.5 mM であった。さらに，結合部位を絞り込むため，チャネルのＮ末部とＣ末部（近位 CT1，中位 CT2，遠位 CT3）の断片への結合を調べたところ，ATP はＮ末部とＣ末部 CT1 に結合した。以上の結果は，ATP が Ca^{2+}チャネルに直接結合して活動を調節するという仮説を支持する。

（7）TRPC6 チャネルを巡る機械刺激受容伝達異常と家族性腎糸球体硬化症

井上隆司，市川　純，中川　緑（福岡大学医学部生理学）

腎糸球体スリット膜は内皮細胞，基底膜，足細胞によって形成される一種の限外濾過膜である。巣状分節性糸球体硬化症 (FSGS)は，この膜構造の破綻によって濾過機能が損なわれたために重篤な蛋白尿を呈する病態である。その遺伝的要因としては足細胞に発現する TRPC6 チャネルを含む種々の蛋白質の変異が関係している。これまでヒト TRPC6 に報告された変異として P112Q, M132T, N143S 等があるが, これらの変異体が濾過機能の破綻を導くメカニズムには依然として不明な点が多い。本研究で我々は, TRPC6 チャネルが受容体と機械刺激の協働的機構によって劇的な活性化を受けるという事実に着目し，上記の変異がこのチャネル活性に及ぼす影響を受容体刺激，機械刺激の両面から調べた。

HEK 細胞に強制発現した上記のマウス型 TRPC6 変異体は，野生型に比し数倍高い受容体刺激に対する Ca 応答や電流の活性化を示した。一方，機械刺激応答に関しては 131T 変異体で増強しその他の変異体では減弱していた。次に，これらの変異が N 末端のアンキリン様配列に位置することに注目しアクチン骨格との相互作用について調べた。野生型では受容体・機械刺激時にアクチンとの免疫共沈量の増加が観察され，cytochalasin D 処理によってアクチン骨格を破壊すると TRPC6 チャネルの活性化が著しく損なわれた。変異体においても同様の変化が見られた。以上の結果より，TRPC6 チャネルの受容体・機械刺激協働による活性化には細胞骨格との相互作用が必須であること，FSGS 変異はこれに著しい影響を与えることが示唆された。

（8）マウス腸間膜細動脈の筋原性収縮および血圧調節における TRPC3 の役割

喜多紗斗美，堀江一郎，岩本隆宏（福岡大学医学部薬理学）

脳，心臓，腎臓，腸間膜などの細動脈では，血管内腔圧上昇に伴った筋原性収縮（TM）が発生する。この MT は末梢血管抵抗の調節，基礎トーヌスの形成，血流の自己調節などに重要な役割を担っている。この機序としては電位依存性 L 型 Ca^{2+}チャネルの関与が示唆されているが，血管平滑筋細胞で脱分極が惹起される機序など未だ不明な点も多い。本研究では，マウス灌流腸間膜細動脈（内径約 100 μm）の MT に対する薬物処置や遺伝子導入の影響を検討した。実際に，Nifedipine は MT を濃度依存的に抑制したが, TRPC 阻害薬 SK&F96365 も同様に MT を抑制したことから, TRPC 群の関与が示唆された。そこで，血管平滑筋に豊富に発現する TRPC3 および TRPC6 の野生型（WT）およびドミナントネガティブ変異体（DN）の血管平滑筋特異的トランスジェニック（Tg）

マウスの腸間膜細動脈で MT を調べたところ，TRPC3-DN-Tg の腸間膜細動脈においてのみ MT が消失していた。一方，同標本でのフェニレフリン収縮反応は TRPC3/6 の両 WT-Tg マウスで増強しており，両 DN-Tg マウスで抑制がみられた。これらの結果より，マウス腸間膜細動脈のα_1 アゴニスト収縮には TRPC3/6 の両方が寄与しているが，MT においては TRPC3 が主要な役割を果たしているものと考えられた。

（9）PMCA が媒介する心筋ローカル Ca シグナリングと Na/Ca exchanger

塩谷孝夫（佐賀大学医学部　生体構造機能学講座　器官・細胞生理学分野）

心筋細胞膜には, Ca-ATPase (PMCA)と Na/Ca exchanger (NCX)の二種類の Ca トランスポーターが存在する。マウス心室筋細胞からの RT-PCR では，Ncx1，Pmca1，および Pmca4 の発現を確認した。このうち PMCA は，局所的に[Ca]i を低下させることによって，NCX の活性を抑制的に調節していると考えられる。マウス心室筋細胞からのホウルセル記録実験からは，PMCA を vanadate や carboxyeosin で抑制した条件では NCX 電流の振幅が用量依存的に増大し，それは NCX 電流の[Ca]i 依存性の低濃度側へのシフトを伴うことが示された。いっぽう，[Ca]i を 10 mM-BAPTA で強力に緩衝した条件では，同様な PMCA の抑制は NCX 電流を増強しなかった。Neher(1986) の diffusible chelator 仮定に基づいた局所[Ca]i 分布の数値シミュレーションでは，PMCA から半径 50 nm ほどの範囲に, 実験結果を十分に説明しうる局所[Ca]i 低下が生じることが示された。また，同様な NCX 電流の増強は，非加水分解性 ATP アナログ(AMP-PNP)によっても誘発され，PMCA が心筋細胞のエネルギー状態を局所[Ca]i を介して NCX に伝達するシグナリング機構として作用する可能性が考えられた。

（10）狭心症治療薬ニコランジルの心室筋細胞の Na^+/Ca^{2+}交換体に対する作用

渡邊泰秀[1]，韋　嘉章[2]，竹内和彦[2]，山下寛奈[1]，喜多紗斗美[3]，岩本隆宏[3]，
山川知美[1,2]，渡邉裕司[2]，木村純子[4]
([1]浜松医科大学医学部健康科学領域医療薬理学部門，[2]臨床薬理学，
[3]福岡大学医学部薬理学，[4]福島県立医科大学医学部薬理学)

【目的】狭心症治療薬のニコランジルは，K_{ATP} チャネル開口作用，亜硝酸薬様作用，抗酸化作用をもつとして報告されている。心臓の虚血再灌流障害に対して，ニコランジルは冠動脈拡張作用により心筋保護作用を示す。1990 年に，Lathrop らは，ニコランジルが自発興奮と triggered activity を抑制することによる抗不整脈作用を示した。triggered activity の遅延性後脱分極(DADs)は，心筋細胞内 Ca^{2+}が高くなることによって生じる Na^+/Ca^{2+}交換電流等の一過性内向き電流が関与することが知られている。【方法】我々は, モルモット心室筋細胞の Na^+/Ca^{2+}交換電流に対するニコランジルの作用を，パッチクランプのホールセル-クランプ法を用いて検討した。【結果】ニコランジルは，Na^+/Ca^{2+}交換電流を 1 μM 前後から濃度依存性に大きくし 100μM で最大効果を示した。Na^+/Ca^{2+}交換電流促進作用のニコランジルの EC_{50} 値に対して，外向き component は 8.3μM，内向き component は 6.6 μM であった。さらに，膜透過性 cGMP 誘導体である 8-Br-cGMP を細胞外液に灌流すると，Na^+/Ca^{2+}交換電流に対するニコランジルの促進作用と同様に，濃度依存性に促進した。ニコランジルの Na^+/Ca^{2+}交換電流促進作用に対して，グアニル酸サイクラーゼ阻害薬の ODQ は抑制作用を示した。また，ニコランジルは，ウアバインと 1Hz の電気刺激誘導した DADs を抑制した。【考察】KATP チャネル開口薬であるニコランジルは，活動電位を短縮作用と cGMP 依存性経路を介した Ca^{2+} exit mode の Na^+/Ca^{2+}交換体を促進することで，心室筋細胞内

C a^{2+}濃度を下げ，DADs を抑制する可能性を示した。

（11）拍動培養心筋細胞 HL-1 におけるミトコンドリア Na^+-Ca^{2+}交換輸送体 NCLX の役割

竹内綾子[1]，金　鳳柱[2]，松岡　達[2]
（[1]京都大学医学研究科・細胞機能制御学，
[2]京都大学医学研究科・次世代免疫制御を目指す創薬医学融合拠点）

ミトコンドリアは ATP 合成とともに，Ca^{2+}貯蔵の役割を果たす。ミトコンドリア Ca^{2+}動態は，主に Ca^{2+}ユニポータを介した取り込みと，Na^+-Ca^{2+}交換（NCX_{mit}），H^+-Ca^{2+}交換を介した排出のバランスで決まる。近年，NCX_{mit} の分子実体として NCLX が同定された。本研究では，マウス心房筋由来拍動培養心筋細胞 HL-1 を用いた細胞実験と数理モデル解析により，心筋細胞における NCLX の役割を調べた。

siRNA により NCLX 遺伝子をノックダウンすると，NCLX 発現量ならびに NCX_{mit} 活性が低下することを確認した。NCLX ノックダウン細胞では，1.自発的な Ca^{2+}トランジエント発生間隔の延長，2.活動電位ならびに C a^{2+}トランジエント立ち上がり速度の減少，3.筋小胞体 Ca^{2+}含量ならびに筋小胞体 Ca^{2+}枯渇後の再取り込み速度の減少，が認められた。数理モデル解析から，NCLX は筋小胞体からの自発的な Ca^{2+}リークが自動能を決定するという”Ca^{2+}クロック機序”を修飾することによって，HL-1 細胞の自動能発生を微調節することが示唆された。

（12）洞房結節細胞による心筋細胞再生-その意義について

小野景義，木内茂樹（帝京大学薬学部　薬効解析学研究室）

心筋細胞の再生が iPS 細胞や骨髄幹細胞，心臓内組織幹細胞を利用して行われ，その一部はヒトの重症心不全の治療に実用化されるようになってきた。我々は，洞房結節細胞に心筋を再生する能力があることを見出し，その際の心筋細胞の起源となる候補として，組織幹細胞ではなく心臓線維芽細胞の可能性を追求してきた。洞房結節細胞は，周囲の線維芽細胞を引きつけ，細胞接触による電気的興奮の伝播，線維芽細胞内のカルシウムイオンのオシレーション，ROCK, PI3K, GSK3 系の活性化等を通じて心筋細胞へと分化誘導させることがわかってきた。線維芽細胞への直接遺伝子導入による心筋への分化が報告される一方で，このように心臓内部の環境を利用することにより遺伝子導入によらない心筋細胞再生の可能性があることは，臨床応用の選択肢を広げることとなる。我々は，Cardiac troponin T (cTnT)の発現を指標として心筋細胞の新生過程を調べた結果, cTnT の核移行および細胞質局在の調節，およびプロテアソームでの分解を制御することが心筋細胞への分化に必要であることを見出した。洞房結節細胞により提供される因子が，cTnT を含めた全ての心筋構成要素の発現をどのように制御するのか，「収縮」が可能な状態にまで分化させるには何が必要か，などを明らかにしていくことで，線維芽細胞の転分化を利用した心筋再生への道筋が見えてくると考えられる。

（13）HCN2 を心臓特異的に発現する遺伝子改変マウス心室筋のイソプロテレノール誘発自動能

大下健輔，井形幸代，栗原佳宏，桑原宏一郎，牛島一男，鷹野　誠（久留米大学生理学）

過分極誘発陽イオンチャネル（HCN）は心臓では刺激伝導系にのみ発現している。胎児期には HCN は固有心筋にも発現しているが, 発生過程が進むにつれ消失する。しかし心肥大では再発現するため，不整脈の一因であることが示唆されてきた。そこでαMHC プロモーターにより心筋特異的に HCN2 を過剰発現する遺伝子改変マウス(HCN2-Tg)を作成した。予想に反し，HCN2-Tg では不整脈は発生しなかった。単離心室筋の電気生理学的特性をホールセルパッチ法により記録したところ，活動電位波形は野生型マウス(WT)と有意な差は無かった。しかし 0.3 μM イソプレテレノールを投与により 73%の細胞で自発活動電位が発生した。残りの細胞も静止膜電極が WT と比べて有意に浅くなった。これは HCN2 の活性化曲線が正電位側にシフトし，静止状態でも HCN2 が活性化されたためだと思われた。細胞外液の K 濃度を 3 mM に低下させたところ, HCN2-Tg では静止膜電位(-76.8mV)が WT(-83.7mV)よりも有意に浅く，さらに 57%の細胞で自発活動電位が発生した。これらの所見から，低 K 血症や交感神経系の過剰な緊張状態などでは HCN2 の再発現は不整脈の原因となり得ることが示唆された。

（14）Atypically-shaped cardiomyocytes (ACMs)の成体マウス心筋組織内における探索 : prion protein および platelet-derived growth factor receptor をマーカーとして

尾松万里子，松浦　博（滋賀医大・生理・細胞機能生理）

Atypically-shaped cardiomyocytes (ACMs)は, ランゲンドルフ灌流による成体マウス心室筋細胞単離の最終段階で得られた「心筋細胞を含まない小型細胞分画」の培養中に発見された，枝別れの多い特有の形態を有し，自動的に拍動する細胞である。ACMs の特徴として，新生仔期から老齢にいたるまで心臓に存在すること，atrial natriuretic peptide (ANP)や T 型 Ca^{2+}チャネル（$Ca_V3.2$）などの心筋胎児型遺伝子産物を発現していること，心室筋細胞に比べて虚血耐性が高いこと，オートファジーの恒常的活性化が見られることなどを明らかにした。ACMs の細胞膜の抗原タンパク質を探索したところ，心筋前駆細胞のマーカーとして報告されているプリオンタンパク質（prion protein, Prp）および発生期の未分化細胞のマーカーとして用いられる platelet-derived growth factor receptor α（PDGFR α）を発現していることを見出した。また，心筋組織に Prp 陽性細胞および PDGFR〈陽性細胞の存在を認めたため，これらの細胞の一部が ACMs の起源と推察された。

（15）代謝特性を利用したヒト多能性幹細胞由来心筋精製法

遠山周吾[1]，服部文幸[1]，佐野元昭[1]，村田光繁[1]，末松　誠[2]，福田恵一[1]
([1]慶應義塾大学医学部循環器内科，[2]医化学教室)

末期心不全に対する新たな治療法として再生医療が注目されている。ヒト胚性幹細胞（ES 細胞）及び人工多能性幹細胞（iPS 細胞）は細胞移植治療における魅力的な細胞源であるが，臨床応用を実現させるためには，大量の心筋細胞を得ること，腫瘍形成の原因となる未分化細胞を除去することが必要不可欠である。しかし，これまで遺伝子改変することなく心筋細胞のみを大量に精製する方法は報告されていない。そこで我々は，メタボローム及びトランスクリプトーム解析を用いて心筋細胞と ES 細胞の代謝の違いを明らかにすることで, 心筋細胞の

み生存可能で，未分化細胞や非心筋細胞が生存不可能な代謝環境を実現することに成功した。精製ヒト ES 由来心筋細胞の純度を免疫染色及び FACS を用いて評価したところ 98%以上であった。また腫瘍形成の有無を評価するため，精製ヒト ES 由来心筋細胞（$2{\cdot}10^5$ 細胞）を NOD/SCID マウスの精巣に移植したところ，腫瘍は形成されなかった。本手法は遺伝子改変を用いず FACS 等の複雑な技術も不要であるため，ES/iPS 由来心筋細胞を大量精製するのに適しており，今後細胞移植治療や薬剤スクリーニング等様々な分野への応用が期待できる。

（16）cAMP シグナルによる心臓血管系の制御

石川義弘（横浜市立大学大学院医学研究科・循環制御医学）

cAMP シグナルは心臓血管系を制御する最大の細胞シグナルである。カテコラミン刺激はもとより，プロスタグランジンや各種ホルモンなど，様々な神経液性因子が，cAMP を通じて心臓血管機能を制御している。我々は cAMP シグナルによる，心臓及び血管系の制御の多様性を検討してきた。心筋細胞においては，カテコラミンによる cAMP シグナル調節は，細胞内カルシウム濃度の調節を介して，心筋収縮力を制御する。古典的な強心剤であるβアゴニストは，アデニル酸シクラーゼの活性化を経て，cAMP 濃度を高め，PKA の活性化を介してカルシウム濃度を高める。cAMP は同時に Epac と呼ばれる GEF の活性化を行い，Rap シグナルの調節を介して心筋細胞シグナルを制御する。アデニル酸シクラーゼに各種サブタイプがあるように，Epac にも異なるサブタイプが存在し，各々が独立して新機能制御を行う。このサブタイプの多様性は，同時に心機能制御の多様性を意味し，薬剤開発として，分子標的を提供することになる。また細胞膜表面上の受容体レベルでは，プロスタグランジンの受容体にも多様性があり，特に血管に分布する EP のサブタイプは，それぞれが関連しつつも独立した機能を司る。この点において EP サブタイプを標的とした創薬も可能と考えられている。いずれも細胞内 cAMP を介したシグナルという共通点を持ち，そのパスウエイの意義と実用性に関して，それぞれが機能制御のツールとなりうることを提示していく。

（17）Gタンパク質のレドックス恒常性と心筋老化制御

西田基宏（九州大学大学院薬学研究院・創薬育薬産学官連携分野）

GTP 結合タンパク質（Gタンパク質）は，細胞内の様々なシグナル伝達経路において，GTP と GDP の交換反応を介してシグナルの ON/OFF を司る“分子スィッチ”としての役割を果たしている。Gタンパク質が活性酸素種や一酸化窒素（NO）により機能修飾を受けることは古くから知られていたが，その病態生理学的意義については未だによくわかっていなかった。我々は，NO と細胞内に豊富に存在する GTP との反応により 2 次的に生成される親電子物質（8-nitro-cGMP）が H-Ras の Cys184 残基を特異的に修飾することを見出した。ラットの初代培養心筋細胞において，H-Ras の親電子修飾は p53 活性化依存的に心筋老化を誘導した。心筋梗塞 4 週間後の非梗塞領域の心臓において，8-nitro-cGMP の発現が顕著に増加しており，この増加は誘導型 NO 合成酵素を欠損させることで完全に抑制された。興味深いことに，8-nitro-cGMP や他の親電子物質によって誘発される心筋老化誘導は，硫化水素（H_2S）を前処置することで有意に抑制された。さらに，心筋梗塞で誘発される心機能障害および心臓の形態構造改変（リモデリング）もまた，低用量の NaHS (50 μmol/kg/day)を 4 週間持続投与することにより有意に抑制された。以上の結果は，H_2S が内因性ガス分子としてではなく，求核性の高い HS^- イオンとして親電子シグナリングを抑制することで心筋保護作用を発揮する可能性を示している。

（18）心機能悪化で発現誘導される心不全遺伝子治療の開発

白石宏造，池田安宏，宮崎要介，吉村耕一，西野静香，
吉住朋哉，三浦俊郎，松﨑益徳，矢野雅文
（山口大学大学院医学系研究科・器官病態内科学）

不全心におけるプロテインフォスファターゼ 1(PP1)活性の異常な上昇は，筋小胞体での非効率的なカルシウムハンドリングに関連することが知られており，このことが慢性心不全の予後の悪化を導く。しかしながら PP1 の抑制が臨床治療における心不全の治療戦略として有効かどうかはまだ定かではない。本研究において我々は心不全により誘導される PP1βの抑制により圧負荷モデルマウスの心不全進行を改善しうるかを検証した。

本研究では脳型ナトリウム利尿ペプチドプロモーターによって誘導される PP1β small hairpin RNA(PP1βshRNA)及び Negative contol shRNA(NCshRNA)を心筋親和性の高いアデノ随伴ウイルス（AAV9）を用いてマウス心筋に導入した。ウイルスベクターの導入は 10 週齢の野生型雄マウスに尾静注で行い，導入後 2 週間の時点で圧負荷モデルのための大動脈縮窄術を施行した。術後は心エコー法にて心機能評価を経時的に行い，4 週後に左室カテーテル法により血行動態評価並びに生化学実験を行った。

大動脈縮窄術後 4 週間は進行性の心室の拡張と収縮性の低下が認められたが，PP1βshRNA 導入群では NCshRNA 群に比べて左室駆出率(%FS)と左室リモデリングの有意な改善が認められた(%FS: 21±1% in PP1βshRNA 群 vs. 15±1% in NCshRNA 群, $p<0.01$)。また，心筋における PP1βの発現量は PP1βshRNA 群で 15%の抑制(p value <0.001)を認めた。心筋重量/体重比(HW/BW)及び肺重量/体重比(LW/BW)は何れも PP1βshRNA 群で有意に減少していた(HW/BW: 9.20±0.49 vs. 10.6±0.45 mg/g; $p<0.05$, LW/BW: 9.27±0.99 vs. 13.3±1.29 mg/g; $p<0.05$)。これらの結果から心不全により誘導される PP1βの抑制は心不全治療に有効であると考えられる。

（19）SERCA2a の調節蛋白であるフォスフォランバンを標的とする新しい脱リン酸化タンパク protein phosphatase 2Ce の働き

赤池　徹[1, 2]，Yibin Wang[2]
（[1] 東京慈恵会医科大学細胞生理学講座，
[2] University of California Los Angels, Department of Anesthesiology）

SERCA2a 活性は細胞内カルシウムの恒常性を保つために非常に重要である。SERCA2a は心筋小胞体へカルシウムの取り込みを行い，その活性はフォスフォランバンにより調節されている。これまで，cAMP，CaMKII，PP1 などが SERCA2a 活性の調節因子として報告されてきた。今回我々は近年新たに同定された脱リン酸化蛋白である protein phosphatase 2Ce(PP2Ce)の働きを検討した。免疫組織染色法により PP2Ce は心筋小胞体膜蛋白であることが明らかになった。次に PP2Ce はフォスフォランバンと結合し，2 種類のリン酸化部位(Ser-16，Thr-17)を脱リン酸化した。βアドレナリン受容体刺激下では，PP2Ce はフォスフォランバンの CaMKII によるリン酸化部位(Thr-17)を選択的に脱リン酸化した。また PP2Ce はβアドレナリン受容体刺激による細胞内カルシウム上昇を抑制した。次に PP2Ce 過大発現マウスからの単離心臓において，虚血再灌流障害による心筋収縮力の低下や梗塞範囲が増大した。また PP2Ce 過剰発現培養心筋細胞では酸化ストレスによる細胞死が増悪した。以上より，我々は PP2Ce が心筋小胞体における新たなカルシウム調節蛋白であり，細胞死や心筋収縮に重要な働きを持つことを明らかにした。

（20）平滑筋細胞における RyR2 及び RyR3 の機能解析

鈴木良明[1]，堀田真吾[1]，加藤大樹[1]，竹本将士[1]，松木克仁[1]，
山村寿男[1]，大矢　進[2]，竹島　浩[3]，今泉祐治[1]
([1]名古屋市立大学大学院薬学研究科・細胞分子薬効解析学分野，
[2]京都薬科大学病態薬科学系・薬理学分野，
[3]京都大学大学院薬学研究科・生体分子認識学分野)

平滑筋細胞において，電位依存性 Ca^{2+}チャネル（VDCC）や大コンダクタンス Ca^{2+}活性化 K^{+}（BK）チャネルは，筋小胞体膜上のリアノジン受容体（RyR）と Ca^{2+}動態が厳密に制御された Ca^{2+}マイクロドメインで機能すると考えられる。平滑筋では RyR2 と RyR3 が発現している。RyR2 異型接合型欠損マウス（RyR2+/-）を用いた研究より，RyR2 は活動電位発生時における CICR 機構や静止膜電位の制御に重要な役割を担うと考えられる。RyR3 に関しては，近年ドミナントネガティブ型 RyR3（DN-RyR3）の発現が報告されており，RyR2 とヘテロ 4 量体を組む可能性が示唆されている。本研究では，RyR3 同型接合型欠損マウス(RyR3-/-)を用いて平滑筋における RyR3 の発現・機能解析を行った。血管平滑筋における RyR3 の mRNA 発現量を解析したところ，DN-RyR3 の mRNA は野生型 RyR3 よりも多く発現していた。RyR3-/-由来平滑筋では①caffeine 感受性の増大，②Ca^{2+} spark 及び STOCs の増大，③腸間膜動脈床の灌流圧に対する BK チャネルの寄与の増大などが観察された。以上より血管平滑筋において DN-RyR3 は RyR2 からの Ca^{2+}遊離に対して抑制的に働き，間接的に静止膜電位を制御することで筋張力調節機構に関与している可能性が高いと考えられる。

3. 膜機能分子の機能・構造ゆらぎの時空間スペクトル解析

2012 年 9 月 6 日－9 月 7 日

代表・世話人：老木成稔（福井大学・医学部）

所内対応者：久保義弘（生理研・神経機能素子）

（1）チャネル電流測定と高速 AFM 観察による CFTR チャネル NBD エンジンの機能と構造のゆらぎ

相馬義郎[1]，山下隼人[1]，T.-C. Hwang[2]（[1]慶應義塾大学・医，[2]米国ミズーリ大学・医）

（2）膜電位感受性ナトリウムチャネルにおける C-terminal helical bundle による電位依存的活性化の調節と不活性化速度促進機構

入江克雅，下村拓史，藤吉好則（名古屋大学　細胞生理学研究センター（CeSPI））

（3）四級アンモニウム化合物による四量体型 Na チャネルの阻害メカニズムの解析

下村拓史，入江克雅，藤吉好則（名古屋大学　細胞生理学研究センター（CeSPI））

（4）電位依存性 H^+ チャネルのゲーティングと構造基盤

藤原祐一郎，黒川竜紀，岡村康司（大阪大学大学院　医学研究科統合生理学）

（5）細菌機械受容チャネル MscL の活性化におけるメカノセンサーとゲートの関係

澤田康之[1]，野村　健[2]，曽我部正博[1]

（[1]名大院・医・細胞生物物理学，[2]Victor Chang Cardiac Res Inst, AUS）

（6）電位依存性 K^+ チャネルにおけるイオン透過ダイナミクスの分子動力学的検討

笠原浩太[1]，城田松之[1,2]，木下賢吾[1,2,3]（[1.]東北大学大学院　情報科学研究科，[2.]東北大学　東北メディカルメガバンク機構，[3.]東北大学　加齢医学研究所）

（7）カリウムチャネルの選択透過性とゲーティング

老木成稔，岩本真幸，炭竈享司，清水啓史（福井大学医学部）

（8）電位依存性カリウムチャネル複合体構成のゆらぎによる機能変化

中條浩一，久保義弘（生理研・神経機能素子）

（9）TRPC とＧ蛋白質受容体刺激による PIP2-DAG シグナルの連動性

森　誠之[1]，齊　郷平[1,2]，井上隆司[1]

（[1]福岡大学　医学部　生理学，[2]九州大学大学院　歯学府　全身管理歯科）

（10）細胞膜上で拡散する EGF 受容体の会合体形成およびシグナリングのイメージング

廣島通夫[1,2]，佐甲靖志[2]（[1.]理研 QBiC, [2.]理研 ASI）

（11）分子拡散制限による嗅細胞応答の持続/順応時間や細胞の極性化の説明

竹内裕子，倉橋　隆（大阪大学大学院　生命機能研究科　生理学研究室）

（12）光学顕微鏡を用いた蛋白質の機能と構造変化の検出

政池知子[1]，池上浩司[2]，内藤達也[1]，藤村章子[1]，瀬藤光利[2]，西坂崇之[1]

（[1]学習院大学・理学部物理学科，[2]浜松医科大学・解剖学講座・細胞生物学分野）

（13）レチナールタンパク質の光サイクル初期過程の観測

水野　操，水谷泰久（大阪大学大学院理学研究科）

（14）膜機能分子の全反射赤外分光解析

神取秀樹（名古屋工業大学）

【参加者名】

廣島通夫（理化学研究所・基幹研究所），水谷泰久，中嶋　　亜侑美（大阪大学大学院・理学研究科），相馬義郎，山下

隼人（慶應義塾大学・医学部），倉橋　隆，竹内裕子（大阪大学大学院・生命機能研究科），入江克雅，下村拓史（名古屋大学・細胞生理学研究センター），古谷祐詞，木村哲就，塚本寿夫，藤原郁代，稲熊あすみ（分子科学研究所・生命・錯体分子科学研究領域），曽我部正博，澤田康之，中川優哉（名古屋大学大学院・医学系研究科），神取秀樹，岩城雅代，佐々木純，村松知可子，大野　光，大橋知明，鷲崎　涼（名古屋工業大学・大学院工学研究科），老木成稔，清水啓史，岩本真幸，炭竈享司（福井大学医学部・分子生理），斉藤真司（分子科学研究所・理論・計算分子科学研究領域），岡村康司，藤原祐一郎（大阪大学・医学系研究科），政池知子（学習院大学・理学部），笠原浩太（東北大学大学院・情報科学研究科），森　誠之，齊　郷平（福岡大学・医学部），山口陽平（岡山大学大学院　医歯薬学総合研究科），三尾和弘（産総研），沼田かお理（生理家学研究所・機能協関），小野純一（分子科学研究所・斉藤研），Houg Luo（GSCP 出版），久保義弘，立山充博，中條浩一，Keceli Batu，山本　泉，北沢和寛，粂慎一郎（生理学研究所・神経機能素子）

【概要】

本年度から開始した研究会「膜機能分子の機能・構造ゆらぎの時空間スペクトル解析」では生理学のみならず生物物理学からも若い人材を招き，活発な討論を繰り広げることができた。研究対象はイオンチャネルの分子構造レベルの研究から受容体・細胞膜・細胞レベルの研究までカバーした。また測定法としても結晶構造解析・一分子測定・分光学・シミュレーションなど多彩な結果が発表された。これをもとに生理学の本道である生体機能のダイナミクスという共通項を基盤として深い議論が交わされた。本研究の意図は既存の研究領域のすきまを埋めるような新しい研究領域を生み出す機会とすることを目指したものであり，もうひとつは分子・膜・細胞というさまざまな研究対象に異なる領域で使われている測定法・研究法を適用できる領域を見出すことである。ここで集まったメンバーが他の機会に集まることはまれであると思われるが，それだけに非常に緊張感をもった，相互に実り多い議論が交わされた。今後このメンバーの中から共同研究が育っていくことが期待される。発表・討論時間を比較的たっぷりととったが，それでも討論の時間が不足したと感じるほど，熱心な議論が繰り広げられた。来年に向けてこの議論の輪を広げられるような新しいメンバー，特に若い研究者の参加を要請したい。

（1）チャネル電流測定と高速 AFM 観察による CFTR チャネル NBD エンジンの機能と構造のゆらぎ

相馬義郎[1]，山下隼人[1]，T.-C. Hwang[2]（[1]慶應義塾大学・医，[2]米国ミズーリ大学・医）

ABC トランスポータは，Nucleotide Binding Domain (NBD)を共通して持つ蛋白スーパーファミリーである。NBD は，ATP２分子を挟み込んでの二量体の形成と ATP の加水分解に続発する二量体解離を繰り返すことにより，ABC トランスポータの機能発現のための機械的駆動力を発生している。

今回，高速分子間力顕微鏡（高速 AFM）を用いて，ABC トランスポータ中で唯一のイオンチャネルである CFTR の分子動態の直接観察を試みた。upside-down で脂質２重膜に挿入されていると予想される条件下で野生型 CFTR を高速 AFM 観察すると，１つの粒子内に６つのドメインを観察することができた。今回使用している試料では CFTR が２量体を形成していることから，この６つのドメインは，２組の NBD1，NBD2 および Regulatory domain に相当していると考えられた。本研究会では，高速 AFM 観察された CFTR 分子の動態について，従来の機能解析から得られた知見も踏まえて検討した。

（2）膜電位感受性ナトリウムチャネルにおける C-terminal helical bundle による電位依存的活性化の調節と不活性化速度促進機構

入江克雅，下村拓史，藤吉好則（名古屋大学　細胞生理学研究センター（CeSPI））

膜電位感受性 Na チャネル（Nav）は神経伝達や筋収縮などの生理的に重要な現象において基本的な役割を担っており，その活性化と不活性化は厳密に制御される必要がある。

今回，我々は Sulfitobacter pontiacus 由来の Nav である NavSulP の細胞内 C 末端領域が，チャネルの不活性化速度の促進や活性化の電位依存性を調節することを明らかにした。この分子機構の解明のために，立体構造が安定な NaK チャネルとのキメラチャネルの結晶構造解析を行い，NavSulP の C 末端領域は 4 本の helix からなる 4-helix bundle（4HB）を形成することを明らかにした。4HB のサブユニット間相互作用を担う残基に点変異を導入すると，チャネル四量体が不安定化し，不活性化の速度も低下した。4HB はポアドメインのチャネルゲートを形成する inner helix に連結しており，その inner helix の剛性を増す変異も不活性化速度を低下させたことから，4HB は inner helix の動きを制御することで不活性化を促進すると考えられる。

これらの知見から NavSulP の 4-helix bundle は四量体の安定化に重要な役割を持つだけではなく，チャネルのゲーティングを制御することで，活性化後の過剰なイオン流入や静止状態での不慮のイオン流入を抑える役割を持つと考えられる。

（3）四級アンモニウム化合物による四量体型 Na チャネルの阻害メカニズムの解析

下村拓史，入江克雅，藤吉好則（名古屋大学　細胞生理学研究センター（CeSPI））

哺乳類の電位感受性 Na チャネル（Nav）および Ca チャネル（Cav）は，薬剤（局所麻酔剤や Ca 拮抗剤など）が脂質二重膜内からチャネル内部に直接到達できるような経路を持つ。近年解明された原核生物 Nav（NavBac）の結晶構造において，脂質二重膜とチャネル内腔をつなぐ特徴的な「横窓」構造が明らかになり，これが薬剤到達経路の実体である可能性が示唆された。本研究では「横窓」構造の役割を解明するために，NavBac の薬理学的解析を行った。我々はまず，NavBac が四級アンモニウム化合物（QA）により阻害されることを見出した。変異体の解析により，この QA との親和性を担う残基は「横窓」からチャネル中央内腔への経路上に位置することがわかった。さらに，開状態で結合した QA は不活性化状態への遷移とともにチャネルから解離しやすくなることを見出した。以上の結果は，開状態で QA の受容部位となる「横窓」から内腔に到る領域が，不活性化に伴いその結合が維持できなくなるような構造変化を起こすことを示している。局所麻酔剤や Ca 拮抗剤はチャネルの各遷移状態に対して異なる親和性を持つことが知られており，今回 NavBac で明らかになった構造変化はこうした薬剤親和性変化の構造的基盤であることが示唆される。

（4）電位依存性 H^+チャネルのゲーティングと構造基盤

藤原祐一郎，黒川竜紀，岡村康司（大阪大学大学院　医学研究科統合生理学）

電位依存性 H^+チャネルは電位依存性チャネルの電位センサー領域(S1-S4)に相同性の高い膜タンパク質で，２量体として機能する。２量体化には S4 ドメインの直後に位置する細胞内コイルドコイル領域が寄与している。

これまで，膜貫通領域(S1-S4)の配置や細胞内コイルドコイル領域との関係，及びその機能的意義は明らかにされていない。今回，コイルドコイル領域を１アミノ酸残基ずつ上流及び下流に±10 残基移動させた変異体チャネルのゲーティングキネティクスの変化率を解析したところ，～100°/res. の角周波数にスペクトル密度の極大を呈した。膜貫通領域に Cys を導入し，２量体サブユニット間でのジスルフィド結合による架橋確率を残基ごとに解析した。２量体間で近接する残基の位置が明らかとなり，特に S4 領域ではαヘリックスの周期性を呈し，S4 ヘリックスの片側側面を構成する配置であった。ゲーティングのキネティクスが変化する変異体チャネルでは S4 間の架橋が消失した。以上の解析は，細胞内コイルドコイル領域は膜貫通領域 S4 と一連のαヘリックスを構成しており，２量体間で S4 同士が近接した構造を成すことを示す。そして，S4 同士が近接した膜貫通領域の配置が特徴的なゆっくりとしたゲーティングキネティクスを生み出していることを示唆する。

（5）細菌機械受容チャネル MscL の活性化におけるメカノセンサーとゲートの関係

澤田康之[1]，野村　健[2]，曽我部正博[1]
（[1]名大院・医・細胞生物物理学，[2]Victor Chang Cardiac Res Inst, AUS）

イオンチャネル研究の究極目標の一つはゲーティング機構を原子レベルから理解することにある。膜張力で開口する細菌の機械受容チャネル MscL はこの目標達成に最も近いチャネルである。MscL は分子量 15kDa/136 アミノ酸の膜 2 回貫通型（⟨ヘリックス）サブユニットの環状ホモ 5 量体であり，内側ヘリックス（TM1）がポアを裏打ちし，外側ヘリックス(TM2)が外壁を構成する。TM1 は細胞質端を斜め内側に向けて傾いているために，脂質膜内葉で隣同士が交差して 5 角形のポア最狭部（ゲート）を構成する。交差部は，TM1 の Val16-Leu19-Ala20 と隣接する TM1 の Gly22 の疎水相互作用によりチャネルを閉状態にロックしている。一方，TM2 上でペリプラズム境界近傍に位置する Phe78 は他のアミノ酸に比べて特異的に脂質と安定した強い相互作用を示し，膜張力センサーとして働く。しかし，Phe78 で受容された力がどのようにゲートの開口を導くのかは不明である。今回我々は，張力刺激無しに自発開口する G22N 変異体と張力刺激を与えても開口しない F78N および，その 2 重変異体を作成して，パッチクランプと分子動力学による解析を行った。その結果，2 重変異体が G22N の自発開口を抑制することが分かり，張力センサーとゲートはタイトにカップルし，MscL の開口には Phe78 と脂質膜の相互作用が本質的に重要であると結論した。

（6）電位依存性 K^+チャネルにおけるイオン透過ダイナミクスの分子動力学的検討

笠原浩太[1]，城田松之[1,2]，木下賢吾[1,2,3]（[1.]東北大学大学院　情報科学研究科，
[2.]東北大学　東北メディカルメガバンク機構，[3.]東北大学　加齢医学研究所）

電位依存性 K^+チャネルは膜電位に応答して K^+イオンを選択的に膜内外で輸送するタンパク質であり，そのイオン透過機構を知ることは医学生理学上極めて重要な課題である。イオン透過機構としては，細胞内側からやってきたイオンが selectivity filter へ結合すると同時に，すでに結合しているイオンが細胞外側へと押し出される knock-on 機構や，これらが 2 段階で別々に起こる two-step association/dissociation (A/D)機構などが提唱されている。本研究ではこれらの selectivity filter 内でのイオンのダイナミクスに焦点をあて，分子動力学シミュレーションによる解析を試みた。Kv1.2 チャネルポアドメイン 4 量体，POPE 脂質二重膜をモデルとし，150mM, 300mM, 450mM, 600mM の KCl 溶液中についてそれぞれ 1.0μs, 0.5μs, 1.0μs, 0.5μs のシミュレーションを行った。その結果，低イオン

濃度では A/D 機構が支配的だが，高濃度では knock-on 機構の割合が高くなることが分かった。このように，2 種類のイオン透過機構が混在して起こり，その割合は周辺のイオン濃度依存的に決まるメカニズムが示唆された。

（7）カリウムチャネルの選択透過性とゲーティング

老木成稔，岩本真幸，炭竈享司，清水啓史（福井大学医学部）

イオンチャネルの選択透過性の分子機構について，特にカリウムチャネルについて膨大な研究が今もおこなわれている。10 数年前に KcsA カリウムチャネルの結晶構造が明らかになった時にはこのような基本的な特性はすぐにでも理解できるであろうという楽観論があったが，現状はむしろ混迷を極めている。この問題は電気生理学を含め様々な実験によって得られた結果が錯綜しており，また計算シミュレーションや理論的研究も深くかかわっている。この中で今後の展開を予想するには実験・研究法の問題点など本質に根ざすところまで遡って議論し，現状を冷静に把握する必要がある。K^+や K+以外のイオンは選択性フィルタ内でどのような状態で存在し，透過するのか。そもそも選択性は選択性フィルタだけで起こるものなのか。カリウムチャネルのような高い選択性をもつチャネルの場合，従来の透過係数比やコンダクタンス比に代わって選択性をどのように定義するのか。私達の研究結果を踏まえてイオン選択透過機構について議論したい。

（8）電位依存性カリウムチャネル複合体構成のゆらぎによる機能変化

中條浩一，久保義弘（生理研・神経機能素子）

電位依存性カリウムチャネルの一種である KCNQ1 チャネルは，不整脈の一種 QT 延長症候群の原因遺伝子であることからも明らかなように，心筋の興奮性に重要な役割を果たしている。心筋では KCNE1(MinK)と呼ばれる一回膜貫通型のタンパク質と複合体を構成し，IKs と呼ばれる非常にゆっくりとした活性化のキネティクスを持つ電流を担っている。この KCNQ1-KCNE1 複合体のストイキオメトリーに関しては，KCNE1(MinK)がクローニングされて以来，長く議論されてきたが，近年我々が行った単分子レベルの GFP イメージングにより，4 分子の KCNQ1(四量体なのでひとつのイオンチャネルに相当）に対し，1〜4 分子の KCNE1 が結合すること，また結合する KCNE1 の数は KCNQ1 と KCNE1 の相対発現密度に依存することが明らかになった(Nakajo et al. PNAS, 2010)。すなわち，従来考えられていたような固定されたストイキオメトリーではなく，状況依存的に複合体構成がゆらぐことが示唆された。さらに我々は KCNE1 と KCNQ1 のタンデムコンストラクトを作成し，ストイキオメトリーの構成が異なると電位依存性が変化することを示した。また相対的な発現密度の違いを表現する目的で，タンデムコンストラクト間のリンカーの長さを 18〜300 アミノ酸の長さまで変化させたところ，リンカーの長さに依存して活性化のキネティクスが変化することを見出した。このことは細胞膜上で KCNQ1 と KCNE1 の間にダイナミックな結合解離が起こっていることを示唆している。

（9）TRPC とG蛋白質受容体刺激による PIP_2-DAG シグナルの連動性

森　誠之[1]，齊　郷平[1,2]，井上隆司[1]
（[1]福岡大学　医学部　生理学，[2]九州大学大学院　歯学府　全身管理歯科）

最近，我々は PIP_2-PLC-DAG シグナルにより TRPC3/C6/C7 チャネルが自律的に制御されることを見出した。そこで今回，TRPC 電流と PIP2 動態をそれぞれパッチクランプ法と FRET 測定によって同時記録し，チャネル活性と PIP_2 の関連性について，精査する実験を行った。その結果，TRPC6/C7 に対する PIP_2 親和性(Kd)はそれぞれ 2μM と 12μM であり，生理的 PIP_2 の変動により，チャネル活性が影響を受けるに十分な範囲の中にあることが示された。また，PLC 共役型 G 蛋白質受容体を刺激することで，チャネルキネティクスと PIP_2 減衰速度に正の相関があることを明らかにした。更にこれらの結果をもとに PImetabolism-TRPC チャネルのモデル解析を行うことで，TRPC7 における PIP_2 制御の重要性を再確認することができた。一方，TRPC6 チャネルでは，細胞内カルシウムバッファリングを変化させると，キネティクスに大きな変化が見られ，それはカルシウム結合分子 Calmodulin の結合部位に変異を導入したチャネルにおいても明らかであった。これらの結果から，TRPC7 は PIP_2-DAG 自律的モデルで説明が可能であるが，TRPC6 制御についてはカルシウムシグナルを加味する必要性が再確認できた。

（10）細胞膜上で拡散する EGF 受容体の会合体形成およびシグナリングのイメージング

廣島通夫[1,2]，佐甲靖志[2]（[1].理研 QBiC, [2].理研 ASI）

上皮成長因子（EGF）をリガンドとする受容体（EGF Receptor, EGFR）は，細胞膜上での並進拡散運動によって EGFR 分子間で相互作用を行う。形成された二量体にリガンドが結合していると，受容体は互いにリン酸化して活性化し，細胞内分子にシグナルを伝達する。本研究は EGFR 動態の解析を通じて，シグナル伝達に関わる分子反応の時間・空間的な調節機構を解明することを目的としている。

細胞膜上で EGFR-EGFP の 1 分子蛍光イメージングを行い，輝点の拡散軌跡および蛍光強度の時系列データから，それぞれ EGFR の運動状態と会合状態の推定を試みた。全ての輝点情報をまとめて統計処理する従来手法ではなく，隠れマルコフモデルを適用した解析手法により，データが持つ時間・空間情報を犠牲にすることなく状態推定が可能となった。

得られた結果から，運動と会合状態の遷移が短時間で生ずること，各状態の空間分布に特徴があることが明らかとなった。また，速さの異なる拡散の 3 状態と，4 量体までの主要な会合状態の遷移を相図として記述することで，リガンド刺激後に会合体形成が促進され，その後遅い状態に平衡が移動することが示唆されている。EGFR のこの状態は，下流シグナル分子 Grb2 と長い時間の相互作用を行うことが 2 色 1 分子イメージングにより示されており，シグナル伝達における分子反応の場である可能性がある。

（11）分子拡散制限による嗅細胞応答の持続/順応時間や細胞の極性化の説明

竹内裕子，倉橋　隆（大阪大学大学院　生命機能研究科　生理学研究室）

嗅覚は嗅細胞繊毛で始まる。直径 100 nm の嗅繊毛はシグナル情報伝達の場であり，嗅覚情報伝達カスケード

に必要な蛋白質（嗅覚受容蛋白質・アデニル酸シクラーゼ・G 蛋白質）・チャネル（CNG・$Cl_{(Ca)}$チャネル）が細胞膜に高密度に発現し，応答電流を発生させるが，その形態の微細さゆえに取り扱いが困難でまだ疑問点も多い。例えば，神経線維内での Ca^{2+} 拡散係数は 600 $\mu m^2/s$ であることが知られているが，その拡散係数では繊毛の長さ 10 μm を 1 秒もかからずに移動することになる。しかし，実際には嗅細胞における Ca 依存性 adaptation が 10 秒程度引き続くことから，一般的な生体分子の挙動と矛盾する点が生じており，嗅覚情報伝達カスケードのセカンドメッセンジャーである cAMP や Ca^{2+} の繊毛内時空間的濃度分布や分子拡散についての詳細は不明である。本研究では繊毛内 cAMP/Ca^{2+}の実時間動向を知るために patch clamp 法による CNG・$Cl_{(Ca)}$電流解析・caged 物質の光解離・Fluo4 での蛍光可視化を単離嗅細胞に同時併用し，物質の繊毛内での移動が遅く，空間的にも限られていることを明らかにした。更に分子のランダムウォークを模す計算機シミュレーションで検証したところ，この拡散制限は繊毛が持つ高表面/体積比，および，膜に高密度に発現している細胞内因子結合物質への結合強度に起因する可能性を示唆した。

（12）光学顕微鏡を用いた蛋白質の機能と構造変化の検出

政池知子 [1]，池上浩司 [2]，内藤達也 [1]，藤村章子 [1]，瀬藤光利 [2]，西坂崇之 [1]
（[1] 学習院大学・理学部物理学科，[2] 浜松医科大学・解剖学講座・細胞生物学分野）

生物学的階層の異なるレベルにある構成要素を可視化し，動きと機能の関係を明らかにすることが我々の研究の目標である。本発表では構造変化を 1 個のレベルで検出した例を幾つか紹介し，それらの実験系を膜蛋白質に応用する可能性について参加者と議論したい。

蛋白質レベルについては，FoF_1-ATP 合成酵素の可溶性部分 F_1-ATPase をモデルとした。この酵素の ATPase 活性は中心軸γの回転により大幅に加速されることが知られている。そのメカニズムを明らかにするため，中心軸γと周りを取り囲む触媒サブユニットβの関係に着目した。γを強制的に回転させβの構造変化測定を行った結果，βの構造変化は，γの向き，回転方向，ヌクレオチド結合状態に依存する事が示唆された。更に，γを高さ方向に引き抜く破断力測定により，βとγの相互作用を調べる実験系を構築した。

次にオルガネラのレベルについては，マウスの気管から単離した繊毛の動きを３次元で測定した。鞭打ち運動の軌跡を球殻近似し，振幅，速度，回転，高さについて有効打と回復打を比較することで，運動の非対称性を定量化した。これにより，繊毛による異物排出機構に迫った。

（13）レチナールタンパク質の光サイクル初期過程の観測

水野　操，水谷泰久（大阪大学大学院理学研究科）

タンパク質のダイナミクスの特徴は，サブピコ秒から秒まで幅広い時間帯に及んでいるという点である。また，空間スケールにおいても，サブオングストロームから数十オングストロームの幅広い領域に振幅をもつ運動がみられる。さらに興味深い点は，このように幅広い時空間スケールのダイナミクスが互いに連動している点にある。この連動性は，アロステリック効果にみられるように機能発現の鍵になっている。

タンパク質の機能と動的性質との関係を理解するためには，幅広い時間帯にわたりダイナミクスを観測することが重要である。われわれは時間分解共鳴ラマン分光法を使ってタンパク質ダイナミクスの観測を行っている。この手法は，高い時間分解能で，タンパク質の部位特異的な構造情報を与えるという点で，他にはない優れた特

徴をもつ。われわれは，観測のフロンティアを早い時間帯に押し広げたい，そして，変化の初期過程から，機能発現に直接かかわるマイクロ秒・ミリ秒の過程に至るダイナミクスの全過程を観てみたいという欲求から，ピコ秒の時間分解能をもった共鳴ラマン分光装置の開発に取り組んできた。その結果，安定で高感度な分光装置を製作するに至り，これらを用いた研究から，タンパク質ダイナミクスに関する新しい知見が得られつつある。本講演では，時間分解紫外共鳴ラマン分光法を用いたレチナールタンパク質の光サイクル初期過程に関する最近の研究成果を紹介する。

（14）膜機能分子の全反射赤外分光解析

神取秀樹（名古屋工業大学）

振動分光法は一般に構造生物学のための解析ツールとして認識されていないが，光受容蛋白質の機能発現のための構造変化をモニターする解析ツールとして高い可能性をもつことを，我々はロドプシンの光誘起赤外差スペクトル分光法により示してきた。３年前の本会では，赤外差スペクトル分光法を光に応答しない膜機能分子の測定に対して拡張するための取り組みを紹介した。具体的には，チャネルやポンプなどイオン結合性の膜蛋白質に対して，エバネッセント波を利用して溶液中で計測が可能な全反射赤外分光法（Attenuated Total Reflection FTIR spectroscopy）を適用し，２種類のイオンを交換した際の差スペクトルを測定することで，結合部位の詳細な構造情報を抽出しようとするものである。現在は，ナトリウム，カリウム，プロトンなどの陽イオンチャネル，クロライドチャネル，水チャネルなどの種々のチャネル蛋白質，陽イオンや陰イオン，有機物を輸送するポンプ蛋白質，クロライド結合部位をもった視覚受容体などを対象として研究を進めている。講演では最近の結果（ほとんどが未発表）を紹介し，膜機能分子の構造機能相関研究ツールとしての赤外分光法の可能性を議論したい。

4. シナプス可塑性の動作原理 ～分子から行動まで～

2012 年 6 月 14 日－6 月 15 日

代表・世話人：松尾直毅（京都大学　白眉センター）
所内対応者：深田正紀（生体膜研究部門）

（1）大脳皮質における感覚シナプス入力の可視化

喜多村和郎（東京大学　医学系研究科　神経生理学）

（2）神経細胞の個性をもたらす分子メカニズムと複雑ネットワーク

八木　健（大阪大学　生命機能研究科）

（3）大脳基底核ネットワークを形態学的に解析する

藤山文乃（同志社大学　脳科学研究科　神経回路形態部門）

（4）AMPA 受容体のエンドサイトーシス制御機構

松田信爾（慶應義塾大学　医学部　生理学）

（5）GluRδ2-Cbln1-Neurexin 三者複合体によるシナプス形成の制御機構

植村　健（東京大学　医学系研究科　分子神経生物学）

（6）抑制性シナプス形成を選択的に誘導する接着分子 Slitrk3

高橋秀人（Department of Psychiatry, The University of British Columbia）

（7）エピジェネティクス的な神経系遺伝子発現制御：電位依存性 Ca^{2+} チャネル β サブユニットの新たな役割

清中茂樹（京都大学　工学研究科）

（8）学習・記憶におけるシナプス可塑性の分子メカニズムーAMPA 型グルタミン酸レセプターによる神経機能の制御－

高宮考悟（宮崎大学　医学部　統合生理）

（9）シナプス内シグナル分子の活性化観察と操作

村越秀治（生理学研究所　脳機能計測・支援センター）

（10）Arc と不活性型 CaMKIIβ の動的相互作用によるシナプス局在化とグルタミン酸受容体の制御

奥野浩行（東京大学　医学系研究科　神経生化学）

【参加者名】

深田正紀（生理学研究所），深田優子（生理学研究所），横井紀彦（生理学研究所），大川都史香（生理学研究所），髙橋直樹（生理学研究所），奥慎一郎（生理学研究所），村上達郎（生理学研究所），関谷敦志（生理学研究所），上田（石原）奈津実（名古屋大学），今井　猛（理化学研究所），植村　健（東京大学），榎本和生（大阪バイオサイエンス研究所），大塚稔久（山梨大学），奥野浩行（東京大学），狩野方伸（東京大学），喜多村和郎（東京大学），木下　専（名古屋大学），清中茂樹（京都大学），黒田啓介（名古屋大学），澤田明宏（名古屋大学），澤村晴志朗（京都大学），高橋秀人（Department of Psychiatry, The University of British Columbia），高宮考悟（宮崎大学），富樫和也（大阪バイオサイエンス研究所），中尾章人（京都大学），永田浩一（愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所），中牟田信一（名古屋大学），鳴島　円（東京女子医科大学），服部光治（名古屋市立大学），尾藤晴彦（東京大学），平野　満（京都大学），藤山文乃（同志社大学），松尾直毅（京都大学白眉センター），松田信爾（慶應義塾大学），真鍋俊也（東京大学），村越秀治（生理学研究所），森　泰生（京都大学），八木　健（大阪大学），横山まりえ（京都大学），吉井隆浩（京都大学），若杉有紀（名古屋大学），多田敬典（横浜市立大学），田淵克彦（生理学研究所），和気弘明（基礎生物学研究所），高橋　葵（横浜市立大学），実木　亨（横浜市立大学），古賀恒行（滋

賀医科大学），正水芳人（基礎生物学研究所），西尾奈々（生理学研究所），吉村由美子（生理学研究所），田中康代（基礎生物学研究所），田中康裕（基礎生物学研究所），橘　吉寿（生理学研究所），戸田知得（生理学研究所），中畑義久（生理学研究所），山肩葉子（生理学研究所），鍋倉淳一（生理学研究所）

【概要】

記憶学習，情動などの高次脳機能は複雑精緻な神経ネットワークのシグナル伝達によって厳密に制御されていると考えられている。その基本ユニットは神経細胞同士のつなぎ目であるシナプスであり，そこで機能する分子の同定や機能解析，構造，動作原理などが精力的に研究されてきた。しかし高次脳機能の仕組みを理解するにはシナプスレベルでの理解だけでは不十分であり，細胞，回路，行動レベルでの解析と結びつけた研究が必要であると考えられる。そこで，各脳階層において様々な実験手技・システム・動物種を用いる研究者が一堂に集まり，十分に時間をかけて議論することはシナプスの動作原理を解明する上で必要不可欠であり，極めて意義深いものとなる。本研究会では，シナプス可塑性とその周辺領域に関わりを持つ広い分野及び世代の研究者を集め，最新の研究成果を発表して頂くとともに，活発な議論と情報交換を行うことで，今後のシナプス可塑性及び関連分野の新展開を開拓できればと考えている。

（1）大脳皮質における感覚シナプス入力の可視化

喜多村和郎（東京大学　医学系研究科　神経生理学）

個々のニューロンは脳内で数千のシナプス入力を統合し，活動電位として出力を行なっている。この単一ニューロンにおけるシナプス統合メカニズムは，神経科学の中心的課題の一つである。この問題を明らかにするためには，脳内において感覚情報がどのような時空間分布で入力しているかを直接可視化する必要がある。我々は，in vivo ホールセル記録と２光子カルシウムイメージングを組み合わせて，個々のシナプス入力を可視化する方法を開発し，マウスバレル野の第⅔層錐体細胞において，ひげ刺激によるシナプス入力がどのような時空間分布を示すかを解析している。自発活動およびひげ刺激による誘発活動によるシナプス入力は非常にスパースで，このことはバレル野第４層および第⅔層ニューロンの低頻度発火と一致していた。さらに，個々のシナプス入力は，樹状突起上で時空間的に不均一な入力分布を示し，大多数の感覚入力はごく限られたスパインに入力していることが明らかとなった。この結果は，機能的に結合しているか共通入力を受けるニューロン集団が，後シナプスニューロンの樹状突起上で近くに結合しているということを示している。このような，近傍のシナプスにおける同時入力は，効率的な感覚情報の統合に寄与していると考えられる。

（2）神経細胞の個性をもたらす分子メカニズムと複雑ネットワーク

八木　健（大阪大学　生命機能研究科）

神経細胞の集団的活動（セル・アセンブリ）の基盤には，神経細胞間でランダムにみえながら特異的結合をもつ複雑ネットワークの存在が示唆されている。クラスター型プロトカドヘリン（cPcdh）分子群は，我々が単離・同定した多様化した標的認識分子（カドヘリン）群であり，ゲノム染色体上で遺伝子クラスターを構成している。この遺伝子クラスターにある 58 種類の遺伝子は，個々の神経細胞においてランダムな組み合わせ発現をしており，神経細胞の個性化への関与が示唆されている。また，遺伝子欠損マウスの解析により，神経細胞の生存，シナプ

ス形成，神経回路形成に関与することが明らかとなっている。しかし，cPcdh 分子群のランダムな組み合わせ発現による神経細胞の個性化と神経回路形成の意義については未だ明らかにされていない。一方，神経回路形成因子を個々の神経細胞でランダムに組み合わせ発現させ，形成させた理論的ネットワークでは，高い集団性と短距離性を兼ね備えた複雑ネットワークとなることが明らかになっている。そこで私たちは，個々の神経細胞においてランダムな組み合わせ発現をしている cPcdh 分子群が，神経細胞の個性をもたらす分子メカニズムに関与していることに注目して，このメカニズムを操作したマウスを作製することにより，個々の神経細胞がつくる特異的な神経回路形成メカニズムを理解し，脳の発生プログラムにより生じる複雑ネットワークの形成メカニズムを明らかにして行きたいと考えている。この様なアプローチにより，神経細胞の集団的活動をもたらす神経回路形成の原理，機能的セル・アセンブリをもたらす基盤が明らかになると考えている。本研究会では，cPcdh 分子群を用いたアプローチを紹介し，意見・議論をいただけばと期待している。

（3）大脳基底核ネットワークを形態学的に解析する

藤山文乃（同志社大学　脳科学研究科　神経回路形態部門）

パーキンソン病やハンチントン病の病態の理解は，大脳基底核ネットワークを直接路・間接路のバランスとして捉えることで大きく進歩してきた。また，大脳基底核は随意運動の調節のみならず強化学習や報酬系などの高次機能にも深く関わっているということが報告されてきているものの，運動と学習，この両者を同時に実現するための神経回路は未だ見えていない。私たちは従来知られている大脳基底核スキームの中で見落とされているものを捜している道中であり，その一つの候補としてまず線条体の生化学的なコンパートメント構造を考え，このストリオソーム・マトリックス領域各々に関して入出力様式を明らかにした。またその解析の過程で，従来の直接路・間接路スキームの矛盾点を見いだし，大脳基底核経路には各々の核の違う領域を経由する二つのネットワークがあるのではないかという着想に至った。具体的には，大脳皮質・基底核・視床ループ（大ループ）の他に，共振が観察されている淡蒼球・視床下核を中心としたループ（小ループ）が存在する可能性を考え，その検証のための研究を始めたところである。また，レイヤーもカラム構造もない線条体の局所回路を探るための試みも始めている。本セミナーで先生がたのご意見を仰ぎ，今後の研究の糧にしたい。

（4）AMPA 受容体のエンドサイトーシス制御機構

松田信爾（慶應義塾大学　医学部　生理学）

シナプス可塑性の 1 つである長期抑圧（LTD）は，AMPA 型グルタミン酸受容体（AMPA 受容体）がクラスリン依存的にエンドサイトーシスによって細胞内へ取り込まれることによって引き起こされることが明らかになりつつあるが，その分子機構については不明な点が多い。例えば，LTD 誘導刺激を受けた後，どのようにしてシナプス後部にクラスリンがリクルートされてくるか，形成されたクラスリン被覆小孔に AMPA 受容体がどの様な機構で取り込まれるのか，そして細胞内へ取り込まれた AMPA 受容体はその後どうなるのか，については全く分かっていなかった。我々は，海馬の神経細胞において，ホスファチヂルイノシトール 2 リン酸（PIP2）を合成する PIP5K γ という酵素が LTD 誘導刺激（NMDA 刺激）によって活性化されることで，シナプス後部において PIP2 が合成され，そこに AP-2 が引き寄せられることでクラスリンをリクルートすることを明らかにした。さらに，AP-2 には AMPA 受容体―TARP（Transmembraen AMPA receptor Regulatory Protein）複合体が，TARP のリ

ン酸化状態に依存して結合すること，また脱リン酸化状態の TARP はリソソームへの輸送を司る AP-3 にも結合することを明らかにした。このことは AMPA 受容体が TARP を介した AP-Complex への結合によりクラスリン被覆小孔に取り込まれること，さらにはリソソームへと輸送され分解されることを示唆している。つまり，神経細胞が LTD 誘導刺激を受けると，TARP が AP-2 と結合することにより AMPA 受容体のクラスリン媒介エンドサイトーシスが起こり，その後，TARP が AP-3 と結合することでリソソームへ送られることで AMPA 受容体はリサイクルされることなく分解され，長期にわたって細胞表面の AMPA 受容体量が減少して LTD が成立するということが明らかになってきた。

（5）GluRδ2-Cbln1-Neurexin 三者複合体によるシナプス形成の制御機構

植村　健（東京大学　医学系研究科　分子神経生物学）

シナプス形成とその再編は発達期における脳神経回路網の構築のみならず，記憶・学習といった脳高次機能の発現に重要な役割を果たしているにもかかわらず，脳のシナプス形成の分子基盤については不明な点が多い。小脳プルキンエ細胞特異的に発現しているグルタミン酸受容体(GluR)δ2 は平行線維-小脳プルキニエ細胞間のシナプス形成に重要な役割を担うことが知られていたが，そのメカニズムは長年不明であった。GluRδ2 の N-terminal domain(NTD)を磁気ビーズに結合させ小脳の顆粒細胞と共培養すると，シナプス前部の分化を誘導することから GluRδ2 は NTD を介して前シナプスの接着分子と結合することでシナプス形成を制御していることが示唆された。この共培養系を利用したシナプス形成を担う接着分子の新たなスクリーニング法を開発した。このスクリーニング法により GluRδ2 と相互社用する接着分子の同定に成功し，シナプス後部の GluRδ2 が分泌蛋白質 Cbln1 を介してシナプス前部の neurexin(NRXN)と結合することによりシナプス形成を引き起こすことを明らかにした。また，NRXN には多くのスプライスバリアントが存在し，特に splice segment 4 (S4)の有無によりシナプス後部の細胞接着分子との結合が調整されていることが知られているが，Cbln1 は S4 を有する NRXN とのみ特異的に結合することが明らかになった。この三者複合体によるシナプス形成の制御機構を明らかにするために複合体の化学量論的解析を行った。HEK293T 細胞に発現させた GluRδ2 を Native-PAGE にて解析した結果，GluRδ2 は４量体を形成していることが示唆された。また，Cbln1 との結合部位である GluRδ2 の NTD はそれ自身で２量体を形成していることを見出した。GluRδ2-NTD-Cbln1 複合体および Cbln1- NRXN1β複合体の化学量論的解析をゲルろ過クロマトグラフィーおよび等温滴定型熱量測定にて解析した結果，GluRδ2-NTD と Cbln1 は 1:1 の化学量論比の複合体を，Cbln1 と NRXN1βは 1:2 の化学量論比の複合体を形成することが明らかになった。培養小脳顆粒細胞に抗体を用いて４量体化した GluRδ2-NTD を添加するとアクティブゾーン蛋白質 Bassoon の集積が促進されたが，２量体の GluRδ2-NTD ではこの効果は認められなかった。これらの結果から，GluRδ2，Cbln1，NRXN1β は 1:2:4 の化学量論比の複合体を形成し，GluRδ2 は Cbln1 を介して NRXN を４量体化することによりシナプス前部の分化誘導を引き起こすことが示唆された。

（6）抑制性シナプス形成を選択的に誘導する接着分子 Slitrk3

高橋秀人（Department of Psychiatry, The University of British Columbia）

興奮性シナプスと抑制性シナプスの両者が適切かつバランス良く発達することは，正常な神経回路機能において重要であり，このバランスの破綻は自閉症など様々な精神・神経疾患の原因に関係すると考えられている。興

奮性シナプス形成を担う多くの接着分子が同定されている一方，抑制性シナプス形成に関わる接着分子については不明な点が多い。我々は，遺伝子導入した線維芽細胞と海馬神経細胞を共培養する系を用いてシナプス形成を単独で誘導する接着分子（シナプスオーガナイザー）を探索している過程で，Slitrk ファミリー（Slitrk1-6）がシナプス前部の形成を誘導すること，さらに，Slitrk3 のシナプス形成能が抑制性シナプスに選択的であることを発見した。また，結合蛋白スクリーニングによって，受容体型チロシン脱リン酸化酵素 PTPδが Slitrk3 の機能的シナプス前部受容体として機能することも分かった。細胞レベルならびに個体レベルでの遺伝子機能阻害実験から，Slitrk3-PTPδトランス結合体は，抑制性シナプス特異的な synaptic organizing complex として機能することが明らかとなった。Slitrk や PTPδを含むシナプスオーガナイザーの遺伝子の多くが精神・神経疾患と強く関連していることから，シナプスオーガナイザーの機能不全がこれらの疾患に共通の病態生理として関わっていると推測される。

（7）エピジェネティクス的な神経系遺伝子発現制御：電位依存性 Ca^{2+}チャネルβサブユニットの新たな役割

清中茂樹（京都大学　工学研究科）

電位依存性 Ca^{2+}チャネルは，膜電位の脱分極により活性化して高選択的に Ca^{2+}を細胞外から細胞内に流入させる。神経系において，電位依存性 Ca^{2+}チャネルを介した Ca^{2+}流入は，プレシナプスにおける開口放出に必須であるが，その Ca^{2+}流入は遺伝子発現制御にも関わる。電位依存性 Ca^{2+}チャネルは，チャネルポアおよび電位センサーを有するα_1 主サブユニットとβ，$\alpha_2\delta$，γ 副サブユニットから形成される。我々のグループは，β副サブユニットが電位依存性 Ca^{2+}チャネルの形質膜輸送に必須であることを示した [1), 2)]。また，酵母ツーハイブリッド法を用いたβサブユニット相互作用タンパク質の網羅的な探索により，複数のβサブユニット相互作用タンパク質を同定した。これまでに，RIM1 をはじめとした複数のプレシナプスタンパクがβサブユニットと相互作用し，チャネル機能を修飾していることを明らかにしてきた [3), 4)]。これらの結果は，βサブユニットがプレシナプスにおける電位依存性 Ca^{2+}チャネルの足場として機能することを示唆する。今回，我々は，βサブユニット相互作用タンパク質をさらに詳細に解析した。その結果，プロテインホスファターゼ 2A (PP2A)副サブユニットである B56δが，β_4 サブユニットの核移行に関わることを見出した。興味深いことに，B56δとβ_4 サブユニットの相互作用およびβ_4 サブユニットの核移行は神経活動依存的に起こった。また，核内のβ_4 サブユニット複合体は，PP2A によるヒストン H3 の脱リン酸化を引き起こした。β_4 サブユニット変異マウス（*lethargic* マウス）は，運動失調や癲癇を起こすことが知られるが，小脳における mRNA 量を網羅的に解析した結果，*lethargic* マウスにおいてはチロシンヒドロキシラーゼ(TH)の発現が増加していた。また，クロマチン免疫沈降実験から，β_4 サブユニット複合体が TH 遺伝子プロモーター領域に結合することを見出した。すなわち，核内のβ_4 サブユニット複合体は，PP2A によるヒストン H3 の脱リン酸化を引き起こし，TH 遺伝子の転写を抑制すると考えられる。以上の結果から，神経活動依存的な電位依存性 Ca^{2+}チャネルの活性化は，Ca^{2+}依存的な転写制御だけでなく，β_4 サブユニット複合体形成を介したエピジェネティクス的な転写制御を引き起こすことが示唆された。

1) Mori Y. *et al., Nature*, **350**, 398(1991).
2) Bichet D. *et al., Neuron*, **25**, 177(2000).
3) Kiyonaka Y. *et al.*, *Nature Neurosci.*, **10**, 691(2007).
4) Uriu Y. *et al*., *J. Biol. Chem.*, **285**, 21750 (2010).

（8）学習・記憶におけるシナプス可塑性の分子メカニズム
−AMPA 型グルタミン酸レセプターによる神経機能の制御−

高宮考悟（宮崎大学　医学部　統合生理）

学習や記憶は，近年の研究により下等な動物においてもその単純なものが観察されることが報告されている。しかし，高次の脳神経機能は，われわれ人間が人間たるために与えられた，進化の過程で築き上げられた大変複雑でありながら非常に洗練された高度な神経システムである。われわれの脳における学習・記憶のメカニズムを解明するために，現在まで多くの研究者が多大の労力を費やしてきた。特にその基本となる神経機能であるシナプス可塑性の分子メカニズムの解明は，過去３０年間の研究の末，近年急速にその詳細がわかってきた。中枢神経系におけるシナプス可塑性において，興奮性シナプス伝達の主たる役割を担うグルタミン酸受容体の一つである AMPA 型グルタミン酸受容体が注目されている。この AMPA 型受容体の神経活動に依存したシナプス内外への移動により，神経伝達効率のダイナミックな調節がなされ，これによりシナプス可塑性が発現されることが明らかとなってきた。さらに，近年シナプス可塑性における AMPA 型受容体の詳細な輸送メカニズムの解明へとその研究対象が集中している。現在までに，AMPA 型グルタミン酸受容体の細胞内ドメインと結合する複数のタンパク質が発見され，それらにより受容体輸送が調節されていることが推察されている。つまり，それぞれの結合タンパク質が受容体のリン酸化などの影響を受けながらその結合状態が制御され，シナプスの内外における受容体の輸送をコントロールすることが推察されている。特に小脳プルキンエ細胞における運動学習に重要とされているシナプス長期抑圧現象(Long term depression: LTD)の際の AMPA 型受容体の輸送とその結合タンパク質の役割のかなり多くのことが明らかとなってきた。さらに，シナプス可塑性においてさかんに研究され場所記憶に重要とされている海馬 CA1 領域における代表的なシナプス可塑性である，シナプス長期増強現象(Long term potentiation: LTP)における分子機構の解明が，現在急務となっている。本講演において，これらシナプス可塑性の分子メカニズムの最近の進歩を，AMPA 型グルタミン酸レセプターに焦点をしぼったこれまでの私の研究と，現在の取り組みを中心にご紹介したい。

（9）シナプス内シグナル分子の活性化観察と操作

村越秀治（生理学研究所　脳機能計測・支援センター）

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が，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。しかし最近，2 光子蛍光寿命イメージング法の進歩により，組織深部で分子同士の相互作用や活性を可視化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活性化がスパインの様な深部にある微小コンパートメント内でも観察することが可能になった。
興奮性シナプスの後端を形成するスパインの形状や大きさの変化は, 主にアクチンの動態により決定されている。アクチンの重合と脱重合を制御する中心的な分子として Cdc42 や RhoA などの低分子 G タンパク質 Rho GTPase がよく知られているが，スパインへの入力刺激時にこれらの分子がどのように活性化しスパインの形態変化，長期増強に関与しているのかは殆ど分かっていなかった。最近我々は，海馬 CA1 領域の神経細胞において，刺激により可塑的変化を引き起こしたスパイン中での，Rho GTPase の活性化の時空間的特性を可視化することに成功した。FRET センサーを発現した神経細胞の樹状突起上の１個のスパインをケイジドグルタミン酸で刺激して長期増強を誘起したところ, スパインの体積増加と共に,

非常に大きな Cdc42 と RhoA の活性化が見られた。興味深いことに，Cdc42 と RhoA は構造が非常に似ているにも関わらず，空間的に異なる活性分布を示した。すなわち，Cdc42 の活性はスパインに限局しており，RhoA の活性は樹状突起へと広がっていた。また，これらの分子の機能を薬剤処理や shRNA を用いて調べたところ，RhoA の活性化はスパイン体積増大のトリガーとして，また，Cdc42 は体積増大を維持するためのメモリー分子として機能していることが明らかになった。上記の結果と共に，最近我々は，青色光で CaMKII の活性を 1 ミクロンの空間分解能と秒レベルの時間分解能で可逆的に操作することができる光感受性タンパク質の開発し，内在性 CaMKII の詳細な活性化のタイムコースを測定することに成功したので，これについても報告したい。

（10）Arc と不活性型 CaMKIIβ の動的相互作用によるシナプス局在化とグルタミン酸受容体の制御

奥野浩行（東京大学　医学系研究科　神経生化学）

前初期遺伝子 *Arc* は，シナプス刺激に応答して速やかに発現誘導される，代表的な神経活動依存的遺伝子である。その産物である Arc タンパクは，後シナプスに局在して AMPA 型グルタミン酸受容体の膜表面からの取り込み（エンドサイトーシス）を促進することが知られている。また，*Arc* ノックダウンやノックアウトにより長期シナプス可塑性や長期記憶形成に多様な障害が引き起こされることが報告されている。しかしながら，神経活動によって発現誘導された Arc タンパクがどのようなメカニズムでシナプスに局在し，どのようにシナプス機能を調節しているかについては依然として不明な点が多い。我々は, Arc タンパクの樹状突起における動態および Arc 結合タンパクの解析を行い Arc のシナプス局在機構の解明を試みた。その結果，これまで信じられていた挙動とは逆に，Arc は活動の少ない，不活性シナプスに多く集積することが明らかになった。この Arc の不活性シナプスへの集積には Ca^{2+}/CaM 非結合の CaMKIIβ（不活性型 CaMKIIβ）との相互作用が重要であり，CaMKIIβ のノックダウンまたはノックアウトを行うと Arc のシナプス局在量は顕著に減少した。また，Arc の不活性シナプス局在は単一シナプス単位で制御されていた。さらに重要なことに，個々のシナプスにおける Arc の存在量は GluA1 の表面発現量と負の相関を示した。これらの結果から，神経活動によって発現誘導された Arc タンパクは，非活性化型 CaMKIIβ との相互作用によって弱いシナプスに選択的に集積し，その結果，弱いシナプスにおいてのみ AMPA 型グルタミン酸受容体の除去を行うが，強いシナプスではその効果は抑えられる，すなわち，シナプスの重みのコントラスト比を高く保つ働きがあるのではないかと考えられる（Okuno et al., ***Cell***, 2012）。これまで長期シナプス可塑性メカニズムの一つとして，活動依存的な遺伝子発現産物が活性化シナプスに補足されて機能する，いわゆるシナプスタギング機構が知られている。今回の結果は，これとは相補的な，不活性化シナプス選択的に効果を及ぼす“逆シナプスタギング”機構の存在を強く示唆している。

5. 痛み研究の新たな展開

2012 年 12 月 13 日－12 月 14 日

代表・世話人：岩田幸一（日本大学歯学部生理学講座）

所内対応者：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）

（1）末梢神経損傷による免疫系細胞の脊髄内浸潤および神経障害性疼痛における TRPM2 の役割

勇　昂一，原口佳代，朝倉佳代子，白川久志，中川貴之，金子周司

（京都大学大学院薬学研究科/薬学部生体機能解析学分野）

（2）新規鎮痛標的分子としてのミクログリア Ca2+活性型 K+チャネルの特性

林　良憲，中西　博

（九州大学大学院歯学研究院口腔機能分子科学）

（3）神経障害性疼痛モデルマウスの一次知覚伝達系における macrophage/microglia の由来と極性化

仙波恵美子，上　勝也（和歌山県立医科大学医学部第二解剖）

（4）抗うつ薬およびトラマドールの神経障害性疼痛改善作用とそのメカニズム

榊山　実，前田早苗，白川久志，中川貴之，金子周司（京都大学薬学部生体機能解析学分野）

（5）教育講演 1　「ミクログリアの産生するカテプシン群の慢性疼痛における役割」

中西　博（九州大学大学院歯学研究院口腔機能分子科学分野）

（6）局所麻酔薬レボブピバカインの rNav1.8 チャネルに対する作用

川津領一[1,2]，井本敬二[1,3]，歌　大介[1]，岡本孝史[2]，増井邦晴[2]，

田矢廣司[2]，山村睦朗[2]，池田雅弘[2]，古江秀昌[1,3]

（[1]生理学研究所神経シグナル，[2]丸石製薬株式会社中央研究所，[3]総合研究大学院大学生理科学）

（7）下歯槽神経切断ラットに発症する異所性機械アロディニアに対する三叉神経節内 NO の関与

杉山朋久[1]，篠田雅路[2]，高橋　理[1]，岩田幸一[2]

（[1]神奈川歯科大学人体構造学講座組織学分野，[2]日本大学歯学部生理学講座）

（8）An alternative splicing variant of mouse TRPA1 regulates channel activity under inflammatory and neuropathic pain conditions

Yiming Zhou[1,2], Yoshiro Suzuki[1,2], Kunitoshi Uchida[1], Makoto Tominaga[1,2]

（[1]Division of Cell Signaling, Okazaki Institute for Intergrative Bioscience, Okazaki, Japan,

[2]SOKENDAI, Okazaki, Japan）

（9）メラノーマ担癌マウスの自発的舐め行動における酸感受性イオンチャネル ASIC1a の関与

今井亮太，安東嗣修，西　知恵，藤田真英，倉石　康

（富山大学大学院医学薬学研究部応用薬理学教室）

（10）ストレス誘発性機能性胃腸症モデルにおける CRF および NGF の関与

小酒井友，林　功栄，堀紀代美，易　勤，山口　豪，白石昌武，中村恒夫，尾﨑紀之

（金沢大学医薬保健研究域医学系機能解剖学分野）

（11）Muscular Mechanical and Heat Sensitivity After Lengthening Contraction, Modulation of Heat Sensitivity by NGF

Luis F. Quem[1], Kazue Mizumura[2]

（[1]Res. Inst. Environ. Med., [2]Nagoya Univ. Coll. Life Health Sci., Chubu Univ.）

（12）ラット下腿筋膜は侵害受容を担う感覚組織である

久保亜抄子[1,2]，田口　徹[1]，安井正佐也[3]，阿部真博[4]，木山博資[3]，山中章弘[1]，水村和枝[2]
（[1]名古屋大学環境医学研究所神経系分野Ⅱ，[2]中部大学生命健康科学部理学療法学科，
[3]名古屋大学大学院医学系研究科機能形態学講座機能組織学分野，[4]ビタカイン製薬株式会社学術部）

（13）三叉神経脊髄路核尾側亜核におけるエストロゲンの代謝型グルタミン酸受容体への影響

田代晃正，西田育弘（防衛医科大学校生理学講座）

（14）教育講演 2　「痛みの治療の現状と今後の展望」

井関雅子（順天堂大学医学部麻酔科学ペインクリニック講座）

（15）成熟ラット脊髄膠様質ニューロンの GABA およびグリシンを介する自発性抑制性シナプス伝達に及ぼすオキシトシンの促進作用

熊本栄一，蒋　昌宇，藤田亜美，大坪瀬奈，羅　清甜，康　欽，松下晋大
（佐賀大学医学部生体構造機能学講座（神経生理学分野）

（16）帯状疱疹による自発性掻痒の発生メカニズム

佐々木淳，Adhikari Subash，倉石　泰（富山大学大学院医学薬学研究部応用薬理学研究室）

（17）新規自然免疫活性化受容体の神経障害痛発症における役割 - ノックアウトマウスを用いた行動学的検討

八坂敏一[1]，村田祐造[1]，飯笹英一[2]，池田　弘[7]，津田　誠[5]，園畑素樹[4]，笹栗智子[3]，
平川奈緒美[3]，藤田亜美[1]，熊本栄一[1]，増子貞彦[1]，井上和秀[5]，吉田裕樹[2]，山崎　晶[6]，原　博満[2]
（[1]佐賀大学医学部生体構造機能学，[2]分子生命科学，[3]麻酔蘇生学，[4]整形外科学，[5]九州大学大学院薬学研究院薬理学分野，[6]生体防御医学研究所分子免疫学分野，[7]福井大学大学院工学研究科知能システム工学専攻）

（18）QX-３１４はカプシエイトまたはアナンドアミドとの併用投与で侵害熱刺激反応を抑制する

中川　弘[1]，樋浦明夫[2]（[1]徳島大学病院障碍者歯科，[2]徳島大学歯学部口腔組織）

（19）覚醒サル体性感覚野ニューロンの侵害熱刺激に対する応答

海野俊平，本田訓也，岩田幸一（日本大学歯学部生理学講座）

（20）慢性腰痛患者における腰痛関連脳活動と心理物理的尺度との関係

松尾洋平[1]，倉田二郎[2]，吉田勝浩[1]，関口美穂[1]，二階堂琢也[1]，紺野愼一[1]
（[1]福島県立医科大学整形外科学，[2]東京医科歯科大学麻酔科）

（21）精神医学からみた痛み

西原真理（愛知医科大学学際的痛みセンター）

（22）GDNF による抗アロディニア作用の新しい分子メカニズム

福岡哲男，野口光一（兵庫医科大学解剖学講座神経科学部門）

【参加者名】

関口美穂（福島県立医科大学），松尾洋平（福島県立医科大学），半田隼一（福島県立医科大学），岩田幸一（日本大学），篠田雅路（日本大学），海野俊平（日本大学），井関雅子（順天堂大学），舟久保恵美（慶應義塾大学），杉山朋久（神奈川歯科大学），田代晃正（防衛医科大学校），田口　徹（名古屋大学），佐藤　純（名古屋大学），片野坂公明（名古屋大学），Queme Fernando（名古屋大学），西原真理（愛知医科大学），水村和枝（中部大学），村瀬詩織（中部大学），久保亜抄子（中部大学），古江秀昌（生理学研究所），歌　大介（生理学研究所），川津領一（生理学研究所），箱崎敦志（生理学研究所），堀紀代美（金沢大学），小酒井友（金沢大学），佐々木淳（富山大学），今　亮太（富山大学），北村　亮（富山大学），丹羽　均（大阪大学），杉村光隆（大阪大学），山形和彰（大阪大学），中川貴之（京都大学），榊山　実（京都大学），宗可奈子（京都大学），趙　萌（京都大学），勇　昂一（京都大学），朝倉佳代子（京都大学），大住倫弘（畿央大学），仙波恵美子（和歌山県立医科大学），福岡哲男（兵庫医科大学），神田浩里（兵庫医科大学），清行康邦（兵庫医科大学），樋浦明夫（徳島大学），中西　博（九州大学），林

良憲（九州大学），津田　誠（九州大学），高野行夫（福岡大学），熊本栄一（佐賀大学），藤田亜美（佐賀大学），八坂敏一（佐賀大学），蒋　昌宇（佐賀大学），大坪瀬奈（佐賀大学），黒田博之（ゼリア新薬工業），吉長幸嗣（ゼリア新薬工業），今井利安（日本ケミファ），田矢廣司（丸石製薬），山村睦朗（丸石製薬），岡本和明（マルホ），田村理絵（マルホ），金山翔治（マルホ），石井律子（マルホ），上田勇輝（マルホ），富永真琴（岡崎統合バイオサイエンスセンター），鈴木喜郎（岡崎統合バイオサイエンスセンター），内田邦敏（岡崎統合バイオサイエンスセンター），齋藤　茂（岡崎統合バイオサイエンスセンター），加塩麻紀子（岡崎統合バイオサイエンスセンター），常松友美（岡崎統合バイオサイエンスセンター），周　一鳴（岡崎統合バイオサイエンスセンター），高山靖規（岡崎統合バイオサイエンスセンター），新宅健司（岡崎統合バイオサイエンスセンター），西本れい（岡崎統合バイオサイエンスセンター）

【概要】

本研究会は「痛み研究の新たな展開」と題して，2012年12月13日および14日の2日間にわたり，岡崎統合バイオサイエンスセンターにおいて開催された。本研究会では教育講演として２つのテーマを企画した。一つは九州大学歯学部の中西博先生から「ミクログリアの産生するカテプシン群の慢性疼痛における役割」というタイトルで講演がなされ，ミクログリアの神経障害性疼痛発症に対する分子メカニズム，特にカテプシンの役割について詳細な解説がなされ，改めてグリア細胞をターゲットとした研究の必要性を確認した。また，臨床面からの講演ということで，順天堂大学医学部の井関雅子先生から「痛みの治療の現状と今後の展望」と題して，神経障害性疼痛に関する最近の臨床知見およびその治療法について，詳細な解説がなされた。一般講演では，グリアの神経障害性疼痛への関与，種々のＴＲＰおよびイオンチャネルの機能，あるいは新たな病的疼痛モデルの紹介など，様々なテーマに関する発表がなされ，大変有意義な研究会になった。この場をお借りして，本会の開催に対して多大なご尽力をいただいた岡崎統合バイオサイエンスセンター細胞生理部門の富永真琴教授をはじめ，同研究室の方々に深く御礼申し上げる次第です。

（1）末梢神経損傷による免疫系細胞の脊髄内浸潤および神経障害性疼痛における TRPM2 の役割

勇　昂一，原口佳代，朝倉佳代子，白川久志，中川貴之，金子周司
（京都大学大学院薬学研究科/薬学部生体機能解析学分野）

我々はこれまでに，末梢免疫系細胞あるいは脊髄ミクログリアの TRPM2 が炎症性/神経障害性疼痛へ関与していることを報告してきた。しかし，TRPM2KO マウスを用いたこれまでの検討では，末梢免疫系細胞あるいは脊髄ミクログリアどちらの TRPM2 がより重要であるかを明らかにできなかった。そこで，今回，WT/TRPM2KO マウス間で，GFP 陽性骨髄由来細胞を移植した骨髄キメラマウスを作成し，それぞれの神経障害性疼痛への寄与を検討した。末梢神経損傷後に惹起される機械的アロディニアは，末梢骨髄由来細胞で TRPM2 を欠損した TRPM2KO ドナー/WT レシピエント（TRPM2KO→WT）キメラマウス，中枢神経系やミクログリアで TRPM2 を欠損した WT→TRPM2KO キメラマウス，双方で TRPM2 を欠損した TRPM2KO→TRPM2KO キメラマウス，いずれにおいても，WT→WT キメラマウスに比べ有意に減弱した。しかし，末梢神経損傷 14 日後において，結紮を施した損傷部位周辺への GFP 陽性骨髄由来細胞の浸潤に，いずれのキメラマウスでも差は認められなかった。一方，TRPM2 を欠損した 3 種のキメラマウスの脊髄後角では，Iba1 陽性細胞数が減少した。また，神経損傷後に GFP 陽性骨髄由来細胞の脊髄への浸潤が認められたが，TRPM2 を欠損したキメラマウスでは，これらの浸潤が減少傾向，さらに，GFP 陽性/Iba1 陽性マクロファージの浸潤は有意に減少した。一方，GFP 陰性/Iba1 陽性の常在性ミクログリアの数に変化は見られなかった。これらの結果から，TRPM2 は末梢神経損傷時の骨髄由来マクロファージの

脊髄内浸潤に関与し，神経障害性疼痛に寄与することが　　示唆される。

（2）新規鎮痛標的分子としてのミクログリア Ca2+活性型 K+チャネルの特性

林　良憲，中西　博（九州大学大学院歯学研究院口腔機能分子科学）

ケタミンはニューロパチックペインに代表される慢性痛に対して著効を示す。光学異性体をもつケタミンは，S 体が R 体に比べ約 4 倍もの鎮痛効果を示す一方で，主な作用部位である NMDA 受容体の阻害効果は約 2 倍である。そのため，NMDA 受容体だけではケタミンの鎮痛効果を説明するには不十分である。そこで，慢性痛発症に関与するミクログリアに着目し，ケタミンの新たな鎮痛分子の探索を行った。神経損傷後，脊髄後角における活性化ミクログリアにおいて，正常では認められない高コンダクタンス Ca2+活性型 K+(BK)電流が認められた。神経損傷後および，NS1619 （BK チャネル活性化剤）により誘発される BK 電流は S 体が R 体およびラセミ体に比べ最も強い抑制効果を示した。さらに NS1619 の髄腔内投与により生じる疼痛閾値の低下は S ケタミンにより有意に抑制された。また，カリブドトキシンの髄腔内投与により神経障害性疼痛が有意に改善され，ミクログリアにおける P2X4 受容体および BDNF の発現量を抑制した。更にリゾフォスファチジン酸の髄腔内投与によって誘発される疼痛も S-ケタミンにより優位に改善された。以上の結果より S 体ケタミンはニューロンの NMDA 受容体を抑制するだけではなく，ミクログリアの BK チャネルを抑制することで，強力な鎮痛作用を発揮することが示唆された。

（3）神経障害性疼痛モデルマウスの一次知覚伝達系における macrophage/microglia の由来と極性化

仙波恵美子，上　勝也（和歌山県立医科大学医学部第二解剖）

神経障害性疼痛の発症と維持に macrophage/microglia, astrocyte などのグリアが重要な役割を果たしていることが注目されている。今回我々はマウス Seltzer model を作製し，術後早期から 28 日にわたって，損傷神経，DRG，脊髄後角における macrophage/microglia の起源と極性（M1/M2 subtypes）に注目して検討を行った。Macrophage/microglia の起源については EGFP chimeric mice を用いて検討した。受傷によりこれらの細胞がどのように動員され，極性を獲得し，症状の発現と維持に関わるかを明らかにし治療への応用の可能性を探る。損傷神経においては術後 1〜3 日目に多くの Iba-1+ 細胞が認められ，その多くが iNOS+/Arginase-1--M1 macrophage および好中球であった。3 日目には多くの EGFP+/CD11b+ 細胞が認められたがその後漸減した。一方，DRG では術後 3 日目から Iba-1+ 細胞が増加したが，その多くは iNOS-/Arginase-1+-M2 subtype であり, 21 日目になって少数の EGFP+/CD11b+細胞が認められた。脊髄後角では，術後 3 日から 21 日にわたって Iba-1+/CD11b+ macrophages/microglia が I,II 層を中心に著明に増加し，これらは CD68+/CD86+/Arginase-1-/ CD163-/CD206--M1 subtype であった。3 日目にはその多くが Ki67 陽性を示したが，7 日目には減少した。EGFP+/CD11b+細胞は 21 日目になって認められた。損傷神経，脊髄後角とも M1 subtype が増加するが，損傷神経では骨髄由来で，後角では resident の細胞が増殖すると考えられる。また，DRG では resident の M2 macrophages が増加した。以上より，神経障害後の一次知覚系においては，部位によりまた時期により活性化される macrophage/microglia の由来と極性が異なることがわかった。

（4）抗うつ薬およびトラマドールの神経障害性疼痛改善作用とそのメカニズム

榊山　実，前田早苗，白川久志，中川貴之，金子周司
（京都大学薬学部生体機能解析学分野）

【目的】神経障害性疼痛に対して，三環系抗うつ薬が第一選択薬となっている。また，弱オピオイドのトラマドールは，μオピオイド受容体へのアゴニスト作用とモノアミン再取り込み阻害作用を併せ持ち，他のオピオイドとは異なる性質を有する。本研究ではモルヒネ，アミトリプチリンおよびトラマドールを反復投与した際の神経障害性疼痛に対する効果，脊髄グリア細胞に対する影響，およびノルアドレナリン (NA) 神経に対する影響を検討した。【方法】各薬物を坐骨神経部分結紮 (pSNL) 当日から 6 日後まで（アロディニア形成期），もしくは 7 日後から 14 日後まで（維持期），1 日 1 回反復投与した。von Frey filament により，薬物投与直前に反復投与による機械的アロディニア改善効果を，投与 1 時間後に急性鎮痛効果を評価した。【結果】モルヒネは投与毎に急性鎮痛効果を示したが，アミトリプチリンおよびトラマドールの反復投与は，急性鎮痛効果に加え，アロディニア形成および維持に対して改善作用を示した。モルヒネやトラマドールの急性鎮痛効果はナロキソンにより，一方，アミトリプチリンやトラマドールのアロディニア改善作用はヨヒンビンにより抑制された。また，アミトリプチリンおよびトラマドール反復投与は，pSNL による脊髄アストロサイトの活性化を有意に抑制したが，ミクログリア活性化には影響しなかった。また，トラマドール反復投与は脊髄において NA 合成酵素 DβH の発現を増加させた。【考察】アミトリプチリンおよびトラマドールの反復投与は，アロディニア形成および維持に対してα2 受容体を介して改善作用を示すこと，その作用の一部にアストロサイト活性化抑制が関与すること，さらにトラマドールに関して，脊髄での下行性 NA 神経系の促進が関与することが示唆される。

（5）教育講演 1「ミクログリアの産生するカテプシン群の慢性疼痛における役割」

中西　博（九州大学大学院歯学研究院口腔機能分子科学分野）

プロテアーゼはタンパク質を不可逆的に分解する“消化作用”だけではなく，生体内の生理活性物質を産み出すための“モジュレーター作用”を有している。最近，私たちはミクログリアの産生するリソソーム性プロテアーゼであるカテプシン群の作用に着目し，慢性疼痛における役割の解析を行っている。

疼痛において重要な役割を果たす IL-1βのプロ型から成熟型への変換に必要なカスパーゼ-1 の活性化に，細胞質に漏出したカテプシン B（CatB）により活性化される NLRP3 インフラマソームが関与することが報告された（Nat Immunol, 2008）。しかし，私たちはクロモグラニン A（CGA）で刺激したミクログリアでは増大した CatB が直接的にプロカスパーゼ-1 を活性化し，IL-1β産生を誘導することを報告した（Glia, 2010）。また，CatB 欠損マウスでは炎症性疼痛は有意に抑制され，CatB 阻害剤（CA074Me）の髄腔内投与でも同様の結果が得られた。さらに，CGA の髄腔内投与により CatB 依存的に疼痛が誘導され，末梢炎症に伴う DRG ニューロンにおける CGA の増大も認められた。これらの結果より，末梢炎症に伴い増大した CGA が脊髄ミクログリアにおいて CatB 依存的に IL-1β産生を促し，炎症性疼痛発症において重要な役割を果たすことが明らかになった（J Neurosci, 2012）。

一方，カテプシン S（CatS）は活性型酵素として細胞外に分泌され，中性環境下で基底膜や細胞外マトリックスの分解により単球の浸潤に関与することを報告した（J Neurosci Res, 2007）。また，神経障害性疼痛では病態の進展に脊髄後角に浸潤した単球が関与することが報告されている（J Neurosci, 2007）。そこで CatS の神経障害性疼痛における関与を検討した。神経損傷後，マクロファージに発現するがミクログリアに発現の認められないカテプシン F の脊髄内発現が野生型マウスでは認められ，

CatS 欠損マウスでは認められなかった。CatS 欠損マウスでは神経障害性疼痛が有意に減弱しており，CatS 阻害剤（Z-FL-COCHO）の腹腔内投与により疼痛の改善が認められた。さらに，脊髄後角における Iba1 陽性細胞数の有意な減少も認められた。これらの結果より，CatS は神経損傷に伴う単球の脊髄後角への浸潤に関与し，神経障害性疼痛の進展に重要な役割を果たすことが強く示唆された。

これらの結果より CatB あるいは CatS の酵素活性阻害剤が新たな慢性疼痛治療薬の開発におけるターゲットになりうると考えられる。

（6）局所麻酔薬レボブピバカインの rNav1.8 チャネルに対する作用

川津領一 [1,2]，井本敬二 [1,3]，歌　大介 [1]，
岡本孝史 [2]，増井邦晴 [2]，田矢廣司 [2]，山村睦朗 [2]，池田雅弘 [2]，古江秀昌 [1,3]
（[1] 生理学研究所神経シグナル，[2] 丸石製薬株式会社中央研究所，[3] 総合研究大学院大学生理科学）

【目的】我々は今までの研究から，局所麻酔薬であるレボブピバカインは，一次求心性線維のうち Aδ線維や C 線維を特異的に抑制し，A β 線維に対しても抑制作用を示すロピバカインなど他の局所麻酔薬とは異なる分離遮断能を有することを示してきた。本研究では Aδ線維や C 線維に発現する電位依存性 Na チャネルに対する抑制作用の詳細を明らかにするために，TTX 非感受性の Nav1.8 チャネルに対するレボブピバカインとその他局所麻酔薬の抑制作用機序について検討した。

【方法】ラット後根神経節細胞からクローニングした Nav1.8 チャネル(rNav1.8 チャネル）をコードする遺伝子を ND7/23 細胞に導入した。TTX 存在下にホールセルパッチクランプ記録を行い，膜電位を-90 mV に電位固定した。脱分極パルスにより発生する内向き電流を記録し，レボブピバカインなどの各種局所麻酔薬をかん流投与し，その振幅の抑制作用を解析した。

【結果・考察】レボブピバカイン，ロピバカイン，ブピバカイン，デクスブピバカイン，リドカインは rNav1.8 チャネルを介した電流の振幅を濃度依存的に抑制し，その IC50 値はそれぞれ 178, 260, 140, 123, 318 μM であった。一方，use-dependent な抑制作用を解析するとレボブピバカインは強い抑制効果を示した。レボブピバカインとその他の局所麻酔薬は，いずれも rNav1.8 チャネルを抑制したことから，痛覚遮断作用を有すると考えられた。特に，レボブピバカインは，use-dependent な抑制においてもその他の局所麻酔薬より抑制作用が強かったことから，痛みの伝達を有効に遮断する事が示唆された。

（7）下歯槽神経切断ラットに発症する異所性機械アロディニアに対する三叉神経節内 NO の関与

杉山朋久 [1]，篠田雅路 [2]，高橋　理 [1]，岩田幸一 [2]
（[1] 神奈川歯科大学人体構造学講座組織学分野，[2] 日本大学歯学部生理学講座）

一酸化窒素（NO）は神経系一酸化窒素合成酵素（nNOS）によって生成される膜透過性のガスであり，生体内の様々な生理機構調節に関与している。NO は細胞内の可溶性グアニル酸シクラーゼ(sGC)を活性化し，それに伴って感覚性ニューロンの興奮性の変化を引き起こすと報告されている。しかしながら，三叉神経節における NO と顎顔面領域の神経障害性疼痛との関連性についての報告は少ない。そこで本研究では，下歯槽神経切断により三叉神経２枝支配領域に異常疼痛が発症する異所性神経障害性疼痛モデルラットを作製し，顎顔面領域に発症する異所性機械アロディニアに対する三叉神経節内の NO の役割を解析した。

雄性 SD ラットの左下歯槽神経を深麻酔下にて 2 ヶ所結紮後，切断した。術後２日目より，von Frey filament

を用いて測定した口髭部への機械刺激に対する逃避閾値が有意に低下した。術後７日目，切断側の三叉神経節においてnNOS陽性神経細胞が有意に増加した。さらに下歯槽神経切断後，選択的NO合成阻害薬 (7-nitroindazole) の持続的三叉神経節内投与により，口髭部への機械刺激に対する逃避閾値の低下は有意に抑制された。

以上の結果から，下歯槽神経切断により三叉神経節内でnNOS陽性細胞が増加し，それによりnNOSから合成されたNOが口髭部に発症する異所性機械アロディニア発症に関与することが示唆された。

（8）An alternative splicing variant of mouse TRPA1 regulates channel activity under inflammatory and neuropathic pain conditions

Yiming Zhou[1, 2]，Yoshiro Suzuki[1, 2]，Kunitoshi Uchida[1]，Makoto Tominaga[1, 2]
（[1]Division of Cell Signaling, Okazaki Institute for Intergrative Bioscience, Okazaki, Japan,
[2]SOKENDAI, Okazaki, Japan）

TRPA1 is a nonselective cation channel that is activated by noxious stimuli and serves important functions during nociception and inflammation. Here a novel alternative splicing variant of mouse TRPA1, TRPA1b was identified. Both isoforms, TRPA1a (full length) and TRPA1b (splicing variant), were confirmed to be expressed in mouse dorsal root ganglion (DRG) and trigeminal ganglion (TG) neurons. When expressed in HEK293T cells, both isoforms could be translocated to the plasma membrane while physically interact with each other. Although TRPA1b did not respond to TRPA1 agonists, TRPA1a and TRPA1b co-expression significantly increased TRPA1a plasma membrane expression as well as current density in response TRPA1 agonists without affecting its single-channel properties. Over-expression of TRPA1b in WT DRG neurons increased AITC responses, and expression of TRPA1a with TRPA1b produced larger ATIC responses compared with expression of TRPA1a alone in TRPA1KO DRG neurons. Expression levels of TRPA1a and TRPA1b mRNAs changed dynamically in complete Freund's adjuvant-induced inflammatory and a partial sciatic nerve ligation-induced neuropathic pain models. In contrast to TRPA1a, whose mRNA expression level increased in the early stages of disease conditions, the TRPA1b expression level gradually increased throughout the two-week period. This up-regulated TRPA1b expression level could regulate expression of TRPA1a.

（9）メラノーマ担癌マウスの自発的舐め行動における酸感受性イオンチャネルASIC1aの関与

今井亮太，安東嗣修，西　知恵，藤田真英，倉石　康
（富山大学大学院医学薬学研究部応用薬理学教室）

癌患者の腫瘍組織内部ではpHが低下していることが報告されている。また，酸感受性イオンチャネル（acid-sensing ion channel：ASIC）の痛みへの関与が報告されている。しかしながら，癌性疼痛におけるASICsの役割は不明である。本研究では，メラノーマ細胞を皮膚に同所移植したマウスで観察される疼痛様行動（患部への自発的舐め行動）へのASICsの関与を検討した。B16-BL6メラノーマ細胞（2×105 cells/site）を雄性C57BL/6系マウスの後肢足蹠に皮内移植した。自発的舐め行動の時間が，移植後10日過ぎより有意に増加した。非選択的ASICs遮断薬amilorideの全身（10，30 mg/kg, i.p.）及び局所（300，1000 nmol/site，i.pl.）投与が，担癌マウスの自発的舐め行動を用量依存的に抑制した。癌塊中のpHはpH6.7であったことから，AISC1a及びASIC3の関与が推測される。ASIC3の関与に関しては現在検討中であるが，ASIC1a遮断薬psalmotoxin 1（0.2, 2 pmol/site,

i.pl.）は，自発的舐め行動を用量依存的に抑制した。B16-BL6 細胞には，ASIC2a 以外の ASIC サブタイプの mRNA が，また，後根神経節では全ての ASIC サブタイプの mRNA が発現していた。リン酸緩衝食塩水（pH6.7）を健常マウスの後肢足蹠へ皮下注射しても，生理食塩水と同様にほとんど舐め行動を示さなかった。メラノーマ細胞の培養環境を pH6.7 に維持すると，pH7.4 の環境下と比べて有意に endothein-1 の産生・遊離が増加した。以上の結果から，メラノーマ担癌マウスの自発的舐め動作に，メラノーマ細胞の ASIC1a を介した endothein-1 の産生・遊離が少なくとも一部関与していることが示唆される。

（10）ストレス誘発性機能性胃腸症モデルにおける CRF および NGF の関与

小酒井友，林　功栄，堀紀代美，易　勤，山口　豪，白石昌武，中村恒夫，尾﨑紀之
（金沢大学医薬保健研究域医学系機能解剖学分野)

【背景】明らかな器質的病変が見られないにも関わらず痛みなどの上部消化管症状を呈する疾患として機能性胃腸症（FD）がある。ストレスが腸の痛覚過敏を引き起こすことが報告され，過敏性腸症候群（IBS）のモデルとして提唱されているが，ストレスが胃の痛覚に及ぼす影響については明らかではない。本研究ではストレスを加えたときの胃の痛覚の変化を調べ，痛覚の亢進への副腎皮質刺激ホルモン放出因子（CRF）と神経成長因子（NGF）の関与を調べた。

【方法】深麻酔下で，雄性ラットの胃にバルーンを，僧帽筋に筋電図測定用の電極を留置し，胃をバルーン進展した時の筋電図の変化を胃の痛覚として測定した。1 日 1 時間の Water avoidance ストレス（WAS）を 10 日間反復して負荷し，経時的に胃の痛覚を評価した。また，体重，摂餌量，胃内容物量，足底の機械性痛覚閾値を計測した。

【結果】WAS の反復負荷により胃の痛覚が亢進した。その時，胃粘膜に明らかな病変は見られなかった。WAS によって亢進した痛覚は CRF 拮抗薬及び CRF2 受容体拮抗薬，NGF 中和抗体で抑制された。WAS は足底の機械性痛覚過敏を引き起こした。

【結論】WAS は胃の痛覚を亢進させ，FD の動物モデルとして有用と思われた。WAS による胃の痛覚亢進には CRF2 と NGF が関与しており，FD への関与が示唆された。

（11）Muscular Mechanical and Heat Sensitivity After Lengthening Contraction, Modulation of Heat Sensitivity by NGF

Luis F. Quem[1], Kazue Mizumura[2]
([1]Res. Inst. Environ. Med., [2]Nagoya Univ. Coll. Life Health Sci., Chubu Univ.)

Previous reports showed that mechanical sensitivity of muscle nociceptors is increased 2 days after lengthening contraction (LC) (Taguchi et al. 2005), when muscular mechanical hyperalgesia (delayed onset muscle soreness, DOMS) was strongest, but the heat sensitivity was not different despite that nerve growth factor (NGF), through the modulation of the transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) channel (Fujii et al. 2008), is partially responsible for mechanical hyperalgesia in DOMS (Murase et al. 2010).

In this study we examined the mechanical and heat sensitivities of nociceptors in rats after LC and after injection of NGF. Single unmyelinated muscle afferents were recorded from muscle-nerve preparations in vitro. Mechanical (0-196 mN in 10s) and heat (34-50° C in 30s) stimulations were applied on their receptive field. In a different group of experiments, baseline heat stimulation was applied and NGF was injected into the muscle preparation. After that, a series of heat stimulations were made every 10 minutes for up to 1

hour.

The mechanical but not the heat sensitivity was increased in the LC group. LC increased the mechanical sensitivity on the fibers that responded to heat and the fibers responsive to capsaicin while the heat insensitive and the capsaicin insensitive fibers were not sensitized. Twenty minutes after the NGF injection, the heat sensitivity was facilitated relative to the control.

Heat and capsaicin sensitive fibers are potentially the main targets of the sensitizing effects of LC. The absence of facilitation of heat sensitivity after LC despite NGF ability to facilitate it can be explained if NGF produced after LC is not sufficient to sensitize nociceptors response to heat.

（12）ラット下腿筋膜は侵害受容を担う感覚組織である

久保亜抄子[1,2]，田口　徹[1]，安井正佐也[3]，阿部真博[4]，木山博資[3]，山中章弘[1]，水村和枝[2]
（[1]名古屋大学環境医学研究所神経系分野Ⅱ，[2]中部大学生命健康科学部理学療法学科，
[3]名古屋大学大学院医学系研究科機能形態学講座機能組織学分野，[4]ビタカイン製薬株式会社学術部）

筋膜はこれまで単なる支持組織とみなされ，それ以外の機能はあまり言及されていない。近年，胸腰筋膜を対象とし，筋膜に侵害受容線維が分布すること，また，筋膜に受容野を持つ脊髄後角ニューロンが存在することが報告されているが，筋膜由来の侵害受容や痛みの末梢神経機構はあきらかでない。また，胸腰筋膜以外の筋膜についての知見は皆無である。我々は昨年の本研究会において，１）下腿筋膜における侵害受容線維 (CGRP 陽性線維）は遠位３分の１の部位に高密度で分布すること，２）in vivo 単一神経記録（電気生理学）により，下腿筋膜へのピンチ刺激に反応する C 線維の 43%が機械・化学･熱刺激に反応するポリモーダル受容器であり, 一方, ほぼすべての Aδ線維は機械刺激にのみ応答することを報告した。今回さらに，３）下腿筋膜への侵害刺激による c-Fos 陽性細胞数と分布を指標に，下腿筋膜支配の一次求心性神経の脊髄内投射様式を調べた。下腿筋膜への侵害レベルの繰り返しピンチ刺激によって, L3 をピークとして L2-L4 に有意な c-Fos 陽性細胞数の増加が観察された。また，c-Fos 陽性細胞は主として，侵害受容に重要な役割を果たす脊髄後角浅層（I-II 層）の中央から内側部に観察された。以上より，正常状態において下腿筋膜は侵害受容を担う感覚組織でもあることがあきらかとなった。

（13）三叉神経脊髄路核尾側亜核におけるエストロゲンの代謝型グルタミン酸受容体への影響

田代晃正，西田育弘（防衛医科大学校生理学講座）

［目的］偏頭痛や顎関節痛などの三叉神経領域における慢性疼痛は若年女性に好発し，著名な性差を有する。これらの慢性疼痛は，中枢神経の可塑的変化が関与していることが示されている一方で，性差発現のメカニズムの詳細は不明である。本研究では，顎関節痛の危険因子の一つであるエストロゲンが，中枢神経の可塑的変化に重要な役割を果たしていると考えられる代謝型グルタミン酸受容体(mGluR)にどのような作用を及ぼしているかを検討した。

［方法］卵巣摘出された雌ラット(250-320g)を用い，E2 トリートメントを行った（高濃度群 ; HE2，低濃度群; LE2)。三叉神経脊髄路核尾側亜核と頸髄移行部（Vc/C1-2）より顎関節から入力を受ける侵害受容ニューロン(TMJ ニューロン）活動を細胞外記録, 顎関節に ATP(1mM 20ul) による侵害刺激を行った。mGluR1 アンタゴニスト (CPCCOEt50-500uM)を Vc/C1-2 に局所投与し，ATP 刺激により誘発される TMJ ニューロンの興奮に対する効果の違いを HE 群，LE 群で観察した。

［結果］ATP により誘発される TMJ ニューロンの興奮性は E2 により上昇した。また，HE2 群において，TMJ ニューロンの興奮性に対する CPCCOEt の効果は LE2 群に比べ増大した。以上の結果より，エストロゲンによる mGluR1 受容体の機能の亢進が侵害受容ニューロンの興奮性の変調に関与していることが示唆された。

（14）教育講演２　「痛みの治療の現状と今後の展望」

井関雅子（順天堂大学医学部麻酔科学ペインクリニック講座）

痛みとは「他人とは共有できない不快な感覚と情動体験」であり，患者の心身両者に影響を与える症状である。ペインクリニックでは，痛みを診断し治療する手順として，問診，視診，触診，神経学的検査，画像検査などから原因疾患を同定していくことに加えて，痛みの強さ，パターン，日常生活支障度，痛みの性状を明らかにして，治療方針を決定している。特に，痛みの薬物療法を施行する際には，IASP が提唱する「侵害受容性疼痛」と「神経障害性疼痛」の分類に基づき薬剤を選択している。一般的には侵害受容性疼痛には，アセトアミノフェン，NSAIDs，オピオイド鎮痛薬が選択され，神経障害性疼痛には，鎮痛補助薬として知られている抗うつ薬や抗てんかん薬が主に選択されるほか，オピオイド鎮痛薬も有用とされている。しかし，実際の臨床では，薬物療法がすべての患者に有効なわけではなく，病態的には適切な治療選択をしていても除痛効果が得られない場合から，心理・社会的要因が大きいと考えられる場合まで様々であり，多角的治療のアプローチの有用性が唱われている。その中で，われわれが施行する神経ブロック治療をはじめとする interventional pain management も痛みの治療法の１つであり，急性痛や慢性痛の急性増悪の際に，主に末梢での感作を抑制することで痛みの緩和に貢献していると考えている。また，脊髄刺激療法を帯状疱疹の亜急性期に施行することで痛みが緩解し帯状疱疹後神経痛への移行を回避できた患者も経験している。今後は，痛みの出現早期に，全身投与ではなくターゲット療法の１つとして，末梢神経，神経根，硬膜外腔などに安全で有用な薬剤を投与することができれば，より確実な痛みの緩和が得られるのではないかという予想から，さらに基礎と臨床のトランスレーショナルリサーチへの期待を膨らませている。

（15）成熟ラット脊髄膠様質ニューロンの GABA およびグリシンを介する自発性抑制性シナプス伝達に及ぼすオキシトシンの促進作用

熊本栄一，蒋　昌宇，藤田亜美，大坪瀬奈，羅　清甜，康　欽，松下晋大
（佐賀大学医学部生体構造機能学講座（神経生理学分野））

視床下部から脊髄後角表層に至るオキシトシン作動性神経の投射経路や脊髄におけるオキシトシン結合部位の存在は，オキシトシンが痛み伝達の制御に働くことを示している。これはオキシトシンの脊髄腔内投与や視床下部の電気刺激による痛み行動の抑制から支持される。我々は昨年，本研究会において，オキシトシンが濃度依存性（EC50 = 0.022 μM）に，痛み情報の制御に重要な役割を果たす脊髄膠様質ニューロンの膜を脱分極させることを報告した。しかしながら，内因性鎮痛物質であるノルアドレナリン，セロトニンおよびアデノシンは膠様質ニューロンの膜を過分極させる。この相違点を解明するため，今回，オキシトシンが抑制性シナプス伝達に及ぼす作用を調べた。実験は成熟ラットから脊髄横断スライス標本を作製し，膠様質ニューロンへパッチクランプ法を適用することにより行った。GABA やグリシンを介する自発性抑制性シナプス伝達は，オキシトシンの灌流投与により促進された。この作用は，膜脱分極作用と同様，30 分の時間間隔で繰り返し見られると共に濃度依存性

であり，GABA とグリシンを介する自発性抑制性シナプス後電流の発生頻度を増加させるオキシトシンの EC_{50} 値は，それぞれ 0.024 μM と 0.038 μM であった。オキシトシン受容体阻害薬や電位作動性 Na+チャネル阻害薬のテトロドトキシンは，この抑制性シナプス伝達の促進を抑制する一方，オキシトシン受容体作動薬はオキシトシンと同様な促進作用を示した。以上より，オキシトシンは膜脱分極に加えて，活動電位の発生を伴った抑制性シナプス伝達促進の作用も持つことが明らかになった。この膠様質ニューロンの自発性抑制性シナプス伝達の促進はオキシトシンの鎮痛作用に寄与することが示唆される。

（16）帯状疱疹による自発性掻痒の発生メカニズム

佐々木　淳，Adhikari Subash，倉石　泰（富山大学大学院医学薬学研究部応用薬理学研究室）

マウスにヒトヘルペスウイルス 1（HHV1）を経皮接種すると帯状疱疹様皮疹が生じ，その皮疹部に触アロディニア様行動や自発性疼痛に関連する舐め行動がみられる。今回，HHV1 接種マウスで自発性掻痒に関連する引っ掻き行動を観察し，その発生メカニズムについての検討を行った。腹側部皮膚に HHV-1 を接種すると，皮疹の出現とともに皮疹部への舐め行動と引っ掻き行動が観察された。引っ掻き行動は中枢性痒み抑制効果をもつオピオイド受容体拮抗薬 naloxone（3 mg/kg，皮下）によって有意に抑制されたが，舐め行動は抑制されなかった。抗酸化薬である N-acetyl-L-cysteine（200 mg/kg, 腹腔内）と trolox（100 mg/kg，腹腔内），選択的 TRPA1 受容体拮抗薬 HC-030031（100 mg/kg，腹腔内）は引っ掻き行動と舐め行動の両方を抑制した。0.3%過酸化水素水を健常マウスに皮内注射すると引っ掻き行動と舐め行動が生じ，両行動とも HC-030031（100 mg/kg，腹腔内）により抑制された。以上の結果から，皮疹部の酸化ストレスが HHV1 誘発の自発性掻痒と自発性疼痛に共通する発生要因であり，そのメカニズムに TRPA1 受容体の活性化の関与が示唆される。脊髄後角の BB2 ボンベシン受容体発現ニューロンは痒み伝達ニューロンとして注目されている。サポリン標識ボンベシン（400 ng）を髄腔内投与し BB2 受容体発現ニューロンを除去すると，HHV1 誘発の舐め行動は抑制されずに引っ掻き行動のみが抑制された。しかし，選択的 BB2 受容体拮抗薬 Leu13-ψ-(CH2NH)Leu14-bombesin（500 fmol, BB2 受容体拮抗活性用量）の脊髄腔内投与では HHV1 誘発引っ掻き行動は抑制されなかったことから，HHV1 誘発の自発性掻痒においては， BB2 受容体発現ニューロンは BB2 受容体非依存的に痒みシグナルを中継すると考えられる。

（17）新規自然免疫活性化受容体の神経障害痛発症における役割
－ノックアウトマウスを用いた行動学的検討－

八坂敏一[1]，村田祐造[1]，飯笹英一[2]，池田　弘[7]，津田　誠[5]，園畑素樹[4]，笹栗智子[3]，
平川奈緒美[3]，藤田亜美[1]，熊本栄一[1]，増子貞彦[1]，井上和秀[5]，吉田裕樹[2]，山崎　晶[6]，原　博満[2]
（[1]佐賀大学医学部生体構造機能学，[2]分子生命科学，[3]麻酔蘇生学，[4]整形外科学，[5]九州大学大学院薬学研究院薬理学分野，[6]生体防御医学研究所分子免疫学分野，[7]福井大学大学院工学研究科知能システム工学専攻）

自然免疫系は，病原体が持つパターンや，損傷細胞が放出するダメージ関連分子が持つパターンを認識する受容体などによって異変を感知し活性化して，炎症性サイトカイン産生などを介して免疫反応を惹起する。例えば Toll like receptor（TLR），特に TLR4 は，細菌リポポリサッカライドの受容体で盛んに研究が行われている。しかし，近年 TLR ではないパターン認識受容体が自然免疫系を活性化することが報告され注目されている。それらは多種多様であるが，Immunoreceptor tyrosine-based activation motif（ITAM）を介して活性化シグナルを伝え

る共通点があり，ITAM 受容体とも表現される。TLR ファミリーの神経障害痛への関与は報告されているが，ITAM 受容体については未だ不明である。今回我々は ITAM 受容体関連分子のノックアウトマウスを用いて神経障害痛モデルを作製しその役割について検討を行った。これらのマウスの中には野生型マウスと異なった表現型を示した系統が存在し，ITAM 受容体の中には神経障害による疼痛発現の調節系へ関与するものもあることが示唆された。

（18）QX-314 はカプシエイトまたはアナンドアミドとの併用投与で侵害熱刺激反応を抑制する

中川　弘[1]，樋浦明夫[2]
（[1]徳島大学病院障碍者歯科，[2]徳島大学歯学部口腔組織）

平成 22 年度の本研究会で，「TRP チャネルを利用した新しい局所麻酔薬の開発―TRPV1, TRPA1 および TRPM8 の比較」と題して報告した。今回，辛くないトウガラシから抽出されたカプサイシン様物質であるカプシエイトと QX-314 および内因性のカプサイシン・アナログであるアナンドアミドと QX-314 の併用投与が侵害熱刺激に与える影響について調べた。実験方法：ラットをカプシエイト(25mM)単独投与群（6 匹），2%QX-314 単独投与群（6 匹），カプシエイト/QX-314 併用投与群（6 匹），vehicle(DMSO)投与群（6 匹）に分け，各群に Hargreaves 法による侵害熱刺激（強度：50）を行い，痛みで後足を挙上するまでの時間を測定した。なお，投与する前の計測値を Baseline とした。投与後 10 分から 5 時間まで計測した。また，アナンドアミドについても，アナンドアミド(5mM)単独投与群（6 匹），QX-314 単独投与群（6 匹），アナンドアミド/QX-314 併用投与群（6 匹），vehicle 投与群（6 匹）に分けて，同様に行動試験を行った。結果と考察：カプシエイト単独投与群は投与直後から 1 時間の間，QX-314 単独と vehicle 単独投与群に比べて有意な痛覚鈍麻を示した。カプシエイト/QX-314 とアナンドアミド/QX-314 併用投与群は痛覚鈍麻を示し，特に投与後２，３時間後に著しい鈍麻を示した。QX-314 はカプサイシンだけでなく，カプシエイトまたはアナンドアミドと併用することで，侵害熱刺激に対する麻酔効果を発揮する。

（19）覚醒サル体性感覚野ニューロンの侵害熱刺激に対する応答

海野俊平，本田訓也，岩田幸一（日本大学歯学部生理学講座）

侵害熱刺激の知覚における大脳新皮質体性感覚野の役割を解明するために，ニホンザルに侵害熱刺激の温度変化を弁別する課題を訓練した。サルは課題用操作盤を設置したモンキーチェアに座って実験を行った。熱刺激用プローブはサル顔面の口髭部に置いた。熱刺激弁別課題は，操作盤上のボタン内部のライトが点灯することで試行が開始し，サルがボタンを押し続けると 4 秒後にプローブ温度が 35℃から 45-48℃（T1）に上昇する。さらにボタンを押し続けると 6-10 秒後にプローブ温度がさらに 0.2-0.8℃（T2）上昇する。サルがこのわずかな温度上昇を検出し，3 秒以内にボタンを離せば報酬としてジュースが与えられる。比較のため操作盤上のライトが点灯し，そのライトの明るさの変化を検出する光弁別試行も行わせた。さらに熱刺激へのニューロン応答に対する注意の影響を検討するため，光弁別の遂行中に光刺激と同時に熱刺激を与える試行も行った。この課題遂行中の単一ニューロン活動を中心溝後方の体性感覚野における顔面皮膚領域より記録した結果，熱刺激に特異的に応答するニューロンが記録された。T1 と T2 の両方に対して応答するニューロンも見られたが，多くのニューロンは T1 か T2 のどちらかにのみ応答した。また T1 に応答したニューロンでは，熱刺激が光弁別遂行中に与えられた場合には応答が有意に減弱した。このことからこれらの熱感受性ニューロンが課題遂行に必要な侵害熱刺激の弁別に

一定の役割を果たしていることが推測される。

（20）慢性腰痛患者における腰痛関連脳活動と心理物理的尺度との関係

松尾洋平[1]，倉田二郎[2]，吉田勝浩[1]，関口美穂[1]，二階堂琢也[1]，紺野愼一[1]
（[1]福島県立医科大学整形外科学，[2]東京医科歯科大学 麻酔科）

背景　腰痛患者の中には，明らかな器質的異常の認められない難治性の非特異的腰痛患者が存在し，脳の機能異常である認知・情動障害が関与している。近年，機能的 MRI(fMRI)研究で，さまざまな刺激や感覚・認知活動で，共通して陰性賦活を呈する脳領域があることが報告され，Default Mode Network (DMN)と呼ばれている。慢性腰痛患者における腰痛関連脳活動，周辺脳ネットワークおよび疼痛の心理物理尺度との関係を調べることを目的に，fMRI を用いた観察研究を行った。方法　対象は慢性腰痛患者９名および正常ボランティア８名である。安静期と腰部圧迫刺激とを30秒間毎に交互に3回繰り返すブロック型パラダイムを用いた。調査項目は，腰部圧迫刺激で惹起される Blood oxygenation level-dependent (BOLD)信号と Short-form McGill Pain Questionaire 日本語版(MPQ)とした。BOLD 信号の解析には，ソフトウェア BrainVoyager QX を使用した。差分解析にて，対照群と慢性腰痛群の賦活の差がある領域を分析し，求められた領域の BOLD 信号と MPQ 得点との相関を求めた。結果　対照群では，右島皮質，右前頭前皮質，左前帯状皮質，および左後帯状皮質の陽性賦活と，両側 DMN の陰性賦活が認められた。慢性腰痛群では，両側 DMN と左補足運動野に陰性賦活が認められた。右側 DMN において，慢性腰痛群の BOLD 信号変化量が対照群に比して小さかった。差分解析では，左前帯状皮質と左前頭前皮質の賦活に差が認められた。両領域において，MPQ 得点が大きいほど BOLD 信号変化最大値が低下する傾向が認められた。結論　本研究の結果から，慢性腰痛患者では，DMN 陰性賦活の減少と，慢性疼痛に伴う認知・情動障害が関連している可能性がある。慢性腰痛患者では，下行性疼痛抑制系の起始点である前帯状皮質と前頭前皮質の機能が低下している可能性がある。

（21）精神医学からみた痛み

西原真理（愛知医科大学学際的痛みセンター）

痛みとは間違いなく非常に複雑な現象である。これまで様々な痛みの動物モデルが開発され，分子レベルまで研究が進んでいるものの，臨床的に効率の良い治療方法が確立されているとは言えず，基礎と臨床の橋渡しが重要な課題である。また痛みを総合的に把握するためには局所にとどまらず，入力から出力まで神経系を網羅した形で検証しなくてはならないだろう。現在，痛みは侵害受容性疼痛，神経障害性疼痛，心理的要因の強い疼痛に分類されているが，実際の臨床場面で遭遇する痛みを有する患者を診察していると，そのように単純に分けることは困難であり，空間軸，時間軸などを組み合わせて考慮した新しい分類法も必要だと思われる。また，痛みは症状の遷延化と共に精神機能に影響を及ぼす。これは大脳機能の可塑的変化としての精神症状と考えることも可能である。そもそも，痛みの定義には情動的な側面が含まれており，痛みを理解するために精神医学的な視点は必要不可欠であろう。実際，演者の所属している学際的痛みセンターでは精神科医に紹介された患者のうち，９０％が操作的診断により精神障害を有していた。これらの患者は精神医学的に様々な障害に分類されたが，その分類として 1.痛みに直接影響しうる疾患：大うつ病，不安障害，精疼痛性障害，2.痛みの慢性化，難治化に影響する疾患：精神病性障害，認知症，発達障害，人格障害など，を提唱したい。また精神障害とは別のディメンジョンで痛みの背景にある心理学的問題にも注意する必要がある。この中でも最近注目されている痛みの破局化

思考は痛みの遷延化や機能障害にも影響することが知られており，治療前の破局化思考のスコアは治療者が感じる治療困難度と相関することが分かった。本研究会ではこれらに加えて，精神障害のモデル動物における痛みの評価についても述べ，今後の研究に対して足がかりの一つを示してみたい。

（22）GDNF による抗アロディニア作用の新しい分子メカニズム

福岡哲男，野口光一（兵庫医科大学解剖学講座神経科学部門）

Intrathecal delivery of glial cell derived neurotrophic factor (GDNF) prevents spontaneous firing of injured primary afferent A-fibers and neuropathic pain symptoms after peripheral nerve injury. The molecular mechanism, however, has not been fully understood. Here, we demonstrated that GDNF infusion beginning at 3 days after L5 spinal nerve ligation reversed hyperexcitability of injured A-fiber neurons mainly by mitigation of Kv4.1-mediated A-type potassium current reduction. GDNF also reversed the up-regulation of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and preprotachykinin (encoding substance P) mRNAs in the injured TrkC-positive neurons innervating muscles. Gracile nucleus neurons receiving A-fiber input from lower extremity expressed receptors for these peptides. Bolus intracisternal injection of TrkB-fc (a BDNF scavenger) or L703,606 (a NK1 antagonist) transiently and partially attenuated mechanical allodynia. These results imply that GDNF reverse once-developed mechanical allodynia by reversal of injured muscle afferents-mediating facilitation of touch-sense processing in gracile nucleus.

6. 温熱生理研究会

2012 年 9 月 4 日－9 月 5 日

代表・世話人：中村和弘（京都大学生命科学系キャリアパス形成ユニット）
所内対応者：富永真琴（岡崎統合バイオサイエンスセンター　細胞生理）

（1）暑熱負荷時の脳血流量分配

芝﨑　学[1]，佐藤耕平[2]，岡崎和伸[3]，宮本忠吉[4]，小河繁彦[5]
([1]奈良女子大学，[2]日本女子体育大学基礎体力研究所，[3]大阪市立大学，[4]森ノ宮医療大学，[5]東洋大学)

（2）Effect of daily exercise on thermal preference and heat-escape/cold-seeking behavior in mice: exercise training modulates feeling of “hot”?

C. H. Lin[1], K. Tokizawa[2], M. Nakamura[2], Y. Uchida[2], K. Nagashima[1,2,3]
([1]Sport Science for the Promotion of Active Life; [2]Laboratory of Integrative Physiology (Body Temperature and Fluid Laboratory), Faculty of Human Sciences; [3]Institute of Applied Brain Sciences, Waseda University)

（3）女性ホルモンのエストロゲンが雌ラットの生理機能に与える影響

丸井朱里，松田真由美，永島　計（早稲田大学人間科学学術院　体温・体液研究室）

（4）血小板由来サイトカイン CD40L による COX-2 誘導と発熱

松村　潔（大阪工業大学・工学部・生命工学科）

（5）温度感受性チャネル

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）

（6）脊椎動物のTRPA1およびTRPV1の機能進化により生じた温度/化学感覚の種間多様性

齋藤　茂[1]，中塚一将[2]，福田直美[1]，太田利男[2]，富永真琴[1,3]
([1]岡崎統合バイオ（生理研）・生命環境，[2]鳥取大学・農，[3]総研大・生理)

（7）環境温度による TRPM8 の温度閾値は PIP2 の結合を介して変化する

藤田郁尚[1]，高石雅之[1]，内田邦敏[2]，曽我部隆彰[2]，富永真琴[2]
([1]株式会社マンダム，[2]自然科学研究機構)

（8）慢性的な TRP チャネル刺激によるヒト褐色脂肪組織の増量

米代武司[1]，会田さゆり[2]，松下真美[2]，亀谷利光[3]，河合裕子[3]，岩永敏彦[1]，斉藤昌之[2]
([1]北海道大学，[2]天使大学，[3]LSI 札幌クリニック)

（9）電位依存性プロトンチャネルのゲーティングを制御する分子機構

藤原祐一郎[1,2]，黒川竜紀[1]，竹下浩平[1,3]，中川敦史[2,3]，岡村康司[1,2]
([1]大阪大学大学院医学系研究科統合生理学，[2]大阪大学大学院生命機能研究科，[3]大阪大学蛋白質研究所)

(10) 適応熱産生におけるナルディライジンの役割

西英一郎（京都大学大学院医学研究科循環器内科学）

(11) 野外環境下のイネ・トランスクリプトームの統計モデリング

永野　惇（京都大学・生態学研究センター）

(12) Has any cross point of thermo- and hygro- sensations?

Hong Luo（Global Science and Culture Publishing）

(13) ゼニガタアザラシの褐色脂肪組織による体温調節

櫻井裕太[1]，岡松優子[2]，角川雅俊[3]，小林万里[1,4]，斉藤昌之[5]，木村和弘[2]
([1]東京農大・院・生物産業，[2]北大・獣医，[3]おたる水族館，[4]NPO 北の海の動物センター，[5]天使大・看護栄養)

（14）視索前野ニューロン活動の光操作による褐色脂肪交感神経活動の調節

中村佳子[1]，日置寛之[2]，片岡直也[1]，金子武嗣[2]，中村和弘[1]

([1]京都大学生命科学系キャリアパス形成ユニット，[2]京都大学医学研究科高次脳形態学)

（15）社会的敗北ストレスによる高体温は延髄縫線核を介した褐色脂肪熱産生が寄与する

片岡直也，中村和弘（京都大学生命科学系キャリアパス形成ユニット）

（16）視床下部―延髄投射ニューロンの光刺激による褐色脂肪熱産生の惹起

中村和弘[1]，片岡直也[1]，日置寛之[2]，金子武嗣[2]

([1]京都大学生命科学系キャリアパス形成ユニット，[2]京都大学医学研究科高次脳形態学)

（17）精神性発汗・血管収縮の体温調節における意義

岩瀬　敏（愛知医科大学生理学）

（18）発熱メカニズム研究の流れ

松村　潔（大阪工業大学・工学部・生命工学科）

【参加者名】

斉藤昌之（天使大学），米代武司（北海道大学），永島　計（早稲田大学），松田真由美（早稲田大学），林　政賢（早稲田大学），丸井朱里（早稲田大学），伊藤杏奈（早稲田大学），櫻井裕太（東京農業大学），佐藤暢夫（東京女子医科大学），三好　一（静岡県立大学），亀山大輔（静岡県立大学），楠堂達也（中部大学），岩瀬　敏（愛知医科大学），犬飼洋子（愛知医科大学），西英一郎（京都大学大学院），中村和弘（京都大学），片岡直也（京都大学），中村佳子（京都大学），永野　惇（京都大学），岡村康司（大阪大学），松村　潔（大阪工業大学），芝﨑　学（奈良女子大学），山口秀明（(株）アイシン・コスモス研究所），佐合康弘（(株）デンソー），藤田郁尚（株式会社マンダム），Hong LUO（Global Science and Culture Publishing），酒井雅子（アイシン精機（株）），寺本正澄（アイシン精機（株）），榊原文彦（アイシン精機（株）），安　鋼（コタ株式会社），富永真琴（岡崎統合バイオ），鈴木喜郎(岡崎統合バイオ)，齋藤　茂(岡崎統合バイオ)，内田邦敏（岡崎統合バイオ），加塩麻紀子（岡崎統合バイオ），常松友美（岡崎統合バイオ），周　一鳴（岡崎統合バイオ），高山靖規（岡崎統合バイオ），田淵紗和子（岡崎統合バイオ），橘高裕貴（岡崎統合バイオ），孫　武平（岡崎統合バイオ），西本れい（岡崎統合バイオ），Erkin Kurganov(岡崎統合バイオ)，渡辺成樹(岡崎統合バイオ)，謝　維嬌(岡崎統合バイオ)，川本恭平(生理学研究所)，佐藤　浩（生理学研究所），戸田知得（生理学研究所），沼田かお理(生理学研究所)，東島眞一(生理学研究所)，岡本士毅（生理学研究所）

【概要】

H24 年度の温熱生理研究会（代表　京都大学・中村（以下敬称略））には，生理学，生化学，分子生物学，遺伝学，農学，獣医学に至る様々な分野の研究者が参集し，２日間にわたって最新の研究成果発表と活発な討論が行われた。

２題の招待講演では最近注目される温熱生理学のトピックスが発表された。大阪大・岡村らが電位依存性プロトンチャネル VSOP/Hv1 の構造解析などからその開口機構を調べ，それが発熱に伴う貪食細胞での活性酸素産生に関わることを示した。京都大・西はナルディライジン欠損マウスの表現型解析などから褐色脂肪熱産生の新たな調節機構を報告した。

３題の温熱生理学レクチャーでは温熱生理学の基礎知識を入門者にも分かりやすく解説した。岡崎統合バイオ・富永が TRP チャネルをはじめとする温度感受性チャネルに関する最新知見を総説した。愛知医大・岩瀬はヒトの精神性発汗・血管収縮の機構に関する基本的考え方を提示した。大阪工業大・松村は古くから続く発熱機構研究に関するこれまでの歴史について解説した。

一般演題では１３題の最新研究成果が発表された。岡崎統合バイオ・齋藤らは脊椎動物における TRPV1 と TRPA1 の進化過程について報告し，株式会社マンダムの藤田らは TRPM8 の活性化温度閾値が PIP_2 の結合によって調節されることを報告した。Global Science and Culture

Publishing の Luo は TRP チャネルが温度だけでなく湿度の感知にも関与する可能性を提示した。

奈良女子大・芝崎らは暑熱負荷時の脳動脈間の血流量分配をヒトで測定することに成功した。早稲田大・Lin らはマウスに運動をさせると温度嗜好性と温度選択行動が変化することを報告し，丸井らは雌ラットのエストロゲン欠乏が時間特異的な体温低下と心拍増加を起こすことを示した。大阪工業大・松村はラットへの血小板由来サイトカイン CD40L 投与による COX-2 誘導を見出し，脳出血性の発熱に関与する可能性を示した。京都大の永野はイネの葉のトランスクリプトームの変動が気温と体内時計で説明できることを報告した。

北海道大の米代らは長期の寒冷刺激やカプシノイド投与によってヒトの寒冷誘導熱産生を上昇させることに成功した。東京農業大の櫻井らは皮下脂肪での体熱保持で寒冷を生き抜くと考えられてきたゼニガタアザラシに褐色脂肪が存在することを報告した。京都大・中村佳子らはラット視索前野ニューロン活動の光遺伝学的活性化によって褐色脂肪交感神経活動を抑制することに成功し，片岡らは社会ストレス性体温上昇に寄与する褐色脂肪熱産生が延髄縫線核のニューロンを介して惹起されることを報告し，さらに中村和弘らは視床下部背内側部から延髄縫線核への投射ニューロン特異的な光活性化による褐色脂肪熱産生の惹起に成功した。

（1）暑熱負荷時の脳血流量分配

芝﨑　学[1]，佐藤耕平[2]，岡崎和伸[3]，宮本忠吉[4]，小河繁彦[5]
([1]奈良女子大学，[2]日本女子体育大学基礎体力研究所，
[3]大阪市立大学，[4]森ノ宮医療大学，[5]東洋大学)

暑熱環境暴露や運動などによって深部体温が上昇すると，発汗や皮膚血管拡張によって熱放散が促進される。高体温時の皮膚血管拡張によって，多くの血液が皮膚循環へ分配される。高体温時における各臓器への血流配分に関してはいくつかの研究グループによって報告されているが，頭部への血流配分に関しては未だ不明な点が多い。頭部へ主に血液を供給する総頸動脈は，頸動脈洞にて内頸動脈と外頸動脈に分岐し，それぞれが，大脳皮質領域と顔面および頭皮に血液を供給する。興味深いことに，体温上昇をもたらす動的運動時の内頸動脈および外頸動脈への血流量分配は，運動強度に伴い変化することが示された。高体温時に中大脳動脈血流が低下することが報告されているが，頭部への血流配分が高体温時にどう変化するかは不明である。そこで，本研究では超音波診断装置により，右の外頸動脈および内頸動脈の血管径（cm）と平均血流速(cm/s)の計測から血流量（ml/min）を算出し，暑熱負荷時の頭部への血流分配について検討した。各被験者は，食道温および皮膚温のセンサーを装着した後，水循環服を着用し，ベッドの上に仰臥位の姿勢で安静にした。約 30 分間の安静の後，水循環服に 50℃の温水を循環し，食道温が約 1.5℃上昇するまで加温した。暑熱負荷によって，食道温と平均皮膚温はそれぞれ 37.0±0.3 と 33.4±0.9℃から 38.5±0.3 と 38.2±0.8℃までそれぞれ上昇した。内頸動脈血流量は体温の上昇に伴い負荷前 283±41ml/min から暑熱負荷時 202±36ml/min に 29±6%低下したが，外頸動脈血流量は負荷前 154±91ml/min から暑熱負荷時 298±127ml/min に顕著に増加した（both, $P<0.01$）。しかしながら，各被験者内における相対的な外頸動脈増加と内頸動脈血流低下に有意な相関関係は認められなかった。すなわち，暑熱負荷時の内頸動脈血流量の低下は，外頸動脈血流量の増加によるものだけではない可能性が示唆された。

（2）Effect of daily exercise on thermal preference and heat-escape/cold-seeking behavior in mice: exercise training modulates feeling of “hot”?

C. H. Lin[1], K. Tokizawa[2], M. Nakamura[2], Y. Uchida[2], K. Nagashima[1,2,3]
([1]Sport Science for the Promotion of Active Life; [2]Laboratory of Integrative Physiology
(Body Temperature and Fluid Laboratory), Faculty of Human Sciences;
[3]Institute of Applied Brain Sciences, Waseda University

While it is well known that exercise training can improves heat tolerance in both humans and rodents. However, dehydration, hypovolemia and plasma hyperosmolality attenuate this tolerance. The aim of the present study was to evaluate the role of behavioral thermoregulation in heat tolerance / intolerance. Mice housed with or without a running-wheel for 8 wks (WR and NWR groups, n=40 each) were used. A body temperature (T_b) measurement device was implanted in the mice, and the animals received a s.c. injection of isotonic- or hypertonic-saline (1 ml/100 g of body wt; 154 or 2,500 mM, IS or HS subgroup) and were placed in a box with 5 Peltier boards at the bottom. Three experiments were conducted for 90 min: a) at board temperatures of 28°C or 39°C; b) an operant-behavior setting: each board was set at 39°C and the right-end of the board was changed to 20°C within 60 sec only when the mouse moved to the left of the board; and c) a thermal mosaic setting: each board was set at either 15°C, 22°C, 28°C, 35°C, or 39°C with a 6-min interval. When the heat escape/cool seeking setting was unavailable, the WR group displayed higher values of body core temperature comparison with those of the NWR group. In the heat (39°C) with operant behavior setting available condition NWR group with HS injection had significantly lower counts of the heat escape/cool seeking behavior but higher values of core temperature compared with those with IS injection. Salt-loading-induced decreased operant counts and increased core temperature could be significantly attenuated by exercise training. The WR group preferred lower temperatures than the NWR group without any differences between the subgroups (e.g., 33.4 ± 0.3°C and 34.7 ± 0.1°C in IS groups; 32.8 ± 0.3°C and 34.4 ± 0.2°C in HS groups). These results indicate that exercise mice preferred to stay at a cooler environment compared to the sedentary controls. Our data indicate that exercise training may alter thermal preference and behavioral responses, thereby diminishing the effect of dehydration.

Keywords: physical activity; hyperosmolality; behavioral thermoregulation; thermal perception

（3）女性ホルモンのエストロゲンが雌ラットの生理機能に与える影響

丸井朱里，松田真由美，永島　計（早稲田大学人間科学学術院　体温・体液研究室）

1.はじめに

われわれはエストロゲンが体温調節に与える影響を報告している。最近，エストロゲンの心血管系に与える影響が注目されおり，アドレナリンβ作用を介して発現すると考えられている。研究では，エストロゲンの心拍数日内リズムに対する影響を調べ，同時に深部体温の日内リズムとの関係を調べることを目的にした。

2.実験方法

7 週齢の成熟メスラットを用い，環境温 27℃，12/12h の明暗サイクル(7:00am より明期)，自由摂食飲水の条件下で飼育した。麻酔下に，両側卵巣摘出をした後，２本のシリコンチューブ（カネカメディックス；長さ，3cm,；内径，1.57mm；OVX 群），もしくはエストラジオール(E2,；シグマアルドリッチジャパン；50.6mg)含有シリコンチューブ(OVX-E2 群）を皮下留置した。さらに，腹腔内に体温，活動量，心電図測定用ラジオテレメーター（Mini Mitter Company, PDT-4000 HR E-Mitter）を留置した。術後 10 日間の回復後，麻酔下にシリコンチューブを取り出した。体温，活動量，心電図測定は初回の手術後

２４日間行った。

3.結果

体温は OVX 群が OVX-E2 群に比べて暗期の半ば（0:30-1:00 am, OVX, 37.4±0.1℃; OVX-E2, 38.0±0.3℃）で有意に低かった。チューブを摘出後の OVX-E2 群では同様な差は見られなくなった（1:30-2:00 am, OVX, 36.9±0.1℃; OVX-E2, 38.0±0.2℃）。心拍数は OVX 群が OVX-E2 群に比べて一日を通して有意に高かった（明期, OVX, 405。4 ±13.2; OVX-E2, 355.0±17.4 beats/min, 暗期, OVX, 465.0±13.6; OVX-E2, 395.5±18.6 beats/min）。チューブ摘出後，OVX-E2 群の心拍数は日数とともに上昇し（３日目, 386.5±16.6; ７日目, 404.8±23.1; 11日目, 410.3±26.4 beats/min），チューブを取り出して約 10 日後で，両群の差は見られなくなった(１１日目, OVX, 421.5±19.0 beats/min)。

4.考察

本研究から，エストロゲンの欠乏は暗期の時間特異的な体温低下を引き起こすこと，心拍数増加をきたすことが示唆された。エストロゲンの欠如による体温低下が起きた暗期の特異的な時間帯において，活動量と心拍数では変化が認められなかった。よってエストロゲンが与える深部体温の調節に活動量と心拍数は関与しないと考えられた。

（4）血小板由来サイトカイン CD40L による COX-2 誘導と発熱

松村　潔（大阪工業大学・工学部・生命工学科）

【背景と目的】脳出血にはしばしば発熱が伴う。私たちはラット脳出血-発熱モデルを確立し，発熱メカニズムの解明を行ってきた。その結果，脳出血による発熱にはシクロオキシゲナーゼ-2（COX-2）が関与すること，COX-2 は主に脳血管内皮細胞に誘導されることが明らかとなった。しかし脳出血時に COX-2 が誘導される仕組みは不明である。そこで本研究では活性化した血小板から放出されるサイトカイン CD40L が COX-2 を誘導し，発熱を引き起こす可能性について検討した。

【方法】

C57BL6 マウスをペントバルビタールで麻酔し，腹腔内に体温テレメータを留置した。1 週間以上の回復期間をおき，isoflurane 麻酔下で側脳室に CD40L(1mg)を投与し体温を測定した。別のグループのマウスでは体温は測定せず，CD40L 投与 4 時間後に脳を採取し，COX-2 の発現を免疫組織化学法で検討した。

【結果と考察】

CD40L 投与により，COX-2 誘導と体温上昇が起こった。COX-2 誘導は脳血管内皮細胞で顕著であった。対照実験として人工脳脊髄液（CD40L の溶媒）を投与した群では，COX-2 誘導と体温上昇は軽微であった。以上の結果は，脳出血時には血管から漏出した血小板から放出された CD40L が COX-2 誘導と発熱を引き起こす可能性を示唆する。

（5）温度感受性チャネル

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）

哺乳類で９つ知られている温度感受性 TRP チャネルに加えて，最近，いくつかの温度感受性チャネルが報告されているので，まとめて概説したい。最初の温度感受性チャネルとして報告されたのは，1997 年に遺伝しクローニングされたカプサイシン受容体 TRPV1 である。その後，哺乳類では熱い温度で活性化する TRPV2，冷たい温度で活性化する TRPM8, TRPA1（TRPA1 が直接冷刺激で活性化される証拠はない），体温近傍の温かい温度で活

性化する TRPV3, TRPV4, TRPM2, TRPM4, TRPM5 の９つが温度感受性 TRP チャネルとしてひとくくりにされているが，2006 年に TRPM2 が９つ目のチャネルとして報告されてからは新しいメンバーの報告はなかった。TRPM2 は全く刺激がない状態では約 47 度の活性化温度閾値を示し，それが酸化によって大きく低下することが分かっている。2011 年に感覚神経細胞に発現して侵害性熱刺激を感知するチャネルとして TRPM3 が報告された。２ポアドメイン K+チャネルの温度感受性は以前から報告されており，侵害性熱刺激を感知して開口して過分極をもたらし，鎮痛に働くのではないかと考えられていたが，最近，複数の異なるチャネルの温度感受性がいくつか報告されている。イオンチャネルではないが，2011 年に ER の Ca^{2+} sensor として働いて Orai1 と結合して store-operated Ca^{2+} entry に関与する STIM1 の温度感受性が報告された。また，2012 年になってあいつで電位作動性プロトンチャネル Hv1 と Ca^{2+}-activated Cl^-チャネル anoctamin 1, anoctamin 2 の温度感受性が報告された。Anoctamin 1 は感覚神経に発現して侵害性熱刺激感知に働くと言い，TRPV1 とほぼ同じ 44 度の活性化温度閾値を持つと報告された。これら，温度感受性チャネルの最近をまとめて紹介した。

（6）脊椎動物の TRPA1 および TRPV1 の機能進化により生じた温度/化学感覚の種間多様性

齋藤　茂[1]，中塚一将[2]，福田直美[1]，太田利男[2]，富永真琴[1,3]
（[1]岡崎統合バイオ（生理研）・生命環境，[2]鳥取大学・農，[3]総研大・生理）

TRP チャネルは温度刺激や多様な化学物質により活性化されるセンサーであり，外環境の様々な刺激の受容に関わっている。そのため，TRP チャネルの進化過程における機能変化は結果として動物種間の感覚の多様化につながる。本研究では侵害性の温度刺激や刺激性の化学物質の受容体である TRPA1 と TRPV1 の機能の種間多様性とその進化過程を明らかにするためにニシツメガエルの TRPA1 と TRPV1 およびグリーンアノールトカゲの TRPA1 の機能解析を行い，他の動物種のオーソログと比較した。更に TRPV1 遺伝子の起源を推定するために TRPV サブファミリーの分子系統解析を行った。

ニシツメガエル TRPV1 は哺乳類オーソログと同様に高温により活性化されたものの，カプサイシンの感受性は著しく低かった。一方，TRPA1 は哺乳類では低温刺激により活性化されるが（温度感受性が無いという報告もある），ニシツメガエルとグリーンアノールトカゲでは高温により活性化された。哺乳類 TRPA1 を活性化する複数の刺激性の化学物質に対する感受性は両種の TRPA1 でも維持されていた。また，ニシツメガエルの感覚神経細胞では TRPA1 と TRPV1 が機能的に共発現しており哺乳類の場合と類似した発現パターンを示すことが分った。

本研究の結果と既知の情報を合わせると以下の進化過程が推測される。1) TRPA1 は動物の初期の進化過程で既に高温および刺激性の化学物質の感受性を獲得し，この特性は脊椎動物の祖先でも維持されていた，2) TRPV1 は脊椎動物の進化過程の初期に新たに生じ，高温感受性を獲得し，3) 更に，TRPV1 は既に存在した TRPA1 と感覚神経細胞で共発現するようになった。4) 脊椎動物における TRPV1 の獲得がその後の進化過程における TRPA1 の温度感受性の多様化に貢献した。

（7）環境温度による TRPM8 の温度閾値は PIP2 の結合を介して変化する

藤田郁尚[1]，高石雅之[1]，内田邦敏[2]，曽我部隆彰[2]，富永真琴[2]
（[1]株式会社マンダム，[2]自然科学研究機構）

近年，温度感受性 TRP（Transient receptor potential）チャネルの研究の進展によって温度感覚の分子メカニズムが明らかになりつつある。しかし，環境温度の変化によって起こる温度感覚の相対性（同じ温度でもその前に暴

露されている温度によって温かくも冷たくも感じること）でのは，現在明らかになっている温度感受性 TRP チャネルの温度受容分子メカニズムでは説明ができない。それは，温度感受性 TRP チャネルの温度閾値が環境温度に左右されないと考えられているからである。冷刺激受容体である TRPM8 は約 27℃の活性化温度閾値を持つが，それが環境温度によって変化するという報告はない。本研究では，TRPM8 の活性化温度閾値が環境温度によって変化し得るかどうか，TRPM8 を強制発現させた HEK293 細胞を用いた電気生理学的手法によって調べた。その結果，ラット及びヒト TRPM8 の活性化温度閾値は環境温度に依存して変化することが明らかになった。また，この活性化閾値の変化は phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate (PIP_2)を減少させる種々の薬剤で，有意に抑制されることを見出した。PIP_2 は TRPM8 の C 末端に結合して活性を抑制することが知られているが，既知の PIP_2 結合部位のうち，1008 番目のアルギニンの点変異体では，環境温度による活性化閾値変化が観察されなかった。これらの結果より，TRPM8 の活性化温度閾値は環境温度によって PIP_2 の結合を介して変化することが示された。

（8）慢性的な TRP チャネル刺激によるヒト褐色脂肪組織の増量

米代武司[1]，会田さゆり[2]，松下真美[2]，亀谷利光[3]，河合裕子[3]，岩永敏彦[1]，斉藤昌之[2]
（[1]北海道大学，[2]天使大学，[3]LSI 札幌クリニック）

【背景】褐色脂肪組織（BAT）は代謝的熱産生の場として体温と体脂肪の調節に寄与している。マウスでは寒冷やカプサイシン，カプシノイドにより温度受容チャネル（TRP）を慢性的に刺激すると交感神経・β 受容体を介して BAT が増生し，エネルギー消費が上昇して肥満が解消される。我々は最近，ヒトの BAT が陽電子断層法（PET）で評価可能であること，寒冷やカプシノイド刺激により急性的に熱産生を起こすことを明らかにした。本研究では健常者を対象に寒冷やカプシノイド刺激を長期間継続することによる BAT の増量と，それによるエネルギー代謝への影響について検証した。

【方法と結果】健常被験者を対象に 19℃，2 時間の寒冷刺激後に PET を行って BAT 活性を評価した。BAT が検出されなかった，または検出されたが活性が低かった 9 名を対象に室温 17℃，2 時間/日の寒冷刺激を 6 週間行い（寒冷群），再度 PET により BAT 活性を評価すると，0 週に比べて有意に上昇した。同時に間接熱量測定法により急性寒冷刺激に対するエネルギー消費の応答（寒冷誘導熱産生，CIT）を測定したところ，0 週に比べ 6 週後で有意に上昇した。一方，積極的な寒冷刺激を行わない 10 名（対照群）についても同様に調べたところ，CIT は変化しなかった。0 週から 6 週後の体脂肪量の変化を調べると，対照群に比べ寒冷群は顕著に減少した。また，CIT は BAT 活性と強く正相関したので，CIT は BAT 活性および量の指標になると考えた。次に BAT 非検出者 7 名を対象にカプシノイド 9 mg/日を 6 週間摂取する前後に CIT を測定したところ，有意に上昇した。一方，同一被験者がプラセボを 6 週間摂取する前後では変化しなかった。

【結論】寒冷刺激やカプシノイドによる TRP 刺激を慢性的に行うことによってヒトの BAT が増量可能であり，肥満対策として有望であることが示唆された。

（9）電位依存性プロトンチャネルのゲーティングを制御する分子機構

藤原祐一郎[1,2]，黒川竜紀[1]，竹下浩平[1,3]，中川敦史[2,3]，岡村康司[1,2]
（[1]大阪大学大学院医学系研究科統合生理学，[2]大阪大学大学院生命機能研究科，[3]大阪大学蛋白質研究所）

電位依存性プロトンチャネルは，ヒト精子，気管上皮のほか，哺乳類血球細胞に多く発現し，好中球などの貪

食細胞での活性酸素酸性を制御する因子のひとつとして研究されてきた。病原菌の侵入などで，活性化した好中球は，NADPH オキシダーゼの作用によって，活性酸素である $O2^-$を細胞外や，異物や病原菌を取り込んだファゴソーム膜中に放出する。電位依存性プロトンチャネルは，プロトンを細胞質側から運ぶことで O_2^-産生に伴う電荷のアンバランスを補償するとともに，細胞質の酸性化を防ぐことでオキシダーゼ活性を維持する。またファゴソーム内にプロトンを供給して O_2^-以降の代謝経路（H_2O_2 や HOCl）を活性化し，消化過程を促進する。

電位依存性プロトンチャネルの分子実体である VSOP/Hv1[1]は血球細胞に発現し，そのノックアウトマウスでは好中球の活性酸素産生量が低下し免疫系の異常を呈する。電位依存的ゲーティング（チャネルの開閉の制御）や，プロトン選択的透過性といった基本的なプロトンチャネル機能は S1-S4 の電位センサードメインから成るプロトマーに内包されている[2] [3]（哺乳類がもつイオンチャネルとして最小の分子量）。一方細胞内コイルドコイル領域を介したダイマー化により，２つのプロトマー間でゲーティングが協調し，よりシャープな電位依存性が実現されている。この協調的ゲーティングにおけるコイルドコイル領域の役割を詳細に明らかにするため，この領域に着目してＸ線結晶構造解析と円二色性分光解析，変異体・キメラ体の電気生理解析などを行った[4]。その結果，マウス VSOP/Hv1 のコイルドコイルは，体温付近で会合が起こらなくなること，また，コイルドコイルから膜貫通領域の S4 までが一体のαヘリックスを形成することなどを明らかにした。このことは，コイルドコイルがチャネルの会合状態を決めるだけでなく，ゲーティングの調節にも重要であり，膜貫通領域の構造変化がコイルドコイル構造を介して伝達されている可能性を示している。また，発熱に伴い活性化する貪食細胞での活性酸素産生を最適化するための分子基盤の一つを形成すると考えられる。

[1] Sasaki et al, Science, 312(5773):589-92.2006
[2] Koch et al, PNAS, 105(26):9111-6.2008
[3] Sakata et al, PNAS, 107(5):2313-8.2010
[4] Fujiwara et al, Nat Commun, 3:816.2012

（10）適応熱産生におけるナルディライジンの役割

西英一郎（京都大学大学院医学研究科循環器内科学）

ナルディライジン（NRDc）は，我々が増殖因子 HB-EGF の結合タンパク質として同定したメタロプロテアーゼで，ADAM プロテアーゼの活性化を介して HB-EGF など様々な膜タンパク質の細胞外ドメインシェディングを増強する（Nishi et. al. EMBO J. 2001, Nishi et. al. JBC 2006）。NRDc は可溶型酵素で，細胞質と核をシャトリングし，かつシグナルペプチド非依存性に分泌され，局在特異的な多機能性（細胞質：プロテアーゼ，核：転写調節，細胞外：シェディング調節）を有することが示唆されている。我々は NRDc 欠損マウス（NRDc-/-）の解析から，同分子が神経軸索の成熟と髄鞘形成に必須であることを報告したが（Ohno et. al. Nat. Neurosci. 2009），最近さらに NRDc-/-が低体温を呈し，低温下で体温恒常性が維持できないことが明らかになった。

寒冷暴露下で NRDc-/-は野生型マウスよりも激しく，遷延するふるえを呈したことから，寒さの感知およびふるえ熱産生には異常がないことが示唆された。褐色脂肪組織（BAT）における非ふるえ（適応）熱産生能は，ミトコンドリア脱共役タンパク質（UCP1）に依存しており，UCP1 の発現は，転写コアクチベーターPGC-1αの制御を受けている。

NRDc-/-の BAT は予想に反して，脂肪蓄積が減少し，一定面積あたりのミトコンドリア量が増加した，代謝活性の亢進を示す像であった。同組織像に一致して，室温における UCP1，PGC-1αの mRNA レベルは，NRDc-/-の BAT において明らかに上昇していた。ところが，野生型マウスの UCP1, PGC-1α mRNA 発現が寒冷負荷時に大きく増加するのに対して，NRDc-/-では寒冷負荷による発現増加をほとんど認めないことがわかった。以上の結果は，室温下で NRDc-/-の BAT における熱産生は亢進しているが，寒冷負荷時に体温を保持するために必要な適応熱産生が障害されていることを示唆した。

当日は，これまでに明らかになった分子機構をふくめ，適応熱産生における NRDc の役割を概説したい。

（11）野外環境下のイネ・トランスクリプトームの統計モデリング

永野　惇（京都大学・生態学研究センター）

近年，生物学の様々な分野で基礎的情報として多くのトランスクリプトームデータが収集されている。しかしながら，それらは単純な実験室環境で行われており，実際の野外環境下でどのような要因がトランスクリプトームを制御しているのかは全く知られていない。この問題を解決するために，我々は，圃場のイネから取得した大量のトランスクリプトームデータと，気象データとを用いた統計モデリングを行った。およそ５００時点におけるトランスクリプトームデータを用いた解析の結果，野外環境下でのイネの葉のトランスクリプトーム変動は，大部分が気温と体内時計で説明できることが明らかになった。また，いくつかの環境刺激（気温・日射など）に対する日周性の感度変化（ゲート効果）や，日射に対する応答の閾値と日長測定の精度との関係など，興味深い特徴が明らかになった。これらは，野外環境という文脈で研究することで初めて明らかになったものである。我々のモデルは複雑な野外環境下でのトランスクリプトーム変動の大部分を記述できるだけでなく，任意の環境条件下でのトランスクリプトームの予測にも用いることが出来る。本研究の結果は，これまで研究室で集められた膨大な分子生物学的な知識を，現実の圃場や自然環境下での問題に適用するために大いに役立つと期待される。

（12）Has any cross point of thermo- and hygro- sensations?

Hong Luo（Global Science and Culture Publishing）

There are many thermal indices to show thermal comfort such as: heat index (HI), humidex, heat stress index (HSI), physiological strain index (PSI), wind chill index (WCI), effective temperature (ET) index, wet-bulb globe temperature (WBGT), weather stress index (WSI), (rational) standard effective temperature (SET), physiological equivalent temperature (PET), predicted mean vote (PMV) or the predicted percentage of dissatisfied (PPD), as well as manenvironment heat exchange (MENEX) model several thermo-physiological indices: physiological strain (PhS), physiological subjective temperature (PST), water loss (SW), overheating risk (OhR) and overcooling risk (OcR), in which humidity is an important affect factor.

The cooperative mechanism of humidity and temperature in human being has been believed to perspiration and evaporation. Form insect to person, Transient Receptor Potential (TRP) channels are responded for thermal sensation and regulation as well as light, tastants, pheromones, touch, and environmental chemicals.

It has been reported that hygrosensation (ability to sense humidity) involved in TRP channel in insect. Nanchung (Nan) and Inactive (Iav), two of TRPV channel genes at least, response for dry air; while the water witch (WTRW) and some undetermined genes of TRP channel response for moist air. The Nan and WTRW express in antennal neurons which axons extend to the mechanosensory and motor center. On the other hand, in some insects the hygrosensory cells could be activated by mechanical stimulation.

No any report about hygrosensation in mammal has been found, although it is difficult to image how camel can find water in desert without the sensation. In fact, hygrosensation could be a kind of osmo- or mechano-sensation since low or high humidity can change the osmolarity of body fluid causing cell volume regulation, which in turn affects TRP channel activity. The mammalian TRPV channel related to Nan and Iav and gated by hypotonicity could be a candidate

of hygrosensor.

TRP channels could be the key cross point of thermo-hygrosensations. The further studies on it would be very important not only for thermal physiology in varied bioenvironment, but also for occupational physiology in wet hot and wet cold conditions and homeostasis in global climate change.

（13）ゼニガタアザラシの褐色脂肪組織による体温調節

櫻井裕太[1]，岡松優子[2]，角川雅俊[3]，小林万里[1,4]，斉藤昌之[5]，木村和弘[2]
（[1]東京農大・院・生物産業，[2]北大・獣医，[3]おたる水族館，
[4]NPO 北の海の動物センター，[5]天使大・看護栄養）

ゼニガタアザラシ (*Phoca vitulina stejnegeri*) は，北海道で観察できるアザラシ 5 種のうちの 1 種で，北海道の太平洋側に分布している。成獣オスの体長は, 約 190cm, 体重は 170kg，成獣メスの体長は約 170cm，体重 140kg であり，性成熟年齢は，オス 3-6 歳，メス 2-5 歳である。

ゼニガタアザラシは 5 月中旬から 6 月上旬にかけて岩礁上で出産する。出産時期の気温は 10℃前後であり，母体体温が 37℃前後であるため幼獣は出生に伴い急激な寒冷に曝露される。また, 彼らの生活の場である海中は，冬季には水温が 4℃前後まで低下し，外気温も-10℃程度に低下するため，成長した亜成獣や，成獣も冬季は特に激しい寒冷曝露を受けると考えられる。しかし，彼らの体温調節機構については分かっていない。

そこで本研究ではゼニガタアザラシに褐色脂肪組織が存在し体温調節に寄与しているかを調べることを目的とした。はじめに，幼獣個体としておたる水族館で出生 3 日後に死亡した個体を解剖した。肉眼的に探索したところ，心臓周囲や肩甲骨間などに褐色脂肪組織とみられる組織が存在した。HE 染色を行ったところ褐色脂肪細胞の特徴である多房性の脂肪滴を含む細胞が認められた。さらにウェスタンブロット法と免疫染色により褐色脂肪組織のマーカー分子である Uncoupling protein 1 (UCP1) のタンパクが検出された。

次に，厚岸町・昆布森で混獲された 1 歳から 2 歳と思われる亜成獣個体 3 個体を解剖したところ，幼獣と同部位に褐色脂肪組織とみられる組織が存在した。HE 染色では，褐色脂肪様の細胞が認められたが，脂肪滴は幼獣に比べ大きかった。また，UCP1 タンパクが検出されたが，幼獣個体に比べタンパク量当たりの発現量が少なかった。

以上の結果から，ゼニガタアザラシの幼獣，亜成獣個体には褐色脂肪組織が存在することが示された。アザラシ類では分厚い皮下脂肪による熱放散の抑制だけではなく，褐色脂肪組織による産熱が体温維持に重要である可能性が示唆された。

（14）視索前野ニューロン活動の光操作による褐色脂肪交感神経活動の調節

中村佳子[1]，日置寛之[2]，片岡直也[1]，金子武嗣[2]，中村和弘[1]
（[1]京都大学生命科学系キャリアパス形成ユニット，[2]京都大学医学研究科高次脳形態学）

感染によって免疫系が活性化されると，脳内でプロスタグランジン E_2 が産生される。産生されたプロスタグランジン E_2 が視索前野のニューロンに発現する EP3 受容体に作用すると，これが引き金となり，発熱の中枢神経経路を活性化させる。これまでの実験結果から，EP3 受容体を発現する視索前野のニューロンが GABA 作動性の抑制性ニューロンであり，視床下部背内側部や延髄縫線核といった褐色脂肪熱産生を駆動する神経核へ直接投射することがわかっている。そこで，視索前野から視床下部背内側部や延髄縫線核へ常時，抑制性の信号が送ら

れており，発熱時や寒冷環境において褐色脂肪熱産生を亢進させる必要がある時には，その抑制を低下させ，視床下部背内側部から延髄縫線核を介した交感神経性熱産生出力を上昇させるという仮説を立てた。これを検証するために，私達は現在，*in vivo* の実験系において視索前野のニューロンの活動を人為的に操作する技術の開発を行っている。本研究会では，光遺伝学的技術を応用した予備実験の結果についてお話ししたい。

（15）社会的敗北ストレスによる高体温は延髄縫線核を介した褐色脂肪熱産生が寄与する

片岡直也，中村和弘（京都大学生命科学系キャリアパス形成ユニット）

心理ストレスによって引き起こされる体温上昇は哺乳類において幅広く観察される自律生理反応である。我々は以前, 褐色脂肪細胞に多く発現している $ß_3$-アドレナリン受容体を阻害することで，ストレス性体温上昇が有意に減弱することを報告した。しかし最近，サーモグラフィーを用いて褐色脂肪組織の温度変化を測定した研究から，ストレス性体温上昇に褐色脂肪熱産生が関与しないという報告がなされた。そこで本研究では，より直接的な褐色脂肪熱産生の測定を可能にするテレメトリーを用いて，心理ストレスによって誘発される体温上昇に褐色脂肪熱産生が寄与するかを調べた。テレメトリーの温度プローブを直接, ラット肩甲骨間の褐色脂肪組織（iBAT）と腹腔のそれぞれに挿入することで温度の変化を観察し，人間の社会ストレスに近いストレスである社会的敗北ストレスをラットへ与えた。このストレスを受けたラットの iBAT 温度は急激な上昇（$+1.7 \pm 0.4$°C, $n = 5$）を示し，少し遅れて腹腔内温度も上昇（$+1.5 \pm 0.4$°C, $n = 5$）した。ストレスによって誘発されたこの温度上昇反応は，ß-アドレナリン受容体の拮抗薬である propranolol（5 mg/kg, i.v.）の投与によって有意な減弱を示したことから，ストレスによる iBAT の温度上昇は, ß-アドレナリン受容体依存性の交感神経性褐色脂肪熱産生によるものであることが確認された。また，5-HT_{1A} 受容体作動薬である 8-OH-DPAT（0.5 mg/kg, s.c.）を投与することにより，ストレスによる熱産生反応が抑制されたことから，ストレス性の褐色脂肪熱産生がセロトニンによる修飾を受ける可能性が示唆された。これまでの研究から，寒冷環境下や発熱時における褐色脂肪組織への熱産生指令は延髄縫線核を介することが明らかとなっており，ストレスによって誘発される褐色脂肪熱産生への延髄縫線核の関与を調べるため，縫線核へ神経活動の抑制剤であるムシモール（100 mM, 100 nl）の微量注入を行った。その結果，ストレスによる iBAT 温度ならびに腹腔内温度の上昇がともに消失した。以上の結果は，延髄縫線核がストレス性の交感神経シグナルを中継することで褐色脂肪熱産生が惹起され，これがストレス性体温上昇に寄与することを示している。

（16）視床下部ー延髄投射ニューロンの光刺激による褐色脂肪熱産生の惹起

中村和弘[1]，片岡直也[1]，日置寛之[2]，金子武嗣[2]
（[1]京都大学生命科学系キャリアパス形成ユニット，
[2]京都大学医学研究科高次脳形態学）

褐色脂肪組織における熱産生は，寒冷環境における体温維持，感染時の発熱，ストレス性体温上昇，エネルギー消費の亢進を通じた肥満予防など，哺乳類の様々生理機能に寄与する。こうした熱産生反応はすべて，脳から交感神経系を介した指令によって惹起される。私達のこれまでの研究結果から，脳の視索前野に位置する体温調節中枢からの指令を受け，褐色脂肪熱産生を駆動するための興奮性の交感神経出力を発するのは，視床下部背内側部から吻側延髄縫線核へ投射するニューロンではないかと考えられた。そこで今回，この投射ニューロンを特

異的に活性化することで，褐色脂肪熱産生が惹起できるか否かを調べた。

光を受けて開口するカチオンチャネルであるチャネルロドプシン２（ChR2）を発現させるためのアデノ随伴ウイルスをラットの視床下部背内側部へ注入すると，感染した多数の神経細胞が ChR2 を発現し，吻側延髄縫線核へ投射した軸索の終末まで ChR2 が運ばれることを組織学的に確認した。そこで次に，視床下部背内側部から吻側延髄縫線核へ投射した軸索の終末を *in vivo* で光刺激するための実験を行った。視床下部背内側部に ChR2 を発現させたラットに麻酔をかけ，吻側延髄縫線核へ光ファイバーを挿入し，レーザー光（445 nm，12 mW）を照射すると，褐色脂肪組織の交感神経活動が上昇し，褐色脂肪組織の温度も上昇した。視床下部背内側部で感染した神経細胞を光刺激しても同様の褐色脂肪熱産生反応が見られ，この反応は，グルタミン酸受容体拮抗薬を吻側延髄縫線核へ微量注入することによって消失した。これらの結果は，視床下部背内側部から吻側延髄縫線核へ投射するニューロンが縫線核内でグルタミン酸を放出し，交感神経プレモーターニューロンを活性化することによって褐色脂肪熱産生を駆動することを示唆している。

また，視床下部背内側部から吻側延髄縫線核へ投射するニューロンの光刺激によって起こる褐色脂肪熱産生反応は，動物を高体温にすることによって消失した。この温度による反応抑制は，視索前野の温度感受性ニューロンによる体温上昇の感知によるものと考えられたので，thermode を視索前野に挿入し，局所温度を人為的に変動させた。すると，視床下部背内側部から吻側延髄縫線核へ投射するニューロンの光刺激によって起こる褐色脂肪熱産生反応は，視索前野局所の加温によって抑制された。したがって，視床下部背内側部から吻側延髄縫線核へ投射する熱産生駆動ニューロンの活動は，体温レベルに依存した視索前野からの入力によって制御されるものと考えられる。

（17）精神性発汗・血管収縮の体温調節における意義

岩瀬　敏（愛知医科大学生理学）

ヒトが温度を感ずる経路には大きく分けて，神経性伝達経路と対流性伝達経路がある。神経性伝達経路は，末梢の温度受容器が発生する温度感覚を，脊髄，視床と伝達し，大脳皮質に感覚が生ずる経路である。対流性伝達経路は，環境温により暖められた，あるいは冷やされた血液が，視床下部に循環し，その血液温が，温ニューロン，冷ニューロンを刺激するとされている。暑熱環境により血液が加温され，温ニューロンが賦活化されると，血管拡張，発汗により，体温を下げる方向に働く。逆に寒冷環境により血液が冷却され，冷ニューロンが賦活化されると，血管収縮が起こり，体温を逃がさない方向に働く。このような温・冷ニューロンの活性化も，交感神経活動の賦活化を促す。この結果としてもたらされる交感神経賦活化には，発汗と血管収縮があり，それには，温熱性発汗・血管収縮／拡張と，精神的ストレスに反応する精神性発汗・血管収縮とがあるが，精神性発汗・血管収縮の意義については異論が多い。精神性発汗も温熱性発汗と同様に，皮膚交感神経活動の支配下にあるため，精神性発汗が予測制御性に体温調節に寄与することを仮説として，皮膚交感神経活動と発汗神経活動・血管収縮神経活動との相互相関，皮膚交感神経活動の発汗活動成分，血管収縮活動成分と，体性誘発電位，事象関連電位，運動準備電位との関連，について解析した。その結果，環境温変化が核心温に及ぼす変化に，精神性発汗・血管収縮の方が 1 分以内，温熱性発汗・血管収縮が 7 分から 10 分と，神経性温度感覚伝達を通じた精神性発汗・血管収縮の方が早い制御が可能であり，また，皮膚交感神経活動の発汗活動成分は運動準備電位，事象関連電位の中での認知電位と関連があり，血管収縮成分は運動準備電位，体性感覚電位と関連があることが判明した。以上の結果は，精神性発汗・血管収縮が，神経性温度伝達を通じて予測制御的に体温調節に寄与することを示している。このような精神性発汗が認知機能，運動準備電位との間に有意な関連があることは，発汗が系統発生学的に新しく進化した機能であることから，暑熱負荷時に体温調節を行うことは，ヒトが進化の上で獲得した新しい機能と考えられる。一方で，寒冷曝露のような環境温変化に対し，体性誘発電位，運動準備電位が大きく関連すること

は，寒冷に対する体温調節能が，比較的古くからある機能であることを推測させる。以上より，神経性温度伝達を通じた精神性発汗・血管収縮によって認知，体性感覚および運動準備をすることにより，体温の予測制御を行うことで，ヒトは高次機能を発展させて文明を築き上げたのではないかと推測された。

（18）発熱メカニズム研究の流れ

松村　潔（大阪工業大学・工学部・生命工学科）

発熱はさまざまな疾病にともなう症状として，有史以前から人々の意識にのぼっていたであろう。しかし発熱の研究が急速に進んだのは 20 世紀終盤になってからである。本発表では 20 世紀終盤の発熱メカニズム研究の流れを次の 4 領域に分けて概説し，今後の課題に言及した。

① 発熱物質
② プロスタグランジン
③ 免疫系から脳へのシグナリング
④ 体温調節中枢と発熱回路

7. 第８回 TRP チャネル研究会

2012 年 6 月 14 日－6 月 15 日

代表・世話人：西田基宏（九州大学大学院薬学研究院・創薬育薬産学官連携分野）

所内対応者：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）

（１）TRPV4 開口刺激は細胞膜の脱分極を介してミクログリア活性化を抑制する

白川久志（京都大学　薬学研究科　生体機能解析学分野）

（２）脈絡叢上皮細胞における繊毛と TRPV4 の機能的関連

成田啓之（山梨大学　医学部解剖学講座細胞生物学教室）

（３）口腔上皮における TRPV4 チャネルを介した浸透圧感受性

城戸瑞穂（九州大学大学院歯学研究院口腔常態制御学講座分子口腔解剖学分野）

（４）アストロサイトにおける TRPA1 チャネルを介した局所カルシウムシグナルとその生理的意義

繁冨英治（カリフォルニア大学ロサンゼルス校医学部生理学部門）

（５）TRPA チャネルの活性化分子機構とその多様性

香西大輔（京都大学大学院工学研究科　合成・生物化学専攻）

（６）TRPM4 チャネルの催不整脈性の再検討

Hu Yaopeng（福岡大学大学院医学研究科人体生物系細胞分子制御学）

（７）破骨細胞から誘導される TRPM7 様陽イオン電流とその酸依存的活性化

岡本富士雄（福岡歯科大学　細胞分子生物学講座　細胞生理学分野）

（８）マスト細胞における TRPM2 チャネルの機能的発現

織田　聡（富山大学大学院医学薬学研究部和漢診療学講）

（９）膵島移植における膵島破壊シグナルとしての TRPM2 チャネル関与

最上秀夫（浜松大学健康栄養学科）

(10) 真菌由来 TRP チャネルのマルチモーダル制御の分子基盤

山下敦子（理化学研究所放射光科学総合研究センター）

(11) 心筋細胞の機械感受性における TRPC チャネル関与の可能性

高橋　賢（岡山大学大学院医歯薬学総合研究科システム生理学）

(12) A novel alternative splicing variant of mouse TRPA1 regulates its channel activity under inflammatory and neuropathic pain conditions

Yiming Zhou（Division of Cell Signaling, Okazaki Institute for Integrative Bioscience (NIPS)）

(13) 硫化水素の TRPA1 チャネル活性化を介した侵害受容メッセンジャーとしての役割

太田利男（鳥取大学農学部獣医薬理学）

(14) エンドセリン受容体活性化型 TRPC6 チャネルの機能制御機構

堀之内孝広（北海道大学大学院医学研究科細胞薬理学分野）

(15) 脳血管内皮細胞における Orai1 を介した store-operated Ca^{2+} entry の役割

鬼頭宏彰（名古屋市立大学大学院薬学研究科細胞分子薬効解析学）

(16) がん細胞に発現する TRPV2：機械刺激に対する応答

長澤雅裕（群馬大学生体調節研究所細胞調節分野）

(17) TRPV4 による脳機能調節; 脳内温度エネルギーを電気信号に変換する分子基盤

柴崎貢志（群馬大学医学系研究科）

（18）魚類の延髄最後野を介した体液調節機構

野畑重教（東京大学大気海洋研究所国際沿岸海洋研究センター）

（19）眼内平滑筋の収縮調節における TRPC の機能的役割の検討

高井　章（旭川医科大学　生理学講座　自律機能分野）

（20）生体内単一細胞の局所加熱顕微鏡の紹介

亀井保博（基礎生物学研究所　生物機能解析センター　光学解析室）

（21）ヒト子宮内膜間質細胞の脱落膜化過程における TRPC1 の役割

倉原（海）琳（福岡大学医学部生理学）

（22）AQP and TRP

Hong LUO（Global Science and Culture Publishing, Yonago, Tottori.）

（23）肺高血圧症における Ca^{2+}感受性受容体の発現増加と TRPC6 チャネルとの機能的連関

山村寿男（イリノイ大学シカゴ校医学部）

（24）ラット脊髄膠様質ニューロンの自発性興奮性シナプス伝達に及ぼすシネオールの促進作用

熊本栄一（佐賀大学医学部生体構造機能学講座）

【参加者名】

堀之内孝広（北海道大学医学研究科），高井　章（旭川医科大学），宮津　基（旭川医科大学），赤尾鉄平（旭川医科大学），柴崎貢志（群馬大学医学系研究科），小島　至（群馬大学生体調節研究所），長澤雅裕（群馬大学生体調節研究所），柴崎貢志（群馬大学医学系研究科），大和田智彦（東京大学薬学系研究科），野畑重教（東京大学大気海洋研究所），大洞将嗣（東京医科歯科大学），繁冨英治（山梨大学医学工学総合研究部），成田啓之（山梨大学医学部），渡邊泰秀（浜松医科大学医学部看護学科），最上秀夫（浜松大学健康科学研究科），今泉祐治（名古屋市立大学薬学研究科），山村寿男（名古屋市立大学薬学研究科），鈴木良明（名古屋市立大学薬学研究科），藤井将人（名古屋市立大学薬学研究科），大城隼也（名古屋市立大学薬学研究科），鬼頭宏彰（名古屋市立大学薬学研究科），亀井保博（基礎生物学研究所生物機能解析センター），金子周司（京都大学薬学研究科），白川久志（京都大学薬学研究科），三宅崇仁（京都大学薬学研究科），崎元伸哉（京都大学薬学研究科），宮之原遵（京都大学薬学研究科），森泰生（京都大学地球環境学堂），黒川竜紀（京都大学工学研究科），高橋重成（京都大学先端医工学研究ユニット），香西大輔（京都大学工学研究科），小山祥平（京都大学工学研究科），木村　祐（京都大学工学研究科），橋本勇人（京都大学工学研究科），植田誉志史（京都大学工学研究科），岩田裕子（国立循環器病研究センター），雑賀司珠也（和歌山県立医科大学医学部），門脇　真（富山大学和漢医薬学総合所），織田　聡（富山大学医学部），成瀬恵治（岡山大学医歯薬学総合研究科），高橋　賢（岡山大学医歯薬学総合研究科），王　静（岡山大学医歯薬学総合研究科），山口陽平（岡山大学医歯薬学総合研究科），山下敦子（岡山大学医歯薬学総合研究科），川端二功（安田女子大学管理栄養学科），太田利男（鳥取大学農学部），中塚一将（鳥取大学農学部），西田基宏（九州大学薬学研究院），北島直幸（九州大学薬学府），角田将朗（九州大学薬学府），城戸瑞穂（九州大学歯学研究院），合島怜央奈（九州大学歯学研究院），倉原（海）琳（福岡大学医学部），胡　耀鵬（福岡大学医学部），岡本富士雄（福岡歯科大学細胞分子生物学講座），熊本栄一（佐賀大学医学部），松下晋大（佐賀大学医学部），三井　彰（味の素製薬株式会社），岩田博司（味の素製薬株式会社），永田晃一（田辺三菱製薬株式会社），小林　力（田辺三菱製薬株式会社），森村浩三（田辺三菱製薬株式会社），小原一朗（キリンホールディングス），寶満　隆（日本新薬株式会社），大渕勝也（株式会社ツムラ），森　幸（マルホ株式会社），守口由紀子（ラクオリア創薬株式会社），北野愛子（ラクオリア創薬株式会社），渡邉修造（ラクオリア創薬株式会社），山澤美緒（ラクオリア創薬株式会社），高石雅之（株式会社マンダム），日向美紀枝（塩野義製薬），Hong LUO (Global Science and Culture Publishing), Medina Johan（豊橋技術科学大学），富永真琴（岡崎統合バイオサイエンスセンター），鈴木喜郎（岡崎統合バイオサイエンスセンター），齋藤　茂（岡崎統合バイオサイエンスセンター），内田邦敏（岡崎統合バイオサイエンスセンター），加塩麻紀子（岡

崎統合バイオサイエンスセンター），常松友美（岡崎統合バイオサイエンスセンター），周　一鳴（岡崎統合バイオサイエンスセンター），高山靖規（岡崎統合バイオサイエンスセンター），田淵紗和子（岡崎統合バイオサイエンスセンター），橘髙裕貴（岡崎統合バイオサイエンスセンター），孫　武平（岡崎統合バイオサイエンスセンター），Rupali Gupta（岡崎統合バイオサイエンスセンター），Kurganov Erkin（岡崎統合バイオサイエンスセンター），西本れい（岡崎統合バイオサイエンスセンター），渡邊成樹（岡崎統合バイオサイエンスセンター）

【概要】

細胞の膜電位に依存しない Ca^{2+}流入を担うイオンチャネルの分子実体として Transient Receptor Potential (TRP)チャネルが注目されている。TRP チャネルは，細胞外の様々な物理的・化学的刺激によって活性化される Ca^{2+}透過型カチオンチャネルであり，幅広い動物種に発現している。遺伝子改変動物を用いた研究から，体性感覚，特殊感覚，平滑筋運動，呼吸，生殖，免疫など，生体の多彩な機能の調節に関わっていることが明らかにされている。さらに，多くの疾患モデル動物を用いた解析から，心不全，高血圧，腎不全，神経疾患，慢性炎症など，様々な病態において TRP チャネル群が関与することもわかってきた。こうした経緯から，TRP チャネルは未だ有効な治療法のない様々な疾患に対する薬物治療の有望な分子標的として強い関心を集めている。その一方で，TRP チャネルはストア作動性 Ca^{2+}チャネルの構成分子である Orai や STIM とも複合体を形成し，容量性 Ca^{2+}流入を調節するなど，タンパク質間相互作用による TRP タンパクシグナル複合体（シグナルソーム）形成の意義も明らかにされてきた。本研究会では，各 TRP チャネル群のセンサー機能，膜輸送，複合体形成の分子機構や単粒子構造解析に関する最新の研究成果を提供し合うことで，TRP チャネル群の基本動作原理に対する共通の理解を見出すための議論が熱く交わされた。さらに，様々な疾患モデルを用いた研究成果から TRP チャネルが様々な組織の炎症に関わっていることも明らかとなり，TRP チャネル創薬を実現させるための具体的な標的疾患や病態が浮き彫りにされてきた。

（1）TRPV4 開口刺激は細胞膜の脱分極を介してミクログリア活性化を抑制する

白川久志[1]，金野真和[1]，松谷一慶[1]，中川貴之[1]，柴崎貢志[2]，金子周司[1]
（[1]京都大学　薬学研究科　生体機能解析学分野　[2]群馬大学　医学研究科　分子細胞生物学分野）

ミクログリアは脳の免疫担当細胞として通常は脳内環境の恒常性維持を担っているが，病的な刺激により活性化することで中枢神経変性疾患の病態形成に関与することが明らかになりつつある。近年，ミクログリアの活性化過程におけるイオンチャネル動態の重要性が提唱されてきたが，TRP チャネルの役割はほとんど不明である。そこで本研究では，浸透圧変化や温和な熱，機械的伸展等で活性化する TRPV4 に着目し，ミクログリア活性化に対する TRPV4 開口刺激の及ぼす影響について検討した。ラット培養ミクログリアにおける TRPV4 の機能的な発現を RT-PCR 法，免疫染色化学および電気生理学的測定により明らかにした。In vitro および in vivo の両検討により，LPS により惹起される各種ミクログリア活性化指標(TNFα遊離，galectin3 発現，iba1 免疫陽性増大，外向き整流性 K＋チャネル電流）の増大は，TRPV4 アゴニストである 4αPDD を同時に処置することにより顕著に抑制された。また，培養ミクログリアに 4αPDD を適用することにより膜電位の軽度な脱分極が観察され，持続的な 4αPDD 処置は Ca^{2+}利用能の減弱をもたらした。高濃度 KCl 溶液を用いた脱分極刺激もまた，各種 LPS 誘発ミクログリア活性化指標を減弱したことから，4αPDD の抑制作用を模倣したと想定される。以上の結果より，TRPV4 開口刺激は細胞膜の脱分極を介してミクログリアの活性化に対して抑制的に働くことが明らかになった。

（2）脈絡叢上皮細胞における繊毛と TRPV4 の機能的関連

成田啓之[1]，笹本祥平[1]，小泉修一[2]，竹田　扇[1]
（[1]山梨大学　大学院医学工学総合研究部　解剖学講座細胞生物学教室
[2]山梨大学大学院医学工学総合研究部　薬理学講座）

一次繊毛は人体を構成するほぼ全ての細胞に存在し，一般に細胞外からの刺激を感知するセンサーとしての機能を持つとされるが，その分子機構や多様性に関しては不明な点が多い。現在我々は脳脊髄液の産生・分泌を担っている脈絡叢上皮細胞（CPECs）が持つ一次繊毛に着目し，その感覚機能を解析している。今回，幾つかの細胞で繊毛への局在が報告されており，また CPECs に強く発現している TRPV4 に注目し，繊毛と TRPV4 の機能的関連を検討した。

気道上皮細胞などでは繊毛に局在する TRPV4 であるが，CPECs においては免疫染色で頂端側の細胞膜に広く検出され，繊毛局在性は見られなかった。しかし低分子化合物および siRNA を用いた繊毛形成阻害により TRPV4 の発現量は低下した。同様の傾向は腎髄質内層集合管上皮由来細胞株（IMCD3）でも見られた。一方，CPECs を TRPV4 特異的アゴニストで刺激してその $[Ca^{2+}]_i$ 応答を見ると，脱繊毛処理に伴い低濃度（10 nM）のアゴニストに対する応答が低下・遅延した。またアゴニスト刺激は CPECs の基底側から頂端側へのトランスサイトーシスを増加させた。

以上の結果から，CPECs における TRPV4 は繊毛上には局在しないものの，その発現量およびチャネル活性は繊毛を介した調節を受けていることが明らかになり，またその生理機能の一つとして脳脊髄液産生調節への関与が示唆された。

（3）口腔上皮における TRPV4 チャネルを介した浸透圧感受性

城戸瑞穂[1]，王　冰[1]，合島怜央奈[1,2]，高尾知佳[1]，西田基宏[3]，大崎康吉[1]，張　旌旗[1]，野田百美[4]
（[1]九州大学　大学院歯　学研究院　口腔常態制御学講座　分子口腔解剖学分野，
[2]佐賀大学医学部　歯科口腔外科，
[3]九州大学　大学院薬学研究院　創薬育薬産学官連携分野　[4]病態生理学分野）

哺乳類は，水や塩分を摂取あるいは排出しながら，体液の浸透圧を 300mOsm/kg 近傍に維持している。浸透圧の大きな変化は身体に非可逆的な侵襲を与える事が知られている。口腔は他の部位に比べると幅広い浸透圧変化に常に曝されているが，その浸透圧変化が口腔組織にどのような影響をあたえるのかはほとんど知られていない。TRPV4 は，細胞外の低浸透圧や温度および機械刺激などにより活性化する陽イオン透過性のチャネルである。私たちは TRPV4 が口腔上皮組織に豊富に発現していることを見いだした。口腔上皮組織は常に唾液に浸されている。その唾液の浸透圧を測定したところラットでは 140mOsm で，体液に比較すると低浸透圧であった。そこで，口腔上皮に発現する TRPV4 を浸透圧センサーと仮定し，TRPV4 の機能を調べた。

急性単離あるいは培養口腔上皮細胞は TRPV4 agonist である GSK1016790A や 4-αPDD により活性化が認められ，この反応は Ruthenium red や TRPV4 選択的阻害剤である RN1734 により抑制された。さらに，初代培養口腔上皮細胞に 200mOsm の刺激を加えると細胞内カルシウム濃度上昇が認められ，この反応は Ruthenium red で阻害された。

低浸透圧が与える細胞生物学的な影響を調べたところ，培養口腔上皮細胞は低浸透圧刺激により細胞間の距離が縮まり，細胞間の接着構造タンパクの発現が顕著に認められた。

口腔上皮細胞は唾液あるいは食物や飲み物などの化学刺激・浸透圧刺激を受容し，細胞の容積調節をしていることが示唆された。

（4）アストロサイトにおける TRPA1 チャネルを介した局所カルシウムシグナルとその生理的意義

繁冨英治 [1,3]，Xiaoping Tong[1]，Baljit S. Khakh[1,2]
（[1] カリフォルニア大学ロサンゼルス校　医学部　生理学部門
[2] カリフォルニア大学ロサンゼルス校　医学部　神経生物学部門
[3] 現所属先：山梨大学医学部　医学工学総合研究部　薬理学講座）

脳のグリア細胞の一種であるアストロサイトは，細胞内 Ca^{2+} 濃度をダイナミックに変化させることにより「Ca^{2+} 興奮」する。この「Ca^{2+} 興奮」によりアストロサイトは神経細胞に作用する液性因子，いわゆるグリア伝達物質を放出し，その結果として神経回路を積極的に調節する可能性が提唱されている。しかし，実際の脳においてアストロサイトの「Ca^{2+} 興奮」の生理的意義については未だ明らかではない。その理由として，アストロサイトの微細突起における Ca^{2+} 濃度変化を測定することが困難なことが挙げられる。アストロサイトは微細突起を介してシナプスと直接接触する。このアストロサイト微細突起における Ca^{2+} シグナルを詳細に理解することは，アストロサイトのニューロンとの機能連関を理解する上で必須である。我々はアストロサイト微細突起の Ca^{2+} 濃度変化を検出する新規膜移行型 Ca^{2+} 感受性蛍光タンパク質（Lck-GCaMP3）を開発し，その結果，局所的かつ一過的に起こる TRPA1 チャネルを介した Ca^{2+} 流入現象を見出した。この TRPA1 チャネルを介した Ca^{2+} 流入はアストロサイトの GABA トランスポーター機能を制御し，その結果として抑制性シナプス伝達を制御する可能性を示した。

（5）TRPA チャネルの活性化分子機構とその多様性

香西大輔 [1]，高橋重成 [1]，吉原朋弘 [1]，中尾章人 [1]，エベルトマキシミリアン [1]，
唐木文霞 [2]，尾谷優子 [2]，樺澤洋治 [2]，沼田朋大 [1,3]，清中茂樹 [1,3]，大和田智彦 [2]，森　泰生 [1,2]
（[1] 京都大学　大学院工学研究科　合成・生物化学専攻　[2] 東京大学　大学院薬学系研究科　分子薬学専攻
[3] 京都大学　地球環境学堂　環境適応生体システム論）

TRPA1 をはじめとする一部の哺乳類 TRP チャネルは酸化感受性を有しており，活性ジスルフィド化合物などにより活性化される。我々は最近，TRPA1 が酸素(O_2)センサーとして機能していることを明らかにした。また，TRPA1 を含む複数の TRP チャネルが一酸化窒素（NO）を遊離する NO 供与剤により活性化されることも示してきた。近年，遊離 NO を介さずに，タンパク質間で NO 基が転移されるトランスニトロシル化反応が S-ニトロシル化の選択性を生むとして注目されている。この概念をもとに設計した NO を自発的に発生しないトランスニトロシル化剤を用い，TRP サブタイプ選択性を検討したところ，TRPA1 が高選択的に活性化されることを明らかにした。この活性化には分子認識も影響していることも分かった。以上の研究に加えて，TRPA1 の酸素感受性の普遍性を明らかにするために，ショウジョウバエ TRPA ホモログ（drosophilaTRPA1，Painless，Pyrexia，Wtrw）をクローニングし，それらの酸化感受性を評価した。その結果，drosophilaTRPA1 の酸化感受性が最も高く，酸素感受性を有していることを明らかにした。

（6）TRPM4 チャネルの催不整脈性の再検討

Hu Yaopeng，Duan Yubin，市川　純，倉原　琳，井上隆司
（福岡大学　大学院医学研究科　人体生物系細胞分子制御学）

TRPM4 チャネルは細胞内 Ca^{2+}濃度（$[Ca^{2+}]_i$）上昇によって活性化される一価陽イオン透過型チャネル(NSC_{Ca})で，プルキンエ線維，心房筋，心室筋等，心臓に広く発現し，心リモデリングなどの病的状態では不整脈基質の形成に寄与すると考えられている。しかし，実験的に得られた Ca 感受性は極めて低く（K_d＞数百 μM），生理的な変動範囲の$[Ca^{2+}]_i$で活性化される可能性は極めて低い。そこで本研究では，β-escin による perforated cell-attached recording(C/A)，ionomycin や電位依存性 Ca チャネル（$\alpha_{1C}/\beta_2/\alpha_2\delta$）の共発現によって，細胞内環境をできるだけ擾乱しない条件下で，TRPM4 チャネルの Ca 感受性の再評価を行った。（１）上記の方法で得られた K_d 値は従来報告されている値より 10～1000 倍低く，とりわけ ionomycin によって$[Ca^{2+}]_i$を変化させた時に得られた K_d 値は約 0.6μM と生理的な変動範囲内にあった。（２）不死化心房筋細胞株 HL-1 には TRPM4 蛋白質の強い発現がみられ，同時に TRPM4 様 NSC_{Ca} 電流が記録された。アンジオテンシン II の処置（１μM，4 日間）を行うと，TRPM4 蛋白質の発現増加と TRPM4 様 NSC_{Ca} 電流の著明な増加が起こった。（３）NSC_{Ca} を導入した Luo-Rudy dynamic ventricular model や Nygren atrial model にこれらの結果を当てはめると，TRPM4 チャネルの発現が増加した場合には，AP の延長や早期後脱分極（EAD），静止膜の脱分極等，催不整脈性変化が生じることが確認できた。

（7）破骨細胞から誘導される TRPM7 様陽イオン電流とその酸依存的活性化

岡本富士雄，鍛治屋浩，岡部幸司（福岡歯科大学　細胞分子生物学講座　細胞生理学分野）

【目的】前駆破骨細胞から破骨細胞への分化誘導に伴って TRPM7 の発現が高まる。TRPM7 は Ca^{2+}や Mg^{2+}に高い透過性を示し，自身がキナーゼ活性を持つユニークなチャネルであるが，破骨細胞における機能は不明である。そこで，破骨細胞に発現する TRPM7 の機能を調べた。【方法】マウス骨髄細胞を破骨細胞分化因子 RANKL で刺激して破骨細胞(Oc)へ誘導した。Oc に Whole-cell patch-clamp 法を適用し，非選択的陽イオン電流を記録した。【結果】Oc からは Mg^{2+}非存在下で，強い外向き整流性の陽イオン電流が誘発された。この電流は細胞内液または外液への Mg^{2+}添加により抑制された（Mg^{2+}-block）。また，PIP_2 の細胞内投与により活性化の持続時間が延長した。一方，RANKL 非刺激細胞では Mg^{2+}-block を受ける電流成分は Oc に比べて有意に小さかった。Oc から誘導した外向き整流陽イオン電流は，2-APB，carvacrol および lipoxygenase 阻害剤の細胞外投与により抑制され，逆に，外液の 2 価陽イオン除去および酸性化により活性化された。また，内向き電流に対する Mg^{2+}-block は外液の酸性化により減弱した。【考察】Oc から誘導した外向き整流電流は部分的に TRPM7 の活性を反映している可能性が高い。Oc は酸を分泌し酸性環境を形成して骨吸収を行う。酸性環境で内向き電流に対する Mg^{2+}-block が解除されることは，骨から溶出する Ca^{2+}や Mg^{2+}の細胞内輸送に適した性質であり，この輸送に起因するシグナルと骨吸収機能調節との関連が考えられた。

（8）マスト細胞における TRPM2 チャネルの機能的発現

織田　聡[1]，内田邦敏[2]，王　暁宇[3]，嶋田　豊[1]，富永真琴[2]，門脇　真[3]
（[1]富山大学　大学院医学薬学研究部　和漢診療学講座
[2]岡崎統合バイオサイエンスセンター　細胞生理部門
[3]富山大学　和漢医薬学総合研究所　病態制御研究部門　消化管生理学分野）

温度感受性 TRP チャネルのひとつである TRPM2 チャネルは，糖代謝や脂質代謝において重要な役割が報告されている。免疫細胞における役割についていくつか報告されているが，マスト細胞に関する報告はほとんどない。そこで，本研究では mast cell に注目し，今まで報告のないマスト細胞に発現した TRPM2 チャネルに注目して，その生理学的意義について検討した。

TRPM2 チャネルの機能的発現を野生型マウス（WT）より採取した骨髄より粘膜型マスト細胞に分化培養した bone marrow-derived murine mast cell（BMMC）を用いて RT-PCR，およびパッチクランプ法を用いて確認した。抗原刺激による BMMC の細胞内カルシウム濃度上昇および脱顆粒は TRPM2 チャネル阻害剤である 2-APB，エコナゾール，フルフェナム酸により抑制された。さらに TRPM2KO マウス由来の BMMC では WT マウス由来の BMMC と比較して抗原刺激による細胞内カルシウム濃度上昇および脱顆粒が有意に低下していた。食物アレルギーモデルマウスを用いて下痢の発症に対する TRPM2 阻害剤の作用を検討したところ，２次感作時にエコナゾール，フルフェナム酸を同時に投与した群ではいずれも下痢発症率が抑えられた。

本研究により，マスト細胞に発現する TRPM2 チャネルは細胞内カルシウム濃度を調節し，脱顆粒に関与していることが明らかとなった。

（9）膵島移植における膵島破壊シグナルとしての TRPM2 チャネル関与

ヨハン・メディナ[1]，加塩麻紀子[2]，安達英輔[3]，澤田和明[1]，小島　至[4]，永山國昭[5]，富永真琴，最上秀夫[6]
（[1]豊橋技術科学大学　電気・電子工学系電子デバイス大講座　[2]生理学研究所　細胞生理学研究部門
[3]東京大学　医科学研究所附属病院　感染免疫内科　[4]群馬大学　生体調節研究所　細胞調節
[5]生理学研究所　電子光学　学研究部門　[6]浜松大学　健康栄養学科）

膵島移植は，経皮経肝的に膵臓から単離した膵島を門脈内に注入し，患者の門脈支流からの血流を受けて膵島を機能させる方法である。膵島移植は，手技的には単純である一方で，移植直後に 70%の膵島破壊（細胞死）が惹起される。そして，その破壊機構の詳細が不明のため，未だに臨床応用は試験段階のままである。我々は以下のように考えて実験を行った。膵β細胞に発現する環境センサイオンチャネルである TRPM2 が，TRPM2 が膵島移植時の細胞死における責任シグナルの一つであり，全血暴露時に血小板をはじめとした血小板凝集及び血液凝固反応がその TRPM2 活性化のトリガーとなる。インスリン産生細胞（INS-1 細胞）に発現する TRPM2 チャネルノックダウン安定細胞株（KD-INS）を作成してその全血またはフィブリノーゲンに対するカルシウム応答を観察した。KD-INS の電気生理学的検討より，TRPM2 チャネルの内因性リガンドである ADPRibose にはほとんど反応しなかったが，電位依存性 Ca チャネルは保存されていた。KD-INS 細胞では温度依存的カルシウム応答がみられなかった。TRPM2 チャネルの調節因子の一つである過酸化水素（H2O2）に対するカルシウム応答も著明に減弱していた。この KD-INS 細胞の全血やフィブリノーゲンに対するカルシウム応答は減弱していた。血液成分の接触が TRPM2 を介して INS-1 細胞に対するカルシウム応答を惹起している可能性が高いと考えられた。

（10）真菌由来 TRP チャネルのマルチモーダル制御の分子基盤

伊原　誠[1]，浜本　晋[2]，宮ノ入洋平[3]，武田光広[3]，甲斐荘正恒[3,4]，矢部　勇[5]，魚住信之[2]，山下敦子[1,6]
([1]理化学研究所　放射光科学総合研究センター　[2]東北大学　大学院工学研究科
[3]名古屋大学　大学院理学研究科　[4]首都大学　東京戦略研究センター
[5]東京電機大学　工学部　[6]岡山大学　大学院医歯薬学総合研究科)

TRP チャネルは細胞内外からの様々な刺激によってマルチモーダルな制御を受けるという機能的特徴を持つ。我々は，真菌由来の TRP チャネルを同定し，このチャネルが浸透圧，温度上昇，細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇，膜電位，高酸化状態といった多様な刺激により活性化するプロトタイプ分子であることを見いだした。配列解析と NMR 解析から，この TRP チャネルの C 端の細胞質側ドメイン(CTD)は，コイルドコイル領域と塩基性領域の２つの領域を持つ天然変性タンパク質であることが判明し，X 線結晶構造解析から，前者の領域は四量体平行コイルドコイルを形成することが明らかになった。この領域でのコイルドコイル形成は，浸透圧および温度上昇による活性化に必須である一方，チャネル自体の四量体化や，Ca^{2+}・膜電位・高酸化状態による活性化とは無関係であることが判明し，少なくとも２つの独立した活性化機構が存在することが明らかになった。一方 CTD の塩基性領域は，ホスファチジルイノシトールリン脂質と結合することによって，チャネル開口活性を抑制する領域であることが判明した。超遠心解析・NMR 解析および結晶構造から，CTD はコイルドコイルを介した単量体− 二量体 − 四量体の平衡状態にあることがわかり，このような動的な性質を持つことが，複数の機能モジュールがチャネル機能をマルチモーダルに制御するのに適した構造基盤となっていると考えられた。

（11）心筋細胞の機械感受性における TRPC チャネル関与の可能性

高橋　賢[1]，藤井正吾[2]，服部真理[2]，大森莱令[2]，王　静[1,3]，成瀬恵治[1]，曽我部正博[4]
([1]岡山大院　医　システム生理　[2]名古屋大　医
[3]大連医科大　[4]名古屋大院　医　細胞生物物理)

心臓の機械感受性は心拍数や心収縮力の調節に大きく関っているが，そのメカニズムには未だ解明の余地がある。本研究はこれを明らかにすることを目的とした。ラット心筋培養細胞株 H9c2 に伸展刺激を与えたときに観察される細胞内カルシウムイオン(Ca)レベルの上昇は，細胞外 Ca 非存在下で消失したことから，細胞外からの Ca 流入が必須であると考えられた。またこの応答はライアノジン投与によっても抑制されたことから，細胞内ストアからの Ca 放出も関与するものと考えられた。H9c2 の機械感受性における TRP チャネルの関与を調べるため mRNA 発現量解析を行ったところ，TRPC6，TRPM7，TRPV2 などの発現が認められた。さらに TRPC チャネルの阻害薬を投与したところ，伸展誘発性 Ca 応答は抑制された。

次に心筋の機械感受性に対する L 型 Ca チャネルの関与を調べるため，H9c2 に L 型 Ca チャネルの阻害薬投与および siRNA による発現抑制を行ったところ，伸展誘発性 Ca 応答の減弱が認められた。さらにラット摘出心のランゲンドルフ標本にて左心室容積依存性の心筋収縮力(left ventricular developed pressure)増加を観察したところ，この増加は電位依存性 L 型 Ca チャネルの阻害薬により抑制された。

これらのことから，心筋の機械感受性には TRPC チャネルおよび L 型 Ca チャネルが関与していることが示唆された。

（12）A novel alternative splicing variant of mouse TRPA1 regulates its channel activity under inflammatory and neuropathic pain conditions

Yiming Zhou[1, 2], Yoshiro Suzuki[1, 2], Kunitoshi Uchida[1], Makoto Tominaga[1, 2]
([1]Division of Cell Signaling, Okazaki Institute for Integrative Bioscience (NIPS), Okazaki, Japan; [2]The Graduate University for Advanced Studies (SOKENDAI), Okazaki, Japan)

Transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) is a nonselective, Ca^{2+} permeable cation channel which was reported to be activated by various noxious stimuli and serve important functions during nociceptive and inflammatory processes. Here we report a novel alternative splicing variant of mouse TRPA1, which lacks exon 20. The aim of this study is to evaluate the role of this variant, TRPA1b, under physiological and pathological conditions. Both TRPA1 isoforms, TRPA1a (full length) and TRPA1b (splicing variant) were confirmed to be expressed in DRG and TG by RT-PCR analysis. When expressed in HEK293T cells, both isoforms could be translocated to the plasma membrane. By using co-immunoprecipitation, TRPA1a and TRPA1b were confirmed to have physical interaction. Although TRPA1b did not respond to TRPA1 agonists, interestingly co-expression of TRPA1a with TRPA1b significantly increased TRPA1a plasma membrane expression and current density in response to AITC, 2-APB, carvacrol as well as thymol without affecting its single-channel conductance. Indeed, exogenous over-expression of TRPA1b in DRG neurons increased AITC responses. Moreover, TRPA1b but not TRPA1a mRNA was significantly increased under inflammatory and neuropathic pain conditions. These results suggest that TRPA1b could regulate TRPA1a activity by increasing plasma membrane expression under inflammatory and neuropathic pain conditions.

（13）硫化水素の TRPA1 チャネル活性化を介した侵害受容メッセンジャーとしての役割

小川ひとみ[1]，高橋賢次[1]，三浦冴子[1]，齋藤　茂[2]，富永真琴[2]，太田利男[1]
([1]鳥取大学　農学部　獣医薬理学　[2]岡崎統合バイオセンター　細胞生理部門)

硫化水素（H_2S）はホルマリンやカラギナン等の起炎性物質により産生が増大するため，内因性疼痛関連物質としての可能性が示されている。しかし，現在までその分子基盤は十分に解明されていない。本研究では，野生型(WT)及び 2 種類のノックアウト（KO）マウスを用いて H_2S による活性化機構を検討した。

H_2S は濃度依存性に WT マウス背根神経節（DRG）ニューロンの $[Ca^{2+}]_i$ を増加させた（$[Ca^{2+}]_i$ 反応）。H_2S による $[Ca^{2+}]_i$ 反応は TRPV1-KO マウス DRG では生じたが，TRPA1-KO では生じなかった。マウス TRPA1 チャネルの N 末端変異遺伝子（mTRPA1-2C）発現 HEK293 細胞では H_2S による $[Ca^{2+}]_i$ 反応は見られなかった。DRG 及び WT マウス TRPA1 発現細胞において，H_2S による $[Ca^{2+}]_i$ 反応は細胞外 pH 低下により増大した。H_2S の足底内投与により WT，TRPV1-KO マウスにおいて疼痛行動が誘発されたが，TRPA1-KO では減弱していた。WT マウスにおける H_2S 誘発性疼痛反応も酸性条件下で増大した。TRPA1 を恒常的に発現している RIN-14B 細胞でも H_2S による $[Ca^{2+}]_i$ 反応が生じ，その反応は細胞外 pH 低下により増大した。RIN-14B 細胞において，H_2S の細胞内移行は細胞外 pH 低下により増大した。

以上の成績から，H_2S は TRPA1 チャネルの活性化を介して生体内で侵害受容メッセンジャーとして機能すること，また，細胞外酸性下では H_2S による発痛作用が増大したことから，炎症性疼痛に関与する可能性が示された。

（14）エンドセリン受容体活性化型 TRPC6 チャネルの機能制御機構

堀之内孝広，比嘉綱己，青柳裕之，東　恒仁，寺田晃士，旗手千鶴，三輪聡一
（北海道大学大学院　医学研究科　細胞薬理学分野）

エンドセリン A 型受容体(ET_AR)刺激によって引き起こされるTRPCチャネルを介した受容体作動性Ca^{2+}流入は，肺高血圧症といった心血管系疾患の発症・進展において，重要な役割を担っている。本研究では，ET_AR 作動性Ca^{2+}流入に関与するTRPC3及びTRPC6の機能制御機構について検討した。

1．プロテインキナーゼ A(PKA)を介した負の制御機構

私達は，ET_AR と野生型 TRPC6 もしくは変異型 TRPC6 を安定発現する HEK293 細胞を用いて，細胞内Ca^{2+}濃度($[Ca^{2+}]_i$)測定実験及びリン酸化タンパク質を特異的に検出する Phos-tag^{TM} biotin を利用した in vitro kinase assay を行い，① TRPC6 を介した ET_AR 作動性 Ca^{2+}流入は，PKA によって抑制性に制御されること，また，② この抑制性機能制御において重要な役割を担っている PKA リン酸化部位は Ser^{28} であること，を明らかにした。

2．新規 STIM1 バリアントと TRPC チャネルとの結合特性

小胞体 Ca^{2+}センサーとして機能する STIM1 は，Ca^{2+}流入制御に関与している。最近，私達は，ヒト骨格筋特異的に発現する STIM1 の新規バリアント($STIM1_{SK}$と命名)のクローニングに成功し，$STIM1_{SK}$が STIM1 よりも，TRPC3 や TRPC6 と強固に分子間相互作用することを見出した。

（15）脳血管内皮細胞における Orai1 を介した store-operated Ca^{2+} entry の役割

鬼頭宏彰[1]，山崎大樹[1,2]，大矢　進[1,3]，山村寿男[1]，浅井清文[4]，今泉祐治[1]
([1]名古屋市立大学　大学院薬学研究科　細胞分子薬効解析学分野
[2]京都大学　大学院薬学研究科　生体分子認識学分野
[3]京都薬科大学　薬理学　[4]名古屋市立大学　大学院医学研究科　分子神経生物学分野)

脳血管内皮細胞(BCEC)は定常的に種々の刺激に晒されるため細胞のターンオーバーが比較的早く，そのことが血液脳関門機能維持において重要であると考えられる。我々は BCEC において，SK2 チャネル及び Kir2.1 チャネルが細胞外からのCa^{2+}流入の駆動力を制御し，細胞内Ca^{2+}動態を調節することで，それぞれ細胞増殖及び細胞死の誘導に一部寄与することを明らかにしてきた。そこで本研究では，Ca^{2+}流入経路として Ca^{2+}放出活性化Ca^{2+}(CRAC)チャネルに注目し，細胞増殖あるいは細胞死に及ぼす影響について検討することで血液脳関門の恒常性に対するCa^{2+}透過チャネル機能を検討した。

BCEC において，store-operated Ca^{2+} entry (SOCE)を介した$[Ca^{2+}]_i$上昇は機能欠損型変異体である Orai1 E106Q の一過性発現，及び Orai1-siRNA の導入により有意な減少が見出された。これらのことから，BCEC において SOCE によるCa^{2+}流入には主に Orai1 が寄与することが示唆された。また，MTT 法を用いた細胞増殖アッセイにより CRAC チャネル阻害薬の作用を検討したところ有意に細胞増殖が抑制された。

以上の結果から，BCEC において Orai1 は CRAC チャネルを構成し，$[Ca^{2+}]_i$を調節することで細胞増殖に関与する可能性が示唆された。

（16）がん細胞に発現する TRPV２：機械刺激に対する応答

長澤雅裕，小島　至（群馬大学　生体調節研究所・細胞調節分野）

TRPV2 チャネルは，温度刺激，伸展刺激によりチャネルが開口してカルシウムの流入が生じると報告されてきた。一方で我々は，線維芽細胞，膵β細胞，マクロファージなどでは，増殖因子・血清・fMetLeuPhe 刺激などにより TRPV２チャネルが細胞膜に移行し，それに伴い持続的な細胞内カルシウムの上昇を生じることを報告してきた。TRPV2 チャネルの制御機構では，チャネルの活性制御だけでなく，チャネル分子のトランスロケーションが重要であると考えられる。TRPV2 チャネルは正常な細胞ばかりでなく，ある種類のがん組織において過剰に発現していることが報告されている。さまざまな癌細胞株において TRPV2 チャネルが発現していることを我々も確認している。今回，がん細胞において機械刺激が TRPV2 チャネルを制御するメカニズムを検討した。その結果，機械刺激により TRPV2 チャネルが細胞膜にトランスロケーションして機能することが明らかになった。この制御機構は，転移などの癌の病態生理に関連していると考えられる。

（17）TRPV4 による脳機能調節；脳内温度エネルギーを電気信号に変換する分子基盤

柴崎貢志[1]，山田勝也[2]，三輪秀樹[1]，山中章弘[3]，宮川　剛[4]，柳川右千夫[1]，富永真琴[5]，石崎泰樹[1]
（[1]群馬大学　医学系研究科　[2]弘前大学　医学系研究科　[3]名古屋大学　環医研
[4]藤田保健衛生大学　医学部　[5]岡崎統合バイオ　細胞生理）

発表者は，脳における TRPV4（34℃以上で活性化）発現を詳細に調べ，海馬に高発現をしていることを発見し，その結果，37℃近傍に保たれている脳内温度により海馬 TRPV4 が恒常的に活性化し，神経興奮性を向上させている可能性を見いだした（Shibasaki et al., J. Neurosci. 2007）。実際に，TRPV4KO マウスの行動実験をした場合に，解剖形態学的な脳の異常は全く認められないものの，神経活動に異常をきたし，行動異常が観察された。

しかしながら，上記の実験だけでは，脳内において TRPV4 が脳内温度エネルギーにより活性化しているのか，あるいはその他の内在性リガンドにより活性化しているのかが不明である。TRPV4 が脳内温度エネルギーにより活性化していることを示すには，*in vivo* で脳を冷却し，TRPV4 の活性化温度閾値（34℃）以下の環境を作り出した場合に神経興奮性がどのように変化するのかを調べる他はない。そこで，野生型と TRPV4KO マウスの脳内にカニューレを埋め込み，脳内温度を 37℃から 30℃程度へと冷却したところ，野生型マウスの神経活動は著しい低下を示した。一方，TRPV4KO ではそのような著しい低下を示さないことが分かった。つまり，正常時には TRPV4 が脳内温度エネルギーを電気信号に変換し，これにより神経活動がポジティブな制御を受けていることがクリアーに証明された。

（18）魚類の延髄最後野を介した体液調節機構

野畑重教[1]，竹井祥郎[2]，佐藤克文[1]
（[1]東京大学　大気海洋研究所　国際沿岸海洋研究センター　[2]東京大学　大気海洋研究所　生理学）

海水魚の体液浸透圧は海水の約 1/3 であり，海水との浸透圧差によって常に脱水の危機に曝されている。したがって水分の損失を補うために盛んに海水を飲むことで，脱水をまぬがれている。本発表ではニホンウナギを用い

た魚類の飲水行動研究について述べ，浸透圧センサーとしてのTRPVに興味を持つに至った経緯について紹介した。

末梢の飲水調節因子は延髄最後野(AP)を介して飲水を調節する。ウナギのAPは血液脳関門を欠くため末梢からの情報を受容しうる。ウナギのAPを破壊したところ，種々のホルモン，浸透圧刺激，容量刺激による飲水調節が阻害された。また，人工的に脱水させた海水ウナギでは飲水が30倍に増加するが，AP破壊群では5倍程度の増加しか起こらなかった。一方，脳室内に投与されたアンジオテンシンIIの飲水促進作用は，AP破壊の影響を受けなかった。以上の知見は，海水魚が脱水をまぬがれ体液恒常性を維持するには，末梢中の飲水調節因子によるAPを介した飲水調節が重要であることを示唆している。

どのような因子がAPを介した飲水調節に関与するかは不明であるが，TRPVのような浸透圧センサーが脱水による浸透圧上昇や体液量低下を感知して飲水を調節している可能性を考えている。現在，ウナギの脳からTRPV2および4のcDNAをクローニングし，今後はTRPVと飲水調節の関係を明らかにする予定である。

（19）眼内平滑筋の収縮調節におけるTRPCの機能的役割の検討

赤尾鉄平，宮津　基，竹谷浩介，高井　章（旭川医科大学　生理学講座　自律機能分野）

毛様体筋や瞳孔括約筋のムスカリン受容体刺激に応じた収縮の持続相においては，他の多くの平滑筋におけるのと同様，細胞外から流入するCa^{2+}が重要な役割を演じている。われわれはこれまで，電気生理学的実験により，このCa^{2+}流入が2種類の非選択性陽イオンチャネル(NSCCLとNSCCS)を介して起ることを明らかにした。一方，RT-PCR法や免疫染色により，分子候補としてのTRPC1, TRPC3, TRPC4, TRPC6やOrai1などの毛様体平滑筋細胞における発現を確認している。ウシ毛様体筋において電気生理学的に同定された二つのチャネルのうち，NSCCLは単位コンダクタンスが35 pSと比較的大きく，膜電位固定化でM_3受容体刺激により誘発される電流のノイズ成分は主にこれの開口によるものである。しかし，細胞一個あたりの数は10〜数100と非常に少くCa^{2+}透過性も高くない(Na^+を基準とした透過性比$P_{Ca}/P_{Na}=0.3$)。これに対し，NSCCSは単位コンダクタンスは100 fSと非常に小さいが，細胞あたりの数はNSCCLの500-3000倍と多く，Ca^{2+}透過性も比較的高い($P_{Ca}/P_{Na}=3$)。このNSCCSは，caffeineなどによる細胞内Ca^{2+}を枯渇させると開口する，いわゆるstore-operated Ca^{2+} channel (SOC)としての性質を持っている。一方，ウシ毛様体筋束標本においてカルバコール刺激による発生する等尺性張力は，10 μMのPyr3には感受性を示さないが，1-10 μMのBTP2 (YM-58483)により強く抑制される。これらの理由から，われわれは，少なくともウシ毛様体筋では，収縮持続相における主なCa^{2+}流入経路はNSCCSではないかと考えるに至った。

（20）生体内単一細胞の局所加熱顕微鏡の紹介

亀井保博（基礎生物学研究所　生物機能解析センター　光学解析室）

顕微鏡は小さな世界を拡大して観察する道具として生まれ，技術革新が進み，緑色蛍光タンパク質の登場により個体レベルでの形態観察や生理状態の観察可能となり，「バイオイメージング」という分野が生まれた。一方で，顕微鏡は「見る」から「操作する」方向へも展開している。ケイージド化合物を利用した局所的物質解放法，光応答チャンネルなどの光受容体を利用した生体操作法（optogenetics）が最近注目を浴びている。我々が開発した赤外レーザーによる遺伝子発現法（Infrared laser evoked gene operator: IR-LEGO）もこのような「光を用い

た生体操作法」に分類できる新しい光学的手法である。

IR-LEGO 法は，「時空間的」に自由に標的遺伝子を発現誘導する技術である。水を効率的に加熱する赤外レーザー（1480 nm）を生体内細胞に集光させ，生物の持つ熱ショック応答を誘導することで外来遺伝子の発現を誘導する。レーザー照射に伴い局部温度は数十ミリ秒でジャンプし，照射中は一定に保たれた。しかもその到達温度はレーザー出力に依存するので温度制御が可能であることが分かった。また，この技術を 4 つのモデル生物（シロイヌナズナ，メダカ，ゼブラフィッシュ，線虫）に応用したところ，遺伝子発現誘導が可能なことが分かった。

（21）ヒト子宮内膜間質細胞の脱落膜化過程における TRPC1 の役割

瓦林靖広，倉原（海）琳，本田　啓，市川　純，井上隆司（福岡大学　医学部　生理学）

脱落膜化は性ステロイドホルモンにより引き起こされる子宮内膜の形態的・機能的変化で，受精胚受容の準備や妊娠成立後の母児間免疫バリアの形成に必須である。この過程には，子宮内膜の間質細胞(Endometrial stromal cells : ESCs)の分化が中心的な役割を果たしている。本研究では，酵素的に単離したヒト子宮内膜間質細胞(hESCs)を用いて，脱落膜化における細胞内 Ca 動態変化の意義を検討した。17β-estradiol(E2) / Progesterone(P4) で hESC を分化誘導すると，7〜14 日間で脱落膜化に特有の形態変化（大型化，類円形化）やマーカー(IGFBP-1, プロラクチン）の上昇とともに，TRPC1 の発現増加およびそれを介する Ca^{2+}流入の著しい促進が観察された。TRPC1 発現の siRNA 干渉による抑制や，TRPC1 を介するストア枯渇活性化 Ca^{2+}流入(SOC)の薬物（SK&F96365, Gd^{3+}）や特異抗体による抑制は，脱落膜化の進行を有意に抑制した。E2/P4 の下流の情報伝達を調べたところ，TRPC1 を介する Ca^{2+}流入は Ca^{2+}依存性転写因子 CREB(cAMP responsive element binding protein)のリン酸化・核移行を促進し，FOXO1(Forkhead box protein-O1)の発現増加を介して脱落膜化の過程を制御している可能性が示唆された。本研究の結果により，性ホルモンによる子宮内膜間質細胞の脱落膜化過程において，TRPC1 蛋白質の増加とそれに伴う SOC を介した Ca^{2+}流入が極めて重要な役割を果たしていることが分かった。

（22）AQP and TRP

Hong LUO（Global Science and Culture Publishing, GSCP, Japan）

1. The water pathway in biological membranes has been kept mysterious until the discovery of aquaporins (AQPs) water channels which selectively permeate water, or uncharged small molecules such as glycerol and urea.
2. The transient receptor potential vanilloid (TRP) channels are a superfamily of ion channels that play a wide diversity of physiological functions as molecular gateways in sensory and regulatory systems generally. Most TRP channels are cation nonselective.
3. Cumulative evidences have shown the similar ARQ with TRP in sensitivities such as osmolarity, temperature, light, messengers, metabolites, phosphorylation, calcium, hormones, oxidation, injury or inflammatory substances not only; but also in functions such as volume regulation, fluid balance, migration, survival, barrier, immunity, metabolic coordination, sensation, nerve transmitter release as well as adhesion, inflammation, pain, edema, and cancer, although some reports of the functions and regulations were controversial.
4. Recent years, increasing interests were focused on the translocations of AQP and TRP from vesicle to plasma membrane with fast regulation that explored new

mechanisms. Cotranslocations of AQP and TRP in health and disease were observed.

5. The relationships of AQP and TRP could be new important themes both in basic and clinic researches.

（23）肺高血圧症における Ca^{2+}感受性受容体の発現増加と TRPC6 チャネルとの機能的連関

山村寿男[1,2]，山村　彩[1,3]，Qiang Guo[1]，Adriana M. Zimnicka[1]，Jason X.-J. Yuan[1]
（[1]イリノイ大学シカゴ校医学部　[2]名古屋市立大学大学院薬学研究科　[3]金城学院大学薬学部）

本邦で特定疾患治療研究事業対象疾患に指定されている肺高血圧症は，肺血管の攣縮や肺血管壁の肥厚による血管内腔の狭小化，血栓形成による肺血管抵抗の上昇によって，持続的に肺動脈圧が上昇する致死性疾患である。本研究では，Ca^{2+}感受性受容体（CaSR）と TRPC6 チャネルに着目し，肺高血圧症におけるその発現変化および機能変化を解析した。

特発性肺動脈性高血圧症（IPAH）患者由来の肺動脈平滑筋細胞（PASMCs）では，外液 Ca^{2+}濃度を 0mM から 2.2mM に置換すると，顕著な$[Ca^{2+}]_{cyt}$上昇が認められた。この応答は，CaSR 活性化薬である R568 によって増大し，CaSR 阻害薬である NPS2143 や非選択的陽イオンチャネル阻害薬である La^{3+}によって抑制された。また，CaSR のタンパク発現は，IPAH-PASMCs で増加していた。CaSR や TRPC6 チャネルの siRNA ノックダウンは，IPAH-PASMCs で観察される細胞外 Ca^{2+}誘発性$[Ca^{2+}]_{cyt}$上昇や異常な細胞増殖を抑制した。モノクロタリン誘発性肺高血圧症ラットの PASMCs においても，CaSR の機能発現が増大しており，NPS2143 の腹腔内投与は，肺高血圧症の進行や右心肥大を改善した。

以上より，CaSR の発現増加や TRPC6 との機能的連関が，肺高血圧症における細胞内 Ca^{2+}シグナルの増強に関与していることが示された。

（24）ラット脊髄膠様質ニューロンの自発性興奮性シナプス伝達に及ぼすシネオールの促進作用

熊本栄一，徐年　香，藤田亜美，蒋　昌宇，柳　涛，松下晋大，大坪瀬奈
（佐賀大学　医学部　生体構造機能学講座（神経生理学分野））

後根神経節ニューロンの中枢端に発現している TRP チャネルの活性化は脊髄後角第 II 層（膠様質）ニューロンへの自発性グルタミン酸放出を促進させる。今回，ユーカリなどの植物の精油に含まれる 1,8-および 1,4-シネオールが膠様質ニューロンにおけるグルタミン酸作動性の自発性興奮性シナプス伝達に及ぼす作用を調べた。実験は，成熟ラット脊髄横断スライスの膠様質ニューロンへブラインド・ホールセル・パッチクランプ法を適用することにより行った。1,8-シネオールは可逆的および濃度依存的に自発性興奮性シナプス後電流（sEPSC）の発生頻度を増加させ，その EC_{50} 値は 2.7 mM であった。一方，sEPSC の振幅は影響を受けなかった。この増加作用は，TRPV1 チャネル阻害薬カプサゼピンにより影響を受けなかった一方，TRPA1 チャネル阻害薬 HC-030031 により抑制された。1,4-シネオールも sEPSC の発生頻度を増加させたが，この作用は 1,8-シネオールの作用よりずっと大きかった（EC_{50} = 0.18 mM）。この作用も，カプサゼピンにより影響を受けなかったが，HC-030031 により抑制された。以上より，1,8-および 1,4-シネオールは後根神経節ニューロンの中枢端に発現している TRPA1 チャネルを活性化して膠様質ニューロンへのグルタミン酸の自発放出を促進すると結論した。

8．視知覚の理解へ向けてー生理，心理物理，計算論による探求

2012 年 10 月 4 日－10 月 5 日

代表・世話人：金子寛彦（東京工業大学大学院総合理工学研究科）
所内対応者：小松英彦（生理学研究所）

（1）視覚注意のデコーディング
山岸典子（ATR 認知機構研究所/JST さきがけ/情報通信研究機構）

（2）サル第４次視覚野における色と形の情報処理のための皮質機能構築
谷川　久（新潟大学医学部）

（3）宇宙に上下は存在するかー空間識における視知覚－
和田佳郎（奈良県立医科大学生理学第一講座）

（4）デコーディッドニューロフィードバックによって誘導される視覚可塑性
柴田和久（ブラウン大学／ATR 脳情報通信総合研究所）

（5）自然情景画像の瞬間知覚における空間周波数情報の統合過程
木原　健（鹿児島大学大学院理工学研究科）

（6）顔の認知機構を探るスパースモデリング
岡田真人（東京大学大学院新領域創成科学研究科）

（7）脳梁結合と対側半球から伝えられる初期視覚情報
大澤五住（大阪大学大学院生命機能研究科）

（8）視覚的選好における潜在学習の役割
小川洋和（関西学院大学文学部総合心理科学科）

（9）視覚的意識の脳機序解明に向けて
渡邉正峰（東京大学大学院工学系研究科）

(10) ニホンザルは顔を効率的に探索するのかー顔検出の手がかりとなる情報ー
中田龍三郎（富山大学大学院医学薬学研究部）

(11) 面の知覚から形の知覚へ---計算論的アプローチ
酒井　宏（筑波大学大学院システム情報工学研究科）

(12) fMRI を用いた色情報の脳内表現に関する検討
栗木一郎（東北大学電気通信研究所）

(13) 輝度勾配と運動錯視
蘆田　宏（京都大学大学院文学研究科）

(14) サル下側頭皮質ニューロンの光沢選択性と光沢情報の表現
西尾亜希子（生理学研究所感覚認知情報研究部門）

(15) 人間の運動視情報処理における空間的相互作用
西田眞也（NTT コミュニケーション科学基礎研究所人間情報研究部）

【参加者名】

山岸典子（ATR/JST さきがけ/情報通信研究機構），谷川久（新潟大学），和田佳郎（奈良県立医科大学），柴田和久（ブラウン大学／ATR），木原　健（鹿児島大学），岡田真人（東京大学），大澤五住（大阪大学），小川洋和（関西学院大学），渡邉正峰（東京大学），中田龍三郎（富山大学），酒井　宏（筑波大学），栗木一郎（東北大学），蘆田　宏（京都大学），西田眞也（NTT），金子寛彦（東京工業大学），伊藤　南（東京医科歯科大学），平松千尋

（京都大学），藤井芳孝（東京工業大学），前川　亮（東京工業大学），金成　慧（東京工業大学），松田勇祐（東京工業大学），福田一帆（東京工業大学），篠原浩一郎（東京工業大学），竹田直生（東京工業大学），坂井友洋（東京工業大学），川島祐貴（東京工業大学），永福智志（富山大学），篠森敬三（高知工科大学），田嶋達裕（NHK），河邉隆寛（NTT），三輪拓馬（東京工業大学），門野泰長（東京工業大学），山根ゆか子（大阪大学），根岸一平（高知工科大学），宮坂真紀子（女子美術大学），村井祐基（東京大学），宇和伸明（イングレッサ），湯淺健一（東京大学），蒲池みゆき（工学院大学），高井基行（工学院大学），福島邦彦（ファジィシステム研究所），若杉健介（東京大学），徳田　悟（東京大学），村田　伸（東京大学），四倉晋平（東京大学），鯉田孝和（豊橋技術科学大学），萬田　暁（東京大学），針本哲宏（豊橋技術科学大学），澤山正貴（千葉大学），蘭　悠久（島根大学），唐木田亮（東京大学），五十嵐康彦（東京大学），小林　恵（中央大学），大倉典子（芝浦工業大学），寺尾将彦（東京大学），市川寛子（中央大学），作田由衣子（中央大学），金沢　創（日本女子大学），山口真美（中央大学），寺島裕貴（東京大学），山下和香代（中央大学），塩入　諭（東北大学），佐藤貴宣（早稲田大学），中内茂樹（豊橋技術科学大学），塚本吉彦（兵庫医科大学），廣本建一（トヨタ自動車），田嶋千尋（キャノン），丸谷和史（NTT），永井岳大（豊橋技術科学大学），本吉　勇（NTT），堤本広大（神戸大学），三好清文（京都大学），佐藤雅之（北九州市立大学），青山俊弘（鈴鹿高専），渡辺謙太（鈴鹿高専），佐藤夏目（中央大学），村井陽介（セコム），星野　聖（筑波大学），楊　嘉楽（中央大学），南　哲人（豊橋技術科学大学），安田浩志（豊田中央研究所），大瀧　翔（京都大学），小濱　剛（近畿大学），佐藤宏道（大阪大学），樽松　憲（筑波大学），岡部昌子（大同大学），堺　浩之（豊田中央研究所），近藤敏之（デンソー），鈴木一隆（浜松ホトニクス），廣瀬信之（九州大学），上﨑麻衣子（京都大学），兼子峰明（京都大学），久方瑠美（東京大学），髙橋伸子（愛知淑徳大学），行松慎二（中央大学），門田浩二（大阪大学），谿　雄祐（豊橋技術科学大学），山岸理雄（豊橋技術科学大学），定金　理（基礎生物学研究所），
以下，生理学研究所
加藤利佳子，穐吉亮平，髙良沙幸，鶴原亜紀，高桑徳宏，吉田正俊，笠井昌俊，森　琢磨，小松英彦，郷田直一，横井　功，安川涼子，橘　篤導，西尾亜希子，岡澤剛起，波間智行

【概要】

平成 24 年度生理学研究所研究会「視知覚の理解へ向けて―生理，心理物理，計算論による探求―」は，平成 24 年 10 月 4，5 日に岡崎コンファレンスセンター中会議室において開催された。生理学・脳計測 7 件，心理物理学 6 件，計算論 2 件の合計 15 の講演があり，参加者は 115 名であった。初日は，まず山岸氏が脳活動計測による視覚的注意の推定に関する実験の報告をした。次に谷川氏が V4 野細胞の機能区分の存在を示す実験結果を報告した。和田氏は異なる G 環境における知覚的身体方向に関する実験結果を紹介した。柴田氏は脳活動を用いたフィードバックによる訓練によって，初期視覚野の可塑性を示した。木原氏は自然画像中の空間周波数情報の統合に関する知見を紹介した。岡田氏は高次元データの説明変数選択のための枠組みを説明し，その適用結果を紹介した。大澤氏は脳梁を介して対側半球から伝わる初期視覚情報の特性に関する知見を報告した。小川氏は視覚的選好における視線手がかりによる学習の影響について報告した。1 日目の最後は，渡辺氏が視覚的意識に関わる脳部位および脳活動条件に関する知見を報告した。二日目はまず，中田氏がヒトとチンパンジーを用いた顔画像の検出に関する実験の結果を報告した。酒井氏は輪郭の所属対象決定プロセスに関する計算論的なモデルを示した。栗木氏は脳機能計測を用いて調べた視覚野細胞の色選択性について報告した。蘆田氏は脳内の時間勾配計算がコントラストの増減について対称でないことにより運動錯視を説明するモデルを示した。西尾氏は下側頭皮質において光沢知覚に関与すると考えられる細胞の存在およびその特性を示す実験結果について報告した。最後に西田氏は，運動情報処理と空間情報処理の相互作用に関する知見を報告した。異なるアプローチによる様々な視知覚研究が聴講できる非常に有意義な研究会であった。

（1）視覚注意のデコーディング Decoding of spatial attention

山岸典子（ATR 認知機構研究所，科学技術振興機構さきがけ，情報通信研究機構）

本格的なユビキタスネットワーク環境の実現に向けた研究開発が進められている現在，その活用にあたっては，人間側から情報通信機器を使用する行動を起こし，意識し努力するなどのユーザの労力が必要なのが現状である。どんな人でも情報通信技術の恩恵を自然に受けるためには，「欲しいところに欲しい情報が，ちょうどよいタイミング」で提供される環境知能の実現が望まれている。この実現のため，当研究では脳活動計測データを利用し，時々刻々と変化するユーザの注意の方向，知的作業に対する注意レベルの推定をする手法の研究開発を進めている。本発表では，被験者が注意課題を遂行している時の脳活動を fMRI と MEG で計測し，視覚注意の空間的および時間的な状態の推定（デコーディング）を行った結果について紹介する。被験者は視覚注意をキューに従い，四半視野の一箇所に向け，そこに提示された視覚課題を行った。この時の脳活動を fMRI と MEG で計測し，それらのデータから大脳皮質上の活動を VBMEG (Sato et al., 2004)で推定し，それをデコーディングの特徴量とした。推定は sparse logistic regression (SLR) を用いて行った。

四半視野のどこに注意を向けているかのデコーディングパフォーマンスは低次視覚野の情報のうち，アルファー波帯域を使ったものがキュー期間($p < 0.01$ corrected), 刺激期間($p < 0.05$ corrected)共に優位であった。そこでオンライン推定では，MEG 計測データのうちアルファー波を逐次解析することで注意方向の推定を行った。発表ではオンライン推定実験の様子をムービーで紹介する。時間的な注意状態の推定としては，250 ミリ秒ごとに提示される刺激が，ターゲット刺激なのか，それ以外なのかを推定した。推定は，注意が向いている空間では，ターゲットを見ているかどうかの推定が優位($p<0.01$)にできた。また，被験者が課題を間違えた時はデコーダーもミスすることがわかった。デコーディングにより，注意機構の解明が進むと共に，人の内的状況を推定することが可能であることがわかった。

本研究は JST 戦略的創造研究推進事業さきがけの一環として行われたものである。

（2）サル第４次視覚野における色と形の情報処理のための皮質機能構築

谷川　久（新潟大学大学院医歯学総合研究科　統合生理学分野）

第４次視覚野（Ｖ４野）は色や形の知覚に重要なはたらきをもつ大脳皮質領野である。この領野は，発見当初は主に色の視覚情報の処理にはたらく領野として解釈されたが，のちの研究では色だけでなく傾きや両眼視差，さらには，より複雑な図形パターンに選択的に応答するニューロンもみつかってきた。そのため現在では，さまざまな視覚属性の情報を含んだより高次な視覚情報を処理している領野であると考えられている。初期視覚野であるＶ１野・Ｖ２野では視覚属性（色や傾き）選択性に基づいた皮質機能区分が構築されていることが知られているが，Ｖ４野にもそのような機能区分が存在するのかは明らかではない。その問いに答えるために，本研究ではサルＶ４野の視覚応答特性の分布を内因性光計測法によって調べた。内因性光計測法は露出された脳にある特定の波長の光を照射し，その吸光度の変化からどの部位が活動を引き起こしているのかを調べる方法である。サルにモニタ上の点を固視するように訓練し，固視中に様々な傾きや色の縞模様を提示し，露出されたＶ４野の吸光度変化を記録した。その結果，傾きにかかわらず色や輝度の違いで応答が異なる領域がＶ４野において幅数ミリの帯状に分布していることが明らかになった。一方で，色や輝度の違いにかかわらず傾きの違いで応答が異なる領域も帯状に分布していた。さらに，このような色感受性領域と傾き感受性領域は空間的にほぼ分離していることがわかった。傾き感受性領域には，Ｖ１野で見られるようなピンホイール構造（ある点を中

心に異なる選択性をもつ部位が放射状に分布する構造）が存在していた。さらに，色感受性領域にも異なる色相に選択性をもつ部位が放射状に分布し，ピンホイール構造を形成していた。以上の結果から，Ｖ４野に色と傾きの処理に関わる皮質機能区分が存在することが明らかになった。Ｖ４野ニューロンの複雑な図形特徴選択性を考慮すると，このような機能区分は，ある傾き，もしくはある色を共通要素として持った異なる図形特徴選択性を持ったニューロン群が皮質内で集団を形成していることを反映しているのかもしれない。

（3）宇宙に上下は存在するかー空間識における視知覚ー

和田佳郎（奈良県立医科大学生理学第一講座）

空間における自己の位置，姿勢，方向，運動などの認識を空間識と呼び，主に前庭（半規管と耳石器）感覚，視覚，体性感覚からの情報により形成されている。空間識の基準となるのは上下であり，地上では重力により上下が決まっている。では重力のない宇宙では上下は存在するのであろうか？そして空間識はどの様に変化するのであろうか？その疑問に答えるため，地上１G 実験，遠心加速度実験（１G～2.5G），航空機実験（μG～1.8G）における各種重力環境下にて上下感覚及び傾斜によって誘発される Ocular counter-rolling（OCR）の測定をおこなっている。上下感覚の評価法として自覚的重力方向 Subjective Visual Vertical（SVV）と共に重力の無い宇宙での実施を考えて自覚的身体軸方向 Subjective Visual Body Axis（SVBA）の検討もおこなっている。下記はこれまでに得られた視覚に関わる実験結果の例である。１）1G 下で roll 傾斜（0～180 度）した静止画に対する上下感覚（SVBA）と OCR を測定すると，SVBA は 20 度，OCR は 45 度の roll 傾斜で最も大きな変化を認めた（n=14）。これは傾斜した視覚情報に対する認識と反射は必ずしも一致しないことをあらわしている。２）20 度 roll 傾斜した静止画に対する上下感覚（SVV）を測定すると，1G（SVV の平均：3.9 度）と 1.5G（3.8 度），2G（3.9 度）での結果に差を認めなかった（n=10）。これは上下感覚における視覚の依存度は過重力になっても変わらないことを示している。３）放物線飛行中の 20 秒間のμG 下で頭部を 20 度 roll 傾斜させた状態で上下感覚（SVBA）と OCR を測定すると，SVBA，OCR 共に暗所と明所で差を認めなかった（n=4）。これは 20 秒間という短時間のμG では視覚効果が現れないことを示している。以上は健常人での結果であるが，本研究会では平衡障害者やトップアスリートを対象とした実験結果も合わせて紹介する。これらの結果を基にして，現在，２年後に予定している長期国際宇宙ステーション滞在中における宇宙実験の準備を進めているところである。

（4）デコーディッドニューロフィードバックによって誘導される視覚可塑性

柴田和久（ブラウン大学／ATR 脳情報通信総合研究所）

徹底した視覚課題の訓練によって，大人でも視覚能力の向上が起こることが知られている。視覚知覚学習と呼ばれるこの学習に初期視覚野が関わるのかどうかについて，これまで長い論争があった。論争が続いていた主な原因のひとつとして，これまでの研究は，視覚能力の向上と脳活動変化の間の相関を調べるにとどまり，視覚知覚学習と脳活動の間の因果関係には言及してこなかった点が挙げらる。初期視覚野が知覚学習の原因となり得るくらい可塑的なのかを調べるために，われわれは機能的磁気共鳴画像法（fMRI）を用いた実時間フィードバック法を開発した。Decoded fMRI Neurofeedback (DecNef) とわれわれが呼んでいるこの方法によって，被験者はフィードバックをてがかりに，自分で自分の初期視覚野脳活動パターンを特定の方位（ターゲット方位）を持つ縞模様によって誘起されるパターン（ターゲットパターン）に近づける訓練を行った。DecNef 訓練の間，実験の

目的やターゲットパターンが何に基づいているかについて，被験者は一切自覚的でなかった。DecNef 訓練を数日間行った前後で，被験者の縞模様方位判別課題成績を比較すると，ターゲット方位に対してのみ，課題成績の有意な向上が認められた。さらに，初期視覚野活動パターン操作のうまさとターゲット方位に対する視覚感度の向上度合いの間に，顕著な相関関係が見られた。また，DecNef 訓練中の脳活動パターンに対する多変量解析と数理シミュレーションの結果から，被験者がフィードバックを手がかりにターゲットパターンの誘導を学習する神経基盤のモデルが得られた。これらの結果は，視覚刺激なしでも，操作している脳活動パターンが何に基づいているかの自覚が被験者になくても，特定の視覚特徴に対応する脳活動パターンの繰り返しだけで知覚学習が起こるほど，大人の初期視覚野は充分に可塑的であることを示す。

（5）自然情景画像の瞬間知覚における空間周波数情報の統合過程

木原　健（鹿児島大学大学院理工学研究科）

テレビのチャンネルを次々に切り替えている最中でも，画面に映るシーンをたちどころに理解できる。このように，人間は映像や写真のような複雑な自然情景の内容を一瞬で知覚できる。自然情景画像の瞬間知覚は，複数の空間周波数情報の並列処理とそれらの統合によって成立することが知られている。しかし，空間周波数情報がどのように統合されるのかについては不明瞭のままであった。特に，1）空間周波数情報は刺激呈示後何ミリ秒で統合されるのかというタイムコースの問題，2）各空間周波数情報の統合には，空間的に一致していることが不可欠なのか，それとも意味的に一致していれば良いのかという情報一致性の問題，3）情報統合には注意が必要なのか，それとも前注意的に成立するのかという注意の役割の問題について殆ど分かっていなかった。そこでこれらの問題を検討するため，低空間周波数情報もしくは高空間周波数情報のみを有する自然情景画像，あるいは低＋高空間周波数情報を有する自然情景画像を瞬間呈示し，それらの画像の分類（「乗り物」を含む画像かどうか）を求める実験を行った。もし，ある画像呈示時間において空間周波数情報の統合が可能であれば，低＋高空間周波数画像の分類成績は，低空間周波数画像か高空間周波数画像が単独で提示された場合の分類成績から算出される期待値を上回ると考えられる。実験の結果，1）タイムコースの問題に対して，空間周波数情報の統合には約 100 ミリ秒の画像呈示時間が必要であること，2）情報一致性の問題に対して，たとえ空間周波数情報が意味的に一致している場合でも，空間的な一致性が情報統合に不可欠であること，3）注意の役割の問題に対して，注意が別の課題に向けられている場合でも情報統合は妨げられないことがそれぞれ示唆された。以上の結果から，自然情景画像の瞬間知覚の基盤となる，空間周波数情報の認知的・神経科学的な統合過程を考察する。

（6）顔の認知機構を探るスパースモデリング

岡田真人（東京大学大学院新領域創成科学研究科）

スパースモデリングとは，高次元データの説明変数が次元数よりも少ない（スパースである）という仮定に基づき，説明変数の選択を行う枠組みである。スパースモデリングは 1990 年代半ば Tibshirani が提案した LASSO 法や Tipping と Bishop の ARD 法などを契機として生命情報科学，BMI を中心とする脳科学，データマイニングの分野でその有用性が広く認知されるようになった。さらに，2000 年代半ばからは Donoho らが提唱している圧縮センシングが計測工学，通信工学，医用工学，生化学など幅広い分野で革新的情報抽出技術として大きな注

目を集めている。本講演では，Eifuku らの前側頭皮質の神経活動データにスパースモデリングを適用し，刺激画像中の顔の向きに依存せず個体識別を可能とするニューロンの組み合わせを抽出した結果を報告する[1]。前側頭皮質で計測された 23 個のニューロンの中から, 223-1= 838 万 8607 通りの全ての組み合わせに対して，サポートベクトルマシンにクロスバリデーションを組み合わせて個体識別の汎化誤差を求めた。その結果，汎化誤差が 0 となるニューロンの組み合わせが数千にもおよぶ場合があることがわかった。ARD や LASSO などのスパースアルゴリズムは解を一つだけ求める枠組みである。今回のように最適解が非常に多い問題に ARD や LASSO を適用すると，多くのバリエーションを持つ解から，一つの特殊なものだけを求めるので，実験データの解釈を本質的に誤る場合がある。講演では，この問題を解決する新たな枠組みを解説し，高次元データをスパースモデリングで解析する場合に注意すべき点を説明する。

[1] Kitazono, Nagata, Eifuku, Tamura and Okada, Sparse modeling for face identification in monkey anterior temporal cortical areas, 43th NIPS International Symposium Face perception and recognition.

（7）脳梁結合と対側半球から伝えられる初期視覚情報

大澤五住（大阪大学大学院生命機能研究科）

視野全体の画像情報は，網膜上で二分され，右視野の画像情報は左脳へ，左視野の情報は右脳へ投射される。左右半球をつなぐ脳梁は，この二分された視覚情報を切れ目無く継ぎ合わせるための情報交換に役立っていると示唆されてきた。しかし，どのような神経機構により，この視野継ぎ合わせが行われているかについて，単一神経細胞レベルでは，ほとんど明らかになっていない。そこで，本研究では脳梁結合を伝わる神経信号がどのような情報を担っているかを調べるために，視交差を切断したネコの初期視覚野において，両眼性細胞の特性を調べた。視交差切断は視交差において対側の半球へ投射する視神経繊維を切断する。これにより，視床及び次段の大脳への視覚入力は脳半球と同側の眼球から生起するものだけが残される。通常，正常な動物では一次視覚野の多くの細胞は両眼性で，その両眼性入力は大部分が視床由来である。ところが，視交差切断を施された動物においては，大多数の細胞は同側の網膜だけからの入力を持つ単眼性の細胞になる。両眼性細胞として存在する少数の細胞は対側眼からの入力を脳梁を介して受ける細胞であり，これらは初期視覚野では 17 野 18 野の境界にある垂直子午線を受け持つ限定された皮質領域にのみ存在する。従って，対側眼刺激に対する反応は脳梁を介した信号のみを反映し，同側眼刺激に対する反応は視床入力のみを反映する事になり，脳梁結合が担う視覚情報を同定することができた。一般に，脳梁を経由する対側眼に対する反応は同側眼に比べて平均で 20ms 程度長い遅れ時間を持っていた。脳梁由来の入力にもとづく方位と空間周波数に対する選択性は，同側の視床由来の選択性とほぼ同じであった。運動方向選択性は強い場合が多く，両眼視差選択性は弱い傾向があった。以上の結果から，方位，空間周波数，運動に関する情報が特に脳梁結合に担われる初期視覚情報であることが示唆される。

（8）視覚的選好における潜在学習の役割

小川洋和（関西学院大学文学部総合心理科学科）

視線手がかり課題において，ターゲットに先行して呈示される顔の視線がターゲットの出現位置に向けられる顔（有効手がかり顔）は，ターゲット位置と逆の位置に視線を向ける顔（無効手がかり顔）と比較して，より「信頼できる」と評定される（Bayliss & Tipper, 2006）。この効果自体は多くの研究で再現されているが，どのよ

うな過程を経て，視線の予測性が顔の印象評定に影響するのかについては明らかになっていない。そこでまず，実験内における顔の呈示回数を操作することによって，視線手がかりによる顔への印象形成のタイムコースを検討した。まず，視線手がかり課題におけるそれぞれの呈示回数を 1, 2, 3, 6, 12 回に設定し，有効顔に対する信頼性判断への影響を測定した。その結果，予想と反して，呈示回数 1 回の顔刺激においてのみ有効顔に対してより信頼できるというバイアスが生じ，呈示回数が増えるにつれて信頼性が低下していく傾向が認められた。さらに，このバイアスは視線手がかりの有効性が 75%のときでも生起したことから，手がかりの情報価とは関連しないことが示唆される。また，課題終了後に顔のアイデンティティと視線手がかりの有効性に関する再認課題を行ったところ，成績はチャンスレベルに留まった。これは被験者が顔のアイデンティティと視線の有効性の関係について顕在的な記憶を有していないことを示している。さらにいくつかの実験結果から，顔に対する選好処理において，親近性と新奇性の重み付けが，課題構造に応じて潜在的に変化する可能性について議論する。

（9）視覚的意識の脳機序解明に向けて

渡辺正峰（東京大学大学院工学系研究科）

視覚的意識の脳神経機序の解明に向けて数多くの研究がなされてきた。本発表では，二つの切り口からこれに迫りたい。一つ目は「意識内容の変化に応ずる脳部位」である。両眼視野闘争を用いた従来研究により，低次視覚系の V1，LGN から高次の IT , MST, PFC に至るまで，「見え」の有無に応じて脳活動が変動することが示され，意識内容の変化に応じる神経活動が視覚系全体に広がっているとの見方が一般的となっている。そこで私たちは，視覚的注意の効果が結果に干渉していた可能性に着目した。つまり，従来研究では注意が独立に操作されていなかったため，「見え」の有無に合わせて視覚的注意の度合いが増減し，それが脳活動 に影響を及ぼしていたとの懸念だ。実験手法としては，Tsuchiya & Koch による Continuous Flash Suppression を用い，視覚ターゲットへの注意の有無と「見え」の有無を独立に操作したもとで，視覚ターゲットに相当する fMRI 信号を解析した 。その結果，V 1 ボールド信号が注意の変化には応ずるが，「見え」の有無には応じないことが明らかとなり，視覚的意識を担う神経機序の下限が示唆された。　二つ目は「意識を成立せしめる脳活動条件」である。先の「意識内容の変化に応ずる脳活動」とは直交した問題設定であることに注意してほしい。従来，覚醒時とノンレム睡眠時，もしくは覚醒時と麻酔下の脳活動が比較されてきたが，二つの状態が大きくかけ離れていることが緻密な解析および検討を難しくしていた。そこで，覚醒中にあって「視覚体験」の全く消失する錯視（目を瞑ったときに残る視覚的広がりの感覚までもが消滅）を用いて fMRI 計測を行った。その結果，視覚体験の消失時に，視覚野と頭頂葉の一部に限局して近隣ボクセル間の時間相関が有意に上昇することが示された。また，本現象の神経機序を明らかにするべく，麻酔下のサルによる fMRI と電気生理の同時記録を行ったところ，近隣ボクセルの時間相関に神経活動起源の成分が存在することがわかった。

（10）ニホンザルは顔を効率的に探索するのか ―顔検出の手がかりとなる情報―

中田龍三郎，田村了以，永福智志
（富山大学・大学院・医学薬学研究部（医学）・統合神経科学）

＜目的＞　本研究は複数の（顔以外の）オブジェクト画像から顔画像を検出する課題（顔の視覚探索課題）を

研究対象としている。その特徴は，一度に呈示される画像数が多くなっても迅速な顔画像の検出が可能なことである（Hershler & Hochstein 2005 など）。これまで，ヒト以外の動物を対象とした研究はチンパンジーによる研究(Tomonaga & imura 2008)等少数であり，不明な点が多かった。本発表では，ニホンザルとヒトの両種を対象に，できるだけ同一の実験パラダイムを用い，顔の視覚探索課題で手がかりとなる顔情報と，従来の顔認知研究（たとえば人物同定課題）で課題遂行の手がかりとされてきた顔情報との差異について検討した。具体的には，１）種・人種の効果，２）布置情報の利用，３）顔の内部情報・外部情報の利用，４）空間周波数の効果について検討した。＜方法＞　ニホンザルとヒトを対象とした。ターゲット刺激は顔画像であり，３～19 枚のディストラクター刺激（顔以外のオブジェクト画像）と１枚のターゲット刺激を同時に呈示し，ターゲット刺激検出に要する時間を測定した。＜結果＞　両種に共通して，他種の顔を検出する課題（サルではヒトの顔，ヒトではサルの顔を検出する課題）で，それぞれ自種の顔をターゲットとした課題と比べて非効率な探索となった。さらに，顔の布置情報や空間周波数を操作した課題では，従来の顔認知研究で得られた課題遂行の手がかりとなる顔情報と本課題で手がかりとされた情報の間に違いが見られた。本発表にて，さらに詳しい報告を行い，サルおよびヒトの顔処理メカニズムについて考察する予定である。

（11）面の知覚から形の知覚へ---計算論的アプローチ

酒井　宏（筑波大学　システム情報工学系）

輪郭のどちら側に図があるか(Border Ownership)を決定することは，形状知覚にとって重要なプロセスである。最近，自然画像の輪郭に対しても V2 の細胞が BO 選択性を示すこと(Williford, et al., SfN 2011)，BO 選択性の起源が周辺変調であることが報告された。本研究では，複雑な自然画像の局所輪郭から，どのようにして BO が決定され，頑健に形状が表現され得るのかを，計算論的に検討した。特に，最近の生理実験で報告された BO 選択性細胞が示す複雑な潜時と反応特性を制約として，シミュレーション実験によって，必要とされる周辺変調の経路と構造を検討した。この結果，feed-forward によって構成される標準的な広さ　(5～9°)の周辺領域をもてば，BO 選択性細胞の示す潜時と反応特性を再現することが判った。

皮質では，複数の細胞反応が統合されて，BO を正確・頑健に決定していると考えられる。自然画像輪郭に対する単一細胞の正答率は７割程度であり，単一の周辺変調モデルも同様の正答率を示す。本研究では，BO 選択性細胞の反応を統合することによって，正確・頑健な BO 決定が本当に可能か，そのためには何個の BO 選択性細胞が必要なのかを，計算論的に検討した。具体的には，ランダムな周辺変調構造をもつ細胞モデルを用意し，最適な統合を機械学習(SVM)によって求めた。その結果，BO 選択性細胞 10～15 個で 85%程度の正答率が得られ，反応特性は知覚特性とも一致することが判った。輪郭の BO 方向が決定されると，図地分離を正しく行って面を構成し，形状の初期表現を得ることできる。本研究では，V2 で報告されている BO 細胞の同期現象が面の構成の基礎となり得ること，BO 方向が決定されると少数の oriented Gabor patch の組み合わせによって V4 で報告されている curvature 選択性をよく再現できることを示した。これらの結果は，BO 選択性細胞が面の形成と初期段階の形状表現に重要な役割を果たしていることを支持する。

（12）fMRI を用いた色情報の脳内表現に関する検討

栗木一郎[1]・孫　沛[2]・上野賢一[2]・田中啓治[2]・程　康[2]
（[1]東北大学・[2]理化学研究所）

網膜神経節細胞や外側膝状体において，L-, M-, S 錐体の応答の差によって「色」知覚の元になる信号が表現されていることはよく知られている。しかし，例えば色知覚の基準である「純粋な赤，緑，青，黄（ユニーク色）」と+L-M,-L+M や+S, -S の cone opponent 型の信号が対応しない事は，心理物理学的な知見で古くから知られている。色知覚に対応する錐体応答変換については，このような基本的な事柄でも未知の部分が多い。そこで我々は，fMRI を用いてヒトの視覚野の細胞における色選択性について調べることを試みた。我々は，連続的に色相を変化させた視覚刺激を呈示した際の脳活動信号（BOLD 応答）から，視覚野の voxel 毎に応答のピークに対応する色相を推定し，色選択性のバリエーションをヒストグラムとして表す技術を開発した。先行研究で用いられているパタン分類解析では，分類器の学習／評価に使う刺激（ここでは色相）のバリエーションによる制約を受けるため，離散的な結果しか得られない。しかし我々の方法では色相について連続的に評価することができ，色相間での比較も可能となる。その結果，第一次視覚野において cone opponent 信号の中間に存在する色への様々な選択性が示された事，被験者間でヒストグラム形状に大きな個人差がある事，さらにユニーク色に対応したピークが必ずしも存在しない事などの特徴が明らかになった。Cone opponent 軸（L-M, S）の中間色に対する色相選択性をもつ順応効果が fMRI で観測されたことから，中間色に対する応答が単なる cone opponent システムの応答の組み合わせではない事も示された。本発表では，さらに被験者のデータを個人毎に精査し，明るさ（輝度と異なり，時間変化の少ない色光に対する光の強度の心理物理尺度）およびユニーク色との対応に関する考察についても紹介する。

（13）輝度勾配と運動錯視

薗田　宏（京都大学文学研究科）

一次視覚野神経細胞の受容野構造は単なる方位検出器を超えて周波数解析（Gabor wavelet）あるいは微分幾何学(Taylor expansion)の枠組みで理解されつつある。運動視においても同様に，motion energy モデル（時空間傾きフィルタ）と，微分幾何系の勾配法モデル（いわゆるオプティカルフロー拘束式による）の間で議論がなされてきた。鋸波状の輝度変化への順応によって生じる運動残効(Anstis, 1990)が勾配計算を示唆するが決定的とまでは言えず，まだ現象的な研究に意味があると思われる。著者らは，静止が動いて見える「蛇の回転」錯視(Kitaoka, 2003)が微小眼球運動（ドリフト）の速度分布幅と相関することを示し，網膜像の揺れが錯視生起因（の一つ）であると考えた (Murakami et al, 2006)。「蛇の回転」図では輝度変化が常に非対称になっており，動くと非対称な輝度の時間勾配が生じる。我々は，勾配法の枠組みで，生体による時間勾配計算がコントラストの増減について完全に対称でないことで錯視が生じるというモデルを提案した。もう一つ，輝度勾配を持つパッチが白い背景上に並んでいるとき，パッチ群の動く方向によって背景の明るさが変化して見えるという錯視を紹介したい（中村浩氏作，http://visiome.neuroinf.jp/modules/xoonips/detail.php?item_id=6716)。輝度・明度知覚が動きに依存すること自体が興味深い上，この錯視は非対称な空間・時間的輝度勾配を含むので「蛇の回転」錯視とも一貫した説明が可能かもしれない。これまでに錯視の要因を調べる心理実験を行った(Ashida & Scott-Samuel, ECVP 2012)が，運動検出と輝度・明度知覚をつなぐ理論的枠組みの構築には至っていない。諸氏からの意見・助言を歓迎したい。

（14）サル下側頭皮質ニューロンの光沢選択性と光沢情報の表現

西尾亜希子[1]・郷田直一[1,2]・小松英彦[1,2]
（[1]生理学研究所・[2]総合研究大学院大学生命科学研究科）

光沢知覚は物体認識において非常に重要な情報のひとつであるにも関わらず，光沢知覚に関わる神経メカニズムについてはほとんど分かっていない。そこでまず我々は物体認識に重要である下側頭皮質において，光沢の情報が表現されているのかどうかを調べた。さまざまな光沢を持つ視覚刺激をコンピュータグラフィクスで作成し，サルが注視課題を行っている際に，それらの視覚刺激に対する下側頭皮質(Inferior Temporal：IT)細胞の反応を調べた。その結果，上側頭溝下壁には特定の刺激に選択的に応答する細胞が存在することが分かった。これらの選択性は，形や照明を変えた条件では，あまり変化せず，一方で物体画像のピクセルをランダムに入れ替えた条件では反応が消失した。前者の条件では光沢は変化しないが，後者では光沢は劇的に変化する。これらの結果より，IT 細胞は局所的な色や形，また平均輝度や色度などではなく，特定の光沢に選択的に反応していると考えられる。次に，知覚的な光沢と光沢選択的細胞の神経活動の関係を調べるために，知覚的な光沢が均一に変化する光沢空間(Ferwerda et al. 2001)に基づいて実験を行った。この光沢空間はc軸とd軸の2軸からなっており，この空間上で均等に変化するパラメータを用いて刺激を作成し，それらの刺激に対する光沢選択性細胞の反応を調べた。その結果，ほとんどの光沢選択性細胞の反応はcとdの線形な組み合わせによって説明できることが分かった。光沢知覚に重要であると考えられているcとdという変数が光沢選択性細胞の反応を説明する際にも重要であることから，今回記録した下側頭皮質の細胞は光沢知覚と密接に関わっていると考えられる。

（15）人間の運動情報処理における空間的相互作用

西田眞也，Daniel Linares，本吉　勇（NTT コミュニケーション科学基礎研究所）

我々は動き回る目と身体を持って動的な環境を生きている。我々の網膜上では新しいシーンが突然現れ，瞬時に消えることがよくある。このような厳しい状況で視覚系がどのように正しく情報を認識しているかはよく分かっていない。自然物体の写真などに対しては瞬時に対象の認識が成立することが知られている一方で，ノイズに埋もれた運動刺激のようなケースでは提示時間が長くないと効率的に刺激が検出できないことが知られている。典型的には必要とされる刺激提示時間は自然状況での凝視時間よりも長い。しかし，運動刺激（ランダムドットキネマトグラム）の周辺にタスクに関係ない静止刺激を提示すると，短い提示時間における運動検出が大幅に向上することを我々は見出した。このとき，周辺刺激は刺激に同期して瞬間的に提示される必要があり，定常的に提示される静止背景では感度上昇は見られなかった。通常，提示時間が長くなると運動検出は大きく向上するが，周辺刺激がある場合には短い提示時間ですでに感度が良く，提示時間による感度上昇はあまり見られなかった。また，周辺刺激の方位選択性は，相対運動処理が関わっていることを示唆した。我々の結果は空間的な相互作用が素早い運動検出に関わっていることを示唆している。

9. 細胞センサーの分子機構・相互関連・ネットワーク研究会

2012 年 11 月 29 日－11 月 30 日

代表・世話人：重村憲徳（九州大学大学院 歯学研究院 口腔機能解析学分野）
所内対応者：古江秀昌（生理学研究所　生体情報研究系）

（1）ショウジョウバエの音受容センサーと聴覚神経回路地図

上川内あづさ（名古屋大学大学院　理学研究科　生命理学専攻）

（2）光センサータンパク質ロドプシン類の感度を決定づける分子内機構

筒井　圭（大阪大学　大学院　生命機能研究科）

（3）マウス嗅覚受容体のナチュラルリガンドの同定

吉川敬一（東京大学大学院　農学生命科学研究科　応用生命化学専攻）

（4）末梢における味覚の受容とその調節機構

吉田竜介（九州大学大学院　歯学研究院　口腔機能解析学分野）

（5）小胞体ストレスセンサーOASIS ファミリーによる生体機能制御

今泉和則（広島大学大学院　医歯薬保健学研究院　分子細胞情報学）

（6）Na^+/H^+交換輸送体 NHE1 と Ca^{2+}感受性脱リン酸化酵素カルシニューリンとの直接結合を介する新しい心肥大シグナル増幅経路

久光　隆（国立循環器病研究センター　分子生理部）

（7）軸索－シュワン細胞間 ATP シグナルを介したミエリン鞘形成機構

稲生大輔（東京大学大学院　医学系研究科　細胞分子薬理学教室）

（8）質量顕微鏡法を用いた分子イメージング

矢尾育子（関西医科大学　医化学講座）

（9）線虫 C.elegans 温度受容ニューロンにおける G タンパク共役型受容体(GPCR)による温度受容の制御

笹倉寛之（名古屋大学大学院　理学研究科　生命理学専攻　分子神経生物学）

（10）冷刺激受容体 TRPA1

辛島裕士（九州大学病院　手術部）

（11）膜ドメインの多様性と細胞信号伝達

高木昌宏（北陸先端科学技術大学院大学　マテリアルサイエンス研究科）

（12）ABCA1 による細胞内コレステロール濃度維持機構

永田　紅（京都大学　物質－細胞統合システム拠点）

（13）コレステロールの胆汁分泌制御におけるトランスポーター群の相互制御・機能連関

高田龍平（東京大学　医学部附属病院　薬剤部）

（14）スフィンゴシン-１-リン酸トランスポーターSpns2 の生理的機能

福原茂朋（国立循環器病研究センター研究所　細胞生物学部）

（15）細胞ストレス可視化モデルマウスの開発とその性能

岩脇隆夫（群馬大学　先端科学研究者育成ユニット）

（16）クロトーが結合モチーフとして認識する糖鎖構造

伊村明浩（先端医療振興財団　先端医療センター　医薬品開発研究部門）

（17）小腸上皮細胞での脂肪酸酸化は食後高脂血症を抑制する

木村梨乃（京都大学大学院　農学研究科　食品分子機能学）

（18）ワサビから抽出される種々のイソチオシアネートによる TRPA1 の活性化
内田邦敏（岡崎統合バイオサイエンスセンター　細胞生理研究部門）
（19）体内 Na バランス制御ホルモン・アンジオテンシン II による味覚感受性調節
重村憲徳（九州大学大学院　歯学研究院　口腔機能解析学分野）
（20）脳内温度エネルギーを電気信号に変換する分子・TRPV4
柴崎貢志（群馬大学大学院　医学系研究科　脳神経発達統御学講座）
（21）Identification of a novel alternative splicing variant of mouse TRPA1 implicated in modifying TRPA1 activity under inflammatory and neuropathic pain conditions
Yiming Zhou（岡崎統合バイオサイエンスセンター　細胞生理研究部門）

【参加者名】

乾　賢（大阪大学　人間科学研究科），乾千珠子（大阪歯科大学　歯学部），稲生大輔（東京大学大学院　医学系研究科　細胞分子薬理学教室），今泉和則（広島大学大学院　医歯薬保健学研究院　分子細胞情報学），伊村明浩（先端医療振興財団　先端医療センター　医薬品開発研究部門），岩槻　健，野木康子，丸山　豊（味の素（株）イノベーション研究所），岩脇隆夫（群馬大学　先端科学研究者育成ユニット），宇野茂之（日本大学　医学部），大栗弾宏，益田勝吉（サントリー（株）　価値フロンティアセンター），上川内あづさ　（名古屋大学大学院　理学研究科　生命理学専攻），辛島裕士（九州大学病院　手術部），木村梨乃（京都大学大学院　農学研究科　食品分子機能学），笹倉寛之（名古屋大学大学院　理学研究科　生命理学専攻），重村憲徳，吉田竜介（九州大学大学院　歯学研究院　口腔機能解析学分野），柴崎貢志（群馬大学大学院　医学系研究科　脳神経発達統御学講座），高木昌宏（北陸先端科学技術大学院大学　マテリアルサイエンス研究科），高田龍平（東京大学　医学部附属病院　薬剤部），高橋信之（京都大学　大学院農学研究科　食品生物科学専攻），筒井　圭（大阪大学大学院　生命機能研究科），永田　紅（京都大学　物質ー細胞統合システム拠点），久光　隆（国立循環器病研究センター　分子生理部），福原茂朋（国立循環器病研究センター研究所　細胞生物学部），矢尾育子（関西医科大学　医化学講座），吉川敬一（東京大学大学院　農学生命科学研究科　応用生命化学専攻），林　勧生（大鵬薬品），井本敬二，古江秀昌，歌　大介，川津領一（生理学研究所　生体情報研究系），富永真琴，鈴木喜郎，内田邦敏，加塩麻紀子，Yiming Zhou，渡邊成樹，新宅健司，橘高裕貴，西本れい，Sun Wuping ，Zhen-Zhen Kou（岡崎統合バイオサイエンスセンター　細胞器官研究系），粂慎一郎（生理学研究所　分子生理研究系），岡本士毅（生理学研究所　発達生理学研究系）

【概要】

細胞センサーの分子機構のみならず，その相互関連・ネットワークの生理的機能の解明を目的として，様々な分野で注目されているセンサー研究者を集結し，最新の研究成果の発表が行なわれた。セッション 1 では，ショウジョウバエの聴覚に関与する複数の聴覚神経回路地図および他感覚との相互連関の可能性，光センサーロドプシンの光感受性を決定する対イオン位置の最適化，olf288 嗅覚受容体のナチュラルリガンドの同定とその生理作用，味覚認知における味細胞からのラベルドライン説が紹介された。セッション 2 では，小胞体ストレスセンサーOASIS による細胞分化や増殖，pH センサーである Na^+/H^+交換輸送体 NHE1 依存性の心肥大分子機構，ATP シグナリングによるシュワン細胞のミエリン鞘形成機構，質量顕微鏡法を用いた分子イメージングの未来戦略が紹介された。セッション 3 では，線虫における GPCR を介した温度受容機構とその分子進化，論争中の TRPA1 の冷受容体としての機能，膜ドメインの多様性による炎症や生活習慣病との関与が紹介された。セッション 4 では，HDL 形成における ABCA1 のダイマー/モノマー変換の役割，NPC2・ ABCG5/G8・NPC1L1 相互機能連関によるコレステロールの全身動態制御，内皮特異的 Spns2 による S1P を介した免疫系細胞の移出，小胞体・酸化ストレス生体イメージング用モデルマウスの開発と応用，クロトーにおける結合モチーフとして認識する

糖鎖構造が紹介された。これらの研究発表に対し，会場から大変活発な質疑応答がなされた。多くの若手が研究会に参加し，積極的に討論に加わった。要点を絞ったポスタートークにより効率の良いポスターセッションが行なわれた。異分野におけるトップランナー達で議論を重ねていくことがセンサー研究の将来にとって重要であることが確認され，参加者から次回開催の要望が多く寄せられた。

（1）ショウジョウバエの音受容センサーと聴覚神経回路地図

上川内あづさ（名古屋大学大学院　理学研究科）

外界の音情報は脳でどのように理解されているのだろうか？この問いにアプローチするために，私たちは神経回路研究のモデル生物であるキイロショウジョウバエを使って，音の受容メカニズムや情報処理を担う神経回路網の機能マッピングを進めている。これまでに，ショウジョウバエの触角基部の「ジョンストン器官」と呼ばれるセンサーは，それぞれ応答性の異なる感覚神経から構成されて音や重力を別々に受容すること，音受容細胞はその応答特性により，低周波振動細胞，高周波振動細胞に分けられること，さらにこれら異なる感覚細胞で受け取られた刺激は，脳内部で別々の一次中枢に伝わることを発見した。また，同定した一次聴覚中枢から始まる二次聴覚細胞が形成する回路構造を体系的に解析したところ，私たちの聴覚中枢経路と同じように，左右脳半球間の密な連絡，複数経路への分散，異種感覚領域への神経投射，といった特徴が見られた。これら共通の一次聴覚中枢から分かれる複数経路はそれぞれ，ショウジョウバエが利用する特徴的な音パターンの抽出や異種感覚統合に関わっている可能性があると考えている。

（2）光センサータンパク質ロドプシン類の感度を決定づける分子内機構

筒井　圭（大阪大学　大学院　生命機能研究科）

発表動物の網膜やその他の組織において視覚などの機能を担うロドプシン類は，分子内に発色団として 11 シスレチナールを含む光センサータンパク質である。この発色団が光を受容して全トランスが型に異性化することによりロドプシン類は活性状態になり，G タンパク質を介するシグナル伝達系を駆動する。この系が高い光感受性を持つためにはレチナールが「高効率で光を吸収し」「高効率で異性化反応を起こす」ことが重要であるが，実際に脊椎動物タイプのロドプシン類においてはこれらの反応の効率は非常に高いことが知られている。これまでの研究で，脊椎動物タイプのロドプシン類において発色団のプロトンを安定化する「対イオン」として働くことが知られていた 113 番目のグルタミン酸残基が光異性化の促進にも重要であることが分かった。興味深いことに，無脊椎動物タイプのロドプシン類は 113 番目にグルタミン酸を持たないことが知られている。そこで，113 番目以外の位置に対イオンを移動させた脊椎動物ロドプシンの変異体を作成し解析したところ，113 番目以外に対イオンがあると光異性化効率は変化しないが光を吸収する効率が減少し結果として光感受性が低くなった。また，発色団とタンパク質との共有結合の安定性が変異体では大きく減少した。これらの結果から，脊椎動物のロドプシン類における対イオンの位置は光センサーとしての機能にとって最適化されていることが示唆された。

（3）マウス嗅覚受容体のナチュラルリガンドの同定

吉川敬一（東京大学大学院　農学生命科学研究科　応用生命化学専攻）

嗅覚受容体は，外界の情報化学物質を認識するために生物が獲得した最大の分子認識基盤である。近年，合成香料レパートリーを用いたスクリーニングが盛んに行われ，マウスでは約 10 %の嗅覚受容体がリガンドと対応付けられた。しかし，これら合成香料リガンドは，嗅覚受容体が実際に自然界で認識している物質とは異なることが予想される。そこで，自然条件下で嗅覚受容体が感知する物質を「ナチュラルリガンド」と定義し，本研究ではマウス同士の嗅覚コミュニケーションに用いられるナチュラルリガンドの同定を目指した。

マウスが発する匂い物質は，主に外分泌腺で作られ尿や唾液などの体液に分泌されたものである。そこで，外分泌腺に含まれる物質を抽出し，マウス嗅覚受容体を発現させたアフリカツメガエル卵母細胞に対する応答活性を指標としてリガンド精製を行った。その結果，外分泌腺の一つである包皮腺から，嗅覚受容体 Olfr288 のリガンドとして (Z)-5-tetradecen-1-ol（Z5-14:OH）を同定した。Z5-14:OH はテストステロンの制御を受けて雄マウス特異的に包皮腺から尿に分泌されることが判明した。一方で，雌マウスは，雄の尿に含まれる Z5-14:OH に対し嗜好性を示すことが明らかになった。したがって，マウス嗅覚受容体 Olfr288 は，ナチュラルリガンドとして雄の情報を担う Z5-14:OH を認識していると考えられる。

（4）末梢における味覚の受容とその調節機構

吉田竜介，重村憲徳，二ノ宮裕三（九州大学大学院　歯学研究院　口腔機能解析学分野）

味覚は飲食物に含まれる化学物質を検知し，その情報を脳へ伝え，摂取するか否かを判断するために重要な感覚である。一般的に味覚は，甘味，塩味，酸味，苦味，うま味の５つに分類され，これらが基本味とされる。我々は，特定味細胞が GFP を発現する遺伝子改変マウスを用い，味細胞のうち II 型細胞が甘味，うま味，苦味の受容細胞で，III 型細胞が酸味の受容細胞であることを明らかにした。味細胞レベルで各種味覚関連遺伝子の機能を明らかとするため，それらを欠損させた KO マウスと各味細胞を特定できる GFP マウスを掛け合わせ GFP-KO マウスを作成し特定味細胞の味応答を解析すると，各味刺激に対する応答が減弱・消失することが明らかとなった。これらの結果から，基本味は味細胞レベルで弁別され，各種味覚関連遺伝子が味細胞における味応答発生のために重要な機能を果たすことが示唆される。また我々は，味細胞の応答性が様々な体内外の要因により調節を受けることを明らかとしてきた。摂取すべきエネルギーの情報となる甘味の感受性は，摂食抑制物質レプチンにより抑制され，摂食促進物質内因性カンナビノイドにより増強される。Na+の情報となる塩味は血圧上昇や Na+の再吸収に関与するアンギオテンシン II により抑制される。このように末梢味覚器は脳や他の臓器と協調した調節を受けることで体内恒常性維持に寄与すると考えられる。

（5）小胞体ストレスセンサーOASIS ファミリーによる生体機能制御

今泉和則（広島大学大学院　医歯薬保健学研究院　分子細胞情報学）

発表虚血，カルシウム濃度変化，感染など細胞を取り巻く環境変化は，小胞体内に不良タンパク質を蓄積させ細胞にダメージを与える（小胞体ストレス）。過度にストレスが発生すると，細胞はアポトーシスを起こし死に

至る。そしてこれが様々な疾患（神経変性疾患，糖尿病，骨軟骨疾患等）発症の要因になる。一方，細胞は小胞体の機能異常に対抗するための防御システムを備えている（小胞体ストレス応答）。小胞体ストレスセンサーPERK，IRE1，ATF6 は不良タンパク質を感知し細胞質や核にシグナルを発信することで，最終的に小胞体から不良タンパク質を排除し細胞をストレスから救済する。本来，小胞体ストレス応答は細胞の危機的状態から回避するシステムと考えられているが，最近では特定の細胞の分化・成熟を司る働きがあることもわかってきた。このように小胞体ストレスとその応答システムは，細胞の運命決定や生理機能の制御，さらには疾患発症に至るまで，生命現象の多くの局面で重要な役割を果たしている。演者らは新規小胞体ストレスセンサーOASIS ファミリーを５つ見出した。これらは，ATF6 に構造的に類似した膜貫通型の転写因子であり，小胞体ストレスに応答し活性化して転写ターゲットを発現誘導する。本講演では OASIS ファミリーに属する２つの分子 OASIS および BBF2H7 の活性化機構と，これら分子の細胞分化や増殖における役割を中心に最新の知見を示した。

（6）Na^+/H^+交換輸送体 NHE1 と Ca^{2+}感受性脱リン酸化酵素カルシニューリンとの直接結合を介する新しい心肥大シグナル増幅経路

久光　隆（国立循環器病研究センター　分子生理部）

Na^+/H^+交換輸送体 NHE1 は，細胞内 pH を調節する H^+ 感受性トランスポータである。私たちは最近，この NHE1 に結合する新規分子として，Ca^{2+}感受性脱リン酸化酵素カルシニューリン（CaN）を発見した。生化学的検討から，CaN の A サブユニットが，NHE1 の C 末端側細胞質領域にある CaN 結合モチーフと似た配列（PVITID）に直接結合することがわかった。CaN は下流の転写因子 NFAT の脱リン酸化によって，NFAT の核内移行と心肥大関連遺伝子の発現を促し，心筋細胞の肥大化を亢進させることが知られている。繊維芽細胞あるいは心筋細胞において，NFAT のプロモータ活性および NFAT の核内移行は野生型 NHE1 を過剰発現すると有意に上昇し，NHE1 阻害剤によって抑制された。また，意外にも，CaN は Ca^{2+}だけではなく，生理的な範囲内の pH 上昇によって著明に活性化されることが明らかになった。すなわち，NHE1 は細胞内 pH 上昇を介して CaN を活性化すると考えられ，実際に輸送活性のない NHE1 変異体にはその効果がなかった。さらに，NHE1 による CaN/NFAT シグナル活性化には，NHE1 の CaN との相互作用と NHE1 の脂質ラフトへの集積が必要であった。以上の結果から，NHE1 は高 pH を形成する形質膜近傍のマイクロドメイン内に CaN を集積させ，下流へのシグナル伝達を増強する CaN のプラットフォームとしての役割を果たすことが示唆された。心筋細胞を用いた実験から，そのようなシグナル伝達系が NHE1 依存性の心肥大形成にも関与することが考えられた。

（7）軸索ーシュワン細胞間 ATP シグナルを介したミエリン鞘形成機構

稲生大輔[1]，相良　洋[2]，金丸和典[1]，大久保洋平[1]，飯野正光[1]
([1]東京大学大学院　医学系研究科　細胞分子薬理
[2]東京大学医科学研究所　疾患プロテオミクスラボラトリー)

ATP は末梢神経の細胞間情報伝達に重要な役割を果たすリガンドである。これまで，神経終末における ATP の機能が注目されてきたが，近年，軸索上においても ATP が放出されることが明らかになりつつあり，周囲を取り巻くミエリン鞘形成細胞であるシュワン細胞との相互作用が提唱されている。しかしながら，生体内において軸索から ATP が放出される証拠は乏しい上，その生理的意義は不明である。本研究では，まず生きたラットの坐

骨神経において神経活動依存的に軸索から ATP が放出されることを，マイクロダイアリシス法を用いて明らかにした。次に，ATP のシュワン細胞への作用を調べるために Ca^{2+}イメージングを行ったところ，ATP はシュワン細胞の P2Y2 プリン受容体に作用し，IP3 の産生を介して Ca^{2+}シグナルを惹起することが分かった。この ATP による Ca^{2+}シグナルをシュワン細胞選択的に慢性的に阻害したところ，ミエリン鞘形成が抑制された。Ca^{2+}シグナルを阻害したシュワン細胞においてはミトコンドリアの密度が減少しており，ミトコンドリアのエネルギー産生機能と Ca^{2+}シグナルの関連が推測された。そこで，ミトコンドリアの Ca^{2+}取り込みを制御するイオンチャネルである MCU をノックダウンしたところ，同様にミエリン鞘形成が抑制された。以上より，神経活動依存的な軸索からの ATP 放出がシュワン細胞の Ca^{2+}シグナルを惹起し，ミトコンドリアのエネルギー産生機能を制御することでミエリン鞘形成を促進することが示唆された。

（8）質量顕微鏡法を用いた分子イメージング

矢尾育子（関西医科大学　医化学講座）

質量分析技術が生物試料に応用されるようになり，生体高分子の解析が飛躍的に進んだ。これまでの質量分析では，本来その解析対象となる生体試料を分離・精製しなければならず，必然的に目的物質の組織細胞内分布や局在という位置情報が失われてしまうという弱点があった。この問題を解決し，二次元レベルでの質量分析を可能とした手法が質量顕微鏡法（imaging mass spectrometry：IMS）である。

質量顕微鏡法は，組織切片上の任意部位をイオン化し，次にこれを飛行時間型質量分析計（TOF-MS）で分析するという原理に基づいている。通常は 10 マイクロメートル程度の厚さの凍結切片を導電性のスライドグラス上に作製し，イオン化補助剤であるマトリクスを細胞上に均一に噴霧した後，レーザー照射して組織切片上の分子のイオン化を行う。この手法では，数千～数万点に及ぶ膨大な質量分析情報から，任意の分子情報のみを選択的に解析し分布強度をプロットすることで，分子の分布を画像化することができる。

質量顕微鏡法は，これまで組織染色では検出できなかったような分子の局在を知るための有益なツールとして用いられつつある。この手法を用いて解析した分子イメージングの例を紹介した。

（9）線虫 C. elegans 温度受容ニューロンにおける G タンパク共役型受容体(GPCR)による温度受容の制御

笹倉寛之（名古屋大学大学院　理学研究科　生命理学専攻　分子神経生物学）

C. elegans は外界の温度を主に AFD 感覚ニューロンで感知する。AFD の温度受容のシグナル伝達系は，哺乳類の視覚のシグナル伝達系と類似している（Mori et al., 2007）。srtx-1 遺伝子は GPCR をコードし，そのタンパク質は温度受容を担う AFD 神経末端に局在する（Colosimo et al., 2004）。野生型を 23℃および 17℃で餌を与えて飼育した場合，温度勾配上で過去の飼育温度に移動する。srtx-1 変異体は，飼育温度には移動できず，それぞれ，より低温域，より高温域に分布した。srtx-1 変異体の行動異常は AFD のみに srtx-1cDNA を発現させると回復した。これらの結果より SRTX-1 は AFD において幅広いレンジの温度受容に重要な役割をしていると考えられる。野生型の AFD に SRTX-1 を過剰発現させたところ，行動に大きな変化が観察された。SRTX-1 過剰発現個体の好熱性異常は，AFD において温度受容シグナルが遮断されたグアニル酸シクラーゼおよび CNG チャネルの変異体で抑制され，これらの因子の上流で SRTX-1 が機能する可能性が示唆された。最近，ショウジョウバエの幼虫に

おいて，ロドプシンが温度受容行動に重要な役割をしていることが示された (Shen et al., 2011)。GPCR を介した温度受容は進化的に保存された機構であると推定される。

（10）冷刺激受容体 TRPA1

辛島裕士（九州大学病院　手術部）

TRP チャネルファミリーは様々な細胞機能，特に感覚機能に関与する新しいチャネル群として近年研究の進んでいる分野である。TRP チャネルは 6 回膜貫通型の非選択性陽イオンチャネルであり，哺乳類の TRP スーパーファミリーは 6 つのサブグループ（TRPC, TRPV, TRPM, TRPA，TRPP，TRPML）に大きく分かれる。またそれぞれのサブグループは更に細分化される。そのうちいくつかの TRP チャネル（TRPV1，TRPV2，TRPV3，TRPV4，TRPM8，TRPA1）は温度感受性に関係する受容体として報告されている。例えば，唐辛子の成分であるカプサイシンに反応する TRPV1 は 42℃以上の熱で活性化される侵害受容体であり，メントールに反応する TRPM8 は涼しい温度で活性化される受容体である。マスタードオイルやワサビの成分であるアリルイソチオシアネートなどに反応する TRPA1 は，TRPM8 が活性化されるよりも低い温度，つまり侵害冷刺激に反応するチャネルである。しかし TRPA1 が侵害冷刺激受容体であるということに関してはまだコンセンサスが得られていない。今回は，電気生理学的手法を用いて得られた冷刺激で活性化される TRPA1 の特徴的なメカニズムを紹介し，また未だにコンセンサスが得られていない原因にも少し言及した。

（11）膜ドメインの多様性と細胞信号伝達

高木昌宏（北陸先端科学技術大学院大学　マテリアルサイエンス研究科）

細胞信号伝達を担う受容体の多くが，「膜ラフト」に存在すると示唆され，その 2 次元的な挙動（ラフトの移動・融合）や，3 次元的な挙動（エンドサイトーシス・小胞輸送）の重要性が明らかになりつつある。ラフト構造の安定性や挙動は，脂質組成，環境温度の影響を容易に受けると考えられる。現在，我々は膜受容体のドメイン局在と，その機能に及ぼす膜の流動性について，人工膜系と細胞系の実験を並行させながら解析している。人工細胞膜の系においてドメイン（秩序相）は，コレステロールの比率に応じて 2 種類（固体秩序相（So），液体秩序相(Lo)）存在するが，生きた細胞における「ラフトモデル」は，モデル膜系での Lo 相の 1 種類のみを想定している。コレステロールの欠乏や過多により，生きている細胞でもドメインが，モデル膜同様，多様に変化する可能性は十分に考えられる。そして，ドメインの安定性，多様性は，炎症や信号伝達の乱れ，肥満がリスクファクターとなっている生活習慣病と，深い関係があると予想できる。そこで膜ドメインの多様性，そしてドメインと，生体物質の相互作用に関する研究成果を紹介し，温度刺激が膜流動性や膜ドメインへ，そして膜中に存在する受容体機能へ及ぼす影響について議論した。

（12）ABCA1 による細胞内コレステロール濃度維持機構

永田　紅（京都大学　物質－細胞統合システム拠点・iCeMS）

コレステロールは生体膜の構成成分として，またホルモンや胆汁酸の前駆体として動物にとって必須の物質である。しかし，コレステロールの過剰蓄積は細胞にとって有害であり，その細胞内濃度は厳密にコントロールされる必要がある。ABCA1 (ATP-binding cassette protein A1) は末梢細胞内の過剰コレステロールを血中の脂質アクセプターであるアポリポタンパク質 A-I (apoA-I) へ受け渡し，高密度リポタンパク質（HDL，いわゆる善玉コレステロール）として細胞外へ排出するのに必須の膜タンパク質である。

HDL 産生時には，まず apoA-I が ABCA1 の細胞外ドメインに結合すると予想される。我々は，ABCA1 の細胞外ドメインに HA エピトープを挿入することによって，ATP 加水分解依存的に構造変化が起こり，apoA-I 結合部位が形成されることを見出した。また，全反射照明蛍光 (TIRF) 顕微鏡を用いて生細胞内の細胞膜上での ABCA1 と apoA-I を 1 分子レベルで可視化解析し，ABCA1 が細胞膜上でダイマー化して不動化すること，apoA-I 添加によって ABCA1 ダイマーがモノマーに解離して拡散することを明らかにした。脂質輸送活性をもたない ABCA1 変異体はダイマーを形成しなかったことから，ABCA1 のダイマーとモノマーの相互変換が HDL 形成に重要であることが示唆された。

（13）コレステロールの胆汁分泌制御におけるトランスポーター群の相互制御・機能連関

高田龍平（東京大学　医学部附属病院　薬剤部）

コレステロールの胆汁排泄はコレステロール排出トランスポーターATP-binding cassette transporter G5/G8（ABCG5/G8）と，コレステロール吸収トランスポーターNiemann-Pick C1-like 1（NPC1L1）により制御されている。これらのトランスポーターは転写・細胞内局在などの段階においてコレステロール依存的なフィードバック制御を受けるが，最近，胆汁中に分泌されるコレステロール結合タンパク質である Niemann-Pick C2（NPC2）を介した新たな制御機構が見出された。NPC2 が ABCG5/G8・NPC1L1 に加わる新たなコレステロール胆汁排泄制御因子であるとの仮説のもと，当研究室で構築した in vitro 機能評価系を用いて検討を行った結果，NPC2 は ABCG5/G8 の促進因子として機能しうることが示された 1)。そこで，in vivo における胆汁中 NPC2 の生理作用について検討するために，アデノウィルスにより肝臓の NPC2 発現量を人為的に変動させたマウスを作出し，胆汁脂質を解析した。その結果，胆汁中の NPC2 タンパク質とコレステロール量の間には正の相関関係が認められ，生体内においても胆汁中 NPC2 がコレステロール排出を正に制御することが示された 1)。さらに，NPC2 タンパク質の発現量・分泌量が NPC1L1 により負に制御されるという新たな制御機構が見出された 2)。コレステロールの胆汁排泄はコレステロール恒常性維持において重要な役割を果たすことから，新たに見出された NPC2・ABCG5/G8・NPC1L1 による相互機能連関は，コレステロールの全身動態制御や種々の脂質関連疾患の発症リスクを考える上で重要な知見であると考えられる。

（14）スフィンゴシン-１-リン酸トランスポーターSpns2 の生理的機能

福原茂朋（国立循環器病研究センター　細胞生物学部）

スフィンゴシン-1-リン酸（S1P）は，G 蛋白質共役型受容体ファミリーに属する S1P 受容体を介して，血管系や免疫系で重要な役割を果たす脂質メディエーターである。血管系において S1P は，血管ホメオスターシスを制御する一方，動脈硬化症など血管病の発症・進展とも密接に関連している。また，免疫系において S1P は，リンパ組織から血管内へのリンパ球の移出を制御している。細胞内で生成された S1P は，輸送体を介して細胞外に放出され，これら作用を発揮するが，2009 年に我々の研究室は，ゼブラフィッシュで機能する S1P 輸送体として Spinster 2（Spns2）を同定した。本研究では，哺乳動物における Spns2 の機能を解明するため，Spns2 遺伝子欠損マウスを樹立し，解析した。全身性 Spns2 欠損マウスでは，野生型マウスに比べ，血中の成熟 T リンパ球，成熟 B リンパ球が顕著に減少していた。一方，胸腺では成熟 T リンパ球の蓄積が，骨髄では成熟 B リンパ球の減少が観察された。さらに，内皮特異的 Spns2 欠損マウスも，全身性 Spns2 欠損マウスと同様な表現型を示した。以上の結果から，血管内皮細胞から Spns2 を介して放出された S1P が，胸腺における成熟 T リンパ球，骨髄における未成熟 B リンパ球の血管内への移出を制御することが示された。これにより S1P シグナルを介した血管内皮細胞による免疫系の制御機構の存在が明らかになった。

（15）細胞ストレス可視化モデルマウスの開発とその性能

岩脇隆夫（群馬大学　先端科学研究者育成ユニット）

ストレスというと多くの人は精神的なものを連想するが，我々の体を構成する細胞も内的および外的要因から発生する様々なストレスに曝されている。その細胞レベルで感じとられるストレスには酸化ストレスや低酸素ストレスなどがよく研究されており，色々な疾患や老化などとの関連性について注目が集まっている。これまで我々は小胞体ストレスを中心に研究を行ってきた。これも細胞レベルで感じとられるストレスの一つで，先のストレスと同様に色々な疾患との関連性について盛んに研究され，近年ではガンや炎症で小胞体ストレス応答反応が高まることが報告されつつある。このような背景から「動物個体レベルでの細胞ストレス研究」に注目が集まるようになり，我々はストレスの可視化という側面から研究を展開してきた。初めに取り組んだのは，IRE1 による XBP1 のスプライシング反応を利用して蛍光または発光レポータータンパク質を発現させるシステムの開発である。このシステムを導入した遺伝子組換えマウスを用いることで，生体レベルでの小胞体ストレスをレポーター活性として検出することができるようになり，膵臓で生じる生理的な小胞体ストレスや発生過程の胎盤で生じる小胞体ストレスを明らかにしてきた。また最近は小胞体ストレス以外の細胞ストレスの可視化技術にも取り組んでおり，去年は酸化ストレスの可視化モデルマウスの作出に成功した。現在も異なる細胞ストレスや生体防御反応を検出できるモデルマウスの開発を続けている。これら生体イメージング用モデルマウスの開発に関わる詳細や利用価値などについて最新のデータをまじえながら紹介した。

（16）クロトーが結合モチーフとして認識する糖鎖構造

伊村明浩（先端医療振興財団　先端医療センター　医薬品開発研究部門）

αKlotho(αKl)分子は, 変異マウスの表現型から老化に関連するのではないかと考えられたが，その後の解析によりミネラル代謝に関わることが明確となった。αKl は副甲状腺，脈絡叢，尿細管，胎盤に発現するⅠ型膜分子である。現在までに，αKl の基本的な役割は２つ判明している。第一に，骨由来ホルモン FGF23 のシグナル受容を介してビタミン D 活性化の調節に関わる。第二に Na,K-ATPase の細胞内リクルート調節を介して副甲状腺ホルモン(PTH)の分泌に関わる。第二の分子機構は，尿細管，脈絡叢，胎盤で，ミネラルの上皮輸送にも関わると推定される。αKl は，どうして複数の分子と相互作用することが可能なのだろうか？私たちはαKl の酵素類似構造に着目し，稀少な糖鎖をモチーフとして相手分子を認識しているシステムを見いだした。すなわちαKl は, 糖鎖認識に依存して複数の相手分子との結合を可能にしていると考えられる。この相互作用が様々な細胞現象を担っており，糖鎖の制御を含めたミネラル恒常性機構が見えてきた。

（17）小腸上皮細胞での脂肪酸酸化は食後高脂血症を抑制する

木村梨乃（京都大学　農学研究科　食品分子機能学分野）

[目的] 近年，食後高脂血症は冠動脈疾患との関わりが指摘され問題となっている。食後，体内への脂質輸送に重要な役割を果たす小腸上皮細胞には，脂肪酸酸化を亢進させる peroxisome proliferator-activated receptor α (PPARα)が発現しているが，その機能は未知である。そこで，小腸上皮細胞における PPARα の活性化が食後高脂血症に及ぼす影響を検討した。[結果と考察] C57BL/6J マウスに PPARα のリガンドを一週間摂食させた。その結果，リガンド摂食群では小腸上皮細胞における脂肪酸酸化関連酵素の遺伝子発現及び脂肪酸酸化活性は有意に上昇した。また，オリーブオイルの経口負荷試験を行うと，小腸上皮細胞から分泌されるトリグリセリド量の上昇はリガンド摂食群で有意に抑制された。さらに，PPARα活性を持つ食品成分の摂食, 及び肥満病態モデルマウスである KKAy マウスに対する PPARα リガンド摂食においても，同様の作用が確認された。これより，生理的条件下でも肥満状態でも，小腸上皮細胞における PPARα活性化は脂肪酸酸化を亢進することで体内へと取り込まれる脂質量を減少させ，食後高脂血症の予防改善に有効であることが示唆された。

（18）ワサビから抽出される種々のイソチオシアネートによる TRPA1 の活性化

内田邦敏[1,3]，三浦陽介[2]，永井　雅[2]，富永真琴[1,3]
（[1]生理学研究所（岡崎統合バイオ），細胞生理　[2]金印株式会社
[3]総合研究大学院大学，生理科学専攻）

TRPA1 は主に感覚神経に発現しており，冷たい温度（約 17℃以下）や機械刺激などの物理的刺激のみならず，ワサビやニンニクなどに含まれる種々の辛み成分，麻酔薬などの医薬品，Ca^{2+}及び Zn^{2+}など，多くの有効刺激を持つ非選択性陽イオンチャネルである。最近，高酸素及び低酸素のセンサーとして働くことも報告され，その機能は非常に多岐にわたることが明らかになりつつある。また，所属研究室より防腐剤の１つであるパラベン，細胞内アルカリ化, 第１級アルコールが TRPA1 を活性化することを報告している。

ワサビ（Wasabia japonica (Miq) Matsumura）の辛み成分のうち主な成分は allyl isothiocyanate であるが，それ以外にも 17 種以上の isothiocyanate が含まれている。特に，6-(methylsulfinyl) hexyl isothilcyanate （ 6-MSITC ） and 6-(methylthio) hexyl isothiocyanate（6-MTITC）は西洋ワサビ（horseradish，Armoracia rusticana）にはほとんど含まれず，ワサビ独特の風味をもたらす成分である。今回，この 6-MSITC と 6-MTITC が TRPA1 を活性化することを見いだした。TRPA1 を強制発現させた HEK293 細胞に Ca^{2+}-imaging 法及びパッチクランプ法を適用して検討した結果，6-MSITC と 6-MTITC とも TRPA1 活性がみられた。また，マウスより単離した後根神経節細胞においても，TRPA1 の活性化が認められた。一方，高濃度の 6-MSITC は TRPV1 を強制発現させた HEK293 細胞においても活性化電流がみられた。AITC など求電子性のリガンドは TRPA1 N 末の cysteine 残基に共有結合することが TRPA1 活性化に必要であると報告されている。6-MSITC および 6-MTITC も同様のメカニズムで活性化すると考えられる。そこで，AITC の作用が消失する点変異体（C621S/C621S/C665S）を用いて解析を行った結果, AITC と同様に 6-MSITC および 6-MTITC の作用もこの変異体において減弱していた。以上の結果より，6-MSITC および 6-MTITC は TRPA1 を活性化することが明らかとなった。

（19）体内 Na バランス制御ホルモン・アンジオテンシン II による味覚感受性調節

重村憲徳（九州大学大学院　歯学研究院　口腔機能解析学分野）

塩味感受性は塩分の検出と摂取に重要な役割を担う。この塩味感受性が環境や体調によって変化することはよく知られているが，その分子メカニズムについては不明である。アンジオテンシン II (AngII) は体内 Na+量の維持・Na+再吸収を促進するホルモンであるが，この AngII は血管，脳や腎など様々な臓器に直接作用することや，脳室内投与により塩分嗜好性が上昇することが報告されていたことから，塩味感受性の変化に AngII が関与する可能性が推定された。この解析の結果，AngII 腹腔内投与により，マウスの鼓索神経 NaCl 応答（アミロライド感受性成分）が有意に減少することが明らかとなった。また驚いたことに甘味応答が上昇することも明らかとなった。味細胞において AngII 受容体である AT1 は ENaC α（塩味受容体）もしくは T1r3（甘味受容体構成分子）と一部共発現していることも確認された。そして行動応答解析では AT1 阻害剤投与により，食塩および甘味溶液の飲水量が有意に減少することが明らかとなった。以上のことから，Ang Ⅱは中枢のみならず末梢の味細胞にも作用し，脳や腎と協調して Na+摂取量を効率的に促進することで Na+ホメオスタシスに，さらに糖摂取量を高めることで糖ホメオスタシスにも重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

（20）脳内温度エネルギーを電気信号に変換する分子・TRPV4

柴崎貢志（群馬大学大学院　医学系研究科　脳神経発達統御学講座）

発表者は，脳における TRPV4（34℃以上で活性化）発現を詳細に調べ，海馬に高発現をしていることを発見し，37℃近傍に保たれている脳内温度により TRPV4 が恒常的に活性化し，神経興奮性を向上させていることを見いだした。（Shibasaki et al., J. Neurosci. 2007）。実際に，TRPV4KO マウスでは，解剖形態学的な脳の異常は全く認められないものの，神経活動に異常をきたし，行動異常が観察された。しかしながら，上記の実験だけでは，脳内において TRPV4 が脳内温度エネルギーにより活性化しているのか，あるいはその他の内在性リガンドにより活性化しているのかが不明である。TRPV4 が脳内温度エネルギーにより活性化していることを示すには，in vivo で脳を冷却し，TRPV4 の活性化温度閾値（34℃）以下の環境を作り出した場合に神経興奮性がどのように

変化するのかを調べる他はない。そこで，野生型とTRPV4KO マウスの脳内に，企業と開発した局所脳内温度可変プローブ（柴崎ら，特許出願中）を埋め込み，脳内温度を 37℃から 32℃へと冷却したところ，野生型マウスの神経活動は著しい低下を示した。一方，TRPV4KO ではそのような著しい低下を示さないことが分かった。つまり，正常時には TRPV4 が脳内温度エネルギーを電気信号に変換し，この機構により神経興奮性が向上することがクリアーに証明された。

（21）Identification of a novel alternative splicing variant of mouse TRPA1 implicated in modifying TRPA1 activity under inflammatory and neuropathic pain conditions

Yiming Zhou, Yoshiro Suzuki, Kunitoshi Uchida and Makoto Tominaga
Division of Cell Signaling, Okazaki Institute for Integrative Bioscience (NIPS) and
department of Physiological Sciences, The Graduate University for Advanced Studies

TRPA1 is a nonselective cation channel that is activated by noxious stimuli and serves important functions during nociception and inflammation. Here a novel alternative splicing variant of mouse TRPA1, TRPA1b was identified. Both isoforms, TRPA1a (full length) and TRPA1b (splicing variant), were confirmed to be expressed in mouse dorsal root ganglion (DRG) and trigeminal ganglion (TG) neurons. When expressed in HEK293T cells, both isoforms could be translocated to the plasma membrane while physically interact with each other. Although TRPA1b did not respond to TRPA1 agonists, TRPA1a and TRPA1b co-expression significantly increased TRPA1a plasma membrane expression as well as current density in response TRPA1 agonists without affecting its single-channel properties. Over-expression of TRPA1b in WT DRG neurons increased AITC responses, and expression of TRPA1a with TRPA1b produced larger ATIC responses compared with expression of TRPA1a alone in TRPA1KO DRG neurons. Expression levels of TRPA1a and TRPA1b mRNAs changed dynamically in complete Freund's adjuvant-induced inflammatory and a partial sciatic nerve ligation-induced neuropathic pain models. In contrast to TRPA1a, whose mRNA expression level increased in the early stages of disease conditions, the TRPA1b expression level gradually increased throughout the two-week period. This up-regulated TRPA1b expression level could regulate expression of TRPA1a.

10. 神経オシレーション：共振とディスリズミア

2012 年 7 月 12 日－7 月 13 日

代表・世話人：池田昭夫（京都大学医学研究科脳病態生理学講座　臨床神経学）
美馬達哉（京都大学大学院医学研究科附属脳機能総合研究センター）
所内対応者：柿木隆介（生理学研究所感覚運動調節研究部門）

（1）A subcortical oscillatory network contributes to recovery of hand dexterity after spinal cord injury

西村幸男（生理学研究所）

（2）Spinomuscular and corticomuscular coherence in monkeys performing a precision grip task

把握運動における脊髄-筋および皮質-筋活動間コヒーレンス

武井智彦，関　和彦（国立精神・神経医療研究センター神経研究所モデル動物開発研究部）

（3）Functional restoration and evaluation of corticospinal tract in patients with hemiplegia due to stroke

脳卒中片麻痺における皮質脊髄路の機能再建および機能評価

牛場潤一，小野峻史（慶應義塾大学理工学部生命情報学科）
向野雅彦（旭川医科大学リハビリテーション科）

（4）Forty-hertz triad conditioning transcranial magnetic stimulation induces motor cortical facilitation in humans

40Hz の 4 発経頭蓋的磁気刺激法（Triad conditioning stimulation）による運動野の興奮促通

花島律子（東京大学医学部附属病院神経内科）

（5）Cl^- homeodynamics for GABA switch underlying neural oscillation

Cl^- ホメオダイナミクスによる GABA スイッチと神経オシレーション

福田敦夫（浜松医科大学医学部神経生理学講座）

（6）Epileptic encephalopathy and high-frequency EEG oscillations in childhood

小児期のてんかん性脳症と脳波の高周波振動

小林勝弘（岡山大学大学院医歯薬学総合研究科発達神経病態学分野）
大守伊織（岡山大学大学院医歯薬学総合研究科細胞生理学分野）

（7）Ictal slow- and high frequency oscillation in human epilepsy

発作時の緩徐および高周波数オシレーション

池田昭夫（京都大学医学研究科脳病態生理学講座　臨床神経学）

（8）Basal Ganglia Oscillations and Sensorimotor Gating

Joshua D. Berke (University of Michigan, Ann Arbor)

（9）Plasticity induced by addictive drugs in brainstem neural circuits

薬物依存形成にかかわる脳幹神経回路とその可塑的変化

金田勝幸，黒澤　諒，篠原史弥（北海道大学薬学研究院薬理学研究室）

（10）Subthalamo-pallidal interactions underlying parkinsonian neuronal oscillations in the primate basal ganglia

パーキンソン病モデルサルの大脳基底核における異常リズム生成機構

橘　吉寿，岩室宏一，南部　篤（生理研・生体システム）
喜多　均（テネシー大・医・解剖神経生物）
高田昌彦（京大・霊長研・統合脳システム）

（11）Neuronal Activity of Basal Nuclei and Thalamus recorded in Patients with Deep Brain Stimulation

脳深部刺激療法で記録される大脳基底核・視床の神経活動

戸田弘紀（田附興風会医学研究所　北野病院　脳神経外科）

（12）Cortico-basal ganglia circuits and clinical signs of Parkinson's disease
皮質・基底核回路とパーキンソン病の臨床徴候
澤本伸克（京都大学医学研究科附属脳機能総合研究センター）

（13）Computational approaches to neural oscillations and fluctuations
計算論的視点からの神経オシレーションと揺らぎの数理
寺前順之介（理化学研究所　脳科学総合研究センター）

（14）Neuromagnetic oscillations in somatosensory and auditory cortices
体性感覚・聴覚野の神経磁場振動
飛松省三（九州大学大学院医学研究院臨床神経生理）

（15）Neuropsychological processes revealed by ECoG
頭蓋内脳波でわかる様々な神経心理過程
丹治和世（山形大学高次脳機能障害学講座）

（16）Aberrant high frequency components in right parietal region evoked by the biological motion perception in fifteen antipsychotic free schizophrenia patients
未服薬統合失調症患者における右頭頂葉高周波応答異常　ミラーニューロンシステムとの関連から
加藤　隆，加藤元一郎，三村　將（慶應義塾大学医学部精神・神経科学教室）

（17）How to measure cerebral functional coupling: coherence and other methods
脳機能カップリングをどう評価するか：コヒーレンスを中心に
美馬達哉（京都大学医学研究科附属　脳機能総合研究センター）

（18）Variational Bayesian estimation for brain imaging and related topics
階層変分ベイズ法による脳活動推定とその周辺のトピック
佐藤雅昭(ＡＴＲ脳情報解析研究所)

（19）Neural substrates underlying modulatory mechanisms of oscillatory brain activity: EEG-fMRI approach
脳律動の調整に関わる神経メカニズム：脳波と fMRI 同時計測によるアプローチ
花川　隆[1,2,3]，小俣　圭[2,4], Charles S. DaSalla[2], 星野英紀[1,2,5], 本田　学[1,2]
([1]国立精神・医療研究センター脳病態統合イメージングセンター;
[2]同　神経研究所疾病研究第七部; [3]科学技術振興機構さきがけ研究;
[4]浜松医科大学子どものこころの発達研究センター:
[5]東京大学大学院生殖・発達・加齢医学専攻)

【参加者名】

Altmann Christian Friedrich（京都大学生命科学系キャリアパス形成ユニット），池田和司（奈良先端科学技術大学院大学），伊佐　正（生理学研究所），石橋　遼（京都大学医学研究科附属脳機能総合研究センター），井上　学（医仁会武田総合病院　神経内科），今村久司（京都大学大学院医学研究科神経内科），植木美乃（名古屋市立大学神経内科），牛山潤一（慶應義塾大学医学部リハビリテーション医学教室），緒方勝也（九州大学臨床神経生理），小野健太郎（京都大学生命科学系キャリアパス形成ユニット），春日翔子（慶應義塾大学理工学部生命情報学科），加藤天美（近畿大学　脳神経外科），川島　卓（岐阜大学大学院医学研究科　神経生物），國枝武治（京都大学医学研究科脳神経外科），久保孝富（奈良先端科学技術大学院大学情報科学研究科），軍司敦子（国立精神・神経医療研究センター精神保健研究所），古賀恒行（滋賀医科大学　分子神経科学研究センター），小金丸聡子（京都大学医学研究科附属脳機能総合研究センター），下川丈明(ATR)，菅田陽怜（大阪大学大学院医学系研究科脳神経外科学），高橋秀俊（国立精神・神経医療研究センター　精神保健研究所），武井雄一（群馬大学精神科神経科），武田祐輔（ATR 脳情報解析研究所），田中悟志（名古屋工業大学），長峯　隆（札幌医科大学神

経科学講座），朴　慧任（ソウル大学病院　MEG センター），星田　徹（独立行政法人国立病院機構奈良医療センター），前川敏彦（九州大学大学院医学研究院　臨床神経生理学），前澤仁志（北海道大学大学院歯学研究科），松橋眞生（京都大学医学研究科附属脳機能総合研究センター），松本理器（京都大学大学院医学研究科神経内科），圓尾知之（大阪大学　脳神経外科），三國信啓（札幌医科大学脳神経外科），矢澤省吾（札幌医科大学神経科学講座），柳澤琢史（大阪大学大学院医学系研究科脳神経外科），横山　修（玉川大学脳科学研究所），李　夏栄（東京大学情報理工学系研究科知能機械情報学専攻），池尻達紀（京都大学医学部医学科），石井　徹（京都大学医学研究科付属脳機能総合研究センター），宇佐美清英（京都大学大学院医学研究科神経内科），加藤健治（総合研究大学院大学生命科学研究科生理科学専攻），金澤恭子（京都大学大学院医学研究科神経内科），金沢星慶（京都大学大学院医学研究科（発達小児科学講座），川口典彦（東北大学神経内科学，東北大学生体システム生理学），木内隆裕（京都大学大学院医学研究科人間健康科学系専攻），Khoo Hui Ming（大阪大学医学部　脳神経外科），河村章史（岐阜大学大学院医学系研究科医科学専攻），小林勝哉（京都大学大学院医学研究科神経内科），齊藤景子（京都大学医学研究科附属脳機能総合研究センター），櫻井健世（京都大学大学院医学研究科神経内科），芝田純也（京都大学大学院医学研究科脳神経外科），多田真理子（東京大学大学院医学系研究科・精神医学分野），徳永真也（京都大学医学部医学科），冨永　渉（京都大学大学院医学研究科人間健康科学系専攻），野嶌一平（神戸大学大学院），Bayasgalan Borgil（京都大学医学研究科脳病態生理学講座　臨床神経学），文室知之（京都大学大学院医学研究科神経内科），星野英紀（東京大学大学院医学系研究科　小児科学専攻），Morris Shayne（大阪大学　脳神経外科），本山嘉正（九州大学臨床神経生理），山尾幸広（京都大学大学院医学研究科脳神経外科），渡邉佳宏（慶應義塾大学大学院理工学研究科），池田昭夫（京都大学），牛場潤一（慶應義塾大学），加藤隆（慶應義塾大学），金田勝幸（北海道大学大学院薬学研究院　薬理学研究室），小林勝弘（岡山大学），佐藤雅昭(ATR)，澤本伸克（京都大学），Joshua D. Berke（University of Michigan, Ann Arbor），武井智彦（国立精神・神経医療研究センター），橘　吉寿（生理学研究所），丹治和世（山形大学高次脳機能障害学），寺前順之助（理化学研究所），戸田弘紀（北野病院　脳神経外科），飛松省三（九州大学），西村幸男（生理学研究所），花川　隆（国立精神・神経医療研究センター），花島律子（東京大学），福田敦夫（浜松医科大学），美馬達哉（京都大学医学研究科附属脳機能総合研究センター）

【概要】

本研究会は，オシレーションを示す神経活動− 発火の時間的パターン，複数の神経細胞ポピュレーションの集合的活動（ニューラルアンサンブル），空間的に離れた複数の神経活動間の共振やコヒーレンス，脳情報の分散コーディングなど− に注目して，単一神経細胞記録やスライス実験のレベルから動物モデル，さらにはヒトでの研究までつなぎ，神経オシレーションの機能的意義を統一的に理解する枠組みを作り出すことを目指した。

具体的には，生理学研究者（スライス実験，動物実験など），脳波・脳磁図，皮質脳波などの手法を用いるヒト臨床神経生理学研究者，脳外科研究者（パーキンソン病に対する脳深部刺激装置（DBS）治療など）などが参加する研究会を行って研究討論して情報交換するとともに，神経オシレーションに興味を持つ学生・ポスドクなどの若手研究者の参加を積極的に呼びかけた。

とくに，本研究会の実施にあたっては，たんに生理学的知見を追求することに留まらず，臨床応用の可能性をも視野に入れ，てんかん，パーキンソン病などの精神神経疾患の病態生理と神経オシレーションの異常に注目し，基礎系の生理学研究者と臨床研究者との間での研究討論を行って，生理学研究所を一つのハブとした研究者間のネットワークの基礎作りをすることを目標としている。

（1）A subcortical oscillatory network contributes to recovery of hand dexterity after spinal cord injury

西村幸男（生理学研究所）

It have shown that after partial spinal-cord lesion at the mid-cervical segment, the remaining pathways compensate for restoring finger dexterity. However, how they control hand/arm muscles has remained unclear. To elucidate the changes in dynamic properties of neural circuits, we investigated the cortico- and inter-muscular couplings throughout the recovery period after the spinal-cord lesion.

Activities of antagonist muscle pairs showed co-activation and oscillated coherently at

frequencies of 30-46 Hz (gamma-band) by 1-month post-lesion. Such gamma-band inter-muscular coupling was not observed pre-lesion, but emerged and distributed over a wide range of hand/arm muscles along with the recovery. Neither the beta-band (14-30 Hz) cortico-muscular coupling observed pre-lesion nor a gamma-band oscillation was observed in the motor cortex post-lesion. We propose that a subcortical oscillator commonly recruits hand/arm muscles via remaining pathways such as reticulospinal and/or propriospinal tracts and contributes to functional recovery.

（2）Spinomuscular and corticomuscular coherence in monkeys performing a precision grip task
把握運動における脊髄-筋および皮質-筋活動間コヒーレンス

武井智彦，関　和彦（国立精神・神経医療研究センター神経研究所モデル動物開発研究部）

本研究では，脊髄および皮質を介した反射回路が随意運動の制御にどのように関わっているのかについて検討を行った。把握運動課題を行なっている覚醒サルから，頚髄（C6-T1）もしくは大脳皮質一次運動野から局所電場電位（LFP）の記録，また，上肢の筋活動（EMG，n=20）の記録を行い，これらの LFP-EMG 間のコヒーレンス，すなわち，脊髄-筋活動間コヒーレンス（Spinomuscular: SM coherence）および皮質-筋活動間コヒーレンス（Corticomuscular: CM coherence）の解析を行った。その結果, SM および CM coherence は β 帯域(~20Hz)をピークとした有意なコヒーレンスを示した。さらに，（1）SM および CM コヒーレンスは動的にレバーを握っている最中と静的にレバーを保持している最中に別々に出現すること，（2）有向コヒーレンス解析結果，SM および CM コヒーレンスとも両方向（遠心性，求心性）の影響によって成り立っているが明らかとなった。これらの結果は，脊髄および皮質を介したフィードバック制御が並列的に随意運動制御に関わっていることを示唆するものであった。

（3）Functional restoration and evaluation of corticospinal tract in patients with hemiplegia due to stroke
脳卒中片麻痺における皮質脊髄路の機能再建および機能評価

牛場潤一，小野峻史（慶應義塾大学理工学部生命情報学科）
向野雅彦（旭川医科大学リハビリテーション科）

We have so far reported the effect of BCI-based upper extremity (UE) training in patients with chronic stroke by a preliminary case series study. Here the present study using single case A-B-A-B design tested the importance of closed-loop system in BCI, rather than simple open-loop solution of motor imagery with peripheral stimulation.

A participant with subcortical stroke (lesion: Lt Putamen, SIAS finger function: 1a/5, SIAS touch&pain: 5-6/10) was recruited to this study. In the period of A for the open-loop condition, we asked the participant to attempt finger open in 5 s after 5 s of rest. Neuromuscular electrical stimulation was applied to the finger extensor muscle in the paretic side. One-hour daily training was given for two weeks. In the period of B for the actual BCI condition, the sensorimotor rhythm (SMR) in scalp electroencephalogram (8-13 Hz) was recorded over the affected sensorimotor cortex. Finger extensor muscle in the paretic side was electrically stimulated if sustained decrease of SMR was observed while attempting paretic finger open. One-hour daily training was given for two weeks.

Event-related desycnrhonization of SMR by motor imagery was progressively larger from 12% to 40% throughout the experiment, and its increment was larger at the period of B. This involved accuracy of BCI system from 70% to 93%. BOLD signal in functional MRI while attempting paretic finger movement was first found in bilateral sensorimotor cortex and supplementary motor cortex. The areas activated remained same after any intervention, but the ratio of the signal intensity in the affected hemisphere to the intact side was increased in the period of B, and decreased in the period of A. Voluntary EMG in the paretic finger muscle was appeared in the period of B, and showed corticomusucular coherence with the EEG recorded over the affected sensorimotor cortex in 15-30 Hz.

These results indicate that closed-loop system of BCI might facilitate functional reorganization, at least in part, in the affected corticospinal tract. This may be due to that (1) SMR could be a real-time marker of corticospinal excitability, (2) extrinsic feedback of the corticospinal excitability may facilitate motor relaearning, and also (3) neuromuscular electrical stimulation following the increase of corticospinal excitability may form Hebbian-like manner to enhance further excitability.

（4）Forty-hertz triad conditioning transcranial magnetic stimulation induces motor cortical facilitation in humans

40Hz の 4 発経頭蓋的磁気刺激法（Triad conditioning stimulation）による運動野の興奮促通

花島律子（東京大学医学部附属病院神経内科)

運動野の神経活動が同期しやすいリズムを，一定リズムの外的刺激を与えて検出できるか試みた。今回は外的刺激として 4 発の経頭蓋的磁気刺激(TMS)を使用した。試験刺激は対側手内筋に運動誘発電位（MEP）を生じる運動野刺激，先行する条件刺激は安静時閾値以下の 3 発とし，刺激間隔（ISI）は 5-100ｍｓの等間隔にて，MEP 振幅の変化を分析した（Triad conditioning stimulation)。健常被験者では ISI7-8ms と 25ｍｓで MEP の促通がみられた。一発の強い条件刺激でも ISI7-8ms の促通はみられたが，25ｍｓの促通はみられなかった。また，刺激間隔を一定にしないと，この促通は失われた。25ｍｓの等間隔の刺激即ち 40Hz の刺激が促通出現には重要で，運動野は 40Hz 外的刺激に同期しやすい可能性がある。

皮質性ミオクローヌスでは，ISI25ms（40Hz）ではなく ISI40ms（25Hz）で促通効果が生じた。皮質性ミオクローヌスは，運動野の GABA 系介在神経の機能異常が示唆され，20Hz の local field potential の亢進が報告されている。今回の促通のタイミングの変化は，皮質性ミオクローヌスにおいて皮質内介在神経系の機能不全によりγリズムが減弱し，錐体細胞の活動を反映するβリズムが増強している可能性がある。

Triad conditioning stimulation により外的刺激に同期しやすい運動野内リズムの変化を検出できる可能性が考えられた。

References

1) Hanajima R et al.. Brain Res 2009;1296:15-23.

2)Hanajima R et al. Mov Disord. 2011; 26: 685-90.

（5）Cl- homeodynamics for GABA switch underlying neural oscillation
Cl^- ホメオダイナミクスによる GABA スイッチと神経オシレーション

福田敦夫（浜松医科大学医学部神経生理学講座）

成熟ラット海馬のスライス標本を作製して CA1 錐体細胞から，膜電位記録を行い，シナプス入力路であるシェーファー側枝を高頻度（テタヌス）刺激すると，大きなテタヌス後脱分極に続いて発作波様後発射が記録される。このとき，テタヌス前は過分極性であった GABA 反応が，後発射がみられる間は脱分極性かつ興奮性に逆転していた。つまり，発作波様後発射の引き金はこの GABAA 受容体を介した興奮性シナプス伝達であると考えられた。Cl^-イメージング法で$[Cl^-]_i$の同時記録を行うと，テタヌス刺激中に$[Cl^-]_i$ 上昇が始まり，テタヌス後脱分極と発作波様後発射の間も持続していた（図）。また，この$[Cl^-]_i$ 上昇の持続中は，バスケット細胞のバースト発火が錐体細胞に興奮性 GABA 作用による後発射を惹起していた。すなわち，テタヌス刺激中にバスケット細胞から放出された GABA による錐体細胞の GABAA 受容体の過剰刺激がおこり，過剰な Cl^-流入によってCl^-が蓄積し，その$[Cl^-]_i$ 上昇のために GABA 作用が興奮性に逆転したのである。

てんかん発作間歇期から発作への移行や発作後の回復といったダイナミックな変化は GABA の「組織学的脱落」では説明できない。しかし，Cl^-ホメオダイナミクス仮説では，Cl^-ホメオスタシスの動的変化による$[Cl^-]_i$ 上昇が，GABA 抑制の減弱や興奮への逆転をおこし，その結果，神経回路の過剰興奮をまねいて発作を誘発すると説明できる。

（6）Epileptic encephalopathy and high-frequency EEG oscillations in childhood
小児期のてんかん性脳症と脳波の高周波振動

小林勝弘（岡山大学大学院医歯薬学総合研究科発達神経病態学分野）
大守伊織（岡山大学大学院医歯薬学総合研究科細胞生理学分野）

Epileptic encephalopathy (EE) can cause neurocognitive impairment in childhood and is therefore a serious pediatric problem. The pathophysiological mechanisms of EE are suggested to be related to the generation of epileptic gamma and high-frequency oscillations (HFOs), which are visible in EEGs. It is speculated that these might interfere with physiological high-frequencies involved in higher brain functions. In epilepsy with continuous spike-waves during slow wave sleep (ECSWS) and related disorders, HFOs in ripple bands are observed in sleep EEGs.

However, the relationship between HFOs and channelopathy that can cause EE remains unclear. We therefore investigated HFOs in the ictal cortical EEGs of hyperthermia-induced seizures in a rat model with an SCN1A mutation. We used 13 male homozygous Scn1a-N1417H mutant rats. Generalized tonic-clonic seizures were induced in all rats at 5, 6 and 7 weeks of age. HFOs with frequencies ranging from 200-400 Hz were found to precede spikes during the clonic phase of seizures in the ictal EEG. In the time-frequency spectra of the EEG data, the HFOs had a mean.

HFOs, particularly fast ripples, are believed to be generated by extremely localized neuronal assemblies, and this belief is supported by the observation of HFOs in the seizure onset zone of focal seizures in epileptic patients and various animal models. The current findings on HFOs are unique due to the fact that seizures are generalized with rapid involvement of bilaterally distributed networks.

（7）Ictal slow- and high frequency oscillation in human epilepsy
発作時の緩徐および高周波数オシレーション

池田昭夫（京都大学医学研究科脳病態生理学講座　臨床神経学）

Clinical EEG provides us with diagnostic information of epileptogenicity by epileptiform discharges, i.e., spikes, sharp waves. Currently advanced technology has enabled us to record wide-band EEG: direct current (DC) shifts and high frequency oscillation (HFO). Ictal DC shifts could reflect the massive, synchronized paroxysmal depolarization of the neurons in the epileptogenic area, and thus also represents associated depolarization of the glia (Ikeda et al., 1996, 1999, 2008). It could be regarded as the surrogate markers of the core epileptogenicity in human epilepsy regardless of the etiology. HFO was recently recognized by invasive electrodes in the clinical field as ripple (80-250 Hz) and fast ripple (250-500 Hz) by high sampling rate of 2 KHz. However, the relationship between HFO and ictal DC shifts remains to be solved.

We have investigated both ictal DC shifts and HFO simultaneously in patients with intractable partial epilepsy by means of subdural electrodes (Imamura et al., 2011: Kanazawa et al., 2011). We observed that 1) both occurred together as early as electrodecremental pattern occurred or earlier than conventional ECoG changes, 2) both occurred in the same electrodes, 3) ictal DC shifts were more often observed than HFO, and 4) ictal DC shifts could occur earlier than HFO. It could suggest more active role of glia in not only generating DC shifts but also presumably in ictogenesis.

（8）Basal Ganglia Oscillations and Sensorimotor Gating

Joshua D. Berke (University of Michigan, Ann Arbor)

The basal ganglia are critical structures for motivated decision-making and reinforcement-driven learning, and distinct pathways through basal ganglia circuits have dissociable roles enabling and suppressing behavior. I will present results from ongoing electrophysiological investigations of these circuits during behavioral tasks, including a "stop-signal" task widely used as a test of executive function. We have found evidence that cortical-basal ganglia networks naturally flicker between different oscillatory states that influence receptivity to incoming information, and that competitive interactions between different pathways assists rapid sensorimotor gating of salient stimuli.

（9）Plasticity induced by addictive drugs in brainstem neural circuits
薬物依存形成にかかわる脳幹神経回路とその可塑的変化

金田勝幸，黒澤　諒，篠原史弥（北海道大学薬学研究院薬理学研究室）

背外側被蓋核（LDT）はコリン作動性ニューロンを含む脳幹神経核であり，VTA の活動制御に重要であると考えられているが，薬物依存形成における役割やそこでの可塑的変化の誘導については分かっていない。そこで本研究では，これらの点を行動薬理学的・電気生理学的手法を用いて明らかにすることを試みた。

条件付け場所嗜好性試験を用いて，コカインによる依存形成に対する LDT の役割を検討した結果, 条件付けの

際に LDT の活動を抑制すると，コカインによる場所嗜好性が減弱することが分かった。この結果は，コカインによる依存形成に LDT の活動が必要であることを示唆している。

次に，LDT での可塑的変化の有無をコカインあるいは生理食塩水を投与したラットから作成した脳スライスにおいてホールセル記録法を用いて調べた。その結果，コカイン投与により LDT コリン作動性ニューロンにおいてグルタミン酸の放出確率が増大するという可塑的変化が認められた。このプレシナプス可塑性には，NMDA 受容体と NO の生成が関与していた。さらに，コカイン投与により膜抵抗の増大と電流注入による発火数の増大が認められた。これらの結果は，コカイン摂取により LDT コリン作動性ニューロンの活動が可塑的に上昇することを示しており，この変化による LDT から VTA への興奮作用の増強が，薬物依存形成に寄与している可能性が考えられる。

（10）Subthalamo-pallidal interactions underlying parkinsonian neuronal oscillations in the primate basal ganglia
パーキンソン病モデルサルの大脳基底核における異常リズム生成機構

橘　吉寿，岩室宏一，南部　篤（生理研・生体システム）
喜多　均（テネシー大・医・解剖神経生物）
高田昌彦（京大・霊長研・統合脳システム）

パーキンソン病の病態生理を解明する目的で，MPTP パーキンソン病モデルザルを作製し，大脳基底核ニューロン活動を記録・解析した。結果，淡蒼球内節（GPi）において，非常に強いリズム（＜15 Hz）をもったバースト活動が数多く観察された。これらの異常リズムは，GPi に興奮性入力を送る視床下核 (STN)においても同様にみとめられた。まず，これらの異常リズムがドーパミン入力に依存しているかどうかを調べるため，L ドーパを静脈内投与した。すると，運動症状の軽減と共に，STN・GPi の異常リズムは消失した。次に，GPi の異常リズムが STN 由来かどうかを調べるため，STN をムシモールにて不活化した。その結果，運動症状の緩解と共に，GPi の異常リズムは消失した。さらに，STN の異常リズムがどのようにして生成されているかを探った。STN は，グルタミン酸作動性興奮性入力を主に大脳皮質から，GABA 作動性抑制性入力を淡蒼球外節(GPe)から受け取っている。これらの入力を遮断するため，STN ニューロン活動を記録しながら，グルタミン酸受容体遮断薬の記録細胞近傍への局所注入，あるいはムシモールによる GPe の不活化を行った。結果，いずれの場合においても，STN の異常リズムは消失した。以上のことから，ドーパミン欠乏下において，STN の異常リズムは，大脳皮質・GPe からの双方の入力に依存して生成され，最終的に GPi の異常リズムを惹起することで，パーキンソン病症状の発現に関与することが明らかとなった。

（11）Neuronal Activity of Basal Nuclei and Thalamus recorded in Patients with Deep Brain Stimulation
脳深部刺激療法で記録される大脳基底核・視床の神経活動

戸田弘紀（田附興風会医学研究所　北野病院　脳神経外科）

脳深部刺激療法は，不随意運動や疼痛または精神疾患に対する外科的治療法として発展してきた。現在，大脳基底核や視床下核を中心に 10 カ所以上の神経核，皮質，白質が脳深部刺激療法の刺激点として報告されている。それぞれの領域の神経活動は，手術の際に用いる深部電極記録により調べることができる。現在脳深部刺激療法

の刺激点として使用される頻度が高いのは視床下核，淡蒼球内節，さらに視床腹側中間核および吻側腹側核である。

視床下核刺激は主としてパーキンソン病の運動症状に対して効果があり，また抗パーキンソン病薬の減量もできる。最も使用される刺激点である。淡蒼球内節刺激はジストニアおよびパーキンソン病の運動症状，なかでもジスキネジアに対して効果が高い。視床下核と並んで使用頻度の高い刺激点である。さらに視床腹側中間核刺激は本態性振戦や振戦の強いパーキンソン病症例において有効で，外傷や多発性硬化症などを原因に持つ二次性の振戦に対しても効果を示す。また視床吻側腹側核は書痙や musician’s cramp など局所性ジストニアに対して効果が高い。不随意運動に対する脳深部刺激療法は症状に応じて刺激点を検討することが必要である。

（12）Cortico-basal ganglia circuits and clinical signs of Parkinson's disease
皮質・基底核回路とパーキンソン病の臨床徴候

澤本伸克（京都大学医学研究科附属脳機能総合研究センター）

パーキンソン病 (PD)では, 黒質ドパミン神経細胞の変性→基底核ドパミンの欠乏→皮質基底核ループの機能障害→主要運動症候の発現，に至るものと考えられている。皮質基底核ループの機能障害について，DeLong らは直接路の活性低下と間接路の活性亢進によって寡動を説明するいわゆる Rate モデルを提案した。このモデルは，淡蒼球内節や視床下核の破壊術の効果を説明することができ，臨床現場への貢献は大きかったといえる。しかしこのモデルの予想に反して, 視床運動領域破壊が PD の症候をむしろ軽減しうるなど問題点も指摘されている。一方, Brown らは皮質基底核回路の<30Hz 及び>60Hz の同期性活動が互いに拮抗作用をもち，前者の亢進によって寡動を説明するいわゆる Oscillation モデルを提案している。このモデルを利用すれば，破壊術と深部脳刺激が同様の臨床効果を示すことが理解できる。しかし，サルに MPTP を投与して経時観察すると，寡動に遅れて皮質基底核回路の同期性活動がみられたことから，同期性活動は原因ではなく付帯現象に過ぎないという批判もある。

本発表では，ドパミン神経細胞の変性が引き起こす脳内ネットワークの変調について，時間軸だけでなく，空間軸にも注目する。寡動や振戦が空間的に異なる脳内ネットワークの障害を反映する可能性について検討し，今後解明されるべき問題点を浮き彫りにすることを目的とする。

（13）Computational approaches to neural oscillations and fluctuations
計算論的視点からの神経オシレーションと揺らぎの数理

寺前順之介（理化学研究所　脳科学総合研究センター）

我々自身の脳活動を含め，我々を取り巻く自然現象の中には，様々な振動現象が見いだされる。多くの実験的研究がそれらの重要性を長く示唆して来たにもかかわらず，脳や生物の振動現象に関する，実効的に機能し得る数理的アプローチが提案され始めたのは，技術的困難さ故に，高々この 30-40 年程度の事でしかない。

困難の主因となったのは，振り子などの機械的オシレーションとは異なり，脳や生物で見られるオシレーションのほぼすべてが，非線形な振動現象であるという事実である。この非線形性があるからこそ，脳や生物は安定で頑健な振動現象を維持でき，その振動現象は豊かで複雑な構造をとる事が出来る。その構造と多様性は脳内で様々な役割を担っている可能性が高い。しかし，それは，数理モデルでしばしば用いられてきた要素還元的で線

形なアプローチが必ずしもうまく行かない事も意味している。本講演では，実際的な視点を重視しながら，神経オシレーションへの数理的なアプローチを概説する。神経情報処理でのオシレーションの機能的な仮説，オシレーションのモデル化等も紹介し，数理的アプローチが，神経オシレーション研究にどのように貢献し得るのかを真摯に検討したい。

（14）Neuromagnetic oscillations in somatosensory and auditory cortices
体性感覚・聴覚野の神経磁場振動

飛松省三（九州大学大学院医学研究院臨床神経生理）

1. 体性感覚野(S1, S2)の時間的結びつけ

S1, S2 の機能的連関を健常人(NC)と多発性硬化症(MS)で比較した。正中神経刺激 SEF を記録し，時間周波数解析で S1, S2 の位相同期度(PLV)を求めた。高γ帯域(50-70 Hz)で，NC では刺激後早期から S1-S2 間で増加したが，MS では減少した。早期γ活動が体性感覚情報処理に重要で，γ振動が S1, S2 の時間的結びつけに関与していると考えた。

2. 吃音症(PWS)の異常な聴覚野(A1)の位相同期

単耳刺激による AEF を記録し，左右の聴覚野の機能を NC と PWS で比較した。PWS では左の聴覚ゲーティング機能が障害され，N100m 潜時は左半球で延長していた。また右 A1 の音周波数配列が拡大していた。さらに左右 A1 のβ帯域の PLV は，PWS では NC よりも増加していた。β振動の増強は左聴覚野の機能低下を代償作用と考えた.

3. 痛み共感時のγ振動

痛み共感時（手に針が刺さる，手に綿棒があたる，手のみ）の脳波の動態を高密度脳波計で検討した。低γ帯域(35-60 Hz)では動画提示後 1000-1200 ms にパワー値の有意な上昇が提示された手と反対側の前頭側頭部にみられた。このパワー値の合計と VAS 値には有意な相関がみられた。γ帯域のパワー値の増加は痛みへの共感による痛み関連領域の活性化を示唆する。

（15）Neuropsychological processes revealed by ECoG
頭蓋内脳波でわかる様々な神経心理過程

丹治和世（山形大学高次脳機能障害学講座）

臨床神経心理学領域では，症状と病巣局在の検討で，脳部位と機能に関する多くの知見を蓄積してきたが，1）病巣の位置，脳機能局在の個人差，2）障害の性質に大きく影響を与える皮質損傷以外の白質損傷の影響，の問題がある。一方 fMRI などの機能画像研究では，病巣の局在に依存せず，正常者の脳活動を評価可能だが，統計学的に個体レベルの詳細な検討が困難である。

難治てんかん患者の発作焦点推定のために留置される慢性硬膜下電極からの頭蓋内脳波記録は，侵襲的で測定機会は限られるが，特に約 60-200Hz 帯域の誘発反応は，優れた信号対雑音比，時間・空間分解能を有し，個体レベルの統計学的検討が可能である 1。個人脳での脳機能局在の詳細な理解には，解剖学的指標以外に，機能マーカーとなるタスクが必要であり，本発表では認知機能マーカーとして寄与しうる誘発反応の例を 2 例呈示した：①名詞の聴覚・視覚刺激呈示に対して動詞を想起する動詞生成課題で観察された脳反応部位の多様性，②顔，景色，道具の各カテゴリーの視覚刺激による心理課題で，側頭葉内側面の周嗅内皮質に観察された，顔刺激に特異的な反応 2。本手法は十分な空間分解能を有し，今後の多数の被験者での再現性の確認により，個別症例での詳細な機能マッピングに寄与しうる。

（16）Aberrant high frequency components in right parietal region evoked by the biological motion perception in fifteen antipsychotic free schizophrenia patients
未服薬統合失調症患者における右頭頂葉高周波応答異常－ミラーニューロンシステムとの関連から

加藤　隆，加藤元一郎，三村　將（慶應義塾大学医学部精神・神経科学教室）

ミラーニューロンシステム(MNS)は，自らの行為遂行だけではなく，他者により行われる行為の観察によっても活動する神経細胞群であり，行為の意図や目的によってもその活動様式を変化させることが知られている。社会文脈上のコミュニケーション障害を呈する精神障害では，その背後に MNS の破綻が推定されているが全容は明らかではない。本研究では未服薬統合失調症 15 例と健常例 15 例に対して，顎運動の観察により賦活される脳磁場応答を MEG を用いて検討した。健常群では両側大脳半球の後頭葉，頭頂葉下部，運動前野が経時的に活動するが，統合失調症群では右半球を中心としてより後期に認められる皮質活動そのものが低下していた。周波数応答の変化では，健常群において動画観察により 10Hz 前後のα応答が減弱し，25-40Hz のβ2～γ応答は増強したが，統合失調症群においてはこれら両帯域の応答変化が見られなかった。これは同群における右頭頂葉領域でのβ2～γ帯同期成分の質的変化に起因する可能性が考えられ，臨床上しばしば認められる「行為主体感の喪失」ないし「行為における自他弁別の障害」等の症状生成に関連する可能性が示唆された。

（17）How to measure cerebral functional coupling: coherence and other methods
脳機能カップリングをどう評価するか：コヒーレンスを中心に

美馬達哉（京都大学医学研究科附属　脳機能総合研究センター）

空間的に離れた神経細胞群で並列的に処理された各種の情報がどのようにして統合されるかは，Binding Problem として知られている。この Binding Problem を解くには，たんに個々の脳部位の機能局在の解明だけではなく，二つの部位での神経活動がどのように関連しているか，またダイナミックにその関連性が変化するか，つまり脳機能カップリングの詳細を知る必要がある。さらに，そこには，統合を理解する枠組みとして二つの理論的アプローチがあり，それぞれの場合で脳機能カップリングのどの側面に注目するかが異なっている。

一つは，並列的に処理された各種の情報をまとめる，つまりより上位の統合機能をもつ神経細胞群の存在を仮定する立場である。この場合は，脳内で局在化された情報がどこからどこに流れるか，つまり脳機能カップリングのもつ方向性や情報の時間差を知ることが重要となる。

もう一つは，並列的に情報処理をする神経細胞群が，時間的に同期して活動すること（Synchrony）そのものが情報統合であるという考え方である。この場合は，情報統合の変化に応じて，脳機能カップリングのパターンがダイナミックに出現消褪するかどうかを知ることが重要となる。

本発表では，相関性を計測するもっとも単純な手法の一つであるコヒーレンスのヒト脳機能研究への応用について，位相差ゼロでの脳機能カップリング（Synchrony）に注目しつつ考察する。また，脳機能カップリングを計測する他の手法についてもコヒーレンスと比較して概観する。

（18）Variational Bayesian estimation for brain imaging and related topics
階層変分ベイズ法による脳活動推定とその周辺のトピック

佐藤雅昭(ＡＴＲ脳情報解析研究所)

MEG で観測された磁場から, この磁場を発生させる源である脳神経電流を推定する逆問題は，高度の不良設定問題となっています。この不良設定性を解消するためには，生理学的に妥当な事前知識を拘束条件として加えて解く必要があります。我々は時間分解能に優れた MEG と空間分解能に優れた fMRI を確率的に統合する階層変分ベイズ推定法(VBMEG)を提案してきました。VBMEG では，電流源の場所に関する情報として，電流源は大脳皮質上に分布しており，電流の向きは，皮質表面に垂直であるという構造情報を用いて電流源の自由度を制限します。さらに機能的情報として，fMRI 活動は MEG 活動の長時間平均強度に相関しているという事前情報を階層事前分布の形で柔らかい拘束条件として導入します。

VBMEG の精度を検証するために，四半視野を 400ms 毎に右上，右下，左下，左上と切り替わる視覚刺激を見せた時の MEG から脳活動の時空間パターンを推定し，神経科学的に知られている視覚野のレチノトピーに対応した脳活動が視覚野の中を刺激に応じて移動していく様子を推定することが出来ました。

VBMEG を用いた時間周波数解析の例として，背景雑音がある中での音韻判別課題　遂行時の脳活動を調べました。解析の結果，前運動野のアルファ波の活動強度が音韻判別における正答か誤答かの判別成績と強く相関していることが分かりました。

（19）Neural substrates underlying modulatory mechanisms of oscillatory brain activity: EEG-fMRI approach
脳律動の調整に関わる神経メカニズム：脳波と fMRI 同時計測によるアプローチ

花川　隆[1,2,3]，小俣　圭[2,4,] Charles S. DaSalla[2]，星野英紀[1,2,5]，本田　学[1,2]
([1] 国立精神・医療研究センター脳病態統合イメージングセンター; [2] 同　神経研究所疾病研究第七部;
[3] 科学技術振興機構さきがけ研究; [4] 浜松医科大学子どものこころの発達研究センター:
[5] 東京大学大学院生殖・発達・加齢医学専攻)

頭表上から計測できる律動性脳波活動の存在は，脳波の発見者である Hans Berger の時代から知られている。近年，律動性脳波活動の代表である α 帯域の後頭部優位律動と精神活動の関係は広く知られるようになった。また，運動や運動想像に伴う中心部の α / β 帯域の事象関連脱律動（ERD）は，運動意図を反映する特徴量としてブレイン・マシン・インターフェイス（BCI）に利用されるようになり，律動性脳波活動の応用の進歩は目覚ましい。しかし，律動性脳波活動の発生・調整機序ならびにその精神・神経活動とのかかわりには依然として不明な点が多い。

われわれの研究室では，安静時における中心部律動性脳波活動と BOLD の関係の調査と並行して，脳波 BCI と fMRI の同時計測系を開発し（DaSalla et al. SfN2011），運動や運動想像に伴う中心部 ERD の変化と，中心部 BOLD 活動の関係を，評価し始めている。脳波 BCI の開発を進めるためにも，脳局所・深部の脳活動と律動性脳波活動の関係について統合的な理解を深めていくことが重要と考えている。

11. グローバルネットワークによる脳情報処理

2013 年 1 月 25日－1 月 26日

代表・世話人：田中真樹（北海道大学医学研究科）
所内対応者：南部　篤（生体システム研究部門）

（1）多感覚情報の統合と分離

山本慎也（(独）産業技術総合研究所　システム脳科学）

（2）知覚学習の神経メカニズム

熊野弘紀（順天堂大学大学院医学研究科）

（3）錯視現象からわかる視覚系の位置情報処理

久方瑠美（東京大学大学院総合文化研究科）

（4）LIP 野における視覚選択中の側抑制の機能的役割

西田知史（京都大学大学院医学研究科）

（5）リズム情報処理に関わる　前頭葉―頭頂葉―小脳システム

鴻池菜保（京都大学霊長類研究所）

（6）意識の比較−認知−神経−心理−学を目指して

吉田正俊（生理学研究所・認知行動発達研究部門）

（7）複数位置に対するワーキングメモリの神経表現

松嶋藻乃（北海道大学医学研究科）

（8）メタ記憶課題の遂行におけるサル外側前頭前野の役割

田中暁生（京都大学こころの未来研究センター）

（9）ヒト前頭前野からの機能的結合のダイナミクス～磁気刺激-脳電図(TMS−EEG)による因果的アプローチ

梅田和昌（東京大学大学院医学系研究科）

(10) カテゴリに基づく推論的思考と行動制御の神経機構

筒井健一郎（東北大学大学院生命科学研究科）

【参加者名】

田中真樹, 國松　淳, 松嶋藻乃, 鈴木智貴（北海道大学), 船橋新太郎, 小川　正, 田中暁生, 鹿内　学, 西田知史, 川端美智子（京都大学), 高田昌彦, 宮地重弘, 鴻池菜保（京都大学霊長類研究所), 筒井健一郎（東北大学), 坂井克之, 梅田和昌, 久方瑠美（東京大学), 小池千恵子（立命館大学), 宇賀貴紀, 熊野弘紀, 須田悠紀（順天堂大学), 山本慎也（産業技術総合研究所), 高草木薫（旭川医科大), 鮫島和行（玉川大学), 若林　和（豊橋技術科学大学), 酒井雅子（アイシン精機株式会社), 南部　篤, 伊佐　正, 木下正治, 吉田正俊, 加藤利佳子, 高桑徳宏, 宮下俊雄, 石川理子, 西尾奈々, 橘口真帆, 畑中伸彦, 橘　吉寿, 知見聡美, 佐野裕美, 纐纈大輔, 高良沙幸, 金子将也, Dwi Wahyu Indriani（生理学研究所）

【概要】

本会はシステム神経科学の研究者が中心となって長年にわたって続けている研究会であり，今年度は比較的若い研究者に講演をお願いするとともに，中堅の研究者の方たちにこれからの神経科学の展望を含めて講演していただいた。主として霊長類を用いた研究を行っている研究者同士で最新の知見を紹介し合うとともに，関連した研究室の研究員や学生を集めて極めて盛んな議論を行った。

２日間に渡り，ほぼ予定通りに講演が行われた。主に視覚系の認知に関わる２つのセッションと，脳全体にわ

たるネットワークによる機能に関する１つのセッションがあった。５名のスピーカーは，いずれも３０歳代半ばまでの若手研究者であり，これまで大学院やポスドクとして行ってきた研究を１つのストーリーにまとめ上げて発表した。最後のスピーカーとしては，生理研で盲視モデル動物の研究をされてきた吉田氏が，これまでの成果と，これからの自ら進めていきたいことを含めて，より学際的な研究の方向性を示した。２日目は２つのセッションがあり，若手研究者３名と，４０歳代前半の若きリーダーが講演をした。いずれも前頭前野機能に関わる最新の知見であり，座長による巧みな誘導もあり，フロアから多くの質問が寄せられた。

各講演の後に１０分間の討論時間を設けていたが，両日とも大変盛んな議論がみられ，プログラムは終始遅れ気味であった。若手の参加者から次々に質問の手が上がり，活発な議論を楽しむことができた。講演の内容がそれぞれに新しく，講演者のトークのレベルが高かったこともちろん関係しているに違いないが，小さめの会場で，参加者も深い議論ができる研究者や学生に程よく限られていたため，ややクローズドな雰囲気が発言する閾値を低くしていたのかもしれない。

（1）多感覚情報の統合と分離

山本慎也（(独）産業技術総合研究所　システム脳科学）

異なる感覚種の信号は，異なる受容器から入力を受け，別々の脳内経路で処理が進められる。例えば，視覚情報に関しては，眼から入力を受け視覚野で情報処理が行われる。一方，聴覚情報に関しては，耳から入力を受け聴覚野で情報処理が行われる。このように，別々に処理された感覚信号の関係性を脳がどのように処理しているのかは，いまだ解明されていない問題であるといってよい。

例えば，視覚と聴覚の２つの信号が同一の信号元から発信されたのであれば，脳は，その２つの信号を同一イベントとして「統合」する必要があるであろう。一方で，もし２つの信号が異なる信号元から発信されたのであれば，脳は，その２つの信号を別のイベントとして「分離」する必要があるであろう。このように，脳は，状況に応じて，異なる感覚信号に対し，統合・分離という，真逆の関連付けをしていかなければならないことになる。

さて，感覚情報の統合・分離を，知覚変化・学習の観点からもとらえることができる。連続した２刺激が繰り返し提示される場合，刺激の時間差の分布が偏っていると，頻繁に起こる順序が同時に知覚される傾向があることが知られている（ラグアダプテーション）。この現象は，統合を支えるメカニズムであると考えられている。一方，これとは逆に，同時に与えられた刺激が，頻繁に起こる順序に知覚される傾向になる現象も知られている（ベイズ較正）。この現象は，時間差をはっきりと知覚することに貢献し，分離を支えるメカニズムと考えることができる。

本発表では，多感覚情報の統合と分離を知覚変化の観点からとらえた我々の最新の成果を紹介する。特に，ラグアダプテーションとベイズ較正という二つの相反する変化が，どのような場合に起こりうるか，統一的な説明を提案したい。

（2）知覚学習の神経メカニズム

熊野弘紀（順天堂大学大学院医学研究科）

訓練によって，視覚弁別課題の成績は向上する。これを知覚学習という。多くの場合，学習の効果は，用いた視覚刺激の特徴（例えば方位）や視野上での位置に特異的である。そのため，知覚学習は，小さい受容野をもつ

初期視覚野ニューロンの感度が上昇することにより起こると考えられてきた。しかし，実際には初期視覚野での感度上昇は小さく，学習効果のすべてを説明できない。さらに，近年では刺激呈示の方法によっては新規の刺激特徴や視野位置にも学習効果は転移しうると報告されている。知覚学習の神経メカニズムを解明するには，何がどのように転移するか（あるいは特異的か）を行動およびニューロンレベルで明らかにする必要がある。我々は，奥行き弁別課題を用いて，学習効果とその転移を，単一ニューロンレベルで検討した。この課題では，サルは，視覚刺激が手前なら眼を下の視標に，奥なら眼を上の視標に動かさなければならない。２頭のサルに新規に課題を訓練しながら，大脳皮質 MT 野のニューロン活動を記録した。その結果，訓練によりサルの成績は向上したが, MT 野ニューロンの感度に変化はなかった。一方，MT 野のニューロン活動と行動との相関は訓練により高くなった。MT 野以前の視覚野ではなく，MT 野から眼球運動関連領野との間の感覚運動変換の経路に可塑的変化が生じたと示唆される。また，学習の半球間転移を調べるため，別の２頭のサルに片側視野のみで奥行き弁別課題を学習させた。学習完了後，反対視野で弁別課題を行わせながら MT 野のニューロン活動を記録した。ニューロン活動と行動との相関は，反対視野での学習初期から高く，訓練による変化はなかった。さらに反対視野での学習は初期の学習より速く起こった。感覚運動変換での可塑的変化は，片側視野でしか訓練していないにも関わらず両半球で起こると示唆される。これらの結果より，知覚学習は，初期視覚野での可塑的変化ではなく，感覚運動変換過程での可塑的変化によると示唆される。この可塑的変化は，訓練時の視野位置に限定されないことから学習初期における課題ルールの獲得を反映すると考えられる。

（3）錯視現象からわかる視覚系の位置情報処理

久方瑠美（東京大学大学院総合文化研究科）

物体位置を視覚的に把握することは重要な視知覚の機能の 1 つである。人は極めて精密かつ正確に物体の相対的な位置関係を知覚できる。しかしある状況ではその正確な位置の知覚がゆがんでしまう。DeValois & DeValois(1991)はガボールパッチの内部正弦波の運動がガボールパッチ全体の知覚位置をずらす現象を発見した。「運動による位置ずれ」と呼ばれるこの錯視現象は，運動情報が知覚位置に影響を与えることを示している。本研究では心理物理学的手法を用いてこの錯視現象を検討し，視覚系の位置情報処理について議論したい。

研究 1 では，統合運動の一種であるプラッド運動および擬似プラッド運動が運動による位置ずれを引き起こすかどうか調べた。実験の結果，これらの統合運動が位置ずれを引き起こすことが明らかになった。統合運動は運動処理の中で比較的高次な処理になる。統合運動で位置ずれが発生するということは，位置ずれに関係するメカニズムが運動統合処理以降に存在することを示している。研究２では刺激や眼球が運動している場合にも位置ずれが発生するのか調べた。実験の結果，位置ずれ錯視は刺激輪郭が運動していても発生し，また追跡眼球運動中にも生じることが判明した。さまざまな条件下で位置ずれ量を測定したところ，位置ずれに重要な運動は網膜中心座標系の運動でも環境中心座標系の運動でもなく，刺激輪郭に対する相対的な内部運動が重要であることが明らかになった。研究 3 では刺激輪郭と内部正弦波に奥行き差をつけた場合位置ずれが消失するかどうか検討した。奥行き差をつけた時に錯視が消失するのであれば，位置ずれに関係するメカニズムは奥行き選択性をもつということになる。実験の結果，刺激輪郭と内部正弦波に奥行き差があっても位置ずれ現象が生じ，位置ずれ現象には奥行き選択性がないことが明らかになった。このことから位置ずれに関係するメカニズムは単眼性処理段階にある可能性が示唆された。

これらの研究結果を総合的にとらえ，視覚系の位置処理に関わるメカニズムやこの現象の機能的意義を考察し，それを実現する神経活動を議論する。

（4）LIP 野における視覚選択中の側抑制の機能的役割

西田知史（京都大学大学院医学研究科）

視覚探索課題中に，頭頂間溝外側壁領域（LIP 野）では単一ニューロンのレベルで目標刺激と妨害刺激を識別するような神経活動を示すことが知られている。ニューロンの受容野に妨害刺激が呈示されたときに比べ，目標刺激が呈示されたときの方がより強い神経活動を示し，その差は時間とともに増幅する。このような神経活動の差の増幅過程に寄与する神経メカニズムの一つとして側抑制が挙げられる。側抑制が存在すると，目標刺激に対する神経活動の促進は，同時に周辺の妨害刺激に対する神経活動に更なる抑制効果をもたらすため，結果として両者の活動強度の差は時間とともに増大すると予測される。

しかし，視覚探索課題遂行中に側抑制が神経活動の形成に対して実際に寄与しているかを，生体内の神経活動を用いて検証した研究は存在しない。検証が困難な理由として，従来の視覚探索課題のパラダイムでは，目標刺激に対する神経活動の促進と妨害刺激に対する神経活動の抑制を切り分けられなかったことが挙げられる。側抑制の寄与を実証するためには，そのような促進と抑制が同時に生起していることを示す必要がある。

そこで本研究では，二種類の視覚探索課題をサルに行わせ，LIP 野から単一ニューロン活動を記録した。一方の課題では，刺激アレイの中から一つだけ色が異なる目標刺激に向かってサッカード眼球運動を行なうことが要求される（target-present 試行）。もう一方の課題では，刺激アレイのすべての要素が同一であり，試行終了まで注視点を固視することが要求される（target-absent 試行）。Target-absent 試行中の神経活動を基準に用いることで，target-present 試行中の目標刺激に対する神経活動の促進と，妨害刺激に対する神経活動の抑制を切り分けて評価した。

その結果，一部の LIP ニューロンにおいて，目標刺激に対する神経活動の促進と妨害刺激に対する神経活動の抑制の双方が生じることが見出された。また，促進が強ければ抑制も強く，促進が弱ければ抑制も弱いという相関関係が存在し，抑制は相互作用的に生起していることが示唆された。これらの結果は，側抑制が目標刺激と妨害刺激に対する神経活動の差異を増幅させる神経メカニズムとして機能している可能性を支持する。

（5）リズム情報処理に関わる
前頭葉—頭頂葉—小脳システム

鴻池菜保（京都大学霊長類研究所）

‘リズム’は音楽の基本的な要素であるのはもちろんのこと，‘言葉のリズム’や‘リズミカルな動き’といったように言語や身体運動においても重要である。

我々が音楽や言語を習得する際，まず初めに音を聴いてリズムと認識し，そしてその情報を一定期間保持し，再現または模倣する際にその情報を引き出すという一連のワーキングメモリが必要となってくる。しかし，このリズムのワーキングメモリに関わる神経機構は明らかになっていない。また，リズムといえば音を思い浮かべるが，我々は聴覚以外の刺激（視覚や触覚刺激）からもリズムを感じることができる。しかし，これら聴覚以外の刺激から構成されるリズムの情報処理については聴覚と共通のシステムなのか，別のシステムが存在するのかはわかっていない。

そこで，リズムのワーキングメモリに関わる神経機構を明らかにするため，健常被験者が聴覚および視覚リズムを聴き，覚え，再現する行動課題を用いて，課題遂行中の脳活動を fMRI で計測・解析した。呈示刺激のモダリティに関わらず，リズム情報の記銘期には左下前頭溝，両側下前頭回，下頭頂小葉，小脳の賦活が見られた。また，リズム情報の想起期には，両側下頭頂小葉，補足運動野の活動が見られた。これらの脳領域は運動制御に重

要な役割を果たしていると考えられている領域である。以上の結果から，ヒトのリズムワーキングメモリには感覚モダリティを超えた前頭葉―頭頂葉―小脳の運動システムが関与しており，リズムの情報は運動情報として脳内で表象されていることが示唆された。

（6）意識の比較-認知-神経-心理-学を目指して

吉田正俊（自然科学研究機構・生理学研究所・発達生理学研究系・
認知行動発達研究部門，総合研究大学院大学・生命科学研究科）

第一次視覚野を損傷した患者では損傷の反対側の視野を失うが，そのような患者の中で，失われた視野内の視覚情報を利用できるという症例がある。このような無意識の視覚を「盲視」と呼ぶ。著者を筆頭とした研究グループでは盲視の動物モデルとして片側第一次視覚野を除去したニホンザルを用いて，盲視の脳内メカニズムについて明らかにしてきた。たとえば，盲視の能力は 2，3 ヶ月のトレーニングの後にはじめてみられる [1]。盲視の能力は上丘へのムシモル注入によって失われる [2]。機能回復後の上丘の神経活動は，空間記憶の保持を反映するようになる [3]。盲視でもボトムアップ性の注意が保持される [4]。盲視でも自然映像の視覚探索の際には，ボトムアップ性注意によって視線が誘引される [5]。

これらの盲視サルの研究の成果を踏まえた上での次のステップとして，著者は以下の 2 つのプロジェクトを進めている。i) ヒト盲視の研究。最近著者は国内での盲視の患者を被験者とした実験を開始した。サルで使用したのと同様な視覚誘導性サッカード課題での結果から，これまでのサルでの実験と整合性のあるデータを得るだけでなく，視覚刺激について「どんな感じがするのか」といった内観報告のデータを取得している。ii) サルを用いた半側空間無視の実験モデル。半側空間無視は脳損傷の対側への気づきが低下する認知的障害であり，盲視とは異なるタイプの気づきの障害である。半側空間無視の動物モデルはまだ確立していないが，著者は上縦束 II の切除 [6]によってヒト患者で見られる無視症状を再現できることをこれまでの予備的実験で見いだした。

以上のようにして [盲視 / 半側空間無視] * [ヒト / サル] という 2*2 のマトリックスを埋めるように研究を進めることで，意識の比較-認知-神経-心理-学を推進していくことを著者は構想している。つまり，サル-ヒトという比較による「比較認知」，高次脳機能の神経メカニズムの解明をする「認知神経科学」，脳損傷を元にして脳機能を解明する「神経心理学」を組み合わせていく。

（7）複数位置に対するワーキングメモリの神経表現

松嶋藻乃（北海道大学　医学研究科）

ワーキングメモリの神経メカニズムは，主に 1 つの刺激を記憶する行動課題を用いて調べられてきた。しかし，ヒトは最大 4 つまでの物体についての記憶を，同時に保持することができることが知られている（Luck and Vogel, 1997）。さらに，記憶容量は，物体の相対位置によって影響を受けることが知られており，複数の物体が左右視野にまたがって呈示されたときは，全て同側視野に呈示されたときよりも，記憶成績が向上する（Delvenne, 2005）。しかし，その神経メカニズムについては明らかにされていない。そこで私たちは，1 つまたは 2 つの位置を保持しなければならない遅延見本合わせ課題をサルに訓練し，背外側前頭前野より単一ニューロン記録を行った。

本課題では，２つの視覚刺激（手がかり刺激）と３つのテスト刺激が２秒間の遅延期間をおいて呈示される。テスト刺激のうち１つは，手がかり刺激の一方と同じ位置にあらわれ（一致刺激），他の２つは異なる位置にあらわれる（不一致刺激）。サルは，遅延期間中スクリーン中央の固視点を見続け，それが消えた後に一致刺激に

向かってサッカードすることが要求されている。手がかり刺激のどちらが遅延期間の後に現れるかは予測できないため，サルは両方の刺激位置を記憶しておかなければならない。コントロール試行では，１つの手がかり刺激と３つのテスト刺激（一致刺激･１，不一致刺激･２）を呈示した。

２つの位置を同時に記憶している際の遅延期間活動を，1つの位置のみを記憶している時の活動と比較した。左右両視野に１つずつ呈示された刺激位置を記憶している際には，対側視野に呈示された１つの刺激位置を記憶している時と同様の反応がみられた。一方，同側視野内に呈示された２つの刺激位置を記憶している際には，各刺激が単独で呈示された際の平均値に近い神経活動を示した。また，これらの物体の相対位置による２つの条件下で，サルの正解率が変化したことから，背外側前頭前野における異なる神経表現が行動に反映されていることが示唆された。

これらの結果は，各視野の情報は独立に保持されており，同側視野内に複数の物体がある場合には統合されて保持されることを示唆する。こうした神経表現における視野間の独立性と視野内の統合が，物体の相対位置に応じて記憶容量を変化させていると考えられる。

（8）メタ記憶課題の遂行におけるサル外側前頭前野の役割

田中暁生（京都大学こころの未来研究センター）

ヒトは，自分の記憶を内省的に参照することで，自分が何を知っており，何を知らないのかを比較的正確に区別できると同時に，特定の目的を遂行する上で必要な知識を有しているか否かに基づいて，柔軟な行動選択を行うことができる。心理学では，このような記憶情報の有無や確信度を判断する能力，及びその判断を基に行動や思考を制御する能力を総称してメタ記憶と呼ぶ。メタ記憶は，我々が常日頃使用している身近な認知機能であるが，例えば，どのような神経機序により確信度判断が実現されているのか，また，そもそも確信度判断の根拠となる記憶情報の強度はどのような神経活動により表象されているのかなど，メタ記憶に関わる神経機構については不明な点が多い。

本研究では，この問題を解決する糸口を見出すため，空間性作業記憶の神経基盤を探る目的で用いられてきた遅延眼球運動課題を改変し，サルに自分の記憶に関する確信度判断をさせる状況を作り出した上で，課題遂行時の外側前頭前野神経細胞活動を記録した。この課題は，視覚刺激の呈示位置を数秒間記憶させるという点では遅延眼球運動課題と同様であるが，遅延期間終了後にテストを受けるか回避するかをサルに選択させる条件（選択条件）とテストを強制する条件（強制条件）をランダムに挿入する点が異なっている。

実験に用いた 2 頭の内，1 頭（Mw）では，選択条件の記憶成績が強制条件のそれよりも高く，メタ記憶を使用してテストを受けるか回避するかを選択していたことが示唆された。もう 1 頭（Mh）でも同様の傾向が見られたが，強制条件の記憶成績が非常に高かったため，条件間の成績差は僅かなものであった。どちらのサルにおいても，遅延期間中に方向選択性をもって持続的に発火する神経細胞が複数観察された。空間情報の記憶を反映していると考えられるこの神経活動を解析した結果，Mw では，テストに正解した試行と比べ，テストを回避した試行における遅延期間中の方向選択性強度（ROC 解析に基づく空間情報の弁別性）が低下していた。Mh においても同様の傾向が観察されたが，行動データと同じく神経活動データも Mw の場合より不明瞭であった。そこで，Mh の外側前頭前野にムシモールを注入し，この脳領域の機能を一過性に低下させたところ，注入前と比較して注入後に強制条件の記憶成績が低下するとともに，選択条件におけるテスト回避率が上昇した。さらに，注入後においては，強制条件よりも選択条件の記憶成績の方が明確に高くなった。以上の結果は，外側前頭前野における神経細胞集団の遅延期間活動として表象される記憶情報の強度が，確信度判断の材料として利用されていることを示唆する。

本研究会では，今回の結果を，メタ記憶研究と密接に関連する分野である，顕在記憶と潜在記憶の分類に関する研究との関係に基づいて議論したい。

（9）ヒト前頭前野からの機能的結合のダイナミクス ～磁気刺激-脳電図(TMS–EEG)による因果的アプローチ～

梅田和昌（東京大学　大学院医学系研究科）

ヒトが何らかの課題に直面しているとき，前頭前野を含む連合皮質は，トップダウン信号により，その課題に関連した皮質領域の活動を変化させ，知覚，意思決定，行動に貢献する。この機能を実現するには，連合皮質のニューロン群と他の皮質領域のニューロン群との間の機能的結合(functional connectivity)の変化が必要となる。ヒト脳における研究では，機能的磁気共鳴画像法(fMRI)をもちいて，複数の脳領域における信号の相関や相互作用を示すことにより機能的結合にアプローチしてきた。しかしながら fMRI 研究では，時間解像度の低さから特定のタイミングにおける機能的結合の状態を知ることは困難であり，信号間の因果関係は解析技術や解剖学的関係から推定せざるを得ない。この問題を解決する一つのアプローチとして，近年，我々を含めた複数のグループにより，磁気刺激(TMS)によって誘発される電位の変化を，脳波(EEG)の同時記録によって追跡するシステム(TMS-EEG)が開発されてきた(Massimini et al., 2005; Morishima et al., 2009)。この手法では，TMS の対象領域から他の脳領域への機能的結合の状態を因果的に検証できるうえ，TMS のタイミングを変えることで，短い時間内におこる機能的結合の変化を高い時間解像度で検出することが可能である。本講演では，TMS-EEG を用いた我々のグループのこれまでの成果(Morishima et al., 2009, Akaishi et al., 2010)と未発表の研究を紹介するとともに，現在新たに挑戦中の技術についても触れたい。

（10）カテゴリに基づく推論的思考と行動制御の神経機構

筒井健一郎（東北大学　大学院生命科学研究科）

高等脊椎動物は，経験した刺激－結果，あるいは刺激－反応－結果の関係を，それぞれ個別に学習するのではなく，同じ結果を導く刺激をグループ化して認識している，すなわち，刺激の機能的等価性に基づいて刺激のカテゴリ化を行っていることを示唆する知見がある（Vaughan 1988）。このような刺激のカテゴリ化は，情報表現の効率化に役立つだけでなく，同じカテゴリのメンバーは同じ性質を持つという，刺激の等価性に基づく推論的思考を行う基盤になりうる。本研究では，刺激等価性に基づくカテゴリの認識と，カテゴリに基づく推論について，その脳内機序を明らかにしていくことを目的とする。そのため，カテゴリを用いて推論を行わせる「カテゴリ逆転課題」をサルに行わせ，課題遂行中に前頭連合野の神経活動の細胞外記録を行った。

サルの前頭連合野には，報酬を予測する手がかりとなる視覚刺激に反応するニューロンが多く見つかった。それらのニューロンは，視覚刺激に対する反応から，大きく３つのグループに分けることができた。A）刺激と連合している結果に関係なく，常に特定の範疇に属する刺激に強い反応を示し，カテゴリをコードしていると考えられるニューロン，B）特定のカテゴリに属する刺激が特定の結果と連合しているときに強い反応を示し，カテゴリと結果の連合をコードしていると考えられるニューロン，C）どのような刺激でもそれが特定の結果に連合しているときに強い反応を示し，カテゴリを超えて，刺激によって予期される結果をコードしていると考えられるニューロン，である。これらの結果から，前頭連合野が，他の領域から入力されたカテゴリの情報に自らが保持しているルールの情報を統合することによって，適切な行動を選択し，その情報を他の脳領域に出力していることが示唆された。

「カテゴリ逆転課題」のルール逆転時には，サルが１試行の誤りで新しいルールに適応することから，サルはカテゴリに基づく推論を行っていることが行動学的に示された。前頭連合野の推論への関わりを調べるために，各領域で記録されたCタイプのニューロン（有効なルー

ルの違いに関わらず予期される結果をコードしているニューロン）が，どの程度はやくルールの変化に適応したかを調べた。その結果，前頭連合野のニューロンは，サルの行動と同様にルール逆転後の２試行目から新しいルールにその反応様式を適応させていた。このことから，前頭連合野は，推論や見通しに基づいて行動を制御することに関わっていることが示唆された。

12. 大脳皮質の作動原理究明をめざして

2012 年 12 月 6 日－12 月 7 日

代表・世話人：金子武嗣（京都大学　大学院医学研究科）
所内対応者：川口泰雄（生理学研究所　大脳神経回路論研究部門）

（1）ラットの前肢運動を担う皮質内回路機構

礒村宜和（玉川大学　脳科学研究所）

（2）随意運動の制御における複数の premotor system の相対的役割

関　和彦（国立精神・神経医療研究センター　神経研究所）

（3）第一次運動野は空間ベクトルの外積を用いて到達運動ダイナミクスを計算する

田中宏和（北陸先端科学技術大学院大学　情報科学研究科）

（4）情報量最大化原理による複雑型細胞の選択性の説明　― 視覚野の細胞の選択性なぜ成立するのか ―

田中琢真（東京工業大学　総合理工学研究科）

（5）視空間性ワーキングメモリ遂行における前頭連合野 ― 視床背内側核の役割

船橋新太郎（京都大学　こころの未来研究センター）

【参加者名】

宋　文杰（熊本大学　医学部），福田孝一（熊本大学　大学院生命科学研究部），加藤荘志（広島大学　大学院国際協力研究科），船橋新太郎（京都大学　こころの未来研究センター），金子武嗣，古田貴寛，日置寛之，倉本恵梨子，孫　在隣，柴田憲一，早川　隆，平井大地，太田直美（京都大学　大学院医学研究科），青柳富誌生（京都大学　大学院情報学研究科），久保田啓司（京都大学総合人間学部），苅部冬紀（同志社大学　脳科学研究科），田中宏和（北陸先端科学技術大学院大学　情報科学研究科），関　和彦（国立精神・神経センター　神経研究所），坪　泰宏（理化学研究所　脳科学総合研究センター），田中琢真（東京工業大学　総合理工学研究科），小島久幸（東京医科歯科大学　医歯学総合研究科），山下晶子（日本大学　医学部），礒村宜和（玉川大学　脳科学研究所），小山内実，菊田里美（東北大学　大学院医学系研究科），田中康代，田中康裕（基礎生物学研究所），吉村由美子，宮下俊雄，鶴原亜紀，高良沙幸，石川　理，笠井昌俊，木村有希子，西尾奈々，金子将也，橋口真帆，川口泰雄，窪田芳之，大塚　岳，植田禎史，牛丸弥香，畠中由美子（生理学研究所）

【概要】

「大脳皮質の作動原理究明をめざして」第１回は，運動系の研究３題を１２月６日にまとめて，その他の２題を７日にお願いしました。運動系は，礒村宜和　先生（玉川大学　脳科学研究所　脳科学研究センター　システム神経科学部門），関　和彦　先生（国立精神・神経医療研究センター　神経研究所　モデル動物開発研究部），田中宏和　先生（北陸先端科学技術大学院大学　情報科学研究科　情報科学専攻　人間情報処理領域）の３方にそれぞれ，運動野の皮質内回路，脊髄・皮質を含めた premotor neuron，運動野の計算論的理解について講演していただきました。前２者については in vivo での記録に基づく研究結果でして，３番目の演題は運動野の計算原理をベクトル外積を用いて理解使用という野心的な試みでした。翌日の田中琢真　先生（東京工業大学　総合理工学研究科　知能システム科学専攻　創発的計算機構分野）には視覚皮質で複雑型細胞の特性をどのように獲得するかについての計算論的提案でした。最後の船橋新太郎　先生（京都大学　こころの未来研究センター）には前日の運動系ともある程度関係する，高次運動野（前頭連合野）とそこに投射する視床核でのワーキングメモリーニューロンの運動関連活動についての議論でした。

この研究会の顕著な特徴となっているのが，講演中での活発な議論であり，１時間の講演時間に対して概ね１

時間半を超す講演と議論になっていました。また，議論の中心も金子・川口等の世代の人ばかりでなく，若年層の研究者による質問・議論が盛んになりつつあります。この研究会では話しを遮って質問して良いのだという姿勢が浸透してきているようでして，こうした「がちんこ」議論は，通常の学会等では行うことができませんので，それを可能にする当生理研研究会は貴重な存在であろうと感じています。

（1）ラットの前肢運動を担う皮質内回路機構

礒村宜和（玉川大学　脳科学研究所）

大脳皮質の運動野では，運動の発現に伴う神経細胞の発火活動が観察される。ところが，運動野の興奮性の錐体細胞と抑制性の介在細胞が運動指令を形成する皮質内回路機構に関しては未だに謎が多い。そこで，ラットに前肢の運動課題を効率よく学習させる行動実験装置を開発し，単一の神経細胞の発火活動を記録し可視化できる傍細胞（ジャクスタセルラー）記録法や複数の神経細胞の発火活動を同時に記録できるマルチニューロン記録法を組み合わせる研究手法を確立した。そして，錐体細胞は多様な機能的活動を示し，FS 介在細胞は運動発現中に強く活動すること，同じ機能の活動を示す神経細胞は各層に分布すること，異なる機能の活動を示す神経細胞の間でも同期的発火が観測されることを明らかにした。また，運動の保持・準備と実行の過程で，局所フィールド電位上，それぞれ遅いガンマ波と速いガンマ波がシータ波に合せて出現し，多くの細胞が位相特異的に発火することも見出した。レバーと報酬を合一化したスパウトレバーを考案し，内発性／外発性運動課題や Go/No-go 弁別課題などの運動課題の学習が数日で完了する行動実験系も確立した。この課題を遂行するラットの一次運動野と二次運動野におけるマルチユニット活動を解析し，両領域は運動発現に協調的に働くことを示す所見を得た。このように，運動発現を担う皮質内回路機構を行動学的・電気生理学的手法を活かして探っている。

（2）随意運動の制御における複数の premotor system の相対的役割

関　和彦・武井智彦・大屋知徹（国立精神・神経医療研究センター　神経研究所）

随意運動の制御は，目的とする運動に必要な関節に作用する骨格筋群の収縮を協調的に調節することによって達成される。そのためには，それぞれの筋肉を支配する運動ニューロンの活動性を制御する必要があるが，特に霊長類においては同一の運動ニューロン群が多くの神経経路（premotor system）によって並列的に支配されている事が知られている。例えば上肢筋の運動ニューロンを例に上げると，皮質運動野・赤核・脳幹網様体・前庭神経核・一次求心神経などが直接路・関節路を経由してそれらに投射している。本発表では第一に上肢運動ニューロンの直接投射を持つ運動皮質，赤核，脊髄投射細胞の活動を精密把握及び上肢到達運動時に記録した実験結果を紹介し，それぞれの相対的役割を議論した。次に，それぞれが随意運動の実行に必要と考えられている協調的筋活動（筋シナジー）の形成にどのように関わるかについて，実験データに基づく仮説を紹介した。

（3）第一次運動野は空間ベクトルの外積を用いて到達運動ダイナミクスを計算する

田中宏和（北陸先端科学技術大学院大学　情報科学研究科）
Terrence J. Sejnowski（The Salk Institute for Biological Studies）

身体との体部位対応を持つ第一次運動野(M1)は，錐体路繊維を通して脊髄中の運動ニューロンに投射するが，どのようにして身体運動を制御するかについては完全には理解されていない。ダイナミクスの立場では M1 は身体座標系における筋張力や関節トルクを制御すると主張するが，キネマティクスの立場では外部座標系における運動軌道を表現しているとする。本講演では，外部座標系を用いると到達運動を記述する運動方程式が単純になることを示し，開 n-リンク系の一般式を導出した。この式は左辺のダイナミカル量である関節トルクと右辺のキネマティカル量である空間運動を直接関係づける式であり，関節角表現を明示的に必要としないため，逆キネマティクス計算や不良設定性問題を回避することができる。ベクトル外積を用いて理想軌道を到達運動ダイナミクスへと変換しているという計算理論を提案した。ベクトル外積各項を M1 神経細胞の発火頻度と同一視すれば，(1)コサイン・チューニング，(2)最適方位の作業空間依存性，(3) 複数座標系の混在，(4)運動適応後の活動変化，　(5)ポピュレーションベクトルの時空間的性質といった実験結果を説明できた。筋張力の計算も一層のニューラルネットワークで計算できることを示した。これらの結果から，キネマティクスとダイナミクスの立場が相反するものではなく，運動方程式における左辺と右辺を強調しているにすぎないと結論した。

(4)情報量最大化原理による複雑型細胞の選択性の説明　— 視覚野の細胞の選択性なぜ成立するのか —

田中琢真（東京工業大学　総合理工学研究科）

一次視覚野には単純型細胞と複雑型細胞が存在する。単純型細胞は視野の特定の位置の特定の方位の線分に応答し，複雑型細胞は受容野の中に特定の方位の線分を提示されたときに応答する。単純型細胞の選択性がなぜ・いかにして出現するかを説明するモデルは多数ある。その中で，「なぜ」の問いにもっとも直截に答えを与えるのが情報量最大化原理である。我々は，外側膝状体が入力層，単純型細胞が出力第一層となり，ここからさらに出力第二層につながる三層のフィードフォワードネットワークを考え，二つの出力層が持つ情報量ができるだけ大きくなるように結合を最適化すると，出力第二層は複雑型細胞の選択性を非常によく再現することを示した。特に出力第二層はサイン波の位相に依存しない発火応答を示し，同一の方位の縞による周辺抑制や直交する方位の縞による応答の増強を示す。これらはいずれも複雑型細胞によく見られる特性である。このモデルに基づいて解釈すると，複雑型細胞はテクスチャの境界線に反応しているとみなすべきであることがわかる。

（5）視空間性ワーキングメモリ遂行における前頭連合野 — 視床背内側核の役割

船橋新太郎（京都大学　こころの未来研究センター）

視床背内側核は前頭連合野と双方向性の密な線維連絡をもつことから，前頭連合野の機能発現と密接に関係していると予測される。前頭連合野の機能を解明する目的で，記憶誘導性の眼球運動を利用した視空間性ワーキングメモリ課題を使用し，サルの前頭連合野外側部から記録されるニューロン活動を解析してきたが，同時に視床背内側核の関与を解明する目的で，この部位からもニューロン活動を記録し，前頭連合野の活動との比較を行

った。その結果，両方の領域で同じ活動特徴を示すニューロン活動が見出されるが，ニューロン活動が表象する情報には違いが見られ，前頭連合野では視空間情報を表象する活動が多いのに対して，視床背内側核では運動情報を表象する活動が多いことが見出された。個々のニューロンの活動が表象する情報をもとに，視空間情報から運動情報への情報変換の仕組みを明らかにする目的で，両領域で表象されている情報の課題の経過に伴う変化を調べたところ，前頭連合野では視空間情報と運動情報を表象するニューロン群に連続性がみられなかった。これに対して，視床背内側核では，課題の早い時期に運動情報を表象するニューロン群が現れることから，入力された視空間情報は，視床を含む前頭連合野以外の部位で運動情報に変換され，これが前頭連合野に入力されて運動関連活動として現れることが示唆された。

13. 第六回 Motor Control 研究会

2012 年 6 月 21 日－6 月 23 日

代表・世話人：花川　隆（国立精神・神経医療研究センター）

所内対応者：伊佐　正（認知行動発達機構研究部門）

（1） Cortical activities associated with voluntary and involuntary movements（特別講演）

柴崎　浩（京都大学名誉教授）

（2） 磁気刺激の基礎（シンポジウム）

宇川義一（福島県立医科大学）

（3） New motor cortex plasticity protocols（シンポジウム）

Angelo QUARTARONE（University of Messina）

（4） Manipulation and control of neural synchrony by TMS（シンポジウム）

北城圭一（理化学研究所）

（5） Transcranial direct current stimulation (tDCS): implications for neuro-rehabilitation（シンポジウム）

田中悟志（名古屋工業大学）

（6） 哺乳類の歩行中枢パターン発生回路の機能的構成（シンポジウム）

西丸広史（筑波大学）

（7） 水棲脊椎動物の脊髄運動系神経回路（シンポジウム）

東島眞一（生理学研究所）

（8） 無脊椎動物の中枢パターン発生回路（シンポジウム）

高坂洋史（東京大学）

（9） システム工学から見た歩行 CPG の機能とモデル化（シンポジウム）

青井伸也（京都大学）

（10） 運動制御における感覚フィードバック信号の計算論的役割（シンポジウム）

田中宏和（北陸先端大学）

（11） Putting sensory back into motor control（シンポジウム）

Stephen H. SCOTT（Queen□s University）

（12） Functional modulation of quick sensorimotor responses during arm movements（シンポジウム）

五味裕章（NTT コミュニケーション科学基礎研究所）

（13） 'Whisker sensorimotor system', a useful model for investigation into the mechanisms for the integration of motor control and sensory processing（シンポジウム）

古田貴寛（京都大学）

（14） Somatic input to central motor system -A key for efficient motor control and motor learning-（シンポジウム）

内藤栄一（情報通信研究機構）

（15） 運動記憶の特性を表現する状態空間モデル（シンポジウム）

井澤　淳（国際電気通信基礎技術研究所）

（16） 報酬が運動記憶の長期保持を改善させるメカニズム:報酬長期効果を計算論的見地から説明する学習モデル（シンポジウム）

阿部十也（国立精神・神経医療研究センター）

（17） 異なる速度の学習を実現する脳内機構（シンポジウム）

山本慎也（産業技術総合研究所）

(18) 第一次運動野損傷後のつまみ動作の回復と脳活動の変化:動物モデルを対象として（シンポジウム）
村田　弓（産業技術総合研究所）

(19) 運動学習の記憶痕跡の移動の機能的役割（シンポジウム）
永雄総一（理化学研究所）

(20) ヒト一次運動野での associative plasticity
美馬達哉（京都大学）

(21) 不均一経頭蓋磁気刺激による運動野神経回路の可塑的変化誘導機序の解明
花川　隆（国立精神・神経医療研究センター）

(22) 脳卒中患者における反復経頭蓋磁気刺激の上肢運動機能に与える負の効果
阿部玄治（東北大学）

(23) Properties of force fields and EMGs in the primate arm induced by intraspinal microstimulation
矢口博彬（東京大学）

(24) 運動イメージによる TMS 誘発電位の検討－磁気共鳴機能画像（fMRI），筋電図（EMG），経頭蓋磁気刺激（TMS）を用いた検討－
設楽　仁（群馬大学）

(25) てんかんモデルラットにおいて局所脳冷却は速波成分を抑制する
木田裕之（山口大学）

(26) けいれん誘発てんかんモデルに対する局所脳冷却の発作抑制効果と至適冷却温度
井上貴雄（山口大学）

(27) Focal brain cooling suppresses periodic epileptiform discharges and lessens brain injury after cerebral ischemia in rats
賀　業霆（山口大学）

(28) 脳波-fMRI 同時計測を用いたμ波の安静時変動に関わる神経基盤の解明
星野英紀（東京大学）

(29) 第一次運動野は空間ベクトルの外積を用いて到達運動ダイナミクスを計算する
田中宏和（北陸先端科学技術大学院）

(30) 両手運動により誘発される一次運動野ニューロンの最適方位の回転は，脳卒中回復過程を促進する -計算論研究-
瀧山　健（東京大学）

(31) 上肢到達運動中の腕の剛性に対するフィードバックの効果
植山祐樹（東京工業大学）

(32) 半球間連絡が両手協調動作におけるリズム生成機能に与える影響
内野すみ江（東北大学）

(33) タッピング運動における空間・回数系列に関わる神経基盤の比較
細田千尋（国際電気通信基礎技術研究所）

(34) サル上肢全体の到達－把握－引き込み運動を構成する筋シナジーの抽出
大屋知徹（国立精神・神経医療研究センター）

(35) 投球におけるボールコントロールのための協調動作の解析
木村嘉志（山口大学）

(36) 筋－末梢神経間の人工神経接続による運動適応
加藤健治（生理学研究所）

（37）　3 次元筋骨格モデルに基づくニホンザル精密把握動作の生体力学的解析

齋藤　剛（慶応義塾大学）

（38）　霊長類大脳皮質運動野における SPP1 遺伝子発現と手の巧緻性との相関

山本竜也（筑波大学）

（39）　コモンマーモセットにおける皮質脊髄路の解析

近藤崇弘（慶応義塾大学）

（40）　皮質運動野における multi unit activity に対する経頭蓋直流電気刺激の影響

田中智子（国立精神・神経医療研究センター）

（41）　運動実行および運動イメージ 下における皮質賦活部位の検討 －反復経頭蓋磁気刺激法と体性感覚誘発電位を用いて－

藤原洋介（慶応義塾大学）

（42）　小脳 V,VI 小葉外側部が受ける 2 種類の運動制御情報

戸松彩花（東京都医学総合研究所）

（43）　抗 GAD 抗体陽性小脳失調症患者における可逆的予測制御障害

筧　慎治（東京都医学総合研究所）

（44）　三叉神経運動核周囲領域に存在するプレモーターニューロンの形態学的および電気生理学的特性

中村史朗（昭和大学）

（45）　モルモットのレム睡眠中に認められる咀嚼様の協調性下顎運動

加藤隆史（大阪大学）

（46）　表面筋電図を用いた咀嚼・嚥下動作の加齢分析

谷口慎一（福井大学）

（47）　摂食物の粘性が嚥下表面筋電図に及ぼす影響

吉川一輝（福井大学

（48）　Superior temporal sulcus activity mediates the effects of performance anxiety on force production

吉江路子（University College of London）

（49）　描画運動においての 2/3 乗則成立における視覚情報の重要性

岡林亜紀（東京医科歯科大学）

（50）　手による目標追従課題遂行中の眼球運動の振る舞い

井上康之（電気通信大学）

（51）　目は口ほどにものを言う：サッカードから運動の分節化を探る

鍋　知宏（東京工業大学）

（52）　運動プリミティブによって規定される左右の腕の機能的差異

横井　惇（東京大学）

（53）　少数筋群からなるフェーズ分けによる運動学習

西川　鋭（東京大学）

（54）　サブリミナルプライミングによる応答の促進と阻害～日常生活物品を視覚呈示に用いて～

青木智子（畿央大学）

（55）　State-dependent spiking neuronal network characterization using Granger Causality based generalized linear models

高橋和貴（シカゴ大学）

（56）　脳波筋電図コヒーレンスを用いた緊張性振動反射の発生メカニズムに関する検討

渡邉佳宏（慶応義塾大学）

(57)　横方向のロコモーションにおけるステップ間隔のゆらぎ解析

山下大地（京都大学）

(58)　接地状況を考慮した解剖学的神経筋ネットワークに基づく体性反射歩行コントローラの構築

村井昭彦（東京大学）

(59)　予測的姿勢調節と代償的姿勢反応との筋活動の関連性について

萬井太規（北海道大学）

(60)　大腿部における筋のシナジー活動

萩生翔大（京都大学）

(61)　身体重心動揺をフィードバック信号とした床面動揺が立位姿勢調節に及ぼす影響

井原壽一（芝浦工業大学）

(62)　片麻痺患者の立位における安定性限界の特性について

津田章代（北海道大学）

(63)　身体の力学的特性による歩行時の脚関節間シナジー

豊田誠治（山口大学）

(64)　運動学シナジーに基づくヒトの歩行制御構造の力学解析

舩戸徹郎（同志社大学）

(65)　健常者における極低速域歩行の歩行比

村神瑠美（千葉大学）

(66)　スプリットベルトトレッドミルを用いたヒト二足歩行運動の位相反応曲線の測定

奥　啓明（慶応義塾大学）

(67)　ヒト歩容遷移運動時のキネマティクスデータ解析

冨田　望（同志社大学）

(68)　脊髄完全損傷者の麻痺下肢に生じる歩行様筋活動の長期適応変化

河島則天（国立障害者リハビリテーションセンター）

(69)　人工神経接続を利用した下肢歩行運動の随意制御

笹田周作（生理学研究所）

(70)　子どもと成人の歩行中の関節間協調の比較

垣内田翔子（山口大学）

(71)　第一次視覚野損傷後の視覚誘導性サッケードに関連する↓皮質および皮質下領域：Positron emission tomography (PET) による測定

加藤利佳子（生理学研究所）

(72)　皮質盲視野における連合学習

高桑徳宏（生理学研究所）

(73)　動画視聴時の情報解析機構－時間・空間反転刺激を用いた研究－

須田悠紀（順天堂大学）

(74)　オドボール課題遂行中のサル視床ニューロンの予期的活動

松山　圭（北海道大学）

(75)　把握運動は複数のフィードバックループによって制御されている

武井智彦（国立精神・神経医療研究センター）

(76)　随意運動司令による皮膚感覚入力の制御：脊髄及び大脳皮質における感覚抑制

関　和彦（国立精神・神経医療研究センター）

（77） Do motor commands contribute to positional estimation?

木村聡貴（NTT コミュニケーション科学基礎研究所）

（78） 操作力知覚に対する重力の影響

坂尻太司（名古屋工業大学）

（79） 運動観察による巧緻運動技能向上メカニズム

野嶌一平（神戸大学）

（80） 進み視覚フィードバック条件下の到達運動

大山剛史（岡山県立大学）

（81） Rapid updating of sensorimotor memory in grasping virtual objects

塗木淳夫（鹿児島大学）

（82） 視覚フィードバックの遅れが重さの知覚に及ぼす影響

本多卓也（国際電気通信基礎技術研究所）

（83） 球技選手の持つ優れた指先知覚特性

前友美優（早稲田大学）

（84） 運動の視覚フィードバック誤差が疲労知覚に影響を与える

伊藤　翔（NTT コミュニケーション科学基礎研究所）

（85） 重度感覚障害者の握り・つまみ動作の改善を目的とした表面電気刺激を用いた感覚フィードバック装置の開発

北佳保里（国際電気通信基礎技術研究所）

（86） Impairment of relaxing muscle contraction after stroke with sensory deficit (Preliminary data)

長井真弓（東北大学）

（87） 両手協調運動における能動的注意の影響

櫻田　武（国立障害者リハビリテーションセンター）

（88） 片麻痺者の麻痺肢に対する身体性注意の低下

会津直樹（東北大学）

（89） 個人間および両手間共同力制御課題におけるエラー最小化過程の比較 : 組むべきは自分の手よりも他人の手，知っている手よりも知らない手？

阿部匡樹（東京大学）

（90） Discrepancy between goal belief and prediction degrades performance in expert darts throwers

池上　剛（国際電気通信基礎技術研究所）

（91） ニホンザルの上肢同期現象

長坂泰勇（理化学研究所）

（92） Tool kinematics mis-planning in humans

Ganesh Gowrishankar（国際電気通信基礎技術研究所）

（93） 非生物の環境音による認知：手の視覚表象による subliminal priming は道具認知に影響するか

芦塚あおい（京都大学）

（94） 行動選択と運動制御の不可分性を示す行動学的証拠

平島雅也（東京大学）

（95） Different contribution of left and right Area 6 (BA 6) to controlling response inhibition: a lesion and TMS study

鈴木栄三郎（東北大学）

（96） Hand Shape Selection in Grasping: Interaction Between the two Visual Streams and Convergence on the PMv
幕内　充（国立障害者リハビリテーションセンター）

（97） 視覚運動変換学習によって発火特性が変化する M1/PMdc の神経細胞は何を符号化しているのか？
宮下英三（東京工業大学）

（98） イメージする力の強さに依存して皮質脊髄路の興奮性は高まる
水口暢章（情報通信研究機構）

（99） 眼球運動方向の自由選択における運動と選択の相反する履歴効果
望月　圭（京都大学）

（100） 自発性サッカードのタイミング制御におけるドパミンの関与
國松　淳（北海道大学）

（101） Modification of eyelid conditioning timing in induced by amplitude-modulated tone and its theoretical interpretation
本多武尊（理化学研究所）

（102） The role of error observation on dynamic motor imitation learning
唐志　明（東北大学）

（103） Motor imagery and Motor execution use different area in intermanual transfer
雨宮　薫（国際電気通信基礎技術研究所）

（104） 運動イメージ中に発生する事象関連脱同期量は皮質脊髄路の興奮性に相関する
武見充晃（慶応義塾大学）

（105） 運動前野は運動イメージと運動抑制の両方に関与する
篠崎　淳（札幌医科大学）

（106） 上肢運動における運動観察，運動イメージ，運動実行中の脳活動：fNIRS-EEG 研究
中野英樹（畿央大学）

（107） 運動前のＭＥＧ脳活動を用いたエラーの予測
大畑　龍（大阪大学）

（108） サル後根神経節細胞から上肢運動軌道を読み解く
梅田達也（生理学研究所）

（109） EEG-fMRI analysis of mu rhythm modulation during control of a brain-computer interface
DaSalla Charles（国立精神・神経医療研究センター）

（110） 車体型 BMI RatCar を基盤とする神経工学実験系の構成と展開
深山　理（東京大学）

（111） 大脳皮質一次運動野への経頭蓋直流電流刺激が運動イメージ中の事象関連脱同期に与える影響
大藤美紗（慶応義塾大学）

（112） 3 ヶ月児における四肢運動の多様性と変化可能性
加藤　萌（東京大学）

（113） 乳児における寝返り運動パターンの発達的変化
小林佳雄（東京大学）

（114） 脊椎動物の胎児シミュレーションによる身体に基づく脊髄神経回路形成及び運動発達
山田康智（東京大学）

【参加者名】

会津直樹（東北大学），相本啓太（弥生病院），青井伸也　　（京都大学），青木智子（畿央大学），浅川佳祐（金沢大

学），芦塚あおい（京都大学），阿部十也（国立精神・神経医療研究センター），阿部玄治（東北大学），阿部匡樹（東京大学），阿部弘基（横浜市立大学），雨宮　薫（ATR），荒牧　勇（中京大学），有安諒平（筑波大学），池上　剛（ATR 情報通信研究機構），井澤　淳（ATR 脳情報通信総合研究所），石田章真（生理学研究所），石橋　遼（京都大学），井出翔太（中京大学），伊藤　翔（NTT コミュニケーション科学基礎研究所），稲田　亨（旭川リハビリテーション病院），井上康之（電気通信大学），井上富雄（昭和大学），井上貴雄（山口大学），井原壽一（芝浦工業大学），今川弘章（東京大学），上田康雅（関西医科大学），上原信太郎（京都大学），植松明子（北海道大学），植山祐樹（東京工業大学），宇川義一（福島県立医科大学），牛山潤一（慶応義塾大学），牛山秀太郎（八千代病院），内野すみ江（東北大学），内山　靖（名古屋大学），梅田達也（生理学研究所），大内田　裕（東北大学），大栗聖由（鳥取大学医学部附属病院），大田瑞穂（誠愛リハビリテーション病院），太田智裕（初台リハビリテーション病院），太田　進（名古屋大学），大築立志（東京大学），大藤美紗（慶應義塾大学），大畑　龍（大阪大学），大濱吉紘（㈱豊田中央研究所），大屋知徹（国立精神・神経医療研究センター），大山剛史（岡山県立大学），緒方洋輔（筑波大学医学），緒方　徹（国立障害者リハビリテーションセンター），岡林亜紀（東京医科歯科大学），小川哲也（国立障害者リハビリテーションセンター研究所），荻原直道（慶應義塾大学），奥　啓明（慶應義塾大学），奥村　哲（静岡理工科大学），垣内田翔子（山口大学），香川高弘（名古屋大学），筧　慎治（東京都医学総合研究所），春日翔子（慶應義塾大学），加藤　萌（東京大学），加藤利佳子（生理学研究所），加藤健治（生理学研究所），加藤隆史（大阪大学），加藤真弓（愛知医療学院短期大学），加藤孝基（早稲田大学），門田浩二（大阪大学），門田　宏（高知工科大学総合研究所），金沢星慶（京都大学），G. Ganesh（ATR 情報通信研究機構），彼末一之（早稲田大学），神谷昌孝（豊橋市民病院），河石　優（兵庫医科大学），河島則天（国立障害者リハビリテーションセンター研究所），神田千絵（旭川リハビリテーション病院），菊地　豊（脳血管研究所美原記念病院），喜多頼広（畿央大学），北佳保里（ATR），木田裕之（山口大学），北地　雄（総合東京病院），北城圭一（理化学研究所），木内隆裕（京都大学），木村嘉志（山口大学），木村岳裕（東京大学），木村聡貴（NTT コミュニケーション科学基礎研究所），木村大輔（大阪大学），Angelo Quartarone（Messina University, Italy），國松　淳（北海道大学），久保拓哉（誠愛リハビリテーション病院），倉山太一（千葉大学），高坂洋史（東京大学），河村章史（岐阜大学），小杉亮人（慶應義塾大学），児玉　翠（慶應義塾大学），小林佳雄（東京大学），五味裕章（NTT コミュニケーション科学基礎研究所），小山総市朗（河村病院），近藤崇弘（慶應義塾大学），齋藤　剛（慶應義塾大学），阪口　豊（電気通信大学），坂尻太司（名古屋工業大学），坂元　諒（星ヶ丘厚生年金病院），櫻田　武（国立障害者リハビリテーションセンター研究所），笹田周作（生理学研究所），佐藤大輔（新潟医療福祉大学），設楽　仁（群馬大学），篠崎　淳（札幌医科大学），柴崎　浩（京都大学），陣内裕成（大阪大学），Stephen Scott（Queen's University, Canada），鈴木淳也（JA 静岡厚生連・遠州病院），鈴木栄三郎（東北大学），鈴木隆文（ATR 情報通信研究機構），須田悠紀（順天堂大学），関　和彦（国立精神・神経医療研究センター），関口智史（慶応義塾大学），平船雄三（東北大学），高草木薫（旭川医科大学），高桑徳宏（生理学研究所），高澤英嗣（国立精神・神経医療研究センター），高野光浩（東京大学），高橋和貴（University of Chicago），瀧山　健（東京大学），武井智彦（国立精神・神経医療研究センター），武井良介（一宮市立木曽川市民病院），武見充晃（慶應義塾大学），Charles Da Salla（国立精神・神経医療研究センター），橘吉寿（生理学研究所），田中悟志（名古屋工業大学），田中宏和（北陸先端科学技術大学院大学），田中真樹（北海道大学），田中智子（国立精神・神経医療研究センター），田中実希（愛知県済生会リハビリテーション病院），谷口慎一（福井大学），玉那覇迅（誠愛リハビリテーション病院），津田章代（北海道大学），唐　志明（東北大学），東口大樹（名古屋大学），東郷俊太（名古屋大学），戸松彩花（東京都医学総合研究所），富田有貴（岩砂病院），冨田　望（同志社大学），豊田誠治（山口大学），内藤栄一（ATR 情報通信研究機構），長井真弓（東北大学），永井宏達（京都橘大学），永雄総一（理化学研究所），中川剣人（早稲田大学），中川貴光（中京大学），長坂泰勇（理化学研究所），中嶋　豊（電気通信大学），中島淑恵（東北大学），長島　泉（土浦厚生病院），中野英樹（畿央大学），中畑頼枝（誠愛リハビリテーション病院），中村史朗（昭和大学），榔野浩司（関西福祉科学大学），那須大毅（大阪大学），鍋　知宏（東京工業大学），成田紀

之（日本大学松戸歯学部付属病院），南部　篤（生理学研究所），南部功夫（長岡技術科学大学），西川　鋭（東京大学），西部真理子（大阪大学），西丸広史（筑波大学），仁藤充洋（山形大学），塗木淳夫（鹿児島大学），野崎大地（東京大学），野嶌一平（神戸大学），信迫悟志（東大阪山路病院），萩生翔大（京都大学），萩原朋尚（市川市リハビリテーション病院（早稲田大学）），橋口　優（京都大学），花川　隆（国立精神・神経医療研究センター），幅岸千恵（慶應義塾大学），林　拓志（東京大学），林部美紀（藍野大学），原田健次（中京大学），東島眞一（岡崎統合バイオサイエンスセンター），日高一郎（東京大学），平島雅也（東京大学），Chadwick Boulay（慶応義塾大学），深山　理（東京大学），福村直博（豊橋技術科学大学），藤井慶輔（京都大学），藤尾公哉（東京大学），藤澤友基（一宮市立木曽川市民病院），藤本宏明（大阪大学），藤原洋介（慶應義塾大学），藤原裕介（ATR 脳情報研究所），渕　雅子（誠愛リハビリテーション病院），舩戸徹郎（同志社大学），文室知之（京都大学），古田貴寛（京都大学），古田国大（医療法人三仁会あさひ病院），古谷槙子（京都大学），賀　業霆（山口大学），外園洋輝（鹿児島大学），星　英司（東京都医学総合研究所），星野英紀（東京大学），細田千尋（ATR），本多武尊（理化学研究所），ホンダタクヤ（ATR 認知機構研究所），本田学（国立精神・神経医療研究センター），前友美優（早稲田大学），幕内　充（国立障害者リハビリテーションセンター），正水芳人（基礎生物学研究所），松木明好（四條畷学園大学），松崎政紀（基礎生物学研究所），松本和久（明治国際医療大学），松山　圭（北海道大学），丸山敦夫（新潟医療福祉大学），丸山めぐみ（生理学研究所），萬井太規（北海道大学），水口暢章（ATR 情報通信研究機構），満田　隆（立命館大学），関　庚甫（東京都医学総合研究室），美馬達哉（京都大学），宮下英三（東京工業大学），宮地庸祐（医療法人三仁会あさひ病院），村井昭彦（東京大学），村神瑠美（千葉大学（東京湾岸リハビリテーション病院）），村田　弓（産業技術総合研究所），望月　圭（京都大学），百瀬奈津美（慶應義塾大学），森広明（北陸先端科学技術大学院大学），森坂文子（豊橋市民病院リハビリテーションセンター），八重嶋克俊（国立障害者リハビリテーションセンター研究所），矢口博彬（東京大学），安田浩志（㈱豊田中央研究所），山上菜月（京都大学），山下大地（京都大学），山田康智（東京大学），山中健太郎（昭和女子大学），山本慎也（産業技術総合研究所），山本浩之（順天堂大学），山本竜也（筑波大学），山本真史（京都大学），横井　惇（東京大学），吉江路子（University College London），吉川一輝（福井大学），吉原也真人（慶応義塾大学），涌野広行（誠愛リハビリテーション病院），渡邉佳宏（慶應義塾大学）

【概要】

最近の神経工学技術の発達とともに，わが国における運動の神経制御研究の科学的，産業的，社会的重要性はますます高まっている。しかしながら日本においては，神経科学，医学，リハビリテーション，工学と様々な背景を持ちうる運動制御の研究者が一堂に会する機会は皆無である。そこで，以下の三つの目的を達成するために本研究会を開催した。第一に，運動の神経制御機構について様々なアプローチを行っている若手，中堅研究者が集まり，活発な議論を通じてその連携を強化する機会を提供する。斬新な発想をもとにした研究連携により次世代を担う「若手研究者の育成」を行う。本年度は過去最高の 236 名の参加者・95 題の一般講演ともに過去最高となり，33 名の若手助成を行い，学位取得後平均年数も初めて 3 年を切ったことから，目的は十分達成された。第二に，運動制御研究が直面しつつある「学際性」への対応を深めることを目的とし，生理学，臨床医学，工学，リハビリテーションなど様々な研究分野からの研究者に参加を促し，個々の分野における生体の運動制御機構に関する最新の研究が，他の分野でいかなる応用可能性を持つかを議論する場を提供する。本年度は例年以上に多彩な背景を持つ研究者の参加があった。第三に，新しく会の「国際化」を目的として設定し，新たな国際連携の枠組みを若い世代間で構築することを指向する。本年度は，若手外国人招待講演者を含む国際シンポジウムを２つ企画した。しかも様々な背景を持つ若手研究者を多く抱える本研究会独自の試みとして，特にシンポジウムのテーマを専門としていない若手研究者を対象に，英語の国際シンポジウム前に日本語のチュートリアルセッション（シンポジウムプレリュード）を配置した。閉会式における若手からのコメントでも大変好評であった。総じて非常に活発な会であり，生理研研究会として日本の運動制御研究の将来に大きな貢献ができたと考える。

（1）Cortical activities associated with voluntary and involuntary movements

柴崎　浩（京都大学医学研究科名誉教授）

Recent advance in non-invasive physiological techniques has enabled investigation of control mechanism of voluntary movements and pathophysiology of involuntary movements in human. Epicortical recording with subdural electrodes in epilepsy patients complemented the findings obtained by the non-invasive techniques. Before self-initiated simple movement, activation occurs first in the pre-supplementary motor area (pre-SMA) and SMA proper bilaterally with some somatotopic organization, and the lateral premotor cortex and the primary motor cortex (M1) mainly contralaterally with precise somatotopic organization. Praxis movements used for daily activities are initiated by activation of the parietal cortex of the dominant hemisphere. Activation pattern in the self-initiated motor inhibition is identical to that of the self-initiated muscle contraction at least at the cortical level.

Generating mechanisms of involuntary movements have been studied by jerk-locked back averaging and cortico-muscular coherence, and the application of transcranial magnetic stimulation (TMS) has provided information on the state of excitability and inhibition of the sensorimotor cortex (SMC). SMC was shown to play an important role in generation of cortical myoclonus, essential tremor, Parkinson tremor, and focal dystonia. Cortical myoclonus is actively driven by SMC while essential tremor and Parkinson tremor are mediated by SMC which might serve as a relay center of the incoming oscillations arising from subcortical structures. Negative myoclonus is also caused by active process of the SMC and can be stimulus-sensitive. Unilateral asterixis seen in patients with lateral thalamic lesion was also shown to be mediated by SMC.

（2）磁気刺激の基礎: basic mechanisms underlying TMS

宇川義一（福島県立医科大学）

磁気刺激で人の脳を刺激すると言うと，あたかも磁場が直接脳を刺激すると言う印象を持つ人も多いであろう。実はそうではなく，脳の細胞を刺激しているのは，電流であり，最終的な効果は，電気刺激そのものである。では，なぜ磁気刺激なのだろうか。その理由は骨にある。骨は，電気抵抗が非常に高く，脳を機械的な影響だけでなく，電気の影響からも保護している。そこで，電気で骨の中の脳を刺激する事は困難である。それに対して骨は磁場に関しては真空と同様である。すなわち，磁場を変動させると脳の中に抵抗なく変動磁場が生じる。変動磁場は渦電流という電流を脳に誘導する事になる。この電流が脳を電気刺激するのである。

脳に外から電流を発生させるので，ある程度の範囲を刺激したことになり，一回に刺激でいくつかの細胞が発火するため，一つの錐体細胞が一回だけ発火する訳ではない。一度の刺激で錐体細胞は何回か発火し，それによる EPSP が脊髄前核細胞で summation して，前核細胞が発火して，筋電図が記録出来る。

このときに出現する錐体路の volley を，潜時の早い順に，D-wave,I1-wave, I2-wave ---などと呼ぶ。Direct wave は，錐体細胞が直接刺激されて出現した volley で，indirect wave は，介在ニューロンを介して間接的に刺激されたときに出現すると考えられている。

脳を刺激して，筋電図を記録することにより，中枢運動系の機能を評価している。

反復して上述の磁気刺激を施行すると，刺激後も持続する効果を誘導出来る。この効果の振る舞いが，動物実験で言われている**シナプスの可塑性**の変化と一致した。この刺激法は，治療・高次機能の研究などに広く応用されている。これらの概説と具体的な使用例を提示する。

（3）New Motor Cortex Plasticity protocols

Angelo Quartarone（University of Messina）

Noninvasive transcranial stimulation is being increasingly used by clinicians and neuroscientists to alter deliberately the status of the human brain. Important applications are the induction of virtual lesions (for example, transient dysfunction) to identify the importance of the stimulated brain network for a certain sensorimotor or cognitive task, and the induction of changes in neuronal excitability, synaptic plasticity or behavioral function outlasting the stimulation, for example, for therapeutic purposes. In this lecture we will emphasize 2 new protocols, which have been characterized by our group; the cortico-cortical PAS and a new Hebbian protocol employing tDCS and electrical stimulation of the median nerve. In the first protocol subjects receive 90 paired transcranial stimuli to the right and left primary motor hand area (M1(HAND)) at an interstimulus interval (ISI) of 8 ms. Indeed left-to-right cc-PAS (first pulse given to left M1(HAND)) attenuates left-to-right IHI for one hour after cc-PAS. In addition left-to-right cc-PAS also increases corticospinal excitability in the conditioned right M1(HAND). These effects were not seen in an asymptomatic individual with callosal agenesis. In the second protocol subjects receive 5 minute electrical stimulation of the median nerve combined with a simultaneous stimulation of the motor area with transcranial direct current stimulation (tDCS). The idea here is to induce an Hebbian like plasticity within motor cortex focusing the after effects of TDCS.

（4）Manipulation and control of neural synchrony by TMS

北城圭一（理化学研究所）

A growing body of evidence indicates that the synchronous neural oscillations are important in mediating information processing and large-scale networking for various brain functions in humans. Most previous studies, however, are "*neural correlates*" studies indicating correlative relationships between brain functions and patterns of neural synchrony measured by imaging methods such as EEG, MEG, NIRS, and fMRI. It is more important to show causal links between neural synchrony and brain functions targeting "*neural causation*" studies. To this end, I propose a new manipulative approach by TMS (Transcranial magnetic stimulation)-EEG (Electroencephalography) co-registration in humans. Specifically I demonstrate that we can manipulate and control local and global phase dynamics of ongoing activity by TMS.

Using TMS-compatible EEG amplifiers, we recorded TMS-modulated ongoing activities while participants sitting on a chair with their eyes closed or eyes open fixated a cross on a display. We targeted single-pulse TMS to the left motor cortex (95% motor threshold) or the visual cortex (95% phosphene threshold). We computed instantaneous phase and amplitude of filtered EEG or scalp current density (SCD) by constructing the analytic signal using the Hilbert transform or wavelet methods. We calculated phase locking value (*PLV*), which is a measure for phase resetting estimating phase consistency across trials for each time/frequency point.

We found prominent phase resetting of ongoing oscillations over the stimulated area in the eyes-open and eyes-closed conditions at around 3 Hz, 10 Hz, and 30 Hz in both motor area targeted and visual area targeted experiments. The phase resetting propagated from the stimulated area (motor or visual area) to the rest of the brain. We observed more prominent global propagation of phase resetting in the eyes-open condition than in the eyes-closed condition most prominently at around the 10 Hz alpha band in both motor and visual area targeted experiments.

The results suggest that alpha synchrony networks are more

globally connected in eyes-open condition than in eyes-closed condition, which is not obvious from indirect methods such as phase synchronization analyses without TMS perturbation. The state-dependent changes of synchrony networks between eyes-open and eyes-closed conditions might be associated with differences in perceptual set and/or attentional state associated with visual perception - action coupling.

（5）Transcranial Direct Current Stimulation (tDCS): Implications for Neuro-rehabilitation

田中悟志（名古屋工業大学）

Transcranial direct current stimulation (tDCS) is a non-invasive procedure of cortical stimulation, where weak direct currents polarize the target brain regions (Tanaka and Watanabe, 2009). Depending on the polarity of stimulation, tDCS can increase (anodal tDCS) or decrease (cathodal tDCS) cortical excitability in stimulated brain regions.

Behaviorally, recent studies have indicated that tDCS can facilitate motor performance in human (Tanaka et al., 2011a, 2011b). For example, we have demonstrated that anodal tDCS over the lower limb motor cortex can transiently enhance the maximal force of the lower extremities in both healthy participants (Tanaka et al., 2009) and subcortical stroke patients (Tanaka et al., 2011c).

Physiologically, it has been believed that tDCS modulated the brain activity only in the stimulated cortical region. However, our recent studies have demonstrated that tDCS modulated the brain activities not only in the stimulated cortical region but also in the subcortical region in both human and rat animal model. The maximal force in the lower limb task was larger during anodal tDCS (black circles) than during sham stimulation (white circles), whereas there was no consistent change in the maximal force of the upper limb task across subjects (Tanaka et al., 2011c).

Further understanding of behavioral and physiological effects of tDCS will be relevant for the clinical application of tDCS.

（6）哺乳類の歩行中枢パターン発生回路の機能的構成

西丸広史（筑波大学）

歩行の際の推進力は，各関節をリズミックかつ協調して曲げ伸ばしすることによって生み出されている。この際に，それぞれの筋群を支配する脊髄運動ニューロンの基本的な発火パターンを形成するのが脊髄に局在する歩行中枢パターン発生回路（central pattern generator; CPG）である。これを脳幹（歩容の選択・姿勢の制御など）や大脳皮質（環境への適応など）をはじめとする上位中枢が制御することによって歩行運動が発現していると考えられている。哺乳類の歩行 CPG の研究は，これまで除脳したネコにおいて，脳幹の電気刺激などによってトレッドミル上で誘発される歩行運動を用いて盛んに行われてきた。この実験モデルの利点は動物が実際に歩いているときとほぼ同じ状態で電気生理学的解析が可能なことであり，多くの重要な知見が明らかになっている。しかし一方で，魚類や両生類の泳動の CPG と比較して，圧倒的に多いニューロンの数や，個体レベルでの実験手技の難しさなどから，CPG を構成するニューロンを同定し，体系的にその役割を調べることは困難であった。しかし最近，マウスを用いた最先端の分子生物学的，遺伝子工学的なアプローチと伝統的な電気生理学的手法を組み合わせることにより，こうした研究が大きく進みつつある。例えば脊髄の特定のニューロン集団について，(1）特異的に蛍光タンパク質でラベリングして，その活動を効率的に計測する手法，(2)そのニューロン群を

欠損させて歩行運動への影響を調べる手法，(3)その活動を人為的に制御する手法，などが活用されて研究が進められている。さらに，これまでの電気生理学的・形態学的特徴に基づいたニューロンの分類に加えて，胎生期に発現する転写因子を分子マーカーとした新たな分類法が確立されており，これを足がかりにした体系的な CPG の作動メカニズムの解明が進みつつある。本演題では，これらのアプローチによって得られた CPG の知見を概説する。

（7）水棲脊椎動物の脊髄運動系神経回路

東島眞一（生理学研究所）

脊椎動物の運動パターン（運動ニューロン群の秩序だった発火パターン）は，主に脊髄に存在する神経回路網によって作られる。この回路網は外部からのリズミックな入力なしにリズミックな出力パターンを形成することが可能で，このような性質をもつ回路は一般に Central Pattern Generator（CPG：中枢パターン発生器）と呼ばれている。これまで脊髄 CPG の神経機構において，ヤツメウナギやオタマジャクシの遊泳運動を実験モデルとした研究が主導的な役割を担ってきた。これは，脊椎動物の中でも細胞の数が比較的少なく，CPG を構成するそれぞれのニューロンからの電気生理学的な記録が比較的容易なためである。これまでの詳細な研究の結果，ヤツメウナギ，オタマジャクシの遊泳運動 CPG は，おおむね似たものであることが示されてきた。本演題では，この２つの実験モデルのうち，オタマジャクシの遊泳運動神経回路を例にとって，水棲脊椎動物遊泳運動 CPG について概説する。

また，近年重要となってきた実験モデルとして，ゼブラフィッシュ幼魚があげられる。ゼブラフィッシュ幼魚の遊泳運動 CPG は，ヤツメウナギやオタマジャクシとよく似ていると考えられる。この実験モデルにおいては，CPG を構成するニューロン群を，発生時期に特異的に発現する遺伝子を利用して遺伝子工学的に蛍光タンパク質でラベルすることが可能である。脊髄の発生は脊椎動物全般を通じて強く保存されており，ゼブラフィッシュで得られる情報は哺乳類の CPG を考える上でも有用であり，また，脊髄神経回路の進化を考える上でも有用である。本演題では，このゼブラフィッシュモデルから得られた実験結果についても概説する。

（8）無脊椎動物の中枢パターン発生回路

高坂洋史（東京大学）

無脊椎動物も，定型運動を行なう。バッタの飛翔，ナナフシの歩行，ザリガニの遊泳など，環境に適応した多様な運動が見られる。脊椎動物に比べて神経細胞数が少ない点を生かして，無脊椎動物の様々な CPG 回路について，電気生理学的手法による詳しい解析が進められている。その結果，脊椎動物にも共通する無脊椎動物の運動制御機構が明らかになっている。例えば，２つの神経細胞群が互いに抑制し合って二相性の活動パターンを生み出す相互抑制は，マウスの歩行・魚類の遊泳から，クリオネやウミウシの遊泳まで様々な運動回路に見られる基本的な回路モチーフである。本講演では，電気生理学的手法によって解析されている代表的な無脊椎動物の CPG 回路を review する。

無脊椎動物といえども，運動回路には多数の細胞が含まれており電気生理学的に全体を調べるのは通常困難である。複数の神経細胞の活動を同時に測定・制御するには，遺伝学的手法が非常に有効である。特定の神経細胞群でのみ任意の遺伝子発現を誘導する手法を用いることで，膜局在マーカおよびシナプスマーカによる神経細胞構造の可視化，カルシウムイメージングによる活動

測定，光および温度感受性膜タンパク質による神経活動操作が可能になる。これによって，特定の神経細胞集団の活動と，回路からの運動出力との間の因果関係を解析することができる。本講演では，遺伝学を駆使した無脊椎動物の運動回路研究を概説する。

（9）システム工学から見た歩行 CPG の機能とモデル化

青井伸也（京都大学）

ヒトは冗長で複雑な筋骨格系を巧みに操り，多様な環境の中で適応的な歩行を実現している。歩行は端的に言えば，脚という生物特有の構造を用いて身体の質量中心を移動させる運動だと考えられるが，ヒトはこのような運動を構成するための空間自由度より大きい関節自由度をもち，この関節運動を駆動する筋はさらに冗長な自由度を有している。その上，筋を駆動する運動指令の発令には大脳皮質，脳幹，脊髄をはじめとする中枢神経系が関与し，その際様々な感覚情報を統合している。このような冗長多自由度性が，多様で適応的な運動を生み出す鍵であることは疑いようがないが，ヒトはいかにしてこのように膨大な自由度や情報を制御しつつ歩行を生成しているのであろうか？

ヒトはこのような冗長性の問題に対して，内在する自由度全てを独立に動かすのではなく，目的とするタスクに依存して，機能的に結合された集まりを介して運動を構成していると示唆されている。すなわち，歩行を構成する冗長多自由度系において，複数の自由度に何らかの関係（拘束条件）を与えることで自由度を減らし，制御すべき要素の数を減少させていると考えられる。歩行に寄与する多くの筋の活動に着目すると，それぞれの筋活動は非常に複雑な時空間パターンを呈しているにもかかわらず，統計解析から少数の基本パターンの組合せでほとんどの筋活動を説明できることが明らかにされている。このような筋活動に内在する協調構造には，脊髄の歩行中枢パターン生成器（Central Pattern Generator：CPG）が大きく関わっており，感覚情報を統合して運動指令を構成する少数の基本パターンをそれぞれタイミング良く生成することで適応的な歩行生成に寄与していると示唆されている。

（10）運動制御における感覚フィードバック信号の計算論的役割

田中宏和（北陸先端科学技術大学院大学）

本講演では運動制御の計算理論において感覚信号が果たす役割について，チュートリアルを行う。まず，内部モデルやフィードフォワー/フィードバック制御といった，計算論の理解のために必要な制御の概念を整理した後，カルマンフィルタや最適フィードバックモデルを解説する。

(1) 基礎概念の復習

内部順モデル：現在の身体状態と制御信号が与えられたとき，次時刻での身体状態を予測する計算を「内部順モデル」と呼ぶ。

内部逆モデル：理想軌道が与えられたとき，それを実現する制御信号を生成する計算を「内部逆モデル」と呼ぶ。

フィードフォワード制御：制御信号が時間の関数 $(\mathbf{u}=\mathbf{u}(t))$ であるとき，「フィードフォワード制御」と呼ぶ。

フィードバック制御：制御信号が状態変数の関数 $(\mathbf{u}=\mathbf{u}(\mathbf{x}))$ であるとき，「フィードバック制御」と呼ぶ。

制御対象ダイナミクスが決定論的であり，感覚信号が正確に測定できるノイズレスの場合には，フィードフォワード制御とフィードバック制御は等価となる。

(2) 計算論における感覚入力の役割

フィードバック制御：ターゲット位置と現在の身体位置の誤差にゲインを掛けて制御信号とする。感覚信号に

時間遅れがある場合には制御が振動的かつ不安定になる。

カルマンフィルタ：内部順モデルによる身体状態の予測値と感覚入力からの観測値を用いて，確実性に基づく重み付け和をとることで，統計的に最適な身体状態の推定値を計算する。

最適フィードバックモデル：効果器のダイナミクスと感覚信号の両方にノイズが含まれる際に，作業空間での誤差と運動コストの和で定義される評価関数を最小化する制御。内部順モデル・カルマンフィルタ・フィードバック制御を統一的に理解する計算論的枠組みを与える。

（11）Putting Sensory Back into Motor Control

Stephen H. Scott（Queen's University）

Primary motor cortex (MI) plays a key role in voluntary control, yet how it contributes to control remains a highly debated issue. The dominant view for the last 25 years has been that it provides a feedforward, descending signal with feedback only provided at the spinal level. My presentation will highlight the importance of sensory feedback for understanding the role of M1 during voluntary control. This perspective takes advantage of optimal feedback control (OFC) for describing how humans perform voluntary motor behavior. OFC maps sensory feedback into motor commands to optimally perform a voluntary behaviour. These controllers capture many properties of the motor system, including success with variability, task-dependent control and motor synergies.

In order to explore feedback processing, we have been quantifying the properties of fast feedback responses following mechanical perturbations (i.e. stretch reflexes). Our general hypothesize is that long-latency stretch responses display many sophisticated properties normally reserved for voluntary control as they both take advantage of shared neural circuitry, notably primary motor cortex. My presentation describe experiments to assess whether stretch responses have knowledge of limb mechanics. Single-joint perturbations were applied to the shoulder and elbow joints of humans during a postural task, eliciting similar motion at the shoulder but different motion at the elbow. Analysis of the EMG response of shoulder muscles demonstrated that short-latency responses simply paralleled the motion at the joint, whereas the long-latency response showed appropriate increases for the load applied at the shoulder joint. Other studies will also be presented that demonstrate how long- but not short latency responses are modified by target shape, for bimanual skills, and are present even for very small perturbations. These studies highlight that the long-latency stretch reflex shares many similarities with voluntary control.

Finally, the presentation will describe recent studies exploring feedback responses in primary motor cortex in awake, behaving non-human primates. These studies highlight that primary motor cortex responds rapidly to mechanical perturbations and has knowledge of limb mechanics, demonstrating the important role of primary motor cortex in feedback control.

（12）腕運動中における短潜時感覚運動応答の機能的調整

五味裕章（NTT コミュニケーション科学基礎研究所）

日常生活の中で様々な外界と力学的なインタラクションを行うためには，単に「目的の位置に手を動かす」という制御の問題とは異なる問題を解かなければならない。対象の力学的特性と動作目的に合わせて，柔らかくあるいは剛く自分の手の力学的特性を変える必要がある。

このような筋骨格系の力学的特性を調節するための１つの方法は，拮抗する筋の同時活性の調節であり，も

う１つの方法は，比較的短時間(<0.1s)で力を発生する感覚運動応答（反射）である。両者とも従来数多くの研究があるが，我々の研究グループでも，外界とのインタラクションにおいてどのように筋運動系が調節されるかを探ってきた。

図 1 に単純化した感覚運動系の情報処理スキーム [1] を示す。顕在的（または随意的）な運動制御のための情報処理は，複雑な状況にフレキシブルに対応できる反面，計算コストが大きく処理が遅いため，感覚情報に応じてリアルタイムで運動を調節するのは難しい。これに対し，潜在的（反射的）運動制御であれば，自動性が高くすばやい応答も生成できる。さらにそれが，複雑な外界状況に応じてどのように調節されているか（黒点線部）が明らかになると，今まで見逃されてきた無意識な修正動作や予測動作のメカニズムを系統的に理解できるであろう。

この方向性を強く意識したのは，拘束運動中のスティフネス計測結果であった。筋張力変化に伴う筋剛性調節では説明できない手先スティフネスの観察は，明らかに反射系の関与を示唆しており，拘束方向に反力を発生しない機能的な調節が行われていると考えられた。その予測を検証するため，力場インタラクション直前の反射応答を計測したところ，力場に応じた反射の機能的変化が観察された。さらに，大脳運動野への磁気刺激により，力場に応じた反射変化が消失することが示され，反射調節に運動野が関与していることが明らかになった。本シンポジウムでは，これらの我々の研究を紹介し，今後の課題について議論したい。

（13）「ヒゲシステム」は運動制御と感覚情報処理とを統合するメカニズムを研究するのに適した題材である

古田貴寛（京都大学）

日常生活において我々は常に運動と感覚を組み合わせて行動している。指先の感覚が無ければ服のボタンをかけることは出来ないし，指が動かなければ果物の熟れ具合を触覚で確かめることも難しいだろう。従来，神経科学の分野では運動制御系と感覚情報処理系は主として各々個別に研究されてきた。もちろん運動と感覚の統合については，重要であることは以前から考えられていたが，その実態が非常に複雑であり，攻略することが困難であったため詳しい研究はまだ少ない。私は本シンポジウムにおいて運動制御と感覚情報処理との統合を研究するための題材としてラットのヒゲシステムを紹介する。ラットは暗い時間帯や場所においてよく活動する動物であるにもかかわらず，暗所に適応した視覚系を持っていない。暗い場所で活動する時，彼らは吻部に生えた長いヒゲ（洞毛，whisker）による触覚を利用する。ラットのヒゲは人間男性のヒゲ（一般毛）とは構造が異なっており，その毛根部を包む毛包の中に複雑で精巧な機械受容器が配置されている。つまり，彼らのヒゲは高度に進化した触覚受容器であり，それを使うことによって個体を取り巻く空間の情報を手に入れることができる。ラットにとって第一位の優先的感覚であるヒゲ感覚系では末梢および中枢の構造も非常に大きく特徴的に発達している [1)]。さらに興味深いことに，ラットは周辺の探索活動を行うとき，ヒゲを盛んに前後に動かす行動（Whisking）を呈示する。感覚器そのものが変位する系ではその感覚器の運動情報と感覚情報が統合されないと合理的な感覚認知に至らない。また，感覚入力に応じて運動制御を行わないと効率よく外部情報を取り込むことが出来ない。ラットヒゲシステムは，我々が手探りで周辺の状況を調べるのに似ているが，その目的に特化しているためずっと効率が良い。運動と感覚との統合を研究する題材としてヒゲシステムは利点を持っている。最近ではこのシステムにおいて運動と感覚が組合わさった機能に関する研究の報告がある [2)]。ヒゲシステムの概要やこれまでの研究を説明するとともに，今後の展望も含めてお話ししたい。

（14）運動中枢への体性感覚入力 －効率的運動制御と運動学習の鍵－

内藤栄一（脳情報通信融合研究センター）
上原信太郎（京都大学）

ヒトが様々な運動を制御・学習する際，実行した運動に関する感覚フィードバックは重要な役割を担う。特に，運動を実際に行う自己の身体に由来した体性感覚は本質的な役割を果たし，体性感覚入力の障害や体性感覚野の破壊によって運動の習得は困難になる。このトークでは，体性感覚信号が効率的に運動指令に変換される脳の仕組みと運動に先行する体性感覚刺激によって既得運動の制御や学習を促進できる証拠を示す。

ヒトの体性感覚のうち，筋や関節に存在する受容器に由来する固有受容感覚信号は，運動制御において特に重要な役割を果たす。このうち，筋（錘内筋）に存在する筋紡錘は四肢の動き（方向と速度）を感知する主要な受容器である。筋紡錘は 80Hz 付近の振動刺激を与えることで効果的に刺激でき，例えば，この刺激をリラックスした手に付与すると，実際には手は動かなく，自ら動かす意図もないにも関わらず，その手が動いているかのような明瞭な体験をすることができる（運動錯覚）。この感覚信号は Ia 求心性線維により脳へ運ばれるが，実はこの信号は一次運動野を中心とした広範な運動領野のネットワークを動員して処理されている。感覚信号処理時のこれらの運動領野の動員様式は，通常，運動指令が生成されて運動が実行される場面でみられる様式と，極めて似ている。つまり，これは脳が筋由来の感覚信号から運動指令を生成する内在的回路を有することを示す。また，一次運動野を損傷した患者では，有意な運動錯覚の減弱が見られることから，運動錯覚体験には一次運動野での潜在的な運動指令の生成が必要なようだ（運動指令の知覚への関与）。一次運動野に着目すると，この感覚入力は極めて短潜時で細胞に到達し，運動野の細胞は制御筋との間に正のフィードバック回路と負のフィードバック回路を持ちうる。このような極めて短潜時での感覚入力が，随意運動制御の中枢である一次運動野を介した極めて速い系でのオンライン・フィードバック・コントロールを可能にしている。

前述のように，筋からの体性感覚入力は運動中枢の活動を亢進でき，さらには一次運動野の可塑性を誘導できることも知られている。これらを踏まえて，運動に先行して筋へ電気刺激を付与するという実験を行うと，停滞状態にあった手指技能運動を効率化することができた。このような効率化の背後には，一次運動野と大脳基底核および小脳との機能結合の強化が存在しており，刺激と運動とを組み合わせた練習を日々繰り返すことで，停滞していた運動技能学習を促進することに成功した。以上，身体からの体性感覚入力は，運動中枢に感覚信号を伝えて運動制御に利用されるだけでなく，運動中枢の可塑性を誘導して運動学習を促進する鍵でもある。

（15）運動記憶の特性を表現する状態空間モデル

井澤　淳（国際電気通信基礎技術研究所脳情報研究所）

運動記憶は多重的プロセスによって更新される。比較的短い運動学習実験の１セッション内においてさえも，外乱の与え方，フィードバック情報の与え方，学習者の脳疾患等によって学習の時空間特性は変化する。本発表では，このような複雑な運動記憶の特性を捉えるツールとして比較単純な数式モデルも用いたアプローチを紹介し，実データとの比較検討を行う。

例えば，到達運動の学習を考える。被験者がロボットマニピュランダムのハンドルを握りながら到達運動を行っている際，手先に未学習の力場を与える。この時被験者の手先は予測する軌道から大きく逸脱するが，到達運動を繰り返すことで，軌道は外乱を受ける前の軌道に近づき，到達運動の達成度も回復する。

このような試行ごとに軌道を修正する学習の過程を捉えるための，運動記憶の状態空間モデルを紹介する。状態空間モデルでは，記憶を状態変数として表し，運動予測誤差を入力に受け，試行ごとに運動予測誤差が減少するように更新される。本モデルの簡単な数値実験の結

果を示し，例となるデータとの整合性を示す。

近年，単純な一次の状態空間モデルでは説明できない現象が多く報告されている。例えば，一旦忘れた記憶の自発的な回復(spontaneous recovery)や，小脳等に損傷のある脳における記憶の特異的な時間特性等などが発表されている。これらを説明するために，遅い記憶，速い記憶（slows system, fast system）を担う二次元の状態空間モデルが提案されてきた。本発表で，数値実験の結果に基づき，この考え方を吟味する。

さらに，フィードバック情報の統計的特性が運動学習の速さに影響を与えることが分かってきた。そこで，状態空間モデルを拡張し，確率システムとしての運動記憶モデルについて紹介する。この不確かさが含まれる状態空間モデルに対して最適に記憶を更新することが期待できる，Kalman filter を用いた運動学習モデルを紹介する。Kalman filter は様々な実験結果を説明できる可能性があるが，実際に運動記憶に確率的な揺らぎが含まれるかどうかは確かめられていない。そこで，学習による運動の分散の形成に関する，私達が最近取得したデータを紹介する。

最後に，フィードバック情報の違いによって，運動記憶の時空間特性が大きく異なることを示し，報酬依存性学習と誤差依存性学習の二つの部分によって構成される，状態空間モデルの発展としての optimal learner model について紹介する。

（16）報酬が運動記憶の長期保持を改善させるメカニズム－報酬長期効果を計算論的見地から説明する学習モデル

阿部十也（国立精神・神経医療研究センター）

日常生活で何気なく行っている複雑な動作は，経験で培ったスキルによって円滑に，そして正確に行うことができる。この運動スキルを身につける（記憶として定着させる）過程には，学習後に起こる記憶形成プロセスが関与していることがわかった [1,2]。

報酬や罰は，学習を強化させることが知られている。我々は，これら強化効果が学習後の記憶形成に及ぼす効果を比較し，罰学習では時間の経過と共に成績が悪化する一方，報酬学習が学習後にも引き続き成績を改善させ，その効果を長期にわたって持続させることを報告した [3]。

この結果から，報酬には，これまで知られていた学習を短期的に強化させるだけでなく，学習後にも及ぶ長期強化を誘導することが示唆された。

ここでは，報酬条件下の学習プロセスとその後の長期強化との関連性に焦点を当てる。学習は，適切な運動出力を予測するプロセス（フィードフォワード）と出力の誤りを次に反映させて正すプロセス（フィードバック）からなる。報酬学習条件がフィードフォワード・プロセスを促進して，その後の長期強化の誘導を示唆する結果を計算論的見地から提示して，その神経基盤について議論したい。

（17）異なる速度の学習を実現する脳内機構

山本慎也（産業技術総合研究所）
彦坂興秀（国立衛生研究所）

ヒトを含む動物は，環境の変化に応じて，適切に行動を変化させることができる。このことは，生存にとって極めて重要で能力である。一方，環境の変化は，時に速く，時にゆっくりと，生じる。すなわち，動物は環境の変化の速度に合わせて，適応する必要がある。では，どのような脳内メカニズムによって，このような異なる速度の学習を実現しているのだろうか？

大きく分けて，可能性は二つ考えられよう。ひとつ目は，脳内の学習メカニズムが，環境の変化に応じて，さまざまな速度に調整できる可能性である。すなわち，学

習メカニズムが，学習速度を自らチューニングできれば，単一のシステムでさまざまな速度の学習を起こすことができることになる。一方，ふたつ目は，別々のシステムが異なる速度の学習を担っている可能性である。この場合，さまざまな時定数を持つ学習のモジュールが並列に存在し，環境の変化の速度に合わせて，適切なモジュールの貢献が大きくなることが考えられよう。

では一体，どちらの可能性が真実なのだろうか？確かに，これまで多くの研究において，学習のメカニズムが，行動および生理的な側面から，研究されてきた。しかし，速度の異なる学習を，脳内でどのように実現しているかという問いに答えるためには，素早く flexible な適応の過程と，ゆっくりで stable な適応の過程の，両方において，その神経活動を調べることが必須である。もし，単一のシステムで，複数の速度の学習を実現しているのなら，二つの学習過程の両方において，行動の変化に応じて神経活動に変化が観察されるはずである。一方，速度に応じて別のモジュールが存在するのであれば（例えば，ゆっくりで stable な学習の過程でのみ，神経活動の変化がみられるなど），学習の速度に応じ，神経活動の変化がみられる場合とみられない場合があるはずである。

本シンポジウムでは，「外界の中から重要なものを見つけ，その物体に目を向け，注視する」という行動に着目し，尾状核尾部の神経細胞の活動を調べた我々の最近の研究を紹介する。重要なものに目を向ける行動は，重要なものをいち早く見つける観点からも，生存にとって大切な機能であるが，何が重要であるのかは環境の変化に応じて変化し得るので，環境への学習が必要となる。そこで我々は，「短い時間で変化するような flexible な適応が求められる状況と，その連関が長期間変化しないような stable な適応が求められるような状況で，尾状核尾部の神経活動は，どのように変化するのだろうか？」という問題提起をし，電気生理学的手法でその問題の解決を試みた。我々の結果は，「重要な物体に目を向けるという行動においては，単一の学習システムが様々な速度をチューニングしているのではなく，速度の異なる別々の学習システムが存在する」という，ふたつ目の可能性を示唆するものであった。当日は，我々の結果をベースに，学習とその速度，さらにそれを実現する脳内メカニズムに関して，多方面から議論していきたい。

（18）第一次運動野損傷後のつまみ動作の回復と脳活動の変化 :動物モデルを対象として

村田　弓（産業技術総合研究所）

私達は脳損傷後に行うリハビリテーション訓練（リハビリ訓練）が脳に与える影響を明らかにすることを目的として研究を行っている。これまでに，大脳皮質運動野損傷後のリハビリ訓練がつまみ動作の回復を促進することを明らかにした（図１，文献１）。本発表では損傷前後の脳活動の違いを調べた研究の成果を報告する。

【実験内容】第一次運動野（⊂１）の手運動の支配領域にイボテン酸を注入して人工的に脳損傷を作成した。サルがつまみ動作しているときの脳活動を，ＰＥＴ（陽電子放射断層撮影）を用いて測定し，第一次運動野損傷前後の脳活動を比較した。損傷後に活動が上昇する脳領域が機能回復に関わっているかを調べるために，活動上昇がみられた脳領域に $GABA_A$ レセプターの作動薬であるムシモールを投与して神経活動を一時的に抑制し，回復した運動麻痺が再発するかを調べた。

【結果】M1 損傷後はつまみ動作中の脳活動の上昇が両半球に認められた。特に活動上昇が著しい領域の１つに，「運動前野腹側部（PMv）」があった。損傷半球の「運動前野腹側部」にムシモールを投与し，神経活動を抑制した状態でつまみ動作課題を行わせると，損傷前に抑制した場合よりも高い程度の稚拙さが生じた。

【結論】以上の結果から，「運動前野腹側部」が損傷によって失われた第一次運動野の機能を肩代わりし，つまみ動作の回復が生じた可能性が考えられる。

（19）運動学習の記憶痕跡の移動の機能的役割

永雄総一（理化学研究所）

Marr-Albus の小脳学習仮説は，小脳皮質の神経回路のシナプス伝達可塑性が運動学習の原因であることを示唆する。伊藤ら(1982)は，小脳皮質の平行線維－プルキンエ細胞シナプスに長期抑圧(long-term depression, LTD)と呼ばれるシナプス伝達可塑性があることを発見した。この仮説に関しては 40 年近く論争されたが，眼球反射の適応や瞬膜反射の条件付けのパラダイムを用いた実験結果の多くは，この仮説を支持する [(1)]。

学習によって作られた記憶のもとになる神経の変化を記憶痕跡と呼ぶ。運動学習の記憶痕跡が脳のどの部位に保存されるかを，局所麻酔剤を用いた薬理学の実験を用いて検討した。眼球反射の適応パラダイムを用いた実験の結果は，マウスでもサルでも，数時間程度の訓練で形成され 24 時間で消去される短期の記憶痕跡は小脳皮質にあることを示唆する。しかしながら，適当な時間間隔で訓練の繰り返すことによって形成される長期の記憶痕跡数は数週程度持続し，小脳皮質の出力先である小脳（前庭）核に保持されることが明らかになった [(2,3,4)]。ただし，小脳皮質と小脳核で保持される記憶の特徴は同じではなく，前者はゲインとタイミングに関する大容量の記憶を保持できるのに対し，後者はゲインについての比較的小容量の記憶しか保持できない [(4)]。このような訓練の時間経過に依存した記憶痕跡の移動の機能的な意味を，ヒトのダーツ投げのプリズムの短期と長期の適応の実験結果[(5)]をもとに検討し，記憶痕跡の移動を含む随意運動の運動学習のモデルを提案した[(6)]。本研究会では，このモデルの概要を説明するとともに，記憶痕跡の移動の生理学的意義について考察する。

（20）ヒト一次運動野での associtive plasticity

美馬達哉（京都大学大学院医学研究科附属脳機能総合研究センター）

Non-invasive induction of human neuroplasticity can be achieved by brain stimulation, such as TMS. Paired associative stimulation combining peripheral nerve and cortical stimulation can change M1 excitability beyond the stimulation period. We hypothesized that the associative stimulation is a general principle for producing plasticity and recently reported 2 new protocols. One is paired bihemispheric stimulation (PBS) combining the transcallosal input to M1 and TMS by using the bihlateral M1 stimulation. The other is movement-related cortical stimulation (MRCS), which pairs TMS and the endogenous M1 activity associated with movement. We will introduce these protocols.

（21）不均一経頭蓋磁気刺激による運動野神経回路の可塑的変化誘導機序の解明

花川　隆[1]，代田悠一郎[2]，田中智子[1]，濱田　雅[2]，田中悟志[1]，大南伸也[2]，
設楽　仁[1]，寺尾安生[2]，本田　学[1]，花島律子[2]，宇川義一[3]
（[1]国立精神・神経医療研究センター，[2]東京大学，[3]福島医科大学）

経頭蓋磁気刺激（TMS）により運動野興奮性を一過性に変化させる手法は，運動野に短期可塑性を誘導する実験手技としてだけでなく，精神・神経疾患の症状を改善させる治療法としても注目を集めている。しかし，TMS による短期可塑性誘導のメカニズムには不明な点が多い。今回，短期可塑性を誘導する不均一 TMS プロトコールの一つである quadripulse stimulation (QPS)法が運動野興奮性を変化させるメカニズムを明らかにするため，運動野を興奮性させる 5 ms-QPS と抑制効果が報告されている 50 ms-QPS の前後に TMS，表面筋電図（EMG）と fMRI の同時計測を行った。5 ms-QPS では，左運動野に対して, 刺激間隔 5 ms の単相刺激 4 発を活動時運動閾値の 90%の強度で 5 秒ごとに 30 分間与え，50 ms-QPS では刺激間隔を 50 ms とした。TMS-EMG-fMRI 同時計測では左運動野に単発 TMS を閾値上と域値下それぞれ 2 種類の強度で与えた。EMG 計測では，5 ms-QPS 後には刺激前より大きな運動誘発電位（MEP）が計測され，5 ms-QPS により運動野興奮性が増強したことが支持された。一方，50 ms-QPS では MEP の有意な変化は認めなかった。fMRI で TMS 刺激強度に応答して増加する脳活動を検討したところ，両側運動前野と左頭頂葉で刺激強度への応答性が上昇していた。この結果は，5 ms-QPS が運動野と運動前野や頭頂葉の間の神経ネットワークに影響して MEP の変化をもたらしていることを示唆する。

（22）脳卒中患者における反復経頭蓋磁気刺激の上肢運動機能に与える負の効果

阿部玄治，大内田裕，鈴木栄三郎，内野すみ江，
会津直樹，唐　志明，長井真弓，出江紳一
（東北大学大学院医工学研究科）

[背景] 反復経頭蓋磁気刺激法（以下 rTMS)は，脳の可塑的変化を引き起こすことや他の運動療法との組み合わせが可能であることから，脳卒中発症後の運動機能回復を目的とした効果的な治療手段である。脳卒中患者への rTMS の刺激方法には，健側半球へ刺激する低頻度 rTMS や連続シータバースト刺激（以下 cTBS)，また患側半球に刺激する高頻度 rTMS や間欠シータバースト刺激（以下 iTBS)など，多くの刺激方法がある。したがって，臨床で用いる際には，これら刺激方法の中から少なくとも運動機能低下を引き起こさない刺激方法を選択する必要がある。しかしながら，これまでに同一被験者を対象に異なる刺激方法を行い，その効果を検討した報告は見当たらない。そこで本研究は，同一被験者を対象に，上記 4 種類の rTMS が運動機能低下を引き起こすのか検討した。 [方法] 慢性期脳卒中片麻痺患者 5 名を対象とした。対象は，最大伸展角度の向上を目的とした低頻度 rTMS，cTBS，高頻度 rTMS，iTBS をそれぞれ異なる日に行った。我々は，運動機能の評価として手指の最大伸展角度を電気角度計で計測し，各刺激前後の変化を比較した。 [結果] 低頻度 rTMS では 5 名中 4 名で最大伸展角度の向上が認め，1 名で最大伸展角度の低下を認めた。cTBS と高頻度 rTMS では 2 名，iTBS では 1 名に最大伸展角度の低下を認めた。 [考察] 本研究の結果より脳卒中患者への rTMS は，どの刺激方法においても運動機能低下を引き起こす可能性があることが示唆された。そのため rTMS を臨床上用いる際には，患者ごとに各刺激の効果を検討した上で用いる必要がある。

（23）Properties of force fields and EMGs in the primate arm induced by intraspinal microstimulation

矢口博彬（東京大学大学院）
David Kowalski (Drexel University)
武井智彦，関　和彦（国立精神・神経医療研究センター）

脊髄損傷患者の運動機能を回復させる手法として，脊髄内電気刺激が期待されている。しかし，この手法が霊長類の上肢の運動を誘発する目的で使用された例はない。この，脊髄内電気刺激によって意図した運動を誘発するためには，その刺激効果の特性を明らかにする必要がある。そこで本研究では，脊髄刺激効果の特性として，1)姿勢依存性，2)長期安定性，3)線形性について調べた。また，脊髄背側は感覚入力を受け，腹側は運動出力を行うというように，背側と腹側で機能が異なる。よって，刺激効果の特性は背側での刺激と腹側での刺激で異なる可能性がある。そのため，背側と腹側で上記の特性を比較した。

2 頭のサル(TS, TE)の頸髄に 12 チャネルの微小電極アレイ(Microprobes 社)を慢性的に留置した。サル TS には，脊髄背側での刺激を行うため，電極長 3mm のアレイを使用し，サル TE には，腹側での刺激を行うため，電極長 4mm のアレイを用いた。電極アレイのひとつのチャネルまたはふたつのチャネルより，パルス幅 400ms，パルス間隔 25ms，パルス数 20 の双極性電流刺激列を与えた。その刺激効果として，上肢の筋の EMG 及び手首における力を計測した。4cm または 8cm 間隔の格子状にサルの手首を動かし，各格子点において脊髄刺激の効果を計測した。脊髄の背側で刺激を行った場合，刺激効果は 1)姿勢に依存し，2)長期安定性は低く，3)非線性が見られた。腹側で刺激を行った場合には，刺激効果は 1)姿勢に依存し，2)長期安定性が高く，3)線形に加算された。

（24）運動イメージによる TMS 誘発電位の検討
－磁気共鳴機能画像（fMRI），筋電図（EMG），経頭蓋磁気刺激（TMS）を用いた検討－

設楽　仁[1,2]，高岸憲二[1]，本田　学[2]，花川　隆[3,4]
([1]群馬大学大学院整形外科，[2](独)国立精神・神経医療研究センター　神経研究所，
[3](独)国立精神・神経医療研究センター 脳病態統合イメージングセンター，
[4]科学技術振興機構　さきがけ研究)

【背景】運動想像中は TMS によって誘発される運動誘発電位（MEP）が増大することが知られているが，その生理学的メカニズムは不明確のままである。【目的】TMS-fMRI-EMG 同時計測で，運動想像中の TMS 誘発 MEP 増大メカニズムを検討することである。【対象・方法】健常被験者 22 名。3 テスラ MRI と頭部コイルを用いて，『右および左母指掌側外転運動（R1，L1)』，『右および左小指外転運動（R5，L5)』の各運動を提示し，運動想像中および想像をしない時に TMS 刺激を行った。両母指・小指外転筋に MRI 専用の電極を装着し，左一次運動野（M1）に対する TMS（110%安静時運動域値）により生じる MEP を計測した。【結果】R1 想像中は Rt_APB，R5 想像中は Rt_ADM からの MEP は，他の条件に比べ有意に大きかった。運動想像中 TMS 誘発脳活動は左 M1・S1，右小脳，楔部，楔前部に認め，想像の脳活動を除去すると左角回に有意な活動を認めた。

（25）てんかんモデルラットにおいて局所脳冷却は速波成分を抑制する

木田裕之[1]，藤井正美[2]，井上貴雄[2]，賀　業霆[2]，丸田雄一[2]，野村貞宏[2]，山川　烈[3]
([1]山口大学医学系研究科　システム神経科学,
[2]山口大学医学系研究科　脳神経外科,
[3]九州工業大学　生命体工学研究科)

我々はこれまで局所脳冷却がてんかん治療に効果的であることを報告してきた。しかしながら，冷却温度と抑制時脳波の周波数成分の関係は明らかになっていない。そこで我々はてんかんラットモデルを作成し，周波数成分解析によりてんかん波に対する局所脳冷却の効果を検討した。

てんかんモデルを作成するために，ウレタン麻酔したＳＤラット大脳皮質運動野にペニシリンＧカリウム（2000IU）を投与した（n = 5)。また投与部位硬膜上に脳波電極，温度センサー，ペルティエ式脳冷却装置を静置し，持続的な皮質脳波・脳表温度記録を実施した。実験後，高速フーリエ変換によるオフライン周波数解析を行った。

皮質内のペニシリンG投与によって，１時間以上持続するてんかん性放電が観察された。周波数解析から有意に増加した脳波成分はα波(9-14 Hz)とβ1波(14-24 Hz)であることが示された。十分なてんかん性放電が観察された後，25℃・20℃・15℃の条件で脳局所冷却を行った。１）25℃ではてんかん性放電成分のうちβ1 のみが有意に抑制された。２）20℃ではα波，β1 波の両方が有意に抑制された。３）15℃ではどの周波数成分も抑制され，てんかん性放電は消失した。本研究により，皮質表層からの局所脳冷却の効果は一様ではなく，高周波数成分から抑制されることが分かった。また周波数解析により25℃においても有意な冷却効果が示され，この知見は今後のてんかん治療戦略において有意義なものと考えられる。

（26）けいれん誘発てんかんモデルに対する局所脳冷却の発作抑制効果と至適冷却温度

井上貴雄[1]，藤井正美[1]，常盤達司[2]，木田裕之[3]，賀業　霆[1]，山川俊貴[4]，
丸田雄一[1]，野村貞宏[1]，大和田祐二[5]，山川　烈[2]，鈴木倫保[1]
([1]山口大学　大学院医学系研究科　脳神経外科学,
[2]九州工業大学　大学院生命体工学研究科　脳情報専攻,
[3]山口大学　大学院医学系研究科　システム神経科学,
[4]静岡大学　工学部　電気電子工学科,
[5]山口大学　大学院医学系研究科　器官解剖学)

大脳局所冷却において，ラットの薬物誘発てんかん発作は20℃以下の脳表冷却により抑制され，10℃以下の過冷却において機能脱落を生じさせる。一方で，ラットでは体性感覚野と運動野の局在化が進んでいないため，至適冷却温度に関する評価をサルで実施した。

雌ニホンザル二頭に対し，左半球の運動野・体性感覚野を覆うチタン製冷却パッドを硬膜上に留置した。脳表の温度は冷却水の温度を制御することで，10～15℃に冷却した。運動機能の評価は Food Reaching(FR)と Kluver Board(KB)を実施し，成功回数と反応潜時を評価した。併せて，ペニシリン G 投与によって冷却パッド直下の運動野領域にてんかん焦点を作製することで，てんかん性放電とけいれん発作に対する抑制効果を調べた。

ペニシリン G (250 IU/ul，total 2000IU)を脳表に直接投与することで，てんかん発作を誘発した後，脳表を 15℃で冷却した。その結果，てんかん波は有意に抑制され，けいれん発作も消失した。運動機能において，腕の屈伸運動を含む FR 課題では，15℃冷却によって右前肢の機

能障害は見られなかった。一方，KB 課題においては，15℃冷却によって右前肢の機能障害が確認された。10℃冷却ではいずれの課題においても有意な機能低下が見られた。

サルでは，15℃の局所脳冷却によって，てんかん発作が抑制されたが，運動機能への抑制も確認された。但し，上腕の屈曲のような大局的な動作は維持された。一次運動野だけでなく，運動前野を含む冷却が機能抑制に関与していると考えられる。

（27）Focal brain cooling suppresses periodic epileptiform discharges and lessens brain injury after cerebral ischemia in rats

賀　業霆[1]，藤井正美[1]，井上貴雄[1]，野村貞宏[1]，木田裕之[2]，
丸田雄一[1]，国次一郎[3]，山川　烈[4]，鈴木倫保[1]
（[1]山口大学大学院医学系研究科脳神経外科学，
[2]山口大学大学院医学系研究科システム神経科学，
[3]山口大学大学院医学系研究科環境統御健康医学，
[4]九州工業大学大学院生命体工学研究科脳情報専攻）

The aim of this study was to investigate whether Focal Brain Cooling (FBC) has a favorable effect on cerebral ischemic lesion in rats. Under general anesthesia, focal cerebral ischemia was induced with the photothrombosis technique. FBC was performed at a temperature of 15°C for 5 h. ECoG were recorded to confirm epileptiform discharges. In addition, neurobehavioral testing and grip strength testing was performed for 5days after ischemia. FBC suppressed all the ECoG frequency bands during and after cooling. Lesion size was significantly reduced and neurological deficits were improved by the cooling. These results suggest that FBC has potential for treatment of cerebral infarction.

（28）脳波－fMRI 同時計測を用いたμ波の安静時変動に関わる神経基盤の解明

星野英紀（東京大学大学院医学研究科/国立精神神経医療研究センター脳病態統合イメージングセンター）
小俣　圭（浜松医科大学　子供のこころの発達研究センター）
Charles DaSalla，本田　学（国立精神神経医療研究センター　神経研究所　疾病研究第七部）
花川　隆（国立精神神経医療研究センター　脳病態統合イメージングセンター）

μ波とは，頭皮上脳波で運動感覚皮質上から計測される 8-12Hz のα帯域の脳波律動であり，運動や運動イメージによって減衰することから，近年表面脳波を用いた brain-machine interface (BMI) に応用されている。しかし，μ波の発生・減衰のメカニズムやμ波が運動制御のどのような側面に関係しているのかについては不明な点が多い。今回我々は，脳波-fMRI 同時計測系を用いて，健常者が安静閉眼状態を維持している際に生じるμ波パワーの自然変化と相関する脳領域について基礎的検討を行った。健常成人被験者 20 人に対して，3T-MRI 内で閉眼安静にて覚醒を保つよう指示し，20 分間の resting-state fMRI 撮像を行った。脳波は MRI 内で使用可能な 32 チャンネルの電極を用いて計測した。fMRI 同時計測により発生する脳波上アーチファクトの補正を行った後，左右の中心部電極（C3, C4）からμ波パワー変動の時系列データを生成し，血流動態関数の畳み込み積分により fMRI 解析の回帰子を作成した。

C3 および C4 のμ波変動との解析の結果，両側の一次

運動野，補足運動野，下前頭回（弁蓋部，三角部），視覚関連皮質においてμ波パワーの変動と負に相関するfMRI信号変化を認めた。これらの領域は，先行研究において運動の観察時にμ波とパワー変動と負の相関が見られた部位と一部重なっており(Arnstein et al,2011)，運動野には安静時にもμ波パワーと逆相関する自発的な活動リズムが見られることが示唆された。

（29）第一次運動野は空間ベクトルの外積を用いて到達運動ダイナミクスを計算する

田中宏和（北陸先端科学技術大学院大学情報科学研究科）
Terrence J. Sejnowski（ソーク研究所）

第一次運動野(M1)は身体との体部位対応を持ち，錐体路繊維を通して脊髄中の運動ニューロンに投射するが，どのようにして身体運動を制御するかについては完全に理解されていない。ダイナミクスの立場ではM1は身体座標系における筋張力や関節トルクを制御すると主張するが，キネマティクスの立場では外部座標系における運動軌道を表現しているとする。本講演では外部座標系を用いると到達運動を記述する運動方程式が単純になることを示し，開n-リンク系の一般式を導出する。この式は左辺のダイナミカル量である関節トルクと右辺のキネマティカル量である空間運動を直接関係づける式であり，関節角表現を明示的に必要としないため，逆キネマティクス計算や不良設定性問題を回避することができる。M1 は空間ベクトル外積を用いて理想軌道を到達運動ダイナミクスへと変換しているという計算理論を提案する。空間ベクトルの外積各項をM1神経細胞の発火頻度と同一視すれば，(1)コサイン・チューニング，(2)最適方位の作業空間依存性，(3) 複数座標系の混在，(4)運動適応後の活動変化， (5)ポピュレーションベクトルの時空間的性質といった実験結果を説明できる。また，運動適応の基底としてベクトル外積を採用すれば，ヒト心理物理実験で示された肩座標系による粘性外力場の汎化や，外部座標系による視覚運動適応の汎化を再現することができる。ベクトル外積から筋張力の計算も一層のニューラルネットワークで計算できることを示す。これらの結果から，キネマティクスとダイナミクスの立場が相反するものではなく，運動方程式における左辺と右辺を強調しているにすぎないと結論する。

（30）両手運動により誘発される一次運動野ニューロンの最適方位の回転は，脳卒中回復過程を促進する －計算論研究－

瀧山　健，岡田真人（東京大学　新領域創成科学研究科）

Stroke patients recover more effectively when they are rehabilitated with bimanual movement rather than with unimanual movement; however, it remains unclear why bimanual movement is more effective for stroke recovery. Using a computational model of stroke recovery, this study suggests that bimanual movement facilitates the reorganization of a damaged motor cortex because this movement changes neural activities through inter-hemispheric inhibition without changing cortical-spinal-muscle connections. Furthermore, this study suggests that stronger inter-hemispheric inhibition between motor cortices results in more effective reorganization.

（31）上肢到達運動中の腕の剛性に対するフィードバックの効果

植山祐樹，宮下英三（東京工業大学）

本研究では，ロボットマニピュランダムを用いて運動中のサルの腕の剛性を計測するとともに，与えた外乱に対する反応時間から，反射の種類を分別し，各反射の影響を剛性の変化として計測した。剛性とは，運動中の腕の硬さを意味しており，新たな運動を学習するときや環境に適応する際に，その運動や環境に応じて変化することが知られている。そのため，剛性を計測することで，運動の学習や生成にかかわる脳のメカニズムを探る大きな手がかりになると考えられる。本研究においては，随意運動中の剛性とは別に，外乱を付与してから 25ms, 50ms および 150ms 以上経過した後の剛性をそれぞれ推定した。なお，それらは，脊髄反射による short-latency reflex, 一次運野を介した long-latency reflex および視覚の影響をそれぞれ受けていると仮定した。その結果，long-latency reflex の影響による剛性は，short-latency reflex によるものとは異なり，随意運動中の剛性と同様の傾向を示した。また，視覚フィードバックによる影響は，軌道を補正するように剛性を高めるのではなく，運動方向を当初の運動方向から変化させるように剛性を高めていることが確認された。したがって，一次運動野を介したフィードバックはフィードバックゲインとして，関節剛性が設定されており，随意運動は一次運動野を介すことで，最適フィードバック制御理論のような状態フィードバックによって生成され，また，視覚情報は体性感覚と同様に処理されているのではなく，その情報をトリガーとし，新たな運動を生成していると考えられる。

（32）半球間連絡が両手協調動作におけるリズム生成機能に与える影響

内野すみ江，大内田裕，鈴木栄三郎，会津直樹，
唐　志明，阿部玄治，長井真弓，出江紳一
（東北大学大学院医学系研究科肢体不自由学分野）

[背景と目的]一般的な両手協調動作において，左右手が同じ動作（対称動作）は安定しているのに対して，異なった動作（非対称動作）は不安定になる。なぜならば，左右手で異なる動作を実行する時には時間的・空間的に不一致な情報によって半球間で干渉が生じると考えられているからである。しかしながら，左右手で異なる動作を行って両手の動作が安定することはないのであろうか。このことを検証するために我々は外部刺激音に合わせる表拍，刺激音から半拍ずらしてタップする裏拍タッピング課題を用いて実験を行った。[方法]被験者は健康成人 22 名（男性 16 名，女性 6 名，平均年齢 29.4±11.0 歳）実験 1 では，半球間連絡を調べるために両手対称動作（両手で表拍，あるいは裏拍を同時に行う）と非対称動作（片手は表拍，もう一方の手は裏拍）を行った。実験２では，左右手の不一致な情報からの半球間の干渉を受けないで実行される片手動作と両手非対称動作を比較するために，片手動作の表拍，裏拍タッピングを行った。計測指標は刺激音と実際にタップした時間差とした。[結果]裏拍タッピングの正確性はすべての条件の中で両手非対称動作中が一番高かった。[考察]裏拍のタイミングは聴覚からの聞いている音と次に鳴る音を予測して中点を同定しなければならず正確性は低下する。しかしながら，本研究の一方の手で表拍タッピングを行ったことで，もう一方の裏拍タッピングの正確性が高くなったことは，表拍タッピングの正確なタイミング情報が半球間連絡により，裏拍タッピングのタイミング生成に利用され，正確性を向上したと考えられる。

（33）タッピング運動における空間・回数系列に関わる神経基盤の比較

細田千尋（国際電気通信基礎技術研究所）
花川　隆（国立精神・神経医療研究センター）

系列動作の実行や学習の神経機構は，認知操作の中心となる前頭前野と運動実行に重要な一次運動野の中継地点である高次運動野の機能の重要性が明らかになっている。しかし，複数存在する高次運動野のうち，どの領域が系列動作に重要であるかについては，内側面の前補足運動野（pre-SMA）や補足運動野（SMA）の果たす役割が示されている一方で，外側面の背側運動前野（PMd）の機能が重要であることを示すデータもある。実は，過去の神経生理・機能画像研究では同じ系列という名のもとに，様々な動作の定義が用いられているため，異なる研究間で比較解釈することが難しい。そこで本研究では，手指タッピングを用いた系列動作において，次にどの指をタップするかを空間配列，同じ指をタップする回数を回数系列と定義し，それぞれの系列の単位を長くすることで複雑にした場合にどの脳領域が応答するかの検討を健常成人 17 名で行った。脳活動の測定は 3 テスラ fMRI で行った。空間配列と回数系列に関わる脳活動の大きさを単純比較すると，空間配列では左 PMd や頭頂間溝の活動がより大きく，回数系列では SMA，被殻前部，左下頭頂葉などの活動がより大きかった。また空間配列の複雑さに伴って左 PMd の活動が増加し，回数配列の複雑さに伴って SMA と左下頭頂葉の活動が増加した。空間配列動作と回数系列動作は異なる神経基盤によって制御されていることが示された。以上の結果は，空間配列動作など空間情報処理の負荷が高い系列運動課題には PMd の機能が重要であり，タイミングや回数など空間配列として処理できない情報処理に基づく系列動作は SMA が担っている可能性を示唆した。

（34）サル上肢全体の到達ー把握ー引き込み運動を構成する筋シナジーの抽出

大屋知徹，武井智彦，関　和彦
（国立精神・神経医療研究センター　モデル動物開発研究部）

霊長類の上肢運動は，５０以上の筋が３４の自由度をもつ関節を制御することによって実現している。この関節自由度に対し冗長な筋骨格系を制御する仕組みとして，神経系が複数の筋を協働的に活動させることで次元の縮約を行っているとする「筋シナジー仮説」が提出されている。この仮説に基づき Non-negative matrix factorization (NMF)解析を用いると，把握運動に対して３つの筋シナジーによって８０％以上の上腕，前腕，手指の筋活動を再構成できることが報告されている（Overduin et al. 2008）。一方で上肢全体の到達ー把握ー引き込みという自然な動きに対して筋活動を筋シナジーに分解し，検討した研究は存在しない。本研究ではマカクザルの肩，上腕，前腕，手指の２６筋に電極を埋め込み，サルが到達ー把握ー精密把握ー引き込み運動中に筋活動を記録し，得られた筋電信号に対し NMF 解析を行った。その結果，７つの筋シナジーに分解した時に原信号の８０％以上の変動に対して説明ができた。さらにこの７つの筋シナジーは各々機能的に分化した特徴をもつ筋群（Reaching, Retraction, Digit manipulation, Digit and wrist extension with supination, Forearm flexion, Forearm extension, and Shoulder activation）に分かれることがわかった。この結果は神経系にはこれら７種類の筋シナジーを構成し，さらにそれらを用いて上肢運動を制御する機構が存在することを示唆する。

（35）投球におけるボールコントロールのための協調動作の解析

木村嘉志，西井　淳（山口大学大学院理工学研究科）

野球においてコントロール良く投球することは重要である。そのためには，ボールのリリース位置，投射角度，初速度という 3 つの状態変数を適切に決定する必要がある。その方法として，各変数の目標値をそれぞれ定め，その各値を正確に実現できるように投球を行う方法と，リリース位置が高くなったら投射角度を小さくするというように，各変数の値は一球毎にばらついていても協調的にその値を変化させることで標的を狙うという 2 つの方法が考えられる。本研究の目的はコントロールの良い人がどちらの方法を用いているかを調べることで投球のコツを探ることである。

本研究では野球経験 9 年以上の者 3 人，未経験者 3 人の被験者が椅子に座った状態で，前方にある標的めがけて投球を行った際，ボールのリリース位置，投射角度，初速度の各状態変数間に協調的変化が観察されるかを UCM 解析により調べた。その結果，いずれの被験者についても状態変数間の協調的変化が観察され，また，コントロールが良い人ほど協調度がより高くなる傾向があることがわかった. さらに，どの状態変数間の協調的変化がより強く観察されるかを解析したところ，コントロールが良い人ほど初速度と投射角度の協調的変化が強く生じており，一方でリリース位置のばらつきは小さくなっていることがわかった.

野球の投手へのコントロール向上のため，リリースポイントを一定にするよう指導する指導者は多い。本研究結果は，この指導が妥当であることを示す一方で，さらに，コントロール向上のためには初速度と投射角度を協調的に変化させることに注目した練習も効果的であることを示唆している。

（36）筋－末梢神経間の人工神経接続による運動適応

加藤健治，笹田周作，西村幸男
（自然科学研究機構　生理学研究所　認知行動発達研究機構部門）

A number of studies have demonstrated that BCI had a potential to improve the performance by learning. Here, we developed the system of recurrent BCIs that creates an artificial neural connection (ANC) between muscle and peripheral nerve that can boost the muscle activity. The ANC can detect the firing pattern of motor units and converted in real-time to activity-contingent electrical stimuli delivered to the peripheral nerve. Just after performing ANC, the wrist trajectory overshot the target. As the practice progressed with ANC, the wrist trajectories hit the target. These results indicate that the subjects could adapt to the novel ANC that boosts the on-going muscle activities.

（37）3 次元筋骨格モデルに基づくニホンザル精密把握動作の生体力学的解析

齋藤　剛[1]，荻原直道[1]，武井智彦[2]，関　和彦[1]
([1]慶應義塾大学，[2]国立精神・神経医療センター神経研究所)

ニホンザルの把握運動時の脊髄神経活動・筋活動・手指の運動を同時計測・分析する試みが進められ，把握の神経制御機構に関わる多くの神経生理学的知見が蓄積されつつある。しかし，把握運動は神経系と手部筋骨格系の相互作用により織りなされる複雑な力学的現象であり，そのメカニズムの解明には，3 次元筋骨格モデル

に基づく生体力学的解析も重要な意味を持つと考えられる。そこで本研究では，解剖学的に精密なニホンザルの手部筋骨格モデルを構築し，ニホンザル精密把握動作を生体力学的に解析することを試みた。手部筋骨格系は，ニホンザル屍体手部のCT連続断層画像に基づいて20節からなる直鎖剛体リンクとしてモデル化した。筋は起始点から停止点を結ぶ線分としてモデル化し，最大筋力は生理学的断面積より定めた。把握運動の計測は，母指と示指で2本のレバーを把握する課題を訓練したニホンザル1個体を対象に行った。計4台のビデオカメラを用いて同期撮影した画像から手指の関節点位置をデジタイズし，手指の3次元運動を算出した。そして，計測した運動データとレバー反力を，構築した筋骨格モデルに入力することで，仮想空間内にニホンザルの把握運動を再現した。これに基づいて，計測した把握運動を実現するために各筋が発揮すべき筋張力を逆動力学的に推定し，すでに報告されている筋電図記録と比較した。その結果，両者はほぼ一致した傾向を示し，筋骨格モデルに基づく生体力学的解析の妥当性が示唆された。

（38）霊長類大脳皮質運動野におけるSPP1遺伝子発現と手の巧緻性との相関

山本竜也[1]，肥後範行[2]，大石高生[3]，村山繁雄[4]，佐藤　明[5]，高島一郎[2]，
杉山容子[1]，西村幸男[6]，村田　弓[2]，吉野−斎藤紀美香[6]，伊佐　正[6]，小島俊男[7]
([1]筑波大学大学院　人間総合科学研究科，
[2]産業技術総合研究所　ヒューマンライフテクノロジー研究部門，
[3]京都大学霊長類研究所　統合脳システム分野，
[4]東京都健康長寿医療センター　高齢者ブレインバンク，
[5]理化学研究所　生命情報基盤研究部門，
[6]生理学研究所　認知行動発達機構研究部門，
[7]浜松医科大学　実験実習機器センター)

手の巧緻性とはつまみ動作のような指先を使った細かな運動を行う能力のことである。このような運動の制御には一部の霊長類のみが持つ高度に発達した皮質脊髄路（CST）が重要な役割を担うと考えられている。これまでにマカクサルなど手の巧緻性が高い種であるほどCSTの数・大きさ・伝導速度の増大などが見られることが報告されている。しかしこのような手の巧緻性を担うCSTの構造的・生理学的特徴の背景となる分子的特徴については不明である。近年我々はSPP1 (secreted phosphoprotein 1) 遺伝子がマカクサルCSTニューロンで特異的に発現することを報告してきた。本研究ではこの遺伝子の運動野における発現と手の巧緻性との関係を３つの観点（種差・発達・CST損傷後の可塑的変化）から検証した。CSTが主に投射する第一次運動野のV層（M1/V層）におけるSPP1陽性細胞数は手の巧緻性が低い種（ラット・マーモセット・リスザル）に比べて高い種（アカゲザル・フサオマキザル・ヒト）の方が多かった。マカクサル生後発達期のM1/V層におけるSPP1陽性細胞数は年齢が高くなるにつれて対数的に増加し約3歳でプラトーに達した。この年齢は手の巧緻性の生後発達に重要なCST伝達速度の増大が頭打ちする年齢と類似していた。CST損傷後にSPP1陽性細胞が損傷対側腹側運動前野（CST損傷後の機能代償領域）で多く観察された個体であるほど手の巧緻性の回復程度が高かった。本研究成果より手の巧緻性を担うCSTの構造的・生理学的特徴の形成や維持に対してSPP1は重要な役割を担う遺伝子であることが示唆された。

（39）コモンマーモセットにおける皮質脊髄路の解析

近藤崇弘[1]，吉野−斉藤紀美香[1]，西村幸男[2]，岡野 James 洋尚[1,3]，伊佐　正[2]，岡野栄之[1]
（[1]慶應義塾大学医学部生理学教室，
[2]自然科学研究機構生理学研究所発達生理研究系認知行動発達機構研究部門，
[3]東京慈恵会医科大学再生医学研究部）

様々な随意運動を制御している皮質脊髄路(corticospinaltract:CST)は，特に手の巧緻性に関係があると言われており，ヒトや霊長類において発達しているが，霊長類の中でも旧世界サルと新世界サルではその CST 分布に特徴的な差を認める。また，新世界サルにおいてもオマキサルとリスサルの間で CST 分布の差異を認めている。そこで本研究では新世界ザルであるコモンマーモセットの CST 分布を調べた。皮質内微小電極刺激によって同定した一次運動野 M1 に順行性神経トレーサーであるビオチン化デキストランアミンを注入して軸索投射を詳細に調べた。軸索投射分布の割合は，脊髄白質で M1 注入部位に対して対側の背側側索部がもっとも多く(91~97%)，同側の背側側索部(3~6%)及び後索(3%未満）には少なかった。脊髄灰白質では button-like swelling が主に対側のⅤ〜Ⅶ層(58.4%)にみられた。対側Ⅸ層には少数(0.7%)の button-like swelling しか認められなかった。対側白質を降下する軸索の中には，脊髄の正中線を越えて同側へ伸長する軸索が存在し，それらの button-like swelling は同側のⅦ，Ⅷ層(10.6%)に確認された。マーモセットで第Ⅸ層に神経終末の形成が少なかった事は，霊長類の中ではリスサルに類似するものであった。リスサルやマーモセットは旧世界サルやオマキサルのような independent finger movement を行うことが出来ないという点でその機能の類似性からも説明がつく。今後はこれらの解析結果を電気生理学的に裏付けていきたい。

（40）皮質運動野における multi unit activity に対する経頭蓋直流電気刺激の影響

田中智子[1]，磯村宜和[2]，花川　隆[1]，本田　学[1]
（[1]国立精神・神経医療研究センター，[2]玉川大学脳科学研究所）

近年，非侵襲脳刺激法の一種である経頭蓋直流電気刺激(tDCS)は神経疾患や加齢に伴う運動・認知機能低下を代償する手段として臨床応用が期待されているが，その作用メカニズムはほとんど理解されていない。我々は正常なラットの運動野へ陰極 tDCS を印加することにより，線条体細胞外ドパミン濃度が増加することを報告している。このメカニズムとして，刺激電極直下の運動野における神経活動の関与が想定される。そこで本研究では，運動野への tDCS 処置が，刺激電極直下の multi unit activity(MUA)に与える影響を検討するため，ウレタン麻酔下のラットを用いて，multi-neuron recording を実施した。記録開始から 2 時間後，運動野上の頭皮に設置した電極を陰極，首に設置した電極を陽極とし，800 μA の直流電流を 10 分間(Cathodal tDCS group, n = 6)または 10 μA を 10 秒間(Sham group, n = 4)印加した。その後 2 時間にわたり経時的変化を記録した。MUA は tDCS 処置前 1 時間あたりの発火頻度をベースラインとして，1 時間毎の発火頻度をベースラインの百分率として解析した。その結果，Cathodal tDCS group において，運動野の MUA は 190%に達する増加が認められた。この増加は tDCS 処置後少なくとも 2 時間持続した。本研究は陰極 tDCS 刺激が刺激直下の MUA に対して 1 時間を超える事後効果を持つことを示した。この事後効果は我々が以前に報告した線条体細胞外ドパミン濃度に対する長時間にわたる陰極 tDCS の影響と関係している可能性がある。

（41）運動実行および運動イメージ 下における皮質賦活部位の検討 ー反復経頭蓋磁気刺激法と体性感覚誘発電位を用いてー

藤原洋介[1]，青野宏治[2]，高橋　修[3]，正門由久[2]，牛場潤一[4]
([1]慶應義塾大学大学院理工学研究科，[2]東海大学医学部，
[3]市川市リハビリテーション病院，[4]慶應義塾大学理工学部)

運動により生じる脳波の特徴的な変化の 1 つに，一次体性感覚運動野（SM1）近傍でα β帯域の振幅が減少する事象関連脱同期（ERD）といわれる現象がある。しかし，SM1 の上流に位置する高次の運動関連領野と ERD の関係は未だ明らかにされていない。高次の運動関連領野は運動制御の際の感覚運動の連関において重要な役割を果たしている可能性がある。そこで本研究ではこの機能を明らかにする電気生理的指標として体性感覚誘発電位（SEPs）のピークが運動により減少するゲーティングといわれる現象に着目した。この運動に関連した SEPs のゲーティングは一次感覚野（S1）で記録される N20 成分や補足運動野（SMA）または運動前野（PMc）で記録される N30 成分に観察される。本研究ではこの SEPs のゲーティングと ERD のような脳波の変化の関係を調べた。まず，実験 1 では運動実行と運動イメージ中の ERD と SEPs の N30 成分のゲーティングが健常者 9 名で有意な相関があった。次に実験 2 では反復経頭蓋磁気刺激法（rTMS）を用いて大脳皮質を抑制したときの影響を調べた。実験 2 での刺激部位は実験 1 で運動タスクとの関連が示唆された PMc とした。その結果， ERD だけでなく，SEPs の N30 成分のゲーティング，および SMA から PMc や SM1 への脳波の因果関係を示すグレンジャー因果の変化は rTMS の直後に健常者 8 名で有意に低下した。これらの結果から運動タスク中の M1 の局所的な脳波変化と SMA や PMc から SM1 の間での閉回路内での大脳皮質間の機能連関の変化は S1 ではなく SMA や PMc への感覚入力の変化と関連していることが示唆された。

（42）小脳 V,VI 小葉外側部が受ける 2 種類の運動制御情報

戸松彩花[1]，石川享宏[1]，角田吉昭[2]，筧　慎二[1]
([1]（公財）東京都医学総合研究所，[2]理化学研究所)

小脳はその規則的な細胞構築から，システマティックな計算能力を持ちうると考えられてきた。特に運動制御においては種々の内部モデルとしての機能を果たすとの仮説が有力である。反射的な眼球運動における逆モデルとしての小脳の役割は既に小脳（傍）片葉で確認されている(Ito & Nagao, 1991, Shidara et al., 1993)が，小脳の他の部位，特に大脳− 小脳ループを形成する小脳半球部においても同様のメカニズムが働いているかは明らかでない。

我々は，手首運動中のサルの小脳ニューロン記録から，一次運動野(M1)とループ構造を持つ小脳半球部 V,VI 小葉に対して，(1)運動指令のエファレンスコピーと(2)現在の姿勢に関する情報が別々に入力することを見いだした。このことは，小脳半球部 V,VI 小葉が「順モデル」として働きうる可能性を示しており，運動制御システムにおける小脳の役割は部位によって異なるといえる。

エファレンスコピー入力は，(1)大脳皮質の投射を受けて小脳に苔状線維を送り込む橋核ニューロンの活動変化開始時刻が M1 より遅い，(2)同ニューロン活動の時間的パターンが M1 と類似する，(3)同ニューロンの活動に含まれる情報内容が M1 と類似すること等から判断される。また，自発発火の頻度が運動の姿勢条件で異なる「姿勢依存ニューロン」の割合が，橋核ニューロンよりプルキンエ細胞(PC)で高かった。これは，姿勢依存の求心性活動が感覚野から橋核経由もしくは楔状束小脳路等によって小脳半球部内側にもたらされ，記録対象の PC に入力したと解釈される。

（43）抗 GAD 抗体陽性小脳失調症患者における可逆的予測制御障害

筧　慎治，李鍾昊（東京都医学総合研究所）
南里和紀（東京医大八王子医療センター）
三苫　博（東京医大）
水澤英洋（東京医科歯科大学）

一般に小脳性運動失調症は非可逆的であり，症状を顕著に改善する有効な治療法はない。しかし免疫性小脳疾患では IVIg 療法（イムノグロブリンの点滴静注療法）等の治療により症状が顕著に改善することが知られている。最近我々は，脳内の予測制御器とフィードバック制御器の運動指令を分離し，定量的に評価できる定量的運動指令解析システムを開発した。このシステムでは，被検者に視覚誘導性の予測制御運動を低周波で行わせ，予測制御の運動指令を高周波のフィードバック運動指令と異なる周波数帯域に設定する。その結果 2 種類の運動指令はフーリエ解析によって容易に分離できる。今回我々は，この計測システムを低力価抗 GAD 抗体陽性運動失調症患者の治療効果の評価に活用する可能性を検討した。症例は 50 代女性で 15 年前より上下肢に小脳性運動失調症状を呈し，MRI で小脳萎縮が確認された。運動失調症状は緩徐な経過で進行性に推移してきているが，2004 年以降，年 1 回程度の頻度で IVIg 治療治療を受け，歩行運動および上肢運動の改善を認めてきた。今回，8 回目の IVIg 治療を行い，自覚症状の改善を認めたが ICARS では有意な改善を確認することは出来なかった。そこで IVIg 治療前後の手首運動の病態を定量的運動指令解析システムを用いて比較検討した。その結果，発症後 15 年以上を経過しても IVIg による免疫抑制療法で手関節運動に見られた予測制御の障害が可逆的に改善されていることが確認された。従って，低力価の免疫性小脳疾患では小脳障害の少なくとも一部が細胞変性に至らない機能的なレベルに留まっていることが示唆された。

（44）三叉神経運動核周囲領域に存在するプレモーターニューロンの形態学的および電気生理学的特性

中村史朗[1]，中山希世美[1]，望月文子[1]，吉田　篤[2]，井上富雄[1]
（[1]昭和大学歯学部口腔生理学講座，[2]大阪大学大学院歯学研究科高次脳口腔機能学講座）

三叉神経運動核（MoV）周囲網様体には，MoV に出力を送るプレモーターニューロン群が豊富に存在することが報告されており，顎運動の制御に重要な役割を果たしていると考えられている。我々はこれまで，閉口筋および開口筋運動ニューロンに興奮性および抑制性出力を送るプレモーターニューロンが三叉神経上核（SupV）に存在することを報告してきた。しかし SupV プレモーターニューロンの電気生理学的および形態学的性質は未だ不明である。そこで本研究では，カルシウムイメージングを用いて同定した SupV プレモーターニューロンの電気生理学的および形態学的特性について解析した。生後 1〜6 日齢 Wistar 系ラット脳幹スライス標本上の MoV を電気刺激すると，短潜時で細胞内カルシウム濃度の上昇を示すニューロンが，SupV に 1232 ニューロン中 139 個（11.2%）認められた。139 個中 38 ニューロンからパッチクランプ記録を行ったところ，32 個のニューロン（84.2%）で MoV の電気刺激（100 Hz，3 連発）に逆行性応答を示した。これらのニューロンは，発火特性に基づいて高頻度スパイク発射型（HF）ニューロンと低頻度スパイク発射型（LF）ニューロンに分類された。さらに記録した HF，LF ニューロンを形態学的に検索したところ，樹状突起の分布および軸索の走行様式に両ニューロングループ間で差が認められた。以上の結果から，SupV に存在するプレモーターニューロンは，様々な電気生理学的および形態学的特性を有し，複雑で多様な下顎運動の遂行に重要な役割を果たしている可能性が考えられる。

（45）モルモットのレム睡眠中に認められる咀嚼様の協調性下顎運動

加藤隆史[1]，中村典正[2]，増田裕次[2]，佐藤文彦[1]，吉田　篤[1]
（[1]大阪大学大学院歯学研究科　口腔解剖第２教室，[2]松本歯科大学大学院歯学独立研究科）

レム睡眠では持続的な運動抑制(muscle atonia)が特徴的であるが，げっ歯類やヒト乳児では口腔顔面の筋に phasic twitches が著明に認められる。口腔顔面の筋は，前運動ニューロンを共有し，覚醒中の摂食行動などで協調運動を示す。本研究では，自由行動下のモルモットにおいて，拮抗筋（開閉口筋）である咬筋と顎二腹筋の筋活動と下顎運動を同時記録し，レム睡眠中の phasic な筋バーストの発現に何らかの協調性がないかを調べた。レム睡眠中，両筋に反復性の phasic なバースト群が断続的に出現した。そこで，レム睡眠中と咀嚼運動中に認められる開閉口筋の phasic なバーストの特性を比較した。レム睡眠中のバースト活動量は，咀嚼に比して有意に低かった。一方，いずれの筋においても，レム睡眠のバースト持続時間の分布様式は，咀嚼と同様に１峰性であった。咬筋のバースト持続時間は，レム睡眠よりも咀嚼時で長かったが，顎二腹筋では差が認められなかった。レム睡眠のバースト発生間隔は，咀嚼中のものと似た範囲に分布し，レム睡眠と咀嚼で差を認めなかった。さらに，開閉口筋の一方の筋のバースト開始時点を起点として他方の筋の活動を加算平均すると，レム睡眠中の両筋のバーストは time-locked な時間的相関を示し，咀嚼中の開閉口筋の時間的相関と類似していた。以上のことから，リズミカルな咀嚼運動を調節する神経機構がレム睡眠中の phasic twitches の発現に関与することが示唆された。

（46）表面筋電図を用いた咀嚼・嚥下動作の加齢分析

谷口慎一，吉川一輝（福井大学大学院）
松浦康之（福井大学産学連携本部）
高田宗樹（福井大学大学院工学研究科知能システム工学専攻）

近年，軟性食物を摂取する機会が増加している。そのため，咀嚼回数が減少し様々な健康問題が発生している。しかし，咀嚼には食物を細かくし消化吸収を助けるだけでなく，肥満防止や，言葉の発達，脳の活性化などいろいろな効果がある。また，現在の日本は高齢化社会が進み，年々高齢者が増加している。これより高齢者患者の病気に対する対応・対策が必要であると言える。嚥下に関する問題として，高齢者に多くみられる嚥下障害がある。本論文では，この咀嚼により得られる効果と嚥下障害に着目し，表面筋電図を用いて咀嚼・嚥下動作を加齢に重点を置き分析していく。そこで，計数された咀嚼回数と実際の咀嚼回数に誤差が生じない咀嚼・嚥下動作に関するシステムの開発を目標とする。また，これらのシステムを開発するため，様々な食物を用いた実験から得られた筋電図データより咀嚼間隔や咀嚼回数の計数を求め，電極貼付位置を検討し，嚥下筋群の筋電図解析を行った。その結果，咀嚼間隔では加齢による影響が見られず，咀嚼回数の計数では，回数の統制を行ったが，統制回数と同じ結果ではなかった。嚥下動作における統計解析では，嚥下の加齢に伴う低下を示すことができた。

（47）摂食物の粘性が嚥下表面筋電図に及ぼす影響

吉川一輝[1]，谷口慎一[1]，松浦康之[2]，高田宗樹[1]
（[1]福井大学大学院工学研究科知能システム工学専攻，
[2]福井大学産学官連携本部）

近年，軟性食物を摂取する機会が増加しているため，咀嚼回数が減少し様々な県境問題が発生している。咀嚼には食物を細かくして消化吸収を助けるだけでなく，肥満防止や，言葉の発達，脳の活性化などの効果がある。また嚥下に関する問題として，高齢者に多くみられる嚥下障害がある。先行研究において咀嚼回数を計数するシステムは開発されているが，実際の咀嚼回数と計数された咀嚼回数が一致せず，誤差が生じている。このシステムは，咀嚼回数のみを計数しており，嚥下動作には着目していない。本研究では，摂食物の粘性が嚥下・表面筋電図に及ぼす影響に着目して，表面筋電図の解析・分析を行った。電極を 4 か所に貼付し，摂食物の違い，咀嚼の回数の違いについて嚥下筋群の筋電図解析を行った。その結果，摂食物の粘性による表面筋電図の変化を捉えることができた。

（48）Superior temporal sulcus activity mediates the effects of performance anxiety on force production

吉江路子(Institute of Cognitive Neuroscience, University College London; Department of Psychiatry, Brighton and Sussex Medical School)
Hugo D. Critchley (Department of Psychiatry, Brighton and Sussex Medical School; Sackler Centre for Consciousness Science, University of Sussex)
Yoko Nagai (Department of Psychiatry, Brighton and Sussex Medical School)
Neil A. Harrison (Department of Psychiatry, Brighton and Sussex Medical School; Sackler Centre for Consciousness Science, University of Sussex)

The present study examined how the effects of performance anxiety on fine motor control is mediated in the brain. During fMRI 21 healthy individuals performed a precision grip task either under the control or social-evaluative stress condition. The stressor significantly increased state anxiety and attenuated the typical reduction in force production across time. Preliminary fMRI analyses indicated that activity in the right superior temporal sulcus was associated with greater force production under stress. The present findings suggest that the brain region implicated in processing of social stimuli may also mediate anxiety-induced modulation of motor function.

（49）描画運動においての 2/3 乗則成立における視覚情報の重要性

岡林亜紀（東京医科歯科大学医学部医学科）
平島雅也，野崎大地（東京大学大学院教育学研究科）

滑らかな図形を描画するとき手先の速度は図形の曲率半径の 1/3 乗に比例する（一般には「2/3 乗則」として知られている）。手とカーソルの位置関係に変換を加えた状態での描画運動を調べることにより，画面上のカーソル軌道と実際の手の軌道のどちらについて，この 2/3 乗則が成り立っているのかを検討した。

被験者 8 名が，マニピュランダムを水平面上で操作して，画面上に呈示した楕円をカーソルでなぞる運動課題を行った。この時被験者には自分の腕の動きは見えない。ハンドル位置がそのままカーソルとして呈示される条件 A と，視覚運動変換をかけハンドルの軌道がカーソル軌道と異なるようにした条件 B の２種類で，カーソルとハンドルのそれぞれについて求めた軌道の曲率半径と速度の関係を調べた。この視覚運動変換では，画面上の横長（縦長）の楕円をなぞるためには，ハンドルを縦長（横長）の楕円状に動かす必要がある。

先行研究通り，条件 A ではすべての被験者について概ね 2/3 乗則が成り立っていた。条件 B で正確に楕円をなぞるためには，ハンドルの新しい動かし方を学習する必要がある。この視覚運動学習の遷移過程においては，ハンドル軌道が 2/3 乗則から逸脱する一方，画面上のカーソル軌道については常に 2/3 乗則が成り立つ傾向が見られた。ただし，学習が進むにつれハンドル軌道も 2/3 乗則に近づく動向を示した。

体性感覚（ハンドル軌道）での 2/3 乗則を犠牲にしながら，視覚（カーソル軌道）における 2/3 乗則を保ったままで新奇な視覚と体性感覚の対応関係を獲得する方略は，描画運動の 2/3 乗則成立における視覚情報の重要性を示唆しているものと考えられる。

（50）手による目標追従課題遂行中の眼球運動の振る舞い

井上康之，阪口　豊（電気通信大学大学院情報システム学研究科）

本研究では，連続的に運動する視標の動きを手の動きで追従する課題における手の動きと視線の動きの関係について実験的に調べた。運動する視覚目標を手で追跡するとき，脳は目標の将来の動きを予測してフィードフォワード的な運動制御を行っていると考えられる。実際，周期的に運動する目標に対する追従課題では手の運動の位相は目標の位相に先行することが報告されている。しかし，正確な追従を継続するには，目標と手の動きに関する視覚情報を参照してパフォーマンス評価と運動計画を反復的に実行することが必要である。この過程において，視覚情報がいつ・どのような形で参照され，運動制御のために利用されているのかは明らかではない。その一方，目標の動きを手で追従する課題においては，手で追従する条件では，手の動きにはしばしば不連続的な振る舞い（運動間欠性）が見られる。このような運動間欠性の生じる原因の一つは，手や目標に関する視覚情報が脳に伝達されるまでの遅延や計画された運動指令が発行されてからそれが手の動きに反映されるまでの遅延にあると考えられているが，その具体的なメカニズムについては十分に検討されていない。以上の問題を明らかにすることを目的として，正弦波状に運動する視覚目標に対する手動追従課題を行った。この際，目標の運動速度（0.3 - 1.2Hz）と方向（上下，左右）を変えることによって，手と視線の間の協調関係がどのように変化するのかを調べた結果を報告する。

（51）目は口ほどにものを言う：サッカードから運動の分節化を探る

鍋　知宏，宮下英三（東京工業大学大学院　総合理工学研究科　知能システム科学専攻）

人間は身体を駆使し他の動物では真似のできない複雑で多彩な運動を行うことが可能である。このような一見複雑に見える運動は，より単純な運動の連続としてとらえることができる。例えば図形を描画する腕の運動に注目すると，描き始めから描き終わりまでを１つの運動としてとらえると複雑であるが，三角形や四角形等の直線で構成される図形に関しては，直線部分において到達運動を連続して繰り返すことが報告されている。すなわち，このような図形を描画する際には図形の各頂点で運動が分節化されることが示されている。それでは，円な

どの頂点の無い曲線で構成される図形を描画する際，分節点は存在するのだろうか，あるとすればどこが分節点となるのだろうか。本研究は曲線図形を描画する際の分節化を視線位置と手先位置を計測することにより検討した。具体的には，サルを訓練し円形の曲線図形を 8 つの異なる開始点から時計回り・反時計回りの 2 方向に描画させた。その結果，手先位相に先行してサッカードが生じることが分かった。また，これらのサッカードは描画方向と開始点にかかわらず描画運動の前半に振幅の小さいサッカードが数回に分けて生じ，描画運動の後半に，運動終点にむけて振幅の大きいサッカードが生じる傾向があることが分かった。さらに，サッカードは手先軌道の曲率の変曲点付近で生じることが分かった。これらの結果は頂点の無い曲線で構成される図形を描画する際も分節化が生じることを示唆している。

（52）運動プリミティブによって規定される左右の腕の機能的差異

横井　惇[1,2]，平島雅也[1]，野崎大地[1]
（[1]東京大学大学院教育学研究科,[2]日本学術振興会）

両腕で動作を行う際，利き手が主要な作業を行い，非利き手はそれを支える，という一貫した傾向が存在する。このような役割分担は，左右の制御系の制御様式の差を反映していると考えられているが（Sainburg 2002），その具体的メカニズムについては明らかでない。今回の発表では，このような左右差が生じる仕組みを制御系の構成素子（運動プリミティブ）の特性における左右差から説明する。

我々はこれまでに，両腕運動中にそれぞれの腕運動に用いられる素子が両方の腕の運動情報を同時に表現していることを明らかにした（Yokoi et al. 2011）。同様の方法を用いて両腕運動中の左右の腕の素子のパラメータ推定を行い，その左右差から予測される左右の腕の運動学習能力の差を実験的に検証した。12 名の右利き被験者に両腕到達運動課題を行わせ，一方の腕の運動方向（4 方向のうちどれか：0,90,180,270≡）に応じて反対側の腕に時計回り（CW）または反時計回り（CCW）の力場が加えられる環境に適応させた（例：[0:CW],[90:CCW],[180:CW],[270:CW]）。その結果，左腕で学習を行った群（6 名）が右腕学習群（6 名）と比べて有意に高い学習量を示した（$p<0.05$）。また，これらの結果は推定された素子の左右差から予測される値と高い一致を示した。

以上の結果は，両腕運動中は非利き手の方が反対側の腕によって生じる外乱に素早く適応できるという優位性を示唆しており，このような制御系の構成要素の特性から導かれる機能的差異が，両腕協調動作における役割分担の発現に寄与している可能性を示している。

（53）少数筋群からなるフェーズ分けによる運動学習

西川　鋭[1,2]，新山龍馬[3]，國吉康夫[1]
（[1]東大院・情報理工，[2]学振・特別研究員(DC1)，[3]MIT・CSAIL）

動物の運動指令は少数のプリミティブからなるという筋シナジーの考えのもと，多くの研究においてプリミティブの抽出方法が検討されている。動物はこうしたプリミティブを用いることで，多数の筋を少ない次元で扱い，運動生成を容易にしていると考えられ，運動学習の観点からも興味深い。プリミティブの抽出には，PCA，ICA や NNMF(Ivanenko et al., 2005)といった数理的な独立性に基づく手法が広く用いられている。一方，運動野の知見に基づき発火同期に着目したプリミティブの抽出方法(Krouchev et al., 2006)も提案されている。この手法においてプリミティブがフェーズ毎になっている点，各プリミティブは少数の筋群からなる点が，運動学習においても有用と考え，本研究ではこの 2 点に着目する。

そこで，本研究では，こうしたフェーズ分けと少数の

筋で表す運動表現の運動学習に対する有効性の検討を行うことを目的とする。そのために，ロボットによる実証の第一歩として動力学シミュレータを用いた走行動作の学習を行った。

具体的には，フェーズ分けと各フェーズでの筋群の指令値で表される運動表現として Sparse Coding of Activation(Niiyama et al., 2009)を用いて運動学習を行った。指令値の初期値はヒトの走行中の筋電値データから決定した。

結果，14 筋という自由度に対し，数百オーダーの比較的少ない試行回数で平均 8m程度まで走行距離を伸ばすことができた。このことから，少数筋群からなるフェーズ分けが効率的な運動学習に有効であることが示唆される。

（54）サブリミナルプライミングによる応答の促進と阻害～日常生活物品を視覚呈示に用いて～

青木智子[1,2]，信迫　悟志[2]，森岡　周[3]
（[1]畿央大学　大学院　修士課程，[2]医療法人孟仁会　東大阪山路病院，
[3]畿央大学　大学院健康科学研究科）

補足運動野損傷において生じる道具の強迫的使用現象は，運動前野を中心とする刺激－反応運動系と補足運動野を中心とする内的表象－随意運動系の拮抗的システム（Della Sala1994）の破綻により生じるといわれている。補足運動野は競合する行為計画の無意識的・不随意的な抑制に関わっており，自動的な運動計画とその抑制について視覚性逆行マスキング課題を用いた研究（Eimer2003）が報告されており，prime 刺激から target 刺激までの時間感覚（SOA）が短い時には反応時間に正のプライミング効果が得られ，長い SOA 条件では負のプライミング効果が得られることが明らかになっている。また補足運動野損傷患者を対象にした研究では，長い SOA 条件で正のプライミング効果が得られることが報告されている。（Sumner2007）これらの先行研究では，prime や target に記号を用いており，道具の強迫的使用に特異的である日常生活物品を視覚呈示に用いた自動的な運動計画と抑制についての報告はない。そこで今回，物品の写真を prime と target に用いて調査した。結果，先行研究同様に短い SOA では記号，物品ともに反応時間に正のプライミング効果が得られ，長い SOA でも同様に記号，物品において負のプライミング効果が得られた。また短い SOA では，物品の方が正のプライミング効果が大きく，長い SOA では記号において負のプライミング効果が大きかった。このことは，運動前野の自動的活性化が抽象的な記号よりもより日常生活に則した物品において促進され易いことを表しており，道具の強迫的使用の発現機序を説明し得ると思われる。

（55）State-dependent spiking neuronal network characterization using Granger Causality based generalized linear models

高橋和貴[1]，Pesce, Lorenzo[1]，Iriarte-Diaz, Jose[1]，Hatsopoulos, Nicholas[1]，
Callum, Ross[1]，Sanggyun, Kim[2]，Coleman, Todd[1]
（[1]シカゴ大学，[2]カリフォルニア大学サンディエゴ）

Although most of movements are kinematically smooth, they can be decomposed into multiple either behavioral or kinematic states. However, how cortical network change according to those states have not been well established. In this study, we apply a notion of Granger causality to a point process model of spiking neurons to estimate functional connectivity among spiking neurons recorded simultaneously from an Utah array implanted in the primary motor cortex,

and investigated how Granger causally related network of neurons change their topology based on various behavioral or kinematically defined states, and how such changes in network can be related to dynamics of local field potentials.

（56）脳波筋電図コヒーレンスを用いた緊張性振動反射の発生メカニズムに関する検討

渡邉佳宏（慶應義塾大学理工学研究科）
牛山潤一（慶應義塾大学　医学部　リハビリテーション医学教室）
牛場潤一（慶應義塾大学　理工学部　生命情報学科）

腱への持続的な振動刺激により誘発される筋の不随意活動は緊張性振動反射 (Tonic Vibration Reflex, TVR) とよばれる。従来，TVR は伸張反射回路の連続駆動によって発生していると考えられてきた (Lance, 1966) 。その後，上位運動ニューロン障害患者では TVR が検出されにくいことが報告され，TVR 発現への上位中枢の関与が間接的に示唆されてからは (Hagbarth, et al., 1968) その発現メカニズムについて詳細な検討はおこなわれてこなかった。そこで本研究では，脳波－表面筋電図間および脳波－針筋電図間のコヒーレンス解析を用いて，TVR に対する大脳皮質活動の関与を直接的に明らかにすることを目的とした。実験では健常成人を対象として，座位にて右アキレス腱へ振動刺激を与え，同側ヒラメ筋から表面筋電図および針筋電図を，体性感覚運動野足部支配領域近傍の頭皮上からは脳波を計測した。結果，TVR 発現時には，随意収縮時と同様に，脳波－筋電図間に，20 Hz 帯域で有意なコヒーレンスが観察された。これは，TVR 発現に経皮質経路が関与していることを示していると考えられた。次に，針筋電図で記録した単一の運動単位活動を，各打腱時刻から伸張反射潜時相当の時間遅れで発火している群と，それ以外の発火群に分離した。それぞれについて，脳波とのコヒーレンスを解析した結果，後者の発火群にのみ 20 Hz 帯域で有意なコヒーレンスが観察された。以上の結果から，TVR は伸張反射によって賦活される成分と，経皮質経路によって賦活される成分とが混在して，発生していることが示唆された。

（57）横方向のロコモーションにおけるステップ間隔のゆらぎ解析

山下大地[1,2]，吉井祐八[1]，神崎素樹[1]
（[1]京都大学大学院人間・環境学研究科，[2]日本学術振興会）

日常生活やスポーツ競技場面では，横方向への移動が頻繁に用いられ，転倒防止や膝関節の傷害予防の観点から，安定した移動動作を行うことが重要である。これまで我々が行ってきた研究により，横方向のロコモーションは両脚支持期，跳躍期の有無によって Walk，Run，Gallop の 3 様式に分けられることが明らかになったが，本研究ではそれぞれの様式の変動性に着目して研究を行った。

トレッドミル上で 3 種類のサイドステップ動作を行った。実験前にそれぞれの様式で最も快適に行える速度を決定し，その速度で 8-11 分間の試技を行った。実施速度はそれぞれ 2.1 ± 0.2，4.0 ± 0.2，4.0 ± 0.2 km/h であった。中敷きに埋め込まれたフットスイッチにより，各足の接地・離地時刻を判定した。定常性の解析として変動係数（CV）を，非定常性の解析として，Detrended Fluctuation Analysis (DFA) 法を用いた。

結果，Walk，Run，Gallop の変動係数（CV）は 3.3 ± 0.7，3.3 ± 0.6，2.6 ± 0.6 %であり，DFA によって得られた α はそれぞれ 0.80 ± 0.13，0.88 ± 0.15，0.91 ± 0.13 であった。α の値は，0.5 はランダム性，1 は長期相関性のゆらぎを反映しており，3 様式とも長期相関性を持っていることが明らかとなった。　歩行の研究では α は加齢や神経疾患，動的自由度の大きさを反映することが報告されており，横方向のロコモーションにおいても

非定常解析がそれらとの関連性を反映させる方法として期待が持てる。

（58）接地状況を考慮した解剖学的神経筋ネットワークに基づく体性反射歩行コントローラの構築

村井昭彦，中村仁彦（東京大学大学院　情報理工学系研究科　知能機械情報学専攻）

歩行中の外乱に対して，ヒトは全身の筋を使って反応しバランスを取ることができる。これは外乱直後の体性反射による反応と，上位中枢を介したバランス維持に分けられる[Nashner1976]。一方ヒューマノイドロボットにおいて, COM の軌道の修正によるバランス回復[Sugihara and Nakamura2002]等外乱に対するコントローラの開発が数多く行われている。しかし外乱のセンシングや計算コストの問題等から大きな外乱にロバストに対応できるコントローラは少ない。体性反射による反応は機構的な実装が可能であり，上記問題を生まずにコントローラをロバストにすることができる。

本研究では，筋骨格モデル及び神経筋ネットワークを構築し[Murai and Nakamura2009]，体性反射システムの同定を行っている。神経筋ネットワークは筋の固有感覚を入力とし，信号伝達の時間遅れを考慮した筋活動度を出力する。そして各固有感覚受容器と筋のネットワークは，脊髄を介した解剖学的な接続に基づいたニューラルネットワークとして表現される。同定において，まず運動データから筋活動度及び固有感覚を推定する。そして固有感覚から筋活動度が出力されるようネットワークの重みパラメータを学習する。ここでは足の接地によりネットワークの切替を行い，学習の比較を行っている。接地を考慮しない場合と比較して歩行で 13.2%，走行で 26.8%の学習後のエラー低減が認められる。また得られた体性反射ネットワークを歩行コントローラとして，体性反射による筋活動と順動力学計算に基づく歩行や外乱に対する反応のシミュレーションを行っている。

（59）予測的姿勢調節と代償的姿勢反応との筋活動の関連性について

萬井太規，泉　達弥，泉小西智也，津田章代（北海道大学大学院保健科学院）
浅賀忠義（北海道大学大学院保健科学研究院）

【背景】随意運動に先行して出現する姿勢反応を予測的姿勢調節 (APA)，姿勢動揺の感覚入力に起因して出現する姿勢反応を代償的姿勢反応 (CPR) と称されており，これらの制御上の関連性については明らかではない。本研究の目的は，筋活動量を指標として APA と CPR の関連性について明らかにすることだった。【方法】健常若年男性 8 名を対象とした。素早い両上肢の水平外転運動により物体（重錘 A) を離す課題と，それと同時に重錘（重錘 B) を取り付けた紐で体幹が牽引される課題によって生じる 2 つの姿勢動揺により APA 筋活動と CPR 筋活動の両方を同施行内で生じさせた。重錘 A（体重の 7%，3.5%，0%) と重錘 B（体重の 5%，2.5%，0%) の組み合わせを変えた計 8 課題を実施した。重錘 A を一定にし重錘 B を変えた組み合わせを group-1，group-2 とし，重錘 A を変化させ重錘 B を一定にした組み合わせを group-3，group-4 とし，10 姿勢筋の各積分筋活動量を二元配置分散分析により比較した。【結果】重錘 A の重さが体重の 7%と 0% (Group1 と Group2) の課題の比較では，CPR 筋活動に関して重錘 A の主効果はなく，重錘 B の重さのみ主効果が認められた。重錘 B の重さが体重の 5%と 0% (Group3 と Group4) の課題の比較では，APA 筋活動に関して重錘 A と重錘 B 共に主効果が認められ，相互作用も認められた。【結論】CPR 筋活動は APA 筋活動に影響されず CPR を誘発する感覚刺激に依存する。一方，APA 筋活動は CPR 筋活動の影響を受け，直後の姿勢動揺の大きさを予測して変化する。

（60）大腿部における筋のシナジー活動

萩生翔大，神﨑素樹（京都大学大学院　人間・環境学研究科）

【目的】複雑な動作を行う際，中枢神経系が膨大な情報をより組織化するためにとっている戦略として，機能的に類似した筋をまとめて支配する，シナジーという概念が提唱されてきた。すなわち，中枢神経系からの入力は直接筋ではなくシナジーに伝えられるため，この入力が力発揮という出力に大きく関係していると考えられる。本研究は，力変動とシナジーの総活動量との関連から，未だ概念であるシナジーを定量することを目的とした。

【方法】被検者は，健常成人男性 6 名であった。実験は椅座位にて行った。実験課題は，水平面上で 30° 毎，12 方向へ，20 秒間の等尺性の力発揮とした。力の大きさは，10N，20N とし，計 24 試行行った。課題中，大腿部周りの計 12 筋より，表面筋電図を導出した。力は足関節上部に装着した 3 分力計により記録した。前後方向と内外方向の力波形から目標とする方向に対する力のばらつきとして，η 値を算出した（Kutch JJ et al., 2008）。また，被検者，力の大きさ毎に，12 筋，12 方向の各表面筋電図平均振幅から，12×12 の正方行列を作った。作成された行列に対して，NMF 解析（Lee DD & Seung HS, 1999）により，シナジーとその活動度を表す 2 つの行列に分解した。

【結果・考察】各方向に対するシナジーの総活動度と，η 値の間には高い負の相関があった。これは，中枢神経系からシナジーへの総入力量が多いほど，目標とする方向に対する力のばらつきが大きくなることを表している。またこの結果は，従来概念として考えられてきたシナジーが，実際に生体内に存在することを示唆している。

（61）身体重心動揺をフィードバック信号とした床面動揺が立位姿勢調節に及ぼす影響

井原壽一（芝浦工業大学大学院）
河島則天（国立障害者リハビリテーションセンター研究所）
山本紳一郎（芝浦工業大学）

我々は平地で立っている時，意識的な調節なしに姿勢を維持することができる。立位姿勢の調節は，筋腱組織のスティフネス調節，脊髄反射系，前庭系による自律的な神経調節が担う部分が大きく，外部環境の変化などに応じて脳からの随意指令が重畳される。本研究では，ヒトの立位姿勢調節の仕組みをこれまでとは異なる視座から探ることを企図として，被験者自らの身体重心動揺量をフィードバック信号として床面（モーションベース装置）をリアルタイムに動揺させ，姿勢動揺量を操作的に増幅，あるいは減弱（相殺）させる実験システムを構築した。この実験システムを用いることで，姿勢調節に関わる反射調節と随意調節の貢献度を操作的，かつ潜在的に変化させ，ヒトの立位姿勢制御の仕組みを新たな視点から検討することが可能になるものと考えられる。本実験システムでは，被検者の身体重心位置(center of mass: COM)の前後方向の変位を腰部にレーザー変位計を照射することで計測し，得られた重心位置情報と予め設定されたフィードバックゲインに基づいて，モーションベースシステムが動作する。フィードバックの方向性を変えることで，被検者の重心位置が前方に動くとモーションベースも前方に動く順方向条件(in phase)，被検者が前方に動くとモーションベースが後方に動く逆方向条件(anti phase)が実現できる。本報告では，①静止立位条件，②随意的な前後動揺条件下での床面フィードバック動揺が姿勢調節にいかなる影響を及ぼすのかを，足圧中心(CoP: Center of pressure)，筋活動の振る舞いから検討したので紹介する。

（62）片麻痺患者の立位における安定性限界の特性について

津田章代[1,2]，望月智行[2]，小西智也[1]，泉　達弥[1]，萬井太規[1]，山本敬三[3]，浅賀忠義[4]
（[1]北海道大学大学院保健科学院，[2]医療法人ひまわり会札樽病院，
[3]北翔大学生涯スポーツ学部，[4]北海道大学保健科学研究院）

【背景】脳卒中後の片麻痺患者は一般に非麻痺側への荷重が多く，麻痺側下肢は外旋位となる。支持基底面 (BOS) 内で足圧中心 (COP) を随意的に移動できる範囲のことを安定性限界と称されているが，麻痺側下肢の非荷重や外旋位が安定性限界や足底の荷重配分にどのような影響を与えるのかは検証されていない。本研究の目的は，片麻痺患者の立位における安定性限界と足圧分布について健常者と比較することにより，その特徴を明らかにすることだった。【方法】対象は，片麻痺患者 (65.0±14.2 歳) 10 名，健常者 (66.9±14.1 歳) 11 名だった。足圧分布の測定には Pedar-x (Novel 社製) を使用した。被験者は，左右下肢の外旋角度が対称である場合と，片麻痺患者は麻痺側下肢，健常者は利き足を 30° 外旋した場合，45° 外旋した場合のそれぞれの条件で前後左右に片手でリーチ動作を行った。前後左右の COP 最大到達位置を結んだ線に囲まれた面を安定性限界として BOS との面積比を比較した。足圧は COP 最大到達時の分布を比較した。【結果】片麻痺患者の安定性限界の面積比はすべての条件において健常者より有意に小さかった。また，健常者は BOS が広くなるにしたがって安定性限界の面積比が有意に大きくなるが，片麻痺患者は変化しなかった。さらに，片麻痺患者は麻痺側へのリーチの際，すべての条件において非麻痺側の母趾，前足部と麻痺側踵への荷重が有意に強く，麻痺側の母趾と前足部への荷重が有意に弱かった。【結論】片麻痺患者は下肢の外旋によって BOS は広がるが，麻痺側母趾や前足部への荷重が弱いために安定性限界は広くならない。

（63）身体の力学的特性による歩行時の脚関節間シナジー

豊田誠治，垣内田翔子，橋爪善光，西井　淳
（山口大学大学院理工学研究科）

ヒトの歩行における脚関節軌道は 1 歩毎に若干異なるが，例えば，遊脚中に振り出した足先が床に近づきつまづき易くなる瞬間などの転倒防止に重要な時期には，足先位置のばらつきを抑える関節間の相補的な協調運動が観察される。このような脚関節間シナジーは，中枢神経系の制御により生じている可能性の他，筋骨格系の力学的特性により生じている可能性もある。本研究ではこの点を明らかにするため，アクチュエータを持たず重力のみを利用した歩行を行える受動歩行機における脚関節間シナジーを調べ，ヒトの場合と比較を行った。

その結果，受動歩行機とヒトの両者において，踝が地面から離れて踝を上へ持ち上げる時期に踝関節の水平位置を調節する関節間シナジーが，また，遊脚中に振り出した脚の踝関節が膝関節の真下を通る時期に踝関節の鉛直位置を調整する関節間シナジーが働いていることが分かった。すなわち，ヒトの歩行におけるこれらのシナジーは，身体の力学的特性により生じている可能性が高い。そして前者は重心の水平位置の揺動を小さくし，後者は地面との接触によるつまずきを避けることで安定した歩行の実現をすることに寄与していると考えられる。一方，ヒトの場合にのみ接地期後期に腰の高さを調節するシナジーが観察された。これは体幹位置を調節して転倒を防止するために中枢神経系の制御によって生じたシナジーである可能性が高い。以上の結果は，ヒトは身体の力学的特性によって生じる脚関節間シナジーを活用し，さらに中枢神経系の制御を加えることで歩行の安定化を図っていることを示唆する。

（64）運動学シナジーに基づくヒトの歩行制御構造の力学解析

舩戸徹郎 [1,2]，青井伸也 [2,3]，冨田　望 [1,2]，土屋和雄 [1,2]
（[1] 同志社大学，[2]JST CREST，[3] 京都大学）

ヒトの歩行は冗長な筋・骨格と環境との相互作用によって生成される複雑なシステムであり，ヒトはこの冗長な体をうまく利用して環境に適応する。実験によって，歩行中の全身の筋・関節は相互に高い相関を保って動くと指摘されており，運動全体を組織化する構造：シナジーがみられる。ヒトの冗長制御の性質を反映したシナジーの性質は，様々な実験・解析を通して論じられており，特に脊髄小脳路における上向性の信号と運動学シナジーの時系列信号に高い相関が観察されることから (Poppele RE et al., J Neurophysiol, 2002, Ivanenko Y et al., J Neurosci, 2007), シナジーが直接フィードバック制御系に関与することが期待される。一方で実験的な研究のみでは制御戦略の違いと環境からの反作用を区別することができず，制御構造を論じるには困難があった。本研究では，歩行実験によって関節の動きから求めた運動学シナジーを常にフィードバックする制御系と，7 リンクの骨格モデルを組み合わせたシステムモデルを構築し，構成論的にヒトの制御戦略を調べている。実験データと制御モデルの生理的知見に基づいて本研究で構築されたシステムモデルは，平地及び傾斜面上で安定な歩行を示し，ヒトの歩行実験と同様の運動学シナジーを示した。さらに，シナジーに対する制御及び環境に応じた姿勢制御の寄与を変化させて運動の変化を調べることで，環境に応じた全身の姿勢変化が体幹の変化の反作用として生じること，斜面に応じたシナジーの調整が歩行適応に有意に働くことを示した。

（65）健常者における極低速域歩行の歩行比

村神瑠美 [1,2]，倉山太一 [1]，鎌田浩志 [2]，大高洋平 [2,3]
（[1] 千葉大学大学院医学研究院，[2] 東京湾岸リハビリテーション病院，
[3] 慶應義塾大学医学部リハビリテーション医学教室）

【目的】歩幅を歩行率で除した値は歩行比と呼ばれ，自由歩行において一定であるとされる。歩行比は高速域で急激に変化し走行へ切り替わるが，低速域での検討は少ない。本研究では極低速域における，歩行比の変化を検討した。【対象】同意の得られた若年健常成人 21 名を対象とした。本研究は倫理審査委員会の承認を得て施行した。【方法】5 段階の主観的速度（高速，快適，やや低速，低速，極低速）の平地歩行を実施し，歩幅，歩行率から歩行比を算出し速度との関係について解析した。【結果】各主観的速度における歩行比を比較した（Paired-t test, Bonferroni 補正）。低速，極低速の 2 条件において，他の全ての条件に対して有意差(P<0.01)が認められ，低速，極低速になるに従い歩行比は増大した。一方，その他の 3 条件間では有意な差を認めなかった。そこで，低速，極低速の 2 条件を低速域，それ以外の 3 条件を非低速域とし，各速度域それぞれにおいて，歩行速度と歩行比の直交回帰直線を求め，その交点から歩行比が変化する速度（シフトポイント）を算出した。結果，シフトポイントは 56.2m/min となった。また，非低速域では，歩行率と歩幅の相関を認めたが（Spearman 順位相関係数，Bonferroni 補正，P<0.05)），低速域では有意な相関を認めなかった。【考察】歩行比は低速域において一定性を失った。通常歩行は，重力を利用した振り子運動と捉えることができるが，極低速域ではこうした歩行を規定している基本原理が成り立たなくなる可能性がある。

（66）スプリットベルトトレッドミルを用いたヒト二足歩行運動の位相反応曲線の測定

奥　啓明，荻原直道（慶應義塾大学）

ヒトは，不意の外乱に対しても，転倒することなく二足歩行運動を持続することができる。このようなヒトの適応的歩行運動の生成メカニズムを明らかにすることを目的として，ヒトの歩行中の外乱応答を調べる実験的研究が行われているが，近年，脊髄リズム生成神経回路網から下肢の各筋へ送られる律動的運動指令の，外乱入力に対するリズム（位相）の修正が，適応的歩行運動の生成に本質的に重要であることが示唆されている。しかし，ヒトの歩行中に外乱を与え，そのときに起こる身体応答と歩行リズムの修正を計測し，そこから適応的歩行運動の生成原理に迫る試みはほとんど行われていない。そこで本研究では，スプリットベルトトレッドミルを用いてヒトの二足歩行時に外乱を与え，ヒトの歩行リズムの修正メカニズムを明らかにすることを目的とした。具体的には，スプリットベルトトレッドミル上を一定速度で歩行する 4 名の被験者に対して，ベルト速度を瞬間的に減速・加速させることで支持脚に外乱を作用させた。そして，外乱の入力位相（タイミング）と歩行リズムの修正量（リセット量）の関係を位相反応曲線として求めた。その結果，歩行の位相は減速外乱においては遅れ，加速外乱においては進むこと，また外乱位相の修正量は外乱の入力位相に依存し，両者の間には減速外乱では負の，加速外乱では正の相関があること，立脚期前半で位相の修正量が大きく，後半で小さくなること，などが明らかとなった。このような歩行リズムの調節機構が，外乱に対する歩行運動の適応機能に大きく寄与していると予想される。

（67）ヒト歩容遷移運動時のキネマティクスデータ解析

冨田　望[1,3]，上江洲佑典[1]，勝部晃將[1]，舩戸徹郎[1,3]，青井伸也[2,3]，土屋和雄[1,3]
（[1]同志社大学，[2]京都大学，[3]JST CREST）

ヒトは運動速度などに応じて歩行から走行，走行から歩行へと歩容を遷移させる。歩行と走行はどちらも左右対称な歩容であるが，その力学的メカニズムは大きく異なる。歩行は，接地脚中に膝があまり曲がらず，倒立振子でモデル化される運動である。一方，走行は接地脚中に膝が曲がるばね質量系でモデル化される運動である。これら力学的に異なる歩容がどのようなメカニズムで遷移するのか，未だ明らかにされていない。過去の定常速度運動における研究として，Borgehese らや Ivanenko らは歩行，走行の際の大腿，脛，足のリンク絶対角を 3 次元状態空間に描くと，その軌跡は速度や被験者によらず，ほぼ一定の 2 次元平面に拘束されることを示した。これら結果はある種の脚内協調関係が存在することを示しており，それを実現する制御拘束が作用している可能性が示唆されている。また，遷移時のキネマティクスデータを分析した数少ない研究として，Segers らの研究が挙げられる。彼らは，遷移時のヒトのリンクモデルから定義される絶対角や相対角の分析から，歩行走行遷移がほぼ一歩で完了することを示した。しかし，この研究では遷移付近における制御拘束について言及していない。本研究では，まず脚間の動きに注目することで，遷移がどのようなダイナミクスで実現されているかを調べた。その上で，特異値分解法により遷移時の脚内の協調関係を観察した。その結果，歩行走行遷移における第１モードの空間基底は変化せず，第２モードは１ステップ以下の時間で瞬間的に変化することがわかった。

（68）脊髄完全損傷者の麻痺下肢に生じる歩行様筋活動の長期適応変化

河島則天（国立障害者リハビリテーションセンター研究所）
中澤公孝（東京大学大学院総合文化研究科）

下肢の運動麻痺を持つ脊髄損傷者の場合，自力での歩行は困難だが，下肢装具を装着することで歩行運動が可能となる。興味深いことに，装具歩行中には，脳と麻痺領域の神経連絡が途絶している完全損傷の場合でも，下肢の筋群に歩行周期に同調した筋活動が発現する。この筋活動は，歩行運動に伴う末梢性感覚入力によって脊髄運動ニューロンの活動が喚起された結果として生じるものと考えられるが，単に筋の伸張などの物理的変化によってのみ生じるのではなく，脊髄内の介在ニューロン群で構成される「脊髄歩行中枢」の活動を反映するものと考えられている。

この「歩行様筋活動（locomotor-like muscle activity）」の発現は，歩行に関連した適切な感覚情報が与えられれば，脳との神経連絡が絶たれていても脊髄歩行中枢の活動が惹起できる可能性を示唆するものである。本報告では，受傷後１１年にわたって装具歩行を継続している脊髄完全損傷者のフォローアップ計測の結果を示し，上記の歩行様筋活動の長期的変化の観察から，装具歩行の繰り返しによる求心性感覚情報が脊髄歩行中枢の可塑的変化（use-dependent plasticity）を生ずるのか否かを議論してみたい。

（69）人工神経接続を利用した下肢歩行運動の随意制御

笹田周作[1]，加藤健治[1]，グロイス J ステファン[2]，
門脇　傑[2]，宇川義一[2]，小宮山伴与志[3]，西村幸男[1,4]
（[1]生理研　発達生理学研究系，[2]福島県立医科大　神経内科，
[3]千葉大学　教育学部，[4]科学技術支援機構）

脊髄損傷による歩行機能の喪失は，腰髄にある下肢歩行中枢への下降性入力の遮断が原因である。しかし，損傷領域の上流である上位中枢及びその下流にある脊髄内神経回路網はその機能を残存しており，それらを何らかの方法で人工的に神経接続できれば歩行機能再建の可能性がある。本研究は，随意的な歩行様腕振り運動中に生じる上肢筋の活動パターンに依存した腰髄への脊椎上磁気刺激により上肢筋―腰髄間の人工神経接続を形成し，人工神経接続を介した上肢筋による下肢歩行様運動の随意制御を試みた。上肢筋―腰髄間の人工神経接続は，随意的下降性神経活動の代わりに腕振り運動中に生じる三角筋の筋活動様式の振幅変化に比例して頻度変調する刺激波形により，下肢歩行中枢がある腰髄へ脊椎上磁気刺激を施すことによって達成した。人工神経接続下では，腕振り運動により下肢の歩行様運動が生じた。また，上肢筋活動を随意制御する事により下肢歩行様運動の開始・停止，更にその歩調もまた変調可能であった。この運動は腓腹神経への刺激を加えることで増大した。人工神経接続を利用して下肢歩行様運動を随意制御することが可能であり，脊髄損傷患者の随意歩行機能再建が出来る可能性を示している。

（70）子どもと成人の歩行中の関節間協調の比較

垣内田翔子[1]，橋爪善光[1]，飯田悠佳子[2]，鳥居　俊[3]，西井　淳[1]
（[1]山口大学，[2]国立精神神経医療研究センター，[3]早稲田大学）

ヒトは，膝関節が伸びすぎたら足関節を曲げるというように，互いの関節の動きを補い合うように協調的に動かすことで，外乱に柔軟に対応して転ばずに歩行をしていることが近年の研究結果により示唆されている。一方，子どもの歩行は成人の歩行様式とは違うことが違うことがよく知られているが，上記のような関節間協調の視点からどのような違いがあるのかはまだ明らかになっていない。そこで本研究では，関節間協調の視点により小学３年生の子供と成人の歩行中の関節間協調の様子にどのような違いがあるかあるかを探った。その結果，小学３年生の被験者６人中３人の被験者の歩行中の関節角度の一歩ごとのばらつきは成人に比べて大きく，関節間協調の視点から比較しても成人とは異なっている点があることがわかった。例えば，立脚期前期において成人の場合は足先の水平位置を調整する関節間協調は弱いが，ばらつきの大きい子どもは足先位置を調整する関節間協調が強く観察された。また，成人は後期両脚支持期（対側の着地後）に足先位置を調整する関節間協調が強く観察される一方で，子どもはそのタイミングが両脚支持期以前にずれて観察されることがわかった。これらのことは，成人の歩行様式に至るまでにヒトは関節間協調の活用法が変化していることを示唆している。

（71）第一次視覚野損傷後の視覚誘導性サッケードに関連する—皮質および皮質下領域：Positron emission tomography (PET) による測定

加藤利佳子[1]，池田琢朗[1,2]，尾上浩隆[3]，河原正幸[4]，
尾上嘉代[3]，林　拓也[3]，吉田正俊[1]，高浦加奈[1,5]，塚田秀夫[4]，伊佐　正[1]
（[1]生理学研究所　認知行動発達機構研究部門，
[2]カナダ Queen's 大学　Center for Neuroscience studies，
[3]理化学研究所　分子プローブ機能評価研究チーム，
[4]浜松ホトニクス中央研究所，
[5]理化学研究所　適応知性研究チーム）

第一次視覚野(V1)に損傷を受けると，その障害視野に提示された視覚刺激に対する“見える”という視覚的意識は失われる。しかし患者の中には，その意識に昇らない刺激に対し手を伸ばしたり眼を向けるといった定位行動が可能なことが報告されてきた。この現象は“盲視”と呼ばれている。我々は，最近，盲視における網膜視蓋経路の重要性を明らかにした(Kato et al. 2011)が，皮質の視覚運動経路の寄与については，ほとんど明らかではない。

そこで我々は,”盲視”のモデル動物として片側 V1 を除去したサルを用い，視覚誘導性サッケード中の脳活動を PET により調べた。

本実験課題では，一回の PET スキャン中に行う視覚誘導性サッケード数の割合を 1:2:3:4:6 とした 5 つの条件を設定した。そして，回帰分析によりこの割合に関連して活動の上昇する脳部位の同定を行った。

結果，V1 損傷前には，視覚野と前頭眼野において，サッケード数との関連が観察された。一方，V1 損傷後は，損傷側の上丘および視床枕において関連が見られた。また，皮質の３領域：背外側前頭前皮質， 外側頭頂間野(LIP)，MT 野においても，サッケードと比例した活動の上昇が両側で見られた。

これらの結果は，LIP および MT は，損傷後，網膜視蓋経路より上丘および視床枕を介して入力を受け，視覚情報伝達に寄与することを示唆する。また皮質３領域は，損傷側のみでなく対側領域も，V1 損傷による障害の補償

への寄与が予想される。

（72）皮質盲視野における連合学習

高桑徳宏[1]，加藤利佳子[1]，Peter Redgrave[2]，伊佐　正[1]
（[1]生理学研究所認知行動発達機構研究部門，[2]Dept Psychol, Univ of Sheffield）

人は目的を達成するために行動を考え，意思決定をし，遂行している。その目的は利益や危機回避などの報酬に分類されるものが多い。一方，人間がとる行動の中には無意識に行われているものが多く含まれている。報酬を得るためにとる行動もまた，無意識下で行っているものがあると考えられる。しかし，無意識下で報酬を得るための適切な行動を学習することは可能かについてはほとんど調べられていない。本研究では，意識に上らない感覚情報と報酬の関連を学習出来るかを明らかにすることを目的とした。無意識下での感覚情報の処理を調べるために“盲視”のモデル動物であるニホンザルを使用した。第一次視覚野を損傷すると反対側視野に提示された対象を見えるという知覚意識がなくなるが，一部の患者ではその対象に手を伸ばしたり目を向けることができるという報告がある。この現象は盲視と呼ばれている。本研究では，片側第一次視覚野を損傷したサルの障害視野内に視覚刺激を提示することで，意識に上らない視覚刺激の位置と報酬量との関連を学習させた。サルは課題中，画面中央の注視点を見続ける。注視中に提示位置により区別され，得られる報酬量とタイミングが異なる CS+(多い報酬を示す）および CS－(少ない報酬を示す）を視野内に提示する。これらの CS をもとに，報酬の量および得られるタイミングを学習し，それに適した行動 (licking:報酬の出るチューブを舐める行動) を予測的に行うようになるかを検証した。その結果，CS+刺激に対して予測的な licking 行動が学習されたことから，意識に上らない視覚刺激と報酬との関係について学習を行うことが可能であることが判った。

（73）動画視聴時の情報解析機構–時間・空間反転刺激を用いた研究–

須田悠紀（順天堂大学大学院医学研究科神経生理学）
北澤　茂（大阪大学生命機能研究科ダイナミックブレインネットワーク研究室）

健常者が動画を見る時，視線を向ける場所や移動させるタイミングは驚くほど一致している(Nakano et al. 2010)。健常者は動画の情報を処理して視線を制御する神経機構を共有しているのだろう。本研究では，動画の視覚情報処理に要する時間と処理機構の一端を明らかにすることを目的として，動画，時間逆転再生動画，上下反転動画を見る際の視線の時空間パターンを 27 名の被験者で計測し比較した。

まず，情報処理時間を推定するために，標準刺激と時間逆転刺激に対する視線時系列を比較した。一方の時系列を時間逆転した時系列ともう一方の時系列間の距離は，680 ms ずらした時に最小となった。この時間差は，視覚情報を処理して視線を向けるべき場所を決定するのに要する時間と，単純な視覚刺激からサッカード開始までの潜時の和の 2 倍の推定値となる。サッカードの潜時を 170 ms と仮定して，視覚情報処理に要する時間は 170 ms と推定された。

次いで，動画の明るさ，コントラスト，色，動きなどの低次視覚特徴量に基づいて計算した「重要度」の時空間パターン(n = 20)と，実際の視線の時空間パターン(n=27)を比較したところ，両者は全く重なりのない 2 群に分離した。つまり，ヒトの脳は低次視覚特徴量だけで視線制御を行っているのではない。情報処理時間は登場人物 1 名あたり約 100 ms ずつ増加し，上下反転で約 70 ms 増加した。健常者の動画情報解析機構は，通常の上下関係を仮定した人物の抽出と重要度の比較を一人当たり

100ms という短時間で行っていることが示唆された。

（74）オドボール課題遂行中のサル視床ニューロンの予期的活動

松山　圭，國松　淳，田中真樹（北海道大学医学研究科神経生理学分野）

【背景と目的】最近，我々は，オドボール課題遂行中のサル小脳歯状核から単一ニューロン記録を行い，刺激を繰り返し提示することによって感覚応答が増大する現象を発見し，本研究会等で報告している。これらの信号が，下流の視床大脳経路でどのように処理されているかを調べた。

【方法】一定間隔で視聴覚刺激を提示し，その不意の欠落を検出して眼球運動で答えるようにサルを訓練した（欠落オドボール課題）。刺激間隔は，試行ごとに 100～600 ms の 5 種類のいずれかを用いた。サルを十分に訓練した後，視床 VL 核周辺から単一ニューロン記録を行った。

【結果】刺激に応答する３３個のニューロンを記録したところ，３つのグループに大別できた。①約２割では，刺激に対して常に一定の応答が見られた（Sensory type）。②約３割では，歯状核ニューロンと同様に，刺激を反復提示することで徐々に応答が増大した（Entrainment type）。③約半数では，繰り返し刺激によって感覚応答の潜時が変化した。これらの細胞では，反復刺激後，刺激のタイミングにほぼ同期した神経活動が見られた（Prediction type）。

【考察】第三の細胞群の神経活動は，前二者の情報を統合することによって作り出され，その情報はさらに下流の前頭葉皮質において刺激タイミングの予測情報として利用されている可能性がある。

（75）把握運動は複数のフィードバックループによって制御されている

武井智彦，関　和彦（国立精神・神経医療研究センター神経研究所モデル動物開発研究部）

The contributions of the spinal reflex loop and the transcortical loop to the control of the voluntary movement are still unclear. Here we explore it by recording LFPs of spinal and cortical neurons and by examining their coherence with the EMG activities in monkeys performing a precision grip task. Spinomuscular (SMC) and corticomuscular coherence (CMC) showed a significant beta-band peak (~20Hz), and the directed coherence analysis revealed that they consisted of the bi-directional interactions. Interestingly, SMC and CMC emerged alternatively during the precision grip task. These results suggested that the two feedback loops are independently utilized for the control of hand grasping.

（76）随意運動司令による皮膚感覚入力の制御：脊髄及び大脳皮質における感覚抑制

関　和彦（国立精神神経医療研究センター神経研究所）

すべての運動は必然的に感覚信号を生む。この運動に付随して起こる感覚信号は求心性神経を介してやはり必然的に中枢神経系の神経細胞を活性化し，直接間接的に運動制御と関連する。しかし，この半自動的に引き起こされる感覚信号の全てが，今行われている運動のコントロールに有用だとは思えない。脊髄損傷など反射回路の亢進などによって引き起こされる感覚信号などはその一例である。中枢神経系はこのような有用でない感覚

入力信号に対して，ただ受動的に興奮させられているのか？私達の最近のサルの大脳皮質及び脊髄を対象とした電気生理学的実験から，運動時にはすべての部位で運動と関連のない皮膚感覚入力が抑制されていることが明らかになった。さらに，この感覚入力に対する抑制の大きさは，行われている運動のパフォーマンス（反応時間）と正の相関があることがわかった。つまり，末梢感覚を抑制できた場合，より良い運動を行うことができたことになる。従って，生体の随意運動の際には不要な感覚入力をその入力段において抑制する働きがあり，それが運動の制御に貢献していることが示唆された。

（77）Do motor commands contribute to positional estimation?

木村聡貴，五味裕章（NTT コミュニケーション科学基礎研究所）

We examined whether motor commands can be used for estimation of limb□s position when sensory information is uncertain. Subjects performed active or passive right wrist flexion to several targets, and then reproduce the perceived right movement using the left hand. We imposed no online visual feedback of both hands and transient vibration to the right wrist extensor to disturb the proprioception, which was designed to increase proprioceptive uncertainty. Result showed that in the reproducing hand proprioception-biased error occurred in the passive task but reduced in the active task, suggesting that efference signals compensate sensory uncertainty for estimating limb state.

（78）操作力知覚に対する重力の影響

坂尻太司，田中由浩，佐野明人
（名古屋工業大学大学院工学研究科機能工学専攻）

本研究では，操作感の知覚メカニズムを解明することで，ステアリング操作系に対する新たな設計因子を導出することを大きな目標としている。ステアリング操作は基本的に両手操作であり，しかも重力下での操作となる。一方の手は重力に従い，もう一方は重力に逆らう逆相運動を行うことにより，操舵という回転運動を行っている。このように，左右で異なる運動を行っているにもかかわらず，想起される操作感は一つである。このような対象に対して，これまでに左右独立構造のステアリングを独自開発し，左右の腕における操作特性と操作感の知覚現象を個別に解析してきた。この結果，ヒトは重力方向と操作方向の関係により，上肢運動制御を切り替えている可能性を見出した。本稿では，ステアリング操作における左右の腕の知覚特性について議論する。重力に従う操作と重力に逆らう操作について，操作力の知覚特性を調査するために心理物理実験を行った。実験の結果，両操作の間で操作力の感じ方に差異があることを明らかにした。

（79）運動観察による巧緻運動技能向上メカニズム

野嶌一平，川又敏男（神戸大学大学院保健学研究科）
小金丸聡子，福山秀直，美馬達哉（京都大学脳機能総合研究センター）

本研究の目的は，視覚的に誘発された運動感覚錯覚の運動機能に与える影響を，運動学的側面と神経生理学的

側面より検討することである。神経生理学的検討には経頭蓋磁気刺激（TMS）を使用し，介入前後の運動関連領域の興奮性変化を計測した。運動課題は２つのボールを非利き手（左手）でできるだけ早く回す課題とした。TMS 計測では，右一次運動野（M1）における運動誘発電位（MEP）と運動皮質内の促通抑制（ICI/ICF）を測定した。介入方法は被験者の左手の上にモニターを設置し，課題熟練者（第 3 者）の課題遂行映像を被験者の左手と映像が重なるように提示する方法とした。この方法により，被験者は自身の左手が実際に動いているような錯覚が誘発された。対照課題としては，第 3 者が左手のボールを持っている静止画を注視させる課題を行った。結果は，錯覚入力により左手運動機能の有意な向上が見られると共に，右 M1 における MEP の有意な向上も見られた。特に，運動皮質内において抑制回路に変化は見られなかったが，促通回路で有意な亢進が認められた。一方，対照群では運動機能と M1 興奮性共に変化が見られなかった。これらの結果より，視覚的に錯覚入力を与える今回の方法は，皮質内促通回路が活性化されることで視覚入力対側の M1 を含む運動関連領域の興奮性が促通され，それに伴い運動機能の向上が得られた可能性を示唆しているものと考える。この方法は，重度運動麻痺を呈する患者などに対する，神経リハビリテーションとして有用な方法になり得るかもしれない。

（80）進み視覚フィードバック条件下の到達運動

大山剛史（岡山県立大学　情報工学部　スポーツシステム工学科）

ヒトの運動制御において視覚によるフィードバック制御は大きな要素を占める。視覚フィードバック信号の遅れ時間の増大が運動制御に与える影響を調べるために，手先などの位置を遅れて表示させる実験は従来数多く報告されてきている。一方で，手先などの位置を進めて表示させた実験は行われてきていない。

本研究は視覚フィードバック信号の遅れ時間がヒトの運動制御に与える影響を調べるために，視覚フィードバック信号の遅れ時間を減らす手法について調べた。手先の位置を 50 ミリ秒進めて被験者に提示させることで，視覚フィードバック信号の遅れ時間を減らす条件を作成できると考え，先の時刻における手先の軌道を予測する方法について考察した。上肢の 2 点間の到達運動が多項式によって近似できるという仮定のもとでいくつかの条件を試したところ，2 次の多項式を用いた手法によって軌道を予測できることを確かめた。

提案した手法を用いて通常条件・視覚進み条件・視覚遅れ条件の 3 条件のもと，利き手と非利き手でそれぞれ 2 点間の到達運動を計測した。3 条件はランダムな順序で提示され，一つの条件について 20 試行を計測した。右利きの 4 名の被験者について軌道の終点の位置に対する時間（通常・進み・遅れ）×手（右手・左手）の影響を調べた結果，遅れ条件では終点が通常条件よりも行き過ぎること，進み条件では終点が通常条件よりも届かないこと，利き手と非利き手で視覚進み/遅れの影響に差があることが明らかになった。

結果は利き手と非利き手において視覚フィードバックの遅れ時間に対する処理が異なることを示唆するものであると考えられる。

（81）Rapid updating of sensorimotor memory in grasping virtual objects

塗木淳夫，川畑匠朗，湯ノ口万友（鹿児島大学理工学研究科）
外園洋輝（鹿児島大学工学部情報生体システム工学科）
丸山敦夫（新潟医療福祉大学健康科学部健康スポーツ学科）
M. DAVARE，R. N. LEMON，J. C. ROTHWELL（英国ロンドン大学神経研究所）

We studied whether a conflict between vision and haptics in the previous lift has an effect on the force planning of the

next lift using virtual objects. In 20% of trials, size (3 or 7 cm tall) and weight (1 or 3.5 N) were incongruent. We quantified the grip force (GF) rate peak as a behavioural read-out of force planning and used transcranial magnetic stimulation to probe corticospinal excitability (CSE). We showed that GF rate peaks were significantly changed after trial of a visuo-haptic conflict and CSE followed the same trend as the GF rate. Our results show that the motor system is capable to bias the sensorimotor memory by rapidly learning a new size-weight relationship.

（82）視覚フィードバックの遅れが重さの知覚に及ぼす影響

本多卓也（国際電気通信基礎技術研究所　認知機構研究所）
羽倉信宏（ロンドン大学）
今水　寛（国際電気通信基礎技術研究所　認知機構研究所，情報通信研究機構）

モーターコントロールの分野では，運動指令から予測される感覚フィードバックと実際のフィードバックの差異が常に計算されており，この違いが重要な情報として強く知覚されると考えられている。重さの知覚もこの一つと考えられる。予測よりも遅れて視覚情報が入れば，それは予測したよりも重い物体であった可能性が高く，逆に早ければ軽かった可能性が高いと考えられる。ところが，この現象は必ずしも運動指令からの予測を必要とせず，ただ単に複数のモダリティ（視覚と固有感覚）からのフィードバックタイミングの差によるものであるとの指摘もできる。これに回答を与える実験系を考案・実行中である。本発表では，予備実験結果について発表する。

（83）球技選手の持つ優れた指先知覚特性

前友美優（早稲田大学大学院　スポーツ科学研究科）
勝田夏実（早稲田大学　スポーツ科学部）
内田雄介，彼末一之（早稲田大学　スポーツ科学学術院）

他部位の触覚に比べ，優れている手の触覚情報は（Johansson et al., 1979），スポーツ場面の投球やシュート動作における，ボールの軌道調整能力に大きく影響していることが現場では経験的に知られている。しかし，現在のところスポーツ選手の持つ指先触覚能力を調査した知見は得られていない。そこで，球技経験者と一般人の指先知覚特性を定量化及び比較することで，経験的知見の科学的立証を目指すとともに，触知覚学習の可塑性の有無について検討する。本研究では球技経験者（野球，バスケットボール）と一般人を被験者とし，4 種類の右手 2 指の組み合わせ（示指-拇指，中指-拇指，環指-拇指，小指-拇指）のそれぞれに対して同時に点字様刺激を与え，通常下と外乱下の 2 条件でその刺激量の差を判断する認知課題を行った。さらに，それらの課題は手を広げた姿勢と実際のスポーツ場面を想定したボールをつかむ姿勢の 2 種類の姿勢で行った。まず，手を広げた姿勢について，一般人では，全ての組み合わせにおいて，外乱下で有意な刺激認知能力の低下が見られたが（$p<0.01$），球技経験者では，外乱下でも示指-拇指の組み合わせにおいてのみ刺激認知能力の低下は見られなかった（$p<0.01$）。一方で，ボールをつかむ姿勢についても同様の結果が示された。以上のことから，球技経験者の示指-拇指の指先知覚は，手を広げた姿勢において，一般人よりも優れていることが明らかになった。さらに，その優れた触覚情報は，手の姿勢を変化させても維持されることから，その触覚能力がパフォーマンスに影響する可能性が示唆された。

（84）運動の視覚フィードバック誤差が疲労知覚に影響を与える

伊藤　翔，木村聡貴，五味裕章（NTT コミュニケーション科学基礎研究所）

運動中の知覚生成には，感覚器からの感覚入力だけでなく，運動指令など運動系の情報処理が関わっていることが示唆されている。我々は，筋疲労に伴って知覚される「疲労感」についても，単に疲労で生じた代謝的な変化がそのまま知覚に反映されるわけではなく，運動実行に付随する情報処理，とくに運動出力の予測過程の修飾を受けるのではないかと考えている。そこで本研究では，運動中の視覚フィードバックを遅延させ，運動予測に対する視覚的な誤差が疲労知覚に与える影響を検証した。被験者は示指の周期的な（約 2 Hz）屈曲・伸展を持続的に行い，これに伴う疲労感の増減を十数秒おきに強制選択で回答した。このとき，指先位置のフィードバック映像を遅延させると，疲労感の増大がみとめられた。この回答結果は，別セッションで評価した映像遅延の弁別結果と必ずしも一致しないことから，映像遅延の認識そのものを回答したわけではないと考えられる。本結果は，視覚フィードバックの遅延で生じた運動出力の誤差情報により，筋疲労の知覚が修飾を受けたことによるものと解釈される。また，視覚フィードバックの遅延に伴い，実際の指運動において課題の周期に対する位相遅れが観察された。背景にある運動制御や疲労感の知覚との関連性について考察する。

（85）重度感覚障害者の握り・つまみ動作の改善を目的とした表面電気刺激を用いた感覚フィードバック装置の開発

北佳保里[1]，大高洋平[2]，坂田祥子[3]，大須理英子[1]
([1]国際電気通信基礎技術研究所，[2]慶應義塾大学，
[3]東京湾岸リハビリテーション病院)

脳卒中患者等において，運動機能が保たれていても感覚が重度に障害されている場合，つまみ動作などのマニピュレーション能力が著しく低下する場合がある。そこで，物体を把持した際に指先で計測される圧力に応じて低周波電気刺激の強度を調節し，非麻痺側の肩など感覚異常がない部位にフィードバックを行う方法（Sensory feedback by Electrical Nerve Stimulation: SENS）を開発し，その有効性を検証した。SENS は，圧力センサ，PC，スティミュレータ，アイソレータ，刺激用電極パッドで構成される。症例は，右視床出血後 27 ヶ月の 66 歳女性であり，運動機能は良好にも関わらず肘以下の表在・深部覚が脱失しており，介入開始前，簡易上肢機能検査にて 7/100 点とマニピュレーション能力が低かった。対象タスクは指腹つまみとし，1 日 1 時間，1 週間で 4 日間訓練を行なった。圧力センサは母指と示指の指腹に貼付し，電気刺激は非麻痺側，麻痺側の僧帽筋に母指・示指のセンサの情報を別々にフィードバックした。訓練前，つまみ動作中の麻痺側の指先圧力パターンは非麻痺側と全く異なっていたが，SENS により指先圧力をフィードバックした途端，非麻痺側の圧力パターンと同様滑らかになり即時的改善が認められた。また，患者のマニピュレーション能力を Box and Block Test により評価した結果，スコアは上昇し，訓練後システムを外した場合でも同日内の練習前と比較して高いスコアを維持していた。さらに，介入終了後 7 ヵ月においても，介入期間終了時のスコアを維持しており，キャリーオーバーが確認された。

（86）Impairment of relaxing muscle contraction after stroke with sensory deficit (Preliminary data)

長井真弓，大内田裕，鈴木栄三郎，内野すみ江，会津直樹，唐　志明，阿部玄冶
（東北大学大学院医学系研究科　肢体不自由学分野）
出江紳一（東北大学大学院医工学研究科　リハビリテーション医工学研究分野）

背景：素早く動作を切り替えるような巧緻動作を行う際には，筋肉の素早い収縮と素早い脱力が必要となる。脳卒中患者においては，この機能が低下する報告が多くされている。しかし，巧緻動作を行う機能がどのように変化するかは分かっていない。また，脳卒中患者の評価においては，最大握力などの指標を用いた評価は多く行われているが，速さを必要とする課題を用いて評価することは少ない。そのため，本研究の目的は，健常成人と脳卒中患者で筋肉の素早い収縮と脱力を行う際の反応時間にどのような差が生じるか調べることとした。

方法：対象は，健常成人 8 名，脳卒中左片麻痺患者 2 名とした。患者の運動麻痺の程度は手指の集団伸展が可能な BRS ステージⅣであり，麻痺による重症度は変わらないが，表在・深部ともに感覚障害を持つ感覚障害が軽度と重度の 2 名である。課題はモニター上に呈示された，他者が握る・離すという動作の画像に合わせ，できるだけ早く電子握力計を握る・離すという動作を行った。これを一側手で 20 回繰り返し，左右の手で計測した。握る動作の画像提示がされてから握るまでの時間と離す動作の画像提示がされてから離すまでの反応時間を記録した。

結果：感覚障害が軽度の患者では健常者と比較して握る・離す反応時間ともに有意な差は認められなかった。重度の患者では健常人と比較して握る反応時間では差は認めなかったが，麻痺側の離す動作のみ反応時間が有意に遅くなった。

考察：脱力課題には感覚情報が重要であり，感覚障害が重度であるほど反応時間は遅くなる。離す動作はより感覚に依存した動作であることが伺える。

（87）両手協調運動における能動的注意の影響

櫻田　武，神作憲司
（国立障害者リハビリテーションセンター研究所　脳機能系障害研究部　脳神経科学研究室）

新しい身体動作を獲得する際に，どこに注意を向けて運動を行うかはパフォーマンス向上に重要な要素とされるが（Wolf et al. 2010），そのメカニズムには不明な点が多い。本研究では，比較的単純な協調運動である両手運動中に能動的注意を特定の身体位置に向けることでその他の身体部位の運動出力がどのように影響を受けるかを評価し，認知情報処理と運動制御の関わりを検証した。

被験者（右利き健常成人 8 名）はモニタ上の手先カーソルを見ながら，両手リーチング運動（振幅 7cm）を行い，ランダムな試行において右手（または左手）のみ大きな振幅が要求される。この時の右手（または左手）の運動修正に伴って変化する左手（または右手）振幅を定量的に評価し，カップリング（協調性）の指標とした。注視点はモニタ中央とし，運動中の能動的注意は，モニタ上の視覚刺激に基づいて右／左／中央のいずれかに向けた。課題は，手先カーソルのみフィードバックする対照条件と，左右の手で対象物を運ぶような作業要素を含んだ視覚フィードバックを与えた協調条件とした。

対照条件でのカップリングは注意を向ける空間に依存しなかったが，協調条件では注意を向けた空間に応じてカップリングの強さが変化した。特に，注意を右手側の空間に傾けると，中央あるいは左手側に注意を向けた条件よりも有意にカップリングが弱くなった（$p<0.05$）。

今回の実験で，能動的注意に関する認知情報処理と身体の協調性が相互に関係する可能性が示唆された。今後

は，認知機能を担う脳領野等に対して経頭蓋磁気刺激を加えること等により，その脳内情報処理過程を明らかとしていく。

（88）片麻痺者の麻痺肢に対する身体性注意の低下

会津直樹[1]，大内田裕[1]，鈴木栄三郎[1]，内野すみ江[1]，
唐　志明[1]，阿部玄治[1]，長井真弓[1]，出江紳一[1,2]
([1]東北大学大学院医学系研究科障害科学専攻肢体不自由学分野，
[2]東北大学大学院医工学研究科　リハビリテーション医工学研究分野)

＜目的＞効果器の不使用は，自己身体に向ける身体性注意が低下するという無視様の症状(Neglect-like syndrome)を呈すことが，疼痛を主とする複合性局所疼痛症候群の患者で知られている。このことから，運動麻痺を呈した片麻痺者においても，麻痺肢の不使用により，麻痺肢への身体性注意が低下すると考えられる。しかしながら，麻痺肢に向ける身体性注意の量は明らかになっていない。本研究は，麻痺肢の身体性注意を計測する事を目的とした。

＜方法＞対象者は健常者 15 名，慢性期片麻痺者 12 名とした。課題は刺激− 反応課題を用いた。机上の左右のいずれかの位置に対象者の自己手（健常者：左手，片麻痺者：麻痺手）を置き，もう一方には手の形をした模造手を配置した。プロジェクターを用い，視覚刺激を自己手の上または模造手の上のいずれかに投射した。視覚刺激の投射の際にできるだけ早くボタンを押す，反応時間を記録した。ボタンを押す反応手は健常者は右 2 指，片麻痺者は非麻痺側２指であった。

＜結果＞健常者では健常手の上に視覚刺激が投射された際の反応時間は模造手の反応時間と比較して早くなった。一方，片麻痺者では，麻痺手と模造手の反応時間に差が見られなかった。さらに，各片麻痺者の反応時間結果と発症後期間の関係には，強い負の相関が見られた。

＜考察＞健常者と片麻痺者の反応時間の結果より，片麻痺者の麻痺手に向ける注意量は低下していることが示された。さらに，発症後の期間が長いほど麻痺肢に向ける身体性注意の量が低下していた。このことより，片麻痺者は麻痺肢の不使用によって身体性注意が低下している事が明らかとなった。

（89）個人間および両手間共同力制御課題におけるエラー最小化過程の比較：組むべきは自分の手よりも他人の手，知っている手よりも知らない手？

阿部匡樹，渡邊克巳（東京大学先端科学技術研究センター）

２つの手を用いて１つの目的を達成するゴール志向性課題において，２つの手の制御の最適化にはそれぞれの手のパフォーマンスに関するばらつき（不確かさ）の情報が重要な役割を果たしうる。本研究では，このようなばらつきに関する事前情報の有無がどのように２つの手のパフォーマンスの組織化に影響を及ぼすのかを，個人間および両手間共同課題の比較を通して調べた。

２人１組のペアが，一過性把持力のピーク値を標的力に合わせる課題を２種類行った。個別課題では各々の把持力を標的力に一致させる課題，その後行われた統合課題では二人の合計把持力を標的力に一致させる課題が課された。相互のパフォーマンスの事前知識の影響を調べるため，個別課題の試技中および全試技終了後にお互いの結果が提示される情報共有群と，個別課題の試技中も全試技終了後も相手のパフォーマンスに関する情報が提示されない情報非共有群が設定された。さらに，

個人が左右の手で同課題を行う両手群が設定された。

統合課題における平均誤差は，情報非共有群が他群よりも有意に小さい値を示した。エラー最小化過程に関する解析の結果，情報共有群はペア間の力配分を最適化していた一方で個々のばらつきが増大する傾向にあった。また，両手群は個々のばらつきが小さい一方，左右の力間にみられる正の相関が課題に対して負の干渉をもたらしていた。これらの結果は，相互の情報共有が変数間統合の最適化を促す一方，それによって生じる社会的ならびに生理学的制約が共同課題のパフォーマンスを制限しうることを示唆した。

（90）Discrepancy between goal belief and prediction degrades performance in expert darts throwers

池上　剛，G Ganesh
（情報通信研究機構/国際電気通信基礎技術研究所）

我々は，他者の行為の観察を通して，行為者の意図や目的を理解することができる。このような他者の行為理解は，観察者自身の運動システムを利用して行われると考えられている(Kilner et al., 2007)。実際，他者行為に対する予測能力と観察者の運動実行能力の間の相関関係が報告されている(Alioti et al., 2008)が，他者行為の予測と自身の運動実行が，本当に共通の運動システムをもとに行なわれているか，それとも別々のシステムをもとに行われているかは未だ明らかではない。そこで，我々は，共通のシステムが使われているならば，他者行為の予測と観察者の運動パフォーマンスの間に干渉が見られるはずだと考えた。具体的には，他者行為の予測が困難な状況下で生じる予測エラーが，観察者の運動パフォーマンスに影響を与えるという仮説をたてた。この仮説検証のために，ダーツを用いた運動観察実験を行った。8 人のダーツ上級者に（予測が難しい）初心者のダーツの投球動作（ダーツが手から離れる瞬間まで）の映像を見てもらい，ダーツがダーツ盤のどこに刺さったかを予測してもらった。実験の結果，仮説どおり，初心者の動作予測を繰り返すにつれて，上級者のダーツ成績は低下した。さらに，ダーツ成績の低下は，初心者がどこを狙っているかという事前知識を観察者に与えた場合に限って生じた。つまり，観察した他者行為の予測結果と，観察者が予め持っている他者行為の目標との誤差情報が，観察者の運動システムに影響を与えていた。本研究は，他者行為の予測と自身の運動実行が，共通のシステムをもとに行なわれていることを示す行動学的証拠を得た。

（91）ニホンザルの上肢同期現象

長坂泰勇，Zenas C. Chao，長谷川有美，能登谷智則，藤井直敬　Naotaka Fujii
（（独）理化学研究所 BSI 適応知性研究チーム）

一昨年に，向い合ったサルのボタン押し行動が自発的に同期する現象を報告したが，本年ではいくつかの条件を設定した実験の最終結果を報告する。結果は以下の通りである。左右のボタンを片手で数十回押す単純な課題を訓練したサルを向い合わせて，同様な課題を行わせると，１）サルの上肢運動が同期した。この際サルのボタン押し(BP)のスピードは，一致する場合と一致しない場合があったが，一致しない場合であっても，２）２頭のサルの BP のスピードは互いがハーモニクスの関係にあった。また，３）相手をビデオ再生したサル(vMonkey)としても，同様な同期が観察された。詳細な分析の結果，４）同期を成立する方向に向かって，BP のスピードが変化していることが確認された。なお，５）相手の BP の聴覚または視覚刺激のみを提示しても，速度の変化は見られたが，６）２つのモダリティーが同時に提示されているときのみ，同期が成立した。

新たな行動として訓練された本 BP 行動は，自然界では観察されず，したがって動物の環境適応においてなんら意味をなさないものである。本実験課題と環境が，社会適応に本来必要とされる脳システムを賦活し，そのために本研究で観察された自発的な同期現象が，派生的に生じたものであると推測される。

（92）Tool kinematics mis-planning in humans

Ganesh G，Ikegami T（情報通信研究機構/国際電気通信基礎技術研究所）

While using hand held tools, humans can locate the tip of a tool immediately, such that they can immediately plan new hand trajectories to accommodate for the tool kinematics. How is this planning performed? To answer this question, we examined reaching movement to different targets with tools of different size and orientation. The observed errors were reproduced by a computational model where perception of the arm is altered depending on the tool kinematics. While previous studies have shown that repeated use of tools can slowly change the neural representation of the user’s body (Iriki et al., 1996), our data exhibits that tools can immediately alter the user’s body perception.

（93）非生物の環境音による認知：手の視覚表象による subliminal priming は道具認知に影響するか

芦塚あおい，美馬達哉，福山秀直（京都大学大学院）

いくつかの非生物は，それらが発する環境音によって容易に認知できるが，その脳内機構の詳細は知られていない。ｆＭＲＩによる検討では，非生物の環境音の中でも人間の動作と関連するもの（例：手で操作する道具）では，運動前野を含むミラーニューロンシステム（MNS）の賦活が生じると報告されている。【目的】本研究では，MNS を活性化する手の視覚表象による subliminal priming が，非生物の環境音による認知の脳内機構に与える影響を検討した。【方法】１３の非生物アイテムについて，動作と関連するもの（道具）としないもの（機器）に分類した。被験者には，環境音を 2 秒提示し，アイテムの大きさを判断させる課題を行わせ，反応時間を計測した。環境音に先行した視覚的 prime として，そのアイテムまたは手のカラー写真を 33ｍ秒提示し，無意味図形を prime とした場合との反応時間差を計算し，priming 効果とした。【結果】アイテムの場合，道具，機器に関わりなく全員で意味的 priming 効果がみとめられた（道具：-105 ms，機器：-156 ms）。手では，道具の場合にのみ priming 効果がみとめられた（道具：-24 ms, 機器：6 ms）。

【考察】本実験の結果は手の視覚表象が動作と関連した環境音認知に特異的に影響したことを示唆した。これは MNS を介した運動と認知の機能的関連を反映している可能性がある。ただしこれは予備的結果であり，被験者数を増やし，統計的に検討する必要がある。

（94）行動選択と運動制御の不可分性を示す行動学的証拠

平島雅也，山脇　学，野崎大地（東京大学大学院教育学研究科）

行動選択と運動制御の可分・不可分性については，古くから活発な議論がなされているが，未だ明確な答えはない。近年，Cisek らは，行動選択終了前，つまり，複数の潜在的行為が残されている間，それらが運動前野において同時に準備（表象）されていることを，霊長類を用いた電気生理学実験によって明らかにした。運動前野

は，運動計画・制御に重要な役割を担っていることから，この知見は行動選択と運動制御の不可分性を支持するものと言えよう。しかし，行動選択終了前の神経活動が，その後に生じる運動の制御にどのような影響を与えるのかは不明であり，行動選択と運動制御の機能的な意味での不可分性は未だ明らかではない。

本研究は，ヒト被験者を対象とした運動学習パラダイムを用いることによって，行動選択前の準備状態の違いが，運動記憶の想起に与える影響について調べた。被験者は，予め提示された一つまたは二つの潜在的ターゲットへ向けて運動の準備を行う（シングル条件とダブル条件）。その後，それらのうち一つが最終的に到達すべきターゲットとして提示され，そのターゲットに向けてできるだけ早く到達運動を行う。シングル条件下で新奇な力場を学習した後，時折ダブル条件で到達運動を行ったところ，力場学習の効果は，ダブル条件下では完全には発揮されなかった。また，ダブル条件下で獲得した力場学習の効果も，シングル条件下では完全には発揮されなかった。これらの結果は，行動選択前の準備状態の違いが，来たる運動の制御で用いられる内部モデルに影響を与えていることを意味しており，行動選択と運動制御が機能的な意味で不可分であることを明確に示している。

（95）Different contribution of left and right Area 6 (BA 6) to controlling response inhibition: a lesion and TMS study

鈴木栄三郎[1]，大内田裕[1]，内野すみ江[1]，会津直樹[1]，
唐　志明[1]，阿部玄治[1]，長井真弓[1]，出江紳一[1,2]
（[1]東北大学大学院医学系研究科肢体不自由学分野，
[2]東北大学大学院医工学研究科リハビリテーション医工学分野）

[目的]反応抑制とは状況に不適切な反応を抑制する能力である。損傷研究や脳機能イメージング研究から，反応抑制の制御に Area 6 が関与していることが知られている。しかし，左右の手の反応抑制の制御における Area 6 の左右半球間の役割の違いは明らかではない。我々は 1) 左右 Area 6 をそれぞれ損傷した患者 2 例の反応抑制の評価，2)健常成人の Area 6 への反復経頭蓋磁気刺激(rTMS)による Virtual lesion を実施し，左右の Area 6 が左右の手の反応抑制の制御に及ぼす影響を検討した。[実験 1]脳出血により左背側運動前野(PMd)，左補足運動野を損傷した 47 歳女性。脳腫瘍により右 PMd を切除した 32 歳女性。両患者の左右の手の反応抑制能力を評価した。[実験 2]健常成人 14 名の左右それぞれの PMd に対する 1 Hz rTMS を行い，刺激前後で左右の手の反応抑制の変化を調べた。[評価指標]反応抑制の評価として刺激-反応一致性課題を用いた。被験者は左右どちらかの手視覚刺激に対して左右一方の手で素早く反応する。視覚刺激に対して同じ手で反応する一致条件と反対の手で反応する不一致条件を行った。反応抑制の指標として不一致条件と一致条件の反応時間の差を用いた。[結果]左 Area 6 損傷患者では右手の反応抑制が障害され，一方，右 Area 6 損傷患者では両手の反応抑制が障害されていた。健常成人の左 PMd への rTMS が右手の反応抑制に干渉した。[結論]左右の手の反応抑制の制御における Area 6 の役割は左右半球間で異なり，少なくとも左 PMd が右手の反応抑制の制御に関与する可能性が示唆された。

（96）Hand Shape Selection in Grasping: Interaction Between the twol Visual Streams and Convergence on the PMv

幕内　充[1,2]，染谷芳明[3]，小川誠二[3]，高山吉弘[1]
（[1]東京大学，[2]国立障害者リハビリテーションセンター，[3]小川脳機能研究所）

We investigated the system dynamics of the human brain for the pantomiming of grasping with two aspects accentuated. One is object recognition, with the use of objects for daily use. The other is the selection of grip hand shape. Effective connectivity analysis revealed that the increased selection demands enhance the interaction between the AIP and pITG, and drive the converging causal influences from the AIP, pITG, and DLPFC to the PMv. These results suggest that the dorsal and ventral visual areas interact in the grasping, while the PMv integrates the neural information of different regions to select the hand posture.

（97）視覚運動変換学習によって発火特性が変化する M1/PMdc の神経細胞は何を符号化しているのか？

宮下英三（東京工業大学・大学院総合理工学研究科・知能システム科学専攻）

大脳皮質には Hebb 型の可塑性シナプスやスパイクタイミングに依存した可塑性シナプスが存在することが知られている。このような可塑性シナプスが機能的にどのような役割を演じているのだろうか。本研究では一次運動野と運動前野背側尾側部に着目し，視覚運動変換学習によってこれらの領域の神経細胞の活動特性が変化するかどうかを検討した。具体的には，水平面上に動く受動的マニピュランダムを手で操作（手首は固定）してコンピュータ画面上のカーソルを視標内に移動するコントロール課題と，カーソルを４５度回転変換かけた位置に提示した状態で行う学習課題をサルに課し，コントロール課題と学習課題完了時で細胞活動特性を比較した。細胞活動を特徴付ける変数として肩と肘の関節トルクと関節角速度を想定し，これら４つの変数の重み付け線形和によって細胞活動を近似することにより，４次元空間内のベクトルとして細胞活動の特性を抽出した。関節トルクに関する細胞活動特性は学習課題の前後で変化しないとの前提で解析した。また，記録した細胞の受動的な応答性を観測し，その細胞が深部感覚情報を受けているのか視覚情報を受けているのかを区別した。その結果，視覚情報を受けている細胞の中に関節角速に関する細胞特性が学習課題の前後で変化するものがあった。さらに，これらの変化は回転変換によるカーソルの動きの変化に対応していることが分かった。本研究により，一次運動野と運動前野背側尾側部には環境に適応して細胞活動特性を可塑的に変化する細胞が存在することが明らかになった。またこのような細胞活動は腕の運動との関連性においてカーソルの動きを予測している可能性がある。

（98）イメージする力の強さに依存して皮質脊髄路の興奮性は高まる

水口暢章（（独）情報通信研究機構　脳情報通信融合研究センター）
梅原　泉，中田大貴，彼末一之（早稲田大学スポーツ科学学術院）

運動イメージ中には皮質脊髄路の興奮性が高まることがよく知られている。本研究では，運動イメージ中の皮質脊髄路の興奮性がイメージする力の強さによって変化するかを検討した。皮質脊髄路の興奮性は，経頭蓋

磁気刺激を一次運動野に与え，右腕の腕橈骨筋，上腕二頭筋，上腕三頭筋に貼付した筋電図から記録した運動誘発電位の振幅から評価した。被験者は 12 名であった。まず，アームカールにて最大随意収縮（MVC）で発揮される力を測定し，被験者は 10%，30%及び 60%MVC の力を出せるように練習した。その後，動作のイメージを 10%，30%及び 60%MVC の力で行っている時の運動誘発電位を測定した。その結果，腕橈骨筋及び上腕二頭筋の 60%MVC 条件の運動誘発電位は 10%MVC 条件よりも有意に大きかった。また，拮抗筋である上腕三頭筋の運動誘発電位は各条件で差は見られなかった。これらのことから，運動イメージする力の強さが強いほどの皮質脊髄路の興奮性が高まることが示唆された。

（99）眼球運動方向の自由選択における運動と選択の相反する履歴効果

望月　圭[1,2]，船橋新太郎[1,3]
（[1]京都大学　大学院　人間・環境学研究科，[2]日本学術振興会　特別研究員，
[3]京都大学　こころの未来研究センター）

動物は刻一刻と変化する環境のなかで適切な行動を行なうため，過去の行動とその結果を記憶し，それにもとづいて柔軟に行動を変化させる。このような先行する経験の後続の行動への影響は，履歴効果として測定できる。しかし，随意運動には必ず「その運動をする」という選択が付随し，選択によって選ばれた行為のみが実際の運動として発現される。このような運動と選択の付随性のため，先行する行動が後続の行動に与える影響を考えるとき，運動履歴と選択履歴の効果は通常分離できない。

そこで本研究では，サルに 2 条件の遅延眼球運動反応を行なわせ，運動と選択それぞれの履歴が後続の試行に与える影響を検討した。強制選択課題（Instructed Choice Task, ICT）においては，サルは視覚刺激によって指示された空間位置を記憶し，遅延期間ののちに，その位置を眼球運動で報告した。自由選択課題（Free Choice Task, FCT）では，手がかり刺激としてふたつの視覚刺激が同時に呈示され，サルはそのいずれを選んでも同量の報酬を得ることができた。両条件の試行をランダムに混ぜてサルに遂行させ, FCT 試行においてサルが行なう選択が，先行する ICT･FCT 試行によって受ける影響を検討した。その結果，先行する選択は後続の試行における同一反応を促進するのに対し，先行する運動は，後続試行での同一反応の選択を妨げる効果をもつことが明らかになった。本研究の結果は，選択行動や運動発現の心理学的・神経科学的メカニズムの検討において，運動と選択を分離することの重要性を示している。

（100）自発性サッカードのタイミング制御におけるドパミンの関与

國松　淳，田中真樹（北海道大学）

自発的に運動を開始するとき，そのタイミングはどのような神経機構によって制御されているのだろうか。最近，基底核ドパミン系が時間知覚に関与することが示されており，適切なタイミングで自発的に運動を開始する際にもこの系が関与する可能性が考えられる。ドパミンは，線条体で D1 および D2 受容体を介し，それぞれ直接経路，間接経路への信号強度を調節している。その機能を明らかにするために，私たちは両経路の相対的な信号強度を薬理学的に操作し，自発性眼球運動への影響を調べた。

視覚刺激に応じて即座に眼球運動を開始させる課題（Triggered 課題）と，視覚刺激の提示後，一定の時間が経過した後に自発的に眼球運動を開始させる課題（Self-timed 課題）をサルに訓練した。課題遂行中に線条

体ニューロンの活動を記録し，眼球運動に関連した部位を探索し，同部に薬剤を微量注入した。D2 受容体の拮抗薬（Eticlopride, n = 9）を注入したところ，Self-timed 課題では自発サッカードの開始時間が早くなったが，Triggered 課題では有意な変化がみられなかった。一方，D1 作動薬（SKF38393, n = 4），D1 拮抗薬（SKF38393, n = 4），D2 作動薬（Quinpirole, n = 8）のいずれを投与した場合にも，有意な影響は見られなかった。これらの結果から，自発運動のタイミングは間接経路の信号によって調節されていることが示唆された。

（101）Modification of eyelid conditioning timing in induced by amplitude-modulated tone and its theoretical interpretation

本多武尊[1,2]，廣野守俊[1]，山崎　匡[3]，永雄総一[1]
（[1]理化学研究所　脳科学総合研究センター　運動学習制御研究チーム，
[2]日本学術振興会　特別研究員(PD)，[3]電気通信大学　情報理工学部）

Timing is one of important aspects in motor control. In eyelid conditioning, repetition of pairing a tone (conditioned stimulus, CS) and airpuff promotes the acquisition of precisely timed eye-closure (conditioned response, CR) to only CS. Our behavioral study on rabbits reveals that when the amplitude-modulated (AM) tone was used for CS during training, the CR timing after the completion of conditioning was modulated by the magnitude of maximum amplitude of AM tone used for CS. These observations are consistent with the prediciton of our theoretical study that the CR timing depends on the change of passage-of-time information represented by cerebellar granule cell activity.

（102）The role of error observation on dynamic motor imitation learning

唐　志明，大内田裕，鈴木栄三郎，内野すみ江，会津直樹，阿部玄治，長井真弓
（東北大学大学院医学系研究科）
出江紳一（東北大学大学院医工学研究科）

背景：模倣はヒトが新しい動作を獲得するのに重要な役割を占めている。過去の研究では模倣の観察対象が正しいモデルのみを使用している。しかし，エラーは重要な情報を含んでいて，ヒトはこの情報を利用してエラーを避けられる可能性と考えられる。本研究の目的は模倣運動学習中のエラー観察効果を調べることとした。

方法：対象は 20 名健常者とした。被験者にピンチ動作の動画を観察しながら，8N のピンチ動作を行った。エラー条件では半分の観察ピンチ動作を 4N と 24N の動作として，残る半分は 8N の動画とした。コントロール条件ではすべて観察ピンチ動作は 8N とした。被験者はピンチ動作をした直後，音声言語でフィードバックを受けた。条件前後で学習の効果を評価した。被験者は右左手それぞれ課題条件を行った。手と条件の順序はカウンターバランスをとった。評価方法としては，被験者が実際にピンチをした力発揮のピーク値と 8N の差分を計測した。さらにこの差分を標準化にした：標準差分＝条件後の差分/条件前の差分 X 100%。

結果：エラー条件の標準差分(60.7%±37.7%)はコントロールの標準差分(94.8%±33.2%)より有意に低かった。

考察：標準差分は運動学習の効果を表し，値が低いほど効果がよいため，本研究の結果は模倣運動において，一部のエラーを入れたら運動学習効果を向上することが示唆された。エラーのこの効果は 2 つの要因と考えられる。まず，エラー条件では被験者は課題に関する正しい情報のみならず，間違い情報も得られるため，より多くの情報を獲得できた。次に，エラーの出現は被験者を運動学習により注意を向けされた。

（103）Motor imagery and Motor execution use different area in intermanual transfer

雨宮　薫[1,2,3]，山岨達也[2]，染谷芳明[3]，大須理英子[1]，小嶋祥三[3]
([1]国際電気通信基礎技術研究所，[2]東大，[3]慶應)

一側の手を用いた運動学習により獲得した運動技能は，対側の手を使用した同様の運動課題を促進する場合がある（両側性転移)。運動学習により獲得される効果器に非依存な学習内容が影響すると考えられており，我々の過去の研究により両側性転移が運動イメージによっても可能であることを示してきた。

本実験ではまず，実際の運動を用いて学習する実際運動訓練群および運動イメージを用いて学習を行う運動イメージ訓練群の二群用意した。

その上で，両側性転移の効果が，左手から右手に移行した場合と右手から左手に移行した場合に，学習時に使用した手が転移効果をそれぞれどのように促進するかについて，両群の差を検討した。更に転移の促進効果と関連する脳活動領域が，実際運動訓練群と運動イメージ訓練群とで相違するか否かについて, fMRI を用いて検討した。

結果として，実際運動訓練群・運動イメージ訓練群ともに，左手から右手，右手から左手への転移の促進効果が見られた。今回の実験課題においては実際運動学習群と運動イメージ学習群の転移効果に差は見られなかった。

しかし，転移課題を行っている際に転移の成績と相関して活動が上昇するする領域は，運動イメージ訓練後と実際運動の訓練後では異なっていた。運動イメージ訓練群に特異にみられた相関領域は，運動イメージ訓練群の訓練時期（運動イメージ時）に特異にみられる前頭前野の領域と一致していた。

以上の結果は，運動イメージ訓練後の転移効果と実際運動訓練後の転移効果は，異なる活動領域に依存している可能性を示唆している。

（104）運動イメージ中に発生する事象関連脱同期量は皮質脊髄路の興奮性に相関する

武見充晃（慶應義塾大学大学院理工学研究科）
里宇明元（慶應義塾大学医学部リハビリテーション医学教室）
正門由久（東海大学医学部専門診療学系リハビリテーション科学）
牛場潤一（慶應義塾大学理工学部生命情報学科）

脳卒中片麻痺上肢に対するブレイン・マシン・インターフェース（BMI）を用いた神経リハビリテーションでは，頭皮脳波中に観察される 8-12 Hz 成分の振幅変化を用いることが多い。運動イメージにともなって本成分が減少することを事象関連脱同期（ERD）とよび，体性感覚運動野の興奮性を反映するといわれてきたが，その詳細な検討はなされてこなかった。ERD の神経科学的基盤を明らかにすることは，BMI 神経リハビリ法のエビデンスを高める上で重要な課題である。そこで本研究は，運動イメージ中に ERD が生じた際の一次運動野興奮性と脊髄前角細胞興奮性を電気生理学的手法により検討した。

本研究は実験 1 と 2 から構成され，各実験とも健常成人 10 名で実施した。実験 1 では被験者は右手背屈運動イメージを行い, 運動イメージ中に ERD が 5%, 15%に到達した際に，被験者の右手一次運動野に経頭蓋磁気刺激を与えた。運動誘発電位（MEP)，皮質内抑制（ICI)，皮質内促通（ICF）は主動筋である右橈側手根伸筋から計測した。実験 2 では，右母指外転運動イメージ中に ERD が 5%, 15%に到達した際に，被験者の右手根部正中神経に電気刺激を与えた。脊髄前角細胞の興奮性を反映する F 波の出現率は右母指外転筋より計測した。

結果，実験 1 では，ERD 強度依存的に MEP の振幅が増大し，ICI が脱抑制した。実験 2 では，ERD 強度依存的に F 波の出現率が上昇した。本研究より，ERD が一次運動野と脊髄前角細胞の興奮性の指標となることが示され，ERD が BMI 神経リハビリ法の駆動信号として妥当であることが支持された。

（105）運動前野は運動イメージと運動抑制の両方に関与する

篠崎　淳[1]，村原貴史[1]，齊藤秀和[2]，原田邦明[3]，長濱宏史[3]，櫻井佑樹[3]，花川　隆[4]，長峯　隆[1]
([1]札幌医科大学医学部神経科学講座，
[2]札幌医科大学大学院保健医療学研究科，[3]札幌医科大学附属病院放射線部，
[4]国立精神・神経医療研究センター　脳病態統合イメージングセンター　分子イメージング研究部)

運動イメージの際には実際の運動を伴わずに機能遂行が行われるため，筋活動を抑制するシステムが関与している可能性がある。そこで本研究では，運動イメージの際に働く脳部位と運動抑制の際に働く脳部位とを比較することにより，運動イメージの際に運動抑制が関与しているかを明らかにすることを目的とした。

14 人の健常右手利き被験者が，示指より小指へ順番にボタン押しを行う際の機能画像を撮像した。実験デザインは，運動実行および運動イメージの 2 つの条件と，Go/Nogo の 2 つの条件を組み合わせたデザインとした。これを右手指で行わせるセッションと左手指で行わせるセッションを設けた。運動イメージ条件および運動実行条件の中での Nogo シグナルに対して手指の運動がないことを，機能画像と同時記録した筋電図によって確認した。

運動イメージ関連脳部位の同定には，運動イメージ Go の際に運動実行 Go よりも強く活動する部位を求め，運動抑制関連脳部位の同定には，運動実行 Nogo の際に運動実行 Go に比べて強く活動する部位を求めた。右手指セッションにおいて，この両部位の共通領域は左運動前野であった。左手指セッションでの共通部位も左運動前野であった。以上から，運動イメージ関連脳部位と運動抑制関連脳部位との共通領域は，左右の運動側に関係なく左運動前野であった。

これらの結果は，左運動前野が運動イメージと運動抑制の両方に関与することを示しており，運動イメージの際には同領域の関与によって運動実行の抑制が行われることを示唆する。

（106）上肢運動における運動観察，運動イメージ，運動実行中の脳活動：fNIRS-EEG 研究

中野英樹[1,2]，植田耕造[1]，大住輪弘[1]，森岡　周[1]
([1]畿央大学大学院健康科学研究科，[2]日本学術振興会)

リハビリテーションにおいて，運動観察や運動イメージは，運動機能回復を目的とした有効な介入手段の一つである。上肢運動における運動観察，運動イメージ，運動実行中では類似した脳領域が賦活することが fMRI を用いて明らかにされている。しかしながら，fMRI を用いた測定は身体の拘束性が高く，実際の日常生活とは異なる環境である。そこで本研究では，身体の拘束性が低く，日常生活と同様の環境で脳活動の測定が可能である fNIRS-EEG システムを用いて，上肢運動における運動観察，運動イメージ，運動実行中の脳活動について検討した。

対象者は，背もたれのある椅子に座り，箸動作と金槌動作の運動観察，運動イメージ，運動実行を行った。運動観察―運動イメージ―運動実行を 1 試行とし，計 3 試行実施した。各条件のプロトコルは，rest (15 s) – task (15 s) – rest (15 s) – task (15 s) – rest (15 s)とし，その時の脳活

動を fNIRS-EEG システムを用いて測定した。

NIRS-SPM 解析の結果では，各条件ともに運動関連領域の oxy-Hb の有意な増加を認めた。また，各条件ともに共通して運動前野の活動を認めた。power spectrum 解析の結果では，各条件ともに運動感覚領域 (C3, Cz, C4) において alpha 帯域の ERD を認めた。

本研究は，日常生活と同様の環境においても上肢運動における運動観察，運動イメージ，運動実行中の脳活動部位および脳波パワー値は類似することを明らかにした。

（107）運動前のＭＥＧ脳活動を用いたエラーの予測

大畑　龍[1]，小川健二[2,3]，今水　寛[2,4]
（[1]大阪大学大学院生命機能研究科，
[2]国際電気通信基礎技術研究所-CMC，
[3]日本学術振興会，[4]NICT CiNet）

高いスキルを身につけたプロスポーツ選手であっても，運動のばらつきは避けることのできない問題である。ばらつきは時として予期しない大きな誤差を生み出し，機器の操作ミスなどの重大なエラーを引き起こす可能性がある。運動を行う前にこういった誤差を把握することができれば，交通事故といったヒューマンエラーの防止や，誤差のコントロールによる効率的な運動学習が可能となる。

近年の研究において，運動準備期間中の一次運動野や運動前野のスパイク発火頻度が運動のばらつきに影響を与えていることが示され，運動前の脳活動もばらつきの原因ではないかということが示唆されている。そこで運動前の脳活動の変化から，エラーを引き起こすような誤差の予測可能性を探ってみることにした。ターゲットに向かう人差し指の往復運動を実験課題とし，運動前の脳活動をＭＥＧを用いて計測した。ターゲットと折り返し点との距離を誤差と定義し，ＭＥＧセンサー信号から推定した皮質電流を用いて誤差の大小の判別を行った。その結果，被験者３人中２人でチャンスレベルよりも有意という結果を得た（二項検定　５％有意）。また学習段階で得られた重みベクトルを皮質空間上に表示すると，一次運動野，運動前野だけでなく，補足運動野や，また体性感覚野などの頭頂葉付近の電流データも選択的に選んでいることが判明した。今回の結果は高次な運動関連領域や体性感覚野もエラーに関与しており，脳の広い領域からのプランニングの脳活動を用いることでエラーの大小が判別可能であることを示唆している。

（108）サル後根神経節細胞から上肢運動軌道を読み解く

梅田達也[1]，渡辺秀典[1]，佐藤雅昭[2]，川人光男[2]，伊佐　正[1]，西村幸男[1]
（[1]生理学研究所認知行動発達研究機構，[2]国際電気通信基礎技術研究所）

We investigated whether population of DRG neurons could encode forelimb joint kinematics of behaving monkeys.

Two multi-electrode arrays were chronically implanted in the C7 and C8 DRGs of two monkeys. Neuronal responses to reaching and grasping movements and 3-D trajectories of hand/arm movements were simultaneously recorded. 14 and 20 neurons were recorded in monkey 1 and 2, respectively. Using a sparse linear regression, forelimb joint kinematics could be reconstructed from activity of a subset of DRG ensembles. The result indicated that ensemble of peripheral afferents precisely coded forelimb joint kinematics in the voluntary reaching and grasping behavior of monkeys.

（109）EEG-fMRI analysis of mu rhythm modulation during control of a brain-computer interface

ダサーラ　チャールズ，笠原和美，本田　学，花川　隆
（国立精神・神経医療研究センター・神経研究所・疾病研究第七部）

Though widely employed in brain-computer interfaces (BCI), the EEG mu rhythm and its neural correlates are not well understood. To increase our knowledge, we performed simultaneous EEG-fMRI during control of a mu-based BCI. 23 healthy subjects underwent fMRI while controlling a BCI with left and right hand motor imagery. Mu-related neural activity was observed by applying the mu power signals as regressors in fMRI analysis. Bihemispheric mu band power was found to be inversely correlated with activity in the ventral premotor cortex, supplementary motor area, and pars opercularis. We hope these findings will lead to improved BCIs, tailored to the specific neuromechanisms behind their control.

（110）車体型 BMI RatCar を基盤とする神経工学実験系の構成と展開

深山　理[1]，高野光浩[1]，中西良介[1]，鈴木隆文[2]，満渕邦彦[1]
（[1]東京大学大学院　情報理工学系研究科，
[2]情報通信研究機構　脳情報通信融合研究センター）

本発表では，著者らが開発を進めている車体型 BMI RatCar の紹介を通じ，BMI を構成する要素技術を概観する。具体的には，神経電極，神経信号からの特徴抽出，歩行運動予測モデルの導出とパラメータ推定，同モデルを通じた神経情報処理系の観察等が挙げられる。RatCar システムでは，これらの要素の組み合わせによって，大まかな歩行速度・方向変化の推定と車体制御を実現した。その上で，単純な車体制御に続く段階として，中枢・末梢神経信号の併用，車輪駆動系から義足駆動系への拡張，懸架型車体による感覚系フィードバックの導入，微少電気刺激による神経活動と身体動作の相関強化の可能性について，システムの現状と今後の展望を検討する。

（111）大脳皮質一次運動野への経頭蓋直流電流刺激が運動イメージ中の事象関連脱同期に与える影響

大藤美紗[1]，新藤悠子[2]，牛山潤一[2,3]，木村彰男[2]，里宇明元[2]，藤原俊之[2]，牛場潤一[2,4]
（[1]慶應義塾大学大学院理工学研究科，[2]慶應義塾大学医学部リハビリテーション医学教室，
[3]慶應義塾大学大学院理工学研究科基礎理工学専攻，[4]慶應義塾大学理工学部生命情報学科）

近年，脳卒中片麻痺上肢に対するリハビリテーション手法として Brain-Machine Interface (BMI) が用いられている。BMI では経日的な利用にともなって大脳皮質体性感覚運動野の興奮性が高まることが示されているが，現行の手法で得られる皮質興奮性変化は限定的であり，より高効率に興奮性を変調し得る手法の開発が望まれている。経頭蓋直流電流刺激 (tDCS)では，1 mA 程度の直流電流を頭皮上に与えることで，神経細胞の興奮性を一時的に上昇させることができる。そのため，tDCS を併用しながら BMI 訓練を実施することで，より効率良くリハビリテーション効果を得ることができると予想される。本研究では本効果の予備的検討として，BMI と tDCS の併用が皮質興奮性に与える影響を事象関連脱同期（ERD）変化から評価した。6 人の健常成人を対象に，脳波電極を体性感覚運動野近傍に左右 5 チャンネルずつ貼付し，約 5 分間の MI 施行を 10 分毎に全 5 回行って

もらった。全ての被験者に，筋感覚運動イメージ(MI)単独，MI をともなわない tDCS 単独，MI と tDCS の併用の三条件を施行し，各条件の ERD の経時変化を比較した。その結果，MI と tDCS を併用した場合 tDCS の施行 30 分後まで ERD が増加し続け，値は 1.15 倍に達した。一方 tDCS 単独で施行した場合も ERD は増加したが，20 分後最大値をとった後再び減少し，30 分後の ERD 値は 1.05 倍に留まった。MI 単独を施行した場合 ERD 変化はみられなかった。以上より，MI と tDCS の併用はより高効率に皮質興奮性を上昇させる手法であることが示唆された。

（112）3 ヶ月児における四肢運動の多様性と変化可能性

加藤　萌，渡辺はま，多賀厳太郎（東京大学大学院教育学研究科）

目的：本研究では，新しい環境中における乳児の運動を観察し，個人ごとの運動の多様性を考慮した上で，運動量と運動パターンの二側面から乳児の運動変化の様子を詳細に見た。

方法:正期産の 3 ヶ月児 191 名を対象とした。最初に，乳児をモビールが吊るしてある状態の計測用マットに仰向けに寝かせ，四肢の運動を 2 分間計測した(Period 1)。次に，乳児の左右どちらかの手首とモビールを紐で連結し，四肢の運動を 4 分間計測した(Period 2)。乳児の運動は，3 次元動作解析システムを用いて手首と足首に装着した 4 点の反射マーカーの空間位置を追跡することによって得た。その速度情報から上肢と下肢の 2 分ごとの平均速度の値を計算し，そのベクトルの長さと角度をそれぞれ運動量，運動パターンの指標として用いた。

結果：対象児を日齢別に 3 群に分けて運動の変化を検討した（年少 : 90-100，年中 : 101-110，年長 : 111 以上）。その結果，年少，年中群は Period 2 後半で運動量が上昇するが，運動パターンの変化は小さく，年長群は Period 2 前半から運動量が上昇し，運動パターンも大きく変化することがわかった。また，各群の初期状態(Period 1 の状態）を運動量と運動パターンの違いにより 6 種類に分け，それぞれの運動の変化を検討した。初期状態はどの日齢群においても多様であった。年少群では比較的初期状態に依存した運動変化の様相がみられ，一方，年長群では Period 2 後半において，初期状態と異なる運動の様相がみられた。

考察：初期状態からの運動の時間発展を規定する動的機構が，発達に伴って変化すると考えられる。

（113）乳児における寝返り運動パターンの発達的変化

小林佳雄，渡辺はま，多賀厳太郎（東京大学大学院教育学研究科）

寝返り運動は，乳児期に出現する多自由度の協調を要する複雑な運動である。全身の多関節制御によって実現される，背臥位からの能動的な姿勢変換なくしては，それに続く四つ這い運動や歩行運動は獲得され得ない。したがって，乳児期における寝返り運動の出現は，能動的な移動運動の端緒になるといえる。本研究では，寝返り運動時の四肢間の関係性に関する発達的変化を検討した。

健常乳児 22 名(5-6 ヵ月群：11 名/158‐186 日，8-10 ヵ月群：10 名/249‐295 日）の延べ 107 回分の寝返り運動を解析対象とした。四肢及び体幹中心部に装着した 5 点の反射マーカーの位置を，3 次元動作解析システムを用いて計測した。四肢それぞれの運動に関して，前額面における左右方向の速度を算出し，四肢間（寝返りの方向と同側の上肢および下肢 : Arm_i/ Leg_i，寝返りの方向と反対側の上肢および下肢：Arm_c/ Leg_c)の相関係数（時間遅れゼロ）を求めた。

各月齢群において，四肢速度間の相関係数の密度分布を検討したところ，5-6 ヵ月群では，四肢間のほとんどの組み合わせで高い相関がみられた。一方，8-10 ヵ月群

では無相関あるいは負の相関がみられた。

5-6 ヵ月群においてみられた四肢間の高い相関は，四肢が同時に運動する事を示すものである。一方，8-10 ヵ月群でみられた無相関あるいは負の相関は，四肢の運動の非同時性を示すものである。本研究結果より，寝返り運動における四肢間の関係性は，寝返り初期の同時性から，寝返り成熟期の非同時性という様式で変化することが明らかになった。

（114）脊椎動物の胎児シミュレーションによる身体に基づく脊髄神経回路形成及び運動発達

山田康智[1,2]，國吉康夫[1]
（[1]東大院・情報理工，[2]学振・特別研究員(DC1)）

近年，胎生期から始まる自発運動が神経系の自己組織化及び運動発達に重要な役割を果たす事が示されている(Lacquaniti et al, 12)。脊髄神経回路の従来研究は，転写因子の発現の違いにより介在性ニューロンを分類し，それぞれの解剖学的特徴や機能的役割に関して明らかにしてきた(Goulding，09)。また，この転写因子や運動ニューロンの分子プログラム，神経振動子など，脊椎動物において多くの共通性がある事も分かっている(Grillner & Jessell, 09)。しかし，共通の神経系基盤のもと，自発運動を通じた相互作用の中で，脊髄神経回路が自己組織化過程を通じ分化し，種に応じた神経系・運動発達を可能にする機序については明らかではない。

本研究では，環境との相互作用を規定する要因である身体性に着目し，「身体性が自発運動を通じて脊髄神経回路を形成する」とする仮説を提案，計算機シミュレーションを用いて検証を行った。ゼブラフィッシュ，イヌ，ヒトの筋骨格身体モデルと，共通の神経系モデルから成る胎児モデルを構築した。そして，自発運動を通じ Hebb 則に基づく可塑性により神経系モデルの学習を行った。結果，運動の変化として原始歩行様運動の現れや，運動の複雑性増加といった生物の運動発達傾向と一致する運動変化が観察された。更に，得られた神経回路と身体性について，筋間の関係性を表すネットワークを用い定量的に比較を行い，各身体モデルの身体性に基づき神経系モデルが自己組織化的に分化する事を示した。以上の結果から本研究では，脊髄神経回路の発達的形成過程を身体性に基づき理解できる可能性を示した。

14. 認知神経科学の先端 推論の脳内メカニズム

2012 年 10 月 26 日－10 月 27 日

提案代表者：小川　正（京都大学医学部）

所内対応者：伊佐　正（生理学研究所認知行動発達）

世話人：吉田正俊（生理学研究所認知行動発達）

（1）眼球運動方向の自由選択における前頭連合野背外側部の役割

望月　圭（京都大学大学院・人間環境学研究科）

（2）リスク下の意思決定とモノアモン

高橋英彦（京都大学大学院・医学研究科）

（3）意思決定の階層性と多重皮質-線状体ループ神経回路

鮫島和行（玉川大学・脳科学研究所）

（4）因果推論・命題推論は連合学習理論で説明できるか

澤　幸祐（専修大学・人間科学部・心理学科）

（5）変化する環境への適応に関わるサル前頭前野外側部の神経活動

藤本　淳（京都大学大学院・医学研究科）

（6）さまざまな価値の認知的変容の神経基盤

秋元健二（玉川大学・脳科学研究所）

（7）部位特異的な中脳ドーパミンニューロンの活動とその機能的役割

松本正幸（京都大学・霊長類研究所）

（8）情報選択と行動選択における前頭葉の役割：認知神経心理学からのアプローチ

熊田孝恒（理研 BSI-トヨタ連携センター・認知行動科学連携ユニット）

【参加者名】

堺　浩之（(株）豊田中央研究所），寺島裕貴（東京大学新領域創成科学研究科），酒井雄希（京都府立医科大学大学院医学研究科），瀧山　健（東京大学新領域創成科学研究科），国里愛彦（早稲田大学人間科学学術院），後藤崇志（京都大学大学院教育学研究科），村井祐基（東京大学），梶村昇吾（京都大学大学院教育学研究科），清河幸子（名古屋大学大学院教育発達科学研究科），小俣圭（浜松医科大学），戸嶋知春（筑波大学生命環境学群生物学類），白　宇（名古屋大学大学院），長谷川国大（名古屋大学大学院），宮崎由樹（中京大学心理学部），杉浦綾香（東京大学大学院総合文化研究科），高橋裕美（京都大学大学院人間・環境学研究科），青山俊弘（鈴鹿工業高等専門学校電子情報工学科），渡辺謙太（鈴鹿工業高等専門学校電子情報工学科），藤本　宏（独立行政法人国立病院機構舞鶴医療センター精神科），中野英樹（畿央大学大学院健康科学研究科），菅沼惇一（摂南総合病院リハビリテーション科），河村章史（岐阜大学大学院医学系研究科），中村國則（成城大学），宮下　遥（専修大学大学院），酒井雅子（(株）エクォス・リサーチ），伊藤　惇（京都府立医科大学大学院医学研究科），阿部能成（京都府立医科大学精神科・心療内科），唐木田亮（東京大学新領域創成科学研究科），五十嵐康彦（東京大学新領域創成科学研究科），筆保健一（大阪市立大学医学部附属病院リハビリテーション部），西田知史（京都大学大学院医学研究科），田中暁生（京都大学こころの未来研究センター），吉田　誠（東京工業大学），関口　敦（東北大学加齢医学研究所），須田悠紀（順天堂大学生理学第一講座），大植賢治（医療法人穂翔会　村田病院リハビリテーション科），河野正志（医療法人穂翔会　村田病院　リハビリテーション科），竹内　奨（医療法人穂翔会　村田病院　リハビリテーション科），谷茉理菜（医療法人穂翔会　村田病院　リハビリテーション科），岡澤剛起（生理学研究所），山根　健（帝京大学理工学部），有賀理恵子（京都大学大学院医学研究科），野々村

聡（玉川大学），松嶋藻乃（北海道大学医学研究科），鹿内　学（京都大学情報学研究科），船橋新太郎（京都大学こころの未来研究センター），高田昌彦（京都大学霊長類研究所），原　塑（東北大学大学院文学研究科），藤澤友基（一宮市立木曽川市民病院），宮田　淳（京都大学大学院医学研究科），横山　修（玉川大学脳科学研究所），山川　宏（株式会社富士通研究所），水野　敬（理化学研究所分子イメージング科学研究センター），井上雅仁（順天堂大学医学部生理学第1講座），鈴木　航（国立精神・神経医療研究センター），井上拓晃（諏訪東京理科大学　工学・マネジメント研究科），石橋和也（東京大学大学院総合文化研究科），石原央崇（諏訪東京理科大学　システム工学部），田嶋達裕（NHK 放送技術研究所），中田祐貴（諏訪東京理科大学システム工学部電子システム工学科），井出野尚（早稲田大学大学院文学研究科），熊田孝恒（理研 BSI-トヨタ連携センター・認知行動科学連携ユニット），澤　幸祐（専修大学　人間科学部　心理学科），高橋英彦（京都大学大学院・医学研究科），藤本　淳（京都大学大学院・医学研究科），松元健二（玉川大学・脳科学研究所），松本正幸（京都大学・霊長類研究所），望月　圭（京都大学大学院・人間環境学研究科），足立幾磨（京都大学・霊長類研究所），磯田昌岐（関西医科大学・医学研究科），北田　亮（生理学研究所・心理生理学研究部門），小村　豊（産業技術総合研究所・脳神経情報研究部門），則武　厚（関西医科大学・医学研究科），水原啓暁（京都大学大学院・情報学研究科），南本敬史（放射線医学総合研究所・分子イメージング研究センター），山田　洋（国立精神・神経医療研究センター　神経研究所），小川　正（京都大学・医学部），伊佐　正（生理学研究所　認知行動発達研究部門），吉田正俊（生理学研究所　認知行動発達研究部門），石井　信（京都大学），齋藤　大（東京大学），横井　惇（東京大学），佐久間香（京都大学大学院医学研究科），大久保文貴（基礎生物研究所），安田浩志（豊田中央研究所），加勢大輔（生理学研究所），酒井　裕（玉川大学），中易知大（基礎生物研究所），高良沙幸（生理学研究所），橋口真帆（生理学研究所），西尾奈々（生理学研究所），大渕　藍（京都大学）

【概要】

人間の心の仕組みを，脳を起点にして明らかにすることを目指す認知神経科学は，さまざまな discipline からなる学際的領域であり，また実験対象も人間からサル，ラット，マウス，無脊椎動物と多様なものが扱われている。このような学際的領域を発展させるためには専門分野を超えた共同研究（情報交換）の促進と研究者の層の厚みを増すこととが不可欠である。本研究会では，推論をキーワードに共通するテーマに関連する神経生理学，心理物理学，脳機能イメージング，計算論的神経科学，神経心理学，発達心理学といったさまざまな研究領域から，アクティブに研究成果を出している実際上の研究実施者を中心にして人選を行った。各発表では分野ごとのイントロダクションに重点を置き，議論の時間を多く取ることによって，特定のテーマについて様々な角度から議論を深めるワークショップの形態を取った。活発な議論が行われ，盛況に終了した。研究会開催後のアンケートでは，満足度の高いものであったとする回答が相次いだ。

（1）眼球運動方向の自由選択における前頭連合野背外側部の役割

望月　圭（京都大学大学院・人間環境学研究科）

自由選択とは，いずれの選択肢を選んだかに関わらず，最終的に得られる結果が変わらないような場面における選択行動である。選択肢のもつ知覚的特徴や報酬価に依存しないこのような意思決定行動は，行為の因果性と非決定性に関する自由意志の議論において，古くより注目されてきた。また自由選択は，さまざまな認知課題において要求される選択行動のなかでも，もっとも単純化された意思決定過程といえる。よってその神経基盤の解明は，種々の意思決定行動に通底する意思決定の共通原理を知るための，重要な手がかりとなる。

近年の機能的脳イメージングの研究からは，自由選択行動における前頭連合野の重要性が示唆されてきた。し

かしそのニューロン活動レベルでの詳細なメカニズムの検討は，いまだなされていない。そこで本研究では，これまで前頭連合野の電気生理学的研究に利用されてきた記憶誘導性眼球運動パラダイムを用い，眼球運動の方向を強制的に指示する強制選択課題と，動物みずからが自由に選ぶことのできる自由選択課題の 2 種類の眼球運動課題によって，前頭連合野ニューロン活動が自由選択において担う役割を検討した。

実験では 2 頭のニホンザルの前頭連合野背外側部から，両課題遂行中の単一ニューロン活動を記録した。その結果，前頭連合野ニューロンは，個体自身が反応方向を選択した眼球運動の実行時にも，強制的に眼球運動方向を指示された場合と同様の方向選択的発火をみせることが明らかになった。すなわち，強制選択課題において特定の方向に選択性を示すニューロンは，自由選択課題において動物がみずからその方向を選択したときにも強い活動を示した。こうした個体の選択に関連する発火頻度の差は，反応方向の選択肢の呈示に数百 ms 先行して観察された。刺激呈示以前には，サルはその試行において選択可能な方向を知らないため，その時点で眼球運動方向を選択し終えることは不可能である。よってこの期間にみられた後続の選択と相関する発火頻度変化は，単にすでに行なわれた選択の結果を反映したものではなく，特定の方向に選択性をもつニューロン集団の強い活動が，後続の刺激呈示時におけるその方向の選択を促進したことを示唆する。

このように自由選択行動中のサル前頭連合野からのニューロン活動記録により，選択の直前における方向選択性ニューロンの活動状態が，直後に選択される眼球運動方向を決定づけていることが明らかとなった。本研究会では，これに加え，自由選択に関与する前頭連合野ニューロンの発火特性等に関する解析結果も紹介し，方向選択性ニューロンの活動が自由選択において担う役割や，問題解決における推論過程との関係について議論したい。

課題名と研究者名の間，研究者名と本文の間にはそれぞれ空行を 1 行ずつ入れてください。

（2）リスク下の意思決定とモノアミン

高橋英彦（京都大学大学院・医学研究科）

古典的な経済学では意思決定者は数式や公理に基づき，行動の帰結を推論，予測し，個人の利得を最大限になるように“合理的”に振舞うと想定してきた。しかし，実際の人間の行動は，必ずしも“合理的”ではなく，時に宝くじを購入したり，寄付や協力行為を行ったりする。合理的に推論すれば，到達するであろう選択を必ずしもしないのは，人間の推論能力の限界に加えて，情動・同情・モラル・使命感なども意思決定に重要な役割を担っているためであることが行動経済学で示唆されている。昨今の非侵襲的脳機能画像の発展，流布にともない，fMRI を中心とする神経経済学でもこれを支持する知見が得られている。最近，我々は行動経済学的手法と分子神経イメージングを組み合わせ，“非合理”なの意思決定における神経伝達物質の関わりを研究しており，リスク下の意思決定にモノアミン（ドーパミン，セロトニン，ノルアドレナリン等の）の関わりについての知見を得たので報告する。今後，このような手法や得られた知見を精神神経疾患の意思決定や推論の障害に関する研究に応用していきたいと考えている。

（3）意思決定の階層性と多重皮質-線状体ループ神経回路

鮫島和行（玉川大学・脳科学研究所）

意思決定の対象には階層性がある。「何をするのか」ばかりではなく，あらかじめ「何が起きたら何をすべき

なのか」や，「何を目標として行動するか」など私たちは様々な対象への意思決定を行っている。これまで，線条体が行動特異的な報酬予測（行動価値）をコードする(Samejima et al 2005)ことなどから，大脳皮質− 基底核ループ神経回路が意思決定に関与することが示唆されている。しかし，刺激-行動則に対する選択や，抽象的目標に対する選択などの，認知的な意思決定の神経機構はわかっていない。

私たちは，複数の階層における意思決定が多重大脳皮質-基底核ループ神経回路によって実現されるのではないかという仮説(Samejima and Doya 2007)をおき，特に線条体における神経情報表現に着目して，検証を行った。この仮説の検証のために，認知的意思決定と運動意思決定を時間的に分離する課題を開発し，課題遂行中のマカクザルの線条体からの単一神経活動記録を行った。課題では，まず２種類の選択肢図形（Cue 刺激）が呈示されたのち消滅する，再びこの図形がランダムな順序で１つずつ順番に再呈示され，呈示中に反応をすることによってサルは報酬を得る。反応した刺激に応じた報酬量が与えられ，サルは刺激-報酬の関係性を試行錯誤によって学習した。学習が成立すれば，サルは Cue 刺激期に反応すべき刺激を「認知的」に選択する事ができる。

線条体の投射細胞と思われる一過的活動を示す細胞は，Cue 呈示期，Delay 期，再呈示期，反応期，報酬期など様々な期間において反応するが，多く（約 40%）の細胞が Cue 呈示期において強い反応を示し，その約半数は図形を比較選択する際に反応が強いことがわかった。さらに，これらの細胞活動は刺激呈示初期には２つの選択肢の表現を持っていたが，後期や Delay 期にかけて最終的に選択する刺激の表現へと変化していた。さらにこの情報表現は，尾状核の前方内側から記録された細胞により多く存在していることがわかった。一方より外側後方の被殻では運動そのものや運動決定に関わる細胞が多数存在した。このことをあわせて考えると，線条体の少なくとも一部分は認知的意思決定に関わる事が示唆される。前方内側尾状核は内側前頭前野や前頭眼窩皮質からの投射が多い。これらの皮質領域とのループ回路を通じて，目標や行動ルールのセットを選択肢とした意思決定が行われることが考えられる。

推論の（少なくとも一部の）過程には，「もしこれがおきたらこれをする」などの刺激-行動計画の認知的選択が含まれる。大脳基底核の神経回路も報酬の予期と選択の対象を拡張して考えることで，推論の過程に関わるうることが考えられる。研究会では，モデルベース強化学習と認知的意思決定との関係なども議論したい。

（4）因果推論・命題推論は連合学習理論で説明できるか

澤　幸祐（専修大学・人間科学部・心理学科）

連合学習理論は，イギリス経験論をその哲学的背景に持ちつつも，心理学の中で古くから用いられてきた説明手法のひとつである。その適用範囲は，古典的条件づけなどのような学習研究からヒトの記憶や注意，あるいは印象形成といった認知心理学的研究まで極めて広範である。その一方で，連合学習理論の持つ単純さや機械論的・還元論的な側面も相まって，いわば「高次な認知的機能に対する帰無仮説」として扱われることも少なくない。本講演では，こうした状況を踏まえつつ，「高次な認知的機能」の一つと考えられる推論に対して，連合学習理論がどのように援用できるか（あるいはできないのか）について，講演者がこれまでに関わってきた研究に基づいて紹介する。なかでも，外界の事象間における因果関係に関する推論に対して，連合学習理論がどのようにアプローチするのかを取り上げたい。

我々は，外部環境内の複数事象が，時間的な前後関係を持ちつつある程度高い確率で共生起する場合に，それらの事象間に因果関係を見出す。そうした因果関係知識は，「原因が生じたならば結果が生じるだろう」といった推論や，あるいは「結果が生じたならば原因が生じていたはずである」といった推論を可能にする。こうした因果関係についての理解は，物理的因果関係に関する場合には道具使用の背景になりうるなど，様々な高次認知のために重要な役割を果たすが，動物においては十分に研究が行われているとは言いにくい。しかしながら，動物が因果推論を行う実験事態を見出すことは，ヒトでは

行えないような神経科学的アプローチを行う上では重要な側面を持つ。そこで講演者が関わったラットにおける因果推論事態を紹介し(e.g., Blaisdell, et al. 2006)，どういった実験的アプローチが可能かを議論する。

一方で，外部環境内に存在する事象間の統計的生起確率のみから因果関係とそうでないものを区別することは極めて困難である。連合学習理論では，連合形成の条件の多くを外界内の統計的性質等に依拠しているため，因果関係に関する知識を獲得したと思われる事例を連合学習理論の観点から説明することは一般には困難である。そこで今回は，ヒトを用いた実験も紹介し，「そもそもヒトは正しく因果関係を推論するか」という問題も取り上げる。動物研究とヒト研究を合わせて検討することで，因果推論という大きな枠組みの中で連合学習理論が占める位置とその「余白」について合わせて議論し，また講演者がこれまでに行ったその他の推論事態の研究についても取り上げ，知識の獲得とその使用としての推論について解説していきたい。

（5）変化する環境への適応に関わるサル前頭前野外側部の神経活動

藤本　淳（京都大学大学院・医学研究科）

ある環境に於いて我々がエラーを犯す場合，①問題解決に必要な知識を保持していなかったために起こるエラー，②行動が正確でなかったために起こるエラー，という２つの場合が考えられる。更に，その環境が変化し得る場合には，③予期しない環境の変化による不可避なエラー，を加えた，３種類のエラーが起こり得る。ここで重要なのが，これら３つのエラーの種類に応じて，我々が次にとるべき方略が異なってくるということである。①問題解決に必要な知識を保持していない場合のエラーでは，引き続き試行錯誤的な探索を行い，知識を探索しなければならない。②行動が正確でなかった場合のエラーでは，再度同じルールに従い行動すれば良い。③予期しない環境の変化が起きた場合のエラーでは，それまでの知識を放棄し，試行錯誤的な探索に切り替え，新しい知識を探索せねばならない。このように３種類のエラーに応じて次に利用すべき方略が異なるため，これらを正しく識別する必要があるが，今自分がどのエラーを犯したのかという情報はしばしば明示的に与えられず，自身の行動と環境からのフィードバックの観測によって推定することになる。

本研究においては，変化する環境を模した視覚探索課題をサルに課し，先行研究に於いてルール変更を伴う課題の遂行に不可欠とされている前頭前野外側部より単一神経細胞記録を行い，同領野における問題解決に必要となる情報表現を探った。サルは画面上の 6 色の視覚刺激から１つをサッカード眼球運動によって選択し，目標色の視覚刺激を選択すれば，視覚フィードバック呈示に続き報酬として少量のジュースを得る。サルに試行錯誤による探索を行わせるため，全ての試行において目標色を示す手掛かりを与えず，報酬と，正解／不正解の視覚フィードバックのみを与えた。

我々は課題遂行中のサル前頭前野外側部より単一神経細胞記録を行い，上記３種類のエラーが，それぞれ異なる神経活動様式で表現されていることを見出した。これらの結果は，前頭前野外側部ニューロン群が自身の行動および環境からのフィードバックにより活動を変化させ，自分がどの種類のエラーを犯したか推定し，次にどのような方略をとるべきか決定するために必要な情報をリアルタイムで表現していることを示しており，同領野が変化する環境に柔軟に適応し行動するために重要な役割を担っていることを示唆するものであった。

＜参考文献＞

Atsushi Fujimoto, Satoshi Nishida and Tadashi Ogawa.

“Dynamic alternation of primate response properties during trial-and-error knowledge updating”

Robotics and Autonomous Systems （2012）

（6）さまざまな価値の認知的変容の神経基盤

秋元健二（玉川大学・脳科学研究所）

１．物の価値とその認知的変容

物の価値は，大脳の深部に位置する線条体という構造によって表現されており，線条体における価値の比較によって，物の選択的意思決定はなされる。しかし，価値ある物２つのうち一方のみしか得られないという条件で選択を迫られると，価値ある物の１つを自分が選ばなかったことによって得られない，という矛盾した事態に直面する。このような「認知的不協和」を解消するために，その物の価値を認知的に低下させるという現象が心理学的に知られている。この際，検知した認知的不協和の強さに応じて帯状皮質前部と前頭前野外側部が反応し，その物に対する価値の低下に応じて線条体の反応も低下した。

２．内発的動機とその認知的変容

動機づけは一般に「目標の価値づけ」と捉えることができ，「目標の価値」は動的に変容する。内発的動機づけにおいては，課題に取り組むこと自体が目標として価値づけられる。もともと内発的に動機づけられて行っていた課題に対して，成績に応じて外的金銭報酬が得られるという条件を付加すると，目標が課題に取り組むこと自体ではなくなり，外的金銭報酬に変わってしまう。その結果，内発的動機は低下する。このような外発的報酬による内発的動機の「アンダーマイニング効果」という現象が，心理学的に知られている。内発的に動機づけられて課題を行っているうちは，外的金銭報酬がなくても，課題開始の合図に対して前頭前野外側部が反応し，課題をうまくこなすことができただけで線条体が反応した。しかし，アンダーマイニング効果によって内発的動機が低下すると，外的金銭報酬がないと，課題開始の合図に対する前頭前野外側部の反応は低下し，課題をうまくこなすことができただけでは線条体は反応しなくなった。

３．社会規範に対する態度とその認知的変容

社会生活を送る上で社会規範に従うことは，例えそれが法律によって明文化されていなくても大事である。しかし，社会規範の中には必ずしも納得のできないものもしばしばある。それぞれの社会規範に対してどれだけ価値をおくかという態度は，個人個人さまざまであり，説得などのコミュニケーションによってその態度は変容する。言語的に呈示した社会規範の価値づけには，左側頭頭頂接合部が相関した反応を示した。社会規範の価値づけを下げるような説得を受けると，左中側頭回が反応し，その後方の領域を介して，社会規範の価値づけに関わる左側頭頭頂接合部と相関した活動を示した。

以上の結果は，物の価値や課題を行うこと自体の価値は線条体が表現しており，その認知的変容には前頭葉–線条体ループが重要な役割を果たしているが，言語的に呈示された社会規範の価値づけとその認知的変容には，左側の側頭頭頂接合部から中側頭回にかけての領域が重要な役割を果たしていることを示唆している。

（7）部位特異的な中脳ドーパミンニューロンの活動とその機能的役割

松本正幸（京都大学・霊長類研究所）

中脳に分布するドーパミンニューロンは，報酬が得られたときに興奮性の応答を示し，予測していた報酬が得られなかったときに抑制性の応答を示す。このようなドーパミンニューロンの応答は，報酬の価値に関連した信号（報酬予測誤差信号）をコードし，報酬を得るための学習や意欲のプロセスに重要な役割を担っていることが示唆されている。

しかし，我々がおこなった最近の研究は，全てのドーパミンニューロンが価値に関連した情報をコードするわけではないことを明らかにした(Matsumoto & Hikosaka, Nature, 2009)。正反対の価値を持つ報酬と嫌悪刺激の古典的条件付けをサルにおこない，ドーパミンニューロンから活動を記録したところ，黒質緻密部の腹側や腹側被蓋野にあるドーパミンニューロンは価値コードに一致

し，報酬に対して興奮性応答，嫌悪刺激に対しては抑制性応答を示した。一方，黒質緻密部の背側にあるドーパミンニューロンは，報酬に対しても嫌悪刺激に対しても興奮性応答を示した。価値の正負に関係なく興奮性応答を示したことから，これらのドーパミンニューロンは報酬や嫌悪刺激の motivational salience（顕著性）をコードしているのではないかと推測される。

以上の結果は，これまで一様に価値に関連した情報をコードすると考えられてきたドーパミンニューロンが，実際には価値と salience をコードする少なくとも２つの集団に分かれていることを示唆する。ただ，これらのドーパミンニューロンにどのような機能的差異があるのかについては不明な点が多い。次に我々は，作業記憶と視覚探索を必要とする遅延見本合わせ課題をサルにおこなわせ，ドーパミンニューロンの活動がこれらの認知機能とどのように関わっているのか解析した(Matsumoto & Takada, in preparation)。この課題では，視覚刺激がサンプルとして呈示され，サルはこのサンプル刺激を作業記憶に保持する必要がある。そして遅延期間後，複数の視覚刺激が呈示され，その中からサンプルと同じ刺激を探し出さなければならない。課題遂行中のサルからドーパミンニューロンの活動を記録したところ，特に黒質緻密部の背側に分布するドーパミンニューロンでは，作業記憶に保持しなければならないサンプル刺激に対して興奮性応答が見られ，報酬や嫌悪刺激のような motivational な刺激以外にも応答することを見出した。また，視覚探索中にサルが正解刺激を発見したタイミングでも興奮性応答が見られた。これらのデータは，中脳の特定の領域に分布するドーパミンニューロンが，これらの認知機能に関連したシグナルを伝達している可能性を示唆する。本発表では，我々が得た電気生理学的なデータと，解剖学的・薬理学的な先行研究から，部位特異的なドーパミンニューロンの機能的役割について考察したい。

（8）情報選択と行動選択における前頭葉の役割：認知神経心理学からのアプローチ

熊田孝恒（理研 BSI-トヨタ連携センター・認知行動科学連携ユニット）

日常生活の場面においては，全く同じ状況に遭遇することはほとんどない。過去に経験したのと類似の状況であっても行動のゴールと既有の知識やルールをその状況に適用することで，初めて行動が可能となる。このような適応的行動には前頭葉が関連していると考えられているが，その機序は十分に解明されているとはいいがたい。

前頭葉の損傷によって，知能などには特段の問題がないにも関わらず，簡単な日常的な行動の遂行が困難になるなどの興味深い症例が報告されている。たとえば，Eslinger and Damasio (1985)で報告されている患者(EVR)は，両側前頭葉の髄膜腫摘出後，知能や通常の神経心理学検査では異常がみられなかった。また，EVR は，経済の問題や国際情勢などに関する高度な会話も可能であった。一方で，EVR は，その日に着る服を選ぶなどの日常的な場面での意思決定あるいは行動選択に極度の困難を示した。EVR に代表されるような一部の前頭葉損傷患者にみられる特徴は，基本的な認知機能や日常生活における個別の行動遂行（たとえば，服を着ること自体）には全く障害を示さないことである。このことは，行動のためのスキーマ（学習によって獲得された行動に関する知識）あるいは個別の課題遂行のための刺激− 反応ルールの適用などには問題がないことを示している。これらの患者では，特定の刺激状況に対して，行動スキーマや刺激− 反応ルールを，ゴール状態を達成するために適切に利用できないと考え得る。

本発表では前頭葉損傷患者を対象として行った２つの研究を紹介し，「ゴール」「外界の刺激状況」「知識やルールの適用」の競合の解消における前頭葉の役割について議論をしたい。どちらの研究でも，ゴールの達成に対して，それを妨害する情報が与えられたときの，前頭葉損傷患者の行動を健常者と比較したものである。

第１の研究では，患者(FK)に対して，”Left”，”Right”といった単語を画面の左右いずれかに提示し，その単語が画面の左右どちら側に提示されたかを２肢選択で回答をするという課題（位置判断）を課した。このような場面で，FK は無視すべき「単語の意味」に反応してしまい，単語の意味と位置が不一致（たとえば，”Left”が

画面の右側に提示されているような）の場合に，エラー数の増加や反応時間の遅延が認められた。しかし，画面に課題遂行とは全く関連のない妨害刺激を提示すると，課題遂行成績の劇的な改善が認められた。この結果は，FK が課題ゴールの設定や遂行に関わるルールの学習に問題があったのではなく，刺激に内在する単語の位置と意味という競合する情報の間に生じる干渉の解決過程に問題があったことを示している。

第２の研究では，前頭葉損傷患者３名に対して日常的な系列行動課題を課した。たとえば，紅茶を入れるといった一連の系列行動場面において，前頭葉損傷患者では，個別のステップを遂行することには問題がないが，ステップを抜かす，順序を誤るなどの「行動の非組織化症候群(action disorganization syndrome)」と呼ばれる症状を示すことが報告されている。我々の研究では，患者に一連の行動に必要な物品と，それとは全く関係のない物品を同時に提示したところ，全く関係のない物品を利用する傾向がみられた。しかも，その際，従来の行動の非組織化症候群とは異なり，関係のない物品を本来の行動のゴールと関連付けて利用するなどの興味深い行動が観察された。これらの結果もまた，ゴールや行動のための行動スキーマそのものには問題がないにもかかわらず，本来の課題遂行に影響しうる妨害刺激が存在する刺激状況下では，競合の解消に向けた特殊な解決が図られたと理解できる。

これらの研究結果からは，ゴール状態の達成に向けて既有の知識や与えられたルールを適用する際に，前頭葉が担う役割についての興味深い示唆が得られる。特に，前頭葉損傷に伴う抑制障害というような古典的な理解にとどまらず，刺激状況から誘発されるボトムアップの行動スキーマや刺激反応ルールの活性化と，ゴール状態を達成しようとするトップダウンの制御の相互作用の障害として，これらの結果を理解することができる。本発表では，これらの結果にもとづいて「推論」はじめとする適応的行動場面における前頭葉の役割について議論を深めたい。［Takatsune Kumada, RIKEN Brain Science Institute］

15. 個体内の記憶回路の同定とその機能解析による学習記憶制御基盤の統合的理解（記憶回路研究会）

2012 年 11 月 20 日－11 月 21 日

代表・世話人：喜田　聡（東京農業大学応用生物科学部）
所内対応者：鍋倉淳一（生体恒常機能発達機構研究部門）

（1）記憶統合過程でドーパミン神経は何をしているのか？
齊藤　実（東京都医学総合研究所）

（2）ショウジョウバエの匂い記憶回路を観る
多羽田哲也（東京大学分子細胞生物学研究所）

（3）塩の濃度の記憶による線虫の可塑的行動の分子神経機構
飯野雄一（東京大学大学院理学系研究科生物化学専攻）

（4）活動依存性遺伝子発現とシナプスタグ
尾藤晴彦（東京大学大学院医学系研究科神経生化学分野）

（5）PTSD の持続エクスポージャー療法の治療原理
金　吉晴（国立精神神経医療研究センター）

（6）SCOP を中心に見た記憶のサーカディアン制御メカニズム
清水貴美子（東京大学大学院理学系研究科生物化学専攻）

（7）2 光子励起法によるシナプス長期再編の in vivo 観察
鍋倉淳一（生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門）

（8）タンパク質分解を起点とした想起後の記憶制御
喜田　聡（東京農業大学応用生物科学部）

（9）線虫 C. elegans の神経回路における忘却の制御機構
石原　健（九州大学理学研究院）

(10) 記憶形成と生後脳神経新生
井ノ口馨（富山大学大学院医学薬学研究部（医学））

(11) 記憶痕跡の探究
松尾直毅（京都大学白眉センター）

【参加者名】

喜田　聡（東京農業大学　応用生物科学部バイオサイエンス学科），松尾直毅（京都大学　白眉センター），清水貴美子（東京大学　大学院理学系研究科），多羽田哲也（東京大学　分子細胞生物学研究所），吉井隆浩（京都大学　生命科学系キャリアパス形成ユニット），尾藤晴彦（東京大学　大学院医学系研究科），王　丹（京都大学　物質―細胞統合システム拠点），井ノ口馨（富山大学　大学院医学薬学研究部（医学）），横山まりえ（京都大学　生命科学系キャリアパス形成ユニット），金　吉晴（国立精神・神経医療研究センター　精神保健研究所），今村菜津子（東京大学大学院　薬学系研究科），飯野雄一（東京大学　大学院理学系研究科），野本真順（富山大学　医学薬学研究部），村山絵美（富山大学　医学薬学研究部），横瀬　淳（富山大学大学院　医学部），中里杏菜（東京農業大学大学院　農学研究科），岡田辰太郎（東京農業大学　農学研究科），關川　豊（東京農業大学　農学研究科），河野恭平（東京農業大学　農学研究科），山田晴菜（東京農業大学　農学研究科），藤生康広（東京農業大学　農学研究科），篠澤貴寛（東京農業大学　農学研究科），鍋倉淳一（生理学研究所），石橋　仁

（生理学研究所），加藤　剛（生理学研究所），宮本愛喜子（生理学研究所），石川達也（生理学研究所），中村佳代（生理学研究所），川本恭兵（生理学研究所），齊藤　実（東京都医学総合研究所　運動・感覚システム研究分野），平野恭敬（東京都医学総合研究所　運動・感覚システム分野），上野耕平（東京都医学総合研究所学習記憶プロジェクト），中畑義久（生理学研究所），石原　健（九州大学　理学研究院），北園智弘（九州大学　システム生命科学府），芹田龍郎（東京農業大学大学院　農学研究科），三浦大樹（東京農業大学　応用生物科学部），加藤成樹（福島県立医科大学　医学部），穐吉亮平（生理学研究所），川津領一（生理学研究所），山肩葉子（生理学研究所），椎名洋平（生理学研究所），西本れい（生理学研究所），齋藤祐太朗（基礎生物学研究所），宮下俊雄（生理学研究所），和氣弘明（基礎生物学研究所），沼田かお理（生理学研究所），高雄啓三（生理学研究所），佐々木拓哉（生理学研究所），片野泰代（関西医科大学医化学），古江秀昌（生理学研究所神経シグナル），田中康代（基礎生物学研究所光脳回路），大野孔靖（同志社大学脳科学研究科），奥慎一郎（生理学研究所），久場健司（名古屋大学），井本敬二（生理学研究所），吉村由美子（生理学研究所），佐竹伸一郎（生理学研究所），北沢和寛（生理学研究所）

【概要】

記憶研究は，現在，転換期を迎えている。これまでは，特定の遺伝子に着目する遺伝学的手法を用いて記憶制御基盤の解明が進められてきた。しかし，現在，ウイルスを用いた分子遺伝学的手法，光遺伝学的手法，in vivo レコーディング及びイメージング技術の進展により，個体内の分子のみならず，回路・シナプス・細胞に特化して介入操作を加えることで，個体内の記憶回路にフォーカスした研究を展開することが可能となりつつある。現在，国内では，欧米に比較すると，個体を対象とする記憶研究は盛んであるとは言い難い。しかし，ショウジョウバエや線虫を中心としたモデル生物を用いた記憶研究は活発であり，一方で，高度な分子生物学・生理学・イメージング技術を有する神経科学研究者は多く，このような多彩な研究が融合することで，欧米を凌駕する新たな記憶研究を進展させることも可能である。今回は，線虫，ショウジョウバエ，マウス，そして，ヒトに至る様々な種を対象として記憶研究を進める研究者が一同に揃って研究会を行った。特に，個体内の記憶回路を標的とした研究成果が多く報告され，研究会を通じて，分子生物学・分子遺伝学から心理学に至る記憶制御基盤の学際的議論，そして，今後の記憶研究の可能性に関する議論を行い，記憶研究の共通理解・認識を深めた。現在，世界的に見ても，このような様々なモデル生物を対象とする記憶研究者が集まって議論を重ねる機会は少なくなっており，このような観点からも，非常に貴重な機会となった。今回は，相互理解を深める良い機会となったが，オールジャパンの新たな融合的研究が産まれるためにも，この会を継続することは大いに意義があると考えられた。

（1）記憶統合過程でドーパミン神経は何をしているのか？

上野耕平，齊藤　実
（東京都医学総合研究所・運動感覚システム研究分野・学習記憶プロジェクト）

匂いと電気ショックを組み合わせた嫌悪性のショウジョウバエ匂い連合学習において，匂い情報は 1 次中継核の antennal lobe (AL)を経て記憶中枢の mushroom body (MB)に，ショック情報は ventral nerve cord (VNC)を上行して MB に入力する。

我々は単離した培養脳で匂いの代わりに AL を，ショックの代わりに VNC の上行神経索（ascending fiber of VNC，AFV）を同時に連合刺激して，Ca^{2+}応答を指標とした AL-MB 間のシナプス伝達が数時間にわたり亢進する [long-term enhancement (LTE)] を見出した。この LTE は連合性，入力特異性，持続性に匂い記憶と極めて高い相関を示し，その形成には匂い記憶同様，nAChR，NR，

D1R の協調的活性化が必要なことが分かった。

ドーパミン（DA）神経はショウジョウバエでも報酬・罰情報処理に関与することが示唆されている。特に DA 神経を人為的に刺激することで，電気ショックなしでも匂い記憶が形成されることから，DA 神経はショック（罰）情報を MB に伝達すると考えられている。しかし AFV 刺激に応じた MB の Ca^{2+}応答は D1R 非依存性であり，むしろ NR 依存性であった。さらに意外なことに AL 刺激（による nACR の活性化），AFV 刺激（による NR の活性化）が無くとも D1R を活性化するだけで AL-MB LTE が形成された。AL-MB LTE 形成における必要条件（nAChR，NR，D1R の活性化）と十分条件（D1R のみでの形成）の齟齬は，DA 神経が単にショックにより DA を放出するのでなく，記憶統合過程でより複雑な局所回路を介して活性化され DA を放出してシナプスの可塑的変化を誘導していることを示唆している。

（2）ショウジョウバエの匂い記憶回路を観る

多羽田哲也（東京大学分子細胞生物学研究所）

ショウジョウバエの，匂いと電気ショックの連合学習記憶は記憶研究の１つのモデルである。匂い分子は触角にある Odorant receptor neuron に受容され，Projection neuron を経て，Mushroom body（MB）内在神経である Kenyon 細胞（KCs）を興奮させる。2000 個の KCs のうちの異なった組み合わせの数十個の細胞が，個々の匂い分子に応答する。KCs はこの組み合わせにより，匂い情報をコードするとともに，電気ショックとの同時検出器として働き，記憶形成の中心にあると考えられている。KCs に GCaMP を発現させた個体を２光子顕微鏡下で観察することにより，立体構築した３次元画像の視野に，個々の細胞を識別する解像度を保ちながら 2000 に余る KCs の全ての細胞体を納め，４次元イメージングによって神経活動をモニタする系を確立した。さらに，顕微鏡下で電気刺激を与えることで記憶形成に伴う記憶痕跡の同定を試みた。KCs の細胞体における GCaMP の蛍光強度の観察では記憶による有意な差は検出されなかったが，KCs の軸索束先端部では，記憶に依存すると思われるシグナルの上昇が観察された。さらに，KCs（3 次神経）からの出力を受容する 4 次神経の１つの樹状突起にも Ca レベルを指標とする記憶痕跡を見出した。上記に加え，CRE 配列を指標として，長期記憶形成に働く神経細胞を同定する試みも行っている。これらの系を用いることで，種々の匂い記憶形成に働く神経回路を細胞レベルで同定し，そこに働く分子群の作用機序を明らかにしたい。

（3）塩の濃度の記憶による線虫の可塑的行動の分子神経機構

飯野雄一（東京大学大学院理学系研究科生物化学専攻）

線虫 C.エレガンスは，化学物質，温度，光，酸素，二酸化炭素などさまざまな感覚刺激を受容しそれを手がかりに生存に最適な環境を探す。このうち塩（主に NaCl）に対する化学走性行動に関する連合学習の機構を研究している。

線虫を一定の塩濃度で餌を与えた状態で飼育すると，飼育されていた塩濃度に向かう。つまり，過去に経験した塩濃度を記憶しておりその濃度を好むようになる。一方，餌を与えずに一定の塩濃度で飼育すると，その経験塩濃度を避ける行動を示すようになる。

餌のある状態での経験塩濃度に向かう行動には単一の感覚神経（ASER）が必要十分である。塩濃度変化に対する ASER 感覚神経とその出力を受ける介在神経の応答は経験塩濃度によって変化し，うち AIB 介在神経は経験濃度がテスト濃度より高いときにのみ応答することがわかった。さらに，ASER 神経内で働く Gq/PLC/DAG/nPKC 経路の活性により嗜好塩濃度と AIB 神経の応答が変化する。これらの観察より，Gq 経路による感覚神経か

ら介在神経へのシナプス伝達の制御が行動変化の機構であることが推測される。

一方，飢餓により経験塩濃度を避けるようになる学習はインスリン/PI3 キナーゼ経路に強く依存する。PI3 キナーゼ経路も感覚神経 ASER で働くことが必要である。インスリン受容体の一つのアイソフォームが ASER の軸索に局在し，この局在が飢餓により増加することを見いだした。局在型のインスリン受容体はシナプス伝達を負に制御することもわかった。

（4）活動依存性遺伝子発現とシナプスタグ

尾藤晴彦（東京大学大学院医学系研究科　神経生化学分野）

我々の研究グループは，選択的シナプス入力が神経細胞の核内で CREB 依存的転写誘導を引き起こす際の入力出力応答性の研究から，神経細胞におけるシナプスから核へのシグナリングの重要性を指摘してきたが，神経特異的前初期遺伝子 Arc のプロモータ解析から，シナプスから核へ至る転写因子制御機構を解明し，ゲノム上で神経活動の強力なセンサーとして働くシナプス活動応答性エレメント SARE を新たに単離した。その結果，多数の cis-エレメントの協調により，海馬や大脳新皮質の生理的刺激により速やかに遺伝子発現が誘導される分子機構を解明した。これらの知見をベースに，生理的刺激に応答した SARE 活性を指標に，神経活動の亢進した神経回路を可視化・同定する proof-of-concept 実験に成功している。さらに神経活動依存的な遺伝子発現の亢進のもっとも重要な生物学的意義は，神経回路の「設計図」と「可塑性」をリンクさせることであると想定されるが，現在，その実態を明らかにしつつあるので，その成果の一端を紹介したい。

（5）PTSD の持続エクスポージャー療法の治療原理

金　吉晴（国立精神神経医療研究センター）

PTSD（外傷後ストレス障害（posttraumatic stress disorder: PTSD）は著しい恐怖に暴露されたことによって，記憶に対する恐怖条件付けが形成されると同時に，その記憶からの解離が生じるために，回復のための記憶処理が阻害され，患者は絶えず記憶表象をフラッシュバック的に想起し，恐怖を感じるとともに，その記憶への解離を繰り返すという病態である。この病態の構造については心理モデル，生物学的モデル，辺縁系症状としてのモデルなどが考えられているが，心理モデルとしては有効な治療法である持続エクスポージャー療法の治療原理から遡及した病態が考えられている。すなわち恐怖記憶と想起刺激からの回避，記憶に対する事故の無力さと世界の危険についての否定的な，非機能的な認知の存在によって，本来は無関係な知覚対象，身体感覚，思考の間に恐怖条件付けのネットワークが形成されているとされている。発表者は持続エクスポージャー療法の RCT を終了し，良好な治療成績を収めたが，当日はその経験に基づいてこの治療法について紹介するとともに，PTSD の病態について考察するとともに，治療されていない PTSD のトラウマ記憶の性質について検討を加えたい。

（6）SCOP を中心に見た記憶のサーカディアン制御メカニズム

清水貴美子（東京大学大学院理学系研究科生物化学専攻）

一日の時刻による記憶形成効率の違いが様々な動物種において報告されており，概日時計と記憶形成との機能連関が示唆されている。しかし記憶形成効率の時刻による変化が明暗周期に依存しているのか，あるいは内在性の概日時計によって生み出されているのかなど不明な点が多い。また，両機能の連関を分子レベルまで踏み込んで解析した研究は少なく，両者の連関機構は大きな謎に包まれている。この機能連関メカニズムに迫る分子的な手掛かりとして SCOP に着目している。

SCOP (SCN Circadian Oscillatory Protein) は概日時計中枢である SCN（視交叉上核） において発現量が概日変動する。分子的機能としては，膜ラフトにおいて K-Ras と相互作用しその下流の ERK/MAPK 経路を負に制御する。このシグナル経路は海馬において長期記憶形成に重要な役割を果たしていることから，SCOP は概日時計と記憶形成を結ぶ鍵分子である可能性が考えられた。

一定照明条件下のもとでマウスをもちいて新奇物体認識テストをおこなうと，長期記憶効率は昼に低く夜に高い日周リズムを示し，長期記憶形成過程が概日時計の制御下にあることが示唆された。また，海馬ラフトの SCOP タンパク質量も夜に高く昼に低いという日周変動を示した。SCOP ノックアウトマウスでは，主観的明期と主観的暗期の長期記憶の効率に差が無くなり，SCOP 量の変動と，認識テストにおける長期記憶形成効率の日周変動とが連関していることが示唆された。

（7）2 光子励起法によるシナプス長期再編の in vivo 観察

鍋倉淳一，稲田浩之（生理学研究所発達生理学研究系恒常機能発達機構研究部門）

近年の生体２光子励起法を用いたイメージング技術の発展により，生きた動物において大脳皮質における細胞・突起・シナプスなどの微細構造をミクロンレベルの解像度で観察するとともにその繰り返し観察が可能となり，内外環境の変化などによる神経回路の変化を同一動物において抽出することができるようになった。

今回は，生体２光子励起顕微鏡を用いたミクログリアによるシナプス監視機構のリアルタイムイメージング，および長期繰り返しイメージングを適用して慢性疼痛モデルにおけるによる大脳皮質神経回路の再編を紹介する。さらに，海馬錐体細胞シナプスの繰り返し生体イメージングを紹介し，記憶研究における生体２光子励起法の応用について，議論の提起を行う。

加えて，発達期マウスから作成した脳薄切片において，大脳嗅内皮質から海馬への回路に周期的同期活動が存在することを膜電位感受性を用いて見出した。周期性活動の特性の抽出と，記憶回路の発達制御について研究会参加者に意見を頂きたい。

（8）タンパク質分解を起点とした想起後の記憶制御

喜田　聡（東京農業大学応用生物科学部）

不安定な記憶は遺伝子発現依存的な「記憶固定化」のプロセスを経て安定な長期記憶へと移行する。一方，記憶が想起されると，短期記憶と同様に不安定な状態となり，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」が必要とされることが明らかとなった。さらに，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，恐怖条件付け文脈課題及

び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。

受動的回避反応課題ではマウスが明箱から暗箱に移動すると電気ショックを受け，暗箱に対する恐怖記憶を形成する。従って，マウスを再度明箱に入れた場合には，恐怖記憶は想起されるものの，恐怖記憶消去は誘導されず，暗箱に移動して，電気ショックを受けない場合にのみ消去が誘導される。従って，この課題では，再固定化と消去を区別して解析できるメリットがある。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。さらに，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。興味深いことに，これら再固定化/強化と消去が誘導される際には，プロテオソーム依存的タンパク質分解が活性化され，このタンパク質分解を抑制すると，再固定化/強化及び消去が誘導されないことが明らかとなった。このタンパク質分解の活性化は固定化では観察されなかったことから，想起後の記憶制御はプロテオソーム依存的タンパク質分解を起点にして誘導されることが示唆された。

（9）線虫 C. elegans の神経回路における忘却の制御機構

石原　健（九州大学理学研究院）

動物は，外界からの様々な情報を感覚ニューロンで受容し，その一部を記憶として保持している。記憶の保持時間を適切に制御することは，刻々と変化する環境に適切に応答するために重要である。我々は，線虫 *C. elegans* の嗅覚可塑性を用いて，記憶の忘却を制御するメカニズムの解析を進めている。

線虫は，強い匂いに曝されるとその匂いに対する応答が弱くなる嗅覚順応という行動可塑性を示す。我々は，AWA ニューロンで受容されるジアセチルに対する嗅覚順応の記憶を忘れにくくなる変異体をスクリーニングして，p38 MAPK のアダプタータンパク質 TIR-1 が忘却を促進していることを見いだした。さらに，AWC ニューロンにおいて TIR-1 は，シグナル経路を形成して忘却を制御していた。そこで，AWC ニューロンの神経分泌や神経機能を抑制したところ，忘却が遅くなった。これらのことから，AWC ニューロンから忘却シグナルが分泌され, AWA ニューロンの感覚応答を制御することによって，忘却が促進されていることが示唆された。

ブタノンエンハンスメントは，ブタノンと餌との条件付けによって，誘引性匂い物質ブタノンに対する応答が強くなる現象である。我々は，ブタノンエンハンスメント後に，餌の上で飼育すると，ブタノンに対して忌避するようになることを見いだした。このことは，ブタノンエンハンスメントの記憶を消去していることを示唆している。そこで，この消去が起きない変異体を同定したところ，シナプトタグミン類似分子 SNT-3 の変異体であることがわかった。この変異体では，シナプス分泌が亢進していることから，神経伝達が記憶の消去を制御している可能性があるのではないかと考えている。

（10）記憶形成と生後脳神経新生

井ノ口馨（富山大学大学院医学薬学研究部（医学））

哺乳類の海馬歯状回では，生後においても新たなニューロンが継続的に産生されている（神経新生）。生後脳海馬の神経新生は記憶の形成や制御に関わっている。私たちは，海馬における神経新生が，記憶が海馬依存的な状態から非依存的な状態へと移行する速度を制御していることを明らかにしてきた(1, 2)。一方で，シナプス可

塑性が新生ニューロンの分裂・生存やシナプス形成を巧妙に制御していることを見出した（3, 4）。このように神経新生と記憶・シナプス可塑性はレシプロカルに制御し合いながら，海馬機能を調節していることが明らかになってきた。本研究会ではこれらのデータを紹介しながら，生後脳の神経新生が記憶の形成・制御に果たす役割を議論したい。

（11）記憶痕跡の探究

松尾直毅（京都大学白眉センター）

記憶情報は脳内のどこで，どのようにして保持されているのであろうか？という記憶痕跡に関わる素朴な疑問は古来より多くの哲学者，科学者を魅了してきた。これまでに immediate-early genes (IEGs)の神経活動依存的な発現を利用した活動マッピングや，*in vivo* ユニット記録などの研究から，記憶と相関を示す細胞集団の存在が示唆されている。演者らも IEGs のひとつ *c-fos* 遺伝子のプロモーターとテトラサイクリン誘導発現系を活用したトランスジェニックマウスの開発を行い，脳の各階層における記憶痕跡の可視化とその解析を行ってきた。

記憶と特定の機能的細胞集団の間の因果関係を実証するためには，これらの機能的細胞集団の活動を選択的に抑制もしくは賦活化することにより，記憶の想起が阻害される，もしくは人為的に再生されることを動物個体レベルで直接検証することが必要である。そこで本講演では，演者らのテタヌス毒素によるシナプス伝達遮断や DREADD (Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drug)システムを用いたアプローチについて紹介し，議論を交わしたい。

16. 粘膜防御における上皮膜輸送の役割とその破綻による疾病発症メカニズム

2012 年 11 月 30 日－12 月 1 日

代表・世話人：石黒　洋（名古屋大学総合保健体育科学センター）
所内対応者：鍋倉淳一（生体恒常機能発達機構研究部門）

（1）多発性嚢胞腎症ラットの膵導管の形態と機能
石黒　洋（名古屋大学大学院医学系研究科健康栄養医学）

（2）膵液分泌に寄与するカリウムイオンチャネルの同定
林　美樹夫（関西医科大学生理学第一講座，Department of Biology, University of Copenhagen, Denmark）

（3）ラット顎下腺腺房細胞で副交感神経作動薬により誘導される Cl^- 分泌の交感神経 β 作動薬による修飾
廣野　力（広島大学大学院医歯薬保健学研究院口腔生理学研究室）

（4）クロージン 15 ノックアウトマウスにおける腸管電解質代謝と栄養素吸収
林　久由（静岡県立大学食品栄養科学部生理学教室）

（5）TMEM16F は $Ca2^+$ 賦活化アニオンチャネルである
清水貴浩（富山大学大学院医学薬学研究部（薬学）薬物生理学）

（6）２ステップ Cl^- 分泌に関する時間依存的数理モデルによる粘膜防御機能解析の可能性
笹本浩平（京都府立医科大学医学部医学科）

（7）AMPK 活性化薬によるアミノ酸輸送体阻害薬の抗癌効果の増強作用
木村　徹（杏林大学医学部薬理学教室）

（8）CARS 顕微鏡を用いた経上皮膜水拡散現象の可視化
相馬義郎（慶應義塾大学医学部薬理学）

（9）（特別講演）Bicarbonate permeability of CFTR and ANO1 anion channels
Min Goo LEE（Department of Pharmacology, Yonsei University College of Medicine, Seoul）

（10）上皮輸送と細胞内外 pH 調節機構における Na-HCO_3 共輸送体 NBCe1 の意義
山崎　修（東京大学医学部腎臓内分泌内科腎生理）

（11）尿細管性アシドーシスのメカニズム
河原克雅（北里大学医学部生理学，北里大学大学院医療系研究科細胞分子生理）

（12）多発性嚢胞腎（PKD）上皮細胞における Ca^{2+} 輸送低下および細胞内 cAMP 増加に関わるシグナル伝達
長尾枝澄香（静子）（藤田保健衛生大学　疾患モデル教育研究センター）

（13）腎近位尿細管の第二のシスチントランスポーターの分子同定と機能解析
永森收志（大阪大学大学院医学系研究科生体システム薬理）

（14）NHE 阻害剤による細胞増殖抑制に NDCBE を介した細胞内クロライドイオンの低下が関与する
細木誠之（京都府立医科大学大学院医学研究科細胞生理学）

（15）胃幽門腺粘液細胞における PPAR α による ACh 刺激性開口放出の増強
田中早織（大阪医科大学生理学，大阪薬科大学薬物治療学）

（16）小腸絨毛における上皮下線維芽細胞を介したサブスタンスＰと ATP の相互作用
古家喜四夫（名古屋大学革新ナノバイオデバイス）

（17）マウス胃酸分泌細胞における細胞防御 Cl^- チャネルの分子実体の探索
藤田恭輔（富山大学大学院医学薬学研究部）

【参加者名】

金井　好克（大阪大学　医学系研究科），丸中良典（京都府立医科大学　大学院医学研究科），石黒　洋（名古屋大学　総合保健体育科学センター），鈴木裕一（仙台白百合女子大学　人間学部健康栄養学科），山口　誠（名古屋大学　医学系研究科），近藤志保（名古屋大学大学院　医学系研究科），木村　徹（杏林大学　医学部），横山紀子（京都府立医科大学大学院　医学研究科），早田洋樹（京都府立医科大学大学院　医学研究科），北川真希（京都府立医科大学），笹本浩平（京都府立医科大学大学院医学研究科），宮崎裕明（京都府立医科大学大学院　医学研究科），林美樹夫（関西医科大学　医学部），永森收志（大阪大学　大学院医学系研究科），中張隆司（大阪医科大学　医学部），関　常司（東京大学　腎臓内分泌内科），山崎　修（東京大学医学部　腎臓内分泌内科），細木誠之（京都府立医科大学），河原克雅（北里大学　医学部），酒井秀紀（富山大学　大学院医学薬学研究部），相馬義郎（慶應義塾大学　医学部），高野美菜（大阪薬科大学　薬学部），藤田恭輔（富山大学　大学院医学薬学研究部），長尾静子（藤田保健衛生大学　疾患モデル教育研究センター），田中早織（大阪薬科大学薬学部），清水貴浩（富山大学　薬学部），杉山奈菜江（大阪薬科大学　薬学部），廣野　力（広島大学　大学院医歯薬保健学研究院），杉田　誠（広島大学　大学院医歯薬保健学研究院），林　久由（静岡県立大学　食品栄養科学部），孫　紅昕（京都府立医科大学　医学研究科），古家喜四夫（名古屋大学　革新ナノバイオデバイス），宮本愛喜子（生理学研究所　生体恒常機能発達機構研究部門），鍋倉淳一（生理学研究所　生体恒常機能発達機構研究部門），石橋　仁（生理学研究所　生体恒常機能発達機構研究部門），加藤　剛（生理学研究所　生体恒常機能発達機構），石川達也（生理学研究所　生体恒常機能発達研究部門），中村佳代（生理学研究所　生体恒常機能発達研究部門），川本恭兵（生理学研究所　生体恒常機能発達研究部門），中畑義久（生理学研究所　生体恒常機能発達研究部門），穐吉亮平（生理学研究所　生体恒常機能発達研究部門），高橋優子（名古屋大学　医学部），藤木理代（名古屋学芸大学　管理栄養学部）

【概要】

上皮膜細胞の基底側膜と管腔膜（頂部膜）は，それぞれ血液（間質液）と管腔内液（粘液層）に接しており，気道と消化管は外界と繋がっている。上皮膜による物質輸送は，体液調節，消化液の分泌，栄養素の吸収に加えて，管腔内液のイオン組成，粘稠度，水分含量を調節することによって，線毛運動や免疫といった粘膜防御機構を維持している。粘膜防御機構の破綻は，嚢胞性線維症，多発性嚢胞腎などの難病の病態の根本である。最近，複数の輸送体分子が足場タンパク質を介して複合体を形成し，極性を持って配置されることにより，各上皮膜に特有の物質輸送が実現されることが分かってきた。このような基礎的な研究は，多くの難病の病態の解明および創薬につながり社会的貢献度が高い。

本研究会は，平成 24 年 11 月 30 日～12 月 1 日に開催し，上皮膜分野の国内の研究者が集まり，韓国 Yonsei 大学 Pharmacogenomics Research Center for Membrane Transporters のセンター長である LEE 教授を招いた。16 題の研究発表（発表 15 分，討論 10 分）と LEE 教授の特別講演（1 時間）が行われ，各研究室の若手研究者，大学院生を交えて，活発な討論が行われた。

一般講演では，多発性嚢胞腎症モデルラットの膵導管の形態と機能，膵導管細胞における Kca3.1 チャネル，唾液腺腺房細胞の Cl^-分泌の β 作動薬による修飾，腸管電解質輸送におけるクロージン 15 の役割，TMEM16F チャネルの特性，上皮膜 Cl^-分泌の時間依存的数理モデル，Ca9-22 癌細胞に対する LAT1 阻害薬と AMPK 活性化薬の併用効果，Coherent anti-stokes raman scattering 顕微鏡による水分子輸送の可視化，Na^+-$HCO3^-$共輸送体 NBCe1 変異の分子病態，尿細管性アシドーシスにおけるバソプレシン V1a 受容体，低浸透圧負荷による多発性嚢胞腎上皮細胞の増殖抑制効果，SLC7A13-rBAT 複合体のシスチン輸送，MKN-28 胃癌細胞の増殖における細胞内 Cl^-濃度の役割，胃幽門腺粘液細胞の開口放出における PPAR α オートクリン機構，小腸絨毛のメカノセンサー機構と運動における上皮下線維芽細胞由来 ATP の役割，胃酸分泌細胞における SLC26A7 Cl^-チャネル，等についての最新の研究成果が発表された。特別講演では，CFTR と ANO1 チャネルの $HCO3^-$透過性調節の分子機構と生理的意義について斬新な研究が紹介された。

今後，本研究分野のさらなる発展，若手研究者のます

ますの活躍，共同研究の推進が期待できる。

（1）多発性嚢胞腎症ラットの膵導管の形態と機能

衣　蘭娟[1]，山本明子[1]，古家園子[2]，長尾枝澄香[3]，吉原大輔[3]，中莖みゆき[1]，
山口　誠[1]，近藤志保[1]，持丸由香[1]，成瀬　達[4]，石黒　洋[1]
（[1]名古屋大学大学院医学系研究科健康栄養医学，[2]生理学研究所，
[3]藤田保健衛生大学疾患モデル教育研究センター，[4]みよし市民病院）

腔組織では，primary cilia が管腔内の機械的，化学的刺激を感知してシグナルを周囲に伝えることにより構造が維持される。cilia タンパクの 1 つ fibrocystin の遺伝子（PKHD1）変異を原因とする多発性嚢胞腎症のモデルである polycystic kidney（PCK）ラットの膵導管の形態と機能を解析した。PCK ラットでは，膵管が拡張し，膵管周囲の線維化が見られたが，嚢胞は見られなかった。PCK ラットでは，in vivo の膵液分泌が，正常ラットに比べて約 40%減っていた。単離した小葉間膵管を，37℃の HCO3--CO2 緩衝液で表層灌流し，管腔容積の変化から in vitro の溶液分泌を測定したところ，secretin（10 nM）刺激下の溶液分泌は，正常ラットに比べて約 40%増えていた。単離膵管の管腔に ATP（10 ∝M）を加えた時の細胞内 $Ca2^{+}$（$[Ca2^{+}]_i$）反応は，管腔の灌流方向（十二指腸側／腺房側から）に依存していた。正常ラットの膵管では，腺房側から灌流した場合の$[Ca2^{+}]_i$反応が大きかったが，PCK ラットでは逆であった。PCK ラットの膵導管は管腔内刺激に対して正常と異なる[Ca2+]i 反応を示し，secretin 刺激による溶液分泌が亢進していた。in vivo の膵液分泌の低下は，拡張した膵管への貯留が原因と推定される。

（2）膵液分泌に寄与するカリウムイオンチャネルの同定

林美樹夫[1,2]，Jing Wang[2]，Ivana Novak[2]，松田博子[1]
（[1]関西医科大学生理学第一講座，
[2]Department of Biology, University of Copenhagen, Denmark）

カリウムイオンチャネル（K チャネル）は膜電位を維持することで，上皮細胞における陰イオン分泌に駆動力を与える。重炭酸イオン分泌上皮の膵臓導管細胞において，K チャネルの分子基盤については不明の点が多い。本研究では，膵臓導管細胞に機能発現する K チャネルを明らかにした。まず RT-PCR 法を用いて，*KCNN4, KCNQ1, KCNH2, KCNH5, KCNT1* および *KCNT2* 分子の発現を認めた。次に免疫組織化学法を用いて，*KCNN4* がコードする $K_{Ca}3.1$ 蛋白が管腔側膜および血管側膜に分布することを観察した。さらに導管細胞の単層培養を用いた短絡電流測定において，$K_{Ca}3.1$ チャネル機能に依存する上皮膜イオン輸送を認めた。また，$K_{Ca}3.1$ チャネルの遮断薬は新鮮分離導管細胞の静止膜電位を脱分極させた。それに加えて導管細胞の血管側膜に，内向き整流性 K コンダクタンスを認めた。これらの結果は，$K_{Ca}3.1$ チャネルが導管細胞の膜電位を維持することで膵液分泌に寄与する可能性を示唆する。

（3）ラット顎下腺腺房細胞で副交感神経作動薬により誘導される Cl^-分泌の交感神経β作動薬による修飾

廣野　力，杉田　誠，柴　芳樹（広島大学大学院医歯薬保健学研究院口腔生理学研究室）

顎下腺腺房細胞では副交感神経作動薬により細胞内 Ca^{2+}濃度上昇を介して誘導される Cl^-分泌が交感神経β作動薬や cAMP により抑制される。しかし，β作動薬のβ1 受容体とβ2 受容体それぞれを介する作用の一部は不明である。そこで，副交感神経作動薬で誘導される細胞内 Ca^{2+}濃度上昇と Cl^-分泌電流に対するβ1 作動薬とβ2 作動薬の影響を調べた。

ラット顎下腺分離腺房細胞に Fura2-AM を負荷し ARGUS-HiSCA システムで細胞内 Ca^{2+}濃度を測定した。腺房細胞の Cl^-チャネル活性をホールセルパッチクランプ法で，Cl^-チャネル＋Cl^-輸送体の活性をグラミシジン穿孔パッチ法で測定した。

副交感神経作動薬カルバコール（CCh）で誘導される Ca2+濃度上昇はβ1 作動薬ドブタミンでもβ2 作動薬テルブタリンでも増強された。Ca^{2+}濃度上昇はフォルスコリン＋IBMX でも増強され，さらにドブタミンやテルブタリンを添加しても変化しなかった。CCh で誘導される振動性の Cl^-電流はホールセルでもグラミシジン穿孔パッチ法でもドブタミンで抑制されたが，テルブタリンでは抑制されなかった。

以上より，β1 作動薬とβ2 作動薬は，CCh で誘導される腺房細胞内の Ca2+濃度上昇には cAMP 産生を介して増強する共通な反応を生じるが，下流のイオンチャネルや輸送体の活性調節ではβ1 とβ2 で反応経路の一部が異なることが示唆される。

（4）クロージン 15 ノックアウトマウスにおける腸管電解質代謝と栄養素吸収

林　久由，小松雪乃，鈴木裕一（静岡県立大学　食品栄養科学部　生理学研究室）

本小腸のタイト結合を構成する蛋白の一つであるクロージン 15 は，障壁的な役割のみならず，生体に必要なイオンの透過路としての役割があることが推測される。このため本研究では，クロージン 15 ノックアウトマウス(cldn15 KO)並びに野生型マウス(WT)を比較し，小腸での cldn15 によるイオン透過路と栄養素吸収に対する生理的役割を解明することを目的とした。cldn15 KO と WT に，非吸収性マーカーであるポリエチレングリコール(PEG-4000, ^{14}C-PEG でラベル）を添加した餌を与え，一定時間後に屠殺し腸管を摘出した。腸管各部位（胃，小腸 6 等分，盲腸）より内容物を回収し，水分含有量，K^+，Na^+，Cl^-濃度，^{14}C-PEG 量を測定した。PEG の胃排出速度は cldn15 KO では低下していた。小腸各部位での PEG 濃度の分布を比較すると，分布パターンは異なっており，内容物の滞留時間は WT では空腸より回腸で滞留時間が長かったが，cldn15 KO では空腸で滞留時間が延長していた。腸管内容物のイオン組成は cldn15 KO では Na^+濃度が低下し K^+濃度が上昇していた。小腸各部位における Na^+吸収・分泌速度は cldn15 KO で抑制されていた。また cldn15 KO では回腸で K^+吸収速度が亢進していた。内容物のグルコース濃度は cldn15 KO では WT に比べ回腸でも高濃度存在した。

（5）TMEM16F は Ca^{2+}賦活化アニオンチャネルである

清水貴浩[1]，家原貴大[1]，佐藤かお里[2]，藤井拓人[1]，竹口紀晃[1]，岡田泰伸[2]，酒井秀紀[1]
（[1]富山大学大学院医学薬学研究部（薬学）・薬物生理学，[2]生理学研究所・機能協関）

Transmembrane protein (TMEM) 16 蛋白質は，８回膜貫通領域をもつ新たな Cl^-チャネルファミリーを形成していると考えられている。このファミリーのうち，TMEM16A/16B は Ca^{2+}賦活化アニオンチャネル（CaCC）の分子実体として同定されたが，TMEM16F のイオンチャネル機能については，現在までに様々な報告がなされており，論争の的になっている。本研究では，ヒト TMEM16F を HEK293T 細胞に強制発現させ, ホールセルパッチクランプ法を用いてチャネル機能の解析を行った。TMEM16F 発現細胞において，細胞内 Ca2+濃度の増加により，強い外向き整流性を示すホールセル電流が観測された。TMEM16F の細胞内 Ca^{2+}に対する EC50 は 8.9 μM であった。また TMEM16F のアニオン選択性は，I->Br->Cl^->F->aspartate$^-$であり，TMEM16A/16B における選択性と一致した。一方，TMEM16F が容積感受性アニオンチャネルの機能を担っているという報告があるが，TMEM16F を過剰発現あるいはノックダウンした HEK293T 細胞において, 容積感受性アニオンチャネル電流の大きさに有意な変化は観察されなかった。これらの結果から，TMEM16F は容積感受性アニオンチャネルでなく，Ca^{2+}賦活化アニオンチャネルとして機能することが示唆された。

（6）２ステップ Cl^-分泌に関する時間依存的数理モデルによる粘膜防御機能解析の可能性

笹本浩平（京都府立医科大学　医学部　医学科）
新里直美，丸中良典（京都府立医科大学　大学院　医学研究科　細胞生理学，
平安女学院大学　日本食育・健康研究所）

気道上皮組織は気道側細胞膜表面被覆層を形成して，感染防止や異物排泄などの重要な気道粘膜での生体防御機能を発揮している。この生体防御機能構築の中心的な役割を担っているのが気道粘膜管腔側への Cl^-分泌を駆動力とする水分泌である。

しかしながら，前述の水分泌機構の統合的制御機構に関しては現段階で未解決の点も多い。そこで我々は，上皮細胞における既知の Cl^-の動態機構から時間依存的数理モデルを構築し，Cl^-分泌に関与するイオン輸送体・チャネル活性が如何に変化するかを予測することによって，従来実験結果により得られていた結論より遥かに多くの情報を得ることが可能になった。

２ステップ分泌の議論における結論の一つとして投与薬剤の細胞感受性予測がある。我々が構築した数理モデルから導かれる特徴的なグラフから薬剤活性・細胞感受性・標的分子を予測し，分子生物学的解析法を用いることで分子レベルでの粘膜防御機能を含めた上皮細胞機能解析も可能になるものと考える。

実験中に条件として設定し難い事柄でも容易に設定できる数理モデルと実験サイドの相互協力がより詳細な上皮細胞機能解析を可能なものとする。我々のグループは Cl^-の生理活性の解明を研究の一翼としているが，本研究の理論的部分の一つが解決し，薬理活性や細胞内情報伝達・標的分子の細胞内ダイナミクスをも明らかにし得ると考えられるため，ここに報告する。

（7）AMPK 活性化薬によるアミノ酸輸送体阻害薬の抗癌効果の増強作用

木村　徹，上野誠二，山賀　貴，櫻井裕之（杏林大学　医学部　薬理学教室）

アミノ酸は，mTOR 系を活性化することによって，細胞増殖を促進することが知られている。LAT1 は，多くの必須アミノ酸を含む大型中性アミノ酸を輸送する輸送体の 1 つである。LAT1 は癌組織や癌細胞においてその発現が上昇していることから，癌治療の新たな分子標的と考えられる。癌化学療法では，単剤投与より抗癌効果の促進と副作用の軽減のため多種類の抗癌剤が併用される場合が多い。そこで本研究では，AMPK 活性化薬であり，mTOR の阻害効果を持つ糖尿病治療薬メトホルミンと LAT1 阻害薬との併用により抗癌効果を相乗的に高めることが可能ではないかと考え検討を行った。

LAT1 の阻害剤として，BCH を用いた。癌細胞として頭頚部癌細胞である Ca9-22 細胞を用い，薬物処理の 1 週間後に細胞の生存率を MTT 法を用いて解析を行った。

蛍光免疫染色により，Ca9-22 おいて LAT1 タンパク質が細胞膜表面に発現していることを確認した。Ca9-22 細胞において，1mM メトホルミン単独処理で 92%，20mM BCH 単独処理で 82%の生存率であった。これに対し，1mM メトホルミンと 20mM BCH を併用すると 51%まで生存率が低下した。

以上の結果から，アミノ酸輸送体阻害薬と広く臨床で用いられ，安全性が確立されている糖尿病治療薬を併用することにより抗腫瘍効果を相乗的に高める可能性があることが示された。

（8）CARS 顕微鏡を用いた経上皮膜水拡散現象の可視化

余　盈君，相馬義郎，安井正人（慶應義塾大学・医学部）

Coherent Anti-Stokes Raman Scattering (CARS) は，非線形ラマン散乱の一種で，試料に対して，その差分が試料のラマン活性振動数 ω_R に等しい振動数を持つ 2 種類の極短パルスレーザー光，Pump 光 (ω_P)と Stokes 光 (ω_S) ($\omega_P > \omega_S$)，を入射すると，試料分子との相互作用によってコヒーレントな CARS 光 ($\omega_{CARS} = 2\omega_P - \omega_S$) が放出される現象である。物質のラマン活性振動数 ω_R は，その物質が持つ共有結合の固有振動数に強く依存するため，O-H 結合に合わせる（O-H モード）と水分子の，C-H 結合に合わせる（C-H モード）と主として C-H 結合を数多く持つ脂質からの CARS 光の放出が観察される。また，O-H モードでは，重水 D_2O からは O-D 結合の固有振動数が，O-H 結合のそれとは異なるため CARS 光は発生しない。

上皮細胞由来の細胞を BD マトリゲル中で培養して形成させた 1 層の細胞で構成された嚢胞を CARS 顕微鏡のステージ上にセットして，O-H モードで撮影しながら，通常の水 H_2O で作られた灌流液と重水 D_2O で作られた同組成の灌流液を高速に切り替えることにより，嚢胞上皮の経上皮的な水の拡散現象がリアルタイムに可視化できた。さらに，コンピュータシミュレーションを用いて，水拡散の可視化データから上皮の管腔側膜と基底側膜それぞれについての水の拡散透過係数が算出できた。

（9）Bicarbonate permeability of CFTR and ANO1 anion channels

Min Goo Lee（Department of Pharmacology, Yonsei University College of Medicine, Seoul）

Anion channels play critical roles in the regulation of many physiological processes, such as sensory transduction, regulation of vascular tone, and fluid secretion. In the secretory epithelium of airways and exocrine organs, anion

channels control apical efflux of anions, which is essential for the vectorial transport of water and electrolytes. In physiological conditions, the two most abundant anions that can be the charge carrier of anion channels are chloride and bicarbonate. Recently, we found that permeability of anion channels can be dynamically modulated by various cellular signaling. For example, activation of WNK1-OSR1/SPAK signaling by low intracellular chloride strongly increases the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) bicarbonate permeability in pancreatic duct cells, making CFTR primarily a bicarbonate channel, which is essential for the secretion of pancreatic juice containing bicarbonate at a concentration greater than 140 mM. In addition to CFTR, calcium-activated chloride channels (CaCCs) are present in many epithelial tissues. Recently, it has been identified that ANO1/TMEM16A is responsible for CaCC activity in several epithelial and neuronal tissues. Interestingly, we also found that anion selectivity of ANO1 is dynamically regulated by cellular signaling, such as calcium/calmodulin. Importantly, ANO1 becomes highly permeable to bicarbonate at high intracellular calcium concentrations. The potential physiological and pathophysiological roles of the above findings will be discussed.

（10）上皮輸送と細胞内外 pH 調節機構における Na-HCO_3 共輸送体 NBCe1 の意義

山崎　修，山田秀臣，鈴木正志，堀田晶子，関　常司（東京大学腎臓内分泌内科）

Na-HCO_3 共輸送体 NBCe1 は上皮輸送や細胞内外の pH 調節において重要な役割を担っている。NBCe1 のホモ接合変異は眼症状と成長障害を伴う近位尿細管性アシドーシス(pRTA)を生じる。NBCe1 W516X 変異ノックインマウスは重度の酸血症と角膜浮腫を呈し，アルカリ治療なしでは生後早期に死亡する。ホモマウスの近位尿細管重炭酸再吸収量は野生型の 20%以下に低下しており，酸塩基平衡における NBCe1 の重要性が確認された。

一方，NBCe1 には腎型（NBCe1A），膵型（NBCe1B）および脳型（NBCe1C）ヴァリアントが存在する。特異的な N 末構造を有する NBCe1A は単独で強い輸送活性を示すが，NBCe1B および NBCe1C は N 末に IP3 受容体結合蛋白 IRBIT が結合して初めて強い輸送活性を呈する。

最近，片麻痺性片頭痛を伴う pRTA 家系から NBCe1 C 末ホモ接合体変異 S982NfsX4 が同定され，ヘテロ症例も pRTA は発症しないが片頭痛と緑内障を呈していた。S982NfsX4 変異体は野生型との重合を介した dominant negative 作用を有しており，その結果生じるシナプス内および網膜内 pH 調節機構の破綻が片頭痛と緑内障発症と関連することが示唆された。尚，L522P 変異体の解析から dominant negative 作用は細胞内貯留型 NBCe1 変異に共通する特徴であることが示された。

（11）尿細管性アシドーシスのメカニズム

河原克雅，安岡有紀（北里大学医学部生理学，北里大学大学院医療系研究科細胞分子生理）

尿細管性アシドーシス(RTA) は，酸分泌障害機序により I, II, IV 型に分類される。I 型は，集合管間在細胞(IC)の H^+分泌障害（一次性）や Sjögren 症候群などの自己免疫疾患に併発する（二次性）。II 型は，近位尿細管(PT)の HCO_3^-再吸収障害が原因で（一次性），Fanconi 症候群の 1 型としても現れる（二次性）。IV 型は，アルドステロン作用低下による K^+と H^+の尿中排泄低下が原因で，最近，バソプレシン V1a 受容体(V1aR：IC (type A 細胞）に発現） KO マウスが代謝性アシドーシスを呈し，合成ミネラルコルチコイド投与で回復することが示された(Izumi et al, 2011)。我々は，V1aR KO マウスと PT に発現する pH 感受性 K チャネル(TASK2）KO マウス（HCO_3^-の再吸収障害; Warth R et al, 2005）を解析し，RTA の病態機序を明らかにした。【方法】V1aR KO，TASK2 KO，

WT（10 週令）を代謝ケージに入れ，(1)標準飼育群，(2)酸負荷群（0.28M NH_4Cl 飲水 6 日間）の採尿・採血を行い，pH，pCO_2，HCO_3^-，電解質等を測定した。【結果】V1aR KO の主要な血漿・尿データ（標準飼育時）は，WT と有意な差はなかった。酸負荷後，V1aR KO は WT より血漿 pH，pCO_2，HCO_3^-が有意に低く，尿 pH の酸性化は小さかった。一方，TASK2 KO は標準飼育下で血漿 pH，HCO_3^-が低く（代謝性アシドーシス），酸負荷で血漿 pH は更に低下したが尿酸性化（pH 低下）においてWT と差がなかった。【結論】V1aR KO は，酸負荷時に酸分泌増加が小さい「応答性の低い I 型 RTA」を呈した。TASK2 KO は，酸塩基調節における pH センサー（酸分泌亢進のスターター）異常の可能性を示した。

（12）多発性嚢胞腎(PKD)上皮細胞における Ca2+輸送低下および細胞内 cAMP 増加に関わるシグナル伝達

長尾枝澄香（静子），釘田雅則，吉原大輔（藤田保健衛生大学　疾患モデル教育研究センター）
山口太美雄（カナダ　マニトバ大学　人類生態学部）

多発性嚢胞腎症（polycystic kidney disease 以下 PKD）は，腎臓，肝臓および膵臓等，多くの臓器に嚢胞が発症する遺伝性疾患で，常染色体優性遺伝性 PKD（以下 ADPKD）および常染色体劣性遺伝性 PKD（以下 ARPKD）に分類される。ADPKD では PKD1 および PKD2, ARPKD では PKHD1 が責任遺伝子として報告されており，遺伝子産物は一次繊毛あるいは細胞膜に存在する。これらの責任遺伝子産物は細胞内 Ca^{2+}の取り込みに関与し，責任遺伝子の変異に伴う細胞内 Ca^{2+}濃度の低下により病態発現が誘導されると推定される。さらに本疾患では，細胞内 cAMP の増加が特徴的であり，細胞内 Ca2+および cAMP という２つのセカンドメッセンジャーの変化が，PKD で見られる細胞増殖活性の亢進，線維化，炎症および嚢胞内液の蓄積という現象の発現に関与すると考えられる。演者らは，PKD モデルを用いて，細胞内 cAMP の増加が Raf/MEK/ERK シグナル伝達経路を活性化して異常な細胞増殖を促進すること，このシグナル伝達の活性化は細胞内 Ca2+が低下した条件下で起こること，および Ca^{2+}拮抗剤投与による細胞内 Ca^{2+}の低下が，PKD の病態をさらに悪化させることを明らかにした。そこで今回，PKD における嚢胞発生および病態進行におけるセカンドメッセンジャーおよびシグナル伝達経路の関与について紹介したい。

（13）腎近位尿細管の第二のシスチントランスポーターの分子同定と機能解析 Molecular identification and functional analysis of“the second”cystine transporter in the renal proximal tubules

永森収志，奥山裕久，Pattama Wiriyasermkul，中込咲綾，
西中由美子，高藤和輝，大垣隆一，金井好克
（大阪大学大学院医学系研究科　生体システム薬理学）

腎尿細管からのシスチンの再吸収は，近位尿細管管腔側膜のシスチントランスポーターによって行われる。以前我々は，シスチントランスポーターが重鎖 rBAT（SLC3A1）と軽鎖 $b^{0,+}$AT（SLC7A9）からなるヘテロ二量体として形成されることを明らかにした。そのどちらの変異によってもシスチン再吸収不全すなわちシスチン尿症が発症するが，どちらにも変異の無い症例も存在する。さらに rBAT の発現は近位尿細管 S3 分節に高いにもかかわらず，既知の結合軽鎖である $b^{0,+}$AT は S1 分節に発現が高いというパラドックスがあり，S3 分節には

rBAT と結合する未同定の第二のシスチントランスポーターが存在すると考えられていた。

本研究は，腎特異的に発現する SLC7A13 に着目し，マウス腎皮質膜画分からの複合体免疫沈降および質量分析によって解析することで，それが rBAT の結合軽鎖であることを明らかにした。免疫染色による SLC7A13 の局在は S3 分節に強く，rBAT の強発現部位と一致した。さらに，プロテオリポソームへの精製タンパク質の再構成により，SLC7A13 はアスパラギン酸とシスチンを主な基質とすることが明らかになった。これにより，SLC7A13 が近位尿細管の第二のシスチントランスポーターであることが示され，近位尿細管のシスチン輸送系についての長年の謎が解決した。

（14）NHE 阻害剤による細胞増殖抑制に NDCBE を介した細胞内クロライドイオンの低下が関与する

細木誠之[1]，宮崎裕明[1]，新里直美[1,2]，楠崎克之[1,2]，丸中良典[1,2]
（[1]京都府立医科大学　大学院　医学研究科　細胞生理学，
[2]平安女学院大学　日本食育・健康研究所）

癌組織において腫瘍細胞の細胞質内 pH（pHc）は，正常細胞 pHc に比べ高い状態にあることが知られており，このことは癌細胞における H+輸送体機能が亢進していることを示唆している。H+輸送体の 1 つである Na+/H+ exchanger（NHE）に着目し，NHE1 阻害剤による癌細胞の増殖に及ぼす影響を検討した。胃癌細胞株である MKN-28 において，NHE1 阻害剤投与により，pHc は変化せず，p53 非依存的 p21 発現増大による G0/G1 遅延を介して，増殖抑制がもたらされることを明らかにした。次に NHE1 阻害剤投与にもかかわらず pHc が維持される機構と pHc 非依存的に増殖抑制が引き起される機構解明を行なった。①pHc 維持機構に sodium-driven anion exchanger (NDCBE) による代償機構と，②NDCBE による代償により引き起こされる細胞質内 Cl-濃度 ([Cl-]c) の低下，③[Cl-]c 低下による MAPK 活性化依存的 p21 発現亢進のシグナル経路が，NHE1 阻害剤投与によって活性化される可能性が示唆された。さらに[Cl-]c 低下によるリソソームの酸性化障害と，それに引き続くオートファジー機構の障害を確認した。MKN28 細胞では NHE1 阻害剤による[Cl-]c 低下がリソソームの機能障害を引き起こし，さらにオートファジー機構の障害により増殖が抑制されることが示唆された。

（15）胃幽門腺粘液細胞における PPARα による ACh 刺激性開口放出の増強

田中早織[1,2]，杉山奈菜江[1,2]，高野美菜[3]，松村人志[2]，中張隆司[1]
（[1]大阪医科大学　生理学，[2]大阪薬科大学　薬物治療学，
[3]大阪薬科大学　薬物治療学Ⅱ）

胃幽門腺粘液細胞において，ACh (1μM)は初期相と定常相からなる Ca^{2+}調節性開口放出を活性化する。ACh 刺激時の胃幽門腺粘液細胞はアラキドン酸を介し PPARα を活性化するオートクリン機構が存在し，Ca^{2+}調節性開口放出初期相を増強している。しかし，PPARα 以降の信号経路は解明されていない。本研究では，モルモット胃幽門腺粘液細胞を用い PPARα を介した Ca^{2+}調節性開口放出の増強機構について検討した。

開口放出は，コラゲナーゼ処理により単離したモルモット遊離腺細胞を用いビデオ顕微鏡下に観察した。

PPARα 刺激薬（GW7647）は ACh 刺激による開口放出の初期相を増強し，この増強は PPARα 阻害剤（GW6471）により消失したが，一方で，定常相の増強を引き起こした。同様の定常相増強は，PKG 阻害によっても起こるこ

とが報告されている。本研究においても GW7647 による初期相の増強は PKG 阻害剤により消失し，同時に定常相増強を引き起こした。また，ACh は幽門粘膜の cGMP 量を増加させていることから，cGMP 集積の原因として NO 産生の可能性を検討した。同様の結果が NOS1 阻害剤によっても再現された。また幽門腺粘液細胞には，NOS1 が発現していた。

胃幽門腺粘液細胞において PPARα は，NOS1 を刺激し NO/cGMP を集積することで Ca^{2+}調節性開口放出を増強していた。

（16）小腸絨毛における上皮下線維芽細胞を介したサブスタンスＰと ATP の相互作用

古家喜四夫（名古屋大学・革新ナノバイオデバイス）
古家園子（生理学研究所・脳機能計測支援センター）

小腸は栄養物の消化・吸収器官であり，化学的，機械的刺激を感じて動く知覚・運動器官であり，また，外界からの種々の抗原に対する免疫器官でもある。小腸絨毛はこれら機能を果たす上で重要な構造である。小腸絨毛の上皮下でアクチンに富みギャップ結合で繋がった細胞網を形成している上皮下線維維芽細胞は，上皮のみならず，毛細血管，平滑筋，神経終末や免疫系細胞と接触しており，基底膜成分や成長因子等の合成分泌とともに，絨毛でのシグナリングの要として，絨毛運動や免疫応答，栄養吸収などに関与していると考えられる。絨毛上皮下線維芽細胞は ATP 受容体 (P2Y1)，サブスタンス P(SP) 受容体 (NK1)，エンドセリン(ET)受容体 (ETA)など多くの受容体を発現しそれらに反応して Ca2+応答と収縮を引き起こす。また，機械的刺激に非常に感受性が強く Ca2+応答とともに ATP を放出する。絨毛には P2X 型 ATP 受容体を持ったサブスタンス P 含有及び非含有の知覚神経が来ておりその終末は上皮下線維細胞とシナプス様構造(close contact)を形成している。これらのことから，放出された ATP が上皮下線維細胞自身の P2Y1 を活性化する「オートクライン経路」と，神経終末上の P2X2/3 を介して神経を活性化し，おそらく IPAN (intrinsic primary afferent neuron)を経由してシグナルを周りの絨毛へと伝え，SP を放出し上皮下線維細胞の NK1 を活性化する「神経経路」が存在し，それらの働きによって絨毛の微妙な動きと絨毛間の協調した動きが制御されていると考えられる。

（17）マウス胃酸分泌細胞における細胞防御 Cl^-チャネルの分子実体の探索

藤田恭輔[1]，清水貴浩[1]，藤井拓人[1]，竹口紀晃[1]，Ursula Seidler[2]，酒井秀紀[1]
（[1]富山大学大学院医学薬学研究部，[2]ハノーバー医科大学）

我々は，これまでにウサギおよびラットにおいて胃酸分泌細胞の基底側膜に cGMP 依存性の Cl^-チャネルが存在し，そのチャネルの活性化がエタノールによる細胞傷害からの保護作用を持つことを見出している。しかし，この細胞防御 Cl^-チャネルの分子実体は未解明である。本研究では，胃酸分泌細胞の基底側膜に発現すると報告されている SLC26A7 が，細胞防御 Cl^-チャネルの分子実体ではないかと考え，SLC26A7 ノックアウト（KO）マウスを用い，その可能性ついて検討した。マウス胃腺の単離は従来の酵素処理による方法と異なり，Ca^{2+}フリー溶液中において反転させた摘出胃を高速振動することにより行った。単離胃腺中の胃酸分泌細胞にパッチクランプ法を適用し，ホールセル電流を測定したところ，野生型（WT）マウスの細胞における Cl^-電流は，ウサギやラットの細胞における Cl^-電流と同様に，時間・電位非依存性，NPPB 感受性，SITS 非感受性であった。KO 細胞においても同様の性質を有する Cl^-電流が観察されたが，KO 細胞の電流値は WT 細胞より有意に小さかった。さらに，KO 細胞の Cl^-電流においては，ホールセル形成から数分後にランダウンが観測された。これらの結果

より，SLC26A7 は細胞防御 Cl^-チャネルの分子実体ではないが，チャネル機能調節分子として作用している可能性が示唆された。

17. 神経シナプス伝達の時空間ダイナミクス

2012 年 11 月 27 日－11 月 28 日

代表・世話人：坂場武史（同志社大学　大学院脳科学研究科）

所内対応者：鍋倉淳一（生体恒常機能発達機構研究部門）

（1）神経伝達物質放出の時空間ダイナミクス

持田澄子（東京医科大学）

（2）マウス内有毛細胞リボンシナプスにおける Bassoon によるシナプス伝達の制御。

鷹合秀輝（国立障害者リハビリテーションセンター研究所）

（3）網膜双極細胞の軸索終末部における局所抑制と側抑制の制御機構

田中雅史（東京大学大学院人文社会系研究科）

（4）AMPA 受容体トラフィッキングのキネティックモデルによる小脳 LTD の再現と検証

山口和彦（理化学研究所脳科学総合研究センター）

（5）CaMKII サブユニット構成による小脳抑制性シナプス可塑性の閾値調節

長崎信博（京都大学理学研究科）

（6）グルタミン酸伝達の入力特異的光遮断に向けて

神谷温之（北海道大学大学院医学研究科）

（7）神経突起伸長・形成における低分子量 GTPase Rab ファミリーの機能解明

福田光則（東北大学大学院生命科学研究科）

（8）グルタミン酸イメージング法の開発とシナプス伝達解析への応用

廣瀬謙造（東京大学大学院医学系研究科）

（9）翻訳後修飾によるプレシナプス・アクティブゾーンの機能制御

大塚稔久（山梨大学医学部）

（10）Dynamic distribution of synaptic weights in simple networks

合田裕紀子（理化学研究所脳科学総合研究センター）

（11）活動依存的な内因性タウリンの放出が新生ラット大脳新皮質辺縁帯の興奮性シナプス伝達を促進する

熊田竜郎（浜松医科大学医学部）

（12）抑制性シナプス形成過程におけるシナプス機能分子の動態

栗生俊彦（徳島文理大学香川薬学部）

（13）アストロサイトにおける ATP 分泌機構の解析

大屋愛実（東京大学大学院総合文化研究科）

（14）プレシナプスの機能形態発達研究を加速させる次世代モデルシステムの確立

江川　遼（東北大学大学院生命科学研究科）

（15）小脳 LTD の確率モデル：スパインはなぜ小さくて多いのか？

黒田真也（東京大学大学院理学系研究科）

（16）繰り返し LTP・LTD 誘発後のシナプス新生・廃止現象と BDNF・proBDNF シグナリング

櫻木繁雄（大阪大学大学院生命機能研究科）

（17）末梢感覚神経切断による視床求心性シナプスのリモデリング

竹内雄一（東京女子医科大学医学部）

【参加者名】

神谷温之（北海道大学　医学研究科），鈴木江津子（北海道大学大学院　医学研究科），持田澄子（東京医科大学　細胞生理学講座），福田光則（東北大学大学院　生命科学研究科），黒田真也（東京大学　大学院理学系研究科），坪井貴司（東京大学　大学院総合文化研究科），大屋愛実（東京大学　大学院総合文化研究科），合田裕紀子（理化学研究所　脳科学総合研究センター），廣瀬謙造（東京大学　大学院医学系研究科），山下愛美（京都大学大学院　理学研究科），平野丈夫（京都大学　理学研究科），江川　遼（東北大学　生命科学研究科），八尾　寛（東北大学　生命科学研究科），緑川光春（同志社大学　脳科学研究科），坂場武史（同志社大学　大学院脳科学研究科），川口真也（同志社大学　脳科学研究科），長崎信博（京都大学　理学研究科生物物理学系），山口和彦（理化学研究所脳科学総合研究センター），桂林秀太郎（福岡大学　薬学部），大塚稔久（山梨大学　医学部），鷹合秀輝（国立障害者リハビリテーションセンター研究所），福田敦夫（浜松医科大学　医学部），穐吉亮平（生理学研究所　生体恒常機能発達機構研究部門），中畑義久（生理学研究所　生体恒常機能発達機構研究部門），宮本愛喜子（生理学研究所　生体恒常機能発達機構研究部門），鍋倉淳一（生理学研究所　生体恒常機能発達機構研究部門），石橋　仁（生理学研究所　生体恒常機能発達機構研究部門），川本恭兵（生理学研究所　生体恒常機能発達機構研究部門），三木崇史（同志社大学生命医科学部），堀　哲也（同志社大学　脳科学研究科），小西史朗（徳島文理大学　香川薬学部），櫻木繁雄（大阪大学　生命機能研究科），小倉明彦（大阪大学　生命機能研究科），熊田竜郎（浜松医科大学　医学部・神経生理学講座），栗生俊彦（徳島文理大学　香川薬学部），大山千尋（同志社大学　脳科学研究科），高森茂雄（同志社大学大学院　脳科学研究科），竹内雄一（東京女子医科大学　医学部），高橋倫子（東京大学　医学系研究科），田中雅史（東京大学　人文社会系研究科），久場博司（名古屋大学　医学研究科），石川達也（生理学研究所　生体恒常機能発達機構研究部門），江頭良明（同志社大学　脳科学研究科），稲田浩之（生理学研究所　生体恒常機能発達機構研究部門），中村佳代（生理学研究所　生体恒常機能発達機構研究部門），加藤　剛（生理学研究所　生体恒常機能発達機構研究部門），御園生裕明（同志社大学　脳科学研究科），廣野守俊（同志社大学　高等研究教育機構），秋田天平（浜松医科大学　医学部医学科），山田順子（弘前大学　医学研究科），山肩葉子（生理学研究所　神経シグナル），椎名洋平（生理学研究所　生体恒常機能発達機構研究部門），村上達郎（生理学研究所　生体膜部門），原田春美（生理学研究所脳形態解析），別府　薫（生理学研究所脳形態解析），本蔵直樹（愛媛大学），川上良介（北海道大学）

【概要】

記憶研究は，現在，転換期を迎えている。これまでは，特定の遺伝子に着目する遺伝学的手法を用いて記憶制御基盤の解明が進められてきた。しかし，現在，ウイルスを用いた分子遺伝学的手法，光遺伝学的手法，in vivo レコーディング及びイメージング技術の進展により，個体内の分子のみならず，回路・シナプス・細胞に特化して介入操作を加えることで，個体内の記憶回路にフォーカスした研究を展開することが可能となりつつある。現在，国内では，欧米に比較すると，個体を対象とする記憶研究は盛んであるとは言い難い。しかし，ショウジョウバエや線虫を中心としたモデル生物を用いた記憶研究は活発であり，一方で，高度な分子生物学・生理学・イメージング技術を有する神経科学研究者は多く，このような多彩な研究が融合することで，欧米を凌駕する新たな記憶研究を進展させることも可能である。今回は，線虫，ショウジョウバエ，マウス，そして，ヒトに至る様々な種を対象として記憶研究を進める研究者が一同に揃って研究会を行った。特に，個体内の記憶回路を標的とした研究成果が多く報告され，研究会を通じて，分子生物学・分子遺伝学から心理学に至る記憶制御基盤の学際的議論，そして，今後の記憶研究の可能性に関する議論を行い，記憶研究の共通理解・認識を深めた。現在，世界的に見ても，このような様々なモデル生物を対象とする記憶研究者が集まって議論を重ねる機会は少なくなっており，このような観点からも，非常に貴重な機会となった。今回は，相互理解を深める良い機会となったが，オールジャパンの新たな融合的研究が産まれるためにも，この会を継続することは大いに意義があると考えられた。

（1）神経伝達物質放出の時空間ダイナミクス

持田澄子（東京医科大学・細胞生理学講座）

神経シナプス伝達効率は活動電位発火によって時空間的に制御される。シナプス前終末では，活動電位発火によって Ca^{2+}チャネルから流入した Ca^{2+}の時空間的動態によって神経伝達物質放出が調節される。Ca^{2+}の動態は Ca^{2+}結合能の異なる Ca^{2+}結合タンパク質によって感知され，伝達物質放出に関わるタンパク群の機能が制御されて，伝達物質放出が促進/抑制される。伝達物質放出を担う $Ca_V2.1$ チャネルは，C-端に結合する calmodulin, Ca^{2+}-binding protein-1 (CaBP1) , Visinin-like protein-2 (VILIP-2) によって時空間的に制御され，活動電位発生後の伝達物質放出が抑制/促進される。さらに，近傍に結合する Ca^{2+}/CaMKII が Effector checking point として calmodulin, Ca^{2+}-binding protein-1 (CaBP1) , Visinin-like protein-2 (VILIP-2) の制御作用を調整する。Ca^{2+}の時空間的動態による $Ca_V2.2$ チャネルを介する神経伝達物質放出調節は，$Ca_V2.1$ チャネルに匹敵ほどダイナミックではないが，活動電位発生 100 ミリ秒以内の Ca^{2+}の動態に依存して抑制，それ以降は促進される。$Ca_V2.2$ チャネルを介する神経伝達物質放出は，G 蛋白結合部位の相互作用によっても制御される。

（2）マウス内有毛細胞リボンシナプスにおける Bassoon によるシナプス伝達の制御

鷹合秀輝[1,2]，Nicola Strenzke[2]，Tobias Moser[2]
（[1] 国立障害者リハビリテーションセンター研究所　感覚機能系障害研究部　感覚認知障害研究室，
[2] ドイツ・ゲッティンゲン大学耳鼻科）

内有毛細胞リボンシナプスの単一アクティブゾーンにおいて多数のシナプス小胞が同期して融合し得ることが明らかにされてはいるが（Glowatzki and Fuchs, 2002），その分子メカニズムについては不明である。内有毛細胞リボンシナプスは多数のシナプス小胞を繋留するシナプスリボンを有し，アクティブゾーン蛋白質 Bassoon 変異マウスではシナプスリボンが欠損したり遊離したりしてシナプス前膜に関連付けられるシナプス小胞の数が減少する（Khimich et al., 2005）。

本研究では，生後 9-11 日齢の Bassoon 変異マウスのラセン神経節樹状突起（内有毛細胞リボンシナプスのシナプス後部）にパッチクランプ法を適用して，EPSC 振幅の変化等を解析した。

その結果，Bassoon 変異マウスにおいて EPSC 振幅が減少しており，内有毛細胞リボンシナプスにおいて，Bassoon（およびシナプスリボン）が同期的に融合するシナプス小胞の数を制御することが明らかとなった。

（3）網膜双極細胞の軸索終末部における局所抑制と側抑制の制御機構

田中雅史，立花政夫（東京大学　大学院人文社会系研究科）

フィードバック抑制は，あらゆる神経回路に存在し，神経細胞間の情報伝達を修飾している。フィードバック抑制には，局所抑制と側抑制という 2 種類の経路が認められるが，これらの経路が，どのような情報の入力を受けて働くのかは明らかになっていない。本研究では，キンギョ網膜の Mb1 型双極細胞（Mb1 BC）の巨大な軸索終末部へ直接ホールセル記録を行い，アマクリン細胞からのフィードバック抑制が駆動される条件を調べた。

本研究の結果，1 個の Mb1 BC からの出力のみでも局所抑制は駆動できるが，側抑制は駆動できず，側抑制の

生起には，複数の Mb1 BC からの同期した出力が必要であることが明らかになった。また，局所抑制を生起させるためには Mb1 BC からの強い出力が必要であるのに対し，側抑制は，複数の Mb1 BC からの出力さえ生じていれば，弱くても駆動できることが分かった。これらの異なる性質により，局所抑制は局所的な光強度に応じて，側抑制は光照射面積に応じて，独立して機能することができた。さらに，実験結果に基づき，両抑制を実装した Mb1 BC モデルを構築した結果，両抑制は，視覚信号の SN 比は保ちつつも，Mb1 BC の出力を減少させることで，効率的な視覚信号の伝達に貢献していることが示された。本研究で明らかになったフィードバック抑制の二重構造は，他の神経回路でも共有され，同様の機能を担っている可能性がある。

（4）AMPA 受容体（AMPA-R）トラフィッキングのキネティックモデルによる小脳 LTD の再現と検証

山口和彦（理化学研究所　脳科学総合研究センター　運動学習制御）

AMPA-R のシナプス膜発現制御は記憶学習の分子的基礎となっているが，受容体トラフィッキングの定量的モデルはない。小脳スライスを用い，ケージ化阻害ペプチドの光分解等により，AMPA-R のエンドサイト―シス速度定数を測定し，安定シナプスプールサイズ，可動シナプスプールサイズ，可動内部プールサイズ，安定化および脱安定化速度定数，エキソサイト―シス速度定数を推定した。LTD 刺激は“脱安定化”を引起したが，充分ではなく，LTD を再構成するために“内部プールの減少”が予測された。モデルから LTD 発現中のエキソ/エンドサイト―シスの大きさを予測し，実験的に測定したところよく一致し，モデルの妥当性が検証された。

（5）CaMKII サブユニット構成による小脳抑制性シナプス可塑性の閾値調節

長崎信博，平野丈夫，川口真也（京都大学理学研究科生物物理学系）

小脳プルキンエ細胞が脱分極して細胞内に Ca^{2+} が流入すると，リン酸化酵素 CaMKII が活性化し，$GABA_A$ 受容体を介した抑制性シナプス伝達の長期増強が起こる（rebound potentiation: RP)。プルキンエ細胞には CaMKII のαおよびβサブユニットが発現し，多量体を構成してはたらく。βはαよりも活性化しやすいことが知られているが，各サブユニットがシナプス可塑性においてどのような役割を果たすかはよく分かっていない。

各サブユニットが RP へどのように寄与するかを，培養プルキンエ細胞において各サブユニットの発現を変化させ，電気生理学実験により検討した。RNAi 法でβの発現を抑制した場合，およびαを過剰発現した場合に，RP が障害された。したがって，RP 誘導にはβが必要であり，αは抑制的にはたらくことが分かった。次に，CaMKII のサブユニット構成が，RP 誘導に必要となる Ca^{2+} 濃度上昇の閾値に影響を及ぼすかを調べた。βを過剰発現すると，普段は RP を誘導しない弱い Ca^{2+} 濃度上昇でも RP が誘導された。したがって，対照的な役割を果たす両サブユニットの発現割合，あるいは CaMKII のサブユニット構成に応じて，RP の Ca^{2+} 閾値が変化すると考えられる。

（6）グルタミン酸伝達の入力特異的光遮断に向けて

神谷温之（北海道大学医学研究科神経生物学分野）

我々はこれまでに，光反応性 AMPA 型グルタミン酸受容体ブロッカーである ANQX を脳スライス標本に適用し，海馬シナプスでの内在性 AMPA 受容体の分子動態を検討してきた。この解析を通じて，「内在性」AMPA 受容体のシナプス局在は比較的安定で，細胞内プールからの恒常的なシナプス移行は静止状態ではほとんど生じず，高頻度刺激を与えた直後に活動依存的にシナプス移行が加速されることを報告した。本研究では，光学的な手法のもう一つの利点である空間分解能を利用して，複雑な脳の神経回路網における特定の入力を選択的に遮断する手法に応用することを目指した。マウス海馬スライス標本において，主要シナプス入力が細胞層ごとに分離している CA3 野の神経回路を対象とした。苔状線維シナプスと連合線維シナプスは CA3 野の異なる細胞層に入力するため，UV 照射の範囲を限局することで，それぞれの入力を選択的に抑制することが可能になると考えられる。ANQX を CA3 野領域に局所的に投与し，苔状線維の走行する透明層に限局して光照射を与えることで，隣接する連合線維入力に影響を与えずに苔状線維入力のみを選択的に抑制することが可能であった。本手法は汎用性の高いグルタミン酸伝達の入力特異的遮断法となると考えられた。

（7）神経突起伸長・形成における低分子量 GTPase Rab ファミリーの機能解明

福田光則（東北大学大学院　生命科学研究科　膜輸送機構解析分野）

低分子量 GTPase Rab は，全ての真核生物に保存された膜輸送の制御因子で，細胞内の物質動態を制御することで様々な生命現象に関与している。私達の高次脳機能を司る神経細胞のネットワークにおいても，神経回路網の形成や神経伝達物質の放出過程に膜輸送が重要な役割を果たしている。しかしながら，ヒトやマウスには約 60 種類の Rab アイソフォームが存在するため，どの Rab がどのような膜輸送系を制御し，神経機能を司るのかはほとんど明らかになっていない。そこで私達は，神経細胞における個々の Rab アイソフォームの機能を明らかにするため，まずマウスに存在する全ての Rab サブファミリーを対象に，これらの Rab 分子のマウス海馬神経細胞における細胞内局在を比較・検討した。その結果，これらの Rab はその局在から以下の四つのグループに分類できることが明らかとなった。①軸索及び樹状突起の両方に局在，②軸索のみに局在，③樹状突起のみに局在，及び④細胞体のみに局在。次に，①〜③の各グループに属する Rab の代表として，Rab35, Rab27, Rab17 をそれぞれ選び，これらの分子の詳細な機能解明に取り組んだ。その結果，Rab35 が神経突起の伸長過程に関与すること，Rab27 がリサイクルされたシナプス小胞の輸送過程に関与すること，そして Rab17 が樹状突起の伸長や枝分かれ，さらにはスパインの形成に関与することを明らかにした。

（8）グルタミン酸イメージング法の開発とシナプス伝達解析への応用

廣瀬謙造（東京大学大学院医学系研究科神経生物学分野）

脳全体の情報伝達において，シナプス伝達はいわば素過程にあたる。従って，素過程としてのシナプス伝達がどのように起こるのか，その様式や動作原理を理解することが脳の情報処理システムを理解するうえで必須で

ある。しかし，従来，この点に直接的にアプローチする方法が乏しく，その理解を困難にしていた。そこで，我々はシナプス伝達物質であるグルタミン酸を蛍光によって可視化し，単一シナプスレベルでシナプス伝達を解析することができる実験系の構築を試みた。まず，我々は，AMPA 受容体に由来するグルタミン酸結合蛋白質と小分子蛍光色素を組み合わせることでグルタミン酸蛍光プローブ EOS の開発を行った。海馬培養神経細胞に EOS を適用してグルタミン酸放出のイメージングを行ったところ，各単一シナプスにおいて単一小胞レベルの感度でグルタミン酸放出を計測することができた。そこで，グルタミン酸放出について詳細な解析をおこなったところ，単一のシナプスには数個の独立した放出サイトが存在し，その数はシナプスごとに大きく異なることが明らかとなった。また，放出サイトにある小胞の放出確率もシナプスごとにまちまちであった。興味深いことに，放出サイトの数と放出確率の大きさには相関が無く，短期可塑性のパターンとシナプス伝達強度をシナプスごとに独立に制御する機構が存在することが示唆された。さらに，RNAi による分子探索を行ったところ，放出サイトの数と放出確率を各々独立に制御することができる分子が見出された。以上，グルタミン酸イメージングによって，従来踏み込めなかった単一シナプスレベルでのシナプス伝達過程について明らかにすることができた。今回見出されたシナプス伝達様式の制御がどのような分子機構で実装されるのか，また，脳の情報処理にどのように寄与するのかを調べることが今後の課題である。

（9）翻訳後修飾によるプレシナプス・アクティブゾーンの機能制御

大塚稔久（山梨大学医学部　生化学講座第一教室）

神経終末には比較的電子密度の高い領域が存在し，アクティブゾーンとして知られている。これまでにアクティブゾーン構成蛋白質として CAST, ELKS, Bassoon, Piccolo, RIM1, Munc13-1 などが同定されてきたが，これらの機能制御に関わるシグナル機構についてはほとんど明らかになっていなかった。今回の研究で，我々はアクティブゾーンに局在するセリン・スレオニンリン酸化酵素 SAD に着目した。SAD のキナーゼドメインを用いて *in vitro* のリン酸化アッセイを行い，アクティブゾーン蛋白質 CAST の N 末のセリン残基が特異的にリン酸化されることを見出した。さらに，このリン酸化部位特異抗体を作製し，ラット海馬初代培養細胞の免疫染色解析を行ったところ，リン酸化された CAST が内在性の Bassoon と共局在することが明らかとなった。また，CAST のリン酸化部位のセリン残基をアラニン残基に置換した変異体をラット海馬初代培養細胞にトランスフェクションしたところ，この変異体も内在性の Bassoon と共局在することが明らかとなった。このことから，CAST のリン酸化自体は CAST の局在には影響しないことが示唆された。一方で，本変異体をラット上顎神経節細胞にマイクロインジェクションして電気生理学的に解析したところ，興奮性シナプス後電位が顕著に抑制され，形質膜直下のシナプス小胞のプール形成が阻害されることが明らかになった。このことから，CAST のリン酸化はアクティブゾーンにおけるシナプス小胞のダイナミクスを制御していると考えられた。

（10）Dynamic distribution of synaptic weights in simple networks

Mathieu Letellier，Yukiko Goda（理化学研究所脳科学総合研究センター）

We address how synaptic strengths are dynamically distributed across a dendritic tree of a hippocampal pyramidal neuron. Long-term synaptic plasticity, such as LTP and LTD, is thought to modify synaptic strengths in an input-specific manner where plasticity is confined to synapses belonging to active inputs while sparing synapses associated with inactive

inputs. Nonetheless, input specificity can break down as heterosynaptic plasticity could be observed following LTP induction. How input-specificity is controlled, particularly at the level of individual synapses, is not well understood. We have been examining the extent of input specificity of long-term synaptic plasticity in postsynaptic neurons and its regulation using dissociated hippocampal neuronal cultures as a model system, in which the exact synaptic connectivity of the pre and the postsynaptic neurons and the strengths of individual synapses belonging to each connection could be readily mapped. Our recent progress will be discussed.

（11）活動依存的な内因性タウリンの放出が新生ラット大脳新皮質辺縁帯の興奮性シナプス伝達を促進する

熊田竜郎[1]，千　太哲[1]，中村直人[2]，古川智範[1]，
Kilb Werner[3]，Luhmann Heiko J.[3]，中原大一郎[2]，福田敦夫[1]
（[1]浜松医科大学医学部神経生理学講座，[2]浜松医科大学医学部心理学講座
[3]Inst. Physiol. Pathophysiol., J. Gutenberg Univ., Mainz, Germary）

辺縁帯にあるカハールレチウス細胞は興奮性のグリシン受容体を発現するが，この内因性アゴニストやその役割については不明である。今回，電位感受性蛍光色素を用いた膜電位イメージング法によりラット辺縁帯における興奮伝播を調べた。電気刺激により誘発された興奮は放射状に周囲の辺縁帯に伝播した。この伝播は興奮伝導の阻害剤である TTX 処理により完全に遮断されたが，グルタミン酸受容体を阻害しても殆ど影響を受けなかった。一方，$GABA_A$ 受容体やグリシン受容体の遮断薬の投与により興奮伝播は減弱した。さらに bumetanide を投与しても興奮伝播を減弱したことから，興奮性の作用が NKCC1 共輸送体による Cl^- の細胞内への取り込みに依存することが分かった。次に，電気刺激により放出される辺縁帯由来の内因性アゴニストをマイクロダイアリシス法により検討した。その結果，単発刺激で辺縁帯よりグリシンやグルタミン酸ではなく，タウリンと GABA が放出されることが分かった。このタウリンの放出は TTX 処理により完全に遮断され，活動電位依存的であることが示唆された。さらに免疫電子顕微鏡法によるタウリンの局在解析をしたところ，プレシナプス構造には認められなかった。以上の結果より，活動依存的に内因性のタウリンが放出されたことによるグリシン受容体の活性化が，辺縁帯における興奮性の神経伝達を促進することが示唆された。

（12）抑制性シナプス形成過程におけるシナプス機能分子の動態

栗生俊彦[1]，柳川右千夫[2]，小西史朗[1]
（[1]徳島文理大学　香川薬学部　薬理学講座，
[2]群馬大学　大学院医学系研究科　高次統御系脳神経発達統御学講座）

本抑制性シナプスは，脳内シナプスの 10〜20％を占めており，興奮性シナプスとのバランスによって脳の活動を制御していることが知られている。シナプス結合の形成機構に関する研究は，これまでほとんど興奮性シナプスに焦点が当てられてきており，抑制性シナプス形成の分子機構は，未だ不明な点が多い。そこで私たちは，抑制性シナプス結合が形成され成熟していく過程で，複数のシナプス機能分子の動態を明らかにすることを試みた。とくに，これらの分子がシナプス前および後部に，どのような順序で集積されてくるか，さらにはシナプス部位でどのようなふるまいを示すかを調べるために，３種類の蛍光蛋白質でシナプスの形態と各シナプス機能

分子を標識して，シナプス形態の変化と分子の動態を同時に観察する実験系を開発し，本研究会において報告した。

（13）アストロサイトにおける ATP 分泌制御機構の解析

大屋愛実，坪井貴司（東京大学　大学院総合文化研究科　生命環境科学系）

アストロサイトは，シナプス形成やシナプス間隙の神経伝達物質濃度調節を行うだけでなく，アストロサイト自身が情報伝達物質やペプチドホルモンを放出し，神経・グリア細胞間の情報伝達を制御することが明らかになった。近年，細胞内小器官内に ATP を輸送する小胞型ヌクレオチドトランスポーター（vNut）が発見されたことを契機に，アストロサイトにおいて，ATP が vNut を含む分泌小胞から開口放出される可能性や，リソソームから放出される可能性が報告されているが，その詳細な放出メカニズムについては，不明な点が多い。

そこで，アストロサイト細胞株 C6 細胞を用いて，vNUT の細胞内局在を検証したところ，vNUT はリソソームと高い共局在率を示すことが明らかになった。次にリソソーム内プロテアーゼであるカテプシン D に蛍光タンパクを融合させたものを細胞に遺伝子導入し，その分泌反応を可視化解析した。その結果，カルシウムイオノフォアや ATP の投与により分泌反応が観察された一方で，vNUT は分泌反応を示さなかった。以上の結果から，vNUT はリソソーム膜上に存在し，リソソーム内へ ATP を輸送し，リソソームからの ATP 分泌に関与している可能性が示唆される。

（14）プレシナプスの機能形態発達研究を加速させる次世代モデルシステムの確立

江川　遼[1,2,3,4]，細島頌子[1,4]，谷本早希[1,4]，石塚　徹[1,4]，仲村春和[5]，八尾　寛[1,3,4]
（[1]東北大学大学院生命科学研究科脳機能解析，
[2]東北大学国際高等研究教育機構，[3]日本学術振興会，
[4]CREST，[5]東北大学加齢医学研究所分子神経）

シナプス前終末は，その微小さと機構の複雑さから培養系を用いた研究が難しく，そのためげっ歯類やニワトリ，キンギョ，イカなどの生体内に存在する巨大シナプス前終末をモデルシステムとして研究が進められてきた。しかしこのようなモデルシステムで分子生物学的操作を行うには依然として技術的・コスト的な制約が大きい。この問題はプレシナプス研究のボトルネックの一つであると言える。そこで我々は，長年にわたって機能形態発達研究が行われてきたニワトリ胚毛様体神経節杯状シナプス前終末において，容易かつフレキシブルに遺伝子導入を行う手法を確立した。2 日胚(E2)中脳に対して EGFP プラスミドベクターを *in ovo* エレクトロポレーションした結果，導入遺伝子は毛様体神経節のシナプス前細胞特異的に発現することが示された。本システムを用いて，我々はさらに Brainbow，チャネルロドプシン，pH 感受性開口放出プローブ，カルシウムインジケーター等の genetically encoded tools を用いた形態学的・生理学的研究が可能であることを示した。このように，脊椎動物神経回路におけるプレシナプスの発達過程に分子生物学的に介入することが容易な本システムは，プレシナプスの機能形態発達の基盤原理や分子メカニズムの研究を加速させるプラットフォームとして期待できる。

（15）小脳 LTD における Ca^{2+}スパイクの確率モデル スパインはなぜ小さくて多いのか？

黒田　真也　（東京大学大学院　理学系研究科生物化学専攻）

神経細胞間のスパイクタイミング情報を処理する場であるスパインは体積が小さい（0.1 μm^3）ため，受容体や Ca^{2+}，シグナル分子など数十～数個のオーダーでしか存在しえない。このくらいの分子数しかない場合，5 ケタほど体積が大きい細胞全体とは異なり，同じ入力刺激に対して同じスパインでさえ毎回応答がばらついてしまう。このように応答がばらついてしまうスパインで，いったいどうやってうまく情報処理ができるのだろうか。

そこで，我々は小脳長期抑圧における Ca^{2+}上昇の確率モデルを作成して，スパインがどのように入力タイミング情報をコードしているかを解析した。その結果，スパイン程度の大きさだと stochastic facilitation を利用して，入力タイミング情報を Ca^{2+}の発火強度でなく発火頻度でコードでき，細胞レベルの大きさだと Ca^{2+}の発火強度でコードで入力タイミング情報をコードできることが明らかとなった。発火頻度によるコーディングには，実際のスパインのサイズ(0.1 μm^3)が最適であった。また，細胞レベルの Ca^{2+}の発火強度によるコーディングより，スパインにおける発火頻度によるコーディングほうが，入力強度のゆらぎに対してはるかにロバストに，さらに，より少ない刺激回数に対して高感度に応答できることが明らかとなった。スパインが百個程度あれば，一個の細胞より多くの情報をコードできることも見出した。

このようにスパインは，“小さくて多い”ことを利用した確率的な情報処理システムであると捉えることができる。これは人工情報処理システムがノイズを下げ決定論的な信号処理を行うこととは対象的な生命オリジナルな情報処理システムと言える。

（16）繰り返し LTP・LTD 誘発後のシナプス新生・廃止現象と BDNF・$_{pro}$BDNF シグナリング

櫻木繁雄，冨永− 吉野恵子，小倉明彦（大阪大学大学院）

記憶の長期固定に課題の繰り返し実行が必要なことは自明だが，この繰り返し依存的記憶固定の細胞基盤は未解明である。当研究室ではげっ歯類海馬培養切片を用い，これに LTP（または LTD）を繰り返し誘発すると，シナプス強度とシナプス密度の上昇（低下）が長期に持続することを示した。私たちはこの現象を RISE（LOSS）と名づけ，繰り返し依存的記憶固定解析のモデル系として提唱している。近年，BDNF の前駆体蛋白（proBDNF）が，BDNF とは対照的な機能をもつとする「陰陽効果」仮説が提唱されている。私たちは，対照的な現象である RISE・LOSS にも BDNF・proBDNF が関与しているとの仮説を立てた。BDNF は TrkB と高親和性に，$p75^{NTR}$ と低親和性に結合し，proBDNF はその逆である。そこで RISE 誘導時に TrkB を遮蔽したところ，単に RISE 成立が阻害されただけでなく LOSS 様のシナプス廃止が誘導された。逆に，LOSS 誘導時に $p75^{NTR}$ を遮蔽したところ RISE 様のシナプス新生が誘導された。この結果は，RISE・LOSS の誘発因子としての BDNF・proBDNF シグナリングを支持するだけでなく，「陰陽効果」説をも支持する。

（17）末梢感覚神経切断による視床求心性シナプスのリモデリング

竹内雄一，内田萌衣，宮田麻理子（東京女子医科大学　医学部　第一生理学教室）

四肢切断などにより末梢感覚神経が切断されると，視床や大脳皮質で回路の機能的なリモデリング（受容野変

化，身体地図変化）が生じる。それらの神経基盤を解明することは，中枢神経系の可塑性および維持機構の理解につながると考えられ，意義深い。また機能的脳画像法を用いた臨床研究により回路リモデリングと中枢性疼痛との相関が指摘されているため，疼痛を発生する神経機構の解明につながる可能性もある。しかしながら中枢神経系は多くの場合非常に複雑であるため，具体的に入出力を特定してシナプスレベルの検討が可能な部位は限られている。そこで我々は比較的単純な回路構造を持つマウス体性感覚視床をモデルに検討を行っている。最近我々はヒゲを司る感覚神経（三叉神経第二枝，眼窩下神経）を全切断すると，早くも一週間以内に対応する視床の中継細胞が多数の内側毛帯線維（求心性線維）で再支配されるようになることを電気生理学的および解剖学的に見出した（通常成熟した中継細胞はただ一本の内側毛帯線維入力を受ける）。新規に投射した内側毛帯線維のシナプス後部には，通常認められない GluA2 グルタミン酸受容体が豊富に存在していた。またその再配線と似た時間経過で下顎領域に痛覚過敏が発達した。このため視床における内側毛帯線維再配線が疼痛を生じている可能性がある。

18. 電子顕微鏡機能イメージングの医学・生物学への応用 —高次機能イメージングの最先端—

2012 年 10 月 24 日－10 月 25 日

代表・世話人：臼田信光（藤田保健衛生大学）

所内対応者：村田和義（生理学研究所）

（1）高速原子間力顕微鏡による生体分子のライブイメージング

古寺哲幸（金沢大学理工研究域バイオ AFM 先端研究センター）

（2）希土類添加ナノ蛍光体粒子を用いた蛍光・CL 細胞イメージング

新岡宏彦（大阪大学大学院基礎工学研究科）

（3）植物組織内での受精を解く最先端ライブセルイメージング

東山哲也（名古屋大学理学研究科／ERATO ライブホロニクス）

（4）透過格子を用いたＸ線位相イメージング

百生　敦（東北大学多元物質科学研究所）

（5）ベイズ推論に基づく新しい X 線 CT

前田新一（京都大学情報学研究科）

（6）電子線トモグラフィを用いたナノ構造化触媒の定量解析

吉田健太（名古屋大学高等研究院）

（7）500kV Linac TEM の開発と現状

永谷幸則（生理学研究所）

（8）Molecular electron tomography with maximum entropy regularization

Lars-Göran Öfverstedt（沖縄科学技術大学院大学(OIST)）

（9）カベオラ動態と分子構築

諸根信弘，ジョン・ホイザー（京都大学物質−細胞統合システム拠点）

（10）Imaging nanoscale dynamics in liquid environment using TEM

Utkur Mirsaidov（シンガポール国立大学(NUS)）

（11）帯電防止位相板による位相差電子顕微鏡

永山国昭（生理学研究所）

（12）環境制御型電子顕微鏡法と位相差顕微鏡法の統合によるバイオイメージング

箕田弘喜（東京農工大大学院工学研究院）

【参加者名】

永山國昭（生理学研究所），臼田信光（藤田保健衛生大学），古寺哲幸（金沢大学），新岡宏彦（大阪大学），東山哲也（名古屋大学），百生　敦（東北大学），前田新一（京都大学），吉田健太（名古屋大学），永谷幸則（生理学研究所），Lars-Goran Ofverstedt（沖縄科学技術大学院大学），諸根信弘（京都大学），Utkur Mirsaidov（シンガポール国立大学），金子康子（埼玉大学），関由起子（埼玉大学），山口正規（千葉大学），箕田弘喜（東京農工大大学院），根岸豊（横浜市立大学大学院），広山智己（エコトピア科学研究所），越智拓海（岡山大学），西村美保（岡山大学），太田啓介（久留米大学），寺西　大（広島工業大学），岩崎憲治（大阪大学），大森広崇（筑波大学），玉田洋介（基礎生物学研究所），難波大介（岡山大学大学院），内田正哉（埼玉工業大学），谷口美恵子（名古屋大学），野中茂紀（基礎生物学研究所），谷　一寿（名古屋大学），山本泰（岡山大学），渡辺正勝（光産業創成大学院大学），峰

雪芳宣（兵庫県立大学），伊関峰生（東邦大学），加藤幹男（大阪府立大学），細木直樹（日本電子㈱），牧　禎（日本電子㈱），MANIETTE Yves（TVIPS GmBH），葦原雅道（FEI Company），相馬崇裕（理化学研究所），川崎正博（JEOL USA Inc），原田　研（日立製作所），二村和孝（㈱日立ハイテクノロジーズ），田村豪主（シンガポール国立大学），臼井健悟（理化学研究所），山本雅哉（福島県立医科大学），洲崎敏伸（神戸大学），ISLAM　MD SHAFIQUL（神戸大学），岩間尚文（核融合研究所），石原あゆみ（ライカマイクロシステムズ㈱），佐藤慧太（岡山大学），吉田清和（大阪大学），相原悠介（基礎生物学研究所），斎田美佐子（基礎生物学研究所），信定克幸（分子科学研究所），小西　泉（テラベース㈱），新井善博（テラベース㈱），香山容子（テラベース㈱），甲斐憲子（テラベース㈱），斎藤善平（テラベース㈱），池田　充（生理学研究所），宮崎直幸（生理学研究所），村田和義（生理学研究所）

【概要】

17 世紀 Leeuwenhoek によって開発された顕微鏡は，細胞全体を生きたまま観察することから始まる。細胞・組織の顕微鏡観察においては，便宜的な手法として固定した組織切片の投影像を観察することが常識としてこの 300 年続いた。そして，今日，生体構造を可視化する技術の進歩は目覚しいものがあり，特に共焦点レーザー顕微鏡を初めとする光学顕微鏡や臨床診断に用いる CT・MRI では立体像の経時的な観察が可能になり，ようやく顕微鏡の原点に回帰できる時代が訪れた。生物の立体構造を原子（Å）から個体（m）のサイズまで，高分解能かつ連続的に観察できる日も近いはずである。本研究会では，その近未来像をめざし，電子顕微鏡，光学顕微鏡，原子間力顕微鏡（AFM），X 線，CT 解析にいたる幅広いスケールでの高次元機能イメージングの最先端技術を持ち寄り，そのハードとソフトについて，分野を超えた共通の原理原則について再考し，その中から新たなイメージングの世界の創造をめざした。講演 12 題とポスター27 題の発表があり，63 人の参加者が活発な討論を行った。

（1）高速原子間力顕微鏡による生体分子のライブイメージング

古寺哲幸[1]，内橋貴之[1,2]，安藤敏夫[1,2]
（[1]金沢大学理工研究域バイオ AFM 先端研究センター，
[2]金沢大学理工研究域数物科学）

生命現象を司るタンパク質や核酸といった生体分子は，それらの構造を時々刻々と変化させながら巧みに機能しています。それらの機能発現のメカニズムを明らかにするために最も単純明快な手法は，それらの機能中のふるまいを高い空間分解能と高い時間分解能で直接観察することです。しかしながら，この観察は技術的な困難なためこれまで実現されてきませんでした。そこで，私たちの研究室では，原子間力顕微鏡（AFM）の走査速度を飛躍的に向上させた高速原子間力顕微鏡（high-speed AFM: HS-AFM）を開発してきました。そこでは，デリケートな生体試料間の相互作用を乱さないように観察できるよう，探針と試料間に働く力を極力抑えるような工夫も施してきました。近年では，この HS-AFM を用いて，いくつかのタンパク質系において応用研究が試みられ，機能中のタンパク質分子の構造ダイナミクスを直接観察することにより，その機能メカニズムを詳細に理解することに成功しています。本発表では，HS-AFM の原理や性能を概観したあと，これまでに観察したタンパク質分子の応用研究の結果をいくつか紹介し，最後に今後の課題などを議論したいと思います。

（2）希土類添加ナノ蛍光体粒子を用いた蛍光・CL 細胞イメージング

新岡宏彦[1]，古川太一[2]，一宮正義[3]，永田智啓[4]，芦田昌明[2]，荒木　勉[2]，橋本　守[2]
（[1]大阪大学大学院基礎工学研究科，[2]阪大基礎工，[3]大阪歯科大物理，[4]アルバック株式会社）

生命機能を理解するためには細胞内部における生体分子種の同定と，その空間分布を明らかにする事が必要である。電子顕微鏡を用いた場合，数 nm の空間分解能でイメージングが可能であり，生体分子種の同定手法として免疫金染色法が知られているが，この手法では，蛍光顕微鏡のようにカラーで複数の生体分子種を見分ける事は不可能であった。

このような背景において，我々は，電子線励起発光(CL：カソードルミネッセンス）を示す三色の希土類添加 Y_2O_3 蛍光体ナノ粒子(Y2O3:Tm，Y2O3:Tb，Y2O3:Eu)の開発を行なった[1]。異なる発光スペクトルを持つ蛍光体ナノ粒子をそれぞれ目的の生体分子に修飾後 CL 観察することにより，色によって生体分子種を見分ける事ができ，また，電子線を用いているので光学顕微鏡に比べて高空間分解能な観察が可能であると考える。エンドサイトーシスを用いて培養細胞に上記蛍光体ナノ粒子を導入し，CL 観察を行なったところ，カラー観察および高空間分解能での観察に成功した。さらに，上記蛍光体ナノ粒子は UV**B** 励起によっても電子線励起時と同様の発光スペクトルを示す。そのため，生体試料を上記蛍光体ナノ粒子で染色し，蛍光顕微鏡により観察後，同一の領域を CL 顕微鏡により高空間分解能に観察する事が可能であるといえる。

（3）植物組織内での受精を解く最先端ライブセルイメージング

東山哲也（名古屋大学大学院理学研究科／ERATO 東山ライブホロニクスプロジェクト）

多細胞生物において，個々の細胞は，近距離あるいは遠距離にある他の細胞とコミュニケーションをとりながら，自分の位置や役割を知る。我々は被子植物の生殖過程をモデルに，顕微鏡下にある生きた細胞やその分子を自由自在に操作・解析する「ライブセル生物学」を展開することで,細胞間シグナリングの解明を目指している。めしべの中で進行する一連の受精過程とその仕組みは，長年謎に包まれてきた。我々は，トレニアという卵装置が裸出しているユニークな植物を用いて，花粉管ガイダンスをリアルタイムで解析できる系を開発し，卵細胞の隣に 2 つある助細胞が花粉管誘引ペプチドである LURE を分泌することを発見した（Higashiyama et al., 2001, ***Science***; Okuda et al., 2009, ***Nature***）。一方，シロイヌナズナを用いたライブイメージングから，重複受精の実際の様子や，受精に失敗した時の受精回復システムを明らかにしてきた（Hamamura et al., 2011, ***Curr. Biol.***; Kasahara et al., 2012, ***Curr. Biol.***）。LURE の 1 分子イメージングや初期胚発生のライブセル解析など，最新の取り組みについて紹介し，さらにライブセル解析に対するナノ・マイクロ工学技術のもつ大きな可能性についても議論したい。

（4）透過格子を用いたＸ線位相イメージング

百生　敦（東北大多元研）

線の位相コントラストを生成する技術，さらには試料によるＸ線位相シフトを定量計測する技術を兼ねた撮像技術（Ｘ線位相イメージング）は，弱吸収物体の高感度撮影法として 1990 年代において研究が活発となった[1]。この技術による優れた画像は，医療や非破壊検査などの実用化を期待させたが，どの手法もシンクロトロン

放射光を使用する前提となっており，病院や実験室での装置化には至らなかった。2003 年代に，筆者は２枚のＸ線透過格子を用いるＸ線 Talbot 干渉計によるＸ線位相イメージングを考案した[2]。バンド幅の広いコーンビームに対して高効率で機能するため，マイクロフォーカスＸ線を用いた装置化が実現した。さらに，2006 年にＸ線 Talbot-Lau 干渉計が３枚目の格子を加えて実現された[3]。通常のＸ線源が使えるようになり，撮影時間も大幅に軽減した。我々はこの技術の医療応用を目指し，病院設置型の装置を開発してきた。現在，２台の装置が病院に置かれており，リュウマチ診断や乳癌診断のための研究に使われている。特に前者は患者を撮影する臨床研究段階に入っている。加えて，本技術の非破壊検査機器への展開も進めている。

[1] A. Momose, Jpn. J. Appl. Phys. 44 (2005) 6355.
[2] A. Momose et al., Jpn. J. Appl. Phys. 42 (2003) L866.
[3] F. Pfeiffer et al., Nat. Phys. 2 (2006) 258.

（5）ベイズ推論に基づく新しい X 線 CT 法

前田新一，石井　信（京都大学　情報学研究科）

X 線 CT は，物体の 3 次元構造を非破壊で観察できる手段として重宝され，その応用範囲を拡大してきた。しかしながら，その推定はしばしば，観測の不足や観測ノイズ，逆ラドン変換の不安定性のために不良設定問題となったり，ビームハードニングや散乱といったモデルの想定外の物理過程が生じたりすることで不正確なものとなる。これらの問題に対応するために，これまで様々な推論方法・実装方法に基づく CT アルゴリズムが提案されてきた。本発表では，フィルタ付き逆投影法，エントロピー最大化法，最尤法，事後確率最大化法，ベイズ法といった各種の推論方法（コスト関数の設計法）が互いにどのような関係にあるのかを整理するとともに，不良設定問題の解決にベイズ推論が有効であることを示す。その上で，医用 X 線 CT を想定して開発した 2 つの新しい X 線 CT 法を紹介する。一つは，体内の組織や空気，金属といった既知の組織の X 線吸収係数の分布を推論に組み込むことで，メタルアーティファクトに強い X 線 CT 法を構成したものであり，もう一方は，CT スキャン中の動きを想定することでモーションアーティファクトに強い X 線 CT 法を構成したものである。

（6）電子線トモグラフィーを用いたナノ構造化触媒の定量解析

吉田健太（名古屋大学高等研究院）
広山智己，田中信夫（名古屋大学エコトピア科学研究所）

不均一触媒材料および光機能デバイスにおいて，ナノ構造に起因する電子励起メカニズムを正しく理解するためには，ナノ粒子の結晶構造，ナノ粒子と酸化物粒子担体界面などの原子レベルの構造に加えて，担体表面上のナノ粒子の分散性や担体のサイズ・形態などのサブミクロンオーダーの構造まで正確に評価・測定する必要がある．本研究では，このような 1nm～1μm に及ぶサブミクロンオーダーの構造評価のために，電子線トモグラフィーを利用している。また，電子線トモグラフィーによって測定・３次元再構成したトモグラムから，粒径・表面積・最近接粒子間距離などの形態パラメータを定量するために，独自のアルゴリズムを有した定量解析プログラムを用いた。測定誤差や最適な観察倍率の決定にはモデル計算を用い，市販化されている描画・定量ソフト(Amira5.4.2)との比較を行った。これらは，生理学分野のサンプルにも応用可能であり，現在，科学研究に用いるための十分な正確性を有している。本発表では Pt/TiO_2 触媒材料と PtPd/ZnO 光学デバイスを例として，３次元定量解析の最新の展開について紹介する。

（7）500kV LinacTEM の開発と現状

永谷幸則（生理学研究所）

透過電子顕微鏡(TEM)において，厚い切片試料の観察には 500kV 以上の高い加速電子ビームが必要となる。近年はトモグラフィ法による３次元立体構造の観測など，厚い切片試料の観察への要求が高まってきているが，従来型の高加速 TEM は加圧した絶縁ガスを詰めた大型で重量のある高圧タンクを高精度に設置する必要などの為，一般に 10 億円を越える極めて高価かつ大型の装置となってしまう難点があった。生理研ではテラベース株式会社など多くの企業の協力を得て，線形加速器の技術を電子顕微鏡に導入することにより，巨大な高圧タンクを不要とする方式の 500kV 電子顕微鏡を開発し，最終的な調整を行なっている。これは，市販の 200kVTEM の試料部と対物レンズの前後に線形加速器と線形減速器挿入する事により，試料部と対物レンズのみを高加速化するものであり，大幅な低コスト化と小型化を実現するのもである。本講演では，この 500kV LinacTEM の技術と開発の現状について報告するとともに，超電導加速技術を用いた 5MV TEM の将来計画についても紹介する。

（8）Molecular electron tomography with maximum entropy regularization

Lars-Göran Öfverstedt
Researcher, Structural Cellular Biology Unit
Principal investigator: Prof. Ulf Skoglund
Okinawa Institute of Science and Technology

Three-dimensional (3D) visualization of individual protein conformations can be a powerful way to understand protein function and large-scale molecular dynamics under various conditions. Today this has become possible to accomplish by using the molecular electron tomography procedure.

Using specimen imaging from a large number of viewing angles in a transmission electron microscope, a 3D reconstruction of a selected volume of the specimen can be calculated. Biological specimens are notoriously sensitive to damages by the electron beam. Thus, the electron dose has to be kept at a very low level, making the images extremely noisy. However, algorithms based on maximum-entropy regularization that our research group is developing allow the 3D reconstructions to be calculated at around 2-nm resolution for proteins in fast-frozen buffer solutions. As a result, we can establish the conformational space for a given macromolecule by inspection of its various conformations as they appear in 3D. Thus, individual macromolecules can be examined for their conformational flexibility, subunit assembly and tendency to deviate from a perhaps known X-ray crystallographic model.

（9）カベオラ動態と分子構築

諸根信弘，ジョン・ホイザー（京都大学物質細胞統合システム拠点）

細胞膜の陥入構造であるカベオラの研究史は古く，毛細血管内皮細胞 (Palade,1953) と胆嚢上皮細胞 (Yamada,1955)で別々の研究者により発見された。そのため，しばらくの間，Caveolae と plasmalemmal vesicles という用語が多用されてきた。繊維芽細胞，平滑筋細胞，膀胱上皮細胞，肺内皮細胞，グリア細胞をはじめとして

（ニューロンと免疫細胞は除かれるが），カベオラが観察される組織細胞は豊富だ(Shaul&Anderson,1998; Parton&Simons,2007)。そのため，カベオラが関係する疾患（筋疾患，肺疾患，心疾患，動脈硬化，乳癌，前立腺癌）も多岐にわたる。これらの臨床研究を推進するうえでも，カベオラの被覆構造と分子構築を解明することは非常に重要である。カベオラの機能として，エンドサイトーシス，トランスサイトーシス，脂肪酸の取込がよく挙げられるが，50 年以上本質的には未解明のままである。本研究では，カベオラの被覆構造がどうようなタンパク質分子により構築されているのかを，２つの有力な構成分子（カベオリンとキャビン）に対する免疫ディープエッチ電子顕微鏡法により検討した。

（10）Development of in situ TEM to image aqueous specimens

Utkur M. Mirsaidov, Paul T. Matsudaira.
MechanoBiology Institute-Singapore, National University of Singapore

Imaging nanoscale processes in liquid environment is quintessential in study of biological processes and soft matter systems. I will describe our adventures in developing a toolset that enables imaging such processes using Transmission Electron Microscopy (TEM) technique. We use liquid cells to isolate the aqeous specimens from the vacuum of the TEM. Liquid cells sandwiches thin layer of liquid between ultrathin membrane windows which allows for electron beam to be transmitted through entire specimen. Using this methods we can image proteins in liquid, study the interaction of the liquids with surfaces, describe the diffusive dynamics of nanoscale particles in interfacial fluids. I will conclude by describing how our method enables us not only to image the dynamic processes but also manipulate nanoscale objects within the TEM.

（11）帯電防止位相板による位相差電子顕微鏡

永山國昭[1]：伊藤俊幸[2]：香山容子[2]：斉藤善平[2]：甲斐憲子[2]
新井善博[2]：永谷幸則[1]：小原正裕[1]：村田和義[1]
([1]自然科学研究機構　生理学研究所：[2]テラベース株式会社)

岡崎の電子顕微鏡グループは過去１０年以上，非晶質炭素膜を用いて薄膜型位相板を開発し，種々の生物医学試料に対し応用を試みてきた。しかしながら多くの生物医学応用の成功例は，帯電問題を抱えた位相板の大量消費によってのみ可能であった。位相板の帯電問題は電子線を使う電子顕微鏡にとって避けがたい難問で，これが大きな壁となり位相差法は長い間開発が遅れた。従って位相板の大量消費に頼らない帯電防止位相板の開発は位相差法の普及にとっての急務である。帯電原因の糾明，解決法の探索を紹介し，帯電防止技術の最近の進展を報告する。次に位相板により電顕像のコントラストと分解能がどこまで改善可能か報告を行う。

（12）環境制御型電子顕微鏡法と位相差顕微鏡法の統合によるバイオイメージング

箕田弘喜（東京農工大学）

生体高分子の構造や機能を研究する上で，その分子の“生きたまま”の構造を直接観察することは非常に重要である。電子顕微鏡は nm 以下の分解能で結像が可能なため，生体高分子の構造を観察するには強力な手段であるが，電子顕微鏡鏡筒内は 10^{-4}Pa 以下の真空環境下にあるため，電顕内に試料を導入すると，生体試料は直ちに乾燥し，その構造や機能は損なわれる。生体分子の“生きたまま”の構造を維持するには，試料が乾燥して壊れてしまうことがないように湿潤環境を維持することが必要になる。これを実現できる電子顕微鏡法に環境制御電子顕微鏡法(Environmental-TEM:E-TEM)がある。E-TEM により，“生きたまま”の構造を維持できたとしても，生体高分子は，電子に対する位相物体であり，電子顕微鏡像コントラストを得ることが難しい。位相差法は，位相物体の像コントラストを増強する方法であり，永山教授のグループが，位相差法の電子顕微鏡への応用を実現した。我々は，E-TEM 法に位相差法を適用することで，“生きたまま”の生体高分子の直接観察法の開発を進めている。本講演では，我々の研究の現状を紹介する。

19. リンパ腫と組織球系細胞・肥満細胞腫瘍の比較病理学シンポジウム

2012 年 12 月 6 日－12 月 7 日

代表・世話人：中山裕之（東京大学大学院農学生命科学研究科）
所内対応者：木村　透（生理学研究所動物実験センター）

１．リンパ腫の比較病理学

（１）ヒトのリンパ腫の臨床と病理

大島孝一（久留米大学医学部）

（２）犬と猫のリンパ腫の臨床

辻本　元（東京大学大学院農学生命科学研究科・獣医内科学）

（３）犬と猫のリンパ腫の細胞診

山上哲史（マルピー・ライフテック）

（４）犬と猫のリンパ腫の WHO 病理組織分類

内田和幸（東京大学大学院農学生命科学研究科・獣医病理学）

２．組織球系細胞・肥満細胞腫瘍の比較病理学

（１）ヒトの組織球系細胞・肥満細胞腫瘍の臨床と病理

小島　勝（独協医科大学医学部）

（２）動物の肥満細胞腫瘍

竹内由則（東京大学大学院農学生命科学研究科・獣医内科学）

（３）動物の組織球系細胞腫瘍

内田和幸（東京大学大学院農学生命科学研究科・獣医病理学）

【参加者名】

中山裕之（東京大学），内田和幸（東京大学），ジェームズ・ケン・チェンバーズ（東京大学），渋谷　淳（東京農工大学），鈴木和彦（東京農工大学），山手丈至（大阪府立大学），木村　透（生理学研究所），二瓶和美（日本動物高度医療センター），桑村　充（大阪府立大学），辻本　元（東京大学），竹内由則（医薬品医療機器総合機構），山上哲史（マルピー・ライフテック（株）），大島孝一（久留米大学），小島　勝（独協医科大学），真鍋俊明（滋賀県成人病センター研究所），島田章則（麻布大学），鈴木　聡（東京大学），渡邉謙一（東京大学），坪井誠也（東京大学），井澤武史（大阪府立大学），市川智彩（大阪府立大学）

病気の進化シンポジウム 2012（リンパ腫と組織球系細胞・肥満細胞腫瘍の比較病理学）の概要

中山裕之（東京大学大学院農学生命科学研究科獣医病理学研究室）

病気は動物種，品種，性，年齢など生体内に内在する要因（内因）と生体外からの物理的，化学的，生物学的刺激（外因）とが複雑に関連しあって生じる。現在進化の極みにある人類は，感染体（外因）との争いに一応勝利し，個体寿命の延長を実現した。しかしながら，自らの体を構成している核酸・タンパク質分子の老化（内因）までは制御できていない。その結果，核酸，タンパク質の老化（構造異常）がそれぞれ腫瘍，神経変性疾患（アルツハイマー病，パーキンソン病など）として顕在化してきたと考えられる。

分子生物学の隆盛により，病気の発生メカニズムが細胞・タンパク質・遺伝子レベルで説明できるようになった。こうした還元論的病因論の威力を実感しつつも，近年，同時に分子反応の総体に注目したシステム生物学的思考も重要視されるようになった。「病気は生命の反応システムの異常である」とする現象論的な病因論を再評価すべき時なのかもしれない。

また，現在ヒトの疾患研究に利用されているモデル動物はほとんどが齧歯類であるが，そこで得られた成果をヒトに直接外挿するには両者の進化的距離が大きすぎる。ヒトと齧歯類との間に存在する牛，羊，馬，豚などの有蹄類，犬，猫などの肉食類の生理・病理についても検討し，進化を軸とした比較学問体系が確立すれば，こうした missing link も解消できると考えられる。

こうした観点から，「生物の進化にともなう病気の変遷」，すなわち「病気の進化学」という新しい研究分野の創成を目指して，「病気の進化研究シンポジウム」を企画した。一昨年はその第１回目として「神経病の比較病理学」，また昨年は第２回目として「乳腺腫瘍と皮膚腫瘍の比較病理学」に関するシンポジウムを行った。今回は３回目であるが，「リンパ腫と組織球系細胞・肥満細胞腫瘍の比較病理学」を企画した。病気の進化に興味を持つ人医および獣医分野の病理学者と臨床医が知見を交換し，病気の進化を軸として有意義な議論を行った。

１．リンパ腫の比較病理学

（1）ヒトのリンパ腫の臨床と病理

大島孝一（久留米大学医学部病理）

悪性リンパ腫は，Ｂ細胞性リンパ腫，ＴおよびＮＫ細胞性リンパ腫およびホジキンリンパ腫に分類され，さらに免疫不全関連リンパ増殖異常症，組織球・樹状細胞腫瘍が大項目として含められる。また，ＢおよびＴおよびＮＫ細胞リンパ腫は，さらにそれぞれ前駆型 precursor と成熟型 mature に分けられている。B 細胞性のものは，基本的には，分化段階により，疾患単位が列挙されている。たとえば汎 B 細胞マーカーの CD20 陽性で，TdT (terminal deoxynucleotidyl transferase)陽性なら，B 細胞性の前駆型のリンパ芽球性リンパ腫となるし，CD20 陽性で，胚中心マーカーの CD10,bcl6 陽性であると濾胞中心由来が考えられ，バーキットリンパ腫，濾胞性リンパ腫，びまん大細胞 B 細胞性リンパ腫のどれかになる。分化型（抹消型）の T，NK 細胞リンパ腫は，形態的にも小細胞，大細胞，未分化大細胞と多岐であり，免疫表現型，遺伝子型においても疾患単位は，多岐であり，Ｂリンパ腫とは異なり，むしろ疾患単位というより症候群に留まっている。

（2）犬と猫のリンパ腫の臨床

辻本　元（東京大学大学院農学生命科学研究科獣医内科学教室）

リンパ腫は，犬と猫のいずれにおいても最も発生頻度の高い造血器腫瘍であり，化学療法に対する反応性が高いことから，小動物臨床において最も診療機会の多い腫瘍となっている。ここでは，犬と猫のリンパ腫の治療を中心にその臨床的側面について解説する。

リンパ腫治療の有効性を評価するためには治療や再発によって変化するリンパ節のサイズを評価することが必要とされるが，その方法やデータの表記法が統一されていないことが問題となっていた。そこで，これらを標準化するため，Veterinary Co-operative Oncology Group (VCOG) によって犬のリンパ腫における治療反応性評価基準（2009）が発表された。猫のリンパ腫に対する化学療法についても多くの報告があるが，ウイルス性と非ウイルス性，発生部位，high-grade と low-grade など，さまざまな違いがあるため症例群での成績を比較することは難しい。

化学療法に関しては，これまでは多数症例において臨床試験を行い，奏功率，奏功期間，および生存期間を統計学的に解析することによってその有効性が比較検討されてきた。治療に関しても，それぞれの種におけるサブタイプごとの治療法や予後を検討することが重要である。

（3）犬と猫のリンパ腫の細胞診

山上哲史（マルピーライフテック（株））

犬のリンパ腫の細胞診には，Updated Kiel 分類（1988）が利用されることが多い。赤血球との比較による細胞の大きさ，核形態，核小体の大きさや数，分裂像などによる犬のリンパ腫の Updated Kiel 分類を紹介する。

犬や猫のリンパ腫として，比較的発生頻度が高い high-grade lymphoma では細胞診の有用性は高い。しかし，近年増加傾向にある，リンパ節や消化器系，皮膚などに発生する low-grade lymphoma では，細胞診のみでの確定診断は困難で，組織診を実施する必要がある。また，犬のリンパ腫には Updated Kiel 分類に含まれていないリンパ腫（たとえば LGL lymphoma や non-T, non-B lymphoma など）もあり，そもそも病態の異なる犬と猫のリンパ腫を同一視することも危険である。

T 細胞性リンパ腫は一般に予後が悪いことや，low-grade lymphoma の予後は比較的良いこと，low-grade lymphoma と high-grade lymphoma, T 細胞性リンパ腫と B 細胞性リンパ腫では治療が異なることなどを考慮すると，遺伝子検査を併用した updated Kiel 分類の適応と病理組織学的な組織像の確認が，リンパ腫診断の現時点での妥当な選択肢であろう。

（4）犬と猫のリンパ腫の WHO 病理組織分類

内田和幸（東京大学大学院農学生命科学研究科獣医病理学研究室）

WHO 分類に従い動物のリンパ腫分類を述べる。

B 細胞性リンパ腫のうち成熟 B 細胞性リンパ腫の濾胞型は，2 次リンパ濾胞の胚中心，マントル層（周囲帯，暗殻・被殻），濾胞辺縁帯（2 次小節冠）のそれぞれの組織構成を反映するリンパ腫が分類されている。これらの B 細胞性濾胞リンパ腫は一般に低悪性とされる。またリンパ節外の粘膜関連リンパ性組織 Mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) に由来する腫瘍は，MALT 随伴辺縁帯腫瘍として B 細胞性低グレードリンパ腫に分類される。大細胞 B リンパ腫に分類されるものには，T cell-rich B リンパ腫，血管内大細胞 B リンパ腫など，特異な細胞形態と臨床動向を示すものが含まれる。

WHO 分類における T/NK 細胞性腫瘍は，消化器に発生し白血病化しやすい大顆粒型リンパ腫 LGL や皮膚の上皮向性／非上皮向性リンパ腫，リンパ節外／末梢性 T リンパ腫（PTCL），血管向性リンパ腫，および消化管 T 細胞リンパ腫など，節外で発生するものを重点的に分類している。免疫芽球性リンパ腫や退形成性大リンパ腫は，節内に発生する悪性の臨床動向を示す T 細胞性腫瘍として分類されている。

２．組織球系細胞・肥満細胞腫瘍の比較病理学

（1）ヒトの組織球系細胞・肥満細胞腫瘍の臨床と病理 －鑑別診断も含めて－

小島　勝（獨協医科大学病理・形態）

ヒトでは組織球系細胞，樹状細胞系腫瘍は非常に稀な腫瘍である。さらにこれらの腫瘍の疫学が今なお明らかでないのは，これらの腫瘍の由来が最近まで明らかでなかったためと思われる。かつて悪性組織球症あるいは histiocytic medullary reticulosis といわれた疾患が実は cytokine storm による反応性血球貪食症候群であることが明らかになった。 S-100/CD1a 陽性のランゲルハンス細胞組織球症は電子顕微鏡で Birbeck 顆粒が見られる。鑑別を要する反応性病変として，皮膚病変を伴ってランゲルハンス細胞と指状嵌入樹状細胞が増生する皮膚病性リンパ節症と S-100 陽性の由来不明組織球が emperipolesis を示してリンパ洞内に増生する Rosai-Dorfman 病がある。

肥満細胞症は皮膚肥満細胞症と全身性肥満細胞症に分類される。皮膚肥満細胞症では色素性蕁麻疹が多い。肥満細胞症の診断には Triptase/Chymase，CD117 に加え CD2 と CD25 免疫染色が推奨される。

（2）動物の肥満細胞腫瘍

竹内由則（元東京大学大学院農学生命科学研究科獣医内科学教室）

肥満細胞腫瘍は，犬，猫，牛などでの発生が報告されており，とくに犬と猫で発生頻度が高い。本腫瘍には c-kit 遺伝子の変異が見出され，その知見が治療などに応用されている。

犬の肥満細胞腫は犬の皮膚腫瘍の 7-21%を占める。消化管粘膜などの粘膜組織や脊椎などにも発生する。本腫瘍の臨床的挙動はきわめて多様である。予後因子としては病理組織学的グレードや WHO 臨床ステージ，AgNORs や Ki67，PCNA などの細胞増殖マーカー，腫瘍の数，組織浸潤の有無などが知られている。外科的摘出，放射線照射，全身化学療法およびその併用療法の中から治療法が選択される。最近，チロシンキナーゼ阻害剤（TKI）の有効性が示されている。

猫の肥満細胞腫も高頻度で，皮膚腫瘍の 20%程度を占める。脾臓や消化管粘膜に原発する内臓型もしばしば認められる。治療法には，腫瘍の外科的切除，脾臓摘出，全身化学療法などがある。内臓型の予後は不良であることが多い。近年，c-kit 遺伝子のうち細胞外領域部分をコードする部分に変異を有する症例が TKI による治療によく反応することを示された。

（3）動物の組織球系細胞腫瘍

内田和幸（東京大学大学院農学生命科学研究科獣医病理学研究室）

皮膚・軟部組織に発生する組織球系細胞の増殖性疾患は，主に表皮ランゲルハンス細胞 (LC)と真皮樹状細胞 (DC)の反応性あるいは腫瘍性増殖に由来する。特に犬に多く，猫でも稀に認められる。現在 WHO 分類では動物の組織球系細胞の増殖疾患は，良性型として犬皮膚組織球腫，中間悪性の疾患として皮膚あるいは全身性の反応性組織球症，悪性疾患として悪性組織球症（組織球性肉腫を分類しているが，多様な組織球系細胞の増殖病態を十分反映していない部分も存在する。

犬皮膚組織球腫は，若齢犬に好発する良性病変であり，

皮膚に小豆様の孤在性腫瘤を形成する。LC の増殖によると考えられており自然退縮する。稀に内臓諸臓器に転移病変が形成されることがある。中間悪性の疾患として分類される皮膚組織球症（あるいは全身性組織球症）は，バーニーズ・マウンテンドック等の組織球系腫瘍の好発犬種に認められる病態であり，真皮・軟部組織の DC の反応性増殖疾患と解釈されている。真皮から皮下組織に多発性病変を形成する。増殖する組織球系細胞に異型性は乏しい。悪性病態である悪性組織球症（現在は播種性組織球性肉腫との呼称が一般化している）は DC の悪性増殖に起因し，バーニーズ・マウンテンドッグに好発するが，国内ではウェルシュ・コーギー・ペンブロークでの発生が多い。

20. 第２回社会神経科学研究会「社会の中で生きる心の理解」

2013 年 1 月 31 日－2 月 1 日

代表・世話人：松田哲也（玉川大学脳科学研究所）
所内対応者：定藤規弘（心理生理学研究部門）

（１）社会神経科学研究の今後の方向性

松田哲也（玉川大学脳科学研究所）

（２）脳の発達における自発性と身体性

多賀厳太郎（東京大学大学院教育学研究科）

（３）主観的感情を生み出す内受容感覚の役割

梅田　聡（慶應義塾大学文学部心理学科）

（４）自己認識に生じる錯覚の脳内メカニズム

山田真希子（放射線医学総合研究所分子イメージングセンター）

（５）網羅的神経活動記録による脳情報の解読とコミュニケーション利用の可能性について

林　隆介（産業技術総合研究所ヒューマンライフテクノロジー研究部門）

（６）模倣と創造

松沢哲郎（京都大学霊長類研究所）

（７）実社会での向社会的行動と自己概念：fMRI 研究

杉浦元亮（東北大学加齢医学研究所）

（８）社会脳における扁桃体の役割　―顔の虚記憶に関する fMRI 研究―

飯高哲也（名古屋大学医学部精神神経科）

（９）幼少期母子関係による情動神経系の発達変化

菊水建史（麻布大学獣医学部）

（10）ヒトの心の進化と現代環境

長谷川眞理子（総合研究大学院大学先導科学研究科）

（11）Beliefs, expectations, and strategies in the cultural niche construction

山岸俊男（玉川大学脳科学研究所）

【参加者名】

相原健志（京都大学），浅野良輔（日本学術振興会・名古屋大学），芦塚あおい（京都大学），阿部修士（京都大学），天野大樹（理化学研究所），新井さくら（東京大学），安梅勅江（筑波大学），飯田沙依亜（名古屋大学），飯高哲也（名古屋大学医学部精神神経科），石井敬子（神戸大学），石井　徹（京都大学），石本太郎（ハウス食品株式会社，磯崎三喜年（国際基督教大学），磯和勅子（三重大学），伊藤文人（東北大学），伊藤嘉邦（自然科学研究機構），井上裕香子（東京大学），上原依子（大阪大学），梅田　聡（慶應義塾大学文学部心理学科），大隅尚広（慶應義塾大学），大坪庸介（神戸大学），大庭丈幸（名古屋大学），大平英樹（名古屋大学），岡崎俊太郎（総合研究大学院大学），小倉有紀子（北海道大学），小山内秀和（京都大学），片寄洋子（東北大学），唐沢　穣（名古屋大学），川口彰子（名古屋市立大学），川口　潤（名古屋大学），川道拓東（生理学研究所），菊水建史（麻布大学獣医学部），北地雄（総合東京病院），北田　亮（生理学研究所），木村健太（関西学院大学），清成透子（青山学院大学），國橋孝寛（名古屋大学），小池耕彦（生理学研究所），小泉径子（北海道大学），後藤崇志（京都大学大学院），後藤雅敏（神戸大学大学院），堺　浩之（豊田中央研究所），榊原雅人（愛知学院大学），坂本貴和子（東京大学），佐久間

康夫（東京医療学院大学），櫻井芳生（鹿児島大学），佐々木章宏（生理学研究所），佐瀬　巧（東京大学），定藤規弘（自然科学研究機構），佐藤　剛（グロービス経営大学院大学），鹿内　学（京都大学），柴田みどり（北海道大学），島田浩二（総合研究大学院大学），城　真範（産業技術総合研究所），菅原裕輝（京都大学），菅原　翔（総合研究大学院大学），杉浦元亮（東北大学加齢医学研究所），多賀厳太郎（東京大学大学院教育学研究科），高岡祥子（京都大学），高橋征仁（山口大学），高橋陽香（総合研究大学院大学），高橋英彦（京都大学大学院），滝口慎一郎（福井大学），竹澤正哲（北海道大学），田中悟志（名古屋工業大学），田邊宏樹（名古屋大学大学院），段　放（東京大学），恒岡洋右（理化学研究所），坪井宏仁（金沢大学），寺澤悠理（（独）国立精神・神経医療研究センター），豊巻敦人（北海道大学），中川恵理（神戸大学），中田大貴（早稲田大学），中野英樹（畿央大学大学院），中村太戯留（慶應義塾大学），能田由紀子（ATR-Promotions），橋口真帆（総合研究大学院大学），橋本直樹（北海道大学大学院），長谷川眞理子（総合研究大学院大学先導科学研究科），浜井美弥（自然科学研究機構　生理学研究所），濱野友希（総合研究大学院大学），林亜希子（名古屋大学），林　隆介（産業技術総合研究所ヒューマンライフテクノロジー研究部門），原田宗子（生理学研究所），日道俊之（京都大学大学院），平田祥人（東京大学），藤澤友基（一宮市立木曽川市民病院），古見文一（京都大学），ホーランドマシュー（奈良先端科学技術大学院大学），保屋野健悟（小諸厚生総合病院），前岡　浩（畿央大学），前原由喜夫（慶應義塾大学），牧田　快（自然科学研究機構　生理学研究所），松尾　篤（畿央大学），松沢哲郎（京都大学霊長類研究所），松田哲也（玉川大学脳科学研究所），松永昌宏（生理学研究所），水野　敬（理化学研究所），美馬達哉（京都大学大学院），宮崎昌也（岡村一心堂病院），守田知代（生理学研究所），柳岡開地（京都大学），山川香織（名古屋大学），山岸俊男（玉川大学脳科学研究所），山地秀俊（神戸大学経済経営研究所），山田真希子（放射線医学総合研究所分子イメージングセンター），油尾聡子（名古屋大学），横山諒一（東北大学），吉田優美子（総合研究大学院大学），吉原一文（自然科学研究機構　生理学研究所），平井真洋（愛知県コロニー発達障害研究所），柿木隆介（生理学研究所），若林　和（生理学研究所），宍戸恵美子（生理学研究所），鮫島和行（玉川大学），中村みほ（愛知県コロニー研究所），西尾奈々（生理学研究所），須恵明音（関西福祉科学大学），吉村由美子（生理学研究所），石川理子（生理学研究所）

【概要】

ヒトは，複雑な社会の中で生きていくことができる能力を持っている。それには，社会的シグナルを正確に認知し，自分にとってあるいは相手にとって最適な言動を選択することができる必要がある。ヒトの心を理解するためには，この社会の中で生きるために働く心の理解が必要である。したがって本研究会は，ヒトの社会的心に関連する，既存の学問分野を超えた新しい視点での研究を行っている研究者が集まり，ディスカッションすることを通じて，日本におけるこの分野の研究の推進に貢献することを目的としている。

日本においても，近年ヒトの社会的こころに関する研究について継続的に議論できる機会を設ける必要がある。そこで，本研究会ではヒトの社会的心に関連する，既存の学問分野を超えた新しい視点での研究を行っている研究者による講演を実施し，日本におけるこの分野の研究の推進にむすびつけたいと考えている。そこで，本研究会ではヒトの社会的心に関連する，既存の学問分野を超えた新しい視点での研究を行っている研究者による講演を実施し，日本におけるこの分野の研究の推進に貢献することを目的として第２回社会神経科学研究会を開催した。今回は，9 名の先生の講演に加え，2 名の先生に特別講演として講演いただいた。参加者も前回に引き続き 100 名を超える研究者が参加し，ポスター発表にも多く登録があり，ディスカッションもとても実りの多いものであった。この研究会を通じて学んだ知識から，自らの研究の幅を広げることに役立つものであると思う。

（1）社会神経科学研究の今後の方向性

松田哲也（玉川大学脳科学研究所）

ヒトが自然環境だけでなく，社会環境にも適応して生きているということは，ヒトの脳機能が自然だけでなく社会にも適応していることを意味する。ヒトを理解するためには，生物学的な機能に加えて脳の社会的機能も明らかにしなければならない。最近，学際融合を目指す社会神経科学研究が進んでいる。特に神経科学と人文社会科学系学問である社会科学や社会心理学，経済学，哲学との融合研究のイメージが強い。神経科学は，脳の機能（働き）を解明する学問であることから，ヒトが生きる社会の中で社会性を脳がどう処理しているかという疑問に対する解を求めて研究をする。一方，人文社会科学は，すでに社会のモデルがあり，そのモデルの科学的検証という意味で脳の神経活動を計測する。というように，両者のモチベーションに若干の違いがみられる。正直，真の文理融合研究として研究テーマが見いだされることは難しい。両者の目的を尊重した上でお互いが研究を行っていく段階で，その距離が自然と徐々に縮まり，その終着点として文理融合研究にたどり着くものではないかと思う。このような点を踏まえ，本講演では，今後の社会神経科学の研究の方向性について議論したいと思う。

（2）脳の発達における自発性と身体性

多賀厳太郎（東京大学大学院教育学研究科）

他者との相互作用を可能にする仕組みは，発達の初期から観察される。例えば，乳児は，顔や声のような社会的な刺激に敏感であると同時に，学習や模倣を通じて自らの行動を変化させることができる。さらに，言語や音楽等，コミュニケーションや文化的な行為に関わる前駆的な行動も発達の初期から見られる。このような発達初期の行動が，どのような神経基盤を持つのかは，神経科学の重要な課題である。一方，思春期以降の精神疾患等が，胎児期や乳児期の脳の発達，とりわけエピジェネティックな機構と深く関連していることも指摘されている。ここでは，社会的相互作用を可能にする基本的な脳機能の発達の必要条件として，自発性と身体性について述べる。システム論の立場から，２つの要素が相互作用するための前提は，それぞれの要素に自発的な活動を生成する仕組みが備わっていることである。さらに，自発的な活動を契機として要素間の相互作用が生まれ，それらがより大きなシステムの中でネットワークを形成する。脳，身体，物理的環境，他者を動的システムとして捉えた時，脳の自発的な活動と身体を介する環境との相互作用が基本的な役割を担っており，それらの発達機構を理解することが，社会的な存在としての人間を理解する上で不可欠であると考えられる。そこで，寝る，遊ぶといった基本的な行為の発達が，脳の自発活動や身体活動とどのように関連しているのかについて議論したい。

（3）主観的感情を生み出す内受容感覚の役割

梅田　聡（慶應義塾大学文学部心理学研究室）

近年，社会認知神経科学の分野においては，情動や社会性に関わる部位およびネットワークの機能に注目が集まっており，扁桃体や大脳皮質正中内側部に位置する部位などが，情動，他者の心的状態の認識，セルフモニタリングなどに深く関わることが明らかにされている。こうした研究から，情動のさまざまな側面に関する神経基盤や社会性との相互作用のメカニズムが解明されつつある。しかしながら，「感情を感じる」という主観的側面に

ついては，未だそのメカニズムが十分に明らかにされておらず，それが強く関与すると思われる不安・パニック・ストレスといった，社会的な場面において生起するさまざまな問題については，その原因が十分に解明されていない。その理由は，こうした精神症状の背後に「身体機能」の不全が深く関与している点，および，それを神経科学の視点から十分に検討できていない点にある。実際，正中内側部に位置する帯状回前部や前頭葉眼窩部などは，自律神経活動を中心とした身体生理状態のモニターや制御に関与することが知られているものの，そうした身体反応がどのように主観的感情を生み出すかに関しては未知な部分が多い。そこで本発表では，身体内部状態の感覚である「内受容感覚」に焦点を当て，「心・脳・身体」の三者関係から感情の主観的側面について取り上げる。

（4）自己認識に生じる錯覚の脳内メカニズム

山田真希子（独立行政法人放射線医学総合研究所分子イメージング研究センター・
独立行政法人科学技術振興機構戦略的創造研究推進事業さきがけ）

多くの人が自分の能力や性格を平均よりも望ましいと評価する傾向があり，これは Superiority illusion と呼ばれる自己認識に生じる錯覚として知られる。ポジティブな自己認識の錯覚を持つことは，将来の目標達成のための動機づけとなり，人間が進化し，社会が発展するための必要不可欠な心の機能と考えられている。また，抑うつ状態ではより現実的な捉え方をするなど，心の健康にも重要な役割を果たしている。本講演では，ポジティブな自己認識の錯覚が生じる生物学的基盤について，安静時脳機能ネットワークと線条体ドーパミンとの関連から，その脳内メカニズムに迫る。

（5）網羅的神経活動記録による脳情報の解読とコミュニケーション利用の可能性について

林　隆介（産業技術総合研究所　ヒューマンライフテクノロジー研究部門）

本発表では，解読した脳情報のコミュニケーション利用の実証実験として，動物モデルを用いた Brain-to-Brain インターフェース開発の取り組みについて紹介する。具体的には多数の電極を埋め込んだ二頭のサルの脳に埋め込み，一方のサルより記録された神経活動から，その視覚体験を解読し，解読した情報を他方のサルの脳に電気刺激として入力し，同じ視覚体験を誘発するシステムを想定している。両者の知覚がシンクロし，知覚共有が達成できていることを脳科学的実験手法で検証することを目指している。現在，任意の視覚体験の復元をめざして，１）神経活動の多チャンネル化，２）復元に利用する画像データベースの大規模化，３）復元アルゴリズムの開発に取り組んでいる。将来的にはより多くのアレイを脳の腹側視覚経路に沿った各脳領域（V4 野，TEO 野，後部 TE 野，中央部 TE 野，前部 TE 野）から網羅的に神経活動を記録することを予定している。さらに，自然動画や ImageNet を利用して，多様な視覚入力に対する神経活動を記録する実験を進めている。また，復号化アルゴリズムについては，近年コンピュータ・ビジョンの分野で用いられる，deep learninig による多層ニューラルネットの利用を想定しているので合わせて紹介する。

（6）模倣と創造

松沢哲郎（京都大学霊長類研究所）

チンパンジーの言語・認知機能の獲得過程について，さらにそれがどのように個体を越えて伝播するかという点について解説した。ヒトの知性を特徴づけるものは，もはや言語や道具使用ではない。進化の隣人であるチンパンジーも，それらをある程度なら習得できるからである。では現代のわれわれ人間という存在を支えている基盤は何か。それは，ゲノムの外側で，教育を通じて知識や技術を世代を超えて引き継いでいく知性に求められる。ヒト以外の動物は，ゲノムの中に多くの情報が組み込まれているが，ヒトは生後の学習によって文化とよばれる周囲の環境から多くのものを学ぶ。ところが 1990 年代になって，野生チンパンジーでも文化の存在が確認され始めた。ヒトを特徴づける文化や教育の進化的起源を，チンパンジーにおける知識や技術の伝播の詳細な過程を知ることによって解明した。これらの研究の成果に基づき，模倣と創造について考える。

（7）実社会での向社会的行動と自己概念：fMRI 研究

杉浦　元亮（東北大学　加齢医学研究所・東北大学　災害科学国際研究所）

本研究では自己概念と向社会的行動の関係を認知神経科学的に明らかにするために，東日本大震災直後の被災地の大学生を対象に，自己概念に関わる脳活動と，義捐金寄付金額の関係を調べた。実験は震災３～４か月後，メディアが被災地でのボランティア活動や義捐金を毎日積極的に促していた時期に行った。被験者は健康・性格に関する質問紙に回答し，震災後から現在までの義捐金寄付金額を報告（６択）した。fMRI 中に自己概念に関する次の３つ課題を行った：①運動自己帰属感操作課題（身体的自己），②他者視線課題（対人関係的自己），③自己特性評価課題（社会的自己）。被験者を義捐金寄付金額が 100 円未満の低寄付群と 100 円以上の高寄付群に分け，課題中の自己概念に関わる脳活動を群間比較した。３つの自己概念に関わる課題のうち，社会的自己に関わる自己特性判断課題遂行中の脳活動が，左上側頭溝後部（pSTS）において有意な群間差（高寄付群＞低寄付群）を示した。この結果は，自己概念の個人差と，現実社会における向社会的行動との関係を，初めて脳科学的に示したものである。pSTS の役割として，社会的知覚や他者の意図・心情の推測等が知られている。この知見に基づいて，今回見られた自己概念の個人差の意味と，これが向社会的行動に影響するメカニズムについて論じたい。

（8）社会脳における扁桃体の役割　―顔の虚記憶に関する fMRI 研究―

飯高哲也（名古屋大学大学院医学系研究科精神生物学）
原田宗子（生理学研究所心理生理学研究部）

学習していない項目に対して，学習したと判断する現象は虚記憶と呼ばれる。われわれはモーフィングを用いて，互いに類似した顔刺激を多数作成した。この刺激セットを用いて，長期記憶と短期記憶の両方で顔に対する虚記憶を誘発した。多数の顔を学習した後に，学習顔（OLD），新奇顔（NEW），類似顔（LURE）を呈示して再認判断（old/new 反応）を行わせた。old 反応の割合は LURE で NEW よりも有意に高く，顔に対する虚記憶が誘発された。この時の脳活動を fMRI で計測すると，扁桃体の活動に特徴的な反応が認められた。（Iidaka et al. NeuroImage, 2012）次いで短期記憶の領域でも，顔に対する虚記憶が誘発できるかどうかを調べた。3 人の顔を 2.5s 呈示し，1.5s の間隔を挟んで学習顔（OLD），新奇顔（NEW），類似顔（LURE）を呈示して再認判断（old/new

反応）を行った。その結果では old 反応の割合は LURE で NEW よりも有意に高かった。従って長期記憶と同様に短期記憶でも，顔の虚記憶が誘発された。この時の脳活動を fMRI で計測すると，長期記憶の時と類似した扁桃体の活動が確認された。（Iidaka et al, in preparation）これらの実験結果を基に，長期記憶と短期記憶における顔の虚記憶に関する扁桃体の役割を考察する。

（9）幼少期母子関係による情動神経系の発達変化

菊水健史，永澤美保，茂木一孝（麻布大学獣医学部）

母子間のコミュニケーションにおいて，匂い情報と共に超音波領域の音声コミュニケーションをとることが知られており，これらのやりとりを介して，相互依存的な絆が結ばれていく。この母子間の絆を基に，仔の正常な社会性や情動行動の発達がエピジェネティックなメカニズムを介してなされることが知られつつある。これまで筆者らは早期に母子間を分離する早期離乳によって，不安行動の上昇，攻撃性の上昇と共にストレス内分泌反応は亢進することを明らかにしてきた。またこれら行動変化に伴い，扁桃体特異的なミエリン形成の早期化，海馬神経新生の低下，前頭葉における脳由来神経栄養因子（BDNF）の発現量の低下を見出した。さらに，早期離乳された仔マウスにおける 48 時間以上にわたるグルココルチコイドの上昇を認め，これが早期離乳による成長後の不安増強の原因因子であることを同定した。さらにこの発達期の過剰なグルココルチコイド暴露は前頭葉における永続的な高グルココルチコイド状態を誘導すること，この上昇を抑制することで不安行動が改善可能であることが明らかとなった。またこれら変化と並行するエピジェネティックス変化も検出されつつある。これらのことから，母子間の絆の略奪のもたらす動物の社会性や情動行動の発達への影響は多大であり，その神経科学的なメカニズムのさらなる解明が期待される。

（10）ヒトの心の進化と現代環境

長谷川眞理子（総合研究大学院大学先導科学研究科）

脳は，胃や肺や筋肉と同じく動物の臓器である。胃や肺や筋肉の機能が，それぞれ，食物を消化すること，酸素呼吸を行うこと，運動を制御することであるように，脳という臓器の機能は，環境からの大量な情報から有用な情報を選別し，そのときの状況に応じて，いくつかある行動選択肢の中から最適なものをなるべく早く選び出すという，情報処理・意思決定を行うことである。何を食べるか，どのような環境に暮らすかなどによって，胃や肺などの最適なタイプが異なるのと同様，どのような環境で暮らし，どのような情報処理・意思決定をせねばならないかに応じて，脳の最適設計も種ごとに異なる。ヒトの脳も，ホモ属が進化したこの 200 万年，そしてホモ・サピエンスが進化したこの 20 万年の人類進化史の中で作られた。ヒトは蓄積的な文化を持つようになったため，最近の数百年の間（とくに戦後の 60 年ほどの間）に，自らの環境を急激に改変してしまった。しかし，その環境の変化に追いつくように，ヒトの脳がリアルタイムで進化はしていない。そのギャップは，甚大な不適応を現代人にもたらしているはずである。本講演では，ヒトの進化史を考えたときに，脳はどのような環境に適応するように作られたと考えられるか，進化史の舞台とは非常に異なる現代環境は，ヒトの脳にどのようなストレスをもたらしていると考えられるか，いくつかの点について論じてみたい。

（11）Beliefs, expectations, and strategies in the cultural niche construction

山岸俊男（玉川大学脳科学研究所）

Humans think, communicate, and behave to adapt to a particular social ecology (which I call a social niche), and by doing so they collectively create, maintain, and change the ecology they adapt to. A social niche can be analyzes as a self-sustaining system of shared beliefs. A set of shared beliefs make it possible for people who understand that the beliefs are shared by others to adjust their behavior to the anticipated responses from others. People who share the same set of beliefs thus induce each other to think and behave in particular ways by behaving in those ways themselves. The best support to this approach is found when cultural differences in cognition and behavior that are regularly observed in everyday life disappears in a social vacuum in a ation in which people are rid of any concerns out implications of their behavior and can express their thoughts and behave free of any social concerns. Examples of such experimental manipulations will be presented and discussed.

【国 際 研 究 集 会】

国際研究集会

〔 目　　次 〕

1．Central Neuroplasticity in Sensory-Emotional Link
（代表者：加藤総夫　2012 年 9 月 13 日－9 月 15 日）..... 508

Central Neuroplasticity in Sensory-Emotional Link

2012 年 9 月 13 日－9 月 15 日

代表・世話人：加藤総夫（東京慈恵会医科大学・総合医科学研究センター）

所内対応者：重本隆一（大脳皮質機能研究系脳形態解析研究部門）

（１）Role of the bed nucleus of the stria terminalis (BNST) in pain-induced aversion

Masabumi MINAMI (Hokkaido University)

（２）Odor-evoked innate and learned fear responses are mediated by distinct neuronal mechanisms

Ko KOBAYAKAWA (Osaka Bioscience Institute)

（３）Fear conditioning changes neuronal population response to conditioning stimulus with presynaptic potentiation

Hiroshi NOMURA (The University of Tokyo)

（４）Central nerve activations in musculoskeletal pain

Takahiro USHIDA (Aichi Medical University)

（５）Teaching the brain to fear

Joshua JOHANSEN (Riken BSI)

（６）Genetic mechanisms underlying sensitivity to pain and analgesics: genetically programmed systems inducing primitive emotion

Kazutaka IKEDA (Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science)

（７）Emotional fear memory and dietary polyunsaturated fatty acids

Masayuki SEKIGUCHI (National Institute of Neuroscience, NCNP)

（８）Long-term synaptic plasticity of cortical network in chronic pain and fear

Min Zhuo (University of Toronto)

（９）Chronic pain-induced somatosensory cortical plasticity

Junichi NABEKURA (National Institute for Physiological Sciences)

（10）Plastic change of synaptic function in the central amygdala in muscle pain and tonic inhibition of NAergic LC neurons

Ming-Yuan MIN (National Taiwan University)

（11）Amygdala interaction with prefrontal cortex in emotional-affective aspects of pain

Volker NEUGEBAUER (University of Texas Medical Branch)

（12）Synaptic potentiation in the nociceptive amygdala following fear learning in mice

Ayako M WATABE (Jikei University School of Medicine)

（13）Link of visceral sensation and negative emotion

Shin FUKUDO (Tohoku University)

（14）Spinal modulation of nociceptive synaptic transmission by in vivo optogenetic activation of the locus coeruleus

Hidemasa FURUE (National Institute for Physiological Sciences)

（15）Developing new approaches to treat pain in humans

Ben SEYMOUR (Center for Information and Neural Networks)

（16）Oxytocin attenuates feelings of hostility depending on emotional context and individuals' characteristics

Tetsu HIROSAWA (Kanazawa University)

（17）Decision making neural circuits in C. elegans

Ikue MORI (Nagoya University)

（18）The role of prostaglandin E2 in emotional regulation under stress: a link between microglial activation and dopaminergic regulation

Tomoyuki FURUYASHIKI (Kyoto University)

（19）The roles of the habenula in aversive learning and gain of self-confidence in aggressive behavior

Hitoshi OKAMOTO (Riken BSI)

（20）Contribution of basal nucleus of amygdala to fear expression and extinction

Taiju AMANO (Riken BSI)

（21）Dynamic regulation of fear memory after retrieval by distinct neural circuits

Satoshi KIDA (Tokyo University of Agriculture)

【参加者名】

AGETSUMA Masakazu（コロンビア大学），AMANO Taiju（理化学研究所脳科学総合研究センター），ARATA Akiko（兵庫医科大学），ASAHARA Miho（東京大学），CHANG Wen Hsin（生理学研究所），FUKUDO Shin（東北大学大学院医学系研究科），FURUE Hidemasa（生理学研究所），FURUYASHIKI Tomoyuki（京都大学医学研究科），Hassan Azhdari（Zarmehri Qazvin University of Medical Sciences, Iran），HIROSAWA Tetsu（金沢大学），IKEDA Hiroshi（福井大学大学院），IKEDA Kazutaka（公益財団法人 東京都医学総合研究所），IMAIZUMI Rei（田辺三菱製薬㈱），IMAMURA Natsuko（東京大学大学院薬学系研究科），ISHIZUKA Masataka（東京大学），JOHANSEN Joshua（RIKEN Brain Science Institute ），KAIBUCHI Kozo（名古屋大学医学系研究科），KATO Fusao（東京慈恵会医科大学），KAWANO Hiroyuki（東京慈恵会医科大学），KIDA Satoshi（東京農業大学），KINOSHITA Makoto（名古屋大学），KIRITOSHI Takaki（テキサス大学医学部ガルベストン校），KOBAYAKAWA Ko（大阪バイオサイエンス研究所），KOPPENSTEINER Peter（National Institute of Neuroscience, NCNP），Min Zhuo（University of Toronto Center for the Study for Pain），MINAMI Masabumi（北海道大学），Ming-Yuan Min（College of Life Science, National Taiwan University），MIYAZAWA Yuta（東京慈恵会医科大学），MORI Ikue（名古屋大学），NABEKURA Junichi（生理学研究所），NAGASE Masashi（東京慈恵会医科大学），NAKA Masamitsu（東京大学），NEUGEBAUER Volker（University of Texas Medical Branch, Galveston），NIIYAMA Yukitoshi（札幌医科大学医学部），NISHI Mayumi（奈良県立医科大学），NOMURA Hiroshi（東京大学），OCHIAI Toshitaka（星薬科大学），OHNISHI Tetsuo（理化学研究所脳科学総合研究センター），OKAMOTO Hitoshi（理化学研究所脳科学総合研究センター），OKAWARA Mii（東京学芸大学），Okutsu Yuya（東京慈恵会医科大学），OZAWA Takaaki（独立行政法人 理化学研究所），Ray Luo（理化学研究所），SATO Masaru（東京慈恵会医科大学），SAWADA Atsushi（札幌医科大学），SEKIGUCHI Masayuki（国立精神&神経医療研究センター神経研究所），SEYMOUR Ben（Center for Information and Neural Networks），SHIGEMOTO Ryuichi（生理学研究所），SUGIMOTO Mariko（東京大学医学部附属病院,東京慈恵会医科大学），SUGIMURA Yae（東京慈恵会医科大学），TAKAHASHI Hiroaki（日本たばこ産業株式会社），TAKAHASHI Yukari（東京慈恵会医科大学），TANAKA Motoki（名古屋大学大学院医学系研究科），TSUJI Megumi（東京慈恵会医科大学大学院），TSUNEMATSU Tomomi（生理学研究所），USHIDA Takahiro（愛知医科大学），UTA Daisuke（生理学研究所），Watabe M. Ayako（東京慈恵会医科大学），YAMADA Daisuke（国立精神・神経医療研究センター神経研究所），YAMAMOTO Sumii（筑波大学），YASOSHIMA Yasunobu（大阪大学），YOSHINO Atsuo（広島大学大学院），Rei NISHIMOTO（生理学研究所），KINOSHITA Jun（東京慈恵会医科大学），MATSUI Ko（生理学研究所），SASAKI Takuya（生理学研究所），Kyohei KAWAMOTO（生理学研究所），Matthew Julian Case（NIPS），Gopal Pramanik（NIPS），YOSHIHARA Kazufumi（生理学研究所），NAGANO Hiroshi（岐阜大学），TOMINAGA Makoto（生理学研究所），Wuping Sun（NIPS），HARADA Harumi（生理学研究所），Chao hua Huang（NIPS），ISHIBASHI Hitoshi（生理学研究所），David McLean（Northwestern University）

【概要】

In NIPS, a series of domestic mini-symposia (Kenkyukai) on neurophysiology of emotion has been held annually since four years ago. This year, as a 2012 symposium of this series, we held NIPS International Workshop on “Central Neuroplasticity in Sensory-Emotional Link” from September 13 - 15, 2012 at the Okazaki Conference Center. This workshop was held also as one of the Satellite Symposia for the 35th Annual Meeting of the Japanese Neuroscience Society, and sponsored by “micro-endophenotypes of psychiatric disorders” Grants-in-Aid for Scientific Research on Innovative Areas. There were 21 oral presentations given by 3 overseas invited speakers (USA, Canada and Taiwan) and 17 domestic speakers and 16 poster presentations. These presentations contained their most recent and unpublished results on the neuroplasticity in a variety of sensory and emotional systems over multiple levels from molecules to systems, and over diverse species from C. elegans to human, with multidisciplinary approaches. Highly active and stimulating discussions among the speakers and audience followed these presentations in every session. Such interactions among participants were not limited in the sessions but also deeply facilitated in the welcome parties held every evening. These become ideal occasions for the intimate exchange of ideas between presenters, students, and postdocs over generations. The workshop was thus very successful and highly esteemed by many participants. We believe that this workshop would be seed for future collaborations a between researchers of different methodologies and viewpoints and contribute to promoting researches in this emerging interdisciplinary field.

（1）Role of the bed nucleus of the stria terminalis (BNST) in pain-induced aversion

Masabumi Minami (Department of Pharmacology, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Hokkaido University)

Pain is an unpleasant sensory and emotional experience. The neural systems underlying the sensory component of pain have been studied extensively, but we are only beginning to understand those underlying its affective component. The bed nucleus of the stria terminalis (BNST) has been implicated in stress responses and negative affective states, such as anxiety, fear, and aversion. Previously, we demonstrated the crucial role of the noradrenergic transmission via β-adrenoceptors within the ventral part of the BNST in the negative affective component of pain using the conditioned place aversion (CPA) test (**J. Neurosci., 28:** 7728-7736 (2008)). In the present study, we first examined the role of the CRFergic transmission within the dorsolateral part of the BNST (dlBNST) in pain-induced aversion in male Sprague–Dawley rats. *In vivo* microdialysis demonstrated the increased release of CRF within the dlBNST by intraplantar formalin injection. Intra-dlBNST injection of α-helical CRF, a non-selective CRF receptor antagonist, dose-dependently attenuated the formalin-induced CPA (F-CPA) without reducing nociceptive behaviors. Intra-dlBNST injection of CRF dose-dependently produced CPA even in the absence of noxious stimulation. Taken together, these results reveal that enhanced CRFergic transmissions within the dlBNST are important for the negative affective component of pain. Next, in order to address cellular mechanisms for this effect of CRF, we examined the effect of CRF on neuronal activity in dlBNST neurons using a whole-cell patch-clamp recording. We found that CRF modulated the resting membrane potential in a particular type of neurons, type II neurons, in the dlBNST. To clarify the neuronal circuit(s) involved in pain-induced aversion, we characterized VTA-projecting BNST neurons using combined neurotracing and histochemical techniques. The major BNST-VTA projection originates from GAD67-expressing GABAergic neurons in the BNST, and preferentially targets GABAergic interneurons in the VTA, suggesting the disinhibitory control of VTA dopaminergic neurons by BNST-VTA projection. I am looking forward to discussing the neuronal circuits for pain-induced negative emotion in Okazaki.

（2）Odor-evoked innate and learned fear responses are mediated by distinct neuronal mechanisms

Ko Kobayakawa (Osaka Bioscience Institute)

We previously reported that aversive and fearful responses to odorants are innately regulated by olfactory neural pathways originating from the dorsal zone of the olfactory epithelium. Natural predator compounds such as 2,4,5-trimehylthiazoline (TMT), a component of fox feces, are thought to induce innate fear responses in rodents. However, whether TMT can really induce fear is debatable, because TMT-induced fear-related responses are rather weak. We screened synthetic artificial chemical libraries and identified a series of “fear odorants” that can induce extremely strong fear responses. The level of fear responses varied with the type of odorant. Innate fear was evoked by fear odorants, and conditioned fear was elicited by association of a neutral odorant with an electrical foot shock; both innate and conditioned fear responses induced similar levels of freezing behavior and secretion of stress hormones. However, only innate fear was accompanied by specific physiological responses, e.g., rapid and as much as 50% reduction of heart rate and simultaneous reduction of cutaneous and core body temperature by more than 3°. Moreover, extinction of fear responses was not observed upon repeated presentation of fear odors. Further, we found that in addition to the central nucleus of the amygdale-periaqueductal gray system, a wide spectrum of neural networks, including the striatal system, regulate the innate fear responses evoked by fear odors. “Cold fear” evoked by fear odorants provides a new framework to understand indelible and strong fear.

（3）Fear conditioning changes neuronal population response to conditioning stimulus with presynaptic potentiation

Hiroshi Nomura (Graduate School of Pharmaceutical Sciences, The University of Tokyo)

Fear conditioning is a learning paradigm in which animals and humans learn an association between conditioned (e.g. context, tone) and unconditioned (e.g. footshock) stimuli. When a mouse receives footshocks in a context, the mouse’s behavioral response to the context is changed from moving to freezing. What is the neuronal activity and synaptic changes underlying the behavioral change? Individual fear memories are encoded in specific neuronal subpopulations within the amygdala. However, the activity and synaptic changes of specific neuronal subpopulation remain unclear. In this study, we investigated changes of neuronal population response to conditioning context and synaptic changes in memory-related neuronal population. Neuronal activities in the basolateral amygdala (BLA) were measured during context presentation before and after conditioning and during conditioning by mapping of immediate early gene transcripts. Fear conditioning changed population response to context. Changes in neuronal activity depended on their activity during conditioning and correlated with freezing time. Next, we examined the synaptic transmission of BLA neurons active and inactive during context presentation after fear conditioning. We identified BLA neurons active during context presentation by using Arc-dVenus transgenic mice in which destabilized fluorescent protein dVenus is driven under the Arc gene promoter. The frequency of miniature excitatory postsynaptic currents (mEPSCs) of Venus (+) neurons was higher than that of Venus (-) neurons. Paired pulse ratio of Venus (+) neurons was lower than that of Venus (-) neurons. These results indicate that fear conditioning induces presynaptic potentiation and that the potentiation is localized to active neurons. Taken together, we have demonstrated that fear conditioning changes neuronal population response to conditioning context with presynaptic potentiation.

（4）Central nerve activations in musculoskeletal pain

Takahiro Ushida (Multidisciplinary Pain Center, Aichi Medical University)

Musculoskeletal pain conditions are very common symptom in all generations and local painful sites are normally highlighted and investigated for the treatment. Indeed in the management of clinical low back pain (LBP), actual damage to lower back areas such as muscles, intervertebral discs etc. are normally targeted for therapy. However, LBP may involve not only sensory pain, but also underlying affective pain which may also play an important role overall in painful events. Therefore we hypothesized that visualization of a painful event may trigger painful memories, thus provoking the affective dimension of pain. The present study investigated neural correlates of affect processing in subjects with LBP (n = 11) and subjects without LBP (n = 11) through the use of virtual LBP stimuli. Whole brain functional magnetic resonance imaging (MRI) was performed for all subjects while they were shown a picture of a man carrying luggage in a half-crouching position. All subjects with LBP reported experiencing discomfort and 7 LBP subjects reported experiencing pain. In contrast to subjects without LBP, subjects with LBP displayed activation of the cortical area related to pain and emotions: the insula, supplementary motor area, premotor area, thalamus, pulvinar, posterior cingulate cortex, hippocampus, fusiform, gyrus, and cerebellum. These results suggest that the virtual LBP stimuli caused memory retrieval of unpleasant experiences and therefore may be associated with prolonged chronic LBP conditions.

A previous fMRI study in humans reported actual LBP-related cerebral substrates and activations were identified from similar site respectively. These results suggest that ongoing actual tissue damages are not necessary for the maintenance of LBP in chronic situation.

（5）Teaching the brain to fear

Joshua Johansen (Neural Circuitry of Memory, RIKEN Brain Science Institute)

Aversive experiences, such as those which are painful, powerfully regulate memory formation and help to guide adaptive behavior. These types of experiences do so by activating ‘teaching signal’ circuits in the brain which can trigger neural plasticity in memory storage areas resulting in adaptive changes in behavioral decision making. Auditory fear conditioning is a powerful mammalian model system in which to examine the neural mechanisms of aversive teaching signals because an important site of plasticity mediating fear learning has been identified in the lateral amygdala. This makes it possible to investigate the mechanisms by which aversive teaching signals regulate amygdala neural plasticity and behavioral memory formation. We examined this question using a combination of optogenetic, electrophysiological and behavioral approaches to manipulate specific circuit elements while measuring behavior and neural coding. I will describe experiments using this approach to define aversive teaching signal circuits, the computations performed by neurons in these circuits and the mechanisms by which these signals regulate plasticity in the lateral amygdala. The results of these studies suggest a mechanism for both triggering plasticity in lateral amygdala neurons mediating fear memory formation and for setting the amount of fear learning that occurs during an aversive experience. A better understanding of these aversive teaching signal systems may reveal general principles of neural circuit function, neural coding and plasticity as they relate to adaptive behavior and provide novel insights into chronic pain and anxiety disorders.

（6）Genetic mechanisms underlying sensitivity to pain and analgesics: genetically programmed systems inducing primitive emotion

Kazutaka Ikeda (Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science)

Pain and subsequent negative emotion are the fundamental alart system which is necessary for self-defense. Since the system is fundamental, a large part of the system is considered to be programmed in the genes. There are significant individual differences in pain sensitivity. In addition to the pain system, the system for analgesia which relieaves excessive pain exists in our bodies. The system can be activated by analgesics such as morphine and fentanyl, and sensitivity to analgesics is also different among individuals. These individual differences in sensitivities to pain and analgesics can hamper effective pain control. Genetic factors are considered to be involved in the mechanisms of these individual differences. To elucidate the genetic mechanisms, we first investigated the mechanisms responsible for interstrain differences in sensitivity to pain and analgesics in mice. We found that a 5.3 kb nucleotide insertion in the 3'noncoding region of the μ-opioid receptor gene (*Oprm1*) caused a significant reduction in morphine-induced analgesia in CXBK mice (Ikeda et al., J Neurosci, 2001; Han et al., Pharmacogenet Genomics, 2006). Additionally, in *weaver* mutant mice possessing a mutation in the gene encoding G-protein-activated inwardly rectifying potassium (GIRK) channel subunit 2 (*Kcnj6*), ethanol and morphine were less effective at reducing thermal nociception than in control mice (Kobayashi et al., Nat Neurosci, 1999; Ikeda et al., Neurosci Res, 2000). We then examined associations between polymorphisms of the corresponding genes and postoperative opioid requirements in humans. We found that two polymorphisms, A118G and IVS3+A8449G, in the human *OPRM1* gene and a polymorphism, A1032G, in the human *KCNJ6* gene were significantly associated with postoperative opioid requirements (Hayashida et al., Pharmacogenomics, 2008; Fukuda et al., Pain, 2009; Nishizawa et al., PLoS ONE, 2009). These findings provide valuable information that will open new avenues for personalized pain treatment and understanding genetic mechanisms of individual differences in pain, analgesia and emotion.

（7）Emotional fear memory and dietary polyunsaturated fatty acids

Masayuki Sekiguchi (National Institute of Neuroscience, National Center of Neurology and Psychiatry)

Fear memory is essential for animals to survive but is causative in particular anxiety disorders if it is excessive and/or uncontrollable. Therefore, it seems that reducing fear memory is beneficial in these disorders. Ingestion of omega-3 polyunsaturated fatty acid (PUFA)-rich foods influences animal emotional behavior *via* unknown mechanisms. Long chain PUFAs are indispensable to the normal development and function of the CNS. Since many clinical trials have been conducted by supplementation of omega-3 PUFA for alleviation of mental illunesses including anxiety disorders, the influence of dietary omega-3 PUFA on fear memory and, if it does, the underlying mechanisms are worth pursuing. We have found that balance of two endocannabinoids in the mouse brain was changed by diets high in omega-3 and low in omega-6 PUFAs, and that it resulted in attenuation of fear memory and facilitation of endocannabinoid-dependent modulation of amygdala synaptic activity. Our results suggest that fear memory in mice can be manipulated by the propotion of dietary PUFAs mainly *via* endocannabinoid signaling.

（8）Long-term synaptic plasticity of cortical network in chronic pain and fear

Min Zhuo (University of Toronto)

Synaptic plasticity is a key cellular mechanism for chronic pain. It occurs at different levels of the central nervous system including the spinal cord and pain-related cortex such as anterior cingulate cortex (ACC). In vitro brain slice experiments showed that glutamateric synapses within the ACC are highly plastic in adult animals, and synaptic strength can be potentiated or depressed with different induction protocols. In vivo electrophysiological studies found that peripheral injury caused long-term enhancement of synaptic responses in ACC pyramidal cells. Furthermore, in vitro electrophysiological recordings from ACC neurons of injured animals revealed enhanced glutamate mediated transmission after peripheral inflammation or nerve injury. Calcium-stimulated, neuronal adenylyl cyclase subtype 1 (or called AC1) is critical for triggering ACC LTP as well as injury-induced potentiation. Biochemical and anatomic experiments demonstrated that cAMP-dependent protein kinase (PKA) regulated phorsphorylation of AMPA GluR1 and subsequent enhanced membrane AMPA receptors contribute to the potentiation. Enhanced activity of PKMzeta (PK ζ) after the injury maintained the potentiation of AMPA receptor mediated responses in ACC neurons and behavioral allodynia. Such enhancement also took place in descending corticospinal projecting cells in the deep ACC pyramidal cells. Increased descending facilitation from the ACC contributes to spinal nociception in vivo, forming a positive feedback loop between cortex and spinal dorsal horn. Genetic deletion of AC1 or pharmacological inhibition of AC1 prevented injury triggered potentiation in the ACC, and produced analgesic effects in different animal models of chronic pain. In addition to chronic pain, we also recently found that ACC excitatory transmission contributes to the formation of emotional trace fear. Our findings strongly suggest that inhibiting cortical plasticity within the ACC can serve as a new therapeutic target/mechanism for treating chronic pain and pathological fear in patients.

（9）Chronic pain-induced somatosensory cortical plasticity

Junichi Nabekura (National Institute for Physiological Sciences)

Peripheral nerve injury/tissue inflammation triggers maladaptive plastic changes along the somatosensory system so that altered nociceptive signal processing, represented by tactile allodynia occurs. It is suggested that early afferent barrage can drive subsequent alterations in the central nervous system, including the cortex, that in turn contribute to neuropathic/chronic pain. Recent advance in imaging techniques, e.g. functional MRI and PET, allows us to understand the activation of various higher brain areas in case of chronic pain. However, due to the spatial limitation of these approaches, it is difficult to directly observe plastic change of more fine structures, e.g. neurons and synapses in vivo. Here, we introduce plastic changes of dynamics of neuronal structures and activities n the brain of living chronic pain mice by using in vivo two photon microscopy. Spine turnover in the primary somatosensory cortex corresponding to the injured paw markedly increased during an early phase of neuropathic pain and was restored in a late phase of neuropathic pain. Preexisting stable spines survived less following injury than controls. New spines that generated before nerve injury showed volume decrease after injury, whereas more new spines that formed in the early phase of neuropathic pain became persistent and substantially increased their volume during the late phase. Thus, peripheral nerve injury induces rapid and selective remodeling of cortical synapses, which is associated with neuropathic pain development. Indeed, spontaneous activity of layer 2/3 pyramidal neurons in the S1 in vivo increased under chronic

pain. Enhanced S1 activity exaggerated the response of ACC to peripheral sensory stimulation. Thus, the synaptic remodeling of somatosensory cortex leads to the exaggerated neuronal response in the somatosensory cortex e.g. an increases of neurons responded in number and response probability, which could be the underlying mechanism in the allodynia.

（10）Plastic change of synaptic function in the central amygdala in muscle pain and tonic inhibition of NAergic LC neurons

Ming-Yuan Min (Department of Life Science and Institute of Zoology, National Taiwan University)

The development of pain-like behavioral hypersensitivity is usually associated with emotionality, which requires activation of high brain regions, such as the amygdala, a limbic structure that plays a key role in the emotional evaluation of sensory stimuli, including pain. It is generally believed that cellular substrate for the development of behavior hypersensitivity should involve alterations of synaptic functions in the amygdala and other pain-related brain areas, an effect known as central sensitization. In support of this argument, we have shown an enhancement of synaptic transmission of nociceptive parabrachio-amygdaloid (PBA) input onto neurons of the capsular central amygdaloid (CeAC) nucleus in the acid-induced muscle pain model; we also found that the mechanisms underlying which are in parallel with the induction of long-term potentiation at PBA-CeAC synapses, which requires activation of NMDA receptor and ERK signaling pathway. The principal neurons of the central amygdala are GABAergic and they target on various pain-related brain areas, including the descending noradrenergic (NAergic) system. The locus ceoruleus (LC) nucleus consists of NAergic neurons whose axons form the majority of ascending and descending NAergic fibers. We found that NAergic LC neurons are subject to GABAergic tonic inhibition mediated by $GABA_B$ but not $GABA_A$ receptors, and a change in the extent of tonic inhibition could effectively tune the frequency of spontaneous firing of LC neurons. Since one of the well known functions of norepinephrine is its robust regulation of nociception, understanding of how much the GABAergic central amydalofugal pathway contributing to tonic inhibition of NAergic LC neurons and would the extent of their contribution altered in chronic pain condition will provide some insights into the cellular substrate downstream to the activation of the central amygdala during the development of behavioral hypersensitivity.

（11）Amygdala interaction with prefrontal cortex in emotional-affective aspects of pain

Volker NEUGEBAUER (University of Texas Medical Branch)

The amygdala is generally considered a brain center for emotions. Synaptic plasticity in the amygdala network of lateral-basolateral nuclei (LA-BLA) and central nucleus (CeA) has emerged as an important contributor to the emotional-affective aspects of pain (Neugebauer et al., 2004;2009). The laterocapsular division of the central nucleus (CeLC) receives nociceptive-specific information from spinal cord and brainstem, and the vast majority of CeLC neurons respond exclusively or preferentially to noxious stimuli. The CeLC also receives highly processed multimodal, including nociceptive, information from thalamus and cortex through the LA-BLA network. Pain-related neuroplasticity is associated with increased responsiveness and output of CeLC neurons, which drives amygdala-dependent pain behaviors,

including emotional-affective responses and anxiety. Abnormally enhanced amygdala output also impairs cognitive processing in the medial prefrontal cortex (Ji et al., 2010;Sun and Neugebauer, 2011). As a result, medial prefrontal cortical control of amygdala processing is lost, allowing the persistence of pain and its emotional-affective state. Mechanisms and consequences of pain-related amygdala plasticity will be discussed.

References:

- Ji G, Sun H, Fu Y, Li Z, Pais-Vieira M, Galhardo V, Neugebauer V (2010) Cognitive impairment in pain through amygdala-driven prefrontal cortical deactivation. J Neurosci 30:5451-5464.
- Neugebauer V, Galhardo V, Maione S, Mackey SC (2009) Forebrain pain mechanisms. Brain Res Rev 60:226-242.
- Neugebauer V, Li W, Bird GC, Han JS (2004) The amygdala and persistent pain. pp 221-234.
- Sun H, Neugebauer V (2011) mGluR1, but not mGluR5, activates feed-forward inhibition in the medial prefrontal cortex to impair decision making. J Neurophysiol 106:960-973.

（12）Synaptic potentiation in the nociceptive amygdala following fear learning in mice

Ayako M. Watabe (Jikei University School of Medicine)

Pavlovian fear conditioning is a classical form of associative learning, which depends on associative synaptic plasticity in the amygdala. Recent findings suggest that the central amygdala plays an active role in the acquisition of fear learning. The capsular part of the central amygdala (CeC) is now recognized as the ‘nociceptive amygdala’, which receives direct nociceptive information from the external part of the lateral parabrachialis (lPB), as well as highly processed polymodal signals from basolateral nucleus of the amygdala (BLA). Studies using various pain models have demonstrated potentiation of glutamatergic synapses from lPB and BLA onto CeC neurons, suggesting that plasticity at these synapses may underlie some anxiety disorders. However, little is known about the synaptic properties of these pathways in fear learning. Here we show that fear conditioning results in synaptic potentiation in both BLA-CeC synapses and lPB-CeC synapses. We found that the synaptic weight between lPB-CeC and BLA-CeC pathways was correlated in fear conditioned mice, suggesting that fear learning may induced activity-dependent heterosynaptic interaction between these two pathways. This synaptic potentiation is associated with both post- and presynaptic changes in both lPB-CeC and BLA-CeC pathways. These results indicate that the CeC may provide an important locus of Pavlovian association, integrating direct nociceptive signals with polymodal seosory signals. In addition to the well established plasticity in the lateral amygdala (LA), this multi-step association system will contribute to the establishment of the highly orchestrated nature of the fear learning.

（13）Link of visceral sensation and negative emotion

Shin Fukudo (Tohoku University Graduate School of Medicine)

An emotional state has two components, one evident in a characteristic physical sensation/motor-secretory changes and the other as a conscious feeling. Among them, interoceptive signals were largely unknown but clinical studies clarified importance of them. Irritable bowel syndrome (IBS) is a disorder that highly relates to this link between visceral sensation and negative emotion. To test human visceral perception and perception-evoked emotion, we stimulate the

colorectum with a barostat bag. IBS patients show visceral hypersensitivity as well as anxiety or depression. Although there are some candidate molecules to play a crucial role in this condition, corticotropin-releasing hormone (CRH) and 5-hydroxytryptamine (5-HT) are the promising substances. Brain-gut interactions are sensitized by exogenous administration of CRH. Conversely, administration of CRH antagonists well inhibits exaggerated response of both the brain and the gut in IBS patients. Link between visceral sensation and emotion can be visualized with positron emission tomography (PET) with injection of radioactive H2[^{15}O] saline and colorectal stimulation. The amygdala is more activated during colorectal distention in IBS patients. Individuals with the s/s genotype of serotonin transporter gene showed a larger increase in regional cerebral blood flow of the anterior cingulate cortex and parahippocampal cortex by colorectal distention than those with the l allele. In another study using functional magnetic resonance imaging (fMRI), IBS patients showed less activation of the right dorsolateral prefrontal cortex during error feedback of their behavioral choice than controls. Repetitive transcranial magnetic stimulation of the right dorsolateral prefrontal cortex attenuated visceral stimulation-induced anxiety. Neural pathways of visceral sensation thus play crucial roles in IBS and allied-anxiety or depression. Further studies on link between visceral sensation and negative emotion are warranted.

（14）Spinal modulation of nociceptive synaptic transmission by in vivo optogenetic activation of the locus coeruleus

Hidemasa Furue (National Institute for Physiological Sciences)

The locus coeruleus (LC) is located in the dorsal pons beneath the floor of the fourth ventricle in the brainstem. LC neurons send noradrenergic projections throughout the neuroaxis and are implicated in the control of many homeostatic functions such as arousal, cardio-respiratory control. In addition, the LC is also a major source of noradrenergic projections to the spinal superficial dorsal horn which play a significant role in pain modulation. We have developed in vivo patch-clamp recording techniques from LC and spinal dorsal horn neurons to study the pontospinal noradrenergic control of pain at the synaptic level. Under urethane-anesthesia, whole-cell current- and voltage-clamp recordings were made from LC and spinal superficial dorsal horn neurons. LC neurons tested fired spontaneously. Cutaneous noxious stimuli transiently increased and then decreased the frequency of action potential discharge. Under voltage-clamp conditions, a small inward current was elicited by the same noxious stimulation. On the other hand, spinal superficial dorsal horn neurons induced an outward (hyperpolarizing) current and increased the frequency of inhibitory postsynaptic currents when noradrenaline was superfused to the surface of the spinal cord. Optogenetic activation of the LC neurons expressing ChR2, however, elicited a barrage of inhibitory postsynaptic currents in spinal superficial dorsal horn neurons without eliciting any postsynaptic slow currents. These results suggest that the LC inhibits spinal noxious information mainly through an augmentation of inhibitory synaptic transmission. The present approaches allow us to analyze detailed characterisation of the synaptic and integrative mechanisms of descending inhibitory control of pain.

（15）Developing new approaches to treat pain in humans

Ben Seymour (Center for Information and Neural Networks)

A long-term goal in pain neurology is to develop novel brain machine interfaces to abolish pain in humans. In the short term, this means we need to develop a good understanding of the functional and computational architecture of pain system. From this, we can probe how this architecture 'malfunctions' in chronic pain, and design new strategies that mitigate it. In my talk I will introduce a computational approach to pain, and review my own work that suggests that the pain system can be understood as a Reinforcement Learning system, showing fMRI data that shows how this relates to the reward learning system in the brain. I will then speculate how this system might malfunction in chronic pain, and relate this to the problem of treating pain. I will finish with my viewpoint on the challenges we face if the goal of creating technology based interventions is to become a reality.

（16）Oxytocin attenuates feelings of hostility depending on emotional context and individuals' characteristics

Tetsu Hirosawa (Kanazawa University)

Oxytocin (OT) was generally thought to exert situation-invariant effects on behavior, for example, as improving social cognition or promoting prosocial behavior. However, empirical support for this view is surprisingly inconsistent, and the effects of OT are often moderated by contextual factors (i.e. features of the situation in which oxytocin is administered) or by stable characteristics of the individuals to whom oxytocin is administered. With regard to OT's effect on prosociality, no previous study has demonstrated either how contextual and individual differences factors modulate the effects of OT on neural responses to social stimuli or how the neural effects of OT parallel its nuanced prosocial behavioural effects. In a placebo-controlled design, we tested 20 healthy male volunteers to investigate these behavioural and neurophysiological modulations using magnetoencephalography. As an index of the individuals' characteristics, we used the empathy quotient (EQ), the autism spectrum quotient (AQ), and the systemising quotient (SQ). Only during the perception of another person's angry face was a higher SQ a significant predictor of OT-induced prosocial change, both in the behavioural and neurophysiological indicators. In addition, a lower EQ was only a significant predictor of OT-induced prosocial changes in the neurophysiological indicators during the perception of angry faces. Both on the behavioural and the neurophysiological level, the effects of OT were specific for anger and correlated with a higher SQ.

（17）Decision making neural circuits in C. elegans

Ikue Mori (Laboratory of Molecular Neurobiology, Nagoya University)

Human behavior is often motivated by emotional responses in basal ganglia of the brain. Recent studies illuminated that monoamines act as neurotransmittors or neuromodulators, thereby controlling emotion. A variety of behaviors in the nematode *C. elegans* are substantially affected by monoamines, thus implicating the importance of monoamines

in the nervous system throughout evolution. Particularly, thermotaxis behavior of *C. elegans* is a suitable model in which to study the roles of monoamines in the neuronal circuits. After cultivation at a certain temperature with food, the animals migrate to the cultivation temperature on a temperature gradient, whereas they do not migrate to that temperature after cultivation without food. We have shown that temperature is sensed and memorized in sensory neuron and that the memorized temperature information is transmitted to the downstream interneurons, where temperature memory is associated with the past feeding state. Here, we introduce our analysis on molecular, cellular and circuit mechanism underlying temperature sensing, memory and memory-dependent decision making.

（18）The role of prostaglandin E2 in emotional regulation under stress: a link between microglial activation and dopaminergic regulation

Tomoyuki Furuyashiki (Kyoto University)

Stress is a psychological or physical strain that evokes sympathetic and neuroendocrine activation as well as behavioral expression to cope with imminent insults for survival. However, prolonged or intensive stress leads to emotional and cognitive dysfunctions, and has been considered as a risk factor for psychiatric disorders. Whereas inflammation-related molecules, such as cytokines and prostaglandins, have been associated with stress as well as the pathogenesis of major depression, roles and actions of these molecules remained unclear. During the past ten years, we have obtained the findings suggesting that prostaglandin (PG) E2 and its receptor EP1 regulate the dopaminergic systems for emotional regulation. Thus, PGE2-EP1 signaling augments inhibitory synaptic inputs to midbrain dopamine neurons, and the lack of this EP1's action causes dopaminergic disinhibition, leading to emotional abnormalities under stress. Notably, our recent study has shown that the prefrontal dopaminergic activity confers stress resiliency, but is attenuated with repetition of stress via PGE2-EP1 signaling. This EP1-mediated attenuation of the prefrontal dopaminergic activity enables repeated stress to cause depression- and anxiety-like behaviors. Regarding the mechanism of how repeated stress augments PGE2-EP1 signaling, we have found a critical role for cyclooxygenase (COX)-1, an enzyme critical for PGE2 synthesis, in emotional changes induced by repeated stress. COX-1 in the brain is enriched in microglia before and after repeated stress, and stress exposure leads to a sequence of morphological changes of microglia. These results suggest the role of microglial activation for PGE2 synthesis for behavioral depression. Taken together, our results demonstrate a critical role of the PGE2-mediated dopaminergic regulation in emotional function and dysfunction under stress, and pave the way for understanding the neuron-microglia crosstalk in the stressed brain.

（19）The roles of the habenula in aversive learning and gain of self-confidence in aggressive behavior

Hitoshi Okamoto (RIKEN Brain Science Inst)

The habenula (Hb) is an evolutionarily conserved diencephalic structure that acts as a relay nucleus connecting the limbic forebrain with the brain stem monoaminergic systems. In mammals, the Hb is subdivided into medial and lateral regions (MHb and LHb, respectively). We recently discovered that the dorsal and ventral Hb (dHb and vHb) of zebrafish correspond respectively to the MHb and LHb of mammals. In mammals, the LHb is activated by receiving the unpredictable aversive stimuli, and represses the activity of dopaminergic and serotonergic neurons. We established the in

transgenic zebrafish in which the neural transmission from the vHb is specifically inhibited. The active avoidance learning was specifically impaired, demonstrating the essential role of the vHb in the aversive learning.

The functions of the MHb in mammals have long remained ambiguous. Recently, we demonstrated in zebrafish that the lateral subnuclei of the dorsal habenula (dHbl) are asymmetrically connected with the dorsal and intermediate parts of the interpeduncular nucleus (d/iIPN). This pathway further projects to the region containing the equivalents of the dorsal raphe, the periaqueductal gray, and the dorsal tegmental nuclei. Specific silencing of the dHbl-d/iIPN pathway rendered animals extraordinarily prone to freeze in response to conditioned fear stimuli, while the control fish showed only flight behaviors, implicating this pathway in experience-dependent reevaluation of danger during the fear conditioning trials.

We wondered whether the same capacity of this pathway is utilized in case of fighting between two males which have become territorial after isolation, because constant reevaluation of the opponent's strength is necessary during fight until the dominant winner and subordinate loser is ultimately determined. In wild-type zebrafish, it is reported that previous winning experience remarkably increases the probability of winning a subsequent contest. However, this experience-dependent behavior was not found in dHbL-silenced fish. Most of the dHbL-silenced winners of the first interaction lost the second interaction against a naive dHbL-silenced fish, suggesting the role of the dHbl-d/iIPN pathway in accumulation of confidence upon victory in fight.

Quite intriguingly, most of the vHb-silenced fish also lost the first interaction, but they showed lower aggressiveness during interaction. Our findings suggest that the dHbL is related to the confidence of fighting experiences whereas vHb modulates the motivation of fighting in zebrafish.

Reference:

Aizawa H, Kobayashi M, Tanaka S, Fukai T, Okamoto H. (2012) Molecular characterization of the subnuclei in rat habenula. J Comp Neurol. 2012 Jun 14. doi: 10.1002/cne. 23167. [Epub ahead of print]

Okamoto H, Agetsuma M, Aizawa H. (2012) Genetic dissection of the zebrafish habenula, a possible switching board for selection of behavioral strategy to cope with fear and anxiety. Dev Neurobiol. Dev Neurobiol. 72:386-394.

Agetsuma M, Aizawa H, Aoki T, Nakayama R, Takahoko M, Goto M, Sassa T, Amo R, Shiraki T, Kawakami K, Hosoya T, Higashijima S, Okamoto H. (2010) The habenula is crucial for experience-dependent modification of fear responses in zebrafish. Nat Neurosci. 13:1354-1356.

Amo, R., Aizawa, H., Takahoko, M., Kobayashi, M., Takahoko, R., Aoki, T., and Okamoto, H. (2010) Identification of the zebrafish ventral habenula as a homologue of the mammalian lateral habenula. J. Neuroscience. 30:1566-1574.

Aizawa, H., Goto, M., and Okamoto, H. (2007) Temporally regulated asymmetric neurogenesis causes left-right difference in the zebrafish habenular structures. Developmental Cell, 12:87-98.

Aizawa, H., Bianco, I.H., Hamaoka, T., Miyashita, T., Uemura, O., Concha, M.L., Russell, C., Wilson, S.W., and Okamoto, H. (2005) Laterotopic Representation of Left-Right Information onto the Dorso-Ventral Axis of a Zebrafish Midbrain Target Nucleus, Current Biology, 15: 238-243.

（20）Contribution of basal nucleus of amygdala to fear expression and extinction

Taiju Amano (RIKEN BSI)

Fear is a basic survival mechanism triggered by specific stimuli that predicts danger. Classical fear conditioning is

widely used to investigate the neural circuits that mediate fear learning. Accumulating data suggest that the amygdala plays a critical role in the acquisition and expression of conditioned fear responses. The lateral nucleus (LA) is the input station of the amygdala for information about conditioned stimuli (CS), whereas the medial sector of the central nucleus (CeM) is the main output region that projects to brainstem fear effectors. However, there are no direct projections from LA to CeM. We hypothesized that the basal nuclei of the amygdala (BA; basolateral; BL and basomedial; BM) bridge the gap between LA and CeM. We first examined the relative contribution of BM and BL to conditioned fear using unit recordings in rats. As a result of fear conditioning, around 30% of BM and BL neurons developed increased CS responses. Next, we examined the effects of local BL and/or BM inactivations with muscimol 10 min prior to testing fear recall Independent inactivation of either BL or BM did not reduce conditioned freezing even though an extinction recall deficit was seen the next day. In contrast, combined BL–BM inactivation blocked fear expression. These results suggest that BL and BM nuclei are both involved in fear expression but that there is functional redundancy between them. Furthermore, the extinction deficit caused by BL and/or BM inactivation suggest that these nuclei normally drive extinction related plasticity in one or more of their targets. Likely candidates include infralimbic and intercalated neurons. In support of this, we observed that extinction training causes a potentiation of BL inputs to intercalated cells, an effect that required infralimbic activity during and/or shortly after extinction training and caused increased feed-forward inhibition in CeM. Therefore, we propose that the expression of conditioned fear responses is determined by the balance between excitatory BA inputs and feed-forward inhibition mediated by intercalated neurons in CeM fear output neurons.

（21）Dynamic regulation of fear memory after retrieval by distinct neural circuits

Satoshi KIDA (Tokyo University of Agriculture)

Recent studies have shown that retrieved memory becomes labile through proteasome-dependent protein degradation and then re-stabilized through gene expression-dependent reconsolidation, whereas prolonged retrieval induces memory extinction that also depends on gene expression. To understand dynamic regulation of memory after retrieval, we have investigated mechanism of reconsolidation and extinction in the inhibitory avoidance (IA) task because this task is thought to allow to discriminate reconsolidation and extinction phases at the time point when mice enter into dark box from 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). We further observed increases in single population of neurons displaying increased activation of CREB (phosphorylated CREB or c-fos induction) and activation of proteasome-dependent protein degradation in the HP, mPFC and AMY in the reconsolidation phase. In contrast, we found that the re-exposure to the dark box leads to long-term extinction through new gene expression in the mPFC and AMY, but not HP. More interestingly, we observed three distinct populations of neurons displaying increased phosphorylated CREB (pCREB) and/or phosphorylated ERK levels (pCREB+/pERK− neuron, pCREB−/pERK+ neuron and/or pCREB+/pERK+ neuron) in the AMY, mPFC and HP in the extinction phase. These finding suggest that distinct neural circuits regulate memory reconsolidation and extinction phases.

【各種シンポジウム】

平成 24 年度生理研国際シンポジウム

43rd NIPS International Symposium
“International symposium of face perception and recognition”

第 43 回生理研国際シンポジウムは，文部科学省新学術領域「顔認知」最終年度の国際シンポジウム「International symposium of face perception and recognition」と共催という形式で，2012 年 10 月 31 日より 11 月 3 日までの 4 日間開催された。

22 名の外国からの招待者，12 名の一般外国人参加者，2 名の外国人同伴者を含む計 36 名の外国からの参加者があった。また，国内からの参加者は，8 名の日本在留外国人を含めて 113 名であり，計 149 名の参加を得て非常に盛況であった。

口演は 33 演題（国外 22 題，国内 11 題），ポスター発表は 72 題であり，計 105 演題の発表というのは，これまでの生理研国際シンポジウムの中でも最も盛大なシンポジウムの 1 つとして記憶されると思われる。討議も非常に活発であり，シンポジウム参加者の多くから「非常に学術的に意義深いシンポジウムだった」とお褒めの言葉をいただいた。また，運営（organization と hospitality）に関しても絶賛を受け，御手伝いいただいた技術課の皆さんにも，この場を借りて深い感謝の念を示すものである。

43rd NIPS International Symposium
“International symposium of face perception and recognition”

October 31 – November 3, 2012
Okazaki Conference Center, Okazaki, Japan

43rd NIPS International Symposium was held as a cooperative symposium with a Grant-in-aid for Scientific Research on Innovative Areas, “Face perception and recognition: Multidisciplinary approaching to understanding

face processing mechanisms", supported by the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology (MEXT), Japan. One hundred forty nine researchers (36 from abroad) participated in this symposium, probably one of the largest ones of the history of NIPS International Symposium. During a 4-day symposium, 33 oral presentations (22 by guests from abroad) and 72 posters were presented.

Program

Oct 31 (Wed), 2012

8:20-8:30

Opening Remark

Ryusuke Kakigi (National Institute for Physiological Sciences)

8:30-9:30

Keynote Lecture 1

Chair: Tetsuya Iidaka (Nagoya University)
James Haxby (Dartmouth College, USA)

"A common, high-dimensional model of the representational space for faces and objects in ventral temporal cortex"

9:30-9:45 ----------*Coffee Break*----------

Session 1

Chair: Tetsuya Iidaka (Nagoya University)
James Haxby (Dartmouth College, USA)

9:45-10:30

Kalanit Grill-Spector (Stanford University, USA)

"The neural bases of face recognition in humans"

10:30-11:15

Maria Ida Gobbini (Dartmouth College, USA)

"Distributed neural system for face recognition"

11:15-11:45

Tetsuya Iidaka (Nagoya University)

"Distinct neural correlates of empathy for happy and sad emotions: 3T fMRI study"

Session 2

Chair: Ryusuke Kakigi (National Institute for Physiological Sciences)
Bruno Rossion (Universite Catholique de Louvain, Belgium)

13:15-14:00

Bruno Rossion (Universite Catholique de Louvain, Belgium)

"Understanding face perception by means of fast periodic visual stimulation"

14:00-14:45

Margot J. Taylor (University of Toronto, Canada)

"Development of face processing: Recognizing faces and their emotions"

14:45-15:15

Shozo Tobimatsu (Kyushu University)

"Electrophysiological approach to human face perception: importance of stimulus manipulation"

15:30-16:15

Ana Susac (University of Zagreb, Croatia)

"Neurodynamics of very early face processing"

16:15-17:00

Andreas Ioannides (AAI Scientific Cultural Services Ltd, Cyprus)

"Why face processing in the human brain is fast: clues from categorization and emotion analysis"

17:00-17:30

Ryusuke Kakigi (National Institute for Physiological Sciences)

"Face inversion effect: MEG/EEG study"

Nov 1 (Thu)

8:30-9:30

Keynote Lecture 2

Chair: Satoshi Eifuku (University of Toyama)
Doris Y. Tsao (California Institute of Technology, USA)

"The neural machinery for processing faces"

Session 3

Chair: Satoshi Eifuku (University of Toyama)
Doris Y. Tsao (California Institute of Technology,

USA)

9:45-10:15

Manabu Tanifuji (RIKEN, Brain Science Institute)

"Neural mechanisms to represent information about face category and visual features simultaneously in inferotemporal cortex"

10:15-11:00

Winrich A. Freiwald (The Rockefeller University, USA)

"On the neural basis of face recognition"

11:00-11:30

Yoichi Sugita (Waseda University)

"Face perception in monkeys before and after seeing flesh faces"

11:30-12:00

Satoshi Eifuku (University of Toyama)

"Neural representations of perceptual and semantic identities of individuals in the ventral anterior inferior temporal cortex of monkeys"

12:00-

Poster Session Core Time (with light meals and beverages)

Nov 2 (Fri)

8:30-9:30

Keynote Lecture 3

Chair: Masumi Inagaki (National Center of Neurology and Psychiatry)
K. Suzanne Scherf (Pennsylvania State University, USA)
"Atypical development of face perception in autism"

Session 4

Chair: Masumi Inagaki (National Center of Neurology and Psychiatry)
K. Suzanne Scherf (Pennsylvania State University, USA)

9:45-10:30

Joseph P. McCleery (University of Birmingham, UK)

"Human face and body action processing in infants at risk for autism"

10:30-11:00

Miho Nakamura (The Institute for Developmental Research)

"Face perception in patients with Williams syndrome: Neuropsychological and neurophysiological findings"

11:00-11:45

Daniel Messinger (University of Miami, USA)

"The development of face perception in the context of infant emotional expressions: A computer vision perspective"

11:45-12:15

Masumi Inagaki (National Center of Neurology and Psychiatry)

"Neurophysiological alteration of face recognition in ASD children"

Session 5

Chair: Shigeru Akamatsu (Hosei University)
Helmut Leder (University of Vienna, Austria)

13:30-14:15

Timothy Bickmore (Northeastern University, USA)

"Relational agents for patient education and counseling"

14:15-15:00

Yiannis Demiris (Imperial College London, UK)

"Bioinspired generative computational models of action perception"

15:00-15:30

Motoaki Sugiura (Tohoku University)

"Self-face recognition as revealed by fMRI"

15:45-16:30

Helmut Leder (University of Vienna, Austria)

"Appreciation and perception of faces"

16:30-17:15

Alexander Todorov (Princeton University, USA)

"Social perception of faces"

17:15-17:45

Takashi Tsukiura (Kyoto University)

"Remembering faces: The impact of face-based social signals on memory for faces"

Nov 3 (Sat)

8:30-9:30

Keynote Lecture 4

Chair: Masami K. Yamaguchi (Chuo University)
Gillian Rhodes (The University of Western Australia, Australia)

"Adaptive processes in normal and disordered face perception"

Session 6

Chair: Masami K. Yamaguchi (Chuo University)
Gillian Rhodes (The University of Western Australia, Australia)

9:45-10:30

Harold Hill (University of Wollongong, Australia)

"Exploring face space: Linking perceived and measured face shape"

10:30-11:15

Alice J. O'Toole (The University of Texas at Dallas, USA)

"Understanding the neural representation of facial identity, race and viewpoint: Constraining the neural with the perceptual"

11:15-11:45

Masami K. Yamaguchi (Chuo University)

"Infant's face perception: NIRS studies"

13:15-14:00

Ken Nakayama (Harvard University, USA)

"What is developmental prosopagnosia?"

14:00-14:45

Shinsuke Shimojo (California Institute of Technology, USA)

"Preferences of faces and other objects - behavioral and neural correlates"

14:45-15:45

Closing Lecture

Chair: Masami K. Yamaguchi (Chuo University)
Olivier Pascalis (Université Pierre Mendès France, France)

"The role of experience on the development of face processing during the first year of life"

15:45-16:00

Concluding Remark

Ryusuke Kakigi (National Institute for Physiological Sciences)

Posters

Nov 1 (Thu)

12:00-

P1 Initial and life-long development in face perception ~comparative approaches onto face perception~
Ikuma Adachi, Christoph Dahl
(Primate Research Institute, Kyoto University)

P2 Automatic face image generation system for transforming three dimensions of higher-order impression and its applications
Shigeru Akamatsu[1], Hanae Ishi[2], Yoshinori Inaba[1]
([1]Hosei University, [2]Sendai Nationa, [1] College of Technology)

P3 Broadly tuned face and hand representations in human high-level visual cortex.
Nicolas Davidenko[1], Kevin S. Weiner[1], Kalanit Grill-Spector[1, 2]
([1] Department Psychology, [2] Neuroscience Institute Stanford University, Stanford, CA 94305, USA)

P4 Fine-grained face discrimination as evidenced by fast periodic visual stimulation
Adélaïde de Heering*, Joan Liu-Shuang*, Anthony M. Norcia**, & Bruno Rossion*
(* Université Catholique de Louvain, Belgium, ** Departement of Psychology, Stanford University, United States of America)

P5 Basis of the individual differences in configural face processing.
Hirokazu Doi, Kazuyuki Shinohara
(Graduate School of Biomedical Sciences, Nagasaki University)

P6 Atypical updating of face representations with experience in children with autism
Louise Ewing
(Louise Ewing Centre for Cognition and its Disorders, School of Psychology, University of Western

Australia)

P7 Facial identity recognition in children with autism spectrum disorders revealed by P300 analysis
Atsuko Gunji[1], Takaaki Goto[1,2], Yosuke Kita[1,3], Ryusuke Sakuma[1,4], Naomi Kokubo[1], Toshihide Koike[5], Kotoe Sakihara[1], Makiko Kaga[1], Masumi Inagaki[1]
([1] National Institute of Mental Health, National Center of Neurology and Psychiatry, Kodaira, Japan, [2] Faculty of Education, Tokoha Gakuen University, Shizuoka, Japan, [3] Research Fellow of the Japan Society for the Promotion of Science, Tokyo, Japan ,[4] Graduate School of Liberal Arts, Shirayuri College, Chofu, Japan
[5] Faculty of Education, Tokyo Gakugei University, Koganei, Japan)

P8 Verbalizing featural information before recognition task causes processing shift of face recognition
Aya Hatano, Shinji Kitagami, Jun Kawaguchi
(Department of Psychology, Graduate school of Environmental Studies, Nagoya University)

P9 It is in the eye but not that early
Anne Hillairet de Boisferon
(Laboratory of Psychology and NeuroCognition, Pierre Mendés France University, Grenoble, France)

P10 Atypical gaze behavior towards face images in individuals with Williams Syndrome: An eye-tracking study
Masahiro Hirai, Miho Nakamura, Yukako Muramatsu, Naoko Hayashi, Hirokazu Kurahashi, Seiji Mizuno
(Department of Functioning Science Institute for Developmental Research, Aichi Human Service Center)

P11 Infants' brain activity for the faces with contrast-negated eyes
Hiroko Ichikawa, Yumiko Otsuka, So Kanazawa, Masami K. Yamaguchi, Ryusuke Kakigi*
(Chuo University, Japan Society for the Promotion of Science, *Department of Integrative Physiology, National Institute for Physiological Sciences)

P12 Quantification of the correspondence between the changes in facial expressions and the degree of emotions
Masaki Ishii[1], Toshio Shimodate[2], Yoichi Kageyama[2], Tsuyoshi Takahashi[2] and Makoto Nishida[3]
([1]Department of Machine Intelligence and Systems Engineering, Faculty of Systems Science and Technology, Akita Prefectural University, Japan, [2]Department of Computer Science and Engineering, Graduate School of Engineering and Resource Science, Akita University, Japan, [3]Akita University, Japan)

P13 Developmental change of sensitivity to threatening faces in children with autism spectrum disorders
Tomoko Isomura[1,2], Nobuo Masataka[1]
([1]Primate Research Institute, Kyoto University, [2]Japan Society for the Promotion of Science)

P14 Children's face identity representations are no more view-specific than those of adults
Linda Jeffery, Cameron Rathbone, Ainsley Read, Gillian Rhodes
(ARC Centre of Excellence in Cognition and its Disorders Department of Psychology, The University of Western Australia)

P15 Intra-cerebral electrical stimulation of a face-sensitive cortical area causes transient specific impairment in face recognition
Jacques Jonas[a,b,f], Médéric Descoins,[c,d], Laurent Koessler[b], Sophie Colnat-Coulbois[e], Bruno Rossion[g], Louis Maillard[a,b]
([a]Service de Neurologie, Centre Hospitalier Universitaire de Nancy, Nancy, France, [b]Centre de Recherche en Automatique de Nancy (CRAN), UMR CNRS 7039, Université de Lorraine, [c]INSERM U751 Epilepsie & Cognition, Marseille, France, [d]Centre de Résonance Magnétique Biologique et Médicale (CRMBM), UMR CNRS 6612, Marseille, France, [e]Service de Neurochirurgie, Centre Hospitalier Universitaire de Nancy, Nancy, France, [f]Faculté de Médecine de Nancy, Université de Lorraine, Nancy, France, [g]Université Catholique de Louvain, Louvain-la-Neuve, Belgium)

P16 Attractive faces enhance cognitive performance
Shogo Kajimura, Toshiyuki Himichi, Michio Nomura
(Graduate School of Education, Kyoto University)

P17 Imaging and decoding of semantic responses related to visual stimuli by electrocorticogram
Kyousuke Kamada[1], Naoto Kunii[2], Kensuke Kawai[2], Nobuhito Saito[2]
([1] Department of Neurosurgery, Asahikawa Medical University, [2] Department of Neurosurgery, The University of Tokyo)

P18 The syllable congruency of audio-visual speech stimuli and the response timing in the ventriloquism with bilateral visual presentations.
Shoko Kanaya, Kazuhiko Yokosawa
(Department of Psychology The University of Tokyo)

P19 Quantitative analysis of features and impressions among faces belonging to different categories
Masahide Kaneko
(Department of Mechanical Engineering and Intelligent Systems The University of Electro-Communications)

P20 The role of local and global configuration for the visual word form processing in the occipitotemporal cortex
Chien-Hui Kao[1] , Chien-Chung Chen[2]
([1] Cognitive Brian Mapping Lab, Brain Science Institute, Riken, Japan, [2] Dept. Psychology, National Taiwan University, Taiwan)

P21 Attentional control and metacognition in temporal visual search tasks with distracting face images
Jun Kawahara, Shiori Sato
(Department of Psychology Chukyo University)

P22 A randomized controlled trial of a cognitive-behavioral intervention for emotion regulation in adults with high-functioning autism spectrum disorders
Yuki Kawakubo, Miho Kuroda, Yukiko Kano
(Department of child neuropsychiatry, The University of Tokyo)

P23 Inferring mental state from eye gaze in Parkinson's disease
Mitsuru Kawamura, Natsuko Tsuruya, Mutsutaka Kobayakawa
(Department of Neurology, Showa University School of Medicine)

P24 Early visual experience and the recognition of facial expressions: Involvement of the middle temporal and inferior frontal gyri in haptic identification by the early blind
Ryo Kitada[1], Yuko Okamoto[1], Akihiro T. Sasaki[1], Takanori Kochiyama[2], Motohide Miyahara[3], Susan J. Lederman[4], Norihiro Sadato[1]
([1]Division of Cerebral Integration, National Institute for Physiological Sciences, Japan; [2] The Primate Research Institute, Kyoto University, Japan; [3]School of Physical Education, University of Otago, New Zealand; [4]Department of Psychology, Queen's University, Canada)

P25 Sparse modeling for face identification in monkey anterior temporal cortical areas
Jun Kitazono[1], Kenji Nagata[1], Satoshi Eifuku[2], Ryoi Tamura[2], Masato Okada[1,3]
([1] Graduate School of Frontier Sciences, The University of Tokyo, [2]Graduate School of Medicine and Pharmaceutical Sciences, University of Toyama, [3]ERATO Okanoya Emotional Information Project)

P26 Selective attention to attractive faces
Nadine Kloth[1], Lindsey Short[2], Gillian Rhodes[1]
([1]ARC Centre of Excellence in Cognition and its Disorders The University of Western Australia, [2]Department of Psychology Brock University, Canada)

P27 Development of facial representation in infancy: NIRS-adaptation study
Megumi Kobayashi[1, 2], Yumiko Otsuka[3], So Kanazawa[4], Masami K. Yamaguchi[1], Ryusuke Kakigi[5]
([1] Department of Psychology, Chuo University, [2] Japan Society of the Promotion of Sciences, [3] School of Psychology, The University of New South Wales, [4] Department of Psychology, Japan Women's University, [5] Department of Integrative Physiology, National Institute for Physical Sciences)

P28 Facial attractiveness in macaque monkeys
Hiroki Koda[1] & Nobuyuki Kawai[2]
([1]Primate Research Institute, Kyoto University ,[2]Graduate School of Information Science, Nagoya University)

P29 Facial identity influences facial expression recognition: A high-density ERP study
Sahoko Komatsu[1,2], Katsuya Ogata[1], Shizuka Horie[1], Yuji Hakoda[2], Shozo Tobimatsu[1]
([1]Department of Clinical Neurophysiology, Neurological Institute, Faculty of Medicine, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University, Fukuoka, Japan, [2] Graduate School of Human-Environment Studies, Kyushu University, Fukuoka, Japan)

P30 Visualization of age-dependent and age-independent features of child's face
Masashi Komori[1], Hiroshi Nittono[2]
([1]Fac. Inf. & Commun. Eng. Osaka Electro-Communication Univ., [2]Grad. Sch. Integrated Arts & Sci. Hiroshima University)

P31 Mere Exposure Effect towards Face Stimuli Reflected in Gamma Oscillation: EEG study
Nutchakan Kongthong [1], Tetsuto Minami [2], Shigeki Nakauchi [1]
([1] Department of Computer Science and Engineering, Toyohashi University of Technology, [2]Electronics-inspired Interdisciplinary Research Institute, Toyohashi University of Technology)

P32 Understanding individual face perception by means of fast periodic visual stimulation
Joan Liu-Shuang[1], Anthony M. Norcia[2], Bruno Rossion[1]
([1] University of Louvain, Belgium, [2]Stanford University)

P33 Spontaneous Facial Emotion Discrimination in Individuals with Fragile X Syndrome and Autism Spectrum Disorders
Hayley Mace, Jo Moss, Chris Oliver, Giles Anderson, Joseph McCleery

P34 Applying a comprehensive Face - Expression Expert Program (FEEP) for children with autism spectrum disorders
Soichiro Matsuda [1, 2], Junichi Yamamoto [1]
([1] Department of Psychology, Keio University, [2] Japan Society for the Promotion of Science)

P35 Infants prefer the faces of strangers or mothers to morphed faces: an uncanny valley between social novelty and familiarity
Yoshi-Taka Matsuda, Yoko Okamoto, Misako Ida, Kazuo Okanoya, Masako Myowa-Yakakoshi
(Okanoya Emotional Information Project, ERATO, Japan Science and Technology Agency (JST), Saitama, Japan)

P36 Visual face aftereffects from haptic exploration of a face
Kazumichi Matsumiya
(Research Institute of Electrical Communication,Tohoku University)

P37 Local field potentials for global categorization in monkey inferior temporal cortex
Narihisa Matsumoto[1], Yasuko Sugase-Miyamoto[1], Kenji Kawano[2]
([1] National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), Ibaraki, Japan, [2] Kyoto University, Kyoto, Japan)

P38 The development of the perception of facial emotional change examined using ERPs
Kensaku Miki, Ryusuke Kakigi
(Department of Integrative Physiology, National Institute for Physiological Sciences)

P39 Facial color and inversion effect: an EEG study
Tetsuto Minami[1], Linda Changvisommid[2], Kae Nakajima[2], Shigeki Nakauchi[2]
([1]Electronics-Inspired Interdisciplinary Research Institute, Toyohashi University of Technology, [2]Department of Computer Science and Engineering, Toyohashi University of Technology)

P40 Face and voice processing in marmoset temporal neural circuit
Naohisa Miyakawa, Taku Banno, Wataru Suzuki, Noritaka Ichinohe
(National Institute of Neuroscience, NCNP)

P41 The roles of anterior insula and anterior cingulate cortex in emotional processing associated with self-evaluation of the face
Tomoyo Morita[1], Hiroki C. Tanabe[2], Akihiro T. Sasaki[2], Koji Shimada[2], Ryusuke Kakigi[1], Norihiro Sadato[2]

([1] Department of Integrative Physiology, National Institute for Physiological Sciences, [2] Department of Cerebral Research, National Institute for Physiological Sciences)

P42 Effect of face color on face-selective regions

Kae Nakajima[1], Testuto Minami[2], Shigeki Nakauchi[1]
([1]Department of Computer Science and Engineering, Toyohashi University of Technology, [2]Electronics-Inspired Interdisciplinary Research Institute, Toyohashi University of Technology)

P43 Comparing eye movements during impression judgment of faces in different personality traits: analysis of fixation locations and durations

Natsuko Nakamura[1], Ayumi Maruyama[1], Hanae Ishi[2], Shigeru Akamatsu[1]
([1]Hosei University, [2]Sendai National College of Technology)

P44 Blink-related momentary activation of the default mode network while viewing videos

Tamami Nakano[a,b], Makoto Kato[c], Yusuke Morito[c], Seishi Itoi[d], and Shigeru Kitazawa[a,b]
([a]Dynamic Brain Network Laboratory, Graduate School of Frontier Biosciences, Osaka University, Osaka Japan, [b]Department of Brain Physiology, Graduate School of Medicine, Osaka University, Osaka Japan, [c]Center for Information and Neural Networks, [d]Advanced ICT Research Institute, National Institute of Information and Communications Technology)

P45 Eye Gaze and Human-agent Communication

Yukiko Nakano
(Dept. of Computer and Information Science, Seikei University)

P46 What facial information is important for rapid detection of the face? : Comparative cognitive studies between humans and monkeys

Ryuzaburo Nakata, Ryoi Tamura, Satoshi Eifuku
(University of Toyama, Graduate school of medicine and pharmaceutical sciences, Department of integrative neuroscience)

P47 Face processing in infants by near-infrared spectroscopy (NIRS)

Emi Nakato
(Osaka Shoin Women's University)

P48 Effects of threat-relevant and threat-irrelevant negative expressions on social attention orienting to eye gaze

Yuka Nishiyama, Jun Kawaguchi
(Department of Social and Human Environment, Graduate School of Environmental Studies, Nagoya University)

P49 The role of contrast polarity of eyes on face recognition by 7-to-8month-olds

Yumiko Otsuka[1], Isamu Motoyoshi[2], Harold Hill[3], Megumi Kobayashi[4,5], So Kanazawa[6], Masami K Yamaguchi[4]
([1] School of Psychology, The University of New South Wales, [2] Human and Information Science Lab, NTT Communication Science Labs, [3] School of Psychology, University of Wollongong, [4] Department of Psychology, Chuo University, [5] Japan Society for Promotion of Science, [6] Department of Psychology, Japan Women's University)

P50 Computational approach to estimate visual features represented by face selective cells in macaque anterior inferior temporal cortex

Takashi Owaki[1,2], Michel Vidal-Naquet[2], Takayuki Sato[2], Go Uchida[2], Hideyuki Cateau[2], Simon Ullman[3], Manabu Tanifuji[2,4,5,6]
([1]Toyota Central R&D Labs., Inc., [2]RIKEN BSI, [3]Weizmann Inst., [4]The Univ. of Tokyo, [5]Natl. Yang-Ming Univ., [6]Waseda Univ.)

P51 Infants' face perception under different lighting conditions

Yuiko Sakuta[1], Masami K. Yamaguchi[2], So Kanazawa[3]
([1]Research and Development Initiative, Chuo University, [2]Department of Psychology, Chuo University, [3]Department of Psychology, Nihon Women's University)

P52 PrimFace: Face database of non-human primates

Takayuki Sato[1], Ryuzaburo Nakata[2], Taku Banno[3], Narihisa Matsumoto[4]
([1]RIKEN Brain Science Institute, [2]Univ. Toyama,

Grad. Sch. Med. Pharm. Sci., [3]National Institute of Neuroscience, NCNP, [4]Natl. Inst. Advanced Industrial Science and Technology (AIST))

P53 Face inversion decreased information about facial identity and expression in face responsive neurons of macaque inferior temporal cortex
Y. Sugase-Miyamoto[1], N. Matsumoto[1], K. Ohyama[2], K. Kawano[3]
([1]National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), Ibaraki, [2]University of Tsukuba, Ibaraki, [3]Kyoto University, Kyoto)

P54 Is this a new type of progressive prosopagnosia?
Azusa Sugimoto, Shinichi Koyama, Akira Midorikawa, Akinori Futamura, Mitsuru Kawamura
(Department of Neurology, Showa University School of Medicine)

P55 Relationship between the trait and emotion dimensions of face perception
Atsunobu Suzuki [1], Nobuyuki Watanabe [2], Ryuta Suzuki [3], Hiroyuki Yoshida [4], Hiroshi Yamada [3]
([1] Nagoya University, [2] Kanazawa Institute of Technology, [3] Nihon University, [4] Tokiwa Junior College)

P56 Neural substrates involved in recognition of tears on the face: an fMRI study
Haruka K. Takahashi[1, 2], Ryo Kitada[1], Akihiro T. Sasaki[1], Hiroaki Kawamichi[1], Norihiro Sadato[1, 2]
([1]Division of Cerebral Integration, Department of Cerebral Research, National Institute for Physiological Sciences, [2]Department of Physiological Sciences, The Graduate University for Advanced Studies (SOKENDAI))

P57 Representation of Target Identity in the Monkey Hippocampus
Ryoi Tamura, Satoshi Eifuku
(Department of Integrative Neuroscience, Graduate School of Medicine and Pharmaceutical Sciences University of Toyama)

P58 Mapping human face and object responsive visual areas by spin-echo and gradient-echo fMRI
Topi Tanskanen, R. Allen Waggoner, Kenichi Ueno, Keiji Tanaka, Kang Cheng
(Laboratory for Cognitive Brain Mapping and Support Unit for Functional Magnetic Resonance Imaging, Brain Science Institute, RIKEN)

P59 Facial behavioral communication markers in three-party conversations
Hiroko Tokunaga, Naoki Mukawa, Masahide Yuasa, Atsushi Kimura
(Tokyo Denki University)

P60 Prediction of face image by biographical information
Satoshi Tsujimoto
(Kobe University)

P61 Geometrical aspects in the face inversion effect: an MEG study
Aki Tsuruhara, Koji Inui, Ryusuke Kakigi
(Department of Integrative Physiology, National Institute for Physiological Sciences)

P62 Hallucinations and pareidolias of faces in dementia with Lewy bodies
Makoto Uchiyama, Yoshiyuki Nishio, Kayoko Yokoi, Etsuro Mori
(Department of Behavioral Neurology and Cognitive Neuroscience, Tohoku University Graduate School of Medicine)

P63 Task-irrelevant peripheral happy faces facilitate visual search
Yoshiyuki Ueda and Sakiko Yoshikawa
(Kokoro Research Center, Kyoto University, Japan)

P64 Holistic processing at the key to human face perception expertise: evidence from eye-gaze contingent stimulus presentation
Goedele Van Belle, Philippe Lefèvre, Bruno Rossion
(Face Categorization Lab, University of Louvain, Belgium)

P65 High-resolution fMRI reveals cortical tiling of face and limb selectivity in human highlevel visual cortex
Kevin S. Weiner[1], Kalanit Grill-Spector[1,2]
([1]Department of Psychology, [2]Neuroscience Institute Stanford University, Stanford, CA 94305, USA)

P66 Morphing human into monkey face: species-specific face processing and face categorization
Emi Yamada[1], Katsuya Ogata[2], Tomokazu Urakawa[2], Shozo Tobimatsu[2]

([1]Department of Clinical Neurophysiology, Neurological Institute, Graduate School of Medical Science, [2]Department of Clinical Neurophysiology, Neurological Institute, Faculty of Medicine)

P67 Development of face recognition in children with autism spectrum disorders: Analysis of cognitive and social function

Junichi Yamamoto, Soichiro Matsuda, Hitomi Kuma, Airi Kato
(Department of Psychology, Keio University)

P68 Gaze direction affects the 3D face recognition in infant

Wakayo Yamashita[1], So Kanazawa[2], Masami K.Yamaguchi[3], Ryusuke Kakigi[4]
([1]Research and Development Initiative, Chuo University, [2]Department of Psychology, Japan Women's University, [3]Department of Psychology, Chuo University, [4]Department of Integrative Physiology, National Institute for Physical Scienceszs)

P69 Hallucinators see faces in noises - Pareidolic illusions in dementia with Lewy bodies -

Kayoko Yokoi, Yoshiyuki Nishio, Makoto Uchiyama and Etsuro Mori
(Department of Behavioral Neurology and Cognitive Neuroscience, Tohoku University Graduate School of Medicine)

P70 Perceived dominance of facial expression in face-to-face scenes

Sakiko Yoshikawa and Yoshiyuki Ueda
(Kokoro Research Center, Kyoto University, Japan)

P71 Brain activity associated with a situation model of verbal and nonverbal behaviors in conversation: An fMRI study

Masahide Yuasa, Akira Toyomura and Naoki Mukawa
(School of Information Environment, Tokyo Denki University)

P72 Wearable Interfaces to Describe and Augment Interaction based on Facial Expression Reading

Kenji Suzuki[1], Anna Gruebler[1], Dushyantha Jayatilake[1], Atsushi Funahashi[2]
([1]Center for Cybernics Research, University of Tsukuba, [2]Institute for Developmental Research, Aichi Human Service Center)

【トレーニングコース】

第 23 回生理科学実験技術トレーニングコース

“生体機能の解明に向けて”―分子・細胞レベルからシステムまで―

2012 年 7 月 30 日－8 月 3 日

担当：川口泰雄（大脳神経回路論研究部門）

【概要】

生理科学実験技術トレーニングコースは，今年で２3 回目を迎え，明大寺，山手の両キャンパスならびに岡崎コンファレンスセンターで行われた。今年度は，生理研実験研究棟が耐震改修工事に入っており，コースや募集人員（約 100 名）は，例年より若干少なかった。しかし，それでも，210 名の応募があり，113 名の方々が採択され実際に下記のコースを受講された。アンケートからは，実習内容に 6 割近くの参加者が大変満足しており，合わせて 9 割以上の者が満足していることからも，トレーニングコースが役立っていることがわかる。このトレーニングコースは，神経科学野や生理学分野の若手研究者や学生の間でよく知られるようになり，研究所の最も重要な行事である。所属機関では学べない電気生理学や形態学の手法を伝える大切な機会になっている。

【講演】

1. 「温度感受性 TRP チャネルの構造・生理的意義と進化」
   富永真琴（生理学研究所 細胞生理研究部門 教授）
2. 「神経イメージング手法を用いた顔認知機構の解明」
   柿木隆介（生理学研究所 感覚運動調節研究部門 教授）

【講義】

動物実験教育訓練：－生理学研究と動物実験－

佐藤浩（生理学研究所 動物実験コーディネータ室 特任教授）

【実習内容】

(1) in vitro 発現系を用いたイオンチャネル・受容体の機能解析
(2) 組織からの蛋白質複合体精製と質量分析による蛋白質同定
(3) in situ hybridization 法
(4) 免疫電子顕微鏡法
(5) ジーンターゲティングマウス作製の基礎から応用へ
(6) パッチクランプ法
(7-1) スライスパッチクランプ法
(7-2) スライスおよび in vivo ブラインドパッチクランプ法
(8) ゼブラフィッシュを用いた神経回路機能の解析
(9) 色と質感知覚の脳内メカニズムの実験的解析
(10) 脳磁図によるヒト脳機能研究の基礎
(11) ヒト脳機能マッピングにおけるデータ解析入門
(12-1) 生理学実験のための電気回路・機械工作・プログラミング(1)（生体アンプとバスチェンバーの作製）
(12-2) 生理学実験のための電気回路・機械工作・プログラミング(2)（Ｃ言語によるＰＩＣプログラミング）
(13) 電子顕微鏡トモグラフィー

各コースのさらに具体的な内容に関しては，以下を参照されたい。

http://www.nips.ac.jp/training/2012/courses3.html

トレーニングコース終了時には，例年参加者からアンケートをいただいている。以下 URL にアンケートの主な質問項目に対する回答結果の集計を示す。

http://www.nips.ac.jp/training/2013/questionnaire/TC2012Q.pdf

【セミナー報告】

セミナー報告

1. グレリンによる膵β細胞インスリン分泌・糖代謝調節

出崎克也（自治医科大学　医学部統合生理学）

(2012.4.11)

我々は，消化管ホルモンのグレリンが，膵ランゲルハンス島で発現し，分泌され，膵β細胞特異的なグレリン受容体シグナル伝達機構によりインスリン分泌を抑制することを見出した。さらに，高脂肪食負荷による耐糖能障害がグレリン KO マウスでは改善しており，これが高いインスリン分泌応答に起因することを明らかにした。これらの結果から，β細胞グレリン作用の阻害は，インスリン分泌促進を介した糖代謝改善作用が期待される。

2. 視覚野ニューロンにおける興奮性および抑制性入力の相互作用

尾関宏文（理研・脳科学総合研究センター（津本研））

(2011.4.13)

視覚野ニューロンが示す方位選択性形成における抑制の役割は，方位チューニングをシャープにするのではなく，ネットワーク全体の興奮性を調節すると考えられている。同様の興奮と抑制の関係は，視覚野ニューロンが示す受容野周囲抑制についても見出されている (Ozeki et al., 2009) 。そこで，興奮と抑制のバランスを生み出す神経回路を説明し，現在進行中の 2 つのプロジェクトについて報告したい。1) 興奮と抑制の各入力が個々のニューロンの樹状突起上にどのように分布するかを調べる in vivo カルシウムイメージングと，2) チャネルロドプシンを発現した遺伝子改変マウスを用いて興奮と抑制のバランスを操作する実験について，基礎データとともに概説する。

3. Structural and functional dynamics of input synapses terminating on layer 5 pyramidal neurons in rat somatosensory cortex

Joachim Luebke (Research Center Juelich, Germany)

(2012.4.20)

Synapses are key elements in the induction and maintenance of synaptic transmission and the modulation of synaptic plasticity. Functionally, cortical synapses differ substantially in both synaptic transmission and short-term plasticity. Whether this is reflected in their structural composition remains rather unknown. Realistic values of the number, size and distribution of active zones (AZ) and the organization of the pool of synaptic vesicles are therefore a pre-requisite. Here, synapses terminating on morphologically and functionally identified layer 5 (L5) pyramidal neurons were three-dimensionally reconstructed and quantitatively analysed to correlate structural with functional properties of excitatory L5 pyramidal cell connections that were recorded in acute brain slices. Individual dendrites were densely covered with synapses of various shape and size (4.14 ± 2.75 µm2), ~85% of which were glutamatergic. The majority had only a single, but large AZ (0.21 ± 0.11 µm2) often with perforated pre- and postsynaptic densities. The average size of the total pool of synaptic vesicles was 570 ± 225 vesicles, but varied substantially between individual synapses (200-2000). All synapses had a relatively large readily releasable (10%) and recycling pool (30%). L5 synapses and their target

structures were infolded by fine astrocytic processes that could be followed to the synaptic cleft thereby preventing possible glutamate spillover. AMPA- and NMDA-type glutamate receptors were co-localized at these synapses, but varied substantially in densities and distribution. Therefore several structural factors are likely to drive synaptic efficacy, strength and short-term plasticity at L5 synapses: the large AZs, glial processes at the synaptic cleft, the large readily releasable and recycling pool and the distribution pattern of glutamate receptors, in particular in NMDA subunits, at individual AZs.

4. Structural and functional dynamics of input synapses terminating on layer 5 pyramidal neurons in rat somatosensory cortex

Joachim Luebke (Research Center Juelich, Germany)

(2012.4.23)

Synapses are key elements in the induction and maintenance of synaptic transmission and the modulation of synaptic plasticity. Functionally, cortical synapses differ substantially in both synaptic transmission and short-term plasticity. Whether this is reflected in their structural composition remains rather unknown. Realistic values of the number, size and distribution of active zones (AZ) and the organization of the pool of synaptic vesicles are therefore a pre-requisite. Here, synapses terminating on morphologically and functionally identified layer 5 (L5) pyramidal neurons were three-dimensionally reconstructed and quantitatively analysed to correlate structural with functional properties of excitatory L5 pyramidal cell connections that were recorded in acute brain slices. Individual dendrites were densely covered with synapses of various shape and size (4.14 ± 2.75 µm2), ~85% of which were glutamatergic. The majority had only a single, but large AZ (0.21 ± 0.11 µm2) often with perforated pre- and postsynaptic densities. The average size of the total pool of synaptic vesicles was 570 ± 225 vesicles, but varied substantially between individual synapses (200-2000). All synapses had a relatively large readily releasable (10%) and recycling pool (30%). L5 synapses and their target structures were infolded by fine astrocytic processes that could be followed to the synaptic cleft thereby preventing possible glutamate spillover. AMPA- and NMDA-type glutamate receptors were co-localized at these synapses, but varied substantially in densities and distribution. Therefore several structural factors are likely to drive synaptic efficacy, strength and short-term plasticity at L5 synapses: the large AZs, glial processes at the synaptic cleft, the large readily releasable and recycling pool and the distribution pattern of glutamate receptors, in particular in NMDA subunits, at individual AZs.

5. Behavioral detection of passive whisker stimuli requires somatosensory cortex

宮下俊雄 (Helen Wills Neuroscience Institute, University of California Berkeley)

(2012.4.23)

Rodent whisker sensation occurs both actively, as whiskers move rhythmically across objects, and in a passive mode in which externally applied deflections are sensed by static, nonmoving whiskers. Passive whisker stimuli are robustly encoded in somatosensory (S1) cortex, and provide a potentially powerful means of studying cortical processing. However, whether S1 contributes to passive sensation is debated. Prior behavioral studies showed that S1 was required for active, but not passive whisker sensation, but these studies assayed passive sensation using simple, aversively conditioned behaviors that may not be cortex-dependent. We developed two cognitively complex, appetitively conditioned

tasks to assay passive sensation: detection of unilateral whisker deflections, and discrimination of right vs. left whisker deflections. Local muscimol inactivation of S1 reversibly and robustly abolished sensory performance on these tasks. Thus, rodent S1 is required for simple passive whisker detection and discrimination, in addition to its known role in more complex active sensation.

※This seminar will be held in Japanese.

6. Adult neurogenesis, forgetting and infantile amnesia

Paul W. Frankland (Senior scientist, Program in Neurosciences & Mental Health,
Hospital for Sick Children Research Institute,Toronto, Canada)

(2012.4.24)

New neurons are continuously added to the subgranular zone of the hippocampus throughout the lifespan, but the functional consequences of hippocampal neurogenesis remain unclear. While the majority of previous studies have examined the impact of increasing or decreasing hippocampal neurogenesis on subsequent memory formation, few have examined the effects of similar manipulations on established, hippocampus-dependent memories. Computational models predict that addition of new neurons should lead to extensive remodeling of hippocampal circuits, and consequently degradation or forgetting of established memories. Consistent with this, lifespan changes in hippocampal neurogenesis are inversely correlated with memory persistence: During infancy, when hippocampal neurogenesis levels are high, freshly-generated memories tend to be rapidly forgotten. In contrast, during adulthood, when neurogenesis levels are lower, memories are typically much more persistent. We have conducted two types of experiments that suggest that neurogenesis and forgetting are causally related. First, in adult mice (P60), we find that increasing neurogenesis after memory formation is sufficient to induce forgetting. Second, in infant mice (P17), we find that decreasing neurogenesis after memory formation mitigates normal forgetting observed at this age. Our data suggest a causal relationship between neurogenesis and memory persistence, and provide a neurobiological account for infantile amnesia.

7. Non-integral stoichiometry in CFTR gating: seeing is believing

Tzyh-Chang Hwang (Department of Medical Pharmacology and Physiology, University of Missouri)

(2012.4.27)

CFTR, a chloride channel evolved from the exporter member of the ABC Transporter Family, is gated by ATP binding and hydrolysis. Single- channel kinetic data of CFTR have led to a gating model with one-to-one stoichiometry between the gating cycle and the ATP hydrolysis cycle. Recently we found gating transitions which would reflect openings embedded with hydrolysis of more than one ATP molecule—a violation of one-to-one stoichiometry. A new model accentuating energetic coupling between CFTR's NBDs and TMDs will be discussed.

8. LGI1 変異によっておこるてんかんの分子病態の解明

横井紀彦（生理学研究所　生体膜研究部門）

(2012.5.8)

“てんかん”は罹患率 1%程度の頻度の高い神経疾患であり，激しいけいれんや意識消失，時には幻覚・幻聴などを伴う。てんかんは神経細胞および神経回路の異常な興奮により引き起こされると考えられているが，その病態，病因は不明な点も多い。我々はラット脳から AMPA 型グルタミン酸受容体に関連したシナプス膜蛋白質複合体を生化学的手法により精製し，ヒト家族性側頭葉てんかんの関連遺伝子 LGI1 と ADAM22 を主要構成分子として見出した。また, 分泌蛋白質 LGI1 が膜蛋白質 ADAM22 および ADAM23 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見出した。さらに，LGI1 ノックアウトマウスが生後三週以内にてんかん発作の重積により全て死亡することを示した (Fukata et al. Science 2006; PNAS 2010) 。興味深いことに, この表現型は ADAM22, ADAM23 ノックアウトマウスの表現型模写(phenocopy)であり，LGI1/ADAM22/ADAM23 複合体はシナプス伝達制御の重要なモジュールであると考えられる。しかし，LGI1/ADAM によるシナプス伝達制御，およびてんかん発症との関連は未だ不明な点が多い。本セミナーでは，1)ヒト家族性てんかん患者に見られる LGI1 変異体のマウス脳内での性状解析と 2)LGI1 ノックアウトマウスにおけるてんかんの責任回路の探索について，これまで得られた知見を紹介し, LGI1 の分子機能欠損とてんかん発症の関連について議論したい。

9. 遺伝子改変マウスの行動解析を起点とした精神疾患研究

高雄啓三（生理学研究所行動代謝分子解析センター・行動様式解析室）

(2012.5.23)

ポストゲノムシークエンス時代の中心的な課題の一つは，各遺伝子の個体レベルでの機能を探ることであると言われている。一方，全ての遺伝子の約 80%は脳で発現しており，それらを探るためには脳における遺伝子の機能を調べる必要がある。行動様式解析室では，各種遺伝子改変マウスに対して網羅的行動テストバッテリーを行うことで，遺伝子・脳・行動の関係を調べてきた。その中で精神疾患様行動を示すマウスを同定し，そのマウスの脳を解析することによって遺伝子と精神疾患の関係, さらには精神疾患の中間表現系を明らかにすることを目的として研究を行っている。本セミナーでは，行動様式解析室の設備について紹介するとともに，これまで我々が解析してきた中で最も顕著な表現型を示す遺伝子改変マウス系統の一つであり，非常に妥当性の高い統合失調症モデルマウスである Schnurri-2 ノックアウトマウスの解析について最新のデータを交えて発表する。

10. Molecular insight into the mechanisms underlying the pleiotropic functions of Munc18-1 in exocytosis.

杉田修三 (University Health Network/University of Tronto, Canada)

(2012.5.31)

Munc18-1 plays essential roles in neurosecretion through interaction with syntaxin as well as the soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptors (SNARE) complex. However, how these interactions contribute to critical functions of Munc18-1 remains unclear. At least three important functions of Munc18-1 have been proposed: (i) molecular chaperone of syntaxin-1 for appropriate localization and expression of syntaxin-1, (ii) priming/stimulation of the SNARE-mediated membrane fusion, and (iii) docking of large dense-core vesicles to the plasma membrane. Similarly, at least three different binding modes have been proposed for the

interaction between Munc18-1 and syntaxin-1 or the SNARE complex: (i) binary interaction with a “closed” conformation of syntaxin-1, (ii) binding to the N-terminal peptide of syntaxin-1, and (iii) interaction with the assembled SNARE complex. Recent structural analyses have identified critical Munc18-1 residues implicated in these different modes of binding. Functional specificities of these residues have recently been tested by our group and others through rescue experiments using Munc18-1/-2 knockdown PC12 cells and Munc18-1 null neurons. Such approach has resulted in remarkable progress in the structural/functional understanding of Munc18-1. Our recent results indicate that the domain-1 cleft of Munc18-1 is essential for binding to the “closed” conformation of syntaxin-1 and thereby critical for its syntaxin-1 chaperoning, dense-core vesicle docking, and secretory functions. Moreover, our data suggests that interaction between Munc18-1 and syntaxin-1 N-terminal peptide is largely dispensable for its secretory function. In this seminar, I will propose an updated model of the pleiotropic functions of Munc18-1 in neuroexocytosis.

11. 網膜への遺伝子導入法と視細胞の生存・維持機構

松田孝彦（科学技術振興機構さきがけ，京都大学ウィルス研究所）

(2012.6.7)

要旨なし

12. 幹細胞を用いた AIDS 遺伝子治療の試み

蒲田政和（米国 UCLA David Geffen School of Medicine)

(2012.6.8)

要旨なし

13. 神経回路の形成と機能を媒介するシグナル伝達機構の解明 ー遺伝子改変とウイルスベクターを用いたアプローチー

小林憲太（福島県立医科大学医学部付属生体情報伝達研究所）

(2012.6.8)

要旨なし

14. Synaptic Organizing Complex: trans-synaptic adhesion complex for excitatory and inhibitory synapse development

高橋秀人 (University of British Columbia, Canada)

(2012.6.12)

Dysfunction of a number of molecules implicated in synapse development is linked to many neuropsychiatric disorders including autism and schizophrenia. Synapse development in the brain requires not only physical contact between axons and target neurons but also chemically matched pre- and post-synaptic differentiation. Thus, a

synaptic organizing complex, the trans-synaptic adhesion complex that organizes pre- and post-synaptic differentiation, has been suggested to function as the fundamental molecular basis for normal synapse development. The neuroligin-neurexin complex has been the most notable synaptic organizing complex and a genetic determinant predisposing to autism. However, synapse diversity and disease variety suggest many additional trans-synaptic adhesion complexes that organize excitatory and/or inhibitory synapses. For the identification of synaptic organizers that induce presynaptic differentiation, we developed a functional expression screen based on a neuron-fibroblast coculture assay combined with full-length cDNA library or candidate prediction. Further, to identify their presynaptic receptors, we performed candidate cDNA screening based on a binding assay using soluble Fc-fusion recombinant proteins. Through those screens, we found that TrkC-PTPs trans-synaptic complex functions as a bidirectional excitatory synaptic organizing complex. Further, we identified Slitrk3-PTPd trans-synaptic complex as an inhibitory synapse-specific synaptic organizing complex. In this seminar, I will talk about how we identified and characterized TrkC-PTPs complex and Slitrk3-PTPd complex, and discuss about the involvement of those molecules in neuropsychiatric disorders.

15. 素材を見分ける神経機構

郷田直一（生理学研究所・感覚認知情報研究部門）

(2012.6.26)

我々は，複雑な視覚入力から物体の形状だけでなく，金属，石，木など，その多様な素材についても瞬時に認識している。しかしながら，このような優れた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はこれまでほとんど明らかになっていない。我々の研究グループでは，ヒトが様々な素材カテゴリ（金属，ガラス，セラミックス，毛，石，木目，樹皮，皮革，布 ）の画像を観察しているときの脳活動を機能的 MRI を用いて計測し，素材の認識に関わる神経機構について調べている。異なるカテゴリの画像をみたときの脳活動の局所的なパターンには違いがあることが知られており，その脳活動パターンを分析することにより，その局所領域が様々な素材カテゴリをどのように表現しているか，例えば各素材がもつ単純な視覚特徴を表現しているのか，それとも各素材の柔らかさ，冷たさなどの印象を表現しているのかを知ることが可能である。本セミナーではヒト脳について得られてきたこれまでの研究成果について報告するとともに，現在進めているサルを用いた研究についても触れたいと考えている。

16. 強化学習の神経回路機構に関する新たな仮説：皮質局所回路を介した報酬予測誤差の計算

森田賢治（東京大学大学院教育学研究科身体教育学コース）

(2012.7.2)

中脳ドーパミン細胞の一過性の活動は，手に入ると予測された報酬（価値）と実際に手に入った報酬（価値）の差, いわゆる報酬予測誤差を表すと考えられることが，多くの実験から示唆されてきた。そして，放出されたドーパミンが, 大脳皮質-基底核間の結合の可塑性を制御することによって，「強化学習」様の学習が行われるという考えが，広く支持されている。しかし，そうしたドーパミン細胞の一過性の活動が，どのような入力に基づいて生み出されるかについては，未だ明らかになっていない。本セミナーでは，ドーパミン細胞の上流に当たる大脳基底核，そしてさらに上流の大脳皮質に関しての最近明らかになった解剖学的・生理学的知見 (Morishima & Kawaguchi, J Neurosci, 2006; Morishima et al., J Neurosci, 2011) に基づく新たな仮説 (Morita et al., Trends Neurosci, 2012) についてお話ししたい。この仮説によって，大脳皮質・基底核神経回路における強化学習と運動制御，さ

らに価値の時間割引などの機構が包括的に説明されうることを示し，また，潜在的な臨床的意義や，仮説に基づく数理モデル・シミュレーションと実験との対応などについても，少し触れたい。

17. メカノトランスダクションによる ES 細胞の機能調節機構

清水健史（生理学研究所・分子神経生理研究部門）

(2012.7.20)

近年，液性因子のみならず，機械的刺激によって活性化されるシグナル(Mechanotransduction)が細胞の性質を制御することが明らかとなってきており，注目を集めている。中枢神経系の再生医療への応用が可能な多能性幹細胞であるマウス ES 細胞をモデル細胞として用い，その機械的刺激に対する応答，及び活性化されるシグナリング経路について解析を行なった。まず異なった弾性硬度をもつポリアクリルアミドゲル機質上で ES 細胞を培養したところ，特定の硬さの機質上から ES 細胞が抗力を受けた場合に, ES 細胞の形態が伸長し, Src-ShcA-MAP kinase 経路が活性化され，ES 細胞の分化が誘導されることを見出した。次に，GSK3 と MAP kinase に対する 2 つの inhibitior (2i) を N2B27 培地に添加した状態下では，血清と LIF を添加しなくてもマウス ES 細胞の未分化性が維持されることが知られているが，弾性の柔らかい機質上で 2i 培養を行うと，ES 細胞が伸長し，その形態変化に伴った FAK-Src の活性化を介して分化が誘起されることが分かった。最後に，Mechanotransduction 経路を遮断することによって ES 細胞の多分化能が維持可能かどうかを検討した。GSK3 と Src の Dual inhibition (Alternative 2i)を行うと，血清と LIF 非存在下においても ES 細胞の多分化能を維持することができ，さらに非常に高い効率でマウス初期胚から ES 細胞を樹立できることが明らかとなった。これらの結果から，液性因子のみならず，Mechanotransduction によって ES 細胞の機能を制御できる可能性が示唆されるとともに，本研究で発見した GSK3 と Src の Dual inhibition (Alternative 2i)は，ES 細胞のオペレーションに広く応用することが可能である。

18. The basal ganglia and Parkinson's disease: Lessons from surgical experience

Jose A. Obeso (Department of Neurology, Clinica Universitaria and CIMA, University of Navarra, Spain)

(2012.7.23)

Jose A. Obeso 先生は，Movement Disorder の editor をつとめるなど，神経学とくに大脳基底核疾患の臨床の世界的リーダーの一人です。今回，来日される機会があり，ご子息とのセミナーをお願いしました。是非，御来聴下さい。

Parkinson’s disease (PD) is arguably the prototype of a basal ganglia disorder. It is now appreciated that the spectrum of clinical manifestations of PD goes beyond the classic motor features to involve learning and behavioral problems and also depression and other emotional symptoms. Nevertheless, the motor features continue to be the main cause of disability and the best recognized and studied component of PD clinically. Surgery for PD was revitalized in the mid-1990 along with the development of the basal ganglia model, which provided a rational basis to target the globus pallidus pars interna (GPi) first, and the subthalamic nucleus (STN) subsequently, with the aim of reducing basal ganglia output. This very basic principle was confirmed by impressive clinical improvement associated with pallidotomy, subthalamotomy and deep brain stimulation (DBS) of either target. However, surgical experience unravels some unexpected observations and findings. Among these, I like to highlight and discuss that: 1. Typical parkinsonian resting tremor is as well controlled with surgery of the STN as with surgery of the thalamic Vim nucleus (the classic target for tremor). 2. Surgery of the GPi has a drastic anti-dyskinesias (i.e. against levodopa-induced dyskinesias) effect, 3. Either

pallidotomy and subthalamotomy, or both together, improves PD without any major apparent deficit. These observations force us to conceive the basal ganglia as a non-linear network based not only in firing rate activity, but in several loops called into action depending upon the task and circumstances. The nigro-striatal projection on the one hand and the subthalamo-pallidal micro-circuitry are key knots of such network.

The role of the subthalamic nucleus in cognitive and motor inhibition as revealed by Parkinson's disease patients

Ignacio Obeso Cognitive Neuroscience Information Technology (CNIT), UOC, Barcelona, Spain

Imaging studies have shown that response inhibition and conflict resolution, key executive functions essential for adaptive behaviour, are mediated by fronto-striatal circuits, with special relevance of the subthalamic nucleus (STN) as a relay station. In Parkinson´s disease (PD), overactivity of the STN and underactivation of cortical regions are pathophysiological features of PD. A series of studies were done to investigate the hypothesis that the STN is involved in inhibition of action and conflict resolution. The conditional stop signal reaction time was used. Surgical interventions (subthalamotomy and deep brain stimulation, DBS) directly altering STN functions in PD patients were used. Bilateral DBS of the STN impaired inhibition as indicated by significantly prolonged SSRTs, but had no significant effect on conflict resolution. However, subthalamotomy showed faster Go RTs and less conflict-induced slowing but at the expense of greater response selection errors. Also, PD alters not only motor inhibition but as well cognitive inhibition. The results are consistent with the proposal that the STN is involved in reactive inhibition and that the STN influences the response threshold and speed-accuracy trade-offs.

19. Characterisation and physiological significance of TRPC3 ion channels

Gary Housley (Chair & Head of Physiology Director, Translational Neuroscience Facility School of Medical Sciences
The University of New South Wales UNSW SYDNEY NSW 2052 AUSTRALIA)

(2012.7.26)

Background statement for talk:

TRPC ion channels have broad physiological roles. The channels have significant Ca2+ permeability, and in the case of TRPC3, can be activated by G protein-coupled receptors and Trk signalling, via PLC and DAG; while negative feedback through cytosolic Ca2+, also regulates the channel activity. This seminar will describe the variation in channel properties of TRPC3 isoforms arising from alternative splicing and discuss physiological roles for these channels in a range of neural systems, including the cochlea and cerebellum.

Brief Biography:

Prof. Gary Housley holds the Chair in Physiology at the University of New South Wales (UNSW), Sydney, Australia. Prof. Housley is the Head of the Department of Physiology and Director of the Translational Neuroscience Facility at UNSW, is a member of the Brain Sciences UNSW executive, a node director for the National Imaging Facility in Australia, and has editorial roles with several Journals. Prof Housley s research has contributed significantly to the fields of hearing, vision, control of breathing and sensori-motor integration. His studies of neural development, aging and repair, has resulted in novel translational pathways for gene therapy and drug treatments for hearing loss and brain injury.

20. サル MT 野における奥行き運動(Motion-in-depth)に対する選択性

眞田尚久 (University of Rochester, Rochester, NY, USA)

(2012.8.28)

我々は物体が近づいてきたり，遠ざかってゆく，奥行き方向の動き(Motion- in-depth)を知覚することができる。しかしながら，この Motion-in-depth に対する神経細胞の選択性は十分明らかにされていない。過去にネコ大脳皮質において Motion-in- depth 選択性の研究がなされているが(Cynader and Regan, 1978)，サルを用いた研究では Motion-in-depth 選択性は無いとの報告があり (Maunsell and Van Essen, 1983)，サル大脳皮質における生理学的基盤は十分に解明されたとは言えない。奥行き方向の運動は主に二つの手がかりによって知覚できる。一つは両眼視差が時間的に変化する手がかり (Change in horizontal disparity, CD)であり，もう一つは物体が奥行き運動することによって生じる，左右網膜像上の速度の差(Interocular velocity difference, IOVD)である。これらの手がかりのどちらが Motion-in-depth 知覚に寄与しているのかは心理物理学的研究において議論されており，その生理学的基盤を明らかにすることは重要だと考えられる。

覚醒状態のマカクザル MT 野細胞から細胞外電位記録を行い，Motion-in-depth が脳内でどのように符合化されているのか，またどの手がかりが Motion-in- depth の知覚に寄与しているのかを調べた。視覚刺激に Random dots stereogram (RDS)を用い，刺激の両眼視差を動的に変化させることで奥行き方向に運動する刺激を作成した。RDS 刺激の両眼視差を変化させると，左右眼のドットパターンは水平軸上でお互いに逆向きに動く。例えば被験者に向かって物体が近づいてくる時，左目刺激は右方向の運動，右目刺激では左方向の運動が生じる。左右眼間での速度が違い，且つ両眼視差も変化することから，視覚刺激には両眼間速度差(IOVD cue) 及び両眼視差の時間的変化(CD cue)の両方の手がかりが含まれる (Combined 条件). RDS 刺激は，MT 細胞の受容野上に提示され，面状の RDS 刺激が前進もしくは後退の 2 方向どちらかに運動する。この 2 方向の運動を複数の速度条件で提示することにより，単一細胞における Motion-in-depth 選択性曲線を測った。記録した 86 個の MT 野細胞の内，約半数の神経細胞が有意に刺激の前進，もしくは後退運動に選択的に反応することがわかった。さらに，これらの細胞の選択性に，CD cue, IOVD cue のどちらの手がかりが寄与しているかを調べるために，それぞれの手がかりを単体で含む刺激を用いて Motion-in-depth 選択性を調べた。その結果，多くの MT 野細胞は IOVD cue のみを含む条件(IOVD 条件)では，強い Motion- in-depth 選択性を示したが，CD cue のみの条件(CD 条件)では選択性が弱かった。IOVD 条件における選択性の強さは，Combined 条件と同程度であることから，MT 野細胞は主に両眼間速度差によって奥行き方向の運動を符号化している可能性が示唆される。

21. Analyses of signal flow and subunits' contribution in the P2X2 trimer upon voltage- and [ATP]-dependent activation by three tandem repeat constructs

Batu Keceli（生理学研究所・神経機能素子研究部門　NIPS リサーチフェロー）

(2012.9.10)

ATP is inarguably one of the most abundant molecules in living cells and is a fundamental energy source. The works of Holton and (1959) and Burnstock (1972) unmasked the signaling role of ATP and its metabolites in physiological systems. The purinergic receptor family is currently classified into two main groups, P1 and P2, which are receptors to adenosine and purines.

The P2X1-7 receptors form a family of seven subtypes of extracellular ATP activated cation channels. They are widely expressed in mammals and play essential roles from fast synaptic transduction to immune responses.

P2X receptor has a unique structure different from other ligand gated ion channels. It is a trimer with each subunit having two transmembrane (TM1 and TM2) domains and a

huge extracellular domain harboring three intersubunit ATP binding pockets. P2X receptor requires binding of extracellular ATP to open its pore. Pore is located in center of three TM2, through which cations can pass.

We previously showed that P2X2 receptor intrinsically shows voltage dependent gating property in spite of the absence of a voltage sensor domain. Although the crystal structures in both open and closed states have been solved, it remains unknown how ATP binding changes the molecular conformation and leads the pore to change its status from closed to open. Furthermore, the voltage dependent conformational changes have not been clarified yet.

The seminar will include our recent findings on how ATP binding signal flow downstream from its binding site to open the pore and how individual subunits in the P2X2 trimer contribute upon voltage- and ATP- dependent activation. Last part of the talk will be about our recent data for the state dependent (hyperpolarized and depolarized) conformational changes in the linker region between ATP binding and transmembrane domains.

23. Cultural neuroscience: Progress and promise

Joan Y. Chiao, Ph.D. (Department of Psychology, Northwestern University)

(2012.9.14)

What is the cultural and biological basis of human diversity? Cultural neuroscience is an emerging field that examines how cultural and genetic diversity shape mind, brain and behavior. In this talk, I will describe neuroimaging evidence that culture affects neural response during emotion and social cognition across macro- and micro-timescales.

I will also discuss a culture-gene coevolutionary theory of emotion and social cognition. Implications for future research as well as challenges and opportunities for development of research-teaching infrastructure in cultural neuroscience will be discussed.

24. 膵臓β細胞に発現する TRPM2 チャネルの生理的役割

内田邦敏（岡崎統合バイオサイエンスセンター　細胞生理研究部門）

(2012.9.14)

インスリン分泌は生体で血糖を低下させる唯一の有効な手段であり，この分泌機能の破綻は高血糖を生じ，糖尿病を引き起こす。最も重要なインスリン分泌刺激は血中グルコースの上昇であり, 消化管ホルモン(インクレチン)や神経ペプチドなど, 多くの因子により分泌量は調節されている。グルコースがβ細胞内に取り込まれて代謝されると ATP が産生され，この ATP が KATP チャネルを閉口させることが膜の脱分極を引き起こす。膜の脱分極により電位作動性 Ca2+チャネルが開口することで細胞内へカルシウムが流入し, インスリン分泌が起こる。この経路が最も主要なインスリン分泌メカニズムであると考えられている。しかし，これ以外にも多くのイオンチャネルが関与している可能性が報告されており，そのメカニズムは未だ完全には明らかにされていない。細胞内へのカルシウム流入に関与するイオンチャネルの 1 つの候補として TRPM2 (Transient Receptor Potential Melastatin 2) に注目した。

TRPM2 は Ca2+透過性の高い非選択性陽イオンチャネルであり，ADP-ribose 等の dinucleotides，過酸化水素および細胞内 Ca2+によって活性化される。2006 年，所属研究室より体温近傍の温度で活性化されること，体温近傍温度条件下で cADPR によって活性化されることを明らかにした。さらに TRPM2 が膵臓β細胞に発現していることを見いだした (Togashi el al. 2006)。

今回，私は TRPM2 のインスリン分泌への寄与を明らかにするため, TRPM2 ノックアウトマウスの解析を行った。その結果，膵臓β細胞に発現する TRPM2 は消化管からの情報だけでなく膵臓β細胞におけるグルコース代謝

情報をも感知し，インスリン分泌を調節していることを明らかにした。では，TRPM2 は糖尿病発症に関与するのか？糖尿病治療のターゲットになりうるのか？この疑問を明らかにするために，高脂肪食を野生型および TRPM2 ノックアウトマウスに摂餌させて作製した高脂肪食誘発肥満マウスの解析を行った。その結果，TRPM2 は糖尿病発症にも関与している可能性が示唆された。

本セミナーでは TRPM2 ノックアウトマウスを用いた実験結果を紹介し，膵臓β細胞における TRPM2 の生理的機能および糖尿病発症への関与，さらには糖尿病治療のターゲットとなりうる可能性について議論したい。

25. Cerebellar influences on agonist and antagonist motoneuron activity during saccades

小島奉子（よしこ）(Department of Physiology and Biophysics, Washington National Primate Research Center, University of Washington)

(2012.9.14)

Coordinated agonist and antagonist contractions are necessary for accurate movement. Impaired agonist-antagonist coordination could underlie movement dysmetria in cerebellar patients. Abnormal agonist-antagonist muscle contraction causes arm movement dysmetria. Despite the demonstrated role of the cerebellum in agonist-antagonist coordination, there is no description of the cerebellar influence on the activity of agonist and antagonist motoneurons during movement. Here I describe the cerebellum's role in agonist and antagonist activity of neurons in the abducens nucleus (ABD) during horizontal saccades.

Saccades are well-suited to evaluating the influence of the cerebellum. The saccade-related parts of the cerebellar cortex, the oculomotor vermis (OMV) and nuclei, the caudal fastigial nucleus (cFN, also called the fastigial oculomotor region or FOR) are well-described. Damage to either area causes saccade dysmetria.

In this talk, I will describe the cFN influence on the agonist and antagonist ABD activity during horizontal saccades by characterizing how suppressing cFN activity changes the activity of single ABD neurons during saccades. We found that cFN activity normally decreases activity in all agonist ABD neurons during ipsiversive saccades. In most ABD neurons this decrease occurs during saccade deceleration. During contraversive saccade, cFN activity normally decreases activity in some antagonist ABD neurons. This decrease occurs during saccade acceleration in most of the affected neurons.

26. Discovering the Spinal Brain

Grégoire Courtine (International Paraplegic Foundation (IRP) Chair Center for Neuroprosthetics and Brain Mind Institute School of Life Sciences Swiss Federal Institute of Technology (EPFL) Lausanne, Switzerland)

(2012.9.16)

Functional restoration after paralyzing spinal cord injury (SCI) has been interpreted as the need to promote long-distance regeneration of severed fibers to their original targets. A radically new and more immediate approach may instead capitalize on the remarkable capacity of the spinal brain to produce highly complex motor patterns, and to reorganize through use-dependent mechanisms. Here, I will introduce a multi-system neuroprosthetic training paradigm that fully exploits this therapeutic concept. This neurorehabilitation program combines an electrochemical neuroprosthesis that transforms the spinal brain from non-functional to highly functional states, and a robotic postural interface that enables overground training under safe conditions. This multifaceted intervention restored cortical control over complex locomotor movements through the extensive remodeling of spared supraspinal and intraspinal

pathways in rats with a paralyzing SCI. I will discuss the implication of these findings for the design of strategies to return function in severely paralyzed patients.

参考文献：van den Brand R et al. (2012) Restoring voluntary control of locomotion after paralyzing spinal cord injury. Science 336: 1182-1185.

27. Dynamic analysis of synaptic transmission and its modulation by glial cells

Richard Robitaille (Département de physiologie Université de Montréal)

(2012.9.24)

The main goal of the ongoing research in my laboratory is to study the involvement of glial cells in the regulation of synaptic activity and properties. We use various imaging techniques coupled to electrophysiological recordings of neurons, glial cells and synaptic activity. I will discuss recent data illustrating the regulation of synaptic activity by glial cells at the level of single CNS synapses. A new perspective of the chemical synapse has emerge from our work whereby the perisynaptic glial cells are considered active partners of the synapse and gave rise to the concept of the "tripartite synapse" which includes the presynaptic and the postsynaptic elements and the perisynaptic glia.

28. OPTOGENETIC MAPPING OF BRAIN CIRCUITRY

George J. Augustine (Director, Center for Functional Connectomics, KIST, Seoul, Korea Professor of Neuroscience and Behavioral Disorders, Duke-NUS Medical School, Singapore)

(2011.10.24)

Studies of the brain promise to be revolutionized by new experimental strategies that harness the combined power of optical techniques and genetics. This seminar will describe three examples of such optogenetic approaches. First, the light-activated ion channel, channelrhodopsin-2, can be genetically targeted to defined populations of nerve cells, allowing light to control neural activity in spatially and temporally precise patterns. Such “photostimulation” allows high-resolution mapping of brain circuitry both in vitro and in living animals. Second, the light-activated chloride pump, halorhodopsin, can similarly be used to “photoinhibit” neuronal activity. Third, the fluorescent chloride indicator protein, clomeleon, permits mapping of the spatiotemporal dynamics of brain inhibitory synaptic circuitry. Using light to both control and monitor neural activity creates unprecedented opportunities to explore brain function, screen pharmaceutical agents, and potentially to use light to ameliorate psychiatric and neurological disorders.

29. 視床下部ストレス中枢におけるシナプスの可塑性

井上　渉 (Drs. Bains' and Pittman's lab, Hotchkiss Brain Institute, University of Calgary, Canada)

(2012.9.26)

外的から身を守ったり，体内外環境の変化に対処することは生物の生存に必須である。この際の一連の生体反応（ストレス反応）の主役を演じるのが神経内分泌反応，すなわち Hypothalamus-Pituitary-Adrenal (HPA) axis（視床下部－下垂体－副腎皮質系）の活性化である。ストレス時に速やかに HPA axis を活性化することにより，血糖値・血圧の上昇，免疫機能の抑制など，体を緊急事態に備えさせるのであるが，一方で，過去のストレス経験により HPA axis 機能が長期的に増大（感作）または低下（馴化）することが古くから知られている。これは神経内分

泌系の適応，つまり一種の記憶形成であると考えることができるが, この神経生理学的な機構は分かっていない。我々のグループは, HPA axis の基点となる Paraventricular Nucleus (PVN)（視床下部室傍核）へのシナプス入力が，この記憶形成に重要な役割を果たすという仮説のもとに研究を行っている。今回の発表では，この PVN にある Corticotropin Releasing Hormone (CRH)（コルチコトロピン放出ホルモン）を分泌する Parvocellular Neuroendocrine Cells（小胞性神経内分泌細胞）への GABA シナプス入力の可塑性を，ラット急性スライス標本でパッチクランプ法を用いて調べた結果を報告する。これまでの研究で，スライス作成の直前にストレス (30 分の拘束ストレス) を与えたラットの標本においてのみ，GABA シナプスの Long-term potentiation (LTP)を誘導することが可能であることが分かった。正常ラット（ストレスを与えていない）の標本では LTP は起こらない。この結果は，in vivo ストレス経験が PVN への入力 GABA シナプスの可塑性能の制御（メタ可塑性）を行っていることを示す。このメタ可塑性は，ストレス時のノルアドレナリンβ受容体シグナル伝達により制御されていることが, アンタゴニスト，アゴニスト，オプトジェネティクスを用いた実験により示された。さらに今回観察された GABA シナプスの LTP は，シナプス数の増加を伴うことが示唆された。これらの結果は，慢性的にストレスを与えたラットの PVN で，GABA シナプスの数が増加するという組織学的な知見と一致し，HPA axis 機能の適応に重要な役割を果たしている可能性がある。

30. Microglial interactions with synapses are modulated by sensory and behavioral experience.

Marie-Eve Tremblay (University of Wisconsin)

(2012.9.27)

Microglia continuously remodel their morphology by extending and retracting highly motile processes, which specifically interact with subsets of synaptic structures in the healthy brain. In my presentation, I will discuss recent in vivo and in situ imaging observations demonstrating that quiescent microglia play crucial roles at mature synapses under non-pathological conditions, beyond their essential contribution to the immune and inflammatory responses of the brain. In particular, I will show that microglial morphology and dynamic behavior, including their interactions with synaptic elements (axon terminals, dendritic spines, perisynaptic astrocytic processes), are regulated by various manipulations of sensory and behavioral experience during adolescence, adulthood and normal aging. Furthermore, I will show that quiescent microglia also contribute to the elimination of synaptic structures, by using specialized mechanisms that include the phagocytosis of axon terminals and dendritic spines and the proteolytic degradation of the extracellular matrix. In light of these discoveries, microglia are now emerging as important effectors of the neuronal circuit reorganization required for learning and memory throughout the lifespan.

31. 徐波状態における新皮質錐体細胞と視床細胞の発火パターン

牛丸弥香（生理学研究所・大脳神経回路論研究部門　研究員）

(2012.10.23)

大脳皮質の神経活動は睡眠・覚醒において大きく変わると考えられている。睡眠時の脳波は同期した徐波を示すのに対し，覚醒時には脱同期化する。徐波時には皮質細胞の膜電位は脱分極状態（Up 状態）と過分極状態（Down 状態）の間で振動している。

私は，前頭皮質・視床のニューロンタイプごとに皮質 Up/スピンドル生成や脱同期化機構への関与が異なると考え，発火の振動や脳状態依存性を細胞タイプごとに比較検討した。麻酔下のラット前頭皮質 5 層では視床投射細胞を同定し，視床では VA/VM 核，VL 核，視床網様核

からユニット活動を記録した。解析の結果，以下の事が分かった。

(1)VA/VM 核と視床網様核の細胞の中には Up の立ち上がり付近で選択的に発火するものがある。

(2) 視床細胞は皮質細胞と比べて，Up 内で時期選択的に発火することが多い。

(3)視床細胞と皮質細胞ではスピンドル周期の異なる位相で発火する。

(4)Up 状態と脱同期化時の発火は異なる。

これらのことから，皮質-視床-皮質のサブネットワークは徐波やスピンドル波の周期で分化しており，基底核から入力を受ける VA/VM 核は Up 状態の開始と深く関与していることが示唆される。また，Up 状態と脱同期化はネットワーク内で異なる脱分極状態であると考えられる。

32. Synchronous neural oscillations and multimodal cognitive processes: Associative learning and prediction.

Abdelhafid Zeghbib（英国シェフィールド大学心理学）

(2012.10.29)

My contribution in this presentation will be focused, using recorded LFP signals, on the investigation of the dynamic interactions between auditory and visual neural networks of awake gerbils. These interactions have been studied before, during, and after bi-modal stimulation using appropriate analysis methods based on phase coherence metric.

The study is focused specifically on the effects of adaptation to paired-audiovisual stimulus presentation onto the evolution of inter-cortical coherence of mass-activity states.

Mongolian gerbils were adapted to pairs of tones and flashes presented at fixed stimulus-onset-asynchrony (SOA) (+200ms or -200ms). Stimulus pairs were presented in many trials per day during 10 days. Before and after adaptation, animals were exposed to streams of tones or flashes presented with random inter-stimulus-intervals (ISI) between 1s and 2s. Phase difference series $\Delta\varphi(t)$ were calculated during the stimulation period Δt =50ms.

To investigate these dynamics of intercortical neural networks of both auditory and visual cortex I analyzed the phase coherence between oscillatory components of local field potential activity, LFP signals, in the frequency range 7-200 Hz, recorded simultaneously from both auditory and visual cortex. The repeated paired stimulus, tone-flash or flash-tone, can be considered as an associative learning process between two modes of sensory stimulations for two different cortical neural networks. Furthermore I investigated if only the first stimulus of the paired-stimulus is able to cause a prediction or modulation of inter-cortical neuronal activities. Thus, if a repeated association of audiovisual stimulus pairs (Flash/Tone or Tone/flash) after a sufficient number of trials can lead to a second perceptual event, even when the second stimulus is omitted?

33. 表情と音声による多感覚情動知覚の比較文化研究

田中章浩（早稲田大学高等研究所・助教）

(2011.12.8)

他者とのコミュニケーションにおいて円滑な関係を維持するためには，相手の情動を正しく認知することが不可欠である。話し手は言語内容に加えて，表情や声の調子などの非言語情報を利用して情動を表現しているが，こうした多感覚的な情動表現の認知様式には文化差がある可能性がある。そこで，話し手の顔と声が表現する情動を独立に操作したときに，聞き手は相手の情動をどのように認知するのかを日本人とオランダ人の間で比較し

た。心理実験の結果，日本人は顔判断時には声からの影響が大きいのに対して，声判断時には顔からの影響は小さく，一貫してオランダ人よりも声への依存性が高かった。この結果は，文化が多感覚統合における情報の重みづけに影響を与えることを示唆している。

34. An old solution to an old problem: The role of sub-cortical vision in reinforcement learning.

Peter Redgrave 教授（英国シェフィールド大学心理学）

(2012.10.29)

要旨なし

35. Structural insights into ion channel function

Daniel Minor (Departments of Biochemistry and Biophysics & Cellular and Molecular Pharmacology, University of California San Francisco, USA)

(2012.11.8)

Ion channels are fundamental components of biological electrical signaling networks. These proteins control the passage of ions across the cell membrane and generate the bioelectricity that is essential for life. Much of the future of neuroscience, cardiovascular research, and design of biomimetic membrane systems lies in understanding the molecular details of how these protein machines function, how they are regulated, and how they are integrated into large, macromolecular complexes within the cell. My laboratory seeks to uncover the basic mechanisms by which ion channels act. We use a multidisciplinary approach that includes genetic selections, X-ray crystallography, solution biophysical methods, small molecule screening, and electrophysiology. We are interested in understanding the high-resolution structures of channel proteins, their regulatory factors, and the conformational changes that accompany channel action as well as in the development novel means to manipulate channel action in vivo. Recent progress from the laboratory's efforts in these areas will be presented.

参考文献

Multiple modalities converge on a common gate to control K2P channel function. **EMBO Journal** 30, 3594–3606 (2011)

Voltage-gated sodium channel (NaV) protein dissection creates a set of functional pore-only proteins. **PNAS USA** 108, 12313-12318 (2011)

Structural basis for the differential effects of CaBP1 and calmodulin on CaV1.2 calcium- dependent inactivation. **Structure** 18, 1617–1631 (2010)

Multiple C-terminal tail Ca^{2+}/CaMs regulate CaV1.2 function but do not mediate channel dimerization. **EMBO Journal** 29, 3924-3938 (2010)

36. Golgi Biogenesis, Function, and Defects in Diseases

Yanzhuang Wang, (Associate Professor, University of Michigan, USA)

(2012.11.22)

Dr. Wang's current research focuses on the biogenesis, function, and defects of the Golgi in diseases. The Golgi apparatus is a membrane-bound organelle that serves as a central conduit for protein and lipid modification, processing, trafficking and secretion. Proteins encoded by over one-third of the genes in the human genome, such as hormones (e.g.

insulin), neurotransmitters, growth factors, digestive enzymes, antibodies and extracellular matrix proteins, all go through the Golgi, where they are processed, concentrated, sorted, and transported to the correct location. A unique feature of this membrane organelle is the stack of the flattened cisternae, but the molecular mechanism and biological significance of stack formation remain elusive. Dr. Wang's research aims to understand how this unique stacked structure is formed, why this structure is important for its function, and how a new Golgi is generated when the cell divides. In particular, Dr. Wang is interested in studying the proteins that help "glue" the cisternae together to form a stack and the role of ubiquitin in regulation of Golgi membrane dynamics during the cell cycle. In the last few years, he and his colleagues have developed a unique multidisciplinary approach employing biochemistry, cell biology, electron microscopy, and more recently proteomics, combined with a novel in vitro reconstitution assay, to provide a mechanistic explanation for Golgi structure formation and function. He found that stack formation directly involves the Golgi stacking proteins GRASP65 and GRASP55, which play complementary and essential roles by forming mitotically regulated trans-oligomers that hold the Golgi membranes into stacks. Using GRASP65/55 as tools to manipulate Golgi stack formation, he demonstrated that Golgi stacking functions as a flux regulator to ensure accurate protein modifications. He also discovered that monoubiquitination of Golgi membrane proteins during mitosis is essential for subsequent membrane fusion and identified HACE1 and VCIP135 as the ubiquitination and deubiquitinating enzymes whose activity is required for post-mitotic Golgi reassembly. Most recently, he has gathered intriguing preliminary data concerning the structural and functional defects of the Golgi in cell culture and mouse models for cancer as well as cardiovascular and Alzheimer's diseases.

37. ウイルスベクター二重感染法によるマカクザル前肢巧緻運動神経回路の選択的な遮断

木下正治（生理学研究所・認知行動発達機構研究部門　特任助教）

(2012.11.26)

マカクザルにおける大脳皮質運動野から脊髄運動ニューロンへ至る運動指令経路には，単シナプス性の直接経路と介在ニューロンを経由した間接経路が存在する。直接経路は進化的に新しく，この経路が手の巧緻運動に本質的な役割を果たしていると考えられてきた(Lawrence & Kuypers, 1968)。我々の研究グループは直接経路の切断実験により，間接経路を構成している頸髄中部の脊髄固有ニューロン (PNs) の役割を明らかにしてきた(Sasaki, et al., 2004)。本研究では PNs 選択的に遺伝子導入してその神経伝達を遮断することで，物理的切断を伴わない健常時の PNs 経路の前肢巧緻運動における役割を検証した。トランスジェニックの作成が事実上不可能なマカクザルにおいて，神経経路選択的かつ可逆的な遺伝子発現制御を実現するために，ウイルスベクター2 重感染法および Tet-ON システムを用いた手法を開発した。これにより頸髄中部に存在する PNs にのみ破傷風毒素(eTeNT)を発現させた。ベクター注入から 1-2 ヶ月後にサルへ Dox の経口投与を開始して PNs の神経伝達を遮断し，4 頭中 4 頭において前肢巧緻運動の障害を観察した。この結果は PNs が前肢の運動制御に本質的な役割を果たしていることを示唆する。本研究で開発したウイルスベクター二重感染法は，細胞種特異的プロモーターなどに依存せずに特定経路のニューロンに遺伝子導入を行い，その機能を操作することを可能にするものであり，神経回路機能の操作的研究に新しい道を開くものである。

Reference: Kinoshita, et al., Nature 487, 235-238 (2012)

38. 生体脳における大脳皮質抑制性神経細胞の移動制御メカニズムの解明

稲田浩之（生理学研究所　生体恒常発達機構研究部門）

(2012.12.10)

脳の発達過程において，神経細胞は領域特異的，細胞種特異的な様式に従って移動することが知られている。多様な神経細胞が整然と移動・配列するメカニズムを解明することは，神経回路形成機構を理解するために極めて重要である。本研究では大脳皮質の抑制性神経細胞に焦点を当てて，その移動メカニズムを解明することを目的とした。大脳皮質抑制性神経細胞は終脳腹側の基底核原基で分裂・産生され，胎生期から生後発達初期にかけて接線方向の移動を経て皮質に到達する。本研究ではまず，幼若期マウスの in vivo イメージング法を開発し，抑制性神経細胞が選択的に蛍光標識されている GAD67-GFP ノックインマウスと VGAT-Venus トランスジェニックマウスを用いることで，抑制性神経細胞が皮質内に配置される過程を生体内で観察した。皮質辺縁帯における移動様式を解析した結果，どちらの系統も多方向性の移動を見せたが，その移動速度には有意差が認められた (VGAT-Venus＞GAD67-GFP) 。幼若期の GAD67-GFP マウスは大脳皮質 GABA 含有量が野生型に比べて低いことが知られており，細胞外 GABA が多方向性移動を制御している可能性が考えられた。そこで薬理学的手法を用いて GABA(A)受容体の機能を阻害したところ，移動速度は有意に減少した。また移動時期の細胞にグラミシジン穿孔パッチクランプ法を用いて Cl－の平衡電位を調べた所，細胞外 GABA は脱分極性に作用することが明らかとなった。Cl－トランスポーターである NKCC1 の機能を阻害し Cl－の平衡電位を過分極側にシフトさせたところ，移動速度は減少した。以上の結果から GABA(A)受容体の活性化は膜の脱分極を誘導することで抑制性神経細胞の多方向性移動を促進していると考えられる。

39. アメリカ議会図書館アーカイブズでの自然科学系の情報収集と科学資料の公開

智子ステイーン（アメリカ議会図書館アーカイブズ　自然科学担当）

(2012.12.10)

スティーン智子博士は，修士課程では薬理学，博士課程では集団遺伝学と科学技術社会論学を学ばれ，その後，国立遺伝学研究所の太田朋子博士の下で集団遺伝学を学びながら太田博士の学術的伝記「INTELLECTUAL BIOGRAPHY」を執筆し，コーネル大学で博士号を取得されました。それから現在まで約 500 人以上の科学者にインタビューをし，科学技術史も専門とされました。2001 年から米国議会図書館の科学技術部と日本の科学技術政策を専門とした職につき，所蔵の日本語資料，特に第 2 次大戦後の GHQ（連合国軍最高司令官総司令部）占領下に関する資料を研究されています。

40. 知覚学習における注意と強化信号の役割

渡邊武郎（ブラウン大学　認知言語心理学部　神経科学部　視覚科学センター・教授）

(2012.12.14)

生体は環境へ適応するために，脳内の情報処理過程を変化させる事により学習が成立する。その際に，脳内の変化が弱すぎると効果的に環境に適応ができないが(too stable)，変化が強すぎると脳の情報処理の中核を破壊してしまう恐れがある(too plastic)。これを安定性と可塑性とのジレンマとよぶが，脳はこれら両極端な結果を生むことなく，環境に効果的に適応している。脳でこのジレンマをどのように克服しているかは，神経科学における重要な研究課題となっている。知覚経験によって，知覚的な課題のパーフォーマンスが長期間にわたり向上する

タイプの学習を特に知覚学習と呼ぶが，われわれのグループは脳がこの安定性と可塑性とのジレンマをどのように達成しているかを調べるために知覚学習を使った研究を行って来た。我々は，報酬の効果を注意の効果から分離するために，注意の制御が効きにくい閾値下の刺激の知覚学習を研究して来た。その結果，知覚学習は，課題との関連性(relevancy)とは無関係に，提示された刺激の特徴と報酬信号が適時的に相互作用することによって成立する事を示す実験結果を得た(Watanabe, Nanez & Sasaki, Nature, 2001; Watanabe et al, 2002, Nature Neuroscience; Seitz & Watanabe, 2003, Nature; Seitz, Kim & Watanabe, 2009, Neuron; Shibata et al, 2012, Science)。他方，刺激が課題と無関連な場合，注意によってその信号が抑制されると考えられるが，刺激が閾値下の場合は注意機構がその刺激を検出，抑制できないため，より強い閾上の無関連刺激よりも逆により強い信号になり，そのために閾値下の知覚学習が成立する事がわかった(Tsushima, Sasaki & Watanabe, 2006, Science; Tsushima et al, 2009, Current Biol)。以上の結果から，安定性と可塑性とのジレンマを克服するために，報酬による強化信号と注意信号は共に知覚学習を制御するが，その役割は異なっている事が示唆された。すなわち，報酬による強化信号は，刺激提示とのタイミングが合えば，課題の関連性に関わらず提示された刺激の信号を増大させるので，課題に関連する刺激の知覚学習だけでなく課題に無関連な刺激の知覚学習をも導く。他方，注意信号は，検出可能な限り，課題に関連した刺激を増大し無関連な刺激を抑制するので，課題に関連する刺激の学習だけを許していると言えよう。

41. Signaling mechanisms underlying synaptic plasticity

Ryohei Yasuda (Scientific Director, Max Planck Florida Institute, USA)

(2012.12.17)

In the central nervous system, most excitatory synapses terminate on dendritic spines, tiny (~0.1 femtoliter) protrusions emanating from the dendritic surface. Ca2+ influx into spines activates signaling networks composed of tens of species of molecules to induce diverse forms of synaptic plasticity, which is thought to underlie learning and memory. To further our understanding of signaling mechanisms underlying synaptic plasticity, we have developed a technique to monitor signaling activity in single dendritic spines in slices using 2-photon fluorescence lifetime imaging (2pFLIM) in combination with new FRET sensors extensively optimized for 2pFLIM. Using this technique, we succeeded in monitoring activity of many signaling proteins, including small GTPase proteins Ras, Rac, RhoA, Cdc42 and several Rab proteins and kinases PKC, ERK and CaMKII, during long-term potentiation (LTP). These signaling proteins have distinct spatiotemporal patterns: CaMKII, Cdc42 and Rab activations are restricted to the stimulated spines. In contrary, Ras, Rac, RhoA, PKC and ERK activations spread out of the stimulated spine and diffuse along the parent dendrite over 5-50 μm. Further, we found that Ca2+ elevation in the spine, which lasts only for ~0.1 s, is relayed in several different stages. First, Ca2+ signals activates CaMKII, of which activity decays over ~10 s. Then, downstream small GTPase proteins relay this transient CaMKII signal into signals lasting 10-30 min. This rich spatiotemporal regulation must play an essential role in coordinating cellular events occurring within spines and the dendritic shaft to induce synapse-specific plasticity.

42. 大脳皮質視覚野における視覚反応性と神経回路の経験依存的発達

石川理子（生理学研究所・神経分化研究部門　JSPS 特別研究員）

(2012.12.18)

大脳皮質視覚野の視覚機能は，生後の視覚経験に強く依存して成熟することが知られている。これまでに我々は，ラット大脳皮質一次視覚野スライス標本を用いた研究により，1) 大脳皮質視覚野内に，非常に微細なスケールの特異的神経回路網が埋め込まれていること, 2) 発達期に形態視を遮断すると，この微小神経回路網の形成が阻害されることを見出している。微小神経回路網の消失が視覚情報処理に与える影響を明らかにするために，麻酔下のラットにおいて視覚野細胞からスパイク活動を細胞外記録し，個々の神経細胞の視覚反応特性や細胞間の活動同期性を調べた。正常な視覚体験を経たコントロール群では，多様な視覚反応特性をもつ神経細胞が観察されたが, 形態視遮断ラット群では, この多様性は減少し，多くの視覚野細胞において反応を引き起こす最適空間周波数や方位選択性が低下していた。また，複数神経細胞の発火タイミングを調べたところ, コントロール群では，類似した視覚反応特性をもつ神経細胞間でのみ高い同期性が観察されたが，形態視遮断ラット群ではこのような傾向は観察されなかった。以上の結果から，一次視覚野は，特異的微小神経回路網を形成することにより，類似した視覚反応性を示す細胞集団の活動の同期性をあげ，個々の神経細胞の視覚反応の多様性を保持していると考えられる。本セミナーでは，上記の一次視覚野の結果に加えて，2 次視覚野細胞からの記録結果も紹介し，視覚情報処理における領野内および領野間神経回路の機能的役割について議論したい。

43. LGI1 の変異によって起きるてんかんの分子病態メカニズム

横井紀彦（生理学研究所・生体膜研究部門　日本学術振興会特別研究員）

(2012.12.19)

“てんかん”は罹患率 1%程度の頻度の高い神経疾患であり，激しいけいれんや意識消失，時には幻覚・幻聴などを伴う。てんかんは神経細胞および神経回路の異常な興奮により引き起こされると考えられているが，その病態，病因は不明な点も多い。LGI1 は神経分泌蛋白質であり, 34 もの家族性変異体がヒトでてんかんを引き起こす。また, LGI1 は痙攣や記憶障害を伴う辺縁系脳炎を引き起こす自己免疫抗体の主要な標的でもあり, LGI1 はヒトの脳機能に重要な役割を果たすと考えられる。これまでに，我々は LGI1 ノックアウトマウスが生後 3 週以内にてんかん発作の重積により全て死亡することを示し，LGI1 が膜蛋白質 ADAM22 および ADAM23 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見出した。(Fukata et al. Science 2006; Fukata, Lovero, Iwanaga, Watanabe, Yokoi, et al., PNAS, 2010) 。しかし，LGI1 の生理機能と, LGI1 変異体による分子病態は未だ明らかではなかった。そこで我々は，ヒトで報告された LGI1 のミスセンス変異体に着目した。アミノ酸変異による蛋白質構造，および蛋白質-蛋白質相互作用への影響が，LGI1 の生理的な機能に関与すると考えられるためである。我々は LGI1 の変異体を分泌不全型と分泌型に分類し，それぞれを発現する 2 種類の LGI1 変異マウスを作成し，生化学的，組織化学的に LGI1 変異体の機能欠損を調査した。その結果，野生型 LGI1 がシナプス間隙へ分泌され，ADAM22，ADAM23 と結合するのに対し，分泌不全型は構造異常のために小胞体に留まり，最終的には分解されること，分泌型は ADAM22 との結合が選択的に阻害されていることを見出した。以上の結果は LGI1 の変異によって引き起こされるてんかんが，構造異常による分泌不全，タンパク間相互作用不全を原因とするコンフォメーション病 (conformational disease) であること，また，LGI1-ADAM22 タンパク質複合体を基点とした脳の興奮メカニズムの重要性を示すものであった。

44. 高頻度逆行性遺伝子導入ベクターの開発と脳機能解析への応用

小林憲太（生理学研究所・ウイルスベクター開発室　准教授）

(2013.1.17)

ウイルスベクターは，遺伝子導入を行うための非常に有用なツールである。中でも，レンチウイルスベクターは，1) 分裂細胞のみならず非分裂細胞にも遺伝子発現の誘導が可能，2) 導入遺伝子が染色体に組み込まれるため遺伝子発現が長期的に安定，3) エンベロープを置換したシュードタイプのベクターを作製することによって宿主域を変更出来る，などの利点を有する。脳機能は複雑な神経回路網によって制御されており，その機能を解明するには，特定の神経路が持つ役割を理解しなければならない。そのためには，特定神経路に導入遺伝子を発現誘導出来る新たな技術を開発する必要がある。最近，我々は，げっ歯類と霊長類の中枢神経系において，軸索の末端より感染して細胞体へと逆行性に輸送されてから導入遺伝子を発現する改良型レンチウイルスベクター（高頻度逆行性遺伝子導入ベクター）の開発に成功した。この高頻度逆行性遺伝子導入ベクターを利用することにより，ある任意の神経領域に投射する特定神経路の解析が可能となる。本セミナーでは，脳科学研究のために有用なツールとなりうる高頻度逆行性遺伝子導入ベクターについて解説すると共に，実際にこのベクターを in vivo で応用した研究例を紹介する。

45. Robust representation of stable object values in the oculomotor basal ganglia

安田正治 (National Eye Institute, NIH, USA)

(2013.1.17)

We are surrounded by so many visual objects, yet we can find valuable ones quickly and effortlessly. Such an efficient choice should require the memory of many objects' value. Also, the memory should be stably retained because you may encounter valuable objects only occasionally. Where in the brain does stably store the high capacity memory of visual objects? We hypothesized that a major output structure of basal ganglia, substantia nigra pars reticulata (SNr) is a key structure for the everyday choice mechanism. Anatomical studies suggest that the SNr may receive visual object information from the inferotemporal cortical areas through the tail of the caudate nucleus. Furthermore, the SNr controls the initiation of saccadic eye movements through its inhibitory connections to the superior colliculus (SC). We first let two monkeys experience many computer-generated fractal objects. Importantly, half of objects were associated with a large reward (high valued object) and the other half were associated with a small reward (low valued object). The object-reward association was fixed throughout the learning session. New object-reward associations were introduced across more than half a year, so that the two monkeys have experienced many reward-biased objects (n=696 and 648, respectively). We then identified SNr neurons that project to the ipsilateral SC (identified by antidromic activation) and examined their responses to the experienced fractal objects. After across-day learning of object-reward association, SNr neurons gradually showed a response bias to many visual objects: an inhibition and excitation, respectively, to high and low valued objects. This neuronal bias remained intact even after >100 days without further learning. In parallel with the neuronal bias, the monkeys tended to look at high valued objects. These results suggest that SNr neurons bias the gaze toward objects that were consistently associated with high values in one's history.

46. 心不全誘導に関わるシグナル分子群とその心循環機能制御

西田基宏（九州大学大学院薬学研究院　創薬育薬産学官連携分野）

(2013.1.23)

様々なストレスに対する心血管組織の形態変化（リモデリング）は心循環恒常性を維持する上で重要な役割を果たしている。しかし，負荷が持続することで生じる不適切なリモデリングは，かえって心血管機能を悪化させる原因となる。我々は，心臓の興奮転写連関を担う Ca2+流入に着目し，ジアシルグリセロール感受性 transient receptor potential canonical (TRPC)チャネル (TRPC3 と TRPC6 のヘテロ 4 量体）が心肥大誘発性の Ca2+流入を制御する分子実体であることを報告した。また，心肥大から心不全への移行において，一酸化窒素と活性酸素，細胞内ヌクレオチドとの反応により生じる 2 次酸化物 (8-nitro-cGMP) の形成が関与することも明らかにし，特に活性酸素の生成に TRPC3 が関与することも最近見出している。本セミナーでは，外的ストレスに対する心臓の適応・不適応のシグナル変換機構を紹介し，その仲介分子である TRPC3/6 による心循環恒常性の維持機構について考察したい。

47. ストレスと抑うつの神経生物学：ドパミン系とミクログリアの役割

古屋敷智之（京都大学大学院医学研究科　神経細胞薬理学分野）

(2013.1.23)

社会や環境から受ける過度のストレスやその遷延化は，抑うつなどの情動変化を誘導し，精神疾患のリスク因子となる。しかし，その分子・神経回路基盤は長らく不明であった。我々は，マウスの反復ストレスによる抑うつ誘導に内側前頭前皮質ドパミン系の抑制が必須であること，その過程にミクログリア由来の炎症関連分子プロスタグランジン E2 が寄与することを示してきた。現在，反復ストレスによる神経グリア相互作用の分子基盤に迫るため，細胞種特異的な網羅的遺伝子発現解析を行っている。その結果，反復ストレスにより，自然免疫系を活性化する内因性ダメージ関連分子群 DAMPs が脳内の多様な細胞種で誘導されることを見出した。さらに，DAMPs 受容体である Toll-like receptor (TLR)はミクログリアに発現しており，反復ストレスによるミクログリア応答と抑うつ誘導に必須であった。以上の結果は，反復ストレスにおける自然免疫関連分子を介したミクログリア制御の役割を示唆する。本講演では，これら最新の知見を紹介し，自然免疫関連分子によるミクログリア制御がドパミン依存的な情動神経回路の機能変容を誘導するメカニズムについて，その展望を議論したい。

48. Ion channels: amazing plasmalemmal gates of living cells

Ravshan Z. Sabirov (Laboratory of Molecular Physiology, Institute of Bioorganic Chemistry,
Academy of Sciences of Uzbekistan)

(2013.1.23)

Physico-chemical fundamentals of ion channel structure and function are critically important for understanding their integration into molecular ensembles to build up living cells and whole body, in health and disease. Plasmalemmal ion channels conduct inorganic ions (Na+, K+, Ca2+ and Cl–) and control excitability and contraction. However, they may also pass some other charged molecular species, a feature largely unexplored at present for most of ion channels. Our original nonelectrolyte partitioning method (NPM) revealed unexpectedly wide pores of two types of volume-regulated anion channels, the maxi-anion and the volume-sensitive outwardly rectifying (VSOR) Cl– channel. We found that the

maxi-anion channel provides a pathway for release of ATP in kidney, heart and brain to initiate tremendously important downstream purinergic signaling. A narrower pore of VSOR Cl–channel served as a path for release of excitatory glutamate, which mediates astrocyte-to-neuron signaling, and tripeptide glutathione, which is an important determinant for cellular redox state and γ-glutamyl cycle. Thus, we proposed a new concept of channel-mediated metaboergic (metabolite-mediated) cell-to-cell signaling. The CFTR pore was also wide to take part in such events. The maxi-anion and VSOR Cl– channel proteins remain unidentified. The promising ways of their molecular identification, as well as future directions of channel reconstitution in physico-chemically defined systems, localization by smart-imaging-patch-clamp, pharmacology, channel manipulations for nanobiology and nanomedicine, and channel integration to cellular and brain functions will be discussed.

49. Metabolic Information Highways
～個体レベルでの糖代謝・エネルギー代謝調節機構とその活用による治療法開発～

片桐秀樹（東北大学大学院医学系研究科，CREST)

(2013.1.31)

血糖値や体重は，一つの臓器だけで決まるものではなく，個体全身の臓器が最適な状況を作るよう連携するシステムが必要である。我々は，世界に先駆けて，神経系を介した仕組みがこの全身の臓器・組織間の協調的代謝調節機構として重要な役割を果たしていることを見出した。具体的には，1) 脂肪組織から食欲を調節する求心性神経シグナル (Cell Metab 2006)，2) エネルギー蓄積状態に応じ，基礎代謝を調節する肝臓からの神経シグナル (Science 2006)，3) 肥満の際に膵β細胞の増殖を惹起する肝臓からの神経シグナル (Science 2008)，4) 過栄養に際に適応熱産生を落とし栄養分の備蓄につなげる肝臓からの倹約神経シグナル (Cell Metab 2012) があげられる。これらの臓器間神経ネットワークは，体に備わった体重調節機構・糖代謝調節機構として，多臓器生物での個体としての恒常性を保つための根本的な役割を担っている (Circ Res 2007) とともに，その破綻やオーバードライブが糖尿病・肥満・高血圧などの代謝疾患発症の機序に関与していることが明らかとなりつつある (Eur Heart J 2012)。さらに，これらの体に備わった全身での代謝調節機構を制御することができれば，これらの代謝疾患を克服することが可能となることが期待される。また，血管による臓器間ネットワークの制御も，健康長寿につながるアンチエイジング法となりうることも明らかとなりつつある (Circulation 2012)。本セミナーでは，臓器間ネットワーク機構発見のいきさつからその重要性の証明，さらには，その可能性について論じてみたい。

50. 低分子化合物のハイスループットスクリーニングを用いた概日時計機構の研究

廣田　毅（カリフォルニア大学サンディエゴ校　生物科学部門）

(2013.2.1)

概日時計は脳や体の個々の細胞に備わり，行動やホルモン分泌，代謝などに見られる約一日の周期のリズムを制御する。ヒト培養細胞が示す概日リズムをルシフェラーゼレポーターを用いてハイスループットで測定する系を構築し，概日時計を調節する因子の大規模な探索を実現した。ゲノムワイド RNAi スクリーニングから，時計の周期や振幅を調節する 200 以上の遺伝子を同定した[1]。さらに 60 万種類を超える低分子化合物の中から，時計の周期を強力に延長させる 3 種類の化合物を見出し，longdaysin, LH846, および KL001 と名付けた。Longdaysin と LH846 はカゼインキナーゼ I の活性を阻害して時計タンパク質 PER の安定化を導くのに対し, KL001 は時計タンパク質 CRY に結合してユビキチン化を介した分解を阻害した。Longdaysin はマウス視交叉上核の組織培養や

ゼブラフィッシュの個体においても顕著な周期延長効果を示す一方 [2]，KL001 はマウス初代培養肝細胞において糖新生を抑制した [3]。これらの化合物は概日時計の分子機構だけでなく，個体レベルの行動・生理リズムの研究にも新たな可能性をもたらすと期待できる。

引用文献

[1] Zhang*, Liu*, Hirota*, et al. Cell, 139: 199-210 (2009)

[2] Hirota, Lee, Lewis, et al. PLoS Biol., 8: e1000559 (2010)

[3] Hirota, Lee, St. John, et al. Science, 337: 1094-1097 (2012)

51. 神経細胞内膜系の機能と制御機構

白根道子（九州大学　生体防御医学研究所　分子医科学分野）

(2013.2.1)

細胞内膜系は，細胞内における複雑な生理機能を秩序立てて遂行するために重要な働きをしている。われわれは神経細胞における細胞内膜系の機能と制御機構に興味をもっており，その個体における生理的な役割や，その不全が引き起こす病態の解明を目指している。具体的には以下の 2 点に焦点を当てている。(1) 神経細胞内における小胞輸送の制御機構と神経機能への関与の解明。われわれが発見したプロトルーディン (protrudin) は，神経細胞の極性輸送を制御する膜タンパク質で，軸索輸送や樹状突起輸送の制御に関わっている。この分子の発生過程における役割や，高次脳機能への関与を検討している。(2) 細胞内膜系の機能障害による神経変性疾患の病態の解明。プロトルーディン変異は遺伝性痙性対麻痺の発症に関係しているが，小胞体の膜構造の異常が原因であることがわかってきた。またプロトルーディン結合タンパク質の FKBP38 の機能喪失は，アポトーシス異常により神経管閉鎖不全を起こす。プロトルーディン-FKBP38 系による神経内膜系の制御機構とその異常による病態の解明は，神経系の生理と病理の統合的理解に繋がると期待される。

52. 神経成長円錐ガイダンスを駆動するシグナル伝達機構

戸島拓郎（理化学研究所脳科学総合研究センター神経成長機構研究チーム　科学技術振興機構さきがけ）

(2013.2.1)

複雑かつ精緻な神経回路網を形成するために，伸長中の神経軸索先端部に現れる成長円錐は，周辺環境に呈示された多種多様な軸索ガイダンス因子を感知して自らの移動方向を転換し（誘引／反発），遠隔の標的まで辿りつく。我々はこれまでに，成長円錐の方向転換を制御するシグナル伝達系およびその下流の駆動メカニズムを解析してきた。その結果，①ガイダンス因子受容に伴う局所 Ca2+上昇に応じた小胞体由来 Ca2+誘発性 Ca2+放出 (CICR) の有無により成長円錐の誘引／反発が切り替わること，②cAMP と cGMP が拮抗的に CICR を調節すること，③Ca2+シグナル下流において非対称性エクソサイトーシスおよびエンドサイトーシスが誘引と反発をそれぞれ駆動すること，等が明らかになった。本セミナーでは，これら一連の研究成果を紹介し，神経回路の形成と再生を司る普遍的メカニズムの解明に向けての今後の研究の方向性について議論させて頂きたい。

参照文献：

1. Tojima et al, 2007. Nat Neurosci, 10:58-66.
2. Tojima et al, 2009. J Neurosci, 29:7886-7897.
3. Tojima et al, 2010. Neuron, 66:370-377.
4. Tojima et al, 2011. Nat Rev Neurosci, 12:191-203.

53. 刺激—報酬間の連合学習における眼窩前頭皮質の役割

小川正晃 (Postdoctoral Associate, Synthetic Neurobiology Group, MIT Media Lab,MIT (Edward Boyden 研究室)）

(2013.2.8)

世の中のほとんど全ての物事は不確実である。近年，不確実な報酬情報に動物がどう対処するのかは，神経生理学，神経経済学，動物心理学など様々なバックグランドを持つ脳科学者の注目を集めている，ホットな問題である。眼窩前頭皮質 (orbitofrontal cortex, OFC)は不確実な報酬条件での意思決定に関与する。感覚刺激を不確実な報酬と条件付けすると, その刺激提示に伴う OFC の活動は，報酬の不確実性の度合いに応じて変化する。この活動の解釈として，OFC が数学的に定義される不確実性のパラメーター（分散，または「リスク」）そのものを表象する可能性が示唆されてきた。しかしながら，むしろ報酬不確実性を導入するための条件付けを動物がどう学習し, 認知しているのかを反映している可能性があった。そこで我々は, ラットに, 4 つの匂い刺激と 100%, 67%, 33%, 0%の 4 つの異なる報酬確率を条件付けするシンプルな課題を学習させた。大変興味深いことに，十分な学習の後，ラットは 33%，67%，100%，0%の順に早く報酬を提示される場所に向かった。この行動パターンは既存の強化学習モデルでは説明できず，連合学習における注意に関する新規モデルで説明できた。このラットの OFC からシングルユニット記録実験を行ったところ，一見リスクと共変化するように見えた活動は，リスクそのものよりは学習によって獲得されたサリエンスによってより良く説明できた。この結果は，不確実な報酬条件付け学習において，OFC がどう機能しうるのかのみならず, どう動物が行動するのかについても新しい視点を与えるものである。

上記の研究では，神経活動と想定された機能の間の相関関係は示されているものの，因果関係については不明である。刺激—報酬間の連合学習における OFC の因果的役割は，古典的な領域損傷実験によって良く調べられており，種を超えて基本機能が保存されていることが知られている。しかし，古典的損傷実験では，神経回路特異的，時間特異的な因果的役割には迫ることができない。私の大学院時代の仕事は，足場蛋白として代謝型グルタミン酸受容体の神経細胞内情報伝達を担う Tamalin の遺伝子欠損マウスの行動レベルでの研究である。本セミナーにおいては，この研究内容，および今後の方向性についても紹介する。

参考文献） 1) Ogawa, et al., (2007), Altered sensitivities to morphine and cocaine in scaffold protein tamalin knockout mice. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, 104:14789-14794.
2) Ogawa, et al., (2013), Risk-responsive orbitofrontal neurons track acquired salience. Neuron, 77: 251-258.

54. Koniocellular pathway ganglion cells in the primate retina.

Kumiko Percival (Sydney Eye Hospital The University of Sydney)

(2013.2.14)

Abstract: Midget and parasol ganglion cells serve distinct roles in the visual pathway of the retina, and together form a large proportion of its output. Other components of the visual scene are processed by non-midget, non-parasol ganglion cells which project primarily to the koniocellular layers of the lateral geniculate nucleus. The functional characteristics of many of these koniocellular pathway ganglion cells, or “wide-field” types in primate retina remain poorly understood. We investigated the density of synaptic inputs onto two types of wide-field ganglion cells, to see whether synaptic input density may play a role in shaping the possible functional differences between these two morphologically contrasting ganglion cell types. We also investigated the contributions of wide-field ganglion cells and their presynaptic partners (bipolar cells) to visual signals within the fovea – a region of the retina specialised for transmitting high acuity visual signals. Presumed bipolar cell inputs were found to be at approximately equal density in large sparse and broad thorny

ganglion cells. Thus, any functional differences between these cell types are unlikely to arise from variation in synaptic densities. Further, in our study of wide-field ganglion cells within the fovea, it was found that at least eight types of wide-field ganglion cell types previously described in peripheral retina are also present within 1mm of the fovea, along with a subset of their presynaptic partners. Retinal pathways involving wide-field ganglion cells are therefore highly likely to contribute to foveal vision.

Recent Publications:

1. Organisation of koniocellular-projecting ganglion cells and diffuse bipolar cells in the primate fovea. Percival KA, Martin PR, Grünert U.

Eur J Neurosci. 2013 Jan 13. doi: 10.1111/ejn.12117. [Epub ahead of print]

2. Synaptic inputs to two types of koniocellular pathway ganglion cells in marmoset retina. Percival KA, Martin PR, Grünert U.

J Comp Neurol. 2011 Aug 1;519(11):2135-53. doi: 10.1002/cne.22586.

55. 学習後の聴覚皮質活動の変化およびレーザー照射による皮質活動抑制

堀川順生（豊橋技術科学大学大学院情報・知能工学系，教授）

(2013.2.20)

聴覚皮質に関連した最近の 2 つの研究結果について述べる。

1. 動物（モルモット）にノイズ様自然音に対する条件付け学習を行い，聴覚皮質活動の可塑的変化を光計測法を用いて計測した。条件付けを行わない動物群（コントロール群）と条件付け群で，条件付け音とその時間逆転音（非条件付け音）に対する聴覚皮質の活動を比較すると，コントロール群では両者に対する活動が現れるのに対して，条件付け群では時間的逆転音に対して活動が現れないという結果を得た。この神経機構について議論する。

2. レーザー光を皮質に照射すると神経活動の抑制や増強が起きることがこれまでに報告されている。今回，近赤外 (NIR) および赤色 (RED) レーザー光を聴覚皮質に照射し，聴覚誘発電位を指標として，神経活動抑制の時間特性やレーザ強度および波長依存性について計測した。レーザー強度と活動振幅との間には波長に依存した強い負の相関があるが，皮質の温度上昇との間にも波長に依存しない強い負の相関が認められた。これらの結果からレーザー照射による皮質活動抑制の機序について議論する。

56. 網膜組織培養法と網膜方向選択性神経節細胞

小泉　周（生理学研究所・広報展開推進室　機能協関研究部門　准教授）

(2013.2.27)

我々は，世界に先駆けて，新世界ザル（マーモセット）の網膜を，まるごと取り出し，短期培養する方法の確立に成功しました。遺伝子銃を用いて培養網膜へ緑色蛍光タンパク質 (GFP) を遺伝子導入したところ, 古くから知られているミジェット (midget) やパラソル (parasol) といった網膜神経節細胞以外にも，non-midget/non-parasol タイプの多様な形態学的特徴をもった網膜神経節細胞が種々あることを発見しました。中でも，ウサギやネズミといった下等な哺乳類網膜で発見されているものと同様の形態学的な特徴を全てもった動きの検知機能をもつと考えられる方向選択性網膜神経節細胞を見つけだしました。PLoS One(2013)に発表しました。

57. Structural Determinants of TRPV Channel Activation and Desensitization

Rachelle Gaudet (Dept. of Molecular and Cellular Biology Harvard University)

(2013.3.18)

My lab is broadly interested in the mechanisms of signaling and transport across cellular membranes. Much of our research centers on TRP channels and their role in sensory perception. We focus on temperature-sensitive ion channels, particularly TRPV1 and TRPA1. TRP channels are challenging structural biology targets because they are large multidomain eukaryotic membrane proteins and are not naturally abundant. We take complementary approaches to obtain structural and functional information on TRP channels. One strategy is to divide and conquer: determine crystal structures of isolated domains of TRP channels. The results can then combined with genetic, biochemical and physiological data to advance our understanding of TRP channel function. It also provides valuable insights as we tackle the structure determination of whole TRP channels.

58. Multitasking voltage-sensing domains as proton channels

Francesco Tombola(Assistant Professor) (Department of Physiology and Biophysics, University of California, Irvine, USA)

(2013.3.25)

Biological processes as diverse as neuronal signaling, muscle contraction, the immune response, and the heart beat depend on the proper function of proteins containing voltage-sensing domains (VSDs). In recent years, our view on these domains has changed dramatically. Once regarded as simple modulators of pore domains in voltage-gated sodium, potassium, and calcium channels, they are now recognized as structural units that perform different tasks in different proteins, as they control the activity of enzymatic domains in voltage-sensitive phosphatases, act as gated pores in voltage-gated proton channels, and sense chemical signals in thermosensitive TRP channels. VSD malfunction, or misregulation, is the cause of neurological disorders, cardiac arrhythmias, and cancer. In this talk I will focus on the structural organization and function of the voltage-gated proton channel Hv1 as a model for ion permeable VSDs.

Voltage-sensing domain of voltage-gated proton channel Hv1 shares mechanism of block with pore domains. Neuron 77(2) 274-286 (2013)

The opening of the two pores of the Hv1 voltage-gated proton channel is tuned by cooperativity. Nat. Struct. Mol. Biol. 17(1), 44-50 (2010)

The voltage-gated proton channel Hv1 has two pores, each controlled by one voltage sensor. Neuron 58(4), 546-556 (2008)

The twisted ion-permeation pathway of a resting voltage-sensing domain. Nature 445(7127), 546-549 (2007)

59. ヒト脳における誘導運動知覚の神経相関

竹村浩昌

(2013.3.25)

我々の動きの知覚は，背景に存在する動きの情報によって大きく変わることが知られている。日常生活でも，空に浮かぶ月が，手前で動く雲と逆方向に動いて見えるような錯覚体験をすることがある。このような錯覚運動のことを「誘導運動 (induced motion; Duncker, 1929)」と呼ぶ。誘導運動は，視覚系に入力された動きの情報を，空間的に近傍の動きの情報と対比させるメカニズムの現れであると考えられ，そのようなメカニズムは動いてい

るオブジェクトを背景から抽出する上で重要な役割を果たしていると考えられている。マカクザルを対象とした電気生理学的研究では，MT 野におけるニューロン活動の特性と誘導運動の間に類似性があることが指摘されてきた。しかし，実際に主観的な誘導運動の知覚と，ヒト脳における神経活動がどのように関連しているのかは未だに明らかになっていない。そこで本研究では，誘導運動を知覚する際のヒト視覚皮質の活動を fMRI を用いて計測した。刺激周辺部には一定速度の運動刺激を，中心部には静止刺激または周辺と同方向・逆方向の様々な速さの刺激を呈示した。周辺刺激と逆方向に動き中心刺激の知覚速度が最大となる条件で，hMT+野は最大の応答を示した。一方，中心刺激の物理運動と周辺刺激のもたらす誘導運動が相殺して中心刺激が静止して見える条件で，hMT+野は最小の応答を示した。この特性は V1 野などの初期領野に比べ，hMT+野でより顕著であった。これらの結果は，hMT+野が誘導運動の生成に重要な役割をもつことを示唆する。

時間に余裕があれば，スタンフォード大学で現在行っている，拡散強調画像法 (Diffusion Weighted Imaging)を用いた，ヒト視覚皮質における白質神経束の測定に関するプロジェクトについても概要を発表したい。

60. Protein folding snapshots captured by cryo-EM

Dong-Hua Chen (National Center for Macromolecular Imaging, Baylor College of Medicine, Houston TX)

(2013.3.27)

The GroEL/ES chaperonin system is required for the assisted folding of many proteins. How these substrate proteins are encapsulated within the GroEL-GroES cavity is poorly understood. Using symmetry-free, single-particle electron cryo-microscopy, we have characterized a chemically modified mutant of GroEL (EL43Py) that is trapped at a normally transient stage of substrate protein encapsulation. We show that the symmetric pattern of the GroEL subunits is broken as the GroEL cis-ring apical domains reorient to accommodate the simultaneous binding of GroES and a non-native substrate protein (RuBisCO). The collapsed non-native RuBisCO binds to the lower segment of two apical domains, as well as the normally unstructured GroEL C-terminal tails. A comparative structural analysis suggests that the allosteric transitions leading to substrate protein release and folding involve concerted shifts of GroES and the GroEL apical domains and C-terminal tails.

【大学院特別講義】

大学院特別講義

1．第 154 回（2012.4.18）
演者：大脳皮質機能研究系・脳形態解析研究部門　田渕克彦　准教授
演題：シナプス成熟と自閉症：シナプス接着因子の役割

2．第 155 回（2012.5.16）
演者：大脳皮質機能研究系・大脳神経回路論研究部門　窪田芳之　准教授
演題：大脳皮質の抑制性細胞　―形態と機能―

3．第 156 回（2012.6.20）
演者：生体情報研究系・感覚認知情報研究部門　小松英彦　教授
演題：色と質感知覚の神経機構

4．第 157 回（2012.9.26）
演者：発達生理学研究系・認知行動発達機構研究部門　西村幸男　准教授
演題：ブレインコンピューターインターフェイスによる機能再建

5．第 158 回（2012.10.17）
演者：統合生理研究系・感覚運動調節研究部門　岡本秀彦　特任准教授
演題：ヒト聴覚信号処理

6．第 159 回（2012.11.7）
演者：大脳皮質機能研究系・脳形態解析研究部門　重本隆一　教授
演題：学習によるシナプスの機能変化とと受容体動態

7．第 160 回（2012.12.12）
演者：分子生理研究系・神経機能素子研究部門　立山充博　准教授
演題：G 蛋白質共役型受容体活性化過程の FRET 解析

8．第 161 回（2013.1.30）
演者：神経生物学領域・脳生物学研究部門　山森哲雄　教授　（基礎生物学研究所）
演題：大脳新皮質構築の分子機構

9．第 162 回（2013.2.20）
演者：発達生理学研究系・生体恒常機能発達機構研究部門　石橋　仁　准教授
演題：抑制性神経伝達のパッチクランプ法による解析

10. 第 163 回（2013.3.13）
演者：細胞器官研究系・生体膜研究部門　深田優子　准教授
演題：LGI1 変異によっておこるてんかんの分子病態の解明

生理学研究所年報　第３４巻

発　　行　　2013 年 12 月 25 日
編 集 者　　柿 木 隆 介
発 行 者　　自然科学研究機構
生 理 学 研 究 所
〒444-8585　岡崎市明大寺町字西郷中 38
電話〈0564〉55-7700
FAX〈0564〉52-7913
URL：http://www.nips.ac.jp/
印 刷 製 本　　株式会社　エニウェイ
〒171-0014　東京都豊島区池袋 2-19-3
万葉ビル 2F
電話〈03〉3988-5656