

## 第82回日本生理学会北海道地方会

日 時：平成14年9月7日（土）午前9時～午後4時

場 所：北海道大学医学部臨床講義棟第3講堂

当番幹事：北海道大学医学研究科統合生理学講座認知行動（生理学第2）福島菊郎

演 題 数：23題

北海道地方会は、第82回北海道医学大会生理系分科会として上記日程で行われた。一般演題17題、シンポジウム演題6題の計23題が提出された。このシンポジウムは、地方会の活性化を目指して、若手が、自分の研究の背景を含めて講演するもので、ここ数年継続している。当日、病気のためやむ終えず講演出来なかった1題を除き、60余名の参加者により、全体に活発な討論が行われた。次回の当番幹事は、北海道大学理学研究科行動知能講座である。

### 1. サルの輻輳眼球運動における奥行き視標と前庭回転の干渉刺激効果

佐藤史江<sup>1,2</sup>，赤尾鉄平<sup>1</sup>，Sergei Kurkin<sup>1</sup>，福島菊郎<sup>1</sup>  
 （<sup>1</sup>北海道大学大学院医学研究科統合生理学講座認知行動学分野，<sup>2</sup>リハビリテーション医学）

輻輳運動は奥行き方向にゆっくり動く視覚対象の追跡に必須であるが、その反応時間は遅く周波数応答特性も悪い。奥行き方向に動く対象物からの視覚情報を効果的に取り込むためには、反応時間と周波数応答特性の改善が必要である。一方、前額面での視標追跡に必要な滑動性眼球運動が前庭入力によってより早い潜時で運動を開始し、利得も増加する適応性の運動学習効果を表し、かつ前頭眼野領域の滑動性眼球運動ニューロンは輻輳運動にも応答するので（Fukushimaら2001, 2002）、今回われわれは前庭回転が、輻輳運動に適応学習効果を及ぼすかどうか調べた。視標追跡を訓練したニホンザル3頭を用いた。頭部を垂直回転装置に固定し、奥行き方向に正弦波状に前後移動するスポット視標を提示し、回転刺激と同期させた組み合わせ課題を訓練した。主に1.0Hzで60～90分間視標追跡訓練を行い、これを数日間繰り返すことによる訓練効果を、それぞれの刺激を単独で与えたときの応答と0.3～1.0Hzにおいて比較した。結果：視標刺激を単独で与えたときは奥行き視標の周波数が高くなるに従い、輻輳運動の利得が減少し位相遅れが増大した。干渉訓練により前庭刺激と視標刺激が同時に与えられているときの応答の位相遅れが減少し利得も上昇した。2頭では完全暗室下で垂直回転のみにより輻輳運動が誘発された。以上の結果から前庭入力は輻輳運動に対して適応学習効果をもたらすことが示唆される。

### 2. ニホンサル前頭眼野後部領域における滑動性眼球運動と輻輳運動信号の線形加算

福島菊郎<sup>1</sup>，赤尾鉄平<sup>1</sup>，佐藤史江<sup>1,2</sup>，Sergei Kurkin<sup>1</sup>，福島順子<sup>3</sup>  
 （<sup>1</sup>北海道大学大学院医学研究科統合生理学講座認知行動，<sup>2</sup>リハビリテーション医学，<sup>3</sup>医療短大理学療法学科）

3次元空間をゆっくり動く視標の追跡に滑動性眼球運動と輻輳運動が必要である。これらは異なるシステムとして脳内経路も異なり、脳幹の最終出力の段階で両眼球運動指令が統合されることがこれ迄報告されてきた。前回私たちは前頭眼野後部領域の滑動性眼球運動ニューロンの大多数は輻輳運動にも応答することを明らかにし、両眼球運動の統合がすでに前頭葉で起こることを示した。この統合原理を調べるため個々のニューロンについて両眼球運動が要求される視標追跡課題中の応答を、個々の眼球運動課題の応答と比較した。視標刺激はサルの左右眼前の液晶シャッターとコンピューターグラフィクスを用いて仮想視標により行った。滑動性眼球運動と輻輳運動の両者に応答した前頭眼野後部領域ニューロンについて、前者の最適方向が水平の場合は正中面での左右眼の対称性輻輳運動と、左右いずれかの眼の前方で非対称性の輻輳運動中の応答を比較した。最適方向が水平以外の場合は、その方向と輻輳運動から推定される奥行き方向の非対称性の輻輳運動中の応答を、個々の眼球運動応答と比較した。結果：滑動性眼球運動の最適方向が水平の場合も水平以外の場合も、滑動性眼球運動と輻輳運動の両者が要求される課題中の応答は、個々の眼球運動課題の応答の、ほぼ線形加算によって説明できた。従って前頭眼野後部領域は両眼球運動成分の加算により、3次元空間に対する眼球運動信号をコードすると解釈できる。

### 3. サル前頭前皮質ニューロンによる空間性行動反応と結びついた報酬情報の再現

辻本悟史, 澤口俊之 (北大・機能分子・CREST, JST)  
直前の行動反応とその結果を結びつけることは, 行動制御に重要である。これまでに, 前頭前皮質 (PFC) が方向性のある動作制御と報酬情報処理に関与することが示されてきた。本研究では, 「PFCのニューロン過程が, 空間性行動反応の結果 (報酬有無) を再現する」という仮説をたてた。これを検証するため, 眼球運動遅延反応 (ODR) 課題に, 反応後すぐに報酬が与えられる条件と, すぐには与えられない条件を設け, 結果 (報酬有無) が予想できないようランダムにした。両条件とも反応後その位置を注視していると (F2期, 2秒), 報酬が得られる。さらに, 同様の2条件を持つ注視 (FIX) 課題も訓練した。この課題では, 注視点を注視することのみが要求された。この課題を遂行中のサル背外側PFCから単一ニューロン活動を記録し, F2期の活動に注目して解析した。その結果, 104個のニューロンがODR課題で報酬有無によって異なる活動を示し, かつ反応方向にも影響され, 空間チューニングを示した。これらのニューロンは, FIX課題では, 方向選択性を持たなかった。すなわち, 観察された方向選択性は, 注視の位置ではなくサッカードと結びついていた。これらの結果は, PFCの一部のニューロン群が反応結果 (行動反応と結びついた報酬有無) を再現することを示唆する。このようなニューロン群は, 空間性行動の制御や学習に重要な役割を持つかもしれない。

### 4. ドーパミンD1受容体活性化によるサル前頭前皮質コラム活動の増強

平田快洋, 澤口俊之 (北海道大院・医・機能分子)  
霊長類の前頭前皮質 (PFC) は, 選択的注意やワーキングメモリなどの認知機能に重要な役割を担っている。従来の解剖学的研究で, PFCがコラム状の構造を持つことが示されてきた。また, PFCにはドーパミンとそのD1受容体が豊富に含まれており, D1受容体がPFCの担う認知機能を修飾することが示されている。しかしながら, これまでPFCにおけるコラム構造とドーパミンによる修飾の関係は明らかにされていない。本研究では, D1受容体活性化がコラム活動に及ぼす影響をサルPFCのスライスにおいて光学的に測定・解析した。主溝周辺領域から組織ブロックを採取し, 厚さ400 $\mu$ mのスライスを作成した。その後, 膜電位感受性色素 (RH155) により染色し, 光学測定システムを用いて吸光変化として膜電位由来のシグナルを検出した。その結果, 1) 皮質第IV層を電気刺激すると, 皮質に垂直で一定幅を持ったコラム状の光学シグナル変化

が現れること, 2) ドーパミンD1受容体アゴニスト (SKF38393) の添加は, コラム幅に影響を与えることなく興奮性シナプス伝達を増強すること, がわかった。これらの結果から, D1受容体活性化は隣接するコラムに影響を与えることなく, 活性化されたコラム内でのみシナプス伝達増強を起こすことが示唆される。

### 5. ザリガニ眼柄姿勢の中枢性補償機構

藤澤賢一, 高畑雅一 (北大・院理・生物科学専攻・行動知能)

甲殻類では, 平衡感覚器が脱皮毎に作り替えられるため, 左右の感覚入力もそのつど脳内で補正される。実験的に片側平衡石を除去すると, 眼柄は水平位置で左右非対称姿勢を示すが, 数週間後, 対称姿勢を回復する (中枢性補償)。今回は, 同定細胞のNGI (Nonspiking Giant Interneuron) の膜性質・シナプス活動が姿勢回復過程でどのように変化するかを調査した。NGIは, 眼柄姿勢制御系での前運動性ニューロンである。NGIの入力抵抗・膜時定数は, 除去後の回復個体では, 平衡石除去側でのみ有意に増加した。未回復個体では, 除去側で膜時定数のみが増加した。NGIが示す脱・過分極性の自発的シナプス活動の振幅・半減時間を除去前後の回復過程で計測した結果, 膜性質の変化と関連した有意な変化は認められなかった。しかし, シナプス活動の頻度は, 平衡石の除去直後に, 除去反対側で脱分極性活動が有意に増加するとともに, 過分極性活動が減少した。14日後に回復した個体では, 反対側で脱・過分極性活動が正常状態に回復したが, 未回復個体では過分極性活動のみの回復に止まった。除去側では, 平衡石除去直後も14日後も有意な変化は認められなかった。これらの結果は, 中枢性補償のメカニズムがNGIの前シナプス経路に存在することを示すとともに, NGIの受動性質の変化がNGIへの入力減少を補償する機能的意義を持つことを示唆する。

### 6. 神経情報コーディングにおける入力変動の効果

山野辺貴信<sup>1</sup>, K. Pakdaman<sup>2</sup> (<sup>1</sup>北大統合生理認知行動学, <sup>2</sup>フランス国立衛生医学研究所ユニット444)

ノイズは神経系における情報処理を妨げるものと考えられてきた。しかしながら, この考え方に反するいくつかの興味深い実験結果が報告されている。

#### 【単一神経細胞応答の線形化】

ランダムな入力 that 神経細胞の応答を線形化すること, すなわち, 神経細胞の出力発火頻度が興奮性 (抑制性) 入力の頻度の増加とともに減少 (増加) する逆説的応答が, 入力変動の増加とともに消失する。

### 【発火タイミングの信頼性向上】

入力変動が大きくなると内在性のノイズがあるにも関わらず1つの入力に対し同じ発火タイミングの出力スパイク列が対応するようになる。

これらのランダムな入力の効果を調べるために我々は確率的に入力間隔が変動するパルス列入力に対する神経細胞モデルの応答を解析した。本研究では確率論および力学系理論を用い線形化のメカニズムと発火タイミングの信頼性向上のメカニズムを示す。

## 7. 延髄大縫線核 GABA ニューロンによる呼吸性ニューロン発射抑制は GABA<sub>A</sub> レセプターを介する

青木 藩, 松山清治 (札幌医大・医・第二生理)

【背景】我々はこれまでに、ネコの延髄大縫線核 (NRM) を微小電気刺激又はグルタメートの化学刺激により延髄および上部頸髄呼吸性ニューロンの発射活動が抑制される事を明らかにしてきた。【目的】今回この抑制効果に GABA<sub>A</sub> 又は GABA<sub>B</sub> レセプターのどちらが関与しているかについて検討した。【方法】ネコ延髄の腹側呼吸性ニューロン群 (VRG) の吸気性ニューロン又は上部頸髄 (C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>) の吸気性ニューロン (UCIN) 発射を多連電極の1本にカーボン線を封入した電極を用いて細胞外記録した。一方、脳定位固定装置を用い、NRM (P<sub>6</sub>-P<sub>8</sub>) に金属微小電極を刺入し、微小電気刺激 (20-50 μA, 50Hz) を加え、VRG の吸気性ニューロン又は UCIN 発射を抑制した。この時、多連電極のガラスピペットから GABA<sub>A</sub> 又は GABA<sub>B</sub> レセプターの拮抗薬の Biucuculline 又は 2-Hydroxysaclofen をそれぞれイオンフォレーションで投与し、抑制効果が拮抗されるかどうかを調べた。【結果】VRG および UCIN ニューロンのほとんどが Biucuculline 投与で選択的に抑制が拮抗された。他方、2-Hydroxysaclofen の投与はほとんど効果がなかった。【結論】これらの成績から NRM ニューロン刺激の抑制効果は主として GABA<sub>A</sub> レセプターを介する作用によるとみなされた。

## 8. 呼吸中枢ニューロン及び横隔膜運動ニューロンへの大脳性入力

藤戸 裕, 青木 藩 (札幌医大・医・第二生理)

呼吸運動は自律性リズム運動であるとともに随意的にも制御される。呼吸運動の随意性制御のために、呼吸中枢ニューロンおよび呼吸筋運動ニューロンへの大脳運動野からの入力が考えられる。本研究では呼吸性ニューロンへの随意的制御に関わる大脳性入力の接続様式を調べるため、延髄腹側呼吸性ニューロン群 (VRG) の吸気性ニューロン、上部頸髄吸気性ニューロン (UCIN) 及び横隔神経 (Phr.

n) の活動に対する大脳脚刺激の効果を調べた。実験動物としてネコおよびラットを用い、ネブタール麻酔下に筋弛緩剤で不動化し、人工呼吸で維持した。双極刺激電極を Phr. n 記録側より対側の大脳脚に刺入した。VRG, UCIN ユニット活動および横隔膜神経活動を記録した。また VRG ニューロンの細胞内記録を行った。ネコでは、大脳脚の単発刺激は比較的短潜時 (3~4ms) の促通とそれに続く抑制効果を UCIN ユニット活動および Phr. n に与えた。大多数の VRG ユニット活動は大脳脚刺激により促通を受けた。また脊髄に軸索投射する VRG ニューロンに IPSP が誘発された。大脳性入力は呼吸中枢活動を主に抑制し、横隔神経への大脳性興奮は直接もしくは上部頸髄経由で入力することが示唆された。ラットでは、大脳脚単発刺激は VRG ユニット活動と Phr. n 活動を主に抑制した。

## 9. 腰髄 VIII 層交連細胞機構の軸索投射及び細胞形態の多様性

松山清治, 小林 卓, 青木 藩 (札幌医大・医・第二生理)

【目的】脊髄 VIII 層の交連細胞群は左右肢間の交互歩行リズム運動の発現・形成に重要な役割を果たす。本研究では VIII 層交連細胞機構の構築様式を解明することを目的とした。【方法】麻酔ねこの腰髄内に記録及び神経トレーサー注入用の2連ガラスピペットを刺入し、大腿四頭筋支配神経刺激で誘発されるフィールド電位記録をもとに前角 VIII 層を同定した。この部位に Biotinylated dextran amine (BDA, 濃度 20%) を微量 (5-10nl) 圧注入した。2-4 週間後に動物を灌流固定し、腰仙髄部 (L3-S2) の連続横断切片 (厚さ 50 μm) を作製し、BDA 陽性線維及び細胞を可視化した。【結果】BDA 順行性標識された交連軸索群は前交連を通過し対側の前索背側部に侵入した。これらの約半数は前索を上行または下行し、主に対側前角 VIII-VII 層に投射した。残りの軸索群は上・下行するにつれて前索から側索へ移動し、主に後肢筋運動ニューロン層 (IX 層) に投射した。一方、逆行性標識された VIII 層交連細胞は直径が 20-50 μm, 形状が紡錘~多極型と様々であった。標識細胞の多くは樹状突起を前角の広範囲に伸ばし、さらに一部の細胞は前索内にも伸ばした。以上の成績より、腰髄交連細胞機構は多様な軸索投射及び細胞形態を持つ細胞群から構築されることが示された。

## 10. 海馬の抑制性シナプス伝達におけるベンゾジアゼピンの効果の領域差

小林 卓, 藤戸 裕, 松山清治, 青木 藩 (札幌医大・医・第二生理)

【背景】我々はこれまでにベンゾジアゼピン系薬物の一種であるミダゾラムの抑制性シナプス後電位増強作用にラット海馬内で領域差が存在する事を報告してきた。【目的】本研究では、ミダゾラムの作用の領域差から強く存在が推測される海馬の各領域間における抑制性シナプス伝達の生理学的性質の相違性に注目し、電気生理学的・薬理的解析を行った。【方法】約2-4週齢のWistarラットより作製した海馬スライス標本にパッチクランプ法を適用し、CA1-錐体細胞 (CA1-PC), CA3-錐体細胞 (CA3-PC), 歯状回-顆粒細胞 (DG-GC) における抑制性シナプス後電流 (IPSC) を測定した。【成績】CA1-PC, CA3-PCでは、ミダゾラム (0.3, 1, 10, 75  $\mu$ M) の投与により濃度依存的にIPSCの振幅が増大したが、DG-GCでは変化しなかった。CA1-PCおよびCA3-PCとDG-GCとの間にはミダゾラムのIPSCの修飾作用に有意差があった。【結論】これらの成績は、海馬CA1およびCA3とDG領域間の抑制性シナプス伝達に対するミダゾラム作用の相違性を明確に示し、各領域間の抑制性シナプスにおいてGABA<sub>A</sub>受容体の異なるサブタイプが存在することを示唆した。

### 11. 脳内電気刺激による神経活動に伴う局所脳血流変化

赤池 忠<sup>1</sup>, 鎌田 勉<sup>1</sup>, 村井恵良<sup>1</sup>, 根本正史<sup>2,3</sup>, 田村守<sup>2</sup> (<sup>1</sup>北大口腔機能 (口腔生理), <sup>2</sup>電子研超分子分光, <sup>3</sup>UCLA ニューロイメージ)

【目的】大脳を直接電気刺激して神経活動をおこし、とそれに伴う血流変化を光学計測して、神経活動中の毛細血管・細動脈・細静脈でのオキシ・デオキシHbの時間変化を調べる。【材料と方法】オスWistarラットを麻酔・不動化して高酸素濃度で人工呼吸した。神経活動は電場電位記録や、電位感受性蛍光色素 (RH795) で染めて光学記録により調べた (Deltaron 1700)。また血流変化は577, 605, 585nm (それぞれオキシ, デオキシ優位また等しい呼吸波長) の光で大脳皮質を照射し反射光を記録した。【結果】初期血流変化は、まず神経活動に伴う605nmの増加があり577nmの減少は認められなかった。刺激強度と血流反応の「エリアの広さ」の間に相関関係があった。神経活動と血流反応のエリアとは必ずしも一致しなかった。【結論】神経活動に伴いデオキシは増加し、これは毛細管が拡大しCBVが増加した事による。続いて細動脈でのCBFの増大によりオキシの増加が起り、細静脈でオキシの増大がおこる。

### 12. $\beta_{2c}$ サブユニットを用いて再構成されたL型Ca<sup>2+</sup>チャネルの単一チャネル動態

鎌田康宏<sup>1,2</sup>, 山田陽一<sup>1</sup>, 筒浦理正<sup>1</sup>, 関 純彦<sup>1,2</sup>, 山藤道明<sup>2</sup>, 並木昭義<sup>2</sup>, 當瀬規嗣<sup>1</sup> (<sup>1</sup>札幌医大第一生理, <sup>2</sup>札幌医大麻酔科)

L型Ca<sup>2+</sup>チャネルは心筋の興奮-収縮連関において重要な役割を果たしている。近年、このチャネルの分子構造の解明が進み、特に $\beta$ サブユニットはCa<sup>2+</sup>チャネルの発現の促進などに重要であると考えられている。これまで、ラット心筋の $\beta$ サブユニットは、 $\beta_{2a}$ サブユニットであると報告されていたが、機能・構造両面からの詳細な検討は行われていなかった。最近我々はラットの心臓より、新しい $\beta$ サブユニットをクローニングし ( $\beta_{2c}$ サブユニット)、これがラットの心筋に発現し機能している $\beta$ サブユニットであると報告した。そこで、今回我々は $\beta_{2c}$ サブユニットによって再構成されたチャネルのsingle-channel記録を行い、ラット心筋のL型Ca<sup>2+</sup>チャネルにおける $\beta_{2c}$ サブユニットの機能について検討した。ラット心筋由来の $\alpha_{1c}$ サブユニット、 $\alpha_{2\delta}$ サブユニットとともにラット脳由来の、ラット心筋由来の $\beta_{2c}$ サブユニットを一過性に発現させたCOS-7細胞のCa<sup>2+</sup>チャネルとラットの単離心筋のそれとを比較検討した。 $\beta_{2c}$ での加算平均電流は不活性化を示すのに対し、 $\beta_{2a}$ サブユニットでは不活性化が観察されなかった。単一チャネルキネティクスでは、 $\beta_{2c}$ サブユニットを含んだものは、 $\beta_{2a}$ サブユニットを含んだものに比し、開状態で速い時定数を示し、これは単離心筋で記録されたものと同等であった。

### 13. ラット心筋細胞の発生期における一過性カリウム電流の増大の機序について

小林武志<sup>1,2</sup>, 山田陽一<sup>1</sup>, 長島雅人<sup>1</sup>, 関 純彦<sup>1</sup>, 筒浦理正<sup>1</sup>, 伊藤克礼<sup>3</sup>, 濱田洋文<sup>3</sup>, 安倍十三夫<sup>2</sup>, 當瀬規嗣<sup>1</sup> (<sup>1</sup>札幌医大第一生理, <sup>2</sup>札幌医大第二外科, <sup>3</sup>札幌医大分子医学)

ラット心筋細胞において一過性カリウム電流 ( $I_{to}$ ) は出生後に急速に増大することが報告されているが、責任遺伝子として考えられているKv4.2のmRNA発現量はわずかに増加する程度であり、その発現機構について不明な点が多い。最近KChIPs (Kv channel-interacting proteins) が発見され、再構成系においてKv4.2/4.3の電流を増加させるとの報告がなされた。我々は発生期における $I_{to}$ の変化がKv4.2ではなくKChIP2 (心筋細胞で優位に発現しているとされるKChIPsの一つ) の変化に依存しているのではないかと考え、Kv4.2とKChIP2のmRNAの発現量の変化を定量PCRにて測定した。胎生期から新生児期を通じてKv4.2のmRNA量は殆ど変化しなかったが、KChIP2のそれは著明に増大していた。この事によりKv4.2は発現して

いるが $I_{10}$ はほとんど観察されない胎生12日目の細胞にKChIP2のみを導入すると $I_{10}$ を再現することが可能ではないかと予想できた。そこでアデノウイルスを用いてKChIP2のみを導入させたところ通常では観察し得ないほど大きな $I_{10}$ を観察することができた。これらの知見から、発生期のラット心筋細胞ではKChIP2が増加してゆくに従い $I_{10}$ が増加していると思われた。

#### 14. 動脈誘導因子 ephrinB2/EphB4 のラット心筋での検討

小山富康 (元北大電子研)

【目的】胎生期、腫瘍組織での血管形成には、出芽した動脈の内皮細胞がそれぞれ ephrinB2, EphB4 を発現し、前者がリガンド、後者が受容体として結合するとき新血管が成立すると云う。ラット心筋においてもこれらの因子が発現するか否かを検討した。【方法】4, 7, 15週齢の雄性ウイスターラットに生理的食塩水を0.3ml, あるいはヴァソプレッシン (VP) を注射量が2IU/kgとなるように溶かした生理的食塩水0.3mlを尾静脈に一回注入した。これは心電図の一過性虚血変化を惹起し、1ヶ月後に毛細血管密度を有意に上昇させる量である。2, 4日後瞬間断頭により犠牲死させて心臓を採取し、ephrinB2とEphB4ポリクロナール抗体を用い定法により免疫抗体染色した。陽性対照として人乳癌組織も染色した。【結果】陽性対照では多くの輪状の染色斑が見られた。しかし4週齢, 7週齢ラット心筋で僅かな輪型染色斑が見られるにすぎず、15週齢ラットでは全く見いだせなかった。VP静注ラットにも増加の傾向はなかった。【考察】VP静注は血管新生因子であるVEGF, bFGFを増加させた。ephrinB2とEphB4はVEGFの下流にあるとも言われているので、今回の結果は予想外であった。両因子とも成獣の心筋組織では僅かに発現しているに過ぎないと推察する。最後に北大医第二病室の御好意に感謝する。

#### 15. bHLH転写因子遺伝子 *DEC1*, *DEC2* の発現リズムとサーカディアン機構における役割

本間さと<sup>1</sup>, 高木由美子<sup>1</sup>, 河本 健<sup>2</sup>, 藤本勝巳<sup>2</sup>, 能城光秀<sup>2</sup>, 加藤幸夫<sup>2</sup>, 本間研一<sup>1</sup> ( <sup>1</sup>北海道大学医学研究科・統合生理学講座・時間生物学, <sup>2</sup>広島大学医歯薬総合研究科・探索医科学講座・口腔生化学 )

bHLH型転写因子DEC1, DEC2は、E-boxエンハンサーに結合し、下流の遺伝子発現を調節することができる。そこで、サーカディアンリズム発振におけるDECの機能を検討した。【方法】時計遺伝子*Per1*上流の3E-box配列を含むコンストラクトをTK promoterと共にpGL3に挿入

し、NIH3T3細胞に遺伝子導入してルシフェラーゼアッセイを行い、CLOCK/BMAL1による*Per1*転写促進への効果を検討した。また、成熟ラットのSCNとその他の脳組織におけるDEC発現を定量的*in situ* hybridization法により測定した。【結果】DEC1, DEC2は共にCLOCKとBMAL1によるE-boxを介する転写活性の上昇を用量依存的に抑制し、その程度はPER1, 2, CRY1, 2による抑制よりも強かった。SCNにおける*DEL1*発現には、朝に、また*DEC2*発現には昼にピークをもつ明瞭なサーカディアンリズムがあり、明暗サイクルと連続暗でリズムパターンに有意差がなかった。大脳皮質、梨状葉などの脳組織でも両遺伝子発現にはSCNとは逆位相のサーカディアン変動がみられた。【考察】*DEC1*, *DEC2*は、時計遺伝子の転写調節フィールドバックループにおける調節因子であること、SCNおよび末梢組織において発現にリズムがあることから、両遺伝子はサーカディアンリズム発振に重要な役割をもつ遺伝子と考えられる。

#### 16. ヒスタミン合成酵素欠損マウスの行動と脳内時計遺伝子発現のサーカディアンリズム

安倍 博<sup>1</sup>, 本間さと<sup>1</sup>, 大津 浩<sup>2</sup>, 本間研一<sup>1</sup> ( <sup>1</sup>北大・時間生物, <sup>2</sup>東北大・細胞薬理 )

ヒスタミンの体内時計機構における役割を明らかにする目的から、ヒスタミン合成酵素 histidine decarboxylase (HDC) 遺伝子欠損マウス (HDC<sup>-/-</sup>) の行動と脳における時計遺伝子発現リズムを検討した。HDC<sup>-/-</sup>マウスと野生型マウスの行動リズムを明暗条件下 (LD) と恒暗条件下 (DD) で記録した。LDとDDの6位相でマウスを断頭し、脳の視交叉上核 (SCN) およびそれ以外の脳部位 (大脳皮質など) における時計遺伝子 *mPer1*, *mPer2*, *mBMAL1* mRNA を *in situ* hybridization 法により測定した。行動リズムは、HDC<sup>-/-</sup>では野生型にくらべ、1) LDおよびDDでの1日の活動量が少ない、2) DDでのフリーラン周期が長い、などの違いがあった。時計遺伝子リズムは、SCNでの発現リズムに違いはなかった。しかし、*mPer1*と*mPer2*について、SCN以外の脳部位では、HDC<sup>-/-</sup>で発現リズムがで消失または振幅が減弱した。これらのことから、ヒスタミンは、体内時計機構において、リズムの行動出力系に関連し、行動系からSCN振動体へのフィードバックに関与する可能性が示唆された。

#### 17. ラット新生仔の時計遺伝子発現リズムの発達に対する母ラット保育行動の影響

太田英伸, 本間さと, 安倍 博, 本間研一 (北大・時間生物)

【目的】母ラット保育行動がラット新生仔生物時計に対して影響するか否かを、新生仔視交叉上核で発現している時計遺伝子 *rat Period1/Period2* mRNA のリズムを指標として評価した。【方法】6-18時が明期、18-6時が暗期のLD条件下の母ラットより出生した新生仔を対象とし、生後0日より以下の3つの保育環境にて飼育を開始した：1) 眼球摘出を行わず明暗条件がLDの母ラット (LD母ラット) にて保育 (LD非盲目新生仔)、2) 眼球摘出を行いLD母ラットにて保育 (LD盲目新生仔)、3) 眼球摘出を行いDL母ラット (6-18時が暗期、18-6時が明期) にて保育 (DL盲目新生仔)。3グループの新生仔視交叉上核における *rat Period1/Period2* のサーカディアンリズムを生後1・2・3週目に *in situ* hybridization 法にて評価した。【結果・考察】生後1週目において、母ラットの保育行動のみが違うLD非盲目新生仔とDL盲目新生仔間に *rat Period1/Period2* のリズム位相の違いを認め、母ラットの保育行動がラット新生仔生物時計に対して影響することが明らかになった。また、母ラットの保育行動の影響力は発達段階によって異なることが示唆された。

### 若手シンポジウム1.

昆虫の死にまねにおける筋緊張制御  
西野浩史 (北大・電子研・神経情報)

動物の中にはとり押さえられると突然凍りついたように身動きひとつしなくなるものがあり、この行動は一般的に死にまねと呼ばれている。この行動は無脊椎動物から高等脊椎動物に至るまで動物界に広くみられるがその神経機構についてはほとんど分かっていない。著者はフタホシコロギの肢を拘束すると死にまねがおこり屈曲姿勢を数分間維持し続けることを見だし、その神経機構を調べてきた。本研究では死にまね中の筋肉の緊張状態がどのように制御されているのかを明らかにするため、後肢脛節を屈曲させる筋肉を支配する運動ニューロンの支配様式とそのスパイク活動パターンについて調べた。蛍光性色素の逆行性注入により運動ニューロンは後胸神経節に由来し、約15個程度存在すること、これらの運動ニューロン群はいくつかの組み合わせで4本の運動神経に軸索を送り込み、筋肉を局所支配することがわかった。また、脛節末梢にある補助屈筋が脛節の屈曲維持に大きく寄与していることがわかった。脛節屈筋に極細絶縁銅線を刺入し、各運動神経に接触させることで自由行動下での細胞外記録を行ったところ、死にまね中はfast typeの大きな興奮性運動ニューロンの活動が停止し、slow typeの小さな興奮性運動ニューロンのみが持続的に活動していた。また抑制性の運動ニューロンの活動が死にまね中に特異的に抑制され、筋緊張の保持に寄

与していることがわかった。

### 若手シンポジウム2.

Myosin VIの細胞における機能について

長島雅人<sup>1</sup>、池辺光男<sup>2</sup>、當瀬規嗣<sup>1</sup> (<sup>1</sup>札幌医大・第一生理、<sup>2</sup>マサチューセッツ州立大学・生理)

Unconventional myosinの一つであるmyosin VIのendocytosisへの関与の有無を検討するため、種々の dominant negative constructsとwild type myosin VIをCos7細胞とHepG2細胞に強制発現させた。遺伝子が発現している細胞の鑑別と同時にmyosin VIの細胞内分布を検討するためにmyosin VI分子はN末をGFPで標識した。作成した dominant negative constructsは以下の3つである。1. MVIK210Q: ATP結合能がなく、そのためmotor proteinとしての機能が消失している。2. MVI $\Delta$ MD: motor domainはないが、coiled-coil構造以降の尾部を含むもの。3. MVI tail: 球状尾部構造のみのもの。Endocytosisへの影響は、Texas-redで標識されたtransferrinとEGFの細胞内への取り込みによって評価した。Cos7細胞に強制発現させたGFP-wild myosin VIは特に核近傍と細胞膜付近に強い分布を示した。またGFP-MVIK210Qとの間に明らかな分布の差異は認めなかった。

Transferrinはmyosin VI遺伝子非発現細胞やwild myosin VIを発現させた細胞においては核近傍への収束反応を示した。しかしながら、dominant negative constructsを発現させた細胞においてはこの収束反応は阻害された。一方EGFの取り込み反応はdominant negative constructsによって影響を受けなかった。

以上の結果より、myosin VIがendocytosisのプロセスの一部に関与していることが強く示唆された。

### 若手シンポジウム3.

モデル動物を使ったヒト睡眠覚醒リズム形式メカニズムの解明：睡眠覚醒脳波とカテコールアミン代謝の役割

遠藤拓郎、本間さと、本間研一 (北大・医・統合生理)

ヒトの睡眠覚醒リズムは、隔離環境下における視交叉上核リズムからの脱同調など、他の実験動物には認められない特徴がある。メタンフェタミン (MAP) 慢性処置ラットは行動上ヒトの睡眠覚醒リズムに類似したリズムを示す。本研究では、MAP慢性処置ラットの睡眠覚醒構造を調べ、ヒトとの類似性を検証し、カテコールアミン代謝を調べることにより、その神経機構の解明を試みた。LD12:12で飼育したラットに、MAPを飲水に溶かし経口投与を行った。脳波・筋電測定を行い、睡眠段階および脳波のパワー値を測定した。また、高速液体クロマトグラ

フィーにて側坐核、尾状核・被殻のドーパミンとその代謝物 (DOPAC, HVA) の測定を行った。MAP 慢性処置により睡眠と覚醒が集約化し、一日一度、長い睡眠と覚醒が出現した。覚醒時には10Hzのパワー値が増加し、2Hzのパワー値は入眠直後に最高値に達しその後指数関数的に減少するなどヒト類似の変化を示した。また、ドーパミン代謝物は無処置群では活動初期に高値を示しその後漸減するのに対し、慢性処置群では休息中期に高値を示しその後漸減した。MAP 慢性投与によりヒト型睡眠覚醒構造を示し、その形成にドーパミン系神経機構の関与が示唆された。

#### 若手シンポジウム 4.

##### 筋緊張の生理学と病態生理

高草木薫, 斎藤和也, 坂本尚志 (旭川医大・第二生理)  
我々の運動には絶えず適切な筋緊張の変化が随伴している。また、「驚いたり」、「緊張したり」、我々の情動や感情の変化にも筋緊張の変化が伴っており、情動行動の表出に重要な役割を演じている。しかしながら、我々の注意や意識が目的とする運動や情動・感情の変化に注がれることはあっても、筋緊張の変化に注意が注がれることは殆どない。ところが、脳卒中、脳性麻痺、パーキンソン氏病、舞踏病、レム睡眠時異常行動症候群、ナルコレプシー、小脳疾患、統合失調症 (精神分裂病)、これらの神経疾患の背景には筋緊張の異常が出現し、「筋緊張」は厄介な形で神経学者のみならず多くの人々の関心を引き付けることになる。このシンポジウムでは、最近の研究成績をもとに、特に大脳基底核疾患の運動障害に伴随する筋緊張異常の病態生理機序を考察した。

大脳基底核は視床・大脳投射系 (大脳皮質—基底核ループ) を介して注意や緻密なコントロールが必要な随意運動を制御する。一方、大脳基底核は脳幹への直接投射系 (基底核—脳幹系) を介して随意運動に伴随する筋緊張レベルや姿勢反射、そして歩行運動など自律的・自動的な運動を制御することを私どもは明らかにしてきた。大脳基底核はその出力核である淡蒼球内節や黒質網様部からの GABA 作動性投射による強力な抑制作用とその脱抑制により target とする神経機構の活動を制御する。従って、大脳基底核からの抑制出力の強さは target とする大脳皮質および脳幹の神経細胞の活動自由度を規定することになる。

パーキンソン病における基底核の抑制出力の亢進状態は随意運動の減少や意思発動の低下をもたらす (運動減少) と共に、脳幹・脊髄に存在する歩行運動実行系や筋緊張抑制系を抑制し、歩行障害や筋緊張の亢進を誘発すると考えられる。一方、ハンチントン舞踏病における基底核出力の低下は大脳皮質からの運動指令の増加と筋緊張抑制系の活

動を増加させ、運動亢進と筋緊張低下を誘発する可能性がある。即ち、大脳基底核疾患の運動障害の背景には大脳皮質—基底核ループだけでなく、基底核—脳幹系による筋緊張調節系の機能障害が存在すると考えられる。さらに基底核—脳幹系による筋緊張の調節機構は、レム睡眠時異常行動症候群やナルコレプシーなどの睡眠障害や統合失調症などの精神障害など、大脳基底核の機能異常が推定されている疾患における筋緊張異常の発現に関与する可能性がある。

#### 若手シンポジウム 5.

視覚・運動変換におけるサル前頭前皮質のニューロン活動の報酬依存性

雨森賢一, 澤口俊之 (北大・機能分子・CREST JST)

報酬予測に基づき行動制御が行われるという観点から、視空間性ワーキングメモリ過程における視覚情報から運動情報への変換について議論する。はじめに、報酬情報をどのように用いることで、行動生成が行われるかを議論するための作業仮説として、強化学習モデルを概説する。強化学習モデルでは、選択した行動によって獲得される報酬量を予期的にコードすることで、行動選択を行う。すなわち、どの行動がどれくらいの価値を保持するかという行動価値関数に基づいて、最大の報酬を獲得する行動の選択が行われる。つぎに、報酬情報と行動制御にも関わっていると考えられる、サル前頭前皮質 (PFC) のニューロン活動記録の予備的な報告を行う。PFC では、視覚情報の認知的な統合を経て行動生成に至る、一連の過程をコードするニューロン群が存在すると考えられている。この視覚・運動変換過程を分析するために、眼球運動方向を遅延期間中に教示する眼球運動遅延反応課題を採用した。この課題では、手がかり刺激の示す視空間方向と同じ方向にサッカードを要求する順方向ルールと、逆方向にサッカードを要求する逆方向ルールを、遅延期間中に提示することで、手がかり刺激の視空間情報と眼球運動方向の保持を区別することを試みている。PFC ニューロンの保持する情報の分類の後、このニューロン活動が、与えられる報酬量に依存してどのような変化を見せるかについて議論する。

#### 若手シンポジウム 6.

サッカード眼球運動は小脳性運動学習よりも下流の運動信号をもちいて計画される

田中真樹 (北大・認知行動)

運動を計画するためには現在自身がおこなっている行動を正確にモニターする必要がある。急速眼球運動 (サッカード) がこの系におけるどのレベルからの上行性信号を使

って計画されるのか、適応学習課題をもちいた行動実験によって調べた。

眼前のモニターに視覚刺激を提示し、それを注視するようにサルを訓練した。視標に向かうサッカードの最中にその視標を一定方向に動かすと、数百回の試行でサッカードの振幅に適応性の変化が生じた。この学習の前後で2種類の課題における眼球運動を比較した。ダブルステップ課題では、固視点の消えた直後に2つの視標が連続して短時間提示される。サルは提示された順番で視標の位置にサッカードを2回おこなわなければならない。このとき2番目のサッカードは視標の位置から最初のサッカードを引いたも

のとして計算される。再固視課題では視標に向かうサッカードの最中に視標を消し、サルは最初のサッカードの終了後、もとの固視点に向かって記憶誘導性にサッカードをしなくてはならない。このとき、固視点のあった位置に向かうサッカードはその直前のサッカードと反対向きのベクトルとして計算される。1番目のサッカードを学習課題によって変化させたところ、いずれの課題においても2番目のサッカードの振幅が変化した。このことは運動学習に関与すると考えられる小脳よりも下流から発した運動信号が上行性に伝えられ、サッカードの計画に使われることを意味する。