

生理学第一

1 構成員

	平成19年3月31日現在
教授	1人
助教授	0人
講師（うち病院籍）	0人（0人）
助手（うち病院籍）	2人（0人）
医員	0人
研修医	0人
特別研究員	0人
大学院学生（うち他講座から）	5人（1人）
研究生	0人
外国人客員研究員	0人
技術職員（教務職員を含む）	1人
その他（技術補佐員等）	0人
合 計	9人

2 教員の異動状況

福田 敦夫（教授）（H10. 4. 1～現職，H10. 10. 1 H18. 3. 31 静岡大学大学院電子科学研究科兼任）

岡部 明仁（助手）（H11. 4. 1～H18. 9. 14）

井上 浩一（助手）（H14. 4. 1～現職）

熊田 竜郎（助手）（H17. 6. 15～現職）

3 研究業績

数字は小数2位まで。

	平成18年度
(1) 原著論文数（うち邦文のもの）	3編（0編）
そのインパクトファクターの合計	18.08
(2) 論文形式のプロシーディングズ数	0編
(3) 総説数（うち邦文のもの）	2編（2編）
そのインパクトファクターの合計	0.00
(4) 著書数（うち邦文のもの）	0編（0編）
(5) 症例報告数（うち邦文のもの）	0編（0編）
そのインパクトファクターの合計	0.00

(1) 原著論文（当該教室所属の者に下線）

A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの

1. Inoue K, Yamada J, Ueno S, Fukuda A. : Brain-type creatine kinase activates neuron-specific

K⁺-Cl cotransporter KCC2. J Neurochem 96: 598-608, 2006.

2. Kumada T, Lakshmana MK, Komuro H. : Reversal of neuronal migration in a mouse model of fetal alcohol syndrome by controlling second-messenger signalings. J Neurosci 26: 742-756, 2006.
3. Yamamoto S, Yamada J, Ueno S, Kubota H, Furukawa T, Yamamoto S, Fukuda A. Insertion of $\alpha 7$ nicotinic receptors at neocortical layer V GABAergic synapses is induced by a benzodiazepine, midazolam. Cereb. Cortex 17: 653-660, 2007.

インパクトファクターの小計 [18.08]

(3) 総 説

A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの

1. 福田敦夫：能動的Cl⁻ホメオスタシス仮説と実験的てんかん病態モデル。てんかん研究24:3-17, 2006.

インパクトファクターの小計 [0.00]

B. 筆頭著者が浜松医科大学の他教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの（学内の共同研究）

1. 小室 仁, 熊田竜郎：神経の発生と発達におけるグルタミン酸受容体の役割。クリニカルニューロサイエンス 24: 153-156, 2006.

インパクトファクターの小計 [0.00]

4 特許等の出願状況

	平成18年度
特許取得数（出願中含む）	0件

5 医学研究費取得状況

	平成18年度
(1) 文部科学省科学研究費	5件 (1,200万円)
(2) 厚生科学研究費	2件 (300万円)
(3) 他政府機関による研究助成	2件 (760万円)
(4) 財団助成金	0件 (0万円)
(5) 受託研究または共同研究	0件 (0万円)
(6) 奨学寄附金その他（民間より）	1件 (10万円)

(1) 文部科学省科学研究費

福田敦夫（代表者）特定領域研究「大脳皮質回路形成過程のGABA_A受容体・Cl⁻輸送体・タウリンの機能協働」320万円（新規）

福田敦夫（代表者）萌芽研究「新たに発見されたミダゾラムのシナプス前作用の機構解明をめざす生理学的アプローチ」300万円（新規）

福田敦夫（代表者）基盤研究（B）「環境因子がCl⁻ホメオスタシス変化を介して皮質神経回路の発達と再生に与える影響」320万円（継続）

熊田竜郎（代表者）若手研究（B）「神経細胞の移動時におけるCa²⁺シグナル伝達系と [Cl⁻]_i の相関関係」190万円（新規）

古川智範（代表者）基盤研究（C）「発達期大脳皮質神経細胞の垂直移動・分化関連遺伝子の網羅的同定及び解析」70万円（継続）

(2) 厚生科学研究費

福田敦夫（分担研究代表）厚生労働省成育医療研究委託事業「妊娠中のストレスが児の心身の発達に及ぼす影響に関する研究」班「母体ストレスによる仔ラット脳機能発達障害と環境刺激による脳機能改善の機序」200万円（継続）代表者 自然科学研究機構生理学研究所教授 鍋倉淳一

福田敦夫（分担研究代表）厚生労働省精神・神経疾患研究委託費「てんかんに対する内科・外科的治療に関する総合的研究」班「新規てんかん治療法開発へむけたCl⁻ホメオスタシス仮説に基づく病態モデル」100万円（継続）主任研究者 国立病院機構静岡てんかん・神経医療センター院長 藤原建樹

(3) 他政府機関による研究助成

福田敦夫（研究参加者）科学技術振興機構 戦略的創造研究推進事業（CREST）研究領域「脳の機能発達と学習メカニズムの解明，研究総括 津本忠治」研究課題「発達および障害回復期における神経回路の再編成機構，研究代表者 自然科学研究機構生理学研究所教授 鍋倉淳一」研究題目「神経回路の発達・再編と再臨界期へのCl⁻ transporterにリンクしたGABA応答の関与の証明」500万円（継続）

福田敦夫（分担者）文部科学省（21世紀COEプログラム「メディカルフォトンクス ―こころとからだの危険を探る―」）：（事業推進担当者，拠点リーダー 寺川 進）「こころの神経回路の光学的解析」260万円（継続）

7 学会活動

	国際学会	国内学会
(1) 特別講演・招待講演回数	0件	1件
(2) シンポジウム発表数	2件	4件
(3) 学会座長回数	2件	1件
(4) 学会開催回数	2件	0件
(5) 学会役員等回数	0件	5件
(6) 一般演題発表数	6件	

(1) 国際学会等開催・参加

1) 国際学会・会議等の開催

Fukuda A :The 7th International Symposium on Medical Photonics: "Novel optronics for brain and cancer researches", Session Organizer, Hamamatsu, July, 2006. 146人

Fukuda A :Satellite Symposium of The 6th FAOPS (Federation of Asian and Oceanian Physiological Societies) Scientific Congress, The 6th Japan-Korea Joint Symposium of Brain Sciences, and Cardiac and Smooth Muscles. Official Member, Seoul, Korea, October, 2006. 80人

3) 国際学会・会議等でのシンポジウム発表

Fukuda A, Qian T, Nakamura M, Furukawa T, Yamada J, Kouchi T, Kilb W, Luhmann HJ, Nakahara D : Endogenous taurine facilitates the horizontal excitatory neurotransmission in the marginal zone of the immature cortex. Satellite Symposium of The 6th FAOPS (Federation of Asian and Oceanian Physiological Societies) Scientific Congress, The 6th Japan-Korea Joint Symposium of Brain Sciences, and Cardiac and Smooth Muscles. Seoul, Korea, October, 2006.

Fukuda A : Roles of NKCC1 and taurine in early neocortical development. Invited Speaker, University of Helsinki, NEUROSCIENCE SEMINAR SERIES, Helsinki, Finland, December, 2006.

4) 国際学会・会議等での座長

Fukuda A :The 7th International Symposium on Medical Photonics: "Novel optronics for brain and cancer researches", Hamamatsu, Japan, July, 2006.

Fukuda A :Satellite Symposium of The 6th FAOPS (Federation of Asian and Oceanian Physiological Societies) Scientific Congress, The 6th Japan-Korea Joint Symposium of Brain Sciences, and Cardiac and Smooth Muscles. Seoul, Korea, October, 2006.

5) 一般発表

ポスター発表

1. Okabe A, Kilb W, Hanganu IL, Quian T, Nakahara D, Fukuda A, Luhmann, HJ : Taurine inhibits epileptiform activity in neonatal rat hippocampus via activation of glycine and GABA_A receptors. The 5th Forum of European Neuroscience, July 2006, Vienna, Austria.
2. Achilles K, Okabe A, Ikeda M, Shimizu-Okabe C, Fukuda A, Luhmann HJ, Kilb W : Excitatory GABA actions in Cajal-Retzius cells are mediated by NKCC1. The 5th Forum of European Neuroscience, July 2006, Vienna, Austria.
3. Kilb W, Hanganu I, Okabe A, Shimizu-Okabe C, Fukuda A Luhmann HJ : Different cell types of the developing rat neocortex express glycine receptors with similar molecular and distinct functional properties. The 5th Forum of European Neuroscience, July 2006, Vienna, Austria.

4. Furukawa T, Yamada J, Inoue K, Yanagawa Y, Fukuda A : Influence of extracellular GABA and taurine to GABA_A receptor-mediated actions of radially migrating cells in developing neocortex. The 5th Forum of European Neuroscience, July 2006, Vienna, Austria.
5. Fukuda A, Qian T, Nakamura M, Furukawa T, Yamada J, Kouchi T, Kilb W, Luhmann HJ, Nakahara D : Endogenous taurine facilitates the horizontal excitatory neurotransmission in the marginal zone of the immature cortex. The 5th Forum of European Neuroscience, July 2006, Vienna, Austria.
6. Yoshida, S., Morishima, T., Uematsu, M., Hozumi, N. and Yanagawa, Y. GABA distribution and GABA-mediated glutamate release from developing cerebellar cortex. 36th Annual Meeting, Society for Neuroscience, October 2006. Atlanta, GA.

(2) 国内学会の開催・参加

2) 学会における特別講演・招待講演

福田敦夫：てんかん病態研究における能動的Cl⁻ホメオスタシス仮説の役割. 特別講演 招待演者, 第62回東海てんかん集談会, 2007年2月, 浜松.

3) シンポジウム発表

Fukuda A : Cl⁻ homeostasis, GABA and glycine regain immature properties during abnormal lamination following cortical focal freeze-lesion. シンポジウム "Re-arrangement of neural circuits during recovery and development", 第29回日本神経科学大会, 2006年7月, 京都.

福田敦夫：大脳皮質V層錐体細胞へのGABA作動性シナプス伝達に関するシナプス前とシナプス外の新知見. 平成18年度生理学研究所研究会『シナプス伝達の細胞分子調節機構』, 2006年12月, 岡崎.

福田敦夫：脳の異常反応を引き起こす細胞内分子機構を見る. 県民フォーラム 21世紀COEプログラムジョイントシンポジウム「知の創造と知の集積－静岡からの発信」, 2007年3月, 静岡.

Fukuda A : Roles of Cl⁻ transporters in development, injury and recovery of neural network. シンポジウム "Molecular mechanisms of ion transport-regulated cell survival, proliferation, and differentiation", 第84回日本生理学会大会, 2007年3月, 大阪.

4) 座長をした学会名

福田敦夫：精神・神経疾患研究委託「てんかんに対する内科・外科的治療に関する総合的研究」班会議, 座長, 2007年12月, 東京.

(3) 役職についている国際・国内学会名とその役割

福田敦夫 日本生理学会 評議員, 常任幹事, 学術研究委員会委員

福田敦夫 日本病態生理学会 評議員
 福田敦夫 日本赤ちゃん学会 評議員
 福田敦夫 日本脳科学会 評議員
 福田敦夫 日本神経科学学会 賞選考委員

8 学術雑誌の編集への貢献

	国内	外国
学術雑誌編集数（レフリース数は除く）	0件	0件

(3) 国内外の英文雑誌のレフリース

Eur. J. Neurosci. 1回（EU） J. Neurosci. Meth. 1回（EU）

9 共同研究の実施状況

	平成18年度
(1) 国際共同研究	3件
(2) 国内共同研究	10件
(3) 学内共同研究	3件

(1) 国際共同研究

テーマ：大脳皮質の発達及び発達障害過程でのCl⁻ホメオスタシスと抑制性シナプス伝達の変化
 相手機関（国）：マインツ大学生理-病態生理学研究所，Heiko J. Luhmann 教授（ドイツ）
 様式：研究者の派遣，技術・アイデアの交換
 研究費：平成18年度研究拠点形成等補助金（COE）

テーマ：大脳皮質・海馬の痙攣発作波へのNOの関与
 相手機関（国）：Tbilisi 大学生理学教室，Nanuli Doreulee 博士（グルジア共和国）
 様式：技術・アイデアの交換，研究指導
 研究費：The International Science and Technology Project（ロシア）

テーマ：*clomeleon* 遺伝子導入による大脳皮質の発達過程でのCl⁻ホメオスタシス評価
 相手機関（国）：Duke 大学神経生物学講座，George J. Augustine 教授（アメリカ）
 様式：技術の交換，試料提供
 研究費：

(2) 国内共同研究

田中正樹（静岡てんかん神経医療センター）ヒトてんかん原性大脳皮質形成異常とCl⁻ホメオスタシス異常の関係
 中西圭子（愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所 生理学部）培養大脳皮質神経回路形成過程のCl⁻ホメオスタシスの役割
 柳川右千夫（群馬大学大学院脳神経発達統御学遺伝発達行動学分野）GAD67-EGFP knock-inマ

ウスを用いたGABAとCl⁻ホメオスタシスの発達過程と病態の解析

上田陽一（産業医科大学生理学第一）EGFP-AVPトランスジェニックラットを用いたGABA機能解析

Thomas Knöpfel（理化学研究所神経回路ダイナミクス研究チーム）EYFPトランスジェニックマウスを用いたCl⁻ホメオスタシス解析

原 英夫（国立長寿医療センター研究所血管性痴呆研究部）アルツハイマー病モデルマウスのベクター治療効果の神経生理学的解析

光山冬樹（藤田保健衛生大学脳外科）海馬LTPの細胞内情報伝達の解析

吉田祥子（豊橋技術科学大学物質工学系）酵素反応を用いた細胞外アミノ酸測定法の開発

高山千利（北海道大学医学研究科神経機能学講座分子解剖学分野）GABA作動性シナプスとCl⁻トランスポーター局在の発達過程と病態の解析

山本純偉（筑波大学大学院人間総合科学研究科）大脳新皮質トニックGABA作用の電気生理学的解析

(3) 学内共同研究

佐藤康二・大野浩司（1解剖）Cl⁻トランスポーター遺伝子発現と機能解析

中原大一郎（心理学）マイクロダイアライシスを用いたタウリン分泌の解析，母体ストレスの胎仔脳への影響の生理学的解析

松島芳隆（化学）タウリン光学異性体を用いた脳機能変化の解析

10 産学共同研究

	平成18年度
産学共同研究	1件

1. ノブオ電子(株)バイオイメージ用超高速高感度冷却CCDカメラシステムの研究開発

12 研究プロジェクト及びこの期間中の研究成果概要

1. Cl⁻トランスポーターknock-downによる細胞移動・シナプス形成の [Cl⁻]_i 依存性の証明 [福田・熊田]：

NKCC1遺伝子およびKCC2遺伝子の転写過程を阻害するshRNA（small hairpin RNA）に最適な塩基配列を、それぞれ6種類、8種類ずつデザイン・合成して、shRNA発現プラスミドベクターを構築した。これらのプラスミドDNAをNKCC1あるいはKCC2を発現させたHEK293細胞にtransfectionした後、細胞のhomogenateを用いてWestern blottingを行った。NKCC1はテストした3種のうち1種で50-60%、KCC2はテストした5種のうち2種で90%以上の蛋白合成の抑制効果を認めた。そこでKCC2のshRNAの1種を電気穿孔法でラット胎仔脳室帯の新生神経細胞に選択的にeGFP遺伝子とともに導入した。

2. 母体ストレスモデルマウスの作成と仔マウスの大脳皮質神経回路形成への影響の評価 [岡部・福田]：

マウス母体ストレスモデルとして、妊娠8日から17日まで毎日6時間、小円筒を用いて母親マウスに拘束ストレスを負荷した。胎生18日で摘出した胎仔の体重はコントロールと比較して有意に軽く、脳重量も有意に減少しており、母体ストレスの胎仔脳発達への影響が示唆された。そこで胎仔脳のタウリン、GABA、グリシン、グルタミン酸量をHPLC法で測定したところ母体ストレスの影響の可能性が示唆された。さらに胎生14日にインビボ電気穿孔法で胎仔の脳室帯の新生神経細胞特異的にmRFP遺伝子を導入し、4日後に脳スライスを作製し、radial移動中の皮質板細胞（mRFP蛍光）の移動状態を解析したところ母体ストレス群で変化の可能性が示唆された。

3. GABA_A受容体阻害剤の胎仔脳室内慢性投与による細胞移動障害の解析 [福田・岡部・熊田]：

GAD67-GFP knock-inマウスホモ接合体を用いて胎生14日にインビボ電気穿孔法で胎仔の新生神経細胞にHcRed遺伝子を導入した。電気穿孔法施術時にpoly DL lactide-co-glycolide microsphereに吸着させて徐放性処理したGABA_A受容体阻害剤を脳室内に投与して持続的に作用させ、3日後に脳スライスを作製し、radial移動中の皮質板細胞（HcRed蛍光）の移動状態を解析した。細胞外GABA濃度が野生型の10%しかないにもかかわらず、対照群では移動は全く正常であったが、GABA_A受容体の持続ブロック群では皮質板に分布するradial移動細胞の割合が有意に増加し、移動速度の増加が示唆された。このことからGABA以外の内在性GABA_A受容体アゴニストの存在が示唆された。

4. 胎仔脳内タウリン合成阻害による細胞移動障害の解析 [福田・岡部]：

タウリンが内因性GABA_A受容体アゴニストであることを証明するため、12時間毎に3日間連続でD-システインスルフィン酸を母体腹腔内に投与してタウリンの合成を阻害したところ、細胞外タウリン濃度は約50%減少していた。3日後のradial移動はホモ接合体のタウリン減少群において皮質板に分布する移動細胞の割合が有意に増加していた。このことから、発達期大脳皮質において、細胞外に存在するGABAと母体由来のタウリンはGABA_A受容体に協調的に作用し、脳室下帯から皮質板への放射方向の移動を抑制していると考えられた。タウリンの分布も特徴的で、辺縁帯と脳室下帯に高濃度に存在していた。このことは母体由来タウリンが皮質層構造形成に重要な部位に取り込まれ、細胞移動を調節して正常な皮質層構造の形成に関わることを示唆している。

5. ミダゾラムの大脳新皮質微小抑制性シナプス後電流頻度とGABA神経終末 $\alpha 7$ ニコチン受容体に対する作用の解析 [福田・岡部]：

生後2-3週齢のラットの脳スライス標本を作成し、大脳皮質体性感覚野V層の錐体細胞にパッチクランプを行い、GABA_A受容体を介する微小抑制性シナプス後電流（mIPSC）を記録して、ミダゾラムの作用をジアゼパム、フルニトラゼパム、ゾルピデムと比較した。すべての薬剤でmIPSC振幅が増大したが、頻度を増加させたのはミダゾラムのみであった。ベンゾジアゼピン受容体阻害剤のフルマゼニールはすべての薬剤のmIPSC振幅増大作用を完全に遮断したが、ミダゾラムの頻度増加作用に効果なく、未知の作用経路が示唆された。この新奇作用はII/III, IV, VI層では起こらなかった。介在ニューロン細胞体へのニコチン直接投与反応に対しミダゾラムは効果なく、この作用はV層のGABA神経終末特異的であった。シナプスブートン標本を用いて神経終末に局在す

る $\alpha 7$ ニコチン受容体を蛍光ラベルして膜移行を共焦点顕微鏡のリアルタイム3D法により解析した結果でも、mIPSC頻度を解析した結果でも、ミダゾラムの新奇作用はPKCインヒビターのcalphostin Cとbisindolylmaleimideによって抑制され、PKCアクチベーターのphorbol 12, 13-dibutyrateによって促進したことから、PKCの関与が考えられた。

13 この期間中の特筆すべき業績、新技術の開発

1. 細胞移動におけるCl⁻ホメオスタシスと抑制性アミノ酸の生理機能に世界に先駆けて着目してきたが、本年度の研究結果からタウリンが細胞移動期におけるGABA_A受容体の内因性アゴニストとして作用していることが明らかとなった。内在性に豊富に存在するglycineアゴニストのタウリンがGABA_A受容体にも作用している事実は新たな発見である。これまでに報告されているGABAの神経回路形成や細胞移動における作用がGABA_A受容体ブロックに基づく結論であるので、これらが実はタウリンの作用であった可能性も否定出来ない。これまでの手法と発想を変えてGABA含有量が異なるknock-inマウスモデルと光学異性体によるタウリン合成阻害を用いて実際に細胞外のGABAとタウリン濃度を変化させたことが今回の発見につながった。また、radial移動はタウリン減少群において皮質板に分布する移動細胞の割合が有意に増加していたことから、発達期大脳皮質において、細胞外に存在するGABAと母体由来のタウリンはGABA_A受容体に作用し、協調的に脳室下帯から皮質板への放射方向の細胞移動のスピードを抑制していると考えられた。タウリンはヒトでは必須アミノ酸ではないが、興味深いことに、胎児ではその合成酵素であるシステインスルホン酸脱炭酸酵素の活性が著しく低いために、胎児・新生児では必須アミノ酸である。すなわち、ストレスによって、もし母体のタウリン合成経路や胎盤移行経路が影響を受けると、その影響は胎児・新生児を直撃することになる。そこで母体ストレスの作用ポイントとして、細胞移動におけるタウリンのGABA_A受容体刺激に世界ではじめて着目した。

14 研究の独創性、国際性、継続性、応用性

1. 福田の能動的Cl⁻ホメオスタシス仮説は多くの海外研究者から注目され、共同研究を行うとともに親交を深めてきた。本年度は特に、神経細胞におけるCl⁻ホメオスタシス研究の強力なcompetitorが揃い、研究所全体がCl⁻ホメオスタシス研究のメッカとなっているフィンランドのHelsinki大学から学位審査のopponentに指名された。当地に1週間滞在して多くの研究者と議論を重ね、今後の共同研究の可能性を模索してきた。また、“Roles of NKCC1 and taurine in early neocortical development”というタイトルで講演を行い大きな反響を得ることも出来た。またドイツのMainz大学のLuhmann教授のグループとの共同研究による数々の成果を発表するため、双方のグループから多くの若手研究者も同行してオーストリアのViennaで開かれたThe 5th Forum of European Neuroscienceに参加し交流を深めた。これが契機となり、Luhmann研の大学院生がCOEから滞在費の支援をうけて4ヶ月間当教室に滞在し、活性型caspase3イメージングとCl⁻イメージングの同時施行によるニューロンのアポトーシスと細胞内Cl⁻濃度の相互関係の解析を行った。そのほか、韓国の梨花女子大のChung教授の研究室からも2名の大学院生が派遣され、イメージングとパッチクランプを学習した。2006年7月のThe 7th International Symposium on Medical Photonicsでは、シナプス発達研究の第一人者として著明なフランスのBen-Ari教授（Marseille大学INMED研究所

所長)を招き“Basic rules of maturation of neuronal activity that have been preserved throughout evolution”の講演を主催した。さらにBen-Ari教授とはClホメオスタシスの発達に関する情報交換を行い、イメージングによるシナプス発達・可塑性、細胞移動の共同研究の立ち上げのため、若手研究者を派遣することを企画した。以上のような国際的交流を継続し、共同研究をさらに発展させて世界に向けてアピールしていく。