

生理学第一

1 構 成 員

	平成11年3月31日現在	平成12年3月31日現在
教授	1人	1人
助教授	1人	1人
助手（うち病院籍）	1人 (0人)	2人 (0人)
大学院学生（うち他講座から）	0人 (人)	2人 (2人)
研究生	0人	0人
外国人客員研究員	1人	0人
技官	1人	1人
その他（技術補佐員等）	0人	0人
合計	5人	7人

非常勤講師	1人	1人
-------	----	----

2 教官の異動状況

福田 敦夫（教授）（～H10.3.31 名古屋市立大学医学部助教授，H10.4.1以降浜松医科大学教授）

鮫島 道和（助教授）（期間中現職）

内田 勝久（助手）（期間中現職）

岡部 明仁（助手）（H11.4.1以降浜松医科大学助手）

3 研究業績

	平成10年度	平成11年度
原著論文数（うち邦文のもの）	7編 (1編)	4編 (0編)
そのインパクトファクター合計	18.65	6.59
論文形式のプロシーディングズ数	0編	1編
総説数（うち邦文のもの）	0編 (編)	2編 (2編)
そのインパクトファクター合計	0	0
著書数（うち邦文のもの）	1編 (1編)	1編 (0編)
症例報告数（うち邦文のもの）	0編 (編)	0編 (編)
国際学会発表数	3編	1編

(1) 原著論文（当該教室所属の人全部に下線）

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. Fukuda A, Muramatsu K, Okabe A, Shimano Y, Hida H, Fujimoto I, Nishino H (1998) NMDA receptor-mediated differential laminar susceptibility to the intracellular Ca²⁺ accumulation induced by oxygen-glucose deprivation in rat neocortical slices. J Neurophysiol 79: 430-438.

2. Fukuda A, Muramatsu K, Okabe A, Shimano Y, Hida H, Fujimoto I, Nishino H (1998) Changes in intracellular Ca^{2+} induced by GABA_A receptor activation and reduction in Cl^{-} gradient in neonatal rat neocortex. *J Neurophysiol* 79: 439-446.
3. Fukuda A, Deshpande SB, Shimano Y, Nishino H (1998) Astrocytes are more vulnerable than neurons to cellular Ca^{2+} overload induced by a mitochondrial toxin, 3-nitropropionic acid. *Neuroscience* 87: 497-507.
4. Fukuda A, Tanaka M, Yamada Y, Muramatsu K, Shimano Y, Nishino H (1998) Simultaneous optical imaging of intracellular Cl^{-} in neurons in different layers of rat neocortical slices: advantages and limitations. *Neurosci Res* 32: 363-371.
5. Uchida K, Iuvone P M (1999) Intracellular Ca^{2+} concentrations in cultured chicken photoreceptor cells: Sustained elevation in depolarized cells and the role of dihydropyridine-sensitive Ca^{2+} channels. *Mol Vision* 5:1.
6. Shavali S, Samejima M, Uchida K, Morita Y, Fukuda A (1999) Improved enzyme immunoassay method for melatonin: application to the determination of serum melatonin in rats, sheep and humans. *Clin Chem* 45: 690-692.

インパクトファクターの合計 小計 10年度 [12.17] 11年度 [3.42]

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. Ohashi Y, Okamoto N, Uchida K, Iyo M, Mori N, Morita Y (1999) Daily rhythm of serum melatonin levels and effect of light exposure in patients with dementia of the Alzheimer's type. *Biol Psychiat* 45: 1646-1652.
2. Shimada M, Takahashi K, Segawa M, Higurashi M, Samejima M and Horiuchi K (1999) Emerging and entraining patterns of the sleep-wake rhythm in preterm and term infants. *Brain Dev* 21: 468-473.

インパクトファクターの合計 小計 10年度 [0] 11年度 [3.17]

C. 筆頭著者が浜松医科大学以外の教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの

1. Farkas I, Baranyi L, Takahashi M, Fukuda A, Liposits Z, Yamamoto T, Okada H (1998) A neuronal C5a receptor and an associated apoptotic signal transduction pathway. *J Physiol* 507: 679-688.
2. Nishino H, Nakajima K, Kumazaki M, Fukuda A, Muramatsu K, Deshpande SB, Inubushi T, Morikawa S, Borlongan CV, Sanberg PR (1998) Estrogen protects against while testosterone exacerbates vulnerability of the lateral striatal artery to chemical hypoxia by 3-nitropropionic acid. *Neurosci Res* 30: 303-312.
3. 中村孝文, 内田勝久, 森口八重子, 岡本典雄, 森田之大 (1998) ビタミンB12がサーカディアンシステムの光感受性に及ぼす影響—網膜電図律動様小波と血清メラトニンによる評価—. *脳と精神の医学* 9: 167-176.

インパクトファクターの合計 小計 10年度 [6.48] 11年度 [0]

- D. 筆頭著者、共著者とも浜松医科大学に所属していなかったが、当該教室に所属する者が含まれるもの

(2) 論文形式のプロシーディングズ

- 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
- 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）
- C. 筆頭著者が浜松医科大学以外の教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの
1. Ninomiya Y, Nakashima K, Fukuda A, Nishino H, Sugimura T, Hino A, Danilova V, Hellekant G (2000) Responses to umami substances in taste bud cells innervated by the chorda tympani and glossopharyngeal nerves. J Nutrition 130: 950S-953S.
- D. 筆頭著者、共著者とも浜松医科大学に所属していなかったが、当該教室に所属する者が含まれるもの

(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 (2000) 脳における細胞内Cl⁻の調節と神経機能. 脳の科学22: 219-223.
- 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）
- C. 筆頭著者が浜松医科大学以外の教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの
1. 中村孝文, 高橋勲, 森田之大, 横山徹夫, 福田敦夫 (2000) 160チャンネル視覚誘発電位. CLINICAL NEUROSCIENCE 18: 191-195.
- D. 筆頭著者、共著者とも浜松医科大学に所属していなかったが、当該教室に所属する者が含まれるもの

(4) 著 書

- 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, 村松幹司, 田中正樹, 西野仁雄 (1998) 発達期の虚血性脳障害とその特徴, 赤池紀扶, 東 英穂, 藤原道弘, 小暮久也 編: 脳機能の解明ー21世紀に向けてー, 九州大学出版会, 469-481頁.

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）

C. 筆頭著者が浜松医科大学以外の教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの

1. Kumazaki M, Ungsuparkorn C, Deshpande SB, Fukuda A, Nishino H (1999) Mechanisms of action of 3-NPA : dopamine overflow and vulnerability of the lateral striatal artery. PR Sanberg, H Nishino, C Borlongan eds: Mitochondrial inhibitors as a tool for neurobiology, Humana Press (Totowa), pp157-165.

D. 筆頭著者、共著者とも浜松医科大学に所属していなかったが、当該教室に所属する者が含まれるもの

(5) 症例報告

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

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）

C. 筆頭著者が浜松医科大学以外の教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの

D. 筆頭著者、共著者とも浜松医科大学に所属していなかったが、当該教室に所属する者が含まれるもの

(6) 国際学会発表

1. Fukuda A, Yamada Y, Tanaka M, Togari H, Nishino H, Wada Y. (1998) Biphasic changes in intracellular Cl^- observed by means of optical imaging during oxygen-glucose deprivation in rat neocortical slices. 28th Annual Meeting, Society for Neuroscience, November, Los Angeles.
2. Haque R, Uchida K, Iuvone PM (1998) 8Br-cGMP and cGMP phosphodiesterase (PDE) inhibitors stimulate intracellular calcium levels and inositol phosphate accumulation in cultured chick photoreceptor cells. Annual Meeting, ARBO (The Association for Research in Vision and Ophthalmology), May, Fort Lauderdale.
3. Uchida K, Haque R, Iuvone PM (1998) Regulation of intracellular calcium concentration in cultured photoreceptor cells: multiple signaling pathways for sustaining calcium levels. 13th International Congress on Eye Research, July, Paris.
4. Fukuda A, Deshpande SB, Nishino H (1999) Intracellular Ca^{2+} changes evoked by dopamine receptor agonists in type 1 astrocytes from rat striate cortex and neocortex. 29th Annual Meeting, Society for Neuroscience, October, Miami Beach.

4 特許等の出願状況

	平成10年度	平成11年度
特許取得数（出願中含む）	0件	0件

〔平成10年度〕

〔平成11年度〕

5 医学研究費取得状況

	平成10年度	平成11年度
文部省科学研究費	3件 (400万円)	1件 (300万円)
厚生省科学研究費	1件 (190万円)	1件 (190万円)
他政府機関による研究助成	0件 (万円)	0件 (万円)
財団助成金	1件 (80万円)	2件 (170万円)
受託研究または共同研究	0件 (万円)	0件 (万円)
奨学寄附金その他（民間より）	0件 (万円)	0件 (万円)

〔平成10年度〕

(1) 文部省科学研究費

福田敦夫（代表者）基盤研究（C）(2)「虚血性脳障害に関与する神経回路網とニューロン・グリア相関の機序についての研究」130万円（継続）

福田敦夫（代表者）特定領域研究（A）(2)「Cl⁻輸送体／ポンプ機能の発達とGABA作用の変化による大脳皮質神経回路の発達」150万円（継続）

鮫島道和（代表者）外国人特別研究員奨励費「松果体にある測時機能の細胞内メカニズム」120万円（継続）

(2) 厚生省科学研究費

福田敦夫（分担者）厚生省小児医療研究委託費「胎児発育の機序と病態に関する研究」班「脳機能の発達及び障害に関与する抑制性神経細胞の作用」190万円（新規）
代表者 東京大学医学部教授 堤治

(3) 他政府機関による研究助成

(4) 財団助成金

福田敦夫（代表者）中山科学振興財団研究助成金「脳スライス標本を用いた細胞内Cl⁻動態の画像化と神経回路機能研究への応用」80万円（新規）

(5) 受託研究または共同研究

〔平成11年度〕

(1) 文部省科学研究費

福田敦夫（代表者）特定領域研究（A）（2）「Cl⁻イメージングで見る局所神経回路機能のダイナミクスとそのシステムの理解」300万円（新規）

(2) 厚生省科学研究費

福田敦夫（分担者）厚生省小児医療研究委託費「胎児発育の機序と病態に関する研究」班「脳機能の発達及び障害に關与する抑制性神経細胞の作用」190万円（継続）
代表者 東京大学医学部教授 堤治

(3) 他政府機関による研究助成

(4) 財団助成金

福田敦夫（代表者）ノバルティス科学振興財団研究奨励金「胎児・新生児脳機能障害及びその後遺症の成因に関する細胞内Cl⁻濃度調節機構の光・分子生理学的研究」120万円（新規）

岡部明仁（代表者）財団法人静岡総合研究機構「神経変性疾患モデル動物を神経回路網障害の分子生物学的研究」50万円（新規）

(5) 受託研究または共同研究

6 特定研究などの大型プロジェクトの代表，総括

[平成10年度]

[平成11年度]

7 学会活動

	平成10年度	平成11年度
招待講演回数	0件	0件
国際・国内シンポジウム発表数	1件	0件
学会座長回数	3件	0件
学会開催回数	1件	0件
学会役員等回数	5件	5件

[平成10年度]

(1) 学会における特別講演・招待講演

(2) 国際・国内シンポジウム発表

1. 福田敦夫 発達・病態時の細胞内Cl⁻濃度変化と神経機能変化：脳スライスのCl⁻イメージングでみるGABA作用とCl⁻ホメオスタシス，第76回日本生理学会大会シンポジウム，1999年3月，

長崎.

(3) 座長をした学会名

1. 福田 敦夫 第45回中部日本生理学会, 1998年10月, 浜松
2. 福田 敦夫 第76回日本生理学会大会シンポジウム, 1999年3月, 長崎.
3. 鮫島 道和 第76回日本生理学会大会, 1999年3月, 長崎

(4) 主催する学会名

1. 福田 敦夫 第45回中部日本生理学会, 1998年10月, 浜松

(5) 役職についている学会名とその役職

福田 敦夫 日本生理学会 評議員
福田 敦夫 日本神経科学会 専門会員
福田 敦夫 日本病態生理学会 評議員
鮫島 道和 日本生理学会 評議員
内田 勝久 日本生理学会 評議員

[平成11年度]

(1) 学会における特別講演・招待講演

(2) 国際・国内シンポジウム発表

(3) 座長をした学会名

(4) 主催する学会名

(5) 役職についている学会名とその役職

福田 敦夫 日本生理学会 評議員
福田 敦夫 日本神経科学会 専門会員
福田 敦夫 日本病態生理学会 評議員
鮫島 道和 日本生理学会 評議員
内田 勝久 日本生理学会 評議員

8 学術雑誌の編集への貢献

	平成10年度	平成11年度
学術雑誌編集数	0件	0件

[平成10年度]

[平成11年度]

9 共同研究の実施状況

	平成10年度	平成11年度
国際共同研究	1件	1件
国内共同研究	3件	2件
学内共同研究	0件	3件

[平成10年度]

(1) 国際共同研究

Farkas, Imre (アルバートセントセルジ医科大学, ハンガリー) 補体システム活性化による神経細胞死の研究

(2) 国内共同研究

鍋倉淳一 (九州大学医学部) 発達・障害による神経細胞Cl⁻ホメオスタシス変化

田中正樹 (静岡東病院てんかんセンター) 抗てんかん薬作用機序の脳スライスパッチクランプ解析

西野仁雄 (名古屋市立大学) 化学虚血と RT-PCR 解析

(3) 学内共同研究

[平成11年度]

(1) 国際共同研究

Farkas, Imre (アルバートセントセルジ医科大学, ハンガリー) 補体システム活性化による神経細胞死の研究

(2) 国内共同研究

鍋倉淳一 (九州大学大学院医学系研究科) 発達・障害による神経細胞Cl⁻ホメオスタシス変化

田中正樹 (静岡東病院てんかんセンター) 抗てんかん薬作用機序の脳スライスパッチクランプ解析

(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

渡邊 郁緒 (眼科) 視覚系におけるCl⁻ホメオスタシスとGABA作用の発達的变化

金山 尚裕 (産婦人科) UTIによるイオンチャンネル機能修飾の解析

10 産学共同研究

	平成10年度	平成11年度
産学共同研究	0件	0件

[平成10年度]

[平成11年度]

11 受賞 (学会賞等)

[平成10年度]

[平成11年度]

12 研究プロジェクト及びこの期間中の研究成果概要

1. 大脳皮質スライス標本を用いたin situでの $[Cl^-]_i$ の光学的測定

Cl^- 感受性蛍光指示薬のMEQ (6-methoxy-N-ethylquinolinium iodide)を負荷した生後0—28日齢の大脳皮質スライス標本から神経細胞を同定し細胞内 Cl^- 濃度 ($[Cl^-]_i$) の記録を行った。nigericin, tributyltinによるin situでの Cl^- 濃度固定法を行い, standard curve (Stern-Volmer Plot) を作成し, 異なる細胞間での $[Cl^-]_i$ 変化を比較した。生後2週齢から3週齢のあいだで, $[Cl^-]_i$ が約25mMから7mMへと激減することが明らかとなった。発達過程での Cl^- 平衡電位の脱分極—過分極へのシフトが示唆された。(福田, 鮫島, 内田)

2. 大脳皮質各層の $[Cl^-]_i$ 調節機構・GABA作動性 $[Cl^-]_i$ 変動の発達過程とその部位差

Cl^- 感受性蛍光指示薬のMEQを負荷した大脳皮質スライスで, Cl^- イメージングにより $[Cl^-]_i$ を測定した大脳皮質各層の $[Cl^-]_i$ 調節機構の発達過程とその部位差を検討するために, furosemide, bumetanide, ethacrynic acid等の Cl^- 輸送体/ポンプ阻害剤により前処置した標本の $[Cl^-]_i$ を算出して無処置の標本の $[Cl^-]_i$ と発達過程の各段階の大脳皮質各層で比較した。また, GABAの投与によって起る $[Cl^-]_i$ 変化を大脳皮質各層で同時測定したところ, 大脳皮質ではその全層においてGABAによる Cl^- の出入りが生後1週齢では流出であるが生後3週齢以降から流入に変わることが明らかになった。このことから, 生後発達の過程で E_{Cl} が静止膜電位よりも脱分極側から過分極側へとシフトしていることが示唆され, メカニズムとして $Na^+, K^+, 2Cl^-$ cotransporterによる Cl^- 取込みと K^+, Cl^- cotransporterによる Cl^- 汲出しの両者が働かなかで, 前者の方が優勢であることが原因であることを明らかにした。(福田, 岡部)

3. Cl^- 輸送体の遺伝子発現の解析

外向き Cl^- 輸送体のKCC1, KCC2及び内向き Cl^- 輸送体のNKCC1, NKCC2のプライマーを合成し, RT-PCRによってこれらの Cl^- 輸送体mRNAの大脳皮質での生後の発現変化をみたところ, NKCC2はラット大脳皮質には発現しておらず, KCC1とNKCC1は生後一定の発現量をしめしたが, KCC2には発達とともにその発現量が増加する傾向がみられた。(福田, 岡部, 西野)¹名古屋市立大学

4. 化学的虚血時の神経細胞内及びグリア細胞内 Ca^{2+} 濃度の同時測定

ニューロン・グリア共培養を用いて, ミトコンドリア毒素の3-NPA (3-nitropropionic acid)による化学的虚血の実験を行い, fura-2によるニューロン及びグリア細胞内 Ca^{2+} 濃度の同時測定を行った。アストロサイトは Ca^{2+} -overloadに対する脆弱性がニューロンよりも高く, そのメカニズムとしては

Na⁺-Ca²⁺ exchangerの逆転がアストロサイトにおいて起こりやすくニューロンでは起こりにくいことが明らかとなった。Ca²⁺-overloadに陥ったアストロサイトにおいて細胞膜の破綻を伴う細胞死を認めめたが、ニューロンでは少なかった。アストロサイトとニューロンのエネルギー産生代謝の差異が原因として考えられた。(福田, 西野¹, 内田) ¹名古屋市立大学

5. エネルギー欠乏時の神経回路機能変化に関与する[Cl⁻]_i変化とCl⁻トランスポーター機能変化の検討

MEQを用いた光学的測定法により、幼若ラット大脳皮質スライスの無酸素無グルコースによる[Cl⁻]_i変化を測定し、pseudo-ratiometric法により細胞容積変化を同時モニターした。一過性の[Cl⁻]_i減少と、それに引き続く不可逆的[Cl⁻]_i増加が認められた。後者は細胞膨化を伴っていたが、前者は明らかな細胞容積変化を伴っていなかった。この虚血性の一過性[Cl⁻]_i減少は世界で初めて我々が明らかにした。ATP減少によるNa⁺,K⁺-2Cl⁻ cotransporter (NKCC1 isoform)の機能低下が示唆された。(福田, 岡部, 鮫島, 内田)

6. パッチクランプ/RT-PCR法による[Cl⁻]_i変化とCl⁻トランスポーター遺伝子発現変化の解析

Cl⁻トランスポーターのKCC1, KCC2, NKCC1, NKCC2及びCl⁻チャンネルのClC2のnested primerを合成し、グラミシジン穿孔パッチクランプ法でGABA逆転電位を計測後にsingle-cell multiplex RT-PCRを行った。細胞個々で、各種Cl⁻トランスポーターmRNAの発現状況は異なっていた。また、キンドリングラットの梨状葉皮質でKCC2のdown-regulationがおこることをin situ hybridization法で明らかにし、神経活動依存性のCl⁻トランスポーター発現変化を証明した。(岡部, 鍋倉¹, 福田) ¹九州大学

13 この期間中の特筆すべき業績, 新技術の開発

Cl⁻感受性蛍光指示薬のMEQ (6-methoxy-N-ethylquinolinium iodide)を用いた光学的測定法により、脳スライスの神経細胞内Cl⁻濃度変化を直接的に多点で同時に観察できる方法を開発した。これにより、これまではグラミシジン穿孔パッチクランプ法により単一細胞でのみ測定可能であった細胞内Cl⁻濃度を、神経回路レベルで測定することが可能になった。これはCl⁻ホメオスタシスの変化による神経回路機能ダイナミクスを解析するのに極めて有用な方法である。

虚血性の一過性[Cl⁻]_i減少は世界で初めて我々が明らかにした。pseudo-ratiometric法により細胞容積変化と[Cl⁻]_i変化を同時モニターする新しい方法の開発に着手した。

14 研究の独創性, 国際性, 継続性, 応用性

これまで、神経回路発達に関して興奮性伝達物質のグルタミン酸と細胞内Ca²⁺濃度に着目した研究は多いが、抑制性伝達物質のGABAとその作用を規定するCl⁻濃度勾配を作り出しているCl⁻輸送体/ポンプが、神経回路機能を制御するという着想は独創的である。この分野の研究に新しいトレンドとして期待される。海外ではKriegstein, LoTurco, Prince, Luhmann, Misgeld, Ben-Ari, Schwartzkroinらが、電気生理学的手法やCa²⁺イメージングにより研究しているが、in situでの[Cl⁻]_iやCl⁻輸送体機能についての報告はなく、スライスにおける[Cl⁻]_iの光学的測定を行っているのも

Shwartzらと我々だけである。国内では我々以外にこのテーマの研究室はない。

我々が世界に先駆けて行っているCl⁻イメージング法によるspatial recordingに、グラミシジン穿孔パッチクランプ法やsingle cell RT-PCR法といった先端技術を組み合わせ分子・細胞レベルから神経回路レベルに至る統合的アプローチは画期的であり、個体レベルの脳機能において分子機構と高次機能をつなぐオペレーティングシステムとしての局所神経回路動作原理のシステムの理解を志向するもので国際的にも類を見ない。本研究でCl⁻トランスポーターによる神経回路機能の制御が明らかになれば、神経回路の発達・可塑性や病態の解明に向けた全く新しい概念として今後の発展、応用の可能性が高く記憶や学習といった脳の高次メカニズム、また、脳の発達期における低酸素、傷害、その他のストレスの後遺症としての神経回路の発達障害による高次脳機能傷害の病態解明に向けての応用が期待される。研究チームの中心である福田は1998年4月1日に名古屋市立大学から赴任したが前任地で開始したテーマを継続・発展させつつある。一方、教室従来の研究も共通のテーマへと発展した。

15 新聞、雑誌等による報道

平成10-11年度に、新聞、雑誌等により報道されたことがありましたら、その新聞・雑誌名、年月日、報道のタイトルを記載してください。

福田 敦夫 中日新聞 1998年4月22日 「光の研究に魅力」

福田 敦夫 日本生理学会雑誌 60巻10号 1998年10月「生理学者群像」

福田 敦夫 総合脳ニュース 第1号 1999年9月「Cl⁻イメージングで視る局所神経回路機能のダイナミクスとそのシステムの理解」

福田 敦夫 ノバルティス科学振興財団年報 第11号 1999年11月「光で研究室の立ち上げだ」