

# 生理学第一

## 1 構 成 員

	平成 13 年 3 月 31 日現在	
教授	1 人	
助教授	1 人	
助手（うち病院籍）	2 人	(0 人)
大学院学生（うち他講座から）	3 人	(3 人)
研究生	1 人	
外国人客員研究員	0 人	
技官	1 人	
その他（特別研究員）	1 人	
合計	10 人	

## 2 教員の異動状況

福田 敦夫（教授）（静岡大学大学院電子科学研究科兼任，期間中現職）

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）（期間中現職）

## 3 研究業績

	平成 12 年度	
(1) 原著論文数（うち邦文のもの）	5 編	(0 編)
そのインパクトファクターの合計	10.41	
(2) 論文形式のプロシーディングス数	0 編	
(3) 総説数（うち邦文のもの）	3 編	(3 編)
そのインパクトファクターの合計	0	
(4) 著書数（うち邦文のもの）	1 編	(1 編)
(5) 症例報告数（うち邦文のもの）	0 編	( 編)
(6) 国際学会発表数	3 編	

### (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. Samejima M, Shavali S, Tamotsu S, Uchida K, Morita Y, Fukuda A (2000) Light- and temperature-dependence of the melatonin secretion rhythm in the pineal organ of the lamprey, *Lampetra japonica*. Jpn J Physiol 50:437-442.
2. Kilb W, Luhmann HJ (2000) Characterization of a hyperpolarization-activated inward current in Cajal-Retzius cells in rat neonatal neocortex. J Neurophysiol 84:1681-1691.

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. Yamada Y, Fukuda A, Tanaka M, Shimano Y, Nishino H, Muramatsu K, Togari H, Wada Y (2000) Immature stage of intracellular Cl<sup>-</sup> homeostasis regulated by cation-Cl<sup>-</sup> cotransporters in rat neocortical neurons. Nagoya Med J 43: 179-190.
2. 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.
3. Luhmann HJ, Reiprich RA, Hanganu I, Kilb W (2000) Cellular physiology of the neonatal rat cerebral cortex: intrinsic membrane properties, sodium and calcium currents. J Neurosci Res 62:574-584.

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ス

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

## (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<sup>-</sup> の調節と神経機能. 脳の科学 22 : 219-223.
2. 鮫島道和 (2000) 生体リズムと睡眠. 子どもと健康 61:2-13.

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. 鮫島道和, 櫻庭 繁 (2000) 脳と心. 日本精神科看護技術協会監修, 宮本眞巳編, 精神看護学, 中央法規出版, p9-18.

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

#### (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. Ivanova T, Alonso-Gomez A L, Uchida K, Iuvone P M (2000) Calcium influx in photoreceptor cells: Reduction by calmodulin-dependent protein kinase inhibitors. 14th International Congress on Eye Research, October, Santa Fe.

2. Fukuda A, Yamada Y, Ikeda M, Okabe A. (2000) Postnatal development of intracellular Cl<sup>-</sup> homeostasis regulated by cation-Cl<sup>-</sup> cotransporters in rat cortex. 30th Annual Meeting, Society for Neuroscience, November, New Orleans.
3. Okabe A, Ohno K, Uchida K, Sato K, Fukuda, A. (2000) Kindling induces changes in cation-Cl<sup>-</sup> cotransporter mRNA expression in the rat piriform cortex. 30th Annual Meeting, Society for Neuroscience, November, New Orleans.

#### 4 特許等の出願状況

	平成 12 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 12 年度
(1) 文部省科学研究費	4 件 (1,380 万円)
(2) 厚生省科学研究費	2 件 (340 万円)
(3) 他政府機関による研究助成	0 件 ( 万円)
(4) 財団助成金	1 件 ( 40 万円)
(5) 受託研究または共同研究	0 件 ( 万円)
(6) 奨学寄附金その他 (民間より)	1 件 ( 40 万円)

##### (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<sup>-</sup>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」290 万円 (継続)

福田敦夫 (代表者) 特定領域研究 (C) (2) 「発達脳の神経回路形成過程における細胞移動と Cl<sup>-</sup>ホメオスタシス」440 万円 (新規)

福田敦夫 (代表者) 基盤研究 (B) (2) 「てんかん原性大脳皮質形成異常モデル動物の確立とアンチセンス治療法への展開」480 万円 (新規)

鮫島道和 (代表者) 基盤研究 (C) 「視交叉上核ニューロンにおける GABA 作用反転メカニズムの解析」170 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関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

福田敦夫 (分担者) 厚生省精神・神経疾患研究委託費「発達期における高次脳機能障害の病態解明研究」班 「細胞移動障害モデルによる大脳皮質神経回路形成過程の細胞内 Cl<sup>-</sup>調節の役割に関する研究」150 万円 (新規) 代表者 国立精神・神経

センター部長 加我牧子

(4) 財団助成金

福田敦夫 (代表者) 金原一郎記念医学医療振興財団 基礎医学医療研究助成金「神経回路網形成過程での幼若型 Cl<sup>-</sup>ホメオスタシスの役割」40 万円 (新規)

## 6 特定研究などの大型プロジェクトの代表, 総括

## 7 学会活動

	平成 12 年度
(1) 特別講演・招待講演回数	1 件
(2) 国際・国内シンポジウム発表数	2 件
(3) 学会座長回数	4 件
(4) 学会開催回数	1 件
(5) 学会役員等回数	6 件

(1) 学会における特別講演・招待講演

1. 福田敦夫 (2000) ‘動的’ Cl<sup>-</sup>ホメオスタシスによる GABA 作用調節と神経回路機能制御, 第 5 回神経科学領域における分子モニタリングシンポジウム, 11 月, 浜松

(2) 国際・国内シンポジウム発表

1. 福田敦夫 (2001) 脳・神経疾患病態モデルにおける神経細胞 Cl<sup>-</sup>ホメオスタシスの変化. 第 11 回日本病態生理学会シンポジウム「神経細胞のイオンチャネルの機能と病態生理」, 1 月, 福岡
2. 福田敦夫 (2001) 生後発達過程の細胞特異的な Cl<sup>-</sup>ホメオスタシスによる GABA 作用の差異, 第 78 回日本生理学会大会シンポジウム「神経回路発達期における GABA の役割」, 3 月, 京都

(3) 座長をした学会名

1. 福田敦夫 Satellite Symposium of the 15th International Congress on Fibrinolysis and Proteolysis, “Proteases in the Central Nervous System” June 2000. Hamamatsu, Japan
2. 福田敦夫 第 23 回日本神経科学大会, 2000 年 9 月, 横浜
3. 福田敦夫 文部省特定領域研究 C「脳科学の先端的研究」班会議, 2000 年 12 月, 東京
4. 福田敦夫 第 78 回日本生理学会大会シンポジウム, 2001 年 3 月, 京都

(4) 主催する学会名

1. 福田敦夫 第 78 回日本生理学会大会シンポジウム「神経回路発達期における GABA の役割」, 2001 年 3 月, 京都

(5) 役職についている学会名とその役割

福田敦夫 日本生理学会 評議員  
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 文部省特定領域研究 A「脳研究の総合的推進に関する研究」班 実行委員

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 12 年度
学術雑誌編集数	0 件

## 9 共同研究の実施状況

	平成 12 年度
(1) 国際共同研究	2 件
(2) 国内共同研究	2 件
(3) 学内共同研究	5 件

### (1) 国際共同研究

1. Heiko J. Luhmann (デュッセルドルフ大学神経生理学研究所, ドイツ) 大脳皮質回路網形成期の Cl<sup>-</sup>ホメオスタシスの特徴と役割
2. 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

1. 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<sup>-</sup>ホメオスタシス変化
2. 田中正樹 (国立療養所静岡東病院てんかんセンター) 大脳皮質形成異常と Cl<sup>-</sup>ホメオスタシス異常の関係

### (3) 学内共同研究

佐藤康二・大野浩司 (1 解剖) Cl<sup>-</sup>トランスポーター遺伝子発現と機能解析  
堀田喜裕 (眼科) 視覚系における Cl<sup>-</sup>ホメオスタシスと GABA 作用の発達の变化  
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  
橋本賢二 (口腔外科) 顔面神経障害による Cl<sup>-</sup>ホメオスタシス関連遺伝子発現変化  
菱田 明・宮嶋裕明 (1 内科) 大脳皮質形成異常発生のメカニズムと Cl<sup>-</sup>ホメオスタシス

## 10 産学共同研究

	平成 12 年度
産学共同研究	0 件

## 11 受賞 (学会賞等)

## 12 研究プロジェクト及びこの期間中の研究成果概

### 1. 光学的イメージング法による新生大脳皮質の細胞タイプ別 GABA 作用と神経回路機能の解析：

Cl<sup>-</sup>感受性蛍光色素 MEQ, Ca<sup>2+</sup>感受性蛍光色素 fura-2 をラット脳スライスに負荷し, [Cl<sup>-</sup>]<sub>i</sub> と [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> の光学的測定を行った。発達初期の大脳新皮質の cortical plate neuron では, 生後 4 日までの [Cl<sup>-</sup>]<sub>i</sub> が約 35 mM と高値であったが発達とともに低下し, 生後 3 週の錐体細胞では約 7 mM に激減した。bumetanide や furosemide の作用を解析した結果, Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-2Cl<sup>-</sup> cotransporter による Cl<sup>-</sup>取り込みが K<sup>+</sup>-Cl<sup>-</sup> cotransporter による Cl<sup>-</sup>汲み出しに勝るため未熟な錐体細胞では [Cl<sup>-</sup>]<sub>i</sub> が高値であると考えられた。また, cortical plate や生後 1 週の皮質層では, 浅層の細胞が深層の細胞より [Cl<sup>-</sup>]<sub>i</sub> が高い傾向があったが, 生後 2 週でその差は消失した。これらの細胞では生後 10 日以前では GABA により Cl<sup>-</sup>流出 (=脱分極) と Ca<sup>2+</sup>流入 (=興奮) が惹起されるが, それ以降では Ca<sup>2+</sup>流入は起こらなかった。(福田, 池田, 講内, 鮫島)

### 2. 分子生物・電気生理的手法による新生大脳皮質の Cl<sup>-</sup>ホメオスタシス関連遺伝子発現と機能の解析：

外向き K<sup>+</sup>-Cl<sup>-</sup> cotransporter の KCC1, KCC2 ; 内向き Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-2Cl<sup>-</sup> cotransporter の NKCC1 ; 整流性 Cl<sup>-</sup>チャンネルの ClC2 の mRNA の発現状態を in situ hybridization 法と single-cell multiplex RT-PCR 法を用いて解析した。KCC2 は生後発達とともに増加し, 2 週目では浅層で強く発現していた。NKCC1 の発現は逆に発達とともに減少するが, 生後 2 週までは浅層で強く発現し, その後その局所的な差が無くなるとともに発現量そのものも激減した。この結果は Cl<sup>-</sup>イメージング法の結果を支持していた。tangential slice を作成して確認した Cajal-Retzius cell では [Cl<sup>-</sup>]<sub>i</sub> は約 38 mM と高値で, taurine や glycine により Cl<sup>-</sup>流出による脱分極が惹起された。bumetanide 処置により [Cl<sup>-</sup>]<sub>i</sub> が有意に減少することから, Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-2Cl<sup>-</sup> cotransporter による Cl<sup>-</sup>取り込みがこの [Cl<sup>-</sup>]<sub>i</sub> 高値に関与していることが示唆された。スライスパッチクランプ法で I<sub>h</sub> を確認し Cajal-Retzius cell を同定した後, 細胞内容を電極内に吸引採取し, single-cell multiplex RT-PCR 法を行い, Cl<sup>-</sup>ホメオスタシス調節遺伝子の発現解析を行った。(岡部, Kilb, 福田, 内田)

### 3. キンドリングモデル, focal freeze-lesion モデルの Cl<sup>-</sup>ホメオスタシス調節遺伝子群発現の解析：

KCC1, KCC2, NKCC1, および ClC2 のオリゴ cDNA プローブを用いて, これら Cl<sup>-</sup>ホメオスタシス調節分子の, ラット扁桃体キンドリングモデルの梨状葉皮質での変化を in situ hybridization 法を用いて解析したところ, NKCC1 の発現が有意に上昇していた。focal freeze-lesion モデルでは受傷後数日間 NKCC1 の発現が有意に上昇し, その後は全体的な NKCC1 の減少に伴い形成異常皮質でも減少するが, 発達に伴う KCC2 発現増加が形成異常皮質では起こりにくい傾向が認められた。機能的及び器質的てんかん原性の形成と Cl<sup>-</sup>ホメオスタシス異常 ([Cl<sup>-</sup>]<sub>i</sub> 上昇) に何らかの関係がある可能性が示唆された。(岡部, 豊田, 福田, Kilb)

## 13 この期間中の特筆すべき業績，新技術の開発

### 1. Cl<sup>-</sup>と細胞容積の同時モニター法の開発：

Cl<sup>-</sup>感受性蛍光色素の MEQ による Cl<sup>-</sup>イメージングでは[Cl<sup>-</sup>]<sub>i</sub>変化に伴う細胞容積変化による測定誤差の可能性を否定できない。そこで，355nm/490nm の励起光と 450nm/520nm の蛍光に対応した dual bandpass filter を作製し，細胞容積変化のみを反映する calcein (490/520nm) を MEQ (355/450nm) と同時負荷し Cl<sup>-</sup>と細胞容積の同時モニターによる pseudo-ratiometric Cl<sup>-</sup> imaging 法を確立した。これにより，細胞容積変化と[Cl<sup>-</sup>]<sub>i</sub>変化を独立かつ同時に多くの細胞で記録することが出来る。低酸素，ストレス，てんかん時のダイナミックな Cl<sup>-</sup>ホメオスタシス変化と神経回路機能変化の関係を知らることが出来る。

### 2. ヒトてんかん原性皮質形成異常摘除組織を用いたスライス標本の作成法の確立：

外科手術により摘出した皮質形成異常組織からパッチクランプによる解析を行う為の標本の作成法を検討した。ラットを用いた予備実験で我々独自の sucrose Ringer 法にさらに改良を加えることにより，従来法より格段に優れた脳スライス作成方法を確立した。この方法を手術による摘出組織にも応用し，ヒト大脳皮質形成異常の成因や病態と Cl<sup>-</sup>ホメオスタシスの関係を明らかにしていく。

## 14 研究の独創性，国際性，継続性，応用性

我々が世界に先駆けて行ってきた Cl<sup>-</sup>イメージング法による spatial recording を確立することが出来た。同時期に GFP 融合蛋白を応用した新しい Cl<sup>-</sup>イメージング法がアメリカで開発されたが，遺伝子導入を必要とせず，細胞容積との同時記録が出来る我々の方法に対する需要が無くなることはないであろう。我々の分子・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，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的理解を志向するものでこのような研究領域は国際的トレンドになりつつある。しかし我が国ではこのような地道で根気の要る仕事は出版後 2 年間だけの論文引用頻度（インパクトファクター）では評価されないため，研究者数が年々減少しており国際的な研究動向に逆行している傾向があり憂慮される。しかし我々と海外との共同研究は順調にすすんでおり，研究者が 2 名来訪し我々の研究室で実験を行った。国内では数少なくなってしまう生理系研究者とも共同研究を行っている。今年度からはヒトの組織を用いた研究にも着手し，臨床で必要とされる研究成果を期待している。Cl<sup>-</sup>ホメオスタシスと脳疾患の関係はこれまであまり着目されておらず，全く新しい概念として今後の発展，応用の可能性が高い。本研究テーマは昨年度の成果を踏まえてさらに発展しつつあり，世界的パイオニアとしての我々の責務は重く，今後も継続・発展させていく必要がある。

## 15 新聞，雑誌等による報道

1. 福田敦夫 先端脳ニュースレター 1 巻 2 号，2001 年 1 月 22 日，「脳の発生・発達・記憶に関する合同班会議の方向性」
2. 福田敦夫 静岡新聞 2001 年 3 月 17 日 「イオンバランスが脳を変える」（「生命科学の最先端」，細胞機能とシグナル伝達②）