

生理学第一

1 構成員

	平成 14 年 3 月 31 日現在	
教授	1 人	
助教授	1 人	
講師（うち病院籍）	0 人	（ 0 人）
助手（うち病院籍）	1 人	（ 0 人）
医員	0 人	
研修医	0 人	
特別研究員	1 人	
大学院学生（うち他講座から）	4 人	（ 4 人）
研究生	1 人	
外国人客員研究員	0 人	
技官（教務職員を含む）	1 人	
その他（技術補佐員等）	0 人	
合 計	10 人	

（大学院学生の中に静岡大学からの大学院学生を含む。）

2 教官の異動状況

福田 敦夫（教授）（H10.4.1～現職，H10.10.1～静岡大学大学院電子科学研究科併任）

鮫島 道和（助教授）（H3.6.1～現職）

内田 勝久（助手）（S59.4.1～H13.4.30 在籍）

岡部 明仁（助手）（H11.4.1～現職）

3 研究業績

数字は小数 2 位まで。

	平成 13 年度	
(1) 原著論文数（うち邦文のもの）	12 編	（0 編）
そのインパクトファクターの合計	36.69	
(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	
(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	（0 編）
そのインパクトファクターの合計	0	
(6) 国際学会発表数	16 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. Okabe, A., Tawara, Y., Masa, T., Oka, T., Machida, A., Tanaka, T., Matsubishi, H., Shiosaka, S., and Kato, K. (2001) Differential expression of mRNAs for sialyltransferase isoenzymes induced in the hippocampus of mouse following kindled seizures. *J. Neurochem.* 77(5):1185-1197.
2. Uchida, K., Samejima, M., Kawata, M., Tamotsu, S., and Morita, Y. (2001) Effects of cGMP and cAMP on light responses of the photosensory pineal neurons in the lamprey, *Lampetra japonica*. *Biol. Signals and Recept.* 10 : 389-398.
3. Shimizu-Okabe, C., Yousef, GM., Diamandis, EP., Yoshida, S., Shiosaka, S., and Fahnestock, M. (2001) Expression of the kallikrein gene family in normal and Alzheimer's disease brain. *Neuroreport* 12 : 2747-2751.
4. Shimizu-Okabe, C., Matsuda, Y., Koito, H., and Yoshida, S. (2001) L-isoform but not S-isoform of myelin associated glycoprotein promotes neurite outgrowth of mouse cerebellar neurons. *Neurosci Lett.* 311 : 203-205.
5. Kilb, W., and Luhmann, HJ. (2001) Spontaneous GABAergic postsynaptic currents in Cajal-Retzius cells in neonatal rat cerebral cortex. *Eur. J. Neurosci.* 13(7): 1387-1390.
6. Kilb, W., and Schlue, WR. (2001) Feedback control of intracellular pH by means of iontophoretic H⁺/OH⁻ injection. *Pflugers Arch. Eur. J. Physiol.* 443 : 54-60.

インパクトファクターの小計 [18.03]

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. Kanaka, C., Ohno, K., Okabe, A., Kuriyama, K., Itoh, T., Fukuda, A., and Sato, K. (2001) The differential expression patterns of messenger RNAs encoding K-Cl cotransporters (KCC1,2) and Na-K-2Cl cotransporter (NKCC1) in the rat nervous system. *Neuroscience* 104(4): 933-946.

インパクトファクターの小計 [3.56]

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., and Wada, Y. (2001) Optical imaging reveals cation-Cl⁻ cotransporter-mediated transient rapid decrease in intracellular Cl⁻ concentration induced by oxygen-glucose deprivation in immature rat neocortical slices. *Neurosci. Res.* 39 : 269-280.
2. Kato, K., Masa, T., Tawara, Y., Kobayashi, K., Oka, T., Okabe, A., and Shiosaka, S. (2001) Dendritic aberrations in the hippocampal granular layer and the amygdalohippocampal area following kindled-seizures. *Brain Res.* 901(1-2): 281-295.
3. Hanganu, IL, Kilb, W., and Luhmann, HJ. (2001) Spontaneous synaptic activity of subplate

neurons in neonatal rat somatosensory cortex. Cereb. Cortex 11(5): 400-410.

4. Hochstrate, P., Dierkes, PW., Kilb, W., and Schlue, WR. (2001) Modulation of Ca^{2+} influx in leech Retzius neurons II. Effect of extracellular Ca^{2+} . J. Membr. Biol. 184 : 27-33.
5. Hochstrate, P., Dierkes, PW., Kilb, W., and Schlue WR. (2001) Modulation of Ca^{2+} influx in leech Retzius neurons. I. Effect of extracellular pH. J. Membr. Biol. 184 : 13-25.

インパクトファクターの小計 [15.10]

(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

(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. 鮫島道和 (2001) ヒトの姿勢と運動能力 子どもと健康 64 : 2-15.
 2. 鮫島道和 (2001) 脳のしくみと心の不思議 子どもと健康 65 : 36-45.
- 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

(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 (2001) スライス標本を用いた細胞内イオン (Ca^{2+} , Cl) イメージングの実際. 第10回浜松医科大学メディカルホトニクスコース講習テキスト, p93-104
- 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

(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

(6) 国際学会発表

1. Fukuda, A., Ikeda, M., Kouuchi, T., and Samejima, M. (2001) Simultaneous monitoring of intracellular Cl⁻ and cellular volume changes using fluorescent dyes. 31th Annual Meeting, Society for Neuroscience, November, San Diego, CA.
2. Okabe, A., Ohno, K., Toyoda, H., Yokokura, M., Sato, K., and Fukuda, A. (2001) Expressional changes in the mRNAs for cation-Cl⁻ cotransporters and a voltage-dependent Cl⁻ channel in the rat hippocampus after amygdala kindling. 31th Annual Meeting, Society for Neuroscience, November, San Diego, CA.
3. Toyoda, H., Ohno, K., Okabe, A., Ikeda, M., Sato, K., Hashimoto, K., Nakahara, D., and Fukuda, A. (2001) GABA changes its action from inhibitory to excitatory in association with KCC2 downregulation after facial nerve transection. 31th Annual Meeting, Society for Neuroscience, November, San Diego, CA.
4. Sato, K., Ohno, K., Okabe, A., Kuriyama, K., and Fukuda, A. (2001) The differential expression patterns of messenger encoding K⁺-Cl⁻ cotransporters (KCC1,2) and Na⁺, K⁺-2Cl⁻ cotransporter (NKCC1) in the rat nervous system. 31th Annual Meeting, Society for Neuroscience, November, San Diego, CA.
5. Uchida, K., Okabe, A., Samejima, M., and Fukuda, A. (2001) Melatonin protects neurons against the anoxia/aglycemia stress by reducing superoxide generation in the rat hippocampal slices. 31th Annual Meeting, Society for Neuroscience, November, San Diego, CA.
6. Hanganu, IL., Kilb, W., and Luhmann, HJ. (2001) Subplate neurons are implicated in early neocortical networks. 31th Annual Meeting, Society for Neuroscience, November, San Diego, CA.
7. Fukuda, A., Toyoda, H., Ohno, K., Okabe, A., Ikeda, M., Yamada, J., Sato, K. and Shimizu-Okabe, C. (2002) GABAergic excitation induced by axotomy of facial motoneurons is associated with K⁺-Cl⁻ cotransporter (KCC2) downregulation. The Third Japan-Korea Joint Symposium of Brain Sciences, and Cardiac and Smooth Muscles, January, Kurume, Japan.
8. Fukuda, A. (2002) Ca²⁺ oscillations induced in axotomized neurons are attributable to GABAergic excitation caused by K⁺-Cl⁻ cotransporter (KCC2) downregulation. The 28th NIPS International Symposium: Inhibitory Neural Transmission in the Brain Structure and Function. February, Okazaki, Japan.
9. Shimizu-Okabe, C., Yokokura, M., Ikeda, M., Okabe, A., Sato, K. and Fukuda, A. (2002) The differential expression patterns of NKCC1 and KCC2 mRNAs in the rat neocortex. The 28th NIPS International Symposium: Inhibitory Neural Transmission in the Brain Structure and

Function. February, Okazaki, Japan.

10. Okabe, A., Toyoda, H., Yamada, J., Shimizu-Okabe, C., and Fukuda, A. (2002) Changes in expression of the mRNAs for cation-Cl⁻ cotransporters and a voltage-dependent Cl⁻ channel in the rat brain after amygdaloid kindling. The 28th NIPS International Symposium: Inhibitory Neural Transmission in the Brain Structure and Function. February, Okazaki, Japan.
11. Ikeda, M., Toyoda, H., Okabe, A., Hotta, Y., and Fukuda, A. (2002) Differential developmental profile of the GABAergic action and Cl⁻ homeostasis in the rat visual cortex and the dorsal lateral geniculate nucleus. The 28th NIPS International Symposium: Inhibitory Neural Transmission in the Brain Structure and Function. February, Okazaki, Japan.
12. Samejima, M., Ikeda, M., Kouuchi, T., and Fukuda, A. (2002) Measurement of intracellular Cl⁻ and monitoring of cellular volume changes using fluorescent dyes. The 28th NIPS International Symposium: Inhibitory Neuronal Transmission in the Brain Structure and Function. February, Okazaki, Japan.
13. Yamada, J., Okabe, A., Toyoda, H., and Fukuda, A. (2002) Mechanisms of GABA_A receptor-mediated excitation in the immature neocortical neurons studied by using gramicidin-perforated patch-clamp recordings and single cell RT-PCR. The 28th NIPS International Symposium: Inhibitory Neuronal Transmission in the Brain Structure and Function. February, Okazaki, Japan.
14. Ueno, T., Okabe, A., Fukuda, A., and Nabekura, J. (2002) Diversity of IPSP depression and K⁺-Cl⁻ cotransport in rat motor neurons. The 28th NIPS International Symposium: Inhibitory Neural Transmission in the Brain Structure and Function. February, Okazaki, Japan.
15. Nakanishi, K., and Fukuda, A. (2002) Role of Cl⁻ transporters in spontaneous synaptic activities in cultured neocortical neurons. The 28th NIPS International Symposium: Inhibitory Neural Transmission in the Brain Structure and Function. February, Okazaki, Japan.
16. Kilb, W., Ikeda, M., Uchida, K., Okabe, A., Fukuda, A., and Luhmann, HJ. (2002) Depolarizing glycine responses in cajal-retzius cells of neonatal rat cortex. 81st Deutsche Physiologische Gesellschaft. March, Tuebingen, Germany.

4 特許等の出願状況

	平成 13 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 13 年度
(1) 文部科学省科学研究費	4 件 (1,090 万円)
(2) 厚生科学研究費	1 件 (150 万円)
(3) 他政府機関による研究助成	1 件 (102 万円)
(4) 財団助成金	1 件 (10 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)	0件 (0万円)

(1) 文部科学省科学研究費

福田敦夫(代表者) 特定領域研究(C)(2)「発達脳の神経回路形成過程における細胞移動とCl⁻ホメオスタシス」540万円(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」310万円(継続)

鮫島道和(代表者) 基盤研究(C)(2)「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」120万円(継続)

清水千草(代表者) 特別研究員奨励費「てんかん原性Cl⁻ホメオスタシス分子機構のヒト抽出病巣及びモデル動物を用いた解析」120万円(新規)

(2) 厚生科学研究費

福田敦夫(分担者) 厚生労働省精神・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⁻調節の役割に関する研究」150万円(継続) 代表者 国立精神・神経センター部長 加我牧子

(3) 他政府機関による研究助成

福田敦夫(代表者) 日本学術振興会日独科学協力事業共同研究「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」102万円(新規)

(4) 財団助成金

岡部明仁(代表者) 成茂神経科学研究助成基金「扁桃体キンドリングによる海馬におけるCl⁻共輸送体及びCl⁻チャンネル遺伝子の発現変化」10万円(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13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	3件
(3) 学会座長回数	1件
(4) 学会開催回数	1件
(5) 学会役員等回数	7件

(1) 学会における特別講演・招待講演

1. 福田敦夫 (2001) 新生大脳皮質Cajal-Retzius細胞のグリシン受容体を介する興奮性反応. 文部科学省特定領域研究「先端脳」公開ワークショップ, 8月, 越後湯沢, 新潟

(2) 国際・国内シンポジウム発表

1. 福田敦夫 (2001) Cl⁻ ホメオスタシス変化による神経回路機能変化, シンポジウム「能動的 Cl⁻ ホメオスタシスと神経機能および病態」, 第24回日本神経科学大会, 9月, 京都.
2. Fukuda, A., Toyoda, H., Ohno, K., Okabe, A., Ikeda, M., Yamada, J., Sato, K., and Shimizu-Okabe, C. (2002) GABAergic excitation induced by axotomy of facial motoneurons is associated with K⁺-Cl⁻ cotransporter (KCC2) downregulation. The Third Japan-Korea Joint Symposium of Brain Sciences, and Cardiac and Smooth Muscles. January, Kurume, Japan,
3. Fukuda, A. (2002) Ca²⁺ oscillations induced in axotomized neurons are attributable to GABAergic excitation caused by K⁺-Cl⁻ cotransporter (KCC2) downregulation. The 28th NIPS International Symposium: Inhibitory Neural Transmission in the Brain Structure and Function, February, Okazaki, Japan.

(3) 座長をした学会名

1. 福田敦夫 (2002) The Third Japan-Korea Joint Symposium of Brain Sciences, and Cardiac and Smooth Muscles. "Session III : Stress and the CNS," Chair, January, Kurume, Japan.

(4) 主催する学会名

1. 福田敦夫 (2002) The Third Japan-Korea Joint Symposium of Brain Sciences, and Cardiac and Smooth Muscles. Official Member, January, Kurume, Japan.

(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
鮫島道和	日本生理学会	評議員
鮫島道和	日本時間生物学会	評議員
内田勝久	日本生理学会	評議員
内田勝久	日本時間生物学会	評議員

8 学術雑誌の編集への貢献

	平成13年度
学術雑誌編集数	0件

9 共同研究の実施状況

	平成13年度
(1) 国際共同研究	2件
(2) 国内共同研究	3件
(3) 学内共同研究	5件

(1) 国際共同研究

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

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に関する細胞特異性の研究

(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 (国立静岡神経医療センター) 大脳皮質形成異常と Cl⁻ ホメオスタシス異常の関係

山田順子 (静岡大学大学院電子科学研究科) パッチクランプと single-cell RT-PCR による細胞解析

(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

堀田喜裕 (眼科) 視覚系における Cl⁻ 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⁻ ホメオスタシスと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⁻ ホメオスタシス

10 産学共同研究

	平成 13 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要

1. 障害モデルにおける Cl⁻ ホメオスタシスと細胞特性変化の解析

生直後に focal freeze-lesion を行い局所的大脳皮質形成異常モデルラットを作成した。4 日後の障害部位に NKCC1 (細胞内に Cl⁻ を取り込む内向き Na⁺, K⁺-2Cl⁻ cotransporter) 陽性 / KCC2 (Cl⁻ を排出する外向き K⁺-Cl⁻ cotransporter) 陰性の細胞群の出現を認め、7 日後のこの部位は微小脳回を形成した。微小脳回の第 I 層には細胞移動関連遺伝子 reelin 陽性の Cajal-Retzius 細胞様の細胞が出現した。また細胞が死滅した障害部位に新たに出現する神経細胞は未熟な電氣的膜特性を有していた。これまでに、実験的大脳皮質形成異常の形成過程に関する報告はなく、今後これらの細胞がどこから移動してきたのか、あるいは障害部位に出現した神経幹細胞から分化したのかについて各種マーカーと電気生理学的手法で検討していく。

また、顔面神経切断モデルでは KCC2 発現消失により細胞内 Cl⁻ 濃度が 10 mM から 20 mM に上昇し、GABA 作用が抑制から興奮に逆転し、新たに Ca オシレーションを惹起した。これは、神経再生やシナプス再構成にむけた一種の脱分化であろうと考えている。

(杉本, 清水, Kilb, Luhmann¹, 岡部, 豊田, 山田², 福田)¹デュッセルドルフ大学,²静岡大学大学院

2. 新生大脳皮質の細胞タイプ別 Cl⁻ ホメオスタシスの解析

Cl⁻ 感受性蛍光指示薬の MEQ を用い, 層構造構築過程の大脳新皮質 (生後 0 - 4 日齢ラット) に存在する各細胞タイプあるいは細胞移動時期の差による Cl⁻ ホメオスタシスの違いを検討した。辺縁帯の Cajal-Retzius cell では resting $[Cl]_i$ が 25mM と高値で, 皮質板では移動後間もない表層の cortical plate cell が 30mM で定着直後の VI 層の pyramidal neuron (25mM) よりも有意に高値であった。すなわち cortical plate cell では $[Cl]_i$ は移動に伴い低下するのに対し, Cajal-Retzius cell ではおそらく神経発生後からの高値が持続していたのではないかと考えられた。また, これらすべての細胞タイプで GABA_A/glycine 作動性興奮が惹起され, 幼若型 Cl⁻ ホメオスタシスが GABA/glycine を興奮性に作用させ, おそらく Ca オシレーションを惹起して皮質層構造構築に関与する可能性が示唆された。

(清水, 鮫島, 池田, Kilb, Luhmann¹, 福田)¹デュッセルドルフ大学

3. 単一細胞レベルの Cl⁻ ホメオスタシス調節遺伝子発現と $[Cl]_i$ の相関の解析

グラミシジン穿孔スライスパッチクランプ法で各細胞タイプの GABA 逆転電位 (Cl⁻ 平衡電位) を計測して $[Cl]_i$ を計算した後, Cl⁻ トランスポーターの KCC2 (外向き) と NKCC1 (内向き) の nested primer を用いて single-cell multiplex RT-PCR 法を行い, 単一細胞での発現を半定量した。細胞個々の $[Cl]_i$ は NKCC1 発現量とは正の, KCC2 発現量とは負の相関 (スピアマン順位相関) があった。すなわち細胞移動期の cortical plate cell では機能的に NKCC1 > KCC2 となり $[Cl]_i$ 高値を維持し, 定着後は KCC2 > NKCC1 となって $[Cl]_i$ が低下し, 幼若型から成熟型の Cl⁻ ホメオスタシスに発達して GABA を抑制性に変化させると考えられる。今後は KCC2 の発現増加, NKCC1 の発現減少の CUE が何であるかについて研究していく。

(岡部, 山田², 福田)²静岡大学大学院

4. ヒトてんかん原性皮質形成異常組織の Cl⁻ トランスポーター mRNA の解析

ヒト Cl⁻ トランスポーターの KCC2, NKCC1 及び細胞移動関連遺伝子 reelin のオリゴ cDNA プローブを用いて, ヒトてんかん原性皮質形成異常部位を含む摘除組織を用い, コントロールとして形成異常のない部位でのこれら Cl⁻ ホメオスタシス及び細胞移動関連遺伝子 mRNA の発現状態を in situ hybridization 法を用いて解析した。その結果, reelin は I 層に特異的に発現し, II-VI 層では神経細胞特異的に KCC2 の発現が認められたが, NKCC1 は殆ど発現していなかった。今後, 皮質形成異常部位の巨大神経細胞に NKCC1 が多く発現し結果として $[Cl]_i$ 高値と細胞膨大を招いていないか, reelin の発現に異常がないか検討する。

(清水, 田中³, 岡部, 福田)³国立静岡神経医療センター

13 この期間中の特筆すべき業績、新技術の開発

1. 新しい仮説の提唱

Cajal-Retzius 細胞、神経幹細胞から分化後間のない移動中の皮質板細胞、シナプス形成中の神経細胞などではパラクライン的に周囲に存在する GABA やタウリンあるいはシナプスで放出された GABA に対して興奮性に反応するために $[Cl^-]_i$ 高値を維持しておく必要があり、そのために NKCC1 >> KCC2 の特異な遺伝子発現を呈しているのではないかと考えた。従って、大脳皮質形成過程の微妙に調節された Cl^- ホメオスタシスを障害するような要因は、Cajal-Retzius 細胞と皮質板細胞のクロストークを攪乱して、層構造や神経回路の形成・機能に重大な障害を残す可能性がある。今後は胎児期・周産期の種々のストレスに起因する Cl^- ホメオスタシス異常が皮質形成異常などの脳障害につながる可能性を検討する必要があると考える。

2. Cl^- ホメオスタシス回帰現象による Ca オシレーション誘発の発見

軸索切断モデルで KCC2 発現消失により細胞内 Cl^- 濃度が上昇し、GABA 作用が抑制から興奮に逆転して Ca オシレーションを惹起した。このように神経損傷によって、成熟型から幼若型への Cl^- ホメオスタシスの回帰現象がおこることを初めて明らかにした。神経再生やシナプス再構成との関係から大変興味深い。

3. single-cell multiplex RT-PCR 法による単一細胞での mRNA 発現量比較解析法の確立

パッチクランプ法で単一細胞の生理学的特性を記録した後、その細胞質を採取し、数種類の mRNA について nested primer による RT-PCR をおこなった。PCR による増幅率を至適化することにより、各種 mRNA 量と高感度核酸検出試薬 (SYBRGreen) の蛍光強度との関係に直線関係を得ることが出来た。これにより各 mRNA について細胞毎の相対的発現量を比較することが出来る。これを用いて、大脳皮質皮質板細胞の $[Cl^-]_i$ が NKCC1 と KCC2 の発現バランスによって決まることを世界で初めて明らかにした。

14 研究の独創性、国際性、継続性、応用性

本来は抑制性神経伝達の主役である GABA が、脳の発達初期にはむしろ興奮性伝達の主役なのではないかとの仮説が国際的に注目を集めており、米国の Kriegstein, Barker, Schwartzkroin, LoTurco, Payne, Delpire, Sun, フランスの Ben-Ari, ドイツの Misgeld, Luhmann, イタリアの Cherubini, フィンランドの Kaila などが知られているが、我々もこの領域のトップグループの一つとして認識されている。多くは KCC2 を Cl^- ホメオスタシスの key factor ととらえているが、我々は NKCC1 も発達・病態に伴い変化することを見だし、両者の発現バランスこそが重要であると主張している点の特徴で、特に神経細胞の分化・移動や定着における KCC2 / NKCC1 の発現バランス調節に着目しているのは我々だけである。また、欧米グループが分子生物学的あるいは電気生理学的な単一的なアプローチが主なのに対し、我々はイメージング、分子生物学、電気生理学を統合した独自の multidisciplinary なアプローチをしていることも評価されているのであろう。特に、 Cl^- イメージングや single-cell multiplex RT-PCR 法は他にはない方法で、今後も推進していく必要がある。また、我々のように、神経損傷や虚血、てんかんなどの病態と Cl^- ホメオスタシスの変化

に着目した研究はまだ数少なく、特にヒト皮質形成異常組織を用いた Cl⁻ ホメオスタシスの研究は世界で我々だけである。

Luhmann とは JSPS-DFG の共同研究助成をすでに受けており、Dusseldorf 大から Kilb が来訪し昨年につづいて共同実験を行った。今後は我々の側からも訪独しさらに研究を押し進める。2002 年 2 月にわが国で開催された抑制性神経伝達に関する国際シンポジウム（主催 小幡邦彦）に福田もシンポジストとして招かれ、Kriegstein, Barker, Ben-Ari ら海外招待演者からも高く評価された。以降、これらの研究者と密接に連絡を取り合っており、今後の共同研究も視野に入れている。

Cl⁻ 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