

# 生理学第一

## 1 構成員

	平成18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）	3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）	5人（0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	11人

大学院生の中に静岡大学からの受託大学院生を含む。

## 2 教員の異動状況

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）

岡部 明仁（助手）（H11.4.1～現職，H16.4.1より休職）

井上 浩一（助手）（H14.4.1～現職）

窪田 寿彦（助手）（H16.4.1～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17年度
(1) 原著論文数（うち邦文のもの）	4編（0編）
そのインパクトファクターの合計	13.85
(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）	3編（1編）
そのインパクトファクターの合計	33.82
(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	0.00

### (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, Ueno S, Yamada J, Fukuda A: Characterization of newly cloned variant of rat glycine receptor  $\alpha 1$  subunit. *Biochem Biophys Res Commun* 327: 300-305, 2005.

インパクトファクターの小計 [3.00]

#### 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. Wang C, Ohno K, Furukawa T, Ueki T, Ikeda M, Fukuda A, Sato K: Differential expression of KCC2 accounts for the differential GABA responses between relay and intrinsic neurons in the early postnatal rat olfactory bulb. *Eur J Neurosci* 21: 1449-1455, 2005.

インパクトファクターの小計 [3.95]

#### 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. Ueta Y, Fujihara H, Serino R, Dayanithi G, Ozawa H, Matsuda K, Kawata M, Yamada J, Ueno S, Fukuda A, Murphy D: Transgenic expression of enhanced green fluorescent protein enables direct visualization for physiological studies of vasopressin neurons and isolated nerve terminals of the rat. *Endocrinology* 146: 406-413, 2005.
2. Toyoda H, Yamada J, Ueno S, Okabe A, Kato H, Sato K, Hashimoto K, Fukuda A: Differential functional expression of cation-Cl<sup>-</sup> cotransporter mRNAs (KCC1, KCC2, and NKCC1) in rat trigeminal nervous system. *Mol Brain Res* 133: 12-18, 2005.

インパクトファクターの小計 [6.90]

### (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. Fukuda A: Diuretic soothes seizures in newborns. *Nature Medicine* 11: 1153-1154, 2005.
2. 福田敦夫: 脳機能におけるCl<sup>-</sup>ホメオスタシスの役割についての新しい考え方. *医学のあゆみ*, 214(11): 965-966, 2005.

インパクトファクターの小計 [28.88]

#### 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. Komuro H, Kumada T: Ca<sup>2+</sup> transients control CNS neuronal migration. *Cell Calcium* 37: 387-393, 2005.

インパクトファクターの小計 [4.94]

### (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: 組織標本 (脳スライス) への各種イメージング法適用の実際. 第14回メディカル

#### 4 特許等の出願状況

	平成17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17年度
(1) 文部科学省科学研究費	7件 (1,650万円)
(2) 厚生科学研究費	2件 ( 360万円)
(3) 他政府機関による研究助成	3件 (1,084万円)
(4) 財団助成金	1件 ( 30万円)
(5) 受託研究または共同研究	1件 ( 300万円)
(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細胞間クロストークにおけるGABAとタウリンの役割」290万円（新規）

福田敦夫（代表者）特定領域研究「細胞外Cl<sup>-</sup>を調節して神経回路の興奮性を制御するグリアのCl<sup>-</sup>トランスポーター」330万円（継続）

福田敦夫（代表者）基盤研究（B）(2)「環境因子がCl<sup>-</sup>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」340万円（継続）

福田敦夫（代表者）萌芽研究「シナプス前作用とシナプス後細胞内Cl<sup>-</sup>濃度に着目した全身麻酔薬作用機序の新仮説」300万円（新規）

井上浩一（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」170万円（新規）

窪田寿彦（代表者）若手研究（B）「成長・発達過程の脊髄におけるグリシンとGABAの共放出の機序と生理学的意義の解明」130万円（新規）

山本純偉（代表者）特別研究員奨励費「中枢性麻酔薬のCl<sup>-</sup>ホメオスタシスを介するGABA作動性神経伝達調節作用」90万円（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」250万円（継続）代表者 九州大学医学研究院教授 中野仁雄

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<sup>-</sup>ホメオスタシス仮説に基づく病態モデル」110万円（継続）主任研究者 国立

(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<sup>-</sup> transporterにリンクしたGABA応答の関与の証明」579万円（継続）

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）「大脳皮質神経回路形成における抑制性アミノ酸の興奮作用の役割とその分子メカニズム」250万円（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」255万円（継続）

(4) 財団助成金

窪田寿彦（代表者）成茂神経科学研究助成基金「細胞外Cl<sup>-</sup>を調節して神経回路の興奮性を制御するグリアのCl<sup>-</sup>トランスポーター」30万円（新規）

(5) 受託研究または共同研究

福田敦夫（代表者）協和発酵第2回創薬シーズ・コンテスト「三叉神経痛（痛覚過敏・アロディニア）モデルの確立：Cl<sup>-</sup>ホメオスタシス変化によるGABA抑制の興奮への逆転」300万円（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	0件
(2) シンポジウム発表数	4件	0件
(3) 学会座長回数	4件	5件
(4) 学会開催回数	3件	1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 5th Japan-Korea Joint Symposium of Brain Sciences, and Cardiac and Smooth Muscles. Official Member, Kitakyushu, Japan. July, 2005.

Fukuda A : The 5th International Symposium on Medical Photonics, Hamamatsu, Japan

August, 2005.

Fukuda A : The 6th International Symposium on Medical Photonics, Hamamatsu, Japan  
March, 2006.

3) 国際学会・会議等でのシンポジウム発表

Fukuda A : “Monitoring the dynamics of neural functions modulated by intracellular Cl<sup>-</sup>”  
Frontiers in Cellular Neuroimaging RIKEN Brain Science Institute workshop,  
Wako, Japan. June, 2005.

Fukuda A : Yamamoto S, Yamada J, Ueno S, Kubota H, Yamamoto S: A novel presynaptic  
cholinergic modulatory mechanism affecting GABAergic transmission. The Fifth  
Japan-Korea Joint Symposium of Brain Sciences, and Cardiac and Smooth Muscles.  
Kitakyushu, Japan. July, 2005.

Fukuda A : The “dynamic Cl<sup>-</sup> homeostasis hypothesis” on the development and the patho-  
genesis of the brain. The 5th Hamamatsu-Kyungpook Joint Medical Sympo-  
sium, Kyungpook National University School of Medicine, Daegu, Korea, Sep-  
tember, 2005.

Fukuda A : “Imaging approaches for exploration of neural functions modulated by intracel-  
lular Cl<sup>-</sup>” The 6th International Symposium on Medical Photonics. Hamamatsu  
Japan, March, 2006.

4) 国際学会・会議等での座長

Fukuda A : The 5th Hamamatsu-Kyungpook Joint Medical Symposium, Kyungpook Na-  
tional University School of Medicine, Daegu, Korea, September, 2005.

Fukuda A : The Fifth Japan-Korea Joint Symposium of Brain Sciences, and Cardiac and  
Smooth Muscles. Kitakyushu, Japan, July, 2005.

Fukuda A : The 5th International Symposium on Medical Photonics: Chair, Hamamatsu,  
Japan, August, 2005.

Fukuda A : The 6th International Symposium on Medical Photonics: “Take a Look into  
Brains in Function and Dysfunction” Organizer, Hamamatsu, Japan, March, 2006.

5) 一般発表

ポスター発表

1. Yamamoto S, Yamada J, Ueno S, Kubota H, Yamamoto S., Fukuda A: An insertion of  
presynaptic  $\alpha 7$  nicotinic receptors affecting GABAergic transmission in neocortex. Fourth  
INMED/TINS CONFERENCE, September, 2005, La Ciotat, France.

2. Inoue K, Furukawa T, Yamada J, Fukuda A: Function of KCC2 protein ectopically ex-  
pressed in immature brain. 35th Annual Meeting, Society for Neuroscience, November,  
2005, Washington, DC, U.S.A.

3. Furukawa T, Yamada J, Inoue K, Yanagawa Y, Fukuda A Properties of GABA<sub>A</sub> receptor-mediated actions in neocortical neurons of GAD67-GFP knock-in mice with identified birth period by in utero electroporation. 35th Annual Meeting, Society for Neuroscience, November, 2005, Washington, DC, U.S.A.
4. Kubota H, Furukawa T, Yanagawa Y, Fukuda A The property of chloride ion regulation in astrocyte. 35th Annual Meeting, Society for Neuroscience, November, 2005, Washington, DC, U.S.A.
5. Kumada T, Komuro H Reversal of Aberrant neuronal migration in fetal alcohol syndrome. 35th Annual Meeting, Society for Neuroscience, November, 2005, Washington, DC, U.S.A.
6. Achilles K, Okabe A, Ikeda M, Yamada J, Shimizu-Okabe C, Fukuda A, Luhmann HJ, Kilb W, Chloride Regulation in Cajal-Retzius Cells of the Neonatal Rat Cerebral Cortex. Annual meeting, January. 2006, Deutsche Physiologische Gesellschaft, Germany.

(2) 国内学会の開催・参加

1) 主催した学会名

福田敦夫：第14回メディカルホトニクスコース，運営委員，7月，浜松

4) 座長をした学会名

福田敦夫：平成17年度生理学研究所研究会，神経科学の新しい解析法とその応用，9月，（岡崎）

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，12月，（東京）。

福田敦夫：特定領域「神経・グリア回路網」平成17年度成果報告会，座長，1月，（東京）

福田敦夫：第83回日本生理学会大会 教育講演 “Genetically engineered rodents in brain research” 座長，3月，（前橋）

熊田竜郎：第52回中部日本生理学会，座長，9月，（名古屋）

(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

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 日本脳科学学会 評議員

福田敦夫 日本神経科学学会 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

Nature Medicine 1回（欧米）， Eur. J. Neurosci. 4回（欧）， Brain Res. Rev. 1回（欧）， Neurosci. Res. 1回（日）

## 9 共同研究の実施状況

	平成17年度
(1) 国際共同研究	3件
(2) 国内共同研究	8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：Deutsche Forschungsgemeinschaft，日本学術振興会日独科学協力事業（共同研究）

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，資料提供  
 研究費：平成17年度研究拠点形成等補助金

### (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

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による細胞機能解析

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）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

### (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

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17年度
産学共同研究	2件

1. 協和発酵第2回創薬シーズ・コンテスト「三叉神経痛（痛覚過敏・アロディニア）モデルの確立：Cl<sup>-</sup>ホメオスタシス変化によるGABA抑制の興奮への逆転」
2. 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. radial 及び tangential 移動細胞におけるCl<sup>-</sup>トランスポーター遺伝子発現変化の解析：GAD67-GFP knock-inマウス脳室帯の新生ニューロンへのHcRed遺伝子の導入を行い，GABA含有量が異なるホモ，ヘテロ，野生型間でradial及びtangential移動の状態を比較したが全く差は見られなかった。さらに，パッチクランプ法でradial移動中のglutamate細胞におけるGABAのdose-response curveを測定したが全く差は無かった。HPLC法を用いてGABAの細胞外濃度を測定したところ，予想通り野生型に比べてヘテロタイプ65%，ホモタイプ7%であった。以上からGABA以外の内因性アミノ酸が代償作用を持つと考え，細胞外タウリン濃度を調べたところGABAの1000-10000倍であり，GABAの1%程度の親和性でGABA<sub>A</sub>受容体を介した脱分極を惹起した。すなわち，タウリンがGABA以上にGABA<sub>A</sub>受容体の内因性アゴニストとして作用しているため，細胞外GABA濃度が異なるどのgenotypeでもGABA<sub>A</sub>受容体やCl<sup>-</sup>トランスポーター発現に差が出なかったと考えられた。

（福田・井上・熊田・古川・柳川）

2. 辺縁帯におけるCajal-Retzius細胞/non Cajal-Retzius細胞間のクロストークの解析：辺縁帯の細胞間のクロストークにおける神経伝達アミノ酸の役割を明らかにするため，辺縁帯のtangential sliceを作成し興奮の空間的伝播を膜電位イメージングで可視化した。活動電位は径シナプ的に放射状に伝播し，GABA<sub>A</sub>受容体とグリシン受容体が関与していたがグルタミン酸受容体は関与していなかった。NKCC1活性を阻害すると興奮伝播は抑制された。マイクロダイアライシス法を用いてアミノ酸を測定したところ，単発刺激でタウリンとGABAが放出されていた。すなわち，NKCC1によって高 [Cl<sup>-</sup>]<sub>i</sub>を維持する辺縁帯の細胞では，タウリンとGABAが興奮性に働いて細胞間クロストークに寄与していた。



(福田・Luhmann・千・中原)

3. 細胞外GABA/タウリン作用によるCl<sup>-</sup>トランスポーター、GABA<sub>A</sub>受容体発現の変化：GAD67-EGFP knock-inマウスへのHcRed導入モデルを用い、GABA含有量が異なるホモ、ヘテロと野生型で、radial移動細胞からパッチクランプとcell sorter法によるRT-PCRを行い、移動過程でのGABA応答とGABA<sub>A</sub>受容体及びCl<sup>-</sup>トランスポーター発現へのGABAの影響を解析したが全く差がなかった。そこで、マイクロダイアライシス法を用いてGABA、タウリンの皮質板における細胞外濃度を測定したところ、タウリン濃度は野生型でもGABAの1000倍もあり、また、タウリンを投与するとGABAの100倍程度の濃度で同等の脱分極を惹起した。これらの作用は以前報告されたようなグリシン受容体を介したのではなく、GABA<sub>A</sub>受容体を介していた。すなわち、radial移動中の細胞はタウリンを高濃度に分泌し、タウリンはGABA以上にGABA<sub>A</sub>受容体の内因性アゴニストとして作用して、autocrine的にradial移動細胞に働いたり、paracrine的にtangential移動細胞へのシグナルとなっている可能性が示唆された。

(福田・熊田・窪田・Luhmann・柳川)

4. 子宮内胎仔電気穿孔法を用いたKCC2強制発現による細胞移動の[Cl<sup>-</sup>]<sub>i</sub>依存性の証明：KCC2の発現プラスミドをEGFPの発現プラスミドと同時に電気穿孔法で野生型マウス胎仔脳室帯の新生神経細胞に選択的に導入した。2種類のプラスミドは90%以上の高率で同一の細胞に導入されるので、KCC2発現細胞はEGFP蛍光で同定できた。また、実際に免疫組織化学法によってKCC2のradial移動中の細胞での発現を確認した。KCC2が強発現しているにもかかわらず、細胞移動は全く変化せず、[Cl<sup>-</sup>]<sub>i</sub>やGABAの作用もパッチクランプ法で確認したところKCC2を発現していない正常な移動細胞と全く同様であった。すなわち、細胞移動中のKCC2は内因性に何らかの制御が働くことにより機能していないことが示唆された。

(井上・福田・熊田・古川)

5. 脳スライスのアストロサイトからの[Cl<sup>-</sup>]<sub>i</sub>測定とグリアによる神経回路機能調節の証明：まずアストロサイト親和性色素のsulforhodamine 101を用いて、海馬スライス中のastrocytesを同定した。次にパッチ電極内液にCl<sup>-</sup>感受性蛍光色素のMEQを加えておき、同定した多数のastrocytesにsingle-cell electroporation法で次々とMEQを注入し、同時に5-6個のastrocytesでのCl<sup>-</sup>イメージングを可能にした。シェーファー側枝をテタヌス刺激した時のastrocytesの[Cl<sup>-</sup>]<sub>i</sub>変化をこれら複数個のastrocytesで同時に観察した(astrocyte回路網のCl<sup>-</sup>イメージング)。シェーファー側枝の高頻度刺激で記録したすべてのastrocyteでMEQ蛍光が低下、すなわち[Cl<sup>-</sup>]<sub>i</sub>上昇が見られた。これらの[Cl<sup>-</sup>]<sub>i</sub>上昇は刺激の頻度や強度に応じて変化した。しかしこの変化は、以前我々が報告した錐体細胞でのGABA作用を抑制性から興奮性に逆転させるCl<sup>-</sup>蓄積(J. Neurophysiol. 2003)とは時間経過が異なり、静止電位におけるastrocyteのCl<sup>-</sup>の電気化学勾配もニューロンと逆向きとの報告もあるので、このastrocyteでの[Cl<sup>-</sup>]<sub>i</sub>上昇はニューロンとは全く別のメカニズムであると考えられた。以上からastrocyte回路網による能動的なCl<sup>-</sup> buffering機構が存在すると結論した。

(窪田・福田)

6. GABA作動性シナプス前終末のニコチン性アセチルコリンレセプターへのミダゾラムの作用：ラットの脳スライス標本を作成し、大脳皮質第V層の錐体細胞にホールセルパッチクランプを行い、GABA<sub>A</sub>受容体を介する微小抑制性シナプス後電流（mIPSC）を記録した。mIPSCに対する静脈麻酔薬ミダゾラムの作用を調べたところ、シナプス前 $\alpha 7$ ニコチン性アセチルコリン受容体の活性化によってmIPSCの頻度が増加した。しかし、他のベンゾジアゼピンではこの効果はなく、また微小興奮性シナプス後電流（mEPSC）に対しても影響はなかった。さらに、V層以外の皮質各層でもこれらの効果はなかった。また、ニコチン単独投与では効果なく、ミダゾラム存在下でのニコチン投与で相乗効果がみられたため、ミダゾラムが $\alpha 7$ ニコチン性受容体の細胞膜への移動を促進し、内因性アセチルコリンによりシナプス前終末からのGABA放出を増加させると仮説を立てた。これを実証するため、機械的急性細胞単離によるシナプスブートン標本を用いて、シナプス前終末をFM1-43で蛍光ラベルして同定し、蛍光（ALEXA-488）でラベルしたブンガロトキシンを用いて $\alpha 7$ ニコチン性受容体の動態を共焦点顕微鏡で観察した。その結果、ミダゾラムがシナプス前終末の $\alpha 7$ ニコチン性受容体の膜移行を誘導するという重大な発見をした。

（福田・山本・窪田・山田・山本清二）

7. ミダゾラムによるトニック受容体を介するGABA作動性神経伝達の調節：シナプスから漏れだして神経細胞周囲に微量に存在するGABAがシナプス外のトニックレセプターを常に刺激して、持続的な抑制（tonic inhibition）を起こす。そこで、GABA<sub>A</sub>受容体遮断薬による静止膜電流のシフトからトニックGABA<sub>A</sub>受容体電流を記録した。ミダゾラムは皮質全層でトニックGABA<sub>A</sub>受容体電流を増強したが、特に第V層での増強効果は他の層より有意に強かった。

（福田・山本・山田）

### 13 この期間中の特筆すべき業績、新技術の開発

1. 最近の神経科学のトピックとして脳波の $\gamma$ 波が意識や認知と深い関係があることがわかってきており、この $\gamma$ 波の生成には大脳皮質のGABA作動性介在ニューロンが関係する。さらに脳幹部から大脳皮質に広く投射するアセチルコリン（ACh）作動性神経の活動もこの $\gamma$ 波成分を増やし、脳波をより覚醒型にする。我々はこの点に注目し、静脈麻酔薬のミダゾラムがPKC活性化を介して7nACh受容体をGABA作動性神経終末の膜表面へ誘導し、内因性AChによりGABAの放出頻度が増加することを見出した。これは、これまで明らかになっていない中枢性麻酔薬の作用機序に関する極めて重大な発見であるとともに、麻酔作用にとどまらず、意識、認知、睡眠などの高次脳機能に関するこれまで謎であった現象を説明できる可能性のある極めて新規性の高い発見である。

2. 遺伝子操作によるGABA合成量の異なるGAD67-EGFP knock-inマウスを用いた研究により、GABA以外の内因性アミノ酸が代償作用を持つ可能性を見出した。そこで、細胞外タウリン濃度を調べたところGABAの1000–10000倍であり、GABAの1%程度の親和性でGABA<sub>A</sub>受容体を介した脱分極を惹起した。すなわち、タウリンがGABA以上にGABA<sub>A</sub>受容体の内因性アゴニストとして作用しているため、細胞外GABA濃度が異なるどのgenotypeでもGABA<sub>A</sub>受容体やCl<sup>-</sup>トランスポーター発現に差が出なかったと考えられた。これは、これまで想定されていない新たな知見で

ある。

3. アストロサイト親和性色素のsulforhodamine 101を用いて、海馬スライス中のastrocytesを同定し、次にパッチ電極内液にCl<sup>-</sup>感受性蛍光色素のMEQを加えておき、同定した多数のastrocytesにsingle-cell electroporation法で次々とMEQを注入し、5-6個のastrocytesで同時にCl<sup>-</sup>イメージングを行う画期的方法を開発した。

#### 14 研究の独創性、国際性、継続性、応用性

福田の能動的Cl<sup>-</sup>ホメオスタシス仮説は世界的にも注目され、年々その認知度は高まっている。今年度は一昨年のScience誌に続きNature Medicine誌からもrefereeの依頼がきた。さらに特筆すべきは、Nature Medicine誌からNews and Views執筆の依頼が来たことであろう。これは独創的仮説の提唱から10年にわたって常に一貫性のある仕事を地道に続けてきた姿勢が評価を受けていると思われる。インパクトファクターを稼ぐために流行のトピックスばかりを追っていたら決してこのような評価を受けていなかったであろう。この間、多くの海外研究者と共同研究を行うとともに親交を深めてきた。本年度も、フランスのMarseilles大学 (Ben-Ari 教授)、ドイツのMainz大学 (Luhmann 教授)、理化学研究所 (Knöpfel博士, Semyanov 博士) などの著明研究者を訪問し、セミナーを行ったり、ディスカッションを行ったりした。またCOE事業として、2005年8月のThe 5<sup>th</sup> International Symposium on Medical Photonicsでは、セッションオーガナイザーとしてCl<sup>-</sup>感受性蛍光蛋白Clomeleonの発明者であるAugustine教授 (Duke大学) を招き情報交換を行い、共同研究に発展した。さらに、2006年3月にもThe 6<sup>th</sup> International Symposium on Medical Photonics をオーガナイズし、海外からはLoTurco 教授 (Connecticut大学)、Lessmann博士 (Mainz大学) とKnöpfel博士を招いて、イメージングによるシナプス発達・可塑性、細胞移動研究の新領域の立ち上げを企画した。また、2006年からは福田チームの2名の若手研究者が各々Legacy Clinical Research Center (Xiong博士) とMax-Planck研究所 (Betz教授) に研究の場を移すことになった。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。