

# 生理学第一

## 1 構成員

	平成22年3月31日現在	
教授	1人	
准教授	0人	
講師（うち病院籍）	0人	（ 0人）
助教（うち病院籍）	3人	（ 0人）
助手（うち病院籍）	0人	（ 0人）
特任教員（特任教授，特任准教授，特任助教を含む）	0人	
医員	0人	
研修医	0人	
特任研究員	1人	
大学院学生（うち他講座から）	2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）	0人	
その他（技術補佐員等）	3人	
合 計	10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併任）
- 井上 浩一（助教）（H14. 4.1～H19. 3.31 助手； H19. 4.1～H21. 7.31 休職； H21. 8. 1～H22. 3. 31 助教）
- 熊田 竜郎（助教）（H17. 6.15～19. 3.31 助手； H19. 4.1～現職）
- 古川 智範（助教）（H19. 4.1～現職）
- 森島 寿貴（群馬大学研究員兼浜松医科大学訪問共同研究員）（H19. 4.1～H21. 7.31 助教； H21. 8.1～現職）

## 3 研究業績

数字は小数2位まで。

	平成21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	20.12	
(2) 論文形式のプロシーディングズ数	7編	
(3) 総説数（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	

(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. and Xiong, Z-G.: Silencing TRPM7 promotes growth/proliferation and nitric oxide production of vascular endothelial cells via the ERK pathway. *Cardiovasc Res* 83, 547-557, 2009. [IF:5.80]
- 2 Inoue, K., Branigan, D. and Xiong, Z-G.: Zinc-induced neurotoxicity mediated by transient receptor potential melastatin 7 channels. *J Biol Chem* 285, 7430-7439, 2010. [IF:5.33]

インパクトファクターの小計 [11.13]

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)

- 1 Hayashi, C., Iino, K., Oki, Y., Matsushita, F., Yamashita, M., Yogo, K., Sasaki, S., Kumada, T. and Nakamura, H.: Possible contribution of 2-Aminoethoxydiphenyl-borate-sensitive  $Ca^{2+}$  mobilization to adrenocorticotropin-induced glucocorticoid synthesis in rat adrenocortical cells. *Endocr J* 57, 109-117, 2010. [IF:1.81]

インパクトファクターの小計 [1.81]

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 Kameyama, K., Sohya, K., Ebina, T., Fukuda, A., Yanagawa, Y. and Tsumoto, T.: Difference in binocularity and ocular dominance plasticity between GABAergic and excitatory cortical neurons. *J Neurosci* 30, 1551-1559, 2010. [IF:7.18]

インパクトファクターの小計 [7.18]

(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

- 1 Fukuda, A., Furukawa, T., Morishima, T. and Kumada, T.: Physiological roles of taurine-mediated tonic GABA<sub>A</sub>-receptor activation in corticogenesis. *Proceedings of the International Symposium Topical Problems of Biophotonics II* 200-201, 2009.
- 2 Uchida, T., Morishima, T., Furukawa, T., Oki, Y., Kumada, T., Yanagawa, Y. and Fukuda, A.: The generation of GABAergic neurons but not pyramidal neurons in the fetal cerebral cortex was decreased by the maternal stress. *J Brain Sci* 35, 47. 2009.
- 3 Fukuda, A., Furukawa, T., Morishima, T. and Kumada, T.: Endogenous taurine tonically activates GABA<sub>A</sub> receptors in embryonic mouse neocortex. *The 40th NIPS International Symposium: International Joint Symposium 2009 "Physiology of Anion Transport" and "Cell Volume Regulation" (PAT-CVR 2009)*, 64. 2009.
- 4 Morishima, T., Kumada, T., Takayama, C., Yoshida, S. and Fukuda, A.: Temporal release of GABA

regulates granule cell precursors (GCPs) proliferation during rat cerebellar cortical development. The 40th NIPS International Symposium: International Joint Symposium 2009 "Physiology of Anion Transport" and "Cell Volume Regulation" (PAT-CVR 2009), 192, 2009.

- 5 Kumada, T. and Fukuda, A.:  $[Ca^{2+}]_i$  and  $[Cl]_i$  alterations in migrating glioblastoma cells. The 40th NIPS International Symposium: International Joint Symposium 2009 "Physiology of Anion Transport" and "Cell Volume Regulation" (PAT-CVR 2009), 172, 2009.
- 6 Uchida, T., Morishima, T., Furukawa, T., Oki, Y., Kumada, T., Yanagawa, Y. and Fukuda, A.: Neurogenesis of GABAergic interneurons but not of cortical plate cells in the fetal cerebral cortex was decreased by maternal stress. The 40th NIPS International Symposium: International Joint Symposium 2009 "Physiology of Anion Transport" and "Cell Volume Regulation" (PAT-CVR 2009), 194, 2009.
- 7 Egawa, K., Yamada, J., Furukawa, T., Yanagawa, Y. and Fukuda, A.: Astrocytic responses to GABA spill-over from synaptic clefts and their functional role for regulating extracellular Cl in hippocampus. The 40th NIPS International Symposium: International Joint Symposium 2009 "Physiology of Anion Transport" and "Cell Volume Regulation" (PAT-CVR 2009), 193, 2009.

### (3) 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18回メディカルホトニクスコース講習テキスト，95-114, 2009.

## 4 特許等の出願状況

	平成21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21年度
(1) 文部科学省科学研究費	1065 万円 ( 6件)
(2) 厚生労働科学研究費	70万円 ( 1件)
(3) 他政府機関による研究助成	420 万円 ( 1件)
(4) 財団助成金	40 万円 ( 1件)
(5) 受託研究または共同研究	0 万円 ( 0件)
(6) 奨学寄附金その他（民間より）	10 万円 ( 1件)

(1) 文部科学省科学研究費

福田敦夫（代表者）基盤研究(B) Cl<sup>-</sup>分布変化とGABA<sub>A</sub>受容体を介した各種ストレスによる皮質神経回路の発達異常 270万円（継続）

福田敦夫（代表者）特定領域研究「セルセンサーの分子連関とモーダルシフト」母体由来のタウリンがもたらす胎仔脳GABA-A受容体作用の発達のモーダルシフト 290万円（継続）

福田敦夫 (代表者) 特定領域研究「脳の神経回路の機能解明」インビボ胎仔大脳皮質におけるクロライドトランスポーターKCC2の翻訳後修飾 330万円 (継続)

福田敦夫 (代表者) 萌芽研究 能動的クロライドホメオスタシス仮説にもとづく三叉神経痛メカニズムへのアプローチ 100万円 (継続)

熊田竜郎 (代表者) 基盤研究(C) グリオーマの移動・浸潤時に起こる細胞内イオン変化の可視化とその応用性の検討 65万円 (継続)

福田敦夫 (分担研究者) 萌芽研究 局所的GABAシステム仮説に立脚した三叉神経痛発生メカニズムへのアプローチ10万円 (継続) 研究代表者 大阪医科大学助教 早崎 華

(2) 厚生労働科学研究費

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 てんかんに対する新たな治療法開発と標準化に関する研究「生理学的手法を用いた将来のてんかん治療法開発に関する研究」70万円 (継続) 主任研究者 静岡てんかん・神経医療センター副院長 井上有史

(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」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 分担研究題名「神経回路の発達・再編と再臨界期へのCl<sup>-</sup> transporterの関与の証明」420万円 (継続)

(4) 財団助成金

井上浩一 (代表者) 浜松科学技術研究振興会研究助成 40万円 (新規)

(6) 奨学寄附金その他 (民間より)

福田敦夫 (代表者) 奨学寄附金 (静岡県産業労働福祉協会) 10万円 (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	1件	1件
(2) シンポジウム発表数	3件	0件
(3) 学会座長回数	2件	5件
(4) 学会開催回数	3件	4件
(5) 学会役員等回数	1件	6件
(6) 一般演題発表数	13件	

(1) 国際学会等開催・参加

1) 国際学会・会議等の開催

- 1 Fukuda, A.: Executive committee member, The 40th NIPS International Symposium: International Joint Symposium 2009 "Physiology of Anion Transport" and "Cell Volume Regulation" (PAT-CVR 2009), Okazaki, Japan, August, 2009. 200名
- 2 Fukuda, A.: Session organizer, The 40th NIPS International Symposium: International Joint Symposium 2009 "Physiology of Anion Transport" and "Cell Volume Regulation" (PAT-CVR 2009), Okazaki, Japan, August, 2009. 200名
- 3 Fukuda, A.: Organizer and Chair, The 36th International Congress of Physiological Sciences (IUPS 2009)", Kyoto, Japan, July, 2009. 3000名

2) 国際学会・会議等における基調講演・招待講演

- 1 Fukuda, A.: Chloride homeo-dynamics causing GABA modal shift during development and pathogenesis. PENS/Hertie winter school 2010, Obergurgl, Austria, January, 2010.

3) 国際学会・会議等でのシンポジウム発表

- 1 Fukuda, A.: Physiological roles of taurine-mediated tonic GABA<sub>A</sub>-receptor activation in corticogenesis. The 2nd International Symposium Topical Problems of Biophotonics-2009, Nizhny Novgorod, Russia, July, 2009.
- 2 Fukuda, A.: Physiological significance of taurine-mediated Cl<sup>-</sup> conductances during corticogenesis. In Symposium, "Modulation of brain development by paracrine activation of Cl<sup>-</sup> conductances." The 36th International Congress of Physiological Sciences (IUPS 2009), Kyoto, Japan, July, 2009.
- 3 Fukuda, A., Furukawa, T., Morishima, T. and Kumada, T.: Endogenous taurine tonically activates GABA<sub>A</sub> receptors in embryonic mouse neocortex. The 40th NIPS International Symposium: International Joint Symposium 2009 "Physiology of Anion Transport" and "Cell Volume Regulation" (PAT-CVR 2009), Okazaki, Japan, August, 2009.

4) 国際学会・会議等での座長

- 1 Fukuda, A.: The 36th International Congress of Physiological Sciences (IUPS 2009), Kyoto, Japan, July, 2009.
- 2 Fukuda, A.: The 40th NIPS International Symposium: International Joint Symposium 2009 "Physiology of Anion Transport" and "Cell Volume Regulation" (PAT-CVR 2009), Okazaki, Japan, August, 2009.

5) 一般発表

口頭発表

- 1 Okabe, A., Arata, A., Oku, Y., Takayama, C. and Fukuda, A.: Ontogeny of Cl<sup>-</sup> homeostasis in mouse hypoglossal nucleus. The 11th Oxford Conference, July, 2009, Nara, Japan.

- 2 Morishima, T., Kumada, T. and Fukuda, A.: Temporal release of GABA from Bergman glia (BG) regulates granule cell precursors (GCPs) proliferation during rat cerebellar cortical development. The 9th Hamamatsu-Kyungpook Joint Symposium, September, 2009, Busan, Korea.

#### ポスター発表

- 1 Uchida, T., Morishima, T., Furukawa, T., Oki, Y., Kumada, T., Yanagawa, Y. and Fukuda, A.: Maternal stress decreased the generation of the GABAergic but not pyramidal neurons in the cerebral cortex. The 36th International Congress of Physiological Sciences (IUPS 2009) July, 2009, Kyoto, Japan.
- 2 Kumada, T. and Fukuda, A.: Role of  $[Ca^{2+}]_i$  and  $[Cl^-]_i$  alterations in distinct pattern of glioblastoma cell migration. The 36th International Congress of Physiological Sciences (IUPS 2009), July, 2009, Kyoto, Japan.
- 3 Morishima, T., Kumada, T., Takayama, C., Yanagawa, Y., Yoshida, S. and Fukuda, A.: Temporal release of GABA from Bergmann glia accelerates granule cell precursors (GCPs) proliferation during rat cerebellar cortex development. The 36th International Congress of Physiological Sciences (IUPS 2009), July, 2009, Kyoto, Japan.
- 4 Furukawa, T., Yamada, J., Inoue, K., Yanagawa, Y., Matsushima, Y. and Fukuda, A.: The effect of ambient GABA and taurine on cortical plate cells in developing cortex. The 36th International Congress of Physiological Sciences (IUPS 2009), July, 2009, Kyoto, Japan.
- 5 Wang, T., Kumada, T., Morishima, T., Okabe, A., Yanagawa, Y. and Fukuda, A.: Peculiar accumulation of GABAergic and glutamatergic neurons at the early stage of freeze lesion-induced microgyrus in mice. The 36th International Congress of Physiological Sciences (IUPS 2009), July, 2009, Kyoto, Japan.
- 6 Egawa, K., Yamada, J., Furukawa, T., Yanagawa, Y. and Fukuda, A.: Astrocytic responses to GABA spill-over by interneuron firings in CA1 stratum lacunosum-moleculare (SLM). The 36th International Congress of Physiological Sciences (IUPS 2009), July, 2009, Kyoto, Japan.
- 7 Luhmann, H.J., Kilb, W. and Fukuda, A.: Ionotropic GABA receptors control neuronal migration in neonatal rat cerebral cortex. The 36th International Congress of Physiological Sciences (IUPS 2009), July, 2009, Kyoto, Japan.
- 8 Morishima, T., Kumada, T., Takayama, C., Yoshida, S. and Fukuda, A.: Temporal release of GABA regulates granule cell precursors (GCPs) proliferation during rat cerebellar cortical development. The 40th NIPS International Symposium: International Joint Symposium 2009 "Physiology of Anion Transport" and "Cell Volume Regulation" (PAT-CVR 2009) August, 2009, Okazaki, Japan.
- 9 Kumada, T. and Fukuda, A.:  $[Ca^{2+}]_i$  and  $[Cl^-]_i$  alterations in migrating glioblastoma cells. The 40th NIPS International Symposium: International Joint Symposium 2009 "Physiology of Anion Transport" and "Cell Volume Regulation" (PAT-CVR 2009), August, 2009, Okazaki, Japan.
- 10 Uchida, T., Morishima, T., Furukawa, T., Oki, Y., Kumada, T., Yanagawa, Y. and Fukuda, A.: Neurogenesis of GABAergic interneurons but not of cortical plate cells in the fetal cerebral cortex was decreased by maternal stress. The 40th NIPS International Symposium: International Joint Sym-

posium 2009 "Physiology of Anion Transport" and "Cell Volume Regulation" (PAT-CVR 2009), August, 2009, Okazaki, Japan.

- 11 Egawa, K., Yamada, J., Furukawa, T., Yanagawa, Y. and Fukuda, A.: Astrocytic responses to GABA spill-over from synaptic clefts and their functional role for regulating extracellular Cl<sup>-</sup> in hippocampus. The 40th NIPS International Symposium: International Joint Symposium 2009 "Physiology of Anion Transport" and "Cell Volume Regulation" (PAT-CVR 2009), August, 2009, Okazaki, Japan.

## (2) 国内学会の開催・参加

### 1) 主催した学会名

1. 福田敦夫: 第18回メディカルホトニクスコース, 運営委員, 2009年8月, 浜松.
2. 福田敦夫: 第32回日本神経科学大会, プログラム委員, 2009年9月, 名古屋.
3. 福田敦夫: 第32回日本神経科学大会, 企画シンポジウム「細胞外シグナル分子のモニタリング法の開発と応用」"Monitoring extracellular signal substances in action", 提案, オーガナイザー&座長, 2009年9月, 名古屋.
4. 福田敦夫: 第115回日本解剖学会総会・全国学術集会, 解剖学会・生理学会連携シンポジウム, みちのくシンポジウム I —先端イメージング技術で観る生命の構造と機能の未知領域—, 提案, オーガナイザー&座長, 2010年3月, 盛岡.

### 2) 学会における特別講演・招待講演

1. 福田敦夫: 幼少時の麻酔暴露による脳障害と脳発達過程の興奮性GABA作用 第29回日本臨床麻酔学会大会, 2009年10月, 浜松.

### 4) 座長をした学会名

1. 福田敦夫: 第36回日本脳科学会「一般演題II」2009年6月, 金沢.
2. 福田敦夫: 特定領域「細胞感覚」班会議 2009年6月, 宜野湾.
3. 福田敦夫: 第32回日本神経科学大会, 企画シンポジウム「細胞外シグナル分子のモニタリング法の開発と応用」"Monitoring extracellular signal substances in action" 2009年9月, 名古屋.
4. 福田敦夫: 第32回日本神経科学大会, 一般演題(口演), 「神経回路形成」"Circuit Genesis", 2009年9月, 名古屋.
5. 福田敦夫: 第115回日本解剖学会総会・全国学術集会, [解剖学会・生理学会連携シンポジウム], みちのくシンポジウム I —先端イメージング技術で観る生命の構造と機能の未知領域—, 2010年3月, 盛岡.

## (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 学術研究委員会委員

福田敦夫 日本神経科学学会 賞選考委員会委員長 国際対応委員会委員

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  
 熊田竜郎 日本生理学会 評議員  
 熊田竜郎 Asian-Pacific Society for Neurochemistry 評議員

## 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

Glia (USA) 1回, Neurosci Res (Japan) 1回, J Neurophysiol (USA) 1回

## 9 共同研究の実施状況

	平成21年度
(1) 国際共同研究	2件
(2) 国内共同研究	7件
(3) 学内共同研究	3件

### (1) 国際共同研究

1. テーマ：大脳皮質の発達及び発達障害過程でのCl<sup>-</sup>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

研究成果：

2. テーマ：Clomeleon遺伝子導入による大脳皮質の発達過程でのCl<sup>-</sup>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

研究成果：

### (2) 国内共同研究

柳川右千夫(群馬大学大学院医学研究科) GAD67-EGFP knock-inマウスを用いたGABAとCl<sup>-</sup>ホメオスタシスの発達過程と病態の解析

原 英夫(藤田保健衛生大学医学研究科) アルツハイマー病モデルマウスのバクスター治療効果の神経生理学的解析

吉田祥子(豊橋技術科学大学物質工学科) 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(琉球大学医学研究科) GABA作動性シナプスとCl<sup>-</sup>トランスポーター局在の発達過程と病態の解析

関野祐子(東京大学医科学研究所)：扁桃体亜核間のambient GABA作用のちがいを

早崎 華(大阪医科大学医学研究科) 相馬義郎(慶応義塾大学医学研究科)：三叉神経節におけるGABAシグナルの解明

才津浩智・松本直道(横浜市立大学大学院医学研究科) 精神神経疾患発症素因のGABA神経伝達へ



## の影響

### (3) 学内共同研究

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

沖 隆（内科学第二講座）ストレスホルモンのELISA法による測定

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21年度
産学共同研究	0件

## 11 受賞

### (2) 外国からの授与

PENS: Programme of European Neuroscience Schoolsの講師として，ヨーロッパ神経科学学会（FENS）と国際脳科学学会（IBRO）から感謝状を授与された。

## 12 研究プロジェクト及びこの期間中の研究成果概要

### 1. タウリンによるKCC2蛋白機能抑制の検討：[福田]

胎齢14.5日でKCC2を子宮内電気穿孔法で遺伝子導入して24時間生存させた後に胎仔脳を摘出し，2日間Neurobasal mediumで分散培養したところ，異所性KCC2発現胎仔皮質板細胞では，インビボ（胎齢18日）とは違い $[Cl^-]_i$ が低下していた。ついで，タウリン（3 mM）を加えて分散培養した場合の，異所性KCC2発現培養細胞の $[Cl^-]_i$ は非発現細胞と同程度であり，タウリンがKCC2機能を抑制していた。GABA<sub>A</sub>受容体阻害剤とグリシン受容体阻害剤を同時に加えて培養しても，タウリンのKCC2機能抑制に変化はなかった。ところが，タウリントランスポータ阻害剤を加えて培養すると，異所性KCC2発現培養細胞の $[Cl^-]_i$ は非発現細胞に比べて有意に低下した。すなわち，タウリンは細胞内に取り込まれてKCC2蛋白機能を抑制することが明らかとなった。

### 2. タウリン誘発電流ノイズとCa<sup>2+</sup>振動の相関の解析：[福田、熊田、江川]

トニックGABA電流は，タウリンに富むサブプレート領域で，タウリンがほとんどない脳室帯／脳室下帯に比べて有意に大きく，タウリンによるGABA<sub>A</sub>受容体の持続刺激が示唆された。Ca<sup>2+</sup>イメージングを行い，皮質板細胞の自発性Ca<sup>2+</sup>振動の頻度に対してGABAは増加，タウリンは上昇と減少を惹起した。すなわち，ノイズ応答の異なるGABAとタウリンに対して自発的Ca<sup>2+</sup>振動の頻度も異なる応答を示すことを見出した。Ca<sup>2+</sup>振動と膜電位振動の関連性を解析するために，自発的なCa<sup>2+</sup>振動を起こしている細胞に対して，Amphotericin B穿孔パッチクランプ法を適用したところ，Ca<sup>2+</sup>振動に伴う脱分極性の膜電位の変化が認められた。しかし，この手法で同時記録できた細胞は10回の試行で1回と非常に効率が悪く，実験手技自体の改良が必要であると考えられた。

3. focal freeze-lesion (FFL) による細胞ストレスの影響の評価：[福田, 熊田, 森島]

GAD67-GFP knock-inマウス母体の妊娠14.5または17.5日にBrdUを腹腔内投与し、出生直後の仔にFFLを行い、細胞種間ならびに細胞発生時期による細胞ストレスに対する反応の差異を検討した。「細胞移動にはNKCC1がKCC2に比べて優位で $[Cl^-]_i$ が高い必要がある」という我々の仮説どおり、tangential移動のGABA細胞、radial移動のglutamate細胞いずれにおいても、FFL後の移動細胞では顕著なKCC2発現減少とNKCC1の増加がみられた。胎生17.5日発生の細胞はこれらの幼若回帰が誘導されたが、胎生14.5日発生の細胞には見られなかった。したがって、異常移動によって微小脳回を形成したのは、本来II/III層を構成するはずの胎生17.5日発生細胞であった。NKCC1とKCC2発現変化を比較し、tangential/radial移動や発生時期による差異についても検討する。一方GABA細胞は発生時期にかかわらず幼若回帰を示しFFL後4日目に傷害創周囲に集積した。細胞外GABAの局在をGABAイメージング法で解析したところFFL後4日目をピークに傷害創で高濃度となっており、FFLによる分化・移動の障害との関連が強く示唆された。

4. 母体ストレスによる環境ストレスの影響の評価：[福田, 古川]

GAD67-GFP knock-inマウスに妊娠 9-21日の拘束ストレスをかけたが、HPLC法を用いて検討した胎仔脳内のGABAやタウリン量に有意な差はなかった。ストレス期間の変更および測定部位を変更して測定する必要があると結論した。そこで、妊娠15-17日の拘束ストレスに変更した。皮質板細胞の発生や移動に変化はなかったが、拘束ストレス暴露中の胎仔GABA細胞の発生が有意に減少した。また、細胞外GABA濃度はむしろ増加傾向があり、発生障害との関連が示唆された。

5. KCC2蛋白機能抑制因子の検討-② (液性因子の検討)：[福田]

培養液中に $17\beta$ -estradiol、Aprogesterone、タウリンを加えて培養し、パッチクランプで異所性KCC2発現細胞のGABA逆転電位を測定し $[Cl^-]_i$ 変化を検討した。タウリンのみ、GABA逆転電位を脱分極側にシフトさせたので、KCC2蛋白機能を抑制したと考えられた。

6. 異所性KCC2蛋白の発達の機能変化とリン酸化/脱リン酸化の関与：[福田, 古川]

胎仔脳のスライスを作製して異所性KCC2を発現した細胞 (EGFP発現) からパッチクランプ法により $[Cl^-]_i$ を測定した。脱リン酸化阻害剤vanadateは胎齢18日でも生後1週齢でも効果なく、リン酸化阻害剤staurosporineは異所性KCC2がまだ機能していない胎齢18日では効果なかったが、機能し始める生後1週では $[Cl^-]_i$ を低下させたので、KCC2蛋白の機能抑制にはリン酸化が関与している可能性が示唆された。インビボ胎仔皮質板細胞で一過性に豊富なタウリンが関与する可能性がある。

7. 異所性KCC2蛋白の発達の機能変化とオリゴマー化の関係：[熊田, 福田]

強制発現させたKCC2のオリゴマー化の阻害が原因で機能発現しない可能性を検討するため、sulfhydryl還元剤を含まないdetergentを用いて異所性発現させたKCC2のWestern blottingを行った。

異所性KCC2のバンドは抗Flag抗体（1:1000）を用いて同定し、タウリンの有無での異所性KCC2のモノマー／オリゴマー比を比較してオリゴマー化の差を解析したが、有意な差は認めなかった。以上から、細胞内タウリンの異所性KCC2蛋白機能抑制作用にはオリゴマー化の障害は関係していないと結論した。

8. 三叉神経痛モデルにおけるKCC2とNKCC1 mRNAの発現変化：〔熊田，福田〕

右の三叉神経第Ⅱ枝の感覚神経の末梢部位（眼窩下神経）を、組織反応性の強い吸収糸で圧迫結紮して作製した三叉神経痛モデルを用い、前年度に引き続き、脊髓路核尾部と神経節でのKCC2とNKCC1のmRNA発現の変化を、行動評価を行った直後（術後1-4週）にin situ hybridization法を用いて半定量（銀粒子数／放射線感光シグナル強度）した。アロディニア、痛覚過敏に一致して傷害側の脊髓路核尾部でKCC2の発現が統計学的有意差をもって低下し、神経節ではC線維とAb線維の感覚神経細胞体でNKCC1の発現が統計学的有意差をもって増加することを確認した。

9. 三叉神経痛モデルにおけるKCC2とNKCC1蛋白の発現変化：〔古川，福田〕

三叉神経痛モデルの脊髓路核尾部でのKCC2の蛋白局在の変化を、行動評価を行った直後（術後1-4週）に細胞質蛋白のNeuNに対する抗体と抗KCC2抗体で2重染色し、共焦点顕微鏡を用いて解析した。アロディニア、痛覚過敏に一致して傷害側の脊髓路核尾部の中継細胞で、膜に局在するKCC2蛋白が減少した。中継ニューロンへの一次感覚線維終末におけるシナプス前作用（primary afferent depolarization）にNKCC1が関与する可能性を検討するため、さらに、一次感覚ニューロン特異蛋白のperipherinに対する抗体と抗NKCC1抗体による2重染色を行って、脊髓路核尾部の一次感覚線維終末でのNKCC1の変化を検討したが、抗体の特異性・感度が十分でなく、結論は出なかった。別の抗体を使用する必要があると判断した。しかし、神経節ではmRNAの結果と一致して、C線維とAb線維の感覚神経細胞体でNKCC1蛋白の発現が増加していた。

10. アストロサイトのCl<sup>-</sup>バッファリングの発見とてんかんに関する研究：〔福田，江川〕

アストロサイトはシナプス間隙からspill-overしたGABAに応答し、主としてGABA<sub>A</sub>受容体を介したCl<sup>-</sup>の細胞外への流出をおこし、さらにギャップジャンクションを介してCl<sup>-</sup>を空間的に補填することで過剰神経活動時のCl<sup>-</sup>濃度勾配破綻を防いでいる可能性が考えられた。今回の研究成果としてアストロサイトのCl<sup>-</sup>バッファリングという新しい概念を確立できたので、抗てんかん薬の新しいターゲットとして、将来のてんかん治療法開発につながりうると考えた。

13 この期間中の特筆すべき業績，新技術の開発

福田・森島は豊橋技術科学大学の吉田祥子との共同開発で細胞外GABAのイメージング法（GABAが $\alpha$ ケトグルタル酸存在下でスライドガラス上に担持させた分解酵素のアミノトランスフェラーズとコハク酸セミアルデヒド脱水素酵素によって最終産物のsuccinateに分解される際に、NADPが還元されて発生するNADPHの蛍光を観察する。）を確立した。これは、シナプス外に放出されたGABAの空間的分布を定量的かつ経時的に比較できる画期的方法で、今後はトニックGABA作用

の詳細解明に多大な貢献が期待できる。

#### 14 研究の独創性, 国際性, 継続性, 応用性

福田のCIホメオダイナミクス仮説は世界的に注目されており, 多数のレフリー依頼や, シンポジウム, 招待セミナー等の講演依頼がある。

(1) 「母体の環境的ストレスによる胎仔脳GABAシステムの発達異常」第3回福岡大学周産期学術研究会 (福岡大学医学部産婦人科, 宮本新吾), 9/24/2009

(2) 「胎仔・新生仔への後天的ストレスによるGABAシステム変調が脳の発達異常を招来する」大阪大学大学院医学系研究科 連合小児発達学研究所 (子どものこころの分子統御機構研究センター, 谷池 雅子), 1/28/2010

特筆すべきものとしては発達神経科学のカリスマ的存在のPasko Rakic と John Rubenstein が編集し2012年にElsevier社から刊行予定のComprehensive Developmental NeuroscienceにおいてCIホメオスタシスと病態に関する1章の執筆を依頼されたことである (現在編集中)。また, ヨーロッパ神経科学学会と国際脳科学学会が合同で行う若手研究者教育プログラム (PENS: Programme of European Neuroscience Schools) の講師に指名され, 2010年の1月10日から17日の1週間にわたってオーストリアのOberurglでの合宿授業 (PENS/Hertie WINTER SCHOOL 2010: Multiple facets of GABA in brain development) に参加した。この領域における世界のトップ24人の講師陣とともに, ヨーロッパを中心に世界中から選抜された37人の新進研究者の教育を行い, 両学会長連名の感謝状を授与された。このようにGABA神経回路とCIホメオスタシス分野における世界的権威の一人として認められており, CIホメオダイナミクスに関する主要論文3本の引用数はすでに300を超えている。