

生理学第一

1 構 成 員

	平成23年3月31日現在
教授	1人
准教授	1人
講師(うち病院籍)	0人 (0人)
助教(うち病院籍)	2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	3人
大学院学生(うち他講座から)	0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)	2人
合計	9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(准教授)(H14.4.1～H19.3.31 助手; H19.4.1～H21.7.31 休職; H21.8.1～
H22.3.31 助教; H22.4.1～現職)

熊田竜郎(助教)(H17.6.15～H19.3.31 助手; H19.4.1～現職)

古川智範(助教)(H19.4.1～現職)

3 研究業績

数字は小数2位まで。

	平成22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	20.56
(2)論文形式のプロシーディングズ数	1編
(3)総説数(うち邦文のもの)	1編 (1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)	2編 (2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. Morishima, T., Uematsu, M., Furukawa, T., Yanagawa, Y., Fukuda, A. and Yoshida, S.: GABA imaging in brain slices using immobilized enzyme-linked photoanalysis. *Neurosci Res* 67: 347-353, 2010. [IF:2.09]
2. Kumada, T., Komuro, Y., Li, Y., Hu, T., Wang, Z., Littner, Y. and Komuro, H.: Inhibition of cerebellar granule cell turning by alcohol. *Neuroscience* 170: 1328-1344, 2010. [IF:3.21]

インパクトファクターの小計 [5.3]

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. Saitsu, H., Tohyama, J., Kumada, T., Egawa, K., Hamada, K., Okada, I., Mizuguchi, T., Osaka, H., Miyata, R., Furukawa, T., Haginoya, K., Hoshino, H., Goto, T., Hachiya, Y., Yamagata, T., Saitoh, S., Nagai, T., Nishiyama, K., Nishimura, A., Miyake, N., Komada, M., Hayashi, K., Hirai, S., Ogata, K., Kato, M., Fukuda, A. and Matsumoto, N.: Dominant negative mutations in α -II spectrin cause early onset West syndrome with severe cerebral hypomyelination, spastic quadriplegia, and developmental delay. *Am J Human Genet* 86: 881-891, 2010. [IF:11.68]
2. Yamada, J., Inoue, K., Furukawa, T. and Fukuda, A.: Low-concentration tributyltin perturbs inhibitory synaptogenesis and induces neuronal death in immature but not mature neurons. *Toxicol Lett* 198: 282-288, 2010. [IF:3.58]
3. Saito, K., Kakizaki, T., Hayashi, R., Nishimaru, H., Furukawa, T., Nakazato, Y., Takamori, S., Ebihara, S., Uematsu, M., Mishina, M., Miyazaki, J., Yokoyama, M., Konishi, S., Inoue, K., Fukuda, A., Fukumoto, M., Nakamura, K., Obata K., and Yanagawa Y.: The physiological roles of vesicular GABA transporter during embryonic development: a study using knockout mice. *Mol Brain* 3: 40, 2010. [IF: 未公開]

インパクトファクターの小計 [15.26]

(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. 福田敦夫:神経回路機能の発達と病態(GABAを中心に). 講師, 第40回小児神経学セミナー, 2010年9月, 葉山.

(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:発達期における麻酔薬のGABA受容体に及ぼす影響からの分析. 特集「麻酔薬は敵か味方か(神経編)」, LiSA 17巻12号, 1176-1181, 2010.

(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 18 回メディカルホトニクスコース講習テキスト，89-108, 2010.
2. 福田敦夫：(分担) 7章 呼吸の機構，遠山正彌，高辻功一，木山博資 編：人体の解剖生理学，231-252, 金芳堂，2010.

4 特許等の出願状況

	平成22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22年度
(1) 文部科学省科学研究費	1125万円 (5件)
(2) 厚生科学研究費	0万円 (0件)
(3) 他政府機関による研究助成	0万円 (0件)
(4) 財団助成金	150万円 (2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) 母体への環境的ストレスによる胎仔脳 GABA システムの発達異常 650 万円 (新規)

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) 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 20 万円 (継続) 研究代表者 大阪医科大学 助教 早崎 華

(4) 財団助成金

井上浩一 (代表者) 財団助成金 妊娠時のイオントランスポーター NKCC1/2 の発現・機能変化の解析 (神澤医学研究振興財団) 100 万円 (新規)

江川 潔（代表者）財団助成金 Astrocytic responses to GABA spill-over from synaptic clefts and the functional role for regulating extracellular Cl⁻ in CA1 stratum lacunosum-moleculare (SLM)（内藤記念科学振興財団）50万円（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	0件	1件
(2) シンポジウム発表数	2件	3件
(3) 学会座長回数	2件	3件
(4) 学会開催回数	1件	1件
(5) 学会役員等回数	1件	6件
(6) 一般演題発表数	1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.: Official Member, Japan-Korea Joint Symposium of Brain Sciences, and Cardiac and Smooth Muscles, Kagoshima, Japan, November, 2010. 80名.

3) 国際学会・会議等でのシンポジウム発表

1. Fukuda, A.: A heterozygous deletion in the glutamate decarboxylase 67 gene enhances maternal and fetal stress vulnerability. The 37th Japan Brain Science Society and 2010 Tianjin Physiological Society Meeting, Tianjin, China, October, 2010.
2. Fukuda, A., Morishima, T., Kumada, T., Takayama, C. and Yoshida, S.: Roles of ambient GABA during cerebellar development. The 9th Korea-Japan Joint Symposium of Brain Sciences, and Cardiac and Smooth Muscles, Kagoshima, Japan, November, 2010.

4) 国際学会・会議等での座長

1. Fukuda, A.: The 9th Korea-Japan Joint Symposium of Brain Sciences, and Cardiac and Smooth Muscles, Session II : Synapses and Neurons, Kagoshima, Japan, November, 2010.
2. Fukuda, A.: The 37th Japan Brain Science Society and 2010 Tianjin Physiological Society Meeting, Tianjin, China, October, 2010.

5) 一般発表

口頭発表

1. Wang, T., Kumada, T., Morishima, T., Yanagawa, Y. and Fukuda, A.: Temporally-increased GABA underlies the formation of freeze lesion-induced microgyrus and causes GABA_A receptor-mediated

excitation. The 37th Japan Brain Science Society and 2010 Tianjin Physiological Society Meeting, October, 2010, Tianjin, China.

(2) 国内学会の開催・参加

1) 主催した学会名

1. 福田敦夫：第 19 回メディカルホトニクスコース，運営委員，2010 年 8 月，浜松。

2) 学会における特別講演・招待講演

1. 福田敦夫：神経回路機能の発達と病態 (GABA を中心に)。講師，第 40 回小児神経学セミナー，2010 年 9 月，葉山。

3) シンポジウム発表

1. Fukuda, A.: GABA and taurine releases through volume-sensitive anion channels during early brain development (脳発達初期における容積感受性陰イオンチャネルからの GABA とタウリンの放出)。シンポジウム「Cl⁻輸送タンパク質による多彩な生理機能のレギュレーション」，第 87 回日本生理学会大会，2010 年 5 月，盛岡。
2. Fukuda, A., Morishima, T., Kumada, T., Takayama, C. and Yoshida, S.: Proliferation of cerebellar granule cell precursors is promoted by GABA released from Bergmann glial cells. シンポジウム "New insights into neuron-glia interrelations" 「アストロサイトの生理機能研究の新展開」，第 33 回日本神経科学大会，2010 年 9 月，神戸。
3. 福田敦夫：神経生理学から見た未熟な脳の特異性。シンポジウム「脳低温療法の未来」，第 55 回日本未熟児新生児学会学術集会，2010 年 11 月，神戸。

4) 座長をした学会名

1. 福田敦夫：平成 22 年度生理学研究所研究会，『シナプス伝達の概念志向型研究』，「ニューロン形態・シナプス機能変化」，2010 年 12 月，岡崎。
2. 福田敦夫：第 33 回日本神経科学大会 (Neuro 2010)，一般演題 (口演)，「痛覚」" Pain"，2010 年 9 月，神戸。
3. 井上浩一：第 57 回中部日本生理学会，一般演題 (口演)，2010 年 10 月，豊明。

(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 常任幹事，評議員，学術研究委員会委員

福田敦夫 日本神経科学学会 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 日本脳科学学会 評議員，監査役

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(レフリー数は除く)	0件	0件

(3) 国内外の英文雑誌のレフリー

Neurochem Res (Japan) 1回, J Neurophysiol (USA) 1回, Neuroscience (EU) 1回

9 共同研究の実施状況

	平成22年度
(1) 国際共同研究	0件
(2) 国内共同研究	11件
(3) 学内共同研究	1件

(2) 国内共同研究

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

渡辺雅彦 (北海道大学大学院医学研究科解剖学講座解剖発生学分野) NKCC1 および KCC2 抗体の機能解析

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

西 昭徳 (久留米大学医学部薬理学講座) 大脳皮質 GABA 作動性シナプスと PDE4 の関連の解析

松本直通 (横浜市立大学大学院医学研究科環境分子医科学) 精神神経疾患発症素因の GABA 神経伝達への影響

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

二ノ宮裕三 (九州大学歯学研究院) 味細胞の GABA シグナルの証明と解析

谷田部淳一 (福島県立医科大学医学部腎臓高血圧・糖尿病内分泌代謝内科学講座) 腎臓の GABA シグナルの証明と高血圧との関連

金子武嗣 (京都大学大学院医学研究科) GAD67 抗体を用いた GABA 細胞と KCC2/NKCC1 共存の解析

平田たつみ (国立遺伝学研究所脳機能研究部門) LOT 細胞移動と代謝型グルタミン酸受容体との関連のイメージングによる解析

鍋倉淳一 (生理学研究所生体恒常機能発達機構部門) GABA 細胞移動と細胞外 GABA 濃度の役割

(3) 学内共同研究

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

10 産学共同研究

	平成22年度
産学共同研究	0件

11 受賞

(2) 外国からの授与

福田敦夫：French National Research Agency (France) 研究費審査委員

(3) 国内での授賞

江川 潔：日本てんかん学会・Juhn and Mary Wada 奨励賞, 2010年7月.

江川 潔：第29回内藤コンファレンス・2010年度内藤記念科学振興財団研究奨励賞, 2010年10月.

王 天英：第37回日本脳科学大会・日本脳科学会奨励賞, 2010年10月.

12 研究プロジェクト及びこの期間中の研究成果概要

1. 胎仔大脳皮質のGABAシステム発達過程の解析：

GABAの酵素反応法によるイメージングで胎仔大脳皮質の細胞外GABAの空間的分布を解析した。GABA放出部位は脳室下帯／中間帯、辺縁帯、皮質板で多く、これは、GABA細胞の分布とよく一致しており、細胞外GABAはtangential移動GABA細胞からのparacrineであることが示唆された。

2. Cl⁻ホメオスタシス破綻モデルの作製：

ラット子宮内胎仔の脳に、活性型変異KCC2遺伝子をIUEP法で導入し[Cl⁻]_iを強制的に低下させたところ細胞移動は著しく抑制され、細胞移動に高[Cl⁻]_iが必須であることを証明した。また、ラットNKCC1のshRNAを作製しIUEPを行った。マウスでは移動中の細胞のCa²⁺振動が部位により変化し、細胞外GABAやタウリンの空間的分布との関連が示唆された。

3. 母体タウリン合成阻害による胎仔脳内タウリン欠乏の胎仔GABAシステムへの影響：

D-システインスルフィン酸を、妊娠13-15日のマウス腹腔内に12時間毎に投与して母体のタウリンの合成を阻害すると胎仔脳の細胞外タウリン量は50%減少し、トニックGABA_A受容体作動性脱分極も減少した。radial migrationはGAD67-GFP knock-inで促進されたが、特にヘテロとホモで有意であったことから、GABAがタウリンと相補的に働く可能性が示唆された。

4. 母体拘束ストレスが胎仔脳GABAシステムに与える影響：

GAD67-GFP knock-in野生型母体に妊娠15日目から3日間、毎日45分の拘束・光刺激ストレスを一日3回与えた。ヘテロ型胎仔大脳皮質のGABA含量に変化はなかったが、GABA細胞数は減少し、逆にGABA放出量は増加傾向であった。以上から胎仔脳GABAシステム

の変調が示唆された。

5. タウリン作用へのリン酸化／脱リン酸化の関与の検討と細胞内情報伝達分子の同定：

すでにリン酸化酵素阻害剤でタウリンによる KCC2 機能抑制の解除が起こることを確認していたので、想定されるリン酸化部位に変異を導入した KCC2 mutant を作製して実験に供した。ラットを用い、*in vitro* でのタウリンによる KCC2 蛋白機能抑制は消失し、*in vivo* では wild では起こらない細胞移動の抑制を示した。タウリンが活性化するリン酸化酵素と基質である KCC2 のリン酸化部位を同定した。

6. Ca^{2+} 振動を指標としたモーダルシフトの発生部位の解析：

胎齢 17.5 日のマウス大脳皮質スライスでタウリントランスポーター阻害剤 (GES)、GABA トランスポーター阻害剤 (ニペコチン酸) を投与して、移動中の細胞 (電気穿孔法で mRFP 導入) の示す自発的 Ca^{2+} transients に対する影響を比較した。皮質板ではニペコチン酸が、サブプレートでは GES が Ca^{2+} 振動の頻度を上昇させる傾向を示したが、中間帯では Ca^{2+} transients そのものが少なく GES も作用しなかった。GABA イメージングで GABA 放出部位は脳室下帯と中間帯に多く、これらの場所に少なくサブプレートに多いタウリンの空間分布とは相反的であった。上の結果から、タウリンと GABA は Ca^{2+} 振動の変調と移動モードのシフトに各々異なる役割で関与する可能性が考えられた。

7. 母体拘束ストレスが胎仔脳タウリン量とモーダルシフトに与える影響：

妊娠 15 日目のマウスに、拘束・光刺激ストレスを一日に 3 回、妊娠 17 日目まで 3 日間続けた。胎仔大脳皮質のタウリン含有量がストレス群で減少傾向にあった ($p=0.077$)。しかし、GABA、グルタミン酸の含有量に変化はなかった。さらに、皮質板細胞の発生や細胞移動を観察したところ、全く影響を受けていなかった。その一方で、GABA 細胞は有意にその発生数が減少していた。

8. 三叉神経痛モデルにおける異常神経回路の光生理学的機能評価：

モデル作成の際に眼窩下神経の結紮部位に DiI を取り込ませ、傷害線維を蛍光標識し、眼窩下神経の走行に沿った脳幹水平断スライス標本作製し、脊髓路核尾部の一次感覚線維を同定した。水平断脳幹スライス標本作製し、膜電位感受性色素 JPW1114 を細胞膜に吸着させ、膜電位光学測定を行った。一次知覚神経の電気刺激による脊髓路核のシナプス後電位と活動電位の空間伝播を 2 次元的に可視化し、傷害側での興奮伝播の拡大と, bicuculline による抑制を確認し、二次ニューロンでの GABA 作用逆転による過剰興奮神経回路の形成を証明した。 Ca^{2+} -free 溶液で還流し、シナプス前線維の興奮のみを記録して、bicuculline や bumetanide による作用を確認して、介在 GABA ニューロンを介した primary afferent depolarization が一次神経終末でのシナプス前抑制に寄与することを示した。傷害側では一次神経終末でも NKCC1 増加による $[Cl^-]_i$ 上昇により GABA が Cl^- 流出による興奮を惹起し、シナプス前促進に転じていると思われた。

9. 三叉神経節における GABA による痛覚モデュレーションの証明にむけた試み：

三叉神経脊髄路核中継ニューロンでの上記の変化に加え、さらに一次感覚ニューロンの神経節細胞体でも NKCC1 が増加していた。感覚線維の電気刺激で三叉神経節内で GABA が放出されることを GABA イメージング法で証明した。すなわち、三叉神経節細胞が合成する GABA による autocrine/paracrine 作用で痛覚伝導が促進され、アロディニアに参与するとの仮説と矛盾しない結果であった。

13 この期間中の特筆すべき業績、新技術の開発

1. GABA イメージング確立。陰イオンチャネルからの GABA 放出の発見、母体ストレスモデル確立、タウリンの生理機能の新発見
2. α -II spectrin の dominant negative mutations が West syndrome の発症に関連することの生理学的証明（松本との共同研究 Am J Human Genet）

14 研究の独創性、国際性、継続性、応用性

福田は GABA 神経回路と Cl⁻ 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、Cl⁻ 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 374 である。この Cl⁻ 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。

今年度、特筆すべきものとしてはフランスの French National Research Agency から科学研究費審査委員を依頼されたことである。

また、今年度の特徴として、Cl⁻ ホメオダイナミクス仮説が臨床研究者にも浸透してきたことであろう。その結果、上にあげたように、小児神経学会、未熟児新生児学会、臨床麻酔学分野から、招請講演や総説執筆の依頼が多く来るようになった。

今年度の招待研究セミナーは以下のとおりである。

- (1) 「Cl⁻ ホメオダイナミクスと GABA でみる脳の発達と病態」弘前大学大学院 脳研セミナー 脳神経生理学講座（上野伸哉），2/4, 2011
- (2) 「三叉神経痛モデル神経節と脊髄路核における細胞内 Cl⁻ と GABA 作用のダイナミクス」、九州大学 大学院歯学研究院（二ノ宮裕三），11/22, 2010
- (3) 「容積感受性 Cl⁻ チャネルからの GABA 放出の神経生理機能」、九州大学 大学院歯学研究院（二ノ宮裕三），6/1, 2010