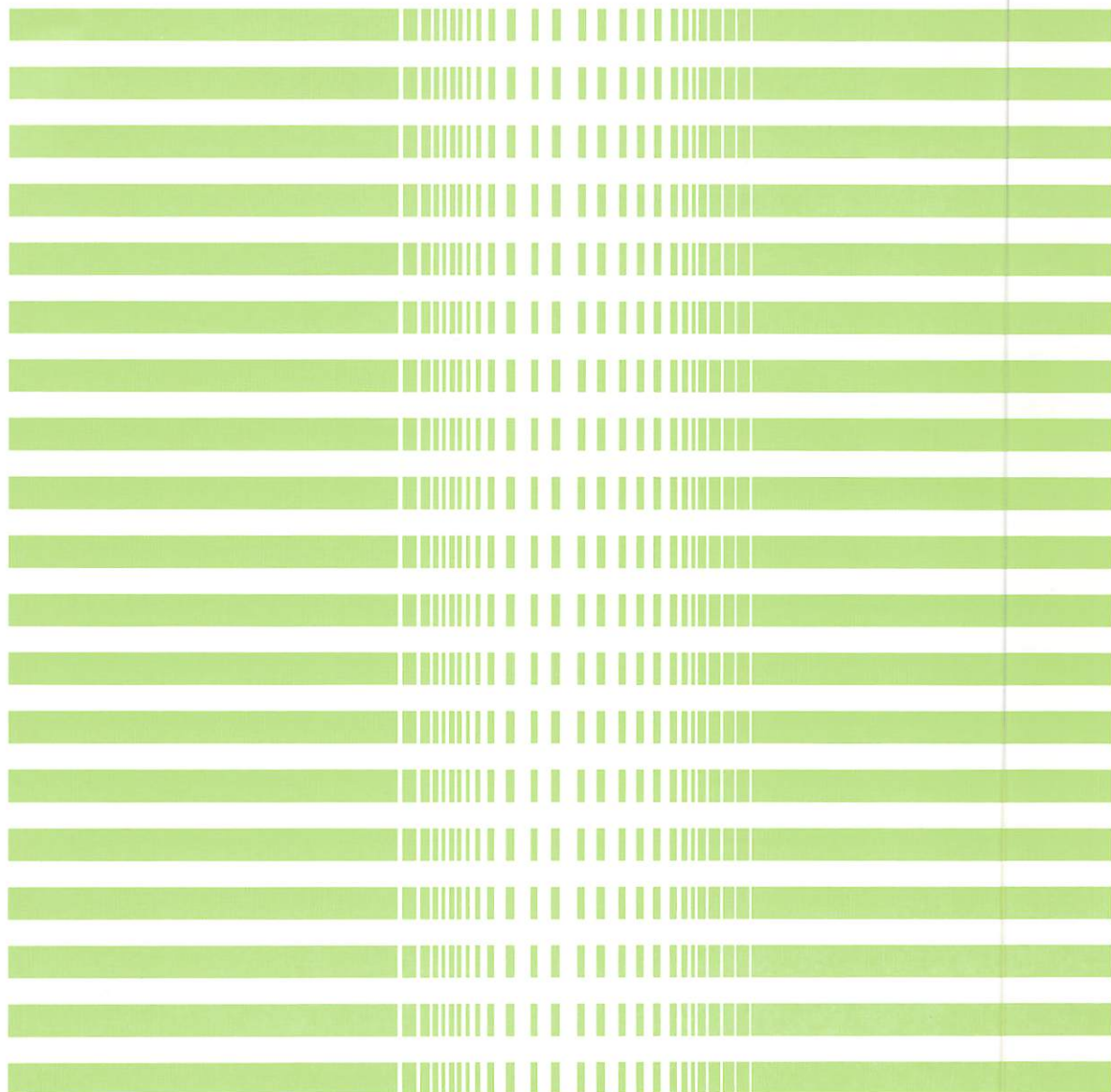


ISSN: 0037-3796



神経化学

Bulletin of the Japanese Society for Neurochemistry
Vol.52 (No.1), 2013



平成 25 年 3 月

目 次

理事会からのお知らせ	1
国際神経化学会及びアジア太平洋神経化学会入会について	
国際対応委員会からのお知らせ	3
輝け次代の担い手たち	
「グルタミン酸作動性シナプスと統合失調症」.....	5
林 (高木) 朗子 (東京大学大学院医学系研究科疾患生命工学センター 構造生理学部門)	
「神経発生における Rho 標的アクチン重合因子 mDia の役割」	13
篠原 亮太 (京都大学大学院医学研究科神経細胞薬理学教室)	
「子宮内電気穿孔法により見えて来た大脳皮質形成のメカニズム」	22
田畑 秀典 (愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所神経制御学部 臨床薬理学研究室)	
「大脳皮質抑制性ニューロンの移動を停止する要因の解析」	31
稲村 直子 (自然科学研究機構生理学研究所分子神経生理研究部門)	
研究室紹介	
信州大学医学部神経生理学講座	39
田渕 克彦	
群馬大学先端科学研究指導者育成ユニット	41
定方 哲史	
次期大会のご案内	43
学会掲示板	55
賛助会員一覧	57
編集後記	59

理事会からのお知らせ

国際神経化学会及びアジア太平洋神経化学会入会について

国際対応委員長 白尾 智明

1) 国際神経化学会 (International Society for Neurochemistry : ISN) は全世界の神経化学研究者の情報交換を目的として作られた学会です。ISN では隔年で大会を開催しており、次回は 2013 年 4 月 20 日から 26 日まで Cancun (Mexico) で開かれます。プログラムは毎回充実したものであり、世界のトップクラスの脳神経系の研究者が集まり、多くの情報を収集することができます。また、ISN に入会されますと、Ph.D. または M.D. を取得して 8 年以内の若い研究者には大会参加への旅費が補助される制度などを初めとして、いろいろな特典がありますので、是非この機会にご入会下さい。

ISN に入会すると

- 1) その年の 12 月までの会費が免除になります。
- 2) ISN 大会の参加費が会員レートになります。(加えてスピーカーになると 300 ドルのボーナスがもらえます)
- 3) Journal of Neurochemistry の購読料が割引になり、online 版には無料でアクセスできます。
- 4) Neurochemical Societies newsletter、Neurochemistry News が年に 2 回送付されます。

入会資格：Ph.D.、M.D. もしくは同等の学位を有するもので、神経化学に関連した活動（分子・細胞神経生物学を中心として、分子から行動までを広く含む）をすることが期待できる人。

年会費：US\$60

ただし、新しく入会した人にはその年の 12 月までの会費が免除されます。また、最近神経化学分野での研究を始め博士課程を修了して 3 年以内の人、または今後も神経化学分野での活動をするのが期待される博士課程にある人は会費を減額 (US\$25) される資格があります。

入会方法：オンライン (<http://www.neurochemistry.org/>) でまず My ISN アカウントを作成し、その後入会申し込みを行うことが出来ます。入会する場合は ISN の会員 1 名の名前、連絡先が必要です (これについてはもし心当たりが無ければ白尾 (tshirao@med.gunma-u.ac.jp) までご連絡下さい)。

(注) 次年度以降の会費もクレジットカードでの決済ができるようになりました。

2) アジア太平洋神経化学会 (Asian-Pacific Society for Neurochemistry : APSN) は上述の ISN の 3 つの下部組織の一つとして、ヨーロッパ神経化学会 (European Society for Neurochemistry : ESN)、アメリカ神経化学会 (American Society for Neurochemistry : ASN) と並ぶものです。主にアジア太平洋地域の神経科学研究者が情報交換、交流を行う目的で結成され、現在隔年 (ISN とは異なる周期) に大会を開いています。APSN は ISN との間で良好な関係を持っており、大会開催などに対する確固たる財政支援を受けていることも魅力の一つです。APSN は若手研究者の育成に力を注いでおり、大会では

通常の口頭発表、ワークショップに加えて Young investigator colloquium という若手研究者が集って最先端の研究成果を発表するシンポジウムを設けています。ポスター発表もちろんありますが、このような口頭発表の機会が多いので、日本の若手研究者が英語による口頭発表の経験を積むのに好適な学会と考えます。是非この機会にご入会下さい。

1) 年会費

正会員：US \$ 40/年（年会費に関してはカテゴリ 1～4 がありますが、日本の研究者はカテゴリ 1 で年 40 ドルです）

学生会員：US \$ 10/年

2) 入会手続き

入会申込書及び送付先が少し変更になったため、現在オンラインで入手できなくなっておりますが、入会申込書を日本神経化学会のホームページからダウンロード出来るようにいたしました。URL アドレスは http://www.neurochemistry.jp/ISN-APSN/?action=common_download_main&upload_id=127 です。

必要事項を記載（英語はブロック体或いはタイプで明瞭に）して、簡単な履歴書（英文）と過去 5 年間の論文リストと一緒に下記宛まで送って下さい。学生会員の場合は学生であることを証明する文書（英文）を付け加える必要があります（E-mail を歓迎しているそうです）。

Professor Andrew Lawrence

Howard Florey Institute, University of Melbourne

Royal Parade

Parkville

Vic 3010

AUSTRALIA

Email : Andrew.Lawrence@florey.edu.au

Tel : (+) 613 8344 0414 ; Fax (+) 613 9348 1707

国際対応委員会からのお知らせ

国際対応委員会委員長 白尾 智明

2013年4月からの新しい国際神経化学会の Treasurer に池中一裕先生が、理事に久永真一先生が当選されました。皆様のご協力に感謝いたします。

2013年4月20日から24日までメキシコカンクーンで開催される 24th Biennial Meeting ISN/ASN 2013 の Travel Grant Award 申請支援事業には6人の応募をいただきました。幸い全員（国際神経化学会から4人、日本神経化学会から2人）が援助を受けることができました。次回の 25th Biennial Meeting ISN は2015年にオーストリアのケアンズで開催されます。その際も Travel Grant Award 申請支援事業を行いますので、どしどしご応募ください（今までこの支援事業に応募された方は全員何らかの援助を受けることができます）。なお、ISN 大会以外でも神経化学に関連する国際学会での Travel Grant Award に応募する場合は申請支援を行っておりますので、希望のある方は、随時国際対応委員会まで御連絡ください。

輝け次代の担い手たち

グルタミン酸作動性シナプスと統合失調症

林 (高木) 朗子

(東京大学大学院医学系研究科疾患生命工学センター構造生理学部門、
科学技術振興機構さきがけ「脳神経回路の形成・動作と制御」領域)

はじめに

脳をコンピューターに例えてその機能を考察することは多いが、両者のもっとも大きな違いは、脳には「可塑性」があり、コンピューターにはないことだろう。コンピューターでは複雑な回路が予め設定され、文脈に応じてその中でどのように電気信号が流れようが、回路そのものが変化することは無い。一方、脳回路の場合、回路の使われ方、即ち、感覚刺激などの神経入力により、回路の結合の強弱が変化する「可塑性」という現象が知られている。可塑性のメカニズムの本体は、シナプス伝達効率を変化させることによって（シナプス可塑性）、神経回路にどのように電気信号が流れるかを改変していくことであり、また伝達効率が増加するだけではなく、刺激・学習に呼応して新しいシナプスの構築および既存のシナプスの排除がおこなわれ、神経回路網を動的に変化させる。このような可塑性こそ、学習・記憶の原理であると考えられ、言い換えれば、シナプスは回路の最小単位という側面だけでなく、回路そのものの制御因子と言える¹⁾。われわれが柔軟に思考・行動を変化させて環境に適応していくのも（もしくは柔軟に適応できずに困るのも）、シナプスの可塑性が主要な決定因子であることは、もはや疑いの余地は無い。シナプスは使用される伝達物質の種類によって様々に分類されるが、グルタミン酸を神経伝達物質として使用するグルタミン酸作動性シナプスはその中でも主要なものである。興味深い事に、グルタミン酸作動性シナプスの異常、その中

でも可塑性に重要な役割を担うグルタミン酸受容体である N-methyl-D-aspartate (NMDA) 受容体の障害が統合失調症の病態生理として示唆されており、人類遺伝学、死後脳研究、SPECT や MRS 等の患者由来脳画像研究、薬理学的所見など多岐にわたる強固なエビデンスが日々報告されている^{2)~4)}。しかしながら、どのような病態がシナプスレベルで進行していくのかを生きたままの脳で観察することはヒト研究はおろか、動物モデルですら不可能であった。ところが昨今の日進月歩の目覚ましいイメージング技術の発展、とりわけ 2 光子顕微鏡の発達に伴い、生体脳を比較的非侵襲的に *in vivo* で繰り返しイメージングすることが可能になった。さらには、これら同一個体に行動解析を併用し、シナプス形態・機能と精神疾患様異常行動との関連を模索することが可能になりつつある。本稿では、統合失調症の疾患脆弱性候補遺伝子である DISC1 のシナプス機能を統合失調症病態モデルの 1 つとして概略し、この病態が一般的な統合失調症の病態生理へとどの程度、普遍化できるかを考察する。続いて、最先端のイメージング技術を紹介し、上記のメカニズムと個体レベルの行動異常との関連を検証するためのアプローチの 1 つとして我々の戦略について概略する。

1. グルタミン酸作動性シナプスにおける DISC1 機能：DISConnectivity by DISC1

統合失調症は遺伝学的要因が非常に強いいため、人類遺伝学の発達に伴い比較的簡単にその病因が

解明出来ると考えられた時代が存在した。しかしながら、連鎖解析および連鎖部位に対する集約的な相関解析等にはじまり、全ゲノム相関解析、染色体の部分的な重複・欠失である CNV (copy number variation)、Exome 解析 および Whole Genome Sequencing などの Next Generation Sequencing、さらには染色体修飾などエピジェネティック変化など国際的な熾烈な遺伝学的研究にもかかわらず、疾患の病因解明に至っていない⁵⁾。これらの知見より我々が知り得たことは、(1)統合失調症は単一の疾患ではなく非常に疾患異質性が高い多彩な疾病単位の集合であり (Heterogeneity)、その各々に異なる病因があること、(2) 単一で疾患を惹起できる強力な遺伝子は存在せず、複数の遺伝子多型もしくはエピジェネティックな遺伝子発現変化の相乗効果が発症の基盤となり、そこに特定の環境因が重畳すること、(3)にもかかわらず類似の臨床症状を呈し、同一の抗精神病薬によりある程度治療できることは、各群に共通する病態生理としての final common pathway が存在するという、ある意味当たり前のことではあるが、神経生物学的な俎上にのりやすい「疾患関連 pathway」というターゲットに絞られてきた。実際、*in silico* の疾患ネットワークシグナル研究によれば、ある遺伝性疾患の原因遺伝子は、類似の症状を呈する他の遺伝疾患の原因遺伝子産物と結合し、「疾患関連 pathway」を形成することが示唆されている⁶⁾。これらの疾患関連 pathway には、シナプス伝達に関与するものが多いことが知られている。Allen らのメタ解析で有意とされた統合失調症関連 16 遺伝子のうち 11 遺伝子が神経伝達に関与すること⁷⁾、Glessner らの統合失調症に関連する CNV の全ゲノム探索では、gene ontology 解析としてシナプス伝達シグナルが統合失調症へ強く影響すること⁸⁾、さらには統合失調症関連遺伝子産物はグルタミン酸シナプス、とりわけ NMDA 受容体関連因子として統計学的に有意に集積することなどがあげられる⁹⁾。このような性質を持つ疾患を扱う際に、疾患関連 pathway 上の「Hub 分子」として中核的な役割を担う分子を集約的に調べることは効率が良いと考えられる。統

合失調症候補遺伝子の一つである DISC1 は、その遺伝子自体はそれほど強い遺伝学的エビデンスがあるわけではないが、精力的に生物学的な研究がなされたのは、DISC1 が「Hub」分子として良いモデル分子であると考えられたためであろう¹⁰⁾。実際、DISC1 は非常に多機能な分子であり、神経新生、細胞周期、神経遊走、神経突起伸展などの様々な機能を有することが知られている^{11)~14)}。

神経発達後期において、DISC1 はグルタミン酸作動性シナプスのシナプス後肥厚部に局在し¹⁵⁾、シナプス形態可塑性の主要な制御分子 Kal-7 と結合することが報告されていた。上述のようにグルタミン酸作動性シナプスは疾患関連 pathway として重要な細胞内コンパートメントであるため、われわれはグルタミン酸受容体/DISC1/Kal-7 シグナルの生理的機能を解析した¹⁶⁾。DISC1 全長 (DISC1-FL)、Kal-7 と結合出来ない変異型 DISC1 (DISC1-ΔKal-7)、DISC1 RNAi などをラット大脳皮質初代ニューロンに遺伝子導入させた結果、DISC1 RNAi はグルタミン酸シナプス後部 (≒スパイン) のサイズを増大させる一方で (図 1a)、DISC1 過剰発現はスパインサイズを減少させることを見出した (図 1c)。DISC1-ΔKal-7 は、スパイン形態に影響を与えなかったことより (図 1c)、スパインに対する DISC1 の効果は Kal-7 との結合が重要であることが考えられた。一方で、長期にわたる DISC1 ノックダウンは、スパインサイズの減少が生じることを見出した (図 1b)。Kal-7 の下流分子である Rac1 の構成的活性型も二相性の現象を示すことより (短期ではスパインサイズ増大、長期で縮小)、DISC1 ノックダウンは Rac1 の構成的活性型、DISC1 過剰発現は Rac1 のドミナントネガティブ型の Phenocopy との結論に至った (図 1d)。Kal-7 と Rac1 の発現量は統合失調症の死後脳で減少していることが報告されているため¹⁷⁾、グルタミン酸受容体/DISC1/Kal-7/Rac1 シグナルが本症の関連シグナル pathway であることが支持された。DISC1 の発現量は過剰でも、また逆に過少状態でも長期的にはスパインサイズや密度減少を惹起することとは (図 1d)、DISC1 がシナプス後部において「Hub 分子」としてグルタミン酸

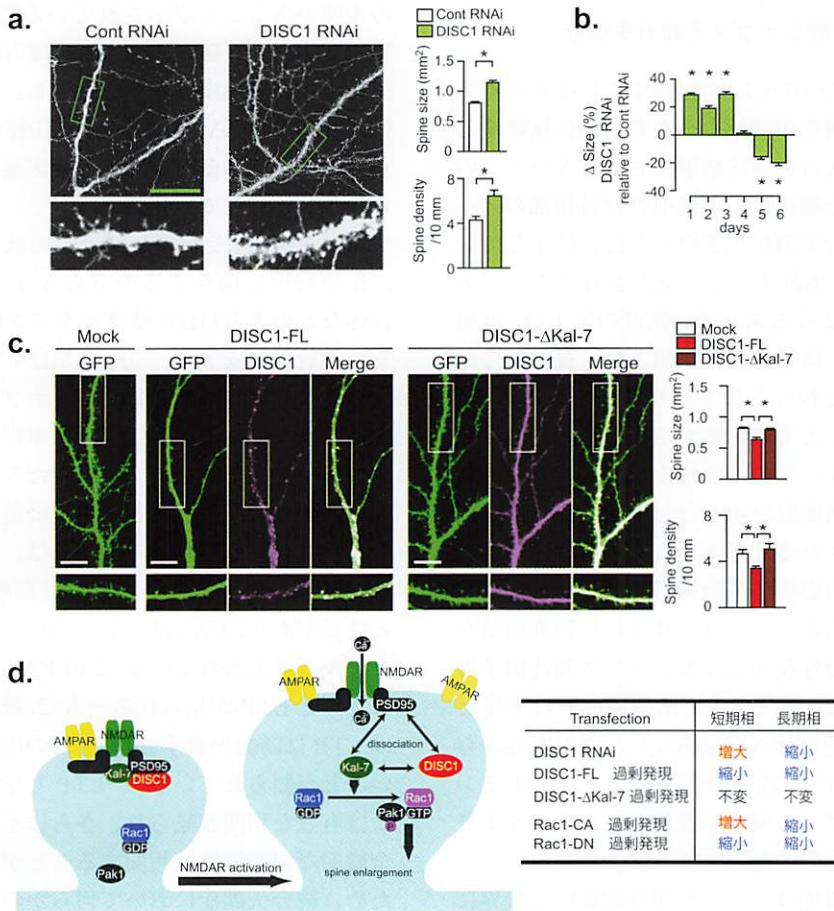


図1 グルタミン酸作動性シナプスにおける DISC1 機能

(a) shRNA による短期的な DISC1 ノックダウンはスパインサイズの増大とスパイン密度の増加を引き起こす。

(b) DISC1 RNAi 処理済みニューロンにおけるスパインサイズを、コントロール RNAi 処理ニューロンに対する相対値で表示。DISC1 ノックダウンは、短期的にはスパインサイズの増大を、長期的にはスパインを縮小させる。

(c) DISC1-FL (full-length) を過剰発現したニューロンではスパインサイズが減少する一方、Kal-7 との結合部位を欠失した変異体である DISC1-ΔKal-7 の過剰発現ではスパイン形態の異常は生じない。

(d) グルタミン酸作動性シナプスにおける DISC1 機能の模式図と、各コンストラクト遺伝子導入の結果。Rac1-CA (constitutively active)、Rac1-DN (dominant negative)。
文献¹⁶⁾より改変して掲載。

シグナルを制御することを示しており、疾患異質性にもかかわらず最終的に共通の病態生理 (final common pathway) を示す本症の特徴と良く合致する²⁾。実際に子宮内電気穿孔法により前頭前野を中心に DISC1 をノックダウンしたマウスは、生後 28 日では行動異常を示さないが、思春期以降に相

当する生後 56 日で統合失調症に関連する様々な行動異常を呈することも、DISC1 pathway と個体レベルでの異常行動との関連性を示唆している¹⁸⁾。

2. グルタミン酸シナプスと統合失調症

では上述した DISC1 機能障害によるスパイン減少は統合失調症の病態生理を普遍的に反映するのだろうか？統合失調症病態におけるスパインの関与を示唆した端緒は、前頭前野背外側部のスパイン密度が統合失調症患者群で有意に低下していることが Golgi 染色法により見出されたことであろう¹⁹⁾²⁰⁾。このようなスパイン密度の低下は、前頭前野、聴覚野、海馬などで検出され、視覚野では認められないと報告されており²¹⁾、本疾患の臨床症候学的特徴とともに判断すると、統合失調症症例においてはすべての脳領域が均一に障害されるのではなく、前頭野を中心とした大脳皮質の一部が優位に障害されると考えられる。患者群における抗精神病薬の影響が脳微細形態に与える影響も考慮すべきであるが、マカサルに抗精神病薬を数年にわたり慢性投与してもシナプス関連因子の低下は見られないし²²⁾、また治療期間や投薬量とグルタミン酸受容体 NR1 mRNA との相関もみられないことより²³⁾、投薬の影響によりグルタミン酸作動性シナプスの減少が惹起されるというよりも、疾患そのものに起因する可能性が高い。

ヒト脳画像研究は、その空間解像度的な限界により、シナプスレベルでの病変を検出することは不可能であるが、興味深い所見が多数得られている。神経細胞の数や機能を反映すると言われている *N*-acetyl aspartate (NAA) は、健常対照群に比較して疾患群で有意に低下していることが度々報告されてきた²⁴⁾。興味深いことに、発症前には NAA の低下は検出されず、発症後にはじめて低下し、疾患罹患期間と前頭前野背外側部 NAA 値は負の相関を示すことが報告されている²⁵⁾。この報告と一致して、統合失調症症例の生前の認知機能と死後脳のグルタミン酸受容体のサブタイプである NMDA 受容体密度は正の相関を示すという報告も興味深い²⁶⁾。さらに、^[123I]CNS-1261 SPECT (Single Photon Emission Computed Tomography) によって、未服薬の初発例において NMDA 受容体結合能の低下が海馬や前頭野で見られ、この NMDA 受容体結合能は PANSS 臨床症状と負

の相関があることが示されている²⁶⁾。この所見は NMDA 受容体数減少もしくは NMDA 受容体チャネル開口頻度の減少を示唆し、いずれの可能性においても NMDA 受容体性伝達の低下につながり、その伝達低下の程度と臨床症状に相関が見られるという点で興味深い。

では NMDA 受容体シグナルの低下がどのように疾患病態に関与するのであろうか？AMPA 受容体などの非 NMDA 型グルタミン酸受容体が通常の神経伝達を司る一方、NMDA 受容体は神経伝達効率を変化させること（シナプス可塑性）が主たる役割である。では実際に本症患者群でシナプス可塑性が障害されているのだろうか？運動野への経頭蓋磁気刺激法と正中神経電気刺激を組み合わせたペア連想刺激（PAS）は、ペア刺激の間隔の長さに応じて刺激が促進（長期増強、LTP）する性質があり、PAS はヒトの神経可塑性を調べるモデルと考えられている。この PAS 刺激を健常者に行うと LTP が見られる一方で、統合失調患者には LTP は誘発出来ず、運動学習の成立が有意に悪いことが知られている²⁷⁾。LTP と学習成立の程度には有意な相関が見られ、さらに上記運動学習と全般的な認知機能は相関することが知られているため、統合失調症において何らかの可塑性の障害があることが示唆される²⁷⁾。また仮想ネットワーク内で AMPA 受容体、NMDA 受容体、GABA_A 受容体の伝達効率を変更すると、NMDA 受容体の伝達効率の低下で、仮想ネットワーク内の安定性が低下し、刺激に対するノイズ（S/N 比）が大きく低下し、統合失調症の認知機能障害のモデルとシミュレーションする報告もある²⁸⁾。別の報告では、シナプス密度が低下すると聴覚刺激による情報処理が低下し、刺激が無い状態での神経活動、すなわち幻聴が出現することがシミュレーションされている²⁹⁾。つまり、統合失調症の病態生理は、シナプス密度、言い換えれば NMDA 受容体シグナルの障害の程度という観点より解釈可能であるのかもしれない。DISC1/Kal-7/Rac1 シグナルは NMDA 受容体の下流分子としてグルタミン酸作動性シナプスの形態可塑性に関与し、DISC1 シグナルの障害によりシナプス密度の低下・シナプス

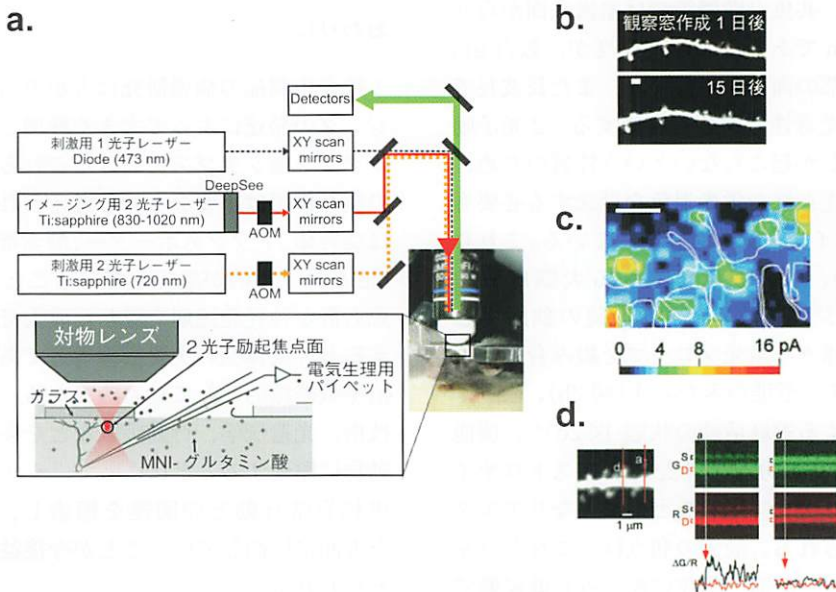


図 2 2 光子顕微鏡の使用例

- (a) 筆者らの 2 光子顕微鏡の模式図。in vivo イメージング、光刺激、電気生理学的な計測が可能である。
- (b) in vivo スパインイメージング。同一個体のスパインの形態・密度を縦断的に計測することが可能である。
- (c) グルタミン酸受容体の細胞表面の分布の Mapping。文献³⁰⁾より掲載。
- (d) in vivo スパイン内 Ca²⁺ イメージング。a のスパインでは刺激に応じて Ca²⁺ シグナルの上昇 (緑) が観察されたが、d のスパインでは Ca²⁺ シグナルは不変であった。文献³⁰⁾より掲載。

可塑性の低下が見られることより、シナプスにおける DISC1 pathway は統合失調症病態のモデルの 1 つとして有用であると思われる。

3. 精神疾患研究と 2 光子顕微鏡による in vivo イメージング

上記所見は、統合失調症の病因・病態生理とグルタミン酸作動性シナプスとの関連を示す知見であるものの、どの所見も間接的であり、シナプスレベルの空間解像度に迫る直接的証拠ではない。これらの問題は、ヒトの脳を扱うという倫理的・方法論的限界のために、現在の技術では到底克服出来ないと思われる。そこで疾患モデルとしての妥当性を満たす実験モデル動物を利用することで、ヒト研究では検証不可能なエビデンスを見出

すことが期待され、顕微鏡技術の急峻な進歩はモデル動物研究の追い風になっている。例えば、従来の脳研究は、固定標本や in vitro 培養系から得られた情報をもとに生体脳内で起きている現象を推測するしか手がなかった。このような限界を克服するために、われわれの研究室では世界に先駆けて 2 光子顕微鏡の神経生物学での応用を開始し、生体脳で生じている“あるがまま”のダイナミックな現象をシナプスレベルの空間解像度で捉えることができるようになった(図 2)¹⁾。2 光子励起顕微鏡では、通常の約 2 倍の長波長レーザー光で励起するので、これは後述するように生体観察には圧倒的に有利な性質となる。光の散乱は波長の 4 乗に反比例するので、例えば 1 光子励起レーザー 500nm に対して、2 光子励起に用いる 1000nm レーザー光では組織の散乱は原理的に 1/16 倍へ

減少するため、共焦点顕微鏡では組織表面からせいぜい数十 μm であった深部到達度が、数百 μm 程度までの深部の画像を取得でき、また長波長であるがゆえに光毒性も大きく軽減する。2光子励起が焦点面でしか起こらないという性質のため、焦点面以外の光毒性や蛍光退色を懸念する必要もなく、3次元のイメージングに適している。これらの利点のため、脳表面に位置する大脳皮質の *in vivo* イメージングは2光子顕微鏡の独断場となっており、様々な蛍光プローブを組み合わせることで、スパイン形態のみならず(図 2b)、 Ca^{2+} イメージングによる神経活動の状態(図 2d)³⁰⁾、機能的 AMPA 受容体の分布(図 2c)³⁰⁾、アストロサイト形態、ミクログリア形態などの膨大なリアルタイム情報が得られる。最大の利点は、これらの *in vivo* イメージングが同一個体に繰り返し低侵襲で施行できること、同一個体に行動解析を併用できることであり、シナプスレベルのマイクロ所見と個体レベルのマクロ所見とを同時に観察し、実験者がデザインした条件下で両者の関連を模索することが可能になった。

上記のように生きたままの脳組織を「観察」することだけではなく、光刺激技術の目覚ましい進歩により、神経回路を積極的に「人為操作」することも可能になっている。光遺伝学 (optogenetics) により、神経細胞の神経発火を自在に制御でき、さらには神経回路機能を細胞体レベルでなく、シナプスレベルの空間解像度で操作することも試みられている。その重要な標的分子の一つが上述の Rac1 である。学習記憶過程は神経回路の形態可塑性で起きると考えられているが、Rac1 は大量のアクチンとともにグルタミン酸シナプス後部にあり、形態可塑性の直接の制御因子である。この Rac1 を光の有無で活性制御可能にしたものが PA(photoactivatable)-Rac1 である³¹⁾。筆者らは、この PA-Rac1 を改良し、活性化したシナプスだけを特異的にシナプス操作することに成功しており、この Synaptic optogenetics と呼べる新手法で神経回路を光で改変し、シナプスと異常行動との因果律に迫れる研究に挑戦している。

おわりに

統合失調症の病態研究は人類遺伝学や脳イメージングの発達によって大きく展開したが、特にグルタミン酸シナプスにおけるこれらの遺伝子産物の相互作用は重要なものと考えられる。同部位には受容体、トランスポーター、酵素群など Druggable な分子標的が濃縮していること、治療対象の患者群が神経発達期を脱した成人であることを考えると、成体脳の主要微細構造であるシナプスは治療戦略標的として魅力的である。イメージング技術、光遺伝学、行動実験などを多軸的にモデル動物に駆使することによって、シナプスと精神疾患様異常行動との関連を模索し、Translational な方向に展開していくことが今後益々重要になると思われる。

あとがき

当研究室では、2光子顕微鏡を用いた光遺伝学・イメージング、神経化学、神経生理学、行動解析、分子細胞生物学などを用いた多彩なアプローチを組み合わせ、精神疾患解明を精力的に試みております。筆者は精神科専門医であり、精神科の立ち位置から生じた好奇心に対して、基礎科学的アプローチより挑戦するスタンスを取っております。技術の目覚ましい発展のおかげで、5年前なら不可能であった実験デザインが可能になり、様々な仮説の検証しながら全く新しい知見を見出すことが出来るわくわくするような時代に突入していると思います。本研究室に興味を抱いた方はお気軽にお声をかけて頂きますと幸いです(hayashi888@m.u-tokyo.ac.jp、<http://www.bm2.m.u-tokyo.ac.jp/hayashi/>)。末筆ながら、このたび本稿執筆の機会を与えて下さいました仲嶋一範先生、竹林浩秀先生の両先生はじめとする、日本神経学会の先生方に深く感謝申し上げます。

参考文献

- 1) Kasai H, Fukuda M, Watanabe S, Hayashi-Takagi

- A, Noguchi J. Structural dynamics of dendritic spines in memory and cognition. *Trends Neurosci*, 33, 121-129 (2010).
- 2) Hayashi-Takagi A, Sawa A. Disturbed synaptic connectivity in schizophrenia: convergence of genetic risk factors during neurodevelopment. *Brain Res Bull*, 83, 140-146 (2010).
- 3) Hashimoto R, Tankou S, Takeda M, Sawa A. Postsynaptic density: A key convergent site for schizophrenia susceptibility factors and possible target for drug development. *Drugs Today (Barc)*, 43, 645-654 (2007).
- 4) Kristiansen LV, Huerta I, Beneyto M, Meador-Woodruff JH. NMDA receptors and schizophrenia. *Curr Opin Pharmacol*, 7, 48-55 (2007).
- 5) Sullivan PF, Daly MJ, O'Donovan M. Genetic architectures of psychiatric disorders: the emerging picture and its implications. *Nat Rev Genet*, 13, 537-551 (2012).
- 6) Gandhi TK, et al. Analysis of the human protein interactome and comparison with yeast, worm and fly interaction datasets. *Nat Genet*, 38, 285-293 (2006).
- 7) Allen NC, et al. Systematic meta-analyses and field synopsis of genetic association studies in schizophrenia: the SzGene database. *Nat Genet*, 40, 827-834 (2008).
- 8) Glessner JT, et al. Strong synaptic transmission impact by copy number variations in schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 107, 10584-10589 (2010).
- 9) Harrison PJ, West VA. Six degrees of separation: on the prior probability that schizophrenia susceptibility genes converge on synapses, glutamate and NMDA receptors. *Mol Psychiatry*, 11, 981-983 (2006).
- 10) Brandon NJ, Sawa A. Linking neurodevelopmental and synaptic theories of mental illness through DISC1. *Nat Rev Neurosci*, 12, 707-722 (2011).
- 11) Duan X, et al. Disrupted-In-Schizophrenia 1 regulates integration of newly generated neurons in the adult brain. *Cell*, 130, 1146-1158 (2007).
- 12) Shinoda T, et al. DISC1 regulates neurotrophin-induced axon elongation via interaction with Grb2. *J Neurosci*, 27, 4-14 (2007).
- 13) Hattori T, et al. DISC1 regulates cell-cell adhesion, cell-matrix adhesion and neurite outgrowth. *Mol Psychiatry*, 15, 778, 798-809 (2010).
- 14) Tomita K, Kubo K, Ishii K, Nakajima K. Disrupted-in-Schizophrenia-1 (Disc1) is necessary for migration of the pyramidal neurons during mouse hippocampal development. *Hum Mol Genet*, 20, 2834-2845 (2011).
- 15) Kirkpatrick B, et al. DISC1 immunoreactivity at the light and ultrastructural level in the human neocortex. *J Comp Neurol*, 497, 436-450 (2006).
- 16) Hayashi-Takagi A, et al. Disrupted-in-Schizophrenia 1 (DISC1) regulates spines of the glutamate synapse via Rac1. *Nat Neurosci*, 13, 327-332 (2010).
- 17) Hill JJ, Hashimoto T, Lewis DA. Molecular mechanisms contributing to dendritic spine alterations in the prefrontal cortex of subjects with schizophrenia. *Mol Psychiatry*, 11, 557-566 (2006).
- 18) Niwa M, et al. Knockdown of DISC1 by in utero gene transfer disturbs postnatal dopaminergic maturation in the frontal cortex and leads to adult behavioral deficits. *Neuron*, 65, 480-489 (2010).
- 19) Garey LJ, et al. Reduced dendritic spine density on cerebral cortical pyramidal neurons in schizophrenia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 65, 446-453 (1998).
- 20) Glantz LA, Lewis DA. Decreased dendritic spine density on prefrontal cortical pyramidal neurons in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*, 57, 65-73 (2000).
- 21) Kolluri N, Sun Z, Sampson AR, Lewis DA. Lamina-specific reductions in dendritic spine density in the prefrontal cortex of subjects with schizophrenia. *Am J Psychiatry*, 162, 1200-1202 (2005).
- 22) Sweet RA, Hentleff RA, Zhang W, Sampson AR,

- Lewis DA. Reduced dendritic spine density in auditory cortex of subjects with schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*, 34, 374-389 (2009).
- 23) Humphries C, Mortimer A, Hirsch S, de Belleroche J. NMDA receptor mRNA correlation with antemortem cognitive impairment in schizophrenia. *Neuroreport*, 7, 2051-2055 (1996).
 - 24) Steen RG, Hamer RM, Lieberman JA. Measurement of brain metabolites by 1H magnetic resonance spectroscopy in patients with schizophrenia: a systematic review and meta-analysis. *Neuropsychopharmacology*, 30, 1949-1962 (2005).
 - 25) Molina V, et al. N-acetyl-aspartate levels in the dorsolateral prefrontal cortex in the early years of schizophrenia are inversely related to disease duration. *Schizophr Res*, 73, 209-219 (2005).
 - 26) Pilowsky LS, et al. First in vivo evidence of an NMDA receptor deficit in medication-free schizophrenic patients. *Mol Psychiatry*, 11, 118-119 (2006).
 - 27) Frantseva MV, et al. Evidence for impaired long-term potentiation in schizophrenia and its relationship to motor skill learning. *Cereb Cortex*, 18, 990-996 (2008).
 - 28) Loh M, Rolls ET, Deco G. A dynamical systems hypothesis of schizophrenia. *PLoS Comput Biol*, 3, e228 (2007).
 - 29) McGlashan TH, Hoffman RE. Schizophrenia as a disorder of developmentally reduced synaptic connectivity. *Arch Gen Psychiatry*, 57, 637-648 (2000).
 - 30) Noguchi J, et al. In vivo two-photon uncaging of glutamate revealing the structure-function relationships of dendritic spines in the neocortex of adult mice. *J Physiol*, 589, 2447-2457 (2011).
 - 31) Wu YI, et al. A genetically encoded photoactivatable Rac controls the motility of living cells. *Nature*, 461, 104-108 (2009).

輝け次代の担い手たち

神経発生における Rho 標的アクチン重合因子 mDia の役割

篠原 亮太

(京都大学大学院医学研究科神経細胞薬理学教室)

1. はじめに

我々の脳が形づくられ機能するためには、脳室帯に存在する神経上皮細胞（神経幹細胞）が未成熟な神経細胞（神経前駆細胞）に分化し、機能する領域に移動する必要がある。神経前駆細胞の移動の異常は滑脳症 (lissencephaly) などの脳の奇形に加え¹⁾、統合失調症や自閉症などの精神疾患との関連も示唆されている²⁾³⁾。このことから、神経前駆細胞の移動は脳の形態形成に必須だけではなく、脳の機能的側面を構築する重要な発生過程の一つであると考えられる。

神経細胞には主にグルタミン酸作動性の興奮性神経細胞と、GABA 作動性の抑制性神経細胞が存在し、発生期の脳においてこれらの前駆細胞は異なる脳領域で産生される⁴⁾⁵⁾。グルタミン酸作動性神経細胞 (glutamatergic neurons) の前駆細胞は脳室帯に存在する神経幹細胞（放射状グリア）から産生され、脳室帯から放射状グリアの突起に沿って脳表面方向に移動する（図 1）。この移動を radial migration といい、大脳皮質の層形成に預かる。一方、GABA 作動性介在神経細胞 (GABAergic interneurons) の前駆細胞は基底核原基 (ganglionic eminences) に由来し、基底核原基から大脳皮質や海馬、嗅球などへ脳表面と平行に、より長い距離を移動する。この移動は放射状グリアに対して接線方向に移動することから、tangential migration と呼ばれる（図 1）。

神経前駆細胞は、線維芽細胞や白血球とは異なる特有の形態変化を経て移動することが知られている^{6)~8)}。まず、移動方向に長い先導突起を伸展す

る。続いて先導突起上に膨大部 (swelling) が形成され、中心体やゴルジ体が swelling に進入する。その後、跳躍的な細胞核、細胞体の前進が起こる。移動する神経前駆細胞はこのサイクルを繰り返すことで、目的地に到達する。しかし神経前駆細胞の移動がどのような細胞内メカニズムによって駆動されているのかは不明な点が多い。本稿では神経前駆細胞の移動に焦点を当て、遺伝子欠損マウスの解析から明らかとなった神経発生におけるアクチン重合因子 mDia の役割について紹介する。

2. 神経前駆細胞の移動の分子機序

神経前駆細胞の移動を制御する細胞内メカニズムについてはこれまでに多くの研究がなされており、薬理学的手法や RNA 干渉法による遺伝子発現阻害を用いた実験から、微小管およびモーター蛋白質ダイニン (dynein) の重要性が示唆されてきた^{9)~11)}。Radial migration では、中心体から伸びた微小管が細胞核の周囲にケージ状に配向しており、微小管上のダイニンは、核膜上のタンパク質との結合を介して細胞核を中心体方向に引っ張るというモデルが提唱されている。

しかし、神経前駆細胞の移動の研究の多くは、radial migration を対象に行われてきたことから、tangential migration における細胞核移動が radial migration と同様の分子機序により駆動されているかは明らかでなかった。抑制性神経前駆細胞の移動では、中心体は先導突起に形成された swelling に引き込まれた後、細胞核から大きく離れ、swelling と細胞体の間が大きく開く⁷⁾¹²⁾¹³⁾。ま

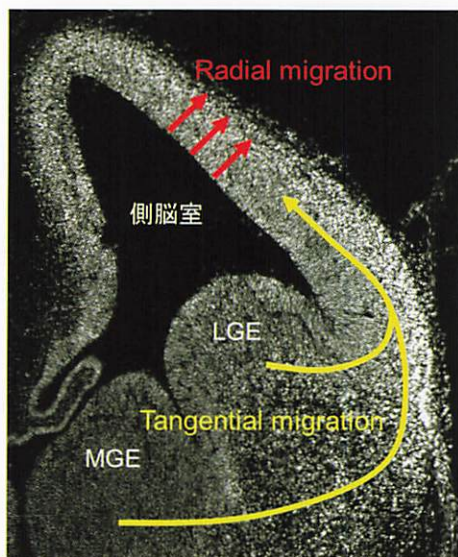


図1 Radial migrationとtangential migrationにおける移動様式。DAPI染色した胎生13.5日齢のマウス脳冠状断面において、興奮性および抑制性神経前駆細胞の移動経路を矢印で示した。LGE: lateral ganglionic eminence、MGE: medial ganglionic eminence。

た、細胞核の移動の速度を両者で比較すると、tangential migrationでの細胞核移動がより速いことが知られている¹¹⁾¹⁴⁾。以上のことから、tangential migrationでの速い細胞核移動を可能にする分子機序が存在すると考えられる。

近年、微小管に加え、神経前駆細胞の細胞核移動でのアクチン細胞骨格の重要性も示唆されている。ミオシンII (myosin II) 阻害剤であるblebbistatinの処理は、神経前駆細胞の細胞核移動を抑制することが報告されている^{11)15)~17)}。また、抑制性神経前駆細胞においては、細胞体後部でのミオシンIIとそのリン酸化(活性化)体の集積が観察されている¹⁵⁾¹⁶⁾。以上のことから、アクチン細胞骨格も神経前駆細胞の細胞核移動に重要な役割を担っていることが示唆されるが、その分子機序は明らかでない。

3. Rho 標的アクチン重合因子 mDia

Rho GTPaseはアクチン細胞骨格の主要な制御

因子である¹⁸⁾。Rasと同様、GDP(グアニンスクレオチド二リン酸)結合型が不活性体、GTP(グアニンスクレオチド三リン酸)結合型が活性化体であり、GDP-GTP交換反応とGTP水解反応により両者の間を往復してスイッチ機能を果たす。これらの交換は、それぞれグアニンスクレオチド交換因子(guanine nucleotide exchange factor, GEF)とGTPase活性化タンパク質(GTPase-activating protein, GAP)により制御されている。活性型Rhoは下流の標的分子(エフェクター)に結合することで機能を発揮する。Rhoがアクチン細胞骨格を調節する分子機序を明らかにするため、活性型Rho特異的結合を指標に様々なRhoエフェクターが同定されてきた¹⁹⁾。

Rhoエフェクターの中で、アクチン細胞骨格に対する作用が明確なのは、mDiaとROCK(Rho kinase)である²⁰⁾。ROCKはRhoにより活性化されるserine/threonine kinaseであり、主な作用としてミオシン活性化を介したアクトミオシン束の形成が知られている²¹⁾²²⁾。一方、mDiaは異なる遺伝子でコードされるmDia1、mDia2、mDia3の三つのアイソフォームからなり、mDia1とmDia3が脳内では強く発現する²³⁾。いずれもプロフィリンと結合するFH1ドメインとアクチン重合促進に必要なFH2ドメインを持つ²⁴⁾(図2)。不活性化状態ではN末端のDia inhibitory domain (DID)とC末端のDia autoregulatory domain (DAD)の間で分子内結合を形成するが、活性型RhoがDIDの近傍にあるRho結合ドメインに結合することでDID-DAD間の分子内結合が解除される(図2)。これにより、mDiaはプロフィリンとアクチン単量体の複合体に結合してアクチン重合核を形成し、さらにアクチン線維の反矢尻端(barbed end)に単量体アクチンを付加して、直鎖状のアクチン線維の重合を促す²⁴⁾²⁵⁾。我々は、mDiaの神経系での機能を明らかにするため、mDia1とmDia3それぞれを欠損するマウスを作製した²³⁾²⁶⁾²⁷⁾。

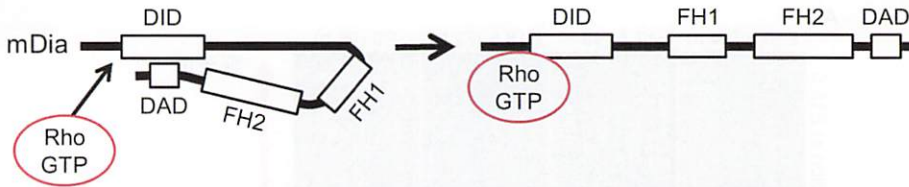


図2 RhoによるmDia活性化の模式図。休止状態ではDID-DAD間で分子内結合が形成されているが(左)、活性型Rho(Rho GTP)がDIDの近傍のRho結合ドメインに結合するとDID-DAD間の分子内結合は解除され、活性化状態に移行する(右)。

4. mDia1/3 二重欠損マウスにおける神経上皮細胞の異所性増殖

まず、mDia1 と mDia3 それぞれを欠損したマウスについて解析を行ったが、中枢神経系における明らかな形態学的、行動学的な異常は観察されなかった。脳では mDia1 と mDia3 が同時に発現していることから両者の機能的重複を疑い、mDia1 と mDia3 の両方を欠損させた二重欠損マウス(mDia-DKO マウス)を作出した。mDia-DKO マウスは4分の3が生後3週までに致死となり、生き残った mDia-DKO マウスについても顕著な発育遅滞が認められた。

神経発生における mDia の関与を調べたところ、mDia-DKO マウスの脳では脳室周囲異形成(periventricular heterotopia, PVH)と呼ばれる脳室帯での異所性増殖が認められた。脳室帯での異所性増殖はN-カドヘリン(N-cadherin)や α E-カテニン(α E-catenin)の条件付き欠損マウスにおいても観察されており、これらのマウスでは神経上皮細胞の細胞間接着の破綻が報告されている²⁸⁾²⁹⁾。そこで、神経上皮細胞の細胞間接着への mDia の関与を、当研究室のタムケオディーン助教と共に検討した。その結果、PVHの形成に先行して、mDia-DKO マウスでは神経上皮細胞の脳室面に位置する細胞間接着とこれを裏打ちするアクチンベルト(apical actin belt)の減弱が認められた。さらに神経上皮細胞においてRhoをC3酵素により不活化したところ、細胞間接着とアクチンベルトの消失が認められた。過去のROCK欠損マウスの解析では、発生時の閉眼や腹壁閉鎖においてROCKによるアクトミオシン収縮力の役割が示

されている³⁰⁾³¹⁾。そこで、神経上皮細胞の脳室面のアクチンベルトにもROCKが関与するかを、ROCK阻害薬Y-27632の脳室内注入により検討した。しかし、ROCK阻害下では神経上皮細胞の細胞間接着やアクチンベルトには異常は認められなかった。以上のことから、神経上皮細胞の細胞間接着とそれを介した神経幹細胞の分化制御には、Rho-mDia経路が特異的に関わることを示された²⁷⁾。

5. mDia1/3 二重欠損マウスにおける抑制性神経前駆細胞の tangential migration の異常

mDia1/3 二重欠損が脳皮質の層構造に影響するかを調べるため、成体脳においてニッスル染色および層特異的マーカーの免疫染色を行ったが、mDia-DKO マウスの大脳皮質層構造に異常は認められなかった。また、胎生15.5日齢のマウスにEdUを注入することで神経幹細胞をパルス標識し、EdU標識細胞のradial migrationを経時的に解析した(図3)。その結果、EdU注入後72時間後では、mDia-DKO マウスでより多くのEdU標識細胞が脳表面に到達していた(図3)。このことから、mDia1/3 二重欠損はradial migrationを阻害せず、むしろ促進させることが示唆された。一方、抑制性神経細胞のマーカーであるGAD65/GAD67のin situ ハイブリダイゼーションを胎生14.5日齢のマウスにおいて行った結果、mDia-DKO マウスでは基底核原基から大脳皮質へのGAD65/GAD67陽性細胞のtangential migrationが有意に減少していた(図4)。また、成体においても大脳皮質や海馬におけるパルブアルブミン陽

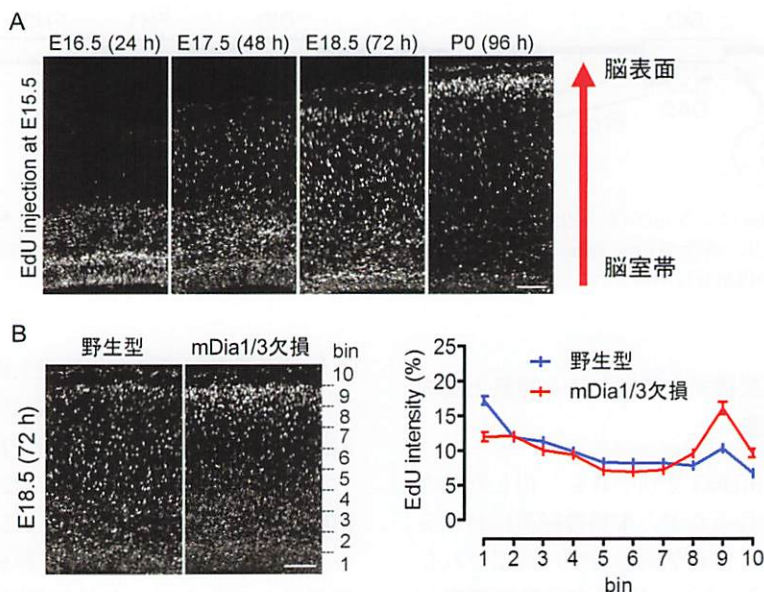


図3 mDia1/3二重欠損マウスにおける大脳皮質興奮性神経前駆細胞の移動。(A) 胎生15.5日齢の野生型マウスにEdUを注入し、24時間後(24 h)、48時間後(48 h)、72時間後(72 h)、96時間後(96 h)にEdU標識細胞を観察した。EdU標識細胞が脳室帯から脳表面方向に移動していることが確認された。スケールバーは75 μm。(B) EdU注入後72時間後での野生型およびmDia1/3欠損マウスのEdU標識細胞(左)と各binにおけるEdU標識細胞の定量(右)。スケールバーは75 μm。

(文献23より一部改変して転載)

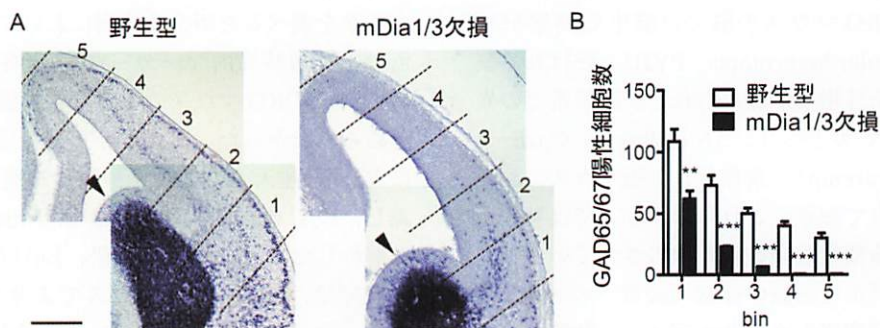


図4 mDia1/3二重欠損マウスにおける大脳皮質抑制性神経前駆細胞の移動異常。(A) 胎生14.5日齢のマウス脳冠状断面におけるGAD65/67のin situハイブリダイゼーション。スケールバーは250 μm。(B) 大脳皮質の各binにおけるGAD65/67陽性細胞数の定量。** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$ 。

(文献23より一部改変して転載)

性の抑制性神経細胞の減少が認められた。

次に tangential migration を示す他の抑制性神経細胞として、成体マウスの側脳室下帯(subven-

tricular zone、SVZ)由来の神経芽細胞(以下、SVZ神経芽細胞)の移動を調べた。嗅球顆粒細胞は側脳室下帯の神経幹細胞から発生・発達後も持続的

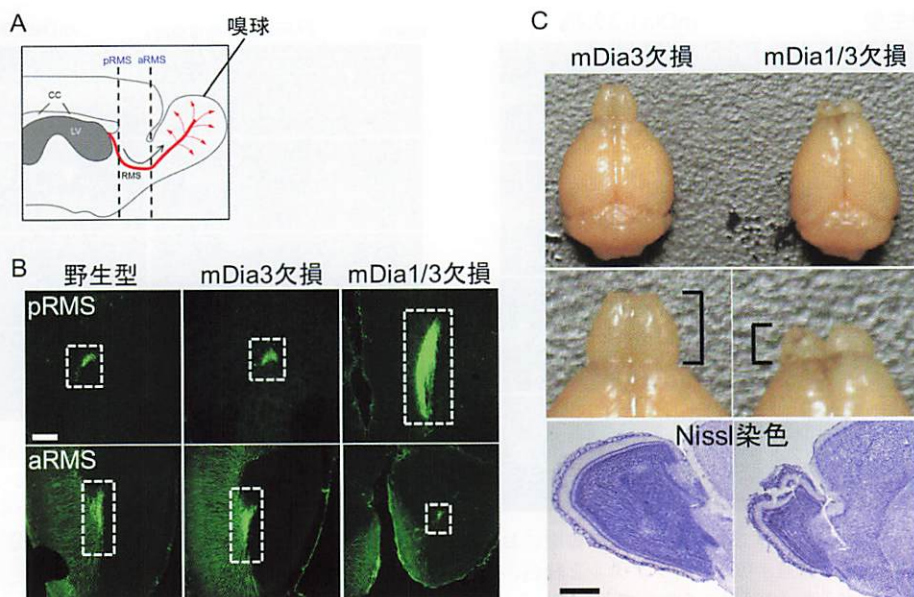


図5 mDia1/3二重欠損マウスにおけるSVZ神経芽細胞の移動異常。(A)側脳室下帯から嗅球顆粒細胞層へのSVZ神経芽細胞の移動経路。(B)野生型、mDia3欠損およびmDia1/3二重欠損マウスの脳冠状断面におけるrostral migratory streamでのdoublecortinの免疫染色。pRMSは側脳室側、aRMSは嗅球側のRMSを示す。スケールバーは250 μ m。(C)成体のmDia3欠損およびmDia1/3二重欠損マウスの脳の外観(上段)と嗅球のニッスル染色(下段、スケールバーは250 μ m)。(文献23より一部改変して転載)

に供給されることが知られている⁵⁾³²⁾。神経幹細胞が嗅球顆粒細胞の前駆細胞であるSVZ神経芽細胞に分化すると、rostral migratory stream(RMS)と呼ばれる経路を通して嗅球の顆粒細胞層に到達する。SVZ神経芽細胞のマーカーであるdoublecortinの免疫染色の結果、mDia-DKOマウスではRMSの入り口付近でSVZ神経芽細胞が異常に蓄積しており、一方でRMSの前部(嗅球側)にはほとんど到達していないことが明らかとなった(図5)。その結果、成体のmDia-DKOマウス脳では、嗅球顆粒細胞の減少と嗅球の低形成が観察された(図5)。これらの結果は、mDiaがtangential migrationに選択的に関わることを示している。mDiaの発現は興奮性および抑制性神経前駆細胞の両方に認められることから、興奮性神経前駆細胞と抑制性神経前駆細胞の間ではmDiaの制御機構が異なると考えられる。

6. mDia1/3二重欠損神経前駆細胞における細胞核移動とアクチン細胞骨格制御の異常

前述したように、神経前駆細胞の移動は複数のステップから構成される。mDia1/3欠損による神経前駆細胞の移動異常がどのように引き起こされるのかを検討するために、我々は、子宮内電気穿孔法によりSVZ神経芽細胞にEFEGPと中心体マーカーのPACT-mKO1を発現するプラスミドを導入し、細胞体と中心体の動態をin vitroで観察する実験系を確立した。この方法により、mDia1/3欠損神経前駆細胞では先端突起は正常に形成されるが、中心体の前方移動とそれに引き続く細胞体(細胞核)の中心体方向への移動の両方が障害されていることを見出した(図6)。

mDiaがアクチン核化・重合因子であることから、神経前駆細胞の移動時のアクチン動態について調べた。アクチン線維の動態は、アクチン線維

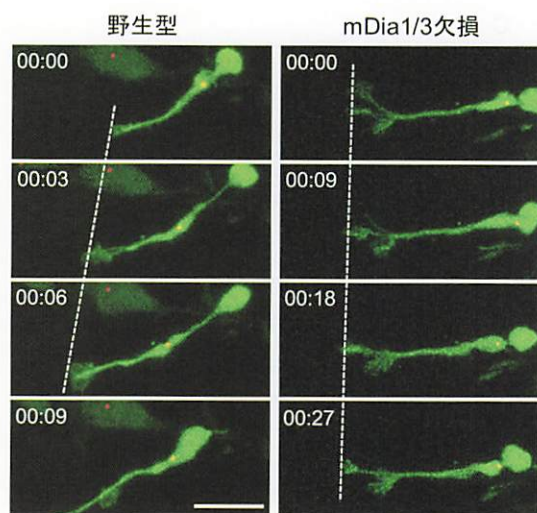


図6 野生型および mDia1/3 二重欠損神経前駆細胞における中心体と細胞体の動態。EGFP のシグナルを緑色、PACT-mKO1 のシグナル (中心体) を赤色で示している。左上の数字は時間 (分) を示す。スケールバーは 20 μ m。(文献 23 より一部改変して転載)

に特異的に結合するプローブである Lifeact を融合した EGFP を発現させることで可視化した³³⁾。野生型神経前駆細胞では、細胞核前部に集積したアクチン線維が中心体とともに前方に移動し (図 7 左、矢頭)、さらに細胞体の移動時には、細胞体後部でカップ状のアクチン線維集積が一過性に観察された (図 7 左、矢印)。一方、mDia1/3 欠損神経前駆細胞では、細胞核前部のアクチン線維は前方へ移動せず (図 7 右、矢頭)、細胞体後部におけるカップ状のアクチン線維集積も消失していた (図 7 右)。次いで mDia の局在を、EGFP を融合した mDia を導入して可視化したところ、細胞核移動に先立ち、mDia1 と mDia3 が swelling と細胞体後部に集積する様子が観察された。これらの結果は、mDia による局所的なアクチン重合が神経前駆細胞の細胞核移動に必須であることを示唆している。

非神経細胞では Rho によるアクチンミオシン束の誘導に mDia と ROCK の協調的な作用が必須であることが知られている³⁴⁾。神経前駆細胞の細胞核移動における ROCK の関与を、ROCK 阻害薬 Y-27632 を用いて検討した。ROCK の阻害により、

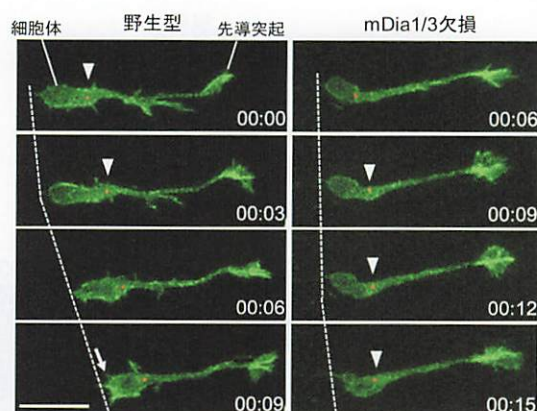


図7 野生型および mDia1/3 二重欠損神経前駆細胞におけるアクチン線維の動態。Lifeact-EGFP のシグナル (アクチン線維) を緑色、PACT-mKO1 のシグナル (中心体) を赤色で示している。右下の数字は時間 (分) を示す。スケールバーは 20 μ m。(文献 23 より一部改変して転載)

中心体の前方移動は影響を受けなかったが、それに引き続く細胞核の中心体方向への移動は著しく抑制された。このことから、mDia は ROCK 非依存的に中心体移動を制御すること、細胞核移動においては mDia によるアクチン線維形成と ROCK によるミオシン活性化が協調的に働くことが示唆された。

以上から、抑制性神経前駆細胞の tangential migration において、Rho-mDia 経路によるアクチン動態制御が不可欠であること、このメカニズムは興奮性神経前駆細胞の radial migration では重要でないことが示された²³⁾ (図 8)。

7. おわりに

本研究では、radial migration と tangential migration を対比して解析を行い、アクチン重合因子 mDia の遺伝子欠損マウスの表現型を端緒に mDia 依存的なアクチン動態制御が tangential migration での細胞核移動に重要であることを示した。しかし、まだ明らかにすべき重要な問題も残されている。まず、mDia 依存的なアクチン動態が中心体移動を制御する分子機序は不明である。分

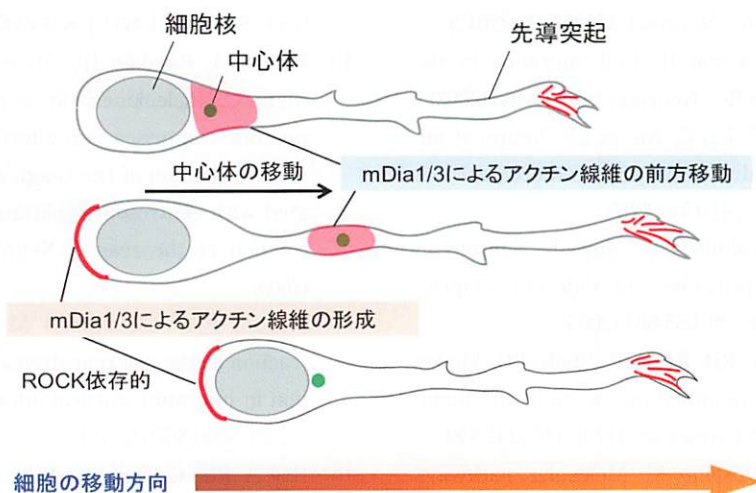


図8 抑制性神経前駆細胞の移動における mDia の役割。mDia は 2 種類のアクチン動態制御を介して、tangential migration における細胞核移動を促進する。
(文献 23 より一部改変して転載)

裂細胞の紡錘体形成において、中心体の分離と配置にミオシン II と diaphanous (ショウジョウバエでの mDia の相同遺伝子) が関わる事が報告されており³⁵⁾³⁶⁾、同様のメカニズムが神経前駆細胞の中心体移動においても駆動されている可能性がある。アクチン-微小管相互作用は細胞生物学分野における重要な課題の一つであり、今後の研究の進展が期待される。また、mDia を介したアクチン動態制御がいかにして tangential migration に選択的に働くかも明らかでない。mDia は興奮性および抑制性神経前駆細胞のどちらにも発現していることから、発現の有無では mDia の選択的な作用は説明できない。Rho シグナルは多数の活性化因子 (GEF) によって時空間特異的に制御されることから、Rho を活性化する機構が両者の神経前駆細胞では異なると考えられるが、その分子実態は明らかでない。現在、我々は FACS により特定の神経細胞種を単離し、網羅的遺伝子発現解析から神経細胞種に特異的に発現する細胞形態制御因子 (GFE など) の同定を試みている。興奮性および抑制性神経細胞それぞれに特有な Rho シグナル活性化機構の同定は、神経細胞種特異的な形態の制御メカニズムの解明に繋がるものと考えられる。

謝 辞

本稿執筆の機会を与えて下さいました日本神経化学会編集委員の諸先生方に深く感謝申し上げます。本研究は、筆者が京都大学大学院医学研究科神経・細胞薬理学教室の大学院生として行ったものであり、ご指導を頂き研究の機会を与えて下さいました成宮周先生に心より感謝申し上げます。また、本研究を進めるにあたり、古屋敷智之先生、タムケオディーン先生ならびに成宮研究室のすべての方々、新潟大学の竹林浩秀先生、渡辺啓介先生、名古屋市立大学の澤本和延先生、金子奈穂子先生にご指導を頂きました。この場を借りて心から御礼申し上げます。

文 献

- 1) Ayala R, Shu T, Tsai LH. Trekking across the brain: the journey of neuronal migration. *Cell*, 128, 29-43 (2007).
- 2) Brandon NJ, Sawa A. Linking neurodevelopmental and synaptic theories of mental illness through DISC1. *Nat Rev Neurosci*, 12, 707-722 (2011).
- 3) Marin O. Interneuron dysfunction in psychiatric

- disorders. *Nat Rev Neurosci*, 13, 107-120 (2012).
- 4) Marin O, Rubenstein JL. Cell migration in the forebrain. *Annu Rev Neurosci*, 26, 441-483 (2003).
 - 5) Ghashghaei HT, Lai C, Anton ES. Neuronal migration in the adult brain: are we there yet? *Nat Rev Neurosci*, 8, 141-151 (2007).
 - 6) Marin O, Valdeolmillos M, Moya F. Neurons in motion: same principles for different shapes? *Trends Neurosci*, 29, 655-661 (2006).
 - 7) Metin C, Vallee RB, Rakic P, Bhidé PG. Modes and mishaps of neuronal migration in the mammalian brain. *J Neurosci*, 28, 11746-11752 (2008).
 - 8) Kawauchi T, Hoshino M. Molecular pathways regulating cytoskeletal organization and morphological changes in migrating neurons. *Dev Neurosci*, 30, 36-46 (2008).
 - 9) Xie Z, Sanada K, Samuels BA, Shih H, Tsai LH. Serine 732 phosphorylation of FAK by Cdk5 is important for microtubule organization, nuclear movement, and neuronal migration. *Cell*, 114, 469-482 (2003).
 - 10) Solecki DJ, Model L, Gaetz J, Kapoor TM, Hatten ME. Par 6 α signaling controls glial-guided neuronal migration. *Nat Neurosci*, 7, 1195-1203 (2004).
 - 11) Tsai JW, Bremner KH, Vallee RB. Dual subcellular roles for LIS1 and dynein in radial neuronal migration in live brain tissue. *Nat Neurosci*, 10, 970-979 (2007).
 - 12) O'Rourke NA, Dailey ME, Smith SJ, McConnell SK. Diverse migratory pathways in the developing cerebral cortex. *Science*, 258, 299-302 (1992).
 - 13) Wichterle H, Garcia-Verdugo JM, Alvarez-Buylla A. Direct evidence for homotypic, glia-independent neuronal migration. *Neuron*, 18, 779-791 (1997).
 - 14) Polleux F, Whitford KL, Dijkhuizen PA, Vitalis T, Ghosh A. Control of cortical interneuron migration by neurotrophins and PI3-kinase signaling. *Development*, 129, 3147-3160 (2002).
 - 15) Schaar BT, McConnell SK. Cytoskeletal coordination during neuronal migration. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102, 13652-13657 (2005).
 - 16) Bellion A, Baudoin JP, Alvarez C, Bornens M, Metin C. Nucleokinesis in tangentially migrating neurons comprises two alternating phases: forward migration of the Golgi/centrosome associated with centrosome splitting and myosin contraction at the rear. *J Neurosci*, 25, 5691-5699 (2005).
 - 17) Martini FJ, Valdeolmillos M. Actomyosin contraction at the cell rear drives nuclear translocation in migrating cortical interneurons. *J Neurosci*, 30, 8660-8670 (2010).
 - 18) Hall A. Rho GTPases and the actin cytoskeleton. *Science*, 279, 509-514 (1998).
 - 19) Narumiya S, Ishizaki T, Watanabe N. Rho effectors and reorganization of actin cytoskeleton. *FEBS Lett*, 410, 68-72 (1997).
 - 20) Narumiya S, Tanji M, Ishizaki T. Rho signaling, ROCK and mDia1, in transformation, metastasis and invasion. *Cancer Metastasis Rev*, 28, 65-76 (2009).
 - 21) Kimura K, Ito M, Amano M, Chihara K, Fukata Y, Nakafuku M, Yamamori B, Feng J, Nakano T, Okawa K, Iwamatsu A, Kaibuchi K. Regulation of myosin phosphatase by Rho and Rho-associated kinase (Rho-kinase). *Science*, 273, 245-248 (1996).
 - 22) Ishizaki T, Naito M, Fujisawa K, Maekawa M, Watanabe N, Saito Y, Narumiya S. p160ROCK, a Rho-associated coiled-coil forming protein kinase, works downstream of Rho and induces focal adhesions. *FEBS Lett*, 404, 118-124 (1997).
 - 23) Shinohara R, Thumkeo D, Kamijo H, Kaneko N, Sawamoto K, Watanabe K, Takebayashi H, Kiyonari H, Ishizaki T, Furuyashiki T, Narumiya S. A role for mDia, a Rho-regulated actin nucleator, in tangential migration of interneuron precursors. *Nat Neurosci*, 15, 373-380, S371-372 (2012).
 - 24) Goode BL, Eck MJ. Mechanism and function of formins in the control of actin assembly. *Annu Rev Biochem*, 76, 593-627 (2007).
 - 25) Higashida C, Miyoshi T, Fujita A, Ocegüera-Yanez F, Monypenny J, Andou Y, Narumiya S,

- Watanabe N. Actin polymerization-driven molecular movement of mDia1 in living cells. *Science*, 303, 2007-2010 (2004).
- 26) Sakata D, Taniguchi H, Yasuda S, Adachi-Morishima A, Hamazaki Y, Nakayama R, Miki T, Minato N, Narumiya S. Impaired T lymphocyte trafficking in mice deficient in an actin-nucleating protein, mDia1. *J Exp Med*, 204, 2031-2038 (2007).
- 27) Thumkeo D, Shinohara R, Watanabe K, Takebayashi H, Toyoda Y, Tohyama K, Ishizaki T, Furuyashiki T, Narumiya S. Deficiency of mDia, an actin nucleator, disrupts integrity of neuroepithelium and causes periventricular dysplasia. *PLoS One*, 6, e25465 (2011).
- 28) Lien WH, Klezovitch O, Fernandez TE, Delrow J, Vasioukhin V. alphaE-catenin controls cerebral cortical size by regulating the hedgehog signaling pathway. *Science*, 311, 1609-1612 (2006).
- 29) Kadowaki M, Nakamura S, Machon O, Krauss S, Radice GL, Takeichi M. N-cadherin mediates cortical organization in the mouse brain. *Dev Biol*, 304, 22-33 (2007).
- 30) Shimizu Y, Thumkeo D, Keel J, Ishizaki T, Oshima H, Oshima M, Noda Y, Matsumura F, Taketo MM, Narumiya S. ROCK-I regulates closure of the eyelids and ventral body wall by inducing assembly of actomyosin bundles. *J Cell Biol*, 168, 941-953 (2005).
- 31) Thumkeo D, Shimizu Y, Sakamoto S, Yamada S, Narumiya S. ROCK-I and ROCK-II cooperatively regulate closure of eyelid and ventral body wall in mouse embryo. *Genes Cells*, 10, 825-834 (2005).
- 32) Kaneko N, Sawamoto K. Adult neurogenesis and its alteration under pathological conditions. *Neurosci Res*, 63, 155-164 (2009).
- 33) Riedl J, Crevenna AH, Kessenbrock K, Yu JH, Neukirchen D, Bista M, Bradke F, Jenne D, Holak TA, Werb Z, Sixt M, Wedlich-Soldner R. Lifeact: a versatile marker to visualize F-actin. *Nat Methods*, 5, 605-607 (2008).
- 34) Watanabe N, Kato T, Fujita A, Ishizaki T, Narumiya S. Cooperation between mDia1 and ROCK in Rho-induced actin reorganization. *Nat Cell Biol*, 1, 136-143 (1999).
- 35) Rosenblatt J, Cramer LP, Baum B, McGee KM. Myosin II-dependent cortical movement is required for centrosome separation and positioning during mitotic spindle assembly. *Cell*, 117, 361-372 (2004).
- 36) Cao J, Crest J, Fasulo B, Sullivan W. Cortical actin dynamics facilitate early-stage centrosome separation. *Curr Biol*, 20, 770-776 (2010).

子宮内電気穿孔法により見えて来た大脳皮質形成のメカニズム

田畑 秀典

(愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所)

1 はじめに

新しい技術の開発は科学的進歩の大きな原動力になることは言うまでもない。私もその開発者の一人として携わることになった子宮内電気穿孔法は、その典型的な例であろう。この方法は子宮内で発達中の哺乳類胎仔において神経細胞の誕生から移動、配置、成熟過程までを鮮明に可視化しながら任意の遺伝子の発現や抑制を非常に簡便に行う方法であり、現在では神経発生を研究している世界中の多くの研究室ではほぼ常識的に行われるようになった。これらの研究成果は神経細胞の移動と配置に関する多くの知見をもたらし、この分野の発展に大きく寄与した。子宮内電気穿孔法の技術的な解説は他の総説や著書に詳しい記載があるのでそちらをご参照頂きたい^{1)~3)}。今回の原稿執筆に際しては長く師事した慶應義塾大学の仲嶋一範教授からご推薦を頂いた。これまでの研究を一度まとめなさいというご指示と理解し、本稿では、筆者がこの子宮内電気穿孔法を用いて観察してきた神経細胞移動研究の経過を紹介したい。文章中にはMAZやSEP、REP等の耳慣れない用語が出てくるが、そこに至った経緯と共にこれらの概念に関してもご納得頂ければ幸甚である。

2 神経細胞移動初期に認められる多極性細胞

筆者が最初に子宮内電気穿孔法によりマウス胎仔大脳へGFP発現ベクターを導入した際に驚いたことはその発現量の高さである。GFPは導入された移動神経細胞のすみずみに行き渡り、その姿

を鮮明に浮かび上がらせたのである⁴⁾。そして何よりも目を引いたのは脳室帯(VZ)のすぐ上でたくさん突起を持ち接線方向に寝そべるように存在する多極性細胞の存在であった。当時(今もそうであるが)の神経発生の教科書には神経細胞は放射状グリアの突起を足場として移動するというRakicらのモデルしかほとんど記載されていなかった⁵⁾、このような形態の移動神経細胞が少なくとも脳室下帯(SVZ)や中間帯(IZ)では主要な要素であることは意外なことであった。とは言え、この場に多極性細胞が多く存在することは電子顕微鏡の連続切片の再構築やゴルジ染色を用いた先駆的観察によりすでに知られていた⁶⁾⁷⁾。10年も前の研究であるので、詳しくは割愛するが、筆者等はこれがまさに放射状移動する神経細胞の大多数が一過性にとる細胞形態であることを証明したのである⁸⁾(図1)。また、筆者らは当時、オリンパスと共同で一度の実験で複数の視野をタイムラプス観察する系(多点タイムラプス)を開発した。このときに開発した4DViewerは、自動的に全ての視野のムービーをリアルタイムで構築することができる(ラトックシステム株式会社)。これにより細胞の動きをモニターしながらのタイムラプス撮影が可能となった。これらの技術を用いたライブイメージングにより、多極性細胞はその複数の突起を活発に伸び縮みさせ、細胞体は様々な方向に揺れ動きながら全体としてはゆっくりと放射状方向に移動することが明らかとなった。この移動様式を多極性移動と呼ぶ⁸⁾。多極性細胞はその後、軸索を接線方向に伸ばし⁹⁾¹⁰⁾、これと前後して放射状グリアの突起を足場とする移動様式、すな

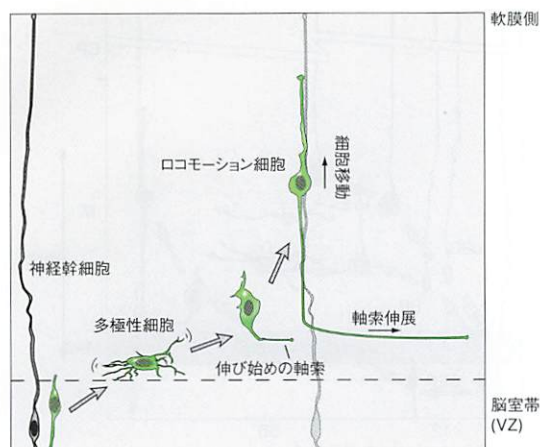


図1 放射状移動の模式図

VZから放射状に移動する神経細胞はその大部分が多極性細胞の時期を経る。多極性細胞から速い移動様式であるロコモーションへの転換と前後して、軸索が接線方向(図の横方向)に伸びる。

わちロコモーションへと移行して皮質板内へと移動する¹¹⁾(図1)。多極性細胞はこのように互いに直交する軸索と移動の方向を決める時期であり、細胞極性の獲得も同時に起きてくる。多くの移動に関わる分子は、その発現を抑制されると多極性細胞の時期を抜け出せなくなることから、多極性細胞からロコモーションへの転換は放射状移動の極めて重要な時期であると言える¹²⁾。さて多極性細胞の特徴的な突起の活発な運動はどのような生物学的意味があるのか。筆者らは、軸索が伸びるときにその先端に形成される成長円錐の運動との類似性から、軸索伸展や移動方向を探索していると想像した。成長円錐はアクチンを主体とする細胞骨格に支えられ、手のひらのように広がる葉状仮足とそこから指のように伸びる糸状仮足により形成される。この構造が活発に運動しながら周囲の環境を読み取り、伸びるべき方向を探る。成長円錐の運動は、アクチンの再編成に関わる分子が重要な役割を果たすことが知られ¹³⁾、このような分子が多極性細胞の突起の運動にも関わる可能性が考えられた。実際、多極性細胞の突起は川内ら(当時、京都大学)によりアクチン線維に富む構造であり、その形成にはp27やCofilinによるアクチン

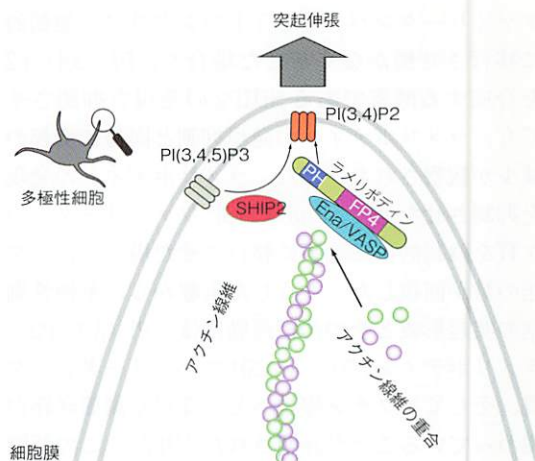


図2 多極性細胞の突起形成におけるラメリポディンの働きの概念図

多極性細胞の突起の先端を拡大した模式図を示す。ラメリポディンはSHIP2により細胞膜の内膜に産生されたPI(3,4)P2にPHドメインで結合し、さらにFP4ドメインを介してEna/VASPファミリータンパク質と結合する。これがアクチン線維の重合を促し、多極性細胞の突起形成/伸展につながる。

の再編成が重要であることが観察されていた¹⁴⁾。そこで、吉永ら(仲嶋研究グループ)は、アクチン再編成に重要な役割を持つラメリポディンと呼ばれるタンパク質に注目した¹⁵⁾(図2)。ラメリポディンは細胞内で働くアダプター分子であり、そのPHドメインで細胞膜のイノシトールリン脂質の一種、PI(3,4)P2の存在する場所にアンカーされ、さらにFP4ドメインを介してEna/VASPファミリータンパク質と結合する。これにより膜の特定の部分に集積したEna/VASPが局所でアクチン線維の重合を促す¹⁶⁾。この働きにより多極性細胞の突起が形成される可能性が考えられた。多極性細胞において、まずラメリポディンの発現を抑制すると突起が少なくなり、この作用はラメリポディンの発現ベクターを同時に入れることで回復した。しかし、この際にPHドメインを欠くラメリポディンを発現させても回復しなかった。つまり、ラメリポディンは実際に多極性細胞の突起形成に関与しており、その働きはPHドメインに依存することが示唆された。また、Ena/VASP

ファミリータンパク質をミトコンドリアに強制的に移行させ働かなくさせた場合や、PI (3,4) P2を合成する酵素であるSHIP2の発現を抑制させても、ラメリポデインの発現抑制と同様に突起の減少が観察された。また、ラメリポデインの発現を抑制させた上で、Ena/VASPファミリータンパク質を強制的に細胞膜に移行させた場合には、突起の数が回復した。こうした実験から、多極性細胞の突起形成とその伸縮運動には、PI (3,4) P2、ラメリポデイン、Ena/VASPファミリータンパク質、そしてアクチン線維へとつながる調節経路が関わっていることが証明された(図2)。この経路は成長円錐の運動に関わるものと基本的に同一である¹⁶⁾。つまり、多極性細胞の探索的な行動は、成長円錐にその動態が似ているだけでなく、動きの分子機構も共通しており、このことは多極性細胞の突起運動も外界のシグナルを感じ取る機構として働いている可能性を支持する。筆者等は当然、その外界のシグナルの実体に大いに興味を持っているが、残念ながら未だこれは未解決である。

3 マウス大脳皮質後期過程に見られる移動初期の2つの集団～SEPとREP

多極性細胞は前述の通り、VZの直上、つまり脳室下帯(SVZ)に多く存在する。そして2004年のNoctorらによるSVZにおける神経細胞産生を記載した金字塔的論文が世に出ると¹¹⁾、一気にSVZ研究が熱を帯びた。Noctorらはラット胎仔VZ細胞をレトロウイルスで可視化し、VZ細胞、およびそこから生じるSVZ細胞の動態を観察した。その結果、VZにおける神経産生は放射状グリアの非対称性分裂により、1個の神経細胞と1個の放射状グリアそれぞれ自身を産み出す自己複製的な分裂であり、これに対してSVZの分裂細胞は対称性分裂を経て2つの神経細胞を産み出し、分裂を終了するとした。ここでSVZにおける神経前駆細胞をbasal progenitor (BP)と呼ぶ。さてここで問題となったのが、多極性細胞がBPであるかという疑問である。確かに良く観察しているごく少数ではあるが分裂する多極性細胞を見かけることがあ

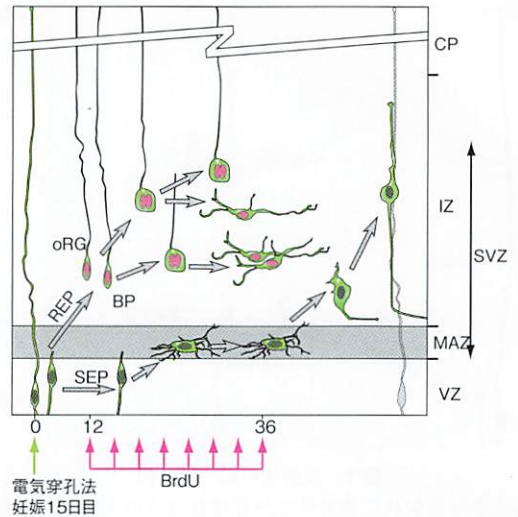


図3 VZから移動を開始する2つの移動集団。
妊娠15日目マウス胎児VZへのGFP発現ベクター導入により可視化される2つの集団を示す。BrdUの連続投与をピンクの矢印で示す。BrdUを取り込んだ細胞核をピンクで示す。VZで分裂を終了した細胞集団(SEP)はしばらくVZに留まった後、MAZで典型的な多極性細胞としてさらに留まり、ロコモーション細胞へと転換して皮質板(CP)内に入る。VZを離れてもまだ分裂する集団は、長い上行性突起を縮めながら、SEPよりも早く中間帯(IZ)内に侵入し、多くは突起を退縮させて分裂し、2つの神経細胞になる(BP)。REPには突起を維持したまま分裂を繰り返す霊長類のoRGに相当する細胞が含まれる。

るが、大多数は分裂しているようには見えなかった。これをきちんと確かめるため、筆者等は電気穿孔法により多極性細胞を標識し、さらにBrdUを連続投与して、その取り込みを見た¹⁷⁾(図3)。具体的には妊娠15日目のマウス胎仔に電気穿孔法によりGFP発現ベクターを導入し、12時間後から3時間おきに24時間にわたってBrdUを投与し、36時間後で固定した。この時期のVZにおける細胞周期は約18時間であり、24時間の連続投与はこれを十分カバーし、さらにS期の長さはおおよそ4時間であるので、3時間ごとの投与では取りこぼしは無いと考えられる。つまりこの実験で、細胞周期を回っている細胞は全てBrdU陽性となり、逆に陰性のものは分裂を終了した細胞、もっと正確には電気穿孔法の12時間後には最後のS

期を通過し終わった非分裂細胞であると言える。結果は予想通り、VZの直上で集積する多極性細胞のほとんどはBrdUを取り込まなかった。しかし、ここで筆者は思いがけない結果も同時に観察した。逆にBrdUを取り込んだ細胞は典型的な多極性細胞の存在するVZ直上よりもさらに上（脳表面に近い方）に多く分布していたのである。つまり、BrdUを取り込んだ後輩の神経細胞が、BrdUを取り込まない典型的な多極性細胞よりも、移動の方向性からは、先に行っていたのである。電気穿孔法からの時系列を追った解析から、この観察事実は移動様式の異なる2つの集団が存在することに起因していた。一方はVZで分裂を終え、VZ内にしばらく留まった後、典型的な多極性細胞の形態を取りながらVZの直上で集積し、さらに約24時間留まり、やがて軸索を接線方向に伸ばし、放射状方向への移動を再開する。もう1つの集団は前者よりも早期にVZを離れ、前者の集積するVZの直上を多くは超えて（しかし一部はオーバーラップして）SVZ内に広く分散し分裂する集団である。後者はVZを離れる際に長い上行性突起を短縮させながら細胞体を引き上げる細胞体トランスロケーションの様式を取る¹⁸⁾。前者はつまりVZから直接誕生した神経細胞であり、後者はVZを離脱後もさらに分裂する集団（多くはBP）である。両者は新しく発見された細胞集団ではないが、その移動パターンの違いは初めて記載された。この両者を対比するための用語として、そのVZ離脱のタイミングの違いから前者をslowly exiting population (SEP)、後者をrapidly exiting population (REP)と呼ぶ。

これらの観察から、SVZとは何かを再考する必要が出て来た。SVZはboulder committeeにおいて、VZの外で、さらに分裂する細胞を含む領域と定義されている¹⁹⁾。一方VZに隣接して様々な方向性を持った細胞、つまり多極性細胞が高密度にパックされた場所をもってSVZと呼ぶ場合がある。どちらの意味でSVZという用語を使うかで、データの解釈は大きく異なってくる。後者の主な構成要素となる多極性細胞はそのほとんどが分裂を終了した細胞であり、このことは前者の分裂細

胞の存在する場所による定義とは完全に対立するからである。筆者らはこの混乱を避けるため、SVZの用法は最初に定義されたboulder committeeに従い、後者の指し示す領域は多極性細胞蓄積帯、multipolar cell accumulation zone (MAZ)と呼んで区別することを提唱している。一方REPが分散する領域全体はboulder committeeの定義に従えばSVZと呼ばれるべきであり、下はMAZを含みながら、上は軸索束が多く入り込むIZと広くオーバーラップする。分化マーカーで見ると、主に分裂を終了した神経細胞に一過性に発現するNeuroDがMAZとほぼ一致して帯状に発現する。BPのマーカーとして知られるTbr2²⁰⁾はMAZのすぐ下（VZ上部）に多く観察され、MAZ内ではやや少なく、それより上では再び多くなる傾向がある¹⁷⁾。VZ上部のTbr2発現細胞がBPであるかはまだ更なる検証が必要である。Englundらの観察ではBrdUを固定前に急性に取り込ませたときに、VZ内のBrdU陽性細胞はほとんどTbr2陰性であったことや²⁰⁾、筆者らの観察でも、細胞分裂が終了するときに発現するp27が、VZ上部のTbr2陽性細胞ではかなり良く共染色されることから²¹⁾、これらはBPではなく、SEPが分裂を停止してMAZの多極性細胞に分化する過程で一過性に発現している可能性が考えられる。つまり大胆な仮説に立てば、VZで分裂を終了する細胞もSVZで分裂を終了する細胞も、Tbr2陽性→NeuroD陽性という分化マーカーの流れは共通で、分裂を停止するタイミングとしてはVZ内ではTbr2陽性になる前、SVZではTbr2陽性になってもまだ1回分裂できるのかもしれない。Svet1もまた、BPのマーカーとして良く使われる²²⁾。これはタンパク質をコードしない正体不明のRNAとして発見されたが、佐々木ら（仲嶋研究室）により、これはUnc5d遺伝子が転写された後にスプライシングで抜け落ちるRNA断片であることが確認された²³⁾。Unc5d発現細胞はMAZに多く観察され、分裂細胞のマーカーであるKi67との共染色からは、その中には分裂細胞も含まれるが、大多数は分裂を終了した多極性細胞であることが示唆された。Unc5dは軸索ガイダンスに関

わる分子であるので、分裂を終了した多極性細胞での役割が注目される。

4 ヒト oRG との関連

2010 年になると Hansen らや Fiez らのヒト SVZ を観察した論文でこの分野が再び活気づいた²⁴⁾²⁵⁾。霊長類の SVZ は発生とともに非常に厚くなり、脳深層側の inner SVZ (ISVZ) と表層側の outer SVZ (OSVZ) が区別されるようになる。ISVZ は VZ の直上に位置して色々な方向性を持った細胞で占められる。一方、OSVZ は縦に並んだカラム状の構造を呈する²⁶⁾。また、発生の進行に伴う SVZ の肥大化はほとんど OSVZ によるものであり、ISVZ には大きな変化は無い。ヒトは進化過程で非常に巨大な脳を獲得したが、これは OSVZ の肥大化がその一要因となっている。さて、Hansen らと Fiez らの同時期に出された論文では、ヒト OSVZ を構成する細胞の性質が記載されている。これによると、OSVZ 内には長い上行性の突起を持ち、しかし VZ との接触は断った単極性の細胞が存在し、これが突起を維持したまま、VZ における放射状グリアと同じように非対称性に自己複製しながら分裂し、神経細胞（あるいはもう一度だけ対称分裂して神経細胞を 2 つ産生する BP）を産み出す。つまり、マウスでは SVZ は BP だけであったものが、ヒトの進化とともに、このような新しいタイプの神経幹細胞が出現し、ヒト脳の巨大化に至ったとした。この OSVZ 内の神経幹細胞には観察者により色々な名前が付けられているが、本稿では Hansen らの命名した oRG (OSVZ radial glia-like) 細胞の語を用いる。ここで筆者らは、霊長類の OSVZ と ISVZ が、我々が観察してきたマウスの SVZ の構造と非常に良く一致することに気付いた (図 4)。霊長類 ISVZ は前述の通り、VZ 直上に存在し、恐らく多極性細胞と思われる色々な方向性を持った細胞で構成されるという点において、マウス SEP が集積する MAZ と共通している。霊長類 OSVZ は、それを構成する oRG 細胞が上行性の長い突起を持ち、より分化の進んだ ISVZ よりも表層側に位置するという点において、マウス REP 細胞と共通している。MAZ

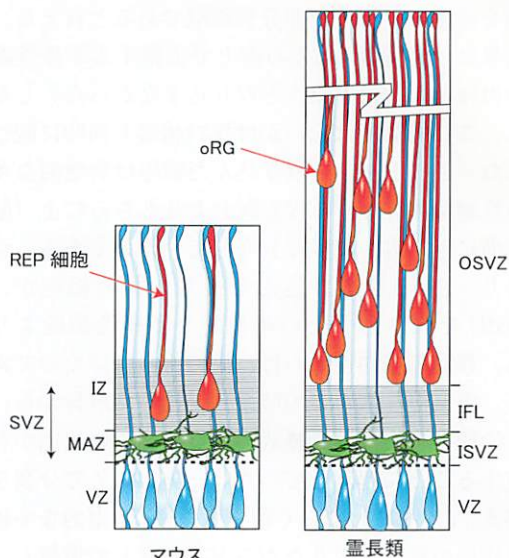


図 4 マウスと霊長類における SVZ の対応関係の模式図

マウス MAZ は霊長類 ISVZ に、マウス REP 細胞は霊長類 oRG 細胞に相当する。REP 細胞は BP が主要構成細胞であるが、幹細胞性がマウスでは低く、霊長類では高いという連続的な違いとして考える。

IFL : inner fiber layer

は VZ で分裂を終了した細胞が主要構成要素であるが、ISVZ も恐らくそのようになっていると考えられる。ISVZ 内にも分裂像は認められるが、これは MAZ にも REP 細胞があるのと同様に、oRG 細胞、もしくは BP が ISVZ にもオーバーラップして存在していることに対応すると思われる²⁷⁾。もし REP が非常に多く作られ、またその未分化性も保たれるようになれば、OSVZ のような縦に並んだカラム状構造が ISVZ の上に形成されることは容易に想像できる。実際、OSVZ は霊長類に特異的な構造ではなく、フェレットやネコ、ヒツジなど、系統的に関連しない多くの哺乳類で観察される²⁷⁾。むしろマウスやラットではもともと祖先種にあった OSVZ が退化したのかも知れない。これらのことから SVZ の構造は哺乳類全般を通して恐らく基本型は共通しているのではないかと筆者は考えている。

前述の通り、REP はその多くが BP である。もし REP 内に oRG 相当細胞も含まれていれば、上

記仮説を指示するであろう。すでに下向ら、および Wang らは実際にタイムラプス観察によりマウスにも oRG に相当する細胞の存在を証明していた²⁸⁾²⁹⁾。筆者らは電気穿孔法により REP を特定した上で、oRG 細胞のマーカーとなる Pax6 と Sox2 の発現を検証した。その結果、確かに細胞体トランスロケーションの形態を持ち、早期に IZ に入る細胞で Pax6 陽性のもの、Sox2 陽性のものを確認することができた²¹⁾。これは REP が oRG 相当の細胞を含んだ集団であることを示唆している。とは言え、これは少数派であり、BP が主要構成要素であることに違いは無い。しかし筆者は oRG 細胞と BP が決定的に別の種類の細胞であるとは考えていない。BP も分裂前は多くが上行性突起を持つ細胞であり、形態的な区別は全く不可能である。タイムラプスにより、突起を維持して数回の分裂が観察されれば、その母細胞が oRG 細胞、突起を放棄して2つの神経細胞になれば BP であったことがレトロスペクトルに分かるのみである。つまり、両者の違いは幹細胞性がいかに高く保たれるかという連続的な変数により与えられ、これが高く維持されるように進化したのが霊長類、逆にこれが低い（あるいは退化して低くなった）ものがげっ歯類、その中間のものがフェレットなど他の多くの哺乳類と考えることができる。

5 今後の課題

これまでの子宮内電気穿孔法による移動神経細胞の観察結果より、その細胞動態がおおよそ分かってきた。すでに多くの分子が神経細胞移動過程に関わることが示されているが、移動の分子機構の完全な解明にはまだ多くの未解明な問題が残されている。特に筆者らが注目して研究を進めているのは以下の2つである。まず第一点目は REP の産生調節機構の解明である。前述したように、これは進化の問題と密接に結びついており、興味深いテーマであると同時に、特にヒトにおいて最近進化した部分を含むため、精神遅滞を伴うような発達障害の原因解明に繋がる可能性がある。

REP はマウス胎仔脳において領野によって産生の度合いが異なる。現在はこれを利用して、REP 産生に寄与する分子を探索している。第二点目は、多極性細胞が MAZ に留まる生物学的理由の解明である。前述の通り、多極性細胞は MAZ から抜け出す前後に軸索を接線方向に伸ばす。筆者らは特に皮質発生後期に注目しているので、軸索は正しく内側へと向かい脳梁の線維となる。成長円錐とも共通した多極性細胞の探索行動は、軸索を正しい方向へ伸ばすために必要なのかもしれない。またその効率良い探索には MAZ に留まることが必要なのかもしれない。また、このテーマは SEP と REP の最終運命の違いにも関連している。MAZ を素通りしてしまう REP は SEP とは異なった軸索連絡を持つ可能性がある。これらを1つ1つ検証していくことで、大脳皮質発生機序の解明、さらにはその変調として現れる発達障害の解明に少しでも貢献できるよう努力したい。

6 おわりに

子宮内電気穿孔法の開発からすでに10年以上の月日が流れた。この間にも多くの技術的進歩があった。まず、RNA 干渉法の原理を応用した目的遺伝子の特異的発現抑制が子宮内電気穿孔法で可能になったことは大きなブレイクスルーであった³⁰⁾。また、Cre-loxP システムやタモキシフェンによる誘導系を用いて、時期特異的、細胞特異的な発現/抑制が可能になった^{31)~33)}。さらに、導入した cDNA を、トランスポゾンエレメントを用いてゲノムに組み込ませ、細胞分裂による希釈を避けることも行われている³⁴⁾。最近筆者が驚いたのは、子宮内電気穿孔法ではノックアウトマウスとは異なり、一部の神経細胞にのみ遺伝子導入されるのだが、それでもこの技術で DISC1 がノックダウン（発現抑制）された成体において行動に異常が生じたという報告である³⁵⁾。今後も様々な新技術が登場し、この技術の応用範囲がさらに広がるものと期待される。

最後に私が子宮内電気穿孔法の開発に携わることになった個人的な体験を記してこの拙文を終わ

りたい。これほど普及した本法の開発に私が携わることが出来たのは幸せなことであったが、私が行ったことは最後の一押しぐらいで、電気穿孔法とマウス胎仔のマニピュレーションの技術的な成熟がこれを可能にしたのである。まず、電気穿孔法の生体への応用はすでにニワトリ胚の系で確立していた^{36)~38)}。また東北大の大隅典子研究グループからは取り出したマウス胚への応用が発表されていた³⁹⁾。技術的に十分可能なことはほとんど分かっていたのである。また、当時私は生きたマウス胎仔脳の側脳室に細胞移植をする仕事をしていた。これは仲嶋教授から伝授されたもので⁴⁰⁾、手術の手技は完成していた。技術的に可能でも動機が無くては、この方法の開発に向かうことは無かったであろう。当時の研究テーマであったリーリンは巨大なタンパク質で、ウイルスを用いた遺伝子導入は困難であった。リーリンは脳の表面側で発現して神経細胞の移動や配置をコントロールするが、これを異所性に脳室側で発現させたらどうなるのかという疑問が常にあった（この実験は後に仲嶋研究室の久保らにより実現された⁴¹⁾）。こうしたことが重なって子宮内電気穿孔法の開発に乗り出すことになった。キャピラリーの中身を細胞からプラスミドに変え、最初にトライしたときには、果たしてこんなことがうまくいくのか疑問であったし、自分が非常に変なことをしている感覚であった。それでも実験がうまくいくことが分かり、論文の準備を始めたころ、実は他の研究室でも子宮内電気穿孔法の開発が進んでいるという情報が入った。やはりこの方法は私の個人的な研究のレベルではなく、時代の要請だったのであろう^{42)~44)}。こうした状況で、放射状移動細胞への最初の応用を報告することができたことは、非常に幸運であった。その後の多極性細胞の記載からの流れは前述の通りである。

謝 辞

本稿でご紹介させて頂いた著者の研究は仲嶋一範教授のもとで、東京慈恵会医科大学、および慶應義塾大学医学部にて行われたものです。仲嶋先生には理研

時代からを合わせて15年もの長い間、ご指導、ご支援を賜りました。私の神経発生研究の基礎は全て仲嶋研で養われたものであり、感謝の念は一言では語り尽くせませんが、改めまして厚く御礼申し上げます。仲嶋研メンバーには（過去に在籍された方も含めて）いつも暖かいご支援、ご協力、ご助言をいただきました。現在は愛知県コロニー発達障害研究所の永田浩一郎のもとで引き続き電気穿孔法を用いた神経発生の研究を続けさせて頂いております。永田先生にはタイムラプス装置をはじめ、必要な機材が全て揃った素晴らしい研究環境での、自由な発想の研究をお許し頂いております。また子宮内電気穿孔法やタイムラプス観察を通じて、多くの研究者の方々と共同研究や交流を持つことが出来ました。紙面の都合で、お一人ずつのお名前を挙げさせて頂くことができませんが、技術的なこと、研究情報、研究者としての心意気等、多くのことを学びました。この場をお借りして御礼申し上げますとともに、今後ともご指導、ご鞭撻を賜りますよう、よろしくお願い申し上げます。

文 献

- 1) Tabata H, Nakajima K. Labeling embryonic mouse central nervous system cells by in utero electroporation. *Dev. Growth Differ*, 50, 507-511 (2008).
- 2) Tabata H, Nakajima K. Electroporation and Sonoporation in Developmental Biology. Nakamura H (eds) Springer Netherlands, p143-152 (2009).
- 3) 田畑秀典, 久保健一郎, 仲嶋一範. 子宮内胎仔脳への遺伝子導入. 目的別で選べる遺伝子導入プロトコル. 仲嶋一範, 北村義浩, 武内恒成編, p112-119 (2012).
- 4) Tabata H, Nakajima K. Efficient in utero gene transfer system to the developing mouse brain using electroporation: visualization of neuronal migration in the developing cortex. *Neuroscience*, 103, 865-872 (2001).
- 5) Rakic P. Mode of cell migration to the superficial layers of fetal monkey neocortex. *J. Comp. Neu-*

- rol, 145, 61-83 (1972).
- 6) Shoukimas G, Hinds J. Development of Cerebral-Cortex in Embryonic Mouse - Electron-Microscopic Serial Section Analysis. *J. Comp. Neurol*, 179, 795-830 (1978).
- 7) Stensaas L, Stensaas S. An Electron Microscope Study of Cells in Matrix and Intermediate Laminae of Cerebral Hemisphere of 45 Mm Rabbit Embryo. *Z. Zellforsch Mik. Ana*, 91, 341-365 (1968).
- 8) Tabata H, Nakajima K. Multipolar migration: the third mode of radial neuronal migration in the developing cerebral cortex. *J. Neurosci*, 23, 9996-10001 (2003).
- 9) Ozaki HS, Wahlsten D. Timing and origin of the first cortical axons to project through the corpus callosum and the subsequent emergence of callosal projection cells in mouse. *J. Comp. Neurol*, 400, 197-206 (1998).
- 10) Hatanaka Y, Yamauchi K. Excitatory Cortical Neurons with Multipolar Shape Establish Neuronal Polarity by Forming a Tangentially Oriented Axon in the Intermediate Zone. *Cereb. Cortex*, 23, 105-113 (2012).
- 11) Noctor SC, Martinez-Cerdeno V, Ivic L, Kriegstein AR. Cortical neurons arise in symmetric and asymmetric division zones and migrate through specific phases. *Nat. Neurosci*, 7, 136-144 (2004).
- 12) LoTurco JJ, Bai J. The multipolar stage and disruptions in neuronal migration. *Trends Neurosci*, 29, 407-413 (2006).
- 13) Dent EW, Guppton SL, Gertler FB. The growth cone cytoskeleton in axon outgrowth and guidance. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 3, (2011).
- 14) Kawauchi T, Chihama K, Nabeshima Y-I, Hoshino M. Cdk5 phosphorylates and stabilizes p27kip1 contributing to actin organization and cortical neuronal migration. *Nat. Cell Biol*, 8, 17-26 (2006).
- 15) Yoshinaga S, et al. A Phosphatidylinositol Lipids System, Lamellipodin, and Ena/VASP Regulate Dynamic Morphology of Multipolar Migrating Cells in the Developing Cerebral Cortex. *J. Neurosci*, 32, 11643-11656 (2012).
- 16) Michael M, Vehlows A, Navarro C, Krause M. c-Abl, Lamellipodin, and Ena/VASP proteins cooperate in dorsal ruffling of fibroblasts and axonal morphogenesis. *Curr. Biol*, 20, 783-791 (2010).
- 17) Tabata H, Kanatani S, Nakajima K. Differences of migratory behavior between direct progeny of apical progenitors and basal progenitors in the developing cerebral cortex. *Cereb. Cortex*, 19, 2092-2105 (2009).
- 18) Nadarajah B, Brunstrom JE, Grutzendler J, Wong RO, Pearlman AL. Two modes of radial migration in early development of the cerebral cortex. *Nat. Neurosci*, 4, 143-150 (2001).
- 19) Embryonic vertebrate central nervous system: revised terminology. The Boulder Committee. *Anat. Rec*, 166, 257-261 (1970).
- 20) Englund C. Pax6, Tbr2, and Tbr1 Are Expressed Sequentially by Radial Glia, Intermediate Progenitor Cells, and Postmitotic Neurons in Developing Neocortex. *J. Neurosci*, 25, 247-251 (2005).
- 21) Tabata H, Yoshinaga S, Nakajima K. Cytoarchitecture of mouse and human subventricular zone in developing cerebral neocortex. *Exp Brain Res*, 216, 161-168 (2012).
- 22) Tarabykin V, Stoykova A, Usman N, Gruss P. Cortical upper layer neurons derive from the subventricular zone as indicated by Svet1 gene expression. *Development*, 128, 1983-1993 (2001).
- 23) Sasaki S, Tabata H, Tachikawa K, Nakajima K. The cortical subventricular zone-specific molecule Svet1 is part of the nuclear RNA coded by the putative netrin receptor gene Unc5d and is expressed in multipolar migrating cells. *Mol. Cell. Neurosci*, 38, 474-483 (2008).
- 24) Hansen DV, Lui JH, Parker PRL, Kriegstein AR. Neurogenic radial glia in the outer subventricular zone of human neocortex. *Nature*, 464, 554-561 (2010).
- 25) Fietz SA, et al. OSVZ progenitors of human and

- ferret neocortex are epithelial-like and expand by integrin signaling. *Nat. Neurosci.* 13, 690-699 (2010).
- 26) Smart IHM, Dehay C, Giroud P, Berland M, Kennedy H. Unique morphological features of the proliferative zones and postmitotic compartments of the neural epithelium giving rise to striate and extrastriate cortex in the monkey. *Cereb. Cortex*, 12, 37-53 (2002).
 - 27) Reillo I, de Juan Romero C, García-Cabezas MA, Borrell V. A role for intermediate radial glia in the tangential expansion of the mammalian cerebral cortex. *Cereb. Cortex*, 21, 1674-1694 (2011).
 - 28) Shitamukai A, Konno D, Matsuzaki F. Oblique Radial Glial Divisions in the Developing Mouse Neocortex Induce Self-Renewing Progenitors outside the Germinal Zone That Resemble Primate Outer Subventricular Zone Progenitors. *J. Neurosci.* 31, 3683-3695 (2011).
 - 29) Wang X, Tsai J-W, LaMonica B, Kriegstein AR. A new subtype of progenitor cell in the mouse embryonic neocortex. *Nat. Neurosci.* 14, 555-561 (2011).
 - 30) Bai J, et al. RNAi reveals doublecortin is required for radial migration in rat neocortex. *Nat. Neurosci.* 6, 1277-1283 (2003).
 - 31) LoTurco J, Manent JB, Sidiqi F. New and Improved Tools for In Utero Electroporation Studies of Developing Cerebral Cortex. *Cereb. Cortex*, 19, i120-i125 (2009).
 - 32) Ako R, et al. Simultaneous visualization of multiple neuronal properties with single-cell resolution in the living rodent brain. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 48, 246-257 (2011).
 - 33) Iguchi T, Yagi H, Wang C-C, Sato M. A tightly controlled conditional knockdown system using the Tol2 transposon-mediated technique. *PLoS ONE*, 7, e33380 (2012).
 - 34) Yoshida A, et al. Simultaneous expression of different transgenes in neurons and glia by combining in utero electroporation with the Tol2 transposon-mediated gene transfer system. *Genes to Cells*, (2010) doi : 10.1111 / j.1365-2443.2010.01397.x.
 - 35) Niwa M, et al. Knockdown of DISC1 by in utero gene transfer disturbs postnatal dopaminergic maturation in the frontal cortex and leads to adult behavioral deficits. *Neuron*, 65, 480-489 (2010).
 - 36) Muramatsu T, Mizutani Y, Ohmori Y, Okumura J-I. Comparison of Three Nonviral Transfection Methods for Foreign Gene Expression in Early Chicken Embryos in Ovo. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 230, 376-380 (1997).
 - 37) Funahashi J, et al. Role of Pax-5 in the regulation of a mid-hindbrain organizer's activity. *Dev. Growth Differ.* 41, 59-72 (1999).
 - 38) Momose T, Takeuchi J, Ogawa H, Umesono K, Yasuda K. Efficient targeting of gene expression in chick embryos by microelectroporation. *Dev. Growth Differ.* 41, 335-344 (1999).
 - 39) Osumi N, Inoue T. Gene Transfer into Cultured Mammalian Embryos by Electroporation. *Methods*, 24, 35-42 (2001).
 - 40) Nakajima K, Mikoshiba K, Miyata T, Kudo C, Ogawa M. Disruption of hippocampal development in vivo by CR-50 mAb against reelin. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 94, 8196-8201 (1997).
 - 41) Kubo K-I, et al. Ectopic Reelin induces neuronal aggregation with a normal birthdate-dependent 'inside-out' alignment in the developing neocortex. *J. Neurosci.* 30, 10953-10966 (2010).
 - 42) Fukuchi-Shimogori T. Neocortex Patterning by the Secreted Signaling Molecule FGF8. *Science*, 294, 1071-1074 (2001).
 - 43) Saito T, Nakatsuji N. Efficient Gene Transfer into the Embryonic Mouse Brain Using in Vivo Electroporation. *Developmental Biology*, 240, 237-246 (2001).
 - 44) Kawauchi T, Chihama K, Nishimura YV, Nabeshima Y-I, Hoshino M. MAP1B phosphorylation is differentially regulated by Cdk5/p35, Cdk5/p25, and JNK. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 331, 50-55 (2005).

輝け次代の担い手たち

大脳皮質抑制性ニューロンの移動を停止する要因の解析

稲村 直子

(自然科学研究機構生理学研究所分子神経生理研究部門)

1. はじめに

ニューロンの移動は適切な神経回路を形成する上で重要である。そして移動を停止することは層構造や神経核など神経回路の機能的な構造を形成する上で必須である。移動のメカニズムについてはこれまで多くの研究がなされているが、これに対して移動の停止がどのように制御されているのかについての研究はまだ少なく、よくわかっていないことが多い。ニューロンが移動を停止する要因について、大脳皮質抑制性ニューロンをモデルとして明らかにしたので報告する¹⁾。

2. ニューロンの移動には内在性要因と外因性要因が必要である

ニューロンは分化したところで成熟するわけではなく、多くは分化後最終目的地に向かって移動する。そして移動を停止すると層構造や神経核などを形成する。例えば大脳皮質では興奮性ニューロンは ventricular zone で分化したのち表皮に向かって放射状の移動を行い、その後層構造を形成する²⁾。また間脳では ventricular zone で分化した抑制性ニューロンが移動して視床網様核を形成する³⁾。ニューロンの移動に関しては多くの報告があるが、移動の停止の要因に関しては、まだよくわかっていないことが多い。

移動のプロセスに関わる要因は次の二つが考えられる。一つは細胞の内在性の要因である。例えば小脳の組織片培養を用いた実験では、isolate された小脳顆粒細胞は時間が経つと徐々に移動速

度を落とし最終的に停止する⁴⁾⁵⁾。もう一つは外因性要因である。ニューロンの移動を調節する分泌物質がこれに当たる^{6)~10)}。これらの二つの要因はおそらく協調しあっていると考えられるが、これまでの研究ではどちらか一つの要因だけを調べており、両方の要因の関わりを調べる手立てがなかった。

それを明らかにするためにニューロンの発生・移動・成熟についてよく知られている大脳皮質抑制性ニューロンを使用し実験を行った。大脳皮質抑制性ニューロンは内側基底核原基で分化後¹¹⁾、胎生 13.5 日目 (E13.5) から E15.5 に大脳皮質の intermediate zone と subventricular zone で活発な接線方向の移動をすることがわかっている¹²⁾¹³⁾。その後表層に近い marginal zone で多方向に散らばる¹⁴⁾。生後、marginal zone から大脳皮質内部に沈んでいき最終目的地に向かい、その後軸索をのび成熟する¹⁵⁾。抑制性ニューロンを可視化するために抑制性ニューロンが GFP によってラベルされる GAD67-GFP ノックインマウス (以下 GAD67-GFP マウス) を用いて実験を行った¹⁶⁾。

3. 大脳皮質の抑制性ニューロンは生後一週間で移動を停止する

抑制性ニューロンの移動が生後いつ終わるのかを調べるために、発生後期から生後の GAD67-GFP マウスの大脳皮質のスライスを作成し、タイムラプス観察を行って、GFP 陽性の抑制性ニューロンの移動距離を測定し、発生に伴う変化を調べた。その結果、E14.5 では抑制性ニューロンは活発

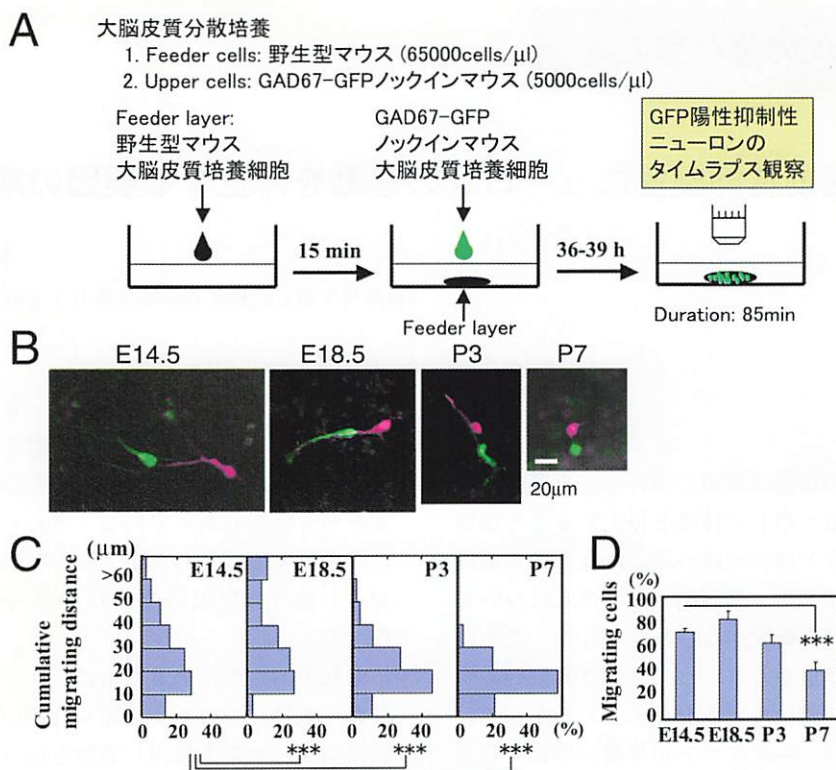


図1 分散培養した大脳皮質の抑制性ニューロンでは発生が進むにつれて移動能力が減少した。

A. 実験の模式図。野生型と GAD67-GFP ノックインマウスそれぞれから大脳皮質の分散培養を作成した。まず野生型の培養細胞を 65000個/ μ l の高密度で調整し、培養液を満たしたディッシュに滴下した。15 分後、GAD67-GFP マウスの培養細胞を 5000個/ μ l の密度で調整し、野生型の細胞を撒いた場所と同じポイントに滴下した。36 時間後共焦点顕微鏡で GFP 陽性の抑制性ニューロンのタイムラプス観察を行った。

B. E14.5、E18.5、P3、P7 の野生型と GAD67-GFP マウスの大脳皮質培養細胞から feeder 層と upper 層をそれぞれ作成し、発達に伴う抑制性ニューロンの移動を調べ、タイムラプスの開始 (赤) と終り (緑) のイメージを重ねたもの。胎生に比べて生後では移動距離の減少が見られる。

C. 個々の細胞の移動距離の分布。生後では移動距離が有意に減少した。移動距離は 5 分ごとの移動距離の積算により求めた。

D. 移動している細胞の割合。15 μ m 以上移動した細胞をカウントした。生後 7 日で移動する細胞の割合が減少した。(***) $p < 0.001$ (文献 1 を改変)

に移動していたが、E18.5 から徐々に移動距離の減少がみられ、生後 7 日目 (P7) で移動を停止した。また移動している細胞の割合も同様に減少した。

大脳皮質スライスのタイムラプス観察で見られたニューロンの移動の停止の要因を調べるために、図 1A のような分散培養系を使用した。野生型と GAD67-GFP マウスの大脳皮質の分散培養を作

成し、野生型の培養細胞を feeder 層としてディッシュに撒き、その上に GAD67-GFP マウスの培養細胞を upper 層として重ねて撒いた。36 時間後、共焦点顕微鏡で GFP 陽性の抑制性ニューロンの移動の動態をタイムラプス観察によって調べた。

まず、発生に伴う抑制性ニューロンの移動の停止が、スライスで見られたのと同様にこの培養系

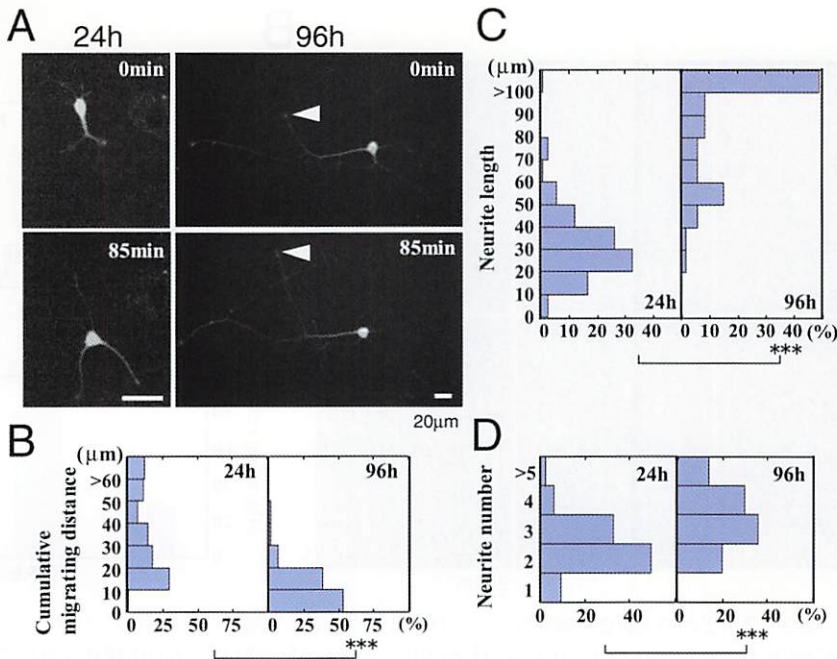


図2 グリア細胞のfeeder層の上で長時間培養した抑制性ニューロンでは移動能力が低下した。

A. グリア細胞の上で抑制性ニューロンを低密度に撒いたときの、培養24時間後と96時間後の抑制性ニューロンのタイムラプスの開始(上)と終了(下)のイメージ。培養96時間後の細胞は移動を停止し突起をのばしていた(矢頭は神経突起の先端の位置を示す)。
 B. 培養96時間後では24時間後に比べて移動距離が減少した。
 C, D. 培養96時間後では突起の長さ(C)が有意に長く、突起の数(D)も増加していた。
 (***) $p < 0.001$ (文献1を改変)

でも見られるのかを調べるために、E14.5、E18.5、P3、P7の野生型とGAD67-GFPマウスからfeeder層とupper層をそれぞれ作成し実験を行った(図1)。その結果、スライスでの結果と同様に、発生が進むに従ってGFP陽性抑制性ニューロンの移動距離と移動する細胞の割合が減少した。このことはこの培養系がスライスで得た知見を反映していることを示し、この培養系を用いてさらに研究を進めた。

4. 内在性要因でニューロンは移動を停止する

内在性要因の影響を調べるために、E14.5の野生型とGAD67-GFPマウスからfeeder層とupper層を作成し、移動距離の経時観察をした。その結果、培養24時間後ではGFP陽性抑制性ニュー

ロンは活発に移動しているが、96時間後では移動距離が減少し90%近くの細胞が移動を停止していた。形態にも差が見られた。培養96時間後の細胞では神経突起の長さが長くかつ数も多い傾向が見られたが、これは大脳皮質で見られる移動を停止した抑制性ニューロンの形態と同様であった。このことは移動の停止に細胞の内在性要因が関係していることを示唆している。

この培養ではfeeder層のニューロンの影響が考えられるので、それを排除するためにグリア細胞のfeeder層を作成し、その上にE14.5のGAD67-GFPマウスの大脳皮質から作成したニューロンを、互いに接することがないように低密度で撒いた。そして移動距離の経時観察をした(図2)。その結果グリア細胞のfeeder層の上でも同様に、培養24時間後ではGFP陽性抑制性

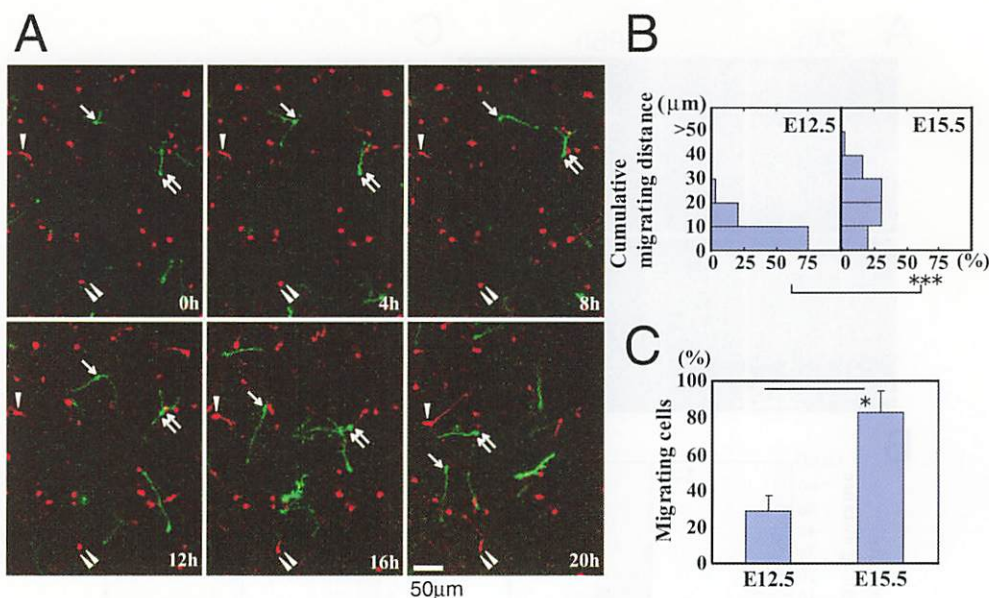


図3 早生まれの脳皮質抑制性ニューロンは遅生まれの細胞よりも移動能力が低い。

A. pCAG-mCherry を E12.5 で、pCAGGS-GAP-EGFP を E15.5 で野生型マウスの内側基底核原基に電気裂孔法により導入し、E18.5 で脳皮質の組織片のタイムラプスを行った。E12.5 でラベルされた細胞（赤、矢頭）に比べ E15.5 でラベルされた細胞（緑、矢印）は活発に移動した。

B. 早生まれの細胞は遅生まれの細胞よりも移動距離が短かった。

C. 早生まれの細胞は遅生まれの細胞よりも移動する細胞の割合が低かった。（* $p < 0.05$ 、*** $p < 0.001$ ）（文献1を改変）

ニューロンは活発に移動しているが、96 時間後では移動距離が減少し、80% 近くの細胞が移動を停止していた。同様に形態においても培養 96 時間後の細胞では神経突起の長さが長くかつ数も多い傾向が見られた。

内在性要因がニューロンの移動の停止に関わっていることをより生体内に近い実験系で示すため、同じ環境で異なる時期に産生された抑制性ニューロンの移動距離をしらべた。E12.5 と E15.5 の異なる 2 つの発生時期に、それぞれ異なる蛍光を発現するプラスミドを抑制性ニューロンが分化する内側基底核原基に導入した。そして E18.5 で脳皮質の組織片を作成し、marginal zone のタイムラプス観察を行った。図 3 のように E15.5 で標識された抑制性ニューロンが活発に移動していることに対して、E12.5 で標識された抑制性ニューロンは移動距離が短く、移動する細胞の割合も低かった。このことは同じ環境の中で早生まれ

の細胞が遅生まれの細胞よりも移動能力が低いことを示している。先に述べた胎生の抑制性ニューロンの移動能力が徐々に低くなり最終的に移動を停止することと合わせると、以上の結果は移動の停止に内在性要因が関与している事を示唆している。

5. 環境がニューロンの移動能力を制御する

移動の停止に外因性要因が必要なのかを調べるため、E14.5 または P7 の野生型の脳皮質培養細胞の feeder 層の上に E14.5 または P7 の GAD67-GFP マウスの脳皮質培養細胞を upper 層としてまき、基質の差によって抑制性ニューロンの移動がどのように変化するかを調べた（図 4）。すると驚くべき事に、E14.5 の feeder 層の上の E14.5 の抑制性ニューロンは活発に移動していることに対して、P7 を feeder 層としたものでは移

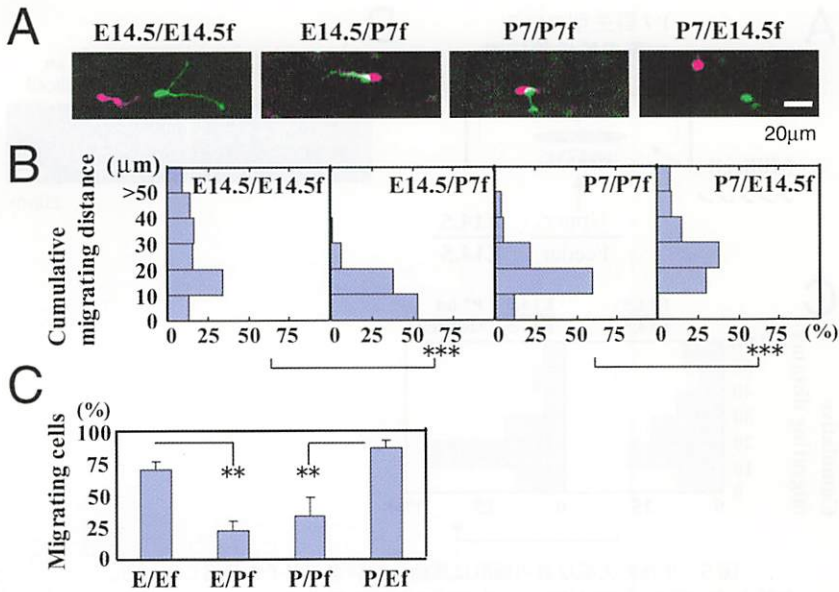


図4 胎生の抑制性ニューロンの移動能力は生後の大脳皮質の培養細胞のfeeder層の上では低下した。

A. E14.5 または P7 の野生型の大脳皮質培養細胞の feeder 層の上に E14.5 または P7 の GAD67-GFP マウスの大脳皮質培養細胞を upper 層としてまき、タイムラプスの開始 (赤) と終了 (緑) のイメージを重ねたもの。E14.5/E14.5f の表記は upper 層/feeder 層の培養細胞をそれぞれ示す。P7 の大脳皮質培養細胞の上に撒いた E14.5 抑制性ニューロン (E14.5/P7f) の移動能力は E14.5 の培養細胞の上に撒いたもの (E14.5/E14.5f) より低下しており、白く重なっている。

B. C. P7 の大脳皮質培養細胞の上に撒いた E14.5 抑制性ニューロンの移動能力は E14.5 の培養細胞の上に撒いたときに比べて移動距離 (B) と移動する細胞の割合 (C) が減少した。

(** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$) (文献 1 を改変)

動距離や移動する細胞の割合が減少していた。一方、P7 の feeder 層の上の P7 の抑制性ニューロンはほぼ移動を停止しているが、E14.5 を feeder 層としたものでは移動距離や移動する細胞の割合が復活した。このことは feeder 層が upper 層の抑制性ニューロンの移動能力を調節していることを示し、外因性要因が大脳皮質の抑制性ニューロンの移動を制御していることを示唆している。

上の結果で生後の大脳皮質ニューロンが、本来活発に移動する胎生の抑制性ニューロンの移動を抑制していることがわかった。しかし移動を制御する因子が分泌因子なのか膜結合型なのかは不明である。移動を制御する因子が分泌因子であるかを調べるため、次のような実験を行った (図 5)。細胞の移動が活発な時期である E14.5 の野生型マ

ウスの大脳皮質培養細胞に E14.5 の GAD67-GFP マウスの大脳皮質培養細胞をまき、さらにその上に重ねた Millicell メンブレンに P7 の大脳皮質の細胞を撒いて培養し、細胞の移動距離を調べた (図 5)。もし生後の大脳皮質から分泌因子が放出されているとすれば、Millicell メンブレンに P7 の大脳皮質の細胞があるディッシュの E14.5 抑制性ニューロンの移動は抑えられると考えられる。実験の結果、Millicell メンブレンに P7 の大脳皮質の細胞があるディッシュの E14.5 抑制性ニューロンの移動能力は低下しており、この結果は生後の大脳皮質からはニューロンの移動を抑制する何らかの分子が分泌されていることを示唆している。

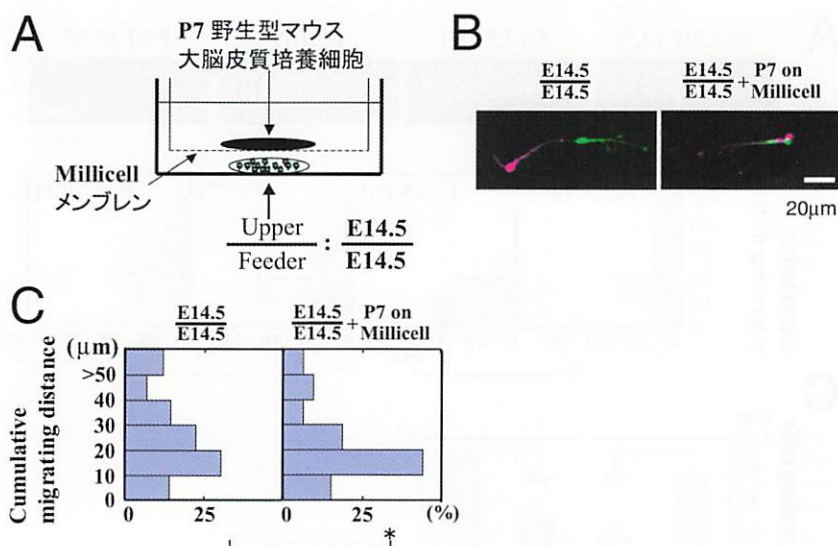


図5 生後の大脳皮質の細胞は移動を抑制する因子を分泌している。

A. 実験方法。E14.5の野生型マウスの大脳皮質培養細胞を feeder 層として、E14.5の GAD67-GFP マウスの大脳皮質培養細胞を upper 層としてまき、さらにその上に Millicell を置き、P7の大脳皮質の培養細胞を撒いた。

B. タイムラプスの開始（赤）と終了（緑）のイメージを重ねたもの。P7の大脳皮質の細胞を撒いたミリセルを置いた E14.5 抑制性ニューロン（右）の移動能力は低下している。

C. P7の大脳皮質の細胞を撒いたミリセルを置いた E14.5 抑制性ニューロンの移動距離は減少した。（* p<0.05）（文献1を改変）

6. おわりに

以上の結果はニューロンが移動を停止するには内在性要因と外因性要因の両方が関わっている事を示唆している。図6に示すように発生が進むに従ってニューロンの移動を促進する内在性要因が減少する。逆に生後の大脳皮質からは移動を抑制する外因性要因が増える。

では内在性因子と外因性因子はどのようなものと考えられるか。内在性因子としては、小脳顆粒細胞の移動の停止では一時的な Ca^{2+} 濃度上昇の頻度の低下が、また大脳皮質抑制性ニューロンではイオン輸送体の一つである KCC2 の発現上昇が移動の抑制に関わっているとの報告がある¹⁷⁾¹⁸⁾。それ以外に細胞移動に伴う核の移動（ヌクレオキネシス）に関わる分子や細胞骨格¹⁹⁾も関係しているかもしれない。外因性因子としては、小脳顆粒細胞では PACAP が、また大脳皮質抑制性ニュー

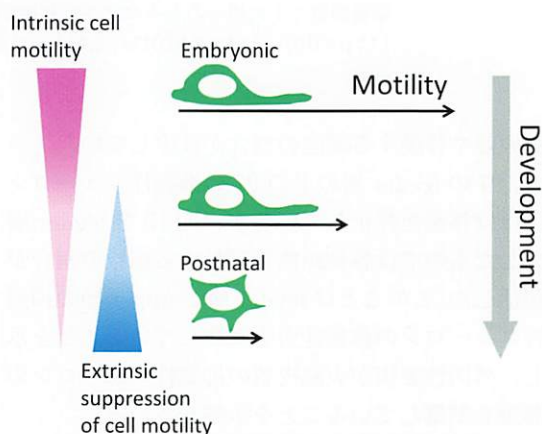


図6 移動を停止する要因の模式図。移動の停止には内在性要因と外因性要因の両方が関係している。

ロンでは GABA が関係していると示唆されている¹⁸⁾²⁰⁾。しかし内在性因子と外因性因子の相互作用や、さらにそれがどのように移動の停止やヌクレ

オキネシスの低下に結びつくのかわかっておらず、まだまだ研究の余地がある。

現在私はアストロサイトから放出される ATP などのグリオトランスミッターの放出メカニズムについて、放出される様子をイメージングすることにより研究している(論文準備中)。ニューロンが胎生中期に発生のピークを迎えることに対し、グリア細胞は発生後期から生後にかけて産生する²⁰⁾。グリア細胞の産生による生後の大脳皮質の環境変化もニューロンの移動の停止に関わっているのかもしれない。ニューロンの移動の停止は、神経回路の発達において必須の現象であると考えられるが、移動そのものの研究に比べると、圧倒的に論文の数が少なく、まだまだ未知の領域であると思われる。

謝 辞

この研究は大阪大学生命機能研究科村上富士夫先生のもとで行われました。村上先生および共著者を含む研究室のメンバーに御礼申し上げます。また論文は現在の所属研究室である生理学研究所分子神経生理研究部門に在籍中に完成致しました。池中一裕先生に御礼申し上げます。最後に執筆の機会を与えてくださいました日本神経化学会の榎戸靖先生、仲嶋一範先生に深く感謝申し上げます。

引用文献

- 1) Inamura N, Kimura T, Tada S, Kurahashi T, Yanagida M, Yanagawa Y, Ikenaka K, Murakami F. Intrinsic and extrinsic mechanisms control the termination of cortical interneuron migration. *J. Neurosci*, 32, 6032-6042 (2012).
- 2) Rakic P. The radial edifice of cortical architecture: From neuronal silhouettes to genetic engineering. *Brain Res Rev*, 55, 204-219 (2007).
- 3) Inamura N, Ono K, Takebayashi H, Zalc B, Ikenaka K. Olig2 lineage cells generate GABAergic neurons in the prethalamus nuclei, including the zona incerta, ventral lateral geniculate nucleus and reticular thalamic nucleus. *Dev. Neurosci*, 33, 118-129 (2011).
- 4) Yacubova E, Komuro H. Intrinsic program for migration of cerebellar granule cells *in vitro*. *J Neurosci*, 22, 5966-5981 (2002).
- 5) Trenkner E, Smith D, Segil N. Is cerebellar granule cell migration regulated by an internal clock? *J Neurosci*, 4, 2850-2855 (1984).
- 6) Polleux F, Whitford KL, Dijkhuizen PA, Vitalis T, Ghosh A. Control of cortical interneuron migration by neurotrophins and PI3-kinase signaling. *Development*, 129, 3147-3160 (2002).
- 7) Powell EM, Mars WM, Levitt P. Hepatocyte growth factor/scatter factor is a motogen for interneurons migrating from the ventral to dorsal telencephalon. *Neuron*, 30, 79-89 (2001).
- 8) Pozas E, Ibáñez CF. GDNF and GFRα1 promote differentiation and tangential migration of cortical GABAergic neurons. *Neuron*, 45, 701-713 (2005).
- 9) Flames N, Long JE, Garratt AN, Fischer TM, Gassmann M, Birchmeier C, Lai C, Rubenstein JL, Marin O. Short- and long-range attraction of cortical GABAergic interneurons by neuregulin-1. *Neuron*, 44, 251-261 (2004).
- 10) Lysko DE, Putt M, Golden JA. SDF1 regulates leading process branching and speed of migrating interneurons. *J Neurosci*, 31, 1739-1745 (2011).
- 11) Marín O, Valiente M, Ge X, Tsai LH. Guiding neuronal cell migrations. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2, a001834 (2010).
- 12) Tanaka D, Nakaya Y, Yanagawa Y, Obata K, Murakami F. Multimodal tangential migration of neocortical GABAergic neurons independent of GPI-anchored proteins. *Development*, 130, 5803-5813 (2003).
- 13) Tanaka DH, Yanagida M, Zhu Y, Mikami S, Nagasawa T, Miyazaki J, Yanagawa Y, Obata K, Murakami F. Random walk behavior of migrating cortical interneurons in the marginal zone: time-lapse analysis in flat-mount cortex. *J Neurosci*, 29, 1300-1311 (2009).

- 14) Tanaka DH, Maekawa K, Yanagawa Y, Obata K, Murakami F. Multidirectional and multizonal tangential migration of GABAergic interneurons in the developing cerebral cortex. *Development*, 133, 2167-2176 (2006).
- 15) Yamasaki E, Tanaka DH, Yanagawa Y, Murakami F. Cortical GABAergic interneurons transiently assume a sea urchin-like nonpolarized shape before axon initiation. *J Neurosci*, 30, 15221-15227 (2010).
- 16) Tamamaki N, Yanagawa Y, Tomioka R, Miyazaki J, Obata K, Kaneko T. Green fluorescent protein expression and colocalization with calretinin, parvalbumin, and somatostatin in the GAD67-GFP knock-in mouse. *J Comp Neurol*, 467, 60-79 (2003).
- 17) Kumada T, Komuro H. Completion of neuronal migration regulated by loss of Ca^{2+} transients. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 101, 8479-8484 (2004).
- 18) Bortone D, Polleux F. KCC2 expression promotes the termination of cortical interneuron migration in a voltage-sensitive calcium-dependent manner. *Neuron*, 62, 53-71 (2009).
- 19) Tsai LH, Gleeson JG. Nucleokinesis in neuronal migration. *Neuron*, 46, 383-388 (2005).
- 20) Cameron DB, Galas L, Jiang Y, Raoult E, Vaudry D, Komuro H. Cerebellar cortical-layer-specific control of neuronal migration by pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide. *Neuroscience*, 146, 697-712 (2007).
- 21) Kriegstein A, Alvarez-Buylla A. The glial nature of embryonic and adult neural stem cells. *Annu Rev Neurosci*, 32, 149-184 (2009).

研究室紹介

信州大学医学部神経生理学講座



教授 田渕 克彦

平成 24 年 9 月 18 日付で信州大学医学部神経生理学講座の教授に就任しました田渕克彦と申します。私は 1999 年に岡野栄之先生（現慶應義塾大学医学部生理学教室教授）の下で学位を取得した後、テキサス大学サウスウェスタンメディカルセンターの Thomas C. Südhof のラボに留学し、シナプス形成に関わる分子の研究を行いました。2009 年に愛知県岡崎市にあります生理学研究所の重本隆一先生の研究部門に准教授として採用され、留学時代からのテーマを継続、発展させながら研究を行ってまいりました。私が現在力を入れているのは、シナプス接着因子 Neuroligin および Neurexin のシナプス成熟における機能解明と、これらの異常によって引き起こされる自閉症の病態についての研究です。生理学研究所に在任中、電気生理や子宮内エレクトロポレーションによる遺伝子導入法を立ち上げ、また重本先生からレプリカ免疫電顕などの技術を学びました。重本研の同じフロアにあった分子科学研究所の桑島邦博先生のグループからタンパク質の構造解析技術も学び、研究に取り入れております。

信州大学は人文学部、教育学部、経済学部、理学部、医学部、工学部、農学部、繊維学部からなる総合大学で、キャンパスは長野県全域に点在しております。医学部は北アルプスを望む松本市内の浅間温泉から徒歩圏内にあり、周辺は安曇野、上高地、松本城、諏訪湖など観光名所に恵まれて

います。松本市街地の標高は約 600 メートルで、信州大学は全国の国立大学の中で最も標高の高いところにある大学になります。夏は涼しいかわりに冬は非常に寒いと聞いていたのですが、風はあまり強くなく、空気が薄いせいもあって、これを執筆している 1 月中旬現在で、気温こそ零度を下回るもののそれほど寒く感じません。断熱構造がしっかりしているのか、大学の建物内は意外と暖かく、エアコンを消してもやっていけるくらいです。雨が少なく、豪雪地帯というわけでもなく、松本は日本の中でも比較的過ごしやすい土地だと思います。

信州大学医学部は、旧松本医専、旧松本医科大学を母体とする伝統のある学部ですが、神経生理学講座は今回新設された講座で、旧講座を引き継いでおりません。昨年の 3 月に、日本生理学会が信州大学の主幹で開催され、第一生理学講座（器官制御生理学講座）の大橋俊夫先生が大会長を務められました。私は大橋先生と共に、医学部の生理学講義を担当しております。私はこれまで信州大学に縁もゆかりもなく、知り合いの先生は 1 人もいなかったのですが、大変温かく迎えられ、教授就任後、他の先生方に何度も飲み会に誘っていただき、信州大学にすっかり溶け込むことができました。

現在信州大学の基礎医学研究棟は耐震改修工事中です。我々はすでに工事が終了した教室に入れ

ていただいたのですが、全体の工事が終了するまでエレベータが利用できないため、研究機材の引っ越しは3月末に行う予定にしております。それまでは生理研の職を兼任して研究自体は生理研で行うこととし、現在松本と岡崎を片道3時間かけて車で行き来しております。3月末に重本先生はオーストリアの Institute of Science and Technology に異動が決まっており、生理研の研究室は消滅するため、4月からは信州大学1本でやっていくことになります。

新講座のメンバーは、講師として植村健さん、

助教に塚原完さん、橋本繁成さん、安村美里さんが加わり、4月からは生理研で私が指導している外国人の大学院生3人が合流する予定です。ラボのメンバーは全てモレキュラーバイオロジーの熟練者で、それぞれ電気生理やタンパク質の構造解析や形態解析などの技術を有する兵ぞろいですので、神経化学会の先生方と幅広く共同研究などさせていただければ幸いに存じます。皆様には今後ともご指導、ご鞭撻のほどよろしくお願い申し上げます。

研究室紹介

群馬大学 先端科学研究指導者育成ユニット

定方 哲史

群馬大学にテニュアトラック教員として参加し、はや2年になりました。この度は研究室紹介に寄稿する機会を与えていただきましたので、研究室の現況などについて簡単にご紹介させていただきます。

群馬大学は県庁所在地である前橋にあります。外部からお客さんを招くと、前橋駅の簡素さに愕然とされることがよくあります。これは県庁所在地を前橋がかすめとったことによる前橋と高崎の歴史的なライバル関係に原因があり、高崎が上越新幹線の招致に成功したことにより、前橋駅（およびその周辺）が華やかさにおいて大きく水をあけられることとなってしまいました。そのため、前橋駅＝群馬を代表とする駅という概念は捨て去っていただき、高崎駅が群馬を代表する駅という認識をもっていただくのが賢明かと思われます。高崎駅およびその周辺は開発も進んでおり、群馬におけるもっとも賑やかなスポットとなっています。高崎駅はもはや駅なのかヤマダデンキなのか分からないような外観です。

前橋はどうかというと、賑やかさにおいては高崎に劣るものの、すそ野の広い赤城山の壮大な景観、文化的な施設の多さ、自然の豊かさにおいては目を見張るものがあります。前橋には中学時代に住んでいたこともあり、私にとっての故郷なのですが、駅周辺しか繁栄していない高崎に比べ、街としては前橋の方が住みやすく魅力があると感じております。ニューイヤー駅伝で有名な県庁からの眺望は特に素晴らしく、周りに高層階みである建築物が一切ないことから新宿の高層ビル群以上に高層感が味わえ、上毛三山（赤城山、榛名山、妙義山）も見渡せることから、晴れた日には心ま

で澄みわたるお勤めの眺望スポットです。

また、前橋の良さとしては、やや逆説的になりますが、土地の安さも大きな魅力です。一戸建て庭付き・駐車場二台分付きの家が、2000万以下で購入できるという驚きの安さです。前橋から高崎までは10～20分、高崎駅から東京駅までは新幹線で40分と都心へのアクセスも良いことから、学会等の出張も特に苦にはなりません。

最近では自然災害における強さも群馬の強みとして挙げられます。群馬は大きな断層もなく、海なし県であるため、津波の心配もありません。高層ビルも県庁と高崎市役所くらいなので、上からガラスが降ってくることもありません。主な移動手段は車であるため、公共の交通機関がストップすることによる混乱もないと予想されます。夏の夕立が頻発するのがやや難ですが、もちろん命に関わるようなものではありません。

さて、そんな群馬の前橋にある群馬大学医学系研究科ですが、ご存知のように神経分野においては非常に優れた研究機関でもあります。そのため、群馬大学に内定が決まったときは（故郷であったこともあり）非常に喜ばしく思いました。現在でも群馬大学医学系研究科内での共同研究に非常に助けられております。

群馬大学の「先端科学研究指導者育成ユニット（先端医学・生命科学研究チーム及び先端工学研究チーム）」におけるテニュアトラック制は、任期付雇用による若手研究者が自立した研究環境で研究者・教育者として経験を積み、審査によって専任教員となるキャリアパスを提供する制度です。現在、先端医学・生命科学研究チームには准教授1名、講師1名、助教4名がおり、それぞれが独

立したポジションにて研究を展開しています。テクニカルスタッフ2名、事務補佐員2名が共通のサポートとして雇用されており、研究に専念できる環境を提供していただいております。私はそれ以外に研究員を一人雇っており、高度なレベルの実験をこなしてもらっています。

研究内容について簡単に説明したいと思います。脳ではグルタミン酸などの神経伝達物質は小型のシナプス小胞に貯蔵され、ペプチド性の神経伝達物質は、大型の有芯小胞に貯蔵されています。脳以外においては、膵臓のインスリンなどが有芯小胞に含まれています。どちらの小胞でも神経伝達物質は小胞膜と形質膜との融合による Ca^{2+} 依存的な開口放出によって放出されますが、シナプス小胞の開口放出機構が詳細に研究されているのに対し、有芯小胞の開口放出機構は殆ど分かっていません。

CAPS1 は有芯小胞特異的に細胞質側から会合することが知られている殆ど唯一の分子であり、その放出を Ca^{2+} 依存的に制御している可能性が示唆されていますが、詳細については不明です。私は CAPS1 の paralog である CAPS2 を新規遺伝子としてクローニングし、(1) CAPS2 が神経ネットワーク形成に最も重要な分子の一つである BDNF の分泌に関与するメカニズム (Sadakata et al., *J. Neurosci.*, 2004; Sadakata et al., *J. Biol. Chem.*,

2011) (2) CAPS2 KO マウスが BDNF の分泌低下により様々な形態学的・生理学的異常を示すこと (Sadakata et al., *J. Neurosci.*, 2007) (3) CAPS2 KO マウスが自閉症様形質を示すこと (Sadakata et al., *J. Clin. Invest.*, 2007) (4) 自閉症患者特異的に exon 3 がスキップした CAPS2 の発現が見られること (Sadakata et al., *J. Clin. Invest.*, 2007) などを報告してきました。

さらに exon 3 がスキップした CAPS2 タンパク質は軸索終末部に輸送されないことが明らかになり、特定の自閉症患者においては BDNF が健常者と異なったパターンで分泌され、神経ネットワークの形成に異常をきたす可能性が示唆されました。

最近私は自閉症で見られた CAPS2 exon 3 skip を起こすマウスを作製しました (Sadakata et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 2012)。よりヒト自閉症に近いモデルであるこのマウスを解析することで、発症メカニズムの解明につながると考えられます。

私の研究室では、大学院生を随時募集しておりますので、興味をもたれた方はお気軽にお問い合わせください (sadakata-1024@umin.ac.jp)。

これまで以上に研究・教育に精進していく所存ですので、今後ともご指導、ご鞭撻をよろしくお願い申し上げます。

次期大会のご案内

第 56 回日本神経化学会大会 (Neuro2013)

大会長 木山 博資

(名古屋大学大学院医学系研究科 教授)

この度の第 56 回日本神経化学会大会は、第 36 回日本神経科学大会 (大会長：加藤忠史先生 (理研)) ならびに第 23 回日本神経回路学会大会 (大会長：五味裕章先生 (NTT)) と合同で「Neuro2013」と称して開催されます。2013 (平成 25) 年 6 月 20 日 (木) から 23 日 (日) の 4 日間、国立京都国際会館にて開催されます。3 学会での合同大会は、2007・2010 に続いて 3 回目となります。これに加えて今回は、武田雅俊先生 (大阪大学) が大会長を努められる第 11 回世界生物学的精神医学会国際会議/The 11th World Federation of Societies of Biological Psychiatry (WFSBP) が期間を一部重ねて (6 月 23 日-27 日; 同会場) 連携開催されます。

大会の詳細については大会 HP (<http://www.neuro2013.org/>) をご覧ください。例年の大会と同様に理事会企画公開シンポジウムや奨励賞受賞者企画シンポジウム、ISN/JSN 共催シンポジウム、JSN/JSBP (日本生物学的精神医学会) 共催シンポジウムなどの神経化学会独自の企画を予定しております。また、日本神経化学会の最も重要な使命である若手育成のための企画として、若手がオーラルセッションにチャレンジし、みんなで討論を盛り上げる、恒例の若手教育セッションがございます。さらに、今年も合宿形式の若手研究者育成セミナー (世話人代表：橋本均先生 (阪大)、於：大原山荘、日本神経化学会のホームページ参照 <http://www.neurochemistry.jp/youth/>) が開催されます。

以下に神経化学会関連を中心に内容をリストアップいたしますが、随所に神経化学会の独自性・特長をちりばめたプログラムとなっております。これも、本会の実行委員長の山田清文先生 (名古屋大学大)、プログラム委員長の小泉修一先生 (山梨大学大学) をはじめ、関係会員各位のご尽力の賜と考えております。会員の皆様におかれましては、是非この機に京都にご参集頂き、サイエンスを楽しみ会員間の旧交を温めて頂きたく存じます。では、2013 年 6 月に京都国際会館でお会いできることを楽しみにしております。

Neuro2013 開催概要

会 期：2013 年 6 月 20 日 (木)～23 日 (日)

会 場：国立京都国際会館

大会長：科学 加藤 忠史 (理化学研究所脳科学総合研究センター)

化学 木山 博資 (名古屋大学大学院医学系研究科)

回路 五味 裕章 (NTT コミュニケーション科学基礎研究所)

大会 HP：<http://www.neuro2013.org/>

*Neuro2013 に引続き第 11 回世界生物学的精神医学会国際会議 (武田雅俊 (阪大) 大会長 6 月 23 日～27 日) が同じ会場で開催されます。Neuro との共催シンポジウム等も 6 月 23 日には予定されてお

ります。

事前参加登録

一般演題の募集は終了いたしました。

参加費の割安な事前参加登録をホームページ上で行なっております。(神経化学会会員としてご登録ください。会員番号の照会は事務局へ連絡ください。)

一般演題募集期間：2012年11月2日(金)～2013年1月23日(水) 終了済

早期事前参加登録：2012年11月2日(金)～2013年2月28日(木) 終了済

後期事前参加登録：2013年3月1日(金)～2013年5月22日(水)

<http://www.neuro2013.org/registration/index.html>

プレナリー講演

Prof. Fred Gage (Laboratory of Genetics, Salk Institute)

Prof. Maiken Nedergaard (University of Rochester Medical Center)

Prof. Miguel Nicolelis (Duke University Medical Center)

神経化学会企画シンポジウム (タイトル等は仮題を含み判明分のみ)

理事会企画シンポジウム

統合失調症の分子病態と治療：原因解明と治療法開発の戦略とは

オーガナイザー	橋本 亮太、大阪大学
シンポジスト	統合失調症の病態解明研究に必要な疾患概念と定義 橋本 亮太、大阪大学
	神経細胞の形態形成と統合失調症 中澤 敬信、東京大学
	統合失調症と PACAP シグナル経路 橋本 均、大阪大学
	サイトカインによる統合失調症のモデリングと創薬 那波 宏之、新潟大学

2012 年度最優秀奨励賞受賞者企画シンポジウム

繊毛と神経機能 (仮)

オーガナイザー	熊本奈都子、名古屋市立大学大学院
シンポジスト	大森 義裕、大阪大学蛋白質研究所
	竹田 扇、山梨大学大学院
	三好 耕、岡山大学大学院
	Shaoyu Ge、State University of New York at Stony Brook

日本神経化学会・ISN 共催シンポジウム

Glia-mediated synaptic remodeling

Speakers & title	Long Term plasticity of cortical Circuits by glia Junichi Nabekura (National Institute of Physiological Sciences, Japan)
	Novel releasing mechanisms of astrocyte signals Justin Lee (Korean Institute of Sciences)
	Circadian clock-mediated synaptic remodeling by microglia Hiroshi Nakanishi (Kyushu Univ, Japan)
	Synaptic remodeling by astrocytes Schuichi Koizumi (Univ Yamanashi, Japan)

日本神経化学会・日本生物学的精神医学会共催シンポジウム

気分障害におけるグリアの異常 (仮)

シンポジスト	うつ病の分子病態におけるグリア細胞の役割 小泉 修一、山梨大学医学部薬理学
	抗うつ薬の薬理作用から見たグリアの役割 竹林 実、国立病院機構呉医療センター・中国がんセンター
	ミクログリア仮説に基づく気分障害の病態解明に向けたアプローチ 加藤 隆弘、九州大学医学研究院
	気ストレスを感知する microglia がうつ病治療の新たなターゲットとなるか 岩田 正明、鳥取大学医学部

大会企画シンポジウム

企画シンポジウム-1 神経疾患・損傷研究モデルとしての霊長類における神経科学的研究

オーガナイザー	Douglas Munoz、クイーンズ大学神経科学研究センター 伊佐 正、自然科学研究機構生理学研究所
シンポジスト	Douglas Munoz、クイーンズ大学神経科学研究センター
	Angela Roberts、ケンブリッジ大学実験心理学部
	山森 哲雄、自然科学研究機構基礎生物学研究所
	西村 幸男、自然科学研究機構生理学研究所

企画シンポジウム-2 発話と音声知覚の脳情報処理

オーガナイザー	廣谷 定男、NTT コミュニケーション科学基礎研究所 Sophie Scott、University College of London
シンポジスト	Sophie Scott、University College of London
	David Ostry、McGill University
	麦谷 綾子、NTT コミュニケーション科学基礎研究所
	廣谷 定男、NTT コミュニケーション科学基礎研究所

企画シンポジウム-3 神経炎症：脳内環境の破綻がもたらす疾患研究のフロンティア

オーガナイザー	山中 宏二、理化学研究所脳科学総合研究センター 樋口 真人、放射線医学総合研究所
シンポジスト	村上 正晃、大阪大学・生命機能研究科
	中川 貴之、京都大学・薬学研究科
	尾上 浩隆、理化学研究所分子イメージング科学研究センター
	山中 宏二、理化学研究所 BSI
	田中 謙二、慶応義塾大学医学部

企画シンポジウム-4 神経回路の構築：発生学から再生戦略へ

オーガナイザー	竹居光太郎、横浜市立大学医学部生命医科学部門 上口 裕之、理化学研究所脳科学総合研究センター神経成長機構研究チーム
シンポジスト	上口 裕之、理化学研究所脳科学総合研究センター神経成長機構研究チーム
	竹居光太郎、横浜市立大学医学部生命医科学部門
	北川 裕之（宮田真路）、神戸薬科大学学生化学研究室
	Rona G. Giffard、Stanford University School of Medicine

企画シンポジウム-5 概日リズム睡眠障害の神経分子機構

オーガナイザー	岡村 均、京都大学大学院薬学研究科医薬創成情報科学専攻 肥田 昌子、国立精神・神経医療研究センター精神保健研究所精神生理研究部
シンポジスト	山口 賀章、京都大学大学院薬学研究科医薬創成情報科学専攻システムバイオロジー分野
	肥田 昌子、国立精神・神経医療研究センター精神保健研究所精神生理研究部
	安尾しのぶ、九州大学農学研究科研究院動物・海洋生物資源学講座
	荻尾 七臣、自治医科大学循環器科（教授）
	兼松 明弘、兵庫医科大学泌尿器科学講座（准教授）

企画シンポジウム-6 電位依存性イオンチャネル研究のフロンティア：ホジキン・ハックスレーから 60 年を経て

オーガナイザー	岡村 康司、大阪大学大学院医学系研究科統合生理学 御園生裕明、同志社大学脳科学研究科
シンポジスト	山川 和弘、理化学研究所脳科学総合研究センター
	御園生裕明、同志社大学脳科学研究科
	久場 博司、名古屋大学大学院・医学系研究科・細胞生理
	Peter H. Larsson、マイアミ大学ミラー医科大学、生理学生物物理学部門
	岡村 康司、大阪大学大学院医学系研究科

企画シンポジウム-7 家族関係を支える神経生物学的基盤（OR 家族関係の神経生物学）

オーガナイザー	篠原 一之、長崎大学医学部第二生理学教室 黒田 公美、理化学研究所脳科学総合研究センター黒田研究ユニット
---------	---

シンポジスト	Marc H Bornstein, National Inst. Child health and human development, NIH, USA
	山極 寿一、京都大学大学院理学研究科人類進化論研究室
	篠原 一之、長崎大学医学部第二生理学教室
	黒田 公美、理化学研究所脳科学総合研究センター黒田研究ユニット

企画シンポジウム-8 大脳皮質回路の動作原理解明への最前線

オーガナイザー	細谷 俊彦、理化学研究所脳科学総合研究センター
	谷口 弘樹、マックスプランクフロリダ研究所
シンポジスト	R. Clay Reid, Harvard Medical School
	Yang Dan、カリフォルニア大学バークレイ校
	Yi Zuo、カリフォルニア大学サンタクルーズ校
	川口 泰雄、生理学研究所自然科学研究機構
	Paola Arlotta、ハーバード大学医学部

企画シンポジウム-9 依存症発症メカニズムの脳科学

オーガナイザー	山田 清文、名古屋大学大学院医学系研究科
	橋本 恵理、札幌医科大学
シンポジスト	廣中 直行、NTT コミュニケーション科学基礎研究所
	須原 哲也、放射線医学総合研究所
	池田 和隆、東京都医学総合研究所
	鵜飼 渉、札幌医科大学

企画シンポジウム-10 高次元系のための確率的状態推定に基づいた強化学習

オーガナイザー	森本 淳、ATR 脳情報研究所
	内部 英治、沖縄先端科学技術大学院大学 (OIST)
シンポジスト	大塚 敏之、大阪大学大学院基礎工学研究科
	Marc Toussaint、ベルリン大学
	Evangelos, Theodorou、ワシントン大学 (米国)
	森本 淳、ATR 脳情報研究所
	内部 英治、沖縄先端科学技術大学院大学 (OIST)

企画シンポジウム-11 見て調べる神経回路機能のダイナミクス：再編成と変調

オーガナイザー	富永 貴志、徳島文理大学香川薬学部
	種村健太郎、東北大学大学院農学研究科
シンポジスト	五十嵐勝秀、国立医薬品食品衛生研究所
	富永 貴志、徳島文理大学
	梶原 利一、産業技術総合研究所
	Thomas Knöpfel、理研脳センター
	小金澤紀子、群馬大学

企画シンポジウム-12 中枢神経疾患治療に対するトランスレーショナルリサーチの現状とその課題

オーガナイザー	田口 明彦、先端医療振興財団 松山 知弘、兵庫医科大学
シンポジスト	田口 明彦、先端医療振興財団 吉峰 俊樹、大阪大学 村松 慎一、自治医大 猪原 匡史、先端医療振興財団

企画シンポジウム-13 感覚情報の統合と情動行動表出の脳神経基盤

オーガナイザー	東原 和成、東京大学・大学院農学生命科学研究科・応用生命化学専攻 富永 真琴、自然科学研究機構岡崎統合バイオサイエンスセンター
シンポジスト	吉原 良浩、独立行政法人理化学研究所シナプス分子機構研究チーム 飯野 雄一、東京大学・大学院理学系研究科 富永 真琴、自然科学研究機構岡崎統合バイオサイエンスセンター 松尾 直毅、京都大学次世代研究者育成センター 南 雅文、北海道大学薬学研究科（研究院） 菊水 健史、麻布大学獣医学部

企画シンポジウム-14 エピゲノムで理解する一神経発生から精神疾患まで一

オーガナイザー	等 誠司、滋賀医科大学生理学講座統合臓器生理学 岩本 和也、東京大学大学院医学系研究科分子精神医学講座
シンポジスト	等 誠司、滋賀医科大学生理学講座統合臓器生理学 中島 欽一、奈良先端科学大学分子神経分化制御学 岩田 淳、東京大学大学院医学系研究科脳病態科学分野 岩本 和也、東京大学大学院医学系研究科分子精神医学講座 Fred Gage、ソーク研究所

企画シンポジウム-15 発達障害の病態理解に向けた統合的アプローチ

オーガナイザー	内匠 透、広島大学医学部
シンポジスト	内匠 透、広島大学医学部 岡部 繁男、東京大学 西森 克彦、東北大学 Jacqueline Crawley、Univeristy of California, Davis Ofer Yizhar、Weintzmann Institute

企画シンポジウム-16 海馬-嗅内皮質系における認知記憶情報のダイナミクス

オーガナイザー	佐藤 正晃、理化学研究所脳科学総合研究センター 田代 歩、ノルウェー科学技術大学
シンポジスト	Stefan Leutgeb、University of California, San Diego 田代 歩、ノルウェー科学技術大学

	竹原（西内）可織、トロント大学
	佐藤 正晃、理化学研究所脳科学総合研究センター
	仲柴 俊昭、マサチューセッツ工科大学

企画シンポジウム-17 光による神経細胞機能制御

オーガナイザー	実吉 岳郎、理化学研究所脳科学総合研究センター 松田 信爾、慶應義塾大学医学部生理学教室
シンポジスト	村越 秀二、自然科学研究機構生理学研究所 Arnaud Gautier, École Normale Supérieure, Paris, France 実吉 岳郎、理化学研究所脳科学総合研究センター 林（高木）朗子、東京大学大学院医学系研究科 松田 信爾、慶應義塾大学医学部生理学教室 山中 章弘、名古屋大学環境医学研究所

公募シンポジウム

公募シンポジウム-1 ヒト神経細胞と神経変性疾患—iPS、iN 細胞の未来—

オーガナイザー	井上 治久、京都大学 iPS 細胞研究所臨床応用研究部門神経変性研究チーム 藤田 亮介、コロンビア大学病理学・細胞生物学分野
シンポジスト	岡野 栄之、慶應義塾大学医学部生理学教室 高橋 淳、京都大学 iPS 細胞研究所臨床応用研究部門 伊東 大介、慶應義塾大学医学部神経内科 井上 治久、京都大学 iPS 細胞研究所臨床応用研究部門神経変性研究チーム 山下 徹、岡山大学大学院医歯薬学総合研究科脳神経内科学 藤田 亮介、コロンビア大学病理学・細胞生物学分野

公募シンポジウム-2 社会神経科学：社会的シグナルと意思決定

オーガナイザー	松田 哲也、玉川大学脳科学研究所 高橋 英彦、京都大学大学院医学研究科精神医学
シンポジスト	下條 信輔、カリフォルニア工科大学生物学部 山岸 俊男、玉川大学脳科学研究所 Jan Peters, University Medical Center Hamburg-Eppendorf 山田真紀子、放射線医学総合研究所分子イメージングセンター 杉浦 元亮、東北大学加齢医学研究所

公募シンポジウム-3 空間・恐怖記憶回路の生物学的基盤

オーガナイザー	Thomas J. McHugh, RIKEN Brain Science Institute Ayako M. Watabe, Jikei University School of Medicine
シンポジスト	Alcino J. Silva, Departments of Neurobiology, Psychiatry, and Psychology, UCLA

	Bong-Kiun Kaang, Departments of Biological Sciences and Brain and Cognitive Sciences, Seoul National University
	Jin-Hee Han, Department of Biological Sciences, Korea Advanced Institute of Science and Technology (KAIST)
	Stephanie Bissiere, Melbourne Brain Centre, The University of Melbourne
	Thomas J. McHugh, RIKEN Brain Science Institute
	Shona Charttari, National Center for Biological Sciences, Tata Institute of Fundamental Research
	Ayako M. Watabe, Jikei University School of Medicine

公募シンポジウム-4 大脳皮質と海馬の抑制性細胞の機能解析

オーガナイザー	窪田 芳之、生理学研究所
	Elly Nedivi, Massachusetts Institute of Technology
シンポジスト	Carl Petersen, Brain Mind Institute, Lausanne, Switzerland.
	Hannah Monyer, Heidelberg University, Germany
	Tohmas Klausberger, Medical University of Wien, Austria
	Elly Nedivi, Massachusetts Institute of Technology
	窪田 芳之、生理学研究所

公募シンポジウム-5 認知機能向上及び障害のメカニズム—分子、細胞、回路レベルの解析から

オーガナイザー	喜田 聡、東京農業大学応用生物科学部バイオサイエンス学科
	尾藤 晴彦、東京大学大学院医学系研究科
シンポジスト	Cristina M. Alberini, The Center for Neural Science, New York University
	Angel Barco, Instituto de Neurociencias de Alicante, Universidad Miguel Hernández
	Eric Klann, The Center for Neural Science, New York University
	Todd C. Sacktor, Depts of Physiology, Pharmacology, and Neurology, SUNY Downstate Medical Center
	尾藤 晴彦、東京大学大学院医学系研究科
	喜田 聡、東京農業大学応用生物科学部バイオサイエンス学科

公募シンポジウム-6 大脳新皮質構築と回路形成機構—哺乳類特有の脳構造はどのように作られるのか?

オーガナイザー	仲嶋 一範、慶應義塾大学医学部
	花嶋かりな、理化学研究所発生・再生科学総合研究センター
シンポジスト	宮田 卓樹、名古屋大学大学院医学系研究科
	Zoltan Molnar, Department of Physiology, Anatomy and Genetics, University of Oxford
	花嶋かりな、理化学研究所発生・再生科学総合研究センター
	仲嶋 一範、慶應義塾大学医学部
	Nenad Sestan, Department of Neurobiology Kavli Institute for Neuroscience, Yale University School of Medicine

公募シンポジウム-7 動物の適応行動における手綱核研究の最前製

オーガナイザー	岡本 仁、理化学研究所脳科学総合研究センター 相澤 秀紀、東京医科歯科大学難治疾患研究所
シンポジスト	岡本 仁、理化学研究所脳科学総合研究センター
	相澤 秀紀、東京医科歯科大学難治疾患研究所
	彦坂 興秀、National Eye Institute, USA
	Robert Malinow、University of California, San Diego
	後藤 幸織、京都大学霊長類研究所
	Lucas Lecourtier、Laboratoire d'Imagerie et de Neurosciences Cognitive Université de Strasbourg

公募シンポジウム-8 回路の形成と可塑性の統合的理解へのフロンタライン

オーガナイザー	櫻井 武、京都大学 河崎 洋志、東京大学
シンポジスト	大木 研一、九州大学
	吉村由美子、生理学研究所
	森下 博文、Mount Sinai School of Medicine
	河崎 洋志、東京大学
	Carol Mason、Columbia university
	Joshua Gordon、Columbia university

公募シンポジウム-9 多様な動物行動を規定する大脳基底核神経回路機構

オーガナイザー	正田 貴俊、京都大学大学院医学研究科 佐野 裕美、生理学研究所
シンポジスト	正田 貴俊、京都大学大学院医学研究科
	佐野 裕美、生理学研究所
	松本 正幸、京都大学霊長類研究所
	Michael Lazarus、Osaka Bioscience Institute
	中馬 奈保、Columbia University

公募シンポジウム-10 哺乳類大脳皮質の進化—新たな研究戦略の展開

オーガナイザー	野村 真、京都府立医科大学・大学院神経発生生物学 新井 洋子、Institut Jacques-Monod, CNRS UMR 7592
シンポジスト	野村 真、京都府立医科大学・大学院神経発生生物学
	新井 洋子、Institut Jacques-Monod, CNRS UMR 7592
	Colette Deha、Stem Cell and Brain Research Institute, Inserm U846
	Pierre Vanderhaeghen、Institute of Interdisciplinary Research, University of Brussels ULB

公募シンポジウム-11 古くて新しい GABA の機能～最新研究から見えてきた神経障害の新たな分子基盤～

オーガナイザー	石橋 仁、生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門 福田 敦夫、浜松医科大学医学部神経生理学講座
シンポジスト	石橋 仁、生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門
	山田 順子、弘前大学大学院医学研究科脳神経生理学講座
	福田 敦夫、浜松医科大学医学部神経生理学講座
	Andres Couve, Physiology and Biophysics Institute of Biomedical Sciences, Faculty of Medicine, University of Chile (Santiago, Chile)
	照沼 美穂、Tufts University School of Medicine (Boston, USA)

公募シンポジウム-12 経験・学習依存的な情動変化の神経回路基盤とその破綻

オーガナイザー	野村 洋、東京大学薬学部薬品作用学研究室 天野 大樹、理化学研究所脳科学総合研究センター
シンポジスト	野村 洋、東京大学薬学部薬品作用学研究室
	殿城亜矢子、Department of Neuroscience, The Scripps Research Institute
	鈴木 章円、富山大学大学院医学薬学研究部
	Sung Yong Kim, Stanford University
	清川 泰志、東京大学大学院農学生命科学研究科
	天野 大樹、理化学研究所脳科学総合研究センター

公募シンポジウム-13 計算論的感覚運動制御とリハビリテーションの統合

オーガナイザー	大須理英子、株式会社国際電気通信基礎技術研究所 田中 宏和、北陸先端科学技術大学院大学
シンポジスト	John W. Krakauer, Dept. of Neurology and Neuroscience, Johns Hopkins University
	Terence D. Sanger, Dept. of Biomedical Engineering, University of Southern California
	牛場 潤一、慶應義塾大学理工学部生命情報学科
	野崎 大地、東京大学大学院教育学研究科
	大須理英子、株式会社国際電気通信基礎技術研究所
	田中 宏和、北陸先端科学技術大学院大学

公募シンポジウム-14 前頭葉と抑制機能：反応抑制研究の現在と未来

オーガナイザー	小西 清貴、東京大学医学系研究科統合生理学教室 地村 弘二、東京工業大学精密工学研究所
シンポジスト	地村 弘二、東京工業大学精密工学研究所
	中田 大貴、早稲田大学スポーツ科学学術院
	Christopher Chambers, Cardiff University School of Psychology
	Hugh Garavan, Department of Psychiatry, The University of Vermont

公募シンポジウム-15 神経系における RNA 研究の新たな展開：RNA の機能、代謝、病態への関与

オーガナイザー	河原 行郎、大阪大学大学院医学系研究科 株田 智弘、国立精神・神経医療研究センター神経研究所
シンポジスト	今村 拓也、京都大学理学研究科
	河原 行郎、大阪大学大学院医学系研究科
	藤原 悠紀、国立精神・神経医療研究センター神経研究所
	紀 嘉浩、理化学研究所科学総合研究センター

公募シンポジウム-16 ブレインバンク死後脳を用いた神経生物学的研究

オーガナイザー	村山 繁雄、東京都健康長寿医療センター高齢者ブレインバンク
シンポジスト	岡澤 均、東京医科歯科大学
	石川 欽也、東京医科歯科大学
	富田 泰輔、東京大学
	勝野 雅央、名古屋大学
	村山 繁雄、東京都健康長寿医療センター高齢者ブレインバンク

公募シンポジウム-17 摂食行動の神経制御機構

オーガナイザー	井上 富雄、昭和大学歯学部口腔生理学講座 高橋 和貴、シカゴ大学有機体生物学解剖学科
シンポジスト	Callum Ross、シカゴ大学有機体生物学解剖学科
	高橋 和貴、シカゴ大学有機体生物学解剖学科
	加藤 隆史、大阪大学大学院歯学研究科高次脳口腔機能学講座口腔解剖第二教室
	姜 英男、大阪大学大学院歯学研究科高次脳口腔機能学講座
	井上 誠、新潟大学大学院医歯学総合研究科摂食・嚥下リハビリテーション学 分野
	井上 富雄、昭和大学歯学部口腔生理学講座

公募シンポジウム-18 メディカルガスによる酸化ストレス耐性シグナリングと神経系保護および老化遅延

オーガナイザー	野田 百美、九州大学・大学院・薬学研究院・病態生理学分野（神経化学会会員・ 評議員） 大野 欽司、名古屋大学大学院医学系研究科神経遺伝情報学
シンポジスト	大澤 郁朗、東京都健康長寿医療センター研究所環境老化研究
	大野 欽司、名古屋大学大学院医学系研究科神経遺伝情報学
	Jan M. Eckermann, Department of Neurosurgery, Stanford University School of Medicine
	伊藤 雅史、東京都健康長寿医療センター研究所老化機構研究チーム
	野田 百美、九州大学・大学院・薬学研究院・病態生理学分野（神経化学会会員・ 評議員）

若手教育セッション・若手育成セミナー

1. 若手教育セッション

大会期間中の一日の午後一つの会場で、若手の口頭発表を集めた恒例のセッションを企画しております。ここでは、若手に口頭発表の場を提供し、シニア会員をはじめ多くの会員が積極的に質問することにより討論を盛り上げていただき、若手の育成に寄与することをめざします。多くの方の参加と積極的な討論を御願いたします。

2. 若手研究者育成セミナー

明日の神経化学を支える人材の養成を目指し、神経化学の若手研究者育成セミナーを大会に併せて開催いたします。講義・討論・フリーディスカッションを通して、講師や参加者同士が自由に意見交換しながら、神経化学の楽しさを満喫し、若手があらたな人脈を構築することを助けます。

世話人代表者：橋本 均（大阪大学大学院薬学研究科神経薬理学）

開催場所：国立京都国際会館、大原山荘（<http://www.ohara-sansou.com/>）

期間：2013年6月20日（木）～22日（土）

学会 掲 示 板

千里ライフサイエンス技術講習会
「生体2光子励起イメージング」

日 時：2013年8月1日（木）10：00～17：00 および

8月2日（金）9：00～12：30

場 所：大阪大学免疫学フロンティア研究センター（セミナー室および研究室）

趣 旨：実験動物を殺さず、生かしたままでその体内の組織・臓器での生きた細胞・分子動態の解析を可能とする「生体2光子励起イメージング」は、ライフサイエンスの研究領域に革命的变化をもたらしている。しかしながら、手技的なハードルの高さから現時点において2光子励起顕微鏡を使いこなして生体イメージングを行っている研究室はかなり少ないのが現状である。一方で、ここ数年で生体2光子励起イメージング研究に対する認知度が上がってきたとともに、多くの研究機関で2光子励起顕微鏡が導入されてきた（または検討中）と聞き及んでおり、今こそ生体2光子励起イメージングを広く普及させる好機であると考えられる。本セミナーでは実験法の基礎原理から実践まで、顕微鏡の使い方から、生体2光子励起イメージングに必須である動物実験の方法まで、秘伝のプロトコルを余すところなく紹介する。これからイメージング研究を始めたい、または少し始めかけているがいろいろと行き詰っているといった多くの学生・研究者の方々にぜひ参加して頂ければ幸いである。

コーディネーター：石井 優 大阪大学免疫学フロンティア研究センター 細胞動態学 教授

プログラム：技術解説 8月1日 10：00～12：30

生体イメージング研究の国内外の動向、今後の展開

生体イメージング研究の基本原理と実際

昼 食 12：30～13：30

技術実習 13：30～17：00 および

8月2日 9：00～12：30

イメージング実習

講 師：大阪大学免疫学フロンティア研究センター 石井 優、菊田 順一
（株）ニコンインステック 及川 義朗

定 員：12名（但し、解説のみの受講を38名まで）

参 加 費：5,000円（技術解説と技術実習。但し、解説のみ：1,000円）

参加資格：動物実験の経験を有する研究者などで、今後生体イメージングに興味がある方

申込方法：①氏名、勤務先、所属、役職名、〒、所在地、電話、FAX 番号に、志望動機（300字程度まで）を添えて、E-mailで（下記アドレスまで）お申込みください。

定員超の参加希望があれば調整をさせていただきます。なお、12名の枠から外れても解説のみで受講の希望がある場合は、「解説のみでも受講を希望」と記載ください（記載がない場合、希望なしとして扱います）。最初から解説のみの参加を希望される方（志望動機は不要）は、12名の枠から外れ解説のみでも参加を希望された方が38名に満たない場合に先着順で

受け付けます。

②申込締切後、事務局より受付の通知・参加費振込みの案内をお送りいたします。

③入金を確認次第、領収書兼参加証をお送りいたします。

申込締切：6月14日（金）（財団必着）

主 催：公益財団法人 千里ライフサイエンス振興財団

（URL <http://www.senri-life.or.jp>）

申込問合せ：〒560-0082 大阪府豊中市新千里東町 1-4-2

千里ライフサイエンスセンタービル 20 階

TEL 06-6873-2001 E-mail：dsp@senri-life.or.jp

共 催：大阪大学免疫学フロンティア研究センター

後 援：文部科学省科学研究費補助金・新学術領域研究「蛍光生体イメージング」

協 賛：株式会社ニコンインステック

以 上

日本神経化学会 賛助会員

旭化成ファーマ株式会社

株式会社エイコム

塩野義製薬株式会社

シスメックス株式会社

大正製薬株式会社

武田薬品工業株式会社

田辺三菱製薬株式会社

日本たばこ産業株式会社 医薬総合研究所

Meiji Seika ファルマ株式会社

レノバサイエンス株式会社

(50 音順)

複写をご希望の方へ

日本神経化学会は、本誌掲載著作物の複写に関する権利を一般社団法人学術著作権協会に委託しております。

本誌に掲載された著作物の複写をご希望の方は、(社)学術著作権協会より許諾を受けて下さい。但し、企業等法人による社内利用目的の複写については、当該企業等法人が社団法人日本複写権センター((社)学術著作権協会が社内利用目的の複写に関する権利を再委託している団体)と包括複写許諾契約を締結している場合にあっては、その必要はございません。(社外頒布目的の複写については、許諾が必要です。)

権利委託先：一般社団法人 学術著作権協会

〒107-0052 東京都港区赤坂 9-6-41 乃木坂ビル 3 階

電話：03-3475-5618 FAX：03-3475-5619 E-mail：info@jaacc.jp

複写以外の許諾(著作物の引用、転載、翻訳等)に関しては、(社)学術著作権協会に委託致しておりません。直接日本神経化学会(e-mail：jsn@imic.or.jp FAX：03-5361-7091)へお問合せ下さい。

Reprographic Reproduction outside Japan

Making a copy of this publication

Please obtain permission from the following Reproduction Rights Organizations(RROs) to which the copyright holder has consigned the management of the copyright regarding reprographic reproduction. Obtaining permission to quote, reproduce; translate, etc. Please contact the copyright holder directly.

Users in countries and regions where there is a local PRO under bilateral contract with Japan Academic Association for Copyright Clearance (JAACC).

Users in countries and regions of which RROs are listed on the following website are requested to contact the respective RROs directly to obtain permission.

Japan Academic Association for Copyright Clearance (JAACC)

Address 9-6-41 Akasaka, Minato-ku, Tokyo 107-0052 Japan

Website <http://www.jaacc.jp/>

E-mail info@jaacc.jp

Fax +81-33475-5619

編集後記

今回は、「輝け次代の担い手たち」に4名、「研究室紹介」に2名の先生方がご寄稿下さいました。大変ご多忙なところを快くお引き受け下さり、素晴らしい原稿をお送り下さいました先生方に、心から感謝を申し上げます。

2007年からの2年間に続き、2011年から再度本誌の編集を担当させていただきました。学会の活性化のためには、会員同士の活発な交流が重要であることは論を俟ちませんが、そのために是非本誌を積極的にご活用いただければと願っております。これまでご協力・ご支援下さいました諸先生方と、献身的に頑張って下さいました事務の方々に感謝し、本誌がさらなる学会の活性化に貢献していくことを祈念して、新しい編集委員長に引き継ぎたいと思います。ありがとうございました。

(仲嶋 一範)

神経化学 52巻 第1号

平成 25 年 3 月 31 日発行

編集兼発行者 日本神経化学会

代 表 者 井上 和秀

発 行 者 日本神経化学会

〒160-0016 東京都新宿区信濃町35 信濃町煉瓦館

(財)国際医学情報センター内

印 刷 所 株式会社 杏林舎