

シンポジウム 9 教育委員会 生理学モデル講義

オーガナイザー：鯉淵 典之（群馬大学大学院医学系研究科応用生理学）

コメンテーター：松井 俊和（藤田保健衛生大学医学部臨床医学総論）

本シンポジウムは、ビデオ撮影をし、別途生理学会のウェブサイトから公開している (<http://www.psj-ki.umin.jp>)。また、シンポジウムの際に行ったアンケートに関しても同じサイトから別途公開している (ID : kyouiku, PW : iinkai)。そちらも参照されたい。

1. 生理学実習に IT 機器を使ったら…

石松 秀（久留米大学医学部生理学講座統合自律機能部門）

生理学実習の大きな目的の 1 つは、講義により身につけた知識を生きている標本を観察することで、理解を深めることにある。しかし従来の実習では、生体アンプや刺激装置、記録装置など多くの複雑な実験機器を使用していたため、学生は煩雑な操作に捕らわれ実習内容に対する理解の促進が阻害されることがあった。近年の IT 機器の発達により、取り扱いが簡単なコンピュータと連携したデータ取得、解析装置が教育現場にも登場している。そこで我々は PowerLab (ADInstruments 社) を使った神経・筋分野の実習を行い、実習書に従った実験により結果を出すだけでなく、PBL テュートリアル形式により「なぜこうなるのか」「どうすればいいのか」といった疑問を学生に持たせ、実験、解析、発表するまでの研究過程を体験させているので紹介する。

2. 幹細胞の生理学

岡野ジェイムス洋尚（東京慈恵会医科大学再生

医学研究部）

生物には失った体の一部を修復する能力があり、これは再生と呼ばれている。傷ついたり古くなってしまった細胞を入れかえたり、病気やケガで失われた細胞を新しく補充するために新しく細胞を作っているのが幹細胞である。幹細胞は、複数の系統の細胞に分化できる能力(多分化能)と、細胞分裂を経ても多分化能を維持できる能力(自己複製能)を併せ持つ細胞と定義されている。幹細胞には体内で実際に働いているものと人工的に作られるものがある。前者は体性幹細胞(組織幹細胞)と呼ばれ、赤血球、白血球など血液細胞を作る造血幹細胞や、肝臓の細胞を作る肝臓幹細胞、神経細胞を作る神経幹細胞などが含まれる。人工的に作られる幹細胞には胚性幹細胞(ES 細胞)と人工多能性幹細胞(iPS 細胞)がある。これらは成体幹細胞とは違い、体内のあらゆる細胞に分化することができる。

3. 260g の偉大な臓器：腎臓—体重の 1/200 の臓器に 1/4 の血流が流れている理由—

河合佳子（信州大学医学部器官制御生理学）

学生のほとんどが臨床医を目指している現況を考え、どの科に進んでも必要な論理的な思考過程を学ぶ方法としての生理学を、臨床科目をまだ学習していない学生たちに習得してもらうことを授業の目的の一つとしている。また、将来臨床に出た際に、正しい生理学的知識に基づき平易な言葉で患者さんに説明できるようになってもらうため、授業でもなるべく具体的にわかりやすく説明することを心がけている。今回のモデル授業では腎臓の生理学の授業によって、よりよい授業のあり方を考えていきたいと思う。

腎臓は体重の1/200という小さな臓器であるのに、全血液量の実に1/4という多量の血液が流れており、1分間に100mLという膨大な原尿を作り、その99%を再吸収している。人工透析を行うなら巨大な装置を使わなければならないような腎臓の偉大な働きをどのように行っているのか、糸球体、尿管の構造と機能の面から考える。

4. 理工系のための「脳と情報」

奥村 哲（静岡理工科大・総合情報）

脳科学は、医学、生物学、情報科学、認知科学など様々な学問の由来をもつが、現在では複合融合領域として急速に発達している。理工学系大学

における発表者の講義では、例えば外界の様々な情報を、ヒトや動物がどのように感覚しているのかを、情報処理の観点からなるべくシンプルに理解することを目標としている。ヒトの認知特性についての正しい理解は、使いやすいインターフェイスなどの開発のために特に重要である。一方、昆虫など一見単純に見える神経系をもつ動物が、進化的に優れた能力を獲得しているということも強調している。当日は感覚情報処理に関する2~3の事例を紹介し、学生には異なるモダリティの情報処理の間に意外な共通点があることを考察してもらいたい。また講義のシラバスや、講義の際に行っているいくつかの工夫も供覧する。

シンポジウム 10

心筋の E-C カップリング：心機能と病態を制御する新しい Ca^{2+} シグナル調節分子/心筋カルシウムシグナル異常の統合的システムバイオロジー

オーガナイザー：若林 繁夫（国立循環器病研究センター分子生理部）

松岡 達（京都大学医学研究科次世代免疫制御を目指す創薬医学融合拠点）

本シンポジウムは、心筋の興奮収縮連関（E-C カップリング）に関わる新しい Ca^{2+} シグナル調節分子あるいは Ca^{2+} 放出チャネルの新しい機能に着目し、この分野の第一線で活躍されている4人の先生方を招いて行われました。心筋細胞は弛緩期には低い細胞内 Ca^{2+} 濃度を維持し、収縮期には細胞膜の電氣的興奮に連動して $1\mu M$ 程度まで Ca^{2+} 濃度を上昇させて収縮装置を作動させ、律動的な収縮・弛緩を繰り返すことができます。この E-C カップリングは、筋小胞体を中心とする Ca^{2+} サイクルの機構でほぼ説明されますが、その制御には多くの疑問が残されています。たとえば、新生児の心臓では筋小胞体と T 管のネットワークが未発達であるにもかかわらず、どのように E-C カップリングが達成されるのか？また、心肥

大・心不全を発症させる Ca^{2+} シグナルはどのように収縮系の Ca^{2+} と区別されるのか？ミトコンドリアの Ca^{2+} 代謝が、心機能調節にどのような寄与をするのか？そのような疑問の底流には、心筋の Ca^{2+} 代謝の根幹を司る電位依存性 Ca^{2+} チャネル、筋小胞体 Ca^{2+} ポンプおよび Ca^{2+} 放出チャネル、 Na^+/Ca^{2+} 交換輸送体といった分子群と機能連関する新しい因子の存在があると思われます。

竹内綾子先生は、最近新たに見出されたミトコンドリア Na^+/Ca^{2+} 交換輸送体（NCLX）が心筋の自動拍動を制御するという結果を示しました。続いて内田敬子先生と山岸敬幸先生は筋小胞体 Ca^{2+} 放出チャネル IP_3 リセプターのサブタイプ 1-3 のダブルノックアウトマウスを作成し、それぞれのサブタイプが時間・空間依存的に心臓領域の発生に必須であるという結果を示しました。続いて西谷友重先生は、ノックアウトマウスの解析からこれまで心筋における機能が未知だった Ca^{2+} センサー蛋白質 NCS-1 が幼少期の心収縮の維持と成体における心肥大形成に関わることを発

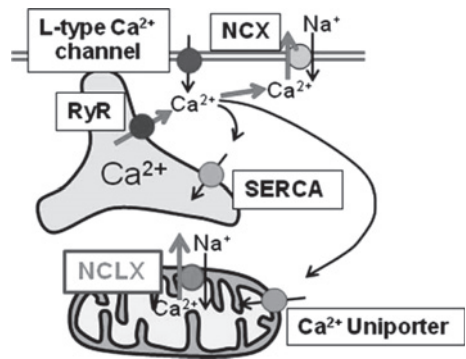
表しました。さらに、矢野雅文先生はある種の心不全や致命的不整脈では心筋小胞体 Ca^{2+} 放出チャネルであるリアノジンリセプター (RyR2) に変異が起こり、変異集中領域である特定ドメイン間の機能連関の異常により Ca^{2+} 漏出が起こることを明らかにしました。いずれの発表も E-C カップリングに関わる新規蛋白質、新しい概念、あるいは疾患の治療にもつながる新たな方法論を提示しており、大変有意義なシンポジウムであったと思います。

ミトコンドリア NCX (NCLX) による心筋細胞機能制御

竹内綾子¹、金 鳳柱²、松岡 達² (¹京都大学医学研究科・細胞機能制御学、²京都大学医学研究科・次世代免疫制御を目指す創薬医学融合拠点)

ミトコンドリアは、ATP 合成とともに細胞内 Ca^{2+} を貯蔵するという重要な役割をもつ細胞内小器官である。ミトコンドリアの Ca^{2+} 動態は、 Ca^{2+} ユニポータを介した取り込みと、 Na^+ - Ca^{2+} 交換機転、 H^+ - Ca^{2+} 交換機転を介した排出のバランスで決定される。我々は、ラット単離心筋細胞を用いた検討によって、ミトコンドリア Na^+ - Ca^{2+} 交換機転がミトコンドリア膜電位依存性であるとともに、起電性であることを報告した [1]。近年、ミトコンドリア Ca^{2+} 輸送担体の分子実体が相次いでクローニングされ、ミトコンドリア Ca^{2+} 動態や細胞の生理機能におけるこれらの分子の寄与が明らかになりつつある。

NCLX/NCKX6[2] は HEK293 細胞や B リンパ球細胞などにおいて、ミトコンドリア Na^+ - Ca^{2+} 交換機転を担う [3, 4]。我々は、B リンパ球抗原受容体を介した B リンパ球細胞の細胞内 Ca^{2+} 応答に NCLX が必須の役割を果たすことを報告した [4]。しかし、細胞内 Ca^{2+} 動態の機序がリンパ球と大きく異なり、収縮を繰り返す心筋細胞において、NCLX がどのような役割を果たすかについては不明であった。本研究では、マウス心房筋由来拍動培養心筋細胞 HL-1 を用いて、siRNA による NCLX 遺伝子ノックダウンを行うことによって、



(図の説明) NCLX は筋小胞体 Ca^{2+} 含量を制御する。筋小胞体からの Ca^{2+} 放出は細胞膜 NCX の内向き電流を活性化させ、活動電位持続時間、自発興奮の間隔に影響を与える。

心筋細胞における NCLX の役割について解析を行った。NCLX siRNA をトランスフェクションした細胞では、ミトコンドリア Na^+ - Ca^{2+} 交換活性が低下したことから、NCLX が心筋細胞でもミトコンドリア Na^+ - Ca^{2+} 交換機転を担うことが示された。また、NCLX ノックダウン細胞では、自発的な膜興奮や Ca^{2+} トランジエント発生の間隔が有意に伸びており、NCLX が HL-1 細胞の自動能発生において重要な役割を果たすことが示唆された。活動電位、細胞内 Ca^{2+} トランジエント、筋小胞体 Ca^{2+} 含量の解析から、NCLX は筋小胞体 Ca^{2+} 含量を制御することによって細胞内 Ca^{2+} トランジエントの立ち上がり速度を決定すること、これが活動電位持続時間、ひいては自発興奮の間隔に影響を与えることが推測された。以上の結果から、ミトコンドリア Ca^{2+} 動態が心筋細胞の自動能発生を制御しうることを、その過程で NCLX が重要な働きを果たすことが示唆された。

1. Kim, *J Physiol* **586**, 1683–1697, 2008
2. Cai, *J Biol Chem* **279**, 5867–5876, 2004
3. Palty, *Proc Natl Acad Sci USA* **107**, 436–441, 2010
4. Kim, *J Physiol* **590**, 459–474, 2012

心臓における IP_3 レセプターの新たな機能

内田敬子、山岸敬幸 (慶應義塾大学医学部小児

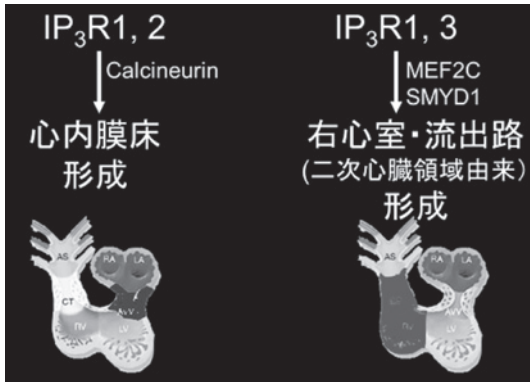


図1 IP₃レセプター・サブタイプによる心臓発生における役割

1型と2型IP₃レセプター(IP₃R)はcalcineurinを介して心内膜床の発生に、1型と3型IP₃RはMEF2CやSMYD1を介して右心室から流出路(二次心臓領域)の発生に必須である。

科)

細胞内のカルシウム放出チャネルであるイノシトール三リン酸受容体(IP₃レセプター)が、心臓の発生過程に必須であることを、ノックアウトマウスを使って明らかにした。IP₃レセプターには3種のサブタイプ(1-3型)があり、すべて胎生初期から心臓領域に発現している。1-3型各々のノックアウトマウスには、いずれも発生異常はなかったが、1型2型または1型3型ダブルノックアウトマウスでは、心臓発生に異常をきたした。

1型2型ダブルノックアウトマウスでは、心房と心室の接合部(房室管)に発生する心内膜床において、間葉系細胞の数が減少していた。心内膜床は、上皮間葉転換により心内膜細胞から形質転換して発生した間葉系細胞によって形成される、房室弁および心房心室中隔の原基である。このマウスの心内膜床では、細胞内カルシウムシグナルにより制御されるcalcineurinの活性が低下しており、房室管組織を培養した上皮間葉転換アッセイ系では、アデノウイルスを用いた活性型calcineurinの強制発現により、心内膜細胞から形質転換した間葉系細胞の数が増加して正常に近づいた。以上より、1型および2型IP₃レセプターは、心内膜床の発生において、calcineurinの上流の細

胞内カルシウムシグナルを制御し、calcineurinを活性化することが示唆された。

1型3型ダブルノックアウトマウスでは、右心室から心臓流出路の低形成が認められた。近年の心臓発生研究により、右心室および流出路は咽頭弓臓側中胚葉にある二次心臓領域と呼ばれる領域に由来する心臓前駆細胞により形成されることが明らかになった。1型3型ダブルノックアウトマウスでは、二次心臓領域を中心にアポトーシス活性が亢進しており、右心室から流出路の低形成の原因と推測された。また、二次心臓領域の発生に必須の転写因子MEF2CとSMYD1の発現が低下していた。MEF2Cの活性は、calmodulin依存性キナーゼやcalcineurinなどのカルシウム依存性タンパクによって制御され、MEF2Cの下流でSMYD1が機能することが知られており、1型および3型IP₃レセプターを介する細胞内カルシウムシグナルが、MEF2C-SMYD1系の上流制御因子として、右心室から心臓流出路の発生に関与すると考えられた。

以上まとめると、IP₃レセプターは心臓発生においてサブタイプ間の遺伝的相補性を有し、1型と2型は心内膜床の発生に、1型と3型は二次心臓領域の発生に必須である(図1)。

Reference

Uchida K, et al. PloS ONE 5 : pii : e12500.

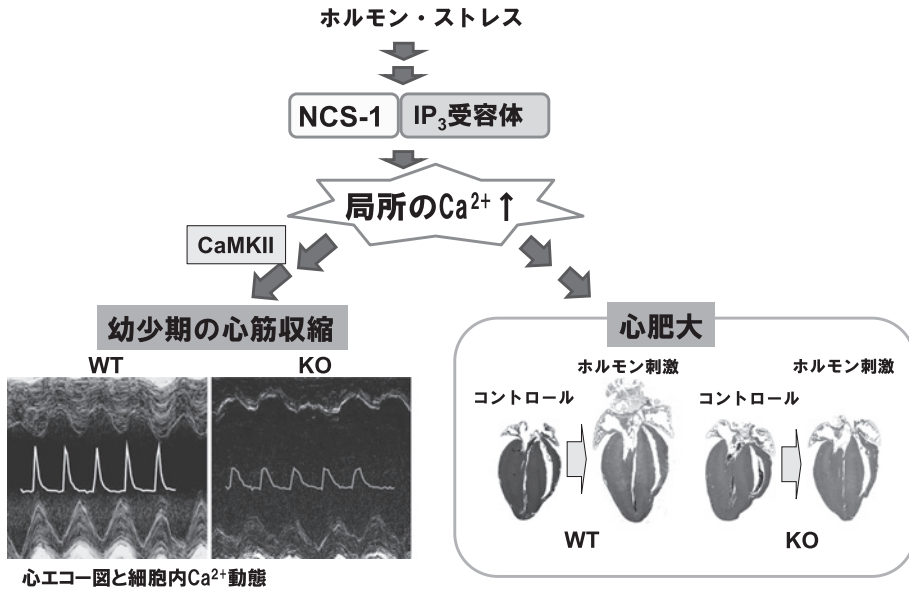
Nakazawa M, et al. J Mol Cell Cardiol 51 : 58-66.

幼少期の心機能および心肥大を制御する新しいカルシウム調節タンパク質の発見と分子機構

西谷(中村)友重, 若林繁夫(国立循環器病研究センター分子生理学)

心臓において細胞内カルシウム(Ca²⁺)は、筋収縮や心肥大、細胞死など様々な成体機能を制御する重要因子であり、その調節破綻は心不全などの病態をもたらす。成体心筋においては、T管に局在する電位依存性Ca²⁺チャネルより流入したCa²⁺が引き金となって筋小胞体(SR)から大量のCa²⁺が放出され筋収縮を引き起こすといった、SR依存的な興奮-収縮相関(EC-coupling)が行われている。一方、幼少期の心臓は、T管やSRが成体

NCS-1の心臓における2つの機能



(図の説明) NCS-1による幼少期の心筋収縮および心肥大の調節。

NCS-1は、筋小胞体Ca²⁺放出チャネルであるIP₃受容体を活性化して局所のCa²⁺濃度を上昇させる。これがCaMKIIシグナルを増強し、細胞内Ca²⁺トランジエント、筋収縮を増強させる。一方、ホルモン刺激による心肥大がNCS-1欠損マウスでは起こりにくかったことより、心肥大形成にもNCS-1が関与していることが示唆された。

と較べはるかに未発達であるにもかかわらずSRに依存したEC-couplingが行われていることが示唆されており、幼少期特有の未知なる調節因子の存在が予測されていた。細胞内Ca²⁺の働きは、カルモジュリンに代表されるような種々のCa²⁺結合タンパク質により仲介されている。私たちは本研究で、このようなCa²⁺結合タンパク質の1つ Neuronal Ca²⁺ sensor-1 (NCS-1)が、幼少期の心臓特有のEC-couplingを成り立たせる新たな調節因子であることを見出した [1]。私たちは以前の研究で、NCS-1が神経機能には重要な役割を担っていることを報告したが [2, 3]、心筋における役割は全く不明であった。心筋においてNCS-1は幼少期に特に高発現しており、NCS-1の遺伝子欠損 (KO) マウスでは、新生児の約3割が死亡した。また生き残ったマウスにおいても幼少時期の心臓の収縮力、および細胞内Ca²⁺トランジエントが60%まで低下していた。詳しい解析から、NCS-

1は、SRから細胞内にCa²⁺を放出するIP₃受容体と結合し活性化し、その局所のCa²⁺上昇がCa²⁺/カルモジュリン依存性キナーゼII (CaMKII)を活性化して細胞全体のCa²⁺シグナルを増強させることにより、SRが未発達な幼少期の心筋収縮に寄与することが明らかとなった。実際、NCS-1、IP₃受容体、CaMKII全ては、幼少期の心臓に高発現しており、この3者の共役がこの時期のEC-couplingに重要な役割を担うことが示唆された。一方、成体マウスの心臓においては、NCS-1は生理的条件下ではあまり収縮に寄与しないが、心肥大のような病態時に発現量が高くなり、ホルモン刺激による心肥大がKOマウスで生じにくかったことより、NCS-1が成体心の心肥大形成にも寄与することが示された。本研究により、NCS-1の心臓における2つの新規の機能が明らかとなった [1]。これらの知見は、小児科領域における心臓生理の理解のみならず、心肥大発症機構の解明など

にも役立つことが期待される。

1. Nakamura TY *et al. Circ. Res.* 2011 ; 109 : 512-523
2. Nakamura TY *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2001 ; 98 : 12808-12813
3. Nakamura TY *et al. J. Cell Biol.* 2006 ; 172 : 1081-1091

心不全/致死的不整脈の共通発症要因としての リアノジン受容体機能異常

矢野雅文 (山口大学医学部附属病院第二内科)
心筋筋小胞体 (SR) の Ca^{2+} 放出チャネルである
リアノジン受容体 (RyR2) は、巨大な高分子蛋白
として存在し、チャネルポアを形成する膜貫通領
域は全体の約 1 割を占め、残りの約 9 割は細胞質
側に突出した構造物として存在しチャネル開閉を
調節していると考えられている。最近我々は、こ
の RyR2 内において Arrhythmogenic right ven-
tricular cardiomyopathy (ARVC) や Catechola-
minergic polymorphic ventricular tachycardia
(CPVT) でみられる点突然変異集合領域 {N-
terminal ドメイン (1-600) および central ドメ
イン (2000-2500)} 間のドメイン連関障害は、異常
な Ca^{2+} 漏出を生じ心不全や致死的不整脈の発症
ないし病態の悪化に深く関与することを頻脈誘発
性犬心不全モデル、CPVT 型 KI マウス (R2474S/
+) を用いて示した (図 1)。

頻脈誘発性犬心不全心筋では、RyR2 の特定領
域 (N-terminal, central : N-C) ドメイン連関障害
が生じており、その結果、心筋細胞内 Ca^{2+} 漏出は
増加し、筋小胞体内の Ca^{2+} 貯蔵量は減少してい
た。また、悪性高熱症の特効薬であるダントロ
レンは、上記 N-C ドメイン連関障害を是正し Ca^{2+}
漏出を抑制した。一方、CPVT 型 KI マウス (R2474S/
+) では、epinephrine 負荷またはトレッドミル運
動負荷により容易に多源性心室頻拍 (VT) を生じ
た。単離心筋細胞においては、wild-type マウスに
比し、isoproterenol 負荷にて Ca^{2+} spark 頻度は著
明に増加、筋小胞体内の Ca^{2+} 貯蔵量は著明に減少
していた。さらに cAMP 添加にて (PKA リン酸
化) N-C ドメイン連関障害を生じた。一方、ダント

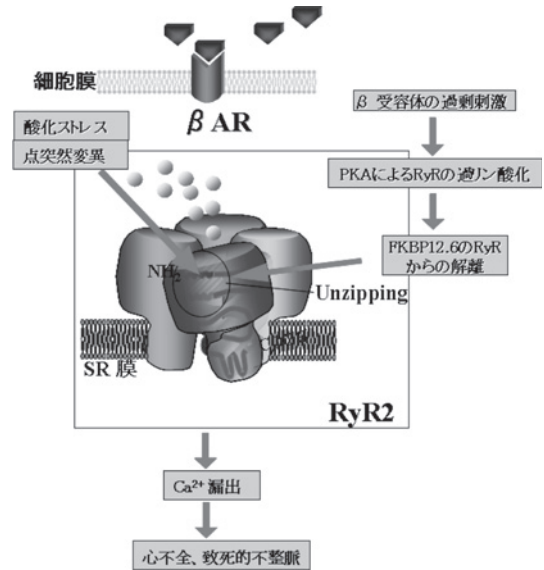


図 1 心不全および致死的不整脈の共通の発症要因
としての RyR2 ドメイン連関障害

心不全時には、 β 受容体の過剰刺激により Protein
kinase A (PKA) を介した RyR2 の過リン酸化が生じ、
RyR2 から、FKBP12.6 が解離する。この FKBP12.6
の解離により、ドメイン連関障害 (unzipping) が生
じ、 Ca^{2+} 漏出が起こる。また、不全心筋細胞内の
活性酸素種 (ROS) により RyR2 が酸化されること
によっても同様のドメイン連関障害が起こり Ca^{2+}
漏出が起こる。一方、CPVT 型点突然変異は直接
unzipping を誘導する。これらは、共通して Ca^{2+}
漏出を引き起こし心不全や致死的不整脈を誘導する

ロレンは N-C ドメイン連関障害を是正し Ca^{2+} 漏
出を抑制、運動/epinephrine 誘発性の VT を抑制
した。

以上より、心不全と CPVT に共通する Ca^{2+} ハン
ドリング異常のメカニズムとして、RyR2 内 N-C
ドメイン連関障害 \rightarrow Ca^{2+} 漏出が示唆された。一方、
このような RyR2 機能異常を薬理的に是正する
ことにより心不全/致死的不整脈の発現を抑制で
きる可能性も示されたことから、RyR2 は新たな
心不全/致死的不整脈の治療ターゲットとしても
期待される。

(References)

1. Yano M, et al. *J Clin Invest.* 2005 ; 115 : 556-64.
2. Yano M, et al. *Circulation* 2000 ; 102 : 2131-6.

3. Oda T, et al. *Circulation* 111 : 3400-10, 2005
4. Kobayashi S, et al. *J Am Coll Cardiol.* 2009 ;
53 : 1993-2005.

5. Uchinoumi H, et al. *Circ Res.* 2010 ; 106 :
1413-24.

シンポジウム 12 日本生物物理学会連携シンポジウム メカノバイオロジー：生物物理学的・医工学的アプローチ

オーガナイザー：曾我部正博（名古屋大院・医）
成瀬 恵治（岡山大院・医歯薬）

最近、細胞機能の維持や発現における力（ちから）の重要性が注目を集めている。生体を構成する細胞は、骨格筋や臓器の動き、血流や重力、あるいは当該の細胞自身や隣接する細胞に起因する様々な機械刺激に晒されている。細胞は、その機械刺激を感知して、自らの成長、増殖、形態変化、運動などに利用すると共に、電気信号の発生や生理活性物質の分泌を介して組織や器官の機能を調節することが明らかになってきたのである。メカノバイオロジーは、分子、細胞、組織・器官、個体における力の役割を解明すると共に、その応用を目指し、物理学、化学、生物学、生理学、医学、工学などが融合して誕生した新しい異分野融合領域である。その対象は広範であるが、細胞が分子と組織・個体を連結する中心的プラットフォームを提供する。したがって、細胞がどのようにして力を生み、感じ、応答するのかを解明することが、メカノバイオロジーの中心課題である。最近、この分野で驚くべき発見がなされた。医学で注目を集めている幹細胞（万能細胞）の分化が、細胞を支える基質の硬さで決まるという事実である。つまり、細胞は力を感じるだけでなく、硬さに代表される細胞周囲の機械的環境パラメータを感知して応答することが分かってきた。そのメカニズムの解明は、発生や創傷治癒における秩序だった組織形成、その破綻としてのガン発症から再生医学に至るまで、これまで全く謎であった基礎的、臨床的課題の解明に大きな突破口を開くものである。

現在、細胞における力発生機構や力感知機構の

分子レベルでの研究は急速に進んでおり、残る大きな課題は、力感知に特異的な細胞内シグナル伝達/細胞応答機構の解明である。これは優れて生理学分野の課題と言えよう。一方、応用分野の科学的基盤はまだ脆弱であるが、人工血管、人工心臓、ステント、人工関節、歯列矯正、骨伸展法などはすでに実用化が先行している。細胞の力覚/応答の理解が深まれば、これらの技術が飛躍的に進歩することはいうまでもなく、細胞力覚の異常が一因である、心房細動、筋萎縮、骨粗鬆症、あるいは癌や老化を始めとした深刻な疾病の新規治療薬の開発も夢ではない。さらには、新しい理学療法、作業療法、スポーツ医学や宇宙医学の開発が促進され、メカノバイオロジーが直接人類の福祉に貢献する日も遠くはないであろう。一方で、メカノバイオロジーは、微小な力を負荷・測定できる原子間力顕微鏡、レーザピンセット、ナノ加工材料などのナノテクノロジー、あるいはその結果生じる細胞内分子の動態を計測・解析するバイオイメージング・計算科学などの工学で支えられている。両者は、互いに刺激しあってナノ・メカノバイオエンジニアリングとでも言うべき新領域を生み出しつつある。

本シンポジウムは、こうしたメカノバイオロジーの伊吹きを、細胞力覚機構の生物物理学的解析と臨床医学への応用という、あえて生理学と一線を画する二つの隣接分野からの最先端トピックで構成することで、その中間をインターフェースする生理学的研究を刺激・促進しようという意図で企画した。第一演題：機械受容チャネルの一分子メカノバイオフィジックス（曾我部・澤田）では、現在、唯一明瞭に確立されている細胞メカノ

センサーである機械刺激受容 (MS) チャンネルの中でも最も研究が進んでいる細菌 MS チャンネル MscL の膜張力による活性化機構の詳細が紹介された。すでに解明された MscL 蛋白質の結晶構造 (閉状態) を元に、電気生理学/遺伝子工学/電子顕微鏡を組み合わせ、張力感知部位とゲート部位を同定し、チャンネルの閉→開の動的モデルを構成して、最終的に分子動力学で活性化機構の動的構造機能連関を原子レベルで解明するという野心的内容である。イオンチャンネル研究における最大の課題の一つが MscL を通して最初に解明される可能性が期待される。第二演題：アクチン線維は機械刺激受容器であるとともに力を伝達し機械受容チャンネルを活性化する (辰巳) では、細胞の形や運動の制御に関わるメカノセンサーの探索に関する細胞生物物理学的研究が紹介された。細胞の形や運動がアクチン細胞骨格や接着斑をアクチュエータとして実現することはよく知られているが、驚くべきことに、アクチン線維自身がメカノセンサーとして働いていることが、細胞と単離アクチン線維を用いた精妙な実験で明らかになった。アクチン線維の張力がアクチン切断因子コフィリンの切断活性を調節してアクチン線維自身の構造動態を制御するのである。長年の細胞生物学的課題である細胞の形態・運動の調節機構の解明に向けた大きな一石と評価される内容であった。第三演題：血管のバイオメカニクス：動脈硬化早期診断への応用 (松本) では、従来の動脈硬化の診断法 (血流依存性血管拡張 flow-mediated dilation, FMD) では内皮細胞機能と平滑筋細胞機能の分離が不完全であり、検査圧が実際に血管機能異常を呈する高圧領域まで拡張できないという欠点があることに着目し、これを補う新しい非侵襲の血管機能測定法の開発研究が紹介された。超音波プローブを備えた密閉容器を装着して外部から任意の陽・陰圧を負荷することで、広範な血圧変化を負荷すると同時に急激な陰圧刺激に対する血管収縮応答 (pressure-mediated contraction, PMC) を見ることで平滑筋機能を分離評価できるようになった。生理学、バイオメカニクス、メカトロニクスを融合した見事な内容であった。第四

演題：生殖のメカノバイオロジー：不妊治療への応用 (成瀬) では、人工授精の効率化に向けたメカノバイオロジーの応用例が紹介された。活発な精子の分離には遠心法が使われているがダメージが大きい。そこで微小流体力学を応用した層流発生デバイスで効率的な分離に成功した。一方分離卵子は静置状態で受精・発生を進行させるが、生理条件下の受精卵は輸卵管から子宮にいたる旅の途上で様々な機械刺激に晒されることに着目し、その一部を再現する簡便な装置を開発し、治験で有望な成果を挙げている。瓢箪から駒のような発想であるが、メカノという視点で生理現象を見直すことが、かくも有用な成果に繋がる好例として印象深い内容であった。

本シンポジウムは幸い多数の聴衆を得て活発な議論を喚起することができ、当初の目的はほぼ達成できたと思われる。これを機に、生理学の若手がこの有望な新領域に参画し、異分野と協力を進めて世界をリードする成果を挙げてほしいと願っている。最後にこのユニークな企画をご示唆いただいた大橋大会長に御礼申し上げます。(文責 曾我部正博)

機械受容チャンネルの一分子メカノバイオフィジックス

曾我部正博, 澤田康之 (名古屋大学大学院・医学系研究科・細胞生物物理学)

細胞力覚機構の究極理解を目指すには、どんなメカノセンサー分子が、細胞のどこで、どのようなストレスを感知するのかを知らねばならない。これらの要件を満たす分子は、細胞膜の張力を感じる機械受容 (MS) チャンネルだけであり、蛋白質の高次構造と詳細なデータが揃っているのは細菌由来の MS チャンネル MscL のみである。MscL の残された課題は、膜張力感知部位の同定と機構、そこで受容された張力によるゲート開口機構の解明である。MscL は膜を 2 回貫通する α ヘリックス TM1, TM2 を主体とするヘアピン状のサブユニットが環状に集合したホモ 5 量体である (図 A)。TM1 は、その細胞質側が膜貫通軸に対して少し内側に傾いて内壁 (ポア) を形成し、脂質膜内

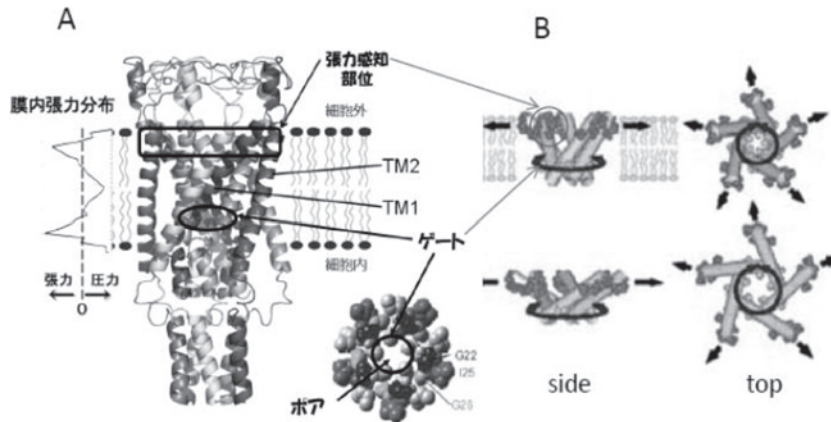


図 A: MscL の閉構造の側面図と上面図. 左のグラフは膜内圧力の分布図で, 脂質膜外葉の最大張力部が MscL の張力感知部位 (Phe78) の位置に一致している. B: 膜伸展で MscL が開口する様子 (説明本文)

葉の油水界面近傍で互いに交差して五角形のポア最狭部 (ゲート) を構成する. 交差部では一方の TM1 の疎水性アミノ酸グループ [Val16, Leu19, Ala20] ともう一方の [Gly22] の疎水性相互作用がゲートを閉状態にロックしている (疎水ロック). 一方, 細胞外リンカーで連結する TM2 は外壁を構成して脂質面に接しているの, 膜張力感知部位は TM2 に存在するはずである. 先行研究で張力感知部位候補として示唆された TM2 上のアミノ酸残基と脂質分子の相互作用エネルギーを分子動力学 (MD) で計算したところ, 脂質膜外葉の油水界面に位置する Phe (F) 78 のみが特に強い相互作用を示すことが分かり, これを感知部位の最終候補とした. その本質は F78 の芳香環と脂質アシル基の CH (π -CH) 相互作用であるらしい. 膜の伸展で F78 が円周方向に引っ張られて TM1 と TM2 が TM1 の交差点を支点として膜面方向に傾くと同時に, 各交差点が外側にスライドしてゲートが次第に開口することが分かった (図 B). このとき, TM1 のアミノ酸残基グループ [Val16, Leu19, Ala20] と相互作用する相手が Gly22 から Gly26 にシフトしてゲートのロックが外れる. その前後の相互作用エネルギーの差は, 電気生理学的に推定された, 閉状態と第一開口ステップのそれと良く一致することが分かり, 我々の MD モデ

ルは MscL の開口に向けての第一遷移過程をうまくシミュレートすることが強く示唆された.

アクチン線維は機械刺激受容器であるとともに力を伝達し機械受容チャネルを活性化する

辰巳仁史 (名古屋大学大学院医学系研究科)

私達の体を構成するすべての細胞は, 重力や外力のみならず体内の骨格筋や平滑筋の動きに起因する様々な機械的刺激に常に晒されている. ミクロな視点で見ると, 生体膜や細胞骨格には内在ストレスが存在し, 細胞の力学刺激と反応を引き起こしている.

我々は血管内皮細胞を用いて細胞骨格や接着構造の研究を進めている. 一連の研究で, 細胞骨格 (ストレス線維: アクチン線維束) が力の伝達媒体として働き機械刺激受容チャネルを活性化することを発見した. 細胞中にアクチン線維に結合するビーズを導入し, 光ピンセットで力を付加すると, ストレス線維に付加された pN (ピコニュートン: 力の単位; $10^{-12}\text{kg} \cdot \text{m/s}^2$) 程度の力で機械受容チャネルを活性化できることが分かった (Hayakawa et al., J Cell Sci. 2008). 細胞はこのような高感度の力刺激受容機構を持つことが分かった.

我々は図 1 の実験系を構築し, アクチン線維に

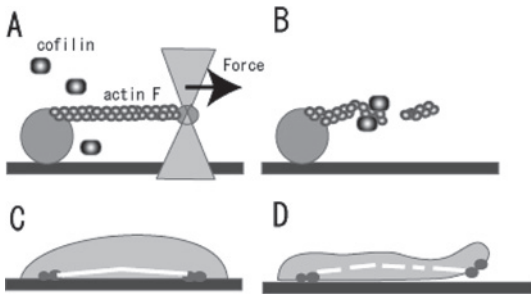


図1 (A) 光ピンセットで力を付加したアクチン線維はコフィリンにより切断されない。(B) 力を付加されないアクチン線維はコフィリンにより速やかに切断される。(C) 細胞内のアクチン線維は通常は張力を受けているので切断されない。(D) 細胞が足場を失うとアクチン線維は張力を失い切断される。アクチン線維を白線で示す。

力学受容機構が内在していることを示すことができた (Hayakawa et al., *J Cell Biol.* 2011). 光ピンセットを用いてアクチン線維に力を付加するとアクチン線維内の張力が増大し、コフィリンによるアクチン線維の切断を抑制することができた (図1A). 一方、力を付加しないアクチン線維 (図1B) はコフィリンによって短時間で切断された。これは、アクチン線維が力刺激を受容し、アクチン線維へのコフィリンの結合を抑制することによることが分かった。アクチン線維の力学刺激受容は実際の細胞においても働いていると想像されている (図1Dの例では、細胞移動に伴ってアクチン線維の張力が減少するとアクチン線維の切断がおきる)。細胞レベルでの力学受容とコフィリンのアクチン線維への結合の制御は間接的な観察によるところが多く、今後さらに研究が必要であろう。

Hayakawa, K., et al., (2008). *J Cell Sci* **121** : 496-503.

Hayakawa, K., et al., (2011). *J Cell Biol* **195** (5) : 721-727.

血管のバイオメカニクス：動脈硬化早期診断への応用

松本健郎 (名古屋工業大学大学院工学研究科・機能工学専攻/工学部・機械工学科)

血管は血流や血圧に応じ能動的に血管径や壁厚を変化させる。例えば血流の慢性的増加による径の拡大は、血管内皮細胞が血流による壁せん断応力を一定に保とうとする応答であり、高血圧による壁の肥厚は、中膜平滑筋細胞が円周方向応力を一定に保とうとする応答であると言われている。また血流の一時的増加で内皮細胞の NO 産生が亢進、平滑筋が弛緩して血管が拡張するし (血流依存性血管拡張 flow-mediated dilation, FMD)、一時的血圧上昇で血管が拡張すると筋原性収縮により血管が収縮する。これらの短期応答は血管壁細胞の機能を反映すると考えられ、動脈硬化の初期段階である細胞機能低下の判定へ応用が始まり、実際、FMD 検査は血管内皮機能計測法として 2012 年春より保険適用となっている。しかし FMD には内皮と平滑筋の両方が関与しており、例えば拡張量の低下が内皮 NO 分泌能低下によるのか平滑筋弛緩能低下によるのか判然としない。そこでニトロ製剤を投与した際の血管拡張が平滑筋機能の指標として用いられているが、内皮機能は機械的刺激という間接的刺激で評価する一方、平滑筋機能は薬物による直接的刺激で評価しているため、両者を単純に比較できない虞がある。また、動脈硬化の診断には血管の硬さ (内圧—径関係) の評価も重要であるが、通常の検査では生理的血圧範囲の特性しか判らない。ところが動脈硬化は高圧領域から開始するというデータがあり、幅広い血圧範囲の力学特性を知ることが必要である。

以上のような問題を解決するため、我々は血管外部を加減圧することで等価的に血圧を変えたのと同じ状態を作り出し、これにより動脈機能を多角的に検査する方法を考案した。具体的には上腕に超音波プローブ付き気密性容器を装着し、容器内を加減圧することで経壁圧を増減させる。これにより幅広い圧力範囲で内圧—径関係を求めることができる。また、容器内にステップ状陰圧を負荷すると血管は一旦、拡張するが、その後、筋原性収縮により徐々に収縮する。我々はこの収縮を pressure-mediated contraction (PMC) と名付け、平滑筋運動能の指標として検討している。同一被験者で FMD と PMC を経時的に測定し、推移を

検討したところ、心理的ストレスのある日にはFMDが低下する一方、PMCは増加していた。これは緊張状態にあることで平滑筋の収縮能が亢進し、このためFMDが低下したものと推察される。FMDに加えPMCを計測することで、内皮と平滑筋の機能をより詳細に調べることができるようになるものと期待される。

謝辞：愛知県「知の拠点」重点研究プロジェクトの援助、(株)ユネクスの協力に感謝する。

生殖のメカノバイオロジー：不妊治療への応用

成瀬恵治（岡山大学大学院医歯薬学総合研究科システム生理学）

近年、不妊に悩むカップルが増加しており、不妊治療の割合が増加している。採取した精子と母体から摘出した未授精卵の体外受精・顕微授精を行う場合がある。受精後、胚盤胞まで体外培養を行い移植する。

通常、受精は卵管膨大部付近でおこり、卵管内で受精卵の発育と胚の移送が行われ子宮に達するまでに4~5日を要する。卵管内空間と卵のサイズとを比較すると、卵の直径よりも若干小さく、卵管繊毛または筋肉によって接触ないしは圧縮が起こっていると考えられる。更に卵管液が流れることによりズリ応力が加わっている。このことから物理的的刺激が受精卵の発育に何らかの役割を果たしていると考えた。

しかしながら、現状の生殖補助医療技術では生理的発生過程において生体内に加わるべき動的環境が全く考慮されていない。受精卵培養においてはミネラルオイル中のマイクロドロップ培養液（~20 μ l）での静的培養など、生理的環境を全く反映されていない系を用いて生殖補助医療が行われている。個々の技術に様々な改良が加えられては来ているが、受精・着床率・生児獲得率は芳しくない。

そこで我々は近年、傾斜体外培養システム Tilt-ing Embryo Culture System (TECS) を開発し



図1A TECS 外観

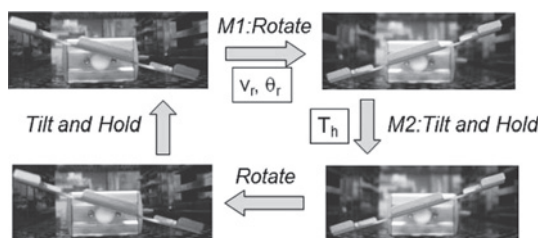


図1B TECS 駆動プログラム

た [1]. 図1Aに示すように、上部のコントローラと下部の電気駆動装置で構成されている。シャーレを駆動装置の上に置き、図1Bに示すようにステージの移動と傾斜保持を繰り返す。その動作によって、培地移動と胚移動が起こり、胚に適度なシェアストレスを負荷できる培養系である。マウス・ブタ・ウシ・ヒトで良好な胚発育を確認した。最近では、国内数カ所の医療機関で臨床応用が行われている。

更に胚発育を向上すべくコンタクトレンズ材料等の医療用の素材を用い卵管蠕動を反映させた人工卵管培養システムを構築し、生殖補助医療における難患者の治療効果向上を期待している。

参考文献

1. Matsuura K *et al.* **RBM online**, 3, 358-4, 2010

シンポジウム 30

大脳皮質・海馬の局所神経回路

オーガナイザー：窪田 芳之 (生理学研究所)

村山 正宜 (理化学研究所 BSI)

シンポジウムのねらいと概要

近年、遺伝子導入神経細胞染色法、オプトジェネティクス、二光子顕微鏡等、多くの新しい技術が導入され、大脳皮質や海馬の局所神経回路の動作原理と、その回路活動の生理的意義に関する重要な解析が多く報告されつつあります。また、神経活動を支える神経細胞間コネクションに関しては、生理学的にも解剖学的にもホットな研究分野となりつつありその重要性が認識されています。本シンポジウムでは、上記の新しい技法を使いこなし、とても興味深い仕事をされている新進気鋭の若手の研究者にスポットをあて、本シンポジウムにおいて話題を提供していただき、議論を重ねる好機を得る事ができました。この分野で日本が進むべきひとつの方向を示すことができたと考えています。

田中氏は、大脳皮質 2-6 層の各錐体細胞から 6 層の皮質視床投射錐体細胞へのシナプス入力を遺伝子導入神経細胞染色法を使って形態的に解析し、6 層皮質間投射ニューロンが最も多くの出力を供給している事を紹介しました。次に、森島氏は、5 層の 2 種類の錐体細胞 (CCS 細胞, CPn 細胞) 間のシナプス結合を、ダブル電気記録法を駆使した機能的な解析と電子顕微鏡による形態解析で紹介してくれました。いずれも、大脳皮質にある局所神経回路の結合特性をわかりやすく紹介した研究と位置づけできます。後半は、二光子励起レーザー顕微鏡を用いた *in vivo* Ca²⁺ イメージング法を使って、発達期の大脳皮質視覚野 II/III 層の神経細胞が方位・方向選択性の機能を獲得する過程の解析を、鳴島氏が報告しました。最後は、藤澤氏が、T 迷路学習でのワーキングメモリ課題実験時に、大脳皮質前頭前野と腹側被蓋野 (VTA) に観察される 4Hz の振動活動に関する解析結果を紹介しました。これら 2 つの報告は、機能的に重要な知見を、*in vivo* での神経回路解析が

我々にもたらしてくれるという事を改めて教えてくれました。

本シンポジウムでの発表は、いずれも、科学的に非常に優れた仕事であり、今後の神経科学の行くべき方向を予感させるに十分なインパクトを聴衆に与えてくれたといっても過言ではないと考えています。質疑応答も大変盛り上がり、聴衆も楽しんでくれた様子が伝わってきました。最後に、日本の若手神経科学研究者がしっかりと育っている事を加筆しておきたいと存じます。

in vivo Ca²⁺ イメージングによる発達期マウス大脳皮質視覚野ニューロンの方位・方向選択性の解析

鳴島 円^{1,2} (¹東京女子医科大学・医・第一生理学, ²ミュンヘン工科大学・脳科学研究所)

成熟脳の大脳皮質感覚野には、固有の機能を持つニューロン群が存在する。一次視覚野には物体の特定の傾きまたは動きの方向に選択的に反応する細胞群があり、それぞれ方位選択性あるいは方向選択性ニューロンと呼ばれる。このような細胞固有の機能がどのように獲得されるかについて、分子・細胞レベルでのメカニズムは未解明な点が多い。二光子励起レーザー顕微鏡を用いた *in vivo* Ca²⁺ イメージング法は、生体内でのニューロン群の活動の同時解析に非常に適した手法である。近年、同手法を用いた発達期のフェレット大脳皮質視覚野ニューロン群の解析により、方向選択性が視覚経験依存的に獲得されることが明らかとなった (Li et al., 2008)。分子・細胞レベルでのメカニズムの解明は、遺伝子改変マウスを用いることにより飛躍的な進展が期待され、成熟野生型マウスで方位・方向選択性ニューロンの解析 (Niell & Stryker, 2008) が行われる一方、食肉目とげっ歯目ではコラム構造の有無の点で構造的に大きな違いがあり、マウスの方位・方向選択性に関する知見を蓄積する必要があった。

そこで本研究では、発達期のマウス大脳皮質視

覚野 II/III 層ニューロンを対象に *in vivo* Ca²⁺ イメージング法による方位・方向選択性の機能解析を行った。その結果、マウスの視覚野ニューロンではまず方向選択性が開眼後(生後二週間以降)に現れ、続いて方位選択性が確立されることが明らかとなった。また暗室飼育した個体の II/III 層ニューロンでも方位・方向選択性が確認されたことから、選択性が視覚経験に依存せずに獲得されることが示唆された。開眼直後に観察された方向選択性ニューロンは、背側および鼻側方向への動きに対する選択性が優位であった。マウスの発達期の網膜神経節細胞の方向選択性に同様の性質が観察されており(Elstrott et al., 2008)、発達初期のマウスの大脳皮質視覚野ニューロンの活動パターンが、末梢の神経活動を直接反映している可能性が示唆された。

以上の結果から、マウスの視覚野ニューロンはフェレットとは異なる発達過程を示し、感覚経験に依存しない新たなメカニズムで選択性を獲得することが示唆された。

参考文献

Li et al., Nature 456, 952-6, 2008

Niell et al., J Neurosci. 28, 7520-36, 2008

Elstrott et al., Neuron 58, 499-506, 2008

皮質視床投射神経細胞への皮質内興奮性入力

田中康裕(基礎生物学研究所光脳回路研究部門)

哺乳類の高次脳機能を実現する大脳皮質は、6層構造と機能円柱という形態学的及び生理学的な特徴を持つため、その作動原理を解明するには、これらの構造的特徴を踏まえた局所回路解析が重要である。大脳皮質一次感覚野では、対応する視床核からの入力線維が主として第4層に入力し、一方で第6層錐体ニューロンが同じ視床核へと投射し、相互結合回路をなしている。この相互結合回路は、大脳皮質の活動を反映して、外界からの刺激に対する視床ニューロンの反応性を調節する、皮質の重要な入出力系である。しかし、皮質視床投射ニューロンへの局所回路内興奮性入力の起源について、詳細な空間的配置は、明らかでな

かった。我々は、視床への皮質情報の由来を調べるため、皮質視床投射ニューロンへの局所回路内興奮性入力を形態学的に明らかにした。

視床腹側基底核群へ、細胞体・樹状突起膜移行性の緑色蛍光タンパク質を発現するアデノウイルスを注入すると、ラット一次体性感覚皮質の主に第6層の細胞体が逆行性に標識された。標識は細胞体にとどまらず、樹状突起の細かな棘突起に至るまで標識された。一方で、解析の妨げとなる、皮質視床投射ニューロン自身の軸索側枝や、第4層へ多数入力する視床皮質投射軸索は可視化されなかった。第6層の皮質視床投射ニューロンが逆行性に標識された皮質スライスを用い、大脳皮質第2層から第6層に位置する興奮性ニューロンを、細胞内電極によって細胞内記録し、標識した。第2/3層、第4層、第5b層からそれぞれ5つ、第5a層から3つの興奮性ニューロンの局所軸索側枝を、さらに第6層に関しては、5つの皮質視床投射ニューロン及び、5つの皮質間投射ニューロンの側枝を解析の対象とした。一つ一つの細胞に着目した場合、皮質視床投射ニューロンに最も多くの出力を送っていたのは、第6層皮質間投射ニューロンであり、続いて第6層皮質視床投射ニューロン、第5a層錐体ニューロン、第5b層錐体ニューロン、第4層興奮性ニューロン、第2/3層錐体ニューロンという順で出力を送っていた。

入力元となる興奮性ニューロンの空間的配置と細胞密度に着目して、さらに解析を進めたところ、皮質視床投射ニューロンは、ちょうど上方、ごく狭い範囲の第4層興奮性ニューロンから、非常に密な入力を受けていた。また、機能円柱と同等の広がりからの入力に着目した場合、最も多くの入力を送るのは皮質視床投射ニューロン自身であり、それより外側からの入力については、第6層の大脳皮質間投射ニューロンからの入力が最多であった。

これらの結果から、一次感覚野の興奮性ニューロンからの情報が第6層皮質視床投射ニューロンへ集約される様が形態学的に明らかとなり、第4層の興奮性ニューロンが、第6層錐体ニューロンと共に視床投射ニューロンへの局所興奮性入力の

重要な源として働き、視床活動を修飾していることが示唆された。

Tanaka Y, J Neurosci. 31 : 18223-36, 2011

前頭皮質における5層錐体細胞の結合特異性について

森島美絵子, 川口泰雄 (生理学研究所大脳神経回路論)

大脳皮質の情報伝達・処理メカニズムを理解するためには構成細胞間のシナプス特性や結合様式を明らかにすることが重要である。最近になって錐体細胞が、その軸索の投射先によって性質が異なっていることが明らかとなってきた。そこで、前頭皮質5層錐体細胞が、二つの異なる独立したループ(大脳基底核ループ、橋核小脳ループ)へと情報を伝えることを利用し、それぞれの、ループの入り口である、線条体、及び、橋核に逆行性トレーサーを注入し、2種類の錐体細胞を同定した。一つは反対側の線条体に投射し同時に同側の線条体で軸索をおえるもの(crossed corticostriatal cell, CCS細胞)、もう一つは同側の線条体及び、橋核へ投射し、さらに脳幹へと軸索をのぼすもの(corticopontine cell, CPn細胞)である。逆行性トレーサーによって2種類の錐体細胞を標識したスライス標本を用いて、2細胞同時ホールセルパッチクランプ法により、2種の錐体細胞間のシナプス特性及び、結合様式を調べ、また、形態の違いについても明らかとした。2種類の錐体細胞間の形態を比較すると、CPn細胞の先端樹状突起はCCS細胞に比べ、1層において広がりを持ち、かつ複雑に発達し、基底樹状突起は複雑で垂直方向の広がりがコンパクトであった。2種の錐体細胞間のシナプス結合確率を比較するとCCS-CCS間及び、CPn-CPn間、CCS-CPn間では、差がみられなかったが、CPn-CCS間ではほとんど結合がみられなかった。また、両方向性のシナプス結合確率を比較すると、CPn細胞間のほうが有為が高く、投射先に依存したシナプス結合性をもつことが明らかとなった。また、シナプス強度について調べるためにEPSCの大きさを比較すると、CPn-CPn間のほうが、CCS-CCS間及びCCS-CPn

間より有為に大きかった。また、短期可塑性について調べるためにpaired pulse刺激をしたところCPn細胞のほうが有為に増強応答がみられた。シナプス強度、及び、短期可塑性はシナプス前細胞に依存した反応であることが示唆された。これらのことから、投射先の異なる錐体細胞が混在する前頭皮質5層において、投射先に依存した錐体細胞サブグループは、それぞれ分化した形態、シナプス特性及び、結合様式をもつことを明らかとした。

Morishima M. J Neurosci. 31 (28) : 10380-10391, 2011

A 4-Hz oscillation synchronizes prefrontal, VTA and hippocampal activity in a working memory task

Shigeyoshi Fujisawa, György Buzsáki (Center for Molecular and Behavioral Neuroscience, Rutgers, The State University of New Jersey, 197 University Avenue, Newark, NJ 07102 New Jersey)

The prefrontal cortex (PFC), basal ganglion and hippocampus have been thought to be critical for working memory. However, it is not clear how the neurons in these anatomical areas interact with each other at a timescale relevant to behaviors.

In this study, we performed simultaneous recordings of local field potentials (LFP) and neuronal unit firing from the prefrontal cortex, mid-brain ventral tegmental area (VTA) and hippocampal CA1 area in awake rats during a working memory task involving odor-place matching (T-maze). We found a slow oscillation (2-5Hz, '4 Hz' oscillation) in the PFC and VTA dominating in the stem area of the T maze (the area from cue presentation to 'decision making'), whereas theta oscillation in the hippocampus was present in the entire maze during running (Fujisawa & Buzsaki, 2011). This 4-Hz oscillation was highly coherent (~0.7) between the PFC and VTA, and phase-

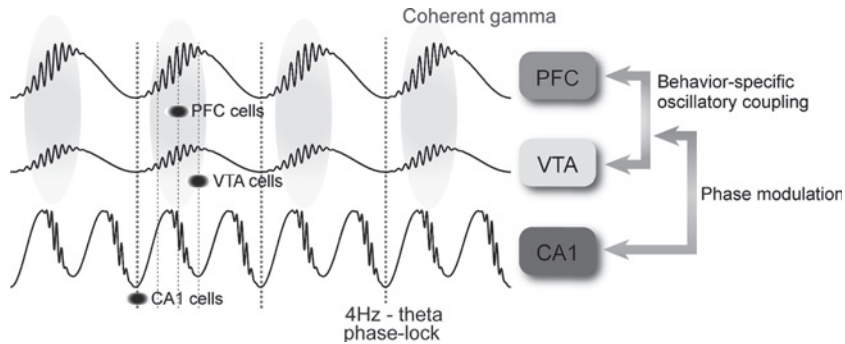


Figure 2 Schematics of a 4-Hz oscillation, which was observed in the PFC and VTA, during a working memory task. A 4-Hz oscillation is phase-locked to hippocampal theta oscillation (7-11Hz).

modulated gamma power in both structures in a behaviorally dependent manner. A significant fraction of the PFC, VTA and CA1 neurons were strongly phase-locked by the 4-Hz oscillation, indicating that 4-Hz oscillation can entrain the local-circuits of the PFC and VTA. The 4-Hz and theta oscillations were phase-coupled and jointly modulated the amplitude of gamma waves and neuronal firing in the PFC, VTA and hippocampus.

Subsets of both the PFC and hippocampal neurons predicted the future trajectory of the rat. A significantly larger fraction of goal-predictive PFC pyramidal neurons were better phase-locked to both the 4-Hz and hippocampal theta oscillations than non-predictive cells.

These findings demonstrate a triple time con-

trol of neurons in the PFC-VTA-hippocampus axis by 4-Hz and theta rhythms at a slower time scale and gamma oscillations at a fine time scale, in support of working memory. We hypothesize that phase coupling between the 4Hz and theta oscillators, and their joint modulation of local gamma oscillations, may be a mechanism for linking the entorhinal-hippocampal spatial-contextual system with the mesolimbic dopaminergic reward system.

References

Fujisawa, S & Buzsáki, G. A 4 Hz Oscillation Adaptively Synchronizes Prefrontal, VTA, and Hippocampal Activities. *Neuron* 72 : 153-165 (2011)

シンポジウム 32 プログラム委員会企画シンポジウム 東日本大震災から学ぶ研究室の危機管理

東日本大震災：研究室で被災して考えたこと
伊藤恒敏（東北大学大学院医学系研究科医科学
専攻細胞生物学講座発生生物学分野）

1. はじめに
2. 地震：揺れた

3. 建物
4. 損害
5. リスクとその対策：地震多発国での高層建築
6. 地震・津波の犠牲者

7. 学者・研究者の責任：歴史地震学の軽視：
「星の王子様」

8. 学者・研究者の責任：「原子力ムラ」：御用
学者に対する批判

9. 「下心」なき真実の探求

10. 最後に

1. はじめに

昨年秋、大橋俊夫大会長から東日本大震災で受けた研究室の被害やその経験から考えられる対策などについてのシンポジウムを企画し、オーガナイズしてくれないだろうか、との要請があり、大橋大会長には日本リンパ学会で長くお世話になっているということもあって、お引き受けすることにした。

シンポジウムのタイトルは「東日本大震災から学ぶ研究室の危機管理」。大橋大会長からは動物施設の被災経験の話も是非、お願いしたいというのがあったが、それ以外は私に一任された。

考えた挙げ句、一人は大橋大会長からの強い要請に応える形で、東北大学医学部の動物実験施設の笠井憲雪先生にお願いした。もう一人は、福島県立医科大学の放射線医学の教授をしている戸川文男教授に依頼し、原子力発電所事故がらみの混乱や福島県立医科大学でどのようにそれらに対応したかなど話してもらうことにした。私の研究室はとてつもなく揺れてありとあらゆる実験機器やガラス器具が壊れた。とんでもない状況だったから私のことも話そう。もう一人は、仙台市内に東北薬科大学があって、地震後のかなり早期から出入りの業者を通して、あそこは免震建造物でガラス器具一つ壊れなかったそうですよ、という噂に近い話を聞いていたので、そこの学長理事長である、高柳元明先生にお願いすることにした。

東日本大震災では東北大学医学部時代のクラスメートであり石巻市立雄勝病院の院長だった狩野研次郎先生が津波で犠牲となった。犠牲となったことを個人的な悲しみだけで終わらせるのではなく、私としては、何とか19,009人の死者・行方不明者の悲劇的なエピソードの一つとして、どこかで誰かに公的に伝える義務もある、と一人で勝手に動機付けをしていた。

2. 地震：揺れた

医学部の同級生の会の幹事である私は、私自身が自分の机まで散乱した教室を整理しながらようやく落ち着きを取り戻しかけた地震から約一週間後、教室の自分のコンピュータにはまだたどり着けなかったが、自宅の私の机周りの整理にめどが付き、自宅のコンピュータが使えるようになった時点で、コンピュータを動かしてみると既に同級生からお見舞いのメールが届いていた。そこで、クラスメートの中でメールアドレスを保有している約半数に次のような私の経験したことをメールで流した。2011年3月19日付である。

『小生は当日3/11金曜日、地震の時は大学にいました。ある参考書のコピーをしている最中でした。揺れてきたので、コピーの手を止めているとますます揺れが激しくなり、ただ事ではないと気がつきました。同時に立っていられなくなり、コピー機の近くにあった机の下にはいつくばるようには両膝を付けていましたがそれでも揺れは止まらず、一箇所に留まることができない状態となり、部屋全体がガシャガシャととてつもない音を立てて揺れはどんどんひどくなり、経験をしたことのない凄まじさになっていました。背後で何かがドサッと倒れる音がし、何がガシャガシャと音を出しているのか分からないのですが、とにかく部屋全体が大きく揺れてそれが終わらない。長い。「死ぬ」というのはこういうことか、何かの下敷きか、建物が倒れて一瞬にべちゃんこになって死ぬのか、いずれにしてももう終わりかもしれない、強く感じていました。棚からも物が落ちてくる、何かが倒れる、というものではない、棚にあるものすべて落ちた、倒れるべきものはすべて倒れた。揺れている間に停電状態に、落ちたもの、倒れたもので床は山がいくつもできて、教室内は簡単に移動できない状態になっていました。教授室のドアの前にも3連式の机と本棚が一緒になったものがスライドしてきており、開けられない状態に。とにかく揺れが長かった（テレビの報道によると5分間も揺れていたらしい）。ようやく揺れが弱くなった時点で大声で教室員の名前を呼び「○○、生きてるか！」無事を確認してすぐに、家の鍵

も持たずに（教授室には簡単に入れないので、小生のバッグを取って来ることができない）そのスタッフと一緒に階段を降りて歩いて15分のところの自宅にタクシーで向かいました（タクシーがすぐ来た；まだ動いていた）。カミさんと、居候している次男、それに飼犬がどうなっているのだろうか。マンションに戻って、エレベーターが使えないので階段でのぼり、自宅に行くと、自宅のドアには鍵が掛かっている。どんどんとノックしても誰も答えない。カミさんと次男の名前を呼んでも返事がない。ますます不安が高じてどうして良いか分からない。何でだ。どうしたんだ。とうとうドアノブを壊してしまった。それでもドアを開けられない。やはり自分の鍵を持ってこなければダメなのか。放心状態でマンションを出て、あまりにも喉がからからだったので向かいの小売店でペットボトルの水を買い、とぼとぼふたたび大学に向かいました。9階まで階段で上り、教室に入り、なりふり構わず、何とか教授室のドアをこじ開け、コートとバックパックを取り、再度マンションに戻って自宅に行くと、カミさんも次男もマックも無事？何だ、どうしたんだ、何でさっきは返事をしなかったのだ！それにしてもドアノブが壊れていない？パニックに強い、と自負していましたが、階を一つ間違えて下の5階の今は無人の部屋をノックしていたのでした。』

『3月13日の夜になって、電気がようやく通じたので、こうしてメールもできるのですが、同時にテレビのニュース画像（電気が通じて初めて見た：災害現地というのは情報疎外になりやすい）でぞら恐ろしい事態が流れており、特に被災者の一言一言に強く共感してしまい、涙をこらえられません。仙台市内のガス供給は遮断されたまま。復旧に一ヶ月かかるそうです。風呂に入れません。』

『月曜日の3月14日から大学の教室の整理をしています。報道用語のようですが、まさしく壊滅状態、とても2-3日の後片付けで業務を再開できるようなものではありません。電子顕微鏡がひっくり返ってしまいました。CO2インキュベーターが横倒しになり、オートクレーブが2台とも倒れ

て壊れ、クリーンベンチはあちこちに移動し、ウルトラミクロームが実験台から落ちこち、パラフィン溶融器は台の机が壊れて落ちこち、FACS Calibur という高価な細胞測定器が机から落ち、レーザー顕微鏡も落ち、クリオスタットも壊れ、ディスクッション顕微鏡が落ちてばらばらになり、古いけれども様々な用途に使用していた光学顕微鏡は多数が落ちて壊れ、コンピュータは何台も机から落ちてほとんど使い物にならなくなり、薬品戸棚が倒れ、可動式書架がすべてレールから脱線しました。A4サイズのキャビネットがひしゃげ、ドミノ倒しと同様の状態になり、頑丈そうだったスチール棚はすっかり平行四辺形に歪み、スチール戸棚のほとんどは倒れて使い物にならなくなりました。もし私がコピーをせずに私の部屋にとどまっていたら、後で分かったことではありますが、私の椅子めがけて、机という机の上に置いていたスチール棚が倒れてきて、一気にそれらにつぶされひどく負傷したか、最悪は死んでいたかも知れないと今でも思っています。幸運にも机の下に潜り込めたとしても相当の期間、倒れてきたスチール棚のために、閉じ込められたままになっていたと思われる。

定年も近いのですが、焦らず床に落ちたものの整理、倒れたものの引き起こし、壊れてしまったものの廃棄に精を出すしかありません。自分の部屋のコンピュータのところまでもいまだにたどり着けません。それでも生きていますし、津波に見舞われた人たちのことを考えれば屁のカッパと考えるしかない、のではないかな。ずっと幸運なことだ、と考えるようにして頑張っ、大学の教室整理を疲労困憊になりながら進めています。』

『このメールを書いている最中にも2度ほど余震がありました。今度の地震は余震の回数が特に多い。報道によるとマグニチュード5以上の余震はこれまでで200回以上を数えたということです。大学の教室での揺れで死ぬ覚悟をしたものとしてはやはりこの揺れは怖い。PTSDだと思っています。自宅でも「今揺れた？」「揺れていない。」「今揺れた？」「うん、揺れてる。」の会話の繰り返しです。どれだけ軽微な揺れでも軽微に終わるか

ら軽微なのであって、揺れている最中は今の揺れがどれだけ大きくなるのか、トラウマもあって分からないのです。だから精神的に休まる暇ありません。』

壁掛け時計が揺れて天井にぶつかっている軌跡を随分後になってから見つけた。それも互いに直角方向になる壁に掛けられていた時計二つとも、天井にぶつかる軌跡を残していた。私たちの9階の研究室が、客観的にどんな風に揺れていたかなど、私は全く覚えていない。

3. 建物

これだけ揺れた私が地震当時にいた建物は鉄筋コンクリート製で竣工が2003年2月。もちろん、最新の耐震基準を満たす耐震建築ということになっている。東西方向に長く、南北方向に薄いおおよそ細長の長方形の建物である。私の教室は10階建てのこの建物の9階にある。

上に示したわれわれの経験でもおわかりのように、居住空間としても、研究室空間としても、東日本大震災のような地震が来ることを前提に考えるのであれば、こうした「耐震建築」はあまり、意味がない。「意味がない」という意味は、「耐震」といっても単に建物自身が地震に耐えるということであって、建物内部でこれほど揺れるのであれば、いずれにしても人間がその中に住むという実用性はあまりない、と言って良い。われわれが、電子顕微鏡等の下敷きになって負傷したり死ななかつたりということの方がむしろ奇跡的である。

実験機器等の経済的損失ばかりではなく、人命が失われるかも知れないというリスクも重く考えるべきである。死ぬかも知れないという状況を経験したものにとっては、これでは「耐震」という保証が、その現実的使命を果たしているとは言えないのではないか、と強く考える。

4. 損害

繰り返しに近くなるが、上に記載したように、教室で全損となった機器類を並べると次のようになる。

- (1) 日立製電子顕微鏡
- (2) トプコン製横置き電子顕微鏡
- (3) ディスカッション顕微鏡

- (4) ウルトラマイクローム
- (5) CO2 インキュベーター
- (6) 光学顕微鏡用標本マイクローム 2台
- (7) クリオスタット
- (8) パラフィン溶融器
- (9) 光学顕微鏡 (古いもの) 多数
- (10) FACS Calibur
- (11) レーザー顕微鏡
- (12) オートクレーブ 2台
- (13) ショーケース (冷蔵庫) 2台
- (14) 免疫染色用恒温槽
- (15) コンピュータ多数

これらをすべて現在のいわゆる時価 (現在の価格) で購入するとすると、1億円近くになる。

ほとんどの機器が全損となったのに対して、生き残ったものもわずかにある。下記に示す。

- (1) CO2 インキュベーター
- (2) 電子秤量器
- (3) ショーケース (冷蔵庫)
- (4) 通常型の冷蔵庫 2台
- (5) 遠心機 2台
- (6) Xerox 製コピー機
- (7) Canon 製コピー機
- (8) サーバー
- (9) 写真撮影用万能型光学顕微鏡
- (10) 薄型テレビ 2台

5. リスクとその対策：地震多発国での高層建築

こうした経験から何が対策となるのか。何が巨大地震から研究室を守る対策となるのか。

繰り返しになるが、少なくとも鉄筋コンクリート製の耐震建造物の10階建ての9階でマグニチュード9、(建物が建っている地面でのデータで)震度6弱(9階ではおそらくは震度7かそれ以上)を経験したものにとって、単に倒れないという「耐震建築」はそれのみでは意味が無いと考える。確かに倒れないかも知れないが、これまで述べたようにすさまじいほどの揺れになる建物の中に、家財道具や高価な実験機器と一緒に居住するというのは、それだけで大きなリスクである。家財道具も実験機器も倒壊する。家財道具も止めて

おけば倒壊の危険性を低くはできる。あるいは実験機器や薬品棚、スチール戸棚も床に金具で留め置けば、倒壊のリスクはかなり減少できる。それらでも実際には戸棚にしまっておいたものが外に飛び出し、ガラス器具等はほとんどが破損した。

家財道具には引き出しの類がかなりあるし、日常生活の中で引き出しをいちいち止めておけるだろうか。スチール戸棚の戸のガラスをすべてスチール製にしたり、いちいち引き戸にカギをかけたりという対策はあり得る。日常的にいくら地震に備えるからと言って毎度まいど鍵をかけたりできるだろうか。

しかしながら、今度のような巨大地震の前では、そうした常識的な対策はとても基本的、根本的な対策とは言えない。地震の揺れを体験できる装置があるが、そうした装置で震度6強や震度7の揺れを経験してみるが良い。特に高層階では、地面としての揺れが震度6弱でも高層階は震度7やそれ以上になる。建物自身を揺れるように柔らかく設計しているのがいわば「耐震建造物」であり、震度7の揺れの前では講じた対策がどれだけ効果を上げるかは個々の状況によると言わざるをえず、効果はきわめて限定的であることを理解しなければならない。強調したいのは家具にしても実験機器にしても性質上、止められないものもあって、倒壊防止などの対策はいずれにしても局所的であり、その場凌ぎでしかない、ということだ。

高層建築の少なくとも7階8階以上の高層階部分は、基本的に揺れないような対策を講じなければ今度のような巨大地震に対しての基本的な対策など取り得ないのではないか、と経験上考えざるを得ない。

高柳東北薬科大学の理事長学長の話にもあったように、免震建物(10階建て)では建物自体がゆっくり揺れたそうだが、建物内部ではものがほとんど壊れていない、倒壊していないとのことだ。直後に建設会社の調査では、免震装置はあと10回ほどの今回クラスの揺れにも耐えうるとのこと。6階か7階以上の高層の建築物は、今回のような巨大地震を想定して対策を講じるというのであれば、免震にするしか、基本的な対策はあり得ない

のではないか。建築学には素人のわれわれは少なくとも今回の経験からそのように考えざるを得ない。

建築技術がこれから先、格段に進歩するのもかも知れないが、現在利用できる対策ということでは、やはり、高層建築を免震にする以外にない。もともと、研究室等を高層建造物にしないという対策もあり得る。その場合、私たちの経験では鉄筋コンクリート製の建物で言えば、4-5階程度であれば被害はかなり軽微である。高くしても6階まで。あくまで経験上の指針である。7階8階以上は被害甚大となり、今回のような巨大地震では耐震が意味をなさない。

くどいようだが、巨大地震から受ける研究室被害から守る(「防災」)、あるいは被害を減らす(「減災」)ための、対策をまとめると、次のようになる：

【基本的対策】(「防災」)

耐震建造物ならば、高層(7階以上)にしない。高層にするならば免震建造物にする。

【姑息的対策(根本的対策ではないが、ある程度有効な方法)】(「減災」)

耐震マットを使用する(薄型テレビなどの転倒防止)

床に止め金具で止める(スチール戸棚、キャビネットなどの転倒防止)

つかえ棒を使用する(自宅のタンスなどの転倒防止)

可能なものについては「キャスト」を使用する(冷蔵庫、コピー機、クリーンベンチなど)

6. 地震・津波の犠牲者

読売新聞の2012年3月11日の特集記事によれば、東日本大震災での死者は2012年3月10日現在で15,854人、行方不明者が同じく3,155人(死者、行方不明者あわせて19,009人)、避難生活を強いられている人が343,935人である。繰り返しになるが、この中には東北大学医学部同級の石巻市立雄勝病院の院長だった狩野研次郎先生も含まれる。

7. 学者・研究者の責任：歴史地震学の軽視：「星の王子様」

これだけ多数の方々が地震や津波の犠牲になっ

ている状況で、私が激しい強い憤りを覚えたのが、次のような言葉である：

「こんな巨大地震が、これほどの巨大津波が襲来するというのは想定外でした。大変悔しいです」(東北大学災害制御研究センター長：地震学、津波学の専門家)。そのコメントはテレビから流れた。嗚然とした。巨大津波で信じられないほどの多数の死者行方不明者が出ている状況の中で、学者の、研究者の、専門家の「想定外」発言は軽すぎた。

想定外、は一躍、時の言葉になった。識者もこの軽率な、非常識な発言に反応した。『「知力」—想定内であれば、特別な才能は必要でない。想定外であったからこそ求められるのが知力で、ゆえに、想定外でした、では答えにならない。想定外だったがこれからは何を、どう進めて行きたい、でなければ「答え」ではないのだ』(塩野七海、「文藝春秋」2011年7月号「日本人へ：97」)。

地震学、津波学、あるいは「災害制御研究」の目的は明らかに人々の社会的な災害対策にどれだけ貢献できるか、が成果の重要な一つでなければならないだろう。そうした専門家の研究成果を遙かに上回る巨大な地震、巨大な津波だった。それが彼らの「想定外」発言なのだろうが、それならばこの「東北地方太平洋沖地震」が起こる前に将来起こるべき災害について語っていた彼らの自信たっぷりの説明は何だったのか。国家から研究費を託されていた災害制御研究とは何だったのか。各地のハザードマップ作成にもおそらくは市町村からも予算をもらい、関与したに違いない。釜石市の鶴住居地区も「学者」にハザードマップ作成を手伝ってもらった。地区内に津波想定浸水域とその想定区域には入らない「域外」を定めていた。結果は域外でなくなった人の数が、419人で、これは鶴住居地区で、津波で亡くなった方の86%にもなることが後に判明した。住民の一人はローカルニュースの中で、「学者は『この想定浸水域の境界より山側には津波は来ない』とはっきり言った」と怒りを込めて語っていた。明らかに想定すべき最大被害というものの捉え方が誤っていたのではないのか。

東日本大震災以降、福島原発での悲惨な状況も

踏まえて、いわゆる「貞観津波(869年)」が大きく取り上げられることが多くなった。私は貞観津波のことは、2011.3.11以前は知らなかった。大震災以降、貞観津波について調べていると、驚いたことに東北大学のニューズレター「学びの杜」の2001年6月30日号に貞観津波のことが記載されていることが判明し、さらにこの記事の中に次のような件があることが分かった。とても尋常な気分では記事は読めなかった：

『仙台平野の表層堆積物中に厚さ数cmの砂層が3層確認され、1番上位は貞観の津波堆積物です。他のいずれも、同様の起源を有し、津波の堆積物です。放射性炭素を用いて年代を測定したところ、過去3000年間に3度、津波が遡上したと試算されました。これらのうち先史時代と推定される2つの津波は、堆積分布域の広がりから、規模が貞観津波に匹敵すると推察されます。』

『津波堆積物の周期性と堆積物年代測定結果から、津波による海水の遡上が800年から1100年に1度発生していると推定されました。貞観津波の襲来から既に1100年余の時間が経っており、津波による堆積作用の周期性を考慮するならば、仙台湾沖で巨大な津波が発生する可能性が懸念されます』(箕浦幸治東北大学大学院理学研究科教授)。

驚くべき記述であり、これが大震災の10年も前に書かれていたことを考慮し、さらにこの記事の地質調査を担当したのが、前述の「想定外」教授だったことを考えると、19,009人の犠牲者にこの事実を何と伝えればよいのだろうか。憤りを抑えられなかった。箕浦氏の記述の最後は、箕浦氏の学問のもっている必然的なミッションを彼は全く意識していないかのようにも思える。あるいは「想定外」教授も含めて、1000年単位のいわば悠久の歴史の話しをすると、国家も政治家も役人も信じてくれないと危惧したか。信じてもらえないくらいなら、人々の記憶にある話しをすることでお茶を濁そうと考えたのか。そうすれば適当に地域の防災計画策定にも関与できるし、研究費もつくかも知れない。これでは時の政治や行政におもねる全くの御用学者ではないのか。

歴史地震学者の羽鳥徳太郎氏は『過去からの警

鐘が社会に伝わっていれば、危機意識も備えも変わっていたのではないか』(読売新聞 2012年1月20日)と、自省を込めて歴史地震学が地震学の主流から軽視されてきたことを悔やんだ。『地震研究は、メカニズムを解明する「地震発生物理学」、コンピューターで揺れを予測する「強震動地震学」などが主流だった。東北大学の松沢暢教授は「100年程度のデータから構築した理論でマグニチュード9はあり得ないと思ひこんだ。最新の理論や解析を重視するあまり、原点である歴史が二の次になった」と悔いる』(同前)。政府の地震調査委員会も「今回のような連動型の巨大地震は想定外だった。」と報告する(読売新聞 2011年11月24日)。古文書を読むという作業は自然科学から見れば古くて価値のないものなのだろうか。そんな古いものが現代の自然科学と比べて軽侮すべきものであるというのだろうか。歴史的記述は自然科学には何ももたらさないと考えていたのだろうか。過去にはなかった、現代の進んだ科学技術はこれが歴史上、最高のものであり、過去のどんな人間の知恵も、恐ろしい出来事を文書にとどめようとした過去の人間の所業も、いずれも古くて意味が無いというのだろうか。古いものを思慮もなしに切り捨てるという行為は、サン・テグジュペリの「星の王子様」の天文学者のエピソードを思い出させる。

科学者の奢りだということを知るべきであるし、異分野の方法や研究成果を自分の価値観でのみ評価しようとする、皮相的な未熟な科学者の、文字通り思慮に欠けた所業である。そうしたことも絡んで、19,009人の犠牲者が出てしまったことを再度、道義的にも倫理的にも厳しく検証しなければならないのではないか。

8. 学者・研究者の責任：「原子力ムラ」：御用学者に対する批判

同じことは原子力発電所の事故についても言える。「学者だって何でも分かっているわけではないんだ」と記者会見で開き直った原子力安全委員会委員長の班目春樹氏。原子力発電所が「安全だ、安全だ」と保証してきた本人である。「全電源喪失など考える必要はない」とも言っていたことを思

い出すべきだ。メディアで「原子力ムラ」(=御用学者)の存在のことが、問題視された。私と親しいジャーナリストからは初期の原子力発電所ニュースに関して「原子力問題の解説者が何人も登場したが、「原子力ムラ」以外の関係者を登場させることをメディア自身が、「原子力ムラ」からの報復を恐れて、自主規制していた」ということも聞いていた。

亀田総合病院副院長の小松秀樹氏も次のように書いている(「月刊保険診療」2012年5月号)：

『日本の学者は、伝統的に政治に距離を置いてきた。一方で、行政の支配を安易に受け入れてきた。研究費、研究班の班長職、審議会委員などが行政による科学支配の手法として使われてきた。』

『東京大学のロバート・ゲラー教授は、東日本大震災後の4月13日、英科学誌「ネイチャー」の電子版に、地震予知が不可能であるとする論文を発表した。日本の文部科学省、気象庁、地震学者は「東海地震」が近い将来発生すると国民に思わせることで、予算と研究費を得てきた。原子力発電の周囲にも「原子力ムラ」と称される御用学者の一群がいる。批判精神の欠如、ムラからの論的の排除が社会全体のリスクを大きくした。』

まったくもって同感である。小松氏によるこれらの問題の指摘はまさに慧眼である。

9. 「下心」なき真実の探求

「想定外」発言に対する私の憤りを記した。翻って、われわれも含めて、それでは学者はどのように振る舞うべきなのか、東日本大震災での被災経験、被災者としての気分などから導かれた私の勝手な考えを箇条書きにする。

- (1) 下心無く、真実・真理を追究する
 - (2) 真実・真理に、あるいはデータに、思い込みや偏見無く向き合う
 - (3) 真実・真理追求の方法の多様性を認める
 - (4) 真実・真理追求の方法に貴賤の別はないと認識する
 - (5) 学問・研究分野の多様性を互いに認めあう
10. 最後に

シンポジウムのタイトルは「東日本大震災から学ぶ研究室の危機管理」である。私の話のタイト

ルは「東日本大震災：研究室で被災して考えたこと」であった。稿の前半で、地震の揺れ、被害、その考えられる対策を述べた。字数の4割弱ほどを、被災し種々の報道に触れて憤ったことに割いた。こうした勝手な振る舞いが許されるのかどうかは分からないが、同級生の死に触れ、19,009人の犠牲者の数というものに思いをいたす時、研究室の危機管理から、確信犯的に、はみ出た議論をした。是非、許してもらいたい。

東日本大震災から学ぶ研究室の危機管理としては端的に[5.]の稿の最後のところで述べた。それが普遍性をもつ形で説くべきことであるかどうか、納得してもらえるかどうかについては、真摯に、読者諸氏のご批判を仰ぐこととしたい。

東電福島第一原発事故災害を経験して

宍戸文男（福島県立医科大学医学部放射線医学講座）

2011年3月11日午後2時46分、マグニチュード9.0の大地震が発生し、その約1時間後には太平洋沿岸に津波が押し寄せた。福島県浜通りにある東京電力福島第一原子力発電所は津波により全電源喪失に陥り、地震で自動停止して冷却されていた1～3号機の冷却が停止した。そのため、発生する熱で燃料棒が融解し核燃料が炉心に落下するという危機的な状況となった。3月11日夕方には東電福島第一原発から3km圏内の住民避難が始まり、3月12日には10km圏内、20km圏内の住民避難と広がった。

福島県立医科大学は、1999年の東海村JCO事故の後、緊急被ばく医療棟が建設され、2次被ばく医療機関に指定され、緊急被ばく医療体制の一翼を担うこととなった。学内では、2002年5月に、「被ばく医療活動マニュアル」を定めたが、福島県の原子力防災計画にも「福島県緊急被ばく医療活動マニュアル」を規定して（2003年5月）、毎年1回の原子力防災訓練に参加していた。訓練に参加して約10年、我々としては原発事故は起こりえないと信じ切って、安心していたところに起きた原発事故災害であった。

3月12日、1号機の水素爆発を間近で見たとい

う双葉町役場職員が被ばくと汚染を心配して来院したのが、緊急被ばく棟を訓練以外で使用した最初であった。その後、3月14日には3号機の水素爆発で飛び散った破片による頸髄損傷疑いの患者が夕方救急車で福島医大に搬送されてきたのが、緊急被ばく棟の最初の患者となった。その後、12名の患者が、被ばく棟に搬送されてきた。3月18日には解消されたが、それまでは断水で水による全身の除染は難しい状況での対応であった。

3月24日には足をI-131で汚染したβ線熱傷の疑いの患者が2名、救急車にて搬送されてきた。断水が解除されていたので水による除染が可能であったが、充分には除染できず、1日入院して、翌日、放射線医学総合研究所に転院した。放医研での評価では足に2Gy程度の被ばくであるとのことであった。

我々が経験した12名ともに被ばく、汚染および外傷の程度は軽傷と言っていい程度であった。3月14日から建屋爆発が再度おこり、100名程度の汚染傷病者が出た場合どうすべきか、ということ想定した準備が進められた。幸いなことに準備のみで終わった。我々が関係した被ばく医療対象患者は、事故の大きさから予想したよりも少ない人数であったと考えられた。

今回起きた事態は、マニュアルの想定を遥かに超えたものであり、その都度自分なりの判断をせざるをえない状況であった。マニュアルを策定していたことはプラスであったが、内容は現状とは乖離していたし、体制を作ってもオフサイトセンター、福島県災害対策本部などとの相互の連絡が取りにくいのが、問題点であった。

一方、福島県外からの報道の情報では、「安全」と「安心」という言葉の使い方大きな差があり、一部では「放射線恐怖症」と思えるような反応も感じられた。特に、マスコミとインターネットの対応は、過剰反応とっていいのではないかと思われた。

このような中、学会関係者、私に関係している放射線学会、核医学会、放射線腫瘍学会、等の関係者との情報連絡は、非常に助かった。関係学会は、いち早く、ホームページで正確な情報を流し

てくれたが、検索をかけると、危ないとあおるサイトがたくさんできて、見つけにくくなる傾向があった。また、「専門家」と称する人達が急に増えた。それまでは放射線被ばくを議論できる人は日本には数えるほどしかいないと思っていたが、その人達よりも急に出現した専門家が幅をきかせたような気がした。

それよりも、気になったことは、情報を正確に理解する知識を備えていないことである。医学生は勿論、医師、医療関係者、の多くも同様であった。中学、高校の理科教育で放射線を学習していないようであるし、教えられても、覚えていない状態であった。医学生に放射線科の講義をするが、放射線の基礎がわからないのに、画像の解釈だけを知ろうとする学生が多いことにはがっかりしている。

医療従事者として、感じたこととして、マニュアルはたとえ不十分でも作っておくことが必要と思う。訓練も重要で、さらに想定がしっかりしておれば、と反省している。

情報の伝達に関しては、非常時の情報伝達経路を確保することは勿論必要ですが、情報がなくとも、現場での判断ができるように、連絡がないことを有効な手立てができなかった言い訳にはならない。現場の判断が最も重要だと今回は思いしらされた。ただし、後から、調査委員会と称する機関から、判断が間違っていたのでは、と言われることが気になるが。

よく言われていることではあるが、原発事故災害で必要なのは、関係各所の協力と連携、連絡体制、交通手段、とライフラインの確保と言ったことが重要とまとめられる。

これからの問題点として、県民の健康調査があげられ、大きな予算がついた。これと同時に、原発の作業は不安定な形でこれから30年は続く。現場での事故に備える緊急被ばく医療体制、県民の被ばく汚染を評価していくことが、福島県立医科大学に求められていると受け止めている。県内の医療体制の再構築と更なる医療レベルの向上、それにもまして、優秀な卒業生を輩出し、福島県内の医師不足を改善することも最重要課題であると

思っている。

33年前の震災からの教訓を生かして一免震構造によって守られた大学

高柳元明¹、吉村祐一²、安藤隆一郎³、小島修樹⁴（¹東北薬科大学学長、²同 分子薬化学准教授、³同 実験動物センター教授、⁴同 実験動物センター）

今回の東日本大震災における本学の被害状況を報告するにあたっては、初めに33年前の1978年のいわゆる宮城県沖地震について触れなければならない。本学ではこの宮城県沖地震（M7.4、震度5、死者16人、重軽傷者10119名、家屋の全半壊が4385戸）に遭遇した際、2つの研究室から化学薬品の落下等による火災が発生し、消防車が構内に入るなど、当時の金額で約2億円という大きな被害をだしている。以後、その時の教訓を生かし、全学での消防訓練の実施、化学薬品など危険物の管理徹底と自主点検、また、設備機器、書棚、家具類等の固定化などの個別的な地震対策も行い、それらの細かい対策は、今回の震災では十分にその効果が発揮されたと考えられた。一方、キャンパスの老朽化に伴い、平成14年より新キャンパス建設計画を開始し、校舎建設をすすめるにあたっては、災害に強い、とくに30年～40年周期で発生するといわれている宮城県沖地震の再来を強く意識して、地震に強い校舎の建設を基本方針の一つとした。そして、特に研究室がある10階と6階からなるツインタワーの教育研究棟には免震構造を採用した。3種類の免震装置計84台が教育研究棟を支える仕組みとなっている。その結果、今回の大震災では建物の損壊はなく、実験設備・機器等の損害も全くなかった。あの巨大地震の際に、実験台から実験器具が全く落下しなかったことには、その効果に驚くとともに、大きな喜びとなった。本学キャンパスのライフラインの断絶状況は、停電3日間、断水11日間、ガス供給停止が最大34日間に及んだ。停電に対しては自家発電装置が働き、断水に対しては、大学内の受水槽に上水180トン、中水180トンが蓄えられ、節水しながら水の供給が可能であった。しかし、ガスの長期に亘

では震災後大きな混乱もなく復旧への行動に移ることができた最大の要因であったと考えている。

3.11 東日本大震災における東北大学動物実験施設の被害と対応

笠井憲雪（東北大学大学院医学系研究科附属動物実験施設）

3.11 東日本大震災から早くも1年が過ぎた。震度6強の揺れに、震央に近い東北大学は人命も含め大きな被害を受けた。建物や設備等の被害総額は800億円とも言われている。全学にある約70カ所の実験動物の飼養保管施設も動物の死亡を含め、その被害は甚大であった。しかし、事前に地震対策が取られていた当動物施設は、直接の動物被害としては比較的軽微であったが、問題は震災後の電気や水道、ガス等のインフラの停止であった。当施設の2カ所（中央棟5200m²と臨床分室1000m²）の飼育施設の被害とその対応について、報告し、1年を迎えて今後の震災対策を考えたい。

3月11日午後2時46分震災直後の揺れが収まった後、施設職員は他職員及び施設で実験中の研究者学生へ、早急に建物外へ脱出するよう各階の飼育室実験室へ呼びかけ、その後安否確認を行った。幸い負傷者等はいなかった。翌日、自動給水装置の不具合からマウス80匹ほどの死亡が確認された。マウスやラットの飼育装置の転倒は臨時に使用していた簡易飼育棚2台のみであり、他の約240台は室内での多少の移動はあったが転倒しなかった。イヌやブタ等の飼育装置及び動物の被害はなかった。このように地震による動物の直接被害は軽微であったが、これは最近10年以上にわたる飼育装置の耐震補強の結果である。大震災も「備えあれば憂いなし」と実感した。一方、実験機材や手術器材は転倒や落下により大きな被害を受けた。

震災直後に停止したインフラのうち、電気と水道は翌日午前には復旧したが、津波被害によりガスの復旧には2か月を要すると報道された。当施設



は隣接する大学病院とともにパワーセンターからガスにより作られた蒸気の配給をうけ、暖房とオートクレーブ滅菌に使用しているため、暖房はもとより器材等の滅菌ができなくなった。そこでSPF動物を守るために飼育室のケージ交換は停止し、入室を制限した。しかし3月17日にはガス停止の長期化を見越してマウス・ラットの3割削減を研究者に要請し、22日までにマウス24000匹中7100匹、ラット2000匹中720匹の処分を実施した。ところが、25日にはガスも復旧しケージの滅菌は可能となった。2ヶ月のガス停止予想が2週間で復旧した訳で、災害時の状況の見通しの難しさを知った。

市民生活用の電気水ガスは長期に停止し、食料、ガソリン等の入手が困難になったため、業務の遂行には施設職員35名の生活維持に、多方面からいただいた食料等の支援物資で、2週間にわたって施設職員への昼食及び一部朝夕食の炊き出しを行った。他に研究機関や企業等から滅菌床敷きや生活支援物資等、多くのご援助をいただいた。更には教職員や学生のボランティアはエレベーターの停止した医学部3号館12階にある臨床分室へ、階段で床敷きや動物の飲料水を運搬してくれた。この様に学内外の皆様のご支援で、動物実験施設は3月28日には復旧宣言をすることができた。この場をお借りして感謝申し上げます。

シンポジウム 34 プログラム委員会企画シンポジウム 聴皮質研究の最前線

オーガナイザー：佐藤 悠 (山梨大・生理)
古川 茂人 (NTT・CS 基礎研)

聴皮質研究に関するシンポジウムは、研究者数が少ないためか、非常に少ない。しかし最近10年ほどの聴皮質研究の進歩はめざましいものがある。すなわち、視覚と同様に聴皮質においても音の性質 (what) と音源 (where) を扱う情報の流れがあり、それぞれ独立して階層 (hierarchy) 構造により音情報処理をおこなう、その情報処理機構は学習 (learning) により変化する。本シンポジウムでは hierarchy, where, what, learning の若手研究者が、それぞれの分野での研究の現状の最前線を講演した。4つの講演から共通して得られる示唆は、聴覚皮質の情報処理を本質的に解明するためには、神経回路のダイナミックな特性と神経活動の多面性に対するアプローチが必須であるといえるだろう。会場の参加者の間では、個別の講演に対してのみならず、聴覚皮質の役割・機能全般について活発な議論が行われた。

1. 聴皮質の皮質間連絡と視床皮質間連絡

木村晃久 (和歌山県立医大・医・生理)

最近の話題 (2つ) を踏まえ、聴覚システムの大脳皮質領域間連絡と視床-大脳皮質連絡に関する研究知見をまとめる。

サルの大脳皮質では、音の where と what の情報要素が2つの stream で処理され、皮質前頭前野 (PFC) に収束すると考えられている。この stream がラットの大脳皮質に存在することを示す。ラットの皮質2次聴覚野, posterodorsal area (PD) と ventral area (VA) は、内側膝状体背側核 (MGD) から高い周波数と低い周波数の音入力を受ける。PD は、注意と運動制御に関与する後頭頂皮質 (PPC) と上丘に投射する。PPC は PFC に投射する。PD は、音源定位に適した高い周波数の音入力では where を処理し、PFC に至る聴覚 stream を構成する。VA は、島皮質に投射して聴覚領域 (IA) を構成する。IA は、痛覚を制御する

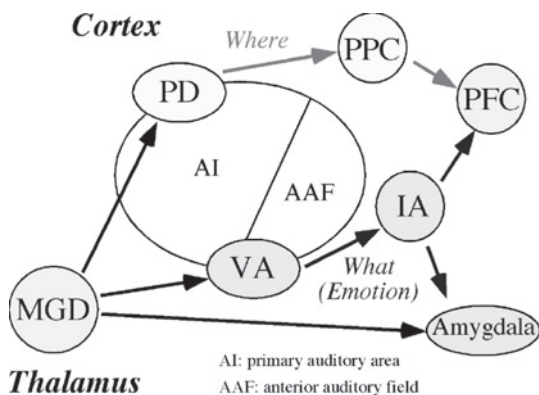
PFC の外側部、情動に関与する扁桃核、内臓感覚を処理する視床核に投射する。VA と IA は、自律神経機能にも関与して、音の情動, what を処理し、PFC に至る stream を構成する。

異種感覚が大脳皮質一次感覚野で干渉することが判明し、感覚情報処理の階層性を見直す必要が求められている。大脳皮質と視床が構成するループ回路と、その情報伝達を制御する視床網様核 (TRN) が異種感覚の干渉に関与する可能性を仮定し、ループ回路と大脳皮質の聴覚 stream の関係を検討する。皮質1次、2次聴覚野は、TRN への投射を介して、内側膝状体の音情報処理を特異的に制御 (利得の調節と周波数情報の選択) する解剖学的構造がある。更に、TRN は異種感覚の干渉に関与する。TRN の聴覚領域には、音情報がトノトピーに基づいて入力する領域と、その辺縁に、視覚、体性感覚、内臓感覚を処理する皮質領域 (2次視覚野, 2次体性感覚野, 島皮質) と視床核 (外側膝状体, 腹側基底核など) から異種感覚が入力する領域が存在する。また、視覚、体性感覚の刺激は、TRN 細胞の音反応を修飾する。聴覚以外の情報が、TRN を介して、内側膝状体の音情報処理と皮質への情報伝達を制御する可能性がある。この制御は、1次聴覚野を含む皮質聴覚野における異種感覚の干渉に関与すると思われる。

ラットの大脳皮質には2つの聴覚情報処理 stream が存在し (図), stream は、視床と構成するループ回路から、聴覚以外の情報を取り込む神経機構が存在する。

文献:

- A. Kimura Neuroscience 117 (2003) 1003-1016
- A. Kimura Neuroscience 128 (2004) 399-419
- A. Kimura Neuroscience 135 (2005) 1325-1342
- A. Kimura Neuroscience 166 (2010) 1140-1157
- A. Kimura J. Comp. Neurol. 520 (2012) 1457-1480



2. 聴皮質における空間表現

古川茂人 (NTT・CS 基礎研)

対象物の空間的位置を正常に知覚するためには、聴覚皮質は必須である。しかし、皮質において音源位置がどのように表現されているかは明らかになっていない。トポグラフィカルな表現（音源の空間的位置が、皮質上の神経興奮の位置としてマップされる）は、直感的にわかりやすい。実際、視覚皮質・触覚皮質や、脳幹のマルチモーダルな神経核（上丘）では、トポグラフィカルな表現が確認されている。しかし、聴覚皮質については、その証拠は見つかっていない。聴覚皮質神経の興奮量で評価した場合、その空間選択性は粗く、また最適方位の分布は不規則である。

本講演では、個々の聴覚皮質神経の時間的発火パターンが、音源方位に応じてある程度規則的に変化することを示した。これは、音源位置情報が、神経の興奮量ではなく、時間的興奮パターンによって表現されている可能性を示唆するものである [1]。情報理論的な解析では、100 程度の神経の時間的発火パターンは、空間知覚にかかわる行動実験のデータを説明するために十分な情報量を持っていることが示された [2]。

聴覚皮質は、複数のサブ領域から構成される。個別領域の可逆的不活性化実験により、音源定位行動にかかわる領域（“where” 領域）と音源認知にかかわる領域（“what” 領域）は、分離していることが示されている [3]。しかし、興味深いことに、“what” 領域においても、神経発火が伝達する

空間情報量は少ない [4]。これは、音源認知（“what”）のために、音源の位置（“where”）情報も利用されることを反映しているのかもしれない。

聴覚皮質神経にみられる前述のような特性（粗い方位選択性；空間マップの不存在；時間的発火パターンの重要性）は、脳幹の主要な聴覚神経核である下丘中心核にも同様にみられた。つまり、“主要”聴覚経路では一貫して、音源の空間情報が神経集団による時間的な符号によって表現されているといえるだろう。なお、この主要経路のほか、下丘中心核から分岐して下丘外側核を経て上丘に至る経路がある。上丘は、マルチモーダルな神経核であるが、聴覚の空間マップがここでは存在し、視覚・触覚の空間マップと重なっている。下丘から上丘に至る経路上で、聴覚独自のものから、他の感覚と共通のものへと空間情報の表現形態が変換されているといえるであろう。

1. Furukawa, S., J Neurophysiol 87, 1749-1762, 2002.
2. Furukawa, S., J Neurosci 20, 1216-1228, 2000.
3. Lomber, S. G., Nat Neurosci 11, 609-616, 2008.
4. Bizley, J. K., J Neurosci 29, 2064-2075, 2009.

3. クリック音の知覚判別に関する大脳一次聴覚野の神経機構

秦 嶺, 董 超, 佐藤 悠 (山梨大・医・生理)

聴覚とは空気の振動情報が音の性質として認知される過程である。ここではクリック音が繰り返し提示される場合の知覚 (what) を考える。繰り返し周波数 45Hz 以下のクリック音はそれぞれのクリックが独立して聞こえ、これ以上高い周波数の場合、連続する一つの音として聞こえる。この神経機序の解明のための生理学的研究が、麻酔下動物、覚醒状態で受動的に音刺激を聞く条件下で行われた。一次聴覚野の細胞は低周波数刺激の場合、個々のクリック音に同期して発火し、時間情報として繰り返し周波数が符号化され、一方、高周波数の場合、刺激期間に持続発火し、平均発火頻度として符号化されることが示された。しかし、実

験結果は麻酔、覚醒状態、音の聴取状態、種族差、動物の個体差などにより影響を受ける。行動中の同一動物から神経活動をとることにより、このような条件差をなくすことが望ましい。本研究では、ネコを 200Hz (報酬あり) と 12.5Hz (報酬なし) の繰り返し周波数を弁別するように go/no-go 行動訓練し、訓練終了後、繰り返し周波数 (12.5, 16.7, 25, 50, 100, 200Hz) の弁別行動中のネコの一次聴覚野からスパイク活動を記録し、弁別行動結果と神経活動とを同一動物で直接比較した。12.5Hz 刺激を go, 16.7-200Hz を no-go とする弁別行動正答率は、繰り返し周波数減少により減少した。この行動成績は持続発火神経細胞の発火頻度による神経弁別成績とよく一致した。しかし、刺激と同期発火する細胞による神経弁別成績はすべての刺激周波数で高く、行動成績と一致しなかった。本研究結果は、一次聴覚野の機能は時間情報と発火頻度情報の両方を使って刺激周波数情報を符号化することであり、本実験条件の場合、ネコは同期発火情報ではなく、発火頻度情報を読み出して行動したことが示唆される。今後、高次聴覚野の神経細胞で、多様な実験条件において、一次聴覚野の情報かどのように読み出されるのか調べる必要がある。

Dong et al. PloS ONE 6, e25895, 2011

4. 学習による聴皮質情報処理の可塑性

高橋宏知^{1,2} (1東京大・先端科学技術研究センター, 2JST さきがけ)

聴皮質の神経細胞は、特定の周波数情報に選択的に反応する。これらの周波数を最適周波数と呼ぶ。この最適周波数を計測点ごとに調べると、聴皮質内の周波数マップが得られる。また、この周波数マップは、学習や経験に依存して変化する。従来の研究では、聴皮質の周波数マップにおいて、主に最適周波数が注目されてきた。しかし実際には、最適周波数が等しくとも、受容野の特徴は互いに全く異なる。本研究では、機能マップとその可塑性において、神経応答の多様性を相互情報量で定量化した。

具体的には、音の報酬オペラント条件付けによ

り、学習の進捗に応じて、聴皮質の周波数マップがどのように変化するかを調べた [1]。条件付けでは、分別刺激の 20kHz の純音を提示しているときに、壁面の穴に鼻を入れるポーキング行動を示せば、報酬としてスクロース錠剤を一粒与えることで、ラットに音と報酬の関係を学習させた。生理実験では、未学習群、訓練日数 4 日の学習途上群、20 日以上学習成立群のラットの聴皮質を解析対象とし、周波数マップを各個体で調べた。

その結果、学習途上群の聴皮質では、未学習群よりも、純音に反応する面積が広がる傾向が認められた。逆に、学習成立群では、未学習群よりも、純音に反応する面積が縮んだ。

周波数コラムごとに、相互情報量のばらつきと聴皮質に占める面積との関係を調べたところ、未学習群、学習途上群、学習成立群を問わず、すべての条件群に共通して、正の相関関係が認められた。これは、周波数コラムの面積は、そのコラム内の神経応答の多様性を反映していることを裏付けている。すなわち、学習や環境に応じて、周波数コラムは、情報処理の機能単位として、必要に応じた神経細胞の多様性を獲得しており、その結果として、周波数マップは変化する。

さらに、First spike と高周波数帯域 (β , γ 帯域) の LFP の同期は、学習途上期に増加し、その後、学習成立期に学習前のレベルまで減少した。この結果から、神経活動の多様性が、情報表現に重要な役割を担っているとすれば、神経活動パターンの多様性を獲得するためには、二つの戦略が考えられる。第一には、これまで情報処理に参加していなかった細胞を参加させる戦略であり、第二には、個々の細胞が表現する情報の重複 (冗長性) を排除する戦略である。学習途上期の情報表現は、おそらく前者であり、脱抑制により多くの細胞を情報表現に参加させることで、神経活動パターンの多様性を獲得する。しかし、そのような情報表現は、冗長性を残し、非効率である。そこで、学習成立期には、そのような冗長性が排除され、少数の神経細胞が高効率に情報を表現していると考えられる。

このように、聴皮質では、機能マップの変化に

加えて、神経細胞群の同期の変化が、情報表現のための多様性を創出している。

1. Takahashi et al. (2011) Neurosci 199, 243-258

シンポジウム 36

作動中の膜機能分子の姿を動画で捉える—動画で見て、何を知りたいのか、知って何がわかるのか—

オーガナイザー：相馬 義郎（慶應義塾大・医・薬理）
老木 成稔（福井大・医・分子生理）

チャンネル、トランスポーターおよびポンプなどの膜機能分子の構造・機能についての理解は、この20年間に革新的な進歩を遂げたといえる。機能分子のアミノ酸配列からの2次構造予測と点変異導入を行なった機能アッセイの組み合わせによる構造機能相関の研究はもはや古典的アプローチとなりつつある。一方、結晶構造解析法、単粒子解析法および分光分析法などのめざましい進歩により、蛋白の構造情報が様々な空間・時間分解能で得ることが可能になってきた。現在、チャンネル、トランスポーターなどの膜機能分子の1分子レベルでの動作ダイナミクスについての理解は、最近の革新的な1分子測定技術の進歩に伴い、急速に進みつつある。本シンポジウムのタイトルにある「姿を動画で捉える」とは、機能分子の結晶構造を解くこと（いわば静止画）ではなく、実際に作動中の生体分子における機能発現のための構造変化の情報を、その変化を捉えるために必要な空間解像度とその作動サイクルに追跡するために必要な時間分解能を持って観察することを意味している。

本シンポジウムでは、所属学会、対象とする機能分子および測定・解析手法の違いにとらわれず、同じく生体機能分子の動作ダイナミクスの研究を革新的な新手法を用いて行っている第一線の研究者達が、各々の研究分野での最新の測定技術および知見の発表を行なった。そして、その姿を「動画」として捉えることで初めてわかる各機能分

子の作動ダイナミクスとその根本原理の追求が紹介された。

ABC トランスポーター CFTR チャンネルの ATP 加水分解駆動性ゲーティングの構造機能連関：静止画から動画へ

相馬義郎（慶應義塾大学医学部薬理学教室）

Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator (CFTR) は、バクテリアからヒトに至るまでよく保存された ATP 結合ドメイン (NBD) を保持する ABC 蛋白質スーパーファミリーに属している膜蛋白で、ファミリー内で唯一イオンチャンネルとして機能しているメンバーである [1]。白人種に高頻度に見られる致死性遺伝疾患 Cystic Fibrosis (CF) の原因遺伝子産物でもある CFTR チャンネルは、1989 年にクローニングされてから [1]、その作動メカニズムの研究が、電気生理学・生化学的手法により精力的に行われてきた。しかしながら、データが蓄積されればされるほどその解釈は混乱し、作動メカニズムの統合的理解からほど遠い状況が長く続いた。

今世紀初頭からの 10 年間に、バクテリアホモログを中心としていくつかの ABC トランスポーターの結晶構造が解かれ [2]、これらの「静止画」の構造情報により 2 つ NBD が 2 分子の ATP の結合に伴って二量体を形成することが明らかになると状況は一変した。この NBD 二量体仮説の適用により、それまでのデータの説明が可能となり、さらにこの NBD 二量体ゲーティングモデルのモンテカルロシミュレーションと ATP アナログを用いた精密シングルチャンネル電流測定を組み合わせ

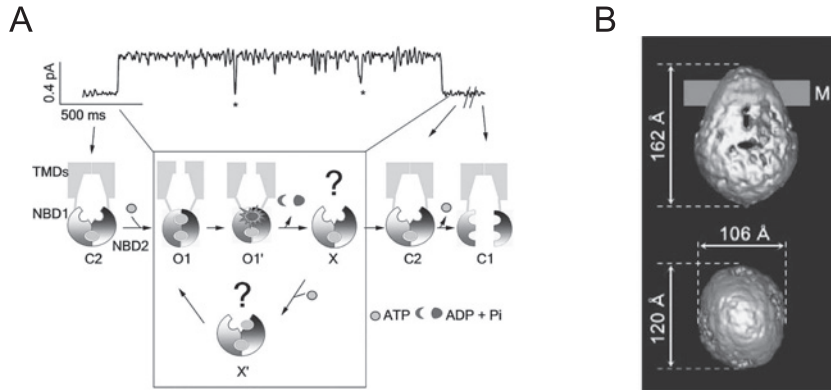


図1 CFTR チャンネルの (A) NBD 二量体ゲーティングモデル [3] および (B) 単粒子解析像 [4]

せることにより、その定量的理解すら可能となった [3]。このように、わずか数枚の「静止画」が CFTR 研究にブレークスルーをもたらした。では、その「動画」を得ることができれば何が起るのであろうか。

最近の我々のグループは金沢大学・安藤研との共同研究で高速分子間力顕微鏡を用いて、精製単離された CFTR 分子の姿を 300ms/frame の動画として捉えることに成功した。CFTR は、単粒子解析の結果 [4] と同じく二量体を形成しており、その細胞内ドメインは、高頻度の小さなゆらぎに加えて、低頻度の大きなゆらぎも見せた。この 1 分子動態の直接観察という新規の情報からは、今までの未解決問題に対する答えと共に、生体機能分子全体に共通した作動原理の新たなパラダイムが得られることが期待される。

1. Riordan et al. Science 245 : 1066-73, 1989.
2. Hollenstein et al. Curr Opin Struct Biol 17 : 412-18, 2007.
3. Jih et al. JGP 139 : 359-70, 2012.
4. Mio et al. JBC 283 : 30300-10, 2008.

回転分子モーター蛋白質 F₁-ATPase の化学・力学反応をつなぐ構造変化の観察

政池知子, 西坂崇之 (学習院大学理学部物理学科)

酵素の触媒部位における化学反応が蛋白質の構

造変化を引き起こし、機能を発揮するメカニズムを解明したい。我々はこの目標を実現するため分子モーター蛋白 F₁-ATPase を選び、光学顕微鏡下で中心軸の回転と触媒サブユニットの構造変化の 1 分子同時観察を行った。

F₀F₁-ATP 合成酵素はミトコンドリア内膜や細菌の原形質膜に存在し、生体内のエネルギー通貨とよばれるアデノシン三リン酸 (ATP) の合成反応を触媒する。この酵素の 3 つの触媒サブユニットは F₁ 部分に在り、ATP 加水分解反応 (ATPase 反応) も触媒することができるため、単離した F₁ 部分を F₁-ATPase と呼ぶ。F₁-ATPase の部分複合体 α₃β₃γ (以下 F₁ と呼ぶ) はこの酵素の最大の ATPase 活性を持つ最小単位である。

F₁ の回転と ATPase 反応の素過程の関係は、F₁ の中心軸 γ に結合した直径数十~数百 nm のコロイドやビーズの動き (Yasuda, R 1998, Shima-bukuro, K. 2003, Watanabe, R. 2010) と、それと同時に観察した蛍光性 ATP の結合・解離のタイミングから明らかにされてきた (Nishizaka, T. 2004)。まず触媒部位への ATP 結合と別の触媒部位からの ADP 解離をきっかけとする 80° 回転、次に ATP 開裂と無機リン酸 (P_i) 解離をきっかけとする 40° 回転が起こる (図 1)。この 2 つの回転サブステップから成る 120° ステップ 3 回で γ は 1 回転する。興味深いのは、1 つの触媒部位での ATPase 反応 1 サイクルは γ の 1 回転を経てやっ

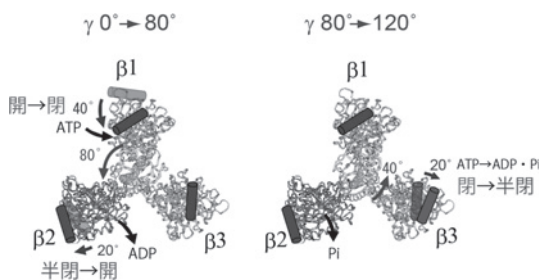


図1 F₁-ATPaseの回転を駆動する触媒サブユニットβの構造変化

(Masaïke, T. *et al. Nat. Struct. Mol. Biol.* 2008を改変, βの間のαは省略, 構造はPDB 1E79)

と完了する事である。

我々は化学反応と回転をつなぐ構造変化を調べるため、触媒サブユニットβのC末端ヘリックスに2箇所結合した蛍光分子1個の向きの変化を偏光変調全反射型顕微鏡により検出し、同時にビーズをプローブとしてγの回転も観察した(Masaïke, T. 2008)。その結果を元にしたモデルが図1である。空のβ1へのATP結合によりC末端ヘリックスが40°変化し(開→閉)、γが80°回転する。これと連動してβ2が20°変化して(半閉→開)ADPを放出する。その後β3でのATP開裂とβ2からのP_i解離をきっかけとしたγの40°回転により、閉じた形に押し込められていたβ3が解放され20°構造が戻る(閉→半閉)。このようにして、ATPase反応の進行に伴う3つのβの協同的な構造変化により中心軸の回転が生み出されるのである。

生理学分野で我々が次に目指すのは、本研究に用いた顕微鏡技術による基質・構造変化観察と単一チャンネル電流記録法を組み合わせる事である。この新しい実験系をチャンネル蛋白の作動機構解明の突破口としたい。

高速 AFM が捉えた機能中のタンパク質の分子映像

安藤敏夫 (金沢大学理工研究域数物科学系)

タンパク質の機能メカニズムを探る研究では、構造とダイナミクスの情報が重要である。しかし、

X線結晶構造解析や電子顕微鏡, NMRといった従来技術で得られる構造は詳細ではあるものの静的なスナップショットに限られる。一方、タンパク質のダイナミクスは蛍光分子などの光学プローブを介してしか分からず、タンパク質分子そのものは観察に現れない。すなわち、タンパク質分子の構造とダイナミクスを同時に観察する手法は存在せず、それ故、機能中に起こるタンパク質分子の動的な構造変化や機能メカニズムは、多くの観察や推測を通してコンセンサスを得るという仕方での解明が進められてきた。この技術的限界は、我々が開発した高速 AFM により最近克服された[1]。

水中で1秒間に100万回Z方向に振動するカンチレバー探針が基板に載ったタンパク質分子を叩き、XY方向各点での試料の高さ情報を計測し、その分子の形状を可視化する(図1参照)。その叩く力は高速なフィードバック制御により弱く一定に保たれるため、タンパク質の機能は乱されない。空間分解能はXY方向で2nm、Z方向で0.1nm程度、1画像を撮る時間は、条件にもよるが、通常50~100msである。

この新規顕微鏡により、光照射に応答するBacteriorhodopsin (bR) [2], Actin filament上を歩くMyosin V (図2) [3], 回転軸のないF₁-ATPaseの構造変化の回転[4]などが撮影された。例えば、

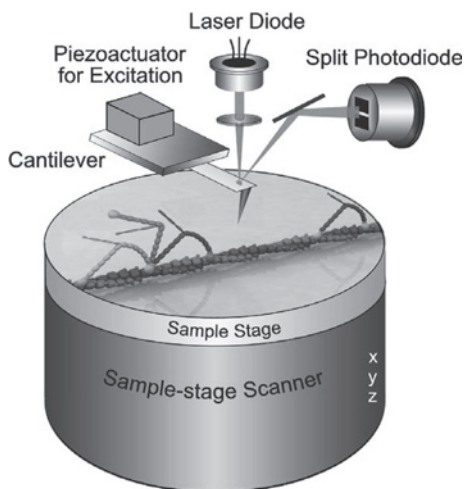


図1 AFM システム

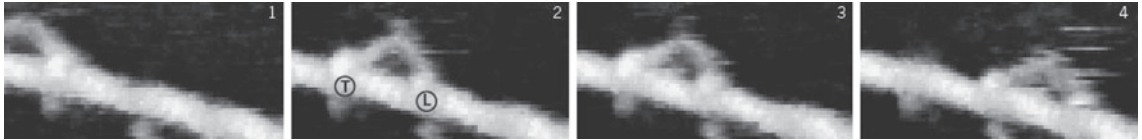


図2 歩行中の Myosin V を捉えた高速 AFM 像

bR3 量体が六方格子状に配置した紫膜の細胞質側では、各 bR 分子が光照射により 3 量体の中心から外側に 0.8nm 移動する。その結果、隣り合う 3 量体に属する最隣接 bR3 分子が互いに接触し、励起寿命について正負の協同性が同時に現れる。このような事実は他の手法で知ることは不可能であろう。今後益々この手法が多くタンパク質の機能メカニズムの解明に活用されるものと期待される。

1. T. Ando et al., *Prog. Surf. Sci.* **83** : 337-437 (2008).
2. M. Shibata et al., *Nature Nanotechnology* **5**, 208-212 (2010).
3. N. Kodera et al., *Nature* **468** : 72-76 (2010).
4. T. Uchihashi et al., *Science* **333**, 755-758 (2011).

KcsA チャンネルの pH 依存性ゲーティング：構造機能 1 分子測定

老木成稔（福井大学医学部・分子生理）

イオンチャンネル分子の生理機能の本質は選択的イオン透過とゲーティングである。それらの分子機構の研究は 1998 年の MacKinnon のグループによるカリウムチャンネル結晶構造の解明により新しい段階に入り、この 10 数年間のうちに著しい進歩を遂げた。イオン選択的透過やゲーティングという基本的なチャンネル機能がチャンネル蛋白質の立体構造とそのダイナミックな構造変化という言葉で説明が可能になりつつある。特に KcsA カリウムチャンネルは初めて結晶化されたチャンネル蛋白質であるというだけでなく、アミノ酸残基数 160 というコンパクトな構造とその構造安定性から様々な手法が適用され、チャンネルの中で最も理解の進んだものである。私達は KcsA チャンネルの pH 依存性ゲーティングというダイナミックな構造変化

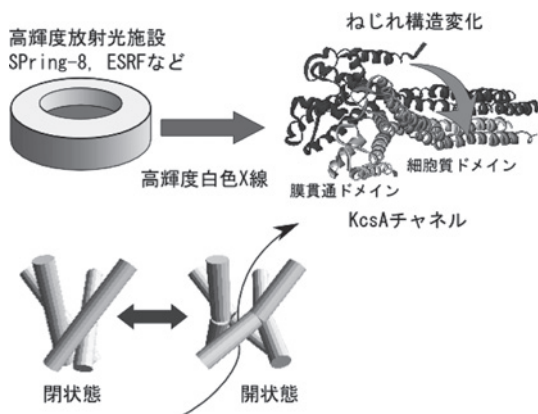
を伴う過程の分子機構を明らかにするために 1 分子測定法を適用した。チャンネル機能を明らかにするための脂質平面膜法による単一チャンネル電流記録とチャンネル蛋白質 1 分子の構造変化を捉える回折 X 線追跡法 (Diffracted X-ray tracking) である。

安定な脂質平面膜を形成し 1 分子の KcsA チャンネルを組み込み、数時間にわたる単一チャンネル電流を行った。その結果様々な未知のゲーティング現象を見出すことができた。また DXE 法では可溶化した KcsA チャンネルを基板に固定し、自由端に金ナノ結晶を結合し、白色 X 線照射により金ナノ結晶からの回折点を観察した。最近、サブミリ秒領域に及ぶ高時間分解能の方法を確立し、その結果 KcsA チャンネルのゲート閉閉に伴う分子の長軸方向のねじれと開口過程におけるねじれの向きを明らかにすることができた。

結晶構造は機能するチャンネルのある一面を捉えた静止像であり、機能の本質はダイナミック像にある。1 分子測定によりチャンネルが働くありのままの姿を捉え、そこに潜むチャンネルの原理を明らかにしたい。

Reference

- Iwamoto, M. et al. *J. Biol. Chem.* **281** : 28379-28386, 2006.
- Shimizu, H. et al. *Cell* **132** : 67-78, 2008.
- Iwamoto, M. & Oiki, S. *J. Neuroscience* **31** : 12180-12188, 2011.
- Oiki, S. et al. *Adv. Chem. Phys.* **146** : 147-193, 2012.
- Oiki, S. "Comprehensive Biophysics". E. Egelman Ed. Vol. 6, Channel Proteins, Academic Press, 31-67, 2012.



高輝度放射光施設の白色 X 線を溶液中の KcsA チャネルに照射し、結合ナノ金結晶からの回折像を高速記録する。一方、単一チャネル電流記録により詳細な pH 依存性キネティクスを解析する。

シンポジウム 38

感覚受容体の機能進化：異分野の研究の融合による総合的な理解を目指して

オーガナイザー：富永 真琴（岡崎総合バイオサイエンスセンター細胞生理部門）

動物は外界の様々な環境情報を感覚受容体によって感知し、それらの情報を統合して環境変化に適応している。そして、進化の過程で感覚受容体の機能や発現を変化させて環境変化に適応してきたと考えられる。感覚受容体の機能進化を明らかにするためには、注目する生物種の機能を様々な実験手法で調べる必要がある。一方、遺伝子の塩基配列やアミノ酸配列を分子進化学的手法で比較することにより感覚受容体遺伝子の変化を時間的な観点から理解することができる。近年、上記の様な異なる研究分野の手法を複合的に用いて、感覚受容体の進化を総合的に理解する研究が展開されてきている。生物は環境変化の中で最も効率的にその変化に適応するように感覚受容体を変化させてきたと考えられ、感覚受容の生理的意

義の本質を理解するために、感覚受容体の進化を研究することは重要である。本シンポジウムでは、異なる感覚受容体に焦点をあててその進化過程を研究する研究者の研究成果を聞き、生理学が目指す1つの方向性を探りたいと思ってシンポジウムを企画した。主に進化学会や遺伝学会に足場を置く研究者の感覚受容体進化の研究成果は新鮮であり、「進化」というこれまでの生理学に欠けていた側面の重要性を再認識させてくれた。今後もこのようなシンポジウムを継続することによって生理学の意味を追い求めていきたい。

1. 視覚オプシンの多様性の分子メカニズムと適応的意義

河村正二（東京大学大学院・新領域創成科学研究科・先端生命科学専攻）

ヒトは網膜に赤、緑、青とよばれる3種類の色覚用光センサー細胞（錐体視細胞）を持っている。

網膜上のある1点に光が当たるとそこにある3種類のセンサーはその光の波長構成に応じてそれぞれ違う大きさの出力をする。脳はその3種類の出力の比率に応じて色味の感覚を生じさせる。よって出力の種類が多いほど色の種類が多くなる。ヒトの色覚は3種類のセンサーに基づくため3色型色覚と呼ばれる。多くの哺乳類は2色型色覚である。一方、鳥類や爬虫類や魚類には4色型色覚が多く、ヒトの色覚が特別優れたものではないことがわかっている。浅瀬や森林のように明るさが不規則に絶え間なく変動する環境は色覚進化の重要な舞台となる。視細胞で産生される光センサーの分子実体は7回膜貫通タンパク質である視覚オプシンとレチナール吸光体からなる視物質である。我々は魚類と霊長類を中心に視覚オプシンのレパートリー、吸収スペクトル、遺伝子発現パターン及びメカニズム、集団内多様性、行動との関連などを調べている。

我々はゼブラフィッシュが8種類もの視覚オプシン遺伝子を持ち、それらを網膜の領域によって発現仕分けていることを明らかにした [1, 2]。水中では角度によって波長構成が大きく異なるため、見る角度によって色覚を変えていると考えられる。また、GFP等の生体蛍光マーカーを用いたトランスジェニック技術によりそれらの視覚オプシンの発現細胞特異性や網膜発現領域特異性を規定するシス領域を明らかにしつつある [3]。

霊長類の中でヒトと中南米に生息する新世界ザル類は色覚に大きな多様性を持つ点で特徴的である。我々はコスタリカでオマキザルとクモザルを対象に視覚オプシン遺伝子の集団内多様性と採食行動との関連を調査した。その結果、視覚オプシン遺伝子の多様性は自然選択により維持されていることを明らかにする一方で [4]、3色型色覚はカモフラージュ昆虫の採食では2色型色覚に劣り、果実採食でも優越しているわけではないことを明らかにした [5]。多様な色覚が共存することに意味があるのかもしれない、カモフラージュした獲物を狩る狩猟採集者として約200万年間を過ごしたヒトの祖先において色覚多様性が重要な役割を演じていた可能性を今後追及していきたい。また、

霊長類の他の感覚センサーの集団内多様性にも研究を広げ、感覚進化を総合的に理解していきたい。

1. Chinen A et al : Genetics 163, 663-675 (2003)
2. Takechi M et al : J Exp Biol 208, 1337-1345 (2005)
3. Tsujimura T et al : PLoS Genet 6, e1001245 (2010)
4. Hiwatashi T et al : Mol Biol Evol 27, 453-464 (2010)
5. Hiramatsu C et al : PLoS ONE 3, e3356 (2008)

2. ショウジョウバエの食性と匂い物質結合蛋白質の進化

松尾隆嗣 (東京大学大学院・農学生命科学研究科・生産・環境生物学専攻)

キイロショウジョウバエの近縁種セイシェルショウジョウバエ (*D. sechellia*) はその名のとおりセイシェル諸島の固有種で、現地ではヤエヤマアオキ (*Morinda citrifolia* : タヒチアン・ノニの通称で知られる) の果実のみを繁殖場所にしている。一方キイロショウジョウバエはヤエヤマアオキの果実には寄り付かない。ヤエヤマアオキの実には広く昆虫一般に対して毒性を示すオクタン酸が含まれている。セイシェルショウジョウバエはオクタン酸に耐性があり、かつオクタン酸を含む培地に好んで産卵する。この産卵行動の違いをもたらし原因遺伝子として、匂い物質結合蛋白質 (odorant-binding protein : OBP) をコードする二つの遺伝子 *Obp57d* と *Obp57e* を同定した。OBPは、昆虫の化学感覚毛で発現している一群の可溶性タンパク質である。一般に匂い分子や苦味物質は水に溶けにくいものが多く、そのままでは受容体に到達することができない。OBPは疎水性分子に結合することによりその受容を促進している。われわれが同定した *Obp57d* と *Obp57e* は脚に生えている味覚感覚毛で発現していることが分かった。キイロショウジョウバエの *Obp57d* 及び *Obp57e* 遺伝子ノックアウト系統を作成し、オクタン酸を含む培地と含まない培地の間で産卵場所選択実験を行ったところ、高濃度のオクタン酸を含む培地を選ぶようになった。この結果は、*Obp57d*

と *Obp57e* がオクタン酸の味を受容して忌避するために機能していることを示している。

キイロショウジョウバエ種群に属する他の種で *Obp57d/e* 遺伝子座のゲノム配列を調べてみたところ、多くの種に *Obp57d* と *Obp57e* 遺伝子が存在することが分かった。これらの種のほとんどは野外でヤエヤマアオキと遭遇することはない。そのため、*Obp57d* と *Obp57e* はもともとオクタン酸とは別の物質を受容するために進化してきたのではないかと考えられる。この可能性を探るため、大腸菌により組み換え OBP57d および OBP57e を合成し、その結合特性を *in vitro* で調べた。するとこれらの OBP はオクタン酸よりも炭素鎖の長い、トリデカン酸にもっともよく結合した。トリデカン酸に対するキイロショウジョウバエの反応を産卵場所選択実験により調べたところ、実際にトリデカン酸を含む培地には産卵しないことが分かった。トリデカン酸は自然界ではまれな脂肪酸であるが、昆虫病原菌を含む一部の細菌の代謝中間産物として存在することが知られている。*Obp57d* と *Obp57e* 遺伝子は本来、危険な病原菌の目印としてトリデカン酸を受容するために進化してきたもので、ヤエヤマアオキの忌避における機能は二次的なものである可能性がある。

3. 霊長類味覚受容体の進化

今井啓雄 (京都大学霊長類研究所・分子生理部門・遺伝子情報分野・ポストゲノム科学分科)

味覚は、それぞれの動物が生息する環境の中で適応進化してきたと考えられる。甘味・うま味などは糖質やアミノ酸などの栄養素を検出する一方、苦味は毒物・薬物などの生理活性の高い植物性二次代謝物等を検出し、忌避する手段として用いられる。脊椎動物においては、これらの味覚はそれぞれ TAS1R と TAS2R という受容体群によって担われている。ヒトを含む霊長類は特に TAS2R 遺伝子群を重複させ、約 30 種類の受容体により 1000 種類以上の苦味物質を検出し、それぞれ特異的な生息環境に適応して特異的な食物を選択していると考えられている。我々は、この進化の過程で受容体にどのような変異が起こり、その

結果、生理反応と関連する味覚や採食行動にどのような表現型が生じたのかを研究してきた。

受容体によって生じる表現型の多様性は、遺伝子の突然変異によって生じ、それが機能的適応とあいまって集団内に固定し、個体差や種間差として表現されると考えられる。我々は、ニホンザルにおいて人工苦味物質 PTC やかんきつ類に含まれるリモニンを受容する TAS2R38 の地域特異的変異を発見した [1]。また、同様の変異はチンパンジーでも地域特異的に広がっていることが示唆された [2]。ヒトでもこの遺伝子の変異は完全には固定されていないで個体差・地域差があることから、TAS2R38 については比較的最近になって遺伝子の変異が様々な動物種で起こり、進化の途上であることが示唆された。

霊長類の中でもニホンザルは、ヤナギ等の樹皮を冬季に採食することが報告されている。ヤナギの樹皮には苦味物質サリシンが含まれ、古くは鎮痛剤として利用されていたが、あまりの苦さにアスピリンなどの類縁体が開発された経緯が知られている。ニホンザルが樹皮を食べる行動は志賀高原や上高地などの厳冬地で観察されているが、サルが苦味を感じないかどうかは、霊長類学者の間でも疑問に思われていた。我々は、培養細胞系を用いた受容体の機能解析により、様々な霊長類由来の TAS2R16 の機能を検討した結果、ニホンザルを含むマカク類でのみ、サリシンに対する感受性が低下していることを発見した [3]。また、この機能変化はサリシンの結合部位の一部を構成する 3 番目の膜貫通領域に存在する Glu86 のマカク型 (Thr) への変異 (E86T) により生じていることが分かった。これらのことから、マカク類で特異的に生じたアミノ酸変異により苦味受容体の感度低下が起こり、採食活動にも影響を与えることが示唆された。

苦味は一般に忌避感覚であるが、進化の過程では苦味感受性の変化で他の動物が食べられないものを摂食できる場合や、薬効性のあるものを摂取することができる例も生じることを示した。このような変化は受容体の一部の変異により簡単に実現され、ヒトを含む霊長類でも現実に起こってい

る。

1. Suzuki N. et al. : Primates 51, 285-289 (2010)
2. Sugawara T. et al. : Mol. Biol. Evol. 28, 921-931 (2011)
3. Imai H. et al. : Biol. Letters in press (2012)

4. 脊椎動物の温度感受性 TRP チャンネルの機能進化：ニシツメガエル (*Xenopus tropicalis*) の TRPV1 と TRPA1 のクローニングおよび機能解析

齋藤 茂, 大北真嗣, 福田直美, 太田利男, 富永真琴 (岡崎統合バイオサイエンスセンター生理学研究所細胞生理研究部門)

我々は高温の物体や、刺激性の化学物質に触れると痛みを感じ、手を離すなどの忌避行動を取る。痛みは組織を損傷させる侵害刺激を感知するための感覚であり、哺乳類では侵害性の温度や刺激性の化学物質の受容体は TRP チャンネルファミリーに含まれる TRPV1 および TRPA1 である。TRP チャンネルのなかには進化の過程で機能を柔軟に変化させ、生物種間で機能が異なっているものも知られている [1, 2]。本研究では哺乳類とは系統的に離れた両生類であるニシツメガエルの TRPV1 および TRPA1 の機能解析を行い、脊椎動物における機能の進化過程を推定した。

ニシツメガエル TRPV1 は哺乳類のものと同様にカプサイシンにより活性化されたが、その感受性は著しく低かった。カプサイシン感受性の種間差には2つのアミノ酸置換が関わっていた。また、ニシツメガエル TRPV1 は38°C 以上の高温により活性化され、哺乳類 TRPV1 と同様に侵害性の熱刺激の受容に関わることを明らかにした [3]。

一方、ニシツメガエル TRPA1 は哺乳類 TRPA1

のアゴニストにより活性化されたことから刺激性の化学物質の感受性は保存されていることが示された。哺乳類では TRPA1 は低温により活性化されることが報告されている (温度感受性がないという報告もある)。ニシツメガエル TRPA1 は低温では活性化されず、40°C 以上の高温刺激により活性化された。また、感覚神経である後根神経節細胞において TRPA1 と TRPV1 は機能的に共発現していた。ニシツメガエルに温度刺激を与えた場合に約 38°C 以上の温度刺激により逃避行動が生じることから TRPV1 と TRPA1 の両者が侵害性の高温刺激の受容に関わることを明らかとなった。

TRPA1 はショウジョウバエ、ヘビでも高温や刺激性の化学物質で活性化されることから、これらの特性は動物の初期の進化過程で獲得されたことが分っていたが、本研究のニシツメガエル TRPA1 の機能解析により脊椎動物の祖先種においても高温や刺激性の化学物質の感受性が維持されていたことが新たに明らかとなった。一方、TRPV1 遺伝子は脊椎動物の祖先種において遺伝子重複により生成され [1, 4]、高温刺激の感受性を獲得し、更に TRPA1 と共発現するようになり共に高温受容の生理機能を担うようになったと考えられる。

1. Saito S. et al. : PLoS Genetics 7, e1002041 (2011)
2. 齋藤 茂, 比較生理生化学 28, 259-266, (2011)
3. Ohkita M. et al. : The J. Biol. Chem. 287, 2388-2397 (2012)
4. Saito S. et al. : Physiol. Genomics 27, 219-230 (2006)