

発達脳科学専攻



平成16年度

修了論文公開発表会 学生研究発表会

日時：平成17年3月7日(月)13時 ~

場所：医学研究科・臨床大講堂

北海道大学
脳科学研究教育センター

発達脳科学専攻学生研究発表会スケジュール

日 時：平成17年3月7日(月) 13時～
場 所：医学研究科 臨床大講堂

第1部 修了論文審査公開発表会【修士課程：発表時間：1人15分(質疑応答5分) 計20分】
司会：

発表時間	研究科 学年	氏名・学生番号 指導教員	論文題目	審査委員	所属	備考
1 13:00- 13:15	医学 M2年	こばやし けいこ 小林 慶子 42033010	時計遺伝子発現のリアルタイムモニタリング；位相反応曲線による細胞間リズム同調の解析	主査	本間 研一	医学
		副査		吉岡 充弘 金城 政孝 —	医学 電子研	
2 13:20- 13:35	医学 M2年	しばやま あきこ 柴山 明子 42033014	発達期の注意機能に関する神経薬理学的研究	主査	吉岡 充弘	医学
		副査		大熊 康修 渡邊 雅彦 —	薬学 医学	
3 13:40- 13:55	医学 M2年	たはら かずえ 田原 和恵 42033018	ストレス応答機構におけるセロトニン作動性神経の役割	主査	吉岡 充弘	医学
		副査		大熊 康修 神谷 温之 —	薬学 医学	
4 14:00- 14:15	医学 M2年	ひらた りき 平田 力 42033026	ラット海馬シナプス機能におよぼすストレスの影響	主査	吉岡 充弘	医学
		副査		大熊 康修 神谷 温之 —	薬学 医学	
5 14:20- 14:35	医学 M2年	みうら えりこ 三浦 会里子 42033029	マウス脳におけるプレセレリンファミリーの発現と局在	主査	渡邊 雅彦	医学
		副査		神谷 温之 松岡 一郎 —	医学 薬学	
6 14:40- 14:55	工学 M2年	たかはし ひでゆき 高橋 英之 25033146	他者を理解する心の実験的検証と計算論的モデル化の試み	主査	大森 隆司	情報
		副査		室橋 春光 上田 雅信 山内康一郎	教育 言語 情報	
7 15:00- 15:15	工学 M2年	かんだ さとし 神田 聡 25033126	音楽の連続呈示による聴覚誘発MEG 応答	主査	栗城 眞也	電子研
		副査		阿部 純一 吉岡 充弘 —	文学 医学	
15:20	終了予定					

(休憩 10 分間)

第2部 研究発表会【発表時間：1人10分(質疑応答5分) 計15分】
司会：

発表時間	研究科 学年	氏名	指導教員	発表題目	備考
1 15:30- 15:40	教育 M1年	まさ たかゆき 牧 孝幸	室橋 春光	主観的左右判断に関わる身体方向操作の影響	
2 15:45- 15:55	教育 D2年	きむら もとひろ 木村 元洋	室橋 春光	視覚性変化検出を反映する事象関連脳電位(ERP)成分に関する研究	
3 16:00- 16:10	医学 D2年	いとう こうき 伊藤 侯輝	小山 司	統合失調症の胎生期神経発達障害仮説に関する実験的検討	
4 16:15- 16:25	教育 D2年	いだき ちえこ 井瀧 千恵子	森谷 梨	青年期女性の身体運動による情動の最適化に関する研究	
16:30	終了予定				

修了論文内容の要旨

大学院医学研究科 医科学専攻
修士課程2年 小林 慶子
(主任指導：本間研一 教授)

時計遺伝子発現のリアルタイムモニタリング； 位相反応曲線による細胞間リズム同調の解析

【目的】哺乳動物の生物時計は視床下部視交叉上核 (SCN) に局在し、細胞内で複数の時計遺伝子の転写調節フィードバックループにより、約 24 時間の自律振動サーカディアンリズムを発振すると考えられている。最近、SCN 以外の末梢細胞においても、サーカディアンリズムを発振する末梢時計機構の存在が明らかとなり、中枢時計との関係が注目されている。一方、株化された培養末梢細胞は、高濃度血清等の刺激でサーカディアンリズムを発現することが知られており、末梢時計の優れたモデルとなっている。しかし、培養末梢細胞におけるリズム発振のメカニズムは不明である。本研究の目的は、時計遺伝子 *Bmal1* の発現をホタルルシフェラーゼレポーターの導入により、培養細胞で連続測定する系を確立し、末梢時計の発振メカニズムを明らかにすることである。

【方法】マウス *Bmal1*(*mBmal1*) のプロモーター約 8.1 kbp を pGL3 basic vector に組み込み、ホタルルシフェラーゼ (LUC) による *Bmal1* 発現の reporter vector (Bp/8096-LUC) を作成して、Rat-1 線維芽細胞株に導入し、一過性発現株および安定発現株を作成した。*Bmal1*-LUC 一過性発現細胞株では、デジタル冷却 CCD カメラを用いて、単一細胞における時計遺伝子発現のサーカディアンリズムの有無を検討した。*Bmal1-luc* 安定発現株では、連続測光装置クロノスを用いて、細胞群における時計遺伝子発現の位相反応を測定した。予備実験として、*Bmal1*-LUC のレポーターとしての有用性を、mRNA の発現リズムとの相関をみることで検討した。また、ウマ血清 (HS)、Dexamethasone (Dex)、Forskolin、PMA により発現する発光リズムの位相や振幅の検討を行い、位相反応曲線作成のためのサーカディアン発現試薬を選定した。位相反応曲線の作成には、発光リズムの第 2 頂値から第 3 頂値にかけて 4 時間毎に Dex または溶媒 (蒸留水) で 2 時間のパルス与え、パルス終了前サーカディアンリズムから予想される頂値とパルス後に実測した頂値との差を位相反応として用いた。

【結果】レポーター蛋白と時計遺伝子の発現を発光量と mRNA 発現量で検討したところ、発光量と mRNA 量との間には *Bmal1* で正の相関が、*Per1*、*Per2* では負の相関が認められた。単一細胞における *Bmal1* 発現には、1~3 サイクルのサーカディアンリズムが確認された。しかし、発光リズムの位相は個々の細胞で異なっており、同一ディッシュ内の 10 細胞の発光量を積算したところ、サーカディアンリズムは不明瞭となった。サーカディアンリズム発現試薬の検討では、培地交換のみでもリズムが発現したが、検討した 4 種の試薬中では Dex によるリズムが最も安定していた。Dex により発現する発光リズムの位相は、投与時間及び投与量に依存して変化した。位相反応曲線に用いる Dex の濃度を 100 nM、作用時間を 2 時間として、*mBmal1* の Dex による位相反応性を検討した。Dex により発現したリズムの頂値を CT18 として、6 位相で Dex パルスまたは溶媒パルスを行ったところ、CT18 (頂値位相) のパルスで最大の位相前進が見られ、CT14 (最低値位相) のパルスで最大の位相後退が見られた。位相反応は位相前進、後退ともに 8-10 時間に達し、0 型の位相反応曲線が得られた。一方、溶媒のみを投与した対照実験でも同様の 0 型の位相反応が認められた。しかし、パルスにより変位したリズムの振幅強度は Dex パルスで有意に大きかった。

【考察】 *Bmal1* 遺伝子の発光リズムと *Bmal1* mRNA の発現リズムには良好な相関関係が認められたことから、今回用いた生物発光レポーターは有用であると考えられた。単一細胞において遺伝子発現にサーカディアンリズムが認められたが、個々の細胞に見られるリズム位相は必ずしも同一ではなく、細胞集団でのリズムは不明瞭となった。このことから、細胞群での発現リズムは、脱同調していた個々の細胞のリズムが刺激により再同調したことで、見かけ上消失していたリズムが顕在化した可能性が考えられた。また、リズム発現試薬を検討したところ、4 種の試薬の中では Dex による発現リズムが高振幅で安定していたが、培地交換のみでもサーカディアンリズムが発現することが判明した。単一細胞においてサーカディアンリズムが認められたこと、細胞集団における 0 型の位相反応曲線が得られたことから、Dex などによるサーカディアンリズムの発現は、新しいサーカディアン振動の発振ではなく、既に振動しているサーカディアンリズムの細胞間再同調であることが強く示唆された。培養細胞において、Dex などの刺激によりサーカディアンリズムの位相が変化する分子機構は不明であるが、薬物刺激で *Per* 遺伝子の発現が先行することから、何らかの機序により *Per* 遺伝子発現が誘導されて転写調節フィードバックループの動態が変化し、リズムに位相変位が生じると考えられた。また、中枢時計が末梢時計を支配する機序は不明であったが、今回の Rat-1 線維芽細胞培養系を用いたサーカディアンリズムの発現とその機序の検討結果から、中枢振動体が末梢振動体を支配する機序として、個々の細胞で同調することなく振動しているサーカディアンリズムを細胞間で再同調させ、さらに組織としてリズムを顕在化させることが考えられた。

修了論文内容の要旨

大学院医学研究科 医科学専攻
修士課程2年 柴山明子
(主任指導：吉岡充弘 教授)

発達期の注意機能に関する神経薬理学的研究

注意欠陥／多動性障害 (Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder : AD/HD) は主に幼児期から学童期の児童の 3~5%に認められ、不注意、多動性、衝動性を中核症状とし、ときに認知機能障害を伴う、軽度発達障害として位置づけられる精神疾患である。さらに、AD/HD の有病率には性差が認められ、男児に高いとの報告がある。この AD/HD は、神経生物学的な障害を基盤としており、前頭葉から基底核における神経ネットワークの障害、特に dopamine (DA)神経系を中心とした神経系の発達障害が想定されている。しかしながら、AD/HD の病態・病因については、依然として不明な点が多いのが現状である。一方、当研究室において継代繁殖されている脳卒中易発症高血圧自然発症ラット (stroke-prone spontaneously hypertensive rats : SHRSP/Ezo) は、高血圧発症前の幼若期において、不注意行動、多動、衝動性という AD/HD 様の症候を示し、特に不注意症状は雄に優勢的に認められ、より妥当性の高い AD/HD の動物モデルとして提唱されている。そこで本研究では、まず、5-選択反応時間課題 (5-choice serial reaction time task : 5-CSRT task) を用いたラットの注意機能評価系の確立を第一の目的とした。さらに注意機能の発現や実行との関連性があると考えられる脳血行動態について、AD/HD の症候モデルである幼若 SHRSP を用いて神経薬理学的に追究し、発達期の注意機能に関わる脳内機構および AD/HD の病因・病態を解明することを目的として研究を行った。

注意機能を評価するための妥当性の高い行動課題としての 5-CSRT task を新たに導入し、適切なプロトコルの確立を第一の目的として検討を行なった。5-CSRT task の訓練試行の条件設定について検討した結果、標的提示時間を徐々に短縮すること、課題実行中に装置内の室内灯を点灯すること、誤・無反応に対する弁別刺激を与えることによって、より適切な実験プロトコルを確立することができた。次に注意や学習・記憶を含めた認知機能において acetylcholine (ACh)神経系が重要な役割を果たしていることから、ACh 受容体作動薬・拮抗薬を用いて本実験プロトコルの薬理的検証を行った。Wistar/ST において、ムスカリン性 ACh 受容体拮抗薬 scopolamine は注意機能障害を惹起し、ニコチン性 ACh (nACh) 受容体作動薬 nicotine は注意機能を増強した。これらの結果は既報告と一致し、本研究にて導入した注意機能評価系として 5-CSRT task の薬理的な妥当性を示すものである。

Wistar/ST および Wistar/Kyoto (WKY)の成熟ラットを用いた検討において、5-CSRT task の獲得過程に差を認めたことから、本課題を用いることによって、系統間の注意機能の相違を評価できると判断した。そこで、AD/HD の動物モデルである SHRSP と遺伝的対照動物である WKY を用いて、幼若期から本課題の訓練を施行した。その結果、5-CSRT task において SHRSP は、衝動性を反映した注意機能障害と考えられる行動変容を示した。薬理的検討において、AD/HD の治療薬として使用されている methylphenidate は、SHRSP の注意機能障害を改善した。また、治療効果が報告されている nicotine は、SHRSP の注意機能障害を改善しなかったが、 $\alpha 4\beta 2$ nACh 受容体に対する選択的作動薬 RJR-2403 では改善する傾向が示された。これらのことから、SHRSP の注意機能障害には、DA 作動性神経系および $\alpha 4\beta 2$ nACh 受容体を介する ACh 神経系

の関与が示唆された。

AD/HD の病因・病態を注意機能の発現や実行との関連性があると考えられる脳血行動態の観点から明らかにするために、AD/HD モデル幼若 SHRSP の局所脳血流量について検討を行なった。幼若 SHRSP における皮質前頭前野の脳局所血流量は、雄において著しい低下が認められ、AD/HD 患者の所見と一致するものであった。このことから、幼若雄性 SHRSP は、AD/HD 様の行動異常を示すだけでなく、病態生理学的にも局所脳血流量の低下を示し、より妥当性の高い AD/HD モデルであることが示唆された。

幼若 SHRSP の注意機能障害を有意に改善することが報告されている methylphenidate は、SHRSP における皮質前頭前野の局所血流量に影響を与えなかった。methylphenidate は、局所血流量の変化を伴うことなく SHRSP の注意機能障害を改善すると考えられる。一方、nicotine および $\alpha 4\beta 2$ nACh 受容体作動薬 RJR-2403 は皮質前頭前野の局所血流量を増加させた。nicotine および RJR-2403 は、幼若 SHRSP の注意機能障害（Y 字迷路課題）を改善する報告があることから、nicotine による注意機能障害の改善は、皮質前頭前野における nACh 受容体 $\alpha 4\beta 2$ サブユニットを介した局所血流量の改善作用によるものであることが示唆される。

以上、本研究によって、5-CSRT task を用いた注意機能評価系が確立されたとともに、この task を用いて注意機能に関する詳細な脳内機構を解析することが可能となった。AD/HD モデルである SHRSP は、既に報告されている Y 字迷路課題だけでなく 5-CSRT task においても注意機能障害を惹起していることが明らかとなり、この注意機能障害は衝動的側面を示すという新たな知見を得ることができた。AD/HD は、不注意優勢型、多動性－衝動性優勢型や他の精神疾患を合併する症例など、様々な病態像を呈することが知られている。幼若 SHRSP が示す行動変容は、AD/HD の如何なる症候と関連するのかについて行動薬理学的検証が必要である。このことは、AD/HD に認められる様々な病態像を理解する上で有用であり、病態に応じた治療薬の選択を可能にするかもしれない。一方、幼若雄性 SHRSP は、皮質前頭前野において局所血流量が低下していたことから、病態生理学的にもより妥当性の高い AD/HD モデルであることが示唆された。さらに、SHRSP の皮質前頭前野では、主に nACh 受容体を介した脳血流調節系の障害が起こっていることが示唆された。換言すれば、ACh 神経系の機能不全は、AD/HD の病因である可能性があり、SHRSP を用いた基礎研究から臨床へ提言できる知見であると考えられる。

修了論文内容の要旨

大学院医学研究科 医科学専攻
修士課程2年 田原和恵
(主任指導：吉岡充弘 教授)

ストレス応答機構におけるセロトニン作動性神経の役割

ストレスは侵襲的刺激に対する生体機構の「ゆがみ」と捉えられている。生体はこの「ゆがみ」を矯正し、恒常性を維持するため、さまざまなストレス応答機構を有している。過度の、あるいは長期間にわたる情動ストレス曝露は、ストレスに対する適応反応の破綻や機能不全を招来し、抑うつ、不安障害などのストレス関連性精神疾患の誘因となる可能性が指摘されている。ストレス応答システムの脳内メカニズムを追究することは、これらの病態の発症機序解明や治療につながることで期待される。

セロトニン(5-hydroxytryptamine:5-HT)は、脳内におけるストレス応答機構の調節的役割を担っていると考えられている神経伝達物質である。5-HT作動性神経は縫線核を起始核とし、脳内広範囲に放射状に投射していることが知られている。記憶、情動に不可欠な部位である海馬には、正中縫線核(median raphe nucleus:MRN)から5-HT作動性神経が高密度に分布している。縫線核の5-HT含有細胞および樹状突起には、抑制性自己受容体である5-HT_{1A}受容体が存在し、5-HT神経発火ならびに5-HTの合成、代謝、遊離を調節している。また海馬、皮質などの5-HT神経投射部位ではシナプス後細胞に存在し、抑うつ、不安などの情動ストレス調節に関与していると考えられている。しかしながら、5-HT神経系がいかなる機序によりストレス応答機構の調節的役割を担っているかについては未だ一定の見解は得られていない。

本研究は情動神経回路を構成している海馬5-HT神経ならびにその主要な起始核であるMRNに焦点を当て、不安を指標とした情動ストレス応答機構に関与する5-HTの調節的役割を解明することを試みた。この目的のため、化学的あるいは電氣的に内因性5-HT神経を強制的に擾乱し、情動ストレスに対する応答性を行動、電気生理ならびに神経化学的手法を用い、多角的に検討した。

行動学的応答性を検討するため、無条件恐怖に対する不安評価法として妥当性の高い、高架式十字迷路法(elevated plus maze test:EPM)を用いた。この方法は動物が生まれながらに持っている“高さ”に対する恐怖・不安をストレスとして負荷し、その際open armへの進入頻度ならびに滞在時間によって不安状態を定量化する方法である。その結果、MRN電気刺激(MRN stimulation)群ではopen armへの進入頻度ならびに滞在時間が対照群(control)に比べ有意に低下し、MRN電気破壊(MRN lesion)群では増加した。すなわちMRN stimulationにより不安惹起作用が生じ、逆にMRN lesionにより不安水準の低下が認められた。この結果は、5-HT neurotoxin である

5,7-hydroxytryptamine (5,7-DHT)を用いた 5-HT 神経破壊ラットの行動学的応答性と一致した。

一方、海馬シナプス可塑性すなわち長期増強 (long-term potentiation : LTP) は情動ストレスや抗うつ薬、抗不安薬投与によって影響を受けることが知られている。従ってストレス性関連精神疾患と海馬シナプス可塑性との間には密接な関連性があることが推察されている。今回、5-HT 神経擾乱による海馬シナプス応答性を電気生理学的側面から追究した結果、MRN stimulation により海馬 CA1 領域の LTP 形成は抑制され、MRN lesion ならびに 5,7-DHT 前処置により LTP 形成は亢進した。すなわち MRN 電気刺激により生じた内因性 5-HT は、LTP 形成に対し抑制的に作用していることが示唆された。MRN stimulation 群で生じた不安惹起行動と LTP 形成抑制反応、あるいは MRN lesion 群および 5-HT neurotoxin 前処置群でみられた低不安様行動と LTP 形成増強との関連性から考察すると、情動ストレス応答機構における海馬シナプス応答性は重要な意味をもっていることが推察された。

LTPは、記憶・学習の電気生理学的基盤と考えられており、グルタミン酸作動性神経が重要な役割を担っていることが知られている。脳内微小透析法を用いた神経化学的検討により、海馬CA1 領域の細胞外液中グルタミン酸濃度は高頻度 (tetanus) 刺激により増加した。このグルタミン酸濃度増加反応はMRN stimulationにより抑制され、MRN lesionにより増強した。これはMRN の刺激あるいは破壊によるLTP形成反応の神経化学的变化を反映したものと考えられる。MRN stimulationによるグルタミン酸遊離の抑制反応は、高用量の 5-HT_{1A}受容体拮抗薬WAY 100635 前処置により回復する傾向がみられた。また 5-HT_{1A}受容体作動薬tandospironeの局所投与により、tetanus刺激によるグルタミン酸遊離反応が抑制された。これらの結果よりMRN stimulationにより生じた内因性 5-HTは、一部 5-HT_{1A}受容体を介しグルタミン酸遊離を抑制していることが示唆された。

以上の結果より、MRN—海馬 5-HT作動性神経は不安、恐怖などの情動ストレス応答調節機構の中心的役割を担っていることが示唆された。すなわちMRN stimulationによる 5-HT神経活動の亢進は不安様行動を引き起こし、MRN lesionによる 5-HT神経の破壊は抗不安様行動を示すことが明らかになった。MRN—5-HT神経による不安を指標とした情動ストレス応答機構は、海馬CA1 領野のシナプス可塑的变化と密接な関連性があること、またこの変化は 5-HT_{1A}受容体を介したグルタミン酸作動性神経活動を反映している可能性が推察された。

修了論文内容の要旨

大学院医学研究科 医科学専攻
修士課程 2年 平田 力
(主任指導：吉岡充弘 教授)

ラット海馬シナプス機能におよぼすストレスの影響

海馬は、人間の思考過程に重要な役割を担う脳部位であり、そこで観測されるシナプスの可塑的变化である長期増強 (long-term potentiation: LTP) あるいは長期抑制 (long-term depression: LTD) 現象は、学習や記憶に関連した電気生理学的現象と考えられている。近年、ストレスが海馬神経細胞の形態変化を引き起こすこと、このようなストレスの影響は発達期から老年期まで広い時期において認められることが明らかになった。このことは、ストレスによる学習・記憶行動変化の原因の一つとされ、海馬シナプス可塑的变化との関連性が推測されている。しかしながら、海馬シナプス伝達におよぼす情動ストレスの影響を直接的に検証した報告は少なく、両者の関連性には不明の点が多い。

本研究は、ストレス関連疾患の病態を海馬シナプス可塑性から追究することを目的とし、情動ストレスによるラット海馬 CA1 野のシナプス伝達応答性変化を指標として検討した。以下の点に焦点をあて実験を遂行した。①覚醒下における海馬 CA1 野シナプスの刺激応答性を麻酔下と比較検証する。②条件恐怖ストレスおよび無条件恐怖ストレス負荷による海馬シナプス応答変化を明らかにする。③幼若期ストレスが成長後の海馬シナプス伝達に与える影響を電気生理学的に検討する。

海馬 CA1 野シナプスにおいて、麻酔下では 100Hz および 400Hz の高頻度刺激(テタヌス刺激)によって刺激頻度依存的に LTP 形成が認められた、これに対して覚醒下では、刺激頻度依存性の LTP 形成はみられず、400Hz のテタヌス刺激では逆に一過性のシナプス伝達抑制を生じた。LTP 形成は、麻酔下、覚醒下ともに、テタヌス刺激前に低頻度刺激(Low frequency stimulation: LFS)を行うことで抑制された。これらの実験結果から、覚醒下における LTP 形成の評価には刺激頻度として 100Hz が適当であること、一方、LFS 後の LTP 形成抑制については、麻酔下においても覚醒下と同様に認められたことから、麻酔下における評価が可能であると判断された。

海馬シナプス伝達に対する情動ストレスの影響を、条件恐怖あるいは無条件恐怖ストレス負荷時の海馬 CA1 野シナプスにおける誘発電位変化を指標として覚醒条件下に検討した。条件恐怖ストレス負荷試験として文脈的恐怖条件付けストレス(Contextual fear conditioning: CFC)試験を、無条件恐怖ストレス負荷試験として高所恐怖ストレス(Elevated platform stress: EPS)試験を用いた。CFC 試験において、海馬 CA1 野シナプスの誘発集合電位(Population spike amplitude: PSA)は、足蹠電撃ショック(Footshock: FS)負荷 24 時間後に行った再曝露の直後には抑制されたが、時間と共に再曝露前のレベルに戻る傾向を示した。この海馬シナプス応答は、再曝露 15~30 分後にはすみ行動が減少するという行動応答と一致するものであった。また、ESP 試験においても海馬 CA1 野シナプスの PSA 抑制はみられたが、CFC 試験における再曝露時とは異なり、Home cage に戻した後も PSA の抑制が持続的に観察された。さらに、条件恐怖あるいは無条件恐怖ストレスはテタヌス刺激による LTP 形成を抑制した。このような情動ストレス負荷中の PSA の減少および負荷後の LTP 形成の抑制は、LFS によるシナプス応答の変化と一致するものであった。

次に、幼若期におけるストレスが情動表出に関わる脳機能発達に与える影響を、ス

トレス応答における性差と臨界期の観点から明らかにするために、雌雄ラット幼若期の異なった時期のFS負荷が、成熟後の海馬シナプス伝達にどのように影響を与えるかについて、麻酔条件下に電気生理学的検討を行った。雌雄ともに、テタヌス刺激60分後にほぼ同程度のLTPが形成されること、ならびにLFSによってLTP形成が著明に抑制されることから、高頻度刺激に対する応答性に関しては明らかな性差は認められなかった。しかし、LFSによって雄性ラットではPSAが軽度に抑制されるのに対して、雌性ラットではPSAの一過性の増加がみられることから、低頻度刺激に対する応答性には性差が存在する可能性が示唆された。一方、幼若期ストレスは成長後(10~14週齢時)の情動ストレスに対する海馬シナプス応答性を変化させ、これに関しても性差が認められた。すなわち、成長後の情動ストレスによるLTP形成抑制は、2週齢時にFS負荷した雄性ラット群では認められず、生後2週と3週の間には臨界期が存在することが明らかになった。これに対して、2週齢時FS負荷雄性ラット群と同様の海馬シナプス応答の異常は、雌性ラットでは2週齢時FS群ではなく3週齢時FS群に認められた。これらの事実は、情動ストレス応答に関わる脳内システムの発達には性差が存在することを示唆している。

本研究結果は、情動ストレスが海馬 CA1 野における PSA を低下させ、LTP 形成を抑制することによって、情動表出を調節している可能性を示唆している。今後、幼若期ストレス負荷時期と成長後の情動ストレス応答性変化との関連性を、情動回路を構成する他の脳部位についても明らかにすることによって、抑うつや心的外傷後ストレス障害(posttraumatic stress disorder: PTSD)を含めたストレス関連疾患の発現機構およびその背景としての幼若期ストレスの影響を検証していきたいと考えている。

修了論文内容の要旨

大学院医学研究科 医科学専攻
修士課程2年 三浦会里子
(主任指導：渡邊雅彦 教授)

マウス脳におけるプレセレベリンファミリーの発現と局在

セレベリン (cerebellin) は小脳に豊富な 16 アミノ酸からなる神経ペプチドとして同定され、プレセレベリン 1 (Cbln1) はこの前駆体となる蛋白分子である。遺伝子ノックアウトマウスの表現型解析から、Cbln1 は小脳における平行線維・プルキンエ細胞シナプスの形成に重要な役割を果たしていることがごく最近明らかとなった。現在までに 4 種類の Cbln 分子が同定されている。このうち、Cbln3 は小脳顆粒細胞に選択的に発現していることが転写レベルで明らかにされているが、その他のサブタイプも含め脳内遺伝子発現と分子局在については不明な点が多い。またセレベリンに対する抗体を用いた研究から、セレベリンは小脳プルキンエ細胞に選択的と報告されたが、異種複合体を形成することが知られる Cbln1 と Cbln3 がなぜ異なるニューロンに発現しているのかなど、矛盾点も残されている。さらに、Cbln ファミリーが果たして神経ペプチドとして機能しているのかどうかについても、未解決の問題として残されている。そこで本研究では、胎生期から成熟期までのマウス脳における Cbln ファミリーの遺伝子発現分布の全体像を明らかにし、特異抗体の作成による Cbln 分子の細胞内局在の解明を目的として研究を行った。

in situ hybridization により 4 つのサブタイプの異なる空間的発現様式が明らかとなった。Cbln1 mRNA は胎生期から成熟期に至るまで小脳顆粒層に強い発現を示し、一部の視床核や嗅球僧帽細胞層にも弱い発現が観察された。プルキンエ細胞における Cbln1 mRNA の発現は観察されなかった。Cbln2 mRNA は胎生期から成熟期まで、大脳皮質、嗅球、視床、中脳 (下丘) など、広範囲な脳領域において発現が認められた。Cbln3 mRNA は一貫して小脳顆粒層に選択的で、その発現は生後第 2 週に開始した。Cbln4 mRNA は胎生期から成熟期まで、一部の視床核と嗅球僧帽細胞層に選択的な発現が認められた。興味深いことに、いずれのサブタイプもシナプス回路が成熟する生後第 2 週に発現レベルのピークを示すという共通点が観察された。さらに、特異抗体の得られた Cbln3 に対して免疫組織化学的解析を行ったところ、陽性反応は、成熟マウスの小脳顆粒細胞の細胞体・樹状突起・軸索 (平行線維) の内部に小型球形の反応物として存在していた。さらに、平行線維・プルキンエ細胞シナプスのシナプス間隙とプルキンエ細胞の樹状突起内部にも陽性反応が観察された。

以上の結果は、Cbln ファミリーの脳内遺伝子発現がそれぞれ異なる空間的調節と、シナプス回路成熟期に発現が亢進するという共通した時間的調節を受けていることを示している。特に、Cbln1 と Cbln3 が小脳顆粒細胞に強く共発現していることから、両者の分子複合体が平行線維・プルキンエ細胞シナプスの形成と成熟を制御しているものと考えられる。さらに、顆粒細胞樹状突起における Cbln3 の分布は、この分子ファミリーの細胞内存在様式が軸索に輸送され終末から放出される従来の神経ペプチドのそれとは大きく異なっていることを物語っている。一方、Cbln3 の転写活性を持たないプルキンエ細胞のシナプス間隙や樹状突起内の局在は、この分子ファミリーが経ニューロンのもしくは経シナプ的に顆粒細胞からプルキンエ細胞へ輸送される可能性を示している。

修了論文内容の要旨

大学院工学研究科 システム情報工学専攻

修士課程2年 高橋英之

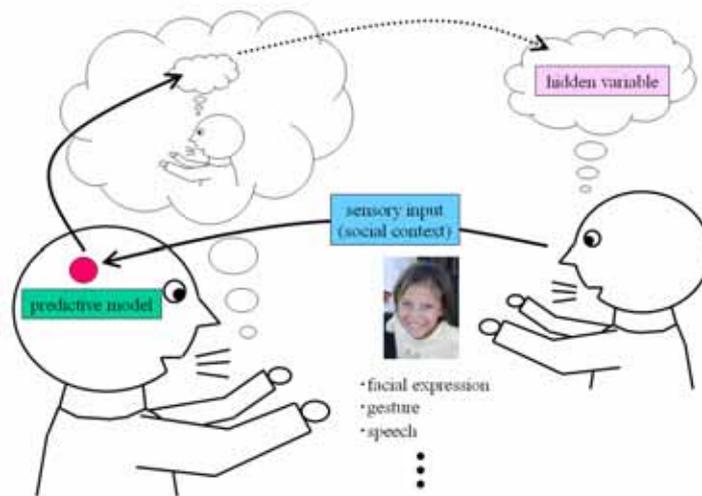
(主任指導：大森隆司 教授)

他者を理解する心の実験的検証と計算論的モデル化の試み

「他者を理解する」という能力は、我々人間が日常的に使っているものである。ここでいう「他者を理解する」ということは、他者が自分と同じような意図や目的、感情などの心的な状態を持っていることを理解し、他者が現在どのような心的な状態なのかを推定することを意味している。読心術という言葉もあるが、「他者を理解する」という能力はそんな大仰な訓練などして獲得するものではなく、成長と共に私たちの大部分はその能力を当たり前のように手に入れることが出来る。あまりにも当たり前すぎて、そのような能力が何か特別なものであるという意識を持って暮らしている人はあまりいない。しかし例えばロボットに「他者の心を理解する」という能力を持たすとしたらどのようなアルゴリズムをロボットの知能に組み込んだら良いのか？この問いに明確な答えることは非常に難しい。

脳のイメージングの研究の発達で様々な認知活動を行っている人間の脳活動が調べられるようになった。その結果、「他者を理解する」という能力には、他の認知とは異なる脳の活動が関わっていることが分かってきた。また自閉症という発達障害が、「他者を理解する」能力を育む能力の障害であり、その原因が先天的な脳の障害であると考えられるようになり、ますます人間が「他者を理解する」ことをどのように実現しているのかを、脳科学のレベル知る重要性が増してきた。

本研究では「他者を理解する心」というものがどのように実現されているのか？、この疑問の計算論的な視点からの解明を目指して行動や生理指標、シミュレーションを組み合わせた三つの実験を行った。この三つの実験の考察と共に「他者を理解する心」の実現がどこまで他の認知能力共有しているものであり、またどこが特有なのかをこの論文では考えた。



以下、簡単に行った実験について述べる。

実験Ⅰ

この実験は人間がどのように他者の内的な状態を推定しているのかを調べることを目的に実験を行った。具体的には直接には非観測な戦略を持つ対戦相手とゲームを行うホッケーゲームを課題として実験を行った。課題を行っている人間の行動を分析し、この課題における人間の行動学習過程が、対戦相手の行動モデルによる隠れ変数の推定と強化学習という枠組みで大まかに説明可能なことをシミュレーションによって示した。

実験Ⅱ

この実験は人間がどのように他者の内的な状態を操作しているのかを調べることを目的に実験を行った。具体的には繰り返しゲームを用いて、「欺き行動」と定義した長期報酬予測が必要なゲームにおける行動戦略を人間の被験者がどのように獲得するかを分析し、パイロット的な段階ではあるが課題学習中の脳活動を計測した。その結果、人間のこのゲームの行動学習には段階性があることが示唆され、モデルベース強化学習の枠組みでその学習を説明した。

実験Ⅲ

人間は対戦型のテレビゲームをプレイする過程で自らの行動獲得と共に、どのように対戦相手の心を感じるようになるのか、それを検証するために行っているパイロット的な実験について簡単に述べた。自らの行動決定過程を付加しやすい対戦相手に対して、ゲームを学習するにつれて人間は人間らしさを感じることを示唆された。これは人間が他者の理解に自らの行動決定過程を利用していることを示唆する結果である。

実験Ⅰと実験Ⅱは人間が他者を理解するプロセスの他の行動決定過程との共通性を、実験Ⅲは他者を理解するプロセスの他の行動決定過程からの特異性を明らかにするために実験を行った。

実験風景



修了論文内容の要旨

大学院工学研究科 システム情報工学専攻

修士課程 2年 神田 聡

(主任指導：栗城真也 教授)

楽音の連続呈示による聴覚誘発 MEG 応答

はじめに

音楽は人にどのように理解されているのだろうか。耳から聴取した音を音楽として認知するために、脳はどのような処理を行っているのだろうか。音楽を刺激として用いた際の脳活動は、これまで様々な手法で検討されているが、音楽のような複雑で時間的な変化の激しい刺激に対する脳活動を観察することは難しい。そこで、音楽の中から単純な要素を抜き出して、それを刺激とした際の脳活動を観察することが重要であると考えられる。高調波成分を持つ楽音（楽器音）は、最も小さな音楽要素と考えられる。本研究は、楽音に対する脳活動の時空間分布を特定することを目的である。その手法として、時空間分解能に優れ、楽音のような複雑で時間的に変化する刺激に対する脳活動を探るのに適した MEG を用いた。

実験方法

7歳までにピアノのレッスンを受け始め、現在も楽器訓練を続けている10名の楽器経験者と、音楽的な訓練経験のない10名の非経験者の20名の右利き男性が被験者として実験に参加した。刺激にはピアノ音色の単音と長三和音を用い、同一音を5つ連続して一試行の刺激とした。脳磁界の計測は Neuromag 社製 204 チャンネル全頭型 SQUID 磁束計を用いた。刺激音のオンセットに同期して加算平均を行った。実験後、1-20Hz のバンドパスフィルタおよび 0.5-1Hz の2種類のフィルタを用いて応答波形を抽出し、刺激音の呈示前 500ms 間における磁界の平均値をベースラインとした。応答波形の強度の評価のために左右側頭のそれぞれ 26 チャンネルの RMS 値を計算した。MEG 活動源は単一等価電流双極子法を用いて推定した。

結果と考察

1-20Hz のフィルタを用いた応答波形において、聴覚誘発応答 P2m が顕著に観察された。P2m の RMS 振幅は楽器経験者において、非経験者よりも有意に大きかった。本研究では刺激に倍音成分を多く含むピアノ音を用いているため、P2m 応答は倍音構造に則った周波数成分の処理に関与しており、楽器経験者は訓練によって複雑な周波数構造に対する知覚能力が高まったのではないかと考えられる。P2m は連続呈示によって減衰効果を示した。連続提示による P2m の減衰効果は楽器経験者において非経験者より小さく、楽器経験者における和音に対する P2m は単音より減衰効果が小さかった。楽器経験者は楽器訓練を長期間行うことによって連続する音刺激、特に和音に持続的な注意が起こると考えられる。連続する刺激に対する P2m は経験者の持続的な注意を受けたため、二音目以降の馴化が少なくなったと推察される。P2m の信号源はシルビウス裂の上側頭面と上側頭溝の間に観察されたことから、P2m 応答は上側頭面と上側頭溝の2箇所活動によるものと考えられる。0.5-1Hz のバンドパスフィルタを用いて抽出した低周波成分は、楽器経験者において和音聴取時が単音聴取時に比べて有意に大きいという結果が得られた。低周波成分は和音の処理に関わっており、経験者においては和音と単音の差が明確に現れるのではないかと推察される。

研究発表内容の要旨

大学院教育学研究科 教育学専攻
修士課程1年 牧 孝 幸
(主任指導：室橋 春光 教授)

主観的左右判断に関わる身体方向操作の影響

空間情報は自己中心、環境中心などいくつかの異なる座標系からなる空間参照枠に基づいて表現されている。半側空間無視患者における認知神経心理学的研究では、身体方向の操作や前庭器を含む自己受容器への刺激によって、自己中心参照枠の中心である主観的身体中心 (subjective midline) の錯誤が調節され、無視症状の改善がなされることが示されている。健常者における研究で、身体方向の操作が主観的身体中心を示すポインティング動作に系統的なずれ(偏位)を生じさせることが確認されている。したがって、この操作は無視患者で観察されるような左右空間のバイアスを生じさせると考えられてきた。しかしながら、ポインティングのような方向性を備えた運動を伴った課題では、身体方向操作が運動表象、視覚表象のいずれに影響を及ぼしたのかという点に関して不明瞭なままである。今回の発表では、身体方向の操作によって生じる自己中心参照枠の変化が、運動を伴わない主観的な左右判断、主観的身体中心にどのような影響を与えるのかについての検討を行なった。

課題は暗室条件下で、頭部を固定し、身体方向を右か左に 15° に向けた状態(右条件、左条件)あるいは身体方向を変化させない状態(正対条件)で、頭部正対面の様々な位置に呈示された垂直線が左右どちらかを判断することとした。

左右判断の指標となる右判断率に関する身体方向及び、刺激提示位置に関して2要因の分散分析を行なった結果、身体方向の主効果および刺激提示位置の主効果が有意であった。右条件では正対条件よりも右判断率が減少し、左条件では右判断率が増加した。これは右への身体方向操作が、身体軸を右に偏位させ、同様に左への身体方向操作が身体軸を左へと偏位させたためと考えられる。各身体方向における右判断率50%の位置を主観的等価点(Point of Subjective Equality, PSE)として算出した。PSEは主観的身体中心を反映する指標である。PSEについても、右判断率の結果と同様に、身体方向に準拠した主観的身体中心の偏位が観察された。

以上の結果から、身体方向の操作によって主観的身体中心が操作方向へ偏位し、主観的な左右判断において操作方向へのバイアスが生じることが示された。これは、運動を伴わない視覚表象に対しても身体方向操作による影響があることを示している。本研究から、視覚表象における身体方向操作の影響が確認され、身体方向の操作による視覚表象のずれが半側空間無視患者の無視症状の改善に関与することが示唆された。

研究発表内容の要旨

大学院教育学研究科 教育学専攻
博士後期課程2学年 木村元洋
(主任指導：室橋 春光 教授)

視覚性変化検出を反映する事象関連脳電位 (ERP) 成分に関する研究

外的環境に生じた変件事象の検出は、ヒトが外界と適応的に関わる上で重要な認知機能の一つである。この変化検出の脳内メカニズムを明らかにするため、これまでに事象関連脳電位 (event-related brain potential; ERP) を指標とした多くの研究が行われてきた。これらの ERP 研究は、主に聴覚モダリティに関するものが多く、聴覚性変化検出を反映する ERP 成分として刺激呈示後約 100-200 ms に前頭部中心の頭皮上分布を有して出現する聴覚性ミスマッチ陰性電位 (auditory mismatch negativity; aMMN) (e.g., Näätänen, Gaillard, & Mantysalo, 1978), 及び 250-350 ms 付近で中心部優位に出現する N2b-P3a 複合波 (e.g., Sams, Paavilainen, Alho, & Näätänen, 1985) が報告されてきた。aMMN は、現時点で呈示された刺激と、その刺激に先行して呈示された刺激の記憶痕跡 (memory trace) との間のミスマッチの前注意的検出を反映し、一方 N2b-P3a 複合波は前注意的に検出されたミスマッチ情報に対する注意のシフトに関係することが知られている。

一方、もう一つの重要な感覚モダリティである視覚に関しては、N2b-P3a 複合波の報告は多数あるものの、聴覚モダリティにおける aMMN に相当した、前注意的な変化検出を反映する頑健な ERP 成分に関する報告は数少ない。これまで、いくつかの研究が視覚モダリティにおける aMMN 様の陰性電位 (visual mismatch negativity; vMMN) を報告している (e.g., Czigler, Balázs, & Winkler, 2002)。一方、近年我々は、N2-P3b 複合波に先行する成分として、刺激呈示後約 100-200 ms に出現する初期陽性成分 (change-related positive difference; CRPD) を報告した (Kimura, Katayama, & Murohashi, 2005a, 2005b)。本発表では、この初期陽性成分の特性について、vMMN および aMMN に関する研究結果との比較を通して論じる。

研究発表内容の要旨

大学院医学研究科 脳科学専攻
博士課程2年 伊藤 侯輝
(主任指導：小山 司 教授)

統合失調症の胎生期神経発達障害仮説に関する実験的検討

【はじめに】

統合失調症には遺伝的要因があることは異論のないことである。しかし一卵性双生児においても、統合失調症発病の一致率はわずかに約60%であり、またこの病気に罹患している親族が一人もいない場合も多いことがよく知られている。よって遺伝的要因以外の後天的発病要因、つまり出生前感染、自己免疫、出生前栄養欠乏などがこの病気の発病に関与している可能性がある。また、一群の統合失調症患者では発病初期から脳の構造的な異常を認めることから、何らかの神経発達障害の存在が推測される。一方、統合失調症にはさまざまなタイプがあり、追跡研究によっても経過や結果に異種性が認められる。その中で、D2受容体遮断を主作用とする抗精神病薬に対して治療抵抗性を示す一群の存在が知られ、その病態としてNMDA受容体の機能低下が推測されている。本研究では胎生期の過剰な免疫系の賦活が胎児脳の神経発達に影響を与え、治療に対して抵抗性の統合失調症の病態を惹起する可能性を想定し、実験的検討を行った。

【方法】

実験にはSprague-Dawley系雌性ラットを使用した。妊娠7日目のラットを購入し、ハンドリングを行わず、12時間周期の明暗サイクル(明期;6:30~18:30)、室温20°C、湿度50%の恒温恒湿条件下、また摂食、飲水の自由にできる状態で、1ゲージに1頭ずつ飼育した。実験1、実験2では、それぞれ妊娠11~14日目、妊娠15~18日目に免疫賦活作用を持つLipopolysaccharideを投与し、その後自然分娩させた。出生した児を同様の環境下で飼育し、雄雌に区分した後、それぞれの群に対してヒトでは思春期後(成人)に相当する出生10週に非競合的NMDA受容体遮断薬であるMK-801(0.2mg/kg)を腹腔内投与し、移所運動量を赤外線センサーを用いて測定した。動物の取扱いは北海道大学医学部「動物実験に関する指針」に則った。統計学的解析には分散分析を用い、有意水準は $p < 0.05$ に設定した。

【結果と考察】

全ての群において、MK-801(0.2mg/kg)に対する感受性はメス群の方が高かった。胎生期11~14日目LPS投与群では、MK-801(0.2mg/kg)に対する感受性が変化していた。本実験の結果から、胎生期の母体の過剰な免疫亢進が、出生後の児のNMDA受容体機能に影響(機能低下)を及ぼす可能性が考えられた。統合失調症患者に認められる神経発達障害の原因の一つとして、胎生期の免疫系の異常が考えられるという結果は、胎生期神経発達障害仮説を支持する実験結果であった。

研究発表内容の要旨

大学院教育学研究科 教育学専攻
博士後期課程 2 学年 井瀧 千恵子
(主任指導：森谷 梨 教授)

青年期女性の身体運動による情動の最適化に関する研究

【研究の背景】

運動は最大心拍数 (HRmax) の 70~80% の運動強度で行うことで、心身双方に最も効果的であると考えられてきた。しかし、70~80%HRmax での運動は、主観的に「きつい」と感じられる運動強度であるため、運動を継続的に行う上で可能なものとして、あらゆる人に推奨することは難しい。また、指示された運動強度では、「やらされている」感が強い。自己の体力と体調に合わせて選択でき、運動を継続することで体力をつけていくことが望ましいし、その可能性が近年実証されてきた。運動は適度な強度と持続時間で行うことで、快や喜び、幸福感、爽快感など陽性の情動が生じる。一方、不安、抑うつなどの陰性の情動は低減する。ストレス社会に生きる人々の健康を考えた運動の効果として、従来陰性の情動の低減効果に焦点があてられることが多かった。しかし、運動を長期にわたって継続させる方策を考える上で、陽性の情動の変化についても考察することが重要となる。また、情動の変化を考察するために、身体運動によって生じる脳の活性化(脳波帯域別・脳の部位別)と情動の変化の関連について検討される必要があり、その検討を本研究の目的の一つとする。身体運動によって体温が上昇するので、この関与も問題となる。また、青年期女性は、女性ホルモン濃度の周期的変化によって体内環境に周期性変動が生じ、性周期によって自覚的・主観的コンディションが異なる者が多い。一般に黄体期から月経期にかけて自覚的・主観的コンディションが悪いといわれていることから、黄体期と卵胞期の時期別の検討、並びに運動習慣の有無による違いが認められるか否かの検討もあわせて行うことを目的としている。

【研究方法】

対象は、1 ヶ月以上基礎体温 (Basal Body Temperature : BBT) を測定し、BBT が二相性を示した、3 ヶ月以上にわたり定期的な運動習慣のある 8 名 (年齢 ; 18.9 ± 0.6 歳, 身長 ; 154.8 ± 6.2 cm, 体重 ; 47.7 ± 6.2 kg) と運動習慣のない 7 名 (年齢 ; 19.0 ± 0.6 歳, 身長 ; 154.8 ± 6.2 cm, 体重 ; 51.9 ± 9.1 kg) である。記録した BBT と静脈血中女性ホルモン濃度から黄体期と卵胞期を判定した。運動日には、橋本らによって提唱された「快適自己ペース運動」を参考に、ピッチを 60bpm に固定した状態で、対象者が無理をせず主観的に快適と感じる負荷量を選んで、20 分間自転車エルゴメータを漕がせた (Comfortable Self-Paced Exercise : CSPE)。対照日には、CSPE の代わりに椅子座位で写真集を 20 分間見て過ごさせた。MCL-S.1, STAI-X1 によって情動の変化を調べ、心拍数 (HR), 脳波の測定などを行った。MCL-S.1 は橋本らによって標準化されたもので、「快感情」「リラックス感」を、STAI-X1 によって「不安感」が測定できる。また、MCL-S.1 は質問項目が 10 項目であり、運動中であっても簡便に利用できる。HR および脳波も実験開始時の安静時から運動中、さらに運動後の回復期まで全実験時間、測定を連続して行った。

【結果と考察】

CSPE の心拍予備率からみた運動強度は運動習慣のある群でない群に比べて、黄体

期・卵胞期ともに高い傾向にあった。しかし、CSPEによる快感情得点の上昇などに見る情動の変化は、運動習慣の有無によっても、性周期の2相でも大きな違いは認められなかった。測定した脳波パワー値から、情動の変化と脳の活性化の様相(脳波帯域別・脳の部位別)について今後検討をすすめる。