

## 第24回 呼吸ディスカッションの会

日時：3月28日18時30分から21時30分ごろまで

場所：生香園新館 (<http://www.shu-tomiteru.jp/index.html>)

参加費：社会人 8000 円、学生&大学院生 3000 円

当番世話人：飯塚真喜人（茨城県立医療大学）

**Email:** iizukam@ipu.ac.jp（送信時@を半角にしてください）

**Tel:** 029-840-2212

プログラム：

18：15- 受付開始

18：30-18：32 開会の挨拶（飯塚）

18：32-19：17 「光遺伝学的研究手法のサル神経系への応用と、その具体的な運用の実際」  
生理研 木下正治先生

19：17-19：37 「A decerebrated & arterially perfused in situ whole preparation is a useful tool for the elucidation of unidentified neuronal mechanisms in the autonomous function」

NIH 矢澤格先生

19：37-19：57 「あくびの起源」

慈恵医科大 木村直史先生

19：57-20：00 乾杯&一言（偉い先生）

20：00- 会食（&ディスカッション）

21：00-21：05 次回当番世話人の挨拶（桑木先生）&閉会  
（ディスカッションの盛り上がりによっては30分ぐらい延長可）

## 御講演の概要

### 講演 1

「光遺伝学的研究手法のサル神経系への応用と、その具体的な運用の実際」

木下正治（生理学研究所）

神経回路網を操作的に研究するために、これまでは微小電極などを用いた電気刺激法や、神経伝達物質拮抗薬などの投与による薬理的な手法、あるいはマウスのような遺伝子操作の容易なモデル動物においては特定遺伝子のノックダウン動物などが用いられてきた。しかし微小電気刺激はミリ秒単位での精度がある反面、目的の細胞体だけでなく通過繊維への刺激効果が常に問題となり、また活動の抑制を行うことは困難であった。一方薬理的な手法やノックダウン動物などではその効果の時間範囲をミリ秒の精度でコントロールすることが困難であった。つまりこれまでの手法では“ミリ秒オーダー”で“特定の”ニューロン群もしくは神経線維の活動をコントロールすることは困難であった。

近年単細胞生物などに由来するチャンネルロドプシン 2 (ChR2) やハロロドプシン (NpHR) のような光感受性イオンチャネルまたはポンプ (opsin) の遺伝子を導入することで、導入された神経細胞の膜電位を光の照射によって制御する方法 (optogenetics) が開発された。この手法では導入遺伝子のプロモータ配列を選択することで“特定の”ニューロン群・繊維投射だけに opsin タンパクを発現させることが出来る。さらにこれらの opsin は光を照射したときに活性化するので“ミリ秒オーダー”で細胞を興奮 (ChR2) または抑制 (NpHR) することができる。

我々は現在この optogenetics の手法をサルの脳に導入し、大脳皮質運動野の特定のニューロン群に対するミリ秒のオーダーでの制御や、上丘への複数の入力繊維のうち特定の経路だけを選択的に遮断することで、これらの運動制御系の神経機構の解明を目指して研究を行なっている。現在までのところ細胞レベルでの光による活動制御を行うことが可能になり、今後生体レベル・行動レベルでの制御を目指している。

今回の講演では我々の研究について概説するとともに、これまで長年サルを対象として主に電気生理学的手法を用いて研究してきた私の目から見た、新たな optogenetics という手法の実際の運用についてのお話も交えて紹介する。

## 講演 2

**「A decerebrated & arterially perfused in situ whole mouse preparation is a useful tool for the elucidation of unidentified mechanisms of autonomous functions」**

矢澤 格 (Lab. of Neural Control, NINDS/NIH)

脊髄や脳幹の研究領域では、個々の細胞自体の容積が成体のそれに比べ小さく、酸素分子が細胞に拡散しやすい生後間もない時期の動物から作製された“in vitro developing spinal cord 標本”や“en-broc (脳幹-脊髄) 標本”が研究対象となっている。そのため、臨界期以降、特に成体の中枢神経系のシステム・ネットワークレベルの研究はあまり進んでいない。また、これらの標本では常に還流液と接していない深層にある細胞で十分な酸素化がなされているのかは不明である。

我々は、これまでの方法論的限界を克服するため、中枢神経系のシステム・ネットワークレベルの研究を可能にする標本 (A decerebrated and arterially perfused in situ whole mouse preparation) を作成した。この標本では、全身各所に分布している既存の血管を介して酸素運搬が行われる。標本は侵害受容器刺激に対して応答し、標本の交感神経トーンは迷走神経や舌咽神経などの脳神経を介した求心性刺激によって影響される。それゆえ、標本の状態は“植物状態下の除皮質動物”に近く、in vitro 標本よりも in vivo 丸ごと動物標本に近い標本と考えられる。さらに、この方法論が生後5ヶ月令のマウスにも適用できることはすでに確認されているので、今後の生理科学や神経科学分野の研究に新たな展開を期待できる方法論の一つになると考えられる。

今回の講演では、“中枢レベルで起こる脳幹と下部脊髄間の機能的相互作用”の電気生理学的解析結果を交えながら標本のプロトコールを紹介し、この標本を用いた今後の研究の展望について討論したいと考えている。

### 講演 3

#### 「あくびの起源」

木村直史（東京慈恵会医科大学）

「あくび」の生理学的意義については、古くから様々な考えが提唱されていますが、決定的なものはありません。脊椎動物のあくびについて、比較生理学的観点から、呼吸運動との関連について考えてみようと思います。話の中では、哺乳類以外の脊椎動物、鳥類、爬虫類、両生類、魚類の「あくび」を実際に撮影した動画で紹介する予定です。