B858

電位感受性色素を用いたサルTE野における膜電位イメージング：視覚連合野における神経活動の潜時は領野内で一様ではない

○本間 良太、谷藤 学（理研・BSI）

サルのTE野は高次の視覚情報を処理する視覚連合野で、物体の形状認識に関与している。この領野には中程度に複雑な図形特徴に応じて発火する神経細胞が多く存在し、同じような図形特徴に応じる神経細胞は直径約0.5mmの大きさのパッチを形成している。内因性光信号の計測により、複雑な物体像は異なる図形特徴に対応した複数のパッチの応答をTE野に引き起こすことが発見されている。この応答はパッチ内の神経細胞の発火頻度上昇と相関しており、この領野からの出力信号であると考えられる。一方で、この領野への入力信号についての研究は今までほとんどなかった。本研究では、この領野への入力により生じるシナプス電位の時空間パターンについて、電位感受性色素を用いた膜電位イメージングにより調べた。膜電位イメージングは神経細胞群の膜電位変化を実時間計測する技術で、大脳皮質の測定では細胞膜表面積の大きい樹状突起部でのシナプス電位が主に反映される。実験では、麻酔下にあるアカゲザルのTE野を電位感受性色素で染色し、物体像を呈示したときの膜電位変化を高速CCDカメラ（5ms/frame）で記録した。物体像は数mmにわたる大きさの領域で脱分極を引き起こし、その領域は呈示する物体ごとに異なっていた。それぞれの物体像によって引き起こされる脱分極領域の中には内因性信号により観測されるパッチがいくつか含まれていた。さらに、脱分極領域内の各ピクセルにおいてその応答潜時を比べたところ、一様ではなく複数の部位でその周囲より潜時の短い応答を示した。情報処理経路の前段階にある領野からのシナプス入力には領野内結合やさらに高次の領野からの入力と比較して潜時の短いことを考えると、TE野には前段階の領野から主に入力を受けている部位と高次領野からのフィードバック入力を主に受けている部位とがあると推測される。

R.Homma and M.Tanifuji : Optical imaging of membrane potential revealed that the onset latency of neural activity is different from site to site in monkey area TE.

B860

標的細胞の大きさに応じて適切な大きさのシナプスを形成する仕組み

○中山 浩明、森本一谷藤 高子、風間 北斗、能瀬 聡直（東京大院・理学系・物理学）

ショウジョウバエ幼虫の神経-筋結合系においては、筋肉細胞の脱分極が確実に行われるために、成長に伴って筋肉細胞が大きくなるにつれ、それを支配するシナプスも成熟する。このような、標的細胞に応じたシナプス成熟過程の分子メカニズムを明らかにするために、発生過程において筋肉細胞の大きさとシナプスの大きさの関係について調べた。6番、7番筋肉（M6、M7）に形成されるシナプスについて解析を行った。M6、M7は同一の神経細胞により支配されており、M6の方がM7より大きい。最初に、M6およびM7におけるシナプスの形態的な大きさとシナプス伝達の大きさを示すと考えられる自発的シナプス後電流（mESC）の頻度を測定した。その結果、孵化後7時間以上経過した幼虫では、シナプスの大きさおよびmESCの頻度は共に、筋肉細胞の大きさと同様M6の方がM7より大きかった。しかし、孵化直後の幼虫においてはmESCの頻度はM6とM7で同程度であった。したがって、孵化直後から7時間の間に筋肉細胞の大きさに応じて適切な大きさのシナプスを形成するメカニズムが働き始めると考えられる。次に、このメカニズムに対する神経活動の関与を調べるために、感覚神経の活動が阻害された幼虫について同様の実験を行ったところ、孵化後7時間以上経過してもシナプスの大きさ、mESCの頻度共にM6とM7で同程度であることが明らかとなった。この結果は筋肉細胞に応じたシナプスの成熟に神経活動が重要な働きを果たしていることを示唆している。最後に、近年シナプス成長に重要な役割を果たすことが示されたBMP Signalingとの関連を調べるために、BMP typeII receptorの変異体におけるシナプスの大きさを測定した。すると、シナプスの大きさはM6の方がM7より大きかった。これらの結果は、標的細胞に合わせたシナプス成熟過程にBMP Signalingとは独立なメカニズムが関与することを示唆している。

H.Nakayama, T. Morimoto-Tanifuji, H. kazama, and A. Nose : Activity-dependent synaptic maturation matched with the size of postsynaptic cells in Drosophila NMJs

B859

アガロース・マイクロストラクチャを用いた神経細胞ネットワークの段階的構成手法の開発

○杉尾 嘉宏¹、鈴木 郁郎¹、森口 裕之¹、金子 智行¹、神保 泰彦²、安田 賢二¹（¹東大院・総合文化・生命、²NTT 物性科学基礎研究所）

[目的] 神経細胞のネットワーク形状を意図したものに制御する研究は、マイクロプリンティング法や溝などの立体構造を用いて盛んに行われてきた。しかし、これらは培養前にあらかじめパターンとして組み込む必要があり、ネットワーク形状を培養中に変えることはできなかった。本研究は培養過程で自在にかつ段階的にネットワーク形状を変化させることで、ネットワークのトポロジカルな空間パターンの複雑化・最適化の意味を明らかにする技術を開発することを目的とする。[方法と結果] 培養基板上にコートした厚さ50nmのアガロース層に、細胞培養マイクロチャンバとチャンバ間をつなぐマイクロトンネルを微細加工し、神経突起の伸張をアガロースの物理的な立体障壁を用いて選択的に誘導する技術を開発し、評価した。この微細加工は、赤外レーザー集束光の熱を利用して、アガロースを局所溶解してマイクロ形状を加工するものである。製作したマイクロチャンバ内で妊娠18日目のラットから調製した海馬神経細胞を培養したところ、アガロースのトンネルパターンに依存した回路網を形成させることに成功し、また培養中に追加加工したトンネル形状に合わせて、細胞に非侵襲的に回路網を追加することにも成功した。

Y.Sugio, I.Suzuki, H.Moriguchi, T.Kaneko, Y.Jimbo, K.Yasuda : Stepwise pattern modification of neuronal network using agarose micro-structure

B861

塩分摂取行動の制御は脳弓下器官のNa_xナトリウムチャンネルが担う

○檜山 武史¹、渡辺 英治^{2,3,4}、野田 昌晴^{1,3,5}（¹岡崎・基生研・感覚情報処理、²岡崎・基生研・形質転換生物、³総研大・生命科学、⁴PRESTO、⁵CREST）

哺乳類では体液のNa濃度が恒常的に保たれている。脱水時には体液中のNa濃度が数mM上昇するが、脳周囲器官（CVOs）はこれを検出し、塩分忌避及び水分補給行動を指令する。我々はこれまでに、CVOsにNa_xナトリウムチャンネルが発現していることを示し、これが検出器であることを報告した。また、Na_x遺伝子欠損マウス（Na_x^{-/-}）が脱水下にもかかわらず食塩水を摂取し続けることを報告した。今回、高張食塩水を脳室内注入しCVOsを直接高Na液で刺激すると、野生型では食塩水忌避行動が出現するのに対し、Na_x^{-/-}ではこれがみられなかった。また、アデノウイルスを用いてNa_x^{-/-}の脳内にNa_x遺伝子を導入したところ、一部のマウスでこの行動の回復が認められた。それらのマウスでは、CVOsの一つである脳弓下器官（SFO）へのウイルス感染が確認された。SFO内のNa_xチャンネルを発現する神経細胞では、数mMの細胞外Na濃度の上昇に応じた、細胞内へのNaイオン流入が認められる。今回、免疫染色の結果、それらが抑制性神経伝達物質GABA性神経細胞であることが判明した。以上より、脳内塩分濃度上昇の検出に関わるSFOの細胞機構についてモデル化を試みた。

T.Y. Hiyama, E. Watanabe, M. Noda : Na_x sodium channels in the subfornical organ are essential for the control of salt-intake behavior