1P245

環境ホルモン Bisphenol-A は、オス成獣ラット海馬の神経細胞において急性的に樹状突起スパイン構造の形態変化をもたらす

○田辺 伸聡^{1,4}、釣木澤 朋和^{1,4}、小松崎 良将^{3,4}、三橋 賢司^{2,4}、荻上 真理^{1,4}、木本 哲也^{1,4}、川戸 佳^{1,2,4} (¹東大院・広域科学・脳生物物理学、²東大院・理学系・物理学、³日大・文理学部、⁴CREST・JST)

近年、内分泌かく乱物質、いわゆる環境ホルモンが生体に及ぼす影響に広く注目が集まっている。我々は近年、脳において環境ホルモンが神経シナプス伝達に急性的に影響を及ぼすことを電気生理学的研究で明らかにしてきた。本研究ではこの流れを受け、広く存在する環境ホルモンの一種である Bisphenol-A (BPA) について、脳の記憶学習の中核の海馬神経への影響を解明することを目的に実験を行なった。生後 12 週齢の雄ラットの海馬から調製した急性スライスに対し、無有害作用量以下の低濃度 BPA (10~100 nM) を 2 時間作用させた後、固定した海馬スライスの神経細胞に蛍光色素 Lucifer Yellow を Current Injection 法によって注入、共焦点顕微鏡下で断層撮影することによって、短期記憶を蓄える神経細胞樹状突起のスパイン形態を詳細に解析した。その結果、低濃度 BPA を添加したスライスでは、Control 群のスライス (0.94 spines/micron) に比べ、スパイン数が増加している (1.65 spines/micron) ことが確認された。さらに、増加したスパインは、他の神経細胞とシナプスを形成し、神経間情報伝達に寄与し得る種類であることが分かった。この BPA による短時間のスパイン増加には、NMDA 作動性グルタミン酸受容体の活性維持が必要であり、また MAP キナーゼの活性化が不可欠であることが判明した。このことから、低濃度 BPA は短時間で海馬神経細胞のスパイン数を増加させ、記憶/学習効率のモジュレーションを行なっていることが推測される。

Tanabe N, Tsurugizawa T, Komatsuzaki Y, Mitsushashi K, Ogiue-Ikeda M, Kimoto T, Kawato S : Bisphenol-A acutely induces morphological changes of dendritic spine structure in rat hippocampal CA1 pyramidal neurons

1P247

神経樹状突起における mRNA 輸送複合体とミトコンドリアの共局在

○新倉 和美¹、椎名 伸之^{1,2}、十川 久美子³、徳永 万喜洋^{1,2,3} (¹遺伝研、²総研大、³理研・免疫センター)

記憶や学習時に特定の神経回路が強化される長期増強では、一つの神経細胞に存在する多数のシナプス中の、刺激の入ったシナプスのみを選択的に強化することが必要である。その一つとして、シナプス長期増強に関わる mRNA を神経樹状突起シナプスまで輸送し、刺激されたシナプスにおいてのみ局所的に mRNA からタンパク質へ翻訳する仕組みが存在している。mRNA の輸送と翻訳制御を行なっているのが、RNA granule と呼ばれる細胞内粒子である。RNA granule は mRNA とリボソームの他にタンパク質等を含んでいるが、その構成の全体像はよくわかっていない。

我々は、mRNA 輸送複合体の構成分子を探索する過程で、ミトコンドリアに関係するものを多数見いだした。それが構成成分か否かを検討すべく、ラット胎仔海馬神経培養細胞の染色によって局在を調べたところ、mRNA 輸送複合体の構成タンパクである Staufen および RNG105 と、ミトコンドリアが共局在することを見いだした。生殖細胞で mRNA 輸送複合体に含まれると報告されている、ミトコンドリア rRNA が神経 mRNA 輸送複合体でも観察されるか否か詳細に検討した。生殖細胞とは異なり、神経 mRNA 輸送複合体にはミトコンドリア rRNA がリクルートされないとの結果を得た。

海馬樹状突起 mRNA 輸送複合体とミトコンドリアの共局在率は、mRNA 輸送複合体の 30-40%、ミトコンドリアの 20-30% であった。抗体蛍光染色だけでなく、Staufen-GFP とミトコンドリアとの同時観察からも同様の結果を得た。電子顕微鏡による微細構造からも局在を確認した。共局在の意味は不明であるが、高い共局在率は、生理的な意義が存在する可能性を示唆している。

K.Shinkura, N.shiina, K.Sakata-Sogawa, M.Tokunaga : Association of neuronal mRNA transport complex and mitochondria

1P246

ラット海馬における脳ニューロステロイド合成経路の解析

○中嶋 浩平^{1,3}、北條 泰嗣^{1,3}、中西 広典^{2,3}、木本 哲也^{1,3}、川戸 佳^{1,3} (¹東大院・総合文化・広域科学・生命環境系、²東大院・理学系・物理、³CRESTPROJECT)

近年、脳において独自にステロイドが合成されることが示され、それらのステロイドは末梢由来のステロイドと区別して脳ニューロステロイドと呼ばれている。脳ニューロステロイドは、特に記憶学習の中核と考えられている海馬などで、神経シナプスの可塑性に対して急性的に作用を及ぼすことが明らかになってきている。それに伴い、現在、脳におけるその詳細な合成経路の解明が切望されている。当研究室では、既に、成獣ラット海馬のニューロンにおいてステロイド合成酵素であるチトクロム P450scc、P450c17、P450arom が存在することが示されており、cholesterol から DHEA (Dehydroepiandrosterone)、そして E2 (estradiol) への合成能が確認されている。本研究では引き続き、その詳細な合成経路の解明を目的とした。放射性標識されたステロイドを基質とし、成獣ラット海馬のスライスを用いて代謝を促し、その後、代謝産物を HPLC システムにより分離し、同定を行った。その結果、DHEA → Androstenediol → Testosterone (Test)、Test → Dihydrotestosterone (DHT) → 3α-Androstenediol、Test → E2 の合成経路を決定した。特に、Test からの代謝において、DHT がすぐに 3α-Androstenediol へと代謝されてしまうのに比べて、E2 は安定なまま存在することがわかった。これらの結果から、成獣ラットで、エストロゲン、アンドロゲンが海馬において独自に合成され、作用している可能性が示唆される。

K.Nakajima, Y.Hojo, H.Nakanishi, T.Kimoto, S.Kawato : The pathway of brain neurosteroid synthesis in the rat hippocampus

1P248

動物 (アリ、マウス) 歩行活動のポワッソン過程とフラクタル性

○花井 一光¹、里路 裕司²、山岡 亮平²、尾崎 まみこ²、横山 ちひろ¹、中富 康仁¹、福居 顕二¹ (¹京府医・精神機能、²京工繊・繊維・応用生物)

動物の歩行活動 (locomotor activity) を調べるため、動物が自由に歩行するときの様子をデジタルビデオカメラで撮影し、コンピュータに取り込んで解析してみた。

動物として、アリ (クロオアリ、*Camponotus japonicus*) の場合とマウスの場合を検討した。デジタルビデオ画像は Macintosh 上の QuickTime Player を利用して、10 分ごとのムービーに分け、各 10 分のムービーについて、30 フレーム/秒の白黒 TIFF 画像に変換し、独自開発した Linux 上で動く C プログラム glana を利用して動物画像の自動抽出、その重心座標の算出を行った後、その重心の動きを解析した。アリについては、同じ巣の仲間のアリが体表に分泌する同巢物質を塗布した直径 6 cm のシャーレ上に 1 匹のクロオアリが歩き回る様子を 160 分間ビデオに撮った。アリは同巢物質からは刺激を受けないが、何もない環境や異なる巣仲間が分泌した異巢物質からは刺激を受けることが知られている。

マウスの場合には、直径 60cm の円形のフィールドを用意し、外界からの影響を受けないようにして、その中を自由に歩かせた。この場合も、歩行の様子を 120 分間デジタルカメラで撮影し、アリの場合と同じように解析した。アリでも、マウスでも、その歩行中に頻繁に短時間の移動と停止を繰り返した。この短時間の移動と停止の持続時間ごとに頻度を調べると、持続時間の短い移動や停止ほど、頻度は高く、ガウス分布からはひどく離れた分布を示した。また、いずれの動物の場合も、壁の近くにいる場合と、壁から離れた場所にいるときでは、明らかにその分布の様子が異なっていた。移動の持続時間の対数と累積頻度の対数をプロットすると、直線にならないが、持続時間と累積頻度の対数は直線的になり、ポワッソン分布から期待されるものになった。一方、アリの停止に関してはべき乗則に従い、フラクタル性を示した。

K.Hanai, Y.Satoji, R.Yamaoka, M.Ozaki, C.Yokoyama, Y.Nakatomi, K.Fukui : Poisson and fractal processes in the locomotor activity in ant and mouse