

1. Berbari, N.F. et al. : Hippocampal and cortical primary cilia are required for aversive memory in mice. *PLoS One*. 9, e106576. 2014.
2. Brinker, T. et al. : A new look at cerebrospinal fluid circulation. *Fluids and Barriers of the CNS*. 11:10. 2014.

## 一次繊毛そのものと脳の高次機能 脳室系の生理に関する最近進歩

一次繊毛と高次神経機能の関係は、臨床的には Bardet-Biedl 症候群に代表される様な繊毛症候群の研究から得られた情報に基づいて何らかの関係があることが比較的古くから予想されてきた。一方、分子レベルでは 2010 年に繊毛上に存在する GPCR である Sstr3 のノックアウトマウスを用いた解析が行なわれ、繊毛に局在する情報伝達系分子の機能が解析されはじめた。しかしながらこの論文では繊毛に局在する分子の機能解析は行なっていたが、繊毛そのものは残存しており、失われた機能が GPCR そのものにあるのか、或いは繊毛との関係でしか機能し得ない GPCR の機能によるのか、という点が不明であった。ここでは、IFT88 を標的としたノックアウトマウスを作成し、繊毛が喪失した際に見られる表現形を解析することで、繊毛そのものの機能を解析したという意味では初の論文である。また Cre のプロモーターを工夫することで繊毛が消失する部位をコントロールしているので、比較的脳の部位特異的な機能解析につながっている点でも興味深い。

2 本目の論文は一部を掻い摘んでの紹介となるが、脳室系に関する近年の update に関する総説である。現在でも尚、一般的な医学書に記載されている脳脊髄液に関する知見は実に 100 年近く前の Dandy (1913) や Cushing, 1926 らの記述によるところが大きい。この見方によると、脈絡叢上皮細胞で産生され、分泌された脳脊髄液は脳室からくも膜下腔に入り、最終的にはくも膜顆粒から硬膜静脈洞に汲み出されて、循環が一回りするというものである。勿論、これらも大きな役割を果たしていることに変わりはないが、現在様々な反証も出されており、脳脊髄液のホメオスタシスはかなり複雑であることが判って来ている。この様な中、アクアポリン (Aquaporin, AQP) を介した、血液、脳脊髄液、脳間質液の間での水交換はこの分野のこれまでの理解を大きく変える契機になったといえよう。

## 論文1

### 1. 概略

- (1) Einstein (2010) の論文とは違い、繊毛そのものをノックダウンする戦略を採用した。
- (2) *Emx1 (Empty Spiracles Homeobox)* をプロモーターとしたCreを用いて終脳特IFT異的なノックダウンを行なった。
- (3) 幾つかの行動解析、電気生理学を行なったところ、忌避行動、認知機能に異常があり、シナプス前膜からの小胞放出に影響が見られること、が判った。

### 2. 結果とその解釈

- (1) IFT88のノックダウン解析 (Fig. 1)
  - ・嗅球、大脳皮質、海馬で特異的にノックダウン (KD) されている。
  - ・レポーターマウス (Rosa26) でCreの発現部位を確認した → KDされた場所と一致。
  - ・Emx-Cre1の異所性発現はその影響はない模様。
- (2) 海馬と大脳皮質での有繊毛率 (Fig.2)
  - ・嗅球、大脳皮質、海馬で特異的にノックダウン (KD) されている。
  - ・レポーターマウス (Rosa26) でCreの発現部位を確認した → KDされた場所と一致。
  - ・Emx-Cre1の異所性発現はその影響はない模様。
- (3) 異常が見られた行動試験とその結果 (Fig.3)
  - ・恐怖条件付け試験 (文脈、手掛かり) では何れでもKDでの条件付けがされにくい。
  - ・新奇物体認識試験でもKDでは異常が記録された。
  - ・以上より、連合学習や新奇環境の認知に障害があることがわかる。
- (4) 異常が見られなかった行動試験とその結果 (Fig.4)
  - ・モリス水迷路試験、高架式十字迷路試験では異常が見られなかった。
  - ・ローターロッド試験でも異常は見られなかった。
  - ・ホットプレート試験でも異常は見られなかった。
  - ・オープンフィールド試験でも異常は見られなかった。
- (5) 電気生理学試験 (図5)
  - ・Paired pulse facilitation (PPF) がKDで上昇していた。

### 3. まとめ

- (1) IFT88を脳の部位特異的にノックダウンすることに成功した。
- (2) 行動解析から判断すると、運動感覚機能は正常であるが、連合学習などに障害があることが判った。
- (3) LTPに変化はなかったので長期可塑性は変わらないが、PPFが亢進していたので短期可塑性は変化していた。
- (4) 歯状回の繊毛は減ってはいたが、少し残っているのはEmx 1を発現していない細胞があるか、あるいはこの部位でのleakがあったかであろう。或いはSGZにある幹細胞はEmx-Creに反応性が乏しい可能性もある。
- (5) 成獣での神経再生に絡めた繊毛の機能は今後の課題である。

- (6) PPFが亢進していたので、繊毛がシナプス小胞の放出を調節している可能性が示唆される。
- (7) シナプス前膜でのCa<sup>++</sup>の上昇が考えられるが、細胞体とシナプスの距離を考えると何ステップかが介在するのでは。

#### 4. コメント

- (1) 繊毛特異的なKDで割に切れ味が鋭い空間分布を示している点で、方法論的には優れている。
- (2) 繊毛症候群は先天性疾患ではあるが、時間特異的KDを行うと成熟した神経系での維持機能が解析できるので、繊毛と脳機能の解析に新たな視点の導入が可能となるであろう。
- (3) 神経細胞とグリア系の切り分けをどの様にするかが課題の一つである。

#### 5. 参考資料（文章は「脳科学事典」bsd.neuroinf.jpを転載）

##### (1) 行動試験

- a. 恐怖条件付け試験：マウスに場所（文脈）や音、光などの条件刺激と電気刺激などの無条件刺激を組み合わせて与えることで条件づけした後、条件刺激を再度提示した際にマウスがすくみ反応（フリージング）を示した時間を測定し、一定時間あたりのフリージング持続時間を記憶能力の指標とするテスト。
- b. 新奇物体認識試験：オブジェクトを設置しない実験装置で3日間（10分/日）動物を慣らした後、ある2つのオブジェクトを置いた装置内で10分間自由探索させ、2つのオブジェクトに対する探索行動・探索時間を測定する。総探索時間に対するいずれかのオブジェクトへの探索時間の割合（%）を探索指向性として算出する。
- c. ロータリーロード試験：回転する円柱の上にマウスを乗せ、ゆっくりした回転から徐々に加速して、落下するまでの時間を測定する。訓練前歩行（回転していない円柱上に動物を5分間乗せた時の落下回数）→訓練歩行（3～6rpmで回転させた円柱上で歩行させた時の落下回数）→測定歩行（1時間後に12rpmで回転させた時に落下するまでの滞在時間：運動学習）。
- d. ホットプレート試験：痛覚感受性を測定するテスト。55℃に熱したプレートにマウスを乗せて、肢をなめたり擦り合わせたりなど熱に対する反応を起こすまでの時間（潜時）を測定する。このテストで実験群と統制群に差がある場合は、痛みに対する反応性が異なる可能性がある。
- e. オープンフィールドテスト：新奇環境下での自発的な活動性を測定するテスト。マウスにとって新奇で広く明るい環境であるオープンフィールドの中にマウスを入れ、一定時間自由に探索させる。オープンフィールドの形状は円形あるいは正方形であり、大きさは正方形の場合には一辺が1mを越えるものから30cm以下のものまでさまざまなものがある。予備的な観察の場合は5分程度の実験時間が一般的であり、顕著な過活動や休止状態などはこのような短時間の観察で検出することができる。中央区画滞在時間など。
- f. モリスウオーターメイズ：水を張った円形のプール内で、水面下に設置されたプラットフォーム（逃避台）をマウスに泳いで探索させることで空間記憶を測定するテスト。水からの逃避が動機づけとなっており、マウスは迷路外にある視覚の手がかりを利用してプラットフォームを探索する。プールの大きさは施設やプロトコルによって異なるが、直径80～200cm、高さ30～50cmのものが使われることが多い。プール内の水は白色の塗料やス

キムミルク、酸化チタンなどを用いて白濁させ、水面下のプラットフォームがマウスから見えないようにする。

## (2) 電気生理

- a. **Paired pulse facilitation** : シナプス前細胞を連続して刺激した際に、1回目のシナプス伝達と比較して2回目のシナプス伝達が促進 (facilitation) される現象である。短期可塑性のメカニズムには、シナプス前終末へのカルシウム流入と開口放出確率の変化、およびシナプス小胞プールの大きさが関与しているとされている。
- b. 高頻度刺激で誘発される長期増強 (long-term potentiation; LTP) : 数十分以上の時間わたってシナプス伝達強度が変化する。また、シナプス前細胞・後細胞の発火タイミング依存的にLTPもしくはLTDが生じるスパイクタイミング依存性シナプス可塑性(spike timing dependent plasticity; STDP)と呼ばれる現象が様々なシナプスで報告されている

---

### <仕事の話>

1. 一次繊毛に依る神経突起形成調節機構の解析 (河原)
2. ノード繊毛の分布様式に関して (大館、河原)
3. がん診断支援装置
  - ・ 第22回、23回開発会議
  - ・ 治験に向けた活動：厚労科研、医薬品医療機器総合機構 [PMDA] との折衝、書類作成
  - ・ 中谷医工計測機器研究奨励金
  - ・ IMSC ポスター発表、外部講演3本
4. 共同研究
  - ・ 早稲田大学 井上教授 論文執筆
  - ・