

ルシウムチャンネルを抑制することを示し、SV2Aが電位依存性カルシウムチャンネルの調節に重要な役割を担うことを報告した。しかし、シナプス前終末でのSV2Aによる神経伝達物質放出制御の詳細なメカニズムは未だ解明されていない。

本研究では、培養ラット上頸交感神経節シナプス前細胞にsiRNAを導入してSV2Aの発現量を減少し(SV2A-KD)、放出部位に補充される小胞の変動を電気生理学的手法で計測・解析して、末梢神経系でのSV2Aが制御する小胞放出部位への小胞補充の詳細の解明を試みた。2秒間の高頻度活動電位発火時には、SV2A-KDでは最初の活動電位発火に応じた伝達物質放出が減少しており、小胞放出部位に備えられている小胞数も減少していた。活動電位2発火時には、20ミリ秒より長い発火間隔での2回目の伝達物質放出量を減少し、伝達物質放出抑圧の増強が観察された。シナプス小胞を枯渇させた小胞放出部位への小胞補充速度を解析したところ、速い補充と遅い補充のうち、SV2A-KDでは特に速い小胞補充速度が遅延した。さらに、パッチクランプ法によりカルシウム電流を測定した結果、SV2A-KDではカルシウム電流のピーク値が減少したが、リコンビナントカルシウムチャンネルを発現させたtsA201細胞では変化が観察されなかった。

これらの結果は、末梢神経系では、SV2Aがシナプス小胞放出部位への小胞補充に機能すること、また、電位依存性カルシウムチャンネルを制御することで伝達物質放出を維持していることが示唆された。

#### P1-7.

### 細胞移動を基軸とする海馬歯状回形成のメカニズム探索

(組織・神経解剖学)

○篠原 広志、石 龍徳

(昭和大・医・顕微解剖)

塩田 清二

In general, neurogenesis occurs during embryonic and early postnatal stages, and ceases at adult stage. However, the dentate gyrus (DG) continues neurogenesis from embryonic to adult stages. In the adult DG, granule neurons are generated in the subgranular zone, while during embryonic period, dentate neural

progenitors are initially produced in the ventricular zone (VZ), and then migrate through the suprafimbrial region to the subpial region (SP) where a new proliferative zone is formed to develop the presumptive dentate gyrus. During the migration, the progenitors differentiate into granule neurons or maintain property of neural progenitors that further contribute to perinatal and postnatal neurogenesis. Although the migration of the neural precursors and relocation of the region of neurogenesis are key processes for the formation of the DG, the exact temporal and spatial patterns are still unknown. To address the problem, we performed cell-tracing analysis of the DG by in utero electroporation. RFP-positive cells originated from the VZ migrated to the DG. Immunohistochemical studies revealed that the RFP+/Tbr2+ cells were present in the SP, whereas the RFP+/Sox2+ cells were localized in both the SP and the hilus. Moreover, we performed time-lapse imaging in cultured hippocampal slices and found some types of cell migration in the DG: pia-touching cells, presumptive hippocampal fissure-touching and somal translocation-like cells. We will discuss possibility that the correlation between cell-type specification and modes of cell migration.

#### P1-8.

### P2Y2受容体刺激が角膜神経密度に及ぼす影響

(眼科)

○服部 貴明、高橋 広樹、田島 一樹

熊倉 重人、後藤 浩

【目的】 角膜には体内で最も高密度に神経が存在し、角膜上皮の恒常性維持や涙液の分泌に重要な役割を担っている。この角膜神経の消失、再生には様々な因子が関与すると考えられている。近年、ATPはATP受容体を介し、中枢神経再生メカニズムの一旦を担っている可能性が明らかになりつつあるが、角膜におけるATP受容体と神経の関係については不明である。そこで、ATP受容体のひとつであるP2Y2受容体が角膜に発現しているか否かについて検討し、角膜上皮搔爬によって角膜神経を消失させた後にP2Y2受容体の刺激剤であるUTPを点眼することによって、角膜神経密度が増加するか否かに

ついて検討した。

【方法】 C57BL/6 マウスの角膜上皮を直径 2 mm の円形に搔爬し、4 日目に採取した角膜を抗 P2Y2 受容体抗体、抗  $\beta$ -tubulin 抗体、抗 CD11b 抗体、抗 MHC-II 抗体、抗 Gr-1 抗体で染色した。また、角膜上皮を直径 2 mm の円形に搔爬した後に 5% に溶解した UTP を 1 日 4 回、搔爬後 3 日目まで点眼、対照群には PBS を点眼した。角膜知覚の計測はコシュボネ型角膜知覚計を用いて角膜中央を刺激し、瞬目した時点のコシュボネの長さを記録した。搔爬 4 日後に角膜を採取し、角膜神経を抗  $\beta$ -tubulin 抗体で染色した後、共焦点顕微鏡で撮影、神経密度を imageJ で解析した。

【結果】 搔爬後、P2Y2 受容体は角膜神経ではなく、CD11b+MHC-II+ 細胞に発現していた。搔爬後 2 日目の角膜知覚は、PBS 点眼群 ( $13.3 \pm 2.9$  mm) と比較し、UTP 点眼群 ( $21.7 \pm 2.9$  mm) では有意に上昇、搔爬後 3 日目でも UTP 群では有意に上昇していた。また、角膜神経密度は PBS 点眼群 ( $7.3 \pm 1.1\%$ ) と比較し、UTP 点眼群 ( $8.9 \pm 1.5\%$ ) で有意に増加していた。

【結論】 P2Y2 受容体を介したシグナルは CD11b+MHC-II+ 細胞を介し間接的に角膜神経密度を増加させ、角膜知覚を上昇させる可能性がある。

#### P1-9.

急性パーキンソン病モデルラットスライスにおける視床下核高頻度電気刺激の効果

(細胞生理学)

○宮崎 武文

I reported that GABAergic IPSC-LTP was induced by high frequency electrical stimulation onto subthalamic nucleus (STN-HFS) in the half of SNr neurons tested (9 out of 17 neurons) under control condition. The paired pulse ratios of  $1.692 \pm 0.178$  before STN-HFS and  $1.349 \pm 0.068$  at after 120 min STN-HFS were significantly different ( $p=0.012$ ,  $n=14$ ). This IPSC-LTP induced by STN-HFS was observed in almost all neurons tested (11 out of 13 neurons) in the solution with 3  $\mu$ M Sulpiride. The normalized amplitude was  $1.878 \pm 0.229$  at 120 min after STN-HFS. This value was significantly different from the one before STN-HFS ( $n=11$ ,  $p=0.004$ ). In the

case of EPSC, STN-HFS induced the LTD-like decrease in the amplitude at SNr neurons evoked by electrical stimulation onto internal capsule in the solution with 20  $\mu$ M bicuculline. As reported, this EPSC-LTD was abolished by D1 receptor antagonist (5  $\mu$ M SCH23390). Normalized amplitude was  $0.856 \pm 0.09$ . In the slices from reserpinized rats, an acute model rat of Parkinson's diseases, STN-HFS did not induced IPSC-LTP in 10 neurons tested. At 120 min after STN-HFS, the normalized amplitude of IPSC was  $0.889 \pm 0.099$ . This value was not significantly different from control ( $p=0.306$ ). Dopamine dependent IPSC-LTP and EPSC-LTD observed at SNr GABA neurons make "direct pathway" more effective. Imbalance between "direct" and "indirect pathway" in the basal ganglia neuronal circuit may be resorted. This synaptic plasticity might be one reason why DBS have a beneficial effect not only on the patients of Parkinson's disease.

#### P1-10.

Low-grade overexpression of nuclear FUS induces neuronal cell death

(薬理学)

○鈴木 宏昌、松岡 正明

Amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal lobar degeneration are clinically, genetically, and pathologically overlapped neurodegenerative diseases. Dysregulation of fused in sarcoma (FUS) has been hypothesized to cause these two neurodegenerative diseases in gain-of-function and/or loss-of-function manners. However, the pathogenesis of these neurodegenerative diseases linked to dysfunction of FUS has been insufficiently defined. In this study, we found that low-grade overexpression of FUS, but not knocking-down of endogenous FUS expression, induces death in motor neuronal NSC34 cells and primary cortical neurons via the mitochondrial apoptotic pathway, possibly independently of transactive response DNA-binding protein-43. Furthermore, we found that nuclear FUS, but not cytoplasmic FUS, is responsible for FUS-induced neuronal cell death. These results suggest that the gain-of-function of FUS in the nucleus contributes to