

## 体内時計システムの神経科学を目指して

三枝 理博<sup>✉</sup>

金沢大学 医薬保健研究域医学系 統合神経生理学

この度は「研究室便り」執筆の機会を頂き、ありがとうございます。大変光栄です。2017年2月に金沢大学医学系で研究室を担当させていただくようになってから、早いもので丸4年が経ってしまいました。まだまだ立ち上げの途上で、研究の進捗は相変わらずゆっくりとしたものですが、研究室メンバーの協力で少しずつ態勢も整ってきたように思います。当研究室は元々「生理学第二」と呼ばれていた教室で、学部教育では医学類（医学科のことです）の神経生理学を担当しています。脳・神経系の機能全般を概説する講義・実習で、大学生の頃から神経科学に興味を持ってきた私にとっては、自分でも勉強していて楽しい分野であります。現在の研究室メンバーは、狩野方伸先生の研究室出身で、脳スライスでの精緻な電気生理学的研究のエキスパートである前島隆司准教授と、森憲作先生の研究室出身で、*in vivo*の電気生理学的研究を得意とする津野助教に加え、技術補佐員3名、博士課程留学生1名、修士課程留学生1名で、2021年度からは日本人の大学院生も1名修士課程に参加してくれま

す（写真1）。医学類の学生さんは皆さん優秀で、基礎研究室配属などをきっかけに研究室に出入りしてくれる学生さんもいるのですが、やはり本業の勉強がかなり忙しいようです。また卒業後はほぼ全員臨床医を目指すので、基礎系の教室だとなかなか大学院生が集まらない点が辛いです。一方で金沢大学では2021年度から、医学類生と一緒に学び基礎医学の専門性を身につけた研究者を養成するコース「医薬科学類」が新設されますので、さらに若い力が研究室に参加してくれるのではと、数年後を楽しみにしています。

私は2001年から3年間留学したのですが、遺伝子操作によって特定の神経回路に細工をし、行動や生体機能への影響を調べるとのアプローチを採っていきたいとの考えの下、留学先を探しました。いくつかのラボにアプライし、幸いにもテキサス大学の柳沢正史先生（現・筑波大IIIS）の研究室に参加させていただく機会を得ました。オレキシニン・シグナリングの欠損によりナルコレプシーが発症することが、遺伝子操作マウスの解析を契機に明らかになった頃の話です。以来



写真1 集合写真（医学類生の卒業祝い）

<sup>✉</sup> mieda@med.kanazawa-u.ac.jp



写真2 In vivo 計測実験室の一部 (P2A 実験もできます)

私は、オレキシンニューロンによる睡眠・覚醒の調節機構に始まり、概日時計の神経メカニズムにも研究対象を拡げ、今日に至っています。帰国後4年間、東京医科歯科大学・難治疾患研究所の田中光一先生の下で自由に研究をさせていただいた後に、柳沢先生と一緒にオレキシンを発見された櫻井武先生（現・筑波大IIS）が金沢大学に赴任する際に拾っていただき、8年間お世話になりました。金沢で始めた視交叉上核神経回路の研究が、現在ではメインのテーマになっています。今後は中枢時計と睡眠・覚醒、さらには他の脳機能との関わりについても研究を拡げていければと考えています。

視交叉上核は本当に不思議で厄介な神経核で、しかし一方でとても魅力的でもあります。スライスでパッチクランプ法により全細胞記録をすると、典型的なナトリウム依存性の活動電位を発生せずにカルシウムスパイクのみ発生するニューロンが数多くあります。ひょっとしたら、軸索を減衰せずに伝播するナトリウムスパイクと、減衰するカルシウムスパイクとを、ターゲットへの距離に応じて使い分けているのかもしれない。また、他の多くのニューロンでは細胞内カルシウム濃度をニューロンの発火頻度の指標として用いることができますが、視交叉上核ニューロンでは発火に依存しない細胞内カルシウムのサーカディアンリズムがあるため、両者を別物と考えなければなりません。視交叉上核神経ネットワークでGABAが重要なことは想像に難くないですが、全てのタイプのニューロンがGABA作動性で、タイプ毎にGABAの機

能が異なる可能性があります。受け手側でも後シナプスGABA<sub>A</sub>受容体、シナプス外GABA<sub>A</sub>受容体とあり、またクロライド平衡電位によって細胞の応答も抑制性が興奮性が変化します。さらにメタボトロピックなGABA<sub>B</sub>受容体もあります。GABAに加えて様々なペプチド性の伝達物質による修飾があり、ギャップジャンクションもあります。新生仔と成獣、in vitro と in vivo でもかなり性質・挙動が異なるようです。中枢時計としての視交叉上核神経ネットワークには、まだまだ多くの謎が潜んでいるようです。最近当研究室ではファイバーフォトメトリーの実験系が動き始め、自由行動下のマウスの視交叉上核から、特定のタイプのニューロンにおける細胞内カルシウムリズムや時計遺伝子発現リズム、細胞外GABAリズムなどが計測できるようになりました（写真2）。これらの計測技術に、光遺伝学や化学遺伝学的手法による神経活動操作や、視交叉上核神経回路の遺伝子操作によりサーカディアンリズム異常を示すマウスを組み合わせることで、謎解きに挑んでいきたいと思えます。

また、睡眠・覚醒を含め、中枢時計と様々な脳機能との相互作用にも研究を拡げていきたいと考えています。最近の神経伝達物質センサー蛍光タンパク質の開発は目覚ましいものがあり、グルタミン酸やGABAだけでなく、セロトニンやドーパミンなどのモノアミン、アセチルコリンなどのセンサーも実用化され、種々のペプチドセンサーも徐々に開発されつつあります。これらのセンサーを使ってファイバーフォトメトリーによるin vivo計測を、できれば複数の脳領域

で同時にできたら、いろいろと面白いことが見つかるのではないかと、思いを巡らせています。スライス電気生理担当の前島さん、*in vivo* ファイバーフォトメトリー・電気生理担当の津野さん、私はウイルスベクター作成とマウスの交配（笑）の担当でしょうか、さらに学生さんを加えたチームで、少しでも面白いサイエンスを目指したいと考えています。

このように、当研究室は時間生物学会の中ではやや異端のラボですが、大学院生、学振特別研究員など大歓迎ですので、もしご興味がありましたら、お気軽にご連絡を頂ければと思います。金沢は大都市圏からは

少々離れていますが、海も山も温泉も兼六園も近くにあり、美味しい食べ物とお酒が楽しめる、落ち着いたとても良い街です。学内には程肇先生や安藤仁先生など時間生物学を研究しているラボが複数あり、最近では産婦人科教室や眼科教室も体内時計に着目した研究を精力的に進められています（写真 3）。雪も言われているほど多くはありません（今年は当たり年でしたが・・・）。サーカディアンリズム異常を持つ遺伝子改変マウスを各種取りそろえて、お待ちしております。



写真3 医学類教育棟・研究棟（左端に見える建物は附属病院）