

## 「特別推進研究」研究期間終了後の効果・効用、波及効果に関する自己評価書

- 研究代表者氏名 飯野 正光（東京大学・大学院医学系研究科・教授）
- 研究課題名「細胞内シグナルフローの可視化解析」
- 課題番号 12002003
- 補助金交付額（直接経費のみ）

平成12年度	92,000 千円
平成13年度	132,000 千円
平成14年度	79,800 千円
平成15年度	68,000 千円
平成16年度	68,000 千円

### 【研究期間終了後の効果・効用、波及効果に関する内容】

#### 1. 特別推進研究の研究期間終了後、研究代表者自身の研究がどのように発展したか。

##### (1) 概要

特別推進研究終了後、科学研究費補助金 基盤研究 (S) により、可視化解析法を用いた  $\text{Ca}^{2+}$  及び関連シグナルに関する研究を展開してきた。その結果、特別推進研究で得られた成果を発展させて、中枢神経機能について新たな視点からの研究展開を行い、以下の成果を新たに得ている。(1) 中枢シナプスの使用頻度に応じ  $\text{Ca}^{2+}$  シグナルを介してシナプス強度が調節され、使用頻度の少ないシナプス強度は弱められる機構を発見した (PNAS 2006)。(2) 主要なグリア細胞であるアストロサイトには、細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  シグナルに依存して細胞表面のタンパク質の発現状態を調節し、それに応じて神経の突起伸長を調節する機構があることを発見した (J. Neurosci. 2007)。現在、この分子機構を解析するとともに、生体内での意義について研究を進めている。この研究は、グリア細胞と神経細胞の相互作用に関して重要な知見を与えると期待できる。(3) 新規の一酸化窒素 (NO) インジケータを作成し、脳組織での NO 可視化を行い、従来の予測と異なり NO がシナプス特異的な限局したシグナルであることを明らかにした (J. Physiol. 2005)。さらにこの成果を展開して、NO と  $\text{Ca}^{2+}$  シグナルの新たなクロストーク機構を発見しており、現在論文のとりまとめを行っている。(4) 中枢神経系の主要な興奮性神経伝達物質であるグルタミン酸を検出する新規プローブを開発し、シナプス外グルタミン酸動態を脳組織で初めて可視化することに成功した (PNAS 2010)。今後、*in vivo* 脳でのシナプス活動の可視化へとつなげることができる重要な成果であると考えている。この他に、 $\text{Ca}^{2+}$  オシレーション形成にミトコンドリアが関与すること (EMBO Rep. 2006a)、細胞間接触に伴う新たな  $\text{Ca}^{2+}$  シグナルの発見 (EMBO Rep. 2006b)、細胞間多様性を作るメカニズムの解明 (Mol. Syst. Biol. 2009) などを行った。

##### (2) 論文発表、国際会議等への招待講演における発表など

###### 英文原著論文

Hayakawa, Y., Nemoto, T., Iino, M., and Kasai, H. Rapid  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent increase in oxygen consumption by mitochondria in single mammalian central neurons. **Cell Calcium** 37, 359-370, 2005.

Hashimoto, A., Hirose, K. and Iino, M. BAD detects coincidence of G2/M Phase and growth factor deprivation to regulate apoptosis. **J. Biol. Chem.** 280, 26225-26232, 2005.

- Namiki, S., Kakizawa, S., Hirose, K. and Iino, M. NO signalling decodes frequency of neuronal activity and generates synapse-specific plasticity in mouse cerebellum. **J. Physiol.** 566, 849-863, 2005.
- Kakizawa, S., Miyazaki, T., Yanagihara, D., Iino, M., Watanabe, M. and Kano, M. Maintenance of presynaptic function by AMPA receptor-mediated excitatory postsynaptic activity in adult brain. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.** 102, 19180-19185, 2005.
- Ishii, K., Hirose, K. and Iino, M. Ca<sup>2+</sup> shuttling between endoplasmic reticulum and mitochondria underlying Ca<sup>2+</sup> oscillations. **EMBO Rep.** 7, 390-396, 2006a.
- Furutani, K., Okubo, Y., Kakizawa, S. and Iino, M. Postsynaptic inositol 1,4,5-trisphosphate signaling maintains presynaptic function of parallel fiber-Purkinje cell synapses via BDNF. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.** 103, 8528-8533, 2006.
- Hashido, M., Hayashi, K., Hirose, K. and Iino, M. Ca<sup>2+</sup> lightning conveys cell-cell contact information inside the cells. **EMBO Rep.** 7, 1117-1123, 2006b.
- Baba, Y., Hayashi, K., Fujii, Y., Mizushima, A., Watarai, H., Wakamori, M., Numaga, T., Mori, Y., Iino, M., Hikida, M. and Kurosaki, T. Coupling of STIM1 to store-operated Ca<sup>2+</sup> entry through its constitutive and inducible movement in the endoplasmic reticulum. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.** 103, 16704-16709, 2006.
- Kakizawa, S., Kishimoto, Y., Hashimoto, K., Miyazaki, T., Furutani, K., Shimizu, H., Fukaya, M., Nishi, M., Sakagami, H., Ikeda, A., Kondo, H., Kano, M., Watanabe, M., Iino, M. and Takeshima, H. Junctophilin-mediated channel crosstalk essential for cerebellar synaptic plasticity. **EMBO J.** 26, 1924-1923, 2007.
- Namiki, S., Sakamoto, H., Inuma, S., Iino, M. and Hirose, K. Optical glutamate sensor for spatiotemporal analysis of synaptic transmission. **Eur. J. Neurosci.** 25, 2249-2259, 2007.
- Fujiwara, A., Kakizawa, S. and Iino, M. Induction of cerebellar long-term depression requires activation of calcineurin in Purkinje cells. **Neuropharmacology** 52, 1663-1670, 2007.
- Kanemaru, K., Okubo, Y., Hirose, K. and Iino, M. Regulation of neurite growth by spontaneous Ca<sup>2+</sup> oscillations in astrocytes. **J. Neurosci.** 27, 8957-8966, 2007.
- Kina, S., Tezuka, T., Kusakawa, S., Kishimoto, Y., Kakizawa, S., Hashimoto, K., Ohsugi, M., Kiyama, Y., Horai, R., Sudo, K., Kakuta, S., Iwakura, Y., Iino, M., Kano, M., Manabe, T. and Yamamoto, T. Involvement of protein-tyrosine phosphatase PTPMEG in motor learning and cerebellar long-term depression. **Eur. J. Neurosci.** 26, 2269-2278, 2007.
- Ikeda, A., Miyazaki, T., Kakizawa, S., Okuno, Y., Tsuchiya, S., Myomoto, A., Saito, S.Y., Yamamoto, T., Yamazaki, T., Iino, M., Tsujimoto, G., Watanabe, M. and Takeshima, H. Abnormal features in mutant cerebellar Purkinje cells lacking junctophilins. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** 363, 835-839, 2007.
- Kamikubo, Y., Tabata, T., Kakizawa, S., Kawakami, D., Watanabe, M., Ogura, A., Iino, M. and Kano, M. Postsynaptic GABAB receptor signalling enhances LTD in mouse cerebellar Purkinje cells. **J. Physiol.** 585, 549-563, 2007.
- Uemura, T., Kakizawa, S., Yamasaki, M., Sakimura, K., Watanabe, M., Iino, M. and Mishina, M. Regulation of long-term depression and climbing fiber territory by glutamate receptor delta2 at parallel fiber synapses through its C-terminal domain in cerebellar Purkinje cells. **J. Neurosci.** 27, 12096-12108, 2007.
- Yogo, T., Urano, Y., Mizushima, A., Sunahara, H., Inoue, T., Hirose, K., Iino, M., Kikuchi, K. and Nagano, T. Selective photoinactivation of protein function through environment-sensitive switching of singlet oxygen generation by photosensitizer. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.** 105, 28-32, 2008.
- Nakamura, N., Yamazawa, T., Okubo, Y., and Iino, M. Temporal switching and cell-to-cell variability in Ca<sup>2+</sup> release activity in mammalian cells. **Mol. Syst. Biol.**, 5:247, 2009.
- Okubo, Y., Sekiya, H., Namiki, S., Sakamoto, H., Inuma, S., Yamasaki, M., Watanabe, M., Hirose, K. and Iino, M. Imaging extrasynaptic glutamate dynamics in the brain. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.** 107, 26-6531, 2010.

## 英文総説

- Iino, M. Ca<sup>2+</sup>-dependent inositol 1,4,5-trisphosphate and nitric oxide signaling in cerebellar neurons. **J. Pharmacol. Sci.** 100, 538-544, 2006.

- Iino, M. Regulation of cell functions by  $\text{Ca}^{2+}$  oscillation. **Adv. Exp. Med. Biol.** 592:305-312, 2007.
- Iino, M. Identification of new functions of  $\text{Ca}^{2+}$  release from intracellular stores in central nervous system. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** 369, 220-224, 2008.
- Iino, M. Spatiotemporal dynamics of  $\text{Ca}^{2+}$  signaling and its physiological roles. **Proc. Jpn. Acad. Ser. B-Phys. Biol. Sci.** 86, 244-256, 2010.

### 国際会議における招待講演

- Iino, M. Regulation of cell function by  $\text{Ca}^{2+}$  oscillation. International Symposium Celebrating 40th Anniversary of Troponin Discovery: Regulatory proteins of striated muscle – structure, function and disorder –. 27-Oct-2005, Okazaki, Japan
- Iino, M. Mechanisms of  $\text{IP}_3$  receptor-mediated  $\text{Ca}^{2+}$  oscillations. Gordon Conference. 7-Jun-2006, New London, NH, USA
- Iino, M. Cell signaling downstream of cell-cell contact. FAOPS 2006 (The 6th Congress of the Federation of Asian and Oseanian Physiological Societies). 17-Oct-2006, Seoul, Korea
- Iino, M. Synaptic maintenance by activity dependent  $\text{IP}_3$ - $\text{Ca}^{2+}$  signaling in cerebellar Purkinje cells. FAOPS 2006 (The 6th Congress of the Federation of Asian and Oseanian Physiological Societies). 18-Oct-06, Seoul, Korea
- Iino, M. Roles of  $\text{IP}_3$ -induced  $\text{Ca}^{2+}$  release in the regulation of synaptic functions and neuron-glia interactions. Symposium of the Integrated Brain Research Project. 22-Aug-2007, Sapporo, Japan
- Iino, M. Functional roles of  $\text{IP}_3$ -induced  $\text{Ca}^{2+}$  release in the central nervous system. Yamagata International Symposium. 24-May-2008, Yamagata, Japan
- Iino, M. Intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  release mechanisms and central nervous system functions. 4th Japan-China Joint Meeting of Basic and Clinical Pharmacology. 18-Mar-2009, Yokohama, Japan
- Iino, M. NO activation of RyRs in the brain. Gordon Conference. 16-Jun-2009, Waterville Valley, NH, USA
- Iino, M. Intracellular calcium release mechanisms in central nervous system functions. XXXVI International Congress of Physiological Sciences (IUPS 2009). 31-Jul-2009, Kyoto, Japan
- Iino, M. Ryanodine receptor: NO connection in the brain. 16th Symposium on  $\text{Ca}^{2+}$ -Binding Proteins and  $\text{Ca}^{2+}$  Function in Health and Disease. 20-Nov-2009, Pucon, Chile
- Iino, M. Calcium and cell functions (Plenary Lecture). 16th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology. 20-Jul-2010, Copenhagen, Denmark. (確定済予定)

### (3) 研究費の取得状況 (研究代表者として取得しているもののみ)

#### 科学研究費補助金

基盤研究(S) 平成17年～平成20年

動的細胞内シグナルの可視化研究 配分総額 99,840千円

基盤研究(S) 平成21年～平成25年

中枢神経系細胞間ネットワークにおけるシグナル機構の可視化解析 配分総額 238,940千円

#### 民間財団助成金

武田科学振興財団 生命科学研究助成 平成18年

カルシウムシグナルを介したグリア・神経細胞間相互作用機構の解明 助成総額 10,000千円

### (4) 特別推進研究の研究成果を背景に生み出された新たな発見・知見

#### 1) $\text{IP}_3$ - $\text{Ca}^{2+}$ 系により制御される新規生理機能の解明

イノシトール三リン酸 ( $\text{IP}_3$ ) による細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  動員機構は、ほとんどあらゆる細胞系で細胞機能

制御に関与していると言って過言でないが、どのような細胞機能を制御しているのかは十分に理解されていない。これは、 $IP_3$ - $Ca^{2+}$ 系を抑制する特異的な方法が存在しなかったことによる。本研究では、 $IP_3$ 脱リン酸化酵素によって  $IP_3$ - $Ca^{2+}$ 系を特異的に抑制できることを示した。この方法により、様々な細胞系で  $IP_3$ - $Ca^{2+}$ 系の意義を明確にしていくことができるようになった。実際この方法を用い、 $IP_3$ - $Ca^{2+}$ シグナルにより制御される新規機能探索を行い、まず活動依存的シナプス維持機構について新たな発見をした。すなわち、神経活動に伴う代謝型グルタミン酸受容体刺激が  $IP_3$ - $Ca^{2+}$ シグナルを介してシナプス強度を調節するメカニズムを明らかにした (PNAS 2006)。また、神経・グリア相互作用においても新たな発見を行い、アストロサイトの  $IP_3$ - $Ca^{2+}$ シグナルが、細胞表面の N-カドヘリン発現を調節して神経突起伸長を制御していることを明らかにした (J. Neurosci. 2007)。現在、N-カドヘリンの意義を生体内で解析する研究を進めており、グリア細胞と神経細胞の相互作用について新たな知見が得られている。また、 $IP_3$ - $Ca^{2+}$ 系の抑制法を用いて脳機能の研究を現在展開しており、今後更に新たな成果が得られると期待できる。

**2) 一酸化窒素 (NO) シグナルの中樞機構** NOは、内皮由来血管弛緩因子として発見されたが、中枢神経系でも役割を果たしていると考えられている。しかし、中枢神経系でのNOの機能には不明な点が多く残されている。特に、NOは極めて拡散係数が高く、神経終末で産生されたとしても広範囲に拡散すると予測され、NOシグナルにシナプス特異性はないと考えられてきた。シナプス特異性がないと考えられるシグナル分子がどのような機能的意義を持つのか明確ではなかった。本研究では、新規NOインジケータの開発に成功し、脳スライス標本におけるイメージング法を組み合わせることにより、シナプスレベルのNOシグナルの可視化に初めて成功した (J. Physiol. 2005)。その結果、これまでの予想とは全く異なりNOシグナルがシナプス近傍に局限して分布し、シナプス特異的な長期促進というシナプス伝達の可塑的变化を惹起することを明確にした。

さらに、NO可視化法により得られた研究成果を展開して、NOと $Ca^{2+}$ シグナルの新たなクロストーク機構を発見しており、一部学会発表を行い、現在論文として取りまとめている。現時点では内容の詳細は控えるが、この成果は、NOシグナル機構に新たなパラダイムを提供するとともに、疾患研究に重要な観点を提供すると考えている。

**3) グルタミン酸シグナルの可視化解析** 本研究の新たな展開として、グルタミン酸プローブを作成し (Eur. J. Neurosci. 2007)、これを利用してシナプス外グルタミン酸動態を脳組織で可視化することに成功した (PNAS, 2010)。これは、脳の主要な興奮性伝達物質であるグルタミン酸が、シナプスにおける点から点への伝達に関わるだけでなく、シナプス間隙から漏れだし、シナプス後膜以外に分布するグルタミン酸受容体を活性化する体積性伝達 (volume transmission) を行うことを明確に示したものである。本論文は本自己評価書執筆時の1月前に発表されただけであるので引用はないが、海外からの引き合いが多数あり、今後大きな影響力を与えると考えている。

以上の通り、特別推進研究を契機として開始した研究が展開し、様々な研究成果が得られている。近日中に成果として結実すると見込まれる現在進行中のプロジェクトもあり、今後も大きな展開が期待できる。

## 2. 特別推進研究の研究成果が他の研究者による活用された状況はどうか。

### (1) 学界への貢献の状況

**1) Ca<sup>2+</sup>オシレーション形成機構と生理的意義の解明** Ca<sup>2+</sup>シグナル機構研究において、アゴニスト刺激に伴い周期的に細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度が上下するCa<sup>2+</sup>オシレーションが生じることは1980年代から知られていた。現在までに受精卵、リンパ球、分泌細胞、平滑筋細胞、グリア細胞、神経細胞などほとんどあらゆる細胞でCa<sup>2+</sup>オシレーションは観察されており、細胞機能制御に関わっている。すなわち、Ca<sup>2+</sup>オシレーションは最も基本的なシグナル伝達機構の一つである。しかし、Ca<sup>2+</sup>オシレーションの形成機構については長年謎であった。また、持続的なCa<sup>2+</sup>濃度上昇ではなく、Ca<sup>2+</sup>オシレーションによって細胞機能が制御されることの意義についても、推測されるにとどまっていた。

本研究により、この問題の本質に関わる機構を明らかにすることができた。すなわち、Ca<sup>2+</sup>オシレーションの発生には、自己再生産的な細胞内Ca<sup>2+</sup>ストアからのCa<sup>2+</sup>放出と、ペースメーカーとなるCa<sup>2+</sup>動員機構の2点が基盤となっており、それぞれを、IP<sub>3</sub>受容体のCa<sup>2+</sup>感受性と、ミトコンドリアからのCa<sup>2+</sup>放出が担うというメカニズムが示された (EMBO J. 2001; EMBO Rep. 2006a)。また、Ca<sup>2+</sup>オシレーションによる細胞機能制御の意義について、Ca<sup>2+</sup>依存性転写因子 (NFAT) の核移行を対象として解析を行った。この結果、Ca<sup>2+</sup>オシレーションの頻度に依存してNFATが核移行する周波数制御 (FM制御) が行われ、かつCa<sup>2+</sup>オシレーションはシグナル伝達の高効率化に寄与することが明確にされた (EMBO J. 2003)。以上より、Ca<sup>2+</sup>シグナル機構研究において重要な基本的課題に対して解を与えることに成功した。

以上の成果は、影響力の強いReview誌に多数回引用されている。自己再生産的Ca<sup>2+</sup>放出がCa<sup>2+</sup>オシレーション形成に必須であることを示した研究 (EMBO J. 2001) は、*Physiol. Rev.* に5回、*Ann. Rev. Biochem.* と *Immunol. Rev.* に各1回引用されている。ミトコンドリアからのCa<sup>2+</sup>放出が、Ca<sup>2+</sup>オシレーションのペースメーカーとなることを示した成果 (EMBO Rep. 2006a) は、*Physiol. Rev.*, *Nat. Protocol*, *Trends Cell Biol.* に各1回引用されている。Ca<sup>2+</sup>オシレーションにより細胞機能が制御されることの意義を示した成果 (EMBO J. 2003) は、*Nat. Rev. Rheumatol.* と *Immunol. Rev.* に引用されている。

**2) 中枢神経系における膜電位依存性 IP<sub>3</sub> 産生機構** 中枢神経系において IP<sub>3</sub> 動態の可視化を行い、代謝型グルタミン酸受容体により活性化される IP<sub>3</sub> 動態を、小脳プルキンエ細胞の樹状突起において観測することに成功した。その結果、脱分極に伴う細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度上昇がホスホオリパーゼCを更に活性化して、IP<sub>3</sub>産生を高めることを明らかにした (Neuron 2001; J. Neurosci. 2004)。すなわち、代謝型グルタミン酸受容体だけでなく、イオンチャネル型グルタミン酸受容体も協調的に細胞内IP<sub>3</sub>動態と引き続く細胞内Ca<sup>2+</sup>動員に関与すると言う予想外のメカニズムを明らかにした。この成果は、*Nat. Rev. Neurosci.*, *Trends Neurosci.*, *Trnds. Biochem. Sci.*, *Pharmacol. Rev.* に引用されている。

**3) 最適化 siRNA ライブラリー作製法の開発** : 機能分子を抑制する方法として、RNA干渉は極めて有用な手法である。しかし、どの部分の配列に対して干渉すれば有効か合理的に推定する方法はまだない。段階的な酵素反応により、標的分子のcDNAから多数のsiRNAからなるライブラリーを自動的に生成するシステムを確立した (Nat. Genet. 2004)。本論文は、*Nature* の総説で1回、*Nature Reviews* シリーズ誌に4回、*Ann. Rev. Genom. Hum. Genet.* に1回引用される等注目されている。

## (2) 論文引用状況

調査日 2010年5月13日

研究期間中に発表された論文

- Matsuzaki, M., Ellis-Davies, G.C.R., Nemoto, T., Miyashita, Y., Iino, M. and Kasai, H. Dendritic spine geometry is critical for AMPA receptor expression in hippocampal CA1 pyramidal neurons. **Nat. Neurosci.** 4, 1086-1092, 2001. 「二光子励起顕微鏡を用い中枢神経細胞の棘突起のグルタミン酸感受性を測定した論文」 340件
- Ueda, H.R., Chen, W., Adachi, A., Wakamatsu, H., Hayashi, S., Takasugi, T., Nagano, M., Nakahama, K.-I., Suzuki, Y., Sugano, S., Iino, M., Shigeyoshi, Y. and Hashimoto, S. A transcription factor response element for gene expression during circadian night. **Nature** 418, 534-539, 2002. 「概日リズムの夜間に転写される遺伝子の制御機構を明らかにした論文」 295件
- Ueda, H.R., Hayashi, S., Chen, W., Sano, M., Machida, M., Shigeyoshi, Y., Iino, M. and Hashimoto, S. System-level identification of transcriptional circuits underlying mammalian circadian clocks. **Nat. Genet.** 37, 187-192, 2005. 「概日リズムの形成に関わる転写因子ネットワークを明らかにした論文」 164件
- Takeshima, H., Komazaki, S., Nishi, M., Iino, M. and Kangawa, K. Junctophilins: a novel family of junctional membrane complex proteins. **Mol. Cell** 6, 11-22, 2000. 「細胞膜と小胞体膜を連結するタンパク質ジャンクトフィリンを同定した論文」 159件
- Shirane, D., Sugao, K., Namiki, S., Tanabe, M., Iino, M. and Hirose, K. Enzymatic production of RNAi libraries from cDNAs. **Nat. Genet.** 36, 190-196, 2004. 「段階的な酵素反応により、標的分子 cDNA から多数の siRNA からなるライブラリーを自動的に生成するシステムに関する論文」 95件
- Tomida, T., Hirose, K., Takizawa, A., Shibasaki, F., and Iino, M. NFAT functions as a working memory of  $Ca^{2+}$  signals in decoding  $Ca^{2+}$  oscillation. **EMBO J.** 22, 3825-3832, 2003. 「NFAT の核移動を指標に  $Ca^{2+}$  オシレーションの意義を明確にした論文」 86件
- Miyakawa, T., Mizushima, A., Hirose, K., Yamazawa, T., Bezprozvanny, I., Kurosaki, T. and Iino, M.  $Ca^{2+}$ -sensor region of  $IP_3$  receptor controls intracellular  $Ca^{2+}$  signalling. **EMBO J.** 20, 1674-1680, 2001. 「 $Ca^{2+}$  オシレーション形成に  $IP_3$  受容体の自己再生産的  $Ca^{2+}$  放出が必須であることを示した論文」 71件
- Okubo, Y., Kakizawa, S., Hirose, K. and Iino, M. Visualization of  $IP_3$  dynamics reveals a novel AMPA receptor-triggered  $IP_3$  production pathway mediated by voltage-dependent  $Ca^{2+}$  influx in Purkinje cells. **Neuron** 32, 113-122, 2001. 「中枢神経細胞で初めて細胞内  $IP_3$  動態を可視化し、イオンチャンネル型グルタミン酸受容体を介する  $IP_3$  産生もあることを示した論文」 62件
- Yamazawa, T. and Iino, M. Simultaneous imaging of  $Ca^{2+}$  signals in interstitial cells of Cajal and longitudinal smooth muscle cells during rhythmic activity in mouse ileum. **J. Physiol.** 538, 823-835, 2002. 「消化管壁の  $Ca^{2+}$  イメージングにより、ペースメーカー細胞と考えられているカハール細胞の活動を周囲の平滑筋細胞の活動と比較した論文」 41件
- Okubo, Y., Kakizawa, S., Hirose, K. and Iino, M. Cross talk between metabotropic and ionotropic glutamate receptor-mediated signaling in parallel fiber-induced inositol 1,4,5-trisphosphate production in cerebellar Purkinje cells. **J. Neurosci.** 24, 9513-9520, 2004. 「中枢神経細胞において、代謝型及びイオンチャンネル型グルタミン酸が協同して  $IP_3$  産生を起こすことを示した論文」 17件

## 研究期間終了後に発表された論文

- Baba, Y., Hayashi, K., Fujii, Y., Mizushima, A., Watarai, H., Wakamori, M., Numaga, T., Mori, Y., Iino, M., Hikida, M. and Kurosaki, T. Coupling of STIM1 to store-operated  $\text{Ca}^{2+}$  entry through its constitutive and inducible movement in the endoplasmic reticulum. **Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.** 103, 16704-16709, 2006. 「ストア作動型  $\text{Ca}^{2+}$  流入に Stim1 が重要な働きをしており、小胞体膜上を流星のように移動しながら小胞体内腔の  $\text{Ca}^{2+}$  濃度が低下すると細胞膜直下へ集積することを示した論文」 81 件
- Ishii, K., Hirose, K. and Iino, M.  $\text{Ca}^{2+}$  shuttling between endoplasmic reticulum and mitochondria underlying  $\text{Ca}^{2+}$  oscillations. **EMBO Rep.** 7, 390-396, 2006. 「小胞体とミトコンドリアの協同作業により  $\text{Ca}^{2+}$  オシレーションが形成されることを示した論文。」 34 件
- Namiki, S., Kakizawa, S., Hirose, K. and Iino, M. NO signalling decodes frequency of neuronal activity and generates synapse-specific plasticity in mouse cerebellum. **J. Physiol.** 566, 849-863, 2005. 「一酸化窒素 (NO) シグナルを脳組織内で可視化し、予想に反して NO が局所的なシグナル分子であることを明らかにした先駆的論文」 19 件
- Kanemaru, K., Okubo, Y., Hirose, K. and Iino, M. Regulation of neurite growth by spontaneous  $\text{Ca}^{2+}$  oscillations in astrocytes. **J. Neurosci.** 27, 8957-8966, 2007. 「グリア細胞の  $\text{Ca}^{2+}$  シグナルを抑制することにより、神経突起伸長が抑制されることが明らかにし、神経の成長維持に関与する新たな分子機構を明らかにした論文。注目すべき論文として *This Week in The Journal* に取り上げられた。」 16 件
- Furutani, K., Okubo, Y., Kakizawa, S. and Iino, M. Postsynaptic inositol 1,4,5-trisphosphate signaling maintains presynaptic function of parallel fiber-Purkinje cell synapses via BDNF. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.** 103, 8528-8533, 2006. 「活動依存的なシナプス機能維持の分子機構を明らかにし、それに BDNF が関与していることを示した論文」 11 件
- Kakizawa, S., Kishimoto, Y., Hashimoto, K., Miyazaki, T., Furutani, K., Shimizu, H., Fukaya, M., Nishi, M., Sakagami, H., Ikeda, A., Kondo, H., Kano, M., Watanabe, M., Iino, M. and Takeshima, H. Junctophilin-mediated channel crosstalk essential for cerebellar synaptic plasticity. **EMBO J.** 26, 1924-1923, 2007. 「リアノジン受容体からの  $\text{Ca}^{2+}$  放出による  $\text{Ca}^{2+}$  依存性 K チャネルの活性化に細胞膜と小胞体膜を連結するジャンクトフィリンが必須であることを示した論文」 10 件
- Namiki, S., Sakamoto, H., Iinuma, S., Iino, M. and Hirose, K. Optical glutamate sensor for spatiotemporal analysis of synaptic transmission. **Eur. J. Neurosci.** 25, 2249-2259, 2007. 「新規グルタミン酸プローブ (EOS) を創出した論文」 8 件
- Hashimoto, A., Hirose, K. and Iino, M. BAD detects coincidence of G2/M Phase and growth factor deprivation to regulate apoptosis. **J. Biol. Chem.** 280, 26225-26232, 2005. 「アポトーシス関連タンパク質 BAD が細胞周期と増殖因子除去を関知して細胞死を惹起することを示した論文」 7 件

### 3. その他、効果・効用等の評価に関する情報。

#### (1) 研究成果の社会への還元状況

神経回路を使い続けることがその維持に必要ということを示した論文 (Furutani, K. *et al.* *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 103, 8528-8533, 2006) は、2006年5月25日付け朝日新聞に紹介記事が掲載され、同紙のインターネット版の全分野のアクセス回数で、同日の7位となるなど注目された。基礎的な研究成果を社会で認知してもらうことに貢献したと言えるかも知れない。

本研究は医学研究の一翼を担うものであるが、典型的な Interest-driven research (未知機構に関する基礎的な研究であり、特定の疾患等を対象とする研究ではない) であり、即時的な効果を期待すべき応用研究とは異なる。一般に、医学研究のアプローチは以下3種に大別できる。(1) Patient-oriented research (患者に根ざした研究であり、臨床現場における新たな病態の発見や、患者を対象とした臨床試験など) と、(2) Disease-oriented research (ある疾患を対象とした、患者を対象とするかモデル動物等を用いた研究)、そして(3) Interest-driven research である。これら3つのアプローチは、医学研究の社会貢献にいずれも重要であることは医学の発展の歴史が明確に示している。特に、この3つのアプローチが互いに補完する関係が生まれた時に、大きな進展が生まれる。すなわち、Patient-oriented research あるいは Disease-oriented research が進展する上で、Interest-driven research は不可欠である。また、Interest-driven research が Disease-oriented research あるいは Patient-oriented research へと展開することもしばしばある。Interest-driven research によって得られる成果は基礎的なものであるが、本質的かつ基礎的成果であるほど重要でないわけではなく、将来確実に社会へ還元されるはずである。本研究の成果もそうなると考えているが、特に現在進めている一酸化窒素に関連する成果については、脳疾患との関連を明確に示す成果が得られており、現時点では未発表であり詳細に述べることは控えたいが、治療法への重要な示唆が得られると期待される。このようなことから、社会への還元という点では、長期的視点に立てば必ず貢献できると自負している。



## (2) 研究計画に関与した若手研究者の成長の状況

本研究遂行時に研究室のスタッフあるいは大学院生であった若手研究者が多数気鋭の研究者として、大学あるいは研究機関で活躍している。以下、氏名の後の括弧内は当時の職など。

**竹島 浩** (助教授) : 久留米大学・教授および東北大学・教授を経て、京都大学薬学研究科・教授  
リアノジン受容体及び細胞膜と小胞体膜を連結するタンパク質群 (ジャンクトフィリン) の研究で先駆的な業績をあげている。さらに、小胞体に存在するカウンターイオンチャネルを発見している。現在、京都大学大学院薬学研究科・教授。

**廣瀬謙造** (講師/助教授) : 名古屋大学医学部・教授を経て、東京大学医学系研究科・教授  
新たなイメージング・プローブの開発、siRNA ライブラリーの新規作成方法などにおいて、本研究期間中は講師および助教授として研究に参加した。平成 17 年に 37 歳で名古屋大学大学院医学系研究科・教授、平成 20 年からは東京大学大学院医学系研究科・教授として活躍中。

**山澤徳志子** (助手) : 東京大学医学系研究科・助教  
本研究期間中には消化管平滑筋の律動的収縮メカニズムについて  $\text{Ca}^{2+}$  イメージング法を用いて研究成果を上げた。現在は、NO シグナルと  $\text{Ca}^{2+}$  シグナルのクロストーク機構を研究している。

**柿澤 昌** (助手) : 長崎大学・講師を経て、京都大学薬学研究科・准教授  
本研究期間中は、特に小脳スライス標本における NO 可視化を行った。その他多くの共同研究を手がけた。転出後も当研究室在籍中の NO シグナルと  $\text{Ca}^{2+}$  シグナルのクロストーク機構研究を継続している。

**橋本彰子** (大学院生/PD) : 理化学研究所・研究員  
BAD が細胞周期依存性にアポトーシスを制御することを明らかにした。その後、免疫系の研究へと展開するため、理化学研究所へ異動。イメージング法を活かした研究を行っている。

**並木繁行** (大学院生/PD) : 名古屋大学・助教を経て、東京大学医学系研究科・助教  
有機化学のバックグラウンドを活かして、NO インジケーター、グルタミン酸プローブ等を開発した。現在、東京大学大学院医学系研究科・廣瀬研究室の助教として活躍中。

**上田泰己** (大学院生) : 理化学研究所・チームリーダーを経て、理化学研究所・プロジェクトリーダー  
27 歳で理化学研究所・チームリーダーに就任して活躍中。概日リズムに関するシステムバイオロジーの先端的研究を進めており、大きな成果を挙げている。

**井上尊生**（大学院生/PD）：スタンフォード大学における PD を経て、ジョンズホプキンス大学・Assistant Professor

薬学部・長野研究室との共同研究として、IP<sub>3</sub> 受容体の光不活性化法を開発した。当研究室のポストドクを経てスタンフォード大学のポストドクとなり、多数の成果を挙げ、平成 20 年からはジョンズホプキンス大学で Assistant Professor としての独立研究ポストを得ている。

**冨田太郎**（大学院生）：東京大学医科学研究所・助教

NFAT を用いた Ca<sup>2+</sup>オシレーション機能解析で優れた成果を挙げた。大学院修了後、東京大学医科学研究所・助教に採用され、イメージング法を用いた研究を継続している。

**石井清朗**（大学院生）：国立長寿医療研究センター・研究員を経て、筑波大学・助教

小胞体内腔 Ca<sup>2+</sup>インジケーターおよびミトコンドリア内腔 Ca<sup>2+</sup>インジケーターを作成し、Ca<sup>2+</sup>オシレーションのメカニズム解明に成果を挙げた。大学院修了後は国立長寿医療研究センター・研究員となり、成果を挙げた後、筑波大・助教に採用され研究を発展させている。

**大久保洋平**（大学院生）：東京大学医学系研究科・PD を経て、東京大学医学系研究科・助教

東京大学医学系研究科医科学修士第 1 期生として研究室に入り、本研究期間中に Neuron 誌へ論文発表。医学博士課程に進学し、本研究終了後は、ポストドクを経て、平成 18 年より当研究室助手・助教として活躍中。脳内グルタミン酸動態をスライス標本で可視化する先駆的な研究を行っている。

**金丸和典**（大学院生）：東京大学医学系研究科・助教

大学院生として、アストロサイトの Ca<sup>2+</sup>シグナルの意義を解析し、神経突起伸長に必須であることを示した。平成 20 年から当研究室助教として、継続して本機能の分子機構解析を行っている。

**古谷和春**（大学院生）：大阪大学医学系研究科・助教

本研究室の大学院生として、活動依存的なシナプス維持機構の発見に関与。大学院修了後は、平成 19 年より大阪大学医学部助教に採用され、同研究室の主要メンバーの一人として活躍している。

**林 健二**（大学院生）：横浜市立大学医学部・PD

細胞間反発に関与する Ca<sup>2+</sup>シグナル (Ca<sup>2+</sup>雷光) の研究を行うとともに、理化学研究所・黒崎研究室との共同研究で STIM1 のイメージングを担当し、STIM1 が流星のように細胞膜上を移動し、これがマイクロチューブルによるものであることを明らかにした。大学院修了後は、横浜市立大学の研究員として研究を継続している。