

脳磁場記録は、1. と同様に122チャンネル全頭型一次微分平面型脳磁場計測装置を用いて、静穏な磁気遮蔽室内で実施した。被験者は計測装置直下で座位を保持し、頭部を計測機器に密着し固定した。頭部の機器に対する位置を、頭皮上に装着した頭部位置指示コイルからの信号を各記録開始時に計測し統一した。脳磁場波形は、刺激呈示開始時を起点として、刺激前100ミリ秒を基準として、刺激前100ミリ秒から刺激後900ミリ秒で、標的・非標的刺激ごとに加算平均し求めた。眼球運動と瞬目を監視するために、右眼裂外側部と下部に2個の銀/塩化銀皿電極を接着した。通過周波数帯域を、脳磁場に対して0.03—100 Hz、眼球運動に対して0.01—100 Hz とし、標本周波数を1001 Hz とした。頭皮上脳波ならびに脳磁場計測中、瞬目と被験者の意識レベルの監視のために、各チャンネルの波形をモニターし、瞬目過多や意識レベル低下時にはインターフォンにて被験者に注意を喚起した。得られた随意背景脳活動波形は、解析処理のためにデータを MO disk に保管した。

解析は、加算平均した波形の再現性を確認し、これまでにその有用性と確実性が実証されてきた多電流源モデル (Hamalainen et al., 1993; Nishitani et al., 1998, 1999, 2000) を用いて、標的刺激に対する活動源の推定を行い、各被験者の頭部磁気共鳴画像に重畳した。そのうち海馬に活動源を推定した波形を、高速フーリエ変換にて周波数解析を行い、4 Hz 帯域ごとに TSE (Salmelin and Hari, 1994) を用いて事象関連同期現象の解析を行った。

## (2) 事象関連磁気共鳴分光法による計測

海馬におけるストレス刺激負荷に伴う、神経分子化学的変化を解明するために、刺激呈示を起点とした事象関連磁気共鳴分光法を新たに開発し、1.5 Tesla Proton-MRI (TR 1500 ms, TE 135 ms) で、STEAM法にて行なった。被験者は、脳磁場計測に参加した10名の健常成人である。

刺激は、脳磁場計測と同様のものを用いた。機器性能の制約上、標的・非標的刺激呈示時の反応を同時に記録することは不可能であるため、標的・非標的刺激の呈示確率を20%、80%に固定した。標的刺激は、快・不快刺激のいずれかとし、被験者間で均衡するようにした。刺激呈示間隔、呈示時間は脳磁場計測と同様にし、視覚刺激装置から、グラスファイバーを介して被験者の眼前に設置したスクリーン内に無秩序な順で呈示した。被験者には、標的刺激の出現回数を数える課題を課した。

記録は、被験者頭部画像の撮像を、通常の T1-weighted image で最初に行った。これを基に、2x3x2 センチ立方の関心領域・シングルボクセルを左もしくは右の海馬体、海馬傍回に合致させた。水抑制後、傾斜磁場調整を行い、Shimming Level 10—14 Hz に安定するように設定した。1回の検査における刺激呈示回数は、信号/ノイズ比の関係で300回とした(記録時間10分)。撮像を開始は、パルス励起に要する時間と、頭皮上脳波や脳磁場における応答潜時 (Nishitani et al., 1998,

1999) を考慮し、刺激呈示開始時から200ミリ秒の遅延後にした。対照として、刺激なしの閉眼状態で、同等の加算回数記録した。左右の海馬からの記録は、別の日に行った。

求められた磁器共鳴スペクトルに対して、残存する水成分の制御を行った後、Choline-compound (Cho、分光周波数 3.20 ppm), Creatine-compound (Cr、3.00 ppm), N-acetylaspartate (NAA、2.01 ppm)の分光周波数を含む周波数帯域で基線補正を行い、さらに高速フーリエ変換ならびにGaussian変換した各スペクトルを積分した。その後安静時の各物質に値で課題負荷時の値を補正し、Cho/NAA, Cr/NAA の相対値を統計処理した。

#### (倫理面への配慮)

研究概要に関して所属機関の倫理委員会に計り審査を受けた。被験者または保護者・関係者から、口頭ならびに文書にてインフォームドコンセントを徹底した。被験者の個人情報等に係るプライバシーの保護ならびに如何なる不利益も受けないように十分に配慮した。磁気遮蔽室内で実施する検査に対しては、遮蔽室内に他の検査者が同室し、安全の確保に努めた。

### C. 研究結果

#### 1. ストレス負荷時におけるヒト大脳の基礎律動の変化

頭皮上脳波、脳磁場計測のいずれにおいても、記録開始時(閉眼状態)後頭部において10 Hz 前後の $\alpha$ 波が、また両側部で10 Hz 前後の $\mu$ リズムが認められた。全記録中、全被

験者において、活動周波数帯域の変動は認められなかった。次に開眼状態では、両波共にその活動が抑制された。このことは $\alpha$ 波で著明であった。持続する開眼状態で、それぞれの周波数帯域の抑制傾向は持続した。開眼から再度閉眼状態に移行した後、 $\alpha$ 帯域の変化に有意差( $p < 0.05$ )を認めた。すなわち、開眼・標的固視では $\alpha$ 波は検査開始当初に比べて抑制状態が持続していた( $p < 0.05$ )のに対して、開眼・風景画像鑑賞時では、再度の閉眼時には、検査開始時に比べて活動比が高まっていた( $p < 0.05$ )。一方 $\mu$ リズムは、再度の閉眼時、活動比は検査開始時程度に回復したに止まった。これらの結果は、頭皮上脳波ならびに脳磁場において認められた。

#### 2. 刺激内容の差異によるヒト海馬の活動の変化

快・不快写真呈示の標的刺激を識別する課題における計測では、不快刺激が20%の確率で呈示され、かつ標的となっている時に、両側半球において応答磁場が明瞭に認められた。多電流源モデルによる活動源推定の結果、いずれの刺激呈示であっても、両側の海馬に活動源が認められた。活動源の大きさは、20%の確率で不快刺激を標的とした時が最大であった。これは左右半球の海馬に推定された活動源において認められた。一方、TSEによる解析では、 $\alpha$ 帯域(8—12 Hz)において、標的刺激として不快刺激が20%で呈示された場合で、最も非同期しており、そのピークは刺激呈示後400—450ミリ秒であった。このことは、動物の写真、乳幼児の写真にかかわ

らず認められた。また左右の海馬での差は、左側海馬においてこの傾向が顕著であった。

事象関連磁気共鳴分光法による研究では、安静時の海馬におけるスペクトルからの相対値 Cho/NAA、Cr/NAAが、大脳皮質のそれらと大きく異なることが判明した。これら安静時の相対値を基準にして更に補正した、快・不快写真刺激時のそれぞれの相対値による統計結果から、次のようなことが明らかになった。

補正したCr/NAA値は、不快刺激を標的にした時の方が、快刺激が標的であるよりも、両側海馬において大きく、特に左側海馬では他に対して有意差をもって補正值は大きかった ( $p < 0.05$ )。一方 Cho/NAA 値は、快・不快刺激のいずれに対しても、安静時のそれよりも低下していた。特に左側海馬に優位に認められた (安静時の82%)。しかし刺激内容による差は認められなかった。

#### D. 考察

ストレス負荷に対する、ヒト大脳皮質および両側海馬の活動変化を、頭皮上脳波、脳磁場および事象関連磁気共鳴分光法により、非侵襲的に明らかにした。

ストレス負荷時におけるヒト大脳の基礎律動の変化解明における研究では、互いに相補的關係にある頭皮上脳波および脳磁場において、持続するストレス負荷が除去後も $\alpha$ 波の抑制状態が継続したのに対して、快刺激 (風景画像鑑賞) 後では逆に $\alpha$ 波の亢進を認めた。このことは、それぞれの刺激が負荷されている期間後も、その影響が持続していることを

示している。従って、更に強度なストレスや、長時間あるいは反復するストレスに暴露された場合、この $\alpha$ 波の抑制状態が、強度にまた長時間持続することが示唆される。

後頭部 $\alpha$ 波の変化に対して、中心溝付近の $\mu$ リズムでは、刺激負荷中にのみ、その抑制を認めた。通常開眼刺激のみでは $\mu$ リズムは減衰せず、注意を喚起する覚醒刺激で減衰・抑制が生じるとされており (Chapman et al. 1962)、今回負荷した視覚刺激 (標的固視ならびに風景画像) が被験者の注意を喚起したことを示唆する。

このような $\alpha$ 波と $\mu$ 波の電気生理学的動向の相違は、少なくとも今回用いた負荷刺激に対する影響の相違を示唆する。すなわち視床皮質投射路を介した視床から頭頂後頭部皮質への神経情報はストレス因性刺激に影響されるのに対して、感覚運動皮質野の活動は影響されないと考えられる。このメカニズムとして以下のようなことが考えられる。開眼により入力される視覚情報の内容が閉眼後も残存し、その結果視覚領野の活動が持続し、皮質皮質路を介して視床皮質投射路からの $\alpha$ リズムを抑制する。一方、内因性の機能である注意機能により、中心溝付近に視床皮質投射路を介して伝播した律動は抑制されるが、直接視覚情報の関与を受けないために、刺激除去後には抑制は解除されるというものである。また、ストレス負荷除去後においても、大脳皮質における基礎律動の抑制が認められたことは、強度または慢性のストレス負荷時における脳機能破綻のモデルを示唆するものとして考えられる。快刺激 (風景画像鑑賞) 後の

基礎律動亢進は、検査開始時のストレスが解除され、視床皮質投射路を介した脳律動が増進したと考えられる。

刺激内容の差による海馬における認知機能の変化を明らかにした研究では、不快刺激に対して海馬、特に左側海馬において、脳磁場計測で事象に関連して $\alpha$ 帯域のリズム脱同期不快刺激呈示後 400—450 ミリ秒で最大で、また磁気共鳴分光法で神経細胞エネルギー代謝の亢進を認めた。

脳磁場計測による結果は、認知課題において海馬が関与することを示しているが、これはこれまでの結果と一致する(Nishitani et al., 1998, 1999)。不快刺激を標的にした認知課題で、事象関連脱同期が最大であったことは、不快標的の刺激を弁別認識するために海馬神経活動が最も亢進したことを示唆する。また不快刺激に対して左側海馬優位（全員右利き被験者）に反応が認められたことは、刺激弁別のうち、不快情報等の情緒・感情に関連する刺激弁別には、大脳皮質、辺縁系から成る神経回路の中で、特に優位半球の海馬が関与することを示唆している。

磁気共鳴分光法では、健常成人からの記録であり、海馬神経構造の病的変化はそれぞれのMRIにおいて認められていないことから、検査中の海馬神経細胞や細胞膜等の構造に変化は生じないと考えられる。また頭皮上脳波や脳磁場による事象関連応答研究の反応時間結果を考慮し計測を行ったので、磁気共鳴分光法により得られた Cr/NAA 比は、標的刺激の弁別に関する海馬神経内ミトコンドリアを中心としたエネルギー代謝の変化を評価してい

ると考えられる。不快刺激に対して、両側海馬で Cr/NAA 比が快刺激よりも大きく、さらに左海馬において有意に増大していた ( $p < 0.05$ )。この結果は不快刺激の弁別によりエネルギー代謝が亢進したことを意味し、脳磁場計測の結果と一致する。

## E. 結論

ストレス負荷、不快刺激によるヒト脳活動の変化を、大脳皮質、海馬における神経活動の変化として、頭皮上脳波・脳磁場計測、事象関連磁気共鳴分光法により非侵襲的に評価した。

持続的はストレス負荷が解除された後も、脳基礎律動 ( $\alpha$ 波) が抑制されていることが明らかになった。また不快刺激を積極的に認識する課題において、海馬神経におけるエネルギー代謝が亢進すること、およびこの認識過程において周波数  $\alpha$  帯域の抑制を認めた。以上のことから、ストレスにより脳の基本的活動に負荷がかかり、抑制されることが明らかになった。

今回の研究では、大脳皮質ならびに海馬において、その神経活動の変化を明らかにしたが、破綻機構を明らかにするためには、ストレス負荷の扁桃体・海馬—辺縁系—視床—大脳皮質におけるニューラルネットワーク上での伝播形態、大脳皮質、海馬以外の前頭葉等の脳組織の活動変化、ストレス因性疾患を有する患者での脳活動の変化と健常成人との相違等を、今後検討する必要がある。

## (参考文献)

- 1.Lang PJ, Bradley MM, Cuthbert BN (1997) International affective picture system (IAPS): technical manual and affective ratings. Gainesville: The Center for Research in Psychophysiology, University of Florida.
- 2.Hamalainen M, Hari R, Ilmoniemi R, Knuutila J, Lounasmaa OV (1993) Magnetoencephalography: theory, instrumentation, and application to noninvasive studies of the working human brain. Rev Mod Physics 65: 413-497.
- 3.Nishitani N, Nagamine T, Fujiwara N, Yazawa S, Shibasaki H (1998) Cortical-hippocampus auditory processing identified by magnetoencephalography. J Cogn Neurosci 10: 231-247.
- 4.Nishitani N, Uutela K, Shibasaki H, Hari R (1999) Cortical Visuomotor integration during eye pursuit and eye-finger pursuit. J Neurosci 19: 2647-2657.
- 5.Nishitani N and Hari R (2000) Temporal dynamics of cortical representation for action. PNAS 97: 913-918.
- 6.Salmelin R and Hari R (1994) Spatiotemporal characteristics of sensorimotor neuromagnetic rhythms related to thumb movement. Neurosci 60: 537-550.
- 7.Nishitani N, Ikeda A, Nagamine T, Honda M, Mikuni N, Taki W, Kimura J, Shibasaki H (1999) The role of the hippocampus in auditory processing studied by event-related electric potentials and magnetic fields in epilepsy patients before and after temporal lobectomy. Brain 122: 687-707.
- 8.Chapman RM, Armington JC, Bragdon ER (1962) A quantitative survey of kappa and alpha EEG activity. Electroenceph Clin Neurophysiol 14: 858-868.

## F. 健康危機情報

特記事項なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- (1) Nishitani N, Maeno M, Maruyama K, Okamoto J: Magnetoencephalographic and biochemical aspects of event-related cognitive activities in hippocampus. NeuroImage (in press)
- (2) Nishitani N: Neurochemical assessments of human hippocampal cognitive processing (in submission)
- (3) Nishitani N and Iijima M: Brain rhythms and stress (in submission)

### 2. 学会発表

- (1) 西谷 信之、飯嶋 睦、岡本 泰昌、山脇 成人：脳リズムとストレス 第30回日本臨床神経生理学会学術大会 2000年12月13-15日、京都
- (2) Nishitani N, Maeno M, Maruyama K, Okamoto J: Magnetoencephalographic and biochemical aspects of event-related cognitive activities in hippocampus. 7<sup>th</sup> Annual Meeting of the Organization for Human Brain Mapping. 2001年6月10-14日、Brighton, UK

## H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

以下全て、特になし

1. 特許取得
2. 実用新案登録
3. その他

厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）  
分担研究報告書

ストレス負荷時の神経細胞アクチン骨格再構成に関する研究

分担研究者 尾藤 晴彦 京都大学医学研究科講師

研究要旨

ストレス負荷による部位特異的な神経細胞形態変化を早期に検出するため、神経細胞内アクチンを可視化できる GFP-actin を作成した。これを用い、海馬培養神経細胞において、ストレス負荷を模した種々の過剰刺激により、樹状突起を含む複数の部位特異的な細胞形態変化を誘導するメカニズムが活性化されることを証明した。また、共同研究を通じて、このような情報伝達系とクロストークするアクチン制御、あるいは CREB 転写系制御の機構の一端を明らかにした。

A. 研究目的

ストレスが持続化すると、生体恒常性の破綻を来し、様々な疾患罹患のリスクを著しく増悪させることが知られている。現代の高齢化社会においては、ストレスが引き起こす健康障害の増悪の阻止ということは緊急課題である。ストレスにさらされた個体の脳内部では、様々なシグナル伝達経路が活性化され、神経伝達・神経回路の機能を修飾すると考えられている。しかしながら、そのような分子修飾の詳細については、ほとんど解明されていない。

ストレス負荷が強すぎると、海馬を中心とした領域で非可逆的な神経細胞死に至る前病変として、可逆的な神経細胞形態、とくに樹状突起の平坦化が顕著に引き起こされるとの報告がある。我々は、このような細胞レベルでの可逆的なストレス病変の分子機構を探索することにより、不可逆性の病変への進行を阻止できる可能性が見いだされるのではないかと考え、ス

トレス負荷時の神経細胞アクチン再構成に関する研究を行うことにした。

すでに今までの知見により、GFP-actin 分子を用いて、樹状突起内アクチン細胞骨格を可視化できることが明らかになっている。そこで以下の2つの実験システムを構築することとした。

1) 初代海馬神経培養系における過剰な神経興奮負荷時に樹状突起アクチン細胞骨格がどのような挙動をとるのかを観察し、その詳細な分子機序を解析する。

2) トランスジェニックマウスに GFP-actin を神経細胞特異的に強制発現させ、ストレス病態モデルにおける樹状突起アクチン細胞骨格病変形成機構について探索する。

両システムを通して得られた知見を元に、樹状突起病変の進行を阻止する治療法の開発が期待される。

B. 研究方法

B-1. GFP-actin 発現アデノウイルスの作成

GFP-actin cDNA を東京大学医科学研究所の齊藤泉教授が開発した COS-TPC 法を用いて、2種類の GFP-actin 発現アデノウイルスを作成した。一つは、GFP-actin を CMV プロモータの下流に結合させたもの、もう一つは NSE (neuron-specific enolase) の下流に結合させたものである。常法により、リコンビナントアデノウイルスを HEK293 細胞内で作成し、3回 passage することにより、ウイルス力価が高い細胞上清が得られた。同上清を用いたところ、マウス初代培養神経細胞への感染・GFP-actin の発現が認められた。

#### B-2. GFP-actin 発現アデノウイルスを用いた過剰神経興奮状態における樹状突起アクチン動態の解析

尾藤らが以前開発したマウス海馬初代培養法を用い、シナプス形成期以降の神経アクチン細胞骨格の動態を観察した。real-time imaging は Bio-Rad MRC1024 レーザー共焦点顕微鏡システムに、カスタムのステージアダプター・カスタムチェンバーを用い、室温条件下で生きた海馬細胞のタイムラプス GFP 蛍光計測を行った。刺激条件は 1) Na<sup>+</sup>チャンネル阻害薬 tetrodotoxin 除去後、K<sup>+</sup>チャンネル阻害薬 4-aminopyridine 添加、2) 90mM 細胞外 K<sup>+</sup>負荷、3) 0Mg<sup>2+</sup>/100μM NMDA 負荷を用いて行った。

#### B-3. 神経細胞特異的 GFP-actin 発現マウスの作成

Columbia 大学医学部 Eric R. Kandel 教授より forebrain-selective な発現を可能にする CaMKII promoter を供与していただき、同プロモータ下流に GFP-actin を結合したコンストラクトを作成し

た。

#### (倫理面への配慮)

動物、組み替え DNA を用いた実験に関して、京都大学内担当諸委員会の基準に依拠して実験を行っている。現時点で、生きた動物個体に対するストレス負荷をまだ行っていない。

### C. 研究成果

#### C-1. GFP-actin 発現アデノウイルスの作成

Adex-NSE-GFP-actin と Adex-CMV-GFP-actin とを、ともに初代培養神経細胞に感染させたところ、ともに神経細胞に GFP-actin の発現を認めた。前者は予定通り、発現細胞が神経細胞に限局していたが、一細胞当たりの発現が低いため、高空間分解能・長時間の GFP-actin 蛍光測定が不可能であった。これに対して、Adex-CMV-GFP-actin は、神経細胞のみならずグリア細胞にも非常に高い発現量を認めた。同ウイルスのタイターを下げた状態で神経培養を感染させると、視野の中で互いに離れた細胞（神経細胞であれ、グリアであれ）のみが散発的に GFP-actin を発現するという条件が確立できた。このような条件は、一つの神経細胞の突起に焦点を絞ってタイムラプス観察するのに非常に適しているため、以降同条件を用いて以下の実験を行った。

#### C-2. GFP-actin 発現アデノウイルスを用いた過剰神経興奮状態における樹状突起アクチン動態の解析

上記ウイルスを用い、神経活動依存的に制御される神経細胞骨格動態の可視化を、海馬錐体細胞の初代培養系にて試みた。血清存在下で、あるい

は、血清非存在下の内在性神経活動負荷時において、シナプス形成後の海馬神経細胞では、樹状突起上の GFP-actin の点状構造は部位によって異なった動きを示し、アクチン制御の多様性が示唆された。さらに GFP-actin は過剰な神経活動により速やかな分布の変化を示した。すなわち、過剰な NMDA 受容体刺激を介した  $Ca^{2+}$  流入によって、一部の樹状突起スパイン内アクチン集積が増強され、形態変化も伴う可能性が示唆された。また、過剰な電位依存性  $Ca^{2+}$  チャンネル刺激による  $Ca^{2+}$  流入は、樹状突起内アクチンには大きな影響を与えなかったが、細胞体辺縁部アクチン骨格を強く増強させた。

本成果は現在論文投稿中である。

### C-3. 神経細胞特異的 GFP-actin 発現マウスの作成

トランスジェニックマウス作成のためのベクターコンストラクトをすべて構築し、現在受精細胞へのインジェクションを準備中である。

### C-4. 本研究と関連した共同研究の成果

神経活動依存性のアクチン細胞骨格制御は、ストレス負荷時のみならず、生理的神経可塑性においても必須なメカニズムと考えられている。そこで、生理的なアクチン細胞骨格再編成の例として、神経発生初期の成長円錐、軸索伸長制御を京大成宮研究室と共同で取り上げたところ、本研究を通じて立ち上げた蛍光観察系をもちいて、Rho 依存性シグナリングの極性誘導に対する負の制御が明らかとなった。

また、長期的な細胞骨格病変の形成には CREB 依存性転写が不可欠と考

えられているが、これについても Stanford 大 Tsien 研、Louis-Pasteur 大 Loeffler 研究室と共同で、L 型カルシウムチャンネルの特異的役割を解明した。

### D. 考察

本研究によって、全くあらたな、神経細胞内樹状突起のアクチン細胞骨格可視化法を開発し、基礎検討を行った。GFP-actin を用いることにより、初代培養細胞レベルでは、異なるカルシウム流入の過剰負荷が、アクチン動態に対して全く異なる作用を及ぼすことが明らかになった。これらの実験データは、神経活動、とくにストレス等にみられる過剰神経活動などにおいて、発生するカルシウム流入源の組み合わせによって、細胞骨格再構築の分布が制御されている可能性を示唆している。今後、このような可能性を検証していくとともに、このような知見の実際の病態における意義を、トランスジェニックマウスを用いたストレスモデル実験によって確認していく予定である。

### E. 結論

我々の実験データは、シナプス活動が過剰におこるとき、シナプスを含む樹状突起スパイン内のアクチン細胞骨格が非常にダイナミックに再編成されていることを示唆するもので、今後この研究を続けることにより、ストレス性樹状突起病変が引き起こされる原因が解明されることが期待できる。

### F. 健康危険情報

特になし。



## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. **Bito H**; Kavalali ET; Zhuo M; Deisseroth K; Tsien RW. Synaptic modulation of dendritic Ca<sup>2+</sup>-influx and gene expression. in "Slow Synaptic Responses and Modulation" (K. Kuba, H. Higashida, D.A. Brown, T. Yoshioka eds., Springer Verlag, Tokyo), pp. 182-188, 2000.

2. **Bito H**; Deisseroth K; Tsien RW. Activity-dependent regulation of communication from synapse to nucleus. in "Challenges for Neuroscience in the 21st Century" (O. Hayaishi ed., Japan Scientific Societies Press, Tokyo), pp. 107-120, 2000.

3. Mermelstein PG; **Bito H**; Deisseroth K; Tsien RW. Critical dependence of CREB phosphorylation on L-type calcium channels supports a selective response to EPSPs rather than action potentials. *J. Neurosci.*, 20: 266-273, 2000.

4. Madaule P; Furuyashiki T; Eda M; **Bito H**; Ishizaki T; Narumiya S. Citron, a Rho target that affects contractility during cytokinesis. *Microsc. Res. Tech.*, 49: 123-126, 2000.

5. **Bito H**; Furuyashiki T; Ishihara H; Shibasaki Y; Ohashi K; Mizuno K; Maekawa M; Ishizaki T; Narumiya S. A critical role for a Rho-associated kinase p160ROCK in determining axon outgrowth in mammalian CNS neurons. *Neuron*, 26: 431-441, 2000.

6. See V; Boutillier AL; **Bito H**; Loeffler JP. Calcium-calmodulin dependent protein kinase type IV (CaMKIV) inhibits apoptosis induced by potassium deprivation in cerebellar granule cells. *FASEB J.*, 15: 134-144, 2001.

7. Yamamoto M; Hilgemann DH; Feng S; **Bito H**; Ishihara H; Shibasaki Y; Yin HL. Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate induces actin stress fiber formation and inhibits membrane ruffling in CV1 cells. *J. Cell Biol.*, in press, 2001.

### 2. 学会発表

1. **Bito H**; See V; Boutillier AL; Loeffler JP. CaMKIV inhibits apoptosis induced by K<sup>+</sup> deprivation in cerebellar granule neurons. *Jpn. J. Pharmacol.* 82, Suppl.I, 75P, O-135, 200. 第73回日本薬理学会年会(3.23-25, 2000) 口頭発表

2. **Bito H**; Furuyashiki T; Ishizaki T; Narumiya S. A critical role for a Rho-associated kinase p160ROCK in determining axon outgrowth in mammalian CNS neurons. *Jpn. J. Pharmacol.* 82, Suppl.I, 107P, O-261, 2000. 第73回日本薬理学会年会(3.23-25, 2000) 口頭発表

3. **Bito H**; Furuyashiki T; Ishizaki T; Narumiya S. A role for Rho and p160ROCK in the initiation of axon outgrowth and the control of growth cone dynamics in central neurons. *Neurosci. Res. Suppl.* 24, S35, O-104, 2000. 第23回神経科学学会大会(9.4-6, 2000) 口頭発表

4. Furuyashiki T; **Bito H**; Narumiya S. Multiplicity in activity-dependent actin regulation in hippocampal neurons. *Neurosci. Res. Suppl.* 24, S42, O-164, 2000 第23回神経科学学会大会(9.4-6, 2000) 口頭発表

5. Matsuoka Y; **Bito H**; Kobayashi T; Sugimoto Y; Ushikubi F; Nakao K; Narumiya S. The role of prostaglandin receptors in mediating stress response in the central nervous system. *Neurosci. Res. Suppl.* 24, S26, O-048, 2000 第23回神経科学学会大会(9.4-6, 2000) 口頭発表

6. 尾藤晴彦。神経初代培養細胞を用いた神経シグナリングの解析。第23回

日本神経科学学会大会プログラム・抄録集, p.286、L10-2, 1999. 第23回日本神経科学学会大会、(9.4-6, 2000) ランチョン・セミナー

7. 尾藤晴彦、古屋敷智之、成宮周。カルシウムシグナリングの神経活動依存的転写調節とアクチン動態制御における役割。生化学 72, 614, S18-2, 2000. 第73回日本生化学会(10.11-14, 2000)シンポジウム発表

8. 古屋敷智之、尾藤晴彦、成宮周。海馬神経細胞における神経活動依存的なアクチン細胞骨格制御。生化学 72, 1018, 3P-229, 2000 第73回日本生化学会(10.11-14, 2000)ポスター発表

9. **Bito H**; Furuyashiki T; Ohashi K; Mizuno K; Ishizaki T; Narumiya S. A role for Rho and p160ROCK in the initiation of axon outgrowth and the control of growth cone dynamics in cultured

cerebellar granule neurons. **Soc. Neurosci. Abstr.**, 26, 833, 314.4, 2000. 第30回北米神経科学学会年会(11.4-9, 2000)ポスター発表

10. Furuyashiki T; Narumiya S; **Bito H**. Patterned synaptic activity induces actin reorganization in synaptically connected hippocampal neurons. **Soc. Neurosci. Abstr.**, 26, 562, 213.3, 2000. 第30回北米神経科学学会年会(11.4-9, 2000)口頭発表

11. Loeffler JP; Sée V; Boutilier AL; **Bito H**. Cleavage of calcium-calmodulin dependent protein kinase type IV (CaMKIV) during apoptosis induced by potassium deprivation in cerebellar granule cells. **Eur. J. Neurosci.** 12:7-7, Suppl. S 2000. 全欧神経科学学会大会シンポジウム発表。

H. 知的財産権の出願・登録状況  
特になし。

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者氏名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
Bito H, Kavalali ET, Zhuo M, Deisseroth	Synaptic modulation of dendritic Ca <sup>2+</sup> influx and gene expression	K. Kuba, H. Higashida, D.A. Brown, T. Yoshioka	Slow Synaptic Responses and Modulation	Springler Verlag	Tokyo	2000	182-188
Bito H, Deisseroth K, Tsein RW,	Activity-dependent regulation of communication from synapse to	O. Hayaishi	Challenges for Neuroscience in the 21 <sup>st</sup> Century	Scientific Societies	Tokyo	2000	107-120

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kozuru T, Kagaya A, Takebayashi M, Horiguchi J, Yamawaki S	Chronic electroconvulsive shock decrease (±)1-(4-iodo-2,5-dimethoxyphenyle)-2-aminopropane hydrochloride (DOI)-induced wet-dog shake behaviors of dexamethasone-treated rats.	Life Science	66	1271-1279	2000
Jitsuiki H, Kagaya A, Goto S, Horiguchi J, Yamawaki S	The effect of lithium carbonate on the enhancement of serotonin-2A receptor elicited by dexamethasone.	Neuropsychobio logy	41	55-61	2000
Morinobu S, Russel DS, Sugawara S, Takahashi M, Fujimaki K	Regulation of phosphorylation of cyclic AMP response element binding protein by paroxetine treatments.	Clin Neuropharmacol	23	106-109	2000

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Fujinaki K, Morinobu S, Duman RS	Administration of a cAMP phosphodiesterase 4 inhibitor enhances antidepressant-induction of BDNF mRNA in rat hippocampus.	Neuropsychopharmacol	22	42-51	2000
Nishitani N and Hari R	Temporal dynamics of cortical representation for action.	PNAS	97	537-550	2000
Mermelstein PG, Bito H, Deisseroth K, Tsien RW	Critical dependence of CREB phosphorylation on L-type calcium channels supports a selective response to EPSPs rather than action potentials.	J. Neurosci	20	266-273	2000
Madule P, Furuyashiki T, Eda M, Bito H, Ishizaki T, Narumiya S	Citron, a Rho target that affects contractility during cytokinesis.	Microsc. Res. Tech	49	123-126	2000
Bito H, Furubayashiki T, Ishihara H, Shibasaki Y, Ohashi K, Mizuno K, Maekawa M, Ishizaki T, Narumiya S	A critical role for a Rho-associated kinase p160ROCK in determining axon outgrowth in mammalian CNS neurons.	Neuron	26	431-441	2000
See V, Boutillier AL, Bito H, Loeffler JP	Calcium-calmodulin dependent protein kinase type IV (CaMKIV) inhibits apoptosis induced by potassium deprivation in cerebellar granule cells.	FASEB J	15	134-144	2001
Katagiri H, Kagaya A, Nakae S, Morinobu S, Yamawaki S	Modulation of serotonin-2A receptor function in rats after repeated treatment with dexamethasone and L-type calcium channel antagonist nimodipine.	Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry			2001 ( in press )

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Takahashi J, Tanaka K, Morinobu S, Fujimaki K, Li S-T, Kato K, Ohkawa M, Yamawaki S, Katon N	The influence of restraint stress on the expression and the serine/threonine phosphatase activity of calcineurin in the rat brain.	Synapse			2001 ( in press )
Nishitani N, Maeno M, Maruyama K, Okamoto J	Magnetoencephalographic and biochemical aspects of event-related cognitive activities in hippocampuls.	NeuroImage			2001 ( in press )
Yamamoto M, Hilgemann DH, Feng S, Bito H, Ishihara H, Shibasaki Y, Yin HL	Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate induces actin stress fiber formation and inhibits membrane ruffling in CV1 cells.	J. Cell Biol			2001 ( in press )