

(海外・国内) インターンシップ報告書

2015 年 10 月 5 日提出

氏名	矢野 沙織
所属	獣医学研究科生理学教室
学年	D4
活動先名	Saarland University、Germany
期間 ① (出発日―帰札日) ② (インターンシップ 実施開始日―終了日)	① 2015 年 6 月 30 日-9 月 28 日 ② 2015 年 7 月 1 日-9 月 25 日

帰国後 2 週間以内に提出してください (厳守) A4 用紙 4 枚以内

・活動目的及びインターンシップ先を選択した理由

今回インターンシップを行った研究室(PI: Professor Leinders-Zufall)は、新たな研究手法を積極的に取り入れ独自の手法を用いることで、Nature 誌、Science 誌を含むレベルの高い論文雑誌上で研究成果を次々に報告しており、世界の嗅覚研究を牽引する存在である。本研究チームで独自に開発された手法(新鮮脳スライス標本上での loose-patch clamp 法と組み合わせたカルシウムイメージング法)は、細胞内 Ca^{2+} 濃度の変動に伴う神経細胞の発火頻度・パターン変化を観察することができ、脳神経を研究する上で強力な武器となり得る。そこで、まず本手法を習得することを第一の目的とした。さらに当該手法を用いてチーム内で進行している一連のプロジェクトに研究員として参加することで、海外の一流研究室での研究員達の研究の進め方、また Professor Leinders-Zufall がチームを纏める手腕を間近で観察し、将来 PI として活躍する為に必要な姿勢を学ぶことを第二の目的としている。

・活動内容・成果 (2,000 字程度、活動内容が判る様な写真や図表を加えて下さい)

まず 3 週間をかけて、新鮮脳スライス標本作製、 Ca^{2+} イメージング、loose-patch clamp、そして loose-patch clamp と Ca^{2+} イメージングの同時実施のトレーニングを行った(図 1)。

次に、Professor Leinders-Zufall とのディスカッションを通じて、プロジェクト "Influence of TRP channels on endocrine cells of the brain" の研究室内での進行状況、また私の担当する部分について確認した。視床下部弓状核に分布する Dopamine 神経は Prolactin 受容体を持ち、Prolactin 刺激により Dopamine を放出する。放出された Dopamine は下垂体前葉の Prolactin 産生細胞に作用し、Prolactin 放出を抑制する(図 2)。本グループは既に、弓状核 Dopamine 神経

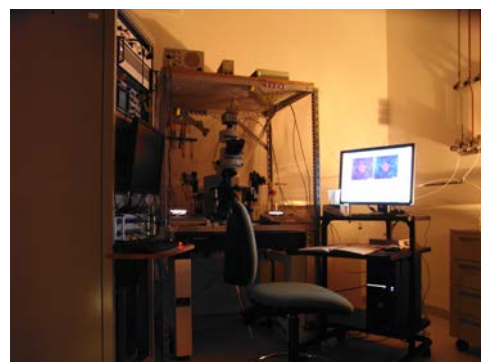


図 1. Ca^{2+} イメージング, loose-patch clamp に使用した機器

が TRPC5 チャネルを発現していること、TRPC5 欠損マウスが高 Prolactin 血症様の繁殖障害を呈することを既に明らかにしており、これらの事実から Prolactin が TRPC5 チャネルを通じて弓状核 Dopamine 神経の活性を調節し、Prolactin ネガティブフィードバック機構において重要な役割を果たすと仮説を立てた（図 3）。この仮説を証明するため、弓状核を含む新鮮脳スライス標本作製し、 Ca^{2+} イメージングを行った。

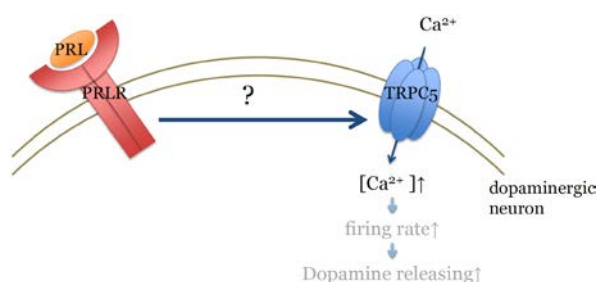


図 3. Prolactin は TRPC5 チャネルを通じて弓状核

Dopamine 神経の Ca^{2+} 濃度を変化させる？

まず、弓状核内に分布する細胞のうち約 20% が SAG (TRP チャネル agonist) によって Ca^{2+} 濃度が上昇し、そのうち約 60% の細胞で SKF96365 (TRPC チャネル blocker) によって Ca^{2+} 濃度上昇が阻害されたことから、弓状核に TRPC チャネルが存在することが再確認された。TRPC5 ノックアウトマウスにおいて、SAG 応答性細胞の割合は wild マウスと比較して低く (12%)、SKF96365 による Ca^{2+} 濃度上昇抑制は観察されなかった。次に Prolactin を弓状核に灌流させたところ。約 20% の細胞で Ca^{2+} 濃度が上昇し、ほぼ全ての細胞で SKF96365 による Ca^{2+} 濃度上昇が抑制された。このことから、Prolactin 応答に TRPC チャネルが関与することが示唆される。TRPC5 ノックアウトマウスの数が十分ではなかったため、TRPC5 ノックアウトマウスでの Prolactin の影響を確認することはできなかったが、代替案として ML204 (選択的 TRPC4/5 チャネル blocker) を使用したところ、Prolactin による Ca^{2+} 濃度上昇が一部阻害された。ただし高濃度 ML204 は異常な Ca^{2+} 濃度上昇を引き起こし、小胞体等の細胞内 Ca^{2+} ストアにも作用している可能性等、blocker の選択性にやや疑問が残った。実験に使用された脳スライス、別の研究員の免疫染色により細胞種の特定制が行われる予定である。

滞在期間中、Professor Leinders-Zufall とは、週 1, 2 回の頻度で 15 分から 1 時間程度の短いディスカッションを繰り返した。私だけでなく、その他のプロジェクトに属する研究員とも同様に頻繁にディスカッションを行っており、Professor Leinders-Zufall は就業時間のかなりの割合を研究員や技術補佐員とのディスカッションに費やしているようだった。短い時間のディスカッションであっても内容が濃く、実験上のトラブルに直面している場合はその解決策を、興味深い結果が出た時はその次に行うべき実験について簡潔に助言・指示してくれた。進捗状況を頻繁に確認し今後の方針について微修正を重ねることで研究を効率化し、同時に密にコミュニケーションをとることで研究員達のモチベーションを高めているようであった。

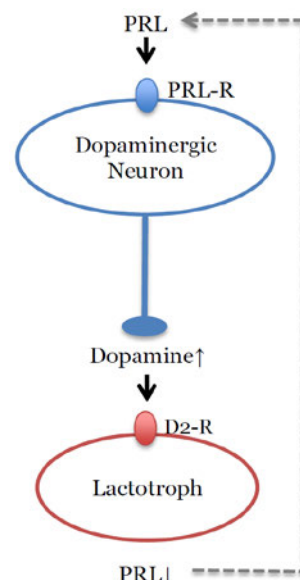


図 2. Prolactin フィードバック機構

また、滞在中には Leinders-Zufall 研そして共同研究を行っている同大学の Zufall 研（Professor Leinders-Zufall と Professor Zufall は夫婦。この 2 研究室は別々の研究室だが、実験室・機器を共有し、メンバーも頻繁に行き来する等まるで 1 つの研究室であるかのように動いている）のメンバーが Professor Zufall の自宅に集い、Garden party が開催された（図 4）。研究室に勤めるメンバーだけでなくその家族や恋人ら計 40 人程が集い、料理や飲物を楽しんだ。この間両 Professor は飲物を作ったり写真を撮ったりしながら頻繁にメンバーに話しかけ、場を盛り上げていた。こうした取り組みからも、両 Professor が研究員とのコミュニケーションを大切にしていることが伺われた。



図 4. Garden Party の一場面



図 5. Progress Report

最終日には、Leinders-Zufall 研そして Zufall 研のメンバーの前で、得られた結果と今後のプロジェクトの方向性について Progress Report を行った（図 5）。Progress Report を聞いた Professor Zufall から 3 ヶ月間という限られた時間内にしては期待以上の結果、との評価を頂けた。質疑応答も活発に行われ、プロジェクト全体に関する質問については、私だけでなく Professor Leinders-Zufall や同プロジェクトに参加する他の研究員からも回答があり、個人の研究ではなくチームでの研究であることを強く意識させられた。今後もこのプロジェクトは残ったメンバーや 10 月から新たに加わるメンバーによって進められ、論文にまとめられる予定である。

- ・今後のキャリアパスを考える上でどのようにプラスになったか。

来年度 4 月より、私は理研脳科学総合研究センターで母子行動と脳神経の関係性について研究を行う予定である。新鮮脳スライス上での Ca^{2+} イメージングは脳の研究をする上で非常に有効であり、着任後にも自力で実施可能と考えられる。loose patch clamp と Ca^{2+} イメージングの同時実施や patch clamp に関しては、残念ながらインターンシップ中にこれらの手法を用いて研究を行うことはできなかったが、3 週間のトレーニングを通して手法に関する理解が深まり、今後改めてトレーニングを積むことで習得も可能だと考えられる。

本インターンシップを通して、2 人の PI の研究に対する取り組みを間近で観察することができた。Professor Zufall は研究員の自主性を重んじ、Professor Leinders-Zufall は細やかな指導により研究を進めていた。異なる指導方針を持つ PI だが、共通して言えることはコミュニケーションの重視である。盛んにコミュニケーションをとることで PI・研究員双方の考え方を伝えあい、PI の考え方＝研究員の考え方とすることでプロジェクトのモチベーションを高めていた。プロジェクトに進展があった時、プロジェクトに関係するメンバー全員が心から喜んでいることが非常に印象的だった。今後自分が PI を目指す上で重要な発見だと思う。

また、Professor Leinders-Zufal は、研究者であると同時に子を持つ母親でもある。娘の誕生日には仕事を早く切り上げて帰宅するなど、家庭を大切にしている。自宅も隅々まで整頓され、研究だけでなく家庭も充実していることが伺えた。家庭と研究との両立には多くの苦勞が伴うだろうが、メリハリのある時間の使い方がそれを可能にしているようだった。彼女の研究室での働き方には、自身の今後のライフプランを考える上で学ぶべき点が非常に多かった。

さらに、今回のインターンシップを通して両 Professor は私を高く評価してくれ、ポスドクとして働くこと提案してくれたり、今後も連絡を取り合うことを約束してくれたりした。その他研究室に所属する多くの優秀な研究者とも誼を結ぶことができ、今後研究を続ける上で重要な繋がりを得ることができた。

・後輩へのアドバイス

もし卒業後にポスドクのポジションを望んでいて、就職先として気になる研究室があるのなら、積極的に連絡をとってみることをお勧めする。我々は研究室の雰囲気や内部から知ることができるし、研究室のボスも CV からでは分からない我々の能力を直接見ることができる。努力次第でそのままポジションを得ることができるかもしれない。貴重な機会なので、現在の自分の研究内容にとらわれず自分の行きたい研究室を選ぶと良い。繋がりの全くない研究室に挑戦する場合は、PI の元に大量に送信されてくる「雇ってくださいメール」と判断されないよう、何故その研究室に行きたいのか、どんなことをしたいのか、可能な限り具体的に書く。またリーディングプログラムの概要や、生活費補助があることも最初に送るメールに書く。返信が無かったら、繰り返しリマインダーメールを送ることで本気であることをアピールする。

インターンシップで研究を行うのなら、1 ヶ月の滞在では短すぎるように思う。私は、先方から 3~6 ヶ月程度の滞在でないと受け入れられないと言われた。研究の内容にもよるが、もし新しい手技を使って研究を行うなら、さらに 1 ヶ月程度は長く見積りたい。リーディングプログラムのサポート外の滞在費は自費となってしまうが、こちらの事情を丁寧に説明し、寮等を紹介してもらうことでより長期の滞在も可能だろう。

指導教員確認欄	指導教員所属・職・氏名			
	生理学教室	教授	葉原 芳昭	印

- ※1 電子媒体を e-mail で国際連携推進室・リーディング大学院担当に提出するとともに、指導教員が押印した原本を国際連携推進室・リーディング大学院担当に提出して下さい。
- ※2 インターンシップ先の担当者が活動内容を証明した文書（署名入り）を提出して下さい。
- ※3 本報告書はリーディングプログラムキャリアパス支援委員会で内容を確認します。その後、教務委員会で単位認定を受けることになります。

提出先：国際連携推進室・リーディング大学院担当

内線：9545 e-mail: leading@vetmed.hokudai.ac.jp