

第34回東北生理談話会

日 時：平成13年10月12日（金）午後1時～13日（土）午後0時30分

会 場：秋田キャッスルホテル

当番幹事：秋田大学医学部生理学第一講座 稲垣暢也

秋田大学医学部生理学第二講座 河谷正仁

秋田大学医療技術短期大学部 吉崎克明

演 題 数：23題

参 加 者：73名

昨年度の本会において、発表の前に自分の研究の背景について3分程度のレビューを行ったことが好評であったため、本年度は、3分程度のレビューを含む13分の発表と5分の質疑応答（合計18分）とした。また同一の研究室からの発表演題数を2題までとした。さまざまな分野における研究成果が合計23題発表され、活発な意見交換がなされると同時に親睦を深めることができた。なお、今回は、弘前大学医学部生理学教室が当番となり開催されることになった。

1. 拡散による酸素供給が限界に達しても好氣的代謝は維持され得る—ミトコンドリア呼吸調節の役割

高橋英嗣, 浅野功治, 土居勝彦 (山形大・医・第一生理)

われわれは単離心室筋細胞の細胞内酸素拡散およびそれに対応するミトコンドリアの好氣的代謝を画像化してきた。その結果、酸素消費を増加させた細胞では、細胞内部の酸素拡散抵抗のため細胞内に大きな酸素濃度勾配が生じ、これが特に細胞中心部に存在するミトコンドリアの好氣的代謝を阻害することがわかった (anoxic core)。この実験では脱共役剤を用いミトコンドリアの呼吸調節 (細胞のエネルギー状態に応じて電子伝達速度が変化すること) を消失させることで、酸素消費の増加を実現した。今回は正常なミトコンドリア呼吸調節をもつ細胞で、細胞内酸素拡散とミトコンドリア好氣的代謝の関係を画像化した。単離心筋細胞を35℃, 1.0 mM Ca²⁺存在下に毎分300回電気的にペーシングすることで酸素消費量を増加させた。細胞質のミオグロビンの吸光を約0.3 μm/pixelの空間分解能で画像化したところ、脱共役剤を用いた実験と同程度の細胞内酸素濃度勾配が観察された。しかるにミトコンドリアNADH蛍光画像からはミトコンドリア好氣代謝の細胞内分布 (勾配) は観察されなかった。このことはミトコンドリアの呼吸調節機構が拡散性酸素輸送の不足を補償し好氣的代謝を維持し得ることを意味する。

2. 血管収縮におけるp44/42 MAPK 磷酸化経路の寄与—ラット大動脈平滑筋における検討

石幡 明¹, 土居勝彦¹, 片野由美² (山形大・医・第一

生理,²同・看護・病態機能)

各種の細胞では増殖刺激によりMAPキナーゼ (MAPK) 活性化がおこることが知られている。アンジオテンシンII (AII) やエンドセリン-1 (ET-1) もチロシンキナーゼを介してMAPKを活性化する。今回AIIとET-1の血管収縮におけるp44/42 MAPK 磷酸化経路の寄与について検討した。【方法】ラット大動脈より血管内皮除去平滑筋標本を作製し、AII又はET-1を投与し平滑筋収縮を惹起させた。5分後に血管を液体窒素中で凍結し蛋白質を抽出した後、SDS-PAGE, ウェスタンブロットによりp44/42 MAPK 磷酸化レベルの変化を測定した。【結果】AIIおよびET-1の血管収縮発生時には、p44/42 MAPK 磷酸化が亢進した。PD98059またはU0126の前処置により血管収縮は抑制された。MEK阻害薬の存在下ではAII等によって誘導されるMAPK 磷酸化は、対照群より有意に抑制された。【考察】AII等による血管収縮発生時にはp44/42 MAPKの磷酸化が増加していること、MEK阻害によりp44/42 MAPKの磷酸化の減少と発生張力の低下が起こることから、血管収縮におけるp44/42 MAP kinase 磷酸化経路の重要性が示唆された。

3. セロトニンの電位依存性Ca²⁺チャネル促進作用に対するRho kinaseによる調節

川崎 敏¹, 木村真吾¹, 高島浩一郎¹, 藤田玲子², 佐々木和彦¹ (¹岩手医大・医・第一生理, ²岩手医大・教養部・化学)

アブリシア神経節細胞を静止膜電位に膜電位固定下、大

きな脱分極パルスで発生する外向き電流はセロトニン (5-HT) 投与によって著しく増大する。5-HT によって増大する外向き電流成分は Ca^{2+} 依存性 K^+ 電流であり、この増大効果は 5-HT 受容体刺激によりコレラ毒素感受性 G 蛋白の活性化を介して電位依存性 Ca^{2+} チャネルの opening が促進した結果であることを以前報告した。このような細胞に低分子量 G 蛋白 Rho を特異的に阻害する *Clostridium difficile* toxin B または *Clostridium botulinum* C3 exoenzyme を細胞内投与すると、5-HT の上記外向き電流増大効果は消失した。また、Rho-kinase 阻害剤の Y-27632 あるいは HA1077 を細胞内投与した場合にも 5-HT の上記増大効果は消失した。これらの結果から、5-HT による Ca^{2+} 電流増大作用は Rho とそれに続く Rho-kinase の活性化によって調節されていることが示唆された。

4. ウシ中大脳動脈においてトロンボキサン A_2 受容体刺激で発生する収縮の細胞内機構

幸治孝裕^{1,2}、西川泰正^{1,2}、川崎 敏¹、木村眞吾¹、土肥守³、小川 彰²、佐々木和彦¹ (岩手医大・医・第一生理,²同 脳神経外科,³国立療養所釜石病院)

ウシ中大脳動脈から作成したリング状標本に等尺性収縮条件下でトロンボキサン A_2 受容体 agonist の U-46619 を灌流投与すると時間経過のゆっくりとした収縮応答が発生する。U-46619 収縮を high K^+ 収縮と比較しながらその収縮発生の細胞内機構を調べた。両者の収縮共 calmodulin antagonist の W-7, IP3 inhibitor の 2-APB により著しく抑制された。一方、PKC inhibitor の Ro-31-8220 投与では収縮応答は抑制されなかった。toxin B または C3 exoenzyme で 37°C 48 時間処理すると U-46619 収縮は著しく阻害された。また、Rho-kinase inhibitor の Y-27632 の投与でも抑制された。U-46619 収縮は、protein tyrosine kinase inhibitor の lavendustin A あるいは PI 3-kinase inhibitor の LY 294002 によっても選択的に抑制された。上記の結果から U-46619 収縮には PI 3-kinase, protein tyrosine kinase, Rho-kinase の関与が示唆された。

5. Sprague-Dawley ラットの生後発達に伴う大動脈壁の力学的伸展特性の変化

勝田新一郎¹、山崎将生¹、和気秀文¹、長谷川正光²、清水 強¹ (福島県立医科大・医・第一生理,²国立循環器病センター研究所)

Sprague-Dawley (SD) ラットの発育に伴う大動脈壁の力学的伸展特性の変化について、壁の組織学的変化と関連づけて検討した。3, 8 および 20 週齢のラットの胸部大動脈近位部より長軸方向の壁切片を作製し、応力-ひずみ試

験および応力-緩和試験を行った。壁張力は、低~中ひずみ域では、週齢が増すにつれて有意に大きくなった。壁張力は、中ひずみ域では 3 週齢の方が他の 2 つの週齢よりも有意に小さかったが、高ひずみ域では有意に大きかった。壁弾性率は、初期長の 25% 伸展時では 3 週齢の方が他の週齢よりも有意に小さかったが、50% 伸展時では有意に大きかった。初期長の 50% 伸展 5 分後の緩和強度は、3 週齢では他の週齢よりも有意に大きく、壁には粘弾性的性質が強く現れた。組織学的には、コラーゲン線維や太いエラスチン線維には週齢間で特徴的变化はみられなかったが、平滑筋線維は、3 週齢で他の週齢と比べて細胞数に変化ないものの筋層は薄かった。また、3 週齢では、太いエラスチン線維を繋ぐ細いエラスチン線維が未発達であった。上記結果より、SD ラットの動脈壁の伸展特性は、8 週齢までは発育に伴う壁の形態的变化を反映して大きく変化し、8 週齢では 20 週齢のそれに近づくと考えた。

6. ヒト下腿部の深部温度と細胞内 pH の非侵襲的同時測定

吉岡芳親¹、及川 浩²、玉川芳春²、井上 敬³、小川彰³、神原芳行⁴、久保川 学¹)

(¹岩手医大・医・第二生理,²岩手医大・医・放射線科,³岩手医大・医・脳神経外科,⁴岩手医大・先端医療研究センター・超高磁場 MRI 研究施設)

¹H-磁気共鳴スペクトロスコピー (Signa Horizon LX 3T & LX 1.5T) を用いてヒト下腿部の深部温度および pH を非侵襲的に測定し、細胞内 pH に対する温度の影響を調べた。健康成人ボランティア (21~47 歳の男性 5 名) の腓腹部に、保温剤もしくは保冷剤を接近させ、腓腹部の表面温度を、40~10°C の範囲で変化させた。体表に近い腓腹筋付近と内部のヒラメ筋付近に 25~40mL の関心領域を設定した。1 時間程度の加温・冷却に伴い、腓腹筋付近の温度は、34.8 ± 0.2 (mean ± SE) から 25.2 ± 1.2°C まで、有意な変化を示したが (P < 0.00001)、ヒラメ筋付近では、35.1 ± 1.0 から 33.3 ± 0.5°C であり、有意な変化はなかった。細胞内 pH は、加温・冷却に伴い、腓腹筋付近で 6.96 ± 0.01 から 7.02 ± 0.01 へと上昇したが (P < 0.01)、温度変化がなかったヒラメ筋付近では、6.91 ± 0.02 から 6.95 ± 0.01 であり、有意な変化はなかった。以上より、生体の深部環境温度は、細胞内の pH に影響を及ぼすことが示唆されたが、pH の温度変化は *in vitro* から予想されるものよりも小さく、生体内での pH 緩衝作用が大きいことを示していると考えられた。

7. ヒト近位尿管細胞BKチャネルに対する細胞内pHおよびMg²⁺の影響

平野順子, 中村一芳, 吉岡芳親, 板澤俊一, 久保川学 (岩手医大・医・第二生理)

培養ヒト腎近位尿管細胞膜には, Ca²⁺ および電位依存性を有するコンダクタンスが約295pSのBKチャネルが存在し, その開口確率(Po)は細胞内のATPにより抑制される。今回, このBKチャネルに対する細胞内pHおよびMg²⁺の影響について調べた。実験は, パッチクランプ法のinside-out patchを用いて, 145mM KClのsymmetricalな条件下で, 細胞内のCa²⁺濃度を10⁻⁶, 10⁻⁵, 10⁻⁴, 10⁻³Mとし, 膜電位を-75から+75mVに変化させておこなった。細胞内pHを7.8から6.3に低下させると, それぞれのCa²⁺濃度においてPo-膜電位曲線が正の方向にシフトした。次に, 細胞内pHを7.3に固定し, Mg²⁺濃度を0から10mMに上昇させると, それぞれのCa²⁺濃度においてPo-膜電位曲線が負の方向にシフトした。さらに, Mg²⁺はチャネルの外向きcurrent amplitudeを電位依存的に減少させ, その効果はMg²⁺の濃度に依存的であった。以上から, 細胞内H⁺はヒト腎近位尿管細胞BKチャネルのPoを低下させ, 細胞内Mg²⁺はPoを上昇させると同時に外向きcurrentを減少させることが明らかになった。

8. KチャネルへのRb干渉様式

大佐賀 敦, 大城社子, ○丸山芳夫 (東北大・大学院大学医学研究科・生体機能制御学講座・細胞生理学分野)

イオンチャネルの幾何構造は遺伝子工学と結晶解析学との併用によって理解が容易となり, またその結果は多イオン一列チャネルに構造の根拠を与えることとなった。このような状況を踏まえ, イオンチャネルの動的挙動につき未だ不十分な説明に終わっていた現象を再考・整理することを目的とした。つまり, フラックス独立性からの逸脱, 逆転電位と整流性における矛盾点など, 定量的に調べた。モデルチャネルとしては唾液腺腺房細胞からの250pS-Kチャネルを用いた。Rbイオンは電荷数, 原子半径, 水和状態等, チャネル透過性を決定する因子がKイオンに酷似しており, K選択性チャネル挙動解析の探針として用いられる。このチャネルでのKとRbの相互作用を, 両イオンの存在下, 単一イオンチャネル電流/電圧曲線を計測することで解析した。1) 電流値のイオン組成依存性は, イオン分率に見合ったチャネルへの4イオン占拠確率により, いっぽう, 2) 整流性はRbとKのチャネルへの結合性, およびチャネル内での易動度の差異による, と考えられた。モデルを構築し, 異常モル分率の出現機序をも含め議論する。

9. 頻尿治療薬と鍼刺激：橋排尿中枢への効果

田中善之, 小山純正, 香山雪彦 (福島県立医科大・医・第二生理)

【目的】過活動性膀胱の治療には抗コリン剤や三環系抗うつ剤が用いられている。薬剤で十分な効果がない例には仙骨部への鍼刺激を行うこともある。これらの治療は末梢では膀胱収縮を抑制するが, 中枢への作用についてはほとんど知られていない。今回はラットを用い橋排尿中枢に対するこれらの治療の影響を検討した。【対象・方法】ラットにウレタン麻酔下で膀胱にカニューレを挿入して膀胱内圧を測定し, 生理食塩水を注入して膀胱に自律収縮を起こさせた。脳幹部にガラス管電極を刺入, 膀胱の収縮に先行して発火するニューロンを記録した。オキシブチニン(抗コリン剤), クロミプラミン(三環系抗うつ剤)を頸静脈より投与した場合, 仙骨部を鍼灸針で1分間刺激した場合の膀胱収縮とニューロンの発火の変化を検討した。【結果】クロミプラミン(1mg/kg)で膀胱収縮が抑制されるとニューロンの発火は減少した。オキシブチニン(3mg/kg)では膀胱収縮は抑制するがニューロンの発火は増加したが, 多量(10mg/kg)に投与するとニューロンの発火は減少した。鍼刺激によって膀胱収縮を抑制した場合はニューロンの発火は減少した。以上より抗コリン剤, 抗うつ剤, 鍼刺激は橋排尿中枢にも抑制的に作用するが, 抗コリン剤は投与量によって作用が異なることがわかった。

10. オレキシンの睡眠・覚醒調節作用について

高橋和巳, 小山純正, 香山雪彦, 山本光璋 (福島県立医科大・医・第二生理, 東北大・大学院情報科学研究科)

外背側被蓋核(LDT)のアセチルコリン(ACh)ニューロンはレム睡眠や覚醒の発現, 維持に重要な役割を果たす。一方, 近年発見された神経ペプチドであるオレキシンは, 摂食調節作用の他, 睡眠・覚醒調節にも関与することが明らかになりつつある。本実験では初めに, LDTのAChニューロンに対するオレキシンの作用を調べた。ウレタン麻酔下のラット脳幹部にガラス管微小電極を刺入して単一ニューロン活動を記録し, 圧注入によってオレキシンA(100mM)をニューロンの近傍に投与した。すると, オレキシンAはLDTのAChニューロンに対して, 比較的持続する興奮作用を持つことが示唆された。次に, 無麻酔のラットの頭部を無痛的に固定して, 外側視床下部のオレキシンニューロンが存在する領域で睡眠・覚醒中のニューロン活動を記録した。その結果, レム睡眠時に発火頻度が最大となるニューロンが全体の約1/3程度と最も多く記録され, 覚醒時, または覚醒時とレム睡眠時に発火頻度が増すニューロンが1/5~1/4程度存在した。これらの結果は,

視床下部のオレキシンニューロンが、これまで考えられていたように覚醒の発現だけでなく、レム睡眠の調節にも何らかの役割を果たしている可能性を示唆している。

11. 浮力分の重錘を負荷した水中歩行は、陸上歩行と同様の下肢抗重力筋活動が得られるか？

初山日出樹, 佐竹将宏, 吉崎克明 (秋田大学医療技術短期大学部)

【研究背景と目的】我々は、水の粘性抵抗を積極的に健康体力増進のための運動負荷として利用する運動様式について検討してきた。近年、粘性抵抗を初めとして、水の物理的作用である浮力、静水圧、温熱作用が生理的に及ぼす影響に着目され、プール内水中歩行などが好まれて行われている。しかし、通常の重力下の陸上で生活・運動する視点に立てば、水中での浮力の影響は、抗重力筋の筋活動が低下した特異的環境で歩行を行っており、運動力学的な検討が不十分である。そこで、今回の研究目的は、我々が、陸上と同様の下肢抗重力筋活動をともなっていると仮説した浮力分の重錘を負荷した水中歩行(重錘負荷歩行)を陸上、及び水中歩行と比較し、下肢抗重力筋の筋活動や運動力学的特性について検証することとした。【対象と方法】健康大学生11名(男6女5人)を対象に、防水処理した後に水中歩行時の大腿四頭筋、大腿二頭筋、腓腹筋、前脛骨筋の筋電図を測定した。【結果及び考察】歩行時の筋活動は、腓腹筋が陸上、重錘負荷歩行と比較して水中歩行において有意な低下を認めた。(p<.05) 仮説した重錘負荷歩行が抗重力筋筋活動をともなった歩行で、粘性抵抗を積極的な運動負荷として利用可能であることが示唆された。

12. 顔面神経再生における PACAP の効果

木村洋元¹, 石田文孝², 伊藤永子¹, 佐藤 実², 石川和夫¹, 河谷正仁² (¹秋田大・医・耳鼻咽喉科, ²秋田大・医・第二生理)

Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) は視床下部から発見された、glucagon-secretin family に属する神経ペプチドである。PACAP は、中枢神経においてそのアポトーシスを防ぎ、また cAMP pathway を介して神経再生促進作用がある事が知られている。今回我々は、モルモットの顔面神経切断モデルを作成し、切断部への PACAP の投与による機能的効果について、また顔面筋肉中の Glial cell line-derived neurotrophin (GDNF) 量の変化への影響について検討した。切断後の顔面神経 conduction velocity (CV) は2週目より計測され15週目には切断前の値に戻った。顔面筋中の GDNF 量は1日目にピークに達した後、1週目より徐々に減少して

いった。一方 PACAP 投与群では、CV は1週目より計測され、2, 4週において有意に増加させ、また GDNF 量は1週目以降も高濃度を維持させた。術後4週での再生神経での有髄線維数は PACAP 投与群で有意に増加していたため、PACAP による機能回復の促進は再生線維への髄鞘化促進作用によるものと考えられた。

13. 組織および単離状態にあるマウス膵β細胞活動電位変動の動的性質

菅野隆浩¹, 宮野尚哉², Juris Galvanovskis³, Patrik Rorsman³, 泉井 亮¹ (¹弘前大・医・第一生理, ²弘前大・理工・知能制御工学, ³Dep. of Mol. Cell. Physiol., Lund Univ., Sweden)

マウス膵ランゲルハンス島内(組織状態)にあるβ細胞を高グルコース溶液(>8 mM)で刺激すると、膜電位変動は活動電位のバーストと再分極による活動電位の休止期を繰り返す特有のパターンを示す。一方、単離した細胞(単離状態)ではグルコースで刺激しても、バーストが持続し組織内のようなパターンは示さない。この両状態の動的性質の違いを明らかにする目的で、活動電位の時系列データについて非線形解析手法を用いて比較した。膜電位は Amphotericin B による perforated patch 法にて測定した。10 mM グルコース溶液下で、組織状態では4例全例において自己相関をもつランダムノイズにおいて得られるような統計値がえられた。単離状態では解析した4例中3例で低次元カオスの挙動が認められた。組織状態にあるβ細胞同士が gap junction を介して電氣的に結合し、グルコース刺激によって同期してバーストパターンを形成していることから考えると、組織状態の動的性質は、おのおのの細胞に存在する低次元カオスが結合して生じた高次元カオスの挙動を特徴付ける結果と考えられる。

14. ノルエピネフリンによるインスリン分泌調節作用

泉井 亮, 菅 世智子, 中野京子, 菅野隆浩 (弘前大・医・第一生理)

ノルエピネフリン (NE) の膵β細胞からのインスリン分泌に及ぼす作用を調べた。ラット膵ラ島の表面還流の実験では、NE はインスリンの基礎分泌と高グルコースによる分泌をいずれも抑制した。一方、百日咳毒素 (PTX) で処理したラ島では NE はインスリン分泌をむしろ促進した。この促進作用は α_1 -アドレナリン受容体抑制薬のプラゾシン (PZ) で消失した。しかし、膵ラ島は既存の抗 α_1 -アドレナリン受容体抗体と反応しなかった。

単一膵β細胞で、NE は細胞内 Ca^{2+} 濃度を上昇させた。この作用は PZ で消失したが、PTX では影響されなかった。

NEは膵β細胞を脱分極させ、Ca²⁺性の活動電位を発生させた。脱分極はATP-感受性K⁺チャネル活性の低下によるもので、この作用はU-73122 (phospholipase C抑制薬)による処理やheparin及びBAPTAの細胞内投与で消失した。これらの結果は、膵β細胞においてNEは基本的にはPTX-sensitiveな経路を介してインスリン分泌を抑制するが、一方、PZに感受性のある受容体を活性化することで細胞内へのCa²⁺流入を促進し、インスリン分泌を促進する作用も持っていることを示唆する。

15. 顔面における皮膚血流および発汗の特徴

刈田啓史郎, 清水 潤, 佐藤しづ子, 和泉博之 (東北大学・大学院歯学研究科・口腔病態生体防御)

【目的】ヒト四肢皮膚における血管および汗腺は、交感神経のみによる支配を受け、副交感神経の支配を受けていない。一方、顔面皮膚においては、血管は交感神経だけではなく副交感神経の支配も受けていること、汗腺は四肢と同様交感神経のみの支配とされている。このように、四肢と異なる顔面の血管、汗腺への自律神経支配の状態からは、その活動についても四肢と異なる特徴が観察できる可能性があり、顔面での血流と発汗の特徴を調べた。【方法】ほぼ一定温の状態(26~28℃)で、ヒト右側顔面および右側前腕の皮膚より発汗計(湿度センサー使用)およびレーザードプラー血流計により発汗量と血流量を測定した。同時にフィナプレスにより血圧を連続モニターした。刺激として、運動負荷刺激(1~4Kg)、呼吸負荷刺激(無呼吸)、味覚刺激(辛味, 酸味)をおこなった。【結果および考察】刺激による顔面の発汗は発汗量には四肢と違いがあるものの、ほぼ同期して発現していた。一方、顔面血流は四肢のものよりも血圧の変動による影響が大きく、顔面血管が四肢皮膚血管よりも緩い状態にあることを示唆していた。これは、平常では顔面皮膚の交感神経による血管収縮作用が弱く、副交感神経による顔面血管の拡張を起こしやすい状態を作っているものと考えられた。

16. 三叉神経-副交感神経反射の中樞機序について

和泉博之, 水田健太郎, 小枝綾子, 安田 真, 桜井康全, 刈田啓史郎 (東北大学・大学院歯学研究科・口腔病態生体防御)

【目的】ネコ舌神経を刺激すると下顎口唇の血管拡張反応が見られる。これは三叉神経を求心性に副交感神経を遠心性にした三叉神経-副交感神経反射である。本研究ではこの中樞機序の解明を試みた。【方法】ネコをケタミン筋注入眠後、ウレタン、クロラロースで麻酔し、パンクロニウム投与後人工呼吸下で実験した。副交感神経血管拡張線

維の興奮は舌神経を求心性に刺激して反射的に興奮させる方法を用いた。口唇血流はレーザードプラー血流計で測定した。【結果】三叉神経脊髄路核に局所神経麻酔薬(1%リドカイン)や不可逆的神経細胞体破壊薬(10mMカニン酸)を微量注入(1μl/部位)すると、それぞれ可逆的、不可逆的に舌神経刺激による副交感神経性血管拡張反応を抑制した。三叉神経脊髄路核にカニン酸を投与後、下唾液核を電気刺激すると舌神経刺激は抑制するが下唾液核刺激は抑制されない。【考察&結論】三叉神経脊髄路核が舌神経刺激による副交感神経血管拡張反応に重要な延髄部位であることが判明した。

17. CD38欠損マウス顎下腺腺房細胞における容量性Ca流入

福土靖江¹, 高沢 伸², 加藤一郎², 大城社子¹, 大佐賀敦¹, 岡本 宏², 丸山芳夫¹ (東北大学・大学院医学研究科・細胞生理,²生物化学)

分泌細胞はCa枯渇シグナルがCa流入を促す機構を持っているが、多くの研究はIP3又はcyclic ADP-ribose(cADPR)に反応するCaストアの大きさを限定することなくなされてきた。CD38欠損マウス(KO)ではcADPRを産生出来ないでRyanodine感受性ストアの関与は少なく、IP3感受性ストアの大きさが算定できる。私共はこのKOマウスの顎下腺腺房細胞を使ってCa流入とストアの大きさとの関係を調べた。ACh誘起性Ca応答は外液Ca存在下では正常とKOで差はなかったが、外液無Ca下ではKOの方が著明に少なかった。外液Niは外液無Caを再現した。IP3感受性ストアの大きさをA(正常)、A[^](KO)とし、Ryanodine感受性ストアのそれをB(正常)、B[^](KO)とすると、B[^]はゼロと考えられるのでA+B=A[^], A[^]>A or Bとなる。ストア枯渇後のCa流入は、KOの方が大きくこの流入は膜電位に依存していた。cADPRの欠損は(1)IP3感受性ストアを大きくし、(2)AChによるCa反応の外液Ca依存度を強め、(3)Ca流入量を増加させるとの結論を得た。

18. 宇宙生理学研究の意義

清水 強¹, 山崎将生¹, 勝田新一郎¹, 片平清昭² (福島県立医大・医・第一生理,²実験動物研究施設)

地球上の生命は重力1Gのもとで個体発生と系統発生を繰り返しながら維持されてきているが、生命体の構造機能と重力との関係は必ずしも明確にわかっては居らず、日常生活の中で意識されることも少ない。生体への重力の影響に関する研究は、かつて植物の重力向性など特定の課題について関心が寄せられてはいたものの、広く生命現象を対

象とすることはなかった。たまたま約40年前人類が初めて宇宙へその身を曝して以来、宇宙環境構成要因のひとつである無重力が一段と注目を浴び、その人体に対する影響についての関心が必然的に高まったことにより、改めて重力と人体更には生命との関係を追求する機会が訪れてきた。しかし、この分野への生理学者の参加は未だ極めて少ない。人類は温度や気圧、宇宙放射線などを極力地球環境に近い状態にした人工船を使って宇宙活動をしているが、無重力を解消する迄には至っていない。今や月と火星は人類の活動の場として既に視野に入っていると言われる。こうした未来を考えると、重力という観点からはもちろん、広く宇宙環境と地球生命体との関係を追求する学問分野の発展が必要であろう。われわれの実験結果も含め宇宙生理学研究の必要性を論じる。

19. プリズム適応における大脳皮質運動関連領野のニューロン活動特性

蔵田 潔 (弘前大・医・第二生理)

目標点への到達運動のプリズム適応に大脳皮質運動前野腹側部が重要な役割を果たしていることがムシモル注入による可逆的の傷害実験などから明らかにされつつある。本研究では、それぞれ運動前野の主要な入出力先である頭頂連合野および一次運動野と運動前野腹側部間、それに運動前野腹側部内の神経ネットワークでプリズム適応中に特異的な信号伝達の動的変化が生じているかを調べることを目的とした。これら領域から複数の単一ニューロン活動の多点同時記録をプリズム適応の前後を通じて行い、個々のニューロン活動そのもの、またニューロン間の相互相関に特異的な変化が示されるかを解析した。その結果、いずれの領域においても運動課題遂行中に記録された個々のニューロンにはプリズム適応中に特異的な活動パターンを示すものはほとんどなかった。しかし、ニューロン間の相互相関を解析すると、プリズム適応中に特異的にスパイク後促進を示すニューロン対が存在していたが、その数は一次運動野や頭頂連合野より運動前野腹側部に多く存在していた。このことは運動前野腹側部がプリズム適応に重要かつ特異的な役割を果たしていることを示すものと考えられる。

20. ABCA2陽性オリゴデンドロサイトのラット大脳皮質における時間的空間的発現

田中由基子¹、山田勝也¹、Zhou, C.-J.²、Zhao, L.-X.¹、塩田清二^{2,3}、稲垣暢也^{1,3} (¹秋田大・医・第一生理、²昭和北大・医・第一解剖、³CREST)

我々はこれまでにABC蛋白であるABCA2の全構造を初めて決定し、オリゴデンドロサイトのライソゾーム/後

期エンドゾームに特異的に発現すること、ミエリンには発現しないこと、を明らかにした。今回、生後発達に伴うABCA2蛋白のラット脳における発現変化を検討した。全脳を用いたウェスタンブロットの結果、ABCA2蛋白は生後6日齢でわずかに発現が認められた後、急激に増大し、生後19日目にはほぼ成熟期と同様のレベルに到達した。そこで、一次視覚野および体性感覚野において免疫組織化学的検討を行った。ABCA2陽性オリゴデンドロサイトは両野において生後6日には全く認められず、11日目に白質あるいはVI層下部に出現した後、生後発達に伴い次第に上層に広がったが、視覚野では、体性感覚野に比して発現進行の遅れが認められた。これらの発現変化はGFAP陽性アストロサイトのそれと比較し差異が認められた。以上の結果は、ABCA2がオリゴデンドロサイトの生後発達を検討する上で有用なマーカーであることを示すと共に、ABCA2の機能を明らかにする上で重要な示唆を与える。

21. 胎児期のエストロゲン暴露によるシナプス可塑性と学習行動への影響

伊藤憲一、佐々木寛、金子健也、李 建民、加藤宏司 (山形大・医・第二生理)

Woolleyら(1991)は、性ホルモンの一つであるエストロゲンの短期暴露によりニューロンの棘突起の数が増大し、この変化はグルタメート受容体のサブタイプであるNMDA受容体を介して起こると報告している。これはエストロゲンがシナプスの形成に関与することを示唆するものである。そこで、著者らはシナプスの形成が盛んに行われる胎児期から幼児期にかけてエストロゲンを連続的に投与することで、海馬のシナプス可塑性と学習行動がどのように影響を受けるかを調べた。妊娠約10日目のラットに17 β -estradiolを詰めた浸透圧ミニポンプを皮下に埋め込み、約2週間持続的に投与した。ラットは投与10日後に出産し、胎児には母乳を介してホルモンの投与を行った。実験は海馬スライス標本を用いた電気生理学実験と、モリスの水迷路を用いた学習実験の2つの方法で行った。生後30日以降の海馬スライスで細胞外記録によるCA1領域の長期増強(LTP)を調べた結果、テタヌス(100Hz, 1sec)によるLTPはコントロール群と比較し有意に増強していた。また、水迷路の学習実験からは学習完成までに要する総計時間がエストラゲン暴露群のほうがコントロールより短い傾向にある。これは、Woolleyらのエストロゲンにより棘突起が増大するという報告と良く一致する結果である。

22. 経路選択課題のGO信号直前の遅延期間におけるサル前頭前野細胞の活動

斎藤尚宏¹, 虫明 元^{1,2}, 坂本一寛³, 丹治 順^{1,2} (¹東北大・大学院医学研究科・生体機能制御・生体システム生理, ²科学技術振興事業団, ³東北大・電気通信研究所)

パスプランニングにおける前頭前野の役割を調べる目的で, サルに迷路内のスタート地点からのゴールまで, 両手のマニピュレータをもちいてカーソルを移動させる課題を訓練した。課題では, サルが両手のマニピュレータを中立位に保持すると, 前方スクリーンの格子状の迷路にスタート点の位置, 次いでゴールの位置を呈示した。その後遅延期間があり, ゴー信号が呈示されると, カーソルをステップごとに両手のマニピュレータを用いて移動させた。ゴールまで移動させると報酬が与えられた。この際にカーソルと手の運動の対応関係を複数用意してカーソルの移動と手の運動を解離させた。課題遂行中のサル前頭前野から細胞活動を記録した。特にゴー信号直前の遅延期間の細胞活動に着目し, どのような課題情報が表現されているかを解析したので報告する。

23. ラット脳賦活時の局所血流増加量と神経活動の関係

嬉 正勝¹, 松浦哲也², 菅野 巖¹ (¹秋田脳研・放科,

²愛媛大・理・生物系)

感覚刺激などによって脳が局所的に活動すると, 活動部位における脳血流量(賦活血流量)が増加する。しかし, 賦活血流量の調節機序と神経活動との関係については不明な点が多い。本研究では, レーザードップラ血流計を用いてラット体性感覚野賦活時の血流量を, 皮質に挿入した金属電極で誘発電位を計測した。なお, 体性感覚野の興奮は後肢への電気刺激(1.5mA)により誘発した。様々な刺激頻度(0.2, 1, 5, 10Hz)に対する賦活血流量は, 刺激の継続時間(2, 5, 15秒)に関係なく5Hzで最大となり, その変化は刺激中の誘発電位の総和と有意に相関した。連続刺激(15秒)に対する賦活血流量の時間変化を調査した結果, 5および10Hz刺激では二相性の変化(initial peakとそれに続くplateau phase)を示したが, 1Hz刺激ではinitial peakが確認されなかった。これらは誘発電位の時間変化と対応していた。一方, 賦活血流量は刺激開始後約0.5秒で増加し始め, 終了後緩やかに安静時のレベルに減少することから, 神経活動と賦活血流量の間には時間的な遅延が存在することが明らかとなった。以上の結果から, 賦活血流量は神経活動の大きさを反映するが, それは時間的な遅延を伴う緩やかな調節機構によって支配されていることを示唆している。