

第48回中部日本生理学会

会 期：平成13年10月19日（金）～20日（土）

会 場：名古屋大学シンポジオン

当番幹事：名古屋大学医学部第一生理 久場健司，第二生理 曾我部正博

演 題 数：36題（口演のみ）

参 加 者：93名（懇親会60名）

発表演題数参加者共に，例年より少し少なかったが，好天に恵まれかなり広い会場で熱心な発表と活発な討論が行われた。生理学会大会では聞けないような演題もあり，地方会の意義が改めて認識された。懇親会では地方会ならではのうち解けた雰囲気での親睦がなされ，最終日午後の名古屋大学保健学科コートでの親睦テニスでは，9名の参加者が日没まで楽しい時を過ごした。

来年は，富山医科薬科大学医学部生理の小野武年教授と西条寿夫教授の当番幹事で，富山で開催されることが決定した。

1. pleiotrophinによるドパミン神経特異的栄養作用

飛田秀樹^{1,2,3}，呉 春珍¹，金 へ亭¹，鄭 且均^{1,3}，児玉裕司¹，西野仁雄^{1,2,3}（¹名古屋市大・医学部・第2生理，²SPSBS，³RFP）

ドパミン（DA）入力の欠如した線条体中に発現増加しているDAニューロン分化・栄養因子の解析を行った。6水酸化ドパミンを中脳黒質に注入し黒質—線条体路を化学破壊した3週間後に，DNAマイクロアレイを用いてmRNA発現をスクリーニングしたところ，pleiotrophin（PTN）の発現が上昇していた。PTN mRNA発現は黒質破壊1週間後にピークを示し，6週間後まで増加していることがノザン法により明らかになった。一方，同じファミリーのmidkineの発現に大きな変化はなかった。胎仔（E15）中脳のチロシン水酸化酵素（TH）陽性ニューロンに対するPTNの作用をin vitroで調べたところ，PTN（1～100ng/ml）処置によって濃度依存的にTH陽性ニューロンの生存が促進した。しかし，PTN（50ng/ml）処置はMAP-2陽性の神経細胞数およびDA神経前駆細胞に対し影響を与えなかった。さらに，胎仔中脳にPTNレセプターであるn-syndecanのmRNAが発現していることを確認した。以上の結果から，DA入力の欠如した線条体に発現増加するPTNが，DAニューロン特異的な栄養作用を持つことが示された。

2. パーキンソン病モデルラットへの移植ドナー細胞の開発を目的とした神経幹細胞へのチロシン水酸化酵素（TH）遺伝子とGTP cyclohydrolase 1（GCH1）遺伝子の導入

児玉裕司¹，馬場広子^{2,3}，飛田秀樹^{1,3,4}，鄭 且均^{1,4}，西

野仁雄^{1,3,4}（¹名古屋市大・医・第二生理，²東京薬大・薬・機能形態，³SPSBS，⁴RFP）

パーキンソン病の移植用ドナー細胞の開発を目的とし，高力価レトロウイルス（RV）を用いてE12.5ラット中脳由来神経幹（前駆）細胞へのチロシン水酸化酵素（TH）遺伝子の導入を行った。高力価RV（ 10^9 cfu/ml）は，RV産生細胞をFACS選別し低温培養後，培養上清の低温低速遠心濃縮することにより調整した。高力価RVを用いると効率よく神経幹（前駆）細胞への遺伝子導入が可能で，TH/LacZ遺伝子を導入した細胞は，in vitroにおいてTH免疫染色及びX-Gal染色で二重染色され，HPLCによる測定ではTHの補酵素であるtetrahydrobiopterine（BH₄）存在下で濃度依存性に培養上清中にL-dopaを放出していた。移植ドナー細胞としての評価のためTH/LacZ遺伝子を導入した神経幹（前駆）細胞をヘミパーキンソン病モデルラットの病側線条体へ移植したところ，約半数でメタンフェタミン誘発回転運動の改善がみられた。TH遺伝子の導入だけでなく，BH₄の補酵素であるGTP cyclohydrolase 1（GCH1）遺伝子の導入によりさらに安定してL-dopaを産生する細胞が確立できるかどうかをin vitroで検討した。

3. 慢性炎症ラットの皮膚痛覚受容器活動に対するATPの効果

佐藤 純，矢島弘毅，水村和枝（名古屋大学・環境医学研究所・神経性調節分野）

ATPはラットに投与すると自発痛関連行動，アロディニアと熱に対する痛覚過敏反応を引き起こすことが知られている。そこで今回，慢性炎症モデル動物雄皮膚ポリモー

ダル受容器 (CPR) 活動に対する ATP の効果を調べた。慢性炎症モデルとして Lewis 系雄性ラットの尾部皮内にフロイント完全アジュバント (0.6mg) を投与した関節炎モデルラット (ADJ ラット) を用いた。深麻酔下で ADJ ラットの皮膚一伏在神経標本を採取し、95% O₂ ~ 5% CO₂ で飽和した Krebs 溶液中に真皮を上にした状態で固定した。伏在神経の微小線維束から CPR の単一神経放電を導出し、受容野に熱刺激を行った。3 ~ 4 回の熱刺激の後、ATP 溶液を 5 分間受容野へ局所灌流しその効果をみた。ATP 10 μM, 1mM 投与によりそれぞれ 88% (n = 8), 100% (n = 5) のユニットが放電数の上昇をみた。熱反応は 10 μM 投与では 81% への低下が、1mM 投与により 161% への増加がみられた。以上の結果から慢性炎症時の CPR 活動に対する ATP の作用は濃度によって異なり、低濃度では皮膚痛覚受容器の興奮性を抑制し、また細胞障害により組織に生じうる高濃度ではその興奮性を高める作用があることが明らかとなった。

4. リポポリサッカライド (LPS) 腹腔内投与によるマウス嗅球および前嗅核におけるドーパミン (DA) 量の变化

森 啓至, 金子葉子, 中島 昭, 太田 明 (藤田保健衛生大学医学部生理学)

LPS 投与により、中枢神経系におけるカテコールアミン含有量の増加が報告されている。我々も、LPS 投与によりマウス青斑核における tyrosine hydroxylase (TH) と、その補酵素である tetrahydrobiopterin 生合成の律速酵素 GTP cyclohydrolase I (GCH) の活性が共に増加することを報告した。青斑核からのノルエピネフリン作動性神経の約 40% は嗅球および前嗅核に入力していることから、今回は同部位の CA 合成系に対する LPS の影響について検討した。

その結果 LPS 投与 4 時間後の前嗅核において、DA および DOPAC の含有量が有意に増加することを確認した。TH の mRNA 発現量は前嗅核では変化が認められなかったが、嗅核においては増加傾向にあった。GCH の mRNA 発現量は、前嗅核、嗅球共に有意な増加が認められた。また、adrenergic receptor 発現量も両部位共に増加しており、前嗅核においては DA receptor の mRNA 発現量も有意に増加していた。

これらの結果から、今回観察された DA 増加は、LPS 投与による刺激が青斑核を介して嗅球に到達し、嗅球内の DA が前嗅核へ運ばれたものと推察された。

5. 顔面神経切断後の KCC2 減少に伴う GABA の抑制性から興奮性への変化と Ca²⁺ オシレーションの出現

豊田博紀^{1,2}, 大野浩二³, 岡部明仁¹, 池田昌彦¹, 山田順子⁴, 佐藤康司³, 橋本賢二², 福田敦夫^{1,4} (1 浜松医科大学生理学第一, 2 口腔外科, 3 解剖学第一, 4 静岡大学大学院電子科学研究科)

神経損傷後に GABA の作用がどのように変化するのか、また細胞内 Cl⁻ 濃度の変化を伴うのかを知る目的で、ラット顔面神経切断モデルを用い、細胞内 Cl⁻ 濃度 ([Cl⁻]_i) の変化、GABA 作用の変化、神経発生時に重要な Ca²⁺ オシレーションとその同期現象、およびこれらの分子メカニズムについて検討した。Cl⁻ トランスポーターの KCC1, KCC2, NKCC1, Cl⁻ チャンネルの ClC-2 mRNA の発現変化を *in situ hybridization* 法を用いて検討した結果、切断面の顔面神経核で KCC2 mRNA のみが顕著に減少していた。軸索切断細胞では GABA が興奮性に変化して [Ca²⁺]_i 上昇が起こり、glutamate による [Ca²⁺]_i 上昇の閾値を低下させていた。また、軸索切断細胞では GABA の興奮性作用による Ca²⁺ オシレーションが存在し、かつその同期現象が認められた。Cl⁻ イメージングおよびグラミシジン穿孔パッチクランプ法を用いて [Cl⁻]_i を比較した結果、軸索切断細胞では [Cl⁻]_i が高値を示した。以上から、軸索切断細胞では KCC2 発現減少により [Cl⁻]_i が上昇し、GABA が興奮性作用に変化して Ca²⁺ オシレーションを誘発することが明らかになり、これらは神経再生に関与した現象ではないかと考えられた。

6. 金魚視神経再生の分子機構

加藤 聖, 荒井国三 (金沢大学大学院医学研究科脳情報分子学)

金魚の視神経は切断しても完全に再生し視機能も約 6 カ月で回復する。また、この再生は、新たな神経節細胞の新生によるものではなく、軸索を切られた網膜神経節細胞がアポトーシスに陥ることなく切断端から軸索を再生伸長する。この長い再生過程は i) 再生線維の伸長期 (7 ~ 10 日), ii) 脳視蓋への再生線維の到達、シナプス結合期 (3 ~ 5 週), iii) 視蓋での再生線維末端の再機構、シナプス再編成期の 3 期に分けられる。各時期に発現が増加する分子を遺伝子クローニング法、RT-PCR 法、組織化学法にて正常網膜、視蓋組織と視神経切断組織とで比較検討した。i) ではトランスグルタミナーゼ、Na, K-ATPase が網膜で増加、ii) では NO 合成酵素 (NOS) が網膜で増加、iii) ではセマフォリン III やネトリンが視蓋で増加した。網膜では神経節細胞に限局して発現が増加した。視蓋では視神経侵入路に発現が増加する細胞が観察された。これら分子

の役割についてはトランスグルタミナーゼや, Na, K-ATPaseは伸長の指令や結果を, NOSは網膜神経節細胞の生存促進を, セマフォリンやネトリンは再生終末線維の退縮に関与し網膜一視蓋投射路の再形成に関与しているものと推測された。

7. ラット髄液中オレキシンA/ヒポクレチン—1濃度の日内変動および絶食に対する反応

藤木通弘¹, 吉田 祥², 西野精治², 森田啓之¹ (¹岐阜大学医学部生理学講座第一, ²スタンフォード大学医学部ナルコレプシーセンター)

オレキシンは, 1998年に発見された視床下部に特異的に発現するペプチドで, 摂食や覚醒維持機構にも関与している事が示されている。オレキシンAは髄液中にも存在するが, その日変動や絶食等に対する反応性変化については明らかではない。そこで, 同一ラットから皮下切開を加えず, 繰り返して行える大槽内髄液採取法を確立し, 髄液オレキシンA濃度の日内変動および絶食負荷に対する反応性変化を調べた。イソフルレン麻酔下で, 経皮的にラットの大後頭孔から硬膜下に針(27G)を刺入して髄液を採取し, RIAキットを用いて濃度を測定した。オレキシンA濃度は明期の開始zeitgeber time(ZT)0時後に徐々に減少し, ZT8時に最低値を呈した。そして暗期開始後上昇し, 暗期を通じて比較的一定のレベルを保った。また72時間の絶食負荷に対し, 日内変動で最低値を呈するZT8時では有意な上昇を認めしたが, 最高値に近い値を示すZT0時では, 72時間の絶食負荷によっても有意な変化を認めなかった。髄液オレキシンA濃度はオレキシン神経の活動を反映していると考えられ, 休息期(明期)に減少し, 活動期(暗期)に上昇することは, その生理学的意味と一致する結果と考えられる。また, 72時間の絶食負荷によっても有意な変化を認めなかった。髄液オレキシンA濃度はオレキシン神経の活動を反映していると考えられ, 休息期(明期)に減少し, 活動期(暗期)に上昇することは, その生理学的意味と一致する結果と考えられる。また, 72時間の絶食負荷に対して, 活動期である暗期には濃度の上昇が認められないことから, オレキシンA濃度には負荷に対する生理的飽和レベルが存在する可能性が考えられた。

8. ラット血清中アルブミンの酸化・還元状態と酸化ストレスとの関係

林 知也¹, 須田和裕², 今井 一¹, 村山幸市¹, 桑田一夫¹, 根川常夫¹, 富田美穂子¹, 恵良聖一¹ (¹岐阜大学・医学部・生理学第二, ²東京工業大学大学院・社会理工学研

究科・人間行動システム)

今回我々は, HPLCシステムの溶出条件を改良し, ラット血清アルブミン(RSA)の酸化型と還元型アルブミンの割合を簡便に測定出来る方法を用いて, 次のことを検討した。①血清の保存時におけるSH基の反応性。②極度な酸化ストレスが加わったときのモデル系として, ラットの疲労困憊運動直後の還元型・酸化型アルブミンの割合。その結果, ①SH基の反応性に関して, 採血直後のヒト血清の4℃保存では, ヒト血清アルブミン(HSA)の還元型の値が, 保存開始5時間後にわずかに1%減少した。これに対し, ラット血清の4℃保存では, 保存開始時73.7%であった還元型の値が, 5時間後で58.3%と激減し, 51時間後では41.8%に達した。このことより, RSAとHSAとではそれらのSH基における反応性の違いが示唆された。また, ②疲労困憊運動後のRSAの還元型は, コントロール群の $76.2 \pm 1.8\%$ に比し, $69.0 \pm 3.5\%$ と有意に低下していた($n=7, P<0.01$)。このことは極度な酸化ストレスが負荷されると, 還元型アルブミンは酸化型に変換されることを示している。

9. 筋ジストロフィーは筋成長障害: 成長の個人差と男女差

戸塚 武, 渡辺貴美(愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所・生理)

Dystrophin離れが進み(例えば「生化学」誌の大会号のSubject IndexからDystrophinが消えた), 筋ジストロフィー(MD)研究は, 再び混沌状態に陥ってしまった。通説が根本で間違っているためであろう。我々は, MDモデル動物のdyマウスの初期病態は, 筋変性(通説)ではなく筋成長障害で, 筋病変と症状の悪化に骨の伸長成長が関係しているだろうと提唱してきた。

さて, MDは男性に好発する。これは, MDの中で最も頻度の高いDuchenne型MDがX染色体劣性遺伝するためとされるが, 我々は, 成長特性の男女差による可能性を推定している。最近, 健常女子の顕著な成長特性として, 身長を体重の立方根で割った値(以下, F値)が11歳過ぎから急速に減少し, 15歳頃以降低い値で落ち着くことを見出した(資料: 厚生省国民栄養調査と文部省学校保健統計調査)。15歳頃以降のF値が6~7歳頃の値に近い程小さいことから, 身長と体重の関係に女子では何らかの余裕がある(緊張関係が緩い)のではないかと推測した。

今回, 身長と体重の個人差(ばらつき: SD/mean%)の山が女子では10歳頃で一致したのに, 男子では身長の変化が大きく遅れることが分かった。経年変化が少ないことから, この指標は成長機構をよく反映していると推察さ

れ、その成長機構がどのようなものであるか興味深い。

10. 大腸菌毒素 STb による ^{36}Cl フラックスの変化

川俣幸一、鈴木裕一（静岡県立大学・生活健康科学研究科・人体生理学）

下痢をひき起こすとされる大腸菌毒素 STb を大腸管腔側に投与すると、短絡電流 (Isc) の上昇が観察される。この Isc 上昇は Bumetanide で抑制されないで、通常の Cl^- 分泌とは明らかに異なっている。今回我々はマウス大腸において、Ussing chamber 系で STb による ^{36}Cl フラックスの変化を検討した。遠位大腸において、大腸菌毒素 STb 管腔側投与は $\text{J}^{\text{Cl}}_{\text{s-m}}$ を変化させなかった。しかしながら $\text{J}^{\text{Cl}}_{\text{m-s}}$ を有意に低下させた。この低下は同時におこる短絡電流の上昇とほぼ同等の値であった。陰イオンチャネルブロッカー NPPB (100 μM) の管腔側投与により、 $\text{J}^{\text{Cl}}_{\text{m-s}}$ は大きく低下したが、 $\text{J}^{\text{Cl}}_{\text{s-m}}$ に変化はみられなかった。NPPB 存在下における STb 投与は、短絡電流の上昇、 $\text{J}^{\text{Cl}}_{\text{m-s}}$ の低下をひき起こさなかった。また盲腸においては STb 管腔側投与は短絡電流、並びに ^{36}Cl フラックスの変化をひき起こさなかった。以上より、大腸菌毒素 STb による下痢誘発機序は、従来知られる起電性 Cl^- 分泌の活性化では無く、 Cl^- 吸収の低下による事が示唆された。 Cl^- 吸収低下と Isc 上昇が直接関係しているか否かはさらに検討する必要があると考えられる。

11. クモ膜下出血後の脳血管攣縮における PKC α および δ アイソフォームの役割について

小原一男¹、西沢 茂²、小出昌代²、野沢佳代¹、中山貢一¹（¹静岡県立大学・薬学部・薬理、²浜松医科大学・脳神経外科）

イヌ大槽内二回自家血注入モデルを用いてクモ膜下出血後に発生する脳血管攣縮に関与する PKC アイソフォームについて検討した。1 回目の自家血注入後 4 日目に 2 回目の自家血注入を行うと、注入直後から著明な脳血管攣縮が出現し 7 日目まで持続した。また、2 回目自家血注入により PKC α および δ が細胞質から細胞膜へと移行した。Classical および novel PKC 阻害薬の chelerythrine (5 μM) を椎骨動脈ないし大槽内に注入すると、2 回目自家血注入直後および 7 日目の脳血管攣縮を抑制した。また、chelerythrine により PKC α および δ の細胞膜への移行が抑制された。一方、PKC δ 阻害薬の rottlerin (5 μM) により 2 回目自家血注入直後の血管攣縮は有意に抑制されたが、7 日目の脳血管攣縮は抑制されなかった。Rottlerin は PKC δ の細胞膜への移行を抑制したが、PKC α の細胞膜への移行を抑制しなかった。

以上の結果より、クモ膜下出血後の脳血管攣縮発生初期には PKC δ が、また、攣縮の維持には PKC α が重要であることが示唆された。

12. 視覚探索に依存するアカゲザル第四次視覚野の神経細胞活動

猿渡正則、井上雅仁、三上章允（京大・霊長研・行動神経）

私達の網膜は、常に膨大な視覚情報に曝されている。視覚系はこのような膨大な情報を全て均しく処理するのではなく、それらの中から重要な情報を選択し、限られたリソースをそれらに重点的に配分している。この過程は視覚的注意 (Visual Attention) として知られている。

本研究では、視覚系が目標選択する過程での視覚野の役割を解明するため、アカゲザルに 6 つの刺激の中から目標刺激を探す視覚探索課題と、コントロールとして目標刺激のみを提示するサッカード課題を訓練し、課題遂行中に第四次視覚野から単一神経細胞活動を記録した。第四次視覚野は、本課題の遂行に必要な色やテクスチャの形態情報処理に関与していることが知られている。また、先行研究 (Ref: Hasegawa, Matsumoto, Mikami, 2000, J. Neurophysiol. 84, 1692~1696) により既に探索課題での活動変化が示されている前頭連合野と第四次視覚野の間には直接の線維連絡が存在している。

探索課題とサッカード課題で細胞活動を比較したところ、両条件間で活動に有意な変化が現れる細胞が存在した。また、探索課題において受容野内に探索の目標を呈示した場合と受容野内に妨害刺激を呈示した場合の活動を比較したところ、両条件間で活動に有意な変化が現れる細胞が存在した。これらの変化が現れる潜時は刺激呈示から 150ms 前後で多く見られ、100ms より前の早い段階で見られる細胞も存在していた。また、これらの変化は視覚応答の初期に現れているもの、応答から遅れて現れるものが存在し、両社の役割が異なっていることが予想された。以上の結果より、第四次視覚野の細胞は目標の選択課程において重要な役割を果たしていることが示唆された。

13. インスリン分泌細胞における細胞内カルシウム動態とプロテインキナーゼ C の活性化機構の検討

最上秀夫、浦野哲盟（浜松医科大学生理学第二）

目的：今回、我々はインスリン分泌細胞においてグルコースによるインスリン分泌活性化機構を細胞内 Ca^{2+} 動態と PKC α の活性化の観点から検討した。方法：インスリン分泌細胞 (INS-1) に PKC α -GFP を導入して、細胞質から細胞膜への PKC α -GFP の translocation とインスリン分

泌をPKC α の活性化の指標にした。同時にfura-2にて細胞内Ca²⁺動態をモニターした。結果：脱分極刺激によるCa²⁺influxにより惹起されるCa²⁺オシレーションにてPKCの活性化が起こった。PKCの活性化には400nM以上の細胞内(Ca²⁺)濃度上昇が必要であった。高濃度グルコース存在下でその活性化はさらに高まった。結論：インスリン分泌細胞においてグルコースによるPKCの活性化を介したインスリン分泌活性化機構の存在を示唆した。

14. マカクザルの脊髄固有ニューロンを介する随意運動制御機構について

伊佐 正¹, B. Alstermark², 大木 紫³ (1生理学研究所統合生理, 2スウェーデン・ウメオ大学, 3杏林大学第一生理)

皮質脊髄路が運動ニューロンに直接結合しないネコにおいては、頸髄C3~C4髄節の脊髄固有ニューロンが皮質からの運動指令を上肢筋運動ニューロンに中継し、上肢到達運動を制御することが知られている。それに対して皮質脊髄路が運動ニューロンに直接結合する霊長類における脊髄固有ニューロン系の存在とその役割は永年にわたり不明だった。近年Lemonらは麻酔下のマカクザルにおいて上肢筋運動ニューロンから細胞内記録を行い、錐体路刺激の効果を調べ、殆どの細胞において単シナプス性EPSPと2シナプス性IPSPのみが記録され、2シナプス性EPSPが記録されなかったこと、さらに手指の巧緻度が劣るリスザルにおいては2シナプス性EPSPが記録されたことから、手指の巧緻度の発達とともに、皮質-運動直接投射が発達し、脊髄固有ニューロン系と置き換わったとする仮説を提唱した。それに対して我々はストリキニンを静注するとほとんど全ての運動ニューロンでC3~C4髄節の固有ニューロンを介する2シナプス性EPSPが記録されること、そして脊髄固有ニューロンからの直接記録により、皮質脊髄路から脊髄固有ニューロン系を介して運動ニューロンに至る興奮伝達経路の存在とそれに対するグリシン作動性抑制を証明した。これらの結果から、食肉目から霊長類に至る皮質脊髄路の系統発生的差異は脊髄固有ニューロン系の存在の有無ではなく、これらに対するグリシン作動性抑制機構の強さにあると結論した。

15. ラット中脳ドパミン細胞におけるニコチン型アセチルコリン受容体(nAChRs)の活性化に伴うカルシウム感受性電流の特性

山下哲司^{1,2}, 伊佐 正^{1,2} (1総合研究大学院大学生命科学研究科, 2生理学研究所)

中脳の黒質緻密部(substantial nigra pars compacta ;

SNc)あるいは腹側被蓋野(ventral tegmental area ; VTA)のドパミン細胞は線条体に投射し大脳基底核をめぐる回路の機能の調節に関与するとされている。

このSNcやVTAのドパミン細胞は、主たる興奮性入力として脚橋被蓋核(PPN)よりアセチルコリン(ACh)作動性線維の投射を受け、ニコチン型アセチルコリン受容体(nAChRs)を介する速い興奮性伝達が行われている。我々はこれらのドパミン細胞においてACh投与によって誘発される速い内向き電流の中にfulfenamic acid(FFA)に感受性を示す、おそらくcalcium-activated-nonselective cation channel(CAN channel)によると考えられる電流成分が含まれることを示唆する所見を得た。このCAN channelの活性化にはnAChRsのsubtypeのうちCa²⁺透過性の高い $\alpha 7$ 型と、 $\alpha 7$ 型よりもCa²⁺透過性の劣る非 $\alpha 7$ 型の成分の両方が必要であり、その電流電圧特性は-40mV以下でnegative slope conductanceを示した。

これらの結果は、中脳のドパミン細胞に対するアセチルコリン性の入力はnAChRsを介して活性化されるCAN channelの活性化を通じてドパミン細胞の脱分極応答を増強する働きがあることを示唆している。

16. 自由行動下ラット異種脳領域におけるニューロン間の相互相関解析

田淵英一^{1,2}, 梅野克身^{1,2}, 堀 悦郎^{1,2}, 小野武年^{1,2}, 西条寿夫^{1,2} (1富山医科薬科大学医学部生理学, 2科学技術振興事業団)

脳機能は、個々のモジュールの同期的結合によりダイナミックに変化することが示唆されている。しかし、同期的結合により形成された神経回路内における情報処理様式についてはほとんど明らかにされていない。本研究では、同期的結合によって形成された神経回路内における情報変換機構を調べるため、自由行動下ラットの異種脳領域から複数のニューロン活動を同時記録する方法を開発したので報告する。ラット頭部に慢性的に装着するマイクロドライブを独自に作製した。このマイクロドライブは、8本のマイクロワイヤー($\phi 25 \mu\text{m}$)からなる電極($\phi 0.3\text{mm}$)を固定するプレート(一辺15mm)、および接続部(コネクター)からなる。プレートにはさらに各電極を移動するドライブ(スクリュー)を装着した。接続部には、記録時に前置増幅器を備えたワイヤーを装着した。目的とする脳領域の座標に電極をそれぞれ固定した後、手術によりマイクロドライブをラット頭部に埋め込んだ。本研究では、パベッツの回路に含まれる海馬体、後部帯状回および視床前背側核に各電極を埋め込み、自由行動下でこれら3領域からニューロン活動を同時記録した。現在、それぞれの領域で単

ニューロン活動をクラスター解析により単離した後、相互相関解析法によりニューロン間の結合様式について調べている。その結果、異種脳領域間で有意な相互相関が認められたのでその意義について考察する。

17. 嗅覚条件刺激—報酬連合学習課題におけるラット視床背内側核ニューロンの応答性

川越 隆¹, 旭 雄士¹, 田村了以¹, 上野照子¹, 西条寿夫², 小野武年¹ (¹富山医科薬科大学医学部第二生理学教室, ²富山医科薬科大学医学部第一生理学教室)

目的: 視床背内側核は、嗅覚情報処理機構の一部として機能するだけでなく、感覚系、情動系、運動系および注意覚醒系からの入力を受け、情動・学習・記憶機能に関連することが示唆されている。しかし、視床背内側核ニューロンの嗅覚応答性と情動・学習・記憶に関する研究は少ない。本研究では、嗅覚条件刺激—報酬連合学習課題遂行時のラット視床背内側核ニューロンの応答性を解析した。

方法: ラット頭部を脳定位固定装置に無痛的に固定する特殊なオペラント行動実験法を用い、嗅覚条件刺激、または体性感覚と報酬刺激の連合課題を学習させた。嗅覚条件刺激としてアセトフェノン、イソアミルアセテート、シクロヘキサノン、P-シメン、シネオールを用い、体性感覚刺激にはエアパフを用いた。各感覚刺激を4秒間提示し、口直前に近づけたチューブを舐めることにより報酬(脳内自己刺激)を獲得することを訓練し、学習成立後、視床背内側核から単一ニューロン活動を記録して課題応答性を解析した。

結果: 視床背内側核には、嗅覚刺激に応答するニューロンがあったが、そのほとんどは報酬と連合している刺激に強く応答した。この報酬に連合した嗅覚刺激に対する応答は、消去や再学習により可塑的に変化した。これらの結果に基づき、視床背内側核の嗅覚刺激—報酬連合学習における役割について考察する。

18. アンジオテンシンIIによるラット心室筋外向きK⁺電流の抑制効果

松田裕之¹, 倉田康孝¹, 今西 愿², 芝本利重¹ (¹金沢医科大学・第二生理, ²総合医学研究所)

目的: アンジオテンシンII (AT II) が催不整脈性を有することはよく知られているが、心筋細胞イオンチャネルへの作用についての検討は十分なされていない。今回我々はAT IIの心筋イオンチャネル、特に外向きK⁺チャネル電流への影響につき検討した。

方法: Wistar rat (100~150g)の単離心室筋細胞を用いwhole-cell patch clamp法により外向きK⁺電流を測定し

た。試薬にはAT II (0.1~1 μM), AT II type I receptor bloker (ARB)を使用した。

結果: ramp pulseによる検討ではAT II (0.1~1 μM)は-20mVから+60mVの範囲で外向き電流を10~15%抑制した。またこの抑制効果はARB前処理により消失した。step pulse protocolによる検討では外向きK⁺電流I_{sus}成分の抑制を認めた。

考案: 1) AT II (0.1~1 μM)はラット心室筋外向きK⁺電流I_{sus}成分を抑制した。2) 上記の抑制はAT II type I receptorを介する作用と考えられた。3) 以上よりAT IIは、活動電位持続時間を延長させ、不整脈を誘発する可能性があることが示唆された。

19. 血管平滑筋におけるCa²⁺依存的な低分子量G蛋白質Rhoの活性化

桜田惣太郎, 多久和典子, 杉本直俊, 王 焜, 多久和陽 (金沢大院・医・血管分子生理)

興奮性アゴニストによる平滑筋収縮において、20kDミオシン軽鎖(MLC)のリン酸化は主要な役割を果たす。これは、1)細胞内Ca²⁺の上昇によるミオシン軽鎖キナーゼの活性化、2)三量体G蛋白質G_{12/13}、低分子量G蛋白質Rhoとその下流のRhoキナーゼを介した、ミオシンホスファターゼの抑制の両者を介する。今回初めて、これら二つの情報伝達経路の間の連携、すなわちCa²⁺依存的なRho活性化機構が存在することを見出した。60mM KClは受容体アゴニストであるノルアドレナリン(NA)とほぼ同等の大きさの持続的収縮とMLCリン酸化レベルの上昇を惹起した。Rhoキナーゼ阻害薬HA-1077, Y-27632はKClによる収縮とMLCリン酸化をNAと同程度に抑制した。KCl, NA刺激はともに濃度依存的に活性型Rho(GTP-Rho)量を増加させた。KClによる収縮とRho活性化は、外液Ca²⁺除去、ジヒドロピリジンCa²⁺チャネルブロッカーにより完全に抑制された。NAによるRho活性化・収縮は外液Ca²⁺除去かつカフェイン処理による細胞内Ca²⁺ストアの枯渇操作により強く抑制された。以上の結果より、血管平滑筋においてCa²⁺依存的なRho活性化機構の存在が明らかとなった。この機構は、生理的な受容体アゴニストによるRho活性化に関与していると考えられる。

20. 樹状突起でのシナプス信号統合におけるA型・D型Kチャネルの役割—コンパートメントモデルによる理論的解析—

高木 博¹, 鈴木英雄², 小山西三¹ (¹信州大学医学部第二生理, ²早稲田大学理工学部物理学科)

海馬のCA1領域にある錐体細胞の樹状突起部には、4-

アミノピリジンに感受性を有する2種類のカリウムチャネル (A型KチャネルとD型Kチャネル) が、高密度に存在することが知られている。そして、A型Kチャネルについては、最近シナプス信号の統合機構に関与していることが実験的に証明された。しかし、両者には特異的な阻害剤がないために、D型Kチャネルの生理学的役割は未だに不明な点が多い。従って、理論的解析によりこれらのチャネルの生理機能を明らかにする必要がある。本研究では、コンパートメントモデルに基づくシミュレータ「NEURON」を用いて、シナプス統合機構におけるD型Kチャネルの関与を検討し、その関与をはじめて明らかにした。さらに、長期増強 (LTP) 誘導におけるD型Kチャネルの役割も検討した。その結果、高頻度 (100Hz程度) のシナプス入力に対してシナプス電位が安定に樹状突起を伝播するには、A型KチャネルとD型Kチャネルの共存が不可欠であり、かつシナプス結合には、これらのチャネルの相補的作業 (時間的な協同作用) が重要であることも明らかにした。

21. 洞結節自動能のイオン機序：持続性内向き電流の役割

倉田康孝¹、今西 愿²、芝本利重¹ (¹金沢医科大学・第二生理、²総合医学研究所)

目的：近年、心筋洞結節において、ペースメーカー電位領域で活性化する持続性内向き電流 (ist) の存在が明らかとなり、新しいペースメーカー機序として注目されている。今回我々は、ウサギ洞結節モデルの数学的構造解析を行い、自動能発現におけるistの役割を理論的に検討した。

方法：実験データを基にウサギ洞結節ist動態の数学的定式化を行い、新しいウサギ洞結節モデルを作成した。自動能 (自発性活動電位) のコンピュータ・シミュレーションによりistチャネル・コンダクタンスと自動能特性との関連を検討し、さらにistを含む標準システムとist除去システムの動力学的特性を比較検討した。

結果：1) istチャネル・コンダクタンスの減少に伴い、自動能の頻度は減少したが、istを除去しても自動能は消失しなかった。2) ist除去システムでも標準システムと同様の自発性活動電位を再現できたが、自動能周期は標準システムに比べて長くかつ不安定となった。3) L型Caチャネル電流の減少や背景電流の変化に対して標準システムの自動能は比較的安定であったが、ist除去システムでは自動能の消失や不安定化が認められた。

総括：istは自動能発現に不可欠ではないが、自動能周期の安定化、さらには洞結節の構造安定化に寄与すると考えられた。

22. RAT HIPPOCHAMPAL NEURONAL RESPONSES DURING A CONDITIONAL DELAYED STIMULUS-RESPONSE ASSOCIATION TASK

Adriane A. Furusawa^{1,2}, Eiichi Tabuchi^{1,2}, Katsumi Umeno^{1,2}, Etsuro Hori^{1,2}, Taketoshi Ono¹, and Hisao Nishijo^{1,2} (Dept. Physiol., Toyama Med. & Pharmaceu. Univ., ²CREST, JST)

Previous neurophysiological studies of hippocampal (HF) theta rhythm suggested HF involvement in attention, motivation, learning and memory, and integration of motor programming. To elucidate HF involvement in behavioral control, we investigated HF neuronal activity during performance in a conditional delayed stimulus-response association task (CDSRT) in rats. After implantation of a chronic head holder in a skull and wire electrodes for EMG recording in the genioglossus muscle (tongue protrude), a rat was trained to lick a spout protruded near rat's mouth to obtain reward (0.3 M sucrose solution) in a restraining cage. Then, the rats were trained with the CDSRT, in which 2 motor responses [licking sucrose solution after protrusion of a spout (lick), and unconditioned responses to air puff on a face (air puff)] were conditional upon a preceding 300-msec tone. Three combination of motor responses (airpuff-lick, lick-lick, lick-airpuff) were associated with 9 auditory stimuli [3 tones (300, 530 and 1,200 Hz) each presented from 3 direction (right, left, anterior)]. Of a total of 200 HF neurons recorded during the CDSRT, 146 (73%) responded one or more phases of the task; 63 neurons responded to conditional tones, 124 during licking, 36 to the air puff, and 42 during a delay period imposed among the tones and motor responses. Simultaneous recording of HF neurons and local field potentials (LFPs) from the same electrodes indicated that; 1) HF neuronal activity and FFT power in theta frequency of LFPs increased prior to initiation of motor responses, 2) activity of some HF neurons and LFP synchronized with licking behavior in theta (4-8Hz) frequency. Furthermore, responses of some HF neurons were conditional to combination of conditional tones and sequence of motor responses. These results suggest that the HF is involved in selection of appropriate behaviors in a given context based on theta rhythm.

23. サルのニューロン活動記録実験における磁気共鳴イメージングと軸補正処理の有用性

旭 雄士¹, 永福智志¹, 田村了以¹, 林 央周², 西条寿夫³, 小野武年¹ (富山医科薬科大学医学部第二生理学,² 脳神経外科,³ 第一生理学)

従来われわれは、行動下サルニューロン活動記録実験では、単純X線写真の骨形態と脳地図の座標から電極刺入部位を決定し、記録部位を推定してきた。しかし、この方法では、脳内の各部位を電極刺入前に正確には同定できなかった。本研究では、磁気共鳴イメージング(MRI)データを画像処理し、脳定位法と組み合わせることにより、正確に記録電極を目的部位へ刺入する方法を開発した。まず、脳定位固定用ヘッドホルダーの取付け手術前にサル頭部のMRIを撮像し、つぎに手術後、脳地図または術前撮像データに基づき目的脳部位と推定される位置にマーカー(タングステン線)を刺入してMRIを撮像した。各画像データを当大学で開発した定位脳手術支援装置Evans2のソフトウェア(軸補正機能を含む)により眼窩下縁-外耳道面と矢状面に対するずれを補正した後、目的脳部位およびマーカー位置を描出・プロットし、上方から見た透瞭画像を作成した。術前のMRI透瞭画像は手術操作を的確に行う上で有用であり、さらに、マーカーと目的脳部位の視覚化はニューロン活動記録部位の決定にも有用であった。これらの結果に基づき本手法の意義について考察する。

24. モルモット胃体部輪走平滑筋の自発活動発現におけるミトコンドリアの関与について

福田裕康, 鬼頭佳彦, 鈴木 光 (名古屋市立大学医学部生理学教室)

摘出モルモット胃体部輪走筋は縦走筋や筋間神経叢、ならびに筋間質細胞(ICC)を除去してもnifedipine抵抗性に自発活動を示す。平滑筋細胞の膜電位ならびにfura-2蛍光による細胞内カルシウム濃度の変化を指標に、この輪走筋の自発活動発現におけるミトコンドリアの役割を検討した。CCCP(ミトコンドリア膜のprotonophore)は平滑筋膜を脱分極させ、細胞内カルシウム濃度を上昇させ、自発活動を停止させたので、自発活動発現にはミトコンドリアへのカルシウム摂取が必要であることがわかった。非選択的にATP感受性Kチャンネルを抑制するglybenclamideは、膜電位や細胞内カルシウム濃度を変えずに自発活動を停止させた。心筋ミトコンドリア膜のATP感受性Kチャンネルに選択性が高い5-HDAにも弱いながら自発活動抑制作用が観られた。しかし細胞膜ATP感受性Kチャンネルの選択的抑制薬であるHMR-1098には自発活動抑制作用が見られなかった。これらの結果は、輪走筋の自発活動発現はミトコンドリアへのカルシウム摂取と関連しており、またその際にミトコンドリア膜はATP感受性Kチャ

ネルの開口により脱分極することが推察された。

25. 容積感受性Cl⁻チャンネルとそれを抑制するCFTR蛋白質の相関機構

赤塚結子, アブドラエフ イスカンダー, ラブシャン サビロフ, 岡田泰伸 (生理学研究所・機能協同, CREST・JST)

細胞外及び細胞内の浸透圧変化に対応して自らの体積を一定に保とうとする働きは、動物細胞にとっては必要不可欠な機能である。細胞が一旦膨張した状態から元の体積に戻る調節性容積減少(RVD)に必須なCl⁻チャンネルは、細胞の容積上昇を感知して開口するために容積感受性Cl⁻チャンネルと名づけられている。一方、嚢胞性線維症の原因遺伝子産物であるCFTR蛋白質はABC蛋白トランスポータ・スーパーファミリーに属し、自身がCl⁻チャンネルであると同時に他のチャンネルやトランスポータの機能をも制御する多機能型の蛋白質である。RVDの際に必要な容積感受性Cl⁻チャンネルの機能との関わりについても研究され始めている。今回我々は、HEK293T細胞において容積感受性Cl⁻チャンネルがCFTR蛋白質によって負に制御されることを明らかにした。さらに、CFTR蛋白質の変異体をこの細胞に発現させた系を用いた実験によって、その制御はNBD2を介して行われること、ORCCの制御とは異なり、NBD1の関与は必要ないこと、さらにEBP-50との結合をも必要ではないことがわかった。

26. マウス青斑核におけるGTP cyclohydrolase I mRNAの発現はLPS投与により増加する

金子葉子, 森 啓至, 中島 昭, 太田 明 (藤田保健衛生大学医学部生理学I)

我々はこれまでに、グラム陰性桿菌の細胞壁から遊離されるリポ多糖(LPS)をマウスの末梢に投与すると、青斑核においてノルエピネフリン(NE)の生合成が増加することを報告してきた。今回我々は、LPS投与によるNE生合成増加のメカニズムを検討する目的で、NE生合成に関与している酵素に着目し、その発現量の変化を解析した。

LPS感受性であるC3H/HeNマウス(♂, 8W)にLPSを腹腔内投与し、経時的に脳を取り出し、青斑核を摘出した。Real-time PCR法および*in situ* hybridization法でtyrosine hydroxylase (TH), GTP cyclohydrolase I (GCH), 6-pyruvoyl-tetrahydropterin synthase (PTPS), sepiapterin reductase (SR)のmRNAの発現量を定量した。

5 μg LPS投与により、GCH mRNAの発現量のみが上昇し、その他の酵素の発現量に変化は認められなかった。

マウスにLPSを腹腔内投与することにより、脳の青斑

核におけるNEの代謝回転が亢進したのは、GCHの発現量の上昇によりTHの補酵素であるBH4の生合成が増加し、結果としてTH活性の亢進が起こったためであると考えられる。

27. 大脳皮質の発達に伴うCl⁻ホメオスタシス調節遺伝子の発現変化

岡部(清水)千草¹, 横倉正倫¹, 岡部明仁¹, 豊田博紀¹, 佐藤康二², 福田敦夫¹ (浜松医科大学・第一生理,²第一解剖)

中枢神経系の主要な抑制伝達物質であるGABAは、発達過程初期には逆に興奮性に作用し、神経細胞の遊走やシナプス形成に深く関わる可能性があることが近年明らかになった。そのメカニズムとしてCl⁻ホメオスタシスの発現的变化が考えられることから、我々はCl⁻ホメオスタシスを調節する因子として、外向きのCl⁻トランスポーターであるKCC1, KCC2, 内向きのCl⁻トランスポーターであるNKCC1及び電位依存性Cl⁻チャンネルCLC-2に着目した。これらCl⁻ホメオスタシス調節遺伝子が大脳皮質の発達段階においてどのような発現変化をしているのかを知る目的で、上述の4種類の遺伝子からアンチセンスオリゴプローブをデザインし、in situ hybridization組織化学法を行った。その結果、大脳皮質においてKCC2の発現は生後発達とともに増加し、逆にNKCC1は減少した。特に生後10日目頃に両者の発現パターンは逆転した。幼若期にはNa, K-2Cl共輸送体(NKCC1)によるCl⁻取り組みがK-Cl共輸送体(KCC2)によるCl⁻汲出しに勝るため、細胞内Cl⁻濃度が上昇し、GABAが興奮性に作用している可能性が示唆された。

28. ラット大脳皮質血管内皮の初代培養細胞における3-NPAの細胞障害性と保護因子

最上美保子¹, 飛田秀樹^{2,3}, 郡健二郎¹, 西野仁雄^{2,3} (1名古屋市大・医・泌尿器科, 2生理, 3目標達成型脳科学研究)

大脳皮質血管内皮に対するミトコンドリア毒素(3-NPA)の細胞障害性を、初代培養細胞を用いて検討した。血管内皮初代培養はラット(P20)大脳皮質組織を酵素処理後、33% Percollで遠心して細胞を採取した。アストロサイト培養上清の添加にて紡錘形を呈するより生理的な培養が可能になった。この内皮細胞に3-NPA溶液を灌流しFura-AMを用いて細胞内Ca²⁺濃度、[Ca²⁺]_iの経時的变化を観察した。3-NPA(1.7mM, 3.6mM)では無変化だったが、3-NPA(6.8mM)で[Ca²⁺]_iは徐々に上昇しwash out後は不完全ながら下降した。この前後でATP反応性は減弱していた。17-β estradiol(10⁻⁸M), tamoxifen(5 × 10⁻⁷M)

を各々20分前より灌流すると3-NPAによる[Ca²⁺]_i上昇は抑制され、灌流前後のATP反応性は保持された。よって3-NPA(6.8mM以上)灌流で血管内皮細胞障害を生じること、estradiol, tamoxifenは細胞内へのCa²⁺取込みを抑制し、3-NPAによる細胞障害を抑制することが示された。

29. 線溶系酵素の学習・記憶における役割

浦野哲盟, Robert Pawlak, 永井信夫, 井原勇人, 最上秀夫(浜松医科大学第2生理)

はじめに：tissue plasminogen activator (tPA)は長期増強や、学習・記憶に関与する。tPA knock-out mice (tPA^{-/-})と野生型(tPA^{+/+})で受動的回避反応学習課題で検討した。方法：床グリッド上のプラットフォームにマウスを乗せ、床に降りた瞬間に電気ショックを与え、2回目以降(90分, 1, 2, 7日後)乗せてから降りるまでの時間を計測した。結果及び考察：tPA^{-/-}は時間が短く(p < 0.05)、学習・記憶の障害が示唆された。これは学習2時間前のtPAの海馬内注入により部分的に回復した(p < 0.05)。しかしurokinase PAの投与では回復しなかった。注入したtPA活性は海馬で90分後に確認できたが1日後には消失しており、tPAは学習に関与しており、記憶の保持には関与していないことが示唆された。海馬依存性学習・記憶にtPAが関与していることが示された。

30. モルモット胃幽門部ICC細胞の自発活動に対するサイクリックヌクレオチドの効果について

鬼頭佳彦, 福田裕康, 鈴木 光(名古屋私立大学医学部生理学教室)

モルモット胃幽門部ICC細胞の自発活動に対するサイクリックヌクレオチドの効果について、細胞内電位を指標にして調べた。Forskolin(1 μM)とPapaverine(30 μM)は、いずれもDriving Potentialの持続時間を短くし頻度を低下させた。Forskolinの場合12例中8例で自発活動が消失した。8-Br-cGMP(100 μM)はDriving Potentialの頻度を一過性に低下させた後、持続時間を短くし頻度を増加させた。8-Br-cGMPをSKF96365(50 μM)と同時に投与すると膜は脱分極し、頻度が一過性に増加した後自発活動は消失した。SNAP(NOドナー)(100 μM)は、膜を一過性に過分極させた後、Driving Potentialの持続時間を短くし頻度を増加させた。薬物を投与した後のDriving Potentialの波形を比べると、ForskolinとPapaverineはCaffeine(3mM)と同様にDriving Potentialのプラトー相を完全に抑制することがわかった。一方、8-Br-cGMPを投与した後のDriving Potentialの波形はCPAを投与した後

の波形に似ており、いずれもSKF96365を同時に投与することで自発活動を消失させることから、モルモット胃幽门部ICC細胞においてcGMPは細胞内Ca貯蔵部位のカルシウムポンプを抑制する可能性が示唆された。

31. 平滑筋CaチャンネルクローンにおけるU字型不活性化と緩徐な脱活性化のための複数の開口状態によるモデリング

青山昌広¹、中山晋介² (¹名古屋大学大学院・医学研究科・機能調節内科学、²同・細胞生理学)

平滑筋組織は生体各所に存在し、その機能に応じた多様な収縮を示す。しかしながら平滑筋には、主にL型Caチャンネルが発現する。私たちはこれまで、平滑筋L型Caチャンネルの開口状態は複数存在することを示してきた。今回の研究では、平滑筋L型Caチャンネルを発言したCHO (Chinese Hamster Ovary) 細胞を用いて、全細胞Caチャンネル電流の特性を調べた。1) 4秒のpreconditioning stepを与え、定常状態不活性化曲線を求めたところ、+20mV以上では電圧を上げることに従い、不活性化が再び減弱していった(U字型不活性化曲線)。2) 大きな脱分極(+80 to +100mV)を与えた後のCaチャンネル電流脱活性化の時間経過は、2つの時定数でのみフィッティングできた。また、再分極電位を-40から-80mVへと変化させたところ、過分極するにしたがって脱活性化速度は上昇した。3) これらの結果を包括的に説明するため、二つの開口状態(O1, O2)と一つの閉状態(C)のシーケンシャル連結モデルと、これに二つの不活性化状態(I0, I1)を加えたモデルを作成した、電流キネティクス詳細の検討を行った。

32. ウシガエル交感神経節細胞における細胞膜直下Ca²⁺誘発性Ca²⁺遊離機構の活性化及び不活性化過程

秋田天平^{1,2}、久場健司¹ (名古屋大・医・細胞生理、²日本学術振興会特別研究員)

これまで我々は培養ウシガエル交感神経節細胞において、活動電位によりCa²⁺誘発性Ca²⁺遊離機構(CICR)が細胞膜直下で引き起こされ、それがミリ秒オーダーの細胞膜興奮性の調節に重要な役割を果たしていることを報告してきた。今回我々はそのCICRによる緊密なCa²⁺依存性機能調節の背後に、CICRの速い活性化及び不活性化過程が存在することを報告する。細胞膜直下2μmの領域において、脱分極開始直後のCICR活性化の時間変化は、Ca²⁺電流の活性化過程の時間変化と完全に一致し、Ca²⁺電流の振幅及びCICRによる細胞内Ca²⁺濃度([Ca²⁺]_i)上昇率の間には、ω-conotoxin GVIA (1μM)投与中のそれらの対応

から1対1の関係にあることが判明した。また、20ms以内の脱分極刺激では脱分極中CICRによる[Ca²⁺]_i上昇の振幅は徐々に大きくなったが、それ以上の長さの脱分極では更なる振幅の上昇は認められず、代わりに刺激終了後の[Ca²⁺]_iの減衰過程が大きく延長した。2連続脱分極刺激を加えると刺激間隔が50ms以内では2発目の脱分極による[Ca²⁺]_i上昇は認められず、刺激間隔がそれ以上に大きくなるにつれて2発目の[Ca²⁺]_i上昇の振幅及び上昇率が回復した。しかし、同じ刺激間隔でも脱分極の時間を延長することにより[Ca²⁺]_iの減衰過程が延長されると、2発目の脱分極による[Ca²⁺]_i上昇の回復も遅くなった。これらの2発目の[Ca²⁺]_i上昇率の回復過程をその上昇直前の[Ca²⁺]_iに対してプロットすると同一の[Ca²⁺]_i依存曲線上に分布した。以上のことは、この神経細胞における細胞膜直下CICRがCa²⁺チャンネルの開口とほぼ同時に活性化され、その後20ms遅れて不活性化過程が働き、その不活性化からの回復には[Ca²⁺]_iが関与していることを示唆する。

33. カエル運動神経終末のCa²⁺誘発性Ca²⁺遊離機構に於けるアクチン重合体の役割

鈴木慎一¹、曾我聡子¹、成田和彦²、久場健司¹ (名古屋大学医学部生理第一、²川崎医大生理)

カエルの運動神経終末内Ca²⁺濃度は、高頻度のテタヌス刺激(15s, 50Hz)の反覆(5s間隔)により、最初の急速上昇後、刺激の進行と共に緩徐に上昇し、最大値に到達後緩徐に減少する。この緩徐な上昇相はサブシガーゲンやライノジンにより抑制されるので、Ca²⁺誘発性Ca²⁺放出(CICR)により起こり、緩徐上昇相は遊離機構のプライミング(活性化準備)過程を示し、下降相は不活性化過程を表す。また、このCICRは個々のインパルスの0.7ms以内に活性化されるので、Ca²⁺の貯蔵オーガネラはシナプス小胞である可能性がある。

この研究では、シナプス小胞のシナプス前膜への移動に関与すると言われるアクチンの重合を阻害するラトランクリンAのCICRに対する影響を調べた。ラトランクリンAの効果は、神経終末によりCICRの活性化の大きさを抑制する場合と、下降相を促進する効果を示す場合が見られた。しかし、CICRのピーク時間は不変だった。又、低Ca²⁺高Mg²⁺液中で高頻度のテタヌスの反覆により発生させた終板電位の緩徐な上昇相は、ラトランクリンAによりピーク時間が変わることなく抑制された。これらの結果から、CICRのプライミング過程にはアクチン重合体は関与しないと思われる。又、ラトランクリンAはシナプス小胞の補給過程を阻害することにより、CICRの活性化を抑制する可能性がある。

34. 血管内皮細胞における力受容と細胞反応

辰巳仁史^{1,3}, 早川公英², 河上敬介¹, 曾我部正博^{2,3} (1科学技術振興事業団CREST, 2科学技術振興事業団細胞力覚プロジェクト, 3名古屋大学医学部第2生理 (科技団・CREST, 科技団・細胞力覚, 名大・医・生理))

血管内皮細胞は血管内を流れる血流によって常に力学的作用を受けながら存在している。血管内皮細胞にフィブロネクチンをつけたガラスビーズを装着し、このビーズを牽引することにより、インテグリンを介した力学的刺激を与えた。細胞の細胞内カルシウムイオン濃度および接着斑の形態に注目して、ビーズ牽引による力学反応を観察分析した。また細胞底面における反応を選択的に観察するために近接場光を用いた。その結果、力学刺激の直後から細胞底面の接着斑の近傍からカルシウムイオンの流入がはじまることが見られ、この反応の数分後に接着斑の構造の変化が生ずることが観察された。

35. 乳腺上皮細胞における伸展機械刺激によるATP放出

川口久美¹, 古家喜四夫¹, 成瀬恵治^{1,2}, 曾我部正博^{1,2} (1科学技術振興事業団細胞力覚プロジェクト, 2名古屋大学

医学部第2生理 (科技団・細胞力覚, 名大・医・生理))

機械刺激によるATPの放出は多くの組織、細胞において種々の生理作用を果たしており、機械受容の重要な基本的機構の一つと考えられる。乳腺細胞においては筋上皮の収縮が機械刺激となってATPが放出され、腺胞内での細胞間相互作用を仲介している。今回、乳腺細胞は伸展機械刺激にも応じATPを放出することを、Luciferin-Luciferase反応を用いたATP測定によって明らかにした。

36. 機械伸展刺激に対する内皮細胞からのIL-6産生のメカニズム

小林 聡¹, 成瀬恵治^{2,3}, 曾我部正博^{2,3} (1名古屋大学大学院器官調節外科学, 2名古屋大学医学部第2生理, 3科学技術振興事業団細胞力覚プロジェクト)

TNF- α およびIL-6は肝再生のトリガーとして重要なサイトカインである。われわれは経皮経肝門脈枝塞栓術(PTPE)後、非塞栓葉の門脈が伸展されることに着目し、実験的に機械刺激により血管内皮細胞からIL-6が分泌されることを観察した。またその機序について、転写因子であるNF- κ Bが重要な役割を果たしていることが示唆された。