

第54回日本生理学会中国四国地方会

会 期：平成14年（2002年）10月18日（金）
 場 所：高知市文化プラザ「かるぽーと」小ホール
 当番幹事：高知医科大学医学部生理学教室
 参 加 者：70名

10月末からの高知国体の影響で、例年よりも早い日程で開催された。今回は案内もすべてe-mailを使用し、発表要領も「生理学会ホームページ」からリンクして頂いた「地方会ホームページ」からダウンロードできるpdfファイルとした。映像機器を液晶プロジェクタのみの使用としたところ、23題すべてが、Powerpointファイルによりトラブルなく発表議論できた。この方式の急速な浸透ぶりを感じる。いずれの発表も活発な議論がなされ、1時間以上の超過となった。中国四国地区の生理学研究者の交流の場、また学部学生など若手の活躍を支える場として会のますますの発展を祈る。

今回の当番幹事は川崎医科大学生理学教室の予定。

1. ネコ上丘中間層のニューロンの発火頻度は視線と視標の誤差を反映する

松尾 聡¹, Andre Bergeron², Daniel Guitton² (鳥取大学・適応生理学分野¹, McGill University・Montreal Neurological Institute²)

興味をひく物体が視野の中に現れると、gaze saccadeと呼ばれる眼と頭部の急速な協調運動が生じ、物体を注視する。上丘は大脳の指令を脳幹の眼球・頭部運動の核上性領域に中継し、gaze saccadeの一次的な中枢であると考えられている。上丘中間層は電気刺激で生じたgazeのベクトルにより運動地図が構成されている。この運動地図上にコードされた情報がどのように時間的にコードされた信号、すなわち運動ニューロンの発火頻度と持続時間に変換されるのだろうか。ひとつの仮説は実際と予定の視線の位置の誤差（運動誤差）の情報のフィードバックによりgaze saccadeがコントロールされており、上丘ニューロンがそのループの中にあることである。この仮説を検証するために、暗所でネコにgaze saccadeを行わせ、saccade中に頭部を短期間停止させた。同時に運動地図上のニューロンを細胞外記録した。この細胞の発火様式はsaccade開始前から発火をはじめ発火頻度を増す“build-up”タイプであった。頭部停止時、視線は短期間停止した状態になった。この細胞の神経活動の持続時間は視線が指標を捉えるまでの時間に一致していた。さらに視線停止時、発火頻度は停止直前の発火頻度ほぼ同じで、運動誤差に比例していた。これらの結果は上丘ニューロンがフィードバックループの中にあることを支持している。

2. 視覚性入力により誘発される悪心とそれに伴う自律神経反応

水見直之¹, 古我知成², 丸山恵美¹, 細羽恵理子³, 土田早人³, 辻岡克彦¹ (川崎医科大学・生理学¹, 川崎医療福祉大学・リハビリテーション学科², 医療情報学科³)

本研究は、ヒトにおいて視覚入力性の悪心に伴う自律神経反応を定量的に解析することを目的とした。

悪心を誘発させるために、手ぶれビデオの画像、すなわち動揺性視覚刺激を健常成人19名に与えた。動揺性視覚刺激中に、自律神経反応の指標として、胃電図、心電図、呼吸数、手掌部および前額部発汗量、および指尖部末梢血流量を連続的に測定した。動揺性視覚刺激を与えない状態をコントロール（第1相）として、ビデオ放映時の前半、後半各3分間を第2、3相、ビデオ放映後5分間を第4相とした。

実験前後に行ったアンケート結果より、悪心の自覚症状が出現した群（悪心群、9名）と出現しなかった群（非悪心群、10名）に分けた。胃電図より解析した胃運動の振幅は悪心群で第3相においてコントロールと比べ有意に増加した（ $P < 0.05$ ）。心電図より解析した平均心拍数は両群でコントロールと比べ第3相で有意に増加した（ $P < 0.05$ ）。呼吸数と手掌部の発汗には、実験中有意な増減は見られなかった。前額部の発汗は悪心群で第4相においてコントロールと比べ有意な増加が見られた（ $P < 0.05$ ）。また末梢血流量については、悪心群で第3相において有意な減少が見られた（ $P < 0.05$ ）。

以上より、悪心の自覚症状の発生過程において、まず副交感神経、続いて交感神経の活動が亢進されるが、両者の

経時的バランスは臓器，部位により異なると考えられる。

3. 嘔吐誘発に関連する孤束核ニューロンの免疫組織学的検討

片岡 睦¹，柳原 衛⁴，福田博之²，中村恵美³，古川直裕³（川崎医療福祉大学・医療情報学科¹，臨床栄養学科²，川崎医科大学・生理学³，岡山県立大学・短期大学部⁴）

〔目的〕我々はこれまでの生理学的研究の結果から，迷走神経を求心路とした嘔吐の誘発には内側孤束核のニューロンが関与していること，また，迷走神経から孤束核ニューロンへの催吐性信号の伝達が，グルタミン酸とそのnon-NMDA受容体を介して行われる可能性を示してきた。今回は，その妥当性の検討と関連ニューロンの可視化のために，免疫組織学的検討を行った。〔方法〕除脳イヌを用い，迷走神経を求心性に刺激して嘔吐を頻回に誘発した。90分後に延髄を還流固定し，その薄切標本をc-fos抗体とGluR2/3抗体を用いて二重に染色した。〔結果〕嘔吐を頻回に誘発した動物において，延髄尾側部の内側孤束核，および迷走神経背側核内に，c-fos抗体とGluR2/3抗体で二重に染色されるニューロンが認められた。前者は，これまでの生理学的研究結果から催吐性入力の投射部位と想定されている部位と一致した。後者は，嘔吐に伴う腹部臓器の反応を誘発する出力部位の一部であると想像される。

4. 低体温を主訴とする患者さんから得られた低体温誘導物質

丸山めぐみ¹，紫藤 治¹，井元敏明²，渡辺達生²，杉本直俊³，浅井 暁³，小泉晶一³（島根医科大学・生理学第一講座¹，鳥取大学・医学部・機能形態統御学講座²，金沢大学大学院・医学研究科³）

我々は1998年に金沢大学医学部付属病院に入院した低体温を主訴とする患者さんを診る機会を得た。受診時の体温（腋下温）は31.2℃，心拍数30～40回/分，最高，最低血圧はそれぞれ84，42 mmHgであった。行動は緩慢であったが，意識は清明で知能は正常であった。その後の血液の各種生化学的検査，神経学的検査，頭部画像診断等では低体温を引き起こすような異常所見はなかった。涼冷環境下で低体温が再現性良く誘導されること，暑熱環境下や運動時には発汗することなどから，当該患者さんの低体温は熱産生反応発現閾値のみが過度に低下していることに起因すると推察された。そこで，患者さんおよび保護者の承諾を得た後，患者さんの血漿を環境温23℃下，非拘束ラットの腹腔内に投与すると，ラットの核心温が著明に下降した。血漿の脳室内投与では低体温は誘導されなかった。患者さんの血漿を分画分子量10,000Daの遠心濾過

チューブにて濾過分画と非濾過分画に分け，それぞれラットの腹腔内に投与すると，非濾過分画のみ低体温を誘導した。当該患者さんの血漿中には熱産生反応発現閾値を下降させるような比較的高分子の低体温誘導物質が存在する可能性がある。

5. 腰動脈遮断によるウサギ脊髄虚血再灌流障害モデルの作成

前田伴幸，河合康明（鳥取大学・医学部・適応生理学）

胸部下行大動脈再建術において，脊髄虚血再灌流障害を原因とする対麻痺の発生は重大な合併症である。種々の脊髄保護手技の有効性を検証する為に，長時間の脊髄虚血状態を維持できる実験モデルが必要であることから，今回我々はウサギの腰動脈を選択的に遮断することにより，全身循環動態に大きな変動をきたさない脊髄虚血再灌流モデルを作成した。全身麻酔下に左後腹膜経路にて腎動脈下大動脈に到達・剥離し，分離した第3～7腰動脈をそれぞれ係蹄で一時遮断する事により，脊髄を虚血状態とした。遮断10分間群で3/6匹（50%），遮断20分間群で6/6匹（100%）に後肢の対麻痺を発生した。また屠殺後に採取した脊髄病理標本において，対麻痺の程度に比例した前角の運動神経細胞の脱落が確認された。これまでの大動脈遮断による脊髄虚血障害モデルに比べて，全身の循環動態変動によるストレスが小さく，脊髄保護手技による虚血耐性時間延長を検証するのに有用なモデルと考えられる。

6. 高血圧，高脂血症のアテローム誘発とその背景

麻原仁子，唐住梨紗子，山本真理子，辻岡克彦（川崎医科大学・生理学）

〔目的〕著者らはWKYラットで局所血流の違いがeNOS発現量の差異を介してNO産生量に差を生じ，動脈硬化の発症・進展が局在化するという機構を示唆した。本研究では動脈硬化発症のリスクファクターである高血圧および高脂血症が血管内皮細胞機能に及ぼす影響を調べることを目的とした。

〔実験〕Dahl食塩感受性ラットに高血圧食（8%食塩添加）または高脂血症食（1%コレステロール添加），あるいは高血圧and高脂血症食を8週間与えて，大動脈一腎動脈分岐部のアテローム発生の有無などを調べた。

〔結果〕高血圧and高脂血症食を8週間与えたラットで多くのアテローム発生が認められた。食餌期間8週目の血圧はコントロールと比較して1.18倍に，血中総コレステロール量は16.2倍に上昇していた。また高脂血症食単独群と比較すると血圧は1.32倍，血中総コレステロール量は1.15倍であった。さらに血管内皮細胞のNO産生量および

eNOS発現量について調べたので報告する。

7. 血清脂質に対するNF κ Bの関与

森島淳之, 満田憲昭, 大久保信孝, 前田信治 (愛媛大学・医学部・第二生理学)

転写因子Nuclear Factor kappa B (NF κ B)は, アポリポ蛋白CIII遺伝子の転写を調節しており, また脂質代謝を調整する転写因子Peroxisome Proliferator-Activated Receptorとも相互作用がある。しかし, その一方で脂質代謝におけるNF κ Bの役割はいまだ明らかでない。本研究では, アポリポ蛋白EとNF κ Bそれぞれの遺伝子のノックアウトマウスよりダブルノックアウトマウスを作製し, 普通食を与えた状態, 高脂食を与えた状態について, リポ蛋白分画およびアポリポ蛋白分画を比較し, NF κ B遺伝子の血清脂質に与える影響を検討した。

8. 興奮性神経細胞死機構におけるカルパインによるカルシニューリン断片化の役割

呉 海燕¹, 富澤一仁¹, 松下正之¹, 陸 雲飛², 李 勝天¹, 森脇晃義¹, 松井秀樹¹² (岡山大学・院・細胞生理学¹, 科技団・プレベンチャー事業・蛋白質セラピー²)

神経細胞死の主な原因の一つとして興奮性アミノ酸の過剰放出による神経毒性があげられる。このような細胞死の機構にカルシウム依存性プロテアーゼ, カルパインが関与していることが知られている。また, 興奮性神経細胞死に脱リン酸化酵素のカルシニューリンが重要な役割をしていることも知られており, 同酵素の活性阻害作用を有する免疫抑制剤であるFK506およびシクロスポリンAが同神経細胞死を抑制する効果があることが多数報告されている。これまでの研究では, これら2つの蛋白が関与する神経細胞死のメカニズムについて別々に論じられていた。すなわち, 神経細胞死において, 一過性に上昇したカルシウムにより両酵素とも活性化され, それぞれ別の細胞内情報伝達経路を活性化させることにより, 神経細胞死が誘導されると考えられてきた。

今回, 我々は, 興奮性細胞死を誘導された神経細胞において, カルパインにより直接カルシニューリンが断片化されることにより, カルシウム非依存性に長期に活性化される情報伝達経路が存在し, 同伝達経路が興奮性神経細胞死のメカニズムに重要であることを明らかにしたので報告する。

9. 下部尿路閉塞に伴う膀胱平滑筋の肥大メカニズムにおける脱リン酸化酵素, カルシニューリンの役割

野崎邦浩¹², 富澤一仁¹, 横山光彦², 森脇晃義¹, 松下正

之¹, 李 勝天¹, 陸 雲飛³, 公文裕巳², 松井秀樹¹³ (岡山大学・院・細胞生理学¹, 泌尿器病態学², 科技団・プレベンチャー事業・蛋白質セラピー³)

前立腺肥大症等の下部尿路閉塞に伴う膀胱平滑筋の肥大についての機構は, 様々な議論があるものの, 未だ明らかではない。カルシニューリンは, カルシウム依存性脱リン酸化酵素であり, シクロスポリンやFK506等の免疫抑制剤のターゲット分子として, また, 近年では心筋症における心肥大の原因蛋白としても注目されている。膀胱平滑筋肥大においても, 心肥大と同様にカルシニューリンが関与するの否かを明らかにするため, 今回我々は, ラット下部尿路閉塞モデルを用いて, 膀胱平滑筋肥大とカルシニューリン発現との相関関係を検討した。更に, 膀胱平滑筋初代培養細胞に活性型カルシニューリンを組み込んだアデノウイルスを感染させ, 細胞内に活性型カルシニューリンを強発現させることにより細胞の肥大が誘発されるのかについて検討を行った。

カルシニューリンの発現は, 膀胱平滑筋肥大の経時的変化と有意に相関していることが明らかとなった。また, 活性型カルシニューリンを組み込んだアデノウイルスを感染させた膀胱平滑筋細胞は, 対照群に比し有意な肥大を示した。

以上より, 膀胱平滑筋の肥大メカニズムに関して, 心肥大の機構同様にカルシニューリンが重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

10. Rho-kinaseを介する脳血管平滑筋のCa²⁺非依存性収縮に対するEicosapentaenoic acid (EPA)の効果

津田泰任, 佐藤正史, 松本由華, 最上紀美子, 小林 誠 (山口大学・医・器官制御医学講座・分子細胞生理学)

血管平滑筋収縮のCa²⁺非依存性収縮は, 血管攣縮 (特に, クモ膜下出血後に発症する脳血管攣縮) などの血管緊張異常の本態として注目されている。近年, 我々は, 血管のCa²⁺非依存性収縮を引き起こすシグナル伝達経路の中でRho-kinase (ROK) シグナル系を活性化する上流のシグナル分子としてSphingosylphosphorylcholine (SPC)を同定した。さらに, SPCによる血管異常収縮を特異的に抑制する因子としてEPAを見出した。本研究では, 脳動脈平滑筋を用いて, SPC-ROKシグナル伝達系に対するEPAの効果について検討した。

脳動脈平滑筋において, SPCによるCa²⁺非依存性収縮は, ROKのドミナントネガティブ体で完全に阻害された。EPAは, SPCによるCa²⁺非依存性収縮を抑制したが, 高K刺激によるCa²⁺依存性収縮は抑制しなかった。ROKの基質であるミオシン脱リン酸化酵素 (MYPT1) の

Thr853のリン酸化を指標に、ROKの酵素活性を検討すると、SPCはROKを活性化させ、EPAは、それを抑制した。また、EPAはROKの細胞質から細胞膜へのtranslocationを阻害した。これらの結果より、EPAは、SPC-ROKシグナル系を特異的に抑制すると考えられ、血管攣縮による疾患に対する新しい治療薬として期待される。

11. Rho-kinaseを介する気管平滑筋収縮のCa²⁺感受性亢進におけるスフィンゴ脂質の役割

松本由華, 佐藤正史, 津田泰任, 最上紀美子, 小林 誠 (山口大学・医・器官制御医学講座・分子細胞生理学)

血管平滑筋においてはRho-kinase (ROK)を介するCa²⁺非依存性収縮が血管攣縮などの血管緊張異常の本態として注目されている。一方、気管においても、Ca²⁺非依存性収縮と気管支喘息との関連性が示唆されているが、その詳細なシグナル伝達メカニズムは不明である。最近、我々は、ROKの上流のシグナル分子としてsphingosylphosphorylcholine (SPC)を同定した。本研究では、ブタ気管平滑筋を用いて、SPC-ROK系の役割について検討した。

スキンド処理したブタ気管平滑筋において、SPCはCa²⁺非依存性収縮を引き起こした。また、ROKの基質であるミオシン脱リン酸化酵素 (MYPT1)のThr695のリン酸化を指標にROKの酵素活性を検討すると、SPCによりROK活性は増加し、その活性はROK阻害薬 (Y27632)で阻害された。これらの結果より、気管平滑筋において、SPCはROKを活性化し、気管平滑筋収縮のCa²⁺感受性を亢進させるシグナル分子であることが示唆された。

12. Pilsicainideおよびその誘導体の心筋特異的Naチャンネル阻害作用

山岡 薫¹, 結城常譜², 木下英司¹, 佐藤文夫³, 堀川義子³ (広島大学大学院医歯薬学総合研究科・心臓血管生理医学¹, 加計町立病院², サントリー生物有機科学研究所³)

Pilsicainide (SUN1165)は現在我が国で広く使用されているClass Icに分類される抗不整脈薬である。今回我々はSUN1165, SUN1165のメチル体 (SUN3341)および、メチル体に存在する光学異性体などのNaチャンネルブロック作用を、ラット心筋 (rH1)および脳組織由来 (rBII)のNaチャンネルαサブユニットにおいて比較した。一般に局所麻酔薬由来抗不整脈薬のNaチャンネルブロック作用は、深い静止膜電位においても存在するが、頻回に脱分極を起こした場合にさらに増強する。前者はresting block, 後者はuse-dependent blockと呼ばれる。保持電位-140mVにて-10mVに達する2msのパルスを最小回数だけ与えて観察したresting blockにおいては脂溶性の程

度の高い順 (SUN4274 > SUN3341 > SUN1165)にNaチャンネルをブロックしたが、SUN4274, およびSUN1165においてはrH1, rBIIの感受性に差がみられなかった。一方、保持電位を同様に-140mVにし、2Hzで-10mVに達する10msのパルスを与えるuse-dependentブロック (SUN1165)の場合、rH1がrBIIに対し高い感受性を示した。またrBIIの場合、薬剤存在下に長い脱分極 (-10mVを21秒間)を与えた後に頻回刺激を与えてもさらにブロックは進行しなかったのに比し、rH1の場合さらに著しくブロックが進行することが観察され、rH1においては、脱分極のみではなくチャンネルが開くことがブロック機構に強く関与することが示唆された。従って、この異なるブロック機構が臓器依存的感受性の差を生み出していると考えられる。

13. ELF変動磁界が培養骨芽細胞の分化誘導に及ぼす影響

細川敬子¹, 中野芳子², 山口久雄³, 池原敏孝¹, 北村光夫¹, 木内陽介², 吉崎和男¹, 宮本博司¹ (徳島大・医・病態予防医学・分子細胞生理¹, 工・電気電子², 徳島文理大・人間生活・環境生理³)

ELF (extremely low frequency) 変動磁界が培養骨芽細胞 (MC3T3-E1)の分化誘導に及ぼす影響について考察した。改良型のヘルムホルツ型対極式コイルを用いて、60Hz, 最大磁束密度3mTの正弦交流磁界を発生させ、培養細胞に適応した。培養面での誘導電流密度は平均10mA/m²であった。これまで曝磁によってMC3T3-E1細胞の分化が誘導されることを報告している。誘導電流が細胞内の2次性情報伝達機構に影響するという可能性がある。増殖期の細胞では曝磁によってPKC活性は抑制された。しかし、PKC活性の阻害剤Staurosporinを投与しても分化への影響はみられなかった。今回は、分化期の細胞についてPKA活性を刺激するcAMPとForskolinを投与して分化誘導に及ぼす薬剤効果と曝磁効果を比較した。cAMP, Forskolin投与と曝磁によって、分化の指標であるアルカリホスファターゼ (ALP)活性はいずれも上昇し、Forskolinと曝磁を同時に作用させた時は相加的な効果が認められた。一方、この細胞のOsteocalcin mRNAの発現に対して24時間曝磁の影響は認められなかった。従って、以上の結果からELF磁界の分化誘導に及ぼす影響は種々の2次性情報伝達機構が複雑に関与していることが示唆された。

14. The effect of D-allose on cancer cell proliferation

Li Sui, Masaaki Tokuda (Department of Cell Physiology,

Kagawa Medical University)

D-allose, one of rare sugars, is produced from D-psicose using L-rhamnose isomerase, while, D-psicose is produced from D-fructose. At present, it has been reported that D-allose could inhibits segmented neutrophil production, to a lesser degree, platelet formation, and may play a pivotal role in organ or tissue transplantation as an immunosuppressant. However, the physiological function of rare sugars has not been extensively investigated. Therefore, in order to speculate whether some of rare sugars have any direct effect on human organs, we examined the effect of rare sugars on cell growth *in vitro* using several cell lines. The effect of rare sugars including D-psicose, D-allose, D-talitol, and D-altrose were tested in five cell lines: HaCaT (human skin keratinocyte), HuFb (human fibroblastoma), Hela, OVCAR-3 (human ovarian carcinoma), and HepG2 (human hepatocarcinoma). Cells were seeded in 96-well plates for 24 h, and either a rare sugar or D-glucose or D-fructose (used as control) was then added. After 24 h, 48 h, and 72 h, cell number was determined by MTT colorimetric assay. The results showed that D-allose has an inhibitory effect on cell proliferation in all cell lines examined. The effect of D-allose in different concentration (1—100mM) was detected, and the inhibitory effect on cell proliferation was observed in a dose dependent manner. Although the mechanism of action of D-allose remains unknown, this finding represents a novel aspect of the biological profile of D-allose and suggests that D-allose may be a novel antitumor agent and play an important role in cancer therapy in the future. The further study needs to be performed *in vitro* and *in vivo*, and leads to a complete understanding of the mechanism of D-allose.

15. マウス後根神経節大型ニューロン TTX 感受性持続性 Na 電流

松富智哉¹, 大石芳彰¹, 丸山泰司¹, 山本詳子¹, 鄭泰星¹, 仲田義啓², 緒方宣邦¹ (広島大学大学院・医歯薬総合研究科・神経生理学¹, 薬効解析科学²)

後根神経節 (DRG) には7種類の電位依存性 Na チャネルが発現し, 侵害情報を含むさまざまな感覚信号の伝搬に役割分担して機能していると考えられる. そのうち TTX 非感受性 Na チャネルである $Na_v 1.9$ は主に C 繊維を発する小型 DRG 細胞に発現し, 低振幅持続性の Na 電流を起こすことを既に報告している. 今回私たちは大型 DRG 細胞においても持続的な内向き電流を記録したので報告する. 大

型細胞で観察される持続性内向き電流は, 高濃度の Cd により影響を受けず, 外液 Na 濃度に依存することより, Na 電流であることが結論された. また TTX を投与することによって完全に消失することやそのカインेटイクスの違いから, 小型細胞で見られる $Na_v 1.9$ 電流とも明らかに異なる電流であった. 活性化閾値は約 -60mV であり, 通常の速い Na 電流の閾値 (約 -40mV) より 20mV 過分極にシフトしていた. そのカインेटイクスの特徴から, $Na_v 1.6$ によって引き起こされている可能性が示唆されたので, パッチクランプ法と Single cell RT-PCR を組み合わせ, その遺伝子型を検討した. 明瞭に $Na_v 1.6$ -mRNA を発現していた細胞でも電流が記録されなかった例, 逆に $Na_v 1.6$ -mRNA の発現が観察されなかった細胞でも電流が記録された例もあり, その遺伝子型については明確な結論は得られなかった.

16. PSD95 を介した CaM キナーゼによる nNOS リン酸化の制御

宋 涛, 杉本勝良, 門脇加枝, 徳田雅明, 渡邊泰男 (香川医科大学・細胞情報生理学教室)

【目的】神経型 NO 合成酵素 (nNOS) は細胞内で CaM キナーゼ II による部位特異的リン酸化 (Ser847) を受け, その活性が阻害される. 神経シナプス後膜では nNOS は足場蛋白である PSD95 との結合により細胞内局在ならびに生理活性を発現している. この nNOS のリン酸化における PSD95 の生理的意義を解析することを今回の目的とした. 【方法】遺伝子導入 HEK 細胞内において PSD95 発現による nNOS の CaM キナーゼ II によるリン酸化の変化を nNOS の Ser847 リン酸化認識抗体を用いて解析した. 【結果】内在性 CaM キナーゼならびに細胞内導入 CaM キナーゼ II により nNOS はその Ser847 にリン酸化を受け, PSD95 共発現時にそのリン酸化は増強された. 種々の変異 PSD95 を用いた結果, PSD95 の nNOS 結合部位とパルミトイル化が PSD95 の効果において重要であった. 培養ラット海馬神経細胞を用いた実験より, 上記 nNOS リン酸化は GABA 作動性の介在神経で観察された. 【考察】PSD95 はパルミトイル化が膜を含んだその細胞内特異的局在化 (protein sorting) に必須であることが知られている. 今回の結果より, 神経細胞内で触媒される CaM キナーゼによる nNOS の Ser847 のリン酸化には PSD95 と結合し特異的な細胞内局在をとることが重要であることが明らかとなった.

17. 点字解読にともなう橈骨動脈血流の応答

村田 潤, 松川寛二, 小峰秀彦 (広島大学・医学部・保

健学科)

ヒトの手指は物体を握る・投げる・つまむなど運動器官としての役割と外環境に直接触れて外環境の情報を集める感覚器官としての役割を持っている。これらの機能は他の部位よりも優れており、巧緻的な活動が行える。本研究は、この感覚—運動調節にともなう血流の循環調節が精巧かつダイナミックに行われているのではないかという仮説を設けた。そこで手の支配血管である橈骨動脈の血流量を超音波画像診断装置を用いて測定し、点字解読作業を行わせている時の血流量の動的変化を調べた。結果として、点字解読中の心拍数および血圧は変動しなかったにもかかわらず、橈骨動脈血流量は解読開始初期から著しく減少し、また解読中にこの減少は持続した。一方、点字模様のないプレートと同様の動作で接触させた時は強い反応は起こらなかった。これらの結果から感覚入力識別時に手指の血流量は減少することが明らかとなった。

18. 動的運動時の心拍数制御：心臓交感神経活動との一致および不一致

松川寛二，土持裕胤，村田 潤，小峰秀彦（広島大学・医学部・保健学科）

トレッドミル走行のような動的運動時には、心拍数および1回心拍出量は増加し、運動量に比例して必要な血液量（毎分心拍出量）を体循環系に供給する。心臓ペースメーカーは心臓交感神経と副交感神経を介する自律神経調節および血漿カテコラミンによる液性調節を受ける。運動時に、これらのメカニズムが心臓ペースメーカーの興奮リズムをどのような配分で変調しているかに関して直接的な証拠はまだ得られていない。今回、トレッドミル走行を行うように訓練した意識ネコを用いて心臓交感神経活動、心拍数および動脈血圧を直接記録し、心臓交感神経活動と心拍リズムの対応関係を調べた。トレッドミル走行時間は1分間であり速度は10～60m/secであった。走行開始とともに、心臓交感神経活動は数倍に増加し、この初期増加は心拍数上昇に3.5sec先行した。その後、心臓交感神経活動はやや減少したが走行終了まで増加したレベルを維持した。走行終了後数秒以内に、心臓交感神経活動は対照レベルに戻った。一方、心拍数は走行終了まで漸増した後、緩やかに対照レベルに戻った。以上の結果は、心臓交感神経活動ならびに心拍数応答は運動初期において良く一致した対応関係を示すが、両者の応答は運動後半ならびに運動終了後においては乖離することを示唆した。

19. マウス動脈圧受容器反射の動特性の推定

安藤元紀，湯藤 潤，佐藤隆幸（高知医科大学・循環制

御学）

【目的】遺伝子操作を含めた分子生物学的手法が確立され、循環器分野においても各種の疾患モデルマウスが作成されるようになってきたが、マウスにおける循環動態の機能評価に関する研究手法は確立されていない。本研究では、マウス動脈圧反射の動特性を求める新しい方法を開発し、開ループ伝達関数を同定した。

【方法】実験1：麻酔下のマウスをコンピュータで制御された電動チルトベッドに寝かせて、ベッドのチルト角を1秒ごとに0か45度のいずれかに不規則に変え（白色雑音法）、体循環動脈圧を測定した。実験2：動脈圧反射を開ループにするためにatropineとbretylum tosylateを投与し、実験1と同様の計測を行なった。解析：チルト角の変化に対する動脈圧の応答を伝達関数として記述し、動脈圧反射の開ループ伝達関数を推定した。

【結果】開ループ伝達関数の定常ゲインは1.2で、入力周波数とともにゲインが減衰する低域通過特性を示した。遮断周波数は0.06 Hzであった。

【結論】これまで開ループ伝達関数を求める場合、圧受容器部を体循環から分離する方法が用いられていたが、この手法により外科的処理が困難なマウスのような小動物においても動脈圧反射の動特性を推定することができる。

20. PKA活性化は匂い嫌悪学習成立に不可欠なCREBのリン酸化に必要である

張 敬姫^{1,2}，奥谷文乃^{1,2}，梶 秀人^{1,2}（高知医科大学・第一生理学教室¹，CREST²）

長期学習成立に必須である新規遺伝子発現を誘導する転写調節因子CREBのMAPKによるリン酸化が、幼若ラットのにおい嫌悪学習にも必要であることを既に報告した。海馬や扁桃体におけるMAPKのリン酸化にPKAが関与するという報告がある。そこで、においの学習におけるPKAの役割について検索した。生後11日目のラットの嗅球内にPKA阻害剤であるRp-cAMPsをにおいと電撃の対提示トレーニング中に注入すると、におい嫌悪学習の成立が阻害された。さらにそのRp-cAMPsのCREBとMAPKに対する影響を見るために、Rp-cAMPsを嗅球内に注入しながらトレーニングを行い、30分後に嗅球を摘出し、Western blotを行った。その結果、T（総）-MAPKとT-CREBの発現には有意差がなかったが、P（リン酸化）-MAPKとP-CREBの発現がコントロールより有意に減少した。以上の結果より、PKAは幼若ラットのにおい学習の成立に必要であるMAPKとCREBのリン酸化に関与することが示唆された。

21. 雌ラットにおける卵巣ホルモンと学習行動の関係—明暗弁別学習と海馬モノアミン動態の解析による検討—
宮久保浩子^{1,2}, 酒巻和弘³, 牛込彰彦³, 畠中智子¹, 山本一夫², 田中淳一¹ (鳴門教育大学・授業開発講座¹, 徳島県立阿波農業高等学校², 埼玉医科大学・第一生理学³)

卵巣ホルモンの周期的な変化によって生じる発情周期と、そのホルモンの一つであるエストロゲン (E) が、脳神経の形態や活動の可塑性を引き起こすことが明らかにされている。そこで、我々は雌ラットを用い、明暗弁別学習における卵巣ホルモンの影響を検討した。

雌ラットに明暗弁別学習を課し、発情周期4期における学習成績を比較した。その結果、学習課題獲得の中盤において発情前期と発情後期は発情期と比べて高成績を示したことから、発情前期と発情後期は学習効率が促進されることが考えられた。

卵巣摘出 (OVX) 後、溶媒またはEを投与した雌ラットにおいて、学習遂行におけるEのはたらきを検討した。同時に、Eが学習遂行に伴う海馬CA1領域のモノアミン作動性神経活動に与える影響をマイクロダイアリシス法により調べた。その結果、OVXによる学習の阻害がみられ、E投与により回復することが確認された。また、E投与による学習課題遂行時におけるセロトニン (5-HT) 作動性神経活動の促進が観察された。

以上の結果より、卵巣ホルモンが明暗弁別学習に影響をおよぼすこと、また、この学習の遂行に海馬CA1領域のモノアミン作動性神経が関与しており、Eにより5-HT作動性神経の活動が高められ、その結果、学習成績が向上することが示唆された。

22. 副嗅球および鋤鼻器由来の初代培養細胞を用いた共培養系と細胞レベルでの変化

村本和世¹, 長田俊哉², 根岸-加藤みどり^{3,5}, 守屋敬子^{3,5}, 黒田洋一郎⁴, 梶 秀人^{1,5}, 市川眞澄^{3,5} (高知医科大学・第一生理学¹, 東京工業大学大学院・生命理工学・分子生命科学², 東京都神経科学総合研究所・発生形態学³, 分子神経生物学⁴, 科学技術振興事業団⁵)

*in vitro*での鋤鼻系実験モデルの確立のため、ラット副嗅球と鋤鼻器それぞれから調製した分散培養細胞による共培養系の確立を試みた。共培養によって細胞レベルでどのような変化が生じるかについて、免疫細胞化学的手法によって検討した。その結果、副嗅球に由来するニューロン中でチロシン水酸化酵素 (TH) 含有ニューロン数が有意に増加することが判明した。このような共培養下での特定のニューロン種の増加は、主嗅覚系で既に報告があり、我々

の追試でも「主嗅球細胞と嗅上皮」の組み合わせによる共培養によって、主嗅球ニューロン中のTH陽性細胞数が有意に増加した。TH陽性細胞の増加は、「鋤鼻器と主嗅球細胞」あるいは「嗅上皮と副嗅球細胞」といった組み合わせによる共培養では認められなかった。生体内の主嗅球においては、嗅上皮からの入力遮断により、糸球体層に位置するTH陽性の糸球体周辺細胞が減少すること、反対に匂い刺激などにより増加することなどが既に報告されている。鋤鼻器—副嗅球間でも同じような現象が生じることが培養系で観察された。従って、鋤鼻系においても、鋤鼻神経細胞によってTH陽性細胞を含め、副嗅球ニューロンの分化や成熟が誘導されることが示唆された。この現象には、適切な感覚器と投射先の間に存在する特異的調節機構が働いていると考えられる。

23. ストレス負荷がシナプス可塑性および空間学習に与える影響

加藤邦夫¹, 星野明美², 幸田和久² (高知医科大学・神経精神科¹, 東京大学・医学部・精神神経科²)

PTSD (心的外傷後ストレス障害) に罹患したときに、記憶障害が起きることが臨床的に知られている。PTSD発症のメカニズムを調べるためにPTSD動物実験モデルの作成を検討した。動物に各種のストレスを与え、行動学習および、記憶の細胞レベルでのメカニズムであるシナプス可塑性に与える影響を調べてみた。動物は11~13週齢のSDラットを用い、ストレスには2時間の拘束試験、20分間の強制水泳を続けて与えた。実験群をコントロール、ストレス後1日、ストレス後1週間の3つにわけ、それぞれ、海馬CA1ニューロンのシナプス可塑性 (LTPおよびLTD)、水迷路試験を行った。シナプス可塑性を調べるために厚さ450 μ Mの海馬切片を製作し、orthodromicな電気刺激を与え、CA1領域stratum radiatumから集合後シナプス電位 (fEPSP) を記録した。LTPの誘導には100Hz、1秒の高頻度刺激、LTDの誘導には1Hz、15minの低頻度刺激を用いた。その結果コントロール群とストレス負荷後1日目のラット群ではLTPとLTDが誘導されたが、ストレス負荷後1週間目のラット群ではLTPとLTDの両者の大きさが有意に減少した。また水迷路試験ではコントロール群とストレス負荷後1日群は同様の空間学習能力を示したが、1週間後のラット群はプラットホームへの到達時間の遅延を示した。以上の結果から過酷なストレス負荷後に遅延性の海馬シナプス可塑性誘導と空間学習の障害が観察され、このストレス刺激がPTSDの動物モデルとして採用できる可能性が示された。