

第83回日本生理学会北海道地方会

日 時：平成15年9月6日（土）午前9時～午後4時30分

場 所：北海道大学大学院理学研究科大講義室

当番幹事：北海道大学大学院理学研究科生物科学専攻 高畑雅一

演 題 数：24題

北海道地方会は、第83回北海道医学大会生理系分科会として上記日程で行われた。一般演題19題、若手シンポジウム演題5題の計24題が発表された。若手シンポジウムは、生理学会北海道地方会の活性化を目的として、数年来続けて行われており、数名の若手研究者（大学院生を含む）が自分の研究の背景を含めて講演するものである。当日は、60余名の参加者により、活発な討論および意見交換が行われた。次回の当番幹事は、旭川医科大学生理学第一講座の予定である。

1. ザリガニ脳内における異種感覚情報の統合処理に関わる神経機構の解析

演 徳行，高畑雅一（北海道大学大学院理学研究科行動知能学講座I）

ザリガニでは体が傾くと元の姿勢を回復しようとする平衡反射が観察される。この平衡反射は行動文脈依存的に修飾される。ザリガニの平衡感覚は第一触覚基部に存在する平衡胞，歩脚自己受容器及び視覚入力によって制御され，平衡胞感覚と歩脚自己受容器入力は相互作用していると考えられる。これらの感覚情報の相互作用が行動文脈によってどのように修飾されるのかを調査した。その結果14種類の平衡胞感覚性下行性介在ニューロンと4群（I-IV）の局所介在ニューロンを同定した。下行性介在ニューロンの活動は歩行運動によってニューロン特異的な応答変化を示した。この結果より平衡胞感覚性下行性の伝達経路は複数存在しそれぞれが特異的な応答の変化を引き起こしたと考えられる。さらに，今回我々は4群（I-IV）の平衡胞感覚性局所介在ニューロンを同定した。これら4群の局所介在ニューロンの内，Type-Iの一部，Type-IIとType-IVニューロン群で歩脚自己受容器入力の影響がみられ，更にType-IVニューロン群では歩行運動制御系の効果もみられた。これら3つのニューロン群の形態的特徴より，平衡胞感覚はType-IとType-IIニューロン群を経由してType-IVニューロン群へと伝達され，この段階で歩脚自己受容器入力との統合が行われると考えられる。

2. コオロギ気流感覚系介在神経の同期発火による気流方向の符号化

余野央行，下澤樺夫（北海道大学電子科学研究所神経情報研究分野）

コオロギは捕食者が近づくと，その時生じる気流の動きを検知して，危険を回避するほうへ逃避行動を起こすことが知られている。捕食者などの発する気流の動きはコオロギの腹部後端にある尾葉と呼ばれる一対の突起状の感覚器によって検出される。

尾葉表面には気流感覚毛が数百本生えていて，気流によって感覚毛が倒れると，その基部にある感覚細胞は感覚毛の基部から機械的な圧し歪みを受け，その歪みが閾値を超えると神経パルスを発生させる。

感覚細胞の軸索は腹部最終神経節に投射する。

巨大介在神経は数百の感覚細胞からの入力を腹部最終神経節で受け，気流情報を統合して上位中枢へ送る。肢の筋肉を支配する運動神経系はこの情報を利用して逃避方向の決定などの運動司令を生成する。逃避方向を決定するためには，コオロギ中枢はこの介在神経を伝わるスパイク時系列から外界の気流方向を推定しなければならない。

コオロギの腹髄より細胞外記録により，複数の介在神経の活動を同時記録した。記録された波形からスパイク振幅の大きさによって個々の介在神経のスパイク時系列を抜き出し，異なる介在神経どうしの時間的な発火関係を調べた。

その結果，特定の組の介在神経が，特定の方向から気流刺激を与えているときにのみ同期して発火することがわかった。また異なる介在神経の組み合わせでは，異なる気流刺激方向に対して同期発火していることもわかった。

3. 昆虫の脳内におけるNO-cGMPシグナル

青沼仁志（北海道大学電子科学研究所神経情報研究分野），丹羽光一（北海道大学電子科学研究所自律調節研究分野）

節足動物の神経系には一酸化窒素（NO）産生細胞およ

び標的細胞が存在することが組織化学実験から明らかになった。NO合成酵素により合成されたNOは拡散して標的細胞の可溶性グアニル酸シクラーゼ(sGC)を活性化し、細胞内のcGMP濃度を上昇させる。コオロギの匂い学習の成立過程において、短期から長期の記憶の成立に重要であることがわかった。しかし、NOによりcGMPがどの程度合成されているのかは明らかではなかった。まず、コオロギの脳にNOSを持つ細胞が存在するか確認するため、anti-uNOSを使いウェスタンブロッティング法を試みたところ、NO合成酵素の分子量は約130kDaであることが判明した。次に、NOにより蓄積されるコオロギ脳内のcGMPの濃度を酵素抗体測定法により計測した。単離した脳をNO供与剤NOR3で15分間刺激するとcGMP蓄積量は濃度依存的に増加し、1 μ MのNOR3で約75%増加した。ところが、10 μ M以上の高濃度のNOR3で刺激すると逆にcGMP濃度は減少した。一方、sGC阻害剤ODQ存在下で処理すると逆に40%減少した。これらの結果から、昆虫の脳内では、常に一定濃度のNOが放出され、cGMPが蓄積されていて、cGMPの濃度が変化することで伝達物質の放出量の調節や神経の可塑性な性質に関わる細胞の生理活性を調節していることが示唆された。

4. 神経根絞扼ラットの行動学的、電気生理学的研究

桐田 卓, 竹林庸雄, 竹内宏仁, 山下敏彦(札幌医科大学整形外科), 當瀬規嗣(札幌医科大学第一生理)

今回、神経根絞扼ラットを作成し、疼痛関連行動を経時的に観察し、後根神経節細胞の興奮性の変化を電気生理学的に検索した。

雄S-Dラットを使用した。L5 DRGの近位部を絞扼した手術群、Sham群、対照群とした。疼痛関連行動の観察は、手術前後で機械的、熱刺激を両足底に加え、後肢逃避潜時、回数を記録し、経時の変化を比較した。さらに、手術側L4, L5 DRG neuronを単離し、whole-cell current clamp modeにて活動電位の測定を行った。解析は、Rheobase、静止膜電位、等7項目について行った。また、1000msの電流注入による発火反応を検討し、発火パターンを3群(single, incomplete, multiple spike)に分類した。

疼痛関連行動の観察では、手術群で術後3日目より有意に機械的、熱の両刺激に対する反応性が増大した。反応性増大は術後10日で最大に達した。また、電気生理学的には、手術群でRheobaseの低下、静止膜電位の脱分極側へのシフト、APD50の延長が認められた。発火パターンはsham群では85%がsingle spikeであり、5%がmultiple spikeであった。手術群では30%がsingle spikeであり、60%がmultiple spikeで興奮性の亢進が認められた。

本モデルでも手術側後肢の反応性増加を認め、DRG neuronの興奮性が亢進していた。神経因性疼痛の発症機序として、DRG neuronから脊髄へ上行性に軸索輸送される各種神経ペプチドやcytokineの増減が、重要であるとされている。DRG近位の損傷では、脊髄への上行性の輸送経路が遮断されるが、DRG遠位損傷と同様にDRG neuronの興奮性の亢進が認められた。今後、神経ペプチドとの関連を検索する予定である。

5. 輻輳開散眼球運動は前庭入力を有効に活用できる

赤尾鉄平, クルキン セルゲイ, 福島菊郎(北海道大学大学院医学研究科統合生理学講座)

日常生活で身近な3次元空間を動く視覚対象を正確にみつめるためには、輻輳眼球運動と滑動性眼球運動の協調、さらに自分自身が動く場合に前庭情報が必要である。輻輳眼球運動の潜時は滑動性眼球運動の潜時と比べて遅いため、これらを協調して行うためには輻輳運動の潜時の改善が必要である。今回我々は、輻輳眼球運動の潜時が訓練によってどのように変化するか調べた。実験には、頭部を固定したニホンザル3頭を用いた。鼻の高さで水平スクリーンを設置し、垂直回転刺激と同期させて視標を奥行き方向に動かした。視標刺激と垂直回転刺激は台形波状に加えた。これら刺激の開始はランダムになるよう設定した。先ず視標刺激のみで輻輳運動の潜時を測定し、その後、視標刺激と前庭回転を同期させて輻輳運動を約45分間訓練した。実験は数ヶ月に渡って行った。3頭のサルの結果は同様であった。訓練初期では視標刺激のみによる輻輳運動の潜時は約190msであったが3ヶ月後には約110msと短縮した。この潜時の短縮は、コンピューター画面を用いた奥行き方向の視標運動による純粋な輻輳運動でも確認された。またどの時期においても前庭刺激と組み合わせた条件では潜時は45msと短縮した。さらに視標を消して前庭刺激のみを与えた場合も潜時約50msの輻輳運動が誘発された。結論、奥行き視標と前庭刺激の組み合わせによる視標追跡訓練は、輻輳運動機能を向上させることが分かった。

6. 視標追跡眼球運動課題における頭部運動の関与

—背景の有無による検討—

笠原敏史^{1,2}, 福島菊郎¹(¹北海道大学大学院医学研究科統合生理学講座, ²北海道大学医療技術短期大学部理学療法学科)

日常生活において視覚対象の追跡は眼球と頭部の協調運動である視線運動によって実行される。視界には視覚対象以外に背景が存在し、背景の有無は滑動性追跡眼球運動の利得に影響を与えることが知られている。今回、頭部運動

が視標追跡視線運動にどれほど貢献するか、背景の有無が視線、特に頭部運動にどのように影響を及ぼすかを調べた。日本サル2頭を用い、眼球と頭部運動をサーチコイル法で記録した。眼前の垂直スクリーン上に視標を呈示し、水平及び垂直方向に0.5Hz（振幅20度）で、動かし追跡させた。頭部固定と非固定、ランダムドット背景有りと無しの場合の眼球、頭部、視線（眼球+頭部）の速度を求め、視標速度に対する利得を計算した。無背景の水平方向で、頭部固定時の視線（＝眼球）速度の利得の平均はサル2頭とも0.97-0.99、非固定時の視線速度の利得は0.89-0.93、頭部速度の利得は0.06-0.12であった。背景有りの垂直方向で、頭部固定時の視線速度の利得は0.92-0.97、非固定時は0.79-0.84、頭部速度の利得は0.05-0.24であった。眼球速度の利得は上下方向で差があり、上方0.25-0.51、下方0.71-0.84（ $p<0.05$ ）であった。頭部速度の利得は上下方向で有意差はなかった。いずれのサルも頭部固定の有無に拘わらず、背景呈示により上向きに選択的な滑動性追跡眼球運動の利得低下を起こした。

7. 前庭入力を用いた予測性滑動性眼球運動と時間学習

津布久 崇，赤尾鉄平，福島菊郎（北海道大学医学研究科統合生理学講座認知行動学分野）

【緒言】前庭信号は頭部の運動情報を提供し、体性系・自律系の種々の反射や運動制御、さらに認知過程に必要である。今回私たちは、前庭信号が運動を効率的に行うための予測に使われるか、それには時間の記憶が可能かどうかを調べた。

【方法】頭部を固定した2頭のニホンザルを用いた。水平回転に対し眼前スクリーン上のレーザー視標を、垂直方向に動かし、ともに20°/s、1秒間（±10°）で台形波状に与えた。回転刺激の開始はランダムとし、視標運動開始は回転刺激の開始に100-700ms遅らせた。視標追跡訓練中の滑動性眼球運動の潜時を調べ、さらに訓練後、回転刺激中に視標を消し完全な暗室下での潜時を調べた。

【結果】回転刺激の開始から視標運動の開始を100、300、500、700ms遅らせた場合、眼球運動の潜時はそれぞれ85.9、170.8、365.2、388.5msであった。訓練後、視標を消した場合の潜時もそれぞれ視標が呈示された場合とほぼ同様であった。

【考察】回転刺激に対し視標刺激の開始を遅らせると滑動性眼球運動の開始は実際の視標の開始に先行したので、この運動は予測によって開始されたと解釈できる。訓練後、回転刺激中に実際の視標が呈示されなくとも、訓練で与えられた視標開始の遅れ時間にほぼ比例して眼球運動が開始されたので、サルは訓練により運動開始のタイミングを学

習したと解釈される。

8. 感覚記憶から運動へと再現情報を変化させるサル前頭前皮質ニューロン

雨森賢一^{1,2}，澤口俊之^{1,2}（¹北大・医・高次脳機能，²CREST・JST）

教示された感覚情報に基づいて行動を決める際、我々はしばしば、感覚情報を一時的に記憶し、記憶した情報に基づいて行動の決定をおこなう。このような記憶を介して行動決定を行なう感覚運動変換過程には、前頭前皮質（PFC）が重要な役割を担うと考えられるが、そのニューロン機構はほとんどわかっていない。この問題にアプローチするため、我々は2頭のサルに、遅延期間中にルール提示が行なわれる遅延アンチサケットド課題を訓練し、慢性単一ニューロン活動記録法によりニューロン活動の記録を行なった。この課題では、サルに注視点の固視を要求した後、左右どちらかランダムに、視覚手がかり刺激を提示した。手がかり刺激消滅後、第一の遅延期（D1期）をおき、注視点の形状の変化によりサケットド方向を決めるルールが提示された。順方向ルールならば手がかり刺激提示方向に（プロサケットド）、逆方向ルールならば、手がかり刺激とは反対の方向へ（アンチサケットド）のサケットドを教示した。このルールの提示後、さらに第二の遅延（D2期）をおき、注視点の消滅により教示方向へのサケットドを要求した。計661ニューロンが背外側PFCから記録され、その内の一部（ $n=90$ ）が、D1期に感覚情報を再現し、かつD2期に運動情報を再現することを見出した。この結果は、PFCの一部のニューロンが、ルール提示の以前と以後で、再現する情報を感覚から運動へと変化させることを示す。この行動決定以前と以後の、PFCにおける再現情報の変化が、感覚情報の記憶から運動情報への変換・生成における、重要なプロセスであると考えられる。

9. サルの上部頸髄呼吸性ニューロンの分布と発射特性

青木 藩，松山清治，藤戸 裕（札幌医大・医・第二生理）

【背景】これまでに我々および他の研究者らにより、ネコ、ラット、ウサギ等の哺乳動物で多少分布レベルに差はあるが、上部頸髄髄節（C1-C3）に呼吸性ニューロンが存在することが報告されている。【目的】サルにおいても上部頸髄呼吸性ニューロンが存在するかどうかを明らかにする。【方法】各種のサル（アカゲ、カニクイ、日本ザル）について、全身麻酔（ネブタール、30mg/kg i.p.）下に上部頸髄を椎弓切除により露出し、カーボン線封入ガラス管電極を頸髄に刺入して、自発呼吸下に呼吸性ニューロン

活動を細胞外記録した。呼吸運動はストレインゲージバンドを胸郭下部に装着し、呼吸運動曲線を記録し、同時に横隔膜に双極ワイヤー電極を刺入し、横隔膜筋電図を記録した。【結果】6頭のサルから85個の呼吸性ニューロン発射がC1-C3髄節の灰白質中間帯外側部から記録された。記録されたニューロン発射は主として（94%）が呼吸曲線の吸息相に発射するIタイプで、少数（6%）が呼息相に発射するEタイプであった。【結論】これらの成績からサルも他の哺乳動物と同様に上部頸髄髄節内に呼吸性ニューロンが存在し、呼吸運動の調節に関与していることが示唆された。

10. ラット呼吸中枢ニューロンへ的大脑性入力

藤戸 裕, 青木 藩 (札幌医大・医・第二生理)

呼吸運動の随意性制御のために、呼吸中枢ニューロンおよび横隔膜運動ニューロン等の呼吸筋運動ニューロンへ的大脑運動野からの入力と考えられる。本研究ではラットにおける呼吸性ニューロンへの随意的制御に関わる大脑性入力の接続様式を調べるため、延髄腹側呼吸性ニューロン群（VRG）の吸息性ニューロン、上部頸髄吸息性ニューロン（UCIN）及び横隔膜運動ニューロン（Phr Mn）の活動に対する大脑出力線維刺激の効果を調べた。実験動物としてラットを用い、ケタラルおよびキシラジン麻酔下に臭化バンクロニウムを用いて不動化し、人工呼吸で維持した。双極刺激電極をPhr Mn記録側より対側の内包・大腦脚に刺入した。また大腦皮質運動野に表面電極を置いた。VRG, UCINユニット活動および横隔膜神経活動を記録した。大腦皮質および大腦出力線維刺激は比較的短潜時の興奮とそれに続く抑制効果を横隔膜神経活動およびUCINユニット活動に与えた。大多数のVRGユニット活動は大腦皮質および大腦出力線維刺激により主に抑制を受けた。大腦性入力は呼吸中枢活動を主に抑制し、Phr Mnへ的大脑性興奮は直接もしくは上部頸髄経由で入力することが示唆された。

11. 中脳被蓋に投射するオレキシン系はナルコレプシーの発現に関与するのか？

高草木 薫¹, 高橋和己², 小山純正², 斉藤和也¹, 原田広文¹, 奥村利勝³ (¹旭川医大・第二生理, ²福島医大・第二生理, ³旭川医大・総合診療部)

ナルコレプシーは、昼間の傾眠、情動性脱力発作などで特徴付けられ、視床下部のオレキシン細胞の減少により誘発される。通常、情動刺激は歩行運動や筋緊張の亢進を誘発するにも拘らず、ナルコレプシーでは情動刺激がレム睡

眼様の筋緊張消失（カタプレキシー）を誘発する。このメカニズムを解明するため、本研究では中脳被蓋に投射するオレキシン系の作用を解析した。解析では次の3点に留意した。1）中脳には歩行誘発野（MLR）とレム睡眠様の筋緊張消失と急速眼球運動（REM with atonia）を誘発する領域（PPN）とが隣接する。2）PPNは黒質網様部（SNr）からのGABA作動性投射を受ける。3）MLR, PPN, SNrはオレキシン作動性投射を受ける。実験には除脳ネコ標本（n = 15）を用いた。MLRあるいはPPNに連続微小電気刺激（10-60 μ A, 40-100Hz）を加え、歩行運動やREM with atoniaを誘発した。次に、MLR, PPN, SNrにオレキシンAを微量注入（60 μ M-1mM, 0.25 μ l）した。MLRへのオレキシンを注入により歩行運動の発現に必要な電気刺激の閾値が低下した。PPNにオレキシンを注入するとREM with atoniaはブロックされた。しかし、この作用はPPNへのbicuculline注入（10mM, 0.25 μ l）により回復した。SNrへのオレキシン注入はREM with atoniaを消失させた。従って、オレキシン存在下（正常）では、MLRやSNrの興奮性は高く、PPNの興奮性は低く維持される。そのため視床下部から中脳領域に伝達される情動刺激は歩行運動を誘発する。一方、オレキシンの低下（ナルコレプシー）はMLRやSNrの興奮性の低下とPPNの興奮性上昇をもたらす。その結果、情動刺激はカタプレキシーを誘発すると考えられる。

12. 毛様体平滑筋収縮調節に関与する二種類の非選択性陽イオンチャネル

高井 章¹, 高井佳子², 菅原亮一² (¹旭川医大・生理第一, ²旭川医大・眼科)

【目的】視覚遠近調節に関与する毛様体筋は典型的な副交感神経支配の平滑筋である。この筋が伝達物質アセチルコリンによるムスカリン様受容体の刺激に応じて収縮する際、初期相では細胞内貯蔵部位からのCa²⁺遊離が、それに続く持続相では細胞外からの同イオンの継続的流入が必須である。本研究では、これまでその本体がほとんど不明であった後者の収縮持続相におけるCa²⁺流入経路として機能する可能性のある薬物作動性非選択性陽イオンチャネルの同定と特性解析を目指した。

【方法】ウシおよびブタ単離毛様体筋細胞において電位固定法により全膜電流を記録した。灌流液には特に断らない限りKrebs液（pH 7.4, 30°C）、電極液には100 mM-Cs aspartate, 70 nM-free Ca²⁺および180 μ M-GTPを含む液（pH 7.0）を用いた。摘出筋束における等尺性張力の記録には、U-ゲージトランスデューサを使用した。

【結果】保持電位-50 mVにおけるカルバコール（2 μ

M) 投与により内向き電流が観察された。電流ノイズの解析から、この電流が2種類の非選択性陽イオンチャネル [NSCCL (35 pS) と NSCCS (100 fS)] の開口に伴うものであることが示唆された。外液陽イオン全置換時の逆転電位から、 Li^+ , Na^+ , Cs^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} に対するイオン透過性の比は、NSCCL で 0.9 : 1.0 : 1.45 : 0.2 : 0.3 : 0.4 : 0.5, NSCCS では 1.0 : 1.0 : 1.8 : 2.5 : 2.6 : 3.2 : 5.0 と推定され、ともに Ca^{2+} にある程度の透過性を示した。 Gd^{3+} や SKF96365 (100 μM) は両チャネル電流および収縮持続相を抑制した。RT-PCR 法による cDNA の検索により、ヒト *trp1*, *trp3*, *trp4*, *trp6* および *trp7* に相当する *trp* が発現していることが判明、なかでも特に *trp3* と *trp6* の発現が顕著であった。

【結論】ムスカリン受容体刺激に伴い NSCCL と NSCCS が開口、収縮持続相に必要な Ca^{2+} の流入経路を形成する可能性がある。*trp* 型陽イオンチャネルとの関連に興味を持たれる。

13. ラット視交叉上核内における Dec1, Dec2 遺伝子発現の部位異性

福元達也・本間さと・本間研一 (北海道大学大学院医学研究科・統合生理学講座・時間生理学分野)

【目的】サーカディアンリズムは時計遺伝子の転写翻訳フィードバックループにより発振すると考えられる。我々は basic Helix-Loop-Helix 型転写因子 DEC1 および DEC2 がこのフィードバックループ内で時計遺伝子 *Per1* の発現を強く抑制すること、哺乳類の生物時計のある視交叉上核 (SCN) で主観的昼にピークを持つ遺伝子発現リズムを示すことを報告した。ラットの SCN は機能的、および組織化学的に背内側部と腹外側部の2部に分けられる。そこで Dec1, Dec2 の役割について検討するため SCN 内での発現パターンを *Per1*, *Per2* と比較検討した。

【方法】実験には明暗サイクル (明期 6-18 時) 下で飼育した2ヶ月齢の Wistar 系雄性ラットを使用した。12時にエーテル麻酔下でパラホルムアルデヒド含有リン酸緩衝液にて脳を灌流固定した。SCN の全長に渡り 30 μm の連続前額切片を作成し、ジゴキシゲニンラベルプローブを用いた in situ hybridization を行った。同一ラットの全 SCN 切片を Dec1, Dec2, *Per1* 又は *Per2* に対するプローブにてハイブリシ、各遺伝子の SCN 内発現パターンを解析した。

【結果】SCN における Dec2, *Per1*, *Per2* の発現は他の脳部位に比較して非常に強く、一方、Dec1 の発現は中程度であった。SCN 内における発現は、*Per1*, *Per2* および Dec1 では背内側部細胞で特に発現が強かった。一方、Dec2 は腹外側、背内側の両部位の細胞にほぼ均一して発

現していた。以上の結果、Dec2 と他の3遺伝子との SCN 内における発現には違いがあることが明らかとなった。この発現の部位差は Dec2 の生物時計における役割の差異を反映している可能性を示唆している。

14. 周期的制限給餌下におけるラット室傍核の AVP, CRH, *rPer1*, *rPer2* mRNA の発現リズム

勝野由美子^{1,2}, 本間さと², 安倍 博², 本間研一² (¹ 天使大学看護栄養学部栄養学科, ² 北海道大学大学院医学研究科統合生理学講座)

【目的】ラットに周期的制限給餌 (RF) を行うと給餌前に血中コルチコステロンレベルが上昇する。この食餌前ピークは視交叉上核破壊ラットにも出現し、概日時計 (視交叉上核) とは異なる振動機構により駆動されると考えられる。給餌前コルチコステロンピークは RF 終了後ラットを自由摂食に戻すといったん消失するが、その後絶食条件下におくと以前の給餌時刻にホルモンピークが再現する。本研究は時計遺伝子の発現リズムを指標として、給餌前コルチコステロンピークに関与する核としての室傍核 (PVN) の働きを明らかにする目的で行った。

【方法】給餌を午前 10 時から 12 時までの2時間に制限する RF を3週間雄ラットに負荷した群、RF を3週間雄ラットに負荷した後自由摂食に1週間戻した群と自由摂食群で、行動リズム、血中コルチコステロンリズム、および室傍核 (PVN) における AVP, CRH, *rPer1*, *rPer2* mRNA の発現リズムを in situ hybridization 法で測定した。

【結果】行動リズム、血中コルチコステロンリズムには明らかな給餌前ピークがみられた。PVN では自由摂食で AVP mRNA は24時間変動は認められなかったが、*Per1*, *Per2* mRNA の発現は夜間高く、昼間低いリズムがみられた。RF 条件では AVP mRNA は摂食時間帯に高値を示した。しかし、RF を3週間雄ラットに負荷した後自由摂食に1週間戻した群では24時間変動は認められなかった。RF 条件では *Per1* mRNA の発現が給餌前に上昇し、*Per2* mRNA の発現が給餌後に高くなった。しかし、RF を3週間雄ラットに負荷した後自由摂食に1週間戻した群では *Per1* mRNA のみ RF と同様に給餌前の時間帯に上昇した。

【結論】PVN における *Per1* mRNA の給餌前発現ピークは RF 後の自由摂食下で持続し、PVN に RF に同調する振動体の存在が示唆された。

15. 冬眠中のハムスターにおける新規の物質合成

橋本眞明, 高弼 虎, Peter G. Osborne (旭川医科大学生理学第一講座)

冬眠動物体内では、冬眠前の覚醒期と比べ、冬眠中に増加する物質も報告されており、それらは冬眠の入眠期に合成され、蓄積されたものであらうと思われるが、推測の域を出ない。また、冬眠相ごとの必要度に応じて、物質合成も臓器ごとに異なると思われる。本研究は、エネルギー代謝に関連する生理的パラメーターを基に、冬眠相を区分し、臓器ごとに新規のタンパク質合成と遺伝子発現について検討した。冬眠中のゴールデンハムスターに [5, 6-³H] Uridine, [1-¹⁴C] Leucine を 0.15mL 生理食塩水に溶解し、慢性留置静脈カテーテルを通じて投与、1.5～33 時間後に血液、膀胱尿、主要臓器を採取、液体窒素で凍結・保存後、RNA, mRNA, タンパク質の定量を行った。覚醒状態の合成速度と比べると、冬眠維持相でも数%程度の RNA とタンパク質の新規合成が行われていた。これは覚醒相の開始初期には一旦いずれも検出限界以下となり、エネルギー代謝がピークに至るまでの覚醒中期で、ほぼ覚醒状態レベルにまで増加することがわかった。覚醒相初期の血液中からの移動は Uridine では確認でき、Leucine では認められなかった。脳、心臓など冬眠中にも活動を続ける臓器での発現量が多く、下肢骨格筋では直腸温度が通常レベルに上昇するまで、両者の新規合成はほぼ検出限界以下であった。臓器ごとの活動性に対応したものと考えられる。

16. 三叉神経刺激による自律神経反射反応の動物種による違い

○和泉博之、石井久淑、須藤恵美（北海道医療大口腔生理）

【目的】三叉神経第三枝の枝の舌神経を求心性に電気刺激すると顔面・口腔領域の皮膚血管のみでなく唾液腺、涙腺らで同側性に血管拡張反応を起こる。この反応機序は副交感神経性に起こっていることを報告してきた。この時体幹血圧変動も起こるが、この血圧変動は交感神経の興奮で起こる。両反応とも脳幹の三叉神経脊髄路核を中継核としているにも拘わらず血圧反応は動物種により大きく異なる。そこで本研究ではネコ、ラット、ウサギ、モルモットを用いて両反応にはどのような相関があるのかを検討した。

【方法】ネコ、ウサギ、モルモット、ラットをすべて同一麻酔薬、ウレタン-クロラロースで麻酔、バンクロニウム投与人工呼吸下にて実験した。頸部交感神経幹は両側とも切断した。舌神経は求心性に電気刺激 (2ms, 0.1-50V, 0.1-200Hz) した。下顎口唇の血流変化はレーザードップラー血流計にて測定した。体幹血圧は大腿動脈より測定した。

【結果および考察】舌神経刺激により刺激強度、周波数

に応じて同側で血管拡張反応がネコ、ラット、ウサギで観察されたがモルモットでは血管拡張反応はみられなかった。一方血圧反応は動物種により異なり、ネコでは上昇や低下、さらには無変化、ラットでは常に血圧上昇、ウサギ、モルモットでは常に血圧下降がみられた。これらの結果から体幹血圧反応と血管拡張反応は必ずしも連動して起こるのではなく異なった反応機序で起こっていることが示唆された。

17. 人工炭酸泉浴中に見られる徐脈発現に関わる入力機構の麻酔下ラットによる検討

山本憲志（日赤道看護大）、橋本眞明（旭川医大、第一生理）

本研究では炭酸泉浴中に皮膚近傍で生じた変化が神経性求心路を通じて入力されている可能性を検討するため、脊髓切断実験を行った。実験には Wistar 系雄ラット 6 匹を用いた。ウレタン麻酔し、腋窩より下の体毛を電気バリカンで刈った。心拍数、動脈血圧、浸漬部皮膚と結腸温、浸漬部皮膚血流量の連続測定用に各センサーを装着した後、水平より約 30 度に傾斜したプラスチック格子板に頭部を上にして伏臥位にし、腋下、腹部、臀部、尾をビニールテープで緩く固定し、浴槽へ入れた。試料水は、35℃の水道水 (CO₂濃度; 11～20ppm) と人工炭酸泉 (CO₂濃度; 1137～1307ppm) であった。脊髓の切断は、第 4-5 胸椎間で行った。高濃度炭酸泉の作成には、MRE-SPA 実験室モデル (三菱レイヨン・エンジニアリング、東京) を用いた。水道水浸漬中では脊髓切断前とくらべ皮膚血流量は約 22% 増加 (p < 0.05) し、皮膚血管抵抗は約 15% 低下 (p < 0.05) した。脊髓切断による血管収縮神経出力の減少が推定される。脊髓切断後は、水道水浸漬と比較した人工炭酸泉による徐脈、浸漬部皮膚血管抵抗の減少は観察されなかった。これらの結果から、人工炭酸泉浴中に見られる徐脈は、皮膚近傍の炭酸ガス分圧上昇により生ずる変化を受容する何らかの神経性機構を通じ、中枢神経系を介した反応である可能性が高いと考えられる。

18. 定常状態における血漿 [HCO₃⁻] の PCO₂ に対する関係

望月政司（西円山病院老人呼吸研究センター）

【背景】生体内定常状態の血漿内 ([HCO₃⁻] には PCO₂ に依存する呼吸性成分 ([HCO₃⁻]^{*}) と代謝性成分 ([HCO₃⁻][°]) があり、[HCO₃⁻]^{*} の PCO₂ に対する勾配は、酸素化血、又は、脱酸素化血で O₂ 飽和度 (SO₂) を変化させないで測定した [HCO₃⁻] ([HCO₃⁻]_p) より、25% 程高値を示した。[HCO₃⁻]^{*} は PCO₂ のみならず SO₂ にも依

存する。生体内では SO_2 は PCO_2 と共に変化するので、 $[\text{HCO}_3^-]^*$ の PCO_2 に対する勾配は $[\text{HCO}_3^-]$ の SO_2 に依存するHaldane効果成分 $[\text{HCO}_3^-]_{\text{HE}}$ の PCO_2 に対する勾配だけ高くなる。そこで、 $[\text{HCO}_3^-]^*$ と $[\text{HCO}_3^-]_P$ の PCO_2 に対する勾配の差異より生体内 $[\text{HCO}_3^-]_{\text{HE}}$ の推定を試みた。〔方法〕 $[\text{HCO}_3^-]^*$ と $[\text{HCO}_3^-]_P$ 夫々の PCO_2 に対する回帰係数より、生体内 $[\text{HCO}_3^-]_{\text{HE}}$ の PCO_2 に対する勾配の $[\text{HCO}_3^-]^*$ のそれに対する比率は0.252となった。一方、酸素化血の CO_2 含量($[\text{CO}_2]$)の PCO_2 に対する勾配は $[\text{HCO}_3^-]^*$ のその72.8%，また、 $[\text{HCO}_3^-]_{\text{HE}}$ は $[\text{CO}_2]$ のHaldane効果成分の71%とほぼ一定であるので、 $[\text{HCO}_3^-]_{\text{HE}}$ の呼吸商(RQ)に対する関係式は容易に導かれた。〔結果〕 $[\text{HCO}_3^-]_{\text{HE}} = 2.09\text{RQ}$ 、の関係式が得られ、赤血球、及び、毛細血管内での炭酸脱水酵素による CO_2 反応は互いに干渉しあう結果、 $[\text{HCO}_3^-]_{\text{HE}}$ と $[\text{HCO}_3^-]^*$ 夫々の動静脈間較差は一定の比例関係を示すことが明らかになった。

19. 血管内皮細胞のエンドサイトーシスに及ぼせん断応力の影響

丹羽光一、狩野 猛（北海道大学電子科学研究所自律調節研究分野）

【目的】せん断応力は、血管内皮細胞（EC）の様々な生理機能に影響を及ぼす。しかし、低密度リポ蛋白（LDL）の取り込みに及ぼせん断応力の影響はほとんど検討されていない。本研究ではせん断応力がECの物質取り込みに及ぼす影響を検討した。【方法】ウシ大動脈ECを径35mmの培養皿に継代培養した。ECを播種した培養皿に、ピノサイトーシスのマーカーであるルシファアーイエロー（LY）、DiI-LDLあるいはDiI-Ac-LDLを含む培養液を2mL加え、回転円盤装置を用いてせん断応力（10dynes/cm²）を負荷しながら2時間培養した。その後、細胞をTriton-X100で溶解し、蛍光強度を測定した。【結果】せん断応力によりECのLYおよびLDLの取り込みは増加したが、Ac-LDLの取り込みは逆に減少した。スカベンジャー受容体阻害剤である硫酸デキストラン（DS；5mg/mL）を添加すると、コントロール群のAc-LDLの取り込み量は25%に減少し、DSの存在下でせん断応力を負荷すると、Ac-LDLの取り込みはDSのないときとは逆に増加した。【考察】せん断応力はECによるピノサイトーシスおよびLDLの取り込みを増加させるが、Ac-LDLの取り込みは減少させる。Ac-LDLの取り込みの減少は、スカベンジャー受容体を介したAc-LDLのエンドサイトーシスが抑制されることによる。

若手シンポジウム1.

昆虫逃避行動に関する運動制御機構の神経行動学的解析

平口鉄太郎 高畑雅一（北海道大学大学院理学研究科生物化学専攻行動知能学講座I）

本研究では飛翔器官である昆虫の後翅が感覚器官としても機能することに着目し、後翅末端を機械刺激することによって解発する逃避行動について神経生物学的な解析を行ってきた。1) VTR解析により、逃避行動の運動パターンは、跳躍運動とそれに続く歩行運動により構成されることが明らかになった。2) 機械刺激を受容する部分には、形態的特徴から新型の機械感覚子であるtype II感覚子が極めて多数存在した。3) この感覚子の求心性繊維群は伝導速度が約1.4m/sと小さい。以上の結果は、後翅末梢に存在するtype II感覚子により機械刺激が受容され、その刺激により跳躍に始まる一連の逃避行動が解発される可能性を示す。そこで、細胞内記録法により、後胸神経節内に存在する機械感覚信号を受容するニューロンの同定を試みた。その結果、4) 局在性ニューロンにはスパイク発射型と非発射型が存在するが、発射型が抑制性入力を受けのに対し、非発射型では抑制性の入力を受けるものが多い。形態的には両側に突起を持つものが多い。しかし片側のみで突起を広げるものが多い。5) 上行性介在ニューロンの中には興奮性入力を受けるものと抑制性入力を受けるものも含まれる。6) 運動ニューロンでは閾値下の入力を受けるものが多い。以上の結果からこの感覚運動系を制御する神経機構には後胸神経節内に存在する局所性神経回路以外に、上位の神経節内のニューロンを含む包括的な神経回路の存在が示唆される。

若手シンポジウム2.

甲殻類の胸部に存在する伸張受容器の比較生理学的・形態学的研究

岩崎正純（北海道大学・電子科学研究所・神経情報研究分野）

甲殻類の腹部体節には、腹部の姿勢や運動を検出している伸張受容器MRO（muscle receptor organ）が存在する。一方、胸部体節が融合し、可動性が失われている十脚類などの胸部には、N-cellという単純な構造の伸張受容器が存在する。これは原始十脚類胸部に存在していたMROが退化したとされている。本研究は、甲殻類の胸部伸張受容器の役割と、MROとN-cellの進化的関係を明らかにするため、胸部の構造が異なる甲殻類の伸張受容器を比較した。

十脚類アメリカザリガニの融合し可動性がない胸部には、MROとN-cellが存在する。しかし、胸部MROの中には、腹部に比べて単純な形態のものが存在し、また、こ

れまで報告のなかったN-cellへの抑制性神経支配らしき神経活動が記録された。可動性のある等脚類の胸部にはMROが存在するが、その生理学的、形態学的性質は種類によって多様であった。等脚類の前胸部には、N-cellも存在したが、前胸部をよく動かす種類では、その形態がより複雑に分化し、また、等脚類のN-cellは隣り合う体節のMROと、抑制性の神経回路を形成していた。

以上の結果は、甲殻類のMROの生理学的、形態学的性質は、適応行動の必要性に応じて多様化することを示し、また、甲殻類のN-cellは伸張受容器として十分に機能的であり、単純にMROの退化型とは結論できないことを示した。

若手シンポジウム3.

三叉神経中脳路核ニューロンにおける活動電位生成とK⁺チャネルの関係

村井恵良¹、姜 英男²、赤池 忠¹ (¹北海道大学大学院歯学研究科口腔機能学講座、²大阪大学大学院歯学研究科高次脳口腔機能学講座)

三叉神経中脳路核(Vmes)ニューロンの細胞体へのシナプス入力により生じる活動電位(AP)と受容器由来のAPとの違いを明らかにするため、スライスパッチクランプ法を用いてホールセル記録を行った。細胞体にパッチ電極より脱分極パルスを与え細胞体由来の活動電位(S-AP)と軸索幹近傍に置いたタングステン電極の刺激により誘発される軸索幹由来の活動電位(A-AP)を記録した。S-APとA-APは振幅及び不応期を異にし、4-AP(0.5mM)投与とともに振幅及び時間幅が増加したが、不応期はA-APで増加しS-APでは減少した。細胞体中央と軸索幹近傍で記録した結果、4-AP投与で両APの持続時間が延長したが、細胞体中央からの記録のみで膜入力抵抗の上昇とAP発生までの潜時が短縮した。A型K⁺チャネル(Kv1.4とKv4.2)の抗体を用いて免疫蛍光染色を行った結果、Kv1.4は主に細胞体に分布することが示唆された。以上より、VmesニューロンにおいてA型K⁺チャネル(Kv1.4)の分布に部位局在性があり、APの由来により同チャネルの関与が異なるためS-APとA-APとでその発火パターンが異なる可能性が示唆された。

若手シンポジウム4.

アストロサイト・グルタミン酸トランスポーターGLT-1による神経細胞保護とその機能逆転による神経細胞死の解析

田中基樹、細谷 類、佐藤秀臣、矢野潤持、中島崇行、河原剛一(北海道大学電子科学研究所適応制御研究分野)

本研究では、ニューロン・アストロサイト共培養系を用いて、アストロサイト・グルタミン酸トランスポーターGLT-1の機能および病理的役割を明らかにすることを目的としている。我々は以前ラット胎児大脳皮質ニューロン・グリア共培養系を用いて、通常グルタミン酸毒性から神経細胞を保護する役割を担っているGLT-1が、Na⁺、K⁺-ATPase阻害時にはグルタミン酸毒性による神経細胞死誘発に関与している可能性を示した。そこで今回我々は、Na⁺、K⁺-ATPase阻害時にGLT-1が逆向き輸送を引き起こし、細胞外にグルタミン酸を放出したことでこの神経細胞死を誘発したのではないかと考え、この仮説を確かめた。Na⁺蛍光指示薬であるSBFI/AMを用いアストロサイト細胞内Na⁺濃度の変化を解析した結果、GLT-1によるグルタミン酸輸送と共役したNa⁺の移動は、Na⁺、K⁺-ATPase阻害時には逆向きである可能性が示唆された。さらに、Na⁺、K⁺-ATPase阻害時に細胞外グルタミン酸濃度が上昇するが、この上昇はGLT-1を阻害することによって有意に抑制された。以上のことから、細胞内外のNa⁺、K⁺濃度勾配が崩れるとGLT-1は逆向き輸送を起こして細胞外にグルタミン酸を放出し、神経細胞死を誘発することが示唆された。

若手シンポジウム5.

出生後早期の母子分離が仔ラットの生体リズム及びストレス反応に及ぼす影響について

山崎綾野、大槻吉男、安倍 博、本間さと、本間研一(北大医学研究科 統合生理 時間生理学)

目的 出生直後の母子分離は、新生仔ラットの生体リズムやストレス感受性に影響を与えることが知られている。しかし母子分離の内容に関する検討は行われていない。そこで分離を行う時間帯及び分離時間を変化させ、影響を検討した。

方法 実験1 出生当日に寒冷麻酔にて両側の眼球を摘出し、出生翌日(P1)からP7まで明期の各時間帯に母子分離を行った。：12h(6-18h)、6h-1(6-12h)、6h-2(12-18h)、3h-1(6-9h)3h-2(9-12h)、3h-3(12-15h)、3h-4(15-18h)：P7から離乳(P21)までは母ラットに終日保育させた。離乳後の行動リズムを感熱型行動計により測定、また及び体重の変化を検討した。実験2 出生後翌日からP6まで母子分離(12h、3h-2)を行い、体重変化を測定した。成長後(2ヶ月)で新規環境ストレス刺激に対する血中コルチコステロン濃度の変化を蛋白競合法にて測定した。

結果 実験1 12h、6h-1、6h-2の母子分離では1、2、3週後の体重は有意に低下していた。3hの母子分離ではい

ずれの時期，時間帯においても体重に有意差を認めなかった．一方12h，6h-2では仔ラットの行動リズムはほぼ逆転し，6h-1，3h-2では仔ラットの行動リズムは約7～9時間前進した．午後の3時間の母子分離では仔ラットの行動リズムに変化を認めなかった．実験2 12h，3hともに有意に体重が低下していたが，3hでは6週目には対照群との有意差はなかった．血中コルチコステロン濃度は雄では母

子分離群において基礎値及びストレス反応後の値がいずれも低かった．雌ではこのような差異は認められなかった．

結論 出生後早期の母子分離は，分離する時間帯及び時間によって仔に与える影響が異なる．母子分離による体重変化とストレス反応の変化は異なるメカニズムによることが示唆された．