

第96回近畿生理学談話会

日 時：平成15年8月30日（土）

場 所：京都府立医科大学大学院医学研究科・医学部医学科 基礎医学学舎

当 番：京都府立医科大学医学研究科 生体情報・機能形態学分野

神経生理学 木村 實

生理機能制御学 丸中良典

今年の夏は冷夏だったとは言え、京都の8月はやはり暑く、その暑さの中70名を越える参加者を京都に迎え、34題の一般口演発表と「近畿生理学談話会のあり方」と題して京都大学の森治紀教授（常任幹事）による特別口演がなされました。また、同日開かれました日本生理学会近畿地区評議員会におきましては、生理学研究所の岡田泰伸教授（常任幹事）に参加を戴き、日本生理学会の現状と今後の取り組みについてご報告戴きました。生理学についての考え方、また如何に若手の研究者を生理学に引きつけるかといった活発な議論がなされ、評議員の先生方の研究・教育さらに若手育成にかける情熱で、暑い京都の夏が一層暑いものとなりました。また、森教授の特別口演の後に、free discussionのセッションを持たせて戴き、近畿生理学談話会では行なっていなかった総会的な役割も担わせて戴きました。今後、近畿生理学談話会においても、このような総会を行ないたいと言う意見も多く出ました。このような点を踏まえ、次回開催は京都大学が当番ということに決まりましたことも合わせてご報告させて戴きます。

（文責：丸中良典）

1. 生後3ヶ月間の後肢懸垂とその後3ヶ月間の回復がラットヒラメ筋筋線維特性に及ぼす影響

王 曉東¹、河野史倫¹、藍 勇波¹、石原昭彦²、大平充宣¹（¹大阪大学、²京都大学）

生後4日目から3ヶ月間の後肢懸垂及びその後3ヶ月間の回復がラットヒラメ筋筋線維の特性に及ぼす影響を検討した。後肢懸垂直後のヒラメ筋絶対重量及び筋横断面積はコントロール群の約1/3および1/4であった。懸垂終了後、これらは徐々に回復したが、回復3ヶ月目にもコントロールレベルには達しなかった。発育に伴う筋核数の増加は、懸垂によって抑制されたが、懸垂終了後増加した。しかし、3ヶ月の回復後も同年齢のコントロール群より低値であった。後肢懸垂群における全単一筋線維当たりの休止期及び分裂期衛星細胞数はそれぞれコントロール群に比べ約78%および73%少なかったが、懸垂後3ヶ月間で回復した。コントロール群では約98%の筋線維が1つの神経・筋接合部を筋線維のほぼ中央部に有していたが、懸垂群では約40%の筋線維が2つ以上の接合部を有していた。また後肢懸垂解除直後では、コントロール群に比べ、筋線維横断面積当たりの接合部サイズが有意に大きかった。しかし、このような現象は回復した。以上の結果からヒラメ筋筋線維の発育は重力負荷と密接に関わっており、長期間の無負荷後筋が再負荷された場合、ヒラメ筋筋線維の再生が

誘発されることが示唆された。

2. 後肢懸垂に対する筋・神経活動の適応

河野史倫¹、石原昭彦²、王 曉東¹、大平充宣¹（¹大阪大学、²京都大学）

急性または長期の後肢懸垂に対するラットヒラメ筋活動、脊髄第5腰椎における求心性および遠心性神経活動の変化を検討した。神経逆行性色素注入により後肢筋を支配している運動神経細胞を同定したところ、第5腰椎にはヒラメ筋および内側腓腹筋の運動神経細胞が分布していることが明らかになった。急性の後肢懸垂や腱切断に対してヒラメ筋および求心性神経活動は有意な相関を示したが、内側腓腹筋活動の変化は神経活動とは一致しなかった。従って、脊髄第5腰椎における求心性神経活動は、主にヒラメ筋由来の活動を反映していることが明らかになった。2週間の連続後肢懸垂を行った場合、4日目まではヒラメ筋および求心性神経活動は懸垂前に比べ減少していたが、2週間以内に懸垂前レベルまで回復した。一般的に、後肢懸垂中は足関節が伸展し、ヒラメ筋長およびサルコメア長は受動的に短縮され、張力発揮が抑制された。しかしながら、懸垂2週間後には足関節が伸展した状態でも張力発揮が認められた。同時に、筋線維長の短縮、全単一筋線維におけるサルコメア数の減少、およびサルコメア長の伸展も見ら

れた。以上の結果から、2週間の後肢懸垂中にサルコメアの再構築が起こり、張力発揮やヒラメ筋および求心性神経活動を回復させることが示唆された。

3. Dynamic visual acuity (DVA) に対する能動的な頭部運動の効果

和田佳郎¹、高野啓祐²、山下勝幸¹ (¹奈良医大・第一生理, ²奈良医大・医学部3年)

動く物体に対する視力をDVAと呼び、これまで頭部運動はDVAを低下させると報告されてきたが、いずれも受動的な頭部運動であった。今回、DVAに対する能動的な頭部運動の効果を明らかにする目的で実験をおこなった。被験者(18人の健康成人)に、市販ソフトであるSPEE-SION (ASICS) を用いて、50 cm離れたモニター上を左から右に等速運動(69あるいは137 deg/s)しながら変化する3つの数字を、A) 頭部も眼球も静止、B) 頭部のみ静止、C) 頭部を数字と同方向に回転、D) 頭部を数字と反対方向に回転、という4条件(ランダムな順序で各20回)で読み取らせた。6人に対してはその際の頭部および眼球運動を計測した。69 deg/sではC>B>D>Aの順に正答率が高く、遅い速度に対しては視標の運動と同方向の頭部運動によってDVAが向上することが示された。137 deg/sでは4条件ともほぼ同じ正答率であったが、D条件において正答率の高い被験者は視線(頭部+眼球の位置)が数字の動きにほぼ追従していた。この結果は、速い速度に対しては視標の運動と反対方向の頭部運動がDVA向上に有効である可能性を示している。

4. 運動準備電位と運動開始

松浦一中尾和子、玄番央恵、松崎竜一(関西医科大学第二生理)

様々な体部位を使う自発性運動をサルに行わせると、大脳皮質表面と表面から2.0-3.0 mm深部に埋め込んだ電極により、表面陰性-深部陽性の電位(運動準備電位)が運動前野、運動野、体性感覚野および頭頂連合野から運動開始の約1.0 s前に記録された。これらの大脳皮質部位が真に運動開始に関わっているのかどうかを確かめるために、運動準備電位を記録した各大脳皮質に単発のパルス(強度; 0.050-4.000 mA: 刺激時間; 1 ms)を6秒間隔で10回、埋め込み電極より与えて筋電図を記録した。筋電図は両側の顔、胴、手首および足首の全8筋から表面皿電極を用いて同時記録した。運動前野、運動野および体性感覚野を電気刺激すると全8ヶ所で筋活動が誘発され、一方、頭頂連合野の電気刺激ではほとんどの筋が活性化された。また、刺激部位と同側の筋活動を誘発する際の方が対側の場合よ

り強い刺激が必要であった。筋活動を引き起こす最小刺激強度は運動野、体性感覚野、頭頂連合野の順に大きくなり、運動前野が最大であった。さらに、大脳皮質を電気刺激してから筋活動発現までの潜時は概して運動野が他の皮質部位より短かった。これらの結果から、運動準備電位は筋を活性化し運動開始に関わる事がわかった。

5. サルの視床-頭頂連合野投射について

松崎竜一、久宝真一、松浦一中尾和子、玄番央恵(関西医科大学 生理学第二講座)

頭頂連合野の一部である頭頂間溝後壁で、皮質表面で陰性、皮質深部で陽性(表面陰性-深部陽性)のフィールド電位が、サルの手による自発性運動に先行して出現することが報告された [1]。この電位は、今までの電気生理学的知見から、浅層性視床大脳皮質応答と考えられる。麻酔下で、サルの視床枕核を微小電気刺激し、頭頂間溝後壁において、層的フィールド電位を記録すると、上記電位と同様の表面陰性-深部陽性電位(浅層性視床大脳皮質応答)が誘発された。皮質表面の陰性電位は深さ約1200-1700 μmで陽性に逆転した。頭頂間溝後壁に浅層性視床大脳皮質投射を送る視床部位をより詳細に検索するため、麻酔下で、手術によりサルの頭頂連合野の種々の部位の皮質表面と深部(深さ2.0-3.0 mm)に、多数の慢性記録電極を設置した。手術から回復後、視床の微小電気刺激で誘発されるフィールド電位を記録した。その結果、後外側腹側核、後外側核刺激では頭頂間溝前壁と上頭頂小葉に、一方、視床枕核内側部刺激では頭頂間溝後壁と下頭頂小葉に、さらに、視床枕核外側部刺激では頭頂間溝周囲の広い範囲に、それぞれ浅層性視床大脳皮質応答が引き起こされた。

[1] Gemba H et al (2000) Neurosci Res. Suppl 24: S16

6. ラットの線条体コリン作動性介在ニューロンの同定と自発発火様式

井之川 仁、木村 實(京都府立医科大学大学院医学研究科神経生理学)

被殻と尾状核からなる大脳基底核の線条体は、運動系、感覚系のみならず前頭、頭頂、側頭連合野から部位特異的、グルタミン酸性的な投射を受けると共に、中脳ドーパミン系や視床CM/Pf核から修飾的な投射を受けることによって運動、認知、学習などの機能を営む。行動課題を遂行中のサルの線条体には、極めて低い自発放電と課題と関連したバースト放電を特長とするPANsと、毎秒2-8回の持続的な自発放電と動機づけに関連する活動の特徴とするTANsとが存在し、間接的な証拠によってPANsはGABA性投射ニューロン、TANsはコリン作動性介在ニ

ニューロンであると考えられている。本研究では、ウレタン麻酔下のラットを用いて、自発電様式、活動電位波形とニューロンの形態、含有伝達物質を直接同定することを試みた。140個のニューロンの自発発火パターンを分類したところ、Burst型 (n = 91), Tonic型 (n = 10), Periodic Burst型 (n = 7) そして Sporadic型 (n = 32) の4タイプに分類された。Neurobiotin, BDAを用いた Juxtacellular labeling法 (Pinault, 1996) によって記録細胞の形態を同定し、それぞれのタイプでChAT染色を行ってACh細胞を同定したところ、TonicタイプのみがChAT陽性細胞であることが確認された。ChAT陽性細胞の形態は、比較的大きな細胞体を持つAspinyタイプであり、in vitro実験での結果と一致した。Burst型は中型有棘のGABAニューロンであった。本研究によって、線条体のコリン作動性介在細胞がTANsであることが直接証明された。

7. ラット背側蝸牛神経核 fusiform cell の研究

丸山敦子, 大森治紀 (京都大学医学部生理学教室)

哺乳類の背側蝸牛神経核の機能を解明すべく、ラットを用いてその主要な出力細胞である fusiform cell の蛍光トレーサー法および電気生理学的手法による評価を行った。

始めに fusiform cell を同定する目的で、その主要な出力先である下丘に蛍光微小ビーズを注入し逆行性に染色した。注入後2日以降の背側蝸牛神経核のスライス標本で細胞体に蛍光を示す細胞があり、形態的にも fusiform cell であった。同細胞に対し whole cell での記録を行った。脱分極、過分極応答とも fusiform cell に特徴的なパターンを示した。ビーズを含まない形態的に同様な細胞においても記録を行い比較したが、ビーズの有無による細胞への影響は見られなかった。

次に入力系について、聴神経線維の fusiform cell への投射を同定した。蝸牛への蛍光色素 DiI の注入により染色された線維の一部が背側蝸牛神経核において fusiform cell に投射していた。その線維の微小電気刺激に対する fusiform cell の反応を記録し、シナプスの機能を評価した。

8. 発育初期の後肢懸垂がラットの脊髄運動ニューロンの総数、細胞体サイズ、酸化系酵素活性に及ぼす影響

石原昭彦¹, 河野史倫², 王 曉東², 大平充宣² (¹京都大学大学院人間・環境学研究所神経化学研究室, ²大阪大学健康体育部・大学院医学系研究科)

生後4日齢から3ヵ月齢までラットの尾部を吊り上げて後肢の骨格筋に負荷が加わらない状態 (後肢懸垂) で飼育した。また、後肢懸垂後に1ヵ月, 2ヵ月, 3ヵ月の回復期間を設けてラットを床上で回復させた。各時期において

ヒラメ筋を神経支配する運動ニューロンを蛍光色素 (nuclear yellow) により同定して、それらの運動ニューロンの総数、細胞体サイズ、酸化系酵素 (こはく酸脱水素酵素) 活性を比較・検討した。alpha運動ニューロンの細胞体サイズは、回復2ヵ月後まで低値を示した。これは、大型サイズの alpha運動ニューロンが少ないことによることが明らかになった。一方、回復3ヵ月後には運動ニューロンの細胞体サイズは回復した。運動ニューロンの総数と酸化系酵素活性、gamma運動ニューロンの細胞体サイズと酸化系酵素活性は、後肢懸垂の影響を受けなかった。これらの結果より、発育初期に骨格筋に負荷が加わらないと発育に伴う alpha運動ニューロンの成長 (肥大) が抑制されることが明らかになった。また、このような抑制は、後肢懸垂の解除後に回復することが明らかになった。

9. IFN- γ ノックアウトマウスでの脱毛症とその治療

岡田 雅^{1,2}, 田代純子¹, 能見勇人¹, 山本有実子¹, 山口智子¹, 上田晃一², 窪田隆裕¹, 吉田龍太郎¹ (¹大阪医科大学第二生理, ²同形成外科)

【目的】我々は、移植片拒絶における IFN- γ の役割を解析する過程で、C57BL/6 (H-2^b) IFN- γ ノックアウトマウスにおいて生後6週齢より頭部から背部に脱毛が見られ、腹腔内への IFN- γ 投与と同種移植によって脱毛部に発毛を認めた。今回、IFN- γ KO マウスの脱毛部での発毛誘導機構を細胞生理学的に解析した。

【方法】C57BL/6 (H-2^b) マウスの腹腔内に BALB/c (H-2^d) マウスで継代した Meth A 細胞を同種移植し、経時的に腹腔内細胞 (Meth A 細胞と全浸潤細胞) を回収した。腹腔内細胞から全浸潤細胞をセルソーターで分取し、脱毛した生後10週齢の IFN- γ KO マウスの腹腔内に投与してその発毛効果を調べた。最も効果のあった移植後早期の全浸潤細胞を種々の細胞表面マーカーに対する蛍光標識抗体で染色し、セルソーターで非染色細胞を分取してその発毛効果を調べた。

【結果】全浸潤細胞から顆粒球系細胞を除くと、発毛が急激に誘導された。また、T細胞やNK細胞を除いても脱毛部での発毛が誘導された。しかし、全浸潤細胞からマクロファージ系細胞を除くと、脱毛部での発毛は誘導されなかった。

【結論】同種移植片に早期に浸潤してくるマクロファージ系細胞は脱毛部での発毛誘導に関与しており、顆粒球系細胞は脱毛部での発毛阻害に関与していることが示唆された。

10. HVJ-Eベクターによる延髄へのタンパク質導入

真壁恭子¹, 坪田裕司¹, 湯川和典¹, 梁 向明², 宗 正敏², 前田正信¹ (和歌山医大 ¹生理学第2, ²内科学第3)

Hemagglutinating virus Japan Envelope (HVJ-E) ベクター (GenomONE, 石原産業) は, 細胞膜融合活性を利用して遺伝子・タンパク質を標的細胞に直接導入できる非ウィルス性ベクターである。これまで, 脳内局所への微量注入によりタンパク質を直接細胞に導入した報告はない。今回, HVJ-Eベクターに封入した β -galactosidase (β -gal) をラット延髄へ微量注入し, 細胞への *in vivo* 導入と活性の時間変化を解析した。

HVJ-Eベクターに β -galを封入し, 脳定位装置を用いて麻酔下ラットの延髄に100nl 注入した。3, 6, 12, 24時間後に脳幹部の凍結切片を作成しX-gal染色を行った。コントロールはベクターのみ及び β -galのみを注入とした。 β -gal/HVJ-Eベクターを注入した延髄孤束核領域にX-gal陽性の神経細胞が観察され, 染色活性は12時間後が最も高かった。 β -galのみのX-gal陽性反応は時間と共に減少した。

この結果から, β -galはHVJ-Eベクターに封入することでより長時間活性を保持し, 脳内局所の神経細胞に目的の機能タンパク質の直接導入が可能であることが示唆された。

11. ラット延髄孤束核へ微量注入されたNeuromedin Uは循環調節に作用する

坪田裕司, 垣本信幸, 真壁恭子, 湯川和典, 梁 向明*, 宗 正敏*, 前田正信 (和歌山県立医科大学・医・第二生理, *第三内科)

Neuromedin U (以下NMU) は腸管ペプチドといわれ, 子宮平滑筋の収縮能の他に, 血中投与あるいは脳室内投与による摂食行動・体重増加の抑制や血圧上昇, ストレス応答への効果等が知られている。しかしながら, その神経への具体的な作用はほとんど不明である。我々は, NMUをこれまでに報告のないラット延髄孤束核 (NTS) の循環調節領域に微量投与し, 血圧心拍数の変化を指標としてその効果を評価した。その結果, 5から50 pmol/100 nlの濃度において有意な血圧心拍数の低下を確認した。NMUペプチドと同脳型受容体NMU2Rは延髄にも強く発現しており, NMUのラットNTSにおける循環調節への関与が示された。NTSは興奮性に延髄尾側腹外側部 (CVLM) にシナプス接続し, CVLMは抑制性に延髄吻側腹外側部 (RVLM) を調節して血圧を抑制することから, NMUはNTSを興奮性に刺激して血圧低下をもたらすものと考えられた。また, その反応からNMUはNTSにおいて興奮

性神経伝達物質あるいは神経調節因子として作用していることが示唆された。

12. 期待は追跡眼球運動の増幅度調節に影響を与える

田端宏充^{1,2}, 三浦健一郎³, 河野憲二^{1,3} (¹産業技術総合研究所, ²日本学術振興会, ³京都大学医学研究科)

視標を短時間揺らしたときに誘発される眼球運動は, 固視中よりも追跡眼球運動中の方が大きいことが報告されている。最近, 追跡眼球運動を予測していれば, 固視中であっても, 視標の揺れに対する感受性が上昇することが明らかになった。これは, 追跡眼球運動が予想される状況下では, 視覚入力を滑らかな眼球運動に変換する際の増幅度 (ゲイン) が予測的に上昇している可能性を示す。今回, 視標が動くか否かの不確かさの度合いに応じて, 予測に基づく増幅度の上昇に変化が見られるかどうかを, ヒトの眼球運動計測により調べた。視標が動く確率が0%, 25%, 50%, 75%, 100%のブロックにおいて, 固視中の視標の揺れに対して誘発される眼球運動の大きさを計測した。その結果, 視標が動く確率が高くなるにつれ, 視標の揺れに誘発される眼球運動は連続的に大きくなることが分かった。視標の動く確率と, 視標の揺れに誘発される眼球運動の大きさの関係を一次の線形関数で近似すると, 4人の被験者の平均で0.859の決定係数が得られた。以上のことから, 予測に基づき変化する増幅度は, スイッチングのような不連続な機構によって調節されているのではなく, 視標が動くことに対する期待の影響を受けながら連続的に変化しているといえる。生体は, 次に起きると予測されることへの確信度を反映させて, 行動上意味のある感覚刺激への応答を調節しているのかも知れない。

13. 一次視覚野における刺激文脈依存的活動修飾のネットワーク

内藤智之, 尾関宏文, 定金 理, 赤崎孝文, 佐藤宏道 (大阪大学健康体育部運動生理部門)

麻酔・非動化したネコ一次視覚野において, 2つの細胞の細胞外同時記録を行った。細胞間の距離は500 μ m以内で, 主に2/3層での記録だった。それぞれの細胞について, 受容野位置及び最適の刺激方位, 空間周波数を計測し, 正弦波グレーティングパッチ刺激を用いて最適な運動方向と刺激サイズを求めた。またSI (suppression index) として, 刺激セット中最も大きなサイズ (ϕ 21.3度) 刺激を提示した時に, 最適刺激サイズの活動からの活動低下の程度を定量的に求めた。その後, 細胞ペアのスパイク応答の相互相関解析を行った。記録した111ペアのうち, 80ペア (72%) が有意な相関を示し, 多くの場合, 共通入力を示

す相関ヒストグラムが得られた。有意な相関を示した細胞ペアは、刺激最適運動方向かSIの一方、もしくは両方が類似していた。有意な相関を示さなかった細胞ペアは、刺激最適運動方向及びSIとも大きく異なるペアである場合が多かった。これらの結果は、一次視覚野内で運動方向選択性、SIについて類似の細胞がクラスターを形成しており、4層からの入力運動方向選択性かSIの一方もしくは両方に対して選択的な投射を行っている可能性を示唆している。

14. 一次視覚野における刺激文脈依存的反応修飾の刺激コントラスト依存性

定金 理, 尾関宏文, 内藤智之, 赤崎孝文, 佐藤宏道 (大阪大学大学院医学系研究科, 健康体育部)

一次視覚野 (V1) ニューロンの受容野刺激に対する反応は、その受容野周囲に刺激を呈示することによって主に抑制性の修飾を受けることが知られている。今回の研究ではこの修飾作用が、個々のニューロン活動に影響を与える皮質内のネットワークに対する入力強度 (刺激コントラスト) に応じてどのように調節されるかという点について検討した。実験は、麻酔非動化したネコ V1 のニューロン活動を記録し、低または高コントラスト (固定値) の受容野刺激に対するニューロンの応答が、受容野周囲刺激のコントラスト (可変) に依存してどのような修飾効果を受けるのかを調べた。その結果、受容野刺激のコントラストに依らず受容野周囲刺激の修飾効果は抑制性を示し、その効果は受容野周囲刺激のコントラストに依存して増大した。受容野刺激が高コントラストである場合、抑制効果が生じるためには受容野周囲刺激がより高いコントラストであることが必要となった。すなわち受容野周囲刺激による修飾効果の強さは、受容野刺激のコントラストに応じてコントロールされていた。さらに LGN ニューロンにおいて同様の刺激を用いた実験を行ったところ、皮質における修飾の根拠になると見られる反応修飾が観察された。

15. 電気刺激による軸索切断されたネコ網膜神経節細胞の生存促進

栗本拓治^{1,2}, 三好智満¹, 渡部真三³, 三村 治², 福田淳¹ (大阪大学・院・医・情報生理,²兵庫医大・眼科,³愛知県発達障害研究所・周生期学部門)

最近、我々はラットの視神経切断直後に一過性電気刺激を断端に与えることにより切断後7日目の網膜神経節細胞 (RGC) の生存が顕著に促進されることを見いだした (Morimoto et al., 02)。より長期の生存促進を実現するために、慢性的な電気刺激を切断ネコ視神経に与えることを

計画している。今回、まずネコ網膜においてもラット網膜と同様に、視神経切断直後の一過性電気刺激が RGC の生存を促進するか否かを調べた。予め両側 RGC を逆行性標識したネコの左視神経を切断した。その直後に、双極カフ型電極から幅 300 μ s の単相矩形波電流を 20 Hz で 2 時間加えた。電流値は 500 μ A, 1, 3, 5 mA の 4 条件を用いた。切断後 7 日目に網膜伸展標本上で生存 RGC を計数し、左右網膜の比から生存率を求めた。電気刺激の生存促進効果は sham 刺激群との比較で評価した。その結果、1 mA 刺激群では生存率の上昇は網膜中心野に局限していたが、3 mA 刺激群では網膜中心野のみならず周辺網膜の生存率も有意に上昇した。以上の結果から、切断視神経への一過性電気刺激は軸索切断されたネコ RGC に対しても生存促進効果を有することが明らかとなった。

16. ラット一次体性感覚野における刺激方向表現

木田裕之^{1,2}, 七五三木 聡², 佐藤宏道² (大阪大学大学院基礎工学研究科・²健康体育部)

ラット一次体性感覚野 (バレル皮質) 類ヒゲ対応領域の細胞は刺激方向に選択的な応答を示す。バレル皮質内における刺激方向表現のあり方を調べるために、我々は主入力ヒゲ (PW) および隣接ヒゲ (AW) のそれぞれ単独、および組合せ刺激に対する神経活動を細胞外記録した。興奮性細胞と考えられる regular-spiking unit では、単独ヒゲ刺激を 8 方向 (45° 間隔) について行くと PW と AW 刺激応答の方向選択性は高い類似性を示した。そこで尾側および吻側方向の 2 方向で同様に方向選択性を調べるとやはり両者は高い相関を示した ($r = 0.88$)。近接した時間間隔 (4 msec 以内) で 2 本のヒゲの組合せ刺激を行うと、2 方向のうち適刺激方向でのみ促進性相互作用が観察された。これらの結果は異なるヒゲに選択性を示しながらも同じ刺激方向選択性を持つ細胞間の機能結合を示唆する。また、長い時間間隔 (6 msec 以上) で組合せ刺激すると PW 応答は先行する AW の方向に依存せず抑制された。抑制性細胞と考えられる fast-spiking unit の方向選択性が弱いことから刺激方向に依存しない抑制性のネットワークの存在が示唆される。刺激方向はこれら両者のネットワークを組合せることで表現されると考えられる。

17. メタコントラストマスキングから推定されるヒトの並列視覚情報処理経路の相互作用

石川理子, 七五三木 聡, 佐藤宏道 (大阪大学大学院生命機能研究科・健康体育部)

ヒトの視覚情報処理の時空間的な特性を、メタコントラストマスキングを用いて心理物理的に調べた。ターゲット

ト刺激とマスク刺激にはグレイティング刺激を用い、ターゲットの図形特徴（グレイティングの方位，空間周波数，コントラスト）を固定，マスクの図形特徴やSOA（Stimulus onset asynchrony），即ち刺激間インターバルを可変として，その違いがマスクング効果に及ぼす影響について検討した．マスクング効果はターゲットとマスクの刺激特徴の類似度に依存し，両者のパラメータが一致する場合に最大となった．またSOAに依存してマスクングの刺激特徴に対する選択性やコントラスト感受性は異なった．小さいSOAでは刺激特徴に選択的でコントラスト閾値が高い効果が得られ，SOAが大きくなるにつれ刺激特徴に非選択的でコントラスト閾値が低い効果が観察された．以上の結果より，この現象に関与する視覚情報処理経路には並列な処理速度の速い経路と遅い経路とがあり，SOAが大きいときはターゲット情報処理と干渉する速いマスク情報処理経路がマスクングを引き起こし，SOAが小さくなるにつれ遅いマスク情報処理経路が引き起こすと考えられる．

18. 三叉神経中脳路核ニューロン間の電氣的カップリング

張 伊^{1,2}，齋藤 充²，姜 英男²（¹大阪大院・歯・顎口腔機能再建，²高次脳口腔機能）

【目的】三叉神経中脳路核ニューロン（Vmes）は歯根膜および閉口筋筋紡錘を支配する一次感覚ニューロンであり，ギャップ結合によって複数のニューロンが接続されている．本研究ではVmesニューロンにおけるギャップ結合チャンネルの性質を調べた．【方法】10～17日齢のラットにおいてVmesを含む厚さ200 micro mのスライス標本を作成し，赤外線微分干渉顕微鏡観察下で，細胞膜が広い面積で接触している2つの細胞に対し，デュアル・ホールセルパッチクランプ記録を行なった．一方の細胞に膜電位固定下で100～0.1 V/secのランプコマンドパルスを与え，他方の細胞より膜電流固定下で，電位応答を観察した．【結果】1. 過分極電位は脱分極電位より約2倍大きな応答を引き起こした（結合係数，約7%）．2. 一方の細胞に与えた電位変化のうち，低周波成分は他方の細胞へよく伝達されたのに対し，スパイク電位のような高周波成分はほとんど伝達されなかった．【考察】1. ギャップ結合チャンネルは外向き整流性を有することが示唆された．2. ギャップ結合チャンネルは，スパイク電位そのものよりもスパイク後過分極電位を伝達する一種の低周波域透過型フィルターとして機能している可能性が考えられた．

19. 視覚皮質ニューロン活動抑制中の片眼遮断により生じる遮閉眼へのパラドキシカル眼優位性シフトにPKAは関与しない

七五三木 聡，佐藤宏道（大阪大学 健康体育部）

臨界期の仔ネコに片眼遮断を行うと，視覚野のニューロンは遮断しておいた眼に対する光反応性を失い，眼優位性（ocular dominance, OD）は非遮断眼へ移行する（normal OD shift）．normal OD shiftの発現には，視覚皮質内のPKA活性が必要不可欠である（Beaverら2001年）．一方，片眼遮断中，視覚皮質ニューロン活動をムシモール（GABA_A受容体作動薬）で抑制すると，眼優位性は遮断眼へと移行する（reverse OD shift）．本研究では，PKA拮抗薬をムシモールとともに視覚野へ注入し，reverse OD shiftの発現にPKAが関与するか否かを調べた．その結果，片眼遮断+ムシモール投与群（n=2）のみならず，片眼遮断+ムシモール+PKA拮抗薬投与群（n=4）においても先行研究と同程度のreverse OD shiftが観察された．層解析の結果，視床-皮質投射の入力層（4層）で最も強いshiftが見られた．以上より，reverse OD shift発現には①前シナプスと後シナプス活動の解離が重要であるが，②皮質のPKAは関与しないこと，そして，③視覚経験依存的OD shiftの分子メカニズムは同じではないこと，が示唆された．

20. GFP-GAD67 knock-in mouse を用いた下丘GABA作動性ニューロンの発火特性の研究

小野宗範¹，柳川右千夫²，古谷野 好¹（¹京都大学医学部生理学教室，²岡崎国立共同研究機構生理学研究所神経化学）

下丘は，上位下位聴覚伝導路からの入力を受け，それらの統合的処理を行う神経核である．下丘内での抑制性入力は，そうした情報処理の際に重要な役割を持つことが知られる．このような役割を担う候補の1つとして下丘内のGABAニューロンがあるが，従来それらに対し直接的にアプローチすることは困難であった．そこで我々は，GABAニューロンが特異的にGFP蛍光によってラベルされるGFP-GAD67 knock-in mouseの脳幹スライスを用い，下丘内のGABAニューロンの発火特性をホールセルパッチクランプ法によって調べた．その結果，1) 静止膜電位からの脱分極パルスに対し持続的な発火を示すものと2) 背外側部の一部に見られる，脱分極パルスに対し注入直後にのみ発火をみせるものの2種が区別された．1) のなかには，パルス注入前の膜電位を変化させることで，発火様式を変化させるものも見られた．記録した細胞の一部に関して細胞内染色を行い，発火特性と形態学的特徴の関係に

ついて検討を行った結果、1)と2)の間で樹状突起の方向性に関して異なる傾向が見られた。

21. 目的志向的な行動発現に必要な動機づけ情報をコードする線条体ニューロン

山田 洋, 松本直幸, 木村 實 (京都府立医科大学大学院医学研究科神経生理学)

大脳基底核は動機づけに基づく行動発現に関わることが知られているがメカニズムは明らかではない。私たちは、これを調べるために2頭のニホンザルを訓練して視覚の指示 (GO) によってレバーから手を放す運動課題を異なる動機づけ条件で行わせた。GOに先立つ視覚刺激 (IS) によって、レバー放しの後報酬が得られる条件、素早くレバーを放さないと顔面へ空気が吹き付けられる嫌悪条件、ビーブ音によって無報酬を知らせる条件を予告した。この動物の線条体のコリン作動性介在ニューロンと考えられているニューロン (TANs) 390個の活動を記録した。それらは、レバー放し運動自身には関係しないが、IS (82%) やGO (36%) に対して応答した。ISに応答するものは同じ刺激が動機づけ条件を指示しない時には応答しなかった。ISやGO応答の多く (67, 88%) は、動機づけ条件の違いを区別した。尾状核のTANsはISに、被核のTANsはGOに対してよく応答した。これらの結果は、TANsが報酬や嫌悪などの動機づけ情報を外来刺激から受容し、嫌悪事象を避けて報酬を獲得するために、線条体での目的志向的な情報処理に重要な役割を果たすことを示唆する。

22. ニワトリ層状核神経細胞 (NL) におけるHCNチャネルの特徴と分布

山田 玲, 久場博司, 石井孝広, 大森治紀 (京都大院・医・生理)

鳥類ではNLは両側蝸牛神経核からのシナプス入力の時同時検出器として働き音源定位に関わる。NLはtonotopy構造をもち、高い特徴周波数の細胞 (High CF) から低い特徴周波数の細胞 (Low CF) が頭内側から尾外側の軸で並ぶ。以前我々は I_h が静止膜電位付近で活性化し膜抵抗の減少に関与することを報告した。今回我々はwhole-cell記録を用いて I_h の性質とCFとの関連を調べた。Low CFはHigh CFに比べ膜抵抗が低く、過分極通電で見られる脱分極性sagの時間経過は早い。 I_h 電流のsteady-state activation curveはHigh CFに比べてLow CFでは10mV脱分極方向にあり、活性化の時間経過も早かった。またHigh CFはcAMPで10mV脱分極方向に移動したがLow CFでは著明な移動はなかった。外液にノルアドレナリン (NA) を加えると同様の効果が得られNAによる細胞内cAMP

の上昇が示唆された。In situ hybridizationではHCN2はHigh CFとLow CFともに陽性であったがHCN1はLow CFにのみ陽性であった。EPSPの時間経過に対する I_h の関与についても検討した。

23. マウス腸管ペースメーカー機構研究の新しい標本作製

後藤和教¹, 野間昭典² (¹鹿児島大学医学部第二内科, ²京都大学院医学研究科細胞機能制御学)

胃腸管平滑筋の自動収縮はslow waveと呼ばれる、持続時間の長い脱分極波によって引き起こされる。slow waveはCajalの間質細胞 (ICC) として知られている消化管壁内の特殊化した、非収縮性の細胞によって作り出されていると考えられている。また、ペースメーカー電位を発生するICCとは別に、平滑筋細胞への神経情報の伝達に重要な役割を果たすICCも存在しているといわれている。我々は消化管運動制御のメカニズムを解明するため、平滑筋、神経、ICCの三要素を顕微鏡下で直接観察でき、かつ平滑筋が周期的収縮を示す標本作製した。この標本を用い、ICCからwhole-cell modeで膜電位と膜電流を記録し、膜電位振動を惹起する電流の特性について調べた。これまでの実験から、周期的に膜電位変動を示す細胞を膜電位固定すると、一定保持電位で電流の振動を記録できた。この電流の逆転電位は、 $-80 \sim 90$ mV、あるいは0 mV付近にある場合と二種類記録された。それぞれのイオン機序など発生メカニズムについて検討した。前者は自発的細胞内Ca濃度変化によると考えられる。後者については、脱分極によって誘発されることが示唆された。

24. 蝸牛内直流電位に対する Ca^{2+} の役割

森 禎章¹, 峰晴昭仁², 高巻京子², 荒木倫利², 竹中洋², 窪田隆裕¹ (¹大阪医科大学第二生理, ²同耳鼻咽喉科)

【目的】蝸牛内リンパ液の Ca^{2+} 濃度 ($[Ca]_i$) は従来の報告 (10^{-5} M程度) よりも低く、無呼吸負荷に伴う蝸牛内直流電位 (EP) の低下時には $[Ca]_i$ が著明に上昇することを報告してきた。本研究では、EGTAおよびEGTA/AMを蝸牛内リンパ腔に注入して、EPの発生に対する Ca^{2+} の役割を検討した。

【方法】EP測定用電極および Ca^{2+} 電極を有色モルモットの蝸牛第2回転より経血管条的に内リンパ腔に刺入し、EPと $[Ca]_i$ を同時に測定した。

【結果】コントロール条件でのEPは約+80 mV、 $[Ca]_i$ は 10^{-6} M以下であった。2分間の無呼吸負荷によりEPは約-10 mVまで低下し、 $[Ca]_i$ は 10^{-3} M程度まで上昇した。この条件では、EPと $[Ca]_i$ の対数値には相関が認め

られた。しかし、EGTAを蝸牛内リンパ腔に注入して人工的に $[Ca]$ を低下させてもEPは殆ど変化しなかったが、EGTAに加えてEGTA/AMを注入するとEPは上昇し、無呼吸負荷によるEPの低下が抑制された。

【結論】EPの発生には $[Ca]$ は直接関与せず、内リンパ腔を取り巻く細胞内の Ca^{2+} 濃度がEPの発生に重要な役割を担っているものと思われた。

25. 内耳の機能的再生

田浦晶子¹、大森治紀² (¹京都大学大学院医学研究科耳鼻咽喉科・頭頸部外科学, ²京都大学大学院医学研究科神経生物学)

哺乳類での内耳の再生については、形態学的に自発的再生が報告されているものの、機能的には再生の詳細は未だ明らかではない。そこで、哺乳類の前庭(器官培養系)を用いて、in vitroでゲンタマイシン処理による傷害後、有毛細胞を自発的に再生させ、その機能について検討した。有毛細胞の最大の特徴は機械信号を電気信号に変換する機械電気変換チャネル(mechano-electrical channel)を持つことである。そのため、感覚毛を刺激し、機械電気変換チャネルの機能を検討することで、細胞機能を評価した。具体的には、感覚毛の刺激に伴う細胞内カルシウムイオン濃度の変化を計測した。ゲンタマイシンにて傷害を与えると感覚毛は減少し、受容器機能も消失する。しかし、培養を継続して2週間目以降になると再び受容器機能が確認できた。つまり、機能的な再生の可能性が高いと考えられる。また、様々な薬剤を追加して再生への影響を検討した。

26. ラット細気管支線毛細胞の線毛運動周波数に対する β_2 刺激薬の効果

木下ちさ¹、花房俊昭¹、中張隆司(大阪医科大学、第一生理学教室、第一内科学教室)

ラット単離細気管支線毛細胞を用い、ビデオ顕微鏡下に線毛運動周波数(CBF)と細胞容積変化を測定した。Terbutaline(β_2 刺激薬)はcAMPを介してCBF増加と細胞容積減少を引き起こした。Quinidine(500 μ M)は細胞容積を増加させ、terbutalineによるCBFの増加を抑制した。一方、Amiloride(1 μ M)とbumetanide(10 μ M)は細胞容積を減少させ、terbutalineによるCBFの増加を著明に増強した。Amilorideとbumetanide存在下ではCBFに対するterbutalineの濃度依存曲線は低濃度側へシフトした。Amiloride(1 μ M)とstrophanthidin(100 μ M)を含むKCl溶液で灌流下では細胞容積は増加し、terbutalineによるCBFの増加は抑制された。続いてamilorideまたはstrophanthidinを取り除くと細胞容積は

減少し、CBFは増加した。これらの結果からterbutalineによるCBF上昇は細胞容積の増加により抑制され、反対に細胞容積の減少により増強されることが明らかとなった。

27. DAPキナーゼ依存性腎尿細管細胞アポトーシス分子機構の解析

湯川和典、坪田裕司、真壁恭子、前田正信(和歌山県立医科大学生理学第二講座)

Death-associated protein kinase(DAPキナーゼ、DAK)は培養細胞においてアポトーシスとの関連が示された Ca^{2+} /calmodulin依存性のセリン/スレオニン・キナーゼである。しかし細胞の生存を促進するとの報告もあり、種々の病態にともなう生体内のアポトーシスとDAKの関連は依然不明のままである。慢性閉塞性腎症における腎細胞アポトーシスとDAKの関連を検討するために、DAK mutantマウスの尿管を結紮し慢性閉塞性腎症モデルを作製してアポトーシスの検討を行った。このmutantマウスの腎尿細管細胞には、キナーゼ・ドメイン内に74個のアミノ酸の欠失を有するDAK deletion mutantタンパクが発現している。尿管閉塞後の腎においてアポトーシス細胞の増加を認めたと、Wild-typeのマウス腎と比較するとmutantマウス腎では有意に尿管細胞のアポトーシス細胞数が減少することが判明した。間質系細胞のアポトーシス細胞数にはWild-typeとmutantの間に違いは認められなかった。尿管閉塞後の腎でp53タンパクの増加を認めたと、mutantマウス腎ではp53を発現する尿管細胞数が有意に少ないことが判明した。従って慢性閉塞性腎症においてDAKはp53タンパクを増加して尿管細胞アポトーシスを促進する重要な働きを持つことが明らかとなった。また慢性閉塞性腎症の間質系細胞のアポトーシスには、DAKに依存しない別のアポトーシス・シグナル伝達系が関与することが判った。

28. ヒト好中球のRituximab依存性ADCC活性に対するG-CSFの影響

羽藤文彦、鈴木賢一、加藤隆幸、西木さおり、赤堀美佳、坂本恵利奈、長谷川太郎*、阪本親彦*、山根孝久*、小椋美知則**、日野雅之*、北川誠一(大阪市立大・院・医・細胞情報学、*血液病態診断学、**愛知県がんセンター血液化学療法部)

【目的】Rituximabに依存したヒト好中球の抗体依存性細胞傷害(ADCC)活性に対するG-CSFの影響を検討した。【方法】G-CSF(グラン; 300 μ g \times 2回/日)の投与を受けている末梢血幹細胞移植のドナーおよび健康人から

末梢好中球を採取した。⁵¹Crで標識したDaudiリンパ腫細胞株を標的細胞としてADCC活性を測定した。【結果】健康人およびG-CSF投与前のドナーにおいても、Rituximabに依存した好中球のADCC活性が認められた。そのADCC活性はGM-CSF in vitro処置で増強されたが、G-CSF処置では影響されなかった。G-CSF in vivo投与3~4日後には、単位細胞当たりのADCC活性の有意な増強が3例で認められた。G-CSF投与による好中球数の著増を考慮し、単位血液量当たりのADCC活性を評価すると全例でADCC活性の亢進(投与前の1.7~77倍、平均31.5倍)が認められた。G-CSF投与により好中球にCD64 (FcγRI)の発現が誘導された。好中球のADCC活性は抗CD64抗体により有意に抑制され、抗CD18抗体により強く抑制された。【結論】G-CSFを生体に投与するとRituximab依存性の好中球のADCC活性が亢進した。ADCC活性はCD64とCD18(β2 integrin)に依存していた。以上の結果は、悪性リンパ腫の治療にRituximabとG-CSFの併用が有用であることを示唆している。

29. 培養肝細胞におけるプラスミノーゲンmRNAの発現におよぼす細胞密度の影響

上嶋 繁, 岡本知可子, 岡田清孝, 松尾 理 (近畿大学医学部第二生理学教室)

プラスミノーゲンから活性化されたプラスミンは、血液中では血栓の主要成分であるフィブリンの分解、血管外では細胞外基質を構成する糖蛋白質の分解およびpro-MMPやlatent TGF-βなどの活性化を通して組織修復、細胞移動、血管新生に寄与している。肝臓の修復時にもプラスミノーゲンは重要な役割を演じているが、細胞密度によるプラスミノーゲンmRNAの発現については知られていない。そこでマウスの初代培養肝細胞を用いてプラスミノーゲンmRNAの発現を検討した。マウスの初代培養肝細胞を低細胞密度(0.2 × 10⁵ cells/cm²)と高細胞密度(1.0 × 10⁵ cells/cm²)で培養したところ、低細胞密度の条件下でプラスミノーゲンmRNAの発現は時間依存的に減少した。高細胞密度の条件下では、プラスミノーゲンmRNAの発現低下は見られなかった。また、低細胞密度条件下でアルブミンやβ₂-アンチプラスミンのmRNAsの減少は観察されなかった。以上より、低細胞密度条件下におけるプラスミノーゲンmRNAの発現低下はプラスミノーゲンに特異的であり、細胞と細胞との接着がプラスミノーゲンmRNAの発現を制御していることが示唆された。

30. 内耳蝸牛側壁における内向き整流K⁺チャンネルKir5.1の局在と内耳機能との関連

日比野 浩, 東 佳代子, 藤田秋一, 岩井香織, 石井優, 倉智嘉久 (大阪大学大学院医学系研究科・情報薬理)

内耳内リンパ液は、細胞外液にも関わらず、150 mMのK⁺イオンを持ち、+80 mVの高電位となっている。この内リンパ液の特殊な環境は聴覚機能に必須であり、蝸牛側壁を介したK⁺イオン輸送により成立している。Kir4.1等の種々のK⁺チャンネルが側壁の血管条と呼ばれる上皮組織に分布し、側壁K⁺イオン輸送に深く関わっているとされているが、その分子基盤は大部分が不明である。今回、我々は、内向き整流K⁺チャンネルの一つであるKir5.1が、側壁の螺旋靭帯に局在していることを免疫組織染色法により見出した。螺旋靭帯はI~V型の線維芽細胞より構成されているが、Kir5.1はイオン運搬が盛んに行われているII・IV・V型細胞にのみ発現分布していた。Kir5.1は腎や網膜においてKir4.1とヘテロ複合体を作り機能しているが、内耳ではKir4.1は血管条のみに発現しており、Kir5.1とは共存しないことが確認された。発生段階において、螺旋靭帯Kir5.1は血管条Kir4.1より遅れて発現し始め、電位上昇の急速層に著明に増加した。故に、Kir5.1とKir4.1は内リンパ液の形成において、異なった機能を果たしていることが強く示唆された。

31. 網膜における内向き整流性カリウムチャンネルサブユニットKir5.1の局在：Kir4.1との比較

石井 優, 藤田秋一, 岩井香織, 東 佳代子, 日比野浩, 倉智嘉久 (大阪大学大学院医学系研究科・情報薬理学講座)

【目的・方法】内向き整流性カリウムチャンネル(Kir)の1種であるKir5.1の生理機能は十分に解明されていない。我々は網膜におけるKir5.1の機能を明らかにするため、特異的抗体を作成し、免疫組織科学にて網膜におけるKir5.1の発現・分布を調べた。

【結果・考察】Kir5.1は網膜のグリア細胞であるミュラー細胞と、ある種の介在ニューロンでの両方に発現していた。この介在ニューロンはGAD陽性であるので、GABA作動性アムクリン細胞であることが示唆された。一方、Kir5.1はミュラー細胞内に均一に発現しており、同じくKirの一種でミュラー細胞に発現しているKir4.1が細胞全体の中でも特に血管周囲などに集積して発現しているのとは対照的であった。再構成系においてKir5.1はKir4.1と異種4量体を形成し、実際、網膜抽出物よりKir4.1/Kir5.1異種4量体が同定されたため、ミュラー細胞内ではKir5.1/Kir4.1異種4量体とKir4.1の同種4量体が発現しており、それぞれ異なった局在制御を受けていることが示唆された。これらの複雑な局在の分子機構や、その生理的意

味について検証する。

32. Isoproterenol誘導肥大心の心力学的評価

北川 豊, 山下大輔, 伊藤治男, 坂田 進, 竹中千香子, 高木 都 (奈良医大, 第二生理)

【目的】ラットのIsoproterenol慢性投与による心肥大の誘導とコラーゲン量の増加が知られている。本研究はラット肥大心におけるコラーゲン量と左心室機能の解析を目的とした。

【方法】Isoproterenol (1.2 or 2.4 mg/kg/day for 3 days, s.c.) あるいは vehicle (saline 2.4ml/kg for 3 days, s.c.) を osmotic minipump にて持続投与した。持続投与中止後, 1時間後あるいは2日後にウレタン及び α -クロラローゼ麻酔後, コンダクタンスカテーテルと圧センサー付きカテーテルを左室心尖より挿入し, 左心室圧容積ループを連続測定した。大動脈基部を閉塞し, 後負荷を増大させて左心室圧容積関係を得た。

【結果】心重量の測定によりIsoproterenol投与群の心肥大を確認した。さらにMT染色によりIsoproterenol投与群のコラーゲン量の増加を認めた。Isoproterenol投与群でPVAは有意に減少し, 持続投与中止2日後にはコラーゲン量とPVAはそれぞれvehicle投与群と同程度の値を示した。

【結論】Isoproterenol誘導肥大心においてコラーゲン量の増加とともに左心室機能の低下が明らかとなった。

33. ラット生体位心におけるニコランジルの効果 -左心室収縮期末圧容積関係による検討-

中橋一喜***, 北川 豊*, 伊藤治男*, 葛本直哉**, 高木 都* (*奈良県立医科大学生理学第二講座, **奈良県立医科大学麻酔科学講座)

【目的】ラット生体位心で収縮期末圧容積関係 (ESPVR) を用いて, 虚血性心疾患を有する患者の麻酔時に冠循環を保持するために汎用される K_{ATP} channel openerであるニコランジル (N) の効果を検討した。

【方法】ネブタール麻酔下で, 7-10Wのyoung rat (YR) と>30Wのretired rat (RR) の生体位心の左室圧容積を連続計測し左室圧容積ループを記録した。

ESPVRは大動脈基部を閉塞して求め, N投与 (20 μ g/kg/min) 前後で左心機能を解析し比較検討した。

【結果・結論】まずESPVRをもとめ, 可動範囲の中程度の左室容積 (0.06ml/g) での1心拍当たりの総機械エネルギーを表わす収縮期末圧容積面積 (PVA_{0.06}) を求めた。N投与により, YRでは心血管系の変化は見られなかったが, RRではPVA_{0.06}, EDV, EFおよびSVの有意な増加という心機能の亢進を示した。これらの効果は, nitroglycerineでは現れず, glybenclamide, 5-HDで拮抗されたため, ミトコンドリア K_{ATP} channelの開口が関与していると考えられる。

34. 単離モルモット心室筋細胞における, 細胞収縮とミトコンドリアNADH蛍光の同時測定

城 日加里, 野間昭典, 松岡 達 (京都大学大学院医学研究科 細胞機能制御学)

【目的】興奮収縮連関におけるミトコンドリアの関与は多くは解明されていない。我々は, 活動電位, 細胞収縮, ミトコンドリアNADH自家蛍光を単一心筋細胞から同時測定することで, ミトコンドリアの関与を定量的に解析することを目的に実験を行った。

【方法】perforated patch下モルモット単離心室筋細胞から, 活動電位を記録すると同時に, 540 \pm 15 nmの透過光を細胞に照射し, edge detectorを用いて細胞長を測定した。さらに, 340 \pm 10 nmの励起光を照射し, NADH自家蛍光 (460 \pm 25 nm) を同時測定した。

【結果】刺激頻度を0.1 Hzから3.3 Hzに上げると収縮の増強に伴いNADH蛍光は上昇し, 0.1 Hzに戻すと一過性の上昇後コントロールレベルまで低下した。また, 刺激頻度を0, 0.1, 1.1, 2.2, 3.3 Hzと段階的にあげると頻度依存性にNADHは上昇した。

【考察】収縮頻度増加により, ミトコンドリアATP産生は亢進し, ミトコンドリアNADH蛍光は低下すると考えられる。しかしながら, 今回, 高頻度刺激によりNADH蛍光が上昇した。このことより, 収縮増加に伴いミトコンドリアNADH産生を亢進させるメカニズムが存在することが示唆された。