

## 第240回生理学東京談話会

日 時：平成16年9月1日（水）  
 会 場：国際文化会館 講堂 13：00～16：50  
 座 長：井上富雄（昭和大学歯学部口腔生理学）  
 鬼丸 洋（昭和大学医学部第二生理学）

## 特別講演

**SYNAPTIC ACTIVITY-INDEPENDENT PERSISTENT PLASTICITY IN ENDOGENOUSLY ACTIVE MAMMALIAN**

**MOTONEURONS.** J.L. FELDMAN, C.M. BOCCHIARO, N.V. NEVEROVA & S.A. SAYWELL. (Department of Neurobiology, David Geffen School of Medicine, University of California Los Angeles, Los Angeles, CA, USA.)

Potential and depression of glutamate receptor function in hippocampal, cerebellar, and cortical neurons are examples of persistent changes in synaptic function that underlie important behavioral adaptations such as learning and memory. Persistent changes in synaptic function relevant for motor behaviors have not been demonstrated in mammalian motoneurons. We demonstrate that adaptive changes in AMPA receptor function at endogenously active synapses occur in motoneurons in neonatal rodents. We found a novel form of serotonin (5-HT ; Bocchiaro and Feldman, 2004) or  $\alpha_1$ -adrenergic (Neverova, Saywell and Feldman, submitted)-dependent synaptic plasticity in hypoglossal (XII) motoneurons - which control tongue muscles affecting upper airway function. Episodic, but not continuous, activation of postsynaptic serotonin-type 2 (5-HT<sub>2</sub>) or  $\alpha_1$ -adrenergic receptors on XII motoneurons leads to long-lasting increases in their AMPA-mediated respiratory drive currents and associated XII nerve motor output. This plasticity is metamodulated by metabotropic glutamate receptors (mGluRs) and requires activation of protein kinase C (PKC). Antagonism of group-I mGluRs blocks induction of the serotonin or  $\alpha_1$ -adrenergic-induced increase in excitability. We propose that this activity-independent postsynaptic serotonin/ $\alpha_1$ -adrenergic-mediated plasticity represents the cellular mechanism underlying long-term facilitation (LTF), i.e., persistent increases in respiratory motor output and ventilation seen in humans and rodents in response to episodic hypoxia. Loss of activity in XII motoneurons is common

during sleep causing snoring and in serious cases, airway obstruction which interrupts breathing, a condition known as obstructive sleep apnea. These results may provide the basis for rationale development of therapeutics for obstructive sleep apnea in humans.

Bocchiaro CM, Feldman JL (2004) Synaptic activity-independent persistent plasticity in endogenously active mammalian motoneurons. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA* 101 : 4292-4295

Neverova NV, Saywell SA, Feldman JL (Submitted) Episodic stimulation of  $\alpha_1$ -adrenoreceptors induces PKC-dependent persistent changes in motoneuronal excitability *in vitro*

**1. Centrifugal inputs modulate conditioned taste aversion associated parabrachial neuronal activities in rats**

○時田賢一<sup>1</sup>, 山本 隆<sup>2</sup>, 井上富雄<sup>1</sup> (<sup>1</sup>昭和大学歯学部口腔生理学講座, <sup>2</sup>大阪大学大学院人間科学研究科行動生理学研究分野)

味を経験した後に中毒症状を経験すると、以後その味を嫌悪するようになる現象を味覚嫌悪学習 (CTA) という。げっ歯類における味覚の第二次中継核である結合腕傍核を破壊するとCTAの獲得を著しく阻害することが知られている。我々はCTAを獲得させて食塩の味が嫌いにさせると、麻酔下ラットの結合腕傍核アミロライド感受性食塩ベストニューロンの食塩に対する応答が増大することを示し、CTAによって結合腕傍核の味覚情報処理が変化していることを明らかにした。また、結合腕傍核味応答ニューロンに対する味覚上位中枢の電気刺激の効果を調べたところ、味覚嫌悪学習を獲得している実験群のラットにおいて、扁桃体中心核の電気刺激が統制群よりも有意に多数の結合腕傍核ニューロンを興奮させた。同様の実験を、CTAを獲得させた後に上丘レベルで除脳したラットを用いておこなうと、食塩に対する応答の増大は認められなくなった。これらの結果は、アミロライド感受性食塩ベストニューロ

ンが食塩の味覚情報処理に関与すること、およびCTAによる味応答の変化には、扁桃体中心核から結合腕傍核への興奮性の下行性入力が必要な役割を果たしている可能性を示唆する。

## 2. Role of aquaporins in secretory granules in parotid gland

### 耳下腺分泌顆粒におけるアクアポリンの役割

○杉谷博士<sup>1</sup>、松木美和子<sup>2</sup>、橋本貞充<sup>2</sup> (日本大学松戸歯学部生理学教室,<sup>2</sup>東京歯科大学病理学講座)

アクアポリン (AQP) は水分子の透過を促進する水チャネルとして知られているタンパク質であり、唾液腺、腸管、胆管、腎臓などの多くの上皮性組織の細胞膜に局在している。近年、AQPが腎臓の細胞内輸送小胞や、膵臓の分泌顆粒に局在していることが報告されている。我々はラット耳下腺分泌顆粒におけるAQPの局在を検討した。その結果、耳下腺腺腔膜には既に発現が認められているAQP5が分泌顆粒膜に存在することが、イムノプロット法および免疫組織化学法により認められた。また、耳下腺腺房細胞におけるAQP6のmRNAの発現をRT-PCRにより確認し、免疫組織化学法およびイムノプロット法により分泌顆粒膜における局在も確認した。次に、分泌顆粒を抗AQP5抗体あるいは抗AQP6抗体で処理をすると、分泌顆粒の溶解が認められた。この溶解効果は、分泌顆粒に存在しないAQPに対する抗体では認められなかった。抗AQP5抗体による分泌顆粒の溶解は、反応液中の塩素イオンを除くことにより阻害された。AQP5はクロライドイオンを透過しないことから、分泌顆粒に存在するクロライドチャンネルを介した水の動きに関与した浸透圧調節に関わるものと考えられる。

## 3. Augmentation of central respiratory CO<sub>2</sub> responsiveness with cholinesterase inhibitors : possible medicine for alveolar hypoventilation syndromes

### コリンエステラーゼ阻害による中枢呼吸化学受容機構の活性化

○岡田泰昌<sup>1</sup>、桑名俊一<sup>2</sup> (慶應義塾大学月が瀬リハビリテーションセンター内科,<sup>2</sup>帝京大学医学部生理学)

ラット延髄腹側表層部における呼吸化学受容神経回路網機能の薬理的活性化法の開発を目的とした。in vivo成熟ラットにおいてアセチルコリン合成酵素であるコリンアセチルトランスフェラーゼ (ChAT) 免疫染色と二酸化炭素吸入により誘導されたc-fos発現の二重染色を行ったところ、我々が二酸化炭素リセプターと考えている延髄最表層部の小型細胞においてChATとc-fosの二重染色陽性を

認めた。そこで延髄表層部における呼吸化学受容神経回路網ではアセチルコリンが重要な神経伝達物質であると考え、中枢呼吸化学受容神経回路網を活性化するため、コリンエステラーゼ阻害剤投与による内因性アセチルコリン作用増強の効果を検討した。新生ラット摘出脳幹脊髓標本およびin vivo成熟ラットにおいて、各種コリンエステラーゼ阻害剤 (neostigmine, physostigmine, donepezil) は、二酸化炭素呼吸応答を増強した。特にアルツハイマー病治療剤として開発されたdonepezilは、血液脳関門を通過し、比較的副作用が少ないため、二酸化炭素呼吸応答の改善剤として有望な薬剤であると考えられた。

## 4. Central histamine affects breathing pattern during hypercapnia

### 高炭酸ガス吸入時の中枢ヒスタミン神経系の呼吸パターンへの影響

○宮本謙一<sup>1,2</sup>、岩瀬みち子<sup>1</sup>、木村 弘<sup>2</sup>、本間生夫<sup>1</sup> (昭和大・医・第二生理,<sup>2</sup>奈良県立医科大・第二内科)

中枢ヒスタミン神経系は脳幹部の呼吸調節に関与する部位に神経線維を投射しているが呼吸への影響は明らかではない。今回我々は9-10週齢雄、無麻酔のヒスタミンH1受容体欠損 (KO) マウスおよび野性型 (WT) マウスの3-9% CO<sub>2</sub>ガス吸入時の換気応答を測定した。PaCO<sub>2</sub>の増加に伴う分時換気量 ( $\dot{V}_E$ ) の増加は2群間で差がなかったが、KOマウスではWTマウスと比べ呼吸数 (RR) 値が低く、一回換気量 ( $V_T$ ) 値が高かった。 $V_T$ -吸気時間 ( $T_I$ ) 関係は両群とも双曲線に回帰され、KOマウスではWTマウスと比べ右上方にシフトしており、吸息のoff-switchの閾値が高いため吸息の終了が遅れると考えられた。両側迷走神経切断後に麻酔から覚醒させたマウスでは、CO<sub>2</sub>ガス吸入により $T_I$ は変化せず $V_T$ のみ変化し、KOマウスではWTマウスに比べ $T_I$ が延長しており、このoff-switchの変化に迷走神経は関与しないと考えられた。以上より、KOマウスでは吸息のoff-switchと呼吸リズム生成の変化により呼吸パターンが変化していると考えられ、中枢ヒスタミン神経系が呼吸パターン形成に影響している可能性が示唆された。

## 5. Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase II regulates the potentiation of L-type Ca<sup>2+</sup> current during alpha1-adrenoceptor stimulation in rat ventricular myocytes

$\alpha_1$  アドレナリン受容体刺激によるラット心室筋L型Ca<sup>2+</sup>電流の増大はCa<sup>2+</sup>/カルモジュリン依存性キナーゼ II (CaMK II) によって調節されている

○大内 仁<sup>1</sup>, 小武海公明<sup>2</sup>, 草刈洋一郎<sup>1</sup>, 平野周太<sup>1</sup>, 川井 真<sup>2</sup>, 本郷賢一<sup>2</sup>, 栗原 敏<sup>1</sup> (東京慈恵会医科大学・生理学講座第2, <sup>2</sup>同・循環器内科)

【目的】 $\alpha_1$ アドレナリン受容体刺激 ( $\alpha_1$ ARS) による哺乳類心室筋L型 $\text{Ca}^{2+}$ 電流 ( $I_{\text{CaL}}$ ) の変化は測定方法によって異なる。ホールセルパッチクランプ法では $I_{\text{CaL}}$ は変化しないが、穿孔パッチクランプ (PP) 法では増大する。我々は $\alpha_1$ ARSによる $I_{\text{CaL}}$ の増大効果には細胞内 $\text{Ca}^{2+}$ または $\text{Ca}^{2+}$ 依存性蛋白質が関係していると考え、 $\text{Ca}^{2+}$ /カルモジュリン依存性キナーゼ II (CaMK II) の関与を検討した。【方法】ラット心室筋細胞を用いて、室温下でPPを用い、支持電位 (-40mV) から0mVへの200msの脱分極パルスをもとに10秒毎に与え $I_{\text{CaL}}$ を測定した。フェニレフリン (Phe) によって誘起される $I_{\text{CaL}}$ の増大効果に対するCaMK II阻害薬 (KN-93, 0.5  $\mu\text{M}$ ) の効果を検討した。【結果】高濃度Phe ( $\geq 10 \mu\text{M}$ ) 作用下では、 $I_{\text{CaL}}$ は約2分間で10%減少した後、徐々に上昇する2相性変化が、低濃度Phe (1  $\mu\text{M}$ ) では上昇相のみの一相性変化が観察された。KN-93は、両効果のうち上昇相だけを消失させた。【結語】 $\alpha_1$ ARS時のラット心室筋 $I_{\text{CaL}}$ の増大にはCaMK II活性が寄与している。

## 6. The effects of sympathetic agonists and antagonists on blood fluidity of rats

交感神経作動薬および遮断薬がラット血液流動性に与える影響

○石川慎太郎, タインライン, 須永美歌子, 佐藤孝雄, 久光 正 (昭和大学医学部第一生理学教室)

ストレスが循環系に様々な影響を及ぼすことは良く知られている。しかし、ストレスの血液に対する影響については報告が少ない。我々はこれまで種々のストレスが血液の流動性に悪影響を及ぼすことを報告してきた。今回はストレス負荷時に作動する交感神経系および副腎髄質系に着目し、その作動薬と遮断薬の血液流動性に対する影響をウイスター系雄性ラットにより調べた。薬物腹腔投与後、ペントバルビタール麻酔下で採血した血液にヘパリンあるいはEDTA-2Kを添加して凝固を阻止し、菊池式Micro Channel Array Flow Analyzerを用いてその流動性を調べた。この装置は毛細血管を模した間隙を血液が通過する時間をもって血液流動性の指標とするものである。対照群には生理食塩水を投与した。血液通過時間は、 $\alpha$ 作動薬としてフェニレフリンおよび $\beta$ 遮断薬としてプロプラノロール投与により有意に増加した。また、 $\alpha$ 遮断薬としてフェントラミンおよび $\beta$ 作動薬としてイソプロテレンール投与により有意に減少した。以上の結果から、血液流動性は、 $\alpha$ 作動

薬と $\beta$ 遮断薬で低下し、 $\alpha$ 遮断薬と $\beta$ 作動薬で増加することが示唆された。

## 7. Effect of clonidine on colonic motility in rats

ラット大腸運動に及ぼすクロニジンの影響

○梅澤輝泰, 郭 試瑜, 内藤美智子, 萩原久子, 久光 正 (昭和大学・医学部・第一生理)

本研究では、ラットを用いて、大腸運動に及ぼすクロニジンの影響、およびその作用部位について検討した。実験は、麻酔下ラットの大腸運動 (*in vivo*) または、摘出したラット大腸の収縮 (*in vitro*) を対象とした。*in vivo* では、10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  のクロニジン (i.v.) により平均約27.0分間の大腸運動の抑制が認められた。また、0.2  $\mu\text{g}$  のクロニジン (i.c.v.) により平均約31.3分間の抑制が認められた。どちらも生理食塩水の対照と比較して有意な抑制であった。これらのクロニジンによる大腸運動抑制作用は、 $\alpha_2$ 受容体拮抗剤であるヨヒンビン (i.v.およびi.c.v.) の前投与により拮抗されたが、 $\alpha_1$ 受容体拮抗剤であるプラazosin (i.v.およびi.c.v.) の前投与では拮抗されなかった。*in vitro* では、0.02mg/mlのノルアドレナリン灌流により著しい大腸運動抑制作用を認めたが、0.1mg/mlのクロニジン灌流では、大腸運動に変化は認められなかった。以上の結果は、クロニジンが大腸に直接作用するのではなく、中枢の $\alpha_2$ 受容体の活性化を通じて、ラット大腸運動を抑制することを示唆している。

## 8. Attenuating effect of mexiletine hydrochloride on herpes-related pain in mice

塩酸メキシレチンの帯状疱疹痛抑制作用

浅野和仁<sup>1</sup>, 白澤 浩<sup>2</sup>, 稲垣正博<sup>3</sup>, 小口勝司<sup>3</sup>, 久光 正<sup>1</sup> (昭和大学医学部第一生理学教室, <sup>2</sup>千葉大学医学部ウイルス学教室, <sup>3</sup>昭和大学医学部第一薬理学教室)

塩酸メキシレチン (MX) はリドカイン様の構造を有する抗不整脈薬で神経因性疼痛、特に糖尿病性有痛神経障害や帯状疱疹後神経痛の第一選択薬として使用されているものの、作用機序に関しては不明な点が多い。そこで今回、単純ヘルペスウイルス (HSV) 感染マウスを用いてMXの帯状疱疹痛に対する効果を検討したので報告する。

BALB/c系雌マウスの大腿部にHSVを経皮接種することによってHSV感染マウスを作製した。HSV接種後5日目から水疱が出現するとともに痛覚閾値の有意な低下が観察された。このHSV感染による痛覚閾値の低下は17.5mg/kg以上のMX投与によりほぼ完全に抑制された。次に、HSV感染マウスから脳と視床下部さらには橋と延髄を摘出、これら組織の $\beta$ エンドルフィンならびにノルア

ドレナリン含有量を調べたところMX投与によりβエンドルフィンの著明な増加が観察された。これらの結果はMXが中枢に作用しβエンドルフィン依存性の下行性疼痛抑制系を賦活化、HSV感染による疼痛閾値の低下を阻止していること、さらにはMXが急性帯状疱疹痛の治療に有用であることを示唆している。

#### 9. Determination of brain sites activated by propofol administration in rats

##### 静脈麻酔薬により活性化される脳内部位の同定

○久保田伊柄子<sup>1</sup>、坪井美行<sup>2</sup>、大井良之<sup>1</sup>、岩田幸一<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup> 日本大学歯学部歯科麻酔科, <sup>2</sup> 日本大学歯学部生理学教室)

目的：プロポフォール（PRO）は臨床において頻用されている静脈麻酔薬の一つであるにもかかわらず、その作用機構はほとんど解明されていない。その一端を解明する

目的で、ラットの脳波および顔面皮膚の定量熱刺激により発現するFos陽性細胞を指標に、脳内活性化部位の検索を行った。

方法：SD雄性ラットを用い、PROあるいはペントバルビタール（PENT）を投与（i.v.）し自発呼吸下で脳波を記録した。麻酔の深度をlight stage, middle stage, deep stageに分類した。middle stage, deep stageにおいて、右側口髭部に50℃の熱刺激を15分間与え、1時間後に灌流固定し、通法にしたがってFos免疫染色を施した。

結果：middle stageでは、低振幅波の間に時折約200μVの高振幅波の出現を認め、deep stageでは、脳波は平坦化し低振幅化した。PRO投与ラットでは、熱刺激により痛覚伝導路だけでなく、脳内の多くの部位に多数のFos陽性細胞を認めたが、PENT投与ラットではどの領域においても発現量は少なかった。