

第37回東北生理談話会

日 時：2004年10月16日（土）および17日（日）

会 場：長陵会館記念ホール [仙台]

当番幹事：東北大学大学院医学系研究科

細胞生理 丸山芳夫

生体システム生理学 丹治 順

1. 新規アルツハイマー病治療薬の脳内NMDA受容体の賦活作用

森口茂樹¹，橋橋敏夫²，福永浩司¹（¹東北大学大学院・薬学研究科・薬理学分野，²ノースウエスタン大学・医学部・分子薬理生化学）

アルツハイマー病患者の脳内では，アセチルコリン神経系と同様にグルタミン酸神経系の機能低下も認められ，特に，NMDA受容体の減少が報告されている．NMDA受容体は，長期増強現象に関与しており，学習，記憶の獲得に関して，重要な役割を担っている．我々は，ニコチン性アセチルコリン受容体に作用するnefircetam (NR)に注目しており，最近，電気生理学的手法を用いてNRが1.0-10.0nMの濃度で約180%のNMDA受容体の活性化を引き起こすこと，またアルツハイマー病治療薬であるgalantamine (GT)がラット大脳皮質神経細胞のNMDA受容体に対して0.1-1.0 μMの濃度において約140%の活性化を引き起こすことを報告した．NRはGTに比べてより低濃度でNMDA受容体機能を高めた．我々は，ニコチン性アセチルコリン受容体において，NRがGTに比べて低濃度で受容体機能を亢進することを報告しており，これらの結果よりNRはアルツハイマー病患者に対して従来の治療薬よりも有効である可能性が示唆された．また，NRとGTがNMDA受容体の賦活作用を合せ持つことを初めて明らかとした．

2. 延髄 最後野 area postrema ニューロンにおけるシナプス活動とその修飾

河 和善（東北大学大学院 医学系研究科 生体情報学分野）

延髄背側にある最後野は脳血管閥門が不完全でいわゆる脳室周囲器官に属す．しかしその機能は不明の点が多い（化学受容器説ほか）．生後7-30日令のラットより脳幹切片標本（厚さ150-200 μm）を作り同ニューロンよりwhole-cell電流を記録した．ニューロンは比較的小型であるが，GABA，glycine，glutamate，AChに反応した．また興奮性と抑制性のシナプス後電流（EPSC，IPSC）が観

察された．今回はIPSCの解析結果を述べる．1．ビキュキュリン（10-20 μM）存在下には自発的IPSCもhigh K⁺刺激誘発によるIPSCもほぼ完全に消失した．従ってこれらのIPSCは主にGABA（A）受容体によるCl⁻電流であり，glycine受容体の関与は僅かである．2．ニコチン（5-100 μM）あるいはnACh agonistsを投与するとIPSCの発生頻度が激増した．ニコチン誘発性IPSCは活動電位発生を抑制するフグ毒（tetrodotoxin，1 μM）添加後にも生じた．3．結論：最後野のGABA神経終末上にはnicotinic ACh受容体が存在し強力なpresynaptic facilitationを引き起こす．

3. CaM キナーゼ II と MAP キナーゼ を介する時計遺伝子の発現

福永浩司¹，野村和美¹，柴田重信²，竹内有輔¹（¹東北大学大学院・薬学研究科・薬理学分野，²早稲田大学・理工学部・電気情報生命工学科）

私達は阻害剤の脳室内投与の実験からハムスターの光刺激による体内時計リセット機構にCaMキナーゼII（CaMKII）の活性化反応が必要であることを報告した．体内時計リセット機構には視交叉上核ニューロンにおけるNMDA受容体の活性化反応と細胞内カルシウム上昇に伴う時計遺伝子 *per1*，*per2* の誘導が必須である．しかし，時計遺伝子誘導の分子機構は不明である．本研究ではNMDA受容体介して活性化されるCaMKIIとMAPキナーゼ（MAPK）の役割について検討した．*mPer1* 遺伝子のプロモーターにはCaMKII反応エレメントが存在していた．MAPKもCaMKIIと協調して*mPer1* 遺伝子発現を引き起こした．*per1*，*per2* はリセット機構のみならず体内時計の概日リズム形成にも関与している．本研究ではハムスターの視交叉上核において明らかなCaMKIIとMAPK活性の概日リズムを確認した．以上の結果はCaMKIIとMAPKは光刺激に伴う体内時計リセット機構のみならず体内時計の概日リズム形成にも関与することを示唆している．

4. 笑いによって生ずる脳波及び呼吸・心臓拍動の変化

柳 昌宏, 渡邊康子, 鈴木新悟, 一ノ瀬充行 (岩手大学工学部 福祉システム工学科)

「笑い」の状態における「面白い」という感情の客観的評価のために、脳波と呼吸・心臓拍動を解析した。刺激として、「面白い」静止画 (20枚各15秒間) またはビデオ (音声無し) を提示した。脳波は、EEG-1100 (日本光電) を用い、頭皮上25ヶ所から計測した。記録は、画像提示前5分間と、画像提示中5分間、及び画像提示後10分間の合計で約20分間行った。実験終了後、再度被験者に画像を見てもらい、主観的な面白さの評価もしてもらった。まず、 δ 波帯域で両側の前頭極で、画像提示により振幅が抑制する傾向がみられた。 θ 波帯域でも同様な変化がみられた。 α 波帯域では両側の中側頭 (T7, T8) で、画像提示による面白さの程度に応じて振幅の促進がみられた。 β および γ 波帯域で、より大きな増大がみられた。画像提示中の平均呼吸間隔は、画像提示前後の平均呼吸間隔より短かった。画像提示中の平均心拍頻度は、画像提示前後の平均心拍頻度より少なかった。以上より、画像提示中において、 δ ・ θ 波帯域の振幅抑制より覚醒レベルの上昇、 β ・ γ 波帯域の振幅の増大により精神集中・思考の上昇、呼吸数・心拍頻度の変化より副交感神経系の優位が考えられる。本研究により、感性評価の可能性が示唆される。

5. マウス顎下腺腺房細胞におけるストア枯渇性 Ca^{2+} 流入経路

福士靖江, 大佐賀 敦, 丸山芳夫 (東北大学大学院医学研究科, 細胞生理)

[目的, 方法] スストア枯渇性Ca流入経路についてCa選択性の高いものについては詳細な研究がなされているが、組織により性質の異なる経路があることは否定できない。筆者らは顎下腺におけるこの流入経路の性質を検討することを目的とし、顕微蛍光測光法により細胞内Ca濃度を測定した。[結果] サブシガルジン (TG) を還元して細胞に与えると、約18分でストアの枯渇が終了する。外液にCaを投与すると、Ca流入はただちに起こる。多くの場合2相性のようであるがはっきりとした区別は出来ない。一方、TGを37℃で5分、室温に戻して18分後にCa流入をみると、はじめに急峻な、それに続いて緩やかなCa上昇の山がみられた。この2相性のCa流入は、はっきりと区別が出来た。第1相は2mM Znで抑えられたが、第2相は抑えられなかった。両相共にNi, 90mMK外液でほぼ完全に抑えられた。ACh最大濃度でCa流入を起こさせると、ただちにCa流入があり、その後に静止レベルをやや上回る位の小さなCa流入が見られ、2相性であった。第1相は

TG処理細胞の約1/4でありかつZn²⁺感受性で、第2相はZn非感受性であった。両者共にNi, 90mMK外液で抑制された。

6. 随伴陰性変動 (CNV) および自律神経機能解析による精油の生理学的効果の解明

渡邊康子, 山内貴子, 一ノ瀬充行 (岩手大学 工学部 福祉システム工学科)

本研究では、ローズマリー精油とラベンダー精油の効果を明らかにすることを目的として、CNVと自律神経機能の解析を行った。ローズマリー刺激では、Controlに対し左脳T3でCNV面積の平均値が有意に増加し、P3, T5, P9, O1, 右脳のF4でCNV面積が増加する傾向があった。これは大脳皮質が活性化し、よりCNV試行に集中したことを反映すると考えられる。この結果には左右差があり、左側F7は変化がなく、反対側F8では有意に抑制された。また左側T3では有意に増加したが、反対側T4に変化はなかった。一方、ラベンダー刺激では全ての部位でCNV面積が減少した。特に正中前頭Fz, 右脳F8, C4, P4, T6, O2で有意に減少していた。これは、ラベンダー芳香により大脳皮質全体の機能が低下し、リラックスしていることを反映すると考えられる。さらに、呼吸間隔平均はラベンダー、ローズマリーともに有意に増加した。またCNV記録中は呼吸間隔が短く、ばらつきが減少した。心拍間隔平均では有意な変化は認められなかった。したがって、ラベンダー精油には鎮静作用が、ローズマリー精油には集中力を高める効果があることが分かった。また、両精油により呼吸間隔が変化することも明らかとなった。

7. 2つのピークを有する急速眼球運動の反応時間生成機序に関する定量的解析

蔵田 潔, 相澤 寛 (弘前大学医学部第二生理)

視覚誘導性の衝動性眼球運動 (サッカド) では、多くの場合目標点呈示後150-250ミリ秒で運動が開始されるが、注視点消灯後200ミリ秒程度のギャップ期間においてから目標点を呈示すると約100ミリ秒の反応時間で開始されるサッカドが顕著に生じ、反応時間分布には2つのピークを形成することが知られている。サッカドの反応時間の分布に関して最近提唱されたLATER (Linear Approach to Threshold with Ergodic Rate) モデルでは、目標点点灯後の試行ごとに確率分布的なペースで漸増する神経活動が一定の閾値に達したときに運動が開始されるとされている。本研究では、反応時間の切り替えに際して上位中枢がサッカド生成中枢に対してどのような調節をしているのかを調べることを目的としてこのモデルを適用し、

反応時間分布の差異を検討した。ギャップの存在に加えて、目標点を運動開始前にあらかじめ指示した場合とそうでない場合とを有するサッカー課題とを用い、非接触型眼球運動測定装置でヒト被験者の眼球運動を計測した。二つの課題で得られた反応時間分布を統計学的に定量解析し比較した結果、指示を与えたときに閾値が二相性に变化することを示唆する結果を得たので報告する。

8. Electrical stimulation of laterodorsal tegmental nucleus evokes penile erection

Toledo, Juan C¹, Koyama, Y¹, Iwasaki H¹, Schmidt MH², Kayama, Y¹. (¹Dept. of Physiol., Fukushima Medical Univ. Sch. Med., Fukushima 960-1295, Japan.; ²Ohio Sleep Medicine and Neuroscience, Dublin, OH, USA.)

In previous recording experiments it has been shown that the laterodorsal tegmental nucleus (LDT) neurons augment their activity during penile erection in paradoxical sleep. LDT neurons are thus involved in penile erection physiology. However their role during erection still remains to be resolved.

In head-restrained unanesthetized rats the LDT and its surroundings were electrically stimulated using carbon fiber electrodes. Electrical stimulation consisted of rectangular pulses of less than 200 μ A, 3 s, 50 Hz. In addition, cortical EEG, neck muscle EMG, Bulbospongiosus muscle (BS) EMG and pressure of the corpus spongiosum of the penis (CSP) were coincidentally recorded. Penile erection pressure was measured using a telemetric transducer. Postliminary histological brain sections were made to confirm the position of the electrical stimulus. Penile erection could be evoked in and around the LDT. This study suggests that the LDT is involved in the regulation of penile erection.

9. ラット膀胱上皮細胞の初代培養系の確立

百田芳春, 中村靖夫, 篠崎幸代, 仁村俊枝, 河谷正仁 (秋田大学・医・機能制御医学講座)

はじめに：近年、膀胱上皮細胞が種々のシグナルを放出することが報告され、膀胱上皮細胞の膀胱平滑筋及び神経系における相互作用が注目されている。そこで我々は膀胱上皮細胞の機能を知るために初代膀胱上皮細胞培養系の確立を試みた。方法：膀胱上皮細胞層をラット膀胱から酵素法によって剥離し、細胞を分散させ、培養ディッシュに播種した。サブコンフルエントに達した培養細胞からタンパク質を抽出し、ウエスタンブロット法に供した。結果：無

血清選択培地で培養し、培養3、4日後にコロニーが形成され、混在した繊維芽細胞はほぼ消失した。培養後7日から12日にかけてコロニーが拡大しコンフルエントに達した。膀胱上皮細胞のマーカーの検出を試みた。膀胱上皮細胞のマーカーとして知られているサイトケラチン17は検出されたが、ウロプラキニンIIIは検出されなかった。考察：本培養において、膀胱からサンプリングされた培養細胞からサイトケラチン17が検出されたことから、膀胱上皮細胞であることが示された。しかし、ウロプラキニンIIIが検出されなかったことから、本膀胱上皮細胞は最終段階に分化した状態ではないと考えられる。

10. ピエゾ素子を利用したマウス心音・呼吸活動の計測

佐藤紳一, 山田勝也, 稲垣暢也 (秋田大学医学部・機能制御医学講座・細胞制御学分野)

近年、遺伝子改変マウスを用いた研究が盛んになり、マウスの生理機能計測の必要性が高まっている。今回、麻酔下のマウスの身体の下にピエゾ素子を配置し、検出された振動信号から新規に考案した回路を用いて心音ならびに呼吸振動を分離した。分離検出された心拍数および呼吸数と、心電図から得られた心拍数および口元に配したサーミスタセンサーから得られた呼吸数とは極めて高い一致を示した(それぞれ $r = 0.995$ および 0.997)。本装置を用いてC57BL/6マウス (1.8g/kg, ip) の心音および呼吸振動をウレタン麻酔下で計測したところ、11匹中9匹で両者に周期2~5分の規則的変動を認めた。心拍数と心音振幅、更に呼吸数と呼吸振幅の変動周期は一致していたが、心拍数と心音振幅など相互の位相は一致する場合と半周期までずれる場合があった。また同時記録した脳波には同一周期の振幅変動を認め、特に一過性の呼吸変動と脳波変動の間に興味深い相関が認められた。本手法は心拍数、呼吸数のみならず、心音および呼吸に伴う胸郭などの動きの情報と同時に検出を可能にするもので、さらに非侵襲的で他の計測手法との組み合わせも容易であることから、今後種々の病態や特定分子の機能解析への応用が考えられる。

11. 膀胱刺激症状における α_{1A} 受容体サブタイプに関する検討

中村靖夫¹, 百田芳春¹, 仁村俊枝¹, 篠崎幸代¹, 王小軍¹, 辻本豪三², 田上昭人³, 河谷正仁¹ (¹秋田大・医・機能制御医学, ²京都大院・薬・ゲノム創薬科学分野, ³国立成育医療センター・薬剤治療研究部・分子薬理研究室)

膀胱を刺激する薬剤のひとつである酢酸溶液 (AA) を膀胱内に灌流し、 α_{1A} および α_{1D} 受容体ノックアウトマウ

ス (KO) における反応を比較した。 α_{1A} KOとその野生型 (WT), α_{1D} KOとそのWTを麻酔し, 膀胱瘻を作成し, 膀胱内に灌流液を一定速度で注入しながら, 内圧を測定. 生理食塩水の注入によりコントロール値 (C値) を測定後, 0.1% AAを持続注入した. α_{1A} KOも α_{1D} KOもそれぞれのWTとの間で排尿間隔 (ICI) および最大排尿圧 (MVP) にC値では差を認めなかった. ICIは α_{1A} KO (C値: 580秒, AA注入時: 127秒), α_{1A} WT (C値: 338秒, AA注入時: 70秒) および α_{1D} WT (C値: 657秒, AA注入時: 281秒) において0.1% AAの注入で有意に短縮した. α_{1D} KOでは0.1% AAを注入してもICIは変化しなかった (C値: 727秒, AA注入時: 715秒). MVPはいずれの群においても0.1% AAの注入で有意な変化を認めなかった. α_{1D} 受容体が膀胱刺激症状に関与している可能性が示唆された.

12. ヒト近位尿細管K⁺チャネルの活性調節に関わるNO合成酵素 (NOS) アイソフォームの特定

中村一芳, 平野順子, 久保川 学 (岩手医大・医・第2生理)

腎近位尿細管細胞のK⁺チャネルはNa⁺/K⁺ポンプとともに, この部でのNa⁺再吸収の駆動力を作り出す要な役割を担っている. 我々はこれまで, 正常腎由来の培養ヒト近位尿細管細胞にパッチクランプ法を適用し, この細胞で最も高頻度に発現しているK⁺チャネルがATP依存性の内向き整流性K⁺チャネル (Gi: 40pS/Go: 7pS) であり, その活性はNOによって変化することを報告してきた. チャネル活性は非特異的NOS阻害剤のL-NAME (100 μ M) により低下し, NOS基質であるL-arginine (500 μ M) 投与で上昇したことから, このチャネル調節には内因性に産生されるNOの関与が示唆された. さらに, RT-PCRにてNOSアイソフォーム遺伝子発現の検索を行ったところ, iNOSの発現シグナルが全例において認められ, 一部の例ではeNOSシグナルも同時に検出された. また, nNOSおよびiNOS特異的な阻害剤であるTRIM (100 μ M) はL-NAMEと同等のチャネル抑制効果を示した. 以上から, 培養ヒト近位尿細管細胞の内向き整流性K⁺チャネルの活性調節にはiNOSが大きく寄与していると考えられる. 現在, eNOS発現の意義付け等さらなる検討を継続中である.

13. 単量体型G蛋白ARF1によるFMRFで発生するK⁺電流応答の調節

渡辺修二¹, 川崎 敏¹, 木村真吾¹, 藤田玲子², 佐々木和彦¹ (¹岩手医大・医, 第1生理, ²岩手医大・教養・化学)
Aplysia 腹部神経節の同定した細胞に, FMRFamideを

投与するとG_{i/o}蛋白の活性化を介してK⁺電流応答が発生する. この細胞に単量体型G蛋白ARF1 (class I ARF) に対するGEFの活性を特異的に阻害する試薬Brefeldin Aを細胞内注入すると, FMRFamideによるK⁺電流応答が著しく減少した. 逆に, ARF1のGTPase活性を促進する, 2-(4-Fluorobenzoylamino)-benzoic acid methyl ester (Exo1) を細胞内注入しても応答が著しく減少した. またARF1とそのeffectorとの相互作用を特異的に阻害する, ARF1のN末配列 (2-17) のペプチドを細胞内注入した場合にも応答が減少した. 一方, ARF1とは別のclassに属するARF6のN末配列 (2-12) のペプチドを注入した場合には, このような減少は起こらなかった. 以上の結果から, FMRFamideで発生するK⁺電流応答は, 単量体型G蛋白ARF1を介して促進的に調節されている可能性が示唆された.

14. ヒト近位尿細管細胞のCa²⁺依存性K⁺チャネル活性とそのゲート機構に対する細胞内Mg²⁺の効果

平野順子¹, 相馬義郎², 中村一芳¹, 久保川 学¹ (¹岩手医大医学部第二生理, ²大阪医大第一生理)

培養ヒト腎近位尿細管細胞には, コンダクタンスが約300 pSで細胞内Ca²⁺ ([Ca²⁺]_i) および膜電位 (V_m) 依存性を有するBKチャネルが存在する. 今回, パッチクランプ法を用い, このチャネルに対するmM濃度の細胞内Mg²⁺ ([Mg²⁺]_i) によるチャネル活性化効果とそのゲート機構を, 等濃度の [Ca²⁺]_i による効果と比較検討した. [Ca²⁺]_i 非存在下, あるいは10⁻⁵M以下で, 1~10mMの[Mg²⁺]_i を添加すると, 開口確率 (P_o) の上昇が認められたが, そのP_oの値は [Ca²⁺]_i 単独を等濃度に上昇させたときよりも低かった. しかし, 10⁻⁴Mの [Ca²⁺]_i 存在下で1~10mMの [Mg²⁺]_i を添加すると, [Ca²⁺]_i のみを1~10mMに上昇させた場合とほぼ同様のP_o上昇効果が得られ, P_o-V_m relationshipも同様にシフトした. さらに, このときのgating kineticsが互いに類似していた. 以上の結果から, [Ca²⁺]_i が10⁻⁴Mの条件下では, 1~10mMの[Mg²⁺]_i が等濃度の [Ca²⁺]_i と同様のメカニズムを介してこのチャネルを活性化する可能性が示唆された.

15. 咽頭・喉頭部の水刺激による嚥下誘発

矢作理花, 奥田・赤羽和久, 北田泰之 (岩手医科大学・歯・口腔生理)

咽頭・喉頭部において, 機械的受容器の他に水感受性受容器の興奮が嚥下誘発の役割を持つとされている. しかし, 咽頭・喉頭部に局限して与えた水刺激が嚥下誘発に有効であることの証拠はまだない. 本研究では水および0.05-

0.3M NaCl 溶液を細いチューブを通じて咽頭・喉頭部に局限して与えた。嚥下誘発の時間間隔は舌骨上筋群の表面筋電図より測定した。被験者にできるだけ繰り返し嚥下をするよう指示した。繰り返し唾液を嚥下した後の長い嚥下間隔を空嚥下時間とした。空嚥下時間の短い被験者は水あるいは0.3M NaCl 刺激による嚥下間隔も短く両刺激間で差はなかった。空嚥下時間の長い被験者ほど両刺激とも嚥下間隔は長くなり、0.3M NaCl 刺激の嚥下間隔は水刺激より長くなった。NaCl 刺激の嚥下間隔の延長はNaCl による水感受性受容体の抑制に起因すると思われる。空嚥下時間の個人差は唾液分泌量の違いによらず、機械的受容体の感受性の違いによると思われる。本実験結果は次のように説明される。空嚥下時間の短い被験者は機械的受容体の興奮が水感受性受容体のそれより速く現れるため水と0.3M NaCl 刺激の嚥下間隔に差が見られない。空嚥下時間の長い被験者は機械的受容体の感受性が低いので水感受性受容体の興奮が嚥下間隔に影響を与える。

16. 海馬スライスCA1ニューロンにおけるAMPA アゴニスト応答とEPSCのAMPA型成分の性質の比較

木村真吾¹、川崎 敏¹、藤田玲子²、渡辺修二¹、佐々木和彦¹ (¹岩手医大・医・第一生理、²岩手医大・教養・化学)

Rat 海馬スライスのCA1 pyramidal neuron を whole cell clamp 下、AMPA 受容体アゴニストを投与すると、ゆっくりとしたカチオン電流応答が発生した。AMPA を繰り返し投与した場合、投与間隔が短いと occlusion が見られたが、見かけ上の脱感作は観察されなかった。一方、同じ neuron の GABA 投与での Cl⁻ 電流応答では著明な脱感作が見られた。AMPA 受容体の脱感作を除去する 30 μM cyclothiazide (CTZ) 存在下では AMPA 応答の最大値は約 2.5 倍に増大したが、AMPA の繰り返し投与ではやはり occlusion のみが見られた。また、Schaffer collateral/association fiber を電気刺激して発生させた、同じ neuron の EPSC の AMPA 型成分は、上記濃度の CTZ 存在下で応答の最大値が増大したが、AMPA 応答に比べわずかでその増大率は約 1.3 倍であった。微小 EPSC でも同様の増大率であった。上記の結果から海馬の pyramidal neuron の EPSC の AMPA 型成分の発生時には脱感作がそれほど関与していない可能性が示唆された。

17. 海馬CA1領域の放線層に存在する介在ニューロン付随性グリア細胞の分類と機能

山崎良彦¹、八月朔日泰和²、金子健也¹、藤井 聡¹、加藤宏司¹ (¹山形大・医・神経機能、²山形大・医・組織

細胞生物学)

グリア細胞は電氣的に静かな細胞である、というこれまでの概念とは異なり、ニューロンの活動に対し積極的に関与していることが知られてきている。グリア細胞とニューロンの相互作用を直接実験的に調べるためには、両者が接近していることが重要である。そこで、本研究では、ニューロンの細胞体に付随しているグリア細胞 (PG) に着目した。両者の相互作用を検討する第一ステップとして、PGの電気生理学的・形態学的特徴について調べた。近赤外微分干渉顕微鏡による画像を観察しながら、PGの細胞体よりホールセル記録を行い、PGの静止膜電位と入力抵抗を記録した。その結果、PGは深い静止膜電位・比較的小さな入力抵抗を示した群と、比較的浅い静止膜電位・大きな入力抵抗を示した群との二つの群に分類することができた。バイオサイチンとグリア細胞の特異的抗体に対する二重染色により、前者がアストロサイト、後者がオリゴデンドロサイトであることがわかった。これらの結果は、PGとニューロンとの相互作用を調べる次のステップの生理学的研究において、グリア細胞のタイプを区別するための重要な手がかりを与えると考える。

18. 空間学習マウスにおける海馬苔状線維異所性投射の形態計測解析

八尾 寛 (東北大学大学院生命科学研究所脳機能解析分野、CREST, JST)

海馬苔状線維は、CA3 錐体細胞尖頭樹状突起基部に巨大なシナプスを形成する特徴があり、その投射領域は、CA3 stratum lucidum (SL) に局限している。しかし、てんかんモデル動物においては、CA3 stratum oriens (SO)、歯状回内分子層など通常苔状線維投射の認められない領域に異所性投射することが報告されている。われわれは、空間学習トレーニングを課したマウスにおいて海馬苔状線維がCA3 SOに異所性投射することを報告する。空間学習成立後に異所性シナプスが出現する部位について、海馬の中隔一側頭葉軸におけるパタンを形態計測的に解析した。純系マウス C57BL/6 に生後 21—27 日の間、モリス水迷路学習を課し、エーテル麻酔下に脳を固定し、ティム染色法により苔状線維の走行を3次元的に解析した。中隔側海馬に局限して、苔状線維投射領域の拡大が認められた。また、SO 投射については、コントロール群において通常認められない CA1 に近い部位に、学習群のシナプスが形成された。この異所性投射も中隔側海馬に局限していた。空間記憶の形成に付随して、中隔側海馬において苔状線維のシナプス新生が生ずると考えられる。

19. 運動前野における手の視覚像の運動制御

虫明 元^{1,2}, 落合哲治^{1,2}, 丹治 順^{1,2} (1東北大学大学院・医・生体システム生理分野, 2科学技術振興事業団)

スクリーンに映った手の視覚像を手で動かす到達課題において、運動前野は、手の視覚像としての移動や運動を反映するのか、実際の手の運動を反映するのかに関しては明らかにされてなかった。このような問題に答える課題として、手をカメラで撮影してスクリーン上に表示し、実際の手を見ないでスクリーン上の手の視覚像だけを見ながら、視覚像の指示された部位をターゲットへ移動する課題を工夫してサルを訓練した。スクリーンの像を左右反転させて、実際の手の運動と視覚像の手の運動が、異なる方向に移動するようにしたり、さらに、手の視覚像の位置を変えて行なわせた。このように視覚像移動課題を遂行中の動物の運動前野から細胞活動を記録し解析した。運動前野は、視覚像の運動制御情報を反映し、さらにその内部座標に依存した情報表現が見られた。手の像の位置の変化から、スクリーン上のターゲットの位置情報というより、手の視覚像からの運動の方向性により表現されていることが判明した。

20. フローリントランスジェニックマウスを用いた開口放出の測定

荒木力太 (東北大院・生命・脳機能解析)

我々は、pH感受性蛍光タンパク質であるフローリン (pHluorin) を用いた開口放出測定システムの開発を行ってきた。今回フローリントランスジェニックマウスが完成し、開口放出シグナルを測定することに成功したので報告する。作製したフローリントランスジェニックマウスは2系統に大別される。一つはCre/loxPシステムでフローリンの発現を制御するタイプで、部位特異的Creマウスと交配させることにより、部位特異的にフローリンを発現させることが可能である。もう一つはThy1プロモータでフローリンの発現を制御するものである。Thy1プロモータはフローリンをランダムに発現させる。このためある系統では、海馬歯状回顆粒細胞の一部にフローリンが発現した。この系統では個々の苔状繊維終末が同定可能である。フローリントランスジェニックマウスから海馬急性スライス標本を作製し、highK刺激により開口放出を誘発したところ、一過性の蛍光強度変化が見られた。プロトンポンプ阻害剤であるバフィロマイシン還流下では、蛍光強度の減少が抑制された。このため、蛍光強度の上昇は開口放出を、減少はエンドサイトーシスに続く小胞の酸性化を示していると考えられ、作製したトランスジェニックマウスで、開口放出を計測できることが確かめられた。