

第39回東北生理談話会

日 時：2006年10月27日（土），28日（日）

場 所：山形医学交流会館

当番幹事：山形大学 医学部 神経機能統御学分野 加藤宏司

参加人数：65名

演題数：24題

第39回東北生理談話会を上記のように開催しました。会場は山形大学医学部に新しく今年建築されたもので、27日の午後から28日の午前中に開催しました。参加者は65人で、演題数は24題の口演発表があり、活発な質疑応答がありました。談話会に参加したほとんどの方が27日の夕方の懇親会にも出席し、会員相互の懇親を深めました。座長や進行にご協力していただき、談話会が成功裏に終わることが出来ました。関係各位に感謝致します。

1. 心拍呼吸リズム間の位相同期指標に基づくストレス評価の試み

斉藤 拓, 齋藤 剛, 西館 泉, ○新関久一（山形大学・工学部・応用生命システム工学科）

ストレスが心肺系機能に与える影響は健康管理のための有用な情報であり、日常生活における体調の管理やストレスの定量化は労働安全衛生上の重要な課題である。しかし日々のストレスや体調を容易にかつ確度をもってモニタリングできる手法は提案されていない。本研究では心拍呼吸リズム間の位相差からストレス指標を抽出できないか検討を行った。精神的ストレス負荷として色覚認識と文字認識が競合するColor Word Test (CWT) を被験者13名（年齢 22.3 ± 1.2 ）に課した。心電図からR-R間隔、呼吸流速計から呼吸信号、容積補償法による最高血圧を計測した。心拍リズムゆらぎと呼吸流速波形をヒルベルト変換し、瞬時位相 ϕ を求め位相差 ψ を算出した。位相差から位相同期尺度 λ ($\lambda = \langle \cos\psi \rangle^2 + \langle \sin\psi \rangle^2$, $\langle \dots \rangle$ は時間平均)を求めた。対照を10分、精神ストレス負荷を15分、回復過程を10分記録した。CWT負荷直後に心拍数と最高血圧は上昇し、そのまま高いレベルを維持する被験者と一過性に上昇して対照レベルに戻る被験者が見られた。λはどの被験者もCWT負荷直後に有意に減少し、心拍呼吸リズム間の位相同期が崩れた。位相同期指標によるストレス評価の可能性について考察した。

2. エッセンシャルオイルの芳香刺激による体表温の変化

○佐藤 太, 一ノ瀬充行（岩手大学大学院・工学研究科・福祉システム工学専攻）

芳香療法における精油（エッセンシャルオイル）の生理学的作用を明らかにする目的で、赤外線サーモグラフィを用い顔面温度を測定した。発汗作用やそれに伴う冷却作用が知られているペパーミント精油の生体体表温への影響を検討した。また、血液循環への影響を調べるために血圧と心拍を測定した。実験室（約 6m^3 ）内で、アロマポットに1滴（約 $50\mu\text{l}$ ）を滴下し、芳香刺激を行った。温度測定は、実験室に入った後、体表温が一定に達してから計測を開始し、刺激前5.5分、芳香刺激後19.5分の全体で25分間行った。鼻部、口唇、前額、頬など5ヶ所の温度測定を行い、特に鼻部、口唇、頬において温度上昇がみられた。温度測定後、香りに対する内省を報告してもらった。被験者は、その香りに好感を持ち、覚醒作用と清涼感のある鎮静作用があると報告した。医療用体温計を用い腋窩温を測定したところ、芳香刺激後に約 0.4C の体温上昇がみられた。また、香りとは無関係に眠気により体温の下降傾向も認められた。以上の結果より、ペパーミントには体表温上昇作用があることがわかった。この効果は、ペパーミントの交感神経刺激作用による核心温度上昇や覚醒作用によることが示唆された。更に、皮膚の血液循環促進による可能性も考えられる。

3. ラップミュージック鑑賞時の中枢神経及び自律神経の活性変動

○高橋治樹, 一ノ瀬充行（岩手大学大学院・工学研究科・福祉システム工学専攻）

中枢神経及び自律神経の活性に対する音楽の影響を明らかにするために、脳波及び呼吸間隔・心電図を解析した。音楽刺激としては、「元気・快活」、「意気揚々」や「興奮・

刺激」などの印象を持つ Rap Music を用いた。脳波は、脳波計 EEG-1100 (日本光電) を用い、頭皮上の 25 箇所から計測した。記録は、音楽刺激前 5 分間と、音楽刺激中の約 5 分間及び音楽刺激後 15 分間の合計約 25 分間行った。実験終了後、用いた音楽に対する主観的な印象を、調査用紙をもとに評価してもらった。脳波において、 δ および θ 帯域で音楽提示により振幅の抑制傾向が見られた。 α 帯域では、後頭領域 (O1, O2) で最大の振幅増大傾向が見られた。 β および γ 帯域では、側頭領域 (T7, T8) で音楽による振幅増大が見られた。音楽提示中の呼吸間隔は、提示前より短縮された。心拍は、音楽鑑賞直後に一過性の増加がみられた。以上より、音楽提示により覚醒レベルの上昇が示唆され、 α 波帯域の振幅増大より視覚野を中心とする皮質活動の低下が示唆された。 β と γ 波帯域の側頭領域における振幅促進より、聴覚野関連の皮質の活性化が示唆された。また、呼吸間隔 (呼吸頻度) および心拍変動より Rap Music 鑑賞による交感神経系の活性化が示唆された。

4. 空中立直り反射における中脳被蓋のニューロン機構

○佐藤俊明, 岡 新洋, 沖藤和賢, 山口峻司 (山形大学・理工学研究科・生体センシング機能工学)

動物を仰臥位から落下させた時に空中で立ち直る反射は、中枢神経系が中脳のレベルまで健常でなければ誘発されない。このことから中脳が空中立直り反射に重要な機能を持つと言われてきたが、そのニューロン機構の詳細は明らかではない。

そこで本研究では①空中立直り反射に対する中脳被蓋の破壊効果, ②頸部伸筋活動に対する中脳被蓋の刺激効果, ③中脳被蓋部位の前庭耳石器入力を調べた。

実験にはウイスター系雄成ラットを用いた。①中脳上丘の両側全破壊では落下直後、頭部背屈が起り、長軸周りの回転と同時に、鉛直軸 (Z 軸) 回りに回転していた。頭部を下にした着地姿勢もあった。②, ③の実験には中脳上丘吻側で除脳したラットを用いた。②中脳被蓋に連続電気刺激 (33Hz, 100 μ A, 3-6sec) を与えると頸部伸筋の活動が上昇した。その部位は中脳被蓋内側 MLF 近傍と中脳網様体であった。③叩打刺激を用いて中脳被蓋ニューロンに対する前庭耳石器入力を調べた結果、二つの刺激有効部位の中で内側の MLF 近傍のみ耳石器入力認められた。

以上の結果から、空中立直り反射の中核は中脳被蓋内側部に存在すると推察された。

5. 中脳黒質網様体 GABA 作動性ニューロンの低グルコース応答

○山田勝也¹⁷, 菅 世智子¹², 武尾照子¹³, 牧野有希子¹³,

袁 宏杰¹, 稲垣暢也^{15,7}, 泉井 亮¹⁶ (弘前大・医・第一生理, ²弘前大・生涯学習教育, ³弘前大・医・保健・検査技術, ⁴秋田大・医・第一生理, ⁵京都大・院・糖尿病・栄養内科, ⁶国立弘前病院・臨床研究部, ⁷CREST-JST)

中脳黒質網様体 (SNr) ニューロンは、脳内で最も高頻度の持続的自発発火活動を示すが、その機能は眼球運動の制御を除いて十分明らかでない。我々は SNr ニューロンが、脳におけるエネルギー基質の低下を感知して神経活動に反映させる代謝センサーとして機能しているのではないかと考え、実際 SNr ニューロンが酸素低下時に ATP 感受性カリウムチャネルの開口を介して発火活動を低下させる事を脳スライスと単離細胞で、またグルコース低下時には活動を上昇させる事を脳スライスで報告したが、活動上昇の機序は不明である。今回低グルコース応答がシナプス伝達の変化によるものかどうか調べる為に、単離細胞に低グルコース刺激を行ったところ、活動上昇が認められ、シナプス伝達によらない機序が示唆された。一方スライスでは低グルコースやその他の刺激により急速なパルス状の活動上昇を示す細胞があり、周辺細胞が発火様式に影響を与える可能性がある。これらの結果も併せて紹介する。

6. Iptakalim はラ鳥・細胞の K_{ATP} チャネル活性を抑制する

○泉井 亮¹², 三崎直子²³, 菅 世智子¹, Jie Wu⁵ (国立病院機構弘前病院・臨床研究部, ²弘前大・医・第一生理, ³弘前大・医・保健・看護, ⁴弘前大・生涯学習教育研究センター, ⁵Barrow Neurological Institute)

Pinacidil 誘導体 iptakalim の睪 β 細胞に対する作用について検討し、以下の結果を得た。1) 睪 β 細胞を脱分極させ、活動電位を発生させた (100 μ M)。2) -90 から -50mV のランプ波に対する電流を濃度依存性に抑制した (0.01~100 μ M)。3) 細胞外液投与で、cell-attached mode で記録される K_{ATP} チャネルの開口確率を減少させた。4) 細胞膜内側投与で、inside-out mode で記録される K_{ATP} チャネルの開口確率を ATP の存在の有無に関わらず減少させた。5) HEK293 細胞に発現させた改変 Kir6.2 チャネルの開口確率を低下させた。6) 細胞内 Ca^{2+} 濃度を上昇させ、この作用は nifedipine や diazoxide で阻止された。7) ラ鳥からのインスリン分泌を促進した。以上の結果は、iptakalim が心筋や平滑筋に対する作用とは逆に、睪 β 細胞の K_{ATP} チャネルに抑制的に作用し、インスリン分泌を誘起することを示す。

7. パッチクランプ法による核膜小胞体標本の解析

○丸山芳夫, 平 理一郎, 稲垣俊一郎, 大佐賀 敦 (東北大学大学院・医学系研究科・生体機能学講座・細胞生理

学分野)

小胞体膜へのパッチクランプ法による直接的アプローチを模索してきた。膵腺房細胞および肝実質細胞を低浸透圧で処理し、核膜標本 (Nuclear Envelope: NE) を得た。パッチクランプ法を適用し、Maxi-K チャネル等、数種のチャネルの存在を確認した。Whole-NE にて、蛍光色素を導入し、核部分の光学的欠損をみて、本標本での小胞体管腔の存在を確認した。背景となるチャネル群は、1) 32pS のカチオンチャネル、2) 7-10pS の Cl⁻ チャネル、3) Maxi-K チャネルであった。Maxi-K チャネルの NE 発現はマウスおよびラットの週令に依存していた。Maxi-K チャネルの膜内方向性が妥当であれば、このチャネルは小胞体管腔の Ca 濃度の感知機作となることから、管腔内 Ca の制御機構につき、さまざま作業仮説が立てられる (例えば、SERCA Ca-ポンプと共役して、小胞体容積を変える事無く、管腔 Ca の濃縮機構にかかわる)。いっぽう、Whole-NE において、膜容量変化を計測したところ、管腔 Ca の増加は容量を増加させることが示された。

8. J774.1 マウスマクロファージ様細胞における食胞上のチャネルとその膜電位調節機構

○平 理一郎, 丸山芳夫 (東北大学大学院・医学系研究科・生体機能学講座・細胞生理学分野)

自然免疫に必要とされる食胞内の活性酸素は、NADPH 酸化酵素により産生されるが、この機構は食胞膜内外に電位を発生させることが知られている。しかし、この機構を維持するための電気的中性を保つ機構はまだ十分明らかになっていない。今回我々はラテックスビーズを食作用によって取り込ませた J774.1 マウスマクロファージ様細胞において、パッチクランプ法を用い、食胞膜の電気生理学的解析を行った。まず、単離した食胞膜を用いた解析により、食胞膜上に 230pS のコンダクタンスでクロライド選択性を有するチャネルを同定した。このチャネルは J774.1 の細胞膜上にすでに同定されているものと同一であることが示唆された。ついで、細胞レベルでの電気容量解析を用いた実験から、食胞内は細胞質を基準として負の電位を持つことが示唆された。これらの結果は、食胞膜の電位の維持にクロライドチャネルが関与している可能性を示唆するものである。

9. 培養マウス腎集合管主細胞の管腔膜に存在するイオンチャネルの検討

○古城俊之, 駒切 洋, 中村一芳, 久保川 学 (岩手医科大学・医・第2生理)

培養マウス腎集合管 (M-1) 主細胞の管腔膜に存在するイ

オンチャネルをパッチクランプ法で検討した。正常条件下の cell-attached patch にて 2 種類のイオンチャネルが同時に観察され、一つは高い開口確率 (P_o) を示す小さなコンダクタンス (20-30pS) の内向き整流性 K⁺ チャネルで、もう一つは中程度のコンダクタンス (約 40pS) を有する低い P_o の非選択性イオンチャネルであった。内向き整流性 K⁺ チャネルの P_o は浴液に cAMP アナログである 8Br-cAMP (100 μ M) を投与すると上昇し、cAMP 依存性蛋白キナーゼ阻害剤 (KT5720, 500nM) で低下した。一方、非選択性イオンチャネルの P_o は 8Br-cAMP や KT5720 には影響されなかった。Inside-out patch では、内向き整流性 K⁺ チャネルは P_o の維持に細胞内側に MgATP (1mM) を必要とし、その基本特性からラット腎髄質外層からクロニングされた ROMK チャネルファミリーの一つと考えられた。また、非選択性イオンチャネルは細胞内 Ca²⁺ 増加で P_o が上昇した。今後、これらのチャネルの制御機構をより詳しく調べるとともに、チャネル分子の同定を行い、マウス集合管での機能的役割について検討したい。

10. ラット腎皮質部集合管の新鮮単離標本を用いた管腔膜イオンコンダクタンスに対する低浸透圧刺激の影響

○駒切 洋, 古城俊之, 中村一芳, 久保川 学 (岩手医科大学・医・第2生理)

腎皮質部集合管 (CCD) は遠位直尿細管での電解質再吸収を経た比較的浸透圧の低い管腔内液に曝される。また、この浸透圧は水の透過性調節に伴う水再吸収量の増減により変化し得る。しかし、CCD における浸透圧変化に伴う細胞応答のメカニズムは未だ充分には解明されていない。今回、我々は新鮮単離したラットの CCD を用いて、管腔膜に存在するイオンチャネル電流に対する低浸透圧溶液暴露の影響を調べた。ラット CCD の管腔膜からは、1) 約 30pS の K⁺ コンダクタンス、2) 10pS の Cl⁻ コンダクタンス、3) 190pS で膜電位及び [Ca²⁺]_i 依存性を示す K⁺ コンダクタンスが観察された。1) 及び 2) は低浸透圧刺激により開口確率 (P_o) に有意な変化はなかった。一方、3) の P_o はコントロールでは極めて低いが、低浸透圧溶液暴露後 5 分以内に顕著に上昇した。この P_o の上昇は細胞外液から Ca²⁺ を取り除いた条件では観察されなかった。また、[Ca²⁺]_i の測定から低浸透圧溶液暴露後、CCD の [Ca²⁺]_i が一過性に上昇することが分かった。これらの結果から、3) の活性化は細胞外 Ca²⁺ を必要とする [Ca²⁺]_i の上昇により引き起こされることが示唆された。

11. Involvement of the septal neurons in penile erections : electrical stimulation and neuronal recording studies in rats

○K.K.K.Gulia^{1,2}, Y. Koyama³, Y. Kayama¹ (Dept. of Physiol., Fukushima Medical Univ., School of Med., ²Dept. of Physiol., All India Institute of Medical Sciences, ³Dept. of Science and Technol., Fukushima Univ.)

The present study shows involvement of the septal sub-nuclei for modulation of penile erections during various states of consciousness in rats. In urethane anesthetized state, stimulation of the lateral septum elicited erectile responses most of which were similar to the naturally occurring ones i.e. slow increase in corpus spongiosum penis pressure and several sharp peaks superimposed on the slow increase over a period of time. However, some the responses extended for a longer time. A few responses were also observed in which individual single peak appeared at long intervals and the response lasted for 250-770 sec. The sub-nuclei in the lateral septum appeared to be more effective in inducing erectile responses than the medial septum. In un-anesthetized semi-restrained animals, recording of neuronal firing from the septum during different states of sleep-wakefulness suggests contribution of septal neurons in the rapid eye movement sleep associated penile erections.

12. Effect of acupuncture stimulation to the sacral segment on the state of vigilance

○H. Wang¹, E. Jodo¹, Y. Tanaka², Y. Kayama¹, A. Kawachi², T. Miki², Y. Koyama³ (Dept. of Physiol., Fukushima Medical Univ. School of Med., ²Dept. of Urol, Kyoto Prefectural Univ., ³Dept. of Science and Technol., Fukushima Univ.)

The effects of acupuncture stimulation to the sacral segment on the electroencephalogram (EEG) and activity of the locus coeruleus (LC) neurons were examined in urethane-anesthetized rats. When EEG was small amplitude with higher frequency, which was indicative of light anesthesia state, the stimulation to the sacral segment induced EEG change to large amplitude slow wave, deep anesthesia state. The stimulus induced EEG is composed of significant increase in delta power and significant decrease in theta and beta powers. Firing rate of the LC neuron significantly decreased. The change of the neuronal activity preceded the EEG change. After intraperitoneal admini-

stration of bicuculline, the stimulation to the sacral segment failed to induce the change of EEG. These results suggest that acupuncture stimulation to the sacral segment changes the state of the animals from light anesthesia to deep anesthesia, and that the change is mediated by GABAergic systems which suppresses the activity of the noradrenergic LC neurons.

13. 迷路課題遂行中の前帯状皮質運動野の細胞活動

○虫明 元¹, 奥山澄人¹, 坂本一寛¹, 斎藤尚宏¹, 丹治順² (¹東北大学大学院・医学系研究科・生体システム生理学分野, ²玉川大学・学術研究所・脳科学研究施設)

パスプランニングにおける前帯状皮質運動野の役割を調べる目的で、サルに迷路内のスタート地点からのゴールまで、両手のマニピュレータをもちいてカーソルを移動させる迷路課題を訓練した。迷路課題では、サルが両手のマニピュレータを中立位に保持すると、前方スクリーンの格子状の迷路にスタート点の位置、次いでゴールの位置を一定時間呈示して消した後、ゴー信号が呈示された。サルは、両手のマニピュレータを操作して、カーソルをステップごとに移動させゴールまで移動させると報酬が与えられた。この際にカーソルと手の運動の対応規則を複数用意してカーソルの移動と手の運動を解離させた。このカーソルと手の対応規則は、ブロック単位で変更されたが指示信号は与えられなかった。そのためサルは自らその変更を察知して規則を変更する。課題遂行中のサル前帯状皮質運動野から細胞活動を記録した。特にカーソルと手の対応規則の変更時に着目して、どのような課題情報が表現されているかを解析したので報告する。

14. 視覚および聴覚刺激による計数課題関連活動のfMRIを用いた解析

○金澤伸江¹, 奥山澄人¹, 斎藤尚宏¹, 中島 敏¹, 吉田直樹², 月館久勝³, 泉山昌洋², 虫明 元¹ (¹東北大学・医学系生体システム生理学, ²仙台中江病院, ³東北大学医学部)

対象物の個数を把握する処理過程(計数)には、瞬時に個数を認知できる subitizing (サブタイジング) と、1, 2, 3... というように順番に数え上げていく Counting (カウンティング) という二つの様式があると考えられている。さらに、計数過程は、様々な感覚様式において認められる。このような計数に関わる神経機構を調べる目的で、視覚刺激と聴覚刺激を用いた計数課題を遂行させ、fMRIを用いて脳活動を記録し解析した。課題としては、呈示されたスクリーン上のドットの個数を数える視覚課題とヘッドフォンでビーブ音の数を数える聴覚課題を用いた。計数様式の

違いと感覚様式の違いが脳活動にどのように影響を及ぼすかを調べ解析した。その結果、計数過程にはその感覚様式によらない神経過程が運動前野と頭頂連合野にあることが認められたので報告する。

15. 海馬苔状線維シナプス前終末における PKC 増強メカニズムのシナプス依存性

○八尾 寛¹, 引間卓弥¹, 荒木力太², 石塚 徹¹ (東北大学大学院・生命科学研究所・脳機能解析分野, ² 理研 BSI)

以前の本学会において、海馬苔状線維シナプスにおける伝達物質放出が PKC の活性化により増強されることを報告した。今回、そのメカニズムの詳細を解析した。蛍光開口放出プローブのシナプトフルオリンを苔状線維シナプス前終末特異的に発現するトランスジェニックマウスを用い、海馬急性スライス下に個々のシナプス前終末を同定し、それぞれにおける開口放出を光学的に計測した。開口放出キネティクスは、シナプス小胞と形質膜の融合確率および易放出性小胞数で規定された。融合確率の小さいシナプスにたいして、フォルボルエステルは、PKC 依存的にこれを増大した。しかし、融合確率の大きなシナプスには影響しなかった。後者のシナプスにおいては、易放出性小胞数の増加が認められた。すなわち、PKC の活性化により、融合確率の増大と易放出性小胞数の増加のいずれが引き起こされるかは、シナプスに依存していることが示された。個々のシナプスの分子的多様性が背景に存在することが示唆される。

参考文献: Honda, I. et al. (2000) J. Physiol. 529, 763-776; Araki, R. et al. (2005) Genesis 42, 53-60.

16. GFP を用いた低酸素の分子イメージング

○高橋英嗣 (山形大学・医学部・器官機能統御学講座)

酸素はエネルギー産生のみならず、各種遺伝子発現を制御する分子として重要である。最近になって、臓器・細胞レベルで酸素濃度の heterogeneity が存在し、それが臓器の生理機能および病態形成に重要であることが認識され始めたが、そのような酸素 heterogeneity とエネルギー産生および遺伝子発現の関係を追求するには、臓器・細胞において、酸素濃度をきわめて高い解像度で画像化する必要がある。今回は、緑色蛍光タンパク (GFP) を用いることで、ミクロおよびマクロの低酸素イメージングが可能な事を報告する。培養細胞 (COS7) に GFP を一過性発現させた後、470-490nm の青色光を 2 秒間照射したところ、細胞外酸素濃度 < 1% で、GFP 蛍光に赤色シフトが見られた。次に、臓器レベルの低酸素イメージングを目的に、GFP を knock-

in したマウス (グリーンマウス) から心臓を摘出し、ランゲンドルフ灌流を行った。冠動脈左前下降枝を結紮した後、青色光を照射し、その後 GFP 蛍光をイメージングしたところ、左心室壁に広範な赤色シフト領域が出現したが、その分布にはマクロな heterogeneity が観察された。以上より、GFP は、低酸素の分子イメージングのプロープとして有用と思われる。

17. ヒト咽頭・喉頭部の感覚入力による随意性嚥下の促進効果

○矢作理花¹, 内山偉誠², 奥田・赤羽和久², 深見秀之², 松本範雄², 北田泰之² (岩手医大・歯・歯科補綴第一,² 岩手医大・歯・口腔生理)

随意性嚥下には咽頭・喉頭部の感覚入力が必要であるとされている。しかし、感覚入力と随意性嚥下に伴う中枢入力がかどのように嚥下中枢で統合されるか両者の関係は分かっていない。今回、ヒトの咽頭・喉頭部に細いチューブを通じて水 (蒸留水) あるいは 0.3 M NaCl を注入し、粘膜受容器からの感覚入力による随意性嚥下誘発の促進効果を調べた。繰返し随意性嚥下中の嚥下間隔時間 (SI) を筋電図の記録から測定した。0.3 M NaCl 注入より水注入は SI を短くした。これは水が咽頭・喉頭部に存在する水受容器を興奮させ、0.3 M NaCl はその興奮を抑制した結果であると推察した。咽頭・喉頭部の表面麻酔、注入速度を変えた実験から、咽頭・喉頭部の触受容器、深部機械的受容器からの入力も随意性嚥下誘発を促進させることが分かった。一方、表面麻酔下で感覚入力を絶っても随意性嚥下を起こすことができるが、SI には大きな個人差が見られた。この中枢入力で決まる SI の大きい被験者ほど感覚入力による嚥下促進効果が大きいことが分かった。嚥下誘発における末梢感覚入力は随意性嚥下誘発の困難さを補償する重要な役割を担っていることが本研究により明らかになった。

18. ノルアドリナリンは膀胱上皮から ATP を放出して排尿反射を促進する

○王 小軍, 河谷正仁, 百田芳春, 築瀬晴子, 仁村俊枝 (秋田大学・医学部・機能制御医学講座・器官制御学分野)

$\alpha 1D$ 受容体は膀胱上皮に存在し、 $\alpha 1D$ 受容体拮抗薬が膀胱伸張刺激による求心性神経活動を抑制した。今回我々はノルアドリナリン (NA) がラット及びマウスの排尿反射と膀胱上皮からの ATP 放出に及ぼす影響について $\alpha 1D$ 受容体拮抗薬の効果をもとに検討した。Wistar 系雄ラットと C57BL6 雄マウスを用いた。覚醒下のラットで膀胱内カテーテルを留置し、膀胱内を生理食塩水にて 2.4ml/h で持続灌流し膀胱内圧測定 (CMG) を行った。NA と α 受容体

拮抗薬(タムスロシン)のCMGパラメータへの影響を検討した。膀胱上皮培養細胞からATPの放出をルシフェリルシフェラーゼ法で測定した。NAは(0.01mg/ml)生理食塩水灌流(対象群)と比べ、排尿間隔(ICI)は52%に短縮した(510.6sec→279.3sec, n=7)。最大収縮圧(MVP)は変化しなかった。タムスロシン前処置し(4μg, iv), NA(0.01mg/ml)で膀胱灌流してもICIとMVPは対象群と比べ変化しなかった(n=7)。フェニレフリン(10μM)は膀胱上皮培養細胞からATPの放出を増加させた(2.76nM→4.97nM, n=6)。タムスロシン(30μM)はこのATPの放出を抑制した(3.08nM, n=6)。NAは膀胱上皮にあるα1受容体を活性化し、ATPを放出する可能性が示された。

19. 膀胱上皮の神経様性質—免疫組織化学による検討

○篠瀬晴子, 百田芳春, 河谷正仁(秋田大学・医学部・機能制御医学講座・器官制御学分野)

膀胱は尿を溜めておく器官である。移行上皮と粘膜固有層, 平滑筋層から成る。排尿は上皮直下や平滑筋層内に分布する知覚神経の活動によって引き起こされるが, 最近の研究では, 膀胱上皮が伸展刺激によりATP, NO, AChなどの伝達物質を放出し, 知覚神経の活動を修飾しているとの報告がある。膀胱上皮は単なる袋の内張りとしてのバリアー機能だけでなく, 伸展受容機構や伝達物質放出機構を備えているようである。今回は, この膀胱上皮の神経様ともいえる性質に注目し, ウィスター系のラットを用いて膀胱上皮におけるさまざまな神経系のマーカーの存在を免疫組織化学法により検討した。さらに, 実験的膀胱炎モデル動物を作製し, 正常動物と比較した。膀胱上皮は神経のマーカーであるPGP9.5やコリン作動性神経のマーカーであるvAChT, ChAT, またモノアミン作動性神経のマーカーであるDBH, vMAT1, vMAT2, DATに免疫陽性反応を示した。膀胱上皮は周囲と積極的に情報交換を行って排尿反射機能の一端を担っているようである。また, 実験的膀胱炎モデル動物では膀胱上皮に見られる神経性マーカーの発現に著しい変化が認められた。したがって膀胱上皮の性質の変化が膀胱炎の発症に大きく関係していると考えられる。

20. *Xenopus* oocyte follicular cellのFSH受容体応答に対するインスリンの作用

○藤田玲子¹, 木村真吾², 川崎 敏², 渡辺修二², 渡辺則之², 宮崎憲一², 平野浩子¹, 松本光比古³, 佐々木和彦²(¹岩手医大・教・化学, ²岩手医大・医・生理学第一, ³弘前大・医・保健)

アフリカツメガエルの卵胞細胞に follicle stimulating

hormone (FSH)を投与するとK⁺電流応答が発生する。このK⁺電流応答は受容体刺激によりGsが活性化した後, adenylatecyclase (AC), cAMP-dependent protein kinase (PKA)が順次活性化してK_{ATP} sensitive channel (K_{ATP} channel)が開いて発生する。このFSH応答は, 4μMのインスリンを投与後不可逆的に抑制された。Forskolin又は8-Br-cAMPの投与でも同様のK⁺電流応答が発生したが, これらの応答もインスリンを投与すると抑制された。また, Cromakalimを投与するとFSHと同様のK⁺電流応答が発生するが, この応答はインスリン投与では抑制されなかった。以上の結果から, インスリン投与で発生するFSH受容体応答の抑制作用は細胞内cAMPが増大後K_{ATP} channelが開くまでの経路を抑制して発生している事が示唆された。

21. D₂受容体刺激で誘起されるK⁺電流応答の低分子量G蛋白Arf1とPLDによる調節作用

○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・第一生理, ²岩手医大・教養・化学)

*Aplysia*腹部神経節の同定した細胞に, DAを投与するとG_β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, 低分子量G蛋白Arf1に対するGEFを阻害するbre-feldin Aを細胞内注入すると, DAで発生するK⁺電流応答が著しく減少した。またArf GAPを活性化するExo1を注入してもDAに対する応答が減少した。Arf1とそのエフェクターとの相互作用を特異的に抑制する, Arf1のN末配列(2-17)のペプチドを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。更に, Arfのエフェクターであるphospholipase D (PLD)を特異的に抑制するα-synucleinの注入により, DAで発生するK⁺電流応答が減少した。これと対照的にこれらの試薬は, アセチルコリンによるニコチン受容体刺激で発生するNa⁺電流応答に影響を与えなかった。これらの結果は, Arf1とそのエフェクターであるPLDが, D₂受容体刺激で発生するK⁺電流応答を調節することを示唆する。

22. 海馬スライスCA1 neuronにおいて灌流速度の増加はEPSCの振幅を増大する

○木村真吾¹, 川崎 敏¹, 藤田玲子², 渡辺修二¹, 宮崎憲一¹, 渡辺則之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錐体細胞をwhole cell voltage clamp下で放射状層線維を電気刺激して誘発したEPSCの

振幅は、灌流液の表面灌流速度を増加させると著しく増大した。しかし、上昇層線維の刺激で同じ細胞に発生した IPSC 及び AMPA 投与による電流応答は速い表面灌流で変化しなかった。Paired pulse 比は、速い表面灌流により減少し、更に外液 Ca^{2+} 濃度に対する EPSC 振幅の dose-response curve は ED_{50} を変えずに最大値が増大した。低 Ca^{2+} 濃度下の振幅-頻度ヒストグラムのピークは速い表面灌流で右側に移動したが、Miniature EPSC の振幅は変化しなかった。EPSC は A_1 -antagonist の DPCPX で増大したが、その存在下で試した速い表面灌流では更なる増大は見られなかった。以上の結果からシナプスに basal に存在している adenosine が速い表面灌流により洗い流され、抑制がとれる結果、伝達物質放出が増えて EPSC が増大したと推論された。

23. 神経成長円錐における両方向性ターニングのモデリング

○北嶋龍雄¹、澤井有紀¹、西山 誠²、Kyonsoo Hong²、相原 威³ (¹山形大学工学部、²New York Univ. School of Medicine、³玉川大学工学部)

神経成長円錐は、発生・再生過程において軸索誘導因子により標的細胞まで誘導され、これらとシナプスを形成する。この軸索誘導は Ca^{2+} ならびに cAMP、cGMP といった環状ヌクレオチドによりその極性が制御されるが、特に神経成長円錐内で観測される Ca^{2+} 振動は誘引・反発といった両方向性軸索誘導の基礎過程と考えられている。Xenopus 軸索成長円錐においては、ガイダンス因子である netrin-1 が細胞質膜上の受容体と結合することによって膜電位が上昇し、さらに cAMP/cGMP の活性により膜電位依存性 Ca^{2+} チャネルが増強/抑制されて細胞質内 Ca^{2+} 濃度が増加し、また細胞内 Ca^{2+} ストアである小胞体の膜上に存在する IP3 受容体、RyR 受容体を介しての Ca^{2+} 放出もその

両方向性ターニング反応に大きく関わっていることが明らかにされている。本研究では小胞体を内部にもつ神経成長円錐モデルを構築し、TRPC、膜電位依存性 Ca^{2+} チャネル、cAMP、cGMP、IP3 受容体および RyR 受容体のそれぞれの活性が細胞質内 Ca^{2+} 振動とどのように関わり、すなわち、両方向性ターニングと関係するかを計算機シミュレーションにより検証する。

24. 海馬白板における活動電位の軸索伝導に対するモノアミン系神経伝達物質の修飾効果

○宮崎啓太、山崎良彦、金子健也、杉原敏道、藤井 聡、加藤宏司 (山形大学・医学部・神経機能統御学分野)

中枢神経系の活動は、脳幹に細胞体を有し広範囲に投射している神経系 (広範囲調節系) によって影響を受けている。広範囲調節系における神経伝達物質はモノアミン系の物質で、その多くは、シナプス部位に存在する受容体に結合して作用している。また、過去の研究では、シナプス部位だけではなく、軸索に作用しているという報告もある。しかし、軸索における効果の詳細なメカニズムはまだ明らかにされていない。そこで、今回我々は、海馬スライス標本の CA1 領域の錐体細胞からホールセル記録を行い、活動電位の軸索伝導に対するモノアミン系神経伝達物質の修飾効果について検討した。錐体細胞の軸索が走行する白板を電気刺激し、逆行性に伝播してくる活動電位を記録した。そして、モノアミン系神経伝達物質の一つであるセロトニン (5-hydroxytryptamine : 5-HT) を灌流投与し、活動電位の潜時の変化を測定した。5-HT により活動電位の潜時が延長し、この効果は、5-HT_{1A} 受容体の阻害薬で抑制された。以上より、広範囲調節系の一つである 5-HT によって海馬における活動電位の伝導が抑制的に修飾され、これは 5-HT_{1A} 受容体を介する効果であることが示唆された。