

第93回近畿生理学談話会

会 期：平成12年8月25日（金）
 場 所：大阪市立大学医学部
 当番幹事：大阪市立大学医学部生理学講座
 北川誠一，渡辺恭良
 参 加 者：70名

生理学会会員の専門分野は極めて多岐にわたるため、専門分野が異なると、近くの研究室でなされている研究内容を知る機会も少ない。その点、地方会では十分な時間をとって発表でき、互いに最近の研究内容を知ることができるばかりでなく、若い研究者にとっても落ち着いて口演発表できる絶好の機会と思われる。今回の発表は18演題であり、すべて15分の口演とした。専門分野外の会員からも活発な質疑がなされ、有意義な1日であった。次回の当番幹事は神戸大学医学部の予定である。

1. IL-1 刺激によるヒト好中球のp38MAPK活性化と機能的役割

羽藤文彦，鈴木賢一，長谷川太郎，阪本親彦，西木さおり，河野謙一郎，北川誠一（大阪市大・医・第二生理）

IL-1 によるヒト好中球の細胞内情報伝達系として mitogen activated protein kinases (MAPKs) の活性化および好中球機能として接着分子である α_5 インテグリンの Mac1 (CD11b/CD18 複合体) の発現およびスーパーオキシド産生について検索した。IL-1 により至適濃度 300U/ml で MKK3-p38MAPK 系が特異的に活性化され、刺激 10 分後に最大の効果が認められた。MEK1/2-ERK1/2 系の活性化はごく微弱ながら認められたが、JNK の活性化は認められなかった。好中球機能に関しては、IL-1 により CD11b の発現増強が認められ、p38MAPK の特異的阻害剤、SB203580 前処置により部分的に抑制された。IL-1 は好中球のスーパーオキシド産生を直接誘導し (トリガリング)、その作用は p38MAPK 阻害剤により抑制された。以上の結果より、IL-1 は好中球の MKK3-p38MAPK 系を特異的に活性化し、CD11b の発現増強およびスーパーオキシド産生のトリガリングを起こし、これらの作用の少なくとも一部は p38MAPK を介する系により伝達されていることが示唆された。

2. サイトカインによる好中球の活性化とアクチンの再構築

忽那晴央^{1,2}，鈴木賢一¹，羽藤文彦¹，北川誠一¹（大阪市大・医・¹第二生理，²皮膚科）

GM-CSF および TNF は、ヒト好中球に作用してスー

パーオキシド産生を誘導する。この作用は、サイトカラシン B により完全に阻害される。このことはサイトカインによりアクチンの再構築が誘導され、アクチンの再構築がサイトカインによる好中球活性化に重要な役割を果たしていることを示唆している。今回、サイトカイン刺激によるヒト好中球アクチンの再構築を FITC ファロイジン をプローブとして、フローサイトメーター及び共焦点レーザー顕微鏡で解析した。走化性因子 (FMLP) は好中球アクチンの重合を誘導した。GM-CSF および TNF は、アクチンの脱重合を誘導した。アクチンの脱重合はサイトカインの濃度依存性であり、サイトカイン刺激 10 分後に最大となり、30 分後には、静止時の状態に復した。これらのサイトカインによるアクチンの脱重合は、サイトカラシン B、MEK 阻害剤 (PD98059)、および p38MAPK 阻害剤 (SB203580) により阻害された。また、GM-CSF または TNF 刺激による好中球のスーパーオキシド産生も MEK および p38MAPK 阻害剤により阻害された。これらの結果は、GM-CSF および TNF によるアクチンの脱重合は、ERK および p38MAPK により制御されており、好中球のスーパーオキシド産生の活性化に重要な役割を果たしていることを示している。

3. 孤立培養皮質ニューロンのシナプスに及ぼす脳由来神経栄養因子の慢性作用

高田直樹^{1,2}，谷口暢章^{1,2}，安田浩樹^{1,2}，木村文隆^{1,2}，津本忠治^{1,2}（阪大院・医学系・¹神経生理，²CREST/JST）

新生仔ラットの大脳皮質視覚野から培養した興奮性孤立神経細胞に脳由来神経栄養因子 (BDNF) を慢性的に投与

し、シナプス機能に及ぼす効果を電気生理学および形態学的に検討した。培養標本の約半数に100 ng/mlのBDNFを9～12日間投与し、非投与群との比較を行った。ホールセル・パッチクランプ法により、-60 mVの電位固定下で興奮性後シナプス電流(EPSC)の記録を行ったところ、非投与群と比べ、誘発EPSCの振幅、miniature EPSCの頻度、およびpaired-pulse ratioにおいて有意な増大が認められた。一方、miniature EPSCの振幅については減少が見られた。さらに、機能的なシナプス前部を可視化できる蛍光色素FM1-43を用いて染色を行ったところ、その染色領域の増大が認められた。また、この染色領域がシナプス前部に相当することはsynaptophysin抗体との二重染色によって確認された。これらの結果は、慢性投与したBDNFが主に機能的なシナプス部位を増大させることによってシナプス結合を強化することを示唆している。

4. 大脳皮質視覚野における脳由来神経栄養因子量の入力依存的な変化

一坂吏志^{1,2}、仙波りつ子^{2,3}、畠 義郎^{1,2}、大島 稔^{1,2}、亀山克朗^{1,2}、津本忠治^{1,2} (¹大阪大・医・神経生理、²科学技術振興事業団・CREST、³愛知県コロニー・発達障害研究所・周生期)

大脳皮質視覚野における神経栄養因子の発現が正常発達によってどのように変わるか、また、神経活動に依存して変化するかを明らかにするため、フェレットにおいてBrain-derived neurotrophic factor (BDNF) およびNeurotrophin-3 (NT-3) 蛋白質量を酵素免疫測定法で測定した。その結果、視覚野のBDNF量には発達にともなう変化がみられなかったが、NT-3量には有意な減少がみられた。視覚入力を遮断するため両眼球にテトロドトキシン(TTX)を注入したところ、幼若期、成熟期共に注入群ではBDNF量が有意に減少した。しかし、体性感覚野、海馬、小脳ではそのような変化はみられなかった。一方、NT-3は幼若期、成熟期共にどの領域においても有意な変化を示さなかった。次に、幼若期で片眼のみにTTXを注入したところ、BDNFの減少量は両眼注入群の約半分程度であり、入力を遮断された眼からの投射の多い対側視覚野での減少量が同側より有意に大きかった。これらの結果は視覚野においてBDNF蛋白質量が視覚入力により制御されていることを示唆する。

5. ラット心筋スライスのCa²⁺ハンドリングに要する酸素消費への筋細胞膜Ca²⁺-ATPaseの関与

上月久治、三澤裕美、坂田 進、大賀好美、高木 都 (奈良県立医科大学・第二生理学教室)

心筋の興奮 収縮連関に要する酸素消費量 (E-C VO₂) への筋細胞膜Ca²⁺-ATPase (PMCA) の寄与は明確ではない。また、筋細胞膜Na⁺/Ca²⁺交換体 (NCX) は細胞内Na⁺の上昇によりNa⁺/K⁺-ATPaseを刺激しE-C VO₂に影響するが、ラットではその寄与は大きくないと考えられている。今回、ラット心筋スライスの基礎代謝 (Basal VO₂) およびE-C VO₂に対する特異的PMCAの抑制剤である20 μM 5-(and-6)-carboxyeosin (CE) およびNCXの特異的抑制剤である10 μM KB-R7943 (KB) の効果を検討した。Basal VO₂はCEおよびKBにより影響されなかった。一方、E-C VO₂はCEによりコントロールの8～30%抑制 (P < 0.05, t-test) されたが、KBでは抑制されなかった (P > 0.05)。刺激開始一分後のMotility indexはCEおよびKBでコントロールの31%と20%の増加を示した (P < 0.05)。これらの結果はラット心筋ではPMCAを介するCa²⁺サイクリングもE-C VO₂の30%を上回らない程度に細胞内Ca²⁺ダイナミクスに寄与することを示唆する。

6. ラット血液交叉灌流摘出心臓左心室における収縮性の酸素コストは心拍数に依存しない

坂田 進、大賀好美、上月久治、三澤裕美、森本委利、高木 都 (奈良医大、第二生理)

【目的】我々はラット血液交叉灌流摘出心臓標本を用いて、非線形の収縮期末圧容積関係 (ESPVR) 及び収縮期圧容積面積 (PVA) と一拍あたりの心筋酸素消費量 (VO₂) との直線関係を報告した。これらの関係を元に収縮性の酸素コストを表す新しい指標を提唱した (Jpn J Physiol 49: 513, 1999)。今回、PVA-VO₂とこの収縮性の酸素コストの心拍数 (HR) 依存性について検討した。

【方法】まず、血液交叉灌流摘出心臓標本を作製した。次に、左室容積 (前負荷) を変えて、等容性収縮時の左室圧を記録した。VO₂は、冠灌流量と動静脈酸素濃度較差との積をHRで割り算出した。HR240とHR300bpmでのESPVRとVO₂-PVA関係を求めた。さらに、HRを240と300bpmに交互に代えながら、中程度の左室容積下で1% CaCl₂を冠動脈注入し、等容性収縮圧とVO₂の増加を記録した。得られたVO₂-PVAデータから収縮性の酸素コストを求めた。

【結果と考察】HR240とHR300bpmにおいてESPVR、VO₂-PVA関係および収縮性の酸素コストのいずれにおいても有意差はなかったため、収縮性の酸素コストにHR依存性はないと結論づけた。

7. ラットの顎下腺腺房細胞の膜電位によるCa²⁺振動
吉田秀世、中張隆司、今井雄介 (大阪医科大学 第一生

理学教室)

単離したラットの顎下腺腺房細胞を適当な濃度の細胞外カリウム濃度 ($[K^+]_o$) と共に $1 \mu M$ アセチルコリン (ACh) 刺激を行うと非常に長い周期を持つ Ca^{2+} 振動を起こした。この振動は $[K^+]_o$ が 15 mM 以上 60 mM 以下の範囲で起こり、その周波数は $[K^+]_o$ が大きくなるに従い 0.7 mHz から 2.3 mHz に増大した。あらかじめ cAMP を加えておくと $[K^+]_o$ に対する依存性は見られなくなり約 1 mHz の周波数に落ち着いた。細胞内 Ca^{2+} ストアの Ca^{2+} ポンプ阻害剤であるタブシガルジンを加えてもこの振動には影響を与えなかった。また $50 \mu M La^{3+}$, $1 \mu M Gd^{3+}$ を加えると振動を止めたので、この Ca^{2+} 振動は細胞内よりも細胞外からの Ca^{2+} 流入が主な役割を果たしていると考えられた。G プロテイン阻害剤である百日咳毒素 (PTX) を作用させておいてもこの Ca^{2+} 振動は止まる傾向があるので G プロテインも関与していることが明らかとなった。

8. アシドーシス環境下におけるミクログリアのプロトンチャネルの活性化メカニズム

森畑宏一^{1,2}, 中村夫左央¹, 川脇順子³, 蔦田強司², 久野みゆき¹ (大阪市大・院・医・¹分子細胞生理学, ²神経内科, ³共同研究室)

ミクログリアは phagocytosis 等を行う際に respiratory burst により大量のプロトン (H^+) を細胞内に産生することが知られており、迅速に大量のプロトンを細胞外に排出する機構は細胞内 pH の調節に必要であり、ミクログリアの機能と密接に関連していると考えられる。膜電位依存性プロトンチャネルはラットの活性型 (round/amoeboid 型;) ミクログリアに高率に発現し、末梢 phagocytes と類似した電気生理学的な特性 (緩徐な活性化過程, 強い外向き整流性, 細胞外亜鉛による可逆的ブロック) を示した。細胞内アシドーシスは細胞外 Na^+ 依存性に細胞膨化を引き起こした。 H^+ 電流活性密度は細胞サイズの増加と共に増大したが、これは活性化曲線の過分局側への移動を伴っていた。この膨化及び電流密度の増加は ATP を必要とし、cytochalasin・phalloidin 添加で抑えられた。以上の結果より H^+ チャネルは細胞内アシドーシスおよびそれによる細胞骨格構造の変化を介して活性化され、細胞内 pH の調節に寄与していることが示唆された。

9. 体温概日リズムにおける迷走神経の役割

松江健太, 永島 計, 中井 定, 彼末一之 (大阪大学医学部 保健学科)

体温概日リズムが食餌により大きく影響を受けることが知られている。絶食時には非活動期に特異的に体温が下降

することが報告されている。一方、活動期の体温は保持される。迷走神経は食餌に関する主要な求心路であり、また最近体温調節にも関与する事が知られてきた。本研究では体温概日リズムに対する迷走神経の役割を検討するため横隔膜下迷走神経切断ラット (V 群) 及び対象群 (C 群) の摂食時ならびに 3 日間の絶食時体温の変化、活動量を測定した。V 群では C 群と比較し摂食期ならびに絶食期の活動期体温の低下が認められた。(摂食期 37.2 ± 0.1 vs 37.4 ± 0.1 ; 絶食期 36.8 ± 0.2 vs 37.3 ± 0.3) しかし同時測定された活動量には両群に差は観察されなかった。これらの結果は、迷走神経が活動時の体温の保持に関与していることを示している。また同時に視床下部の FOS 発現を測定し、このメカニズムを検討した。

10. ラット非ふるえ熱産生の中脳活性部位

西麻衣子¹, 陳 小明¹, 永島 計¹, 柴田政章², 彼末一之¹ (¹大阪大学医学部保健学科, ²山梨環境科学研究所)

恒温動物は熱産生と熱放散とを調節することによって、環境温度に左右されることなく一定の体温を維持している。ラットにおいては褐色脂肪組織 (BAT) による非ふるえ熱産生が体温調節に大きな役割を果たしている。非ふるえ熱産生調節には視床下部の視束前野 (PO) が温度感受性部位として重要な役割を果たしており、温度感受性ニューロンからの抑制性の遠心性出力が下位に送られる。また腹内側核 (VMH) の刺激により非ふるえ熱産生が促進することはよく知られている。本研究では、中脳中心灰白質 (PAG) が非ふるえ熱産生に促進的な作用を持っていることを明らかにした。麻醉下ラットの PAG を電気刺激または興奮性薬物 (DLH) 投与することで、BAT の温度が上昇することを確認した。このような部位は PAG の尾側部に局限していた。以上の結果から、PAG 核の尾側部には非ふるえ熱産生に興奮性に働くニューロンが存在することが推測される。

11. 単一酸素電極によるヘモグロビン酸素解離曲線の自動測定

今井清博 (阪大院・医学系・情報生理)

筆者は、以前に、単一の酸素電極を用いてヘモグロビンの酸素解離曲線を自動測定する以下の原理を考案した (Imai, 1982)。セル内の Hb 溶液を常に攪拌しながら気相中の酸素分圧を零に保って、液相中の溶存酸素を気相中に拡散させると、液相中の酸素分圧の対数は時間に対して直線的に減少するが、Hb が実質的に酸素を解離し始めると、このセミログプロットは直線から上方へ外れ、その程度から数値積分によって酸素解離度が算出される。この方法は、

通常の酸素解離曲線測定の場合と異なり、分光光度計が要らないのでコストがかからず、装置を小型化できること、さらに赤血球浮遊液のような懸濁液でも使えるという長所がある反面、解析がやや面倒であった。今回、小型セルの設計、小型酸素電極増幅器、ノート型パソコン、携帯型電源などの利用による携帯型酸素解離曲線自動解析装置を試作したので報告する。本装置は実用化されれば、野外での動物血液の生理機能の研究、高地適応の研究、宇宙飛行士や高圧酸素治療患者の呼吸機能のモニタリング、運動負荷と呼吸機能の研究などに有用であると考えられる。本研究は、(財)中谷電子計測技術振興財団研究助成金の援助を受けた。

文献：Imai, K. (1982) *Allosteric Effects in Haemoglobin*, Cambridge University Press, London.

12. 蝸牛内リンパ液における Ca^{2+} 濃度の測定

高巻京子¹、森 禎章¹、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学教室、²同耳鼻咽喉科学教室)

【目的】蝸牛内リンパ液の Ca^{2+} 濃度は 10^{-5} M 程度であると報告されている。しかし、従来の Ca^{2+} 微小電極は安定性に乏しく、低濃度の反応に対する問題点も指摘されていた。今回我々は、改良した Ca^{2+} 微小電極を用いて、endocochlear potential (EP) と蝸牛内リンパ液の Ca^{2+} 濃度の関係を調べた。

【方法】膜電位測定用 KCl 電極および Ca^{2+} イオン電極を有色モルモット (250g ~ 300g) 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^{2+} 濃度の変化を同時に測定した。

【結果】蝸牛内リンパ液の Ca^{2+} 濃度は、 10^{-6} ~ 10^{-7} M であり、EP は +75 ~ +85 mV であった。2 分間の無呼吸負荷により EP は +80 mV から -10 mV まで低下し、 Ca^{2+} 濃度は 10^{-3} ~ 10^{-4} M まで上昇した。負荷中止により EP と Ca^{2+} 濃度はともに回復した。

【考察】内リンパ液の Ca^{2+} 濃度は EP と密接な関係を持っていることが明らかとなった。また、蝸牛内リンパ液の Ca^{2+} 濃度より計算された Ca^{2+} の平衡電位は EP より大きく、蝸牛内リンパ液から血液への能動的な Ca^{2+} 汲み出し機構が存在することが示唆された。

13. Effects of basic Fibroblast Growth Factor and Platelet Derived Growth Factor on Cerebral Angiogenesis in Mice: Intravital Fluorescence Videomicroscopic Analysis

K. Nageswari, S. Yamaguchi, Y. Komai, H. Niimi (Dept.

of Vascular Physiology, National Cardiovascular Center Research Institute, Suita, Osaka 565-8565.)

Biologic effects of growth factors on angiogenesis have been studied intensively in vitro, but their roles in vivo have still remained unclear. We have studied effects of basic Fibroblast Growth Factor (bFGF) and Platelet Derived Growth Factor (PDGF) on cerebral angiogenesis in mice, and analysed the hemodynamic characterisation of the cerebral neocapillaries.

Materials and Methods: Wild type male mice (CB57/6J) were used. The gel-nylon mesh-sandwich system (collagen gel/Growth factor in BSA (Bovine Serum Albumin)) was embedded in between two nylon mesh pieces) was placed over a small area of the left parietal cortex. We used bFGF and PDGF at concentrations of 6 ng/ml and 60 ng/ml. Two control groups were included. Gel alone was used in one group and gel+BSA was used in the other group. After the surgical operation, the animal was kept in the cage with usual supply of food and water. After an incubation for seven days, the neocapillaries were observed on the upper layer of the nylon mesh, using fluorescence videomicroscopy. FITC labeled red cells were used as a tracer for the microvascular visualisation. We evaluated the neocapillary density and neocapillary diameter, based on the FITC videoimage. The results were compared with the pre-existing capillaries using Student's t-test.

Results and Discussion: Neocapillary density was dependent on the doses of bFGF and PDGF. Neocapillaries were not observed on gel alone group, while they were observed in the group Gel+BSA. The neocapillary density in Gel+BSA was less than that in the other groups. More tortuous neocapillaries were seen in the bFGF at 60 ng/ml. The neocapillary diameter did not vary with concentration as well as with different growth factors. Compared to the pre-existing capillary, the diameter showed a significant increase in all the groups while RBC velocity decreased. Both bFGF and PDGF showed an increase in RBC velocity at the higher concentration, compared to the lower concentration. The present findings support the concept of angiogenic activity of bFGF and PDGF on cerebral angiogenesis.

14. LPS によるマウス肝臓での線溶系因子と MMPs の発現

岡田清孝, 上嶋 繁, 深尾偉晴, 松尾 理 (近畿大学医学部第二生理学)

[目的] 細菌性毒素 (lipopolysaccharide, LPS) は動物への投与により敗血症モデルとして用いられている。そこで, LPS 投与後のマウス肝臓での障害および修復過程における線溶系因子と matrix metalloproteinases (MMPs) の発現について検討した。

[方法] LPS は C57BL/6J マウス (雄, 10 ~ 15 週令) に 50 μ g 腹腔内投与した。投与後, 経時的に採血と肝臓の抽出を行った。各因子の mRNA の発現は Northern blot 法で検出した。Plasminogen activator (PA) 活性, PA inhibitor 活性および MMP 活性はそれぞれに対する zymography 法で測定した。

[結果] 肝臓中の plasminogen の mRNA は LPS 投与 2 日目に約 2 倍増加したが, α_2 -antiplasmin mRNA は変化を示さなかった。PAI-1 と u-PAR の mRNA は 2 時間から 8 時間目に最大の発現を認めた。t-PA と u-PA の mRNA は検出されなかった。また, MMP-9, MT1-MMP, tissue inhibitor of matrix metalloproteinases (TIMP)-1 および TIMP-2 の mRNA は 12 時間から 2 日目に最大の発現を認めた。これに対し, MMP-2 の mRNA の発現は変化を示さなかった。また, 肝臓中の t-PA 活性は 18 時間目から 2 日目に増加した。血漿中の PAI-1 活性は 6 時間後に最大値を示した。肝臓中の MMP 活性は Pro MMP-9 と Pro MMP-2 が検出され, LPS により前者が 3 峰性のピークで増加を示し, さらに活性化型も同時期に見られた。

[考察] LPS 投与後のマウス肝臓での障害および修復過程において線溶系因子と MMPs の発現の時間的差異が認められとことから, その過程にそれぞれの関与が推測される。

15. サルおよびラットを用いた随意運動発現機序の研究

玄番央恵, 大石浩子, 松崎竜一, 久寶真一, 松浦和子, 網野八重 (関西医科大学・第二生理)

サルに自発性レバー上げ運動をさせ, 大脳皮質の表面と表面から 2.0 ~ 3.0 mm 深部に埋め込んだ電極により大脳皮質フィールド電位を記録, 分析して, 運動に約 1.0 s 先行して出現し, 徐々に増大する表面 陰性, 深部 陽性の運動準備電位を運動前野, 運動野および体性感覚野の上肢領野から記録した。何れの運動準備電位も浅層性視床大脳皮質投射であるが, 片側小脳半球切除で切除小脳と対側の運動野上肢領野の運動準備電位が消失したので, 運動野の準備電位は小脳 視床 (VL 核) 運動野投射による反応と考えられる。ラットにサル並の複雑な運動課題を行わせる

のは困難であり, 多数の電極を脳内に埋め込めないが, サルの場合より有利な点 (狭小な実験スペース, 安価, 手術および管理の容易さ) も考えられるので, 随意運動研究の新モデルとしてラットを用いた。ラットに右前肢による左方へのレバー動かしを行わせ, 左運動野前肢領野の皮質表面と表面から 2.0 mm 深部へ埋め込んだ電極で大脳皮質フィールド電位を記録, 分析して, 運動に約 1.0 s 先行して出現し, 徐々に増大する表面 陰性, 深部 陽性の運動準備電位を記録した。運動準備電位は右側小脳の中位核と外側核の破壊で消失したので, 小脳 視床 運動野投射による反応と考えられる。

16. 瞬目時および瞬時暗転刺激時の後頭部皮質活動の脳磁図解析

浅田 博¹, 福田 淳², 山口雅彦³, 外池光雄³ (¹大阪府立大学総合科学部自然環境科学, ²大阪大学大学院医学系研究科情報生理, ³電子技術総合研究所大阪ライフエレクトロニクス研究センター)

サッカー直後の視覚情報がサッカー時の空間知覚の安定性に寄与していることが多く報告されているが, 瞬目時においても同様の機序の存在が考えられる。本研究では瞬目時の視覚情報に關与する皮質活動を明らかにする目的で全頭型脳磁計を用いて解析を行った。光ファイバーを通じた照明下で, 坐位の被験者の眼前に数字列を書いたボードを置いて持続的計算作業をさせ, 自発性瞬目が生じた時の脳磁場を記録した。さらに持続 30 ~ 500 msec で照明を消す瞬時暗転刺激を与えた時の脳磁場を記録し, 各 100 回加算を行った。その結果, 瞬目時の瞳孔再出現後および暗転刺激時の再点灯後の約 150 ~ 230 msec にピークを持つ皮質活動が頭頂 後頭皮質に同様に出現した。この活動は瞬時暗転刺激の持続時間に問わず出現した。これらの皮質活動はサッカー時に報告された活動と非常に類似していた。以上のことから, 瞬目直後の頭頂 後頭皮質活動は, 眼瞼運動よりむしろ視覚情報の off-on に関連した反応であり, サッカー直後の活動と同じく, 空間知覚の安定性に關与していると考えられる。

17. bcl-2 遺伝子の強制発現は成体網膜神経節細胞の軸索再生を増強しない

井上 徹, 福田 淳 (大阪大学医学系研究科・情報生理学)

軸索切断された成体哺乳動物の網膜神経節細胞は, たとえ末梢神経移植によって軸索再生を誘導しても, その再生率は極めて低い。この低い再生能を克服することは, 視覚伝導路の機能再生という目標にとって 極めて重要である。

近年、抗アポトーシス因子である *bcl-2* 遺伝子の強制発現によって、軸索を損傷された網膜神経節細胞の生存が強力に促進されるのみならず、その軸索再生が自発的に生じ、促進されることが報告されている (Chen ら, 1997, 2000)。しかし、*bcl-2* 遺伝子の強制発現が軸索再生に及ぼす効果は、幼齢マウスで示されたのみであり、成体での効果は充分検討されていない。そこで我々は、成体 *bcl-2* トランスジェニックマウスを用いて、網膜神経節細胞の生体内での軸索再生能を野生型マウスとの間で比較・評価した。その結果、*bcl-2* 遺伝子の強制発現によっても軸索再生は自発的に生じず末梢神経移植を必要とし、さらにその促進・増強もされないことが強く示唆され、幼齢期での効果と全く異なることが分かった。*bcl-2* 遺伝子の強制発現を成体での軸索再生の増強に生かすためには、生存を促進された網膜神経節細胞が、軸索再生能を潜在的に保持しているのかどうかを、今後さらに検討する必要がある。

18. バイオラジオグラフィーによる乳酸・ケトン体の脳グルコース代謝に及ぼす影響

田中雅彰¹，中村夫左央¹，溝川滋一¹，重松 誠²，蔭山

勝弘³，越智宏暢²，渡辺恭良¹ (大阪市立大学大学院医学研究科・¹システム神経科学，²核医学，³放射性同位元素実験施設)

“生きた”脳スライスとポジトロン核種で標識した [¹⁸F] FDG を使った新しい手法である“バイオラジオグラフィー”を用いて脳におけるグルコース代謝の検討を行った。ラット脳矢状断面スライスの [¹⁸F] FDG の取り込みを 20 分ごと約 6 時間観察し、グルコースを添加しない溶液中では取り込みは 6 時間以内に停止したが、2 時間後に乳酸、ケトン体を負荷した場合は取り込みは直線状に増加した。また、正常グルコース濃度の溶液中では、乳酸、ケトン体負荷で [¹⁸F] FDG の取り込みは減少した。一方、乳酸トランスポーター阻害剤である 4-CIN で [¹⁸F] FDG の取り込みは増加し、グルタミン酸負荷溶液中に 4-CIN を負荷することで取り込みはさらに増加した。以上より、エネルギー枯渇状態で乳酸、ケトン体はグルコースに代替するエネルギー基質となり得ること、脳においてアストロサイトニューロン乳酸シャトルが存在し、グルタミン酸にてこの系がより活性化されることが示された。