

## 第236回生理学東京談話会

日 時：平成12年11月11日（土）午後1時より

場 所：北里研究所病院3Fセミナー室

当番幹事：北里大学医学部 河原克雅，川上 倫

第236回生理学東京談話会は、新装の北里研究所病院3Fセミナー室（白金5 9 1，港区）で行われた。今回は、当番幹事の河原，川上に加え，久保義弘教授（東京医科歯科大学）に講演者を選んでいただき，全体で6名のシンポジストの方々が，下記の抄録内容を発表されました。議論好きの生理学者がもっと集まれば良かったと思いますが，発表後の懇談も含め，土曜日の午後を楽しむことが出来ました。出席者20名。

今回は，東京女子医科大学の当番で開催される予定です。

### 1. 軸索輸送の調節機序

竹中敏文，比留間弘美\*，川上 倫\*（国土館大学体育学部・スポーツ医科学，\*北里大学・医・生理）

神経の軸索輸送は，神経細胞の機能や形態形成に密接な関係をもつ一方，神経細胞の活性状態を反映していると考えられている。我々は，高分解能のビデオ増感顕微鏡を用いて，神経伝達物質による軸索輸送の調節について調べた。実験には，培養マウス上顎神経節細胞を用いた。アセチルコリン（ACh）は順行性，逆行性の軸索輸送を抑制した。AChの各種リガンドを用いて検討した結果，AChの抑制作用はm2受容体を介して発現することが明らかとなった。さらに，AChを細胞体，神経線維，成長錐それぞれに局所投与すると，どの部位においても抑制反応が検出された。免疫細胞化学的にも，細胞細胞体，神経線維，成長錐すべてにm2受容体が発現していることが確かめられた。さらに，細胞内情報伝達関連物質を用いた結果より，AChの抑制作用はGi蛋白を介してアデニールシクラーゼを抑制しAキナーゼを不活性化することによって発現することが示された。一方，アドレナリンは順行性，逆行性の軸索輸送を促進した。アドレナリンのリガンドを用いた実験結果から，アドレナリンの促進作用は，β受容体を介して発現することが示唆された。アドレナリンの作用は細胞体と成長錐に局在する受容体を介して発現した。このアドレナリンの促進作用はGs蛋白を介しアデニールシクラーゼ活性化，Aキナーゼ活性化を経て発現することが明らかになった。このように，軸索輸送は伝達物質による調節を受けていると考えられる。

### 2. 神経疾患と軸索輸送：培養神経細胞を用いた研究

比留間弘美，川上 倫，竹中敏文\*（北里大学・医・生

理，\*国土館大学体育学部・スポーツ医科学）

いくつかの神経疾患の成因の究明や薬物の治療効果について，軸索輸送を指標として検討をおこなった。1）神経因性疼痛は，神経損傷後，治癒したにもかかわらず持続する激しい痛みである。その発生機序は，脊髄後角における感覚線維の発芽，シナプス再構築，シナプス伝達効率の増強が考えられている。難治性ではあるが，最近，リドカインの全身投与が治療効果を示すことが報告されている。そこで，「リドカインは，軸索発芽・伸展の基盤である軸索輸送を抑制する」との仮説を立て，その検証を試みた。リドカインは，全身投与で使用される程度の低濃度（1～30 μM）でも培養感覚ニューロンの軸索輸送を抑制した。この作用はCl流入に続くCAM IIキナーゼの活性化によって誘導されることが明らかになった。さらに，リドカインは，軸索輸送抑制作用と同様の細胞内機序で軸索発芽・伸展を抑制した。これらの結果から，リドカインは感覚ニューロンの軸索輸送を抑制し，さらに軸索発芽・伸展を抑制して神経因性疼痛を軽減すると考えられた。2）運動ニューロンの変性疾患である筋萎縮性側索硬化症（ALS）の成因として，過剰な細胞外グルタミン酸の興奮毒性と軸索輸送の障害が挙げられている。最近，ALSの治療薬として神経栄養因子が注目されてきている。そこで我々は，培養運動ニューロンの軸索輸送に対する脳由来神経栄養因子（BDNF）と肝細胞増殖因子（HGF）の影響について検討を行った。BDNFおよびHGFの投与はともに軸索輸送を促進した。これらの混合物の投与は単独投与よりも効果が持続的であることが判明した。これらの神経栄養因子による軸索輸送促進反応は，グルタミン酸で障害を受けた運動ニューロンについても検出された。従って，BDNFとHGFはALS病態改善に有効である可能性があると期待さ

れる。3) 脳虚血の際、大量のグルタミン酸が放出されることによって脳障害をきたす。我々は、グルタミン酸が海馬ニューロンに与える影響とその機序について調べた。グルタミン酸は濃度依存性に軸索輸送を抑制した。グルタミン酸のアゴニストやアンタゴニストを用いた実験から、グルタミン酸の軸索輸送抑制作用はNMDA およびAMPA受容体を介して発現することが明らかとなった。さらにこれらの作用はCa<sup>2+</sup>の細胞内流入によってもたらされることが示された。特に、NMDA受容体作用はCa<sup>2+</sup>/カルモジュリン依存性NO合成酵素に誘導されるNO産生を介して起こることが示唆された。

### 3. おたまじゃくしの変態と上皮Na<sup>+</sup>チャンネルの分化： アルドステロン，甲状腺ホルモンの役割

高田真理（埼玉医科大学・第2生理学教室）

ウシガエルオタマジャクシの皮膚では変態に伴いNa能動輸送機構が分化する。そこでこの皮膚は腎におけるNa能動輸送の分化の機構解析のモデル上皮としての意義を持つ。変態に伴い種々の血中ホルモンの濃度上昇が知られているので機構分化にもホルモンの関与が考えられた。オタマジャクシを丸ごと、あるいはオタマジャクシの皮膚を単離して培養下で、ホルモン処理したところ以下の結果を得た。In vitro：分化はアルドステロン（Aldo）でおきたが甲状腺ホルモン（TH）ではおきなかった。In vivo：Aldo処理では分化は起きなかったがTHで変態させれば起きた。In vivoとin vitroにおけるTH，Aldo作用の矛盾は、“輸送機構の分化の決定的要因はAldoである、しかしAldo作用はin vivoでは未知のメカニズム（X）によって抑制されている。XはTHによって取り除かれる”，という仮説によって説明可能である。もしこの仮説が正しければ、1) オタマジャクシをTH + Aldo中で飼育する、2) 血中TH濃度は変態の始まる少し前から増大するので、オタマジャクシをAldo中でかなり長期に、変態の始まる直前まで飼育する、ならば、それらTHがin vivoにおけるXを取り除き、変態前のオタマジャクシの皮膚にin vivoでも輸送機構が出現するに違いない。実験結果は正に、上記仮説が支持される結果となった。

### 4. 尿濃縮機構の成熟過程を考える 個体発生と系統発生

根東義明（東北大学大学院医学系研究科小児病態学分野）

尿濃縮機構は、腎機能の中でも比較的新しい機能であり、鳥類と哺乳類にのみ存在することが知られているが、陸上生活に移行するためのツールとして一般的に捕らえられているにもかかわらず、陸上生活をするすべての生物が保有

する機能でもないために、なぜ尿濃縮機構が必要だったのかに対し、我々はその発生過程をめぐっての明確な答えを持たない。今回研究者は、尿濃縮の個体発生における機能変化を明らかにするため、とりわけ新生児期におけるダイナミックな変化の詳細な検討により解析した。その結果、新生児期には、これまで考えられていたような量的な尿濃縮機能の成熟過程を越えて、「質的転換」とも表すことの出来る尿濃縮機構の転換過程が見られ、その概要は、「NaCl貯留から尿素貯留システムへの転換」あるいは「鳥類型から哺乳類型への転換」とも表すことの出来るドラマティックなものであることが明らかとなってきた。鳥類に極めて類似する新生児の尿濃縮システムを検討し、文献的考察も交えて尿濃縮機構のもつ生理学的意義を議論するなかで、系統発生的な立場からは尿濃縮機構出現の必然性は陸上生活への移行ではなく「恒温動物への進化の過程での体温冷却のための自由水供給システム」から出発したのではないかという仮説を提唱する。

### 5. 神経生物学研究の材料としての魚類脳

岡 良隆（東京大学・大学院理学系研究科附属臨海実験所）

生殖腺刺激ホルモン放出ホルモンGnRHは、視床下部ニューロンの細胞体で産生され、正中隆起の軸索終末から下垂体門脈血中に分泌されて下垂体からのゴナドトロピン放出を促進する下垂体刺激ホルモンとして発見された。一方、正中隆起には全く投射せずゴナドトロピン放出ホルモンとしては働かない視床下部外GnRH系の存在もわかってきたが、その機能については不明である。我々は魚類脳の視床下部外GnRH系に属する終神経GnRH細胞をモデル実験系として用い、単一GnRH細胞が脳内の極めて広範囲に投射すること、それらが特徴的なペースメーカー活動をしていること等を示し、視床下部外GnRH系が行動の動機づけや覚醒状態を調節する神経修飾系として働くのではないかと考えるに至った。この実験系は、他の脊椎動物の脳では技術的に極めて困難な単一ペプチドニューロンの機能解析を可能にする点でユニークである。今回はこの実験系の優位性を利用してこれまでに得られた成果として、終神経GnRHニューロンの機能に関する形態学・生理学・行動学などの手法を用いた解析結果（特に、GnRHニューロン自体の発現するGnRHレセプターにGnRHがautocrineもしくはparacrine的に働く可能性）、および微小炭素繊維電極を用いたGnRHペプチド放出のリアルタイム測定法の開発とその視床下部GnRH系における応用について紹介する。

## 6. ボケ無いハエは作れるか？

齊藤 実，宮下知之，田村拓也（東京都神経科学総合研究所，分子神経生理部門）

老齢化に伴う学習記憶能の低下に関して哺乳類で行動，シナプスレベルの解析が精力的に行われているが，分子メカニズムはまだ殆ど分かっていない．その最大の障害は哺乳類のモデル動物の寿命が年オーダーと長く，分子遺伝学的手法による系統的な解析が困難なところにある．さらに臨床面からもターゲット遺伝子の不在は効果的な治療法の開発を大きく妨げている．寿命が羽化後約50日と非常に短いショウジョウバエでは分子遺伝学的手法が充実しておりゲノムプロジェクトによる遺伝情報の検索も容易である．

我々はショウジョウバエにおいても人同様，老齢化に伴い学習記憶能が低下することが明らかとなれば，ショウジョウバエをモデルとして，ボケに関わる変異体からボケの分子メカニズムを解析することが可能と考え，野生型で匂い条件付け学習記憶行動の日齢変化を調べた．その結果，人でいえばまだ青年期（20代）に相当する羽化後約10日で既に学習獲得能が，羽化後約20日（人の壮年期に相当）から学習獲得能に加え中期記憶成分の形成能が低下することを見出した．これらの事実から，10日齢での学習獲得，20日齢での中期記憶形成能を指標とした各種変異体の解析を行い，予備的ではあるが生殖行動とボケの抑制，また細胞接着因子の発現低下とボケの促進に興味ある相関を見出した．