

第52回日本生理学会中国四国地方会

日 時：平成12年11月10日（金）

会 場：ビッグハート出雲

当番幹事：島根医科大学生理学講座 廣田秋彦・紫藤 治

20世紀最後の中国四国地方会は出雲市駅南口前にこの春オープンしたのビッグハート出雲において開催しました。正に「神様サミット」開催中の旧暦で神在月の出雲は、その風に乗って神様が来ると言われる大風が吹く日が多いのですが、当日は幸い小春日和に恵まれました。岡山から山陰へのJRの幹線・伯備線が、10月6日の鳥取県西部地震で地盤が緩んでいた所に先月末大雨が降って発生したという地滑りの為、鳥取・岡山県境付近で一部不通（バス代替輸送）という悪条件にも関わらず、学部学生を含めると八十余名の方々に御参加いただけました。中国四国地方会では前回の宇部市で開催した評議員会の議決に基づき、昨年末から本人の自発的参加の原則を尊重して地方会会員のmailing listの作製をすすめ、今回はそれを活用して、ゲラの確認と抄録集の送付以外は、原則としてすべての通信をe-mailで行いました。この結果、連絡の迅速化と大幅な通信費の削減を実現することが出来ました。

中国四国地方ではここ5～6年の間に地方会主幹10校の生理学講座において6割以上の教授が入れ替わり、大きく若返りました。まだ弟子が育ちきれないハシ打ち状態の教室が多く、今回は23演題中5演題と、2割を超える学部学生の登壇が見られたのを筆頭に、超若手の発表を教授が心配そうに見守るパターンが目立ちました。一方で、座長に助教が一人もいないという中抜けの大会となりましたが、巾広い領域での研究発表が行われ、活発な討論は口癖にまで引き継がれました。一室でのみ口演発表することで、専門領域外の分野の話も聴けるという地方会ならではの特色も十分に発揮されたと思われます。今後、若手の成長を期待し、中国四国地方の飛躍への契機となった大会といわれるようになることを願っております。

昼食時の恒例の評議員会では、新任教授の梶谷文彦教授（岡山大学医学部第二生理）と佐藤隆幸教授（高知医科大学第二生理）が紹介され、常任幹事より諸委員会の報告と次回の第53回地方会は平成13年11月9日に広島市（当番幹事：広島大学 瀬川教授他）で行い、今回同様、原則としてe-mailで連絡することが報告されました。続いて、次々回の当番校が高知医科大学に決まりました。最後に、1年以内に中国四国地方会の会則の原案を梶教授、辻岡教授が中心になって作製し、来年の評議員会で承認する方向で調整することが決まりました。

1. 鶏胚脳幹のGABA-A受容体サブユニットの発現の時期と局在性

榎本浩一，廣田秋彦（島根医科大学・第二生理）

鶏胚脳幹のGABA-A受容体サブユニット7種（1, 2, 3, 4, 1, 2, 4）の遺伝子発現経過、スプライシング、発現の局在性を遺伝子分析、定量RT-PCRとin situ hybridizationにより調べた。2, 4, 2サブユニットには選択的スプライシングがみられた（長い塩基配列をそれぞれ2L, 4L, 2L, 短い塩基配列をそれぞれ2S, 4S, 2Sと呼ぶ）。GABA-A受容体サブユニットの発現パターンは2種に大別された。1, 2L, 2S, 3, 4L, 4, 1, 2Sサブユニットは孵卵2～3日胚に出

現を認めたが、2Lと4サブユニットの発現は孵卵9～12日胚まで遅れた。この発生段階まで脳幹には2Lと4のサブユニットが欠落していることになる。このことは、発生初期胚のGABA-A受容体の生理活性が、発生段階の進んだ胚や成体と異なる原因である可能性がある。さらに、in situ hybridizationにより各サブユニットの発現部位の局在性を検討した。

2. 神経筋伝達における伝達物質放出の短期修飾について

前野 巍¹，榎本浩一¹，成田和彦²，廣田秋彦¹（¹島根医科大学・第二生理，²川崎医療短期大学・医用デザイン科）

Mg 処理をした神経筋標本の伝達物質放出機構は運動神経の興奮パターンに依存した複雑な短期修飾を受けることが知られている。電気生理学的な分析によると、この短期修飾は時間経過の相違から、二種の速い促進 (facilitation)、中間的な増進 (augmentation) および遅い増強 (potentiation) といった四つの要因に分類される。また、これら各要因に対して選択的な効果を示す薬物があることから、それぞれが独立した別個のものだと考えられている。

他方、synaptobrevin, SNAP-25, syntaxin といったいわゆる docking protein の生化学的解明が急速に進み、シナプス小胞が神経終末活性帯膜と接着してから癒合・開口放出に至る分子機構が次第に明らかになりつつある。そこで私は電気生理学的に解析された伝達物質放出の短期修飾の要因と伝達物質放出の分子機構との対応を試みた。

3. 昆虫神経細胞の培養条件下での神経回路

渡辺雅夫, 花村智子, 上田和生, 大野紘介, 重本直史 (山口大学・理学部・自然情報科学)

昆虫嗅覚路の情報伝達の仕組み、例えば神経細胞間での伝達調節や神経伝達物質などを調べるひとつの実験系として、培養神経細胞を使うことを試みている。材料に蛹期のヨトウガの脳内細胞を用いることで、数日後にはシャーレ内に成虫嗅葉内に見られる local interneuron と projection neuron に、形態的特徴が類似する神経細胞を観察することができた。それらの神経細胞は、近くにある他の細胞とつながりをつくるが、その相手となる細胞を選別しているようには見えなかった。local interneuron 様の神経細胞は、単独の場合より他の細胞とつながりを持つものの方が、軸索の枝分れが発達しているように見え、培養液中に触角内細胞塊を加えた場合は単独のものでも軸索の枝分れが発達しているように見えた。一方、projection neuron 様の神経細胞は、local interneuron 様の神経細胞に比べて数が少なく、軸索の枝分れもあまり見られなかった。また、培養液中に触角内細胞塊を加えても、はっきりとした影響は見られなかった。

4. Na チャネルに対するグラヤノトキシンの修飾モデル 閉状態、開状態との特異的な作用

結城常譜¹, 山岡 薫¹, 焼広益秀², 瀬山一正¹ (¹広島大学・医学部・生理学第一, ²広島国際大学・保健医療学部・臨床工学科)

カエル心筋 Na チャネルに対するグラヤノトキシン I の修飾様式を電気生理学的に検討した。細胞膜に conditioning pulse を与え、Na チャネルを開かせることにより、グラヤノトキシンは Na チャネルを修飾する。この修飾の程

度は、conditioning pulse の間の Na チャネルの開状態の時間のみ比例し、その結合定数に電位依存性は認められなかった。このことから、グラヤノトキシンは Na チャネルが開状態の時にのみ結合すると考えられた。各電位におけるグラヤノトキシンによる修飾からの回復の過程を観察したところ、-100mV 以下、または -40mV 以上の電位では、回復に要する時定数がそれぞれ一定であった。この電位に対する傾向は、グラヤノトキシンで修飾された Na 電流の活性化曲線に酷似しており、開状態、閉状態でそれぞれグラヤノトキシンの解離時定数が異なると考えられた。この考えをもとに解析した所、グラヤノトキシンは、閉状態からのみ解離することが明らかとなった。以上より、グラヤノトキシンの修飾は、電位とは関係無く、Na チャネルの開または閉状態のみ極めて厳密に関連して行われていると考えられた。

5. sns ノックアウトマウスにおける新規テトロドトキシン非感受性ナトリウムチャネルの解析

丸山泰司, 藤原雄一郎, 山本詳子, 緒方宣邦 (広島大学・医学部・第二生理)

哺乳類知覚神経細胞において特異的に発現するテトロドトキシン 非感受性ナトリウムチャネル (sensory neuron-specific tetrodotoxin-insensitive Na channel: SNS) は、痛みや温度などの侵害刺激の情報処理に重要な役割を担っており、生理学的にも薬理的にも通常のナトリウムチャネルと著しく異なった性質をもっている。本報告では、SNS 遺伝子である sns をノックアウトしたマウスを用いて知覚神経細胞ナトリウムチャネルの電気生理学的性質を検討した。sns ノックアウトマウスでは、SNS の発現は完全に抑えられていたが、SNS とは別種の新しいタイプのテトロドトキシン 非感受性ナトリウムチャネルが観察された。このチャネルによる電流は、SNS と比較して、電流の持続が極めて長く、不活性化曲線が過分極方向に大きくシフトしているなど、SNS とは著しくことなる電気生理学的性質を示した。

6. スフィンゴミエリン結合蛋白 Lysenin による中大脳動脈のカルシウム非依存性収縮

山本 哲, 白尾敏之, 轟・池田奈津子, 最上紀美子, 水上洋一, 小林 誠 (山口大学・医学部・第一生理)

高血圧や血管攣縮などの血管の異常収縮の病態として、血管のカルシウム非依存性収縮が注目されている。最近、我々は、Rho-kinase、およびスフィンゴ脂質の1つであるスフィンゴシルホスホリルコリンが、血管のカルシウム非依存性収縮を引き起こす細胞内情報伝達因子であることを

報告した。一方、Lyseninは、最近同定されたスフィンゴミエリン結合蛋白である。今回、我々は、Lyseninがカルシウム非依存性収縮を引き起こす可能性について検討するために、-エスシン処理によってウシ中大脳動脈中膜条片のスキンド（細胞膜に小孔を開けた）標本作製し、その等尺性張力を測定した。細胞質カルシウム濃度が一定の条件下で、Lyseninは、GTP非存在下で、カルシウム非依存性収縮を引き起こした。このカルシウム非依存性収縮は、Rho-kinase阻害薬（Y27632）によって抑制された。以上の結果より、スフィンゴミエリン結合蛋白であるLyseninは、Rho-kinaseの活性化を介して、脳血管にカルシウム非依存性収縮を引き起こすものと考えられた。Lyseninによるカルシウム非依存性収縮には、G蛋白は関与していないものと思われる。

7. 血管平滑筋細胞において、スフィンゴシルホスホリルコリン（SPC）は、Rho-kinaseのtranslocationを引き起こす

水谷 誠，白尾敏之，轟・池田奈津子，最上紀美子，水上洋一，小林 誠（山口大学・医学部・第一生理）

最近、当教室では、脳血管および冠動脈において、スフィンゴ脂質の1つであるスフィンゴシルホスホリルコリン（SPC）が、Rho-kinaseを介してカルシウム非依存性収縮を引き起こすことを見出している。一方、株化細胞などでは、Rho-kinaseの活性化に伴って、Rho-kinaseのtranslocationが観察されている。今回、我々は、Western blottingを用いて、脳血管にRho-kinaseが存在するかどうかを検討し、さらに、血管平滑筋の初代培養細胞において、Rho-kinaseの免疫染色を行い、SPCがRho-kinaseのtranslocationを引き起こす可能性について検討した。抗Rho-kinase抗体を用いたWestern blottingにより、ウシ中大脳動脈中膜条片には、Rho-kinaseが存在することが確認された。さらに、抗Rho-kinase抗体を用いた免疫染色を行うと、ラット大動脈中膜平滑筋の初代培養細胞において、非刺激時の場合には、Rho-kinaseは細胞質に存在していた。SPC刺激によって、細胞質から細胞膜へのRho-kinaseのtranslocationが観察された。本研究により、1) 脳血管にはRho-kinaseが存在すること、2) SPCは、血管平滑筋細胞において、細胞質から細胞膜へのRho-kinaseのtranslocationを引き起こすこと、が明らかとなった。

8. 培養ラットグリア細胞に対するデキサメサゾン及び性ステロイドホルモンの影響

徳 和子²，田中潤也¹，杉下博基²，桑原康秀¹，前田信治²（¹愛媛大学・医学部・第一生理，²第二生理）

脳内のグリア細胞にも、種々のステロイドホルモン受容体が発現していることが知られている。しかし、その生理的・病理的意義については不明な点が多い。今回我々は、一次培養マイクログリア及びアストロサイトに対するエストラジオール（E₂）、テストステロン（T）、プロゲステロン（P）、ジハイドロテストステロン（DHT）、デキサメサゾン（DEX）の影響を調べた。DEXは、マイクログリア形態を収縮させ、代謝活性を抑え、一酸化窒素NO産生、IL-6とTNF α mRNA発現も強く抑制した。それに対し、E₂、T、P、DHTにはマイクログリア機能形態に対する抑制効果は殆どなかった。しかし、これらの4種のホルモンは、グルタチオン合成の律速酵素であるグルタミルシステイン合成酵素発現を増強し、過酸化水素負荷時のマイクログリア細胞死を抑制した。また、アストロサイトに対しては、これらのステロイドホルモンが、水チャネルを形成するAquaporin4やサイトカインの発現に影響することを見出した。以上の結果は、脳内グリア細胞に対し、種々のステロイドホルモンが広範な影響を与え、脳機能調節に関わっている可能性を示唆している。

9. グリア細胞における3ホスホグリセリン酸脱水素酵素の発現とセリン・グリシン依存性

田中潤也¹，桑原康秀¹，杉下博基²，徳 和子²，前田信治²（愛媛大学・医学部・¹第一生理，²第二生理）

マイクログリアは中胚葉に由来すると考えられ、脳内の主たる免疫担当細胞である。最近、マイクログリアの活性化に非必須アミノ酸であるL-セリンまたはグリシンが必須であることが明らかになってきた。一方、アストロサイトの生存や機能形態にセリン、グリシンは影響しない。その理由を明らかにするために、解糖系からのセリン、グリシン生合成系路の律速段階を触媒する3ホスホグリセリン酸脱水素酵素（3PGDH）の細胞種ごとの発現を検討した。高純度の神経細胞、アストロサイト、マイクログリアの培養を調製し、ウエスタンブロッティングとRT-PCR、免疫細胞染色を行った。アストロサイトでは、3PGDHが非常に豊富に発現していたが、神経細胞では少なく、マイクログリアには殆ど発現がなかった。*in vivo*での免疫組織化学では、神経細胞とマイクログリアには3PGDHの発現は全く見られなかった。神経細胞やマイクログリアがセリン、グリシン依存性であるのは、3PGDHの発現量が少なく、セリン、グリシンの自己産生量が極めて不十分であるためと考えられる。

10. Phosphohippolin? ラット海馬からクローニングされた新しいphospholemmann-like protein

杉本勝良, 田井祐爾, 山口文徳, 山口久美子, 徳田雅明
(香川医科大学・生理学講座・第一生理学)

我々は, ラット海馬のcDNAライブラリーからクローニングした93個のアミノ酸残基からなる推定分子量10,500のポリペプチドを, phosphohippolin (Php) と命名した。ヒドロパシー分析よりPhpは2つの疎水性領域(アミノ酸1-17残基, アミノ酸37-56残基)を持つが, アミノ酸1-17残基がシグナルペプチドと推察されるため, アミノ酸37-56残基を膜貫通ドメインとする一回膜貫通型たんぱく質として存在していると考えられる。また, このPhpの推定アミノ酸配列はphospholemmanと48.1%, Mat-8やchannel-inducing factorと49.0%の相同性を有し, 小脳顆粒細胞などにも豊富に発現している実験結果から, Phpがこれらのたんぱく質と同様な生理学的役割を中枢神経系において果たしている可能性がある。本研究では, Phpにおけるたんぱく質化学・分子生物学的な基礎実験データについて報告する。

11. 骨芽細胞の増殖と分化に及ぼすELF磁界の影響

細川敬子¹, 山口久雄¹, 池原敏孝¹, 北村光夫¹, 吉崎和男¹, 宮本博司² (¹徳島大学・医学部・第一生理, ²徳島文理大学・家政)

骨芽様細胞(MC3T3-E1)の増殖期と分化期について細胞内情報伝達機構に及ぼすELF(extremely low frequency)磁界の影響について考察した。磁界はヘルムホルツ型対極式コイルで60Hzの正弦波を発生させ平均最大磁束密度は3 mTで, 培養面への誘導電流は10 mA/m²であった。増殖期の細胞に対して, Endothelin-1(ET)刺激による細胞内Ca²⁺濃度([Ca²⁺])の上昇は抑制された。一方, 分化期の細胞に対してはET刺激は, [Ca²⁺]の上昇を促進する。外液にCa²⁺が存在しないBSS(-)の方が, Ca²⁺が存在するBSS(+)条件より抑制効果は顕著であった。またprotein kinase C(PKC)のactibatorであるPMAを前処理すると, 増殖期の細胞では, 対照群, 曝磁群ともET刺激による[Ca²⁺]は抑制された。PKCのinhibitorであるstaurosporineを作用すると, 対照群においては[Ca²⁺]の促進効果がみられるが, 曝磁群ではその効果はみられなかった。分化期ではPMA, staurosporine作用は対照群, 曝磁群ともに薬剤効果はみられなかった。また, ETA receptorのantagonistであるBQ123を前処理した時の[Ca²⁺]のピーク値の抑制効果は曝磁群では緩徐になった。これらの結果から骨芽細胞の増殖期と分化期では情報伝達機構に關与する[Ca²⁺]へのELFの影響に異なる作用がみられた。

12. 単球付加時の内皮細胞間隙変化とタンパク構造変化

片岡則之¹, 望月精一¹, 立花博之¹, 小笠原康夫¹, 辻岡克彦², 梶谷文彦¹ (川崎医科大学・¹医用工学教室, ²生理学教室)

目的: 動脈硬化発生・進展過程において, 単球の内皮下への浸潤は重要なプロセスである。本研究では, 内皮細胞と単球の相互作用を微細運動の観点から解析するため, 電気インピーダンス計測によって単球付加時の内皮細胞間隙変化の実時間解析を行った。

方法: ヒト臍帯静脈由来内皮細胞を電極上に培養し, IL-1で刺激を加えた後, 単球の懸濁培養液を付加して内皮細胞層の電気インピーダンス変化を計測して細胞の間隙変化を解析した。併せてF-actin filament, Focal Adhesion Kinase(p125^{FAK}), Integrinの変化を観察した。

結果: IL-1処理後の内皮細胞に単球を滴下したところ, インピーダンスは瞬時に低下し始めたが, IL-1未処理の内皮細胞では, 抵抗値の減少は顕著ではなかった。細胞-細胞間の抵抗成分(Rb)と, 細胞-電極間の抵抗成分()の変化を解析したところ, 単球の滴下後, Rbはほぼ一定の値をとり続けるが, は顕著に減少した。F-actin filament, p125^{FAK}ならびにIntegrinを観察したところ, いずれも単球の付加後に減少することが観察された。

総括: 単球と内皮細胞の接着は, 内皮細胞の細胞骨格成分や基質への接着部のタンパク構造変化を引き起こし, 結果として内皮細胞の基質への接着性の低下を引き起こすものと考えられる。

13. 納豆と血液凝固 線溶関連成分

須見洋行, 大杉忠則, 佐々木智広, 柳澤泰任, 矢田貝智恵子 (倉敷芸術科学大学・食品機能学)

納豆中に関連成分としてビタミンK₂であるメナキノン-7(MK-7), 及び線溶酵素であるナットウキナーゼ(NK)以外に, 初めて耐熱性の線溶賦活物質(FAS)を確認した。

材料・方法: MK-7はこれまでのHPLC法(Food Sci. Res., 5, 48, 1999), NKはフィブリン平板法(Experientia 43, 1110, 1987)で測定。FASはトリプシン フィブリン平板による線溶活性の増強率をサーファクチンを標準にμg(単位, U)換算した。

結果: 市販7社の納豆100g中にはMK-7が650~1,800 μg, NKは7.8~18.5万IU(UK単位)検出された。健康人5名が摂取した際の血漿MK-7濃度は1.1±0.5 ng/mlから最高57.1±7.7 ng/mlまで, しかも持続的(4~48時間, p<0.05)に高まったが, TEGパターン, PT, APTT値

の変化は見られなかった。一方、FAS活性は2.4～8.4万Uに相当する強いもので、これがプラスミンあるいはミミズ酵素 (rumbrokinase) のような直接のフィブリン分解酵素に働く他、プラスミノゲンアクチベーター (UK)、あるいはプロウロキナーゼアクチベーター (NK) に対しても強い賦活効果を示すことが分かった。FASは熱に安定 (120℃, 10分間)、透析性であり、これまでの経口酵素による血中線溶発現へ関与することが推測された。

14. フェロモン記憶と副嗅球内情報処理

椛 秀人, 大塚智子, 谷口睦男, 黄 光哲, 大迫洋治, 奥谷文乃, 高橋聖一 (高知医科大学・第一生理, 科学技術振興事業団・戦略的基礎研究推進事業)

交尾刺激を引き金として雌マウスに形成される雄フェロモンの記憶は、妊娠の成立に不可欠な、生存価の高い記憶である。この記憶は、鋤鼻系の最初の中継部位である副嗅球で形成される。副嗅球の中継ニューロンであるグルタミン酸作動性僧帽細胞は副嗅球に内在するGABA作動性顆粒細胞との間に、樹状突起同士の相反性シナプスを形成している。交尾刺激とフェロモン刺激が副嗅球において連合することによって僧帽細胞から顆粒細胞への興奮性シナプスに形態変化が生ずる。このシナプスの可塑性変化により交尾相手の雄のフェロモン情報は選択的に修飾 (抑制) され、妊娠阻止が回避されると考えられる。記憶形成には交尾刺激が不可欠であるが、副嗅球内情報処理に対する交尾刺激の作用は不明であった。そこで、ウレタン麻酔下の雌マウスに *in vivo* の電気生理を適用して交尾刺激の作用を検討した。膣頸管刺激は、顆粒細胞を介した僧帽細胞のフィードバック抑制を反映すると考えられている誘発フィールド電位の paired-pulse depression を減弱させ、僧帽細胞の単一ニューロン活動を増大させることが明らかになった。相反シナプスの可塑性を理解するためには、上記のフィードバック抑制のシナプス機構を明らかにしておくことが重要である。そこで、このフィードバック抑制をスライスパッチ法により解析した。このフィードバック抑制には、顆粒細胞のNMDA受容体の活性化が重要であることが判明した。

15. Camera Sickness における Deci-Second Instability の存在について

嶋原良仁, 徳田雅明 (香川医科大学・生理学講座・第一生理学)

ビデオカメラを手で持って撮影する場合、撮影画像には手のブレによるブレた画像が記録される。このブレは、視聴者に不快感を与えるため、近年、ほとんどのビデオカメ

ラには、そのブレを光学的・電氣的に補正し、安定した画像を得るためブレ補正装置が具備されている。

我々は、ブレ補正装置を具備したビデオカメラの一部には、撮影者に対し、特有の「酔い」を生じさせるものがある事を発見し、この現象を camera sickness と命名した。camera sickness を生じ易いカメラの手ブレは、10～16Hz にピークがある、特有のスペクトルを持つ事から、10～16Hz で振動する画像は、ヒトの身体に何らかの影響を与える事が示唆された。

そこで、任意の振動数で視野を周期的に振動させることが可能な望遠鏡を用い、該周波数近傍の振動視覚刺激が、被験者の姿勢に与える影響を観察した。結果として、10Hz 強の周波数で振動する視覚刺激は、被験者の姿勢を不安定にする事が観測された。この姿勢の不安定化を Deci-Second Instability (略称 DSI), DSI が発生する周波数を Deci-Second Threshold (略称: DST) と命名した。現在 DSI が生じる原因及び camera sickness との因果関係を検討中である。

16. ラットにおける橋排便反射中枢の働きと所在の検討

吉田繭子¹, 石水洋子¹, 福田博之^{1,2} (¹川崎医療福祉大学・臨床栄養学科, ²川崎医科大学・生理学教室)

橋排便反射中枢は、岡田ら (1976) により、除脳イヌを用いて、その存在が初めて明らかにされた反射中枢で、三叉神経運動核の背内側橋網様体に存在し、直腸の伸展や肛門管の刺激により、仙髄の排便反射中枢より低い閾値で活性化され、仙髄排便反射中枢を介して直腸に排便収縮を引き起こすものである。本研究はイヌに存在する橋排便反射中枢がラットにも存在する事を明らかにする目的で行った。実験は、クロラロース (70mg/kg) とペントバルビタール (30mg/kg) の尾静脈注射による麻酔下に、上丘の吻側で脳幹を横断した除脳ラットで行った。直腸に挿入したバルーンに0.2～0.5mlの空気を注入して伸展すると30～60mmHgに達する直腸の排便収縮が誘発された。また、同様な排便収縮が肛門管粘膜の電気刺激 (10 V, 1 ms, 20 Hz) によっても引き起こされた。それらの排便収縮は、小脳脚の高さでの橋の横断により、検討した全てのラットで消失した (11頭)。しかし、1頭のラットでは、橋横断後にも更に強い直腸の伸展 (0.6～0.8ml) により弱い排便収縮 (< 10mmHg) が起こった。以上の結果は、ラットでもイヌと同様に橋排便反射中枢が存在することを示唆する。今後は、その存在部位と活動様式を神経毒の微量注入による局所的破壊や単一ニューロン活動の記録により明らかにする予定である。

17. オキシトシンの海馬CA1における超長期増強(L-LTP)誘導促進作用

伊賀徳周, 富澤一仁, 李 勝天, 松下正之, 森脇晃義, 松井秀樹(岡山大学・医学部・第一生理)

オキシトシンは妊娠出産で重要な役割を果たしているホルモンである。そのレセプターが子宮や乳腺だけでなく、ラット海馬においても多く発現していることが判明した。また、妊娠、出産、授乳を経験したラットは未経験のラットよりも空間認識が向上したとの報告がある(Nature 402: 137, 1999)。今回、我々は、オキシトシンの海馬CA1における長期増強(LTP)および超長期増強(L-LTP)におよぼす影響について検討した。オキシトシンを灌流したスライスでは、basal neurotransmission LTPに変化は認められなかった。しかし、通常3回以上のテタヌス刺激で誘導される3時間以上のEPSPの増大(L-LTP)が、一回のテタヌス刺激のみで誘導された。さらに、これらの現象に性差はなかった。海馬でのレセプターの発現量は、性差、年齢差に関係がないことから、海馬ではオキシトシンが性別・年齢に関係なく記憶・学習のメカニズムを調節していることが示唆された。

18. 長期的持久運動がマウス海馬神経細胞に及ぼす影響について

住谷和則¹, 宮本 修², 山神眞一³, 岡田泰士³, 板野俊文², 根本哲郎¹(香川医科大学・¹基礎スポーツ医学,²生物学,³香川大学・保健体育)

長期間に渡り激しい持久運動を行うと、様々なスポーツ障害を引き起こす。これらについては、研究が行われその要因が明らかにされてきたが、脳神経細胞に与える影響についての報告はほとんどない。そこで我々は、雄マウスを非運動群と運動群に分け、さらに運動群はトレッドミルにて週5回1日1時間10m/minの速度で12週間走運動を行う群(mild training群)と週5回1日1時間25m/minの速度で12週間走運動を行う群(hard training群)に分けて運動を行った。そして各運動後に4%のバラホルムアルデヒドにて灌流固定を行い、切片を作成し、ヘマトキシリン・エオジン染色や微小管関連タンパク2(MAP-2)及びHeat Shock Protein72(HSP72)の各抗体による免疫染色(ABC法)を行い、海馬錐体細胞の免疫染色性を確認して神経細胞の障害を調べた。また、2.5%グルタルアルデヒド2%オスミウム酸固定を行い、電子顕微鏡にて神経細胞の形態の変化を観察した。その結果、非運動群とmild training群には変化がなかったが、hard training群においては、約半数のマウスに海馬錐体細胞の萎縮変形が見られ、MAP-2染色性が減弱していた。また、このような細胞で

は、核の変形やミトコンドリアの膨化などが観察された。激しい運動を長期間続けることにより、脳の海馬神経細胞が障害を受けることが示唆された。

19. 赤色発光ダイオード光の前頭部照射による、a波の振幅とNK細胞の指標の変化

鳥海善貴¹, 亀井 勉¹, 神保聖一²(¹島根難病研究所,²(株)三菱化学ピーシーエル)

最近、網膜や松果体の細胞以外の光感受細胞の存在が示唆されつつある。ヒトを対象に両眼を遮光して前頭部に赤色発光ダイオード光照射をくり返し、脳波とNK細胞の指標の変化を調べた。18~21歳の健康男性に、赤色発光ダイオード光を70~80 lxにて、1日に2~4回、計21回照射した。照射中、被験者は閉眼しアイマスクで眼を遮光した。21回目の照射は、非照射の期間(前駆期; 15分間)の後に照射(照射期; 15分間)、続いて再び非照射の期間(余韻期; 15分間)を設けた。脳波は生体アンプ(16 ch)で測定し、[a波の周波数の平均値±0.5Hz]の周波数帯域の実効振幅(以下、実効振幅)を求めた。各期間の間で調べたNK活性・CD57×CD16⁻*+・CD57×CD16⁺*+は、21回目の照射期前に比し、照射期後では有意な増加ではなかったが、余韻期後では増加した(それぞれp<0.10, p<0.02, p<0.05)。この三者のうち、照射期前後のCD57×CD16⁻*+の変動は、測定開始後5分間の実効振幅の変動と相関し、前頭部で最も有意(Fp₁でp<0.01 R=0.84, Fp₂でp<0.02 R=0.80)、右半球でより有意だった。NK活性・CD57×CD16⁺*-の変動と実効振幅の変動との間には相関はなかった。光は、頭蓋骨を通過後、大脳皮質に神経生理学的な影響を直接与え、何らかの神経伝達物質の血中放出により末梢血液中のNK細胞数に影響を与えるという可能性が考えられた。

20. ヨーガの行の「呼吸法」の前後におけるa波の変化と細胞性免疫との相関性について

亀井 勉¹, 鳥海善貴¹, 木村 浩², 木村慧心³(¹島根難病研究所,²きむら小児科,³日本ヨーガニケタン)

ヨーガによる呼吸・循環器・内分泌代謝機能の安定的向上が報告されており、ヨーガで経験的に知られる健康増進効果には心身相関に関係した変化が寄与していると思われる。長年のヨーガ経験者で行の前後の免疫能と脳波の変化を調べ、健康への影響を検討した。ヨーガの行を数年以上継続中のインストラクター8名(男女4名ずつ)を対象に、15分間のアーサナ(一連の体位変換の行)と15分間の呼吸法(閉眼で各種の緩急のある呼吸を持続的に行う)及び20分間の瞑想を行い、各行で右前頭部の脳波を測定し、

その前後で細胞性免疫（NK 活性・CD3・CD4・CD8・CD20）を調べた。2秒に1回脳波を測定し、波・波（7～8Hz・9～11Hz・12～13Hz）・波の5帯域に振り分けて平均振幅と出現率を分析した。一連の行により、8名中6名は9～11Hzの、1名は7～8Hzの波が、1名は7～8Hzの波と波が賦活化された。免疫系は、一連の行では変動はなかったが、呼吸法の前後で、波の出現率の増加とNK活性及びCD3の増加率との間に正の相関（順に $p < 0.02$, $p < 0.05$ ）が、また波の出現率の増加とCD20の増加率との間に負の相関（ $p < 0.05$ ）がみられた。また、呼吸法の前後では、波の平均振幅の増加とCD8の増加率との間にも正の相関（ $p < 0.05$ ）を認めた。15分間の呼吸法により、呼吸調節中枢への刺激か、非日常的な換気の変化による血中 O_2 濃度の急な変動が生じ、何らかの神経伝達物質が放出されNK活性等を変化させた可能性が考えられた。

21. 骨格筋収縮時の心臓交感神経活動の応答：自発収縮と電気刺激による誘発収縮の比較

村田 潤, 松川寛二, 土持裕胤, 小峰秀彦 (広島大学・医学部・保健学科)

心臓交感神経活動は骨格筋収縮にともなうfeedback制御により反射性に増加する。一方、自発的な運動時にはfeedforward制御によって心拍数は運動に先立って増加する。これには心臓交感神経の初期応答が関与すると考えられるが、これらの制御機構についてどのような違いがあるのかについては不明瞭な点が多い。そこで本研究は除脳ネコを用いて無麻酔下で心臓交感神経活動、心拍数、動脈血圧、筋電図、骨格筋収縮による発生張力を同時記録した。除脳は上丘前 乳頭体吻側部レベルで施行された。除脳ネコは不定期に自発的な収縮を繰り返すため、この自発収縮時の心臓交感神経活動の応答と後脛骨神経の電気刺激によって誘発された骨格筋収縮時の応答を比較した。その結果、心臓交感神経活動は自発的な収縮時にともなう筋放電に先行あるいは同時に増加した。一方、誘発された骨格筋収縮時に対する応答は筋放電に1～3秒程遅れて増加した。また心拍数、動脈血圧の応答に関しても両者で時間的な差がみられた。これらの成績は、心臓交感神経活動はcentral commandによってfeedforward制御の影響を受け自発的な運動に先行して、あるいは同時に増加することを示唆した。一方、骨格筋収縮にともなう活動筋受容器からの反射性調節は数秒間遅れて心臓に影響を及ぼすことが明らかとなった。

22. 意識下ネコにおける随意運動時の筋血流調節

小峰秀彦, 松川寛二, 土持裕胤, 村田 潤 (広島大学・医学部・保健学科)

運動時における骨格筋血流量は、主に筋収縮の結果生じる代謝物質による局所性自動調節を受ける。さらに、運動筋にある機械受容器や化学受容器並びに血圧受容器からの反射が筋血流量を修飾すると思われる。しかしながら、これまでの研究では、動物の場合には後肢を対象に行ったものが中心である。また、ヒトの場合には上肢であっても小筋群の運動で、さらに実験統制下での命令による運動が行われてきた。したがって、これらの研究結果は、前肢（上肢）全体の筋群を用いた、自発的な随意運動での筋血流量の調節とは異なる可能性が考えられる。そこで、前肢の随意運動時における筋血流調節について、セントラルコマンドの影響を中心に調べることを目的とした。実験対象には意識ネコを用い、運動肢の上腕動脈に埋め込んだDoppler flow probeから血流速度を、頸動脈に挿入したカテーテルから動脈血圧と脈拍数を測定した。また、血流速度と動脈血圧の比から上腕血管床のコンダクタンスを推測した。運動は、前方に置いたレバーに対して、自発的に前肢を伸ばした後10-30秒間持続的にレバーを把持するよう訓練した。この運動時の各測定項目の記録に加えて、運動時にムスカリン受容体ブロッカー（アトロピン）、一酸化窒素（NO）合成酵素阻害剤（L-NAME）を投与し、筋血流量に影響を与えるコリン作動性因子やNOの影響について調べた。

23. 一日一定時間帯に固定した暑熱曝露によるラットの核心温の変化

山崎 宏, 原 俊子, 橋本道男, 紫藤 治 (島根医科大学・第一生理)

一日のうち約5時間、一定時間帯に限ってラットを高温環境に曝露する暑熱負荷を5日間以上繰り返すと、その後、核心温の日内変動パターンが変化し、実際の温度刺激が無いにも拘わらずかつて暑熱曝露を受けていた時間帯に一致して核心温が低下する。本研究では上述の特徴的な核心温の下降が、一回の暑熱曝露時間の長短によりいかに影響されるか検討した。環境温24℃、明暗サイクル12:12時間、自由摂食・摂水下で飼育するウイスター系雄ラットを3群に分け、暑熱曝露する時間をそれぞれ1.5時間、3時間、5時間とした。暑熱曝露は暗期の中点から開始し、10日間連続で行った。暑熱曝露期間前後において、ラットの核心温（腹腔内温）を24℃の一定環境温下で測定した。すべての群において、ラットの核心温は暗期の中点前から有意に低下し、その低下は以後数時間に渡り継続した。核心温が低下した時間は、一回の暑熱曝露の時間に比例していた。

一日のうち一定時間に固定した暑熱負荷の繰り返しによる
核心温の日内変動パターンの変化は、一回の暑熱曝露時間

が1.5時間と短時間でも十分に起こり得ることが確認され
た。