

第54回西日本生理学会

日 程：平成15年10月—17日（金）13：00～17：45 一般口演（20演題）
 18：00～18：45 評議員会・総会
 19：00～ 懇親会
 18日（土）9：00～17：00 一般口演（29演題）

会 場：久留米大学医学部筑水会館

当 番：久留米大学生理学第一講座・第二講座

参加者：114名

演題数：49演題

第54回西日本生理学会はすべて口演形式（口演10分，討論3分）とし，上記日程で開催された。地方会であるにもかかわらず，外国人研究者（留学生）10名の参加があり，外国研究者発表4題のうち3題は英語による発表・討論であった。全体的にみれば若い研究者（大学院生）による発表が多く，活発な質疑応答が行なわれた。特に1日目は討論で予定時間が延長し，休憩時間がなくなった。発表はPC・液晶プロジェクターを使用した演者が大半で，時代の変遷の速さを実感させられた。評議員会総会では，常任幹事，研究倫理委員，教育委員，広報委員による報告，新任教授の紹介に加えて，日本生理学会大会の英語化，学会費値上げ等についての意見交換があり，さらに，これらに関してアンケート調査も行なわれた。次回の当番校は福岡大学医学部生理学教室で，平成16年10月15日（金）～16日（土）に開催される予定である。

1. 雌性ラットの匂いが雄性ラット室傍核 Oxytocin ニューロンに及ぼす影響：雄性ラットの性経験の有無による反応性の違い

西谷正太¹，守屋孝洋¹，近藤保彦²，佐久間康夫²，篠原一之¹（¹長崎大学大学院・医歯薬学・神経機能学分野，²日医科大・院医・システム生理）

Oxytocin (OT) は，母性行動のみならず，雄の性行動を制御する神経伝達物質である可能性が報告されている。一方，発情雌の匂いは雄の性的覚醒をもたらすことが知られている。しかし，この性的覚醒は視下部室傍核における OT ニューロンの活性化を介しているのか否かは明らかにされていない。そこで我々は，性行動や発情雌の匂いが，雄性ラットの室傍核中の OT ニューロンを活性化するか否かを，神経活動のマーカーである Fos タンパク質の発現を指標にして調べた。また，雄の性行動や発情雌の匂いへの嗜好性は，雄の性経験の有無により変化することも知られている。そこで，性行動や発情雌の匂いによる OT ニューロンの活性化が性経験の有無による影響を受けるか否かも検討した。その結果，Fos を共発現している OT ニューロン数は，発情雌との性的接触 (contact 群) により有意に増加 ($P < 0.05$) し，その効果に性経験の有無による差は認められなかった。一方，接触不可能な発情雌への曝露 (noncontact 群) は，性経験を持つ雄でのみ有意な Fos 陽

性 OT ニューロン数の増加が見られ ($P < 0.05$)，性的未経験の雄では差は見られなかった。従って，雄の性行動時には室傍核における OT ニューロンが活性化することが明らかとなった。また，性経験を持つ雄ラットでは発情雌の匂いによっても室傍核 OT ニューロンが活性化することが示唆された。

2. 女性の各月経ステージにおける男性の匂いに対する嗜好性

山本育子，西谷正太，諸伏雅代，本多恵夢，篠原一之（長崎大学大学院・医歯薬学・神経機能学分野）

最近，男性の顔に対する女性の嗜好性の調査が行われ，排卵期の女性は男性的な顔を好む傾向にあることが報告された。そこで，健康な女子大学生に対してアンケート調査を行ったところ，排卵期の女性は，男性的な匂いを好む傾向にあることが示唆された。

次に我々は，卵胞期と排卵期において，健康な20代女性を対象として，年代の異なる男性の匂いを嗅いでもらい，匂いの提供者の年代，採取部位ごとの嗜好性を検討した。その結果，排卵期の女性は20代の男性の匂いをもっとも sexy と感じる事が分かった。その際，より sexy に感じる匂いは特定の採取部位に集中していた。これらのことから，女性の「男性の匂い」に対する嗜好性は月経ステージ

に依存し、特に排卵期に高くなることが明らかになった。以上の結果から、異性の匂いに対する嗜好性の変化は、妊娠可能な時期と相関し、生殖が円滑に行われるよう、ヒトに備わった機能であることが示唆された。

3. マウス視交叉上核ニューロンの発火活動の光応答性

中村孝博^{1,2}、藤村幸一¹、海老原史樹文²、篠原一之¹
(¹長崎大学大学院・医歯薬学・神経機能学分野、²名古屋大学大学院・生命農学・動物行動統御学研究室)

体内時計は概日リズムを形成するが、昼夜の明暗サイクルを用いて24時間からのずれを毎日修正するという光同調機能を持つ。哺乳類における体内時計中枢は視床下部視交叉上核(SCN)に存在する。今回、ウレタン麻酔したICRマウスのSCNおよびその周辺からニューロンの電気的活動を細胞外誘導し、網膜への光刺激に対する発火頻度の変化を記録した。その結果、自発発火をするSCNニューロンの光応答に、光によって発火が増加する型と、光で抑制される型が認められた。さらに、SCNでは自発発火をする細胞のうち、光に反応する細胞の割合が体内時計の位相の違いに対応して夜間前期に増加し、昼間期に減少することが確認された。それに対して、SCNの周辺における光応答をする細胞の割合は昼夜を通じて低くとどまっていた。また夜間において、SCNニューロンの光応答の振幅が光強度に依存した変化をすることも認めた。以上のことから、これまで報告のあるラットと同様マウスにおいてもSCNの電気的活動の応答性は光同調に深く関与していることが示唆された。

4. 生物時計遺伝子に対するステロイドホルモンと転写共役因子の作用機序の解析

西原永潤¹、橋口慶一¹、池田正明²、篠原一之¹
(¹長崎大学大学院・医歯薬学・神経機能学分野、²埼玉医科大学・ゲノム医学研究センタープロジェクト部門)

生物時計遺伝子(*Per1*, *Per2*)は、末梢組織においても様々な刺激に反応して、約24時間周期の発現変化を示している。*Per1*のプロモーター領域のE-box配列上では、CLOCKとBMAL1がヘテロ2量体で結合し転写調節を行っていることが知られている。今回我々は、マウス線維芽細胞株(NIH3T3)を用いて、ステロイドホルモン刺激による時計遺伝子の転写活性機構を検討した。

各種ステロイドホルモン刺激による*Per1*, *Per2*の発現変化をRT-PCR法により検討した。その結果、プロジェステロン、デキサメサゾン(Dex)刺激2時間後に*Per1*, *Per2* mRNAの著明な発現上昇が認められた。さらにDex刺激後の*Per1* mRNAの発現変化を検討したところ約24

時間周期の発現変化が認められた。次に、Dex刺激による*Per1*転写活性変化をルシフェラーゼアッセイにより検討した。その結果、1) *Per1*プロモーター領域(2.0kb)において、グルココルチコイド受容体依存的に5倍程度の転写活性上昇が認められること、2) E-boxの転写活性化には非依存的であること、2) コアクチベーターにより*Per1*プロモーターの転写活性は軽度上昇すること、を明らかにした。

以上の結果から、Dex刺激による時計遺伝子の発現制御の一つに、*Per1*プロモーターでの領域特異的な転写活性化が示唆された。

5. 体内時計による神経幹細胞の自己複製能の調節機構

守屋孝洋¹、堀江信貴¹、三留雅人²、篠原一之¹
(¹長崎大学大学院・医歯薬学・神経機能学、²北海道大学大学院・歯学研究科・口腔機能)

近年、“神経は再生しない”と考えられてきた中枢神経系において自己複製能と神経細胞への分化能を有する神経幹細胞が発見され注目されている。

一方、時計遺伝子*Per2*は生体の24時間のリズム性を作り出す転写調節遺伝子として発見されたが、最近、*Per2*遺伝子欠損マウスが種々の癌を引き起こすことが発見され、*Per2*遺伝子が細胞増殖制御に関与している可能性が報告された。そこで我々は*Per2*遺伝子が神経幹細胞の自己複製能を調節しているのではないかと考え、培養神経幹細胞を用いて以下の検討を行った。

マウス胎仔線条体由来の神経幹細胞を分離培養し、神経幹細胞の増殖因子であるEGFを一過的に投与し、その後3日間、4時間毎にRNAをサンプリングし、*Per2*遺伝子の発現変化をRT-PCR法にて測定した。また同様に、4時間毎のDNA合成能および生細胞数増殖率をそれぞれBrdU取り込みアッセイおよびWST-8アッセイによって定量化した。

その結果、EGFによる刺激により、*Per2*の発現が約24時間周期で変動していた。さらに*Per2*の転写ピークの16時間後にDNA合成の亢進が、さらにその8時間後に生細胞数増加率のピークが観察された。これらの結果は、神経幹細胞の自己複製能が*Per2*遺伝子によって強く調節されていることを示唆している。

6. ビタミンEによる神経細胞死の保護効果

江崎泰之^{1,2}、西原永潤¹、上之郷眞木雄²、永田 泉²、篠原一之¹
(¹長崎大学大学院・医歯薬学・神経機能学分野、²長崎大学脳神経外科)

ビタミンEは脳虚血に対する神経保護効果が報告されて

いる。今回我々はマウス海馬由来の神経細胞株 (HT-22) を用い、グルタミン酸で誘導される神経細胞傷害とそれに対するビタミンEの神経保護メカニズムについて検討した。その結果、24時間のグルタミン酸処理によりHT-22の生細胞数は濃度依存的に減少し、5mMの濃度では非処理群と比較して24時間処理後に約10%まで生存率が低下した。一方、5mMのグルタミン酸投与12時間前にビタミンEを併用すると、神経細胞傷害は濃度依存的に抑制され、10 μ MビタミンE併用により90%以上の生存率が認められた。次に、グルタミン酸負荷時において脳虚血関連遺伝子であるBcl-2, Bax (アポトーシスに参与)、MnSOD, Cox-2 (フリーラジカルに参与) の遺伝子発現変化をRT-PCRを用いて解析した。その結果、Cox-2はグルタミン酸負荷により12時間後に約4倍の発現上昇が認められた。一方、ビタミンE (10 μ M) の併用によりグルタミン酸によるCox-2の発現上昇は著明に抑制された。

以上の検討より、グルタミン酸の神経細胞傷害に対するビタミンEの神経保護機序の一つに、フリーラジカル発生に参与するCox-2遺伝子の発現を抑制することが示唆された。

7. 心筋ギャップ結合調節機構におけるコネクシン43 (Cx43) のリン酸化の意義

海 琳¹, 今永一成¹, 中村友紀¹, 小川皓一² (福岡大学医学部 生理学¹, 解剖学²)

ギャップ結合はコネクシンにより構成され、細胞間電気的結合の場として働き、細胞間コミュニケーションや興奮伝導に重要な役割を果たしている。PKA活性化によりCx43のリン酸化亢進に伴い、電気的細胞間結合の促進が認められた。一方、PKCの活性化により心筋Cx43のリン酸化が亢進するにも拘わらず、電気的細胞間結合障害を惹起することが示唆された。そこで我々はCx43はPKC依存性リン酸化を受けると、proteolytic degradationを受け易くなるのではないかと考え、検討した結果、PKC活性化によるCx43の量の減少、Cx43発現の減少が、主にLysosomal inhibitor (NH₄Cl, Leupeptin) で改善されるデータが得られた。以上の結果から、Cx43はPKC依存性リン酸化によってproteolytic degradationを受け易くなる可能性が示唆された。これは、PKC活性化によるギャップ結合機能低下の一因となり得る。また、Cx43のPKA依存性リン酸化とPKC依存性リン酸化はCx43のturn-over rateを制御する重要な因子と考えられる。

8. 新しい急速液交換法をもちいたマウス心室筋 Na⁺/Ca²⁺ 交換電流の生理的意義の検討

塩谷孝夫 (佐賀大学 医学部 生体構造機能学講座 器官・細胞生理学分野)

マウス心室筋細胞の活動電位波形に対するNa⁺/Ca²⁺ 交換 (NCX) 電流の寄与を whole-cell clamp 法で検討した。記録された活動電位には、-30 mV 付近にピークを持つプラトーが存在した。同様な活動電位波形は、ニスタチン穿孔パッチ法で生理的な [Ca²⁺]_i 環境を維持した条件でも記録できた。この活動電位プラトーは、[Ca²⁺]_i トランジェントをBAPTA (2 mM) やリアノジン (20 μ M) の細胞内負荷によって抑制したり、KB-R7943 (10 μ M) の投与によってNCXを阻害したりすると消失した。また、新規に開発したcoaxial-pipette急速液交換装置をもちいて活動電位の間だけ一時的に外液Na⁺をLi⁺に置換しても、同様なプラトーの消失が認められた。以上から、マウス心室筋細胞では[Ca²⁺]_i トランジェントで活性化される内向きNCX電流がプラトー相を形成し、[Ca²⁺]_i シグナルに応じて不応期を調節していると結論した。

9. ポリアミン存在下に流れる内向き整流性Kチャネル Kir2.1 (IRK1) 外向き電流のメカニズム

石原圭子, 穎原嗣高 (佐賀大学・医学部・生体構造機能学)

心筋細胞において静止電位近傍で大きく外向きに流れる内向き整流性K電流I_{K1}の振幅は、主として細胞内ポリアミンによる電位依存性ブロックによって制御されていると考えられるが、詳細な機序は不明である。我々は全細胞記録でI_{K1}と極めて似た性質を示すKir2.1チャネルを293T細胞に発現させ、inside-outパッチ膜から記録される電流に対するポリアミンブロックを調べた。外向き電流のI-V関係は5-10 μ Mのスペルミンあるいは10-100 μ Mのスペルミジン存在下においてI_{K1}の外向き電流のI-V関係と似ていたが、それ以下の濃度で二峰性を示した。弦コンダクタンスを解析した結果、ポリアミン感受性が異なる二種類のKir2.1チャネルを仮定したモデルによって外向き電流のI-V関係はよく説明されることがわかった。I_{K1}外向き電流の大部分は主としてポリアミン感受性の低いチャネルを流れると考えられた。

10. On the mechanism underlying the difference in the inward rectifier K⁺ current I_{K1} between the atrium and the ventricle

Yan Ding-Hong, Keiko Ishihara, Tsuguhisa Ehara (Department of Physiology, Saga Medical School)

It is well known that the amplitude of the outward current of I_{K1} in the atrium is smaller than that in the ventricle. However, the mechanism underlying the difference remains unclear. Using the amphotericin B perforated-patch method, we found that the outward transient of I_{K1} can be induced by repolarization in ventricular cells, but is negligibly small in atrial cells of the guinea-pig heart. The inward currents of I_{K1} in atrial cells were similar to those of the cloned strong inward rectifier K^+ channel Kir2.1 in their time dependence and external-pH sensitivity, while they were different from those of Kir2.3. In inside-out patch recordings performed on 293T cells expressing Kir2.1, the outward transients similar to those of I_{K1} in ventricular cells were observed in the presence of 5 μ M spermine and 0.6 or 1.1 mM Mg^{2+} in the cytoplasmic solution. When the spermine concentration was increased to 20 μ M, the transients became negligibly small, and the steady-state amplitude of the outward currents was significantly reduced. Thus, the higher concentration of polyamine in atrial cells than in ventricular cells may underlie the difference between I_{K1} in the atrium and in the ventricle.

11. 血小板活性化因子 (PAF) による心筋細胞内 Ca^{2+} 動態の調節

賀来俊彦, 尾崎任昭, 小野克重 (大分大学循環病態制御講座)

背景: 血小板活性化因子 (Platelet-Activating Factor) は、血小板を活性化するほか、さまざまな機能をもつケミカルメディエータとして働く。近年、心筋虚血時における不整脈発生の一因に PAF の関与が示唆されている。目的: PAF の単離心室筋細胞内 Ca^{2+} 動態へ影響を検討した。方法: 新生ラット心室筋を酵素処理によって単離し、Fura-2 で細胞内 Ca^{2+} 濃度変化を測定した。次いでパッチクランプ法にて、マウス心室筋細胞の L 型 Ca^{2+} チャネル電流を測定した。結果: PAF ($10^{-11} \sim 10^{-6}$ M) の投与によって、新生ラット単離心室筋細胞の細胞内 Ca^{2+} 濃度は濃度依存性に上昇し、自動拍動の頻度も上昇した。この細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇は、PAF 拮抗薬である CV-3988 (10^{-5} M)、 Ca^{2+} チャネル拮抗薬である D600 (10^{-5} M) の投与によって抑制された。また野生型マウスの単離心室筋細胞の L 型 Ca^{2+} チャネル電流は、低濃度 PAF (10^{-8} M) では二相性の変化が見られ、高濃度 PAF (10^{-6} M) では減少した。しかし、PAF 受容体ノックアウトマウス単離心室筋細胞の L 型 Ca^{2+} チャネル電流は、PAF (10^{-8} M) 投与

による変化は見られなかった。結論: PAF は電位依存性 L 型 Ca^{2+} チャネルの機能を制御して、細胞内 Ca^{2+} 濃度を調節している可能性が示唆された。

12. P19CL6 細胞の心筋細胞への分化は新規 MAP キナーゼを介する

鄭 明奇¹, 内納智子¹, 門前幸志郎², 小室一成³, 賀来俊彦¹, 小野克重¹ (¹大分大学 循環病態制御講座, ²東京大学大学院 循環器内科, ³千葉大学大学院 循環病態医科学)

マウス Embryonal Carcinoma 細胞由来 P19CL6 (CL6) 細胞は dimethyl sulfoxide の刺激によって心筋細胞分化誘導を受け、自動拍動性を獲得する。MAP キナーゼは心筋細胞分化、形態形成において重要な役割を果たしていることが知られている。P19CL6 細胞由来の分化心筋細胞における膜電流形成に関わる細胞内シグナル、とりわけ MAP キナーゼを介するイオンチャネル発現の制御様式の解明を行う。P19CL6 細胞は分化誘導後に過分極誘発内向き電流 (I_h) と 2 種類の Ca チャネル電流 (I_{CaL} , I_{CaT}) を発現し、89 bpm の自動拍動性を示した。分化誘導後に出現する自動拍動とペースメーカーイオンチャネルは p38-MAP キナーゼの阻害によって発現が抑制され、細胞膜電位も未分化 CL6 細胞と同程度であった。一方、古典的 (ERK1, 2) MAP キナーゼ及び ERK5 の活性抑制下の分化心筋は 83 bpm の自動拍動性を示し、3 種のペースメーカーイオンチャネルの発現も対照と同程度に観察された。心筋細胞の分化過程におけるペースメーカーイオンチャネルの発現に非古典的 MAP キナーゼ (p38-MAPK) を介するシグナル経路が関与することが示唆される。

13. Ca^{2+} チャネルの活動に関与するカルバスタチン domain L 内の活性領域

冀部悦子, Hao Li-Ying, 徐 建軍, 亀山亜砂子, 亀山正樹 (鹿児島大院・医歯総合・神経筋情報生理)

ヒトカルバスタチンは domain L, 1-4 から成る。Domain 1-4 はカルバインの阻害部位であり、domain L は、L 型 Ca^{2+} チャネルの run-down を抑えることから、チャネルの調節作用をもつと考えられている。本研究では、DNA 組換え法及び蛋白合成で domain L を断片化し、その効果をモルモットの心室筋細胞で、パッチクランプ単一チャネル記録法により調べた。すべてのカルバスタチン断片は 10 μ M に調整し、3mM ATP と共に加えた。DNA 組換え法で得た断片 L₃₋₁₄₈, L₃₋₆₈, L₅₇₋₁₄₈ は、同程度にチャネルの活性を維持または回復し、全長のカルバスタチンと相同な効果がみられた。蛋白合成により準備した断片 L₁₇₋₃₅, L₄₅₋₆₄,

L₅₄₋₆₄, L₆₆₋₈₀, L₇₈₋₈₅, L₈₉₋₁₀₂, L₁₀₃₋₁₂₂, L₁₁₈₋₁₃₈ は, 10 μ M GST, 2mg/ml BSA と比較すると, L₄₅₋₆₄, L₅₄₋₆₄, L₆₆₋₈₀ に有意差がみられた. 最も効果が高かったのは L₅₄₋₆₄ であり, この11個のアミノ酸がチャネルの活性化を調節する働きをもつことが示唆された.

14. Phosphorylation is required for the effect of calmodulin

徐 建軍, Hao Li-ying, 龔部悦子, 亀山亜砂子, 亀山正樹 (鹿児島大院. 医歯総合. 神経筋情報生理)

One of unique characteristics of L-type Ca²⁺ channel is rundown. Our previous studies showed that calmodulin (CaM) time-dependently reversed rundown of L-type Ca²⁺ channel in inside-out patch. To investigate the mechanism of this time-dependence, we observed the crosstalk between PKA and CaM in the reversal of rundown of Ca²⁺ channel in guinea-pig ventricular myocytes using inside-out patch clamp technique. We found that simultaneous application of PKA or Okadaic acid (OA) after patch excision delayed the time limit of the effect of CaM, and PKA facilitated the Ca²⁺ channel activity in the presence of CaM, although PKA or OA themselves have little effect on the channel activity in inside-out patch. These results indicated that PKA phosphorylation of channel is required for the effect of CaM.

15. オニダルマオコゼ毒 Verrucotoxin は心筋イオン電流を修飾する

矢沢和人¹, 王 建武¹, HAO Li-Ying¹, 龔部悦子¹, Nie Hong-Guang¹, 尾上義夫², 亀山正樹¹ (¹鹿児島大院・医歯総合・神経筋情報生理, ²鹿児島大・水産・資源育成)

西日本～南方海域には, 有毒の動物が多く存在するが, その毒成分の一部は神経筋組織に対し強力な生理活性を有する. カサゴ科のオニダルマオコゼは刺棘と毒腺を持ち, この魚に刺されるとその蛋白毒 (verrucotoxin ; VTX) が痛みなどの局所障害をもたらし, 時には, 呼吸困難, 心筋障害, 痙攣などの全身症状を起こし, 最悪の場合, 死に至ることがある.

VTXはこのように強力な生理活性をもつにも関わらず, 未だその作用機序は明らかではない. 仮説として, β 受容体に対する修飾や, Caチャネル抑制作用, ATP-sensitive K電流の活性化が報告されている.

我々はVTXのイオンチャネルに対する作用を明らかにすべく, モルモット単離心室筋を用いて, 膜電流固定および膜電位固定の実験をおこなった. その結果, VTXは1)

活動電位持続時間を延長 (10 μ g/mlで約2.5倍), 2) 用量依存的にL型Ca電流を増大 (EC₅₀は約7 μ g/ml, 最大値はcontrolの約3倍), 3) 内向き整流性K電流を抑制 (100 μ g/ml, -40 mVで約20%) した. さらに, 4) VTXのL型Ca電流増大作用は, β 受容体遮断薬 (1 μ M propranolol) 存在下で, 抑制されることが判明した.

以上のことより, VTXは β 受容体を介して, イオンチャネルの活性を修飾していることが明らかとなった.

16. 光学的測定法を用いたラット右心房摘出標本における実験性不整脈 (tachycardia-like excitation) の解析

酒井哲郎 (琉球大・医・形態機能医科学・生理学第二)

ラット右心房摘出展開標本にメロシアンニン・ローダニン系膜電位感受性色素 (NK2761) と多素子フォトダイオードアレイを用いた光学的多部位同時測定法を適用し, 興奮波伝播パターンの光学的マッピングをおこなった. 標本に電気刺激を与えることにより, 頻拍性興奮 (tachycardia-like excitation : TE) を誘発した. TE発現時には安定した周期の連続した興奮がみられた. TE発現時における興奮波の時間的・空間的伝播パターンの光学的マッピングでは, 上大静脈孔を含むblocked areaの周囲を興奮波が周回するmacro-reentry性の安定した興奮波旋回パターンがしばしば見られた. また, 同一標本であってもTEのeventによりreentryのパターンが異なるevent-to-event variationが見られた. さらにTEには, 解剖学的障害を含まないblocked areaを周回するreentryが見られた例, 異所性ペースメーカーが発現した例, およびより複雑な興奮伝播パターンを示す例も見られた. このTE現象について, *in vitro* 不整脈モデルの観点から解析をおこなった.

17. 甲状腺中毒症ラット心房筋細胞におけるイオンチャネルリモデリングの検討

砂川昌範, 島田誠二, 中村真理子, 小杉忠誠 (琉球大学医学部形態機能医科学講座 生理学第一分野)

【目的】甲状腺中毒症では, 頻拍や心房細動等の不整脈が生じる. 甲状腺ホルモンによるチャネルリモデリングを検討した. 【方法】Sprague-Dawleyラット腹腔にL-サイロキシン (500 μ g/kg/day) を2週間連日投与し, 甲状腺中毒症の実験動物モデルを作製した. 摘出心臓をコラゲナーゼ溶液で灌流し, 単離心房筋を調整した. パッチクランプ法を用いて活動電位, 電位依存性Na⁺チャネル電流及びL型Ca²⁺チャネル電流を測定した. さらに, リアルタイムRT-PCR法を用いて各種K⁺チャネル遺伝子発現を検討した. 【結果】甲状腺中毒症ラットの活動電位持続時間 (APD₂₀, APD₅₀) は対照ラット (生食投与) に比較して有

意に短縮していた。電位依存性Na⁺電流に変化は見られなかった。Ca²⁺電流は減少傾向が見られたが、統計学的に有意な差はなかった。Kv 4.2 mRNA発現量は有意に減少したが、他のKv 1.5及びKir2.1 mRNA発現量に変化は見られなかった。【結論】甲状腺中毒症ラットの単離心房筋細胞では、活動電位持続時間の短縮が見られた。この結果から、イオンチャネルのリモデリングが生じていると考えられた。その本体は、Ca²⁺電流減少やK⁺チャネル発現量の変化が関与していると予想された。

18. bound thrombinの構造的特徴とその制御

中村真理子, 金城紀代彦, 島田誠二, 砂川昌範, 小杉忠誠 (琉球大学医学部形態機能医科学講座生理学第一分野)

【目的】これまで, bound-th (B-th) の血栓再狭窄の発現機序への関与は, 病理形態学的研究のみが先行していた。そこで, 本研究は, 試験管内でB-thを作製・精製し, その構造学的解析, 各種細胞への反応性, さらに, 各種抗凝固剤に対する反応性を検討した。【方法】フィブリンを物理的に剪断し, そのフィブリン塊からB-thを回収し, 実験に使用した。作製したB-thは, HPLCにより生化学的解析を行った。また, B-thを血小板, 内皮細胞, 平滑筋細胞へ暴露し, その反応性を観察した。さらに, B-thの活性制御としてヘパリン, アルガトロバンの効果を検討した。【結果】B-thの構造は, α -thrombinとフィブリノーゲンの α , γ 鎖の複合物であった。このB-thは, 血小板内のCa²⁺濃度を上昇させ, 血小板凝集を引き起こした。さらに, 家兎胸部大動脈血管平滑筋細胞のミオシン重鎖(MHC)の1つであるSMembのmRNA発現量を上昇させた。B-thは, native-thrombin (N-th)と同様にラット大動脈由来内皮細胞から, t-PA, PAI-1の放出を促した。B-thの活性制御には, ヘパリンよりもアルガトロバンが有効であった。【考察】B-thは, フィブリンの断片がトロロンビンのexosite 1に結合しており, B-thのヘパリン結合部位はN-thのそれとは異なる構造になっている。そのために, B-thは, ヘパリンの関与なしにAT-IIIと結合しやすくなっていると予想される。

19. bound thrombinは家兎培養血管平滑筋細胞のSMemb mRNA発現量の増加を引き起こす

島田誠二, 砂川昌範, 金城紀代彦, 中村真理子, 小杉忠誠 (琉球大学医学部形態機能医科学講座生理学第一分野)

【目的】bound thrombinの血管増殖性変化への関与を知るために, 血管平滑筋細胞の形質変換をbound thrombinが惹起するか検討した。【方法】in vitroで作製したbound thrombinを培地に添加し, 胸部大動脈由来培養家

兎血管平滑筋細胞48時間刺激後, total RNAおよびcrude myosin extractsを抽出した。形質変換分子マーカーであるミオシン重鎖アイソフォームSMemb mRNA発現量をRT-PCR法で, またタンパク発現量をwestern blotで測定した。さらにSMemb mRNA局在を知るために, *in situ* hybridizationを行った。【結果】bound thrombin刺激で, SMemb mRNA 1.4倍, およびタンパク発現量は2.5倍有意に増加した。また, *in situ* hybridizationでは, 培養血管平滑筋細胞にSMemb, SM1およびSM2 mRNAが同時に発現していたが, 刺激群と対照群の比較では発現局在に差は見られなかった。【考察】以上の結果からbound thrombinが培養血管平滑筋細胞の形質変換惹起に関与するのが示唆された。

20. 家兎培養血管平滑筋細胞由来SMemb mRNA特異的siRNAのSMemb mRNA発現に及ぼす効果

張 哲, 島田誠二, 砂川昌範, 小杉忠誠 (琉球大学医学部形態機能医科学講座生理学第一分野)

【目的】血管平滑筋の形質変換制御を目的として, SMemb mRNAのsmall interferenceを行った。【方法】家兎胸部大動脈由来の平滑筋ミオシン重鎖アイソフォームのSMemb mRNAに対する特異的siRNAを3種類(ORF-1, ORF-2及び3' UTR SMemb siRNA)作製し, SMemb mRNAの発現が抑制されるかを家兎培養血管平滑筋細胞を用いて*in vitro*で検討した。siRNAをFITCでラベルし1, 10, および100 nMの各濃度で血管培養平滑筋細胞にリポフェクション法を用いて導入した。各siRNAのSMemb mRNA発現に及ぼす効果をRT-PCR法で検討した。【結果】3種のsiRNA 100 nMでSMemb mRNA発現量を有意に減少させた。3' UTR およびORF-2 siRNAは濃度依存性にその効果が増強した。また, 3種のsiRNA 100 nMでSMembタンパク発現量を有意に減少させたが, siRNA導入細胞では細胞毎の蛍光に強弱が見られた。他のミオシン重鎖アイソフォームであるSM1, SM2のmRNA発現量をRT-PCRで検討したが, 有意な変化は見られなかった。【考察】3種類のsiRNAは100 nMでSMemb mRNAおよびタンパクの発現を有意に抑制したことから, 本実験で作製したsiRNAはRNA interference効果を有し, SMemb特異的であるのが判明した。持続的なRNA interferenceの形質変換抑制機序を, 今後明らかにしたい。

21. 三叉神経中脳路核ニューロンに誘起されるシナプス電位

横溝裕次¹, 村井恵良², 井口徹恵¹, 東 英穂¹ (久留米

大・医・生理学第一講座,²北海道大・院・歯学研究科・口腔機能学)

三叉神経中脳路核 (MeV) は第一次求心性線維細胞体の局在部位であるが, 細胞体はシナプス構造を有することが組織学的に報告されている。しかし, シナプスが機能しているか否かは不明である。我々は MeV 近傍の電気刺激に対する MeV ニューロンの反応を検討した。雄性 Wistar ラット (7-9 週齢) 脳幹のスライス標本を作製し, 細胞内微小電極法を用いて MeV ニューロンの膜電位を記録した。MeV ニューロンは静的・動的膜特性および biocytin で細胞内染色した細胞形態によって同定した。検討 71 ニューロン中, 28% のニューロンは 0.5 mM Ca^{2+} /10 mM Mg^{2+} , TTX (0.5 μM) 液灌流で消失するシナプス電位 (PSP) を, 31% のニューロンは逆行性活動電位を発生し, 残り 41% は両者混合した反応を示した。Bicuculline (40 μM) は PSP をほぼ完全に消失させたが, CNQX (20 μM) は PSP に殆ど影響しなかった。PSP と GABA (1-10 mM, 10 秒間灌流投与) -誘起電位は各々, -25 mV と -23 mV で極性を逆転した。さらに, MeV シナプスブトン標本から記録した微小シナプス後電流は Cl^- イオン平衡電位で極性を逆転し, bicuculline (0.5 μM) で消失した。以上の結果は MeV ニューロン細胞体が GABA 作動性シナプス入力を受け, 介在ニューロンとしても機能していることを示唆する。

22. ラット背外側中隔核 (DLSN) ニューロンにおける dopamine のシナプス伝達に対する効果

浅海安雄^{1,2}, 蓮尾 博¹, 赤須 崇¹ (久留米大・医・第 2 生理,²精神科)

我々は細胞内記録法を用いてラットの背外側中隔核 (DLSN) ニューロンにおける dopamine の作用について実験した。dopamine (DA, 1-100 μM) は灌流投与された。DLSN ニューロンにおいて DA (100 μM) は過分極電位を引き起こしたが (4.9 ± 0.6 mV; $n=17$), その過分極電位は灌流中に減少を認めた。

DA によって引き起こされた過分極電位は膜コンダクタンスの減少を伴い, その逆転電位は -90 mV であったことから K^+ コンダクタンスの関与が示唆された。この過分極電位は TTX (1 μM) によって影響を受けなかった。少数のニューロンでは DA は脱分極のみを引き起こした。我々は bicuculline (15 μM) の存在下で EPSP と slow IPSP における DA の効果を調べた。結果として, DA (30 μM) はテストされたすべての細胞で可逆的に slow IPSP の amplitude を減少させた ($58 \pm 3\%$; $n=10$)。その一方で EPSP に対しては抑制と促進の両方を引き起こした。

これらの結果から DA は DLSN ニューロンでシナプス伝達の効率において複数の効果を有していることが示唆された。

23. イソアワモチ神経節及び哺乳類網膜の神経節細胞に存在する光受容器細胞の光応答の比較考察

後藤 司 (鹿児島大・院・医歯学総合研究科・神経病学講座機器分析センター桜ヶ丘分室 (神経生理学))

軟体動物イソアワモチの神経節には光に直接応答する神経細胞, 眼外光受容器細胞 A-P-1 として Ip-2 が存在する。A-P-1 眼外光受容器細胞は rods と同様に, Gt 型 G 蛋白質と共役した分解酵素 PDE が光によって活性化され, 二次メッセンジャー, cGMP が分解されるために, cGMP 作動性の K^+ チャネルが閉じるという光応答を示す。一方, Ip-2 細胞の光応答は光によってグアニル酸シクラーゼ (GC) が活性化され, 逆に cGMP が生成されるために, 同じ cGMP 作動性の K^+ チャネルが開く。前回, この GC は Gi 又は Go 型の G 蛋白質と共役していることが示唆された。今回, さらに電圧固定下の光受容器電流を指標にして, この Ip-2 細胞の GC が Go 又は Gi のどちらの G 蛋白質と共役するかを調べた。

Gi 又は Go の活性化剤として知られている mastoparan と同様に Gi を不活化するが, Go を活性化すると言われる benzalkonium chloride (BAC) を Ip-2 に投与すると光受容器電流と等価の (保持) 電流が発生した。従って, この電流は cGMP 作動性のチャネル遮断剤 1-cis-diltiazem 及び GC の不活剤 LY83583 で抑圧された。しかし, mastoparan, BAC として LY83583 は A-P-1 の光受容器電流に何も影響しなかった。以上の結果から, Ip-2 の光応答は Go 型 G 蛋白質と共役した GC が活性化されるために cGMP 作動性 K^+ チャネルが開き, 発生することが示唆された。昨年, ネズミ網膜の神経節細胞にもイソアワモチの眼外光受容器細胞と相同の眼外光受容器細胞が存在することがわかり, 今, 話題になっている。

24. 新規 NF- κ B 活性阻害剤, NEMO (NF- κ B essential modulator) Binding Domain (NBD) ペプチドの骨吸収抑制作用

自見英治郎, 岡本富士雄, 岡部幸司 (福岡歯科大学・細胞分子生物学講座)

【目的】NF- κ B は炎症や免疫, さらに破骨細胞の分化などの様々な生命現象に深く関わっている事が知られている。実際に広義の NF- κ B 阻害剤やウイルスベクターを用いて NF- κ B を阻害すると病的骨吸収が抑制されることが報告されているが, このような薬剤や治療法はその特異

性・安全性・操作性などに多くの問題点を抱えている。そこでわれわれはNF- κ Bの下流シグナルを簡便かつ特異的に阻害するペプチド(NBDペプチド)を開発し、その骨吸収抑制作用を検討した。【方法】①*in vitro*破骨細胞形成法：マウス骨髄細胞をマクロファージコロニー刺激因子(M-CSF)とReceptor Activator of NF- κ B Ligand(RANKL)存在下で培養し破骨細胞を誘導した。②*in vivo*破骨細胞形成法：マウス頭蓋冠にRANKL(4 μ g/mouse, 3日間)を注射し、破骨細胞を誘導した。③コラーゲン関節炎：DBA/1JマウスにII型コラーゲンを免疫し、関節炎を誘導した。【結果】NBDペプチドは①*in vitro*で破骨細胞形成を濃度依存的に抑制した。②頭蓋冠へのRANKL注射による破骨細胞の誘導を抑制した。③関節炎による足趾の腫脹、関節の硬直および骨破壊を抑制した。【考察】NBDペプチドは炎症性骨吸収を効果的に抑制する。

25. 抗アレルギー剤はIgE産生を抑制する

渡慶次賀博, 花城和彦, 島田誠二, 砂川昌範, 中村真理子, 小杉忠誠(琉球大・医・形態機能医科学講座・生理学第一分野)

【目的】抗アレルギー剤であるazelastine hydrochloride(Azeptin[®])のIgE産生抑制機序を明らかにする。【方法】最終濃度 10^{-7} M, 10^{-6} M, 10^{-5} MのAzeptin[®]をFE-3細胞の培養液中に添加し、24時間後にFE-3細胞を新しい増殖培地に再浮遊させ培養を再開し、0.5, 1, 2, 3 hr後に細胞及び培養上清を回収した。PBS及び溶媒のmethanolを対照として用いた。培養上清中のIgE FE-3濃度, IgE FE-3 mRNA発現量及びNF- κ B DNA結合活性を測定した。【結果】最終濃度 10^{-5} MのAzeptin[®]曝露群では、培養上清中IgE FE-3量は、培養再開2, 3 hr後に対照と比較して有意に減少した。最終濃度 10^{-5} MのAzeptin[®]曝露群のIgE FE-3 mRNA発現量は、培養再開1 hr後に対照群と比較して有意に減少した。さらに、最終濃度 10^{-5} MのAzeptin[®]を24時間曝露した細胞では、NF- κ B DNA結合活性は対照群と比較して有意に減少した。【考察】Azeptin[®]曝露によって、IgE mRNA発現量の減少, NF- κ B DNA結合活性の低下及びIgE蛋白質量の減少が認められたことから、Azeptin[®]のIgE FE-3産生抑制機序には、少なくともmRNA転写調節の抑制作用が含まれると考えられた。

26. latent membrane protein (LMP)-1遺伝子導入ラット脾細胞のIgE産生能

花城和彦, 渡慶次賀博, 仲宗根敏幸, 砂川昌範, 中村真

理子, 小杉忠誠(琉球大学医学部形態機能医科学講座 生理学第一分野)

【目的】Epstein-Barr virus (EBV)感染とアトピー性疾患の発症との関連が臨床場面では推測されている。EBV潜伏感染期遺伝子産物, latent membrane protein (LMP)-1遺伝子をラット脾細胞に導入し、ラット脾細胞のIgE産生能の変化を調べた。【方法】ラット脾細胞及びIgE産生ハイブリドーマFE-3細胞にLMP1発現ベクターpSG5-LMP1を導入し、過剰発現させた。LMP1遺伝子の細胞内導入には、lipofection法を用いた。ラット脾細胞はDNP-As感作, 非感作Brown-Norwayラットから採取した。DNP-As感作ラットからの脾細胞の採取は、初感作から7日目(Day 7)に行った。ラット脾細胞のIgE産生能の評価のため、RT-PCR法もしくはNorthern blot法を用いてC ϵ mRNA発現量を測定した。【結果】非感作ラットの脾細胞を用いた実験では、LMP1遺伝子の導入により、C ϵ mRNAの発現が確認された。DNP-As感作ラットの脾細胞では、LMP1遺伝子の導入により、対照に比較してC ϵ mRNA量は有意に低下した。FE-3細胞を用いた実験では、LMP1遺伝子の導入によるC ϵ mRNA量の有意な変化は認められなかった。【結論】LMP1遺伝子を導入したラット脾細胞のIgE産生能は、遺伝子導入時のラット脾細胞の分化成熟程度に左右されるのが示唆された。

27. Iron-mediated regulation of PAI-1 expression in PC3 adenocarcinoma cell line

Radha Kalavar, Etsuo Yoshida, Harish Kumar, Omura Sayuri, Masahiko Sugiki and Masugi Maruyama (Department of Physiology, Miyazaki Medical College)

Type 1 plasminogen activator inhibitor (PAI-1) is the major physiologic inhibitor of plasminogen activators (PAs) that are implicated in tumorogenesis and metastasis. A critical balance between urokinase type PA and PAI-1 is required for cancer cells to exhibit optimal invasiveness and metastatic capacity. Hence, modulations of PAI-1 activity could be of therapeutic value in cancer treatment. Cancer cells survive and flourish in an iron-rich environment. Although iron is essential for normal growth, high amounts can be toxic, generating poisonous free radicals which can be proximate carcinogens. Cancer cells are more susceptible to iron chelators than normal cells, and so, iron withdrawal strategies are now in use in cancer treatment.

The current study reports the effect of deferoxamine-aided iron deprivation on PAI-1 expression in PC3 adeno-

carcinoma cells. Deferoxamine, an iron chelator, deprives cells of their intracellular non-transferrin bound iron pool. Incubation of semi-confluent cells with deferoxamine for 16 hours increased PAI-1 antigen expression in the conditioned medium, in a dose dependent manner. Northern analyses revealed a concomitant increase in the mRNA levels. Co-treatment of cells with equimolar concentrations of ferric iron quenched the effect of deferoxamine, implying that the induced action of deferoxamine was specifically due to its iron chelating property. Having confirmed the role of iron in PAI-1 regulation, we proceeded to identify the level of regulation by conducting DRB- and cycloheximide based RNA chase experiments. With DRB blocking new RNA transcription, control cells exhibited a drop in their PAI-1 mRNA level within 4 hours. However, the mRNA levels in stimulated cells demonstrated a state of stability even up to 8 hours. Thus the iron mediated PAI-1 regulation was independent of RNA synthesis. However, there was no discrepancy between PAI-1 mRNA levels of control and stimulated cells in the event of translation inhibition. This implied that deferoxamine induced PAI-1 stability was dependent on *denovo* protein synthesis. Cis-trans factors regulating mRNA stability, have been identified at the 3'-UTR ends of several genes. Electrophoretic mobility shift assay (EMSA) was used to confirm the presence/ absence of any protein that could be involved in PAI-1 stability. EMSA revealed a single nuclear protein specifically binding to the 3'-UTR of PAI-1 mRNA. A stronger interaction was observed between the protein and mRNA in iron scarce condition. Presence of ferric iron reduced the intensity of mRNA-protein complex to that of control, highlighting the iron responsive nature of the mRNA-protein interaction that stabilizes PAI-1 mRNA.

28. LPS誘発の摂食抑制とグルココルチコイドによる改善

松本逸郎, 嶋田敏生, 相川忠臣 (長崎大学・医学部・第一生理)

リポポリサッカライド (LPS) による摂食抑制のメカニズムを解明する目的で, ラットを用いて選択的な迷走神経腹部内臓枝の選択的切除術, 即ち左側の肝臓枝 (HVX), 左右の胃枝 (GVX), 左右の腸枝 (CVX) 切除を行った。100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ LPSを腹腔内に投与し自由摂食・自由飲水下で一日摂食量, 飲水量, 体重を測定した。LPSは一日摂食量

を投与前の最大65%, 体重を最大4%減少させた。迷走神経単枝切除ではHVX, GVX, CVXの順で軽度LPSの効果を減弱した。迷走神経腹部内臓枝の組み合わせ切除ではHVX+GVXが最も強く軽減した。CVXにHVXまたはGVXを組み合わせても軽減効果は弱かった。左右の迷走神経内臓枝の全切除ではLPSによる摂食抑制はHVX+GVXと同程度であった。プレドニゾロン150 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の第三脳室内投与はLPSによる摂食抑制を有意に減弱したが, 腹腔内投与では効果がなかった。以上の結果より, 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ LPSの腹腔内投与による摂食抑制には1) 主として迷走神経肝臓枝が, 従として胃枝が関与し, 2) 腸・膵臓枝は関与しないこと, 3) 迷走神経以外の因子の関与があること, 4) グルココルチコイドによるLPS誘発の摂食抑制に対する改善効果は中枢神経系内で発揮されることが示唆された。

29. 音楽の自律神経系におよぼす影響～心電図RR間隔のゆらぎを用いて～

安倍紀一郎 (熊本大学医療技術短期大学部)

音楽の自律神経系におよぼす影響を明らかにするために, 音楽を聴かせながら10分間心電図を記録してRR間隔のゆらぎとそのパワースペクトルの変化を調べた。パワースペクトルの0.15Hzより高い周波数成分 (HF) のパワーは副交感神経が興奮するほど大きくなる。「グラスノフの瞑想曲」「ラデツキー行進曲」「闘牛士」「タイス瞑想曲」などのクラシック, また「世紀を超えて」や「神々の詩」などを午後に聴いた場合には, 大多数の被験者でRR間隔が延長して変動幅は音楽を聴く前の3倍ほど大きくなり, パワースペクトルのHFも大きくなった。「Love Love Love」「TMC Graffittic」「ひとり」「楽園」などのJ-POPや「放課後の音楽室」を, これらの愛好者が聴いた場合には, 聴いている間だけRR間隔は短縮して変動幅は聴く前の1/2以下に減少し, HFはほとんど消失した。しかし, これらJ-POPに関心のない者が聴いた場合には大きな変化はなかった。心室性期外収縮の頻発する被験者がポーリュシカ・ポーレを聴くと, 聴いている間だけ期外収縮が完全に抑制された。なお, この研究は口石, 西村, 濱田, 宮本, 木林, 佐々木, 東, 松本の卒業研究である。

30. コイの遊泳活動の内因性日周リズムについて

土屋勝彦, 田井村明博 (長崎大学環境科学部自然環境保全講座)

コイの夜行性及び昼行性の活動リズム形成に内因性リズムがいかに関わっているか明らかにすることを本研究の目的とした。

全長の30cmのコイを購入して実験に供した。腹腔にテレメーター発信器 (DSI社) を慢性的に埋設した。実験室内の照明は蛍光灯で行い、7:00点灯、19時消灯の12時間/12時間の明暗サイクル (LD) とした。実験室の水槽での実験において、コイは多くの場合は夜行性の活動パターンを示したが、時に昼行性パターンを示す個体もあった。夜行性の活動変化、すなわち、暗期の活動増加は恒明条件 (LL) においてほぼ完全に消失する場合とリズムが数日間にわたり残存する場合があった。夜行性の個体の1日の活動変化において、消灯直後および消灯前に一過性の活動促進が観察される場合があった。恒明条件 (LL) でも夜行性の活動リズムは数日間残存したが、その位相は次第に後退した。このことから、コイの遊泳活動には24時間より長い周期を持つ内因性リズムが関与していることが示唆された。コイの遊泳活動の日周リズム形成には光が重要な役割を果たしていると考えられ、光に直接駆動される外因性メカニズムと内因性リズムに依存する日周変動が存在していると考えられる。

31. 飲水時の昇圧反応における水温の影響について

遠藤 豊¹, 筒井由香¹, 山崎文夫², 佐川寿栄子¹, 井上真澄¹ (¹産業医大・第2生理, ²臨床病態)

われわれはこれまでに、飲水に伴い一過性血圧上昇反応および血液濃縮反応が起こり、その後引き続き顕著な血液、希釈反応が起こること、さらにこの血圧上昇時には筋交感神経活動が低下することを明らかにしている。そこで今回は、飲水に伴う血圧上昇反応における水温の影響および飲水に伴う局所循環の変化の有無について検討する目的で、健康男性被験者に異なる水温 (5℃, 25℃, 37℃, 50℃) の水500mlの経口飲水負荷を与え、血圧、心拍数、前腕血流量、皮膚血流量 (前腕部, 下腿部) を測定した。血圧はトノメトリー法、心拍数は心電図より、前腕血流量は静脈閉塞プレチスモグラフィ、皮膚血流量はレーザードップラー法により測定した。その結果、①飲水中の血圧上昇反応の程度は水温に依存し、37℃で最小、5℃で最大であったが、心拍数増加反応は直接水温の影響を受けないこと、②前腕血流量および皮膚血流量の変化には水温依存性の傾向が認められ、特に皮膚血流量は5℃で減少、25℃以上で増加反応が認められ、特に50℃で最大であることが明らかにされた。

32. 重力加速度と筋の力積 (Mechanical Impulse)

～二足歩行時の直立エネルギーと推進エネルギー～
緒方道彦 (九州大学健康科学センター)
角度 θ で踏みだす脚筋の力積 (Mechanical Impulse) に

基づく歩速ベクトルは、垂直成分と水平成分に分解できる。 $\theta=90$ 度で個体は直立・静止、推進エネルギーはゼロだが、抗重力の垂直エネルギーの消費は持続的である。

動きのない筋の内部でも、myosinは揺らぎ続けている。一般にエネルギーのほぼ等しい膨大なマイクロ系のなかの個々のマイクロ系が、ある状態をとる確率を求める方法として、情報理論がある。MyosinがZ-Disc方向に揺らぐ確率をPz、M-Line方向の揺らぎの確率をPm=1-Pzとし、筋節長最短 (Rigor) を0、最大長 (maximum load) を1と定めると、情報量 (-S, negative entropy) は、Pz=Pm=0.5のとき最大となる。これは完全な弛緩状態では収縮と伸長の確率が等しいことを示唆している。十分なATPがあり、系の熱擾乱は継続しているが、マクロな動きはない。マクロ系の直立・静止状態の分子論的表現であろう。この現象は、ランダムなガウス過程が筋のエントロピー弾性、従って抗重力性の基礎であることを示している。一方、歩行の推進エネルギーは、水平成分にのみ依存している。

33. 糖尿病マウスの摂食・摂水日内リズムに及ぼす香辛料の影響

大和孝子, 青峰正裕 (中村学園大学・栄養科学部)

香辛料の唐辛子とシナモンが糖尿病マウスの摂食・摂水量にどのような影響を及ぼすのかについて調べ、正常マウスのそれと比較した。実験動物として、正常マウス (BB群) と自然発症糖尿病マウス (KK群) を使用し、香辛料は唐辛子の辛味成分であるカプサイシン (Cap) とシナモンの精油成分であるシナムアルデヒド (Cin) を使用した。投与方法は、対照として生理的食塩水 (生食水) を投与し、香辛料は1日に1香辛料のみを血中濃度が0.5 μ M, 5 μ M, 50 μ Mになるように低濃度のものから順に腹腔内投与した。摂食・摂水量は、12時間周期の明暗室において摂食・摂水測定装置 (K2 Cabin) を用い、24時間記録した。1日の摂食・摂水量はいずれの香辛料においても両群ともにほとんど変化はなかった。摂食リズムに関しては、生食水よりBB群は投与直後に大きなピーク、11, 21時間前後に小さなピークがみられたが、両香辛料の投与により大きなピークは抑制され、11時間前後のピークは増大する傾向にあった。しかし、KK群ではBB群ほど判然としなかった。1日の摂水量を明期と暗期で比較した場合、Cinにおいては両群ともに変化はみられなかったが、Capの場合、BB群では明期に減少、暗期に増加傾向を示した。体重は、BB群で両香辛料投与により有意に減少したが、KK群ではいずれの香辛料投与においても変化はみられなかった。

34. 視覚的カテゴリー弁別機能に及ぼす嗅覚情報の影響

井上貴雄¹, 高良沙幸¹, 甲斐義宏¹, 竹田勝一¹, 長谷川健¹, 水野雅晴², 吉村恵², 粟生修司¹ (九工大院生命体工学研究科高次脳機能,²九大院医統合生理)

アカゲザルは、食物—非食物、雄ザル—雌ザルといった個体や種属の維持に必要な視覚情報をカテゴリー毎に正確に識別できる。本研究では視覚カテゴリー弁別課題を用い、サルも食用にもなっている緑葉の発する香り（「みどりの香り」）の *cis*-3-hexenol や *trans*-2-hexenal, さらにオークラクトンやジャスミンラクトンといった植物由来の香りが視覚的カテゴリー弁別機能に及ぼす影響を調べた。その結果、みどりの香りやオークラクトンは食物—非食物カテゴリーの弁別機能だけを抑制し、性カテゴリーの識別には影響を及ぼさなかった。特に、*trans*-2-hexenal は曝露中の正答率を有意に低下させ、さらに曝露後のレバー押し潜時を延長させた。一方、性カテゴリー弁別課題におけるレバー押し潜時は複数の植物由来の香りの曝露で非特異的に短縮した。以上の結果、香り物質は関連した視覚カテゴリー弁別機能を攪乱し、関連性の低いカテゴリーに対しては、弁別機能とは無関係に反応性を促進する事が示唆された。

35. ラット視床下部弓状核における Galanin-like peptide 遺伝子発現に対する LPS の作用の検討

斎藤 淳, 尾崎由美, 上田陽一 (産業医科大学・医・第一生理学)

Galanin-like peptide (GALP) は Galanin 受容体サブタイプ (GALR1, 2, 3) のうち、GALR2 のリガンドとして 1999 年に同定された。GALP は視床下部弓状核と下垂体後葉に豊富に分布する。視床下部弓状核の GALP は摂食や生殖に関与するとされるが、その生理作用の詳細は明らかでは無い。今回我々は、ウイスター系成熟雄ラットを用いて LPS (250 μ g/kg/ラット) 腹腔内投与 3, 6, 12, 24, 48 時間後における視床下部弓状核での GALP 遺伝子発現の変動を *In situ* ハイブリダイゼーション法を用いて検討した。GALP 遺伝子発現は LPS 腹腔内投与後 12 時間をピークとした著明な増加を示し、インドメタシンの腹腔内前投与により抑制された。LPS 腹腔内投与に伴う炎症反応によりラット視床下部弓状核において GALP 遺伝子発現が増加し、その発現にはプロスタグランジンが関与する可能性が示唆された。

36. ミトコンドリア抑制薬によるカテコールアミン分泌：ラットとモルモットの比較

井上真澄, 佐川寿栄子, 遠藤 豊 (産業医科大学第 2 生

理学)

モルモット副腎髄質細胞は、低酸素を迅速に感知してカテコールアミンを分泌する。一方、ラットではこの低酸素感受能は生まれた直後は存在するが、成獣では消失、または減弱することが報告されている。そこで、今回成獣のラットとモルモットの副腎髄質細胞におけるミトコンドリア抑制薬の作用を比較検討した。シアン及び protonophore である CCCP は、モルモットの細胞ではカテコールアミン分泌を誘発したが、ラットの細胞ではほとんど誘発しなかった。シアンは NAD (P) H 自家蛍光を増加し、CCCP は減少させる。そこで静止時の細胞の酸素消費量を、シアンによる自家蛍光の相対的増加量をシアンによる増加量と CCCP による減少量の和で割って推定した。ラットの副腎髄質細胞のこの値は、モルモットのより有意に小さく、ラットの細胞の酸素消費量がモルモットのより有意に小さいことが示唆された。ミトコンドリア抑制薬による MgGreen 蛍光を用いて推定した ATP 濃度の減少は、ラットの副腎髄質細胞の方がモルモットより有意に小さかった。これらの結果より、ミトコンドリア抑制薬によりカテコールアミンが分泌されるかどうかは副腎髄質細胞の ATP 合成能に存在する可能性が示唆された。

37. 遺伝子損傷指標を利用した空気環境の生物毒性評価

高木厚司¹, 松岡 孝², 塩田清二³ (九州大学大学院医学研究院統合生理,²昭和大学医学部小児科,³解剖学)

新改築ビルや車内などでよく見られる室内空気汚染化学物質による健康被害は、「シックハウス症候群」と呼ばれており、厚生省では、13 種の化学物質について指針値を設定している。我々は、代表的な原因物質であるホルムアルデヒド (FA) に注目し、(1) 指針値 (0.08ppm) 前後の低濃度揮発 FA が持つ遺伝子の酸化損傷毒性を dG \rightarrow 8OHdG 酸化誘導性で評価し、(2) 同濃度の FA に 24 時間被曝させたマウス (ICR, 雄, 8 週) の尿中及び血漿、肝、脳実質の 8OHdG/dG 及び NOx, IL6 等の濃度変化を観察した。

簡易の閉鎖循環型ガラスケース (容量 60L) 内に、組織固定用 36-38% FA 原液の希釈溶液 (100-10000 倍) 入りのガラス瓶を放置し、500L/分の速度で空気を循環させる。ケース内の FA 濃度を、臭度計を使ってモニターしながら、臭度が一定の値を示した状態で、FA 濃度をガスクロマト法で定量した。同条件で、1L の気体を 20ml の標準 dG 溶液 (20 μ g/ml) 中で 2 分間かけてバブリング後に検体採取し dG \rightarrow 8OHdG 酸化誘導性で FA の遺伝子損傷リスクを評価した。その結果、揮発 FA は濃度依存的

に dG → 8OHdG 酸化反応を誘導した。指針値である 0.08 ppm 付近においてもこの酸化誘導現象が見られ、細胞への直接毒性が推測された。また、同暴露動物の血漿 8OHdG/dG 比は増加したが IL-6 や NOx 濃度に有意な変化は見られなかった。同時に、肝組織や尿中の 8OHdG/dG 比の低下も見られ、少なくとも低濃度の FA 暴露が何らかの生体防御反応を賦活している事が推測された。

38. 脳・免疫系連関モデルとしての疲労

片岡俊彦, 武 幸子, 吉村 恵 (九州大学大学院 医学研究院 統合生理学)

慢性疲労症候群は、強度の疲労とともに、集中力の低下などの高次脳機能障害や、内分泌系、自律神経系、および免疫系など、脳・免疫系連関の異常を伴うことが知られている。われわれは、2重鎖RNAである Poly I : C の投与による免疫学的疲労モデルラットを用い、ホームケージ内の回転かごによる自発行動量を指標に疲労を測定し、脳内のサイトカイン mRNA 量をリアルタイムキャピラリー RT-PCR 法で定量した。Poly I : C (3 mg/kg) の腹腔内投与で、自発行動量は1週間以上にわたって低下し、この時、大脳皮質、海馬および視床下部のインターフェロン α (IFN- α) が有意に増加していた。同じ部位でセロトニントランスポーター (5-HTT) およびその mRNA も増加していた。このことは、IFN- α による 5-HTT の発現を示す最近の報告と一致していた。大脳皮質や視床下部ではアストロサイトにおいて発現が増加したと考えられる 5-HTT の機能的意義を検討するため、in vivo 微小透析法によりラット前頭前野の細胞外 5-HT 濃度を測定したところ、Poly I : C により有意に低下し、その低下は選択的 5-HTT 再取り込み阻害剤 (SSRI) で抑制された。さらに、Poly I : C による活動量の低下が、5-HT 1A 受容体アゴニスト、および SSRI で阻害されたことから、5-HT は、脳内抗疲労物質と考えられた。

39. 内分泌攪乱物質ビスフェノール A の胎生期曝露は耐容 1 日摂取量以下の極微量でも行動の性分化を障害する

藤本哲也¹, 久保和彦², 内田典子¹, 粟生修司¹ (九州工業大学大学院生命体工学研究科脳情報専攻高次脳機能講座, ²九州大学大学院医学研究院外科学講座耳鼻咽喉科分野)

内分泌攪乱物質であるビスフェノール A (BPA) は、これまでの研究によりエストロゲン様作用および抗アンドロゲン様作用を有することが分かっている。耐容 1 日摂取量は最大無毒性量 (NOAEL) 50mg/kg/day に安全係数

1/1000 を掛けて、50 μ g/kg/day と定められている。我々はこれまで耐容 1 日摂取量以下に相当する量の BPA を妊娠ラットに周産期 6 週間曝露した。その結果、生まれた仔ラットの脳及び行動の性分化に障害が認められることを見出した (Kubo et al. 2003)。今回は曝露期間を胎生期の出生前 1 週間に限定し、仔ラットの成長後にオープンフィールド試験 (探索行動)、高架プラス迷路試験 (不安反応)、受動的回避学習試験 (回避学習)、強制水泳試験 (うつ反応) を施行し、行動の性分化に及ぼす影響を調べた。その結果、探索行動の性分化を障害し、さらに不安・うつ反応を増強することが判明した。また、回避学習は影響を受けなかった。オープンフィールド試験および強制水泳試験は内分泌攪乱物質の鋭敏な評価系として有用と思われる。また、出生前 1 週間は探索行動や不安・うつ情動を制御する中枢が正常に発達するための臨界期と考えられる。

40. 最後野 P2X 受容体のポアの構造

若森 実, 山神和比己, 反町 勝 (鹿児島大学医歯学総合研究科 生体機能制御学講座 分子機能生物学分野)

中枢神経における P2X 受容体の受容体部分に関する薬理学的研究に比べ P2X 受容体のチャネル部分の研究は遅れている。本研究では P2X 受容体が大量に発現している最後野の神経細胞を急性単離し、P2X 受容体のチャネルポアの性質をホールセルパッチクランプ法にて検討した。1価金属陽イオンの透過性は $Li^+ > Na^+ > K^+ > Cs^+ > Rb^+$ の順であった。この順序は Eisenman sequence のタイプ XI に近く、チャネルのアミノ酸残基とイオンの相互作用によってイオンの通過は規定されると考えられる。また、1価非金属陽イオンの透過性は $NH_4^+ > methylamine > dimethylamine > trimethylamine > Tris > NMDG$ の順で Na^+ に対する透過性の比は順に 1.52, 1, 0.52, 0.26, 0.23, 0.05 だった。このことからチャネルポアの最狭部は 6.74 Å であることが判明した。

41. 青斑核におけるグルタミン酸作動性シナプス前神経終末部の GABA_A 受容体応答

古賀仁士, 石橋 仁, 鍋倉淳一 (九州大学大学院医学研究院細胞システム生理学)

ノルアドレナリン作動性ニューロンに投射する興奮性シナプス前終末の GABA_A 受容体について調べるために、ラット青斑核ニューロンの自発性興奮性シナプス後電流に対する muscimol の影響を検討した。実験は、機械的に単離された、在来のグルタミン酸作動性神経終末が付属しているラット青斑核ニューロンを用いて、ホールセルパッチ記録法を適用した。Muscimol は、自発的なグルタミン酸放

出を増強させ、また、この作用は、TTXおよびCa拮抗薬で抑制された。つまり、Muscimolによるグルタミン酸放出促進は、電位依存性Naチャンネルおよび電位依存性Caチャンネルを介した反応であることがわかった。従って、シナプス前終末部のGABA_A受容体の活性化は、終末部を脱分極させ、自発性グルタミン酸放出を増強することが分かった。

42. 代謝抑制状態におけるGABAによる細胞興奮とGABA_A受容体応答のrun-down

野田英一郎 (九州大学大学院 医学研究院 細胞システム生理学)

ラット海馬CA1領域の単離ニューロンにおいてNaCN (ミトコンドリア呼吸鎖抑制) はGABA作動性微小抑制性シナプス電流 (mIPSCs)、およびGABAまたはmuscimol投与によって惹起された反応を変化させたが、その変化は細胞内Clイオン濃度上昇によるものと考えられた。細胞内Clイオン濃度上昇を証明するために細胞内Cl濃度を維持した状態で記録できるグラミジシン穿孔パッチ記録法を用いると、NaCNはClイオンの平衡電位 (E_{Cl}) を即座に持続的に脱分極側へ移動させた。この E_{Cl} の変化は、Clの細胞内の蓄積を示唆した。一方細胞内ATPが枯渇するような状況ではGABA_A受容体応答がrun-down、すなわちClチャンネルが開かなくなることが分かっている。従来この現象は虚血により興奮した細胞を抑制するGABAの作用が減弱するために、神経細胞死を助長すると考えられていた。しかし、 E_{Cl} の著明な変化は、同時に記録したGABA_A受容体応答がrun-downしてしまう前に観察された。虚血時に脱分極は興奮性神経細胞死を惹起させる可能性があるため、GABA_A受容体応答のrun-downは、GABAを介したニューロンの脱分極を減弱させることによる、脳虚血中における神経保護作用の一つのメカニズムかもしれないことが示唆された。

43. ラット脊髄後角におけるエンドモルフィンの痛覚情報伝達抑制の作用機序

藤田亜美, 川崎康彦, 熊本栄一 (佐賀大学医学部生体構造機能学講座 (神経生理学分野))

エンドモルフィン-1 (EM-1) とエンドモルフィン-2 (EM-2) は近年発見された μ -オピオイド受容体の内在性リガンドである。今回、痛覚情報伝達制御におけるエンドモルフィンの作用機序を知る目的で、ラット脊髄膠様質細胞に対するEM-1とEM-2の作用をブライント・ホールセル・パッチクランプ法で検討した。-70 mVの保持膜電位においてEM-1とEM-2は調べた細胞の約半数で濃度依

存的に外向き膜電流を誘起し、 EC_{50} 値はそれぞれ0.13 μ Mと0.15 μ Mであった。 μ -オピオイド受容体選択的阻害剤CTAP (1 μ M) は1 μ MのEM-1とEM-2によって誘起される膜電流を抑制した。I-V曲線に対するEM-1とEM-2の作用を調べた結果、内向き整流特性をもつK⁺チャンネルを開くことが判明した。1 μ MのEM-1とEM-2誘起膜電流は、いずれもK⁺チャンネル阻害剤Ba²⁺ (100 μ M) と4-AP (1 mM) により抑制された。また、EM-1とEM-2はともに自発性興奮性シナプス後電流の発生頻度を減少させた。以上の結果より、EM-1とEM-2は μ -オピオイド受容体活性化を介してK⁺チャンネルを開き膜を過分極させること、また、シナプス前性に興奮性シナプス伝達を抑制することが明らかとなった。これらの作用はいずれも末梢からの痛覚情報伝達抑制に寄与すると考えられる。

44. Action of neuropeptide Y on nociceptive transmission in substantia gelatinosa of the adult rat spinal dorsal horn

宮川 礎, 古江秀昌, 吉村 恵 (九州大学大学院 医学研究院 統合生理学)

Neuropeptide Y (NPY) は中枢神経系および末梢神経系に広く分布している神経ペプチドで、強力な摂食促進作用をもち、摂食や体重調節に強く関与する以外にも、鎮痛・不安行動・うつ病・体温調節・日内リズムなど生体の様々な機能の調節に関わっている。その中で鎮痛作用に関しては、行動薬理学的研究でNPYの髄腔内投与により強力な鎮痛作用を示すことが明らかとなっている。しかし、その詳細な作用機序は明らかではない。そこで、今回我々は鎮痛作用機序を調べるために、成熟ラットから脊髄スライス標本を作製し、blind whole-cell patch-clamp法を用いて、膠様質 (脊髄後角第II層) 細胞におけるNPYの作用を記録・解析を行った。その結果、膠様質の約20%の細胞においてNPYはシナプス後性に作用し、NPY Y1 receptor (G蛋白共役型受容体) の活性化をもたらし、K⁺channelの開口を比較的長時間にわたり引き起こすことがわかった。以上のことより、NPYは末梢から脊髄への侵害受容に対して、シナプス後性に膠様質ニューロンを過分極させ、痛覚伝達を抑制することが示唆された。

45. ラット脊髄後角ニューロンにおけるアデノシン誘起外向き膜電流の性質

柳 壽, 藤田亜美, 川崎康彦, 熊本栄一 (佐賀大学医学部生体構造機能学講座 (神経生理学分野))

末梢から脊髄後角に至る痛み情報伝達の制御におけるアデノシン (Ado) の役割を知る目的で、後角第II層 (膠様

質)細胞に対するAdo作用を調べた。実験は、成熟ラットから脊髄横断スライス標本を作製し、膠様質細胞にパッチクランプ法を適用することにより行った。Ado (1 mM)は調べた細胞 (n = 125) の78%で約20 pAの大きさを持つ外向き膜電流 (保持膜電位: -70 mV)を誘起した。このAdo作用は濃度依存性でEC₅₀は177 μMであった。Ado電流は整流性を示さずK⁺の平衡電位付近で逆転した。K⁺チャネル阻害剤の作用を調べた所、Ado (1 mM)電流はBa²⁺ (100 μM)により58%だけ、4-AP (5 mM)により44%だけ抑制される一方、TEA (5 mM)は作用しなかった。A₁受容体作動薬 (CPA, 1 μM)はAdoと同様な外向き膜電流を誘起し、Ado (200 μM)電流はA₁受容体阻害薬 (DPCPX, 1 μM)により完全に抑制された。以上より、Adoは多くの脊髄膠様質細胞においてA₁受容体活性化によりK⁺チャネルを開口して膜過分極を誘起すると結論される。このAdo作用は以前報告したグルタミン酸放出抑制作用と共に脊髄後角レベルにおけるAdo鎮痛作用に寄与することが示唆される。

46. 脊髄後角痛覚系におけるドーパミン受容体の役割

玉江昭裕, 中塚映政, 古江秀昌, 吉村 恵 (九州大学大学院 医学研究院 統合生理学)

行動学的研究によりドーパミンが鎮痛効果を示すことや、解剖学的研究からドーパミン下行性抑制系が示唆されているが、脊髄痛覚伝達系に対するドーパミンの作用は未だ不明である。今回我々は、成熟ラット脊髄スライス標本からパッチクランプ記録を行い、膠様質細胞におけるドーパミン受容体の役割を検討した。多くの膠様質細胞においてドーパミン投与により外向き電流が観察され、その振幅は濃度依存性に増大した。ドーパミン受容体のD2 like receptor agonistであるQuinpiroleはドーパミン同様外向き電流を惹起し、D1 like receptor agonistであるSKF 38393は何ら作用をしめさなかった。この外向き電流はD2 like receptor antagonistであるSulpirideにより抑制されたが、D1 like receptor antagonistであるSCH 23390では抑制されなかった。以上より、ドーパミンはD2 like receptorを介し、膠様質細胞に外向き電流、すなわち過分極を惹起し鎮痛作用を示すことが示唆された。

47. In vivoパッチクランプ法を用いた脊髄後角抑制性シナプス応答の解析

古江秀昌, 加藤 剛, 八坂敏一, 吉村 恵 (九州大学大学院 医学研究院 統合生理学)

脊髄後角第II層、膠様質は痛みを伝えるAδ線維やC線維の入力を受けるとともに、抑制性介在ニューロンが密に

存在するなど痛みの伝達や調節に重要な役割を演じる。成熟ラット in vivo標本および脊髄スライス標本からホールセルパッチクランプ記録を行い、膠様質に誘起される抑制性シナプス応答を解析した。0 mVの膜電位固定下で後肢皮膚へ触刺激を加えると、多くの膠様質細胞で抑制性シナプス後電流 (IPSC) の発生頻度と振幅が著明に増大し、その応答は刺激終了後、数秒から十数秒間持続した。一方、-70 mVの電位固定下で興奮性シナプス後電流 (EPSC) を記録すると、触刺激や機械的痛み刺激によってEPSCの発生頻度と振幅が増大したが、IPSCで刺激終了後に観察された持続性の応答は観察されなかった。脊髄スライス標本を用いた解析から後根の単発電気刺激によって活動電位を反復発射する細胞が観察され、この細胞はGABA作動性の抑制性介在ニューロン様の形態を有していた。以上より、膠様質細胞に誘起される持続性の抑制性シナプス応答は抑制性介在ニューロンの膜特性によるものと推測され、非侵害性刺激によって痛みの伝達が抑制されることが示唆された。

48. In vivo patch clamp記録法を用いたラット体性感覚野パレル皮質ニューロンのヒゲ刺激応答解析

水野雅晴, 土井 篤, 八坂敏一, 古江秀昌, 粟生修司*, 吉村 恵 (九州大学大学院 医学研究院 統合生理学, *九州工業大学 生命体工学 脳情報)

【目的】触・痛覚情報は、視床核を中継し体性感覚野へ伝えられる。触・痛刺激に対する第一次体性感覚野細胞のシナプス応答の詳細な解析を目的に、皮質細胞から in vivo patch clamp 記録を行ない、ヒゲへの触覚刺激および視床電気刺激によって誘起されるシナプス応答を記録解析した。【方法】ラットはurethaneで麻酔した。ヒゲへの感覚刺激はブラシを用いた。視床核は同芯円電極によって電気刺激した。記録した細胞は、電極内からneurobiotinを注入し、形態を観察した。【結果と考察】皮質IV/V層の細胞から電位固定下で記録を行なうと、自発性の興奮性シナプス後電流 (EPSC) が観察され、ヒゲへの触刺激に対し、EPSCの振幅と発生頻度が著明に増大した。また、周期的なバースト状のEPSC (オシレーション) を示す細胞もみられた。このオシレーションは、CNQXを皮質表面に灌流投与すると抑制され、また、視床VPM核を単発電気刺激することによって消失した。これらのことより記録細胞に観察されたオシレーションは視床活動由来であることが示唆された。一方、視床へ比較的弱い電気刺激を与えた場合、皮質の記録細胞では短い潜時 (約2ms) と長い潜時 (約120ms) のEPSCが得られた。この皮質細胞は視床より単シナプス性および多シナプス性の入力を受けている

ことが示唆された。

49. てんかん患者の歯状回におけるカンナビオイド受容体の役割

中塚映政, Gu JG*, 古江秀昌, 吉村 恵 (九州大学大学院 医学研究院 統合生理学, *フロリダ大学脳研究所)

近年, 中枢神経系におけるカンナビオイド受容体の役割が注目されており, 学習, 記憶や様々な脳機能に影響することが示唆されている。今回, てんかん患者から治療目的に摘出した海馬スライス標本を用いてパッチクランプ記録を行い, 歯状回における抑制性シナプス伝達に対するカン

ナビオイド受容体の役割を検討した。GABAを介するsIPSCを観察中にCB1受容体作動薬であるWin55212-2を灌流投与すると, sIPSCの振幅ならびに発生頻度は約50%に減少した。Win55212-2によるGABAを介するsIPSCに対するこの抑制効果は, CB1受容体拮抗薬のAM251に完全に阻害された。更に, eIPSCの振幅もWin55212-2によって有意に抑制された。本結果から正常脳においてカンナビオイド受容体がシナプス伝達に如何に関与するかは未だ不明であるが, てんかん患者の歯状回においてカンナビオイド受容体はGABAを介するシナプス伝達を抑制することが明らかとなった。