

## 第85回日本生理学会北海道地方会

日 時：平成17年9月3日（土）

場 所：札幌医科大学記念ホール

当番幹事：札幌医科大学医学部生理学第二講座 青木 藩

演 題 数：25題

北海道地方会は例年通り、第85回北海道医学大会の中の生理系分科会として上記日程で開催された。一般演題21題、若手シンポジウム4題の計25題の発表があった。若手シンポジウムは地方会の活性化を目的として、平成12年より継続して行われており、主として大学院生を含む若手研究者が研究の背景を含めて講演するもので、時間も一般演題より長く討論含め20分（一般演題は13分）としている。当日は会場には常時30名程の参加者があり、活発な質疑応答が行われた。なお、講演発表終了後、個人参加によるボウリング大会および懇親会を市内の会場で開催した。約30名近い参加者があり、会員相互の懇親を深め盛況であった。

## 【一般演題】

## 1. 海馬の抑制シナプス伝達におけるプロポフォールの効果の領域差

○石黒雅敬, 小林 卓, 松山清治, 青木 藩 (札幌医科大学・医・第二生理)

【背景】これまでに抑制性シナプス後電位 (IPSP) 増強作用にラット海馬CA1錐体細胞と歯状回 (DG) 顆粒細胞でベンゾジアゼピン系薬剤のひとつであるミダゾラムの効果の領域差があることが報告されている。

【目的】全身静脈麻酔薬としてプロポフォールは、ミダゾラムに比べて調節性に富んでおり、耐性も少ないため、現在、臨床で多用されている。今回、プロポフォール投与下でのCA1とDGの両領域間の抑制性シナプス伝達の生理学的性質の相違性を明らかにすることを目的とし、パッチクランプ法による解析を行った。

【方法】2-4週齢のウィスター系のラット海馬スライス標本（厚さ0.4 mm）を用いて、それぞれCA1とDG両領域における抑制性シナプス後電流 (IPSC) の電気生理学的に検討した。記録する神経細胞体近傍0.25 mm以内に双極刺激電極を位置させ、電気刺激により誘発された抑制性介在ニューロン由来のIPSCをホールセル・パッチクランプ法により膜電位固定下で記録した。電流記録はCA1およびDG-GCの各領域の細胞体で行った。興奮性シナプス伝達はNMDAおよびnon-NMDA受容体遮断薬（50 mM APVおよび20 mM DNQX）を用いて薬理的に遮断した。IPSCの記録は、保持電位 - 60 mVとし、- 120 mVから+40 mVへの20 mVの脱分極ステップにより各膜電位において行った。プロポフォール（1  $\mu$ M - 10  $\mu$ M）

投与下の膜電位変化におけるIPSCの振幅およびDecay time constant (DTC) の変化を測定し、両領域間で比較した。

【結果】プロポフォール1  $\mu$ M, 10  $\mu$ M投与により、CA1錐体細胞では電流の大きさが有意に増大したのに対して、DG顆粒細胞では変化がなかった。また、同様の濃度でCA1錐体細胞でのみ、DTCの延長が認められた。

【結論】プロポフォール投与下での海馬CA1錐体細胞とDG顆粒細胞での抑制性シナプス伝達様式が異なることにより、GABA<sub>A</sub>受容体のサブタイプが異なることが示唆された。

## 2. 咬筋血流を調節する副交感神経節後線維の神経節と神経伝達物質の解明

○新潟丈治<sup>1</sup>, 石井久淑<sup>1</sup>, 須藤恵美<sup>2</sup>, 和泉博之<sup>1</sup> (<sup>1</sup>北海道医療大・歯・口腔生理, <sup>2</sup>北海道医療大・歯・歯科補綴第1)

【目的】近年我々は、咬筋中の血管が、四肢の骨格筋血管とは異なり、副交感神経性血管拡張線維により支配されている事を初めて明らかにし、それが三叉神経刺激により反射性に拡張することを報告した (Ishii et al., J. Physiol. (Lond.), in press, 2005)。しかし、その副交感神経の神経節や神経伝達物質は不明である。そこで本研究では、逆行性軸索輸送性試薬 (Fluoro-Gold : FG) と副交感神経の神経伝達物質の一つであるVasoactive intestinal peptide (VIP) の抗体を用い、咬筋血管を支配する副交感神経の神経節と神経伝達物質を明らかにすることを目的とした。

【方法】ネンブタール麻酔下でラット咬筋にFG 1  $\mu$ Lを注入し、3日間飼育した。その後、灌流固定を行い脳幹 (50

$\mu\text{m}$ ) および神経節 ( $40\mu\text{m}$ ) の薄切切片を作成し、共焦点顕微鏡にて蛍光観察した。VIP は、抗VIP抗体を用いて、咬筋切片 ( $100\mu\text{m}$ ) および神経節切片を免疫組織学的に蛍光観察した。【結果と考察】咬筋に注入したFGの標識細胞は、三叉神経の運動核、中脳路核および神経節と交感神経の神経節である上頸神経節並びに副交感神経節の耳神経節に同側性に認められたが、同じく副交感神経の神経節である翼口蓋神経節には認められなかった。また、耳神経節のFG標識細胞の過半数および咬筋組織中の血管周辺にVIP免疫陽性反応が認められた。以上の結果から、咬筋血管を支配する副交感神経の節後線維は耳神経節由来であり、その神経伝達物質の一つは、VIPであることが示唆された。

### 3. ラット最後野ニューロンの機能と形態

○松橋 誠<sup>1</sup>, 美藤純弘<sup>2</sup>, 兒玉直紀<sup>2</sup>, 松尾龍二<sup>2</sup>, 赤池 忠<sup>1</sup> (<sup>1</sup>北大・院・歯・口腔機能・口腔生理細胞情報学, <sup>2</sup>岡山大・院・医歯薬総合・口腔生理)

【目的】最後野は延髄背側部の第4脳室最尾側部に隣接する部位にあり、血液脳関門が欠落している脳室周囲器官のひとつである。最後野ニューロンは種々の化学物質に対して感受性をもつため、血液中からしみだす化学物質の濃度変化を感知するセンサーのような働きをしていて、摂食行動、体液恒常性、循環調節などの自律系の調節に関わっていると考えられている。本研究は単一ニューロンの機能特性を調べ、最後野による自律系の調節メカニズムについて明らかにしようとするものである。【方法】SD系幼若ラット (7-21日齢) を用いて、最後野と弧束核を含む前額断脳スライス ( $150-200\mu\text{m}$ ) を作製し、スライスパッチクランプ法を用いて、膜特性を調べると同時にニューロバイオチントレーサーを用いて形態的特徴を調べた。【結果】我々が従来報告してきた様に、最後野ニューロンの電気生理学的特徴は均一ではなく、過分極作動性カチオン電流 ( $I_h$ ) や一過性外向きカリウム電流 ( $I_{to}$ ) の活性の違いにより異なる活動様式を示す。最後野は他の部位のニューロンと比較して小型の細胞 (直径  $10-16$  ミクロン程度) からなるが、この中でも、 $I_h$  の活性を示すニューロンは比較的小型の細胞体を持ち、また、 $I_h$  の活性を全く示さず、不活性化過程の時定数大きい  $I_{to}$  の活性を示すニューロンは、比較的大型の細胞体を持つことがわかった。また、これらの最後野ニューロンの中に、樹状突起が隣接する弧束核内に達しているものもいくつも検出された。【考察】最後野が電気生理学的にも形態学的にも均一なニューロンからなるとされる従来の報告とは異なり、膜特性および形態の違いにより細別されることが明らかとなった。また、樹状突

起が弧束核内に至っていることから、弧束核領域内で迷走神経の入力を直接受けて、自律系の調節へ関与しているが示唆された。

### 4. ラット顔面ヒゲ領域から惹起した大脳皮質局所血流反応に対する大脳皮質直接刺激による効果

○三好貴之<sup>1,2</sup>, 鹿内秀高<sup>1</sup>, 赤池 忠<sup>1</sup> (<sup>1</sup>北大・院・歯・口腔機能・口腔生理細胞情報学, <sup>2</sup>北大・院・歯・顎機能医療学)

末梢ヒゲ領域刺激による大脳体性感覚野での局所血流反応は対側末梢入力に対する反応が主であるが、同側刺激でも強い刺激を用いると惹起できる。この同側刺激による反応が見られない場合も対側末梢入力に対し同側末梢を先行刺激すると約  $100\text{ms}$  の間は反応が抑制され、 $150-200\text{ms}$  で回復する経過が観測される。この左右側入力の干渉が大脳皮質レベルで起こるとすると、先行する皮質領域の活動が対側を抑制すると考えられる。そこでこの仮説を実証するため、観測側 (左) と対側 (右) の大脳皮質ヒゲ領域を電気刺激 (1発) して局所血流反応を光学的に計測した。0.3mA, 200Hz, 11発の対側 (右側) 皮質刺激では観測 (左) 皮質に変化は見られなかった。しかし対側 (右) 末梢入力に対しては、約  $50-100$  ミリ秒にわたって抑制した。同側 (左) 末梢入力では  $100$  ミリ秒から  $3$  秒後にわたって強い促進が見られた。後者の場合、皮質刺激 (右側) が末梢刺激 (左側) の対側 (右) となるため、先行刺激はこの入力効果を強め、対側皮質に対する効果が増強したと考えられる。

### 5. Critical involvement of the lateral prefrontal cortex in suppression of both spontaneous and externally-guided saccades

○桑島真里子, 澤口俊之 (北大・院・医・高次脳機能学)

Suppression of both internally driven saccade (i.e., “voluntary saccade”) and externally-guided one according to a given situation is important for an appropriate behavioral control. To examine a possible involvement of the lateral prefrontal cortex (LPFC) in such functions, we locally injected muscimol at various sites in the LPFC of monkeys that performed an oculomotor Go/No-Go (OGNG) task. Muscimol injection at several sites in the LPFC induced significant increase in fixation breaks toward the contralateral visual field during the period before a cue was presented and/or false saccades toward a specific target location during the period when the monkey was re-

quired to suppress its gaze toward it. These results suggest that the LPFC is essential for suppression of not only externally-guided saccade toward an overt visible target but also voluntary saccade without such an overt target in a given situation, thereby contributing to efficient inhibitory controls of ocular behavior.

## 6. ザリガニ眼柄姿勢の中枢性姿勢補償にかかわる脳内シナプス機構の解析

○藤澤賢一, 高知雅一 (北大・院・理・生物科学・行動知能学)

甲殻類は一般に、非常に良く発達した平衡胞と呼ばれる平衡感覚器を持ち、その感覚情報を手がかりに姿勢制御を行う。片側の平衡胞中の平衡石を人工的に除去すると眼柄姿勢が左右非対称になり正常な姿勢が失われるが、それが数週間て回復することは中枢性補償として古くから知られていた。また平衡胞が脱皮ごとに作りかえられるため、その度に左右の平衡感覚入力の不均衡が生じる。この左右非対称な入力が、脳内でどう補償されるかについては、全く調査されていない。本研究では、アメリカザリガニを用い、左右平衡感覚入力の不均衡が、どのような脳機構で補償されるのかを神経生理学的手法を用いて調査した。平衡覚、視覚、歩脚自己受容覚の入力が収斂し、眼柄運動ニューロンに出力するノンスパイク巨大介在ニューロン (NGI) のシナプス活動が眼柄姿勢の回復過程で、どのように変化するかを定量的に調べた。その結果、1) 平衡石除去により、同側 NGI のシナプス活動が減少し、反対側 NGI のシナプス活動は増加する、2) この左右不均衡は、未回復個体では解消せずに残るのに対し、回復個体では完全に解消して元の左右均衡を示す、ことが判明した。さらに、NGI へのシナプス入力に変化した要因を調べるために、同時細胞内記録染色法を用いて、NGI の前シナプスニューロンを探索した。その結果、NGI と単シナプス結合するスパイク発生型と非発生型の局在性介在ニューロンを含む数種類の脳内ニューロンを同定した。このうち NGI と単シナプス結合するスパイク発生型局所性介在ニューロンは、平衡感覚ニューロンが投射する LAN (Lateral Antenna I Neuropil) に突起を伸ばしており、平衡感覚入力を受けている可能性があることがわかった。これらのニューロンの形態及び NGI とのシナプス接続の生理学的な特徴についても報告し、中枢性補償の機能的役割について考察する。

## 7. ウサギ後肢跳躍運動の発現・制御に関わる脳幹—脊髄神経機構

○松山清治, 石黒雅敬, 小林 卓, 青木 藩 (札幌医

大・医・第二生理)

【背景】イヌ・ネコ等の四足動物では移動速度の上昇に伴って walk, trot, gallop と歩行発現パターンが変化する。中でも gallop は左右肢同位相の非交代性運動を特徴としており、左右交互の交代性運動を基本とする前二者とは大きくパターンが異なる。【目的】本研究では左右非交代性歩行の発現と制御に関わる脳幹—脊髄神経機構を明らかにするため、gallop 類似の跳躍運動を基本歩容とするウサギを用いて後肢跳躍運動誘発に関わる脳幹由来の下行系の同定とその機能的特徴の解明を試みた。【方法】ハロセン麻酔下でウサギの上丘前線と乳頭体後縁を結ぶ面上で上位脳を離断し除脳標本を作製した。ウサギ頭部を脳定位装置に固定し、胸・腹部をゴムベルトで保持した。ウサギの中脳の一側楔状核に微小電極を刺入し連続電気刺激 (50Hz, 0.2ms, 10~100  $\mu$ A) を 5~10 秒間加え跳躍運動を誘発した。跳躍運動時の左右後肢伸筋・屈筋から EMG を導出・記録するとともに、後肢の動作解析のためにビデオ動画撮影も行った。一連の記録後に脳幹内へのプラスチックフィルム (厚さ 0.1mm, 幅 3~7mm) 挿入により内側縦束及び脳幹網様体を切断し、楔状核刺激による跳躍運動発現への影響について観察した。一部の除脳ウサギには下部胸髄半切断を施し跳躍運動発現への影響について観察した。【成績】除脳ウサギの片側中脳楔状核刺激により左右後肢に非交代性の跳躍運動が誘発された。内側縦束を切断した除脳ウサギでも片側楔状核刺激で左右後肢に跳躍運動が誘発されたが、切断領域を網様体外側に広げることでその誘発は抑えられた。胸髄半切断を施したウサギでも楔状核刺激で両側後肢に跳躍運動が誘発されたが、脊髄健常側の楔状核刺激は傷害側刺激に較べてより効果的であった。【結論】後肢跳躍運動の誘発には網様体の外側を通過する下行系が大きく関わることを示された。また脊髄片側を通過する下行系のみで両側後肢に跳躍運動が誘発されることから、跳躍発現に関わる左右脊髄神経機構の間には強固な連絡が存在することが示唆された。

## 8. 筋緊張抑制を誘発する脊髄内介在細胞の神経生理学的同定

○高草木 薫, 齊藤和也 (旭川医大・医・第二生理)

【目的】私共のこれまでの神経生理学的な研究により、次の条件を満たす介在細胞が筋緊張の制御 (抑制) に関与する可能性を提示してきた。それらの条件とは、1) 下部腰髄の VII 層に存在する。2) 延髄抑制野から興奮性作用を受ける。3) 屈曲反射経路から多シナプス性の抑制作用を受ける。4) しばしば Ib 線維群から単シナプス性興奮作用を受ける。の 4 項目である (Takakusaki et al., Neuro-

science, 2001, 2003). 本研究では, これらの4条件を満たす介在細胞が, 1) 脊髄  $\alpha$  運動細胞にシナプス後抑制作用を誘発するのか? 2) 抑制作用を誘発するのであれば, 拮抗関係にある運動細胞の双方を抑制するのか? の2点を解明するべく研究を遂行した. 【方法】実験にはネコ24頭を用いた. ネコを中脳レベルで除脳後, 非動化した. 左側の下肢筋支配神経 (12本) 及び皮神経 (3本) を露出・切断し, 近位側に刺激電極を装着した. また, 第5腰椎から第1仙髄の前根を切断し, 近位側に刺激電極を装着した. 加えて第12腰椎レベルで右脊髄を半切し, 第1腰椎レベルで白質全体を覆う様にカフ電極を装着した. これらの電極に加えた刺激により, 介在細胞や下肢筋支配の  $\alpha$  運動細胞の同定が可能になる. 一方, 延髄巨大細胞性網様核 (延髄抑制野) に刺激電極を刺入し, 刺激強度 20–60  $\mu$ A, 1–3 連発の電気刺激を加え, 腰椎の介在細胞や  $\alpha$  運動細胞に対する作用を誘発した. 【成績・結論】上記条件を満たす介在細胞 38 個を細胞外記録し, 203 個の  $\alpha$  運動細胞に対する後シナプス作用を Spike-triggered averaging 法を用いて解析した. 21 個の介在細胞が, 37 個の運動細胞にシナプス後抑制電位 (IPSP) を誘発した. そのうち, 10 個の介在細胞が伸筋支配の運動細胞に, 11 個の介在細胞は屈筋支配の運動細胞に IPSP を誘発したが, 拮抗関係にある運動細胞に対して IPSP を誘発する介在細胞を見出すことはできなかった. これらの成績は, 延髄抑制野からの信号は, 伸筋, 或いは屈筋支配運動細胞を各々抑制する介在細胞を経由して, 筋緊張レベルの制御に関与する可能性を示唆する.

### 9. 脳虚血耐性形成における一酸化窒素を介した神経細胞による GLT-1 発現制御

○山田武志, 河原剛一, 小杉達郎, 田中基樹 (北大・院・情報科学・細胞情報工学)

脳では, 事前の非致死的な虚血 (preconditioning, PC) により後の致死的な虚血に対し耐性を持つことが知られている. また虚血時には細胞外グルタミン酸 (Glu) 濃度が上昇し, Glu による神経細胞の過剰な興奮が虚血性神経細胞死の主因と考えられている. 通常, 細胞外の Glu はグルタミン酸トランスポータ, 特にアストロサイト GLT-1 により細胞内へ取り込まれ低濃度に維持されている. 我々のこれまでの研究により, 虚血時には GLT-1 の機能が逆転して細胞外に Glu を放出していること, PC により GLT-1 の発現量が減少し, 虚血時における GLT-1 の逆転による細胞外への Glu 放出が抑えられることが分かった. 加えて, PC 時に産生される一酸化窒素 (NO) が虚血耐性形成に重要であることも分かった. そこで本研究ではニューロン・

グリア共培養系を用い, PC 中の NO の産生亢進が PC による GLT-1 の発現量の減少, および虚血耐性の形成に関与しているか否かを明らかにすることを目的とした. 本研究では, Oxygen-Glucose Deprivation (OGD) により虚血を模擬した. PC により虚血時の細胞外 Glu 濃度の上昇が抑制されるが, PC 中に NO synthase (NOS) の阻害薬である L-NMMA を負荷することで PC による虚血時の Glu 濃度上昇が抑制されず, GLT-1 の減少も起こらなかった. 一方, PC としての短時間 OGD の代わりに, NO ドナーである SNAP を付加することにより GLT-1 発現量が有意に減少した. 加えて, PC 中に nNOS の特異的な阻害薬である L-VNIO を負荷すると虚血耐性効果が消失し, GLT-1 の発現減少も認められなかった. 以上の結果より, PC 中において神経細胞に発現している nNOS の活性化により産生された NO が, PC によるアストロサイト・GLT-1 の発現量の減少および虚血耐性の形成に関与していることが示唆された.

### 10. ニューロン・グリア共培養系を用いた虚血耐性獲得におけるカルシウムオシレーションの機能的役割の解析

○田中基樹, 河原剛一, 小杉達郎, 山田武志 (北大・院・情報科学・細胞情報工学)

近年, 細胞内カルシウム濃度の振動 (カルシウムオシレーション) が遺伝子発現の制御に関与している可能性が報告されている. そこで本研究ではニューロン・グリア共培養系を用いて, 様々な遺伝子発現の変化を介して誘発されると考えられる脳虚血耐性におけるカルシウムオシレーションの機能的役割を明らかにすることを目的とした. 虚血模擬として oxygen glucose deprivation を用い, 本実験系における虚血耐性現象について調べたところ, preconditioning (PC) 処置 18–24 時間後において虚血耐性の存在を確認した. そこで, PC 処置後におけるカルシウムオシレーションの振動数の変化を Fluo4-AM を用いて観察した結果, ニューロン, アストロサイトともに, PC 処置 4–8 時間後においてカルシウムオシレーションの振動数は未処置に比べて減少する傾向がみられた. 次に IP<sub>3</sub> 受容体の阻害剤である 2-APB を用い, カルシウムオシレーションを致死的な虚血負荷前に 6 時間抑制すると, 虚血負荷に基づく神経細胞死は有意に抑制された. 我々はこれまで, 虚血時における神経細胞死誘発の主因となる細胞外グルタミン酸濃度の上昇に, アストロサイト・グルタミン酸トランスポータ GLT-1 の機能逆転が関与していること, および PC 処置によって GLT-1 が一過性に減少することで虚血時の細胞外グルタミン酸濃度上昇が抑制されることを明らかにした. そこで, 2-APB 前負荷による虚血時の細胞外グル

タミン酸濃度の変化とGLT-1の発現レベルの変化を解析した。その結果、2-APB前負荷によって虚血時における細胞外グルタミン酸濃度の上昇は有意に抑制され、GLT-1の発現も低下する傾向がみられた。以上の結果は、PC処置によってカルシウムオシレーションが、その周期を変化させることでGLT-1の発現レベルを調節し、虚血耐性獲得に寄与していることを示唆するものである。

#### 11. マウス視交叉上核 single cell における時計遺伝子 *Per1* 発現リズムのリアルタイムモニタリング

○小野大輔, 本間さと, 本間研一 (北大・院・医・統合生理・時間生理学)

【序論】概日リズムは生物時計に駆動されており、ほ乳類では、視床下部視交叉上核 (SCN) にその中枢が存在する。細胞内リズム発振の分子メカニズムは、複数の時計遺伝子の転写と翻訳された蛋白による転写抑制のオートフィードバックループにあると考えられている。本研究では、時計遺伝子 *mPer1* プロモーター6.8kbの下流にホタルルシフェラーゼcDNAを挿入したトランスジェニックマウス作成し、培養SCNの生物発光リズムを指標にSCNの *mPer1* 発現リズムを組織、細胞レベルで検討することを目的とした。【方法】*mPer1*-Luc マウス (8-13週齢) の冠状断脳スライスを作成し、SCNを切り出し、培養用メンブレン上でルシフェリン入りの培地にて気水界培養を行った。SCNスライス全体の *mPer1* 発現リズムは、デッシュ型ルミノメーターにてリアルタイムで4-8日間連続測定を行った。さらにCCDカメラを用いて、個々のSCN細胞における *Per1* 発現リズムを測定し、SCNの部位特異性を検討した。【結果・考察】すべての培養SCNにおいて明瞭な *Per1*-luc 活性リズムが測定できた。組織レベルにおける発光リズムのピークは  $14.12 \pm 1.37$ h (培養2日目,  $n=21$ ) で、平均周期は23.84hであり、*in vivo*の結果とほぼ一致した。また、培地交換によってどの位相においても約1-2時間の位相前進が見られた。個々の細胞では、*mPer1* 発現リズムのピーク位相は4時から22時の間に分散しており、大部分の細胞は組織レベルの *mPer1* 発現ピーク時間にほぼ一致していた。特にSCNの背側部の細胞では *mPer1* 発現ピークが腹側部、中央部に比べ先行していた。また、第3脳室上衣細胞ではSCNと逆位相の *mPer1* 発現ピークが観察された。以上の結果、SCN内の *Per1* 発現リズムの部位特異性とSCN内外でのリズム位相差が明らかとなった。

#### 12. ヒトサーカディアンリズム振幅に与える光の影響について

○高須奈々, 橋本聡子, 山仲勇二郎, 本間さと, 本間研一 (北大・院・医・統合生理・時間生理学)

【目的】生体時計の主な同調因子は光であり、位相反応の方向と大きさは光照射時刻や強さ、時間に依存する。振幅は生物時計の振動の強さを反映しているが、光の振幅への作用に関する研究は少ない。リズム振幅は測定対象により生物時計のみならず生体内外の環境因子からの影響 (マスキング) を受ける。そこで光以外のマスキングを受けにくい血中メラトニンをリズム指標とし日中の光がリズム振幅に及ぼす影響について検討した。【方法】対象は健康成人男性である。実験は隔離実験室にて行い、光照射は光強度、時間、日数を以下のように設定した。実験 (1) では、被験者に2週間、16時間の低照度環境下 ( $\sim 200$ ルクス) で生活させた。実験 (2) では、対象群は5日間、16時間の低照度環境下で生活させ、光照射群には中3日間、6時間の高照度光照射 ( $\sim 6000$ ルクス) をした。実験 (3) では、短日群では8時間の、長日群では16時間の高照度環境下で、それぞれ1週間生活させた。実験 (4) では1日16時間の  $\sim 10$ ルクスの低照度下で1週間生活させ、続く1週間は16時間の高照度下で生活させた。実験 (1) ~ (4) の光照射時以外の照度は0.01ルクス以下とし、就寝時間帯とした。【結果】実験 (1) 2週間の低照度環境での生活でリズム振幅は日常生活時と比べ有意に低下した。実験 (2) 8人中5人で光照射により振幅は高い値を示したが、全体では振幅に差は見られなかった。実験 (3) 短日群では振幅は日常生活時と比べ低下したが、長日群では差は見られなかった。実験 (4) 低照度環境では有意な振幅低下は見られなかったが光照射により振幅は高くなる傾向を示した。【結論】6000ルクス以上の高照度光は低照度環境によるメラトニンリズムの振幅低下を抑制したことから、光にはリズム振幅増強作用のあることが示唆された。

#### 13. SHRSPにおけるカバノアナタケ投与と左室心筋壁毛細血管のアルカリフォスファターゼについて

○小山富康<sup>1</sup>, 高明<sup>2</sup> (<sup>1</sup>北大・元電子研, <sup>2</sup>エコ技研)

【目的】カバノアナタケ *fuscoporia obliqua* のSHRSPの循環系に対する効果の検討【方法】中国東北部産カバノアナタケの、煎じ薬用にパックされた粉末3gを、2Lの水道水で1時間煎じた。冷却後、給水瓶にて、5頭の7週令SHRSPに2カ月間、自由飲水させた (平均飲水量 = 24.3ml/day · rat)。対照は4頭のSHRSPに、沸騰させた水道水を冷却して、給水瓶にて自由飲水させた (22.4ml/day · rat)。オリエンタル社製の通常の固形ラット餌を自由摂食させた。30, 60日後に自動カフ法により尾動脈圧と心拍数とを測定した。エーテル麻酔下に開腹して静

脈血を、ついで開胸して心臓を採取した。血液の諸因子の分析は札幌臨床検査センターに依頼した。左室筋内層の毛細血管密度は酵素二重染色法によった。北大医学部動物実験の指針に基づいて施行した。【成績】平均血圧は有意に低く(対照群 196 vs 154 mmHg,  $p=0.02$  (以下同順))。白血球数は増加(4.55 vs  $5.98 \times 10^3/\mu l$ ,  $p=0.032$ )。HbA1cは減少傾向にあった(0.20 vs 0.082,  $p=0.078$ )。左室筋内層の毛細血管密度は増加傾向を示した( $p=0.059$ )。興味深い成績はアルカリフォスファターゼ(AP)を陽性毛細血管の有意減少であった( $210$  vs  $150/\text{mm}^2$ ,  $p < 0.05$ )。【結論】APは種々の組織に発現している。APノックアウトマウスは胎生死や、骨生成不全のために生後数日で死ぬことから、この酵素の重要なことは明らかである。しかし、骨形成以外でのAPの役割と、発現を促す機作は不明である。我々は若干の実験結果に基づき、APは細動脈性毛細血管内皮細胞に発現すると考えてきた。降圧剤プレズニンによっても同様の結果が得られているので、高血圧ストレスに暴露される細動脈側の内皮細胞が発現しやすい状況にあると推察する。

#### 14. ヒト唾液中揮発性成分の分析—マイクロ固相抽出法を用いて—

○長田和実, 和泉博之(北海道医療大・歯・口腔生理)

【目的】ヒト唾液中に含まれる揮発性化学物質のプロファイルを明らかにすることを目的とする。【方法】唾液は口腔疾患を持たない健康な成人( $n=10$ )に対し、舌および歯をブラッシングし、含嗽した後に全唾液を試験管におよそ5mL集めた。唾液は採取後直ちに氷冷し、固形物を冷却遠心分離した( $5^\circ\text{C}$ : 1500rpm 15min)。いくつかのサンプルは固相抽出処理時における口腔内細菌の影響を排除するために、遠心分離後直ちに濾過滅菌を行った。唾液はpH4.0, 7.0, 11.0に調整し、ヘッドスペースマイクロ固相抽出法を用いて揮発性成分をそれぞれ抽出し、ガスマススペクトル検出器、水素炎イオン化検出ガスクロマトグラフィを用いて分析した。【結果と考察】正常人の唾液中には、単鎖～長鎖脂肪酸やフェノール類、芳香族有機酸、揮発性硫化物、メチルアミン類、ケトン類、アルデヒド類、アルコール類、インドール類など100種類を超える化合物が存在することを明らかにした。濾過滅菌により無菌処理を施した唾液においても依然として数十種類の揮発性化合物が存在し、これらは生体内より唾液中に分泌されたものと考えられる。pH4.0に調整した唾液では特に揮発性物質の量は増加し、中でも揮発性脂肪酸、フェノール類などが高濃度で見いだされた。この結果は、唾液の緩衝能の低下などによる低pHの環境では、これらの匂いが強くなる可

能性を示唆している。

#### 15. 毛様体筋収縮調節に関する受容体作動性陽イオンチャネルとTRPC蛋白質

○宮津 基<sup>1</sup>, 大日向 浩<sup>1</sup>, 高井佳子<sup>2</sup>, 高井 章<sup>1</sup> (<sup>1</sup>旭川医大・医・第一生理, <sup>2</sup>名古屋大・医・眼科)

目的: 毛様体筋の持続的収縮に必要な細胞外からの $\text{Ca}^{2+}$ イオン流入経路として機能するムスカリン受容体作動性非選択性陽イオンチャネルの特性を解析するとともに、その分子本体候補として注目されるTRPC型陽イオンチャネルの存在を検討する。

方法: ウシ単離毛様体筋細胞において電位固定法により全膜電流を記録。カルシウム蛍光色素Fluo-4を用いた細胞内カルシウム濃度 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の測定。各種TRPCの発現の検討にはRT-PCR, ウェスタンブロットと免疫蛍光顕微鏡法とを併用した。

結果: カルバコール(CCh; 0.01-100 mM)投与により発生する電流のノイズ解析から、CChが2種類の非選択性陽イオンチャネル[NSCCL (35 pS)とNSCCS (100 fS)]を開口させることがわかった。外液陽イオンをすべて $\text{Ca}^{2+}$ で置換してもCCh刺激による電流発生は観察された。 $\text{Gd}^{3+}$ やSKF96365 (100 mM)は両チャネル電流および収縮持続相を抑制した。 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 測光によりカルバコール刺激により持続的なカルシウム上昇が観察され、EGTA, atropin,  $\text{Gd}^{3+}$ ,  $\text{La}^{3+}$ 存在下で抑制された。RT-PCRによりウシ毛様体筋にTRPC1, 3, 4および6のmRNAが検出された。毛様体ホールティッシュライセートを用いたウェスタンブロットによりTRPC1, 3, 4, 6が検出された。短期培養した毛様体筋細胞の表面膜の細胞質側をこれらのTRPCの特異抗体を用いて蛍光染色すると約1 spot/ $\mu\text{m}^2$ の抗体結合を認めた。

結論: ムスカリン受容体刺激に伴いNSCCLとNSCCSが開口、収縮持続相に必要な $\text{Ca}^{2+}$ の流入経路を形成するものと考えられる。それらの有望な分子本体候補であるTRPCのいくつかは筋細胞膜に発現していることが確認された。

#### 16. 麻酔下ラットにおける人工炭酸泉浴と食塩泉浴の血圧変動に与える影響

○山本憲志<sup>1</sup>, 橋本真明<sup>2</sup>, 伊藤 恭<sup>3</sup> (<sup>1</sup>日赤北海道看護大, <sup>2</sup>旭川医大・医・第一生理, <sup>3</sup>医療法人孝寿会伊藤病院)

ヒトでは炭酸泉浴が動脈血圧の低下や除脈、また、皮膚血管拡張による皮膚血流量の増加を引き起こすことが知られている。これまでに、動物を用いた実験により、浴水(35 $^\circ\text{C}$ )の含有炭酸ガス濃度に依存して皮膚血流量が増加

すること、血圧の顕著な変化なしに徐脈が起ること、この徐脈は副交感神経系よりも交感神経系の関与が大きいことを報告した。一般に、天然炭酸泉は多くの塩類を含む。本研究では心・循環器系機能に対する炭酸ガスの効果と塩類の効果を分離評価した。実験にはWistar系雄ラット20匹を用いた。ウレタン麻酔し、腋窩より尾側の体毛を電気バリカンで刈った。心拍数、動脈血圧、浸漬部皮膚と結腸温、浸漬部皮膚血流量の連続測定用に各センサーを装着した後、水平より約30度に傾斜したプラスチック格子板に頭部を上にして伏臥位にし、腋下、腹部、臀部、尾をビニールテープで緩く固定、浴槽へ入れた。浴水は、35℃の水道水(CO<sub>2</sub>濃度; 11–20 ppm)と人工炭酸泉(CO<sub>2</sub>濃度; 1137–1307 ppm) それらに0.1, 0.4, 1.5, 4.0%の食塩を溶解したものをを用いた。高濃度炭酸泉の作成にはMRE-SPA実験室モデル(三菱レイヨン・エンジニアリング, 東京)を用いた。同濃度の食塩水では、高濃度炭酸水の方が水道水に比べ心拍数が有意に低く、皮膚血流量は有意に増加した。実験条件下では人工炭酸泉浴による心拍数、浸漬部皮膚血流量への効果は食塩の濃度とは無関係であった。血圧の変動係数を比較すると、1.5%以上の食塩と高濃度の炭酸ガスを同時に含む試料水に浸漬された場合の値は、水道水、食塩水道水、高濃度炭酸水のいずれに浸漬された場合よりも有意に変動係数が小さかった。ヒトを被検者とした天然炭酸泉の連浴実験では、血管抵抗の指標となる脈波伝導速度が低下すると報告されている。結果は、高濃度炭酸ガスのみならず、一定以上の塩を同時に含む温泉浴が心・循環器系機能に対する作用を増強する可能性を示すものと考えられる。

#### 17. Hibernation, a natural model of cellular survival after the induction of metabolic depression : Determination of metabolic pathways active during hibernation using <sup>13</sup>C NMR spectroscopy

○ Osborne Peter, 橋本眞明(旭川医大・医・第一生理)

Therapeutic intervention that restores the cellular energy balance at the initial stages of cardiac failure, acute ischemic stroke (AIS) or traumatic brain injury (TBI) is preferable to treatments aimed at reversing later cytotoxic biochemical cascades. Restoration of cellular energy balance can be achieved by supplementation of nutrients or by reducing the nutrient requirement of tissues via hypothermia. In animal models of AIS and TBI, a reduction of metabolic rate by mild hypothermia is neuroprotective, but is ineffective for improving the prognosis of human patients with TBI. Mild hypothermia lengthens the

longevity of isolated organs intended for transplantation from minutes up to hours. Small mammalian hibernators enter hibernation by metabolic depression that is not regulated by hypothermia that may involve reversible depression of pathways leading to oxidative phosphorylation. We used <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectroscopy after enrichment of <sup>13</sup>C glucose to determine the metabolic pathways active, and by default those inactivated, in the brain and heart during hibernation in hamsters. Knowledge of metabolic pathways functional and inhibited during hibernation will enable the pharmacological targeting of crucial pathways for the induction of pseudo-natural, reversible metabolic depression. The ability to induce reversible metabolic depression should improve the prognosis of many patients after cardiac failure, AIS or TBI and increase the longevity of isolated organs intended for transportation and transplantation.

#### 18. 冬眠から覚醒中のハムスター脳線条体における抗酸化物質の定量

橋本眞明, ○ Osborne Peter(旭川医大・医・第一生理)

冬眠から覚醒中のハムスターは、寒冷環境下でも約4時間で体温が4℃から36℃にまで上昇し、ヒトの生理からは想像を超えるほど大きな代謝活動と脳局所血流の変化が観察される(Osborne et al. 2003 J. Physiol.). 冬眠からの覚醒時には体内組織が強い酸化ストレスに曝されるので、生体恒常性維持のため何らかの抗酸化機構が存在し酸化障害を防いでいると考えられている。我々は微量透析法による極低流速の試料採取技術を確立し(Osborne et al. 1999 Brain Res.), 冬眠から覚醒中の低体温動物の脳線条体細胞外液における抗酸化物質を定量するため、本装置を用いて解析した結果について報告する。測定対象は水溶性抗酸化物質として知られるグルタチオン、アスコルビン酸、チロシン、尿酸とした。透析による試料採取は冬眠中、覚醒開始初期(非ふるえ熱産生のみ)、覚醒中一後期(ふるえ熱産生、最大エネルギー代謝)と完全に覚醒した2時間後(安静状態)で行った。冬眠から覚醒に至るまでに脳線条体の細胞外液中で抗酸化物質が大量に消費されていること、産生・移動に酵素媒介反応を必要としない抗酸化物質が何らかの機構で供給されている可能性を示す結果が得られた。温度に依存せず脳内の物質を透析的に採取、定量出来る方法の確立により、神経化学的手法による冬眠の生理機構解析に新たな展開が開けると期待される。

## 19. 昆虫の脳におけるフェロモン情報処理に関わる NO/cGMP の作用

○平口鉄太郎, 青沼仁志 (北大・電子研・神経情報)

一酸化窒素 (NO) が神経系で発見されて以来, その役割が議論され続け, 神経伝達物質や修飾物質としての役割以外に, 神経の可塑的な性質にも関与することが示唆されている。昆虫の脳にある神経細胞の数は脊椎動物の脳の神経細胞数に比べ, およそ100万分の1と少ない。一方, 解剖学的に昆虫の脳におけるNO産生細胞の数および投射領域, さらに, NOの標的細胞の数とその投射領域は脳の広い領域を占めている。これまでに, 薬理行動学的な実験から, NOは昆虫の学習や記憶, 匂いやフェロモン情報処理に関与することが明らかになっている。昆虫では触角からの匂い情報は一次処理中枢である触角葉に入力するが, NO産生細胞と標的細胞は, 触角葉, キノコ体, 中心体など, 学習や記憶, 運動の中枢に局在することが知られている。そこで, 平常状態の触角葉ニューロンに対するNOの修飾作用を調べるため, ニューロンの自発的活動がNO試薬灌流によりどの様に変化するか細胞外誘導法を用いて調査した。NO供与剤NOR3または, 除去剤PTIOを灌流投与し, 脳内のNO濃度を増加または減少させたところ, NOR3は多数のユニットにおいて活動頻度が増加し, 一方, PTIOでは減少した。また, 8BR-cGMPはNOR3と, 可溶性グアニル酸シクラーゼ阻害剤ODQはPTIOと同様の効果があることが判明した。更に, 触角葉を4つの領域に区分し揮発性体表物質(フェロモン)刺激に対する応答を調べた。この刺激に応答する領域は中心側にあり, この領域ではNOの修飾効果も確認された。一方, フェロモンに応答しなかった外側では明瞭な修飾効果はみられなかった。すなわち, 触角葉に入力した情報は初期の段階でNOの修飾を受けていること, NO-cGMPシグナル系が, フェロモン情報処理の過程において, 入力初期段階で信号弁別の役割を担っていることが示唆された。

## 20. 成体および胎児期の嗅覚系におけるカチオンチャンネルTRPV2タンパクの局在部位解析

○松井 等, 柏柳 誠 (旭川医大・医・第二生理)

神経の軸索伸長やガイダンスには, 神経成長因子や接着分子の結合によって引き起こされる細胞内カルシウムイオン濃度変化が重要な働きをすることが知られている。これらは膜上のイオンチャンネルを介して, 細胞内カルシウムストアや細胞外からのカルシウムイオン流入により行われているが, 神経軸索伸長時にどのようにカルシウムシグナルが調節されるか, まだ不明な点が多い。

一方, 嗅細胞は嗅上皮と呼ばれる匂い物質を受容する部

位から一次中枢である嗅球まで軸索の末端を伸ばしている。特筆すべきは, 嗅細胞は30日ほどの周期で細胞死と再生を繰り返すという, 他の神経細胞とは異なる特徴を持っていることである。したがって, 嗅細胞の軸索伸長のメカニズムを明らかにすることができれば, 成体ではほとんど起こらない一般的な神経細胞の軸索伸長を促す方法を考えることができるだろう。

我々は, カルシウムイオンチャンネルの中で, TRP (Transient receptor potential) と呼ばれるカチオンチャンネルファミリーのマウス嗅覚系における発現解析を行ったところ, いくつかのTRPメンバーが嗅細胞に発現していることを見出した。そのなかで, 嗅細胞の軸索に特異的に局在するTRPV2に着目して, さらに胎児期におけるタンパク局在部位解析を行った。これまでの結果は, TRPV2が伸長時期の嗅細胞軸索に局在することを示しており, 軸索伸長時の細胞内カルシウムシグナル調節に重要な働きをしていることが考えられる。

## 21. 心筋L型Ca<sup>2+</sup> channelに結合する蛋白質の同定と機能解析

○深尾充宏<sup>1</sup>, 亀田和利<sup>2</sup>, 小林武志<sup>1</sup>, 筒浦理正<sup>1</sup>, 白鳥香理<sup>3</sup>, 水野 諭<sup>2</sup>, 山田陽一<sup>1</sup>, 長島雅人<sup>1</sup>, 山下敏彦<sup>3</sup>, 當瀬規嗣<sup>1</sup> (<sup>1</sup>札幌医大・医・第一生理, <sup>2</sup>札幌医大・医・整形外科, <sup>3</sup>札幌医大・医・口腔外科)

心筋L型Ca<sup>2+</sup> channelは基本的に $\alpha_{1c}$ ,  $\beta_2$ ,  $\alpha_2/\delta$  subunitから構成されている。また, 近年 $\alpha_{1c}$  subunitに蛋白結合する分子が同定され, L型Ca<sup>2+</sup> channelは生体内では大きな分子複合体を形成し機能していることが明らかとなってきた。我々は, 心筋L型Ca<sup>2+</sup> channel  $\alpha_{1c}$  subunitのII-III linkerに結合する蛋白質を探索することを目的とし, Yeast two-hybrid法を用いて検討した。 $\alpha_{1c}$  subunitのII-III linkerをbaitとして, ヒト心臓cDNAライブラリーをスクリーニングしたところ, 結合する蛋白質として細胞増殖・転写に関与するCSN5/Jab1を同定した。ラット心臓にて免疫沈降を行ったところ $\alpha_{1c}$  subunitとCSN5が共沈し,  $\alpha_{1c}$  subunitとCSN5は心臓内で複合体を形成していることが判明した。CSN5はユビキタスに発現している細胞質蛋白質であるが, 単離ラット心筋細胞にてCSN5の免疫染色を行うと, 細胞膜とT管部位に豊富に存在していた。この分布は, Ca<sup>2+</sup> channelの分布と良く一致していた。次に, CSN5がL型Ca<sup>2+</sup> 電流に及ぼす影響についてCOS7細胞を用いて検討した。COS7細胞にL型Ca<sup>2+</sup> channelの $\alpha_{1c}$ ,  $\beta_{2c}$ ,  $\alpha_2/\delta$  subunitを発現させるとnativeのL型Ca<sup>2+</sup> channelに類似の電流が測定出来た。まず初めに, CSN5を過剰発現させたところ, L型Ca<sup>2+</sup> 電流に変化は認められな

った。これは、COS7細胞に元来内在するCSN5が既に充分にL型Ca<sup>2+</sup> channelと結合しているためであると推定された。次に、short interfering RNA (siRNA) を用いCSN5発現量を抑制させるとL型Ca<sup>2+</sup>電流は約2.5倍増加した。対照としてのscramble siRNAは有意な変化を示さなかった。CSN5発現の抑制は、L型Ca<sup>2+</sup>電流の活性化閾値、I-V curve、inactivation kineticsなどに影響を及ぼさなかった。以上の結果より、心筋細胞においてCSN5はL型Ca<sup>2+</sup> channelのII-III linkerに結合し、その電流を抑制していることが推定された。

### 【若手シンポジウム】

#### 22. 脳虚血耐性の形成におけるニューロン・グリア機能連関の意義

○小杉達郎, 河原剛一, 田中基樹, 山田武志 (北大・院・情報科学・細胞情報工学)

神経細胞は、事前の非致死的な虚血 (Preconditioning, PC) により、後の致死的な虚血に対して耐性を持つことが知られている。また虚血時には、アストロサイトのグルタミン酸トランスポータの逆転輸送によりグルタミン酸 (Glu) が細胞外へ放出され、Gluによる神経毒性が虚血性神経細胞死の主因であることが分かっている。本研究の目的は、ニューロン・グリア共培養系を用い、PCによる神経細胞の虚血耐性形成におけるニューロン・グリア機能連関を解明することである。まず、PC時にアストロサイトのGluトランスポータ・GLT-1の阻害薬であるDHKを付加したところ、PC中の細胞外Glu濃度の上昇は有意に抑制され、虚血耐性現象は消失した。このことから、本来なら虚血性神経細胞死の主因であるGLT-1の逆転輸送が虚血耐性の形成にも必要であることが示唆された。そこで次に、虚血耐性現象に関与しているニューロンもしくはグリアの機能変化を解析した。Western Blot法による解析の結果、PC後にはアストロサイト・GLT-1の発現量が減少しており、そのため虚血中のGLT-1からのGlu放出が有意に抑制され、神経毒性が軽減されていることが明らかとなった。また一般的に、GLT-1の発現がニューロンから放出される因子により制御されていることが知られている。そこで次に、PC後のGLT-1の減少がこうした物質の減少により引き起こされているのではないかと考え、PC後の共培養系の培養上清液をGLT-1の発現していないアストロサイトのみの培養系に付加したところ、sham処置後の系の上清液付加と比べてGLT-1の発現量が有意に減少した。以上の結果から、PCによりアストロサイトから放出されるGluによってニューロンのグルタミン酸受容体が活性化され、ニューロンがアストロサイト・GLT-1発現量を一

過性に減少させることがPCによる虚血耐性現象の本質であることが示唆された。

#### 23. 左心室リモデリングにおけるアポトーシスとその阻害による心血管系動態変化

○斉藤 直, 河原剛一 (北大・院・情報科学・細胞情報工学)

心筋梗塞が起こると梗塞部位の心筋壊死による心機能低下を補うために心室リモデリングが生じる。この時、心筋細胞においてアポトーシスが起こる可能性が示唆されている。しかし、心室リモデリングとアポトーシスの連関についての詳細は完全には解明されていない。我々は、心室リモデリング形成時に慢性的な心筋細胞アポトーシスが存在し、それが心室リモデリング形成さらには心機能に多大な影響を及ぼしているのではないかと考え、リモデリング形成時におけるアポトーシスと心血管系動態との連関の解明を目的として研究を行った。本研究では、ラットの冠動脈左前下行枝を起始部で結紮することで心筋梗塞モデルを作製した。作製したモデルに対してTTC染色による細胞壊死動態、形態変化の解析を行い、本モデルが心室壁の菲薄化、心拡大など心室リモデリングを形成していることを確認した。心室リモデリングにおけるアポトーシス発現動態を解析するために、結紮後1日目、2週目、6週目のモデルに対してTUNEL染色とカスパーゼ3活性に対する抗体を用いた免疫染色を行った。その結果、アポトーシスが心室リモデリング形成のために心筋細胞を死滅させるような動態で発現していることが示唆された。次に、心室リモデリング時にアポトーシス情報伝達因子であるカスパーゼ3あるいはカルパインの阻害薬を投与することによる心血管系機能への影響を解析した。阻害薬投与は結紮直後に行い、術後経時的に心拍数、血圧、および血流速度を非侵襲的に測定して比較検討した。その結果、阻害薬投与が心筋梗塞による慢性的な心拍数減少を抑制し、血圧も維持する傾向が示された。以上の結果より、アポトーシスが心室リモデリングにおいて重要な役割を果たしており、アポトーシス情報伝達因子阻害薬投与により、心室リモデリング時の心血管系機能が改善される可能性のあることが示唆された。

#### 24. 小脳背側虫部領域の3次元性追跡眼球運動への関わり

○新田卓也<sup>1,2</sup>, 赤尾鉄平<sup>1</sup>, Sergei Kurkin<sup>1</sup>, 福島菊郎<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>北大・院・医・統合生理・認知行動学, <sup>2</sup>北大・院・医・感覚器病学・視覚器病学)

【目的】両眼視機能を持つ霊長類では、視力の最もよい中心窩を視覚対象に向け続けることによって視覚情報を適

切に取り込む。視覚対象が身近な空間内をゆっくり動く場合、前額面での追視に関わる滑動性眼球運動と奥行き方向の追視に関わる輻輳開散眼球運動（以下輻輳眼球運動）の協調が必要となる。この2つの眼球運動は従来別個のシステムと考えられてきたが、両眼球運動の統合が前頭眼野（FEF）で行われていることが明らかになった（Fukushima et al. 2002）。MST野では両眼球運動にตอบสนองするニューロンが存在したが、その割合はFEFよりも少なかった（Akao et al. 2005）。今回、私たちは滑動性眼球運動の経路の一つである小脳虫部領域が輻輳眼球運動に関わるかどうか、滑動性眼球運動信号と統合されているかどうかを調べた。【方法】2頭のニホンザルを用いた。CRT displayにLCD shutterを併用して仮想3次元空間を作成し、3次元空間内の視標追視を訓練した。視標追視中に小脳背側虫部領域のプルキンエ細胞のsimple spikeの細胞外記録を行った。視標追視眼球運動にตอบสนองしたニューロンで滑動性眼球運動と輻輳眼球運動に対する応答を個別に調べた。【結果】complex spikeの存在によりプルキンエ細胞と同定した42個のうち、滑動性眼球運動と輻輳眼球運動の両方にตอบสนองしたものが24個（57%）、輻輳眼球運動、滑動性眼球運動のみにตอบสนองしたものがそれぞれ14個（33%）、4個（10%）であった。【考察】追視運動にตอบสนองした小脳虫部領域のプルキンエ細胞のうち90%が輻輳眼球運動に関与しており、滑動性眼球運動同様この領域が輻輳眼球運動の制御に関与していることが明らかとなった。滑動性眼球運動のみにตอบสนองしたニューロンは10%と少なく、逆に滑動性眼球運動と輻輳眼球運動の両方の情報を持つニューロンが57%みられ、両者の統合が小脳背側虫部領域でも確認された。

## 25. 頭部非固定下での視線運動中の前頭眼野（FEF）追跡眼球運動ニューロンの応答

○笠原敏史<sup>1,2</sup>、赤尾鉄平<sup>1</sup>、クルキン セルゲイ<sup>1</sup>、福島

菊郎<sup>1</sup>（<sup>1</sup>北大・院・医・統合生理・認知行動学、<sup>2</sup>北大・医・保健学科）

【はじめに】FEFの尾側部、特に弓状溝底部及びその周辺には、滑動性追跡眼球運動にตอบสนองするニューロンが多数存在する。それらの多くは、身体全体の他動的回転中に視線運動信号を持つ。しかしこれまでの研究は、頭部固定下で行われており、頭部非固定下でのアクティブな視線運動中にこれらのニューロンがどのような信号を持つかは不明である。頭部が自由に水平回転できる条件下で、アクティブな頭部運動を伴う視標追跡視線運動中のFEFニューロン応答を調べ、視線運動を眼球または頭部運動に乖離させ、FEFニューロンの応答を比較した。【方法】報酬用ジュースの飲み口（Feeder）をアクティブな頭部運動により追跡するよう訓練した2頭のニホンザルを用い、眼前スクリーン上にレーザー視標（Spot）を呈示した。眼球運動はサーチコイル法、頭部運動はポテンシオメーターを用いて記録し、視線運動は眼窩内眼球運動と頭部運動の和とした。サーチタスクとしてSpotとFeederを同時に動かし（0.3Hz、 $\pm 15^\circ$ ）、視線運動により追跡させた。ตอบสนองしたFEFニューロンについて、Feederを中央で静止させ、Spotを眼球運動で追跡させる課題と、Spotを中央で静止させ、Feederを頭部運動で追跡させる課題での応答を比較した。【結果】視線運動にตอบสนองした99個のFEFニューロンの大多数（61%）は視線運動、眼球運動、頭部運動のいずれにもほぼ同様の応答を示した。2番目に多かったニューロン群（24%）は視線運動と眼球運動にตอบสนองし、頭部運動に対する応答は弱かった。少数のニューロン（7%）が視線運動と頭部運動にตอบสนองし、眼球運動に対する応答は弱かった。【まとめ】多くのFEF追跡眼球運動ニューロンは頭部非固定下での視線運動中に、眼球と頭部の両方の追跡運動にตอบสนองすることが明らかになった。