

第241回日本生理学会東京談話会

日 時：2005年11月26日（土曜日）12：50～17：00

場 所：東京慈恵会医科大学・大学1号館講堂

演 題 数：一般演題8題 特別講演1題

参 加 者：45名

当番幹事：東京慈恵会医科大学・総合医科学研究センター・神経科学研究部

神経生理学研究室 加藤総夫

共 催：東京慈恵会医科大学・生理学講座第1および第2

第241回東京談話会は上記の日程で開催された。開会に先立ち、東京慈恵会医科大学学長・学校法人慈恵大学理事長・東京慈恵会医科大学生理学講座第2栗原 敏教授から、2009年第36回国際生理学会議の準備状況について、IUPS財務委員会委員長としての立場から話があった。一般演題として、国際的に活躍している若手の生理学者を中心に、今までの研究成果を総説的に解説した上で新成果を示した発表が続き、活発な討論が繰り広げられた。また、特別講演として、東京慈恵会医科大学・解剖学講座第1 河合良訓教授に「分子・形態・機能を結ぶ新たな方法論：孤東核局所回路の発達機構」という演題でお話し頂き、活発な討論が行われた。同日14：20から14：50まで、同会場において評議員会が催された。評議員会開会にあたり、東京慈恵会医科大学・生理学講座第1 馬詰良樹教授から挨拶を兼ねて東京談話会の歴史について解説があった。第1回東京談話会が昭和13年（1938年）12月22日に東京慈恵会医科大学で開催されたという事実が紹介され、この会の歴史的意義と最近の開催回数の低下について指摘があった。細分化された生理学分野の領域横断的な交流を促す場としての東京談話会の今後のあり方について検討すべきであるという意見があり、閉会した。

[一般演題]

1. 神経分化の転写後レベルにおける調節メカニズム

岡野ジェイムス洋尚（慶應義塾大学医学部生理学教室）

肺小細胞癌に伴う傍腫瘍性脳脊髄症の標的抗原として同定されたHu蛋白質ファミリーは神経細胞特異的RNA結合タンパク質であり、哺乳類の中樞神経系において神経分化を促進する機能を持つことが知られている。Hu蛋白質の神経分化促進作用の分子機序を解明するために、転写後調節によりHuが発現制御をする標的遺伝子を検索した。その結果、Huは細胞周期抑制因子や神経突起伸張にかかわるタンパク質など神経分化・成熟に必要な一群の因子の発現を包括的に調節していることがわかった。さらにHu蛋白質の生体内での役割を明らかにするために、HuDのノックアウトマウスを作成した。HuD欠損マウスは正常に出生するが運動失調、下肢の反射異常、体重増加不良を示し、第5、第8、第9脳神経の発生が野生型よりも遅延する。ノックアウトマウス胎児由来神経幹細胞を用いてneurosphere assayを行ったところ、neurosphere形成能

が優位に上昇しているうえ、神経への分化能が低下していることが明らかとなった。これらの結果から、HuDがin vivoにおいて細胞分裂を抑制しさらに神経分化を誘導していることが強く示唆された。

2. 新生ラット摘出小脳-橋-延髄標本における片葉・傍片葉部プルキンエ細胞のシナプス応答

○荒田晶子、藤井盛光、伊藤正男（理化学研究所・脳科学センター・記憶学習機構研究チーム）

小脳のネットワークが外環境に適応しながら、どのように出来上がってくるのかという疑問に答えるため、生後からの発達過程を新生ラット摘出小脳-橋-延髄標本を用いて調べた。この標本は、in vivo標本とスライス標本の間に位置し、in vitro標本でありながら下オリブ核や橋核といった小脳外のネットワークも付いた標本である。小脳の片葉・傍片葉部に投射している下オリブ核の部位と小脳皮質の表面に刺激電極を置き、片葉・傍片葉部のプルキンエ細胞から細胞内電位を記録し、シナプス応答を調べた。また、小脳全体の反応を見るため、この標本に電位感受性

色素を浸潤させて光学的測定も試みた。下オリブ核からプルキンエ細胞には、生後すぐからシナプス応答が見られ、平行線維からプルキンエ細胞へのシナプス応答は生後5日から見られた。生後5日では、下オリブ核からのシナプス応答は多重支配から単一支配へ移行している状態であった。この生後1週の片葉・傍片葉部のプルキンエ細胞に下オリブ、平行線維刺激を同時に1Hz、5分間刺激すると平行線維からプルキンエ細胞へのシナプス応答に長期抑圧(LTD)が観察された。また、この時期の片葉・傍片葉部では、下オリブ核、平行線維刺激に応じた長い光学的反応が見られた。小脳神経回路発達にLTDや、グルタミン酸受容体、Caチャンネルなどがどのように関与するのか検討した。

3. 筋原線維懸濁液の水プロトンNMR

○大野哲生, 木村雅子, 千葉允文, 山口眞紀, 竹森重(東京慈恵会医科大学・生理学講座第1)

筋原線維懸濁液は粘性が高く、遠心してもなかなか高濃度にはできません。

筋原線維間に反発力が働いているにせよ、筋原線維間距離は非常に長く、とても静電的な力では説明できないのではないかと思います。

周りの水を巻き込んで、厚い水和層をつくっている可能性を考えて、筋原線維懸濁液の水プロトンNMRの信号の測定を行いました。

筋原線維懸濁液では主に、1秒ほどの緩和時定数の成分(成分0)と、0.2秒ほどの緩和時定数の成分(成分1)の2つが観察されました。

タンパク濃度が上昇するにつれて、成分0の割合は減少し、およそ11 mg/mlのところまで、両成分の割合は逆転しました。このタンパク濃度では、平均筋原線維間距離は1.7 μm程度であると考えられ、筋原線維はその表面から700nm程離れたところにある水分子まで、何らかの影響を及ぼしていることが示唆されました。この距離は、静電的な作用で考えられる距離のおよそ数百倍に当たります。異なる温度で測定を行うと、温度が高いほどより遠くにその影響力は及んでいることがわかりました。このことからこの束縛は疎水性相互作用と似た性質を持つことがわかりました。

4. 2次性過形成状態のヒト培養副甲状腺細胞に発現するL型Ca²⁺チャンネルは生理的条件下でCa²⁺流入経路として機能する

○松葉道知¹, 鈴木章文^{1,2}, 飯田里菜子³, 大城戸一郎³, 武山浩⁴, 浦島充佳⁵, 柴崎敏昭², 横山啓太郎³, 須田憲

男¹(慈恵医大・医学部¹生理学第2,³腎高血圧内科,⁴外科,⁵臨床研究開発室,²共立薬科大学薬物治療学)

[目的] 2次性過形成副甲状腺培養細胞に発現するL型Ca²⁺チャンネルが生理的条件下にCa²⁺流入経路として機能するかどうかを明らかにする。

[方法] 2次性副甲状腺機能亢進症患者より摘出された副甲状腺組織を単離培養し、共焦点レーザー顕微鏡システムを用いてCa²⁺感受性蛍光プローブFluo-3による細胞内Ca²⁺濃度測定を遂行した。

[結果] チャンバー溶液のCa²⁺濃度を1-2 mMに保持し、2.5-3 mM Ca²⁺を含む液を細胞近傍にセットしたピペットから10秒間投与すると、fluo-3蛍光強度の一過性の増加(fluo-3 Ca²⁺ transient)が記録された。Fluo-3 Ca²⁺ transientは、10 μMのnitrendipineもしくはnicardipine存在下にはほぼ完全に消失した。

[結論] 2次性過形成状態のヒト副甲状腺細胞に発現するL型Ca²⁺チャンネルが生理的範囲の血清Ca²⁺濃度上昇で誘起される細胞内Ca²⁺濃度上昇の主要経路として機能する可能性が示唆された。

5. 肺伸張受容器入力応答の周波数依存性に関与する受容器機構

○高野一夫¹, 繁富英治^{2,3}, 加藤総夫³(¹東京慈恵会医科大学・薬理学,²日本学術振興会特別研究員,³東京慈恵会医科大学・総合医科研・神経生理学)

自動的かつ自発的な呼吸運動は、血中酸素二酸化炭素濃度、脳脊髄液pH、血圧、あるいは肺伸張度などの体内環境に関するさまざまな多くの参照情報に基づいて常に最適化制御されている。これらの制御機構は、古典的に「呼吸反射」として記述され、それぞれに関与する受容器とその適当刺激ならびに求心路が明らかにされている。

我々は、肺伸張受容器を受容器とし迷走神経～孤束核系を介して生じるHering-Breuer反射が、単に「肺容量および気管内圧の増大による吸気性活動の抑制」という古典的な反射としては記述され得ず、むしろ、一次求心性線維の発射周波数の分析に基づいた呼吸性出力の修飾によって発現する中枢性応答であるという事実を解明し報告してきた。一次求心性線維が脳内で初めてシナプスを形成する孤束核においてどのように発射周波数が分析されているか、その機序は未解明である。今回、我々は、麻酔下に非動化されたウサギの横隔神経発射活動を解析し、孤束核への特異的受容器遮断薬微量注入によって、孤束核におけるグルタミン酸-グルタミン酸受容体系ならびに細胞外ATP～P2X受容体系が、それぞれ、肺伸張受容器由来の高頻度、ならびに、低頻度求心情報の伝達に弁別的に関与する可能

性を見出した。このような周波数依存的応答修飾は古典的な「反射」の概念の書き換えを迫るものである。

6. 皮膚刺激が卵巣血流に及ぼす効果とその神経性機序

○内田さえ, 鍵谷方子, 堀田晴美 (東京都老人総合研究所 運動・自律機能相関研究グループ)

卵巣には交感及び副交感神経が分布することが組織学的に報告されているが, その機能は殆ど調べられていない。本研究では, 卵巣支配自律神経による卵巣血流調節及び, 皮膚刺激が卵巣血流に及ぼす影響と卵巣支配自律神経の役割を麻酔ラットで調べた。

卵巣交感神経を含む内臓交感神経の遠心性刺激は卵巣血流を減少させたが, 卵巣支配迷走神経の遠心性刺激は卵巣血流に影響を及ぼさなかった。

後肢や腹部のピンチ刺激中に血圧上昇, 卵巣交感神経活動の亢進及び僅かな卵巣血流減少が認められた。これらの卵巣血流減少反応は, 卵巣交感神経切断後, 血圧上昇に依存した著しい血流増加反応に逆転した。後肢や腹部のプラシ刺激は卵巣血流に影響を及ぼさなかった。脊髄切断 (上部胸髄) 後, 後肢ピンチ刺激による反応はほぼ消失したが, 腹部刺激による反応は依然として認められた。

以上の結果から, 卵巣交感神経は卵巣血管収縮神経として働き, 皮膚侵害性刺激により活動を高めることで, 血圧上昇反応に依存して卵巣血流が著しく増加するのを抑えていると考えられる。皮膚—卵巣血管反射には上脊髄反射と脊髄反射の経路が存在することが示された。

7. 腺外分泌を引き起こす Ca シグナリングに関与する IP₃ 受容体サブタイプ

中村 健^{1,2}, 二木 啓¹, 御子柴克彦¹ (¹ 科学技術振興機構・カルシウム振動プロジェクト, ² 順天堂大学・医学部・第二生理)

細胞内 Ca 放出チャネルである IP₃ 受容体の三つのサブタイプ (IP₃R1, IP₃R2, IP₃R3) のうち, 末梢にも広く存在する 2 型 (IP₃R2) および 3 型 (IP₃R3) に関しては, その生理的役割は全く明らかになっていなかった。我々は, IP₃R2, IP₃R3 の単独欠損マウス, および IP₃R2/IP₃R3 二重欠損マウスを作成・解析することにより, その生理的役割を明らかにした。IP₃R2/IP₃R3 二重欠損マウスは, 唾液・膵消化酵素分泌不全など重篤な腺外分泌障害を呈し, 低成長であった。この二重欠損マウスでは, 腺房細胞におけるアセチルコリンあるいはコレシストキニン刺激で誘発されるべき Ca シグナリングがほぼ完全に消失していた。このことは IP₃ 受容体を介した Ca 放出のみが腺外分泌機能において本質的であることを示している。IP₃R2, IP₃R3 の

いずれかの単独欠損では, 腺房細胞での時空間的に特徴のある Ca シグナリングも含め, 重篤な障害は見られなかった。以上の結果は IP₃R2, IP₃R3 のいずれもが腺房細胞の Ca シグナリングを担い, 腺外分泌機能に critical に関与していることを示している。

8. テストステロンのノンゲノミック作用による心臓活動電位短縮のメカニズム

○黒川洵子, 白 長喜, 古川哲史 (東京医科歯科大学・難治疾患研究所・生体情報薬理学分野)

薬剤誘発性不整脈は女性においての報告が多く, 健康人の男性で QT 間隔が思春期に短縮する事に関連付けられてきた。この男女差は, 性ホルモンによるイオンチャネル遺伝子発現の調節から一部説明されてきた。しかし一方で, 性ホルモンは転写調節を介さない急性作用を示すことが知られており, ノンゲノミック作用と呼ばれるが, 心臓活動電位の調節に関して詳しく検討されたことはなかった。そこで我々は, モルモット心室筋細胞を用いた穿孔パッチ法を用い, 活動電位幅 (APD) とイオンチャネル電流に対するテストステロン (DHT) の急性作用 (10 分以内) を調べた。男性の生理学的濃度範囲内の DHT は, I_{Ks} 電流を増大し, L 型 Ca²⁺ 電流を抑制することにより, APD を短縮した。さらに, DHT は, 性ホルモン受容体 → c-Src → PI3-kinase → Akt → NOS3 のシグナル伝達系により産生した一酸化窒素 (NO) を介して, 心筋イオンチャネルに作用することが示された。今回はじめて, テストステロンがノンゲノミック作用を介して APD を短縮することとそのシグナル経路を示した。この作用は, QT 間隔や薬物誘発性不整脈発作における男女差を説明する新たなメカニズムであると考えられる。

特別講演

分子・形態・機能を結ぶ新たな方法論：孤束核局所回路の発達機構

河合良訓 (東京慈恵会医科大学・解剖学講座第 1)

ラット孤束核の局所神経回路構成を明らかにする目的で, 個々のニューロンの亜核分布と細胞サイズに着目して細胞分類とシナプス入出力に関して定量解析をおこなった。グルタミン酸, GABA, カテコラミンニューロンの核内分布により 4 つの亜領域を区別し, 細胞数密度と細胞サイズを調べた。全ニューロンの約 80% を占める平均面積 100 μm² の小型細胞は, 豊富なグルタミン酸シナプス入力を受け, 核内に豊富にシナプス出力していた。小型細胞は核内に均質に分布するグルタミン酸細胞と特定亜領域に偏在する GABA 細胞と分けられた。内側亜核に偏在する平

均面積 $170 \mu\text{m}^2$ の大型細胞は、対照的に GABA シナプス入力優位であり、シナプス出力は核外投射型であった。このような非対称性なシナプス入力パターンは生後発達（生後 5-8 日）に伴い形成され、その実験的形成阻害は、細胞

レベルおよび個体レベルで異常な behavior を惹起した。正常な自律神経機能のためには、生後形成される特異的なシナプス結合の連鎖による局所神経回路の存在が不可欠であることが示唆された。