

第99回近畿生理学談話会

日 時：2006年9月2日（土）
 場 所：大阪歯科大学楠葉学舎
 当番幹事：大阪歯科大学生理学講座 西川泰央
 参加人数：84名
 演 題 数：35題

2006年9月2日、大阪歯科大学楠葉学舎の第1および第2大講義室に84名の参加者を迎え、第99回近畿生理学談話会が開催された。午前中は1会場で、午後からは2会場に分かれて合計35演題の口演発表が行われ、活発な質疑応答がなされた（討論を含め1演題の持ち時間は15分）。午後の部の開始に先立ってミーティングが開かれ、評議員会での議論や主な話題が参加者全員に紹介された。運営は若手中心の原則に従い、座長も大半が若手研究者・大学院生であった。次回2007年は三重大学が当番校になり、中部地方会と合同開催される予定である。

1. 組織remodelingにおけるクラス4・セマフォリンの役割

湯川和典¹、白 涛²、田中哲二²、荊 炳群²、上山敬司³、熊ノ郷 淳⁴、菊谷 仁⁴、前田正信¹（和歌山県立医科大学・医・¹生理学、²産科婦人科学、³解剖学、⁴大阪大学微生物病研究所）

マウスの腔開口現象は生後に起こる組織remodelingのひとつである。クラス4・セマフォリンのSema4Dを欠損するノックアウト・マウスには腔閉鎖が発生する。腔閉鎖発生のメカニズムを明らかにするためSema4Dと受容体の発現ならびにアポトーシスの解析を行った。Sema4DmRNAと蛋白が5週齢雌マウスの腔上皮に検出されPlexin-B1受容体の発現も腔上皮内に検出された。ウエスタン・ブロット解析にて腔開口と一致してPlexin-B1受容体がシグナル増強型に再構成することも判明した。Wild-typeマウス腔上皮上層で多数のTUNEL陽性細胞を認めたがSema4Dノックアウト・マウス腔上皮ではアポトーシス細胞はほとんど検出されなかった。Sema4Dのアポトーシス誘導作用を証明するためSema4Dノックアウト・マウス由来の培養腔上皮細胞にレコンビナントSema4Dを添加するとTUNEL陽性細胞と活性型caspase3陽性細胞が有意に増加することが判明した。従ってSema4Dは5週齢マウスの腔上皮にアポトーシスを誘導して腔開口に関与することが明らかになった。

2. ラット心筋細胞への蛋白質直接導入

畑田充俊^{1,2}、幸田 剣¹、山崎寿也¹、崔 鶴¹、荊 炳群¹、湯川和典¹、岡村吉隆²、前田正信¹（¹和歌山県立医科大学第2生理学教室、²和歌山県立医科大学第1外科）

【目的】現在、心筋再生医療として種々の遺伝子治療が行われつつある。しかし、機能蛋白質を使った治療は行われておらず、in vivoで心筋細胞に蛋白質を直接導入した報告もない。そこで我々は、Hemagglutinating virus of Japan envelope (HVJ-E)を使用し、 β -galactosidase (β -gal)がin vivoで心筋細胞に直接導入可能か検討した。【方法】Wistarラットの心尖部～左心室前壁にガラスマイクロピペットを使用し、 β -gal + HVJ-E（実験群）または β -galのみ（対照群）を注入した。投与後、3又は6時間後に心臓を取り出し、X-gal染色を行った。 β -gal活性をX-gal陽性細胞の面積として2群を比較した。【結果】投与後3、6時間とともに実験群のほうが有意に多かった〔コントロール群、実験群； 6.3 ± 0.7 , $68 \pm 5.3 \mu\text{m}^2$, $p < 0.01$ （3時間）； 56 ± 20 , $822 \pm 151 \mu\text{m}^2$, $p < 0.01$ （6時間）〕。【結論】in vivoで心筋細胞に機能蛋白質直接導入は可能と考えられ、これを利用した新しい蛋白質治療を開発できる可能性がある我々は考えている。

3. マクロファージの特異的除去による腫瘍増殖阻害

高橋 猛、吉田龍太郎、山路純子、森 禎章、乾 崇樹、窪田隆裕（大阪医科大学生理学教室）

【目的】近年、腫瘍周囲の低酸素と関連して、マクロファージと腫瘍増殖との関連が示唆されている。すなわち、腫瘍増殖期に腫瘍からのHypoxia inducible factorなどによって誘導されたマクロファージが、腫瘍の分化、浸潤、転移、血管新生を促進する。今回、我々はマクロファージを特異的に除去するdichloromethylene diphosphonate (DMDP)-Liposome (DMDPリボゾーム)を腫瘍周囲に皮内注射し、腫瘍増殖抑制効果について検討した。

【方法】B16メラノーマ腫瘍（ 5×10^6 cell/マウス）を皮下注射し、同時に、その周辺にDMDPリポゾーム、またはPBSリポゾーム（対照）を、皮下注射した。リポゾーム濃度は原液の3倍、5倍希釈を、3日毎に6回あるいは12回投与した。B16メラノーマをあらかじめ皮下注射し、腫瘍径が約3mmになった時点でも、同様の実験を試みた。

【結果】全ての投与群において、DMDPリポゾームの腫瘍増殖抑制効果が見られた。特に、DMDP濃度3倍希釈、12回投与群においてB16メラノーマ腫瘍を完全に拒絶することができた。

【考察】現在、DMDPリポゾーム投与後の組織と腫瘍周囲で産生されるサイトカインの変化を検討中である。

4. 血管条辺縁細胞のL型Ca²⁺チャンネルは蝸牛内直流電位の維持に関与する

乾 崇樹³、森 禎章¹、二村吉継³、渡辺正仁²、山路純子¹、吉田龍太郎¹、竹中 洋³、窪田隆裕¹（¹大阪医大・生理、²同・解剖、³同・耳鼻咽喉科）

目的：蝸牛内リンパ腔は+80 mV程度の蝸牛内直流電位（EP）を有している。本研究ではEPの維持に対するCa²⁺の役割を、電気生理学的手法と免疫組織化学的手法を用いて検討した。

方法：1) EP測定用電極は、モルモット蝸牛第2回転より経血管条的に内リンパ腔に刺入した。また薬剤は、内リンパ腔、外リンパ腔および椎骨動脈より投与した。2) 内耳血管条のL型Ca²⁺チャンネルを、蛍光抗体法により検出した。

結果：1) ニフェジピンを内リンパ腔（1 μg/ml）や椎骨動脈（30 μg/ml）に投与すると、無呼吸負荷によるEPの低下が有意に抑制された。しかし、ニフェジピンを外リンパ腔（10 μg/ml）に投与しても、無呼吸負荷によるEPの低下は抑制されなかった。2) 蛍光抗体法では、辺縁細胞の側基底膜と管腔膜にL型Ca²⁺チャンネルの強陽性反応が観察された。

結論：無呼吸負荷時には辺縁細胞のL型Ca²⁺チャンネルが開孔する事で辺縁細胞内のCa²⁺濃度が上昇し、EPが低下するものと考えられた。したがって、EPの維持には辺縁細胞内のCa²⁺濃度が重要である。

5. 嚥下に関与するラット軟口蓋体性感覚の大脳皮質での情報処理様式

奥田義彦^{1,2}、佐藤 元²、戸田孝史²、古郷幹彦¹、姜 英男²（¹大阪大学院・歯・顎口腔病態制御、²大阪大学院・歯・高次脳口腔機能）

【目的】軟口蓋感覚情報は食塊の流動性、大きさ、均一

性を認知する上で重要な役割を担うと考えられる。本研究は軟口蓋の感覚情報処理機構を明らかにするため、大脳皮質誘発電位の解析を行った。【方法】体重310～440gのWistar系ラットを用い、全身麻酔下にて下顎を除去し、軟口蓋あるいは小口蓋神経に電気刺激を与え、銀ボール電極により大脳皮質誘発電位を記録した。次に、誘発電位が記録された大脳皮質部位にタングステン電極を刺入し、皮質内微小電気刺激（ICMS）を行った。【結果と考察】体性感覚野と運動野の二つの異なる領域で、個別に誘発電位が認められた。しかし、運動野における誘発電位の方が、潜時が長く、振幅が大きかった。さらに、軟口蓋前方及び後方の刺激で、それぞれ大脳皮質内側及び外側に誘発電位が生じた。潜時は後方刺激の方が長かった。また、この部位のICMSにより口蓋筋の活動が認められた。従って、軟口蓋前方から後方へ食塊が移動する速度を厳密に検出するのに適した神経回路を構成していると考えられた。また、軟口蓋自体の運動感覚情報を統合して口蓋筋の運動調節を行い、嚥下運動に関与することが推察された。

6. ラット三叉神経運動核咬筋領域内に存在するα及びγ運動ニューロンの電気生理学的分類

太田雅裕^{1,2}、齋藤 充¹、佐藤 元¹、豊田博紀¹、姜 英男¹（¹大阪大院・歯・高次脳口腔機能学、²大阪大院・歯・顎口腔機能再建学）

咬筋では、筋紡錘1個に含まれる錘内筋線維数は他の身体部位の筋よりも2～10倍多いことから、γ運動系の寄与が極めて重要であることが示唆される。三叉神経運動核（TMN）咬筋領域には、α及びγ運動ニューロンや介在ニューロンが存在している。そこで、TMNを含む脳幹スライス標本を作成し、TMN咬筋領域のニューロンからホールセル電流固定記録を行ない、電気生理学的分類を試みた。その結果、[1] 低閾値型Ca²⁺スパイクが顕著なもの、[2] 4-AP感受性をしめすA型K⁺電流が顕著で、弱い低閾値型Ca²⁺スパイクを示し、かつ、Ca²⁺依存性Cl⁻電流による脱分極性スパイク後電位がみられるもの、[3] 持続性Na⁺電流を示し、かつ、Ca²⁺依存性陽イオン電流による緩徐な脱分極性後電位を示し、自発性の律動性発火が見られるもの、の3つのサブタイプに分類された。これまでの研究結果からそれぞれ、[1] はGABA作動性介在ニューロン、[2] はα運動ニューロンに相当することが明らかとなっていることから、[3] がγ運動ニューロンである可能性が示唆された。また形態学的解析も行なった。

7. 味覚嫌悪学習の想起過程におけるラット腹側淡蒼球の関与

乾 賢, 志村 剛, 山本 隆 (大阪大学院 人間科学 行動生理学)

動物が味溶液を摂取後に腹痛などを経験すると、その味に対する嫌悪学習を獲得する。これを、味を条件刺激 (conditioned stimulus, CS), 内臓不快感を無条件刺激とした味覚嫌悪学習 (conditioned taste aversion, CTA) という。CTAの成立によってCSの味覚嗜好性に変化が起ると考えられる。近年、腹側淡蒼球 (ventral pallidum, VP) の味覚嗜好性への関与が報告されている。そこで、VPのCTAへの関与を明らかにするために、VPへのGABA_A受容体阻害薬ピククリンの注入がCTAの想起に及ぼす影響を調べた。実験1では1ピン法を用いてラットにサッカリンあるいはキニーネに対するCTAを獲得させ、想起テストの直前にピククリンを注入した。その結果、ピククリンによってサッカリンの摂取量が増加した。実験2では口腔内カニューレ法を用いて実験1と同様にピククリンの効果を調べた。ピククリンによって嫌悪反応が消失し、摂取反応が多くみられるようになった。これらの結果から、VPでのGABA放出量がCTAの想起に関与している可能性が示唆された。そこで実験3においてマイクロダイアリシス法を用いてCTAの想起がVPでのGABA遊離に及ぼす影響について検討中である。

8. 心理ストレスによるHPA活動上昇度の男女差

○高井規安, 内橋賢二, 西川泰央 (大歯大・生理)

ヒトの主要なストレス反応系には視床下部—下垂体前葉—副腎皮質 (HPA) 系と交感神経—副腎髄質 (SAM) 系の2つがあることが知られている。本研究は心理ストレス時のHPA系およびSAM系の活動上昇度を男女間で比較した。

成人被験者男女 (18-26歳) について、各個人の対ストレス感受性を自記回答式特性不安度テスト (Spielberger's STAI) で評価し、1. 男性高不安度群, 2. 女性高不安度群, 3. 男性低不安度群および4. 女性低不安度群の4群に分けた。ストレスサとして角膜移植手術のビデオを見せ (15分), その直後の全唾液中のコルチゾルと β -エンドルフィンを用いてHPA系, α -アミラーゼを用いてSAM系の指標として、それぞれELISAで測定した。

安静時の唾液中ストレス指標濃度は4群で有意差は認められなかった。ストレス負荷後、唾液指標はすべて有意に上昇したが、高不安度群のコルチゾルだけが、女性は男性より有意に低い上昇度であり、アミラーゼおよび β -エンドルフィンでは男女差は認められなかった。この実験結果は、高不安度群ではストレスビデオを見ている間、女性は男性よりもコルチゾルを低濃度しか分泌せず、低不安度群

ではこの男女差は認められないことを示している。すなわち、急激な心理ストレスを負荷されたときには、高不安度の女性は男性に比べてHPA系を十分に活動させることができないと考えられる。

9. 移植治療のための心筋・骨格筋筋芽細胞活動の光学計測

城間晋作^{1,2}, 齋藤充弘³, 嶽北和宏³, 八木哲也², 澤 芳樹³, (¹21世紀COEプログラム, ²大阪大学大学院工学研究科, ³大阪大学大学院医学系研究科)

近年、心不全の治療法として再生型治療の有用性が注目されている。我々は培養筋芽細胞を不全心へ移植することによって心機能を回復させることを目指しているが、この目的のためには移植に適した培養ステージあるいは培養細胞の状態を決定することが重要である。そこで今回、培養骨格筋筋芽細胞およびそのコントロールとして培養心筋細胞の生理学的状態を、カルシウム蛍光色素Fluo-4を用いて観察した。心筋細胞は新生仔ラットの左心室から、筋芽細胞は2週令ラットの下肢からそれぞれ採取し37℃で培養した。培養心筋細胞においては、培養2-3日において周期約1.4秒、ほぼ一定振幅の規則的な細胞内カルシウム濃度の振動が観察された。この振動は、還流培養液の温度を下げると消失した。これに対し筋芽細胞は、培養2-3日後において自発的なカルシウム濃度変動が観測されたが、この変動は周期および振幅において不規則であった。またこの変動は、温度を下げても観測されることがあった。筋芽細胞を6-7日間培養をおこなうと筋管形成がみられたが、この筋管形成した細胞においても、培養2-3日の細胞と同様の不規則な自発カルシウム濃度変動が観測された。

10. 視覚野信号伝播における抑制系の影響

田中哲史, 武野祐介, 小山内実, 八木哲也 (大阪大学大学院工学研究科)

近年、全盲障害者の視覚野に電極を埋植し、マイクロ電気刺激することによって視覚機能を代行させようとする研究がなされているが、この電気刺激が視覚野神経回路にどのような信号を誘発するかは明らかではない。我々は、マウスの視覚野スライスに対して、Ca²⁺蛍光指示薬を用いたCa²⁺イメージングを行うことによって、視覚野に与えた電気刺激によって誘発される信号の伝播様式を調べた。その結果、視覚野の信号入力部である4層に電流刺激を行った場合、4層から2/3層方向へと層に対して垂直方向にCa²⁺濃度上昇が起こる領域が拡がるのが観測された。これに対し水平方向のCa²⁺濃度上昇の拡がりには制限されていた。このことは、4層への電気刺激により信号は主に垂直方向

に伝播することを示している。抑制性の神経伝達物質 GABA_A 受容体阻害剤 bicuculline を投与し、抑制性のシナプス伝達を阻害すると、bicuculline の濃度依存的に個々の細胞の Ca²⁺ 濃度上昇の振幅が増大し、かつ垂直方向に限局されていた Ca²⁺ 濃度上昇領域が、水平・垂直方向共に拡大した。これらの結果は視覚野における信号伝播は抑制性シナプス伝達の作用により制限されていることを示唆している。

11. サル頭頂葉 VIP 野における自己と他者の身体像のマッチング機能

○石田裕昭, 稲瀬正彦, 村田 哲 (近畿大学医学部 第一生理学講座)

他者の動作の認識には、自己身体を表象と他者の身体像を脳内でマッチングすることが必要であるとわれわれは考えている。サル頭頂間溝内部 (VIP 周辺) のニューロンは、視覚と体性感覚情報を統合し、自己身体認識に関与している。そこで本研究は、VIP 野周辺から他者身体認識に関わるニューロンを探索した。

まず、触覚と視覚刺激に反応するニューロンを探索し、受容野の広がり調べた。次に、サルの前に実験者が対面し、触覚受容野があるサルの身体部位と同じ部位について、実験者自身が触るか、第三者に触られているところをサルに観察させ、その時の単一ニューロンの活動を記録した。

視覚受容野がサルの身体付近にあるニューロンのうちいくつかは、サルの触覚受容野に対応する実験者の身体部位への刺激に反応した。たとえば、サルの触覚受容野が右頬にある場合、実験者が右頬を触るか、第三者が実験者の右頬付近に視覚刺激を提示したときに反応し、左頬では反応しなかった。さらに、視覚受容野については、サルとヒトの顔面付近でのみ発火したが、両者間の空間上に視覚刺激を提示したときは反応しなかった。本研究結果は、予備的ではあるが VIP 野周辺のニューロンが自己身体像に加えて、他者身体像にも反応することを示唆する。

12. サル V4 野皮質局所における色選択性細胞の空間配置

○小竹康代¹, 森本広志¹, 田村 弘^{1,2}, 藤田一郎^{1,2} (¹大阪大学大学院生命機能研究科・認知脳科学研究室, ²CREST/JST / 科学技術振興機構)

サル V4 野では、同じ色に対して反応する細胞が皮質局所に集合し、最適色に基づいたクラスターを形成するという報告がある一方、そのような構造はないとする報告もある。そこで本研究では、麻酔不動化したサル (*Macaca fuscata*) V4 野において、隣接細胞の色刺激セットに対す

る応答の類似度をスパイク発火頻度の相関係数で評価し、クラスターの有無の再検討を行った。全隣接細胞ペアの相関係数の分布は正に偏っていたことから、隣接細胞ペアの色選好性は類似する傾向にあった。しかし、全隣接細胞のうち有意な相関を持たないペアは 7.8% であり、互いに異なる色選好性を持っていた。各計測点における最適色のばらつきを調べると、ばらつきの大きい計測点と小さい計測点の 2 群に分かれることが明らかになった。以上の結果は、V4 野の皮質局所では、色クラスターを形成している場所と、異なる色選好性を有する細胞が混在する場所が存在していることを示唆する。

13. マウスガードによる頸部筋緊張が動体視力に与える影響

長谷川達央¹, 今井裕一郎², 石田純一², 桐田忠昭², 石指宏通³, 山下勝幸¹, 和田佳郎¹ (¹奈良医大・第 1 生理, ²奈良医大・口腔外科, ³奈良医大・保健体育)

運動物体の形を識別する能力を動体視力と呼び、眼球運動が重要な要素であることが知られている。例えば頭部回転しながら運動物体を追跡する場合、追跡性眼球運動、前庭動眼反射 (VOR) とともに頸部固有受容器を介した頸性動眼反射 (COR) が関与する。今回、COR と動体視力の関係を検討する目的で、マウスガード (MG) により頸部筋緊張を変化させた条件下で、動体視力、眼球運動、頭部運動、頸部筋電図を測定した。実験は健康成人を対象に、右方向に頭部を能動的に回転させながら右方向に直線運動 (90deg/s) する視標を読み取らせた。その結果、MG を使用することにより動体視力が上昇するグループと、低下するグループに分かれ、両群とも動体視力の変化と咬合力の間に正の相関が見られた (動体視力上昇群 $r = 0.73$, 動体視力低下群 $r = 0.85$)。いずれの被験者群も右方向の頭部運動中に左方向の眼球運動が認められたが、動体視力上昇群では MG の使用によりこの眼球運動が小さくなる傾向が見られた。以上の結果は、MG が VOR を抑制することによって動体視力を向上させる可能性をあらわしている。現在、MG と COR, VOR の関係についてさらに実験を進めており、本談話会ではその結果を含めて報告する。

14. サルの体性感覚誘発電位 (SEP) と SEP に対する長期間運動の影響

中尾和子, 玄番史恵, 松崎竜一, 雨夜勇作 (関西医大・第二生理)

2 頭のサルを用い、麻酔下で正中神経を電気刺激して、両側大脳半球の種々の皮質領野の表面と 2.0-3.0mm 深部に慢性的に埋め込んだ対電極から SEP の同時記録を試みた

ところ、電気刺激と対側の大脳半球において、短潜時 (< 20 ms) の SEP が潜時の短い方から体性感覚野、運動野、5野、7野、運動前野および前頭前野の順に記録された。一方、刺激と同側の体性感覚野、運動野、5野、7野、運動前野および前頭前野においても SEP は記録されたが、対側の場合より潜時が1.5ms長かった。さらに SEP に対する長期間運動の影響を調べるため、2頭の中の1頭のサルを訓練して、両下肢を用いたペダル回転運動を約7ヶ月間行わせた。その運動後に SEP の記録を試みたが、刺激と対側の7野において、運動前に既に出現していた部位だけでなく出現していなかった部位からも SEP の記録されることが分かった。以上より、比較的短潜時の SEP が体性感覚野や運動野だけでなく、頭頂連合野、運動前野および前頭前野からも出現することがわかった。さらに長期間の運動により体性感覚情報の入力皮質部位が7野において拡大することがわかった。さらに7野の SEP が体性感覚野を介さず、視床からの直接入力によることも示唆された。

15. サル視床—前頭前野投射について

松崎竜一，久宝真一，中尾和子，雨夜勇作，玄番忠恵
(関西医科大学，生理学第二講座)

サルが手の運動を抑止する際に、前頭前野の主溝背側壁で、皮質表面で陰性、深部で陽性の大脳質フィールド電位 (Nogo 電位) の出現することが知られている。このような表面—陰性、深部—陽性の電位は浅層性視床大脳皮質投射により惹起される。本研究では、Nogo 電位の由来となる視床部位を同定するため、麻酔下で視床を電気刺激し、前頭前野 (8, 46野) に誘発される大脳皮質フィールド電位を対電極 (表面電極と深部電極) により記録し、検討した。その結果、前頭前野に浅層性視床大脳皮質応答を引き起こす視床核は VA, VLo, VLc, X, VPLo, MD 核であり、この中、VA, MD 核が主として主溝背側壁に浅層性視床大脳皮質応答を惹起した。一方、トレーサー (Diamidino Yellow) を主溝背側壁へ注入して視床における逆行性標識細胞を調べたところ、標識細胞は主として VA, MD 核に認められた。更に帯状回 (23, 24野) を電気刺激すると、視床の VA, MD 核刺激の場合とほぼ同じ前頭前野領域に表面—陰性、深部—陽性の電位が誘発された。他方、帯状回から VA, MD 核への投射が形態学的に知られている。以上から、Nogo 電位が帯状回—視床 (VA, MD 核)—前頭前野投射により惹起されることが示唆される。

16. 3f5f 縞の動きで生じるサルの追従眼球運動

松浦清人，三浦健一郎，瀧 正勝，田端宏充，稲場直子，河野憲二，Frederick A. Miles (京都大学大学院医学研究

科 認知行動脳科学)

追従眼球運動 (OFR) は広い視野全体が突然動くことによって誘発される短潜時の眼球運動である。OFR 誘発時に視覚刺激から動きの情報抽出されるメカニズムを理解するため、CRT 上に正弦波縞を提示し、視覚刺激として用い、サルの眼球運動を計測した。正弦波の基本周波数を 1f として3倍周波数の 3f 縞を基本周期の 1/4 ずつ移動させると OFR は移動方向とは逆方向に起こり、5倍周波数の 5f 縞を同じ距離ずつ移動させると OFR は移動方向と同方向に起こる。そこで、3f 縞と 5f 縞を足し合わせた縞 (3f5f 縞) を同じ距離ずつ移動させたときに生じる OFR を調べ、2つの縞がどのように影響をおよぼしているか調べた。提示する 3f5f 縞を構成する要素のうち、5f 縞のコントラストは 8% に固定し、3f 縞のコントラストを 5f 縞のコントラストの 1/4 倍から 4 倍まで変えた。計測の結果、3f5f 縞で生じる OFR は、3f 縞のコントラストが 5f 縞のコントラストより大きいときは、3f 縞の影響を大きく受け、5f 縞のコントラストが 3f 縞のコントラストより大きいときは、5f 縞の影響を大きく受けることが分かった (Winner-Take-All)。

17. 単眼運動検出メカニズムと両眼運動検出メカニズムの知覚および眼球運動への影響

林 隆介，三浦健一郎，田端宏充，河野憲二 (京都大学大学院 医学研究科 認知行動脳科学)

われわれは左右眼それぞれに入力される運動方向と両眼観察下で知覚される運動方向が反転するという全く新しい視覚刺激を開発した。この刺激は空間と時間の両方で位相が直行する二つの定常波の重ね合わせが進行波になるという三角関数の加法定理にもとづき、任意の時空間パターン of ヒルベルト変換の加減算によって合成されたものである。本刺激を用いて単眼運動強度と両眼運動強度をパラメトリックに調整し、単眼運動検出器と両眼運動検出器の知覚および運動への寄与を分離して解析することができる。心理物理実験によりこの刺激の運動知覚が刺激提示時間に依存して変化することを見出した。提示時間が 100ms 前後と比較的短い条件下では単眼運動の知覚が強調され、提示時間が 200ms より長いと両眼運動の知覚が強調される傾向が確認された。また、同刺激を提示したときの眼球運動を計測し、刺激開始時点から潜時 100 ~ 150ms に発現する初期眼球運動成分と潜時 150ms 以降に発現する後期眼球運動成分が、それぞれ単眼/両眼運動の強度変化に依存してどのように変調されるかを、運動知覚の変化と対応づけて議論する。

18. 先行する視覚刺激への順応がヒトの追従眼球運動に及ぼす影響

河野憲二, 三浦健一郎, 田端宏充 (京都大学大学院医学研究科認知行動脳科学), 瀧 正勝 (京都府立医科大学耳鼻咽喉科)

一方へ動く視覚刺激を見続けると, 運動の知覚に影響を及ぼす (運動順応: motion adaptation). この運動順応には大脳MT (middle temporal), MST (medial superior temporal) 野が関係していると考えられている. この運動順応を定量的に計測するため, 先行する視覚刺激が追従眼球運動に及ぼす影響について調べた. 追従眼球運動は広い視野の視覚刺激の動きによって生じる眼球運動で, その制御にはMT, MST野が関係していると考えられている. 被験者の眼球運動はDouble Purkinje Image法により計測した.

①CRT上に静止した視標 (0.5度) とランダムドット像 (32度×25.6度) を提示し, ②被験者が視標を注視している間にランダムドット像を20度/秒で右または左へ2秒間動かした (順応刺激). ③次に, ランダムドット像を0.2秒間消し, ④静止したランダムドット像を0.1秒間提示した後, ⑤視標を消し, ランダムドット像を右または左に20度/秒で0.2秒間動かした (テスト刺激). 順応をおこした場合, 静止したランダムドット像を2秒間提示した場合と比べて, 追従眼球運動に速度の低下が見られた.

19. ニワトリ音圧差計算神経核 (LLDp核) の膜特性・シナプス特性について

佐藤達雄, 福井 巖, 大森治紀 (京大・神経生物)

音源定位には音情報の両耳間時間差 (ITD), 両耳間音圧差 (ILD) が重要な手がかりである. 鳥類では音情報は時間経路と音圧経路が平行処理され, 上位核で左右の音情報が比較される. ITD計算過程は様々な鳥類でin vivo, in vitroとも調べられてきたが, ILD計算過程については面フロウを用いたin vivo研究 (外側毛帯背側核後部: LLDp) があるのみで, in vitro知見はない. 我々はこれまでin vivo実験系を用いて, ニワトリにおいてもLLDp核が音圧差計算核であることを示した.

次に細胞生理学的にILD計算過程を解析するため, ニワトリ脳幹スライスにpatch clamp法を用いた. 下丘からの逆行性蛍光標識にてLLDp内の投射細胞 (ILD計算細胞と推定) を同定して実験を行った. 投射細胞は注入電流量に応じたtonicな発火特性を示し, 複数種のKチャネルの存在が示唆された. また, 対側音情報・同側音情報を伝えるそれぞれの線維束を刺激すると, AMPA・NMDA受容体を介するEPSC, GABA_A受容体を介するIPSCが誘発さ

れた.

今後, これらの基本的膜興奮性, 入力特異性の所見に基づき, 対側興奮・同側抑制のシナプス入力がいかに音圧差計算を形成しうるかを明らかにしたい.

20. In vivo patch-clamp法による下丘神経回路の解析

小野宗範, 大森治紀 (京都大学医学部神経生物学教室)

下丘は, 中脳に位置し, 上位下位聴覚伝導路からの入力を受け, 音情報の統合的処理を行う神経核である. 下丘の神経回路網の解明は中枢神経における聴覚情報処理の理解に不可欠であるが, 回路網の複雑さから, 解析が困難を極めている.

今回我々は, 下丘神経回路網の解析のために, in vivo patch-clampの技法の導入を行った. 具体的には

1. Loose patch clamp法による, 下丘神経細胞の音刺激に対する応答特性の記録, および記録細胞の染色
2. Whole cell patch clamp法による, 膜特性および, シナプス特性の解析を試みた.

21. 背側蝸牛神経核に存在するFusiform cellsにおけるGABA_B受容体を介したシナプス前抑制及びシナプス後抑制

入江智彦, 大森治紀 (京大院 医 生理)

Fusiform cellsは双極性の樹状突起を持つ, 背側蝸牛神経核 (DCN) の出力ニューロンである. 基底樹状突起には聴神経が興奮性シナプスを形成するのに対して, 先端樹状突起には平行線維を介して体性感覚情報が興奮性シナプスを形成する. DCNにはグリシン作動性とGABA作動性のインターニューロンが存在しておりFusiform cellsにシナプスする. グリシン作動性入力による抑制は, in vivoにおいて音刺激に対するFusiform cellsの特徴的な応答の形成に関与しているが, GABA作動性入力による抑制は, GABA_A受容体を介したシナプス後抑制しか報告されておらず, Fusiform cellsに対するGABAの役割は不明確のままである. 今回, 脳幹スライス標本に対してパッチクランプ法を適用し, バクロフェン (GABA_B受容体のアゴニスト) に対するFusiform cellsの応答を記録した. バクロフェン投与により膜抵抗の減少を伴い過分極した. 平行線維刺激により誘発されたEPSCはバクロフェンで抑制された. これらの結果より, GABA_B受容体を介してシナプス前抑制と後抑制が起きることが明らかになった.

22. KCNE1ならびにKCNE2によるKCNQ1チャネルの機能調節

豊田 太¹, 上山久雄², 丁 維光¹, 松浦 博¹ (滋賀医

一回膜貫通型蛋白である KCNE1 ならびに KCNE2 は種々の心筋イオンチャネルと機能的に会合することが示されている。心筋電気活動におけるこれらの KCNE 蛋白の重要性は、いずれの遺伝子変異も QT 延長症候群に関連する事実から強く示唆されている。本研究は、KCNE1 ならびに KCNE2 が心筋 I_{Ks} を構成する KCNQ1 チャネルの性質におよぼす効果について検討した。KCNQ1 を KCNE1 と共発現すると、 -40mV より脱分極側で時間依存性に活性化される外向き電流を誘発した。一方、KCNQ1 を KCNE2 と共発現すると、 E_K 付近で逆転する常時活性型の時間非依存性電流を誘発した。次に、KCNQ1 を KCNE1 と KCNE2 の両方と共発現すると、ゆっくりと活性化される外向き電流のみを誘発したが、KCNQ1/KCNE1 電流に比べ活性化の膜電位依存性が脱分極側にシフトしており、脱活性化キネティクスも速かった。また、メフェナム酸による脱活性化遅延効果も KCNQ1/KCNE1 電流に比べ有意にその感受性が低下した。このことから、KCNE2 は KCNE1 と共に同一 KCNQ1 チャネル分子に会合し、心筋 I_{Ks} の性質を制御する可能性が示唆された。

23. 代謝型グルタミン酸受容体 subtype 1a (mGluR1a) による P/Q 型 Ca^{2+} チャネル ($\text{Ca}_v2.1$) 活性制御の多相性

山崎浩史¹, 若森 実¹, 中西重忠², 森 泰生¹ (¹京都大学大学院工学研究科合成生物化学専攻, ²大阪バイオサイエンス研究所)

$\text{Ca}_v2.1$ と mGluR1a は小脳 Purkinje 細胞の樹状突起 spine に多く発現し、複合体を形成している。 α_{1A} , α_2/δ , β_{1b} subunit を安定発現した HEK293 細胞に mGluR1a を一過的発現させ、mGluR1a による $\text{Ca}_v2.1$ 活性の制御を解析した。 $3 \mu\text{M}$ Glutamate (Glu) 投与で α_{1A} 電流は 56% に減少し、Glu 投与を続けると 77% まで回復した。Glu を Wash 後、電流は元の電流より 15% 増大した。Gi 蛋白質の阻害剤 pertussis toxin の処置により、Gi 蛋白質は α_{1A} 電流抑制の 47% を担うことが示された。Phospholipase C (PLC) 阻害剤 U73122 を処置すると mGluR1a による α_{1A} 電流の修飾は消失した。PLC β を過剰発現させると、複数回の Glu 刺激でも $\text{Ca}_v2.1$ 活性制御の割合が維持された。PKC 阻害剤と活性化剤の処置により PKC によるリン酸化が $\text{Ca}_v2.1$ 活性制御の一部を担うことを示した。一連の実験から mGluR1a による $\text{Ca}_v2.1$ 活性の時間依存的な制御機構を示した。

24. 心筋細胞ミトコンドリアの Ca^{2+} 調節機構

金 鳳柱, 松岡 達 (京都大学大学院 医学研究科 細

胞機能制御学)

心筋ミトコンドリア Ca^{2+} (Ca^{2+}_m) の調節機構を解明する目的で、Rhod-2 をサボニン透過性ラット心室筋細胞の Ca^{2+}_m を用いて測定した。無 Na^+ 下に、 300nM Ca^{2+} 液を灌流すると、Rhod-2 蛍光は約 9 倍増加し、 Ca^{2+} ユニポータ抑制剤 (Ruthenium Red : RR) により増加は抑制された。モネンシンを用いて Na^+ を前負荷 (20mM Na^+) しても、RR 存在下には Ca^{2+}_m 増加は起こらなかった。この実験条件下では、ミトコンドリアへの Ca^{2+} 流入は Ca^{2+} ユニポータが主でミトコンドリア NCX (mNCX) の逆交換は関与しないと考えられた。 300nM Ca^{2+} 投与での定常状態から Ca^{2+} を除去すると、 Na^+ 濃度依存性に Ca^{2+}_m は減少した。減少初速度の半飽和 Na^+ 濃度は 1.1mM であった。 Na^+ 依存性 Ca^{2+}_m 減少は CGP-37157 (mNCX 阻害剤) により抑制された。mNCX が主要な Ca^{2+}_m 排出機構であると考えられた。ミトコンドリア基質 (リン酸, コハク酸, ピリビン酸) 除去により、膜電位 (TMRE で測定) は約 10% に減少 (脱分極) したが、mNCX による Ca^{2+}_m 排出には著明な変化は無かった。また、 Mg^{2+} ($0.2\text{-}0.5\text{mM}$) も Ca^{2+}_m 排出に影響しなかった。

25. Ca^{2+} /Calmodulin dependent kinase II (CaMKII) モデルの作製および機能制御メカニズムに関する考察

千葉博昭¹, Natalie Schneider², 皿井伸明², 松岡 達², 野間昭典² (¹田辺製薬株式会社, ²京都大学医学研究科・細胞機能制御学)

心筋細胞は、心拍数に応じて細胞内 Ca 動態を変化させることができるが、この特性は刺激頻度に応じた心筋収縮性の変化 (Force-frequency relationship) に大きく寄与していると考えられている。CaMKII は、細胞内 Ca 動態の刺激頻度依存性調節に中心的な役割を担っているとされており、また心不全の病態への関わりも指摘されているが、その詳細な機能制御メカニズムについては不明な部分が多い。そこで今回我々は CaMKII モデルを作製し、包括的心筋細胞モデルである京都モデルに機能要素として組み込み、検討を行った。CaMKII モデルは、in vitro 実験データを再現できるようにパラメータを調整した。京都モデル内においては CaMKII 活性化により、L 型 Ca^{2+} チャネル・リアノジン受容体チャネルおよび SR Ca ポンプ/PLB のリン酸化が起り、細胞内 Ca 動態が活性化されるよう設定した。その結果、CaMKII 存在下では、刺激頻度上昇に伴い細胞内 Ca トランジェントのピーク濃度および減衰速度が増加し、細胞内 Ca 動態の刺激頻度依存性を再現することができた。これらの結果から、CaMKII の機能制御メカニズムについて考察を行ったので報告する。

26. 脳グリア細胞のK⁺緩衝機能を担うKir4.1チャネルに対する選択的セロトニン再取り込み阻害薬(SSRI)の作用検討

大野行弘, 蘇素文, 稲野辺厚, 日比野浩, 倉智嘉久(大阪大学大学院 医学系研究科 分子・細胞薬理学)

内向き整流性Kir4.1チャネルは脳アストロサイトのK⁺緩衝機能に重要な役割を果たしているが, その精神疾患治療薬との相互作用に関する知見は乏しい, そこで今回, ヒトKir4.1チャネルを発現させたHEK293T細胞を用い, 選択的セロトニン再取り込み阻害薬(SSRI)のKir4.1チャネルに対する作用をホールセル・パッチクランプ法により検討した. SSRIであるfluoxetine, sertralineおよびfluvoxamine (1-100 μM)はいずれも濃度依存的にKir4.1電流を抑制した. 一方, 四環系抗うつ薬のmianserinやセロトニン1A系抗うつ薬のbuspironeでは顕著な抑制はみられず, 各薬剤の作用強度はsertraline ≥ fluoxetine >> fluvoxamine > mianserin ≥ buspironeの順であった. Fluoxetineは高濃度においてKir1.1およびKir2.1チャネルも抑制したが, その作用はKir4.1チャネルに比べ非常に弱かった. 以上の検討から, SSRIが比較的強いKir4.1チャネル抑制作用を有することが明らかとなった.

27. G蛋白質制御内向き整流性カリウムチャネルKir3.2の細胞質領域の立体構造

稲野辺厚, 倉智嘉久(大阪大学大学院医学系研究科薬理学講座(分子・細胞薬理学))

黒質ドーパミン神経において, GABAやドーパミンはG蛋白質制御内向き整流性カリウム(K_o)チャネルを活性化し, 遅延性の抑制性後シナプス膜電位を形成する. このドーパミン神経型K_oチャネルはサブユニットレベルでKir3.2の同種複合体として機能し, 他の神経細胞型チャネルはKir3.1-Kir3.3が異種複合体として機能する. K_oチャネルはG蛋白質βγサブユニットやNa⁺, アルコール等の低分子が細胞質領域に直接結合することにより活性化される. そのため, これらの活性化因子はK_oチャネルの細胞質領域に構造変化をもたらし, 細胞膜貫通領域の開閉を制御していることが推測されていた. 本研究では, チャネル活性化因子によるK_oチャネル細胞質領域の構造変化の解明を目的に, アルコールとNa⁺共存下でのKir3.2の細胞質領域の構造解析を行った. その結果, Kir3.2の細胞質領域は1) 4量体として存在すること, 2) その二次構造の配置は活性化因子非存在下で解析されたKir3.1のそれと近似すること, 3) βストランドβC, βDとの間隙周辺で局所的に構造を変化させることが明らかとなった. この構造変化はNa⁺結合部位と推定されている領域であり, 細胞膜貫通

領域に面して分布している. そのため, Na⁺はKir3.2の細胞質領域に局所的な構造変化を導き, 細胞膜貫通領域の動態制御に関連することが推定された.

28. イソプロテレノール誘導ラット肥大大心筋筋スライス酸素消費量

中島千香子¹, 清水壽一郎¹, 山下大輔¹, 植谷忠之², 中山晋介², 三澤裕美¹, 藤根潔枝¹, 高木都¹(¹奈良医大・医・第二生理, ²名古屋大学・医・第一生理)

機械的無負荷状態における左室心筋スライスの一分間あたりの酸素消費量(mVO₂)をイソプロテレノール誘導ラット肥大大心と正常心で比較した. 非刺激時のmVO₂は基礎代謝のmVO₂(basal mVO₂)に相当し, フィールド刺激下のmVO₂とbasal mVO₂の差(delta mVO₂)は興奮収縮連関によるCa²⁺ハンドリングの酸素消費量に相当する. 肥大大心のbasal mVO₂は正常心に比べ有意に小さかったが, 肥大大心ではコラーゲンが増加しており, 心筋細胞とコラーゲンの面積比から心筋細胞のみのbasal mVO₂を計算すると, 肥大大心と正常心で有意な差はみられなかった. 非刺激時のPCr/ATPは肥大大心と正常心で差はなかった. 同様に求めた心筋細胞のみのdelta mVO₂は肥大大心で有意に大きかった. delta mVO₂においては筋小胞体Ca²⁺ATPaseによる酸素消費は減少し, Na⁺/Ca²⁺交換体とカップルするNa⁺/K⁺ATPaseよるものが増加していた. これらのことから肥大大心の興奮収縮連関による酸素消費量の増加は, 細胞内Ca²⁺の再取り込み率の変化によるものと考えられる.

29. 左室容積増大に伴う筋線維格子間隔の狭小化はアクチン・ミオシンの相互作用を増強する

清水壽一郎¹, 毛利聡², 中村一文², 奥山博司³, 豊田弘子³, 宮坂武寛², 三浦大志², 高木都¹, 辻岡克彦³, 梶谷文彦², 八木直人⁴(¹奈良県立医科大学第二生理, ²岡山大学大学院, ³川崎医科大学生理学, ⁴高輝度光科学研究センター)

左室容積変化に伴う筋線維格子間隔変化(MLS)とアクチン・ミオシンの結合・解離動態(AMI)との関係を, SPring-8において行ったX線回折実験により明らかにした. 120拍/分でペーシングをして等容性収縮を行わせたラット摘出心標本の左心室自由壁にX線(15.0keV)を照射し, 左室拡張期末圧(EDP)0および20mmHgにおける心外膜下心筋(EPI)と深部心筋(DEEP)からのX線回折像について解析した. EDPの増大に伴い, EPIおよびDEEPのMLSは共に有意に狭小化した(EPI, 36.6 to 35.7nm, P<0.01, DEEP, 37.2 to 36.9, P<0.01). その度合いはEPIで有意に大きかった(0.87 vs 0.29nm, P<

0.01). しかし, 収縮期末におけるAMIにEPIとDEEPで有意差は無かった (0.25 vs 0.29, P=0.69). これらの結果から, Frank-Starlingの法則には筋線維格子間隔の狭小化が関与するが, 他の分子メカニズムの関与も考えられる.

30. ヒト低分化型胃癌細胞株におけるループ利尿薬の増殖抑制効果

塩崎 敦^{1,2}, 宮崎裕明¹, 新里直美¹, 中張隆司⁴, 糸井啓純⁵, 山岸久一³, 丸中良典^{1,3} (京都府立医科大学大学院¹ 生理機能制御学, ²消化器腫瘍制御外科学, ³呼吸器病態制御学, ⁴大阪医科大学生理学, ⁵明治鍼灸大学 外科学)

【緒言】癌の周術・終末期水分管理に用いられるループ利尿薬は, $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$ 共輸送体 (NKCC) を阻害する. 近年, 細胞生命・機能維持におけるイオン輸送体の重要性が報告され, 癌治療への応用も期待される. 今回, ヒト胃癌細胞株を用い, NKCC 発現レベルと分化度の関係, NKCC 阻害薬 (furosemide) の増殖抑制効果を検討した. 【方法】ヒト胃癌細胞株 (MKN28, MKN45) を用い, real-time PCRによりNKCC1 mRNA 発現レベルを測定した. NKCC 機能活性は, NKCC 阻害薬感受性細胞容積減少率により測定し, 細胞増殖はDirect count法にて, 細胞周期はフローサイトメトリーにて解析した. 【結果】MKN45 (低分化型腺癌) のNKCC1 mRNA 発現レベル・機能活性は, MKN28 (中分化型腺癌) よりも高かった. NKCC 阻害薬は, MKN45においてのみG0/G1停止による増殖抑制効果を示した. 【結語】胃癌細胞において, NKCC 発現レベルは分化度と関係し, 高発現細胞ではループ利尿薬の増殖抑制効果が期待できる.

31. 細気管支上皮細胞における線毛運動の活性化機構

駒谷暢代^{1,2}, 中張隆司³, 河野健二¹, 岩崎吉伸¹, 丸中良典^{1,2} (京都府立医科大学大学院 呼吸器病態制御学¹, 生理機能制御学², 大阪医科大学 生理学³)

粘液線毛クリアランスは肺における宿主防護機構であり, 内因性, 外因性刺激物質を喀痰として排泄し, 感染・炎症等から肺を保護するとともに肺胞腔を清潔にし, ガス交換を容易にしている. 今回, 我々は単離ラット細気管支上皮細胞の線毛運動を500 images s^{-1} のFASTCAM-Net high-speed camera (Photron) で観察した. このシステムにより1サイクルの線毛運動が更に詳細に直接観察でき cilia beat frequency (CBF) の増減だけでなく線毛の振幅も測定することが可能となった. 細気管支上皮細胞の静止時のCBFは $6.2 \pm 0.3\text{Hz}$ であり, また, 振幅角度は, $76.0 \pm 3.7^\circ$ であった. β_2 adrenergic agonistであるterbutalineは濃度依存的に線毛運動を増強した. しかし, CBF

と振幅のterbutaline濃度依存性は異なっていた. すなわち, terbutalineに対する振幅の感受性の方が約10倍高い事が明らかになった. このterbutalineによる反応は Ca^{2+} 除去によって影響を受けず, forskolinおよびIBMX (phosphodiesterase 阻害剤) により再現された. このことからterbutalineの反応は, cAMPを介したものであることが明らかとなった. 以上のことより, 細気管支上皮細胞における線毛運動のterbutalineによる活性化はcAMPを介し, 周波数のみならず振幅も増大することが示された.

32. 胃癌細胞株におけるNHE1阻害剤による増殖抑制効果

細木誠之¹, 宮崎裕明², 丸中良典^{1,2} (京都府立医科大学大学院¹呼吸器病態制御学, ²生理機能制御学)

細胞内pHの低下が細胞増殖において抑制的に働くことは知られている. 癌細胞では, 糖やアミノ酸代謝が亢進しており, 正常細胞よりも多くの酸 (H^+) を産出しているにもかかわらず, 腫瘍細胞の細胞内pHは正常細胞内pHに比べて高い状態にある. このことから, 腫瘍細胞においては, H^+ 輸送体の機能亢進により, 大量に産生された H^+ が細胞質から除去されていると考えられる. 本研究では, 分化度・増殖速度の異なる胃癌細胞株 (MKN28, MKN45) を用い, H^+ 輸送体であるNHE1 (Na^+/H^+ exchanger) の発現と, NHE1阻害剤に対する増殖抑制効果について検討した. NHE1のmRNA発現をreal-time PCRにて比較したところ, 増殖速度の速い低分化腺癌であるMKN45において, 発現が亢進していた. また, NHE1の阻害薬であるdimethyl-amiloride (DMA) 処理により, 特にMKN45において増殖抑制効果が強く認められた. さらに, 増殖抑制のメカニズムの解明のため, フローサイトメーターを用いて細胞周期解析を行い, 細胞周期のどのステージで遅延, 休止しているかを評価した. 以上の結果から, ヒト胃癌細胞では, NHE1発現および活性レベルが, 増殖に密接に関わることが示唆された.

33. 神経突起伸長に対するクロライドイオン輸送体の役割

中島謙一, 宮崎裕明, 新里直美, 丸中良典 (京都府立医科大学大学院 生理機能制御学)

【目的】神経細胞における神経突起伸長には, 微小管をはじめとする細胞骨格系の再構築が深く関わっていることが知られている. 一方, 細胞内 Cl^- 濃度変化は, 細胞増殖や細胞骨格系再構築を含む様々な細胞機能制御に関与していることが, 近年の研究より明らかになってきた. 本研究では, Cl^- 輸送体として $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$ 共輸送体 (NKCC1)

に着目し、神経突起伸長に対するNKCC1の役割、および神経突起伸長のCl⁻要求性を調べた。

【方法】ラット副腎由来PC12D細胞は、神経成長因子NGF処理により神経突起を伸長する。PC12D細胞をNGF処理する際に、NKCC1阻害剤Bumetanideを同時に作用させ、伸長した神経突起の長さを測定した。また、Cl⁻濃度が低い培養液中でNGF処理を行い、同様に突起の長さを測定した。

【結果・考察】Bumetanide処理、および低Cl⁻濃度の培養液により、神経突起の伸長が有意に抑制された。NGF処理により、NKCC1の発現量増加が見られた。また、間接蛍光抗体法およびGFP標識法による観察より、NKCC1は神経突起先端に多く存在していた。これらの結果から、NKCC1を介した細胞内へのCl⁻の取り込みが、神経突起の伸長を促進することが示唆された。

34. short-circuit current法による paracellular ion conductance の測定

徳田深作, 新里直美, 丸中良典 (京都府立医科大学大学院 生理機能制御学)

上皮細胞や内皮細胞のtight junction (TJ)はイオンなどを選択的に透過することが知られており、これによって生体内の環境は適切に維持されている。しかし、細胞間隙イオンコンダクタンスの測定法は未だ確立されていないため、TJのイオン透過性の制御機構は十分には解明されていない。そこで、今回我々は細胞経由のイオン輸送を阻害した条件においてshort-circuit current法を用い、細胞間隙イオンコンダクタンスの測定法の確立を試みた。その結果、等浸透圧の条件では細胞間隙のコンダクタンス(Gp)は電位非依存性であった。また、Gpは測定時の溶液に含まれるイオン強度に比例していた。これらの結果に基づき、細胞間隙のNa⁺・Cl⁻コンダクタンス(G_{Na}, G_{Cl})を算出す

ることが可能となった。次に、詳細なG_{Na}, G_{Cl}についての検討を行ったところ、G_{Na}は、Na⁺・Cl⁻の流れる方向や濃度勾配に関わらずG_{Cl}よりも大きく、G_{Na}とG_{Cl}の比はほぼ一定であった。さらに、管腔側から血管側へのNa⁺・Cl⁻の流れはGpの経時的増加を、逆方向の流れは経時的減少を引き起こした。これらのGpの変化は生体内のイオン環境の維持に貢献しているものと考えられた。

35. 水の動きによる paracellular ion conductance の調節

徳田深作, 新里直美, 丸中良典 (京都府立医科大学大学院 生理機能制御学)

腎A6細胞において、低浸透圧刺激は細胞経由のNa⁺再吸収を促進することが知られているが、細胞間隙に対する影響についてはほとんど報告されていない。そこで、われわれは先に述べた細胞間隙のイオンコンダクタンス測定方法を用い、浸透圧変化の細胞間隙に対する影響についての検討を行った。その結果、血管側の低浸透圧はNa⁺選択的な細胞間隙コンダクタンス(Gp)の増加を引き起こしたが、管腔側の低浸透圧は細胞間隙コンダクタンス(Gp)に対して大きな影響を与えなかった。一方、管腔側の高浸透圧はNa⁺選択的なGpの増加を引き起こした。これらの結果より、細胞間隙の血管側から管腔側への水の移動によってNa⁺選択的なGpの増加が引き起こされると考えられた。次にNa⁺をNMDGまたはCl⁻をgluconateに置き換えた条件で同様の実験を行ったところ、上記の反応は認めなくなった。これらの結果より、細胞間隙の血管側から管腔側への水の移動にNa⁺・Cl⁻の管腔側から血管側への移動が加わることによってNa⁺選択的なGpの増加が引き起こされると考えられた。以上より、細胞経由のイオン輸送だけでなく細胞間隙を経由したイオン輸送についても浸透圧変化によって調節を受けていることが確認された。