

第 58 回西日本生理学会

| | | |
|--------------------------|-------------|-------------------------------------|
| 日 程：平成 19 年 10 月 19 日（金） | 13：00～14：48 | 日本生理学会九州奨励賞 審査対象演題（A 会場， 9 題） |
| | 15：10～17：08 | 一般演題（A および B 会場，各 9 題） |
| | 17：30～18：45 | 評議員会，総会，および 奨励賞表彰式 |
| | 19：00～ | 懇親会 |
| 20 日（土） | 9：00～12：58 | 一般演題（A 会場，19 題） |

会 場：九州大学医学部百年講堂 中ホール 1, 2, および 3

当番校：九州大学

参加者：126 名

演題数：46 題

第 58 回西日本生理学会はすべて口演発表で、PC、液晶プロジェクターを用い、発表時間は 12 分（口演 9 分、討論 3 分）で行われた。福岡という比較的交通アクセスの良い開催地であったためか、参加者数および演題数は例年より多めで、各口演に対する討論も非常に活発であった。日本生理学会より正式に公認された「日本生理学会九州奨励賞」には、9 題もの応募があり、5 名の審査員によって研究内容、独創性、発展性、プレゼンテーション能力などを評価基準として厳正なる審査が行われた。その結果、産業医科大学・第一生理学・鈴木仁士氏「バズプレッシン (AVP)-eGFP トランスジェニックラットを用いたアジュバント関節炎における AVP の役割の検討」、および九州大学大学院・薬学研究院・病態生理学・井福正隆氏「 $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ exchanger (NCX) の reverse mode (逆モード) の活性化によるブラジキニン (BK) によるミクログリアの遊走性・化学走性増加とそのメカニズム解明」の 2 名が受賞した。この賞が若手研究者の励みとなり、優秀な研究者が育成されることを期待したい。次回開催は熊本大学が担当し、平成 20 年 10 月 3-4 日熊本市民会館で行われることが決まった。

A1. C57BL/6N, BALB/c, TRPM5KO マウスにおける 鼓索神経甘味応答のグルマリン抑制効果と温度による影響

大栗弾宏, 楠原庸子, 安松啓子, 二ノ宮裕三 (九州大学
大学院歯学研究院口腔機能解析学分野)

マウス舌前方の鼓索神経領域には甘味抑制物質グルマリン感受性 (GS) と非感受性 (GI) 受容機構が存在していることが知られている。一方、甘味の細胞内情報伝達に関わる温度感受性チャネルである TRPM5 は、刺激温度の上昇により鼓索神経応答の増大を示す因子として知られている。そこで我々は、GS 系統の C57BL/6N (B6) マウス、GI 系統の BALB/c (BALB) マウス、さらに TRPM5KO マウスの鼓索神経甘味応答の温度増大をグルマリン舌処理前後で比較し、GS と GI 成分の応答経路について詳細な解析を

行った。B6 と BALB の結果から、GS、GI 成分ともに温度感受性を示し、GI は GS に比べて温度感受性が高いことがわかった。また、TRPM5KO マウスにおいても GS および温度感受性を示すことがわかった。さらに、それらは甘味物質によって異なることがわかった。以上のことから、GS、GI 成分の応答経路には、TRPM5 依存性および非依存性経路が存在するだけでなく TRPM5 以外の因子による温度感受性成分も存在することが示唆された。さらに、これらは甘味物質によって異なる可能性も示唆された。

A2. オピオイドによるカエル坐骨神経の複合活動電位抑制と構造活性連関

水田恒太郎, 藤田亜美, 香月 亮, 柳 涛, 朴 蓮

花, 岳 海源, 友廣大輔, 中塚映政, 熊本栄一 (佐賀大学医学部生体構造機能学講座神経生理分野)

非麻薬性オピオイドのトラマドールはそのデメチル代謝物 M1 より複合活動電位 (CAP) を強く抑制する。また、オピオイドが神経伝導を抑制することは古くから知られているが、それがオピオイド受容体の活性化によるかどうかは、まだ明らかになっていない。今回、この構造活性連関と CAP の抑制にオピオイド受容体の活性化が関与するかを詳しく知るために、坐骨神経に air gap 法を適用して、様々なオピオイドの CAP に対する作用を調べた。いずれのオピオイドも CAP の振幅を減少させ、その強さはエチルモルヒネ、コデイン、ジヒドロコデイン、モルヒネの順に小さくなった。エチルモルヒネの IC₅₀ は 4.6mM であった。その結果と比較するために、局所麻酔薬として知られているコカインの CAP に対する作用を調べたところ、コカインも CAP の振幅を減少させ、IC₅₀ は 0.80mM であった。オピオイドによる CAP の振幅減少は非選択的オピオイド受容体阻害剤であるナロキソンに非感受性であり、オピオイドの μ , δ , κ 受容体からの解離定数とオピオイドによる複合活動電位抑制の大きさを比較したとき、いずれの受容体に対してもその両者の間に相関がなかった。いずれのオピオイドによる神経伝導遮断の効果もコカインより低かったが、その神経伝導遮断に対してオピオイド受容体は無関係であり、その化学構造の違いが重要であることが示唆された。

A3. バゾプレッシン (AVP)-eGFP トランスジェニックラットを用いたアジュバント関節炎における AVP の役割の検討

鈴木仁士^{1,4}, 尾仲達史², 笠井聖仙³, 川崎 展^{1,4}, 大西英生⁴, 大坪広樹¹, 藤原広明¹, G. Dayanithi¹, D. Murphy⁵, 中村利孝⁴, 上田陽一¹ (1産業医科大学医学部第1生理学, 2自治医科大学医学部生理学講座神経脳生理学部門, 3鹿児島大学理学部生命化学科神経科学, 4産業医科大学医学部整形外科学, 5ブリストル大学神経内分泌学)

アルギニンバゾプレッシン (AVP) は CRH と同様に下垂体前葉に作用して ACTH 分泌を引き起こす。慢性炎症・疼痛モデルとして汎用されているアジュバント関節炎 (AA) では、血中 ACTH およびコルチコステロン濃度が増加しているにもかかわらず視床下部 CRH mRNA が減少していることから ACTH 分泌に視床下部の CRH ではなく AVP が関与していると考えられている。今回我々は、視床下部 AVP を GFP 蛍光により可視化した AVP-eGFP トランスジェニックラットに結核死菌を接種することで AA を発症させ、接種後 1 日、15 日および 22 日目に視床下部

AVP, eGFP, CRH 遺伝子の発現および GFP 蛍光の変化ならびに血中 AVP およびコルチコステロン濃度変化を検討した。その結果、AA において (1) 視床下部 AVP mRNA は変化なく、eGFP mRNA は有意に増加しており、CRH mRNA は有意に減少していた。 (2) GFP 蛍光は視床下部室傍核、視索上核および正中隆起内・外層で増強していた。 (3) 血中 AVP およびコルチコステロン濃度は両者ともに有意に増加していた。したがって、AA における血中 ACTH およびコルチコステロン濃度の増加に視床下部 AVP が関与していることを AVP-eGFP トランスジェニックラットを用いることで明らかにすることができた。

A4. 油脂 binge eating における摂食スケジュールと側坐核ドーパミンの関与

成清公弥, 粟生修司 (九州工業大学大学院生命体工学研究科脳情報専攻)

Binge eating は短時間に大量の摂食を示す病態で、神経性過食症等の中心症状である。ラットに固形油脂を 6 日間、1 日 1 時間だけ断続的に与えると、1 時間あたりの油脂の摂食量が約 2 倍に増加し、binge eating 様の摂食行動を形成した。この油脂摂食量の増加は 6 日間の油脂を与えない期間を設けた後も観察された。一方、油脂を同期間 24 時間連続的に与えた場合には、24 時間ごとの油脂摂食量は増加せず、また油脂停止期間後の 1 時間の油脂摂食量も増加しなかった。これらのラットにそれまでとは逆の油脂摂食スケジュールを課すと、新たに連続摂食を受けた群では形成されていた油脂摂食の増加が消失し、新たに断続摂食を受けた群では 1 時間の油脂摂食量が増加した。この断続的な油脂摂食が脳に与える影響を調べるため、薬物依存と関連が深い側坐核のドーパミン動態への影響をマイクロダイアリシス法を用いて調べた。油脂の断続摂食スケジュールを課す前と課した後の群で油脂摂食に対する側坐核のドーパミン動態を比較すると、油脂の断続摂食を課した群では、課していない群とは異なり、持続的なドーパミン上昇の増強が起こった。これらの結果より、油脂 binge eating の形成には断続的な摂食スケジュールが重要であり、また薬物依存と類似の側坐核のドーパミン上昇の強化が関連していることが示唆された。

A5. 近赤外分光法 (NIRS) による乳児の表情識別課題時の前頭前野の活動性は母性に関与する

西谷正太^{1,2}, 土居裕和^{1,2}, 幸山敦子¹, 篠原一之^{1,2} (1長崎大学大学院医歯薬学総合研究科神経機能学, 2科学技術振興機構 (JST) 社会技術開発センター (ristex))

母親になった個体の脳は機能的に変化することが知られ

ている。ヒト母親では乳児の泣き声や表情刺激に対して、前頭前野の一部に活動が見られることが報告されている。しかし、これまでの研究では、乳児に関連しない課題との比較がなされておらず、一般的な情動反応による活動との区別がなされていない。また、これまでの研究では未経産の女性や男性との比較はなく、母親に特異的な反応部位であることは明らかではない。そこで、乳児情動識別課題時の前頭前野の活動は、母親に特異的な反応であるかを調べることを目的とし、モノ識別課題、成人情動識別課題といった比較課題を行い、未経産女性、男性といった実験群との比較を行った。実験は、右利きの男性 (n=10)、未経産の女性 (n=9)、母親 (n=9) を対象に行った。被験者は、NIRSプローブを装着後、17 インチのモニタ上に提示された識別課題をランダムに 60 秒間ずつ行った。識別課題の回答方法は、右手によるゲーム用コントローラの操作とした。その結果、モノ識別課題、成人情動識別課題では、3 群における前頭前野の活動の違いは見られなかった。一方、乳児情動識別課題では、左前頭前野における活動に 3 群における違いは見られなかったが、右前頭前野における活動は母親が特異的に高かった。この為、右前頭前野は、乳児の課題に特異的に、また、母親に特異的に賦活される脳部位である可能性が示唆された。

A6. α_1 受容体刺激によるマウス心筋型 $I_{Cl,swell}$ の抑制に $PI(4,5)P_2$ 減少が関与する

市鳥久仁彦, 山本信太郎, 穎原嗣尚 (佐賀大学医学部生体構造機能学器官細胞生理)

マウス心室筋細胞における心筋 α_1 受容体刺激の膜伸張感受性 Cl 電流 ($I_{Cl,swell}$) 抑制作用のメカニズムを、全細胞電流記録法にて検討した。Phenylephrine (PE: α_1 受容体作動薬) は、低浸透圧刺激による $I_{Cl,swell}$ 活性化を抑制した。この作用は、prazosin (α_1 受容体拮抗薬) や U-73122 (PLC 阻害薬) 投与、抗 Gq 蛋白抗体の細胞内投与で減弱した。BIM (PKC 阻害薬) 投与では変化のないことから、 α_1 受容体-Gq 蛋白-PLC を介するが、PKC には非依存性の変化だと考えられた。次に、PLC によって加水分解される $PI(4,5)P_2$ を細胞内投与すると、PE による電流抑制作用は減弱した。更に、wortmannin や抗 $PI(4,5)P_2$ 抗体の細胞内投与で内因性 $PI(4,5)P_2$ を減少させると、PE 投与時と同様に、 $I_{Cl,swell}$ 活性化は抑制された。以上より、心筋 $I_{Cl,swell}$ への PE の抑制作用に、 $PI(4,5)P_2$ 減少の関与が示唆された。

A7. エタノールは転写因子 Csx/Nkx2.5 活性に依存して心筋細胞 T 型 Ca^{2+} チャネルの発現を増大する

王 岩, 森島真幸, 嶋岡 徹, 李 泰成, 小野克重

(大分大学医学部循環病態制御講座)

【背景・目的】 飲酒は心房細動や上室性頻拍等の誘因の 1 つである。エタノールによって T 型 Ca^{2+} チャネルがリモデリングを受けるという仮説を立て、その検証を試みた。【方法】 成獣ラット腹腔内にエタノールを投与し、更に新生ラット培養心筋細胞にエタノール (0.1%) を長時間 (24h) 作用させた後に T 型 Ca^{2+} チャネル電流 (I_{CaT})、同チャネル isoform mRNA (Ca_v3.1, Ca_v3.2)、及び心臓特異的転写因子 (Csx/Nkx2.5, GATA4, CREB) の mRNA 発現量を定量してエタノールの作用を評価した。【結果・結論】 エタノールの腹腔内投与により成獣ラットの心拍数が増加し、投与 8 時間後に最大になった。エタノールの長時間作用により新生ラットの培養心筋細胞の自動拍動数が増加した。T 型 Ca^{2+} チャネル (Ca_v3.2) mRNA と I_{CaT} はエタノール投与後の時間と濃度依存的に増加した。また転写因子 Csx/Nkx2.5 mRNA の発現もエタノールの作用により増加した。エタノールによる T 型 Ca^{2+} チャネル mRNA と Csx/Nkx2.5 mRNA の増大作用は、転写阻害剤 (Actinomycin D)、PKC 阻害薬 (chelerythrine)、及び細胞内 Ca^{2+} chelator BAPTA-AM によって著明に抑制された。よって、エタノールは細胞内 Ca^{2+} 依存性 PKC を介して転写因子 Csx/Nkx2.5 活性を高め、T 型 Ca^{2+} チャネル (Ca_v3.2) の発現を増加させることで頻脈性不整脈の発症機序に関与することが示唆される。

A8. ブラジキニンによる逆モード Na^+ - Ca^{2+} 交換機構の活性化とミクログリアの遊走性・化学走性増加

井福正隆¹, K. Färber², 奥野祐子¹, 山川裕希子¹, 宮本泰貴¹, C. Nolte², 和田圭司³, H. Kettenmann², 野田百美¹ (¹九州大学大学院薬学研究院病態生理学, ²Max-Delbrück-Center for Molecular Medicine, ³国立精神神経センター神経研究所疾病研究第 4 部)

中枢神経系で免疫系を司るミクログリアは、様々な神経変性疾患や傷害、虚血時に活性化され、また炎症とも深く関わっていることが知られている。我々は、炎症性メディエーターであるブラジキニン (BK) の受容体がミクログリアにも発現しており、 Ca^{2+} 依存性の K^+ 電流 ($I_{K(Ca)}$) を誘発することを報告してきた。 $I_{K(Ca)}$ の誘発はミクログリアの遊走性増加に関与するという報告があるので、BK によるミクログリアの遊走性への関与及びその要因について検討した。BK による遊走性・化学走性は、ラット初代培養ミクログリアを用いて長期培養観察装置により検討した。BK 処置により、遊走性・化学走性の増加が見られ、これらの反応は B_1 拮抗薬により有意に抑制され、 B_1 -KO マウスから得られたミクログリアでは見られなかった。また $I_{K(Ca)}$ を抑制すると遊走性・化学走性増加は完全に抑制され、さらに、

これらの増加は NCX の reverse mode (逆モード) の特異的な拮抗薬である SN-6 でも完全に抑制された。NCX^{+/+}マウスより単離したミクログリアにおいても遊走性・化学走性の増加が有意に抑制された。以上の結果より BK によるミクログリアの遊走性・化学走性の増加は B₁ 受容体を介した NCX の reverse mode の活性化による細胞内への Ca²⁺ の流入及び I_{K(Ca)} の誘発が必須である事が明らかとなった。

A9. ラット耳下腺腺房細胞におけるニコチン誘発細胞内 Ca²⁺ 濃度上昇は神経終末を活性化することで引き起こされる

小野堅太郎, 増田 渉, 稲永清敏 (九州歯科大学生命科学講座)

喫煙もしくはニコチン投与により耳下腺唾液分泌を促進することが知られている。しかしながら、唾液腺腺房細胞自体におけるニコチン性受容体の存在は否定されており、ニコチンによる唾液分泌促進反応については不明な点が多い。本研究では Ca²⁺ イメージング法にてラット耳下腺腺房細胞でのニコチン作用を検討した。ニコチンは神経終末を有しない単一腺房細胞においては無反応であったものの、神経終末を持つ房状の細胞群では細胞内 Ca²⁺ 濃度が上昇した。この反応はニコチン受容体阻害薬だけでなくムスカリン受容体阻害薬によっても強く抑制され、一部 α 受容体阻害薬によっても抑制された。この結果は、ニコチンが唾液腺支配神経の終末を刺激することでアセチルコリンならびに一部ノルアドレナリンを放出することによって耳下腺腺房細胞を活性化することを示唆している。High K⁺ 溶液による神経終末刺激による反応にはニコチン受容体阻害薬は効果を示さなかったものの、ネオスチグミン前処理にてアセチルコリンの分解を抑制することによる増強反応に対しては有意な抑制を示した。これは神経終末においてニコチン受容体は強いアセチルコリンの放出時のみ活性化し、結果的にアセチルコリンのさらなる分泌増強に関わっている可能性を示唆している。おそらくこのようなメカニズムを介して、喫煙もしくはニコチンによる耳下腺唾液分泌の促進が引き起こされているのかもしれない。

A10. 注意欠陥/多動性障害モデルラットと対照ラットの年齢による青斑核の比較: 青斑核の位置と細胞外 noradrenaline 量

山田麻記子¹, 石松 秀¹, 河原幸江², 赤須 崇¹ (¹久留米大学医学部生理学講座統合自律機能部門, ²同 薬理学講座)

注意欠陥/多動性障害 (AD/HD) は、注意欠陥性、多動

性、衝動性を主症状とする発達障害で、その病因には、中枢の noradrenaline (NA) 神経系の関与が報告されている。以前我々は、幼若期の AD/HD モデルラット (SHR) から採取した青斑核 (LC) を含む脳スライスの NA 含有量が、対照ラット (WKY) より有意に高値を示すことを報告した。今回、*in vivo* microdialysis 法を用いて、LC の細胞外 NA 量を測定し、SHR と WKY の幼若期 (90-110g) 及び成熟期 (290-320g) で比較検討した。細胞外 NA 量は、幼若期では SHR: 1.92 ± 0.34, WKY: 2.05 ± 0.49, 成熟期では SHR: 1.83 ± 0.54, WKY: 1.86 ± 0.50 (fmol/15 min) であった。LC の細胞外 NA 量は、種間及び年齢間に統計学的有意差は認めなかった。以上より、LC における NA 含有量が WKY よりも SHR で高値を示すのは、SHR の LC 細胞内 NA 含有量が高値であることに起因していることが示唆された。

A11. 内因性環状ジペプチド cyclo (His-Pro) の高次脳機能に及ぼす影響

鎌谷友裕, 粟生修司 (九州工業大学大学院生命体工学研究科脳情報専攻)

Cyclo (His-Pro) (CHP) は、甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン (TRH) 由来の内因性環状ジペプチドである。CHP の生理作用は、摂食を抑制する神経修飾物質として知られているが、その他の作用については神経保護作用、体温上昇作用以外ほとんど知られていない。CHP は血液脳関門を通過することが可能であり、中枢神経系に広く分布している。また CHP と同じ環状ジペプチドでアルギニンバソプレシンの代謝物である cyclo (Pro-Gly) は、受動的回避学習で回避学習を増強することが報告されている。以上のことから、この物質がその他の生理機能を持っていると推測される。今回我々は雄性ウイスターラットに CHP 0.1mg/kg を腹腔内投与し、各種行動試験に及ぼす影響を調べた。その結果、高架十字迷路試験で不安情動を増強し、受動的回避学習試験で回避学習を抑制したが、ラシュリー III 迷路試験やモリス水迷路試験、強制水泳試験には影響しないことが明らかになった。さらに多連微小電極法により、ウレタン麻酔下のラットで海馬及び視床のニューロン活動の抑制を見出した。CHP に不安情動や回避学習などに対する調節作用があることが明らかになった。

A12. ジャスミン茶の香りがもたらすリフレッシュ作用 鶴岡朋子 (九州工業大学大学院生命体工学研究科脳情報専攻)

ジャスミン茶は胃酸分泌促進効果があるとして古くから中国などで漢方薬として使用されている花茶である。近年、低濃度のジャスミン茶の香りのみを曝露した場合でも、ヒ

トで心拍数が減少するなどの鎮静作用や作業効率の向上、覚醒レベルを上げる等のリフレッシュ作用をもたらすと報告がなされている。さらに、その作用は香りの嗜好性に依存しないということも分かっており、注目を浴びている。しかし、その作用機序の解明にまでは至っておらず、動物を使った神経行動学的及び電気生理学的な手法を用いた研究も行われていない。本研究ではジャスミン茶のリフレッシュ作用の有無を、ラットを用いて検証した。におい嗜好性試験によって個々体の香りに対する嗜好性を評価した後、ジャスミン茶の香りまたは水の香りを1分間曝露して、オープンフィールド試験、または高架十字迷路試験を行った。オープンフィールド試験では、ジャスミン茶の香りを嗅がせた群のラットで対照群よりも活動性や探索行動が増加した。一方で、高架十字迷路試験ではジャスミン群と対照群との差はなかった。また、ジャスミン茶の香りに対する嗜好性と香りを曝露された後の行動変化との相関はなかった。以上の結果より、ラットにおけるジャスミン茶の香り曝露によるリフレッシュ作用の少なくとも一部は、身体的運動機能の促進作用を介している可能性があり、その作用はにおい嗜好性には依存しないことが明らかになった。

A13. 乳児向け・成人向け音声の統計モデルによる自動識別

中川竜太^{1,2}、西谷正太^{1,2}、土居裕和^{1,2}、近藤美沙^{1,2}、篠原一之^{1,2} (長崎大学大学院医歯薬学総合研究科神経機能学、²科学技術振興機構 (JST) 社会技術開発センター (ristex))

ヒトの話し方は、話し手の感情や話す内容によって変化するが、話す相手によっても変化する。母の子に向けた音声 (ID) は、マザリーズと呼ばれ、成人に向けた音声 (AD) と比較して、ピッチ (声の高さ) が増加し、話速 (話す速度) が減少することが知られている。しかし、ピッチ・話速は個人差が大きく、またそれら以外の音響的特徴の違いについては、これまであまり調べられてこなかった。そこで、これらの情報を含まない特徴量抽出法 (Mel Frequency Cepstral Coefficients ; MFCC) と統計的モデル化手法 (隠れマルコフモデル ; HMM) を組み合わせた ID/AD の識別実験を行い、高精度で両発話スタイルの音声を識別できることを示す。まず、母 12 名 (平均 31.5 歳) が、その子 (平均 8.80 ヶ月) に対し絵本を詠み聞かせた音声 (ID) と、成人女性に向けて読み聞かせた音声 (AD) を収録した。これらの音声から特徴量として MFCC を抽出し、HMM により ID/AD 両スタイルの音素モデルを作成した。ID/AD 識別実験では、スタイル未知の入力音声から特徴量抽出を行い、

両スタイルのモデルのスコアを計算し、スコアの高いモデルの発話スタイルを識別結果として出力した。話者 12 名の 526 文の発話スタイルを識別したところ、80.6% の正解率で識別できた。このことからピッチ・話速以外の音響的特徴の差異が存在することが示唆された。

A14. マザリーズと成人に向けた音声に対する乳児の選好聴取反応

近藤美沙^{1,2}、中川竜太^{1,2}、西谷正太^{1,2}、土居裕和^{1,2}、篠原一之^{1,2} (長崎大学大学院医歯薬学総合研究科神経機能学、²科学技術振興機構 (JST) 社会技術開発センター (ristex))

マザリーズとは母が乳児に対して行う特徴的な語りかけのことで、通文化的に現れることが知られている。一方、乳児は、母の成人に向けた音声 (AD) よりもマザリーズ (ID) の方を長く注視すると報告されている。これは選好聴取反応と呼ばれ、実験的に証明する方法としては選好注視法が用いられている。しかし、これらマザリーズに対する選好聴取反応の研究は欧米でのものや単語音声で行われているものが多く、日本においてはあまり行われていない。そこで本研究では日本語の絵本読み聞かせの音声による乳児の選好聴取反応を確認する。本研究の音声刺激は、6~8 ヶ月の乳児をもつ母に絵本を読み聞かせてもらった音声で、母が自分の乳児に向けて絵本を読み聞かせた声 (ID) と、成人女性に向けて読み聞かせた音声 (AD) を収録し、文頭から 4.2 秒を切り出して用いた。実験の手順は、6~8 ヶ月の乳児に対し、まず正面の青ライトを点滅させて乳児の注意を正面に引き、次に左右どちらかの赤ライトを点滅させる。その方向を乳児が向いた瞬間に AD か ID の音声を流す。これを 12 回繰り返した。乳児の様子は正面からビデオカメラで撮影し、それを解析することで、音声に対する注視時間を計測した。実験の結果、被験者 15 人の AD への平均注視時間は 3.94 秒で、ID は 4.06 秒であった。また、15 人中 11 人の乳児は AD よりも ID を注視し、乳児が ID をより好む傾向を確認した。

A15. ラットにおけるニコチンの中枢投与後の飲水行動への影響

平瀬正輝、小野堅太郎、中村太志、稲永清敏 (九州歯科大学生命科学講座生理学分野)

口渴中枢である脳弓下器官のニューロンはニコチンで興奮する。一方、コリン性作動薬中枢投与による飲水行動はニコチン受容体ではなくムスカリン受容体を介しているといわれている。この矛盾を検討するために脳弓下器官のニューロンのアンジオテンシン II とニコチンによる細胞

反応性の違いを調べたところ、多くの脳弓下器ニューロン（約6割）はアンジオテンシンIIとニコチンの両方に反応したため、細胞反応性の違いだけでは説明できない事が分かった。そこで脳室内ニコチン投与後の飲水行動について検討した。ニコチン1nmol以上で飲水量は有意に増加したが、非常にわずかであった。次に、アンジオテンシンIIあるいはムスカリンの脳室内共投与による飲水行動に対するニコチンの影響について検討したところ、有意な飲水の抑制が観察された。この結果により中枢ニコチン刺激は飲水の促進だけでなく、抑制性の神経回路も活性化してしまうため、結果的に飲水行動が打ち消されてしまっている可能性が示唆された。

A16. 24時間絶食によりOLETFラット視床下部のcannabinoid receptor 1 mRNA発現量は減少する

本村 真, 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)

視床下部のendocannabinoidはcannabinoid receptor 1 (CB1R)を介して摂食を亢進するのが知られている。CB1Rの発現はcholecystokinin (CCK)の投与によって抑制されると報告されているがその機序は明らかではない。CCKによる摂食抑制がCB1Rを介しているかを検討するために、非絶食及び絶食状態におけるOLETFラット視床下部のCB1R及びcannabinoid receptor 2 (CB2R), leptin receptor short type (Ob-Ra)及びlong type (Ob-Rb)のmRNA発現をRT-PCR法を用いて測定した。摂食量は非絶食時の夜間期、昼間期、絶食後の夜間期において、OLETFラットの摂食量が対照としてのLETOラットに比して有意に上昇した。絶食状態におけるOLETFラットのCB1R発現が非絶食状態に比して有意に減少していたが、CB2R mRNA発現量には有意の変化はみられなかった。絶食後のOLETFラットCB2R mRNA発現量はLETOラットに比して有意に増加した。OLETF及びLETOラット間、非絶食及び絶食間においてOb-Ra及びOb-RbのmRNA発現に有意差はなかった。絶食時のCB1Rの減少がOLETFラットでの絶食後の摂食亢進に関与している可能性が示唆される。

A17. デカン酸修飾型グレリンの産生・分泌動態の解析：特異的な測定系の開発

葉 純子¹, 西 芳寛¹, 比江島啓至², 細田洋司³, 村井恵良¹, 田中永一郎¹ (¹久留米大学医学部生理学講座(脳・神経機能部門), ²同 精神・神経科講座, ³国立循環器病センター研究所(生化学部門))

【緒言】グレリンは脂肪酸修飾で活性化するホルモンであ

り、胃で産生され、摂食亢進、消化管運動調節など多彩な生理作用を示す。活性型グレリンの主要形態はオクタン酸で修飾されたオクタノイルグレリン (C8:0-ghrelin)であるが、この他にデカン酸で修飾されたデカノイルグレリン (C10:0-ghrelin)が存在する。われわれは、HPLCとグレリンC-terminal RIAを用いた測定系(HPLC+C-RIA)を使用してC8:0-ghrelin, C10:0-ghrelinの産生・分泌動態について報告してきた。今回、C10:0-ghrelinを選択的に認識する抗体を用いたC10:0-ghrelin RIAを構築し、絶食によるマウス胃内のC10-ghrelin含量の変化について検討したので報告する。【方法】C10:0-ghrelin RIAには、新規作成した「抗C10:0-ghrelin・polyclonal抗体」を1次抗体として使用した。自由摂食、及び、48時間絶食マウスから全胃を摘出し、胃内ペプチドを酢酸抽出法で抽出した。抽出物を凍結乾燥した粗抽出サンプルをRIA bufferで溶解後、RIA測定に供した。【結果】C10:0-ghrelin RIAはC10:0-ghrelinを選択性よく認識した。同測定法で測定した48時間絶食後のマウス胃内のC10:0-ghrelin含量は、自由摂食群の胃内含量と比較して有意に増加していた。この変化はHPLC+C-RIAの測定法で以前にわれわれが報告した結果と一致した。【考察・結語】今回、新たに開発したC10:0-ghrelin RIAは汎用性の高い優れた測定系である。今後、同測定法を用いて各種の代謝状態でのグレリンの産生・分泌調節の解明を進めていく。

A18. 揺らぐ分子が細胞常態を支える

緒方道彦 (九州大学健康科学センター)

筋細胞内のミオシン(M)の頭部(MH)は常に揺らぎ、アクチン(A)と接触する度にATPを加水分解し、静的な筋のエントロピー弾性と動的な筋収縮の素過程をなしている。筋短縮波形をポアソン分布式で近似し、定数 $k, \lambda(S^{-1})$ を求めた。負荷に対し、 k は一定、 λ は変わり、 $\lambda(p) = A \exp(-\beta p) + B$ となる。カエルの骨格筋では、 $k=5, \beta=2.352, A=57, B=43, (n=23.20^{\circ}C, m.semitendinosus)$ 。骨格筋は殆どMyosinIIなので $\exp(-\beta)$ はマイクロ系のエネルギーを表している。 $\beta=W_0/k_B T$ の関係から、 W_0 は約2 pN。負荷による λ が増すのはATP分解の加速で、収縮のトルク増加を示している。 $\beta=1$ ではブラウン運動のみ、 $\beta>1$ となり自由エネルギーが使える。A.V.Hillの式で $(p+a) * (v+b)$ が一定なのは、毎秒当たりのATP分解エネルギー量が負荷に関係ないからである。

静止時、トロポニン-トロポミシン(TN-TM)複合体はCa感受性を抑えている。水粘度も高くMHの揺らぎは穏やかだが素過程はランダムに起こり筋のエントロピー弾性が維持される。刺激により細胞内SRからのCa放出が全域

一斉に起こると、独立事象の時間的 1 様性（ポアソン過程の条件）が確立し、膨大なマイクロ系の自由エネルギーの同時利用が可能となる。確率過程の解析からみると、Ca イオンの働きは、TN-TM と共役し筋の仕事リズムの確立、調律にあるらしい。

B1. 変異型 ($\Delta K210$) トロポニン T ノックインマウスにおける心筋症不整脈のイオン機序

塩谷孝夫¹、森本幸夫²、頼原嗣尚¹（¹佐賀大学医学部生体構造機能学、²九州大学大学院医学研究院臨床薬理学）

トロポニン T の $\Delta K210$ 変異に起因する家族性拡張型心筋症 (CMD1D) では心室性不整脈が多発する。そのイオン機序を、 $\Delta K210$ 変異型トロポニン T 遺伝子を導入したノックイン (KI) マウスモデルを用いて検討した。実験には 4 週令のホモ KI マウスおよび野性型マウスの心室筋細胞を用いた。フィールド刺激により誘発した無負荷時収縮の振幅は、すべての刺激頻度 (1.6-10Hz) で KI マウスが野性型より有意に小さく、KI マウスにおける変異トロポニン T の発現を支持した。生理的条件のホールセルクランプ下に誘発した KI マウスの活動電位には、顕著なプラトー相（ピーク電位 -19 ± 4 mV）が認められ、野性型 (52 ± 2 ms) よりも有意に長い持続時間 (APD 72 ± 3 ms) を示した。また、KI マウスではイソプロテレノール (100 nM) 投与で早期後脱分極をとまう APD 延長や異常自動能が誘発された。同一条件で記録したホールセル電流では、KI マウスは野性型に比べて一過性外向き電流のピーク振幅が有意に減少しており、Ca トランジェントにともなう内向き Na/Ca 交換電流のピーク振幅は有意に増大していた。これらの膜電流の変化は KI マウスに生じた活動電位波形の変化を支持し、CMD1D の催不整脈性との関連が示唆された。

B2. L 型 Ca チャネルの活動調節におけるカルバスタチンとカルモジュリンの競合

襄部悦子¹、韓 冬雲²、ZA. Saud¹、王 午陽¹、はお麗英²、亀山正樹¹（¹鹿児島大学大学院医歯総合研究科神経筋情報生理、²中国医科大学薬理）

L 型 Ca チャネル (Cav1.2) の活性は、cell-free パッチ移行により消失する (run-down 現象)。我々は、チャネルの活性維持にカルバスタチンの L 領域 (CSL) やカルモジュリン (CaM) が関与することを明らかにした。今回、Cav1.2 チャネルに対する両者の相互作用を、モルモット心室筋細胞を用いて定量的に解析した。CSL は、inside-out パッチにおいてチャネルを濃度依存的に活性化し (EC_{50} 0.7μ M)、最大効果 (Amax) は対照 (cell-attach 記録) 比 25% であった。一方、CaM はベル型の濃度-効果関係を示し、低濃度

で EC_{50} 0.3μ M、Amax 152% のチャネル活性化、高濃度で開口抑制 (IC_{50} 6μ M) を示した。これより、CaM には活性化と不活性化の 2 つの作用があると推定された。CaM 1μ M 存在下で、CSL は CaM によるチャネル活性化を抑制した。これら CSL の作用より、CSL が CaM チャネル活性化サイトに作用する「部分アゴニスト」であることが示唆された。また、pull-down 法により、チャネルの α_1C サブユニット C 末部に CSL と CaM が競合して結合する部位が見出された。

B3. Bepridil の長期作用による心筋 Na^+ チャネルの分解抑制

康 林、鄭 明奇、王 岩、森島真幸、李 泰成、小野克重（大分大学医学部循環病態制御講座）

抗不整脈薬 Bepridil は心血管系において逆リモデリング作用を有することが近年明らかにされた。Bepridil は Na^+ チャネル電流 (I_{Na}) に対し、急性投与では抑制作用を、慢性投与では増大作用を示すことを我々は第 57 回西日本生理学会において報告したが、その制御メカニズムは不明である。Bepridil の慢性作用により心筋 Na^+ チャネル α サブユニット ($Na_v1.5$) および β サブユニットの mRNA は増大せず、Bepridil の慢性投与は Na^+ チャネル α サブユニット蛋白の発現量を有意に増加させた。蛋白合成阻害剤 Cycloheximide 存在下で Bepridil は $Na_v1.5$ タンパクの分解を有意に抑制した。Bepridil の慢性投与はテスト電位 -30 mV における I_{Na} をピーク値で 16% 増大させたが、 Na^+ チャネル蛋白発現阻害下では Bepridil による I_{Na} の増大率は更に大きく 47% であった。以上の結果より、Bepridil は急性作用では Na^+ チャネルを直接阻害し、慢性作用では Na^+ チャネルの分解を抑制することで協調的に Na^+ チャネル機能を制御することが示唆された。

B4. 血管平滑筋細胞の L 型 Ca^{2+} チャネル電流は pp60^{src} 過剰発現により増加する

裴 猛^{1,2}、砂川昌範²、中村真理子²、小杉忠誠²（¹琉球大学医学部器官病態医科学講座内分泌代謝内科学分野、²琉球大学医学部形態機能医科学講座生理学第一分野）

血管作動因子の一つであるアンジオテンシン II が血管平滑筋の L 型 Ca^{2+} 電流を増加することが知られている。一方、アンジオテンシン II を血管平滑筋細胞に作用させると、細胞内の非受容体型チロシンキナーゼ (pp60^{src} 等) 活性が上昇するのが知られている。我々は、ラット培養血管平滑筋細胞 (A7r5) を用いて、pp60^{src} の L 型 Ca^{2+} チャネル電流への作用を検討した。リポフェクション法により src cDNA/pUSE プラスミドベクターを A7r5 に導入し、対

照細胞群にはベクターのみ (-) /pUSE) を導入した。G418 処理により安定発現細胞を確立した。L 型 Ca^{2+} チャネル電流はホールセルパッチ測定法により測定した。電流電圧特性の検討では電流振幅が最大となる膜電位は、*src* cDNA 発現細胞と対照細胞群で有意差はなかった。電流密度は *src* cDNA 発現細胞群では、対照細胞群に比して 2 倍に増加した。L 型 Ca^{2+} チャネル電流の steady-state inactivation と activation の検討では、 V_h , k の値は *src* cDNA 発現細胞と対照細胞群で有意差はみられなかった。pp60^{src} は電位依存性 Ca^{2+} チャネルの膜電位特性に影響を及ぼすことなく、L 型 Ca^{2+} チャネル電流を増加させると考えられた。

B5. Dibutyryl-cAMP により L 型 Ca^{2+} チャネル β_{2a} 過剰発現細胞の Ca^{2+} 電流は増加する

玉城三七夫^{1,2}, 砂川昌範², 中村真理子², 小杉忠誠² (¹琉球大学医学部高次機能医科学講座耳鼻咽喉頭頸部外科学分野, ²琉球大学医学部形態機能医科学講座生理学第一分野)

L 型 Ca^{2+} チャネルの活性は、 β サブユニットのサブクラス発現量やリン酸化の程度により厳密に調節されている。我々は、培養血管平滑筋細胞を用いて、L 型 Ca^{2+} チャネル β サブユニット過剰発現による L 型 Ca^{2+} 電流への効果および膜透過性 cAMP アナログである dibutyryl-cAMP (db-cAMP) への応答を検討した。L 型 Ca^{2+} チャネル β サブユニット (β_{2a} および β_3) 遺伝子発現プラスミドをリポフェクション法により胎児ラット大動脈由来培養血管平滑筋細胞 (A7r5) に導入し、G418 に曝露後安定形質発現細胞を確立した。 β サブユニット mRNA 発現量は RT-PCR 法にて測定した。L 型 Ca^{2+} チャネル電流はパッチクランプ法を用いた膜電位固定法にて測定した。野生株 A7r5 細胞 (A7r5) に比して、 β_{2a} および β_3 過剰発現細胞 ($\beta_{2a}/A7r5$, $\beta_3/A7r5$) では各 mRNA 発現量の増加がみられた。電流電圧特性の比較では、 Ca^{2+} 電流密度は三者間に有意差はなかった。3 mM db-cAMP 灌流 3 分後の電流振幅を測定した結果、A7r5 では電流振幅が減少したが、 $\beta_{2a}/A7r5$ では電流振幅が増加した。 $\beta_3/A7r5$ では変化はみられなかった。細胞内 cAMP 上昇に伴う L 型 Ca^{2+} チャネルの活性の変化には、L 型 Ca^{2+} チャネル β サブユニットのサブクラス β_{2a} が主役を演じていると推察した。

B6. Troglitazone は血管内皮細胞の u-PA および thrombomodulin mRNA 発現を促進する

上原 健^{1,2}, 砂川昌範², 中村真理子², 小杉忠誠² (¹琉球大学医学部高次機能医科学講座耳鼻咽喉頭頸部外科学分

野, ²琉球大学医学部形態機能医科学講座生理学第一分野)

血管内皮細胞における u-PA, t-PA, thrombomodulin (TM), PAI-1 mRNA 発現への peroxisome proliferators-activated receptors (PPAR) γ agonist の効果を検討した。LETO ラット大動脈由来培養血管内皮細胞 (LETO-VEC) を外植片法にて確立した。LETO-VEC を troglitazone (TRO) および telmisartan (TMS) にて 24 時間曝露後 RT-PCR 法にて u-PA, t-PA, TM, PAI-1 mRNA 発現量を測定した。コアクチベータ法による TRO および TMS の PPAR γ 活性測定の結果、TRO は TMS に比して強い活性化能を示した (EC_{50} : TRO, 3.5 μM ; TMS, 52 μM)。LETO-VEC では PPAR γ mRNA の恒常的発現がみられた。u-PA および TM は TRO (10 μM) により発現量が増加し、u-PA, TM および PAI-1 は TMS (50 μM) により発現量が減少した。TRO は血管内皮細胞の PPAR γ 活性化を介し、u-PA および TM の遺伝子発現を誘導することで、抗血栓機能を促進する可能性が示唆された。また、TMS は TRO と異なる PPAR γ 活性化機序により内皮細胞の遺伝子調節を行う可能性が示唆された。

B7. ラット培養内皮細胞の B-th 刺激による細胞骨格変化と細胞内蛋白のリン酸化の動態

中村一直, 中村真理子, 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】クロット形成後トロンビン (B-th) が内皮細胞のトロンビンレセプター (TR) に結合するのは明らかになったが、内皮細胞間隙を拡大する機序については、未だ明らかにされていない。細胞間隙の拡大する機序には、1) アクチンによるストレスファイバーの形成、2) TR に結合している RhoA の関与等が想定される。そこで、B-th 刺激後の細胞内アクチン構造の変化と細胞内蛋白のリン酸化の動態を観察した。【方法】Collagen coat 上に培養したラット大動脈由来内皮細胞を用いた。FITC 標識 Phalloidin や RhoA (26C4) 抗体および TRITC 標識抗体を用いた。免疫蛍光染色により、B-th 刺激後の経時的な内皮細胞の形態変化を観察した。また、B-th 刺激後の培養内皮細胞を Laemmli 溶液を用いて溶解し、リン酸化抗体 (SPM101) を用いた Western Blotting を行った。【結果】B-th 刺激 120 分後に、細胞内アクチンのストレスファイバーの形成と共に、非刺激時では細胞質全体に広く分布していた RhoA が、細胞中心部に集積・収束するのがみられた。細胞内リン酸化蛋白の減少が B-th 刺激 120 分後にみられた。Okadaic Acid (100 nM) を反応後の B-th 刺激細胞は、その細胞内リン酸化蛋白の減少はみられなかった。【考察】B-th は、内皮細胞膜表面の TR に結合し、細胞内膜直下に存在する RhoA を活性化

し、形態変化を惹起した。一方、B-th 刺激後、細胞内蛋白の脱リン酸化傾向が観察された。B-th は、内皮細胞と細胞外マトリックスおよび細胞間の接着を減衰させると推察した。

B8. TRPV2 は Ca^{2+} シグナルを活性化して破骨細胞分化を促進する

岡本富士雄, 鍛冶屋 浩, 中尾彰宏, 岡部幸司 (福岡歯科大学細胞分子生物学講座細胞生理学分野)

【目的】破骨細胞分化の要となる転写因子 NFATc1 の活性化は Ca^{2+} 依存性脱リン酸化酵素カルシニューリンによって促進されるが、この細胞内 Ca^{2+} 動員機構は不明である。そこで、 Ca^{2+} 動員を担う機能分子として TRP に注目し破骨細胞分化への関与を検討した。【方法】破骨細胞前駆細胞である RAW264.7 細胞を分化誘導因子 receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL) で刺激し、発現が上昇する TRP を同定した。同定した分子の発現抑制が陽イオン電流、細胞内 Ca^{2+} 濃度、破骨細胞形成、NFATc1 の核内移行に及ぼす影響を検討した。【結果】RANKL 刺激した細胞では、刺激後 24 時間で TRPV2 の発現が上昇すると共に陽イオン電流の増大が認められた。この電流は TRPV 阻害剤ルテニウムレッド投与および siRNA による TRPV2 のサイレンシングにより減衰した。また、RANKL 刺激後、自発性の周期的な細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇を生じたが、その発生頻度は TRPV2 をサイレンシングすると低下した。さらに、RANKL 刺激による破骨細胞形成および NFATc1 の核内移行も TRPV2 のサイレンシングにより抑制された。【考察】以上の結果から、分化誘導刺激により破骨細胞前駆細胞に発現する TRPV2 は Ca^{2+} 動員を担う機能分子として働き、カルシニューリンの活性化から NFATc1 の核内移行に至る一連の経路を活性化し破骨細胞分化を促進すると考えられた。

B9. ラットの口腔顔面癌モデルにおける三叉神経脊髄路核尾側亜核内の c-FOS タンパクの発現増加

原野 望¹, 小野堅太郎², 長畑佐和子¹, 稲永清敏², 仲西 修¹ (¹九州歯科大学学生体機能学専攻生体機能制御学講座歯科侵襲制御学分野, ²九州歯科大学健康促進科学専攻生命科学講座生理学分野)

最近我々は、癌細胞をラットの上顎顔面に接種することによる癌モデルを開発し、接種後 4, 7 日目において接種側に機械刺激に対する allodynia と温度刺激に対する hyperalgesia が発症することを報告した。これらの症状は 10 日目には消失し、痛覚鈍感になるにも関わらず、顔面をグルーミングする時間は 10 日目でもさらに延長する結果を得た。

顔面における神経因性疼痛を調べた過去の研究ではこのグルーミング時間は自発痛の指標として使われており、例に従うならばこの結果は 10 日目においても自発痛が持続していることを表していた。しかし、本モデルでは癌組織の増大により顔面が変形しており、その違和感によるグルーミングという可能性も否定できなかった。本研究では三叉神経一次感覚ニューロンの中核投射領域とされる三叉神経脊髄路核尾側亜核における Fos 蛋白の発現について免疫組織化学的手法を用いて検討した。接種後 4, 7, 10 日目において接種側の脊髄路核尾側亜核における Fos 発現は非接種側と比べて有意に増加していた。一方、PBS を接種したコントロール群では両側の脊髄路核尾側亜核ともほとんど Fos 発現は認められなかった。よって、本モデルでは自発痛が allodynia や hyperalgesia とは異なったメカニズムで、10 日目でも持続的に発生していることが示唆された。

A19. 単一味蕾内の複数の味細胞の応答特性

吉田竜介, 安尾敏明, 村田芳博, 上瀧将史, ニノ宮裕三 (九州大学大学院歯学研究院口腔機能解析学講座)

我々の以前の研究で、マウス茸状乳頭には様々な応答特性を持つ味細胞が存在すること、また多くは応答特異性が低いことを示した。個々の味蕾には複数の味細胞が存在するため、それらが味刺激に対し同じような応答特性を持ち 1 つの味蕾が特定の味情報を伝達する可能性と、異なる応答特性を示し個々の味蕾は様々な味覚情報に関与する可能性が考えられる。本研究では我々の開発した受容膜側だけに味刺激を与え、基底外側膜側から味細胞の活動電位を記録するルーズパッチ法を用い、単一味蕾中に存在する 2 つの異なる味受容細胞の基本味刺激に対する応答を記録し、これらの可能性について検討した。幾つかの味蕾では、2 つの異なる味細胞が同種の味刺激に最も強く応答し、2 つの味細胞が同様の応答特性を示した場合もあった。一方、その他の味蕾では、2 つの異なる味細胞は異なる味刺激に最も強く応答し、苦味 (キニーネ) 応答細胞と甘味 (サッカリン) 応答細胞が同じ味蕾内に存在する場合もあった。これらの結果は、単一味蕾中には複数の活動電位を発する味受容細胞が存在し、その応答性は様々であり、個々の味蕾は様々な味覚情報伝達に関与することを示唆する。

A20. マウス鼓索神経シヨ糖応答における苦味、塩味、酸味物質混合の効果

安松啓子¹, 大栗弾宏¹, 吉田竜介¹, S. Damak², R.F. Margolskee³, ニノ宮裕三¹ (¹Section of Oral Neuroscience, Kyushu University, Fukuoka, 812-8582 JAPAN, ²Nestlé Research Center, CH-1000 Lausanne, Switzerland, ³De-

partment of Neuroscience, the Mount Sinai School of Medicine, New York, NY 10029, USA)

甘味は、ホルモンや温度による修飾をうけることを我々は報告してきたが、他の味質との相互作用についてはほとんど明らかになっていない。そこで本研究では野生型マウスと TRPM5-KO マウスの鼓索神経甘味応答における塩味、酸味、苦味物質添加による効果を検討した。

全神経線維束応答の結果、野生型マウスでは 30mM NaCl の混合により、0.1-0.5 M のショ糖溶液に対する応答が有意に増加したが、1mM HCl 混合では有意な増加は見られなかった。0.3M ショ糖応答は、3-10mM QHCl 混合によりコントロールの約 60% まで減少した。単一神経応答の結果、甘味応答線維のショ糖応答が 1-10mM QHCl 混合によって有意に減少した。一方、TRPM5-KO マウスにおいて QHCl の影響は見られなかった。以上より、マウスの甘味応答は末梢レベルで他の味質により修飾を受けることと、QHCl による甘味抑制に TRPM5 を介する細胞内伝達経路が関与することが示唆された。

A21. hT1R2+hT1R3 強制発現系を用いたギムネマ酸の甘味抑制効果解析

實松敬介¹、重村憲徳¹、井元敏明²、二ノ宮裕三¹ (¹九州大学大学院歯学研究院口腔機能解析学分野、²鳥取大学医学部統合生理)

ギムネマ酸は、植物由来のトリテルペン配糖体で、ヒトおよびチンパンジーの甘味応答を強力に抑制することが知られている。これまでヒトに対しては、官能検査による報告がなされてきたが、*in vitro* の系でレセプターとの相互作用において、その抑制効果を示した報告はされていない。そこで本研究では、甘味受容体 hT1R2/hT1R3 を HEK293T 細胞に強制発現させ、カルシウムイメージング法を用いて、ギムネマ酸による甘味抑制効果の解析を行った。

その結果、各種甘味溶液 (0.3mM SC, 10mM Trp, 10 mM Sac) に細胞内カルシウム濃度の上昇を示した細胞は、ギムネマ酸処理後、各種甘味溶液に細胞内カルシウム濃度の上昇を示さず、ギムネマ酸による甘味抑制効果を示した。

また、ヒトの官能検査では、ギムネマ酸の甘味抑制効果が包接作用を有する γ -シクロデキストリン (CD) により阻害されることが報告されている。この関係を *in vitro* の系で確認するために、ギムネマ酸処理直後に α 、 β 、 γ CD 処理をそれぞれ行い、これら一連の処理前後の各種甘味応答の比較を行った。結果、 α 、 β -CD 処理後は細胞内カルシウム濃度の上昇は認めないものの、 γ -CD 処理後は細胞内カルシウム濃度の上昇を認めており、 γ -CD のみが甘味抑制効果の阻

害を示した。

これらの結果はこれまで報告されてきたヒトでの官能試験との結果と一致しており矛盾の無いものと考えられる。またギムネマ酸は、甘味受容体 hT1R2/hT1R3 にレセプターレベルで直接作用し、その相互作用は γ -CD とギムネマ酸の包接化合物の形成により抑制されることが示唆された。

A22. マウス茸状乳頭味細胞の活動電位依存性 ATP 放出

村田芳博、安尾敏明、吉田竜介、二ノ宮裕三 (九州大学大学院歯学研究院口腔機能解析学分野)

味細胞で得られた情報は、味細胞から放出される神経伝達物質によって味神経へと伝達される。近年、P2X₂/P2X₃ ダブルノックアウトマウスにおいて基本味に対する味神経応答が消失することや、味細胞からの ATP 放出がバイオセンサーによって検出されることが報告され、ATP が味細胞・味神経間の主要な神経伝達物質として注目されている。本研究では、活動電位を生じる味細胞の応答とそれに伴う ATP 放出の関係を明らかにすることを目的とした。単一味細胞の活動電位は、単離したマウス茸状乳頭味蕾を用い、味刺激を味孔側に局限して与えて基底外側膜側より記録電極を当てて活動電位を記録するルーズパッチ記録法を適用した。味応答記録後速やかに電極内液を回収し、それに含まれる ATP をルシフェラーゼアッセイで定量した。その結果、サッカリンに反応したとき、電極内液に ATP が検出され、その量は活動電位頻度に依存して増大した。一方、HCl または NaCl に反応した味細胞では、ATP は検出限界以下であった。

A23. ترامadol とその代謝物 mono-O-demethyl-tramadol (M1) のカエル坐骨神経複合活動電位に対する作用

香月 亮^{1,2}、藤田亜美¹、水田恒太郎¹、小杉寿文^{1,3}、柳 涛¹、中塚映政¹、熊本栄一¹ (¹佐賀大学医学部生体構造機能学講座 (神経生理学)、²独立行政法人国立病院機構嬉野医療センター麻酔科、³済生会日田病院麻酔科)

ترامadol の局所麻酔作用の詳細を知るために、カエル坐骨神経に air-gap 法を適用し、複合活動電位 (CAP) に対する ترامadol およびその代謝物 M1 の効果を調べ、その結果を局所麻酔薬であるリドカインやロピバカインの効果と比較検討した。 ترامadol は CAP の振幅を用量依存性 (IC₅₀=2.3mM) に減少した。一方、 ترامadol より μ 型オピオイド受容体に高い親和性を示す M1 は、1~2 mM の濃度範囲で CAP に影響を与えず、5mM でその振幅

を9%減少させるのみであった。トラマドールの作用は非特異的オピオイド受容体阻害剤であるナロキソン(10 μ M)により影響を受けず、CAPは μ 型オピオイド受容体作動薬であるDAMGO(1 μ M)により影響を受けなかった。トラマドールのCAP振幅減少作用はリドカインやロピバカインのもの(IC₅₀はそれぞれ0.74mMと0.34mM)より小さく、減少作用からの回復速度はトラマドールのものがいずれのものより小さかった。以上より、トラマドールによる末梢神経線維の活動電位抑制作用は、リドカインやロピバカインのものとは比べ効率が小さく経時的変化も緩やかである一方、M1による作用はそれよりも非常に小さいことが明らかとなった。トラマドールにありM1にはないメチル基が、神経伝導遮断の形成に重要な役割を担う可能性が示唆された。

A24. LPS誘発の摂食抑制と発熱に対する5-HT₃型リセプターアンタゴニストであるラモセトロン¹の効果

松本逸郎¹、松永知恵^{1,2}、土屋勝彦³、嶋田敏生¹、相川忠臣¹ (¹長崎大学医学部第一生理、²活水女子大学食生活健康学科、³長崎大学環境科学部環境保全講座)

外因性発熱物質であるリポポリサッカライド(LPS)誘発の炎症反応の発現にはたす迷走神経求心性神経の働きを明らかにするために、セロトニン3型リセプターアンタゴニスト(ラモセトロン)を用いてLPSの腹腔内投与後の摂食抑制と発熱に対する影響を観察した。ウイスター系ラット(体重400~450g、雄)の腹腔内に100 μ g/kg LPSを投与すると強い摂食抑制と発熱を誘発した。迷走神経の肝・門脈枝と胃枝を一緒に切除した動物では、LPS誘発の摂食抑制と発熱反応は有意に減弱した。LPS投与の前にラモセトロン(30 μ g/kg)を腹腔内に投与した動物ではLPS誘発の摂食抑制は有意に減弱した。LPS誘発の発熱は無麻酔・無拘束によるテレメトリー法でも、ウレタン・クロラロースによる麻酔下の熱電対を用いた測定法によってもラモセトロン¹の前投与によって有意に減弱した。本実験によって100 μ g/kg LPSの腹腔内投与による摂食抑制と発熱の炎症反応は迷走神経の肝・門脈枝と胃枝の求心性神経線維の終末部にあるセロトニン3型リセプターを介して起こることが示唆された。

A25. T型Ca²⁺チャンネル阻害剤‘R(-)エホニジピン’

申敏哲¹、小川幸恵^{1,2}、田中永一郎²、赤池紀生¹ (¹熊本保健科学大学生命科学研究部門、²久留米大学大学院医学研究科脳・神経機能部門)

心筋T型Ca²⁺チャンネルの選択的阻害剤としてR(-)エホニジピンが開発された。本実験では、従来より中枢T

型Ca²⁺チャンネルの選択的阻害剤としてよく知られているフルナリジンやミベフラジールとR(-)エホニジピンの効果を、ラット海馬CA1領域より単離したニューロンのT型とHVA型Caチャンネル電流を指標にして比較検討した。

実験は従来より用いられているニスタチン穿孔パッチ法を用いて膜電位固定下に行った。フルナリジンとミベフラジールはTとHVA型Caチャンネルを非選択的に抑制し、フルナリジンがミベフラジールよりもより強くT型を抑制した。そしてT型CaチャンネルへのフルナリジンとミベフラジールのIC₅₀値はそれぞれ2.4 μ Mと5.9 μ Mであった。他方、R(-)エホニジピンは特異的にT型Caチャンネルのみを抑制したが、そのIC₅₀値は221 μ Mと高濃度であった。以上の結果からR(-)エホニジピンはT型Caチャンネルの選択的拮抗薬として利用できることが明らかとなった。

A26. 単一グリシン作動性神経終末部にみられるCa²⁺チャンネル

前田 恵^{1,2}、正代清光^{1,3}、野中喜久^{1,3}、村山伸樹³、田中永一郎²、伊東祐之¹ (¹熊本保健科学大学生命科学研究部門、²久留米大学大学院医学研究科・脳神経機能部門、³熊本大学大学院自然科学研究科)

中枢神経には電位依存性Ca²⁺チャンネルとして、5種類の持続型高域値(HVA)Ca²⁺チャンネルのサブタイプ(L, N, P, Q, R型)と一過性に開口する低域値(LVA)Ca²⁺チャンネルが存在し、後者はT型Ca²⁺チャンネルとも呼ばれる。これまでの研究において、海馬CA1細胞に投射するGABA作動性神経終末部のHVA Ca²⁺チャンネルサブタイプの分布が明らかにされているが、グリシン(Gly)作動性の神経終末部については未解明である。よって我々は、Gly作動性神経終末が投射する脊髓背側交連核(SDCN)ニューロンを機械的に単離して、‘シナプス・ブートン’標本を作製した。SDCNニューロンに入力する単一Gly作動性神経終末部を選択的に焦点電気刺激(5-10 μ A, 0.2Hz, 持続時間100 μ sec)し、シナプス後膜側よりパッチ法で記録される刺激によって惹起される抑制性シナプス後電流(eIPSC)を指標にして、種々の選択性の高いCa²⁺チャンネル拮抗薬を適用することにより、Gly作動性神経終末部に存在するHVA Ca²⁺チャンネルのサブタイプを明らかにした。

その結果、5種類のHVA Ca²⁺チャンネルサブタイプがSDCNニューロンに投射するGly作動性神経終末部に存在して、Gly遊離に関与していることが示唆された。また、海馬CA1神経細胞体のGABA作動性と脊髓のGly作動性神経終末におけるHVA Ca²⁺チャンネルサブタイプ分布の違いも明らかとなった。

A27. ラット副腎髄質細胞においてムスカリン受容体活性化は TASK チャンネルを抑制する

井上真澄, 原田景太, 松岡秀忠, 藁科 彬 (産業医科大学医学部第2生理学)

ラット副腎髄質 (AM) 細胞において ACh は, ニコチン受容体及びムスカリン受容体を介して細胞外 Ca 依存性にかテコールアミン分泌を誘発する。そこで, ムスカリン受容体を介する脱分極のイオン機構を, 穿孔パッチクランプ法を用いて全細胞電流を記録して検討した。単離 AM 細胞の膜電位を -20mV に保持してムスカリンを投与すると, ノイズレベルの低下を伴った内向き電流が誘発された。このムスカリン感受性電流は, 電圧変化に対して瞬時に変化し, その I-V 曲線は GHK タイプの整流特性を示した。また, その逆転電位は K^+ の平衡電位に一致した。 -20mV での保持電流は外液の pH の低下により抑制され, その IC_{50} は pH 7.09 であった。灌流液の pH を 6.5 に低下すると, ムスカリンに対する膜電流応答は消失した。RT-PCR 法, イムノプロット法及び免疫細胞化学法により, AM 細胞の膜表面に TASK1 チャンネルと M4 と M5 ムスカリン受容体が発現していることが明らかになった。これらの結果は, ラット AM 細胞においてムスカリン受容体を介する神経情報と pH に関する液性情報が TASK1 チャンネルに収斂していることを示唆している。

A28. A7r5 細胞の TRPC6 様電流活性化過程における機械刺激—受容体共働作用機構

井上隆司, 瓦林靖広, 高橋真一 (福岡大学医学部生理学)

血管平滑筋に優勢に発現している TRP 蛋白質の中で, TRPC6 はイノシトールリン脂質代謝と連動した G 蛋白質受容体刺激だけではなく, 細胞膜にかかる機械的な刺激(牽引, 低浸透圧, ずり応力)によっても活性化されることが報告されている。しかし, その詳細な活性化機構は不明である。本研究では, TRPC6 を強制発現した HEK293 細胞と血管平滑筋モデル A7r5 細胞株を用いて, TRPC6 チャンネルの機械刺激による活性化機構を検討した。いずれの細胞においても, 低浸透圧刺激, すり応力のみによる内向き電流の活性化は殆ど見られなかった。しかし, 受容体刺激(前者はカルバコール; 後者はバゾプレッシン)を行った後に機械刺激を加えると, TRPC6 (様)陽イオン電流の増強が見られた。この増強は A7r5 細胞で特に顕著であり, 閾値下濃度のアゴニスト投与時にも機械刺激による著しい電流活性化が観察された。同様の機械刺激による TRPC6 (様)電流の増強・活性化効果は, $\text{GTP}\gamma\text{S}$ ($100\mu\text{M}$) の細胞内灌流による G 蛋白質の直接活性化時や TRPC6 を直接活性化す

ると考えられているジアシルグリセロール投与時にも観察されたが, 細胞外 Ca^{2+} の除去によって著しく減弱した。また, ω/ω^- -hydroxylase の選択的阻害薬 HET0016 ($1\text{-}5\mu\text{M}$) の前投与によってほぼ完全に抑制された。これらの結果は, 機械刺激によって産生された 20-hydroxyeicosatetraenoic acid (20-HETE) が, 受容体によって活性化された TRPC6 チャンネル活性を直接増強すること, そしてこの2つの活性化機構は何らかの機序を介して相乗的に TRPC6 チャンネルに作用していることを示唆していると考えられる。

A29. ヒト筋線維芽細胞における $\text{TNF}\alpha$ 誘発性 PGE_2 産生促進機序: TRPC1 を介した Ca^{2+} 流入の役割について

海 琳, 本田 啓, 井上隆司 (福岡大学医学部生理学)

消化管の炎症の発症・進行には筋線維芽細胞から放出される活性物質が重要な役割を果たしていると推測されている。本研究では, これに何らかの Ca^{2+} 動態の破綻が関与している可能性を探索するため, 腸管由来筋線維芽細胞 CCD-18Co を用いて, PGE_2 の産生と TRP チャンネルの関係について解析を行った。RT-PCR 法によって 15 種類の TRP チャンネルの転写産物が検出された。 $\text{TNF}\alpha$ (100ng/ml) は筋線維芽細胞株 CCD-18Co において COX2 の発現と共に PGE_2 産生を時間依存的に促進した。これに平行して TRPC1 mRNA およびタンパクの発現増加, 非刺激時およびストア枯渇活性化 Ca^{2+} 流入の増大が観察された。この PGE_2 産生の促進は細胞内外の Ca^{2+} キレーター, $\text{NF}\kappa\text{B}$ 阻害薬 curcumin, 抗炎症薬 indomethacin, dexamethasone の同時投与によって抑制された。siRNA を用いて TRPC1 の発現を抑制すると PGE_2 の産生が増加し, TRPC1 を過剰発現すると PGE_2 の産生が抑制された。

これらの結果から, $\text{TNF}\alpha$ は, CCD-18Co 細胞の TRPC1 の発現を増加させることによって Ca^{2+} 流入を増強する。しかし, この Ca^{2+} 流入何らかの機構を介して PGE_2 産生の負の制御を行っていることが示唆された。

A30. 細胞内 cAMP および cGMP の上昇は 2 型糖尿病モデル OLETF ラット由来培養血管平滑筋細胞の増殖・遊走を抑制する

木村安貴, 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)

糖尿病病態における血管平滑筋細胞 (VSM) の増殖・遊走の亢進は自律的なものなのか, 外在性増殖因子に対する応答性の亢進によるものなのかは不明である。2 型糖尿病モデル OLETF および正常対照 LETO ラット大動脈由来培養 VSM (OVSMC および LVSMC) を無血清培地 (SFM-

DMEM), 牛胎児血清加培地 (10%FBS-DMEM) または血小板由来増殖因子添加無血清培地 (SFM-PDGF) を用いて培養し, 増殖・遊走を比較検討した. タイプ3フォスホジエステラーゼに対する阻害剤である olprinone hydrochloride (OPN) 暴露による VSM の増殖・遊走が抑制されるかを検討した. SFM-DMEM 及び 10%FBS-DMEM 下で培養すると, OVSMC は LVSMC に比して細胞増殖が亢進した. PDGF 刺激では両群の平滑筋は共に有意に細胞増殖・遊走が亢進したが, 両群間に差は認められなかった. 次に, 両者を OPN に 72 時間暴露すると, 両者共に PDGF 刺激に伴う増殖・遊走亢進が有意に抑制された. 同様に db-cAMP, db-cGMP に 72 時間暴露した両者は共に PDGF 刺激による増殖・遊走亢進が有意に抑制された. OPN に 72 時間暴露した両者の細胞内 cAMP 濃度は, 未刺激群と比べ著明に上昇していた. 細胞内 cAMP 及び cGMP の上昇は, 糖尿病血管平滑筋細胞の自律的な増殖・遊走の亢進を抑制することが示唆された.

A31. 組換えハプトビン蛋白は家兎フィブリンクロット形成活性および家兎洗浄血小板凝集抑制作用を有する

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)

ハプトビンより分離精製されたハプトビンは, 1) 家兎フィブリンノーゲンに作用しフィブリンクロットを形成する, 2) 血管内皮細胞に作用し線溶酵素の遊離を促進する, さらに 3) 血小板の凝集反応を抑制する, 作用を有する多機能蛋白である. 我々は, ハプトビン cDNA のクローニングを行い, 大腸菌を用いた発現系で組換えハプトビン蛋白を作製したが, 生物活性はみられなかった. そこで, ハプトビンの C 末端に His-Tag 配列を含む目的配列をトランスファーベクター (pPSC12) に導入し, 発現ベクター (habutobin/pPSC12) を作製した. 発現ベクターとバキュロウイルス (AcNPV) DNA を Sf9 細胞へコトランスフェクションし, この培養液上清から得られた組換えウイルス (habutobin/AcNPV) を, 昆虫細胞 express SF+細胞にトランスフェクションし, 組換えハプトビン蛋白 (r-habutobin) の発現を行なった. 精製した r-habutobin 蛋白の分子量は 28 kD であった. 家兎フィブリンクロット形成活性は r-habutobin 濃度依存性に増加した. さらに, r-habutobin は濃度依存性に家兎洗浄血小板の collagen 惹起凝集反応を抑制した. 今回作製した組換えハプトビンはこれらの生物活性を有しており, ハプトビンの構造機能連関の解明に有用であると考えられた.

A32. 電子伝達フラビン蛋白の NADH からの電子受容

機構

佐藤恭介¹, 二科安三², 志賀 潔³ (¹熊本大学大学院医学薬学研究部分子生理, ²熊本大学医学部保健学科生理機能検査, ³九州看護福祉大学看護)

嫌気性細菌 *Megasphaera elsdenii* の電子伝達フラビン蛋白 (ETF) は補酵素 FAD を二分子持っている. 1 M KBr 溶液中でひとつの FAD は蛋白から外れてしまう. いま, 二つの FAD を区別するために, KBr 中で結合している方を FAD-1, 外れる方を FAD-2 と呼ぶ. ETF は NADH から電子を受け取ることが知られているが, その詳しい機構は不明であった. 今回, まず, ホロ蛋白 (両方の FAD とともに結合したもの) に過剰の NADH を混ぜたところ, どちらの FAD とも不感時間のうちに二電子還元された. また, FAD-1 のみの蛋白の場合も, 同様であった. この結果から, FAD-1 は FAD-2 の介在なしに NADH から直接電子を受け取ることが分かるが, FAD-2 については FAD-1 から電子を受け取る可能性も考えられる. そこで, FAD の 8 位の -CH₃ を -CN に置換した 8-CN-FAD を利用した. 8-CN-FAD は FAD よりも熱力学的に, 電子を受け取りやすく出しにくい性質がある. FAD-1 を 8-CN-FAD に置換したホロ蛋白を調製し, これに過剰の NADH を混ぜてみたところ, 不感時間のうちに 8-CN-FAD は二電子還元されたが, FAD-2 は一電子還元しかされず, その後ゆっくりと二電子還元型へと変化していった. つまり, 8-CN-FAD への置換により FAD-2 の還元が阻害されたということで, これは, FAD-2 が NADH から直接電子を受け取るのではなく, FAD-1 から受け取ること示している.

A33. 海馬スライス組み合わせ培養系の開発と電気生理学的解析

川原愛子, 伊藤 功 (九州大学大学院理学研究院生体物理解化学研究室)

我々は, マウス海馬神経回路には NMDA 受容体 e2 (NR2B) サブユニット分布の異なる二種類のシナプスが存在し, これらのシナプスが海馬の左右, 錐体細胞の上下で非対称に配置されていることを明らかにした. この非対称性を形成・維持するシグナルの実体とシナプスにおける局在を解明するため, 海馬スライスの組み合わせ培養系を用いた電気生理学的解析を立案した. 今回, 従来困難であったマウス海馬スライスの組み合わせ培養と, それを用いたシナプス電流の長時間測定が可能となったので報告する.

A34. 脊髄運動ニューロンにおける ATP 受容体の機能的役割について

青山貴博, 中塚映政, 古賀秀剛, 藤田亜美, 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)

近年、脊髄損傷の急性期に進行する脊髄運動ニューロンの遅発性神経細胞死に細胞外の ATP が関与すると指摘されたが、脊髄運動ニューロンにおける ATP 受容体の機能的な役割は知られていない。今回、ラット脊髄横断スライス標本にホールセル・パッチクランプ法を適用し、脊髄前角細胞における ATP 受容体の役割を検討した。ATP γ S を灌流投与すると、調べた約半数の細胞で内向き電流が発生するとともに、グルタミン酸を介する自発性興奮性シナプス後電流 (sEPSC) の発生頻度ならびに振幅は有意に増加した。P2Y 受容体作動薬である 2-methylthio ADP を灌流投与すると、ATP γ S と同様に内向き電流が観察されたが、sEPSC に変化は観察されなかった。一方、P2X 受容体作動薬である α , β -methylene ATP ならびに BzATP は保持膜電流に影響を与えなかったが、 α , β -methylene ATP は sEPSC の発生頻度ならびに振幅を著明に増加した。以上の結果から、脊髄前角細胞のシナプス前には P2X 受容体が発現しており、その活性化によってグルタミン酸の遊離が増強する。さらに、シナプス後細胞には P2Y 受容体が発現しており、その活性化によって脊髄前角細胞を直接的に脱分極することが明らかとなった。したがって、ATP 受容体の活性化により、シナプス前性および後性に脊髄運動ニューロンの膜興奮が増加することが示唆された。

A35. ラット脊髄後角の GABA とグリシンによる抑制性シナプス伝達のメリチンによる促進

柳 涛, 藤田亜美, 岳 海源, 朴 蓮花, 水田恒太郎, 中塚映政, 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)

末梢から後根を通して脊髄に入力する痛み伝達の制御は、膠様質のシナプス伝達修飾によりなされることはよく知られている。この制御におけるホスホリパーゼ A₂ (PLA₂) の役割を知るために、成熟雄性ラットから作製した脊髄横断スライス標本の膠様質ニューロンにホールセル・パッチクランプ法を適用し、PLA₂ 活性化ペプチドであるメリチン (1 μ M) が抑制性シナプス伝達に及ぼす作用の詳細を調べた。Na⁺チャネル阻害剤テトロドトキシン (0.5 μ M)、グルタミン酸受容体阻害剤、CNQX (10 μ M) と APV (50 μ M)、細胞外の無 Ca²⁺、 α_1 アドレナリン受容体阻害剤 WB-4101 (0.5 μ M)、マスカリン性とニコチン性のアセチルコリン受容体阻害剤、atropine (1 μ M) と mecamlamine (20 μ M)、の各々は、メリチンによる GABA 作動性シナプス伝達の促進を抑制した。一方、これらの条件下でメリチンによるグリシン作動性シナプス伝達の促進は影響を受けなかった。以上の結果は、メリチンはグリシン作動性のシナ

プス伝達を直接促進するが、メリチンによる GABA 作動性シナプス伝達の促進には、 α_1 アドレナリン受容体、マスカリン受容体およびニコチン受容体の活性化が関与していることを示している。PLA₂ 活性化は、グリシンと GABA を介する抑制性シナプス伝達を異なった仕方で促進すると結論される。

A36. *In vivo* 細胞内記録法を用いたラット後根神経節細胞の痒み応答解析

蜂須賀淳一^{1,2}, 古江秀昌¹, 古江増隆², 吉村 恵¹ (九州大学大学院医学研究院統合生理学,²九州大学大学院医学研究院皮膚科学)

ラット後根神経節細胞から *in vivo* 条件下で細胞内記録を行い、皮膚への搔痒刺激により発生した活動電位を記録・解析した。行動学的解析から、ラット皮膚に 5-HT を投与すると搔き行動が観察された。この搔き行動はナロキソン投与により抑制されることから、痛みではなく痒みに関連した行動であると推測された。次に、*in vivo* ラット後根神経節細胞から細胞内記録を行った。麻酔下に L3~5 の後根神経節を露出し、定位固定装置で脊椎を固定した。微小電極を後根神経節細胞に刺入し、後肢皮膚への 5-HT 投与に対する応答を記録した。伝導速度から同定した約 30% の C 線維では、5-HT 投与により活動電位が発生した。これらの 5-HT 応答は一過性のものと、10 分以上にわたり発火がつづくものと 2 種のパターンが観察された。一方、記録したすべての A β , A δ 線維では 5-HT 投与による活動電位の発生は見られなかった。皮膚へ投与した 5-HT は C 線維に活動電位を誘起して搔き行動を引き起こす事が示唆された。

A37. *In vivo* パッチクランプ法を用いた炎症ラット AMPA 受容体を介する脊髄痛覚伝達系可塑的变化の解析

古江秀昌, 吉村 恵 (九州大学大学院医学研究院統合生理学)

ウレタン麻酔下の炎症ラット *in vivo* 標本を用い、痛みの伝達や修飾に重要な役割を果たす脊髄後角表層、膠様質 (第 II 層) 細胞からパッチクランプ記録を行った。皮膚への機械的痛み刺激によって誘起される興奮性シナプス後電流 (EPSC) を電位固定下で記録・解析した。行動学的解析から炎症患部へ機械的刺激を加えると逃避行動の閾値が著明に減少した。患部に受容野を持つ膠様質細胞から記録を行うと、振幅が大きく、TTX 感受性の自発性 EPSC が観察された。機械的痛み刺激を加えると EPSC の発生頻度と振幅が著明に増大した。一方、炎症患部から離れた皮膚に受容野を持つ細胞から記録を行うと、振幅の大きな自発性

EPSC の発生頻度も低く、刺激誘起の応答も小さかった。また、これらの EPSC の電流—電圧曲線から、患部に受容野を持つ細胞に誘起される EPSC に Ca^{2+} 透過性 AMPA 受容体を介するものが含まれる事が示された。 Ca^{2+} 透過性

AMPA 受容体を介した興奮性入力が増大により、炎症モデル脊髄膠質において痛覚伝達が増強される事が示唆された。