

第54回中部日本生理学会・第100回近畿生理学談話会合同大会

日	時	平成19年10月19日(金)	9:50~11:45	口頭発表
			11:45~12:15	総会
			13:00~14:00	ポスター発表
			14:00~17:30	口頭発表
			17:30~18:30	特別講演
			18:45~	懇親会
		20日(土)	8:45~12:00	口頭発表
			13:00~14:30	口頭発表
			15:00~	テニス大会

会場：三重大学大学院医学系研究科(基礎講義室, 多目的講義室), 三翠ホール

当番幹事：三重大学大学院医学系研究科 山本哲朗, 山崎英俊

参加者数：164名(うち学生・大学院生が59名)名

演題数：73題(口演38題, ポスター発表35題)題

今回は合同地方会という形で開催しましたので、「地方会では若手の口頭発表の機会を増やす」「若手になるべく座長などもやってもらう」「異分野の話の一同に会して聞く機会とする」等の地方会本来の狙いに関して、少し無理をお願いする事になったかもしれません。例えば、会場を1会場とすることで、講師以上の方が発表者の場合はポスター発表に、また座長もスムーズな学会運営を期待して教授2名体制で御願いました。全体の学会運営も中部生理学会方式を取らせていただき、評議員会無しで総会のみさせて頂きました。また、近畿生理学談話会が100回目と節目を迎える事でもあり、三重大学大学院医学系研究科 珠玖 洋先生に「医学研究の社会貢献—日本におけるトランスレーショナルリサーチの課題—」と題して特別講演をお願いしました。がんワクチン開発を例に取ったトランスレーショナルリサーチのお話は生理学会員にも興味深く受け取られ、好評でした。

初日は講演終了後、約90名が参加して懇親会が開かれました。岡田泰伸日本生理学会長、川口三郎京都大学名誉教授、金子章道 IUPS 会長のお話の後、「御当地クイズ」なども織り込み中部と近畿の生理学会員が和気藹々とした懇談の機会を持つことが出来たと思います。二日目も9時から午後2時半までと少し長い口演発表スケジュールになりましたが、最後のセッションまで多くの聴衆が残って下さり、熱心な討論が続きました。

来年の第55回中部日本生理学会は、愛知医科大学の岡田 忠、菅野潤吉、岩瀬 敏、熊澤孝朗教授が当番幹事を、第101回近畿生理学談話会は国立循環器病センター研究所の盛 英三、若林繁夫、沢村達也先生がお世話下さる予定です。

1. メチルパラベン¹は TRPA1 の活性化を介して痛み感覚を引き起こす

曾我部隆彰¹, 藤田郁尚¹, 森山朋子², 東 智広^{1,3}, 島麻子⁴, 富永真琴^{1,3} (¹自然科学研究機構岡崎統合バイオサイエンスセンター細胞生理, ²弘前大学医学部附属脳神経血管病態研究施設, ³総合研究大学院大学生理学専攻, ⁴日本大学歯学部)

侵害刺激受容体 TRPA1 の生理機能解析を目的として、

メチルパラベンの TRPA1 に対する効果を検討した。メチルパラベンは、TRPA1 を発現した HEK293 細胞およびマウス後根神経節細胞で細胞内 Ca²⁺ 濃度を増加させ、その増加は、TRP チャンネル阻害剤で抑制された。パッチクランプ法を用いて膜電流記録を行うと、メチルパラベンは用量依存的に TRPA1 を発現させた HEK293 細胞で膜電流を活性化させ、EC₅₀ は約 4.4mM であった。この活性化電流は、TRPA1 に特徴的な外向き整流性を示し、2つの

TRPA1 阻害剤で抑制された。メチルパラベンによる同様の性質をもった膜電流の活性化は、マウス後根神経節細胞でも観察された。さらに、メチルパラベンのマウス足底への投与によって痛み関連行動が観察され、この行動は TRP チャンネル阻害剤で抑制された。メチルパラベンは、防腐効果のために広く食品や化粧品等に使用されているが、時に、化粧品によって皮膚のヒリヒリ感が出現することがある。4.4mM という濃度は十分に皮膚に作用する濃度であり、メチルパラベンが TRPA1 活性化を介してヒリヒリ感を惹起しているものと推測された。

2. 皮膚ポリモーダル受容器の圧刺激に対する反応に及ぼすブラジキニンの増強作用

申 正樹^{1,2}, 矢島弘毅², 佐藤 純², 水村和枝² (1名古屋大学大学院医学系研究科手の外科学, 2名古屋大学環境医学研究所神経系分野 II)

ブラジキニン (BK) は内因性の発痛物質で、それ自身で痛みを生じるばかりでなく、熱や機械刺激による痛みを増強する。侵害受容器の圧刺激に対する反応が BK によって増強されることが予想されるが、皮膚ポリモーダル受容器 (CPM) では圧刺激反応に対する BK の増強作用は報告されていない。閾値変化のみに焦点があてられ、反応の大きさの変化が見落とされてきた可能性がある。我々は、フィードバック制御による圧刺激装置を用い、閾値と反応の大きさを測定し、CPM の圧刺激反応に及ぼす BK の影響を調査した。Lewis ラットの神経-皮膚取り出し標本を用いて、CPM の単一神経放電を記録した。受容野に 10 分間隔で圧刺激を行い、BK (0.1, 1, 10 μ M) 2 分間局所灌流投与後の圧反応の変化を測定した。その結果、反応の大きさは BK 1 および 10 μ M 投与直後に有意に増加した。閾値は BK 1 μ M 投与直後の圧反応で有意に低下した。以上の結果から、CPM の圧刺激反応は BK 投与により増強されることが示され、炎症部位にみられる圧痛覚過敏の末梢機構に BK が関与する可能性が示唆された。

3. 2-APB による TRPM2 チャンネルの阻害効果の検討

稲田 仁^{1,2}, 富樫和也^{1,3}, 富永真琴^{1,2,3} (1自然科学研究機構岡崎統合バイオサイエンスセンター細胞生理, 2自然科学研究機構生理学研究所, 3総合研究大学院大学生理学専攻)

Transient receptor potential melastatin 2 (TRPM2) チャンネルは、Ca²⁺透過性の高い非選択性の陽イオンチャンネルであり、adenosine 5'-diphosphoribose (ADP-ribose) や過酸化水素によって活性化されることが知られている。TRPM2 チャンネルは熱によっても活性化されることが報告されてお

り、この電流応答はリガンドと熱との組み合わせによって劇的に増強することが明らかにされている。さらに、免疫細胞や膵臓ラ島の β 細胞においてセカンドメッセンジャーとして働くと考えられている環状 ADP-ribose によっても TRPM2 チャンネルは活性化される。現在までに、flufenamic acid や抗菌剤 (econazole および clotrimazole), phospholipase A₂ の阻害剤 (N-(p-amylcinnamoyl) anthranilic acid) などによっても TRPM2 チャンネルが阻害されることが報告されているが、それらの阻害効果は漸進的かつ不可逆的である。ヒト TRPM2 を強制発現した HEK293 を用い、パッチクランプ法によって TRPM2 チャンネルのアゴニスト/アンタゴニストを探索した結果、2-aminoethoxydiphenyl borate (2-APB) が TRPM2 チャンネルの活性を効果的かつ可逆的に阻害することを見いだした。TRPM2 チャンネルのリガンドのみまたはリガンドと熱による活性化は、濃度依存的 (IC₅₀ = ~1 μ M) に阻害された。さらに、2-APB によって膵臓ラ島からの熱によるインスリン分泌も阻害された。2-APB は TRPM2 チャンネルの機能を研究する上で有力で効果的な薬剤となり得ると考えられる。

4. バソプレッシン神経に発現する容積感受性 Cl⁻ チャンネルの役割

佐藤かお理^{1,2}, 沼田朋大¹, 岡田泰伸^{1,2} (1生理学研究所機能協同研究部門, 2総合研究大学院大学生命科学研究科生理科学専攻)

動物の体内の浸透圧は、食物や水の摂取により絶えず変化している。抗利尿ホルモンであるバソプレッシンを分泌するバソプレッシン神経は、血漿の浸透圧の変化を感知してバソプレッシンを分泌する事によって浸透圧の恒常性を維持している事が知られている。しかし、異常な浸透圧条件下での神経細胞自身の細胞容積調節の有無、調節機構についてはまだ解明されていない。本研究では、低浸透圧条件下におけるバソプレッシン神経の容積調節機構について検討した。ホールセルパッチクランプ法を用いて実験を行った結果、低浸透圧条件下で細胞を膨張させると Cl⁻ 電流の活性化が観察された。この電流は外向整流性があり、高い脱分極の刺激を与えると不活性化キネティクスがみられた。陰イオン選択性序列は I⁻ > Br⁻ > Cl⁻ > F⁻ > Sulf⁻ > Asp⁻ > Glu⁻ であった。この電流は Cl⁻ チャンネルブロッカーである NPPB, phloretin, DCPIB によって抑制された。さらに、神経細胞の断面積を測定した結果、低浸透圧条件下では、細胞が膨張した後で観察される調節性容積減少 (RVD) が、Cl⁻ チャンネルブロッカーの投与により有意に抑制された。これらの結果から、バソプレッシン神経には容積感受性外向整流性 (VSOR) Cl⁻ チャンネルが発現しており、

これが低浸透圧条件下で活性化することにより RVD 応答を起こす事が示唆された。

5. グルタミン酸プローブで見る中枢シナプス伝達様式

坂本寛和, 並木繁行, 飯沼 将, 廣瀬謙造 (名古屋大学大学院医学系研究科細胞生理学)

中枢神経系の興奮性シナプスはグルタミン酸を伝達物質として情報伝達を行う。ところが、単一のシナプスから放出されるグルタミン酸を直接的に計測する技術がないために、その伝達様式には不明な点が多く残されている。本研究では、海馬の単一シナプスから放出されたグルタミン酸を蛍光性グルタミン酸プローブである EOS (Glutamate (E) Optical Sensor) を用いた高速・高精度の蛍光イメージングにより光学的に検出し、個々のシナプスにおける伝達様式の解析を行った。生理的な組成の細胞外液中で単発の活動電位を誘起した際のグルタミン酸の放出確率は、平均で 0.3 程度であった。この結果は、海馬におけるグルタミン酸作動性シナプス伝達が確率的な現象であることを示している。さらに、細胞外液のカルシウム・マグネシウム濃度比を人為的に低下させた条件下で測定を行うと、グルタミン酸の放出頻度が低下した。この結果は、電気生理学的手法による過去の研究結果と一致している。この条件下の測定から得られた EOS のシグナル変化率およびその分散を統計的に解析することにより、単一のシナプスから放出されるグルタミン酸の量子サイズを推定した。推定した量子サイズをグルタミン酸放出の測定データに当てはめて解析した結果、海馬の単一シナプスは単発の活動電位で 0~3 程度の量子を放出することが明らかとなった。

6. 下丘 GABA 作動性ニューロンの音反応特性及び形態学的特性

小野宗範, 笠井昌俊, 大森治紀 (京都大学医学部神経生物学教室)

下丘は上位下位聴覚伝達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。下丘神経細胞のうち、約 20% の GABA 作動性ニューロンは、特徴抽出機構に重要な役割を果たしていることが示唆されているが、その実態は明らかではない。

我々は、下丘 GABA 作動性ニューロンの音応答特性を明らかにするため、GABA 作動性ニューロンが特異的に GFP ラベルされる GAD67-GFP knock-in mouse に対して、juxtacellular 法によるユニット応答記録を行った。biocytin 注入によって細胞内染色したユニット記録細胞と GFP との二重染色像から、神経細胞の音応答特性と、GABA/非 GABA 作動性を対応付け、GABA 作動性ニューロンの音反

応特性を解析した。さらに、DAB 法による明視野染色により、記録細胞の樹状突起、軸索の形態学的特性を解析し、下丘神経回路内での機能に関して考察した。

7. G1/S 期細胞周期抑制剤は TGF β 発現増加により幹細胞からの神経分化を誘導する

三角吉代, 金 泰善, 鄭 且均, 西野仁雄, 飛田秀樹 (名古屋市立大学大学院医学研究科脳神経生理学)

神経幹/前駆細胞 (NPCs) は細胞療法における有力なドナー細胞候補と考えられている。NPCs を目的のニューロンへ分化誘導させるメカニズムの解析が重要となっているが、細胞周期の制御と神経分化の関連についての機構は十分に明らかになっていない。我々は、ラット胎仔 (E12.5) 中脳由来の NPCs に deferoxamine (DFO) 等の G1/S 期細胞周期抑制剤 (G1/S-B) を処理すると、1) ニューロン分化が促進され、2) 分化機構に p27^{kip1} の長期発現が関与している事を報告した。Transforming growth factor- β (TGF β) は中枢神経系の細胞増殖や分化に関与するが、本研究では G1/S-B による神経分化における TGF β の関与を検討した。

NPCs に DFO を 8 時間処理した後 1% FCS でニューロン分化を誘導すると、分化 24h 後に TGF β -1 mRNA の発現増加 (約 5 倍) とタンパク量の増加が認められた。一方、TGF β -2, β -3 の発現に変化はなかった。NPCs へ TGF β -1 を処理すると、p27^{kip1} の発現上昇と β -tubulin III 陽性の細胞数増加 (約 1.2 倍) が確認された。さらに、TGF β レセプター阻害剤を処理すると DFO 処理による p27^{kip1} の発現増加が有意に抑制されることが分かった。また、nestin 陽性の NPCs に TGF β レセプターが発現していることが分かった。

これらの結果から、DFO 処理後の p27^{kip1} を介する神経分化の促進機構において、DFO 処理による TGF β -1 の発現増加が関与し、TGF β -1 の作用により NPCs からニューロンへの分化が促進していることが示された。

8. ゼブラフィッシュ網膜発生における再生分子ブルプリンの発現抑制と行動解析

齊藤 光¹, 永島幹子², 村本健一郎³, 加藤 聖¹ (¹金沢大学大学院医学系研究科脳情報分子学, ²同 保健学専攻, ³金沢大学大学院自然科学研究科電子情報工学専攻)

魚類の視神経は損傷されても再生することが知られており、再生過程では再生に必要な種々の遺伝子が発現すると考えられる。これまで我々は視神経切断後の金魚網膜で発現が変化する遺伝子について調べてきた。その結果、視神経切断後に発現が増加する遺伝子の一つとしてブルプリン

を見出した。ブルブリンは網膜特異的に発現する分子量 22 kDa の分泌性のレチノール結合タンパク質であり、再生初期の視神経誘導のトリガーとして働くことを報告した。また一般にレチノイドは神経発生に重要な役割を果たすことが知られており、ゼブラフィッシュ初期胚を用いた網膜発生において、anti-senseRNA プローブによる *in situ* hybridization 法、免疫組織化学染色法により発生段階の非常に早い時期において、ブルブリン mRNA、タンパク質の一過性発現を確認している。

今回、モルフォリノ修飾アンチセンスオリゴヌクレオチドをゼブラフィッシュ初期胚 (1-4 細胞期胚) に注入して、ブルブリン mRNA のノックダウン実験を行った。受精後 3 日目における遺伝子ノックダウン魚において、正常対照魚と比較し、眼球の縮小が見られた。またトルイジンブルー染色法により、受精後 3 日目において、正常対照魚では網膜に層構造は見られたが、遺伝子ノックダウン魚の網膜に層構造は確認できなかった。

現在、合わせてブルブリン発現の有無による視覚機能への影響を調べるために、ゼブラフィッシュの視覚依存性行動を基に、様々なパラメータを用いて観測中である。

9. カルパインによるヒト好中球のアポトーシス制御： A キナーゼの役割

尾崎友歌，加藤隆幸，北川誠一（大阪市立大学大学院医学研究科細胞情報学）

ヒト好中球にはカルパイン活性が構成的に認められ、また、好中球は自然にアポトーシスを生じることが明らかになっている。好中球をカルパイン阻害剤 (ALLN [N-acetyl-Leu-Leu-Nle-CHO] および PD150606) 存在下に培養すると、好中球の生存が延長した。このことは、構成的なカルパイン活性が好中球の自然なアポトーシスを制御していることを示唆している。カルパイン阻害剤による好中球の生存延長は、MAP キナーゼ (MEK/ERK, p38 および JNK) 阻害剤および PI3 キナーゼ阻害剤の影響を受けず、また、シクロヘキシミドの影響も受けなかった。一方、カルパイン阻害剤を作用させた好中球では、A キナーゼの活性化および A キナーゼ基質のリン酸化が認められた。さらに、カルパイン阻害剤による好中球の生存延長は、A キナーゼ阻害剤 (H-89) によって抑制された。しかし、細胞内 cyclic AMP の増加は認められなかった。このことは、A キナーゼが直接活性化されている可能性を示唆している。好中球の自然なアポトーシスは、抗アポトーシス分子である Mcl-1 および XIAP のプロテアソームにおける分解と関連していた。Mcl-1 および XIAP の分解はカルパイン阻害剤によって抑制され、この抑制作用は H-89 によって阻害された。これら

の結果は、カルパイン阻害剤による好中球の生存延長は、A キナーゼの活性化を介して Mcl-1 および XIAP の分解を抑制することによって生じることを示唆している。また、好中球においては、構成的なカルパイン活性が A キナーゼ活性を負に制御していると考えられた。

10. DRA のマウス大腸 HCO₃⁻ 分泌に果たす役割

大庭幸一郎，林 久由，内山尚和，鈴木裕一（静岡県立大学大学院生活健康科学研究科人体生理学研究室）

DRA (SLC26A3) は Cl⁻/HCO₃⁻ exchanger で、消化管上皮細胞、特に大腸上皮 Apical membrane に強く発現している。本研究では、マウス大腸における Cl (粘膜側) 依存性の HCO₃⁻ 分泌が DRA によるのか否かを検討した。「方法」マウス DRA の Cl⁻/HCO₃⁻ exchange 活性は、マウス DRA を発現させた HEK293 細胞に pH 感受性蛍光色素 BCECF を負荷し、顕微蛍光測定法で、外液 Cl 除去による細胞内 pH 上昇を測定することにより測定した。大腸 HCO₃⁻ 分泌活性は、マウス盲腸及び遠位結腸を Ussing chamber に取り付け、pH stat 法で測定した。「結果」マウス DRA の Cl⁻/HCO₃⁻ exchange 活性に対する抑制剤の強さは、Tenidap > Niflumic acid > Glibenclamide = NPPB で、DIDS ではほとんど抑制されなかった。これに対して、Cl (粘膜側) 依存性の HCO₃⁻ 分泌に対する抑制の強さは盲腸及び遠位結腸ともに、Tenidap > NPPB > Niflumic acid の順で Glibenclamide と DIDS ではほとんど抑制されなかった。「結論」Cl (粘膜側) 依存性の HCO₃⁻ 分泌の阻害剤感受性は DRA のそれとは少し異なっていた。DRA の大腸 HCO₃⁻ 分泌における役割を明らかにするにはさらなる検討を要する。

11. Cl⁻/HCO₃⁻ 交換輸送担体 Slc26a3 の局在と機能における N 型糖鎖付加の役割

山下裕香理，林 久由，鈴木裕一（静岡県立大学大学院生活健康科学研究科人体生理学研究室）

【目的】SLC26A3 (DRA) は消化管に発現している Cl⁻/HCO₃⁻ 交換輸送体であり、Cl⁻ 吸収を担っていると考えられている。DRA は糖タンパク質であるが、糖鎖の役割および付加部位については研究されていない。本研究では糖鎖付加の役割について N 結合型糖鎖付加抑制剤であるツニカマイシンによる処理並びに点変異体の作製により検討を行った。

【結果】DRA をウエスタンブロッティングにて解析すると予想される分子量より高分子量側に複数のバンドが観察された。ツニカマイシンで処理すると低分子側の 1 本のバンドに収束し、多段階に糖鎖付加を受けることが示唆され

た。共焦点顕微鏡で細胞内局在を観察すると、ツニカマイシン処理後に細胞膜または細胞膜直下の DRA 発現量が低下した。そこで、ビオチン化により検討したところツニカマイシン処理後も細胞膜上に DRA が発現していた。また、 $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ 交換輸送活性、陰イオン選択性、 Cl^-/OH^- 交換輸送活性はツニカマイシン処理でも変化は観察されなかった。また、糖鎖付加部位の決定のため糖鎖付加が想定される 5 つのコンセンサスサイトのアスパラギン (N) をグルタミン (Q) に置換した点変異体を作製し解析した。N161Q, N164Q, N165Q, N621Q ではバンドの変化は観察されなかったが、N153Q では低分子側への移動が観察され、糖鎖付加部位の 1 つであると考えられた。

12. 摂取水分コントロール下における 20 日間のヘッドダウンベットレスト後での発汗中枢機構の変化

佐藤麻紀, D. Kanikowska, 岩瀬 敏, 清水祐樹, 犬飼洋子, 西村直記, 菅屋潤壺 (愛知医科大学医学部生理学第 2 講座)

自由飲水下でヘッドダウンベットレスト (無重力模擬実験) を行うと発汗閾値が上昇し、平均体温に対する発汗量が抑制されることが明らかにされている。本研究では、20 日間 -6° のベッドレスト中において、飲水量を前日の尿量と同量となるよう指示した場合についての発汗活動および体温調節能への効果を検討した。被験者 (若年男性) は、 6° のベッドダウンベッド上で 20 日間生活した。この前後で下肢温浴による温熱負荷実験を行い、体温調節応答を観察した。測定項目は、鼓膜温、発汗量 (胸部, 前腕)、発汗波頻度 (前腕)、皮膚血流量 (胸部, 前腕)、皮膚温 (胸部, 上腕, 大腿, 下腿) とした。結果は、ベットレスト後では、安静時および暑熱負荷時の鼓膜温の上昇、暑熱負荷時の発汗量の増加、発汗発現時間の短縮、皮膚血流量の増加が見られた。平均体温に対する発汗量の回帰直線はベットレスト前後で変化しなかった。しかし、発汗波頻度 vs 平均体温の回帰直線はベットレスト後、右方へシフトし、発汗量 vs 発汗波頻度の回帰直線は左方へシフトした。これらより、水分摂取をコントロールした状態での 20 日間のベッドレストでは、中枢機構で発汗閾値の上昇があり、汗腺機構では感受性の亢進が起きていることが示唆された。

13. シックハウス症候群関連化学物質ホルムアルデヒドの心機能に及ぼす影響

竹下大輔, 清水壽一郎, 中島千香子, 伊藤治男, 高木都 (奈良県立医科大学第二生理)

目的: 本研究では、高血圧患者を想定した左室肥大心におけるシックハウス症候群関連物質の代表としてのホルム

アルデヒド (HCHO) の効果を、正常心と比較検討した。

方法: Nembutal 50mg/kg で麻酔したラットで、人工呼吸下に、外頸静脈より生理食塩水で 10 倍希釈した 3.7% HCHO 溶液を $0.1\text{ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ で注入し、左心室圧-容積ループを描記し、左心室収縮期末圧と 1 回心拍出量の経時変化を調べた。さらに、後負荷を上昇させた時の収縮期末圧容積関係を求めた。同時に血液ガス分析と Immunoanalyzer による血中の CK-MB (creatinine kinase MB), cTnI (cardiac troponin I: 急性冠症候群マーカー), Myoglobin (急性冠症候群マーカー) の定量を行った。

結果: 1) 正常心では、HCHO 静注 30 分後、想定血中濃度 46mmol/l で、左心室収縮期末圧、心拍数、分時心拍出量の有意な減少が起こった。2) 左心室収縮期末圧、1 回心拍出量、分時心拍出量に対する HCHO の効果は肥大心と正常心で特に差違はなかった。唯一、心拍数の減少傾向にのみ有意差があった。3) 分時心拍出量は、肥大心では一貫して正常心より小さい値を示しており、生存率も低い値を示した。4) cTnI のみ HCHO 静注持続時間経過と共に増加傾向を示した。

結論: 1) 心機能の低下した左室肥大心を有する高血圧患者では急性ポンプ機能失調はより容易に発現する。2) このような患者がより快適に暮らすには、シックハウス症候群関連物質が完全に除去された住環境が望ましい。

14. 延髄孤束核への Adrenomedullin 2 微量注入は循環調節に作用する

崔 鶴, 和気秀文, 向阪 彰, 中村 健, 湯川和典, 畑田充俊, 山崎寿也, M. Eliusur Rahman Bhuiyan, 幸田剣, 高岸美和, 前田正信 (和歌山県立医科大学医第二生理)

Calcitonin/calcitonin gene-peptide (CGRP) ファミリーの新しいメンバーとして、Adrenomedullin 2 (AM2)/Intermedin は、多様な生物学的役割を果たすことが知られている。例えば、静脈と脳室内 (ICV) に AM2 を注入すると、心血管反応を生じることが報告されている。しかし、in vivo で延髄孤束核 (NTS) に AM2 を直接微量注入し、その循環調節への役割を調べた報告はない。今回、私達は NTS に AM2 を直接微量注入し、血圧と心拍数の変化を調べた。36 匹の Wistar ラットをウレタンで麻酔し、AM2 (10pmol , 20pmol と $40\text{pmol}/100\text{nl}$) を一側の NTS に微量注入した。その結果、有意な平均動脈圧 (MAP) と心拍数 (HR) の増加が見られた。人工脳脊髄液の注入は、MAP と HR に変化を与えなかった。

以上より AM2 は NTS で循環調節に関与していることが示唆される。

15. 内耳蝸牛血管条における細胞内・細胞外空間の K^+ 濃度・電位と蝸牛内高電位の解析

任 書見, 日比野 浩, 土井勝美, 鈴木敏弘, 久 育男, 倉智嘉久 (1大阪大学大学院医学系研究科分子細胞薬理学講座, 2京都府立医科大学大学院耳鼻咽喉科頭頸部外科学講座, 3大阪大学大学院耳鼻咽喉科学講座)

内耳蝸牛は、内リンパ液・外リンパ液という2種類の細胞外液で満たされている。そのうち内リンパ液は、150mMの K^+ を含み、約+80mVの電位(EP: 蝸牛内高電位)を持ち、成立には、蝸牛側壁の血管条が必須である。血管条は基底細胞・中間細胞から成る外層と、辺縁細胞から成る内層とから構成され、この2層に挟まれた細胞外空間は、5mM以下の低 K^+ と約+90mVの高電位を示す。以前より、この特殊な血管条内の細胞外空間(intrastrial space: IS)を挟んで、辺縁細胞に Na^+ , K^+ , $2Cl^-$ 共輸送体・ Na^+ , K^+ ポンプ、中間細胞に K^+ チャンネルが発現していることが、ISの環境の成立に不可欠と考えられてきたが、その実証及びメカニズムの解明は不十分である。我々は、モルモット内耳を用い、単一管で蝸牛内電位を、二連管でISの電位・ K^+ 濃度を同時に測定した。さらに外層の辺縁細胞についても測定を行った。まずISにおいて Na^+ - K^+ ポンプを阻害する低酸素負荷・ウアバイン負荷と Na^+ , K^+ , $2Cl^-$ 共輸送体の阻害薬プロメタニド、さらに K^+ チャンネル阻害薬バリウムの影響を調べた。輸送体の阻害により、ISの K^+ 濃度が上昇するとともに、IS電位の著明な低下を認め、その低下量は、中間細胞頂上膜における K^+ 平衡電位の変化量とほぼ一致した。つぎに辺縁細胞での輸送体の阻害を行うと、 K^+ 濃度の低下とともに辺縁細胞電位とEPとの電位差が拡大し、この電位差は辺縁細胞頂上膜における K^+ 平衡電位の変化量とほぼ一致した。バリウムではこれらIS・辺縁細胞での K^+ 濃度を変化させずにISおよび辺縁細胞電位を低下させた。以上より、1) IS電位は辺縁細胞の輸送装置による低 K^+ 濃度の維持と中間細胞頂上膜の K^+ チャンネルの共役により達成される2) 蝸牛内高電位成立には辺縁細胞頂上膜での K^+ 拡散電位も貢献していることが示唆された。

16. ダイオキシンの胎内暴露が仔ラットの味覚嗜好性の発達に与える影響

栗脇淳一^{1,2}, 西条旨子^{2,3}, 橋本 茜⁴, 福永浩司⁴, 堀悦郎^{1,2}, 鳥居邦夫⁵, 中川秀昭³, 小野武年^{1,2}, 西条寿夫^{1,2}
(1富山大学大学院医学薬学研究部システム情動科学, 2科学技術振興機構, 3金沢医科大学健康増進予防医学(公衆衛生), 4東北大学薬学研究科薬学部, 5味の素株式会社ライフサイエンス研究所)

近年、ダイオキシン類の胎内暴露が胎盤や母乳を介し胎児および乳児へ移行し、その成長・発達に影響することが示唆されている。本研究では、ラット母獣の2,3,7,8-四塩化ダイオキシン(TCDD)胎内暴露が、その出生仔の離乳後の味覚嗜好性の発達に及ぼす影響について調べた。一方、味覚嗜好性は条件性味覚嫌悪/嗜好学習などの味覚学習により発達することが示唆されている。そこで、中枢神経系における味覚嗜好性発達の障害部位を検討するため、学習・記憶に重要なCaMKII α の活性を、味覚嗜好性の学習や動因形成に重要な役割を果たしていることが示唆されている大脳辺縁系において測定した。

実験では、妊娠ラットにTCDDを暴露し、出生した仔を用いた。出生した仔を8種類の異なる水溶液が摂取可能なケージに入れ、各水溶液摂取量を測定した。その結果、TCDD群の雌ラットのグルタミン酸溶液の摂取量が有意に少なかった。一方、TCDD群の雌ラット眼窩皮質では活性化型CaMKII α の発現が対照群と比べ増加したが、活性化型と総量の割合は有意な変化を認めなかった。また、TCDD群の雌ラット扁桃体では、総CaMKII α が増加していたが、総量に対する活性化型の割合は減少していた。以上より、TCDD群の雌ラットでは、眼窩皮質ニューロンの過活動および扁桃体におけるCaMKII α 系の細胞内シグナル伝達系の異常により何らかの味覚学習障害が起こり、味覚嗜好性の発達が障害されたことが示唆された。

17. プレパルス抑制試験における慢性PCP投与およびニコチン連続投与の効果

村上典修¹, 栗脇淳一^{1,2}, 堀悦郎^{1,2}, 小野武年^{1,2}, 西条寿夫^{1,2}
(1富山大学大学院医学薬学研究部システム情動科学, 2科学技術振興機構)

統合失調症患者は、健常者に比べて高い喫煙率を示す。ニコチンには統合失調症症状に対する抑制作用があると推測されていることから、統合失調症患者の喫煙は一種の自己治療行動であるとも言われている。しかし、統合失調症の症状とニコチンの関係についての詳細は不明である。そこで、PCPを慢性投与した統合失調症モデルラットを用いて、統合失調症患者で障害されるプレパルス抑制(PPI)試験に対するニコチンの影響を検討した。

実験には雄性SDラットを用い、対照群、ニコチン投与群、PCP投与群およびPCP+ニコチン併用投与群に分けた。ニコチンおよびPCPは、13日間連続投与した。また、禁煙状態を模して、14日目にはニコチンの投与を行わずにPPI測定を行った。

対照群と比較して、ニコチン投与群、PCP投与群およびPCP+ニコチン併用投与群いずれにおいてもPPIが障害

された。とくに PCP+ニコチン併用投与群では PPI の障害が顕著であった。禁煙状態においては、PCP+ニコチン併用投与群では、PPI の障害が増悪していた。

これらのことから、ニコチンは PPI を障害することが明らかになった。さらに、PCP 慢性投与ラットでは、ニコチンの休薬により PPI の障害が増悪することが明らかとなった。以上から、喫煙習慣のある統合失調症患者が禁煙すると統合失調症の症状を悪化させ、これを防ぐために喫煙行動を増加させている可能性が示唆される。

18. ラットのアナフィラキシー低血圧時の肝内血液は減少する—超音波クリスタル法による肝体積測定—

高野博充, 張 威, 崔 森, 芝本利重 (金沢医科大学 学生理機能制御学)

ラット灌流肝のアナフィラキシーでは前類洞優位の血管収縮により肝重量が低下することから、“ラットアナフィラキシー低血圧では肝内血液が駆出される”との仮説を立てた。今回、組織の厚みが測定できる超音波クリスタル装置のプロープ4個で形成した四面体の体積を測定することによりラットのアナフィラキシー低血圧時の肝血液動態を検討した。

【方法】(1) 摘出灌流肝の検討：定流量灌流した肝臓の中葉に4個の超音波クリスタルプロープで四面体を形成するよう取り付け、各プロープ間の距離から四面体の体積を算出し、血流量を変えた時とノルエピネフリン投与時の四面体の体積変化と肝重量の変化の関係を検討した。

(2) アナフィラキシー低血圧時の検討：感作ラットを麻酔下に開腹し、門脈圧、体血圧を測定。抗原を静注してアナフィラキシー低血圧を惹起した。4個のプロープを摘出灌流肝と同様に肝中葉に装着し、肝体積変化を測定した。

【結果と考察】摘出灌流肝では、肝体積の変化と肝重量の変化はよく相関し、肝内血液の変動を反映することが示唆された。アナフィラキシー低血圧を惹起すると門脈圧の上昇とともに肝臓の体積が急速に6%減少し、肝重量の10%の肝内血液が体循環系に駆出されることが示唆された。

19. 吻側—尾側と左側—右側方向の直線加速に対する前庭—動脈血圧応答の可塑性

安部 力, 田中邦彦, 森田啓之 (岐阜大学医学部生理学)

我々はこれまで、重力変化に対する動脈血圧応答が前庭系を破壊することで抑えられることから、前庭—動脈血圧反射の存在を報告してきた。前庭系は可塑性が非常に強い器官として知られており、前庭—動脈血圧応答は重力環境によって変化する可能性が考えられる。この可能性を調べ

るために、2G 環境下で出産・飼育したラット(2-G)を用いて、吻側—尾側と左側—右側方向への1G直線加速刺激に対する動脈血圧応答を測定し、1G環境下飼育ラット(1-G)の応答と比較した。1-Gラット(n=18)の各直線加速に対する動脈血圧変化は、尾側→吻側で 23 ± 1 mmHg、吻側→尾側で 18 ± 1 mmHg、左側→右側で 19 ± 1 mmHg、右側→左側で 21 ± 1 mmHg増加した。この動脈血圧応答は2-Gラット(n=10)で有意に抑えられた(尾側→吻側： 15 ± 1 mmHg、吻側→尾側： 10 ± 2 mmHg、左側→右側： 10 ± 1 mmHg、右側→左側： 11 ± 1 mmHg)。さらに、前庭系を介さない昇圧反応を示す air jet 刺激では、1-G、2-Gラットの間では有意な差が見られなかった。これらの結果から、2G環境下で誕生・成長することで、前庭系を介する動脈血圧応答のシテムが特異的に抑制されることがわかった。

20. マウス肺濃度感受性 Na⁺チャネル(Nac)発現の発達に伴う変化

西村庸子, 萩原史記, 月江麻美, 峰岸かつら, 吉田 繁 (近畿大学理工学部生命科学科)

背景：濃度感受性 Na⁺チャネル(Nac；c：concentration)は、マウス胎仔肺で「出生前に Nac タンパク質が増加し、出生後は急激に減少する」という報告がある。だが、Nac タンパク質と発現に関する mRNA の動向との関連性を調べた報告はない為、研究を行った。

方法：胎生15日目から生後8週齢の ICR マウス肺を採取し、RT-PCR による各発達段階の Nac mRNA 定量、western blotting での Nac タンパク質定量を行った。またオスマウス肺とメスの性周期別の肺を採取し Nac mRNA 定量の比較を行った。

結果：Nac mRNA 量は胎生17日目から急激に増加し始め、生後8週齢に至るまで高レベルを維持しており、また Nac タンパク質は胎生17日目から増え始めて生後4週齢には約6倍に増加し、生後4週齢から8週齢にかけては胎生17日目のレベルに減少していることがわかった。メスの性周期では有意差がなかった。

考察：Nac mRNA、タンパク質に乖離があった原因として、Nac mRNA からタンパク質への翻訳を制御する機構が存在、または Nac タンパク質の生成後にタンパク質の分解が促進されているのではないかと考えられる。

21. ラット吻側前障に於ける運動及び感覚性入力の収束

原 健一郎¹, 澁谷浩司^{1,2}, 石田寅夫^{1,2} (¹鈴鹿医療科学大学鍼灸学部鍼灸学科, ²鈴鹿医療科学大学東洋医学研究所)

本研究はラット in vivo 標本に於ける標識物質注入法、細胞内染色法及び細胞外記録法により、錐体路由来運動性入力と末梢感覚性入力が入力系が前障吻側部に収束する事を示唆した。

Golgi 染色により吻側前障は多様な細胞集団からなることが、また標識物質注入実験によりその主要線維結合は大脳新皮質運動野との相互結合である事が示されている。しかしながら、新皮質以外の大脳皮質や皮質下構造との線維結合及び吻側前障構成神経細胞の樹上突起並びに軸索に関する知見は乏しく、このことが吻側前障機能が未だよく理解されていない一要因であると考えられる。そこで我々は種々の順行性・逆行性標識物質を用いて吻側前障の入出力系を調べ、また細胞内染色による細胞形態、特に入力部である樹上突起の分枝様式を詳細に調べる事により、吻側前障の機能を推察してきた。更にこの推察を裏付けるため延髄錐体及び末梢神経の電気刺激に対する吻側前障の反応を細胞外記録法により調べた。

実験結果より、吻側前障は視床の nucleus Gelatinosa (ネコでは n. Submedialis) を介する末梢感覚性入力及び運動皮質からの運動性入力を受けることが示唆され、遠心性出力を運動皮質及び眼窩皮質に送ることが明らかにされた。視床 nucleus Gelatinosa-眼窩皮質投射は痛みの情動面の情報処理に関わる系と考えられているので、吻側前障は痛みの情動情報を運動皮質に中継し、痛み記憶に基づく逃避行動発現に重要な機能を担っていると考察した。

22. 大脳皮質口腔感覚野における細胞構築形成への歯牙の役割

増山有一^{1,2}、吉村 弘^{1,2}、須貝外喜夫²、加藤伸郎²、瀬上夏樹¹ (¹金沢医科大学顎口腔機能病態学、²同 生理機能制御学)

成長期における外部からの感覚情報は脳機能の発達に必要であると言われている。顎口腔領域に注目すると、発達の歯牙喪失は顎口腔から脳への情報量を低下させ、感覚情報処理の発達に影響が現れることが予想される。そこで、発達期歯牙喪失の大脳皮質における細胞構築形成への影響を調べた。Wistar 系ラットを、生後 2~3 週に抜歯した群、生後 5 週以降に抜歯した群、非抜歯群の 3 群に分類して飼育した。生後約 7 週の時点で、3 群から口腔性感覚野を含む脳切片および視覚野を含む脳切片を作製し、クレシルバイオレット染色法を行った。皮質 II~VI 層の幅に対する II~IV 層の幅の比率を、口腔性感覚野および視覚野それぞれについて計測し、比較検討を行った。口腔性感覚野の場合、分散分析および多重比較 (Scheffe's test) をおこなった結果、生後 2~3 週に抜歯した群が他の 2 群に比べて

有意に低値を示した。視覚野については、3 群間に有意差を認めなかった。以上より、発達期の歯牙喪失が、大脳皮質口腔性感覚野における層構造の発育に影響を与えたことが判明した。体性感覚野 II~VI 層は外部感覚入力を直接受ける部分であるので、歯牙喪失による顎口腔からの情報量低下が、入力系神経細胞群の発育を抑制したと考えられる。また、本研究で調べた歯牙喪失による細胞構築への影響は、5 週以降の抜歯では起こらず、感受期の存在することが判明した。

23. 扁桃神経細胞においてモノアミン作動系は協調して遅い後脱分極を誘起する

山本 亮¹、植田禎史^{1,2}、加藤伸郎¹ (¹金沢医科大学生理学、²京都大学医学研究科認知行動脳科学)

扁桃体の神経活動と扁桃体に投射するモノアミン作動系の活動は、情動行動において大きな役割を果たしている事が知られている。今回我々は、ラットの脳スライスを用いて、外側扁桃神経細胞からパッチクランプ記録を行い、ドーパミン・ノルアドレナリン・セロトニンが外側扁桃神経細胞の興奮性をどのように調節しているかを調べた。外液に 50 μ M のドーパミンを加えると、500ms \cdot 200pA の通電に対して、神経細胞は遅い後脱分極を示した。この遅い後脱分極は、カドミウムによるカルシウムチャンネル阻害や BAPTA による細胞内カルシウムキレートによって消失した。また、細胞外カリウム濃度に応じて逆転電位が変化し、セシウム内液によるカリウムチャンネル阻害で消失する事から、カリウム電流の減少によってこの後脱分極が生じる事が示唆された。さて、この後脱分極は細胞外にドーパミンを加える事で誘起されたが、ノルアドレナリンやセロトニンの拮抗薬によって抑制された。また、ノルアドレナリン・セロトニンはそれぞれ同様の後脱分極を惹き起こした。さらに、ノルアドレナリンとセロトニンを同時に外液に加えると、作用は加算され、単独の場合よりも大きな後脱分極が観察された。これらの事から、扁桃体において、ドーパミン・ノルアドレナリン・セロトニンは協調して、神経細胞の興奮性を上昇させる事ができると考えられる。

24. トリ層状核における両耳間時間差検出の抑制性入力による向上

西野恵里、山田 玲、久場博司、大森治紀 (京都大学医学研究科神経生物学)

両耳間時間差 (ITD) は、水平方向の音源定位において重要な手がかりの一つである。動物が実際に経験し得る ITD (生理的 ITD) は左右の耳の間の距離に応じて決まるため、頭の小さな動物ほど、特に低周波数の音の ITD 検出が困難

とされる。ITD 検出精度を向上させる仕組みとして、抑制を用いたいくつかのシステムが提案されている。鳥類で ITD を最初に検出する層状核 (NL) においては、GABA による抑制性入力存在が知られており、これが ITD 検出精度の向上に寄与していると考えられてきた。しかし、この抑制が実際に ITD 応答にどのように作用しているかについては知られていない。以前、我々はトリ NL ニューロンの ITD 応答を *in vivo* 単一細胞記録によって調べ、低周波数領域の細胞において何らかの抑制性機構が働いている可能性を示した。今回の実験で、我々は NL に GABA 性の投射をしていることが知られる上オリブ核 (SON) を破壊し、NL の ITD 応答の変化を *in vivo* で調べた。その結果、SON は NL の低周波数領域の細胞に作用して ITD 応答のダイナミックレンジを音圧依存的に広げ、低周波数の音の ITD 検出精度を高めていることが示唆された。さらに SON は、NL における抑制作用に加えて、NL へ興奮性入力を送る左右の大細胞核の神経活動を調節し均衡させることによって ITD 検出精度を最適化することを明らかにした。

25. 図形識別の必要性からみた注意の分配の継時変化

小野敬治、井上雅仁、宮地重弘、三上章允 (京都大学霊長類研究所行動発現分野)

<目的>日常生活の中ではさまざまな情報から必要なものを選択し、その情報に注意を向け行動に役立っている。ときには複数の刺激に同時に注意を向けたり、ある対象から別の対象へと注意の迅速な切り替えが必要である。本研究では、継時的に提示された2つの視覚刺激に注意を向ける時、2つの刺激の提示間隔を変化させることにより、注意の分配の継時変化を調べた。

<方法>サルに以下の学習課題を訓練した。サルが画面中央を注視している時、左または右9°の位置に大きさ1°の赤の四角形を提示する。次に1,500msから2,500msのランダムな時間の後、対側視野に68ms間、大きさ2.5°の三角形を提示する。サルはその三角形が上向きならGo、下向きならNoGoの反応を赤の四角形の明るさが変化した時に行う。三角形の提示から赤の四角形の明るさが変化するまでの時間は100msから1,500msまでのランダムとし、また三角形を提示しない試行も用意して正答率と反応時間を調べた。次に2つの図形間の距離を変えた。

<結果> (1) 三角形の提示から赤の四角形の明るさ変化までの時間が200ms以下のときは、正答率が低く、反応時間が伸びた。(2) Go/NoGo 選択の必要な条件では、すべてがGoの条件よりも正答率が低下した。(3) 2つの図形の提示位置の偏心度を上げると正答率は低下した。正答率の低下は刺激の図形識別が必要な時、また、図形識別の難易度

が高い時に大きかった。

<考察>新しい視覚刺激が提示され、その刺激に注意がシフトするとあらかじめ提示されていた視覚刺激への注意が約200ms間低下することが示された。この変化は図形識別の必要性の有無や難易度と相関することから、新規刺激による単なる注意の誘導ではなく、随意的な注意機構と関連するものと思われる。

26. C57BL/6 マウスの視覚—運動情報変換の研究

田端宏充、松浦清人、河野憲二 (京都大学大学院医学研究科認知行動脳科学講座)

一般に、広視野の視覚刺激の動きによって、ゆっくりとした滑らかな眼球運動 (Opto Kinetic Response : OKR) が誘発されることが知られている。ヒトやサルなどの中心窩の発達した生物では、OKRの開始部分を特に追従眼球運動 (Ocular Following Response : OFR) と呼び、短潜時で強い応答が観察されることから、視覚—運動情報変換の理想的な実験系の一つとしてこれまで研究が進められてきた。しかし、霊長類に比べて視覚系が未発達な齧歯類では、OKRの開始時に、脳の中でどのような情報処理が行われているのかということはいまだよく分かっていない。今回、マウスの眼球運動計測システムを開発し、視覚運動情報変換の基本的性質を行動学的に調べたので報告を行う。輝度がサイン関数状に変化する白黒縞模様の視覚刺激を動かすと、約110msの潜時で滑らかな眼球運動が生じた。視覚刺激の空間周波数と速度を様々に変化させたところ、特定の時空間周波数に強い眼球応答を示した。強い眼球応答を引き起こすことができる視覚刺激の時空間周波数の範囲は、霊長類のそれに比べてずっと狭かった。これらのことは、最適な時空間周波数を選べば、OKR開始時の脳内情報処理機構を調べるモデル動物としてマウスも使用できることを示唆する。ヒトやサルでは不可能であった、遺伝子工学的手法を用いることができるということを期待できる。

27. ジストニアモデルマウスにおける大脳基底核ニューロンの活動様式

知見聡美^{1,2}、P. Shashidharan³、南部 篤^{1,2} (¹生理学研究所生体システム、²総合研究大学院生命科学、³マウントサイナイ医科大学)

ジストニアは、持続性または反復性の筋収縮により、体幹、四肢の異常姿勢や異常運動を示す疾患である。病態を解明するためには、疾患モデル動物を解析することが非常に有効な手段であるが、適当なモデル動物が存在しなかったことから、正確な病態については不明なことが多い。早期発症の全身性ジストニアの原因として、torsinAをコー

ドする DYT1 遺伝子変異が、すでに同定されている。本研究では、ジストニアの病態を明らかにすることを目的として、ヒト DYT1 変異遺伝子を組み込むことによって作製したジストニアモデルマウス (Shashidharan et al, Hum Mol Genet 2005, 14 : 125-133) において、大脳基底核ニューロンの活動を覚醒条件下で記録した。大脳基底核の出力核である脚内核 (霊長類の淡蒼球内節に相当) と黒質網様部、および淡蒼球 (同じく淡蒼球外節) ニューロンにおいて、自発発火頻度が正常動物に比べて著しく低く、長い活動休止期間を持つという異常な発火パターンが観察された。また、これらの核のニューロンは、大脳皮質運動野の電気刺激に対して、長い抑制を伴う異常な応答パターンを示すことがわかった。以上の結果から、脚内核、黒質網様部および淡蒼球ニューロンの活動低下と、大脳皮質からの入力に対する異常な応答パターンが、異常運動の発現に関与していることが示唆された。

28. 運動野から入力を受けるサル被殻投射ニューロンの運動課題遂行中の活動様式

高良沙幸^{1,2}, 畑中伸彦^{1,2}, 高田昌彦³, 南部 篤^{1,2} (1 生理研生体システム, 2 総研大, 3 東京都神経研統合生理)

大脳基底核の主な入力核である線条体は、霊長類において被殻と尾状核からなり、大脳皮質一次運動野 (MI) や補足運動野 (SMA) からの入力は主に被殻に終止する。これまでの解剖学的、電気生理学的研究によれば、MI と SMA の投射領域は被殻において内外側に分離し、その中間部で重なり合うことが知られている。しかし実際の運動中に、MI や SMA から入力を受けている被殻投射ニューロンがどのような活動を示すかは明らかではない。そこでサルから被殻投射ニューロンを記録し、MI や SMA の上肢領域からの入力を同定した後、運動課題を遂行させ、その活動様式を調べた。被殻投射ニューロンは大脳皮質の電気刺激に対する応答により、MI からのみ入力を受けるもの、SMA からのみ入力を受けるもの、そして MI と SMA の両方から入力を受けるものに分類した。その後、サルに3方向のうち手がかり刺激で指示されたターゲットに、遅延期間ののち上肢を用いて到達するという運動課題を課した。その結果、MI からのみ入力を受けるニューロンは主に運動時に活動を示し、SMA からのみ入力を受けるニューロンは運動時の他、手がかり刺激や遅延期間中にも活動を示した。そして MI と SMA の両方から入力を受けるニューロンは中間的な活動を示した。また、MI からのみ入力を受けるニューロンは到達運動の方向に依存して活動量を大きく変えたのに対し、SMA からのみ入力を受けるニューロンはその傾向が少なかった。これまで報告された MI や SMA

の活動と比較してみると、本実験での被殻投射ニューロンの活動は、投射元の皮質の活動と類似している。以上の結果から、被殻投射ニューロンの活動様式は入力源である大脳皮質に大きく依存していると考えられる。

29. カルシウムチャンネルが海馬 CA1 シナプス伝達長期抑圧の誘導の閾値調節をしている可能性について

宇田川理恵¹, 中野真人¹, 野村泉美², 武地 一², 加藤伸郎³ (1 京都大学大学院医学研究科認知行動脳科学, 2 同医学研究科加齢医学, 3 金沢医科大学生理機能制御学)

本研究は海馬 CA1 領域でのシナプス伝達長期抑圧の誘導におけるカルシウムチャンネルの役割について調べた。長期抑圧の誘導にはシナプス後細胞内でのカルシウムイオン濃度の上昇が必須であるが、カルシウムイオンの流入経路は複数あり、それぞれの経路は長期抑圧の誘導で固有の役割を果たしていると考えられる。我々は幼若ラットの海馬スライス標本を用いて、細胞外カルシウムの主な流入口である、NMDA 受容体と L 型カルシウムチャンネルのそれぞれの長期抑圧誘導における役割について検討した。900 回の刺激を 0.5, 1, 2Hz の頻度で施したところ周波数に応じて程度の異なる長期抑圧の誘導が観察され、また全ての刺激周波数で NMDA 受容体依存的であった。L 型カルシウムチャンネルは、遮断剤を用いた実験で 0.5Hz 刺激で長期抑圧を促進させたことから、通常の状態では 0.5Hz 刺激での長期抑圧の誘導を抑制する働きがある可能性が考えられた。この働きは小胞体のカルシウム貯蔵枯渇剤を併用すると打ち消されることから、小胞体のカルシウム放出と関係があることが示唆された。さらに共焦点レーザー顕微鏡を用いたカルシウムイメージングにより、低頻度シナプス刺激時の樹上突起における周波数別カルシウム流入の実態の詳細を明らかにする。

30. 無線型 3 軸加速度センサを使った転倒経験者の歩行可視化による解析

香川真二¹, 眞淵 敏¹, 木村愛子², 前田真依子², 千田廉³ (1 兵庫医科大学病院リハビリテーション部, 2 兵庫県立総合リハビリテーションセンター, 3 甲南大学フロンティア研究推進機構)

【背景】転倒事故を未然に防ぐには、転倒者の客観的な特徴量の抽出と解析が必要となる。我々は今日までに無線型 3 軸加速度センサから得られる加速度変量をリサージュ図形により可視化し、視覚的に加速度変量を捉えることの有用性を提唱してきた。本研究では転倒経験者における歩行の特徴を歩行中の加速度変量から検討した。

【対象と方法】兵庫県 A 市在住の 31 名の健常高齢女性

(年齢: 72.3 歳)を対象とした。問診にて過去 1 年以内の転倒経験の有無を確認し、転倒経験のある者を転倒群、転倒経験のない者を非転倒群とした。第 3~4 腰椎付近に 3 軸加速度センサを取り付け、約 20m の歩行中の加速度変量を計測した。歩行から得られた加速度変量からリサージュ図形を合成し、転倒群と非転倒群の各方向への偏位評価を行った。

【結果と考察】問診の結果、転倒群は 9 名、非転倒群は 22 名であった。加速度変量をリサージュ図形として可視化した結果、転倒群は左右、上下および前後方向とも非転倒群と比較し、非対称でかつ振幅も大きく変動した。また、転倒群では身体前後への加速度変量が大きい傾向にあった ($p < 0.05$)。歩行は前方への加速度を下肢により制御することで、円滑に移動する動作である。転倒群において、身体前方への加速度変量が認められたことは、前方への加速度の制御が行えていないことが推測される。

31. 骨芽細胞におけるクロライド依存的な細胞周期調節

宮崎裕明¹、牧 昌弘^{1,2}、中島謙一¹、新里直美¹、丸中良典¹ (¹京都府立医科大学大学院細胞生理学、²京都府立医科大学大学院運動機能再生外科学)

近年、Cl⁻チャネルや輸送体の発現・活性調節を介した細胞内 Cl⁻濃度変化が、細胞増殖のシグナルとして重要であることが示唆されるが、その詳細なメカニズムは現在も不明のままである。そこで本研究では、Cl⁻が MC3T3-E1 骨芽細胞の細胞増殖に与える影響を検討した。MC3T3-E1 細胞の増殖は、培養液中の Cl⁻濃度 ([Cl⁻]_o) の減少に伴って有意に抑制された。また、[Cl⁻]_o の減少は、細胞周期の G₀/G₁ 期と G₂/M 期における細胞数を増加させることが明らかとなった。G₁ 期から S 期の進行を亢進させる Rb と、G₂ 期から M 期の進行を亢進させる cdc2 の活性と発現レベルの変化を調べたところ、[Cl⁻]_o を減少させると Rb のリン酸化、cdc2 の発現レベルが共に減少し、細胞周期の進行を抑制することが明らかになった。また、[Cl⁻]_o の減少によって引き起こされる細胞増殖抑制と Rb と cdc2 の活性・発現レベルの低下は、2mM のグルタミンの存在下では影響を受けなかった。従って、Cl⁻とグルタミンは、相同なメカニズムによって細胞増殖をコントロールしている可能性が示唆された。

32. 浸透圧・静水圧による細胞間隙コンダクタンスの調節

徳田深作、新里直美、丸中良典 (京都府立医科大学大学院医学研究科細胞生理学)

腎遠位尿細管における Na⁺再吸収は体内のイオン環

境・血圧の維持において重要な役割を果たしており、体内の浸透圧変化によって Na⁺の再吸収量は調節されている。経上皮のイオン輸送には、細胞自身を経由する transcellular ion transport と細胞間隙を経由する paracellular ion transport があり、浸透圧変化は transcellular ion transport の制御により Na⁺再吸収量を調節することが知られている。これまでに浸透圧の paracellular ion transport に対する影響についてはこれまでほとんど解明されていなかったが、我々は浸透圧の細胞間隙イオン輸送に対する影響について検討を行い、血管側と管腔側の間の浸透圧勾配が方向依存的に細胞間隙のイオンコンダクタンスを変化させることを見出した。そこで、本研究では静水圧の paracellular ion transport に対する影響についての検討を行った。血管側の静水圧の増加は経上皮コンダクタンスを著明に上昇させ、このコンダクタンス上昇は静水圧を元に戻すと速やかに回復した。また、管腔側の静水圧の増加や血管・管腔両側の静水圧の増加は、経上皮コンダクタンスに対して著明な影響を与えなかった。これら結果より、paracellular ion transport は静水圧の勾配により調節を受けることが明らかとなった。

33. 心筋細胞ミトコンドリア NCX

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 NCX (mNCX) のミトコンドリア膜電位 ($\Delta\Psi_m$) 依存性を明らかにする目的で、サボニン透過性ラット心室筋細胞を用いてミトコンドリア Ca²⁺ (Ca²⁺_m) と $\Delta\Psi_m$ を、Rhod-2 と TMRE を用いてそれぞれ測定した。Ruthenium Red (Ca²⁺ユニポータ抑制剤) 存在下に、600nM Ca²⁺液を灌流すると Ca²⁺_m は僅かにしか上昇しなかったが、 $\Delta\Psi_m$ の脱分極より Ca²⁺_m は約 4 倍に増加した。この増加は CGP-37157 (mNCX 阻害剤) により抑制され、mNCX の逆交換によると考えられた。また、逆交換に伴い $\Delta\Psi_m$ は過分極した。しかし、脱分極時の Ca²⁺_m 増加は、細胞質 Na⁺非存在下には誘発されず、細胞質 Na⁺を増加するにつれて Ca²⁺_m は増加し、見かけ上 mNCX とは逆の Na⁺依存性を示した。一方、300nM Ca²⁺液で前負荷した後の細胞質 Na⁺依存性 Ca²⁺排出 (mNCX の順交換) の初速度は脱分極で変化しなかったが、Ca²⁺排出に伴い $\Delta\Psi_m$ は脱分極した。

また、3Na/1Ca 交換を仮定し、mNCX のコンピュータモデルを作成したところ、細胞質 Na⁺変化に伴ってミトコンドリア Na⁺が変化することを想定することで上記の実験結果を再現できた。

これらの結果は mNCX が起電性であり、 $\Delta\Psi_m$ 依存性で

あることを示唆した。

34. Development of a Na^+/H^+ exchange model in cardiac myocyte

CY. Cha^{1,2}, Y. E. Earm¹, C. Oka², S. Matsuoka², A. Noma² (¹Department of Physiology, Seoul National University, ²Department of Physiology and Biophysics, Graduate School of Medicine, Kyoto University)

The Na^+/H^+ exchanger plays a role in the regulation of intracellular pH and cell volume. Although many experiments have been conducted to clarify the properties of Na^+/H^+ exchange, no kinetic model has been established yet which could explain compatibly all the measurements. Here, we have developed a model of the Na^+/H^+ exchange. The process of ion binding and releasing were assumed as 6-state and 8-state model. The intracellular H^+ modulation site was also considered with Hill coefficients of 2 and 3. Then, fitting method was applied to search numerous local minima of chi-square function, and then the parameter sets were selected which satisfied both the reported turnover rate and the forward and reverse mode. Comparison of the chi-square revealed that the 8-state model with Hill coefficient 3 was most appropriate. Finally, 12 consistent parameter sets were obtained. This new Na^+/H^+ exchange model can be worth to analyze the mechanisms underlying pH homeostasis.

35. 下垂体プロラクチン産生細胞の増殖に対するアデノウイルスベクター感染の影響

三井哲雄, 王 振華, 石田真帆, 有田 順 (山梨大学大学院医学工学総合研究部第1生理学)

アデノウイルスベクターは、従来の方法では困難であった初代培養細胞や動物への遺伝子導入を可能にしたという点で高い評価を受けているが、その適用の限界に関しては詳細には調べられていない。本研究では、プロラクチン (PRL) 産生初代培養細胞の増殖に対するアデノウイルス感染の影響を検討した。非増殖性アデノウイルス (ΔE1 , E3) から、CMV promoter 調節下に β -galactosidase あるいは luciferase を発現するベクター (Ad-CMV/ βgal あるいは Ad-CMV/Luc), テトラサイクリン誘導性に βgal を発現するベクター (Ad-Tet.On + Ad-TRE/ βgal), 蛋白非発現ベクター (Ad-emp) を作成し、ラット無血清培養下垂体細胞に感染させた。Ad-CMV/ βgal あるいは Ad-Tet.On + Ad-TRE/ βgal の感染は、(1) PRL 細胞の基礎増殖を促進した、(2) 増殖に対する forskolin (FK), IGF-1 単独の作用および

IGF-1 存在下の estradiol (E2) の抑制作用には影響を及ぼさなかった、(3) FBS の作用および charcoal 処理血清あるいは FK 存在下の E2 の促進作用を消失させた。この FBS の作用の消失は Ad-CMV/Luc 感染によっても見られたが、Ad-emp 感染では見られなかったことから蛋白発現によることが示された。一方、基礎増殖の促進、および charcoal 処理血清あるいは FK 存在下の E2 の促進作用の消失は、Ad-CMV/Luc だけではなく Ad-emp 感染によっても見られたことから、アデノウイルス感染自身によることが示された。以上の結果より、PRL 細胞の増殖に対してアデノウイルスベクターは増殖刺激依存性に重大な影響を及ぼすことが明らかとなった。

36. エストロジェンの摂食量抑制作用

岡本修一, 清水真紀, 成田和巳, 市丸 徹, 村田拓也, 樋口 隆 (福井大学医学部統合生理学)

エストロジェンには摂食量を抑制し、自発運動量を増加させる作用がある。ラットは性周期に伴う摂食量と自発運動量の周期的変動を示し、エストロジェンの血中濃度の上昇が、最大の摂食量と最小の自発運動量をもたらす。このことは、卵巣を摘出したラットに、エストロジェンを補充する実験によっても確かめられている。このエストロジェンの作用機構は、十分には明らかでないが、摂食量の調節に関しては、コレシストキニン (CCK) の摂食抑制作用を増強するという説が有力である。この説に対する反論があるので、本実験では、CCK の摂食抑制作用を仲介する CCKA 受容体を欠いた Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) ラットを用いて、エストロジェンの摂食抑制作用が CCK を介するの否かを検討した。OLETF ラットとその対照群の Long-Evans Tokushima Otsuka (LETO) ラットを、大塚製薬徳島研究所から提供を受けた。規則的な4日の性周期を示す OLETF ラットと LETO ラットは、発情期に摂食量が減少し、行動量測定装置で調べた自発運動量が増加した。エーテル麻酔下で卵巣を摘出すると、OLETF ラット、LETO ラットともに、摂食量の増加と自発運動量の減少がみられた。卵巣摘出ラットに、エストラジオールベンゾエイト ($20\mu\text{g}$) を投与すると、摂食量の減少と自発運動量の増加が観察された。本実験の結果は、エストロジェンの摂食量抑制作用は CCK を介する、という説を支持しない。以前の実験結果との差が生じた原因は明らかでないが、最近、エストロジェンは、視床下部弓状核に存在して、エネルギー代謝を調節している、ニューロペプチド Y 神経系 (摂食促進系) とプロオピオメラノコルチン神経系 (摂食抑制系) に直接作用するという報告がなされている。今後はエストロジェンの摂食量抑制作用と

自発運動促進作用が、脳のどの部位で、どのような機構で発現するのかを検討していきたい。

37. マウスにおける高脂肪食の体内リズムに与える影響

向坂 彰^{1,2}, 前田正信¹, J. Bass² (¹和歌山県立医科大学医学部生理学第二講座, ²ノースウェスタン大学神経生物学・生理学部)

分子生物学的手法の進歩は、哺乳類において時計遺伝子群からなる分子時計のしくみを解明してきた。近年、この分子時計が、単に概日リズムを刻むためだけに存在するのではなく、体内時計とは一見関係がないように思われる様々な生理機能をも制御することが明らかになってきた。特に、糖・脂質代謝を含めたエネルギー調節における時計遺伝子の役割の発見は、この領域における大きな進歩と言える。最近になって、分子時計と代謝それぞれに関わる転写因子間に相互作用があることが次々と報告され、この事実は、エネルギー代謝に変化が起きると体内リズムも変化するを示唆してきた。しかしながら、代謝の変化が実際にどのように体内時計のシステムに影響を与えるかは未だに明確ではない。そこで、我々は、マウスに高脂肪食を与えて、代謝異常が生じる過程での体内リズムの変化について、行動生理学的に、そして分子生物学的に検討した。まず、恒暗条件および明暗条件下で高脂肪食が行動リズムに与える影響を調べた。興味あることに、恒暗条件下での高脂肪食はマウスの概日周期を著明に延長した。また、明暗条件下において、高脂肪食は行動リズム、特に摂食行動のリズム振幅を著明に減少させた。さらに、高脂肪食による行動リズムの変化を分子生物学的に検討するために、代謝に関連した組織内の時計遺伝子、および代謝を制御する分子の日内リズムを調べた。その結果、高脂肪食群における視床下部の摂食調節神経ペプチド、および肝、脂肪組織の時計遺伝子は、対象群に比べてリズム振幅が著しく減弱あるいは消失していた。以上の結果から、高脂肪食による生体内のエネルギー調節機構の変化は、体内リズムを分子レベルおよび行動生理学的レベルで変化させることが示唆された。

38. 胃酸分泌刺激に伴う細管小胞膜の胃プロトンポンプ活性変化のメカニズム

高橋佑司¹, 降矢裕史¹, 田淵圭章², 五十里 彰³, 坂本尚登⁴, 内藤一郎⁵, 真鍋康二⁵, 内田信一⁶, 佐々木成⁶, 浅野真司⁷, 森井孫俊¹, 竹口紀見¹, 酒井秀紀¹ (¹富山大学大学院医学薬学研究部薬物生理学, ²富山大学生命科学先端研究センター, ³静岡県立大学薬学部, ⁴北里大学

医学部, ⁵重井医学研究所, ⁶東京医科歯科大学大学院, ⁷立命館大学情報理工学部)

胃酸分泌細胞において酸分泌刺激に伴い胃 H⁺, K⁺-ATPase に富む細管小胞膜が分泌側膜につながると考えられている。本研究では、刺激時ブタ胃細管小胞由来のベシクル (TV-S) と休止時ブタ胃細管小胞由来のベシクル (TV-R) を用いて、酸分泌刺激時と休止時における胃 H⁺, K⁺-ATPase の性質の違いと、さらに CLC-5 との関連性を検討した。

H⁺取り込み活性, H⁺, K⁺-ATPase 活性(H⁺, K⁺-ATPase 特異的阻害剤 SCH 28080 感受性 K⁺-ATPase 活性)を測定した。ベシクルを 1% CHAPS で処理後、不溶性画分 (DRM) の分離を行い、H⁺, K⁺-ATPase と CLC-5 の分布を脂質ラフトマーカー flotillin-2 の分布と比較した。

TV-S における H⁺, K⁺-ATPase 活性は TV-R の 1.4 倍であった。H⁺取り込み活性におけるアニオン選択性は TV-S では NO₃⁻>Cl⁻>Br⁻>gluconate であり、CLC-5 の場合と一致していた。CLC-5 と H⁺, K⁺-ATPase はほとんどが共に DRM に分布していた。H⁺, K⁺-ATPase 活性は、Methyl-β-cyclodextrin 処理により減少し、水溶性コレステロール添加により回復した。以上より、胃細管小胞膜において CLC-5 は、H⁺, K⁺-ATPase と同様に脂質ラフトに存在し、酸分泌刺激によりアニオン透過性が増大し、H⁺, K⁺-ATPase の活性化に関与しているものと考えられた。

P-01. 酸感受性外向整流性クロライドチャンネルの温度感受性とその役割

沼田朋大, 岡田泰伸 (生理学研究所機能協同)

最近、細胞外の酸で活性化されるアニオンチャンネルが様々な種類の細胞で見つかってきている。しかしながら、この酸感受性外向整流性アニオンチャンネル (ASOR: Acid-Sensitive Outward Rectifier) の生理的な役割については、いまだ不明である。ホールセルモードパッチクランプ法を適用してヒト上皮株 HeLa 細胞を pH 5.0 以下の溶液に曝すと、アニオン選択的な外向整流性の電流が見出された。この酸感受性外向整流性チャンネル電流は、低フィールドアニオン選択性を持ち、DIDS, フロレチンに感受性を示した。種々の細胞に発現する ASOR の pH 依存性の EC₅₀ は、室温 (22°C) で pH 4.5 と低いために、その役割は現在まで不明であったが、バス液の温度を 37°C に上げると ASOR の pH 依存性の EC₅₀ が pH 5.4 となり、生体内における病的な状況で機能する可能性が示唆された。pH 4.5 の酸性条件化において、細胞死の検出を PI 染色/ヘキスト染色にて行ったところ、PI 陽性細胞の数の増大が見られた。さらにカスパーゼ 3 の活性がないことや核の凝縮が見られないことが

ら、酸誘導性細胞死はネクローシス死であることが分かった。この pH 4.5 の酸誘導性細胞死は、ASOR 電流を阻害した DIDS 又はフロレチンの添加によって救済された。さらに、ASOR の活性を 20°C で抑制しておくこと、pH 5.0 の酸誘導性細胞死が救済された。以上により、ASOR 活性化は、ヒト上皮株 HeLa 細胞においてネクローシス性細胞死誘導に関与すること、そして DIDS、フロレチン又は低温により ASOR を抑制することで酸誘導性の細胞死が救済されること、本研究により明らかとなった。

P-02. 三環系抗うつ薬 Nortriptyline によるアストロサイト内向き整流性 Kir 4.1 チャネル阻害の分子機構

古谷和春¹、大野行弘^{1,2}、日比野 浩¹、稲野辺 厚¹、倉智嘉久¹ (¹大阪大学大学院医学系研究科分子細胞薬理講座、²大阪薬科大学薬学部薬品作用解析)

三環系抗うつ薬 (TCAs) 及び選択的セロトニン再取り込み阻害薬 (SSRIs) はうつ病の治療薬として汎用されている。近年我々は、代表的な TCAs 及び SSRIs がアストロサイト特異的に発現し、K⁺緩衝作用を担う内向き整流性 K⁺(Kir) チャネル Kir 4.1 を選択的に阻害することを示してきた。これまでの電気生理学的解析により、TCAs である Nortriptyline は Kir 4.1 のポア内に結合し、K⁺電流を阻害することが示唆されているが、未だ詳細な作用機序は不明である。

今回我々はチャネルと阻害薬の構造的な相互作用を理解するため、Kir 4.1 の一部をその他の Kir サブファミリーと置換したキメラチャネル、及びポア領域のアラニンスキャンニング点変異チャネルを作成し、それら変異体チャネルへの薬物効果を電気生理学的手法により解析した。

[結果](1) Nortriptyline は Kir 4.1 のポア領域を保持するキメラチャネルのみを選択的に阻害した。(2) Nortriptyline の Kir 4.1 に対する阻害作用は、T128、Q150、L151 及び E158 をアラニンに置換することで著しく減弱した。(3) アラニンスキャンニングの結果に基づき、Shaker の結晶構造を鋳型にした Kir 4.1 チャネルポアのホモロジーモデルによるドッキングシミュレーションを行なったところ、Kir 4.1 の膜貫通領域である TM2 ドメインのポア親水性部分に面している T128、E158 が Nortriptyline との結合に直接関与することが示唆された。

[結語]今回、Kir 4.1 チャネルの TCA による阻害機構を構造的に理解することができた。阻害機構の構造—活性相関の解明は、選択性と阻害作用の強い薬物の論理的ドラッグデザインを可能にし、Kir 4.1 チャネルの生理機能及び病態への関与と解明のための有効なツールの開発に繋がる可能性がある。

P-03. 経皮的内耳電気刺激は姿勢・重力変化時のヒト動脈血圧応答を減弱する

田中邦彦、安部 力、粟津ちひろ、森田啓之 (岐阜大学大学院医学系研究科神経統御学講座生理学分野)

ヒト姿勢・重力変化時の内耳前庭系—動脈圧調節系を経皮的内耳電気刺激 (galvanic vestibular stimulation, GVS) を用いて検証した。

12 人の健康被検者で仰臥位から 60° 頭高位への姿勢変化 (HUT)、仰臥位での下半身陰圧負荷 (LBNP)、7 人についてパラボリックフライト時、GVS (on) または GVS (off) それぞれの状態では AP と、体液シフトの指標として右腓腹筋周囲径を計測した。LBNP の負荷圧は腓腹筋周囲径が HUT 時と同等になる圧に設定した。HUT-GVS (off) では AP は維持されていたが、HUT-GVS (on) では仰臥位に比較して有意に低下した。LBNP では GVS の有無に関わらず HUT-GVS (on) 同様の AP 低下を認めた。腓腹筋周囲径はいずれの条件下でも同等であった。パラボリックフライトでは 2G 状態で、1G 状態に比較して有意に AP 上昇を認めた。この上昇は GVS によって有意に抑制された。これらの結果から GVS はヒトにおける内耳—動脈血圧調節系の研究に有用であること、重力の大きさ・方向変化時の動脈血圧調節に内耳前庭系が重要な役割を果たしていることが考えられた。

P-04. Leukotrienes and cyclooxygenase products mediate anaphylactic venoconstriction in ovalbumin sensitized rat livers

S. Cui, T. Shibamoto, H. Takano, W. Zhang, Y. Kurata (Department of Physiology II, Kanazawa Medical University)

We determined the chemical mediators responsible for anaphylaxis-induced segmental venoconstriction in perfused livers isolated from ovalbumin-sensitized rats. Livers were perfused portally at constant flow with blood. The portal venous pressure (Ppv), hepatic venous pressure (Phv), liver weight and hepatic oxygen consumption were continuously measured. The sinusoidal pressure was measured by the double occlusion pressure (Pdo) for determining the pre-sinusoidal (Rpre) and post-sinusoidal (Rpost) resistances. Antigen injection caused 5.6- and 1.6-fold increases in Rpre and Rpost, respectively. Liver weight showed a biphasic change of an initial decrease followed by an increase. Hepatic oxygen consumption significantly decreased after antigen. Anaphylaxis-induced in-

crease in Rpre was most extensively inhibited by 38.6% by pretreatment with ONO-1078 (100 μ M, a cysteinyl leukotriene receptor-1 antagonist), among all antagonists or inhibitors administered individually including TCV-309 (20 μ M), AA-2414 (10 μ M), ketanserin (10 μ M) and indomethacin (10 μ M). Combined pretreatment with indomethacin and ONO-1078 exerted additive inhibitory effects and attenuated Rpre by 65.8%. However, TCV-309, a platelet activating factor (PAF) receptor antagonist, did not affect the anaphylactic response. In contrast, anaphylaxis-induced increase in Rpost was attenuated only by ONO-1078 combined pretreatment. The antigen-induced changes in liver weight and hepatic oxygen consumption were attenuated significantly when hepatic venoconstriction was attenuated. In conclusion, cysteinyl leukotrienes and cyclooxygenase products, but not PAF, are mainly involved in anaphylaxis-induced pre-sinusoidal constriction in isolated perfused rat livers.

P-05. 無麻酔ラットのアナフィラキシー低血圧における一酸化窒素の役割

張 偉, 芝本利重, 崔 森, 高野博充, 倉田康孝 (金沢医科大学生理機能制御学)

【目的】アナフィラキシーショックの血圧低下機序は不明である。無麻酔マウスのアナフィラキシーショックでは誘導型 (iNOS) ではなく内皮型一酸化窒素 (NO) 合成酵素阻害が血圧低下と生存率を改善し, NO の関与を示唆した (J Clin Invest, 2006)。しかし, 麻酔ラットでは NO 合成阻害は血圧低下を抑制するが生存率を低下させるとの報告がある。この差異が麻酔の影響によるか, 無麻酔ラットで eNOS と iNOS の関与を検討した。

【方法】卵白アルブミンで感作 2 週間後に無麻酔で体血圧 (Psa), 門脈圧 (Ppv), 心拍数を測定した。eNOS と iNOS の阻害剤である, L-NAME と aminoguanidine (AG) を前処置後に抗原を投与してアナフィラキシー低血圧を惹起した。

【結果】対照群では抗原投与後 Psa は 70mmHg に低下し, Ppv は 32cmH₂O に上昇した。L-NAME 投与は Psa を 36mmHg 上昇させた。その分, 抗原投与後の Psa 低下は有意に抑制された。AG 群の Psa 低下は対照群と有意差はなかった。48 時間後の生存率は対照群が 100%, L-NAME 群は 14%, AG 群は 71% であった。

【結論】無麻酔ラットアナフィラキシーの血圧低下に eNOS は関与し, iNOS は関与しないことが示唆された。eNOS を阻害しても生存率は低下し, NO の関与はラット

ではマウスと異なることが示唆された。

P-06. 細胞外 Na⁺濃度変動に対する培養マウス心筋細胞の応答

吉田 繁, 郷原友哉, 横田亜悠美, 萩原史記, 横井佐代子 (近畿大学理工学部生命科学科)

背景: [Na⁺]_o を測定することなく心房性ナトリウム利尿ペプチド (atrial natriuretic peptide: ANP) を分泌しているという定説に疑問を持ち, 手始めとして [Na⁺]_o 変動に対する心筋細胞応答を調べた。

方法: 胎生 17 日~18 日または生直後マウスから初代培養した心筋細胞を用いた。心筋の拍動様式は家庭用ビデオで記録し, 細胞内の Na⁺ と Ca²⁺ 濃度 ([Na⁺]_i および [Ca²⁺]_i) 変化はイオン感受性蛍光色素 (SBFI/AM・Fura-2/AM) を使用して浜松ホトニクス製画像解析装置 ARGUS-50 で観察した。

結果: 1) Na⁺ 濃度を増加 (140→190mM) させると拍動数に有意な変化は生じなかったが拍動リズムは可逆的に不整となった。この時, [Na⁺]_i と [Ca²⁺]_i は上昇していた。

2) 増加 Na⁺ の代わりに mannitol で同等浸透圧調整した溶液を灌流しても, 拍動と細胞内イオンに有意な変化は生じなかった。

3) Na⁺ ionophore である monensin (10 μ M) 投与では, [Na⁺]_i と [Ca²⁺]_i の上昇と共に心筋細胞が観察された。

結論: [Na⁺]_o と心筋の機能を更に調べるために, 活動電位・収縮力・ANP 分泌を測定する予定である。

P-07. 洞結節細胞の分岐構造における結節内部位差: 辺縁部細胞自動能の発現・維持における Na⁺チャネル電流の役割

○倉田康孝¹, 松田裕之², 久留一郎³, 芝本利重¹ (¹金沢医科大学生理機能制御学, ²京都大学細胞・生体機能シミュレーションプロジェクト, ³鳥取大学大学院医学系研究科機能再生医科学)

洞結節中心部及び辺縁部細胞モデルの分岐構造を比較解析し, 自動能の発生機序及び構造安定性における結節内部位差 (特に Na⁺チャネル電流 I_{Na} の役割) を検証した。中心部及び辺縁部細胞モデルの平衡点とダイナミクスのパラメータ依存性変化を示す分岐図を作成し, 各電流系の抑制または過分極負荷における分岐構造を解析した。両細胞において L 型 Ca²⁺チャネル電流 (I_{Ca, L}) 抑制により平衡点は安定化し自動能は停止した (I_{Na} 除去では停止しなかった)。過分極通電における中心部細胞の自動能出現領域は I_{Ca, L} 抑制により消失したが, 辺縁部細胞では消失しなかった (I_{Na} 抑制により消失)。過分極負荷における自動能

消失の臨界値は、中心部に比べ辺縁部の方が高値であり、辺縁部の臨界値はINa抑制により劇的に減少した。過分極負荷時の辺縁部細胞自動能はICa、L除去では停止せず、INa抑制で停止した。以上の結果から以下の結論を得た：1) 正常自動能は部位によらずICa、L依存性であるが、過分極状態の辺縁部細胞ではINa依存性となり得る。2) 過分極負荷に対する構造安定性は辺縁部細胞の方が高く、INaが構造安定性強化に寄与している。

P-08. 心筋Na⁺/K⁺ポンプ機能低下時のイオン・エネルギー恒常性とフィードバック機構、モデル考察

岡 千晶^{1,2}, B. Korzeniewski^{1,2,3}, 松岡 達^{1,2}, 野間昭典^{1,2} (1)京都大学細胞生体機能シミュレーションプロジェクト, (2)京都大学大学院医学系研究科細胞機能制御学, (3)Jagiellonian University, Poland)

心筋Na⁺/K⁺ポンプは細胞内[Ca²⁺]_i([Ca²⁺]_i)・pH調節、収縮機能の維持に欠かせない。ATP加水分解エネルギーを駆動力とするため、エネルギー枯渇時はイオン輸送能が低下し、恒常性が破綻すると推察される。しかし、恒常性破綻機序の解明には、イオンフラックスバランス、ATP産生・消費バランスの考慮が不可欠である。本研究は、Jansenら(Am J Physiol, 2003, H2437-)のランゲンドルフ灌流心を使った実験所見をコンピュータ上で再現し、エネルギー低下時の恒常性破綻機序解明を試みた。ミトコンドリアATP産生能を低下させると、実験同様、Na⁺/K⁺ポンプのNa⁺排出能が减弱し、[Na⁺]_iが増加した。[Na⁺]_i増加はNa⁺/Ca²⁺交換体(NCX)によるCa²⁺排出を抑制し、[Ca²⁺]_iも増加した。最後にはNCXの逆転電位が静止膜電位を下回り、イオン恒常性は破綻した。破綻までの間に[Na⁺]_iと[Ca²⁺]_i上昇に起因する3つのプロセスの存在が特定できた。(1)Ca²⁺活性型非選択性陽イオン電流によるNa⁺流入増加、(2)活動電位の形状変化に起因するL型Ca²⁺チャネル電流によるCa²⁺流入増加、(3)収縮要素とCa²⁺ポンプによるATP消費増加、であった。シミュレーション解析は、これらのプロセスが恒常性破綻の成否を決定する重要な因子であることを示した。

P-09. PSD-95 パルミトイル化酵素によるAMPA受容体の動態制御機構

深田正紀^{1,2}, 則竹 淳¹, 堤 良平¹, 深田優子¹ (1)自然科学研究機構生理学研究所細胞器研究系生体膜研究部門, (2)科学技術振興機構さきがけ)

パルミトイル化修飾は多くのシグナリング蛋白質や膜蛋白質にみられる代表的な脂質修飾であり、蛋白質を特定の膜マイクロドメインに輸送し、その活性や機能を制御する。

パルミトイル化は他の脂質修飾とは異なり可逆的であり外界刺激に反応して蛋白質の局在、機能を規定し、リン酸化やユビキチン化修飾と同様に様々な細胞機能をダイナミックに制御している。例えばイオンチャンネル型受容体を神経シナプス後膜に集積させる足場蛋白質PSD-95はパルミトイル化依存性にシナプス後膜に濃縮し、シナプス機能を調節している。最近、私どもはPSD-95を特異的にパルミトイル化する酵素(P-PATと命名)を同定し、P-PATがPSD-95のパルミトイル化を介してシナプス機能を制御することを見出した。しかし、パルミトイル化反応の制御メカニズムは未だ全く不明である。今回、私どもはP-PATの活性が外界刺激(神経活動)によりどのように調節されているかを検討した。まず、[³H]パルミチン酸を用いた代謝ラベリング法とABE(Acyl-Biotin-Exchange)法を用いて神経細胞におけるPSD-95のパルミトイル化状態の変動を生化学的に測定した。海馬培養神経細胞をグルタミン酸受容体の阻害剤で処理したところ、PSD-95のパルミトイル化レベルが著しく増加した。このPSD-95のパルミトイル化レベルの上昇はP-PATのドミナントネガティブ変異体により阻害された。さらに、全反射顕微鏡を用いてパルミトイル化修飾を受けたPSD-95を特異的に可視化すると、グルタミン酸受容体の阻害により膜近傍に存在するパルミトイル化PSD-95の輝度および数が増加することが明らかになった。この増加はP-PATのドミナントネガティブ変異体により抑制された。以上の結果から、P-PATの活性はグルタミン酸受容体の下流で負に制御されていることが示唆された。現在、P-PATの活性がどのようにグルタミン酸受容体の下流で制御されているかを解析している。

P-10. 後肢鍼刺激によって誘発される心拍数低下反応の神経性機序

鈴木敦子¹, 志村まゆら¹, 大沢秀雄², 内田さえ³ (1)健康科学大学生理学, (2)筑波技術大学保健科学部, (3)東京都老人総合研究所自律神経部門)

臨床的に鍼が心拍数を低下させることが知られているが、その神経性機序については結論が一定しない。今回、我々は鍼刺激によって誘発される心拍数低下反応の求心性および遠心性神経機序を、麻酔して情動の影響を除いたラットを用いて調べた。直径0.34mmの鍼を後肢(下腿)の皮膚および皮下の筋に約5mm刺入して、約2Hzの頻度で1分間、左右に回転させたところ、心拍数は低下した(刺激終了時において約30beats/min低下)。この反応の求心路を検討するため、刺激側の大腿神経および坐骨神経を切断したところ、鍼刺激による徐脈反応は完全に消失した。また、刺激部位の皮膚と筋を分離し筋のみへ鍼刺激を加える

と、心拍数は皮膚と筋の両方を刺激したときと同程度低下したが、皮膚のみへの刺激は効果がなかった。次に、この鍼刺激による徐脈反応の遠心路を検討したところ、この反応は、両側の迷走神経を頸部で切断しても有意な影響を受けなかったが、両側の星状神経節を除去すると消失した。さらに心臓交感神経の遠心性活動を記録したところ、神経活動は鍼刺激により減少し、刺激終了時には刺激前の約70%にまで低下した。以上の結果から、後肢の鍼刺激は、筋からの求心性神経を求心路とし、心臓交感神経を遠心路として、反射性に心拍数を低下させることが示された。

P-11. 食物嫌悪学習の成立に対する条件刺激の優先性と獲得条件

碓 哲崇¹、坂井信之²、勝川秀夫¹、杉村忠敬¹ (朝日大学歯学部口腔機能修復学講座口腔生理学分野、²神戸松蔭女子学院大学人間科学部生活科学科)

摂取する溶液の味質を条件刺激、その直後の内蔵不快感を無条件刺激としてラットに提示すると、その味質を嫌悪する学習を獲得する(味覚嫌悪学習)。本研究では、食物の物理学的刺激(硬さ・温度)を条件刺激として提示した場合にも嫌悪学習が成立するの否かを調べた。さらに、条件刺激として、化学的刺激と物理的刺激の複合刺激を与えた場合に、動物がどの刺激を優先させて嫌悪学習を発現するのかを行動学的手法により調べるとともに、この学習に関与する末梢神経および脳部位を、神経切断実験および脳局所破壊実験を行って調べた。その結果、(1)味覚を条件刺激とした場合と同様に、食物の温度や硬さを条件刺激とした場合にも、ラットは食物嫌悪学習を獲得する。(2)化学的刺激と物理的刺激の複合刺激を条件刺激として提示した場合には、化学的刺激を優先した嫌悪学習を獲得する。(3)食物嫌悪学習の獲得には味覚神経(鼓索神経および舌咽神経)は、必ずしも必要としない。(4)化学的刺激・物理的刺激のいずれを条件刺激とした場合にも、嫌悪学習の獲得には、扁桃体が必要であること、などを明らかにした。

P-12. 1年間の高脂肪食と自発運動でラットの内臓脂肪はどうか

青木貴子(岐阜市立女子短期大学食物栄養学科)

生後9週齢のウィスター系雄ラットを約1年間飼育した。一般網ケージで飼育した物を非運動群、回転車輪つきケージで飼育した物を運動群とし、飼料は普通食と高脂肪食との2種類とした。

13月齢の体重(g, 平均±SEM)は非運動・高脂肪食群(sf群, n=10) 697±25, 非運動・普通食群(sc群, n=9) 640±19, 運動・高脂肪食群(ef群, n=10) 540±35, 運動・

普通食群(ec群, n=9) 486±16だった。運動群より非運動群のほうが、また普通食群より高脂肪食群のほうが、重かった。飼料の差よりも運動群かどうかの差のほうが大きかった。

摂取エネルギー量(kcal/日)は運動群のほうが少なかった。飼料による差はなかった。

59週齢から61週齢の間にラットを解剖して、腸間膜・大網の重量を測定した。体重に対する割合(%)はsf群 2.92±0.14, sc群 2.69±0.16, ef群 1.80±0.21, ec群 1.23±0.11で、sc群よりef群のほうが少なかった。体重・摂取エネルギー量とは正の相関があり、運動量とは負の相関があった。運動群のうち、非運動群の最小値1.97%より多かったものは4匹で、それらの運動量は200m/日未満だった。

ラットの内臓脂肪を増やさないためには、飼料の脂肪を減らすことよりも運動できる環境を整えることのほうが有効であることがわかった。

P-13. 雌性外生殖器リモデリングにおける軸索ガイダンス分子セマフォリンの新規作用機構の解析

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

マウスは5週齢で皮膚近傍の膈末端部にアポトーシスが誘導される結果、膈腔が皮膚に貫通し(膈開口)、生殖器発達が完成する。しかし、この生後の組織リモデリング現象において、アポトーシス誘導のメカニズムの詳細は不明である。セマフォリン分子群に属するセマフォリン4D(Sema4D)の欠損マウスでは、膈開口が起らず膈閉鎖が発生することが判明した。セマフォリン(Semas)は従来、神経成長円錐の伸長方向を決める軸索ガイダンス分子として同定されてきた分子群である。5週齢マウス膈末端部の膈上皮で検出されるアポトーシス細胞が、膈閉鎖を有する同週齢Sema4D欠損マウスで顕著に減少していることが判った。Sema4Dのアポトーシス誘導作用を証明するため、Sema4D欠損マウス由来の培養膈上皮細胞にレコンビナントSema4Dを添加するとアポトーシス細胞が有意に増加することが判明した。従ってSema4Dはマウス膈上皮にアポトーシスを誘導し生後の組織リモデリング現象にnon-redundantな役割を担うことが示唆された。

P-14. 細胞内 A β は、大脳皮質錐体細胞において BK チャンネルを抑制し Ca²⁺流入を促進する

山本兼司^{1,2}, 植田禎史², 山本 亮², 加藤伸郎² (1 国立病院機構宇多野病院神経内科, 2 金沢医科大学生理機能制御学)

アルツハイマー病 (AD) では、細胞外で蓄積したアミロイド β (A β) の作用によって、海馬及び大脳皮質錐体細胞におけるシナプス伝達抑制や細胞内 Ca²⁺増加等の機能異常が生じる。しかし、近年の報告によれば、AD 初期では細胞内で増加した A β がシナプス伝達異常や認知機能障害を生ずることが示唆されている。本研究では、細胞内 A β が細胞内 Ca²⁺動態や膜興奮性に及ぼす影響を調べたため、ラット大脳皮質錐体細胞にパッチピペットより A β を細胞内投与した後に全細胞記録を施行し、同時にフォトマルチプライヤーにて活動電位誘発性 Ca²⁺増加を測定した。活動電位誘発性 Ca²⁺増加は A β 細胞内投与により増強した。この増強は、BK チャンネル (large conductance Ca²⁺ Activated K⁺ channel) が抑制されスパイク幅が広がることによって、電位依存性 Ca²⁺チャンネルからの Ca²⁺流入が増加した結果生ずることがわかった。細胞内 A β は、錐体細胞発火時の再分極を抑制し、細胞内への Ca²⁺流入を増加させることにより、AD 初期のシナプス伝達異常や神経変性過程のトリガーとなる可能性が推察された。

P-15. 母体の体位変換に伴う胎児の動きの解析

清水 強¹, 三木猛生², 阿部詩織³, 伊東千香³, 酒井百世⁴, 上條かほり⁵, 吉川文彦⁵, 浜 正子⁶, 山崎将生⁷, 扶間章博⁷, 根津八紘⁵ (1 諏訪マタニティークリニック附属清水宇宙生理学研究所, 2 北里大医衛生公衆衛生, 3 諏訪マタニティークリニック放射線部, 4 同 臨床検査部, 5 同産科・婦人科, 6 同 看護部, 7 公立学校法人福島県立医大医細胞統合生理学)

人類の宇宙進出の夢が現実となった 20 世紀後半に続いて 21 世紀には、人類は更なる集団として地球周囲の近宇宙を遙かに超えて進出して行き、再び月へ更には火星へと、そこでの居住を目指す計画も具体化しつつある。こうしてひとが集団として新たな環境で長期に亘り暮すとすると、そこでの平和社会を建設するためにはセクシュアリティの問題の検討が必須となる。そこで、われわれは数年前から宇宙開発に伴うセクシュアリティの科学的研究の必要性を提唱すると共に、就中その生殖機能への微小重力の影響について考察を重ねてきた。その研究の一つの糸口として地上での胎児に対する重力の影響について検討し始め、まず、母体の体位変換に伴う胎児の子宮内位置の変化を観察することを試みた。事前承諾を得られた妊娠 12~15 週の妊

婦で 3 次元動画画像超音波検査装置と 2 次元解析ソフトを用いて、母体を受動的に立位から仰臥位に体位変換させ、子宮壁と胎児の各々に想定した直線のなす相対角度の継時的変化を求めた。その結果、胎児は必ずしも母体の体位変換に伴う子宮の動きには追従せず、ある程度独立した体位をとる傾向がみられた妊娠 3 ヶ月前後では胎児は羊水中で浮力による緩衝と共に重力に対して一定の位置を保とうとするかにみえる。宇宙では胎児の重力に対するこうした傾向の欠如から発達への影響がでるかもしれない。今後の多くの研究者による更なる追求が待たれる。

P-16. ヒト胃ガン細胞におけるアクアポリン-5 の生理機能

酒井秀紀¹, 藤井拓人¹, 渡邊智子², 藤田達磨¹, 高橋佑司¹, 森井孫俊¹, 堀川直樹², 塚田一博², 竹口紀晃¹ (1 富山大学大学院医学薬学研究部, 2 同 薬物生理学, 3 同 医第二外科)

本研究では、ヒト胃ガン組織および近傍の正常組織におけるアクアポリン (AQP3, AQP4 および AQP5) の発現について調べ、AQP5 のヒト胃ガン細胞株における機能について検討した。ヒト胃組織は、当大学倫理委員会の承認のもと、当大学附属病院で胃ガン摘出手術を受ける患者のインフォームドコンセントを得て入手した。ヒト AQP5 をエンコードする全長 cDNA を pcDNA4/His ベクターに組み込み、ヒト低分化型胃ガン由来細胞株 (MKN45) にトランスフェクトした。胃上部あるいは中部のヒト胃ガン組織および近傍の正常粘膜組織における AQP3, AQP4 および AQP5 タンパク質の発現量を検討したところ、興味深いことに AQP5 が intestinal type の胃ガン組織において顕著に発現上昇していることを見出した。一方 AQP3 および AQP4 についてはガン組織における有意な発現は見られなかった。MKN45 細胞に AQP5 を強制発現させると形態的に分化した細胞数が有意に増加した。AQP5 の発現により、alkaline phosphatase 活性の上昇およびラミニン発現量の増大が引き起こされた。この AQP5 発現細胞の細胞分化は HgCl₂ 処理により濃度依存的に阻害されたが、AQP5 発現細胞の分化は、細胞外溶液の浸透圧に依存しており、高張条件下の場合に分化がより促進された。以上の結果から AQP5 はヒト胃ガン組織において、ガン細胞の分化機構に関与しているものと考えられた。

P-17. モルモット胃輪走平滑筋における自発活動頻度の部位による差異

早瀬麻沙, 鬼頭佳彦, 橋谷 光, 鈴木 光 (名古屋市立大学大学院医学研究科細胞生理学)

モルモット胃平滑筋は、平滑筋の間に分布するカハールの介在細胞 (ICC) で発生する電位を起源とする緩電位 (slow wave) を律動的に発生しており、ICC-IM と ICC-MY の2つの亜型が関与している。緩電位は胃体部から幽門部に分布する輪走平滑筋から記録でき、その発生頻度は体部で最も高く、幽門部や噴門部にいくに従って低かった。これらの電気活動の部位差は ICC-IM の性質の違いによると思われたので、ICC-IM のみを含む輪走平滑筋を体部と幽門部から摘出し、両筋束から記録される緩電位の頻度の差異について比較検討した。体部と幽門部では平滑筋の静止膜電位に6~10mVの差 (体部-55~-62mV; 幽門部-60~-70mV) があったので、緩電位の頻度に及ぼす膜電位の効果を調べた。膜は外液カリウムイオン濃度(K濃度)を上昇させて脱分極させ、又は通電により脱分極あるいは過分極させた。体部平滑筋を過分極させると緩電位の頻度は低下し振幅は増大した。通電あるいはK濃度上昇により幽門部平滑筋を脱分極させると、いずれの方法でも緩電位の頻度は増加し振幅は減少した。しかし幽門部平滑筋の膜電位を体部平滑筋と同じレベルにしても、緩電位の頻度は幽門部のほうが有意に低かった。以上の結果から、モルモット胃平滑筋における緩電位の発生頻度には電位依存性があり、脱分極すると増加し過分極すると減少するが、静止膜電位の違いだけでは部位による頻度の差は説明できないことがわかった。

P-18. 心筋 KCNQ1 チャンネルと KCNE タンパク質の機能的会合

豊田 太, 丁 維光, 松浦 博 (滋賀医科大学医学部細胞機能生理学)

電位依存性 K^+ チャンネルの KCNQ1 は、KCNE1 と会合し心筋遅延整流性 K^+ 電流の遅い成分 (I_{Ks}) を構成する。一方、心臓には他の KCNE タンパク質も発現しており、KCNQ1 はこれらとも会合している可能性がある。本研究では KCNE タンパク質による心筋 KCNQ1 チャンネルの機能調節をパッチクランプ法により検討した。KCNQ1 を安定発現した CHO 細胞に KCNE1 を導入すると I_{Ks} と類似の電流が得られるが、KCNE2 や KCNE3 を導入すると常時活性化型の K^+ 電流が誘発した。そこで KCNE1 と KCNE2 を同時に導入すると、KCNQ1/KCNE1 電流とは異なる I_{Ks} 様の電流が記録された。一方 KCNE1 と KCNE3 を共発現すると KCNQ1/KCNE1 電流と KCNQ1/KCNE3 電流の両方が誘発した。このことから KCNE2 や KCNE3 は KCNE1 存在下でも KCNQ1 と会合できることが示唆された。次にモルモット心室筋細胞に RNA 干渉法を適用し、各 KCNE 遺伝子の発現抑制が電気活動におよぼす効果を検討した。

KCNE1 または KCNE2 を標的とした siRNA を導入すると I_{Ks} が 50-70% 抑制された。一方 KCNE3 のノックダウンは I_{Ks} に影響をおよぼすことなく活動電位の延長を引き起こした。これらの結果はモルモット心筋再分極過程に KCNE1 のみならず KCNE2 や KCNE3 も寄与する可能性を示唆している。

P-19. 魚類の視神経再生の評価法について

加藤 聖¹, 永島幹子², 郡山恵樹¹, 杉谷加代², 松川通¹ (¹金沢大学大学院医学系研究科脳情報分子学, ²金沢大学大学院医学系研究科保健学)

魚類 (金魚やゼブラフィッシュ) の視神経を切断すると切断端から軸索が再伸長し視蓋に再投射され、やがて視機能も回復する。金魚の視神経を切断して再生過程を種々の形態学的、生理学的、生化学的および行動学的方法で評価した。形態学的には、まず、網膜神経節細胞 (RGCs) の細胞体の大きさを調べた。切断後 RGCs の細胞体は徐々に肥大し、約4ヵ月で元に戻った。次いで、トレーサー WGA-HRP の眼球内注入による再生視神経の視蓋への投射について精査した。再生視神経は約1ヵ月で視蓋に到達したが、正確なトポグラフィックな投射の回復は4、5ヵ月を要した。電気生理学的には RGCs のスパイク活動について調べた。RGCs のスパイク活動は切断後5日で消失し、その後50~60日で回復し始め、完全な回復は4、5ヵ月と長期間を要した。生化学的には、再生初期、軸索伸長期、再生後期毎に別個に発現する分子について調べた。それぞれ再生期別の役割を果たしていた。行動学的には、魚の定位行動と追尾行動について調べた。前者は約1ヵ月で、後者は約6ヵ月で回復した。

以上の実験結果から、金魚の視神経は、約4~6週で視蓋に連絡し、5、6ヵ月でシナプス再編成が修了することが判明した。一方、ゼブラフィッシュの視神経再生は金魚の約半分3~4ヵ月で完了した。また、これら一連の長い再生過程とよく一致する発現を示す成長関連蛋白-43 (GAP-43) についても報告したい。

P-20. トリ大細胞核神経細胞における Na チャンネルの細胞内局在

久場博司^{1,2}, 福井 巖¹, 大森治紀¹ (¹京都大学大学院医学研究科神経生物学, ²京都大学大学院医学研究科生命科学系キャリアパス形成ユニット)

トリ大細胞核 (NM) は聴神経からの入力を受け、音の時間情報を左右の層状核に伝える中継核である。NM では音の周波数に対応した機能局在があり、情報は特徴周波数 (CF) 領域毎に処理される。NM 細胞は CF に応じたシナプ

スの形状と伝達特性をもつことにより、各CF領域において音の位相に対して正確に活動電位を発生することができる。高～中間CF領域の細胞では、少数の大型シナプス終末により、high fidelityな伝達が行われる。これに対して、低CF領域の細胞では、多数のブトン様シナプス終末の集積により、EPSPが加算され閾値に到達する過程で時間的にずれた入力が排除され、位相に同期した入力のみが活動電位を発生する。一方、活動電位を正確なタイミングで発生する上では、細胞内におけるNaチャンネルの分布が重要であることが予想される。従って、今回我々はNMの各CF領域毎にNaチャンネルの密度、細胞内局在を調べ、さらにこれらがNM細胞の時間情報処理においてどのような役割を果たすのかについて検討を行った。

NMの低CF領域では高～中間CF領域に比べて、Na電流の電流密度が高く、活動電位の振幅も大きかった。また、Naチャンネルに対する免疫染色によると、低CF領域の細胞では軸索起始部におけるNaチャンネル集積部位の長さやチャンネル密度が高～中間CF領域の細胞に比べて大きかった。そこで、計算ソフトNEURONを用いてその機能的意義を検討したところ、低CF領域においてNaチャンネル密度が高いことは多数の小さなシナプス入力が加算される過程で、細胞がNaチャンネルの不活性化とKチャンネルの活性化に抗して、正確なタイミングで活動電位を発生する上で重要であることが明らかとなった。

P-21. トリ層状核神経細胞における新たな抑制機構の解明

山田 玲, 奥田裕子, 西野恵里, 久場博司, 石井孝広, 大森治紀 (京都大学医学部神経生物学)

動物は両耳間時差 (ITD) を手がかりに音源定位を行う。ITD 検出は脳幹の神経細胞が両側蝸牛神経核からの興奮性シナプス入力の同時検出器として働くことにより行われる。鳥類では層状核 (NL) 神経細胞が、哺乳類では内側上オリブ核 (MSO) がその役割を担う。ITD 検出において抑制性入力が重要な働きを持つことが知られている。哺乳類のMSOではグリシン作動性の抑制性入力が興奮性入力に対して一定の時間差で入ることが必要とされる。鳥類のNLにおける抑制はGABA作動性であり、上オリブ核 (SON) が主な起源である。SON細胞は音圧情報を抽出する神経核からの入力を受け、音の強さに応じた抑制によりITD検出の精度を制御していると考えられているが、哺乳類のような時間情報を保持した抑制については知られていない。一方GABA作動性の介在神経細胞がNL周囲に存在することは知られているがその役割は不明である。今回の研究において鳥類のITD検出においても時間情報を保持

した抑制が働いている可能性が示唆されたので報告する。音の情報処理は特徴周波数 (CF) ごとに行われ、NL細胞もCF領域ごとに整列している。このうち尾外側の低いCF領域の細胞 (low-CF細胞) において観察されるmIPSCの時間経過が他の領域の細胞に比べて約4倍早いことが分かった。この違いはGABA_A受容体 $\alpha 1$ サブユニットの発現量の違いによると考えられた。また蝸牛神経核からの興奮性投射線維を電気刺激するとlow-CF細胞においてEPSCに数ms遅れてIPSCが観察され、さらにこのIPSCはSONを除去した標本でも観察された。このことは鳥類NLのlow-CF細胞において哺乳類と同様に時間情報を保持した抑制性入力が介在細胞を介して働いている可能性を示唆している。さらにこの抑制のITD検出における役割について検討した。

P-22. 大脳基底核疾患における視床下核-淡蒼球内節投射の重要性

橘 吉寿^{1,2}, 岩室宏一^{1,3}, 南部 篤^{1,2} (¹生理研生体システム, ²総研大生命科学, ³東京大院脳神経外科)

我々が日常おこなう合目的な行動は、大脳皮質と共に小脳・大脳基底核・視床といった皮質下構造の神経活動によって精緻に制御されている。なかでも、大脳基底核は、その機能異常によりパーキンソン病、ジストニアといった運動障害が惹起されることから、運動発現に深く関与すると考えられている。解剖学的に、大脳皮質に端を発する運動情報は、大脳基底核で情報処理された後、視床を介して、再度、大脳皮質に戻る事が知られている。この回路のなかで、淡蒼球内節は、大脳基底核の出力部に位置し、視床下核から興奮性入力を、また、線条体と淡蒼球外節から抑制性入力を受けることで、そのニューロン活動は巧妙に制御されている。これまで、大脳基底核疾患の運動障害に対する病態生理として、その本質的な要因を、淡蒼球内節ニューロンの発射頻度の増減に求める説と発射パターンの変化に求める説が提唱されてきた。今回、パーキンソン病モデルサルスの淡蒼球内節ニューロン活動を記録したところ、burstingやoscillationといった淡蒼球内節ニューロンの異常な活動パターンが観察され、また、これらの異常神経活動は、視床下核から淡蒼球内節への異常入力に由来するとの結果を得たので報告する。以上の生理学的研究から得られた実験結果は、大脳基底核疾患に対して、臨床で行われている視床下核高頻度刺激療法のような定位脳手術の作用メカニズムを説明しうるのかもしれない。

P-23. 追跡眼球運動の開始部における注意の効果

三浦健一郎^{1,2}, 青木佑紀^{1,3}, 田端宏充², 河野憲二²

(¹京都大学ナノメディシン融合教育ユニット, ²京都大学大学院医学研究科認知行動脳科学, ³奈良先端科学技術大学院大学)

本研究では、対象物に向ける注意が追跡眼球運動の開始部に及ぼす影響を調べるために、ヒト被験者が視標を追跡する時の眼球運動を Dual Purkinje Image Eye Tracker を用いて計測した。各試行は眼前の CRT モニタ中央に呈示された注視点を見ることで開始された。被験者が注視点を固視した後、注視点の左右に二つの小さなランダムドットパッチと画面中央に小さな矢印型のキューが呈示された (0.5-1s)。矢印型のキューは追跡すべき視標がどちらのパッチかを示していた。その後、注視点とキュー、一方のパッチが消え、残りのパッチが右か左に動いた。被験者はキューが示すパッチに注意を向け、注視点が消えた後すばやく追跡するように指示された。また、キューの形状が菱形で、視標となるパッチが動き出すまで特定できない試行 (コントロール条件) も用意し、その時の眼球運動も記録した。視標が動き始めてから 100ms 後から 70ms 間に起こった眼位の変化を調べた結果、視標が中心に向かって動く場合には矢印型のキューが呈示された条件での眼位の変化がコントロール条件で起こったものに比べて有意に大きいことがわかった。一方で視標が中心から離れる方向に動く時には同程度かやや小さいという結果を得た。この結果は、追跡眼球運動開始時の視覚運動変換のゲインが対象物に向ける注意によって方向特異的に増大したことを示唆する。

P-24. 網膜における V-ATPase の組織化学的局在：プロトンによるフィードバック仮説を支持する根拠

城宝 浩^{1,2}, 中野健二¹, 石川修司¹, 佐野孝一¹, 宍戸隆男¹, 山本一徳², 金子章道³, 山田雅弘² (¹アステラス製薬安全性研究所, ²首都大学東京大学院生命科学, ³畿央大学大学院健康科学部)

網膜受容野における側抑制は、従来より水平細胞からの GABA を伝達物質とした錐体視細胞への負帰還 (negative feedback) 機構で説明されていた。しかし Hirasawa と Kaneko (2003) はイモリ網膜スライス標本を用いて錐体視細胞での周辺光応答の電流解析を行い、プロトンこそがこの負帰還の伝達物質であるとする「プロトン負帰還説」を示した。また城宝ら (2003) は鯉剥離網膜の水平細胞の分光感度応答に pH 依存性を見出したことから、色情報変換に関しても水平細胞からのプロトンによる負帰還が用いられている可能性を示唆した。今回、このプロトンによる新たな負帰還機構を明らかにする目的で、機能的及び組織化学的な証明を行った。

鯉・金魚の単離水平細胞を細胞外から pH 感受性蛍光色

素 (5-hexadecanoyl-aminofluorescein) で染色し pH 測定を行った結果、水平細胞の膜電位の脱分極量に比例して細胞外表面の酸性化が起こることを確認した。その酸性化は vesicular type の H⁺ pump (V-ATPase) の特異的阻害剤 bafilomycin A1 投与で阻害されたことから V-ATPase がこの細胞外の酸性化をもたらす分子機構であることが示唆された。V-ATPase の水平細胞の局在は蛍光抗体法により単離した水平細胞で確認された。さらに網膜構造が維持された網膜スライス標本においても光顕及び電顕による免疫組織化学的検証の結果、外網状層の錐体終末の陥入シナプス部位で、前シナプス側の小胞由来の V-ATPase と共に、後シナプス側にも水平細胞の dendrite 部位で V-ATPase の局在が確認された。

以上の結果は、水平細胞の放出するプロトンにより錐体視細胞の Ca²⁺ 電流が抑制され伝達物質放出の減少に至るプロトン負帰還説を、機能的ならびに組織化学的に支持するものである。

P-25. pcd マウスの視床神経変性に伴う大脳皮質の機能的変化

久宝真一 (関西医科大学生理学第 2 講座)

変性神経細胞を鋭敏に検出する Fluoro-Jade 染色により pcd マウスの中脳神経系を形態学的に調べた結果、pcd マウスでは小脳プルキンエ細胞以外に視床の神経細胞が変性していた。視床では、外側腹側核、後内側腹側核、内側膝状体腹側部、背側内側核などのパルプアルブミン免疫染色で陽性となる視床核の神経細胞が選択的に変性していた。pcd マウスの視床—大脳皮質投射の病態を電気生理学的に解明するために、大脳皮質聴覚野の皮質表面と表面から 1.0 mm の深さに慢性記録電極を埋め込み、大脳皮質フィールド電位を覚醒下で記録した。大脳皮質一次聴覚野から聴覚誘発電位を記録したところ、生後 50 日頃より、聴覚誘発電位が著明に減弱するのが観察された。聴覚誘発応答の減弱とはほぼ同時期より、20-40Hz の周波数をもつ自発脳波が聴覚皮質で著明に増加する現象が認められた。大脳皮質聴覚野から mRNA を抽出し、グルタミン酸受容体の遺伝子発現をプロファイリングした結果、聴覚野の NMDA 型受容体の発現が視床の神経変性後に増加していた。NMDA 型受容体阻害剤の MK801 を全身投与すると聴覚野の速波が消失した。これらの結果より、pcd マウスの大脳皮質聴覚野における速波の発生に NMDA 型受容体の増加が関与していることが示唆された。

P-26. 無線型3軸加速度センサによる乳牛歩行の定量化と解析

畠中みどり¹, 嵐 泰弘¹, 平井武久¹, 川上 徹¹, 大山一郎¹, 松岡 健¹, 千田 廉² (¹NOSAI兵庫東播基幹家畜診療所, ²甲南大学フロンティア研究推進機構)

行動は脳の最終的な出力系であり, 個体維持行動で重要な歩行運動は脳機能を反映している。歩行には運動疾患のみならず, 神経疾患に関連する情報も含んでいる可能性が高い。本研究では四肢動物かつ産業動物である乳牛を用いて, 歩行に見られる跛行程度の定量化を, 無線型加速度センサ(以下, センサ)とリサージュ図形表示を用いて試みた。臨床獣医学領域における跛行治療の多くは, 主観的な臨床診断に基づいている。したがって, 軽度ないし中等度の跛行の診断と定量化に関しては臨床家の間で一致した指標がなく, 客観的かつ正確で利用しやすい跛行診断法が求められている。

供試牛は正常牛10頭, 跛行牛31頭を用いた。跛行牛は蹄に異常を認めなかった5頭と蹄疾患罹患牛25頭で, 跛行牛のうち20頭は削蹄, 治療前後にセンサによる測定を実施し, 臨床症状と比較した。測定方法は最後位胸椎上背部にセンサを装着, 直線通路を10メートル歩行させ, 測定間隔5msecで加速度変量を測定した。加速度変量は3方向(前後, 左右, 上下)から得られるリサージュ図形(単振動合成2次元図形)として運動の可視化表示を行い, 歩行時の前後・左右・上下各方向への偏りを比較した。

正常牛のリサージュ図形は円形または楕円形を示し, 3方向の比率は前後で41.9:58.1(%), 左右で48.1:51.9, 上下で57.6:42.4であった。跛行牛のリサージュ図形は不規則に歪み, 患肢側に棘状波形を示し, 比率は前後で42.4:57.6, 左右44.7:55.3, 上下57.0:43.0となった。

跛行牛のうち重症例はリサージュ図形が大きく上方向に歪み, PDDなどの著しい痛みを伴う症例では罹患肢側に鋭角に, 慢性化した疾患においては大きな弧を描くような波形が示された。治療後のリサージュ図形は歩様観察からの所見と同様に病状の変化が反映されていた。センサによる歩様解析は臨床所見と同様の結果が得られ, 歩様を数値化してモニターすることができた。

P-27. サルの海馬における長期増強の誘導と持続

田村了以¹, 永福智志¹, 上野照子¹, 杉森道也¹, 小野武年² (¹富山大学医学薬学研究部統合神経科学, ²富山大学医学薬学研究部分子統合情動脳科学)

【目的】新たに形成された記憶は(新皮質領域に)固定されるまで, その想起に海馬を必要とすることが示唆されている。この海馬依存性の記憶保持期間には動物種差があり,

ヒトでは2年から10数年, サルでは2ヶ月程度, ラットでは5日から4週間であることが報告されている。今回われわれは, 海馬依存性記憶保持期間の動物種差を引起している原因を明らかにするため, サルまたはラットの海馬で, 高頻度刺激により誘発電位の長期増強(LTP)を誘導し, その持続性の動物種差を検討した。【方法】サルとラットで, 刺激電極を貫通路に, 記録電極を海馬歯状回に慢性埋込みし, 高頻度刺激(400ヘルツ, 20パルスを10秒間隔で20回)によりLTPを誘導後, サルでは1ヶ月間, ラットでは1週間, 誘発電位記録を継続した。【結果】サルおよびラットともに, 高頻度刺激により集合興奮性シナプス後電位(field excitatory postsynaptic potential: fEPSP)および集合スパイク(population spike: PS)が有意に増大した。LTP誘導後の観察期間, サルではfEPSPは減衰せずPSは徐々に増大する傾向があったが, ラットではfEPSP, PSともに約3日間でベースラインレベルまで減衰した。【結論】海馬依存性記憶保持期間の動物種差は, 海馬におけるシナプス結合強度変化の持続の差に起因する可能性が示唆された。

P-28. 脊髄グリシン作動性抑制性シナプス後電流の亜鉛による制御

石橋 仁, 江藤 圭, 鍋倉淳一(生理学研究所発達生理学研究系生体恒常機能発達機構研究部門)

脊髄における亜鉛が痛覚過敏に対する抑制作用を示すことが報告されており, また, 脊髄において, 亜鉛が抑制性神経系に存在することも報告されているが, 亜鉛の脊髄抑制性シナプス伝達に対する影響はほとんど明らかになっていない。本研究では, ラット脊髄後角より機械的に急性単離した神経細胞にパッチクランプ法を適用し, 抑制性シナプス後電流(IPSC)に対する亜鉛の効果を検討した。

亜鉛は, 自発性IPSCの振幅に影響することなく, その頻度を増加させた。一方, 人工的に投与したグリシンによって誘発されるグリシン誘発電流は低濃度の亜鉛により増強され, 高濃度の亜鉛により抑制された。亜鉛のIPSC頻度増加作用は, 電位依存性Ca²⁺チャンネルの拮抗薬の存在下では認められなかった。脊髄のスライス標本で, 亜鉛はevoked IPSCの振幅を増大させた。

以上の結果から, 亜鉛はグリシン作動性神経終末部を脱分極させてグリシン放出を増強し, さらにシナプス後膜グリシン受容体にも作用してグリシン作動性シナプス伝達を修飾することが明らかとなった。従って, 亜鉛は脊髄における抑制性シナプス伝達を修飾することにより痛みの伝達に影響を与えている可能性が示唆された。

P-29. 延髄孤束核における junctional adhesion molecule-1 遺伝子発現と高血圧発症との関係

和気秀文¹, S. Gouraud¹, 前田正信¹, J.F.R. Paton² (¹和歌山県立医科大学医学部生理学第2講座, ²Department of Physiology, University of Bristol School of Medical Sciences, Bristol・UK)

本態性高血圧症は遺伝的素因が一因であるが今のところその原因遺伝子については十分明らかにされていない。我々は心臓血管調節中枢の一つである延髄孤束核(NTS)での遺伝子発現異常,そしてこれに伴う機能的変化が高血圧発症と深く関連していると考えている。本研究ではこの仮説を検証するために高血圧症のNTSにおける遺伝子発現プロファイルについて調べた。本態性高血圧症の動物モデルである自然発症性高血圧ラット(SHR)と正常血圧ラット(WKY)のNTSの遺伝子発現の差異をマイクロアレイでスクリーニングした後,リアルタイムPCRにより各遺伝子の発現量を比較した。その結果,炎症性接着分子である junctional adhesion molecule-1 (JAM-1) mRNAが,SHRのNTSにおいて約3倍過剰発現していた。免疫組織化学的手法により,JAM-1蛋白の発現と局在を確認したところ,SHRのNTSでは血管内皮細胞に明らかな免疫反応を認めた。更にアデノウイルスベクターを用いてWKYのNTSにJAM-1を過剰発現させたところ,ウイルス投与後5-7日の間に,20%程の血圧上昇を認めた。以上より,NTSにおけるJAM-1遺伝子過剰発現が,SHRの高血圧発症に関連していると考えられる。

P-30. 視覚選択における後頭頂連合野の機能的役割

小川 正^{1,2,3}, 小松英彦^{2,3} (¹京都大学大学院医学研究科, ²生理学研究所感覚認知情報研究部門, ³総合研究大学院大学)

物体が多数存在する中から目標物を探し出す視覚探索を行うとき,目標刺激が選択される過程において後頭頂連合野が果たす役割を調べるため,サルの頭頂間溝外側部(LIP, 7a)からニューロン活動を記録した。視覚探索課題では6個の刺激が呈示され,その中には色次元と形次元で異なる刺激が1つずつ含まれるが,片方を目標として選択しサッカード眼球運動で注視することが要求される。目標を決める特徴次元は試行ブロックの単位で切り替えた。記録されたニューロン活動を解析した結果,(1)受容野内の刺激が目標となる場合であっても目標刺激が最適な色・形特徴を有し,かつ特定の特徴次元で異なる場合のみ活動強度が増大するニューロンと,(2)受容野内の刺激が目標となる場合には,目標刺激の視覚的属性にかかわらず活動強度が増大するニューロンが見出され,両者は同一部位

に混在して存在していた。前者は視覚的属性に依存した目標刺激の選択過程を,後者は視覚的属性に依存しない過程を反映していると考えられる。ポピュレーション全体ではこれらの特性が連続的な分布を示した。本研究の結果は,頭頂間溝外側部における視覚選択が複数の過程によって実現されていることを示唆する。

P-31. 扁桃体ニューロン活動と情動反応の相互相関解析

堀 悦郎^{1,3}, 田積 徹^{2,3}, 小野武年^{1,4}, 西条寿夫^{1,3}

(¹富山大学大学院医学薬学研究部システム情動科学, ²聖泉大学人間科学部人間心理学科, ³科学技術振興機構, ⁴富山大学大学院医学薬学研究部分子統合情動脳科学)

これまでの研究から,扁桃体は情動処理システムにおいて中心的な役割を果たすことが示唆されている。すなわち,扁桃体では対象物が自己にとって有益か有害かの判断をし,この生物学的価値判断により適切な行動が誘導される。情動と身体反応の関係については,Cannonらによる「中枢説」やJamesらによる「末梢説」が提唱されている。しかし,これらの仮説で提唱されている脳活動と身体反応の関係については,未だに不明なままである。本研究では,情動刺激に対する扁桃体のニューロン活動と身体反応の関係を明らかにする目的で,視覚刺激や実験者の動作(接近・後退行動,腕や足の挙上運動など)に対するサル扁桃体ニューロン活動と瞳孔径の変化の間の相互相関を解析した。視覚刺激としてはヒトやサルの顔写真を用い,顔表情に対する遅延非見本合わせ課題を行った。また,課題遂行中はサルの眼球を撮影し,瞳孔径の計測を行った。その結果,サル扁桃体には他者の顔表情や動作に対して識別的に応答するニューロンが存在した。これらの扁桃体ニューロン活動と,同時に計測した瞳孔径の変化の相互相関解析を行った結果,ニューロン活動が瞳孔径の変化に先行して生じる場合と,逆に瞳孔径の変化がニューロン活動に先行して生じる場合のある事が判明した。これらの結果は,情動の「中枢説」および「末梢説」のいずれの原理も作動している可能性を示唆する。

P-32. 神経活動振動性が味覚野-口腔体性感覚野間の信号伝播におよぼす作用

吉村 弘^{1,2}, 増山有一^{1,2}, 須貝外喜夫², 加藤伸郎², 瀬上夏樹¹ (¹金沢医科大学顎口腔機能病態学, ²金沢医科大学生理機能制御学)

大脳皮質における振動性電位活動の機能については不明な点が多い。我々は,カフェインを視覚野スライスに適用して,限局した皮質領域を発信源とする膜電位振動が1

次—2次視覚野間の神経連絡を強化する結果を得たことから「振動装置依存性可塑性仮説」を提唱した。今回、NMDA受容体活動の阻害や細胞内cAMPを上昇させる手法を用いて振動発信源の活動を抑制することにより上記仮説を検証した。ラットの脳より味覚野—口腔体性感覚野を含むスライスを作製し、フィールド電位計測および光学的計測をおこなった。カフェイン存在下で味覚野への低頻度刺激を継続すると、刺激後第1波が浅層を經由して口腔体性感覚野に到達した後、口腔体性感覚野を発信源とする振動性電位が順方向、逆方向に伝播した。このような振動性活動が形成された後、細胞外液にD-AP5またはBr-cAMPを投与すると、第1波の伝播に影響を与えることなく振動性活動成分が抑制された。ところが、カフェイン投与と同時にD-AP5またはBr-cAMPを投与した場合、振動性活動抑制に加えて、第1波の伝播範囲の抑制や伝播速度の低下がみられた。限局した領域を発信源とする振動性活動が十分機能した場合、味覚野—口腔体性感覚野間の信号伝播は強化されたが、振動性活動が抑制された場合、これらの皮質間の信号伝播は強化されなかった。これらは「振動装置依存性可塑性仮説」を支持する結果となった。

P-33. 20日間の-6° head-down bed restによる宇宙デコンディショニングに対する対抗措置としての人工重力負荷と運動負荷の有効性

西村直記¹、岩瀬 敏¹、菅屋潤壹¹、佐藤麻紀¹、清水祐樹¹、D. Kanikowska¹、鈴木里美²、渡邊順子³、高田宗樹⁴、高田真澄⁵、塩澤友規⁶、平柳 要⁷ (1愛知医科大学医学部生理2, 2愛知医科大学看護学部, 3聖クリストファー看護大学看護学部, 4岐阜医療科学大学保健科学部, 5名古屋大学看護学部, 6青山学院大学, 7日本大学医学部)

宇宙滞在などによりヒトが微小重力環境に曝露された後には、神経系、呼吸循環系、筋骨格系および体温調節系等の機能に低下がみられる(宇宙デコンディショニング)ことがこれまでの研究で明らかになっている。我々は、これらのデコンディショニングに対する対抗措置(カウンターメジャー)として、人工重力負荷装置(遠心加速負荷)に運動負荷装置(ペダリング運動)を組み合わせた装置を開発した。本研究では、これらの組み合わせが、地上での模擬微小重力暴露後のデコンディショニングに対するカウンターメジャーとして有効であるかどうかを検討した。健康成人男性12名(年齢: 24±5歳, 身長: 168.7±3.6cm)に

20日の-6°ヘッドダウンベッドレストを行わせ、デコンディショニング状態を引き起こさせた。12名のうち6名(カウンターメジャー群)に対して、ベッドレスト開始日から終了日まで人工重力負荷(1.4G)とペダリング運動負荷(60W)を毎日行わせ、被験者の了解が得られれば、人工重力負荷(0.2Gづつ)および運動負荷(15Wづつ)を増加させた。被験者が負荷の中止を申告した場合は中断し、負荷の累積時間が30分間になるまで行わせた。ベッドレスト中の食事は、2300Kcal/日に規定し、飲水量は前日の尿量と同量になるように指示した。ベッドレスト前後に起立負荷試験および人工重力負荷試験を行い、対照群(6名)と比較・検討した。その結果、人工重力負荷とペダリング運動負荷の組み合わせにより、心機能、呼吸循環機能および骨代謝機能が改善した。今後、より有効的な重力負荷と運動負荷の組み合わせについて更なる検討を加える予定である。

P-34. 随意運動の制御における脊髄介在ニューロンの役割

武井智彦^{1,2,4}、関 和彦^{1,3} (1自然科学研究機構生理学研究所, 2京都大学大学院人間・環境学研究所, 3総合研究大学院大学生命科学研究科, 4日本学術振興会)

滑らかな四肢の運動は多数の骨格筋が協調して活動することによって実現される。その協調的筋活動のパターンは一様でなく、制御対象となる運動のキネティクス・キネマティクスに応じて適切な筋群が選択され(協働筋)、選択された筋群の活動が調節されることによって運動が遂行される。しかし、どのような神経機構によってこの選択をさせるかについては十分明らかにされていない。我々は、この協働筋選択機構の機能的要素が脊髄に存在するのではないかと考えている。この仮説を検証するための第一歩として、我々は2頭のサルを対象に第1-2指を用いた精密把握運動を訓練し、その際手及び前腕部(N=3)における筋活動と、脊髄ニューロンの活動(C6-T1; n=110)を同時に記録した。記録されたニューロンの58%(64/110)において発火頻度の課題遂行に依存した変化が認められた(p<0.05)。Spike-triggered averaging法を用いた解析の結果、3/8(38%)のニューロンにおいてスパイク後促進(post spike facilitation)が単一または複数の筋において認められた。これらの結果は、最終介在ニューロンが把持運動における協働筋選択の機能的要素として働いている可能性を示唆していた。