

第 101 回近畿生理学談話会

日 時：平成 20 年 9 月 13 日（土）

場 所：国立循環器病センター研究所 新館講堂（第一会場），本館大会議室
（第二会場）

当番幹事：国立循環器病センター研究所循環分子生理学 若林繁夫

参加人数：83 名

演 題 数：35 題

第 101 回近畿生理学談話会は，国立循環器病センターにて，同研究所脈管生理学・沢村達也部長，心臓生理学・秋山剛室長の協力を得て開催された。午前中は第一会場のみ，午後から第一・第二会場に別れて，合計 35 題の口演，活発な討論が行われた。演者，座長とも若手中心にやって頂き，活気のある有意義な談話会になった。評議員会では，2009 年に行われる国際生理学会 (IUPS) についての議題などが話し合われた。次期開催は大阪大学大学院生命機能研究科の予定である。

1. 神経突起伸長に対するフラボノイドの影響

○中島謙一，新里直美，丸中良典（京都府立医科大学医学研究科・細胞生理学）

【目的】天然植物成分であるフラボノイドには，血圧上昇の抑制，抗アレルギー作用など様々な作用があることが報告されている。近年の我々の研究より，フラボノイドが $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$ 共輸送体やナトリウムチャネルをはじめとするイオン輸送体の発現や活性を調節することが示唆されている。一方，我々は神経細胞における神経突起伸長には， $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$ 共輸送体が必須であることを明らかにした。そこで，本研究では，神経突起伸長に対するフラボノイドの影響を検討した。

【方法】ラット副腎由来 PC12 細胞は，神経成長因子 NGF 処理により神経突起を伸長する。PC12 細胞を NGF 処理する際にフラボノイドの一種である quercetin, genistein を同時に作用させ，伸長した神経突起の長さを測定した。

【結果・考察】フラボノイド処理により神経突起の伸長は有意に促進された。また，この作用はフラボノイドの濃度に依存的であった。RNAi 法により $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$ 共輸送体をノックダウンしておくこと，フラボノイドの効果は見られなくなった。これらの結果から，フラボノイドにより $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$ 共輸送体活性が亢進し，それを介して神経突起伸長が促進されることが示唆された。

2. 腎上皮細胞のバソトシン促進性 Na^+ 輸送における Cl^- の影響

○山田敏樹，新里直美，丸中良典（京都府立医大大学院

医・細胞生理学）

抗利尿ホルモンであるバソトシン (AVT) は腎上皮細胞の頂端膜において上皮型ナトリウムチャネル (ENaC) の数を増やすことによって Na^+ 再吸収を促進する。一方， Cl^- は様々な細胞機能を制御することが知られているが，AVT 促進性 Na^+ 輸送への Cl^- の影響は不明である。本研究ではアフリカツメガエル腎尿管由来培養細胞 (A6 細胞) において AVT により促進された benzamil に感受性のある電流 (ENaC 電流) への細胞外 Cl^- 濃度低下の影響を短絡電流法により調べた。正常溶液条件において AVT は ENaC 電流を有意に増加させた。一方，両側の Cl^- を gluconate に置換した低 Cl^- 溶液条件において AVT 促進性 ENaC 電流は正常溶液条件と比較して有意に減少した。また， I^- , SCN^- を用いた低 Cl^- 溶液条件においても AVT 促進性 ENaC 電流は有意に減少したが， NO_3^- では正常溶液と差が見られなかった。さらに，管腔側 Cl^- 濃度のみを低下させた時にも両側を低 Cl^- 溶液条件にした時と同程度の ENaC 電流の減少がみられた。以上の結果から，管腔側の Cl^- は AVT により促進される ENaC を介した Na^+ 再吸収の制御に重要であることが示唆された。

3. 電位依存性プロトンチャネルのダイマー形成

○黒川竜紀¹，Hans P Koch²，大河内善史¹，佐々木真理¹，H. Peter Larsson²，岡村康司^{1,2}（¹阪大院・医学系研究科，²Oregon Health and Science University）

我々の研究室では新規の膜タンパク分子を見つけ，これが電位依存性プロトンチャネルであることを証明した

(Sasaki M. et al. :Science, 312 : 589-592, 2006). この分子は、電位依存性チャンネルと同様に電位センサードメインは持っているがポアドメインをもたないので、Voltage-Sensor Only Protein (VSOP) と名づけられた。多くのイオンチャンネルでは、オリゴマーを形成することで、機能的な構造をとることが知られている。そこで、VSOPにおいて、機能的な構成単位を調べるために、共免疫沈降法とFRET法を用いた実験を行った。すると、VSOPはオリゴマーを形成していることが示唆された。さらに、架橋剤実験により、VSOPはダイマーを形成していることが示された。また、VSOPの細胞質領域を除去したものでは、タンパク質間の相互作用は減少していることから、VSOPのダイマー形成には細胞質領域が重要であると考えられる。

4. 膜電位依存性のホスファターゼ Ci-VSP の高膜電位における活性

○坂田宗平, ホサイン・イスライル, 岡村康司 (阪大院医・統合生理)

近年、我々は電位依存性チャンネルの電位センサーと同様な構造を持ち、そのC末端側にイノシトールリン脂質を基質に持つホスファターゼPTENと相同性を持つ新規タンパク質を同定した。この分子(voltage sensor containing phosphatase; VSP)のゲート電流は100mVを超える膜電位まで増加するが、電位依存的な酵素活性の増加は40mVの膜電位までしか調べられていない。そこで我々は、VSPとPI(4,5)P₂感受性のカリウムチャンネルであるKir 2.1をXenopusの卵母細胞に共発現させ、VSPの酵素活性によるPIP₂の減少をKir 2.1の内向き電流の減少として測定した。膜電位75mVと125mVにおける活性の強さの比較をしたところ、125mVにおいてより強い活性を発揮することが分かった。また、PI(4,5)P₂に特異的に結合することが知られているPH domainにGFPを融合させたタンパク質を用いて、PIP₂を可視化すると、高膜電位において電位依存的に蛍光が減少する様子が観察された。これらのことより、VSPは高膜電位においても電位センサーの動きを反映した酵素活性を持ち、電位センサーの動きと酵素活性はカップルしていることが示唆された。

5. 膜電位とATP結合に依存したP2X受容体の開閉機構

○藤原祐一郎^{1,2}, 久保義弘² (¹阪大医・統合生理, ²生理研・神経機能素子)

P2X受容体は細胞外ATPをリガンドとして開くカチオンチャンネルである。ATP投与後のP2X₂電流は可分極によって内向き電流が徐々に増大するといった膜電位に依存

しているかのように振る舞う現象が知られている。我々はこの電位依存的電流増大(アクティベーション)に対して、発現系を用いた電気生理学的測定、開閉モデル構築・電流シミュレーションを用いて解析を行った。その結果P2X₂受容体の開閉にはATPの結合と膜電位依存的なゲーティングが複合的に作用していることを明らかとした。アクティベーション相は、一連のATP結合ステップと膜電位依存的ステップからなる単純なステートモデルを用いたシミュレーションにより再構築可能であった。さらに変異導入実験(グリシン点変異, 及び網羅的グリシン再導入実験)から、膜貫通部位中央に位置するグリシン残基(Gly344)が電位依存的アクティベーション発生に重要な役割を持つことを明らかとし、その柔軟性がチャンネル開閉における「ゲーティングヒンジ」の役割を担っていると考察した。

6. A simulation study of intracellular Na⁺ variation during activation of Na⁺/H⁺ exchanger in cardiac myocytes

○Chae Young Cha¹, Yung E Earm², Chiaki Oka¹, Akinori Noma^{1,3} (¹Biosimulation Project, Graduate School of Medicine, Kyoto University, ²Department of Physiology, Seoul National University, ³Faculty of Bioinformatics, Ritsumeikan University)

We developed a kinetic model of Na⁺/H⁺ exchanger (NHE) to examine quantitatively its central role in regulating the intracellular pH and Na⁺ in cardiac myocytes. The role of NHE was examined by implementing the NHE model to a simple cell model, which was composed of intrinsic pH buffer, Na⁺/K⁺ pump, NH₃/NH₄⁺ flux and passive fluxes of H⁺ and Na⁺ through the membrane. When transient acidosis was induced by the NH₄Cl prepulse technique, the recovery of the intracellular pH and the transient increase in [Na⁺]_i in Wu and Vaughan-Jones (1, 2) were well reconstructed by the NHE activity. In addition, a critical pH for cell survival was predicted in a long lasting cell acidosis, and the extent of acidosis was examined during blockade of the Na/K pump in the simple cell model.

1. Wu M.L. & Vaughan-Jones R.D.: Interaction between Na⁺ and H⁺ ions on Na-H exchange in sheep cardiac Purkinje fibers. *J Mol Cell Cardiol* **29**: 1131-1140, 1997

2. Vaughan-Jones R. D. & Wu M. L.: Extracellular H⁺ inactivation of Na⁺-H⁺ exchange in the sheep cardiac Purkinje fibre. *J Physiol* **428**: 441-466, 1990

7. $\alpha 7$ ニコチン受容体重複遺伝子産物は $\alpha 7$ ニコチン受容体の活性を抑制する

○古林創史^{1,2}, 恒枝宏史², 和田 努², 笹岡利安² (¹国立循環器病センター循環分子生理, ²富山大院医薬・病態制御薬理)

$\alpha 7$ ニコチン受容体重複遺伝子 *CHRFAM7A* は, $\alpha 7$ ニコチン受容体サブユニットのリガンド結合部位を欠損した蛋白 (dup $\alpha 7$) をコードすると考えられているが, その存在意義は不明である. そこで本研究では, dup $\alpha 7$ の機能および発現をアフリカツメガエル卵母細胞 (oocyte) 発現系を用いて解析した. まず, dup $\alpha 7$ および $\alpha 7$ ニコチン受容体サブユニット発現ベクターを 0:1~5:1 の比率で oocyte に導入し, アセチルコリン誘発電流の振幅を解析した結果, dup $\alpha 7$ 発現ベクターの導入量の増加に伴い $\alpha 7$ ニコチン受容体の反応性が低下することが見出された. しかも, $\alpha 7$ ニコチン受容体のアンタゴニストである α -bungarotoxin の oocyte 膜表面における結合量も dup $\alpha 7$ 発現ベクターの導入量の増加に伴い減少した. さらに, 免疫沈降法を用いた解析により, oocyte の膜画分において dup $\alpha 7$ および $\alpha 7$ ニコチン受容体サブユニット蛋白が結合することが明らかとなった. 以上より, dup $\alpha 7$ は $\alpha 7$ ニコチン受容体と細胞膜表面で結合し, リガンドとの結合性を阻害することで $\alpha 7$ ニコチン受容体の活性を低下させる可能性が考えられた.

8. 単離嗅細胞における電位依存性 Na^+ チャネルの定量的解析

○大井華子¹, 菅原亜弓², 竹内裕子¹, 倉橋 隆^{1,2} (¹大阪大学大学院生命機能研究科, ²同 基礎工学部システム科学科)

匂い情報は嗅細胞の繊毛において受容され, スパイクに変換して出力される. その嗅受容体から細胞応答への分子カスケードについての定性的な研究が進められている. しかしそれらの分子が実際にはどのような特性で働いているかを明らかにするためには, 匂い情報伝達機構の定量的な研究が不可欠である. これまで我々の研究室では, 実験的に困難であるとされてきた嗅繊毛内で行われる嗅覚の初期過程の定量化に取り組み, 嗅繊毛内の情報変換過程における信号増幅を明らかにしてきた. 今研究では, 嗅細胞においてスパイク発生に関与している電位依存性 Na^+ チャネルについて, 定量的な解析を行った. イモリ単離嗅細胞からホールセル・パッチクランプ法を用いて電位依存性 Na^+ 電流を単離し, 記録された電流に対して非定常ノイズ解析を行うことによって, 全細胞におけるチャネル総数, 単一チャネル電流の測定を行った. さらに, Visual Basic.NET を用いて作成したプログラムを用いることによって

それらの解析を短時間で簡便に行うことが可能となったので報告する.

9. ナノスケール嗅繊毛内 Ca 制御と Cl (Ca) 解析

○竹内裕子, 倉橋 隆 (大阪大学大学院生命機能研究科生体ダイナミクス講座生理学研究室)

嗅細胞の匂い応答には, 嗅細胞繊毛 (シリア) に局在して発現している 2 種類のイオンチャネル (CNG \cdot Cl (Ca) チャネル) が協同的に作用することが知られている. これまでの研究により, CNG チャネルの応答特性・構造に関しては, 多くの知見が得られていたが, Cl (Ca) チャネルに関しては未解明の部分が多い. その大きな理由として, 生理的状況下では Cl (Ca) チャネルは常に CNG チャネルと働くことで純粋な Cl (Ca) チャネル特性を生理学的に調べることが実験手技的に困難であったからである. そこで, 今回我々はケージド化合物 (ケージドカルシウム) を嗅細胞に適用することで, 細胞内 Ca 濃度の実時間制御を可能とし, ホールセル・パッチクランプ法で記録したチャネル電流を詳細に検討した結果, Cl (Ca) チャネルが嗅覚情報変換システムにおける信号増幅を担うことを特定した. 更に, レーザーコンフォーカル顕微鏡と蛍光物質 (ルシフェアイエロー) を用いて, ナノスケール構造体であるシリアの形態を可視化し, ナノスケール局所光刺激に対する Ca 濃度制御 \cdot Cl (Ca) 電流応答から, シリア上に発現している Cl (Ca) チャネルの分布を明らかにした.

10. ADP は $\text{G}_{i/o}$ 共役型 P2Y 受容体を介してマイクログリアの遊走と貪食を活性化する

○都築千鶴, 倉智嘉久 (大阪大院医・薬理)

免疫細胞の一種である脳マイクログリアは, 損傷を受けた細胞に向かって移動し, それらを貪食すると共に様々なサイトカインを分泌する. 障害された細胞から放出されるヌクレオチドは, このような作用の引き金になると示唆されている. ヌクレオチドはプリン受容体を介して細胞間情報伝達物質として機能し, P2Y₁₂ 受容体は遊走に, P2Y₆ 受容体は貪食に, P2X₄ 受容体は神経因性疼痛に関わる. 今回我々は, ADP が培養マイクログリアを刺激し, 遊走のみならず, 貪食も制御することを報告する. 貪食作用は ATP, ADP で増強され, それは PTX や P2Y_{12/13} 受容体の特異的阻害薬 Cangrelor でほぼ完全に抑制されたことから, $\text{G}_{i/o}$ 共役型 P2Y_{12/13} 受容体の関与が示された. ADP で誘引される貪食の増強と遊走は, 共に 100 μM をピークとするベル型の濃度依存性を示した. 更に, ADP 存在下で予め貪食させた細胞は, ADP 誘引性の遊走を殆ど起こさなかった. よって, 生体内でマイクログリアは低濃度のヌクレオチド

を認識して損傷部位へ移動するが、障害した細胞を貪食し始めると停留することが示唆された。この共役した生理機能には、P2Y_{12/13}受容体が中心的役割を果たしていると考えられた。

11. 延髄孤束核におけるロイコトリエン B₄過剰生成と高血圧発症との関係

○和気秀文¹, Sabine Gouraud¹, Julian FR Paton², 前田正信¹ (¹和歌山県立医科大学医学部第二生理, ²プリストール大学医科学生理学)

我々は以前マイクロアレーにより自然発症性高血圧ラット (SHR) と正常血圧ラット (WKY) の延髄孤束核 (NTS) における遺伝子発現を比較したところ、生理活性脂質であるロイコトリエン B₄ (LTB₄) の合成・分解に関わる遺伝子群の発現に違いを見出した。本研究では NTS 内 LTB₄ の異常生成が SHR の高血圧発症に関与しているかどうか調べた。雄性 SHR と WKY (10 週齢) の延髄を摘出し、EIA 法により延髄内 LTB₄ を定量し両群で比較した。更に WKY の孤束核内に LTB₄ を微量注入し、血圧調節に及ぼす影響についても調べた。延髄 LTB₄ は WKY に比較し SHR で有意な高値を示した (25% 増)。WKY の孤束核内に LTB₄ を微量注入した際、投与後 4 日目まで持続的な血圧上昇 (約 15mmHg) が見られた。以上より、NTS における LTB₄ レベルの上昇が SHR の高血圧発症に関与しているものと考えられた。LTB₄ は強い炎症作用を惹起することから、循環調節中枢の炎症反応が高血圧発症に関与しているのかもしれない。

12. 延髄孤束核への IL-6 微量注入は圧受容器反射機能を抑制する

○高岸美和, 和気秀文, Mohammad ER Bhuiyan, Sabine Gouraud, HeCui, 山崎寿也, 向阪 彰, 前田正信 (和歌山県立医科大学医学部第二生理)

我々は以前高血圧ラットの延髄孤束核 (NTS) ではインターロイキン 6 (IL-6) 遺伝子が異常発現していることを明らかにした (Waki et al, *Auton Neurosci*, 2008)。本研究では NTS 内 IL-6 の循環調節に関わる機能的役割について検討した。

ウレタン麻酔下 (1.45g/kg, i.p.) で Wistar 系雄性ラット (275-325g) の一側の NTS に IL-6 (1fmol, 10fmol, 100 fmol) を微量注入 (100nl) し、圧受容器反射の感度を IL-6 注入前後に求め両者を比較した。その結果、IL-6 の微量注入は HR と MAP の baseline に影響を及ぼさなかったが、感度は濃度依存的に抑制された。免疫組織化学的手法により、IL-6 蛋白の発現と局在を確認したところ、NTS 内の神

経細胞に IL-6 蛋白の発現を認めた。

以上より、NTS の神経細胞内の IL-6 は、動脈圧受容器反射の調節を介して循環器系の恒常性に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。NTS における IL-6 異常発現と高血圧発症の関連について今後検討する必要がある。

13. Complex cardiovascular actions of α adrenergic receptors expressed in the nucleus tractus solitarius

○Mohammad ER Bhuiyan, Hidefumi Waki, Miwa Takagishi, Sabine Gouraud, He Cui, Toshiya Yamazaki, Akira Kohsaka, Masanobu Maeda (Department of Physiology, Wakayama Medical University)

Although both α -1 and -2 adrenergic receptors are known to be expressed in the nucleus tractus solitarius (NTS), the functional significance of these receptors is not fully understood. In this study, we microinjected α -1 and -2 adrenergic receptor agonists into the NTS of urethane-anesthetized Wistar rats to study the cardiovascular effects in response to activation of these receptors. When α -1 adrenergic receptor agonist (phenylephrine) was microinjected into the area where barosensitive neurons are dominantly located (baro-NTS), mean arterial pressure (MAP) and heart rate (HR) were significantly elevated while when tested in the area where chemosensitive neurons are dominantly located (chemo-NTS), MAP and HR were significantly decreased. In contrast, microinjection of α -2 adrenergic receptor agonist (clonidine) into either baro-NTS or chemo-NTS decreased MAP and HR. These results suggest that the cardiovascular responses produced by stimulation of α -1 adrenergic receptors are strictly location dependent at the level of the NTS.

14. Microinjection of Adrenomedullin 2 into the nucleus tractus solitarius increases arterial pressure and heart rate in rats

○He Cui, Akira Kohsaka, Hidefumi Waki, Sabine Gouraud, Miwa Takagishi, Atsutoshi Hatada, Mohammad Eliusur Rahman Bhuiyan, Toshiya Yamazaki, Masanobu Maeda (Department of Physiology, Wakayama Medical University School of Medicine)

Adrenomedullin 2 (AM2), a novel member of the calcitonin gene-related peptide family, has emerged as a multifunctional peptide controlling endocrine and cardiovascular functions and physiological behaviors. Both central and peripheral administration of AM2 can have profound ef-

fects on systemic and/or pulmonary circulation in mammals. However, the target nuclei of AM2 and the role of central AM2 in cardiovascular regulation remain unknown. In the present study, we microinjected AM2 into the rat nucleus tractus solitarius (NTS), the central termination site of baroreceptor afferents. Consistent with previous reports showing the hypertensive effect of intracerebroventricular administration of AM2, the direct microinjection of the peptide into the NTS increased arterial pressure as well as heart rate in rats. Importantly, this effect of AM2 on cardiovascular regulation was significantly attenuated by an antagonist of receptor components for AM2 that were abundant in the rat NTS. Our results indicate that AM2 may play an important role in the regulation of the cardiovascular system at the NTS level.

15. 心臓マイクロダイアリシス法による心房アセチルコリン濃度の定量化

○清水秀二, 秋山 剛, 川田 徹, 水野正樹, 神谷厚範, 宍戸稔聡, 杉町 勝 (国立循環器病センター研究所)

近年, 高速液体クロマトグラフィの感度が向上したことにより, ダイアリシスプローブの小型化が可能になった。我々は小型化したプローブを用いて, ウサギの右心房, 特に洞房結節近傍での間質アセチルコリン濃度を測定し, 頸部迷走神経刺激による心拍応答と間質アセチルコリン濃度の関係を検証した。左右どちらの迷走神経刺激においても, 刺激周波数の上昇とともに心拍数の低下が認められたが, 同じ刺激周波数では右迷走神経刺激の方が有意に心拍数の低下が認められた(10Hz, $P < 0.05$; 20Hz, $P < 0.05$)。しかしながら, 心拍数と心房間質アセチルコリン濃度(対数)には, 左右いずれの刺激においても有意な相関が認められ, 左右差は見られなかった(右, $HR = 304 - 135 \times \log[ACh]$, $R^2 = 0.79$; 左, $HR = 303 - 126 \times \log[ACh]$, $R^2 = 0.73$)。このことから, 左右の刺激に対する心拍応答の違いは, 心房での左右迷走神経の密度の違いから来るものであり, アセチルコリンに対する洞房結節の応答は一定であることが示唆された。

16. ラット交感および迷走神経刺激に対する動的心拍数応答

○水野正樹, 川田 徹, 神谷厚範, 宍戸稔聡, 杉町 勝 (国立循環器病センター研究所先進医工学センター循環動態機能部)

ラット交感神経刺激(SNS)および迷走神経刺激(VNS)に対する動的な心拍数(HR)調節機構は不明である。そこ

で本研究は, 麻酔下 Sprague-Dawley ラット(雄 8~24 週齢, $n = 7$)の頸部交感神経(0~5Hz)および頸部迷走神経(0~10Hz)を2値の白色雑音法を用いて電気刺激を行い, 伝達関数から動特性を定量した。SNSからHRへの伝達関数は2次遅れ低域通過特性で近似でき, 固有振動周波数はウサギ(0.07~0.09Hz)とほぼ同じ帯域に存在していた(0.07 ± 0.01 Hz)。一方, VNSからHRへの伝達関数は1次遅れの低域通過特性で近似できたが, 遮断周波数はウサギ(0.2~0.25 Hz)と比較して低周波帯域に存在することが明らかとなった(0.11 ± 0.06 Hz)。以上, 1)ラットの心拍数調節機構は, 他種と同じく, 迷走神経による心拍数制御は交感神経と比較して迅速な制御系を有していること, 2)迷走神経による心拍数制御システムはウサギと比較して緩慢であることが示唆された。

17. マウスガードの装着が握力・背筋力に与える影響

○大塚敬太¹, 石田純一², 辻 裕樹¹, 福岡晃平¹, 藤本直己¹, 今井裕一郎², 山下勝幸¹, 和田佳郎¹ (1)奈良医大・第一生理, (2)同 口腔外科)

近年, スポーツ中の顎顔面外傷予防を目的に使用されるマウスガード(MG)装着によるスポーツパフォーマンスの向上効果が注目されている。しかし, その科学的根拠は乏しい。そこで今回, 握力, 背筋力に対するMG装着の効果を生理学的に検証した。実験は健康成人16名(男性15名, 女性1名, 平均22.3歳)を対象に, 下顎安静位(Control), MG装着による最大咬合位(MG+), MG非装着の最大咬合位(MG-)の3条件において握力, 背筋力を計測し, 同時に咬筋, 側頭筋の表面筋電図を記録した。さらに6名の被験者に対しては上肢および背筋群の表面筋電図も記録した。解析は積分筋電図から等尺性最大随意筋収縮(MVC)を基準として各条件における筋活動を定量的に評価した。Controlと比較して最大咬合位では握力, 背筋力が有意に向上し, それぞれの測定時における咬筋, 側頭筋の筋活動も有意に増大した。また, MG-と比較してMG+では握力, 背筋力が有意に向上し, 咬筋, 側頭筋の筋活動は握力測定時には有意に増大したが, 背筋力測定時には差は認められなかった。今回の結果を基にMG装着が握力・背筋力に与える影響について考察する。

18. Opposite roles of nNOS in cardiac ischemia reperfusion-induced injury and in ischemia preconditioning-induced cardioprotection in mice

○Guo-Xing Zhang, Hiroko Matsuyoshi, Juichiro Shimizu, Miyako Takaki (Dept. Physiol. II, Nara Med. Univ. Kashihara, Nara, Japan)

Wild type C57BL/6 (WT) mice were subjected to cardiac ischemia reperfusion (IR). Cardiac injury (infarct size and apoptosis) was increased with elevations of nNOS and inducible NOS (iNOS) expressions and oxidative/nitrative stress. Pretreatment with nNOS inhibitor, L-VNIO or superoxide dismutase mimetics and peroxynitrite scavenger, MnTBAP significantly reduced cardiac injury with reduction of oxidative/nitrative stress. Cardiac injury in nNOS^{-/-} (KO) IR mice was significantly lower than in WT mice, accompanied with similar elevation of iNOS expression. MnTBAP markedly reduced cardiac injury by suppression of oxidative/nitrative stress in KO IR mice. Cardiac ischemia preconditioning (IP) attenuated cardiac injury in WT mice with suppressions of nNOS and iNOS expressions and oxidative/nitrative stress. L-VNIO or MnTBAP treatment reversed the IP-induced suppressions, resulting in no IP-induced cardiac protection. In contrast to WT IP mice, KO IP mice increased cardiac injury with elevation of oxidative/nitrative stress. Our results indicated that nNOS played a dual role in cardiac IR and IP.

19. Gene expression profiles of cytokines, chemokines, neurotrophins and apoptosis factors in the nucleus tractus solitarius of spontaneously hypertensive rat

○Sabine S. Gouraud¹, Hidefumi Waki¹, Akira Kohsaka¹, Julian F. R. Paton², Masanobu Maeda¹ (¹ Department of Physiology, Wakayama Medical University, ²Department of Physiology & Pharmacology, University of Bristol, UK)

Since the nucleus of the solitary tract (NTS) is a pivotal region for regulating the set-point of arterial pressure, we proposed a role for it in the development of neurogenic hypertension. Recent studies have suggested that pro-inflammatory molecules are highly expressed in the NTS of the spontaneously hypertensive rat (SHR), compared to normotensive Wistar-Kyoto rat (Waki et al, Hypertension, 2007; Waki et al, Auton Neurosci, 2008). Based on this evidence, we have screened for abnormally expressed inflammation related molecules in the NTS of SHR, which potentially affect neural functions, using the RT2 Profiler PCR arrays. They include chemokines, cytokines, neurotrophins and apoptosis factors. Interestingly, the death receptor Fas (CD95/Apo-1), and the tumor necrosis factor (ligand) superfamily 4 (Ox40L) were found decreased, while the neuronal apoptosis inhibitory protein (NAIP) was

found increased. These results suggest that the NTS of SHR demonstrates a specific inflammatory state and this might contribute to the hypertensive state via alteration of neuronal circuitry regulating cardiovascular autonomic activity in the SHR.

20. ラット延髄孤束核における時計出力分子 Prokineticin 2 の血圧調節作用

○向阪 彰, 和気秀文, Mohammad ER Bhuiyan, 高岸三和, 崔 鶴, Sabine Gouraud, 山崎寿也, 前田正信 (和歌山県立医科大学医学部生理学第二講座)

哺乳類の生体リズムを調節する分子機構 (分子時計) は近年大きく解明された。しかし、分子時計のリズムと生体レベルのリズムを直接結びつける分子機構はよく分かっていない。循環動態には日内リズムがあり、視床下部視交叉上核 (SCN) に中枢をおく体内時計の支配下にある。循環調節に関わる延髄孤束核 (NTS) は SCN からの入力を受けるが、近年この部位に、分子時計のリズムを生体レベルのリズムに出力する Prokineticin 2 (PK2) が発現していることが報告された。このため、我々は、NTS で発現する PK2 が、血圧の日内リズム形成に重要な働きをしているのではないかと考えて、ラット NTS に PK2 を微量注入した場合の循環動態の変化について検討した。麻酔下にて、雄の Wistar ラットの NTS に PK2 を微量注入したところ、PK2 は濃度依存性に血圧および心拍数を低下させた。この結果および PK2 の発現調節が分子時計の下流にあるという事実から、PK2 が NTS において循環動態の日内リズムの調節に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

21. 高速フーリエ変換を用いた冠動脈バイパスグラフト血流波形の解析

○岡村吉隆¹, 金子政弘¹, 崔 鶴², 山崎寿也², エリュスブイア², 高岸美和², 向阪 彰², 和気秀文², 前田正信² (¹和歌山県立医科大学第一外科学教室, ²和歌山県立医科大学第二生理学教室)

【はじめに】冠動脈バイパス術後の患者の予後はグラフトの開存率に依存し、グラフト開存を予測することは非常に重要である。今回、各グラフトの長期性開存成績と高速フーリエ解析の関係を調べた。

【方法】内胸動脈 (IMA) 130 本 (右内胸動脈, 左内胸動脈を含む)、橈骨動脈グラフト (RA) 36 本、大伏在静脈グラフト (SVG) 17 本で調査した。術後造影にて IMA 1 本、RA 1 本が閉塞していた。グラフト血流波形を高速フーリエ変換し、高周波成分の和を Ha とし、平均血流量 (MGF)、Palusatility index (PI) も算出した。グラフト種類別、開存

か閉塞別に Ha, MGF, PI を比較した。

【結果】開存したグラフトでは ITA, RA, SVG の順に Ha が低値であった ($p < 0.05$)。MGF, PI には有意な差がなかった。閉塞したグラフトは開存したものに比し有意に Ha が高値であった ($p < 0.01$)。

【結論】開存したグラフトでは MGF, PI ともにグラフトの種類によって差はなかった。しかし、現在報告されている遠隔期グラフト開存率は ITA, RA, SVG の順であり、今回指標とした Ha の順位と一致した。また、閉塞グラフトでは、Ha が高値になることが示された。高速フーリエ変換を用いたグラフト血流波形分析は、遠隔期のグラフト開存の予測に有用となる可能性が示された。

22. 臓器虚血を伴った急性大動脈解離の検討

○金子政弘¹, 和気秀文¹, 向坂 彰¹, 畑田充俊¹, Sabine Sandra Stephanie GOURAUD-WAKI¹, 崔鶴¹, 山崎寿也¹, Mohammad Eliusur Rahman BHUIYAN¹, 高岸美和¹, 前田正信¹, 西村好晴², 打田俊司², 久岡崇宏², 本田賢太郎², 吉田 稔², 岡村吉隆² (和歌山県立医科大学, ¹同 第2生理学, ²同 第1外科)

【背景】循環器救急疾患である急性大動脈解離 (acute aortic dissection: AAD) の重大な合併症の1つとして、多様な臓器虚血症状を引き起こすいわゆる malperfusion があげられる。当施設で経験した臓器虚血症状を伴った AAD の治療成績について検討した。

【対象】2001年1月～2008年7月までに当施設で加療した AAD145例 (手術: 85例, 保存的: 60例) のうち、臓器虚血を伴った 21例を対象とした。男性: 女性 = 15: 6, 年齢は 62歳 (43～85) であった。【結果】臓器虚血部位は、脳 5例, 心臓 7例, 腸管 3例, 腎臓 2例, 上肢 1例, 下肢 5例であった。16例に外科的血管再建を行い、5例を保存的加療とした。このうち外科的血管再建を行った 16例のうち、広範な心筋梗塞によって術後の低心拍出量症候群 (LOS) が持続した 1例を失い、保存的加療を行った 5例のうちでは、来院時より下血をきたしていた腸管虚血 1例と、来院時より広範な脳梗塞を発症していたため手術適応外と判断された 1例をあわせて 2例を失ったが、その他全例を救命しえた。

【まとめ】malperfusion を伴った AAD に対しては、早期に虚血を解除する必要がある。場合によっては積極的な外科的血管再建を要すると考えられた。

23. 前脳基底野コリン作動性ニューロンにおける TASK1 類似 K⁺電流に対する PKG の調節作用

○豊田博紀, 齋藤 充, 佐藤 元, 姜 英男 (大阪大学

大学院歯学研究科高次脳口腔機能学講座)

Two-pore domain K⁺チャネルは、神経細胞の興奮性調節に非常に重要な役割を果たしており、哺乳類の脳内では、TASK1 及び TASK3 チャネルが広く分布している。TASK1 と TASK3 チャネルの間には異なったプロトンブロック作用が存在するため、細胞外 pH に対して異なった感受性を示すと考えられている。我々はこれまで、BFC ニューロンにおける TASK1 類似漏洩 K⁺電流 (I-K_{leak}) が NO-cGMP-PKG 系により活性化されることを明らかにした。本研究では、I-K_{leak} の pH 感受性が PKG 活動の抑制により抑制されるかどうか、また、どの TASK チャネルサブユニットが、PKG による調節作用に関与しているかについて検討した。

PKG 活動の抑制により、I-K_{leak} の細胞外 pH 依存的活性化がアルカリ性の方向にシフトした結果、pH 7.3 でのみ I-K_{leak} が減少することが明らかになった。さらに、単一細胞 RT-PCR 及び免疫組織化学染色の結果から、BFC ニューロンでは TASK1 チャネルを発現していることが明らかになった。本研究により、PKG 活動の活性または抑制が、TASK1 類似 I-K_{leak} における細胞外 pH 依存的な活性化をそれぞれ、酸性またはアルカリ性の方向にシフトさせ、その結果、TASK1 類似 I-K_{leak} の増大または減少が引き起こされることが強く示唆された。

24. 三叉神経中脳路核ニューロンにおけるグルタミン酸受容体チャネルに対する h チャネルの干渉作用

○齋藤 充, 佐藤 元, 豊田博紀, 姜 英男 (阪大院歯・高次脳口腔機能)

電位固定下で、三叉神経中脳路核 (MTN) ニューロンからグルタミン酸 (Glu) 溶液のパフ投与に対する電流応答を記録し、応答の最大振幅を保持電位に対しプロットすると、0mV 付近で反転する N 字型の I-V 関係を示した。これは、過去に報告された AMPA 型 Glu 受容体 (GluR) チャネル電流の内向き整流型 (I 型) 及び外向き整流型 (II 型) I-V 関係のいずれとも異なっていた。また、-40mV より過分極側で内向き及び外向き成分からなる二相性の電流応答がしばしば観察され、その外向き成分は Cs⁺ 及び ZD7288 で抑制された。従って、外向き成分の生成に h 電流が関与することが示された。Na⁺/K⁺透過比率が異なる GluR チャネル及び h チャネルがマイクロドメインを共有しているとすると、GluR 電流の見掛け上の逆転電位が過分極側へシフトしていることが考えられる。また、GluR チャネル活性化による [Na⁺]_i の上昇は、h 電流の逆転電位を平衡状態つまり保持電位よりも更に過分極側へシフトさせ、GluR チャネル活性化に伴う一過性の外向きの h 電流を生じると考えら

れる。この様に、Glu パフ投与に対する二相性の電流応答は GluR チャンネルと h チャンネルの相互作用により生じており、その結果 N 字型の I-V 関係を示すと考えられる。

25. 大脳皮質興奮性入力のカラム内同期化に関与する GABA (B) シナプス前抑制

○佐藤 元, 豊田博紀, 齋藤 充, 姜 英男 (大阪大学大学院歯学研究科高次脳口腔機能学講座)

大脳皮質第 III 層の局所に電気刺激を与えると、GABA (A) 受容体活性化による抑制作用は II/III 層において水平方向に広がるが、GABA (B) 受容体活性化による抑制作用は皮質表面に対して垂直方向に広がることを既に報告している。こうした GABA (B) 作用の空間パターンをさらに明らかにするため、本研究では、ラットバレル野のスライス標本においてホールセル記録および光学的膜電位測定を行ない、GABA (B) シナプス前抑制の空間的な広がりを EPSC の Paired-pulse depression (PPD) を指標として調べた。III 層刺激により、III 層錐体細胞で観察される PPD は刺激電極から離れるに従い減少し、隣接カラムではほぼ消失したが、同一カラム内の III 層と V 層錐体細胞ではともに同程度の PPD を示した。また、光学測定においても、GABA (A) および NMDA 受容体拮抗薬の存在下で PPD が観察され、II/III 層におけるその空間パターンが明らかになった。GABA (B) 受容体拮抗薬の灌流投与により PPD が消失したが、その結果、V 層の興奮性が顕著に増加した。これらのことから、GABA (B) のシナプス前抑制がカラム内の同期化に関与していることが示唆された。

26. 耳石器の錯覚現象によって誘発される直線運動感

○岡 圭輔¹, 岡村和哉¹, 谷口善彦¹, 池田 聖², 柴田智広², 山下勝幸¹, 和田佳郎¹ (¹奈良医大・第一生理, ²奈良先端科学技術大学院大学・情報科学研究科)

耳石器は、頭部の“傾き”と“直線運動”という2種類の直線加速度を感受することから、しばしば両者を混同する。われわれはこの錯覚現象を利用した加速度バーチャルリアリティシステムを構築し、現在、眼球運動を指標としてその検証実験をおこなっている。実験は健常成人5人(平均23.6歳)を対象に、椅子を静止あるいは後方へ傾斜させながら球面状没入型スクリーン(直径375cm)に前方へ加速する動画または静止画を投影し、その際の両眼の水平性および垂直性眼球運動を測定した。椅子が静止していると誘発される眼球運動は小さかったが、椅子が後方へ傾くと下向き眼球運動と共に輻輳性眼球運動が誘発された。刺激開始200ms後の眼球運動速度について解析すると、椅子が後方へ傾く場合の下向き眼球運動は動画と静止画で差は認

めなかったが (paired t-test, $p > 0.16$)、輻輳性眼球運動は静止画よりも動画の方が有意に大きかった ($p < 0.01$)。輻輳性眼球運動は前方向の直線運動によって誘発される眼球運動であることから、以上の結果は、後方向の傾きによって前方向の直線運動感が誘発され、さらにその錯覚現象は前方向への動画刺激によって増強されることを示している。

27. ラット内側膝状体腹側亜核の聴覚反応に体性感覚入力がおよぼす影響

○堂西倫弘, 木村晃久, 井辺弘樹 (和歌山県立医科大学医・生理学第1)

異種感覚情報の相互干渉を大脳皮質1次感覚野でも認める研究報告が相次ぎ、階層的感覚情報処理システムの概念を革新する必要性が生じてきた。大脳皮質領域間の連絡が、この相互干渉を可能にすると考えられているが、抑制や短潜時の干渉は皮質間連絡では説明できない。今回、特定の感覚入力を中継する1次の視床核に異種感覚の干渉があると仮定し、聴覚情報のみを処理・中継する視床核、内側膝状体腹側亜核 (MGV) で体性感覚による干渉の有無を調べた。麻酔下、ラットのMGVから白色雑音に対する音反応 (unit discharge) を記録し、後肢足底への電気刺激 (音刺激に0-300ms先行する) または持続ピンチ刺激が音反応におよぼす影響を検討した。主としてMGVの尾側2/3の領域で、抑制と増強、両方向の影響を認めた。多くは抑制され、また先行時間に関しては増強が抑制に引き続き現れる傾向を認めた。さらに、聴覚と体性感覚の末梢入力を受ける背側亜核 (MGD) と内側亜核 (MGM) でも記録した。MGDでは有意な影響をほとんど認めなかったが、MGMでは著明な増強を認めた。この結果は、異種感覚情報が取束する2次の視床核のみならず、1次の視床核においても異種感覚情報が相互干渉 (概ね抑制) することを示唆する。

28. 抑制性入力による下丘ニューロンの音反応特性の形成メカニズム

○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道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。下丘神経細胞の音反応特性の形成には、抑制性入力が必要な役割を果たしていることが知られているが、その詳細は明らかではない。

我々は、in vivo whole-cell パッチクランプ法により、下丘の音反応特性を形成する、シナプス入力特性及び興奮性膜特性を調べた。シナプス入力特性については、電位固定法による後シナプス電流記録に対し、コンダクタンス分離法を用いて、興奮性及び抑制性の入力に分離し、それぞれの

大きさ、時間経過を比較した。

その結果、下丘のシナプス入力、下丘内の部位により興奮性/抑制性入力のバランスが異なり、下丘皮質部においては下丘中心部に比べて抑制性入力強いことが明らかとなった。一方、興奮性膜特性には、下丘内の部位に従った特定の傾向は見られなかった。このことから、シナプス入力の部位特異性が、下丘神経細胞の音反応特性の部位特異性を形成していることが示唆された。

29. トリ層状核神経細胞におけるフィードフォワード抑制機構の働き

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

音源定位における両耳間時間差(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入力の同時検出器として働くことで行われる。鳥類では層状核(NL)が、哺乳類では内側上オリブ核(MSO)がその役割を担い、その精度には抑制性入力が必要な働きを持つ。MSOでは抑制が興奮に対して一定の時間差で入ることが必要とされる。NLにおける抑制の起源は上オリブ核(SON)である。SON細胞は音の強さに応じた抑制によりITD検出精度を制御するが、哺乳類のような時間情報を保持した抑制は知られていない。抑制性の介在細胞がNL周囲に存在するが役割は不明である。今回の研究において介在細胞によるフィードフォワード抑制機構の存在が示唆された。蝸牛神経核からの興奮性線維を電気刺激すると、NLの低い周波数領域の細胞(low-CF細胞)においてEPSCに同期したIPSCが観察された。このIPSCはSONを除去しても観察されることから、介在細胞によると考えられる。介在細胞はlow-CF細胞の周辺に集中していること、low-CF細胞におけるmIPSCの時間経過が早いことから、低い周波数領域においてこの抑制機構が働くと考えられる。そのITD検出における役割について検討する。

30. トリ層状核の両耳間時間差検出における両耳間音圧差の補正

○西野恵里, 山田 玲, 久場博司, 大森治紀 (京都大医・神経生物)

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)は左右の耳間の距離に応じて決まる。特に低周波数音は波長が長いこと、頭の小さな動物ではITD検出が困難とされる。鳥類でITDを最初に検出する層状核(NL)では、GABA抑制性入力によるITD検出精度の向上が知られている。以前の研究で、我々は上オリブ核から

のGABA抑制性入力低周波数領域におけるITD検出精度を音圧依存的に向上させることを、ニワトリNLのin vivo単一細胞記録から明らかにした。さらに、NLへ興奮性入力を送る左右大細胞核の神経活動を調節し均衡させることにより、上オリブ核は両耳間音圧差を補正し、ITD検出精度を最適化することをシミュレーションで示した。今回、我々はNLのITD応答に与える両耳間音圧差(ILD)の影響を実験的に明らかにした。NLのITD応答は小さなILDには影響を受けなかったが、大きなILDに対しては消失した。以上を総合して、NLにおける音圧差補正のメカニズムを検討した。

31. マウス下丘に存在する音の終了時をコードするニューロンの特性

○笠井昌俊, 小野宗範, 大森治紀 (京都大学医学部神経生物学教室)

全ての聴覚脳幹神経核からの投射を受け、音情報の統合的処理をおこなう下丘は、中脳最大の構造であり、聴覚系の下位の中核となる重要な神経核である。さらに、下丘のニューロンは上位へ情報を出力すると同時に、視床や、聴覚皮質からも、多くの速心性の入力を受ける。下丘の働きは、これらの多様な入力と、複雑な細胞構成のため、未知な点が多い。

下丘のニューロンは、音の時間情報を様々な形式でコードしているが、その中には、音刺激が終了したところで発火するニューロン(以下、offsetニューロン)が存在する。Offsetニューロンは、音の終了時をコードしていると考えられるが、その応答特性を形成するメカニズムの詳細は不明である。そこで我々は、以下の手法を用いてoffsetニューロンの特性を調べた。1) Single Unit RecordingとJuxtacellular Staining法から、offsetニューロンの下丘内での分布に局在があることが示唆された。また2) in-vivo patch recording法を用い、offsetニューロンの応答特性を形成する膜特性およびシナプス特性についても検討した。

32. マウスで示されたOKRに対する視野感度特性

○清水直樹^{1,2}, 田端宏充¹, 和田佳郎³, 河野憲二¹ (1) 京都大学医学研究科認知行動脳科学, (2) 奈良県立医大耳鼻咽喉科, (3) 奈良県立医大第一生理)

視運動性反応(OKR: Optokinetic Response)の緩徐相速度は刺激開始直後に急速な増加を示し、その後徐々に増加を続け一定の速度に達する。このうち急速増加を示す成分は中心窩の発達した霊長類に顕著で、その視覚特性は詳しく調べられているが、緩徐に増加する成分の視覚特性についてはいまだ不明な点が多い。OKRの緩徐増加成分につい

ては齧歯類など中心窩の発達していない哺乳類でも認められることが知られているので今回、マウスで誘発されたOKRの視野感度特性についての検討を行った。C57BL/6J雄性マウスの頭部を固定後、モニター上の視覚刺激により誘発された片眼の眼球運動をビデオカメラ方式で計測、LabVIEWにてデータを集積後、Matlabを用い解析した。網膜上での角度が上下5度となる幅の縦縞模様の線条が水平に動く視覚刺激を用い、縞模様の中心が水平面から下10°から上35°に位置するときに誘発されるOKRを観察した。視覚刺激の中心が水平位置より20°上方付近にある時、最も強いOKR緩徐相の増加が観察された。マウスのOKRは視覚刺激に対する依存性が霊長類とは異なり上下の視野で非対称で、感度の高い部分が上部にあることが示された。

33. 追従眼球運動を手がかりとした最小運動法による生理的等輝度点推定

○松浦清人、三浦健一郎、河野憲二（京都大学医学研究科認知行動脳科学）

等輝度色刺激を作成する際、被験者ごとに生理的等輝度点を測定するために用いる方法として輝度成分を抽出する運動機構の特性を利用した最小運動法がある。この方法はこれまで知覚を手がかりとしていたが、本研究では、より生理的な反応である追従眼球運動を手がかりとした。視覚刺激は黒と白からなる輝度正弦波縞および赤と緑からなる色度正弦波縞で、それぞれ輝度コントラスト(LC)および色度コントラスト(CC)で決定される。ここで色度と輝度の位相差が0の場合、LCは正、位相差が π の場合、LCは負とした。奇数フレームに輝度正弦波縞(CC:0%, LC:4%)、偶数フレームに色度正弦波縞(CC:30%, LC:-8%~6%を1%ごと15種類)を1/4周期ずつシフトして提示し、眼球運動を記録した。その結果、LCが6%のときは有意に眼球運動が生じ、LCが減少するにつれ、眼球運動が小さくなり、-6%ではほぼ0となる。さらにLCが減少すると眼球運動は逆転した。LCが6~-5%で眼球運動が生じるのは、緑が赤より輝度が高いため、LCが-7、-8%で逆方向の眼球運動が生じるのは、赤が緑より輝度が高いためだと考えられる。つまり、眼球運動が0に近い-6%のときが赤と緑の輝度が等しい点、生理的等輝度点だと推定できる。

34. 血管条辺縁細胞に存在するCa²⁺チャンネルによる蝸牛内直流電位の調節

○森 禎章¹、渡辺正仁²、乾 崇樹³、竹中 洋³、窪田隆裕¹（¹大阪医科大学生理、²同 解剖、³同 耳鼻咽喉科）

蝸牛内直流電位(EP)は蝸牛血管条で発生しており、音受容に重要な役割を果たしている。本研究ではEPの調節に対する血管条細胞内Ca²⁺濃度の役割を検討した。

電気生理実験では、モルモット蝸牛第2回転よりガラス微小電極を経血管条的に内リンパ腔に刺入し、種々の条件でEPを測定した。

免疫組織化学実験では、L型Ca²⁺およびTRPCチャンネルの血管条における局在を観察した。

L型Ca²⁺チャンネル阻害剤であるニフェジピンを内リンパ腔に投与すると、一過性無呼吸負荷によるEPの低下が著明に抑制されたが、フロセミド投与によるものは殆ど抑制されなかった。また、膜透過性Ca²⁺キレート剤であるEGTA-AMや、TRPCおよびL型Ca²⁺チャンネルを阻害するSKF96365の内リンパ腔への投与では、無呼吸負荷およびフロセミド投与によるEP低下の両者が有意に抑制された。免疫組織化学実験では、辺縁細胞側基底膜にL型Ca²⁺チャンネルおよびTRPCチャンネルの陽性反応が観察された。

以上より、無呼吸負荷時には主としてL型Ca²⁺チャンネルが、フロセミド投与時には主としてTRPCチャンネルが開孔して辺縁細胞の細胞内のCa²⁺濃度が上昇し、EPが低下する可能性が示唆された。

35. 膀胱支配神経求心線維の入力する後根神経節におけるTRPM8の発現

○松吉ひろ子、辰巳晃子¹、横山昇平¹、和中明生¹、近藤秀明²、高木 都（奈良県立医科大学医学部医学科・第二生理学、¹同 第二解剖学、²同 泌尿器科学）

TRPM8はTRP(transient receptor potential)ファミリーに属する低温(\leq ca.28°C)刺激受容体で求心性刺激伝達に関与している。膀胱の知覚は骨盤神経を経て脊髄へと伝達されるが、冷感反射は求心線維の易刺激性に関係し、膀胱過活動で増強されると言われている。冷感受容体の膀胱過活動性への関与を解明するため、膀胱支配神経の求心線維におけるTRPM8の発現の有無を正常ラットについて組織学的手法を用いて調べ、さらに尿道閉塞モデルラットと比較検討した。膀胱支配神経の求心線維をFluoro Goldで標識し、それらの線維が入力しているL6とS1の後根神経節(DRG)について免疫組織学的にTRPM8の発現を調べた。TRPM8はDRG小型細胞に発現が認められたが、膀胱からの知覚神経での発現は検出できなかった。さらに、In situ hybridizationによって、小型細胞でのTRPM8発現が認められた。しかし、正常ラットと尿道閉塞モデルラットとの間にTRPM8陽性DRG細胞の発現比率や大きさに差は認められなかった。