

第56回中部日本生理学会

日	時	2009年12月4日(金)	10:25~10:30	開会挨拶
			10:30~12:00	口演
			13:00~14:00	ポスターセッション
			14:00~15:45	口演
			16:45~17:45	教育講演
			17:45~18:30	総会
			19:00~	懇親会
5日(土)	9:00~11:45			口演
	14:00~17:00			テニス大会

会場：石川県立音楽堂 交流ホール

当番幹事：多久和陽，櫻井 武，加藤 聖，東田陽博

参加者：107名

演題数：教育講演2題 一般講演54題（口演26題，ポスター28題）

本年度の中部日本生理学会（第56回）は，7月末に京都で国際生理学会が開催された関係で，例年より2カ月，後にずらして，12月初旬に金沢大学を幹事校として開催しました．教育講演では，櫻井武教授による“睡眠覚醒を制御するオレキシン系の発見”，老木成稔教授による“世界初の1分子のK⁺チャネル開閉の構造変化の測定”，に関しての，最先端かつたいへんわかりやすい講演が行われました．一般演題では，高次中枢神経機能，感覚機能，循環機能，イオンチャネル・トランスポーター機能などの幅広い領域において，分子，細胞，個体の各レベルでの多くの興味ある発表が行われ，各演題で参加者との間の熱をおびた質疑が活発に行われ，時間が大幅に延長となりました．総会では，生理学会各種委員会報告，次期・次々期開催校の紹介・決定が行われました．学術プログラム外では，恒例の懇親会，テニス大会を開催し，会員相互の親睦を深めました．本大会は，様々な分野の生理学研究者が一会場に集い，“各分野の最新研究”に触れ，情報交換，討論を通じて研究の一層の進展をはかるとの本会の使命を達成できたものと思われま

E-1. 新規神経ペプチドの探索と生理機能の解明

○櫻井 武（金沢大学医薬保健研究域医学系分子神経科学・統合生理学）

われわれは，オレキシンを，逆薬理学的手法によって同定し，摂食行動を制御する神経ペプチドとして発表した．その後，オレキシン産生神経の脱落がナルコレプシーの病態に深く関わることから，オレキシンは覚醒の維持・調節にも重要な役割を持っていることが明らかになってきた．オレキシン神経は視床下部の摂食に関与する核（弓状核，腹内側核など）に投射して，それらの核を制御することによって，摂食量を亢進させるが，オレキシン神経は，脳幹や視床下部の覚醒の制御に関与するモノアミン神経系にも密に投射しており，これらの核を制御し，睡眠覚醒の調節に関与する．近年われわれはオレキシン産生神経の入出力系を詳細に検討することにより，オレキシン神経は，動物

の栄養状態，エネルギーバランスに応じて，覚醒レベル，感情，モチベーションなどを制御する役割をもっていることを見出してきた．このように，オレキシンは，オーファンGPCRリガンドの探索から始まり，その生理的役割の解明につながった例である．今後も新規のGPCRリガンドの探索と同定が行われると考えられるが，同定後の生理的な役割の解明，さらには臨床応用にも力を注いだ研究が期待される．今回は，ニューロペプチドB，ニューロペプチドWの生理的役割についても時間があれば言及してディスカッションしたい．

E-2. チャネルゲーティングの1分子構造変化ダイナミクス

○老木成稔（福井大学医学部分子生理）

単一チャネル電流で見えるチャネル電流のオン-オフが，

どのような構造変化に根ざしたのか。1998年にチャネルの立体構造が解明されても、ダイナミックな構造変化に関する手がかりは得られなかった。1分子のチャネル蛋白質の立体構造変化をリアルタイムで捉えるために、私達は佐々木裕次ら(2000)によって開発されたX線1分子計測法(Diffracted X-ray tracking: DXT)を適用した。KcsAチャネルは放線菌由来の蛋白質でアミノ酸残基数が160である。4量体となってチャネル活性を示すが、細胞質側のpHが酸性(pH4)になると開口する。極めて安定な蛋白質であり、脂質平面膜への再構成でチャネル活性を示すだけでなく、界面活性剤で可溶化させた状態でもゲーティングを示すことが明らかになっている。KcsAチャネルをガラス基板の上に細胞外ループ部位で固定し、他端の細胞質ドメインに金ナノ結晶を結合させた。この金結晶に高輝度放射光施設(SPring-8: 播磨)の白色X線を照射することで、チャネル1分子からの回折点を観察でき、チャネルの構造変化をビデオレートで測定することができた。チャネルが閉じている中性pHではチャネル蛋白質の小さなゆらぎしか観察されなかったが、酸性pHではチャネル分子の長軸のまわりに大きくねじれる構造変化が観察された。KcsAチャネルは α ヘリックスの束からなる構造であり、この束が緩んだり、絞られたりすることでイオン透過路が開閉することが明らかとなった。

O-1. 性行動におけるオスラット側坐核ニューロンの応答性

○松本惇平¹、浦川 将²、堀 悦郎¹、小野武年²、西条寿夫¹ (¹富山大学医学薬学研究部システム情動科学、²富山大学医学薬学研究部神経整復学)

側坐核はつがい形成や、接触によらない間接的な刺激による性的動機付けなど社会行動と性的動機付けの接点としての役割が示唆されている。本研究では、自由行動下のオスラットから側坐核ニューロンを記録し、性行動およびその前後の期間におけるニューロンの活動性を解析した。メスは卵巣摘出後、実験の約48時間前にエストロジェンを、約4時間前にプロゲステロンを皮下注射して発情させた。オスラットは、事前に性行動を経験させ、ついで側坐核殻部に電極を埋め込み、1) オス単独でいるとき、2) メスと網越しに対面しているとき、および3) 性行動中のニューロン活動を記録した。

これまでラット2匹から12個の側坐核ニューロンを記録し、上記3条件における平均発火頻度を、また特定行動との関連性を解析した。その結果、上記3条件で平均発火頻度が異なるが行動との対応がないニューロン(1個)、上記3条件で平均発火頻度が異なり、かつ行動との対応関係

のあるニューロン(4個)、および行動との対応関係のみ認められるニューロン(3個)が観察された。また、特定行動では、それぞれ探索行動(1個)、メスへの接近(1個)、メスからの離散行動(1個)、ペニスのグルーミング(1個)、射精(2個)、および腰部の前後運動(1個)に関連していた。以上から社会行動(接近・離散行動)と性行動に関連するニューロンが側坐核に存在し、上記仮説を支持すると考えられる。

O-2. 条件付けによる麻酔下マウス扁桃体の聴覚誘発電位の変化

○中村友也¹、堀 悦郎¹、小野武年²、西条寿夫¹ (¹富山大学医学薬学研究部システム情動科学、²富山大学医学薬学研究部神経整復学)

恐怖条件付け反応とは、音刺激などの中性の感覚刺激(条件刺激)と電気ショックなどの罰刺激(非条件刺激)を連合させると、条件刺激に対しても恐怖情動反応を示すようになる現象である。一方、扁桃体は、恐怖条件付けに重要な役割を果たし、電気生理学的には条件付けの成立後に条件刺激に対する刺激誘発電位の振幅が増大することが報告されている。本研究では、種々の薬物作用を簡便に定量的にテストする実験系を確立することを目的に、麻酔下における条件付けを試みた。実験にはC57B/6雄性マウスを用い、導入麻酔薬としてアバチン(125mg/kg, i.p.)、維持麻酔薬としてウレタン(1.5mg/kg, i.p.)を用いた。また、聴覚条件刺激としてトーンバースト(持続時間500msec)を合計100回呈示した。一方、非条件刺激として電気ショックを条件刺激の最後の100msecと一致して下肢に与えた。扁桃体からの聴覚誘発電位は、タングステン記録電極を用いて記録し、100回のデータを加算平均した。その結果、麻酔下においても覚醒下と同様に、条件付けにより扁桃体における聴覚誘発電位の振幅増大が観察された。また、ジアゼパムの腹腔内投与はこの振幅増大を抑制した。以上から、本実験系は行動要因を除外した音条件付けの神経生理学的モデルとして有用であると考えられる。

O-3. オレキシニューロンによる食餌同期性概日活動リズムの調節

○三枝理博¹、阿部友美^{1,2}、柳沢正史³、田中光一²、櫻井 武¹ (¹金沢大学大学院分子神経科学・統合生理学、²東京医科歯科大学分子神経科学、³テキサス大学サウスウェスタンメディカルセンター)

餌が昼間の一定の時間帯でのみ得られる環境(制限給餌)に置かれると、マウスは夜行性にも関わらず、給餌前数時間にわたり覚醒を著しく亢進して食物を盛んに探索する

(食餌予知活動)。この「食餌同期性」の概日活動パターンは視交叉上核 (SCN) とは別の生物時計 (食餌同期性クロック) によって制御されると考えられている。

神経ペプチド・オレキシンは視床下部外側野に発現し、覚醒、自発活動等を亢進する。オレキシンノックアウトマウス、オレキシンニューロン欠損マウスでは、野生型マウスに比べ食餌予知活動・覚醒が大幅に減少していた。Fos 発現を神経活動の指標に用いた実験では、食餌予知活動の際にオレキシンニューロンの活動は亢進していた。一方で、これらのマウスの食餌同期性クロックは正常であることが示唆された。従って、オレキシンニューロンは食餌同期性クロックの出力系として機能し、食餌予知活動を制御すると考えられる。

二つのオレキシン受容体 (OX1R, OX2R) が存在し脳内に広く発現している。OX1R ノックアウトマウスは野生型マウスと同等の、OX2R マウスは有意に減少した食餌予知活動を示した。OX1R; OX2R ダブルノックアウトマウスは OX2R ノックアウトマウスよりさらに減少し、オレキシンノックアウトマウスと同様のフェノタイプを示した。従って、OX1R, OX2R のどちらも食餌予知活動に役割を果たすことが示唆された。

O-4. CD157 と脳機能

○東田陽博, 横山 茂, 橋井美奈子, M.S. Islam, S. Amina, O. Lopatina, 東田知陽 (金沢大学大学院医学系研究科脳細胞遺伝子学)

脳細胞に多く依存している NAD からセカンドメッセンジャーであるサイクリック ADP リボース (cADPR) が作られる。これを触媒する分子を ADP リボシルシクラーゼと呼ぶ。細胞表面に存在しているタイプ II 糖タンパク質の CD38 は、その酵素活性を有している。その仲間である CD157 も低いが、酵素活性を有している。そこで、CD157 の脳内での存在や活性、オキシトシン遊離や社会性認識行動への関与について、C57BL/6 や CD157 ノックアウトを使い解析を開始したので報告する。

O-5. dsPIC を用いた歩行データ収集システムとその応用

○島田洋一 (金沢工業大学情報学部心理情報学科)

本研究は片足切断者の歩行を支援する能動下腿義足の開発のため、健常者の下腿部及び大腿部からの歩行時の筋電図や足関節角度などの生体情報を内蔵の記録媒体に保存し、実験終了後にホストコンピュータ上でオフラインでの解析を行うマイクロプロセッサを搭載した乾電池駆動型の携帯型データ収集システムと実際の応用例について報告す

る。このシステムのコアにはデジタル信号処理に特化したマイクロチップ社の dsPIC (dsPIC30F5011 および dsPIC30F3013) を用いて構築したもので、筋電図や関節角度のアナログ信号を内蔵の AD 変換器でデジタル情報に変換し、システムに組み込んだ記録媒体である EEPROM および SD メモリカードに格納し、記録されたデータを別のコンピュータで解析するものである。プログラム開発は統合開発環境 MPLAB のもとでアセンブリ言語および C 言語により記述して行った。さらトレッドミル上を歩行した際の映像をビデオカメラで記録すると同時に、映像と同期できるように同期信号もデータ収集システムに取り込めるようにもしてある。

O-6. 運動後筋痛覚過敏 (遅発性筋痛) におけるグリア由来神経成長因子 (GDNF) の役割

F. Queme, ○村瀬詩織, 水村和枝 (名古屋大学環境医学研究所神経系分野 II)

運動後 1, 2 日して現れる筋機械痛覚過敏 (遅発性筋痛, DOMS) の発生・維持機構には不明な点が多い。我々は以前の実験において、運動中に生じるブラジキニンが B2 受容体を介して神経成長因子 (NGF) の産生を高め、筋痛覚過敏を起こしていることを明らかにした (論文改訂中)。さらに、COX2 阻害薬もまた運動前に投与すると DOMS の発生を抑えるが、COX2 阻害薬は NGF の産生増大は抑制しなかったため、他の物質が関与していると推定された。そこで GDNF の関与について調べた。実験動物には雄性 SD ラットを用いた。伸張性収縮負荷、標本の採取、GDNF 抗体の筋注は麻酔下で行い、筋逃避反応閾値の測定は覚醒状態で行った。運動後の筋における GDNF mRNA は 6 時間後から 1 日後まで増大していた。12 時間後の GDNF 発現増大は、COX2 阻害薬である Zaltoprofen, Celecoxib (ともに 10mg/kg, p.o.) によって抑制された。そこで筋痛覚過敏が GDNF で維持されているか明らかにするため、抗 GDNF 抗体 (10 μ g/5 μ l) を筋注したところ、投与後 3 時間で筋痛覚過敏は改善を始め、1 日後には大幅に回復した。これらのことから COX2 活性増大は GDNF を介して筋痛覚過敏を生じていると考えられる。COX2-GDNF 系とブラジキニン-NGF 系の相互作用は、今後調べなければならない点である。

O-7. 視神経再生分子プルプリンによる RALDH2 の発現促進作用およびそれに伴う nNOS の発現について

○齊藤淳一¹, 郡山恵樹², 松川 通², 馬渡一浩¹, 加藤聖² (¹金沢大学大学院医学系研究科保健学専攻, ²金沢大学大学院医学系研究科脳情報分子学)

我々は中枢神経再生モデルとして魚類視神経を用い、再生に関与する分子としてレチノール結合タンパク質であるプルプリン (PUR) を見出した。PUR タンパク質は視神経切断2~5日後に網膜神経節細胞層 (GCL) で発現が増加する。今回 PUR の視神経再生作用機序を把握するために、PUR により誘導される分子について金魚網膜を用い調べた。レチノールの代謝産物であるレチノイン酸 (RA) が軸索伸長に関与するという可能性を考え、視神経切断後のレチノイン酸合成酵素 (RALDH2) の発現と局在を調べた。その結果、切断5~7日後に GCL で発現が増加することが分かった。また、RA により誘導される分子の一つである神経型一酸化窒素合成酵素 (nNOS) についても同様に調べた。その結果、切断7~10日後に GCL で発現が増加することが分かった。以上から PUR が RALDH2 を調節し、RALDH2 が nNOS を調節して軸索伸長を促すと考えた。網膜組織片培養において PUR 添加により軸索伸長は促進され、RALDH2 タンパク質量は増加した。また、PUR の眼球内投与により RALDH2 タンパク質量の発現は増加した。同様に RA 添加により軸索伸長は促進され、nNOS タンパク質量は増加した。以上から PUR は視神経再生初期に発現し、レチノイドを介して視神経再生を促す可能性が示唆された。

O-8. 磁気ビーズ結合 A2B5 抗体を用いた細胞選別によるマウス ES 細胞からオリゴデンドロサイトへの分化誘導

○藤田政隆¹、三角吉代¹、水野恵介²、上田佳朋¹、渡邊陽子¹、飛田秀樹¹ (1名古屋市立大学・医学研究科・脳神経生理学、²同 新生児・小児科医学)

運動麻痺や認知障害を主とする未熟児に多い脳室周囲白質軟化症 (PVL) は、発達期のオリゴデンドロサイト前駆細胞に対する特異的虚血脆弱性が関与する。PVL モデルラットへのオリゴデンドロサイト系譜細胞の細胞移植によって障害機能を再建させることを最終目的とし、本研究では、マウス胚性幹 (ES) 細胞からオリゴデンドロサイト (OLs) への選択的な分化誘導について検討した。

ES 細胞から OLs への分化誘導は7段階の過程により行なった。すなわち、ES 細胞の増殖 (stage 1)、EB 細胞の形成 (stage 2)、神経幹細胞 (NSC) の選別 (stage 3)、神経幹細胞の増殖 (stage 4)、グリア前駆細胞の増殖 (stage 5)、OLs 前駆細胞の増殖 (stage 6)、オリゴデンドロサイトへの分化 (stage 7) により分化誘導させた。その結果、 β -tubulin III 陽性の神経細胞、GFAP 陽性のアストロサイト、MBP 陽性の OLs が認められ、SSEA-1 陽性の未分化細胞も検出された。また、形態的に OLs 様の細胞において OLs に特徴的な内向き整流性カリウム電流を確認できた。次に、テラ

トーマ形成能を持つ SSEA-1 陽性細胞の除去およびグリア系細胞の選択的回収を目的とし、stage 5 の細胞から A2B5 陽性のグリア前駆細胞を MACS (磁気ビーズ結合抗体による細胞選択法) により選択した後、分化誘導を行なった。その結果、アストロサイトおよび OLs 細胞が培養できることが明らかになった。以上の結果から、PVL モデル動物への細胞移植を目的とした A2B5 陽性グリア前駆細胞の選択的回収が可能な状況となった。現在、PVL モデルラットへの細胞移植を検討している。

O-9. 不活性化しない変異体である E71A を用いた KcsA カリウムチャネルの pH 依存性

○松木悠佳、岩本真幸、清水啓史、老木成稔 (福井大学医学部分子生理学)

カリウムチャネルはゲーティングに際し分子が大きくねじれている。このねじれ運動は、ヘリックス束が絞られてイオン流が遮断されたり、ヘリックス束がゆるんでイオン流が透過したりする。これをヘリックスゲートと呼ぶ。ヘリックスゲートの開閉に伴うイオン流のオン・オフの関係を知りたい。ところがカリウムチャネルの共通の特性として、ヘリックスゲートと直列にフィルタの構造安定性による不活性化ゲート (フィルタゲート) のゲートが存在するので、単一チャネル電流のオン・オフの観察では直接ヘリックスゲートを見ることができない。そこで現在最も構造機能相関に関する情報が蓄積している KcsA カリウムチャネルを対象に変異実験を行った。KcsA チャネルは放線菌由来のカリウムチャネルである。他のカリウムチャネルと共通の特性を持っているが、他のチャネルに比べて生化学的に安定で、脂質平面膜への再構成でチャネル機能が観察できる。KcsA チャネルのヘリックスゲートは pH 依存性であるため、ゲーティング機構を明らかにするための精密な実験ができる。本研究ではフィルタゲートが不活性化しない変異体である E71A 変異 KcsA チャネルを使用し、様々な pH で単一チャネル電流記録を試みた。この結果、フィルタゲートの影響を受けずにヘリックスゲートの開閉の遷移を記録することができた。我々の実験記録を基に、KcsA チャネルのゲーティング機構について検討したい。

O-10. GABAB 受容体のリガンド結合に伴うサブユニット配置変化の FRET 法による解析

○松下真一¹、久保義弘^{1,2,3}、立山充博^{1,2,3} (1生理学研究所・神経機能素子、²総合研究大学院大学・生命科学・生理科学、³SORST, JST)

Family C GPCR に属する GABAB 受容体は、X 線結晶構

造が未だ解かれていないこともあって、その活性化メカニズムの全貌は明らかではない。本研究では、この受容体を構成する2種のサブユニット GB1a および GB2 の細胞内ドメインに蛍光蛋白を挿入することで、FRET ペアを細胞膜上で形成させ、リガンド結合にともなう動的構造変化を FRET 変化として time-lapse で捉えることを試みた。その結果、inter-subunit のペアではアゴニストとして Baclofen を加えた際、GB1a の第2ループ (i2) および GB2 の第2ループ (i2) に蛍光蛋白を持つペアと、GB1a-i2 および GB2-i1 に蛍光蛋白を持つペアで、ともに10%以上の FRET 減少が見られた。これに対し、各サブユニットの intra-subunit ペアにおいては、アゴニスト単独の投与および CGP7930 との coapplication では明確な FRET 変化は見られなかった。以上の知見より、GABAB 受容体の活性化時にはサブユニット同士が非対称に離れるという配置変化が起き、その一方で、サブユニット分子内における構造変化はわずかなものであろうと結論付けた。これは、同じく Family C に属する代謝型グルタミン酸受容体のサブユニットの配置変化様式とは質的に大きく異なるものである。

O-11. 「Ca²⁺ナノドメイン」を介するブラジキニン誘起性アストログリア細胞容積センサー外向整流性アニオンチャンネル (VSOR) 活性化機構

○秋田天平, 岡田泰伸 (自然科学研究機構生理学研究所機能協同研究部門)

脳内の主要なグリア細胞であるアストログリアに炎症メディエーターのブラジキニンが作用するとグルタミン酸放出が誘起されることが知られている。最近我々は、そのグルタミン酸が細胞容積センサー外向整流性アニオンチャンネル (VSOR) を通じて放出され、通常は細胞容積増加を感知して活性化される VSOR が、この場合は容積変化ではなく細胞内活性酸素種 (ROS) の生成により直接活性化されることを報告した (Liu et al., *J Physiol* 587 (10) : 2197-2209, 2009)。この活性化機序をさらに詳細に検討したところ、ブラジキニンの作用により細胞内 Ca²⁺濃度上昇が起こる際、細胞内小胞体上の IP3 受容体 Ca²⁺チャンネル及び細胞膜上の Ca²⁺ストア作動性ないし受容体作動性 Ca²⁺チャンネル双方のチャンネル分子開口部近傍約 20 nm 以内に形成される高 Ca²⁺濃度領域 (Ca²⁺ナノドメイン) 内で PKC が活性化され、それが VSOR 活性化のための ROS 生成を仲介していることが判明した。VSOR チャンネルが Cl イオンの他各種アミノ酸を透過することは、細胞容積調節と同時に外部へのシグナル伝達を引き起こす上で重要であり、Ca²⁺ナノドメインを介する VSOR 活性化制御機構は、そのような容積調節やシグナル伝達が細胞上の微小突起部位等の局所で精緻

に制御されることの基盤となっている可能性が推察される。

O-12. TRPP3 チャンネルの細胞容積感受性

○清水貴浩^{1,2}, A. Janssens², T. Voets², B. Nilius² (¹富山大学大学院医学薬学研究部 (薬学), ²Department of Molecular Cell Biology, Katholieke Universiteit Leuven, Belgium)

Transient Receptor Potential Polycystin 3 (TRPP3) は、様々な刺激を受容する TRP カチオンチャンネルファミリーの一つである。TRPP3 チャンネルが機能的なカチオンチャンネルを形成することは知られているが、その電気生理学的詳細についてはあまり明らかとなっていない。本研究で我々は、HEK293 細胞に発現させた TRPP3 チャンネルが、電位依存的な活性を示す Ca²⁺透過型非選択性カチオンチャンネルであることを見出した。また、TRPP3 チャンネルのシングルチャンネルコンダクタンスは過分極側で 184 pS と高く、マキシカチオンチャンネルであることが明らかとなった。

さらに我々は、細胞容積増加がこの TRPP3 チャンネル活性を亢進することを見出した。この亢進は、細胞容積変化が TRPP3 チャンネルの電位依存性を変えることにより生じることが明らかとなった。シングルチャンネルレベルでは、細胞膨張がシングルチャンネルコンダクタンスを変化するのではなく、開確率を増加することが分かった。また我々は、細胞膨張が TRPP3 チャンネルを亢進するシグナルとしてアラキドン酸が関与していることを見出した。

これらの結果から、TRPP3 チャンネルが細胞容積変化を感じる電位依存性非選択性カチオンチャンネルであることが明らかとなった。

O-13. ストア作動性カルシウムチャンネルと血管内皮細胞の機能

○加藤俊昭, 室原豊明 (名古屋大学医学部医学系研究科循環器内科学)

代表的なセカンドメッセンジャーであるカルシウムイオンの主な流入経路は非興奮性細胞ではストア作動性カルシウムチャンネル (SOC) とされており、近年その分子機構が明らかとなってきた。一方で多彩な生理的機能を持ち、循環器疾患や悪性腫瘍の病態にも重要な役割をもつ血管内皮細胞においてこのチャンネルの研究が見直されている。我々は SOC で注目されている STIM1 と Orail1 の遺伝子発現制御が血管内皮細胞の機能に与える影響について検討した。ヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) ヘウイルスベクターを用いて shRNA を感染導入し、またノックイン遺伝子を共発現させてノックダウンとそのレスキューを行い実

験に用いた。calcium imagingによりSOCを介したカルシウム流入を調べたところノックダウンによりともに70%以上の流入を抑制させ、かつノックインにより回復した。アゴニスト刺激によるカルシウムオシレーションは著しく持続時間を短縮させた。培養細胞の増殖を有意に抑え、血液凝固調節蛋白である von Willebrand factor (VWF) 放出も有意に抑制し、ノックインレスキューにより回復の傾向を認めた。以上の結果から HUVEC においてもストア枯渇応答性カルシウム流入には STIM1 と Orail が必須である。内皮細胞機能として VWF 放出を抑制させたことはカルシウムストアが枯渇し易くなるために細胞内カルシウムシグナル活動維持が困難になるものと考えられる。SOC 制御によりヒト生体内における血管内皮細胞機能を調節し得ることが示唆され、今後このチャンネルを標的にした創薬候補としても期待できる。

O-14. ATP イメージングのキネティクス解析

○古家喜四夫¹、原田京子²、曾我部正博² (¹科学技術振興機構・細胞力覚プロジェクト、²名古屋大学大学院・医学研究科)

ATP (ヌクレオチド) は脳、痛覚系、血管、炎症作用、免疫系、膀胱、気道、骨、小腸、乳腺など様々な細胞、組織で働く重要な細胞間情報伝達物質である。ATP を情報伝達物質として用いることのメリットは、すべての細胞が情報発信源になり、またほとんどすべての細胞がなんらかの ATP 受容体 (代謝型 P2Y とイオンチャンネル型 P2X ファミリー) を発現しており、情報の受け手にもなりうることである。ATP シグナリング系の普遍性、重要性はその受容体とともに明らかになってきたが、細胞からの ATP 放出経路は、Ca²⁺細胞内シグナリング系に置き換えて考えると Ca²⁺チャンネルに相当する情報伝達系における根幹部分であるにもかかわらず、ほとんど分かっていない。現在、経路としては TRP チャンネル、Cl⁻チャンネル、Gap 結合のヘミチャンネル、開口放出、トランスポーター等々が報告されている。我々は Luciferin-Luciferase 反応による ATP ルミネッセンスを超高感度カメラによって顕微鏡下でリアルタイムイメージングする事を可能にした。この方法は現在 100ms、10nM 程度の解像度を持つ。この ATP 放出(発光)の時間経過を詳しく解析すると放出の濃度や放出している時間等が分かる。各種刺激による ATP 放出過程を解析した結果、同じ乳腺細胞においてもいくつかの異なる放出経路が存在していることが示された。

O-15. 洞結節自動能の発現維持における過分極活性化陽イオンチャンネル電流の役割：非線形力学モデルの分岐構

造解析による理論的検証

○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、²京都大学大学院医学研究科・ナノメディシン融合教育ユニット、³鳥取大学大学院医学系研究科・機能再生医科学)

【目的】過分極活性化陽イオンチャンネル電流 (If) は、洞結節自動能の発現に寄与するペースメーカー電流と考えられている。しかしながら、If を抑制しても自動能は消失せず、If の本質的役割は必ずしも明確ではない。本研究では、洞結節細胞モデルの分岐構造解析を行い、自動能の発現と維持における If の役割を非線形力学的観点から理論的に検証した。

【方法】モデル細胞の平衡点 (定常状態) とダイナミクス (周期軌道) 及びその安定性のパラメータ依存性変化を示す分岐図を作成し、過分極負荷における分岐構造 (過分極負荷に対する自動能のロバスト性) とその If 増減による変化を解析した。

【結果】1) If 増強により定常電流負荷時の平衡点の不安定性は増大せず、膜電位の不安定領域は If 増強によりむしろ縮小した。2) アセチルコリン投与又は電気緊張性負荷による自動能消失 (サドルノード又はホップ分岐) の臨界値は、辺縁部細胞では If に依存して増大したが、中心部細胞では増大しなかった。3) If 活性化を加速すると If の分岐抑制効果は減弱した。4) 正常細胞の自動能は If 抑制では消失しないが、過分極細胞では If 抑制によりサドルノード又はホップ分岐が生じて自動能が消失した。

【総括】If は平衡点の不安定化には寄与しないが、過分極負荷における分岐の抑制により自動能のロバスト性を強化している。過分極細胞では If 依存性のペースメーカーングが起り得る。

O-16. モルモット小腸粘膜下細動脈でのエンドトキシンショックの膜電位への影響

○高野博充、鈴木 光 (名古屋市立大学細胞生理学)

【目的】敗血症や感染細菌のエンドトキシンによって起こるショック時は血圧の種々の薬物に対する反応低下が起こる。本研究では単離細動脈に対するエンドトキシンの影響について電気生理学的に検討した。【方法】モルモットの腹腔内に生理食塩水に溶かした LPS もしくは生理食塩水のみ (コントロール) を注射した。直腸体温を測定し、ショック状態の指標とした。4 時間後に小腸を単離し、粘膜層、平滑筋層を取り除いて粘膜下細動脈のついた粘膜下層シートにし、溶液で灌流しつつ、ガラス微小電極法を用い、細動脈の膜電位を測定した。【結果と考察】直腸体温は LPS 投与群で有意に低下していた (LPS 投与群で 34.2±0.8°C、コン

トロール群で $39.0 \pm 0.4^\circ\text{C}$ ）。静止膜電位は両者に有意差はなかった(コントロール群 $-75 \pm 4\text{mV}$, LPS 投与群 $-73 \pm 7\text{mV}$)。塩化バリウム (BaCl: 0.5mM) 投与による脱分極にも有意差はなかった。BaCl 存在下でアセチルコリンを投与するとコントロールでは $15.1 \pm 2\text{mV}$ 過分極したが, LPS 投与群では $11.2 \pm 2\text{mV}$ 過分極した。以上の結果からモット小腸粘膜下細動脈では, エンドトキシンによる静止膜電位の変化は少ないが, 内皮細胞依存性の抑制反応が障害を受けている可能性が示唆された。

O-17. 小腸タイト結合部のイオン透過性の生理的役割の検討

○野崎健太¹, 林 久由¹, 田村 淳², 月田早智子², 鈴木裕一¹ (¹静岡県立大学大学院生理学, ²大阪大学大学院分子生体情報学)

[目的] タイト結合部を構成する膜蛋白の一種 Claudin15 は小腸絨毛上皮に多く発現している。本研究は, Claudin15 欠損マウスを利用し, 小腸のタイト結合部を担う分子を同定すると共に, その Na⁺ 依存性グルコース (Glc) 吸収における生理的役割を検討した。

[方法] Ussing チャンバーに装着し, 経壁コンダクタンスと拡散電位 (m 側 75mMNaCl /s 側 150mMNaCl) を測定した。また, in vivo 灌流実験を行い, グルコースと Na⁺ の吸収速度を測定した。

[結果] 経壁コンダクタンスは WT マウスに比べ, Claudin15 欠損マウスでは低下を示した (41.2 vs. 17.6mS/cm^2)。拡散電位 (9.7 vs. -0.4mV) から WT マウスでは $\text{PNa/PCl}=3.2$, Claudin15 欠損マウスでは $\text{PNa/PCl}=1.0$ と推定された。次に灌流実験を行った所, ddY マウス(コントロール)では, フロリジン (Na⁺ 依存性 Glc 吸収阻害剤) によりグルコース吸収は低下したが, Na⁺ の吸収には大きな変化が見られなかった。一方 Claudin15 欠損マウスでは, フロリジンより Na⁺ の吸収も低下した。

[まとめ] 小腸のタイト結合部は陽イオンに対する選択性が高く, それは主として Claudin15 により担われていること, および, タイト結合部を介して管腔側へ Na⁺ が recycle し Glc 吸収を支えていることが示唆された。

O-18. クロライド吸収輸送体 SLC26A3 における N-結合型糖鎖付加の役割

○林 久由, 山下裕香理, 鈴木裕一 (静岡県立大学食品栄養科学部生理学研究室)

SLC26A3 は消化管に発現している糖タンパクであり Cl⁻ 吸収を担っている。しかし, その糖鎖の役割については研究されていない。このため SLC26A3 の点変異体を作製

し, 糖鎖付加部位の同定並びに糖鎖の役割について検討した。テトラサイクリン誘導発現系を用いて SLC26A3 の合成をウエスタンブロットイングと免疫染色で解析した。誘導後 2 時間では Endo H 感受性の 90kDa バンドが観察され, 細胞内の局在が主に観察された。誘導後 3 時間以降では PNGase F 感受性, Endo H 非感受性 120kDa のバンドの発現が観察された。 120kDa のバンドが主に観察される誘導後 24 時間では SLC26A3 は細胞膜上に主に発現しており, 成熟した SLC26A3 であることが示唆された。点変異体作製により N 結合型糖鎖付加サイトを検討すると N153, N161, N165 が糖鎖付加される可能性が示唆された。糖鎖の細胞内局在とイオン輸送活性に対する役割を検討した。糖鎖付加を受けない SLC26A3 は細胞膜上の発現は減少しており, イオン輸送活性は低下していたがコントロールに比べ有意に大きなイオン輸送活性が観察された。 SLC26A3 が発現している消化管では蛋白分解酵素が存在しており, 糖鎖により SLC26A3 が分解より保護されている可能性を検討した。糖鎖除去した SLC26A3 では野生型に比べトリプシン感受性が亢進していた。

O-19. 胃酸分泌細胞アピカル膜の脂質ラフトにおける H⁺, K⁺-ATPase と KCC4 の機能連関

○藤井拓人¹, 藤田恭輔¹, 家原貴大¹, 清水貴浩¹, 田淵圭章², 竹口紀晃¹, 酒井寿紀¹ (¹富山大学大学院薬物生理学, ²富山大学生命科学先端研究センター)

胃酸分泌細胞アピカル膜の H⁺ K⁺-ATPase 活性に対する, K⁺-Cl⁻ 共輸送体 KCC4 および膜マイクロドメインである脂質ラフトの影響について検討を行った。胃酸分泌細胞アピカル膜由来ベシクル (SAV) において, KCC4 は H⁺, K⁺-ATPase と免疫共沈降した。SAV の 36Cl^- 取り込み活性は, H⁺, K⁺-ATPase 特異的阻害剤 SCH28080 および KCC 阻害剤 DIOA により抑制された。また, DIOA は SAV の H⁺, K⁺-ATPase の酵素活性および H⁺ 取り込み活性を有意に阻害した。SAV において H⁺, K⁺-ATPase は, 脂質ラフト画分と非ラフト画分の両方に分布していたが, KCC4 は脂質ラフト画分に高分布していた。コレステロール除去による脂質ラフトの破壊により, H⁺, K⁺-ATPase の酵素活性および H⁺ 取り込み活性は有意に減少し, コレステロールの再添加により回復した。また H⁺, K⁺-ATPase と KCC4 の共発現細胞において, SAV と同様に KCC4 は脂質ラフト画分で H⁺, K⁺-ATPase と共存した。KCC4 の発現により H⁺, K⁺-ATPase の H⁺ 輸送活性が有意に上昇し, この活性上昇は DIOA により阻害された。以上の結果から, 胃酸分泌細胞アピカル膜の脂質ラフトにおいて KCC4 と H⁺, K⁺-ATPase は機能連関していることが示唆された。

O-20. モルモット腎盂平滑筋の自動運動における Rho キナーゼの役割

○橋谷 光, 鈴木 光 (名古屋市立大学細胞生理学)

Rho キナーゼ (ROK) はミオシン軽鎖脱リン酸化酵素の活性を抑制し, Ca^{2+} 感受性亢進により平滑筋収縮を増強することが知られている。尿管平滑筋においては, 直接電気刺激による活動電位発生に伴う収縮に対して, ROK 阻害薬はラットでは $[Ca^{2+}]_i$ と収縮力を共に低下させ, 一方モルモットでは $[Ca^{2+}]_i$ 収縮力のいずれも変化させないことが報告されている。今回, モルモット腎盂平滑筋の自発収縮制御における ROK の役割について検討した。腎杯を含むモルモット腎盂標本を用いて, 等尺性張力測定, 細胞内電位記録および細胞内 Ca^{2+} イメージング (Fluo-4) を行った。ROK 阻害薬 Y-27632 (1 μ M) は自発収縮の頻度を減少させたが, 振幅はあまり抑制しなかった。また Y-27632 は定型平滑筋 (TSMC) から記録した自発活動電位の振幅・持続時間を変化させずに頻度を減少させた。腎盂ペースメーカー細胞である非定型平滑筋細胞 (ATSMC) の自発一過性カルシウム濃度上昇 (Ca^{2+} トランジェント) は細胞内貯蔵部位からの Ca^{2+} 遊離に依存して発生しており, Y-27632 はその振幅を抑制した。モルモット腎盂の自動運動の発生において, ROK の活性化は ATSMC の Ca^{2+} トランジェントを促進しており, ROK 阻害薬は ATSMC から TSMC へのペースメーカー入力を減少させ, TSMC 自体の収縮性を減じることなく自発収縮の頻度を減少させる可能性が示唆された。

O-21. 心臓手術時の最適な脳還流圧の検討: Argyrophil-III 法による微細な細胞障害性の解析から

○水野明宏^{1,2}, 石田章真¹, 藤田政隆¹, 三島 晃², 飛田秀樹¹ (¹名古屋市立大学大学院・医学研究科・脳神経生理学, ²同 心臓血管外科)

選択的脳灌流などを用いた心臓大血管手術が盛んであるが, 高齢者における術後の脳神経障害 (一過性の記憶力障害, 高次機能障害など) が臨床的に問題となっており, 海馬などの虚血脆弱部位の還流障害が影響していると考えられている。本研究は, 1) 選択的脳灌流モデルラットにおいて脳灌流圧の変化に伴う脳障害部位を明らかにする, 2) 最も障害の少ない最適な定常流圧を検討する, ことを目的とした。選択的脳灌流モデルラットは, 麻酔下にラット正中尾動脈から脱血し, ポンプによる定常流 (2ml/kg/min~25 ml/kg/min) として右総頸動脈へ送血し, 一定の定常圧とした。Laser-Doppler Flowmetry を用い選択的脳灌流中の海馬の血流を測定, 同時に左総頸動脈から観血的に血圧変化を測定した。その結果, 1) 対側頸動脈の血圧が流量依存性

に変化すること, 2) 海馬の血流変化も流量依存性に変化することが分かった。選択的脳灌流モデルでの障害部位を明らかにするため組織学的解析を行なった結果, 3) TTC 染色や神経マーカーの MAP-2 染色で明らかな細胞障害像を認めないが, 4) 細胞障害の最初期変化を示す Argyrophil III 好銀染色では海馬や大脳皮質において好銀性を示す細胞がわずかに観察された。さらに, 5) 10ml/kg/min の流量が最も軽微な細胞障害を示した。

この結果から, 選択的脳灌流で海馬や大脳皮質において微細な細胞障害性が認められること, また臨床的に良いとされる定常流量の時に最も障害性が軽いことが明らかになった。

O-22. 胆汁酸吸着 resin による高脂肪食肥満の防止機構における褐色脂肪細胞の交感神経応答の役割に関する研究

○安藤 祐, 早戸亮太郎, 日暮陽子, 久場雅子, 久場健司 (名古屋市芸芸大学大学院栄養科学研究科解剖生理)

熱産生器官である褐色脂肪細胞は, 体温やエネルギーバランスの調節に関与する。胆汁酸の摂取は, 褐色脂肪細胞でのエネルギー消費を亢進し, 高脂肪食による肥満を抑制する。前回の報告で, この機序に, 甲状腺ホルモン作用促進のみならず, 褐色脂肪細胞での α 及び β アドレナリン受容体活性化を介する発熱機構が関与し, この機構に細胞内 Ca^{2+} 応答の促進が寄与することを報告した。一方, 胆汁酸の排泄促進剤である胆汁酸吸着レジン (コレステチミド) 摂取によっても高脂肪食による肥満が抑制される。

本研究では, コlestチミド摂取による肥満発症抑制機構に交感神経活動を介する発熱機構が関与するかどうかを検討するために, コlestチミド摂取の褐色脂肪細胞での体重変化, α 及び β 受容体を介する Ca^{2+} 応答, ミトコンドリアの膜電位応答に対する効果を, 高脂肪食飼育マウスと正常食飼育マウスで比較した。コレステチミド摂取は, 高脂肪食および正常食飼育条件下で, 体重増加の速度を著しく減少した。一方, α 作用および β 作用による $[Ca^{2+}]_i$ 応答は高脂肪食で減少するが, コlestチミド摂取下では, 高脂肪食による抑制効果を改善しなかった。しかし, β 作用や脱共役剤 (FCCP) によるミトコンドリアの脱分極はコレステチミド摂取下で高脂肪食および正常食飼育のいずれの条件下でも増大した。このことから, コlestチミド摂取下では, ミトコンドリアでの熱産生機構が促進されている可能性が示唆される。

O-23. 自由行動下ラットにおける起立時動脈血圧応答への前庭系の関与

○安部 力, 田中邦彦, 岩田ちひろ, 森田啓之 (岐阜大学大学院医学系研究科生理学分野)

我々はこれまで、重力の変化に対する動脈血圧応答に前庭系が重要であることを報告してきた(前庭-動脈血圧反射)。今回我々は、自由行動下において姿勢変化時でも前庭-動脈血圧反射が存在するかどうかを調べるために、自由行動下ラットの起立時の動脈血圧を測定した。前庭系および圧受容器が正常なラット (Sham : n=8), 圧受容器が正常で前庭系を破壊したラット (VL : n=8), 前庭系が正常で圧受容器を破壊したラット (SAD : n=8), 前庭系および圧受容器を破壊したラット (SAD+VL : n=8) を用意した。2日間のデータから1日当たり12~30回の10秒以上の起立(飲水行動以外の起立)をランダムに選択し、それらの動脈血圧応答を加算平均し比較した。Sham ラットでは、起立時に動脈血圧が 5 ± 1 mmHg 低下したのに対し、VL ラットでは動脈血圧が 10 ± 1 mmHg 低下した。また、SAD ラットでは動脈血圧が 15 ± 1 mmHg 低下し、SAD+VL ラットでは動脈血圧が 21 ± 1 mmHg 低下した。これらの結果から、自由行動下における起立時の動脈血圧応答にも前庭系が関与していることが示唆された。

O-24. 坐位と仰臥位における排泄時のいきみ負荷が循環動態と直腸内圧におよぼす影響

○桑原裕子¹, 今井美香², 吉田 豊³, 清水祐樹¹, 西村直記¹, 横山清子³, 岩瀬 敏¹, 菅屋潤壹¹ (愛知医科大学大学生理学第2, ²名古屋大学大学院看護学専攻, ³名古屋市立大学大学院芸術工学研究科)

本研究は腹圧を上昇させるための「いきみ」負荷に体位が及ぼす影響を明らかにするため、坐位と仰臥位でいきみ圧が心拍数、心拍変動、血圧、直腸内圧に及ぼす影響を比較検討した。

循環器および消化器疾患を持たず規則的な排泄習慣のある成人の男女21名(33.2±11.4歳)を対象に坐位と仰臥位でいきみ圧10, 20, 30mmHgの負荷を試みた。坐位と仰臥位で10分間の安静後、3種類のいきみ圧を15秒間負荷し、負荷後はそれぞれ2分間の安静を設けた。いきみ圧をモニターして直腸内圧(バルーンカテーテルを直腸内に留置)、胸部インピーダンス(Kubicek法)、心拍(CM5誘導)および血圧(Finapres)をそれぞれサンプリング周波数1kHzでAD変換して記録した。心拍と血圧はspline関数を用いて1秒間隔で補間し、いきみ圧、直腸内圧および胸部インピーダンスは1秒ごとの平均値にて求めた。心拍変動はwavelet変換して求めた。

直腸内圧(20, 30mmHgで $P<0.05, 0.01$)は坐位のほうが有意に高く、坐位のほうがいきみやすいことを示した。

収縮期血圧ではII期の血圧下降変化量(10, 30mmHgで $P<0.01$)とIV期の血圧上昇変化量(10, 20, 30mmHgで $P<0.01, P<0.01, P<0.05$)およびいきみ後の心拍数増加量(10, 20mmHgで $P<0.01, P<0.05$)も坐位のほうが大きく、圧受容器反射の亢進によるものと考えられる。心拍変動ではいきみ開始より10秒後からみられるLF/HF増加量(10, 30mmHgで $P<0.05$)において坐位のほうが有意に大きかった。以上より循環動態に及ぼす影響は坐位のほうが大きいことを示した。

次に直腸内圧を一定にした場合の循環動態への影響をみるために、収縮期血圧II期の血圧下降変化量とIV期の血圧上昇変化量およびいきみ後の心拍数増加量を最大直腸内圧で割ると、坐位と仰臥位の有意差はなかった。以上の結果より、坐位のほうがいきみやすいが、いっぽうで循環動態への影響は大きい。しかし、同レベルの直腸内圧での「いきみ」負荷では坐位と仰臥位の循環動態へおよぼす影響は有意差がないことが判明した。

O-25. 腰部温罨法が肛門管粘膜および肛門周囲皮膚血流量におよぼす影響

○西村るみ子¹, 西村直記¹, 稲泉朋子², 藤井徹也³, 菅屋潤壹¹, 岩瀬 敏¹ (愛知医科大学医学部生理学第2講座, ²名古屋大学大学院医学研究科看護学専攻, ³名古屋大学医学部保健学科)

【目的】痔核の発生については、肛門周囲における動静脈叢のうっ血が関与すると考えられているが、痔核の治療法としては、肛門周囲の血流改善を目的とした腰部温罨法が推奨されている。しかしながら、実際に温罨法施行時の肛門管粘膜および肛門周囲部の血流量や温度を測定した報告はほとんどみられず、血流が改善されているか否かは明らかではない。本研究は、腰部温罨法による肛門管粘膜および肛門周囲部の血流量と温度変化を連続記録し、その作用機序について検討した。

【方法】痔核を保有しない成人女性13名を被験者とした。すべての被験者には就寝前の3時間、温熱シートによる腰部温罨法を4週間行うように指示した。温罨法開始初日、開始2週間後および4週間後に、人工気候室内に付置したベッド上に被験者を左側臥位で横たわらせた状態で3時間の腰部温罨法を行い、肛門管粘膜血流量、肛門周囲粘膜血流量、肛門周囲皮膚血流量、肛門管粘膜温および肛門周囲皮膚温および鼓膜温の測定を行った。

【結果および考察】腰部温罨法による肛門周囲粘膜血流量や肛門周囲皮膚血流量の増加率および肛門周囲皮膚温の上昇率は、温罨法開始4週間後で最も大きかったのに対し、肛門管粘膜血流量の増加率や肛門管粘膜温の上昇率は温罨

法開始4週間後で最も低値を示した。これは、継続的な腰部温療法による温熱刺激が①身体内部への熱流入量を減少させたことと、②効率的な熱放散を行うために皮膚表面への血流再配分が起こった結果であると推察される。

O-26. 呼吸プレチスモグラフによる胸式呼吸と腹式呼吸の識別

○清水祐樹¹、増尾善久²、西村のみ子¹、桑原裕子¹、岩瀬 敏¹、菅屋潤一¹ (愛知医科大学医学部生理学第2講座、²早稲田大学)

呼吸法には大別して、胸郭の拡張・収縮による胸式呼吸法と、横隔膜の上下動による腹式呼吸法があり、慢性呼吸不全患者における呼吸困難解消の訓練法や、ヨガ・太極拳等における精神集中の手法に用いられている。呼吸訓練を有効に行うためには、呼吸法を簡便な方法で識別することが必要と考えられる。本研究では、RIP (Respiratory Inductive Plethysmograph) により胸式・腹式呼吸における呼吸運動を測定し、その特徴を分類した。

実験は健康な被験者61名 (男性33名:年齢28.1±10.4歳、身長170.7±6.6cm、体重66.3±9.2kg 女性28名:年齢32.5±11.0歳、身長158.3±64.9cm、体重52.5±6.8kg) を対象とした。胸部 (剣状突起部) と腹部 (臍部) に測定用バンドを装着し、立位にて普通呼吸4回・胸式呼吸4回・普通呼吸4回・腹式呼吸4回・普通呼吸4回・完全呼吸4回・普通呼吸4回を連続して行わせた。また、RIP測定値の精度を確認するため、座位におけるスパイロメーターの換気量測定を行った。

多くの被験者では、胸式呼吸では胸部の運動が大きく、腹式呼吸では腹部の運動が大きかった。一方で、腹部の運動が常に大きい被験者、胸部と腹部が常に同位相・同振幅で運動している被験者、胸部と腹部が逆位相で運動している被験者なども確認された。そのような被験者群の特性について、体格や呼吸訓練経験の有無などの要因を考察した。

P-1. 第一次視覚野損傷サルの上肢運動遂行に関わる脳内活動部位: PETによる脳機能イメージング

○加藤利佳子^{1,2}、池田琢朗^{1,2}、河原正幸^{2,4}、尾上嘉代³、吉田正俊^{1,5}、高浦加奈⁶、塚田秀夫⁴、尾上浩隆^{2,3}、伊佐 正^{1,2,5} (生理学研究所認知行動発達機構研究部門、²CREST、JST、³理学化学研究所分子プローブ機能評価研究チーム、⁴浜松ホトニクス中央研究所、⁵総合研究大学院大学、⁶玉川大学脳科学研究センター)

第一次視覚野 (V1) を損傷すると、損傷部位に対応した視野が「見えなく」なる。しかし、V1に損傷のある患者の中には、損傷された視野に提示された視覚対象が、「見えな

い」にも関わらず、提示場所を示す課題においては、眼を向けたり手を伸ばしたりといった定位行動が可能な事例が報告されている。

このV1損傷後に見られる、定位行動を可能にする神経機構を明らかにするために、我々は、片側のV1を除去したサルを用い、2種類の視覚誘導性サッケード課題遂行中の脳活動を positron emission tomography (PET) を用いて局所脳血流を測定することにより解析した。

第1課題では、1回の測定中に行うサッケード回数を段階的に変化させ、サッケードの回数と活動が相関する脳内部位を求めた。第2課題では、全体のサッケード回数を固定した上で、健常側へのサッケードと損傷側へのサッケードの回数比を段階的に変化させ、損傷側へのサッケードの比率と活動が相関する部位を求めた。結果、両課題において、損傷側の外側頭頂間野 (LIP) に課題条件に相関した有意な活動変化が見出された。LIPは上丘 (SC) から視床枕 (pulvinar) を介した投射を受けており、今回の結果は、V1損傷後のサッケードによる定位行動において、皮質下からLIPへと至る経路が重要な役割を果たしていることを示唆している。

P-2. オレキシン神経欠損マウスでのノルアドレナリン作動性神経活動の解析

○辻野なつ子¹、常松友美²、山中章弘²、小山純正³、櫻井 武¹ (金沢大学医学系分子神経科学・統合生理学、²岡崎統合バイオサイエンスセンター細胞生理部門、³福島大学共生システム理工学類人間支援システム)

オレキシンは視床下部外側野で産生される神経ペプチドである。オレキシンニューロンは覚醒制御に重要であるモノアミン作動性神経起始核に投射し、その神経活動を調節している。また、オレキシンの欠損は睡眠障害の一つであるナルコレプシーを引き起こす。以上より、オレキシンは睡眠覚醒調節に重要であることが示されている。ナルコレプシーの多くは、後天的にオレキシンが脱落して発症することから、この慢性的なオレキシン欠乏により、投射先のモノアミン神経活動が影響を受けることで、ナルコレプシーの病態を修飾している可能性が高い。

この可能性を検討するため、我々はオレキシンニューロンが生後脱落するナルコレプシーモデル (Orexin-ataxin3) マウスを用い、各睡眠覚醒ステージにおけるモノアミンニューロンの活動を細胞外記録した。背側縫線核の5-HTニューロンの発火頻度は、全てのステージにおいて野生型と有意差はなかった。一方、青斑核のノルアドレナリン (NA) ニューロンの発火頻度は、覚醒およびノンレム睡眠時に、野生型と比べて有意に増加していた。またマウス脳

スライス標本を用いた解析より, Orexin-ataxin3 マウスの NA ニューロンへの抑制性シナプス入力が増加していることが分かった。以上よりオレキシンニューロンの脱落は, NA ニューロン活動に影響を与えており, これがナルコレプシーの病態を修飾していることが示唆された。

P-3. 睡眠・覚醒の制御におけるオレキシン受容体とヒスタミン H1 受容体の役割

○本堂茉莉¹, 永井寛治², 大野耕作², 木佐貫 泰³, 渡邊 武⁴, 柳沢正史^{3,5}, 櫻井 武¹ (¹金沢大学医学系分子神経科学・統合生理学, ²筑波大学基礎医学系薬理学, ³Department of Molecular Genetics, University of Texas Southwestern Medical Center at Dallas, ⁴京都大学大学院医学研究科創薬医学融合拠点, ⁵Howard Hughes Medical Institute, University of Texas Southwestern Medical Center at Dallas)

オレキシンは視床下部外側野に局在する神経ペプチドで, 睡眠・覚醒に重要な役割を担っている事が明らかとなっている。このオレキシンの受容体には2つのサブタイプ (OX1R, OX2R) の存在が知られている。オレキシン受容体の個々の欠損マウスの睡眠・覚醒パターンを観察すると, OX1R^{-/-}はほぼ正常であり, OX2R^{-/-}は中等度なナルコレプシー様の症状を示し, さらに OX1R^{-/-}; OX2R^{-/-}になるとオレキシン欠損マウスと同様の重篤なナルコレプシー様の症状を示す。よって完全なナルコレプシー様の症状を示すには両方の受容体の下流における情報伝達系の欠損が関与していると考えられる。

本研究ではオレキシン神経系の睡眠・覚醒の制御機構をさらに詳細に解明するため, OX2R の発現が高い結節乳頭体核 (TMN) に存在する覚醒維持に重要なヒスタミン神経系を欠損させたマウスの睡眠・覚醒を検討する事にした。そこで OX1R^{-/-}; H1R^{-/-}マウスを製作し, 脳波・筋電図同時測定によって睡眠・覚醒パターンを解析し, オレキシン受容体の睡眠・覚醒機構へ及ぼす生理学的な役割を解析した。その結果, OX1R^{-/-}; H1R^{-/-}マウスは, 野生型と同様の睡眠・覚醒状態を示した。これらの事から, OX2R の下流の系として H1R を介するシステムは通常の睡眠・覚醒状態の制御には必須ではないことが示された。

P-4. サルの海馬脳波と睡眠ステージ

○西田 悠^{1,2}, 永福智志¹, 杉森道也¹, 北村貴志¹, 伏木宏彰², 渡辺行雄², 田村了以¹ (¹富山大学医学薬学研究所統合神経科学, ²富山大学医学薬学研究所耳鼻咽喉科頭頸部外科学)

これまでげっ歯類を用いた研究より, 海馬脳波は睡眠時

に特徴的な変化を示し, REM 睡眠期には θ 波, Non-REM 睡眠期には鋭波が優位に出現するとされてきた。しかし霊長類で海馬脳波の睡眠による影響を調べた研究はほとんどない。そこで今回われわれはサルを用い海馬脳波, 皮質脳波, 眼電図および筋電図を睡眠中に記録し, サルの睡眠構造 (各睡眠ステージの割合) および睡眠ステージと海馬脳波との関連性を検討した。

サルの平均睡眠時間は約 9 時間であり, 平均睡眠率は 73.7% であった。各睡眠ステージの割合は, ステージ I-II が 67.7%, ステージ III-IV が 10.4%, REM 睡眠期が 21.0% であった。各睡眠ステージにおける海馬脳波をスペクトル解析した結果, その振幅は覚醒時を基準とすると, δ 帯域は睡眠ステージ I-II で 1.6 倍, 睡眠ステージ III-IV で 2.1 倍, θ 帯域は睡眠ステージ I-II で 1.5 倍, 睡眠ステージ III-IV で 1.6 倍に増加したが, 明瞭な鋭波は認めなかった。REM 睡眠期では, γ 帯域だけが 1.2 倍に増加した。

以上の結果より, ①サルの睡眠構造はヒトに類似するが, ヒトよりも, 睡眠ステージ I-II と REM 睡眠期は多く睡眠ステージ III-IV は少ない傾向が認められた。② Non-REM 睡眠期や REM 睡眠期に, それぞれ, 鋭波や θ 波は優位には出現せず, げっ歯類と霊長類との間の動物種差が明らかとなった。

P-5. 遅発性筋痛における繰り返し効果における NGF 発現の検討

○浦井久子¹, 村瀬詩織², 水村和枝² (¹大阪体育大学大学院スポーツ科学研究科, ²名古屋大学環境医学研究所神経系 II)

伸張性筋収縮 (LC) 後に生じる遅発性筋痛 (DOMS) の特徴の一つに, 同じ運動を繰り返すと初回後よりも痛みが軽減するという繰り返し効果がある。これまで水村研究室では遅発性筋痛の発生にはブラジキニンとシクロオキシゲナーゼ-2 (COX-2) が, その維持には神経成長因子 (NGF) が重要である事を明らかにした。そこで本研究では繰り返し効果の発現機序を解析するため, LC を繰り返し行った場合の COX-2 と NGF の発現変化を調べた。実験には 8-10 週齢の雄性 SD ラットを用いた。LC としては, 電気刺激により長指伸筋 (EDL) を 1 秒間収縮させると同時にモーターで伸張し, 3 秒間休息させるサイクルを 500 回行った。LC5 日後に再び EDL へ LC (rLC) を与えた。LC 後の筋痛閾値の経日変化は Randall-Selitto 鎮痛計で測定し, EDL における NGF と COX-2 の mRNA 量を RT-PCR 法で測定した。筋痛閾値の低下 (DOMS) は初回 LC の 1~3 日後に生じたが rLC 後には生じず, 繰り返し効果を確認した。また, NGF mRNA は LC12 時間後と 1 日後に有意

な増加を認めましたが、rLC後のどの時点においても有意な増加は認めなかった。COX-2 mRNAはLC0時間とrLC0時間において有意に増加していた。これらの結果から、遅発性筋痛における繰り返し効果には、NGF発現の増減が重要な因子である事が示唆された。

P-6. 行動解析によるゼブラフィッシュの視覚感度に関する研究

○守 優輔¹、永島幹子²、村本健一郎¹、加藤 聖³
(¹金沢大学大学院自然科学研究科電子情報工学、²金沢大学大学院医学系研究科保健学、³金沢大学大学院医学系研究科脳情報分子学)

魚ではドパミン細胞は網膜アマクリン細胞の一種である網状層細胞として存在している。その機能として、光受容の調節、視覚感度の調節などに関与していると報告されている。しかし、個体の行動レベルを通しては、未だ明確に示されていない。そこで今回、神経毒を用いて網膜内のドパミン細胞を破壊したゼブラフィッシュを用い、その視覚機能を魚類の遊泳行動から調べた。

6-ヒドロキシドパミン(6-OHDA)をゼブラフィッシュ眼球内に1・1(10・g/・1in PBS)を2日連続で投与することでドパミン細胞を破壊した。ドパミン細胞の破壊は、抗TyrosineHydroxylase (TH)抗体を用いた免疫組織化学染色で確認した。視覚機能を評価する為に、様々な明るさの下opptomotor response (OMR)を観測、撮影し、得られたデータを画像解析して追跡率を算出した。これを用いて魚の視覚感度を評価した。

6-OHDA投与後4週間の網膜でTH陽性細胞は見られなくなった。その個体では30lux以下のときに明らかなOMRの低下が見られた。この低下は84日目まで続き、その後徐々に回復し、133日目には正常レベルに戻った。また、ドパミンD2受容体を遮断した場合、600luxの明るさに比べ、10luxの明るさでは、阻害剤投与後初期に視覚感度の低下が見られた。

よってドパミン細胞には光を受容する明暗の調節をしていて、特に暗時における視覚感度の調節はドパミンD2受容体を介していることが示唆された。

P-7. 神経損傷後の修復時に発現増加するFactor XIII Aについて

○杉谷加代¹、加藤 聖²(¹金沢大学医薬保健研究域保健学系病態検査学、²金沢大学医薬保健研究域医学系脳情報分子学)

Factor XIII Aは血液凝固因子の1つであるFactor XIIIのサブユニットを構成する分子であり、血液中ではフィブ

リン分子間の架橋反応を促進して血液凝固の最終段階に働き、止血での重要な役割を果たす酵素である。本研究では、魚類視神経再生過程におけるFactor XIII Aの発現について報告する。

視神経切断後の網膜および視神経におけるFactor XIII AのmRNAおよびタンパクレベルでの変動を調べたところ、視神経損傷部位の局所において、損傷直後の早い段階で視神経軸索を取り巻くグリア細胞にFactor XIII Aの強い発現が確認された。一方網膜では、視神経よりやや遅く、網膜神経節細胞においてのみ顕著に発現増加することが判明した。トランスグルタミナーゼとしての酵素活性レベルを測定すると、切断3日後に視神経での活性ピークが見られた。さらに、リコンビナントFactor XIII Aタンパクによる網膜組織片培養への添加実験を行ったところ、視神経切断直後の正常網膜ではFactor XIII Aを培養液に添加することで神経突起伸長に促進効果が見られたのに対し、視神経切断7日後の網膜ではFactor XIII A添加は神経突起伸長に効果がないことが判明した。

本研究の結果から、Factor XIII Aは視神経損傷直後から損傷部位および網膜神経節細胞で発現増加が見られること、また網膜組織片培養では、切断後の時間経過の短い網膜切片のみ神経突起伸長効果がみられることから、視神経再生の初期過程における神経突起再伸長に深く関わる事が示唆された。

P-8. In vitro および in vivo におけるNO-cGMP経路による視神経再生

○郡山恵樹、松川 通、加藤 聖(金沢大院・医・脳情報分子学)

一酸化窒素(NO)は中枢神経系において細胞内外で働くメッセンジャー分子であり様々な生理学的作用が報告されている。我々はこれまで中枢神経再生可能な金魚の視神経損傷後の網膜神経節細胞においてNADPH ジアホラーゼ活性が上昇し、視神経再生と一酸化窒素合成酵素(NOS)の関連を報告している。今回特に網膜組織片培養を用いたin vitro系で神経型NOS(nNOS)による視神経再伸長メカニズムを精査し、NOシグナリングによるin vivoの視神経再生を試みた。nNOSのmRNA、タンパク質レベル、活性は軸索伸長の時期に先立って網膜神経節細胞層において有意に増加した。網膜組織片からの軸索伸長はnNOS特異的な阻害剤やRNAiにより抑制され、NOシグナルの活性化により伸長を著しく強めた。またNOは可溶性グアニル酸シクラーゼ(sGC)を直接活性化させ細胞内cGMPレベルを上昇させプロテインキナーゼG(PKG)を活性化させることが知られている。そこで軸索伸長を促すNOの下流シグ

ナルを各種阻害剤により検討した結果、sGC 阻害剤による軸索伸長抑制は細胞内 cGMP レベル上昇により回避されることや PKG 阻害剤による軸索伸長抑制は NO ドナーや cGMP によっても回避されないことから NO-cGMP-PKG 経路を介したメカニズムであることが示唆された。また、in vivo においても cGMP は視神経再生を促進させた。

P-9. 1-isopropoxy-genipin の網膜神経節細胞における軸索伸長作用メカニズム

○高木裕介¹、郡山恵樹^{2,4}、千葉賢三^{3,4}、山崎眞津美³、鈴木宏一^{3,4}、荒井國三¹、加藤 聖² (1金沢大院薬、²金沢大院医、³北陸大薬、⁴北陸大フロンティア)

損傷された成熟した哺乳類中枢神経系は、再生困難とされている。その主な理由は損傷後早急に起こる神経細胞死と神経栄養因子を含む分子群の発現低下にある。そこで我々は神経保護効果と神経軸索伸長作用を併せ持つ低分子化合物が、効率よく中枢神経再生を促すと考えた。イリドイド化合物である genipin が、神経型一酸化窒素合成酵素 (nNOS) の活性化を介して種々神経障害モデルに対し保護効果を示すことをすでに報告している。しかし genipin は培地や血液中において分解しやすいため、新たに合成した genipin の安定誘導体、1-isopropoxy-genipin (iPr-genipin) を用いて、ラットの網膜神経節細胞株 RGC-5 および網膜組織片における軸索伸長作用を調べ、そのメカニズム解析を行った。iPr-genipin は、RGC-5 細胞の軸索を濃度依存的に促進させることがわかった。また、nNOS のタンパク質発現量や、細胞内の一酸化窒素 (NO) 発生量も iPr-genipin の濃度依存的に上昇した。細胞内の NO 発生量は、NOS 阻害剤である L-NAME により抑制され、iPr-genipin による軸索伸長促進作用も抑制された。これらのことより、iPr-genipin による軸索伸長促進作用は nNOS タンパク質の発現およびその活性化に依存することが示唆された。

P-10. 視神経損傷後のゼブラフィッシュ網膜におけるニューログロビンの発現と局在

○藤川千恵子¹、永島幹子^{1,2}、馬渡一浩¹、加藤 聖²、渡邊征爾³、若杉桂輔^{3,4} (1金沢大学大学院医学系研究科保健学、²金沢大学大学院医学系研究科脳情報分子学、³東京大学大学院総合文化研究科広域科学専攻生命環境科学系、⁴科学技術振興機構戦略的創造研究推進事業 (さきがけタイプ))

ニューログロビンは哺乳類の神経系で最初に発見されたグロビンタンパク質の一つであり、近年魚類でも発見された。哺乳類のニューログロビンは虚血や再灌流による酸化ストレス下で発現が誘導され、神経保護に重要な役割を果

たしている。魚類の中枢神経ニューロンは神経損傷後も、軸索の再生が可能である。そのため、魚類の視神経再生に関する研究は損傷後の中枢神経修復の良いモデルとなっている。魚類の視神経再生過程には多くの因子が関与しているが、ニューログロビンの発現に関する報告はない。本研究では、視神経損傷後のニューログロビンの発現変化を検討した。

正常な成魚ゼブラフィッシュ網膜では、ニューログロビン mRNA の僅かな発現がみられた。視神経損傷後のゼブラフィッシュ網膜では、ニューログロビン mRNA の発現量が徐々に増加し、3日後に内顆粒層で有意な増加 (約 2.5 倍) がみられ 20 日後にはコントロールレベルに復した。正常網膜におけるニューログロビタンパク質の局在は内顆粒層にみられ、その発現は損傷後内顆粒層、内網状層で増加した。

視神経損傷後、神経節細胞層で増加する因子は多数報告されているが内顆粒層および内網状層で増加する因子の報告は少なく、非常に興味深い。現在、ニューログロビン mRNA の局在とニューログロビタンパク質の発現変化を検討中である。

P-11. 視神経損傷ゼブラフィッシュ網膜における HSP 70 発現と細胞生存への関与

○永島幹子^{1,2}、藤川千恵子¹、馬渡一浩¹、加藤 聖² (1金沢大学大学院医学系研究科保健学、²金沢大学大学院医学系研究科脳情報分子学)

哺乳類と異なり、魚類では中枢神経を損傷しても細胞は生存し再生も可能である。本研究では視神経損傷後のゼブラフィッシュ網膜におけるストレス応答分子 heat shock protein 70 (HSP70) の発現について調べ、細胞生存における役割について検討した。

ゼブラフィッシュ網膜において HSP70 mRNA、タンパク質は損傷後 1-6 時間で神経節細胞においておよそ 2 倍に増加し 24 時間で切断前のレベルに復した。その転写調節因子 heat shock factor 1 (HSF1) mRNA も 0.5-6 時間で 2.3 倍と有意に増加し 24 時間で切断前のレベルに復した。この転写活性化型である pHSF1 タンパク質も神経節細胞で増加した。以上の結果から、視神経損傷は神経節細胞に限局した HSF1 発現増加と活性化が起り、HSP70 発現が誘導されることが示された。この HSP70 の細胞の生存への関与を調べる目的で HSP70 阻害剤を用いた発現抑制を試みた。HSP70 阻害剤を眼球内に投与すると視神経切断による HSP70 mRNA、タンパク質の発現増加が有意に抑制された。HSP70 発現が抑制された網膜では、視神経切断後、神経節細胞において TUNEL 染色の陽性像が観察された。

以上の結果から、視神経損傷後速やかに起こる著しいHSP70の発現誘導は、細胞生存を左右し、その神経再生を導く重要な初期応答であることがわかった。

P-12. Expression of gpnmb, a tumor metastasis-associated glycoprotein, in the rat central nervous system

J.J. Huang, W.J. Ma, H. Higashida, S. Yokoyama (Department of Biophysical Genetics, Kanazawa University Graduate School of Medicine)

The glycoprotein nmb (gpnmb), also referred to as osteoactivin in rats, is a type-I transmembrane protein that contains several motives common to melanosomal proteins. Since the initial identification in human non-metastatic malignant melanoma cells, gpnmb has been known to be expressed in tumor cells including melanoma and glioma. However, physiological neural functions of gpnmb remain to be elucidated. In this study, we examined whether or not gpnmb was expressed in the normal central nervous system (CNS) of rats. Reverse transcription-polymerase chain reaction analysis revealed that mRNA for gpnmb was present in the cerebrum, cerebellum, and brain stem of normal adult rats. We next raised antibodies against rat gpnmb by immunizing rabbits with the carboxy-terminal portion of the protein. Immunoblot analysis using the resulting antibodies detected a major band of ~75 kD in COS-7 cells transfected with gpnmb cDNA ; but not at all in mock-transfected and untransfected COS-7 cells. The antibodies also recognized a major band of ~100 kD in C6 glioma cells. In immunofluorescent staining, immunoreactivity (IR) for gpnmb was localized to large lysosome-like vesicular structures in the cDNA-transfected COS-7 cells, but not in control cells. Immunoperoxidase staining of adult brain revealed that gpnmb-IR was prominent in ependymal cells surrounding the third and fourth ventricles. Weak gpnmb-IR was also observed in cells adjacent to cerebellar Purkinje cells. In addition, we were able to stain macrophage-like cells in olfactory bulb, cerebral cortex, hippocampus, caudate putamen (striatum), and spinal cord in adult rats. These results indicate that the gpnmb protein play physiological role (s) in non-neuronal cells in the adult rat CNS. To define its function more precisely, it is necessary to determine the cellular localization by co-immunostaining with cell type-specific antibodies.

P-13. TRPM7 チャンネルを介する神経細胞の亜鉛毒性

○井上浩一¹, D. Branigan², Z. Xiong² (¹浜松医科大学医学部一生理, ²Legacy Research)

亜鉛は生体にとって重要な微量元素であるが、虚血などの傷害時には有害であり、亜鉛のキレート剤により障害の程度が軽減する。非特異的陽イオンチャンネルであるTRPM7はMg²⁺ホメオスタシスやCa²⁺依存性の神経細胞傷害に関与することが知られているが、数あるTRPファミリーのチャンネルの中でも、亜鉛透過性のある唯一のチャンネルであり、今回我々は、神経細胞における亜鉛毒性にTRPM7が関与することを報告する。まず、HEK293細胞に亜鉛投与を行ったところ細胞傷害と細胞内亜鉛濃度の上昇が認められたが、TRPM7の過剰発現によりこれらの値は増強した。また、細胞傷害と亜鉛濃度上昇は遮断薬であるGd³⁺やsiRNAによるTRPM7のノックダウンにより軽減した。神経細胞においても亜鉛の投与による神経障害が認められたが、TRPM7を活性化するために細胞外の二価イオンを除去すると、亜鉛毒性と細胞内亜鉛濃度の上昇が増強した。これらの値はGd³⁺の投与やTRPM7のノックダウンにより減少した。また、神経細胞を酸素—グルコース除去下で培養した場合、亜鉛存在下で細胞傷害の程度が上昇するが、この毒性はGd³⁺やsiRNAによるTRPM7のノックダウンにより軽減した。これらのことから神経細胞における亜鉛毒性にTRPM7が関与することが示唆された。

P-14. Activation of the maxi-anion channel in L929 murine fibrosarcoma cells by tyrosine kinase inhibition and heat shock

○M.R. Islam¹, R.Z. Sabirov^{1,2}, H. Uramoto¹, Y. Okada¹ (¹Department of Cell Physiology, National Institute for Physiological Sciences, ²Laboratory of Molecular Physiology, Institute of Physiology and Biophysics, Academy of Sciences, Tashkent)

The maxi-anion channel activity has been detected in a wide range of cell or tissue types. The channel activity was found to be linked with physiological and pathophysiological conditions, such as tubule-glomerular feedback in kidney, ischemia and hypoxia in heart and brain, via purinergic and glutamatergic cell-to-cell signaling. Despite wide-spread expression and important physiological functions, the molecular identity of the maxi-anion channel remains unresolved. In the present study we attempted to characterize the activity of the maxi-anion channels endogenous to L929 fibrosarcoma cells under not only excised-patch but also whole-cell configurations. Membrane patch

excision induced activation of relatively large macropatch currents sensitive to Gd³⁺ after a delay of about 20 s. The amplitude of the single channel events was 10.5±0.27 pA observed at ±25 mV. The currents in the inside-out patches exhibited time- and voltage-dependent inactivation at voltages greater than ±20–30 mV. In these cells, a linear IV relationship was found with a large slope conductance (492.3±3.3 pS) compared to the normally observed in other cell types. Searching for the conditions of maximal maxi-anion channel activation under the whole-cell mode, we tested two types of stimulation. The first type was based on our recent finding that the channel activity is governed by tyrosine dephosphorylation. Application of a broad spectrum tyrosine kinase inhibitor, AG18, induced an increase in the macroscopic anion conductance with inactivating kinetics at ±30–50 mV and inhibition by Gd³⁺. The second stimulation was a sudden heat shock (from 25°C to 42°C). In both cases, single-channel activity of maxi-anion channel type could be detected even under the whole-cell mode. Finally, we will report a possibility to monitor the maxi-anion channel activity by uptake of a hydrophilic fluorescent dye, lucifer yellow.

P-15. 消化管運動ペースメーカー細胞のカルシウムイメージング

○劉 紅年, 谷口瑞毅, 徳田涼子, 中山晋介 (名古屋大学医学部医学研究科細胞生理学講座)

うつ治療薬として SSRI (Selective Serotonin Reuptake Inhibitor) 選択的セロトニン再取り込み阻害剤が使われているように, うつ病にセロトニンが深く関わっていることは明らかである。神経伝達物質であるセロトニン (5-HT, 5-hydroxytryptamine) は, 脳内に全身の 2%, 95% 以上が胃腸管に存在する。うつ病の詳しいメカニズムはまだ不明だが, 消化管のリズムが乱れるという身体症状がしばしばみられる。胃腸管自発性運動のリズムの根源は ICC (Interstitial Cells of Cajal) 細胞内の Ca²⁺Oscillation であることがわかってきた。本研究では, セロトニンによる消化管運動ペースメーカー調節維持作用について実験し, 解析を行った。生後 20 日の BALB/C, W/W^v マウスから小腸を摘出し, 粘膜を取り除いた筋層を標本とした。作成した標本に Fluo-3AM を室温下でロードし, 蛍光強度の変化を細胞内 Ca²⁺濃度変動の指標として記録した。セロトニン受容体のシグナルは細胞外からの Ca²⁺流入を引き起こすことによって ICC のペースメーカー活動を促進することを示唆している。Nifedipine, TTX の存在下で 5-HT, SSRI

を投与することによって ICC が自発性 Ca²⁺Oscillation の活性化することを確認できた。以上の結果より 5-HT/SSRI が消化管ペースメーカー細胞の Ca²⁺Oscillation を活性化させことは, 蠕動運動の制御能が高まる事に繋がる事が示唆される。本研究の成果は, 脳-腸相関の観点から過敏性腸炎やうつ病の身体症状の病態解明に寄与できる。

P-16. マウス肝血管収縮反応はラットに比べて極めて弱い

○芝本利重, 張 偉, 倉田康孝 (金沢医科大学医学部生理機能制御)

【目的】我々は定流量で灌流するマウスの摘出灌流肝臓において, さまざまな血管収縮物質に対して門脈圧は 8 mmHg 以上には上昇せず, 門脈圧上昇反応は弱いことを報告してきている。今回, in vivo でもマウス肝血管の収縮反応性が弱いか, 麻酔下のマウスとラットとで比較検討した。さらに, 両種の門脈の血管平滑筋を免疫組織学的に比較した。

【方法】雄性の BALB/c マウスと SD ラットをペントバルビタール麻酔, 自発呼吸下に総頸動脈と外頸静脈上脈にカニューレ挿入し, 体血圧と中心静脈圧を測定した。開腹して門脈に薬物投与ならびに門脈圧測定のためのカニューレを挿入した。血管収縮物質である norepinephrine, angiotensin II, endothelin-1 のそれぞれ 0.01~100 nmol/kg を門脈内に累積的に投与した。

【結果】門脈圧はいずれの物質に対してもマウスでは 7 mmHg 以上には上昇しなかった。しかし, ラットでは十分に上昇し, ピーク値は 15~24 mmHg であった。一方, 体血圧の上昇反応は両種に差異は認められなかった。門脈の免疫組織学的検討ではラットに比べてマウスでは平滑筋が少なかった。

【結論】血管収縮物質に対する麻酔下マウスの肝血管収縮反応はラットに比べて極めて弱いことが判明した。さらに, マウスでは門脈平滑筋量が少なく, それが収縮性が弱い原因であると推察された。

P-17. 運動トレーニングのラットアナフィラキシーショックへ及ぼす影響

○張 偉, 芝本利重, 宮前俊一, 倉田康孝 (金沢医科大学医学部生理機能制御)

【目的】近年, 運動トレーニングが冠循環の虚血再灌流障害を抑制することが報告されている。一方, 循環ショックも虚血再灌流障害の一面が有り, 運動トレーニングが循環ショックを予防することが期待される。ラットのアナフィラキシーモデルにおいて運動トレーニング効果を肝循環に注目して検討した。血圧低下に及ぼす影響は in vivo のモデ

ルを用い、肝循環への影響は摘出灌流肝臓のモデルを用いた。

【方法】雄性SDラット（5週令）を4週間にわたって、週5回、トレッドミルにて速度10m/minで10分間から開始し、漸増し、3週間目には速度30m/min、30分間を最大とし、この最大負荷をさらに4週目まで続けた。2週間前に卵白アルブミンで感作した。

【結果】運動ラットでは体重と心拍数は対照ラットより有意に小さかった。無麻酔ラットのアナフィラキシーショックでは体血圧の低下、門脈圧の上昇、心拍数の上昇の程度は両群間で有意差がなかった。一方、肝アナフィラキシーの検討では抗原投与後の門脈圧は運動負荷ラット肝で有意に小さかった。しかしながら、肝毛細管圧は両群間で差がなく、運動負荷ラットは前類洞血管の反応性が低下していた。

【結論】摘出灌流肝でのアナフィラキシー肝血管収縮に対しては運動負荷に有意の効果が見られたが、in vivoのアナフィラキシーショックでは他の因子も作用し、血圧低下に対しては運動の効果が見られなかった。

P-18. 麻酔ラットにおいてパラフィン塗布は血圧を上昇させる

○鈴木敦子¹、志村まゆら¹、岩崎公洋²（¹健康科学大学生理学、²鹿山整形外科医院リハビリテーション科）

理学療法の温熱療法の一つにパラフィン浴がある。これは50~55℃のパラフィンに患部を浸けて疼痛の軽減や関節可動域の改善を促す治療法で、高温であるにも関わらずパラフィンの比熱が高いため組織に損傷が起こらないことが知られている。種々の熱刺激が心拍数や血圧に影響を及ぼすことが報告されているが、パラフィン浴も同様の効果を持つかどうかは分かっていない。そこで、我々はパラフィン塗布が血圧に及ぼす影響とその神経性機序を麻酔ラットで検討した。

Wistar系雄性ラットをウレタンで麻酔し、人工呼吸下で体温などを生理的状态に保って実験を行った。血圧は総頸動脈に挿入したカテーテルから圧トランスデューサーを介して連続的に記録した。

一側の後肢足趾に約50℃のパラフィンを塗布したところ、血圧は上昇した。この反応は、刺激側の大腿神経と坐骨神経を切断すると完全に消失した。次に交感神経血管収縮神経の代表として腎交感神経遠心性活動を記録したところ、パラフィン塗布により神経活動は増加した。さらに、脊髄を上部頸髄で切断すると、パラフィン塗布による腎交感神経遠心性活動および血圧の反応は著しく減弱した。

以上の結果から、パラフィン刺激は刺激部位の体性感覚

神経を興奮させ、脳を介して反射的に交感神経血管収縮神経活動を亢進させ、血圧を上昇させることが示唆された。

P-19. 血管内皮細胞における線溶活性化因子分泌動態のイメージング解析

○鈴木優子、浦野哲盟（浜松医科大学生理学第二）

血管内皮細胞は様々な因子の産生・分泌を通して血管壁の恒常性の維持に寄与する。種々の要因にて血管内に血栓が形成されても、健常な血管内皮細胞であればその高線溶活性により速やかに血栓は溶解される。その鍵因子である線溶活性化因子、組織型プラスミノゲンアクチベーター（tPA）は血管内皮細胞より分泌されるが、詳細な分泌および活性発現機構は明らかでない。本研究では生細胞リアルタイムイメージング技術を用いて、培養血管内皮細胞に発現させたGFP融合tPAの定常状態（非刺激下）における分泌動態を全反射蛍光顕微鏡にて検討し次の知見を得た。

- 1) 分泌顆粒開口後、tPA-GFPは細胞表面に滞留し緩徐に放出され、重鎖欠損tPA-GFPでは滞留現象が消失した。
- 2) tPAの特異的阻害因子であるPA inhibitor-1 (PAI-1)の添加によりtPA滞留時間は短縮し、上清中には遊離tPAは認めず、添加したPAI-1濃度依存性にtPA-PAI-1複合体量が増加した。またPAI-1と高分子複合体を形成しない変異tPA-GFPおよびsiRNAによるPAI-1発現抑制下では滞留時間が著明に延長した。
- 3) tPA活性解析において、PAI-1は細胞表面内因性tPA活性を抑制した。以上より、tPAは開口放出後、その重鎖を介して細胞表面に滞留するという血管内皮細胞特有の現象が判明した。さらにPAI-1は液相中のみならず細胞表面tPA活性をも制御することが明らかとなり、新たな細胞表面線溶活性調節機構が示唆された。

P-20. 血管内皮細胞のTGFβ₁-Smadシグナル伝達系におけるクラスII・型PI3キナーゼC2αの役割

○安藝 翔、吉岡和晃、岡本英雄、多久和 陽（金沢大学大学院医学系研究科血管分子生理学）

PI3キナーゼはクラスI、II、IIIから成るが、クラスII・型PI3キナーゼC2αの機能は不明であった。当研究室ではこれまでC2αが血管平滑筋収縮において重要な役割を果たすことを解明した。TGFβ₁受容体を介して転写因子Smad2/3をリン酸化し、血管平滑筋において、分化や細胞外基質産生を促進することにより血管成熟に関わる因子として知られている。TGFβ₁はインビボで血管新生作用を示すが、血管内皮細胞に及ぼす直接作用は依然不明な点が多い。

本研究では、血管内皮細胞のTGFβ₁シグナル伝達におけ

る C2 α 役割に着目し、RNA 干渉法を用いてヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) における C2 α の発現抑制が TGF β ₁ の作用にどのような影響を及ぼすかを検討した。その結果、TGF β ₁ による Smad3 のリン酸化は C2 α ノックダウン細胞で顕著に低下していた。また、TGF β ₁ 刺激により誘導される Smad2/3 の核移行は C2 α ノックダウン細胞において著しく抑制された。しかし、VEGF による MAP キナーゼ ERK のリン酸化は、コントロール細胞と C2 α ノックダウン細胞との間で差異は認められなかった。細胞膜上で活性化される VEGF シグナル伝達系とは異なり、TGF β ₁-Smad シグナル伝達系は細胞膜のみならずエンドソーム上でも活性化し、刺激が持続することが近年明らかにされている。さらに、C2 α はクラスリン依存性エンドサイトーシス等の細胞内小胞輸送に関与することが報告されている。

以上のことから、C2 α は TGF β ₁-Smad シグナル伝達系を調節する、新たな細胞内制御因子として機能している可能性が示唆される。

P-21. 脂質メディエーター S1P による S1P2 受容体を介した腫瘍血管新生の抑制

○杜 娃¹、多久和典子^{1,2}、吉岡和晃¹、岡本安雄¹、多久和 陽¹ (¹金沢大学医学系研究科血管分子生理学、²石川県立看護大学)

脂質メディエータースフィンゴシン-1-リン酸 (S1P) は、血管内皮細胞においては、S1P1、S1P3 両受容体を介して細胞遊走を促進し、S1P2 受容体を介して細胞遊走を抑制する。しかし、S1P2 受容体の腫瘍血管新生における役割は不明である。

S1P2 遺伝子座に LacZ 遺伝子をノックインしたマウスを樹立し、LacZ 活性を指標にして S1P2 発現細胞を同定した。多くの臓器で血管内皮と血管平滑筋が S1P2 を発現している主要な細胞であった。次に、S1P2 ノックアウト (KO) マウスに Lewis 肺癌、B16 黒色腫瘍細胞を移植したところ、野生型マウスに比較して移植腫瘍の血管新生・成熟が亢進し、腫瘍増殖が亢進していた。移植腫瘍内の血管新生領域に S1P2 を発現する細胞が多数認められた。内皮マーカー CD31 の免疫染色と LacZ 活性染色の二重染色により、腫瘍血管の内皮細胞と中膜平滑筋細胞の両細胞が S1P2 を発現していた。S1P2-KO マウスから単離した血管内皮細胞の細胞遊走と増殖は野生型マウスに比較して亢進し、遊走・増殖に必須の低分子 G タンパク Rac の活性と Akt 活性が亢進していた。S1P2-KO マウスでは、腫瘍内に浸潤している表面マーカー CD11b⁺、CD45⁺ の骨髄由来細胞が増加し、これらの細胞は S1P2 を発現していた。野生型マウスに S1P2-KO 骨髄を移植すると、腫瘍増殖と血管新生が亢

進した。S1P は単離した野生型マウス骨髄細胞の遊走を抑制したが、S1P2-KO マウス骨髄細胞の遊走はむしろ促進した。

内皮細胞および骨髄細胞の両者に発現している S1P2 受容体が血管新生を抑制すると結論される。

P-22. マウス後肢虚血モデルにおける徐放化 S1P 製剤を用いた血管新生療法

○威 助¹、岡本安雄¹、村川智美²、尾山 治¹、王 飛¹、吉岡和晃¹、杜 娃¹、杉本直俊¹、多久和典子^{1,3}、多久和 陽^{1,2} (¹金沢大学大学院医学系研究科血管分子生理学、²科学技術振興機構石川プラザ、³石川県立看護大学)

生理活性脂質であるスフィンゴシン-1-リン酸 (S1P) は、胎生期の血管形成や腫瘍血管新生に重要であることが知られている。我々はこれまでに、マウス後肢虚血モデルにおいて、S1P 溶液及び生分解性のポリ乳酸-グリコール酸重合体 (PLGA) を用いた徐放性 S1P 製剤 (PLGA-S1P 製剤) の局所投与が血管新生を促進し、血流回復を促進することを報告した。本研究では、PLGA-S1P 製剤の虚血組織における血管新生治療薬としての有効性及びそのメカニズムについて報告する。PLGA-S1P 製剤の3日間投与は血流回復促進効果に加え、壊死抑制効果及び後肢機能改善効果を認めた。PLGA-S1P 製剤投与は毛細血管数を増加させ、壁細胞の発達を促進した。PLGA-S1P 製剤単独投与では血管新生療法の副作用である組織浮腫の発生は虚血肢で認められず、VEGF による浮腫の発生も抑制した。PLGA-S1P 製剤投与が虚血肢の Akt、ERK 及び eNOS のリン酸化を増加させ、NO 合成酵素阻害剤 L-NAME は PLGA-S1P 製剤投与による血流回復を部分的に抑制した。さらに、PLGA-S1P 製剤は血管新生因子の発現及び血管新生に関与する骨髄由来 CD45 陽性、CD11b 陽性あるいは Gr-1 陽性細胞の虚血部位への集積を促進した。以上の結果から、PLGA を用いた徐放性 S1P 製剤は虚血組織における血管新生治療薬としての有効性が期待される。

P-23. 心筋リモデリングにおけるスフィンゴシン-1-リン酸情報伝達系の病態生理学的役割—スフィンゴシンキナーゼ 1 トランスジェニックマウスを用いた検討—

○多久和典子^{1,2}、大倉誓一郎¹、高島伸一郎¹、大谷啓輔³、薄井莊一郎³、岡本安雄¹、王 飛¹、杜 娃¹、吉岡和晃¹、多久和 陽¹ (¹金沢大学大学院医学系研究科血管分子生理学、²石川県立看護大学健康科学、³金沢大学循環器内科)

スフィンゴシン-1-リン酸 (S1P) は血漿中に存在する生理活性リズリン脂質メディエーターであり、G 蛋白共役型

受容体の5つのサブタイプ(SIP1~SIP5)を介して多彩な生理活性を發揮する。SIPの病態生理学的役割を明らかにする目的で、主要なSIP産生酵素であるスフィンゴシンキナーゼ1(SPHK1)を全身組織に発現するトランスジェニック(SPHK1Tg)マウスを複数系統作出した。高発現系統では心筋を含む多数の臓器で20倍前後のSPHK1活性の増大を認め、雌雄ともに心筋細胞の空泡変性・凝固壊死を伴う心筋線維化を発症した。なお、冠状動脈には異常を認めなかった。心筋線維化は加齢とともに進行性で、ヒト心筋リモデリング同様ANP等の胎生期遺伝子の高発現を伴った。一部重症例では心エコーで拡張型心筋症の所見を呈した。心室筋組織においてSIPレベルの上昇とRhoファミリー低分子量G蛋白RhoならびにRacの活性上昇を認め、心筋組織・尿中に酸化ストレスマーカーの上昇を検出した。RhoファミリーG蛋白の活性化を阻害するHMGCoA還元酵素阻害薬は心筋線維化の発症を抑制した。一方、アンジオテンシンII受容体(AT1)阻害薬は無効であった。SIP3^{-/-}ノックアウトマウスを用いた解析の結果、心筋細胞に発現するSIP3が心筋リモデリング発症の情報伝達を少なくとも一部任っていることが明らかとなった。

P-24. 寒冷暴露に備えた冷涼環境下での代謝調節

○内田邦敏^{1,2}、志内哲也^{2,3}、稲田 仁¹、箕越靖彦^{2,3}、富永真琴^{1,2} (¹岡崎統合バイオ(生理研)細胞生理、²総研大生理科学、³生理研生殖・内分泌)

生物は環境に順応しながら生きており、とりわけ恒温動物は体温を一定に保つためにエネルギー代謝を調節している。低温環境下に関する研究のほとんどは寒冷暴露という侵害的ともいべき温度における検討である。今回、非侵害的であろう小さな温度低下も感じて代謝機能を調節しようすることを、マウスを用いた研究によって見いだしたので、その結果を紹介する。

モデルとして冷涼(20℃)環境で10日間飼育したマウスを使用し、対照には25℃環境で10日間飼育したマウスを使用した。冷涼環境下のマウスは、糖負荷に対するインスリン分泌能の低下とそれに伴う高血糖が認められた。またこのモデルマウスは摂食量増大、皮膚温低下、血漿中ノルエピネフリン量上昇並びに血中有利脂肪酸量低下が認められた。BATのUCP1及びGLUT4 mRNA量は変化が認められなかった。WATのUCP2も変化はみられなかったが、GLUT4及び脂肪代謝に関連する遺伝子のmRNA量の上昇が認められた。

以上の結果より、20℃という冷涼環境下では熱産生より熱放散抑制によって体温を維持しており、WATにおいて

のみエネルギーを蓄積するように代謝調節を行っている可能性が示唆された。これは、さらになる環境温度低下時に、その蓄積したエネルギーを熱産生に利用するための環境適応であると考えられる。

P-25. 対抗措置としての人工重力負荷と運動負荷が模擬微小重力暴露後の骨代謝デコンディショニングにおよぼす効果

○西村直記¹、岩瀬 敏¹、塩澤友規²、菅屋潤壹¹、清水祐樹¹、高田真澄¹、犬飼洋子¹、佐藤麻紀¹、D. Kanikowska¹、鈴木里美³、渡邊順子⁴、石田浩司⁵、秋間 広⁵、片山敬章⁵、平柳 要⁶、増尾善久⁷、間野忠明⁸ (¹愛知医大・生理2、²青山学院大、³愛知医大・看、⁴聖クリストファー看護大、⁵名大・総合保健体育科学センター、⁶日大・医、⁷早稲田大、⁸岐阜医療科学大)

【目的】模擬微小重力暴露後には循環系、筋・骨格系および骨代謝系など様々なデコンディショニングが起こることが知られている。我々は、宇宙デコンディショニングに対する対抗措置として、模擬微小重力暴露中に人工重力負荷と運動負荷を行わせた時のデコンディショニングに対する効果について検討してきた。本研究では、模擬微小重力暴露後にみられる骨代謝デコンディショニングに対する対抗措置の効果と交感神経の関わりについて検討した。【方法】健康な成人男性20名を対象に、20日間の食事、排尿、排便などの日常生活を、頭部を-6°下げた状態にセットしたベッド上で行わせた。対抗措置群には、人工重力負荷および運動負荷を連日(12名、20日間)または間欠的(8名、13日間)に行わせた。

【結果および考察】模擬微小重力暴露中に対抗措置を行わなかった群では、模擬微小重力暴露後に筋交感神経活動の賦活化や骨代謝の指標となる尿中デオキシピリジノリン排泄量が有意(44.2±10.0%)に増加した。一方、対抗措置を行った群では、模擬微小重力暴露後の筋交感神経活動の賦活化が抑制されるとともに尿中デオキシピリジノリン排泄量も抑制され、またそれは連日の対抗措置群でより顕著であった。これらの結果は、模擬微小重力暴露後にみられる骨量減少の機序には、交感神経活動の賦活化が関与していることを示唆するものである。

P-26. 発達期咬合不全の大脳皮質運動野における細胞構築形成への影響

○本庄美穂^{1,2}、吉村 弘^{1,2}、瀬上夏樹¹、加藤伸郎² (¹金沢医科大学顎口腔機能病態学、²同 生理機能制御学)

【緒言】大脳皮質は活動依存的に可塑的变化を引き起こす

ことが知られている。顎口腔領域に注目すると、咀嚼運動は脳機能の発達に重要な役割を演じている。発達期に多数の歯牙を喪失した場合、それにより咬合不全が引き起こされ、大脳皮質運動野に影響が及ぶことが予想される。そこで、大脳皮質運動野における細胞構築に焦点を当て、発達期咬合不全が引き起こす変化を調べた。【方法】Wister系ラットを、生後2~3週に抜歯した群、生後5週に抜歯した群、非抜歯群の3群に分類して飼育した。生後7週の時点で、3群から運動野を含む脳切片を作製し、クレシルバイオレット染色を行った。運動野II~VI層それぞれについて形態学的構造を観察した。【結果】上記3群について、いずれも層構造は保たれており、全層に対する各層の厚みの比率に違いはみられなかった。しかし、生後2~3週に抜歯した群のV層の細胞密度が他の2群に比べて有意に低下していた。また、錐体細胞に注目すると、細胞体数の減少がみられた。【考察】以上より、発達期の歯牙喪失による咬合不全が大脳皮質運動野におけるV層の発育に影響を与えることが示唆された。運動野V層の錐体細胞は感覚運動処理に関わる皮質下への多くの部位へ軸索側枝を送っており、歯牙喪失による顎運動の不調和が、感覚情報低下を介して出力系神経細胞群の発育を抑制した可能性が考えられる。

P-27. アルツハイマー病モデルマウスの良好な能動回避：代償の可能性

王麗¹、孫鵬¹、張昱¹、王芙蓉¹、山本兼司^{1,4}、山本亮¹、王正大¹、陳瑞^{1,2,3}、須貝外喜夫¹、○加藤伸郎¹（¹金沢医科大学生理機能制御学、²同 高齢医学、³同 地域医療学、⁴国立病院機構宇多野病院）

アルツハイマー病（AD）でのアミロイドβ（Aβ）蓄積は細胞外で起こるが、これに先立って、細胞内でAβ濃度の高まることが指摘され始めた。プレセニリン・タウ・アミロイド前駆体タンパク質の3遺伝子が改変されたADモデルマウス（3xTgマウス）の解析に基づいて、老人斑出現に先立つAD初期からAβが神経細胞の内部に蓄積し、ニューロンに機能障害を引き起こすと報告された（Takahashi et al.(2004)；Billings et al.(2005)；LaFerla et al.(2007)）。細胞内AβがAD初期の神経機能異常に重要な役割を果たすと考えられる。この細胞内Aβの病態生理作用を調べる目的で、今回、このモデルマウス（LaFerla博士よ

り供与）で認知行動に関する行動テストを行った。Aβが細胞内で増加していて、かつ細胞外では蓄積がないような生後3-4か月のマウスでは、能動回避学習（光などのキューと電撃ショックの連関を学習して、不利益なショックを回避するテスト）においてはコントロール非ADマウスよりも良好な成績を示した。また、2種の行動指標において、コントロールに比べて活動性の高まりが見られ、コントロールと異なる学習戦略を使っている可能性が示唆された。電気生理学的背景を探る目的で行動テスト後のマウスからシナプス反応や細胞興奮性を調べている。連発スパイクにおけるスパイク幅の延長が見出されている。

P-28. うつ状態モデルマウスにおけるシナプス機能

孫鵬¹、王麗¹、須貝外喜夫¹、○山本亮¹、張昱¹、王芙蓉¹、陳瑞^{1,2,3}、王正大¹、加藤伸郎¹（¹金沢医科大学生理機能制御学、²同 高齢医学、³同 地域医療学）

難治性うつ病に対する電撃刺激療法（ECT）によって発現強化される分子群が、モデル動物で網羅的に調べられて来た。これらは、最初期遺伝子群と成長因子群に大別される。最初期遺伝子のうち6倍にもおよぶ発現増の知られているのが、足場タンパク質Homer-1aである。我々は、この分子がニューロン興奮性抑制（Sakagami et al, 2005）、Caチャンネル活性化（Yamamoto et al, 2005）、およびシナプス可塑性修飾（Ueta et al, 2008）の各作用を持つことを発見した。これらは、抑うつ状態からの治癒を反映する細胞生理過程である可能性がある（Kato, 2009）。そうであるならば、これらの逆過程が抑うつ状態への移行を反映するのかもしれない。そのような可能性を検討する目的で、抑うつモデル動物における電気生理学的解析を始めた。うつ状態判定のための定法のひとつは、Porsolt強制水泳パラダイムである。これを用いて、5日間総水泳距離を測定した。全例において、いったん水泳距離の低下が起こると回復はみられなかった。2週間後においても水泳距離の低下は持続しており、Porsolt強制水泳パラダイムにおいては抑うつ状態であると判定できた。オープンフィールドテストにおいても、抑うつ・不安状態と矛盾しない結果が得られた。このような動物から海馬スライス標本を作成して解析したところ、今までに、paired-pulse facilitationとlong-term potentiationの両面からシナプス機能における変異を見出した。