

第 61 回西日本生理学会

日 時：平成 22 年 10 月 15 日（金）、16 日（土）
 場 所：長崎大学医学部・良順会館（長崎市坂本町）
 当番幹事：長崎大学大学院医歯薬学総合研究科神経機能学分野 篠原一之
 参加者数：77 名
 演 題 数：35 題

第 61 回西日本生理学会は、長崎大学医学部・良順会館にて、10 月 15 日（金）、16 日（土）の二日間にわたり開催された。77 名の参加、35 題の演題申込があった。発表はすべて口頭で行われ、熱を帯びた議論が交わされた。37 歳以下の若手研究者を対象とした「日本生理学会九州奨励賞」には 5 題の応募があり、5 名の審査員によって研究内容、独創性、発展性、プレゼンテーション能力などを評価基準として厳正な審査が行われた。大変な接戦となったが、九州大学大学院・薬学研究院・病態生理学分野の秋元望先生による「Chemotactic cytokine ligand-1 (CCL-1) の疼痛発現および神経—グリアとの関わり」並びに福岡大学・医学部・生理学の今井裕子先生による「ホスホイノシチド代謝と連動した TRPC6 チャネルの自律的制御」の 2 演題が受賞した。評議員会並びに総会では、生理学会各種委員会報告、次回・次々回当番校の紹介・決定が行われた。また、上記の奨励賞申請の申し合わせ事項について審議が行われ、当学会以外での各種受賞歴を把握するために CV 並びに過去の受賞内容がわかる資料（抄録等）の添付が義務付けられることとなった。近年、異なる研究分野において同一研究者が複数の奨励賞を受賞するケースがあり、ある程度の高い能力を有する若手研究者を幅広く奨励するという観点から提案・承認された。初日夜には恒例の懇親会が催され、会員相互の親睦を深めた。二日目もほとんどの参加者が朝早くから会場に足を運び、初日同様、活発な議論が交わされた。次回当番校は佐賀大学となっており、医学部・生体構造機能学講座・神経生理学分野の熊本栄一教授より、次回当番校の代表として 10 月半ば頃に開催予定との案内があった。次々回当番校は大分大学に決定した（医学部・病態生理学 小野克重教授、医学部・神経生理学 横井功教授）。

(奨励賞対象演題 A1～A5)

A1. Chemotactic cytokine ligand-1 (CCL-1) と疼痛発現および神経—グリアとの関わり

秋元 望¹、本多健治²、牛島悠一²、別府 薫¹、井福正隆¹、毛利優希¹、高野行夫²、野田百美¹（¹九州大学大学院薬学研究院病態生理学分野、²福岡大学大学院薬学部生体機能制御学）

【目的】神経障害性疼痛の発現に、脊髄グリア細胞やサイトカインが関与することが報告されている。本研究では Chemotactic cytokine ligand-1 (CCL-1) に注目し、神経障害性疼痛発現への関与と神経およびグリアとの関連について検討を行った。【方法】神経障害性疼痛モデルはマウス左後肢の坐骨神経を部分結紮して作製した。アロディニアは von Frey フィラメントテストにより測定した。脊髄中のケモカイン発現量の変化はサイトカインアレイを使用し

て測定し、免疫染色により受容体の発現を確認した。【結果】ミクログリアの活性化阻害剤ミノサイクリンの結紮前からの反復（腹腔内）投与は、アロディニアの発現、脊髄中のミクログリアおよび CCL-1 量の増加を抑制した。CCL-1 の脊髄腔内投与により、一時的な強いアロディニアが観察され、NMDA 受容体の拮抗薬 MK-801 の同時脊髄腔内投与により抑制された。一方、結紮前からの CCL-1 中和抗体の脊髄腔内への反復投与は、アロディニアの発現を抑制したが、結紮後からの反復投与では抑制されなかった。また、CCL-1 の特異的受容体 CCR-8 が脊髄の神経およびミクログリアに発現することが認められた。【考察】CCL-1 はミクログリアの活性およびグルタミン酸の遊離もしくは NMDA 受容体の発現や機能的変化を介し、神経障害性疼痛の発現に関与していることが示された。

A2. 人物の既知性が視線方向知覚に与える影響

土居裕和, 篠原一之 (長崎大学大学院医歯薬学総合研究科)

他者の顔から抽出される顔関連情報(視線, 表情, 人物情報)の処理過程は, 相互に影響を与えながら進行することが明らかになりつつある。特に, 表情処理と視線方向情報処理に関しては, その脳内機序を含めて多くの知見が蓄積されつつある。しかし, 人物情報処理と視線方向情報処理の相互作用の有無を検証した研究はほとんど存在しない。そこで, 本研究では, 事象関連電位を指標として, 人物の既知性(既知-未知)と視線方向(直視-逸らせた視線)を組み合わせて作成した4種類の顔画像に対する事象関連電位応答を分析した。具体的には, これら4種類の顔画像をオドボールパラダイムにより提示し, 各刺激により誘発された事象関連電位成分 P300 を分析した。その結果, 未知人物の直視画像に対する P300 振幅は他の3条件よりも大きかった。これに対し, その他の3条件間では P300 振幅に差は見られなかった。この結果は, 顔認知における視線方向情報と人物情報の相互作用を示唆している。

A3. ホスホイノシチド代謝と連動した TRPC6 チャネルの自律的制御

今井裕子^{1,2}, 森 誠之¹, 岡村康司³, 井上隆司¹ (福岡大学医学部生理学,²九州大学大学院歯学府全身管理歯科,³大阪大学医学研究科統合生理学)

ホスホイノシチド (PIPs) は, 種々のイオンチャネルの重要な制御因子であることが知られている。しかしその機序の詳細や機能的意義に関しては未だ混沌としている。本研究では, 心血管系の生理機能や病態と密接に関連している TRPC6 チャネルに着目し, PIPs の役割について検討した。TRPC6 は G 蛋白質共役型受容体 (GPCR)-ホスホリパーゼ C (PLC) 系の活性化により PI(4,5)P₂ から産生されるジアシルグリセロール (DAG) によって活性化される。しかしその不活性化機構における PIPs の役割については不明な点が多い。そこで我々は PIPs 量を速やかに制御するツールとして, 電位作動性 PIPs 脱リン酸化酵素 Voltage-Sensing Phosphatase (VSP) を用い, 以下の実験を行った。TRPC6 のみを発現した HEK293 細胞では, VSP 活性化に必要な強度の脱分極による膜電流の変化は見られなかった。しかし TRPC6 と VSP を共発現させたところ, 脱分極刺激による TRPC6 電流の一過的抑制が観察された。更に, 薬物や VSP 変異体を用いた検討によって, この抑制には PI(4,5)P₂ の急速な脱リン酸化が深く関与していることを見出した。本研究から, GPCR 刺激による TRPC6 チャネルの活性化時には, PI(4,5)P₂-PLC-DAG 系

を介した自律的制御機構が作動していることが示唆された。

A4. シナプス前抑制とペニシリン G (PG)

申 敏哲, 脇田真仁, 山元総勝, 赤池紀生 (熊本保健科学大学生命科学研究部門)

We investigated the functional roles of presynaptic GABA_A receptors on excitatory nerve terminals in contributing to spontaneous and action potential-evoked glutamatergic transmission to rat hippocampal CA3 pyramidal neurons. Single CA3 neurons were mechanically isolated with adherent nerve terminals, namely the 'synaptic bouton preparation', and spontaneous glutamatergic excitatory post synaptic potentials (sEPSCs) and EPSCs evoked by focal electrical stimuli of a single presynaptic glutamatergic boutons (eEPSCs) were recorded using conventional whole-cell patch recordings. Selective activation of presynaptic GABA_A receptors on these excitatory nerve terminals by muscimol markedly facilitated sEPSCs frequency but inhibited eEPSC amplitude. The facilitation of sEPSC frequency was completely occluded by GABA_A receptor-Cl⁻ channel blockers bicuculline or penicillin (PN). PN itself concentration-dependently inhibited the GABA_A receptor response induced by bath application of muscimol, but had no effect on the glutamate receptor response. In addition, pretreatment with a blocker of the Na⁺, K⁺, 2 Cl⁻ co-transporter type 1 (NKCC-1), bumetanide, prevented the muscimol-induced inhibition of eEPSCs. The results indicate that activation of presynaptic GABA_A receptors directly depolarizes glutamatergic excitatory nerve terminals and thereby differentially modulates sEPSCs and eEPSCs.

A5. オキシトシンニューロンにおける赤色蛍光タンパク遺伝子発現

加藤明子^{1,2}, 藤原広明¹, 大淵豊明^{1,2}, 石倉 透¹, 鈴木秀明², 上田陽一¹ (産業医科大学医学部第1生理学,²産業医科大学医学部耳鼻咽喉科学)

下垂体後葉系では抗利尿ホルモンとして知られるバズプレッシン (AVP) と子宮筋の収縮や射乳反射を引き起こすことで知られるオキシトシン (OXT) の2種類のホルモンが産生されている。今回, 赤色蛍光タンパク (mRFP) 遺伝子を OXT 遺伝子に挿入した融合遺伝子を用いてトランスジェニックラットを作出し, OXT 産生ニューロンおよびその軸索を可視化することを試みた。その結果, 本トランスジェニックラットにおいて, 1) 室傍核および視索上核に

mRFP 遺伝子が特異的に発現していた。2) ブロック標本のまま蛍光実体顕微鏡下で視索上核および下垂体後葉に赤色蛍光が観察された。3) 薄切切片に含まれる室傍核、視索上核および正中隆起内層に蛍光顕微鏡下で赤色蛍光が観察された。4) 2% 高張食塩水の飲水負荷により、コントロールと比して mRFP mRNA の著明な増加と赤色蛍光の増強が観察された。

我々はすでに AVP を産生する大細胞性神経分泌ニューロンに緑色蛍光タンパク (eGFP) を発現させることに成功している。そこで同一個体内での AVP-eGFP および OXT-mRFP を発現するダブルトランスジェニックラットの作出を試みた。その結果、同一個体内で視床下部および下垂体後葉に緑色蛍光と赤色蛍光の発現を観察できた。赤色蛍光のダイナミックな変動が観察できる本トランスジェニックラットは、今後の OXT 研究に有用となることが期待される。

(一般演題 A6~B35, A: 初日, B: 2 日目)

A6. 副腎髄質細胞における TASK1 チャネルの機能と情報伝達機構の解析

松岡秀忠, 原田景太, 井上真澄 (産業医科大学医学部第 2 生理学教室)

これまでに我々は、ラット副腎髄質細胞において、K2P チャネルの TASK1 チャネルが発現し、pH 依存的なカテコールアミン分泌調節に関与していることを示唆した。今回、この副腎髄質細胞の内分泌機能にとって重要な TASK1 チャネルの細胞膜発現の制御機構を、ラット副腎髄質細胞由来 PC12 細胞を用いて検討した。PC12 細胞には、ラット副腎髄質細胞と同様に TASK1 チャネルが発現し、無刺激条件下では細胞膜に局在していた。しかし、NGF 刺激によって、すぐに細胞膜から細胞質へと移行し、5 日後には核周辺部に集積する様子が観察された。この NGF 刺激にともなう TASK1 チャネルの細胞内局在変化は、TrkA のチロシinkinase 活性には依存するが、Ras-PI3K-PLC γ 系には依存しないことが明らかとなった。さらに、TASK1 チャネルの細胞膜から細胞質への局在変化は、クラスリン依存性エンドサイトーシスによって制御され、その制御に TASK1 チャネルの C 末端領域のジロイシンモチーフが重要な役割を果たすことが示唆された。以上の結果から、TASK1 チャネルの細胞膜発現がクラスリン依存性エンドサイトーシスにより制御されていることが示唆された。

A7. 酸性線維芽細胞増殖因子はセロトニンと NO を介して発熱させる

松本逸郎, 嶋田敏生, 蒔田直昌 (長崎大学医薬総合研究科内臓生理学講座)

酸性線維芽細胞増殖因子 (Acidic fibroblast growth factor: aFGF) は、多彩な生理活性を有し、脳内では満腹物質として働く。静脈内に投与すると迷走神経肝・門脈枝の求心性神経活動を亢進し、カテコールアミン分泌を高め、体温を上昇させる。本研究は aFGF 誘発の発熱メカニズムを明らかにする目的で、雄ラットをウレタン・クロラロースで麻酔し、銅・コンスタンタン熱電対を用いて aFGF 投与後の直腸温と尾部温を測定した。3 型セロトニンレセプターアンタゴニストであるラモセトロン (45 μ g/kg) を aFGF 投与 20 分前に腹腔内に投与した動物や、胃・小腸基底顆粒細胞のセロトニン合成を阻害するパラクロロフェニールアラニン (PCPA, 200mg/kg/day を 7 日間投与) を腹腔内投与した動物では aFGF 誘発の体温上昇が有意に抑制された。グルココルチコイドであるメチルプレドニゾン (30mg/kg)、または NO-inhibitor である L-MAME を予め腹腔内 (5mg/kg) と筋肉内 (10mg/kg) に投与した動物でも、aFGF 誘発の体温上昇は有意に抑制された。以上の結果から、aFGF 誘発の発熱には外因性 aFGF によって胃・小腸の粘膜固有層で産生された炎症性化学伝達物質 (プロスタグランジンや NO など) と、胃・小腸基底顆粒細胞 (エンテロクロマフィン細胞または肥満細胞) 由来のセロトニン、および迷走神経求心性神経終末部に存在する 3 型セロトニンレセプターが関与することが示唆される。

A8. 血小板活性化因子 (PAF) による副腎皮質ホルモン分泌に対する PAF 誘導体とスフィンゴシン誘導体の調節作用

嶋田敏生, 松本逸郎, 蒔田直昌 (長崎大学大学院医歯薬学総合研究科内臓生理)

PAF は灌流副腎からのコーチゾール分泌を強く促進する。1-alkyl 型の glycerophosphorylcholine (GPC) 誘導体の中で、1nM の lysoC₁₆ PAF および 1-O-hexadecyl-2-O-benzyl-GPC は、PAF の作用を抑制した。一方、1-alkyl 型であっても 2 位に C₁₆ alkyl 基や acyl 基の結合したものは抑制作用を示さなかった。また、1-acyl 型の GPC 誘導体や 3 位に phosphorylcholine を持たないものも、抑制作用を示さなかった。この結果は、グリセロールの 1~3 位に一定の構造を持つことが重要であることを示している。lysoC₁₆ PAF は、100nM という高濃度で ACTH によるコーチゾール分泌を抑制した。一方、スフィンゴ脂質であるスフィンゴシンは 0.1nM という低濃度で PAF と ACTH による

コーチゾール分泌を抑制した。また、スフィンゴシン誘導体 sphingosine-1-phosphate は、PAF の作用を強く促進した。これは、lysoC₁₆ PAF とスフィンゴシン誘導体の作用メカニズムが異なることを示唆している。これらの結果は、副腎皮質によるコーチゾール分泌には、グリセロリン脂質やスフィンゴ脂質による複雑な調節系が存在する可能性を示唆している。

A9. 心筋における細胞間興奮伝播様式の多様性とその意義

今永一成 (原土井病院臨床検査科)

心筋において gap junction channel が細胞間興奮伝播の場として主に機能していることは既に多くの研究から明らかにされている。この機能は細胞接合部発現の隣接細胞間に渡る channel (connexon から構成) の開閉・数に依存し、これは connexon 構成の connexin 発現・分布に依存する。connexin の発現はリン酸化によって制御されている。一方、細胞間隙蓄積 K ion と電場によるもの、細胞膜表面残存 connexon (hemichannel) を通して放出された細胞内 ATP による隣接細胞の膜 ATP 受容体 (P2Y₁) を介する興奮伝播が考えられている。低酸素 (細胞内 Ca 過負荷、酸性化)、伸展、肥好心、糖尿病心 (Angiotensin II, PKC 活性化) などの病態心室筋では、gap junction conductance 減少、Cx43 の gap junction 部発現減少、Cx43 の細胞表面発現 (hemichannel) が認められ、伝播速度は徐々に低下し arrhythmogenesis の誘引となる。また、病態心では心室筋には通常発現しない Cx45 の細胞表面発現 (hemichannel) が見られる。Gap junction channel 機能減退状態の病態心における細胞間興奮伝播維持として、K ion 蓄積や ATP の関与が考えられるが、この要素は anisotropism の変化や re-entry 誘発を促し不整脈発生・持続の因にもなる可能性がある。

A10. PMCA によるマウス心筋 Na/Ca 交換の調節と活動電位波形

塩谷孝夫 (佐賀大学医学部生体構造機能学講座器官・細胞生理学分野)

マウス心室筋細胞から Na/Ca 交換電流 (I_{NCX}) を記録した。I_{NCX} は、細胞内カルシウムイオン濃度 ([Ca²⁺]_i) を弱く緩衝した条件 (0.1-mM-BAPTA) で、ランプパルスによって誘発した。細胞膜カルシウムポンプ (PMCA) の阻害薬である vanadate (VO₄³⁻) を細胞内に投与すると、I_{NCX} の電流振幅は濃度依存的に増大した。Vanadate 投与は、I_{NCX} の [Ca²⁺]_i 依存性を低濃度側へとシフトさせた。Vanadate と作用機序の異なる PMCA 阻害薬 5(6)-carboxyeosin の

細胞内投与も、同様に I_{NCX} の電流振幅を増大させた。この PMCA 阻害による I_{NCX} の増強は、[Ca²⁺]_i を強く緩衝した条件 (10mM-BAPTA) では認められなかった。また、生理的条件下に活動電位を記録し、vanadate 投与によって PMCA を抑制すると、プラトー相の延長が認められ、活動電位持続時間は延長した。以上の結果は、マウス心筋 PMCA が細胞膜近傍の [Ca²⁺]_i レベルを介して細胞膜 Na/Ca 交換の活性を調節し、Na/Ca 交換を介して [Ca²⁺]_i トランジェント波形を活動電位波形に反映する reverse E-C coupling に関与していることを示唆する。

A11. カベオリン-3 による細胞容積調節性アニオンチャネルの制御

山本信太郎, 喜多紗斗美, 伊豫田拓也, 山田敏樹, 岩本隆宏 (福岡大学医学部薬理学)

再生能力の乏しいとされる心筋細胞において細胞容積調節は重要である。これまで我々は細胞容積調節性アニオンチャネル (VRAC) が心筋細胞の容積調節に重要な役割をし、PIP₃ などのイノシトールリン脂質によって調節されることを報告してきた。今回、心肥大 (=細胞容積の増大) を発症することが知られている筋肉特異的カベオリン (Cav3) 欠損マウスにおける細胞容積調節と VRAC の特性について検討した。Cav3 欠損マウスの心室筋を酵素処理にて単離した細胞の容積は、明らかに増大し肥大心筋を呈していた。この細胞では低浸透圧刺激に対する細胞容積の感受性は亢進し、調節性容積減少 (RVD) は消失していた。更に RVD に重要な関与をする VRAC 電流も減弱していた。この減弱した VRAC 電流は細胞内 PIP₃ 投与により改善した。よって Cav3 欠損による VRAC 電流の減少には細胞内 PIP₃ 産生低下が関与していると示唆された。一方、正常マウスにおける横行大動脈縮窄術 (TAC) 後の肥大心室筋細胞でも低浸透圧刺激での RVD は認められなかったが、Cav3 欠損マウスとは異なり、basal な VRAC の活性化が見られた。Cav3 欠損と TAC 術後では、結果は同じ肥大心筋細胞であっても、VRAC への関与が異なると考えられた。

A12. ラット吻側延髄腹内側部から脊髄後角への GABA 及びグリシン作動性神経線維の直接投射

八坂敏一¹, 加藤 剛², 藤田亜美¹, 吉村 恵³, 熊本栄一¹ (¹佐賀大学医学部生体構造機能学講座 (神経生理学分野), ²自然科学研究機構生理学研究所発達生理学系生体恒常機能発達機構研究部門, ³熊本保健科学大学大学院保健科学研究科)

吻側延髄腹内側部 (rostral ventromedial medulla, RVM)

を刺激すると鎮痛効果が得られることは良く知られている。この効果は、セロトニン作動性神経による下行性抑制系を介していると考えられているが、その詳細なメカニズムはまだ不明な点が多い。ラットにおいて侵害受容線維が inputs する主な部位である脊髄後角膠様質の細胞に *in vivo* パッチクランプ法を適用し、RVM 刺激により誘起される応答とその痛覚伝達に及ぼす効果を調べた。RVM へのグルタミン酸局所注入あるいは電気刺激を行い、膠様質細胞で記録される自発性抑制性シナプス後電流 (sIPSC) に対する効果を調べた結果、sIPSC は頻度・振幅ともに増加した。RVM を電気刺激して誘起される IPSC (eIPSC) は、GABA あるいはグリシン作動性で、グルタミン酸受容体やセロトニン受容体の阻害薬による影響は見られなかった。この eIPSC は 20 ヘルツの頻度で刺激をしても潜時が一定で、必ず応答することから単シナプス性であることが示唆された。末梢の受容野に痛み刺激 (ピンチ) を与えた際に膠様質細胞で記録された活動電位は、RVM の電気刺激によって抑制された。以上の結果から、RVM を介した鎮痛効果には GABA あるいはグリシンの直接入力に関与していることが示唆された。

A13. 成熟ラット脊髄膠様質ニューロンにおける自発性グルタミン酸放出のジンゲロンによる促進

岳 海源, 藤田亜美, 朴 蓮花, 井上将成, 蔣 昌宇, 水田恒太郎, 八坂敏一, 川崎弘貴, 熊本栄一 (佐賀大学医学部生体構造機能学講座 (神経生理学))

TRP チャンネルは 1 次感覚ニューロンの中枢端に存在して痛み伝達の制御に働いている。我々は、今まで、中枢端の TRPV1 チャンネルが活性化されると脊髄後角第 II 層 (膠様質) ニューロンへのグルタミン酸の自発放出が促進し、異なる化学構造を持つ TRPV1 作動薬の間で作用に差があることを報告している。生姜の刺激成分ジンゲロンは TRPV1 作動薬として知られているが、これが興奮性シナプス伝達にどのような作用を及ぼすか調べられていない。本研究は成熟ラット脊髄スライスの膠様質ニューロンへパッチクランプ法を適用し、ジンゲロンが自発性興奮性シナプス伝達に及ぼす作用を調べた。ジンゲロンは濃度依存性に自発性 EPSC の発生頻度を増加させ ($EC_{50} = 1.56\text{mM}$)、この作用は繰り返し投与により見られた。ジンゲロン作用は電位作動性 Na^+ チャンネル阻害薬テトロドトキシン抵抗性で、無 Ca^{2+} 液中や電位作動性 Ca^{2+} チャンネル阻害薬 La^{3+} 存在下でも見られた。一方、非選択的 TRP 阻害薬ルテニウムレッドや TRPA1 阻害薬 HC-030031 により抑制されたが、TRPV1 阻害薬カプサイピンにより影響を受けなかった。以上より、ジンゲロンは TRPA1 チャンネルを活性化

して電位作動性 Ca^{2+} チャンネルを介した細胞外から細胞内への Ca^{2+} 流入の促進なしに膠様質ニューロンへのグルタミン酸の自発放出を促進すると結論される。

A14. ラット脊髄膠様質ニューロンにおける興奮性シナプス伝達のテトラカインによる促進作用

朴 蓮花, 藤田亜美, 岳 海源, 蔣 昌宇, 井上将成, 八坂敏一, 水田恒太郎, 上村聡子, 楊 柳, 熊本栄一 (佐賀大学医学部生体構造機能学講座 (神経生理学))

TRP チャンネルは脊髄後角第 II 層 (膠様質) に入力する 1 次感覚ニューロンの中枢端に存在して痛み伝達の制御に働いていると考えられている。我々は、最近、アミン型局所麻酔薬リドカインがその中枢端の TRPA1 チャンネルを活性化してグルタミン酸の自発放出を促進することを明らかにしたが、この作用はリドカインに特異的かどうか不明である。この点を検討するために膠様質ニューロンのグルタミン酸作動性の自発性興奮性シナプス伝達に及ぼすエステル型局所麻酔薬テトラカインの作用を詳しく調べた。実験は、成熟ラット脊髄スライスの膠様質ニューロンへパッチクランプ法を適用することにより行った。リドカイン同様、テトラカインは 1~5mM の範囲で濃度に依存してグルタミン酸の自発放出を促進し、この作用は繰り返し投与でも見られた。このテトラカイン作用は電位作動性 Na^+ チャンネル阻害剤テトロドトキシンや TRPV1 チャンネル阻害剤カプサイピンに非感受性であった。一方、TRP チャンネル非選択的阻害剤ルテニウムレッドや TRPA1 チャンネル阻害剤 HC-030031 はテトラカイン作用を抑制した。以上より、テトラカインは、リドカイン同様、TRPA1 チャンネルを活性化してグルタミン酸の自発放出を促進すると結論できる。この作用は脊髄腔内に投与されたテトラカインの神経毒性に寄与することが示唆される。

A15. 成熟ラット脊髄膠様質ニューロンにおけるグルタミン酸作動性自発性興奮性シナプス伝達に及ぼすオイゲノールの促進作用

井上将成, 藤田亜美, 水田恒太郎, 朴 蓮花, 岳 海源, 八坂敏一, 熊本栄一 (佐賀大学医学部生体構造機能学講座 (神経生理学分野))

オイゲノールは兆子や月桂樹などの植物に含まれる油状成分で、菌の痛みを抑えたり抗炎症作用を持つことから歯科領域で広く使用されている。オイゲノールは、電位依存性の Na^+ や K^+ チャンネルを抑制し、伝導遮断作用を持つことがわかっている。オイゲノールは、カプサイシンと同様、パニロイド基を持ち、後根神経節ニューロンで TRPV1 チャンネルを活性化すると報告されたが、脊髄後角のシナプ

ス伝達にどのような作用を及ぼすか調べられていない。今回、我々は、成熟ラット脊髄スライスの後角第II層（膠様質）ニューロンにパッチクランプ法を適用し、 -70mV の保持電位でオイゲノールがグルタミン酸作動性の自発性興奮性シナプス伝達へ及ぼす作用を調べた。オイゲノール（ 5mM ）は自発性EPSCの発生頻度と振幅を可逆的に増加させ、外向き膜電流を誘起した。オイゲノール効果は、電位依存 Na^+ チャンネル阻害剤テロドトキシン抵抗性で、活動電位の発生を介するものではなかった。また、オイゲノールの効果は、TRPV1チャンネル阻害剤カプゼピンによって抑制されなかったが、TRPチャンネルの非選択的阻害剤ルテニウムレッドでは抑制された。一方、これらの阻害剤はオイゲノール誘起外向き膜電流には作用しなかった。オイゲノールは、TRPチャンネル活性化により自発性興奮性シナプス伝達を促進すると共に、このチャンネル非依存性に膜過分極を誘起すると結論できる。

A16. 注意欠陥多動性障害 (ADHD) モデルラットにおける微小興奮性シナプス後電流の特性

井形幸代, 石松 秀 (久留米大学医学部生理学講座統合自律機能部門)

注意欠陥多動性障害 (ADHD) は小児の3~7%にみられ、注意欠陥性、多動性、衝動性を主症状とする発達障害である。現在、dopamine説やnorepinephrine説が提唱されているが、その病因は解明されていない。我々は以前、ADHDのモデルラットとして最も使用されている高血圧自然発症ラット (SHR) を用いて青斑核ニューロンの静止膜電位と自発活動電位の発射頻度を調査した。その結果SHRは対照ラットのWKYと比較して静止膜電位が浅く、自発活動電位の発射頻度が有意に低い事を報告した。今回の研究では、上記結果よりシナプス伝達の違いに着目し、SHR, WKYおよびWistarラットの青斑核における微小興奮性シナプス後電流 (mEPSC) の特性を比較した。結果、mEPSCの振幅は $\text{SHR} > \text{WKY} > \text{Wistar}$ の順で大きく、周波数は $\text{WKY} > \text{SHR} > \text{Wistar}$ の順で高く、それぞれ3群間に有意差を認めた。mEPSCの結果より、Wistarと比較するとSHRはシナプス後部に、WKYはシナプス前部にグルタミン酸伝達の違いがあることが示唆された。

A17. 孤束核入力線維終末部からのグルタミン酸遊離に対する温度感受性TRPV-1チャンネルの作用

正代清光, MC. Andresen, 赤池紀生 (熊本保健科学大学生理学部門)

脳幹の孤束核は、心臓、肺などの重要な器官を制御し、生体の恒常性維持に重要な役割を担っている。この孤束核

には有髄線維 (A-fiber) および無髄線維 (C-fiber) が入力し、C-fiberの終末部には温度感受性のTRPV-1受容体が発現している。我々はこのTRPV-1受容体が発現するC-fiber終末部からの自発性のグルタミン酸遊離が、温度変化によってどのような影響を受けるのかを、電気生理学的手法を用いA-fiber終末部からのグルタミン酸遊離ならびにGABA作動性終末部からのGABA遊離と比較検討した。

その結果、C-fiber終末部からのグルタミン酸遊離は温度の上昇 ($\sim 36\text{--}38^\circ\text{C}$) において優位に増加した。それに対して、A-fiberおよびGABA作動性終末部からのグルタミン酸およびGABA遊離の頻度は、温度の影響をほとんど受けなかった。さらにC-fiber終末部からの温度依存性のグルタミン酸遊離増加には電位依存性Caチャンネルは関与しなかった。これらの結果から、脳幹の孤束核に投射するC-fiber終末部に発現するTRPV-1受容体は、これまで考えられていた熱活性化閾値 ($42\text{--}43^\circ\text{C}$) よりも低い生体の温度域 ($36\text{--}38^\circ\text{C}$) において、自発性のグルタミン酸遊離に大きく関与している事が明らかになった。

A18. ラット脊髄後角痛覚抑制に関与する5-HTサブタイプの同定

謝 篤傑^{1,2}, 歌 大介^{2,3}, 冯 鵬宇², 古江秀昌^{2,3}, 吉村 恵^{1,2} (熊本保健科学大学大学院保健科学研究科,²九州大学大学院医学研究院統合生理学,³自然科学研究機構生理学研究所)

下行性痛覚抑制系の一つである5-HTは、大縫線核から脊髄後角に下行し、痛覚伝達を抑制することを既に報告したが、その作用機序の一つとしてIPSCの増強作用がある。本発表ではIPSC増強に関与する5-HTサブタイプを同定するため、ラット脊髄スライス標本を用い、膠様質細胞から自発性IPSCと局所刺激によって誘起されるIPSCを記録し、受容体サブタイプの作動薬と拮抗薬の作用を調べた。5-HT_{2A}と5-HT₃作動薬はGABAおよびglycine伸介IPSCの頻度を増加させ、一部の細胞においては振幅も増大させた。更に、CNQX存在下に局所刺激を行って誘起したIPSCについても自発性IPSCと同様の結果を得た。一方、5-HT₁および5-HT_{2B}と5-HT_{2C}、さらに5-HT₄作動薬は何ら作用を示さなかった。以上の結果から、5-HTはGABAおよびglycine介在ニューロンのシナプス終末と細胞体および樹状突起に発現している5-HT_{2A}または5-HT₃受容体に作用し、GABAとglycineの放出を増強して痛覚情報伝達を抑制することが示唆された。

A19. カエル味蕾ウイング型 (Ib) 細胞の不飽和脂肪酸誘発電流の特性

岡田幸雄¹, 宮崎敏博², 佛坂齊社³, 藤山理恵¹, 戸田一雄¹ (長崎大院医歯薬生体情報科学,²長崎大院医歯薬細胞生物学,³長崎大院医歯薬顎顔面病態矯正)

カエル味蕾ウイング型 (Ib) 細胞は, 細胞外液にリノール酸などの不飽和脂肪酸を加えると -50 から -60mV 付近を最大値とする放物線様の内向き電流を示す。一方, 電極内からアラキドン酸を作用させると外向き K⁺電流を増強するが内向き電流は誘発しない。細胞外液の Na⁺を NMDG⁺で置換すると内向き電流は外向き電流に反転しカチオン電流であった。細胞外液の Ca²⁺濃度を 100nM 以下に下げると, 内向き電流の大きさは増大しコネクシンヘミチャネルとよく似た特性を示した。この電流は, パネキシンヘミチャネルの抑制剤 Carbenoxolone では抑制されず, コネクシンヘミチャネルの抑制剤 Flufenamic acid で抑制された。逆に, Carbenoxolone は不飽和脂肪酸誘発電流とは異なるコンダクタンス増大をウイング型細胞に誘発した。ウイング型細胞は, 様々な物質を検出して味蕾の細胞外環境の恒常性を維持しているのかもしれない。

A20. 8-置換フラビンの標準酸化還元電位と酸性度

佐藤恭介¹, 二科安三², 玉置春彦³, 志賀 潔⁴ (熊本大院生命科学部分子生理学,²同 構造機能解析学,³同 分子酵素化学,⁴九州看護福祉大看護学科)

フラビン分子の 8 位の官能基がフラビンの性質に与える影響を調べるため, 8 位を電子吸引性の異なる基 (CN⁻, Cl⁻, H⁻, CH₃⁻, CH₃O⁻, NH₂⁻) で置換したものを調製し, それらの標準酸化還元電位, 酸化型の pKa, および還元型の pKa を測定した。置換基の電子吸引性が高いほど, 他の部分の電子密度が低下するため, 標準酸化還元電位はより高く, pKa はより低くなると予想されるが, そのとおりの実験結果が得られた。ただし, 置換による変化は, 標準酸化還元電位で最も大きくあらわれ, 酸化型の pKa の変化はその 1/6 しかなく, 還元型の pKa の変化はさらにその 1/3 であった。この現象の理解のため, 量子化学計算を行った。その結果によると, 電子吸引性の高い基で置換することにより, 酸化還元反応における電子の受け入れ部位である C4a 炭素の電子密度が顕著に減少し, 酸化型のプロトン解離部位である N3 窒素の電子密度の減少はそれよりかなり小さかった。さらに, 還元型におけるプロトン解離部位である N1 窒素の電子密度の減少はごくわずかであった。これは, 上記実験結果と一致しており, 電子状態の計算から分子の性質を理解することができた。

B21. 男性の音声に対する女性の嗜好性と HLA 類似度の関連性

池田貴裕, 藤澤隆史, 西谷正太, 高村恒人, 高島寿美恵, 篠原一之 (長崎大学大学院医歯薬学総合研究科神経機能学)

本研究では, パートナーの選択行動において, HLA 遺伝子の類似度が影響していることを検証する。パートナーを選択の際に用いられる手がかりの情報として, 本研究では特に, 先行研究では取り上げられてこなかった音声について検討を行った。

20 名の成人男性 (平均年齢 21.3 ± 1.3 歳) の声「あ, い, う, え, お」を収録した。それらの声に対する魅力度について, 成人女性 30 名 (平均年齢 22.0 ± 1.6 歳) が 7 段階で評価した。対象者から血液を採取し, 専用アレイを用いて HLA 型の判定を行った。解析対象とした HLA 座は, A, Cw, B, DRB1, DQB1 の 5 座とした。男女間の HLA の類似度により, 高類似群と低類似群の 2 群に分け, 女性の男性に対する声の魅力度の平均値について群間の検定を行った。その結果, 匂いを手がかりの情報として用いた先行研究とは正反対の結果となり, HLA が類似した群の音声は, 類似していない群の音声よりも魅力度が有意に高い値を示した (p < .05)。以上の結果は, 女性は音声を手がかりとした場合, HLA が類似していない男性よりも, HLA が類似した男性に対して嗜好性を示すことを示唆している。

B22. 男性の音声に対する女性の嗜好性的変化と月経周期の関連性

藤澤隆史, 池田貴裕, 高島寿美恵, 西谷正太, 篠原一之 (長崎大学大学院医歯薬学総合研究科神経機能学)

本研究では, 男性のテストステロン濃度を反映している手がかりの一つとして声を取り上げ, 女性のエストラジオール濃度と男性の声を通じたテストステロンに対する嗜好性の関連性について検討を行った。また, テストステロン濃度を反映している声の音響特徴量として基本周波数 (F₀) を取り上げ, エストラジオール濃度との関連性について併せて検討を行った。

20 名の成人男性 (平均年齢 21.3 ± 1.3 歳) の声「あ, い, う, え, お」を収録した。それらの声に対する魅力度について, 成人女性 30 名 (平均年齢 22.0 ± 1.6 歳) が 7 段階で評価した。また唾液を採取し, 男性のテストステロン濃度と女性の 17β エストラジオール濃度を酵素免疫測定法により測定した。女性の月経周期は, 排卵日の 7 日前から 2 日後まで時期を対象とした。

唾液中の 17β エストラジオール濃度とテストステロン嗜好性の相関分析を行った結果, 二つの間に有意な正の相

関が認められた($r=.501, p<.005$). これは、エストラジオール濃度が高い女性はテストステロン濃度が高い男性の声に対して魅力を感じ、逆に低い女性はテストステロン濃度が低い男性の声に対して魅力を感じていることを示唆している。同様に、唾液中17 β エストラジオール濃度と男性の声のF₀との相関分析を行ったが、二つの間に有意な相関は認められなかった($r=-.170, p=n.s.$).

B23. 睡眠の質が児童の注意機能に与える影響の発達の变化的検討

加藤美香子, 土居裕和, 篠原一之(長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻神経機能学分野)

近年、睡眠時間の短縮や質の低下が注意機能の減退の要因となることが危惧されているが、その因果関係についての実証的な研究はない。

注意機能は、1) 集中を持続する能力である注意持続力、2) 特定の方向に注意を向ける注意定位能力、3) 特定の対象に注意を絞込む選択的注意能力に分類される。

これらを踏まえて、本研究では12歳児童20名、6歳児童計20名および、4歳児14名を対象に、アクテグラムによる4日間の夜間睡眠計測と認知課題による注意機能の計測を行なうことによって、睡眠の質が注意機能のそれぞれの側面に与える影響を検討した。注意機能測定検査としては、上に挙げた三つの注意機能の評価法として広く用いられている幼児用ANT(Attention Network Task)を用いた。

分析では、アクテグラムで計測した各睡眠パラメータと、ANTによって計測された注意機能との相関を検討した。その結果、4歳児では睡眠時間と課題への反応時間の間に有意な相関はみられなかった。6歳児では反応時間と夜間の睡眠時間との間に有意な負の相関がみられた。12歳児では睡眠時間7~9時間の児童の反応時間が速くなるという結果が得られた。この結果は、睡眠の質が注意機能に与える影響には発達の变化があることを示唆している。

B24. 近赤外分光法(NIRS)による愛着に関わる脳機能発達

高村恒人^{1,2}, 西谷正太¹, 吉元崇文¹, 綱分憲明², 篠原一之¹(¹長崎大学大学院医歯薬学総合研究科神経機能学分野, ²長崎県立大学大学院人間健康科学研究科運動生理学)

子どもの社会性発達には、乳児期からの愛着形成が重要であるが、これまでに愛着に関わる脳機能やその脳機能の発達の变化については明らかにされていない。そこで本研究は、思春期を対象に実母の表情刺激に対する脳活動とその発達の变化について調べることを目的とした。

被験者は、タナーの思春期発達(1~5度)のうち、1度

(33名)、3度(26名)、5度(21名)の右利きの男子とした。

実験準備として、被験者母親の表情動画(無表情と笑顔)を撮影・編集(音声なしの30秒)し、これを呈示刺激として用いた。実験は、黒画面→無表情→笑顔→黒画面の順に刺激画面を呈示し、被験者の母親が呈示される条件(実母)と他者の母親が呈示される条件(他者の母)をそれぞれ1回ずつ行った。統計解析は2要因分散分析を行った。

1度群では、右前頭前野腹内側部が他者の母と比べ、実母の笑顔で活動の増加が見られ、3度群では、前頭前野外側部、前頭前野腹内側部、左前頭前野外側部が他者の母と比べ、実母の笑顔に活動の増加が見られた。5度群では、実母の笑顔における前頭前野の活動の増加は見られなかった。

右前頭前野腹内側部の活動は、1度群・3度群に見られ、実母の笑顔に対する活動の増加と考えられるため、愛着の一端を反映している可能性が示唆された。1度から5度の発達において、実母の笑顔に対する脳活動から、愛着を反映する脳部位に変遷が見られる可能性が示唆された。

B25. 近赤外分光法(NIRS)による養育の絆に関わる神経基盤の性差

西谷正太, 高村恒人, 藤澤隆史, 篠原一之(長崎大学大学院医歯薬学総合研究科神経機能学分野)

げっ歯類を中心に養育の絆に関わる神経基盤が調べられてきたが、ヒトの養育の絆に関わる神経基盤の解明はほとんど行われていない。そこで、母親、父親を対象に、わが子の映像を用いた刺激呈示に対する前頭前野の活動を基に、養育の絆に関わる神経基盤を調べた。被験者は、すべて右利きとし、健常な母親、父親を対象とした。実験に先立ち、予め被験者の乳児の「無表情」と「笑顔」の表情動画を撮影・編集(音声なしの30秒)し、これを呈示刺激として用いた。実験は、黒画面→無表情→笑顔→黒画面の順に刺激画面を呈示し、被験者の子が呈示される条件(わが子)と他者の子が呈示される条件(他児)をそれぞれ3回ずつ繰り返し行った。脳活動の測定は近赤外分光法(NIRS)を用いて行った。NIRSは国際10/20法の基準点を参照し、最下端のプロープをFp1、Fp2と同軸に装着した。脳活動の指標にはOxyHb濃度の変化量を用いた。解析は、無表情呈示中を基準に、笑顔呈示中のOxyHb濃度の変化量を調べ、これを条件毎に行った。また、条件間の変化量の比較を行い、わが子の笑顔の呈示により、特異的に活動が見られた脳領域を調べた。その結果、母親では、右前頭前野腹内側領域の活動性に有意な増加が見られ、父親では、左前頭前野腹内側領域の活動性に有意な増加が見られた。したがって、前頭前野腹内側領域は養育の絆に関与している可能性が示唆され、性差がある可能性も示唆された。

B26. 触覚誘発性快情動の神経表現

木田哲夫, 西谷正太, 篠原一之 (長崎大学大学院医歯薬学総合研究科神経機能学分野)

先行研究において, 触覚情報処理の基本特性に関する神経機構は詳細に調べられてきたが, その情動的側面に関しては, 不明確な点が多く残されている. 本研究では, 種々の触覚刺激提示中に近赤外分光法 (near infrared spectroscopy: NIRS) により前頭前野から脳血流動態を測定し, 触覚誘発性の快情動に関わる神経表現を検証した. 被験者は一般成人 20 名 (男性 11 名, 女性 9 名) であった. また同時に, 快・不快軸に沿った主観的評価を Visual analogue scale 形式で行った. 触覚刺激として, 丸い円柱状の木の棒, 木の棒に布 (ベルベット素材) を巻いたもの, 絵筆の 3 種類を用い, 右手もしくは左手の前腕部もしくは手掌部に提示した. 実験はブロックデザインで行い, 安静 30 秒, 刺激 30 秒を 3 回繰り返した. 主観評価では, ベルベット素材で快感が最も高く, 次いで筆, 最後に木の棒となった. NIRS 信号は, 前頭前野の中でも下部・内側部のチャンネルにおいて, 木の棒に比してベルベット素材で増大した. この結果は, 機能的磁気共鳴画像法を用いた先行研究 (Roll et al. 2003) とよく一致する. 以上より, 触覚誘発性の快情動は, 前頭前野腹側部・内側部に表現されることが示唆された.

B27. マウス聴覚皮質及び体性感覚皮質の大規模イメージング

澤渡浩之, 田中良秀, 西村方孝, 宋 文杰 (熊本大学大学院生命科学研究部知覚生理学分野)

電気生理学的研究によりマウス聴覚皮質は AI, AAF, AII, DP と UF の五つの領野で構成されていると報告されているが, イメージング法を用いた先行研究ではそれより少ない AI, AAF と AII の三つの領野が報告されている. この差異を検証するために, 我々は膜電位感受性色素 RH-1691 を用いて C57BL/6 マウスの聴覚皮質の光イメージングを行った. その結果, これまで報告されている全ての領野を確認することができ, それに加え, AII の吻側部において新規に純音刺激に応答する聴覚領野が同定できた. 聴覚皮質と体性感覚皮質が密に隣接しているとこれまで報告されているため, 新規に同定した聴覚領野は体性感覚野と重複している可能性が考えられる. それを調べるために体性感覚皮質の光イメージングを行った. その結果, 新規に同定された聴覚領野と体性感覚領野の PV 野との部分的な重複が明らかになった. 以上より新規に同定した聴覚領野は聴覚体性感覚の情報統合に寄与している可能性が示唆された.

B28. 指尖脈波から推定した末梢循環機能に及ぼす歩行運動の効果

清末達人, 宮崎智江, 宮定彩香 (西南女学院大学保健福祉学部栄養学科)

運動による循環機能改善効果について調べるため, 女子大生 (7 名, 21 歳) および中高年 (男 8 名, 女 2 名, 54.8 ± 8.4 歳) を対象として, 3 ヶ月間の持続的歩行運動が指尖脈波 2 次微分波形に与える影響について検討した. 運動負荷開始後, 平均歩数が有意に増加した女子大生のグループでは (運動前 6613 ± 2295 歩/日, 3 ヶ月後 9874 ± 1823 歩/日), 指尖脈波の 2 次微分波形における a, b, c, d の波高から求めた加速度脈波係数 (APG-index) は, 運動開始後 3 ヶ月の時点で, 7 人中 5 人において改善が認められた. 他方, 中高年のグループ全体としては, 有意な平均歩数の増加はなかったが (運動前 7763 ± 4817 歩/日, 3 ヶ月後 8719 ± 2443 歩/日), 平均歩数が 8000 歩/日以上サブグループでは, APG index の上昇傾向が認められ, 平均歩数が 8000 歩/日未満のサブグループでは APG index が低下する傾向があった. 平均歩数と APG index の変化量との相関を調べたところ, 中高年において, 運動開始後 2 ヶ月と 3 ヶ月において, 統計学的に有意な正の相関 (Spearman の順位相関係数 0.65, および 0.74, $P < 0.05$) が認められた. 以上の結果から, ある程度以上の強度を持った運動を継続することによって, 指尖脈波から推察した末梢血液循環機能の改善が期待できることが示された.

B29. TRPC6 チャネル N 末領域に存在する I 型 PKG との相互作用部位の探索

本田 啓, 菅 忠, 井上隆司 (福岡大学医学部生理学)

【背景と目的】非電位依存性 Ca^{2+} チャネルである TRP チャネルのひとつ TRPC6 チャネルは, ジアシルグリセロールや Ca^{2+} /カルモジュリン依存性プロテインキナーゼなどにより活性化され, 細胞内の Ca^{2+} 濃度を上昇させる心血管機能の調節に重要な蛋白質である. 一方, cGMP 依存性キナーゼ (PKG) は, 血管平滑筋細胞において, 細胞内 Ca^{2+} 濃度を低下させることにより細胞を弛緩させる作用を有していることが明らかとなっているにも関わらず, その基質蛋白質に関する詳細は明らかとなっていない. 近年我々は, PKG によるリン酸化が TRPC6 蛋白質の活性を抑制することを見いだした. そこで本研究では, 血管平滑筋細胞内に存在する 2 つの I 型 PKG のいずれが TRPC6 と相互作用しているのかを明らかにするため, 酵母 two-hybrid 法を用いた蛋白質間相互作用アッセイを行った.

【結果】2 種の PKG を bait, TRPC6 の N 末側細胞質領域を prey として相互作用アッセイを行ったところ, PKG

のサブタイプに関わらず、TRPC6のN末側136アミノ酸部分に相互作用領域が見いだされた。一方、相互作用のcGMPに対する感受性や結合様式に関しては、PKGIaとIbで差が見いだされた。

B30. 巣状分節性糸球体硬化症の原因遺伝子としてのTRPC6チャンネル変異体の機能解析

市川 純, 井上隆司 (福岡大学医学部生理学)

巣状分節性糸球体硬化症は糸球体における蛋白濾過機能不全により重度の蛋白尿を呈する疾患である。足細胞, 基底膜, 有窓型内皮細胞の複合体により形成される拡散障壁の構造破綻により濾過機能が損なわれ, その遺伝的要因としては足細胞に発現する複数種類の蛋白質遺伝子 (nephrin, podocin, TRPC6等)の変異が報告されている。ヒトTRPC6においてはP112Q, M132T, N143S等の変異が原因と考えられているが, これらのTRPC6変異体が細胞及び濾過機能の破綻を導くメカニズムは不明である。我々はTRPC6変異がそのチャンネル機能に及ぼす影響を調べるため, HEK細胞にマウスTRPC6変異体 (P111Q, M131T, N142S; それぞれヒトのP112Q, M132T, N143S変異に相当)を発現させ, 細胞内Ca²⁺イメージングおよびパッチクランプにより検討した。M131Tは野生型あるいは他の変異体に比べ高い自発活性を示した。またcarbachol等によるTRPC6チャンネル活性化時には非常に強い応答が観察され, 機械刺激応答にも増強が見られた。さらにcytochalasin D処理によってアクチン骨格を破壊するとこれらの応答には有意な変化が見られた。以上の結果より, M131T変異は細胞骨格との相互作用を介して細胞内へのCa²⁺の過剰流入を引き起こすことが示唆された。

B31. 微弱電磁波による神経細胞のアポトーシス現象の誘発

内田俊毅¹, 井上隆司¹, 立花克郎² (¹福岡大学医学部生理学, ²福岡大学医学部解剖学)

電磁波の細胞・生体への影響については, WertheimerとLeeper (1979)やAhlbomら (1993)の電磁波の発癌性に対する疫学的な報告や, その他いくつかの細胞実験報告はあるが, ブレークスルーとなるような決定的な報告は未だ存在しない。以前より我々は超音波を用いて光感受性物質を励起し, 癌細胞を殺傷する超音波癌治療の研究を行ってきた。その過程で超音波が作り出すキャビテーションのエネルギーによって電磁波が発生し, 光感受性物質が励起されるのではないかと仮説に基づいて電磁波の実験を開始した。しかし, その後十数年間, 十分な効果が得られなかったが, trail and errorを繰り返した結果, 今回, 我々が

開発した電磁波発生装置を用いて, インキュベーター内に静置したシャーレ内の神経細胞(PC-12)に微弱電磁波をソレノイドコイルを介して持続的に照射したところ, 照射初期の数時間から細胞への影響がみられ, 分裂の遅延, 細胞内の空胞形成を呈し, 72時間後には80%以上の細胞にapoptosisを引き起こした。apoptosis像を呈さなかった細胞にも分裂や増殖の停止や, 細胞変性像が確認された。今回使用した電磁波は非常に微弱にも関わらず細胞に深刻な変化をもたらしたことから, 電磁波の性状によっては, 微弱でも深刻な生体障害が惹起される可能性が示唆された。

B32. ペントバルビタールによるGABA, およびグルタミン酸神経終末部の修飾

脇田真仁, 申 敏哲, 赤池紀生 (熊本保健科学大学生命科学研究部門)

ラット海馬CA1, CA3領域より機械的単離されたシナプス・ブートン標本を用いて, ペントバルビタール(PB)のGABA作動性神経終末部(CA1領域)とグルタミン酸作動性神経終末部(CA3領域)に対する作用を調べた。PBは自発性のsIPSCとsEPSCの電流振幅を濃度依存的に増加させたが, 発生頻度はsIPSCにおいて減少しsEPSCにおいて増加した。また, PBは活動電位誘起のeIPSCとeEPSCの電流振幅を低濃度で増加, 高濃度で減少し, 発火失敗率(Rf)は低濃度で減少, 高濃度で増加した。これらの結果から, PBはGABAおよびグルタミン酸作動性神経終末部上のGABA_A受容体を濃度依存的に脱分極することにより, これら伝達物質の放出を制御することが分かった。すなわち, PBは自発性のグルタミン酸放出を濃度依存的に促進し, 他方GABAの自発性遊離の頻度は不活性化の抑制により濃度依存的に減少させた。しかし, このような場合も電流振幅延長による流入電流量は濃度依存的に増加していた。また, PBは低濃度ではわずかな神経終末部の軽度の脱分極による活動電位誘発の伝達物質放出を促進するが, 高濃度になると脱分極が促進されて電位依存性Na⁺チャンネルの不活性化, すなわち, 活動電位の脱分極性ブロック(シナプス前抑制)を惹起することが明らかとなった。

B33. アセチルコリン受容体を介した海馬CA3ニューロン同期性の制御

橋本あゆみ, 夏目季代久 (九州工業大学大学院生命体工学研究科脳情報専攻)

ラット海馬スライス標本にコリン作動薬カルバコールを投与することによってβ振動が誘導される。これまでに私達は, picrotoxin誘導でんかん様発火を起こしたスライスにカルバコールを投与するとβ振動が発生し, アセチルコ

リン受容体の活性化を介しててんかん様発火が抑制されることを明らかにしてきた。

本研究では海馬スライスで2点測定を行い、てんかん様発火と β 振動それぞれの伝播特性を調べて比較を行った。海馬スライス CA3a と CA3b に約 1mm 離してガラス微小電極 (2M NaCl, 1-2M Ω) を配置し、細胞外記録によって集合電位を記録した。Picrotoxin 誘導てんかん様発火を誘導した後カルバコールを投与すると、CA3a と CA3b の2点でもにてんかん様発火から β 振動への移行が観察された。2点間の波形の伝播速度を測定した所、てんかん様発火は約 0.62 ± 0.17 m/sec で β 振動 (約 0.14 ± 0.01 m/sec) に比べて有意に大きかった。

てんかん様発火や β 振動の発生には AMPA 受容体を介したシナプス伝達が重要であることが分かっている。そのため、てんかん様発火と β 振動の伝播にも興奮性シナプス後電位 (EPSP) が関わっているのではないかと考え、CA3 錐体細胞間シナプスにおける集合 EPSP (fEPSP) を測定した。その結果、カルバコール投与中に fEPSP が有意に減少することが明らかになった。

以上の結果より、CA3 錐体細胞間 fEPSP の減少により β 振動の伝播速度がてんかん様発火に比べて小さくなることが示唆される。伝播速度の減少はてんかん様発火の抑制に関与しているのかもしれない。

B34. エタノール負荷による心房細動発症の分子機構

王 岩, 森島真幸, 李 丹, 賀来俊彦, 小野克重
(大分大学医学部病態生理学講座)

【背景・目的】エタノールは心房細動 (AF) の誘因の一つである。一方、肺静脈 (PV) に分布する心筋細胞の自動能は心房細動の重要な起因の一つであると考えられる。本研究は PV 心筋細胞に発現する T 型 Ca^{2+} チャネルのエタノールによる up-regulation が AF の発症原因であるという仮説を立て、その検証を試みた。【方法・結果】成年ラットにエタノールを経口投与後に食道の電気的ペーシングで、投与 8 時間目で効率に心房細動が誘発されたが、T 型 Ca^{2+} チャネル遮断薬の前投与で抑制された。PV 心筋細胞

の自動能、及び T 型 Ca^{2+} チャネル電流はエタノールの摂取により増強した。新生ラット心筋細胞を単離し、エタノール加条件で長時間培養すると、心筋細胞の自動能、 Ca^{2+} チャネル電流及び T 型 Ca^{2+} チャネルの mRNA 発現がともに増加した。また、PKC 活性が増強し、その下流の GSK3 β の活性は抑制された。転写因子 Csx/Nkx2.5 の発現が増加し、その上流の転写因子 NFAT 核内の割合が増加した。
【結論】エタノールの PKC-GSK3 β -NFAT-Csx/Nkx2.5 経路を介した T 型 Ca^{2+} チャネルの発現増加が自動能の亢進と心房細動の発症の一因であることが示唆された。

B35. ラットの自発運動に及ぼすエタノールの急性効果—実験的糖尿病ラットと非糖尿病ラットの比較—

永田瑞生¹, 西山敦子¹, 大和孝子¹, 小畑俊男², 青峰正裕¹ (¹中村学園大学栄養科学部, ²奥羽大学薬学部)

一般にアルコールはヒトおよび動物の自発運動に対して二相性の作用を示し、少量で亢進し、過量で抑制すると報告されている。しかし、アルコールが糖尿病動物の回転かご式自発運動に及ぼす影響についての報告はない。そこで、実験的糖尿病ラットと非糖尿病ラットを用いて、回転かご式自発運動に及ぼすエタノール (EtOH) の急性効果を検討した。EtOH (0.5, 1.0, 2.0g/kg) は腹腔内に投与し、自発運動は回転かご式運動量測定装置を用いて調べた。その結果、1日の自発運動量は糖尿病ラットの方が非糖尿病ラットに比べて著しく低下しており、とくに暗期での低下が顕著であった。投与したすべての EtOH 濃度により、糖尿病ラットと非糖尿病ラットの両群で暗期の自発運動量は著しく減少した。その減少の程度は暗期においては糖尿病ラットより非糖尿病ラットの方がより顕著であった。EtOH は濃度依存性に脳海馬のセロトニン放出量を増加する。そのため、EtOH による自発運動量の減少においては、EtOH が神経機能に関与した可能性がある。また、EtOH は気分や行動等を調節している脳内神経伝達物質放出を増加するが、糖尿病ラットにおいてはこの放出機構が変化していることが知られており、このことが行動変容に関係しているかもしれない。