

# SYMPOSIA

## 第 90 回日本生理学会大会シンポジウムから

### 重症外傷と免疫・生理学—基礎から臨床まで—(S03)

大規模災害や武力衝突における重症外傷ではショックを含めて様々な病態が複合し、かつ、緊急を要する場合が多い。近年、人工血小板の開発、抗サイトカイン療法、新ショック療法など、新治療法の開発や即戦力のある医療方法が開発されつつあるが、人工赤血球などまだまだ開発されねばならない領域や病態解明も山積みされている。重症外傷の医療現場では何が問題となっているのかを、免疫学・ショック学・生理学の視点から切り込み、現場でこれに対峙する臨床医とともに基礎医学の面から討論した。

順天堂大学救急部の柳川らは、救命救急医療を日常的に行っている臨床医の立場からどのような手順で、生命を危機に追い込んでいる真の障害点を発見するかを語った。エコーで下大静脈の直径を計測することによりその時点での静脈還流量を推定するのに役立つこと、救急室 CT は巨大な設備になってしまうものの身体内の形態異常を全身に渡って把握するのに大変重要であること、などを紹介。防衛医大の萩沢らは、大災害時に供給量が追いつかない血小板輸液に代わる人工血小板の開発について話した。従来の人工血小板と違い、微小血管の閉塞を起さず、かつ、細動脈の収縮を積極的に促す機能を持つ人工血小板を紹介。さらに、人工血小板機能を充実させるための将来計画について述べた。金沢医科大学の芝本らは、アナフィラキシーショックにみられる、末梢血管拡張による血液分散型のショックの治療について、 $\beta 1$  受容体機能だけではなく、 $\beta 2$  受容体機能の保持が大変重要であることを冠血流測定により証明した。今後の治療法として注目が必要である。防衛医科大学の木下らは、重症外傷や熱傷では免疫不全を併発していることを証明し、これに基づく治療法として、IL-18 の持続投与を開発。これにより細胞性免疫機能の改善がみられ、事態の打開に繋がることを示した。

これらから、大規模災害時に発生する重症外傷に対して、最近の診断方法や最近解明された病態生理に基づく新しい治療方法などについて、生理学および免疫学的側面から現在の立ち位置を紹介した。

西田 育弘 (オーガナイザー, 防衛医科大学校生理学講座)

シンポジウム S03 の各シンポジストの発表要旨は WEB 版 vol.75, No.4 (Pt 2) をご覧願います (筆頭著者名・講演タイトルは以下のとおりです)。

柳川洋一『重症外傷の初期診療における生理学的指標と解剖学的評価』P.1

萩沢康介『人工血小板を用いた重症外傷での止血制御』P.2

芝本利重『アナフィラキシーショック』P.3

木下 学『重症外傷や熱傷に続発する複合免疫不全とその対策』P.4

SYMPOSIA 掲載形式について (おことわり) : SYMPOSIA~第 90 回日本生理学会大会シンポジウムから~は、第 90 回大会の各シンポジウムで発表された成果を専門外の会員にも分かりやすくお伝えすることを目的に、各オーガナイザーおよびシンポジストの皆様のご協力を仰ぎ、掲載が実現しました。しかしながら、年間印刷ページ数の制約から、印刷版ではオーガナイザーによるシンポジウム要旨のみを掲載し、各シンポジスト発表要旨につきましては WEB 版にのみ掲載することになりました。WEB 版ではオリジナルのカラー図版をご覧いただけます。

<http://physiology.jp/exec/nisseishi/>

## 新規な実験法による種々の細胞運動系の運動機構の最近の進歩 (S09)

筋肉の収縮機構をはじめとする種々の細胞運動機構の研究は、生理学の古くて新しい研究対象である。筆者が東京大学生理学教室助手であった1960~1970年代は、全国で筋収縮を主要な研究対象とする生理学教室は数多く、生理学会大会における骨格筋、心筋、平滑筋に関する発表セッションは、神経系の発表セッションとその数を競っていた。しかし現在は見る影もない。学問にはやりすたりが付き物であることを痛感する。しかし我々の生命を維持する細胞運動の重要性は、現在も昔もいささかも変わらない。本シンポジウムでは現在すっかり少数になってしまった、我が国の代表的な細胞運動研究者の最近の研究とその成果を報告する。

杉らの研究は、彼のグループが十数年に亘って行っている、水溶液中で生きた（つまり生理機能を維持した）骨格筋ミオシン及びアクチンフィラメント間の、ATP加水分解と共役した滑り運動の、電子顕微鏡下の実測記録である。この目的のためには、電顕試料室中にマウントされた高分子蛋白試料を電顕内の高真空から絶縁するガス雰囲気試料室が必要である。杉らが1990年代に研究を開始できたのは、当時日大文理学部の深見章教授らが、1気圧の圧力差にたえる炭素絶縁薄膜を開発されていたお蔭であった。杉らは日本電子株式会社のサポートを得て、ミオシンフィラメントから側方に突出し、アクチンフィラメントとATP加水分解と共役した結合・変形・解離サイクルを行うミオシン分子頭部に、モノクロナル抗体を介して金粒子（直径15~20nm）を付着させ、この金粒子の重心位置の移動を指標としてミオシン頭部の運動を測定する。ATPのミオシン頭部への投与は、ATP水溶液を含むガラス微小電極に通流し、ATPを放出させておこなった。試料像はイメージングプレートにより行った（露出時間0.1s）。以上の方法で、従来の実験法では不可能であった、ATP加水分解に伴うミオシン頭部のパワーストロークを測定することに成功し、この研究分野に新しい地平を切り開きつつある。

石渡らの研究は、骨格筋、心筋の筋原線維を材料として、種々の弛緩状態と収縮状態の間の実験条件下に筋節を伝わる自発的振動現象（SPOC）を光学顕微鏡下に記録研究し、この現象が筋フィラメント格子に加えられる長軸方向およびこれと直角方向の力のバランスで説明し得るモデルの作成に成功した。更に石渡らは、上記の研究で用いた微細操作技術を細胞分裂機構の研究に適用し、HeLa細胞における染色体の分裂が、分裂中の核を結ぶ直線に対し垂直方向に力を加えることによって促進され、これに対し平行方向に力を加えることによって遅延することを発見した。これらの成果も細胞分裂研究分野に新たな地平を切り開くものである。

木下らの研究は、生物の生活のエネルギー源であるATPを合成する $F_1ATPase$ の中心に位置する $\gamma$ サブユニットの回転方向によりATPが加水分解あるいは合成される。木下らは米国のポイラーらが仮定した $F_1ATPase$ の回転が十数年間証明されずにいたとき、光学顕微鏡下に巧妙な方法でこの回転運動を一挙に可視化したことで有名である。この発見の直後、ポイラーらはノーベル賞を受賞した。木下らは現在、この $\gamma$ サブユニットの回転角度の関数としての、 $F_1ATPase$ のcatalytic siteとATP, ADP+Pi, ADP, Piの結合状態及び非結合状態におけるエネルギープロファイルを求める研究を行っている。彼等はこの目的のため、 $\gamma$ サブユニットに回転を与える光ピンセット装置、これと結合するnucleotideの種類を決定するangle-resolved single-fluorophore imagingなどの、高度な光学顕微鏡技術を駆使している。

細胞の核の遺伝情報発現には、核の内部で様々な物質を運ぶ輸送システムが存在すると想像される。加藤らは、生きた培養細胞の核内の構造を観察するため、光学顕微鏡内の構造の周辺で観察を妨げるhaloを除去するtame、大滝らとともに従来のapodized phase contrast装置を改良した、pupil projection apodized phase contrast検鏡装置を開発し、これまで観察されなかった、多くの核内粒子の運動の観察、記録を可能とした。現在加藤らは、核内に存在する物質輸送系が存在する証拠を得、これを研究中である。

以上述べたように、我が国では学問の流行に囚われることなく、「古くて新しい」細胞運動研究を進歩させつつある研究グループがあることを強調したい。

本シンポジウム発表について、開示すべき利益相反関係にある企業等はない。

杉 晴夫（オーガナイザー、帝京大学医学部名誉教授）

## インビボサイエンスに迫る最新研究 (S36)

生命科学においては、過去半世紀以上にわたり個体から器官・組織、細胞・分子と、技術の限りを尽くして分析的手法により物質を追い求める研究が趨勢を極めてきた。一方、構成する物質の理解だけでは必ずしもこれらが形成する細胞、器官、個体の機能が解明されないことも明らかであり、生体の恒常性維持や薬物代謝を考える際、個体レベルでの検討が必須である。このような背景のもとで、日本学術会議マスタープラン2013への応募案が、日本の生体機能医科学の推進に中心的な役割を果たしている日本生理学会と日本薬理学会との密な意見交換に基づき、日本学術会議基礎医学委員会機能医科学分科会の委員が中心となって取りまとめられた。この応募案は、日本生理学会と日本薬理学会の支持を得ており、我が国における生理学および薬理学コミュニティの総意を反映しているものといえる。機能医科学分科会では、2012年11月に分科会主催のシンポジウム「先進的インビボサイエンス研究の推進」を開催したのに続き、今回は、本生理学会会員に日本学術会議マスタープラン2013への応募案の普及をはかると共に、さらに、インビボサイエンスの発展的継承と先端的展開を目指して、日本生理学会主催・日本学術会議後援シンポジウム「インビボサイエンスに迫る最新研究」を開催した。

本シンポジウムでは、広くゼブラフィッシュからヒトにいたるまで、その全身を対象とした、先端的手法(光イメージング、オプトジェネティクス、生体機能画像計測、遺伝子改変動物、コンピュータサイエンスなど)を駆使したインビボサイエンスの最先端の成果が発表された。まず、鍋倉淳一氏(生理学研究所 生体恒常機能発達機構研究部門)は、「障害脳における生体シナプス再編」というタイトルで、2光子顕微鏡を用いた「生きている脳」の精緻な構造のイメージングによりシナプスやニューロンのダイナミクスの理解が進む可能性を示した。山中章弘氏(名古屋大学 環境医学研究所)は、「オプトジェネティクスを用いた神経活動操作と本能行動制御」というタイトルで、オプトジェネティクスを視床下部のオレキシンニューロンに適応して睡眠・覚醒行動の制御を行い、関与するインビボ神経回路機能の同定ができる可能性を示した。ついで、望月直樹・福原茂朋氏(独立行政法人国立循環器病研究センター細胞生物学部)は、「イメージングによる心臓・血管発生メカニズムの解明」というタイトルで、心筋細胞あるいは血管内皮細胞特異的な蛍光プローブを発現させたトランスジェニックゼブラフィッシュを使って心血管系の発生の理解が進むことを示した。最後に福土審氏(東北大学大学院医学系研究科行動医学・東北大学病院心療内科)は、「脳機能画像による脳腸相関の分析」というタイトルで、過敏性腸症候群の患者と健常者において、脳機能画像法【陽電子断層撮影法(PET)や機能的磁気共鳴画像法(fMRI)]と内臓知覚大脳誘発電位法、経頭蓋磁気刺激法(rTMS)ならびに消化管バロスタット法を組み合わせた脳腸相関の分析により、その原因となるメカニズムの解明を進めることができる可能性を示した。

オーガナイザー：高木 都(奈良県立医科大学医学部分子病理学)  
河西 春郎(東京大学疾患生命工学センター構造生理)

シンポジウム S36 の各シンポジストの発表要旨は WEB 版 vol.75, No.4 (Pt 2) をご覧願います(筆頭著者名・講演タイトルは以下のとおりです)。

- 鍋倉淳一『障害脳における生体シナプス再編』P.6
- 山中章弘『オプトジェネティクスを用いた神経活動操作と本能行動制御』P.7
- 望月直樹『イメージングによる心臓・血管発生メカニズムの解明』P.8
- 福土 審『脳機能画像による脳腸相関の分析』P.8

## Translational research へのご招待 —Neurocardiology における交感神経活動異常の意義—(S46)

Translational research は、基礎研究の成果を臨床に実用化する橋渡し研究である。病態解明は、疾病の予防、診断法・治療法開発に直接生かされ、また、臨床応用に関する医学的、社会的評価は診断法・治療法確立に反映されていく。実学は、基礎的研究と対極にあるものとみなされがちであるが、生理学領域における実学の位置づけを再確認したいと考え、最前線で活躍されている臨床家 4 人をお招きして Translational research に関して語って頂いた。

今回は、「Neurocardiology における交感神経活動異常の意義」を議論の課題とした。Neurocardiology は、心・血管系疾患の病態を神経解剖・神経生理学的に捕らえ、発症の解明から治療法開発までを目的とする分野で、高血圧・心不全などの原因・病態に基づく新しい治療法の提案で、目覚ましい実績を上げている。

自治医大の苅尾が大規模な生理-疫学的手法で行った研究結果から提唱したモーニングサージは、高血圧症患者における交感神経活動異常に伴う症状と考えられているが、投薬内容・投薬時間の調整などで、高血圧患者における脳血管障害合併リスクを有意に低下させることに一石を投じた。

九州大学の岸は、高血圧発症、心不全合併に関して、頭側延髄腹外側野 (RVLM) における中枢性交感神経活動亢進に注目し、同部位におけるアストロサイトのアポトーシスが原因であると指摘した。これは、高血圧予防・治療、心不全合併予防・治療における新しい可能性を示唆する結果である。

名古屋市立大学の早野は、24 時間ホルター心電図の周波数解析による交感神経機能評価を行っている。近年、従来の交感神経機能指標 LF/HF とは異なる、非ガウス性評価法を開発し、急性心筋梗塞後の突然死予測、うっ血性心不全の死亡率評価など临床上重要な情報の引き出しに成功している。

千葉大学の朝比奈は、多系統変性症発症に先駆けて出現する自律神経機能障害に着目している。自律神経機能評価による疾病の早期診断が、難治疾病の早期治療を可能にすると指摘している。また、多系統変性症・脳卒中の予後に関わる因子としての自律神経機能障害も指摘している。

4 シンポジストの研究成果が、未解決領域解決への糸口、さらに新たな領域への挑戦のきっかけとなることを期待している。

本シンポジウム発表について、開示すべき利益相反関係にある企業等はない。

豊島 裕子 (オーガナイザー, 慈恵医大・医・細胞生理)

シンポジウム S46 の各シンポジストの発表要旨は WEB 版 vol.75, No.4 (Pt 2) をご覧願います (筆頭著者名・講演タイトルは以下のとおりです)。

苅尾七臣『血圧変動性：その規定因子と臨床的意義』P.10

岸 拓弥『脳内 neuron-astrocyte uncoupling による交感神経調節異常』P.10

早野順一郎『非線形心拍ダイナミクスの解析による交感神経活動亢進の評価』P.11

朝比奈正人『神経疾患における交感神経機能評価とその意義』P.12

## 疾患モデル動物を用いた心不全の病態生理研究の最前線 (S51)

心不全はあらゆる循環器疾患の終末像であり、先進国の成人の重要な死亡原因である。心不全患者の約半数は不整脈で、約半数はポンプ不全で死亡する。近年の薬物療法の進歩にも関わらず、心不全の生命予後は悪く、更なる病態生理の理解に基づく治療法の開発が必要である。しかし心不全の病態は複雑で多様であり、病態生理の理解には、臨床研究より詳細な検討が可能な遺伝子改変マウスなどのモデル動物を用いた研究が必要である。

本シンポジウムでは、まず呉林なごみ氏がヒト拡張型心筋症変異に基づいて作出したトロポニン T $\Delta$ K210 ノックイン (KI) マウスの解析を、続いて弘瀬雅教氏が心筋特異的  $G_{\alpha_q}$  トランスジェニック (TG) マウスの解析を、続いて桑原宏一郎氏が neuron-restrictive silencer factor (NRSF) のドミナントネガティブ体 (dnNRSF) の心筋特異的 TG マウスの解析を、最後に柏原俊英氏が  $\beta$  アドレナリン受容体 ( $\beta$ AR) アゴニストであるイソプロテレノールを慢性過剰投与したマウス (ISO マウス) の解析結果を紹介した。

まず、いずれのマウスも最終的にはほぼ同等の心機能低下を認めたことが報告された。これらの動物の病態の差異は、むしろ不整脈による突然死の頻度と、その時間経過にあった。

$\Delta$ K210 KI,  $G_{\alpha_q}$  TG, dnNRSF TG マウスは、多くの個体が不整脈による突然死を示し、種々の程度の心室筋線維化を呈し、レニン-アンジオテンシン-アルドステロン系 (RAS) の抑制薬で生命予後が著明に改善された。しかし、 $\Delta$ K210 KI マウスは膜電位依存性  $K^+$  チャネルの発現低下と T 型  $Ca^{2+}$  チャネル (TTCC) の発現亢進により、 $G_{\alpha_q}$  TG マウスは非特異的カチオンチャネル TRPC6 の発現亢進により、dnNRSF TG マウスは TTCC と過分極誘発性環状ヌクレオチド活性化チャネルの発現亢進により不整脈を生じるという差異があった。さらに突然死は、 $\Delta$ K210 KI マウスでは心不全の最終ステージで減少したが、 $G_{\alpha_q}$  TG と dnNRSF TG マウスではほぼ全病期で認められることが報告された。

一方、ISO マウスは一過性外向き  $K^+$  電流の抑制と活動電位幅延長を示すにも関わらず、ほとんど不整脈や突然死を示さないことが報告された。この原因として、以下の3つの機序が考えられた。ひとつは、ISO マウスは除脈を示すので、このモデルでは  $\beta$ AR が脱感作されている可能性があった。これと一致して、dnNRSF TG マウスでは、TTCC 阻害薬が部分的には交感神経抑制を介して突然死を抑制したと考えられることが報告された。もう一つは、ISO マウスでは心筋の線維化がほとんどなかった。最後に、ISO マウスでは  $G_{i/o}$  タンパク質の二次的活性化により T 管の L 型  $Ca^{2+}$  チャネル (LTCC) 活性が減少しており、活動電位幅の延長にも関わらず早期後脱分極が抑制されている可能性があった。

以上をまとめると、 $\Delta$ K210 KI,  $G_{\alpha_q}$  TG, dnNRSF TG マウスのように一義的心筋異常があると活性化された RAS が、心筋の線維化 (不整脈の基質) やイオンチャネル異常 (不整脈のトリガー) を生じ、突然死を誘発する可能性が考えられた。またこれらのマウスでは、慢性的な RAS 阻害薬投与が生命予後を改善したので、RAS は一旦活性化されると終生にわたり心臓を障害する可能性があると考えられた。しかし  $\Delta$ K210 KI マウスに見られたように、不整脈発生頻度は交感神経の活性が高い時期に多いようであった。このことは、dnNRSF TG と ISO マウスの結果と一致する。さらに、ISO マウスや  $\Delta$ K210 KI マウスの結果は、慢性的  $\beta$ AR 刺激の催不整脈効果は自己収束的である可能性を示唆した。しかし、慢性的  $\beta$ AR 刺激への適応として生じる T 管の LTCC 活性の減少は、心室筋細胞の興奮収縮連関にとっては明らかに不利であり、新たな悪循環の起点となりうる可能性が考えられた。

したがって、心不全における不整脈の発生に RAS と  $\beta$ AR の双方が重要であるが、それぞれの催不整脈作用の時間経過には差があった。また不整脈の原因となるイオンチャネルの異常は、本来の心筋障害の種類により異なる可能性があった。

このように心不全の発生初期から終末像までの病態生理や治療薬の効果を縦断的に検討したり、各病期におけるさまざまな蛋白質の役割を詳細に解析したりする研究は、動物モデルにより初めて可能となる。しかし、動物モデルの病態生理を数十年かけて形成されるヒトの心不全の病態生理に外挿するには十分な注意が必要である。本シンポジウムにより、このような有用性と限

界を踏まえて、今後さらに多様な動物モデルによる詳細な心不全の病態解析を行い、それを比較検討することの重要性が明らかとなった。

オーガナイザー：山田 充彦（信州大学・医）  
呉林なごみ（順天堂大学・医）

シンポジウム S51 の各シンポジストの発表要旨は WEB 版 vol.75, No.4 (Pt 2) をご覧願います（筆頭著者名・講演タイトルは以下のとおりです）。

呉林なごみ『遺伝性拡張型心筋症における無症候期、突然死危険期、心機能破綻期と、これらを左右する因子』P.14

弘瀬雅教、竹石恭知『GTP-binding protein  $\alpha_q$  強発現による心不全と頻脈性不整脈発生の機序について』P.15

桑原宏一郎『心不全・突然死モデルマウスを用いた心不全の病態解明と新規治療標的の同定』P.16

柏原俊英『慢性的で過剰な  $\beta_1$  アドレナリン受容体刺激が心室筋の興奮収縮連関を修飾する分子機序について』P.17