

第 106 回近畿生理学談話会

日 時：25 年 11 月 2 日（土）
 場 所：奈良県立医科大学 基礎医学校舎
 当 番：奈良県立医科大学生理学第一講座 山下勝幸
 参加者数：85 名
 演 題 数：35 題

奈良県立医科大学基礎医学校舎において、平成 25 年 11 月 2 日に第 106 回近畿生理学談話会を開催しました。参加者は 85 名（一般 64 名，学生 21 名），演題数は 35 題（一般 24 題，学生 11 題）でした。午前・午後とも，二会場で同時進行し，座長は前回に引き続き，発表を終えた演者に依頼しました。今回から郵送とプログラム製本を止め，HP と e-mail に全面移行し，参加費の値下げが可能となりました。評議員会で，次回の当番は兵庫医科大学の西崎知之先生に決まりました。

2.4.6-Trichloroanisole による嗅覚情報変換チャンネル抑制と風味阻害

○竹内裕子，倉橋 隆（大阪大学大学院生命機能研究科）

ワインのコルク汚染の原因物質の 1 つである 2,4,6-Trichloroanisole (TCA) は，ワインに微量（数 ppt）含まれるだけで風味低下を引き起こす。今回，我々は単離嗅細胞で TCA が極低濃度で嗅覚情報変換チャンネルである CNG チャンネルを阻害することを発見した。TCA は CNG チャンネルの特異的阻害剤の L-cis-diltiazem の 100 倍，最強の嗅覚マスキング剤の 1 つ Geraniol の 1,000 倍の強度を示し，更に 1aM という極低濃度でも抑制を示した。この高効率性はチャンネル抑制の時間積分で生じる可能性が示唆された。CNG チャンネル抑制と LogD 値との間に正の相関が認められたことから，その抑制はチャンネルタンパク質がターゲットであるよりもむしろ，膜の脂質二重層を介している可能性が推測された。また，TCA 関連物質の抑制強度が $TCA \geq TBA > TCP$ であり，ヒト官能検査結果と一致した点や一度空气中に揮発した TCA も阻害効果を持つ点と，一般市場で流通している風味の減少した各種飲食品から TCA が検出されたことを合わせると，TCA による CNG チャンネル抑制が日常的な飲食品の風味阻害に関与している可能性が高いことも示唆された。

細胞外電場を用いた voltage indicator の高速評価

○筒井秀和，神野有香，富田亜希子，岡村康司（大阪大学大学院医学系研究科）

電位センサードメインの状態遷移を利用した，細胞膜電位の可視化法の開発に取り組んでいる。蛋白質の voltage indicator は，精密な分子設計をする事が容易ではなく，沢山の候補分子をスクリーニングする必要がある。通常，パッチクランプなどの電気生理学的計測と光学計測を同時に行う事で行われてきた。この手法は正確な評価が可能であるがスループットが低いという問題点があった。今回，細胞外電場パルスに対する光学応答の空間分布を解析する事により，indicator の特性を高速かつ定量的に評価する試みについて説明させていただきます。

電位依存性ホスファターゼ VSP の酵素活性は，電位センサーの活性化レベルに応じて段階的に発揮される

○坂田宗平^{1,2}，岡村康司¹（¹大阪大学大学院医学研究科，²大阪大学未来戦略機構）

電位依存性ホスファターゼ VSP は電位センサーと酵素ドメインにより形成されている。以前，我々は酵素活性の電位依存性を定量的に調べることで，2つのドメインが強く共役していることを示した。共役のメカニズムは未だ不明であるが，電位センサーの状態に注目すると，以下の 2つの可能性が考えられる。一つは電位センサーが完全に活性化したときのみ酵素活性が発揮される可能性であり，もう一つは電位センサーが動作したときに，その大きさに応じた強さの酵素活性が発揮される可能性である。この 2つの仮説のどちらがより正しいか調べるために，我々は電位センサーの変異体を用いて解析を行った。ゲート電流および蛍光を使用した計測により，この電位センサーは完全な活性化状態に移行するのに 2段階の動きを必要とし，ま

ず不活性化状態から安定な中間状態に移行し、その後、完全な活性化状態に達することが明らかになった。さらに酵素活性を計測すると、1段階目、2段階目それぞれの電位センサーの動作に対応する膜電位範囲において電位依存的な酵素活性が計測された。このことはVSPは電位センサーの動いた大きさに対応して、段階的に酵素活性を発揮することを示している。

Comparison of VSP orthologs among different Urodeles does not support a role in electrical fast block of polyspermy

○J. Mutua², Y. Jinno¹, S. Sakata¹, Y. Okochi¹, S. Ueno³, H. Tsutsui¹, T. Kawai¹, Y. Iwao³, L. Jaffe⁴, Y. Okamura^{1,2} (¹Laboratory of Integrative Physiology, Department of Physiology, Graduate School of Medicine, Osaka University, 2-2 Yamada-oka, Suita, Osaka, 565-0871, Japan, ²Graduate School of Frontier Biosciences, Osaka University, ³Biological Institute, Faculty of Science, Yamaguchi University, 753 Yamaguchi, Japan, ⁴Department of Cell Biology, University of Connecticut Health Center, Farmington, Connecticut, USA)

In most amphibians, electrical regulation has been shown to play an important role in the prevention of polyspermy in fertilization. Some members of amphibians such as anurans are monospermic while others like urodeles exhibit physiological polyspermy. In *Hynobius nebulosus* one species of urodeles; fast block to polyspermy is attained by a positive fertilization potential at the level of egg plasma membrane. In another group of urodeles *Cynops pyrrhogaster*, this electrical regulation is absent. However, molecular mechanisms underlying these diversities are unknown. VSPs have been shown to be abundantly expressed in testes of vertebrates and their enzymatic activities towards phosphoinositides are regulated by the membrane potential. VSPs could be a candidate molecule which may play a key role in the electrically mediated polyspermy block. We sought to test this hypothesis by cloning VSP cDNAs from both salamander and newt testes and studied their electrophysiological molecular properties. The predicted primary amino acid sequence of Hn-VSP (salamander-VSP) was 426, while that of Cp-VSP (newt-VSP) 511. Sequence alignment with other VSP orthologs from *C.intestinalis*, *X.laevis*, *D.rerio* and *G.gallus* showed that similar architecture is well conserved including the positively charged arginines in the S4 segment and HCXXGXXR motif in the catalytic

site. Voltage sensor motions and its coupled voltage-dependent phosphatase activity were investigated electrophysiologically after heterologous expression in *Xenopus oocytes*. Both clones showed 'sensing currents' an indication that their voltage sensor domains are functional, but the salamander VSP lacked detectable phosphatase activity, which could be due to its truncation at the C2 domain of the C terminal. These findings do not support the idea that VSP is involved in the electrically mediated fast block to polyspermy at egg plasma membrane.

卵母細胞発現系を用いた Ci-CatSper チャネルの機能解析

○有馬大貴, 筒井秀和, 岡村康司 (大阪大学大学院医学系研究科)

CatSper チャネルは精巢特異的に発現しているカチオンチャネルであり、ロックアウトマウスを用いた研究などから、受精に必須なタンパク質であることが知られている。4種類の α サブユニット(CatSper α 1~4)が存在し、各サブユニットは他の電位依存性イオンチャネルのように電位センサードメインとボアドメインを持つと考えられている。しかし、培養細胞などの発現系を用いた研究は報告されておらず、イオンチャネルとしての性質は未知の部分が多い。本研究では、カタユウレイボヤのCatSperチャネル(Ci-CatSper)をアフリカツメガエルの卵母細胞に発現させ、その機能解析に取り組んだ。その結果、Ci-CatSper α 3の電位センサードメインのみを発現させると、過分極時に内向き電流が記録された。また、その電流には内在性のCalcium-Activated Chloride Channel (CACC)の活性化による電流が含まれることが分かった。細胞外にカルシウムが存在するときのみCACCの活性化が見られたことから、Ci-CatSper α 3の電位センサードメインを通してカルシウムが細胞内に流入したと考えられる。

アストロサイトにおけるカリウム緩衝機能のシミュレーション解析

○村上慎吾, 倉智嘉久 (大阪大学大学院医学系研究科薬理学講座 (分子・細胞薬理学))

脳においてはほぼ一定に保たれている細胞外カリウム濃度は疾患などにより大きな変化が生じ、10mM以上にも達することもある。細胞外カリウム濃度を安定化させる機構として、アストロサイトが過剰な細胞外カリウムを吸収し血管に運ぶ、カリウムバッファリングが挙げられる。アストロサイトでは、内向き整流性カリウムチャネルや水チャネルがシナプスや毛細血管の周辺に局在し、カリウムバッ

ファリングに貢献していると考えられているが、詳細な機序は理解されていない。そこで、アストロサイトによるカリウムバッファリングを定量的に理解するために、アストロサイトモデルを作製し、カリウムバッファリングの機構を解析した。このモデルにはカリウムバッファリングに関連していると考えられている主要なイオンチャネルやトランスポーターが組み込まれている。このモデルで解析を行うことで、細胞外高カリウム濃度時のカリウムバッファリングの解析ができた。また、細胞外高カリウム濃度でのアストロサイトの膨張をNKCCや水チャネルの阻害剤で抑制できると予測できた。このアストロサイトモデルを使用することで、細胞外高カリウム濃度を伴う疾患での新しい薬理と薬物の候補を探索できると考えられる。

吻側延髄腹内側部のグリア活性における拘束ストレスの影響

○井辺弘樹, 木村晃久, 堂西倫弘, 金桶吉起 (和歌山県立医科大学生理学第一講座)

ストレスは疼痛反応に大きな影響を及ぼすことが知られているが、そのメカニズムは現在まで明らかにされていない。今回、我々は、亜急性(6h/day, 3days)もしくは慢性拘束ストレス(6h/day, 3weeks)をラットに負荷し、吻側延髄腹内側部におけるGFAP, S100beta, CD11bの発現変化を調査した。慢性拘束ストレス群では著明な機械刺激に対する反応閾値の低下が観察された。そして、亜急性および慢性拘束ストレス群では、吻側延髄腹内側部におけるGFAPはnaïve群に比し、約20%の有意な減少が認められた。しかしながら、S100beta, CD11bの発現には変化が見られなかった。免疫組織化学的解析からGFAPの減少は吻側延髄腹内側部の大縫線核において著明であった。さらに、慢性拘束ストレス群では、吻側延髄腹内側部におけるGFAPレベルは機械的感覚閾値と正の相関を示すことが明らかとなった(p<0.05)。これら結果は慢性拘束ストレス後の吻側延髄腹内側部におけるアストロサイトの機能障害を示唆するものであり、機械刺激に対する反応閾値の低下に関与している可能性が考えられる。

リノール酸誘導体 DCP-LA は $\alpha 7$ アセチルコリン受容体の細胞膜表面への小胞輸送を刺激する

○菅野武史, 田村 尚, 賀来佳子, 西崎知之 (兵庫医科大学生理学講座生体情報部門)

リノール酸誘導体 DCP-LA は、 $\alpha 7$ アセチルコリン受容体 ($\alpha 7$ AChR) を標的として海馬シナプス伝達を促進させることが解明されている。このため、DCP-LA の $\alpha 7$ AChR に対する作用機序を検討した。DCP-LA は、アフリカツメ

ガエル卵母細胞に発現させた $\alpha 7$ AChR 反応を増大させた。この DCP-LA の効果は、プロテインキナーゼ C の阻害剤 GF109203X および小胞輸送阻害剤 jasplakinolide, latrunculin B により抑制された。 $\alpha 7$ AChR は、DCP-LA により細胞質画分から細胞膜画分へ、またシナプトソーム外画分からシナプトソーム画分へ移行した。さらに、急性単離海馬ニューロンにおいて、DCP-LA は $\alpha 7$ AChR のシナプス前終末への発現を増加させた。DCP-LA の $\alpha 7$ AChR に対する細胞膜表面発現促進効果は、足場タンパク質である 4.1N のノックダウンにより抑制された。以上の結果は、DCP-LA は $\alpha 7$ AChR の小胞輸送を刺激し、4.1N 依存的に細胞膜表面の発現を上昇させることを示唆している。

不飽和脂肪酸誘導体 DCP-LA の選択的 PKC ϵ 活性化メカニズム

○田村 尚, 野間 梓, 菅野武史, 西崎知之 (兵庫医科大学生理学学生体情報)

これまでに我々は不飽和脂肪酸によるタンパク質リン酸化酵素 C (PKC) の活性化により、シナプス前終末ニコチン性アセチルコリンの受容体反応が増強され、海馬のシナプス伝達が長期に増強されることを明らかにしてきた。この事実は、不飽和脂肪酸が認知機能改善剤の候補として有望であることを示唆しているが、経口摂取や末梢注入では脳内に達する前に分解されてしまうのが問題点であった。そこで、我々は生体内でも安定な生体活性を示すリノール酸誘導体 DCP-LA を開発した。DCP-LA は選択的且つ直接的に PKC ϵ を活性化することが判明している。PKC は活性化すると、細胞質から細胞膜へ移動することが知られており、この移動は細胞内 PKC 活性化の指標とされてきた。DCP-LA による PKC ϵ 活性化のメカニズムを解明するために、N 末側に蛍光タンパク質 mRuby を融合させた PKC ϵ を PC12 細胞に導入して、細胞内 PKC ϵ 動態に対するホルボールミリスチートアセテート (PMA) 及び DCP-LA の効果を調べた。その結果、PMA は mRuby-PKC ϵ を細胞膜へ移動させたが、DCP-LA にそのような効果は認められなかった。この結果は、PKC ϵ の活性化と細胞内移動は必ずしも一致しないことを示唆している。

視床網様核における聴覚と体性感覚の干渉

○木村晃久, 井辺弘樹, 堂西倫弘, 金桶吉起 (和歌山県立医科大学生理学第一講座)

視床核に抑制投射して視床-大脳皮質間の情報伝達を制御する視床網様核 (thalamic reticular nucleus) 細胞における聴覚と体性感覚入力の干渉を細胞近傍記録-染色法で調べた。実験は、麻酔したラットで施行した。音(白色雑音)

刺激にのみ反応する聴覚細胞が86個、後脚(足裏)の皮膚(電気)刺激にのみ反応する体性感覚細胞が15個、どちらの刺激にも反応する細胞(bi-modal cell)が22個、両方の刺激を与えた時のみ反応する細胞が9個、計132個の細胞から感覚反応(unit discharge)を記録した。皮膚あるいは音刺激は、大部分の聴覚(80個)あるいは体性感覚細胞(13個)の反応を修飾した。修飾は、1次反応(onset response)とその後くり返し誘発される2次反応に認めた。反応強度の修飾の多くは抑制で、反応時間も変化した。視床網様核細胞はバースト活動を示すが、バーストの様態も修飾された。感覚反応が変化した細胞は、1次あるいは高次視床核に軸索を投射した。以前報告した聴覚と視覚の干渉とこの研究結果は、視床網様核が大脳皮質-視床のループ回路において異種感覚情報の統合と注意の制御に深く関与することを示唆する。

ネコ外側膝状体および一次視覚野ニューロンの物体表面光沢感選択性

○内藤智之¹、末松尚史¹、三好智満²、澤井 元²、佐藤宏道¹ (¹大阪大学大学院医学系研究科認知行動科学教室、²大阪大学大学院医学系研究科統合生理学教室)

画像輝度ヒストグラムの一次統計量(平均)は平均輝度に、二次統計量(分散)は局所輝度コントラストに対応している。近年の心理物理学研究では輝度ヒストグラムの三次統計量(歪度)が、物体表面の光沢感に対応していることが報告されている。しかし、画像輝度ヒストグラム歪度に対する視覚ニューロンの選択性が視覚情報処理のどの段階から生じるのかは明らかになっていない。本研究では、輝度ヒストグラムの平均・分散は等しく、歪度を5段階に変化させたランダムドット刺激を用いて、麻酔非動化したネコ外側膝状体(LGN)中継細胞および一次視覚野(V1)ニューロンの光沢感選択性を検討した。LGN、V1ともに約30%のニューロンが輝度ヒストグラム歪度に対する選択性を示し、光沢感に対する選択性が皮質下の段階で既に生じていることが示唆された。また、V1ニューロンの輝度ヒストグラム歪度選択性は、LGNニューロンのそれより有意に高く($p < 0.01$)、LGNからV1への投射において光沢感選択性を増強する結合パターンが存在する可能性が示唆された。

ヒト視運動性反応の時空間周波数依存性：モデルを用いた解析

○三浦健一郎(京都大学大学院医学研究科認知行動脳科学)

視野の広い範囲が動く時には、視覚像が動く方向への滑らかな目の動き(緩徐相)と、それと反対の方向に起こる

高速な目の動き(急速相)が交互に起こる。この律動的な目の動きは視運動性眼振と呼ばれる。視覚刺激をステップ状に動かした時の目の動きを調べた先行研究から、緩徐相の目の動きは、早い立ち上がりの応答成分と緩やかに速度が上昇する遅い応答成分の二つから構成されることが示唆されている。それぞれの応答成分には異なる視覚-運動変換経路が関わりと考えられるが、これらに動特性以外の機能的違いがあるか否かはわかっていない。本研究では、二つの応答成分に関わる経路の視覚特性の違いを調べた。様々な空間周波数の正弦波グレーティング(0.03-1cpd)を様々な時間周波数(1-16Hz)で動かしてヒト被験者の視運動性眼振を計測し、緩徐相の目の動きを解析した。一過性の応答特性を持つ経路と持続的な応答特性を持つ経路の二つの経路を持つ視運動性反応制御モデルを作成し、それぞれの経路に異なる時空間周波数特性を仮定すると、緩徐相の眼球速度の時間経過および視覚刺激依存性を良く再現できることがわかった。この結果は、視運動性反応緩徐相の制御に動特性と視覚特性が異なる二つの経路が関わることを示唆する。

固視課題により脳波 α 帯域は増大する

○松浦清人^{1,2}、三浦健一郎¹(¹京都大学医学研究科認知行動脳科学、²京都伏見しみず病院)

脳波は周波数帯域によりいくつかの波に分類される。8~13Hzの帯域は α 波と呼ばれ、閉眼、安静時で増大し、睡眠、緊張時で減衰することが知られている。 α 帯域が増大するとワーキングメモリーが向上するとの報告があり(Nan et al. Int J Psychophysiol. 2012)。本研究の目的は α 帯域の増大を誘発する簡易な課題を見つけることである。今回、固視および計算課題中の中心部脳波Czを計測し、周波数解析を行い、 α 帯域のパワーを計算した。被験者はバイトバーで顔を固定し、固視課題では画面中央の点を固視し、計算課題では画面中央に2秒間隔で現れる数値を次々に加算し、課題終了後に下1桁を答える。実験1では、最初に5分間の固視課題を行い、その後、3分間の休憩を入れながら、10分間の固視課題を3セット行い、最後に5分間の固視課題を行った。課題が進むにつれ、 α 帯域は増大し、最後は最初より1~2割増大することが分かった。実験2では、10分間の固視課題の代わりに10分間の計算課題を行った。最初と比べ、計算課題中の α 帯域は1~2割減衰するが、最後の固視課題では α 帯域が再び増大することが分かった。これらの結果は固視課題が α 帯域の増大を誘発する簡易な課題となりうることを示す。

頭頂連合野の視覚-運動ニューロンは手操作運動中の自

己身体像に応答する

○前田和孝^{1,2}, 石田裕昭³, 中隣克己¹, 稲瀬正彦¹, 村田 哲¹ (近畿大学大学院医学研究科,²学術振興会,³Italian Institute of Technology)

サルの下頭頂小葉及び腹側運動前野のネットワークは、手操作運動制御に関わる。これらのニューンは、運動の対象を視覚的に表現し、運動のシグナルと統合される。同様に、ミラーニューロンは、他者の動作を視覚的に表現し、運動のシグナルも併せ持つ。そこで本研究では、これらのニューロンが手操作運動中の自己の身体に視覚応答を示すかどうか、サルの視点であらかじめ撮影した把持運動中の映像を提示して調べた。さらに、映像から対象物を消すことで手に対して特異的に視覚応答を示すかどうか調べた。その結果、手操作運動ニューロンやミラーニューロンが、対象物だけでなく自己の手の形状に対して特異的に視覚応答を示すことがわかった。この結果は、頭頂葉の手操作運動関連ニューロンやミラーニューロンが、運動指令の随伴発射から予測される視覚フィードバックと実際の視覚フィードバックとの比較によって、運動のモニタリングや身体図式に関わることを示唆している。

サル線条体における、社会的情報の予測応答

○倉岡康治, 稲瀬正彦 (近畿大学医学部生理学)

ヒトを含む霊長類は社会的情報を含む視覚刺激に強い興味を示す。

中脳ドーパミンニューロンの強い入力を受ける線条体は、これまでに報酬予測関連応答が多く報告されてきた。しかし線条体の中でも特に腹側部においては、ドーパミン性入力の他にも扁桃核など社会的情報の処理に関わる領域からの神経投射も知られていることから、腹側線条体の社会的情報処理の関与が考えられる。

そこで本研究では線条体の社会的情報処理への関与を調べるため、異性写真や威嚇表情といった社会的情報を含む視覚刺激と、それらの社会的刺激を予測させる図形に対するサル線条体ニューロンの応答を記録した。ある図形刺激提示後、遅延期間をおいてから社会的刺激の提示や水報酬を与える痕跡条件付け手続きを行った上で線条体ニューロンの応答記録を行った。条件刺激である図形に応答を示した47個のニューロンのうち、29個(62%, 29/47)は社会的刺激を予期する図形に反応した。このうち5個のニューロンは好ましい社会的刺激に対する応答が、好ましくない社会的刺激に対する応答より有意に大きかったのに対して、その反対の応答を示すニューロンは1個であった。以上の結果から、線条体の一部のニューロンは、おもに好ましい社会的情報の予測に関与していることが示唆される。

fMRI を用いた景観評価の検討

○大崎可織¹, 山田圭二郎², 松本純也², 中井隆介³, 岩田博夫³, 精山明敏¹ (京都大院・医学,²同 工学研究科,³同 再生医学研究所)

都市生活のもたらすストレスが、精神疾患にかかるリスクを増加させるという英国の「キャンパーウェル調査」が2003年に公表されて以来、地域住民を主体とした心地よさやストレスフリーを目的とした「まちづくり」が望まれている。そのため、ヒトが景観からどのような情報を読み取っているのか、心の具現化する感性の医学的な理解が必要となってきた。そこで本研究では、感情を誘発する国際的指標画像セット (IAPS) から一部抜粋した画像と、様々な景観画像の二種類のタスクそれぞれについて、快・不快・中性の感情を誘発するものを選定し、それらを提示した際の健常者の脳活動を fMRI で測定し、脳の活動部位と時系列信号の比較検討を行った。その結果、IAPS 群では情動回路に関わる部位、景観群では記憶回路に関する部位に活性が見られた。時系列信号は、不快感情を誘発している際、IAPS 群は扁桃と小脳に上昇が、景観群は視床・海馬・小脳に上昇がみられた。このことは、景観の評価は単なる好き嫌いだけでなく経験の影響も受けており、都市工学と景観の設計において、行動の認知的側面の役割を果たす小脳の働きも検討する必要があると、示唆された。

安静時機能的 MRI を用いた長周期脳活動とパーソナリティの関連

○堂西倫弘¹, 寺田正樹², 金桶吉起¹ (1和歌山県立医科大学・医・生理学 I, 2医療法人昭陽会和歌山南放射線科クリニック)

BOLD 信号の長周期変化は脳活動の機能的結合を反映し、種々の病態で特徴的な変化を示すが、健常者の個人差やパーソナリティとの関連はまだ確立されていない。今回われわれは健常男性被験者89名(18-24歳)の安静時 BOLD 信号(3T, Philips)を用いてネットワーク解析を行い、安静時脳活動とパーソナリティとの関連を検討した。パーソナリティの評価には Cloninger の気質と性格の7次元モデルを用いた。SPM8を用いて BOLD 信号を前処理 (realignment, normalization, smoothing) した後、灰白質の各 voxel について、他の全ての voxel との機能的結合 (相互相関係数) の平均値を求めた (regional global connectivity, rGC)。上記モデルの質問票から得た7つのスコアのうち、損害回避 (Harm Avoidance, HA) を除く6つについて、それぞれ異なる灰白質領域 (中前頭回および眼窩回のほか楔前部・小脳半球も含む) に rGC と有意な相関を認めた。こ

の結果は、これら各領域を含む脳内ネットワークがパーソナリティの形成に関わることを示す。

加齢による脳組織の変化：T1/T2 比 MRI 画像による検討

○石田卓也¹，岩谷 潤²，篠崎和弘²，堂西倫弘¹，寺田正樹³，金桶吉起¹（¹和歌山県立医科大学生理学第一講座，²同 神経精神医学教室，³和歌山南放射線科クリニック）

MRI による T1 強調画像の信号値を T2 強調画像の信号値で割った T1w/T2w 画像の値は、頭部の大きさなどによるばらつきが抑えられ脳組織のミエリン量に比例すると言われている。今回我々は、T1w/T2w 画像が脳の正常機能の研究や病態診断にどの程度応用可能かを検討するため、加齢による信号値の変化を検討した。23 歳から 60 歳までの健常成人 33 人において、標準化した T1w/T2w 画像を作成し、信号値と年齢との相関を計算した。多重比較補正はモンテカルロシミュレーションによって行った。白質では脳梁、両側の錐体路、放線冠、左側の視放線に負の相関を認め、右側の外包で正の相関を認めた。灰白質では両側の海馬傍回、高皮質、大脳基底核、前中部帯状回、後頭葉内側部、内側前頭葉下部、外側頭頂後頭葉で負の相関を認めた。負の相関は加齢によるミエリン量の低下によると考えられ、この傾向に部位差があることを示している。また正の相関はミエリン量の増加、あるいは鉄分などの沈着が考えられる。これらの結果は、T1w/T2w 画像が脳機能の発達や病態把握に有用であることを示唆する。

筋骨化シグナルにより誘導される新規因子 Tmem176b は筋芽細胞から骨芽細胞への分化を促進する

○矢野昌人，河尾直之，田村行識，岡田清孝，梶 博史（近畿大学医学部再生機能医学講座）

筋量の増加は骨密度増加や骨折リスク低下と関連し、最近筋と骨の相互関連が注目されている。私共は筋と骨の局所的な関連を明らかにするために、筋組織に著明な骨化をきたす遺伝性疾患である進行性骨化性線維異形成症 (FOP) を手がかりに研究を進めた。FOP の分子的病因である BMP 受容体 (ALK2) の恒常活性化型変異 (R206H) をマウス筋芽細胞株 C2C12 細胞に発現させると Tmem176b の発現が増加した。C2C12 細胞において、Tmem176b の過剰発現は骨芽細胞分化マーカーや石灰化を促進した。また、マウス骨芽細胞株 MC3T3-E1 細胞でも、Tmem176b の過剰発現は骨芽細胞分化を促進した。一方、C2C12 細胞で、Tmem176b の過剰発現は馬血清による筋管細胞誘導により増加した筋分化マーカーの発現を抑制した。今回の実験

結果より、Tmem176b は筋芽細胞からの筋分化を抑制し、骨芽細胞への分化や石灰化を促進する新規の因子であることが示唆された。

骨格筋細胞におけるインスリン抵抗性への細胞外液 pH の関与

○早田洋樹¹，宮崎裕明¹，新里直美^{1,2}，横山紀子¹，丸中良典^{1,2}（¹京都府立医科大学大学院医学研究科・細胞生理学，²平安女学院大学日本食育・健康研究所）

2 型糖尿病などのインスリン抵抗性の病態では、インスリンの骨格筋への作用が不十分となり、細胞内へのグルコース取込が低下する。しかしインスリン抵抗性の成因については大部分が未解明である。近年、我々のグループにおける糖尿病モデルラット (OLETF ラット) を用いた研究により、インスリン抵抗性の進展とともに細胞外液 pH の低下が起こることが示唆された。そこで今回我々は、細胞外液 pH の低下がインスリン抵抗性の病態に関与しているという仮説を立て、骨格筋由来細胞株 (L6 細胞) における、細胞外液 pH 低下時のインスリン応答性について検討した。

細胞外液 pH を低下させた状態では、インスリンとインスリンレセプターとの結合が低下した。またインスリンレセプターおよびシグナル伝達経路の下流に存在する Akt はリン酸化により活性化となるが、細胞外液 pH 低下時にはどちらのリン酸化レベルも低下していた。さらに同様の条件下において、L6 細胞内へのインスリン依存的グルコース取込も低下した。以上より、骨格筋細胞におけるインスリン抵抗性の病態に細胞外液 pH の低下が関与している可能性が示唆された。

マイクロダイアリシス法による腎内因性アセチルコリン分泌機構の解明

○清水秀二¹，川田 徹¹，マイケル・ジェームス・ターナー¹，神谷厚範¹，秋山 剛²，白井幹康²，杉町 勝¹（¹国立循環器病研究センター循環動態制御部，²同 心臓生理機能部）

腎臓の内因性アセチルコリン (ACh) の分泌機構に関しては、ほとんど知られていない。そこで、我々はマイクロダイアリシス法を用いて、腎臓の内因性 ACh を *in vivo* で測定することにより、腎臓での内因性 ACh の分泌機構を調べた。麻酔下ウサギの左腎皮質にマイクロダイアリシス・プローベを植込み、透析液中の ACh 濃度を高速液体クロマトグラフィにて分析した。高カリウム溶液 (200mM) を、マイクロダイアリシス・プローベを介して局所投与したところ、ACh 濃度に変化は見られなかった。次に、高張

食塩水を局所投与したところ、500mMでは 1.2 ± 0.4 から 2.4 ± 0.4 nM ($P < 0.05$)に、900mMでは 1.1 ± 0.3 から 5.0 ± 1.1 nM ($P < 0.01$)に有意に上昇した。また、 Na^+/K^+ -ATPase阻害薬であるウアバイン(100 μM)を局所投与したところ、ACh濃度は 1.2 ± 0.2 から 2.2 ± 0.3 nM ($P < 0.01$)に有意に上昇した。以上のことから、腎臓におけるAChは、神経由来ではなく、ナトリウム依存性の非神経性の機序により分泌されていると考えられた。

胃幽門腺粘液細胞におけるアラキドン酸/PPAR α オートクリン機構による Ca^{2+} 調節性開口放出の増強

○田中早織^{1,2}、中張隆司¹ (1大阪医科大学生理学、2大阪薬科大学薬物治療学)

胃幽門腺粘液細胞においてAChは、初期相と遅発相からなる Ca^{2+} 調節性開口放出を活性化させる。この Ca^{2+} 調節性開口放出、特に初期相は、アラキドン酸(AA)/PPAR α を介したオートクリン機構により維持されている。本研究では、胃幽門腺粘液細胞においてPPAR α による Ca^{2+} 調節性開口放出増強メカニズムを明らかにした。

PPAR α 阻害薬(GW7647)はACh刺激による Ca^{2+} 調節性開口放出の初期相を増強した。この増強はPPAR α 阻害薬(GW6471)により消失するが、GW6471は遅発相において一過性の開口放出増加を引き起こした。さらにGW6471の代わりにPKG阻害薬及びNOS1阻害薬(N-PLA)を加えても遅発相において同様の一過性の開口放出増加を引き起こした。胃幽門腺粘液細胞においてACh及びGW7647は、NO産生及びcGMP含量を増加させ、GW6471及びN-PLAによって抑制された。また、胃幽門腺粘液細胞にはNOS1とPPAR α が共局在していた。

胃幽門腺粘液細胞において、ACh刺激はPPAR α を活性化、NOS1を介し、NO/cGMP集積をすることで Ca^{2+} 調節性開口放出を増強していた。

膵 β 細胞におけるイノシトール三リン酸受容体(IP3R)を介する Ca^{2+} 動態の数理モデル化とそのメカニズム解析

○竹田有加里、野間昭典(立命館大学生命科学部生命情報学)

Glucagon-like peptide-1 (GLP-1)による膵 β 細胞インスリン分泌増強作用のメカニズムの重要な要因として、PKAを介したIP3Rの活性化による小胞体からの Ca^{2+} 放出が考えられている。 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の上昇は、 Ca^{2+} 感受性イオンチャンネルやトランスポーター、更にはATPやcAMP濃度調節に関わる酵素活性に影響を及ぼし、細胞機能を複雑に制御することが示唆される。我々はこれら一連の分子メカニ

ズムを数理モデル化することを最終目標としている。しかしながら、従来の β 細胞モデルに実装されているIP3Rモデルは簡単な記述式で表現されていて、IP3Rを介する Ca^{2+} 動態のメカニズムなどを解析するには不十分である。そこで我々は、より多くの実験結果を再現できる詳細なIP3Rモデルを構築し、膵 β 細胞の Ca^{2+} 動態へのIP3R活性の関与を解析した。その結果、 Ca^{2+} によるIP3R活性のpositive feedbackによって、 Ca^{2+} transientやoscillationを発生させ、 Ca^{2+} による非常に遅いチャンネルの不活性化が、 Ca^{2+} transientの減衰経過を決定し、またそれが Ca^{2+} oscillationを誘発する決定的要素であることが示唆された。

新たな Ca^{2+} 誘発 Ca^{2+} 放出モデルを用いた動物心筋細胞モデルの開発

○目見田 拓、野間昭典(立命館大学生命科学部生命情報学)

心室筋細胞活動電位によってL型 Ca^{2+} チャンネル(LCC)が活性化すると、 Ca^{2+} の細胞内への流入が筋小胞体(SR)の終末槽にあるリアノジンレセプター(RyR)を活性化し、SR内の Ca^{2+} が細胞内へと放出される(CICR)。これまでの動物モデルは、数種の例外を除いて全てのRyRは共通の微小分画に Ca^{2+} を放出する。そのため、一旦RyRが活性化され始めると一気に全てのRyRが活性化する欠点があった。Hinchらは、実験で記録されているLCCの活性化に応じた段階的な Ca^{2+} 放出を再現することができる新たなモデルを提唱した。彼らはLCCとRyRが1対1でカップリングした Ca^{2+} 放出ユニット(CaRU)を仮定している。Hinchモデルは細胞種に応じた改編をあらかじめ想定して作られたもので、我々の動物モデルに改編する必要がある。そこでHinchモデルのLCCを我々の膜電位依存性ゲートと Ca^{2+} 依存性ゲートを持ったモデルに置き換えた。さらに、実験結果に基づき細胞内局所の Ca^{2+} 蓄積を再現できるモデルを作成し、実際の細胞を用いた生理学実験の結果に合わせてモデル調整を行った。このNewモデルを我々の動物モデルに組み込み、改編された動物モデルの妥当性と問題点について考察する。

心筋細胞の核内 Ca^{2+} 濃度調節におけるカルシウムセンサーNCS-1の役割

○中尾 周、中村(西谷)友重、若林繁夫(国立循環器病研究センター分子生理)

心筋細胞において、核内 Ca^{2+} は心肥大の調節因子として注目されているが、核内 Ca^{2+} 濃度の制御機構には未だ不明な点が多い。近年、核内 Ca^{2+} 濃度の調節には、核膜に存在する Ca^{2+} 放出チャンネルIP₃Rが深く関わっており、心肥大

形成に寄与すると報告されている。一方、私たちは IP₃R と相互作用する因子として脳と心臓に高発現する Ca²⁺ センサー NCS-1 を見出し、NCS-1 は心肥大時に発現上昇すること、IP₃R の活性化を介して心肥大を調節することを報告した。今回、心筋細胞の核内 Ca²⁺ 制御機構への NCS-1 の寄与を調べるために、野生型 (WT) と *Ncs1* 欠損 (KO) マウスの心筋細胞を用いて、受容体刺激前後における NCS-1 と IP₃R の細胞内局在、発現量および核内 Ca²⁺ レベルを解析した。その結果、NCS-1 は核周囲で IP₃R と共局在しており、受容体刺激によって細胞質、膜、核の各画分で発現量が増加することが分かった。また、誘発した Ca²⁺ 濃度の増加は WT と比べて KO で顕著に小さかった。以上の結果から、核周囲に局在する NCS-1 が受容体刺激によって発現上昇し、核膜の IP₃R 活性を調節することによって核内 Ca²⁺ 濃度の制御に寄与していることが示唆された。

リードポテンシャル解析法～心筋細胞の電氣的活動に対する各細胞膜イオン輸送機転の寄与度の決定～

○山岡周代、野間昭典 (立命館大学大学院生命科学研究科バイオシミュレーション研究室)

一般に細胞機能のコンピュータモデルは、細胞機能を担う個々の分子の働きを正確に数式化し(常微分方程式)、それらを統合して計算することによって細胞の機能を時間軸に沿って再現し、そのメカニズムを定量的に明らかにすることを目的に開発される。その結果実際の細胞レベルに近い働きが再現されると、モデルが数式で表現されていることを利用して、細胞の機能原理を数学的に解明し、さらにはシステムの安定性、制御方法、さらには分子の働きの寄与度などを客観的に明らかにすることができる。我々は心筋細胞の電氣的活動に対する各細胞膜イオン輸送機転の寄与度を決定するためのリードポテンシャル解析法を開発したが、今回これを再検討し、さらに改良することを目指した。

細胞膜電位はイオンチャネル (χ) の開閉によるチャネルコンダクタンス (G_χ) とそのチャネル電流の逆転電位 (E_χ) の変化によって時々刻々変化する。イオンチャネル電流を、 $I_\chi = G_\chi \cdot (V_m - E_\chi)$ (1) で表すと、ある時点で全イオン電流が 0 になる平衡電位は以下の式で与えられる。

$$V_L = \frac{\sum_x G_x \cdot E_x - \sum_y I_y}{\sum_x G_x} \quad (2)$$

ここで、 I_y は膜電位に依存しない電流成分を表す。膜電位 (V_m) は常にこの平衡電位の変化を追従するので、我々はこの平衡電位を lead potential (V_L) と呼んでいる。さらに

(2) 式を微分したもの (dV_L/dt) は V_m の変化速度を反映する。

(2) 式、(3) 式によると、 V_L と dV_L/dt はいずれも各イオン電流成分の加算されたものであり、これによって、各電流の V_L ($\approx V_m$) 変化への寄与度を数値化できる。(4) 式では、 V_L における各電流の寄与度がわかる。

$$\frac{dV_L}{dt} = \frac{(\sum_x \dot{G}_x \cdot (E_x - V_L) + \sum_x G_x \cdot \dot{E}_x - \sum_y \dot{I}_y)}{\sum_x G_x} - \frac{\sum_y \dot{I}_y}{\sum_x G_x} \quad (3)$$

$$\text{Contribution} = \frac{\sum_x G_x \cdot E_x}{\sum_x G_x} \quad (4)$$

LPS および IFN- γ 刺激により誘導されるヒト好中球からの TNF- α 産生における性差

○青松恵美、加藤隆幸、笠原恵美子、北川誠一 (大阪市立大学大学院医学研究科細胞情報学)

敗血症や心血管疾患などの様々な炎症性疾患の臨床経過に性差が認められている。敗血症の予後においては、更年期前の女性の予後が男性よりも良好である。そこで、本研究では、若い男性と若い女性の末梢血好中球を用いて、lipopolysaccharide (LPS) および interferon- γ (IFN- γ) 刺激により誘導される好中球からの tumor necrosis factor- α (TNF- α) 産生における性差について検討した。女性の好中球に比べ、男性の好中球は LPS 刺激に反応して多くの TNF- α を産生した。また、男性の好中球では mitogen-activated protein kinases (ERK, p38 および JNK) および phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) のより強い活性化が認められた。これらの分子のなかで ERK, p38 および PI3K が TNF- α の産生に関与すると考えられた。LPS 刺激によって誘導される TNF- α の産生は、細胞を IFN- γ で前処理することによって増強された。この増強作用 (IFN- γ のプライミング作用) は男性の好中球でより強く認められた。TLR4 (LPS の受容体) の発現は男性の好中球でより強く認められ、その発現は IFN- γ または IFN- γ と LPS の共刺激によってさらに強くなった。一方、IFN- γ 受容体の発現に性差は認められなかった。これらの結果は、男性の好中球が女性の好中球よりも LPS および IFN- γ 刺激に対する反応性が高いことを示している。LPS および IFN- γ に対する好中球の反応性における性差が敗血症における臨床経過の性差に部分的に関与していると考えられる。

悪性中皮腫細胞に対する DP-PE のアポトーシス誘導効果

○賀来佳子, 土屋綾子, 菅野武史, 西崎知之 (兵庫医科大学生理学講座生体情報部門)

[目的] リン脂質の代謝により生じる phosphatidylethanolamine は, 細胞内の様々なシグナル伝達のメディエーターとして重要な役割を担っている. 我々はこれまでに 1,2-dipalmitoleoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine (DP-PE) がホスファターゼである PTP1B および PP2A の活性を亢進させることを見出している. 多くの癌細胞においてキナーゼ活性の亢進が観察されることから, ホスファターゼを活性化させる DP-PE は新たな癌治療薬の標的となりうる事が考えられる. 本研究では, ヒト悪性中皮腫細胞に対する DP-PE の影響を検討した.

[結果] ヒト悪性中皮腫 NCI-H28 細胞に対し, DP-PE は濃度および時間依存的に細胞生存率を低下させた. 一方で, ヒト正常中皮由来 Met5A 細胞には影響を及ぼさなかった. また, NCI-H28 細胞では, DP-PE 処理により TUNEL 陽性細胞の増加が見られた. しかし, いずれの細胞においても caspase-3, 4, 8, 9 の活性化は認められなかった. これらのことから, DP-PE は NCI-H28 細胞に caspase 非依存的なアポトーシスを誘導することが示唆された.

ラット延髄孤束核へのタンパク質直接導入における慢性期の循環動態への影響

○山崎寿也^{1,2}, Partha Das¹, 前田正信¹ (1和歌山県立医大医学部第2生理, 2関西医療大学保健医療学部)

現在遺伝子治療が脚光を浴びているが, 機能が発揮されるまで時間がかかることや発現するタンパク質の量をコントロールできないなどの様々な問題点もあり, 急性期の疾患には不向きである. しかし, タンパク質を脳内に直接導入 (マイクロインジェクション) することにより, 解決できる問題も多いと考えられる. そこで今回は, ラットの延髄孤束核 (NTS) にタンパク質の直接導入を行い経過の観測を行った.

Wistar-Kyoto rat (WKY) と自然発症高血圧ラット (SHR) の NTS に, HVJ-E vector (hemagglutinating virus of Japan envelop vector) とともに神経型一酸化窒素合成酵素 (nNOS) のタンパク質を, 導入する群としない群の計4群に分け, 血圧および心拍数の変化を観察した. 計測には, 慢性実験テレメトリー自動計測システムを用い, マイクロインジェクションの前後で継続的に (30s/10min) 血圧および心拍数を測定した. 今回はその結果について報告する.

生体リズムの異常が心機能に及ぼす影響の解析

○橋本いずみ¹, 向阪 彰¹, ダスパルタ¹, 中尾友美¹, グホサビン¹, 和気秀文¹, 村垣泰光², 前田正信¹ (1和歌

山県立医科大学医学部生理学第二講座, 2和歌山県立医科大学医学部病理学第一講座)

生体リズムの異常は, 多くの生理機能に不具合を引き起こすことが知られているが, 心機能への影響はよく分かっていない. そこで我々は, 明暗周期を乱して飼育した phenylephrine 誘発心不全モデルマウスの心機能の評価を行った. マウスは, 3日毎に明暗周期を逆転させて飼育したリズム異常群と実験終了まで一定の明暗周期で飼育した対照群に分けた. まず, 超音波画像診断装置にてこれら2群の心機能を解析したところ, リズム異常群の心機能は対照群に比して有意に低下していた. さらに, qPCRにて心機能制御に関わる遺伝子群の発現レベルを定量解析したところ, リズム異常群では心筋エネルギー代謝に関わる遺伝子の多くに発現レベルの低下が認められた. リズム異常群の心筋では, ミトコンドリアの酵素活性の低下も認められ, リズム異常群でみられる代謝異常は遺伝子発現レベルにとどまらず, 細胞機能レベルにまで及んでいることが判明した. 以上の発見は, 心機能維持には正常な生体リズムが必要であり, リズムの破綻は心筋ミトコンドリア機能の異常を引き起こし, その結果, 心機能を低下させる可能性を示唆していた.

運動習慣による抗高血圧効果とセロトニン作動性神経系との関係

○和気秀文, Sabine S.S. Gouraud, 高岸美和, 向阪 彰, 前田正信 (和歌山県立医科大学医学部生理学第2講座)

運動習慣による高血圧の予防・改善には複数の機序が関与する. その中で, 安静時交感神経活動量の減弱を引き起こす血圧調節中枢の可塑性は重要であると考えられる. 本研究では血圧調節に関与する脳幹セロトニン系に焦点をあて, 運動習慣による抗高血圧効果の機序について検討した. 高血圧ラットに10週間以上の自発性走運動を行わせた後, 孤束核遺伝子発現プロファイルを調べたところ, 運動習慣によりセロトニン受容体5-HT1A 遺伝子発現に有意な低下を認めた. しかし5-HT2A 受容体や他のサブタイプの遺伝子発現に差を認めなかった. ウレタン麻酔下ラットの孤束核へのセロトニン微量注入は降圧作用を引き起こした. また, ターゲットキシンを用いてラットの孤束核投射性セロトニン神経系を特異的に破壊すると, 自由行動下での血圧値が有意に増加した. すなわち孤束核の圧受容体感受性ニューロン (興奮により降圧作用を引き起こす) はセロトニンにより興奮することがわかった. 一般的にセロトニンは5-HT2A 受容体を介して神経興奮を引き起こすが, 5-HT1A 受容体は興奮伝達を抑制すると言われている. 以上より, 運動習慣は孤束核5-HT1A 受容体の発現低下を介し

てセロトニンによる孤束核ニューロンの興奮性を高め、その結果として抗高血圧効果を発揮している可能性が示された。

Differential unmyelinated baroreceptor central pathway of the arterial baroreflex between spontaneously hypertensive and normotensive rats

○M.J. Turner, S. Shimizu, T. Kawada, M. Sugimachi
(Department of Cardiovascular Dynamics, National Cerebral and Cardiovascular Center)

Although the arterial baroreflex contains myelinated (A-fiber) and unmyelinated (C-fiber) pathways, dynamic characteristics of each pathway have never been compared between normotensive Wistar Kyoto (WKY) and spontaneously hypertensive (SHR) rats. We stimulated the left aortic depressor nerve with two white noise signals designed to preferentially activate A-fiber or C-fiber baroreceptor pathways. The transfer function of the A-fiber central pathway did not differ significantly between WKY and SHR. The C-fiber central pathway of WKY showed non-derivative characteristics (-0.27 ± 0.66 dB/decade), whereas, the C-fiber central pathway of SHR showed derivative characteristics (4.11 ± 0.46 dB/decade, $p < 0.001$). The steady-state response was also significantly lower in SHR ($2.78 \pm 0.66\%/Hz$ vs. $6.2 \pm 0.84\%/Hz$, $p < 0.01$). While causality remains undetermined, the C-fiber central pathway in SHR showed a lack of long-term control of SNA, which may contribute to the hypertension seen in SHR.

周産期の低酸素状態における呼吸性ニューロンの調節

○志賀真理¹, 下村英毅², 西山紋恵¹, 谷澤隆邦², 荒田晶子¹ (¹兵庫医科大学生理学学生体機能部門, ²兵庫医科大学小児科学)

低酸素に対する反応性について、末梢性化学受容体が低酸素を感知して、その情報を呼吸中枢に伝達し、呼吸リズムが促進されるとされている。しかし、周産期の低酸素状態における呼吸リズムの反応性では、胎生期に呼吸リズムが促進し、新生期では抑制された。我々の研究結果から胎生期では中枢性化学受容体が低酸素も感受するのではないかと推測されている。そこで、我々は胎生期および新生期ラットから摘出した脳幹-脊髄標本を用い、低酸素状態に対する延髄の呼吸性ニューロンの反応性について検討した。実験は、第4頸髄前根から吸気性活動を記録すると同時に、呼吸性ニューロンの発火パターンを調べた。その結果、低酸素負荷によって胎生18日齢~生後1日では、呼吸

性ニューロンと持続性ニューロンの発火頻度は増加傾向にあり、Pre-Iニューロンの発火頻度は変化しないか、増加傾向にあった。また生後2日~4日齢では、吸気性ニューロンの発火頻度は変化しないのに対し、呼気性ニューロンと持続性ニューロンの発火頻度は減少した。これらの結果から、周産期の低酸素受容における呼吸性ニューロンネットワークの調節に、呼気性・持続性ニューロンが関与していることが示唆された。

Procaterol 刺激時マウス末梢気道線毛運動周波数 (CBF) の PDE1 による調節

○小木曾遥香^{1,3}, 田中早織^{1,2}, 島本史夫³, 中張隆司¹
(¹大阪医科大学生理学, ²大阪薬科大学薬物治療学, ³同薬物治療学 II)

マウス肺から単離した末梢気道線毛細胞を用いて、Procaterol (Proc, β_2 -agonist) の線毛運動活性化機構について検討した。

Proc は線毛運動の周波数 (CBF) と振幅 (CBA) を増加させるが、CBF 増加は CBA に比べ遅れた。しかし IBMX では CBF 増加の遅れはなかった。 $[Ca^{2+}]_i$ の低下、あるいは W-7 (Calmodulin inhibitor) では CBF に対する PKA action を活性化し、一方で $[Ca^{2+}]_i$ 上昇は PKA action を抑制した。このことは線毛内の CBF を調節している outer dynein arm (ODA) 周囲の cAMP 濃度が Ca^{2+} 依存性 PDE1 により調節されていることを示唆している。また、選択的 PDE1 阻害薬 (8MmIBMX) では CBF のみが増加し、更に加えて Proc 刺激による CBF, CBA 増加には差がなかった。また、免疫電顕では ODA 周囲に PDE1A が存在していた。これらの結果は ODA が PDE1 により調節を受けていることを示している。

マウス末梢気道線毛運動の Carbocystein (CCys) による調節

○池内優紀子^{1,2}, 田中早織^{1,2}, 小塩浩子^{1,3}, 松村人志², 中張隆司¹ (¹大阪医科大学生理学, ²大阪薬科大学薬物治療学, ³同薬物治療学 II)

マウス肺から単離した末梢気道線毛細胞を用い、線毛運動の周波数 (CBF) と振幅 (CBA) に対する CCys (粘液溶解剤) の効果を検討した。これまでの研究から、細胞内 pH (pH_i) 上昇は CBF を、細胞内 Cl^- 濃度 ($[Cl^-]_i$) 減少は CBA を増加させることが明らかになっている。

HCO_3^- 存在下で、CCys (100 μ M) は、CBA を 30%、CBF を 5% 増加させた。 Cl^- チャンネル阻害剤、 Cl^- -free の実験から、CCys は $[Cl^-]_i$ 減少を介し CBA 増加を引き起こしていることが明らかになった。一方で、NBC (Na^+/HCO_3^- co-

transport), AE ($\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ exchange) の阻害実験と細胞容積の測定から, CCys が NBC, AE を活性化していることが示唆された. これらの事実から, CCys が NBC を介し HCO_3^- 流入を増加 (pH_i 上昇) させることで CBF を増加さ

せていることが考えられた.

CCys は $[\text{Cl}^-]_i$ 減少を介し CBA を増加, pH_i 上昇を介し CBF も増加させていた.