

第 64 回西日本生理学会

日 時：平成 25 年 10 月 18 日（金）、19 日（土）
場 所：産業医科大学ラマツイーニホール
当番幹事：産業医科大学医学部第二生理学講座 井上真澄
産業医科大学医学部第一生理学講座 上田陽一
参 加 者：101 名
演 題 数：33 題

第 64 回西日本生理学会は、北九州市の産業医科大学において、平成 25 年 10 月 18 日の 12 時から翌 19 日の 13 時までの 2 日間にわたって開催された。口演発表は、十分な発表と質疑を行うために、12 分の口演と 3 分の質疑応答のスケジュールで行った。実際それぞれの演題で活発な討議がなされ、さらに口演の合間にもうけたコーヒープレイクでも議論が続けられた。33 題の中、6 演題が英語による発表であった。

37 歳以下の若手研究者を対象にした「日本生理学会九州奨励賞」には 9 題の応募があり、5 名の審査員による厳正な審査の結果、長崎大学・分子生理学の石川泰輔氏の「洞不全症候群患者に見出された心房型ミオシン重鎖変異とその機能解析」と久留米大学・生理学の天下健輔氏の「過分極誘発陽イオンチャネル (HCN2) の潜在的な催不正脈性」が選ばれた。選にもれた発表の中にもすぐれたものがあり、次回に期待したい。

1 日目の学会終了後に懇親会が行われた。産業医科大学のマンドリンクラブの生演奏もあり、親睦を深めながら楽しい時間を過ごすことが出来た。

2 日目は前回に引き続いて学部学生による発表が 4 演題あった。この中 1 演題は MDPhD コースの学生によるものであった。

評議員会及び総会で、次回の当番校の琉球大学・医学部・形態機能医科学講座の酒井哲郎教授による学会案内があった。西日本生理学会は小規模であるが、演題は中枢神経から皮膚、そして個体レベルから分子レベルまでの広範囲の領域にわたっており、生理学の理解を深める上で有意義な機会であることを改めて確認した学会であった。

本号より、地方会抄録はウェブページ <http://physiology.jp/exec/nisseishi/> に掲載させていただきますことになりました。Pt 2 p.75~p.85 をご覧ください。

【一般演題】

01. Plasmalogens attenuate IL-1 β -mediated iNOS induction by inhibiting p38MAPK activation in mouse astrocytes

○Y.S. Ahmed¹, S. Hossain¹, M. Ifuku¹, S. Take¹, A.I. Ibrahim², T. Katafuchi¹ (¹Department of Integrative Physiology, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University, ²Department of Physiology, Vet-medicine Faculty, South Valley University, Egypt)

Astrocytes are the most abundant type of glia in the brain with great impact on the health and function of neurons. These cells produce nitric oxide (NO) in response to inflammatory conditions at a level that is detrimental to adjacent neurons as found in some neurological disorders including Alzheimer disease. Plasmalogens (Pls) are unique type of glycerophospholipids present in the cell membrane of several tissues with high concentrations in the brain. Pls present in two forms including choline Pls (PlsCho) and ethanolamine Pls (PlsEtn) and own a vinyl-ether bond at the sn-1 position of its glycerol backbone which gives this substance an anti-oxidative effect. In addition, Pls were also found to have an anti-inflammatory effects; so we tried to clarify the effect of those ether lipids on the recombinant IL-1 β -induced NO production in astrocytes. A1 cell line, an astrocytes-derived cell line was used as a model for astrocytes and by application of chicken skin-derived Pls (97% PlsEtn and 3% PlsCho) on the cell culture of A1 cells we found that Pls were able to reduce the total amount of IL-1 β -induced NO production. In addition, application of p38-MAPK inhibitor led to suppression of inducible nitric oxide synthase (iNOS) mRNA expression in A1 cells. Treatment of these cells with Pls resulted in suppression of p38-MAPK, while JNK protein was not affected, suggesting that Pls attenuate IL-1 β -induced NO production through inhibition of P38-MAPK. Furthermore, application of IL-1 β reduced the expression of mRNA for glyceronephosphate-O-acyltransferase (GNPAT), one of key enzymes responsible for Pls biosynthesis in peroxisomes. These results suggest a reciprocal relationship between the Pls and pro-inflammatory cytokine, IL-1 β : i.e., cytokines may regulate their functions on astrocytes through modulating the level of Pls biosynthesis. (COI: None.)

02. リポポリサッカライド (LPS) による神経炎症および β アミロイド蛋白 (A β) の沈着に対するプラズマローゲンの抑制作用

○井福正隆, S. Hossain, 片渕俊彦 (九州大学大学院・医学研究院・統合生理学分野)

神経細胞に多く含まれるリン脂質であるプラズマローゲン (Pls) は、グリセロール骨格 1 位にビニルエーテル結合を、2 位にアラキドン酸などの高度不飽和脂肪酸を有するという特徴的な構造を持つことから抗酸化作用をもつことが知られている。最近、Pls による抗酸化作用およびアルツハイマー病 (AD) との関連が注目されている。しかしながら、脳内における Pls の機能や AD との関連については不明な点が多い。さらに最近、慢性的な末梢炎症が、脳内の神経炎症や AD の発症や増悪に関与している可能性が報告されている。そこで本研究では、末梢炎症モデル動物を用いて脳内の A β の沈着および神経炎症に対する Pls の効果を検討した。

腹腔内への LPS の連続投与により体重の減少、前頭前野および海馬の A β の沈着、グリア細胞の活性化やサイトカイン産生が惹起されたが、Pls の同時投与によってそれらの反応が完全に抑制された。また、LPS によって脳内 Pls 量が特異的に低下し、その低下は Pls 投与によって回復した。これらの結果より、Pls は LPS の末梢投与により惹起される脳内神経炎症および脳内 Pls 量減少を抑制することが明らかとなった。AD では脳内 Pls 量が低下することから、Pls は AD の予防や治療の鍵となる可能性が示唆される。(利益相反 なし)

03. 給食管理実習のための栄養価計算ソフトウェアの開発

清末達人, 青木のみ子, 石本祐子, 境田靖子 (西南女学院大学・保健福祉学部・栄養学科)

栄養系大学での給食管理実習の現場で使用することを念頭において、「日本食品標準成分表 2010」に記載された 757 品目の食品データを基に、Turbo Delphi 2006 (CodeGear 社) を用いて栄養価計算ソフトウェアを作成した。① 1 日分の食事調査モード、② 食材を選んで 1 食分の料理を作成するモード、③ 西南女学院大学栄養学科の調理実習で作成した料理参照モードの 3 つのモードにおいて 45 種の栄養素一覧と栄養バランスを表示することができる。栄養バランスの評価は、「日本人の食事摂取基準 2010」(厚生労働省) に準拠して行った。年齢、性別、体重、身体活動レベルから被験者の推定エネルギー必要量を算出し、ビタミン類、ミネラルなど、エネルギー以外の 17 種の栄養素については、それらの摂取量について、推定平均必要量、推奨量、

目分量などの数値を基準として評価を行った。また、③の料理参照モードでは、調理実習で作成した料理の写真とレシピをデータベース化し、次年度以降の給食管理実習に向けた参考資料となるように工夫している。(利益相反なし)

04. 成熟ラット脊髄膠様質ニューロンの膜興奮性に及ぼすカルバクロールの作用

○熊本栄一, 羅 清甜, 藤田亜美, 蔣 昌宇, 大坪瀬奈, 康 欽, 松下晋大, 徐 志昊 (佐賀大学・医学部・生体構造機能学講座 (神経生理学分野))

シソ科の植物オレガノに含まれるモノテルペン誘導体のカルバクロールをラットに経口投与すると鎮痛が起こるが、その細胞レベル機序は不明である。この機序を知る目的で脊髄膠様質ニューロンのグルタミン酸作動性の興奮性シナプス伝達に及ぼすカルバクロールの作用を調べた。実験は、成熟ラット脊髄横断薄切片の膠様質ニューロンへブラインド・ホールセル・パッチクランプ法を適用することにより行った。カルバクロールは可逆的および濃度依存的に、(1) 自発性興奮性シナプス後電流の発生頻度の増加 ($EC_{50}=0.69\text{mM}$) や (2) -70mV の保持膜電位で外向き膜電流を誘起した ($EC_{50}=0.55\text{mM}$)。前者の作用は TRPV1 チャネル阻害薬カプサゼピンにより影響を受けず、TRPA1 チャネル阻害薬 HC-030031 により抑制された。一方、後者の作用は、これらの阻害薬により影響を受けなかった。また、高 K^+ 液はカルバクロール外向き膜電流の振幅を減少させたが、 K^+ チャネル阻害薬 (TEA や Ba^{2+}) は作用しなかった。カルバクロール外向き膜電流の膜電位依存性より K^+ ばかりでなくその他のイオンの膜透過性変化の関与が示唆された。以上よりカルバクロールによる鎮痛作用は TRPV1 や TRPA1 の活性化を介さない膜過分極によっており、この一部には TEA や Ba^{2+} に非感受性の K^+ チャネルが関与していることが示唆された。(利益相反なし)

05. 成熟ラット脊髄膠様質ニューロンのオキシトシンによる膜脱分極の細胞レベル機序

○蔣 昌宇, 藤田亜美, 大坪瀬奈, 羅 清甜, 康 欽, 徐 志昊, 松下晋大, 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))

我々は、以前、脊髄後角におけるオキシトシンの鎮痛作用機序について、痛み伝達制御に重要な役割を果たす後角第 II 層 (膠様質) ニューロンの膜脱分極を介した GABA やグリシン作動性の自発性抑制性シナプス伝達の促進であることを明らかにしている。薬理学的手法より、そのオキシトシン作用は、代謝調節型オキシトシン受容体の活性化

を介することを示しているが、その発生のイオン機序や細胞レベル機序は不明である。今回、成熟ラットから作製した脊髄横断薄切片の膠様質ニューロンにブラインド・ホールセル・パッチクランプ法を適用して、それらの機序を調べた。オキシトシン膜電流の電流-電圧関係は、調べたニューロンの 30% で K^+ の平衡電位近くで逆転したが、残りの細胞では逆転しなかった。オキシトシン膜電流の振幅は、高い K^+ 濃度や低い Na^+ 濃度を持つ Krebs 液中では小さくなった。また、ホスホリパーゼ C 阻害薬 U-73122 や IP_3 誘起 Ca^{2+} 放出阻害薬 2-アミノエトキシジフェニルボラートはオキシトシン膜電流の振幅を減少させたが、C キナーゼ阻害薬ケレリスリン、 Ca^{2+} 誘起 Ca^{2+} 放出阻害薬ガントロレンおよびジブチリル環状 AMP は作用しなかった。以上より、オキシトシン誘起膜脱分極はホスホリパーゼ C と IP_3 誘起 Ca^{2+} 放出を介した K^+ や Na^+ の膜透過性変化により生じることが示唆された。(利益相反なし)

06. カルバコール誘導 β 振動とシナプス長期増強のサーカディアン制御

○中司弘樹, 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)

脳は、おおよそ 24 時間のサーカディアンリズム (CR) を持っており、神経活動に影響を与えられている。ヒトやげっ歯類において、CR 中の異なる時間で異なる記憶・学習パフォーマンスが生じることが報告されている。中隔核からアセチルコリン投射を受ける海馬は、記憶・学習に重要な部位であり、その記憶・学習中では、神経リズムとシナプスの可塑的変化が関与していると考えられる。ラット海馬スライスにおいて、アセチルコリン作動薬であるカルバコールの投与は、12–30Hz のカルバコール誘導 β 振動 (CIBO) を間欠的に生じさせ、また θ パースト刺激は CA1 シナプスの長期増強 (LTP) を引き起こす。本研究では、CIBO と LTP の CR について影響を調べた。CIBO は CA3 領野から、LTP は集合興奮性シナプス後電位 ($pEPSP$) と集合スパイク (PS) を CA1 領野から記録した。LTP のうち PS-LTP で CR が見られた。また CIBO においても CR が見られた。さらにリカレント抑制伝達が関与するベアパルス抑制現象にも CR が見られた。以上の結果から、リカレント抑制伝達が CR で変化し、LTP 及び CIBO に影響を与えていると示唆された。また CR 中のこれらの変化が、記憶・学習パフォーマンスの変化を生じさせているのかもしれない。(利益相反なし)

07. 大脳皮質一次聴覚野において場所と周波数は Greenwood 関係に従う

○宋 文杰, 西村方孝 (熊本大学・生命科学研究部・知覚生理学分野)

周波数部位局在は大脳皮質一次聴覚野の重要な特徴として、多くの動物種で研究されてきているが、周波数部位局在に関する定量的な理解に至っていない。本研究では、モルモットを用いて、一次聴覚野における場所と周波数の関係を定量的に確立させることを目的とした。モルモットの可聴域に含まれる様々な周波数の純音刺激に対する一次聴覚野の反応を、高空間分解能光イメージング法で記録し、場所と周波数の関係を調べた。血管などによる影響を減弱させるために、23 匹の動物の計測結果を、カメラのシフトと回転を補正した後に加算平均した。純音に対する一次聴覚野の応答が帯状の領域に見られるため、場所の特定に反応の特徴量を用いる必要がある。本研究では、反応の開始部位、最大反応部位、および最大立ち上がりレート部位を特定した。これらのいずれの部位を用いても、一次聴覚野において場所（皮質上の距離）と周波数の関係は Greenwood の式に従うことが明らかとなった。Greenwood 式は蝸牛における周波数と場所の関係を記述するもので、本研究の結果は、蝸牛における周波数と場所の量的関係が大脳皮質においても保存されていることを示しており、聴覚皮質のモデリングや皮質刺激型人工内耳の設計に基礎を提供する。(利益相反 なし)

08. レプチンとエンドカンナビノイドの甘味感受性修飾

○仁木麻由, 大栗弾宏, 上瀧将史, 吉田竜介, ニノ宮裕三 (九州大学大学院・歯学研究院・口腔機能解析学)

中枢の視床下部で摂食調節に関わるレプチンとエンドカンナビノイド(2-AG, AEA)が、舌の味覚器にあるそれぞれの受容体を介し甘味を調節することがこれまでの研究で明らかになっている。レプチンは甘味を抑制し、エンドカンナビノイドは甘味を増強させる。今回我々は、C57BL/6J マウス、食餌性肥満マウス、レプチン受容体変異 *db/db* マウスを用い、生体内(味覚器)で両者がどのように甘味を調節しているかを調べた。それぞれの受容体拮抗薬を投与して味刺激時鼓索神経応答を調べたところ、C57BL/6J マウスは、レプチン受容体拮抗薬(LA)により甘味応答が有意に増強したが、エンドカンナビノイド受容体拮抗薬(AM251)では変化は認められなかった。食餌性肥満マウスは、血中レプチン濃度が上昇するにつれ、LA による応答変化率は減少し AM251 では上昇した。また *db/db* マウスは、AM251 で甘味応答が有意に抑制され、茸状乳頭中の 2-AG 量も C57BL/6J マウスに比べ多く、2-AG 合成酵素を発現している細胞も多かった。以上のことから、正常ではエンド

カンナビノイドではなくレプチンにより甘味は恒常的に抑制されているが、肥満によりレプチン機構が破綻すると優位な甘味修飾物質がレプチンからエンドカンナビノイドへ移行する可能性が示唆された。(利益相反 なし)

09. 口内炎ラットにおける口腔内疼痛発症機構解明

○人見涼露¹, 小野堅太郎¹, 宮野加奈子², 上園保仁², 的場元弘³, 稲永清敏¹ (九州歯科大学・生理学分野, ²国立がんセンター研究所, ³国立がん研究センター中央病院)

口内炎など口腔内に痛みを伴う疾患に悩まされる人は多いが、動物実験が困難な口腔内疼痛に関する報告はほとんどない。本研究では、酢酸により惹起した口内炎モデルラットを作製し、下唇粘膜の組織変化と、新たに開発したラット覚醒下における口腔内疼痛評価法を用いた機械および化学刺激に対する疼痛関連行動、組織の物質浸透性および三叉神経節細胞におけるチャネル発現について検討した。口内炎作製 2 日目では、粘膜上皮が剥離し、炎症性細胞が多く浸潤していた。また、自発疼痛行動、および口内炎部位へのカプサイシン溶液またはクエン酸溶液の滴下刺激後の疼痛関連行動が、それぞれ有意に増加した。口内炎部位への機械刺激に対する逃避閾値は、口内炎発症 2 日目以降に低下し、それはキシロカイン塗布によって抑制された。さらに、粘膜へ逆行性トレーサーの Fluorogold (FG) を塗布したところ、口内炎粘膜では、粘膜深部組織への FG 浸透性が認められ、三叉神経節において FG 陽性細胞が観察された。口内炎作製前からのインドメタシン腹腔内投与により自発疼痛行動および機械刺激に対する逃避閾値に変化はほとんど認められなかった。また、下唇粘膜支配三叉神経節における TRPV1 または ASIC3 陽性神経細胞数に変化は認められなかった。

以上の結果から、口内炎によって生じた組織炎症および粘膜上皮欠損による組織浸透性増加が、自発痛や機械刺激に対する疼痛感受性亢進に関与している可能性が示唆された。(利益相反 なし)

10. 脊髄後角において低閾値機械受容線維終末をシナプス前抑制する膠様質ニューロンの同定

○八坂敏一¹, K. Boyle², 藤田亜美¹, 熊本栄一¹, D.I. Hughes² (佐賀大学医学部生体構造機能学講座, ²グラスゴウ大学神経科学心理学研究所脊髄グループ)

脊髄後角は末梢からの感覚情報を脳へと中継すると同時にその情報を修飾している。この部位で見られる一次求心性線維の終末には、シナプス糸球体を形成しているものもあり、これらはシナプス前抑制による入力修飾の標的と考えられる。Aβ 線維終末のシナプス糸球体はパルプアルブ

ミン (PV) 陽性の前終末により抑制されていることが報告されているが、これらの前終末がどのような細胞に由来するのかわかるとは未だ明らかでない。膠様質細胞は全て介在ニューロンであり、多様な形態を持つ興奮性あるいは抑制性ニューロンであることから、感覚情報の修飾に重要な役割を持つと考えられている。抑制性細胞の一種 islet cell には、いくつかのサブグループがあり、PV を発現するグループもある。今回、パッチクランプ法による細胞内染色と免疫組織化学法を用いた解析により、この islet cell が A β 線維終末のシナプス糸球体に対してシナプス前抑制していることを明らかにした。また、この細胞はそれ自体が A β 線維からの入力を受けることも見出した。A β 線維終末の中には膠様質の興奮性介在ニューロンに入力しているものもある。“ゲートコントロール説”には低閾値機械受容線維による痛覚抑制回路が示されている。従って、今回の結果により、この痛覚抑制回路と機能的類似性を持つ多シナプス性局所回路に、この PV 陽性 islet cell が関与している可能性が示唆された。(利益相反 なし)

11. 心筋 PMCA と NCX の機能連関：NCX 電流の逆転電位による連関様式の検討

○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)

【目的】心筋細胞の細胞膜 Ca-ATPase (PMCA) は、局所的に [Ca]_i を低下させて Na/Ca exchanger (NCX) の活性を抑制的に調節する。本研究では、この PMCA による局所 [Ca]_i の低下を NCX の逆転電位の変化として観測することを試みた。【方法】マウス心室筋細胞から NCX 電流をホールセル記録し、PMCA 阻害薬であるバナジン酸を細胞内に投与して、その振幅と逆転電位に対する効果を調べた。【結果】PMCA 阻害は、NCX 電流の振幅を増大させたが、その逆転電位は変化させなかった。また、NCX 電流の電流振幅と逆転電位との間に相関は認められなかった。【結論】PMCA による局所的 [Ca]_i 低下は、NCX 分子の輸送 Ca イオン結合部位近傍の [Ca]_i には影響しない。NCX 活性の [Ca]_i 依存性は、巨大な細胞内ループの調節 Ca 結合ドメイン (CBD) に存在することから、この結果は、PMCA 近傍の局所的低 [Ca]_i 領域 (calcium hole) 内に NCX 分子の CBD 部分のみが存在することを示す。(利益相反 なし)

12. テストステロンの長期作用による心筋 K⁺チャネルの発現制御と心電図 QT 間隔の短縮

○増田季美子, 王 岩, 馬 芳芳, 森島真幸, 小野克重 (大分大学・医学部・病態生理学講座)

思春期以降、男性では女性と比し有意に短い心電図 QT

間隔を示すが、これは性ホルモンによる影響である可能性が示唆されている。テストステロンは NOS を介した非ゲノム作用によって心筋の緩徐活性化遅延整流カリウムチャネルを活性化することが報告されているが、イオンチャネルに対する長期作用は知られていない。そこで我々はテストステロンの心筋に対する電気生理学的長期作用を検討するため、8 週齢雄性ラットを去勢しテストステロンの長期投与を行った。テストステロン投与後に QT 間隔は徐々に短縮し、1 週間後の短縮は有意となった (-12 ± 4%)。また心筋では KvLQT1 チャネルの mRNA の発現増加 (+43 ± 26%) を認め、ウエスタンブロット法でも KvLQT1 チャネルタンパクの増加を認めた。この作用はテストステロンを投与した雌性ラット心筋でも同様に確認された。テストステロンはゲノム作用を介して QT 間隔を調節することが示唆され、不整脈発症基質における男女差をもたらす機序の 1 つであると考えられる。(利益相反 なし)

13. ラット摘出心房標本に誘発した tachycardia-like excitation における時空カオス

○酒井哲郎 (琉球大学医学研究科・システム生理学講座)

ラット摘出心房標本に高頻度電気刺激を与えると頻拍性興奮 tachycardia-like excitation が発現する。この現象の誘発から準安定状態に至るまでの過程における興奮波伝播パターンを膜電位感受性色素 NK2761 と 16 × 16 素子 photodiode array による膜電位イメージングにより解析した。その結果、次のような事実が明らかとなった。1) tachycardia-like excitation は、正常の興奮伝播が電気刺激によって擾乱され、新しい興奮伝播パターン (phase) を発現させる (遷移する) 現象である。2) 誘発の過程において一過性に不安定かつ複雑な (カオス的な) 興奮伝播のパターンが出現する。このようなカオス的な phase は tachycardia-like excitation 発現で常に見られる。3) このカオス的な phase の後に新しい準安定的な phase が出現する。4) tachycardia-like excitation の誘発に際しては誘発の event ごとの結果の違い、すなわち “event-to-event variations” が常に見られる。このような時間的・空間的初期条件鋭敏性および予測不能性はこの現象が複雑系の現象であり、tachycardia-like excitation が時間的・空間的なカオス、すなわち時空カオスであることを強く示唆する。(利益相反 なし)

14. Properties of the ATP-binding site responsible for regulation of cardiac Ca²⁺ channels

R. Feng^{1,2}, S. Liu^{1,2}, O.J.J. Xu¹, E. Minobe¹, A. Kameyama¹, L.Y. Hao², M. Kameyama¹ (¹Dept. Physiol.,

Grad. Sch. Med. Dent. Sci., Kagoshima Univ., ²Dept. Pharmacol. Toxicol., Sch. Pharmacol. Sci., China Med. Univ., Shenyang, China)

We have examined the hypothesis that Ca_v1.2 Ca²⁺ channel has an ATP-binding site, which is essential for channel activity. First, in guinea pig cardiac myocytes, we confirmed that calmodulin (CaM) + ATP (3-5mM), but not CaM alone, produced channel activity in the inside-out patch mode in a phosphorylation-independent manner. Second, we attempted to label the possible ATP-binding site by using photo-affinity labeling method. Azido-(EDA-ATP)-biotin labeled the Ca²⁺ channel purified from guinea pig heart, as detected by biotin-streptavidin chemiluminescence method, with an apparent K_d of ~0.5mM. Finally, we examined effects of nucleotides other than ATP, such as GTP, CTP and UTP. (RF, SL and JJX contributed equally to this work.) (COI: None.)

15. 催不整脈性遺伝子変異による TRPM4 チャンネル PIP₂感受性の変化

○胡 耀鵬¹, 岡村康司², 森 誠之³, 井上隆司¹ (¹福岡大学大学院医学研究科細胞分子制御学, ²大阪大学大学院医学系研究科統合生理学, ³京都大学大学院工学研究科合成生物化学)

TRPM4 チャンネルは細胞内 Ca²⁺上昇によって活性化され、一価陽イオンを選択的に透過させる「脱分極」チャンネルである。このチャンネルは、最近の研究から、家族性房室伝導傷害、Brugada 症候群等の遺伝子変異による不整脈だけでなく、心ストレス時に発現増加することによって、活動電位に伴う催不整脈性異常興奮を引き起こすことが明らかとなってきた。本研究では、膜電位感受性ホスファターゼ (VSP) を用いて、このチャンネルの活性化が膜の PIP₂ 含量に依存すること、またその感受性が N 末端の催不整脈性遺伝子変異 (E7K) によって大きく変化することを見出したので報告する。

ヒト TRPM4 (野生型: EKE⁵⁷, E7K 変異体: EKK⁵⁷ or ENE⁵⁷ 変異体) 及びゼブラフィッシュ VSP を共発現した HEK293 細胞を用い、パッチ電極から導入した Ca²⁺ (1μM) によって内向き TRPM4 電流を活性化し、電流がほぼ定常状態に達したところで、脱分極パルス (-60mV から +120mV) の持続時間を変えながら (300-2000ms) VSP を活性化し、細胞膜の PIP₂ 含量を段階的に減少させ、電流の抑制率と抑制からの回復を観察した。

VSP 活性化による PIP₂ 減少に対する感受性は ENE⁵⁷ 変異体 > 野生型 > E7K 変異体の順で高かったのに対し、-60

mV における電流密度及び抑制からの回復の早さは、E7K 変異体 > 野生型 > ENE⁵⁷ 変異体の順であった。

以上より、E7K 変異体においては、PIP₂ による TRPM4 電流維持作用が亢進しておりそのことで電流の過剰活性が生じていること、更にそこでは TRPM4 チャンネル N 端の 5 番目から 7 番目のアミノ酸残基の荷電状態が決定的な役割を果たしていることが推測された。(利益相反 なし)

16. QT 短縮症候群に同定された K チャンネル変異の電気生理学的特性と臨床像

○ダニエル・トシオ・ハーレル¹, 芦原貴司², 富永伊知子¹, 阿部圭祐¹, 石川泰輔¹, 住友直方³, 鶴野起久也⁴, 鷹野 誠⁵, 蒔田直昌¹ (¹長崎大学大学院医歯薬学総合研究科分子生理学, ²滋賀医科大学循環器内科・不整脈センター, ³日本大学医学部小児科, ⁴東京医科大学八王子医療センター, ⁵久留米大学生理学講座総合自律機能部門)

QT 短縮症候群 (SQTS) は QT 時間の短縮を特徴とする稀な致死遺伝性不整脈である。KCNH2・KCNQ1 など 5 つの原因遺伝子が報告されているが、SQTS 変異の浸透率は十分に知られてない。SQTS 2 家系に遺伝子変異を同定し、変異チャンネルの電気生理学的特性と保因者の臨床像を比較した。家系 1: KCNQ1-V141M。発端者は胎児期から洞不全症候群 (SSS) と診断されている。本変異は IKs 電流を増強し活動電位持続時間 (APD) を短縮することが報告されている。発端者の父は 3 歳から心房細動 (AF) を呈し先天性 AF が疑われていたが、変異保因者にも関わらず QTc 時間は正常 (375ms) だった。家系 2: KCNH2-I560T 変異。発端者は QT 短縮と発作性 AF を示し、父と兄が突然死している。パッチクランプで測定した I560T-KCNH2 は、IKr 電流密度が正常の 2.5 倍に増強し、不活性化の膜電位依存性が 14mV 脱分極側にシフトし、シミュレーションで QT 短縮と APD 短縮が再現された。今回同定した 2 つの K チャンネル変異は、いずれも遅延整流 K 電流の機能獲得特性を示したが、変異キャリアは必ずしも QT 短縮を示さず、多様な臨床像と低い浸透率という特徴が明らかになった。SSS や AF 患者の一部には、明白な QT 短縮を示さないが、潜在的に SQTS と同様の電気生理学的異常を持つ者がいることが示唆された。(利益相反 なし)

17. 蛙坐骨神経の複合活動電位に及ぼす抗てんかん薬の作用

○上村裕平^{1,2}, 藤田亜美¹, 大坪瀬奈¹, 松下晋大¹, 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佐賀大学医学部麻酔・蘇生学講座)

神経障害性疼痛に対する薬物療法のガイドラインの中

で、使用される薬物にはカルバマゼピンやバルプロ酸ナトリウムなどの古典的な抗てんかん薬やガバペンチン、ラモトリギン、トピラマートなどの新規抗てんかん薬が含まれている。これらの作用機序として電位作動性の Na^+ チャンネルや Ca^{2+} チャンネルの抑制、或いは GABA_A 受容体活性化の促進などが考えられているが、これらの抗てんかん薬が神経伝導に及ぼす作用を系統的に調べ、局所麻酔薬の作用と定量的に比較・検討した研究はない。殿様蛙の坐骨神経に air-gap 法を適用して記録される複合活動電位 (CAP) に対して、神経障害性疼痛に使用される各種抗てんかん薬がどのような作用を及ぼすかを調べた。また、局所麻酔薬の作用とも比較した。カルバマゼピンやラモトリギンは濃度依存性に CAP の振幅を減少させ、それらの IC_{50} 値は、それぞれ 0.56mM と 0.42mM であった。これらの値は局所麻酔薬 レボピバカインの IC_{50} 値 0.25mM と同程度であった。フェニトインやオクスカルバゼピンも濃度依存性に CAP の振幅を減少させたがその作用は弱かった。一方、バルプロ酸ナトリウム、ガバペンチン、トピラマートは、それぞれ 10mM で CAP に影響しなかった。抗てんかん薬の種類により神経の伝導ブロック作用が異なり、その一部は局所麻酔薬と同程度の効果を持つと結論される。(利益相反 なし)

18. 大建中湯が消化管筋線維芽細胞 TRPA1 の発現・機能に及ぼす影響

○倉原 琳¹, 住吉美保¹, 青柳邦彦², 井上隆司¹ (¹福岡大学医学部生理学, ²同 消化器内科学)

大建中湯は人參・乾姜・山椒から構成され、消化管運動促進作用、腸管血流増加作用及び消化管ホルモン分泌作用が確認されている。術後イレウスや手術後の腸管癒着の軽減、広く外科領域で用いられてきた。しかしその「効く仕組み」が未だ十分に解明されていない。

我々は、腸管線維化狭窄で大きな役割を果たす「筋線維芽細胞」を用いて、多様な刺激に反応する TRP チャンネルと線維化狭窄について検討を行ってきた。ヒト消化管筋線維芽細胞株 InMyoFib を用いたマイクロアレイ予備実験では、TRP ファミリーの中で TRPA1 の発現が最も多いことが分かった。大建中湯およびその有効成分 (ginsenoside Rb1, [6]-shogaol, hydroxyl- α -sanshool) について InMyoFib に及ぼす効果を検討した結果、① [6]-shogaol 100 μM 、大建中湯エキス 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、乾姜エキス 100ng/ml、山椒エキス 100ng/ml が InMyoFib への TRPA1 を介する Ca^{2+} 流入を惹起した。② 大建中湯エキス 100ng/ml が TRPA1 の発現を有意に促進した。③ TRPA1 siRNA 遺伝子干渉実験から、TRPA1 は線維化刺激因子 TGF β 1 下流の Smad-2 のリン

酸化を抑制した。④ 大建中湯エキスは TGF β 1 存在下で濃度依存的に Smad-2, p38 MAPK のリン酸化を抑制して、タイプ I コラーゲンの発現を抑制した。⑤ 大建中湯エキスは単独でタイプ III コラーゲンの mRNA 発現を抑制した。

以上のことから、大建中湯に含まれる成分は、消化管筋線維芽細胞の TRPA1 チャンネルを介する Ca^{2+} 流入やチャンネルの発現調節によって TGF 線維化刺激下流の線維化シグナルを抑制することを示している。これは大建中湯の薬効の作用機序の一つである可能性が高い。(利益相反 なし)

19. 骨髄間質細胞の細胞周期制御における TRPC1/C6 および STIM/Orai の役割

○市川 純, 井上隆司 (福岡大学・医学部・生理学)

骨髄間質細胞 (bone marrow stromal cell, BMSC) は骨髄穿刺によって採取可能な体性幹細胞であり、その増殖/分化/細胞周期の制御機構を知ることは重要であるが依然不明な点が多い。本研究では、BMSC の細胞周期制御における Ca^{2+} の役割に着目し、近年非興奮性細胞の重要な Ca^{2+} 動員経路として注目されている TRPC および STIM/Orai 分子の関与について検討した。ラットより単離し一次培養した BMSC を各細胞周期に同調させて mRNA 発現量を調べると、S 期において顕著な TRPC1 及び STIM/Orai の発現増加と TRPC6 の発現減少が観察された。この時 Ca^{2+} イメージング法で細胞内 Ca^{2+} 動態の変化を精査するとストア依存性 Ca^{2+} 流入 (SOCE) が増大していることがわかった。更に膜電位について検討した結果、TRPC6 の発現が最も低い S 期では BMSC の静止電位が最も深く、また RNAi 法により TRPC6 の発現抑制を行うと静止電位が過分極側へ傾くことが明らかとなった。細胞外を過剰 K^+ で灌流し膜を脱分極させると SOCE が小さくなり且つ異なる各細胞周期間の差異が消失した。これらの結果より、S 期においては TRPC6 の発現が減少することにより膜電位が過分極側へ傾き、 Ca^{2+} の駆動電圧が増えることで SOCE が増大し細胞周期進行に影響を及ぼす可能性が示唆された。(利益相反 なし)

20. Notch2 の Hadju-Cheney 症候群型変異は SCF/FBW7 によるタンパクの量的制御を免れる

○福島秀文¹, 鍛治屋 浩¹, 岡本富士雄¹, 自見英治郎², 岡部幸司¹ (¹福岡歯科大学細胞生理学分野, ²九州歯科大学分子情報生化学分野)

多中心性骨融解症である Hajdu-Cheney 症候群 (HCS) は末節骨の異常骨吸収、進行性の骨粗鬆症、頭蓋骨変形と共に、口腔内では乳歯の早期喪失や重度の歯周病を引き起こ

す。近年、この HCS の原因遺伝子として Notch2 が同定され、Notch2 のシグナル活性や安定性を制御する PEST ドメインの欠失が生じることが明らかとなった。これまで我々は、Notch2 が硬組織吸収を担う破骨細胞の分化の促進に重要な役割を果たしていることを報告してきたが、HCS 変異による骨吸収亢進のメカニズムは未だ不明である。今回、HCS 発症機構について検討を行った。その結果、Notch2 の HCS 変異では、ユビキチンライゲースである FBW7 によるタンパクの分解制御機構が機能せず細胞内の Notch2 タンパクが蓄積し、破骨細胞分化の亢進による異常な骨吸収が引き起こされる事が明らかになった。このことから本分子機構の制御が、HCS をはじめとした骨吸収性疾患の新規治療ターゲットとなる可能性が示唆された。(利益相反なし)

【学部】

01. 視床下部セロトニン枯渇モデルラットにおける摂食関連ペプチド遺伝子発現の変化

○萩本真里奈¹、吉村充弘²、松浦孝紀²、大久保淳一²、大野素子²、丸山 崇²、石倉 透²、橋本弘史²、加隈哲也³、吉松博信³、寺脇 潔⁴、上園保仁⁴、豊平由美子⁵、柳原延章⁵、上田陽一² (¹産業医科大学医学部4年生、²産業医科大学医学部第1生理学、³大分大学医学部総合内科学第1講座、⁴独立行政法人国立がん研究センター研究所がん患者病態生理研究分野、⁵産業医科大学医学部薬理学)

脳内セロトニン系は、摂食調節、睡眠・覚醒、情動および体温調節などの生体ホメオスタシス維持に重要な役割を果たしている。今回我々は脳内セロトニン系の摂食調節に対する役割を明らかにするため、成熟雄性ウィスター系ラットに生理食塩水(コントロール)もしくはセロトニン合成阻害薬であるパラクロロフェニルアラニン(PCPA)を腹腔内投与後、自由給餌もしくは2日間給餌制限を行い、視床下部摂食関連ペプチド遺伝子発現の変化を *in situ* hybridization histochemistry 法を用いて検討した。PCPA 投与後、視床下部における oxytocin, pro-opiomelanocortin (POMC), cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART), neuropeptide Y (NPY), agouti-related protein, melanin concentrating hormone および orexin は変化せず、給餌制限後、POMC および CART が有意に低下し、NPY は有意に増加した。一方、PCPA 投与後の給餌制限では POMC および CART は低下せず、NPY の増加はコントロールと比較して軽度であった。以上より、視床下部セロトニン系の枯渇は POMC, CART および NPY に影響することが示唆された。(利益相反なし)

02. 侵害刺激後の生体防御行動および神経内分泌反応: TRPV1 ならびに TRPV4 ノックアウトマウスを用いた検討

○是枝侑希¹、有富貴史¹、石倉 透²、松浦孝紀²、大久保淳一²、吉村充弘²、丸山 崇²、上田陽一² (¹産業医科大学医学部学生、²産業医科大学医学部第1生理学)

今回我々は、TRPV1 および V4 ノックアウトマウスとその野生型マウスの後肢にホルマリンを皮下注射し、生体防御行動および脊髄後角ならびに視床下部室傍核における Fos タンパクの発現を調べた。その結果、TRPV1 および V4 ノックアウトマウスは野生型マウスと比べ有意に phase I における生体防御行動が少なく、TRPV1 ノックアウトマウスは TRPV4 ノックアウトマウスおよび野生型マウスと比べ有意に phase II における生体防御行動が少なかった。ホルマリン注射後の室傍核における Fos タンパクの発現は phase II における生体防御行動と相関していたが、脊髄後角においては有意差はなかった。

次に、TRPV1 および V4 ノックアウトマウスとその野生型マウスの後肢に TRPV4 アゴニスト (4αPDD) を皮下注射し、生体防御行動および脊髄後角ならびに室傍核における Fos タンパクの発現を調べた。いずれのマウスにおいても 4αPDD 皮下注射後の生体防御行動および脊髄後角ならびに室傍核における Fos タンパクの発現は、生理食塩水注射後のそれと比べて有意差はなかった。

ホルマリンによる直接の疼痛受容には TRPV1 および V4 の両チャンネルの関与が、炎症性メディエーターを介した疼痛受容においては、TRPV1 の関与が示唆された。一方、TRPV4 単独の刺激では、生体防御行動および脊髄後角ならびに室傍核の賦活化を認めなかった。(利益相反なし)

03. ベキ関数の法則に関する研究

○西 映里¹、○土谷早紀¹、○西川侑里¹、徳丸 治²、横井 功² (¹大分大学医学部看護学科学学生、²大分大学医学部・神経生理学講座)

刺激の強さと感覚の強さの量的関係として、ベキ関数の法則が知られている (Stevens, 1957)。私達は生理学の実習において、与えられた刺激(音の強さ、光の強さ、音の高さ)とそれに対する感覚の強さとの間にベキ関数の法則が成り立つことを確認した(表実験: ベキ数はそれぞれ 0.31, 0.25, 0.69; $p < 0.001$)。一方、指示された感覚の強さに相当する刺激を作る課題(裏実験)では、ベキ数は推定されるものの、本当にベキ関数に従っているのかどうか疑問に思われるようなグラフが得られた。そこで、私達は様々な強度の刺激による練習を行った後に裏実験を行ったところ、ベキ関数の法則に従うようになった。この時、音の強さに対するベキ数は練習をすることによって有意に変化し

た(練習なし 0.71, 練習あり 1.14; $p=0.013$). これらのことは、練習により刺激と感覚の間の量的関係が変化し得ること、即ち、感覚情報の処理過程の可塑性を示唆しているのかもしれない。(利益相反 なし)

04. X 染色体連鎖性精神遅滞の分子機構解明に関する研究

○永芳 友, 魏 范研, 貝塚 拓, 富澤一仁(熊本大学大学院・生命科学研究部・分子生理学分野)

X 染色体連鎖性精神遅滞(以下 XLMR)は X 染色体上の遺伝子変異により、知能低下・適応機能不全を引き起こす精神疾患である。近年の家系調査により、この XLMR の新規原因遺伝子として X 染色体上に存在する Ftsj1 遺伝子が同定された。しかし Ftsj1 の機能が不明であるため、XLMR の発症機構は明らかでない。本研究では、Ftsj1 の機能解析を行った。

我々は Ftsj1 が、哺乳動物において細胞質に存在する tRNA をメチル化(2'-O-methyl)修飾する酵素であることを見出した。マウスの各組織における Ftsj1 発現量をリアルタイム PCR 法により検討したところ、脳を含む全ての組織に発現が認められた。脳では、部位特異的な発現は見られなかったが、胎児脳では成獣脳より有為に発現が高かった。ヒトでも成人脳より胎児脳において Ftsj1 の発現が高かった。

大腸菌や酵母の研究で tRNA 修飾は翻訳の正確性維持に必須であることが知られている。パルスチェイス法を用いて Ftsj1 欠損マウスから作成した胎児性線維芽細胞(MEF 細胞)と野生型 MEF 細胞の翻訳量の検討を行ったところ、Ftsj1 欠損マウスにおいて翻訳量が低下していた。またシナプス可塑性にとって重要なタンパクが Ftsj1 欠損マウスのシナプトソーム分画で減少していた。また、ゴルジ染色で樹状突起スパインの形態を検討したところ、Ftsj1 欠損マウスにおいて、正常な Mushroom 型が減少し、filopodia 型や thin 型の樹状突起スパインが増加していた。以上の結果から、タンパク質翻訳異常によるシナプス形態の変化が XLMR の原因として推察された。(利益相反 なし)

【日本生理学会九州奨励賞】

01. オキシトシンによる腓β細胞の保護作用

○松永友美, 松永奈々美, 魏 范研, 貝塚 拓, 富澤一仁(熊本大学大学院・生命科学研究部・分子生理学分野)

オキシトシンは分娩時の子宮収縮促進、ならびに授乳時の射乳促進作用を有するホルモンである。また、オキシトシンが社会行動や母性行動の制御、長期記憶能力の向上、

抗不安作用などを有していることが明らかとなり、オキシトシンの更なる生理機能の解明が期待されている。我々は、腓β細胞にオキシトシン受容体が多く発現していることを見出した。オキシトシンは、サイトカイン刺激下にある腓β細胞に対して保護的に作用していた。オキシトシン受容体欠損マウス(OXTR KO)の表現型を解析したところ、高脂肪食環境において OXTR KO マウスの腓島における小胞体ストレス応答遺伝子の発現が亢進し、その結果インスリン分泌能及び耐糖能が低下した。これらのことから、オキシトシンは小胞体ストレス応答の制御を介して腓β細胞に対して保護的に作用することが示唆された。(利益相反 なし)

02. アセトアルデヒドがレニン・アンジオテンシン系を活性化し、水分・塩分摂取を誘発する

○氏原 泉^{1,2}, 人見涼露¹, 小野堅太郎¹, 柿木保明², 稲永清敏¹(¹九州歯科大学・生理学分野, ²九州歯科大学・老年障害者歯科学分野)

二日酔い時には、頭痛や吐き気などの症状に加え、強力な喉の渇きが生じる。一般的には、エタノールのバソプレッシン分泌抑制によりおこる「アルコール利尿」が原因と考えられているが、そのメカニズムは明らかではない。最近、エタノール代謝産物であるアセトアルデヒドがマスト細胞に作用し、レニンを分泌させることが報告された。我々は、アセトアルデヒドが、他の二日酔いの諸症状と同じく、喉の渇きの原因物質ではないかとの仮説をたて実験を行った。実験にはウイスター系雄性ラットを用いた。エタノールの腹腔内投与 3-5 時間後に水分摂取量が増加した。アルデヒド脱水素酵素阻害剤であるシアナミドの併用投与あるいは前投与により、エタノールあるいはアセトアルデヒドの投与による水および食塩水の摂取量はさらに増加した。この増加は、マスト細胞膜安定剤およびアンジオテンシン AT₁ 受容体拮抗剤により減弱した。c-Fos 免疫組織の結果より、アセトアルデヒドにより口渇中枢の神経細胞が活性化されることがわかった。また、神経細胞の活性化はアンジオテンシン AT₁ 受容体拮抗剤により抑制された。尿量は、水および食塩水を与えた場合にのみ、摂取量に見合った尿量の増加が遅れて観察された。これらのことより、二日酔い時には、アセトアルデヒドがマスト細胞に作用し、生成されたアンジオテンシン II が AT₁ 受容体を介して口渇中枢にはたらき、喉の渇きを誘発している可能性が考えられた。(利益相反 なし)

03. 腸管内分泌細胞の味覚感受性に対するレプチンの効果

○上瀧将史, 實松敬介, 重村憲徳, ニノ宮裕三 (九州大学大学院・歯学研究院・口腔常態制御学講座・口腔機能解析学分野)

レプチンは、視床下部のレプチン受容体 (Ob-Rb) を介して摂食やエネルギーホメオスタシスを調節するホルモンとして知られている。以前、当研究室では、そのレプチンが味覚器の Ob-Rb を介して甘味感受性のみを抑制することを明らかにした。

最近の研究で、腸管内分泌細胞も味細胞と同様に甘味受容体などを発現しており、それらが腸管での栄養物の感知や吸収に関与していることが明らかとなってきた。しかし、味細胞で見出されたレプチンによる甘味感受性調節機構が腸管内分泌細胞にも存在するかどうかは、まだ不明である。

そこで本研究では、レプチンの腸管内分泌細胞における働きを明らかにするため、マウス腸管内分泌細胞培養系 STC-1 細胞を用いて味刺激に対するレプチンの作用を調べた。STC-1 細胞は、Ob-Rb や味覚受容体 (T1Rs) などを発現し、甘味、苦味、うま味、塩味刺激によって細胞内 Ca^{2+} 濃度が上昇した。そして、レプチンを添加すると甘味応答のみが特異的に抑制され、その抑制効果は Ob-Rb 阻害剤によって消失した。さらに、 K_{ATP} チャネル阻害剤によってもレプチンによる抑制効果は消失した。また、レプチンは甘味刺激による GLP-1 分泌も阻害された。これらの結果から、レプチンが腸管内分泌細胞の Ob-Rb に作用し、 K_{ATP} チャネルを介して甘味感受性を変化させ、栄養物の感知や吸収に関与する可能性が示唆される。(利益相反 なし)

04. 卵巣摘出がラットの血流量と体温に与える影響

○仁後亮介^{1,3}, 西森敦子², 平山隼人³, 松岡伴実², 大和孝子^{1,2}, 青峰正裕^{1,2} (1中村学園大・院・栄養科学, 2中村学園大・栄養科学, 3中村学園大・短大部・食物栄養)

ヒトでは更年期女性の多くが冷えの症状を訴えている。冷え症は末梢血管収縮による血行障害により起こるとも云われており、女性ホルモン分泌の減少が原因の一つと考えられている。そこで、閉経モデルラットとして卵巣摘出手術 (OVX) を施したラットと、開腹のみの偽手術ラット及び無処置ラットとを比較し、血流量 (肩部, 腰部, 大腿部) と体表面温度 (肩部, 大腿部, 後足底部) の変化を調べた。また、OVX ラットにエストラジオールを投与し、血流量と体表面温度の動向を検討した。卵巣摘出により肩部, 腰部, 大腿部において有意に血流量が減少した。卵巣摘出による室温での体表面温度, 1℃60 分間の冷却負荷後の温度低下に影響はみられなかったが、冷却負荷後の体表面温度の回復過程に変化がみられ、大腿部においては有意に回復が遅れた。また、OVX ラットにエストラジオールを投与するこ

とで血流量が有意に増加し、冷却負荷後の体表面温度の回復も早まる傾向がみられた。卵巣摘出によるエストロゲン減少がラットの血管機能に影響を及ぼし、血流量が減少したことが示唆された。血流量の減少は室温での体表面温度に直接的に影響を及ぼさなかったが、冷却負荷後の体表面温度の回復過程に変化がみられたことから、閉経後のエストロゲン減少が冷え症に影響する可能性が示唆された。(利益相反 なし)

05. 過分極誘発陽イオンチャネル (HCN2) の潜在的な催不整脈性

○大下健輔^{1,2}, 伊藤政之¹, 井形幸代¹, 栗原佳宏³, 桑原宏一郎³, 牛島一男², 鷹野 誠¹ (1久留米大学医学部生理学講座統合自律機能部門, 2久留米大学医学部麻酔学講座, 3京都大学大学院医学研究科循環器内科)

心不全では心室筋の過分極誘発陽イオンチャネル (HCN2) の発現量が上昇するため、致死性不整脈の成因として注目されている。そこで心臓特異的に HCN2 を過剰発現した遺伝子改変マウス (HCN2-Tg) を作成した。その単離心筋の電気生理学的特性を whole cell patch clamp 法を用いて解析したところ、生理的条件下では異常自動能を認めなかったが、 β 受容体刺激時及び低 K^+ 溶液中では、それぞれ 77% および 57% の細胞において異常自動能が発生した。自動能が発生しなかった HCN2-Tg でも、野生型マウス (WT) の誘発活動電位波形と比較して、静止膜電位の脱分極、後期再分極相の有意な延長を認めた。再分極相における $-dV/dt$ の値を HCN2-Tg と WT とで比較したところ、HCN2 電流の反転電位より負電位側では HCN2-T の $-dV/dt$ は、有意に小さいことが判明した。さらに HCN2 を CHO 細胞に発現させ、HCN2-Tg で記録した活動電位波形を用いて action potential clamp を行った結果、活動電位の全ての相で HCN2 のテール電流が流れており、背景電流として機能することが示された。これらの所見より、HCN2 は活動電位の再分極相においても活性化され続けることによって、再分極予備能を減少させることが明らかになり、HCN2 チャネルは心室筋の催不整脈性を上昇させ得ると結論した。(利益相反 なし)

06. 家族性洞不全症候群患者に同定された心房型ミオシン重鎖遺伝子 (MYH6) 変異と機能解析

○石川泰輔¹, 小和瀬晋弥², 有村卓朗³, 野上昭彦⁴, 辻幸臣¹, 木村彰方³, 蒔田直昌¹ (1長崎大学分子生理学, 2横浜労災病院循環器科, 3東京医科歯科大学分子病態分野, 4筑波大学循環器内科)

洞不全症候群 (SSS) は加齢や基礎心疾患などを原因とし

て発症する孤発例が多いが、家族性 SSS には何らかの遺伝的素因の関与が示唆される。これまでに家族性 SSS の原因遺伝子として、心筋 Na チャネル (SCN5A) やペースメーカーチャネル (HCN4) が報告されている。一方、心拍数や SSS 罹患性を左右するリスク遺伝子として、心房型ミオシン重鎖 (MYH6) がゲノムワイド関連解析によって明らかにされているが、MYH6 がどのように SSS と関連するかは不明であった。我々は SCN5A・HCN4 変異を持たない家族性 SSS 患者 9 例の遺伝子解析を行い、1 家系に新規 MYH6 変異 E933del を同定した。この変異は動物種・アイソフォームを超えて高度に保存される S2 領域に存在した。S2 領域はミオシン結合タンパク C (MyBP-C) との結合に重要な役割を果たすコイル構造で、その構造異常はサルコメアの構造に何らかの基質的变化をもたらすことが示唆される。GFP タグを付けた変異 MYH6 をラット新生児心筋細胞に強制発現させると、サルコメア構造の破壊を示す共焦点蛍光画像が確認された。さらに免疫沈降実験から、変異 MYH6 は正常 MYH6 に比べて MyBP-C 結合能が亢進していることが判明した。以上より、家族性 SSS の新たな分子病態として、MYH6 の変異による心房筋サルコメア構造異常やサルコメア構成要素間の結合能の異常が考えられた。(利益相反 なし)

07. TRPA1 作動薬を含む多くの植物由来成分による蛙坐骨神経の伝導抑制作用

○大坪瀬奈, 松下晋大, 藤田亜美, 上村裕平, 蔭昌宇, 羅清甜, 康欽, 徐志昊, 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))

我々は今まで、TRPV1 作動薬カプサイシンや TRPM8 作動薬メントールがそれらの TRP 活性化と無関係に活動電位の伝導を抑制することを報告した。今回、TRPA1 作動薬であるワサビ成分アリルイソチオシアネート (AITC) やシナモン成分シンナムアルデヒド (CA), また、様々な TRP を活性化するアロマ精油成分が蛙坐骨神経の複合活動電位 (CAP) に及ぼす作用を調べた。実験は、蛙坐骨神経に air-gap 法を適用することにより行った。AITC と CA は濃度依存性に CAP 振幅を減少させ、それらの IC₅₀ は、それぞれ 1.4mM と 1.2mM であった。これらの作用は TRPA1 阻害薬 HC-030031 や非選択的 TRP 阻害薬ルテニウムレッドにより影響を受けなかった。さらに、レモンガラス成分シトラール (TRPV1, TRPM8, TRPA1, TRPV3 作動薬) やクスノキ成分カンファー (TRPV1, TRPV3 作動薬) もルテニウムレッド抵抗性に CAP を抑制した。シトラールの IC₅₀ は 0.48mM, カンファーは 5mM で 33% だけ CAP 振幅を減少させた。昨年報告した様々なアロマ精油成分の神経伝

導抑制作用と考え併せた結果、植物由来成分による伝導抑制には TRP は無関係で、抑制の大きさの差にはそれらの化学構造、特にヒドロキシル基、アルデヒド基およびエステル基が存在し、環構造を持たないことが重要であることが示唆された。(利益相反 なし)

08. Plasmalogens rescue neuronal cell death through an activation of AKT and ERK survival signaling

○S. Hossain, Y.S. Ahmed, M. Ifuku, S. Take, T. Katafuchi (Department of Integrative Physiology, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University)

Plasmalogens (Pls) are unique glycerophospholipids characterized by the presence of a vinyl ether linkage at the *sn*-1 position of the glycerol backbone. In Alzheimer diseases (AD) patients, reduced Pls levels in blood and brain tissues were reported to be associated with worse prognosis. We therefore, hypothesized that Pls content in the neuronal tissue might be crucial for cell survivability. To this, we have performed Pls treatments on the serum starved neuronal cells Neuro-2A. The trypan blue exclusion method of cell counting showed that Pls at the dose of 5 and 20 μ g/ml significantly rescued the cell death ($P < 0.001$). DNA fragmentation assays also showed the similar cell death inhibitory effect of Pls. In addition we have also employed the TUNEL staining to quantify the apoptotic cells. The TUNEL assays clearly showed that Pls treatments significantly inhibited the number of apoptosis cells after serum starvation for 72 hours ($P < 0.001$). In addition to the Neuro-2A cells, we have also employed primary hippocampal neuron culture derived from embryos of E18 pregnant mice. Nutrient deprivation for 72 hours enhanced the primary neuronal cell death. In consistence with the Neuro-2A cells, Pls also significantly inhibited this apoptosis ($P < 0.001$). We have confirmed that the intrinsic apoptosis pathway was involved in this apoptosis and the Pls treatments significantly inhibited the caspase-9 cleavage ($P < 0.01$). Activation of caspase-8 (extrinsic apoptosis) and caspase-12 was not detected in this apoptosis process. To the mechanism we further found that Pls enhance phosphorylation of AKT and ERK. Activation of AKT and ERK was associated with the neuronal cell survival because the inhibitors of these signaling molecules effectively canceled the Pls effect. In the present study, we therefore, report for the first time that Pls inhibit neuronal cell death by enhancing the phosphorylation of AKT and

ERK. Future study could reveal new therapeutic approach to cure neurodegenerative diseases due to neuron cell death. (COI: None.)

09. 核酸製剤 (Derinat) による皮膚細胞紫外線障害保護作用

○劉 佳黛¹, W-L.Hsu², 吉岡 亨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高雄医科大学生理学教室)

近年、オゾンが減少するとともに地上に到達する紫外線量 (UV) が増え、大気を透過できる UVA と UVB の中、UVB 被曝により遺伝子の突然変異が起こる場合があり、皮膚がんの大きな原因になると報告されている。そこで、皮膚を研究する際によく用いられるヒト培養ケラチノサイ

ト、HaCaT 細胞を用い、UV 照射による細胞核 DNA 損傷に及ぼす Derinat の作用を核 8-oxoG 染色法より検討した。その結果、Derinat 前処置で、UV によるケラチノサイトの DNA 損傷が有意に減少することが観察された。また、RT-PCR 法等の生化学的手法を用いて、遺伝子発現変化を観察したところ、UVB 照射により、HaCaT 細胞におけるプロスタグランジン産生酵素・COX-2 の mRNA 量およびスーパーオキシドが増加すること、及び、それが Derinat により、有意に抑えられることを観察した。これは、ロシアで開発した核酸製剤である Derinat の細胞保護作用のメカニズム解明の一端を示す研究として意義があり、さらなる作用メカニズムの解明と将来の臨床開発が期待される。(利益相反 なし)