

第 54 回中部日本生理学会・第 100 回近畿生理学談話会合同大会

1. 期日 2007 年 10 月 19 日（金）9：50～18：30
 2007 年 10 月 20 日（土）8：45～14：40
2. 会場 三重大学大学院医学系研究科先端医科学教育研究棟・三翠ホール
3. 参加費 3,000 円（学生 1,000 円）
4. 発表形式 口演（発表 12 分、討論 3 分）およびポスター
5. 総会 10 月 19 日（金）11：45～12：15 口演会場
6. 懇親会 10 月 19 日（金）18：45～21：00 三翠ホール
 参加費 4,500 円（学生 3,000 円）
7. テニス大会 10 月 20 日（土）15：00～
 会場 三重大学キャンパス内屋外コート
 参加費 1,000 円
 テニス大会参加の方は 14：45 に学会場 1 階ホールにお集まりください。

連絡先

第 54 回中部日本生理学会・第 100 回近畿生理学談話会合同大会

当番幹事：山本哲朗、山崎英俊

事務局：〒514-8507

津市江戸橋 2-174、三重大学大学院医学系研究科システム神経科学内
第 54 回中部日本生理学会・第 100 回近畿生理学談話会合同大会事務局
(担当 河村)

TEL：059-231-5548

FAX：059-231-5005

E-mail：physiol@doc.medic.mie-u.ac.jp

参加者へのご案内

口演者および座長

- ・ 発表時間は 12 分，討論時間は 3 分です。時間厳守でお願いします。
- ・ 演者の方は発表セッションの開始 1 時間前に、受付（総合受付）をすませ、動作確認（PC センター）・発表データを保存したメディアの提出（PC センター）を完了してください。
- ・ 第 2 日目（10 月 20 日）のセッション 4（8：45～10：15）で発表される方は第 1 日目（10 月 19 日）の 16：00～17：30 の間に、受付（総合受付）をすませ、動作確認（PC センター）・発表データを保存したメディアの提出（PC センター）を完了してください。
- ・ 座長のかたは担当されるセッション開始の 30 分前までに受付（総合受付）を済ませてください。

ポスター発表者

- ・ ポスター発表者は第 1 日目（10 月 19 日）11：00 までに受付（総合受付）を完了してください。
- ・ ポスターは 10 月 19 日（金）11：00 までに貼付し、17：00 には撤去してください。
- ・ ポスター貼付用パネルに用意してある画鋏をご使用下さい。のり・セロハンテープは使用できません。
- ・ ポスターパネルには演題番号が貼付してありますので、ご自身の演題番号のパネルに貼付してください。

懇親会当日参加者

- ・ 第 1 日目（10 月 19 日）17：30 までに受付（総合受付）を済ませてください。

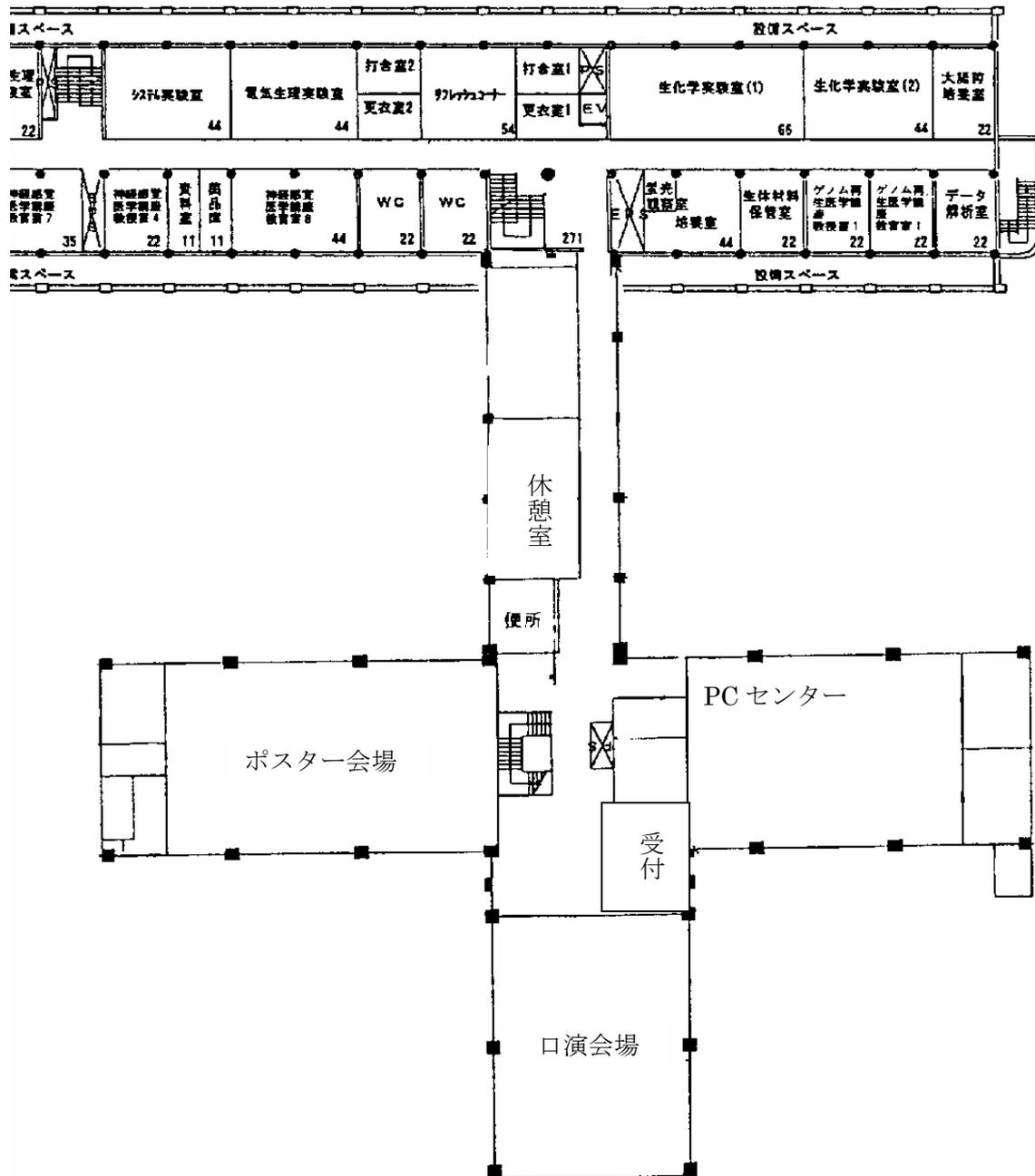
「日本生理学雑誌」抄録原稿について

- ・ 日本生理学会事務局へ送付する抄録の原稿（メディアに保存されたファイル、ハードコピー 2 部）を総合受付へ提出してください。

第 55 回中部日本生理学会・第 101 回近畿生理学談話会開催予定

- ・ 第 55 回中部日本生理学会当番幹事：岡田 忠、菅屋潤壹（愛知医科大学生理学）
- ・ 第 101 回近畿生理学談話会当番幹事：盛 英三、若林繁夫、沢村達也
(国立循環器病センター研究所)

三重大学大学院医学系研究科先端医学研究教育棟 3F 案内図



日程表

10月19日（金）		10月20日（土）	
受付	9：00～	受付	8：30～
開会の辞	9：50～	セッション4 (演題番号 21～26)	8：45～10：15
セッション1 (演題番号 1～7)	10：00～11：45	休憩	10：15～10：30
総会	11：45～12：15	セッション5 (演題番号 27～32)	10：30～12：00
昼食	12：15～13：00	昼食	12：00～13：00
ポスター (演題番号 P1～P35)	13：00～14：00	セッション6 (演題番号 33～38)	13：00～14：30
セッション2 (演題番号 8～13)	14：00～15：30	閉会の辞	14：30
休憩	15：30～15：45	テニス大会	15：00～
セッション3 (演題番号 14～20)	15：45～17：30		
特別講演	17：30～18：30		
懇親会	18：45～21：00		

予稿集

第1日 10月19日(金)

特別講演

口演

セッション1 演題番号 1～7

セッション2 演題番号 8～13

セッション3 演題番号 14～20

ポスター

ポスターセッション 演題番号 P1～P35

第2日 10月20日(土)

セッション4 演題番号 21～26

セッション5 演題番号 27～32

セッション6 演題番号 33～38

プログラム 第1日 10月19日(金)

9:50	開 会 の 辞
------	---------

セッション1	10:00～11:45	座長 富永真琴(岡崎統合バイオ)・廣瀬謙造(名大)
---------------	--------------------	---------------------------

10:00	演題1	<p>メチルパラベンはTRPA1の活性化を介して痛み感覚を引き起こす</p> <p>曾我部隆彰¹、藤田郁尚¹、森山朋子²、東 智広^{1,3}、島 麻子⁴、富永真琴^{1,3}</p> <p>¹自然科学研究機構・岡崎統合バイオサイエンスセンター・細胞生理、²弘前大学・医学部附属脳神経血管病態研究施設、³総合研究大学院大学・生理科学専攻、⁴日本大学・歯学部</p>
10:15	演題2	<p>皮膚ポリモーダル受容器の圧刺激に対するブラジキニンの増強作用</p> <p>申 正樹¹、矢島弘毅²、佐藤 純²、水村和枝²</p> <p>¹名古屋大学大学院・医学系研究科・手の外科学、²名古屋大学・環境医学研究所・神経性調節学</p>
10:30	演題3	<p>2-APBによるTRPM2チャンネルの阻害効果の検討</p> <p>稲田 仁^{1,2}、富樫和也^{1,3}、富永真琴^{1,2,3}</p> <p>¹自然科学研究機構・岡崎統合バイオサイエンスセンター・細胞生理、²自然科学研究機構・生理学研究所、³総合研究大学院大学・生理科学専攻</p>
10:45	演題4	<p>バソプレッシン神経に発現する容積感受性Cl⁻チャンネルの役割</p> <p>佐藤かお理^{1,2}、沼田朋大¹、岡田泰伸^{1,2}</p> <p>¹生理学研究所・機能協関研究部門、²総合研究大学院大学・生命科学研究科・生理科学専攻</p>
11:00	演題5	<p>グルタミン酸プローブで見る中枢シナプス伝達様式</p> <p>坂本寛和、並木繁行、飯沼 将、廣瀬謙造</p> <p>名古屋大学大学院・医学系研究科・細胞生理学</p>
11:15	演題6	<p>下丘GABA作動性ニューロンの音反応特性及び形態学的特性</p> <p>小野宗範、笠井昌俊、大森治紀</p> <p>京都大学・医学部・神経生物学教室</p>
11:30	演題7	<p>G1/S期細胞周期抑制剤はTGFβ発現増加により幹細胞の神経分化を促進する</p> <p>三角吉代、金 泰善、鄭 且均、西野仁雄、飛田秀樹</p> <p>名古屋市立大学大学院・医学研究科・脳神経生理学</p>

11:45	総 会
-------	-----

12:15	昼 食
-------	-----

13:00～14:00 ポスターセッション

セッション2 14:00～15:30

座長 加藤 聖(金沢大)・山崎英俊(三重大)

14:00	演題8	ゼブラフィッシュ網膜発生における再生分子プルプリンの発現抑制と行動解析 齊藤 光 ¹ 、永島幹子 ² 、村本健一郎 ³ 、加藤 聖 ¹ 金沢大学大学院・医学系研究科 ¹ 脳情報分子学、 ² 保健学専攻、 ³ 金沢大学大学院・自然科学研究科・電子情報工学専攻
14:15	演題9	カルパインによるヒト好中球のアポトーシス制御:Aキナーゼの役割 尾崎友歌、加藤隆幸、北川誠一 大阪市立大学大学院・医学研究科・細胞情報学
14:30	演題10	DRAのマウス大腸HCO ₃ ⁻ 分泌に果たす役割 大庭幸一郎、林 久由、内山尚和、鈴木裕一 静岡県立大学大学院・生活健康科学研究科・人体生理学研究室
14:45	演題11	Cl ⁻ /HCO ₃ ⁻ 交換輸送担体SLC26A3の局在と機能におけるN型糖鎖付加の役割 山下裕香理、林 久由、鈴木裕一 静岡県立大学大学院・生活健康科学研究科・人体生理学研究室
15:00	演題12	摂取水分コントロール下における20日間のヘッドダウンベットレスト後での発汗中枢機構の変化 佐藤麻紀、Dominika Kanikowska、岩瀬 敏、清水祐樹、犬飼洋子、西村直記、菅屋潤壺 愛知医科大学・医学部・生理学第2講座
15:15	演題13	シックハウス症候群関連化学物質ホルムアルデヒドの心機能に及ぼす影響 竹下大輔、清水壽一郎、中島千香子、高木 都 奈良県立医科大学・医学部・医学科・生理学第二講座

15:30

休 憩

セッション3 15:45～17:30

座長 加藤伸郎(金沢医大)・酒井秀紀(富山大)

15:45	演題14	細胞内Aβは、大脳皮質錐体細胞においてBKチャンネルを抑制しCa ²⁺ 流入を促進する 山本兼司 ^{1,2} 、植田禎史 ² 、山本 亮 ² 、加藤伸郎 ² ¹ 国立病院機構・宇多野病院・神経内科、 ² 金沢医科大学・第一生理学
16:00	演題15	内耳蝸牛血管条における細胞内・細胞外空間のK ⁺ 濃度・電位と蝸牛内高電位の解析 任 書晃 ^{1,2} 、日比野 浩 ¹ 、土井勝美 ³ 、鈴木敏弘 ² 、久 育男 ² 、倉智嘉久 ¹ ¹ 大阪大学大学院・医学系研究科・分子細胞薬理学講座、 ² 京都府立医科大学大学院・耳鼻咽喉科・頭頸部外科学講座、 ³ 大阪大学大学院・耳鼻咽喉科学講座
16:15	演題16	ダイオキシンの胎内暴露が仔ラットの味覚嗜好性の発達に与える影響 栗脇淳一 ^{1,2} 、西条旨子 ^{2,3} 、橋本 茜 ⁴ 、福永浩司 ⁴ 、堀 悦郎 ^{1,2} 、鳥居邦夫 ⁵ 、中川秀昭 ³ 、小野武年 ^{1,2} 、西条寿夫 ^{1,2} ¹ 富山大学大学院・医学薬学研究部・システム情動科学、 ² 科学技術振興機構、 ³ 金沢医科大学・健康増進予防医学(公衆衛生)、 ⁴ 東北大学・薬学研究科・薬学部、 ⁵ 味の素株式会社・ライフサイエンス研究所
16:30	演題17	プレパルス抑制試験における慢性PCP投与およびニコチン連続投与の効果 村上典修 ¹ 、栗脇淳一 ^{1,2} 、堀 悦郎 ^{1,2} 、小野武年 ^{1,2} 、西条寿夫 ^{1,2} ¹ 富山大学大学院・医学薬学研究部・システム情動科学、 ² 科学技術振興機構
16:45	演題18	ラットのアナフィラキシー低血圧時の肝内血液は減少する-超音波クリスタル法による肝体積測定- 高野博充、張 威、崔 森、芝本利重 金沢医科大学・生理機能制御学 ²
17:00	演題19	吻側-尾側と左側-右側方向の直線加速に対する前庭-動脈血圧応答の可塑性 安部 力、田中邦彦、森田啓之 岐阜大学・医学部・生理学
17:15	演題20	マウス肺濃度感受性Na ⁺ チャンネル(Nac)発現の発達に伴う変化 西村庸子、萩原央記、月江麻美、峰岸かつら、吉田 繁 近畿大学・理工学部・生命科学科

特別講演 17:30～18:30

座長 山本哲朗(三重大)

17:30	医学研究の社会貢献-日本におけるトランスレーショナルリサーチの課題- 珠玖 洋 三重大学大学院・医学系研究科・がんワクチン治療学・遺伝子・免疫細胞治療学
-------	--

18:45	懇親会
-------	-----

プログラム 第2日 10月20日(土)

セッション4 8:45～10:15		座長 澁谷浩司(鈴鹿医療科学大)・南部 篤(生理研)
8:45	演題21	ラット吻側前障に於ける運動及び感覚性入力の収束 原 健一郎 ¹ 、澁谷浩司 ^{1,2} 、石田寅夫 ^{1,2} <small>¹鈴鹿医療科学大学・鍼灸学部・鍼灸学科、²鈴鹿医療科学大学・東洋医学研究所</small>
9:00	演題22	大脳皮質口腔感覚野における細胞構築形成への歯牙の役割 増山有一 ^{1,2} 、吉村 弘 ^{1,2} 、須貝外喜夫 ² 、加藤伸郎 ² 、瀬上夏樹 ¹ <small>¹金沢医科大学・顎口腔機能病態学、²金沢医科大学・生理機能制御学</small>
9:15	演題23	扁桃体神経細胞においてモノアミン作動系は協調して遅い後過分極を誘起する 山本 亮 ¹ 、植田禎史 ^{1,2} 、加藤伸郎 ¹ <small>¹金沢医科大学・生理学、²京都大学・医学研究科・認知行動脳科学</small>
9:30	演題24	トリ層状核における両耳間時間差検出の抑制性入力による向上 西野恵里、山田 玲、久場博司、大森治紀 <small>京都大学・医学研究科・神経生物学</small>
9:45	演題25	図形識別の必要性からみた注意の分配の継時変化 小野敬治、井上雅仁、宮地重弘、三上章允 <small>京都大学・霊長類研究所・行動発現分野</small>
10:00	演題26	C57BL/6マウスの視覚-運動情報変換の研究 田端宏充、松浦清人、河野憲二 <small>京都大学大学院・医学研究科・認知行動脳科学講座</small>
10:15	休 憩	

セッション5 10:30~12:00

座長 河野憲二(京大)・吉田 繁(近畿大)

10:30	演題27	ジストニアモデルマウスにおける大脳基底核ニューロンの活動様式 知見聡美 ^{1,2} 、Pullanipally Shashidharan ³ 、南部 篤 ^{1,2} ¹ 生理学研究所・生体システム、 ² 総合研究大学院・生命科学、 ³ マウントサイナイ医科大学
10:45	演題28	運動野から入力を受けるサル被殻投射ニューロンの運動課題遂行中の活動様式 高良沙幸 ^{1,2} 、畑中伸彦 ^{1,2} 、高田昌彦 ³ 、南部 篤 ^{1,2} ¹ 生理研・生体システム、 ² 総研大、 ³ 東京都神経研統合生理
11:00	演題29	カルシウムチャンネルが海馬CA1 シナプス伝達長期抑圧の誘導の閾値調節をしている可能性について 宇田川理恵 ¹ 、中野真人 ¹ 、野村泉美 ² 、武地 一 ² 、加藤伸郎 ³ ¹ 京都大学大学院・医学研究科・認知行動脳科学、 ² 京都大学大学院・医学研究科・加齢医学、 ³ 金沢医科大学・生理機能制御学
11:15	演題30	無線型3軸加速度センサを使った転倒経験者の歩様解析と歩行の可視化 香川真二 ¹ 、眞渕 敏 ¹ 、木村愛子 ² 、前田真依子 ² 、千田 廉 ³ ¹ 兵庫医科大学病院・リハビリテーション部、 ² 兵庫県立総合リハビリテーション病院、 ³ 甲南大学・フロンティア研究推進機構
11:30	演題31	骨芽細胞におけるクロライド依存的な細胞周期調節 宮崎裕明 ¹ 、牧 昌弘 ^{1,2} 、中島謙一 ¹ 、新里直美 ¹ 、丸中良典 ¹ ¹ 京都府立医科大学大学院・細胞生理学、 ² 京都府立医科大学大学院・運動機能再生外科学
11:45	演題32	浸透圧・静水圧による細胞間隙コンダクタンスの調節 徳田深作、新里直美、丸中良典 京都府立医科大学大学院・医学研究科・細胞生理学

12:00

昼 食

セッション6 13:00~14:30

座長 樋口 隆(福井大)・前田正信(和歌山県立医大)

13:00	演題33	心筋細胞ミトコンドリアNCX 金 鳳柱、松岡 達 京都大学大学院・医学研究科・細胞機能制御学
13:15	演題34	Development of a Na ⁺ /H ⁺ exchange model in cardiac myocyte Chae Young Cha ^{1,2} 、Yung E Earm ¹ 、Chiaki Oka ² 、Satoshi Matsuoka ² 、Akinori Noma ² ¹ Department of Physiology, Seoul National University ² Department of Physiology and Biophysics, Graduate School of Medicine, Kyoto University

13:30	演題35	下垂体プロラクチン産生細胞の増殖に対するアデノウィルスベクター感染の影響 三井哲雄、王 振華、石田真帆、有田 順 山梨大学大学院・医学工学総合研究部・第1生理学
13:45	演題36	エストロジェンの摂食量抑制作用 岡本修一、清水真紀、成田和巳、市丸 徹、村田拓也、樋口 隆 福井大学・医学部・統合生理学
14:00	演題37	マウスにおける高脂肪食の体内リズムに与える影響 向阪 彰 ^{1,2} 、前田正信 ¹ 、Joseph Bass ² ¹ 和歌山県立医科大学・医学部・生理学第二講座、 ² ノースウェスタン大学・神経生物学・生理学部
14:15	演題38	胃酸分泌刺激に伴う細管小胞膜の胃プロトンポンプ活性変化のメカニズム 高橋佑司 ¹ 、降矢裕史 ¹ 、田渕圭章 ² 、五十里 彰 ³ 、坂本尚登 ⁴ 、内藤一郎 ⁵ 、真鍋康二 ⁵ 、内田信一 ⁶ 、佐々木成 ⁶ 、浅野真司 ⁷ 、森井孫俊 ¹ 、竹口紀晃 ¹ 、酒井秀紀 ¹ ¹ 富山大学大学院・医学薬学研究部・薬物生理学、 ² 富山大学・生命科学先端研究センター、 ³ 静岡県立大学・薬学部、 ⁴ 北里大学・医学部、 ⁵ 重井医学研究所、 ⁶ 東京医科歯科大学大学院、 ⁷ 立命館大学・情報理工学部

14:30	閉会の辞	
-------	-------------	--

15:00	テニス大会	
-------	--------------	--

ポスターセッション(発表・討論) 10月19日13:00~14:00

P-1	<p>酸感受性外向整流性クロライドチャンネルの温度感受性とその役割</p> <p>沼田朋大、岡田泰伸</p> <p>生理学研究所・機能協関</p>
P-2	<p>三環系抗うつ薬Nortriptylineによるアストロサイト内向き整流性Kir4.1チャンネル阻害の分子機構</p> <p>古谷和春¹、大野行弘^{1,2}、日比野浩¹、稲野辺厚¹、倉智嘉久¹</p> <p>¹大阪大学大学院・医学系研究科・分子細胞薬理学講座、²大阪薬科大学・薬学部・薬品作用解析</p>
P-3	<p>経皮的内耳電気刺激は姿勢・重力変化時のヒト動脈血圧応答を減弱する</p> <p>田中邦彦、安部 力、栗津ちひろ、森田啓之</p> <p>岐阜大学大学院・医学系研究科・神経統御学講座・生理学分野</p>
P-4	<p>Leukotrienes and cyclooxygenase products mediate anaphylactic venoconstriction in ovalbumin sensitized rat livers</p> <p>Sen Cui, Toshishige Shibamoto, Hiromichi Takano, Wei Zhang, Yasutaka Kurata</p> <p>Department of Physiology II, Kanazawa Medical University</p>
P-5	<p>無麻酔ラットのアナフィラキシー低血圧における一酸化窒素の役割</p> <p>張 偉、芝本利重、崔 森、高野博充、倉田康孝</p> <p>金沢医科大学・生理機能制御学</p>
P-6	<p>細胞外Na⁺濃度変動に対する培養マウス心筋細胞の応答</p> <p>吉田 繁、郷原友哉、横田亜悠美、萩原央記、横井佐代子</p> <p>近畿大学・理工学部・生命科学科</p>
P-7	<p>洞結節細胞の分岐構造における結節内部位差:辺縁部細胞自動能の発現・維持におけるNa⁺チャンネル電流の役割</p> <p>倉田康孝¹、松田裕之²、久留一郎³、芝本利重¹</p> <p>¹金沢医科大学・生理機能制御学(第2生理)、²京都大学・細胞生体機能シミュレーションプロジェクト、³鳥取大学大学院・医学系研究科・機能再生医科学</p>
P-8	<p>心筋Na⁺/K⁺ポンプ機能低下時のイオン・エネルギー恒常性とフィードバック機構、モデル考察</p> <p>岡 千晶^{1,2}、Bernard Korzeniewski^{1,2,3}、野間昭典^{1,2}</p> <p>¹京都大学・細胞生体機能シミュレーションプロジェクト、²京都大学大学院・医学系研究科・細胞機能制御学、³Jagiellonian University, Poland</p>
P-9	<p>PSD-95パルミトイル化酵素によるAMPA受容体の動態制御機構</p> <p>深田正紀^{1,2}、則竹 淳¹、堤 良平¹、深田優子¹</p> <p>¹自然科学研究機構・生理学研究所・細胞器官研究系・生体膜研究部門、²科学技術振興機構・さきがけ</p>
P-10	<p>後肢鍼刺激によって誘発される心拍数低下反応の神経性機序</p> <p>鈴木敦子¹、志村まゆら¹、大沢秀雄²、内田さえ³</p> <p>¹健康科学大学・生理学、²筑波技術大学・保健科学部、³東京都老人総合研究所・自律神経部門</p>

P-11	食物嫌悪学習の成立に対する条件刺激の優先性と獲得条件 碓 哲崇 ¹ 、坂井信之 ² 、勝川秀夫 ¹ 、杉村忠敬 ¹ ¹ 朝日大学・歯学部・口腔機能修復学講座・口腔生理学分野、 ² 神戸松蔭女子学院大学・人間科学部生活科学科
P-12	1年間の高脂肪食と自発運動でラットの内臓脂肪はどうか 青木貴子 岐阜市立女子短期大学・食物栄養学科
P-13	雌性外生殖器リモデリングにおける軸索ガイダンス分子セマフォリンの新規作用機構の解析 湯川和典 ¹ 、白 涛 ² 、田中哲二 ² 、和気秀文 ¹ 、向阪 彰 ¹ 、上山敬司 ³ 、熊ノ郷淳 ⁴ 、菊谷 仁 ⁴ 、前田正信 ¹ 和歌山県立医科大学・医学部 ¹ 生理学、 ² 産科婦人科学、 ³ 解剖学、 ⁴ 大阪大学・微生物病研究所
P-14	延髄孤束核へのAdrenomedullin 2微量注入は循環調節に作用する 崔 鶴、和気秀文、向阪 彰、中村 健、湯川和典、畑田充俊、山崎寿也、Mohammad Eliusur Rahman Bhuiyan、幸田 剣、高岸美和、前田正信 和歌山県立医科大学・医学部・第二生理
P-15	母体の体位変換に伴う胎児の動きの解析 清水 強 ¹ 、三木猛生 ² 、阿部詩織 ³ 、伊東千香 ³ 、上条かほり ⁴ 、吉川文彦 ⁴ 、浜 正子 ⁴ 、山崎将生 ⁵ 、挟間章博 ⁵ 、根津八紘 ⁴ ¹ 諏訪マタニティークリニック附属清水宇宙生理学研究所、 ² 北里大・医・衛生公衆衛生、 ³ 諏訪マタニティークリニック放射線部、 ⁴ 諏訪マタニティークリニック産科・婦人科、 ⁵ 公立学校法人福島県立医大・医・細胞統合生理学
P-16	ヒト胃癌細胞におけるアクアポリン-5の生理機能 酒井秀紀 ¹ 、藤井拓人 ¹ 、渡邊智子 ² 、藤田達磨 ¹ 、高橋佑司 ¹ 、森井孫俊 ¹ 、堀川直樹 ² 、塚田一博 ² 、竹口紀晃 ¹ ¹ 富山大学大学院・医学薬学研究部・薬物生理学、 ² 富山大学大学院・医学薬学研究部・第二外科
P-17	モルモット胃輪走平滑筋における自発活動頻度の部位による差異 早瀬麻沙、鬼頭佳彦、橋谷 光、鈴木 光 名古屋市立大学大学院・医学研究科・細胞生理学
P-18	心筋KCNQ1チャンネルとKCNEタンパク質の機能的会合 豊田 太、丁 維光、松浦 博 滋賀医科大学・医学部・細胞機能生理学
P-19	魚類の視神経再生の評価法について 加藤 聖 ¹ 、永島幹子 ² 、郡山恵樹 ¹ 、杉谷加代 ² 、松川 通 ¹ ¹ 金沢大学大学院・医学系研究科・脳情報分子学、 ² 金沢大学大学院・医学系研究科・保健学
P-20	トリ大細胞核神経細胞におけるNaチャンネルの細胞内局在 久場博司 ^{1,2} 、福井 巖 ¹ 、大森治紀 ¹ ¹ 京都大学大学院・医学研究科・神経生物学、 ² 京都大学大学院・医学研究科・生命科学系キャリアパス形成ユニット
P-21	トリ層状核神経細胞における新たな抑制機構の解明 山田 玲、奥田裕子、西野恵里、久場博司、石井孝広、大森治紀 京都大学・医学部・神経生物学

P-22	<p>大脳基底核疾患における視床下核－淡蒼球内節投射の重要性</p> <p>橘 吉寿^{1,2}、岩室宏一^{1,3}、南部 篤^{1,2}</p> <p>¹生理学研究所・生体システム、²総合研究大学院大学・生命科学、³東京大学大学院・脳神経外科</p>
P-23	<p>追跡眼球運動の開始部における注意の効果</p> <p>三浦健一郎^{1,2}、青木佑紀^{1,3}、田端宏充²、河野憲二²</p> <p>¹京都大学・ナノメディシン融合教育ユニット、²京都大学大学院・医学研究科・認知行動脳科学、³奈良先端科学技術大学院大学</p>
P-24	<p>網膜におけるV-ATPaseの組織化学的局在：プロトンによるフィードバック仮説を支持する根拠</p> <p>城宝 浩^{1,2}、中野健二¹、石川修司¹、佐野孝一¹、宍戸隆男¹、山本一徳²、金子章道³、山田雅弘²</p> <p>¹アステラス製薬・安全性研究所、²首都大学東京大学院・生命科学、³畿央大学大学院・健康科学部</p>
P-25	<p>pcdマウスの視床神経変性に伴う大脳皮質の機能的変化</p> <p>久宝真一</p> <p>関西医科大学・生理学第2講座</p>
P-26	<p>無線型3軸加速度センサによる乳牛歩行の定量化と解析</p> <p>畠中みどり¹、嵐 泰弘¹、平井武久¹、川上 徹¹、大山一郎¹、松岡 健¹、千田 廉²</p> <p>¹NOSAI兵庫東播基幹家畜診療所、²甲南大学・フロンティア研究推進機構</p>
P-27	<p>サル海馬における長期増強の誘導と持続</p> <p>田村了以¹、永福智志¹、上野照子¹、杉森道也¹、小野武年²</p> <p>¹富山大学・医学薬学研究部・統合神経科学、²富山大学・医学薬学研究部・分子統合情動脳科学</p>
P-28	<p>脊髄グリシン作動性抑制性シナプス後電流の亜鉛による制御</p> <p>石橋 仁、江藤 圭、鍋倉淳一</p> <p>生理学研究所・発達生理学研究系・生体恒常機能発達機構研究部門</p>
P-29	<p>延髄孤束核におけるjunctional adhesion molecule-1遺伝子発現と高血圧発症との関係</p> <p>和気秀文¹、Sabine Gouraud¹、前田正信¹、Julian FR Paton²</p> <p>¹和歌山県立医科大学医学部生理学第2講座、²Department of Physiology, University of Bristol, School of Medical Sciences</p>
P-30	<p>視覚選択における後頭頂連合野の機能的役割</p> <p>小川 正¹、小松英彦^{2,3}</p> <p>¹京都大学大学院・医学研究科・認知行動脳科学講座、²生理学研究所・感覚認知情報研究部門、³総合研究大学院大学</p>
P-31	<p>扁桃体ニューロン活動と情動反応の相互相関解析</p> <p>堀 悦郎^{1,3}、田積 徹^{2,3}、小野武年^{1,3}、西条寿夫^{1,3}</p> <p>¹富山大学大学院・医学薬学研究部・システム情動科学、²聖泉大学・人間科学部・人間心理学科、³科学技術振興機構</p>
P-32	<p>大脳皮質口腔体性感覚野を発信源とする振動性神経活動が味覚野－口腔体性感覚野間の信号伝播におよぼす作用</p> <p>吉村 弘^{1,2}、増山有一^{1,2}、須貝外喜男²、加藤伸郎²、瀬上夏樹¹</p> <p>¹金沢医科大学・顎口腔機能病態学、²金沢医科大学・生理機能制御学</p>

P-33	<p>20日間の-6° head-down bed restによる宇宙デコンディショニングに対する対抗措置としての人工重力負荷と運動負荷の有効性</p> <p>西村直記¹、岩瀬 敏¹、菅屋潤壺¹、佐藤麻紀¹、清水祐樹¹、Dominika Kanikowska¹、鈴木里美²、渡邊順子³、高田宗樹⁴、高田真澄⁵、塩澤友規⁶、平柳 要⁷</p> <p>¹愛知医科大学・医学部生理2、²愛知医科大学・看護学部、³聖クリストファー看護大学・看護学部、⁴岐阜医療科学大学・保健科学部、⁵名古屋大学・看護学部、⁶青山学院大学、⁷日本大学・医学部</p>
P-34	<p>随意運動の制御における脊髄介在ニューロンの役割</p> <p>武井智彦^{1,2,4}、関和彦^{1,3}</p> <p>¹自然科学研究機構・生理学研究所、²京都大学大学院・人間・環境学研究科、³総合研究大学院大学・生命科学研究所、⁴日本学術振興会</p>
P-35	<p>24時間心拍変動リズムからみた若年女性および更年期女性の特性差</p> <p>荒井善昭¹、河野直子²、岡島英男³、牛山喜久⁴</p> <p>¹長野工業高等専門学校、²河野外科、³ジョイントメディカル(株)、⁴信州大学・医学部保健学科</p>

特別講演

医学研究の社会貢献

－日本におけるトランスレーショナルリサーチの課題－

三重大学大学院医学系研究科
がんワクチン治療学
遺伝子・免疫細胞治療学
珠玖 洋

トランスレーショナルリサーチ

アカデミアにおける科学研究の成果をどの様に社会に還元するのかが科学の全ての分野で大きく問われている。医学研究然りである。とりわけ医学は病める患者さんのためであるから、研究の発展が様々な病気の診断、治療、予防につながることに強い期待が寄せられ、又その事に大きな意味が見出されてきた。

基礎医学研究の成果が患者さんの病気の克服に役立てるとを意味して、以前から「ベンチ（実験台を意味する）からベッドサイドへ（病室のベッドを意味する）」と言われ続けてきた。最近、この様な基礎から臨床への橋渡し研究をトランスレーショナルリサーチ（Translational Research）と呼び、その重要性が声高に強調されている。その背景に、特に80年代から急速に進展し、その勢いが加速化しているゲノムサイエンス、バイオサイエンス研究から得られた膨大な基礎研究成果があり、これをどの様に医学・医療に役立てるかに強い関心が寄せられ、またそれが大きな課題となっているからである。

がんワクチンの開発

我々の身体に備わっている免疫力をがん治療に役立てるという発想は特に新しいものではない。19世紀末、ニューヨークの外科医コーリー博士は、身体の免疫力を高めてがんを治療する試みを始めた（コーリートキシンと呼ばれる）。その後、がんに対する免疫反応の科学的基盤が整うには約一世紀を要した。80年代以降、がんに対する免疫反応の細胞機構、分子機構の解明が大きく進み、免疫反応の主役となるリンパ球、とりわけがん細胞を見つけ出し破壊するキラーT細胞や、キラーT細胞の働きを助けるヘルパーT細胞の役割りが明らかになってきた。とりわけ重要なのは、これらのキラーT細胞やヘルパーT細胞が、がん細胞のどの様な分子を標的としてがん細胞を見つけ出し、破壊するかが明らかになった事である。標的分子は、がん細胞が作り出す蛋白（がん抗原蛋白）が断片化されたもの（ペプチドと呼ばれる）であり、それらの蛋白の産生は、がん細胞に限られているか、又はがん細胞で亢進していることなどが明らかになってきた。がん抗原蛋白やその支配遺伝子の同定は、がん反応するリンパ球の活性増強をはかる「がんワクチン」の開発研究を可能とした。

90年代に入ると、がん抗原蛋白やペプチドをがん患者さんに投与するがんワクチン開発研究が日本を含め、国際的な競争として進みつつある。がんワクチンは、がんの再発、転移を防ぎ、難治性がんの進行を遅らせる等の効果が期待されると共に、からだに優しいがんの治療法としても強い期待が寄せられている。

私達も、大腸菌により作製したがん抗原蛋白（NY-ESO-1と呼ばれる蛋白）とコレステリルプルラン（CHP）と呼ぶ疎水化多糖との複合体を作製し、がん反応するキラーT細

胞およびヘルパーT細胞の両者を効率良く活性化できるがんワクチンの開発研究を進めて来た。

さらに7-8年間にわたる動物を含めた基礎研究で、複合体のがんワクチンの安全性と有効性を明らかにして、最近ヒトを対象とした臨床研究を進めている。

基礎研究から臨床研究へ：トランスレーショナルリサーチ

実験的な意味合いの濃いこれらの臨床研究は最近トランスレーショナル・リサーチと呼ばれ、ヒトで試してのみ得られる情報を得るためにおこなわれ、幅広い研究領域での基礎的な研究成果をもととした新しい治療法の開発には不可避の検討手法及び段階である。臨床試験は、いわゆる第I相試験として始められ、対象となる治療法（私達の場合にはがんワクチンの）の安全性を評価する事が主たる目的となっている。ヒトに対して新規物質を投与して被験者における生体反応性を観察、解析してがんワクチンの安全性、有効性などを評価することになる。当然の事ながら、新規物質の安全性をヒトに投与する前に予めどの程度まで確認するのか？試みる新規の治療法は、ヒトにおける検証を行うだけの意義を有しているのか？（臨床試験計画の科学的あるいは倫理的な妥当性）、どのような状態の患者さんでの検証を行うことが妥当であるのか？等々の多くの疑問を受け止める必要がある。

我が国ではこれまでこのような新しい治療（主として薬剤）の開発がほとんど企業主導で行われてきたこともあり、基礎研究を臨床研究へと展開させるためのアカデミア内での環境があまり整備されてこなかった。

トランスレーショナルリサーチの出口に向かって

新しい治療法の開発研究は、基礎研究からトランスレーショナルリサーチとしての臨床研究を経る長い過程を必要とする。臨床試験（第I相試験から始められ第II相、第III相と進む。全てを終了するには5-8年が必要である）で安全性、有効性の検証が出来た新しい治療法が、本当の意味で実用化され多くの病める患者さんの手許に届けられるには、新規薬剤（がんワクチンを含め）が企業化により製品として一般的な臨床の場に供給されることが必要である。多くのトランスレーショナルリサーチは、企業化（同時に実用化）という出口に向かい、開発への道筋に乗る。トランスレーショナルリサーチは多くの場合、基礎から臨床への橋渡しであると同時にアカデミアから企業への橋渡しを意味している。基礎研究が薬剤としての承認を受け市場で発売される迄には、約15年前後かかり、企業が一つの製品を世に出すまでに約1,000億円以上の経費が必要と言われている。我が国に於いては、アカデミアの基礎研究がトランスレーショナルリサーチを経て企業へと引き継がれるという経験実績がほとんどなく、医学・医療はもとより、倫理、経済、行政、そして社会生活に関わる多くの課題が存在し、その克服に必要な仕組みづくりが急務となっている。

総合科学技術会議による第3期科学技術基本計画に於いて、基礎医学研究から臨床への橋渡し研究充実の重要性が強調され、事実平成19年度からは、アカデミアにおけるトランスレーショナルリサーチ推進の為の具体的な予算配分が組み込まれている。国際的にも比較的優位を保っている我が国の基礎研究の成果を人類の健康を守る為に用いるため、産官学合わせてのトランスレーショナルリサーチの仕組みを作ることは、医学のみでなく社会全体にとって、極めて重要な課題である。

メチルパラベンが TRPA1 の活性化を介して痛み感覚を引き起こす

曾我部隆彰¹、藤田郁尚¹、森山朋子²、東 智広^{1,3}、島 麻子⁴、富永真琴^{1,3}

¹自然科学研究機構・岡崎統合バイオサイエンスセンター・細胞生理、²弘前大学・医学部附属脳神経血管病態研究施設、³総合研究大学院大学・生理科学専攻、⁴日本大学・歯学部

侵害刺激受容体TRPA1 の生理機能解析を目的として、メチルパラベンのTRPA1 に対する効果を検討した。メチルパラベンは、TRPA1 を発現したHEK293 細胞およびマウス後根神経節細胞で細胞内Ca²⁺濃度を増加させ、その増加は、TRPチャンネル阻害剤で抑制された。パッチクランプ法を用いて膜電流記録を行うと、メチルパラベンは用量依存的にTRPA1 を発現させたHEK293 細胞で膜電流を活性化させ、EC₅₀は約 4.4mMであった。この活性化電流は、TRPA1 に特徴的な外向き整流性を示し、2つのTRPA1 阻害剤で抑制された。メチルパラベンによる同様の性質をもった膜電流の活性化は、マウス後根神経節細胞でも観察された。さらに、メチルパラベンのマウス足底への投与によって痛み関連行動が観察され、この行動はTRPチャンネル阻害剤で抑制された。メチルパラベンは、防腐効果のために広く食品や化粧品等に使われているが、時に、化粧品によって皮膚のヒリヒリ感が出現することがある。4.4mMという濃度は十分に皮膚に作用しうる濃度であり、メチルパラベンがTRPA1 活性化を介してヒリヒリ感を惹起しているものと推測された。

皮膚ポリモーダル受容器の圧刺激に対するブラジキニンの増強作用

申 正樹¹、矢島弘毅²、佐藤 純²、水村和枝²¹名古屋大学大学院・医学系研究科・手の外科学、²名古屋大学・環境医学研究所・神経性調節学

【目的】ブラジキニン（BK）は内因性の発痛物質で、それ自身で痛みを生じるばかりでなく、熱や機械刺激による痛みを増強する。例えば、内臓や皮膚のポリモーダル受容器では熱に対する反応を感作し、より高濃度で侵害受容器に興奮を生じさせる。また、内臓ポリモーダル受容器や関節の侵害受容器においては機械反応も感作することが報告されているが、皮膚ポリモーダル受容器における機械反応の感作はいまだ証明されていない。これまでの研究では閾値変化に焦点があてられていたため、反応の大きさ（反応強度）の変化が見落とされてきた可能性がある。そこで我々は、フィードバック制御による圧機械刺激装置を用い、閾値および反応強度の変化を測定し、BKによる皮膚ポリモーダル受容器の圧反応の変化を調査した。

【方法】Lewis ラットの神経-皮膚取り出し標本を用いて皮膚ポリモーダル受容器の単一神経放電を記録した。受容野に10分間隔で圧刺激を行い、反応が安定した後、BK（0.1, 1, 10 μ M）溶液を2分間局所灌流投与し、その後の圧反応の変化を測定した。

【結果】BK投与直後の圧反応は、平均反応強度がBK 0.1 μ Mではあまり変化が見られなかったが、1および10 μ Mではそれぞれ、 19.7 ± 4.8 から 27.9 ± 5.7 、 19.6 ± 6.8 から 30.1 ± 7.4 スパイクと有意（ $p < 0.01$, $p < 0.05$ ）に増加した。引き続き圧刺激に対する増強効果の持続性は認められなかった。平均反応閾値はBK 1 μ Mで 11.4 ± 1.2 から 8.5 ± 1.2 gへ有意（ $p < 0.05$ ）に低下したが、0.1および10 μ Mでは有意な低下を認めなかった。閾値低下効果に持続性は認めなかった。BKによる興奮性の有無で、反応性に明らかな相違は認めなかった。

【考察】皮膚ポリモーダル受容器の圧刺激反応はBK投与（BK $\geq 1\mu$ M）により増強された。炎症部位にみられる圧痛覚過敏の末梢機構にBKが関与する可能性が示唆された。

2-APB による TRPM2 チャンネルの阻害効果の検討

稲田 仁^{1,2}、富樫和也^{1,3}、富永真琴^{1,2,3}¹自然科学研究機構・岡崎統合バイオサイエンスセンター・細胞生理、²自然科学研究機構・生理学研究所、³総合研究大学院大学・生理科学専攻

Transient receptor potential melastatin 2 (TRPM2) チャンネルは、Ca²⁺透過性の高い非選択性の陽イオンチャンネルであり、adenosine 5'-diphosphoribose (ADP-ribose) や過酸化水素によって活性化されることが知られている。TRPM2 チャンネルは熱によっても活性化されることが報告されており、この電流応答はリガンドと熱との組み合わせによって劇的に増強することが明らかにされている。さらに、免疫細胞や膵臓ラ島のβ細胞においてセカンドメッセンジャーとして働くと考えられている環状ADP-riboseによってもTRPM2 チャンネルは活性化される。現在までに、flufenamic acid や抗菌剤 (econazole および clotrimazole)、phospholipase A₂ の阻害剤 (*N*-(*p*-amylcinnamoyl) anthranilic acid) などによってもTRPM2 チャンネルが阻害されることが報告されているが、それらの阻害効果は漸進的かつ不可逆的である。ヒトTRPM2 を強制発現したHEK293 を用い、パッチクランプ法によってTRPM2 チャンネルのアゴニスト/アンタゴニストを探索した結果、2-aminoethoxydiphenyl borate (2-APB) がTRPM2 チャンネルの活性を効果的かつ可逆的に阻害することを見いだした。TRPM2 チャンネルのリガンドのみまたはリガンドと熱による活性化は、濃度依存的 (IC₅₀ = ~1 μM) に阻害された。さらに、2-APBによって膵臓ラ島からの熱によるインスリン分泌も阻害された。2-APBはTRPM2 チャンネルの機能を研究する上で有力で効果的な薬剤となり得ると考えられる。

バソプレッシン神経に発現する容積感受性Cl⁻チャネルの役割佐藤かお理^{1,2}、沼田朋大¹、岡田泰伸^{1,2}¹生理学研究所・機能協関研究部門、²総合研究大学院大学・生命科学研究科・生理科学専攻

動物の体内の浸透圧は、食物や水の摂取により絶えず変化している。抗利尿ホルモンであるバソプレッシンを分泌するバソプレッシン神経は、血漿の浸透圧の変化を感知してバソプレッシンを分泌する事によって浸透圧の恒常性を維持している事が知られている。しかし、異常な浸透圧条件下での神経細胞自身の細胞容積調節能の有無、調節機構についてはまだ解明されていない。本研究では、低浸透圧条件下におけるバソプレッシン神経の容積調節機構について検討した。ホールセルパッチクランプ法を用いて実験を行った結果、低浸透圧条件下で細胞を膨張させるとCl⁻電流の活性化が観察された。この電流は外向整流性があり、高い脱分極の刺激を与えると不活性化キネティクスがみられた。陰イオン選択性序列はI⁻ > Br⁻ > Cl⁻ > F⁻ > Sulf⁻ > Asp⁻ > Glu⁻であった。この電流はCl⁻チャネルブロッカーであるNPPB、phloretin、DCPIBによって抑制された。さらに、神経細胞の断面積を測定した結果、低浸透圧条件下では、細胞が膨張した後で観察される調節性容積減少(RVD)が、Cl⁻チャネルブロッカーの投与により有意に抑制された。これらの結果から、バソプレッシン神経には容積感受性外向整流性 (VSOR) Cl⁻チャネルが発現しており、これが低浸透圧条件下で活性化することによりRVD応答を起こす事が示唆された。

グルタミン酸プローブで見る中枢シナプス伝達様式

坂本寛和、並木繁行、飯沼 将、廣瀬謙造

名古屋大学大学院・医学系研究科・細胞生理学

中枢神経系の興奮性シナプスはグルタミン酸を伝達物質として情報伝達を行う。ところが、単一のシナプスから放出されるグルタミン酸を直接的に計測する技術がないために、その伝達様式には不明な点が多く残されている。本研究では、単一のシナプスから放出されたグルタミン酸を蛍光性グルタミン酸プローブであるEOS(Glutamate(E) Optical Sensor)を用いた高速・高精度の蛍光イメージングにより光学的に検出し、個々のシナプスにおける伝達様式の解析を可能にした。細胞外液のカルシウム・マグネシウム濃度比を人為的に低下させた条件下で測定を行うと、グルタミン酸の放出頻度が低下した。この結果は、電気生理学的手法による過去の研究結果と一致している。そこで、この条件下の測定から得られたEOSのシグナル変化率およびその分散を統計的に解析することにより、単一のシナプスから放出されたグルタミン酸の量子サイズを推定した。さらに、細胞外液のカルシウム・マグネシウム濃度比を人為的に上昇させた条件下で測定を行うと、グルタミン酸の放出頻度が上昇すると共に、一試行あたりのグルタミン酸の放出量も上昇することが明らかになった。この結果は、「一つの中枢シナプスは一つのシナプス小胞のみを放出する」とする”One-Vesicle Hypothesis”を支持せず、「一つの中枢シナプスは複数のシナプス小胞を同時に放出することが可能である」とする”Multi-Vesicle Hypothesis”を支持し、単一のシナプスはグルタミン酸の放出量を変動させる可能性を示している。

下丘 GABA 作動性ニューロンの音反応特性及び形態学的特性

小野宗範、笠井昌俊、大森治紀

京都大学医学部神経生物学教室

下丘は上位下位聴覚伝道路からの入力を受け、音情報の統合的処理を行う神経核である。下丘神経細胞のうち、約20%のGABA作動性ニューロンは、特徴抽出機構に重要な役割を果たしていることが示唆されているが、その実態は明らかではない。

我々は、下丘GABA作動性ニューロンの音応答特性を明らかにするため、GABA作動性ニューロンが特異的にGFPラベルされるGAD67-GFP knock-in mouse に対して、juxtacellular 法によるユニット応答記録を行った。biocytin 注入によって細胞内染色したユニット記録細胞とGFPとの二重染色像から、神経細胞の音応答特性と、GABA/非GABA作動性を対応付け、GABA作動性ニューロンの音反応特性を解析した。さらに、DAB法による明視野染色により、記録細胞の樹状突起、軸索の形態学的特性を解析し、下丘神経回路内での機能に関して考察した。

G1/S 期細胞周期抑制剤は TGF β 発現増加により幹細胞の神経分化を促進する

三角吉代、金 泰善、鄭 且均、西野仁雄、飛田秀樹

名古屋市立大学大学院・医学研究科・脳神経生理学

神経幹／前駆細胞(NPCs)は細胞療法にける有力なドナー細胞候補と考えられている。NPCsを如何に目的のニューロンへ分化誘導させるのか、またそのメカニズムの解析が重要となっているが、細胞周期の制御と神経分化の関連についてのメカニズムは十分に明らかになっていない。我々は、ラット胎仔(E12.5)中脳由来のNPCsにdesferoxamine(DFO)等のG1/S期細胞周期抑制剤(G1/S-B)を処理すると、1)ニューロン分化が促進され、2)分化機構にp27^{kip1}の長期の発現増加が関与している、ことを報告した。Transforming growth factor beta (TGF β) は中枢神経系の細胞増殖や分化に関与するが、本研究ではG1/S-Bによる神経分化にTGF β が関与しているか検討した。

NPCsにDFOを8時間処理した後1%FCSでニューロン分化を誘導すると、分化24h後にTGF β -1 mRNAの発現増加(約5倍)と蛋白量の増加が認められた。一方、TGF β -2, β 3の発現に変化は認められなかった。NPCsへTGF β -1を処置すると、p27^{kip1}の発現上昇と β -tubulin^{III}陽性の細胞数増加(約1.2倍)が確認された。さらに、TGF β レセプター阻害剤を処置するとDFO処理によるp27^{kip1}の発現増加が有意に抑制されることが分かった。また、ネスチン陽性のNPCsにTGF β レセプターが発現していることが分かった。

これらの結果から、DFO処置後のp27^{kip1}を介する神経分化の促進機構において、DFOによるTGF β -1の発現増加が関与し、TGF β -1の作用によりNPCsからニューロンへの分化が促進している可能性が示された。

ゼブラフィッシュ網膜発生における再生分子プルプリンの発現抑制と行動解析

齊藤 光¹、永島幹子²、村本健一郎³、加藤 聖¹

金沢大学大学院・医学系研究科、¹脳情報分子学、²保健学専攻、³金沢大学大学院・自然科学研究科・電子情報工学専攻

魚類の視神経は損傷されても再生することが知られており、再生過程では再生に必要な種々の遺伝子が発現すると考えられる。これまで我々は視神経切断後の金魚網膜で発現が変化する遺伝子について調べてきた。その結果、視神経切断後に発現が増加する遺伝子の一つとしてプルプリンを見出した。プルプリンは網膜特異的に発現する分子量 22kDa の分泌性のレチノール結合タンパク質であり、再生初期の視神経誘導のトリガーとして働くことを報告した。また一般にレチノイドは神経発生に重要な役割を果たすことが知られており、ゼブラフィッシュ初期胚を用いた網膜発生において、anti-senseRNA プローブによる *in situ hybridization* 法、免疫組織化学染色法により発生段階の非常に早い時期において、プルプリン mRNA、タンパク質の一過性発現を確認している。

今回、モルフォリノ修飾アンチセンスオリゴヌクレオチドをゼブラフィッシュ初期胚(1-4 細胞期胚)に注入して、プルプリン mRNA のノックダウン実験を行った。受精後 3 日目における遺伝子ノックダウン魚において、正常対照魚と比較し、眼球の縮小が見られた。またトルイジンブルー染色法により、受精後 3 日目において、正常対照魚では網膜に層構造は見られたが、遺伝子ノックダウン魚の網膜に層構造は確認できなかった。

現在、合わせてプルプリン発現の有無による視覚機能への影響を調べるために、ゼブラフィッシュの視覚依存性行動を基に、様々なパラメータを用いて観測中である。

カルパインによるヒト好中球のアポトーシス制御：A キナーゼの役割

尾崎友歌、加藤隆幸、北川誠一

大阪市立大学大学院・医学研究科・細胞情報学

ヒト好中球にはカルパイン（カルシウム依存性システインプロテアーゼ）活性が構成的に認められ、また、好中球は自然にアポトーシスを生じることが明らかになっている。本研究では、ヒト好中球のアポトーシス制御におけるカルパイン活性の役割を解析した。

好中球をカルパイン阻害剤（ALLN [N-acetyl-Leu-Leu-Nle-CHO]およびPD150606）存在下に培養すると、好中球の生存が延長した。このことは、構成的なカルパイン活性が好中球の自然なアポトーシスを制御していることを示唆している。カルパイン阻害剤による好中球の生存延長は、MAP キナーゼ（MEK/ERK、p38 および JNK）阻害剤および PI3 キナーゼ阻害剤の影響を受けなかった。また、シクロヘキシミドの影響も受けなかった。このことは、カルパイン阻害剤による好中球の生存延長は蛋白質合成非依存性であることを示している。一方、カルパイン阻害剤を作用させた好中球では、A キナーゼの活性化および A キナーゼ基質のリン酸化が認められた。さらに、カルパイン阻害剤による好中球の生存延長は、A キナーゼ阻害剤（H-89）によって抑制された。しかし、細胞内 cyclic AMP の増加は認められなかった。このことは、A キナーゼが直接活性化されている可能性を示唆している。好中球の自然なアポトーシスは、抗アポトーシス分子である Mcl-1 および XIAP のプロテアソームにおける分解と関連していた。Mcl-1 および XIAP の分解はカルパイン阻害剤によって抑制され、この抑制作用は H-89 によって阻害された。

これらの結果は、カルパイン阻害剤による好中球の生存延長は、A キナーゼの活性化を介して Mcl-1 および XIAP の分解を抑制することによって生じることが示唆されている。また、好中球においては、構成的なカルパイン活性が A キナーゼ活性を負に制御していると考えられた。

DRAのマウス大腸HCO₃⁻分泌に果たす役割

大庭幸一郎、林 久由、内山尚和、鈴木裕一

静岡県立大学大学院・生活健康科学研究科・人体生理学研究室

DRA(SLC26A3)はCl/HCO₃⁻ exchangerで、消化管上皮細胞、特に大腸上皮 Apical membraneに強く発現している。本研究では、マウス大腸におけるCl(粘膜側)依存性のHCO₃⁻分泌がDRAによるのか否かを検討した。「方法」マウスDRAのCl/HCO₃⁻ exchange活性は、マウスDRAを発現させたHEK293細胞にpH感受性蛍光色素BCECFを負荷し、顕微蛍光測光法で、外液Cl除去による細胞内pH上昇を測定することにより測定した。大腸HCO₃⁻分泌活性は、マウス盲腸及び遠位結腸をUssing chamberに取り付け、pH stat法で測定した。「結果」マウスDRAのCl/HCO₃⁻ exchange活性に対する抑制剤の強さは、Tenidap>=Niflumic acid>Glibenclamide=NPPBで、DIDSではほとんど抑制されなかった。これに対して、Cl(粘膜側)依存性のHCO₃⁻分泌に対する抑制の強さは盲腸及び遠位結腸ともに、Tenidap>=NPPB>Niflumic acidの順でGlibenclamideとDIDSではほとんど抑制されなかった。「結論」Cl(粘膜側)依存性のHCO₃⁻分泌の阻害剤感受性はDRAのそれとは少し異なっていた。DRAの大腸HCO₃⁻分泌における役割を明らかにするにはさらなる検討を要する。

Cl/HCO₃交換輸送担体SLC26A3の局在と機能におけるN型糖鎖付加の役割

山下裕香理、林 久由、鈴木裕一

静岡県立大学大学院・生活健康科学研究科・人体生理学研究室

【目的】 SLC26A3 (DRA) は消化管に発現しているCl/HCO₃交換輸送体であり、Cl吸収を担っていると考えられている。DRAは糖タンパク質であるが、糖鎖の役割および付加部位については研究されていない。本研究では糖鎖付加の役割についてN結合型糖鎖付加抑制剤ツニカマイシンによる処理並びに点変異体の作製により検討を行った。

【方法】 N末にHAタグを導入したDRAのテトラサイクリン誘導発現系をCHO細胞で構築した。Cl/HCO₃交換輸送活性はpH感受性蛍光色素BCECF並びにCl感受性蛍光色素MEQを用いて測定した。

【結果】

DRAを細胞に発現させ、Western blottingにて解析すると予想される分子量より高分子量側に複数のバンドが観察された。ツニカマイシンで処理すると高分子側バンドが消失し低分子側の1本のバンドに収束し、多段階に糖鎖付加を受けることが示唆された。共焦点顕微鏡で細胞内局在を検討すると、ツニカマイシン処理後には、細胞膜または細胞膜直下のDRA発現量の低下が観察された。そこで、ビオチン化により検討したところツニカマイシン処理後も細胞膜上にDRAが発現していた。さらに、Cl/HCO₃交換輸送活性をコントロールと比較した。ツニカマイシン処理ではCl/HCO₃交換輸送活性の低下が見られたが、陰イオン選択性(F⁻, Br⁻, I⁻, NO₃⁻, SO₄²⁻)の変化は観察されなかった。さらに、糖鎖付加部位の決定のためN結合型糖鎖付加が想定される5つのコンセンサスサイトのアスパラギン(N)をグルタミン(Q)に置換した点変異体を作製しWestern blottingにより解析した。N161Q、N164Q、N165Q、N621Qではバンドのパターンおよび位置の変化は観察されなかったがN153Qでは、低分子側への移動が観察され、糖鎖付加部位の1つであると考えられた。

摂取水分コントロール下における 20 日間のヘッドダウンベットレスト後での発汗中枢機構の変化

佐藤麻紀、Dominika Kanikowska、岩瀬 敏、清水祐樹、犬飼洋子、西村直記、菅屋潤壹

愛知医科大学・医学部・生理学第2講座

自由飲水下でヘッドダウンベットレスト（無重力模擬実験）を行うと発汗閾値が上昇し、平均体温に対する発汗量が抑制されることが明らかにされている。本研究では、20日間 -6° のベッドレスト中において、飲水量を前日の尿量と同量となるよう指示した場合についての発汗活動および体温調節能への効果を検討した。被験者（若年男性）は、 6° のヘッドダウンベッド上で20日間生活した。この前後で下肢温浴による温熱負荷実験を行い、体温調節応答を観察した。測定項目は、鼓膜温、発汗量（胸部、前腕）、発汗波頻度（前腕）、皮膚血流量（胸部、前腕）、皮膚温（胸部、上腕、大腿、下腿）とした。結果は、ベットレスト後では、安静時および暑熱負荷時の鼓膜温の上昇、暑熱負荷時の発汗量の増加、発汗発現時間の短縮、皮膚血流量の増加が見られた。平均体温に対する発汗量の回帰直線はベットレスト前後で変化しなかった。しかし、発汗波頻度 vs 平均体温の回帰直線はベットレスト後、右方へシフトし、発汗量 vs 発汗波頻度の回帰直線は左方へシフトした。これらより、水分摂取をコントロールした状態での20日間のベッドレストでは、中枢機構で発汗閾値の上昇があり、汗腺機構では感受性の亢進が起こっていることが示唆された。

シックハウス症候群関連化学物質ホルムアルデヒドの心機能に及ぼす影響

竹下大輔、清水壽一郎、中島千香子、高木 都

奈良県立医科大学・医学部・医学科・生理学第二講座

本研究では、高血圧患者を想定した左室肥大心におけるシックハウス症候群関連物質の代表としてのホルムアルデヒド (HCHO) の効果を、正常心と比較検討した。実験には、雄性ウイスターラットを使用し、ネンブタール 50 mg/kg で麻酔し、人工呼吸開始後、持続的静注で維持麻酔を行った。外頸静脈より生理食塩水で 10 倍希釈した 3.7% HCHO 溶液を $0.1 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ で注入しながら、左心室圧-容積ループを描記し、左心室収縮期末圧と 1 回心拍出量の経時変化を調べた。さらに、上行大動脈の閉塞を一定速度、10 分間隔で行って後負荷を上昇させた時の収縮期末圧容積関係を求めた。同時に血液ガス分析と Immuno-analyzer による血中の CK-MB (creatinine kinase MB)、cTnI (cardiac troponin I: 急性冠症候群マーカー)、Myoglobin (急性冠症候群マーカー) の定量を適宜行った。その結果、1) 正常心では、HCHO 静注 30 分後、想定血中濃度 46 mmol/l で、左心室収縮期末圧、心拍数、分時心拍出量の有意な減少が起こった。2) 左心室収縮期末圧、1 回心拍出量、分時心拍出量に対する HCHO の効果は肥大心と正常心で特に差違はなかった。唯一、心拍数の減少傾向にのみ有意差があった。3) 分時心拍出量は、肥大心では一貫して正常心より小さい値を示しており、生存率も低い値を示した。しかし、左室肥大心で HCHO の効果が特により強く表れるということとはなかった。4) cTnI のみ HCHO 静注持続時間経過と共に増加傾向を示した。これらの結果から、1) 心機能の低下した左室肥大心を有する高血圧患者では急性ポンプ機能失調はより容易に発現し、2) このような患者が自宅でより快適に暮らすためには、シックハウス症候群関連物質の完全に除去された住環境が望ましい、ということが示唆された。

細胞内A β は、大脳皮質錐体細胞においてBKチャンネルを抑制しCa²⁺流入を促進する。

山本兼司^{1,2}、植田禎史²、山本 亮²、加藤伸郎²

¹国立病院機構・宇多野病院・神経内科、²金沢医科大学・第一生理学

アルツハイマー病 (AD) では、アミロイド β (A β) 蛋白が細胞外で蓄積して細胞死が生ずる。また、それに先立って、海馬及び大脳皮質錐体細胞におけるシナプス伝達抑制、膜興奮性促進、細胞内Ca²⁺増加などの機能異常が生じ、認知機能障害が引き起こされるが、これらはA β の細胞外からの作用によると理解されて来た。ところが、近年のAD患者の剖検脳やADモデルマウスでの検討から、細胞外で老人斑が形成される以前の初期ADでは、細胞内に蓄積されたA β がシナプス伝達異常や認知機能障害を引き起こすことが示唆されている。しかし、細胞内A β の作用メカニズムについて、詳細は不明である。

本研究では、細胞内Ca²⁺動態や膜興奮性に細胞内A β がどのような影響を与えるかを調べるため、ラット大脳皮質スライスを用いて、錐体細胞にパッチピペットよりA β を細胞内投与した後に全細胞記録を施行し、同時にフォトマルチプライヤーにて活動電位誘発性Ca²⁺増加を測定した。活動電位誘発性Ca²⁺増加はA β 細胞内投与により増強した。この増強は、Ca²⁺電流の増加や小胞体からのCa²⁺遊離によるものではなく、スパイク幅が広がりCa²⁺流入が増加した結果生じた。さらに、A β 細胞内投与は、BKチャンネル (large conductance Ca²⁺ Activated K⁺ channel) を抑制しスパイク幅を広げることによって、電位依存性Ca²⁺チャンネルからのCa²⁺流入を増加させることがわかった。これらの結果より、細胞内A β は、錐体細胞発火時の再分極を抑制し、細胞内へのCa²⁺流入を増加させることによって、AD病初期のシナプス伝達異常や神経変性過程のトリガーとなる可能性が推察された。

内耳蝸牛血管条における細胞内・細胞外空間の K^+ 濃度・電位と蝸牛内高電位の解析

任 書晃^{1,2}、日比野 浩¹、土井勝美³、鈴木敏弘²、久 育男²、倉智嘉久¹

¹大阪大学大学院・医学系研究科・分子細胞薬理学講座, ²京都府立医科大学大学院・耳鼻咽喉科・頭頸部外科学講座, ³大阪大学大学院・耳鼻咽喉科学講座

内耳蝸牛は、内リンパ液・外リンパ液という2種類の細胞外液で満たされている。そのうち内リンパ液は、150 mMの K^+ を含み、約+80 mVの電位 (EP:蝸牛内高電位) を持ち、成立には、蝸牛側壁の血管条が必須である。血管条は基底細胞・中間細胞から成る外層と、辺縁細胞から成る内層とから構成され、この2層に挟まれた細胞外空間は、5 mM以下の低 K^+ と約+90 mVの高電位を示す。以前より、この特殊な血管条内の細胞外空間 (intrastrial space: IS) を挟んで、辺縁細胞に Na^+ , K^+ , $2Cl^-$ 共輸送体・ Na^+ , K^+ ポンプ、中間細胞に K^+ チャネルが発現していることが、ISの環境の成立に不可欠と考えられてきたが、その実証及びメカニズムの解明は不十分である。我々は、モルモット内耳を用い、単一管で蝸牛内電位を、二連管でISの電位・ K^+ 濃度を同時に測定した。さらに外層の辺縁細胞についても測定を行った。まずISにおいて Na^+ - K^+ ポンプを阻害する低酸素負荷・ウアバイン負荷と Na^+ , K^+ , $2Cl^-$ 共輸送体の阻害薬ブメタニド、さらに K^+ チャネル阻害薬バリウムの影響を調べた。輸送体の阻害により、ISの K^+ 濃度が上昇するとともに、IS電位の著明な低下を認め、その低下量は、中間細胞頂上膜における K^+ 平衡電位の変化量とほぼ一致した。つぎに辺縁細胞での輸送体の阻害を行うと、 K^+ 濃度の低下とともに辺縁細胞電位とEPとの電位差が拡大し、この電位差は辺縁細胞頂上膜における K^+ 平衡電位の変化量とほぼ一致した。バリウムではこれらIS・辺縁細胞での K^+ 濃度を変化させずにISおよび辺縁細胞電位を低下させた。以上より、1) IS電位は辺縁細胞の輸送装置による低 K^+ 濃度の維持と中間細胞頂上膜の K^+ チャネルの共役により達成される 2) 蝸牛内高電位成立には辺縁細胞頂上膜での K^+ 拡散電位も貢献していることが示唆された。

ダイオキシンの胎内暴露が仔ラットの味覚嗜好性の発達に与える影響

栗脇淳一^{1,2}、西条旨子^{2,3}、橋本 茜⁴、福永浩司⁴、堀 悦郎^{1,2}、鳥居邦夫⁵、中川秀昭³、小野武年^{1,2}、西条寿夫^{1,2}

¹富山大学大学院・医学薬学研究部・システム情動科学、²科学技術振興機構、³金沢医科大学・健康増進予防医学（公衆衛生）、⁴東北大学・薬学研究科・薬学部、⁵味の素株式会社・ライフサイエンス研究所

近年、ダイオキシン類の胎内暴露が胎盤や母乳を介し胎児および乳児へ移行し、その成長・発達に影響することが示唆されている。本研究では、ラット母獣の2,3,7,8-四塩化ダイオキシン(TCDD)胎内暴露が、その出生仔の離乳後における味覚嗜好性の発達に及ぼす影響について調べた。一方、味覚嗜好性は Conditioned taste preference ならびに Conditioned taste aversion などの学習により発達することが示唆されている。そこで本研究では、中枢神経系における味覚嗜好性発達の障害部位を検討するため、学習・記憶に重要な CaMKII α の活性および総量を、味覚嗜好性の学習や動因形成に重要な役割を果たす事が示唆されている大脳辺縁系において測定した。

実験では、妊娠 Wistar 系ラットに TCDD を経口投与し、出生した仔ラットを用いた。出生した仔ラットを8種類の異なる水溶液が摂取可能なケージに入れ、22日齢から14日間の水溶液摂取量を測定した。その結果、TCDD 暴露群の雌ラットのうま味溶液の摂取量が有意に少なかった。一方、TCDD 暴露群の雌ラット眼窩皮質では活性型 CaMKII α (p-CaMKII α)の発現が対照群と比べ増加していたが、活性型と総量の割合は有意な変化を認めなかった。このことから TCDD 暴露により、細胞内 Ca 環境は変化しないが、眼窩皮質ニューロンの活動が過剰になっていることが示唆された。さらに、TCDD 暴露群の雌ラット扁桃体では、総 CaMKII α が増加していたが、総量に対する活性型の割合は減少していたことから、Ca シグナル伝達系の活性が低下している可能性が示唆された。以上より、TCDD 暴露群の雌ラットでは、眼窩皮質ニューロンの過活動性および扁桃体における p-CaMKII α の低下により、何らかの味覚学習障害が起こり味覚嗜好性の発達が障害されたことが示唆された。

プレパルス抑制試験における慢性 PCP 投与およびニコチン連続投与の効果

村上典修¹、栗脇淳一^{1,2}、堀悦郎^{1,2}、小野武年^{1,2}、西条寿夫^{1,2}

¹富山大学大学院・医学薬学研究部・システム情動科学、²科学技術振興機構

統合失調症患者は、健常者に比べて高い喫煙率を示す。また、統合失調症患者では、症状悪化に伴って喫煙行動が増加すると報告されている。タバコに含まれるニコチンには、統合失調症症状に対する改善作用があると推測されていることから、統合失調症患者の喫煙は一種の自己治療行動であるとも言われている。しかし、統合失調症の症状とニコチンの関係についての詳細は不明である。そこで、喫煙と統合失調症の関係を調べるため、フェンシクリジン (PCP) を慢性投与した統合失調症モデルラットを用いて、統合失調症患者で障害されるプレパルス抑制 (PPI) 試験に対するニコチンの影響を検討した。

実験には雄性 SD ラットを用いた。これらのラットは、対照群、ニコチン投与群、PCP 投与群および PCP+ニコチン併用投与群に分けた。ニコチン (0.4mg/kg, s.c.) および PCP (2mg/kg, i.p.) は、13 日間連続投与した。PPI 測定は、13 日目の薬物投与 10 分後に行った。また、禁煙状態を模して、14 日目にはニコチンの投与を行わずに PPI 測定を行った。

PPI試験では、対照群と比較して、ニコチン投与群、PCP投与群およびPCP+ニコチン併用投与群いずれにおいても障害される傾向を示した。とくにPCP+ニコチン併用投与群ではPPIの障害が顕著であった。禁煙状態におけるPPI測定では、ニコチン投与群では対照群との間に差は認められなかったが、PCP+ニコチン併用投与群では、PPI試験の障害が増悪していた。

これらのことから、ニコチンはPPI試験を障害することが明らかになった。さらに、PCPの慢性投与による統合失調症モデルラットでは、ニコチンの休薬により、PPIの障害が増悪することが明らかとなった。以上から、喫煙習慣のある統合失調症患者が禁煙すると統合失調症の症状を悪化させ、これを防ぐために喫煙行動を増加させている可能性が示唆される。

ラットのアナフィラキシー低血圧時の肝内血液は減少する-超音波クリスタル法による肝体積測定-

高野博充、張 威、崔 森、芝本利重

金沢医科大学・生理機能制御学 2

イヌでは、出血性ショック時に動員される血液量の 65%が内臓血液が担う。一方、アナフィラキシーショックでは肝臓が鬱血して有効循環血液量が減少する。しかし、ラットのアナフィラキシー低血圧時の肝血液量の増減は不明である。我々は灌流肝のアナフィラキシーでは前類洞優位の血管収縮により肝重量が低下することから、“ラットアナフィラキシー低血圧では肝内血液が駆出される”との仮説を立てた。今回、組織の厚みが測定できる超音波クリスタル装置を用いて、プローブ 4 個で四面体を形成し、その体積を測定することにより SD ラットのアナフィラキシー低血圧時の肝血液動態を調べた。

【方法】(1)摘出灌流肝の検討：ヘパリン加自家血にて定流量灌流した肝臓の中葉に 4 個の超音波クリスタルプローブを四面体の各頂点を形成するように糸で固定し、各プローブ間の距離（六辺）から四面体の体積を算出した。血流量を変えたときと Norepinephrin (NE) 投与時の四面体の体積変化と肝重量の変化を測定し、両者の関係を調べた。

(2)アナフィラキシー低血圧時の検討：ラットに卵白アルブミンを皮下投与して感作し、二週間後に実験を行った。ペントバルビタール麻酔下に開腹し、門脈圧、体血圧を測定し、抗原を静注してアナフィラキシー低血圧を惹起した。4 個のプローブを摘出灌流肝と同様に肝中葉に装着し、体積を測定した。

【結果】摘出灌流肝では、NE投与時には肝臓の体積が減少し、血流量を増減すると肝臓の体積も増減した。これらの肝体積の変化と肝重量の変化はよく相関した ($R^2=0.66$)。アナフィラキシー低血圧を惹起すると門脈圧の上昇とともに肝臓の体積が急速に 6%減少し、門脈圧が回復するまで続いた。

【結論】超音波クリスタル法で測定した肝臓の体積は肝重量の変化とよく相関し、肝内血液の変動を反映することが示唆された。ラットアナフィラキシー低血圧時には肝臓の体積が減少し、肝重量と体積の関係から肝重量の 10%の肝内血液が体循環系に駆出されることが示唆された。

吻側－尾側と左側－右側方向の直線加速に対する前庭－動脈血圧応答の可塑性

安部 力、田中邦彦、森田啓之

岐阜大学・医学部・生理学

我々はこれまで、重力変化に対する動脈血圧応答が前庭系を破壊することで抑えられることから、前庭－動脈血圧反射の存在を報告してきた。また、ラットを過重力環境下で飼育することにより、前庭系と前庭系以外を介する動脈血圧調節システムに可塑性が生じ、無重力暴露時の動脈血圧応答が抑えられることがわかった。しかしながら、前庭系は垂直方向だけではなく、あらゆる方向の直線加速を感知していることから、垂直方向以外の重力変化に対しても前庭－動脈血圧応答が存在し、この動脈血圧応答は過重力環境下飼育によって抑えられる可能性が考えられる。この仮説を明らかにするために、前庭系を破壊したラットと2 G 環境下で出産・飼育したラットを用いて、吻側－尾側と左側－右側方向への1 G 直線加速刺激に対する動脈血圧応答を測定し、1 G 環境下飼育ラットの応答と比較した。1 G ラット(n=18)の各直線加速に対する動脈血圧変化は、尾側→吻側で 23 ± 1 mmHg, 吻側→尾側で 18 ± 1 mmHg, 左側→右側で 19 ± 1 mmHg, 右側→左側で 21 ± 1 mmHg 増加した。この動脈血圧応答は前庭系を破壊したラット(n=10)で有意に抑えられた(尾側→吻側: 9 ± 1 mmHg, 吻側→尾側で 7 ± 1 mmHg, 左側→右側で 6 ± 1 mmHg, 右側→左側で 8 ± 1 mmHg)。また、2 G ラット(n=10)でもこの動脈血圧応答は有意に抑えられた(尾側→吻側: 15 ± 1 mmHg, 吻側→尾側で 10 ± 2 mmHg, 左側→右側で 10 ± 1 mmHg, 右側→左側で 11 ± 1 mmHg)。このことから垂直方向の重力変化に対する動脈血圧応答と同様に、吻側－尾側と左側－右側方向の直線加速刺激に対しても前庭－動脈反射が存在し、長期の過重力暴露によって前庭－動脈血圧応答に可塑性が生じることが分かった。

マウス肺濃度感受性 Na⁺チャネル (Nac) 発現の発達に伴う変化

西村庸子、萩原央記、月江麻美、峰岸かつら、吉田 繁

近畿大学・理工学部・生命科学科

はじめに：濃度感受性 Na⁺チャネル (Nac; c: concentration) は細胞外の Na⁺濃度を感知して開閉する新型の Na⁺チャネルであり、電位や浸透圧変化に応じず、フグ毒 TTX に抵抗性を示す。Nac は血液脳関門を欠く脳部位・子宮・末梢神経・肺等での発現が報告されている。マウス胎仔肺では、「出生前に Nac タンパク質が増加し、出生後は急激に減少する」という報告がある。しかし、Nac のタンパク質量と発現に関与する mRNA の動向との関連性を調べた報告はないので、研究をおこなった。

方法：胎生 15 日目から生後 8 週齢の ICR マウスの肺を採取し、RT-PCR によって各発達段階の Nac mRNA 定量および、western blotting による Nac のタンパク質量定量を行った。

結果：胎生 15 日から 16 日目までは Nac mRNA はほとんど発現していなかった。しかし、胎生 17 日目から急激に増加し始め、生後 8 週齢に至るまで Nac mRNA 量は胎生 16 日目の 4～6 倍の高レベルを維持していることがわかった。また、胎生 15 日目では Nac タンパク質は発現していないことがわかり、胎生 17 日目から増え始めて生後 4 週齢には約 6 倍に増加し、生後 4 週齢から 8 週齢にかけては胎生 17 日目のレベルに減少していることがわかった。

考察：Nac の mRNA とタンパク質量の間に乖離がみられた原因として、Nac の mRNA からタンパク質への翻訳を制御する機構が存在しているか、Nac のタンパク質が生成された後でタンパク質の分解が促進されているのではないかと考えられる。また、実験データの分散はやや大きかったが、その原因の一つとしてメスの性周期の影響が考えられる。よって、Nac 発現とメス性周期との関係を調べている。

ラット吻側前障に於ける運動及び感覚性入力の収束

原 健一郎¹、澁谷浩司^{1,2}、石田寅夫^{1,2}¹鈴鹿医療科学大学・鍼灸学部・鍼灸学科、²鈴鹿医療科学大学・東洋医学研究所

本研究はラット *in vivo* 標本に於ける標識物質注入法、細胞内染色法及び細胞外記録法により、錐体路由来運動性入力と末梢感覚性入力が入力される吻側前障部に収束する事を示唆した。

前障は外包と最外包とに挟まれた終脳の一部で、吻尾方向に広がり多様な細胞集団からなることが Golgi 染色により明らかにされている。また標識物質注入実験は、その主要線維結合は広範囲な大脳新皮質との相互結合で、各部位により topography がある事を示している。しかしながら、新皮質以外の大脳皮質や皮質下構造との線維結合及び前障構成神経細胞の樹上突起並びに軸索に関する知見は乏しく、このことが前障機能が未だよく理解されていない一要因であると考えられる。そこで我々は種々の順行性・逆行性標識物質を用いて大脳皮質運動野と特に関連がある吻側前障の入出力系を調べ、また細胞内染色による細胞形態、特に入力部である樹上突起の分枝様式を詳細に調べる事により、吻側前障の機能を推察してきた。更にこの推察を裏付けるため延髄錐体及び末梢神経の電気刺激に対する吻側前障の反応を細胞外記録法により調べた。

実験結果より、吻側前障は視床の nucleus Gelatinosa (ネコでは n. Submedius) を介する末梢感覚性入力及び運動皮質からの運動性入力を受けることが示唆され、遠心性出力を運動皮質及び眼窩皮質に送ることが明らかにされた。視床 nucleus Gelatinosa - 眼窩皮質投射は痛みの情動面の情報処理に関わる系と考えられているので、吻側前障は痛みの情動情報を運動皮質に中継し、痛み記憶に基づく逃避行動発現に重要な機能を担っていると考察した。

大脳皮質口腔感覚野における細胞構築形成への歯牙の役割

増山有一^{1,2}、吉村 弘^{1,2}、須貝外喜夫²、加藤伸郎²、瀬上夏樹¹¹金沢医科大学・顎口腔機能病態学、²金沢医科大学・生理機能制御学

成長期における外部からの感覚情報は脳機能の発達に必要であると言われていいる。顎口腔領域に注目すると、発達期に多数の歯牙を喪失した場合、口腔機能低下に伴って脳への顎口腔からの情報量が低下し、口腔感覚情報処理の発達に影響が現れることが予想される。そこで、発達期歯牙喪失の大脳皮質における細胞構築形成への影響を調べた。Wistar系ラットを用いて実験を行った。生後2～3週に抜歯して流動食で飼育した群（A群）、生後5週以降に抜歯して流動食で飼育した群（B群）、非抜歯にて正常飼育した群（C群）に分類した。生後約7週の時点で、これら3群から口腔体性感覚野を含む脳切片および視覚野を含む脳切片を作製し、それぞれについてクレシルバイオレット染色法を行った。口腔体性感覚野および視覚野における皮質Ⅱ～Ⅵ層の幅に対するⅡ～Ⅳ層の幅の比率を計測し、歯牙喪失の影響について比較検討を行った。口腔体性感覚野の場合、3群間に有意差があることが分散分析より判明した。また、多重比較（Scheffé's test）によりA-B群間およびA-C群間についてはA群が有意に低値を示したが、B-C群間については有意差を認めなかった。視覚野については、3群間に有意差を認めなかった。生後2～3週間の抜歯は口腔体性感覚野における層構造発達に影響を与えたが、生後5週以降の抜歯では影響を与えなかった。また、視覚野については層構造に対する抜歯の影響を認めなかった。以上より、発達期の歯牙喪失が、大脳皮質口腔体性感覚野における層構造の発育に影響のあることが判明した。体性感覚野Ⅱ～Ⅵ層は外部感覚入力を直接受ける部分であるので、歯牙喪失によって顎口腔からの情報量が低下し、その結果、入力系神経細胞群の発育が抑制されたことが予想される。また、本研究で調べた歯牙喪失による細胞構築への影響は、5週以降の抜歯では起こらず、感受期の存在することが判明した。

扁桃体神経細胞においてモノアミン作動系は協調して遅い後過分極を誘起する

山本 亮¹、植田禎史^{1,2}、加藤伸郎¹

¹金沢医科大学・生理学、²京都大学・医学研究科・認知行動脳科学

扁桃体の神経活動と扁桃体に投射するモノアミン作動系の活動は、情動行動において大きな役割を果たしている事が知られている。今回我々は、ラットの脳スライスを用いて、外側扁桃体神経細胞からパッチクランプ記録を行い、ドーパミン・ノルアドレナリン・セロトニンが外側扁桃体神経細胞の興奮性をどのように調節しているかを調べた。外液に $50 \mu\text{M}$ のドーパミンを加えると、 $500\text{ms} \cdot 200\text{pA}$ の通電に対して、神経細胞は遅い後過分極を示した。この遅い後過分極は、カドミウムによるカルシウムチャネル阻害や BAPTA による細胞内カルシウムキレートによって消失した。また、細胞外カリウム濃度に応じて逆転電位が変化し、セシウム内液によるカリウムチャネル阻害で消失する事から、カリウム電流の減少によってこの過分極が生じる事が示唆された。さて、この後過分極は細胞外にドーパミンを加える事で誘起されたが、ノルアドレナリンやセロトニンの拮抗薬によって抑制された。また、ノルアドレナリン・セロトニンはそれぞれ同様の後過分極を惹き起こした。さらに、ノルアドレナリンとセロトニンを同時に外液に加えると、作用は加算され、単独の場合よりも大きな後過分極が観察された。これらの事から、扁桃体において、ドーパミン・ノルアドレナリン・セロトニンは協調して、神経細胞の興奮性を上昇させる事ができると考えられる。

トリ層状核における両耳間時間差検出の抑制性入力による向上

西野恵里、山田 玲、久場博司、大森治紀

京都大学・医学研究科・神経生物学

両耳間時間差 (ITD) は、水平方向の音源定位において重要な手がかりの一つである。動物が実際に経験し得る ITD (生理的 ITD) は左右の耳の間の距離に応じて決まるため、頭の小さな動物ほど生理的 ITD が小さく、特に低周波数の音の ITD 検出が困難とされる。ITD 検出精度を向上させる仕組みとして、抑制を用いたいくつかのシステムが提案されている。例えば、ほ乳類で ITD を最初に検出する神経核である内側上オリブ核 (MSO) は、グリシンによる抑制性の投射を受けることが知られている。スナネズミではこの抑制が速くて正確なタイミングで入ることにより MSO ニューロンの ITD 応答特性がずれ、生理的 ITD の範囲内で MSO の神経活動の変化量が大きくなるように調節されることが示されている。一方、鳥類で ITD を最初に検出する層状核 (NL) においては、GABA による抑制性入力の存在が知られており、これが ITD 検出精度の向上に寄与していると考えられてきた。GABA による抑制はグリシンと比較して時間経過が遅く、数マイクロ秒レベルの緻密な修飾には向かないと考えられるため、ほ乳類とは別のシステムであることが示唆される。以前、我々はトリ NL からの *in vivo* 単一細胞記録によって NL ニューロンの ITD 応答を調べ、低周波数領域の細胞において何らかの抑制性機構が働いている可能性を示した。今回の実験で、我々は NL に GABA 性の投射をしていることが知られる上オリブ核 (SON) を電氣的に破壊し、NL の ITD 応答がどのように変化するかを *in vivo* で調べた。その結果、SON は NL の低周波数領域の細胞に作用して ITD 応答のダイナミックレンジを音圧依存的に広げ、低周波数の音の ITD 検出精度を高めていることが示唆された。さらに ITD 毎の位相応答特性および神経計算論により、SON は NL における抑制作用に加えて、NL へ興奮性入力を送る左右の大細胞核の神経活動を調節し均衡させることによって ITD 検出精度を最適化することを明らかにした。

図形識別の必要性からみた注意の分配の継時変化

小野敬治、井上雅仁、宮地重弘、三上章允

京都大学・霊長類研究所・行動発現分野

<目的>日常生活の中ではさまざまな情報から必要なものを選択し、その情報に注意を向け行動に役立っている。ときには複数の刺激に同時に注意を向けたり、ある対象から別の対象へと注意の迅速な切り替えが必要である。本研究では、継時的に提示された 2 つの視覚刺激に注意を向ける時、2 つの刺激の提示間隔を変化させることにより、注意の分配の継時変化を調べた。

<方法>サルに以下の学習課題を訓練した。サルが画面中央を注視している時、左または右 9° の位置に大きさ 1° の赤の四角形を提示する。次に 1500ms から 2500ms のランダムな時間の後、対側視野に 68ms 間、大きさ 2.5° の三角形を提示する。サルはその三角形が上向きなら Go、下向きなら NoGo の反応を赤の四角形の明るさが変化した時に行う。三角形の提示から赤の四角形の明るさが変化するまでの時間は 100ms から 1500ms までのランダムとし、また三角形を提示しない試行も用意して正答率と反応時間を調べた。次に 2 つの図形間の距離を変えた。

<結果> (1) 三角形の提示から赤の四角形の明るさ変化までの時間が 200ms 以下のときは、正答率が低く、反応時間が延びた。(2) Go / NoGo 選択の必要な条件では、すべてが Go の条件よりも正答率が低下し、反応時間が延びた。

(3) 2 つの図形の提示位置の偏心度を上げると正答率は低下した。正答率の低下は刺激の図形識別が必要な時、また、図形識別の難易度が高い時に大きかった。

<考察>新しい視覚刺激が提示され、その刺激に注意がシフトするとあらかじめ提示されていた視覚刺激への注意が約 200ms 間低下することが示された。この変化は図形識別の必要性の有無や難易度と相関することから、新規刺激による単なる注意の誘導ではなく、随意的な注意機構と関連するものと思われる。

C57BL/6 マウスの視覚-運動情報変換の研究

田端宏充、松浦清人、河野憲二

京都大学大学院・医学研究科・認知行動脳科学講座

一般に、広視野の視覚刺激の動きによって、ゆっくりとした滑らかな眼球運動(OptoKinetic Response: OKR)が誘発されることが知られている。ヒトやサルなどの中心窩の発達した生物では、OKR の開始部分を特に追従眼球運動(Ocular Following Response: OFR)と呼び、短潜時で強い応答が観察されることから、視覚-運動情報変換の理想的な実験系の一つとしてこれまで研究が進められてきた。しかし、霊長類に比べて視覚系が未発達な齧歯類では、OKR の開始時に、脳の中でどのような情報処理が行われているのかということはいまだあまりよく分かっていない。今回、マウスの眼球運動計測システムを開発し、視覚運動情報変換の基本的性質を行動学的に調べたので報告を行う。輝度がサイン関数状に変化する白黒縞模様の視覚刺激を動かすと、約 130ms の潜時で滑らかな眼球運動が生じた。視覚刺激の空間周波数と速度を様々に変化させたところ、特定の時空間周波数に強い眼球応答を示した。強い眼球応答を引き起こすことができる視覚刺激の時空間周波数の範囲は、霊長類のそれに比べてずっと狭かった。さらに、全視野の動きではなく、空間内のローカルな動きの刺激によっても同様の眼球運動が生じうるか否かを調べる為に、視覚刺激を提示する場所を、複数の小さな円形の窓に区切った。それぞれの領域に様々な速度の刺激を混合して提示したところ、OKR の開始部では、それぞれの領域に提示した視覚刺激の性質を平均化した眼球運動が生じた。しかし、ひとたび運動が開始されると、眼球運動は、特定の種類の視覚刺激の性質を反映したものとなっていた。マウスの眼球運動は、最初は、網膜上のローカルな視覚刺激の動きの情報の **vector averaging** を反映したものとなり、運動開始後は **winner-take-all** のメカニズムに従って駆動されていると結論する。

ジストニアモデルマウスにおける大脳基底核ニューロンの活動様式

知見聡美^{1,2}、Pullanipally Shashidharan³、南部 篤^{1,2}¹生理学研究所・生体システム、²総合研究大学院・生命科学、³マウントサイナイ医科大学

ジストニアは、持続性または反復性の筋収縮により、体幹、四肢の異常姿勢や異常運動を示す疾患である。病態の解析を行うための適当なモデル動物が存在しなかったことから、正確な病態については、未だ明らかにされていない。早期発症の全身性ジストニアの原因として、torsinA をコードする DYT1 遺伝子変異が、すでに同定されている。本研究では、ジストニアの病態を明らかにすることを目的として、ヒト DYT1 変異遺伝子を組み込むことによって作製したジストニアモデルマウス (Shashidharan et al., Hum Mol Genet 2005, 14:125-333) において、大脳基底核ニューロンの活動を覚醒条件下で記録した。大脳基底核の出力核である脚内核 (霊長類の淡蒼球内節に相当) と黒質網様部、および淡蒼球 (同じく淡蒼球外節) ニューロンにおいて、自発発火頻度が正常動物に比べて著しく低く、長い活動休止期間を持つという異常な発火パターンが観察された。また、これらの核のニューロンは、大脳皮質運動野の電気刺激に対して、長い抑制を伴う異常な応答パターンを示すことがわかった。以上の結果から、脚内核、黒質網様部および淡蒼球ニューロンの活動低下と、大脳皮質からの入力に対する異常な応答パターンが、異常運動の発現に関与していることが示唆された。

運動野から入力を受けるサル被殻投射ニューロンの運動課題遂行中の活動様式

高良沙幸^{1,2}、畑中伸彦^{1,2}、高田昌彦³、南部 篤^{1,2}

¹生理研・生体システム、²総研大、³東京都神経研・統合生理

大脳基底核の主な入力核である線条体は、霊長類において被殻と尾状核からなり、大脳皮質一次運動野 (MI) や補足運動野 (SMA) からの入力は主に被殻に終止する。これまでの解剖学的、電気生理学的研究によれば、MI と SMA の投射領域は被殻において内外側に分離し、その中間部で重なり合うことが知られている。しかし実際の運動中に、MI や SMA から入力を受けている被殻投射ニューロンがどのような活動を示すかは明らかではない。そこでサルから被殻投射ニューロンを記録し、MI や SMA の上肢領域からの入力を同定した後、運動課題を遂行させ、その活動様式を調べた。被殻投射ニューロンは大脳皮質の電気刺激に対する応答により、MI からのみ入力を受けるもの、SMA からのみ入力を受けるもの、そして MI と SMA の両方から入力を受けるものに分類した。その後、サルに 3 方向のうち手がかり刺激で指示されたターゲットに、遅延期間ののち上肢を用いて到達するという運動課題を課した。その結果、MI からのみ入力を受けるニューロンは主に運動時に活動を示し、SMA からのみ入力を受けるニューロンは運動時の他、手がかり刺激や遅延期間中にも活動を示した。そして MI と SMA の両方から入力を受けるニューロンは中間的な活動を示した。また、MI からのみ入力を受けるニューロンは到達運動の方向に依存して活動量を大きく変えたのに対し、SMA からのみ入力を受けるニューロンはその傾向が少なかった。これまで報告された MI や SMA の活動と比較してみると、本実験での被殻投射ニューロンの活動は、投射元の皮質の活動と類似している。以上の結果から、被殻投射ニューロンの活動様式は入力源である大脳皮質に大きく依存していると考えられる。

カルシウムチャンネルが海馬 CA1 シナプス伝達長期抑圧の誘導の閾値調節をしている可能性について

宇田川理恵¹、中野真人¹、野村泉美²、武地 一²、加藤伸郎³

¹京都大学大学院・医学研究科・認知行動脳科学、²京都大学大学院・医学研究科・加齢医学、³金沢医科大学・生理機能制御学

本研究は海馬 CA1 領域でのシナプス伝達長期抑圧の誘導におけるカルシウムチャンネルの役割について調べた。長期抑圧の誘導にはシナプス後細胞内でのカルシウムイオン濃度の上昇が必須であるが、カルシウムイオンの流入経路は複数あり、それぞれの経路は長期抑圧の誘導で固有の役割を果たしていると考えられる。我々は幼若ラットの海馬スライス標本を用いて、細胞外カルシウムの主な流入口である、T 型カルシウムチャンネル、L 型カルシウムチャンネル、NMDA 受容体のそれぞれの長期抑圧誘導における役割について検討してきた。900 回の刺激を 0.5、1、2 Hz の頻度で施したところ周波数に応じて程度の異なる長期抑圧の誘導が観察され、また全ての刺激周波数で NMDA 受容体依存的であった。遮断剤を用いた実験から、T 型カルシウムチャンネルは長期抑圧の誘導に関与していないと考えられた。L 型カルシウムチャンネルは、遮断剤を用いた実験で 0.5Hz 刺激で長期抑圧を促進させたことから、通常の状態では 0.5Hz 刺激での長期抑圧の誘導を抑制する働きがある可能性が考えられた。この働きは小胞体のカルシウム貯蔵枯渇剤を併用すると打ち消されることから、小胞体のカルシウム放出と関係があることが示唆された。さらに共焦点レーザー顕微鏡を用いたカルシウムイメージングにより、低頻度シナプス刺激時の樹上突起における周波数別カルシウム流入の実態の詳細を明らかにする。

無線型 3 軸加速度センサを使った転倒経験者の歩様解析と歩行の可視化

香川真二¹、眞渕 敏¹、木村愛子²、前田真依子²、千田 廉³¹兵庫医科大学病院・リハビリテーション部、²兵庫県立総合リハビリテーション病院、³甲南大学・フロンティア研究推進機構

転倒事故を未然に防ぐには、転倒者の客観的な特徴量の抽出と解析、さらに早期の報知とリハビリなどが必要となる。本研究では転倒経験者における歩行運動の特徴量を無線型 3 軸加速度センサのデータから検討した。無線型加速度センサは小型で被験者への拘束が少なく、持ち運びが容易で実施環境に制限されない。我々は今日までに無線型 3 軸加速度センサから得られる加速度変量をリサーチ図形により可視化し、視覚的に加速度変量を捉えることの有用性を提唱してきた。

兵庫県 A 市在住の 31 名の健常高齢女性（年齢：72.3 歳）を対象とした。歩行計測前に問診にて過去 1 年以内の転倒経験の有無を確認し、転倒経験のある者を転倒群、転倒経験のない者を非転倒群とした。第 3～4 腰椎付近（ヤコビー線上腰背部中央）に 3 軸加速度センサ（サンプリング周波数：200Hz、検出範囲：±4G）をサージカルテープにて直接取り付け、約 20m の歩行中の加速度データを計測した。歩行から得られた加速度変量からリサーチ図形を合成し、転倒群と非転倒群の各方向への偏位評価を行った。

問診の結果、転倒群は 9 名、非転倒群は 22 名であった。加速度変量をリサーチ図形として可視化した結果、転倒群は左右、上下および前後方向とも非転倒群と比較し、非対称でかつ振幅も大きく変動した。また、転倒群では身体前方への加速度変量を認める傾向にあった（ $p < 0.01$ ）。一般に歩行の時間・空間的パラメータの共通認識として性別・年齢を問わず、左右対称であることが健常データの基本的な条件とされている。そのため、加速度変量を可視化したリサーチ図形が極端に左右非対称であることは、脳や運動性疾病を呈している可能性が高い。歩行は前方への加速度を下肢により制御することで、円滑に移動する動作である。転倒群において、身体前方への加速度変量が認められたことは、前方への加速度の制御を行えていないことが推測される。

骨芽細胞におけるクロライド依存的な細胞周期調節

宮崎裕明¹、牧 昌弘^{1,2}、中島謙一¹、新里直美¹、丸中良典¹¹京都府立医科大学大学院・細胞生理学、²京都府立医科大学大学院・運動機能再生外科学

近年、細胞増殖・アポトーシス等の細胞生命・機能維持に果たす、細胞内イオン環境変化の重要な役割が多く報告されている。近年の我々の研究結果より、特に細胞内Cl⁻濃度変化が、細胞増殖のシグナルとして重要であることが示唆されるが、その詳細なメカニズムは現在も不明のままである。そこで本研究では、Cl⁻がMC3T3-E1 骨芽細胞の細胞増殖に対する影響を検討した。MC3T3-E1 骨芽細胞の増殖は、培養液中のCl⁻濃度 ([Cl⁻]_o) の減少に従って有意に抑制された。細胞周期の解析により、[Cl⁻]_oの減少は細胞周期のG₀/G₁期とG₂/M期における細胞数を増加させることが明らかとなった。そこで我々は、G₀/G₁期の進行を亢進させるRbとG₂/M期の進行を亢進させるcdc2 の活性と発現レベルについて、[Cl⁻]_oの減少が与える影響について検討を行った。その結果、MC3T3-E1 骨芽細胞では、[Cl⁻]_oを減少させるとRbのリン酸化、cdc2 の発現レベルが共に減少し、細胞周期の進行を抑制することが明らかになった。また、[Cl⁻]_oの減少によって引き起こされる細胞増殖抑制とRbとcdc2 の活性・発現レベルの低下は、2 mMのグルタミンの存在下では影響を受けなかった。従ってCl⁻とグルタミンは、相同なメカニズムによって細胞増殖をコントロールしている可能性が示唆された。本研究により、Cl⁻がRbとcdc2 の活性・発現レベルをコントロールすることが明らかとなった。以上のことから、細胞内Cl⁻濃度変化が細胞増殖を直接コントロールしている可能性が強く示唆された。

浸透圧・静水圧による細胞間隙コンダクタンスの調節

徳田深作、新里直美、丸中良典

京都府立医科大学大学院・医学研究科・細胞生理学

腎遠位尿細管における Na^+ 再吸収は体内のイオン環境・血圧の維持において重要な役割を果たしており、体内の浸透圧変化によって Na^+ の再吸収量は調節されている。経上皮のイオン輸送には、細胞自身を経由するもの（transcellular ion transport）と細胞間隙を経由するもの（paracellular ion transport）があり、浸透圧変化はtranscellular ion transportの制御により Na^+ 再吸収量を調節することが知られている。しかし、浸透圧のparacellular ion transportに対する影響についてはこれまでほとんど解明されていなかった。そこで我々はこれまでに浸透圧の細胞間隙イオン輸送に対する影響についての検討を行い、血管側と管腔側との浸透圧勾配により勾配の方向依存的に細胞間隙のイオンコンダクタンスが変化することを見出した。この結果を受け、本研究では静水圧のparacellular ion transportに対する影響についての検討を行った。血管側の静水圧の増加は細胞間隙イオンコンダクタンスを上昇させ、このコンダクタンス上昇は静水圧を元に戻すことにより速やかに回復した。また、管腔側の静水圧の増加や血管・管腔両側の静水圧の増加は、細胞間隙イオンコンダクタンスに対して著明な影響は与えなかった。これら結果より、paracellular ion transportは浸透圧だけでなく静水圧の勾配によりdynamicに調節されることが明らかとなった。

心筋細胞ミトコンドリア NCX

金 鳳柱、松岡 達

京都大学大学院・医学研究科・細胞機能制御学

心筋ミトコンドリアNCX (mNCX) のミトコンドリア膜電位 ($\Delta\Psi_m$) 依存性と細胞質 Na^+ 依存性を明らかにする目的で、サポニン透過性ラット心室筋細胞を用いてミトコンドリア Ca^{2+} (Ca^{2+}_m) と $\Delta\Psi_m$ を、Rhod-2とTMREを用いてそれぞれ測定した。Ruthenium Red (Ca^{2+} ユニポータ抑制剤) 存在下に、600 nM Ca^{2+} 液を灌流すると Ca^{2+}_m は僅かにしか上昇しなかったが、FCCP (プロトンイオノフォア) 投与による脱分極より Ca^{2+}_m は 4.1 ± 0.3 倍に増加した。この Ca^{2+}_m 増加はCGP-37157 (mNCX 阻害剤) により抑制され、 Ca^{2+}_m 増加はmNCXの逆交換によると考えられた。このとき、TMRE蛍光は 2.0 ± 0.1 倍に増加し、膜電位が過分極することが示唆された。これらの実験結果はmNCXが膜電位依存性であることを示唆した。しかし、FCCP脱分極時の Ca^{2+}_m 増加は、細胞質 Na^+ 非存在下には誘発されず、細胞質 Na^+ を増加するにつれて Ca^{2+}_m は増加し、見かけ上逆の Na^+ 依存性を示した。一方、細胞質 Na^+ 依存性 Ca^{2+}_m 排出 (mNCXの順交換) の初速度はFCCP投与による脱分極で変化せず、 Ca^{2+}_m 排出に伴う膜電位変化も見られなかった。 Ca^{2+}_m 排出の初速度は細胞質 Na^+ の増加に伴い増加した。

細胞膜NCXモデル ($3\text{Na}^+/1\text{Ca}^{2+}$ 交換) を基に、mNCXのコンピュータモデルを作成し解析したところ、実験条件下においては、mNCX順交換による Ca^{2+} フラックスは、負電位側ではほぼ飽和しているため、見かけ上膜電位依存性が見られないと予測された。一方、ミトコンドリア内 Na^+ 濃度が細胞質 Na^+ の約50%と仮定することで、mNCX逆交換による Ca^{2+} フラックスの膜電位依存性及び見かけ上の Na^+ 依存性を再現する事ができた。

Development of a Na⁺/H⁺ exchange model in cardiac myocyteChae Young Cha^{1,2}, Yung E Earm¹, Chiaki Oka², Satoshi Matsuoka², Akinori Noma²¹Department of Physiology, Seoul National University ²Department of Physiology and Biophysics, Graduate School of Medicine, Kyoto University

The Na⁺/H⁺ exchanger plays a central role in the regulation of intracellular pH and cell volume in cardiac muscle cells. Many experimental studies have been conducted to clarify the properties of Na⁺/H⁺ exchange. The experimental data might be divided into 3 categories: (1) The dependence of the Na⁺/H⁺ exchange on [Na⁺]_i, [Na⁺]_o, [H⁺]_i, and [H⁺]_o investigated using cardiac myocytes. (2) The forward and reverse modes studied under more drastic situation. (3) The turnover rate of individual Na⁺/H⁺ exchange molecule. Despite a pile of those experimental findings, no kinetic model has been established yet which could explain compatibly all the above measurements. Here, we have developed a model of the Na⁺/H⁺ exchange. First, 6-state and 8-state model schema were assumed to embody the process of ion binding and releasing. The intracellular H⁺ modulation site was also considered with Hill coefficients of 2 and 3. Then, Levenberg-Marquardt fitting method was applied to the experimental data of category (1) to search possible parameter sets of rate constants, dissociation constants for ion binding and Hill coefficients. In order to avoid species difference and temperature variation, the experimental data were only used from sheep Purkinje fiber at 37°C. Plenty of local minima of chi-square function were sought out by starting different points within a wide parameter range. Subsequently, the parameter sets were selected among the local minima, which satisfied both the reported turnover rate and the behavior of forward and reverse mode. As a consequence, comparison of the chi-square revealed that the 8-state model with Hill coefficient 3 was most appropriate. In addition, 12 parameter sets could be obtained to satisfy all the experimental results. By implementing this new Na⁺/H⁺ exchange model in the whole cell model, mechanisms underlying the pH homeostasis will be analyzed under physiological and pathophysiological conditions.

下垂体プロラクチン産生細胞の増殖に対するアデノウィルスベクター感染の影響

三井哲雄、王 振華、石田真帆、有田 順

山梨大学大学院・医学工学総合研究部・第1生理学

アデノウィルスベクターは、従来の方法では困難であった初代培養細胞や動物への遺伝子導入を可能にしたという点で高い評価を受けているが、その適用の限界に関しては詳細には調べられていない。本研究では、プロラクチン (PRL) 産生初代培養細胞の増殖に対するアデノウィルス感染の影響を検討した。非増殖性アデノウィルス ($\Delta E1, E3$) から、CMV promoter 調節下に β -galactosidase あるいは luciferase を発現するベクター (Ad-CMV/ β gal あるいは Ad-CMV/Luc)、テトラサイクリン誘導性に β gal を発現するベクター (Ad-Tet.On + Ad-TRE/ β gal)、蛋白非発現ベクター (Ad-emp) を作成し、ラット無血清培養下垂体細胞に感染させた。Ad-CMV/ β gal あるいは Ad-Tet.On + Ad-TRE/ β gal の感染は、(1) PRL 細胞の基礎増殖を促進した、(2) 増殖に対する forskolin (FK)、IGF-1 単独の作用および IGF-1 存在下の estradiol (E2)の抑制作用には影響を及ぼさなかった、(3) FBS の作用および charcoal 処理血清あるいは FK 存在下の E2 の促進作用を消失させた。この FBS の作用の消失は Ad-CMV/Luc 感染によっても見られたが、Ad-emp 感染では見られなかったことから蛋白発現によることが示された。一方、基礎増殖の促進、および charcoal 処理血清あるいは FK 存在下の E2 の促進作用の消失は、Ad-CMV/Luc だけではなく Ad-emp 感染によっても見られたことから、アデノウィルス感染自身によることが示された。以上の結果より、PRL 細胞の増殖に対してアデノウィルスベクターは増殖刺激依存性に重大な影響を及ぼすことが明らかとなった。

エストロジェンの摂食量抑制作用

岡本修一、清水真紀、成田和巳、市丸 徹、村田拓也、樋口 隆

福井大学・医学部・統合生理学

エストロジェンには摂食量を抑制し、自発運動量を増加させる作用がある。ラットは性周期に伴う摂食量と自発運動量の周期的変動を示し、エストロジェンの血中濃度の上昇が、最大の摂食量と最小の自発運動量をもたらす。このことは、卵巣を摘出したラットに、エストロジェンを補充する実験によっても確かめられている。このエストロジェンの作用機構は、十分には明らかでないが、摂食量の調節に関しては、コレシストキニン(CCK)の摂食抑制作用を増強するという説が有力である。この説に対する反論があるので、本実験では、CCK の摂食抑制作用を仲介する CCKA 受容体を欠いた Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF)ラットを用いて、エストロジェンの摂食抑制作用が CCK を介するの否かを検討した。OLETF ラットとその対照群の Long-Evans Tokushima Otsuka (LETO)ラットを、大塚製薬徳島研究所から提供を受けた。規則的な4日の性周期を示す OLETF ラットと LETO ラットは、発情期に摂食量が減少し、行動量測定装置で調べた自発運動量が増加した。エーテル麻酔下で卵巣を摘出すると、OLETF ラット、LETO ラットともに、摂食量の増加と自発運動量の減少がみられた。卵巣摘出ラットに、エストラジオールベンゾエイト ($20 \mu\text{g}$) を投与すると、摂食量の減少と自発運動量の増加が観察された。本実験の結果は、エストロジェンの摂食量抑制作用は CCK を介する、という説を支持しない。以前の実験結果との差が生じた原因は明らかでないが、最近、エストロジェンは、視床下部弓状核に存在して、エネルギー代謝を調節している、ニューロペプチド Y 神経系 (摂食促進系) とプロオピオメラノコルチン神経系 (摂食抑制系) に直接作用するという報告がなされている。今後はエストロジェンの摂食量抑制作用と自発運動促進作用が、脳のどの部位で、どのような機構で発現するのかを検討していきたい。

マウスにおける高脂肪食の体内リズムに与える影響

向阪 彰^{1,2}、前田正信¹、Joseph Bass²¹和歌山県立医科大学・医学部・生理学第二講座、²ノースウェスタン大学・神経生物学・生理学部

分子生物学的手法の進歩は、哺乳類において時計遺伝子群からなる分子時計の仕組みを解明してきた。近年、この分子時計が、単に概日リズムを刻むためだけに存在するのではなく、体内時計とは一見関係がないように思われる様々な生理機能をも制御することが明らかになってきた。特に、糖・脂質代謝を含めたエネルギー調節における時計遺伝子の役割の発見は、この領域における大きな進歩と言える。最近になって、分子時計と代謝それぞれに関わる転写因子間に相互作用があることが次々と報告され、この事実は、エネルギー代謝に変化が起きると体内リズムも変化するを示唆してきた。しかしながら、代謝の変化が実際にどのように体内時計のシステムに影響を与えるかは未だに明確ではない。そこで、我々は、マウスに高脂肪食を与えて、代謝異常が生じる過程での体内リズムの変化について、行動生理学的に、そして分子生物学的に検討した。まず、恒暗条件および明暗条件下で高脂肪食が行動リズムに与える影響を調べた。興味あることに、恒暗条件下での高脂肪食はマウスの概日周期を著明に延長した。また、明暗条件下において、高脂肪食は行動リズム、特に摂食行動のリズム振幅を著明に減少させた。さらに、高脂肪食による行動リズムの変化を分子生物学的に検討するために、代謝に関連した組織内の時計遺伝子、および代謝を制御する分子の日内リズムを調べた。その結果、高脂肪食群における視床下部の摂食調節神経ペプチド、および肝、脂肪組織の時計遺伝子は、対象群に比べてリズム振幅が著しく減弱あるいは消失していた。以上の結果から、高脂肪食による生体内のエネルギー調節機構の変化は、体内リズムを分子レベルおよび行動生理学的レベルで変化させることが示唆された。

胃酸分泌刺激に伴う細管小胞膜の胃プロトンポンプ活性変化のメカニズム

高橋佑司¹、降矢裕史¹、田渕圭章²、五十里 彰³、坂本尚登⁴、内藤一郎⁵、真鍋康二⁵、内田信一⁶、佐々木 成⁶、浅野真司⁷、森井孫俊¹、竹口紀晃¹、酒井秀紀¹

¹富山大学大学院・医学薬学研究部・薬物生理学、²富山大学・生命科学先端研究センター、³静岡県立大学・薬学部、⁴北里大学・医学部、⁵重井医学研究所、⁶東京医科歯科大学大学院、⁷立命館大学・情報理工学部

胃酸分泌細胞において酸分泌刺激に伴い胃 H^+,K^+ -ATPaseに富む細管小胞膜が分泌側膜につながると考えられている。本研究では、細管小胞膜に存在する胃 H^+,K^+ -ATPaseの性質が酸分泌刺激時と休止時で異なるのかどうかを検討するため、刺激時細管小胞由来のベシクル (TV-S) と休止時細管小胞由来のベシクル (TV-R) を調製して実験を行った。また、TVに発現しており H^+,K^+ -ATPase活性を上昇させることを見出してきたCLC-5との関連性についても検討した。

TVはブタ胃粘膜から遠心分別法で調製した。TV-SとTV-Rにおける H^+ 取り込み活性を比較した。 H^+,K^+ -ATPaseの特異的阻害剤であるSCH 28080 (50 μ M) 感受性 K^+ -ATPase活性を H^+,K^+ -ATPase活性とした。ベシクルを1% CHAPSで処理後、ショ糖密度勾配遠心法によって、不溶性画分 (DRM) の分離を行い、 H^+,K^+ -ATPaseとCLC-5の分布を脂質ラフトマーカーflotillin-2の分布と比較した。

TV-Sにおける H^+,K^+ -ATPase活性はTV-Rの1.3倍であった。 H^+ 取り込み活性は、TV-Sで高く、アニオン選択性は $NO_3^- > Cl^- > Br^- > gluconate$ であった。この選択性はCLC-5の場合と一致していた。TV-SとTV-Rにおいては、CLC-5と H^+,K^+ -ATPaseのほとんどが共にDRMに分布していた。 H^+,K^+ -ATPase活性は、メチル- β -シクロデキストリン処理により有意に減少し、水溶性コレステロール添加により回復した。以上より、胃細管小胞膜においてCLC-5は、 H^+,K^+ -ATPaseと同様に脂質ラフトに存在し、酸分泌刺激によりアニオン透過性の増大が起こり、 H^+,K^+ -ATPaseの活性化に関与しているものと考えられた。

酸感受性外向整流性クロライドチャネルの温度感受性とその役割

沼田朋大、岡田泰伸

生理学研究所・機能協関

最近、細胞外の酸で活性化されるアニオンチャネルが様々な種類の細胞で見つかってきている。しかしながら、この酸感受性外向整流性アニオンチャネル (ASOR: Acid-Sensitive Outward Rectifier) の生理的な役割については、いまだ不明である。ホールセルモードパッチクランプ法を適用してヒト上皮株HeLa細胞をpH 5.0以下の溶液に曝すと、アニオン選択的な外向整流性の電流が見出された。この酸感受性外向整流性チャネル電流は、低フィールドアニオン選択性を持ち、DIDS、フロレチンに感受性を示した。種々の細胞に発現するASORのpH依存性のEC₅₀は、室温(22°C)でpH 4.5と低いために、その役割は現在まで不明であったが、バス液の温度を37°Cに上げるとASORのpH依存性のEC₅₀がpH 5.4となり、生体内における病的な状況で機能する可能性が示唆された。pH 4.5の酸性条件化において、細胞死の検出をPI染色/ヘキスト染色にて行ったところ、PI陽性細胞の数の増大が見られた。さらにカスパーゼ3の活性がないことや核の凝縮が見られないことから、酸誘導性細胞死はネクローシス死であることが分かった。このpH 4.5の酸誘導性細胞死は、ASOR電流を阻害したDIDS又はフロレチンの添加によって救済された。さらに、ASORの活性を20°Cで抑制しておくと、pH 5.0の酸誘導性細胞死が救済された。以上により、ASOR活性化は、ヒト上皮株HeLa細胞においてネクローシス性細胞死誘導に関与すること、そしてDIDS、フロレチン又は低温によりASORを抑制することで酸誘導性の細胞死が救済されることが、本研究により明らかとなった。

三環系抗うつ薬 Nortriptyline によるアストロサイト内向き整流性 Kir4.1 チャンネル阻害の分子機構

古谷和春¹、大野行弘^{1,2}、日比野浩¹、稲野辺厚¹、倉智嘉久¹

¹大阪大院・医・分子細胞薬理、²大阪薬科大・薬・薬品作用解析

三環系抗うつ薬 (TCAs) 及び選択的セロトニン再取り込み阻害薬 (SSRIs) はうつ病の治療薬として汎用されている。近年我々は、代表的な TCAs 及び SSRIs がアストロサイト特異的に発現し、K⁺緩衝作用を担う内向き整流性 K⁺ (Kir) チャンネル Kir4.1 を選択的に阻害することを示してきた。これまでの電気生理学的解析により、TCAs である Nortriptyline は Kir4.1 のポア内に結合し、K⁺電流を阻害することが示唆されているが、未だ詳細な作用機序は不明である。

今回我々はチャンネルと阻害薬の構造的な相互作用を理解するため、Kir4.1 の一部をその他の Kir サブファミリーと置換したキメラチャンネル、及びポア領域のアラニンスキャンニング点変異チャンネルを作成し、それら変異体チャンネルへの薬物効果を電気生理学的手法により解析した。

[結果]

(1) Nortriptyline は Kir4.1 のポア領域を保持するキメラチャンネルのみを選択的に阻害した。

(2) Nortriptyline の Kir4.1 に対する阻害作用は、T128、Q150、L151 及び E158 をアラニンに置換することで著しく減弱した。

(3) アラニンスキャンニングの結果に基づき、Shaker の結晶構造を鋳型にした Kir4.1 チャンネルポアのホモロジーモデルによるドッキングシミュレーションを行なったところ、Kir4.1 の膜貫通領域である TM2 ドメインのポア親水性部分に面している T128、E158 が Nortriptyline との結合に直接関与することが示唆された。

[結語]

今回、Kir4.1 チャンネルの TCA による阻害機構を構造学的に理解することができた。阻害機構の構造-活性相関の解明は、選択性と阻害作用の強い薬物の論理的ドラッグデザインを可能にし、Kir4.1 チャンネルの生理機能及び病態への関与解明のための有効なツールの開発に繋がる可能性がある。

経皮的内耳電気刺激は姿勢・重力変化時のヒト動脈血圧応答を減弱する

田中邦彦、安部 力、栗津ちひろ、森田啓之

岐阜大学大学院・医学系研究科・神経統御学講座・生理学分野

内耳前庭系は重力変化を感知する。これまで我々は過重力、微小重力曝露時の動脈血圧 (AP) 調節に内耳前庭系が重要な役割を果たしていることを正常ラットおよび内耳破壊ラットを用いて証明してきた。さらに内耳電気刺激 (galvanic vestibular stimulation、GVS) が重力変化時の内耳由来の AP 調節を減弱させることをラットで証明した。内耳前庭系の同様な役割をヒトにおいても検証するため、非可逆的、侵襲的内耳破壊の代替法として、経皮的内耳電気刺激を用いて重力の方向(姿勢変化)および大きさ変化 (パラボリックフライト) 時の AP 応答を調べた。

12 人の健康被検者で仰臥位から 60° 頭高位への姿勢変化 (HUT)、仰臥位での下半身陰圧負荷 (LBNP)、7 人についてパラボリックフライト時、GVS (on) または GVS (off) それぞれの状態では AP と、体液シフトの指標として右腓腹筋周囲径を計測した。LBNP の負荷圧は腓腹筋周囲径が HUT 時と同等になる圧に設定した。HUT - GVS (off) では AP は維持されていたが、HUT - GVS (on) では仰臥位に比較して有意に低下 (-21 ± 3 mmHg) した。LBNP では GVS (on) で -20 ± 4 mmHg、GVS (off) で -21 ± 3 mmHg と、GVS の有無に関わらず HUT - GVS (on) 同様の AP 低下を認めた。腓腹筋周囲径はいずれの条件下でも同等であった。パラボリックフライトでは 2G 環境下で、1G 環境下に比較して 15 ± 3 mmHg と有意に AP 上昇を認めた。この上昇は GVS によって有意に抑制された (6 ± 3 mmHg)。これらの結果から GVS はヒトにおける内耳-動脈血圧調節系の研究に有用であること、重力の大きさ・方向変化時の動脈血圧調節に内耳前庭系が重要な役割を果たしていることが考えられた。

Leukotrienes and cyclooxygenase products mediate anaphylactic venoconstriction in ovalbumin sensitized rat livers

Sen Cui, Toshishige Shibamoto, Hiromichi Takano, Wei Zhang, Yasutaka Kurata

Department of Physiology II, Kanazawa Medical University

Hepatic anaphylactic venoconstriction is partly involved in anaphylactic hypotension. We determined the chemical mediators responsible for anaphylaxis-induced segmental venoconstriction in perfused livers isolated from ovalbumin-sensitized rats. Livers were perfused portally and recirculatingly at constant flow with diluted blood. The portal venous pressure (Ppv), hepatic venous pressure (Phv), liver weight and hepatic oxygen consumption were continuously measured. The sinusoidal pressure was measured by the double occlusion pressure (Pdo), and was used to determine the pre-sinusoidal (Rpre) and post-sinusoidal (Rpost) resistances. After antigen injection, both Ppv and Pdo increased, resulting in 5.6- and 1.6-fold increases in Rpre and Rpost, respectively. Liver weight showed a biphasic change of an initial decrease followed by an increase. Hepatic oxygen consumption significantly decreased after antigen. Anaphylaxis-induced increase in Rpre was most extensively inhibited by 38.6% by pretreatment with ONO-1078 (100 μ M, a cysteinyl leukotriene receptor-1 antagonist), among all antagonists or inhibitors administered individually including TCV-309 (20 μ M), AA-2414 (10 μ M), ketanserin (10 μ M) and indomethacin (10 μ M). Combined pretreatment with indomethacin and ONO-1078 exerted additive inhibitory effects and attenuated Rpre by 65.8%. However, TCV-309, a platelet activating factor (PAF) receptor antagonist, did not affect the anaphylactic response. In contrast, anaphylaxis-induced increase in Rpost was attenuated only by ONO-1078 combined pretreatment. The antigen-induced changes in liver weight and hepatic oxygen consumption were attenuated significantly when hepatic venoconstriction was attenuated. It is concluded that cysteinyl leukotrienes and cyclooxygenase products, but not PAF, are mainly involved in anaphylaxis-induced pre-sinusoidal constriction in isolated perfused rat livers.

無麻酔ラットのアナフィラキシー低血圧における一酸化窒素の役割

張 偉、芝本利重、崔 森、高野博充、倉田康孝

金沢医科大学・生理機能制御学

【目的】 アナフィラキシーショックの血圧低下の機序は十分には解明されていない。Cauwelsらは無麻酔マウスのアナフィラキシーショックにおいて一酸化窒素(NO)合成阻害が血圧低下と生存率を改善し、NOの関与を示唆した。さらに誘導型(iNOS)ではなく内皮型一酸化窒素合成酵素(eNOS)の関与を報告した(*J. Clin. Invest.* **116**:2244–51,2006)。しかしながら、麻酔下ラットではNO合成阻害は血圧低下を抑制するが生存率を低下させるとの報告がある。この差異が麻酔の影響によるか、無麻酔ラットのアナフィラキシー低血圧でeNOS, iNOS, 神経型一酸化窒素合成酵素(nNOS)の関与を検討した。

【方法】 卵白アルブミンで感作、2週間後に麻酔下にカテーテルを挿入後、2-3日後に無麻酔で体血圧(Psa)、門脈圧(Ppv)、心拍数を測定した。eNOS, iNOS, nNOSの阻害剤である、L-NAME, aminoguanidine (AG), 7-nitroindazole (7-NI)を前処置し、10分後に抗原を投与してアナフィラキシー低血圧を惹起した。

【結果】 対照群では抗原投与後4分にPsaは70mmHgに低下し、Ppvは32cmH₂Oまで上昇した。L-NAME投与はPsaを36mmHg上昇させた。その分、抗原投与後のPsa低下は有意に抑制された。AG群のPsa低下は対照群と有意差はなかった。一方、7-NI群はPsa低下とPpv上昇が有意に抑制された。48時間後の生存率は対照群が100%、L-NAME群は14%、AG群は71%、7-NI群では57%であった。

【結論】 無麻酔ラットアナフィラキシーの血圧低下にnNOSとeNOSは関与し、iNOSは関与しないことが示唆された。いずれの酵素を阻害しても生存率は低下し、NOの関与はラットではマウスと異なることが示唆された。

細胞外Na⁺濃度変動に対する培養マウス心筋細胞の応答

吉田 繁、郷原友哉、横田亜悠美、萩原央記、横井佐代子

近畿大学・理工学部・生命科学科

背景：心臓は、心房性ナトリウム利尿ペプチド (atrial natriuretic peptide; ANP) を分泌することによって体液Na⁺濃度の維持に関与している。「循環血液量増加による心房圧上昇がANP分泌を促す」というのが定説であるが、Na⁺を排泄させる数少ないホルモンであるANPを細胞外Na⁺濃度 ([Na⁺]_o) を全く検知することなく分泌していることに疑問を抱き、手始めとして[Na⁺]_o変動に対する心筋細胞応答を調べた。

方法：胎生 17 日～18 日または生直後マウスから初代培養した心筋細胞を用いた。この時期では、心房筋だけでなく心室筋にも多くのANPが存在している。心筋の拍動様式は家庭用ビデオで記録し、細胞内のNa⁺とCa²⁺濃度 ([Na⁺]_i および[Ca²⁺]_i) 変化はイオン感受性蛍光色素 (SBFI/AM・Fura-2/AM) を使用して浜松ホトニクス製画像解析装置ARGUS-50 で観察した。

結果：1) Na⁺濃度を増加 (140→190 mM) させると拍動数に有意な変化は生じなかったが拍動リズムは可逆的に不整となった。この時、[Na⁺]_iと[Ca²⁺]_iは大きく上昇していた。

2) Na⁺増加溶液と同等の浸透圧をmannitolで調整した溶液を灌流しても、拍動と細胞内イオンに有意な変化は生じなかった。

3) Na⁺ ionophoreであるmonensin (10 μM) 投与では、[Na⁺]_iと[Ca²⁺]_iの上昇と共に心筋細動が観察された。

4) Na⁺ を*N*-methyl-D(-)-glucamineで置換した無Na⁺ 液下では心筋は細動を起こし、[Na⁺]_i低下と一過性の[Ca²⁺]_i上昇が見られた。

結語：心筋機能と[Na⁺]_oには関連性があるという以上の結果を踏まえ、[Na⁺]_oを変化させた時の心臓からのANP分泌量を測定する実験に取り組む予定である。

洞結節細胞の分岐構造における結節内部位差：辺縁部細胞自動能の発現・維持における Na^+ チャネル電流の役割

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(第2生理)、²京都大学・細胞・生体機能シミュレーションプロジェクト、³鳥取大学大学院・医学系研究科・機能再生医科学

【目的】 洞結節細胞の電気生理学的特性には結節内部位差があり、自動能発生機序や分岐構造(自動能停止過程での安定性とダイナミクス)にも部位差があると予測される。本研究では、洞結節中心部及び辺縁部細胞モデルの分岐構造を比較解析し、自動能の発生機序及び構造安定性における結節内部位差(特に Na^+ チャネル電流 I_{Na} の役割)を検証した。

【方法】 中心部及び辺縁部細胞モデル(Zhang et al, AJP-HCP 279:H397-H421, 2000)の平衡点とダイナミクスのパラメータ依存性変化を示す分岐図を作成し、各電流系の抑制(コンダクタンスの減少)または過分極負荷(過分極通電・アセチルコリン投与・電気緊張性負荷)における分岐構造を比較した。さらに I_{Na} 抑制による辺縁部細胞自動能の構造安定性変化を解析した。

【結果】 1) 両細胞においてL型 Ca^{2+} チャネル電流($I_{\text{Ca,L}}$)抑制により平衡点は安定化し自動能は停止したが、 I_{Na} 除去では停止しなかった。2) 過分極通電における中心部細胞の平衡点不安定領域(自動能出現領域)は、 $I_{\text{Ca,L}}$ 抑制により消失したが、辺縁部細胞では消失しなかった。 $I_{\text{Ca,L}}$ 除去辺縁部細胞の不安定領域は I_{Na} 抑制により消失した。3) アセチルコリン投与または電気緊張性負荷における自動能消失の臨界値(分岐値)は、中心部に比べ辺縁部の方が高値であり、辺縁部の分岐値は I_{Na} 抑制により劇的に減少した。4) 過分極負荷時の辺縁部細胞自動能は $I_{\text{Ca,L}}$ 除去では停止せず、 I_{Na} 抑制で停止した。

【総括】 生理的状态での自動能は部位によらず $I_{\text{Ca,L}}$ 依存性であるが、過分極状態の辺縁部細胞では I_{Na} 依存性となり得る。過分極負荷に対する構造安定性は辺縁部細胞の方が高く、 I_{Na} が構造安定性強化に寄与している。

心筋 Na^+/K^+ ポンプ機能低下時のイオン・エネルギー恒常性とフィードバック機構、モデル考察

岡千晶^{1,2}、Bernard Korzeniewski^{1,2,3}、野間昭典^{1,2}

¹京都大学・細胞生体機能シミュレーションプロジェクト、²京都大学大学院・医学系研究科・細胞機能制御学、³Jagiellonian University, Poland

心筋 Na^+/K^+ ポンプは細胞内 Ca^{2+} 、pH濃度の恒常性、収縮機能の維持に欠かせない。ATP加水分解エネルギーを駆動力とするため、エネルギー枯渇時はイオン輸送能が低下し、細胞恒常性が破綻すると考えられる。しかし、細胞恒常性は、様々なイオンチャネルと交換体の連携により制御されるのであり、これらのフィードバック機構の全体像を明らかにすることは、恒常性破綻を回避する上で不可欠である。そこで本研究は、Jansenら(Am J Physiol, 2003, H2437-)のLangendorff灌流心臓を使った実験所見をコンピュータシミュレーションで再現し、エネルギー低下における恒常性破綻機序の解明を試みた。ミトコンドリアATP産生能を低下させエネルギー低下を誘発すると、実験同様、 Na^+/K^+ ポンプによる Na^+ 排出能が減弱し、細胞内 $[\text{Na}^+]$ が増加した。続いて、 $[\text{Na}^+]$ 増加は $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交換体による Ca^{2+} 排出を抑制し、細胞内 $[\text{Ca}^{2+}]$ も増加した。ただし $[\text{Na}^+]$ 、 $[\text{Ca}^{2+}]$ 増加は Na^+/K^+ ポンプ、 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交換体のイオン輸送を增强するため(負のフィードバック)、細胞は時間経過と共に新たな定常状態に達した。恒常性破綻はATP産生能をさらに弱めた時生じた。これには $[\text{Na}^+]$ と $[\text{Ca}^{2+}]$ 上昇に起因する3つの正のフィードバックが関与していた。1つは Ca^{2+} で活性化される非選択性陽イオン電流であり、余分な Na^+ 流入は Na^+/K^+ ポンプに負荷を与えた。2つ目は活動電位の形状変化に起因するL型 Ca^{2+} チャネルによる Ca^{2+} 流入の増加であった。3つ目は Ca^{2+} 増加に伴う収縮要素と Ca^{2+} ポンプによるATP消費拡大で、エネルギー低下をさらに促進させた。シミュレーション解析は、これら正のフィードバック機構が恒常性破綻の成否を決定する重要な因子であることを示した。

PSD-95 パルミトイル化酵素による AMPA 受容体の動態制御機構

深田正紀^{1,2}、則竹 淳¹、堤 良平¹、深田優子¹¹自然科学研究機構・生理学研究所・細胞器官研究系・生体膜研究部門、²科学技術振興機構・さきがけ

パルミトイル化修飾は多くのシグナリング蛋白質や膜蛋白質にみられる代表的な脂質修飾であり、蛋白質を特定の膜マイクロドメインに輸送し、その活性や機能を制御する。パルミトイル化は他の脂質修飾とは異なり可逆的であり外界刺激に反応して蛋白質の局在、機能を規定し、リン酸化やユビキチン化修飾と同様に様々な細胞機能をダイナミックに制御している。例えばイオンチャンネル型受容体を神経シナプス後膜に集積させる足場蛋白質PSD-95 はパルミトイル化依存性にシナプス後膜に濃縮し、シナプス機能を調節している。最近、私どもはPSD-95 を特異的にパルミトイル化する酵素(P-PATと命名)を同定し、P-PATがPSD-95 のパルミトイル化を介してシナプス機能を制御することを見出した。しかし、パルミトイル化反応の制御メカニズムは未だ全く不明である。今回、私どもはP-PATの活性が外界刺激(神経活動)によりどのように調節されているかを検討した。まず、^[3H]パルミチン酸を用いた代謝ラベリング法と ABE (Acyl-Biotin-Exchange) 法を用いて神経細胞における PSD-95 のパルミトイル化状態の変動を生化学的に測定した。海馬培養神経細胞をグルタミン酸受容体の阻害剤で処理したところ、PSD-95 のパルミトイル化レベルが著しく増加した。このPSD-95 のパルミトイル化レベルの上昇はP-PATのドミナントネガティブ変異体により阻害された。さらに、全反射顕微鏡を用いてパルミトイル化修飾を受けたPSD-95 を特異的に可視化すると、グルタミン酸受容体の阻害により膜近傍に存在するパルミトイル化PSD-95 の輝度および数が増加することが明らかになった。この増加はP-PATのドミナントネガティブ変異体により抑制された。以上の結果から、P-PATの活性はグルタミン酸受容体の下流で負に制御されていることが示唆された。現在、P-PATの活性がどのようにグルタミン酸受容体の下流で制御されているかを解析している。

後肢鍼刺激によって誘発される心拍数低下反応の神経性機序

鈴木敦子¹、志村まゆら¹、大沢秀雄²、内田さえ³¹健康科学大学・生理学、²筑波技術大学・保健科学部、³東京都老人総合研究所・自律神経部門

臨床的に鍼が心拍数を低下させることが知られているが、その神経性機序については結論が一定しない。今回、我々は鍼刺激によって誘発される心拍数低下反応の求心性および遠心性神経機序を、麻酔して情動の影響を除いたラットで、神経の切断および記録を行って調べた。

直径 0.16 あるいは 0.34 mm の鍼を後肢（下腿）の皮膚および皮下の筋に約 5 mm 刺入して、約 2Hz の頻度で左右に回転させる刺激を 1 分間行った。いずれの鍼刺激も心拍数を低下させた。1 分間の刺激終了時に刺激前と比べ、心拍数は 0.16 mm の鍼では約 14 beats/min, 0.34 mm の鍼では約 30 beats/min 低下した。この心拍数低下反応の求心路を検討するため、後肢刺激側の大腿神経および坐骨神経を切断したところ、鍼刺激による心拍数低下反応は完全に消失した。また、刺激部位の皮膚と筋を分離し、筋のみへ鍼刺激を加えると、心拍数は皮膚と筋の両方を刺激したときと同程度低下したが、皮膚のみへの刺激は心拍数に有意な影響を与えなかった。さらに鍼刺激によって誘発される心拍数低下反応の遠心路を検討するため、心臓支配の自律神経の切断実験を行った。鍼刺激による心拍数低下反応は、両側の迷走神経を頸部で切断しても有意な影響を受けなかったが、両側の星状神経節を除去すると消失した。さらに心臓交感神経の遠心性活動を記録したところ、0.34 mm の鍼刺激により神経活動は刺激終了時に刺激前の約 70% に低下した。

以上の結果から、後肢の鍼刺激は、筋からの求心性神経を求心路とし、心臓交感神経を遠心路として、反射的に心拍数を低下させることが示された。今回の実験条件においては、鍼刺激によって誘発される心拍数低下反応に迷走神経は関与しないことが示された。

食物嫌悪学習の成立に対する条件刺激の優先性と獲得条件

碓 哲崇¹、坂井信之²、勝川秀夫¹、杉村忠敬¹¹朝日大学・歯学部・口腔機能修復学講座・口腔生理学分野、²神戸松蔭女子学院大学・人間科学部・生活科学科

摂取する溶液の味質を条件刺激、その直後の内蔵不快感を無条件刺激としてラットに提示すると、その味質を嫌悪する学習を獲得する（味覚嫌悪学習）ことが知られている。しかしながら、一般に動物が摂取しているのは単なる味溶液ではなく、食物の温度や硬さなどの物理的性状を含有した複合刺激物である。本研究では、食物の化学的性質（味覚）を条件刺激として提示した場合と同様に物理学的刺激（硬さ・温度）などを条件刺激として提示した場合にも嫌悪学習が成立するの否かを調べた。さらに、条件刺激として、化学的刺激と物理的刺激の複合刺激を与えた場合に、動物がどの刺激を優先させて嫌悪学習を発現するの否かを行動学的手法により調べるとともに、これらの学習に参与する末梢神経および脳部位を、神経切断実験および脳局所破壊実験を行って調べた。

その結果、(1) 味覚を条件刺激とした場合と同様に、食物の温度や硬さを条件刺激とした場合にも、ラットは食物嫌悪学習を獲得する。(2) 化学的刺激と物理的刺激の複合刺激を条件刺激として提示した場合には、化学的刺激を優先した嫌悪学習を獲得する。(3) 食物嫌悪学習の獲得には味覚神経（鼓索神経および舌咽神経）は、必ずしも必要としない。(4) 化学的刺激・物理的刺激のいずれを条件刺激とした場合にも、嫌悪学習の獲得には、扁桃体が必要であること、などを明らかにした。

1 年間の高脂肪食と自発運動でラットの内臓脂肪はどうか

青木貴子

岐阜市立女子短期大学・食物栄養学科

生後 9 週齢のウィスター系雄ラットを約 1 年間飼育し、高脂肪食と自発運動が内臓脂肪に及ぼす影響を観察した。一般網ケージで飼育した物を非運動群、回転車輪つきケージで飼育した物を運動群とし、飼料は普通食と高脂肪食との 2 種類の群別を行った。

13 月齢の体重(g、平均±SEM)は非運動・高脂肪食群(sf 群、n=10)697±79、非運動・普通食群(sc 群、n=9)640±56、運動・高脂肪食群(ef 群、n=10)540±111、運動・普通食群(ec 群、n=9)486±47 だった。運動群より非運動群のほうが、また普通食群より高脂肪食群のほうが、重かった。飼料の差よりも運動群かどうかの差のほうが大きかった。また、高脂肪食群はばらつきが大きかった。

摂取エネルギー量(kcal/日)は sf 群 78.2±5.9、sc 群 76.5±5.6、ef 群 68.7±6.4、ec 群 68.4±6.0 で、運動群のほうが少なかった。飼料による差はなかった。

運動群の運動量には飼料による差はなかったが、個体差が大変大きかった。前半年のほうが後半年よりも運動量は多かった。後半年の運動量のもっとも多かったものは 7076m/日で、最も少なかったものは 63m/日だった。

59 週齢から 61 週齢の間にラットを解剖して、腸間膜・大網の重量を測定した。体重に対する割合(%)は sf 群 2.92±0.44、sc 群 2.69±0.47、ef 群 1.80±0.67、ec 群 1.23±0.34 で、sc 群より ef 群のほうが少なかった。体重・摂取エネルギー量とは正の相関があり、運動量とは負の相関があった。運動群のうち、非運動群の最小値 1.97%より多かったものは ef 群 3 匹、ec 群 1 匹のみであった。それらの運動量は 200m/日未満だった。

ラットの内臓脂肪を増やさないためには、飼料の脂肪を減らすことよりも運動できる環境を整えることのほうが有効であることがわかった。

雌性外生殖器リモデリングにおける軸索ガイダンス分子セマフォリンの新規作用機構の解析

湯川和典¹、白 涛²、田中哲二²、和気秀文¹、向阪 彰¹、上山敬司³、熊ノ郷淳⁴、菊谷 仁⁴、前田正信¹

¹和歌山県立医科大学・医・1 生理学、²産科婦人科学、³解剖学、⁴大阪大学・微生物病研究所

マウスは 5 週齢で性ホルモン分泌の急増する内部環境変化に伴い皮膚近傍の膣末端部にアポトーシスが誘導される結果、膣腔が皮膚に貫通し(膣開口)、生殖器発達がほぼ完成する。しかし、この生後に起きる組織リモデリング現象において、性ホルモン作用からアポトーシスに至るメカニズムの詳細は不明である。私共の解析から、セマフォリン分子群に属するセマフォリン 4 D (Sema4D)の欠損マウスでは、膣開口が起こらず膣閉鎖が発生することが判明した。セマフォリン(Semas)は従来、神経成長円錐の伸長方向を決める軸索ガイダンス分子として同定されてきた分子群であるが、免疫機能の遂行ならびに骨形成や血管新生など多彩な作用を発揮する。膣閉鎖の原因を探る解析から、5 週齢マウス膣末端部の膣上皮で検出されるアポトーシス細胞が、膣閉鎖を有する同週齢 Sema4D 欠損マウスで顕著に減少していることが判った。Sema4D のアポトーシス誘導作用を証明するため、Sema4D 欠損マウスに由来する培養膣上皮細胞にレコンビナント Sema4D を添加するとアポトーシス細胞が有意に増加することが判明した。従って Sema4D は 5 週齢マウスの膣上皮にアポトーシスを誘導し性ホルモン変化から惹起される組織リモデリング現象に non-redundant な役割を担うことが示唆された。さらに本発表では、Sema4D のアポトーシス誘導作用に関わる受容体と細胞内シグナル伝達経路について若干の解析結果も報告させていただきます。

延髄孤束核への Adrenomedullin 2 微量注入は循環調節に作用する

崔 鶴、和気秀文、向阪 彰、中村 健、湯川和典、畑田充俊、山崎寿也
Mohammad Eliusur Rahman Bhuiyan、幸田 剣、高岸美和、前田正信

和歌山県立医科大学・医・第二生理

Calcitonin/calcitonin gene-peptide (CGRP) ファミリーの新しいメンバーとして、Adrenomedullin 2 (AM2) /Intermedin は、多様な生物学的役割を果たすことが知られている。例えば、静脈と脳室内 (ICV) に AM2 を注入すると、心血管反応を生じることが報告されている。しかし、*in vivo* で延髄孤束核 (NTS) に AM2 を直接微量注入し、その循環調節への役割を調べた報告はない。今回、私達は NTS に AM2 を直接微量注入し、血圧と心拍数の変化を調べた。36 匹の Wistar ラットをウレタンで麻酔し、AM2 (10pmol、20pmol と 40pmol/100nl) を一側の NTS に微量注入した、その結果、有意な平均動脈圧 (MAP) と心拍数 (HR) の増加が見られた。人工脳脊髄液の注入は、MAP と HR に変化を与えなかった。以上より AM2 は NTS で循環調節に関与していることが示唆される。

母体の体位変換に伴う胎児の動きの解析

清水 強¹、三木猛生²、阿部詩織³、伊東千香³、上条かほり⁴、吉川文彦⁴、
浜 正子⁴、山崎将生⁵、挟間章博⁵、根津八紘⁴

¹諏訪マタニティークリニック・附属清水宇宙生理学研究所、²北里大・医・衛生公衆衛生、³諏訪マタニティークリニック・放射線部、⁴諏訪マタニティークリニック・産科・婦人科、⁵公立学校法人福島県立医大・医・細胞統合生理学

20 世紀後半は人類の宇宙進出の夢が現実となり、宇宙環境の人体に対する影響についても多方面から研究されるようになった。演者らも清水と山崎は多数の協力者と共に、微小重力の循環調節機構特にその生後発達への影響を追求し、幼弱ラットを用いたスペースシャトルでの実験の結果、動物が宇宙で育つ場合は地上飼育群に比して大動脈神経圧反射の感度は減弱し、求心路である大動脈神経の無髓線維数は少ないことなど新知見を得てきた。翻って 21 世紀を展望すると、人類は更なる集団として地球周囲の近宇宙を遥かに超えて進出して行く情勢となってきた。再び月へ更には火星へと、そこでの居住を目指す計画も具体化しつつある。こうしてひとが集団として新たな環境で長期に亘り暮すとなると、そこでの平和社会を建設するためにはセクシュアリティの問題の検討が必須となろう。そこで、われわれは数年前から宇宙開発に伴うセクシュアリティの科学的研究の必要性を提唱すると共に、就中その生殖機能への微小重力の影響について考察を重ねてきた。また、その研究の一つの糸口として地上での胎児に対する重力の影響について検討を始め、その一方法として、母体の体位変換に伴う胎児の子宮内位置の変化を観察することを試みた。本学会では、宇宙生理学への関心をより多くの研究者に期待すべく、既報の内容をまとめて紹介したい。概略は次の如くである。

実験は研究について理解と協力を得られた妊娠 12～15 週の妊婦で試みた。3次元動画像を記録できる超音波検査装置を用いて、母体を受動的に立位から仰臥位又はその逆方向に体位変換させ、その時の胎児の位置変化を連続的に観察記録した。この 3次元動画像を 2次元解析ソフトを用いて解析した。その結果、胎児は必ずしも母体の体位変換に伴う子宮の動きには追従せず、羊水中ではその浮力による緩衝と共に重力に抗してある位置を保つ傾向のあることが示唆された。

ヒト胃ガン細胞におけるアクアポリン-5 の生理機能

酒井秀紀¹、藤井拓人¹、渡邊智子²、藤田達磨¹、高橋佑司¹、森井孫俊¹、堀川直樹²、塚田一博²、竹口紀晃¹

¹富山大学大学院・医学薬学研究部・薬物生理学、²富山大学大学院・医学薬学研究部・第二外科

胃において水チャネルのアクアポリン (AQP) は、少なくとも 4 つのアイソフォームが発現している。本研究では、ヒト胃ガン組織および近傍の正常組織における AQP3、AQP4 および AQP5 の発現について調べ、AQP5 のヒト胃ガン細胞株における機能について検討した。

ヒト胃組織は、当大学倫理委員会の承認のもと、当大学附属病院で胃ガン摘出手術を受ける患者のインフォームドコンセントを得て入手した。各 AQP の発現は、ウエスタンブロット、免疫組織染色により検討した。ヒト AQP5 をエンコードする全長 cDNA を pcDNA4/His ベクターに組み込み、ヒト低分化型胃ガン由来細胞株 (MKN45) にトランスフェクトした。

胃上部あるいは中部のヒト胃ガン組織および近傍の正常粘膜組織における AQP3、AQP4 および AQP5 タンパク質の発現量を検討したところ、興味深いことに AQP5 が intestinal type の胃ガン組織において顕著に発現上昇していることを見出した。一方 AQP3 および AQP4 についてはガン組織における有意な発現は見られなかった。MKN45 細胞に AQP5 を強制発現させると形態的に分化した細胞数が有意に増加した。AQP5 の発現により、alkaline phosphatase 活性の上昇およびラミニン発現量の増大が引き起こされた。この AQP5 発現細胞の細胞分化は HgCl₂ 処理により濃度依存的に阻害されたが、AQP5 が発現していないコントロール細胞の分化は HgCl₂ 処理により影響を受けなかった。AQP5 発現細胞の分化は、細胞外溶液の浸透圧に依存しており、高張条件下の場合に分化がより促進された。以上の結果から AQP5 はヒト胃ガン組織において、ガン細胞の分化機構に関与しているものと考えられた。

モルモット胃輪走平滑筋における自発活動頻度の部位による差異

早瀬麻沙、鬼頭佳彦、橋谷 光、鈴木 光

名古屋市立大学大学院・医学研究科・細胞生理学

モルモット胃平滑筋は、平滑筋の間に分布するカハールの介在細胞（ICC）で発生する電位を起源とする緩電位（slow wave）を律動的に発生している。モルモット胃には2つのICC亜型が分布している：ICC-IMは平滑筋束内に分布しており、一般的に紡錘形をしている；ICC-MYは輪走筋と縦走筋の間の壁内神経叢に並列して分布し、細胞体から多くの分枝を出し互いにギャップ結合している。これらのICCは平滑筋ともギャップ結合している。緩電位は胃体部から幽門部に分布する輪走平滑筋から記録でき、その波形、振幅、頻度には部位差が観られる。緩電位発生の頻度について調べたところ、体部で最も高く、幽門部や噴門部にいくに従って低くなり、幽門部での頻度は体部の30～50%であった。緩電位の頻度とICCの亜型の分布との関係について検討したところ、これらの電気活動の部位差はICC-IMの性質の違いによると思われた。そこでICC-IMを含む輪走平滑筋を体部と幽門部から摘出し、両筋束から記録される緩電位の頻度の差異について比較検討した。体部と幽門部では平滑筋の静止膜電位に6～10mVの差（体部-55～-62mV；幽門部-60～-70mV）があったので、緩電位の頻度に及ぼす膜電位の効果を調べた。膜は外液カリウムイオン濃度（K濃度）を上昇させて脱分極させ、又は通電により脱分極あるいは過分極させた。体部平滑筋を過分極させると緩電位の頻度は低下し振幅は増大した。通電あるいはK濃度上昇により幽門部平滑筋を脱分極させると、いずれの方法でも緩電位の頻度は増加し振幅は減少した。しかし幽門部平滑筋の膜電位を体部平滑筋と同じレベルにしても、緩電位の頻度は幽門部のほうが有意に低かった。以上の結果から、モルモット胃平滑筋における緩電位の発生頻度には電位依存性があり、脱分極すると増加し過分極すると減少するが、静止膜電位の違いだけでは部位による頻度の差は説明できないことがわかった。

心筋KCNQ1チャンネルとKCNEタンパク質の機能的会合

豊田 太、丁 維光、松浦 博

滋賀医科大学・医学部・細胞機能生理学

膜電位依存性K⁺チャンネルのKCNQ1は、KCNE1と会合し心筋遅延整流性K⁺電流の遅い成分 (I_{Ks}) を構成することが知られている。一方、心臓には他のKCNEタンパク質 (KCNE2からKCNE5) も発現しており、KCNQ1はこれらとも機能的に会合し I_{Ks} とは異なる性質のK⁺電流を構成している可能性がある。本研究では、KCNE2ならびにKCNE3による心筋KCNQ1チャンネルの機能調節についてパッチクランプ法を用いて検討した。KCNQ1を安定的に発現したCHO細胞にKCNE1を導入すると心筋 I_{Ks} と類似の電流が得られるが、KCNE2やKCNE3を導入すると常時活性化型のK⁺電流が誘発した。そこでKCNE1とKCNE2を同時に導入すると、 I_{Ks} と類似の時間依存性電流のみが記録されたが、KCNQ1/KCNE1電流とは少し性質が異なっていた。一方、KCNE1とKCNE3を共発現すると、KCNQ1/KCNE1電流とKCNQ1/KCNE3電流の合算電流が誘発した。このことから、KCNE2やKCNE3はKCNE1存在下でもKCNQ1と機能的に会合できることが示唆された。次に、モルモット心室筋細胞にRNA干渉法を適用し、KCNE1、KCNE2ならびにKCNE3の発現抑制が全細胞膜電流ならびに活動電位におよぼす効果を検討した。KCNE1あるいはKCNE2を標的としたsmall interfering RNA (siRNA)を導入すると I_{Ks} が50-70%抑制された。一方、KCNE3のノックダウンは、 I_{Ks} に影響をおよぼすことなく活動電位の延長を引き起こした。これらの結果は、モルモット心筋再分極過程にKCNE1のみならずKCNE2やKCNE3も寄与している可能性を示唆している。

魚類の視神経再生の評価法について

加藤 聖¹、永島幹子²、郡山恵樹¹、杉谷加代²、松川 通¹¹金沢大学大学院・医学系研究科・脳情報分子学、²金沢大学大学院・医学系研究科・保健学

魚類（金魚やゼブラフィッシュ）の視神経を切断すると切断端から軸索が再伸長し視蓋に再投射され、やがて視機能も回復する。金魚の視神経を切断して再生過程を種々の形態学的、生理学的、生化学的および行動学的方法で評価した。形態学的には、まず、網膜神経節細胞（RGCs）の細胞体の大きさを調べた。切断後 RGCs の細胞体は徐々に肥大し、約 4 ヶ月で元に戻った。次いで、トレーサー WGA-HRP の眼球内注入による再生視神経の視蓋への投射について精査した。再生視神経は約 1 ヶ月で視蓋に到達したが、正確なトポグラフィックな投射の回復は 4、5 ヶ月を要した。電気生理学的には RGCs のスパイク活動について調べた。RGCs のスパイク活動は切断後 5 日で消失し、その後 50～60 日で回復し始め、完全な回復は 4、5 ヶ月と長期間を要した。生化学的には、再生初期、軸索伸長期、再生後期毎に別個に発現する分子について調べた。それぞれ再生期別の役割を果たしていた。行動学的には、魚の定位行動と追尾行動について調べた。前者は約 1 ヶ月で、後者は約 6 ヶ月で回復した。

以上の実験結果から、金魚の視神経は、約 4～6 週で視蓋に連絡し、5、6 ヶ月でシナプス再編成が修了することが判明した。一方、ゼブラフィッシュの視神経再生は金魚の約半分 3～4 ヶ月で完了した。また、これら一連の長い再生過程とよく一致する発現を示す成長関連蛋白-43（GAP-43）についても報告したい。

トリ大細胞核神経細胞における Na チャネルの細胞内局在

久場博司^{1,2}、福井 巖¹、大森治紀¹¹京都大学大学院・医学研究科・神経生物学、²京都大学大学院・医学研究科・生命科学系キャリアパス形成ユニット

トリ大細胞核(NM)は聴神経からの入力を受け、音の時間情報を左右の層状核に伝える中継核である。NM では音の周波数に対応した機能局在があり、情報は特徴周波数(CF)領域毎に処理される。NM 細胞は CF に応じたシナプスの形状と伝達特性をもつことにより、各 CF 領域において音の位相に対して正確に活動電位を発生することができる。高〜中間 CF 領域の細胞では、少数の大型シナプス終末により、high fidelity な伝達が行われる。これに対して、低 CF 領域の細胞では、多数のブトン様シナプス終末の集積により、EPSP が加算され閾値に到達する過程で時間的にずれた入力が排除され、位相に同期した入力のみが活動電位を発生する。一方、活動電位を正確なタイミングで発生する上では、細胞内における Na チャネルの分布が重要であることが予想される。従って、今回我々は NM の各 CF 領域毎に Na チャネルの密度、細胞内局在を調べ、さらにこれらが NM 細胞の時間情報処理においてどのような役割を果たすのかについて検討を行った。

NM の低 CF 領域では高〜中間 CF 領域に比べて、Na 電流の電流密度が高く、活動電位の振幅も大きかった。また、Na チャネルに対する免疫染色によると、低 CF 領域の細胞では軸索起始部における Na チャネル集積部位の長さやチャネル密度が高〜中間 CF 領域の細胞に比べて大きかった。そこで、計算ソフト NEURON を用いてその機能的意義を検討したところ、低 CF 領域において Na チャネル密度が高いことは多数の小さなシナプス入力が加算される過程で、細胞が Na チャネルの不活性化と K チャネルの活性化に抗して、正確なタイミングで活動電位を発生する上で重要であることが明らかとなった。

トリ層状核神経細胞における新たな抑制機構の解明

山田 玲、奥田裕子、西野恵里、久場博司、石井孝広、大森治紀

京都大学・医学部・神経生物学

動物は両耳間時差 (ITD) を手がかりに音源定位を行う。ITD検出は脳幹の神経細胞が両側蝸牛神経核からの興奮性シナプス入力 of 同時検出器として働くことにより行われる。鳥類では層状核 (NL) 神経細胞が、哺乳類では内側上オリーブ核 (MSO) がその役割を担う。ITD検出において抑制性入力が必要な働きを持つことが知られている。哺乳類のMSOではグリシン作動性の抑制性入力が興奮性入力に対して一定の時間差で入ることが必要とされる。鳥類のNLにおける抑制はGABA作動性であり、上オリーブ核 (SON) が主な起源である。SON細胞は音圧情報を抽出する神経核からの入力を受け、音の強さに応じた抑制によりITD検出の精度を制御していると考えられているが、哺乳類のような時間情報を保持した抑制については知られていない。一方GABA作動性の介在神経細胞がNL周囲に存在することは知られているがその役割は不明である。今回の研究において鳥類のITD検出においても時間情報を保持した抑制が働いている可能性が示唆されたので報告する。音の情報処理は特徴周波数 (CF) ごとに行われ、NL細胞も CF領域ごとに整列している。このうち尾外側の低いCF領域の細胞 (low-CF細胞) において観察されるmIPSCの時間経過が他の領域の細胞に比べて約4倍早いことが分かった。この違いはGABA_A受容体 α 1サブユニットの発現量の違いによると考えられた。また蝸牛神経核からの興奮性投射線維を電気刺激するとlow-CF細胞においてEPSCに数ms遅れてIPSCが観察され、さらにこのIPSCはSONを除去した標本でも観察された。このことは鳥類NLのlow-CF細胞において哺乳類と同様に時間情報を保持した抑制性入力が介在細胞を介して働いている可能性を示唆している。さらにこの抑制のITD検出における役割について検討した。

大脳基底核疾患における視床下核－淡蒼球内節投射の重要性

橘 吉寿^{1,2}、岩室宏一^{1,3}、南部 篤^{1,2}¹生理研・生体システム、²総研大・生命科学、³東京大・院・脳神経外科

我々が日常おこなう合目的な行動は、大脳皮質と共に小脳・大脳基底核・視床といった皮質下構造の神経活動によって精緻に制御されている。なかでも、大脳基底核は、その機能異常によりバリスム、パーキンソン病、ジストニアといった運動障害が惹起されることから、運動発現に深く関与すると考えられている。

大脳皮質に端を発する運動情報は、大脳基底核に入力し情報処理された後、視床を介して、再度、大脳皮質に戻る事が知られている。これらの回路のなかで、淡蒼球内節は、大脳基底核の出力部に位置し、視床下核からグルタミン酸作動性の興奮性入力を、また、線条体と淡蒼球外節から GABA 作動性の抑制性入力を受けることで、そのニューロン活動は巧妙に制御されている。

これまで、大脳基底核疾患の運動障害に対する病態生理として、その本質的な要因を、淡蒼球内節ニューロンの発射頻度の増減に求める説 (DeLong, *Trends Neurosci.* 1990) と発射パターンの変化に求める説 (Bergman et al., *Trends Neurosci.* 1998) が提唱されてきた。今回、バリスムやパーキンソン病モデルサル淡蒼球内節ニューロン活動を記録したところ、発射頻度の増減に加えて、bursting や oscillation といった淡蒼球内節ニューロンの異常な活動パターンが観察された。また、淡蒼球内節におけるこれらの異常なニューロン活動は、視床下核から淡蒼球内節への異常入力に由来するとの結果を得たので報告する。以上の生理学的研究から得られた実験結果は、大脳基底核疾患に対して、臨床で行われている視床下核高頻度刺激療法のような定位脳手術の作用メカニズムを説明しうるのかもしれない。

追跡眼球運動の開始部における注意の効果

三浦健一郎^{1,2}、青木佑紀^{1,3}、田端宏充²、河野憲二²¹京都大学・ナノメディシン融合教育ユニット、²京都大学大学院・医学研究科・認知行動脳科学、³奈良先端科学技術大学院大学

追跡眼球運動は動く小さな視標を見る時に起こる滑らかな眼球運動である。本研究では、対象物に向ける注意が追跡眼球運動の開始部に及ぼす影響を調べるために、ヒト被験者が視標を追跡する時の眼球運動を Dual Purkinje Image Eye Tracker を用いて計測した。各試行は眼前に置かれた CRT モニタの中央に呈示された注視点を見ることで開始された。被験者が注視点を固視した後、注視点の左右 3deg を中心とする二つの小さなランダムドットパッチと画面中央に小さな矢印型のキューが呈示された(0.5-1s)。矢印型のキューは追跡すべき視標がどちらのランダムドットパッチかを示していた。その後、注視点とキュー、一方のパッチが消え、残りのパッチが右か左に 20deg/s で動いた。被験者はキューが示すパッチに注意を向け、それが動き始めた後できる限りすばやく追跡するように指示された。また、キューの形状がダイヤモンド型で、視標となるパッチが動き出すまで特定できない試行（コントロール条件）も用意し、その時の眼球運動も記録した。視標が動き始めてから 100ms 後から 70ms 間に起こった眼位の変化を調べた結果、視標が中心に向かって動く場合には矢印型のキューが呈示された条件での眼位の変化がコントロール条件で起こったもの比べて有意に大きいことがわかった。一方で視標が中心から離れる方向に動く時には同程度かやや小さいという結果を得た。この結果は、追跡眼球運動を起こす時の視覚運動変換のゲインが対象物に向ける注意によって方向特異的に増大したことを示唆する。追跡眼球運動の開始部の眼の動きについては、視標が中心に向かって動く時のほうが離れる方向に動く時よりも大きいという非対称性があることが知られているが、この結果は視標に向ける注意がその非対称性を形成する一因であることを示唆する。

網膜における V-ATPase の組織化学的局在：プロトンによるフィードバック仮説を支持する根拠

城宝 浩^{1,2}、中野健二¹、石川修司¹、佐野孝一¹、宍戸隆男¹、山本一徳²、金子章道³、山田雅弘²

¹アステラス製薬・安全性研究所、²首都大学東京大学院・生命科学、
³畿央大学大学院・健康科学部

網膜受容野における側抑制は、従来より水平細胞からの GABA を伝達物質とした錐体視細胞への負帰還(negative feedback)機構で説明されていた。しかし Hirasawa と Kaneko (2003)はイモリ網膜スライス標本を用いて錐体視細胞での周辺光応答の電流解析を行い、プロトンこそがこの負帰還の伝達物質であるとする「プロトン負帰還説」を示した。また城宝ら(2003)は鯉剥離網膜の水平細胞の分光感度応答に pH 依存性を見出したことから、色情報変換に関しても水平細胞からのプロトンによる負帰還が用いられている可能性を示唆した。今回、このプロトンによる新たな負帰還機構を明らかにする目的で、機能的及び組織化学的な証明を行った。

鯉・金魚の単離水平細胞を細胞外からpH感受性蛍光色素(5-hexadecanoyl-aminofluorescein)で染色しpH測定を行った結果、水平細胞の膜電位の脱分極量に比例して細胞外表面の酸性化が起ることを確認した。その酸性化は vesicular typeのH⁺ pump (V-ATPase)の特異的阻害剤bafilomycin A1 投与で阻害されたことからV-ATPaseがこの細胞外の酸性化をもたらす分子機構であることが示唆された。V-ATPaseの水平細胞の局在は蛍光抗体法により単離した水平細胞で確認された。さらに網膜構造が維持された網膜スライス標本においても光頭及び電頭による免疫組織化学的検証の結果、外網状層の錐体終末の陥入シナプス部位で、前シナプス側の小胞由来のV-ATPaseと共に、後シナプス側にも水平細胞のdendrite部位でV-ATPaseの局在が確認された。

以上の結果は、水平細胞の放出するプロトンにより錐体視細胞のCa²⁺電流が抑制され伝達物質放出の減少に至るプロトン負帰還説を、機能的ならびに組織化学的に支持するものである。

pcd マウスの視床神経変性に伴う大脳皮質の機能的変化

久宝真一

関西医科大学・生理学第2講座

目的： Purkinje cell degeneration (pcd) マウスの大脳皮質において、速波が異常に出現していたので、その神経機構について探索した。

方法と結果： 変性神経細胞を鋭敏に検出する Fluoro-Jade 染色により pcd マウスの中枢神経系を形態学的に調べた結果、pcd マウスでは小脳プルキンエ細胞以外に視床の神経細胞が変性していた。大脳皮質では明らかな変性神経細胞は認められなかった。視床では、特殊核に属する外側腹側核、後内側腹側核、内側膝状体腹側部、背側内側核の神経細胞が選択的に変性していたが、視覚に関与する外側膝状体では、変性神経細胞は、ほとんど認められなかった。視床-大脳皮質投射の病態を電気生理学的に解明するために、大脳皮質聴覚野と視覚野の皮質表面と表面から 1.0mm (聴覚野) あるいは 0.6mm (視覚野) の深さに慢性記録電極を埋め込み、大脳皮質フィールド電位を覚醒下で記録した。皮質表面のフィールド電位から皮質深部のフィールド電位を差し引くことにより遠隔電場電位の影響を取り除いた。大脳皮質一次聴覚野から聴覚誘発電位を記録したところ、生後 50 日頃より、聴覚誘発電位が著明に減弱するのが観察された。聴覚誘発応答の減弱とほぼ同時期より、20-40Hz の周波数をもつ自発脳波が聴覚皮質で著明に増加する現象が認められた。このような速波は、視覚皮質では認められなかった。大脳皮質聴覚野と視覚野から mRNA を抽出し、グルタミン酸受容体の遺伝子発現をプロファイリングした結果、聴覚野の NMDA 型受容体の発現が視床の神経変性前後で増加していたのに対し、視覚野では有意な変化は認められなかった。NMDA 型受容体阻害剤の MK801 を全身投与すると聴覚野の速波が消失した。

結論： pcd マウスの大脳皮質聴覚野における速波の発生に NMDA 型受容体が関与していることが示唆された。

無線型 3 軸加速度センサによる乳牛歩行の定量化と解析

畠中みどり¹、嵐 泰弘¹、平井武久¹、川上 徹¹、大山一郎¹、松岡 健¹、
千田 廉²

¹NOSAI・兵庫東播基幹家畜診療所、²甲南大学・フロンティア研究推進機構

行動は脳の最終的な出力系であり、個体維持行動で重要な歩行運動は脳機能を反映している。歩行には運動疾患のみならず、神経疾患に関連する情報も含んでいる可能性が高い。本研究では四肢動物かつ産業動物である乳牛を用いて、歩行に見られる跛行程度の定量化を、無線型加速度センサ（以下、センサ）とリサーチ図形表示を用いて試みた。臨床獣医学領域における跛行治療法の多くは、主観的な臨床診断に基づいている。したがって、軽度ないし中等度の跛行の診断と定量化に関しては臨床家の間で一致した指標がなく、客観的かつ正確で利用しやすい跛行診断法が求められている。

供試牛は正常牛 10 頭、跛行牛 31 頭を用いた。跛行牛は蹄に異常を認めなかった 5 頭と蹄疾患罹患牛 25 頭で、跛行牛のうち 20 頭は削蹄、治療前後にセンサによる測定を実施し、臨床症状と比較した。測定方法は最後位胸椎上背部にセンサを装着、直線通路を 10 メートル歩行させ、測定間隔 5 msec で加速度変量を測定した。加速度変量は 3 方向（前後、左右、上下）から得られるリサーチ図形（単振動合成 2 次元図形）として運動の可視化表示を行い、歩行時の前後・左右・上下各方向への偏りを比較した。

正常牛のリサーチ図形は円形または楕円形を示し、3 方向の比率は前後で 41.9 : 58.1 (%)、左右で 48.1 : 51.9、上下で 57.6 : 43.4 であった。跛行牛のリサーチ図形は不規則に歪み、患肢側に棘状波形を示し、比率は前後で 42.4 : 57.6、左右 44.7 : 55.3、上下 57.0 : 43.0 となった。

跛行牛のうち重症例はリサーチ図形が大きく上方向に歪み、PDD などの著しい痛みを伴う症例では罹患肢側に鋭角に、慢性化した疾患においては大きな弧を描くような波形が示された。治療後のリサーチ図形は歩様観察からの所見と同様に病状の変化が反映されていた。センサによる歩様解析は臨床所見と同様の結果が得られ、歩様を数値化してモニターすることができた。

サルの海馬における長期増強の誘導と持続田村了以¹、永福智志¹、上野照子¹、杉森道也¹、小野武年²¹富山大学・医学薬学研究部・統合神経科学、²富山大学・医学薬学研究部・分子統合情動脳科学

【目的】海馬体の損傷により前行健忘と時間勾配のある逆行健忘が生じることから、海馬体は新たな記憶の形成とその固定に重要な役割を果たすと考えられている。また、逆行健忘の起こる期間には動物種差があり、ヒトでは2年から10数年、サルでは2ヶ月程度、ラットでは5日から4週間と報告されている。記憶形成の神経基盤としてシナプス結合強度の変化が想定され、げっ歯類を用いて詳細に研究されてきたが、霊長類を用いた研究はほとんどなく、また、その持続を動物種間で比較した研究もない。そこで今回われわれは、サルの海馬体から *in vivo* で誘発電位を記録する実験系を確立し、①高頻度刺激による長期増強 (LTP) の誘導、および、②LTPの持続性の動物種差について検討した。

【方法】サルおよびラットで、刺激電極を貫通路に、記録電極を歯状回に慢性埋込みし、①高頻度刺激 (400ヘルツ、20パルスを10秒間隔で20回) の前後で誘発電位波形を比較した。②LTPの持続性を検討するため、高頻度刺激後サルでは1ヶ月間、ラットでは1週間、誘発電位記録を継続した。

【結果】①サルおよびラットともに、貫通路刺激により歯状回で典型的な集合興奮性シナプス後電位 (fEPSP) および集合スパイク (PS) が観察され、これらは高頻度刺激により有意に増大した。②高頻度刺激後に記録を継続した期間、サルではfEPSPは減衰せず、PSはわずかではあるが徐々に増大する傾向があったが、ラットではfEPSPおよびPSともに約3日間でベースラインのレベルまで減衰した。

【結論】以上の知見より、①げっ歯類と同様に霊長類の海馬体でもLTPが起こることが明らかになり、②逆行健忘の起こる期間の動物種差は、海馬体におけるシナプス結合強度変化の持続の違いに起因する可能性が示唆された。

脊髄グリシン作動性抑制性シナプス後電流の亜鉛による制御

石橋 仁、江藤 圭、鍋倉淳一

生理学研究所・発達生理学研究系・生体恒常機能発達機構研究部門

脊髄における亜鉛が痛覚過敏に対する抑制作用を示すことが報告されているが、そのメカニズムはほとんど明らかになっていない。脊髄において、亜鉛は抑制性神経系に存在することから、抑制性シナプス伝達に対して亜鉛が何らかの作用を有すると考えられているが、亜鉛の脊髄抑制性シナプス伝達に対する影響はほとんど明らかになっていない。そこで、本研究では、ラット脊髄後角より機械的処理のみによって急性単離した神経細胞にパッチクランプ法を適用し、単離した神経細胞の表面に付着する神経終末部から放出されるグリシンによって誘発される抑制性シナプス後電流 (IPSC) に対する亜鉛の効果を検討した。

亜鉛は、10 μM の濃度では、自発性IPSCの振幅に影響することなく、その頻度を増加させた。一方、1 μM の濃度ではIPSCの頻度に影響することなく振幅を増加させた。100 μM の高濃度になると、亜鉛は振幅を著明に減少させた。人工的に投与したグリシンによって誘発されるグリシン誘発電流は低濃度の亜鉛により増強され、高濃度の亜鉛により抑制された。亜鉛 (10 μM) のIPSC頻度増加作用は、電位依存性 Ca^{2+} チャネルの拮抗薬の存在下では認められなかった。また、亜鉛のIPSC頻度増加作用はテトロドトキシンにより抑制された。スライス標本を用いて evoked IPSCに対する亜鉛の効果を検討したところ、亜鉛は evoked IPSCの振幅を増大させた。

以上の結果から、亜鉛はグリシン作動性神経終末部に作用し、その神経終末部を脱分極させることによってグリシン放出を増強し、さらにシナプス後膜側のグリシン受容体にも作用してグリシン作動性のシナプス伝達を修飾することが明らかとなった。本研究の結果から、亜鉛は脊髄における抑制性シナプス伝達を修飾することにより痛みの伝達に影響を与えている可能性が示唆された。

延髄孤束核における junctional adhesion molecule-1 遺伝子発現と高血圧発症との関係

和気秀文¹、Sabine Gouraud¹、前田正信¹、Julian FR Paton²

¹和歌山県立医科大学・医学部・生理学2講座、²Department of Physiology, University of Bristol School of Medical Sciences

本態性高血圧症は遺伝的素因が一因であるが今のところその原因遺伝子については十分明らかにされていない。我々は心臓血管調節中枢の一つである延髄孤束核 (NTS) での遺伝子発現異常、そしてこれに伴う機能的変化が高血圧発症と深く関連していると考えている。本研究ではこの仮説を検証するために高血圧症の NTS における遺伝子発現プロファイルについて調べた。本態性高血圧症の動物モデルである自然発症性高血圧ラット (spontaneously hypertensive rat: SHR) と正常血圧ラット (Wistar Kyoto Rat: WKY) の NTS の遺伝子発現の差異をマイクロアレイでスクリーニングした後、リアルタイム PCR により各遺伝子の発現量を比較した。その結果、炎症性接着分子である junctional adhesion molecule-1 (JAM-1) mRNA が、SHR の NTS において約 3 倍過剰発現していた。一方、他の炎症性接着分子である JAM-3、intercellular adhesion molecule-1 および vascular cell adhesion molecule-1 の遺伝子発現は SHR と WKY の NTS において差を認めなかった。免疫組織化学的手法により、JAM-1 蛋白の発現と局在を確認したところ、SHR の NTS では血管内皮細胞に明らかな免疫反応を認めた。また、NTS に発現している JAM-1 の機能的役割について検討するために、アデノウイルスベクターを用いて WKY の NTS に JAM-1 を過剰発現させたところ、ウイルス投与後 5-7 日の間に、対照群 (eGFP 過剰発現群) に比べ有意な血圧上昇を認めた (JAM-1 群、 16.2 ± 2.8 mmHg, $n=6$; eGFP 群、 4.7 ± 2.9 mmHg, $n=6$, $p < 0.05$)。以上より、NTS における JAM-1 遺伝子過剰発現が、SHR の高血圧発症に関連していると考えられる。

視覚選択における後頭頂連合野の機能的役割

小川 正¹、小松英彦^{2,3}

¹京都大学大学院・医学研究科・認知行動脳科学講座、²生理学研究所・感覚認知情報研究部門、³総合研究大学院大学

物体が多数存在する中から目標物を探し出す視覚探索を行うとき、視覚感覚情報から眼球運動情報への変換過程において後頭頂連合野が果たす役割を調べた。実験では多次元視覚探索課題を行っているサルの頭頂間溝外側部 (LIP, 7a) からニューロン活動を記録した。多次元視覚探索課題では、サルがコンピュータディスプレイの中心にある点を注視していると周囲に 6 個の刺激が呈示され、その中には色次元と形次元で異なる刺激が 1 つずつ含まれる。サルはそのうちの片方を目標として選択しサッカード眼球運動で注視することが要求される。どちらの次元で異なる刺激を目標とするかは試行開始時に呈示される注視点の色によって教示され、数十試行のブロック単位で切り替えられた。記録されたニューロン活動を解析した結果、(1) 受容野内の刺激が目標となる場合であっても目標刺激が最適な色・形特徴を有し、かつ特定の特徴次元で異なる場合にのみ活動強度が増大するニューロンと、(2) 受容野内の刺激が目標となる場合には、目標刺激の視覚的属性にかかわらず活動強度が増大するニューロンが見出され、両者は同一部位に混在して存在していた。前者は視覚的属性に依存した目標刺激の選択過程を、後者は視覚的属性に依存しない過程を反映していると考えられる。それぞれの特性を示すニューロンは 2 つのニューロン群に明確に分割されるわけではなく、記録されたポピュレーション全体で連続的な変化を示した。これらの結果は、視覚探索における目標情報の生成は単純な 1 つの過程で遂行されるのではなく、複数の過程（もしくは連続的に変化する過程）によって遂行されていることを示唆する。

扁桃体ニューロン活動と情動反応の相互相関解析

堀 悦郎^{1,3}、田積 徹^{2,3}、小野武年^{1,3}、西条寿夫^{1,3}¹富山大学大学院・医学薬学研究部・システム情動科学、²聖泉大学・人間科学部・人間心理学科、³科学技術振興機構

これまでの研究から、扁桃体は情動処理システムにおいて中心的な役割を果たすことが示唆されている。すなわち、扁桃体では対象物が自己にとって有益か有害かの判断をし、この生物学的価値判断により適切な行動が誘導される。情動と身体反応の関係については、いくつかの仮説が提言されている。例えば、Cannon らによる「中枢説」では、情動性の刺激により情動が生じ、同時平行的に身体反応も生じる。すなわち、ヘビを見て恐怖の情動が生じ、それと同時に自律神経反応（心拍や瞳孔径の増大）や逃避のための筋活動などが生ずる。一方、James らによる「末梢説」では、情動刺激によりまず身体反応が生じ、この身体反応の結果をフィードバックされた脳が情動を生起するとした。すなわち、ヘビを見ると自律神経反応などが生じ、この身体感覚を中枢が感受する事で恐怖の情動が生起される。しかし、これらの仮説で提唱されている脳活動と身体反応の関係については、未だに不明なままである。本研究では、情動刺激に対する扁桃体のニューロン活動と身体反応の関係性を明らかにする目的で、視覚刺激や実験者の動作（接近・後退行動、腕や足の挙上運動など）に対するサル扁桃体ニューロン活動と瞳孔径の変化の間の相互相関を解析した。視覚刺激としてはヒトやサルの顔写真を用い、顔表情に対する遅延非見本合わせ課題を行った。また、課題遂行中はサルの眼球を撮影し、瞳孔径の計測を行った。その結果、サル扁桃体には他者の顔表情や動作に対して識別的に応答するニューロンが存在した。これらの扁桃体ニューロン活動と、同時に計測した瞳孔径の変化の相互相関解析を行った結果、ニューロン活動が瞳孔径の変化に先行して生じる場合と、逆に瞳孔径の変化がニューロン活動に先行して生じる場合のある事が判明した。これらの結果は、情動の「中枢説」および「末梢説」のいずれの原理も作動している可能性を示唆する。

大脳皮質口腔体性感覚野を発信源とする振動性神経活動が味覚野-口腔体性感覚野間の信号伝播におよぼす作用

吉村 弘^{1,2}、増山有一^{1,2}、須貝外喜男²、加藤伸郎²、瀬上夏樹¹

¹金沢医科大学・顎口腔機能病態学、²金沢医科大学・生理機能制御学

大脳皮質における振動性電位活動の機能については、不明な点が多い。最近我々は、カフェイン存在下で膜電位振動の伝播する様子を観察し、限局した皮質領域を発信源とする膜電位振動の伝播が異なる大脳皮質間の神経連絡を強化する結果を得たことから「振動装置依存性可塑性仮説」を提唱した。今回、この振動発信源の活動を抑制することにより、上記仮説を検証した。ラットより大脳皮質味覚野-口腔体性感覚野を含むスライスを作製し、カフェイン存在下で味覚野の低頻度刺激に対する応答をフィールド電位計測および光学的計測により観察した。細胞外液に D-AP5、Br-cAMP などの薬物を投与し、振動性活動の抑制を試みた。カフェイン存在下で味覚野の低頻度刺激を継続すると、刺激後第 1 波が浅層を水平方向に伝播し、口腔体性感覚野に到達した後、口腔体性感覚野浅層を発信源する膜電位振動が水平的に伝播した。このような伝播活動が形成された後、細胞外液に D-AP5 を加えて NMDA 受容体の活動を阻害すると、第 1 波の伝播に影響を与えることなく振動性活動成分が抑制された。ところが、カフェイン投与と同時に D-AP5 を加えた場合、振動性活動抑制に加えて、第 1 波の伝播範囲が抑制された。次に、上記と同様にして、第 1 波の伝播と振動性活動が形成された後、細胞外液に Br-cAMP を加えると、第 1 波の伝播は残存したが振動性活動成分が著明に抑制された。ところが、カフェイン投与と同時に Br-cAMP を加えた場合、振動性活動抑制に加えて、第 1 波の伝播速度が低下した。限局した領域を発信源とする振動性活動が十分機能した場合、味覚野-口腔体性感覚野間の信号伝播は強化されるが、NMDA 受容体活動の抑制や細胞内 cAMP 上昇により振動性活動を抑制すると、これらの皮質間の信号伝播が強化されない結果となった。これらは「振動装置依存性可塑性仮説」を支持する結果となった。

20日間の-6° head-down bed restによる宇宙デコンディショニングに対する
対抗措置としての人工重力負荷と運動負荷の有効性

西村直記¹、岩瀬 敏¹、菅屋潤壹¹、佐藤麻紀¹、清水祐樹¹、Dominika
Kanikowska¹、鈴木里美²、渡邊順子³、高田宗樹⁴、高田真澄⁵、塩澤友規⁶、
平柳 要⁷

¹愛知医科大学・医学部・生理 2、²愛知医科大学・看護学部、³聖クリストフ
ァー看護大学・看護学部、⁴岐阜医療科学大学・保健科学部、⁵名古屋大学・看
護学部、⁶青山学院大学、⁷日本大学・医学部

宇宙滞在などによりヒトが微小重力環境に曝露された後には、神経系、呼
吸循環系、筋骨格系および体温調節系等の機能に低下がみられる(宇宙デコン
ディショニング)ことがこれまでの研究で明らかになっている。我々は、これ
らのデコンディショニングに対する対抗措置(カウンターメジャー)として、
人工重力負荷装置(遠心加速負荷)に運動負荷装置(ペダリング運動)を組み
合わせた装置を開発した。本研究では、これらの組み合わせが、地上での模
擬微小重力暴露後のデコンディショニングに対するカウンターメジャーとし
て有効であるかどうかを検討した。

健康成人男性12名(年齢:24±5歳、身長:168.7±3.6cm)に20日の-6°ヘ
ッドダウンベッドレストを行わせ、デコンディショニング状態を引き起こさ
せた。12名のうち6名(カウンターメジャー群)に対して、ベッドレスト開始
日から終了日まで人工重力負荷(1.4G)とペダリング運動負荷(60W)を毎日行
わせ、被験者の了解が得られれば、人工重力負荷(0.2Gづつ)および運動負荷
(15Wづつ)を増加させた。被験者が負荷の中止を申告した場合は中断し、
負荷の累積時間が30分間になるまで行わせた。ベッドレスト中の食事は、
2300Kcal/日に規定し、飲水量は前日の尿量と同量になるように指示した。
ベッドレスト前後に起立負荷試験および人工重力負荷試験を行い、対照群(6
名)と比較・検討した。

人工重力負荷とペダリング運動負荷の組み合わせにより、心機能、呼吸循
環機能および骨代謝機能が改善した。今後、より有効的な重力負荷と運動負
荷の組み合わせについて更なる検討を加える予定である。

随意運動の制御における脊髄介在ニューロンの役割

武井智彦^{1,2,4}, 関 和彦^{1,3}¹自然科学研究機構・生理学研究所、²京都大学大学院・人間環境学研究所、³総合研究大学院大学・生命科学研究科、⁴日本学術振興会

滑らかな四肢の運動は多数の骨格筋が協調して活動することによって実現される。その協調的筋活動のパターンは一様でなく、制御対象となる運動のキネティクス・キネマティクスに応じて適切な筋群が選択され(協働筋)、選択された筋群の活動が調節されることによって運動が遂行される。しかし、どのような神経機構によってこの選択させるかについては十分明らかにされていない。我々は、この協働筋選択機構の機能的要素が脊髄に存在するのではないかと考えている。特に、動物の生活の中で頻繁に用いられる運動レパートリー(例えば把握運動、歩行運動、リーチング運動など)が遂行される際には、まずこの脊髄における機能的要素を介して随意運動の定型的側面が制御されるのではないかと予想している。その機能的要素の実態は運動ニューロンへの最終介在ニューロンであり、運動レパートリーに応じて異なった筋群への投射パターンをもつ脊髄最終介在ニューロン群が動的に選択され用いられているのではないかと考えている。

この仮説を検証するための第一歩として、我々は2頭のサルを対象に第1-2指を用いた精密把握運動を訓練し、その際手及び前腕部(N=3)における筋活動と、脊髄ニューロンの活動(C6-T1: n=110)を同時に記録した。記録されたニューロンの58%(64/110)において発火頻度の課題遂行に依存した変化が認められ($p < 0.05$)、その内訳は動的把持局面での活動変化(34/64, 53%)、静的把持局面(43/64, 67%)、及び脱力局面(31/64, 48%)であった。静的把持局面において定常的な発火頻度が認められたニューロンの一部(6/19, 32%)において、発火頻度と静的把持張力との間に有意な相関関係が認められた($p < 0.05$)。さらにSpike-triggered averaging法を用いた予備的な実験において、3/8(38%)のニューロンにおいてスパイク後促通(post spike facilitation)が単一または複数の筋において認められたことから、それがそれぞれの筋を支配する運動ニューロンに対する最終介在ニューロンであることが同定された。これら同定された最終介在ニューロンの全ては動的または静的把持運動に依存した活動の変化を示し、ニューロンの発火頻度は投射先の筋における筋電図の増加に対して $20 \pm 106 \text{ms}$ 先行しており、さらに静的把持局面における平均発火頻度と平均筋活動量の間には有意な相関関係が認められた。これらの結果は精密把握運動における把持力の制御が、脊髄ニューロン、特に脊髄最終介在ニューロンを介して行われている可能性を示していた。また一部の最終介在ニューロンにおいて、把持運動において活動している複数の筋への投射が認められた事は、これらの最終介在ニューロンが把持運動における協働筋選択の機能的要素として働いている可能性を示唆していた。

24 時間心拍変動リズムからみた若年女性および更年期女性の特性差

荒井善昭¹、河野直子²、岡島英男³、牛山喜久⁴

¹長野工業高等専門学校、²河野外科、³ジョイントメディカル㈱、
⁴信州大学・医学部・保健学科

本研究では健常な若年女性（若年女性群）と更年期にある女性（更年期女性群）を対象として、日常生活時での連続 24 時間の心拍変動を計測し、そこに内在するサーカディアンリズムを多数例で確定して両群で比較した。主な検討内容は、若年女性群と更年期女性群とでサーカディアンリズムパターンの差異およびその特性上での相違点を明らかにすることにある。それに基づいて両群での自律神経系の支配様式を推定し、更年期障害の早期診断法としての実用化の可能性も検討した。

被験者は若年女性群として、信州大学医学部保健学科に在籍する 20 歳～30 歳のボランティア女子学生の 29 名を対象とし、月経期および排卵期他の 2 回に亘る連続 24 時間の心拍変動記録の測定をおこなった。また更年期女性群として臨床的に更年期障害と診断された 43 歳～57 歳の女性 16 名を対象とした。上記各群を対象とし胸部に誘導電極を装着して心電図を誘導し、手首に装着した腕時計式のポラール心拍計に心電図信号を無線伝送して 24 時間の心拍数を連続記録した。各実験対象は好きな時間帯に測定を開始し、24 時間経過後に測定を終了した。その 24 時間心拍変動データは、パソコンに取り込んで保存後、スペクトル解析を行ってサーカディアンリズムを抽出した。また測定中の 24 時間の行動記録を提出させた。

若年女性群、若年女性月経群、更年期女性群で比較すると、変動の時間的ずれ（位相差）は殆どみられなかったものの、24 時間内の変動の大きさ（変動振幅 ΔHR ）には明確な相違が群間に存在していた。各群での ΔHR を統計的に評価した結果有意な差が確認され（t 検定）、特に更年期女性群での心拍変動幅の低下が顕著であった点は、更年期障害を確定する 1 つパラメータとしての有用性は高いと考えられる。また心拍数（HR）が最低値へ低下していく過程、最低値から上昇していく過程において、若年女性群と更年期女性群の間に明瞭な差が認められた。