B830

傾斜磁場が血流分配に与える影響

○精山 明敏^{1,2}、関 淳二³、柳田 敏雄^{1,2,4} (¹ 阪大院・医学系・情報生理、² 通総研・関西・脳情報 G、³ 循環器病センター・生体工学部、⁴ 阪大院・生命機能)

1990 年代になり機能的核磁気共鳴イメージング法 (fMRI) が実用化され普及するようになると、この技術はヒト脳機能解明の有力な手段として、また医療診断への応用として、不可欠な計測手段となってきた。これに併せて、より高空間分解能を目指して、MR 機器は静磁場強度が現行普及型の 1.5 テスラ (T) から 3T のものが主流となりつつある。一方で、世界保健機関 (WHO) や日本の厚生省のガイドラインは 1991 年以前のものが現在でも適用されており、来年度以降、現状を加味した見直しが予定されている。磁場が生体に影響を与える因子としては、(1) 磁場強度、(2) 磁場の曝露面積と被曝時間、(3) 磁場の定常性または変動性等が考えられる [1]。特に、核磁気共鳴イメージング法 (MRI) や核磁気共鳴スペクトル法 (MRS) では、変動磁場による生体影響 (時間変化型傾斜磁場により誘起される渦電流や、ラジオ波により誘起される発熱作用) が着目されてきた。今回我々は、空間勾配型傾斜磁場が赤血球流に与える影響について観察したので、その結果を報告する。[1] 精山明敏, 志賀 健: 静磁場の生体影響について, 保健物理 28: 211-217(1993).

A.Seiyama, J.Seki, T.Yanagida : Effect of gradient magnetic field on the blood flow distribution

B832

小脳 GABA シナプスの P2Y 受容体を介する短期および長期増強機構

○齋藤 文仁^{1,3}、村越 隆之^{1,3}、鈴木 秀典^{1,3}、小西 史朗^{2,3} (¹ 日医大・薬理、² 三菱生命研・分子神経生物、³ CREST「脳を知る」・JST)

ラット小脳プルキンエ細胞 (PC) の GABA シナプス伝達に対する q 型 G タンパク質と共役する代謝調節型プリン作動性受容体 (P2YR) の役割を、スライス標本とパッチクランプ法を用いて検討した。P2YR 活性化に伴う、2 つの異なる伝達効率の調節作用を見出した。P2YR アゴニストの ADP および 2-methylthio ATP は、第一に PC から記録した自発的抑制性後シナプス電流 (IPSC) の頻度と平均振幅を急速に増大させ、この効果は P2Y1R アンタゴニスト MRS2179 で消失した。この作用は、プルキンエ細胞へ入力する GABA 含有ニューロンである Lugaro 細胞の P2YR が刺激され、反復スパイク発射に伴う GABA 放出頻度が増加することによって引き起こされることを示す証拠をえた。第二に P2YR アゴニストは、外来 GABA の応答電流および TTX 非感受性の微小 IPSC の振幅を遅い経過で増大した。この時、微小 IPSC の頻度は変化しなかったため、プルキンエ細胞の P2YR が刺激されると GABA_A 受容体感受性が長期に増大することが示唆された。プルキンエ細胞の Ca²⁺ 動態を共焦点顕微鏡イメージングによって調べた。P2YR アゴニストは樹状突起に Ca²⁺ 上昇を誘発し、この効果は細胞外 Ca²⁺ を除いても見られた。P2YR 刺激は、ホスフォリパーゼ C を介した細胞内ストアからの Ca²⁺ 動員を促進して GABA_A 受容体の感受性を増大することが示唆され、この可能性をさらに検討している。小脳 GABA シナプスにおいて、P2YR の活性化は、シナプス前および後性機序により短期的および長期的な GABA 伝達の増強を仲介することが示された。

F.Saitow, T.Murakoshi, H.Suzuki and S.Konishi : P2Y Purinergic receptor-mediated short-term and long-term enhancement of cerebellar GABAergic transmission

B831

大腸菌走化性受容体 Tar とアスパラギン酸、アスパラギンの相互作用

○角井 碧、宮内 正二、奈良 敏文、加茂 直樹 (北大院・薬・生物物理)

Tar は大腸菌やサルモネラ菌に存在する走化性受容体のひとつであり、おもにリガンドとしてアスパラギン酸が知られている。

昨年の年会においてこの Tar とアスパラギン酸の親和性を等温滴定型熱量計 (ITC) を用いて測定した結果について報告した。pTrcHisC 由来のベクター pHS201 により Tar を大量発現した大腸菌膜ベシクルを用い測定すると、アスパラギン酸、アスパラギンの Tar に対する K_d は共に約 1 μ M となった。一方、通常発現株の HCB339/pAK101 はアスパラギン酸に対し高い走化性応答を示すが、アスパラギンに対しては応答性が 2 桁程度低下し、アスパラギンは Tar に結合はするもののシグナル伝達されない可能性が示された。

今回、同一の菌体を用いて ITC と走化性応答を測定し、得られたデータを総合的に解析した。HCB339/pHS201 を 10 μ M IPTG で誘導した細胞は通常の swarm、走化性応答を示し、またその膜ベシクルも ITC 測定が可能であった。その結果、アスパラギン酸とアスパラギンが示す Tar への親和性は約 1 μ M と同程度であったが、アスパラギンに対する swarm、chemoresponse 能はアスパラギン酸よりも低いことが分かった。アスパラギンは Tar に高い親和性で結合するものの、シグナル受容はされないことが分かった。一方、リガンド結合部位の変異体 T154C は、アスパラギン酸、アスパラギンに対して共に K_d 値が上昇したこと、またアスパラギン酸の結合が過剰量のアスパラギンにより阻害されたことから、両者は同一の結合部位に結合すると考えられる。リガンドのアミノ酸側鎖の違いにより両者のシグナル受容の差が生じると考えられる。

M.Sumii, S.miyauchi, T.Nara and N.Kamo : High specific interaction of aspartic acid and asparagine to *Escherichia coli* chemoreceptor, Tar.

B833

ラット脳海馬における環境ホルモン Bisphenol-A の作用の解析

○田辺 伸聡^{1,2}、高橋 泰城^{1,2}、服部 高明²、岡田 和嗣³、舩江 良彦³、川戸 佳^{1,2} (¹ 東大院・総合文化・広域科学、² CREST・科技団、³ 大阪市立大院・生体機能解析学)

近年、「環境ホルモン」という言葉で知られるように、一連の化学物質の生体内における内分泌かく乱作用が問題視されている。特に、それらの物質が中枢神経系の発達段階において及ぼす影響はまだ未知の部分も多く、注目を集めている。本研究では、脳における記憶と学習の中核であると考えられている海馬において、環境ホルモンの一種である Bisphenol-A (BPA) が及ぼす影響を検証した。

生後 4 日齢の Wistar Rat の海馬より調製した神経細胞の初代培養系を用い、これを様々な濃度の BPA で刺激したところ、刺激から 1 分以内という短時間に、海馬の細胞内のカルシウムイオン濃度が一過的な上昇を示すことが観察された (カルシウムシグナル)。このカルシウムシグナルは、環境中の BPA の濃度である 10⁻⁸ ~ 10⁻⁷ (M) 程度の濃度でも確認された。また、細胞を女性ホルモン受容体の選択的アンタゴニストである ICI-162,780 で事前に処理すると BPA 刺激によるシグナルは発生しなかったことから、このシグナルには女性ホルモン受容体が関与していると考えられる。さらに、細胞内カルシウムポンプの阻害剤である Thapsigargin で前処理して細胞内カルシウムの濃度勾配を枯渇させた細胞ではこのシグナルは観察されなかったため、細胞内カルシウム貯蔵庫からのカルシウム放出がこのカルシウムシグナルの駆動源であることが示唆される。また同時に、BPA のより詳細な作用部位を特定すべく、生後 4 日齢・10 日齢のラット海馬のホモジェネート画分に対して ¹⁴C-BPA を用いた Radioligand Binding Assay を試みたところ、海馬 P2 画分 (ミトコンドリア・シナプトソーム画分) において特異的な結合が確認された。解析の結果、この BPA の結合は、解離定数 K_d = 3.0 × 10⁻⁵ (M)、最大結合数 B_{max} = 25 (nmol / mg protein) 程度のパラメータをもつことが分かった。

Tanabe N, Takahashi T, Hattori T, Okada K, Funae Y, Kawato S : The Endocrine Disruptor Bisphenol-A Evokes Intracellular Calcium Signalling in the Rat Hippocampal Formation via Specific Binding Sites