three groups. These results indicate that the analgesic and sedative effects of midazolam are enhanced when combined with clonidine administration. On the basis of this study, we recommend that those patients requiring sedative condition be premedicated with clonidine in order to enhance the anesthetics and sedative effect.

18. マウス視索上核神経分泌細胞の抑制性シナプス入力に対する浸透圧の作用

○本田 栄子・稲永 清敏・中村 修一
九歯大・生理

視床下部視索上核神経分泌細胞は下垂体後葉から腎臓に働いて体液量を調節しているバソプレッシンを分泌している。神経分泌細胞自身、体液浸透圧を感知しその興奮性を変え、バソプレッシンの分泌を調節することによって体液のホメオスタシスを維持していることは良く知られている。また、他の脳領域からの神経分泌細胞へのシナプス入力も浸透圧によって修飾されると考えられる。視索上核への興奮性入力は高張溶液によって促進されると報告されているが、抑制性入力に対する浸透圧の効果は明らかではない。今回我々は、ブラインド・パッチクランプ法を用い、誘発性 (eIPSCs) および自発性抑制性シナプス後電流 (sIPSCs) を記録し、神経分泌細胞への抑制性入力が浸透圧の変化に伴ってどのように変化するかを調べた。その結果、高張溶液刺激によって eIPSCs の大きさおよび sIPSCs の頻度の減少、低張溶液刺激により eIPSCs の大きさおよび sIPSCs の頻度の増加が観察される神経細胞と、その逆効果が観察される神経細胞が認められた。

Osmotic modulation in inhibitory synaptic inputs to neurons in the supraoptic nucleus of mouse

Eiko Honda, Kiyotoshi Inenaga and Shuichi Nakamura (Department of Physiology, Kyushu Dental College)

Magnocellular neurosecretory cells (MNCs) in the supraoptic nucleus release antidiuretic hormone vasopressin which regulates the osmotic homeostasis. The vasopressin secretion from MNCs is proportional to the excitability of MNCs. Change of systemic osmolarity modulates directly and indirectly the electrical activity of MNCs and secretion of vasopressin. MNCs receive the synaptic inputs. The osmotic modulation in excitatory synaptic inputs to MNCs of rats has been reported. However there is no report of that in inhibitory synaptic inputs to MNCs. We have investigated that osmotic modulation in inhibitory synaptic inputs to MNCs of mouse using blind patch clamp technique. MNCs showed two types of responses following the changes of external fluid osmolarity; hypertonic solution reduced both the amplitude of evoked IPSC and the frequencies of miniature IPSC, and hypotonic solution increased them in one subgroup of MNCs, but the other group of MNCs showed the contrary responses.

19. ラット線条体顎領域の微小刺激による開口筋および舌突出筋の活動

○天野仁一郎・高月 義子・吉野 賢一・河岸 重則・柳瀬 益正
九歯大・口科

昨年度はラット前交連レベルの背側線条体中央領域の限局された部位を 40 μ A で微小刺激すると 0.3 mV 程度の最大振幅をもつ、刺激に同期した活動が同側開口筋 (顎二腹筋前腹) にのみ誘発され、閉口筋には全く誘発されないことを報告した。この部位を線条体顎領域 (striatal jaw region; SJR) と名づけると、SJR の刺激効果は①カイニン酸の注入による SJR ニューロンの破壊後消失し、②新皮質の摘除によって影響を受けず、③SJR へのカイニン酸の微量注入によって微小電気刺激の場合と類似の活動が開口筋にのみ誘発されることから、線条体ニューロンの小集団の興奮によるものであって、線条体内の大脳皮質ニューロン軸索の逆行性賦活によるものでないと結論した。今回、軽麻酔ラットの SJR の微小電気刺激によって、舌突出筋 (オトガイ舌筋) にも顎二腹筋の場合よりも顕著な活動が起こることを見出した。しかし閉口筋、舌後退筋 (舌骨舌筋) および顔面神経支配の皮筋 (上唇挙筋と広頸筋) には何の活動も認められなかった。

Intrastriatal microstimulation induces EMG activity in the jaw-opener and tongue-protruder in rats

Niichiro Amano, Yoshiko Takatsuki, Kenichi Yoshino, Shigenori Kawagishi and Yoshimasa Yanase
(Department of Oral Neuroscience, Kyushu Dental College)

It has presently be found that intrastriatal microstimulation induces EMG activity not only in the ipsilateral jaw-opener (anterior digastric muscle), but also in the bilateral tongue-protruder (genioglossus muscle) in lightly anesthetized rats. No activity was recorded in the tongue-retractor (hyoglossus muscle) and the head muscles innervated by the facial (VII) nerve, as well as in the jaw-closers (masseter and temporalis muscles). The effective sites were histologically confirmed to be localized in a small central region of the dorsal striatum at a caudal level of the anterior commissure. These sites were identical to those reported last year to induce a considerable EMG activity in the jaw-opener.

20. Site-directed mutagenesis による *Prevotella intermedia* 酸性ホスファターゼの活性ドメインの解析について

○陳 霄遲・安細 敏弘・栗野 秀慈・竹原 直道

九歯大・予歯

我々は、最近チロシンホスファターゼ活性を有する歯周病関連菌 *Prevotella intermedia* の酸性ホスファターゼ (PiACP) が、腸内細菌 class A ACP ファミリーおよび哺乳類の glucose-6-phosphatase (G6Pase) などに共通なモチーフを有することを明らかにした。今回はモチーフ中に存在するヒスチジン残基とアルギニン残基の活性における役割を検討した。“Megaprimer”法により、点変異株および欠失変異株を作製し、また、タンパク質の発現誘導を行い、phosphocellulose カラムを用いて精製を行った。基質として pNPP, 合成ペプチド EGFR, PDGFR を用いて精製変異 PiACP の活性を測定した。

H170Q, H209T, R140K, R142E およびモチーフ GSYPGHT 欠失変異株を得た。H170Q, H209T およびモチーフ欠失の精製変異 PiACP は pNPP, EGFR および PDGFR の各基質に対して活性を示さなかった。本結果は H170 および H209 が活性発現に不可欠であることを示すとともに G6Pase の活性触媒機構と類似している可能性を示唆している。

Site-directed mutagenesis and mechanism of *Prevotella intermedia* acid phosphatase

Xiaochi Chen, Toshihiro Ansai, Shuji Awano and Tadamichi Takehara (Department of Preventive Dentistry, Kyushu Dental College)

We have examined the catalytic importance of 2 histidine and 3 arginine residues on PiACP, acid phosphatase from *Prevotella intermedia*, which are conserved in class A bacterial acid phosphatases and mammalian phosphatases such as glucose-6-phosphatase (G6Pase). The mutants of H170Q, H209T, R140K, R142E, R203S, Δ N88, Δ N47, and the motif GSYPGHT deletion, were constructed by using site-directed mutagenesis. The purified mutants protein of H170Q, H209T, R142E, R203S, Δ N88, and the motif GSYPGHT deletion have no enzymatic activity against pNPP. These results suggest that the amino acid residues, H170, H209, R142, and R203 are essential for the PiACP catalytic function.

21. 歯周病原性細菌 *Porphyromonas gingivalis* の phosphofructokinase 遺伝子の同定について

○有本 隆文・安細 敏弘・陳 霄遲・竹原 直道

九歯大・予歯

我々は以前、*Porphyromonas gingivalis* (P.g) の endopeptidase 遺伝子 (P.g pep O) をクローニングし、その性質を報告した。今回、我々は P.g pep O 上流域を検索した結果、解糖系の key enzyme である phosphofructokinase (PFK) に相同性の高い領域を認めた。

P.g pep O を含むプラスミド pAL2 の一部をプローブとして EcoRV で完全消化した P.g 381 株の染色体 DNA から約 6.8 kb の DNA 挿入断片を含む陽性クローン pTA21 を得た。挿入断片の全塩基配列を決定した結果、P.g pep