

## 17

## 培養交感神経節細胞間のシナプス形成

(生理学第一) 出家美雪, 持田澄子, 小林春雄

幼若ラット(生後7~9日)の上頸交感神経節細胞を単離し培養すると、単離直後は球形であった細胞から突起の伸長が起こり、培養1~2週間で隣接する細胞にまで到達していることが認められた。倒立顕微鏡で一視野中(直径約800 $\mu$ m)に見える任意の二細胞の一方に脱分極電流を流して活動電位を発生させ、他方の細胞の電気応答を記録すると、培養8~9日目から、活動電位のピークから4~7ms遅れて3~5mVの脱分極応答が記録された。このような脱分極応答は培養日数が増すにつれて大きくなり、11日目以降の細胞では閾値に達して活動電位を発生する細胞も認められた。他方の細胞から脱分極応答の記録できる確率も培養日を追って高まり、2週目では70~90%であったが、3週目では50~60%とやや低下する傾向にあった。培養2週目位までは一方向性の応答で、他方に活動電位を発生させても応答しないが、2週目以降ではreciprocalな応答や、一方の細胞に発生させた活動電位によってその同じ細胞が応答する、いわゆるrecurrent potentialも記録された。このような記録条件下でクラレ(200 $\mu$ M 1sあるいは100 $\mu$ M 5sのpressure application; 50 $\mu$ M bath application)を投与すると、脱分極電流による活動電位はほとんど変化しないが、他方の細胞の脱分極応答、あるいはrecurrent potentialは、可逆的に抑制された。以上の電気応答記録から幼若ラット上頸交感神経節細胞を単離し、長期培養すると本来カテコールアミン含有細胞がアセチルコリン含有細胞に変わるとともに、ニューロン間でコリン作動性シナプスを形成することが明らかとなった。細胞増殖を抑制する5'-fluore 2'-deoxy-uridine処理で、このようなシナプス形成に遅れが認められたことから、シナプス形成因子がDNAを介して新たに産生されることが考えられ、今後この人工シナプスにおいて、シナプス形成を促す条件因子の究明、さらに未だ不明な点の多いシナプス伝達機構の解明を試みることができると思われる。

## 18 ヒト臍帯静脈由来内皮細胞の細胞質遊離Ca動態のfura-2法による測定

(内科学第三) 荒川 敬, 酒井 信彦  
能登谷 洋子, 伊藤 久雄  
(生理学第一) 橋口 利雄, 橋口 美津子

<はじめに> 近年、動脈硬化の成立・進展における血管内皮の重要性が注目されている。内皮細胞由来の血管弛緩物質の一つであるendothelium-derived relaxing factor (EDRF)に関し、その分泌促進作用を有するとされる生理活性物質の細胞質遊離Caに及ぼす影響を検討した。

<材料・方法> 正常ヒト臍帯血管内皮細胞(Endocell Kit-U, クラレ)を、3次培養以降第7次まで実験に供した。細胞質遊離Caの測定には蛍光Ca指示薬であるfura-2を用い、340nm励起および380nm励起時の510nm蛍光を顕微鏡測光システムにより計測し、その比から細胞質Ca濃度の相対的変化を求めた。

<結果> EDRF分泌刺激作用を有するとされる生理活性物質のうち、今回、アセチルコリン、エピネフリン、ヒスタミン、5-HT、ブラジカニン、トロンビン、アデノシン、AMP、ADP、ATPに関し検討を行った。

ヒスタミン( $> 10^{-5}$  M)、トロンビン( $> 0.01$  U/ml)、ADP( $> 10^{-4}$  M)、ATP( $> 10^{-4}$  M)は細胞質遊離Caの一過性の増加を誘起したが、他の物質では作用を認めなかった。ヒスタミンによる細胞質遊離Ca増加は、細胞外液のCaを除去(EGTA添加)することにより部分的に抑制された。

ヒスタミンの作用はH<sub>1</sub> blockerであるpromethazineにより強い抑制を受けた。

<考察> EDRF分泌を起こすとされる各アゴニストの細胞質Ca増加作用は区々であり、Caイオンが共通の細胞内セカンドメッセンジャーとして働いている可能性はさらに検討を要すると思われる。