

タチンSおよびSAに相当すると思われるバンドの位置が異なっていたが、その他はヒトと類似したパターンを示した。但しシスタチンSに相当するバンドはヒトと類似したパターンを示すものの、リン酸化したシスタチンSの位置により濃いバンドが認められた。またシスタチンSN及びDに相当するバンドは、易動度は多少異なるものの、全ての種の唾液から検出された。次にCST1、CST2、CST3（シスタチンC）、CST4、CST5のExon部分を含む領域のPCR増幅を試みたところ、MmからはCST2、CST3、CST4のExon3を含む部分が増幅され、塩基配列もヒトの各遺伝子と類似した配列を示した。またCST2のExon3領域は全ての種のDNAから増幅され、それらの塩基配列を比較すると、約160bpの範囲で、ヒト-Gc-Phの3者、またMm-Mfuの2者は同じ配列を示した。さらに、So-Mfu、Mm-Mfu、Mm-Mfu-Ca-So、ヒト-Ph-So-Gcにはそれぞれに共通する変異が存在し、Mm、Ph、Soにはヘテロを示す部位が存在した。以上の如くシスタチン遺伝子は霊長類に共通の遺伝子群が存在し、発現していると共に各遺伝子群の塩基配列は種により特徴を異にしていた。

自由：33

血管内皮細胞にあるSAチャンネルの性質の解明

長谷川 昇 (名古屋文理短大)

本研究は、サルにおける血管内皮細胞のSAチャンネルが圧受容にどのような役割を果たしているのかを明らかにするために行われた。この課題は前年度からの継続の内容であり、本年度は、内皮細胞を培養し、パッチクランプ法を行い、チャンネルの機能を明らかにする目的で行われた。

方法

血管内皮細胞の培養；胸部大動脈の両端をクランプし、できるだけ無菌的に摘出し、冷却した。血管内の血液を洗浄後、血管軸方向に切開し、メス刃により剥離した後、ディッシュにまき培養した。培養液は、ヒト血管内皮細胞用(ET-UV、三光純薬)を用い、2日おきに交換した。

SAチャンネルのスクリーニング；培養細胞をファイブネクテンでコートしたカバーガラス上に培養し、通常のパッチクランプ法を用いて、チャネ

ル活性の変化を記録した。結果はPC-ATに取り込んで解析した。

結果

細胞を低浸透圧下におくと活性が上昇するチャンネルがみられた。このチャンネルは、膜電位が+80mVで、約50pSのコンダクタンスを示し、ピペット内の陰圧を増加させたときに活性化されるチャンネルと同じものと思われる。

この際、細胞体積が増加したかどうかに関しては、平面的な解析結果からは、はっきりした結果が得られなかった。同時に、細胞内カルシウムイオンの上昇を測定したところ、カルシウムイオンの増加が同時に起こるような傾向がみられたが、増加する部位の分布、増加量など定量的な結果を得るまでにはいたらなかった。現在、細胞膜を蛍光色素で染色し、3次元(縦方向)での細胞体積変化とカルシウム量の変化を解析中である。

考察

低浸透圧下でのチャンネル活性の増加はこのチャンネルの機能が細胞体積調節に関与している可能性を強く示唆するものである。この際、カルシウムイオンの上昇が同時に起こることが定量的に証明されれば、チャンネル活性化に伴う細胞内カルシウム上昇がトリガーとなり、多くの細胞機能が調節されていることが証明できる。

自由：34

霊長類のクモ膜下腔を用いた脳脊髄液動態の検討

加藤文彦・川上紀明・松山幸弘 (名古屋大学・整形外科)

脳脊髄液には拍動を認めるが、どのような動態と流れで還流されているかはまだ不明である。一方、近年超音波エコー機器の発達により、ヒトの手術中に脊髄の形態、拍動が観察可能となり、手術の予後予測に役立てられている。また最近、心臓超音波エコーによる心臓機能判定のために超音波エコー用の造影剤(アルブネックス)が市販され臨床で用いられている。アルブネックスが脳脊髄液の動態観察に利用可能か否かを検討し、髄液動態を解明することを研究目的とした。

アルブネックスは心臓超音波エコーによる心臓機能判定のために超音波エコー用の造影剤として開発されたもので、すでに市販され臨床で用いら