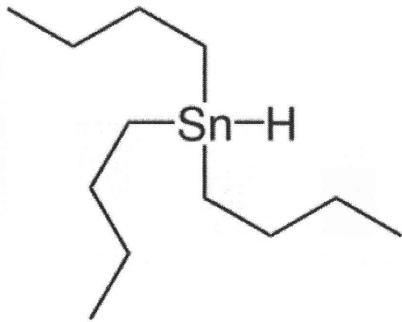
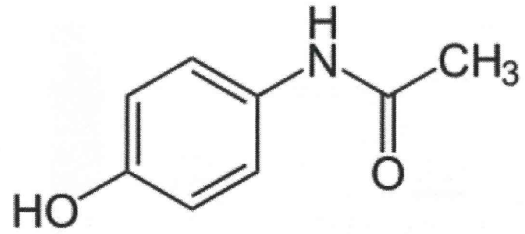


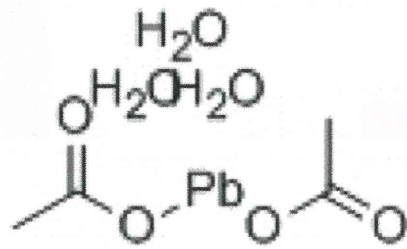
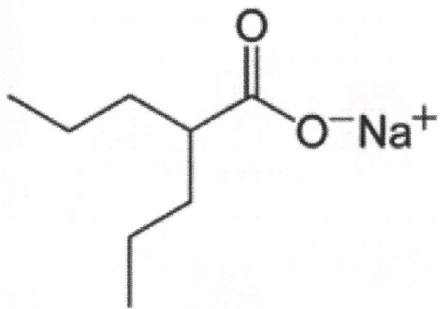
A, トリブチルスズ



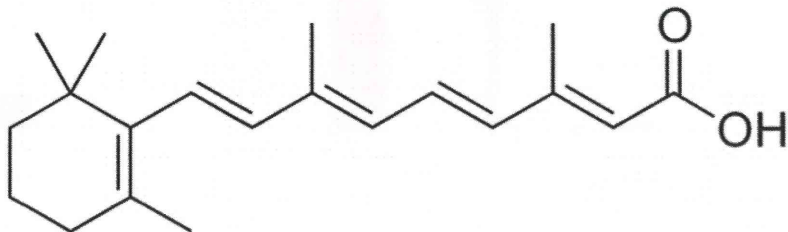
B, アセトアミノフェン



C, バルプロ酸ナトリウム



E, *all-trans*-レチノイン酸



F, パーフルオロオクタンスルホン酸カリウム

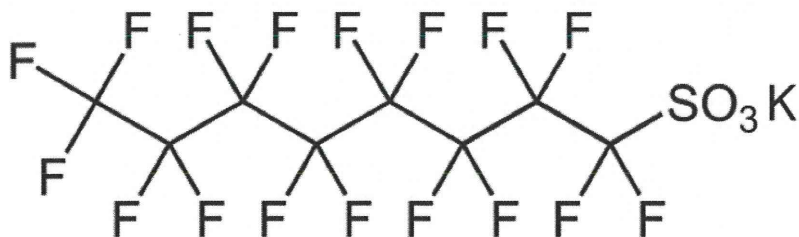


図 3 3. 暴露実験に使用した化合物

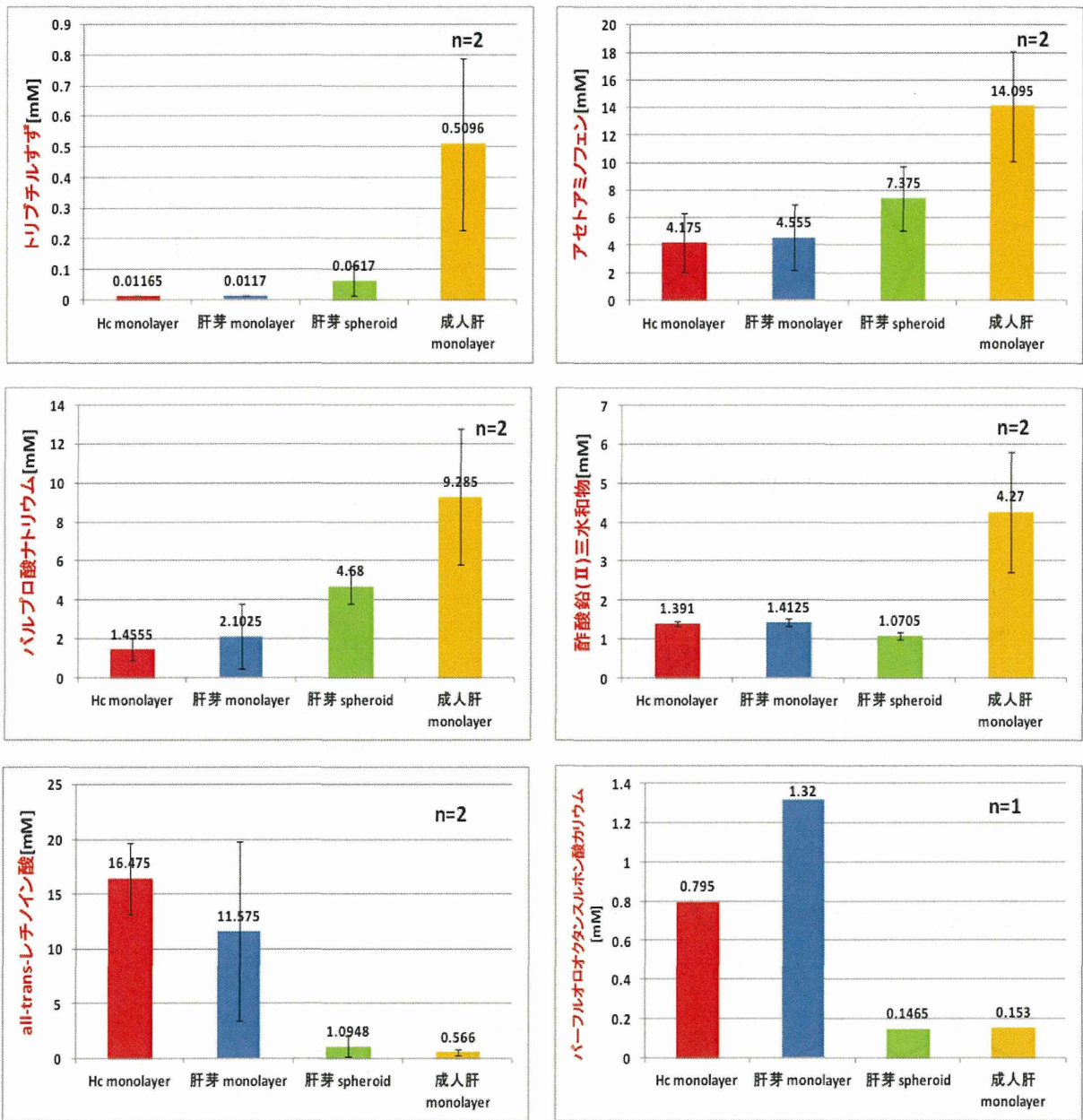


図3 4. 各細胞の化学物質7 2時間暴露における IC<sub>50</sub> 値  
 縦軸に各化学物質の濃度、横軸は左から順に胎児肝細胞の単層培養、胎児肝細胞より誘導された肝芽細胞の単層培養およびスフェロイド培養、成人肝細胞の単層培養を示す。

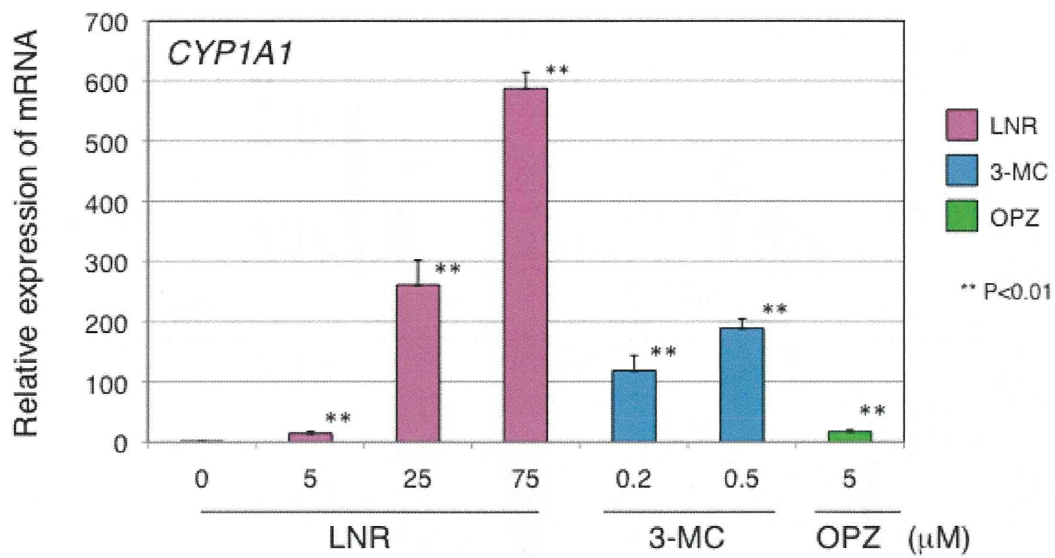


図 3 5. リニユロン、メチルコラントレンおよびオメプラゾールが *CYP1A1* mRNA に及ぼす影響

Expression of *CYP1A1* mRNA in primary cultured human hepatocytes exposed to LNR, 3-MC and OPZ for 9 hours. Relative expression of mRNA was calculated with comparative cycle threshold (*Ct*) method. Columns represent the mean  $\pm$  S.D. (n= 3).

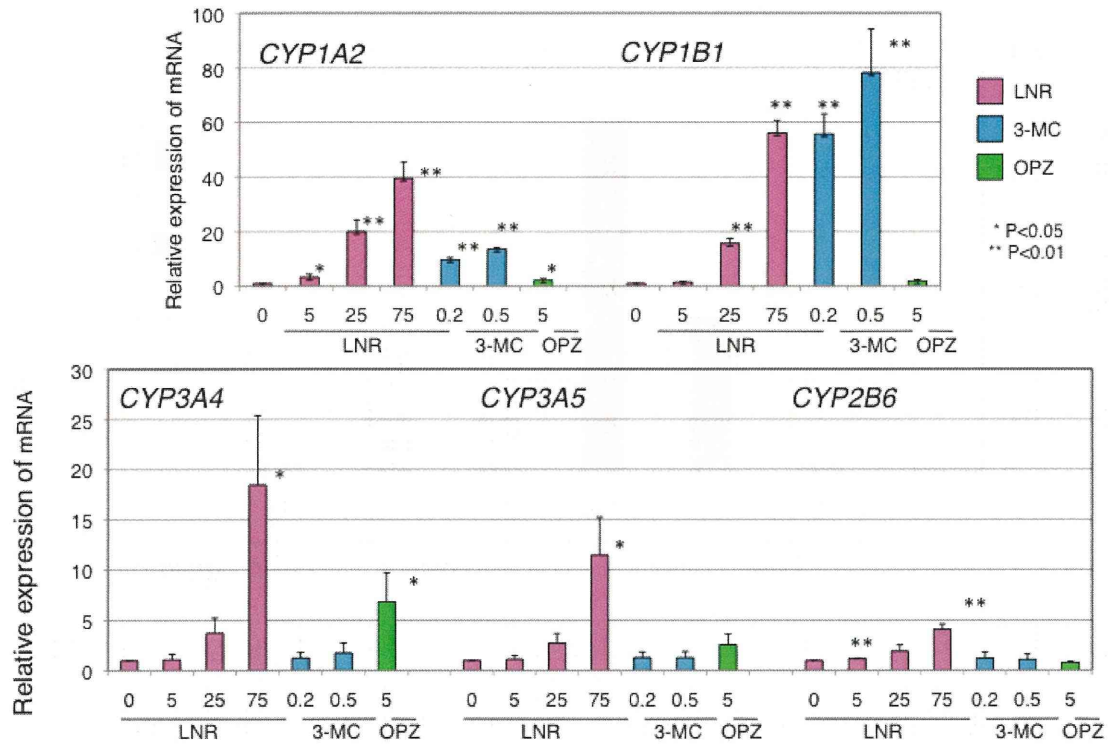


図 3 6 . リニユロン、メチルコラントレンおよびオメプラゾールが種々の *CYP* mRNA に及ぼす影響

Expression of *CYP1A2*, *CYP1B1*, *CYP3A4*, *CYP3A5* and *CYP2B6* mRNAs in primary cultured human hepatocytes exposed to LNR, 3-MC and OPZ for 9 hours. Relative expression of mRNA was calculated with comparative cycle threshold (*Ct*) method. Columns represent the mean  $\pm$  S.D. (n= 3).

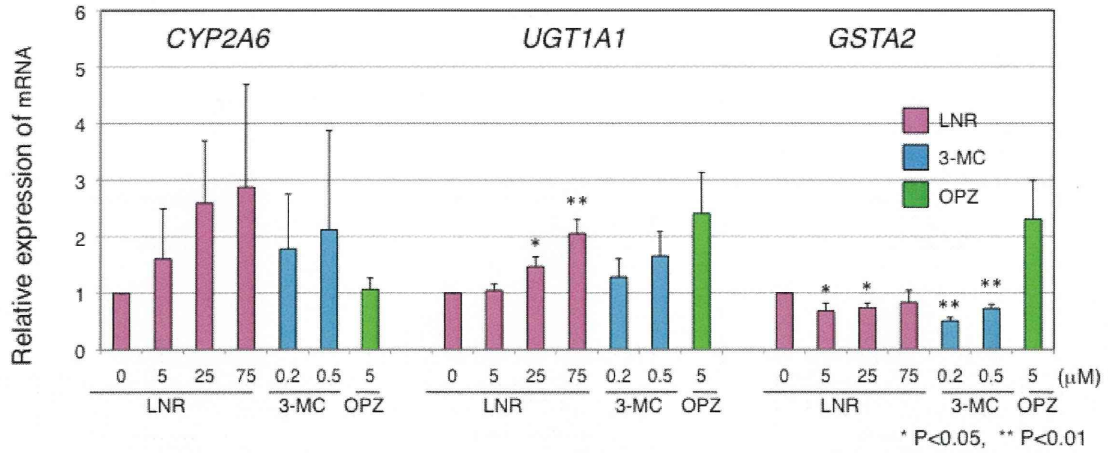


図 3 7. リニユロン、メチルコラントレンおよびオメプラゾールが *CYP2A6*、*UGT1A1* および *GSTA2* mRNA に及ぼす影響

Expression of *CYP2A6*, *UGT1A1* and *GSTA2* mRNAs in primary cultured human hepatocytes exposed to LNR, 3-MC and OPZ for 9 hours. Relative expression of mRNA was calculated with comparative cycle threshold (*Ct*) method. Columns represent the mean  $\pm$  S.D. (n= 3).

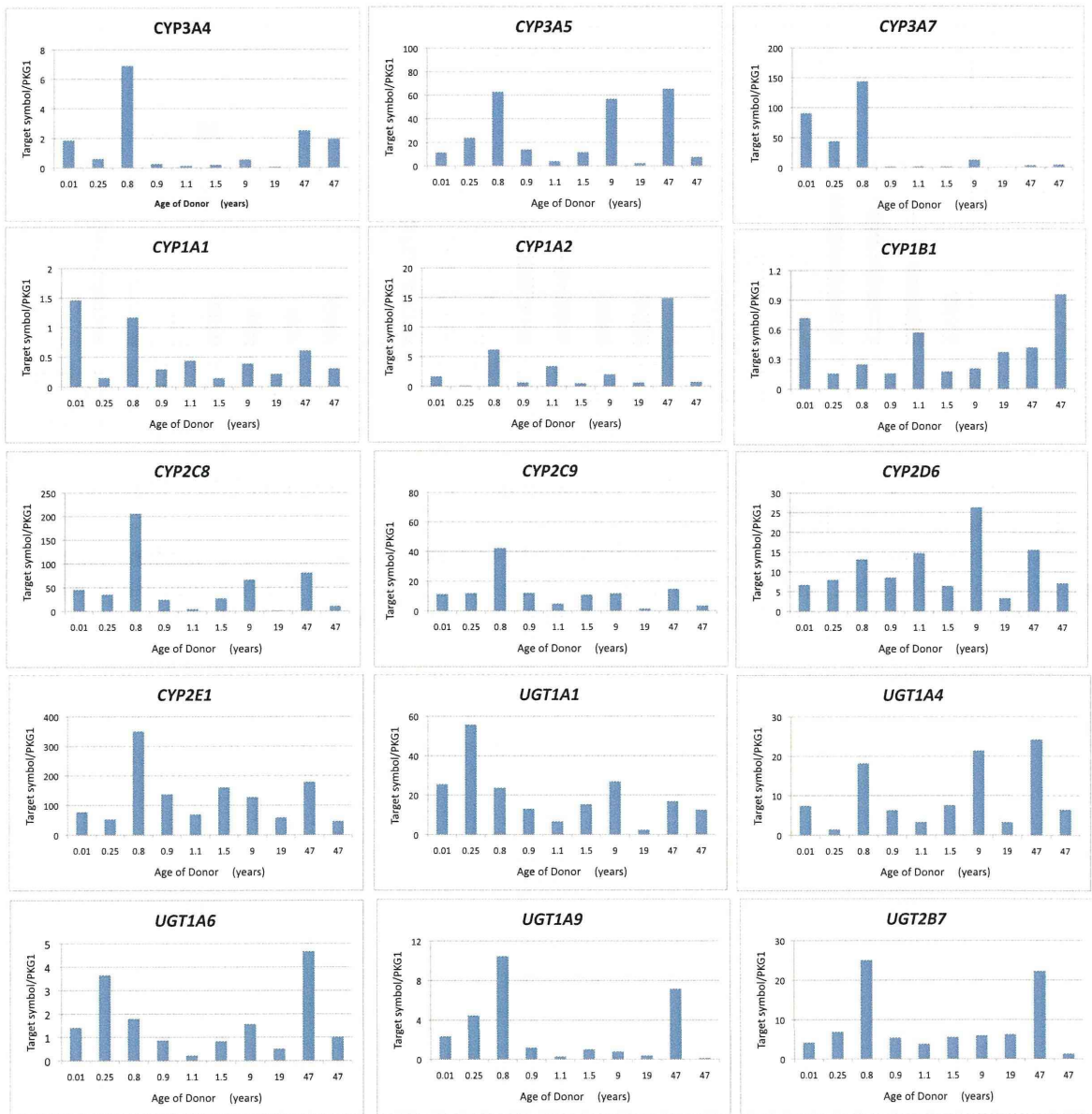


図38. ヒト肝細胞における薬物代謝因子の発現  
 UGT; UDP glycosyltransferase family

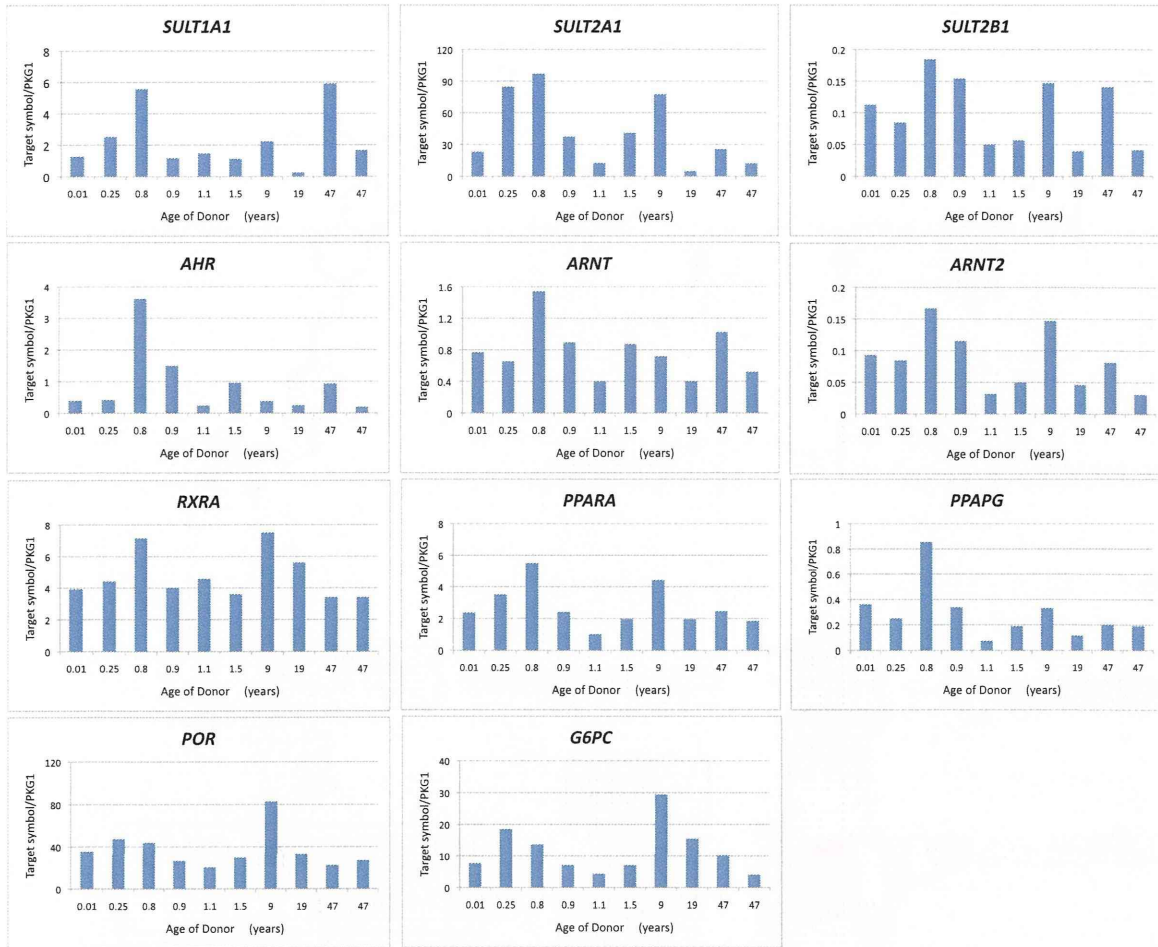


図39. ヒト肝細胞における薬物代謝因子の発現

SUL; Sulfotransferase family

AHR; Arylhydrocarbon receptor

ARNT; Arylhydrocarbon receptor nuclear translocator

RXRA; Retinoid X receptor, alpha

PPAPA/G; Peroxisome proliferative activated receptor, alpha/gamma

POR; Cytochrome P450 oxidoreductase

G6PC ; Glucose-6-Phosphatase

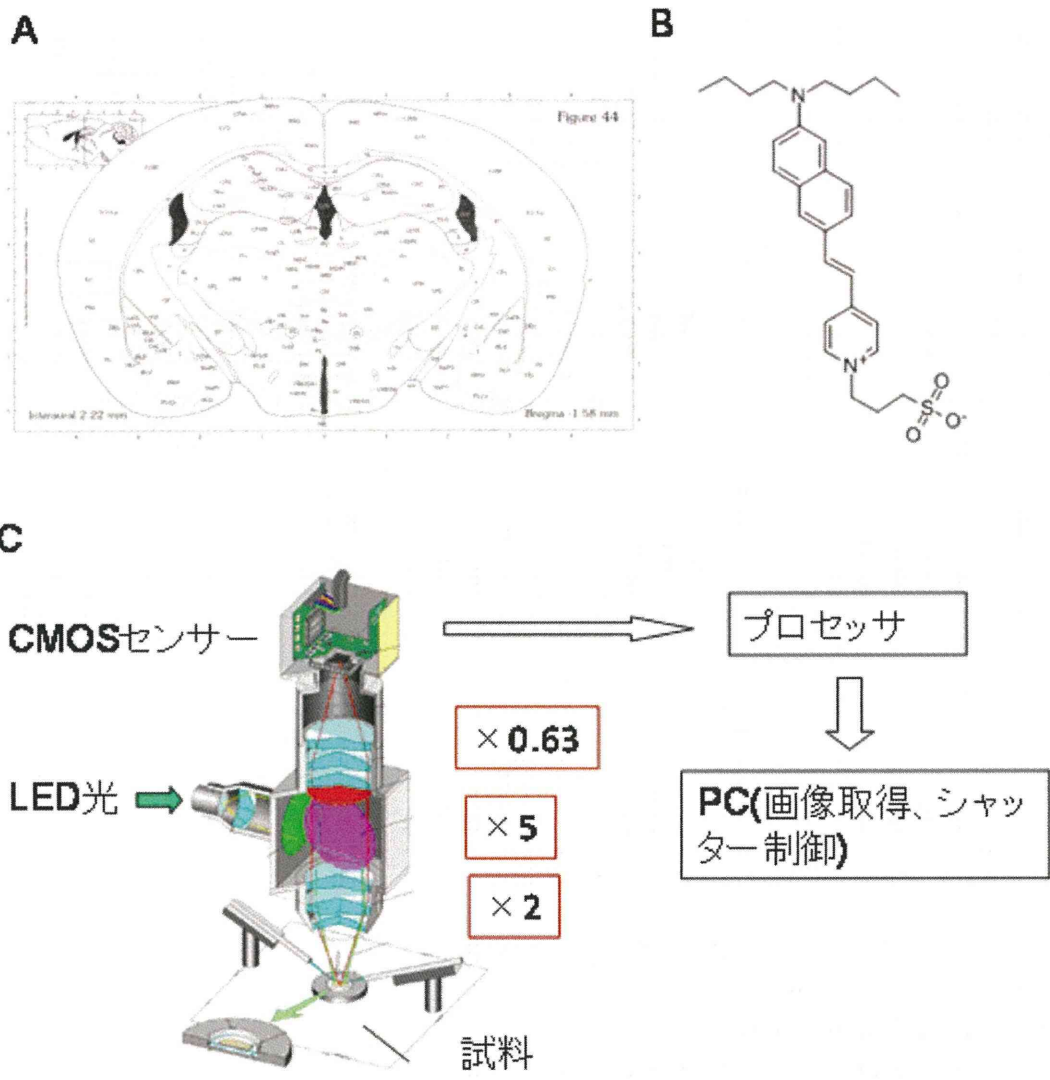
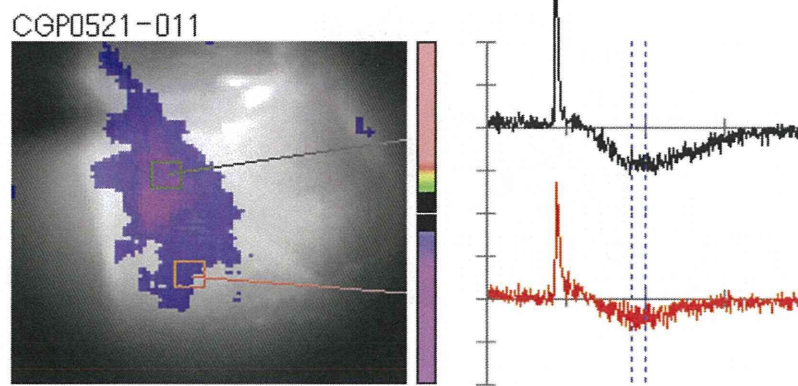


図 40. 膜電位変化の可視化に関する実験方法の概要

- A. 扁桃体スライス標本の断面図  
 マウス脳を摘出し、扁桃体を含む脳部位のブロックから、図の前後付近 400 $\mu$ m のスライス標本を作製した。外包(EC)、扁桃体(LA)、扁桃体基底外側核(BLA)
- B. 膜電位感受性色素(Di-4-ANEPPS)
- C. 膜電位感受性色素により染色したスライス標本から光学信号を記録する装置  
 実態顕微鏡のステージの灌流装置にスライスを乗せて、励起光(530 $\pm$ 5nm)をあて、蛍光(590 $\sim$ 650nm)を上部に取り付けた CMOS センサー(Ultima, Brain Vision Inc. Japan)により、1 ミリ秒間隔で画像を撮影した。



## A. Control



## B. GABA<sub>B</sub> receptor antagonist (100 $\mu$ M CGP 35348)

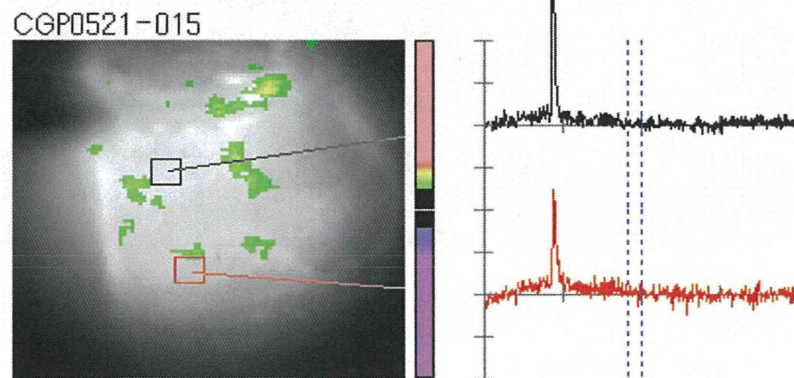


図 4 1. 膜電位感受性色素により可視化された GABA による抑制性過分極応答  
A. 扁桃体の外側核と基底外側核全体に過分極応答がひろがる様子が可視化された。  
B. 刺激後 350 ms 後の画像と黒と赤の四角で示された画像部位の光学応答波形  
GABA<sub>B</sub> 受容体の阻害薬により遅い過分極成分が消失した。

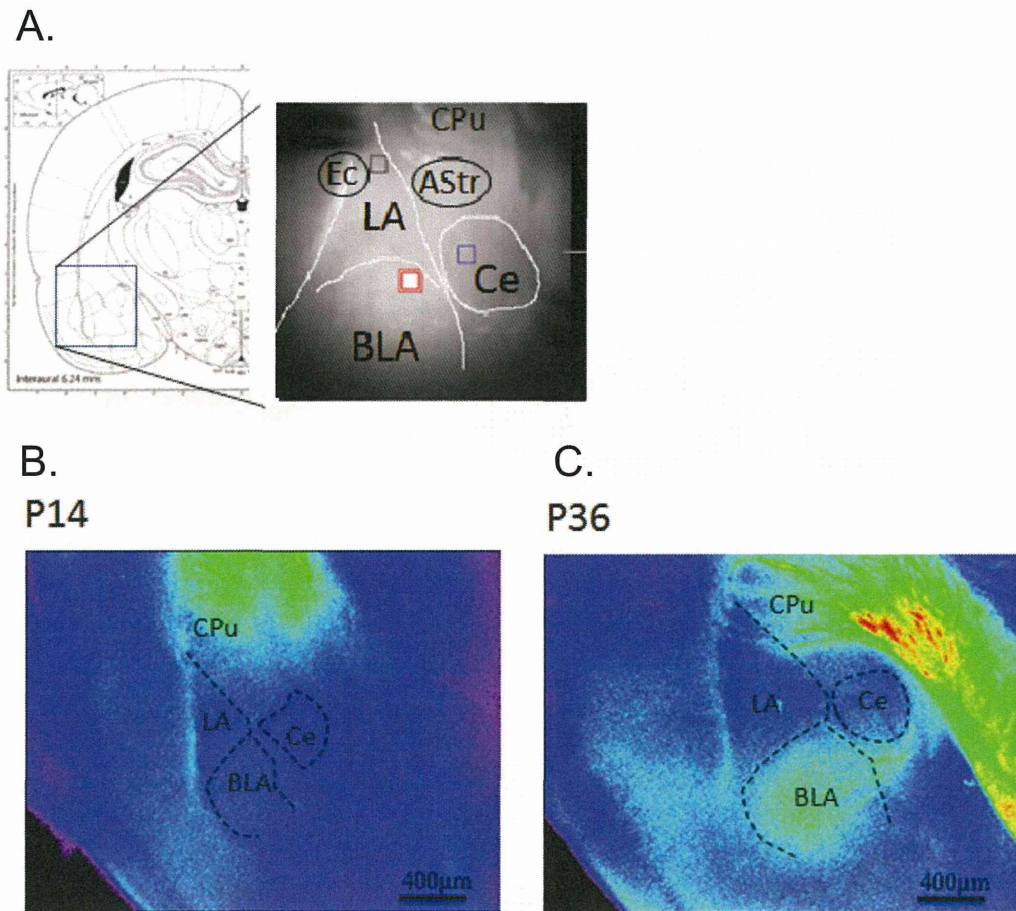
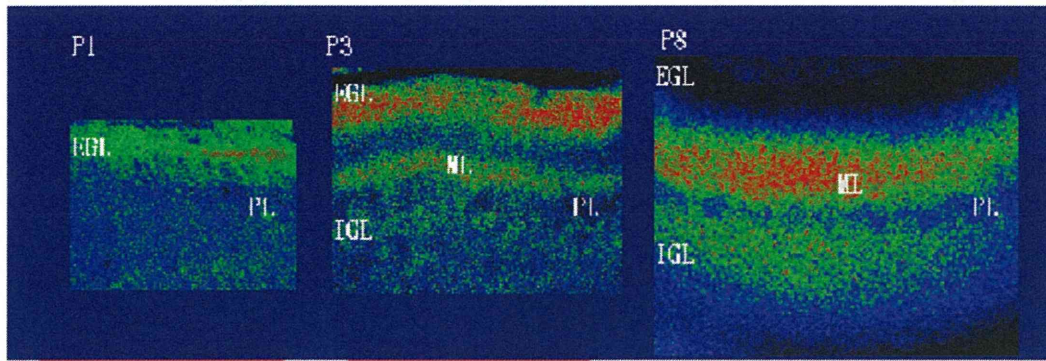


図4 2. マウス扁桃体スライスからの GABA の自発的遊離の空間分布の可視化  
 生後 2 週齢と 36 日齢では扁桃体からの GABA 遊離パターンが大きく異なっていた。  
 A. マウス脳の前部を指示する脳定位マップとスライス部位を示した図  
 外側核 (LA)、基底外側核 (BLA)、中心核 (Ce)、外包 (EC)、扁桃体線条体移行部  
 (AStr)、線条体 (CPu)。青が遊離の低いところ、遊離が多くなるほど、緑から黄色、  
 赤と疑似カラーで表示している。  
 B. 生後 14 日のマウス扁桃体スライスからの GABA 遊離。扁桃体からの遊離は少ない。Cpu  
 には GABA の遊離が見られる。  
 C. 生後 36 日のマウス扁桃体スライスからの GABA 遊離。扁桃体内では BLA に限定して遊  
 離量がふえている。線条体で高い遊離量が認められた。

A.



B.

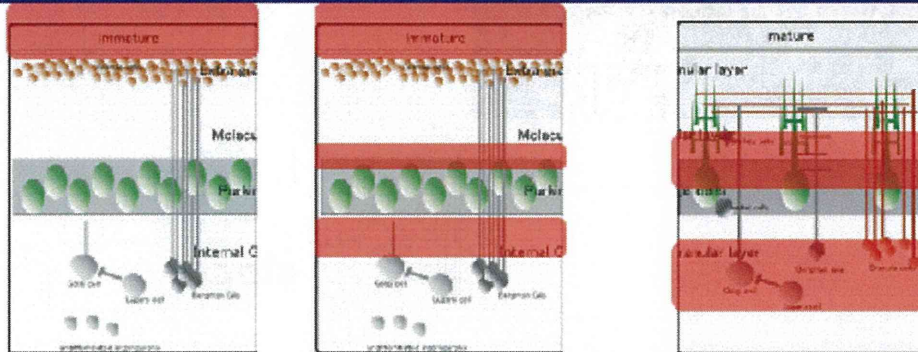


図43. マウス小脳スライスからのGABAの自発的遊離の空間分布の可視化

- A. 生後1日、3日、8日と、成長するにつれて小脳の細胞層でのGABA遊離のパターンが大きく変化していく様子。
- B. 小脳の成長期の細胞層の模式図と、GABAの遊離が多い部位を赤で表現した模式図である。

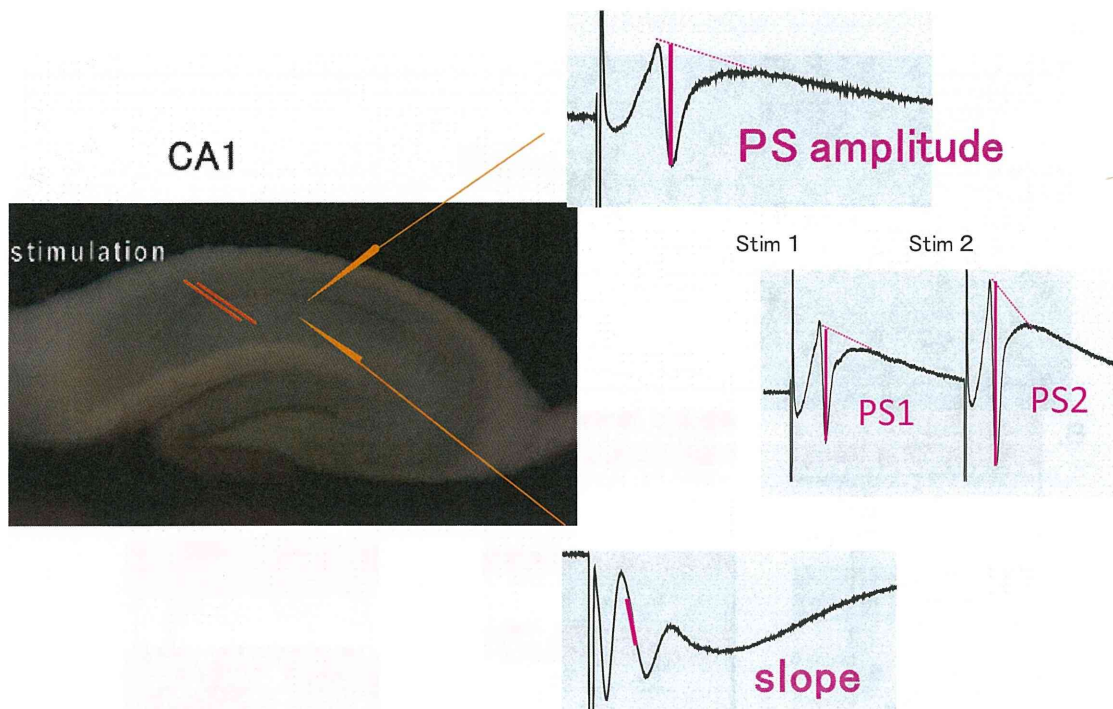


図 4.4. 実体顕微鏡下で観察される海馬スライス標本と神経細胞の応答

左の写真は海馬スライス標本である。CA1 領野シナプス層に挿入された 2 本の線は刺激電極を表している。CA1 領野に書かれた 2 本の矢印は記録電極を表す。記録は錐体細胞層とシナプス層からされた。神経細胞の応答は 2 週齢のラットから記録されたものである。上の応答は細胞層から記録されたもので集合スパイク電位が記録されている。集合スパイク電位の振幅の大きさを **PS amplitude** と定義した。PS amplitude の大きさは、ナトリウムイオンの流入による活動電位を発生した神経細胞の数を反映ものである。下の応答はシナプス層から記録されたもので集合シナプス後電位が記録されている。太線で示された部分はシナプス電位が大きくなるようすを定量的に示すもので **slope** と定義した。Slope は AMPA 型グルタミン酸受容体の活性化の大きさ、すなわち興奮性シナプスの活性化の大きさを表す。真ん中の応答は、ダブルパルスへの応答を示す。1 回目の電気刺激への応答を PS1、2 回目の電気刺激に対して得られた応答を PS2 として、 $\text{PS amplitude}_2 / \text{PS amplitude}_1$  の比を計算した。シナプス電位の slope についても、図には示されていないが、 $\text{slope}_2 / \text{slope}_1$  の比を計算した。

### 集合スパイク電位

### 集合シナプス後電位

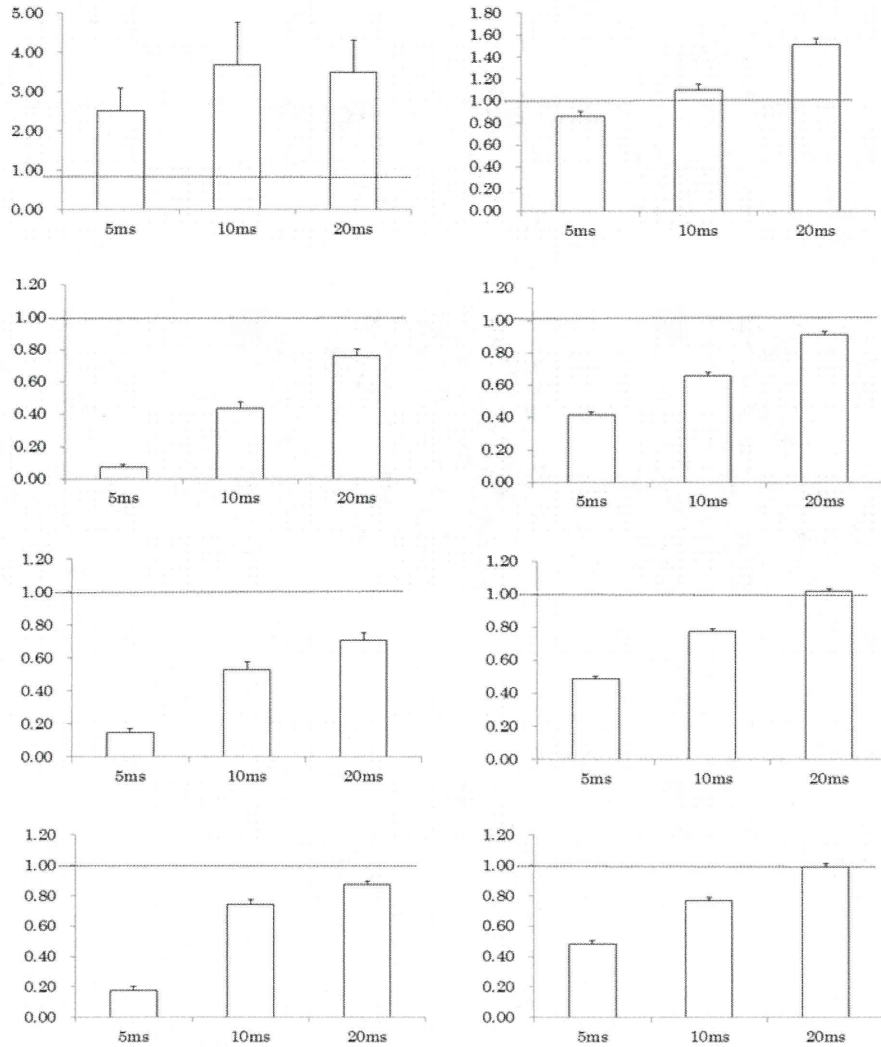


図4 5. ラットの脳の発達と海馬 CA1 領域のペアパルス比  
 左の4枚のグラフは細胞層から記録された集合スパイク電位の振幅(PS amplitude)の比を刺激間隔ごとに計算したものである。右の4枚のグラフはシナプス層から記録されたシナプス後電位の傾き(slope)の比を刺激間隔ごとに計算したものである。ラットの週齢は、上から2週齢、5週齢、8週齢、13週齢である。点線は比が1であることを示した。

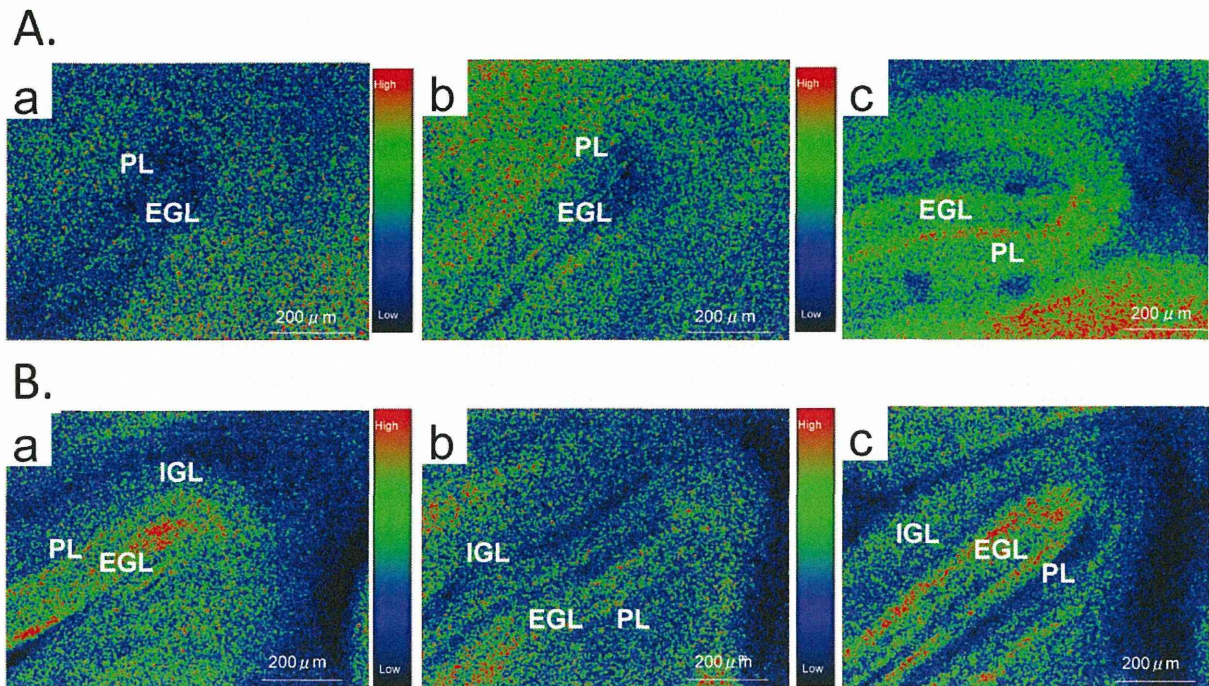


図4 6 . 小脳皮質からの GABA 遊離量の生後日齢による変化に及ぼすバルプロ酸経口投与の影響

A:生後4日齢の仔ラット小脳スライスからの GABA 遊離の可視化 B:生後6日齢の仔ラット小脳スライスからの GABA 遊離の可視化 対照群 (A.a.および B.a.) から作成した小脳スライスに比較して、300 mg/kg 群 (A.b.および B.b)、と 600 mg/kg 群 (A.c.および B.b) で強い GABA 遊離が観察される部位の広がり広範囲であることがわかる。

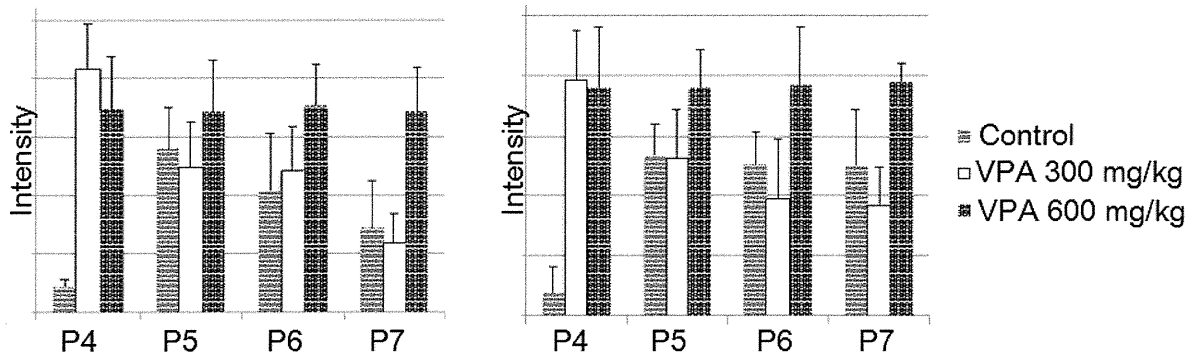


図 4.7. 小脳皮質からの GABA 遊離量の生後日齢による変化に及ぼすバルプロ酸経口投与の影響

生後のそれぞれの日齢で摘出した小脳から作成したスライス標本を用いて、GABA の細胞外遊離量を示す蛍光強度の日齢変化を測定した。コントロール群、300 mg/kg のバルプロ酸経口投与群、600 mg/kg のバルプロ酸経口投与群を比較している。

A:小脳スライスの外顆粒層 (EGL) における GABA 遊離量の生後日齢変化

B:小脳スライスの内顆粒層 (IGL) における GABA 遊離量の生後日齢変化

コントロール群では生後 5 日で GABA 遊離量が増加するが、バルプロ酸経口投与群では生後 4 日で既に高い GABA 放出量が観察された。その他の日齢ではコントロール群と 300 mg/kg 群との間に差はみられなかったが、600 mg/kg 群において生後 8 日において高い遊離レベルが観察された。

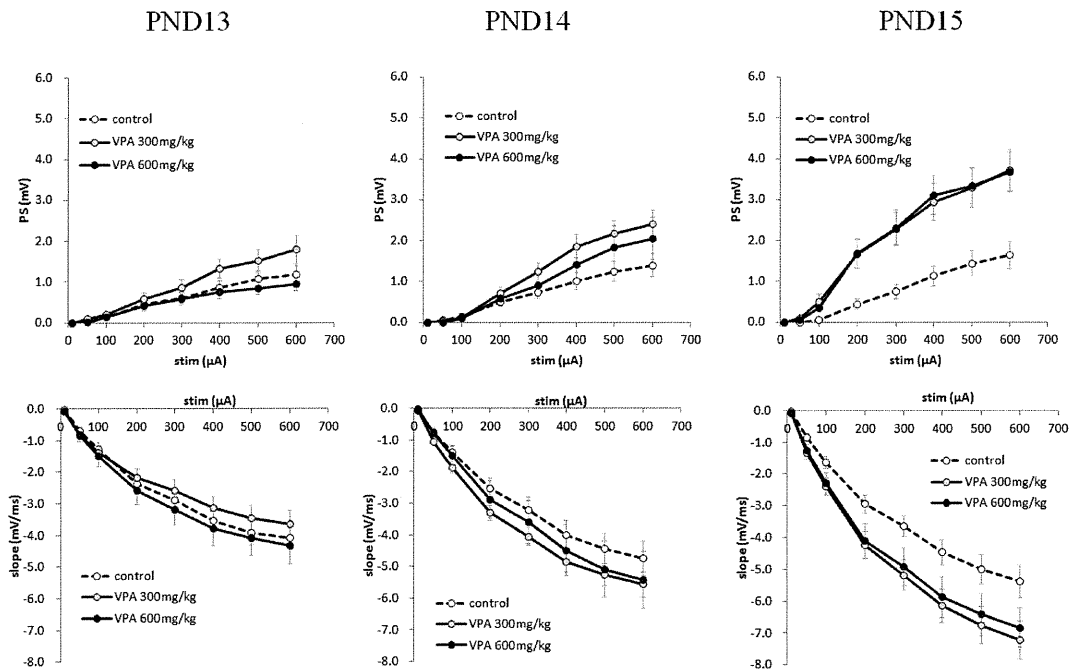


図 4 8 . PND13-15 における海馬 CA1 領域の集合スパイク電位(population spike , PS)と集合シナプス後電位(field excitatory postsynaptic potential)の傾き(slope) についての刺激応答性。刺激電極と記録電極を *st.radiatum* に距離 210-250 μm で設置し、他方の記録電極を *st. pyramidale* に設置した。電気刺激の大きさを変えて PS の振幅 (上段) と slope (下段) についての刺激応答性を調べたところ、PND15 において、2 つの VPA 曝露群で slope、PS ともに刺激応答性が亢進した。誤差は SEM である。



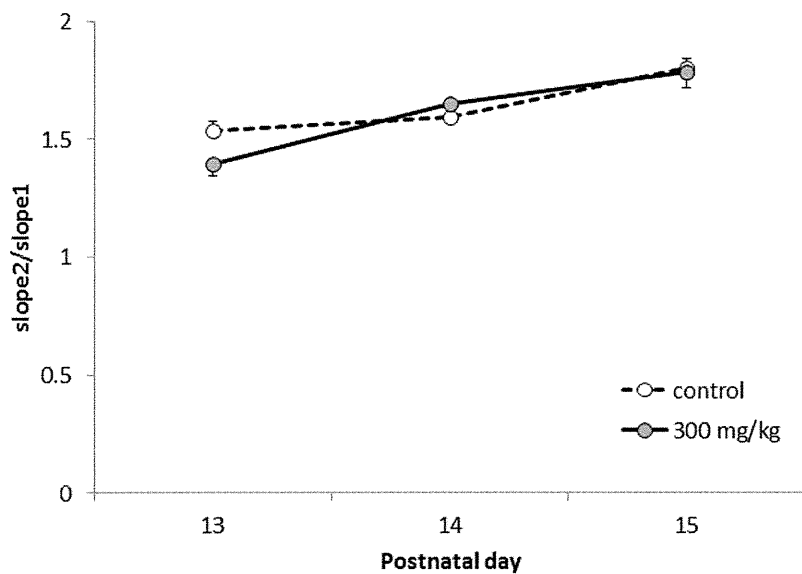


図 4 9. ペアパルス促通への VPA 曝露の影響

slope 値が-1 mV/ms になるような、PS を誘発しない小さい電気刺激を用いて、PND13-15 におけるグルタミン酸放出への VPA 曝露の影響を調べた。ペアパルス促通への VPA の影響は見られなかった ( $P < 0.4406$ , 繰り返しのある二元配置分散分析)。誤差は SEM である。

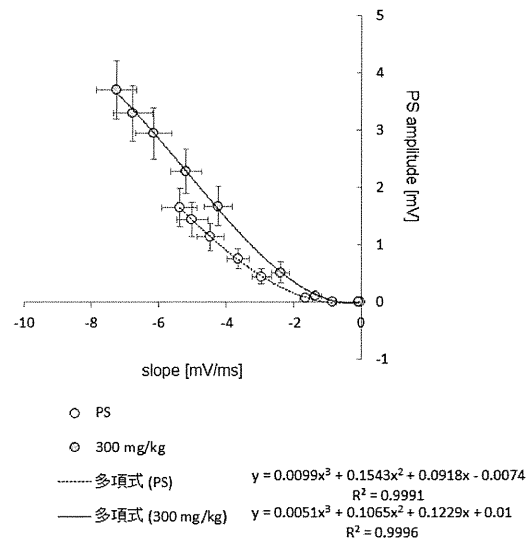


図 5 0 . EPSP/Spike potentiation への VPA 曝露の影響

PND15 のときについて、CA1 錐体細胞の活動電位生成という出力応答を、樹状突起における入力応答の関数として解析した。8 段階の強さの電気刺激を与え、そのときの slope と PS 振幅の平均値と誤差をグラフ化した。図 4 0 に記載したように、slope と PS 振幅は曝露群で有意に増加している。近似曲線には、3 次の多項式を用い、近似式を記載した。1 次の傾きについて、対照群 0.0918、VPA 曝露群 0.1229 となり顕著な差は見られなかった。

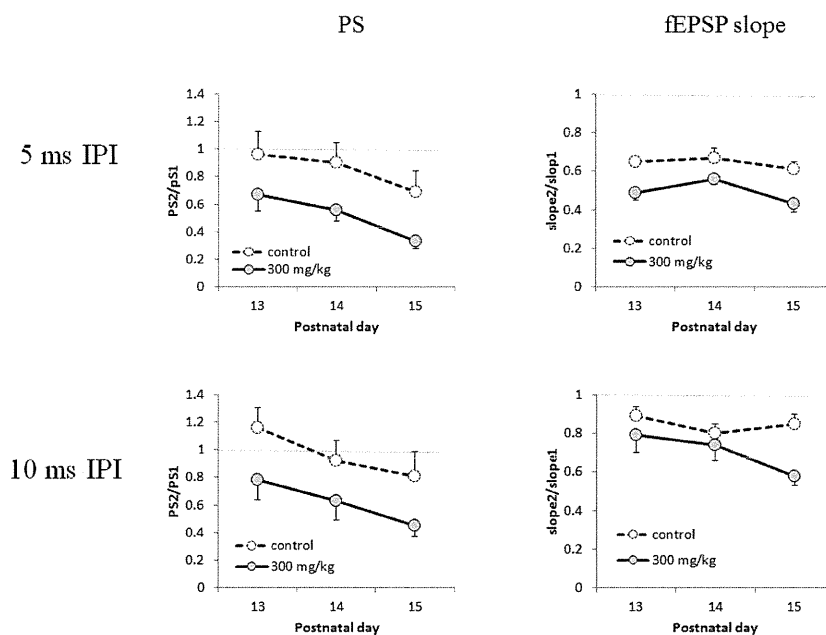


図 5.1. フィードバック抑制への VPA 曝露の影響

錐体細胞の細胞体層と樹状突起シナプス層へのフィードバック抑制について、PND13-15 で調べた。5, 10 ms いずれの刺激間隔においても、フィードバック抑制は増加しており、抑制性 GABA 機能が VPA 曝露によって亢進した。5 ms 刺激間隔のときの PS については  $p=0.0029$ , slope については  $p=0.00004$ 、10 ms 刺激間隔のときの PS については、 $p=0.0035$ , slope については  $p=0.0018$  となり、いずれも曝露の影響が顕著であった。曝露の影響の有無については、繰り返しのある二元配置分散分析で検定した。

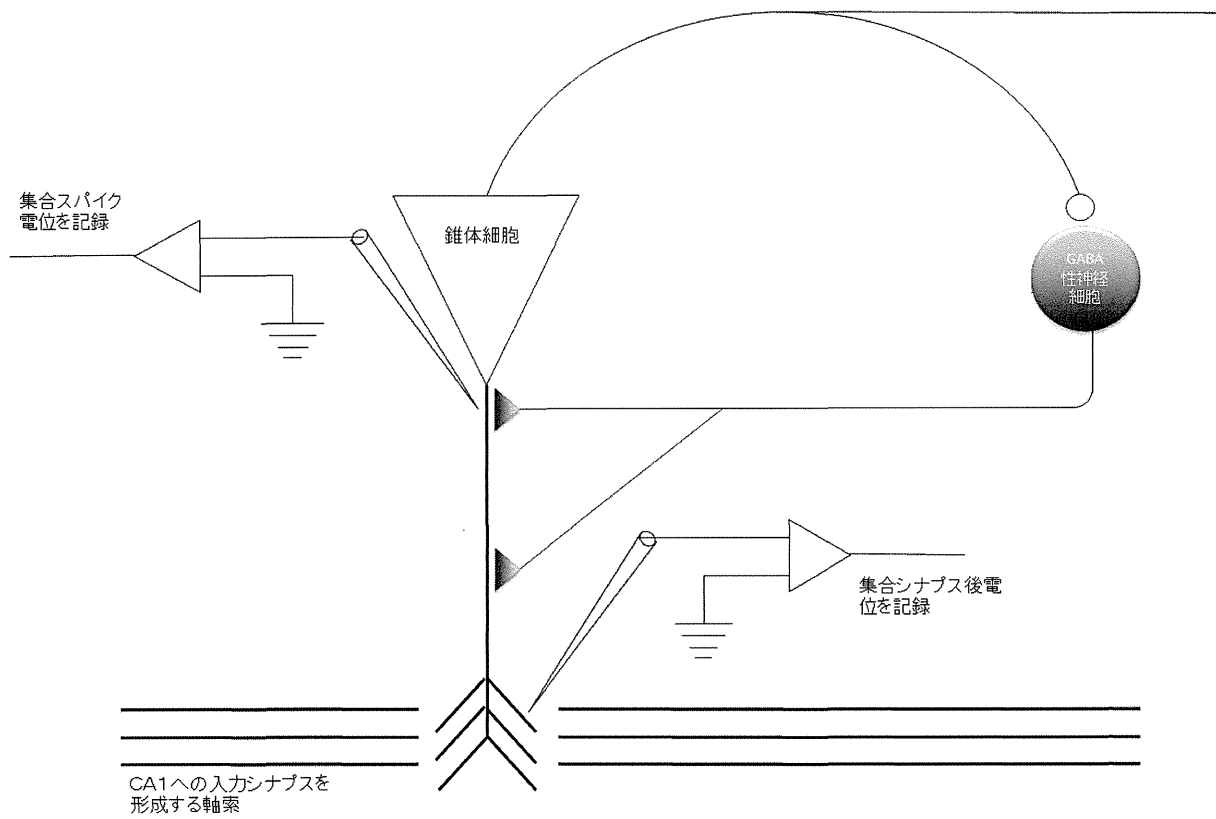


図52. 海馬 CA1 領域におけるフィードバック抑制に寄与する GABA 性神経細胞と錐体細胞の神経連絡図と記録電極の位置  
回路の説明については本文を参照のこと。