

日本

生理学

雑誌

JOURNAL OF THE PHYSIOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

53巻 4号 1991

第69回日本生理学会大会ご案内（第1報）

総 説

高氏 昌, 筒浦理正: 骨格筋の興奮収縮連関—カリウム拘縮の2相性について—.....117

学会抄録 日本生理研連シンポジウム・ヒトの脳機能研究の最近の進歩.....136

第80回近畿生理学談話会.....139

生理学の広場 堀田 健先生を偲んで.....147

「生理学者群像」(山岡貞夫).....148

お知らせ 平成3年度 第1回動物実験に関する委員会議事要旨.....148

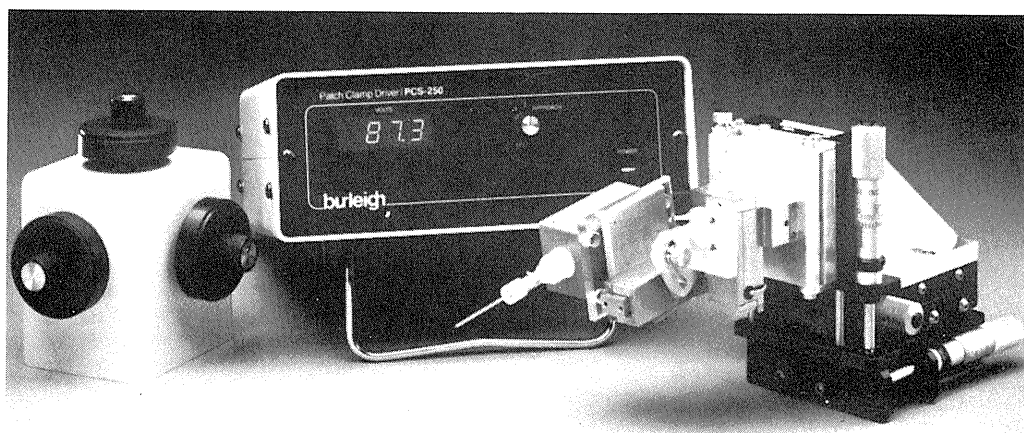
日本, ポーランド・血液循環シンポジウム.....149

大阪大学創立50周年記念国際シンポジウム・痛覚情報の処理機構.....149

日本生理誌
J. Physiol. Soc. Japan

日本生理学会

burleigh



バーレイ/PCS-1000型 パッチクランプ・ マイクロポジショニング・システム

パッチクランプ手法に欠かせない絶対的な安定性能と、
パッチ専用機ならではの数々のアドバンテージを備えた
インテグレート型マイクロポジショニング・システムが、
遂に日本にも上陸しました。

- ◆駆動方式は、バーレイ社が誇る最新テクノロジー、 piezo・エレクトリックを採用。電圧の変化にのみ反応するこの方法は抜群の長時間安定性を誇り、あらゆるドリフトやメカニカル・バックラッシュから実験を解放しました。
- ◆「クラムシェル・ピボット・アッセンブリー」を採用。ヘッドステージを回転体として、頻繁に要求されるパッチ電極の脱着・交換を容易にしたうえ、交換後には確実にもとのポジションを確保します。
- ◆Z軸チルト・メカニズムを採用して、パッチクランプ実験に不可欠な電極のアプローチ角度調節を可能にしました。
- ◆オリンパス倒立顕微鏡IMT-2、ニコン倒立顕微鏡TMDのそれぞれに、専用マウントをオプションでご用意いたしました。

バーレイ社
日本総代理店

MARUBUN CORPORATION
丸文株式会社

南砂事業所 〒136 東京都江東区南砂3-3-4
第4事業本部営業第2部第1グループ
TEL. (03) 3648-9318(ダイヤル・イン)

バーレイ社製PCS-1000型
日本総発売元



ショーシンEM株式会社

〒444-02 愛知県岡崎市赤浜町蔵西1番地14(ショーシンビル)
TEL. (0564) 54-1231番(代表)
FAX. (0564) 54-3207番

第69回日本生理学会大会ご案内 (第1報)

第69回日本生理学会大会を次の通り開催致しますので多数ご参加ください。

1. 会 期 平成4年4月2日(木), 3日(金), 4日(土)
2. 会 場 秋田大学手形キャンパス 秋田市手形学園町1番1号
(JR秋田駅より2km バス約8分, タクシー約5分, 秋田空港より29km バス(JR秋田駅乗り換え)50分, タクシー40分)
3. 発表形式
口頭およびポスター
4. 演題申し込み
 - 1) 従来通りとし, 演題申し込み(邦文予稿集抄録を含む)等の締め切りは平成3年11月9日(土)必着とします。
 - 2) 発表演題数は無制限とします。ただし, 原則として各機関の口頭発表は1題, その他はポスター発表とします。同一研究者の演者としての発表は1題にかぎります。
5. 宿泊及び交通
旅行業務の斡旋はJR東日本秋田駅旅行センター(TEL 0188-32-6435, 担当:夏井)に委託します。東京, 大阪, 名古屋, 札幌からの航空便は, 特別割引運賃を設定します。
6. 詳細は第2報として日本生理誌53巻7号に掲載致します。

第69回日本生理学会大会当番幹事

小川 哲 朗

古谷野 速 雄

連絡先 〒010 秋田市本道1-1-1

秋田大学医学部生理学教室内

第69回日本生理学会大会事務局

TEL 0188-36-2604~5 (直通)

FAX 0188-36-2604~5

骨格筋の興奮収縮連関

—カリウム拘縮の2相性について—

高 氏 昌・筒 浦 理 正

(札幌医科大学生理学第一講座)

Excitation-contraction coupling in skeletal muscle: characteristics of biphasic potassium contractures. Masa TAKAUJI and Masaaki

TSUTSU-URA (*Department of Physiology, Sapporo Medical College, Sapporo, 060 Japan*)

I. はじめに

骨格筋における収縮には、単収縮をはじめ強縮、拘縮など数種のタイプがある。拘縮の中でもカリウム拘縮は、持続的な脱分極により起こされる収縮 (depolarization contracture) の代表として注目され⁴⁷⁾、多くの研究者^{13~15, 20, 21, 23, 28~35, 41, 46, 48, 50, 53, 62~64)}により、骨格筋の興奮収縮連関 (excitation-contraction coupling, E-C coupling) に関する研究のきわめて有効な手段として常用され、現在に至っている。これらの報告では、カリウム拘縮は、一般に、1相性拘縮 (monophasic contracture) としてのみ取り扱われてきた。その後 Costantin¹⁹⁾により、骨格筋の単一速筋線維 (single twitch muscle fiber) のカリウム拘縮は、2相性拘縮 (biphasic contracture) であることが報告された。われわれ^{82, 83)}も、カリウム拘縮の2相性を確認し、さらに、2相性拘縮が諸種条件により、性質の異なる2つの component に分離されることを明らかにし、また、各 component の E-C coupling process も異なるであろうことを示唆した。

本稿では、2相性カリウム拘縮の性質に関するわれわれの現在までの成績^{44, 75~83, 86, 91)}を要約し、カリウム拘縮を1相性とみなして行われた従来の研究の結果^{13~15, 20, 21, 28~35, 48, 50)}と比較考察する。さらに、Ca²⁺電流と直接関係があると考えられるカリウム拘縮^{76, 77, 88~90)}についても述べる。加えて、E-C coupling mechanismの研究における、これら各種カリウム拘縮の解析の意義についても考察してみたい。

II. 2相性カリウム拘縮

Costantin¹⁹⁾は、2相性カリウム拘縮の性質を詳細に調べ、2相性の出現には、以下のような幾つかの条件があることを示した。すなわち、2相性カリウム拘縮は、(1)外液のカリウム (K⁺) 濃度に依存して現れ、その至適濃度は80ないし60 mM K⁺の範囲にある。これより高いK⁺濃度では、第1相あるいは第1のコンポーネント (Costantin¹⁹⁾の表現に従って、以下 initial component とする) と第2相あるいは第2のコンポーネント (以下 secondary component とする) の融合が起こるため、また、これより低いK⁺濃度では、主として secondary component が現れるために、2相性カリウム拘縮は認め難い。(2)約120 mMのCl⁻の存在を必要とする。(3)低温ならびに、(4)収縮閾値以下の低濃度K⁺による脱分極による前処理 (conditioning depolarization)も2相性カリウム拘縮を現れにくくする。(5)正常 Ringer 液中のNa⁺のcholineによる置換、あるいはTTXの添加、ならびにMg²⁺によるCa²⁺の置換は、2相性カリウム拘縮の出現に影響を与えない、などである。

われわれ^{82, 83)}は、これらの成績の大部分を確認するとともに、2相性カリウム拘縮の出現は単一速筋線維の直径に依存し、その大きい筋線維ほど2相性を示し易いことを追加した (図1)。しかし、低濃度 (10~20 mM) K⁺による conditioning depolarization の影響⁸³⁾、ならびにMg²⁺によるCa²⁺の置換の影響^{82, 91)}につい

ては、Costantin¹⁹⁾ の成績との間になお若干の疑義が残されている^{82,83,91)}。

Costantin¹⁹⁾ によれば、2相性カリウム拘縮は、横行小管膜(transverse tubular membrane, T-tubular membrane, T管膜)の2相性脱分極に帰せられる。すなわち、initial componentに

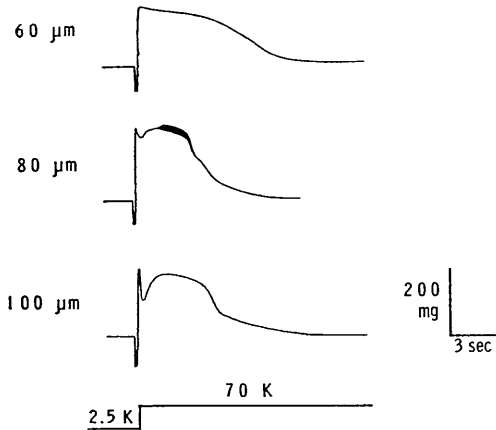


図1. カエルの単一速筋線維の直径とカリウム拘縮の2相性。

(Takauji ら⁸²⁾, 許可を得て転載)

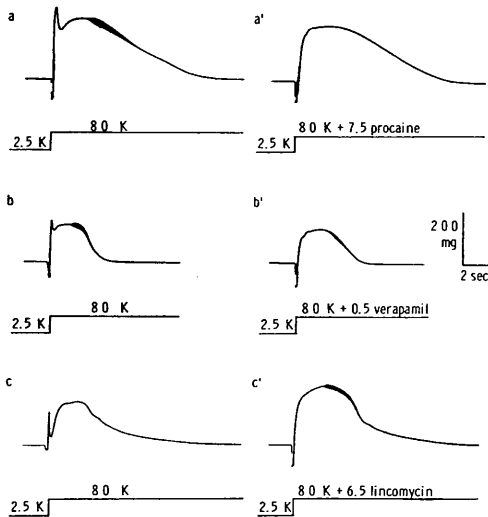


図2. Initial component の各種薬物による抑制と secondary component のとくに rate of rising の増強。

a, b および c : 対照. a', b' および c' : 各種薬物 (mM) の作用 (前処理無し).

(Takauji ら⁸²⁾, 許可を得て転載)

対応するT管膜の急速かつ一過性の電位変化は、表面膜の高濃度 K^+ による脱分極の電気緊張性内部波及と、これに随伴する Cl^- の筋線維内流入による再分極 (repolarization) とによって生ずる。他方, secondary component に対応する脱分極は、高濃度 K^+ により起こされるT管膜の直接的脱分極であり、これはT管腔への K^+ の拡散を介するため、initial component に対応する脱分極より遅れて起こる。かくして、T管膜の脱分極は2相性に起こり、その結果収縮も2相性になるという。また、彼らは、これらの component の発生は、同一の E-C coupling process を介すると考えている。しかし、カリウム拘縮の2つの component の分離 (separation) に関するわれわれの以下の事実^{44,78~83,86,91)}は、2相性カリウム拘縮の各 component の

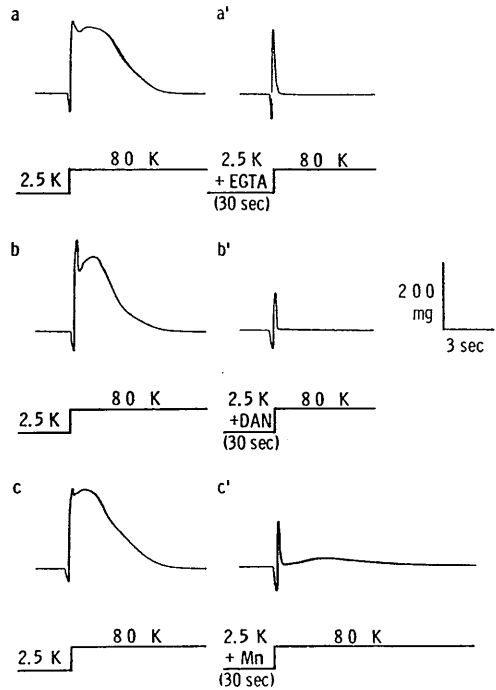


図3. Secondary component の抑制。

a, b および c : 対照.

1 mM EGTA を含む Ca-free choline Ringer (a'), 2.5 μ M DAN (b') および 5 mM $MnCl_2$ (c') を含む choline Ringer で30秒間前処理した後、80 mM K^+ choline Ringer を作用した。

(Takauji ら⁸²⁾, 許可を得て転載)

成因に関し、われわれをつぎのような見解^{44,78~83,86,91)}に導いた (以下参照).

Ⅲ. 2つの component の分離

Initial component の張力発生は、比較的急速に起こり、かつ一過性 (phasic) である点で、

外見上単収縮に似ている. これに続く secondary component の張力発生は比較的ゆるやかに起こり、持続性で、かつ自発性弛緩を伴う. 7.5 mM procaine, 0.5 mM verapamil および 6.5 mM lincomycin は、initial component を著明に抑制するが、secondary component に

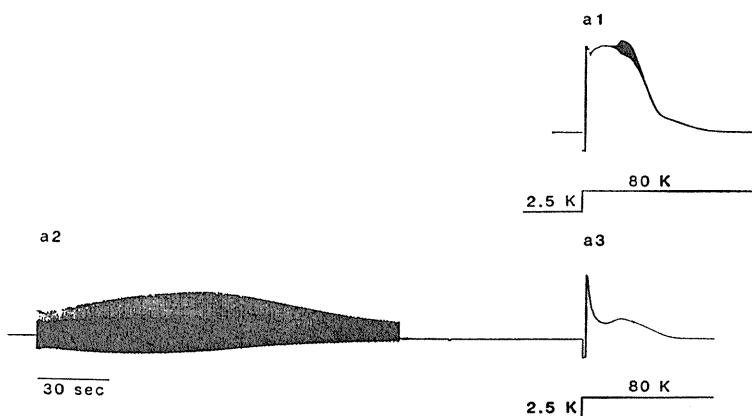


図4. 疲労させた単一筋線維における2相性カリウム拘縮.

a1: 対照. a2: 1 Hz の頻回刺激による疲労. a3: 2相性カリウム拘縮. (Kanaya ら⁴⁴⁾, 許可を得て一部転載)

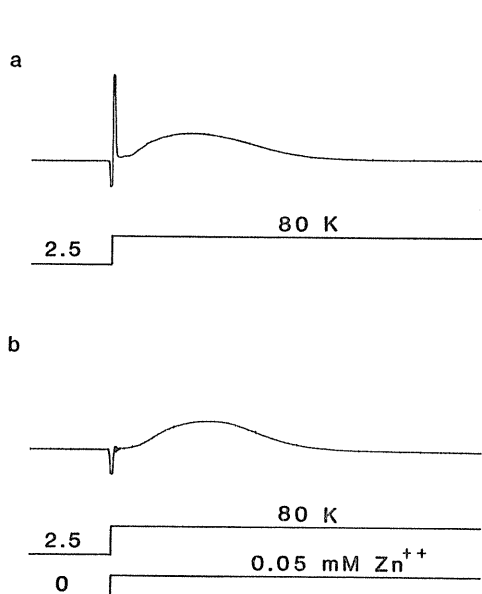


図5. Zn^{2+} による initial component の完全抑制と、secondary component の rate of rising の軽度抑制.

a: 対照. b: 0.05 mM Zn^{2+} の作用 (前処理無し).

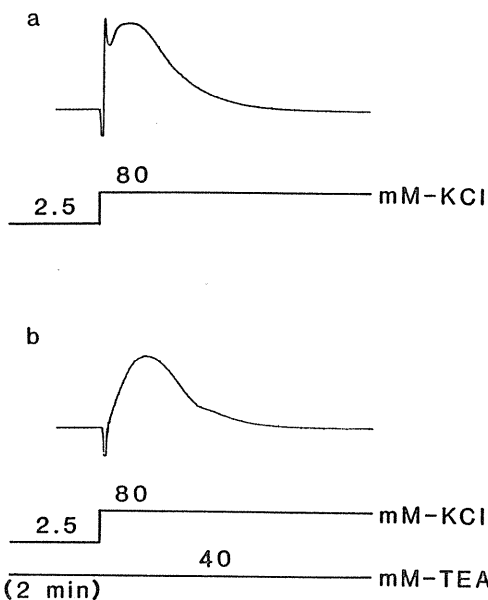


図6. TEA^+ による initial component の完全抑制と secondary component の rate of rising および peak tension の抑制.

a: 対照. b: 40 mM TEA^+ の作用 (2分間前処理).

はほとんど影響を与えないか、むしろ増強させる⁸²⁾(図2). 一方, 1 mM EGTA による外液 Ca^{2+} の除去および 2.5 μ M dantrolene (DAN) は, secondary component の張力発生を完全に抑制し, また, 高濃度 (5 mM) Mn^{2+} もそれを著明に抑制する^{78,82)}(図3). これらは, initial component の張力発生速度 (rate of rising) に

はほとんど影響を与えず, また, 十分な大きさの張力 (tension) を発生させ得る. さらに, secondary component のより強い抑制は, カエルの疲労した単一速筋線維においても認められる⁴⁴⁾(図4). また, 単収縮を増強する濃度の Zn^{2+} ^{52,71,72)} (potentiator, Type B)⁶⁴⁾ または TEA^+ ^{70,71,93)} は, initial component を完全に

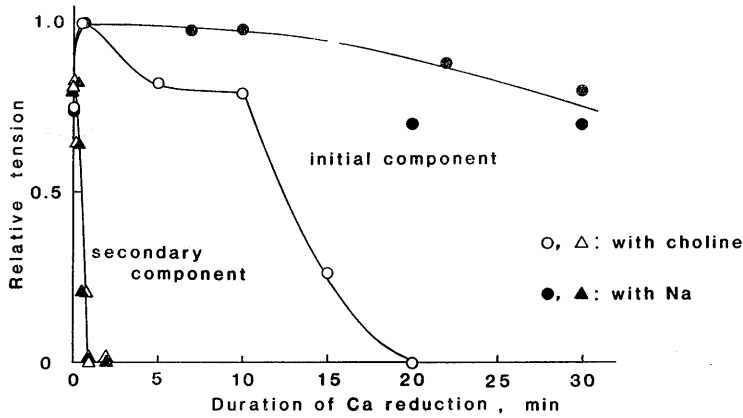


図7. Initial component と secondary component に対する外液 Ca^{2+} 除去の効果 (時間依存性曲線).

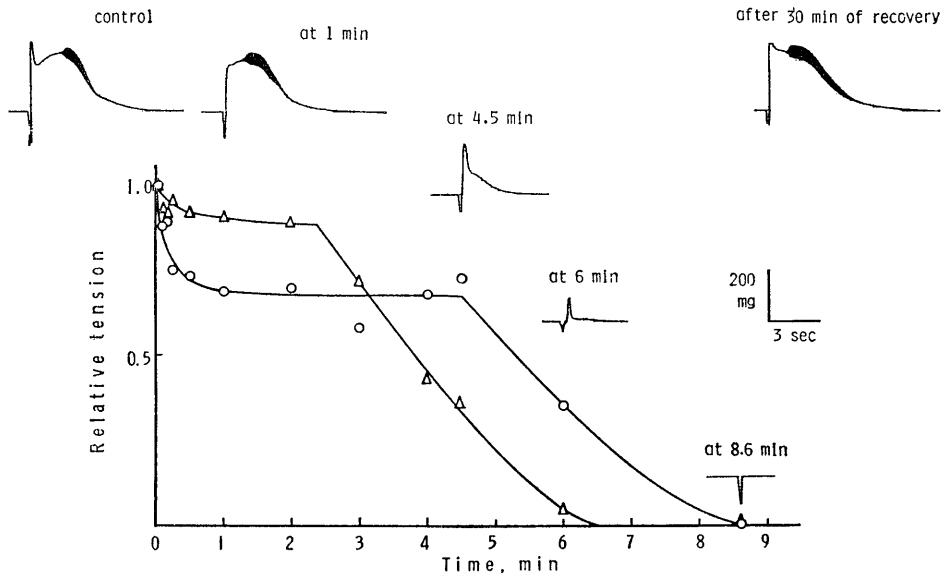


図8. Initial component と secondary component に対する depolarization inactivation の影響 (時間依存性曲線).

Conditioning depolarization のための K^+ 濃度: 20 mM. Test には 80 mM K^+ 拘縮を使用.
 ○: initial component, △: secondary component.
 (Takauji ら⁸³⁾, 許可を得て転載)

抑制し, secondary component の rate of rising ならびに peak tension を軽度抑制する⁸¹⁾(図5 および6). またさらに, 外液 Ca^{2+} 除去による initial component の抑制の時間経過は Na^+ により遅延される(図7. 後述, V参照). また, Ca^{2+} 除去により生じた抑制は低濃度 (0.5~1 mM) caffeine により除去されるが, これらの現象は secondary component では認められない⁸⁶⁾. また, 両 component に対する不活性化 (conditioning depolarization による)(後述, VI参照)の影響は, initial component と secondary component で異なる傾向がある⁸³⁾点も注目される(図8).

これらの成績は, 2相性カリウム拘縮の2つの component は, それぞれ互に異なる性質を有することを示唆する.

なお, カリウム拘縮における Ca^{2+} transient も2相性を示す¹⁰⁾という事実は, われわれの以上の成績を支持するものと思われる.

IV. 2つの component の E-C coupling process

以上の成績で示される諸種条件下のカリウム拘縮の2相性は, 便宜上, つぎの4つのパターンに分類される. これらのパターンの解析から, 2つの component の E-C coupling process の異同に関し, 以下に述べる考えが導かれる.

2相性の第Iのパターンは, Ca^{2+} 除去による成績(図3, a'; 11b; 12b; 13b参照)で代表される. すなわち, initial component の rate of rising および peak tension は, 正常ないしは増強されて現れるのに, secondary component は完全に抑制される, という場合である. 同様のパターンは, DAN によっても示される(図3, b'参照). 第IIのパターンは, Zn^{2+} や TEA^+ による成績(図5および6, III参照)で代表される. この場合は, initial component が完全に抑制される時, secondary component のとくに rate of rising および peak tension もまた軽度抑制される. このように, 第Iおよび

第IIのパターンでは, 活性化過程 (activation process) の変化 (増大あるいは抑制) が両 component の間で平行する(以下参照).

ここで, (1)両 component の E-C coupling process は同一であると仮定し, また, (2)2相性脱分極 (II参照) に対応して, activation process を早期に中断させるモデル (repolarization による interruption model^{13,87)}) を考え, さらに, (3)このモデルにおける収縮の初期相には, その持続がきわめて短いため, 不活性化過程 (inactivation process) が含まれないこと(後述, VI参照)を考慮すると, 以上の第Iのパターンは, inactivation process の著しい促進のみにより, また, 第IIのパターンは, activation process の抑制のみにより説明することも可能である. しかしながら, 以下に述べる第IIIおよび第IVのパターンについては, この interruption model による説明は成り立たない(後述).

第IIIのパターンは, 高濃度 Mn^{2+} 作用の成績で代表される. 5mM Mn^{2+} (図3, c'; III参照) は, secondary component の rate of rising および peak tension, したがって, activation process を著明に抑制し, また, その time course, したがって, inactivation process も著しく抑制する. 一方, initial component に対しては, その activation process をより直接的に反映するとみなされる rate of rising にほとんど影響を与えず, また, なお十分な大きさの張力を発生させ得る. 同様の2相性パターンは, 疲労筋⁴⁴⁾においても示されている(図4, III参照). 第IVのパターンは, lincomycin⁸²⁾(図2, c'参照)や, TMB-8^{34,69)} ([8-(diethylamino)-octyl-3, 4, 5-trimethoxybenzoate](図9, 後述, VIII参照)の作用下で認められる. すなわち, initial component の tension 発生が完全に抑制される時, secondary component の rate of rising および peak tension は抑制されることはなく, むしろ明らかに増強される. これらのパターンでは, activation process の変化が両 component の間で平行しない. この点は, 前述の第Iおよび第IIのパターンと明らかに異なる

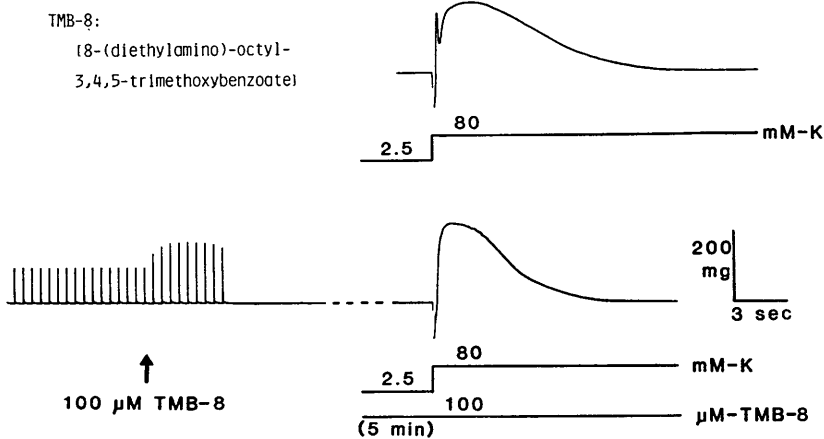


図9. TMB-8による単収縮および initial component の抑制と, secondary component の rate of rising の増強.

TMB-8: 100 μ M. 単収縮が完全に抑制された後 80 mM K^+ を作用させる.

ところであり注目を要する.

従来, 高濃度 Mn^{2+} は, 40~100 mM KCl による1相性カリウム拘縮の peak tension の著明な減少ならびに time course の遅延をもたらすことが知られている^{18,59}. 第Ⅲのパターンにおける secondary component の 5 mM Mn^{2+} による抑制は, この事実と一致する. また, 上述の interruption model に従えば, secondary component のこの強い抑制は, Mn^{2+} により inactivation process が抑えられるにも拘らず, それを上廻る activation process の抑制が起るためと解され得る. 一方, initial component に関しては, このモデルの初期相の activation process もまた強く抑制されるため, initial component も当然完全に抑制されることが期待される. しかるに, 事実は明らかに異なる. また, これと同様の検討を加えて, 第Ⅳのパターンを得ることも不可能である. これらのことは, 第Ⅲおよび第Ⅳのパターンが interruption model では説明され得ないことを示し, それゆえに, initial component と secondary component は, 互に独立で, その E-C coupling process (electro-Ca link) も異なることを強く示唆する. 以上より, 2相性カリウム拘縮に関し, 現在までに得られているすべての事実(Ⅲ参照)は, 各 component が, それぞれ異なる cou-

pling process を介して起こると考えれば容易に説明され得る.

かくして, 2つの component の E-C coupling process に関し, initial component は, おそらく, 表面膜の脱分極の T管膜を介する内部波及 (Ⅱ参照) と, それと関連する何らかの機序による筋小胞体 (sarcoplasmic reticulum, SR) からの Ca^{2+} 放出によると考えられる. また, secondary component は, T管膜の K^+ による直接的脱分極 (Ⅱ参照) に起因する膜結合 Ca の遊離と流入 (後述, V参照) によると考えられる^{78,81~83,86,91}.

V. 2相性カリウム拘縮と外液 Ca^{2+}

A. カリウム拘縮と外液 Ca^{2+}

従来のカリウム拘縮に関する研究^{13~15,20,21,28~35,41,46,48,50,53}は, 一般に, その2相性を考慮せず, また, 外液 Ca^{2+} の作用についても, 実験条件, 成績ならびに見解がかなり異なる. ここでは, 先ず, 次項で述べる「2相性カリウム拘縮と外液 Ca^{2+} 」と, とくに関連のある報告を, 研究の流れも解るようにならべておく.

Frank^{28~32}は, 主として, 外液 Ca^{2+} の除去によるカリウム拘縮の peak tension の抑制と, それに対する2価カチオンの作用を検討した. これに対して, caputo & Gimenez¹⁷は, 外液

Ca²⁺ 除去の初期におけるカリウム拘縮の peak tension の変化 (増強作用) を中心に検討している。これらの作用は、後者に対しては外液 Ca²⁺ 除去の short term effect¹⁷⁾, また、前者に対しては long term effect⁸⁶⁾ とよぶことができる。他方、Kosaka ら⁴⁶⁾は、カリウム拘縮の peak tension および time course の2つのパラメーターに対する外液 Ca²⁺ 除去の影響を時間を追って観察した点で(図10)、これら2つの効果を同時に見たものといえる。しかし、これらの報告者は、いずれもカリウム拘縮の2相性には注意しなかった。

Armstrong ら³⁾は、1 mM EGTA 存在下に外液 Ca²⁺ を除去し、Ca²⁺ 濃度を 2×10^{-9} M に減少しても単収縮は10数分間にわたって維持され、むしろ増強されることから、E-C coupling に外液 Ca²⁺ が直接関係しないことを示し、“trigger” Ca 説^{8,9,30)}を否定した。しかし、その後、Barrett & Barrett⁵⁾は、Armstrong ら³⁾の実験ならびに結論に対し疑義を呈した。しかし、これに対してもさらに、Lüttgau & Spiecker⁵⁰⁾の反論がある。

Kosaka ら⁴⁶⁾は、Armstrong ら³⁾の実験条件下でカリウム拘縮の性質を検討し、その持続 (time course) はきわめて早期に短縮されるが、peak tension は、Na⁺ の有無に依存し、Na⁺ 存在下では10数分ないし数10分にわたって維持されることを示した (図10参照)。なお、この維持される張力は、その後の Takauji ら^{78,82,91)}の成績から、2相性カリウム拘縮の initial component そのものに相当することが明らかにされた。Oota ら⁵⁷⁾は、Armstrong ら³⁾の Ca²⁺ 除去条件下にも、extra Ca²⁺ influx の source と考えられる自己交換性 Ca²⁺ (self-exchangeable Ca²⁺ ^{8,9,58,94)}, 筋線維膜とくにT管膜に存在する結合 Ca) が、ほとんど intact に残ることから、Armstrong ら³⁾の単収縮、および Kosaka ら⁴⁶⁾のカリウム拘縮の維持は、この self-exchangeable Ca²⁺ と何らかの関係のあることを示唆した。

さらに、Kosaka ら⁴⁶⁾は、外液 Ca²⁺ 除去によるカリウム拘縮の time course の早期の短縮と、それに続いて起こる peak tension の緩徐な抑制は、時定数を異にする2つの inactiva-

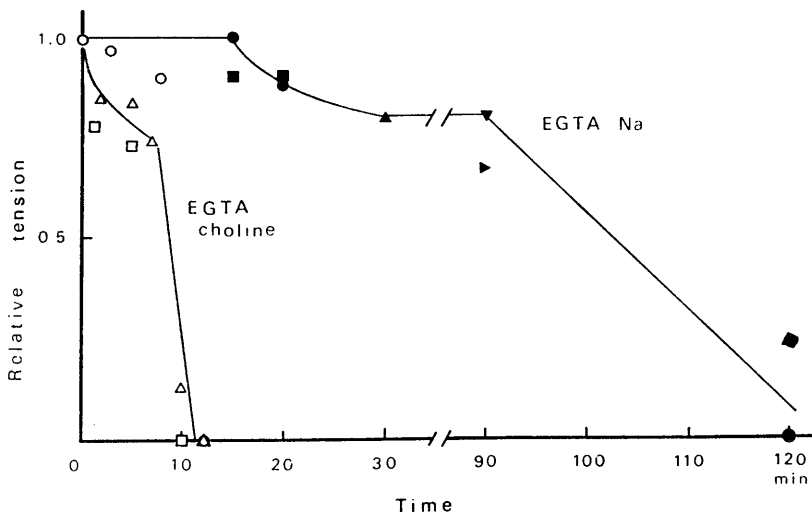


図10. カリウム拘縮の peak tension に対する外液 Ca²⁺ 除去の効果 (時間依存性曲線). カエルの単一速筋線維. Ca-free 190 mM K⁺ 拘縮 (1 mM EGTA, 95 mM K₂SO₄ を含む K⁺ Ringer による拘縮) で test する. EGTA choline : 1 mM EGTA を含む Ca-free choline Ringer. EGTA Na : 1 mM EGTA を含む Ca-free Na Ringer. (Kosaka ら⁴⁶⁾, 許可を得て転載)

tion process の促進によることを、これらを “inactivation 1” および “inactivation 2” と名づけた。しかし、Nagai ら⁵⁴⁾は、(1)conditioning K^+ depolarization によるカリウム拘縮の inactivation process (mechanical inactivation) は、一般に、時定数を異にする 2 相をなして起こること、(2)Kosaka ら⁴⁶⁾の成績において peak tension の抑制は 2 相をなすこと、したがって、time course の短縮に対応する inactivation とともに 2 相の inactivation が考えられること、しかし、(3)一般の mechanical inactivation の進行の early phase でもカリウム拘縮の time course に影響を与え得る^{14,15)}と考えられることなどを考慮して、Kosaka ら⁴⁶⁾の “inactivation 1” と “inactivation 2” の early phase を一括して inactivation 1 と改め、また “inactivation 2” の later phase を inactivation 2 と改称した (図10参照)。

その後、Lüttgau & Spiecker⁵⁰⁾ および Cota & Stefani^{20,21)} は、カリウム拘縮の initial phase と、これに続く tension 維持の 2 つに対する外液 Ca^{2+} の作用は異なり、前者への作用は、細胞膜への安定化作用 (stabilizing action) に対して Ca^{2+} と等しくなる濃度⁴⁰⁾の Mg^{2+} により代行されるが、後者への作用は、 Mg^{2+} により十分代行され得ないことから、一般にカリウム拘縮の張力維持において、 Ca^{2+} は Mg^{2+} と異なる direct effect^{20,21)} を有するとした。さらに、彼らは Ca^{2+} と Mg^{2+} の間のこの作用の差は、カリウム拘縮の不活性化曲線 (inactivation curve) についても認められる^{20,21,50)}ことから、この作用の差をカリウム拘縮の time course に関する Caputo model^{13~15)} (Ⅵ参照) により説明した。すなわち、 Mg^{2+} 下に促進された inactivation により、まずカリウム拘縮の time course が著しく短縮され、その後 peak tension が減少する。これは、Kosaka ら⁴⁶⁾の見解と同様である。一方、Caputo¹⁴⁾は、 Ni^{2+} が、カリウム拘縮の time course に対する Ca^{2+} 作用を完全に代行し得るとして、 Ca^{2+} の direct action を否定している。その他、カリウム拘縮の time

course に対する Mg^{2+} による Ca^{2+} への代行作用に関しても、Costantin¹⁹⁾、Stefani & Chiarandini⁷⁴⁾ および Caputo¹⁴⁾ の間で、また、Lüttgau & Spiecker⁵⁰⁾ および Cota & Stefani^{20,21)} の成績の間にも差のあることが注意される。

B. 2 相性カリウム拘縮と外液 Ca^{2+}

最近、Tsutsu-ura ら^{86,91)} および Takauji ら⁷⁸⁾は、カリウム拘縮に対する Ca^{2+} およびその他の 2 価カチオンの影響に関する研究の、以上の状況を考慮し、2 相性カリウム拘縮の 2 つの component に対する外液 Ca^{2+} の除去、ならびに、それに対する 2 価カチオンの影響について精査した^{78,86,91)}。主な点を以下に要約する。

1. 外液 Ca^{2+} 除去効果

Initial component の peak tension は、外液 Ca^{2+} 除去の時間に依存して変化し、最初増強され (Ca^{2+} 除去の short term effect, 前出)、その後徐々に抑制ないし消失される^{86,91)} (Ca^{2+} 除去の long term effect, 前出) (図7参照)。これに対し、secondary component は、 Ca^{2+} 除去により、早期 (30秒以内) から強く抑制ないしほとんど消失される^{86,91)}。なお、secondary component においても、きわめて初期には増強が見られる⁷⁸⁾。

2. 外液 Ca^{2+} および Ca^{2+} 除去下の 2 価カチオンの作用

外液 Ca^{2+} 除去による short term effect は、細胞膜への stabilizing action に対して、Ringier 液中の Ca^{2+} とほぼ等しくなる濃度⁴⁰⁾の Mg^{2+} 、 Mn^{2+} および Ni^{2+} により、阻止または回復される^{78,91)} (図11~13)。すなわち、initial および secondary component の peak tension に対するその効果は、 $3\text{ mM } Mg^{2+} = 0.7\text{ mM } Mn^{2+} = 0.5\text{ mM } Ni^{2+} = 1.8\text{ mM } Ca^{2+}$ である^{78,91)}。一方、secondary component の time course に対しては、これら 2 価カチオンによる Ca^{2+} への代行作用には差が認められ、 $3\text{ mM } Mg^{2+} < 0.7\text{ mM } Mn^{2+} < 0.5\text{ mM } Ni^{2+} \leq 1.8\text{ mM } Ca^{2+}$ である^{78,91)}。これと同様の序列は、カリウム拘縮の inactivation curve に対するこれら 2 価カチ

オンの作用, すなわち, inactivation への 2 価カチオンの阻止作用においても認められる⁷⁸⁾ (図14).

3. 外液 Ca^{2+} および 2 価カチオンの stabilizing action

以上の成績から, 2 相性カリウム拘縮に対する外液 Ca^{2+} 除去, ならびにそれに対する 2 価

カチオンの作用は, それぞれ, 筋線維膜への Ca^{2+} の stabilizing action の欠落, ならびに 2 価カチオンによるその補充により説明される^{78, 91)}. ただし, 外液 Ca^{2+} 除去下の 2 価カチオンの作用が, 両 component の peak tension と secondary component の time course の間で異なる (図11~13参照) ことから, これらの 2

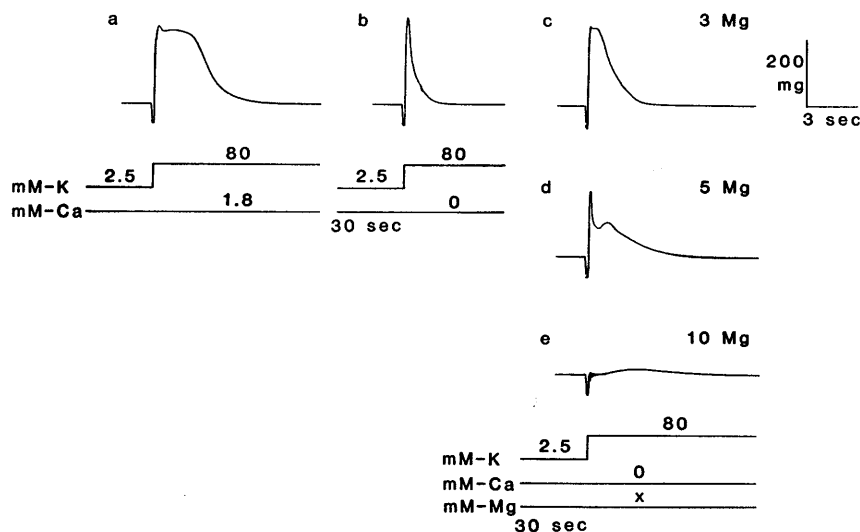


図11. 2 相性カリウム拘縮に対する Mg^{2+} の Ca^{2+} 代行作用.

a: 対照. b: Ca^{2+} 除去. c, d および e: Ca-free, 3(c), 5(d) or 10(e) mM Mg^{2+} . とくに, a と c を比較のこと.

(Tsutsu-ura ら⁹¹⁾, 許可を得て転載)

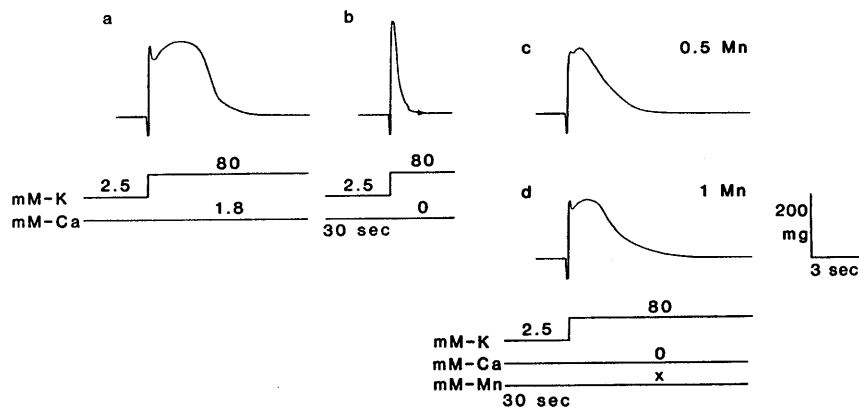


図12. 2 相性カリウム拘縮に対する Mn^{2+} の Ca^{2+} 代行作用.

a と, c および d を比較のこと.

(Takauji ら⁷⁸⁾, 許可を得て転載)

価カチオンの stabilizing action は, activation process と inactivation process とでは差があると考えられる. また, inactivation process は, initial component には含まれず^{78,80)} (後述, VI参照), secondary component にも含まれる. それゆえに, 2価カチオンは, initial component に対しては, activation process への stabilizing action を示し, 一方, secondary component に対しては, activation process の

みならず inactivation process へのそれをも示すとみなし得る. さらに, 両 component の E-C coupling process は異なる^{78-83,86,91)} (IV参照) ことから, 2価カチオンの stabilizing action は, それぞれの activation process すなわち, E-C coupling 機構を control するものと考えられる. stabilizing action は, initial component に対しては, 筋線維膜の興奮性を維持し, その後の T-SR coupling に役立つと考えられ

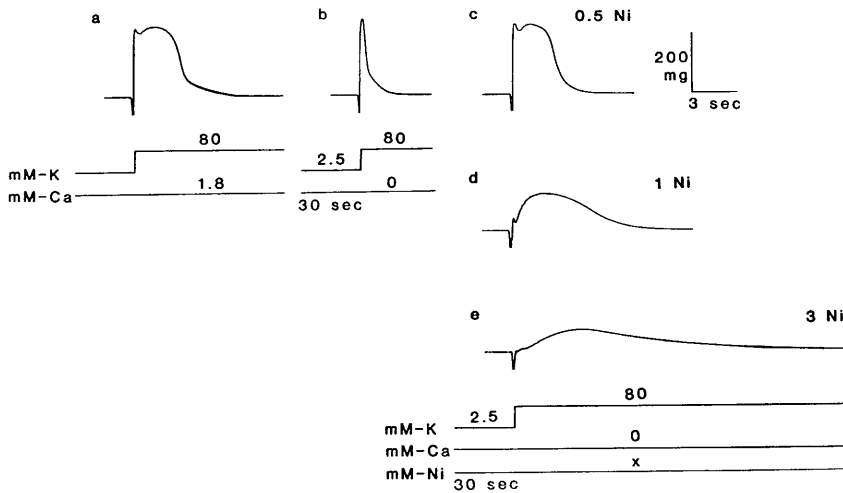


図13. 2相性カリウム拘縮に対する Ni^{2+} の Ca^{2+} 代行作用.
a と c を比較のこと.
(Tsutsu-ura ら⁹¹⁾, 許可を得て転載)

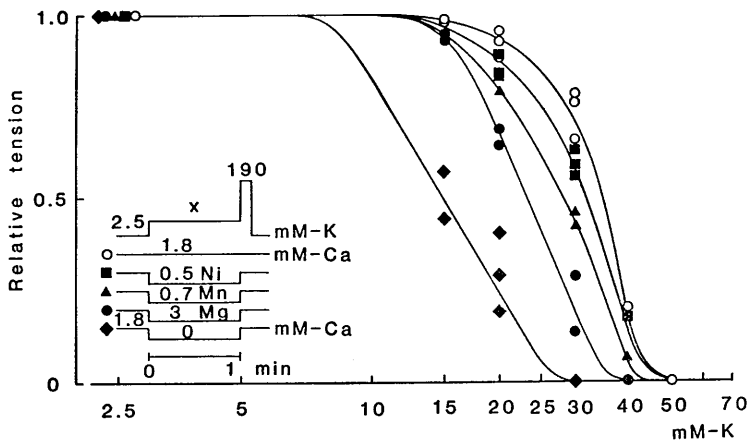


図14. Inactivation curve に対する 2価カチオンの作用.
(Takauji ら⁷⁸⁾, 許可を得て転載)

るが、一方、secondary component に対しては、現在なお不明であり、以下のごとく推測の域を出ない。外液 Ca^{2+} を、筋線維膜を透過し得ない Ni^{2+} (1,2,27) で代行させた条件下でも、secondary component が完全に起こる⁹¹⁾点で、secondary component の E-C coupling は、単純に外液 Ca^{2+} の流入では説明されない。1つの可能性として、T管膜に結合している self-exchangeable Ca^{2+} (8,9,30,57,58,94) が、外液の Ca^{2+} および他の2価カチオンにより置換ないし遊離され、これが、脱分極に伴い流入することによって Ca^{2+} 動員の源としての役割を演ずるのかもしれない。

4. Ca^{2+} 除去による initial および secondary component の抑制のメカニズム

Initial component の外液 Ca^{2+} 除去による緩徐な抑制ないし消失⁹¹⁾、すなわち、前述の Ca^{2+} 除去の long term effect は、 Na^+ により遅延させられる⁸⁶⁾ (図7参照)。また、0.5~1 mM caffeine により完全抑制から回復する⁸⁶⁾。これらの成績は、secondary component の場合と明らかに異なる⁸⁶⁾。すなわち、secondary component の Ca^{2+} 除去による早期からの強い抑制ないし消失に対し、 Na^+ ならびに低濃度 caffeine は無効である。さらに、initial component のこの long term effect は、通常の depolarization inactivation による抑制、ならびに、それが Ca^{2+} 除去下に促進された抑制とも異なる⁸⁶⁾。なぜなら、後2者における、peak tension の抑制は、 Na^+ や低濃度 caffeine により阻止され得ない。

他方、外液に Ca^{2+} がない場合に起こる secondary component の早期からの抑制^{78,82,83,86,91)}は、外液 Ca^{2+} の欠除による膜結合 Ca の遊離の欠落に起因するものと思われる。なお、この考えによれば、諸種条件下での、外液 Ca^{2+} による膜結合 Ca の遊離ないしは可動化過程、ならびにその結合ないしは不動化過程は、それぞれ、secondary component の activation process と inactivation process の発現機構を反映するのかもしれない。しかし、これらの機序の

解明は、今後に残される。

さらに、外液 Ca^{2+} 除去による両 component の完全抑制時にも、5 mM caffeine により十分な大きさの caffeine 拘縮が起こり得る⁸⁶⁾こと、また、この条件下で膜電位もほとんど変化していない^{36,46)}ことから、両 component の Ca^{2+} 除去による抑制は、いずれも E-C coupling の block であることが示唆される。この block の起こる部位としては、おそらく、T管膜ないし T-SR 接合部である可能性が考えられる。しかし、この点についても、前述の低濃度 caffeine の作用点の解明とともに今後の検討が必要である。

VI. カリウム拘縮の activation と inactivation

A. カリウム拘縮の time course と Caputo model

カリウム拘縮の activation process と inactivation process は、神経線維膜の Na-コンダクタンス⁴²⁾の場合と同様に、独立のプロセスと考えられている^{16,54,80,83)}。Caputo^{13,14)} および Caputo & Fernández de Bolaños¹⁵⁾ によれば、カリウム拘縮の持続 (Caputo に準じて time course と表現する) は、一定の遅れ (delay) をもって activation に随伴する inactivation により決まるという (Caputo model)。このモデルに従えば、conditioning depolarization により、テストに用いたカリウム拘縮の time course が先ず著しく短縮され、ついで peak tension が抑制され、ついには消失 (full inactivation) するという。また、これと対応して、full inactivation からの repriming においては、最初 peak tension が、後に time course が回復する¹⁵⁾。さらに、外液 Ca^{2+} 除去によるカリウム拘縮の time course の短縮および随伴する peak tension の抑制も、この Caputo model で説明されている^{20,21,50)}。しかし、これらの報告^{13~15,20,21,50)}においては、2相性出現の条件に対する配慮が十分でなく、カリウム拘縮は、拘縮張力の大きさとその持続性 (プラトーおよ

び自発性弛緩)の2つの面からのみ考察され、単純に前者は収縮の activation process と、また後者は、inactivation process と関係するものとして論じられている。しかし、われわれの成績によれば、initial component は、通常、inactivation を伴わない^{78,80)}(次項参照)。したがって、上述の Caputo model の取り扱いに際しては、カリウム拘縮の2相性を十分考慮する必要がある。なお、secondary component の time course は、その activation process と inactivation process の balance により決まると考えてよい^{78,80)}。

B. Initial component と inactivation

Initial component は、以下の理由で inactivation process を伴わない^{78,80)}。(1) tension 発生は、rapid で transient な depolarization により起こる¹⁹⁾(Ⅱ, Ⅲ, V参照)。(2) conditioning K⁺ depolarization により、peak tension は早期に抑制されるが、time course はほとんど変化しない⁸³⁾(図8参照)。(3)この component の time course は、外液 Ca²⁺ 除去 (low Ca²⁺) によりほとんど短縮されず (図11~13, いずれも b)、また、比較的高濃度の2価カチオンによっても延長されない^{78,91)}(図11, d)。なお、initial component の relaxation は、一時的な repolarization に起因する deactivation relaxation⁸⁷⁾である。

C. カリウム拘縮の自発性弛緩と SR による Ca²⁺ uptake

室温下で、inactivation の程度をテストするために用いるカリウム拘縮の secondary component の自発性弛緩は、K⁺ conditioning による inactivation が大きい程抑制され遅延する⁸⁰⁾。このことは、カリウム拘縮の自発性弛緩は、inactivation process のみでなく、SR による Ca²⁺ 取り込み速度 (Ca²⁺ uptake rate) などによっても影響される場合のあることを示唆する。

Ⅶ. カリウム拘縮と Ca²⁺ 電流

最近、骨格筋線維膜においても、心筋、平滑筋あるいは神経細胞の膜におけると同様に、Ca²⁺ チャンネル (Ca²⁺ channel) を介する Ca²⁺ 電流の存在が認められている^{1,2,6,56,65,66,73)}。この Ca²⁺ 電流は、膜電位依存性であり、外液 Ca²⁺ の除去により消失され、また、有機ならびに無機の Ca²⁺ channel blocker により抑制され、一方、Ca²⁺ channel activator により活性化される^{1,2,6,43,51,65,73)}。骨格筋の Ca²⁺ channel は、大部分 L 型である¹¹⁾。最近、骨格筋の生理的収縮の E-C coupling は、voltage sensor^{61,67)}(膜電位変化検出機構)の作動により起こるとされているが、その実体は、DHP (dihydropyridine) 結合蛋白であろうと考えられている^{12,85)}。DHP 結合蛋白は、Ca²⁺ channel blocker に対する感受性のきわめて高い結合部位を有する^{11,22,37,92)}。現在、この方向の研究には著しい進展がある^{11,22,37,84,85,92)}。一方、DHP 結合蛋白は、骨格筋線維膜にきわめて豊富に存在するにも拘らず、E-C coupling における Ca²⁺ 電流の寄与はほとんど無いとされている⁶⁸⁾。現状で、少なくとも単収縮においては、それは否定的である^{31,33,38,68)}。しかし、カリウム拘縮ならびに膜電位固定下の収縮のような持続性収縮には、なおその寄与の可能性は残されている^{12,31,33-35,43)}。その証左の1つになり得ると考えられるわれわれの実験成績^{76,77,88-90)}を以下に述べる。

骨格筋の Ca²⁺ 電流は、正常 Ringer 液中の Cl⁻ を SO₄²⁻ あるいは CH₃SO₃⁻ などのアニオンに置換し、また、Na⁺ を除きかつ TTX を加え、さらに、TEA⁺ あるいは 3, 4-DAP (3, 4-diaminopyridine) を含む Ca²⁺ 溶液中で記録されている^{1,2,6,56,65,66,73)}。これと同様の溶液条件下で、K⁺ 脱分極により1相性カリウム拘縮が起こる^{76,77,88-90)}(図15)。この場合、前述の2相性カリウム拘縮の initial component に相当する張力発生は認められない。その理由は、溶液に含まれる TEA⁺ により、この component は完全に抑制される⁸¹⁾(Ⅲ参照)からである。こ

の1相性カリウム拘縮は, dantrolene (DAN) により強く抑制される相 (DAN-sensitive phase) と抑制されずに残る相 (DAN-resistant phase) に分けられる^{76,88)}. 後者の DAN-resistant phase は, 以下のごとき性質を示す^{76,77,88~90)}. すなわち, (1)その発生張力の大きさは, 外

液の K^+ 濃度, したがって, 膜電位に依存する. (2)張力発生は, 外液 Ca^{2+} の除去により, ほとんど抑制ないし消失する. また, (3)それは, 有機 Ca^{2+} blocker (0.5~2 μM nifedipine, 1 μM nicardipine および 1~30 μM verapamil) ならびに無機 Ca^{2+} blocker の Cd^{2+} (1 mM) により

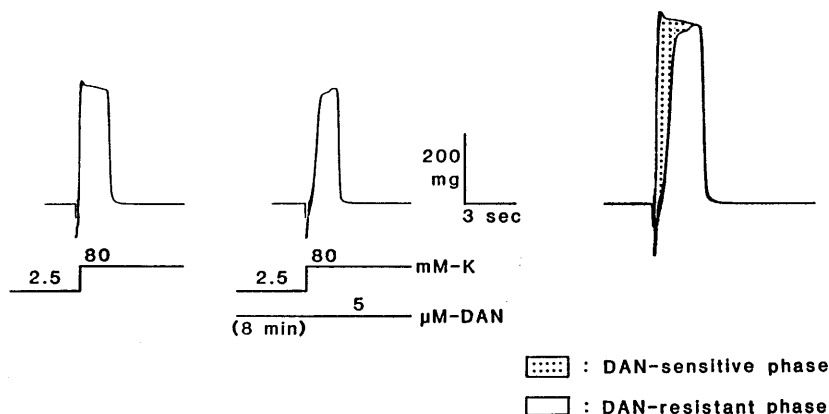


図15. 1相性カリウム拘縮の DAN による2相への分離.

カエルの単一速筋線維. 1相性カリウム拘縮は, Na^+ -free, Cl^- -free で, TTX, $CH_3SO_3^-$ (または SO_4^-), および TEA^+ (または 3, 4-DAP) を含む液に 80 mM K^+ (40 mM K_2SO_4) を作用させて起こす.

DAN: 2.5~5.0 μM .

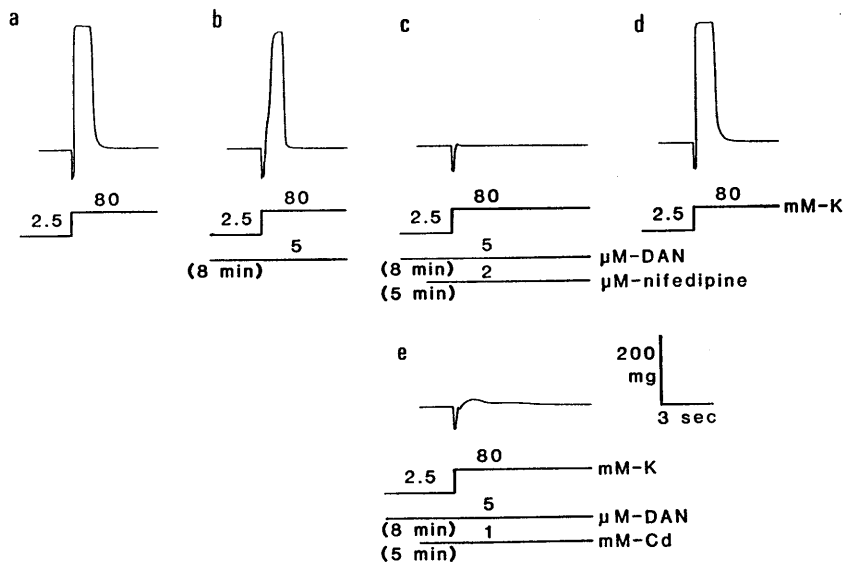


図16. DAN-resistant phase に対する Ca^{2+} channel blocker の作用 (基本的な実験条件は, 図15と同様である).

a: 1相性カリウム拘縮. b: DAN-resistant phase. c: nifedipine による抑制. d: 洗滌(20~40分) による回復. e: Cd^{2+} による抑制.

完全に抑制され(図16), Ni^{2+} (1 mM) や CO^{2+} (5 mM) により比較的著明に抑制される。これらの抑制は可逆的である。さらに, (4) Ca^{2+} channel activator (Bay K 8644) は, 張力発生の開始までの時間を短縮し, tension を増大する。なお, DAN は, 10 μM でも骨格筋における Ca^{2+} 電流を抑制することはないとされている^{56, 65}。これらの成績は, DAN-resistant phase の張力発生には, Ca^{2+} 電流が密接に関係することを示唆する。

DAN-resistant phase の E-C coupling については, この phase が ryanodine により抑制される傾向のある⁷⁷ことから, 流入 Ca^{2+} による Ca^{2+} induced Ca^{2+} release^{24, 25} (CICR, Ca^{2+} による Ca^{2+} 放出) の可能性が考えられる。しかし, K^+ 脱分極に伴って流入する Ca^{2+} の量をはじめ, 流入 Ca^{2+} の electro-Ca link への作用の検討など, その機序の解明は今後に残される。

一方, DAN-sensitive phase は, (1)外液 Ca^{2+} の除去ならびに, (2)DAN により完全に抑制されること, また, (3) Ca^{2+} channel blocker で阻害されないなどの点で, 前述の $[\text{Cl}^-]_o$ = 一定の条件下で認められる 2 相性カリウム拘縮の secondary component (Ⅱ, Ⅲ参照) と同様の性質を有する⁸⁰と考えられる。

なお, 膜電位固定実験において, 長いパルスに対し 2 相性の収縮が現れるが, その第 2 相は, 時間的に Ca^{2+} 電流と対応するという報告⁴³は, われわれの以上の成績を支持するものとして注目を要する。

VII. 単収縮とカリウム拘縮

カリウム拘縮の E-C coupling process は, 単収縮のそれと本質的に異ならないと考えられてきた^{53, 62~64}。しかし, Zn^{2+} および TEA^+ は, 単収縮を増強する濃度^{52, 70~72, 93}(それぞれ, $5 \times 10^{-5}\text{M}$ および 20~40 mM)において, 2 相性カリウム拘縮の initial component を選択的に, ほとんど完全に抑制する⁸¹(図 5, 6 および Ⅲ参照)。この条件下で, さらに外液 Ca^{2+} を除く

と, secondary component も完全に抑制されるが, 単収縮はより一層増強される。以上の事実は, カリウム拘縮の initial および secondary component の E-C coupling は, いずれも, 単収縮のそれと異なることを示唆する。しかし, この initial component に対する Zn^{2+} および TEA^+ の抑制作用の機序の詳細はなお不明である。

Frank^{81~83}によれば, 外液 Ca^{2+} 除去および $1\sim 3 \times 10^{-6}\text{M}$ verapamil または D 600 により, カリウム拘縮は抑制されるが, 単収縮は抑制されない。これより, カリウム拘縮は Ca^{2+} channel を介する Ca^{2+} 流入により, 一方, 単収縮は T 管膜の内面に結合された “trigger” Ca^{2+} の遊離により起こると考えられるという。さらに, 彼ら^{84, 69}によれば, TMB-8 は, カリウム拘縮および caffeine 拘縮に影響を与えず, 単収縮のみを抑制し, これは TMB-8 が “trigger” Ca^{2+} の遊離を阻害することによるという。

以上, Sandow^{62~64} 以来の通念に反して, 最近, 単収縮とカリウム拘縮の E-C coupling process は異なるとする報告^{31~34, 69, 81}が相次いで出されたことは注目される。ただし, Frankらの報告^{31~34, 69}とわれわれの成績^{78, 81, 82, 86, 91}の間に差のある点も注意すべきである。すなわち, Frankら^{28~35, 69}は, カリウム拘縮の 2 相性を考慮していない (V 参照) が, それを考えに入れたとしても, 彼らのカリウム拘縮に対する外液の Ca^{2+} の除去, および verapamil の効果^{28, 29, 31~34, 69}は, われわれの 2 相性カリウム拘縮について得られた成績^{78, 82, 86, 91}と異なる (Ⅲ および V 参照)。

IX. E-C coupling の研究におけるカリウム拘縮の解析の意義

以上, 2 相性カリウム拘縮の initial component と secondary component (Ⅱ~Ⅵ, Ⅷ参照), ならびに DAN-sensitive phase と DAN-resistant phase (Ⅶ参照) の諸性質について述べた。従来, 骨格筋線維の最大収縮(maximum contraction)を得るためには, 一般に, 190 mM

K^+ による拘縮 (190 K^+ 拘縮, 95 mM K_2SO_4 による). ただし, 前処理液には約 120 mM の Cl^- が含まれている^{13-15, 20, 21, 41, 46, 50, 53}). 以上の各種カリウム拘縮のうち, 190 K^+ 拘縮は, 2相性カリウム拘縮の立場からは, initial component と secondary component が高濃度 K^+ 作用のために融合したものとみなされ得る (II 参照). したがって, 外液 Ca^{2+} の除去^{20, 21, 46, 50}) および DAN⁷⁵) により, 190 K^+ 拘縮の time course が短縮する反面, peak tension はほとんど影響されないという従来の成績^{20, 21, 46, 50, 75}) は, これらの条件下では, secondary component が著明に抑制され, initial component は残存されるためと説明される. 一方, DAN-sensitive phase は, すでに述べたように (VII 参照), secondary component に相当する⁶⁹) とみなしてよい. さらに, DAN-resistant phase は, 2相性カリウム拘縮のいずれの component にも含まれず, それゆえに, 通常の 190 K^+ 拘縮にも含まれていない. その意味で, この DAN-resistant phase は, カリウム拘縮の特殊な component であり, 第3の component として位置づけられる. しかも, この phase は, これまで, 骨格筋の収縮発現には直接関与しないとされてきた Ca^{2+} 電流と密接な関係がある点で注目を要する.

また, 以上の initial component, secondary component ならびに DAN-resistant phase の E-C coupling process は異なると考えられる (IV, VII 参照). したがって, 骨格筋の E-C coupling mechanism を明らかにする手段として, カリウム拘縮を用いる場合には, 目的に応じて, これらの component を使い分ける必要があろう.

なお, これまでに, 骨格筋の収縮に対する有機 Ca^{2+} blocker の作用が多く研究者により検討されてきた^{4, 7, 23, 33, 38, 39, 43, 45, 55, 76, 82}) が, その結果は必ずしも一致しない. その理由として, (1) 取り扱う収縮のタイプが一樣でなく, ある者は単収縮あるいは強縮^{33, 38, 39, 45}) を, ある者は膜電位固定下の収縮^{7, 16, 26, 43, 45, 49, 55}) を, また, あ

る者はカリウム拘縮^{4, 23, 33, 38, 76, 82}) を用いており, さらに, (2) これらの溶液条件も統一的でないという点などが挙げられる. したがって, 従来の成績を比較検討する場合には, 収縮の種類および溶液条件などを十分考慮する必要がある.

X. む す び

以上, 現在までのわれわれの実験成績を中心に, 骨格筋線維とくに単一速筋線維における各種カリウム拘縮の諸性質について概説した. また, 外液 Ca^{2+} ならびに膜結合 Ca の E-C coupling における役割, さらに, 骨格筋の E-C coupling mechanism を, カリウム拘縮の2相性ならびに Ca^{2+} 電流を介する収縮の立場から検討することの意義についても考察した.

現在, 骨格筋の E-C coupling とくに T-SR 接合部における情報伝達には, 生理的な収縮に対しては, DHP 結合蛋白を実体とする voltage sensor 機構の作動が有力とされている. しかし, カリウム拘縮に対しては, initial component には, voltage sensor 機構の可能性が一応考えられるが, 一方, secondary component に対しては, 脱分極に伴う膜結合 Ca の遊離および流入機構が, また, DAN-resistant phase すなわち Ca^{2+} 電流と関係のある収縮には Ca^{2+} channel を介する Ca^{2+} 動員機構の可能性も考えられる. しかし, これらの機序はなお不明であり, その詳細な解明は今後の課題である. とくに, カリウム拘縮における膜結合 Ca の遊離過程および Ca^{2+} 電流の定量的検討, 両者の関係, また, これらと DHP 結合蛋白との関係などの検討, さらに, E-C coupling におけるこれらの意義を明らかにすることは重要であろう.

謝 辞

稿を終えるにあたり, 長年にわたり, 貴重な御助言, 御討論ならびに御鞭撻を賜っております札幌医科大学名誉教授, 永井寅男先生に深く感謝致します.

文 献

- 1) Almers, W., Fink, R. & Palade, P. T. (1981) Calcium depletion in frog muscle tubules : The decline of calcium current under maintained depolarization. *J. Physiol.*, **312**, 177-207
- 2) Almers, W. & Palade, P. T. (1981) Slow calcium and potassium currents across frog muscle membrane : Measurements with a vaseline-gap technique. *J. Physiol.*, **312**, 159-176
- 3) Armstrong, C. M., Bezanilla, F. M. & Horowicz, P. (1972) Twitches in the presence of ethylene glycol bis (β -aminoethyl ether)-N, N'-tetraacetic acid. *Biochim. Biophys. Acta*, **267**, 605-608
- 4) Avila-Sakar, A. J., Cota, G., Gamboa-Aldeco, R., Garcia, J., Huerta, M., Muniz, J. & Stefani, E. (1986) Skeletal muscle Ca^{2+} channels. *J. Musc. Res. Cell Motility*, **7**, 291-298
- 5) Barrett, J. N. & Barrett, E. F. (1978) Excitation-contraction coupling in skeletal muscle : Blockade by high extracellular concentration of calcium buffers. *Science*, **200**, 1270-1272
- 6) Beaty, G. N. & Stefani, E. (1976) Calcium dependent electrical activity in twitch muscle fibres of the frog. *Proc. R. Soc. Lond. B*, **194**, 141-150
- 7) Berwe, D., Gottschalk, G. & Lüttgau, H. Ch. (1987) Effects of the calcium antagonist gallopamil (D600) upon excitation-contraction coupling in toe muscle fibres of the frog. *J. Physiol.*, **385**, 639-707
- 8) Bianchi, C. P. (1968) Cell calcium. Edited by C. P. Bianchi. Butterworths & Co. (Publishers) Ltd., U. K., pp. 1-131
- 9) Bianchi, C. P. & Shanes, A. M. (1959) Calcium influx in skeletal muscle at rest, during activity, and during potassium contracture. *J. Gen. Physiol.*, **42**, 803-815
- 10) Blinks, J. R., Rüdell, R. & Taylor, S. R. (1978) Calcium transients in isolated amphibian skeletal muscle fibres : detection with aequorin. *J. Physiol.*, **277**, 291-323
- 11) Borsotto, M., Barhanin, J., Norman, R. I. & Lazdunski, M. (1984) Purification of the dihydropyridine receptor of the voltage-dependent Ca^{2+} channel from skeletal muscle transverse tubules using (+) [3H] PN 200-110. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **122**, 1357-1366
- 12) Brum, G., Stefani, E. & Rios, E. (1987) Simultaneous measurements of Ca^{2+} currents and intracellular Ca^{2+} concentrations in single skeletal muscle fibers of the frog. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **65**, 681-685
- 13) Caputo, C. (1972) The time course of potassium contractures of single muscle fibres. *J. Physiol.*, **223**, 483-505
- 14) Caputo, C. (1981) Voltage activation of contraction and relaxation in frog skeletal muscle. In : *The Regulation of Muscle Contraction : Excitation-Contraction Coupling*, ed. by Grinnell, A. D. & Brazier, M. A. B. Academic Press, New York, pp. 81-95
- 15) Caputo, C. & Fernandez de Bolaños, P. (1979) Membrane potential, contractile activation and relaxation rates in voltage clamped short muscle fibres of the frog. *J. Physiol.*, **289**, 175-189
- 16) Caputo, C. & Bolaños, P. (1987) Contractile inactivation in frog skeletal muscle fibers. The effects of low calcium, tetracaine, dantrolene, D-600, and nifedipine. *J. Gen. Physiol.*, **89**, 421-442
- 17) Caputo, C. & Gimenez, M. (1967) Effects of external calcium deprivation on single muscle fibres. *J. Gen. Physiol.*, **50**, 2177-2195
- 18) Chiarandini, D. J. & Stefani, E. (1973) Effects of manganese on the electrical and mechanical properties of frog skeletal muscle fibres. *J. Physiol.*, **232**, 129-147
- 19) Costantin, L. L. (1971) Biphasic potassium contractures in frog muscle fibers. *J. Gen. Physiol.*, **58**, 117-130
- 20) Cota, G. & Stefani, E. (1981) Effects of external calcium reduction on the kinetics of potassium contractures on frog twitch muscle fibres. *J. Physiol.*, **317**, 303-316
- 21) Cota, G. & Stefani, E. (1982) External calcium and contractile activation during potassium contractures in twitch muscle fibres of the frog. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **60**, 513-523
- 22) Curtis, B. M. & Catterall, W. A. (1984) Purification of the calcium antagonist receptor of the voltage-sensitive calcium channel from skeletal muscle transverse tubules. *Biochemistry*, **23**, 2113-2118
- 23) Eisenberg, R. S., McCarthy, R. T. & Milton, R. L. (1983) Paralysis of frog skeletal muscle fibres by the calcium antagonist D-600. *J. Physiol.*, **341**, 495-505
- 24) Endo, M. (1977) Calcium release from the sarcoplasmic reticulum. *Physiol. Rev.*, **57**, 71-108
- 25) Endo, M., Tanaka, M. & Ogawa, Y. (1970) Calcium induced release of calcium from the sarcoplasmic reticulum of skinned skeletal muscle fibres. *Nature*, **228**, 34-36
- 26) Erdmann, R. & Lüttgau, H. Ch. (1989) The effect of the phenylalkylamine D 888 (Devapamil) on force and Ca^{2+} current in isolated frog skeletal muscle fibres. *J. Physiol.*, **413**, 521-541
- 27) Fischman, D. A. & Swan, R. C. (1967) Nickel

- substitution for calcium in excitation-contraction coupling of skeletal muscle. *J. Gen. Physiol.*, **50**, 1709-1728
- 28) Frank, G. B. (1960) Effects of changes in extracellular calcium concentration on the potassium-induced contracture of frog's skeletal muscle. *J. Physiol.*, **151**, 518-538
- 29) Frank, G. B. (1961) Role of extracellular calcium ions in excitation-contraction coupling in skeletal muscle. In : ed. by Shanes, A. M. *Biophysics of Physiological and Pharmacological Actions*. Amer. Ass. Adv. Sci., Washington, pp. 293-307
- 30) Frank, G. B. (1980) Commentary : the current view of the source of trigger calcium in excitation-contraction coupling in vertebrate skeletal muscle. *Biochem. Pharmacol.*, **29**, 2399-2404
- 31) Frank, G. B. (1982) Roles of extracellular and "trigger" calcium ions in excitation-contraction coupling in skeletal muscle. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **60**, 427-439
- 32) Frank, G. B. (1982) The effects of reducing the extracellular calcium concentration on the twitch in isolated frog's skeletal muscle fibres. *Jpn. J. Physiol.*, **32**, 589-608
- 33) Frank, G. B. (1984) Blockade of Ca^{2+} channels inhibits K^+ contractures but not twitches in skeletal muscle. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **62**, 374-378
- 34) Frank, G. B. (1987) Pharmacological studies of excitation-contraction coupling in skeletal muscle. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **65**, 711-716
- 35) Frank, G. B. (1990) Dihydropyridine calcium channel antagonists block and agonists potentiate high potassium contractures but not twitches in frog skeletal muscle. *Jpn. J. Physiol.*, **40**, 205-224
- 36) Frank, G. B. & Inoue, F. (1973) Effect of reducing the extracellular calcium concentration on the resting potential of frog's skeletal muscle fibres. *Jpn. J. Physiol.*, **23**, 183-197
- 37) Flockerzi, V., Oeken, H. J. & Hofmann, F. (1986) Purification of a functional receptor for calcium-channel blockers from rabbit skeletal-muscle microsomes. *Eur. J. Biochem.*, **161**, 217-224
- 38) Gonzalez-Serratos, H., Valle-Aguilera, R., Lathrop, D. A. & Garcia, M. C. (1982) Slow inward calcium currents have no obvious role in muscle excitation-contraction coupling. *Nature*, **298**, 292-294
- 39) Hatae, J. (1986) Effects of nifedipine on frog skeletal muscle in normal and calcium-free media. *Jpn. J. Physiol.*, **36**, 339-348
- 40) Hille, B., Woodhull, A. M. & Shapiro, B. I. (1975) Negative surface charge near sodium channels of nerve : Divalent ions, monovalent ions, and pH. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.*, **270**, 301-318
- 41) Hodgkin, A. L. & Horowicz, P. (1960) Potassium contracture in single muscle fibres. *J. Physiol.*, **153**, 386-403
- 42) Hodgkin, A. L. & Huxley, A. F. (1952) The dual effect of membrane potential on sodium conductance in the giant axon of *Loligo*. *J. Physiol.*, **116**, 497-506
- 43) Ildefonse, M., Jacquemond, V., Rougier, O., Renaud, J. F., Fosset, M. & Lazdunski, M. (1985) Excitation contraction coupling in skeletal muscle : Evidence for a role of slow Ca^{2+} channels using Ca^{2+} channel activators and inhibitors in the dihydropyridine series. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **129**, 904-909
- 44) Kanaya, H., Takauji, M. & Nagai, T. (1983) Properties of caffeine- and potassium-contractions in fatigued frog single twitch muscle fibers. *Jpn. J. Physiol.*, **33**, 945-954
- 45) Kawata, H. & Hatae, J. (1990) Dependence of contractile responses by some calcium antagonists on external calcium in the skeletal muscle. *Jpn. J. Physiol.*, **40**, 337-350
- 46) Kosaka, I., Oota, I., Suzuki, T. and Nagai, T. (1977) Time- and Na-dependent effects of Ca depletion on potassium contracture in frog twitch muscle fiber. *Jpn. J. Physiol.*, **27**, 511-524
- 47) Kuffler, W. (1946) The relation of electric potential changes to contracture in skeletal muscle. *J. Neurophysiol.*, **9**, 367-377
- 48) Lüttgau, H. C. (1963) The action of calcium ions on potassium contractures of single muscle fibres. *J. Physiol.*, **168**, 679-697
- 49) Lüttgau, H. C., Gottschalk, G. & Berwe, D. (1987) The effect of calcium and Ca antagonists upon excitation-contraction coupling. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **65**, 717-723
- 50) Lüttgau, H. C. & Spiecker, W. (1979) The effects of calcium deprivation upon mechanical and electrophysiological parameters in skeletal muscle fibres of the frog. *J. Physiol.*, **296**, 411-429
- 51) Lamb, G. D. & Walsh, T. (1987) Calcium currents, charge movement and dihydropyridine binding in fast- and slow-twitch muscles of rat and rabbit. *J. Physiol.*, **393**, 595-617
- 52) Mashima, H. & Washio, H. (1964) The effect of zinc on the electrical properties of membrane and the twitch tension in frog muscle fibres. *Jpn. J. Physiol.*, **14**, 538-550

- 53) 永井寅男(1974)筋の生理学. 朝倉書店, 東京, pp. 1-262
- 54) Nagai, T., Takauji, M., Kosaka, I. & Tsutsu-ura, M. (1979) Biphasic time course of inactivation of potassium contractures in single twitch fibers of the frog. *Jpn. J. Physiol.*, **29**, 539-549
- 55) Neuhaus, R., Rita Rosenthal & Lüttgau, H. Ch. (1990) The effects of dihydropyridine derivatives on force and Ca^{2+} current in frog skeletal muscle fibres. *J. Physiol.*, **427**, 187-209
- 56) Nicola, Siri, L., Sánchez, J. A. & Stefani, E. (1980) Effect of glycerol treatment on the calcium current of frog skeletal muscle. *J. Physiol.*, **305**, 87-96
- 57) Oota, I., Kosaka, I. & Nagai, T. (1976) Role of superficially membrane-bound calcium on excitation-contraction coupling in frog skeletal muscle. *Jpn. J. Physiol.*, **26**, 117-126
- 58) Oota, I. & Nagai, T. (1976) Radioactive calcium influx at rest and during potassium contracture in the T-disrupted, and the urea- or manganese-treated frog sartorius muscles. *Jpn. J. Physiol.*, **26**, 385-394
- 59) Oota, I., Takauji, M. & Nagai, T. (1972) Effects of manganese ions on excitation-contraction coupling in frog sartorius muscle. *Jpn. J. Physiol.*, **22**, 379-392
- 60) Putney, J. W. & Bianchi, C. P. (1974) Site of action of dantrolene in frog sartorius muscle. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **189**, 202-212
- 61) Rios, E. & Brum, G. (1987) Involvement of dihydropyridine receptors in excitation-contraction coupling in skeletal muscle. *Nature*, **325**, 717-720
- 62) Sandow, A. (1955) Contracture responses of skeletal muscle. *Am. J. Phys. Med.*, **34**, 145-160
- 63) Sandow, A. (1965) Excitation-contraction coupling in skeletal muscle. *Pharmacol. Rev.*, **17**, 265-320
- 64) Sandow, A., Taylor, S. R. & Preiser, H. (1965) The role of the action potential in excitation-contraction coupling. *Fed. Proc.*, **24**, 1116-1123
- 65) Sánchez, J. A. & Stefani, E. (1978) Inward calcium current in twitch muscle fibres of the frog. *J. Physiol.*, **283**, 197-209
- 66) Sánchez, J. A. & Stefani, E. (1983) Kinetic properties of calcium channels of twitch muscle fibres of the frog. *J. Physiol.*, **337**, 1-17
- 67) Schneider, M. F. & Chandler, W. K. (1973) Voltage dependent charge movement in skeletal muscle: A possible step in excitation-contraction coupling. *Nature*, **242**, 244-246
- 68) Schwartz, L. M., McCleskey, E. W. & Almers, W. (1985) Dihydropyridine receptors in muscle are voltage-dependent but most are not functional calcium channels. *Nature*, **314**, 747-751
- 69) Shetty, S. S., Rizvi, S. S. & Frank, G. B. (1986) TMB-8 can block twitches without blocking high K^+ or caffeine induced contractures in frog's skeletal muscle. *Life Sciences*, **39**, 1137-1141
- 70) Stanfield, P. R. (1970) The effect of the tetraethylammonium ion on the delayed currents of frog skeletal muscle. *J. Physiol.*, **209**, 209-229
- 71) Stanfield, P. R. (1973) The onset of the effects of zinc and tetraethylammonium ions on action potential duration and twitch amplitude of single muscle fibres. *J. Physiol.*, **235**, 639-654
- 72) Stanfield, P. R. (1975) The effect of zinc on the gating of the delayed potassium conductance of frog sartorius muscle. *J. Physiol.*, **251**, 711-735
- 73) Stanfield, P. R. (1977) A calcium dependent inward current in frog skeletal muscle fibers. *Pflügers Arch.*, **368**, 267-270
- 74) Stefani, E. & Chiarandini, D. J. (1973) Skeletal muscle: Dependence of potassium contractures on extracellular calcium. *Pflügers Arch.*, **343**, 143-150
- 75) Takauji, M., Takahashi, N. & Nagai, T. (1975) Effect of dantrolene sodium on excitation-contraction coupling in frog skeletal muscle. *Jpn. J. Physiol.*, **25**, 747-758
- 76) Takauji, M. & Tsutsu-ura, M. (1987) A role for calcium currents in excitation-contraction coupling during potassium contractures in frog single twitch muscle fibres. *J. Musc. Res. Cell Motility*, **8**, 282
- 77) Takauji, M. & Tsutsu-ura, M. (1989) Characteristics of potassium contractures in single-twitch muscle fibres of the frog. *J. Musc. Res. Cell Motility*, **10**, 263
- 78) Takauji, M., Tsutsu-ura, M., Kanaya, H. & Nagai, T. (1984) Effects of divalent cations on biphasic potassium contractures and on contractile inactivation in low calcium solutions in frog single twitch muscle fibers. *Jpn. J. Physiol.*, **34**, 961-972
- 79) Takauji, M., Tsutsu-ura, M., Kanaya, H. & Nagai, T. (1984) Biphasic potassium contractures in single twitch muscle fibers of the frog. *Jikeikai Med. J.* **30** (Suppl.1), 31-33
- 80) Takauji, M., Tsutsu-ura, M., Kanaya, H. & Nagai, T. (1985) Effects of conditioning depolarization, repriming, and external calcium reduction on the potassium contractures in frog single twitch muscle fibers. *Jpn. J. Physiol.*, **35**, 613-627
- 81) Takauji, M., Tsutsu-ura, M., Kanaya, H. & Nagai, T. (1985) Effects of zinc and tetraethyl-

- ammonium ions on the biphasic potassium contractures in frog single twitch muscle fibres. *J. Musc. Res. Cell Motility*, **6**, 371
- 82) Takauji, M., Tsutsu-ura, M. & Nagai, T. (1980) Biphasic potassium contractures in frog single twitch muscle fibers and effects of various agents on the contractures. *Jpn. J. Physiol.*, **30**, 205-218
- 83) Takauji, M., Tsutsu-ura, M. & Nagai, T. (1982) The activation and inactivation in biphasic potassium contractures in frog single twitch muscle fibers. *Jpn. J. Physiol.*, **32**, 493-504
- 84) Tanabe, T., Beam, K. G., Powel, J. A. & Numa, S. (1988) Restoration of excitation-contraction coupling and slow calcium current in dysgenic muscle by dihydropyridine receptor complementary DNA. *Nature*, **336**, 134-139
- 85) Tanabe, T., Takeshima, H., Mikami, A., Flockerzi, V., Takahashi, H., Kangawa, K., Kojima, M., Matsuo, H., Hirose, T. & Numa, S. (1987) Primary structure of the receptor for calcium channel blockers from skeletal muscle. *Nature*, **328**, 313-318
- 86) Tsutsu-ura, M., Kanaya, H., Takauji, M. & Nagai, T. (1984) Mechanism of the inhibition induced by external Ca^{2+} reduction of each component of the biphasic potassium contractures in frog single twitch muscle fibers. *J. Physiol. Soc. Japan*, **46**, 471
- 87) Tsutsu-ura, M. & Takauji, M. (1981) Mechanisms of spontaneous relaxation and deactivation relaxation of the potassium contractures in frog skeletal muscle. *Sapporo Med. J.*, **50**, 381-387 (in Japanese)
- 88) Tsutsu-ura, M. & Takauji, M. (1987) A role of calcium currents in excitation-contraction coupling during potassium contractures in frog single twitch muscle fibers. *J. Physiol. Soc. Japan*, **49**, 487
- 89) Tsutsu-ura, M. & Takauji, M. (1988) Different mechanisms of potassium contractures in single twitch muscle fibers of the frog. *J. Physiol. Soc. Japan*, **50**, 526
- 90) Tsutsu-ura, M. & Takauji, M. (1989) Calcium movement during potassium contracture in frog single twitch muscle fibers. *Jpn. J. Physiol.*, **39** (suppl), S195
- 91) Tsutsu-ura, M., Takauji, M. & Nagai, T. (1984) Effects of external calcium reduction on biphasic potassium contractures and action of divalent cations on the calcium reduction in frog single twitch muscle fibers. *Jpn. J. Physiol.*, **34**, 485-495
- 92) Vandaele, S., Fosset, M., Galizzi, J. -P. & Lazdunski, M. (1987) Monoclonal antibodies that coimmunoprecipitate the 1, 4-dihydropyridine and phenylalkylamine receptors and reveal the Ca^{2+} channel structure. *Biochemistry*, **26**, 5-9
- 93) Washio, H. & Mashima, H. (1963) Effects of some anions and cations on the membrane resistance and twitch tension of frog muscle fibre. *Jpn. J. Physiol.*, **13**, 617-629
- 94) Weiss, G. B. & Bianchi, C. P. (1965) The effect of potassium concentration on Ca^{45} uptake in frog sartorius muscle. *J. Cell Comp. Physiol.*, **65**, 385-392

日本生理研連シンポジウム ヒトの脳機能研究の最近の進歩

日 時：平成2年10月11日(木) 午前10時～午後4時

会 場：九州大学同窓会館

主 催：日本学会議生理学研究連絡委員会

共 催：日本生理学会

後 援：日本医歯薬アカデミー

世話人：加藤元博

(九州大学医学部脳神経病研究施設臨床神経生理学部門)

1. PET による神経伝達物質機能の解析

大阪バイオサイエンス研究所

渡辺 恭良

ポジトロンエミッショントモグラフィ(PET)は、特にヒト脳の生化学・解剖学的側面に焦点を当てつつ、高次脳機能の研究を行うための手段である。PET を用いて、脳局所のエネルギー代謝とそれに複雑に絡み合う脳局所血流量の測定より特定の脳機能に関わる神経活動部位を決定する研究が当初の成功を取めてきた。また、化学情報伝達系の解析に関しては、高親和性かつ低非特異的結合のレセプターアンタゴニストを用いたレセプター結合活性の解析のほか、モノアミン酸化酵素活性などの酵素活性や酵素量、及び、種々の物質の輸送・代謝に関する研究が進んできた。このような基礎的研究の進展のもとで、実際に脳機能に関わる特定分子の動向を無侵襲的に検討していく上で推進すべき研究の方向性について、若干の考察を加えた。

実質的には、*in vitro*での神経伝達物質の遊離、レセプター結合や細胞内情報伝達物質の変化など様々な角度からの解析結果とPETを用いた*in vivo*での解析結果を比較検討し、双方の実験系間でのやりとりから、より生体脳での真実に近い変化を抽出していくこととなる。この中間段階に位置する研究としては、脳マイクロダイアリス法による侵襲的*in vivo*神経伝達物質遊離検定法などがあり、PETとの組合せにより、遊離量の検定を行いながら、PETで無侵襲的に遊離量を測定する方法を開発することが可能であろう。最近我々は、L-[¹¹C]DOPAの標識法を完成し、これを用いて線条体でのドーパミン遊離速度の無侵襲的解析に着手した。

一方、正常の発達過程や病態モデル動物およびストレス下の動物におけるPETを用いた研究には、PETの空間分解能の限界から、サルを用いた研究が中心と

なると考えられ、無麻酔下でのサルのPET実験に必要なステレオ固定チェアー・方法を開発し、ケタミン麻酔下での測定と比較したところ、線条体ドーパミンD1・D2レセプター結合活性の双方ともがケタミン麻酔下の方が高いことが判明した。この結合活性の変化を指標に動物の馴化や、グルタミン酸系との神経連関について検討を加えている。

最終的な目標として、高次脳機能とこれらの化学情報系の関連を探るための方法論であるが、現在のPETカメラは、複雑なタスクや感覚刺激を与えるには不都合であり、このための新しいデザインのものが必要となる。

2. PET による大脳基底核機能の解析

九州大学医学部脳研神経内科

細川 晋一

PETは種々の神経疾患の病態生理を知る手段として利用されつつある。特に最近では脳循環およびエネルギー代謝のみならず、神経伝達物質の代謝および受容体の変化をPETにより調べることが可能となり、新しい知見が報告されつつある。今回はエネルギー代謝の指標として、局所脳グルコース代謝(CMRglc)、黒質線条体ドーパミン機能の指標として、6-フルオロドーパ法(6-FD)を用い、各種大脳基底核疾患の病態を検討した。パーキンソン病(PD)、その他のパーキンソニズム(PK)、進行性核上性麻痺(PSP)に共通して線条体の6-FD取り込み低下がみられ、これらの疾患では黒質線条体ドーパミンニューロンの神経終末の機能低下が存在することが示唆された。一方線条体のCMRglcはPDでは正常だったが、PKおよびPSPでは、線条体のCMRglcが低下していた。この事はPDでは、機能低下が黒質線条体ドーパミンニューロンの神経終末に比較的限局しているのに対し、PKおよびPSPではそれに加えて、ドーパミン受容体ある

いは線条体内のニューロンの機能低下が加わっていることが示唆された。一方線条体の出力ニューロンが主に障害されるハンチントン病では線条体の 6-FD 取り込みは正常だったが、線条体の CMRglc は著明に低下を示した。これらの結果は PET を用いて、エネルギー代謝とドーパミン代謝を測定することにより各大脳基底核疾患の病態の共通点と相違点を明らかにできることを示している。今後 PET 検査のための新しいリガンドの開発により、大脳基底核の機能と大脳基底核疾患の病態が更に明らかになることが期待される。

3. 高次脳機能の神経心理学的、画像的解析

千葉大学医学部神経内科

河 村 満

画像技術の進歩が最近の神経心理学の発展に果たした役割を、二つの前頭葉症状についての検討を提示することから明らかにした。

1. Broca 野周辺病変例の検討

Broca 野 (左下前回三角部・弁蓋部) 周辺の限局性梗塞病変で言語症状を呈した 8 例の症候と病巣 (X線 CT・MRI) とを対比した。

1) 8 例全例で、病変により程度の差はあるものの構音の障害が認められた。2) Broca 野の後に接する左中心前回下部に主病巣を持つ症例で、構音の障害が特に著明であった。3) 病変が左中心前回下部から前方の Broca 野に進展する症例では、持続性失語症状がみられた。

この検討は画像技術の進歩から、従来とは比較にならないほど緻密な症候と病巣との対比が可能になったことを示している。

2. 習熟行為の解放現象の検討

自らの意志と無関係な上肢の動きを主訴とした脳梗塞症例 2 例 (両側前頭葉梗塞 1 例, 左前大脳動脈梗塞 1 例) を対象とし、行為障害の詳細を以下の三つの状況に分けて検討した。1) 日常物品を視覚的に提示する。2) 慣習的動作を視覚的に示す。3) 閉眼下で道具使用の状況を説明する (聴覚的提示)。

両側前頭葉梗塞例は意志に反して両手で、左前大脳動脈梗塞例は右手で物品を使用した。また 2 症例いずれにも慣習的動作に応ずる行為がみられ、閉眼下での口頭説明では物品使用を模倣する動作が認められた。

両側病変例は Utilization behavior (Lhermitte 1983)、右側病変例は道具の強迫的使用 (森ら 1982) として記載された症状と類似する点が多い。しかし、上

記検討の結果は、両例の行為障害が行為抑制系障害として“習熟行為の解放現象”と一括できることを示唆している。また症候の内容は失行とは対比的に捉えることができ、その機序は前頭葉から頭頂葉へ向かう行為抑制系の離として理解される。

習熟行為の解放現象は、画像技術の進歩により明らかにされた新しい症候と考えられる。

4. 痛み刺激による体性感覚誘発電位

佐賀医科大学内科

柿 木 隆 介

【目的】 CO₂ レーザーを用いた痛覚 SEP の正常者における所見と臨床応用について、これまでの結果をまとめてみた。

【方法】 CO₂ レーザー光線の波長は 10.6 μm, 刺激時間は 10 ないし 20 msec, 照射範囲は直径約 2 mm, 刺激強度は約 18 mJ/mm² とした。殆どの正常者では、この条件では細く鋭い針でチクッと刺されたような感じを覚えた。増幅器の周波数応答は 0.5~30 Hz, 分析時間は 1.5 ないし 2.5 秒, 基準電極は両側耳朶を連結したものとした。

【正常者における結果】 正常者では、頭頂部 (Cz) を最大振幅として、手背刺激では P 340 電位, 足背刺激では P 400 電位が記録される。P 340 は主観的な痛さの度合とはほぼ平行して徐々に振幅が低下し潜時が延長した。駆血帯を用いた虚血試験および lidocaine による局所麻酔では、P 340 電位は深部感覚よりも温痛覚の変化によく一致した結果を示した。痛覚 SEP を用いて、末梢神経および脊髄伝導速度を計測したところ、約 10 m/sec であった。以上の結果より、CO₂ レーザー刺激によりその刺激信号は Aδ 線維—脊髄視床路を上行することが明らかとなった。

【臨床応用】 種々の感覚障害を呈するニューロパシー症例では、痛覚 SEP は温痛覚障害および腓腹神経生検での小径有髄線維密度と有意な相関を示した。脊髄空洞症を初めとするミエロパシー症例では、痛覚 SEP は脊髄視床路および中心灰白質の障害に合致していた。また潜在性病変の検索にも有用であることが示唆された。

【結語】 痛覚 SEP が Aδ 線維—脊髄視床路の生理学的検索に有用であることが確認された。今後さらに幅広い臨床応用を行って行きたい。

5. 脳内電位発生源を推定する双極子追跡法 (DT 法) の現状, 将来

東京工業大学総合理工学研究科

武者 利 光

脳の内部では神経軸索を伝搬する活動電位パルスによって生体情報の伝送がなされる。それに伴ってわずかながら頭蓋の表面に電位分布が現われ、また外部に磁場が現われる。それらを測定して逆問題として内部の電気的な活動部位の動きを非侵襲的に推定することが出来る。われわれは頭皮上の電位分布から脳内部の電気的興奮部位を等価的な1個又は2個の電気双極子で近似してそれらの位置とモーメントを推定する「双極子追跡 (DT) 装置」を開発した。

被験者の頭蓋形状を64個のセンサーを用いて計測してから、既知の位置に20から32個の電極を配置して50マイクロ秒またはそれよりも大きい時間間隔で電位分布を測定する。頭蓋内部を様な導体と仮定して等価双極子を推定する。このときの問題点は頭蓋骨の影響の補正である。てんかん焦点位置を診断するために硬膜下に挿入した電極に微弱な電流を流して既知の位置に電気双極子を作り頭蓋骨の補正データを得た。若干の個人差はあるものの約5ミリメートルの精度で位置推定が出来るようになった。実際にこの装置を用いて「てんかん」患者の脳波に現われる Interictal spike の電位分布から焦点の位置を推定し、それを内部電極による推定結果と比較して精度の確認を行なった。また「かな」と「漢字」をCRT上に繰り返し表示したときの誘発電位分布から文字の認識ともなる脳内の電気信号の経路を追跡することに成功した。この結果はほぼPETによる知見と一致しているが、PETでは得られない時間情報を含んでいる。脳出血により死亡した患者の電気刺激による体性誘発反応を死亡する3日前から追跡し、脳幹部から大脳皮質に達する電気信号が日を追って変化する様子を知ることが出来た。

このようにDT装置は脳内の電気的な情報の流れを追跡するうえで強力な道具になるものと思われる。

6. 脳磁図による皮質聴覚野機能の解析

九州大学医学部耳鼻咽喉科

山本 智 矢

脳磁図とは、神経活動電流に伴って発生する磁気を、頭蓋外から記録し分布する方法である。この手法では神経活動の電流源の位置をミリ単位の精度で推定することができる。しかし生体から発生する磁気の強

さは数100 fTと地磁気にくらべると非常に弱い。このため、脳磁図の記録は、SQUID (超電導量子干渉素子) の実用化によって初めて可能になった。

今回14チャンネルのSQUIDを使用し、聴覚性磁気誘発反応を記録した。正常聴力者の右耳に周波数1 KHz, 持続400 ms, 強度70 dB SPLの聴覚刺激を加え、誘発磁気反応を大脳左半球から記録した。

聴覚刺激開始後の、潜時約50 ms, 100 ms および150 msの各反応について電流源の位置の推定を行ない、すでに知られている解剖学的な聴覚の伝導路の位置との関係を考察した。

また、聴覚刺激の周波数や強度を変化させると、潜時100 msの反応の電流源の位置が三次元的に移動した。このことから、聴覚中枢である41野では、周波数弁別的 (tonotopic) および強度弁別的 (amplitopic) な神経細胞の配列が明らかとなった。

さらに、聴覚刺激の間隔や順序などを変化させると磁気誘発反応の強度が変化するが、その電流源の位置は変化しないこともあきらかとなった。これらのデータから、この部に存在する聴覚情報の処理機構について議論した。

最後にSQUIDの応用が期待される、てんかんの診断をはじめとした他の臨床分野での研究の進行状況について言及した。

参考文献

- 1) Yamamoto, T. et al.: Proc. Natl. Acad. Sci., vol. 85, p 8737, 1988
- 2) 山本智矢: 代謝 vol. 28 (臨時増刊号) p 73, 1989

7. NMRによる脳機能の計測

電子技術総合研究所

亀井 裕 孟

NMR (核磁気共鳴) は静磁場と比較的弱い高周波磁場を用いる優れた無侵襲生体計測法である。しかし、信号検出感度が低く、脳機能計測に対するMRI, MRSの適用には多くの制約があり、十分な研究の展開を見るに至っていないのが現状である。ここでは、比較的簡単に脳機能計測ができる新手法「差分NMR法」について述べる。

精神作業を行ったり外的刺激を受容することによって、大脳は活動し、活動部位の局所血流量が増大する。大脳のプロトンNMR信号を観測すれば、この血流量増大に伴う信号強度変化が観測される筈である。し

かし、このときのプロトン信号強度の変化は大脳全体から得られるプロトン NMR 信号強度の僅か 0.1~10 ppm 程度と見積られ、通常の A/D 変換器を使用している MRI 装置では、この微弱な変化は 1 ビット内に隠れてしまうため観測することができない。さらに、脳内の血流は心拍に同期して時間的に変動している。この変化量も大きく、活動に伴う血流の変化を捉えるためには心拍同期測定をしなければならないが、これは脳機能測定にとっては不便であり、また、意味ある測定を行なうことは不可能に近い。われわれはこれらの問題を克服し、微少な NMR 信号の変化を観測することのできる新手法として「差分 NMR 法」を開発し

た。本手法を精神作業、聴覚、視覚および味覚の受容に適用し、大脳活動に伴うプロトン NMR 信号を観測した。被験者はすべて右利きの男性健常者である。味覚に関しては差が明瞭に観測された。鹹味受容に関して食塩水の塩濃度と応答信号強度との間には、べき則が成立し、肩は 0.38 であった。この値は官能検査等の結果とよく一致する。減塩食の摂取が鹹味受容閾値濃度に与える影響を観測した。6 日間の摂取によって、閾値が約 1/5 に低下することが観測された。その他、視覚および聴覚受容に関する測定結果をみても、今後、差分 NMR 法は有用な無侵襲脳機能計測手法となると期待される。

第 80 回 近 畿 生 理 学 談 話 会

日 時：平成 3 年 2 月 9 日(土)
場 所：和歌山県民文化会館
当番幹事：和歌山県立医科大学生理学教室
辻 本 毅，辻 繁 勝

*は非会員を示す

1. 前エクトシルビウス溝内の眼球運動誘発皮質と感覚ニューロン

木村晃久，玉井靖彦（和歌山県立医大，第一生理）
ネコの前エクトシルビウス溝(AES)を形成する大脳皮質には、電気刺激による眼球運動誘発皮質と視覚、聴覚、触覚の感覚受容野が存在する。AES 皮質で眼球運動誘発部位を中心に視覚、聴覚、触覚ニューロンの分布と、刺激に対する応答時間を調べた。ハロセングス麻酔後、実験は α -クロロロース静脈麻酔 (50 mg/kg, 追加量 15 mg/kg) 下で施行した。ガラス封入タングステン電極で 100~200 μ m 毎に細胞外ユニットの記録と、電気刺激(強度 40 μ A, 持続時間 0.4 ms, 頻度 400 Hz 矩形パルス列 4) を行い眼球運動の有無を観察した。感覚刺激として光(対側眼への照光)音(white noise)。触刺激(軽くタッチする)を用いた。脳をホルマリン固定し凍結切片を作製、記録部位と刺激部位を確認した。視覚ニューロンは AES の腹側皮質、聴覚ニューロンは背側皮質、触覚ニューロンは背側皮質吻側部に多く分布していた。視覚ニューロンの応答時間は 30~35 ms、聴覚ニューロンと触覚ニューロンの応答時間は 15~20 ms を中心に分布していた。2 種類以上の感覚刺激に反応するニューロンは眼球運動誘発部

位で多い傾向を示した。このことは、出力では別種の感覚入力統合されている可能性を示唆している。

2. 良好な形態を持つ嗅細胞の単離法と細胞内 Ca^{2+} 濃度の測定

広野順三，佐藤孝明，外池光雄，武林正峯(電総研，大阪ライフエレクトロニクス研究センター)

嗅細胞のニオイ受容における信号増幅機構として cAMP-セカンドメッセンジャー系が有力であると考えられている。また、細胞内 Ca^{2+} による cAMP 系の制御、 IP_3 により開くチャネルの存在などが報告されており、嗅細胞内 Ca^{2+} 濃度 ($[Ca^{2+}]_i$) の動態を明らかにすることは信号増幅系のメカニズムを明らかにするために重要と思われる。fura-2 による $[Ca^{2+}]_i$ 測定は多点記録が可能のため、複数の細胞あるいは異なる細胞部位の応答を同時に測定し比較することが可能である。このため、嗅上皮内の嗅細胞の隣接関係と長い樹状突起をもつ形態をできるだけ損傷しないように高密度に接着した単離嗅細胞を得ることを目的として tissue printing 法による単離を試みた。この結果、以下のことが示された。1. tissue printing 法はニオイ応答性を持つ嗅細胞を得る効率が pipetting 法の 5 倍

程度もある優れた手法であること。2. 数十 μm 以内に存在すると思われる2つの嗅細胞が citralva 及び amyloacetate に対して選択的なニオイ応答性をもつこと。3. ニオイ刺激及び forskolin 刺激による $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇は La^{3+} ではほぼ完全にブロックされ、nicardipine は抑制的な効果を持つことから、嗅細胞の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇への L 型 Ca^{2+} チャンネルの寄与が示唆された。

3. 大脳皮質視覚野におけるシナプス伝達の可塑性とシナプス後カルシウム

*吉村由美子, 木村文隆, *津本忠治, 錦織綾彦 (阪大, 医, バイオメディカルセンター神経生理学)

発達脳視覚野におけるシナプス伝達の長期増強の誘発にはシナプス後部への Ca^{2+} の流入がトリガーとして重要であると想定されてきた。本実験ではこの仮説を検証するため幼若ラット視覚野切片標本において、2/3層ニューロンに Ca^{2+} キレートである 1, 2-bis-(o-aminophenoxy) ethane-N, N, N', N'-tetra-acetic acid (BAPTA) を注入した。注入により細胞内 Ca^{2+} が十分にキレートされたことを確認した後に白質に高頻度刺激 (5 Hz, 1分) を与えた。その結果、白質テスト刺激に対する EPSP 振幅は70%の細胞において観察期間中 (15~25分) 持続的に抑圧された。一方高頻度刺激を与えなかった1/2層テスト刺激に対する EPSP は多くの細胞で変化しなかった。また、BAPTA を含まない電極を用いて行ったコントロールの場合には高頻度刺激を与えたシナプスにおいて長期増強の誘発が認められた。

以上の結果は、高頻度入力に伴ってシナプス後部で Ca^{2+} が増加した場合には長期増強を、増加が抑えられたか、増加しても一定の閾値以下の場合には長期抑圧を生じるメカニズムの存在を示唆している。

4. ラット網膜桿体双極細胞における GABA 応答の平衡電位 —ニスタチンパッチ法による—

山下勝幸 (阪大, 医, 第二生理)

従来のホールセルパッチ法では細胞内液がビペット内へ“wash out”し、本来の細胞内イオン濃度が不明となる。GABA は Cl^- チャンネルを開くことが知られているが、その本来の平衡電位はホールセルパッチ法では上記理由により不明であった。

今回、免疫組織化学的に同定された単離網膜桿体双極細胞において、ニスタチンパッチ法によりパッチ膜を破らずにホールセル記録することが可能となった。

この方法を用いて本来の細胞内 Cl^- の濃度変化を防ぎ、GABA に対する応答を記録した。細胞外 Cl^- 濃度が 149 mM の場合、カレントクランプモードでは GABA は -60 mV より過分極の電位応答をひきおこした。ボルテージクランプモードで GABA 電流を記録し、その平衡電位を調べた結果、GABA 電流は -70 mV 付近で反転した。この値より、細胞内 Cl^- 濃度は約 10 mM と推定された。

本研究から、GABA はラット桿体双極細胞において Cl^- の流入により過分極応答をひきおこすことが明らかになった。

5. LED 光刺激によるウサギの steady-state 型 VEP —SD 法による検討—

中竹伸佳, 堀あいこ, 内藤博江, 安原基弘, 安原昭博* (関西医大, 第二生理・小児科*)

光刺激による視覚誘発電位 (visual evoked potential, VEP) の起源は、皮質下の成分と皮質 (大脳視覚野) の成分との複合体と考えられている。特に、steady-state 型のフラッシュ VEP においては皮質下の成分が主であるとされているが、明確にはされていない。今回私達は、硬膜上に19個のステンレスビスを格子状に配置したウサギに、5, 10, 20, 30, 40 および 50 Hz の6種の周波数の LED 光刺激を与えて、両耳梁短絡 (LR) 法およびソースデリベーション (SD) 法による基準電極処理によりえられた steady-state 型 VEP を比較検討した。各種刺激に対する誘発波形のうち、10 Hz および 30 Hz の刺激頻度に対する波形はそれぞれ 10 Hz および 30 Hz の正弦波様の形態を示した。正弦波様の波形をトポグラフィーで分析すると、10 Hz 刺激で生ずる電位は、LR 法で記録すると視覚野に局在し SD 法にすると更に限局した。一方 30 Hz で生ずる反応は、LR 法で記録すると正中部に存在し、SD 法にすると消失した。

以上の実験結果から、ウサギの光刺激で誘発される steady-state 型 VEP のうち、10 Hz 刺激で生ずる電位は主として視覚野から生ずる電位で、30 Hz 刺激で生ずる電位は皮質下由来の遠隔電場電位であると考えられた。

6. 腎近位尿管細胞膜のカリウム透過性に対する pH と Ca^{2+} の影響

久保川学, 窪田隆裕, 萩原暢子, 小寺邦彦, 藤本守 (大阪医大, 第二生理)

【目的】腎近位尿細管細胞膜の K^+ 透過性に対するpHと Ca^{2+} の影響を検討した。

【方法】食用ガエル二重灌流管を用い、微小イオン電極で細胞内 Ca^{2+} 活量、pH、 $(Ca)_i$ 、 pH_i 、管腔側膜電位(E_{ML})および側基底膜電位(E_{MP})を測定した。

【結果】対照時の $(Ca)_i$ 、 pH_i 、 E_{ML} および E_{MP} はそれぞれ17 nM、7.4、-55 mVおよび-60 mVで、管腔内高 K^+ 液(35 mM)により E_{ML} は約10 mV脱分極し、周囲側高 K^+ 液により E_{MP} は31 mV脱分極した。周囲側を対照液(pH=7.7)からアルカリ液(pH=8.0)に変えると pH_i は0.2上昇し、高 K^+ 性脱分極は E_{ML} が17 mVに、 E_{MP} が40 mVに増加した。周囲側を酸性化(pH=6.7)すると pH_i は0.3低下し、 E_{ML} と E_{MP} の高 K^+ 性脱分極はそれぞれ8および12 mVに減少した。周囲側イオノマイシン(4 μ M)投与により $(Ca)_i$ は27 nMに上昇し、 E_{ML} の高 K^+ 性脱分極は14 mVに増加したが、 E_{MP} の脱分極は変化しなかった。また、フェニレフリン(10^{-7} M)投与により $(Ca)_i$ は44 nMに増加し、 E_{ML} の高 K^+ 性脱分極は16 mVに増加した。

【結論】側基底膜の K^+ 透過性はpHrにより調節され、管腔側膜のそれは pH_i と $(Ca)_i$ により調節されると思われる。

7. PVCを用いたイオン非選択性微小電極

萩原暢子, 窪田隆裕, 藤本 守 (大阪医大, 第二生理)

【目的】従来の二連型イオン選択性微小電極は、作製技術が難しく、電極作製にかなりの時間を必要とした。本研究では、この点を改良するため、イオン非選択性交換剤を二連型の一脚の膜電位測定脚に用いて、長期保存可能なものに仕上げた。

【方法】アルミ珪酸ガラスまたは硼素珪酸ガラスから二連ピペットを作製し、三酪酸塩化シランにてピペットをシラン化した。イオン非選択性交換剤は、四塩化フェニル硼酸カリをオクタノールに溶解するか(重量%比, 2:98), または K^+ イオン交換剤(WPI: IE 190)と Cl^- イオン交換剤(コーニング: 477315)を溶積比4:7に混ぜ合わせ、その溶液にポリ塩化ビニルを加えて四水素化フランで溶解した。これを、二連ピペットの膜電位測定脚に充填した。生物的应用としては食用ガエル縫工筋と腎近位尿細管細胞の膜電位並びに細胞内pHを測定した。

【結果】イオン非選択性微小電極(電気抵抗 10^{10} Ω)

のイオン交換膜を介して発生する電位は、イオン強度が一定の異なる浴液間でほとんど差がなかった。イオン非選択性交換剤を用いた二連型イオン微小電極で食用ガエル縫工筋と腎近位尿細胞細胞の膜電位と細胞内pHを測定すると、その値はKCl電極や従来の二連微小電極での測定値と有意差がなかった。

【結論】本法を二連型イオン微小電極の作製に用いれば、今までより優れた方法となり、細胞内外のイオン測定もより容易になると考えられる。

8. 随意運動開始と腎交感神経活動の中枢制御

松川寛二, *L. Britt Wilson*, *P. Tim Wall*, *Jere H. Mitchell* (国立循環器病センター研, 心臓生理部・Univ. of Texas Southwestern Medical Center of Dallas*)

随意筋運動と連関して、心拍数や心拍出量の増加そして心拍出量の再配分が起こる。特に運動開始時にみられるこれら循環調節には自律神経性因子が関与する。本研究は、覚醒ネコを用いて前肢等尺性運動時に出現する腎交感神経活動応答を明らかにした。前肢を使ってレバーを20~60秒間押し続ける様に動物をオペラント訓練した後ハロセン麻酔下において神経活動電極、頸動脈カテーテルを埋め込んだ。手術後1週間、随意運動前後の腎交感神経活動、動脈血圧、心拍数変化を記録した。また運動のモニターとしてレバーに加えられた圧力を計測した。運動中、動物は100~400 g重の圧力(体重の4~10%)をレバーに加えた。腎交感神経活動と心拍数は運動開始に先行して増加し始め運動開始直後に最大となった。交感神経活動は運動時約2倍となり心拍数は10~20 bpm増加した。動脈血圧上昇(約10 mmHg)は交感神経活動増加よりも約10秒遅れた。以上の結果は、随意運動開始時にみられる腎交感神経活動の増加が、動脈血圧受容器や筋運動にともなう筋力学・代謝変化と関係する筋肉受容器を介する反射性応答ではなく、随意体性運動と連関して高位中枢性に誘発された事を示唆した。

9. 赤血球フリッカー現象の周波数特性と赤血球変形能

伊藤俊之, *S. Chien*, *S. Usami** (京都府立医大, 第一生理・UCSD, 生体工学(USA)*・Inst. Biomed. Sci. (Taiwan)**)

生理的条件下で赤血球を顕微鏡拡大すると、細胞膜全体が波うつようなリズムカルな運動が観察され

(flicker 現象), 熱揺動に起因する振動現象と考えられている。今回その振動特性と赤血球変形能との関連を, 変形能変動幅の大きい鎌状貧血症赤血球を実験材料に選んで検討した。

【方法】ビデオ顕微鏡を用い, 酸素分圧を変化させながら赤血球をマイクロピペット ($\phi \sim 1.2 \mu\text{m}$) で反復吸引して, 変形能を酸素分圧の函数として測定した。一方, flicker 信号をビデオモニター上の赤血球画像の濃度変化の時系列として採取し, 最大エントロピー法にてパワースペクトルを推定した。

【結果】スペクトルは二つのピーク (f_L, f_H) を持ち, 1 Hz 付近の f_L は細胞全体の二次元的運動に, 5 Hz 付近の f_H は膜の三次元的振動に対応すると考えられた。脱酸素化時には, 微小吸引法で測定した変形能パラメータは鎌状化前には有意な変化を示さず, 鎌状化に一致して急激な増加を示した。一方ピーク f_H は, 細胞の鎌状化に先行して低周波側にシフトし, 鎌状化とともに消失した。また, 赤血球の鎌状化から回復した後も, f_H の回復には遅れが見られた。これらの結果は, flicker 現象の周波数解析が単一赤血球の膜や内部状態を調べる鋭敏なプローブとなる可能性を示唆している。

10. Kinetics によるミオグロビンの P_{50} の算出

松村一仁, 榎 泰義, 上月久治 (奈良医大, 第二生理)

ヘモグロビン, ミオグロビン (Mb) の O_2 親和性 (P_{50}) は通常, O_2 平衡曲線から求められるが, この場合, いくつかの難点がある。Mb は O_2 親和性が非常に高く, すなわち, P_{50} は非常に小さい。また, Mb は自酸化性が高く, 長時間を要する平衡法では, 測定中の met Mb の生成も無視できない。このため, 平衡法による P_{50} 値には多分に誤差を含む可能性が考えられる。また, 平衡法では比較的大量の試量を必要とする。以上の点にかんがみ, 今回 stopped-flow 法を用いて Mb の P_{50} を求めた。Mb は単量体で, ヘム間相互作用は全く無く, O_2 との結合は, 単純な一段階二分子可逆反応である。したがって, 結合速度定数と解離速度定数を求めれば, 両者の比として P_{50} を算出することができる。まず, stopped-flow 法を用いて, deoxy Mb と O_2 との反応曲線より O_2 結合速度定数 (k') を, oxy Mb と dithionite との反応曲線より O_2 解離速度定数 (k) を求めた。次いで, $K = k'/k$ として平衡定数 K を, $P_{50} = 1/K$ として P_{50} を算出した。今回, マウ

ス, イヌ, ニワトリの Mb について, 反応速度定数から求めた P_{50} の値を平衡法により求めた値と比較したところ, 満足すべき一致を得た。

11. 顕微鏡を介した反射光分析による, 脳微小循環代謝観測装置の開発

渡邊 学, 原田 昇, 志賀 健 (阪大, 医, 第一生理)

【目的】反射光分析による, 臓器循環代謝検索において, 関心領域を微小化し, 高精度での観測が可能となる装置の開発を目的とする。

【対象及び方法】ラット脳表を対象とし, 一側頭頂部の約 4 mm 四方を麻酔下に開頭, 硬膜切開する。顕微鏡視野より径 30~60 μm の隣接した細動脈 (以下 (a)), 細静脈 (以下 (v)) 及び毛細管のみを含む領域 (以下 (c)) を選択する。Optical fiber をもちい顕微鏡視野のうち約 20 μm 径の範囲で上記 (a), (v), (c) よりの各々の反射光を分光器に導きスペクトルを得る。そのスペクトルより, (a), (v) においては, ヘモグロビン酸素飽和度を, また (c) に関しては Cytochrome の酸化還元状態をも含め観測した。以上の測定を空気呼吸下及び低酸素呼吸下において行った。

【結果及び考察】1) ヘモグロビン酸素飽和度は, 吸入酸素濃度にかかわらず, (a) > (c) > (v) の順となり, 酸素濃度が 10% 以下で急激に低下した。2) (c) の Cytochrome は吸入酸素濃度の低下とともに, 還元型が増加した。以上より本測定法により (a), (v), (c) を分離した高精度のスペクトル解析が可能であると考えられた。

12. 肝小葉内微小スポットでの組織酸化還元レベルの計測

*陳 声松, 吉原治正, 原田 昇, 志賀 健 (阪大, 医, 第一生理)

【目的】肝小葉内の微小スポットにおける数個の肝細胞の酸化還元レベルを, 顕微分光分析システムを用いてミトコンドリアチトクローム系のスペクトルから計測する。

【方法】高倍率顕微鏡と分光器・高感度フォトカウンタを 2 本のライトガイド (径 400 μm) で直結した。Krebs-Henseleit 緩衝液 (pH 7.4, 37°C) で定圧灌流したラット肝表面の 2 つの微小スポット (径 20 μm) での反射スペクトル (波長 450~650 nm) をコンピュータで演算・記録した。対照は同一スポット上に白色

テープを置いて求めた。更に、95%O₂+5%CO₂ 飽和緩衝液で灌流した normoxia 時との差スペクトルを求め、波長 550~540 nm, 564~575 nm, 603~630 nm での吸光度差 (ΔOD) からチトクローム c+c₁, b, aa₃ の酸化還元レベルを各々求めた。

【成績】 灌流遮断あるいは95%N₂+5%CO₂ 飽和緩衝液で灌流した anoxia 時には、差スペクトルで還元型チトクローム c+c₁, b, aa₃ の吸光 peak が認められ、reoxygenation により消失した。又、同一スポット上での ΔOD と流入液中 PO₂ の関係では、600 μM 以上では ΔOD は 0 であったが、PO₂ の低下とともに増大し、0 μM で最大となった。

【結論】 本法を用いたチトクロームのスペクトル解析から、肝小葉内の任意の微小スポットで数個の肝細胞の酸化還元レベルを計測することが可能であった。

13. ³¹P-NMR からみたヒルの遊泳行動解析

千葉 惇, 浜口雅光, 朝井俊治, 徳野達也, *奥田裕章, 秩父志行 (近畿大, 医, 第一生理)

ヒルは、陽極性の走電性を示し、強い電気刺激では一時的に麻痺状態となり、遊泳行動を停止する。走電性から一時的麻痺状態にいたる行動変化において、その時期の高エネルギーリン酸化代謝に及ぼす影響を in vivo ³¹P-NMR を用いて調べた。

ヒル (*Hirudo nipponia*) を in vivo ³¹P-NMR で測定するとリン酸エステル、無機リン酸 (4.3 $\mu mol/g$)、ATP (β -ATP=1.2 $\mu mol/g$, n=7) が観察された。ヒルを直径 10 mm の NMR 試料管に入れ、淡水の灌流液を好気もしくは嫌気的狀態で灌流した。3時間の嫌気的条件下の灌流液では各高エネルギーリン酸化物濃度には変化なかった。遊泳中のヒルに弱い通電刺激を与えると、陽性の走電性を示した。この時の NMR スペクトルは、静止状態の場合とほとんど変化はなかった。走行性を示す 5 倍の強い電気刺激では、ヒルは麻痺状態となり、³¹P-NMR のシグナルを観察すると、静止状態に比べて約 60% の β -ATP 濃度低下と Pi 濃度上昇が認められた。また、アルギニンリン酸のシグナルの出現が観察された。水中遊泳中のヒルに対する電気ショックによる電気麻痺現象は単に行動学的に観察される一時的な神経麻痺によるものだけではなく、強度の筋疲労も一つの要因と考えられる。

14. 化学反応の回路網シミュレーション

今井雄介, 宮本 学, 吉田秀世, 中張隆司, 相馬義郎 (大阪医大, 第一生理)

周期的な発振をする単純な概念的化学反応 Brusselator の挙動をシミュレートした。反応は質量作用の法則に従うものとして、反応速度を規定する素子表現と濃度変化を規定する素子表現を用意する。これら熱力学関係とつながり方を規定する素子を組み合わせることでモデルを作り、中間産物濃度が振動するシミュレーションをした。

この Brusselator モデル二つを並べその間を中間産物の拡散があるものとすると同槽で位相の異なるものが、時間経過でコーヒレントな、すなわち同槽で一致した振動になる。完全なコーヒレントな振動では当然拡散はなくなり、またそれに伴うパワー散逸も消失する。

自然界の非線形現象ではしばしば引き込みと呼ばれる現象が起こり、コーヒレントな一過性または周期性の現象が見られるが、シミュレーションにおいて、なおコーヒレンシーが見られることに興味がある。この同期する拡散 Brusselator 2 槽モデルでは、化学反応の振動の原因となる中間産物濃度が拡散により高い槽はやや低くなり、低い槽はやや高くなるという傾向を通じて、暫時安定な同期振動に移行するものと見られた。

15. 高体温時循環調節における迷走神経の役割

鷹股 亮, 能勢 博, 森本武利 (京都府立医大, 第一生理)

我々は、ラットを用いて、体温が 40℃ 以上では末梢血管のコンダクタンス (TVC) が低下し、皮膚血流量のそれ以上の増加をおさえて中心循環系の維持に働くこと、また、この際中心静脈圧 (CVP) と TVC の間に良い相関があることを報告した。今回は、この反応に対する心肺循環系からの圧反射の関与を明らかにするために、 α -chloralose 麻酔下のラットの両側頸部迷走神経を切断 (VX 群) し、高体温負荷に対する循環応答を迷走神経 intact なラット (C 群) と比較した。CVP を変化させるため、各々の群の半数 (n=6) については fwofenide 投与により血液量を約 9% 減少させた。

平均動脈圧 (MAP) は C 群では体温が 43℃ に上昇するまで上昇 (30~40 mmHg) し、VX 群は体温が 42℃ の時最高値 (+25~30 mmHg) を示した。この MAP の上昇は主に TVC の低下に由来した。CVP と TVC

の間には、特にC群で高い相関($r=0.925$)が認められ、両者の関係の勾配(TVC/CVP)は、VX群($r=0.757$)においてC群より約40%低値を示した。心拍数は体温上昇により上昇したが、両群ほぼ同様の応答を示し、血液量変化の影響も認められず、体温の直接作用が示唆される。

以上の結果より、ラットにおける体温上昇時の末梢血管系の収縮の一部は、心肺循環系からの圧反射により調節されていることが示唆された。

16. 血管内皮細胞の fibrin 存在下での線溶系調節機序

*深尾偉晴, 上嶋 繁, 岡田清孝, *富岡良城, *塚本義貴, 松尾 理 (近畿大, 医, 第二生理)

【目的】血管内皮細胞は多彩な生理機能を発現しており、特に血液線溶系の制御中枢として注目されている。本研究では血栓(fibrin)存在下での内皮細胞の線溶系調節を正常な内皮細胞と異常な内皮細胞とで比較し、血管内皮細胞の抗血栓特性を検討した。

【方法】ヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)の培養系を用い、通常培養のものを正常HUVEC、長期放置培養、或は薬剤(cycloheximide, actinomycin-D)処理したものを異常HUVECとした。各HUVECにfibrin clotを静置し培養した際に放出される組織性plasminogen activator(t-PA)、およびそのinhibitor(PAI-1)の抗原量、mRNA量および培養上清液の線溶活性を測定した。また細胞上での ^{125}I -fibrin clot溶解もみた。

【結果】正常HUVECはfibrin存在下でPAI-1 mRNA量を約15%に抑制し、放出抗原量も約60%に減少させた。t-PAには有意な変動はなく、上清液の線溶活性は約350%に抗進した。一方、異常(長期処置培養)HUVECではfibrin存在下でPAI-1 mRNA量は約160%に増加し、放出抗原量も約400%に増加した。t-PAには変動はなく、上清液の線溶活性は約30%に抑制された。以上のようにfibrin存在下での細胞性反応はPAI-1放出による線溶系調節であった。

17. 培養腭B細胞内における分泌顆粒の細胞内輸送と細胞骨格

中垣育子, *槇野茂樹*, *北岡治子*, 佐々木貞雄, 森田雅文** (大阪医大, 第一生理・第一内科*・胸部外科**)

腭B細胞には多くの分泌顆粒と組織化された細胞骨

格系が存在し、グルコースその他の分泌刺激物質による細胞内 Ca^{2+} 濃度調節によってインスリンを分泌することが明らかにされている。ハムスター腭よりSV40で変形させた培養B細胞系(Hit-T15)を用いてイオン、蛋白の細胞内輸送について検討した。Hit細胞は細胞内にインシュリン分泌顆粒、微小管等を有しインシュリンを分泌する。アクリジノレンヂ(AO)を投与すると分泌顆粒にAOの集積が見られ、分泌顆粒内に高い形での H^+ 勾配が存在する。モノニンシを投与するとAOの集積が消失した。 ^3H -ロイシンを3分間pulseし、細胞内への取り込みをラジオオートグラフィ法を用いて追跡した。 ^3H -ロイシンのgrainは40分で腺腔側細胞質へ、120分で分泌されるのが観察されたが、モノニンシ投与では120分でもゴルジ野周辺に見られた。またX線微部分析法では細胞内のCa濃度が上昇した。これらの結果よりモノニンシで分泌蛋白の細胞内輸送が抑制され、この細胞内輸送に分泌顆粒の H^+ 勾配が関与し、Caは分泌顆粒の細胞外への分泌に関わっているものと考えられる。

18. 口腔感覚入力による唾液分泌に関する研究

松尾龍二, 増田裕次, 森本俊文 (阪大, 歯, 口腔生理)

動物が飲食物を摂取すると唾液分泌が生じる。この唾液分泌における口腔領域からの感覚入力と上位中枢からの下行性の影響を比較検討した。実験にはラットを用い、固型飼料、ペースト飼料、粉末飼料、味溶液を摂取させ、このときの顎下腺分泌量と咀嚼筋活動を記録した。また、麻酔下にて除脳動物を用い、口腔領域を機械刺激したときの顎下腺分泌量を測定した。これらの実験により以下の結果を得た。1) 麻酔下実験では、主に同側の舌根部と軟口蓋部の刺激により唾液分泌が生じた。2) 固型飼料とペースト飼料を与えると、摂取期間中持続的な唾液分泌が生じた。このときの分泌速度はピロカルピン刺激時に匹敵した。粉末飼料は持続的に摂取しなかったが、摂取開始時の分泌量は固型飼料のときと同様であった。3) 味溶液を与えたときの分泌量は、飼料摂取時の1/10以下であった。しかし、動物の嫌がる味では、味覚嫌悪行動に伴う唾液分泌が認められた。また、ハギシリるときは唾液分泌は生じなかった。4) 舌咽神経を切断してペースト飼料を与えると、分泌量の減少は1割弱であった。しかし、動物が満腹状態に近づくと、分泌量は約半分減少した。以上のことより、口腔感覚入力よりも上位

中枢からの影響による唾液分泌作用が大きいことが分かった。

19. 筋疾患マウス (**crouching**) の筋小胞体分画における欠損蛋白の疎水性について

坪田裕司, *真壁恭子, 辻 繁勝(和歌山県立医大, 第二生理)

B6 CBA/J-cro マウスは、進行性に筋力低下を示し、脂質代謝異常が認められ、骨格筋に空胞形成を主徴とする筋変性が認められる。この cro マウスは骨格筋筋小胞体分画において分子量 47 kd の蛋白を欠損している。正常筋を用いてこの蛋白の精製法の検討を行なった。筋小胞体分画を試料として 20 mM Tris-HCl, pH 8.0 で平衡化した DEAE-Sephacel に吸着させたところ、この緩衝液を pH 6.8 に調整した条件、あるいは 1 M KCl または 1% Triton X-100 を加えた条件では目的蛋白は溶出されず、H₂O により溶出された。後肢筋ホモジネートを 20 mM Tris-HCl, pH 6.8 で 20 倍に希釈し DEAE-Sephacel に吸着させたところ、目的蛋白は 0.5 M KCl により溶出した。この溶出分画を溶出緩衝液で平衡化した Phenyl-Sepharose CL-4 B に吸着させたところ H₂O では溶出せず、50% Ethylene Glycol で目的蛋白が溶出された。以上からこの蛋白は疎水的性質が強いことが示唆されたが、筋ホモジネートを用いた結果から、生体に近い状態では蛋白表面の疎水的領域があまり外部に出ておらず、多量体あるいは他の蛋白と結合した形で存在すると考えられる。



〔生理学の広場〕

堀田 健先生を偲んで



名古屋市立大学名誉教授、元同大学医学部第一生理学講座教授、堀田 健先生は平成2年12月15日名古屋市立大学病院において結腸癌のため御逝去されました。享年68歳でした。

先生は大正11年、愛知県津島市にてお生まれになり、昭和17年浜松高等工業学校を卒業されてから6年ほど中学校教諭をしておられましたが、昭和22年名古屋大学理学部に再び入学されました。研究への夢がどうしても捨てきれなかったから、と奥様から伺っております。昭和33年同大学大学院物理学科を修了されると直ちに渡米され、Maryland 大学、Dartmas 大学、California 大学などに於て筋肉の収縮タンパク質の生物物理学的性質について研究されました。昭和37年に名古屋市立大学医学部第二生理学教室の故大原幸吉教授のもとへ助教として赴任され、昭和46年に新田初雄教授の後任として第一生理学教室教授に就任され、昭和63年定年退官されました。

先生の御研究は、一貫して筋生理学、とくに骨格筋収縮の生物物理学的性質についてでありました。この道に入られるに当たって、Manuel F. Morales 教授(元 California 大学教授で、筋収縮の生化学的研究において日米科学研究交流に貢献した功績により、平成

元年に叙勲(勲三等旭日中綬章)された)などの強い影響があったと伝え聞いております。骨格筋収縮の分子生理学的研究とともに筋病理学的研究も手が付けられ、筋ジストロフィー症や神経性筋疾患などの難治病治療の基礎的研究も盛んになされました。先生は更に平滑筋の研究にも興味を示され、高血圧自然発症ラット(SHR)の動脈平滑筋においては Ca^{2+} の細胞内流入が正常血圧ラットより高くなっていることを見つけられるなど、高血圧発症に関してカルシウム学説の基礎となる研究をされ、昭和49年に三越医学賞を受けられました。

先生は大学内の研究や教育の運営にも尽力され、研究機器を多くの教室で共同利用できるシステムをいち早く名市大医学部に作り上げ、その機能的運営の基礎を作ることに碎身されました。また学生実習に用いる機器も常に改良を加えられました。市販の器具では御不満で、物理御出身らしく、新しい機械を御自分で作ることが得意とされ、現在残されている研究機器もそのどこかに改良の痕が認められます。

学会活動にも積極的に参加され、生理学会のなかで主に筋生理グループの方々との深い親交がございましたが、研究の視点は生理学の分野のみに留まらず、それを物語るように、参加しておられた学会は全日本鍼灸学会、日本生化学会、日本生物物理学会、日本臨床電子顕微鏡学会、日本癌学会など十数学会にのぼります。

このような生前の先生の御業績に対し、正四位勲三等旭日中綬章が贈られました。

昭和61年、先生は結腸癌を告知され、直ちに手術されました。その後、見たところ小康状態を保っておられ、あちこちの講義やシンポジウムへの要請が絶える事なく、お忙しい日々を過ごしておられましたが、亡くなられるまでの5年間、徐々に御自身の肉体が蝕まれていっても、その事に関しては、よそ目には全く意に介していない風を装っておられました。むしろ講義のためのプリントや新しい実験装置の工夫にすべての神経を奪われておられるような毎日が、病院のベッドの上で、お亡くなりになる直前まで続きました。

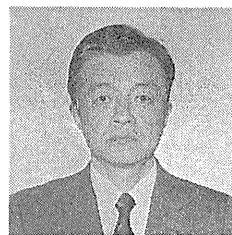
研究と教育を何よりも愛された堀田先生のご冥福を衷心よりお祈り申し上げます。

(名古屋市立大学医学部第一生理学教室 鈴木 光)

「生理学者群像」

山岡 貞 夫 君

獨協医科大学教授（第一生理学教室）
昭和63年9月就任



① 現在の研究内容

1. 神経内分泌学的観点から睡眠リズムをパラメータとして、生体の概日リズム発現機構を追究してきた。哺乳類における概日リズムのオッシレータの最も有力な候補である視交叉上核について、同核内に存在する諸種ペプチドニューロンの概日リズム発現に対する役割を行動リズム・睡眠リズムを指標に受動免疫の手法や薬理学的方法で個体レベルで追究するとともに、視交叉上核の器官培養・視交叉上核ニューロンの細胞培養を行いバゾプレッシン放出リズムを指標とした細胞レベルの概日リズムモデル系によるリズム発現機構の検討も行っている。2. 森林浴の生理学的意義につき森林揮散物質の生体に及ぼす影響を神経内分泌学的、電気生理学的、免疫学的方法論により動物・ヒトを対象に研究を進めている。

② 将来の研究活動の抱負

1. 概日リズム発現機構の検討を現在の細胞レベルから更に遺伝子レベルにまで進めて、哺乳類の概日リ

ズム発現に関与する遺伝子の探索を行い、それらのリズム発現機構への役割を追究したい。2. 視床下部ニューロンや下垂体細胞の無血清培地による初代培養系を利用することからはじめて、ステロイドホルモンや甲状腺ホルモンの個々の作用機構を遺伝子レベルで追究して *in vivo* におけるこれらホルモンの中枢作用発現の機構を検討したい。

③ 生理学教育に対する意見

本学の様な私立医科大学においては純粋基礎医学としての生理学よりも、かなり臨床と密着した病態生理学的立場からの生理学教育が望ましいと考えている。勿論最低限の系統講義は必要であるが、それと小グループによる実習を基礎に種々の疾患の症状の発現機構を考えさせて生理学的考え方を体得出来るような教育を望んでいる。また、一方的なおしつけ教育で無く、課題を与えて自ら問題解決が行えるような Tutor 方式を採用出来るような環境作りをしたい。

【お知らせ】

平成3年度 第1回動物実験に関する委員会議事要旨

日 時：平成3年3月26日 12:00~13:30

場 所：京都グランドホテル

出席者：塚田委員長，本田，菅野(富)，美原，辻，横田，
(栗原，本郷)各委員

〈議 事〉

- 1) 委員長より委員(12名)の一部交替について紹介があった。
- 2) 委員の一部交替があったので従来の活動、並びに日本生理学会制定の「生理学領域における動物実験に関する基本的指針」の作成の経過について説明がなされた。なお、本生理学会大会(京都)で「動物実

験の必要性和制約」のシンポジウムがもたれることになった経緯についての説明があり、本課題は生理学研究者にとっては特に重要な課題であり国際的にも重要性が増している現状で会員各位の十分な自覚と理解を今後とも求めて行くことが要請されるとされた。

- 3) 本年2月、東京で起った実験犬の告発問題が話題

となり、今後は品種管理された実験用動物（イヌ、ネコ、サル）の安定的供給をしうる国立の施設を作ることが必要であるとの結論となった。これが、実施されるまでの措置としては、民間施設への助成、実験動物購入のための特別研究費の計上、要求が必要であり、各方面に働きかける必要があるとされた。このため、まず各大学、研究機関に動物実験の現状と要望事項についてアンケート調査をすることを検討することとなった。

4) 本大会からアブストラクトに動物実験を行ったものについては日本生理学会制定の「生理学領域における動物実験に関する基本的指針」に従って実施した旨の署名が求められ、会員各位の協力が得られたことが報告された。

(付) 常任幹事会では、日生誌、JJPの編集委員の中に Ethics Editor をおくことが了承された。

日本、ポーランド・血液循環シンポジウム (文部省国際シンポジウム助成による)

日 時：平成3年8月8日、9日

場 所：浜松グランドホテル（浜松市）

〒431-31 浜松市東伊場1-31

T E L 053-452-2111

日本側参加者：

阪口周吉、植村研一、大原健士郎、河辺香月、菅野剛史、佐藤篤彦、田港朝彦、寺尾俊彦、中島光好、菱田 明、渡辺郁緒、高田明和(以上浜松)、青木延雄(東京)、山崎博男(東京)、小出武比古(新潟)、松田 保(金沢)、居石克夫(福岡)

ポーランド側参加者：

W. Buczko(Bialystok), M. Mysliwiec(Bialystok),

M. Kopec(Warsaw), S. Lopaciuk(Warsaw), M. H. Pietraszek(Bialystok), A. Rydzewski(Bialystok)

他に2名選考中

参加費：5,000円

申込、問い合わせ：

〒431-31 浜松市半田町3600

浜松医大第二生理

高田 明和

T E L 053-435-2247

F A X 053-435-2248

大阪大学創立50周年記念国際シンポジウム 痛覚情報の処理機構

下記の要領で大阪大学創立50周年記念国際シンポジウム『痛覚情報の処理機構』を開催いたしますから参加を希望される方は事務局までお申し込み下さい。

日 時：1991年10月14日(月)～10月16日(水)

場 所：千里阪急ホテル（豊中市新千里東町2丁目1 T E L 06-872-2211）

招待講演：A. Basbaum (University of California, San Francisco), J. Dostrovsky (University of Toronto), R. Dubner (National Institutes of Health), G. Guilbaud (Institut National de La Sante et de La recherche Medicale), H. Hayashi (Tohoku University), M. Kawatani (Showa University), D. R. Kenshalo (National Institutes of Health), T. Kumazawa (Nagoya University), M. J. Millan (Fondax-Actam & Cie), Y. Omura (Toyama Medical & Pharmaceutical University), M. Otsuka (Toyko Medical & Dental University), M. A. Ruda (National Institutes of Health), M. Satoh (Kyoto University), B. J. Sessle (University of Toronto), Y. Sugiura (Fukushima Medical College), R. Sumino (Nihon University), H. Takagi (Kinki University), H. Takagi (Osaka City University), G. R. Uhl (Johns Hopkins School of Medicine), T. L.

Yaksh (University of California, San Diego), T. Yokota (Shiga University of Medical Sciences) 他に大阪大学から4名が加わります。

講演内容に関しては Elsevier Science Publisher より『Processing and Inhibition of Nociceptive Information』(猪木令三, 重永凱男, 遠山正弥編)のタイトルで出版を予定しております。

一般演題: ポスター形式で40題程度予定しております。発表を希望される方は演題とともに事務局に5月31日までにお申し込み下さい。尚, 一般演題も上記に出版されます。

参加費: 10,000円 (但し, 刊行本代金および懇親会費を含む)

事務局: 〒565 吹田市山田丘1-8 大阪大学歯学部薬理学講座
大阪大学創立50周年記念国際シンポジウム会長 猪木 令三

〔編集後記〕

第69回日本生理学会大会ご案内(第1報)が寄せられました。当番幹事をはじめとして教室員各位のご苦労が解るような気がします。よろしく申し上げます。

さて、本号には総説として高氏 昌, 簡浦理正両先生からの労作をいただきました。骨格筋の興奮・収縮連関の研究課題は、古くて新しい問題でその研究の魅力は光彩を放っています。カリウム拘縮の2相性は、正にこの対象であり、長い間の研究成果が纏められたことに対し、心からお慶び申し上げます。

学会抄録として、日本生理研連シンポジウムの脳機能研究の最近の進歩が九大医学部神経病理研究施設の加藤元博教授より寄せられました。大変興味あるテーマで内容のあるものでしたが、もう少し情報量を多くしたかった様に思われます。近畿生理学談話会の相変わらず活発なことに敬意を表します。

動物実験に関する委員会議事要旨が早々と寄せら

れ、ことの重要さが伝わって来る感じがします。

故堀田 健教授を偲んでがブルー頁に載り、戦後の厳しい時期に、筋生理の研究会に参加してから長いお付合いを思い起こし感無量です。心からなるご冥福を捧げます。

生理学の広場の生理学群像には独協医大の山岡貞夫先生のご登場を願いました。日生誌編集委員会として呼び掛けを失念している先生方が多いことと思いますので、どうか自主的に応じて下さる様お願い致します。

本号が皆様方の手元に届く頃は、若葉の季節を過ぎ薫風の空に鯉のぼりが翻っていることでしょう。すべての面での活躍を祈っています。

平成2年度論文表題集原稿はお忘れなく。

コンピュータ関係論文の日本生理誌投稿要領を近くお知らせしますのでお含み下さい。

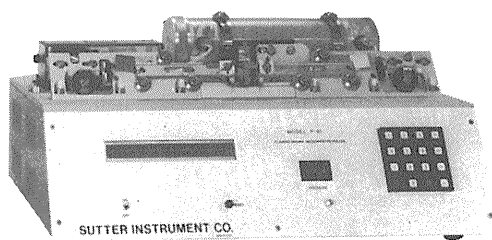
(酒井敏夫)

編 集 委 員

酒 井 敏 夫(幹 事)	登 坂 恒 夫	松 井 洋 一 郎
野 口 鉄 也	野 村 正 彦	神 田 健 郎
藪 英 世(北海道)	丹 治 順(東 北)	本 間 信 治(関 東)
小 野 武 年(中 部)	藤 本 守(近 畿)	片 岡 喜 由(中・四国)
有 田 眞(九 州)		

生理学実験を フル・ラインアップでサポートします

Model P-87

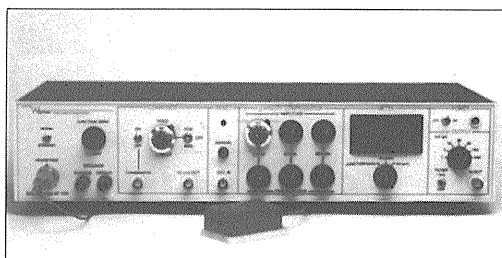


米国サッター社製

マイクロピペット・プラー

P-87型プラーは、日本の生理学界に静かな旋風を巻き起こしている、名門サッター社製量産モデルの最高峰です。ループ機構、ランプ・テスト、ヴェロシティ・センサーなど、サッター社の持つノウハウがすべて具現化されています。とくにパッチ電極、細胞保持用ピペットの作製に、他の追随を許さぬオリジナリティと信頼性を誇ります。

Model BC-525

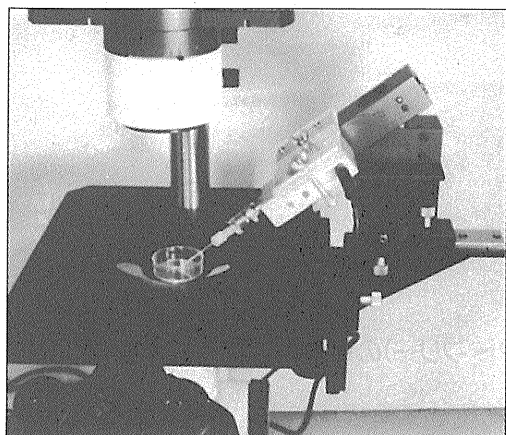


米国ワーナー社製

バイレーヤー・クランプ・システム

バイレーヤー・クランプ・システムBC-525型は、脂質二重層膜におけるイオン・チャンネルの研究に焦点を絞ってデザインされた米国ワーナー社の意欲作です。ボルテージクランプ手法に最大限の配慮を払ったインテグレート型FETヘッドステージを採用し、従来の抵抗型では得られなかった低ノイズおよび耐トランジエント性能を獲得しました。

Model 3D-PCM



西独リスト社製

3次元パッチクランプ・ マイクロマニピュレーター

西独リスト社の3Dパッチクランプ・マイクロマニピュレーターは、すぐれた安定性を誇るパッチ専用機です。バックラッシュ自動補正機能によりドリフト・フリーを実現し、プッシュボタン・コントローラーを分離デザインして、使い易さと安定性を併せて達成しました。ステップ駆動、連続駆動を選べるほか、数々のメリットを備えています。



日本総代理店

ショーシンEM株式会社

〒444-02 愛知県岡崎市赤浜町蔵西1番地14(ショーシンビル)

TEL. (0564) 54-1231番(代表)

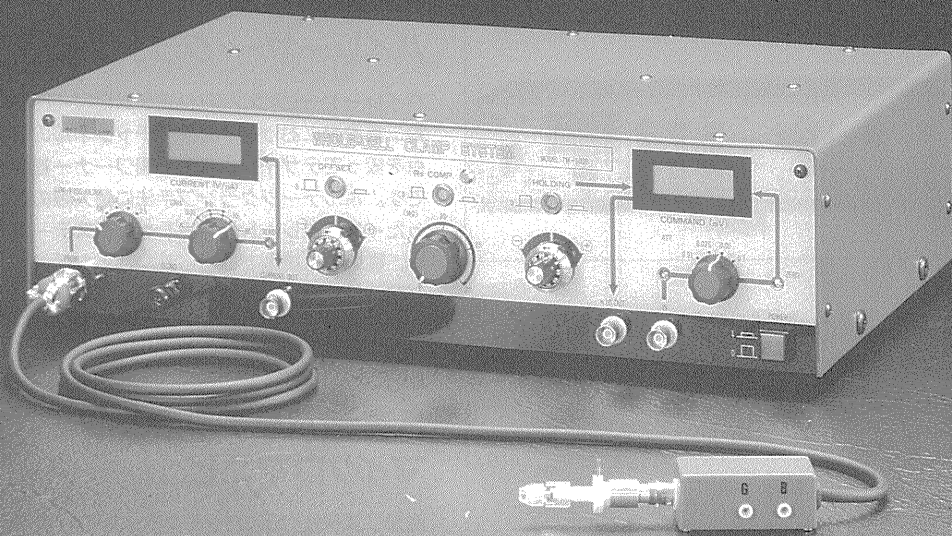
FAX. (0564) 54-3207番

Whole-Cell Clamp System

MODEL

TM-1000

- 人間工学的なデザイン、簡便で確実な動作。
- 安全性の高い直列抵抗の補償。(Rs:0~20M Ω)
- ダイナミックレンジの大きなオフセット及びホールド電圧設定。



※2点支持タイプ(メカニカルドリフトフリー)の電極ホルダー標準装備。



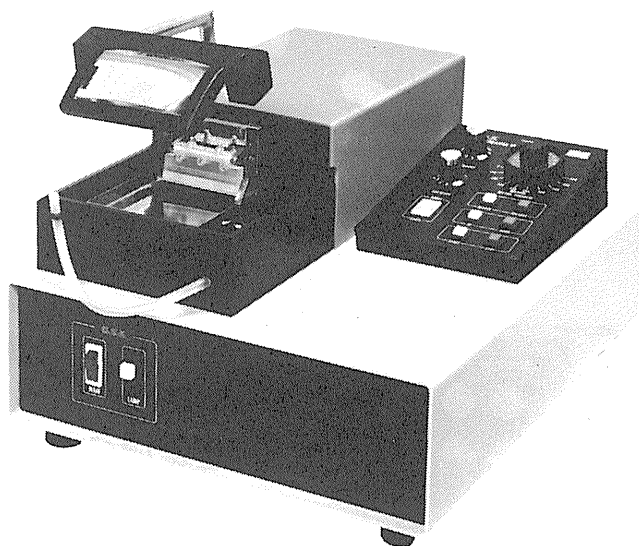
株式会社 アクトME研究所

〒173 東京都板橋区大谷口北町89-8-202 TEL:03-3554-5946

D.S.K

新鮮脳のスライス作製に!

Automatic



未凍結切片作製装置

マイクロサイザー MICROSLICER

DTK-3000W

生理・薬理学の分野において、主に電位差測定にラット、ネコなどの新鮮脳切片(200~500 μ m)が用いられています。従来は、カミソリの刃をつかった手作業、あるいは未凍結切片作製のマイクロームを使用していましたが、切片の厚さが一定しなかったり、切片作製に膨大な時間がかかり、大きな切片や薄い切片が切りにくいという難点がありました。「マイクロサイザーDTK-3000W」は、これらの欠点を克服し、先生方のニーズにこたえるべく開発されました。

【特長】

- ラットはもちろんネコ・サルの全脳までも貼付可能なワイドな試料台(70×70mm)。
- 新鮮脳で約50 μ m、固定(ホルマリン・グルタル等)組織で10 μ mの均一な薄さで連続切片作製可能。
- 試料台の任意上昇(5~1,000 μ m)の自動化により、作業時間が一層短縮され、また操作性が格段にアップ。

【姉妹機】

DTK-1000・DTK-2000・DTK-3000

堂阪イーエム

本社・工場/〒601-11 京都市左京区静海市原町1032の3
電話 (075) 741-3069

先進技術を医療に
Human-touch Technology

新 型登場



創造環境の充実・高機能データ処理

「何を観るか」「如何にして知るか」、創造力を駆使して仕事をしている人のために、その創造環境の整備、充実を実現するために作られた、多チャンネル高速データ処理装置—シグナルプロセッサ。

- 本機は生体信号処理に必要なさまざまな機能をコンパクトなサイズにまとめあげた、コストパフォーマンスの良い生体信号処理装置です。
- 高性能な生体アンプや、電気・音・光などの刺激装置と、高精度の表示装置・記録器を有し、高性能なCPUの制御のもとに入力から出力まで高度な処理機能を提供いたします。
- ソフトウェアは、7T18シリーズのソフト資産を継承し、医療の場において、研究分野から臨床分野までの幅広い、使用目的に対応できます。

New 多チャンネル高速データ処理装置
シグナルプロセッサ

DP1100

医療用具承認番号02B第0190号



日本電気三栄

医用電子機器販売本部
東京都文京区本郷3丁目42番6号
(NKDビル) 千113 ☎03(5684)1413

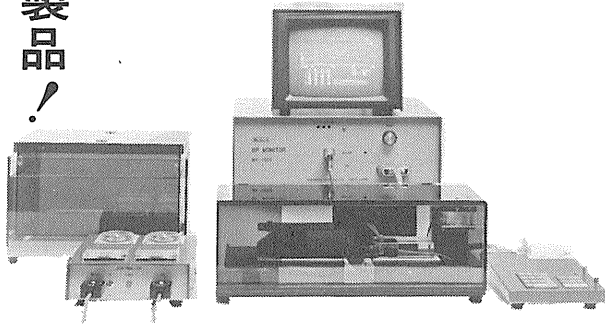
BP MONITOR MK-1000

マウス・ラット用

非観血式血圧測定装置

●収縮期血圧/●平均血圧/●拡張期血圧(計算値)/●脈拍数……を測定する

新製品!



- 特長
- ①カフの加圧、減圧により生ずる脈波の消失・出現・最大振幅を検出し、その時のカフ圧を記憶して、BP_s、BP_m、BP_d(計算値)を測定します。
 - ②操作は簡単で5つのモードを選択し測定します。

モード1	自動	加圧時	BP _s	—	—	HR
モード2	自動	減圧時	BP _s	—	—	HR
モード3	手動		BP _s	—	—	HR
モード4	自動	減圧時	BP _s	BP _m	(BP _d)	HR
モード5	手動		BP _s	BP _m	(BP _d)	HR

- ③脈拍信号を音で聞くことができます。(音量調節可)
- ④データは音の静かなサーマルプリンタにより打ち出され、測定データとその平均値の他に、日付、動物番号、体重、使用モードも印字されます。
- ⑤アニマルホルダはタークブラウンのアクリルで出来ており、極力ストレスがかからないように工夫されています。
- ⑥計測チャンバー内には糞尿受け用のプラスチックケースがセットされている為フリーニングが容易です。
- ⑦RS232C出力が標準装備されています。

Muromachi

総発売元 室町機械株式会社

本社：〒103 東京都中央区日本橋室町4丁目2-1
 TEL 03(3241)2444 FAX 03(3241)2940
 大阪営業所：〒532 大阪市淀川区西中島5丁目7番19号
 TEL 06(302)1277 FAX 06(302)5026

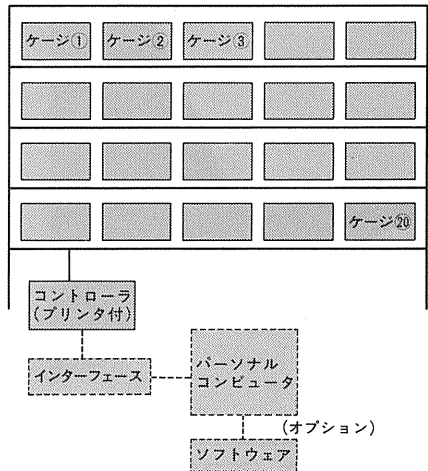
ホームケージ・アクティビティ システム

MODEL MK-3000

ラットを飼育ケージに入れたままの状態①自発運動量②飲水③摂食の3つの基本的な生活行動及び④立ち上がり行動を自動的に測定するために設計された装置であり、サーカディアン・リズムの研究に偉力を発揮します。

〈主な特長〉

- ケージの両サイドにフォトビームセンサーを内蔵したボックスが取り付けられており、動物の移動を検知します。また、センサーの高さは変えることができます。
- 飲水、摂食、立ち上がりの検出はそれぞれ専用のセンサーで行ないます。
- 飼育ケージにはステンレスケージを採用しており、排泄物は下のトレイに落ちるように設計されているので長期の測定にも支障をきたしません。
- 1台のインターフェースで20ケージ迄の測定ができます。
- 飼育室から離れた場所で計測ができます。(パソコンとインターフェースの最大距離は約1km)
- プリンタは標準装備されています。
- オプションとしてデータ集録・解析プログラム及びベリオドカルキ(周期計算プログラム)も用意されています。



Muromachi

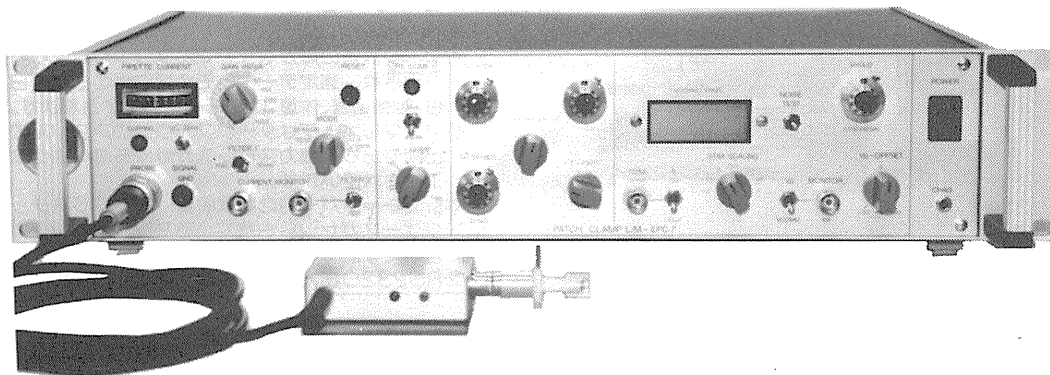
総発売元 室町機械株式会社

本社：〒103 東京都中央区日本橋室町4丁目2-1
 TEL 03(3241)2444 FAX 03(3241)2940
 大阪営業所：〒532 大阪市淀川区西中島5丁目7番19号
 TEL 06(302)1277 FAX 06(302)5026

実績 No.1!! F. J. Sigworth, E. Neher のオリジナル

西独リスト社

パッチクランプシステム *EPC-7*



■ 主な性能

- ノイズレベル(rms) : 0.05pA 1KHz, 0.30pA 3KHz
- 電流レンジ : 200pA (50GΩ), 20nA (500MΩ)
- 周波数応答 : 100KHz (500MΩ)
- 電位増幅度 : X10
- 測定モード : VC, CC, CC+COMM
- Rs補償 : 1-100MΩ
- 容量補償 : 0-10pF (First)
: 0.2-10pF, 2-100pF (Slow)
- ホールド電位 : ±200mV
- オフセット電位 : ±50mV
- コマンドレベル : 0, .1, .05, .001, -.1, -.05

日本総代理店 / 西日本地区発売元



ショーシンEM株式会社

〒444-02 愛知県岡崎市赤浜町蔵西1番地14ショーシンビル
TEL (0564) 54-1231代 FAX (0564) 54-3207

東日本地区発売元

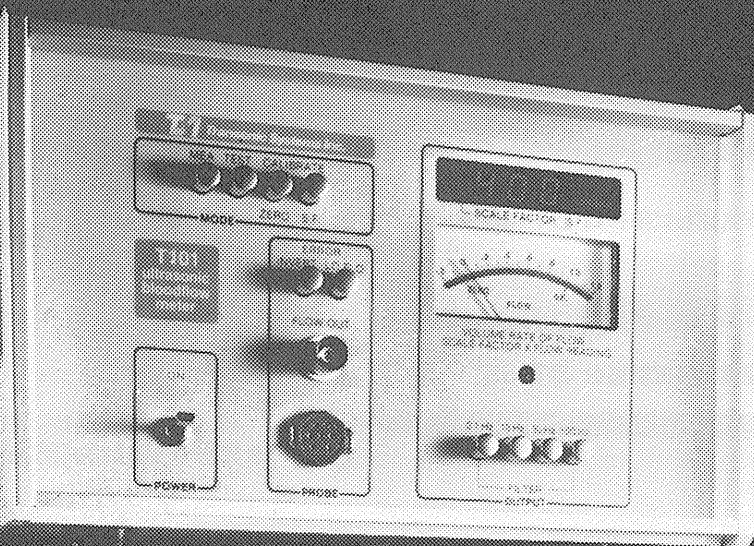
(Physio-Tech)

株式会社 フィジオテック

〒101 東京都千代田区内神田3丁目10番3号コイダビル4F
TEL (03) 3258-1641代

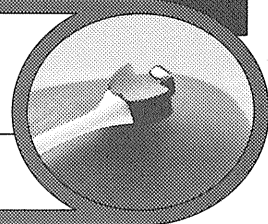


ラットの血管径0.5^m/_mから
血流量測定が可能に!!



Newラット用超音波トランジットタイム血流量計

TRANSONIC T106・T206



米国トランソニックシステムズ社では、小血管での血流量測定の御要望に応えプローブの小型化に着手し、このたび実現いたしました。

<特長>

- 血管に対して無拘束で血流量(ボリュームフロー)が測定できます。
- 最小血管0.5^m/_mφから測定が可能です。
- フルスケール5^m/_{min}に対し、0.05^m/_lの分解能があります。

- ラットのMESENTERIC・A, RENAL・A及びFEMORAL・Aなどの小血管測定に最適です。
- 急性・慢性(埋め込み)での測定が可能です。
- 測定状態を知らせるメッセージ機能内蔵

お問い合わせは、ME事業部直通

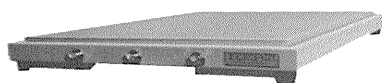
TEL. (03) 3664-6271

HERZ

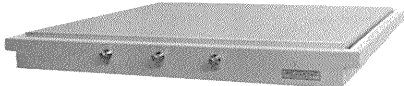
「最先端技術」に直結する 「ヘルツの防振システム」

HERZ「卓上型空気ばね式防振台」「大形空気ばね式防振台」「光学実験台・フラットベンチ」は、国公立試験研究機関、大学及び民間各産業における基礎技術開発また、工場における品質管理・検査等、先進産業に大きく貢献しております。

研究室や工場検査室で簡便に使用できる「卓上型空気ばね式防振台」は、過去5年間で3,000台を上回る納入実績を誇っており、また「大形空気ばね式防振台」に使用される「光学ベンチ」は、社内生産をしているため国内外で最大の「10m×2m」までの面積まで製作しております。



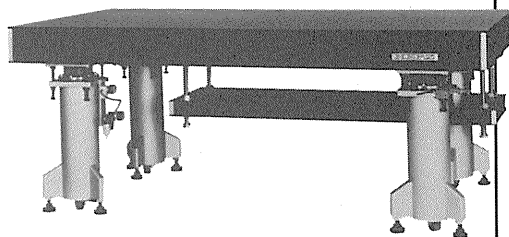
●卓上型空気ばね式防振台 ST-45



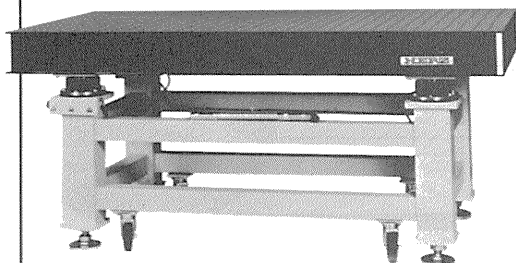
●卓上型空気ばね式防振台 ST-65



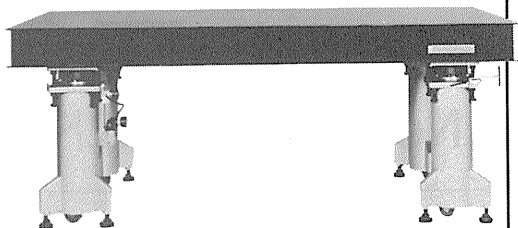
●卓上型空気ばね式防振台 LHA-300



ダンピングフリー（固有振動数コントロール付）
●大形空気ばね式防振台 DFBシリーズ

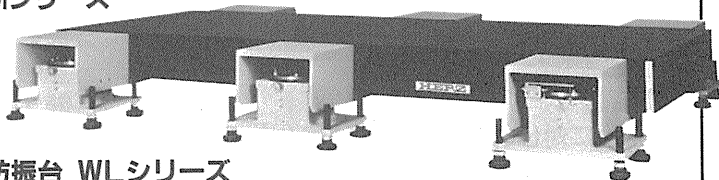


●大形空気ばね式防振台 LA・LMシリーズ



ダンピングフリー（固有振動数コントロール付）
●大形空気ばね式防振台 DFシリーズ

大重量機器搭載用
●大形空気ばね式防振台 WLシリーズ



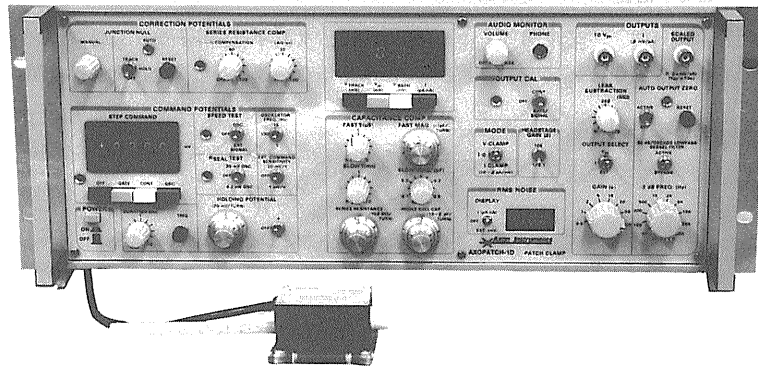
「空気ばね式防振台」「フラットベンチ」のカタログご請求、お問い合わせは営業部宛ご連絡下さい。

ヘルツ工業株式会社

営業部 〒252 神奈川県藤沢市遠藤1739-1番地
TEL. 0466(88)1301 FAX. 0466(88)3273

本社 〒252 神奈川県藤沢市遠藤1980番地
工場 TEL. 0466(88)3311

AXOPATCH-1D PATCH CLAMP



低ノイズ ハイスピード 安定性と信頼性

AXOPATCH-1Dはsingle-channelパッチクランプとwhole-cellクランプするために開発された増幅器です。極めて低いノイズ・レベルと素早い応答力を特徴としています。重要な部分はハイブリッド化により完全シールドされています。

AXOPATCH-1Dはボルテージクランプと同様にカレントクランプ・モードでも作動します。フィードバック抵抗は同じセルからsingle-channel電流とwhole-cell電流を記録するため、リモートコントロールができます。

CV4ヘッドステージは下記の3種類があります。

AXOPATCH-1Dの特徴

- 使いやすい容量補償
- ラグ・コントロールつき直列抵抗補償
- コマンド電位発生器
- 接合電位除去
- RMSノイズモニター
- ZAP (パッチ膜破壊)
- 可変出力ゲイン
- DCオフセット除去
- 可変低域通過ベッセルフィルター
- シールテスト
- オーディオモニター
- 漏れ電流除去

AXOPATCH-1Dのヘッドステージ

CV4 1/100 whole-cellクランプ (20 nAまで) とsingle-channel電流を記録するためのものです。50 GΩと500 MΩのフィードバック抵抗があります。

CV4 0.1/100 大きなセル (200 nA; >> 100 pF) のwhole-cellクランプとsingle-channel電流を記録するためのものです。50 GΩと50 MΩのフィードバック抵抗があります。

CV4B 0.1/100 人工膜からsingle-channel電流を記録する為の特別なヘッドステージです。大きなコマンド電圧の間、サチレーションを防ぐために外部から50 GΩと50 MΩのフィードバック抵抗でコントロールできます。(大きなセルのヘッドステージと同型です)

西日本地区発売元



INTER MEDICAL CO., LTD.

株式会社 インターメディカル

本社/〒461 名古屋市東区葵一丁目25番1号
TEL (052) 937-7060/FAX (052) 937-5423
TLX 444-3603 WDMC J
東京支社/〒157 東京都世田谷区柏谷三丁目32番16号
製造営業部 アビタシオン千歳島山102号
TEL (03) 5384-6387 FAX (03) 5384-6487

東日本地区発売元

(Physio-Tech)

株式会社 フィジオテック

〒101 東京都千代田区内神田3丁目10番3号
コイイビル4F
TEL (03) 3258-1641(代)

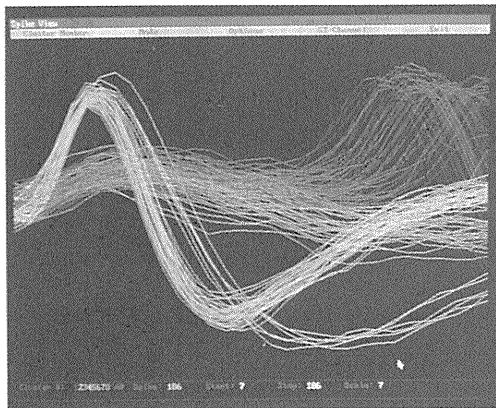
多チャンネル用
シングルユニット解析システム

Discovery™

BrainWave社製

Discovery(ディスカバリー)は、IBM-AT仕様のコンピュータを使った多チャンネル・シングルユニットの解析レコーディングシステムです。

オンラインでユニット信号を、Peak値、Vallay値、タイム、スパイクHigh等の8項目によりクラス分け(Cluster Cutting)します。分類したクラスは、後で様々な解析法で処理したり再分類できる画期的なシステムです。

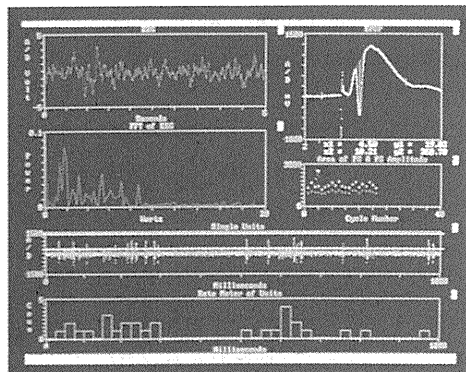


- 各種ヒストグラム、スパイクソート、アベレージング等の解析処理の他に、TTL入出力により外部機器と連動させて測定できます。
- 25種類のスパイクソート・ライブラリーを用意。
- 交叉相関ヒストグラム(XCOR)。
- ペリイベント・スティムヒストグラム(PETH, PSTH)。
- インタースパイク・インターバルヒストグラム ISIT。
- ジョイントヒストグラム。
- 各種イベントフラグのメッセージ。
- アベレージ、スパイクソート。
- カットファイル、各種データのASCIIファイルの作成。
- 波形パラメータリストの作成。
- ハードコピーに対応。
- Spike Channelは4ch/EEG、EMGの連続記録は6ch。
- プログラムのカスタムサイズも可能。

脳波及び生体信号記録解析システム(IBM-AT仕様)

Experimenter's WorkBench™

ワークベンチシステムは、EEG、ECG、EMG等のあらゆる生体信号を取り込み、オンラインで解析する優れたシステムです。豊富なコマンドファクションを持ち、順に組み合わせるだけでディスプレイ、演算処理、記録等の実験解析処理が自在で、作業系の自動化ができます。



- Peak及びPeak to Peakの検出。
- 刺激誘発反応の解析。
- 周波数解析(FFT)。
- アベレージング、スムージング。
- プロット及びカーブフィッティング。
- イベントディテクション。
- レートメータ、各種ヒストグラム解析。
- 微分、積分、可変エリア値、面積等の波形演算処理。
- タイム及びループコントロール。

《メインコマンド》

ACQUIRE	DISPLAY	ANALYZE
RECORD	STIMULATE	RESET
TIME	UP DATE	TEST
PAUSE	他数十種のファンクション	

《応用》

- シングルユニットの記録
- EMG、EKG、ERG
- EEGのFFT解析
- 心血管研究
- Evoked Potential
- Dose-Response Curve
- Synaptic potential
- 薬理学研究

BrainWave社
日本総代理店

BRC

バイオリサーチセンター株式会社

本社：名古屋市東区東桜2-10-21(錦見ビル2F) ☎052(932)6421 FAX.052(932)6755
東京：東京都江戸川区東葛西5-1-15(第2類長ビル403号) ☎03(3878)6471

実験研究用機器の

トータル供給をめざして！

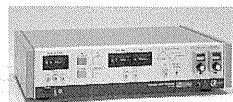


細胞膜の研究用

パッチ/ホールセルクランプ用増幅器 CEZ-2300

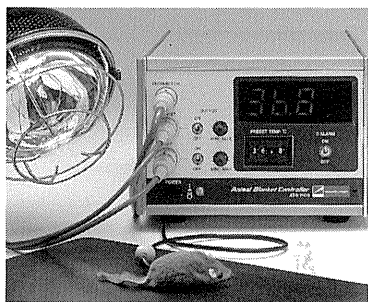
パッチクランプ法に加え、ホールセルクランプ法（小型細胞全体の膜電位固定法）までプローブの交換無しで測定可能、セルアタッチレコーディングからホールセルレコーディングまで効率よく実験が行えます。

- ・同一プローブ内で50GΩ/500MΩの電流検出抵抗切り換え可能
- ・電極容量の補正がワンタッチ
- ・4次ベッセルフィルタを内蔵、より低雑音に



三角波発生装置 SET-2100

高精度のパルス発生器と、デジタル回路の組合せにより、長時間の三角波を精度よく発生します。細胞内電位測定装置を使用して、細胞膜の順応作用、IVカードなどの測定を行う場合の必需品です。

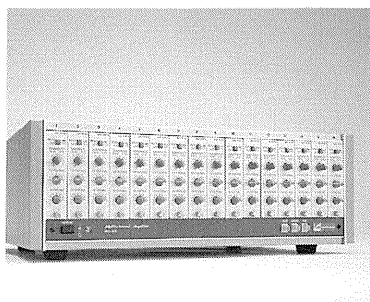


麻酔下の小動物用

体温制御装置 ATB-1100

赤外線ランプとヒーター入りブランケットの2方向からの加温で精度の高い温度制御ができます。

しかも、小動物はブランケットにくるまれていませんので、状態の確認もしやすく、電極等の取り扱いも容易です。



生体信号一般用

多チャンネル増幅器 MEG-6100

生体信号用高感度増幅器を用途に合わせて最大16チャンネルまでコンパクトに構成できます。4・8・16チャンネルの各入力箱を用意。

エレクトロニクスで病魔に挑戦する



日本光電

〒161 東京都新宿区西落合1-31-4
☎03(5996)8028 宣伝課

詳しい資料を用意しております。
当社までお気軽にご請求下さい。

