

日本

生理学

雑誌

JOURNAL OF THE PHYSIOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

55巻

10号

1993

第71回日本生理学会大会案内（第3報）

INFORMATION

373

TRENDS

376

RECORDS

379

追 悼

松田幸次郎先生追悼のことば（星 猛）…………… 383

生理学実験講座

内野善生，佐々木光美：卵形囊神経選択的刺激法の進歩と新事実…………… 385

原 著

竹倉宏明，吉岡利忠：興奮収縮連関に直接関与する筋細胞内膜系の
発生と分化の特徴…………… 392

学会抄録

第38回中部生理学談話会…………… 406



シングルチャネル・データ
解析用ソフト MAC-TAC、
遂に登場!

ドイツ・ヘカ社／パッチクランプ・システム EPC-9 Version Macintosh

あの新世代パッチクランプ・システムEPC-9が、
新しいパートナー、マックⅡとめぐり逢いました…

- ◆ドイツが世界に誇る2大オーソリティ、ヘカ社の技術と、マックス＝プランク研究所のオリジナリティ。これらを見事に融合させた数々のパッチクランプ専用デザインで武装しています。
- ◆アンプ、ステイミュレータ、オシロスコープを統合し、マックス＝プランクのノウハウに基づいたソフトウェアと、アップル社のマッキントッシュⅡで駆動します。多彩なユーティリティと使いやすさを高次元で両立させて、すべてのパッチクランパーを強力にサポートします。

※EPC-7でも使えるソフトウェア(Pulse・PulseFit・MAC-TAC)のサンプルをご提供しています。
詳しくは下記へお問合せ下さい

ヘカ社日本総代理店
EPC-9 西日本総発売元

 ショーシンEM株式会社

〒444-02 愛知県岡崎市赤浜町蔵西1-14
ショーシンビル2F

TEL. 0564-54-1231

FAX. 0564-54-3207

EPC-9 東日本総発売元

(*Physio-Tech*)

株式会社 **フィジオテック**

〒101 東京都千代田区内神田3-10-3
コイイダビル4F

TEL. 03-3258-1641

FAX. 03-3258-1657

第71回日本生理学会大会案内（第3報）

第71回日本生理学会においては新しい試みとしてシンポジウムを公募いたしました。応募総数は予定シンポジウム数のほぼ2倍にのぼり、生理学会会員の皆様の関心の深さと期待の高さが伺われ、心から感謝いたしております。さて、お寄せいただきました資料をもとに下記のような基準により、実行委員会が委嘱した専門委員(12名)による査読をおこない、5段階スコア制による投票の結果、以下のように10のシンポジウムを採択させていただくことになりました。

なお残念ながら今回採択に至らなかったシンポジウムについてもすばらしい企画が多く、今回の応募実績については、第72回生理学会大会運営委員会に報告いたします。

第71回日本生理学会当番幹事

畠 瀬 修
細 見 弘
村 上 哲 英

シンポジウム選考基準

- 1) 内容を重視し魅力的なテーマ、シンポジストを挙げてあるものを優先した。
- 2) 重複を避け統一できるものは二つの応募を合体させた。
- 3) 最近同様のテーマでシンポジウムが行なわれたもの、また同一のオーガナイザーによるシンポジウムがあったものはできるだけ避けた。ただし進展の著しい分野については実績を考慮した。

【シンポジウム】

タ イ ト ル	オ ー ガ ナ イ ザ ー
教育シンポジウム —生理学教育改革の実際—	栗 原 敏 (日本生理学会教育委員会) (日本慈恵会医科大学第二生理学) 細 見 弘 (香川医科大学生理学第二生理)
体液恒常化の自動制御機構	丸 茂 文 昭 (東京医科歯科大学第二内科学) 白 木 啓 三 (産業医科大学第二生理学)
上皮膜輸送モデル系としての 唾液線 —細胞内シグナリングと分 泌応答—	村 上 政 隆 (生理学研究所超微小形態生理部門) 杉 谷 博 士 (日本大学松戸歯学部生理学)
宇宙の生理と前庭神経系	渡 辺 悟 (名古屋大学環境医学研究所) 内 野 善 生 (東京医科大学生理学第二生理)

タ イ ト ル	オ ー ガ ナ イ ザ ー
非侵襲脳機能局在研究の展開	伊 藤 正 男 (理化学研究所) 本 間 三 郎 (千葉大学医学部第一生理学)
虚血に対する心筋細胞応答 —イオン動態とエネルギー代謝—	有 田 眞 (大分医科大学第二生理学) 土 居 勝 彦 (山形大学医学部第一生理学)
神経・内分泌・免疫連関	木 下 喜 博 (大阪市立大学第二生理学)
痛覚受容ニューロン活動とその シグナル伝達機構	熊 澤 孝 朗 (名古屋大学環境医学研究所神経性調節)
イオンチャネルと担体型トランスポーターの構造的、機能的協関	岡 田 泰 伸 (生理学研究所機能協関部門) 野 間 昭 典 (京都大学医学部第一生理学)
脳の窓 —脳室周囲系の機能と形態—	山 下 博 (産業医科大学第一生理学) 河 田 光 博 (京都府立医科大学第一解剖学)

(敬称略)

「生理学会テニス大会のお知らせ」

晩秋の候、皆様には益々ご清祥のことと存じます。

さて、来る第71回日本生理学会大会の折、レクリエーションとして下記のようにテニス大会を企画しております。腕に覚えのある方、無い方、ふるってご参加下さい。

記

日 時：1994年3月27日(日)9：00～13：00

受 付：9：00～9：45

試合開始：9：30

終了後、簡単なビアパーティを行います。

場 所：香川医大テニスコート (学会会場から香川医大まで車で約15分香川医大のテニスコートの位置は地図参照)

ハードコートは6面用意できます。ラケット、ボール、ユニホーム、ハードコート用靴の用意をお願いします。

参 加 費：1,000円 (パーティ費)

試合方法：組み合わせは係にお任せ下さい。4ゲーム先取で毎回パートナーを替え、対戦相手もできるだけ同じ人と当たらないように組みます。勝ち組みは5点、負け組みは取得ゲーム数を個人の得点とします。

優勝カップが用意してあります。

申込は、できるだけ前もってご連絡ください。

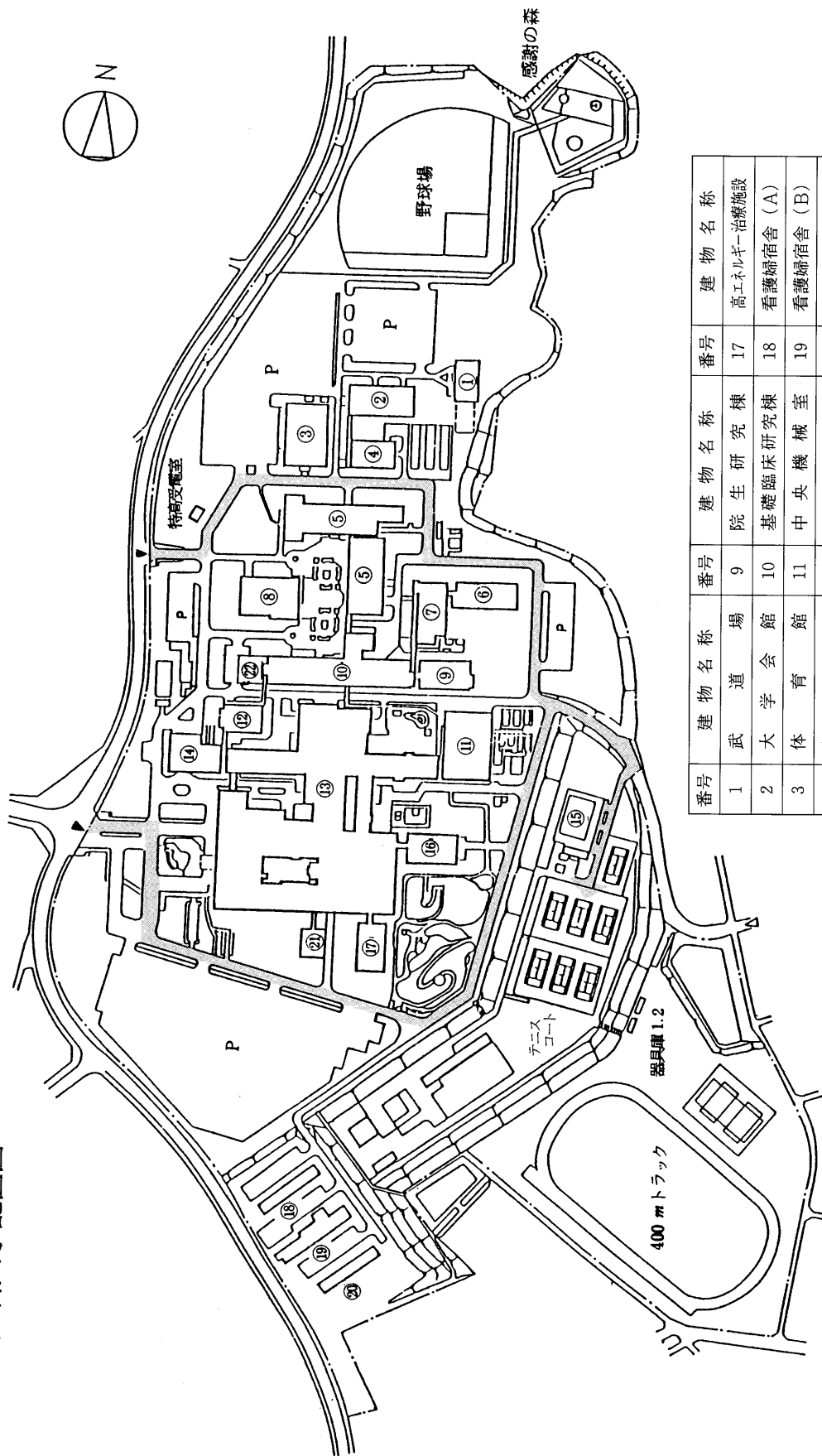
申込〆切：1994年3月10日

申 込 先：香川医科大学第二生理学教室 西田

〒761-07 香川県木田郡三木町大字池戸1750-1

TEL 0878-98-5111 内線 2432 FAX 0878-98-8346

雨天の場合は中止します。



番号	建物名称	番号	建物名称	番号	建物名称
1	武道場	9	院生研究棟	17	高エネルギー治療施設
2	大学会館	10	基礎臨床研究棟	18	看護婦宿舎 (A)
3	体育館	11	中央機械室	19	看護婦宿舎 (B)
4	学生食堂	12	臨床講義棟	20	看護婦宿舎 (C)
5	講義実習棟	13	附属病院	21	MRI-CT 施設
6	動物実験施設	14	本部管理棟	22	臨床研究棟
7	R I 動物実験施設	15	プー		
8	図書館	16	R I 診療施設		

目 次

第71回日本生理学会大会案内 (第3報)

INFORMATION

第16回理化学研究所科学講演会	373
「イオンチャネルと担体型トランスポーターの構造的・機能的協関」 公聴・討論シンポジウム	373
バイオメディカル・ファジィ・システム研究会第6回年次大会	374
第3回 FAOPS 学会へのご招待	374
第33回 IUPS (St. PETERSBURG) ファストサーキュラー	374

TRENDS

河村 悟：FASEB Summer Research Conference：Biology and Chemistry of Vision に参加して	376
--	-----

RECORDS

平成5年度第1回日本生理学会教育委員会議事録	379
会 員 消 息	379

追 悼

松田幸次郎先生追悼のことば(星 猛)	383
--------------------------	-----

生理学実験講座

内野善生・佐々木光美：卵形囊神経選択的刺激法の進歩と新事実	385
-------------------------------------	-----

原 著

竹倉宏明・吉岡利忠：興奮収縮連関に直接関与する 筋細胞内膜系の発生と分化の特徴	392
--	-----

学 会 抄 録

第38回中部生理学談話会	406
--------------------	-----

INFORMATION

第 16 回 理 化 学 研 究 所 科 学 講 演 会

- 主 催：理化学研究所
 後 援：科学技術庁・宮城県・仙台市・東北経済連合
 会・仙台商工会議所・東北インテリジェント
 コスモス構想推進協議会
 協 賛：関係学・協会
 日 時：平成 5 年 10 月 22 日(金) 13 時開場
 会 場：仙台市・仙台ホテル(青葉の間)
 講演会：
 「眼 と 光」
 理化学研究所
 フォトダイナミクス研究センターセンター長
 工学博士 田 崎 京 二
- 「電子移動という単純な反応」
 —亀の甲ばかりが化学ではない—
 理化学研究所、
 反応物理化学研究室主任研究員
 理学博士 吉 良 爽
- 「花成ホルモンを追う」
 —花芽の形成を誘導するホルモンを求めて—
 理化学研究所
 植物生活環制御研究室主任研究員
 農学博士 桜 井 成

「イオンチャネルと担体型トランスポーターの構造的・機能的協関」

公 聴 ・ 討 論 シ ン ポ ジ ウ ム

平成 5 年度文部省科学研究費総合研究 B

- と き：平成 5 年 12 月 17 日(金) 13:00~18:00
 と ころ：京大会館 101 室 京都市左京区吉田河原町
 T E L 075-751-8311
 プログラム(講演各 40 分)
- 野 間 昭 典(京大・医)
 「心筋イオンチャネルとトランスポーター」
 司会 赤池紀生(東北大・医)
 - 清 野 進(千葉大・医)
 「睪 β 細胞におけるカルシウムシグナルの
 分子基盤」
 司会 北里 宏(滋賀医大)
 - 井 本 敬 二(京大・医)
 「部位特異的変異によるイオンチャネル構造
 機能相関の解析 —成果と限界」
 司会 岡田泰伸(生理研)
 - 佐々木 成(東医歯大・医)
 「水チャネルファミリーの構造と機能」
 司会 丸茂文昭(東医歯大・医)
 - 鶴 尾 隆(東大・分細生研)
 「P 糖タンパクの分子・生理機能」
 司会 植田和光(京大・農)
 - 土 屋 友 房(岡山・薬)
 「 Na^+/H^+ アンチポーターと Na^+ -有機溶質シン
 ポーターの構造と機能的協関解析にむけて」
 司会 竹口紀晃(富山医歯大・薬)
- 参 加 費：無 料
 追 加 発 言：歓 迎
 問 合 せ 先：〒444 岡崎市明大寺町字西郷中
 生理学研究所 岡 田 泰 伸
 TEL 0564-55-7731・FAX 0564-55-7735

バイオメディカル・ファジィ・システム研究会第6回年次大会

日 時：平成5年12月20日(月)～22日(水)

場 所：福岡県飯塚研究開発センター(飯塚市所在)

主 催：バイオメディカル・ファジィ・システム研究会

論文口頭発表原稿締切：平成5年10月8日(金)

参加登録申込締切：平成5年12月10日(金)

参加料：バイオメディカル・ファジィ・システム研究会

会会員および後援学会等会員…¥20,000

非会員…¥30,000

申込・問い合わせ先：

〒807 北九州市八幡西区医生ヶ丘1-1

産業医科大学第1解剖学教室内

バイオメディカル・ファジィ・システム研究会

T E L 093-691-7418 F A X 093-691-8544

第3回 FAOPS 学会へのご招待

アジアとオセアニア生理学会の連合(Federation of Asian & Oceanian Physiological Societies, FAOPS)の賛助のもと、第3回 FAOPS 学会を1994年11月7日から10日まで中国上海で開催することとなりました。学会の組織委員会の代表として、我々は日本の生理学者の皆様を心からお招きしたいと思います。これはFAOPSが1990年公式に成立してから最初の会議で、必ず各国の生理学者の学術交流にたいしてよい機会になると思っております。日本の生理学者の皆様にもご支援いただき、何卒お力添えよろしくお願い致します。

会議は生理学の各分野を網羅し、またいくつかの主題についてシンポジウムを開くことを決めております。

詳しくはSecond Announcementを参照して下さいますようお願い致します。もし何かご助言とご提案があれば、次の宛先にご連絡して下さいますようお願い致します。

FAOPS 学会組織委員会

中国科学院上海生理研究所

上海市岳陽路 320, 200031

私は日本の生理学と特に密接な関係があります。1980年から82年まで岡崎の生理研に滞在し、金子章道教授の研究室と一緒に網膜の水平細胞の研究を行いました。この滞在中に、日本の国内及び国際学術集會に出席させていただき、大勢の友達ができ、良き師、良き友に恵まれて思う存分修学ができ、愉快に研修期を過ごすことができたこと等、忘れがたい印象として、深く刻まれており、今でもよく思い出します。来年の会議に諸先生や大勢の友人が出席されることを心から祈っております。

日本の皆様方が今後とも一層研究を進展させられ、また、中日両国生理学者の友情が増々深くなることをお祈りして筆を置かせて頂きます。

第3回 FAOPS 学会組織委員会主席

楊 雄 里

XXXIII

INTERNATIONAL CONGRESS OF PHYSIOLOGICAL SCIENCES

St. PETERSBURG

1-6 JULY

1997

FIRST ANNOUNCEMENT

CONGRESS

It is a great pleasure for the Russian Academy of Science, the National Committee of Russian Physiologists, and the people of St. Petersburg to invite phy-

siologists to the XXXIII International Congress of Physiological Sciences to be held in Russia in the beginning of July 1997.

We will organize this Congress in the most efficient

manner possible by using the experience of previous congresses.

In order to make a complete and focused presentation of all current trends in modern physiology, we will not be arranging satellite symposia.

Each day will commence with a special review lecture devoted to the latest achievements and ideas in the global directions of modern physiology. Later there will be free and open discussions at the symposia.

Oral and poster presentations are to be arranged. There will also be a special symposium on the history of physiological science and a series of survey lectures for young physiologists, as well as teachers.

The National Committee of Russian Physiologists and the Organizing Committee of the Symposium will inform IUPS, as well as the National Physiological Societies, of progress in organizing the Congress. These Committees will also invite stimulating ideas and suggestions to contribute to a better organization of the Congress.

CONGRESS CITY

St. Petersburg was founded by Peter the Great in 1703 and has been Russia's Capital for more than 200 years. Located on the delta of the Neva River, it is one of the most beautiful cities in the world. However, St. Petersburg is valued for more than just its beauty. It plays an integral, multilateral role in the life of the country. St. Petersburg is home to dozens of educational and hundreds of scientific institutions—many of which are world renowned, such as The University of St. Petersburg and Pavlov's Koltushi. As even the city's industry is scientifically oriented, it is no wonder that St. Petersburg has produced such outstanding scientific minds as Sechenov, Pavlov, and Bekhterev.

The Congress is to be held during the first week of July, which is the most fascinating time of the year in St. Petersburg. This is when the city is under the spell of the "white nights" and the sun sets for only two hours. Even the busiest delegates of the Congress will be able to enjoy the unbelievable charms of the magnificent palaces, Neva embankments, gardens, and parks, for these sites will not only be visible in the day, but also in the enchanting haze of the white

nights.

St. Petersburg is inseparable from its suburbs—Petrodvretz, Oranienbaum, and Pushkin. These former residencies of the tsars are only part of the many architectural attractions the city and its suburbs have to offer. There are about fifty museums in St. Petersburg, the famous Hermitage and Russian Museum among them.

CONGRESS VENUE

The sessions of the Congress will be held in University lecture halls and rooms of varying size in two areas of the city—the historical center and the scientific center. A shuttle-bus will be provided to convey participants back and forth between locations. The locations of the sessions have been chosen due to their proximity to city transportation routes.

St. Petersburg is a major cross road. It has five railway stations, two airports, sea and river ports—all of which connect city to the rest of the country, as well as foreign countries. All communication centers are located either in the city's center or within thirty minutes away.

Finnair has been appointed the official carrier of the Congress. Please contact your local Finnair office for more information.

EXHIBITION

A professional exhibition will be arranged during the Congress days.

CONGRESS SECRETARIAT

All correspondence concerning the IUPS Congress should be addressed to the Conference Secretariat CONGREX:

IUPS 1997, c/o CONGREX

P. O. BOX 35

FIE-00621 HELSINKI, FINLAND

Tel: +358-0-7523611, Fax: +358-0-7520899

ACCOMMODATION

There is a wide variety of hotel accommodation available to the participants of the Congress. These options range from hotels of varying cost and university

dormitories to a chartered, Finnish hotel-ship. The living quarters are situated in the picturesque areas of the city and are close to public transportation. The times and locations of the sessions will be planned to keep transit time to a minimum. There will be chartered buses to take the delegates to sessions of the Congress and also on excursions.

ACCOMPANYING GUESTS

Accompanying guests will be invited to join the delegates for all social programme. A wide variety of tours around St. Petersburg and excursions to famous palaces and museums will be offered.

ORGANIZING COMMITTEE

Chairman	Dr. S. V. Medvedev
Treasurer	Dr. S. V. Pakhomov
Secretary	Dr. I. A. Maximova
Programme	Prof. P. V. Simonov

ORGANIZING COMMITTEE OF IUPS 1997
 INSTITUTE OF THE HUMAN BRAIN
 OF THE RUSSIAN ACADEMY OF SCIENCE
 9. ACAD. PAVLOVA ST.
 ST. PETERSBURG, 197376, RUSSIA
 Tel: +7-812-234-1390, Fax: +7-812-234-3247

TRENDS

FASEB Summer Research Conference: Biology and Chemistry of Vision に参加して

慶応義塾大学医学部生理学教室

河 村 悟

本年6月20日から25日にかけて、上記の学会が米国コロラド州, Copper Mountain で開かれた。筆者は講演者の一人として招かれ、参加する機会を得た。最近の研究の動向を知る絶好の機会であった。

FASEB (Federation of American Societies for Experimental Biology)での視覚に関する会は、視細胞の生化学を中心とする会と、視覚情報処理を中心とする会とが一年おきに開催されている。本年度は生化学中心で開催された。FASEB 全体では20の学会をサポートしている。

筆者がこの会に出席したのは一昨年に続き2度目である。会場(Copper Mountain)はデンバーから西へ80マイル、海拔3,000mのところにある。冬はスキー、夏はハイキング・サイクリングなどが楽しめ、数階建てのコンドミニウムが20棟以上も立ち並ぶ雄大なリゾート地である。一昨年は周辺の山頂まで登れたが、今年はまだ雪が多くて登れず、高山植物や美しい鳥・蝶を見ることが出来ず残念であった。

さて、学会であるが、9つの口頭発表のセッションと2つのポスターセッションから構成されていた。口頭発表のセッションのタイトルをスケジュール順に表

に示した。トピックは大きく分けて Phototransduction と Retinal degeneration との2つであった。学生実習が始まる直前の学会であったこともあり、後半は聞かず帰国せざるを得なかった。

第1セッション このセッションでは、Phototransductionの増幅機構に関与しているG蛋白質、トランスデューシンに関する発表が行われた。HammはNMRを使った実験から、トランスデューシンと受容体であるロドプシン、さらにエフェクターであるcGMP ホスホジエステラーゼ(PDE)とがどのような立体構造を取って相互作用をしているのかについて報告した。Arshavskyは、PDEと結合しているトランスデューシンではGTPの分解は速やかに起ることを示し、PDEの γ サブユニットに、低分子量GTP結合蛋白質に働くGAPと同様の活性があることを示した。この実験により、これまで遅いとされてきたGTPの分解、つまり、トランスデューシンの不活性化は十分に早いことが示された。このセッションでは他に、Hofman, WenzelがPhototransductionの機構の詳細についての発表を行った。また、Zimmermanは、視細胞のcGMP依存性陽イオンチャンネルのcGMPに対

する感受性が、 Ca^{2+} /カルモジュリンによって影響されることをパッチ電極法で示した。

第2セッション ここでのトピックスは、リカバリンと呼ばれる蛋白質の機能の妥当性についてであった。視細胞が明順応すると細胞内の Ca^{2+} 濃度が低下する。 Ca^{2+} 濃度の低下シグナルは、①筆者によってカエルの視細胞で見いだされた S-モジュリンによって cGMP の分解系 (PDE) に、また、②米国の Stryer らによってウシの視細胞で見いだされたリカバリンに

よって cGMP の合成系 (グアニレートサイクレース) に伝えられ、視細胞の明順応が生じるとされている。しかし、リカバリンは分子量などいくつかの点で S-モジュリンと似ており、両者は異なる動物で見いだされたものの、同一の蛋白質である可能性が高く、両者の関係について論争があった。本学会ではこの問題が決着した。

まず、Baylor の研究室の Lagnado が、inside-out の視細胞外節標本を使い、PDE 活性が Ca^{2+} 濃度の

表 1

Session 1	Activation in Phototransduction: Mechanisms and Amplification
2	Inactivation and Recovery in Transduction: Mechanisms and Kinetics
3	Mechanism of Phototransduction in Vertebrates
4	Calcium: Measurement and Mechanisms: Other Pieces of the Puzzle
5	Structure and Function of Rhodopsin
6	Causes of Retinal Degeneration
7	Viral, Electronic, and Cellular Approaches to Therapy in Retinal Diseases
8	Workshop: Mechanisms of Photoreceptor Death
9	Development of the Retina and Photoreceptor Cells



1993 FASEB summer Research Conference
Biology and Chemistry of Vision
Copper Mountain, Colorado

影響を受けること、及び、低 Ca^{2+} 溶液で細胞内を洗うとその効果が失われることを示した。これらは筆者の得た結果の追試であり、筆者の得た結果が支持された。さらに彼は、リカバリンを添加すると Ca^{2+} の効果が回復することを示した。もしリカバリンが Stryer 等の言うように cGMP の合成に作用するのであれば、Lagnado の実験系では作用しないはずである。他の実験結果をも含めて、彼は、リカバリンは cGMP の合成系ではなく、cGMP 分解カスケードのごく初期の段階で働くことと結論した。

次いで河村は、S-モジュリンは視物質に対するリン酸化を Ca^{2+} 依存的に阻害することにより、PDE の光依存的な活性化を調節することを述べた。この結果により、S-モジュリンの作用部位が確定した。さらに、リカバリンにも S-モジュリンと同じ働きがあり、リカバリンはウシの S-モジュリンに他ならないと結論した。S-モジュリンはカルモジュリンファミリーに属する。一般に Ca^{2+} 結合型のカルモジュリンではキナーゼを活性化するが、S-モジュリンは Ca^{2+} 結合型がキナーゼ活性を阻害する点で極めて特徴的であることを指摘した。

Lagnado と河村によってリカバリンに関するこれまでの研究が誤りであったことが報告された後、Palczewski は、リカバリン作用 (低カルシウム濃度下で cGMP 合成を活性化する作用) を持つ、リカバリンとは別の蛋白質を見いだしたと報告した。この蛋白質は分子量が 19 kD で、構造など詳細については現在検討中だと言うことである。さらに、Detwiler は、この蛋白質をパッチ電極で視細胞に導入すると、期待されるように光応答の時間経過が速まることを示した。

第3セッション リカバリン作用についての発表はここでも行われ、発見者の一人である Dizhoor によって、彼らの実験が誤りであり、リカバリンは cGMP 合成には作用せず、S-モジュリンと同じように PDE に作用することが報告された。しかし何故間違っただけの結果を得たかという点については何も触れられず、不満の残る報告であった。Dizhoor らの実験によれば、リカバリン作用を持つ物質は別に存在しているという。しかし、その物質はペプチドであり、Palczewski らの得た蛋白質とは異なる。リカバリン作用を持つ物質については、これから、また、しばらく議論が続きそうである。

リカバリンは、その機能 (誤りであったが) と構造が同時に発表されたため、以後見いだされた種々の蛋白

質がリカバリン類似蛋白質と総称されている。しかし、リカバリンが持つとされた活性は実は誤りであり、リカバリンは、リカバリンより先に、筆者によって活性と精製が報告された S-モジュリンそのものであったこと、類似蛋白質としてはビジニンの方が先にその構造が明らかにされていることなど、これら一群の蛋白質をリカバリンで代表させる根拠が無くなった。ちなみに、ビジニンは大阪大学の三木教授 (発見当時は金沢大学) のグループによって、機能未知の蛋白質として報告されている。間違っただけの報告に基づいた、リカバリンという呼び名を使うのは止める時期であると筆者は考えるが、如何であろうか?

ところで、視細胞内の Ca^{2+} 濃度は暗順応状態で約 300 nM であり、明順応すると約 150 nM に減少すると報告されていた。しかし、その値の報告者である Owen が、以前の報告では測定に誤りがあり、実際はもう少し低く、暗順応条件で 100~200 nM、明順応条件で 10 nM 以下であると報告した。視細胞内での Ca^{2+} の役割については、Polans が、S-モジュリン以外の Ca^{2+} 結合蛋白質の存在と機能について、また、Molday がカルモジュリンによる cGMP 依存性陽イオンチャンネルの感受性調節について述べた。これらの報告から考えて、視細胞での Ca^{2+} の働きはまだ完全には解明されておらず、さらに未知の機能があることが予想される。

第4セッション 無脊椎動物の Phototransduction の機構についての報告があった。発表者は、O'Tousa, Hardie, Zucker の3人であった。無脊椎動物では cGMP と IP_3 が細胞内伝達物質として考えられているが、すっかりしていない現状である。3人の報告を聞いてもまだ混沌としているという印象であった。

第5セッション ここでは視物質ロドプシンの構造と網膜色素変性症の関係 (Kaushal, Oprian), ロドプシンの結晶構造 (Schertler) に関する報告があった。ロドプシンの結晶構造については初めての報告であり、強い感銘を受けた。

本学会の参加者は全体で135名、うち日本国内からは筆者を含めて4人であった。一昨年の米国参加者の半数近くが今年は出席していないのにこの数字であり、日米の研究者の層の厚さの違いに今更ながら驚いた。2年後には Santa Cruz (第一候補)、または、Copper Mountain (第二候補) で開催されることが決定された。

RECORDS

平成5年度第1回日本生理学会教育委員会議事録

日 時：平成5年6月25日(金) 午後12:00～15:00

場 所：学士会館 別館

出席者：佐藤(岩手医大), 栗原(慈恵医大)[委員長], 橋本(女子医大)[新任], 本間(昭和大)[新任], 佐久間(日本医大)[新任], 入来(山梨医大), 中野(東海大), 高田(浜松医大)[副委員長], 富田(名古屋大), 今井(大阪医大)[新任], 今永(福岡大), 有田(大分医大)[新任]

欠席者：加藤(北海道大), 瀬山(広島大)[新任], 小坂(長崎大)

1. 新しい委員会の始まりに際して自己紹介があった。

書記に本間委員, 会計に橋本委員が選出された。

2. 学部教育と大学院教育

- 1) 将来大学院大学が誕生したときの大学院教育と学部教育のあり方につき教育委員会で討議していく。

- 2) 学部教育の充実のための特別研修制度につき基礎配属の教育効果を討論した。昭和61年山形での生理学会教育シンポジウムでのテーマである特別研修制度につき, その後の教育効果を知り, 新しい教育方法を紹介するシンポジウムを来年, 香川での生理学会でとり上げる。

3. 「生理学会実習書および生理学教育変革の現状についてのアンケート」の結果について

入来アンケート調査委員長より報告があり生理学雑誌に掲載することを確認した。

4. 実習書について

Advanced course の実習書の刊行希望が多いが本として発行するのではなく, 生理学雑誌のと同じみあるいは別冊として発行できるか日本生理学雑誌編集委員会に提案する。

5. 生理学における実験技術に関する講習会について討議した生理学研究所での講習会の拡充, 他大学でのworkshopへの参加の可能性を検討していくことを確認した。

会 員 消 息

<新 入 会 員>

氏 名	勤 務 先	〒	自 宅 住 所・電 話	専 門 分 野
阿 部 由美子	東北大学 医学部 病態生体情報	981	宮城県仙台市青葉区柏木2-6-16-201 022-275-9222	チャネル他
有 村 朋 美	(株)資生堂	227	横浜市緑区藤ヶ丘2-25-8 資生堂藤ヶ丘寮 045-972-1843	
井 関 朋 子	名古屋大学 医療技術短期大学部	464	名古屋市千種区園山町2-22 052-782-9654	
伊 藤 恵理子	横浜市立大学 医学部 第二生理	233	横浜市港南区丸山台2-1-18-301 045-844-9449	
伊 藤 隆 雄	京都工芸繊維大学 応用生物	606	京都府京都市左京区松ヶ崎御所ノ内町2-5 075-724-0438	
井 上 正 岩	産業医科大学 応用生理	807	福岡県北九州市八幡西区医生ヶ丘1-4-207 093-602-2872	心臓・循環

氏 名	勤 務 先	〒	自 宅 住 所・電 話	専 門 分 野
今 村 耕 二	京都工芸繊維大学 応用生物	526	滋賀県長浜市末広町4-4 0749-63-5753	
内 田 康 子	埼玉医科大学短期大学	368	埼玉県秩父市寺尾2862 0494-23-9612	血 液
海 津 敬 倫	東京都神経科学総合研究所	207	東京都東大和市桜が丘3-44-14, 11-504 0425-64-0748	
大 畠 久 幸	日本医科大学 第二生理	233	横浜市港南区日野9-8-10 045-841-2300	
大 藤 和 美	京都工芸繊維大学 応用生物	606	京都府京都市左京区東丸太町41 075-761-8057	
小 俣 浩	埼玉医科大学 第二内科	193	東京都八王子市館町441-4 0426-66-0722	
柏 木 仁 美	東京都老人総合研究所 自律神経	175	東京都豊島区池袋本町2-24-5 岸岡マンション405 03-3981-8185	自律神経
岸 川 直 司	九州大学 歯学部 口腔生理			
九 島 洋 一	杏林大学 医学部 第二生理	191	東京都日野市多摩平1-9-3 富士マンション 0425-83-0880	
桑 田 善 弘	香川医科大学 泌尿器科	761-07	香川県木田郡三木町池戸3293-3 0878-91-0311	
後 藤 孝 也	香川医科大学 第一生理	187	東京都小平市美園町3-10-6 美園ハイツ101	細胞・分子
小 林 康	松下電器 中央研究所 電子機器基礎研究所	573-01	大阪府枚方市藤阪西町2-9-404 0720-55-1513	
坂 井 信 之	大阪大学 人間科学部 行動生理	562	大阪府箕面市坊島1-3-39 パークシティ坊島406 0727-22-2927	
嵯 山 陽二郎	東京都老人総合研究所 自律神経	173	東京都板橋区犬谷口37-9 大谷口ハイツ205 03-3959-1949	自律神経
鈴 木 英 樹	愛知教育大学 総合科学課程	471	愛知県豊田市山之手8-8 大徳マンション603 0565-26-4439	筋
田 井 祐 爾	香川医科大学 第一生理	761	香川県高松市田村町332-4 0878-66-7311	
高 月 義 子	九州歯科大学 口腔科学	803	福岡県北九州市小倉北区清水町3-8-5-301	
竹 内 俊 二	高知医科大学 第二生理	783	高知県南国市岡豊町中島1207-2-E 504 0888-66-5236	
竹 村 桂 子	長崎大学 医学部 第二薬理	852	長崎県長崎市滑石1-23-23-804 0958-55-3846	
田 巻 弘 之	鹿屋体育大学 体育学部 体力科学	893	鹿児島県鹿屋市西原4-14-33-123 0994-41-5334	
丹 野 正 敏	福島県立医科大学 第一生理	960	福島県福島市施清明町1-40-407 0245-21-0015	

氏 名	勤 務 先	〒	自 宅 住 所・電 話	専 門 分 野
告 野 正 典	名古屋大学 医学部 第一生理	466	名古屋市昭和区鶴舞2-10-2 藤苑マンション801 052-883-0385	
鳥 居 理 子	産業医科大学 第二生理	800	福岡県北九州市門司区柳町4-13-39 093-391-7231	環 境
永 井 信 夫	東京都老人総合研究所 自律神経	174	東京都板橋区前野町6-8-27 サニービル B205 03-5994-2732	自律神経
永 島 計	京都府立医科大学 第一生理	602	京都府京都市左京区高野西開町1-1 第2くめマンション1-12 075-701-5304	心臓・循環
長 嶋 知 明	旭川医科大学 第一生理	078	北海道旭川市東光6条3丁目 ヴェルシティ東光6-3-B203 0166-32-8614	
西 山 哲 成	愛知医科大学 第二生理	465	名古屋市名東区上社2-188 サンコウハイツ208号 052-772-1427	
羽 白 洋	香川医科大学	761-01	香川県木田郡牟礼町大町1415-73 0878-45-2317	
長谷川 有 美	東京都神経科学総合研究所 神経生理	175	東京都板橋区三園1-13-5	
平 川 晴 久	産業医科大学 応用生理	806	福岡県北九州市八幡西区穴生4-15-5 093-641-4782	心臓・循環
古 瀬 充 宏	名古屋大学 農学部 動物栄養情報学	461	名古屋市東区矢田町2-66 名大宿舍255 052-711-9595	栄・代・温
前 原 直 樹	財労働科学研究所	216	神奈川県川崎市宮前区初山2-25-16 エンゼルハイム内田401 044-977-7599	
松 原 広 己	岡山大学 医学部 第二生理	700	岡山県岡山市奥田南町1-21 黒田コーポ203 086-225-5718	心臓・循環
南 武 嗣	九州大学 医学部 小児科	810	福岡県福岡市中央区蟬国2-16-30-610 092-715-5581	
宮 田 清 司	京都工芸繊維大学 応用生物	607	京都府京都市山科区日ノ岡夷谷町17-117	
三 好 智 満	大阪大学 医学部 第二生理	630-01	奈良県生駒市あすか野南2-3-14 07437-2-3008	
三 輪 尚 史	慶応義塾大学 医学部 生理	152	東京都目黒区鷹番2-21-11-412 03-3716-7120	
村 井 恵 良	京都工芸繊維大学 応用生理	606	京都府京都市左京区下鴨高木野33 マカオハイツ4B 075-702-2891	
安 原 伸 吾	岡山大学 医学部 第二生理	700	岡山県岡山市岡町18-1-606 086-227-3185	心臓・循環
山 口 明 彦	東日本学園大学	065	北海道札幌市東区北27条東12-2-27 丸善ビルB-201 011-742-3791	
山 口 智	埼玉医科大学 第二内科	350	埼玉県川越市上戸新町16-8 0492-33-9255	
山 本 健 人	東北大学 医学部 病態生体情報	910	福井県福井市光陽2-21-3 0776-24-2332	チャネル他
渡 邊 マキノ	順天堂大学 医学部 第二生理	182	東京都調布市緑ヶ丘2-65-16 03-3305-1515	心臓・循環

<物 故 者>

高 田 充(評議員)	徳島大学歯学部教授	平成5年3月11日
植 木 昭 和	福岡大学薬学部非常勤講師	平成5年6月22日
古谷野 速 雄(評議員)	秋田大学医学部教授	平成5年8月10日



松田幸次郎先生 追悼のこゝば

日本生理学会特別会員・松田幸次郎先生（東京大学名誉教授、東北大学名誉教授）は、平成5年2月14日肝不全のため、東京都多摩老人医療センターで84才の生涯を閉じられました。先生は生涯、まことに清廉な学究、究道の士であり、厳格な科学者であると共に、また良き教育者でもあったと思います。慎んで哀悼の意を表する次第です。

先生は明治41年（1908年）大阪市でお生まれになり、大阪府立北野中学校、大阪高等学校を経て昭和3年東京帝国大学医学部医学科に入学され、昭和7年に同学部を卒業されました。卒業後は聖路加国際病院内科医員として昭和16年まで9年間勤務されましたが、その間東大医学部内科副手も兼ね、稲田龍吉先生の下で内科学の研鑽を積まれました。聖路加国際病院在職中は臨床特別研究室の研究員として橋本寛敏先生（後院長）と病態生理を研究され、中でも当時初めて日本に導入されたジューメンスの心電計を用いて心臓興奮の異常について深く研究をされました。先生の生涯の御研究の道、すなわち心臓興奮の生理学及びその病態生理学、更には循環生理学の出発点はこの時期の研究に

あったと言えるように思います。また、常々稲田、橋本両先生をよき先輩として尊敬しておられたことがお話の中で伺われました。また、その間東大医学部第二生理にも席を置かれ、当時の教授の橋田邦彦先生や同教室の先輩の方々との学問的な交流を深められ、特に電気生理学の基礎と物理化学を勉強されました。ヘルムホルツの電気学や電解質、水素イオンに関する物理化学を深く勉強されたのはこの時期であったかと思われます。

昭和16年8月当時の国情により、海軍航空技術廠医学部に移られ、更に翌年東北帝国大学医学部助教授として仙台に赴任されました。当時、東北大医学部に航空医学講座新設の計画があり、その準備のために助教授として赴任されましたが、その2年後（昭和19年）に同講座が開講となり、同時にその担当の教授になりました。更に、同大学に航空医学研究所も設置され、その所員も兼ね、戦時研究員として航空医学の研究に従事されました。然し、1年を経ずして終戦となり、昭和20年12月に航空医学講座、航空医学研究所は共に廃止となり、講座は一旦生理学第三講座と改名さ

れ、翌昭和21年に環境医学講座に改められました。筆者は昭和21年に東北大学医学部に入学し、親しく先生の講義を受けましたが、環境医学の講義は、生理学の講義の終わったあとであったため、臨床生理学的内容に焦点を絞り、“不整脈”、“貧血”、“酸塩基平衡とその異常”といったテーマで講義をされました。然し、その内容は極めて高度のもので、不整脈については、まず心臓の興奮の基礎から心電図導出の理論、そして病態生理といった内容で、大学院特論又は大学院特別講義のようでした。酸塩基平衡に関しても物理化学的原理を明確に解説し、当時有名であった Van Slyke の Quantitative Biochemistry の真髄をよく解説され、学生にはアカデミックなショックを与える極めて迫力のあるものでした。今でも同級会などでよく話に出ることは、当時の松田先生の迫力ある講義のことで、すべて理解出来た訳ではないと思いますが、先生の講義だけは出ないとか大きなものを失った感があったと言われる程でした。

松田先生は昭和21年から昭和32年まで東北大で環境医学講座を担当されたのち、東京大学医学部に移られ、生理学第一講座を停年の44年まで担当されました。東北大学御在任中の御研究の特筆すべき業績は微小電極を用いた心筋興奮の広範な開拓的研究であると思われます。昭和27年に米国に出張され、New York State University の Ch. Brooks 教授のもとで微小電極を修得され、帰国後直ちにイヌの心筋の各部の興奮特性の研究に着手されました。当時すでにスイスの Weidmann が Purkinje 線維の興奮特性を微小電極を用いて明らかにする研究をして居られましたので、先生は心内膜下心筋 (terminal Purkinje fiber)、個有心室筋、心房筋、更には房室結節部特殊心筋線維の活動様式の研究に焦点を当てられました。当時小生も大学院生としてその研究に加わることが出来ましたが、日々新事実が得られ、興奮の毎日で、先生御自身も寝食を忘れて研究に没頭した時期であったように思います。特に房室結節線維の活動様式から、断続的な興奮の遅れを生ずる電気的活動様式を記録し得た時は、長年疑問であった房室遅延の機構が一挙に明らかになり、感激したものでした。また、心筋にアコニチンを局所的に作用させると、その部を focus として突発性頻脈が発生しますが、その直前に静止膜電位の振動現象が現われ、第1の振動波がある大きさになると突発性頻脈に移行することも見出し、突発性頻脈の1つの機構を明らかにし得ました。これらの研究に対し朝日学術奨励賞を頂いたことも当時大きな励みとなったことでした。またその頃同時に心電図の基礎理論に大きな進歩があり、Burger, Frank らによって lead vector の概念が確立されましたが、それらを直ちに消化して先生御自身が永年考えて居られた理論とも総合され、極めてすっきりした物理学的な心電図導出の理論を纏められたのもこの頃でした。

東大に移られてからも自ら実験を続けられて居りましたが、次第に学内外の仕事が増大して行くのが目に

見えて来ました。学内では教養学部連絡委員、評議員、図書行政商議会委員、学外では電子工業審議会及び電子技術審議会、医師国家試験審議会委員、学術奨励審議会委員など各種の委員として活動された他東京大学医学部医用電子研究施設の設置、日本 ME 学会、国立循環器病センターの創立にも尽力されました。日本生理学会については東大教授在任中、常任幹事、会計幹事、庶務幹事を歴任され、その間1965年第23回国際生理学会が東京で開催された時はプログラム委員長を勤め、また、Jpn. J. Physiol. 編集委員会の初代委員長として同誌の編集の近代化にも尽力されました。昭和41年～44年は東大紛争の激化した時期であり、その時期に東大医学部1号館に事務室をもつ日本生理学会の事務を運営するには大変な御苦労であったと推察されます。

東大退官後は米国ロックフェラー大学客員教授、東京女子医大附属日本心臓血圧研究所顧問として心筋及び循環の生理学、病態生理の研究を継続されるかたわら、Ganong の “Review of Medical Physiology” の翻訳に力を入れられ、市岡正道先生他数人の御協力を得て、“医科生理学展望”として丸善から出版され、2年毎の改訂を重ねられて今日の名著の定評を得る生理学参考書 (又は教科書) に育てられました。

先生は戦後20数年に亘り、名実共に日本の心臓生理学の開拓者であったと共に指導的立場をとって来られた方でした。先生の下で学び、その後教授となられた人も多くおられますが、先生の教育上の方針としてある程度まで成長すると、独自に努力して異なった分野を切り拓くように導かれました。その為鈴木泰三 (平滑筋)、菅野富夫 (睪外分泌)、山岸俊一 (膜興奮イオン機構)、八木欽二 (神経内分泌)、入内島十郎 (血圧調節)、熊田 衛 (循環調節)、林 秀生 (筋収縮、膜輸送) の諸先生等夫々異なった分野の専門家として活躍されている教授が輩出しました。先生の停年退官を記念して、これらの諸先生と教室で関係の深かった東健彦先生 (血液レオロジー) も加って臨床生理学 (上、下) を刊行し、先生に献呈できたのも、多分野の専門家が育ったお陰です。

先生は学生の頃から内村鑑三のキリスト教精神に深く共感され、強い宗教的信念を抱くようになりました。生理学の研究、教育のかたわら聖書並びに関連する書を多く読まれ、深く原典をも調べるためギリシャ語更にはヘブライ語まで習得して居られました。小生は学生の頃から教室に出入りを許され、しばしば夜聖書に関する講話を伺うことがありました。ヨブ記の講話などはかなり神学的なものでありましたが、強く心に残るものでした。しかし、教室の中は決して片苦しいものではなく、常に明るい雰囲気があったのであったことを思い出します。私にとっては学問上の師であるばかりではなく、内面的な精神形成の上での師でもあったと常に深く感謝しております。今ここに慎んで先生のことを思う時、哀惜の念に耐えることが出来ない思いです。 (星 猛)

[生理学実験講座]

卵形囊神経選択的刺激法の進歩と新事実

内 野 善 生・佐々木 光 美

(東京医科大学第二生理学講座)

はじめに

生体は運動時に眼球や頭頸部の位置を反射的に制御し、視覚情報を網膜上に正確にとらえると同時に、連続する運動に合せ姿勢を制御している。この反射機構には多くの神経機構が関与するが、ここでとり上げる前庭神経系は、半規管系と耳石器系とからなり、主な出力系である眼運動系と脊髄運動系との間で神経回路網を形成している。前・水平・後半規管神経の選択的

電気刺激法は Cohen から(1964)により開発され、各半規管と外眼筋運動ニューロンおよび頸筋運動ニューロンとの結合様式が詳細に調べられ、興奮性結合については図1に、抑制性結合については図2にまとめられている(Uchino & Izu 1992 a b c)。図1・2は眼球が前方にあるネコの半規管系反射弓の模式図であるが、視軸の異なるネコとウサギの間で主結合は一致している。頸部の前後方向の回転ではネコ・ウサギ両動物とも垂直半規管が刺激され、代償性眼球

EXCITATORY VESTIBULO-OCULAR and/or VESTIBULO-COLLIC REFLEX PATHWAYS

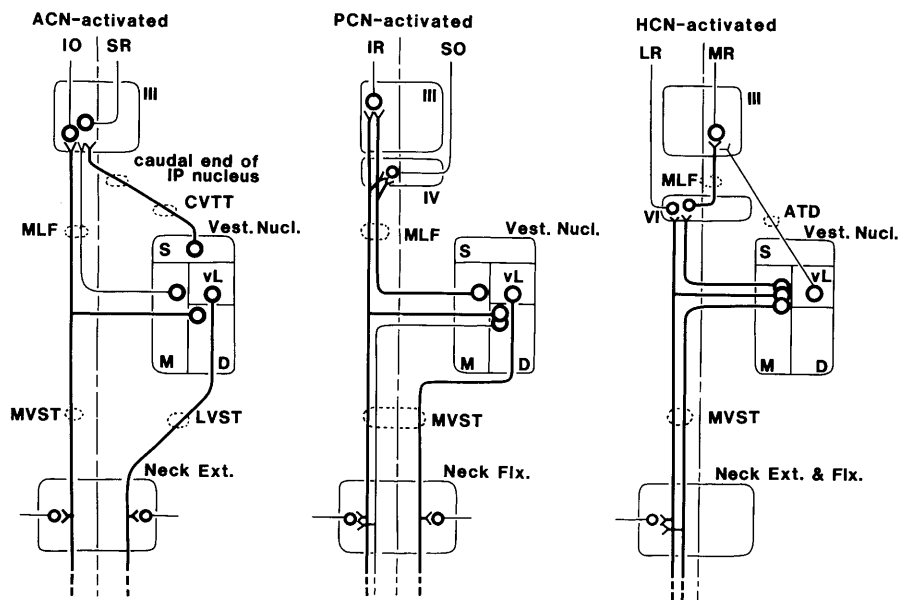


図1. 前庭動眼反射および前庭頸反射を中継する興奮性前庭二次ニューロンの主たる存在部位と軸索の走行経路

ACN-: 前半規管系, PCN-: 後半規管系, HCN-: 水平半規管系, IO: 下斜筋, SR: 上直筋, IR: 下直筋, SO: 上斜筋, LR: 外直筋, MR: 内直筋, III: 動眼神経核, IV: 滑車神経核, VI: 外転神経核, IP nucleus: 脚間核, MLF: 内側縦束, CVTT: 交叉性腹側被蓋路, ATD: ダイテルス上行路, Vest. nucl.: 前庭神経核, S: 上核, vL: 外側核腹側部, M: 内側核, D: 下核, MVST: 内側前庭脊髄路, LVST: 外側前庭脊髄路, Neck Ext.: 頸部伸筋, Neck Flx.: 頸部屈筋 (Uchino and Izu, 1992 a, c より引用).

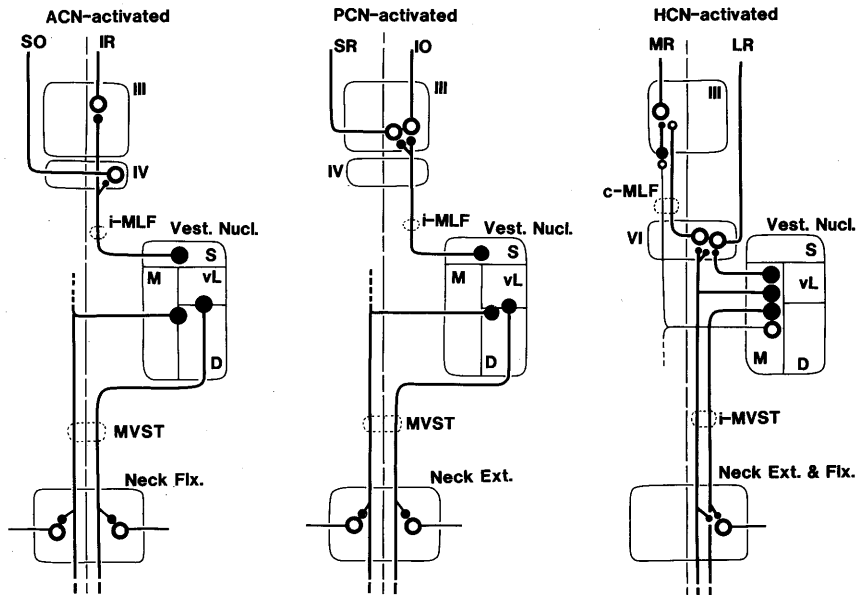
INHIBITORY VESTIBULO-OCULAR and/or
VESTIBULO-COLLIC REFLEX PATHWAYS

図2. 前庭動眼反射および前庭頸反射を中継する抑制性前庭二次ニューロンの主たる存在部位と軸索の走行経路
c-: 対側, i-: 同側, 他の略号は図1を参照 (Uchino and Isu, 1992 b, c より引用).

運動はネコでは垂直運動, ウサギでは回旋運動となる。これは各外眼筋の視軸に対する作用方向が異なるためであり, 半規管と筋の相対的位置関係はむしろよく似ている。したがって両者の主結合が一致するのは機能的にも矛盾しない。半規管系反射弓の神経機構に比較し, 実験手技の困難さから耳石器系(卵形囊神経・球形囊神経)に起因する神経機構について不明点が多い。そこで耳石器の一つである卵形囊系反射弓の基本的入出力機構の解明に寄与した卵形囊神経の選択的電気刺激法の進歩と新事実について述べる。使用した動物はネコである。

背 景

Suzuki ら(1969)は, ステンレス線(50 μ m) 2本を張り合わせた刺激電極を用い, 卵円窓から直接卵形囊神経を刺激した。刺激には連続矩形波を使用し卵形囊-動眼反射を外眼筋の収縮として記録した。刺激時発生する眼球運動の基本パターンは刺激と同側眼球の上斜筋・上直筋・

内直筋が収縮することにより, 回旋運動と斜め上方への移動がおこる。反対側の眼球は下斜筋・下直筋・外直筋の収縮により, 回旋運動と斜め下方への移動がおこる。Jijiwa ら(1986)は卵形囊の局所刺激を試み, 有毛細胞の形態的極性とよく一致した眼球運動を観察している。Wilson ら(1977)は, 耳石器入力に起因する前庭-頸反射弓の神経機構の解明を目的に, 図3に示すような方法論で実験を行った。図3Aは内耳道直上の骨を部分除去した後, 耳石器神経の内, 球形囊神経(sacculus nerve)だけを残し他の前庭神経全てを切断した模式図である。図3Bは同様の手法で卵形囊神経(utricle nerve)だけを残し, 他の前庭神経を切断した模式図である。図3A, Bの標本を作成し, 内耳を刺激することで, それぞれ球形囊神経と卵形囊神経を選択的に刺激することができるとした。

新しい卵形囊神経選択的刺激の試み

図4は現在我々の試みている卵形囊神経選択

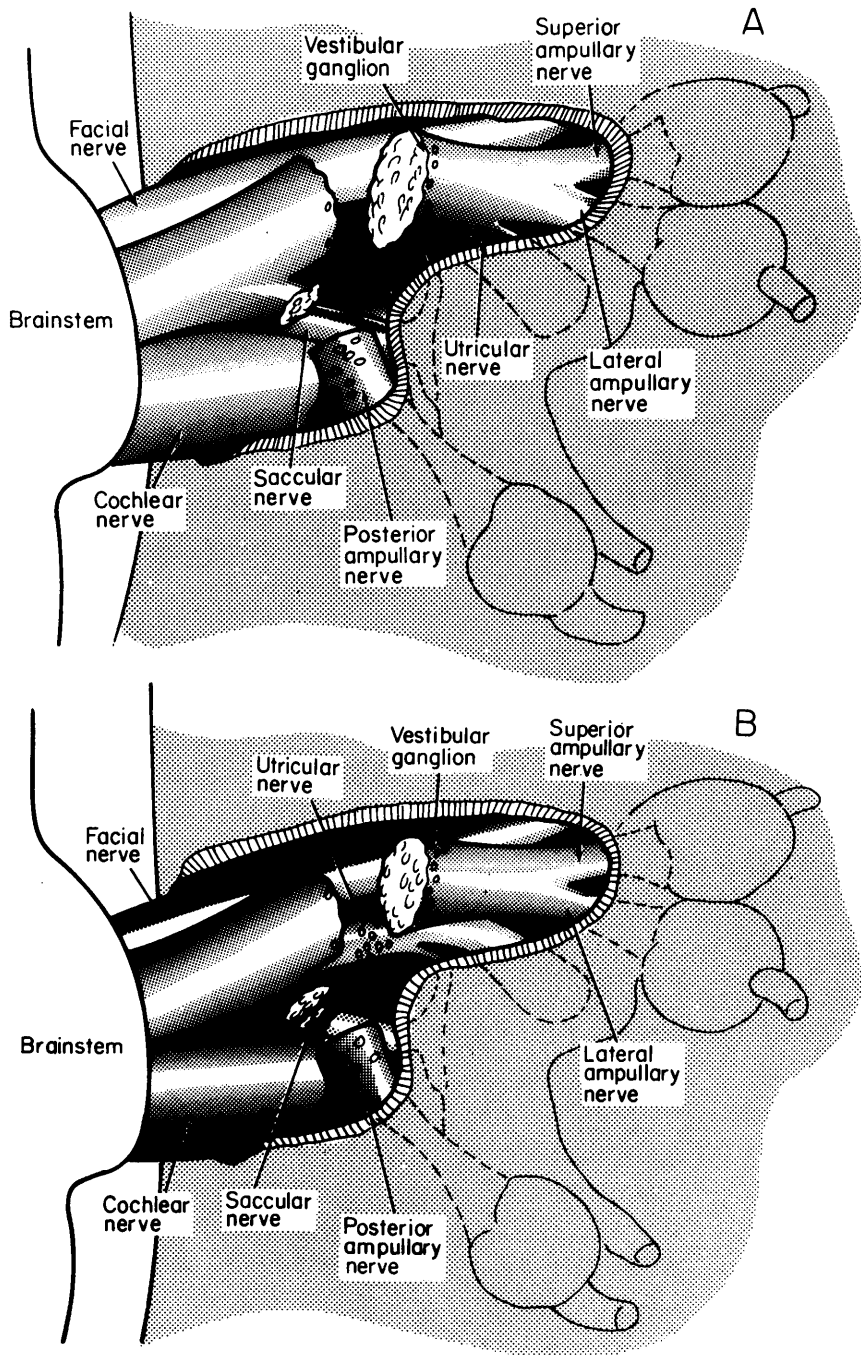
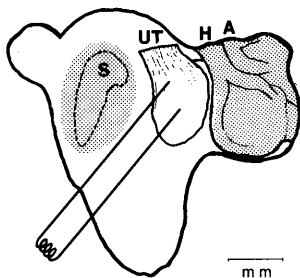


図3. 前庭神経のうち球形囊神経(A), 卵形囊神経(B)だけを残し他の前庭神経を切断する方法. A, Bとも右側背側から観察した模式図である.

Brainstem: 脳幹, Cochlear nerve: 聴神経, Facial nerve: 顔面神経, Lateral ampullary nerve: 外側(水平)半規管神経, Posterior ampullary nerve: 後半規管神経, Saccular nerve: 球形囊神経, Superior ampullary nerve: 前半規管神経, Utricular nerve: 卵形囊神経, Vestibular ganglion: 前庭神経節.

A. latero-ventral view of the left inner ear



B. dorso-ventral view of the left VIII nerve

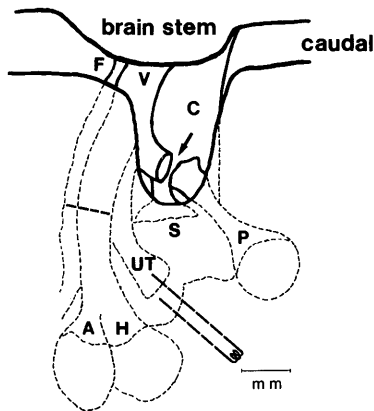


図4. 卵形囊神経選択的刺激方法

Aは腹外側から左内耳を観察した模式図。卵形囊神経(UT)だけを残し、水平半規管神経(H)、前半規管神経(A)と球形囊神経(S)は切断除去される(小さなドット)。卵形囊神経は双極性に刺激される。Bは背腹方向に第8神経を観察した図。後半規管神経(P)の選択的切断を矢印で示してある。Fは顔面神経、Vは前庭神経、Cは聴神経。

刺激方法の概略を示しており、左内耳腹外側から手術用顕微鏡を用い内耳を観察した模式図である(Sasaki et al.1991)。この図に示されている卵形囊神経に到達するには、まず、鼓室胞を破壊し、正円窓・卵円窓を直視下に観察する。卵円窓のアブミ骨は卵形囊神経保護の目的のため、通常手術の最後まで除去しない。正円窓・卵円窓周囲の骨組織をドリル及び歯科用骨鋭匙などで注意深く切除する。この目的のため我々はダイヤモンド技工師用の超低振動ドリルを使用している。骨周辺からの出血に対しては骨用ワックスあるいは自然止血を待つ。水平半規管

系神経(図4AのH)と前半規管神経(図4AのA)は眼科用メスで切断し、膨大部を含め除去する。水平半規管膨大部と卵形囊神経は結合組織で一部癒着しているが、これも同一メスで分離する。球形囊神経は骨鋭匙あるいは綿球で注意深く剝離切除する。後半規管神経は図4Bで示すように切断するが、現在は図4Aの下方に位置する後半規管膨大部と同神経を球形囊と同時に除去している。

卵形囊神経は電解研磨したタングステン電極を用い双極性に刺激する。両電極の間隔は約800 μm とし、タングステン電極の被覆は先端約500~1000 μm 取り去っている。直視下で卵形囊神経に双極電極を刺入し、パラフィンワゼリン混合液で内耳を充満する。内リンパ液を含む分泌液は細くよじった脱脂綿で持続的に吸引している。

卵形囊神経刺激による前庭神経核内 電場電位と電流滑走

前庭神経全てを電気刺激すると前庭神経核内に電場電位が発生する。この電場電位は、前庭一次求心性線維の活動によるP波、前庭二次ニューロンの活動電位と興奮性シナプス後電位とからなる N_1 波、三次ニューロンの活動による N_2 波とからなる(Shimazu & Precht 1965, 図5挿入図)。卵形囊神経選択的刺激によってもP波と N_1 波が発生するが、 N_2 波は発生しにくく、発生しても振幅が小さい(Sasaki et al. 1991, Bolton et al. 1992, 図5挿入図)。P波は振幅が小さく前庭神経刺激閾値の決定には不向きであり、P波の発生閾値とほぼ等しい N_1 波の発生をもって卵形囊神経閾値とすることが一般的であり、我々も卵形囊神経刺激強度の表示に(N_1 波の閾値の何倍： xN_1T)を用いている(Shimazu & Precht 1965, Uchino et al. 1970, Sasaki et al. 1991)。卵形囊神経刺激による N_1 閾値は10~25 μA (Sasaki et al. 1991)および3~15 μA (Bolton et al. 1992)で初期の実験より最近の方法が進歩していることがわかる。 N_1 波の振幅は前庭神経外側核腹側及び下核吻

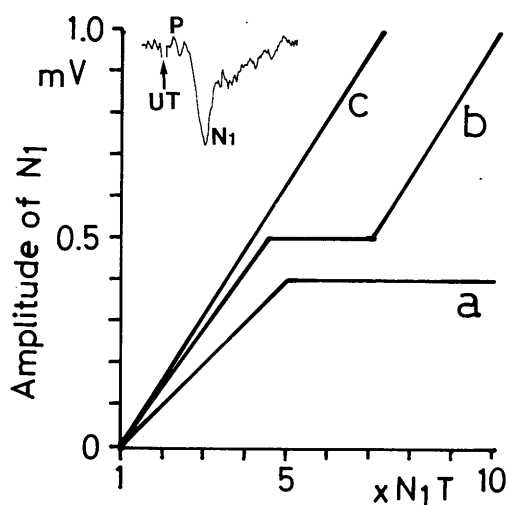


図5. 卵形囊神経刺激と N_1 電位の振幅
a 卵形囊神経刺激閾値の5倍の刺激強度 ($5 \times N_1 T$) で N_1 電位 (波) がプラトーに達し, b はプラトーに達した後, 再び N_1 電位の増大が $7 \times N_1 T$ で始まり, c は N_1 電位のプラトーが少なくとも $7 \times N_1 T$ までは存在しない. 挿入図は卵形囊神経刺激 (UT) に伴う一次求心性線維の活動による P 波と二次ニューロンの活動による N_1 電位 (波) をあらわす. 下向きが陰性.

腹側で大きく, 実験結果の信頼性を高めるには実験開始時と終了時の, N_1 波閾値が同一であることが望ましい. 振幅については後述する. P 波の潜時については振幅が小さく, peak が不明である場合も多いので Positive 波から Negative 波へかわる時点を活動電位の到達時点と考え, P 波の潜時としている. 潜時は $0.56 \pm 0.6 \text{ ms}$ $n = 44$ (Uchino et al. 1992) である. N_1 波の潜時は $1.0 \pm 0.1 \text{ ms}$ $n = 6$ (Sasaki et al. 1991) であるが最近の我々の仕事では $0.84 \pm 0.10 \text{ ms}$ $n = 50$ (Uchino et al. 1992) である. この差は記録部位の違いによるものである.

卵形囊神経を電気刺激すると N_1 波の振幅は急速に増加し, 約 $4 \sim 5 \times N_1 T$ の刺激強度で N_1 波の振幅がプラトーに達し (Bolton et al. 1992), この関係を模式化したものが図 5—a である. 図 5—a の標本の場合 N_1 閾値の $4 \sim 5$ 倍の強度で卵形囊神経全てを刺激していることを意味し, 10倍以上の刺激でもプラトーは維持しているが, 標本によってはプラトーが中断

し再び振幅が増大する場合がある (図 5—b). 図 5—b の場合は約 $7 \times N_1 T$ の強度で刺激部位に近い水平及び前半規管神経に電流滑走が起きたためと考えることが妥当であろう. 図 5—c に示したようにプラトーがなく持続的に N_1 波の振幅が増大する場合には卵形囊神経の選択刺激の保障がなく, この標本での実験の継続は不可能である. プラトーの振幅はネンプタル麻酔下で約 $300 \sim 400 \mu\text{V}$, 除脳標本で $500 \sim 700 \mu\text{V}$ となることが多いが記録部位による変動も考慮する必要がある.

この刺激方法による新事実

我々は耳石器系前庭動眼反射弓の基本的神経回路網の全貌を知る目的で図 4 に示す刺激方法を用い, 同側外転神経核運動ニューロンと, 対側滑車神経核運動ニューロンから細胞内記録を行った. 同側外転神経核運動ニューロンに対してはすでに Schwindt ら (1973) が明らかにしているように卵形囊神経を刺激すると短潜時の EPSP が発生した. この EPSP の潜時は 1.0 から 1.6 ms ($1.2 \pm 0.2 \text{ ms}$ (SD) $n = 13$) で EPSP の発生閾値は全て $2 \times N_1 T$ 以下であった (Sasaki et al. 1991).

対側滑車神経核運動ニューロンには後半規管神経から 2 シナプス性興奮結合がありその潜時は $1.4 \sim 2.4 \text{ ms}$ ($1.5 \pm 0.2 \text{ ms}$ (SD) $n = 30$) であることが後半規管神経の選択的刺激法で調べられている (Uchino et al. 1980). 卵形囊神経刺激による対側滑車神経核運動ニューロンに対する効果は Baker ら (1973) により調べられ 2 シナプス性興奮結合であるとされている. 図 4 に示した方法を用い滑車神経核運動細胞から細胞内記録を行ったところ, 少なくとも記録した 11 個の運動ニューロンからは 2 シナプス性 EPSP は記録されず, 潜時の遅い EPSP が記録された. 以上のことからおそらく卵形囊—対側滑車神経運動ニューロン間の 2 シナプス性神経回路は, あっても極めて弱い結合なのではないかと考えている (Sasaki et al. 1991).

我々は最近ロックフェラー大学 Wilson らと

共同で卵形囊系前庭—頸反射弓の基本的神経回路の解明を図4の方法を用いて行った。卵形囊—同側頸部伸筋運動ニューロンに対しては2シナプス性興奮性結合であり対側の頸部伸筋運動ニューロンに対しては3シナプス性抑制性結合であるとの結論を得た(Bolton et al. 1992)。この実験結果は1979年我々が図3の方法を用いて行った結論、すなわち同側及び対側頸部伸筋運動ニューロンに対してはそれぞれ2シナプス性抑制性と2シナプス性興奮性結合であるとの結論と大きく異なるものであった。この実験結果の差の生じる原因はすでに1979年に我々もその可能性を示唆しているが、手術後1~2ヶ月し、動物の回復を待って急性実験を行ったが、この間に神経の再生、あるいは中枢での plasticity を否定できない。又、卵形囊神経を残し近接する水平規管神経を切断する手技の時(図—3)、卵形囊神経損傷をおそれ、一部水平半規管神経が残存した可能性を否定できない。なぜならば水平半規管神経を電気刺激すると同側頸部伸筋運動ニューロンには2シナプス性 IPSP が、対側伸筋運動ニューロンには2シナプス性 EPSP が発生するからである。(Wilson & Maeda 1974)。

最近我々は図4と同様の方法を用い頸部屈筋運動ニューロンから細胞内記録を行い卵形囊—頸部屈筋運動ニューロン回路を明らかにした(Ikegami et al. in press)。同側の頸部屈筋運動ニューロンに対しては2シナプス性興奮性結合であり、対側のそれに対しては3シナプス性抑制性結合であった。驚くことにこの結合様式は前述した伸筋運動ニューロンの結合様式と同一であった。このことは機能的に考えると卵形囊神経のインパルスの発射頻度が増加すると同側頸部伸筋・屈筋とも緊張することを意味する。事実サルにおいて記録側への直線加速度が加わると75%の卵形囊一次求心性線維の発射頻度が増加するという(Fernández & Goldberg 1976)。これらの実験結果を考え合わせると少なくとも水平直線加速度が加わった時、卵形囊—頸反射は同側の頸部伸・屈筋の緊張度が増し、頸部の

位置を一定に保ち視覚の網膜上での安定化に寄与していると考えられる。

また最近 Graf と共同研究者(1992 a, b)は耳石器特に両側卵形囊神経だけを残し他の前庭神経を全て切断した動物(ウサギ)と両側耳石器だけを破壊した動物(モルモット)を作成し、頸椎の形状をX線撮影で観察した。その結果卵形囊を残した動物は安静時はもちろん、床を傾ける外乱を与えても頭頸部の位置を正常に保つことができるという(Graf et al. 1992)。一方耳石器を破壊した動物は頸を伸ばし、頭頸部を床に近づけるうづくまった体位を示すという(Graf et al. 1992b)。我々の今回の実験(Ikegami et al. in press)と前回の実験(Bolton et al. 1992)の結果は安静時のこれらの動物の姿勢をよく説明している。すなわち卵形囊からの自発発射が頸部屈筋・伸筋に持続的緊張を与え、前述した直線加速度を加えた時と同様、頭頸部の体部に対する位置を一定に保ち視覚の安定化に寄与していると考えられる。

参 考 文 献

- Baker R, Precht W, Berthoz A (1973) Synaptic connections to trochlear motoneurons determined by individual vestibular nerve branch stimulation in the cat. *Brain Res* 64: 402-406
- Bolton PS, Endo K, Goto T, Imagawa M, Sasaki M, Uchino Y, Wilson VJ (1992) Connections between utricular nerve and dorsal neck motoneurons of the decerebrate cat. *J Neurophysiol* 67: 1695-1697
- Cohen B, Suzuki J-I, Bender MB (1964) Eye movements from semicircular canal nerve stimulation in the cat. *Ann Otol (St. Louis)* 73: 153-169
- Fernández C, Goldberg JM (1976) Physiology of peripheral neurons innervating otolith organs of the squirrel monkey. I. Response to static tilts and to long-duration centrifugal force. *J Neurophysiol* 39: 970-984
- Graf W, Waele C, Vidal PP (1992 a) Skeletal geometry in vertebrates and its relation to the vestibular end organs. In: *The head-neck sensory motor system*, eds by Berthoz A, Graf W and Vidal PP, Oxford Univ Press, New York, pp 129-134
- Graf W, Wang DH, Waele C, Vidal PP (1992 b) The role of otoliths in maintaining the upright posture of head-neck system in the guinea pig. In: *Vestibular and brain stem control of eye, head and body movements*, eds by Shimazu H, Shinoda Y.

- Japan Scientific Societies Press, Tokyo, and Karger Tokyo and Basel pp 79-90
- Ikegami H, Sasaki M, Uchino Y (in press) Connections between utricular nerve and neck flexor motoneurons of the decerebrate cats. *Exp. Brain Res.*
- Jijiwa H, Motooka T, Keino H, Watana S (1986) Functional organization of the cat utricle studied with the vestibulo-ocular reflex induced by electrical stimulation. In: *Biological sciences in space*, eds by Watanabe S, Mitarai G, Mori S, pp 191-198
- Sasaki M, Hiranuma K, Isu N, Uchino Y (1991) Is there a three neuron arc in the cat utriculo-trochlear pathway? *Exp Brain Res* 86: 421-425
- Schwindt PC, Richter A, Precht W (1973) Short latency utricular and canal input to ipsilateral abducens motoneurons. *Brain Res* 60: 259-262
- Shimazu H, Precht W (1965) Tonic and kinetic responses of cat's vestibular neurons to horizontal angular acceleration. *J Neurophysiol* 28: 991-1013
- Suzuki J-I, Tokumasu K, Goto K (1969) Eye movements from single utricular nerve stimulation in the cat. *Acta Oto-Laryngologica* 68: 350-362
- Uchino Y, Ikegami H, Sasaki M, Endo K, Imagawa M, Isu N (1992) Utricular input to abducens motoneurons of the cat. *Neuroscience Res Suppl* 17, 210
- Uchino Y, Isu N (1992a) Properties of vestibulo-ocular and/or vestibulo-colic neurons in the cat. In: *The head-neck sensory-motor system*, eds by Berthoz A, Graf W, Vidal PP, Oxford Univ Press, New York, pp 266-272
- Uchino Y, Isu N (1992b) Properties of inhibitory vestibulo-ocular and vestibulo-colic neurons in the cat. In: *Vestibular and brain stem control of eye, head and body movements*, eds by Shimazu H, Shinoda Y, Japan Scientific Societies Press, Tokyo and Karger, Tokyo and Basel pp 31-43
- 内野善生, 井須尚紀 (1992c) 半規管系前庭神経核ニューロンの神経機構. *神経進歩* 36: 854-871
- Uchino Y, Kudo N, Tsuda K, Iwamura Y (1970) Vestibular inhibition of sympathetic nerve activities. *Brain Res* 22: 195-206
- Uchino Y, Suzuki S, Watanabe S (1980) Vertical semicircular canal inputs to cat extraocular motoneurons. *Exp Brain Res* 41: 45-53
- Wilson VJ, Gacek RR, Maeda M, Uchino Y (1977) Saccular and utricular input to cat neck motoneurons. *J Neurophysiol* 40: 63-73
- Wilson VJ, Maeda M (1974) Connections between semicircular canals and neck motoneurons in the cat. *J Neurophysiol* 37: 346-357

興奮収縮連関に直接関与する筋細胞内膜系の発生と分化の特徴

竹 倉 宏 明・吉 岡 利 忠*

(鹿屋体育大学体力科学講座・聖マリアンナ医科大学第二生理学教室*)

Differentiation profiles of skeletal muscle internal membrane systems directly related to excitation-contraction coupling.

Hiroaki TAKEKURA and Toshitada YOSHIOKA* (*Department of Physiology and Biomechanics, National Institute of Fitness and Sports, 1 Shiromizu, Kanoya, Kagoshima 891-23, Japan, Department of Physiology, St. Marianna University School of Medicine, 2-16-1 Sugao, Miyamae, Kawasaki, Kanagawa 216, Japan**)

The arrangements of internal membrane systems (transverse (T) tubules, sarcoplasmic reticulum (SR) and T-SR junction (triad)) are matched to contractile profiles in adult muscle fibers. The developmental profiles of these internal membrane systems directly related to the excitation-contraction (EC) coupling were investigated in the chicken anterior (ALD, slow) and posterior (PLD, fast) latissimus dorsi muscles in ovo (14 to 21 days incubation: E 14~E 21) and after hatching (1 to 30 days after hatching: D 1~D 30). These internal membrane systems were visualized using confocal and electron microscopes. ALD and PLD have similar contraction time in early developmental stage (E 14~E 16), however, PLD suddenly becomes faster at E 17~E 18. Following the differentiation of faster contraction properties (E 18~E 19), density of triads increased significantly in PLD. Early development of T-tubules, on the other hand, is quite similar in both ALD and PLD. Peripherally located, longitudinally oriented T tubules, and the first T networks crossing the fiber center appear earlier in ALD (E 14~E 16) than PLD, but have similar dispositions. The final fiber type specific disposition of T-tubules is established after hatching, and three major components of the E-C coupling pathway are in place as soon as myofibrils develop.

key words : excitation-contraction coupling, transverse tubules, sarcoplasmic reticulum, triad, fiber type

I. 緒 言

骨格筋が収縮する際の活動電位は、筋細胞膜が筋細胞内部に向かって陥没した特殊構造体である横行小管系(transverse tubules: T管)¹⁹⁾に伝達されていく。T管膜の脱分極が未知の機構により、筋細胞内のカルシウム (Ca^{2+}) 貯蔵器官の筋小胞体(sarcoplasmic reticulum: SR)から Ca^{2+} の放出を引き起こす。T管と SR は筋細胞の所々 (A-I junction もしくは Z-line 上) で1本のT管を両側から2個のSRの終末槽 (terminal cisternae: TC) が挟み込むような特殊構造体を形成している。この構造体はトライアド (triad)³⁴⁾と呼ばれ、EC-couplingの主体を担う極めて重要な筋細胞内膜構造体であ

る。T管とTC間の間隙はjunctional gap(JG)とよばれ、その幅は広く動物種と筋種を通じて極めて一定に保たれ、ミオシン、アクチン両フィラメントの配列の規則性よりも高いとも報告されている^{17,47)}。従って、このJGの幅の一定さがEC-couplingの機能発現になんらかの意味を持つ可能性が考えられているが、直接的な証拠は未だ報告されていない。

Franzini-Armstrong¹⁵⁾により命名されたfeetがTCから Ca^{2+} を放出する際のカルシウムチャンネルであり、4量体(tetrad)のクローバー形状としてTCに結合、T管には付着していると報告されている^{6,26)}。このカルシウムチャンネルはryanodineによっても開口して Ca^{2+} を放出することが最近報告され⁴⁰⁾、ryanodine receptor (RR)と称されることも多い。一方、T管膜ではカルシウム拮抗剤であるdihydro-

pyridine (DHP) と特異的に結合するカルシウムチャンネルの存在が報告され³⁵⁾, DHP receptor (DHPR) と称されている. E-C coupling に関与するこれら一連の細胞内膜系は, 筋細胞の形成初期においてはほぼ同時期に形成され始める^{22, 28)}が完成は筋細胞形成後である. この形成には, カルシウムチャンネルの構築並びに機能亢進, また triad の移動 (A-I junction 上) 並びにローテーション (縦断方向から横断方向) 等も含まれる^{4, 5, 18, 25, 36, 46)}. 実際には, これらの筋細胞内膜系の構造分化は2段階に分かれて進行し, それに伴う機能の変遷は, 前半が peripheral coupling³⁸⁾ による Ca^{2+} の放出が主体であり, 発育に伴い triad からの放出が主体になる⁴³⁾.

骨格筋線維は, その組織化学的特性の差異によって2ないし3種類に分類される³³⁾. それぞれの筋線維は筋原線維の集合体であり, 筋原線維は基本的にはミオシン, アクチンフィラメントにより構成されている. ミオシンフィラメントは機能的に異なる重鎖と軽鎖によって構成され, それぞれの比率の違いによって筋原線維の性質が異なり, 筋線維のタイプが生ずる⁴¹⁾. 筋細胞の発生過程における筋線維タイプの分化についても, ミオシンフィラメントの分化を中心として数多くの研究が報告されている^{2, 3, 20, 29, 30, 41)}. ニワトリ胎児骨格筋の場合, 受精後7日目から8日目にはミオシン重鎖と軽鎖の特性が分化し始め, 18日目には筋線維タイプの分化が終了すると報告されている⁴¹⁾. 興奮収縮連関に関与する筋細胞内膜系の発生と発育に伴う分化を筋線維タイプの分化とあわせて検討した研究は報告されていない.

そこで本研究では, E-C coupling に直接関与する細胞内膜系 (SR, T管) の発育に伴う分化を性質の異なる骨格筋 (速筋, 遅筋) において検討することにより, 異なるタイプの筋線維における EC-coupling の発生と分化の特徴を構造的側面から明らかにすることを目的とした.

Ⅱ. 方 法

A. 実験動物並びに飼育管理

実験動物には受精14, 15, 16, 18, 19, 20, 21日後 (E 14~E 21) より孵化0, 1, 3, 5, 7, 10, 15, 20, 25, 30日後 (D 0~D 30) までの白色ニワトリを用いた. 受精卵については専用の孵卵器内にて, 室温37℃, 湿度70%にて保温した. また, 孵卵器内では, 自動反転装置により E 18 まで, 10分間に1度の割合で24時間反転を繰り返した. E 18 以降については, 反転は行わなかった. 同種のニワトリは通常, 受精後21日目に孵化するため, E 14~E 21 に関しては受精卵より胎児を直接取り出し, 実験に供した. 孵化後は室温37℃, 湿度55%に維持した飼育箱中にて, 24時間点灯条件下で飼育した. 飼育全期間を通じて飼料並びに水の摂取は自由に行わせた.

B. 分析方法

1. T管染色 (電子顕微鏡)

被検筋には anterior latissimus dorsi (ALD) 及び posterior latissimus dorsi (PLD) 両筋を用いた. 両筋はそれぞれ遅筋 (ALD) 並びに速筋 (PLD) の代表筋として用いられ, ALD についてはその90%以上が遅筋線維 (slow-twitch fiber) により, また, PLD についてはその90%以上が速筋線維 (fast-twitch fiber) によって構成されている^{7, 31)}. 電子顕微鏡による T 管観察のために, 両筋を生体内にて2.5%の glutaraldehyde (100 mM カコジル酸バッファー, 50 mM CaCl_2 , pH 7.35中) において約1時間固定した^{14, 18, 37)}. 両筋を生体内より摘出した後およそ1 mm 角の小片に細断し, さらに2時間の固定を同様の溶液中にて行った. 50 mM CaCl_2 を含む 100 mM カコジル酸バッファー (pH 7.35) により十分洗浄した後, 2%オスミウム酸—0.8%フェリジアン化カリウム (100 mM カコジル酸バッファー, pH 7.35 中) 溶液にて後固定を行った (3時間). 蒸留水にて洗浄後, 飽和酢酸ウラニル水溶液に1時間浸透し, エタノール (70, 80, 90, 95, 100%) により脱水した. ア

セトン置換の後、エポン樹脂-アセトン混合溶液(1:1)に1時間浸透しエポン樹脂に包埋した。以上の包埋過程はすべて室温下にて行った。40並びに60℃にてそれぞれ1昼夜ずつ乾燥させ、ミクロトーム(Sorvall, 15350, U. S. A)にて厚さ約0.3~0.5 μm の切片を作製し、無染色のまま加速電圧 100 kV にて観察、写真撮影を行った(Philips, 410, Holland)。

2. T管染色(共焦点レーザー走査蛍光顕微鏡)

DiIC₁₆[3](Molecular Probes, Eugene, OR)によるT管の染色のために、ALD並びにPLD

を摘出し、85 mM の Sucrose 及び 10 mM の EGTA を含む、カコシル酸バッファー(pH 7.2)中にて数本ずつの筋線維の束を作製した。DiIC₁₆[3] による SR の染色のためには、生体内において 0.25% の glutaraldehyde(同一バッファー中)により固定した後両筋を摘出し、T管染色と同様に処理した¹³⁾。しかし 0.25% の glutaraldehyde による固定により SR 及び核が染色されるかの理由については、不明であり現在検討中である。DiIC₁₆[3] は 2.5 mg/ml の濃度で 100% エタノールに溶解して凍結保存

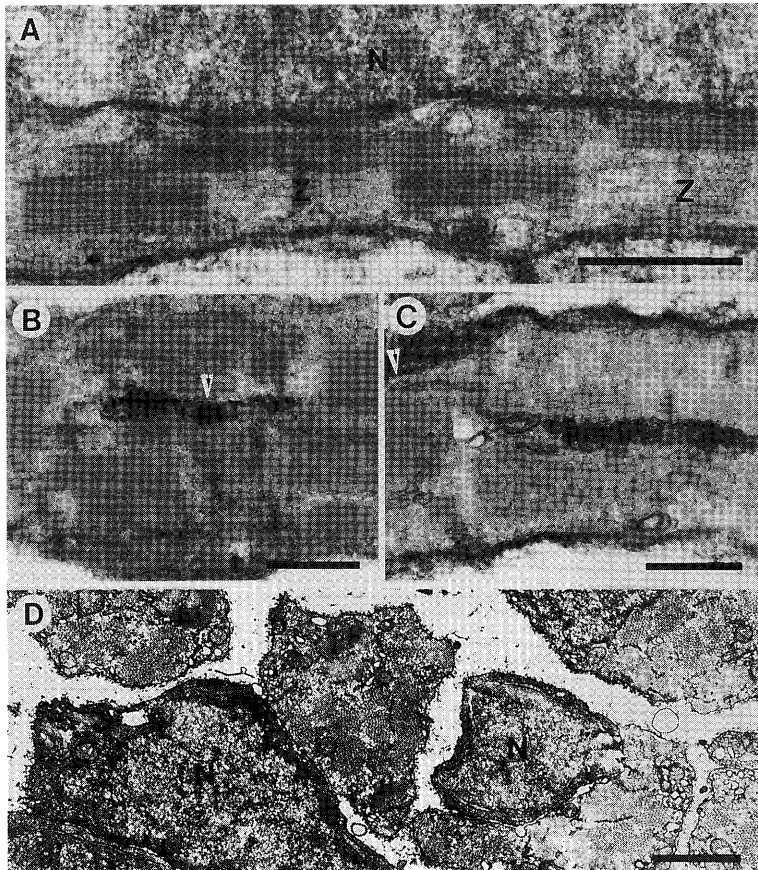


Fig. 1. Electron micrographs of ALD fibers at E 14 (A), E 15 (B) and E 16 (D) and PLD fibers at E 16 (C). Note that there is no T-tubule in the fiber, and nuclei (N) locates the center of fiber. Sarcomere structure is completed and Z-line (Z) is clearly found at E 14 of ALD. T-tubule appears suddenly in the middle of fiber (B, arrow) and connects the cytoplasm (C, arrow). Each fiber is in the process of separating from each other; myofibrils fill the entire cross section of fibers; nuclei (N) begin migration to the periphery (D). Scale bars=1 μm .

(-20°C)し、使用直前に 8.5 mM のカコジル酸バッファー ($\text{pH } 7.2$, 85 mM : sucrose, 10 mM : EGTA を含む) に溶解して、最終濃度 $12.5\text{ }\mu\text{g/ml}$ として利用した。筋線維の束を直接 DiIC_{16} [3] を含む溶液に浸透し、10分間ピペットを用いて溶液を繰り返し吹き付けた。これらの作業は暗所、室温にて行った。 DiIC_{16} [3] を除く同種のバッファーにて数回洗浄し、筋線維の束を細断してスライドガラスの上にカバーガラスを用いて包埋した。得られた標本は共焦点レーザー走査蛍光顕微鏡 (BioRad Microscience, MRC-600, U. S. A) により観察した。

3. Nitrendipine 結合量

ALD 並びに PLD 両筋における nitrendipine の結合量の加齢変化は Schmid et al.³⁶⁾ の方法に基づき行った。両骨格筋を摘出し、 20 mM の Tris バッファー ($\text{pH } 7.4$, 250 mM : sucrose, 1 mM : EDTA を含む) にて数回洗浄し、10倍量の同一バッファー中にてホモジナイズを行った。遠心分離 ($20,000\times g$, 10分間) により数回洗浄した後、沈澱した膜成分を同一バッファーに溶解保存した。膜成分 ($0.5\sim 1.0\text{ mg}$) を 1 ml のバッファー ($\text{pH } 7.4$, 20 mM : Tris-Cl, 50 mM : choline chloride, 0.1 mM : phenyl-

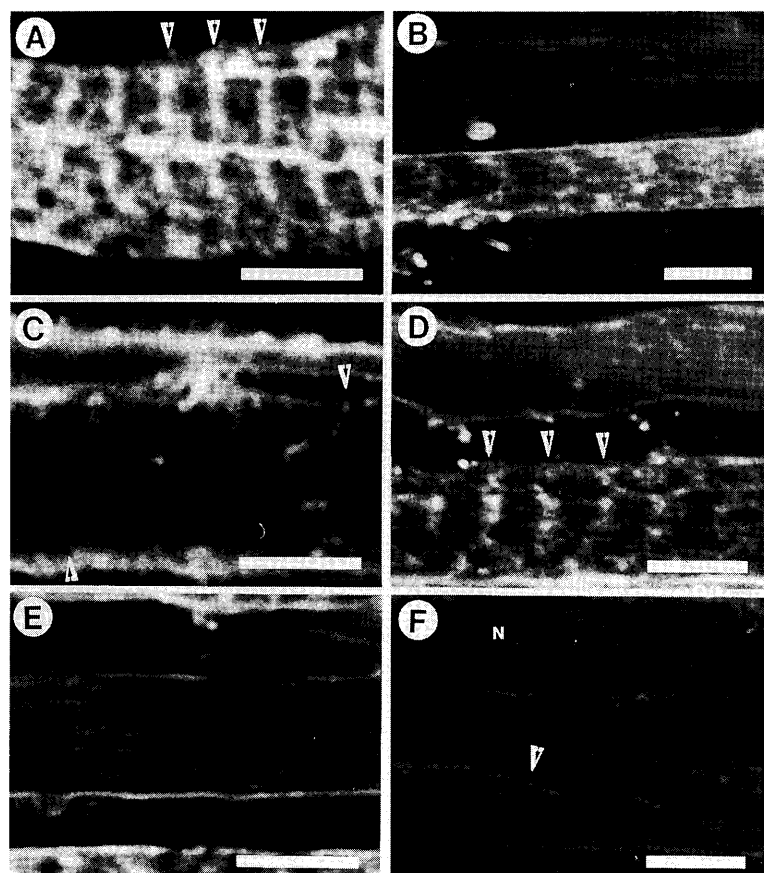


Fig. 2. Confocal images of E14, E15 and E16 of ALD (A, C, and E) and PLD (B, D, and F) fibers. SR (arrow) is arranged on the Z-line at E14 of ALD (A) and E15 of PLD (D). T-tubules (arrow) appear at E16 in the middle of fiber of PLD (F). T-tubule and SR appear earlier in ALD than PLD. T-tubule network increases for longitudinal orientation at E16 of ALD (E). N: nuclei, Scale bars = $10\text{ }\mu\text{m}$ (A and B), $5\text{ }\mu\text{m}$ (C, D, E, and F).

methysulfonyl fluoride) にて 4℃中にて 1 時間反応させた. 反応をろ過により中止させた後, ろ過したフィルターを即座に 5 ml のバッファー (pH 7.4, 20 mM : Tris-Cl, 200 mM : choline chloride を含む) にて 2 回洗浄し, 得られた溶液 (100 μ l) を用いてトリチウム (^{3} H) によりラベルした nitrendipine の結合量を定量した.

Ⅲ. 結 果

A. 発育に伴う T 管と SR の形成と分化

興奮収縮連関の主体を担う筋細胞内膜系は, T 管と SR に分類される. Fig. 1 A は E 14 の ALD の電子顕微鏡写真であるが, 核が筋線維中央部分に位置し, T 管は発生していない. し

かし, SR は骨格筋線維の Z 線上に配列されているのが確認された (Fig. 2 A). この結果は, SR の発生は T 管の発生に先んじて起こり, 発生と同時にある程度完成された配列を要していることを示している. また, 個々の筋線維は完全に筋原線維でみたまされているわけではなく, 内部に間隙が観察された. T 管は細胞膜が筋細胞部に向かって陥入した特殊構造体であるが, ALD (E 15, Fig. 1 B) 及び PLD (E 16, Fig. 1 C) 共に筋細胞内中央部分に突然観察された. PLD では T 管, SR 共に E 14 には形成されておらず (Fig. 2 B), E 15 に SR が Z 線上に配列され (Fig. 2 D), T 管は E 16 に発生した (Fig. 2 F). 両膜構造体の発生は ALD が PLD に先んじて起こり, E 15 には表面膜と T 管の融合

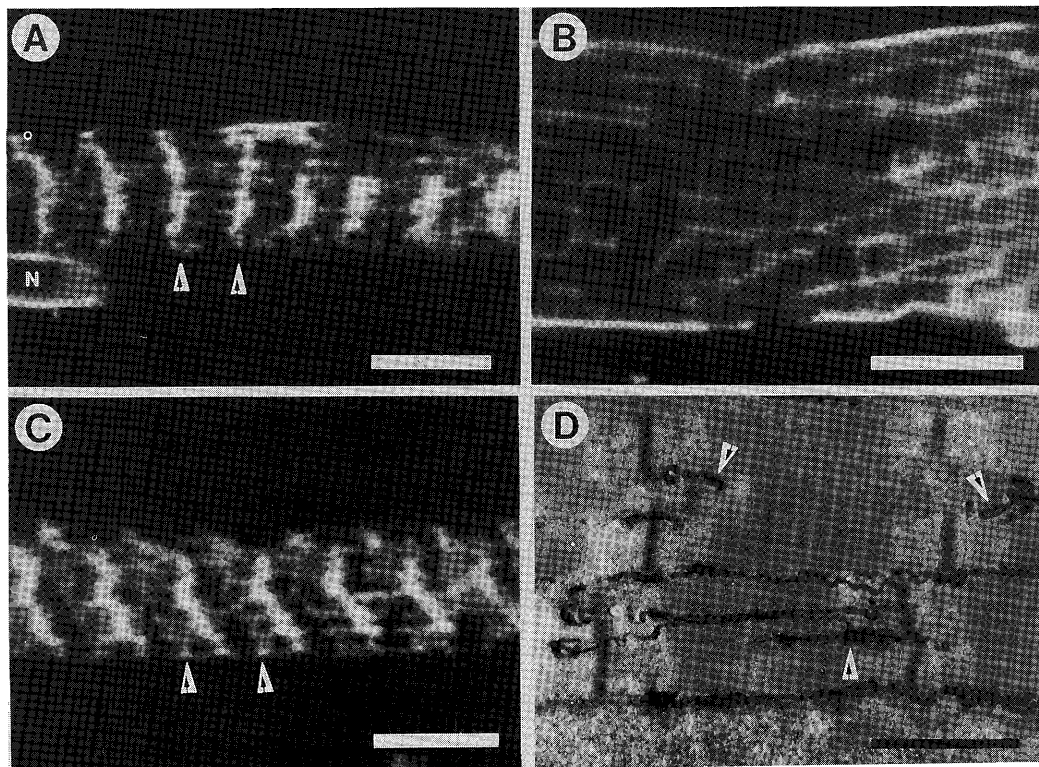


Fig. 3. Electron micrograph and confocal images of ALD fibers at E 18 (A and B) and E 19 (C and D). SR (arrow) is labeling clearly on the Z-line and nuclei (N) is also labeling at the periphery (A). T-tubule network increase all over the place in the fiber and make the transverse elements (B). SR (arrow) is also labeling on the M-line at E 19 (C) and T-tubule make some junctions (arrow) with SR, however, there is no regular arrangement at this stage (D). Scale bars = 5 μ m (A, B, and C), 1 μ m (D).

する様子が観察された (Fig. 1 C, 2 C, 矢印). E 16 には ALD 及び PLD 共に個々の筋線維は筋原線維で満たされ, 核も筋線維の周辺部分へと移動した (Fig. 1 D, 2 A). また, ALD の場合 T 管は筋線維内部へと浸透していき徐々にネットワークを形成するが, その大部分は長軸方向の T 管により構成されている (Fig. 2 E, 3 B). ALD に関しては E 18 日目になると SR は Z 線上に明瞭に観察され (Fig. 3 C), T 管も筋線維全体に浸透してネットワークを形成するが, 未成熟の特徴を有している (Fig. 3 B). E 19 になると M 線上にも SR が形成されはじめ (Fig. 3 C), SR の分化がかなり進行したことを示している. 一方, T 管に関してはところどころに SR とのジャンクションを形成する部分が生じ

るが, その位置に規則性は認められない (Fig. 3 D). E 19 になると, ALD (Fig. 4 A), PLD (Fig. 4 B) 共に, T 管のネットワークが筋線維全体にはりめぐらされ, 横断方向の T 管も頻繁に観察されるようになる. また, 筋細胞の表面膜への結合も増加する. しかし, 個々の T 管はいまだに若干のちぢれが観察され, 幼若期の特徴を残している. またこの時点では, T 管の分化に ALD と PLD の違いが認められず PLD における急激な発達が示唆される. E 21 (孵化直前, 通例受精後 21 日目に孵化する) になると, T 管のネットワークそのもののパターンには特に顕著な変化は認められないが, 個々の T 管は非常にスムーズになり幼若期の特徴が消失する (Fig. 4 C, D). D 3 にはトライアドの数が ALD

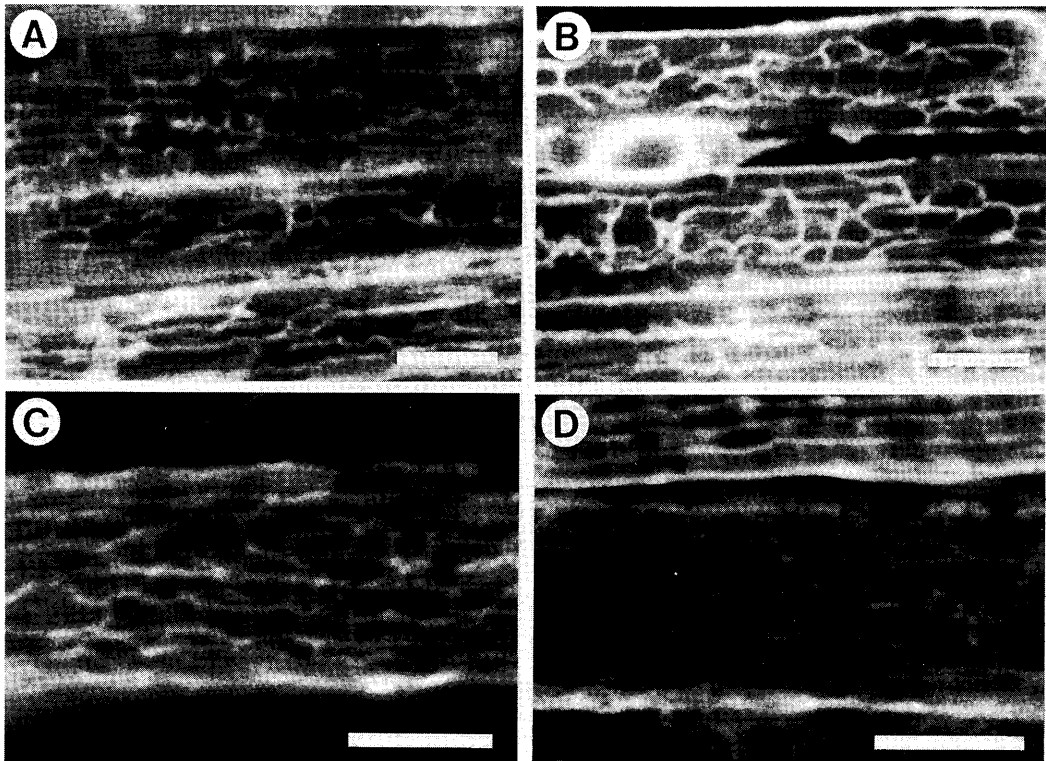


Fig. 4. Confocal images of E 19 and E 21 of ALD (A and C) and PLD (B and D) fibers. Longitudinal and transverse elements of the T-tubule network are present in all fibers and have similar arrangements in ALD and PLD fibers at this stage, however, T-tubules still have primitive characteristics (A and B). Primitive characteristics of T-tubule disappear and become smooth at E 21 (C and D). Scale bars=10 μ m (A and B), 5 μ m (C and D)

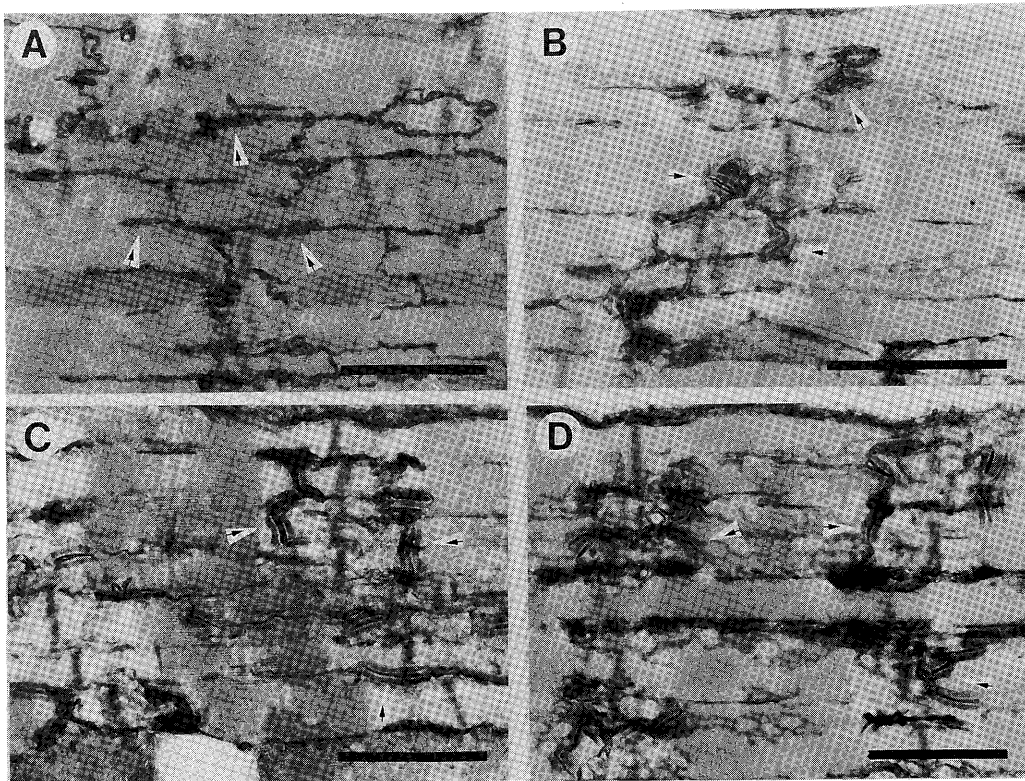


Fig. 5. Electron micrographs of ALD at D3 and D20 (A and C) and PLD at D3 and D20 (B and D). Number of triad (arrow) increases in both ALD (A) and PLD (B) at this stage. But, most of these triads locate randomly in fibers. In the PLD, most triads locate at the A-I junction (arrows), however, some are still longitudinal orientation at D3 (B). Scale bars=1 μ m.

(Fig. 5A) 並びに PLD (Fig. 5B) において増加するのが観察されるが、その位置に一定の規則性は認められない。また、トライアドの増加は PLD が ALD に比較して顕著であり、内膜系の発達の度合が逆転したことを示している。D20 にはトライアドの数が顕著に増加すると共に A-I ジャンクション上に移動し (Fig. 5C, D), その一部は縦断方向から横断方向へと回転する。このトライアドの移動と方向の変化については以下に別項目として詳しく記載した。PLD に関しては、D15 には大部分のトライアドが横断方向に回転し、A-I ジャンクション上に 2 重のラインを形成して細胞内膜系の分化がほぼ完了し、その後顕著な変化を認めない (Fig. 6A, 6D, 6F)。一方、ALD に関しては D15 の時点ではトライアドは依然無秩序な配列を示

しており (Fig. 6A), D20 の時点で Z 線を挟んで 2 重のラインを形成する (Fig. 6C)。D30 によりやうく大部分のトライアドがその方向を変化させる (Fig. 6E)。

B. 発育に伴うトライアドの形成と位置の変動

興奮収縮連関の主体を担う特殊構造体であるトライアドの形成並びにその後の加齢変化を Fig. 7 に示した。Fig. 7 の一連の電子顕微鏡写真は ALD のものである。トライアドは D1 にはかなり明確に形成されてくる (Fig. 7A)。しかし、SR とトライアドを形成している T 管は肥大しており、すべて縦断方向 (筋線維の走行方向) を向いているという極めて初期の特徴を示している。また、その存在している位置に一定の規則性は認められない。D15 には T 管が細くなり、SR との間の JG が明瞭になってく

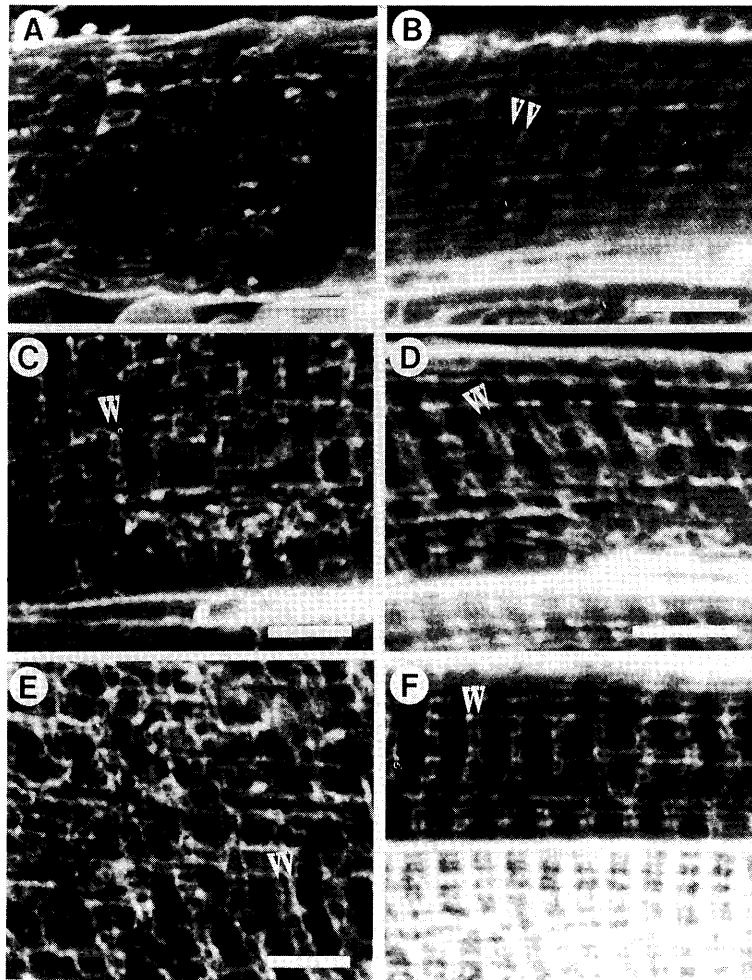


Fig. 6. Confocal images comparing distribution of T-tubules in ALD at D 15 (A), D 20 (C), and D 30 (E), with PLD at the same age (B, D, and F). At D 20, both muscles have two T-tubule networks per sarcomere, close to the A-I junction (arrows). The T-tubule networks in the ALD are discontinuous across the fiber, and have considerable longitudinal components at both D 20 (A) and D 30 (E). T-tubule networks in PLD have a more ordered transverse orientation, are more continuous, and have fewer longitudinal connections. Scale bars=5 μ m.

る (Fig. 7B). また、すべてのトライアドは A-I ジャンクション上に配列されているが、依然として縦断方向を維持している。D 30 (Fig. 7C) になるとトライアドは、A-I ジャンクション上で横断方向(筋線維の走行方向と直角方向)にその方向を変化させる。Z 線をはさんで 2 本のトライアドが向き合うという成熟したパターンが完成されている。発育に伴うトライアドの変化は、トライアドが縦断方向に無作為に形成

され、A-I ジャンクション上に縦断方向を維持したまま移動し、最終的に横断方向にその位置を変化させるとまとめることができる。筋細胞内のトライアドの位置の移動がその方向の変化に先んじて起こり、最終的に方向が変化してトライアドが完成する。

C. 発育に伴う nitrendipine (NDP) の結合量の変化

発育に伴う ALD 及び PLD における NDP

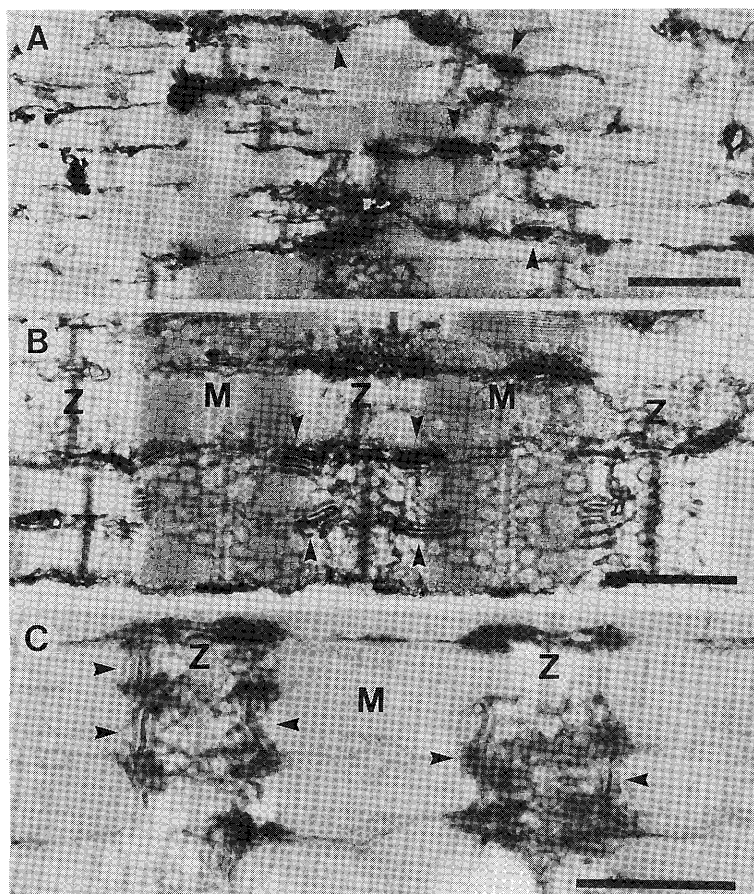


Fig. 7. Electron micrographs of ALD at D 1 (A), D 15 (B), and D 30 (C). Following the development of T-tubule networks, some triads (arrows) are found with longitudinal orientation (A). Most of triads (arrows) are located on the A-I junction, but still have longitudinal orientation at D 15 (B). All triads (arrows) rotate for transverse orientation on the A-I junction at D 30 (C) and finish the development of the triads. M : M-line, Z : Z-line, Scale bars=1 μ m.

結合量の変化を Fig. 8 に示した。この NDP の結合量の変化は nitrendipine-sensitive のカルシウムチャンネル形成の過程を反映し、しいては T 管の機能的特性の発達を反映しているといえる。両筋共に E 9 より結合が始まり、E 12 まで増加が認められた。その後、E 16 まで一定の値を保ち、その後 D 9 まで急激な増加が再び認められた。それ以降は D 30 まで一定の水準を維持して、変化は認められなかった。E 16 からの上昇の程度は、ALD が PLD に比較して若干大きい傾向が認められたが、D 9 以降については、両筋の間に顕著な差は認められなかつ

た。NDP の結合は、E 9 から E 12 までと、E 16 から D 9 までの 2 相性の増加パターンを示した。

IV. 考 察

T 管と SR の形成以前、すなわちトライアド形成以前のカルシウムの放出は PC により行われ、この PC は筋原線維の形成初期段階に筋線維周辺部分に形成されることが報告されている³⁴⁾。T 管の形成は筋管細胞 (myotube) が筋原線維に移行する時点 (E 15~E 16) において筋線維内部に観察された (Fig. 5 B)。この特徴

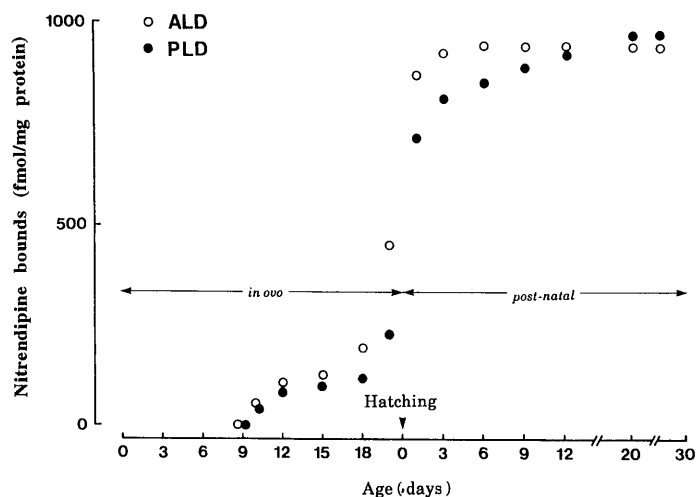


Fig. 8. Changes in nitrendipine binding in ALD and PLD muscles during in ovo and post-natal development.

はALD, PLD 両筋共に認められ, さらにT管の発生はALDがPLDに先んじて起こったことから, T管の発生は遅筋線維が速筋線維に比較して早いと考えることができる. 一方, SRの発生はT管の発生に先んじて起こることも報告されている^{13,44)}. Ca^{2+} の出納に関与する筋細胞内部の主な構造体 (SR, トライアド, 等) は発生の段階では無秩序な配列を示しているが, 発育に伴いSRはZ線上及びM線上に配列され, トライアドはA-Iジャンクション上 (動物あるいは筋肉の種類によってはZ線上) に配列される^{16,48)}. これら一連の興奮収縮連関に関与している筋細胞内膜系は, 筋線維の形成段階のかなり初期の時点でそれぞれ独立して発生するものと考えられる. 一方, SRの発生はT管の発生に先んじて起こり, T管が発生する時点ですでにZ線上に配列されている (Fig. 6A). また, Ca^{2+} をATPを利用してSRに能動的に取り込むATPaseは筋管細胞の形成が始まるE6の時点で形成されることが報告されている²⁴⁾.

T管とSRに局在するカルシウムチャンネルの発生と分化に関する報告は少なく, 不明な点が多い. ニワトリ骨格筋のRRには, α 及び β の2種類のアイソフォームが存在し¹⁾, α アイソフォームは発育の初期に出現し, β アイソ

フォームはE15の時点から出現すると報告されている³⁹⁾. この β アイソフォームの出現の時期は, 本研究において認められたT管の発生の時期 (E15~E16) に一致する. 従って, PCのRRは α アイソフォームのみを有し, T管が発生して後に形成されるトライアドのRRは α 及び β の2種類のアイソフォームを有するものと思われる.

ニワトリ胎児の場合, E5の時点ですでに脚の動きが観察されるため, 非常に幼若な筋においてT管は興奮収縮連関の本質そのものには関わってはいないと考えられる. すなわちT管形成以前の骨格筋においては, PCがトライアドの代償作用を行っている. T管の発生に伴いPCの数は減少する⁴³⁾のに対し, T管に特異的に存在するカルシウムチャンネル (DHPR) におけるNDPの結合量は発育に伴い増加する (Fig. 8). すなわち, T管形成以前に結合が観察されるNDPはPCのNDPレセプターに結合するものと考えられる. PCの減少とT管の形成は互いに密接な関係にあり, E16以前はPCが優位でありそれ以降の時期には両者の関係は逆転する⁴³⁾ものと考えられる.

T管の発生のメカニズムに関しては不明な点が多く, いまだに一致した結論は得られていない. E9からE15にかけて観察される筋線維

表面膜の陥没がT管の前構造体か、あるいは発育に伴い全く分化しない筋細胞膜の陥没なのかは明らかではない。また、発育期のウサギ骨格筋細胞の周辺部分に観察される陥没構造体はT管の抗体により染色されることも報告されている⁴⁸⁾。これに対してニワトリ骨格筋の場合は、T管の発生と分化がウサギ等の哺乳類の骨格筋細胞に比較して極めて速く、T管の分化と幼若期の筋細胞表面膜にみられる陥没構造体の間には特異的な関係が認められなかった。一方で、T管の形成は、筋細胞内部の収縮蛋白質の発生と分化に密接に関係していると考えられる。E9からE15までの間、筋管細胞は筋原線維で満たされておらず、非常に多くのPCを有している。E16以降は筋管細胞は筋原線維で満たされ、筋管細胞から筋線維へと形態を変化させる。従って、同じ筋細胞内膜系でもSRとT管の発生はそれぞれ別の因子によって調節され、先に発生かつ配列されているSRに遅れてT管が発生して分化し、最終的には両者によってトライアドが形成されることが明らかになった。

NDPの結合はE9より観察され、徐々に増加を示した後、E15からE18までは一定の値を示した(Fig. 8)。その後再び孵化前後に急激な上昇を示して、以後一定の値を示した。これらの発育のパターンは本研究において電子顕微鏡あるいは共焦点レーザー走査蛍光顕微鏡によって観察された、T管あるいはトライアドの発育のパターンに一致する。すなわち、T管発生以前のNDPはPCのDHPRに結合し、PC減少後の結合はT管への結合を示している。本研究においてNDPの結合量はALD、PLD共に発育に伴い増加した。基本的な増加のパターンにALDとPLDに差は認められないものの、孵化前後の増加率はALDがPLDに比較して大きい傾向を示した。しかし、この傾向も孵化後12日目には観察されなくなり、PLDの急激な結合量の増加、すなわちT管の発達を示している。これらの結果も、本研究結果において認められた孵化以降のPLDにおけるT管の急激

な発達を反映している。DHPRにも4種類のサブユニットがあることが報告され、 $\alpha 1$ サブユニットがDHPRの4量体を形成し^{11,12)}、細胞膜の脱分極に伴う Ca^{2+} 放出に必要不可欠⁴⁹⁾であることが報告されている。興奮収縮連関の機能が欠如しているdysgenic mouseには、T管、SR、及びトライアドはそれぞれ存在するものの、DHPRが認められないことが報告されている⁴²⁾。しかし、このマウスの培養筋細胞に通常マウスのDHPRのcDNAを移入すると、DHPRが発現して4量体を形成することも報告されている⁴²⁾。従って、DHPRの $\alpha 1$ サブユニットがT管とSR間の情報伝達の必須因子であり、興奮収縮連関そのものを支配していると考えられる。速筋線維の場合、大部分のDHPRはT管の、特にSRとのジャンクションを形成している部分に局在している^{10,32)}。SRの発生がT管の発生に先んじることから、T管におけるDHPRの局在はDHPRそれ自身よりもむしろ、RRの発生に関係してもたらされるものと考えられる。また、DHPRのサブユニットの構成の相違が発育初期と後期におけるDHPRの存在位置を決定しているという報告も^{8,9)}あり、さらに検討を要する。

本研究において観察されたニワトリ骨格筋細胞内膜系の分化のパターンを哺乳類の筋細胞¹⁶⁾と比較すると、多くの点で一致が見られた。また、発育に伴う核の筋細胞周辺部分への移動³²⁾、神経支配^{29,30)}、ミオシンアイソフォームの分化^{2,3,27)}は筋細胞内膜系の分化とは直接関連して進行しないことも明らかとなった。さらに本研究結果では、筋原線維の分化と内膜系の分化は二段階に分かれて進行することが明らかとなった。すなわち、第一段階では筋管細胞における筋原線維の発生とPCによる機能発現であり、第二段階では筋線維の完成とT管の発生に伴うトライアドの形成による機能発現である。また、その他の速筋型Ca-ATPaseの発現²⁴⁾や α アクチニンの発現²¹⁾もこの第二段階の時期である。これらの結果は筋細胞内膜系の分化と収縮蛋白質は両段階共に同一の制御機構

に支配されている可能性を示唆している。

V. 結 論

本研究では、異なるタイプのニワトリ骨格筋線維における T 管と SR、さらにはその両者によって構成されるトライアドの発生と分化の特徴を検討し、異なるタイプの筋線維における興奮収縮連関の機能分化の特徴をその構造的側面から検討することを目的とした。実験動物には受精後12日目(E12)から、孵化後30日目(D30)までの白色レグホンをを用いて、遅筋として anterior latissimus dorsi (ALD)、速筋として posterior latissimus dorsi (PLD) を被検筋に用いた。両骨格筋を速やかに摘出し、電子顕微鏡及び共焦点レーザー走査蛍光顕微鏡による T 管及び SR を直接観察するための処理を施した。また、T 管に特異的に存在するカルシウムチャンネルの発生並びに発育に伴う変化は nitrendipine の結合量により検討した。

ALD の場合 T 管は筋細胞内部に E15 の時点で突然観察された。一方 SR は E14 に Z 線上に配列されるが、未発達であり、この時点(E16)では T 管と SR によるトライアドは形成されてはいない。PLD の場合 T 管は E16 の時点、また SR は E15 の時点で ALD と同様に形成された。したがって、これらの内膜系の発生は、遅筋が速筋に先んじることが示唆された。

トライアドは E18 の筋細胞より観察されるが、この時点ではすべてのトライアドは縦断方向（筋原線維の走行にそった方向）を保持し、筋細胞内の位置についても一定の規則性は認められない。ALD, PLD 共に発育に伴い T 管は発達し、筋線維全体にネットワークを張り巡らせる。これに伴いトライアドも増加し、D15 の時点ではすべてのトライアドが A-I ジャンクション上に配列されるが、依然として縦断方向を保持している。また、D20 になると PLD は大部分のトライアドが横断方向（筋原線維の走行に対して直角の方向）を示すのに対し、ALD は D30 の時点でトライアドの分化が完了する。

したがって、筋細胞内膜系の発生後の分化の速度は PLD が ALD に比較して速いと推察される。

以上のような結果より、興奮収縮連関に直接関与する内膜系の分化は筋線維タイプの分化とは関連せず、異なる因子により支配されて独立して進行する可能性が示唆された。

本研究は主としてペンシルバニア大学医学部細胞発生生物学教室 (Clara Franzini-Armstrong 教授) において行われた。

文 献

- 1) Airey, J. A., Beck, C. F., Murakami, K., Transley, S. J., Deerinck, T. J., Elisman, M. H. & Sutko, J. L. (1990) Identification and localization of two triad junctional foot protein isoforms in mature avian fast twitch skeletal muscle. *J. Biol. Chem.* **265**, 14187-14194
- 2) Bandman, E., Matsuda, R. & Strohman, R. C. (1982) Developmental appearance of myosin heavy and light chain isoforms in vivo and in vitro in chicken skeletal muscle. *Dev. Biol.* **93**, 508-518
- 3) Bandman, E., Matsuda, R. & Strohman, R. C. (1982) Myosin heavy chains from two different adult fast-twitch muscles have different peptide maps but identical mRNAs. *Cell* **29**, 645-660
- 4) Beam, K. G. & Knudson, C. M. (1988 a) Calcium currents in embryonic and neonatal mammalian skeletal muscle. *J. Gen. Physiol.* **91**, 781-798
- 5) Beam, K. G. & Knudson, C. M. (1988 b) Effect of postnatal development on calcium currents and slow charge movement in mammalian skeletal muscle. *J. Gen. Physiol.* **91**, 799-816
- 6) Block, B., Leung, K. P., Campbell, K. P. & Franzini-Armstrong, C. (1988) Structural evidence for direct interaction between the molecular components of the transverse tubules/sarcoplasmic reticulum junction in skeletal muscle. *J. Cell Biol.* **107**, 2587-2600
- 7) Butler, J. & Cosmos, E. (1981) Differentiation of the avian latissimus dorsi primordium: Analysis of fiber type expression using the myosin ATPase histochemical reaction. *J. Exp. Zool.* **218**, 219-232
- 8) Catterall, W. A. (1991) Excitation-contraction coupling in vertebrate skeletal muscle: a tale of two calcium channels. *Cell* **64**, 871-874
- 9) De Jongh, K. S., Merrick, D. K. & Catterall, W.

- A.(1989) Subunits of purified calcium channels: A 212-kDa form of $\alpha 1$ and partial aminoacid sequence of a phosphorylation site of an independent β subunit. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **86**, 8585-8589
- 10) Flucher, B. E., Morton, M. E., Froehner, S. C. & Daniels, M. P. (1990) Localization of the $\alpha 1$ and $\alpha 2$ subunits of the dihydropyridine receptor and ankyrin in skeletal muscle triads. *Neuron* **5**, 339-351
 - 11) Flucher, B. E., Terasaki, M., Chin, H., Beeler, T. J. & Daniels, M. P. (1991) Biogenesis of transverse tubules in skeletal muscle in vitro. *Dev. Biol.* **145**, 77-95
 - 12) Flucher, B. E., Phillips, J. L. & Powell, J. A. (1991) Dihydropyridine receptor α subunits in normal and dysgenic muscle in vitro: expression of $\alpha 1$ is required for proper targeting and distribution of $\alpha 2$. *J. Cell Biol.* **115**, 1345-1356
 - 13) Flucher, B. E., Takekura, H. & Franzini-Armstrong, C. (1993) Development of the excitation-contraction coupling apparatus in skeletal muscle. II. Association of sarcoplasmic reticulum and transverse tubules with myofibrils. *Dev. Biol.* in press.
 - 14) Forbes, M. S., Plantholt, B. A. & Sperelakis, N. (1977) Cytochemical staining procedures selective for sarcotubular systems of muscle: modification and applications. *J. Ultrastruct. Res.* **60**, 306-327
 - 15) Franzini-Armstrong, C. (1970) Studies of triad. I. Structure of the junction in transverse tubules. *J. Cell Biol.* **47**, 488-499
 - 16) Franzini-Armstrong, C. (1991) Simultaneous maturation of transverse tubules and sarcoplasmic reticulum during muscle differentiation in the mouse. *Dev. Biol.* **146**, 353-363
 - 17) Franzini-Armstrong, C. & Nunzi, G. (1983) Junctional feet and particles in the triads of a fast-twitch muscle fiber. *J. Muscle Res. Cell Motility* **4**, 233-252
 - 18) Franzini-Armstrong, C., Pincon-Raymond, M. & Rieger, F. (1991) Muscle fibers from dysgenic mouse in vivo lack a surface component of peripheral couplings. *Dev. Biol.* **146**, 364-376
 - 19) Franzini-Armstrong, C. & Porter, K. R. (1964) Sarcolemmal invagination constituting the T-system in fish muscle fibers. *J. Cell Biol.* **22**, 675-696
 - 20) Gardahaut, M. -F., Rouaud, T., Renaud, D. & Douarin, G. L. (1988) Developmental changes in myosin isoforms from slow and fast latissimus dorsi muscles in the chicken. *Differentiation* **37**, 81-85
 - 21) Hayworth, L. J. & Schwartz, R. J. (1986) Sequential expression of chicken actin genes during myogenesis. *J. Cell Biol.* **102**, 1485-1493
 - 22) Jorgensen, A. O., Kalnins, V. I., Zubrzycka, E. & MacLennan, D. H. (1977) Assembly of the sarcoplasmic reticulum. Localization by immunofluorescence of sarcoplasmic reticulum proteins in differentiating rat skeletal muscle cell cultures. *J. Cell Biol.* **74**, 287-298
 - 23) Jorgensen, A. O., Shen, C. -Y., Arnold, W., Leung, A. T. & Campbell, K. P. (1989) Subcellular distribution of the 1, 4-Dihydropyridine receptor in rabbit skeletal muscle in situ: An immunofluorescence and immunocolloidal gold labeling study. *J. Cell Biol.* **109**, 135-147
 - 24) Kaprielian, Z. & Fambrough, D. M. (1987) Expression of fast and slow isoforms of the Ca^{2+} -ATPase in developing chick skeletal muscle. *Dev. Biol.* **124**, 490-503
 - 25) Kelly, A. M. (1980) T tubules in neonatal rat soleus and extensor digitorum longus muscles. *Dev. Biol.* **80**, 501-505
 - 26) Lai, A. F., Erickson, H., Block, B. A. & Meissner, G. (1987) Evidence for a junctional feet-ryanodine receptor complex from sarcoplasmic reticulum. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **143**, 704-709
 - 27) Lowey, S., Benfield, P. A., LeBlanc, D. D. & Waller, G. S. (1983) Myosin isozymes in avian skeletal muscle. I. Sequential expression of isozymes in developing chicken pectoralis muscle. *J. Muscle Res. Cell Motility* **4**, 696-716
 - 28) Marks, A. R., Taubman, M. B., Saito, A., Dai, Y. & Fleischer, S. (1991) The ryanodine receptor/junctional channel complex is regulated by growth factors in a myogenic cell line (abst.). *Biophys. J.* **59**, 202 a
 - 29) McLennan, I. S. (1983) Differentiation of muscle fiber types in the chicken hindlimb. *Dev. Biol.* **97**, 222-228
 - 30) McLennan, I. S. (1983) The development of the pattern of innervation in chicken hindlimb muscles: evidence for specification of nerve-muscle connection. *Dev. Biol.* **97**, 229-238
 - 31) Ogata, T. (1988) Morphological and cytochemical features of fiber types in vertebrate skeletal muscle. *CRC Critical Rev. Anat. Cell Biol.* **1**, 229-275
 - 32) Ontell, M. & Kazeka, K. (1984) The organogenesis of murine striated muscle: a cytoarchitectural study. *Am. J. Anat.* **171**, 133-148
 - 33) Peter, J. B., Barnard, R. J., Edgerton, V. R., Gillespie, C. A. & Stempel, K. E. (1972) Metabolic profiles of three fiber types of skeletal muscle in guinea pig and rabbits. *Biochemistry* **11**, 2627-2633

- 34) Porter, K. R. & Palade, G. E. (1957) Studies on the endoplasmic reticulum. III. Its form and distribution in striated muscle cells. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* **3**, 269-300
- 35) Sanchez, J. A. & Stefani, E. (1978) Inward calcium current in twitch muscle fibres of the frog. *J. Physiol.* **283**, 197-209
- 36) Schmid, A., Renaud, J. F., Fosset, M., Meaux, J. P. & Lazdunski, M. (1984) The nitrendipine-sensitive Ca^{2+} channel in chick muscle cells and its appearance during myogenesis *in vitro* and *in vivo*. *J. Biol. Chem.* **259**, 11366-11372
- 37) Sommer, J. R. & Waugh, R. A. (1975) The ultrastructure of the mammalian cardiac muscle cell with special emphasis on the tubular membrane system. *Am. J. Pathol.* **82**, 192-232
- 38) Spray, T. L., Waugh, R. A. & Sommer, J. R. (1974) Peripheral couplings in adult vertebrate skeletal muscle. Anatomical observations and functional implications. *J. Cell Biol.* **62**, 223-227
- 39) Sutko, J. L., Airey, J. A., Murakami, K., Takeda, M., Beck, C., Deerinck, T. & Ellisman, M. H. (1991) Foot protein isoforms are expressed at different times during embryonic chick skeletal muscle development. *J. Cell Biol.* **113**, 793-803
- 40) Sutko, J. L. & Kenyon, J. L. (1990) Action of ryanodine. *J. Gen. Physiol.* **96**, 439-441
- 41) Sweeney, L. J., Kennedy, J. M., Kokjohn, K. & Kelly, S. W. (1989) Evidence for expression of a common myosin heavy chain phenotype in future fast and slow skeletal muscle during initial stages of avian embryogenesis. *Dev. Biol.* **133**, 341-174
- 42) Tekekura, H., Bennet, L., Tanabe, T., Beam, K. & Franzini-Armstrong, C. (1993) Tetrad are restored in dysgenic myotubes transfected with cDNA for skeletal muscle(abst.). *Biophys. J.* **64**, A 241
- 43) Takekura, H. & Franzini-Armstrong, C. (1993) Development of the excitation-contraction coupling apparatus in skeletal muscle. I. Peripheral and internal calcium release units are formed sequentially. *J. Muscle Res. Cell Motility* in press.
- 44) Tekekura, H. & Franzin-Armstrong, C. (1993) Differentiation of membrane systems during development of slow and fast skeletal muscle fibres in chicken. *J. Muscle Res. Cell Motility* in press.
- 45) Tanabe, T., Beam, K. G., Powell, J. A. & Numa, S. (1988) Restoration of excitation-contraction coupling and slow calcium current in dysgenic muscle by dihydropyridine receptor complementary DNA. *Nature (Lond.)* **336**, 134-139
- 46) Veratti, E. (1902) *Ricerca sulla fine struttura della fibra muscolare striata*. *Mem. Ist. Lombardo Cl. Sci. Mat. Nat.* **19**, 87-133
- 47) Yoshioka, T. (1982) Width of junctional gap of the triad at various sarcomere length in frog skeletal muscle. *Jpn. J. Physiol.* **32**, 475-479
- 48) Yuan, S., Arnold, W. & Jorgensen, A. O. (1991) Biogenesis of transverse tubules and triads: immunolocalization of the 1, 4-dihydropyridine receptor, TS 28, and the ryanodine receptor in rabbit skeletal muscle developing *in situ*. *J. Cell Biol.* **112**, 289-301

第 38 回 中 部 生 理 学 談 話 会

日 時：平成 3 年 11 月 1 日(金)，2 日(土)

会 場：京都大学霊長類研究所

当番幹事：京都大学霊長類研究所神経生理研究部門 久保田 競

* は非会員を示す

1. 微小重力下での正常及び片側前庭破壊ハムスターの姿勢変化

桜木惣吉，渡邊 悟*，森 滋夫*，*高木貞治*，高林 彰**（愛知教育大，養護教育・名大，環医研*・藤田保健衛生大**）

宇宙空間における無重力環境下での姿勢制御系変容のメカニズムを明らかにするための基礎実験として，放物線飛行中の正常（3 匹）及び片側前庭破壊（飛行 6～7 週前に施行）ハムスター（3 匹）の姿勢・行動を VTR に記録し，解析した。微小重力下では，正常ハムスターは四肢を伸展し背を伸ばし尻尾をたてた姿勢をとったが，片側前庭破壊ハムスターは，正常ハムスターよりやや遅れて四肢を伸展し，空中に浮上した状態では頭部を障害側を下にする方向（地上における頭部の変位と同一方向）へ回転させ，さらにそれに引き続いて体幹部の回転を示した。片側前庭破壊後に見られる姿勢変化の 1 つである頭部の長軸に対する回転（roll head tilt）は，片側前庭破壊直後ではおよそ 40～80°であったが，飛行直前では 10～20°であり部分代償期と考えられたが，飛行中の微小重力期には，roll head tilt は再び増大し，体の長軸を軸とする回転を引き起こした。両側の前庭神経核の活動の不均衡によって頭部の変位が引き起こされると考えられているので，今回の実験結果については，前庭神経核を含めた中枢神経における入力系の統合の不均衡が，微小重力状態において再び増大したと考えることができる。

2. ラットトレッドミル運動負荷と線条ドーパミン代謝

服部 敏，李 倩若*，*松井宜夫，西野仁雄*（名市大，医，整形外科・第二生理*）

ラット線条体細胞外液中のドーパミン（DA）およびその代謝産物濃度が，運動により如何に変化するか，また運動強度との間に相関があるか否かを調べた。自作したトレッドミルを用いラットを種々の速度で走る様に訓練した後，左線条体内に微小透析用チューブを挿入した。覚醒安静時，低速（660 cm/分）および高速（1800 cm/分）歩行時に 20 分間隔で灌流液を採取し，

HPLC 法で DA，DOPAC および HVA 濃度を測定した。

DA，DOPAC，HVA はいずれも歩行運動により増加した。低速歩行時には，DA は安静時の約 150%レベルに，DOPAC，HVA は約 120%レベルに，また高速歩行時には，DA，DOPAC，HVA はいずれも安静時の約 150%レベルに増加した。

DA の増加は歩行開始後急激に認められ，30～40 分後に最高値に達した。一方 DOPAC と HVA の増加は DA に比し緩徐で，最高値はそれぞれ約 40～60 分後および約 100～120 分後に認められた。

以上の結果より，線条体細胞外液中の DA および代謝産物濃度は歩行運動により増加し，しかも歩行速度すなわち運動強度に相関して増大することが判明した。

3. 一日のうち一定期間のみ繰返し寒冷暴露を受けた後のラットに形成される体温及び体温調節反応の日内リズム

紫藤 治，桜田惣太郎，永坂鉄夫（金沢大，医，第一生理）

我々は先に，10 日間以上にわたり毎日，暗期の後半 5 時間のみ暑熱に暴露したラットを中性温度域に移すと，視床下部温（Thy），熱産生量（*M*）がかつて暑熱暴露を受けた時間にのみ下降することを報告した。逆に一日数時間のみ寒冷に暴露したラットで体温，熱平衡，行動がどのように変化するかにつき検討することを目的にこの研究を行った。ウイスター系ラットを 3～4 週間にわたり毎日暗期の後半 6 時間のみ 3℃に暴露し，それ以外は 24℃で飼育した群（CED），及び 24℃で飼育した対照群（CN）に分けた。寒冷暴露時間中 CED の Thy は同時刻の CN の値に比べ低くなった。馴化期間終了後，ラットを 24℃に保った直接熱量計に移し，Thy，熱放散量（*H*），*M*，摂食活動量（FA），行動量（BM）を 2 日間連続測定した。馴化終了後 1 日及び 2 日目に，Thy，*H*，*M*，及び BM が，かつて寒冷暴露を受けた時間帯に限り減少した。これはかつての寒冷暴露に対する自律反応が記憶されたことによる

と結論する。

4. 二酸化炭素適用による皮膚血管拡張の環境温度による修飾

永坂鉄夫, 桜田惣太郎, 田辺 実 (金沢大, 医, 第一生理)

相対湿度40%, 気温20℃, 28℃, 35℃の三種の環境で仰臥安静にした被験者の前額, 前腕, 手指の皮膚血流をレーザー Doppler 血流計で測定しながら, 二種類の CO₂ 溶液 (a: 水 + CO₂, b: 水 + 酢酸トコフェロール等 + CO₂) 及び N₂ 溶液 (c: 水 + N₂) を, それぞれ15, 30, 45秒間局所適用した。気温28, 35℃では, CO₂ 適用により前額, 前腕で皮膚血流の著明な増加 (適用後2~3分間で最高値)が見られたが, 前額での血管拡張反応は, 気温20℃では僅かであった。手指では, いずれの気温でも CO₂ による血管拡張の程度が少なかった。溶液 (a) の30, 40秒間適用では, 皮膚血管拡張反応は一過性であったが, 溶液 (b) では高い血流レベルが適用後比較的長く持続する場合もあった。逆に15秒間適用では, 溶液 (b) の血管拡張効果は溶液 (a) のそれより小さかった。含有薬物により引き起こされる一過性の皮膚の冷涼感などが関与する可能性も考えられた。CO₂ 溶液の適用による皮膚血管拡張反応が環境温度にも影響されること, 皮膚血管の種類, すなわち表在の細動脈が深部の動静脈吻合か, などによりその反応に差異のあることなどが確認できた。

5. Desipramine の血圧反射に及ぼす影響

三枝岳志, *P. K. Dorward*, 入来正躬 (山梨医大, 第一生理・豪, Baker 医学研究所*)

三環系抗うつ薬の副作用として, 心拍数の上昇, 体位性低血圧などの循環調節異常が報告されている。そこで我々は無麻酔家兎を用いて三環系抗うつ薬 Desipramine (DMI) の血圧反射に及ぼす影響を, 腎交感神経活動 (RSNA) を指標にして検討した。実験に先立ち, 血圧を変化させるための血管周囲バルーン, 第IV脳室カテーテル, 及び RSNA 記録電極の慢性埋め込み手術を行った。実験は電極手術後6日目より行い, DMI の脳室内投与 (50 µg/kg) 及び血中投与 (33 µg/kg/min) 前後の血圧反射曲線の変化を比較した。

DMI 脳室内投与により, 安静時平均血圧 (MAP) 及び安静時 RSNA が低下した。また, RSNA 血圧反射は, 反射域, 反射利得共に著明に減少した。一方, 血中に DMI を投与した場合, RSNA 血圧反射曲線は広

い血圧範囲において全体的に下方移動すると共に, 反射域にも軽度な低下が認められた。

今回の結果より, DMI が中枢に作用した場合, 圧入力依存性の RSNA 血圧反射抑制を引き起こすことが明らかになった。一方, DMI を血中に投与した場合, 血圧反射の減弱に加えて圧入力非依存性の全般的な RSNA 抑制を引き起こすことが明らかとなった。

6. P 物質による血管平滑筋の弛緩と過分極

鈴木 光, 山本喜通, *三輪恭子 (名市大, 医, 第一生理)

モルモット頸動脈摘出標本をもちいて P 物質による血管弛緩作用を調べた。P 物質 (10~100 nM) を血管外側から投与しても膜電位は変化しなかったが, 内側から投与すると一過性に膜を過分極させた。ACh (0.1~1.0 µM) はどちら側から投与しても膜を過分極させたが, 内側から投与したほうがより速く大きな過分極を発生させた。平滑筋をノルアドレナリン (NA, 1~3 µM) で収縮させておくと, P 物質は一過性の, また ACh は持続性の弛緩を発生させ, これらの弛緩は内皮細胞を除去した血管では観察されなかった。高カリウム液 (29.6 mM) で筋を収縮させた時にも, P 物質と ACh はそれぞれ一過性ならびに持続性の弛緩を発生させたが, その振幅は NA 収縮の場合に比べ約 50%であった。ニトロアルギニン (10 µM) 存在下で, P 物質による弛緩は著明に変化しなかったが ACh による弛緩は振幅が半減し, 一過性になり, また高カリウム収縮時の P 物質や ACh による弛緩反応は抑制された。P 物質や ACh による膜過分極はニトロアルギニンで変化せず, 高カリウム液で抑制された。そこで, P 物質も ACh も内皮細胞から EDRF と EDHF を放出させ筋を弛緩させるが, P 物質のほうが ACh より膜過分極による弛緩作用が強いと思われた。P 物質は血管壁を通過しにくく, そこで外側投与で膜を過分極させなかったのであろうと推定した。

7. ヒトの傾斜体位における体液量変動 1 分波の作動機序

稲村欣作, 間野忠明, 岩瀬 敏, *山本清人 (名大, 環医研, 高次神経統御, 自律神経, 行動科学)

ヒトの静止立位では, 体液量変動 1 分波を介して身体動揺による筋ポンプ作用が, 重力による心臓充滿圧の低下を補償している。本研究では, 体傾斜により体液量変動 1 分波の作動機序に変化が起こるかを明らかに

にするため、下肢体流量変動1分波および下腿三頭筋組織血流、筋交感神経活動、下腿筋放電などの1分波を、 -15° head down tilt から 90° head-up tilt の間の6条件で測定分析した。その結果、以下の事項が明らかになった。

1) 体流量変動1分波の作動機序は、血液貯留の発生した部位や条件により変化する。能動的立位では身体動揺による筋ポンプ作用が働くが、受動的立位では働かない。しかし、反射性筋収縮による筋ポンプ作用は両者で働く。また、交感神経性反応は常に働くが、体傾斜を負荷するとその入力と反応経路が変る。

2) 受動的立位および角度の大きい head-up tilt においては、健康人でもしばしば起立性低血圧や起立性失神が出現する。その原因には身体動揺による筋ポンプ作用が働かないことによるところが大きい。

結論として、末梢血管の自動収縮により発生する体流量変動1分波は、各種の静止姿勢において血流再配分の役割を持つものといえる。

8. ビデオ顕微鏡によるツパイ唾液腺の水と粘液分泌の観察

寺川 進, 村上政隆 (生理研, 機能協関, 超微小形態生理)

ツパイ (食虫目) の顎下腺と舌下腺を摘出し、ナイフで細片に切り、ビデオ強化式のノマルスキー顕微鏡下に観察した。ビデオモニター上における倍率を6千倍とした。いずれの腺においても、acetylcholine 刺激によって分泌顆粒の開口放出反応が多数惹起された。開口放出頻度から、細胞のアゴニスト感受性が検定できた。顎下腺は isoproterenol にも反応したが、舌下腺は反応しなかった。K脱分極刺激で舌下腺の反応が見られたが、これは atropine によって抑えられたので、神経終末からの acetylcholine 放出によるものであることが分かった。舌下腺では、刺激によって腺房内腔が強く収縮し、その後内腔は潮の満干のように拡大収縮し、脈動を繰り返した。この運動は水分分泌を抑制する bumetanide で抑えられ、ギャップ結合の阻害剤である pentanol では抑えられなかった。内腔の拡大に先だって開口放出の像が得られ、開口した顆粒の大きさと内腔の拡大の幅との間に強い相関があった。従って、開口によって放出された粘液が腺房内腔を閉塞するために、定常的に分泌された水の流れが妨げられて、内腔の脈動運動が引き起こされるものと解釈できる。

9. カエル筋紡錘感覚神経終末部の三次元微細構造 河上敬介, 藤埴規明, 伊藤文雄 (名大, 医, 第二生理)

カエル筋紡錘での感覚機構を形態的側面から解明するため、急速凍結、deep-etching 法を単離筋紡錘に施し、その感覚神経終末無髄部の三次元構造観察を行った。筋紡錘は半腱様筋から単離した。筋紡錘は固定した後、通常の deep-etching 法に供し pt-c レプリカの作製とその電子顕微鏡観察を行った。感覚神経無髄部は内囊内に直径が $2\mu\text{m}$ 程度の筒様と直径 $0.1\sim 1\mu\text{m}$ を持つ数珠様の特徴的構造から同定された。これら無髄神経は 100nm 以下の厚さの鞘で包まれ、錘内筋および内囊内の mesh 構造と糸状 (直径 $2.5\sim 50\text{nm}$) 繊維により結ばれていた。また数珠様部内は neurofilament や小器官が比較的規則的に配列され、それらが形成する沢山の space から構成されていた。細胞内には中央に孔状構造を持つ粒子が特に P 面で豊富 ($500/\mu\text{m}^2$) に観察された。先の研究において、大型膜内粒子 (直径 $>12\text{nm}$) が mechano-sensitive ionic channel である可能性を報告している。本研究で観察した孔を持つ粒子の直径と密度が大型粒子のそれとよく一致した。

10. ヒト血漿低分子量フィブリノーゲンの $A\alpha$ 鎖の解析

中島 昭, 佐々木勸 (藤田保健衛生大, 医, 第一生理)

正常ヒト血漿フィブリノーゲン中に約30%存在する低分子量フィブリノーゲン(LMWF)の $A\alpha$ 鎖は C 末端領域を欠いており ($A\alpha'$ 鎖)、その分子量は不均一であることが報告されている。LMWF は Kabi 社ヒトフィブリノーゲン中にも存在するが、新鮮血漿からえたものと同一であるかどうかについては知られていない。また、 $A\alpha''$ 鎖は精製の途中で生じるものか、本来血中に存在するものかについても明確にされていない。これを明らかにするため以下の実験を行った。佐々木, 鬼頭により開発されたグリシン法を用いて、新鮮血漿及び Kabi フィブリノーゲンから LMWF を分離し、還元、S-ビリジルエチル化後、逆相系 HPLC で $A\alpha'$ 鎖を精製した。 $A\alpha'$ 鎖は $65\sim 29\text{kDa}$ の分子量をもつ数個の成分からなることが SDS-PAGE で示されたが、その移動度及びパターンは両者で差がなかった。また高濃度アプロチニン存在下、新鮮血漿から短時間に作成したフィブリンモノマーとグリシン法で分

離した LMWF を SDS-PAGE で比較したが A α' 鎖に差は認められなかった。

以上の結果から、A α' 鎖は精製の途中で血漿中に混在するプロテアーゼにより分解され生じたものではなく、血液中に既に存在していることが示唆された。さらに特異的なメカニズムにより LMWF が生成されることが推察された。

11. 網膜における一酸化窒素合成系

宮地栄一 (藤田保健衛生大, 医, 生理)

カメおよびコイ網膜の水平細胞内に刺入した微小電極より cGMP の細胞内投与を行ったところ、水平細胞の受容野縮小および入力抵抗増加がみられ、水平細胞間に存在する gap junction が遮断されたことを示す結果を得た。

アルギニンは一酸化窒素合成酵素 (NO synthase) により内皮細胞由来弛緩因子 (EDRF) の本態である一酸化窒素 (NO) を産生し、NO は可溶性 guanylate cyclase を活性化すると報告されている。そこでアルギニンを水平細胞内に注入したところ、cGMP 注入と同様の結果を得た。また、NO 合成酵素阻害剤である N-monomethyl-L-arginine をアルギニンと共に細胞内投与すると、アルギニンの効果は抑制された。

螢光色素 Lucifer yellow を cGMP あるいはアルギニンと同時に細胞内に注入したところ、色素の隣接細胞への拡散は完全に抑制され、形態学的にも gap junction の遮断状態が確認できた。

以上の結果から、cGMP が gap junction を遮断すること、そして NO 合成酵素が網膜にも存在することが強く示唆された。

12. 家兎門脈平滑筋細胞の膜電流に対する細胞内 pH の影響

飯野重夫, 岡城孝志, 林 博史, 徳納博幸*, 富田忠雄*(名大, 医, 第一内科・生理*)

生体にとって、種々の原因による pH 変化に対する反応は恒常性維持の点から重要な機能だと考えられる。今回我々は家兎門脈平滑筋から単離した細胞を用い、whole-cell clamp 法で膜電位を -80 mV に保持し 0 mV まで 400 ms の脱分極パルスを 15 秒毎にかけた時に観察される外向き電流を測定し、塩化アンモニウム (NH_4Cl) 投与時の細胞内アルカリ化及び除去時の酸性化の影響を検討した。

NH_4Cl 投与時に外向き電流が減少し除去時に増加

する細胞が最も多かった。持続した脱分極中に現れる自発性一過性外向き電流は多くの細胞で NH_4Cl 投与時に減少、除去時に増加がみられた。しかし、 NH_4Cl 投与時に変化がみられない細胞、除去時の増加がみられない細胞、投与時に外向き電流の増加がみられ除去時に元のレベルに戻る細胞もあった。これらは筋小胞体の関与が大きく、アルカリ化で Ca 取り込みが増加し細胞内 Ca を低下させ、Ca 依存性 K チャネルの活性を抑制し、逆に酸性化で Ca 放出が増加しチャネルの活性を上昇させる細胞や、筋小胞体の関与が小さく、細胞内側のアルカリ化がチャネルを直接活性化する影響が外向き電流の変化として表に現れる細胞が存在する可能性を示唆している。

13. ラット耳下腺細胞の膜電流に対する塩化アンモニウムの作用

林 常敏, 重富俊雄, 徳能博幸*, 富田忠雄*(名大, 医, 口腔外科・第一生理*)

ラット耳下腺の単離細胞の膜電流を whole-cell clamp 法で記録し、これに対する細胞内 pH の影響を調べるために塩化アンモニウム (NH_4Cl) や酪酸を作用させてみた。膜電位を -70 mV (K^+ の平衡電位) に保持し、 0 mV (Cl^- の平衡電位) までの脱分極パルスを繰り返し与えておき、細胞外に NH_4Cl ($10\sim 20$ mM) を作用させると、外向き及び内向き電流の増加がみられた。 NH_4Cl で発生する電流の性質はムスカリン受容体の刺激時にみられる Ca^{2+} 依存性の K^+ および Cl^- 電流と同じであった。 NH_4Cl による電流変化は、外液を酸性にしてアンモニア (NH_3) の解離を少なくすると減弱し、逆にアルカリにすると増強した。また、細胞内を酸性化すると考えられる酪酸の投与時や NH_4Cl の除去時には明確な反応を認めなかった。一方、 NH_4Cl の効果は細胞外の Ca^{2+} を除くと (1 mM EGTA を含む) 強く抑えられた。

以上の結果から、 NH_3 の細胞内への流入によって生ずる細胞内の H^+ イオン濃度の減少は、細胞内への Ca^{2+} の流入を促進し、その結果 Ca^{2+} 依存性の K^+ チャネルと Cl^- チャネルを活性化すると考えられた。

14. モルモット大静脈平滑筋に対する塩化アンモニウムの作用

*伊藤充彰, *江崎 稔, 松本俊広, 富田忠雄(名大, 医, 生理)

血管平滑筋の収縮が細胞内 pH によってどのように

変化するかを調べるため、モルモット大静脈を用いて塩化アンモニウム (NH_4Cl , 20 mM) および酪酸 ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$, 20 mM) を作用させ、その機械的応答および細胞内 Ca 濃度 (fura-2 蛍光) の変化を測定した。細胞内のアルカリ化および酸性化が起きることが推測される NH_4Cl および $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$ の投与で共に収縮がみられた。しかし、 NH_4Cl 投与時の収縮は弱く、洗い流し後に大きい収縮が発生した。 NH_4Cl 除去後の収縮は Na を除くと著しく増強した。 NH_4Cl の投与時の収縮は α 受容体遮断剤である phenoxybenzamine で抑えられたが、除去後の収縮および $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$ による収縮は著明な影響を受けなかった。K 拘縮の途中で NH_4Cl を与えると弛緩が、除くと拘縮の増大がみられた。細胞内 Ca は機械的応答と相関して増減した。この平滑筋では細胞内のアルカリ化で細胞内 Ca は減少し、酸性化で増加すると考えられるが、 NH_4Cl 投与時には神経からカテコラミンが放出され、その結果収縮が引き起こされると推測される。酸性化による Ca 増加は細胞外の Ca にあまり依存しないので、細胞内貯蔵部からの遊離が関与していると考えられる。

15. 培養骨格筋の SA チャネルにおけるアミノグリコシドの阻害効果

長谷川昇, 松田秀人, *石田和夫, *山守君子, 曾我部正博 (名大, 医, 第二生理)

Stretch Activated (SA) チャネルに対する特異的阻害剤を見つける目的で、培養トリ骨格筋にある 60 pS の S 型と、190 pS の強い電位依存性を示す L 型の 2 種類の SA チャネルを用いて、種々の薬物をスクリーニングした。その結果、アミノグリコシドの一種であるカナマイシンが、細胞外から用量、電位依存的に両方の SA チャネルを強く阻害することを発見した。阻害の用量依存性から、この薬物はチャネルに 1 : 1 で作用していることがわかった。阻害の電位依存性を解析した結果、生理的狀態での解離定数, K_d (-60) と薬物結合部位の電気的距離, $Z\delta$ は S 型で、各々、 $21.9 \mu\text{M}$, 0.385, L 型で、 $9.44 \mu\text{M}$, 0.366 であった。これらの結果は、正に荷電したカナマイシンのアミノ残基が電圧降下が生じるイオン通過経路上の部位に結合することを示している。その他のアミノグリコシドの阻害の強さは、L 型でネオマイシン (NM) > ジベカシン (DB), カナマイシン (KM), ストレプトマイシン (SM) > リボスタマイシン (RM) で、S 型では NM > SM, RM > DB, NM であり、いずれも NM は

KM より 10~20 倍強く抑制した。これらの結果から、NM は SA チャネルの阻害剤として使用できることがわかった。

16. 内皮細胞における機械刺激と膜応答

成瀬恵治, 山田恭子, 曾我部正博 (名大, 医, 第二生理)

内皮細胞は血管最内側に位置し常に血圧から張力を受けその変化に応じて生理活性物質を放出している。その最初のトリガーとして機械受容チャネルが考えられている。生理的に機械受容チャネルが働いているかどうかは whole-cell clamp が困難なことなどから、いまだ議論があるところである (Science 1991; 253: 800-802)。そこで我々は内皮細胞をシリコン膜上で培養する方法を使用し (Jpn. J. Physiol. 41: S 62, 1991)、内皮細胞に伸展刺激を与え細胞内カルシウムを細胞にあらかじめ負荷した Fura-2 にて測定することで、カルシウム透過性 SA チャネルの活性を調べた。内皮細胞を伸展させると一過性のカルシウム増加がみられた。この増加は外液のカルシウムを取り除くと消失し、ガドリニウムにておさえられた。電位依存性カルシウムチャネルのブロッカーである nifedipine にて抑制されなかった。また ryanodine ($10 \mu\text{M}$) にて消失する成分があることから Ca-induced Ca release による細胞内カルシウムストアからの放出が関与することが示唆された。Cell-attached patch clamp の実験よりカルシウム透過性 SA チャネルの存在も確認することができた。

以上よりヒト血管内皮細胞にはカルシウムを通す機械受容チャネルが存在し伸展に応ずる細胞内カルシウム増加に寄与することが強く示唆された。

17. Sr-induced EAD に対する Nicardipine, Bupivacaine の効果

松田富雄*, 後藤鹿島, 宮前俊一, 須藤眞一, *吉田幸弘, *森 秀磨* (金沢医大, 第二生理・麻酔学*)

兎洞結節細胞を用い、ガラス微小電極法により不整脈の発生機序である Triggered-activity の一つ、早期後脱分極 (Early Afterdepolarization 以下 EAD) を誘発させ、上記薬剤の効果を観察した。①正常 Tyrode 液で灌流後、Ca, Mg-free Tyrode 液に 0.5 または 2.0 mM Sr^{++} を加えて、EAD を誘発。この灌流液に $10 \mu\text{M}$ nicardipine を加えて灌流した結果、経時的に活動電位の amplitude の低下と duration の延

長を認めたが、EAD の発生は抑制された。②正常活動電位に対する bupivacaine の効果を観察した結果、5 μ M bupivacaine は amplitude を低下、duration を延長、maximum diastolic potential を脱分極側にシフトさせた。③①と同様に EAD を誘発後、この灌流液に 1 または、5 μ M bupivacaine を加えて灌流した結果、 Sr^{++} によって誘発された EAD amplitude (15 $\pm$ 3 mV) は 5 μ M bupivacaine によって 31 $\pm$ 5 mV まで増強された。

以上より、Ca channel blocker である nifedipine によって Sr^{++} の流入が抑制された結果、EAD が抑制された。また、局所麻酔剤である bupivacaine は上記②より、K-conductance の減少を起こすことが示唆され、これにより EAD amplitude が増強されたと考えられる。

18. ウサギ洞結節細胞にて発生した SRP に対する Caffeine, Ryanodine 他 の効果

吉田幸弘, 宮前俊一, 須藤眞平, 後藤鹿島, 松田富雄 (金沢医大, 第二生理・麻酔科*)

ウサギ洞結節細胞を用い外液の K^+ を除去する事で $\text{Na}^+\text{-K}^+$ pump を抑制した後、引き続き外液の Ca^{2+} を除去する事により SRP (slow regenerative potential) が発生する。この SRP は、non selective cation conductance) の活性化により発生する事がすでに知られている。細胞内 Ca^{2+} ストアと SRP との関連を知る目的で caffeine (5 mM, 10 mM) と Ryanodine (1 μ M, 10 μ M) を外液に添加したところ、Ryanodine では変化を認めなかったが caffeine は促進的に作用した。この事より細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇は non selective cation conductance に対して促進的に作用する事が推論される。

また、channel 作動性薬剤である Forskolin (25 μ M) は、Ca channel には促進的に作用したが non selective cation conductance に対しては逆に抑制的に作用した。一方、IBMX (3-isobutyl-1-methyl-xanthine, 100 μ M) では有意な変化を認めなかった。

これらの知見は non selective cation channel をより詳細に理解する上で有用であると思われる。

19. 肝循環系の摂食反応に対するカテコールアミン受容体の関与

寺田信幸, 堀内城司, 長尾光城, 竹内 亨 (山梨医大, 第二生理)

覚醒状態で 20° の head down tilt を約 4 時間行った際の肝動脈血流量、門脈血流量、門脈圧を体血圧、心拍数とともに連続的に記録し、模擬微小重力下における肝血行動態について検討を行った。さらに、摂食により起こる肝血行動態の変化に対するカテコールアミン受容体の関与について、受容体遮断薬を用い検討した。実験にはビーグル犬を使用し、体血圧、右心房圧、門脈圧を測定するためのカテーテルおよび肝動脈血流量、門脈血流量を測定するための超音波プローブは、実験の 10 日以上前にあらかじめ埋め込んでおいた。覚醒状態で 20° の head down tilt を行なうと門脈圧は明らかに上昇し、門脈血流量は低下した。摂食により肝動脈血流量、門脈血流量は著明に増加したが、この増加は二峰性であり、摂食開始直後の一過性の増加反応と食後 30 分以降に起こる持続性の増加反応を示した。この門脈血流量の増加反応は head down tilt により明らかに抑制され、この抑制は phenoxylbenzamine (1 mg/kg) の門脈内前投与により消失した。これらの成績は、微小重力環境が肝ならびに消化管の血行動態に大きい影響を与える可能性を示唆するとともに、カテコールアミン受容体を介する調節系の関与が推察された。

20. セリン酵素インヒビターの基質への転換

浦野哲盟, *芹沢清人, 榊原健二, 高田由美子, 高田明和 (浜松医大, 第二生理)

プラスミノゲンアクチペターインヒビター 1 (PAI-1) は、組織型 (tPA) 及び、ウロキナーゼ型 (uPA) プラスミノゲンアクチペターの最も重要な生理的抑制物質であり、線溶活性の調節に重要な役割をもつ。今回我々は、活性型の遺伝子組み換え PAI-1 (recombinant prokaryotic PAI-1; rpPAI-1) を用いて、蛋白変性剤の一つである SDS の PAI-1 の活性及び構造に対する影響を検討した。

rpPAI-1 と uPA あるいは sctPA と混和し SDS PAGE にて解析すると、rpPAI-1 は、ほとんど uPA 及び single chain tPA と高分子複合体を形成した。0.01% SDS で前処理し 1.0% Triton X-100 で中和した rpPAI-1 は uPA 及び sctPA と複合体を形成せず、free PAI-1 として同定された。0.1% SDS で前処理し 1.0% Triton X-100 で中和した rpPAI-1 は uPA 及び sctPA と高分子複合体を形成せず、低分子蛋白に限定分解された。また SDS 処理によりインヒビター活性は著しく阻害された。円偏光二色性による解析では、

rpPAI-1 はほとんど α ヘリックスを含まないが、SDS 処理によりその含有量が増加することがわかった。インヒビターが2次構造の変化により基質としての性質をもつということは興味深いことと考えられる。

21. 鯉の副視索路小脳投射：視覚誘発波による解析および小脳破壊による背光反応行動障害

森 滋夫 (名大, 環医研, 高次神経統御部門)

硬骨魚の主要視覚投射系として、視葉 (optic lobe) を介する系および視蓋前域の核を介する副視索路系が知られている。前者については形態視、色覚に関連した系として既に多くの電気生理学的、形態学的があるが、後者については、最近になって、当研究室からの研究を含め、形態学を主とした小脳投射が詳細にされて、小脳における機能分化や視覚・前庭干渉の中核としての機能などについて言及されるようになった。

本研究では、視葉摘除鯉の視神経電気刺激 (副視索路系刺激) による小脳誘発波について反応特性や局在を調べ、小脳体部の背面中央吻側部および小脳弁部に広く誘発される成分 (頂点潜時, 20~30 ミリ秒) とは別に小脳弁部の腹外側で吻側より局在する成分 (頂点潜時, 40~60 ミリ秒) が存在することがわかった。さらに、これらの小脳各部位摘除による背光反応の障害、1 週間の回復過程を調べたところ、体部弁部両方の摘除よりも弁部摘除のみの方が回復に時間がかかることがわかった。

22. 脳波基準電極 (RF) の再検討

下山一郎, 植村研一, 森田之太*, 杉山憲嗣, 横山徹夫, 龍 浩志 (浜松医, 脳外科・第一生理*)

脳波の RF は重要だが日常臨床では両耳染凍結 (LE) が最も多い。閉眼による α -BLOCKING (α B) で RF 差の影響を18健康成人 (20~48 y) で検討した。関電極は C 3/C 4 (10/20法) と同側耳/対側耳/Cz/鼻根 (NS)/外後頭結節 (IN)/LE の RF か、ELECTRO-CAP の 19 ch と LE/頭部外平衡電極 (BNE)/COMMON AVERAGE (AV) 法で記録 (TC : 0.3 秒, HC : 120 Hz) した。口頭指示15秒毎の閉開眼を、取り込みエポック 1 または 5 秒の高速フーリエ変換後 α 波帯域 (8~13 Hz) パワーとして検討した。15名の閉眼安静1分間 α 波パワーは不規則にゆらいでおり、エポック 5 秒を1秒にするとさらにゆらいだ。エポック 5 秒 5 回を平均し、開眼前後の閉眼時パワーの平均を 100% と標準化し、 α B の減衰率 (AR) として検討すると、安

静閉眼時の α 波パワーは RE が IN, BNE, 対側耳, 同側耳, NS, Cz の順であった。AR は IN (92.5%), 同側耳 (83), LE (83), 対側耳 (82.5), Cz (75.5), NS (72) の順であった。19 ch LE の減衰率を3個体間で比較すると後頭葉優位/側頭葉優位/前頭葉優位と3人3様であった。1個体内で RF をかえた 19 ch の AR は、LE では後頭葉と前頭葉に、BNE では前頭葉に、AV では後頭葉に優位であった。ヒト脳波も課題を考慮し、すべて双極誘導であることを認識して、平均/エポックの選択/標準化などの処理後統計検定すれば、有効な研究になりうると考えられた。

23. 神経の旋光性シグナルとファラデー効果

渡辺 昭 (生理研, 機能協関)

イセエビの第二、第三步脚を採取し、長節から末梢神経を摘出し、チェンバーに張ってのち一端に電気刺激を加えると、大きさが最大 0.5 mV の旋光性シグナルを記録できる。チェンバーを裏返しにして神経に対する光の方向を 180° 変えると、シグナルの逆転が起こる。この事実は、神経の旋光性シグナルが、活動電流に伴って起こる磁場由来するファラデー効果ではないか、という疑いを起こさせる。しかし、この考えは、次の理由で採用できない。(1)活動電流の価から磁場を計算すると、高々 10^{-7} tesla である。ヴェルデ定数として水の価を用い ($257^\circ/\text{tesla}\cdot\text{m}$)、光路を 4 mm とし計算すると、最大値は約 3×10^{-8} 度となる。この価は、実際に観測される値の千分の一以下である。(2)磁場は媒質中に広がるので、神経に隣接する外液中でも旋光が観察されるはずであるが、全く観察できない。(3)ファラデー効果は、神経の中心を境として逆転するはずであるが、実際には大部分の神経でそのような逆転は見られない。少くともこれらの標本ではファラデー効果は適用されない。時に現れる逆転は、神経を構成する線維が一樣でないためとして、よく説明できる。

【結論】 神経の旋光性シグナルは、一種の自然旋光性の変化に起因するものであって活動電流による磁場に起因するものではない。

24. カエル筋紡錘感覚神経末端無髄部における細胞膜内構造と感覚応答

藤埴規明, 井上真寿美, 吉村篤司, 藤埴チエ, 伊藤文雄 (名大, 医, 第二生理)

カエル筋紡錘感覚神経末端無髄部における伸張受容

チャンネルの同定を目的に3つの実験を行った。1) 正常半腱様筋と縫工筋から筋紡錘を単離し凍結断法により Pt-C レプリカを作製した。無髄部は基幹部 (直径 $1\mu\text{m}$)、分枝部 ($0.5\sim 0.2\mu\text{m}$)、細枝糸部 ($0.2\sim 0.08\mu\text{m}$) 及び細枝膨大部 ($0.8\sim 0.2\mu\text{m}$) に区分した、平均膜内粒子密度は基幹部から末端部に移行するに従って減少した。特に細枝膨大部での大径粒子 (直径 12nm) の密度が他の部分より高かった。2) 坐骨神経挫滅後、経日的に半腱様筋から筋紡錘を単離し伸張応答と末端無髄部の膜内構造の回復経過を調べた。応答回復は、特に伸張時変形が顕著な細枝膨大部での大径粒子 ($>12\text{nm}$) の再現と密度の増加に平行していた。3) 正常半腱様筋と縫工筋から単離した筋紡錘の伸張時放電頻度を記録すると、高頻度群と低頻度群に区別できた。両群の末端細枝膨大部での大径粒子 ($>12\text{nm}$) 密度は、低頻度群より約50%高かった。以上の結果から、細枝膨大部での大径粒子が起動電位形成に関与する可能性が示唆された。

25. ラット場所ニューロンの新しい研究法

小林恒之, 福田正治, 小野武年, 上野照子 (富山医大, 医, 第二生理)

ラットやサルの海馬には、空間内の特定の場所を通過したときに特異的な発火頻度の増加を示すニューロン (場所ニューロン) の存在することが知られている。しかし、これらの場所ニューロンの応答性に対する報酬呈示場所の影響についての研究結果は必ずしも一致していない。本研究では、ラット場所ニューロンの報酬に対する応答性をより詳細に調べるため、3種類の課題を開発した。直径 1m 、深さ 60cm の円形オープンフィールドにラットを入れ、その行動をビデオカメラで自動追跡し、ラットの場所に関する情報を 100msec ごとにマイクロコンピュータに送った。ラットが X, Y 座標上の特定の円形領域 (報酬領域) に入ると、報酬として外側視床下部へ脳刺激を与えた。1) 自由航行課題: 報酬領域をランダムに変え、ラットにオープンフィールド内全体を移動させる。2) 往復航行課題: 2つの特定の領域間の往復運動をさせ、それらのうちの一方または両方で報酬を与える。3) 遅延往復航行課題: 報酬領域には入ってから2秒の遅延時間後に報酬を与える。自由航行課題により場所ニューロンの有している場所フィールドの形状および大きさを決定し、ついで往復航行課題、遅延往復航行課題中にどのように変化するかを調べることで、報

酬の場所ニューロンの応答性に及ぼす影響についてのより詳細な解析が可能になる。

26. サル海馬体「場所」ニューロンの応答特性

永福智志, 田村了以, 小野武年, 田淵英一 (富山医大, 医, 第二生理)

海馬体は空間的な (場所や方向など) および非空間的な (物体や音など) 認知・記憶に重要な役割を果たすことが示唆されている。われわれはサル海馬体にも、ラットと同様に居場所に依存して特異的に活動の増加する、場所ニューロンの存在をすでに報告した。本研究ではサル海馬体場所ニューロンの場所とオペラント行動に対する応答性をより詳細に解析した。その結果、総数244個のニューロンのうち65個 (26.6%) が場所応答を示した。これら場所ニューロンの中のうち32個 (13.1%) は場所に対する特異的応答のみを示す (課題応答性を示さない) 場所ニューロンで、33個 (13.5%) は場所だけでなくオペラント課題の各期に特異的に応答を示す (課題応答性も示す) 場所ニューロンであった。また、これらの場所応答および場所・課題応答はサルにオペラント課題を行わせず、検者が受動的に場所を移動させると場所特異性を消失した。以上の結果は、海馬体に場所の記憶だけでなく、その場所で行った何かが見たり、何かが行ったという出来事の記憶にも関与するニューロンの存在を示唆する。

27. サル帯状溝ニューロンの視覚識別課題に対する応答性

*山本祐一, 西条寿夫, 小野武年, 福田正治 (富山医大, 医, 第二生理)

帯状回には、扁桃体および海馬体など他の辺縁系領域や前頭前野などから投射を受け、種々の情動行動や学習行動に関与することが示唆されている。本研究では、サルの帯状回前部から単一ニューロン活動を記録し、報酬物体、嫌悪物体、および無意味な物体を識別するレバー押しオペラント行動に対する応答性を解析した。総数303個のニューロンのうち63個が何らかの応答を示した。このうち23個が視覚識別期に応答し、これら19個は報酬物体、嫌悪物体および無意味物体に何らかの異なる応答を示し (識別応答)、7個がすべての物体に応答した。19個の識別応答ニューロンのうち、5個は報酬物体だけに、6個が嫌悪物体だけに、8個が報酬性および嫌悪性物体の両方に応答した。さらに、逆転学習を行った2個の嫌悪性物体応答ニューロン

で、速やかにその応答が消失した。63個の応答ニューロン中15個はレバー押し期に応答し、そのうち5個が報酬獲得あるいは電気ショック回避のためのレバー押し期だけに選択的に応答した。このうち4個はタスク開始音から物体呈示期までの間活動が次第に増加した。以上よりサル帯状回前部には、1) 扁桃体ニューロンと同様に逆転学習により応答が逆転する視覚識別応答型ニューロンおよび、2) 扁桃体や海馬体とは異なり、レバー押しや期待に関与するニューロンが存在することなどが明らかになった。

28. ネコ大脳高次視覚領域から誘発される眼球運動

戸田春男*, 高木峰夫*, 吉澤豊久*, 安藤誠男, 板東武彦 (新潟大, 医, 第一生理・眼科*)

運動視に関係したネコ視覚連合野の一つであり、両眼視差や大きさの変化に応ずるニューロン、近見反応や視機能眼振との関与等が知られる外側上シルビウス(LS)領の系統的な微少刺激により、視覚的に誘発された輻輳及び自発性サッケードと振幅-速度関係が良く一致する。輻輳様及びサッケード様眼球運動が誘発されることを確かめた。実験には慢性覚醒動物を用い、両眼の運動を magnetic-Search Coil 法によりモニターしながら中上シルビウス溝に沿い脳固定座標 A10-P2 の範囲で微少刺激 (50~100 μ A, 持続 0.2 ms の双極パルス 200 発のトレーン) を行った。サッケード様眼球運動は周辺視領域を含む領域から潜時 100~300 ms で誘発された。輻輳様眼球運動は A8~A6 及び A4~A0 の中心視領域から誘発され、潜時は夫々 100~500 ms, 20~100 ns であり、後者は LS 領の刺激による外眼筋筋電図の潜時に近かった。この結果は、サッケード様眼球運動力 A8~A6 での輻輳様眼球運動に比べ、A4~A0 からはより直接的な経路によって眼球運動が誘発されたことを示唆する。

29. 虚血によって賦活される中脳領域における血管運動ニューロンの局在性

堀内城司, 長尾光城, 寺田信幸, 竹内 亨 (山梨医大, 第二生理)

橋・延髄以外の脳、すなわち中脳以上の脳への血流を遮断すると、非常に大きな虚血性昇圧反応が得られる。この中脳以上の脳の虚血性昇圧反応は、脳切断実験により約30%が間脳以上で、約60%が中脳で起ることが明らかになっている。そこで中脳領域に存在し、虚血性昇圧反応をもたらす血管運動ニューロンの分布

と役割の大きさを明らかにするために、中脳の選択的破壊実験を行った。橋・延髄以外の脳の虚血は、ウレタン麻酔下のウサギの橋吻側端の脳底動脈と両側内頸動脈を閉鎖することによって起こした。この時の昇圧反応の大きさを中脳の電気破壊前後で比較した。間脳以上の脳の虚血による影響を除外し、中脳のみの虚血性昇圧反応を得るために、間脳はあらかじめ破壊した。中脳中心灰白質 (PAG) の背側部ならびに腹吻側部の破壊では、中脳の虚血による昇圧反応に破壊前後の差は認められなかった。これに対し、PAG の腹尾側部の破壊ではその昇圧反応は50%に減少した。さらに中脳網様体背尾側部の破壊を加えると、昇圧反応は10%に減少した。以上の結果から、中脳の虚血性昇圧反応を引き起こす血管運動ニューロンは PAG の腹尾側部と中脳網様体の背尾側部に存在する可能性が示された。

30. 低血糖負荷時のヒトの cortisol, テストステロンの反応

末田香里*, 大森幸子, 神部福司, 村田善晴, 妹尾久雄, 松井信夫 (名古屋女子大*, 名大, 環医研, 内分泌, 代謝)

我々は、第68回日本生理学会大会において、ヒトを急性模擬高度 6,000 m に暴露した時、視床下部一下垂体-副腎皮質系 (Hy-P-Ad) の賦活がテストステロンの分泌を制することを示唆する成績を報告した。今回、低血糖ストレスについて検討した。健康な成人男子 6 名 (28~35 才) を被検者とし、0.1 U/kg のインスリンを静脈内投与血中ホルモンの変動を観察した。同一被験者について対照実験を行った。血糖は対照群ではほとんど変動しなかったが、インスリン投与群では投与後15分で全例 50 mg/dl 以下の値に達し、180 分後にはもとの値にもどった。cortisol 値はインスリン投与後60分、90分で対照より有意に上昇した。この cortisol の上昇に一致して、テストステロン値は低下した。黄体化ホルモン (LH) 値はインスリン投与後15分に有意に低下した。インスリン負荷前値に対する cortisol とテストステロンの変化量、および LH と cortisol の変化量の間にも有意の負の相関が認められた。

以上低血糖ストレスにおいても、Hy-P-Ad の賦活が LH 分泌に抑制的に働き、それに伴いテストステロン分泌が低下することが示唆された。

31. 血液量変化時の腎交感神経活動に及ぼす PGE₁ の効果

佐伯由香, 林 哲也, *澤野文俊, 胡 紅, 芝本利重, 小山省三 (信州大, 医, 第二生理)

血液量を増減させたときの Prostaglandin E₁ (PGE₁), Sodium nitroprusside(SNP)ならびに Nitroglycerin (NTG) の静脈内投与によって誘発される低血圧時の圧受容器反射について麻酔下のウサギの腎交感神経活動 (RNA), 大動脈神経活動を記録して比較検討した。

調圧神経温存群では PGE₁, SNP ならびに NTG の静脈内投与によって, 血圧, 大動脈神経活動の低下とともに RNA は反射性に亢進した。この交感神経活動の反射性亢進は全ての薬物において正常血液量状態で最も大きく, また各血液量状態においては PGE₁ 投与時の反射性亢進が他の薬物と比較して小さい傾向が認められた。両側の迷走神経を切除するとすべての薬物において低血液量状態で RNA の反射性亢進は小さく, 特に PGE₁ では RNA の反射性亢進はほとんど認められなかった。Sinoaortic denervation ならびに調圧神経をすべて切除するとこれらの反射はすべて消失した。以上の成績より同じ低血圧を誘発する薬物でも循環血液量の程度や薬物の種類によって反射性交感神経応答は異なることを考慮して解析検討する必要があると考えられる。

32. 出血性低血圧時における交感神経応答とオピオイド受容体の関係

*澤野文俊, 胡 紅, 林 哲也, 佐伯由香, 小山省三 (信州大, 医, 第二生理)

神経性血圧調節系には, オピオイド受容体が関与し, 種々のストレス時の Naloxone の影響が報告されている。しかし, 急速な脱血による低血圧発症時の Naloxone の役割に関しては不明である。今回, 我々は麻酔下の雑種成犬に急速脱血によって低血圧を誘発した際の遠心性交感神経応答にオピオイド受容体が関与しているか否かについて検討した。体血圧とともに腎, 心, 肝, 副腎, 脾の交感神経活動を同時に計測し, 体血圧を 45 mmHg に 5 分間維持した対照群と Naloxone

2 mg/kg を静脈内投与した後に, 同様の出血性低血圧を負荷した処置群とで比較検討した。対照群では出血直後より全ての交感神経活動は増加した後, 漸時出血前のレベルに向かって回復傾向を示し, 特に腎交感神経活動の抑制が著しかった。Naloxone 処置群でも, 各交感神経活動の経時的变化は, 対照群と同じ反応様式を示したが, 出血直後の増加程度は腎交感神経活動で対照群に比較して有意に抑制された。以上の結果より, 急激な低血圧時の神経性調節に関する求心性入力成分のうち, 動脈系圧受容器入力に対する求心性迷走神経入力によって調節されている交感神経出力機構にオピオイド受容体は関与している可能性が推察された。

33. 大脳丸を支配する後根神経節細胞における CGRP の存在

田村良子, 佐藤 純, 水村和枝, 熊澤孝朗 (名大, 環医研, 神経性調節分野)

上精巣神経を経由する大脳丸の求心性ニューロンの 90%以上が, ポリモーダル受容器ニューロンで痛覚の伝達に大きな役割を果たしている。また求心性一次ニューロンには種々の神経ペプチド (CGRP, サブスタンス P) が含まれていることが知られている。そこで大脳丸の求心性ニューロンと CGRP の関連を知るために, 仔犬の上精巣神経の断端に逆行性トレーサーである Fast Blue (FB) を投与し, 21日間生存させた後, 脊髄後根神経節 (DRG) の L1 と L2 を取り出し, 同一切片上で FB 陽性の上精巣神経細胞と, 蛍光抗体法による CGRP 陽性細胞の同定を行った。FB 陽性細胞は投与側に 594 個, 反対側にも 64 個存在した。その細胞の面積と平均直径 $\{(\text{長径} + \text{短径})/2\}$ は, 約 800 μm^2 , 32 μm であった。この値は DRG 全体の細胞に比べ, 有意に小さい値であった。この FB 陽性細胞の約 85% は CGRP を含有していた。DRG 細胞において CGRP 含有率は全体では約 50%, 皮神経では約 20% との報告がある。これらの値に対し上精巣神経の 85% は非常に高い値であるが, これは内臓求心神経の特性であろうと推測される。この高 CGRP 含有率は上精巣神経ニューロン中のポリモーダル受容器の割合とよく一致する。

ポ ス タ ー セ ッ シ ョ ン

P 1. 副腎摘除ラットにおける Oexamethasone による ANP 作用及び cGMP 作用の増強

神田和実, *早水サヨ子, 山本 親, 宮本法博, 村田善晴, 妹尾久雄, 松井信夫 (名大, 環医研, 内分泌, 代謝)

我々は既に副腎摘除ラットにおいて, Dexamethasone (Dex) が ANP による尿量, 尿中 cGMP 及び浸透圧物質排泄を増強することを報告してきた. 今回さらに, ANP のかわりに dibutyl cGMP (db cGMP) を投与した場合及び ANP とは異なる機序により細胞内 cGMP を増加させる sodium nitro-prusside (SNP) を投与した場合について検討した. 副腎摘除 8 日後に Dex 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を経口投与し, その 3 時間後実験を行った. 水負荷量は 50 ml/kg とした. db cGMP 15 mg/kg 静注は Dex 非投与下では作用を示さなかったが, Dex 投与下で尿量及び浸透圧物質排泄を増加させ, ANP 作用は db cGMP により置き換えうる事が示された. SNP 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 注射単独では効果が認められず, Dex 投与下で SNP が尿量および浸透圧物質の排泄を増加させた. Dex 投与下での細胞内 cGMP の増加はその機序の如何を問わず, 利尿及び浸透圧物質の排泄増加をもたらした. グルココルチコイドによる利尿作用の少なくとも一部には, 従来報告されている循環改善作用, ADH 低下作用に加えて, グルココルチコイドによる ANP 依存性 cGMP 量の増加, 及び細胞内 cGMP の作用発現の増強効果が関与していることが示唆された.

P 2. 分子動力学法による水分子の回転緩和時間の計算

桑田一夫, 恵良聖一, *長島雲兵*, 曾我美勝** (岐阜大, 医, 第二生理・分子研, 計算機センター*・藤田保健衛生大, 衛生, 生理**)

磁気共鳴画像 (縦緩和画像, 横緩和画像, 交差緩和画像) のコントラストは, スピン濃度及び水分子の運動状態によって決まる. 特に生体高分子界面近傍の水分子の運動状態が重要と考えられる. 水分子の運動状態を具体的に明らかにするために, 周期的境界条件の下で MCY-water 216 個の分子動力学計算を行った. ^1H -NMR のスペクトル密度関数は核間ベクトルに関する 2 次の球面調和関数の自己相関で表現されるが, 水分子の運動が剛体的且つ等方的と仮定すると, 1 種

類の回転緩和時間の関数となり, 分子動力学法ではそれらが共に直接計算可能であり, 得られた回転緩和時間は水素原子では 2.06 psec, 酸素原子では 1.51 psec であった. 前者の値は縦緩和時間測定から得られた実験値と良く一致する. また, パワー・スペクトルでは 170 cm^{-1} 付近に最大のピークがあり, 低周波数モードのレーザー・ラマン・スペクトルのピークと一致した. 従って, 実験的に観測されるこのピークは水分子の回転運動と関係があると考えられる.

P 3. マウス筋紡錘の形態, 組織化学及び免疫組織化学的特徴

吉村篤司, 藤埴規明 (名大, 医, 第二生理)

ICR と C 57 BL マウスのヒラメ筋 (SOL) と長指伸筋 (EDL) に含まれる筋紡錘内筋線維の特徴を形態的, 組織化学的及び免疫組織化学的手法により調べた. 筋紡錘は SOL と EDL の凍結連続切片から再構成した. 1 個の筋紡錘を構成する各切片は, ①核染色, ②PAS 染色, ③myosin ATPase 染色, ④速筋型と遅筋型抗体による免疫蛍光染色, ⑤SDH 染色のいずれかに供した. ICR マウス筋紡錘については, 筋紡錘を構成する錘内筋の数が SOL で平均 4.3 本, EDL で 4.1 本であった. その線維型の構成は, ①③④の結果から, 囊中央部の核配列が袋様を示す遅筋型と中間型各 1 本, 鎖配列を示す速筋型線維 2 本であった. これらはラットの 1 型核袋, 2 型核袋及び核鎖線維に対応していた. 各線維型の長さ及び太さは, 2 型 > 1 型 > 核鎖の関係にあった. しかし EDL の各線維長は SOL のその約 70% と短かった. ②の結果では, 相対的グリコーゲン含量が核袋線維に比べ核鎖線維が高かった. 一方, C 57 BL マウス筋紡錘での線維数や線維型構成は ICR マウスのものと基本的には同じであった. しかし, 核鎖線維での SDH 染色結果は, ICR 筋紡錘のそれと異なり, 核袋線維の SDH 活性より高いものの, 低い SDH 活性を示す核鎖線維と高い SDH 活性を示すものに 2 分された. この結果から核鎖線維のサブタイプ化が可能であることが示唆された.

P 5. 静磁場における蛙皮電位

小西朝隆, 佐藤侑子*, 松波謙一 (岐阜大, 医, 反射研・岐阜医療短大*)

蛙皮電位は能動輸送系により維持されていることは

古くから知られている。今回我々は食用蛙 (*Rana catesbeiana*) の腹部皮膚を用い、蛙皮電位の直流成分を連続的に記録することにより静磁場曝露 (6700 Gauss) による電位能動輸送に対する影響を調べた。

時間の経過に伴い能動輸送の減弱により蛙皮電位は減少していくが、非曝露群との比較において、1) 静磁場印加時の過渡的な電位変化は認められなかったが、2) 静磁場曝露 (3 時間) により寧ろ電位の減少を抑制する傾向が見られた (22 例, 平均 7.2%)。3) 静磁場曝露中 Na-K 共役輸送の阻害剤であるウアバインを加えても上記と同じ変化であった (4 例, 8.0%)。4) 静磁場曝露後に DNP (2, 4-d intropenol) を加えた場合は、非曝露群とほぼ同じ減少曲線を描いた。

以上より、数千 Gauss レベルの静磁場の影響は非常に弱いものではあるが、今回の実験では、静磁場が Na-K 共役輸送に何らかの影響を及ぼしていることが示唆された。

P 6. 視床下部室傍核周囲に存在するニューロンの電気生理学的特徴とオピオイドペプチドに対する反応
笠井聖仙 (名大, 環医研, 神経性調節 & MRRC, UCLA)

視床下部室傍核は内分泌調節に重要な部位であり、オピオイド等の種々の入力を受けている。室傍核周囲にはその軸索を室傍核へのばし、室傍核への入力系に重要な役割を果たしていると考えられるニューロンが存在するが、その電気生理学的性質や薬物に対する反応については殆ど知られていない。今回モルモット視床下部スライス標本を用いて、室傍核周囲に存在する細胞から細胞内記録を行ない、その電気生理学的特徴及びオピオイドペプチドに対する感受性について調べ、以下の結果を得た。室傍核近傍の 35 個の細胞中、25 個に Low threshold Ca^{2+} spike (LTS) が見られた。LTS は膜電位が静止膜電位より -30 mV 以下の過分極で活性化され、その LTS の振幅は約 20 mV 、通常 3~6 個の活動電位を伴っていた。これら Bursting LTS cell は、オピオイド μ -receptors agonist である [D-Ala², NMe-Phe⁴, Gly⁵-ol] enkephalin (DAGO) 10^{-6} M に対して、調べた 11 個中 10 個 (91%) が抑制反応を示した。これらの結果は、室傍核周囲に存在する Bursting LTS cell が、室傍核へのオピオイドの入力系に重要な役割を果たしていることを示唆している。

P 7. 培養アストログリアおよび脳幹ニューロンに対するシアロシルコレステロールの作用

飛田秀樹, 熊崎路子, 周 西任, 西野仁雄 (名市大, 医, 第二生理)

ガングリオシドアナログであるシアロシルコレステロール (SC) の培養アストログリアおよび脳幹ニューロンに対する作用を検討した。アストログリアは新生仔ラット大脳皮質より、脳幹ニューロンは胎仔ラット (E14-16 日) 脳幹より調整し、それぞれ 10% および 1% FCS 添加 DMEM 培地で培養した。SC は 3 日毎に、アストログリアには $5\sim 30 \mu\text{g/ml}$ 、ニューロンには $0.01\sim 1 \mu\text{g/ml}$ の濃度範囲で作用させた。

【結果】 SC は、1) 濃度依存性にアストログリアに形態変化 (flat $\rightarrow$ fibrous) を起こし、高濃度 ($20\sim 30 \mu\text{g/ml}$) では細胞死を起こした。しかし、この毒性作用は aFGF の同時処置により一部ブロックされた。2) 濃度依存性に脳幹ニューロンの突起生成および突起伸展を促進した。

以上より、SC は培養下のラット脳幹ニューロンの成長・分化を促進し、大脳皮質アストログリアに形態変化を起こすことが明らかになった。

P 8. 移植ドパミンニューロンの成長および機能修復に対するシアロシルコレステロールの作用

端谷 毅, 熊崎路子, *櫻井輝美, 西野仁雄 (名市大, 医, 第二生理)

6-OHDA で黒質を化学破壊したヘミパーキンソン病モデルラットの線条体に胎仔ラットからえたドパミン細胞を移植すると運動障害 (メタンフェタミン回転運動) が修復される。本実験系を用いて、ガングリオシドアナログであるシアロシルコレステロール (SC) の作用を調べた。SC ($0.2, 2, 20 \text{ mg/kg}$, s.c.) は 1 日 1 回、移植後 2 週間投与し、対照群には生理食塩水を投与した。

【結果】 1) 運動障害の回復は対照動物では移植 4~6 週後に認められた。2) 低用量 SC 群では運動障害の回復は対照群に比し増大した。しかし高用量 SC 群 (20 mg/kg) では逆に回復が遅れた。3) 移植ドパミン細胞 (TH 陽性細胞) の neurite の発達は対照群に比べ低用量群ではよかったが、高用量群では、むしろ低下した。これらの結果は、低用量の SC はドパミンニューロンに対し成長促進因子として働く可能性を示唆する。

P 9. 霊長類小脳の発達と老化: γ アミノ酪酸 (GABA) とソマトスタチンの免疫組織化学

*山下晶子, 林 基治 (京大, 霊長研, 生理)

GABA 及びソマトスタチンに対する抗血清を用いて, マカク属サル小脳の発達過程と老化を免疫組織化学的に調べた。胎生80日では GABA 及び, ソマトスタチン陽性構造は観察されなかった。胎生110日から GABA 陽性ゴルジ細胞が, 胎生140日から GABA 陽性プルキンエ細胞及び分子層内の細胞が認められるようになった。新生児ではほとんどすべてのプルキンエ細胞の軸索, 細胞体, 樹状突起が GABA 陽性であった。また, プルキンエ細胞, ゴルジ細胞, バスケット細胞がソマトスタチン陽性であった。新生児期には, ほとんどのプルキンエ細胞がソマトスタチン陽性であり, GABA と共存していた。その後, ソマトスタチン陽性細胞は減少し, 生後60日にはまったく消失していた。発達期小脳プルキンエ細胞において, GABA とソマトスタチンは異なった発現調節を受けているものと推察される。生後発達過程で, ABA 免疫反応は減少した。成熟期には, GABA 陽性プルキンエ細胞樹状突起は減少し, 細胞体も染まり方が薄くなった。しかし, GABA 陽性樹状突起を持つプルキンエ細胞が少数観察された。老齢ザルでは, 小脳プルキンエ細胞における GABA 免疫反応はさらに減少していた。

P 10. 急性出血における交感神経応答の量的ならびに質的な臓器特異性

山本一也, *澤野文俊, 林 哲也, 胡 紅, 佐伯由香, 芝本利重, 小山省三(信州大, 医, 第三内科*・第二生理)

麻酔成犬12頭を用いて, 急性出血における交感神経活動応答の質的および量的な臓器特異性を検討した。量的な検討には交感神経活動波形の積分値を用い, 質的な検討には高速フーリエ変換の時系列解析 (power array) を行った。その結果, 量的には出血の初期の急激な交感神経活動の一方方向性の上昇に続く抑制の程度は腎交感神経で著しく, 肝, 副腎, 脾交感神経では軽度であり, 臓器特異性の存在を認めた。質的には, 出血前において周波数特性は臓器によって異なっていた。腎交感神経は心拍同期成分をほとんど認めず, 11 Hz 以上の不規則な周波数成分を特徴とした。肝交感神経は心拍同期成分と 3 Hz 以下の低周波成分を特徴とした。副腎交感神経は全帯域にわたる心拍同期成分を特徴とした。脾交感神経は, 11 Hz 以上の不規則な周波数成分とそれ以下の心拍同期成分を特徴とした。この心拍同期成分は調圧神経を切離しても消失せず, 出血によって減少または消失した。以上から, 交感神経活動には, 出血における応答に量的および質的臓器特異性の存在を認めた。心拍同期成分は調圧反射を介したものでなく, 中枢神経内から発振されるリズムである可能性が推察された。

〔編集後記〕

北国からは雪の便りも届く頃となりました。会員の皆様いかがお過ごしでしょうか。55巻10号をお届けいたします。

はじめに、第71回日本生理学会大会案内（第3報）としてシンポジウムについての案内が掲載されています。ブルーページの INFORMATION には5件の講演会など紹介してあります。TRENDS には慶応義塾大学の河村先生より、「FASEB Summer Research Conference : Biology and Chemistry of Vision に参加して」の稿をいただきました。ありがとうございます。

本号より RECORDS に「会員消息」の欄を新しく設け、ここでは会員名簿を補足するため新入会員の氏名・所属・自宅住所・電話・専門分野を、また物故者のご氏名等を掲載することにしました。このたびブルーページを前へもってきたため、星 猛先生からお寄せいただきました追悼文「松田幸次郎先生追悼のことば」は白ページの初頭に掲載することになりました。心筋興奮の開拓的研究者であられた松田幸次郎先生の業績、宗教的信念に基づいた清廉な学究、究道の

ご生涯に深い感銘を覚えます。心からご冥福をお祈りいたします。

さて、生理学実験講座の欄を設けました。55巻6号の編集後記に金子編集幹事が述べていますように、最近の「新しい実験技術のマニュアル的な解説」を掲載いたします。どうぞこの欄にふってご投稿下さるようお願いいたします。本号には「卵形囊神経選択的刺激法の進歩と新事実」が掲載されています。稿をお寄せ下さいました東京医大の内野・佐々木両先生に感謝いたします。

原著としては、鹿屋体育大・聖マリアンナ医大の竹倉・吉岡両先生の「興奮収縮連関に直接関与する筋細胞内膜系の発生と分化の特徴」を掲載してあります。

学会抄録として第38回中部生理学談話会（平成3年11月1・2日開催）の抄録を遅ればせながら掲載いたしました。第39回中部生理学談話会（平成4年10月5・6日開催）の抄録は55巻1号にすでに掲載されています。編集作業の手違いから掲載順序が逆になってしまい、ご迷惑をかけたこととお詫び申し上げます。

これから次第に寒くなります。どうかご健康に留意して下さい。
(松井洋一郎)

編 集 委 員

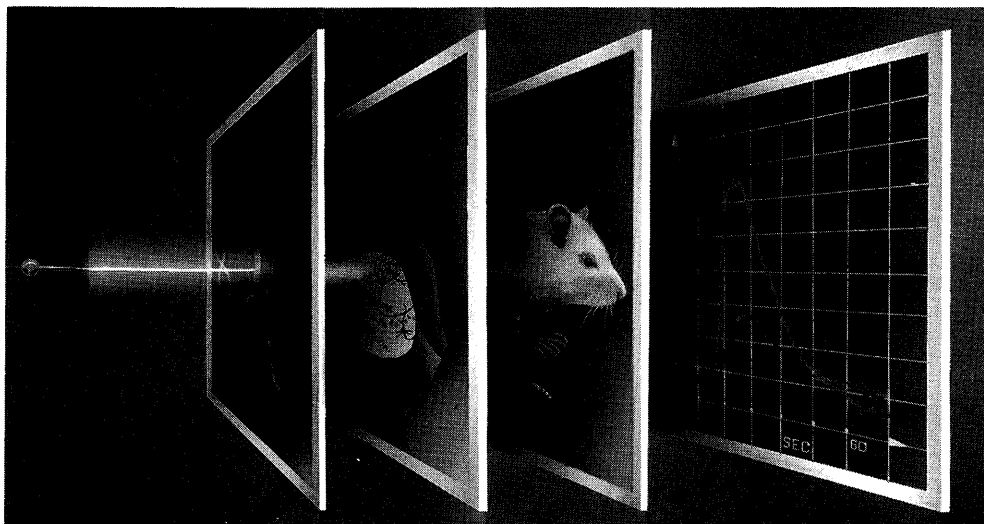
金 子 章 道(幹 事)	松 井 洋 一 郎	野 口 鉄 也
野 村 正 彦	神 田 健 郎	内 野 善 生
青 木 藩(北海道)	土 居 勝 彦(東 北)	工 藤 典 雄(関 東)
松 波 謙 一(中 部)	藤 本 守(近 畿)	片 岡 喜 由(中・四国)
山 下 博(九 州)		



ニューロトランスミッタ濃度測定装置

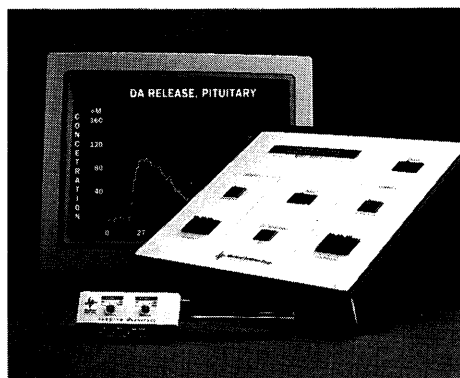
新登場

IVEC-10



IVEC-10は、神経科学において非常に重要なドーパミン、セロトニン等の各種モノアミン類ニューロトランスミッタの濃度変化を、酸化／還元電流の測定によりin vivo、in vitroを問わずハイ・スピード、リアルタイムでモニタする画期的なシステムです。

- 毎秒1-25回の測定により、急速な現象変化にも追従
- コンピュータによるリアルタイム・データディスプレイおよびデータストレージ
- 低濃度まで測定可能な高感度ハードウェア
- 各種の刺激波形による確実なアミン類の確定
- 個々のカーボン電極のバラツキを完全に克服する、独創的な電極キャリブレーション法
- データの取得から解析、編集、プリントアウトまで、一貫したコンピュータ・コントロール
- 培養細胞、in vivo、in vitroと広い応用範囲



メディカル・システムズ社 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。



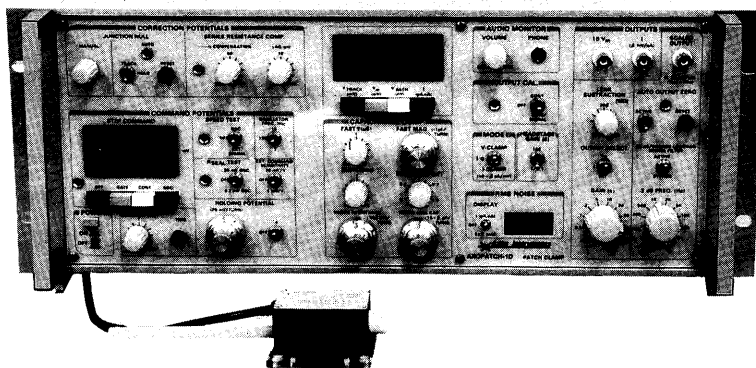
※2点支持タイプ(メカニカルドリフトフリー)の電極ホルダー標準装備。



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

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 名古屋市中区葵一丁目25番1号
TEL (052) 937-7060 FAX (052) 937-5423
TLX 444-3603 WDMEC 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

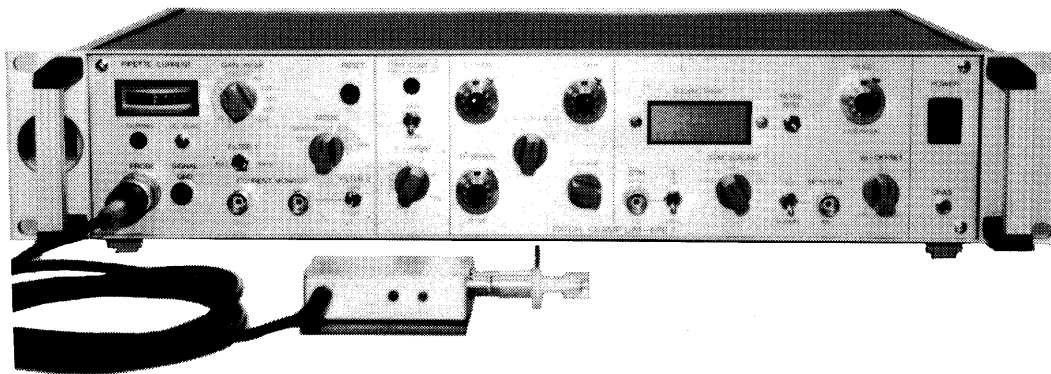
〒101 東京都千代田区内神田3丁目10番3号
コイイタビル4F
TEL (03) 3258-1641(代)

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 (50G Ω), 20nA (500M Ω)
- 周波数応答 : 100KHz (500M Ω)
- 電位増幅度 : X10
- 測定モード : VC, CC, CC+COMM
- Rs補償 : 1-100M Ω
- 容量補償 : 0-10pF (First)
: 0.2-10pF, 2-100pF (Slow)
- ホールド電位 : ± 200 mV
- オフセット電位 : ± 50 mV
- 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

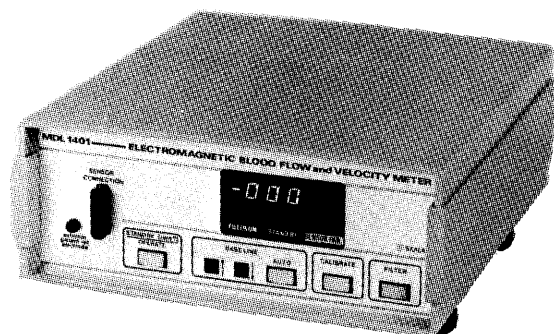
(Physio-Tech)

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)

SKALAR サイン波 電磁血流計 MDL 1401

超小型軽量プローブにより、ラットの心拍出量から門脈、肝、腎動脈まで急性及び慢性実験用として安定した測定が可能となりました。



サイン波電磁血流計 MDL 1401

スカラー社製 サイン波電磁血流計 (MDL 1401) はサイン波励磁により、低雑音 ($0.12 \mu V_{rms}$) 低ドリフト (2%以内) 及び超小型軽量プローブ ($0.5mm\phi$) が可能となり、急性実験はもとより、慢性実験にも安定した測定ができる画期的な血流計です。

日本総代理店

UMS
Laboratory & Medical Supplies

株式
会社

エル・エム・エス

デモのご依頼等、お気軽にご相談下さい。

〒113 東京都文京区湯島2-22-10 後藤ビル
☎ 03-3833-0910(代) FAX (03)3833-5910(代)

ラットから犬までの血圧を自動測定できます！

米国 NARCO 社製

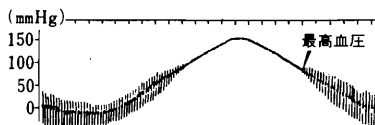
非観血式血圧測定装置

PE-300

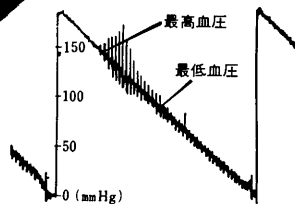
本装置は高感度トランスジューサを用いてラット及びマウスの尾動脈よりパルスを検出し、非観血的に最高血圧を自動測定するものです。PE-300は発売以来、研究者の皆さまに好評を得ており、さらにアクセサリーを交換すれば各種動物の最高および最低血圧を自動測定できます。

■特徴

- ①マウス・ラットの最高血圧を簡単に測定できます。
- ②カフの交換により、犬・猿・人間等の最高血圧及び最低血圧の測定が可能です。
- ③本体は一般のチャート・レコーダ等にも容易に接続できます。
- ④極めて再現性の高い血圧測定装置です。



〈RATの血圧データ〉



〈DOGの血圧データ〉

株式
会社

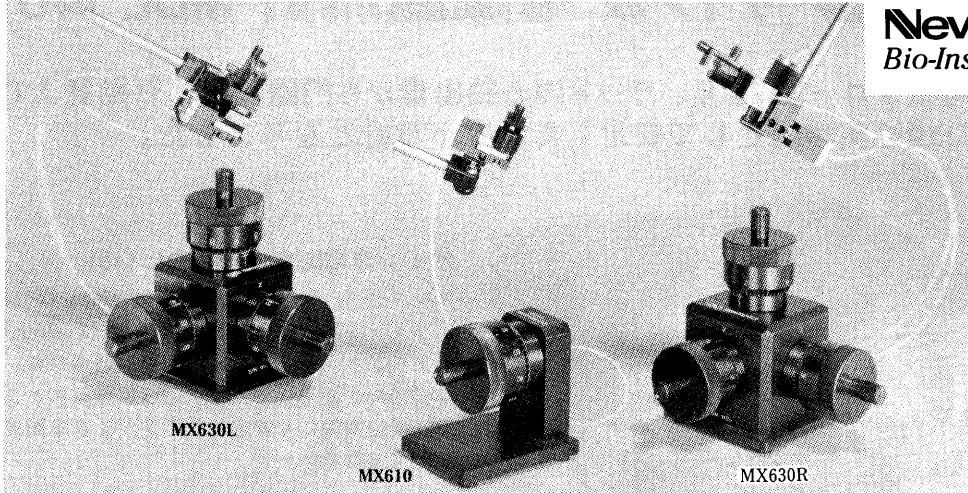
エル・エム・エス

〒113 東京都文京区湯島2丁目22番10号 後藤ビル
TEL (03)3833-0910(代) FAX (03)3833-5910(代)

水圧式マイクロマニピュレータ



Newport
Bio-Instruments



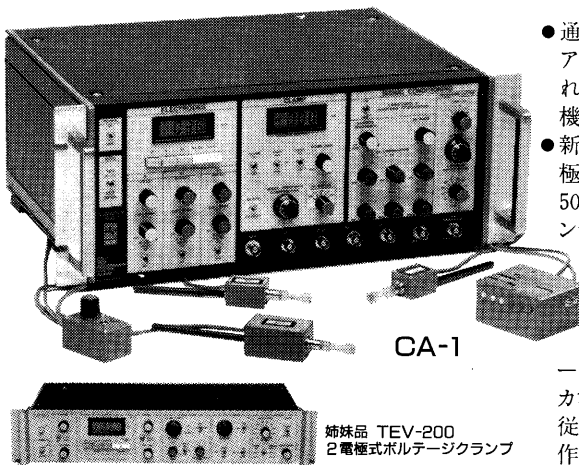
- コンパクトで遠隔操作型
- 低ドリフトで驚くべき安定性
- 高い分解能
- スムーズで応答性に優れた駆動
- 顕微鏡や粗動マニピュレータへのセッティングが簡単

ニューポート社の高性能、低ドリフト型MX-610及びMX-630シリーズの水圧式マイクロマニピュレータは、他社で見られる多くの技術的な問題点を解消しました。手動調節による駆動は円滑で応答性に優れ、Intracellularやパッチクランプの長時間記録をはじめ、マイクロインジェクションや超精密細胞刺入に理想的なマニピュレータです。同社独自の設計により定温下でのドリフトを $1\mu\text{m}/\text{時}$ 以下に抑え、精密なポジショニングが十分な駆動距離から得られます。水圧式のメリットは、油圧システムに比べ熱膨張率が2~3倍低い水の特性を利用したものです。

High Performance Oocyte Clamp 高性能Oocyteクランプ装置 CA-1 クランプエータワン Dagan社製

* CA-1 は最も低ノイズで高速度のOocyteクランプシステムです。

* 従来の2電極モードと最新のCut-Open Vaseline Gap法によるクランプができます。



- 通常の2電極クランプモード (TEVモード) を、コンプライアンス電圧145V、3タイムコンスタントで容量補正します。これにより従来に無いバスクランプが高精度で得られ、従来機種種の2倍以上高速でクランプします。(当社比)
- 新しい技法である“Cut Oocyte Vaseline-Gap法”は、極めて低ノイズでかつ従来のOocyteクランプ法に比べて50倍以上速くクランプが可能です。(20~100 μs で膜ポテンシャルを変化させる)。

このモードでは、Oocyteの内部還流による細胞内環境の管理が可能です。これにより、数時間に亘り安定した記録が実行できます。

この方法の利点は、速いイオンカレントやゲートチャージカレントの経過時間分解能が著しく向上します。カレントノイズは3KHzで僅か1nARMS以下です。従来の2電極法に比べ大幅に改善されます。CA-1は操作が簡単で、幅広く応用でき優れた性能が得られます。

CA-1のオリジナル設計はBaylor医科大学のDr.Enrico StefaniとUCLA医学部のDr.Francis Benzanillaとの業績によるものです。

日本総代理店



バイオリサーチセンター株式会社

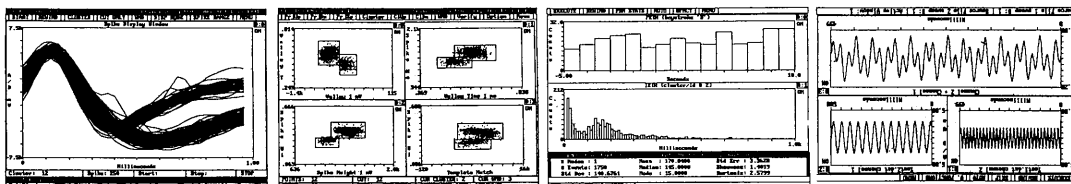
本社 名古屋市中区東栄2-10-21(錦見ビル2F) ☎ 052(932)6421 FAX 052(932)6755
東京 東京都江戸川区東葛西6-4-10(第6頼長ビル203号) ☎ 03(3878)6471

アナログ信号リアルタイム解析システム

BrainWave社製

WorkBench & Discovery

ワークベンチ&ディスカバリーシステムは、EEG、ECG、EMG等のアナログ信号、ユニット信号を取り込み、リアルタイムで多種多様な解析が可能な優れたシステムです。豊富なコマンドファンクションを持ち、マウス操作で画面表示、データ記録、演算・解析処理、ユニット分離、印刷等が簡単に自動化できます。

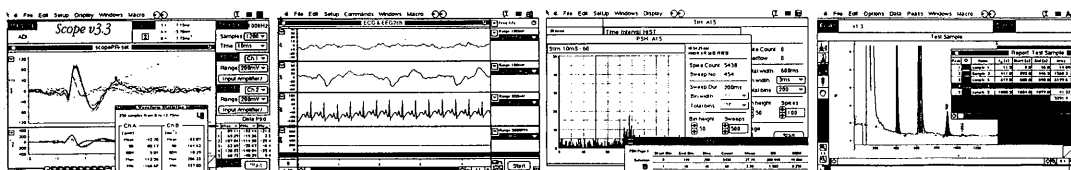


- ユニット分離 1つのユニットより12項目の値を抽出し、最大12のグループに区別します。
- ヒストグラム PETH、IEIH、XCRR、Rate Meter、JPST、Replay、Periodic PETH。
- 波形演算処理 アベレージング、スムージング、FFT、微積分、刺激誘発反応、可変面積、他多数。
- 波形数値抽出 Peak to Peak、dv/dtをはじめ、70種類にも及ぶデータ抽出が可能です。
- ディスプレイ オシロスコープ、ヒストグラム、XYプロット、デジタル表示、他多数。

動作環境	IBM PC-ATまたは100%互換機 (486DX-33MHz推奨)	
最大サンプリングレート	150KHz (1chに限定)	標準装備
	500KHz (1chに限定)	オプション
最大同時入力チャンネル数	16ch (A/Dボード1枚使用時)	標準装備
	32ch (A/Dボード2枚使用時)	オプション

マックラブシステム

MacLab/8 (8 ch)
MacLab/4 (4 ch)
MacLab/2e (2 ch)



マックラブシステムはアンプ、CPUを搭載したインテリジェントタイプのA-D、D-A インターフェイスです。

《機能例》

	マクロによる自動記録	ハードディスクレコーディング
Scope	ストレージオシロスコープ FFT、X-Yプロット 面積計算	加算平均 ピーク自動読み取り プレ・ポストトリガー
Chart	チャートレコーダー ピークホールド タイムスケジュール記録	スティムレーター dv/dt波形 シグナルジェネレーター
Peak	クロマトグラフ エリア、リテンションタイム測定	カウンタ 最高、最低トレンドグラフ オートイベント
Histogram	ベリスティムラスヒストグラム	タイムインターバルヒストグラム BINカウント

《仕様》

アナログ入力	xch Max. $\pm 10V$ サンプリング 100KHz (Max 1ch)
アナログ出力	1ch Max. $\pm 10V$ (シングルパルス、バイポーラ、ランプ、ステップ、自在波形)
デジタル入力	8ch (/4, /8), 2ch (/2e) TTL5V (Ver. 3.3)
デジタル出力	8ch (/4, /8), 2ch (/2e) TTL5V (Ver. 3.3)

A. D. I. 社
日本総代理店



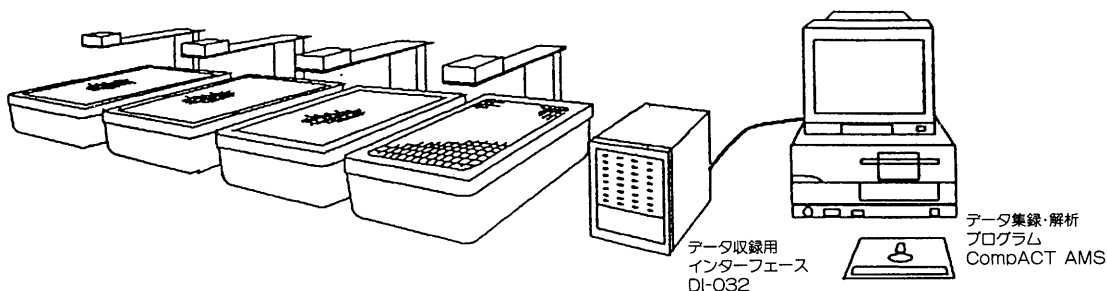
バイオリサーチセンター株式会社

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6-4-10(第6類長ビル203号) ☎ 03(3878)6471

ローコスト型 自発運動量測定システム

スーパーメックス SUPERMEX

PAT. P.



- 飼育ケージを使用することができます。
- 小動物(マウス、ラット、マーモセット等)から大動物(イヌ、サル、ブタ等)までの自発運動量を測定することができます。
- 感度調整等の煩わしい操作は不要です。
- 従来の自発運動量測定装置に比べ少ない予算で多チャンネルのシステム構成が可能です。
(例: 4chのシステム価格 ¥1,500,000.- 8chで¥2,100,000.-)
- 標準で32ch、オプションで最大80chまでのアーダーを集録し、付属の運動量解析プログラム(CompACT AMS)及び周期解析プログラム(オプション)にてデータの集録・解析を行います。
- 増設は簡単にでき、1ch増設の費用は約15万円です。
- 測定場所から離れた所でデータ集録を行なうことができます。(パソコンとインターフェースの最大距離は約1km)
- 自発運動量に加え、飲水量及び餌の摂取量の測定システムも御見積り致します。

Muromachi

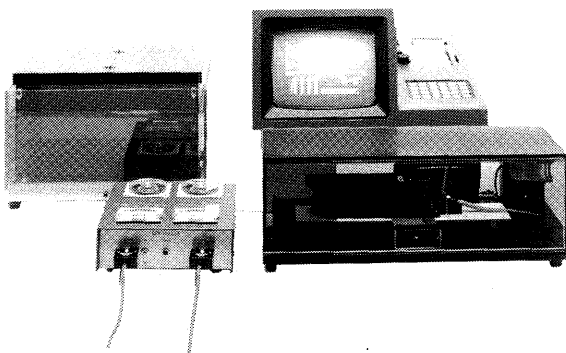
総発売元 **室町機械株式会社**

本社: 〒103 東京都中央区日本橋室町4-2-1 大辻ビル
TEL 03(3241)2444 FAX 03(3241)2940
大阪営業所: 〒532 大阪市淀川区木川東4-5-3 長谷興産新大阪ビル
TEL 06(302)1277 FAX 06(302)5026

ラット・マウス用 非観血式血圧測定装置

MODEL MK-1100

- * 収縮期血圧 /
- * 平均血圧 /
- * 拡張期血圧(計算値) /
- * 脈拍数 / の安定した測定に



■特長

- 脈拍信号を音で聞くことができます。(音量の調節可)
- 連続測定機能及び高速測定機能の追加により測定時間が大幅に短縮。
- 400mmHg 迄加圧可能ですので SHRSF も測定できます。
- 高速印字機能 / 全ての測定データは、音の静かな高速一マルプリンタにより約1秒間で打ち出されます。また、平均値の他にSD値も打ち出されます。
- タイムスタンプ機能 / データ印字の際に計測時の時間も印字されます。
- 画面コピー機能 / 付属のプリンタで画面のハードコピーを行なえます。
- マーモセットやスunksの測定を行なうこともできます。
- R232C出力が標準装備されています。
- センサーの感度はMK-1000型と比較して約5倍アップしています。

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4-2-1 大辻ビル
TEL 03(3241)2444 FAX 03(3241)2940
大阪営業所: 大阪市淀川区木川東4-5-3 長谷興産新大阪ビル
〒532 TEL 06(302)1277 FAX 06(302)5026

サヨナラ 紙記録。

★DATテープ1本に、最長120日間も連続記録。★##!

★それを、わずか2時間53分で高速再生。●*!!

★トリガ/タイマ記録で、異常現象だけの自動記録もOK。!!!

5881PCMデータレコーダは、DAT技術を応用した
PCM(パルス符号変調)方式のデータレコーダで、
★##! ●*!! !!!のほか、

▶S/N比(信号対雑音比)は80dB(約10,000倍)を上回る素晴らしい精度。

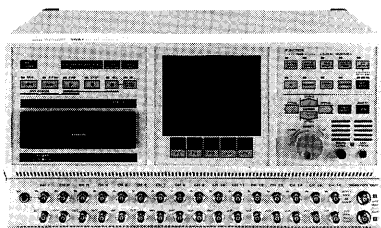
▶パワフル&ユニークなメモリ波形表示で外部計測器不要。

▶テープ交換中でも次のテープに記録。

▶見たいデータがすぐ見つかる縦横無尽のサーチ機能。

▶ディジ・アナ混在記録。▶強力なGPIOB。

などをはじめとする記録&解析にやさしい機能を、
このスペースでは書ききれないほど満載しています。



5881 PCM DATA RECORDER



●お問い合わせはお気軽に。
045-545-8111

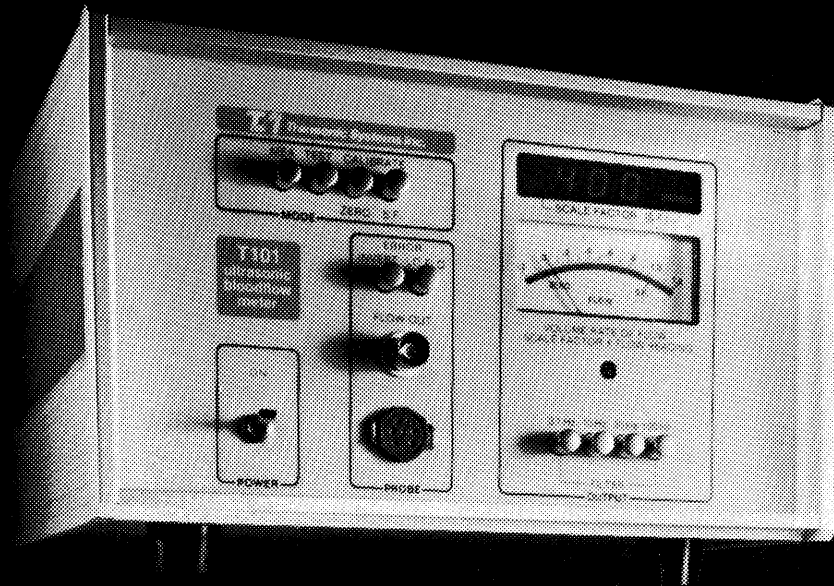
エヌエフ

株式会社 エヌエフ回路設計ブロック

横浜市港北区綱島東6-3-20 〒223 ☎045(545)8111(営業直通)

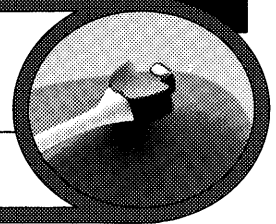


**ラットの血管径0.5mmから
血流量測定が可能に!!**



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0.5mmφから測定が可能です。
- フルスケール5ml/minに対し、0.05mlの分解能があります。

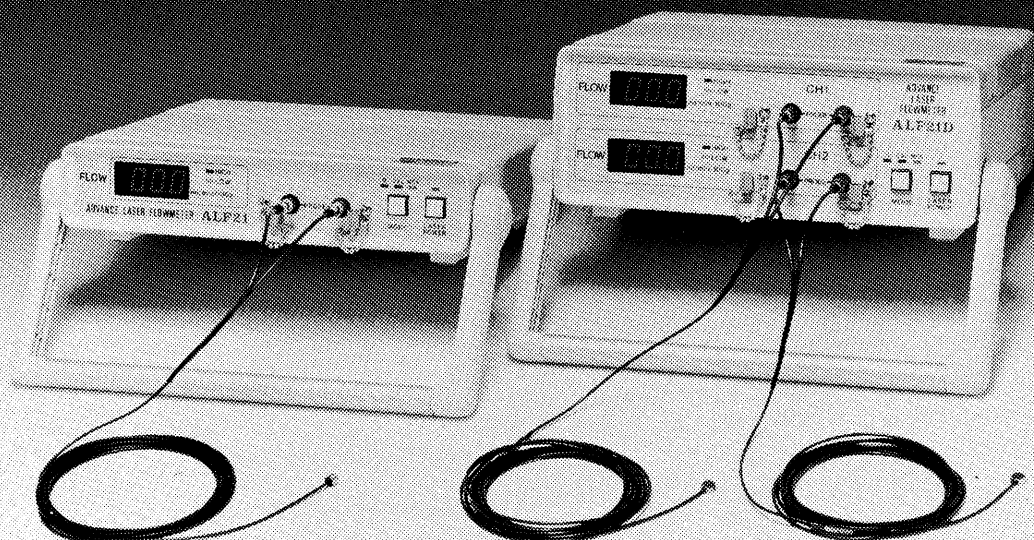
- ラットのMESENTERIC・A, RENAL・A及びFEMORAL・Aなどの小血管測定に最適です。
- 急性・慢性(埋め込み)での測定が可能です。
- 測定状態を知らせるメッセージ機能内蔵

お問い合わせは、ME事業部直通

TEL. (03) 3664-6271

アドバンスレーザー血流計

ALF21シリーズ



ALF21

(シングルチャンネルモデル、FLOW×1チャンネル)

ALF21D

(デュアルチャンネルモデル、FLOW×2チャンネル)

ALF21R

(リサーチモデル、FLOW, MASS, VELOCITY表示)

ALF21M

(モニターモデル、アラーム機能付)

特長

- ワイドダイナミックレンジなので測定レンジの切換えがいりません。
- レーザー光なので電磁ノイズの影響を受けません。
- マルチプローブ、温度センサー付プローブ等多くのバリエーションを準備し、幅広い用途への対応が可能です。

Advances in Advance Medicine... Advance Co., Ltd.

カタログ・資料請求及びデモ、試用の御要望は弊社ME事業部まで



株式会社アドバンス

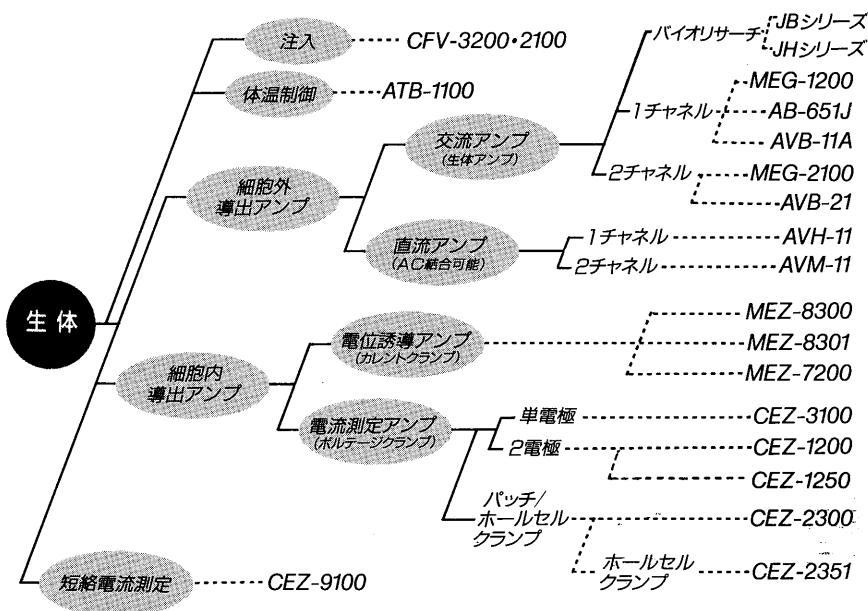
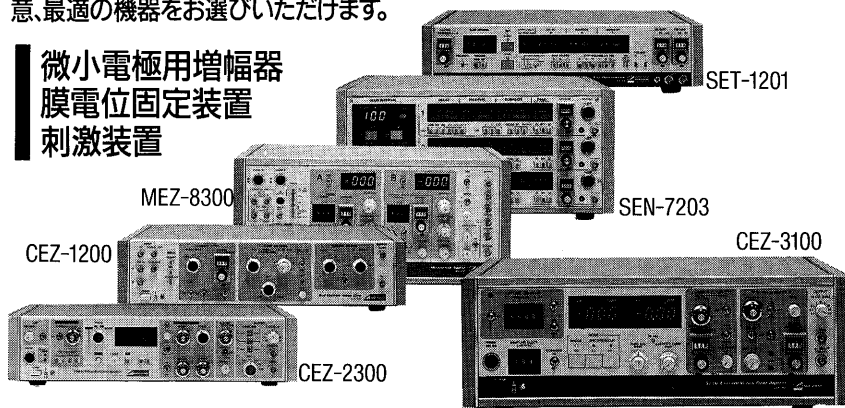
ME事業部

〒103 東京都中央区日本橋小舟町5-7
TEL 03 (3664) 6271 FAX 03 (3667) 9523

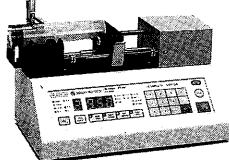
電気生理学分野では刺激・反応誘導という手法だけでなく、人為的に細胞膜を制御して膜電流を詳細に分析する方法が広く行われています。

これらに応えるべく、日本光電ではアンプ・刺激装置など各種実験用機器を豊富に用意、最適の機器をお選びいただけます。

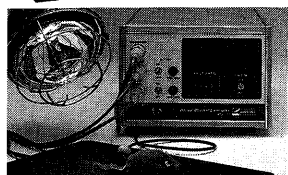
**微小電極用増幅器
 膜電位固定装置
 刺激装置**



動物実験関連装置

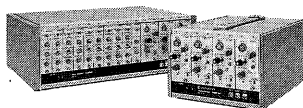


動物実験用
 シリンジポンプ
 CFV-3200

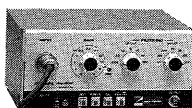


体温制御装置
 ATB-1100

生体信号一般用



多チャンネル増幅器 MEG-6116・6108



高感度増幅器 MEG-1200・1251

実験研究用機器の
 トータル供給をめざして!

日本光電

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

カタログをご希望の方は宣伝課宛ご請求下さい。

〒113 東京都文京区湯島 2 丁目18番 6 号
電話 03(3813)3251 FAX 03(3815)2002
千里技術開発室(千里ライフサイエンスセンタービル11F)
〒565 大阪府豊中市新千里東町 1-4-2
電話 06(873)3251 FAX 06(873)2045