

日本

# 生理学

雑誌

JOURNAL OF THE PHYSIOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

57巻 2号 1995

〔巻頭言〕 本郷利憲：生理学の将来……………	39
<i><b>INFORMATION</b></i> ……………	40
<i><b>CALENDAR</b></i> ……………	46
<i><b>RECORDS</b></i> ……………	47
<i><b>TRENDS</b></i> ……………	49
生理学実験技術法講座 シリーズ「パッチクランプ実験技術法講座」 野間昭典：Caged 化合物による薬物瞬間投与法……………	53
原 著 内藤栄一，松村道一，田口貞善： 異なるタイプのストップシグナル課題中のヒトの運動抑制関連電位の解析……………	59
学会抄録 第41回中部日本生理学会……………	69
第46回日本生理学会中国四国地方会……………	88

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、スティミュレータ、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  
コイダビル4F

TEL. 03-3258-1641  
FAX. 03-3258-1657

## 目 次

[巻頭言] 生理学の将来 (本郷利憲).....	39
--------------------------	----

### **INFORMATION**

#### PLASTIC CHANGES IN THE VOCO-AUDITORY SYSTEM OF THE BRAIN

齋藤 望教授退職記念シンポジウム.....	40
第10回精神研国際シンポジウム.....	41
第2回日本神経内視鏡研究会.....	41
11th ECTRIMS CONGRESS EUROPEAN COMMITTEE FOR TREATMENT AND RESEARCH IN MULTIPLE SCLEROSIS .....	42
HEART AND BRAIN 3rd INTERNATIONAL CONFERENCE ON STROKE .....	42
4th IBRO World Congress of Neuroscience .....	43
「第1回生理学女性研究者の集い」のお知らせ .....	45

### **CALENDAR**

主な学会開催日程.....	46
---------------	----

### **RECORDS**

会員消息.....	47
平成6年度第2回日本生理学会教育委員会議事録.....	47
第137回JJP編集委員会議事録 .....	48

### **TRENDS**

FAOPS CAT WORKSHOP に出席して (今井雄介) .....	49
NEURO-IMMUNO-ENDOCRINE NETWORKS とヒューマン・ネットワーク — 第4回内藤コンファレンスに参加して— (片渕俊彦, 粟生修司) .....	51

### **生理学実験技術法講座**

#### シリーズ「パッチクランプ実験技術法講座」

野間昭典: Caged 化合物による薬物瞬間投与方法 .....	53
----------------------------------	----

### **原 著**

内藤栄一, 松村道一, 田口貞善: 異なるタイプのストップシグナル課題中の

ヒトの運動抑制関連電位の解析.....	59
---------------------	----

### **学会抄録**

第41回中部日本生理学会.....	69
第46回日本生理学会中国四国地方会.....	88

## 〔巻頭言〕

## 生 理 学 の 将 来

東京都神経科学総合研究所 本郷利憲

近年の周辺諸分野の発展にかんがみ、この時点で生理学のあり方と将来像を論じたい、というのが日生誌編集委員会の趣旨である。結構な企画である。先ず私に筆を執れという編集委員会の依頼なので口火を切って私見を述べさせていただくこととし、会員諸氏の活発な論議が展開されることを期待したい。

生理学は“生体の機能”の科学であり、医学、生物学のなかで最も歴史の古い学問の一つとして、発展を遂げてきた。ノーベル賞の領域名が医学・生理学と呼ばれるように、生理学は本来生体の基礎科学とくに機能を扱う学問すべてを包括していた。それが、生体を扱う化学的方法の進歩とともに生化学が分化し、同様に薬理学、生物物理学などが分かれた。そしていま分子生物学などの発展を目の当たりにして、今後、生理学の研究領域はどうなるのか、これまで新しい学問を産み出してきた活力を保ち、強め続けていけるのか、という問いであろう。

この問いに対する答えは、勿論“然り”である。それは、生体の機能の学問という生理学の基本的性格に基づく。生理学が目指す生体機能の解明とは、分子レベル、細胞レベル、組織・器官レベル、個体レベルのすべてのレベルの諸機能について、機能を実現する生体過程とそのメカニズムを、物質および構造と関係づけ、定量的に、時間空間的な動的過程として、理解することである。生体機能の研究は分析と総合より成り、それはどのレベルの機能の研究にも当てはまる。分析によって各機能の要素過程を特定するとともに、総合によって相互に関係する多数の要素過程がまとまった機能を発現する機構を明らかにし、さらにその生物学的意義まで説明し切らなければならない。この、広大で夢多い、“分析と総合”の機能の研究こそ生理学の役目であり、他の基礎科学から際立つ特徴である。生理学の領域は不変であり、解明すべき機能の研究は無尽蔵である。

生理学では、生体機能の解明に役立つなら、機構分析のための形態学、化学、物理学などの方法であれ、原理や機能的意義を明らかにするための情報論、心理学、行動学などのアプローチであれ、常に最善の方法を追求し、可能なあらゆる方法を駆使する。生理学の先人たちはその時代の最も有効な方法を用いて機能の解明を進めてきた。この数年、分子生物学の手法を用いた生理学の研究が急増しているが、これも分子生物学が機能の研究に有用だからである。生理学は今後とも自分野、他分野を問わず有力な新しい方法と戦略を求めて、機能の解明を進めなければならない。そのためには、生理学者はつねに関連分野の進歩を正しく評価、把握するとともに、関連分野との相互の理解と触発を深めるよう、多大の努力を払い続けることが重要であり、それは生理学の学問の豊かさや包容力と発展を保障する道でもあろう。

生理学の将来の重要なテーマは多々あるが、一つは Sherrington が integration と呼んだ統合機能の解明であろう。分析の研究の進歩により、部分ないし要素の知識は著しく増大し、欠落部が埋められて機能の構築が完成しつつあるところが多い。しかし、例えば神経系のように、多数、多様の要素を含む複雑な系では、それらの要素から如何にしてまとまった高次の機能が作り出されるのか、ほとんど解明されていない。複雑系のメカニズムと動作原理を明らかにし、ホメオスタシス、機能適応、行動、脳の高次機能、さらには発達時の全機能系の完成といった統合機能を解明することは、生理学が挑戦すべき最重要課題であろう。

最後に、医学教育における生理学の役割は大きい。分子から個体まで各レベルの生体機能の基本を理解し、とくに機能統合の考え方を身につけることは、将来医師あるいは研究者に育つ学生の素養として必須であり、この教育は将来とも生理学者の重要な責務である。

## **INFORMATION**

---

### **PLASTIC CHANGES IN THE VOCO-AUDITORY SYSTEM OF THE BRAIN**

— an Approach to Language Aquisition —

#### **斎藤 望教授退職記念シンポジウム**

日 時：1995年3月13日(月)～14日(火)  
 会 場：獨協医科大学・臨床医学研究棟・10階講堂  
 参 加 費：無 料  
 懇 親 会：3月14日(火) 午後6：00～ (会費無料)  
           宇都宮グランドホテル (電話 0286-35-2111)  
 Excursion：3月15日(水) 日 光  
 事 務 局：獨協医科大学第二生理学教室 荒井 興 夫  
           〒321-02 栃木県下都賀郡壬生町北小林880  
           電話 0282-87-2126 FAX 0282-86-6214  
 ※パンフレット(抄録)をご希望の方は、ご連絡下さい。

#### **Program**

##### **March 13 (9：30～16：30)**

- Okanoya, K. (Chiba U.) : Asymmetric Effects of Left- and Right-HVC Lesion on Song Perception and Song Production in Bengalese Finches.
- Wakita, M. & Watanabe, S. (Keio U.) : Recovery of Function from Neonatal Lesion of Auditory Cortex in Rats.
- Sakaguchi, H. (Dokkyo U.) : Molecular Mechanisms of Plasticity in the Avian Brain.
- Maekawa, M. & Uno, H. (Dokkyo U.) : Plasticity Song Perception of Zebra Finch during Song Learning.
- Doupe, A. J. (UCSF) : Song-selective Neurons and their Emergence during Vocal Development.
- Funasaka, S. (Tokyo Med. Col.) : Analysis of Speech Sound Recognition with Different Speech Processing Strategies on Cochlear Implant Patients.

##### **March 14 (9：30～16：30)**

- Scheich, H. (Inst. Neurobiol, Magdeburg) : Coding of Physical and Semantic Aspects of Sound in Auditory Cortex.
- Ehret, G. (Ulm U.) : Plasticity in the Auditory Cortex of Mammals.
- Riquimaroux, H. (PRESTO, JRDC) : Processing of Time and Frequency Information in the Auditory Cortex of the Japanese Macaque.
- Hayashi, M. (NTT) : Analysis of Auditory Magnetic Fields Evoked by Speech Sounds.
- Taniguchi, I., Horikawa, J. & Hosokawa, Y. (Tokyo Med. & Den. U.) : Optical Imaging of Cortical Activity Induced by Intracochlear Electrical Stimulation.

## 第10回 精神研国際シンポジウム

### “Visualization of Information Processing in the Human Brain : Recent advances in MEG and functional MRI”

日 時：1995年10月12日(木)～13日(金)

場 所：アルカディア市ヶ谷(私学会館)東京

海外招待演者：

J. W. Belliveau	(Boston)
S. Ogawa	(Murray Hill)
L. Deecke	(Vienna)
Y. C. Okada	(Albuquerque)
R. Hari	(Helsinki)
M. Reite	(Denver)
M. Hoke	(Münster)
K. Ugurbil	(Minneapolis)
R. Llinás	(New York)
S. J. Williamson	(New York)
J. Mäkelä	(Helsinki)
C. C. Wood	(Los Alamos)
G. McCarthy	(New Haven)

ポスター発表：

脳磁図(MEG)と機能的磁気共鳴像(fMRI)を用いた基礎的な脳機能研究、臨床応用に関する発表を募集します。

発表申込締切：1995年7月15日

参加費：12,000円(懇親会会費、予稿集代を含む)

参加およびポスター発表御希望の方は下記までご連絡ください。

参加申込締切：1995年8月15日

事務局

〒156 東京都世田谷区上北沢2-1-8

(財)東京都精神医学総合研究所

精神生理部門 橋本 勲

電話：03-3304-5701

シンポジウム専用FAX：

03-3304-9396

## 第2回 日本神経内視鏡研究会

日 時：平成7年11月18日(土)

場 所：東京

会 長：慶應義塾大学医学部脳神経外科  
教授 戸谷 重雄

事務局：〒160 東京都新宿区信濃町35

慶應義塾大学医学部 脳神経外科

TEL：03-3353-1211 内2329

FAX：03-3354-8053

第2回日本神経内視鏡研究会事務局

〒160 東京都新宿区信濃町35

慶應義塾大学医学部脳神経外科内

**11 th ECTRIMS CONGRESS**  
**EUROPEAN COMMITTEE FOR TREATMENT AND**  
**RESEARCH IN MULTIPLE SCLEROSIS**  
**JERUSALEM, ISRAEL, 3-6 SEPTEMBER, 1995**

SUGGESTED TEXT

Name : 11 th ECTRIMS Congress-European Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis

Venue : Laromme Hotel, Jerusalem, Israel

Date : September 3-6, 1995

For Further Information :

11 th ECTRIMS Congress-European Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis

SECRETARIAT : P. O. BOX 50006, TEL AVIV 61500, ISRAEL

TEL : 97235140014, FAX : 97235175674 or 97235160325

**HEART AND BRAIN**  
**3rd INTERNATIONAL CONFERENCE ON**  
**STROKE**  
**PRAGUE, CZECH REPUBLIC, OCTOBER 18-21, 1995**

CONFERENCE SCIENTIFIC SECRETARIAT

Correspondence should be addressed to : 3rd INTERNATIONAL CONFERENCE ON STROKE

P. O. Box 50006, Tel Aviv 61500, ISRAEL

Tel : +97235140014 Fax : +97235175674 or +9723660325 (from 28 December the fax no. 660325 will be replaced by 5160325), Telex 341171 KENS IL

MAIN TOPICS

- I. HEART AND BRAIN INTERACTIONS
- II. HEART-INDUCED BRAIN DISEASES
  - 1. CARDIOEMBOLIC STROKES
  - 2. NEUROLOGIC DEFICITS FOLLOWING CARDIAC SURGERY
- III. BRAIN-INDUCED CARDIAC DISEASES MEDICAL AND SURGICAL SITUATIONS
- IV. HEART AND BRAIN DISEASES : CURRENT STATUS AND PERSPECTIVES ON VASCULAR RISK AND THERAPIES
  - 1. RISK FACTORS
  - 2. CURRENT THERAPIES AND NEW PERSPECTIVES FOR TREATMENT AND PREVENTION OF CARDIO-AND CEREBROVASCULAR DISEASES

CALL FOR ABSTRACTS

Participants wishing to present a paper, are requested to submit an abstract (on the attached form)

NOT LATER THAN JUNE 15, 1995 together with their Registration Form and fees.

**4 th IBRO World Congress of Neuroscieense**  
**9-14 July 1995 Kyoto JAPAN**

**SATELLITE SYMPOSIA**

**1. ROLE OF ADENOSINE IN THE NERVOUS SYSTEM**

15-17 July, Kobe Shiawaseno-mura, Kobe City

Contact : Prof. Y. Okada, Dept. of Physiology, School of Medicine,  
 Kobe University, 7-5-1 Kusunoki-cho, Chuo-ku, Kobe 650, Japan  
 (phone : (81-78) 341-7451, ext. 3220 ; fax : (81-78) 341-5732)

**2. THE ROLE OF NITRIC OXIDE IN THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM**

8 July, Prince Hotel, Otsu, Shiga

Contact : Dr H. Kimura, Institute of Molecular Neurobiology,  
 Shiga University of Medical Science, Otsu 520-21, Japan  
 (phone : (81-775) 48-2330 ; fax : (81-775) 48-2331 ; E-mail : c51095@jpnkudpc.bitnet)

**3. CNS RECONSTRUCTION**

8 July, Kyodai Kaikan, Kyoto

Contact : Prof. C. Ide Department of Anatomy, Faculty of Medicine,  
 Kyoto University, Yoshidakonoe-cho, Sakyo-ku, Kyoto 606, Japan.  
 (phone : (81-75) 753-4332 ; fax : (81-75) 751-7286)

**4. LIVER INNERVATION**

2-5 July, Hotel Okudogo, Matsuyama City

Contact : Prof. T. Shimazu, Department of Medical Biochemistry,  
 Ehime University School of Medicine, Shigenobu, Ehime 791-02, Japan.  
 (phone : (81-899) 64-5111 ; fax (81-899) 64-9297)

**5. BIOLOGICAL CLOCK IN THE SUPRACHIASMATIC NUCLEUS**

15-17 July, Heian Kaikan, Kyoto

Contact : Dr Hitoshi Okamura, Department of Anatomy, Kyoto Prefectural  
 University of Medicine, Kawaramachi-Hirokoji, Kamikyo-ku, Kyoto 602, Japan.  
 (phone : (81-75) 251-5302 ; fax : (81-75) 251-5304)

**6. EXTRAGENICULOSTRIATE MECHANISMS UNDERLYING  
 VISUALLY-GUIDED ORIENTATION BEHAVIOUR**

15-18 July, Hotel New-Koshiji-So, Muika-machi, Niigata

Contact : Dr M. Norita, Department of Anatomy, School of  
 Medicine, Asahi-machi, 1 Niigata, Niigata 951, Japan  
 (phone : (81-25) 223-6161, ext. 2210/13 ; fax : (81-25) 222-5642)

**7. PERCEPTION MEMORY AND EMOTION: FRONTIERS IN NEUROSCIENCE**

4-8 July, Ooyama Learning Institute, 140-1 Higashi-kuromaki,  
 Ooyama, Kami-niikawa-gun, Toyama 930-01

Contact : Dr H. Nishijo, Department of Physiology, Toyama Medical and  
 Pharmaceutical University, 2630 Sugitani, Toyama 930-01, Japan  
 (phone : (81-764) 34-2281 ; fax : (81-764) 34-5013)

**8. CELLULAR DETERMINANTS OF LEARNING AND MEMORY :  
 PHOSPHORYLATION AND REGULATION OF RECEPTORS,**

**ION CHANNEL AND GENE EXPRESSION**

17-19 July, Waseda University, Tokyo

Contact : Prof. T. Yoshioka, Department of Molecular Neurobiology, School of Human Science, Waseda University, 3-579-15 Mikajima, Tokorozawa, Saitama 359, Japan (phone & fax : (81-429)48-6883)

**9. PROCESSING IN AUDITORY AND LANGUAGE CORTEX (Katsuki Memorial)**

6-7 July, Hokkaido University, Sapporo

Contact : Prof. Kazuo Kameda, Department of Physiology, Hokkaido University School of Dentistry, Sapporo 060, Japan  
(phone : (81-11)706-2111 ; fax : (81-11)706-4919)

**10. HUMAN VOLUNTARY MOTOR CONTROL**

7-8 July, Sin-Kokaido International Congress Hall in Nara Park, Nara City

Contact : Dr T. Ohtsuki, Department of Life Sciences, Graduate School of Art and Sciences, University of Tokyo, 3-8-1 Komaba, Meguro-ku, Tokyo 153, Japan  
(phone : (81-3)5454-6867/6133/6134 ; fax : (81-3)3467-9534)

**11. PHYSIOLOGY AND ANATOMY OF THE ASSOCIATION CORTICES :  
IN HONOUR OF PROFESSOR KISOU KUBOTA**

17-19 July, Inuyama International Conference Center, Inuyama City

Contact : Prof. H. Sakata, Department of Physiology, School of Medicine, Nihon University, 30-1 Oyaguchi-Kamimachi, Itabashi-ku, Tokyo 173, Japan  
(phone : (81-3)3972-8111, ext. 2230 ; fax : (81-3)3972-8292)

**12. FUNCTIONS AND CLINICAL RELEVANCE OF THE HIPPOCAMPUS**

15-16 July, Kyoto International Community House,  
Awataguchi-toriimachi, Sakyo-ku, Kyoto 606, Japan

Contact : Dr Nobumasa Kato, Department of Psychiatry, Shiga University of Medical Sciences, Setatsukinowacho, Otsu 520-21, Japan  
(phone : (81-775)48-2293 ; fax : (81-775)43-9698)

**CONTACT** : Congress Secretariat • Fourth IBRO World Congress of Neuroscience • c/o International Communications Specialists, Inc. • Kasho Bldg., 2-14-9, Nihombashi • Chuo-ku, Tokyo 103, • Japan

Phone : (81-3)3272-7981 Fax : (81-3)3273-2445

**DEADLINES** : Submission of Abstracts : 15 December 1994 • Early Registration : 1 April 1995 • Hotel & Tour Applications : 1 April 1995

## 「第1回生理学女性研究者の集い」のお知らせ

日本生理学会が古希を過ぎる年齢となり、女性会員数も増加して来ましたが、これまで互いに意見・情報交換する場に恵まれませんでした。SCIENCE誌VOL. 263の特集に見られるように、女性研究者の研究環境については世界的に関心が寄せられ、日本学術会議(15期)からも環境改善の緊急性について声明が出されています。このような時代の到来を迎え、会員相互の親睦と研究の発展のため、また海外の諸学会における女性部会との連絡の窓口として「生理学女性研究者の会」の発足を有志が諮りました。会の今後の活動について皆様にご相談致したく、第1回の集いを第72回日本生理学会の折に下記の要領で開きます。自分を紹介するスライド1枚を用意して御参集下さい。連絡は

3月20日までに下記へ葉書で、欠席の方もコメントをお寄せ下さい。

日 時：1995年3月30日 午後6時半

場 所：東山ガーデン

TEL：052-781-3111

マイクロバス：6時20分豊田講堂学会受付前から出ます

会 費：5,000円

生理学女性研究者の会連絡先：

昭和大学歯学部生理学教室

半 場 道 子

TEL：03-3784-8161

## CALENDAR

### 主 な 学 会 開 催 日 程

開 催 日 (演題締切)	名 称	会 場	連 絡 先
95. 3.27-28	第2回日英合同生理学会 岡崎シンポジウム	岡崎：生理学研究所	北大 菅野 ☎011-716-2111 生理研 山岸 ☎0564-55-7831
95. 3.30-31	第72回日本生理学会大会	名古屋：名大 東山キャンパス	名大 富田・曾我部・渡邊・熊澤 ☎052-782-8246
95. 4. 1- 2	第2回日英合同生理学会 名古屋シンポジウム	名古屋：名大	名大 富田・曾我部 ☎052-741-2111 名大渡邊・熊澤 ☎052-781-5111
95. 4. 7- 9	第24回日本医学会総会	名古屋	第24回日本医学総会事務局 ☎052-732-6622 名大 共済会館内
95. 5.15-17	NEURODEGENERATIVE DISEASES '95 MOLECULAR & CELLULAR MECHANISMS, & THERAPEUTIC ADVANCES	WASHINGTON, DS : Georje Washiston Univ	
95. 6.25-30	第11回国際事象関連電位会議	沖縄： LAGUNA GARDEN HOTEL	PMSI JAPAN (株) ☎03-5275-6991 FAX : 03-5275-6994
95. 6.26-30	1st International Conference on Functional Mapping of the Human Brain	パリ	東北大 加齢医学研・福田 寛 ☎
95. 7. 2- 7	15 TH BIENNIAL MEETING OF THE INTERNATIONAL SOCIETY FOR NEUROCHEMISTRY	京都：国立京都国際会館	JTB ☎075-341-1618 FAX : 075-341-1917
95. 7. 2- 7	4 th IBRO World Cingress of Neuroscience	京都：国立京都国際会館	理研 フロンティア・伊藤正男 ☎0484-62-1111 (6421)
95. 9. 3- 6	11 th ECTRIMS Congress-European Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis	ISRAEL : Laromme Hotel, Jerusalem	SECRETARIAT : P. O. BOX 50006, TEL AVIV 61500, ISRAEL ☎972-3-5140014 FAX : 972-3-5175674
95.10.10-12	第6回国際脳電磁図トポグラフィ ィー会議	徳島：	徳島大 医 脳神経外科・松本哲蔵 ☎0886-31-3111
95.10.12-13 (95. 7.15)	第10回精神研国際シンポジウム	東京：アルカディア市ヶ 谷	都精神研 精神生理・橋本 勲 ☎03-3304-5701 FAX : 03-3304-9396
95.10.15-19	第10回国際臨床神経生理会議	京都：国立京都国際会館	京大 医 神経内科・木村 淳 ☎075-751-3111
95.11.18	第2回日本神経内視鏡研究会	東京：	慶應大 医 脳神経外科内 ☎03-3353-(2329) 戸谷重雄

\* INFORMATION とこの欄への記載をご希望の方は開催日の3ヶ月前までに事務局宛お送り下さい。

## RECORDS

### 会 員 消 息

#### <新 入 会 員>

氏 名	勤 務 先 (電話・FAX)	〒	自 宅 住 所	専 門 分 野
金 丸 善 樹	航空医学実験隊 0425-28-1573(433)	190	東京都立川市曙町1-5-2 ラビアン5号館102号	環 境
米 田 良 三	日本臓器製薬㈱ 06-203-0441			
倉 田 康 孝	金沢医科大学 第二生理 0762-86-2211(3644)	920-02	石川県河北郡内灘町大学1-3 医大宿舍 336号	心臓・循環
高 石 知 明	近畿大学 医学部 第二生理 0723-66-0221	584	大阪府富田林市藤沢台6-12-1-304	
坪 川 涼 子	東海大学 開発工学部 生物工学科 榑原研究室 0559-68-1211(4317)・0559-68-1156	410	静岡県沼津市山王台2-21-210	
篠 山 重 威	京都大学 医学部 第三内科 075-751-3185			
吉 澤 誠	東北大学 大学院 情報科学研究科 022-222-1800(4248)・022-263-9289	982	宮城県仙台市太白区大野田字竹松28-2-103	心臓・循環

#### <転勤・異動>

氏 名	勤 務 先 名	勤務先TEL・FAX
浅 野 牧 茂	日本女子大学食物学科公衆衛生学	03-3943-3131(7130)・03-3942-6111
井 上 修 二	国立健康・栄養研究所 老人健康・栄養部	03-3203-5723
小 林 聡	厚生連熊谷総合病院脳外科	
高久保 文 恵	愛媛大学医学部衛生学	0899-64-5163・0899-64-5163
高 橋 憲 一	筑波技術短期大学	0298-58-9552
松 田 佳 和	(株)ジャパンエナジー医薬バイオ研究所	048-433-2194
嶽 本 和 久	名古屋大学医学部第二生理	052-741-2111(2021)

### 平成6年度第2回日本生理学会教育委員会議事録

日 時：平成6年10月29日(土) 午前11:30～午後1:00

場 所：学士会館別館

出席者：加藤(北海道大), 佐藤(岩手医大), 佐久間(日本医大), 栗原(慈恵医大), 橋本(女子医大), 本間(昭和), 中野(東海大), 高田(浜松医大), 富田(名古屋大), 瀬山(広島大), 今永(福岡大), 有田(大分医大), 小坂(長崎大)

欠席者：入来(山梨医大), 今井(大阪医大)

1. 生理研生命科学実験技術トレーニング・コースについて

1) 平成6年7月21～29日まで生理学研究所で行わ

れたトレーニング・コース受講者についてアンケート調査したところ(参加者53名のうち47名回答があり)全員がこのトレーニングコースを有意

義であったと回答した。

1. 日本生理学雑誌掲載中の生理学実験技術法講座について
  - 1) 「パッチクランプ実験技術法講座」の原稿は11月中にすべて入稿する。
3. IUPS 生理学教育コミッションについて
  - 1) 日本生理学会にメンバーになるよう要請があり、代表栗原（日本生理学会教育委員会委員長）で登録した。
  - 2) 各教育委員は IUPS 生理学教育コミッションよりのアンケートに回答し、委員長 Somjen 教授に送るよう栗原委員長から依頼があった。
4. 生理学問題集について
  - 1) 「MCQ による生理学問題集」の原稿は数名の執筆者分を除いて全て入稿された。
  - 2) 今後は教育委員による各担当項目の修正作業に入る旨確認した。
5. 第72回日本生理学会(名古屋)における教育講演について
  - 1) 日本生理学会教育委員会主催の教育講演の演者をマンチェスタ大学の Prof. Arthur H. Weston に依頼した旨、富田委員から報告があり座長は栗原委員長がつとめることに決定した。
6. 第72回日本生理学会(名古屋)における生理学教育用コンピューターソフトのデモンストレーション企画について
  - 1) 「生理学教育におけるパーソナルコンピューター」(名大、環境医学研究所、水村和枝先生担当)を教育委員会として共催するかどうか、内容を検討した上、決定することとした。
7. 日本生理学会教育委員会会計報告について
  - 1) 担当委員 橋本（女子医大）より報告がありました。承された。
8. 次回教育委員会は平成7年3月29日

### 第137回 JJP 編集委員会議事録

日時：平成6年9月3日(土) 午後2:00～午後4:00

場所：学会誌刊行センター(弥生)5F会議室

出席者：金子委員長、岡田、熊田、佐藤、高橋、酒田、福田、山下各委員

- 1) 前回議事録を原案通り承認した。
- 2) 論文審査状況の確認と、編集状況の報告が行われた。
- 3) 審査用紙に関する改良案が出され、修正を加えることとした。
- 4) ワープロファイルでの投稿を推進するため、採択された論文はフロッピーディスクを提出してもらうこととした。
- 5) カラー印刷の費用の著者負担について検討をした。

次回期日：平成6年11月26日(土) 午後2:00～  
学会誌刊行センター(弥生)会議室

## FAOPS CAT WORKSHOP に出席して

日本生理学会教育委員会委員

大阪医大 今井雄介

1994年11月6～9日に上海国際貿易センターで開かれたFAOPS(アジア, オセアニア生理学会)に先立ち, 11月2～5日の4日間, 中国科学院上海生理学研究所3階講堂でCAT Workshop (Workshop on Computer Assisted Teaching in Physiology)が開かれた。これはThe Organizing Committee of FAOPSのChairmanでありかつ上海生理学研究所長である楊教授の肝いりで行われたものである。日本からの参加者は私のみであったので生理学会教育委員会委員長の栗原先生より日本生理誌に報告するようにと依頼された。

中国人口13億から見ればその僅か1%が集う上海市は, なんと人口1,300万の大都市である。中国科学院上海生理学研究所は上海市の中央やや西よりにあり, いくつかの科学院研究所群の中央にある。上海生理学研究所の徐教授, 于教授の案内で数カ所を見学してきたが, 上海は活気に漲り, 世界一の大都市になろうとしている意気込みが感じられる都市であった。

CAT Workshopは4日間とも午前8時半から午後9時頃までにいる長時間で, 参加者は講師陣と受講者から成り, 講師陣の指導者はメルボルン大学のKemmer博士, その他シドニー大学のSefton教授, ニューデリーのNayar教授, マラヤ大学のYeoh教授, ADInstrumentsのSchlensky氏であった。受講者はミャンマー, マレーシア, タイ, ベトナム, インド, 韓国, フィジー, 北京, 上海, 重慶, その他中国各地からの教授, 教員, 大学院生で計22人であった。内容は実習を主としてアレンジされていて, いくつかの講義, 討論があった。参加者は実習のほか朝, 昼, 夜と3食を共にするので皆すっかり仲良しになった。

Ann Sefton教授の講義は哲学的かつ分析的で興味深いものであった。要旨はコンピュータを補助とする生理学教育の利点として次の項目をあげ, 各々の説明があった。

コンピュータは生理学の難しい概念に到達する道を提供することができる。問題解決を促進することができる。シミュレーション, グラフ, フローチャートを

自由に使用することができる。機能モデルを試動させ, もしそうならどうなるだろうかとの自発的な問を引き出すことができる。概念的知的学習のみならずコンピュータ上で経験することができる。さらにコンピュータは高価な装置の代用, 高価かつ困難な実験の代理, 学習におけるフィードバックの用意ができることの説明があった。生理学概念の理解, 正常異常の生理学問題を解く, 専門分野の各状況下での生理学知識の適用, 生理学的興味を刺激する等々を生理学実習のゴールとすれば, コンピュータは学習を高める補助装置となることが理解できた。

学生は自分のアイデア, 技量をコンピュータ上で実行できるのでモチベーションを増大させ, また他の方法で可能でない機会を得ることができる。またネットワーク等の利用により材料, データ, ライブラリーへのアクセスが容易なこと, また仲間同志での口頭コミュニケーションを活性化して, グループの協調的学習を効果的なものにするので学生は学習を楽しむことができる。コンピュータを導入した教育では教員は前以てよく検討する必要があるが, うまく準備すれば学習者相互に良い影響があり, 能動的な学習が可能になるとの報告があった。

Workshopの実習のためにはMacが6台, IBM PCが4台ほど用意してあった。内容はMacを用いた, 生理学実習と教材作製の学習と, MacまたはPCを用いた実習用シミュレーターの利用等であった。

生理学実習用としては, Macには各々データ処理装置であるMaclabが接続されていたMacがあり, 指先脈波計等のトランスデューサーを用いた実習が行われた。データをMacに取り込むことで各種の処理が可能となり, 極めて有用な学生実習装置になることが理解できた。トランスデューサーとしては脈波計以外にも胸郭呼吸計, 心電計, 心音計, 耳朶血流量計その他が多く用意されていたので, 自らが被検者となり, 測定値相互の位相のずれ, 計測値の相関を確かめることができる。新しいアイデアがあればそれを確かめる

ことも容易であった。価格の問題を別にすれば有用で、実習には半日では不足であるが、全日または2日間行えば学生が新しいアイデアを出し、学習効果を上げられるものと考えられた。

教材作製の学習としては有名な Hyper Card の upper version と見られる Hyper Card Grasp が用いられ、教育用プログラムの作製の実習が行われた。

Hyper Card Grasp は文字、映像、動画、音、音声の各種の情報の取込みと再生が可能なソフトウェアであって、ボタンを用いたりしてポップアップメニューが作れるなど、皆楽しんでオリジナルなプログラミングをし、互いの批評討論会も楽しんだ。これには Kemm 博士および全講師陣が担当した。参加者はほぼ全員が PC に堪能な人達であったが Mac には初めて接したようで、Mac 環境を大いに楽しんでた。

Mac または PC を用いた実習用シミュレーターは私の持ち込んだものを含めて既存の数種のものがあった。Mac 用のデモプログラムを持参したのは私のみであって、第2日目にシミュレーションデモと講演をする機会があった。私は回路網熱力学の手法で、Ussing 教授が明らかにした蛙皮 Na 能動輸送の機構を回路モデルとし、BASIC を用いてコンピュータ上でシミュレーションプログラム“Frog-Skin”を作製したものを報告した。

一般に電気回路はそれから現実の電気システムを組み上げることもできるが、回路は回路上の全ての電流電圧関係を示しているのだから、キルヒホッフの電流則、電圧則を用いて連立方程式群を導き出すことができる。連立方程式群を用いるとコンピュータ上でその電気システムの挙動をシミュレートすることができる。回路網熱力学の手法はこの電気回路のアナロジーであって、生体システムを回路モデル化して、方程式群を導出してシミュレートするものである。回路変数としてはそれらの積がパワーの単位となるような流変数と力変数を選ぶ。この場合流と力の関係が記述できれば非線形関係でもよく、線形関係の仮定は不必要である。したがって化学反応も取り入れた生体膜輸送現象が取り扱える。

この“Frog-Skin”プログラムは Ussing 装置内の現実の蛙皮のようにコンピュータ上で挙動するもので電

流—電圧関係を画面上に表示する。これから開放条件の膜電位、短絡条件の電流値、コンダクタンスを読み取ることができる。シミュレーションでは温度、Na コンダクタンス、K コンダクタンス、能動輸送の速度定数を変化できるようにしている。これは現実の系の温度、透過性と代謝の阻害剤効果をシミュレートするためのものである。

参加者が熱心であったこと、また時間をかけて説明できたこともあって、私のプログラムは評判がよく、「これこそシミュレーションである」と何人かの人から賞賛を受けた。また持参していた IBM Quick BASIC で作った“Frog-Skin”シミュレーションプログラムは多くの国の参加者が利用できるので配布したところ皆に喜んでもらった。

会場で用意されていた注目すべきシミュレーションプログラムは今回参加していなかったオーストラリアの Dr. P. H. Barry の作品で、電気生理学的教育用プログラムであった。彼は School of Physiology and Pharmacology, University of New South Wales, Sydney の Associate Professor であって、私も昨年 Glasgow の IUPS '93 の「生理学の研究、教育におけるコンピュータ」Workshop で一緒になったことがある。彼のプログラムは非常によくできていてその Workshop で最も評判が良かった。

P. H. Barry の論文は Am. J. Physiol. (259, Adv. Physiol. Edu. 4), S15-S23. 等多数あるので知っている人も多いことと思う。今回の会でも評判がよく、評価用として参加者全員に配布された。これは IBM PC 上で走るものであり各地で利用されることと思う。これはコンピュータ上で膜電位測定、活動電位測定ができ、非常に細やかな配慮がなされてるプログラムである。例えば液を交換するときも一回交換では前液の影響が残るようになっている。また透過性成分は徐々に時間に応じて濃度が変化していくようになっていたりする。すなわち実験と同じような注意がコンピュータシミュレーションでも必要となるプログラムである。

最終日は Council Members of FAOPS と我々全員との Farewell Dinner があった。席上 President の伊藤正男先生から直々に CAT Workshop 参加証明書を手渡されて全員感激の体であった。

## NEURO-IMMUNO-ENDOCRINE NETWORKS とヒューマン・ネットワーク — 第4回内藤コンファレンスに参加して —

九州大学医学部第一生理

片渕俊彦・栗生修司

平成6年11月25日より28日まで、内藤記念くすり博物館(岐阜県羽島郡川島町、エーザイ川島工園内)において、Neuro-Immuno-Endocrine Networks (I) というタイトルでの第1回目の内藤コンファレンスが開催された。このコンファレンスは、内藤記念科学振興財団のサポートにより、堀哲郎教授(九州大学医学部第一生理)を組織委員長とし、中尾一和教授(京都大学第二内科)、田平武部長(国立精神・神経センター、神経研究所)および井村裕夫総長(京都大学)で構成される組織委員会により企画された。「神経・免疫・内分泌ネットワーク」のテーマの下に多彩な領域で活躍中の研究者が集まり、活発な討論が行われた。招待口演者として国外より10名、国内からは17名で、その他に公募から選ばれた60題のポスターセッションがあり、参加者(財団役員を除けば全員が口演またはポスター発表)は総勢約100人であった。11月25日夕方より、オープニングセレモニーがあり、翌26日からいよいよシンポジウムが始まった。

セッションAはSignal Molecules and Receptors of Neuro-Immuno-Endocrine Networksと題し、平野俊夫(大阪大学)、錫村明生(藤田保健衛生大学)、橋本浩三(高知医科大学)、E. J. Goetzl(カリフォルニア大、USA)、澤田正史(島根医科大学)の各氏が、脳内におけるサイトカインやサイトカイン受容体、および免疫系における神経ペプチド(VIPなど)の発現制御や作用機序、および脳細胞におけるサイトカインネットワークについて分子生物学的なアプローチによる最新の情報を提示した。また、サイトカインによるイオンチャンネル電流の修飾作用を、単一神経細胞レベルで詳細に検討した結果も示された。in vivoにおけるサイトカインの多彩な作用を解明する上で基礎となる知識であり、参加者にとっても非常に有用な情報となった。

セッションB (Neural and Hormonal Modulation of Immunity)では、D. L. Felten(ロチェスター大学、USA)、堀哲郎(九州大学)、野村靖幸(北海道大学)教授らが、自律神経系による免疫系制御の重要性について、(1)交感神経系による細胞性免疫機能の調節と自己免疫疾患および老化に伴う変化、(2)視床下部-脾

臓交感神経系による脾臓ナチュラルキラー細胞活性制御の脳内機序、および(3)副交感神経の伝達物質であるアセチルコリンによるTリンパ球の細胞内情報伝達機構などを明らかにした。また、名倉宏(東北大学)、木下喜博(大阪市立大学)、I. Berczi(マニトバ大学、カナダ)教授らにより消化管粘膜免疫や胸腺機能に対するVIPやサブスタンスPなどの神経ペプチドや成長ホルモンなど下垂体ホルモンの作用が示された。

セッションC (Actions of Cytokines on Neural and Endocrine Systems)では、有村章(チューレン大学、USA)、C. M. Blatteis(テネシー大学、USA)、早石修(大阪バイオサイエンス研究所)、大村裕(日本臓器生物活性科学研究所)、E. A. Korneva(ロシア医学アカデミー)、C. Rivier(ソーク研究所、USA)、深田順一(京都大学)、對馬敏夫(東京女子医大)、森 崇英(京都大学)、古川昭栄(岐阜薬科大学)およびS. M. McCann(テキサス大学、USA)の各氏により、サイトカインおよびその関連物質による生体反応とそのメカニズムについての講演が行われた。話題となったのは、(1)血中サイトカインによる発熱やACTHなどの下垂体ホルモン分泌反応の作用機序(作用部位、プロスタグランジン系や一酸化窒素の関与、および有機水銀の摂取による変化など)、(2)サイトカインの下垂体-甲状腺系および生殖機能に対する作用、(3)サイトカインの神経成長因子発現に対する作用、(4)プロスタグランジンE<sub>2</sub>の睡眠誘発作用や酸性線維芽細胞増殖因子の多彩な中枢作用などであった。特に血中サイトカインの脳内作用部位については、破壊実験やc-fos蛋白の発現などによる解析によって脳室周囲器官や下垂体門脈系の重要性が示されたが、矛盾する見解もあり今後さらに検討されるべき問題と考えられる。また、一酸化窒素がLHRH分泌を亢進させることを明らかにしたDr. McCannから、一酸化窒素は“Sex Gas”であるとのジョークも飛びだした。

セッションD (Pathophysiology of Neuro-Immuno-Endocrine Networks)では、N. Fabris(国立老化研究所、イタリア)、広川勝彦(東京医科歯科大学)、田平武(国立精神神経センター)、B. G. W. Arnason(シカゴ大学、

USA), 清水恵司(大阪大学)の各氏によって, 老化およびストレスと免疫機能, ストレスによる神経細胞死, 自己免疫疾患における脳と免疫系との相互作用, グリオーマ細胞傷害性蛋白の遺伝子解析と遺伝子治療への可能性など, ヒトおよび様々な実験動物モデルを用いた独創的な研究の成果が示された。

コンファレンスでは, 朝9時から夕方までの口演が終わると夕食となったが, それで日程が終わるわけではなく, 午後7時から9時までポスターセッションの時間があった。60題のポスターは2日間に分けて呈示され, 熱心な討論が行われた。ポスター発表では優れた内容のものが多くあった。さらにポスター終了後, ラウンジでは, 外国人も含めてテーブルを囲み, お酒を飲みながらの討論や情報交換の輪がいくつもできた。ほとんどすべての参加者が同じ宿舎に滞在していたので, 時間を気にすることなく議論することができたのは, このような合宿型のコンファレンスの最も良い点であろう。本コンファレンスには多くの異なる学問分野からの参加があり, またとない豊富な情報交換の場となり, 新しいヒューマン・ネットワークが研究者間に形成されたようである。国外からの参加者からも

「これだけ多種多様な発表を脳・免疫系連関という一つのコンセプトの下で聞いたのは初めてで, 非常に educational な会であった」という感想もあった。

11月28日の午前中まで口演があり, 最後に, ポスターセッションの中から何題かが組織委員会によって選ばれ, 研究奨励金が渡されること, そしてこのコンファレンスは今後もさらに2年間続くことなどがアナウンスされ, 昼食後解散となった。

脳と免疫系との相互連関による調節系は, 生体内において様々な部位で重要な機能に関わっている。そのことを示すようにコンファレンスの内容も多彩であった。「神経・内分泌・免疫学」という研究分野は, 神経科学, 免疫学, 内分泌学, 生理学, 病理学, 分子生物学, 行動科学, 臨床医学などに広くまたがっており, しかも学際的というより, これらを包含した総合的視点, 知識および研究技術を必要とする。生理学者は, この新しい研究分野へ参入するに当たって, 最も近いところに位置しており, 生理学が発展していく有望な分野の一つであろう。因みに国外の生理学者および国内生理学会会員の参加は, 105名中19名で最も多く, 今後の発展が大いに期待される。

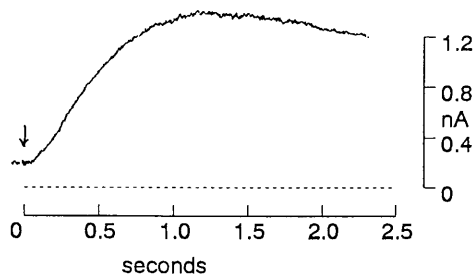
## Caged 化合物による薬物瞬間投与方法

野間 昭典

(京都大学医学部生理学教室)

### 1) Caged 化合物の利用

1982年 Lester と共同研究者はムスカリン性アセチルコリン受容体の拮抗阻害薬で、しかも光照射によってその結合定数が減少する化合物を開発し、これによって心筋ムスカリン性カリウム電流の活性化速度を測定することに初めて成功した (Nargeot, Lester, Birdsall, Stockton, Wassermann & Erlanger, 1982). この実験で用いられた標本はカエル心房筋で、標本をまずカルバコールと caged 化合物である 3, 3'-bis [ $\alpha$  (trimethylammonium) methyl] azobenzene (Bis-Q) を含む液で灌流した. コントロールでは Bis-Q の拮抗阻害によってカリウム電流は記録されない. 薬物が標本全体に均等に拡散した後、紫外光パルス (40  $\mu$ sec でピークに達し、250  $\mu$ sec で消退する) を与えると、S 字状の時間経過で増大する K 電流が記録された (図 1). これはアゴニストが結合するとチャンネルが開くとする単純なモデルで予測される単一指数関数的な活性化とは異なる. 明らかにアゴニストの結合に続く数ステップの反応を介



第 1 図. カエル心房筋の ACh 依存性 K 電流の活性化. 時間 0 でフラッシュを与えている. 多細胞心房筋標本の電流を蔗糖間隙法で記録したもので、保持電位は静置電位より 20 mV 脱分極側に設定している. (Nargeot et al. 1982 より改編)

して最終的にチャンネルが開くことを暗示している. この機序に関してはその後の研究によって、ACh 受容体とチャンネルはまったく異なるもので、チャンネルの活性化は GTP 結合蛋白の活性化を介しており、そのため K 電流の活性化に遅延が生じることが明らかにされている (Kurachi, Nakajima & Sugimoto, 1986). Caged 化合物を使った実験がそれまでの研究手段より優れていた点は、細胞全体にほぼ均等に分布するレセプターを同時に刺激できたことである. それまで、アセチルコリンを瞬間的に投与方法としては、硝子管微小電極に ACh 溶液を満たし、ACh 分子を短形波電流で電気泳動的に与えることが行われていたが、この方法ではムスカリン性 ACh 受容体のように細胞全体にレセプターが分布している場合には電極先端から受容体までの距離によって拡散に要する時間がまちまちで、定量的な解析をすることができなかったのである. この研究で用いられた Bis-Q のように光照射によって分子の構造が変化し、直接的にあるいは間接的に生理活性を発揮する物質を Caged-化合物と呼んでいる. 最近では、サイクリック AMP, GMP, IP<sub>3</sub> など、いわゆるセカンドメッセンジャーや ATP, Ca<sup>2+</sup> などいろいろな物質の作用を調べるためにそれぞれの caged 化合物が合成されている.

パッチクランプ法と組み合わせると caged 化合物の利用範囲は更に広がる. 特に単離した細胞にパッチ電極を適用する場合、whole cell clamp の状態で電極内液が細胞内とつながることを利用して、電極内液に caged 化合物を加えておけば、拡散によってその化合物は細胞内に行き渡る. 十分定常状態に達した後、光パルスを与えれば、細胞内で均等に反応が進行する

ため、反応速度の解析が可能となる。理想的には、例えば Ca で活性化する K チャンネルの活性化の速度を caged-Ca<sup>2+</sup> を使用して測定できるかもしれないが、現在の測定の時間解像度よりこの反応が早く進行するために、この解析は成功していない。

Caged 化合物はこれから極めて有用な実験方法になるに違いないが、その目的は広範囲におよぶことが考えられ、実験によって配慮すべきことは異なることが考えられる。そこで、この章では一般論を述べるよりも、我々の経験の一端を紹介し、個々の問題点や注意点を述べることにする。

## 2) 実験セット

光照射装置の要点は合計 500  $\mu$ F にも及ぶ並列コンデンサー群に 200~400 V の電圧を加え充電した後、これを瞬間的にキセノンランプに通電し、強力な 1 msec 以内の光パルスを生じさせるものである。ランプハウジングはランプの光を効率的に集光するためのもので、凹面鏡の焦点の位置にキセノンランプの放電芯が位置するように調整すれば平行光線を得ることができる。平行光線を適当なフィルターを通してそれぞれの caged-化合物にあった波長を選択し、対物レンズに導けば、これを通して更に集光され、焦点をあてている細胞に照射される。例えば、英国 Hi-Tech 社の XF-10 照射装置をニコンの TMD 倒立顕微鏡に組み合わす場合、ランプハウジングから対物レンズまでの距離は物理的に 30 cm 近くになるため、平行光線を得ることは集光効率を考える上で重要な要素である。ここで注意すべきことは、ランプ芯での放電は必ずしも毎回一定の部位で発生しているわけでないので、放電の度毎に僅かに反射鏡の焦点からずれるようである。集光の効率をよくして、できるだけ低電圧で光照射をすることは、放電に伴う電気的なノイズをできるだけ小さくするためにも大切である。対物レンズは紫外光を通すものを使用する。

光照射に伴う電気的なノイズは msec 程度の

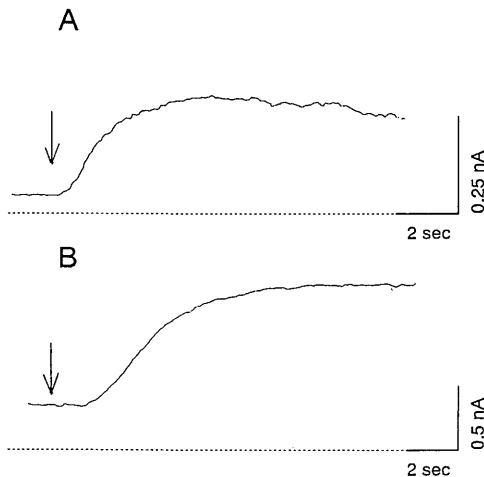
速い現象を解析する場合には大変な支障となる。このノイズは光照射毎に僅かに変動し、コンピュータ的にこのノイズを差し引くことも困難で、何回か実験をくり返し、最もノイズの小さい記録を選ぶしか方法がない。我々の経験では電源とランプハウジング全体を完全にシールドの外に出し、しかも、これらのケージへのアース結線をいろいろ変えることを試みたが、1 msec 位持続するノイズを完全に排除することはできなかった。光を光ファイバーで導くことができれば、その長さだけランプハウジングを電極から離すことができ、ノイズの点からは有利である。しかし、この場合集光効率をよくすることが対物レンズを用いる場合よりも困難である。ファイバーから出た光をファイバー束全体の断面積より小さく集光することはできないからである。

## 3) Caged-cAMP による心筋 Cl<sup>-</sup> 電流活性化に関する実験例

cAMP 依存性プロテインキナーゼはカテコラミンやヒスタミン受容体による心筋イオンチャンネル電流の制御に広範に関与している。L 型 Ca<sup>2+</sup> チャンネル、Na<sup>+</sup> チャンネル、遅延整流 K<sup>+</sup> 電流、Cl<sup>-</sup> 電流などがその調節を受ける代表的なものである。これらの多くは膜電位依存性のチャンネルであるが、Cl<sup>-</sup> 電流は受容体刺激でのみ活性化し、しかもほとんど脱感作を示さないので電流活性化のキネティクスを解析するには適当なシステムである。Nakashima と Ono の研究では (Nakashima & Ono, 1994)、電極内液に o-(2-nitrophenyl) ethyl-cAMP (caged cAMP) を 0.1 から 1 mM の濃度範囲に加えた。1 mM の caged cAMP 濃度は作用濃度に比べると極めて高いが、細胞内の濃度はもちろん電極内よりも低いことが考えられるし、さらに実験に光照射で分解されるのは 1% 程度であることから適当な量とされている。この濃度では光照射を繰り返す、再現性良く反応を一つの細胞から記録することができた。もちろん、細胞内への拡散の程度はパッチ膜の破壊の程度

により、実験毎に異なるので、必ずしもこの濃度が常にベストであるという保証はない。実際に実験によっては 0.1 mM の caged-cAMP でも反応は認められた。記録の一例を図 2 A に示している。この反応を B に示すイソプレテレンールの瞬間投与と比較してみると、明らかに後者より潜時が短い。イソプレテレンールの投与は溶液を与える微小チューブを瞬間に移動して行われたが、物理的な遅延は 50 msec 程度で、この記録の時間軸では問題にならない。二つの実験の電流活性化に要した時間の差は、後者の場合アゴニストの結合と GTP 結合蛋白の活性化、さらにアゲニレートシクラーゼによる cAMP の産生に要した時間によることは明らかである。このように比較的遅い複雑な反応のメカニズムを解析するには caged 化合物は強力な実験手段となる。

薬物の濃度はその生理的反応を解析する上で非常に重要なパラメーターであることはいうまでもない。caged 化合物を使用する実験でもアゴニストの最終濃度が分れば、結果の解釈は飛躍的に高められる。しかしながら、光照射によ



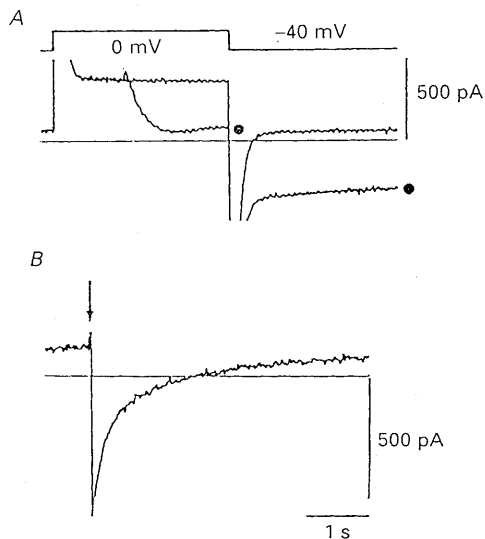
第2図. 単離モルモット心室筋の膜電流記録。保持電位は +10 mV である。Aでは光照射を、Bでは 2  $\mu$ Misoprenaline を矢印で瞬間的に与えている。Cl 電流以外の電流はそれぞれブロックし、記録された電流の逆転電位から Cl 電流であることが確認されている。詳しくは原著を参照されたい。(Nakajima et al. 1994より改編)

て cAMP がその実験で実際に細胞内でいくら産生されたか、現在の技術で測定することはできていない。試験管内では caged 化合物が分解される程度については生成物濃度を HPLC などで測定することによってある程度決定することができる (Kozlowski, Goodstadt, Twist & Powell, 1991)。問題は細胞内の caged-化合物の濃度が実験によって様々であることである。Whole cell clamp にする際のパッチ膜の破壊の程度は決して一定ではないようである。

Caged 化合物の生理活性が完全に無ければ、実験結果の解析は単純であるが、この点は使う caged 化合物について個々に調べる必要がある。例えば、ある種の caged-ATP は ATP 感受性の K チャンネルの抑制に関しては、ほとんど ATP と同じ様に作用して、この目的のためには使用できないと言われている。

#### 4) Caged- $\text{Ca}^{2+}$ による $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交換電流の記録実験

$\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  交換機転は心筋細胞における膜を介する  $\text{Ca}^{2+}$  排出の主なメカニズムである、パッチクランプ法の導入によって、膜電位や細胞内外の  $\text{Na}^+$  や  $\text{Ca}^{2+}$  による  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  交換電流の変化について調べられ、生理的な条件下で細胞全体としてどれ位の  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  交換電流が流れているか、言い換えれば  $\text{Ca}^{2+}$  の排出量を見積もることができている。しかしながら、個々の  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  交換機転の回転速度については直接的な測定は行われていなかった。もしも、細胞内に瞬間的に  $\text{Ca}^{2+}$  を与えることができれば、その時点からシステムが新しい平衡状態に緩和するはずで、このキネティクスは交換機転の回転率を与えるであろう。その様な試みで、図 3 の例では単離したモルモット心室筋細胞に caged- $\text{Ca}^{2+}$  である Nitr-5 をあらかじめ与えておいて、紫外光照射した際の膜電流変化を記録している (Powell, Noma, Shioya & Kozlowski, 1993)。ほぼ瞬間的に膜電流は内向きに傾き、時間と共にこの内向き電流が減衰するのが観察された(図 3 B)。この電流は  $\text{Ni}^{2+}$



第3図. 単離モルモット心室筋の膜電流記録. 保持電位は  $-40$  mV でBにしめす矢印で光照射を与えている. Aに示すように, あらかじめ  $0$  mV への脱分極パルスを与えて光照射を与えた. 黒丸印は Ni で  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  交換電流をブロックする前の記録で, もう一つの電流記録はブロック後の記録である. この図ではこれら二つの電流記録の差が  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  交換電流であり, うち向き電流である. (Powell et al. 1993より改編)

によって抑制される等の実験根拠から,  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  交換機転によっていることが証明されている. 実験では, 細胞内の  $\text{Ca}^{2+}$  が瞬間的に増大したため, 細胞外から内への  $\text{Na}^+$  の移動に伴って  $\text{Ca}^{2+}$  が細胞外へ運び出されるが, 両イオンの比率が,  $3\text{Na}^+ : 1\text{Ca}^{2+}$  であるため, 内向き電流が生じたのである. 続いて, 細胞内に与えられた  $\text{Ca}^{2+}$  が細胞外へ汲みだされ,  $\text{Ca}^{2+}$  濃度が減少するに伴って, 内向き電流が消退したのである. 電流の最大値は約  $150$  pF のモルモット心室筋細胞あたり  $-40$  mV で  $225$  pA であった. この光照射で誘発された電流を積分し, 総電荷を求め, これを Faraday 定数  $F$  で割ることによって, 駆出された  $\text{Ca}^{2+}$  量を計算すると, 約  $4$  fM の  $\text{Ca}^{2+}$  が Nitr-5 から放出されたことになる. 電極内には  $5$  mM/l の Nitr-5 を加えたが, 細胞内にも同じ濃度が達成されていたとすると, 光照射によって最低  $2.5\%$  の Nitr-5 が分解されたことになる. もし

も細胞内 Nitr-5 濃度がピペット内の濃度の  $10$  分の  $1$  であるとする  $25\%$  が分解されたと考えられる.

この実験で最も興味ある点は瞬間的な  $\text{Ca}^{2+}$  投与の後の電流の時間的な変化である. この部分について図 3 A で時間軸を拡大してみると, 電流はほぼ指数関数的に増大しているのがわかる. 時定数を求めると平均で約  $3$  msec で, この値は脱分極で増大し, 温度を下げると増大した. パッチクランプ法では通常一本の電極で膜電位固定を行うが, 膜電位のコントロールが完全でないかもしれない. そこで, 膜電位固定を完全にするため二重ピペット法による膜電位固定も試みたが, 緩和現象はやはり記録することができた.

この緩和現象はその指数関数的な電流変化の経過中, 細胞内の  $\text{Ca}^{2+}$  濃度が一定であるとの仮定ができれば理想的である. まず, 光照射によって構造を変化した後,  $\text{Ca}^{2+}$  の放出速度は  $5000 \sim 3000/\text{sec}$  (Adams, Kao, Grynkiewicz, Minta & Tsien, 1988) で,  $1$  msec 以内に  $95\%$  以上の  $\text{Ca}^{2+}$  は放出される. したがって,  $\text{Ca}^{2+}$  放出によって瞬間的に  $\text{Ca}^{2+}$  濃度は上昇すると考えてよいが, ここで注意しないといけない点がある. あらかじめ与えた Nitr-5 がすべて  $\text{Ca}^{2+}$  と結合している場合には問題ないが,  $\text{Mg}^{2+}$  と結合していたり, 遊離型の Nitr-5 が多量に存在すると, 放出された  $\text{Ca}^{2+}$  はこれらの分画に結合し新たな定常状態に向かって濃度が減少することになる. すなわち, 細胞内の  $\text{Ca}^{2+}$  濃度が光照射後比較的緩徐に変化する可能性を考えないといけない. そこで, 細胞内で Nitr-5 がどの程度  $\text{Ca}^{2+}$  と結合しているか計算する必要がある (Kaplan, 1990).

我々は以前細胞内の  $\text{Ca}^{2+}$  濃度は  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  交換機転の膜電位依存性に従って規定されていることを示した (Noma, Shioya, Paver, Twist & Powell, 1991). この実験結果によると細胞内(ピペット内)  $\text{Na}^+$  濃度が  $20$  mM では  $-40$  mV で定常状態  $\text{Ca}^{2+}$  濃度は約  $1 \mu\text{M}$  になる. この濃度での Nitr-5 の結合を Fabiato-Fabiato

(Fabiato & Fabiato, 1979)の計算式で求めると、84%は  $\text{Ca}^{2+}$  と結合していることになる。この条件で、照射後の  $\text{Ca}^{2+}$  濃度変化をコンピュータによって計算した結果ほぼ  $\text{Ca}^{2+}$  濃度は  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  交換電流の緩和現象の間一定であると結論を得た。

緩和現象の時定数はいわゆる turnover rate ではないので、これを求めるためには一定のキネティクスモデルを仮定する必要がある。最も単純なモデルを仮定して、回転率を求めると、最大  $300\text{ s}^{-1}$  の値が得られた。これは  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ポンプの回転率と同じレベルであり、これまでの報告より極めて小さい (Niggli & Lederer, 1991; Hilgemann, Nicoll & Philipson, 1991)。この問題を最終的に決定するためにはなお実験が必要である。

## 5) ま と め

Caged 化合物を使った研究報告が多くなされているが、ほとんどの場合、その最も大切な反応速度を解析する目的よりも、作用を定性的に調べるに留まっている。それだけの目的であれば、アゴニストの種類や濃度を自由に選択できる従来の薬物投与方法が優れているかもしれない。更に、反応速度については、例えばイオンチャンネル活動に影響を与えるアゴニストでは、チャンネルの単一チャンネル電流記録の平均開口時間や閉口時間を特定のモデルに基づいて解析することによって、予測することができる。例えば、最も単純なモデルで、チャンネルにアゴニストが結合するとチャンネルが閉まる一次反応の場合、定常状態での平均開口時間はアゴニスト濃度と反応速度の積で与えられる。そこで、いろいろなアゴニスト濃度で平均開口時間を測定すれば、反応速度を決定できる。しかしながら、実際にはチャンネルの開閉はもっと複雑で、アゴニストが結合していてもチャンネルはある速度で開閉を繰り返していることが考えられる。また、アゴニストはチャンネルの状態によって結合し易さが異なるかもしれない。アゴニストを瞬間的に投与し、その前後の

チャンネルの開閉、投与直後の緩和現象等を定量的に解析できれば、想定されるモデル選択の自由度は制限される。Caged 化合物を使うそれぞれの実験に応じて、その目的を明確にする必要がある。

## 文 献

- Adams, S. R., Kao, J. P. Y., Gryniewicz, G., Minta, A. & Tsien, R. Y., 1988 Biologically useful chelators that release  $\text{Ca}^{2+}$  upon illumination. *J. Am. Chem. Soc.* **110**, 3212-3220.
- Fabiato, A., & Fabiato, F., 1979 Calculator programs for computing the composition of the solutions containing multiple metals and ligands used for experiments in skinned muscle cells. *J. Physiol. Paris.* **75**, 463-505
- Hilgemann, D. W., nicoll, D. A., & Philipson, K. D. 1991 Charge movements during  $\text{Na}^+$  translocation by native and cloned cardiac  $\text{Na}/\text{Ca}$  exchanger. *Nature* **352**, 715-718
- Kaplan, J. H. 1990 Photochemical manipulation of divalent cation levels. *Annu. Rev. Physiol.* **52**, 897-914
- Kozlowski R. Z., Goodstadt L. J., Twist V. W. & Powell T. 1991 Activation of L-type Ca currents in myocytes by photoreleased GTP. *Am. J. Physiol.* **261**: H 1665-H 1670
- Kurachi Y., Nakajima, T. & Sugimoto T., 1986 On the mechanism of activation of muscarinic K channels by adenosine in isolated atrial cells: involvement of GTP-binding proteins. *Pflugers Archiv* **407**, 264-274
- Nakashima Y., & Ono K. 1994 Rate-limiting steps in the activation of cardiac Cl current revealed by the photolytic application of cAMP. *Am. J. Physiol.* 印刷中
- Nargeot, J., Lester, H. A., Birdsall, N. J. M., Stockton, J., Wassermann, N. H. & Erlanger, B. F., 1982 A photoisomerizable muscarinic antagonist. *J. Gen. Physiol.*, **79**, 657-678
- Niggli, E., & Lederer, W. J. 1991 Molecular operations of the sodium-calcium exchanger revealed by conformation currents. *Nature* **349**, 621-624
- Noma, A., Shioya, T., Paver, L. F. C., Twist, V. W., & Powell, T. 1991 Cytosolic free  $\text{Ca}^{2+}$  during operation of sodium-calcium exchange in guinea-pig heart cells. *Journal of Physiology* **442**, 257-276
- Powell T., Noma A., Shioya T. & Kozlowski R. Z. 1993 Turnover rate of the cardiac  $\text{Na}-\text{Ca}$  exchanger in guinea-pig ventricular myocytes. *Journal of Physiology* **472**, 45-53



## 異なるタイプのストップシグナル課題中のヒトの運動抑制関連電位の解析

内 藤 栄 一・松 村 道 一\*・田 口 貞 善  
(京都大学大学院, 人間・環境学研究所, 自然・人間共生基礎論専攻・  
京都大学, 総合人間学部, 自然環境学科\*)

**Movement-related potentials associated with motor inhibition during different types of Stop Signal Paradigm in humans.** EIICHI NAITO, MICHIKAZU MATSUMURA\* and SADAYOSHI TAGUCHI (*Graduate School of Human and Environmental Studies, Kyoto University, and Faculty of Integrated Human Studies, Kyoto University*)

The motor inhibition process was examined in humans by monitoring reaction times, electromyograms, and movement-related potentials. Four subjects performed two types of visual stop signal paradigm. In one type, they were required to push a button (GO) or not to push it (NOGO), in another type, to release the button (GO) or to keep pushing it (NOGO). The results were summarized as follows: (1) The EEG waveform pattern was remarkably consistent among subjects. NO-GO-specific negative-positive potentials were observed under both tasks without significant background EMG activity changes in agonist and antagonist muscles. (2) The timing of the onset and the peak latency of the negative potential relative to the second stimulus, S2, were constant (about 180~200 ms and 230~250 ms for each) in both tasks. The time interval between the initial onset of the negative potential and its peak latency was also constant (about 50 ms) in both tasks. The amplitude of the negative potentials was maximum at FCz (supposed to be around supplementary motor area) and their distribution was invariant among tasks. Constant features of NO-GO-specific potentials during both task performance suggested the temporally and spatially same inhibition process might specifically suppress the new motor program regardless of the existence of ongoing motor program.

**Key words:** Movement-Related Potentials, Motor Program, Motor Inhibition, Stop Signal Paradigm, Reaction Time

### 緒 言

運動を円滑に行うためには、運動の準備、発現と運動抑制とが時間的に整合して働くことが重要である。この抑制機構の働きを解明する手がかりとして、運動を実行するか、運動の実行を抑止するかという GO/NOGO 課題の研究が数多くなされてきた<sup>2-6,8,12,13,15-20,22</sup>。その中で、ヒトの脳波を記録した実験では、概して、二つの相反する結果が報告されている。その一つは、その電位の大きさに違いがあるものの、GO および NOGO 反応ともほぼ同じ潜時で陰性および陽性電位が記録されているもの<sup>5,6,12,16,22</sup>、もう一つは、NOGO 時だけに特有の陰性電位が記録されたとする報告である<sup>2,13,19</sup>。いずれの場合も、この陰性電位は、NOGO 刺激から約 200~300 ms で記録されている。また、練習効果<sup>4</sup>や刺激の提示時間<sup>13</sup>により変動する陽性電位も NOGO 時に特徴的に

記録されている。このような一貫しない結果は、従来の単純 GO/NOGO 課題を用いると、運動実行のための皮質活動と抑制のための皮質活動が同じ時間帯に重なって起こっているためと考えられる。

運動抑制機構を行動学的に解析した一連の実験では、Stop Signal 課題が使われている<sup>6,8,15</sup>。この課題では、運動誘発刺激が提示されてから、運動が始まるまでの反応準備期間中に、その運動を思いとどまらせるための抑制誘発刺激が提示され、被験者はこの刺激が提示されたら反応を思いとどまらなくてはならない。この課題を用いると、反応準備状態のさまざまな段階で運動抑制を誘発することができ、また、Ready-Go 形式の反応を要求するため、運動実行に関連した電位と運動抑制 (NOGO 時) に関連した電位を分離することが可能になると考えられる。Naito & Matsumura<sup>12,13</sup> は、従来までの GO/NOGO 課題では GO および NOGO 反応時

とも約 250~300 ms で陰性電位が記録された被験者でも, Stop Signal 課題を用いると, 抑制過程を反映すると考えられる電位が, NOGO 時特有的に記録でき, さらに, 抑制信号を反応準備状態の様々な時間帯で提示しても, その運動準備状態によって左右されることなく, この運動抑制の過程を反映した脳波が, 一定の潜時で記録されることを報告した。

しかし, この抑制時特有の電位は, 単純なキー押し運動の開始を抑制する場合だけに観察されたものであり, 持続中の運動を新たな運動タイプに切り替える場合には, そこにどのような運動プログラムが働くかは明らかになっていない。一方で, 行動上の観察からは, 持続中の運動を止めることなく, 新たな運動の発現だけを抑えることができることがわかっている。これは, 新たな運動プログラムだけを選択的に抑止できることを示唆しており, 本研究は中枢神経系内でこの抑制機構を明らかにするものである。

## 実験方法

(A)被験者: 被験者は平均年齢23.3才(範囲22~25)の男子大学生4名であった。被験者は刺激(GO および NOGO)に対して, できるだけ速く反応することが要求され, 同時に脳波が記録された。

(B)脳波記録: 脳波は国際式10/20法に基づき, F3, Fz, F4, FCz, C3, Cz, C4, Pz, Oz から時定数1秒, 抵抗 10 k $\Omega$  以下, サンプルングタイムは 1 ms で記録した<sup>14, 21)</sup>。記録に当たっては, 脳波計サイナフィット, シグナルプロセッサ, データコンバーター, いずれも日本電気三栄製を使用した。筋電図については, 手首および指の屈筋と伸筋の各3箇所から表面筋電が記録され, 時定数は0.003秒に設定した。その中から最も典型的な活動を示した2箇所筋電図を図3に表示してある。眼球運動をモニターするために, 眼電図(EOG)を眼球両側部から時定数1秒で記録した。脳波のリファレンスは両耳であった。

(C)課題1: いずれの課題も NEC パーソナルコンピュータを用いて, 刺激の提示および反応時間の測定を行った。刺激は 3  $\times$  3 cm の正方形で, GO 信号は緑, NOGO 信号は赤で, 両者は被験者の約 1 m 前の CRT 上に17ミリ秒間程度ランダムに提示された。練習試行として, S1 (緑; Ready)に対して, 被験者は, 一定時間でマウスのボタンを右手人さし指で押す運動を, 50回行った。反応が S1 から 400~600 ms で行われたときを正解とし, 正解率が80%以上になったら本試行に移行した。今回の4名の被験者は, すべて一度の練習試行で正解率が80%を超えた。課題は, S1 に続いて 400 ms 後に運動の最終決定を促す刺激 S2 (緑; GO または赤; NOGO)が提示され, 緑ならばボタンを押す(GO), 赤ならばボタンを押さない(NOGO)形式で行われた(図1A)。被験者には, S1 に対して, 常に反応の準備をするように教示し, 試行は, 常に Ready-Go 形式で行われた。GO 反応が S1 から 400~600 ms で行われた場合だけ, 短い音で正解が知らされた。S2 刺激の

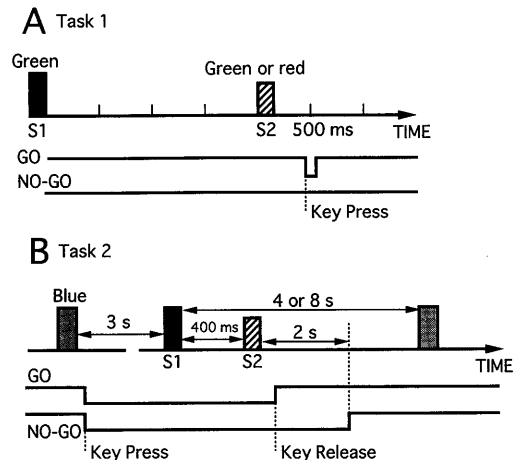


Fig. 1. Diagram of visual stop signal paradigm adopted in task 1 (A) and task 2 (B). Subject was asked to push a button when he saw a green (GO) signal or not to push it when a red (NO-GO) signal appeared in task 1. During task 2, subject was required to keep pressing the button after a blue (warning) signal presentation and to release it when he saw the green (GO) signal or to keep pressing it when the red (NO-GO) signal appeared.

提示は、GO および NOGO がランダムに50%の確率で提示された。試行数は GO および NOGO とも150回づつ、合計300試行で、試行間隔(ITI)は4または8秒であった。

(D)課題2：刺激提示および課題の練習については、課題1とほぼ同様の手続きがとられた。

S1に3秒先行して持続運動開始刺激(青)が提示され、被験者はマウスのボタンを右手人さし指で押し続けることが要求された。S1に続いて400ms後に運動の最終決定を促す刺激S2(緑;GO または赤;NOGO)が提示され、緑ならばボタンを離す(GO)、赤ならばそのままボタンを押し続ける(NOGO)形式で行われた(図1B)。GO および NOGO 刺激はランダムに50%の確率で提示され、それぞれ150回づつ、合計300試行が行われた。ITIは4または8秒であった。

(E)単純反応時間の測定：被験者は緑の刺激提示に対してできるだけ早くスペースキーを押すことが要求され、50試行の反応時間が計測された。

(F)データ分析：脳波のアーチファクトは、 $\pm 46.8 \mu V$ を超えるものに関して自動的にリジェクトし、脳波は、反応時間が400~600msのものを対象に、S1をトリガーとして、1秒間、各条件100回づつ加算された。同様に、筋電図に関しては、脳波で加算された試行について、各試行ごとに整流したものを100回加算した。データの統計分析には、2要因(課題および記録部位)とも対応のある分散分析を用い、

単純主効果の検定にはライアン法を用いた。電位の大きさについての分散分析には、測定値を標準化した値を用いた。標準化の方法には、各被験者ごとに、各条件につき、記録部位内での最大値と最小値を求め、個々の値から最小値を引き、得られた値を最大値と最小値の差で割る方法を採用した<sup>10)</sup>。

## 実験結果

### (A)反応時間

Table 1に被験者、課題別の平均反応時間を示す。反応時間は、被験者間ではほぼ一定の値(580~590ms)を示した。この値はS2から換算すると、180~190msになり、被験者の単純反応時間よりも短かった。課題1と課題2の反応時間は、ほぼ同じであった。NOGO反応時の誤反応の反応時間に関しては、GO反応のそれより、約40ms短かった。反応時間について、課題(2)×反応タイプ(正反応・誤反応)(2)の2要因分散分析の結果、課題間の有意差は見られず、誤反応の反応時間が正反応の反応時間よりも有意に短かった( $F(1, 3)=48.9, p<.01$ )。

### (B)脳波および筋電図の特徴

図2は、被験者KHのGO反応(下)およびNOGO反応(上)時におけるCz, Pz, Oz部位の脳波である。CzでS2から約190msで立ち上がり、約240msでピークとなる陰性電位とS2から約380msでピークとなる陽性電位がNOGO時特有に観察された。このNOGO特有

Table 1. Mean reaction times of individual subjects during GO responses and NO-GO error responses of both tasks (RT $\pm$ SD ms)

Subjects	Task1		Task2		Simple RT
	GO response	NO-GO error response (n)	GO response	NO-GO error response (n)	
KH	579.4 $\pm$ 47.9	547.3 $\pm$ 32.0 (19)	587.9 $\pm$ 44.1	550.6 $\pm$ 29.1 (12)	251.7 $\pm$ 40.9
KT	583.2 $\pm$ 40.5	525.2 $\pm$ 28.5 (11)	599.4 $\pm$ 56.4	554.8 $\pm$ 44.7 (18)	236.6 $\pm$ 35.5
YF	588.2 $\pm$ 57.5	554.9 $\pm$ 54.5 (20)	587.0 $\pm$ 41.3	552.3 $\pm$ 38.7 (16)	248.6 $\pm$ 41.2
SF	600.0 $\pm$ 36.9	520.9 $\pm$ 47.8 (16)	597.1 $\pm$ 46.6	555.8 $\pm$ 37.3 (18)	299.5 $\pm$ 32.1
Total	587.7 $\pm$ 7.7	537.1 $\pm$ 14.4	592.9 $\pm$ 5.5	553.3 $\pm$ 2.0	259.1 $\pm$ 24.0

Notice that there were no significant RT differences between the GO responses of both tasks, and that RTs of NO-GO error responses were significantly shorter than those of GO correct responses.

の陰性および陽性電位は、視覚領域の電位を反映すると考えられるOzでは記録されず、Pzで記録された電位は、いずれもCzより小さかった。代わりに、S1およびS2から約120msで立ち上がり、約170msでピークとなる陰性電位がPzおよびOzで記録された(図2アスタリスク)。

一般的な特徴として、GO反応では、S1刺激提示後から電位が陰性方向にシフトし、筋電図の最大振幅に先行してピークに達し、その後、陽性化し、S2から約300ms前後でピークになった。NOGO反応で観察された陰性電位の立ち上がり潜時およびピーク潜時は、S2から約180~200msおよび約230~250msで、これに続いて、S2から約350~420msでピークとなる陽性電位が記録された。この波形の特徴は、被験者間でほとんどばらつきがなく、記録部位間でほぼ同様であったため、被験者KH

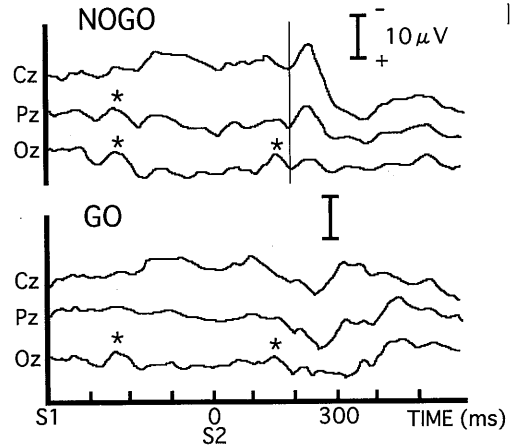
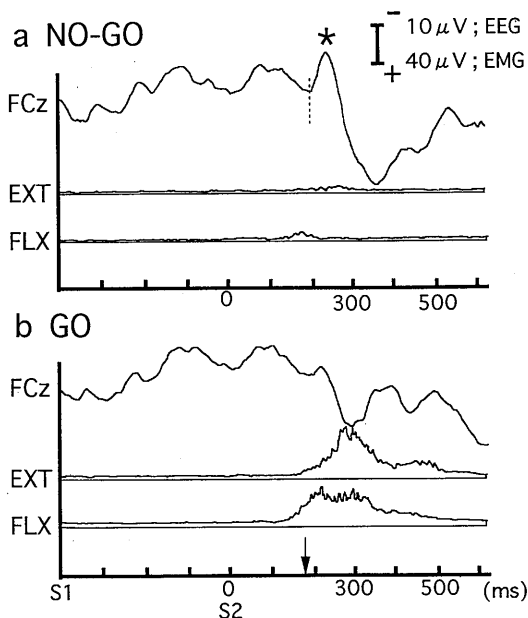


Fig. 2. The EEG waveforms obtained at Cz, Pz and Oz of subject KH during NO-GO (upper) and GO (lower) responses of the Task 1. The asterisks indicate the sensory negative potentials, recorded at Pz and Oz. The vertical line indicates the onset of the NO-GO-specific negative potential. The NO-GO specific negative-positive potential was not remarkably observed at Pz and Oz.

## A TASK 1



## B TASK 2

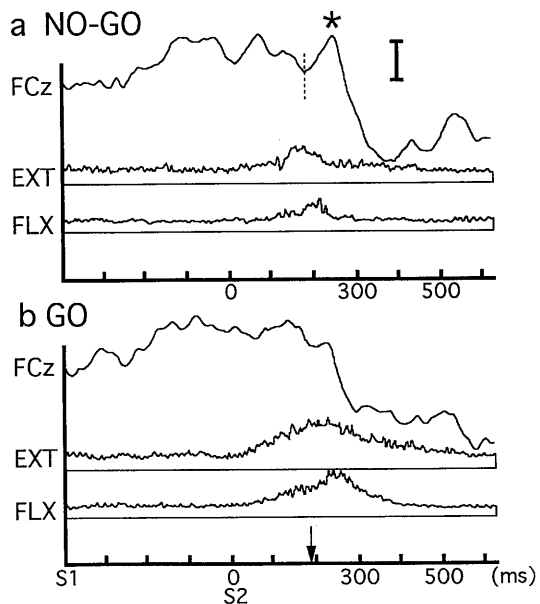


Fig. 3. The typical EEG waveforms at FCz and EMGs (extensor; EXT and flexor; FLX) during GO and NO-GO responses of both tasks obtained from subject KH. Left two panels for task 1 (A); right two panels for task 2 (B), upper panels for NO-GO responses; lower panels for GO responses. The downward arrows indicate the mean reaction times of GO responses, and the asterisks indicate NO-GO-specific potentials for each. Calibration 10  $\mu$ V for EEG and 40  $\mu$ V for EMG.

の FCz での脳波について、さらに詳細に検討する(図3)。

2つの課題で観察された脳波は、どちらの課題でも、ほぼ同様の特徴を示した。課題1の S1 からの平均反応時間は約 580 ms であった(図3 A 下向き矢印)。GO 反応では、筋電図は、Ready-Go にかかわる準備が始まり、まず屈筋で S2 から約 140 ms 後に立ち上がりはじめ、やや遅れて伸筋の活動が観察された。脳波は、S1 刺激約 200 ms 後から電位が陰性方向に緩やかにシフトした。筋電図の最大振幅に先行してピークに達し、その後電位は陽性方向に変化し、S2 から約 300 ms 後にピークになった。NOGO 反応では、屈筋および伸筋で多少の基線の動揺はあるものの顕著な筋電図の変化は観察されなかった。脳波は、S1 から約 180 ms で電位が陰性方向にシフトし、その後、S2 から約 190 ms (図3 A 点線)で立ち上がり、約 240 ms でピークとなる NOGO 特有の陰性電位が記録された(図3 A アスタリスク)。その後、電位は陽性化し、S2 から約 360 ms でピークとなる陽性電位が観察された。課題2の S1 からの平均反応時間は 590 ms であった(図3 B 下向き矢印)。課題2では、反応準備期間(S1-S2)で、屈筋および伸筋の持続的な筋電図の活動が観察された。このバックグラウンドの活動レベルは課題1よりも有意に大きかった。GO 反応では、筋電図は、伸筋で S2 から約 90 ms 後に立ち上がりはじめる準備性の活動が記録され、屈筋ではそれに遅れて変化した。脳波は、S1 刺激約 180 ms 後から電位が陰性方向に緩やかにシフトした。筋電図の最大振幅とはほぼ同時にピークに達し、その後、陽性方向に変化し、S2 から約 300 ms 後にピークになった。NOGO 反応では伸筋は S2 から約 120 ms から立ち上がり、伸筋は約 170 ms から立ち上がる小さな筋電活動が観察されたが、そのような場合でもマウスを離すまでには至らなかった。脳波は、S1 から約 190 ms で電位が陰性方向にシフトし、その後、S2 から約 190 ms (図3 B 点線)で立ち上がり、約 240 ms でピークと

なる NOGO 特有の陰性電位が記録された(図3 B アスタリスク)。その後、電位は陽性化し、S2 から約 370 ms でピークとなる陽性電位が観察された。

#### (C)NOGO 特有の陰性および陽性電位の潜時

陰性電位の立ち上がり潜時は、両課題とも S2 から約 180~200 ms で、F3, Fz, F4, FCzの前頭部より、C3, Cz, C4 の頭頂部の潜時が長くなる傾向が観察された。陰性電位のピーク潜時は、両課題とも約 230~250 ms の比較的一定の値を示した。この値は、Fzから FCz, Cz と頭頂部に近づくに連れて小さくなる傾向を示した。

図4に、課題、記録部位別、S2からの陰性電位の立ち上がり潜時とピーク潜時の差および陰性電位のピーク潜時と陽性電位のピーク潜時の差を示す。陰性電位の立ち上がりからピークまでの潜時は、約 40~50 ms の値を示した。この値は、頭頂部に近づくにつれて小さくなる傾向を示した(図4 A)。S2からの陰性電位の立ち上がり潜時とピーク潜時の差について、課題(2)×記録部位(7)の2要因分散分析を行った結果、記録部位の主効果のみが有意になった( $F(6, 18) = 3.5, p < .05$ )。ライアン法による多重比較で単純主効果の検定をしたところ、F3とC3, Cz, C4の間に有意差が認められた。

一方、陽性電位のピーク潜時は、どちらの課題でも S2 から約 350~420 ms を示した。陰性電位のピーク潜時と陽性電位のピーク潜時の差は約 90~170 ms であった(図4 B)。陰性電位のピーク潜時と陽性電位のピーク潜時の差について、課題(2)×記録部位(7)の2要因分散分析を行った結果、条件と記録部位の主効果には有意差が認められず、両要因の交互作用が有意になった( $F(6, 18) = 2.7, p < .05$ )。ライアン法による多重比較をしたところ、課題2のみで C4 が F3 および FCz よりも時間差が大きくなる傾向を示した。

#### (D)NOGO 特有の陰性および陽性電位の大きさ

図4に、課題、記録部位別、S2からの陰性

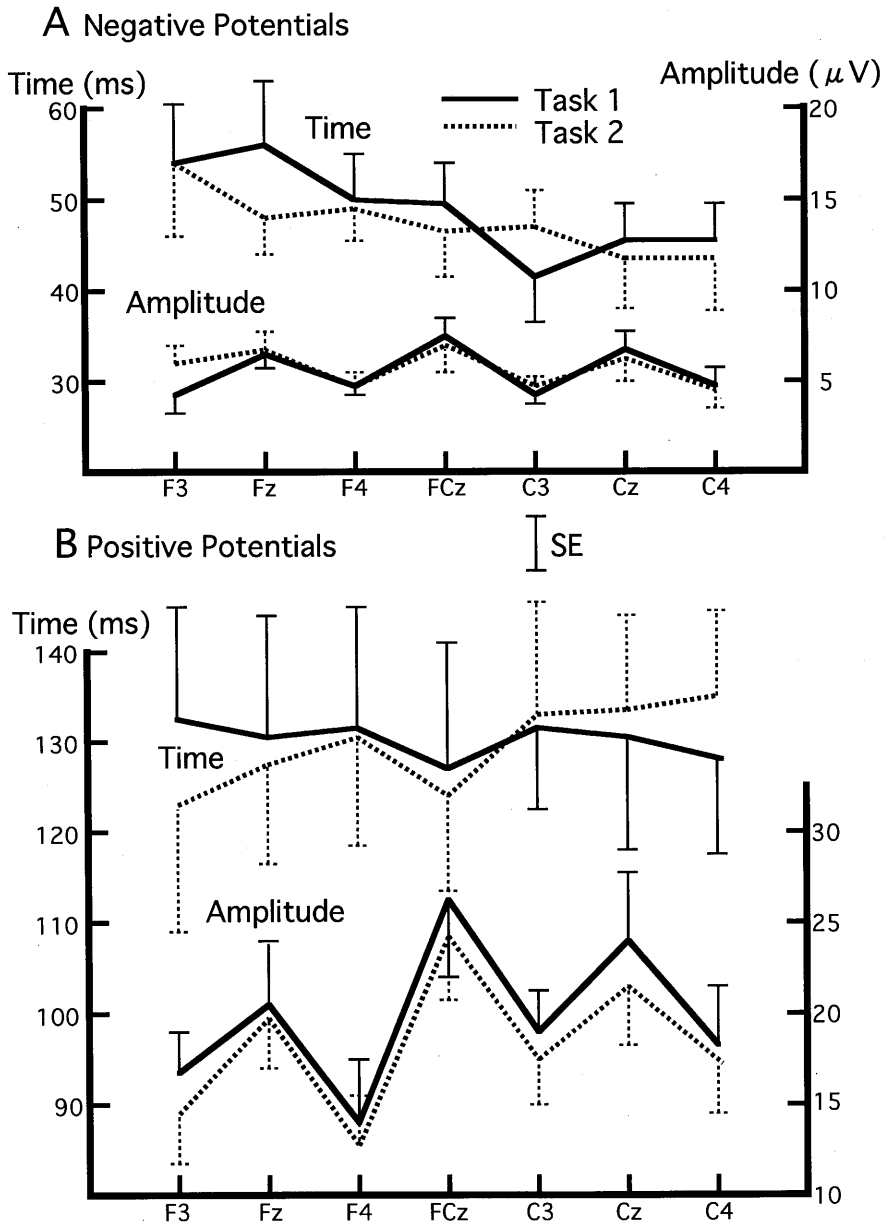


Fig. 4. The time difference and amplitude of negative (A) and positive (B) potentials for all recording positions. Left vertical scale and right one indicate the time (ms) and amplitude ( $\mu\text{V}$ ), respectively. Short bars indicate the standard errors (SE) of these values. Note that the pattern of these indexes showed the waveforms had temporally and spatially similar profiles among tasks. The negative latency was significantly shorter as close to the vertex. The amplitude of both potentials was significantly larger at FCz. The latencies of the negative-positive components were variable among subjects.

電位のピークと立ち上がりの電位差および陰性電位のピークと陽性電位のピークの電位を示す。陰性電位のピークと立ち上がりの電位差は、いずれの課題でもほぼ同様の値を示した。記録部位については、Fz, FCz および Cz が大きく、FCz で最大値を示した(図 4 A)。陰性電位のピークと立ち上がりの電位差について、課題(2)×記録部位(7)の2要因分散分析を行った結果、記録部位の主効果のみが有意になった( $F(6, 18)=34.9, p<.001$ )。ライアン法による多重比較をしたところ、Fz, FCz, Cz がほかの記録部位よりも有意に大きかった。

同様に、陰性電位のピークと陽性電位のピークの電位差は、どちらの課題でもほぼ同様の変化を示した。この電位差は、正中部で大きくなる特徴を示し、FCz で最大値を示した(図 4 B)。陰性電位のピークと陽性電位のピークの電位差について、課題(2)×記録部位(7)の2要因分散分析を行った結果、記録部位の主効果が有意になった( $F(6, 18)=38.9, p<.001$ )。ライアン法による多重比較をしたところ、FCz, Cz とほかの記録部位の間に有意差があった。

## 考 察

### (A)Stop Signal 課題の利点

本研究では、Stop Signal 課題を用いて、運動実行(GO 時)の過程と運動抑制(NOGO時)の過程を分離することを試みた。運動抑制時には、特有の潜時と脳内分布を持つ陰性-陽性電位が、先行研究<sup>13)</sup>と同様に、被験者間で一貫して観察された。陰性電位の潜時は、単純 GO/NOGO 課題を用いた先行研究<sup>2,5,12,22)</sup>とほぼ同じ変化を示し、約 230~250 ms でピークを示し、電位の大きさは FCz で最大になった。この電位は後頭部には存在せず、従って、感覚性の入力を反映しているのではないと考えられるので、運動抑制に関連した電位であると推定できる。Stop Signal 課題の効用をまとめると次のようになる。(1)被験者は次に来る刺激が GO か NOGO かを知らないまま、S1 から 500 ms 後付近で反応を要求されるため、S1 の後直ちに

Ready-Go 形式の運動の準備をしなければならない。(2)S1 の後直ちに運動の準備をしているので、運動プログラミングの段階が、S2 後に起こる運動実行のための過程と分離されている。(3)NOGO 反応では作動中の運動プログラムを緊急に抑止しなければならない分、単純 GO/NOGO 課題で起こる抑止よりも、抑止過程の重要性が高まる。(4)運動プログラムのさまざまな段階で刺激を提示し、抑止過程の働きを調べることができる。以上の点から運動抑制過程を解析する方法として Stop Signal 課題はかなり有効な方法であると考えられる。

### (B)陰性電位の潜時と大きさ

波形のどの成分が抑制のどのような機能を反映しているかはまだ推測の域をでない。しかしながら、反応時間からすると、遅い陽性電位の時間帯(S2 から約 350~420 ms)で実行命令の抑止が起こっているとは考えにくい。したがって、この陰性電位が抑止のメカニズムの一部を反映している可能性が高い。陰性電位は、抑止誘発刺激(S2)から約 180~200 ms で立ち上がり、約 40~50 ms でピークに達した。この時間的一定性は、運動抑制過程が一定の時間帯で作動することを示唆した行動学のデータに一致する<sup>6,8,15)</sup>。

両課題で要求された運動は、マウスのボタンを押すか、押し続けているボタンを離すかという相反する主動筋を、異なった運動準備状態から活動させる運動であった。したがって、それぞれの抑制過程も、異なった運動プログラムを抑制していても不思議はない。筋電図を見ると、課題1の NOGO 時の筋電図では、主動筋および拮抗筋とも顕著な変化が観察されなかった。課題2の NOGO 時の筋電図では、主動筋および拮抗筋で立ち上がろうとする準備性の筋活動が観察されたが、この活動は陰性電位の立ち上がりとともに消失している。このことは、この陰性電位が、主動筋および拮抗筋の両者に起こる新たな活動を抑制する過程を反映していることを示唆する。しかも、筋電図のバックグラウンド以下にまで抑制されることはなかつ

た。つまり、この抑制過程は、主動筋および拮抗筋の新たな運動の立ち上がりだけを選択的に抑制する過程であると考えられる。加えて、この抑制過程は持続運動およびその筋活動に影響を与えることのない場所で起こっていることが推定される。運動関連領域で抑制の実行が起こっているとする、それ以前にS2がGOかNOGOかを判定することが必要であろう。このことは、記録された陰性電位よりも前に、判断して運動を起こさないようにする過程が存在することを示唆している。GO/NOGO課題中の脳磁場を測定した最近の実験から、NOGO刺激後約135msで活動する前頭部領域が報告されている<sup>19)</sup>。脳波ではこのような早い成分は記録できなかった。これは、Sasaki et al.<sup>19)</sup>で報告されているように、双極子の向きが頭皮に対して平行であることによるのであろう。脳波の潜時に関しては、いずれの課題でもほぼ一定時間を示した。このことは、両課題で働く抑制過程が同じ時間経過で起こっていることを示している。電位の大きさに関しても、いずれの課題でも同様の電位分布を示した。最大値を示したFCzは、補足運動野の電位を反映していると考えられているが<sup>7)</sup>、ヒトの補足運動野には、運動を抑制するNegative Motor Responseという部位が存在するという報告<sup>9,11)</sup>から、記録された陰性電位が、補足運動野付近を中心とした活動を反映していることは十分に考えられる。課題間で同様の潜時および電位分布を示すことから考えて、この二つのタイプの運動抑制過程はほぼ同様であると推定できる。このことは、顕著な筋活動がない状態からの運動を抑制する場合でも、持続していた運動を新たな運動に切り替える時、その新たな運動だけを抑止する場合でも、同じ抑制過程が働いているのではないかと考えられる。

以上から、このFCzに反映される潜時一定の抑制過程は、運動準備状態と運動プログラムのタイプに関係なく、しかも、持続運動の継続に影響を及ぼすことなく、新たな運動の立ち上がりだけを最終的に抑制する過程であると考え

られる。

### (C)陽性電位の潜時と大きさ

陽性電位の潜時はS2から約350~420msに分布し、陰性電位に比べると、被験者間でのばらつきが見られた。陽性電位については、練習の効果が反映されたとする報告<sup>4)</sup>など、いくつかの変数により影響をうけるため、その機能についてはよくわかっていない。先行研究<sup>13)</sup>では、FCzとCzで潜時が短く、S2刺激の遅延時間がS1刺激から長くなるほど、潜時は短くなる特徴が観察された。本実験では、FCzの潜時が短くなる傾向が図4から伺えるが、有意な特徴にはならなかった。かわりに、課題2のみでC4がF3およびFCzよりも時間差が大きくなる交互作用が見られたことは、課題1と課題2で陽性電位の時間的機能に違いがある可能性を示唆している。電位の大きさについては、FCzとCzで最大値を示した。このことは、この電位が、Pzで最大となる感覚性の陽性電位とは異なる内部過程を反映することを示している<sup>1)</sup>。さらに、この電位の大きさは課題間で同様の分布を示したことから、この陽性電位は、両課題間で、時間的変化に違いがあるが、いずれの課題でも補足運動野を中心とした運動関連前頭部領域の活動を反映していると推測される。

### 文 献

- 1) Friedman, D., Vaughan, H. G. & Erlenmeyer-Kimling, L. (1979) Stimulus and response related components of the late positive complex in visual discrimination tasks. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* **45**, 319-330.
- 2) Gemba, H. & Sasaki, K. (1989) Potential related to NO-GO reaction of GO/NO-GO hand movement task with color discrimination in human. *Neurosci. Lett.* **101**, 263-269.
- 3) Gemba, H. & Sasaki, K. (1990) Potential related to NO-GO reaction hand movement with discrimination between tone stimuli of different frequencies in the monkey. *Brain Res.* **537**, 340-344.
- 4) Jodo, E. & Inoue, K. (1990) Effects of practice on the P300 in a GO/NO-GO task. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* **76**, 249-257.
- 5) Jodo, E. & Kayama, Y. (1992) Relation of negative ERP component to response inhibition in a

- GO/NO-GO task. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* **82**, 477-482.
- 6) Jong, R. D., Coles, M. G. H., Logan, G. D. & Gratton, G. (1990) In search of the point of no return : the control of response process. *J. Exp. Psychol. ; Hum. Percept. Perform.* **16**, 164-182.
  - 7) Lang, W., Beisteiner, R., Lindinger, G. & Deecke, L. (1992) Changes of cortical activity when executing learned motor sequences. *Exp. Brain Res.* **89**, 435-440.
  - 8) Logan, G. D., Cowan, W. B. & Davis, K. A. (1984) On the ability to inhibit simple and choice reaction time response : a model and a method. *J. Exp. Psychol. ; Hum. Percept. Perform.* **10**, 276-291.
  - 9) Luders, H., Lesser, R. P., Dinner, D. S., Morris, H. H., Wyllie, E. & Godoy, J. (1988) Localization of cortical function : new information from extraoperative monitoring of patients with epilepsy. *Epilepsia* **29**(suppl. 2), s 56-s 65.
  - 10) McCarthy, G. & Wood, C. C. (1985) Scalp distributions of event-related potentials ; an ambiguity associated with analysis of variance models. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* **62**, 203-208.
  - 11) Morris, H. H., Dinner, D. S., Luders, H., Wyllie, E. & Kramer, R. (1988) Supplementary motor seizures : clinical and electro-encephalographic findings. *Neurology* **38**, 1075-1082.
  - 12) Naito, E. & Matsumura, M. (1994) Movement-related slow potentials during motor imagery and motor suppression in humans. *Cogn. Brain Res.* **2**, 131-137.
  - 13) Naito, E. & Matsumura, M. (1994) Movement-related potentials associated with motor inhibition as determined by use of a stop signal paradigm in humans. *Cogn. Brain Res.* **2**, 139-146.
  - 14) Neshige, R., Luders, H. & Shibasaki, H. (1988) Recording of movement-related potentials from scalp and cortex in man. *Brain* **111**, 719-736.
  - 15) Osman, A., Kornblum, S. & Meyer, D. E. (1986) The point of no return in choice reaction time : controlled and ballistic stages of response preparation. *J. Exp. Psychol. ; Hum. Percept. Perform.* **12**, 243-258.
  - 16) Pfefferbaum, A., Ford, J. M., Weller, B. J. & Kopell, B. S. (1985) ERP to response production and inhibition. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* **60**, 423-434.
  - 17) Sasaki, K. & Gemba, H. (1986) Electrical activity in the prefrontal cortex specific to NO-GO reaction of conditioned hand movement with color discrimination in the monkey. *Exp. Brain Res.* **64**, 603-606.
  - 18) Sasaki, K. & Gemba, H. (1989) "NO-GO potential" in the prefrontal cortex of monkey. "Springer Series in Brain Dynamics" vol. 2. Springer-Verlag (Berlin, Heidelberg) pp. 290-301.
  - 19) Sasaki, K., Gemba, H., Nambu, A. & Matsuzaki, R. (1993) No-go activity in the frontal association cortex of human subjects. *Neurosci. Res.* **18**, 249-252.
  - 20) Sasaki, K., Gemba, H. & Tsujimoto, T. (1989) Suppression of visually initiated hand movement by stimulation of the prefrontal cortex in the monkey. *Brain Res.* **495**, 100-107.
  - 21) Shibasaki, H., Barrett, G., Halliday, E. & Halliday, A. M. (1980) Components of the movement-related cortical potential and their scalp topography. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* **43**, 864-875.
  - 22) Simson, R., Vaughan, H. G. & Ritter, W. (1977) The scalp topography of potentials in auditory and visual GO/NO-GO tasks. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* **43**, 864-875.



## 第 41 回 中 部 日 本 生 理 学 会

日 時：平成 6 年 9 月 29(木)・30(金)

会 場：石川県教育会館大会議室(2 階)

当番幹事：金沢大学医学部生理学講座

金沢大学医学部附属神経情報研究施設

×は非会員を示す

### 1-1. Effect of GABA antagonists on transcallosal responses in the cat motor cortex.

Syed A. Chowdhury, T. Kawashima, T. Konishi and K. Matsunami (Dept. of Neurophysiol., Institute of Equilibrium Research, Gifu University School of Medicine, Tsukasamachi 40, Gifu 500, Japan)

Effects of GABA antagonists on motor cortical unit activity for transcallosal responses to contralateral electrical stimulation were investigated in anesthetized cats. GABA and its antagonists CGP 35348, phaclofen and bicuculline were used for this purpose.

METHODS: Each cat was anesthetized with ketamine chloride. Multi-barrel glass micro-electrode was used both for recording and for application of drugs. Drugs were applied by iontophoresis only to the well stabilized and isolated units. Electrical stimulation was delivered in the contralateral motor cortex and at the ipsilateral bulbar pyramid to the recording area.

RESULT: Total 194 units including both PT and n-PT were studied. All units were classified into four groups analysing their responding criteria to transcallosal stimulation. All drugs except GABA increased in most cases unit activity in a slightly different manner probably reflecting the specificity of each drug to GABA receptors. Some interesting phenomena were also observed. Only in few cases GABA increased unit activity but in most cases it slightly decreased unit activity. Effect of GABA and its antagonists observed were significantly higher in PT units compare to n-PT units, hopely due to qualitative or quantitative difference of GABA receptors in these two groups of neuron.

### 1-2. ラット鼻毛運動皮質から上丘への軸索投射様式

宮下英三, 森 茂美 (生理学研究所 生体システム研究部門)

ラット鼻毛運動皮質(VMCx)の入出力関係を解析し

た前回の研究結果(Exp. Brain Res. 1994 (99) 223-232)から, VMCx は上丘経由で顔面神経核にアクセスしていることが示唆された. 今回の実験では, VMCx の神経終末が顔面神経核投射ニューロンに単シナプス性に結合しているか否かを調べるため, 二重標識法を用いて実験を行った. 微小電気刺激を行い VMCx を同定した後, その領域内に順行性標識物質である *Phaseolus vulgaris* leucoagglutinin (2.5% 溶液) を電気泳動的に注入した. 一方, 顔面神経核外側部には逆行性標識物質である Cholera toxin B subunit (1.0% 溶液) を電気泳動的に注入した.

VMCx からの順行性標識された神経終末は, 主に, 上丘中間灰白質層, 白質層および深部灰白質層の外側 2 分の 1 の部位に分布していた. 一方, 顔面神経核投射ニューロンである逆行性標識された細胞体は, 主に, 中間白質層および深部灰白質層の吻側 3 分の 2 でその外側 2 分の 1 の部位に存在していた. 中間白質層で逆行性標識された細胞体に順行性標識された神経終末の bouton が付着している像が少数観察された. しかし, VMCx からの神経線維の大部分は逆行性標識細胞のある中間白質層よりも表層の中間灰白質層に終止していた. したがって, VMCx からの投射線維は主として上丘内で介在ニューロンを介して顔面神経核投射ニューロンにシナプス結合していることが示唆された.

### 1-3. ネコ大脳皮質感覚運動Ⅲ層およびⅤ層錐体細胞の電気生理学的特性

×朝日 理, 西村嘉洋, 吉岡一実, ×斎藤浩一, 北川洋史, 浅原俊弘, 田中 任, 山本哲朗(三重大学, 医, 第二生理)

ネコ感覚運動野スライス標本のⅢ・Ⅴ層錐体細胞から 3 M-KCl 又は 2% Biocytin 充填電極により細胞内記録・染色を行った. Biocytin 法入細胞は Avidin-DAB 法で発色させた. 記録錐体細胞は regular な放電を示すもの (Type Ia, 59%), 通電初期のみ放電するもの (Type Ib, 15%), burst 放電を示すもの (Type II,

26%) に分類でき、Type II ではスパイク後に著明な脱分極性後電位 (ADP) がみられた。細胞外  $\text{Ca}^{2+}$  の  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$  による置換により、type Ia では遅い過分極性後電位 (AHP) は消失し ADP が増強し、regular な放電が burst に変化した。Type II では  $\text{Ca}^{2+}$  流入阻害により放電様式の著明な変化はなかった。Type Ib は 4-aminopyridine (4 AP) 投与により regular な放電を示した。Tetraethylammonium 及び 4 AP によりスパイク持続時間が延長して速い AHP が消失したが、 $\text{Ca}^{2+}$  流入阻害ではこれらの変化はなかった。細胞の形態には大差はなかったが、type Ib では apical dendrite の分枝が乏しい傾向にあった。以上より burst には  $\text{Ca}^{2+}$  非依存性の ADP が関与し、Type Ia では  $\text{Ca}^{2+}$  依存性 K 電流により ADP が抑制されている事が示唆された。Type Ib では A 電流が放電を調節していることも示唆された。

#### 1-4. 3-nitropropionic acid 投与ラットの脳組織及び行動の変化

島野泰暢, 熊崎路子, 桜井輝美, 西野仁雄 (名古屋市立大, 医, 第二生理)

3-nitropropionic acid (3-NPA) は succinate dehydrogenase を非可逆的に阻害する植物由来の神経毒で、Krebs サイクル及びミトコンドリア電子伝達系を障害する。その亜急性あるいは慢性投与によって大脳基底核が特異的に障害され、種々の神経症状が引き起こされることが報告されている。本研究では 3-NPA をラットに慢性的に投与し (10 mg/kg, 3 回/週), 脳組織及び行動に対する作用を調べた。3-NPA を生理食塩水に溶解後、pH を 7.4 に調整し、Wistar 系ラットの腹腔内 (後に皮下) に投与した。低用量 (30 mg/kg) では、H. E. 染色では明らかな変化はなかったが、Argyrophil III 法によって線条体外側部に Collapsed dark neuron が認められた。中用量 (60 mg/kg) では、線条体外側部で MAP2 の染色性の低下が認められた。高用量 (150 mg/kg) では、両側の線条体外側部に特異的な傷害巣が認められた。傷害巣の内部では神経細胞が脱落し、GFAP の免疫反応が完全に消失したが、逆に IgG 及び C3b/C4b receptor の強い免疫反応が認められた。一方、傷害部周辺の血管周囲には強い gliosis が認められた。高用量ラットには下肢の筋トーンが低下し、EMG が低電位を示すものがあつた。行動の評価では、passive avoidance 学習は障害されなかったが、pole climbing 能力は軽度障害された。

#### 1-5. 大脳皮質除去による小脳複雑スパイク反応の変化

佐藤 悠, 川崎 匡 (富山医薬大, 医, 第一生理)

麻醉・非動化ネコにおいて小脳片葉プルキンエ細胞より複雑スパイクを記録し、ランダムドットパターン移動刺激にたいする反応の変化を大脳皮質除去と正常ネコで比較した。除去後も複雑スパイクの方向選択性は保たれ、プルキンエ細胞は水平方向刺激に反応する水平型細胞と垂直方向刺激に反応する垂直型細胞に分けられた。高速度刺激にたいする反応性は減少した。両側眼反応性のうち反対側眼反応は減少した。同側眼の同側半視野の受容野は保たれ、反対側半視野の受容野は消失した。皮質下神経回路は同側眼同側半視野における低速度視覚運動刺激による小脳皮質複雑スパイク反応の方向選択性の基本的特徴成立に関与し、大脳皮質は、これに反対側眼反応、高速度刺激反応、同側眼反対側半視野反応などを付加し、複雑スパイク反応の精巧化に関与すると示唆される。

#### 1-6. 腫瘍壊死因子によるラットの体重、摂食量および飲水量の変化

田村了以, 三鍋恭子, 小野武年 (富山医薬大, 医, 第二生理)

腫瘍壊死因子 (Tumor Necrosis Factor, TNF) は悪液質の原因物質の一つと考えられている。本研究では、TNF の反復投与による耐性発現と行動様式の変化との関係を明らかにする目的で、ラットに、TNF を連日投与し (200 mg/kg/day, i. p., 5 日間), 体重、摂食量、飲水量および行動量を詳細に解析した。

その結果、体重は、TNF 投与 1 日目には顕著に減少したが、2 日目には軽度の減少にとどまり、3 日目以後は逆に増加した (TNF に対する耐性の発現)。摂食量はこの体重変化にはほぼ平行した変化を示したが、飲水量は TNF 投与 1 日目に一過性に減少した後、2 日目には投与前よりも増加し、3 日目以後は徐々に元のレベルに戻った。この摂食量の減少は主に暗期に起こり、また、飲水量の増加は、明期に顕著であった。TNF に対する耐性の発現期間中、歩行などの比較的大きな行動は TNF 投与前よりも増加する傾向が見られ、これは、主に昼間の行動量の増加に起因した。

以上の結果より、TNF の反復投与中、摂食や飲水などの行動様式が代償性に变化し、これが TNF に対する耐性の発現に関与している可能性が示唆された。

### 1-7. ラット中隔核ニューロンの空間応答特性

高村雄策, 西条寿夫, 小林恒之, 小野武年 (富山医薬大, 医, 第二生理)

【目的】 海馬体は, 動物の空間移動における空間情報処理に重要な役割を果たしていることが示唆されている。中隔核は, 海馬体と密接な線維連絡を有し, 破壊により種々の空間学習課題が障害されることが報告されている。今回我々は空間学習課題遂行中のラット外側中隔核から単一ニューロン活動を記録し, オープンフィールド内での滞在時間, 移動速度, 移動方向, および各種環境決定因子 (ランプ, ホワイトノイズ, フィールド内の局所的な手掛り刺激) の各要因について繊細に検討した。

【方法】 外側視床下部に脳内自己刺激(ICSS)用電極を, 外側中隔核に可動式記録電極を慢性的に埋め込んだウイスター系雄性ラットに, オープンフィールド内で2種の空間学習課題 1) 任意の場所報酬課題 2) 場所学習課題 (いずれもラットが報酬領域を訪れるとICSSを与える) を遂行させ, 単一ニューロン活動を記録した。ラットの位置はインターフェース内蔵CCDカメラで追跡し, ニューロン活動と共にコンピュータで処理した。

【結果】 3匹のラットから69個の細胞を記録した。その内14個が局所的手掛り刺激に連動した場所または方向選択的発火を示し, 2個がフィールド外刺激に連動した方向選択的発火を示した。場所または方向選択的な細胞はほとんどが外側中隔核の背側1/2に存在した。これらの細胞には報酬領域の配置, 環境因子の変化, 試行回数によって応答性の変化するものがあった。これらのことはラット外側中隔核が報酬獲得に必要な空間情報を含む感覚情報の統合処理に関与していることを示唆している。

### 1-8. 脳虚血ラットの場所学習障害に対する脳機能改善薬 T-588 の効果

中田恭史, 田渕英一, \*小野 哲, 小野武年 (富山医薬大, 医, 第二生理・富山化学工業, 総合研究所・新技術事業団)

脳虚血による海馬体の神経細胞壊死は空間認知・記憶の障害を呈する。本研究では, 椎骨動脈および総頸動脈の15分間血流遮断により, 海馬体 CA1 領域に選択的な神経細胞壊死を起こしたラットの記憶障害に対する脳機能改善薬 T-588 の効果を行動学的に解析した。

脳虚血2週後, 脳内自己刺激(ICSS)用刺激電極の埋め込み手術を行い, 1週間の回復期間を置きスキナー箱でICSS-レバー押し訓練を1週間行った。場所学習課題では, ラットを直径1.5mのオープンフィールド内に置き, ICSSを報酬としてフィールド内の特定の報酬領域を交互に移動させた。T-588 (3mg/kg)は脳虚血3週後より, ICSS-レバー押しおよび場所学習課題の試行60分前に経口投与した。血流遮断を除き同様の手術操作した偽手術ラットを脳虚血ラットの対照として用いた。

場所学習課題における脳虚血ラットの移動様式は偽手術ラットと明かに異なり, 報酬獲得回数も有意に少なかった。これに対し, 脳虚血後 T-588 投与ラットの移動様式は偽手術ラットに類似し, 同様の報酬獲得回数を示した。海馬体 CA1 領域での神経細胞壊死の程度は脳虚血ラットと脳虚血後 T-588 投与ラットとの間に有意な差はなかった。以上により, 脳機能改善薬 T-588 は, 脳虚血により海馬体 CA1 領域に選択的な神経細胞壊死を起こしたラットの場所学習障害を顕著に改善した。

### 1-9. 連合学習によるラット扁桃体ニューロンの応答性

上野照子, 西条寿夫, 米森 誠\*, 小野武年 (富山医薬大, 医, 第二生理・\*歯科口腔外科)

扁桃体は, 解剖学的に視床および大脳皮質感覚連合野から多感覚性線維投射を受け, これら多感覚性情報に基づく学習・記憶に重要な役割を果たしていることが示唆されている。本研究では, 感覚刺激と報酬および嫌悪(罰)刺激(強化刺激)の連合学習における扁桃体の役割を明らかにする目的で, 各種感覚刺激と強化刺激の連合学習を経験したラットと, 経験していないラットの扁桃体より単一ニューロン活動を記録し, 扁桃体ニューロンの応答性を比較・解析した。記録した総数1195個のニューロンのうち, 256個が特定の感覚種に応答する単一種感覚応答型ニューロン, および128個が複数の感覚種に応答する多種感覚応答型ニューロンであった。さらに, 連合学習を経験したラットの方が経験していないラットに比べ, 1) 感覚刺激に対する応答ニューロンの割合が有意に高い, 2) 報酬や嫌悪刺激およびこれら強化刺激と連合した各種条件刺激など, 複数の感覚刺激に応答する多種感覚応答ニューロンの割合が有意に高い, 3) これら多種感覚応答ニューロンは, 主として基底外側核および中心核

に存在し、長い応答潜時を有することが明らかになった。以上から、扁桃体には感覚刺激と報酬や嫌悪刺激の連合学習および記憶に重要な役割を果たすニューロンが存在し、とくに基底外側核および中心核ニューロンは、感覚情報の生物学的価値評価と快・不快情動の発現に関与することが強く示唆された。

#### 1-10. 中大脳動脈(MCA)虚血ラットの脳組織病態像

飛田秀樹, ×鬼塚圭一郎\*, ×藤本一朗, 福田敦夫, 西野仁雄(名古屋市立大, 医, 第二生理, \*富山医薬大, 医, 脳外科)

MCA 虚血ラットの急性期の脳組織病態像を Argyrophil III (銀染色)法及び免疫組織化学法(抗 MAP2 抗体及び抗 calpain 抗体)を用いて調べた。さらに、アルブミン・IgG・補体成分の C3b の強い漏出を免疫組織化学的に調べ、これら漏出に対するデキサメサゾンの効果を調べた。外頸動脈より塞栓子を挿入し、一側の MCA 領域を 1 時間閉塞し再開通させた。急性期(0~3 日)には虚血部位(線条体, 皮質, 扁桃体)に Argyrophil III 法で強く銀染色される dark neuron (DN)が出現した。DN は dendrite が corkscrew 状に蛇行し、さらには切断され、細胞骨格の傷害が示唆された。抗 MAP2 抗体及び抗 calpain 抗体を用いて調べると、DN の出現部位では MAP2 活性が消失し、calpain が活性化されることがわかった。これらの細胞内傷害とは別に、虚血部位ではアルブミン・IgG・補体成分 C3b の強い漏出が免疫組織化学的に認められ、血液・脳関門の破綻に基づく脳内免疫・補体系の高進による細胞外からの傷害が加わることがわかった。一方、このアルブミン・IgG・補体成分の C3b の強い漏出はデキサメサゾンを虚血前後に投与すると抑えられ、慢性動物(1~3 カ月後)の組織傷害が軽減された。

#### 1-11. 画像処理を用いた金魚の行動解析評価システムとその応用

島田洋一, ×岡田憲治, 菅原 清\*, 加藤 聖\*(金沢工業大, 経営工学科 \*金沢大, 医, 神経情報研伝達)

画像処理システムを用いて、正常対照群の金魚の移動軌跡を取得し、その左回転, 右回転, 直進の比率を調べたところ、左右の回転比には差は認められなかった。しかし、片眼を摘出した金魚の移動軌跡より求められる左右の回転比は、摘出していない眼球側への回

転が多く、有意差が認められた。このような現象は、2 ヶ月経過後も認められた。そこで本実験では、片側の視神経を切断し、同様な実験手順で一定期間移動軌跡を取得し左右の回転比を求めることにより、異常行動の経過を観察した。また並行して、視神経を切断した側の眼球に  $^{14}\text{C}$ -proline を注射し、一定期間後の視蓋への取り込みを測定する実験を行い、本システムによる処理結果の裏付けを行った。片側視神経の切断によって左右の異常回転は誘導されたが、片眼摘出とは異なり、この異常行動は約 1 ヶ月で消失し正常行動への回復が認められた。更に、 $^{14}\text{C}$ -proline の視蓋への取り込みにおいて視神経切断直後では全く視蓋へのカウントは見られなかったが、切断約 1 ヶ月後の金魚では、有意のカウント数が計測された。以上の結果から、異常回転行動定量化への本システムの有用性が確認された。

#### 1-12. 内側橋網様体に投射するセロトニン系と睡眠・覚醒

岩切裕昌, 中階克己, 松山清治, 森 茂美(生理学研究所, 生体システム研究部門)

本研究では内側橋網様体に投射するセロトニン(5-HT)作動系が睡眠・覚醒の位相をどのように制御しているかを解析した。そのため第一に内側橋網様体 5-HT レベルの変動と睡眠・覚醒位相の変化との関係を無麻酔ネコを用いて解析した。睡眠・覚醒位相は皮質脳波, PGO 波, 眼球運動, 頸筋筋電図により判定し、5-HT レベルはマイクロダイアリシス法により測定した。その結果 5-HT レベルは覚醒時に高く、徐波睡眠時には低下し、逆説睡眠時には著しく低下する傾向を認めた。第二に同部位に 5-HT を持続的に微小注入することにより、睡眠・覚醒位相を変化させることができるか否かを解析した。そのため通常のマイクロダイアリシス法とは逆に、透析プローベを介して 5-HT およびそのアゴニストを内側橋網様体の細胞外液中に滲出させた。その結果、睡眠とくに逆説睡眠の出現率が著しく低下した。以上の成績から内側橋網様体に投射する 5-HT 作動系が睡眠・覚醒位相制御系の一部として重要な役割を果たしていることが明らかになった。

#### 1-13. 宇宙実験のためのテレサイエンス・テストベッド実験：細胞内電位の測定

安藤啓司, 渡邊 悟\*, 和田佳郎\*, 田中正文\*,

長岡俊治\*\* (神戸大, 医, 生理・\*名大, 環境医研・\*\*宇宙開発事業団)

宇宙, 海洋, 海底など, 遠隔地で行われる実験を地上の研究室から制御するためテレサイエンスの手法が用いられる。これは実験立案者(PI)が通信手段を通して実験機材を遠隔操作し, 搭乗員と協力して実験を行うものである。我々はこの手法を応用して宇宙で生理学的な実験を行う際に生じる問題点を明らかにする目的でテストベッド実験を行ってきた。今回はアデノシンを投与時にツメガエル卵母細胞から発生する過分極応答を宇宙実験において避けられない通信遅延や回線容量などの制約を模擬的に課しつつ測定した。微小電極の刺入はPIが双眼顕微鏡の立体画像をhead mounted displayを用いて観察しつつマニピュレータと顕微鏡ステージを遠隔操作して行った。通信遅延10秒, 伝送速度1.5 Mbpsの条件下では, すべての試行で細胞内記録に成功したが, 128 Kbpsまで減少させたところ画質が悪化し刺入が困難になった。求めたアデノシン応答の性質は既に報告されている結果とよく一致した。実験中に様々なトラブルが作的, 或は偶発的に発生したが, その殆どは実験時間内に解決でき, テレサイエンスの有効性が実証できた。

#### 1-14. 直線加速度負荷装置の概要

渡邊 悟, 森 滋夫, 和田佳郎, 鈴木啓之, 田中正文 (名大, 環境医学研究所・高次神経統御・平衡適応)

直線加速度負荷装置は純粋に耳石器の刺激することを目的として開発されてきたが, しかし従来の装置は走行ストロークが短く負荷Gを上げると振幅が小さくなり, 目的とする耳石器以外の感覚器の効果が大きく現れることが懸念されていた。我々は新たに走行ストローク18m 全長23mの直線加速度負荷装置を設備することが出来た。本装置は車体部を磁気方式により浮上させ, 微小振動, 騒音等のノイズの混入を最小限に抑える事が出来た。更に, 金属製のカプセルにより走行時の風切り, 走行中の音, 遮光, 磁気シールドが計られた。カプセル内部には視覚刺激用の半球スクリーンが被験者の眼前50cmに備えてあり, 視運動性刺激がコンピュータを介して投影可能である。従って, 耳石系刺激と視覚刺激の組合わせも可能とした。本装置は前庭耳石系の研究に有力な手がかりを与えその機能の解析に役立つ。

#### 1-15. ハトの温度刺激による水平半規管内リンパ圧変化

和田佳郎, 鈴木啓之, 渡邊 悟 (名大, 環境医研・高次神経統御・平衡適応)

従来, 温度性眼振のメカニズムは, 内リンパ熱対流説によって説明されてきたが, 対流の生じ得ない無重力下の宇宙において温度性眼振が観察されたことから, 内リンパ熱対流説以外の仮説がいくつか提唱されている。我々は, そのひとつである温度刺激による半規管内リンパ圧変化が有毛細胞を刺激するという内リンパ圧変化説を実験的に検討している。今回は, servo-micro systemの原理を採用した微小圧測定法Micro Pressure System (WPI 900 A)を用いて, ハトの温度刺激に対する水平半規管内リンパ圧変化を観察した。主な結果は以下のとおりである。1. servo-micropipet systemによってハトの水平半規管内リンパ圧測定が可能となり, 内リンパ圧は外リンパ圧に比べ約5.3 mmH<sub>2</sub>O高かった。2. 冷刺激に対する圧変化は温刺激に対する圧変化より大きく, 膨大部のクプラ頭部側の圧変化はクプラ尾部側の圧変化より大きかった。また, 持続的に圧が変化するタイプと, 一過性に圧が変化するタイプが認められた。3. これらの内リンパ圧変化は, 主に温度刺激に対する内リンパ液自身(収縮: 圧↓, 膨張: 圧↑)とそれを包む膜迷路(収縮: 圧↑, 膨張: 圧↓)の容積変化の比率によって決るものと推測される。

#### 1-16. 下半身陰圧負荷が発汗反応に及ぼす影響

田辺 実, 紫藤 治, 永坂鉄夫 (金沢大, 医, 第一生理)

下半身陰圧負荷により有効循環血流量を変化させた時, それが高体温時の発汗反応をどのように修飾するか検討した。健康成人男子7名を被験者として, 室温30℃, 相対湿度40%の人工気象室内で実験を行った。体加温装置の中に下半身陰圧ボックスを入れ, この装置内で空気が循環するようにした。体加温装置内の温度を50℃まで上昇させ温度平衡が得られた後, 50, 100, 150 mmH<sub>2</sub>Oの下半身陰圧を4分間負荷し6分間解除する方法で順不同に繰り返した。下半身陰圧負荷前中後の前額, 胸, 前腕, 大腿の4ヶ所の発汗量(カプセル換気法), 鼓膜温, 食道温, 全身7ヶ所の皮膚温, 血圧, 心拍数を測定した。1分毎の発汗拍出頻度を求め, 平均体温, 平均皮膚温を算出した。鼓膜温, 食道温, 平均体温, 平均皮膚温, 平均体温, 最高血圧, 最

低血圧、心拍数(150 mmHgを除外)は下半身陰圧負荷による有意な変化はなかった。発汗量は下半身陰圧負荷開始直後有意に減少した後緩やかに回復したが、そのレベルは負荷前より低かった。発汗拍出頻度は下半身陰圧負荷開始後の2分間に有意に減少した後負荷前のレベルに戻った。以上より、下半身陰圧負荷による発汗の抑制に静脈環流量減少に伴う低圧系心肺受容器反射の関与が推察された。

#### 1-17. 個々の汗腺の汗拍出活動～手掌と一般体表面の比較～

西山哲成, 小川徳雄, 菅屋潤壹, 鈴木(今井)一乃, 相沢清香(愛知医大, 第二生理)

発汗中枢活動を反映すると考えられる発汗波と個々の汗腺からの汗拍出活動を、手掌、手背部において、それぞれ精神性、温熱性刺激を与えて観察し、それらの活動状況について検討した。ビデオマイクロスコープを用いて、個々の汗腺の活動様相をビデオ録画し、コマ送り再生により個々の汗孔からの汗の拍出タイミングを測定し、換気カプセル法による隣接部位の発汗量変化との関係を調べた。手掌、手背のいずれにおいても少量発汗時では、動員される汗腺数は発汗波の振幅と直線関係を示し、また、手掌部においては約  $0.4 \text{ mg/cm}^2/\text{min}$  以上の多量発汗では level off する傾向を示した。個々の汗腺の動員状況についてみると、少量発汗時から汗の拍出がみられる閾値の低いものと、ある量以上の発汗量で拍出が始まる閾値の高いものとの程度は区別できたが、発汗波の振幅が同程度であっても動員される汗腺は同一とは限らなかった。また、数十分の時間経過前後では動員される汗腺がかなり異なった。この傾向は特に手掌部において顕著にみられた。これらより、手掌、手背において発汗活動に対する個々の汗腺の動員パターンは、それぞれの閾値だけに影響されるのではなく、特に手掌部において、時間経過に伴ってその活動性に動揺をもたらす何らかの影響がある可能性が示唆された。

#### 1-18. 外乱に伴う反射性応答に対する筋長さの影響

高橋博人, 米田継武\*, 水村信二\*, 山本高司, 御手洗玄洋(中京大・順天堂大\*)

急速な負荷の開放による筋伸張刺激時の反射性応答に及ぼす影響について、その負荷と関節角度(筋長さ)の違いによる変化を時間関連を中心に検討することを本研究の目的とした。

被検者は前腕に与えられた負荷に抗して肘関節の屈曲位を保つ動作(保持動作)を行なわせる。次いでその負荷を急に開放する。これが外乱となって定位が乱されるが、できるだけ素早くベースラインに戻すことを被検者に教示してある(定位動作)。被検者の前方にはモニターを設置してこれをベースラインと関節角度の動きを提示してあり定位の補助となる。負荷の解放は被検者に悟られぬように極力乱数的に行なった。

保持動作時の負荷や関節角度の条件の違いが負荷開放から初めに出現する筋放電の開始時間(潜時)に少なからず影響を及ぼしていることが確認された。保持する負荷の増大によって潜時が短縮化する傾向や肘関節の動きと潜時との相関は運動の準備状態を反映した結果と考えられる。また筋の伸張度の違いによる潜時への影響は個人差を何わせる結果が観察された。これは単なる四肢の位置変化によってさえも生体応答に変化をもたらすことを示唆している。しかしいずれにしても時間関連で検討した結果でありより詳細な解析が必要であると考えられる。

#### 1-19. 組織培養下視交叉上核の Arg-Vasopressin 分泌量の変化

磯部芳明, 西野仁雄(名古屋市立大, 医, 第二生理)

哺乳動物の生物時計の中核は視交叉上核(SCN)にある。SCNは概日リズムの位相と約24時間周期の決定に関与し、この情報を他の脳部位へ送り出している。in vivoにおいて、SCNの背内側領域に局在するArg-vasopressin(AVP)は内因性の概日リズムを示し、AVPを含有する細胞体は視床下部の腹内側核群と線維連絡をしている。そこでin vitroの実験系(Explant slice culture)を用いてAVPの分泌量の変化を調べた。AVPリズムの位相決定にSCNの腹内側領域に存在するペプチドが関与する可能性を知る目的で vasoactive intestinal peptide (VIP), gastrin-releasing peptide (GRP) および各々の抗体を培養液に加え、AVPの濃度変化を調べた。VIPではAVPが上昇し、GRPでは減少する傾向が得られた。しかし、各々の抗体の添加では、AVP濃度に大きな変化を生じなかった。SCN中でVIPとGRPは多くの細胞で共存し、各々の単独投与よりも混合投与の方が位相反応が大きいたことが報告されている。これらの結果は、AVPリズムの形成にはVIPとGRPが修飾的に作用していることを示すものと考えた。

### 1-20. アルドステロン分泌に及ぼす pH の影響

山内武巳, 松井信夫 (中大)

カリウムイオン  $[K^+]$  の代謝調節の主要な因子であるアルドステロン (Ald) の分泌調節に  $[K^+]$  が関与してフィードバックが完成している。Ald はまた  $[H^+]$  の調節にも関与するが  $[H^+]$  の Ald 分泌への影響は明らかでない。そこでヒトに  $NaHCO_3$ ,  $NH_4Cl$  を経口投与し,  $[H^+]$  の Ald 分泌に対する影響を調べたところ (実験 1),  $[H^+]$  の低下, 上昇に伴い Ald が低下, 上昇した。この際, レニンやコルチゾルの変動と Ald は無関係であった。以上より  $[H^+]$  が Ald 分泌を調節することが示唆されたが,  $[H^+]$  の上昇, 低下に伴い  $[K^+]$  が上昇, 低下していたことから Ald の変化が  $[K^+]$  に依存した可能性を否定できなかった。そこで pH のみ大きく変動させる hypertonic tris hydroxymethyl aminomethane (THAM) を経口投与し, Ald の変化を検討した (実験 2)。THAM 投与後,  $[H^+]$  は有意に低下し,  $[K^+]$  はアルカリ血症にもかかわらず上昇した。アルドステロンは有意ではないが低下傾向にあり尿の  $Na/K$  は上昇した。レニンは変動がなかったが, ACTH は低下した。以上のことから  $[H^+]$  の低下が Ald の分泌を低下させる可能性が示唆されたが, ACTH に依存して変動した可能性も否定できなかった。以上, 実験 1, 2 より  $[H^+]$  が Ald 分泌を調節する可能性が示唆されるが, 他の因子の関与を排除する検討が必要である。

### 1-21. 膵 $\beta$ 細胞の 2 相性インスリン分泌機構の解析

櫻井孝司, 寺川 進\* (総研大, 生理研・浜松医大, 光量子医学\*)

ラットの膵  $\beta$  細胞からのインスリン分泌反応をビデオ顕微鏡を用いて実時間測定した。  $\beta$  細胞は 8 から 20 個の細胞集団 (Subgroup) からなっていた。高グルコース (HG) に対する反応性は細胞集団内では一定のパターンを示したが, そのパターンは細胞集団ごとに異なっていた。そこで, Subgroup を単位として HG によるインスリン分泌を定量化したところ, 刺激後 30 秒から数分間で停止する低頻度な早期反応パターンと刺激後 15 分から 20 分より生じ始める持続的で高頻度な遅延反応パターンの 2 つの反応様式があり, 細胞集団単位で regional heterogeneity が認められた。また, ラジカル産生性薬物を用いて検討したところ, インスリン分泌は数種のラジカルに異なる調節を受けている可能性が示唆された。したがって, 膵  $\beta$  細胞は細胞集団

ごとに異なるラジカルに制御を受けており, その結果, 全体としては 2 相性分泌パターンを構成するものと考えられた。

### 1-22. 蛍光・微分干渉二重光顕法によるエキソサイトーシスの観察

寺川 進, 櫻井孝司\* (浜松医大, 光量子医学・総研大, 生理研\*)

異なる 2 つの波長の照明系とダイクロイックミラー, それに干渉フィルターを組み合わせ, 落射蛍光像と微分干渉像が独立かつ同時に観察できる光学系を作った。ICCD カメラを用いて一万倍以上の倍率での観察が可能であった。好中球とクロマフィン細胞において, 分泌顆粒内にキナクリンを取り込ませてこれを選択的に染色し, ザイモサン刺激や電気刺激をした。両方の細胞で, 微分干渉像にて顆粒の弾ける反応が起きると同時に蛍光像にて同一顆粒のキナクリンの消失が観察できた。これによって微分干渉像での反応がエキソサイトーシスであることが証明できた。さらに, クロマフィン細胞膜を FITC によって染色し電気刺激でエキソサイトーシスを引き起こしたところ, 微分干渉での顆粒の弾け反応にやや遅れて, 対応する部分の細胞膜に暗点ができた。これによって, 膜融合でできた小孔がまだ非常に小さいうちに顆粒内容の放出が起こるといふキネティックスが明らかになった。Fura 2 をロードした好中球では, ザイモサンの貪食に伴って細胞内  $Ca^{2+}$  濃度の上昇が蛍光観察でき, 同時に, エキソサイトーシス反応が微分干渉像で観察できた。 $[Ca^{2+}]_i$  の反応はエキソサイトーシスの開始より約 20 秒先行して空間的な局在性が無い形で起こるのに対し, エキソサイトーシス反応はファゴゾーム近傍のみ起こり, 両者の相関は低いことがわかった。

### 1-23. ニコチンによる 5-HT<sub>2</sub> 受容体 mRNA の発現誘導

井原勇人, 浦野哲盟, 高田由美子, 高田明和 (浜松医大, 第二生理)

【はじめに】ニコチンは, カテコールアミンやセロトニンなどの神経伝達物質の分泌を促進するだけでなく, その生合成経路の酵素の遺伝子発現にも影響を及ぼすことが知られている。我々はラット 5-HT<sub>2</sub> 受容体 cDNA をプローブとして用い, ニコチンの, 5-HT<sub>2</sub> 受容体遺伝子発現調節に関わる可能性についてラット C6 細胞を用いて検討した。

【結果および考察】 5-HT<sub>2</sub> 受容体 mRNA は、ニコチン (200  $\mu$ M) の添加により、24時間後には定常状態の2倍量にまで増加した。2 mM のニコチン添加では逆に、48時間後にコントロールの20%位まで減少した。プロテインキナーゼ(PK)A インヒビター、H-89前処理したものでは、ニコチン (200  $\mu$ M) によるこの mRNA の誘導が抑えられた。以上の結果よりニコチンによる 5-HT<sub>2</sub> 受容体 mRNA の発現調節には、cAMP/PKA 系の関与が示唆された。さらに蛛 AcAMP アナログ (8-クロオフェニルチオサイクリック AMP) およびテオフィリンを添加し、細胞内の cAMP 濃度を上げ、5-HT<sub>2</sub> 受容体 mRNA 発現への影響をみたが、この mRNA の発現誘導は認められず、24時間で減少した。

#### 1-24. マウスチロシン水酸化酵素 (TH) 活性に対するニコチンの作用：副腎と脳における検討

太田 明 (藤田保健衛生大, 総医研, 難治研)

副腎及び脳 *in vitro* TH活性に対するニコチン (N) の効果を、ヒト TH 遺伝子を導入したトランスジェニックマウス (Tg群) と対照マウス (C群) とで比較検討した。

【方法】 12週齢の雌 C57BL/6J マウス (C群) と同じ系より作成した Tg 群に、N 5 mg/kg (free base) を one shot 或いは一日 2 回連続 3 日間皮下投与した。最終投与後 3 時間にて頸椎脱臼により屠殺後、直ちに副腎と脳を摘出。それぞれ 0.25 M 及び 0.32 M ショ糖溶液中でホモゲナイズし酵素標品とした。*in vitro* TH 活性は、pH 6.0, 補酵素濃度飽和の状態で L-チロシンより生成した L-ドーパを HPLC 法にて定量して求めた。

【結果】 副腎 *in vitro* TH 活性に関しては、(1) 両群の基礎値に有意差を認めなかった。(2) N の one shot によっては Tg 群、C 群共に基礎値よりの有意な変化を認めなかった。(3) N の連続 3 日間投与により、Tg 群では有意に上昇、C 群では上昇傾向を示した。脳における *in vitro* TH 活性基礎値は、Tg 群が C 群より有意に高かったが、N の投与は両群 *in vitro* TH 活性を全く変化させなかった。

【結論】 副腎 *in vitro* TH 活性の調節にあずかる上で、N は Tg 群、C 群双方に同様の作用機序で関わっている可能性が示唆された。

#### 1-25. アルコールによる GABA チャネル・キネティクスの修飾機構

倉田康孝, 今西 愿, <sup>×</sup>Toshio Narahashi\* (金沢医大, 第二生理, Northwestern 大, 薬理学(USA)\*)

【目的】 アルコールが GABA 電流を増強することは以前より知られており、アルコールの示す全身麻酔作用の一機序とされている。今回我々は、GABA チャネル・キネティクスに対する n-Octanol (C8) の作用を電気生理学的手法により定量的に解析し、アルコールの GABA チャネル修飾機序を検討した。

【方法】 ラット GABA<sub>A</sub> 受容体-チャネルのサブユニット・サブタイプ  $\alpha_1\beta_2\gamma_{2S}$  を発現させた人胎児腎細胞 (HEK-293) を用い、ホールセル・パッチクランプ法により GABA 又はアルコール投与時に誘発される単一細胞膜電流を測定した。

【結果と考察】 n-Octanol は、① GABA 電流ピークの増強 (GABA 濃度-反応曲線の低濃度側シフト)、② 単独投与 (GABA 非存在下) での電流誘発、③ 前処理による GABA 反応の抑制、④ GABA 電流消退の促進、⑤ 定常 GABA 電流の抑制、をもたらした。これらの多様なアルコール作用は 2 種の結合部位もしくは 2 つの分子機構の存在を示唆しており、キネティックモデル (ゲーティング・モード転移モデル) によれば、① GABA によるチャネル活性化の促進、② GABA 非結合チャネルの活性化、③ GABA 結合チャネルの不活性化、として理解される。

#### 1-26. 培養海馬ニューロンの抑制性シナプス伝達に関与する Ca<sup>2+</sup> チャネルサブタイプの種類およびその GABA<sub>B</sub> 受容体による調節

少作隆子, <sup>×</sup>平田一成\*, 沢田さつき, 山本長三郎 (金沢大, 医, 第二生理・富山化学工業\*)

抑制性シナプスを形成している培養海馬ニューロン・ペアの両方を whole-cell クランプし、一方に活動電位を誘発し、他方より GABA 作動性シナプス電流 (IPSC) を測定した。L 型 Ca<sup>2+</sup> チャネル阻害剤 (nifedipine, 10  $\mu$ M) は IPSC を抑制しなかった。N 型 (1  $\mu$ M  $\omega$ -conotoxin GIVA, CgTX) および P 型 Ca<sup>2+</sup> チャネル阻害剤 (0.1  $\mu$ M  $\omega$ -agatoxin IVA, AGTX) の単独投与は、IPSC をそれぞれ 63% および 33% 抑制した。CgTX と AGTX の同時投与は、IPSC を 99% 抑制した。また、GABA<sub>B</sub> 受容体のアゴニスト (1 ~ 10  $\mu$ M baclofen) は IPSC を濃度依存性に抑制し、その抑制効果は、CgTX や AGTX 処理後においても変化しなかつ

た。以上の結果は、培養海馬ニューロンの抑制性シナプス伝達に関するシナプス終末の Ca チャネルが N 型と P 型であり、また、シナプス終末の GABA<sub>b</sub> 受容体の活性化が、N 型と P 型 Ca チャネルの両方を抑制することを示唆している。

#### 1-27. ラット神経及び非神経組織における不活性型カルパイン免疫組織活性

×塚塚圭一郎, ×村松幹司, 福田敦夫, ×国末己歳\*, ×佐々木 寛\*, 西野仁雄 (名古屋市立大, 医, 第二生理・第二生化学\*)

カルパインは、細胞内に存在するカルシウム依存性プロテアーゼであり、その活性の発現には一定濃度のカルシウムが必要である。機能としては細胞骨格やミエリン蛋白の分解、各種酵素の活性調節、などが考えられている。今回我々は、ヒト不活性型  $\mu$  カルパイン N 末ペプチド抗体を作製し、これを用いてラットにおけるカルパインの分布を免疫組織学的に検討した。200~250 g の Wistar 系雄ラットを、経心的に 4% パラホルムアルデヒドを含む緩衝液にて灌流固定し、神経(中枢、末梢)、肝、腎、副腎、心筋、骨格筋組織を摘出した。各組織を 50  $\mu$ m 厚の切片とし、上記抗体を用い ABC 法で反応させた。本抗体に陽性を示したのは、中枢及び末梢神経組織のみで、その他の組織では染色性を認めなかった。細胞レベルでは、神経細胞の核、あるいは核膜の染色性が強く、細胞質の染色性は比較的淡かった。吸収試験ではこれらの染色性の低下を認めた。また脳虚血急性期では、虚血部位において染色性の低下を認めた。これはカルパインが活性型に変化したためと考えられた。

#### 1-28. フォルボールエステルが内臓ポリモーダル受容器の熱反応とブラジキニン反応に及ぼす効果

甲田久士, 水村和枝, 熊澤孝朗 (名大, 環境医学研究所・神経性調節分野)

ブラジキニン(BK)の B2 受容体やヒスタミン(His)の H1 受容体刺激を介する反応には protein kinase C (PKC)の活性化が関与していると報告されている。これらの物質は侵害受容器のポリモーダル受容器(PMR)に、それぞれの受容体を介して放電増加を誘発し、またその熱反応を増強する。そこで、PMRの放電誘発や熱反応促進に PKCの活性化が関与しているかどうかを、イヌ精巣一上精巣神経標本より記録した単一および数個の PMR からの放電を指標にして

phorbol ester を用いて調べた。phorbol 12, 13, dibutyrate (PDBu  $10^{-7}$ M)投与による誘発放電出現は 14例中 3例に留まった。PDBu 前投与により熱反応は有意に増強され、BK 反応は有意に抑制された。一方、PDBu 同時投与によって BK 反応は有意に増強された。この結果より、BK 反応には PKC によって促進を受ける系と抑制を受ける系があり、両者はその時間的経過が異なっている事が示唆された。以上より、PMR の修飾作用にも PKC の活動が関与している可能性が考えられる。

#### 1-29. ネオスチグミン存在下におけるインパルス伝達の様相

浦本 勲, 瀬尾美佐子, 渡辺貴美, 戸塚 武 (愛知県コロニー研, 生理)

ウレタンで麻酔したラットの露出した腓腹筋から、ネオスチグミン投与前後のいくつかの時点で、同心円電極を用いて自発活動や誘発筋電位を記録した。坐骨神経への刺激は、0.05ミリ秒幅の矩形波で最大強度で行った。投与後しばらくすると、時折バースト状の自発活動が見られ、誘発筋電位にも主成分に続いていくつかの振れが出現した。放出されたアセチルコリン(ACh)の分解が抑制され、神経筋接合部の間隙に多くの ACh が残存するからであろう。まず、投与後 6~8 分に 2 秒間隔で 2 発の刺激を与えた。1 発目に対する誘発筋電位の大きさは投与前と余り変わらないが、2 発目に対しては著しく抑圧された。次に、0.5 Hz で 10 発の刺激を与え、誘発筋電位の経時変化のパターンを調べた。2 発目に対して著しく抑圧されるが、その後ゆっくりと回復した。さらに、投与後から 0.5 Hz で刺激を続け、いくつかの時点で、連続 10 コの誘発筋電位を調べた。投与前に比べて、投与後 3 分には少し小さくなるが、その他の時点ではほとんど変わらないか、あるいは 30 分もすると少し増大した。以上から、最初の神経衝撃によって多量の ACh が放出され、利用可能な ACh が枯渇状態になるが、反復刺激によって ACh のリサイクル過程がより活性化されたのであろう。

#### 1-30. 神経芽細胞腫雑種細胞(NL 308)における m2 および m4(ムスカリン受容体サブタイプ)と Ca<sup>2+</sup> 依存性 K<sup>+</sup> チャネルとのカップリング

東田陽博 (金沢大, 医, 神経情報, 神経物性)

ムスカリン受容体サブタイプの中で、m1 および m3

はイノシトール酸(PI)の代謝促進にカップルし, m2 および m4 はアデニレートシクラーゼ抑制および Ca 電流抑制にカップルすることが知られている. m1-m4 の各々を NL308 細胞に発現させ, 膜電流に及ぼすアセチルコリン(ACh)の影響を見たところ, m1 および m3 を発現した細胞では, 保持電位  $-40\text{mV}$  で外向きの  $\text{Ca}^{2+}$  依存性  $\text{K}^+$  電流 ( $I_{\text{K}(\text{Ca})}$ ) に続き,  $\text{Ca}^{2+}$  依存性カチオンチャンネルによる内向き電流がみられた. 一方, m2 および m4 を発現した細胞では, 往々にしてオシレーションを伴った外向き  $\text{K}^+$  電流が見られた. Fura-2 あるいは Indo-1 で細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  を測定したところ, 同じようなパターンの  $\text{Ca}^{2+}$  上昇が観察された. また, この外向き  $\text{K}^+$  電流は細胞外 BAPTA-AM, カリブドトキシン, 或いは  $\text{Ba}^{2+}$  で抑制されたので  $I_{\text{K}(\text{Ca})}$  であることがわかった. しかし, m1 および m3 のそれとは百日咳毒素(PTX)に感受性である点で異なった. 以上の結果から, NL308 に発現された m2 および m4 受容体は PTX 感受性 G タンパク質を介して細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  を動員し,  $I_{\text{K}(\text{Ca})}$  を活性化することが示唆された. 一方, m1 および m3 受容体は PTX 非感受性 G タンパク質を介して同様な反応を起こすものと思われる.

### 1-31. グルタミン酸毒性の細胞内障害性について

安井裕子, 加藤 聖 (金沢大, 医, 神経情報研伝達)

我々は, 既に C6 グリオーマ細胞にグルタミン酸 (mM オーダー) を添加すると遅延型の細胞死が招来され, この細胞死はアミノ酸交換輸送系の一つであるシスチン/グルタミン酸交換輸送系 (xc 系) を介したシスチンの取り込みの障害による細胞内グルタチオン (GSH) の枯渇にもとづくことを報告している. そこで今回, GSH 枯渇以降の酸化的ストレス状況下における細胞内機序を探るため, 細胞膜, 細胞質, 核への障害性を調べた. さらに抗酸化剤の効果や発生する活性酸素種 (ROS) についても調べることにより, 酸化的ストレスの実態の解明を試みた. その結果, グルタミン酸による細胞死と一致して膜の脂質過酸化が有意に増加した. また, 細胞死にやや先立って細胞内 ATP 量は有意に減少し, 核 DNA の凝集像や濃縮像が観察された. さらに, グルタミン酸添加後, 細胞内 ROS の増加傾向が認められた. 他方, この障害性はカタラーゼ, TMPO, ビタミン E 等の抗酸化剤やラジカルスカベンジャーにより防御された. 以上の事実から, グルタミン酸添加により細胞内 GSH 減少の結果, 細胞内

ROS の消去能力が低下し, 細胞の膜, ミトコンドリアおよび核に不可逆的な変化が生じたと考えられる. さらに, 抗酸化剤やラジカルスカベンジャーの防御効果から, このグルタミン酸誘発細胞死において活性酸素種として  $\text{O}_2^-$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  および  $\cdot\text{OH}$  の関与が示唆された.

### 2-1. キノホルムによる痛覚過敏現象と皮膚痛覚受容器の興奮

鈴木重行, 佐藤 純, 水村和枝, 熊澤孝朗 (名古屋大, 環境医研, 神経性調節)

我々はイヌの上精巣神経標本を用いた単一神経放電活動記録により, SMON の原因物質であるキノホルム (QF) が内臓痛覚ポリモーダル受容器の異常放電を誘起し, 侵害刺激に対する反応性を増強することを明らかにしている. 今回, QF の局所投与が動物の行動レベルに及ぼす影響と皮膚痛覚ポリモーダル受容器の神経活動に対する効果について検討した. 実験は SD ラットを用い, QF  $100\ \mu\text{M}$  を足部皮下投与し, 圧刺激 (Randall-Selitto 法) に対する逃避閾値と熱刺激 ( $47^\circ\text{C}$  温水に足部を浸す) に対する逃避潜時を測定することにより, 逃避行動に対する QF の効果を調べた. また, 同濃度で同量の QF 液を受容野に皮下投与し, 熱刺激による誘発放電と  $10\ \mu\text{M}$  BK と 3.6% NaCl の局所動脈投与による誘発放電を記録することにより, 侵害刺激による誘発放電に対する QF の効果を調べた. その結果, 行動レベルにおいて圧刺激に対する逃避閾値, 熱刺激に対する逃避潜時はそれぞれ 120 分, 240 分をピークとして短縮した. また, 受容器放電活動において熱反応は QF 投与後 90 分より反応が大きくなった. BK 反応, NaCl 反応においてもキノホルム投与後増加する例が観察された. 以上により, キノホルムは行動レベルにおいても痛覚過敏を引き起こし, 皮膚の痛覚線維活動を増強することが明かとなった.

### 2-2. A STUDY ON THE LOCATION OF THE SYNCHRONIZATION CENTER OF THE MILK EJECTION REFLEX IN THE LACTATING RAT

<sup>×</sup>Y-F. Wang, H. Negoro and K. Honda (Department of physiology, Fukui medical school)

In our previous work, the synchronization center responsible for milk-ejection bursts of oxytocin neurones in the bilateral hypothalamus of the lactating rat has been found located at the region rostral to the mid-

brain. In the present experiment, we attempted to explore the more precise location of the synchronization center. The experiment was performed in 38 lactating rats which were divided into two groups. Rats in the first group bore a transection in the forebrain just rostral to the supraoptic nuclei (SON), and those in the second group was the rats with hemitranssection just caudal to the paraventricular nucleus (PVN). Extracellular recordings of the electrical activities of antidromically identified magnocellular neurosecretory neurones during suckling a litter of 10 pups. In the first group, synchronized bursts could be recorded from oxytocin neurones. In the second group, no burst could be observed in antidromically activated neurones in the SON of lesioned side. Whereas, in the intact side burst activities were well observed. These findings together with the results in the previous works in our laboratory suggest that, the synchronization center might be located somewhere between the midbrain and the PVN.

### 2-3. 胎生17日照射によるX線小頭症ラットの視床求心路

伊藤宗之 (愛知県コロニー研, 生理)

胎生17日照射によるX線小頭症ラットでは成熟後の大脳皮質体性感覚領に第4層の細胞が欠落する。正常ラットには見られるような、一本一本の髭に対応した細胞構築学的なバレルは認められない。しかしチトクローム酸化酵素(CO)染色を施すとバレル様の紋理を見ることができる(CO-バレル)。第4層細胞の欠落があっても視床求心路の終末は各個の髭に対応したグルーピングを形成しているのかも知れない。このことを検証するためガラス微小電極に4% HRPと0.2M KCl(0.05M Tris-HCl バッファー中, pH 8.6)を詰め、髭毛根部の電気刺激に対する脳波反応が最大になる視床腹側核内に10  $\mu$ A, 3分間の陽性通電でHRPを電気泳動的に注入した。2日間の皮質への輸送を待つて灌流固定ののち、凍結切片を作り視床と大脳皮質のベンジジン発色により、髭の視床領域に局限した注入染と皮質への輸送像を調べた。皮質では逆行性に染まった第6層細胞の領域に一致しながら、その表層で第4層相応の深さ(第4層自身はない)のところに順行性の視床求心線維の終末が分節を作っていた。そのパターンはCO-バレルに一致していた。

### 2-4. モルモット下丘聴覚ニューロンに対するリドカイン静注の効果

×真鍋恭弘\*, 吉田 繁, 吉田和典\*\*, 澁谷浩司, 谷渕育夫, 岡 宏 (福井医大, 耳鼻咽喉科\*・第一生理・心理学\*\*)

聴覚ニューロンの異常放電に起因すると言われていた耳鳴りはリドカインの静脈投与により消失することが臨床上確かめられているが、作用機構は不明である。今回、我々は下丘聴覚ニューロンの自発放電に対するリドカインの影響を検討したので報告する。ウレタン麻醉下でモルモットの大脳皮質を吸引し、下丘を露出した。ニューロンの放電はガラス管微小電極で細胞外記録した。聴覚ニューロンの異常自発放電はサリチル酸ナトリウムの全身投与(200 mg/kg i. v.)で誘発した。その異常放電に対し1 mg/kgのリドカインを大腿静脈より1分間で注入したところ、自発放電の一過性消失が認められた。蝸牛神経、蝸牛神経核に対する従来の報告では、自発放電の消失は確認されていないが、今回の実験により、リドカインの下丘における自発放電の消失が初めて確認された。また、リドカイン投与によって自発放電が減少し始めるまでの潜時ならびに放電が減少してゆく速度は、自発放電数とそれぞれ負および正の相関を示した。よって、自発放電頻度が高い程リドカインの抑制作用が強く現れたので、自発放電の抑制機構にリドカインの use-dependent block が関与していることが示唆された。

### 2-5. ヒト視覚誘発電位の双極子推定

池田宏明\*, 西条寿夫, ×遠藤俊郎\*, ×滝沢國治\*\*, 小野武年 (富山医薬大, 医, 第二生理・脳神経外科\*, NHK放送技術研究所\*\*)

双極子追跡(DT)法は、脳-頭蓋骨-頭皮の三層三次元再構築モデルを用い、頭皮上電位分布から脳内電位発生源(等価双極子)の三次元座標を非侵襲的に推定する方法である。われわれはこれまで、サルを用いてDT法の精度が3mm以内であることを電気生理学的に明らかにし、体性感覚誘発電位の電位発生源が第一次体性感覚野から5野に移動することを明らかにしてきた。本研究では、健康成人5名を対象に視覚誘発電位(VEP)の双極子推定を行った。視覚刺激(チェッカーボードパターン)は、ビデオプロジェクターおよび電圧駆動型液晶シャッターを用いてスクリーン上の特定の領域に投影(pattern-onset 刺激; 刺激提示期間, 250 msec)した。左上, 左下, 右上, および右下のそれぞ

れ周辺部と中心部の合計8つの視覚受容野を刺激し、合計27個の頭皮電極から記録した。得られた VEP は、SUN ワークステーションを用いて刺激呈示前 50 msec から提示後 450 msec までを200回加算平均した。その結果、潜時約 50~120 msec で、C I, C II, および C III の3つの構成要素からなる VEP が記録された。双極子推定は 0.5 msec 毎に行い、C III の頂点以前で最も双極子度の高かった双極子を三次元 MRI 上にスーパーインポーズした。推定された双極子は、刺激野と反対側の後頭葉、鳥距溝周辺に存在した。また、外側視野刺激の双極子は鳥距溝の前部に、内側視野刺激の双極子は鳥距溝の後部の推存在し、後頭葉における網膜受容野の部位局在性を再現することができた。

## 2-6. サブスタンス P によるモルモット大動脈平滑筋の内皮細胞依存性弛緩と cGMP

×保住 哲, 福田裕康, 鈴木 光 (名古屋市立大, 医, 第一生理)

モルモット頸動脈における内皮由来弛緩因子には EDRF と EDHF が関与している。EDRF による弛緩には cGMP 産生の増加を伴うので、我々はモルモット大動脈を用いてアセチルコリン (ACh) ならびにサブスタンス P (SP) による内皮細胞依存性弛緩と cGMP との関係について比較検討した。

ACh (1  $\mu$ M) および SP (0.1  $\mu$ M) はノルアドレナリン (NA) (1  $\mu$ M) で収縮させた筋を内皮依存性に弛緩させたがその強さは SP の方が ACh より強かった。同様の弛緩反応は高 K 液 (38.8 mM) で収縮させた筋でも観察された。ニトロアルギニンは NA による収縮を増大させ、ACh による弛緩を抑制した。高 K 液による収縮の ACh や SP による弛緩はニトロアルギニンで抑制された。

ACh や SP は内皮から EDRF を遊離させ細胞内の cGMP 産生を増加させて弛緩させているが、ACh の方が EDRF 産生量が少ないと思われた。SP による弛緩のニトロアルギニン非感受性成分は高 K 液により大きく減弱したので、SP による弛緩には大動脈においても EDRF に加え EDHF が大きく関与していると推定した。

## 2-7. 骨格筋小胞体 $Ca^{2+}$ 遊離チャネルの $H_2O_2$ による trans 側からの活性化

大羽利治, 越田 信 (名古屋市立大, 医, 第一生理)

我々は第71回生理学会大会で  $H_2O_2$  がカエル骨格筋小胞体  $Ca^{2+}$  遊離チャネルの開口確率 ( $P_o$ ) を増加し、筋収縮を誘起すること、および、その作用点が筋小胞体内腔側 (trans) にある可能性を 53 mM  $Ba(OH)_2$  を用いて報告した。高濃度の2価カチオンは  $Ca^{2+}$  チャネルを不活性化し、チャネル電流も小さい。今回、2価カチオンの代わりに、 $Cs^+$  を電流キャリアとして用い、S/N 比の大きな不活性化を受けにくい条件下で  $H_2O_2$  の  $Ca^{2+}$  チャネルにたいする効果を調べた。cis 250 mM/trans 50 mM  $Cs$  メタンスルホン酸, 10 mM  $Cs$ -HEPES (pH 7.4), 10  $\mu$ M  $Ca^{2+}$  液中で測定した。 $Ca^{2+}$  チャネルコンダクタンスは  $774 \pm 96$  pS ( $n=6$ ),  $P_o=0.082 \pm 0.002$  であった。cis 側に 1.5 mM  $H_2O_2$  投与後の  $P_o$  は  $0.073 \pm 0.017$  であり、対照値と差を示さなかった。更に 1.5 mM  $H_2O_2$  を trans 側に与えたところ、 $P_o=0.114 \pm 0.066$  と約1.5倍に増加した。open time constant に有意差は見られなかった。 $Ca^{2+}$  チャネルコンダクタンスも  $H_2O_2$  投与により、変化しなかった。このチャネルはルテニウムレッドで抑制された。以上の結果は電流キャリアとして  $Ba^{2+}$  を用いたときと同じであり、 $H_2O_2$  は trans 側より  $Ca^{2+}$  チャネルのゲートに作用し、開口確率を増加することを示している。

## 2-8. モルモット胃平滑筋における slow wave に対する Na 除去の影響

×厩 亦慰, ×Chowdhury, Jalal U., 富田忠雄 (名古屋市立大, 医, 第一生理)

モルモット胃幽門部の輪走筋は 3~5 回/分の頻度で、65~67 mV の膜電位から 30 mV 程度の大きさで持続約5秒の緩やかな脱分極 (slow wave) を自発性に発生する。この電位は tetrodotoxin によっても verapamil や nifedipine などのいわゆる Ca チャネル遮断剤によっても殆ど影響を受けない。外液の  $Ca^{2+}$  を除くと slow wave に伴った収縮は数分で消失し、膜は次第に脱分極 (5~10 mV) し slow wave の振幅は減少してくる。しかし、数分程度では発生頻度は殆ど影響を受けない。 $Na^+$  を NMDG で完全に置換すると筋切片によってある程度の差はあるが、多くの場合、先ず slow wave の持続が延び、15~20 mV の脱分極が起こるにつれ、slow wave は小さい高頻度の律動性の電位変化に変化する。Slow wave の発生は theophylline (1 mM) や IBMX (5  $\mu$ M) で抑制されるが、これらの存在下で  $Na^+$  を除くと再び正常に近い slow wave が現れ

てくる。Ca<sup>2+</sup> を含まない外液から Na<sup>+</sup> を除いた場合でも脱分極が抑えられ、ある程度の slow wave の回復がみられる。以上のような結果から、Na<sup>+</sup> の slow wave への関与は弱く、Na<sup>+</sup> 除去による脱分極の一部には Ca<sup>2+</sup> の透過性の増加が関与している可能性が考えられる。

### 2-9. モルモット胃幽門部輪走筋に対する低浸透圧の効果

告野正典, <sup>×</sup>Chowdhury, J. U. \*, <sup>×</sup>Pang, Y. W. \*, 徳納博幸\*, 富田忠雄\* (名大, 脳外科・第一生理\*)

モルモットの胃幽門部輪走筋には自発性の収縮能がみられるが、これは細胞膜の自発性電気活動-slow wave-によって引き起こされる。正常液中の NaCl の一部を蒸留水で置換して得られた低浸透圧液を与えると、持続的な筋の tone の上昇が発生し、それに伴って膜の軽度の脱分極と slow wave の頻度の増加及び持続時間の延長がみられた。この傾向は正常液中での slow wave の頻度が少ないほど顕著にみられた。またこの現象はあらかじめ筋を伸張した状態でも同様に発生した。この持続的な tone の上昇は、Ca<sup>2+</sup> チャネル遮断剤によって抑制されないが、外液 Ca<sup>2+</sup> を取り除くことにより急速に抑制された。これらの結果から、低浸透圧による tone の上昇は、低浸透圧による細胞の膨潤によって、単なる機械的伸張によるものとは異なる機構が活性化され、外液から Ca<sup>2+</sup> チャネル遮断剤に影響されない経路を介して流入した Ca<sup>2+</sup> によって発生するものと推測された。単離細胞を用いた patch clamp の実験から、静止電位付近の -80 mV に電位固定して低浸透圧にすると 5 pA 程度の内向き電流が活性化されることが分かった。

### 2-10. モルモット胃平滑筋における Ca 電流

<sup>×</sup>Lorraine Smith, 中山晋介, 告野正典, 富田忠雄 (名大, 医, 第一生理)

平滑筋は各種臓器、組織においてさまざまな興奮様式をもつことが知られている。モルモット胃平滑筋は Ca 依存性に slow wave とよばれるゆっくりとした、周期的な自発性脱分極を示す。今回、私たちは、モルモット胃体から前庭部の輪走筋をコラゲナーゼ等の酵素処理して単離平滑筋細胞をつくり、10 mM の Ba を使って Ca チャネル電流を記録した。ホールセル記録において、ピペット液は CsCl をベースにして、TEA を含んだものである。ピーク Ca チャネル電流と膜電

位の I-V カーブを、保持電位を -60, -80, -100 mV とかえて求めたところ、どの保持電位でも低脱分極ステップ(-50 to -30 mM)において hump は見られなかった。このことは、Ba 電流の大部分は L 型 Ca チャネルによるものであることを示唆した。+80 mV の条件電圧を 5 秒与えても完全な不活性化はなく、細胞膜を保持電位に戻すと膀胱平滑筋で得られたものと同様な大きなゆっくりと脱活性化される尾電流が見られた。この尾電流に対応する単一 Ca チャネル電流を記録した。また、大きな脱分極で条件付けされた後はゆっくりと脱活性化する性質を利用して、条件電位後にランプパルスを与え、単一チャネルのコンダクタンスの電位依存性を測定することができた。

### 2-11. モルモット胃平滑筋における slow wave に対する Na 除去の影響

<sup>×</sup>厩 亦慰, <sup>×</sup>Chowdhury, Jalal U., 富田忠雄 (名大, 医, 第一生理)

モルモット胃の幽門前庭の輪走筋は slow wave と呼ばれる電位を自発性に発生し、これによって収縮を引き起こしている。この slow wave の発生機序については不明のことが多い。本実験では外液の Na<sup>+</sup> を除いたときに slow wave がどのように変化するかについて調べてみた。Slow wave は細胞内微小電極で収縮と同時に記録した。Na<sup>+</sup> は N-methyl-D-glucamine で置換した。外液の Na<sup>+</sup> を除くと slow wave の持続時間が延長し、脱分極と共に振幅が減少し、小さい不規則な電位変動に変化する。Nicardipine は収縮を抑制するが、slow wave および Na<sup>+</sup> 除去による脱分極に対して殆ど影響を与えない。Ca<sup>2+</sup> を 2 分間除いた後にさらに Na<sup>+</sup> を除くと slow wave の頻度は増加するが、slow wave の持続時間の延長はみられない。K<sup>+</sup> 除いた後に Na<sup>+</sup> を除くと、K<sup>+</sup> 除去の時間が 10 分以上に長くなると Na<sup>+</sup> 除去の作用が現れるまでの時間が長くなり、作用が弱くなる。Na<sup>+</sup> 除去の作用は isobutyl-methylxanthine でも抑制される。Na<sup>+</sup> 除去による脱分極には細胞内 K<sup>+</sup> 濃度が減少すると抑制される機構が含まれていると考えられるが、3 Na<sup>+</sup>-Ca<sup>2+</sup> の交換過程の関与で説明するのは困難である。

### 2-12. モルモット気管平滑における isoprenaline による Ca 流入の抑制

<sup>×</sup>伊藤 康, 高木健三, 富田忠雄\* (名大, 医, 第

二内科・第一生理\*)

気管平滑筋における $\beta$ アドレナリン受容体を介した弛緩作用はよく知られているが、その機序については十分解明されていない。今回我々は張力および細胞内 $Ca^{2+}$ 濃度の測定によりその作用を検討した。細胞内 $Ca^{2+}$ 濃度の変化は、 $5\mu M$ のFura-2AMで60分間ローディングを行ったのち、340nmと380nmの励起光による蛍光強度の比率で推定した。内因性のプロスタグランジンおよびアセチルコリンの影響、さらにKチャネルおよび電位依存性Caチャネルの影響を除き(in-domethacin  $1\mu M$ , atropine  $1\mu M$ , TEA 20mM, verapamil  $3\mu M$ )、外因性のプロスタグランジン(PGE<sub>2</sub> 100nM)存在下で、Ca  $2.4mM$ を再投与したときの収縮および細胞内Ca濃度の上昇に対するisoprenaline ( $0.03\sim 1\mu M$ )の抑制作用を調べた。isoprenalineは張力の発生および細胞内Ca濃度の上昇を濃度依存性に抑制した。これはforskolinやxanthine誘導体を用いた場合でも同様の結果が得られた事から、cyclic AMPの上昇が電位依存性Caチャネルとは異なる流入経路(おそらく受容体作動性Caチャネル)を抑制する可能性が示唆された。

### 2-13. 血小板活性化因子の肝血管収縮作用についての検討

×王 弘剛, 芝本利重, 田中 聡, 山口芳裕, 林哲也, 佐伯由香, 小山省三(信州大, 医, 第二生理)

血小板活性化因子(Platelet-activating factor, PAF)はエンドトキシンやアナフィラキシー反応の重要なmediatorの一つと考えられている。しかしながらその血管系に及ぼす作用は臓器により異なることが知られている。肝血管に対してはPAFは収縮反応を示すがその収縮部位の局在について不明である。今回、我々は雑種成犬より肝臓を摘出しその肝内血管の収縮反応について検討した。実験は肝動脈, 門脈, 下大静脈ならびに胆管にカニューレションした後、ヘパリン化自家血液により肝動脈は定圧灌流し(肝動脈圧(Pha) = 70mmHg), 門脈は門脈圧(Ppv)が6~9mmHgとなるように定流量灌流を行った。肝微小血管圧は肝動脈, 門脈, 下大静脈の血管を同時に閉塞した際にそれぞれの圧が平衡に達するtriple occlusion pressure(Pto)により評価した。PAF  $10\mu g$ の門脈内投与によりPtoと肝重量は増加し, 投与1分後には肝の総血管抵抗は3.3倍となり血管収縮を認めた。肝動脈血管抵抗は有意な変化を示さなかったが, 門脈血管抵抗と肝静脈血

管抵抗はともに同程度増加した。以上よりPAFは門脈と肝静脈を同程度に収縮することが肝動脈は収縮させないことが示唆された。

### 2-14. 摘出イヌ後脊髄細動脈灌流 標本の新しい作製方法とその反応性の検討

×吉澤明彦, 水野理介, ×寺崎貴満, ×齊藤千恵, ×矢代泰章, 大橋俊夫(信州大, 医, 第一生理)

脳循環と比較して, 脊髄循環の液性-神経性調節機能はほとんど解明されていない。そこで今回私共は, 脊髄クモ膜下腔に走行する後脊髄動脈を用いて, その動脈に対する生理活性物質の反応とその反応の内皮依存性について検討したので報告する。実験には麻酔後屠殺したイヌから胸髄を摘出し, クモ膜下腔に走行する内径 $150\mu m$ 前後の後脊髄動脈の機能的細動脈を用いた。摘出した細動脈の両端を倒立顕微鏡の臓器槽内にてカニューレションし, 持続的に定圧灌流した。血管内径変化を指標とし生理活性物質の標本に対する反応性について検討した。その結果, トロンボキサンA<sub>2</sub>の安定アナログであるU46619 ( $0.01\sim 10\mu M$ )およびエンドセリン1(ET1  $0.01\sim 100nM$ )はこの標本に対して用量依存的な収縮を誘起した。また低濃度(30pM)のET1の収縮反応はインドメタシンの標本への前処置によって有意に増強した。プロスタサイクリン(TEI7165  $0.001\sim 1\mu M$ )は用量依存的な弛緩反応を誘起した。これらの結果から, 低濃度のET1は摘出イヌ後脊髄動脈においてプロスタサイクリンを合成-分泌することによって, 血管収縮を調節している可能性が示唆された。

### 2-15. ヒト血管におけるNaイオン除去による拘縮

×宮原 健, ×柵木隆志, 富田忠雄\*(名大, 医, 胸部外科・第一生理\*)

多くの平滑筋では外液中のNa<sup>+</sup>濃度を減少させると収縮が発生し, その機序としてNa-Ca交換過程が関与している可能性が考えられている。手術の際に得られたヒトの内胸動脈および大伏在静脈の筋切片におけるNa<sup>+</sup>除去による収縮(0Na拘縮)について比較し, さらに細胞内pHを変化させたときの影響について調べてみた。外液のK<sup>+</sup>濃度を60mMに高めたときの収縮(K拘縮)を100%とすると動脈では0Na拘縮は動脈では86.1%であった(P<0.01)。これらの収縮は $\alpha$ アドレナリン受容体の遮断剤やNOの産生阻害剤で有意な影響を受けなかった。プロピオン酸(20

mM)を用いて細胞内を酸性にすると、K拘縮も0 Na拘縮も増大し、塩化アンモニウム(20 mM)でアルカリにすると減少するが、細胞内pHの影響はK拘縮よりも0 Na拘縮に対して著明であった。なお、K拘縮は動脈では酸性化による増大よりアルカリ化による減少の方が大であったが静脈では逆であった。正常液中では動脈より静脈の方で大きい0 Na拘縮が発生するが、細胞内酸性化の0 Na拘縮に対する影響は動脈の方で強く、さらにouabainで著しく増大した。動脈と静脈ではNa-CaやNa-Hの交換過程の関与に差があることが示唆された。

## 2-16. 組織の変形とリンパ産生速度との関係について

伊古美文隆, <sup>×</sup>Schmid-Schöbein, G. W.\*、大橋俊夫(信州大, 医, 第一生理・カリフォルニア大サンジエゴ校, 医生物工学研究所\*)

リンパ系は間質からの水や血漿蛋白の汲上げを介して、細胞周囲環境における恒常性維持に重要な役割を演じている。しかしながら、リンパ産生機構の詳細は未だ不明である。リンパ管には弁が存在し一方への流れを保っている。加えて、毛細リンパ管壁において隣接する内皮細胞の重量は間質液の汲み上げに際し機械的に弁としての役割を演ずることが予想されている。そこで、組織の変形による毛細リンパ管のポンプ機能評価を目的として、リンパ流速と組織変形速度との関係を解析した。実験にはニュージーランド種白色家兎を用いた。麻酔後、膝下リンパ節の節前リンパ管にカニューレションしリンパ液の採集を行なった。一定時間毎に流出したリンパ液量を測定し平均のリンパ流速を算出した。静止状態と比べ下肢全体の回転運動もしくは足背の局所的マッサージ(周期的な組織の変形)によりリンパ流速は著明に増加した。リンパ流速と組織変形速度の対数との間には、ある変形速度の範囲(0.03~1.0 Hz)において正の直線関係が認められた。以上より、リンパ産生量は組織に生ずる周期的な変形の速度に依存することが示され、毛細リンパ管におけるポンプ作用の重要性が示唆された。

## 2-17. 求心性迷走神経入力を受ける延髄腹外側部ニューロン活動の解析

佐伯由香, 芝本利重, 山口芳裕, 田中聡, 林哲也,  
<sup>×</sup>王弘剛, 小山省三(信州大, 医, 第二生理)

我々はこれまで延髄腹外側部に求心性迷走神経から

の入力を受けているニューロンが多く存在していること、また抑制性入力を受けているニューロンは限局した領域に存在しているのに対し、興奮性入力を受けるニューロンは広範な領域に分布していることをすでに報告した。今回は、これらのニューロン活動の性質を調べるために autospectrum 法ならびに spike-triggered average 法を用いて腎交感神経活動(RNA)との関係をウレタンで麻酔したウサギを用いて検討した。ニューロンの interspike interval, RNAの autospectrum によって相関が認められたのは動脈圧受容器ならびに迷走神経より抑制性入力を受けるニューロンにおいて46%、また興奮性入力を受けるニューロンは11%、spike-triggered average 法での解析においても抑制性ニューロンの64%に相関が認められるのに対し、興奮性ニューロンは17%であった。また迷走神経のみから興奮性入力を受けるニューロンはいずれの解析法においても相関が認められた割合は低かった。以上の結果より、動脈圧受容器とともに迷走神経から抑制性入力を受けているニューロンが延髄からの興奮性出力の役割を担っており、興奮性入力を受けているニューロンは延髄からの出力を修飾することによって循環調節に関与していると考えられた。

## 2-18. 腎交感神経活動からみた中脳・延髄昇圧ニューロン間の特性差

長尾光城, 堀内城司, 寺島 久, 寺田信幸\*, 竹内亨(山梨医大, 第二生理・実験実習機器センター\*)

中脳のみを虚血にした時の虚血性昇圧反応は橋・延髄のみの場合に比べ、昇圧が大きく、潜伏時間は長く、昇圧持続時間が極めて長いことが明らかにされた。この中脳虚血性昇圧反応には液性調節、神経性調節双方の関与が考えられる。そこで、交感神経活動がどの程度関与しているかについて検討した。ウレタン麻酔下のウサギの頸動脈洞神経および大動脈神経を切除後、非動化し人工呼吸を行った。視床下部と中脳の間で脳幹を切断し、中脳のみを一過性に虚血にした。また橋・延髄のみの一過性虚血をおこさせ、中脳のみ昇圧反応と比較した。さらに中脳虚血、橋・延髄虚血により、それぞれの昇圧ニューロン死に至る反応も比較した。橋・延髄の一過性虚血により腎交感神経活動(RNA)は $186 \pm 16\%$ に、中脳の虚血性昇圧反応においてRNAは $265 \pm 24\%$ と亢進した。またRNAの持続時間は、それぞれ $25 \pm 3$ 秒、 $107 \pm 14$ 秒であった。橋・延髄昇圧ニューロン死に至る反応ではRNAは $183 \pm$

12%, 中脳昇圧ニューロン死の場合には $266 \pm 23\%$ となった。また RNA の持続時間においても、それぞれ  $23 \pm 3$  秒,  $367 \pm 52$  秒であった。以上の結果, 中脳および橋・延髄のみの虚血性昇圧反応の大きさと持続時間は、それぞれほぼ交感神経活動の亢進で説明できた。

### 2-19. 吻側延髄腹外側野以外の橋・延髄に分布する循環調節ニューロンは脳虚血性昇圧反応に関与しているのか?

堀内城司, 長尾光城, 寺島 久, 寺田信幸\*, 竹内亨 (山梨医大, 第二生理・実験実習機器センター\*)

橋・延髄のみを虚血した際に現われる心血管反応に対して, 動脈圧受容器, 孤束核(NTS), 尾側延髄腹外側野(CVLM), 迷走神経背側運動核(DMNV), 疑核(NA)および吻側延髄腹外側野(RVLM)がどの程度の役割を果たしているのかを研究した。ウレタン麻酔したウサギを非動化して, 橋・延髄のみを虚血にした際の平均動脈圧(MAP), 心拍数(HR)ならびに腎交感神経活動(RNA)を記録した。また, 中脳以上の脳はあらかじめ機能的に破壊した。橋・延髄を虚血にすると MAP は虚血前値から  $48 \pm 7$  mmHg, RNA は  $238 \pm 12\%$  と共に増加した。これに対し HR は虚血前値から  $135 \pm 13$  bpm 減少した。圧受容器を切除すると, MAP および RNA の増加量はそれぞれ  $56 \pm 8$  mmHg,  $243 \pm 11\%$  と, さらに増大傾向を示した。この時, HR は  $16 \pm 6$  bpm の増加へと一転した。また, NTS, CVLM, NA および DMNV を破壊しても, 橋・延髄の虚血による MAP, RNA ならびに HR の増加反応には, 破壊前後で有意な差は認められなかった。この反応は RVLM を破壊すると消失することから, 橋・延髄の虚血によって引き起こされる昇圧反応には, RVLM がその中心的役割を果たしており, NTS, CVLM, NA および DMNV の各部位は昇圧反応の大きさに殆ど影響を与えない事がわかった。

### 2-20. ヒトの筋交感神経活動におけるゆらぎ

杉山由樹, 間野忠明 (名大, 環境医学研究所, 自律神経・行動科学分野)

筋交感神経活動(MSNA)に存在するゆらぎの特徴を明らかにすることを目的として, 26~34歳の健康男性12例を対象に, 3時間にわたる安静時の脛骨神経MSNAを記録した。MSNAの全波整流積分波形を200HzでA/D変換し, 0.1秒, 1秒および2秒毎の活動量として再標準化し, 最大エントロピー法による

スペクトル解析を行った。MSNAのスペクトル密度は全体として周波数の増加に伴い減少する傾向を示し,  $0.0001 \sim 0.01$  Hz にかけての低周波成分においては  $1/f$  様のスペクトル構造を認め, 回帰直線の傾きは  $-0.8 \sim -0.85$  であった。この構造に 0.02, 0.1, 0.2, 1 Hz の調波成分が重畳し, とくに, 0.1 Hz の調波成分は心拍変動と比較するとより高いスペクトル密度を呈する特徴を示した。以上の結果は, MSNA のゆらぎが  $1/f^{0.8-0.85}$  で表されるフラクタル成分と 0.02, 0.1, 0.2, 1 Hz の調波成分から構成されることを示す。また, MSNA における 0.1 Hz での高いスペクトル密度は, MSNA 発現後昇圧反応をきたすまでに約 5 秒を要すること, 血圧が圧受容器反射の入力となりは交感神経節後ニューロンの発火頻度に反映されること, 心拍変動における 0.1 Hz の成分が血圧にみられる Mayer's rhythm の圧受容器反射を介した変動であることから, Mayer's rhythm の成因に MSNA が重要な役割を果たしていることを示唆する。

### 2-21. Spontaneous Baroreflex Sensitivity during Human non-REM Sleep

×A. S. M. Shamsuz Zaman, Yoshiki Sugiyama, ×Hisashi Okada, ×Shigeo Takeuchi, Satoshi Iwase, Toshiyoshi Matsukawa and Tadaaki Mano (Department of Autonomic & Behavioral Neurosciences Division of Higher Nervous Control Research Institute of Environmental Medicine Nagoya University, Nagoya 464-01, Japan)

To evaluate changes in the spontaneous baroreflex sensitivity (SBS) for muscle sympathetic nerve activity (MSNA) and for heart rate (HR) during sleep, we simultaneously recorded MSNA from the tibial nerve, ECG, EEG, EOG, EMG and blood pressure during the resting awake stage and sleep stages in 8 healthy young male volunteers. For the cross correlation and regression analysis, all recordings were changed to equidistant time series data of each second by cubic spline interpolation. The SBS for MSNA and for HR were assessed from the steepest negative point of the slope of regression line between the MSNA and diastolic blood pressure and between the instantaneous HR and systolic blood pressure respectively. During non-REM sleep, the SBS for MSNA gradually decreased with advancing sleep stages. SBS for HR did

not show any apparent changes. These results suggest that the baroreflex modulations for the MSNA and for HR are different during non-REM sleep.

## 2-22. 32時間の断眠がヒトの筋交感神経活動に及ぼす影響

×丹羽慶光, 岩瀬 敏, 松川俊義, 杉山由樹, 間野忠明 (名大, 環境医研, 自律神経・行動科学)

断眠状態においては, 身体疲労のほか羞明感, 食欲不振, 起立性低血圧などの自律神経症状が顕著となる。血圧調節に重要な役割を果たす筋交感神経活動 (MSNA) に断眠が及ぼす影響を解析することを目的として, 32時間の断眠時に MSNA の基礎活動および体位変換, 血圧変化に対する反応性を測定した。22~23歳の男性7名を被験者とした。Microneurography により脛骨神経から MSNA を記録し, 同時に Finapres による血圧波, 心拍数を測定した。被験者は実験前日の8時に起床してから32時間断眠し, 当日の16時から測定を開始した。対照としては, 当日の8時に起床し, 16時に測定を開始するものとした。被験者に tilting bed 上において仰臥位で30分の安静を保たせた後, 20°, 40°, 60° の head-up tilting を負荷した。水平に戻し, 30分の安静をとった後, 降圧剤 (nitroglycerin 2  $\mu$ g/kg) を静注し, MSNA, 心拍数についての圧受容器反射機能を測定した。断眠により MSNA の基礎活動は7名中4名で亢進した。降圧時の心拍数についての圧受容器反射機能は低下し, この低下が断眠時にみられる起立性低血圧の機序に関与している可能性が示唆された。

## 2-23. モルモット胃平滑筋細胞の伸展活性化チャネルについて

山本喜通, 鈴木 光 (名古屋市立大, 医, 第一生理)

モルモット胃輪走筋から単離した平滑筋細胞に cell-attached patch clamp 法および insideout patch clamp 法を適用して, ピペット内にかけた陰圧によって開くチャネル (伸展活性化チャネル, SA channel) について研究した。ピペット内に陰圧をかけると, 短い lag time (100 ms 以内) の後にチャネルの開口が見られ, 持続的な陰圧に対しては徐々に開口が減少した。開口確率は陰圧の大きさに比例していた。このチャネルは nonselective cation channel であり, ピペット内液が NaCl 溶液の場合のコンダクタンスは 30 pS 前後, KCl 溶液の場合のそれは 50 pS 前後であった。

Open time および closed time の解析から, このチャネルは少なくとも2つの open state と4つの closed state を持つと考えられた。ピペット内液が 110 mM  $\text{CaCl}_2$  の場合でも, 陰圧によってチャネル開口が見られたので, このチャネルは  $\text{Ca}^{2+}$  を通すと思われる。ただ, この条件下では非常に短い開口しか観察されなかった。10 mM  $\text{NH}_4^+$  投与によりこのチャネルは活性化された。細胞内アルカリ化によって細胞骨格が変形して SA channel が活性化されている可能性が示唆された。

## 2-24. 乳腺上皮細胞におけるカルシウム流入制御機構

古家喜四夫, 榎本浩一\*, 山岸俊一 (生理学研究所, 生体膜・島根医大, 生理\*)

乳腺上皮細胞は機械的刺激によって細胞内カルシウム増大を起こすとともに, 周りの細胞にカルシウム波を伝播するが, それは UTP, UDP, ATP といったヌクレオチドが機械的刺激によって放出され, 周りの細胞のプリナージック受容体 ( $\text{P}_2\text{U}$  型) を刺激することによって起こっている。この機械的刺激やプリナージック刺激によるカルシウム増大はとともに, 細胞内カルシウムストアからの遊離によって起こっている。しかしこのストアのカルシウムは1~2回の刺激によって容易に枯渇し, 外液からのカルシウム流入によって絶えず補給されている。乳腺細胞においては他の細胞と異なり, このカルシウム流入の経路は刺激の有無に関わらず, いつも開いていると考えられる。このことはこのカルシウム流入経路が, ストアへのカルシウムの補充の他に, 乳腺細胞に特徴的なミルクへのカルシウムの輸送も担っていることと関係している。fura-2 蛍光の  $\text{Mn}^{2+}$  による消光速度の定量的な解析などにより, このカルシウム流入経路の制御機構を研究した。

## 2-25. 蛋白質脱磷酸化酵素への結合における高親和性阻害剤競合の定量的解析

高井 章 (名大, 医, 第一生理)

Okadaic acid (OA), calyculin-A (CA), microcystin-LR (MCLR) および tautomycin (TM) は, いずれも 1 型と 2 A 型の蛋白質脱磷酸化酵素 (PP1 と PP2A) の強力な阻害剤である。最近, これらのうちのどれか一つが PP2A と結合すると他の結合を減少させるという報告がある。今回, これらの阻害剤が酵素分子上の同一の部位に純結合的に結合するという仮説を定量的

に検討した。まず,  $[24\text{-}^3\text{H}]\text{OA}$  を用意しその PP2A 結合をいろいろな濃度の非標識阻害剤の存在下で測定した。仮設が正しいと仮定し, 酵素結合を抑制する度合いから, 非標識阻害剤の PP2A との結合の解離定数 ( $K_0$ ) を計算し, 濃度-抑制関係から求めた値 ( $K_i$ ) と比較した。実験と結果の解析に当り, 使用した物質が PP2A に対し, いわゆる高親和性阻害剤として作用することを考慮した。OA, CA, MCLR, TM について得られた  $K_0$  値 ( $\text{pM}$ ;  $\text{mean} \pm \text{sem}$ ) は, それぞれ  $12 \pm 3$  ( $n=90$ ),  $72 \pm 12$  (150),  $26000 \pm 4400$  (120) であり, これに対応する  $K_i$  値は  $8 \pm 1$  (124),  $126 \pm 30$  (56),  $33000 \pm 2000$  (48) であった。  $K_0$  値と  $K_i$  値が本質的に一致したので, 3つの阻害剤は実際に OA と同一の部位に競合的に結合するものと推定された。  $K_i$  値は PP1 型でも調べた。 PP1 についての  $K_i$  値と PP2A についての  $K_i$  値との比 (PP1/PP2A) は, OA で 4700, MCLR で 5, CA で 10, TM で 0.01 であり, TM のみが 1 より小さい値を与えた。この PP1/PP2A 値は文献値 (0.4) よりかなり低い。

## 2-26. ヒト上皮細胞容積感受性 $\text{Cl}^-$ チャネルの単一チャネル記録

岡田泰伸,  $\times$  Carl C. H. Petersen,  $\times$  久保町子, 森島繁, 富永真琴 (生理研, 機能協関)

ヒト小腸上皮細胞 (Intestine 407) に低張負荷を与えると, 細胞膨張にともない  $\text{K}^+$  電流と  $\text{Cl}^-$  電流の活性化が引き起こされ, これによる  $\text{KCl}$  流出 (とそれによって駆動される水流出) によって細胞容積調節が達成されることは既に報告した。

浸透圧的に膨張させた本細胞にダブルパッチ法を適用し, 全細胞電流記録と on-cell 記録を同時に行ったところ, 陽電圧印加時に時間依存性不活性化を示す全細胞  $\text{Cl}^-$  電流が記録できる時のみ, パッチ膜において stepwise に閉じていく単一  $\text{Cl}^-$  チャネル活動が観察された。このときのチャネルの閉じていく速度は, 与えられた陽電圧が大きいほど速かった。excised patch においても同様の単一  $\text{Cl}^-$  チャネル活動の観察はできたが, この活動は速やかに (excision の数秒~数分後に) run down した。単一チャネル・コンダクタンスは  $+60\text{ mV}$  で  $32\text{ pS}$ ,  $+100\text{ mV}$  で  $37\text{ pS}$ ,  $+140\text{ mV}$  で  $47\text{ pS}$  と外向き整流性を示した。

## 2-27. ウサギ洞結節における $\text{Na}^+$ 除去誘発過分極の機序

宮前俊一, 今西 愿 (金沢医大, 第二生理)

自発放電しているウサギ洞結節細胞の Na-K pump を抑制するため無  $\text{K}^+$  液或いは  $20\text{ }\mu\text{M}$  ouabain を含む無  $\text{K}^+$  液で灌流した。無  $\text{K}^+$  液作用下において, 自発活動電位は  $-32 \pm 1\text{ mV}$  の膜電位 ( $E_{\text{MP}}$ ) で停止した。Na-K pump 抑制下に細胞外  $\text{Na}^+$  を除去すると ( $\text{Na}^+$  は  $\text{Li}^+$  で置換), 膜電位は  $23 \pm 0.5\text{ mV}$  だけ過分極した。この  $\text{Na}^+$  除去誘発過分極は,  $4\text{ }\mu\text{M}$  verapamil,  $1\text{ mM}$  lidocaine,  $50\text{ }\mu\text{M}$  quinidine 作用下でも認められたが,  $50\text{ }\mu\text{M}$  quinacrine,  $10\text{ mM}$   $\text{Cd}^{2+}$ ,  $1\text{ mM}$   $\text{La}^{3+}$  作用により抑制された。無  $\text{K}^+$  液作用下, この  $\text{Na}^+$  除去誘発過分極の大きさは,  $\text{Na}^+$  を sucrose で置換してもほぼ同一であった。  $20\text{ }\mu\text{M}$  ouabain を含む無  $\text{K}^+$  液作用下においても, 細胞外  $\text{Na}^+$  を除去すると過分極が誘発された。この時, 膜電位は  $-29 \pm 1\text{ mV}$  から  $-48 \pm 1\text{ mV}$  に変化した ( $\text{Na}^+$  は  $\text{Li}^+$  で置換)。この  $\text{Na}^+$  除去誘発過分極は,  $20\text{ mM}$   $\text{NH}_4\text{Cl}$  の添加 (6.2分間) 後  $\text{NH}_4\text{Cl}$  除去で誘導した細胞内酸性化によって抑制された。またこの過分極は  $10\text{ mM}$   $\text{Cd}^{2+}$  の添加並びに細胞外  $\text{Ca}^{2+}$  の除去により抑制された。無  $\text{K}^+$  液作用下において, Na-Ca 交換機序の reversal potential ( $E_{\text{Na/Ca}}$ ) は  $-49.8\text{ mV}$  と推定され, 本実験での  $E_{\text{MP}}$  は  $-32\text{ mV}$  であるから,  $\text{Ca}^{2+}$  の移動は内向きである。また, 無  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$  液作用下では  $E_{\text{Na/Ca}} = -164.3\text{ mV}$  であり, やはり  $\text{Ca}^{2+}$  は内向きである。但し,  $\text{Na}^+$  と  $\text{Ca}^{2+}$  の coupling ratio は 3:1 として考察した。以上の結果より, この過分極は Na-Ca 交換機序によると考えられる。

## 2-28. X 因子を介する $\text{Ca}^{++}$ 依存性線溶活性化機構の検討

浦野哲盟, 井原勇人, 高田由美子, 高田明和 (浜松医大, 第二生理)

【はじめに】 ユーグロブリン溶解時間 (ECLT) は, 組織型プラスミノゲンアクチベーター (t-PA) とそのインヒビター (PAI-1) によって制御される。我々は ECLT は  $\text{Ca}^{++}$  により短縮し, 更に凝固系 X 因子が不可欠であることを見いだした。X 因子を介する新しい  $\text{Ca}^{++}$  依存性線溶活性化機構について報告する。

【方法】 ユーグロブリン分画は血漿を 20 倍希釈し, pH 5.2 に酸性化して得た。

【結果】 1) ECLT は  $\text{Ca}^{++}$  により 4~5 倍短縮し

た。2)  $\text{Ca}^{++}$  によるプラスミン生成の促進が fibrin overlay で確認された。3)  $\text{Ca}^{++}$  存在下では ECLT は抗 tPA 抗体で延長しなかった。4) バリウム吸着血漿及び X 因子欠乏血漿では、 $\text{Ca}^{++}$  により ECLT は短縮せず、Xa 因子の存在下でのみ短縮した。また抗 X 因子抗体存在下で正常血漿も  $\text{Ca}^{++}$  により短縮しなかった。5) 精製系で、Xa によるプラスミノゲンの活性化が  $\text{Ca}^{++}$  により促進された。

【考案と結論】  $\text{Ca}^{++}$  による ECLT の短縮には Xa が不可欠で、Xa によるプラスミノゲン活性化を  $\text{Ca}^{++}$  が促進して線溶活性を増強するものと考えられた。

### 2-31. ヒト肥満細胞の培養

岡田 忠, 松井卓哉, <sup>x</sup>森下浩靖, 塩野裕之, 酒井淳一, 真田 進, <sup>x</sup>村瀬 豊, <sup>x</sup>徐 堅, <sup>x</sup>張 淑娟, 梶江 勇 (愛知医大, 第一生理)

ヒト肥満細胞は骨髓幹細胞 (CD 34+) から分化すると考えられる。肥満細胞の分化過程を調べるために臍帯血の単核球を培養した。stem cell factor (SCF) と IL-6 の存在下で 6 週間培養し、更に 2 ケ月間ヒト皮膚の fibroblast と coculture すると肥満細胞がほぼ純粋に得られた。肥満細胞のマーカーであるヒスタミンと tryptase は培養 3 週より肥満細胞の出現とともに増加し、coculture によってそれぞれ 3 倍, 15 倍に増加した。培養 6 週には肥満細胞が約 60% に達するが主たる contaminant はマクロファージであり、coculture によってマクロファージは消失した。また、CD 34+ cell を分離して培養すると、マクロファージの出現率が低く培養 6 週で肥満細胞が約 90% になった。皮膚 fibroblast との coculture で得られた肥満細胞はヒスタミンや tryptase の含有量から典型的な結合組織型の細胞である皮膚肥満細胞と類似の細胞と考えられ、肥満細胞の分化増殖には SCF, IL-6 などの soluble factor とともに fibroblast との contact が必要と考えられる。マクロファージは肥満細胞の分化増殖をコントロールする可能性がある。

### 2-32. ポリアニオンによるリンパ球の破裂作用

森 啓至, 中島 昭, 佐々木 勸 (藤田保衛大, 医, 第一生理)

リンパ球浮遊液にデキストラン硫酸のごときポリアニオンを加えると一部のリンパ球が破裂し姿を消す。このメカニズムについて検討した。

マウス腸間膜リンパ節より採取したリンパ球に、Propidium iodido (PI) を加えると、傷害リンパ球のみが染色される。これらを蛍光顕微鏡と微分干渉顕微鏡にて観察しつつポリアニオンを加えると、PI に染まったリンパ球のみが破裂した。さらにリンパ球より分離した核にポリアニオンを作用させたところ、全ての核が膨化し破裂した。また、胸管カニューレーションにより採取した無傷のリンパ球では、ポリアニオンによる破裂は起こらなかった。これらの事実から、採取時に傷害を受けたリンパ球の核にポリアニオンが直接作用して起こる核の膨化が破裂の原因であることが推察された。また、肝細胞および Hela 細胞より分離した核にポリアニオンを作用させた場合にも核の膨化が起こったが、破裂はその内の一部の核のみにしか起こらなかった。さらにこの膨化した核を透過電子顕微鏡で観察したところ、核内のクロマチン構造が変化し核が膨化していることを確認した。現在、核の膨化の原因についてさらに追求中である。

### 2-33. リンパ球とポリアニオンの相互作用

中島 昭, 森 啓至, 佐々木 勸 (藤田保衛大, 医, 第一生理)

マウスリンパ球にポリアニオンを添加すると、一部のリンパ球が破裂し、放出された核成分によりゲルが生ずる。このゲルの形成メカニズムを解析した。ヘパリンセファロースと培養マウスリンパ球 (Yac-1) 核を混和後、ヘパリンに結合した成分を電気泳動で解析したところ、ヒストン 1, 2 A, 2 B, 3, 4 が見いだされた。次に、Yac-1 核にデキストラン硫酸 (DS) を加えゲルを形成させた後、DNaseI で分解し、これをゲル濾過タイプの HPLC で分離すると、ヒストンとポリアニオンからなる高分子複合体の存在が証明された。さらに、ヌクレオソームにポリアニオンを添加後、Micrococcal nuclease で分解し、PAGE 解析したところ、正常ヌクレオソームでは約 150 塩基対からなる DNA が検出されたのに対し、DS 添加例ではより小さな DNA にまで切断され、ヌクレオソーム構造の破壊が示唆された。すなわち、核にポリアニオンが作用すると、まずポリアニオンとヒストンの結合が生じ、ヌクレオソーム構造が破壊され、この結果、遊離した DNA がポリアニオン/ヒストン複合体を介して互いに接着し、網状巨大分子が形成されると考えられる。

## 第46回日本生理学会中国四国地方会

日 時：平成6年11月4日(金)

場 所：米子市文化ホール

当番幹事：鳥取大学医学部生理学教室 日地康武，河合康明

×は非会員を示す

第46回日本生理学会中国四国地方会の評議員会を下記の要領で開催した。

### 記

日 時：平成6年11月4日(金)

場 所：米子市文化ホール会議室

出席者：44名

報告事項：

1. 常任幹事会
2. 日本生理学雑誌編集委員会
3. 教育委員会
4. J. J. P 編集委員会
5. その他

会員の意見：

1. 日本生理学会を単に医学部の生理学会として捕らえるのではなく、学際的な視野で広く門戸を開く努力が要るのではないか。
2. J. J. P の投稿者数が減少しているのは、refereeのあり方を含めて検討する必要があるのではないか。
3. 女性研究者の研究環境改善は、これから真剣に検討する必要がある。
4. 中央の情報を積極的に収集し、これを地方会員に配布し、地方からの意見を中央に反映させるように努めることが肝要。
5. 中国四国地区の常任幹事数を現在の2名から3名に増員することがほぼ決ったことが報告された。

協議事項：

1. 次回(平成7年)の地方会は、香川医科大学で畠瀬修教授と細見弘教授のお世話で開催されることに決定した。開催日は平成7年11月上旬の金曜日あたりとし、若者のための研究者養育コーナーを設けるなど工夫を凝らす予定である。乞御期待を。
2. 平成8年地方会開催校は、徳島大学医学部と決定した。

(平成6年当番校：鳥取大学医学部生理学教室  
日地，河合)

### 1. 前庭から延髄腹外側細胞への入力について

×松尾 聡, ×生駒尚秋, 白石義光\*, 河合康明\*(鳥取大, 耳鼻科・第2生理\*)

前庭入力が自律神経系に影響を与えることは以前よりよく知られている。最近の報告は、頭位が変化したときの血圧の変化を前庭入力調節していることを示唆している。しかしながらその神経経路は不明な部分が多い。本実験は麻醉ネコを用い、前庭・交感神経反射の経路を明らかにするために行った。交感神経節前細胞が存在する胸髄中間質外側核に投射する10ms以下の伝導速度の単一延髄腹外側細胞を同定し、両側迷路の電気刺激を行った。その結果、一部の延髄腹外側細胞は同側迷路の刺激により3.5~5.8ms、反対側迷路刺激により3.8~8.0msの潜時でシナプス性に応答した。その潜時からこの経路は多シナプス性であると考えられた。

### 2. てんかん源性獲得におけるカルシニューリンの役割と免疫抑制剤の作用

松井秀樹, 宮本一広, 富沢一仁, 桑田善弘, 小川尊明, 大沼英晴, 才曉慧, 徳田雅明, 板野俊文, 畠瀬修(香川医大, 生理学講座, 第一生理)

神経の可塑性やニューロンネットワークの形成過程においてキナーゼ系のみならず脱リン酸化酵素系(フォスファターゼ)の働きが重要であることが提唱されている。カルシニューリンはカルモデュリン依存性フォスファターゼであり、免疫系においてはインターロイキン産生を調節し、リンパ球活性化機構を担う事、免疫抑制剤(FK 506, シクロスポリンA)の標的であること等はすでに良く知られている。一方この酵素は脳内においても重要な作用を担うことが明らかにされた。すなわち中枢神経系においてはリンパ球の10倍以上多量に存在し、さらに免疫抑制剤がカルシニューリンに作用するために必須のイムノフィリン(FKBP やシクロフィリン)も脳内に多量に存在し、かつカルシニューリンと共存する事が明らかにされた。我々は実験てんかんモデル(キンドリング)ラット脳内でカルシニューリンが増量し、かつ免疫抑制剤投与によりてん

かん源性獲得が可逆的に抑制されることを示した。さらにカルシニューリンの増量は mRNA の増量を伴い、転写レベルにおいて生じていることを明らかにした。

### 3. カイニン酸の Bötzing complex (BOT) への微量注入による嘔吐運動の消失

古我知成, 福田博之 (川崎医大, 第二生理)

我々は, 除脳イヌを用いて Bötzing complex (BOT) の刺激により嘔吐運動が引き起こされること, また BOT には末梢神経にみられる嘔吐運動の活動パターンと同じパターンを示すニューロンが高密度に存在することなどの事実から, BOT に嘔吐運動の pattern generator が存在していると提唱している。今回, BOT の局所破壊で, 嘔吐運動が消失するか否かを検討した。嘔吐運動は腹部迷走神経を求心性に刺激して惹起した。嘔吐運動の指標として, 横隔神経と腹筋支配神経の遠心性活動と顎下腺導管より導出した唾液の滴数を同時に記録した。まず門吻側 3 mm レベルでの右側延髄を半側切断したが, 嘔吐運動の基礎パターンは変化しなかった。対側の BOT に白金電極を刺入し, 電流を通电して嘔吐運動を誘発できる部位を探索し, 同じ部位にカイニン酸 (0.3~0.5  $\mu$ l) を微量注入した。注入直後にまず刺激効果が現れ, 唾液分泌の促進と血圧上昇が観察されたが, 注入後約 10 分でそれらは元のレベルに戻った。その後, 迷走神経を刺激すると, 腹筋支配神経活動の上昇と唾液分泌の促進はみられたが, 刺激を継続してもそれらは徐々に減少してゆき, 嘔吐運動に相当する神経活動を引き起こすことはできなくなった。

### 4. 腔拡張刺激が嗅球神経活動に及ぼす効果

奥谷文乃, 梶 秀人, 樋口 隆 (高知医大, 第一生理)

雌ラットの母性行動は分娩様の腔拡張刺激を与えることにより促進させることができる。またその発現には仔の匂いに対する反応の変化が重要な役割を果たしている。これらより腔拡張刺激が嗅球の神経活動に及ぼす効果について検索した。分娩, 授乳を経験したラットに, 大量のエストロゲンを投与して分娩直前の内分泌環境を設定した上で用いた。逆行性に外側嗅索をペア刺激して嗅球顆粒細胞層に誘発される陽性フィールド電位に対する腔拡張刺激の影響を観察した。

バルーンによる 100 mmHg の腔拡張刺激を約 2 分間与えると, 刺激中変化はみられないが刺激終了 1,

2 分後には試験刺激に対する応答のみが有意に低下するという結果を得た。すなわちこれは腔拡張刺激により僧帽細胞の顆粒細胞による抑制作用が増強されたことを示唆している。また私達は嗅球への遠心性ノルアドレナリン線維入力の主な起始核である青斑核をグルタミン酸注入によって活性化させると同様な変化がみられることをすでに発表している。したがって, この腔拡張刺激の効果は青斑核ノルアドレナリン神経の活性化を介している可能性が考えられた。

### 5. Hooded Rat の片眼摘出による視覚系の再編成—非交叉性情報系の縞視力について—

八木文雄 (高知医大, 心理学)

ラットでは, 幼若時の片眼摘出により視覚入力を部分的に遮断しておく, 残存眼からそれと同側の外側膝状体および上丘—視床後外側核を経由して視覚野に至る非交叉性情報系 (UXVP) に, 形態的な再編成が出現し, この神経系の機能が増大する。

そこで, この神経系に誘起される機能的増大が行動面に反映される様態を検索するために, 幼若時 (OEB) と成長後 (OET) に片眼を摘出したラットについて, 非交叉性情報のみが使える状態で 0.15 cycles/degree (c/d) の縦縞—横縞弁別行動を形成後, 縞パターンの空間周波数を段階的に増加させることにより, OEB, OET それぞれの UXVP の縞視力を測定した。

その結果, 80% 以上の正反応が維持される空間周波数が, OEB で 0.78 c/d, OET で 0.44 c/d であり, OEB の UXVP の縞視力が OET のそれを有意に上回ることが認められた。この事実から, 幼若時の片眼摘出により UXVP に誘起される機能的増大が行動面に反映される様態を, 縞視力を指標として検索するのが可能であることが確認された。

### 6. Prostaglandin F<sub>2α</sub> の蝸牛に対する影響

×東川康彦, ×武浩太郎, 佐藤幸弘\*, 松村幹郎 (川崎医大・第 1 生理, 耳鼻科\*)

蝸牛中央階の蝸牛内直流電位 EP を測定しつつ, 外リンパ腔に低 Cl<sup>-</sup> 液を灌流し, Cl<sup>-</sup> 輸送を促進する作用を持つ Prostaglandin (PG) を灌流した。灌流液中の NaCl を Na-メタン磺酸で置換した。低 Cl<sup>-</sup> 液を灌流するとき EP は速やかに低下し始め, 約 20 分後には +20~+30 mV に達する。中央階を隔てる膜の Cl<sup>-</sup> 透過性はきわめて低いこと, および, 血管条辺縁細胞外側縁に存在する Na<sup>+</sup>-2Cl<sup>-</sup>-K<sup>+</sup> 共動

輸送が抑制され、その結果、 $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  能動輸送が二次的に抑制されて EP の低下がもたらされると言う可能性が示唆された。次に PG を含む液を外リンパ腔に灌流した。  $1 \times 10^{-4} \text{ M}$  の  $\text{PGE}_1$  (灌流ピペット内濃度) を灌流すると EP は一過性に 10~15 mV 上昇する。  $\text{PGE}_1$  により Raissner 膜の  $\text{Cl}^-$  透過性が上昇し、拡散電位によって形成される negative component が less negative になり、EP が上昇すると説明される。しかし、血管条細胞を通しての  $\text{Cl}^-$  の輸送を促進する可能性も除外できない。  $\text{PGF}_2\alpha$  を灌流するとき  $\text{PGE}_1$  の灌流とは逆に EP の低下が認められる。低下の経過は速やかであり、時に一度負電位にまで低下した後 0 電位に達する。  $\text{PGF}_2\alpha$  は血管収縮作用を強く発現し、辺縁細胞の血流が阻害されてその  $\text{Na} - \text{K}$  輸送が抑制され、その  $\text{Na} - \text{K}$  輸送が抑制されるためであると考察される。

#### 7. カエル心室筋の ATP 感受性カリウムチャンネルのパッチクランプ法による検討

宗盛 真, 山岡 薫, 瀬山一正 (広島大, 第一生理)

ATP 感受性カリウムチャンネル ( $\text{IK}_{\text{ATP}}$ ) は、各種哺乳類の心筋、膵などで認められているが、我々はパッチクランプ法を用い、カエル単一心室筋にも  $\text{IK}_{\text{ATP}}$  が存在することを認めた。このチャンネルの開確率は ATP の濃度に依存して抑制され、 $\text{K}_i$  は  $2.7 \times 10^{-6} \text{ M}$  であった。シングルチャンネルコンダクタンスは ATP の濃度によらず一定であり、細胞内外の  $\text{K}^+$  濃度が 110 mM の時 80 ps であった。  $\text{IK}_{\text{ATP}}$  を選択的に抑制するといわれる glibenclamide をこのチャンネルに作用させたところ通常より著しく高い濃度 (10~100  $\mu\text{M}$ ) でのみ効果が見られた。また細胞内液の 110 mM  $\text{Cl}^-$  を 10 mM  $\text{Cl}^-$  と 100 mM gluconate に置き換えたがこれによりチャンネルの活性化は見られず、本組織においては  $\text{Cl}^-$  はチャンネルの抑制に関与しないことが示唆された。チャンネルの開口時間ヒストグラムは二つの指数関数の和で表され、二つの開口状態が存在することが考えられた。またそれぞれの時定数は約 0.4 ms と 5 ms でありこれらの時定数は ATP によって有意に変化しなかった。しかし ATP により 1 秒以上持続する閉状態が頻繁に見られるようになった。よって ATP は開口状態から閉状態へ移行する速度を変化させるのではなく、滞在時間の長い閉状態に移行させチャンネル活動を抑制することが推察された。

#### 8. ラット耳下腺腺房細胞のイオン電流の carbachol 応答と細胞内負荷 calcein の放出

広野 力, 杉田 誠, 柴 芳樹 (広島大, 歯, 口腔生理)

耳下腺腺房細胞にはムスカリン性受容体刺激により活性化される Ca 依存性の K 電流と  $\text{Cl}^-$  電流があり、水分泌と関連しているらしい。前回、唾液の分泌動態をモニターするために腺房細胞内に蛍光色素 calcein を負荷し、calcein が carbachol (CCh) 刺激により細胞内 Ca 濃度上昇を介して分泌されることを報告した。

今回は CCh によるイオン電流応答を whole cell patch clamp で 0 mV (K 電流) と -80 mV ( $\text{Cl}^-$  電流) で測定し、calcein 分泌との関連を調べた。  $10^{-7} \text{ M}$  以上の CCh で濃度依存的にイオン電流応答が誘導された。持続的な外向き K 電流応答に対して、 $\text{Cl}^-$  電流は数秒の一過性の応答がランダムに多数重ね合わさった内向き電流であった。CCh 応答に対する  $\beta$  作動薬の効果を調べたところ、IPR 自体は殆ど反応を引き起こさないが、  $2.5 \times 10^{-7} \text{ M}$  CCh による K 電流と  $\text{Cl}^-$  電流は、  $10^{-7} \text{ M}$  isoproterenol (IPR) により増強された。耳下腺分離腺房の細胞内に負荷した calcein の CCh による放出も  $10^{-6} \text{ M}$  IPR で増強された。Fura 2 による細胞内 Ca 濃度の測定で CCh 刺激時の細胞内 Ca 濃度の上昇が IPR により増強され、増強作用も Ca 濃度上昇を介することが示唆された。

#### 9. 蝸牛血管条辺縁細胞の容積依存性 $\text{Cl}^-$ コンダクタンス

竹内俊二, 入交昭彦 (高知医大, 医, 第二生理)

内耳血管条は内リンパと内リンパ直流電位の産生を行うことによって、有毛細胞の機能に不可欠の場を提供している。血管条の主要な構成細胞である辺縁細胞をスナネズミから単離し、パッチクランプ whole-cell mode で記録を行ったところ、等張液中で約 100 nS/cell の  $\text{Cl}^-$  コンダクタンスが観察された。このコンダクタンスは細胞容積の増減と一致して変化し、イオン選択性は  $\text{SCN}^- > \text{Br}^- = \text{Cl}^- > \text{F}^- > \text{NO}_3^- = \text{I}^- > \text{gluconate}^-$  の順であった。このコンダクタンスの性質は単一チャンネル記録法によって明らかになっている。基底側膜に存在する  $\text{Cl}^-$  チャンネルの性質と類似している。

## 10. 嘔吐にともなう肝外胆道系の運動

曲 瑞瑤, 古川直裕, 福田博之 (川崎医大, 第二生理)

嘔吐時に吐物が胆汁で染まることが知られているが, 嘔吐時の肝外胆道系運動の研究は少なく, Oddi括約部の運動変化は全く不明である。

今回, 除脳イヌを用い, 胸部迷走神経の背側または腹側枝を求心性に刺激して retching を誘発し, retching に伴う肝外胆道系の運動変化を検討した。

Oddi 括約部, 十二指腸, 胃前庭部の運動は, 一般に retching 活動に伴って高進したが, しばしば retching 初期に一過性の抑制を受けた。一方, 胆嚢は retching 活動中にゆっくりとした収縮を示すのみであった。これらの反応は刺激により retching が誘発されたときのみ認められ, 迷走神経の背側枝または腹側枝のどちらかが切断されていてもほとんど相違がなかった。また, 両側の迷走神経切断後にはこれらの反応はほぼ消失した。血中 gastrin 濃度は迷走神経腹側枝が健全なときのみ retching 終了直後とその10分後で有意に上昇した。血中 CCK 濃度には変化が見られなかった。

これらの結果から, retching 活動初期に迷走神経を介して胆嚢の収縮と Oddi 括約部の一過性の弛緩が発現し, 胆汁が排出される可能性が示唆された。血中 gastrin 値の上昇はこれらの反応には直接関与しないと思われた。

## 11. 肝臓 NaCl 受容器受性の変化と高食塩食の影響

田中邦彦, 森田啓之, 細見 弘 (香川医大, 第二生理)

門脈-肝臓領域には, baro, 浸透圧, NaCl, グルコースなどの受容器が存在することが知られている。当教室では, 門脈内への高張 NaCl 溶液を投与, もしくは高食塩食経口摂取にて腎神経活動が低下し, Na 利尿を起こすこと, また肝臓除神経にてこの反応が消失するという肝-腎反射の存在について報告してきた。しかし肝硬変モデル動物においては高食塩食摂取時にも腎神経活動の低下を認めなかった。このことから, 肝硬変モデル動物では肝臓 NaCl 受容器の感受性が低下もしくは消失していることが考えられた。そこで今回, 四塩化炭素投与により作成した肝硬変ラットにおいて, この肝臓 NaCl 受容器の感受性がどのように変化しているかを調べた。四塩化炭素12週間投与にて肝臓には線維化, 偽小葉の形成を認めたが Na 貯留を認め

なかった。しかし門脈内高張 NaCl 溶液投与に対する肝臓求心神経の応答は有意に低下していた。また, 通常の NaCl 濃度の飼料摂取時には肝硬変群, 対照群ともに Na 貯留を認めなかったが, 高食塩食摂取時には, 肝硬変群において有意に Na 貯留を認めた。これらの結果から, 肝硬変モデル動物において Na 貯留を認めない時期から肝臓 NaCl 受容器の感受性は既に低下していること, また肝臓 NaCl 受容器は高食塩食摂取時に特に重要な役割を果たしていることが考えられた。

## 12. 甲状腺機能高進ラットにおける下痢のメカニズム

溝端乃里夫, 森田啓之, 西田育弘, 細見 弘 (香川医大・医・第二生理)

甲状腺機能高進症の下痢のメカニズムを解明することを目的とした。甲状腺機能高進ラットを作製するため, 8週齢ラットを用いて,  $T_3$  を 0.1 ml saline に 50  $\mu\text{g}/100\text{g b. w.}$  加えて14日間連続皮下注射した。対照群は saline のみを同量14日間連続皮下注射した。14日間の摂食量は甲状腺機能高進群において増加傾向がみられた。糞便量には差がなかった。しかし, 体重は抑制され, 対照群ほど増加傾向を示さなかった。これは甲状腺機能高進症にみられる基礎代謝量の増加と下痢のためであると考えられた。摂水量は甲状腺機能高進群において増加したが, 尿量は差がなかった。これは, 摂取された水分が, 不感蒸泄の増加や下痢によって体外へ排泄されたためと考えられた。血漿  $T_3$  濃度は甲状腺機能高進群において増加しており, 血漿  $T_4$  濃度は抑制されて測定不能レベルであった。最後の5日間の1日当たりの糞便中  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  排泄量は甲状腺機能高進群において増加していた。Ussing chamber にて測定した下部結腸の  $I_{sc}$  と Conductance は, 甲状腺機能高進群において共に増加していた。以上より, 甲状腺機能高進ラットでみられる下痢の機序に下部結腸での  $\text{Cl}^-$  の分泌と膜の透過性の高進が関与していると考えた。

## 13. 片腎摘出ラットにおける残存腎交感神経活動

古川一人, 清水順市, 二宮石雄 (広島大, 医, 保健学科)

ヒトでは片腎摘出後, 数日以内に尿量は正常化し, 動脈血圧に変化がないにもかかわらず, 残存腎血流量は増加することがわかっている。この様な適応機構

に、神経性調節系がどの様に関与するかは、重要な残された問題である。そこで今回われわれは、片腎摘出により腎ネフロン数を半減した際、残存腎の機能や血流を調節する腎交感神経活動(以下 RNA)がどの様に变化するかについてモデル動物で検討した。

実験はウイスターラットを用い無菌下で片腎を摘出し、摘出直後および摘出3~35日後の残存腎 RNA と残存腎重量を測定した。残存腎重量は著明に増加し、腎摘直後の RNA は減少したが、時間が経過して肥大した腎を制御している RNA は肥大前のレベルに戻っていた。

#### 14. 胃粘膜刺激によるリンパ心臓促進反射

岡田博匡(川崎医療福祉大, 医療技術学部, 臨床栄養)

胃腸管を叩打すると、血液心臓およびリンパ心臓拍動の抑制が反射性に引き起こされることが知られている。しかし、胃粘膜刺激による反射効果については報告が見当たらないので、この実験を行った。

ケタミン麻酔下に中脳の上端で除脳した食用ガエルを用い、後リンパ心臓の収縮曲線および XI 脊髄神経前根よりの遠心性活動を記録した。胃の幽門部を結紮し、食道を経て胃内に挿入したカテーテルより種々の刺激液 5~6 ml を注入し、その効果を検索した。結果: 5%硫酸銅液で拍動数は $33 \pm 2.9\%$  ( $M \pm SE$ ), 0.1, 0.2, 0.5 N-HCl で夫々 $11 \pm 5.5$ ,  $25.5 \pm 86$ ,  $42 \pm 8.65\%$ , 2.5, 5, 20%乳酸で夫々 $26 \pm 6.4$ ,  $30 \pm 4.8$ ,  $37 \pm 12.6\%$ , 2, 5, 20%酢酸で夫々 $11 \pm 1.5$ ,  $28 \pm 4.8$ ,  $32 \pm 4.8\%$ の増加を示し、2~3分で漸次もとのレベルに復した。なお、嘔吐の発現時に拍動数は増加した。促進反応は迷走神経根の切断で消失した。さらに、後リンパ心臓を支配する神経の伝導速度は $10.2 \pm 4.2 \text{ m/s}$  ( $M \pm SD$ ,  $n=484$ 回, 18匹)であった。実験結果より胃粘膜-リンパ心臓促進反射の存在が明らかにされた。

#### 15. タッピングリズムと心臓・呼吸リズムとの連関

清水順市, 古川一人, 二宮石雄(広島大, 医, 保健学科)

ヒトの心周期と呼吸周期は、タッピングによってどのように変動するかについて検討した。対象: 健康成人男性9名, 女性5名, 平均年齢23.5歳。被験者は椅座位にて右示指で圧センサーを3分間叩いた。同時に心電図と呼吸運動を記録した。タッピングは①自由な周期で3回, および②心電図R波に同期した周期で叩

いた。また各試行の間には3分間の休憩を設けた。

結果: 自由タッピングにおいては、タッピングを繰り返すことにより、心拍とタッピングの周期が1:1の関係に収斂する傾向が見られた。心周期内でのタッピングの時点はR波トリガーで分析すると心拡張期に多くのタッピングが行われた。

#### 16. 扁桃体中心核ニューロンに対するニューロテンシンの作用

陸 雲飛, 服部幸雄, 林 泰資, 森脇晃義, 堀 泰雄(岡山大, 医, 第一生理)

扁桃体とくにその中心核には、ニューロテンシン(NT)陽性ニューロンや神経終末、およびNT受容体が豊富に存在することが報告されている。本研究では、扁桃体機能におけるNTの役割を明らかにする目的で、扁桃体中心核ニューロンに対するNTの作用について検討した。体重180~230gのWistar系雄性ラットから扁桃体を含む前額断脳スライス標本を作製し、扁桃体中心核ニューロンから細胞外記録を行った。調べた115個の自発放電活動を示す扁桃体中心核ニューロンのうち、69個(60%)がNTに対して興奮反応を示し、10個(9%)は抑制反応を示した。即ち、扁桃体中心核ニューロンに対するNTの作用の大部分は興奮性であった。NTと同様の作用はneuromedin N および NT8-13 においてもみられたが、NT1-8は如何なる作用も示さなかった。扁桃体中心核ニューロンに対するNTの興奮作用には濃度依存性があり、その閾値は約 $3 \times 10^{-9} \text{ M}$ であった。NTの興奮作用はシナプス入力を遮断した条件下においても観察された。これらの結果は、NTが扁桃体中心核ニューロンを直接的に興奮させることを示しており、NTが神経伝達物質あるいは修飾物質として扁桃体機能に関与していることを示唆する。

#### 17. MK-801の脳温効果と虚血性ニューロン死保護作用

章 龍, 柳瀬尚人, 三谷 章, 片岡喜由(愛媛大, 医, 第一生理)

我々は、脳温テレメータを装着した自由行動下のスナネズミにNMDA型グルタミン酸受容体のチャネルブロッカーであるMK-801を腹腔内投与し、独自に開発した脳温自動制御システムを用いて正常脳温維持下での虚血性ニューロン死保護作用について検討した。

MK-801 (5 mg/kg, 10 mg/kg) を投与すると、脳温は一過性に上昇した後、2相性の脳温低下を示し、1~2日後に正常脳温に回復した。この低脳温化現象は、コンピュータ制御による環境温調節により強制的に正常脳温を維持することが可能であった。本システムを用い、MK-801投与30分後に無麻酔下で5分間前脳虚血を負荷し(Chandlerらの方法)、4日間脳温を $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ に維持した後、虚血負荷7日後に海馬CA1錐体細胞の残存数を組織学的に観察した。MK-801 10 mg/kg投与群では、虚血単独群に比べて有意に虚血性ニューロン死が抑制された。

本システムは一過性脳虚血及び薬物投与により発生する脳温変化を正確にモニターでき、脳温コントロールも可能であった。また、MK-801 (10 mg/kg) がNMDA型グルタミン酸受容体への直接作用により虚血ニューロン死を防御する可能性が示唆された。

#### 18. ダントロレンとその誘導体 RS-105 のニューロン虚血壊死防護効果

増田晴造, <sup>×</sup>尾崎庄一郎<sup>\*\*\*</sup>, <sup>×</sup>近藤万里<sup>\*\*</sup>, 柳瀬尚人<sup>\*</sup>, 章 龍<sup>\*</sup>, 三谷 章<sup>\*</sup>, 片岡喜由<sup>\*</sup> (愛媛大, 医, 実験実習機器センター・第一生理<sup>\*</sup>・第二病理<sup>\*\*</sup>・愛媛大, 工, 有機応用化学<sup>\*\*\*</sup>)

スナネズミに脳温 $37^\circ\text{C}$ 下3分間前脳虚血を負荷して作製される海馬CA1の遅発性ニューロン死を実験系として用いた。リヤノジン型プールからのカルシウム動員を抑制するダントロレン 1600  $\mu\text{M}$ , 虚血後30分脳室内投与群は有為なニューロン防護効果を示した。一方、ダントロレンのヒダントイン構造からオキソ基1個を外した疎水性の誘導体 RS-105 を作製し、虚血前30分および虚血後30分にそれぞれ腹腔内投与した。RS-105 腹腔内投与群では、20 mg/kg 以下投与量依存的にニューロン死を抑制した。この所見から、この物質が血液・脳関門を通過して直接ニューロンに作用し得ることが示唆されたが、かなり強い毒性があることも明らかにされた。

#### 19. 骨格筋小胞体膜リアノジン結合の脱神経による変化

西島博明 (川崎医療福祉大, 健康体育学科)

骨格筋の生理的収縮はT管膜の脱分極に伴う小胞体膜からのCa遊離によることはよく知られている。骨格筋小胞体膜Ca遊離チャンネルはT管膜脱分極性Caチャンネルと構造的に密接に連結していることから、両

Caチャンネルの機能的連結が予想されている。現在、骨格筋E-C couplingの問題点はこれら両Caチャンネルの機能的連結を知ることにある。骨格筋小胞体膜のCa取り込み、遊離機能は脱神経によって低下する事が知られている。特に、Ca遊離機能は著しく低下する。しかし、これらの機能は神経再支配によって回復することが知られている。この結果は脱神経筋小胞体膜Ca遊離チャンネルの $[^3\text{H}]$ -リアノジン結合サイトの減少と神経再支配によって回復する事を予測させる。そこで本実験では骨格筋小胞体膜のCa遊離チャンネルに対する $[^3\text{H}]$ -リアノジン結合が脱神経によってどの様に变化するかを検討した。その結果、脱神経筋から単離された小胞体膜の $[^3\text{H}]$ -リアノジンの最大結合(Bmax)は正常骨格筋小胞体膜と同等であった。しかし、結合定数(Kd)は低下した。この結果は脱神経によって小胞体膜の $[^3\text{H}]$ -リアノジンサイト即ち、Ca遊離チャンネルの性質が变化したものと推定される。この変化は可逆的変化であると予測される。またT管膜脱分極性CaチャンネルへのブロッカーであるDHP系薬剤の結合には変化がなかった。

#### 20. 同一筋線維にみられる2種の興奮性接合部電位の生理学的性質

川崎史子, 喜多 弘 (川崎医大, 第一生理)

フタホシコオロギの腹筋では、同一筋線維から、正常リンガー液(5 mM  $[\text{Ca}^{2+}]_0$ )中で、振幅の変動する10 mV前後の大きさのsmall EJPと、40 mV近い脱分極を生じて活動電位を発生させるlarge EJPの2種類が記録される。各EJPにおいて、伝達物質放出確率が低くなるような $[\text{Ca}^{2+}]_0$ の範囲では、前者の振幅は $[\text{Ca}^{2+}]_0$ (0.75~5 mM)の約1.5乗に、後者の振幅は $[\text{Ca}^{2+}]_0$ (0.25~1 mM)の約3乗に比例した。低 $[\text{Ca}^{2+}]_0$ の条件下で得られた振幅の分布では、両EJPとも1番目のピークが0.3~0.4 mVのところに来た。この値はminiature EJP(両EJPを生ずる神経終末由来のものが混在)の振幅の分布のピークの値とも一致するので、両EJPを構成する素量の大きさは等しいと考えられる。単一電極膜電位固定法を用いて求めたsmall EJPの逆転電位は+0.22 mV, large EJPのそれは+1.02 mVとなり、両者の間に有意差はなかった。伝達物質の可能性が高いL-glutamateを外液に0.5 mM付加した時、両EJPの振幅は共に対照値の約60%, 1 mM付加の場合は約25%に減少したが、1 mM D-glutamateの付加では振幅の減少は10%程度で

あった。両 EJP の振幅の相違は、シナプス後部側ではなく前部側にその原因があり、神経終末の伝達物質放出機構が外液  $Ca^{2+}$  に対して異なる感受性と依存性を持つため放出される素量の数異なる事が相違を生じている主な原因と思われる。

## 21. ガラス毛細管における血漿層の測定と影響する因子

惣谷昌夫, 鈴木洋司, 立石憲彦, 谷口拓也, 田中潤也, 前田信治 (愛媛大・医・第二生理)

微小循環領域において、血管壁に沿って観察される血漿層の厚さと赤血球浮遊液のレオロジー的性質との関係について、ガラス毛細管を使ったモデル実験により定量的に比較検討した。

**【方法】** 内径 12~50  $\mu\text{m}$  のガラス毛細管内にヘマトクリット・赤血球変形能・赤血球集合などレオロジー的性質の異なる赤血球浮遊液を灌流して、倒立顕微鏡で観察・記録した。赤血球の流速と、灌流圧を記録しながら、倒立顕微鏡とビデオカメラからなる観察装置によりガラス管内を流れる赤血球の画像を記録し、再生した画像から血漿層の厚みを測定した。

**【結果】** 血漿層の厚さは(1)管径の増加とともに増加し、(2)ヘマトクリットの増加、(3)赤血球の変形能の低下とともに減少した。(4)赤血球集合が促進した条件下では血漿層の厚さは増加した。

**【結論】** 管径・ヘマトクリット・赤血球変形能・赤血球集合が血漿層に与える影響は、単離腸間膜の微小血管で測定した結果と定性的には一致した。しかし、管壁の性質や分岐などの差のために定量的にはその影響が異なることが観察された。

## 22. 心房細動下のイヌ摘出交叉灌流左室メカニクスの特徴

×山口裕己, ×伊藤治男, ×清水壽一郎, 松原広巳, ×荒木淳一, 高木 都, 菅 弘之 (岡山大, 医, 第二生理)

心房細動(AF)下の一心拍毎の左室の収縮性の変化のメカニズムは、一心拍毎の左室充滿の差のみでなく、RR 間隔と密接に関連した収縮性の変化の関与が提唱されている。(目的) イヌ摘出交叉灌流左心室に等容性収縮を行わせ、AF 時の左室の収縮性( $E_{\text{max}}$ )と RR 間隔の関係について検討した。(方法) まず、AF の平均の心拍数で心房ペースングを行い  $E_{\text{max}}$  を求めた。ついで AF 時の左室の心電図と左室圧、容積を

同時に記録し一心拍毎の  $E_{\text{max}}$  を求めた。(結果) ある収縮の6心拍前までの各々の RR 間隔及び2心拍前までの RR 間隔がどの程度その収縮性に影響を与えているかを重回帰分析により検討した。両者の相関係数に有意の差は見られなかった。そこで、2心拍前までの RR 間隔を用いて収縮性を表現することを試みた。一心拍毎の  $E_{\text{max}}$  と RR1 との間の弱い正の相関( $r=0.692 \pm 0.061$ )と、一心拍毎の  $E_{\text{max}}$  と RR2 との間のさらに弱い負の相関( $r=0.532 \pm 0.079$ )が見られた。しかし、RR1 を RR2 で標準化した RR1/RR2 と一心拍毎の  $E_{\text{max}}$  との間にはより強い正の相関が見られた。 $E_{\text{max}}$  と RR1/RR2 の関係のある logistic function で fitting するとその相関係数は  $r=0.944 \pm 0.013$  であった。またこの式で RR1/RR2=1 となる  $E_{\text{max}}$  の値と AF 全体の平均の  $E_{\text{max}}$  及び AF の平均の心拍数で心房ペースングをしたときの  $E_{\text{max}}$  の値との間に有意差はなかった。(結論) AF 時の一心拍毎の  $E_{\text{max}}$  は RR1/RR2 と良く相関しておりその関係は logistic function によって特徴づけられた。この fitting curve 上の RR1/RR2=1 の  $E_{\text{max}}$  の値は心房ペースング時の  $E_{\text{max}}$  とほぼ等しい。

## 23. ラット生体心(in vivo)の心室容積連続計測

×伊藤治男, ×山口裕己, 高木 都, 菅 弘之 (岡山大, 医, 第二生理)

生体心の心室容積を連続計測することは心機能の評価解析には極めて重要である。現在、イヌ等の中動物における心室容積連続計測法としてコンダクタンスカテーテル法が用いられているが、小動物のラットにはまだ適用されていない。

今回、ラット対応のコンダクタンスカテーテルシステムを開発し、麻酔開胸ラット6匹(400~500g)を用い実験を行った。まず、ラット用の極細タイプ(太さ1.0mm)の6電極カテーテルを左室心尖より基部方向に挿入し、先端1極目を大動脈弁に、また6極目を心尖位置に留置した。中間の電極で心室内電気コンダクタンスを計測し、このコンダクタンスに比例する心室容積を算出した。さらに心室容積計測の精度を評価するために、大動脈基部に電磁血流計プローブ(内径2.0mm)を装着し、下大静脈を閉塞し心室容積を減少させた。計測心室容積と血流量のそれぞれから一回心拍出量を計算し比較した結果、両者のあいだには極めて高い直線の相関( $r=0.982$ )が認められた。すなわち、今回我々が開発したコンダクタンスカテーテルシステ

ムによる心室容積計測はきわめて信頼性が高いことが立証された。

したがって、コンダクタンスカテーテル法を用いたラット生体心臓の心室容積連続計測が可能である。

#### 24. 腰部交感神経切除後の compensator

寺西泰弘・入内島十郎 (広島大, 医, 第二生理)

ラットにおいて Nembutal 麻酔, 亜硝酸剤, または小量の脱血 (0.3 ml 血液・100 g 体重) の際, 腹部大動脈末端で測定する (hindquarters (HQ) 血流) が減少し, HQ 抵抗が上昇して血圧下降を防ごうとする。これを HQ compensator と呼ぶ。

両側の腰部交感神経を腎血管のレベルから下, 両側が合流するまで切除すると, 上記の減圧性の侵襲に対し, HQ 抵抗が上昇しなくなるので, HQ compensator の遠心性繊維はここに含まれることが確認された。

腰部交感神経を切除したラット10匹において, Nembutal 30 mg/Kg i. V., 10分後, 血圧は  $111 \pm 10$  mmHg から  $84 \pm 6$  へ, HQ 血流は  $5.29 \pm 1.08$  ml/min/100g 体重から  $4.57 \pm 0.91$  へ, HQ 抵抗は  $22.0 \pm 5.0$  mmHg/(ml/min/100g 体重) から  $19.0 \pm 3.7$  へ減少した。paired t-test により, これらはそれぞれ  $P < 0.001$ ,  $P < 0.005$  及び  $P < 0.05$  で有意であった。血圧の下降は  $-24.3 \pm 6.3\%$  であり, 一方, 腰部交感神経無傷のラットではこれが平均  $-16\%$  であった。

## ポ ス タ ー セ ッ シ ョ ン

### P 1. 高脂食飼育ラットの血漿脂質/血小板凝集能におよぼす多価不飽和脂肪酸の影響

橋本道男, 原 俊子, <sup>x</sup>Hossain Md. Shahdat, 榊村純生 (鳥根医大・第一生理)

ウィスター系ラット (雌, 5週齢) を魚油ぬき食飼育群, 高脂食飼育群, EPA 経口投与～高脂食飼育群, DHA 経口投与～高脂食飼育群に分け, 5週間飼育。各群につき, 血漿脂質量/血小板凝集能を測定, 高脂血漿下における EPA/DHA 作用を検討した。

結果: 高脂食飼育群の血小板凝集能は魚油ぬき食飼育群に比し22%増加した ( $p < 0.05$ )。多価不飽和脂肪酸 (EPA, DHA) の経口投与は高脂食飼育群の血小板凝集能を9%程度抑制した ( $p < 0.05$ )。この場合, 血漿コレステロール/血漿中性脂肪は, EPA により16

### 25. 脳循環・代謝改善剤による白色家兎視神経乳頭部組織血流量の変化

仁禮美奈子, 日地康武, 玉井嗣彦\* (鳥取大, 医, 第一生理・眼科\*)

眼圧が正常範囲にあるにもかかわらず緑内障性視野変化を認める低眼圧緑内障において循環不全を改善する薬剤は視野障害を防ぐ可能性があるといわれている。

今回, 我々は脳循環・代謝改善剤として臨床で使用されているフマル酸プロピンカミン (商品名: サプロミン) 投与後の白色家兎視神経乳頭部組織血流量の変化を水素クリアランス法にて調べた。実験は全身麻酔下で行い, 薬剤は生理的食塩水に溶解し, 0.1 mg/Kg, 0.5 mg/kg を耳静脈より静脈内投与した。0.1 mg/kg を投与した群では, 直後より血流量は増加し, 20分後に前値の124.2%となりその後徐々に低下した。しかし, 0.5 mg/kg 群, 対照 (生理的食塩水) 群では血流量の変化は認められなかった。大腿動脈平均血圧, 脈拍数, 呼吸数はどの群においても有意な変化はなかった。

次に, 血流の変化の機序を検討するため, 大腿動脈, 脳底動脈に同薬剤を処理し平滑筋内 cAMP 量変化を RIA 法にて測定した。薬剤 10  $\mu$ M 5分間処理にて, 大腿動脈では対照の81.9%とやや減少傾向であるのに対し, 脳底動脈では127.8%と逆に増加傾向を示した。しかし, 変化量は小さいので正確な機序についてはさらに検討が必要と考えられる。

～27%, DHA により30～40%減少した ( $p < 0.05$ )。高脂食飼育群および多価不飽和脂肪酸経口投与～高脂食飼育群の血小板凝集能は血漿コレステロール/血漿中性脂肪に対して有意に相関した ( $p < 0.05, 0.4 < \gamma < 0.5$ )。

考察: 高脂血漿下で EPA/DHA による血漿脂質量の減少は血小板における多価不飽和脂肪酸の組成に影響を与え, 該粘着凝集を抑制するものと考えられる。

### P 2. 睡眠と不整脈 リチウム投与の影響 (2)

野島一雄, 齊藤英朗 (愛媛県立医技短大)

リチウム塩の連続投与によって, マウスの自発運動が抑制されること, ラットのフリーランリズムが延長することが, 演者等も含めて報告されている。

今回は、投与するLi塩の濃度(1.5 g/l, 1.0 g/l, 2.0 g/l)によって自発運動リズム, 睡眠-覚醒リズムがどの様に変化するかについて検討を加えた。

LiClは、それぞれの濃度で実験中の飲水として与えた。飲水量, 飼料摂取量は用量依存性に有意に減少していた。自発運動量(エリアセンサによる)は, 1.5 g/l, 1.0 g/l 投与群で有意に増加していた。その周期(活動-休息)は, 投与群全てで対照群に比し延長していた。睡眠-覚醒リズムに関しては, 1.0 g/l, 2.0 g/l の群で延長し, 逆説睡眠で特に顕著であった。また, 投与群では, そのリズムが明瞭になった。徐脈性不整脈について, その出現率は, 徐波睡眠時, 逆説睡眠時に多く出現していた。1日の出現回数は, 対照群  $5.1 \pm 2.0$ 回, 1.5 g/l, 1.0 g/l 投与群  $1.8 \pm 1.2$ ,  $3.4 \pm 1.7$ 回と有意に減少していた。睡眠パターンの変化, 不整脈の出現率, 出現回数の変化, などからLiの循環系への影響は, 直接的なものではなく, 自律神経を介し, 上位中枢に対し何等かの影響を及ぼし, その結果, 間接的に影響を及ぼしているものと考えられる。

### P 3. 大脳皮質陽性直流刺激によるPKC $\gamma$ の発現

Nadira Islam, 森脇晃義, 服部幸雄, 堀 泰雄 (岡山大, 医, 第一生理)

大脳皮質一部部位の陽性直流刺激が皮質機能を持続的に変化させることが報告されてきた。本研究では, protein kinase C $\gamma$ (PKC $\gamma$ )発現に及ぼすラット大脳皮質陽性直流通電の効果を免疫組織化学的に検討した。Wistar 系雄性ラットの一側感覚運動皮質表面に慢性電極を介して3あるいは30 $\mu$ Aの陽性電流を30分間あるいは3時間通じた。通電の1時間後から72時間後までの間に灌流固定し, 得られた脳凍結切片を mouse monoclonal anti-PKC $\gamma$  IgG (36 G 9), 次いで biotinylated antibody ならびに streptavidin-HRP で処理し, DAB 反応で発色させた。通電前 PKC $\gamma$  様免疫反応は全皮質の細胞体および樹状突起の細胞質にみられた。強度 3  $\mu$ A の陽性直流を30分間通じると, 通電側において PKC $\gamma$  様免疫反応が増強した。その増強は新皮質の2/3, 5, 6層, 帯状皮質, 梨状皮質の細胞体と樹状突起の細胞膜に顕著であった。免疫反応の増強は上記皮質部位において通電の1時間後には観察され, 3時間後に最大となり, その後次第に減弱して72時間後には殆ど認められなかった。このような PKC $\gamma$  様免疫反応の増強は他の通電条件下では認められなかった。これらの結果は, PKC $\gamma$  が陽性直流刺激による

大脳皮質興奮性の持続的上昇に関与していることを示唆する。

### P 4. CDK 5 と p35 mRNA の in situ hybridization 法によるラットの脳内分布についての検索

松下正之, 富沢一仁\*, 板野俊文\*, 松井秀樹\*, 徳田雅昭\*,  $\times$ 州脇 寛, 畠瀬 修\* (香川医大, 精神神経科・第一生理学\*)

細胞分裂は cdk kinase family とその subunit である cyclin family によって制御されている。最近, 分化した神経細胞においても cdk kinase が活性を持つことが明らかとなった。その酵素は cdk 5 であり, p 35 と呼ばれる脳特異的 subunit を持つ。しかし, この cdk 5/p35 の脳における生理的役割は明らかでない。そこで, これら2つのクローンをを用いて in situ hybridization 法により, これらの mRNA の分布をラット脳の連続切片を用い検索した。新生時期においては, cdk 5, p35 とともに海馬, 皮質領域に mRNA の発現が強く認められた。また, 成熟ラットにおいては, cdk 5 の mRNA の発現は海馬においては強く発現していたが, 大脳皮質においては, 第5層に発現が強く認められた。p35 の mRNA の分布も cdk 5 と関連して発現していたが, cdk 5 に比べ発現は弱かった。また小脳のプルキンエ細胞においては, cdk 5 と p35 の発現は個々の細胞において検索することが可能であり, cdk 5 と p35 の2つの mRNA が発現している細胞と, cdk 5 のみが発現している細胞があった。これらの結果は, p35 が cdk 5 の生理的サブユニットであり, cdk 5 の活性が p35 の発現によって制御されていることを示唆する。

### P 5. ラット網膜における Ca<sup>2+</sup>/カルモジュリン依存性リン酸化酵素IVの存在の証明と生理学的意義の解析

広岡一行\*#, 都村豊弘\*#, 徳田雅明\*, 大西 誠\*, 藤村貴志\*#, 板野俊文\*, 松井秀樹\*,  $\times$ 長谷川榮一#, 畠瀬 修\* (香川医大, 第一生理\*・眼科#)

Ca<sup>2+</sup>/calmodulin 依存性リン酸化酵素IV (CaM-kinase IV)は脳に特異的に発現し, 幅広い基質特異性を示すが, 未だ確立された生理作用は明らかでない。今回我々は, 網膜における CaM-kinase IV (CaM-kinase-R)の生理作用を調べる為, ラットの成長, 発達過程における CaM-kinase-R の発現と局在の変化を検討した。

免疫染色による developmental study では、生後3週以後の網膜において、CaM-kinase-R は内顆粒層と神経節細胞層の核及び、視細胞の外節と内網状層の軸索や樹状突起に局在していた。Western blot においても生後3週以後の著明な増量を確認した。

アダルトラットの小脳と網膜より調整した 100,000 g 上清を用いて Western blot を行った結果、小脳では既報のとおり分子量が60,000( $\alpha$ )及び62,000( $\beta$ )の2本のバンドが認められたのに対し、網膜では36,500の単一バンドが検出された。また睾丸で報告されている分子量32,000の caldesmon とは異なっていた。

CaM-kinase-R に特異的な基質である peptide  $\gamma$  を用いて活性を測定したところ、小脳と同様網膜のCaM-kinase-R は  $Ca^{2+}$  及び calmodulin で促進される活性を認めた。

以上より、CaM-kinase-R は小脳タイプと異なり、分子量36,500の新しいタイプの CaM-kinase であることが分かった。また生後2週までの未分化な網膜にはCaM-kinase-R は存在しないことから、視機能の発達との関連性が強く示唆された。

#### P 6. 睡眠・覚醒のホメオスタシス機構よりみたビタミン B 12 の作用

×木内妙子, 勢井宏義, 森田雄介 (徳島大, 医, 第二生理)

ビタミン B 12 (VB 12) が非24時間睡眠覚醒症候群などの生体リズム障害に有効な場合があることが報告されている。今回我々は、明暗サイクルの8時間の位相前進によるラットの睡眠覚醒とその概日リズムに対するビタミン B 12 (VB 12) の投与効果について、睡眠・覚醒のホメオスタシス機構との関連で検討した。

【方法】 Wistar 系雄ラットを用い、生理的食塩水(対照)群および VB 12 投与群として各10匹を対象とした。脳電図と筋電図記録用電極の植え込みおよび発信器装着用ソケット取り付け手術からの回復後9日目に、生理的食塩水および VB 12 の注入用ミニ浸透圧ポンプ (Alzet, Model 2002) を腹腔内に埋め込んだ。術後4日目から睡眠ポリグラム記録を開始した。明暗の位相前進前の3日間を基準日として、明暗の位相を8時間前進させ、さらに7日間同様に記録した。視察判定による各睡眠・覚醒段階の量を、1時間毎に集計し、さらに、暗期、明期における量を算定した。

【結果および考察】 飼育環境の明暗サイクルを8時間位相前進させた後、対照群では明期と暗期の徐波睡眠

(SS)量が、1日目から4日目にかけて急に増加した。一方、VB 12 群ではその増加はみられなかった。その後、4日目から7日目にかけては、両群において明期と暗期の SS 量は、負の相関を有しながら基準日の値へと変動した。VB 12 の作用は明暗位相変位後も睡眠・覚醒のホメオスタシスを維持し、1日の睡眠・覚醒量を保持するものと推察した。

#### P 7. 細胞周期に伴う細胞周期調節因子の発現と $K^{+}$ の役割

細川敬子, 山口久雄, 池原敏孝, 高橋 章, 吉崎和男, 宮本博司\* (徳島大, 医, 第一生理・徳島文理大, 家政\*)

低  $K^{+}$  条件下における HeLa S3 細胞の細胞周期進行調節因子の発現機構について検討した。

同調 HeLa 細胞の無血清培地 (CDM) 中の  $K^{+}$  を  $Rb^{+}$  に置換すると ( $Rb$ -CDM), 細胞増殖は著しく抑制され、細胞周期は G1 期初期で停止する。この時、insulin の添加によって細胞周期は G1 期から S 期に進行する。このような低  $K^{+}$  条件下が細胞周期調節因子の発現に及ぼす影響について、一次抗体に Oncogene Science 製モノクローナル抗体で処理し、ビオチン化した二次抗体 IgG を用いた FITC 標識蛍光顕微鏡法で観察した。また、細胞周期の各時期の指標は DNA 染色によるフローサイトメトリーで確認した。非同調細胞の抗 cdc 2 抗体での平均蛍光は、 $K$ -CDM と比べて  $Rb$ -CDM では少し減少した。同調 S 期細胞での PSTAIRE および RB 抗体の蛍光量も、同様に  $Rb$ -CDM でより低い値を示した。cyclin B 抗体の発現量は、血清培地と  $K$ -CDM 中では、細胞分裂後の時間経過とともに増加し、G2 期で最高値を示した。しかし、 $Rb$ -CDM 中では、細胞周期を通じて著しい変動はみられなかった。また、 $K$ -CDM と  $Rb$ -CDM に各々 insulin を添加した時は両者の間に差は認められなかった。従って、cyclin B 抗体の発現量は低  $K^{+}$  条件下で抑制され、insulin の添加で促進されることがわかった。これに対して、cdc 2, PSTAIRE, RB (retinoblastoma) の発現は細胞周期依存性を示さず、低  $K^{+}$  条件下でも顕著な抑制はみられなかった。

#### P 8. 細胞内外一価イオンとループ利尿剤感受性 $K^{+}$ 輸送の関係

池原敏孝, 山口久雄, 細川敬子, 高橋 章, 吉崎和男, 宮本博司\* (徳島大, 医, 第一生理・徳島文理大,

家政\*)

細胞内 1 価イオン濃度の調節は, HeLa 細胞に 10  $\mu$ M ウワバインを添加し, さらに種々の時間培養する方法を用いた. この予備培養後, 外液  $K^+$  を同濃度の  $Rb^+$  と置換し, 0.2 M マニトールを加えた高張培養液に置き換え, ウワバイン非感受性かつループ利尿剤(フロセミド, プメタニド)感受性の内向き  $Rb^+$  取込み速度(JRb)と  $K^+$  非出速度(JK)を同時測定した.

JRb は細胞内  $K^+$  と  $Na^+$  濃度の比( $[K^+]/[Na^+]$ )の増加とともに増加し, 一定値を示した. JK も同様に増加するが 1 以上では減少した. また両輸送とも, 外液  $Na^+$  がゼロの時は輸送されず,  $Na^+$  濃度の増加とともに増大する飽和曲線を描いた. 外液の  $Cl^-$  の影響については, JRb は  $Cl^-$  濃度の増加とともにシグモイド状に増加したが, JK は  $Cl^-$  濃度と無関係にほぼ一定値を示した. さらに JRb は, 外液  $Rb^+$  濃度の増加とともに上昇し飽和した. JK は  $Rb^+$  が無くても生じ,  $Rb^+$  濃度の増加は JK をさらに増大させ飽和曲線を示した. JK の外液  $Rb^+$  により増強された成分と, JRb について外液  $Rb$  濃度との両逆数プロットをすると, 両輸送は, 外液  $Rb^+$  に対する親和性がほぼ一致することが判った. 以上の結果から, 方向の異なる 2 つの共輸送が見かけ上はカップルしないが, 共通点のあることにより両輸送間には何らかの関係のあることが示唆された.

#### P 9. マウス皮膚の再生に及ぼす亜鉛の影響

金 力, 豊島哲彦, 岡田泰士, 根木哲郎\*, 村上哲英 (香川医大, 生物学・スポーツ医学\*)

マウスの皮膚には, Timm 反応陽性の物資が密に観察される. DEDTC (diethyldithiocarbamate-亜鉛のキレート剤の一種)を作用させると, 毛根を除き, Timm

反応は陰性となる. いま, 皮膚に傷を与えると, 48 時間後には, 多数分裂像が現れてくる. このとき DEDTC を作用させると分裂像は減少し, 反対に ZnO を作用させると分裂像は増加した. これらはマウス皮膚の再生に亜鉛が関与していることを示していると思われる.

#### P 10. 乳癌細胞のヌクレオチド受容体の一次構造

榎本浩一, 古家喜四夫\*, 前野 巍 (島根医大, 医, 第二生理・生理研, 生体膜\*)

乳腺細胞等を機械的に刺激して発生する Ca 波は, 刺激により放出されたヌクレオチドが隣接する細胞の P2U 受容体に作用し, 細胞内ストアからの Ca 放出を起こすことによる. 最近 NG 108-15 細胞の P2U 受容体の一次構造が発表されたが, この細胞と乳腺細胞ではアゴニストの濃度依存性に違いがあり, 細胞内情報伝達系も異なる可能性がある. その点を解明するため, マウス乳癌細胞の P2U 受容体の一次構造を遺伝子操作により同定した. 乳癌細胞の全 RNA を抽出, mRNA を精製し, NG 108-15 細胞の P2U 受容体の遺伝子配列より選んだ配列をプライマとして RT-PCR を行った. 最終的に Met の上流よりナンセンスコドンの下流までを得ることが出来た. PCR プロダクトをベクターとライゲート, 大腸菌にトランスフォームし, クローン化したプラスミド, PCR プロダクトをもとにシークエンスを解読した. 乳癌由来 P2U 受容体の全構造を含むプラスミドをプリン受容体を持たないヒト骨髓白血病由来細胞株(K562 細胞)に発現させ, トランスフェクションと機能発現を RT-PCR と fura-2 画像で確認した. マウス乳癌細胞の P2U 受容体は細胞膜を 7 回貫通する G 蛋白共役型受容体で, NG 108-15 細胞の P2U 受容体の遺伝子配列とは 95% のホモロジーがあった.

## 【編集後記】

本号では、巻頭言として生理学会の庶務幹事である本郷利憲先生に「生理学の将来」について、あくまでも先生の個人的なお考えということで御執筆いただきました。生理学という学問分野の位置づけや近年急速に発展しつつある分子生物学等の関連領域との関係など、私どもが常日頃漠然と感じている事柄について、先生の明解な問題提起と生理学の将来に関する確信に満ちた方向性が示されており、目から鱗がとれる、もう少し医学的にいえば白内障の手術後の気分を味わった読者も多いことと思います。「広大で夢多い、“分析と統合”の機能の研究こそ生理学の役目」という言葉に生理学という学問のスケールの大きさを再認識する次第です。「生理学の将来」については、会員の皆様がそれぞれ多様なお考えをお持ちのことと存じます。是非、ご意見を御投稿下さい。

Information, Calendar に多数の情報をいただきありがとうございました。Trends の項には、今井先生から FAOPS CATWORKSHOP についてのご報告をいただきました。中国で開催された Computer Assisted Teaching (CAT) に関する国際的な WORKSHOP の概要を知ることができます。コンピュータの生理学教育

への利用は、わが国でも未だ低調で、国内でも同様の主旨の WORKSHOP の開催や生理学の CAT についての情報交換が必要ではないでしょうか。また、片淵、粟生先生からは NEURO-IMMUNO-ENDOCRINE NETWORKS のコンファレンスについてのご報告を執筆していただきました。十数年以上も前に神経科学で大きく欠落している部分は免疫学関連の分野だとある高名な免疫学者が明言していたということを聞いたことがあります。改めて一流の学者の洞察力に感服する次第です。本誌が情報誌としても有用になるために、カラーページの充実を編集方針としております。是非積極的にご利用下さい。

生理学実験技術法講座も毎回好評です。今回は野間先生に Caged 化合物による薬物瞬間投与法についての記事をいただきました。実際にこの手法を使っている方や予定している方には大変有用な report になると思いますが、その他の門外漢にもこの手法の限界や適用が具体的な実験例で示されており大いに勉強になります。

その他、内藤先生らによる原著と二つの地方会の抄録が掲載されております。ご協力に感謝いたします。

(工藤典雄 記)

## 編集委員

金子 章道(幹事)	野口 鉄也	野村 正彦
神田 健郎	野崎 修一	中島 祥夫
青木 藩(北海道)	土居 勝彦(東北)	工藤 典雄(関東)
松波 謙一(中部)	福田 淳(近畿)	片岡 喜由(中・四国)
山下 博(九州)		



# 孤高の境地に到達するサッターのプラ (ガラス電極作製装置)

## P-97 **NEW**

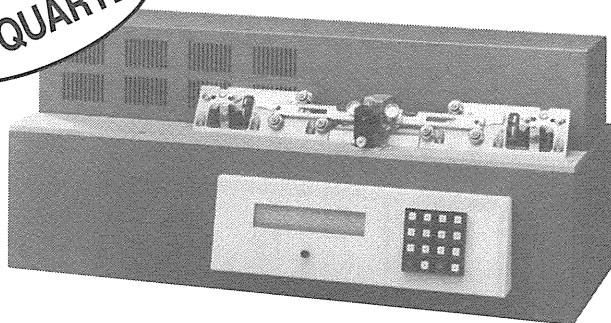
各界で圧倒的な支持を得た  
銘器P-87をさらにブラッシュ・アップ。  
再現性とユーティリティにいっそう  
磨きをかけました。



- ◇日本で特に再現性の敵となる湿度の影響を最小限に抑えるフィラメント・ハード・カバーを装備
- ◇ヒーター電流25%強化・冷却エア能力強化により大径・肉厚ガラスにも余裕の対応
- ◇メモリ可能なプログラム数を一挙に100まで増加
- ◇P-87で立証されたすぐれたメカニカル・ハードウェアを踏襲

## P-2000 **for QUARTZ**

計り知れないポテンシャルを  
もつクォーツ・ガラスからの電極  
作製を可能としたサッター会心  
のプラ。



- ◇従来のガラスとは比較にならない強度をはじめ、数々のメリットを持つクォーツ・ガラスからあらゆる形状のガラス電極を作製します。通常のガラスにももちろん対応
- ◇レーザー光線を熱源としながら、金属フィラメントと同様の高操作性・安全性を達成

※クォーツ・ガラスの数々のアドバンテージをお知り頂くためにサンプルをお作りしています。  
下記へお問合わせ下さい。

◆詳しい資料をご請求下さい



サッター社 日本総代理店

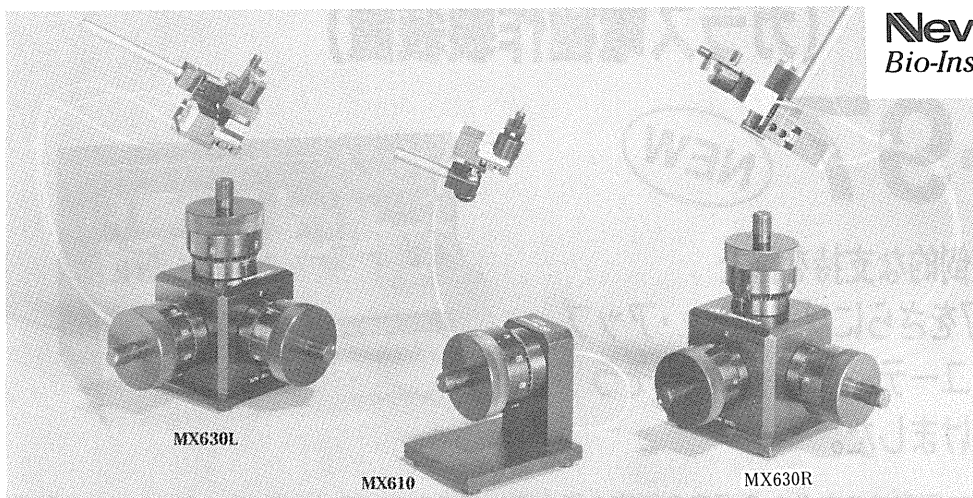
**ショーシンEM株式会社**

〒444-02 愛知県岡崎市赤浜町蔵西1-14 ショーシンビル2 F  
TEL. (0564) 54-1231番(代表)  
FAX. (0564) 54-3207番

# 水圧式マイクロマニピュレータ



Newport.  
Bio-Instruments



MX630L

MX610

MX630R

- 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。



CA-1



姉妹品 TEV-200  
2電極式ボルテージクランプ

- 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 $\mu\text{s}$ 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.Francisisco Benzanillaとの業績によるものです。

日本総代理店

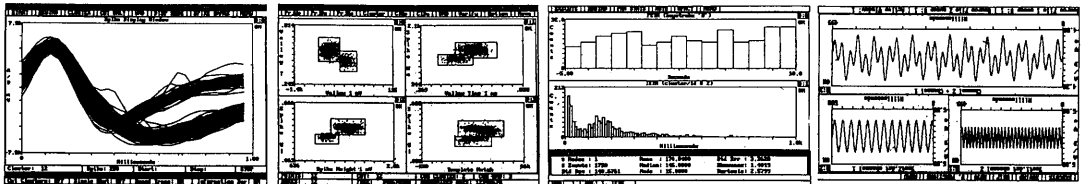


バイオリサーチセンター株式会社

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頼長ビル203号) ☎03(3878)6471

# WorkBench & Discovery

ワークベンチ&ディスクバリエーションシステムは、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。

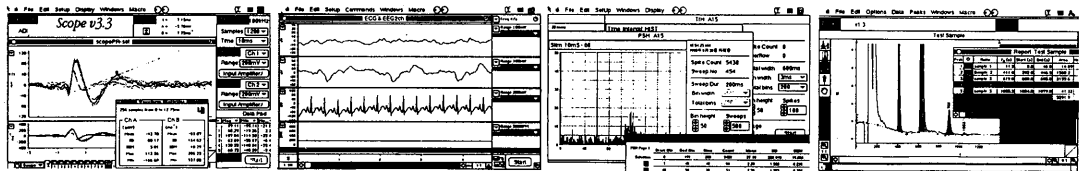


- **ユニット分離** 1つのユニットより12項目の値を抽出し、最大12のグループに区別します。
- **ヒストグラム** PETH, IEIH, XCRR, Rate Meter, JPST, Replay, Periodic PETH。
- **波形演算処理** アベレージング、スムージング、FFT、微積分、刺激誘発反応、可変面積、他多数。
- **波形数値抽出** Peak to Peak, dv/dtをはじめ、70種類にも及ぶデータ抽出が可能です。
- **ディスプレイ** オシロスコープ、ヒストグラム、XYプロット、デジタル表示、他多数。

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                     |
| <b>Scope</b>     | ストレージオシロスコープ<br>FFT、X-Yプロット<br>面積計算 | 加算平均<br>ピーク自動読み取り<br>プレ・ポストトリガー    |
| <b>Chart</b>     | チャートレコーダー<br>ピークホールド<br>タイムスケジュール記録 | スティムレーター<br>dv/dt波形<br>シグナルジェネレーター |
| <b>Peak</b>      | クロマトグラフ                             | レートメーター<br>カウンタ                    |
| <b>Histogram</b> | ペリスティマスヒストグラム                       | 周波数カウンタ<br>最高、最低トレンドグラフ<br>オートイベント |
|                  | エリア、リテンションタイム測定                     | オートベースライン                          |
|                  | タイムインターバルヒストグラム                     | BINカウンタ                            |

《仕様》

- アナログ入力 xch Max. ±10V サンプリング 100KHz (Max 1ch)  
 アナログ出力 1ch Max. ±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



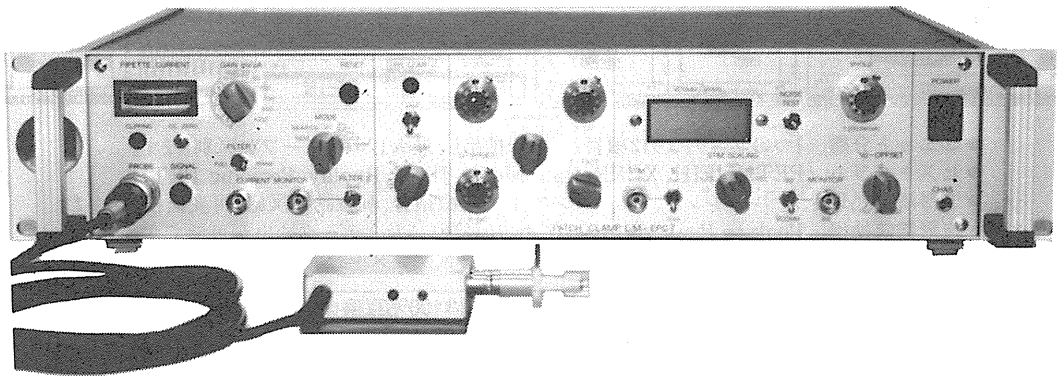
バイオリサーチセンター株式会社

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頼長ビル203号) ☎03(3878)6471

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

西独リスト社

# パッチクランプシステム EPC-7



## ■ 主な性能

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

日本総代理店 / 西日本地区発売元



ショーシンEM株式会社

〒444-02 愛知県岡崎市赤波町蔵西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)

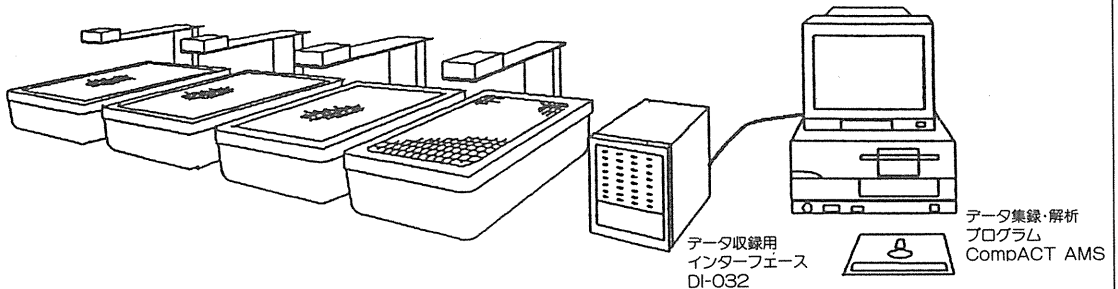
株式会社 フィジオテック

〒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)

# 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.

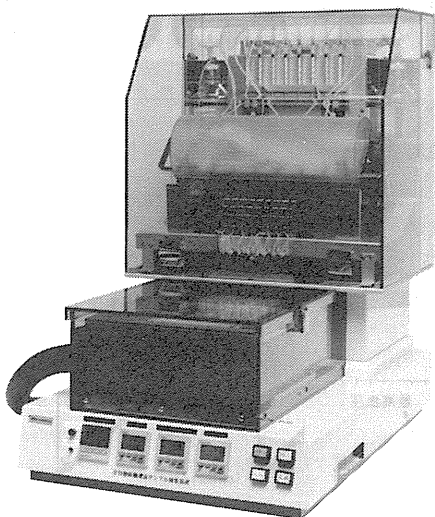


- 飼育ケージを使用することができます。
- 小動物(マウス、ラット、マーモセット等)から大動物(イヌ、サル、ブタ等)までの自発運動量を測定することができます。
- 感度調整等の煩わしい操作は不要です。
- 従来の自発運動量測定装置に比べ少ない予算で多チャンネルのシステム構成が可能です。  
(例：4chのシステム価格 ¥1,500,000.- 8chで¥2,100,000.-)
- 標準で32ch、オプションで最大80chまでのテーターを集録し、附属の運動量解析プログラム(CompACT AMS)及び周期解析プログラム(オプション)にてテータの集録・解析を行います。
- 増設は簡単にでき、1ch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 大阪府淀川区木川東4-5-3長谷興産新大阪ビル  
TEL 06(302)1277 FAX 06(302)5026



## 全自動 細胞灌流サンプリング装置 MK-4000

脳スライス切片の各部位を灌流しながら、生体内で行なわれている化学的刺激及び、電気的刺激により灌流液中に放出される物質(サイクリックAMP、神経伝達物質、代謝産物等)を捕集することを目的とした装置です。

従来より行なわれていたレセプター結合実験(RRA)と併用することで、より効果的な神経伝達物質、セカンドメッセンジャー間の相互作用の研究が行なえます。

### ■主な特長

- 脳切片を専用チャンバーにセットするだけで予め設定した灌流操作をし、専用ラックに灌流液を捕集します。
- 切片を入れるチャンバー数及びチャンバーは、ご指定に応じて作成いたします。
- 各チャンバーは、独立した系になっており、コンタミネーションは一切ありません。
- 本体フロントの設定スイッチにより、全ての設定ができます。

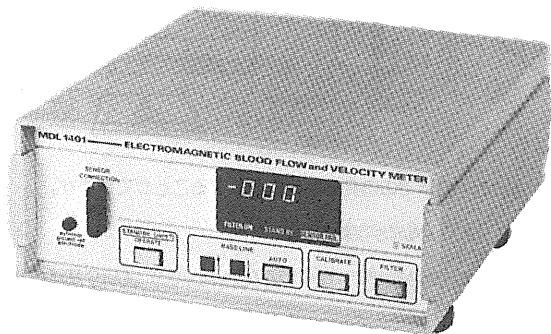
**Muromachi**

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 大阪府淀川区木川東4-5-3長谷興産新大阪ビル  
TEL 06(302)1277 FAX 06(302)5026

# 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  $\mu$ Vrms) 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

**LMS**  
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

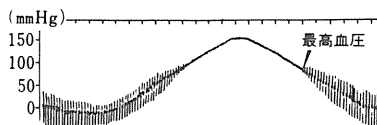
## 非観血式血圧測定装置

# PE-300

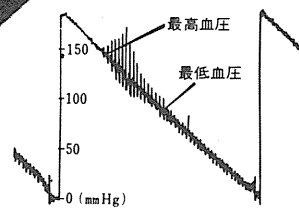
本装置は高感度トランスジューサを用いてラット及びマウスの尾動脈よりパルスを検出し、非観血的に最高血圧を自動測定するものです。PE-300は発売以来、研究者の皆さまに好評を得ており、さらにアクセサリーを交換すれば各種動物の最高および最低血圧を自動測定できます。

### ■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>

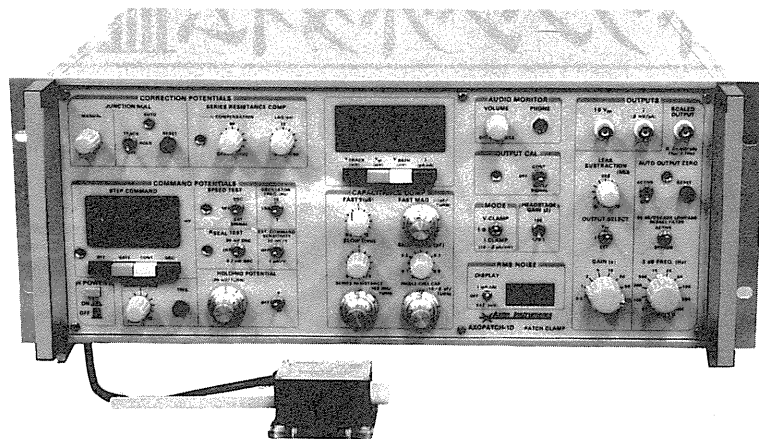


<DOGの血圧データ>

株式会社 エル・エム・エス

〒101 東京都千代田区外神田2-2-19ロクゴウビル  
TEL: (03)5296-0950 FAX: (03)5296-0945

# 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 千461 名古屋市東区栄一丁目25番1号  
TEL (052) 937-7060/70 FAX (052) 937-5423  
TLX 444-3603 WDMEC J  
東京支社/千157 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

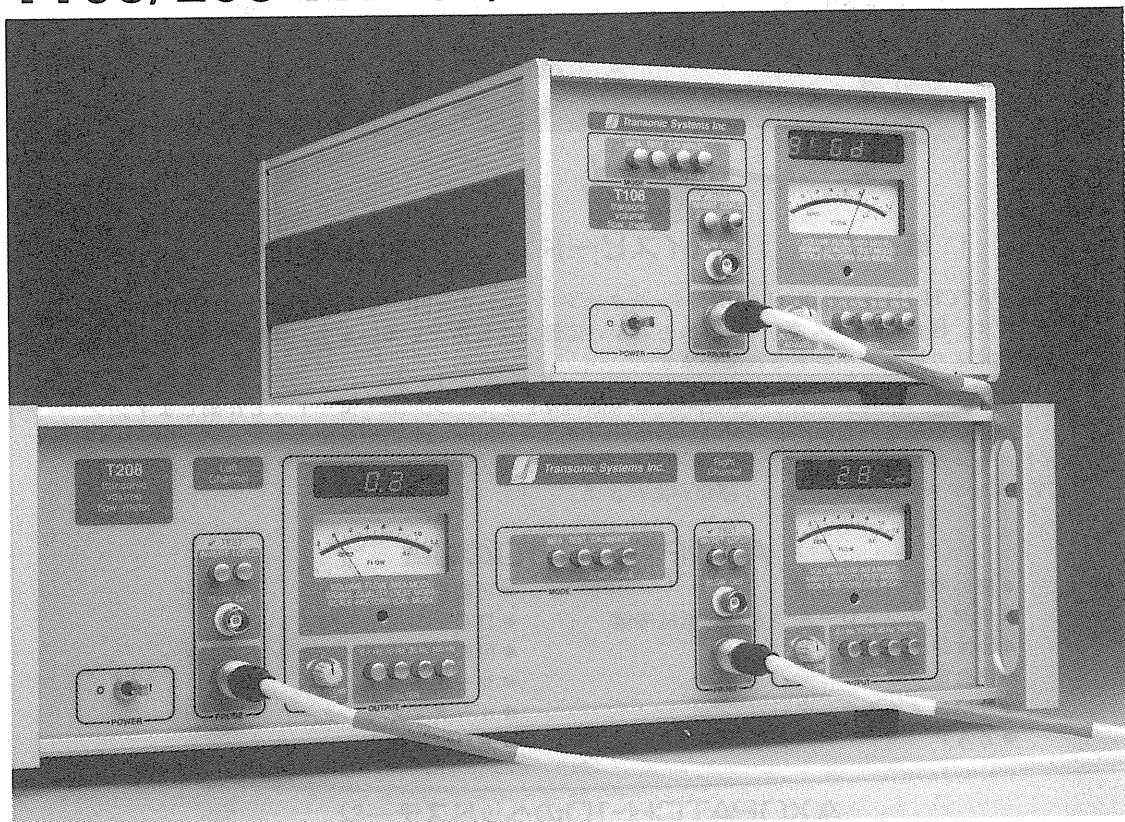
〒101 東京都千代田区内神田3丁目10番3号  
コイタビル4F

TEL (03) 3258-1641(代)

# 超音波トランジットタイム血流量計

Volume Flow in ml/min

T106/206 HT107/207 T108/208 HT109



実験動物の小型化に対応してトランソニック社ではコーネル大学と協力して微小血管(0.25mm φ)の定量測定用(ml/min)超小型プローブを開発致しました。

## 特長

- 血管に対して無拘束で血流量(ml/min)を連続測定できる。
- 最小血管径0.25mm φから最大48mm φまで測定できる。
- ラット等小動物の微小血流のモニタリングができる。
- 急性、慢性(長期埋込み)測定ができる。
- 血管の形状に左右されないので静脈も測定できる。
- 血管に無拘束なので正確な拍動波形が測定できる。
- 体外循環などチューブの上からも測定できる。
- 2チャンネルでは同時に2ヶ所の血流量測定ができる。
- 超音波トランジット方式なので血液以外の流体でも測定できる。

(株)トランソニック システムズ ジャパン

〒350 埼玉県川越市山田1621-1 Tel. 0492-26-0557 Fax. 0492-23-0028

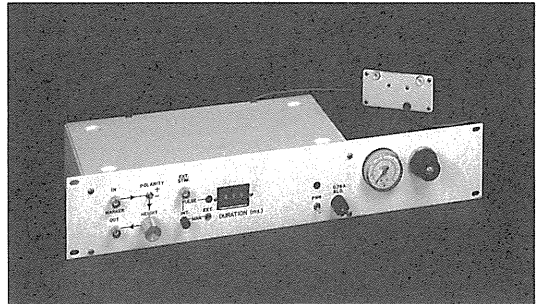
**Transonic Systems Inc.** Ithaca, NY, USA

# PICOSPRITZER II

## 圧力駆出に依る細胞内及び細胞外に定量極微量(ピコリター単位)試薬駆出装置

PICOSPRITZER IIは標準ラックに取り付ける事が出来ます。繰り返し連続使用が可能で、駆出量は設定時間と圧力調整に依り任意に変える事が出来ます。

PICOSPRITZER IIに依る圧力駆出装置は電気流動法では不可能な試薬の駆出が可能です。本装置は御使用に際し直ちに稼動出来ます様、必要な物は全て用意されて居り、亦廉価で経済的に御使用頂けます。PICOSPRITZERには単一チャンネル用、多チャンネル用があります。又、真空吸引装置付も開発されました。



### 仕様

- 電 源：115V. A.C. 50Hz及び60Hz
- 電 流：1A. max
- 消費電力：15W. max
- 電源コード：2.5m
- 操作圧力範囲：7kg/cm<sup>2</sup>G
- 圧力パルス信号：2ミリ秒～999ミリ秒
- タイムマーキングナル：1～30mV

製造元 **GV GENERAL VALVE CORPORATION**

日本韓国 総代理店 **ユニバーサルシステムコントロール株式会社**

本 社 〒140 東京都品川区北品川1-13-7 長栄ビル7F TEL 03-3450-6161 FAX 03-3450-6110  
名古屋営業所 〒452 名古屋市中区小田井5-20 犬飼北計ビル506号 TEL 052-504-5977 FAX 052-504-4603

## 顕微鏡用透明加温・冷却板(-25°C~250°C) PAT.P

**KITAZATO**

マイクロウォーム・プレート®  
Micro warm Plate

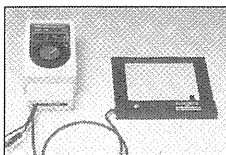
マイクロクール・プレート®  
Micro cool Plate

加温・冷却 兼用プレート®  
Micro warm-cool Plate

マイクロウォーム・プレートは、透明なガラス面全体が発熱体ですのでおらのない均一な表面温度を保ち、透明プレート面は設定した温度に自動制御されます。マイクロクール・プレートは、透明なプレート表面中央部の霜(曇り)を防止した状態で、電子冷却方式により設定した温度で自動制御されます。

両タイプ共に100ボルト電源のみで使用でき、しかも加温・冷却部表面積が広いので、微生物や細胞培養、一定温度でのマニピュレーター操作時等の生体試料の研究、観察や、半導体、セラミックス、紙、繊維、液晶、金属、複合材、バイオ、食品等の研究開発、品質管理に手軽にお使い頂ける画期的な顕微鏡用透明加温・冷却板です。

### マイクロウォーム・プレート



#### 精密タイプ

- DC-MP100M (精密タイプ標準型)
- DC-MP300M (精密タイプ中型)
- DC-MP1000M (精密タイプ大型)
- DC-MP3000M (精密タイプ大型)

#### 丸型タイプ

- ◆◆◆倒立顕微鏡用
- TC-MP100M

※対応顕微鏡種  
ニコン：ダイヤフォトTMD  
オリンパス：IMT2

### マイクロプレートタイプ

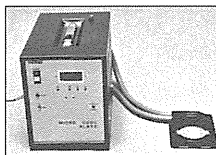
- 丸用タイプ◆◆◆室温~50°C
- MP100M (標準タイプ) 小型で取扱が容易 90mmシャーレー・マイクロプレートが置けます
- MP300DM (中型タイプ)
- MP1000DM (大型タイプ) ホットプレート代わりに
- MP300DM (大型・重量試料用)
- 高温タイプ◆◆◆室温~250°C
- MP300DMH (高温タイプ標準型)
- MP300DMH (高温タイプ大面積、強度アップ型)
- MP250DMSH (高温タイプ250°C)

#### 主要機種仕様抜粋

	型式	温度設定 (室温22°C)	温度精度 (°C/at37°C, 10°C)	プレート寸法 縦×横(%)	透明部寸法 縦×横(%)	ガラス厚 (%)	
MICRO WARM PLATE	丸用タイプ	MP-100M	室温~50	±0.5	128×145	84×106	1
	高温タイプ	MP-300DMH	室温~100	±1	173×225	130×130	1
		MP-250DMH	室温~250	±1	100×105	40×40	4
MICRO COOL PLATE	冷却タイプ	MC-10F	3~室温	±0.5	プレート形状図		2
		MC-100F	-25~室温	±1	参照		2
	加温・冷却	MD-10F	3~45	±0.5			2
	兼用タイプ	MD-100F	-25~45	±1			2

※仕様その他記載内容は予告なしに変更する場合がありますのでご了承下さい。

### マイクロクール・プレート



#### 冷却タイプ◆◆◆室温~-25°C

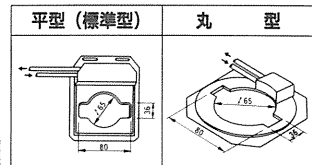
- MC-10F (冷却タイプ・平型)
- MC-10R (冷却タイプ・丸型)
- MC-100F (冷却タイプ・平型)
- MC-100R (冷却タイプ・丸型)

### 加温・冷却 兼用プレート

#### ◆◆◆45°C~-25°C

- MD-10F (加冷却タイプ・平型)
- MD-10R (加冷却タイプ・丸型)
- MD-100F (加冷却タイプ・平型)
- MD-100R (加冷却タイプ・丸型)

#### プレート形状図



※詳細カタログ・特殊品等のご要望は営業部宛にご相談下さい。

製 造：株式会社 北里サプライ  
発売元：株式会社 北里サプライ  
本社営業部 静岡県富士宮市三園平1429 〒418  
Tel.0544(27)8831 Fax.0544(27)6060  
東京出張所 Tel.03(3903)7410

# パッチクランプ / ホールセルクランプの 測定に威力を発揮!



細胞膜の研究に

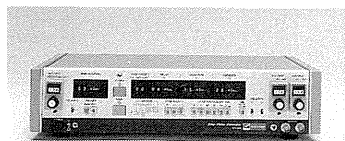
## パッチ/ホールセルクランプ用増幅器 CEZ-2400

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

- 同一プローブ内で50GΩ / 500MΩ の電流検出抵抗が切り換え可能。
- トランジェント補正完了時に、膜容量・シリーズ抵抗が測定可能。
- 4次ベッセルフィルタを内蔵、更にノイズの低減を実現。

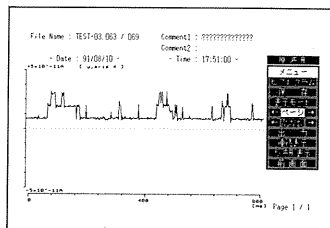
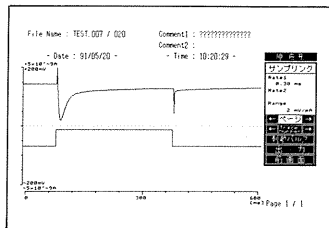
## ステップパルスジェネレータ SET-1201

高精度のパルス発生回路と、ステップ電圧発生回路を組み合わせ、パッチ/ホールセルクランプに必要なコマンド信号を高い精度で発生できます。



## パッチ/ホールセルクランプ用処理プログラム QP-120J

パッチクランプ法及びホールセルクランプ法により測定された微小イオン電流のデータを、パーソナルコンピュータ（PC-98シリーズ）を使用して、保存・解析するためのプログラムです。



J. Physiol. Soc. Japan Vol. 57, No. 2 (1995)

Original

EIICHI NAITO, MICHIKAZU MATSUMURA and SADAYOSHI TAGUCHI:

Movement-related potentials associated with motor inhibition  
 during different types of Stop Signal Paradigm in humans ..... 59

編集  
 兼  
 行人

金子章道

東京都文京区本郷三丁目一〇番七号  
 日本生理学会

印刷  
 所

山形県鶴岡市山王町一四二四  
 平岡印刷株式会社

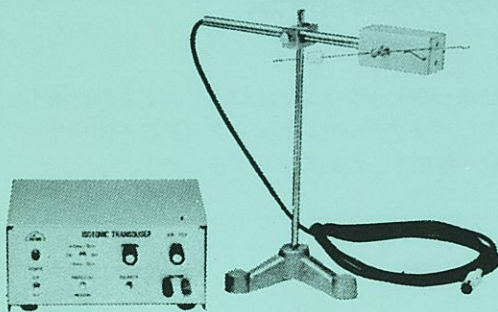
発行  
 所

東京都文京区本郷三丁目一〇番七号  
 日本生理学会

振F電  
 A  
 替X話  
 〇〇〇  
 一三三

三五三八  
 定〇六八一  
 価〇四五一  
 一八二一  
 千六五二  
 四三三二  
 円〇九四

# KN-259 生体用変位計 PAT.P



トランスジューサーと増幅器からなる、微小変位測定装置です。これまでキモグラフィオン・ヘーベルを用いて行っていた測定を電氣的測定におきかえることにより、取扱いの簡便さ、再現性および信頼性を高めました。

- |           |                                  |
|-----------|----------------------------------|
| 測定範囲      | 0~50mm (±25mm)<br>(中心軸より100mmの時) |
| 分解能       | 無限大                              |
| 最大摩擦トルク   | 50mg・cm以下                        |
| 直線性       | ±3%                              |
| 出力インピーダンス | 5KΩ以下                            |
| 校正器       | 10mm<br>極性切換スイッチ付                |

理化学器械・基礎医学器械・実験動物飼育機械器具・薬学研究器械・医科器械一般



株式会社 夏目製作所

〒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