

日本

# 生理学

雑誌

JOURNAL OF THE PHYSIOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

57巻

3号

1995

〔巻頭言〕 熊田 衛：INTEGRATIVE PHYSIOLOGY の未来 ..... 101

INFORMATION ..... 102

CALENDAR ..... 107

RECORDS ..... 108

PROFILE ..... 113

TRENDS ..... 114

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」

榎本浩一，古家喜四夫：カルシウム蛍光測光／パッチクランプ同時測定法 ..... 117

実験法

伊藤嘉邦，倉橋 隆，金子章道：薬物刺激用圧力制御装置 ..... 127

学会抄録

第27回東北生理談話会 ..... 135

第45回西日本生理学会 ..... 144



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 愛知県岡崎市赤渋町蔵西1-14  
ショーシンビル2F

TEL. 0564-54-1231

FAX. 0564-54-3207

EPC-9 東日本総発売元

(*Physio-Tech*)

株式会社 フィジオテック

〒101 東京都千代田区内神田3-10-3  
コイイダビル4F

TEL. 03-3258-1641

FAX. 03-3258-1657

## 目 次

|                                                      |     |
|------------------------------------------------------|-----|
| 〔巻頭言〕 INTEGRATIVE PHYSIOLOGY の未来 (熊田 衛) .....        | 101 |
| <b>INFORMATION</b>                                   |     |
| 日本学術振興会王子セミナー募集要項 .....                              | 102 |
| 公益信託 成茂神経科学研究助成基金 .....                              | 103 |
| 千里ライフサイエンス技術講習会第6回「Life Science における光学顕微鏡利用技術」 ..... | 103 |
| 千里ライフサイエンスセミナー『癌浸潤・転移』 .....                         | 104 |
| 1995ヤクルト国際シンポジウム (第9回) 開催のお知らせ .....                 | 105 |
| AFMC 国際医薬化学シンポジウム (AIMECS '95) .....                 | 105 |
| 第46回西日本生理学会 .....                                    | 106 |
| <b>CALENDAR</b>                                      |     |
| 主な学会開催日程 .....                                       | 107 |
| <b>RECORDS</b>                                       |     |
| 会員消息 .....                                           | 108 |
| 日本生理学会平成6年度第2回常任幹事会議事録 .....                         | 109 |
| <b>PROFILE</b>                                       |     |
| 「生理学者群像」(稲永清敏) .....                                 | 113 |
| <b>TRENDS</b>                                        |     |
| 生理科学における研究組織化とアジア諸国からの研究者受入れ問題について (岡田泰伸) ...        | 114 |
| <b>生理学実験技術法講座</b>                                    |     |
| シリーズ「パッチクランプ実験技術法講座」                                 |     |
| 榎本浩一, 古家喜四夫: カルシウム蛍光測光/パッチクランプ同時測定法 .....            | 117 |
| <b>実験法</b>                                           |     |
| 伊藤嘉邦, 倉橋 隆, 金子章道: 薬物刺激用圧力制御装置 .....                  | 127 |
| <b>学会抄録</b>                                          |     |
| 第27回東北生理談話会 .....                                    | 135 |
| 第45回西日本生理学会 .....                                    | 144 |

## 〔巻 頭 言〕

## INTEGRATIVE PHYSIOLOGY の未来

東京大学医学部生理学第2講座 熊 田 衛

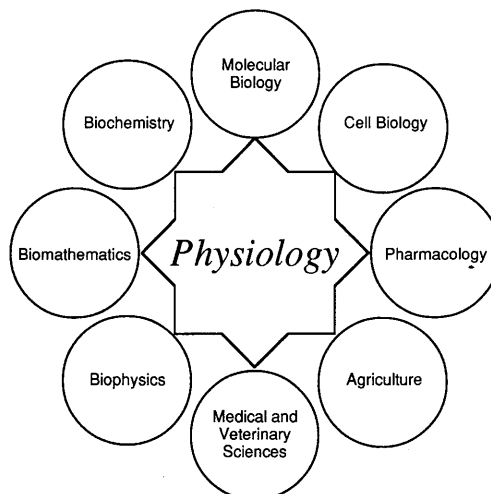
諸先輩や諸賢をさし置いて、巻頭言の執筆者として2番目に登場するのは気がひけますが、編集委員長のご指名により記します。

添付のロゴマークと“the basis of all biomedical disciplines”というコピー句は、生理学を紹介するために米国生理学会が用いているものです。生理学が生命科学の諸分野のクロスロードにあることを表現するとともに、橋渡しの役割が期待されているようにも見えます。

生理学は、分子・細胞レベルの生命現象を扱う molecular and cellular physiology と、高次レベルの現象を扱う integrative physiology に分極化しつつあるように思えます。時代の風向きは、明らかに前者に有利で、近い未来もこの傾向が続くでしょう。しかし、生理学に特有な領域はむしろ後者だと、かねがね考えています。とは申しても、いわゆる還元主義(reductionist approach)を採る前者に比べて、複雑系を対象とする後者は、研究効率、研究費獲得の競争力、研究者の雇用・昇進の機会などについて、きびしい状況にあることも現実でしょう。

それでは integrative physiology が生き残る方策は何でしょうか。異分野の人との共同研究とか、カオスの理論など情報科学の新しい技法を取り入れるなど、これこそ研究者が個性と独創性を発揮すべく創意工夫をしているところでしょう。

最近、ジーンターゲットングの技法を用いてエンドセリンの発現を抑制したマウスの、循環・呼吸・自律機能を調べる機会がありました。固体としてのマウスの生理機能を調べる人が世界的に少ないためでしょうか。自慢するほどのノウハウを持っているわけでもないのに、海外から、研修のための訪問者も機能評価のための特殊なマウスも受けることになりました。こんな小さなところにも integrative physiology が生命科学に貢献し、その存在意義をアピールする道があるようです。



## INFORMATION

### 日本学術振興会王子セミナー募集要項

— 平成8年度及び平成9年度開催 —

平成7年2月  
日本学術振興会

#### 1. 趣 旨

「王子セミナー」は、昭和48年王子製紙(現新王子製紙)、十條製紙(現日本製紙)、本州製紙の3社が、我が国洋紙製造100年を記念して、学術振興に寄与するため財団法人藤原科学財団に寄与した資金によって、昭和49年から日本学術振興会がその事業を同財団に代って行うことになったものである。

この事業を実施するため、本会は、セミナーの開催を希望する研究者から申請を受け付け、採択を決定したもののについて、開催に必要な経費を援助する。

#### 2. 応募資格

我が国の大学等学術研究機関に所属する常勤の研究者

#### 3. 対象分野

自然科学の全分野

#### 4. セミナーの要件

対象となるセミナーは、平成8年度(平成8年4月1日から同9年3月31日)又は平成9年度(平成9年4月1日から同10年3月31日)に開催するもので、次の各要件を満たしていること。

- (1) セミナーは、学問的に水準の高いものとし、そのテーマはなるべく基礎的なもので、関連分野の発展の契機となるようなものであること。
- (2) 参加者が、セミナー開催期間中起居を共にすることを原則とし、計画された講演・討論のほか、個人的な討論など自由な雰囲気での学問的な交流と人間的接触を深め、永続する協力の基盤を作るようなものであること。
- (3) 参加者は50人程度までとし、外国人研究者が相当数(参加者の5分の1以上)含まれるものであること。なお、アジア諸国からの若い専門研究者の参加並びに国内の優れた研究実績を有する若い専門研究者を奨励する。
- (4) セミナーの開催地は、日本国内であること。
- (5) セミナーの開催に必要な経費は、300万円～

1,000万円であること。

- (6) このセミナーの開催のための募金等は行わないものであること。

#### 5. 採択予定件数

|              |    |
|--------------|----|
| 平成8年度に開催するもの | 2件 |
| 平成9年度に開催するもの | 1件 |

#### 6. 本会が支給する経費

セミナー開催に直接必要な経費として本会が認めたもので、その費目は次のとおりとする。

##### (1) 会議準備費

会議準備費は、セミナー開催のために必要な国内旅費、印刷製本費、通信運搬費、会議費、賃金、消耗品費、雑役務費等とする。

##### (2) 国外参加者旅費

国外参加者旅費は、航空賃、滞在費及び必要な場合は交通費とし、次の基準により援助することができる。

- (ア) セミナー参加を特に要請する者については、旅費全額
- (イ) その他の参加者のうち必要な者については、旅費の一部

##### (3) 国内参加者旅費

国内参加者旅費は、交通費(出発地から開催地までの往復鉄道賃等)、日当及び宿泊料とし、次の基準により援助することができる。

- (ア) セミナー参加を特に要請する者については、旅費全額
- (イ) その他の参加者のうち必要な者については、旅費の一部

##### (4) 本会合経費

本会合経費は、セミナー開催期間中に必要な組織責任者等旅費、印刷製本費、通信運搬費、会議費、レセプション経費、賃金、消耗品費、雑役務費等とする。

#### 7. 申請の方法

王子セミナー開催希望者は、次の書類を所属機関長を経由して本会に提出すること。

王子セミナー申請書 原本1部とその写し4部(A4判使用のこと)

#### 8. 申請受付期間

平成7年5月1日～同年5月31日(必着)

#### 9. 選考及び通知

本会の王子セミナー委員会で審査のうえ、その結果を平成7年9月頃開催責任者ならびに機関長に通知する。

#### 10. 組織責任者とその義務

申請が採択された場合は、申請者が組織責任者となる。組織責任者は、セミナーを企画し、運営し、次の事項を処理するとともに本会との連絡に当る。

- (1) 実施計画書の提出
- (2) 実施報告書及び収支決算報告書の提出(セミナー終了後2カ月以内)

ナード終了後2カ月以内)

- (3) 準備から終了に至るセミナー開催に関するすべての事項

備考：セミナーが北海道苫小牧市で開催される場合には、会議場、宿舍などについて便宜をはかることができる。

#### 申請書提出先・連絡先

〒102 東京都千代田区紀尾井町6-26-3

上智紀尾井坂ビルB204

日本学術振興会事業課

電話(03)3263-1721(代)

セミナーの事前の準備期間の必要性にかんがみ、翌年度開催のセミナーのほか、翌々年度開催予定のセミナーについても申請を受け付けることとしています。

## 公益信託 成茂神経科学研究助成基金

### 1995年度助成先の募集について

当基金は、下記募集要項により助成先を募集しています。

#### 記

#### [募集要項]

##### 1. 助成対象

- (1) 神経科学の研究に対する研究費の補助、奨励金の交付。

助成金額：40万円程度

- (2) 神経科学に関する講演会・研究集会等の開催、外国学者の招聘又は論文発表、図書の刊行等に対する費用の補助。

助成金額：30万円程度

- (3) 神経科学に関する海外の学会に参加するための

渡航費の補助

助成金額：30万円程度

##### 2. 応募資格

- (1) 学部生・大学院生は、対象外とする。
- (2) 若手研究者を優先する。
- (3) 申込は、一人1対象項目とする。

##### 3. 応募期限 1995年5月末日

##### 4. 応募要項請求先

下記にハガキにて請求してください。

〒100 東京都千代田区丸の内1-4-5

三菱信託銀行本店営業部

資産運用相談室公益信託課

以上

## 千里ライフサイエンス技術講習会 第6回

### 「Life Science における光学顕微鏡利用技術」

日時 平成7年5月24日(水)午前10時～午後5時  
場所 千里ライフサイエンスセンタービル9階および10階  
(地下鉄御堂筋線千里中央駅北改札口すぐ)  
主催 財団法人千里ライフサイエンス振興財団

後援 浜松ホトニクス株式会社・株式会社ニコン  
協賛 株式会社千里ライフサイエンスセンター  
内容 1. 光学顕微鏡の基礎とビデオコントラスト増強法  
2. 細胞内カルシウムイオン濃度測定法

### 3. 膜電位の光学的多チャンネル同時測定法

講 師 大瀧達朗 (株式会社ニコン)  
片岡卓治・講内 毅 (浜松ホトニクス株式会社)  
定 員 約20名  
受 講 料 3,000円  
申込締切 平成7年5月10日(財団必着)  
申込方法 氏名, 勤務先, 所属, 役職, 所在地, 〒,

電話・FAX 番号を明記の上, 郵便または FAX で下記宛お申し込み下さい。受講料は参加決定後にご請求致します。

申 込 先 〒565 大阪府豊中市新千里東町1-4-2  
千里ライフサイエンスセンタービル8階  
(財)千里ライフサイエンス振興財団  
技術講習会係  
TEL(06)873-2001 FAX(06)873-2002

## 千里ライフサイエンスセミナー 『癌 浸 潤 ・ 転 移』

日 時 平成7年6月9日(金) 午前10時～午後5時  
場 所 千里ライフサイエンスセンタービル5階ライ  
フホール  
(大阪府豊中市新千里東町1丁目4番2号)  
(地下鉄御堂筋線千里中央駅北改札口すぐ)

主 催 (財)千里ライフサイエンス振興財団  
協 賛 (株)千里ライフサイエンスセンター  
コーディネータ  
京都大学医学部医化学教授 月田承一郎  
金沢大学がん研究所ウイルス部教授 清木元治  
プログラム

1. ヒトがんの浸潤・転移の病理と分子機構  
国立がんセンター研究所副所長 廣橋 説 雄
2. 転移における CD44, VLA インテグリンの役割  
—リセプター・リガンド対応と細胞内情報伝達—  
東京都臨床医学総合研究所研究員 反町 典子
3. マトリックスメタロプロテアーゼと浸潤・転移  
金沢大学がん研究所教授 清木元治
4. HGF による癌細胞の浸潤誘導と宿主・癌相互作用  
大阪大学医学部バイオメディカル  
教育研究センター教授 中村 敏一
5. ERM 蛋白質と細胞運動およびシグナル伝達  
京都大学医学部教授 月田承一郎

6. Rho 低分子量G蛋白質の機能と作用機構  
大阪大学医学部教授 高井 義美

受 講 料 (講演要旨集含む)  
会 員 (但し, 大学, 官公庁, 主催・協賛団体会員)  
: 6,000円  
非会員: 8,000円  
学 生: 3,000円  
定 員 200名

参加申込方法 ①氏名②所属(所在地, 電話・FAX 番号), 役職名を明記の上, 郵便または FAX で下記宛お申し込み下さい。参加費は住友銀行千里中央支店普通 No.128278 財団法人千里ライフサイエンス振興財団口座宛お振込下さい。なお, 振込の際振込者名の前に J1 とご記入下さい。ご送金確認次第, 領収書兼参加証を送付致します。

申 込 先 (財)千里ライフサイエンス振興財団 セミナー係  
〒565 大阪府豊中市新千里東町1丁目4番2号  
千里ライフサイエンスセンタービル8階  
TEL(06)873-2001 FAX(06)873-2002

## 1995ヤクルト国際シンポジウム（第9回）開催のお知らせ

開催日時：1995年5月25日(木) 午後1時～5時40分

場 所：ヤクルトホール（東京・新橋）

メ イ ン： “Mechanism for Learning and Memory”

テ ー マ 「学習と記憶のメカニズム」

オ ー ガ ナイザー：Eric R. Kandel (Columbia University)

エリック カンデル（コロンビア大学）

講師および演題

- (1) エリック カンデル（コロンビア大学）

Eric R. Kandel (Columbia University)

遺伝子、シナプス、そして長期記憶

“Genes, Synapses and Long-term Memory”

- (2) リチャード トンプソン（南カリフォルニア大学）

Richard F. Thompson (University of Southern California)

連合性学習と記憶の脳内機構

“Brain Substrates of Basic Associative Learning and Memory”

- (3) ラリー スクワイア（カリフォルニア大学）

Larry R. Squire (University of California, San Diego)

記憶の構造とその脳内システム

“The Organization of Memory and Brain Systems”

- (4) 利根川 進（マサチューセッツ工科大学）

Susumu Tonegawa (Massachusetts Institute of

Technology)

遺伝子ノックアウトマウスによる学習と記憶

メカニズムの解析

“Gene Knockout Mice for the Analysis of Learning and Memory Mechanism”

- (5) マシュー ウィルソン（マサチューセッツ工科大学）

Matthew A. Wilson (Massachusetts Institute of Technology)

海馬におけるアンサンブル記憶形成のダイナミックス

“Dynamics of Hippocampal Ensemble Memory Formation”

開催形態：主催（株）ヤクルト本社 一般公開

入場無料 同時通訳付

申込方法：官製葉書に住所、氏名、年齢、勤務先、電話番号を記入のうえ、5月12日(金)までにお申し込み下さい。

なお、満員の場合はお断りすることがあります。

（定員 574名）

申 込 先：〒105 東京都港区東新橋1-1-19

（株）ヤクルト本社 広報室

「国際シンポジウム係」

Tel 03-3574-8920

## AFMC 国際医薬化学シンポジウム(AIMECS '95)

1. 会期：1995年9月3日より8日までの6日間

2. 会場：京王プラザホテル（東京）

3. 開催機関

主 催：社団法人 日本薬学会

母体機関：アジア医薬化学連合

（加盟団体）：日本薬学会、日本化学会、日本農芸化学会、有機合成化学協会、日本農薬学会、韓国薬学会、韓国化学会、中国薬学会、中国製薬化学工業協会、オーストラリア化学会

参画：欧州医薬化学連合(EFMC)、アメリカ化学会医薬化学部会(USMC)

後援：IUPAC、厚生省、ヒューマンサイエン

ス振興財団、薬学研究奨励財団

4. シンポジウムプログラム

特別講演：8題

演者：Nissim C. Cohen, Yutaka Mizusima, Shigetada Nakanishi, Kyriacos C. Nicolaou, Satoshi Omura, Pierre Potier, Kenneth L. Rinehart, Gregor Schulz

招待講演：以下の13のセッションに30数名

1. Chemistry for Pharmaceutical
2. Traditional Medicine
3. Molecular Diversity (organized by USMC)
4. Computer-assisted Drug Design

5. Endogeneous Substances
6. Receptors : Structure and Function
7. Enzyme Inhibitors (organized by EFMC)
8. Drug Metabolism and Toxicology
9. Drug Delivery
10. Glycobiology and Glycotechnology
11. Biomaterials, Biomimetics and Medicinal Bioengineering
12. Regulatory Affairs

13. Topics from Industry
- ポスターセッション：上記13セッションの関連内容  
での一般応募  
応募締め切り：1995年4月1日
5. シンポジウム事務局(お問い合わせ先)：  
〒199-01  
神奈川県相模湖 帝京大学薬学部 池上 四郎  
(tel) 0426-85-0161  
(fax) 0426-85-1870

## 第 46 回 西 日 本 生 理 学 会

1. 大会期日：1995年10月20日(金), 21日(土)
2. 場 所：熊本市産業文化会館  
熊本市花畑町7-10  
TEL (096) 325-2311
3. 当番幹事：熊本大学医学部  
第一生理学教室 志 賀 潔  
第二生理学教室 小 川 尚
4. 連 絡 先：熊本大学医学部  
第一生理学教室 志 賀 潔  
TEL (096) 373-5050  
FAX (096) 372-6140

## CALENDAR

### 主 な 学 会 開 催 日 程

| 開 催 日<br>(演題締切)           | 名 称                                                                                             | 会 場                                           | 連 絡 先                                                                                        |
|---------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|
| 95. 4. 1- 2               | 第2回日英合同生理学会<br>名古屋シンポジウム                                                                        | 名古屋：名大                                        | 名大 富田・曾我部 ☎052-741-2111<br>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<br>☎052-732-6622 名大 共済会館内                                                      |
| 95. 5.10-12               | 心血管系細胞機能調節の分子<br>及び細胞内機序に関する国際<br>シンポジウム                                                        | 仙台：仙台市戦災復興記<br>念館                             | 山形大 薬理・遠藤政夫<br>☎0236-33-1116 F A X : 0236-25-2039                                            |
| 95. 5.15-17               | NEURODEGENERATIVE DISEASES '95<br>MOLECULAR & CELLULAR MECHANISMS,<br>& THERAPEUTIC ADVANCES    | WASHINGTON, D. C. :<br>George Washington Univ |                                                                                              |
| 95. 5.24<br>(95. 5.10)    | 千里ライフサイエンス技術講習 第6回<br>「Life Science における<br>光学的顕微鏡利用」                                           | 豊中：千里ライフ<br>サイエンスセンタービル                       | 千里ライフサイエンス振興団 技術講習<br>☎06-873-2001 F A X : 06-873-2002                                       |
| 95. 5.25<br>(95. 5.12)    | 1995ヤクルト国際シンポジウム(第9回)<br>「学習と記憶のメカニズム」                                                          | 東京：ヤクルトホール                                    | ヤクルト本社 広報室「シンポジウム係」<br>☎033574-8920                                                          |
| 95. 6. 9                  | 千里ライフサイエンスセミナー<br>「癌 浸 潤 ・ 転 移」                                                                 | 豊中：千里ライフ<br>サイエンスセンタービル                       | 千里ライフサイエンス振興団 セミナー係<br>☎06-873-2001 F A X : 06-873-2002                                      |
| 95. 6.25-30               | 第11回国際事象関連電位会議                                                                                  | 沖縄：<br>LAGUNA GARDEN HOTEL                    | PMSI JAPAN(株)<br>☎03-5275-6991 F A X : 03-5275-6994                                          |
| 95. 6.26-30               | 1st International Conference on Func-<br>tional Mapping of the Human Brain                      | パリ                                            | 東北大 加齢医学研・福田 寛<br>☎                                                                          |
| 95. 7. 2- 7               | 15TH BIENNIAL MEETING OF THE<br>INTERNATIONAL SOCIETY FOR<br>NEUROCHEMISTRY                     | 京都：国立京都国際会館                                   | JTB<br>☎075-341-1618 F A X : 075-341-1917                                                    |
| 95. 7. 9-14               | 4th IBRO World Congress of<br>Neuroscience                                                      | 京都：国立京都国際会館                                   | 理研 フロンティア・伊藤正男<br>☎0484-62-1111(6421)                                                        |
| 95. 9. 3- 6               | 11th ECTRIMS Congress-European<br>Committee for Treatment and<br>Research in Multiple Sclerosis | ISRAEL: Laromme Hotel,<br>Jerusalem           | SECRETARIAT: P. O. BOX 50006, TEL<br>AVIV 61500, ISRAEL ☎972-3-5140014<br>FAX: 972-3-5175674 |
| 95. 9. 3- 8               | AMFC 国際医薬化学シンポジウム<br>(AIMECS '95)                                                               | 東京：京王プラザホテル                                   | 帝京大 医・池上四郎<br>☎0426-85-0161 F A X : 0426-85-1870                                             |
| 95.10.10-12               | 第6回国際脳電磁図トポグラ<br>フィー会議                                                                          | 徳島：                                           | 徳島大 医 脳神経外科・松本哲蔵<br>☎0886-31-3111                                                            |
| 95.10.12-13<br>(95. 7.15) | 第10回精神研国際シンポジウ<br>ム                                                                             | 東京：アルカディア市ケ<br>谷                              | 都精神研 精神生理・橋本 勲<br>☎03-3304-5701 F A X : 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<br>☎075-751-3111                                                              |
| 95.10.20-21               | 第46回西日本生理学会                                                                                     | 熊本：熊本市産業文化会<br>館                              | 熊本大 医 生理・志賀潔, 小川尚<br>☎096-373-5050 F A X : 096-372-6140                                      |
| 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<br>☎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

### <転勤・異動>

| 氏 名     | 勤 務 先 名            | 勤務先TEL・FAX                      |
|---------|--------------------|---------------------------------|
| 石 川 巧 一 | 群馬大学生体調節研究所        | 0272-31-7221(2717)              |
| 乾 公 美   | 札幌医科大学保健医療学部       | 011-611-2111                    |
| 老 木 成 稔 | 生理学研究所             | 075-753-4357・075-753-4359       |
| 片 倉 伸 郎 | 東京医科歯科大学歯学部生理      | 03-3813-6111(5122)・03-3813-2254 |
| 北 村 憲 司 | 福岡歯科大学歯科薬理学        | 092-801-0411・092-801-4909       |
| 小 林 啓 三 | 国際武道大学体育学部         | 03-3433-1111                    |
| 後 藤 秀 機 | 創価大学工学部            | 0426-91-9400                    |
| 佐 藤 斎   | 東京医科大学第二生理         | 03-3351-6141(323)・03-3351-6544  |
| 田 辺 豊   | 横浜南共済病院脳神経外科       |                                 |
| 中 垣 育 子 | 兵庫医科大学第一生理         | 0798-45-6398・0798-45-6398       |
| 成 瀬 達   | 名古屋大学医学部第二内科       | 0564-55-7737・0564-52-7913       |
| 西 野 卓   | 千葉大学医学部麻酔科         |                                 |
| 早 野 尚 志 | 福井心臓血管センター 福井循環器病院 |                                 |
| 森 山 朝 正 | 筑波技術短期大学           | 0298-58-9542・0298-58-9549       |
| 八 尾 寛   | 東北大学医学部病態生体情報      | 022-274-1111                    |
| 山 中 康 久 | 松戸市立病院耳鼻咽喉科学       |                                 |
| 渡 辺 浩 一 | 日清製粉(株)臨床開発室       |                                 |

### <物 故 者>

| 氏 名     | 職 名         |             |
|---------|-------------|-------------|
| 松 井 喜 三 | 東京教育大学 名誉教授 | 平成7年1月6日逝去  |
| 吉 岡 利 治 |             | 平成7年1月13日逝去 |

## 日本生理学会平成6年度第2回常任幹事会議事録

日 時：平成6年10月29日(土) 午後1時～5時

会 場：東京大学山上会館

出席者：加藤正道、薮 英世、佐藤 誠、西山明德、伊藤正男、小澤  
 澨司、中島祥夫、中野昭一、植村慶一、金子章道、熊田 衛、  
 栗原 敏、佐藤昭夫、高橋國太郎、本郷利憲、小野武年、熊  
 沢孝朗、富田忠雄、津本忠治、福田 淳、藤本 守、菅野義  
 信、島瀬 修、有田 眞、久場健司、堀 哲郎、曾我部正博  
 (次回当番幹事)、渡邊 悟(次回当番幹事)、菅野富夫(日英  
 合同生理学会当番幹事)

欠席者：工藤典雄、入来正躬、永坂鉄夫、森本武利、

議 長：本郷利憲(庶務幹事)

### 〈報告〉

1. 庶務報告(本郷庶務幹事)：会員について、平成6年1月～9月の期間の入会196名、退会88名、自然消滅107名、現在の会員総数3,723名(一般会員3,459名、特別会員33名、名誉会員2名、準会員195名、寄贈交換34件)であることが報告された。

本年逝去された評議員伊藤秀三郎氏、小林龍男氏に対し追悼の辞が述べられた。

日本学術会議第16期会員に伊藤正男幹事が当選し、日本学術会議会長に就任したこと、IUPS 教育コミッション委員に栗原 敏幹事(教育委員会委員長)を推薦し承認されたこと、第21回日産科学振興財団学術研究助成の推薦について、一般研究の推薦枠2件のところ6件の応募があり、賞選考委員会で選考した結果、森田啓之(香川大)氏、山下勝幸(大阪大)を推薦したことが報告された。

日本物理学会講習会「脳・心・コンピュータ」(1994.7)、日本電子顕微鏡学会第5回サマースクール(1994.8)、第10回睡眠環境シンポジウム(1994.9)、日本バイオイメージング学会学術集会(1994.10)、第9回「大学と科学」公開シンポジウム、理化学研究所第17回科学講演会並びに「情報処理研究グループ」発足記念学術シンポジウム(1994.10)、第15回バイオメカニズム学術講演会(1994.10)、第9回生体・生理工学シンポジウム(1994.11)、バイオメディカル・ファジィ・システム学会第7回年次大会(1994.12)、第18回人間－生活工学サミット(1995.2)、第3回アジア・パシフィック インテリジェント材料ワークショップ及び第4回インテリジェント材料シンポジウム(1995.3)、第2回アジア学術会議－科学者フォーラム(1995.2)の協賛または後援要請に対応諾した旨報告された。

第2回日英合同生理学会の協賛を、日本解剖学会、日本生物物理学会、日本生化学会、日本薬理学会、日本神経科学会、日本病態生理学会、日本医師会、日本薬学会、日本獣医学会、日本自律神経学会、日本平滑筋学会、日本生気象学会、日本疼痛学会、日本胸部疾患学会、日本航空宇宙環境医学会に依頼し、応諾された旨報告された。

第73回日本生理学会大会(福井医大)は平成8年4月3日(木)から5日(金)にわたって開催の予定である旨報告された。

IUPS 名簿について、IUPS より前回同様 FASEB から発行する予定であり、名簿の項目について意見を求める旨の連絡があったので、分野の分類の変更を要望して現行の当学会の分類に近い案を提案した。しかしその後 FASEB が送ってきた名簿項目では分類は直されておらず、已むなくそれに従ってデータを打ち込み返送する旨報告された。

国際交流委員会委員のうち「常任幹事が指名する者5名以内」に、入来 正躬幹事、熊田 衛幹事、藤本 守幹事、西 彰五郎氏、広重 力氏が推薦され、追認された。

2. 会計報告(熊田会計幹事)：平成6年1月～9月の会計中間報告がなされ、了承された。来年度から実施される会費の自動引落しの申込者は現在約600名であることが報告され、なるべく多くの会員が自動引き落としを申し込むよう協力して欲しいとの要望がなされた。

3. 日本生理学雑誌編集報告(金子編集幹事)：編集委員の内野善生氏から中島祥夫氏に交代すること、日本生理学雑誌の編集は、現在11号まで終了していること、教育委員会の協力を得て現在生理学実験技術講座を連載中であること、新たに CALENDAR の欄を設け

たことが報告された。

これまで8・9号は生理学会大会号として大会演題目次を掲載してきたが、JJPのsupplementと内容が重複するため、来年度から8・9号は大会当番幹事の次の大会への申し送りなどの記事、記念写真等のほかは通常の号として発行すること、PROFILE欄に自他問わず推薦して欲しいこと、生理学研究所を中心として行われている科研費「創成的基礎研究」の成果(総説集)を日本生理学雑誌のサプルメントとして刊行する予定であること、57巻から巻頭言のようなページを設けて生理学あるいは生理学会の将来像等について常任幹事はじめ会員のコメントを掲載していきたい旨報告された。

また日誌を印刷している鶴岡印刷でも電算化が進んできているので、地方会の抄録はフロッピーディスクで集めて欲しい旨要望された。

地方会の抄録に関し、フォーマットがはっきりしていないとの意見があり、今後投稿規定の見直しを行っていくことで了承された。また、地方会は地方によってやり方が様々なので、短くてよいから参加人数、スタイル等の記事を抄録と一緒に掲載してはどうかとの意見が出され、今後地方会の幹事に原稿を依頼することになった。

4. JJP編集委員会報告(金子委員長): 現在44巻4号まで発行し、5号およびSupplementの編集作業が終了していること、及び論文の投稿状況が報告された。ここ1年間の論文の採択率が55%と低く、印刷された頁数が現在受けている文部省補助金の規定に達しない懸念があるので、採択率を上げるため優れた論文が投稿されるようご協力して欲しい旨述べられた。査読を外国人に依頼することもあるので査読の報告用紙を英文用に変更したこと、来年から査読者から報告書だけを返送してもらうこととし、その際FAXでも受け付けることにした旨報告された。また採択された論文はなるべくフロッピーディスクで投稿するよう著者に要望する旨述べられた。名古屋での大会の英文抄録は通常通りSupplementとして発行するが、日英合同生理学会の抄録は通常号に組み込む予定で検討していることが報告された。

5. 選挙管理委員会報告(佐藤委員長): 平成7年度文部省科学研究費審査委員候補者について、選挙の結果、第一段審査委員候補者、生理学一般: 赤池紀生・有田 眞・大地陸男・北里 宏・志賀 健・菅 弘之、環境生理学: 入来正躬・本間研一、神経筋肉生理

学: 小澤澗司・工藤典雄・津本忠治・外山敬介(50音順)の各氏が選出され、第二段審査委員候補者の推薦は求められなかった旨報告された。

6. 研究費委員会報告(佐藤委員長): 科研費細目のキーワードの改訂案を学術会議の生理研連に提案したが、今年が学術会議第4常置委員会の改選の年に当たっていたため、見直しがなされなかったと報告された。本年作成された改訂案は来年再提出されることで了承された。本年度の文部省科研費予算は824億円で12%上昇したことが報告された。

7. 教育委員会報告(栗原委員長): 「生理学実験技術法講座」について現在日本生理学雑誌に「パッチクランプ法」を連載中であるが、引き続き「細胞内カルシウム測定法」を掲載する予定であること、本年度の生理学研究所生命科学実験技術トレーニングコースは8月に実施され、53名(内生理学会員22名)の参加があったこと、第72回日本生理学会大会時に教育講演会を行う予定であること、現在、来年3月末刊行を目指し「MCQによる生理学問題集」の編集を行っていること、IUPS生理学教育に関するコミッションのSomjen委員長より、各大学の生理学教育の現状に関するアンケート調査の依頼があり、教育委員会の全委員から回答する予定であること、第72回日本生理学会大会時に生理学教育におけるパーソナルコンピュータ利用の展示を行い、各教室で開発された生理学教育に関するソフトを相互利用のための情報交換を行いたい旨名古屋大学水村助教授より申し出があり、教育委員会としては共催の方向で検討したいと報告された。

8. 生理学用語委員会報告(植村委員長): 「生理学用語集」の出版社を前回と同じ南江堂に決定したこと、内容の形式は和文(カタカナ)-対応外国語(英, 独, 仏)-簡単な説明を基本とし、外国語-和文の索引をつけること、各編集庶務委員の分担分野を決定し、さらに各分野の専門委員(37名)を委嘱する予定であること、各分野別に作成されたデータベースは編集庶務委員会で全体的な編集を行う予定であることが報告された。周辺領域のどのあたりの用語まで含めるかに関して意見が出され、今後委員会において充分考慮の上検討して行くが、意見・要望があれば委員会へ提出して欲しい旨述べられた。

9. 国際交流委員会報告(伊藤委員長): 名誉会員について、選考の基準や手続きを明確にして学会内で周知徹底させ、現在2名の名誉会員を20名程度を限度として増員すること、国際交流活動の資金の調達方法と

して賛助会員制度を設けることを委員会から提案したい旨述べられ、議題として取り上げられることとなった。

10. 日本学術会議第7部生理科学研究連絡委員会報告(伊藤委員長):日本学術会議第16期生理学研究連絡委員会について、研究連絡委員会委員の任期に関する内規の改正により、原則として3期9年を限度とする事になったこと、16期においては女性委員を極力登用するよう要請があったことを踏まえ、伊藤正男、入来正躬、岡田泰伸、金子章道、貴邑富久子、玄番史恵、佐藤昭夫、永坂鉄夫、福田康一郎、本郷利憲、本間生夫、細見弘の12氏で委員会を編成することとし、現在手続中である旨報告された。

11. 国際生理科学連合報告(伊藤 IUPS 会長):本年5月15~17日サント・ペテルスブルグにおいてIUPS 執行委員会及び1997年 IUPS 大会組織委員会の合同会議が開催され、大会のプログラム委員長にロシアのシモノフ教授、副委員長に米国のシュルツ教授が決定したこと、日本からは佐々木和夫氏がプログラム委員になったこと、大会の会場が未定で現在検討が続いていること、平成7年5月にサント・ペテルスブルグにおいてIUPS 理事会及び1997年大会組織委員会およびその合同会議が行われる予定であること、IUPS の倫理委員会とユネスコと共催で「Physiology & Respect of Life」のシンポジウムが1995年9月にパリで行われること、IUPS の賛助会員制度を作り、現在15件の参加があることが報告された。

12. アジア大洋州生理科学連合報告(伊藤 FAOPS 会長):本年11月7~10日上海に於いて開催される第3回 FAOPS 大会の演題数は453題、内249題が外国から、残りは中国からであること、理事会は11月6日、総会は8日に開かれ、総会の議題には役員の指名、名誉会員についての会則改正、第5回大会候補地の選定(次期第4回大会はシドニー)、3年間の活動計画などが含まれ、学会の派遣代表5名が投票権を行使することが報告された。

13. 第72回日本生理学会大会の準備状況について(熊澤当番幹事):3月30~31日に名古屋大学東山キャンパス内の豊田講堂、シンポジオン及び、理学部の教室で行うこと、日英合同シンポジウムとの兼ね合いからシンポジウムは行わないこと、日程の都合でグループディナーは行わないこと、30日に総会を行い、その後レセプションを計画していること、特別講演として外国人研究者によるレビュー的なレクチャーを計画し

ていること、テニス大会、「生理学教育におけるパーソナルコンピュータ」のデモンストレーションを計画していること、常任幹事会および各種委員会は3月29日に行うこと、これらについては日生誌7号、10号に掲載されていることが報告された。

14. 第2回日英合同シンポジウムの準備状況報告(富田・菅野 Meeting Secretary):平成7年3月27~28日に岡崎の生理研で、4月1~2日に名古屋大学東山キャンパスで行うこと、申込用紙を含んだパンフレットを配布していること、招待されていない英国人若手も岡崎シンポジウムに参加できるようにして欲しいと英国側から要望され、それに応えるよう計画を変更したこと、参加人数は予想よりも大幅に増えそうなこと、名古屋シンポジウムは、12セッションがほぼ独立して運営されること、各セッションとも招待者6名分の費用は中央で負担する予定であること、経費の面でなお努力が必要であることなどが報告された。

15. 日本医学会総会報告(富田医学会評議員):富田幹事より医学会総会のパンフレットが配布され、なるべく多くの人が登録するように協力して欲しい旨要望された。

#### 〈議題〉

1. 前回議事録の承認:前回の議事録が示され、承認された。

2. 特別会員の推薦について:望月政司氏及び中馬一郎氏の推薦書が提出され、加藤幹事、福田幹事からそれぞれ推薦の辞が述べられた。審議の結果、次の総会で両氏を特別会員に推薦することが了承された。

3. 名誉会員について:伊藤幹事より国際交流委員会の提案として、生理学上顕著な業績があつて日本生理学会に大きな貢献をされた方を名誉会員とし、総数20名程度を上限とする、分野・地域が過度に片寄らないようにする、JJPを無料で送る程度のサービスをする、選考の手続きとしては、推薦された候補者について国際交流委員会が予備審査を行い、常任幹事会で審議して総会に諮る、以上の方針で名誉会員を決めて行つてはどうかとの提案がなされた。名誉会員の定義、名称、特別会員との関係等さまざまな面から議論された結果、会則は変えずに提案どおり運用することで了承された。

4. 賛助会員について:伊藤幹事より、国際関係の出費が必要とき対応しやすくするため、賛助会員の制度を設けてはどうかとの提案があつた。議論の結

果、賛助会員を設けることが承認され、その具体的な内容は案ができた段階で常任幹事会で審議されることとなった。

5. JJP の今後の運営について：金子編集幹事より、平成4年度の常任幹事会の決定に従って、検討委員会(金子、伊藤、熊田、酒井、本郷)で JJP を刊行する出版社について学会誌刊行センターおよび外国の3出版社を対象に検討してきた。購読料、出版費用、英文校閲、編集・事務作業に対する支援体制および経費、補助金の取扱い等さまざまな条件が検討された結果、委員会としては、外国の出版社の場合長期的に購読料を安定に保てるか不安が残る、近年どの雑誌も販売が低迷していて外国の出版社に変わっても販売部数増は必ずしも期待できない、国際的な評価を高めるには出版社のイメージより内容の充実が大切である、外国の出版社の場合編集・刊行事務の支援が得られず、学会側とくに委員長の負担が過大になる等の理由から、現時点では外国出版社を検討することを凍結し、種々の改善を求めつつ今後も学会誌刊行センターで出版して行きたいと提案され、了承された。雑誌のタイトルの JAPANESE はとるのかどうか、JJP と日本生理学雑誌を一緒にして発行するかどうか等についても意見が交わされた。日生誌と JJP の関係をどうするかは重要な課題であり、「日本生理学雑誌は主として会員への情報提供・交換の場とし、JJP は原著論文の発表の場とする」という考え(金子編集幹事：日生誌55巻5号)に対し多く意見が寄せられることが要望され、今後も両編集委員会及び常任幹事会で検討していくことが合意された。

6. 会則の変更について：加藤会則委員会委員長より、現在会則の中に会費の金額が記述されているが、

会費を改訂するときその都度会則を変更していくのか、あるいは金額の記述は会則から除いて会費の変更の度に会則を改正しなくてすむようにするか、審議して欲しい旨申し出があった。討議の結果、会費の決定は総会の承認事項であることを記述し、会費の金額は会則の本文とは別に記す方向で、会則委員会が次回までに会則の改正案を作成することになった。事務所の所在地の記述も本文から除いた方がよいのではとの意見も出され、同様に検討されることになった。

7. 女性会員よりの要望について：本郷庶務幹事より、女性会員から、女性の生理学者の研究環境等の改善につながるよう努めたいので、生理学会としても協力して欲しいとの要望が寄せられた旨報告された。次回までに3人の専任幹事が要望の具体的内容を詳しく聞くことになった。

8. 常任幹事会の地区配分数について：前回に引き続き、評議員数に対する常任幹事の数が中国四国地区で他の地区に比して少ないことと関連して、常任幹事の地区配分数について審議された。本郷庶務幹事から昭和32年以降の常任幹事の定員数の変遷について説明された後議論がなされ、その結果、定員が30名になってから10年が経過し、その間に会員数・評議員数共に増加していることを勘案し、また地区別の案分比を重視して、中国四国地区を1名増員し3名とすることが了承された。この結果常任幹事の総定員は31名となる。

9. 平成7年度第2回常任幹事会の日程について：年々会場の予約が困難になってきているので、10月中旬から11月中旬頃にかけて開催することとし、事務局で早めに日を決めて各幹事に通知することが了承された。

## PROFILE

### 「生理学者群像」

## 稲 永 清 敏 君

九州歯科大学生理学講座教授  
平成6年8月1日就任



#### ①現在の研究内容

下垂体後葉ホルモン特に抗利尿ホルモン放出に関する中枢性調節機序について研究を行なっている。実験は主としてラット視床下部スライス標本を用い、神経分泌ニューロンの存在する視索上核および室傍核よりパッチクランプあるいは細胞内記録法で記録を行ない、膜電位や膜電流の変化を指標にしてニューロンの化学的および物理的刺激に対する感受性を検索している。

#### ②将来の研究活動の抱負

中枢性体液調節について、現在まで行なってきたインビトロの研究にインビボの研究を加え包括的に検索したいと考えている。動物の体液は、言うまでもなく飲水行動によって摂取された水によってその大部分が賄われている。水を飲みたいという願望は口腔内の乾きという感覚からおこり、飲水行動によって終結するがこれがどのような機序によって発現し終止するのか神経生理学的には未解決の問題が多く残っている。口腔内の乾き感覚受容から、飲水行動発現・終止に至る

までのメカニズムに焦点をあて研究することを予定している。

#### ③生理学教育に対する意見

15年間医学部での教育に携わってきて歯科大学に着任して感じたことは、歯学部と学生諸君の持つ生理学という学問に対する捉え方が医学部の学生と異なっているということである。興味の対象が、口腔を中心とした分野に集中することは当然のことだと思うが、ヒトの生理機能を広く理解させ、口腔生理学の理解に役立てるようにしたいと考えている。

また、九州歯科大学でも平成3年の大学設置基準の大幅改革による新カリキュラムが昨年よりすでにスタートしている。昨今の医学の進歩に伴い学生の学すべき事が膨大になってきているが、生理学の講義および実習時間が減少することになっており少ない時間数で内容のある講義をする必要に迫られている。このためには断片的な知識を教えるのではなく、できるだけ有機的な繋がりをもった講義を心掛けなければならないと考えている。

## 生理科学における研究組織化とアジア諸国からの研究者受入れ問題について

生理学研究所・機能協関部門 岡田 泰伸

アジア地域諸国の若い研究者のわが国への留学を望む声は年々大きくなっている。昨年11月に上海で行なわれた第3回「アジア・オセアニア生理科学会議」の“研究組織シンポジウム”において話をする機会が与えられ、そのために入手できる資料の調査・検討を行った。その中で感じた問題点の一部を、資料が古くならぬうちにまとめてみることにした。

生理科学の目的は、生命体の仕組みとその原理を明らかにすることにある。そのためには生命体を構成するシステム・組織・分子についてその機能のみならず、メカニズムについても明らかにすることにある。その意味では、生命科学へ革新をもたらした分子生物学や細胞生物学の飛躍的展開は、生理科学にとってはあくまで豊富な基礎情報を与えるものである。生理科学者はその研究目的の達成のために、種々の最新技術を駆使しつつ分析論的に研究を行うのみならず、統合論的にもこれを行おうとする。従って、生理科学研究組織がカバーしなければならない研究方法やアプローチは多岐にわたらざるを得ない。

大多数の生理学研究室のユニットは、いわゆるパーマナントポストについた二、三名の研究者を軸に構成される「講座制」的小組織を基本にしている。欧米で切り拓かれた新しい研究方向に沿って、既に確立した方法を用いつつ研究を進め、先進国に追いつこうとしていくには、これはとても良い組織体制であったように思われる。しかし、複数の最新の技術を用いて新しい研究方向を切り拓いていかなければならない今、この研究組織にはあまりにも柔軟性が欠けている。必要な時に一定期間、異なった研究技術と研究背景を持った人材を、リクルートしながら組織化しうる新しい体制が必要である。ポストドク制度と外国人研究者受入れの問題をその視点から真剣に考えるべき時期にある。

わが国の国内研究者に対するポストドク制度としては、日本学術振興会(JSPS)の「特別研究員」制度が唯一のものである。これを受けると月額278,000円のサラリーと年150万円以下の科学研究費補助金が2年間支給されることになるので、その条件はとてもよい。

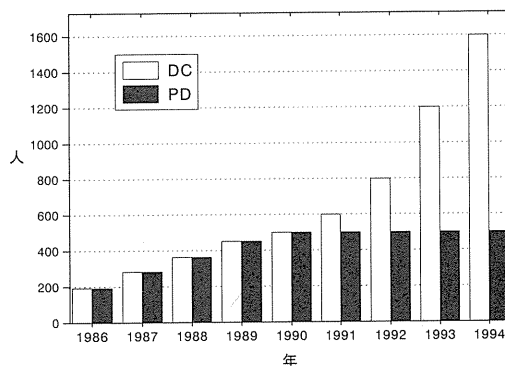


図1. JSPS「特別研究員」の定員の年次変化。白：ドクターコース(DC)学生向け。黒：ポストドク(PD)向け

しかしその枠は、人文、社会、自然科学全分野に対して年間500名にすぎない。しかも、大学院博士課程学生向けの「特別研究員」(図1:DC)の定員は毎年増えているのに対して、ポストドク定員(図1:PD)はここ数年間全く増員されていない。

外国人研究者に対するポストドク制度としては、文部省管轄の大学・研究所への1年間のみの受入れを行うJSPSの「外国人特別研究員」制度(文献1参照)と、科学技術庁(STA)管轄の研究機関への6ヶ月から2年間の受入れを行う「STAフェローシップ」の二つが

表1. JSPS 外国人特別研究員受入れ人数

|         | 1991年 | 1992年 | 1993年 |
|---------|-------|-------|-------|
| 計       | 278   | 320   | 351   |
| 内訳      |       |       |       |
| アジア諸国*  | 15    | 55    | 88    |
| 太平洋諸国   | 11    | 9     | 12    |
| アフリカ諸国  | 1     | 0     | 0     |
| ヨーロッパ諸国 | 165   | 184   | 187   |
| 北米諸国    | 86    | 72    | 64    |
| 中南米諸国   | 0     | 0     | 0     |

\*1993年のインド出身6名をのぞき全員中国・韓国出身でいずれの年度も東南アジアからは0名。

官的なものである。その経済的支援条件は JSPS の「特別研究員」には準ずるので悪いものではないが、いずれもその定員は200—300名と極めて少ない。しかも、表1から明らかなように JSPS の「外国人特別研究員」のここ3年間の受入れは欧米中心であり、最近中国や韓国からも増えつつあるが東南アジアからは無い状態であった。外国人研究者の日本での研究生活を3ヶ月から1年間支援する民間の財団は約10ある(表2)。いずれも定員数も支援額も多くはないが、(特にアジア諸国からの研究者の)官的受け皿の貴重な補いの役割を果たしている(文献2参照)。

このように、わが国においては国内研究者に対しても外国人研究者に対してもポスドクとしての受け皿は数も極めて少なく、期間も(大きな仕事を一つまとめるには2—3年かかることを考えると)短い。生理科学研究の健全な展開と挑戦的課題の遂行には、必要に応じてのマンパワーと技術の exchange が不可欠である。そのためには、2年以上から数年にわたるポスドク定員を桁はずれに増やす必要がある。しかも、それは必要な所で必要な期間研究できるという横への流動性と、数年のスパンで国は問わずにパーマネントポストへ着いて行くという縦への流動性が確保されたものでなければならない。そのためには、(従来の講座制的硬直性や「助手」という名称はよくないのは事実だが)パーマネントポスト数を減らす方向は好ましいものではない。今、アジア諸国からのポスドク研究者の受入れは、マンパワーの exchange とはなっても技術の exchange にはなり得ないという問題もあるが、国内研究者のポスドクを介してのリクルート化が平行して行われればそれは解決しうることである。また、「実験技術トレーニング・コース」の充実化などの方策も解決の一助になるだろう。

表2. 外国人(カッコ内はアジア太平洋諸国からの)研究者の受入れを行う民間財団例

|                 | 1991年    | 1992年    | 1993年    |
|-----------------|----------|----------|----------|
| 300万—100万円      |          |          |          |
| A <sup>1)</sup> | 120(120) | 120(120) | 120(120) |
| B               | 9( 5)    | 17( 12)  | 5( 4)    |
| C               | 4( 3)    | 6( 5)    | 5( 4)    |
| D               | —        | —        | 10( 5)   |
| E <sup>2)</sup> | —        | 6( 3)    | 7( 4)    |
| 100万—50万円       |          |          |          |
| F               | 8( 8)    | 24( 24)  | 44( 42)  |
| G               | 2( 0)    | 1( 0)    | 2( 0)    |
| 50万—25万円        |          |          |          |
| H               | 25( 3)   | 21( 3)   | 24( 4)   |
| I               | 6( 2)    | 15( 1)   | 13( 1)   |
| J               | 4( 0)    | 7( 6)    | 6( 4)    |
| K               | 1( 1)    | 3( 0)    | 3( 1)    |

注 1) 中国からの受入れに限定。

2) 愛知県内の大学・研究所への受入れに限定。

アジア諸国からの声は、考えようによれば今私達に変化と飛躍を与えようとしているのかもしれない。

#### 謝 辞

図表及び原稿整理に協力いただいた小原正裕氏と高澤真理氏に感謝する。

#### 参 考 文 献

- 1) 日本学術振興会事業の概要(平成6年度版). 日本学術振興会発行.
- 2) 助成団体要覧. 1994年民間助成金ガイド. 財団法人助成財団資料センター発行.

## カルシウム蛍光測光／パッチクランプ同時測定法

榎 本 浩 一・古 家 喜 四 夫\*

(島根医科大学, 生理学教室・\*生理学研究所, 生体膜部門)

### I. は じ め に

超生体染色は生きた細胞に色素をとりこませ、形態の時間的変化を測る技術である。超生体染色された細胞は生理的活動性を維持しているため、生細胞の特定の細胞内器官の時間的形態変化や活動を観察することが可能である。この方法で、ギャップ結合を通じた細胞間連絡、分泌顆粒の放出、エンドサイトーシス等の情報が得られてきた。さらに形態観察だけではなく、細胞内の状態(pH, Ca, 電位など)を反映する各種色素が開発され、定量的解析も可能となった。特に蛍光色素は微量で高感度の検出ができるので近年多用されている。その代表的なものとして Tsien 達により、EGTA をもととして分子設計された、Quin-2<sup>1)</sup>に始まり fura-2<sup>2)</sup>, indo 1<sup>2)</sup>にいたるカルシウム感受性蛍光色素がある。特に fura-2, indo 1 はカルシウムが結合することによりそれぞれ励起波長のシフトと蛍光波長のシフトが起こる。この性質を利用すると、2つの波長での蛍光比を求める事により、導入された蛍光色素量や細胞の厚さなどに依存しない、カルシウム濃度に直接関係した値が得られる。さらに Tsien 達はそれら水溶性色素にアセトキシメチル(AM)基をつけて疎水性にし、細胞外からの投与だけで細胞内に簡単に色素を導入する方法を開発した<sup>1)</sup>。これらの技術によって、収縮、分泌、その他細胞内情報伝達物質としてあらゆる細胞で重要な働きをしている細胞内カルシウム動態の研究が飛躍的に向上した。

一方、電気生理の分野ではパッチクランプ法が発展をとげていた<sup>3)</sup>。この方法で一分子のチャネル(シングルチャネル)の電気的変化を計測することができる。パッチクランプは一分子

の時間変化をリアルタイムで捉える唯一の方法となっている。パッチクランプの応用として、パッチ膜を破ることにより細胞全体の電流が記録でき(Whole cell recording), さらに細胞内に電極内の物質を注入したり、細胞の内容物を交換できるようになった。この方法により、G 蛋白、イノシトールリン酸代謝等の細胞内情報伝達系の研究が飛躍的に進んだ。また従来の細胞内電極では困難であった小さい細胞まで適用が可能となった。

細胞内カルシウム測定法とパッチ／ホールセルクランプが一般化されるにつれ、両方法の併用が要求されるようになってきた。われわれの場合は、乳腺上皮細胞の自発性過分極電位振動と細胞内カルシウム振動が同期しているかどうか、また細胞内セカンドメッセンジャーの同定のためにパッチ電極を介してそれらを注入しカルシウム反応をみるという必要にせまられた。細胞内カルシウムの光学的測定法<sup>4,5,6,7)</sup>とパッチクランプ等による電気的測定法は、それぞれの装置さえあればそれほど困難なしに同時に測定する事は可能である。それぞれの測定技術については多くの良い総説がありそれらを参照して頂きたいが、ここではわれわれの経験をふまえ、二つの測定法を合わせるときに生ずる実際的な問題点とその解決法を中心に解説したい。

### II. 装置のセットアップ

#### 1. 顕微鏡など

顕微鏡としては倒立型、正立型(レボルバー上下型で、水浸対物があるとよい)、あるいは実体型でも、それぞれの実験試料に合わせて選ばれたいが、蛍光装置(落射型)が取り付けられなければならない。紫外光(UV)励起の fura-2

や indo 1 を用いて蛍光強度比によるカルシウムの定量を行うのであれば UV 対応の光学系と対物レンズが必要となる。

蛍光観察と同時に、パッチ電極を細胞に近づけタッチさせるために、位相差やノマルスキー微分干渉による透過像観察が必要となる。最近の顕微鏡のように蛍光－ノマルスキーの同時観察ができる場合 (UV までは対応していないこともある) はよいが、大抵の場合、切り替えのためにレンズを交換したり、ノマルスキープリズムを動かしたりしなければならずパッチを細胞に当てた状態では不可能である。また測光のために光路切り替えが必要なときも振動が問題となる。ケラー照明による透過光で、コンデンサーレンズの絞りをしばっただけでもやれないことはないが、もう一つの解決法としては、電極を透過像でみながら細胞の真上まで持っていった後は、顕微鏡を蛍光測光用にセットし、電極抵抗をオシロスコープでみながらゆっくりと電極を下げ、抵抗の変化から細胞へのタッチを知ることである。

蛍光測光時にテレビで透過像を同時観察することはちょっとした工夫で可能である。fura-2 蛍光 (波長 510 nm で測定) の場合、顕微鏡観察で普通使用される緑色等のフィルターの透過光とは波長が近いので、同時に使用するとスポット測光のホトマルのノイズの原因になる。透過観察光を赤色 (>610 nm) にすることで解決できる。TV カメラは赤色に感度がよく像質に問題はない。赤色フィルタは顕微鏡のバリアフィルタでもいいが、カメラのレンズにつける写真材料の R2 フィルタでもよい。カルシウム蛍光も TV カメラで見る場合は、顕微鏡の TV カメラ用光路にダイクロイックミラーを入れ蛍光と赤色透過光を分け、それぞれ別の TV カメラで観察することになる。

設置場所としては蛍光を観察するため暗くできなくてはいいけないが、完全な暗室である必要はない。パッチ用のシールドボックスを、暗幕で覆ったり、網ではなくアルミ板でつくり中を黒く塗ったりし、さらに顕微鏡試料台の前につ

いたてを立てることによって、部屋が少し明るくても測定できるようになる。測定しているときの感度で迷光がない事をチェックすればよい。

## 2. カルシウム測光装置

カルシウム測光の方法としては、フォトマルを用いたスポット測光法 (オリンパス OSP-3, OSP-10, ニコン P-102 など) と高感度 TV カメラ (SIT, イメージインテンシファイア, 冷却 CCD 等) を用いた画像解析法 (浜ホト ARGUS 50 など) があるが、パッチクランプによる電気現象との同時計測には以下の理由でスポット測光法がよく用いられる。1) スポット測光法の方が時間分解能がよい (といっても最高 1~10 ms で電氣的測定よりずっと悪いが、画像法の最高 33 ms よりはよい、2) もともとパッチによる電氣的測定は一つの細胞でしかできないので同時測定も一点で十分、3) 電気測定と同時にデータを取ることが比較的容易などである。もちろん細胞内での空間的分布やスライスなどでカルシウム変化のパターンがみたい場合は画像処理法が必要である。

画像処理法の一変法として、動きのない試料で単にカルシウムの変化を見ればよいという場合はリアルタイム画像差分法<sup>8)</sup>が使える。これは fura-2 の 340 nm 励起蛍光や Fluo-3 などの蛍光像の TV カメラ出力をリアルタイム画像処理装置 (日本アビオニクス Image-Σ III, 浜ホト ARGUS-10, DSP-1000, 3000 など) を通してリアルタイムに差分を取りコントラストを増強することによって蛍光変化を可視化する方法で、リアルタイム (TV レート) でしかも比較的安価でカルシウム変化を見ることができる。画像は VTR に保存できる。この方法はパッチを適応する前の細胞のスクリーニングにも使える。例えばカルシウム振動が視野中の限られた細胞でしか起こらない場合、まず画像でチェックすることで確実にカルシウム振動している細胞にパッチを当てることが可能になる<sup>8)</sup>。

## 3. データ処理

パッチクランプのデータとカルシウムポイン

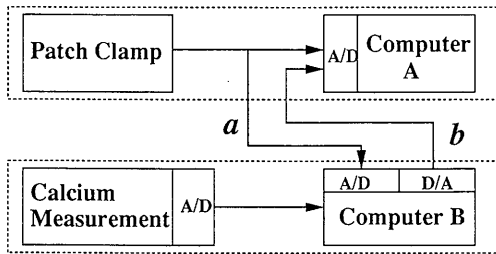


図1. パッチクランプ測定システムとカルシウム測光システムを接続し、同時測定する方法. パッチクランプアンプの出力をパソコンBのA/D入力に接続する(a)か、カルシウム蛍光の蛍光比を $D/A$ により逐次アナログ出力し(b), パソコンAに入力する方法を目的により使い分ける. パッチクランプ出力にはゲイン調整可能な増幅器とハイカットフィルタをいれておきたい. われわれはパソコンAにIBM互換機とpCLAMP, BにNEC-PCとMiCaChanを使用している.

ト測光のデータを合わせるには、単に両装置からのデータをアナログ記録し、重ね合わせることも可能である。しかし現象が速かったり二つのデータの同期をとりたい場合、あるいはデータを加工したい場合コンピュータに最初からデータを取り込ませたい。それにはパッチ及びカルシウムのどちらかのプログラムにもう一方のデータを取り込めるようにするのが簡単である(図1)。一般にカルシウムデータのサンプリング間隔(1 ms ~ 数百 ms)はパッチのそれ(10  $\mu$ s ~ 1 ms)より桁違いに遅い。電気的現象がゆっくりしており(静止電位の変化など)カルシウムデータのサンプリング間隔でよい場合はパッチのデータを AD ボードを介してカルシウムのソフト上に取り込ませる(図1の a)。われわれはオリンパス OSP-3 に AD ボード入力可能なソフト (MiCaChan; 後述) をつくりそれを実現している<sup>9)</sup>。

速いパッチのデータが主になる場合はパッチのソフト上にカルシウムのデータを入れることになる(図1のb)。例えばパッチ用ソフトのpCLAMP(Axon Instruments)のAD入力2チャンネル目にカルシウムデータを入れればよい。われわれの場合カルシウムデータはOSP-3の蛍光比データをD/Aボードを介してDA変換した出力を使っている。単なる蛍光変化でよけ

れば顕微鏡イメージプレーン上にフォトマルあるいはフォトダイオードを置いて測定した蛍光強度変化をデータとすることができる。

蛍光画像での同時計測の場合はパッチのデータとどのように合わせるか問題である。パッチデータを A/D コンバーターよりとりこませ、画像入出力ボードを使用して画面上に重ね合わせたこともある<sup>10)</sup>が、これでは学会のビデオセッションで見せることはできても論文の図になりにくい。最も安易な方法は画像とパッチデータを別に記録し、あとで開始点と時間軸が一致するように重ね合わせることである。

画像上の1点だけのデータを抽出するだけでいいなら、TV画面の上にホトトランジスタをつけて画像の明暗をアナログ化することもできる<sup>11)</sup>。あるいは画像入出力ボードを使用して蛍光や差分画像をコンピュータのメモリにとりこみ、測定したい領域の濃度を計算させ、それをD/Aより出力させることでシングル

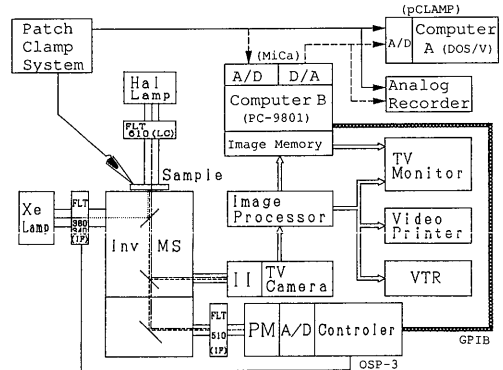


図2. われわれが使用している光学系と電気系の模式図<sup>8)</sup>。倒立蛍光顕微鏡 (Inv MS) にパッチクランプ、スポット測光装置 (OSP-3)、TV カメラと画像処理装置、2台のパソコン (Computer A と B) が接続してある。スポット測光での励起フィルタ切り替えと測光の制御はパソコン B より GPIB を介して行う。カルシウム信号は図1に示したようにパッチクランプ信号と合わせてパソコンまたはアナログレコーダーで記録する。蛍光画像の場合はイメージインテンシファイア (II) を接続した超高感度 TV カメラと画像処理装置でとらえ、VTR やビデオプリンタで記録する。さらに画像をイメージメモリよりパソコン B に入力し、特定した場所の蛍光強度をアナログ出力する。細胞は透過赤色光で同時観察できる。

チャンネルとの同時記録を行える<sup>8)</sup>(図5参照)。

図2にわれわれのセットアップの模式図を示す。

### Ⅲ．各種問題点とその対策

#### 1. 電氣的ノイズ

パッチクランプ装置とカルシウム測光装置を同時に動かすため装置がかなり大がかりになり、パッチクランプの電気信号にノイズ(ハム及び高周波)が混入しやすい。特にカルシウム測光装置はもともと電氣的測定を考慮していない場合があり問題になることがある。ノイズの対策としては、発生源をつきとめることとちゃんとしたグランド(アース)をとる事が肝要である。ノイズの計測はパッチの場合まずヘッドアンプになにもつけないオープン状態で接続機器のノイズをチェックし、次に電極をつけ空中をとんでくるノイズをチェックする。

グランドの基本はめったやたらアースを取るのではなく、グランドループによる磁場ノイズを避けるため一点に集中させる<sup>12)</sup>。さらにケース(電源)グランドとシグナルグランド(パッチのアンプによって10オームでケースグランドにつながっている場合や、完全に浮いている場合などがある)とを完全に分離してとることである。まずファラデーケージ内部特に顕微鏡まわりをひとつひとつテスターでつながっているかどうかチェックしながら、確実に全ての物をグランドする。顕微鏡のステージやコンデンサー、マニピュレータの微動部と粗動部などの部品はつながっている様に見えても電氣的に大きな抵抗がある事があるので要注意である。グランドの取れていない物があるとそれがアンテナとなって外からのハムを拾う。それぞれの物からのグランド線は一点に集めそれをパッチアンプのシグナルグランドにつなぐ。次に測定機器やコンピュータのケースグランド、ラック、除振台、ファラデーケージなどをやはり一つにまとめグランド(電源のグランドあるいは別にとったグランド)に落とす。机上型のファラデーケージの場合両グランドどちらでもよいが二つのグ

ランドラインがつながり易い場所なので接しないよう注意する。シグナルグランドとケースグランドの分離が完璧にできればノイズの問題はほとんどなくなる。

測定機器(特に民生用)の中にはシグナルグランド(BNCコネクタの外側)とケースグランドがわかれていないことがある。そのような機器ではケースグランドを浮かすのも一つの手である。しかしカルシウム測光装置やコンピュータのA/Dコンバーター等もケースグランドが分かれておらずそれら含めシグナルグランドを完全に分離する事は不可能である事が多い。アイソレーションアンプを使えば可能だが、高価であり複数必要となる事もある。このような場合ノイズを見ながら機器を順番に一つずつつないでいき、グランドの取り方を工夫する以外にない。机上型ファラデーケージの場合は、天井の蛍光灯などからハムをひろいやすいが、ケージ前面の全体あるいは上半分を金網の「すだれ」で覆うか、顕微鏡ステージの前面についてたてをシールドとして置くことよい。

蛍光励起用のキセノン放電管や超高圧水銀燈は通常のパッチの測定周波数(<10 kHz)ではノイズの原因にならない。透過光に使用するハロゲンランプはランプ周辺で電源コードが露出している事があり交流点灯の場合ハムを出すので銅の網やアルミホイルなどで覆いシールドする。電源コードも当然シールドする。ただし顕微鏡本体はシグナルグランドに落しているので電源コードのグランドは浮かしておく。最近の顕微鏡は直流点灯を採用するなど生理実験を考慮した設計になり問題が少なくなった。

もう一つ問題となりやすいノイズはコンピュータ特にCRTディスプレイからくる高周波のノイズである。これらのノイズもシグナルグランドが完全に分離されている場合は問題とならないはずである。しかしそれができない場合、CRTにノイズ防止スクリーンをはったり、CRTケーブルにトロイダルコアをつけたり、アースまわりを工夫したり、CRTとパッチクランプアンプの間にアルミ板のついたてを

おいたりして測定周波数範囲内でノイズが見えないようにする。コンピューターをパッチクランプ装置から離しておくのが最も効果的である。

## 2. 機械的振動とノイズ

細胞にパッチをかけるようにすると電流トレースに低周波数の振幅の変化する波がのり、電極をぬくとおさまる。このような場合床の振動を疑う必要がある。床を足でどんとやって減衰振動がみられるなら、まずこれである。最も良い対策は空気圧で定盤を持ち上げる除振台を使用することである。除振台は卓上型よりデスク型のほうがはるかにいい。ただし高価であることと、重いので運搬が大変である。鉄板の下にテニスボールを置いて除振をすることもできるが、そのままだと鉄板が動いて危険である。バイクか自転車のタイヤのインナーチューブ、医療用のエアクッション等を中心におくといい。この方法だと、半年ごとにテニスボールを交換する必要があるし、性能は市販の除振台におよばない。

床の振動のノイズについては、使用する場所も問題である。同じ部屋でも端と真ん中では違い、梁がどこにあるかにもよる。聴診器を壁に当ててエアコンディショナー等に起因する低周波のうなりが聞こえるような場所は要注意で、ひどい場合は除振台を使用してすらノイズがなくならず、場所を移動する以外に方法がないこともある。

カルシウム測光装置のフィルター切り替え等の機械的振動にも注意する必要がある。fura-2を二波長励起で使う場合、励起用フィルターを回転させるがその振動はパッチクランプの障害となる。われわれは顕微鏡本体からフィルター切り替え装置（と光源）を切り離して、除振台のフレームに固定することで解決した。光ファイバーで照射するシステムではその問題はなくなる。

## 3. 灌流システム

カルシウム測光の場合、もれでた色素を洗い流すために灌流することは大事であるが、その

灌流方法は液面の揺れやサクションする音などこだわらなくともよかった。パッチの場合はそれらがノイズの原因となる。そのため液の吸引にはサイフォン(流出口の高さで液面が調節できる)や毛細管現象(ろ紙やちりがみをブリッジにして流れ出る)を使うとよい。液の流入も高置ボトルで重力を使う。流速はニードルバルブでコントロールする。

灌流チェンバーは、倒立顕微鏡を使用する場合、対物レンズの作動距離と標本までの厚さを考慮する必要がある。可視光で励起するならプラスチック皿と長焦点対物レンズを使用できる。しかし紫外光で励起する色素では、プラスチック皿は蛍光を発するため使えない。また、こうした色素では紫外線対応の蛍光用レンズを使用することになるが、このレンズは作動距離が短いため、チェンバーの底はカバーガラス(石英ガラスの必要はない、マツナミのNo.1(0.13~0.17 mm)で十分)にする。細胞はプラスチック培養皿に丸型カバーガラスをいれその上に培養する(図3)。x20以下の場合それをチェンバーに移し測定する。x40以上や油浸レンズを使う場合は直接培養できるチェンバーをつくるか、細胞をはやしたカバーガラスを直接チェンバーにマウントできるようにするなど工夫が必要である。

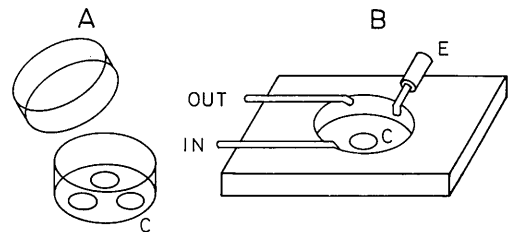


図3. 蛍光測光のためのカバーガラス上での細胞培養と灌流用チェンバー

A. 3枚の15 mm  $\phi$  のカバーガラス(c)を35 mmプラスチック皿に入れその上に細胞を培養する。  
B. 灌流用チェンバーはプラスチック板を加工して作り、底にカバーガラスを貼る。灌流液は二本の細管で出し入れする(IN, OUT)。不関電極(E)をチェンバーの横に取り付ける。細胞をはやしたカバーガラスをチェンバーにのせ真空グリスなどで固定する。

#### IV. 測定 の 準備

##### 1. 色素の負荷

蛍光色素の AM 体を細胞外に投与する方法と、電極内に蛍光色素を入れておき、細胞に注入する方法がある。AM 体は細胞外に投与するだけなので簡単だが、細胞に対する選択性がない。電極から細胞に注入するなら選択的に細胞を染色できるが、操作に熟練を要する。神経細胞なら、神経断端より fura-2 dextran を注入することも可能である<sup>13)</sup>。われわれは fura-2 AM (DMSO 中 1 mM) 2～4  $\mu$ l を 35 mM ペトリ皿の 2 ml の培養液で希釈し(終濃度 1～2  $\mu$ M)、30～45分間おいてから観察している。長時間負荷するとカルシウム反応がなくなったり蛍光が細胞内に局在化する。AM 体は水溶性でないので、投与するとき水中でよく分散するように工夫している。細胞によっては染まりが悪いものもある。その場合は界面活性剤(Cremophor EL 等)を 2  $\mu$ l 程度入れるか、色素溶液を 20  $\mu$ l 程度にすると染色が改善される。

電極から蛍光色素を細胞に注入するには電極内液に活性型色素(AM 体ではない)を 30～100  $\mu$ M 程度入れておく<sup>14)</sup>。ホールセルになったら細胞内に色素が拡散する。

##### 2. パッチ電極

カルシウム計測を併用しても、パッチ／ホールセルクランプの方法に大きな違いはない。ホールセルクランプをかけると電極内液が細胞に入り込み、細胞内カルシウムの濃度に影響することがありうる。電極内液は細胞内組成と同じようにするが、通常カルシウムと EGTA でカルシウムバッファーとする。バッファーが強いと細胞活動によるカルシウム変化までバッファーしてしまう。現実には Ca/EGTA の緩衝液をカルシウムイオンが 0.1～0.01  $\mu$ M になるよう調整し、カルシウムバッファーの濃度を普段の 1/10 程度にする<sup>15)</sup>か、カルシウムを入れない電極内液でも十分やれる。カルシウムなしで、EGTA の代わりに fura-2 を 10  $\mu$ M

程度入れておいてもよい<sup>15)</sup>。電極内液のカルシウムバッファーが弱いので、液は超純水を使用し、プラスチック容器で作成する。

電極内液に使用するカルシウムと EGTA 等のキレート剤が存在する場合のカルシウムイオン濃度の計算はイオン強度、ATP の共存等を考慮する必要があるため簡単ではない。われわれはシェアウェアの IBM-PC 用ソフト「Chelator」(Schoenmaker T, 1992) や 洲崎<sup>16)</sup> による NEC-PC 用ソフト「Ca」を使用して計算している。「Chelator」は Nifty Serve の FBio より入手できる。

#### V. 測定 の 実際

##### 1. スポット測光での同時計測

スポット測光なら、スポットの中心にある細胞にパッチをかける。パッチクランプアンプの出力をカルシウム測光用コンピュータの A/D コンバーターに接続し、MicaChan により蛍光とパッチデータを同時に計測させる。ギガシール生成後、カレントクランプにし、膜電位と膜抵抗をモニタしながらピペット内を減圧すると突然膜電位は静止電位に落ちホールセルになったことがわかる(図 4 A)。乳腺上皮細胞は ATP を投与するとプリン受容体が活性化され、細胞内カルシウムが増加するが、同時に膜電位では過分極がみられる(図 4 A)。この過分極は細胞内カルシウム増加によりカルシウム依存性カリウムチャネルが開いたためである<sup>17)</sup>。

ホールセルになった瞬間からカルシウム濃度の変化が起こる時は機械的刺激によるカルシウムの増加か、電極内のカルシウム濃度が高すぎる可能性がある。機械刺激が起こっている場合は蛍光画像を同時に観察しておくでカルシウム波が広がっていくのでわかる。

パッチ電極は 10  $\mu$ m $\phi$  以下の小さな細胞に対しても細胞内にセカンドメッセンジャーなどの物質を導入するのに使える。その時カルシウムを同時計測しているとカルシウムの変化によって活性の有無を検定することができる。図 4 B は電極内にイノシトール 1, 4, 5-3リ

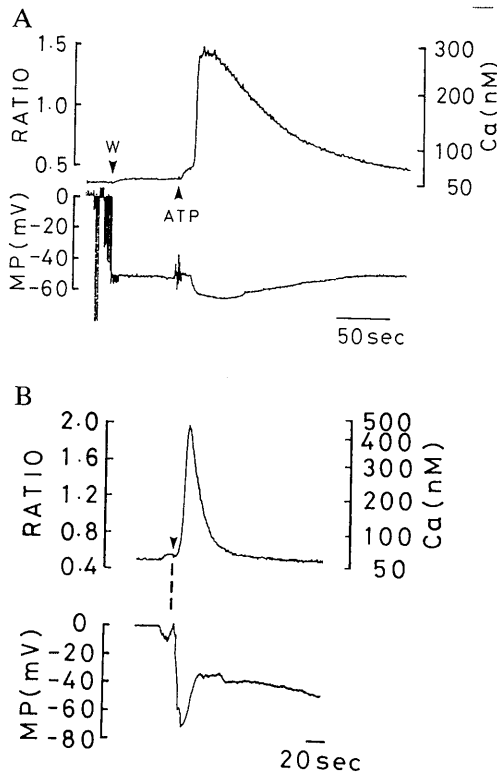


図4. fura-2 蛍光比と膜電位の同時記録の例。マウス乳癌由来樹立細胞 (MMT 060562) を使用。電極内液には高カリウム液 + 0.18 mM Ca, 0.78 mM EGTA で弱くキレートしている。上段と下段はそれぞれ fura-2 蛍光比、膜電位を示す。上段右にカルシウム濃度 (推測値) を示す。

A. ATP の作用。セルアタッチモードで膜抵抗モニタのパルスを観察しながら電極内を減圧すると突然ホールセルモードになり、静止電位が記録できた (W)。100  $\mu$ M ATP の細胞外投与により細胞内カルシウムの増加 (上段) と同時に過分極電位 (下段) が観察できた。過分極は細胞内カルシウムの増加によりカルシウム依存性カリウムチャンネルが活性化したためである。

B. イノシトール 1, 4, 5-3 リン酸の細胞内注入。電極内液にイノシトール 1, 4, 5-3 リン酸 (20  $\mu$ M) を入れておき、同様に記録した。セルアタッチよりホールセルモードになった瞬間 (矢印) に一過性の細胞内カルシウム増加と過分極が観察できた<sup>18)</sup>。

ン酸 (IP<sub>3</sub>) を入れた電極で乳腺培養細胞にパッチをかけた例で、ホールセルにすると細胞内カルシウムの上昇がみられ同時に膜電位の過分極が観察された<sup>18)</sup>。この反応は電極内液である High-K 溶液だけや IP<sub>4</sub> 添加では起こらず乳腺

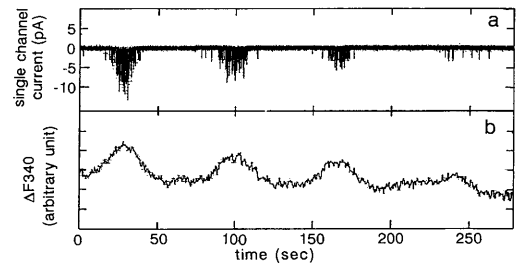


図5. 単一チャネル活動と fura-2 蛍光の同時記録<sup>8)</sup>。fura-2 を負荷した乳癌細胞を 340 nm の紫外光で励起し、蛍光変化をリアルタイム画像差分法<sup>8)</sup>で観察した。340 nm で励起した蛍光の増加はカルシウム増加に対応している。単一チャネルを計測している細胞の蛍光変化をイメージメモリボードを介してリアルタイムでアナログ出力した。

細胞に IP<sub>3</sub> 感受性のカルシウムストアーがあることを示している。

## 2. 画像ボードを使った同時計測

われわれは fura-2 の 340 nm 励起の蛍光像に上述のリアルタイム画像差分法を適応し、カルシウム変動を可視化している (図2 参照)。その TV 信号出力を画像入出力ボード (Micro-technica, MT 9801 FMM) を介して差分画像をメモリにとりこみ、ある領域の画像の濃度の積分値を計算させ、それを D/A より出力させることでシングルチャネルとの同時記録を行った<sup>8)</sup> (図5)。前もってカルシウム振動している細胞をリアルタイム画像差分法で同定した上で、パッチをあてシングルチャネル記録し、蛍光変化の方はその細胞の領域を指定しその濃度を D/A 出力させた。

## VI. プログラム「MiCa」について

われわれはオリンパス OSP-3 を使って、fura-2 蛍光のスポット測光と電気現象の同時計測ができるプログラム Measurement of Intracellular Calcium 「MiCa」を開発した<sup>9)</sup>。蛍光と電気現象の同時記録の場合、本ソフトの名は Measurements of Intracellular Calcium and Channel ということで「MiCaChan (みかちゃん)」となっている。本ソフトは蛍光測光と A/D, D/A コンバーターが同時に使用できるので、蛍光計測と同時にアナログデータを取り

こむこともできるし、蛍光比を直接アナログ出力することもできる。タイムラプスによる間欠照明で長時間にわたる記録も可能になっている。さらに、Fluo-3, Rhod-2 等の一波長励起、一波長蛍光色素にも対応している。電気現象が比較的ゆっくりしている場合(たとえば図 4 A, B)なら、蛍光測光の各点ごとに A/D コンバーターから 1 点をとってこむことで測定できる。インパルスのように時間経過が速い場合、必要なサンプリングクロックは数十  $\mu$  秒となり、OSP-3 の時間分解能では不十分である。その場合は fura-2 蛍光比あるいは蛍光強度を D/A コンバーターからアナログ信号として出力させ、パッチの膜電流や電位信号と同時にデータレコーダーに記録するか、パッチ用ソフトに A/D 介して同時記録することになる。(図 2 参照)

必要なハードウェアはオリンパス OSP-3, NECPC-9 8 0 1 (VM から RA まで、その後の最新型でも動くはずだがチェックはしていない)、GPIB ボード、A/D はカノーブス DMA, アナログプロ、ネオローク、D/A はカノーブス DMA またはアドテックである。「MiCa」はフリーウェアで、Nifty Serve の FBio に登録してある。

## VII. お わ り に

蛍光測光法はカルシウム測光だけに限らず蛍光を使った生理活性及び形態観察すべてに応用できる。一方パッチもチャネルや電流測定以外に膜容量測定と合わせたり、あるいは細胞内セカンドメッセンジャーの注入に用いたりすることもでき、二つの方法を合わせることでより多くの新しい情報が得られる。

書き終わってみると多くの部分がパッチのセットアップの基本的記述となってしまった。逆にいうとカルシウム測光との併用は基本のところをちゃんと抑えておけば問題がないということでもある。また、このセットアップの基本は、実際パッチを始めようとするとき重要であり、いままであまり触れられていない部分もある。

る。パッチを始めようというとき少しでも拙文がお役に立てば望外の幸せである。

## 文 献

- 1) Tsien RY (1980) New calcium indicators and buffers with high selectivity against magnesium and protons: Design, synthesis and properties of prototype structures, *Biochemistry* 19, 2396
- 2) Grynkiewicz G, Poenie M, Tsien RY (1985) A new generation of  $\text{Ca}^{2+}$  indicators with greatly improved fluorescence properties *J Biol Chem* 260, 3440
- 3) Hamill OP, Marty A, Neher E, Sakmann B, Sigworth FJ (1981) Improved patch-clamp techniques for high-resolution current recording from cells and cell-free membrane patches, *Pflügers Arch* 391, 85-100
- 4) 唐木英明(1989) 蛍光カルシウム指示薬の実験基礎, 唐木, 工藤, 栗山編, 実験医学 7, 羊土社 26-31
- 5) 金子晃, 田中由宇志, 林紀夫(1992) 細胞内カルシウムおよび PH 測定法, 東山監修, 神経科学研究の先端技術プロトコル 2, 情報伝達の分子基盤, 厚生社 16-23
- 6) Thomas AP, Delaville F (1991) The use of fluorescent indicators for measurements of cytosolic-free calcium concentration in cell populations and single cells, In: *Cellular Calcium*, Ed McCormack JG, Cobbold PH, IRL Press Oxford, 1-53
- 7) Williams PA, Fay FS (1990) Imaging of Cell Calcium, *Cell Calcium* 11 No. 2/3 (Cell Calcium の特別号)
- 8) Furuya K and Enomoto K (1990) Real-time imaging of intracellular calcium change with simultaneous single channel recording in mammary epithelial cells, *Brain Res Bull* 25, 779-781
- 9) 小島美香, 伊藤昭光, 筒井泉雄, 榎本浩一, 古家喜四夫(1991) 細胞内カルシウムと他現象との同時測定プログラムの開発, *生物物理* 31, 51-53
- 10) 榎本浩一, 古家喜四夫(1990) 細胞内カルシウムとシングルチャネルの同時計測, 第12回生理学コンピューター研究会
- 11) 小倉明彦, 工藤 久(1987) 海馬神経細胞での細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度の測定, *生体の科学* 38, 597-603
- 12) 竹中敏文(1982) 測定の条件と実際, 平本幸男, 竹中敏文編, 電氣的測定法, 実験生物学講座, 丸善 99-104
- 13) Yawo H, Chuhma N (1993) Preferential inhibition of  $\omega$ -conotoxin-sensitive presynaptic  $\text{Ca}^{2+}$  channels by adenosine autoreceptors, *Nature* 365, 256-258
- 14) Thomas AP, Delaville F (1991) The use of

- fluorescent indicators for measurements of cytosolic-free calcium concentration in cell populations and single cells, In: McCormack JG, Cobbold PH, Cellular Calcium, Chap 1, IRL Press, Oxford
- 15) Evans MG, Marty A (1986) Potentiation of muscarinic and  $\alpha$ -adrenergic responses by an analogue of guanosine 5'-triphosphate, Proc Natl Acad Sci USA 83, 4099-4103
- 16) 洲崎敏伸 (1987) Ca-EGTA 緩衝液における遊離カルシウムイオン濃度を計算するためのプログラム, 動物生理 4, 19-24
- 17) Enomoto K, Furuya K, Maeno T, Edwards C, Oka T (1987) Mechanically induced electrical responses in murine mammary epithelial cells in primary culture, FEBS Lett 223, 82-86
- 18) Enomoto K, Furuya K, Yamagishi S, Maeno T (1993) Proliferation-associated increase in sensitivity of mammary epithelial cells to inositol-1, 4, 5-trisphosphate, Cell Biochem Funct 11, 52-62

## 薬物刺激用圧力制御装置

伊藤 嘉邦\*・倉橋 隆\*・金子 章道\*,×

(\*生理学研究所, 情報記憶部門・×慶応義塾大学, 医学部, 生理)

### I. はじめに

最近, 単一ニューロンのトランスミッタに対する感受性などを調べる目的で, パッチクランプ記録下の単離細胞に薬物刺激を行う実験が多く用いられるようになってきている. これらの実験には微小ピペットを用いた圧力添加法, 電気泳動法や灌流法などの様々な方法が実験用途に応じて使い分けられている. その中でも圧力添加法は, 灌流法に比べると圧倒的に速い時間分解能で薬物刺激を行うことができ, 電気泳動法を用いる場合の様に薬物をイオン化する必要がないので, 広く一般的に用いられている. これまで, 刺激ピペットの圧力を制御する装置として, ピコポンプなどが代用されてきたが, 従来のピコポンプでは圧力を定量的にコントロールする機能を持っていない. 生理実験を行う場合, 刺激圧力は刺激濃度を決定する重要なファクターになるので慎重に定量化する必要があるが, 従来のダイヤル式の圧力制御ニードル・バルブを用いた装置では, 一度設定圧力を変えた後に再びもとの値に再設定する程度の実験すら困難である. そこで, 我々の研究室ではCKD社の電子レギュレータを使用して, 電圧信号によって刺激ピペットの圧力を自在にコントロールすることができる薬物刺激用圧力制御装置を製作し, 再現性に優れ, パソコンで制御できるシステムとして良好な結果が得られたのでここに報告する.

### II. 装置の概要

本装置は, D/A コンバータ (2チャンネル) とデジタル信号出力 (TTL, 3 Bit) を持ったコンピュータから制御することができる. パッチクランプの実験では, 近年ほとんどの研究室でコンピュータを使用して, 膜電位の制御やデー

タの取り込みをしているので, 既存のプログラムに修正を加え, 実験過程で本装置を制御するのが最も望ましい.

電子レギュレータ自身はパルス刺激を行うほどの高速な時間分解能を持っていない (特に, 0 から圧力を与える場合には非常に遅く, 約3秒程度の遅延が生ずる) ので, 本装置ではあらかじめレギュレータで設定した圧力にたいして最終段の電磁弁で刺激タイミングを制御してパルス刺激を行う方式を使用している. 以下に, 各構成部分について説明する (図1, 2参照).

入力電磁バルブは, 装置全体の圧力源の開閉機能を持っていて, Pressure source 信号 (TTL) によって動作する. 信号が High の時バルブは開き, Low の時バルブは閉じる. 無信号時は, バルブは閉じている. また, バルブを閉じる際に装置全体の排気を行うので排気側のノズルは開けておく必要がある.

圧力スイッチは, 圧力が十分に供給されていない時に電子レギュレータに電源および制御電圧が印可されないように働く安全スイッチであり, 電子レギュレータに供給されている空気圧を常にデジタル表示して空気圧源のモニタとしても機能している. ここでは圧力スイッチの設定を ON:  $3.0 \text{ kg/cm}^2$ , OFF:  $2.5 \text{ kg/cm}^2$  としてヒステリシス特性を持たせている. これによって供給圧力変動時にスイッチの動作が不安定になることを防いでいる. また, この圧力スイッチに対する電源供給は, 電源スイッチに非連動にしてあり, 電源コンセントを接続してある限り設定値を保持するようにしてある (図2). また, 電源遮断時にも内部メモリーによって設定値は約10日間保持される.

電子レギュレータは, 半導体圧力センサーと電子回路によるフィードバック制御方式を採用しており, 制御信号によって空気圧を連続的に

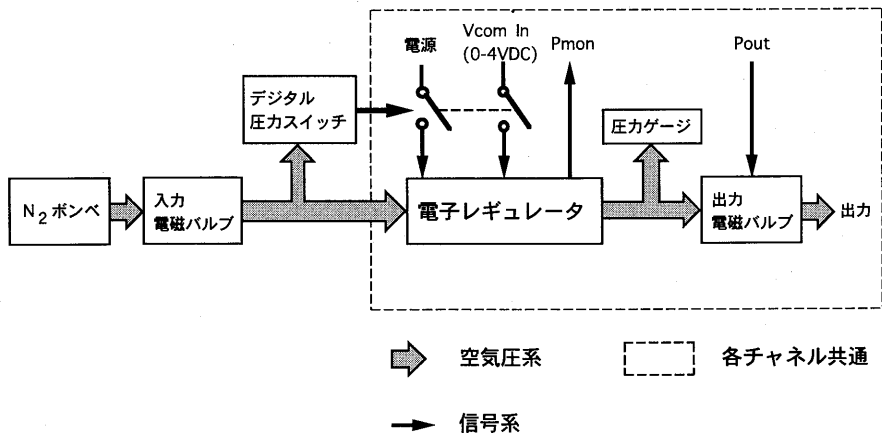


図1. 圧力刺激装置 ブロック図

電子レギュレータを保護するため、デジタル圧カスイッチでリレーを制御している。

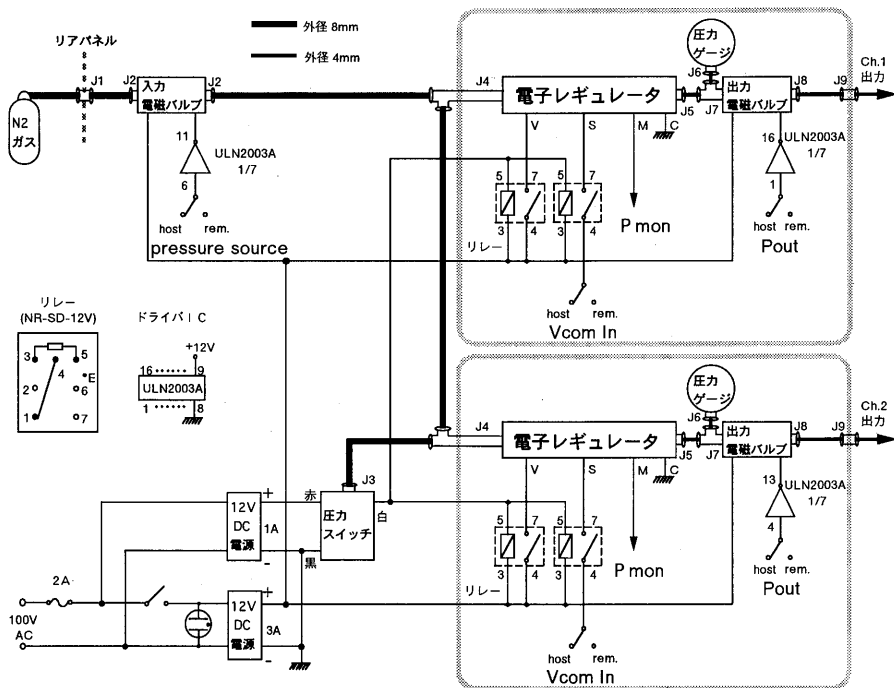


図2. 圧力刺激装置 回路図

図1のブロック図をそのまま回路図に書き直したもの。デジタル圧カスイッチの設定値保持のため、電源スイッチに非連動の電源を主電源の他に持つ。

高精度にコントロールできるもので、本装置の心臓部である。制御用に内蔵している半導体圧力センサーより制御圧力モニター信号が出力されており、電氣的に制御圧力のモニターを行うことができる。ただし、この圧力モニター信号は製品間でのバラツキがあるため、正確に制御圧力を読みとるにはキャリブレーションを取る必要がある。この電子レギュレータには3種類のサブタイプがあり、各々は異なる圧力範囲(0～1, 1～5, 1～8 kgf/cm<sup>2</sup>)を制御することができる。本装置では、通常生理実験に使用する圧力範囲を考慮して1～5 kgf/cm<sup>2</sup>の製品を使用している。また、それぞれの製品について3種類の制御電圧範囲(0～10 VDC, 0～5 VDC, 4～20 mADC)のものがあるが、制御側のコンピュータのD/Aコンバータの出力電圧から0～10 VDCのものを使用している。使用する上で、入力信号を加えた状態で一次圧力を“設定二次圧力 +0.5 kgf/cm<sup>2</sup>”以下にしたり、特に一次圧力が大気圧の時に電源および入力信号を長時間(10時間以上)加えた場合、正常な圧力制御ができなくなるので注意が必要である。

本装置では、上述したように圧力スイッチを設けることによって供給圧力低下時には、電子レギュレータに対する供給電源及び制御信号電圧を自動的に遮断することによって装置を保護している。

圧力ゲージは、電子レギュレータの出力圧力を目でモニターするためのものである。プログラムによる圧力制御が正常に働いていることを確認することができる。ここでは、0～2 kgf/cm<sup>2</sup>の圧力を計ることができる圧力ゲージを用いており、このため圧力制御装置の最大設定圧力は、この圧力ゲージの最大入力である2 kgf/cm<sup>2</sup>となっている。

出力電磁バルブは、電子レギュレータによって設定された圧力の出力を行うもので、Pout信号(TTL)によって開閉動作する。Pout信号によって、出力タイミングおよび刺激時間を定量的に制御することができる。信号がHighの

表1. 主要部品表

総ての部品代を合わせて25万円程で装置は製作できた。

## 【圧力関係部品】

| 部品名              | メーカー | 型番               | 使用数 |
|------------------|------|------------------|-----|
| 電子レギュレータ         | CKD  | ER350-008-B      | 2   |
| 圧力スイッチ           | CKD  | PIS-P10K-6P      | 1   |
| 入力電磁バルブ          | CKD  | 3PA210-GS8C2S-4  | 1   |
| 出力電磁バルブ          | CKD  | W5136NP-M5-DC12V | 2   |
| 圧力ゲージ            | CKD  | G59D-8-PK02      | 2   |
| J1: ニュージョイント     | CKD  | GSS8-0-X         | 1   |
| J2: ニュージョイント     | CKD  | GSS8-6           | 3   |
| J3: ニュージョイント     | CKD  | GSY88-0          | 2   |
| J4: ニュージョイント     | CKD  | GSL8-8           | 2   |
| J5: ニュージョイント     | CKD  | GSS4-8           | 2   |
| J6: ニュージョイント     | CKD  | GSS-4-8-M        | 2   |
| J7: ニュージョイント     | CKD  | GST4-M5          | 2   |
| J8: ニュージョイント     | CKD  | GSL4-M5          | 2   |
| ソフトナイロンチューブ(8mm) | CKD  | F-1508 20m       | 1   |
| ソフトナイロンチューブ(4mm) | CKD  | F-1504 20m       | 1   |

## 【電気関係部品】

| 部品名          | メーカー    | 型番        | 使用数 |
|--------------|---------|-----------|-----|
| DC電源 (12V5A) | COSEL   | K50A12V   | 1   |
| DC電源 (12V1A) | COSEL   | K10A12V   | 1   |
| ケース          | リード     | CR200     | 1   |
| ドライバIC       | SPRAGUE | ULN2003A  | 1   |
| リレー          | 松下      | NR-SD-12V | 4   |

注意：ニュージョイントの販売は、10 [個/箱] 単位です。

時バルブは開き、Lowの時バルブは閉じる。

## Ⅲ. 装置製作の実際と費用

電子レギュレータの完成度が高いこともあって、回路や配線は非常にシンプルになっているので装置そのものを製作する事は、さほど大きな負担にはならない。筆者らの研究室でも、はんだごてを初めて使う修士の院生が2週間ほどで完成させてしまった。また、総費用は25万円程度であり、これは市販のピコポンプの半額程度の値段である。表1に、主な部品一覧がまとめてあるので参照されたい。また、製作の参考までに試作品の写真を図3～5に示す。

## Ⅳ. 動作順序

動作順序や圧力制御、圧力出力のタイミングは、外部コンピュータ側で制御を行う(以下の説明は、図6を参照のこと)。

(1) Pressure source 信号端子を High にして、

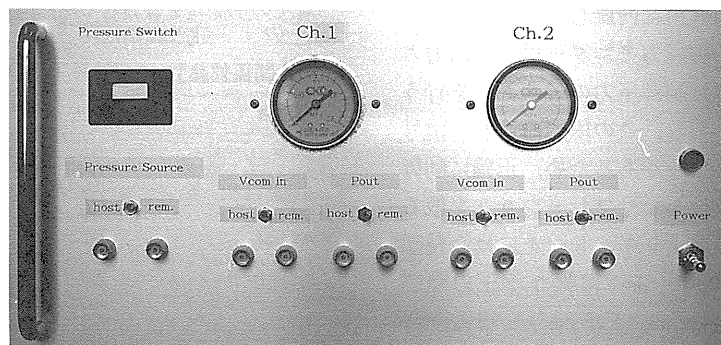


図3. 圧力刺激装置 フロントパネル

上側にデジタル圧力スイッチと出力圧力ゲージが並び、その下にホストとリモートの切り替えスイッチ、一番下に入力信号端子が並んでいる。

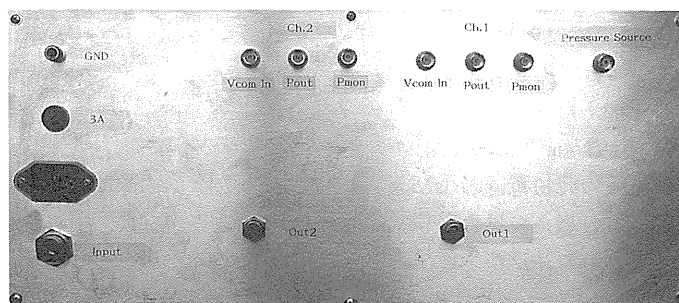


図4. 圧力刺激装置 リアパネル

圧力の入出力コネクタと Pmon 端子(出力圧力モニタ信号端子)がある。

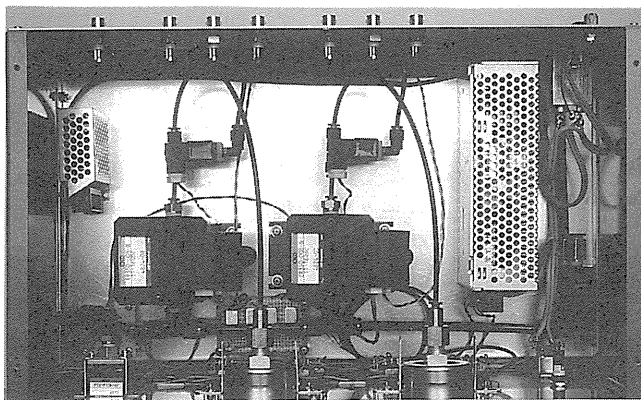


図5. 圧力刺激装置 内部レイアウト

中央に2個の電子レギュレータが並び、上側に2個の出力電磁バルブ、写真下側のフロントパネル側に、リレー基板と電磁バルブのドライバー基板があり、圧力パイプと電気配線が通っている。

入力電磁バルブを開く。圧力スイッチと電子レギュレータに対する圧力供給が行われる。供給圧力が  $3.0 \text{ kg/cm}^2$  に達すると圧力スイッチが ON となりリレーが働き、電子レギュレータの電源と制御信号のラインが導通状態となる。

(2) Vcom In 端子に、出力圧力を設定する制御電圧を加える。

(3) 制御圧力モニター端子の信号電圧が設定値に達し定常状態になったことを確認して(制御信号入力から数秒後)、Pout 信号端子に信号を入力して出力電磁バルブを開閉する。

(4) 以上の実験操作の後、Pressure source 信号端子を Low にして、入力電磁バルブを閉じる。

このとき、内部圧縮空気が瞬間的にリリース

されるのに伴う空気音が聞こえる。

制御時の注意点として、次のことを考慮する必要がある。

本装置は、電子レギュレータにおける制御動作時のリーク、および入力電磁バルブを閉める際に起こる内部圧力のリリース時に比較的大量の空気を消費する。そのため、圧力供給に窒素ボンベを使用する際には、大容量のタンク (7000 l) を使用することが望まれる。本装置におけるリーク量を最小限に抑えるためには、(1) ~ (4) の動作をなるべく迅速に行い、また、実験終了時に内部圧力をリリースするのに伴って窒素ガスが消費されるので、実験上定量的刺激を必要としない場合は頻繁に入力電磁バルブを開閉することはさけるようにする。

また、薬液の射出量は、圧力の他に、ピペットの先端径、薬液の粘性、射出部位の流体抵抗などによって影響を受けることが考えられる。装置を使用する際には、実験条件をできるだけ一定に保つようにする必要がある。

## V. 計測制御用コンピュータと制御プログラムについて

先に紹介したように、本装置を制御するには、D/A コンバータを2チャンネルと TTL レベルの 3 Bit デジタル信号出力を装備したコンピュータでプログラミングする事がもっとも適している。「IV. 動作順序」および図 6 に従って制御を行う場合は、さらに出力圧力をモニターするための A/D コンバータが2チャンネル必要である。

我々が、この装置を制御するにあたっては、ホストコンピュータに NEC 社の PC-9821 AP 2 を、また D/A コンバータにネオロゲ電子株式会社の PCN-3098 (12 bit 4 ch D/A 変換, 8 bit TTL デジタル出力, 8 bit TTL デジタル入力), A/D コンバータにはカノーブス社の ADX-98 (12 bit 16 ch A/D 変換) を使用している。

I/O ポートを制御することができる言語であれば、プログラムによってパッチクランプ下の

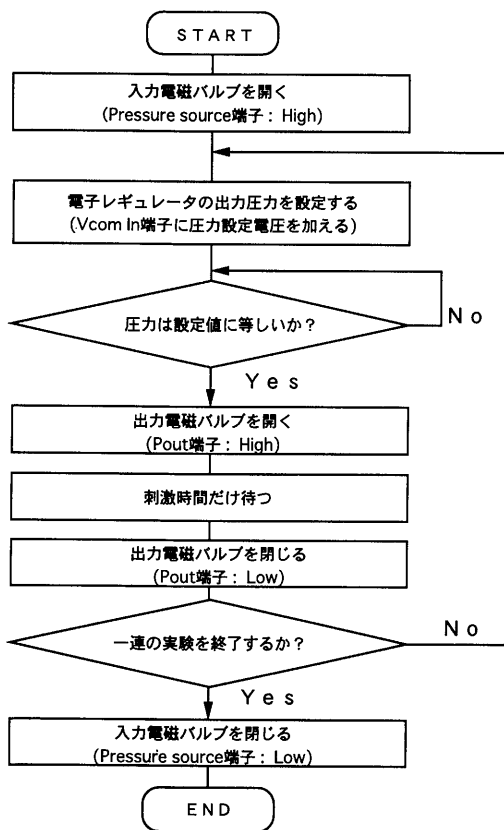


図 6. 圧力刺激フローチャート

制御アルゴリズムは極めて簡単なので、実験プログラムに修正を加え、実験過程で本装置を制御するようにした。

細胞の膜電位と刺激タイミング、刺激時間、圧力を任意の値でセットすることができる。我々の研究室では、ポーランド社の TURBO Pascal とマイクロソフト社のアセンブラを用いてプログラムを制作し、パッチクランプの実験制御のプログラムとの統合環境下に、圧力刺激を自由にコントロールする事ができる様にプログラムを作製し、実際の実験にも大変重宝している。

また、生理学の実験では、実験の最中にいきなり新たな現象を見だし、実験計画の過程では予測できない実験を行う可能性がある。たとえば、複雑な膜電位制御を行うのと同時に薬物刺激を行うなどの事態に陥ったとき、既存のプログラムが対処していないために、生きのいい細胞をみすみす見逃すことが読者の方々にも経験があることだろう。本装置では、制御信号入力系を独立に2チャンネル設けて2台のコンピュータをつなぐことができるようにすることで、実験の汎用性をあげている。すなわち、一台のコンピュータはパッチクランプの実験を制

御するようにセットしておき、もう一台のコンピュータは、圧力刺激装置を独立に制御するようにセットしておく。こうすることによって、一台目でいかなる実験プログラムが走っているときにも、2台目のコンピュータで薬物刺激を行うことができる様になっている。筆者らの実験に際しても<sup>1,2)</sup>、この切り替えスイッチが有効であったことがこれまでに何度かあった。

## VI. 終 わ り に

従来、パッチクランプの実験は比較的実験系が複雑とされ、従って実験者もかなりの技術と知識を事前に習得する必要があった。しかし、今日では、周辺機器の技術的向上と相まって、かなり広い層の研究者がパッチクランプの実験系を取り入れるケースが目立つようになっていく。院生や電気生理を勉強し始めの研究者が短期間でパッチクランプの技術を習得し、すぐに実験を始めるケースも非常に増えてきた。特にそういった研究者にとって、薬物刺激はパッチ

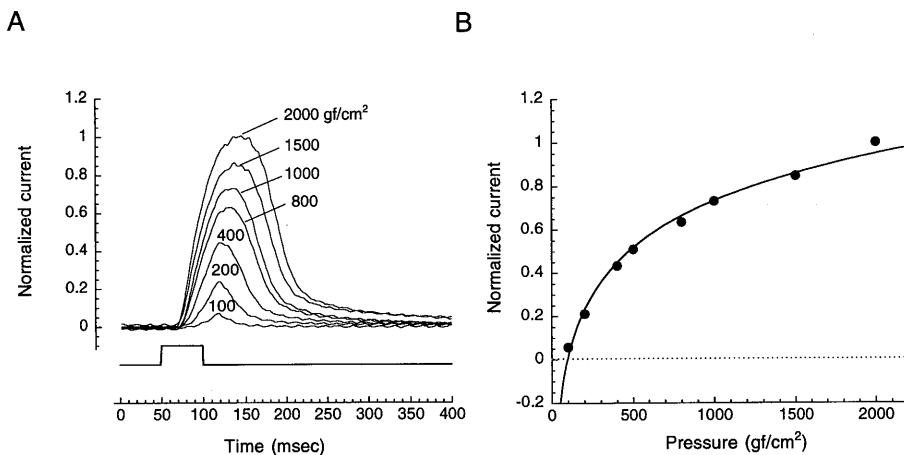


図7. 刺激装置に圧力を加えた時に噴出する刺激溶液の時間経過

A: 10倍希釈したリンガーを充填した刺激ピペットに、50 msec の圧力刺激を与えた時にピペット先端付近に発生する Junction current を測定した。刺激開始から 20 msec 後に電流が立ち上がり始め、設定圧力に依存して電流振幅が増大する。潜時の 20 msec は、刺激装置のソレノイド・バルブによる遅れ(12 msec 程)と、刺激ピペット先端から記録ピペットまで溶液が移動する時間との合計であると考えられる。

B: 設定圧力と応答振幅との関係。近似曲線は対数関数を示す。一般に、イオンの拡散電位はイオン濃度の対数に比例する。本実験で記録した記録ピペット先端での電流応答は、おそらくこの電位変化によって生ずるものであると考えられるので、この実験結果から、濃度と圧力との関係がリニアである可能性が示唆される。

クランプ実験の中でも、重要でありながら最も頭を悩ませるものの一つであるが、本装置は非常に簡易に、それでいて比較的定量的な時間分解能と濃度分解能をもって実験を行う環境を提供する(図7)。また、本装置は、単離細胞のみならずスライス標本に対するパッチクランプ実験での局所的薬物刺激の場合にも十分な効果を発揮することが予想される。さらに、最近多くの研究室でパッチクランプの実験には実験制御プログラム pclamp が使用されているが、本装置に定電圧電源を組み合わせることで、pclamp から本装置を使用して定量的な圧力制御を行うことができる。あるいは、膜電位制御用のコマンドボルテージを切り替えスイッチで本装置の圧力設定値にする事も可能である。もちろんピコポンプと同様に細胞への薬物注入に使用することも可能であり、この場合にも注

入量をかなり高い精度でコントロールできることが予想され、様々な用途への応用が期待される。

#### 謝 辞

この装置の製作にあたって名古屋大学工学部大学院生の林 真澄さんの協力を得ました、感謝します。本装置の製作は、国際ヒューマン・フロンティア・サイエンス・プログラム推進機構(ストラスブール、フランス)による助成金で援助されました。

#### 参 考 文 献

- 1) 伊藤嘉邦, 倉橋 隆, 金子章道(1994) 匂い刺激用圧力制御装置の開発. 日本味と匂学会誌, 1: 378-381
- 2) 松田十四, 羽柴基之, 馬場駿吉, 倉橋隆, 金子章道(1994) イモリ単離嗅細胞における嗅覚感度の測定. 日本味と匂学会誌, 1: 382-385

## 第 27 回 東北生理談話会

日 時：平成 6 年 10 月 15 日(土)～16 日(日)

会 場：碓ヶ関簡易保健保養センター 会議室  
南津軽郡碓ヶ関村

当番幹事：弘前大学医学部 第一，第二生理学教室・医療短大 生理学教室

代表 鈴木寿夫

東北生理談話会は毎年秋に，東北 6 県の生理学関係者が集い研究成果の発表と親睦を深める場である。主催は各県回り持ちで，今回は弘前大学(生理学第 1，第 2，医療短大生理)が担当，10 月 15・16 日の 2 日間にわたって碓ヶ関簡易保険保養センターで開催された。参加者は 76 人，発表演題数は 26 で，残念ながらいずれも年々減少傾向にある。発表は 1 会場で，それぞれ 15 分間の口演であったため，普段あまりなじみのない内容の研究にふれる絶好の機会でもあった。研究発表の他に何を企画するかは，主催大学(開催地)によって特徴がある。弘前は伝統的に，ここでお互いが知り合い，夢を語り合い，遊び心に満ちた少年少女に帰ってもらうことを期待して，懇親会に重点をおいている。15 日はほぼ全員が保養センターに宿泊し，津軽三味線の演奏を聴いたあとは，いくつかの部屋でおそくまで酒を酌み交し，16 日はすでに口演が始まっていた，ゆっくりと朝の温泉を楽しんでいるご仁もおられた。会は 16 日正午で終了し，そのあとバスで十和田湖にでかけたがあいにく途中で雪も降ってきて，寒い紅葉見物になってしまった。しかし，熱く燃える少年少女には丁度よかったかもしれない。次の開催地，秋田での再会を約し，別れの途についた。

×は非会員を示す

### 1. D<sub>2</sub> 受容体刺激で発生する K<sup>+</sup>-電流応答に対する PDBu の抑制作用

川崎 敏<sup>\*,†</sup>，佐々木和彦<sup>\*</sup>，木村真吾<sup>\*</sup>，藤田玲子<sup>\*</sup>，高島浩一郎<sup>\*</sup>，松本光比古<sup>\*</sup>，佐藤 誠<sup>\*</sup>(<sup>\*</sup>岩手医大，医，第一生理・<sup>†</sup>岩手女子看護短大，物理)

アメフラシ神経節細胞には膜電位固定法下ドーパミン(DA)投与により D<sub>2</sub> 受容体が活性化して K<sup>+</sup> 電流応答を発生する細胞がある。この応答は百日咳毒素(PTX)感受性 G 蛋白の活性化を介して起こる。この細胞に protein kinase C(PKC)の活性化剤である phorbol dibutyrate(PDBu)を前投与すると DA 応答は著しく抑制され，しかもその効果は不可逆的だった。PKC の抑制剤(H-7)を前投与した細胞では，DA 応答に対する PDBu の抑制効果は消失した。一方，protein phosphatase の阻害剤(オカダ酸)を細胞内投与したときには，PDBu の抑制効果は増強された。DA の dose-response curve は PDBu 投与によって ED<sub>50</sub> 値を変えずに最大値は下方にシフトした。GTPγS を細胞内注入して直接 G 蛋白を活性化して発生させた K<sup>+</sup> 電流応答は，PDBu を投与しても全く抑制されなかった。以上の結果から，PDBu により活性化された PKC の作用部位は，DA 受容体と G 蛋白の coupling-site であり，それによってそれらの間の機能的 cou-

pling を障害すると考えた。

### 2. アメフラシ神経節細胞における 2 種のヒスタミン受容体

高島浩一郎，佐々木和彦，藤田玲子，木村真吾，川崎 敏，佐藤 誠(岩手医大，医，第一生理)

アメフラシ神経節細胞において，ヒスタミン(HA)に対して脱分極応答(以下，E 応答)を引き起こす受容体と，過分極応答(以下，I 応答)を引き起こす受容体について，受容体の薬理学的特性と応答の電気生理学的特性とを調べた。H<sub>1</sub>，H<sub>2</sub>，H<sub>3</sub> の 3 種の HA 受容体のアンタゴニスト 0.01 mM の効果を調べると 0.1 mM の HA による E 応答は triprolidine によって抑制されたのに対して，I 応答の方は cimetidine によって抑制された。灌流液のイオン組成を変える実験により E 応答は主として Na<sup>+</sup> を通すチャネルが開いて発生し，I 応答は K<sup>+</sup> を通すチャネルが開いて発生していることがわかった。GTPβS，GTPγS，PTX を使った実験により，E 応答は G 蛋白を介さないが，I 応答の方は PTX 感受性 G 蛋白を介していることが判明した。以上の結果により，E 応答を引き起こす受容体は H<sub>1</sub> 受容体のうち ionotropic な subtype であり，I 応答を引き起こす受容体は H<sub>2</sub> 受容体のうち G<sub>i</sub> あるい

は  $G_0$  を介し応答を出す, 所謂 metabotropic な subtype であろうと結論された。

### 3. 交感神経シナプス伝達に及ぼすペントバルビタールの阻害効果

奈良一彦, 染井宏祐, 鈴木 隆(岩手医大, 歯, 口腔生理)

ウシガエル交感神経節を用いペントバルビタール(PB)のシナプス伝達阻害効果についてその主たる作用部位がどこかを細胞外記録法により節前線維刺激で得られる compound action potential (CAP) の振幅を指標として調べた。PB の濃度を 0.01~1 mM に変化させると濃度依存性に CAP 振幅は減衰した。次に、外液の  $Ca^{2+}$  濃度をコントロールの 1/4 (0.45 mM) にすると、阻害効果を示す PB の濃度はコントロールの 1/10 であった。50  $\mu$ M-3, 4-diaminopyridine (3, 4-DAP) を投与してシナプス伝達を促進させたときの PB の効果を Dose-Inhibition curve により解析すると、PB の阻害様式は非競合的であった。さらに、最近伝達物質放出に関与すると言われる protein kinase C (PKC) が麻酔薬の阻害効果を増強するとの報告があるのでその影響について検討した。フォルボールエステルの PDBu と PB を混ぜて投与すると、PDBu によりシナプス伝達が促進しているにもかかわらず  $ED_{50}$  (0.3 mM) の PB でシナプス伝達は完全に抑制された。以上より、PB はシナプス後膜のニコチン性アセチルコリン受容体を非競合的に阻害することが示唆された。しかし、PDBu を用いた時の PB の阻害効果増強がシナプス前膜への作用の可能性が考えられるので、今後さらに詳細に検討したい。

### 4. 光照射による軸索輸送の時間差抑制

加濃正人,  $\times$ 倉知 正,  $\times$ 前田美香,  $\times$ 田代英夫, 川上 倫\*, 竹中敏文\*, 後藤秀機\*\* (理化学研究所フォトダイナミクスセンター・\*横浜市大, 第一生理・\*\*岩手医大, 第一生理)

軸索輸送の制御機構, とくに, 細胞体から神経突起末端へ向かう順行性輸送と, 神経突起末端から細胞体へむかう逆行性輸送の制御機構の違い, もしくは独立性については, いまだに不明点が多い, 我々は, マウスより採取した後根神経節細胞を培養し, 神経突起内を移動する細胞内粒子を観察しながら, 神経突起末端に水銀ランプの光を照射して, その影響を調べた。細胞内粒子の観察は, 微分干渉顕微鏡ビデオ増感装置

(AVEC-DIC) を用いて直接行った。照射の後, 逆行性輸送の抑制に遅れて, 有意な速度の低下を伴う順行性輸送の抑制が起こった。これらの変化は可逆的であった。また, 順行性輸送の抑制が起こるまでの遅れは, 神経突起が長いほど大きく, その割合は 6 ミクロンにつき 1 分だった。即ち, 末端の修飾による影響が, 秒速 6 ミクロンの速度で逆行性に細胞体側まで伝えられ, 順行性の速度の抑制機構を表現させることが推察される。この現象は, 逆行性の軸索輸送が, 細胞内の情報伝達を行っている可能性を示唆するとともに, 末梢の修飾によって引き起こされる神経の成長や変性に関係すると思われる。

### 5. オプティカルレコーディング法によるサル大脳皮質活動の慢性記録

蔵田 潔,  $\times$ 飯島敏夫\*, 小松英彦\*\*,  $\times$ 市川道教\*,  $\times$ 高島一郎\* (東北大, 医, 第二生理・\*電子技術総合研究所, 生体機能研・\*\*脳機能研)

オプティカルレコーディング法は, 最近の技術的發展が著しく, 主にスライス標本においてリアルタイムによる活動の変化が記録されている。この方法を課題遂行下のサル大脳皮質の慢性記録に応用するため, いくつかの技術的困難を解決する必要があった。第一に, 硬膜を取り除いた状態で脳実質の機能が保たれていること。第二に, 心博や呼吸性振動, さらに測定系の機械的振動に対し安定に画像を得ること。第三に, 電位感受性色素の連用によっても脳の機能が失われないことなどである。これら重要な問題点を解決するため, いくつかの基礎的な実験を笑気麻酔下でサルの体性感覚野と一次視覚野について行い, 刺激に対する応答を示す安定した画像を得るに至った。このことはオプティカルレコーディング法のサル慢性実験への実用化への道を開いたものといえる。

### 6. LTP 形成に関わる電位依存性カルシウムチャネル

$\times$ 三浦正巳,  $\times$ 佐々木 寛, 伊藤憲一(山形大, 医, 第二生理)

海馬 CA1 での, 高頻度刺激による LTP の形成には NMDA チャネルからのカルシウムの流入が重要と考えられている。しかし, カルシウム感受性色素による画像解析では, 細胞内カルシウムの上昇は NMDA チャネルの阻害薬 APV では僅かしか抑制されず, 電位依存性カルシウムチャネル (VGCC) の寄与が大きい。

い。そこで我々は、 $\theta$ -burst 刺激(100 Hz 5 pulse を 0.2 s 毎に10回)で形成される LTP と VGCC との関係を、特異的阻害薬として T 型にニッケル(25  $\mu$ M)、P 型に  $\omega$ -AgaIVA (60 nM)、L 型に nifedipine (30  $\mu$ M) を用いて薬理的に検討した。

その結果、1)  $\theta$ -burst 刺激で形成される LTP は APV (25  $\mu$ M) により抑制された。2) 用いた VGCC 阻害薬はシナプス伝達に影響を与えなかった。3) ニッケル、 $\omega$ -AgaIVA 存在下では、LTP はコントロールに比べ有意に小さかった。一方 nifedipine では有意差はなかった。これらより、 $\theta$ -burst LTP は NMDA 依存性であると同時に、T 型と P 型の VGCC がその形成に関与していると結論した。

#### 7. INVOLVEMENT OF DOPAMINERGIC SYSTEM IN THE MODULATION OF LONG-TERM DEPRESSION OF SYNAPTIC TRANSMISSION IN RAT HIPPOCAMPAL CA1 NEURONS

<sup>×</sup>ZHIXIONG CHEN<sup>\*</sup>, SATOSHI FUJII and HIROSHI KATO  
(Dept. Physiol., Yamagata University School of Medicine · <sup>\*</sup>Dept. Physiol., Zhejiang Medical University, China)

We investigated the effects of dopaminergic system on the modulation of long-term depression (LTD) of synaptic transmission in rat hippocampal CA1 neurons. Low frequency stimulation (LFS) consisted of 450 pulses at 1 Hz induced LTD ( $-14.3 \pm 2.3\%$  of the control in the slope of f-EPSP,  $n = 10$ ). This LTD was blocked by bath application of APV (50  $\mu$ M,  $n = 7$ ), an antagonist of NMDA-receptors. Perfusion of SKF-38393 (3 ~ 10  $\mu$ M), an agonist of D1 dopamine receptors, significantly enhanced the magnitude of LTD ( $-31.1 \pm 3.8\%$ ,  $n = 11$ ,  $p < 0.01$ ) induced by LFS. LTD was blocked by application of SCH-23390 (2  $\mu$ M,  $n = 6$ ), an antagonist of D1 dopamine receptors. Activation of D2 dopamine receptors by application of LY-171555 (6  $\mu$ M) also blocked the induction of LTD ( $n = 7$ ). It was found that sulpiride (2 ~ 10  $\mu$ M), an antagonist of D2 dopamine receptors, also obviously enhanced the magnitude of LTD induced by LFS ( $-29.6 \pm 5.5\%$ ,  $n = 10$ ,  $p < 0.01$ ). These results suggest that dopamine receptors play important roles in the modulation of LFS-induced LTD in CA1 pyramidal cells of rat hippocampus. It is very interesting to point

out that D1 and D2 dopamine receptors have opposite effects on the modulation of LTD induced by LFS in hippocampus.

#### 8. モルモット海馬 CA1 ニューロンの長期増強に対するガングリオシドの効果

加藤宏司,<sup>×</sup>古瀬秀和, 金子健也(山形大, 医, 第二生理)

モルモット海馬から 500  $\mu$ m の厚さの薄切片を作成し、CA1 ニューロンの入力線維を高頻度で電気刺激(テタヌス刺激)するとシナプスの長期現象(LTP)が誘導される。この LTP 誘導に対する 2 種類のガングリオシド(GQ1b, GM1)投与の効果を検討した。1) テタヌス刺激のパルス数が 4 発の場合(100 Hz)通常の灌流液中では LTP は誘導されなかった( $103 \pm 3\%$ )。しかし、この弱いテタヌス刺激でも、GQ1b あるいは GM1(それぞれ 4 ~ 10  $\mu$ g/ml)を 10 ~ 15 分間の前投与すると、それぞれ  $128 \pm 10\%$  ( $n = 6$ ),  $123 \pm 9\%$  ( $n = 5$ ) と有意に大きな LTP が誘導された。2) 低カルシウム(1.0 ~ 1.1 mM)灌流液中では、100 Hz, 100 発のテタヌス刺激でも LTP は誘導されなかった。しかしこの低カルシウム灌流液にガングリオシド(GQ1b 5  $\mu$ g/ml)を添加し、1-数時間保存したスライスでは LTP が誘導された。これらの結果から、これらのガングリオシドが LTP 形成に促進的に関わると結論した。

#### 9. 循環調節機構の宇宙における生後発達についての研究—地上模擬実験の結果と宇宙実験の計画—

清水 強, 山崎将生, 松本茂二,<sup>×</sup>永山忠徳, 菅野隆浩, 丹野正敏,<sup>×</sup>山口亜紀<sup>\*</sup>(福島県立医大, 第一生理 · <sup>\*</sup>同学生)

哺乳類の循環の神経性調節機構は生後も発達を続け、各種固有の時期に成熟型に至る。微小重力下では、体液分布が地上とは異なり、心拍出量の分配も変わる可能性がある。上記の発達過程も宇宙では変化するかもしれない。われわれは特に大動脈神経性圧受容器反射機構に注目し、ウサギを用いて Head-down tilt 法(HDT)による模擬実験を重ねてきた。その結果、ウレタン麻酔下(1.0 g/kg, i.p.)の急性実験では、HDT により心拍出量が増加し、その分配比は頭部、特に外頸動脈領域で増加し、心臓より尾側の動脈では減少した。但し、腎動脈では変化がなかった。HDT 体位で生後 3 週齢から 8 週齢迄育てたウサギでは、水

平位普通飼育群に比して、大動脈神経の無髄線維数が少なく、有髄線維数の割合は増加した。また、その圧の上昇に対するこの神経の活動の増加分も少なかった。これらの地上実験の結果を確認するためには実際に宇宙で育てた動物について検討する必要がある。そのため、米国 NASA の宇宙実験室での研究に用い易いラットでの予備実験も開始した。まだ例数は少ないがウサギと同様の結果を得つつある。

#### 10. ラットの動脈神経性圧受容器反射の求心路は生後も発達しているだろうか

山崎将生, 清水 強, <sup>×</sup>大須賀文彦\*, <sup>×</sup>塚田泰彦\*, <sup>×</sup>中野路子\*, <sup>×</sup>林 康博\*, 松本茂二, 永山忠徳, 菅野隆浩, 丹野正敏(福島県立医大, 第一生理・\*同学生)

われわれは、ウサギの圧受容器反射のひとつの求心路である大動脈神経(AN)が生後もある時期まで発達することを明らかにしてきたが、更に7年前からはこの発達に対する宇宙環境の影響を追求するための模擬実験も行ってきた。一方、宇宙実験室の哺乳動物飼育施設は目下はラットかマウスに限られている。そこで、本学実験動物施設でラットを授乳期から育て、そのANの生後発達の観察を開始した。今回は2, 9ならびに16日齢の仔ラット各1匹と84日齢の成熟ラット2匹の左ANの横断切片の電顕像を撮影し、6000~12000倍に拡大した写真上で無髄と有髄神経線維の本数と軸索径を計測した。有髄線維本数は2, 9, 16日齢それぞれ0本, 16本(線維総数に占める割合: 10.8%)ならびに17本(12.2%)で、84日齢では64本(34.0%)と96本(37.5%)であった。軸索径の度数分布の形状は9日と16日齢では範囲が0.1~1.2  $\mu\text{m}$  の1相性分布を示したが、84日齢では2相性を示し、無髄線維と有髄線維のピークはそれぞれ0.4  $\mu\text{m}$  と1.4  $\mu\text{m}$  であった。即ち、ラットの動脈神経はウサギと同様に生後も成長・発達している。

#### 11. 動脈圧の変化が門脈流量に及ぼす影響について

丹野正敏, 松本茂二, 清水 強(福島県立医大, 第一生理)

門脈流量の調節に関する研究は少なく門脈流量への動脈圧の影響は明らかでない。我々は電磁血流計及び超音波血流計を用いて家兎の門脈流量を測定し動脈圧を変化させた時の門脈流量の変化を検討した。体重2.85~3.8 kgの成熟家兎15匹を用い、フェニレフリ

ン(1 mg/ml)0.2 mlで昇圧を、ニトロプルシッド(1 mg/ml)0.4 mlで降圧を試みた。このうち11匹は門脈流量を電磁血流計で測定し、残り4匹は超音波血流計で測定した。後者4匹では更に右外頸静脈から中心静脈へバルーンカテーテルを挿入し、それを膨らませ、静脈環流を抑制して降圧した。門脈流量はバルーンによる降圧では全例で処置前より平均79%減少した。フェニレフリンによる昇圧でも全例で平均74%減少した。ニトロプルシッドによる降圧では15例中10例ではただちに減少したが、他の5例では僅かに増加後減少し、最大39%減少した。ニトロプルシッドの降圧による門脈流量の減少は腸間膜末梢血管拡張と肝内血管拡張の双方の影響の検討や、用量依存度の検討も必要であろう。作用機序の異なった薬物や、異なった実験モデルで検討を重ね、動脈圧の門脈流量に及ぼす影響を明らかにしたい。

#### 12. 基調血流が変われば同じ刺激でも血管収縮反応が拡張反応に変わる

刈田啓史郎, <sup>×</sup>和泉博之(東北大, 歯, 生理)

血管の拡張および収縮による血流の神経調節機構において基調血流のレベルが反応量にどのように影響しているかを、副交感神経性血管拡張反射と交感神経性血管収縮反応を用いて調べた。Chloralose-urethane (50 mg/kg, 100 mg/kg)麻酔のネコ下顎口唇の血流をレーザードブラー血流計にて測定した。血管拡張の反応の観察には舌神経の電気刺激(40 V, 2 ms, 20 Hz, 10 s)による反射性の副交感神経性血管拡張を、血管収縮には頸部交感神経の節前部の電気刺激(8 V, 2 ms, 20 Hz, 10 s)を用いた。また、基調血流レベルの調節には頸部交感神経の連続背景刺激(8 V, 2 ms, 0.1 Hz, 5 Hz)を用いた。高い基調血流のレベルでは、副交感神経性血管拡張による血流増加反応量の低下をもたらす。交感神経性血管収縮による血流減少反応量の上昇を示した。低い基調血流レベルでは、副交感神経性血管拡張による血流増加反応量の上昇をもたらす。交感神経性血管収縮による血流減少反応量の低下を示した。副交感神経性血管拡張と交感神経性血管収縮を同時に興奮させると、その反応の性質は基調血流レベルの如何により決定され、基調血流が高いときは血管収縮反応を、低いときは拡張反応を示した。これらの結果は皮膚の温度の違いで機能する。血管運動神経が異なるとする Wallin (1990) の仮説とは異なるものであった。

### 13. 外乱に対するヒトの姿勢制御—上肢の構えとの関係—

×赤間浩一, ×宮崎 浩, ×星紀由美, 高橋彌穂(東北学院大, 人間情報研)

姿勢を維持するためには, 視覚性の情報, 前庭性の情報, 固有受容器を介した体知覚性の情報の統合が不可欠である。今回, 我々は上肢の構えの違う姿勢では, 感覚の統合にどのような違いが生じるかを調べた。

テストは, 健康者に対して2種類の姿勢, すなわち, 基本肢位と上肢外転位で行った。

感覚統合機能テストにおいて, 平均値領域外の出現は, 上肢外転位において, 約2倍の増加がみられた。このことは, 上肢を挙げることによって, 重心が移動し, そのために重心安定の程度が異なると考えられる。

Sensory Ratio においては, 体性知覚からの情報を使用する能力と視覚からの情報が正でも誤でもそれに頼ろうとする度合いについて変化しないのに対し, 視覚と前庭からの入力情報を使用する能力が低下するのがみられた。

重心を安定させるのに腰を主に使用するか足首を主に使用するかについて, 2つの姿勢では変化がみられず, 両者とも, 足首を重心安定のために, より使用することが判明した。

### 14. 超音波電子スキャンを用いたヒト胎児眼球運動並びに瞳孔径の変化の観察

×堀本直幹(秋田大, 医, 第一生理)

成人では, 暗所における瞳孔は覚醒時には散瞳を示すが, NREM 睡眠時には持続的に縮瞳した状態にある。また, REM 睡眠時には縮瞳した状態に加え, 瞳孔径の相動性の変化を伴うことが報告されている。これらの知見を基礎に, 眼球運動ならびに瞳孔径の変化を指標として, ヒト胎児における REM 睡眠, NREM 睡眠ならびに覚醒状態の存否について検討を加えた。対象は妊娠36~41週の正常胎児12例である。電子スキャンを用い, 一側眼球を連続する60分間観察した。眼球運動はレンズをマークとし, 全観察時間を眼球運動が持続的に存在する期間(眼球運動期)と存在しない期間(無眼球運動期)とに区分した。瞳孔径は1秒毎に計測した。その結果, ヒト胎児においても散瞳(全観察時間の9.7%)と縮瞳(90.3%)の2つの状態が存在し, 各々の期間における瞳孔径の中央値は3.0 mm, 1.7 mm であった。加えて, 眼球運動期には無眼球運

動期よりも有意に長く散瞳していることが明かとなった。瞳孔径のみで胎児における覚醒と断定することはできないが, 子宮内において散瞳している約10%の期間は出生後, 覚醒へと繋がってゆく状態と推測される。

### 15. ヒドラ解離上皮細胞を用いた同心電極による細胞内記録

×尾張伸行, ×塚原保夫(理研フォトダイナミクス・東北大, 大学院, 情報科学研)

淡水性の腔腸動物“ヒドラ”は再生力が強いことで知られている。ヒドラは機械的手法によって個々の細胞にまで解離された後に再び集合させた無秩序な細胞塊の状態から, 約7日程度で元の形態を再生できる。ヒドラの再生過程において, 選択的細胞間接着がその基本的な仕組みと考えられている。既に田代らは光マニピュレーターを用いて, ヒドラの体を形成する2種の上皮細胞について細胞接着実験を行い, 内胚葉性上皮細胞の高い運動性を報告した。特に3個以上の細胞を直線状に接着した状態から数分以内に別の並びに動いていく(再配列)現象を観察した。この時細胞の積極的な運動が活動電位により起動されるのであるかを調べるために細胞内電位記録を行い解析することを計画している。しかしヒドラの解離細胞のように運動性が高い細胞を対象とした場合には, 微小電極を刺入した部位が外れないような細胞の固定が必要である。そこでガラス微小電極とパッチピペットを組み合わせた同心二重管電極を作成し, 光マニピュレーションシステムと組み合わせた。外側のパッチピペットで細胞膜の一部を固定し内側の微小電極を刺入するため刺入部位は比較的安定である。細胞の運動性の制限はピペット先端に限局されているので, 再配列現象等も同時に観察できる。この実験系を用いて外胚葉性上皮細胞の細胞内電位が測定された。内胚葉性上皮細胞については, 現段階では細胞外記録で機械的刺激による電位発生を確認している。

### 16. 医学部教養課程学生に対する生理学紹介を目的とした講義(脳機能をめぐって): 初めての試みと反省 香山雪彦(福島県立医大, 第二生理)

福島県立医科大学では教養課程改革の試みの一つとして, 今年から入学直後の一年生に対して, 人体機能学概論という名称の講義を始め, 週1回, 計15回の講義を生理学の教授2人で半分ずつ担当した。私の担当分は, 人間を脳機能および行動の面から考えるために,

「人間はサルや他の動物とどこか違っているだろうか」「いわゆる男らしさ女らしさは脳で作られるのか」「人間、氏が育ちか」「あなたは脳の死を人間の死として臓器を提供するか」といった具体的なテーマを設定した講義を行ったところ、学生達の強い興味を引いた。しかし、この講義は、脳のどこがどのように機能しているかという視点ではなく、これからどのようなことを勉強して行くのかというサンプルを示すと同時に、人間というものを考えていくきっかけとなって欲しいと企画したものであるが、レポートの中で授業という言葉を使い、知識の伝授のためのものとして捉えた人が多かったことはちょっとしたショックだった。今後は、内容の充実をはかると共に、学生達の反応を引き出してディスカッションを成立させられるよう、講義の技術を磨きたい。

#### 17. ラット小脳顆粒細胞の GABA と glycine 応答

金田 誠, <sup>\*</sup>M. Farrant<sup>\*</sup>, <sup>\*</sup>S. G. Cull-Candy<sup>\*</sup> (山形大, 医, 第一生理・<sup>\*</sup>University College London)

ラット小脳薄切切片標本にパッチクランプ法を適用し、小脳顆粒細胞の GABA 応答とグリシン応答について検討した。-50 mV の膜電位固定下に GABA を投与すると一過性内向き電流が全細胞で観察された。一方グリシン投与では56%の細胞のみに内向き電流が観察された。電流電圧曲線から、両応答ともクロライドチャンネルが関与していると考えられた。容量反応曲線から求めた Hill 係数は GABA 応答が0.94, グリシン応答は2.6であった。また単一チャンネルコンダクタンスは、GABA が16, 28 pS, グリシンは32, 55, 104 pS であった。薬理学的には GABA 応答は GABA 受容体拮抗薬で、グリシン応答はストリキニンで阻害された。以上の結果から両応答は異なる受容体を介すると考えられた。また生後発達に伴って、GABA 受容体密度は増加したが、グリシン受容体密度は減少傾向が認められた。ホールセルクランプ下に記録した spontaneous IPSP はビキュキュリンで完全に抑制されたが、ストリキニンでは抑制されなかったことからラット小脳顆粒細胞では GABA 受容体が、シナプス伝達に重要な役割を果たしていると考えられた。

#### 18. GABA response に対する Docosahexaenoic acid(DHA)の作用

<sup>\*</sup>浜野浩司, 鍋倉淳一, 小川哲朗(秋田大, 医, 第一生理)

DHA は、細胞膜のリン脂質を構成する成分で、脳や網膜に多く含まれている。近年、DHA の摂取不足により、記憶などの障害を認めることが報告されており、また、DHA が NMDA 受容体の感受性を増強させるという報告もある。今回、我々は、GABA の受容体に対する DHA の作用を黒質を急性単離した細胞に、パッチクランプ法をすることで検討した。DHA は GABA<sub>A</sub> 応答は抑制した。5 × 10<sup>-6</sup> M の DHA の存在下で、すべての濃度で GABA 応答は、ほぼ半分抑制され、DHA が GABA と同じ受容体に競合しているのではないことがわかった。また、DHA の存在下では、GABA 応答に鋭いピークを示していることから、チャンネルに作用していると考えられた。DHA により GABA 同様、グリシン応答も抑制されたが、NMDA 応答は、逆に増強させ、DHA は、細胞膜全体に作用するのではなく、クロライドチャンネルに抑制的に働くことが示唆された。脂肪酸が膜に結合することを抑える物質であるチメラゾールを使って DHA の作用が抑えられるかを検討してみましたが、GABA 応答の抑制を取り除くことは出来ず、DHA は、細胞膜の脂質の部分に働く可能性は低く、チャンネルそのものに働いている可能性が高いと考えた。

#### 19. <sup>31</sup>P-MRS による単離心筋細胞のエネルギー代謝測定

内田勝雄, 土居勝彦(山形大, 医, 第一生理)

ラットの単離心筋筋細胞を用いて、ATP, PCr, P<sub>i</sub> 等を <sup>31</sup>P-MRS で測定した。単離心筋細胞の MRS は (1)高い細胞密度、(2)好氣的という相反する条件を同時に満足させなければならないという困難がある。今回は、(1)の条件に重点を置き、低酸素状態の経過に伴う心筋細胞のエネルギー代謝変化を検討した。

MRS は、大塚電子製核磁気共鳴装置(BEM 170/200)で測定した。単離心筋細胞の浮遊液(細胞密度約 10<sup>6</sup>/ml) 3 ml をガラスキューベットに入れ、サーフェスコイルの上に置いた。繰り返し1秒での1000回加算を同一試料で3回行い、1000, 2000, 3000秒後のスペクトル変化を見た。この間、浮遊液に酸素化は行わず、細胞はキューベットの底に沈殿した状態であった。細胞外液に加えた KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.0 mM を定量の基準とした。PCr は ATP に先行して低下した。β-ATP (Mg 結合型が73%)の濃度は低酸素の進行で 2.5 mM から 0.63 mM に低下し、3000秒後では ATP のピークは消失した。この低下は酸素法で定量した値より大きく、

NMR-invisible ATP が示唆された。P<sub>i</sub> は 1.4, 2.3, 3.5 mM と増加した。P<sub>i</sub> の chemical shift から求めた pH<sub>i</sub> は 7.2, 6.5, 6.2 と低下した。

## 20. ラット単一筋線維の疲労時の生理学的特性について

×平野弘之, ×渡辺好博, 高橋英嗣\*, 土居勝彦\* (山形大, 整形外科・\*第一生理)

【目的】 骨格筋の持続的活動に伴う張力産能力の低下を一般に疲労と呼ぶ, 今回, 単一筋線維を用い疲労と細胞内カルシウム変動の関係につき検討した。

【方法】 単一筋線維は S.D. ラットの足底筋から器械的に単離した。筋張力は半導体ストレインゲージを用い等尺性に測定した。強縮刺激をプラチナ刺激電極から加えた (duration 350 msec 両極性)。強縮刺激を反復し, 張力が初期張力の 50% まで低下した時点で疲労完成とした。Fura-2 AM を用いた蛍光法で筋張力と細胞内カルシウム濃度の同時測定を行なった。

【結果】 強縮刺激 (100 Hz tetanus) で  $29.5 \pm 1.6$  mgf ( $n=13$ ) の最大張力が発生。刺激間隔が 1, 2 および 3 秒の時, 疲労完成までの時間は  $20 \pm 11$  秒 ( $n=5$ ),  $49 \pm 17$  秒 ( $n=5$ ),  $171 \pm 22$  秒 ( $n=6$ )。疲労後の最大張力産成能は 100 Hz tetani による疲労では疲労前値の 50% に低下。一方, 30 Hz tetani による疲労では  $95.3 \pm 20.4\%$  (N.S.,  $n=8$ ) であった。最大張力発生能の疲労前後の変化と,  $\text{Ca}^{2+}$  transient の振幅は一致していた。

【結論】 刺激の質と疲労の関係に細胞内カルシウム動態が関与していると推察された。

## 21. 酸素拡散抵抗による細胞内酸素レベルの制御

高橋英嗣, 土居勝彦 (山形大, 医, 第一生理)

虚血に対する細胞内酸素輸送システムの適応メカニズムを, ラット心室より単離した心筋細胞を用い検討した。単離心筋細胞浮遊液を容積 120  $\mu\text{L}$  の気密キューベット内に封入し, HEPES 緩衝液 (pH=7.3,  $\text{Po}_2=7$  Torr, 35°C) で灌流した。つぎに灌流を停止することで細胞への酸素供給を制限し, 虚血を模擬した。単一細胞の細胞内酸素分圧を既報の細胞内酸素レベル画像化システム (Am. J. Physiol. 投稿中) を用い経時的に測定したところ, 細胞が気密キューベット内の酸素を消費する結果, 灌流停止後ただちに細胞内  $\text{Po}_2$  は低下を開始し, 灌流停止前の 6.6 Torr から灌流停止後 4 分で 3.6 Torr まで低下した。しかしながら, 30 分間の

虚血後も細胞内  $\text{Po}_2$  は anoxic perfusion のレベルには達しなかった ( $p < 0.05$ )。

ミトコンドリア内膜の酸素分圧 ( $\text{P}_{\text{mit}}$ ) は, 細胞外液酸素分圧 ( $\text{P}_o$ ), 細胞内外の酸素拡散抵抗 ( $R$ ), およびミトコンドリアの酸素消費量 ( $\dot{V}$ ) から次式で決定される。

$$\text{P}_{\text{mit}} = \text{P}_o - R \times \dot{V}$$

従って, 今回の結果は, 酸素供給を停止することで, ミトコンドリア近傍が軽度の低酸素状態に陥りミトコンドリアの酸素消費が制限され, その結果酸素拡散抵抗に起因する細胞内外の酸素分圧格差 ( $R \times \dot{V}$ ) が減少し,  $\text{P}_{\text{mit}}$  の低下が抑制されたものと解釈できる。本メカニズムにより, 虚血による組織への酸素供給停止後, 細胞内が無酸素状態になるまでの時間が著しく延長される可能性がある。

## 22. ラット耳下腺単離小胞体標本によるリアノジン感受性 $\text{Ca}^{2+}$ 放出

小澤輝高, 西山明德 (東北大, 医, 第一生理)

今回, カフェイン並びにリアノジンで誘発される  $\text{Ca}^{2+}$  放出機構の特性を明らかにする目的で, 耳下腺単離小胞体標本を用いて  $^{45}\text{Ca}^{2+}$  のフラックスを測定した。

小胞体標本に  $^{45}\text{Ca}^{2+}$  を充分に取り込ませた後, thapsigargin (TG) を投与して, 小胞体への再取り込みを抑制した条件で,  $\text{Ca}^{2+}$  の放出を調べた。TG を投与すると,  $\text{Ca}^{2+}$  の含量がゆっくりと減少した。この時カフェイン 40 mM を同時に投与すると, 急速な  $\text{Ca}^{2+}$  の放出が観察された。リアノジンは 10  $\mu\text{M}$  の時は, カフェイン 40 mM に比べて遅いが有意な  $\text{Ca}^{2+}$  放出が見られた。しかし 500  $\mu\text{M}$  の時は, TG 単独のコントロールと比較して有意差は見られなかった。更にリアノジン 10  $\mu\text{M}$  で前処理しておくとカフェインの効果が増強された。次にリアノジン受容体を生理的にコントロールと言われる cyclic-ADP ribose (cADPR) 4  $\mu\text{M}$  を投与すると, カフェイン 40 mM の場合と同様に, 急速に  $\text{Ca}^{2+}$  が放出された。カフェイン並びに cADPR の効果はリアノジン 500  $\mu\text{M}$  の前処理により著明に抑制された。以上の結果より耳下腺小胞体膜上には, 筋肉組織に見られるのと同様にリアノジン受容体が存在し, カフェインや cADPR はリアノジン受容体に作用して,  $\text{Ca}^{2+}$  放出を引き起こしていることが示唆された。

### 23. 単離唾液腺分泌細胞に対するカフェインの作用: patch-clamp による研究

×張 偉, 小澤輝高, 福士靖江, ×林 曠\*, 西山明德(東北大, 医, 第一生理・\*医療短大)

カフェインはラット耳下腺腺房細胞の単離小胞体からカルシウムイオンの放出を促す。今回, ラットの顎下腺および耳下腺から単離した腺房細胞に whole cell patch-clamp 法を応用し, カルシウム依存性カリウムおよびクロールイオン電流の観察からカフェインの効果を検討した。

顎下腺腺房細胞では, 1 mM のカフェイン単独の作用は極めて弱かったが, この濃度のカフェインは閾値濃度 ( $5 \times 10^{-10}$  M) のイオノマイシンの作用を著明に増強した。

耳下腺腺房細胞では, カフェインは顎下腺に対するより強く, かつ用量 (1~40 mM) 依存性に作用し, 10 mM のカフェインが数 nA に及ぶ電流の増大をもたらすこともあった。また, カフェインの効果は, 10~100  $\mu$ M のリアノジン存在下で一過性に増強された。

以上の結果から唾液腺腺房細胞にはカルシウムイオンやカフェインによりリアノジン受容体を介してカルシウムイオンの放出される機構が存在することが示唆される。しかし, この機構の生理学的意義については, 今後さらに研究の必要がある。

### 24. ラットの顎下腺腺房細胞におけるカフェインおよびリアノジン感受性 $\text{Ca}^{2+}$ ストアの有無

福士靖江, 泉井 亮\*, ×張 偉, 小澤輝高, ×林 曠\*\*, 西山明德(東北大, 医, 第一生理・\*弘前大, 医, 第一生理・\*\*東北大, 医療短大)

一般に細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  ストアからの  $\text{Ca}^{2+}$  放出には, リアノジンと  $\text{IP}_3$  の2種の受容体が関与すると言われているが, リアノジン受容体の存在と生理的意義が確立している細胞は少ない。今回 fura-2 を負荷したラット単離顎下腺腺房細胞において, イオノマイシン, thapsigargin および ATP を用い, 以下のことに注目してこれを検討した。(1)  $\text{Ca}^{2+}$  誘発性  $\text{Ca}^{2+}$  放出を起こすか, (2) カフェインおよびリアノジンの効果, (3)  $\text{Ca}^{2+}$  オシレーションや細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  波を起こすか? イオノマイシンにより細胞は急峻な  $\text{Ca}^{2+}$  上昇を起こした。その反応は 10 mM のカフェインにより著明に増強された。またその反応は 200  $\mu$ M リアノジンで抑えられ除去するとただちに急峻な上昇が回復した。カフェイン及びリアノジンは thapsigargin 及び ATP

の  $\text{Ca}^{2+}$  反応に対してもほぼ同様な効果をもたらした。これらの薬物により, 定位置から  $\text{Ca}^{2+}$  オシレーションが誘発され細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  波が生じた。結論として, 顎下腺腺房細胞にはリアノジン受容体の存在が示唆され  $\text{Ca}^{2+}$  波に何らかの役割をもつと推測された。

### 25. GLP-1 のインスリン分泌調節機構

泉井 亮, 菅世智子, 星名裕子, 武尾照子, ×和田潤郎, ×神村典孝, 福士靖江\*, 西山明德\*(弘前大, 医, 第一生理・\*東北大, 医, 第一生理)

GLP-1 (glucagon-like peptide-1 (7-37)) は膵 B 細胞のインスリン分泌を促進するが, これはグルコースの情報伝達系を促進して細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度 ( $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ) を上昇させる結果であると考えられている。しかしわれわれは Fura-2 による顕微蛍光測定法で, GLP-1 が外液グルコース非存在下でも,  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  を上昇させることをみつけた。Nystatin Whole-cell patch-clamp 法では, グルコース非存在下に, GLP-1 による活動電位の発生が認められ, これは24時間 PTX 処理によっても影響されなかった。活動電位に先行する電位変化は, 膜抵抗の増大を伴う脱分極, 膜抵抗の減少を伴う脱分極, 電気特性の変化を伴わないものと, 細胞による違いがみられた。電位固定法では, GLP-1 は  $\text{Ca}^{2+}$  性内向き電流の大きさを増大させ, 電流発生の閾値を減少させた。細胞を dibutyryl cAMP で刺激すると, GLP-1 と同様の効果が得られた。GLP-1 による cAMP 情報伝達系がグルコース系とは独立して  $\text{Ca}^{2+}$  channel を活性化することが推測される。

### 26. 加齢マウス卵受精時の細胞内カルシウム濃度変動

×五十嵐秀樹, 金田 誠\*, 高橋英嗣\*, 土居勝彦\*, ×広井正彦(山形大, 医, 産婦人科・\*第一生理)

マウス卵は LH サージ後12~14時間で排卵され受精する。卵の加齢が受精後の発育にどのような影響を及ぼすか検討するために, 排卵直後の卵と排卵後長時間経過した卵(加齢マウス卵)を用いて体外受精を行った。排卵後2時間以内に採取した卵は30%以上が正常に発育し異常な発育を示すものは少なかった。一方, 排卵後4時間以上経過して採取した卵での正常発育率は10%以下となり, 逆に異常発生卵の割合が著しく増加した。即ち受精のタイミングがその後の卵の発育を決定する重要なファクターであることが考えられた。

受精直後にみられる周期的な細胞内カルシウム濃度

の上昇(Ca オシレーション)は、その後の卵の発育に重要な役割を演じると言われている。Fura-2 による蛍光測定法で排卵直後の受精卵と加齢マウス受精卵の両方で Ca オシレーションが観察された。個々の Ca オシレーションの細胞内カルシウム濃度上昇時間は排卵直後の卵で最も長く、加齢と共に短縮する傾向が認

められた。一方、単位時間当たりに観察されるオシレーション数は、排卵直後の卵でもっとも多く、加齢とともに少なくなる傾向が認められた。

以上の結果より加齢に伴う Ca オシレーションのパターン変化が受精卵の発育に影響を与えている可能性が示唆された。

## 第 45 回 西 日 本 生 理 学 会

日 時：平成 6 年 11 月 11 日(金)・12 日(土)

場 所：福岡県歯科医師会館

当番幹事：九州大学医学部第一生理 堀 哲 郎

医学部第二生理 赤 池 紀 生

歯学部口腔生理 太 田 雅 博

第45回西日本生理学会が1994年11月11日午後と12日午前福岡県歯科医師会館で開催された。参加者は142名、演題数56であった。今回九州大学医学部と合同の当番であったが以前の当番時に医学部の一、二生理学教室が夫々1回ずつ主幹されたので、今回は主に歯学部が担当することになった。例年と同様になるべく一泊ですむように半日ずつ二会場を使用した。会場費はホテルなどより割安であったが、設備の運営に専属のサービス業者を利用せざるを得なくなり、予想以上の人件費がかかり、少々赤字が出てしまった。また金曜日から開催したため学生アルバイトを頼めなくなり、医学部生理学教室の若い方々に会場の係をお願いして急場をしのいだ。学会の進行はスムーズであった。お手伝い頂いた方々にこの場をかりて御礼申し上げます。

会期と会場を約一年前に決定し、本年5月中旬から準備を始め、6月20日に参加申込書等案内状を発送し、8月31日〆切で9月上旬から抄録と会員名簿の編集にかかり9月末日印刷を終了し、10月5日プログラム、抄録集を発送した。11月から会場の準備を始め、11日午前中に準備完了した。11日夕刻、評議委員会、総会の後、近くのホテルのレストランを借り切って懇親会を開催したが、約90名の参加者があり、盛会であった。12日学会終了後小一時間機、椅子などの後片づけをして無事終了した。運営の経済的負担を少なくするには会期又は会費について変更すべきではないかと次回からの当番校に提案したい。

(太田雅博)

×は非会員を示す

### A-1. 喫煙習慣と圧受容体反射機能

中村 正, 高原和雄\*, 平川晴久\*\*, ×中島康秀\*, ×黒岩昭夫\*, 林田嘉朗\*\* (産業医大, 産業医実務研修センター・\*第二内科・\*\*応用生理)

疫学的に虚血性心疾患(IHD)の危険因子として喫煙は重要であるが、生理機能と喫煙習慣の関係をみた報告は少ない。そこで IHD による死亡率との負の相関が報告されている Baroreflex Sensitivity (BRS) および Maximal Oxygen uptake ( $\dot{V}O_{2max}$ ) が、喫煙習慣によって低下するか否かを調べた。

【方法】 身体活動量と年齢をマッチさせた健康男子喫煙者11名(21.3±1.8才, mean±SD)と対照非喫煙者15名(21.1±1.7才)の BRS 及び  $\dot{V}O_{2max}$  を測定して比較した。BRS の測定は安静臥床時、26℃における自発的心拍変動の心電図 R-R 間隔に対する影響力を周波数軸上の伝達関数の値として求めた。 $\dot{V}O_{2max}$  は自転車エルゴメーターによる最大運動負荷を行い、呼気ガスを分析して測定した。

【結果】 喫煙者群の BRS (12.7±6.7 msec/mmHg, mean±SD) および  $\dot{V}O_{2max}$  (42.4±2.8 ml/kg/min) は、

いずれも対照非喫煙者群 (BRS: 20.2±8.4 msec/mmHg,  $\dot{V}O_{2max}$ : 47.5±7.6 ml/kg/min) と比べて有意に低下してした ( $p<0.05$ )。

【結語】 喫煙習慣は、BRS および  $\dot{V}O_{2max}$  を低下させる可能性がある。従って、喫煙は生理機能からも IHD による死亡率を高める因子と考えられる。

### A-2. ビタミンCの降圧作用の機序について

脇田良彬, 米村健一\* (熊本大, 医, 第一生理・\*教育, 臨床医科学)

ビタミンCが有する降圧作用の機序を明らかにするために、麻酔ラット及びモルモットを用い、ノルアドレナリン(NA)およびアドレナリン(AD)による血圧作用に対するビタミンC(VC)の影響について検討した。ラットにおいて、NA ( $10^{-6}$  g/kg b. w.) の静注による血圧上昇作用が VC (20, 50 mg/kg b. w.) の前投与により20～40%の抑制がみられた。この抑制は NO 合成酵素阻害剤 (N-nitro-L-arginine methylester, L-NAME) (20 mg/kg b. w.) の前処置により消失した。モルモットにおいても、ラットの場合と同様の傾向がみ

られたが、NA の血圧上昇に対する VC の抑制作用はラットの場合より強く、さらにその持続時間も長い傾向にあった。同じくラットにおいて、AD ( $2 \times 10^{-6}$  g/kg b. w.) の静注により血圧上昇に続く血圧下降の二相性の反応がみられたが、VC (50 mg/kg b. w.) の前投与により血圧上昇の強い抑制と、一方血圧下降に対しては促進作用が長時間にわたりみられた。この抑制ならびに促進作用は NO 合成酵素阻害剤 (L-NAME) 処置後にはみられなくなった。

以上の結果から、VC の降圧作用は血管内皮細胞により分泌される NO に関連した作用である可能性が示唆されるが、詳細についてはさらに検討が必要であると思われる。

### A-3. 心室筋細胞の $\text{Na}^+\text{-K}^+$ pump 電流に対する代謝阻害剤の影響

×安部隆子, 清末達人, 有田 眞 (大分医大, 第二生理)

心筋虚血時に、 $\text{Na}^+\text{-K}^+$  pump 活性がどのような変化を受けるかを明らかにする目的で、モルモット心室筋細胞の  $\text{Na}^+\text{-K}^+$  pump 電流を単離し、これに対する代謝阻害剤の影響を検討した。Cs<sup>+</sup>, EGTA, Na<sup>+</sup> (40 mM) を含む電極液と、Ni<sup>2+</sup>, Ba<sup>2+</sup>, Cs<sup>+</sup> などを含む細胞外液を用いて各種チャネル電流、 $\text{Na}^+\text{-Ca}^{2+}$  交換電流を抑制した。-16 mV/秒のランプ波を用いて疑似定常状態の電流-電圧関係を記録し、dihydro-ouabain (50  $\mu\text{M}$ ) 作用により、もしくは細胞外 K<sup>+</sup> 除去により消失する電流を  $\text{Na}^+\text{-K}^+$  pump 電流と定義した。この電流は、電位依存性を示し、0 mV にて約 200 pA の振幅を有していた。次に、1  $\mu\text{M}$  glibenclamide を細胞外液に加えて ATP 感受性 K<sup>+</sup> チャネルを抑制した条件下にて各種代謝阻害剤の作用を検討した。ミトコンドリアの酸化的磷酸化の脱共役剤 FCCP (0.1~0.2  $\mu\text{M}$ ) は、数分以内に、 $\text{Na}^+\text{-K}^+$  pump 電流をほぼ完全に抑制したのに対し、解糖系の阻害剤 iodo acetic acid は最大15分の作用時間内では  $\text{Na}^+\text{-K}^+$  pump 電流に影響を与えなかった。以上より、 $\text{Na}^+\text{-K}^+$  pump は解糖系のみならず、酸化的磷酸化からもエネルギー供給を受けていると考えられた。

### A-4. 虚血関連脂質中間代謝体の ATP 感受性カリウムチャネル抑制作用

佐藤俊明, 有田 眞 (大分医大, 第二生理)

【目的】 虚血関連脂質中間代謝体であるリゾフォスフ

ァチジルコリン (LPC) の ATP 感受性カリウム ( $\text{K}_{\text{ATP}}$ ) チャネルに対する作用を検討した。

【方法】 モルモット単一心室筋細胞の  $\text{K}_{\text{ATP}}$  チャネル電流を、140 mM KCl を含む電極内液と同濃度の KCl を含む灌流液を用いて、inside-out または cell-attached patch clamp 法により記録し、細胞内側または細胞外側より投与した LPC の作用を検討した。

【結果】 Inside-out patch clamp 法で細胞膜内側から投与した LPC (10~50  $\mu\text{M}$ ) は細胞内側の ATP-free 条件下で活性化された  $\text{K}_{\text{ATP}}$  チャネル電流を非可逆的に抑制した。しかし、run-down した後、UDP (3 mM) 添加により再活性化された  $\text{K}_{\text{ATP}}$  チャネル電流は、LPC (10  $\mu\text{M}$ ) により抑制されなかった。また  $\text{K}_{\text{ATP}}$  チャネル開口薬 cromakalim (10  $\mu\text{M}$ ) や代謝阻害剤 FCCP (0.1  $\mu\text{M}$ ) により活性化された  $\text{K}_{\text{ATP}}$  チャネル電流は、cell-attached patch clamp 法で細胞外側 (電極内) から作用させた LPC (50  $\mu\text{M}$ ) により抑制されなかった。

【総括】 LPC は inside-out patch clamp 法で ATP-free の条件下で活性化された  $\text{K}_{\text{ATP}}$  チャネルのみを抑制したことから、LPC の  $\text{K}_{\text{ATP}}$  チャネル抑制作用は run-down を促進することによって考えられた。

### A-5. グラミシジン穿孔パッチ法の心筋細胞への応用

田嶋靖弘, 尾野恭一, 赤池紀扶 (九州大, 医, 第二生理)

polypeptide antibiotics であるグラミシジンは、1 価の陽イオンに選択的なイオンチャネルを形成することが知られている。今回我々はこれを用いた穿孔パッチ法をモルモット単離心筋細胞に応用し、その有効性を調べた。その結果、ギガシール形成後10~20分でほぼ安定した “whole-cell clamp” の状態となり、そのときのシリーズ抵抗は8~15メガオームであった。本法により測定された心室筋イオン電流及び活動電位のパラメーターは従来報告されているものと同等であり、1時間以上にわたって安定した膜電流記録が可能であった。このことから、グラミシジン穿効パッチ法は、他のニスタチンやアンホテリシンB等の穿孔パッチ法と同様、細胞内環境を生理的な状態に維持したままでの膜電流記録に有効であると結論した。さらに、グラミシジン遊離パッチのイオン選択性は、Cs>K>Na>Tris=0 で、Cl に対しては透過性を示さないことから、グラミシジン法は細胞内 Cl 環境をも維持できると考えられた。本法により測定した心筋細胞の細胞内塩素イオン濃度は20~40 mM であった。

#### A-6. 起電性 Na/Ca 交換による心筋細胞内 $\text{Ca}^{2+}$ 濃度の動的調節

塩谷孝夫, 頼原嗣尚(佐賀医大, 第一生理)

モルモット心室筋細胞の Na/Ca 交換電流( $I_{\text{NaCa}}$ )を whole-cell clamp 法で記録した. コマンドパルスにともなう膜電位変化で誘発された  $I_{\text{NaCa}}$  は活性化の後すみやかに減衰し, 同時に  $I_{\text{NaCa}}$  の逆転電位( $E_{\text{NaCa}}$ )が大きく変化するのが観察された. このとき, ①  $I_{\text{NaCa}}$  の総電荷量から推定した  $[\text{Na}^+]_i$  の変化は  $E_{\text{NaCa}}$  の値にほとんど影響しなかったこと, ②  $E_{\text{NaCa}}$  が膜電位にむかって漸近的に移動したことから, Na/Ca 交換の起電性により  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  は膜電位で定まる値に動的に調節されると結論した. また, 膜電位固定下に caged-Ca の光分解による  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  ジャンプで誘発された  $I_{\text{NaCa}}$  はどの膜電位でもすみやかに減衰し, 上の結論を支持した. いっぽう, カレントクランプ下に活動電位を記録し, プラトー中の  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  ジャンプの効果をしらべたが, 活動電位の波形に変化は認められなかった. このことは, プラトー中でも  $I_{\text{NaCa}}$  より他の電流のコンダクタンスのほうがはるかに大きいことを示した. これから, 生理的条件下でも膜電位が Na/Ca 交換を介して  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  を動的に調節していることが示唆された.

#### A-7. $\text{P}_2$ -ブリン作動性受容体によるムスカリン性 K 電流( $I_{\text{k,ACh}}$ )の調節

松浦 博(佐賀医大, 第一生理)

コラゲナーゼ処理により得られたモルモット単離心筋筋細胞に whole-cell voltage clamp 法を適用して,  $\text{P}_2$ -ブリン作動性受容体( $\text{P}_2$ -受容体)による  $I_{\text{k,ACh}}$  の調節機構について検討した. 細胞外 ATP ( $1 \sim 10 \mu\text{M}$ ) による  $\text{P}_2$ -受容体刺激により百日咳毒素感受性 G 蛋白を介して  $I_{\text{k,ACh}}$  が活性化され, この反応は ATP 存在中にもかかわらず 1 分以内にほぼ完全に消失した. 一方,  $\text{P}_2$ -受容体刺激は, アセチルコリンやアデノシンによりそれぞれムスカリン性受容体や  $\text{P}_1$ -ブリン作動性受容体刺激により活性化された  $I_{\text{k,ACh}}$  を約 60~80% 抑制した. さらに  $\text{P}_2$ -受容体刺激により, 非水解性の GTP アナログである GTP- $\gamma\text{S}$  ( $100 \sim 200 \mu\text{M}$ ) の細胞内投与による G 蛋白の直接活性化により誘発された  $I_{\text{k,ACh}}$  も同様に抑制された. これらの実験結果により,  $\text{P}_2$ -受容体は  $I_{\text{k,ACh}}$  に対して, 百日咳毒素感受性 G 蛋白を介しての活性化のみならず, G 蛋白-イオンチャネルのレベルでの抑制性作用をもっていること

が示唆された.

#### A-8. パルミトイル-L-カルニチンの心筋カルシウム電流に及ぼす影響とそれに対するカルニチンの抑制効果

大園清信, \*吉村 望, 亀山亜砂子\*, 亀山正樹\* (鹿児島大, 麻酔科蘇生科・\*第二生理)

パルミトイル-L-カルニチンは心筋虚血時に増加し, 心筋の収縮力を低下させたり, 不整脈を起こす物質として知られている. さらに, whole-cell パッチクランプを用いることにより, この物質は心筋の Ca 電流と Na 電流を抑制することが報告されている. しかし, Ca 電流をどのような機序で抑制するかは明らかではない. 今回我々は, パルミトイル-L-カルニチンにより Ca 電流が 100% 抑制されることを再確認し, さらに Ca 電流の不活性化の速い時定数を短縮させ, 遅い時定数を延長させることも確認した. また, 0 mV 付近に反転電位を持つ時間非依存性電流(リーク電流)を発生させた. さらに, パルミトイル-L-カルニチンの細胞障害作用には Ca 電流の抑制やリーク電流の誘発が関与しうることが示唆された. 一方, 脂肪酸の  $\beta$  酸化を司る L-カルニチンの前投与により, パルミトイル-L-カルニチンによる Ca 電流の抑制作用は抑制されることが判明した. また, L-カルニチンの細胞保護作用には細胞膜に対するパルミトイル-L-カルニチンの作用を抑制する機序があることが示唆された.

#### A-9. ムスカリンによる毛様体神経節細胞 $\text{Ca}^{2+}$ 流入促進機構

反町 勝, 古川勝敏\*, 阿部由美子\*, 赤池紀生\*\* (鹿児島大, 医, 第一生理・\*東北大, 医, 生体情報・\*\*九大, 医, 第二生理)

ムスカリン受容体刺激が, 貯蔵  $\text{Ca}^{2+}$  の放出を引き起こすことをすでに報告したが, 今回  $\text{Ca}^{2+}$  流入促進機構について検討した. 鶏胚より分離した毛様体神経節細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度( $[\text{Ca}]_{\text{in}}$ )は,  $\text{Ca}^{2+}$  画像法で測定した. ムスカリン刺激は一部の細胞で 5~30 秒の遅れで  $[\text{Ca}]_{\text{in}}$  を上昇させた. ムスカリン反応は, 低濃度アトロピン, 4-DAMP により著明に抑制されたが,  $10^{-6} \text{M}$  の AFDX, ピレンゼピンによる抑制は軽度であった. 高濃度のニコチン, ムスカリンの同時添加による  $[\text{Ca}]_{\text{in}}$  上昇は個々の反応の和に近く, また高濃度ニコチン刺激中においてもムスカリンは  $[\text{Ca}]_{\text{in}}$  を上昇させた. ムスカリン反応は  $\text{Ca}^{2+}$  チャネル阻害剤

により抑制され、Bay-K-8644 により増強された。外液  $\text{Na}^+$  除去により反応は減弱したが、この反応はタブシガルギン処理後に消失した。以上の結果とムスカリンによるM電流の抑制結果より、脱分極が  $\text{Ca}^{2+}$  流入を促進すると結論された。しかし、 $\text{Mn}^{2+}$  の細胞内流入はごく少数の細胞でのみ見られた。35~40 mM KCl 下で  $\text{Mn}^{2+}$  濃度を10から2 mM に低下させると  $\text{Mn}^{2+}$  流入が生じたことから、 $\text{Mn}^{2+}$  による  $\text{Ca}^{2+}$  チャネル活性化閾値の上昇が、ムスカリンによる  $\text{Mn}^{2+}$  流入の見られない因と考えられた。

#### A-10. 無グルコース液中での NMDA 応答と細胞内 Ca 濃度の変化

中嶋保則, 石橋 仁, 赤池紀扶(九大, 医, 第二生理)  
急性単離ラット黒質細胞においてニスタチン穿孔パッチ法により NMDA 応答を記録すると、NMDA 洗い流し直後に一過性の外向き K 電流を記録する事ができる。この電流は外液の Ca 濃度に依存する事から、NMDA チャネルを通して流入した Ca によって活性化される Ca 依存性 K 電流と考えられる。従来より虚血時の脳では、膜電位の過分極や  $[\text{Ca}]_i$  の上昇が観察されており、今回そのメカニズムを探るため、ニスタチン法による NMDA 応答記録とともに、Indo-1 による  $[\text{Ca}]_i$  測定を試みた。

無グルコース液中では、-40 mV での保持電流は徐々に外向きに偏移し、 $[\text{Ca}]_i$  は上昇した。これらの変化はグルコース投与により回復した。無グルコース液灌流下に NMDA 応答を記録すると、NMDA チャネル由来の内向き電流に変化はなかったが、NMDA 洗い流し直後の一過性外向き電流は増大し、減衰時間は有意に延長した。Ca 測光においても  $[\text{Ca}]_i$  減少速度の延長を認めた。

以上の事から、無グルコース液による  $[\text{Ca}]_i$  上昇とそれに伴う外向き K 電流の増大は、主として細胞内代謝に依存した Ca 排泄機構の障害によるものと考えられた。

#### A-11. 培養ラット上頸神経節細胞間シナプスでのアセチルコリン放出に関与する $\text{Ca}^{2+}$ チャネル

×劉 臣, 久場健司(佐賀医大, 第二生理)

ニコチン性シナプスが形成された培養神経節細胞に、パッチクランプ法と共焦点レーザー顕微鏡やフォトマルチプライヤーによる Indo-1 や fura-2 の蛍光測定法を同時に応用し、高  $\text{K}^+$  (20~60 mM) 液によ

り出現する自発性微小興奮性シナプス後電位 (MEPSCs) と節細胞体内の  $\text{Ca}^{2+}$  濃度  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  を測定した。 $[\text{Ca}^{2+}]_i$  は、外液の  $\text{K}^+$  濃度  $[\text{K}^+]_o$  の 20 mM から 60 mM の範囲で、飽和的に上昇する。一方、MEPSCs の出現頻度の増加は、 $[\text{K}^+]_o$  が 30 mM から起こり、40 mM で顕著になるが、60 mM では逆に減少に変わる。MEPSC の頻度の対数と  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  の対数との関係の勾配は、 $[\text{K}^+]_o$  20~30 mM 間で 3.5, 30~40 mM 間で 11.8 となる。 $\omega$ -コノトキシン (1  $\mu\text{M}$ ) は  $[\text{K}^+]_o$  が高いほど、MEPSCs の出現頻度を強く抑制する。 $([\text{K}^+]_o = 20 \text{ nM}$  で 20%, 40 nM で 70%) が、 $[\text{Ca}^{2+}]_i$  上昇の抑制作用の  $[\text{K}^+]_o$  依存性は小さい。ニカレジピン (10  $\mu\text{M}$ ) は MEPSC を約 10% しか抑制しない。従って、MEPSCs の発生には、主に N-タイプの  $\text{Ca}^{2+}$  チャネルと L-タイプ及びその他の  $\text{Ca}^{2+}$  流入経路が関与し、更に、高  $\text{K}^+$  液下でシナプス前末端の  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  が細胞質の  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  に相関すると仮定すると、平衡下の  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  よりも、 $\text{Ca}^{2+}$  チャネルの開口により流入した  $\text{Ca}^{2+}$  により MEPSCs が直接誘起されると示唆される。

#### A-12. 神経細胞の Ca チャネルに対する cytoplasm の作用

川原 隆, 亀山亜砂子\*, 亀山正樹\* (鹿児島大, 医, 脳外科・\*第二生理)

神経細胞の Ca チャネルの活動維持機構を調べる目的で、モルモット脊髄後根神経節細胞の Ca チャネル電流をパッチクランプ法で記録した。少なくとも 2 種類の高閾値型チャネル電流が記録された。cell attached patch では、チャネルの活動の指標として算出した 1 分間の平均開確率 (NPo) はほぼ一定であった。このうち高頻度で観察されたものは、単一チャネルコンダクタンスが 23~24 ps (50 mM  $\text{Ba}^{2+}$ ) で、開口パターンや Bay K 8644 感受性から L 型チャネルであると考えられた。同チャネルは、inside-out パッチで run-down し、その後、牛心臓のホモジネース上清 (cytoplasm) と ATP を作用させると活動が部分的に回復することが確認された。回復後の単一チャネルコンダクタンスが 23~24 ps であることや、 $\omega$ -CgTX を作用させた後も同様の結果が得られることも、L 型 Ca チャネルの活動が回復していることを裏付けている。心筋の L 型 Ca チャネルでは度々報告されているが、神経細胞の L 型 Ca チャネルも細胞質の未同定物質によってその活動を調節されていると考えられる。

ATP は、チャネルへの直接作用か、リン酸化に役立っているかは、さらに検討を加えるべき問題である。

#### A-13. 海馬 CA1 ニューロンにおける電位依存性 $\text{Ca}^{2+}$ チャネルのソマトスタチンによる修飾

石橋 仁, 季 禎燮, 赤池紀扶(九大, 医, 第二生理)

中枢神経系ニューロンに存在する電位依存性  $\text{Ca}^{2+}$  チャネルは低電位で活性化される低閾値(LVA または T 型)  $\text{Ca}^{2+}$  チャネルと高電位で活性化される高閾値(HVA)  $\text{Ca}^{2+}$  チャネルに大別される。後者の HVA  $\text{Ca}^{2+}$  チャネルは薬理的にジヒドロピリジンに感受性の L 型,  $\omega$ -conotoxin-GVIA に感受性の N 型,  $\omega$ -agatoxin-IVA に感受性の P 型,  $\omega$ -conotoxin-MV1C 感受性の Q 型およびこれらの薬物に非感受性の R 型に分類される。末梢ニューロン等を用いた研究から HVA  $\text{Ca}^{2+}$  チャネルは種々の神経伝達物質によって修飾を受けることが報告されているが、中枢ニューロンにおける HVA  $\text{Ca}^{2+}$  チャネルの神経伝達物質による修飾はほとんど明らかにされていない。そこで、本研究ではラット海馬 CA1 領域から錐体細胞を単離し、ニスタチン穿孔パッチクランプ法を適用することによって電位依存性  $\text{Ca}^{2+}$  チャネルに対するソマトスタチン(SS)の効果について検討した。その結果、SS は主として N 型  $\text{Ca}^{2+}$  チャネルを抑制し、L 型  $\text{Ca}^{2+}$  チャネルにはほとんど作用しないことが明らかとなった。

#### A-14. 5-HT Modulates Voltage-dependent $\text{Ca}^{2+}$ Channels in Rat Ventromedial Hypothalamus Neurons

<sup>\*</sup>J. S. Rhee, H. Ishibashi and N. Akaike (Dept. of Physiology., Facul. of Med., Kyushu Univ., Fukuoka)

$\text{Ca}^{2+}$  channel modulation by serotonin (5-HT) was studied in acutely dissociated rat ventromedial hypothalamus (VMH) neurons using the whole cell and nystatin perforated patch clamp techniques.

5-HT reduced high voltage activated  $\text{Ba}^{2+}$  currents (HVA  $I_{\text{Ba}}$ ) passing through  $\text{Ca}^{2+}$  channels in concentration-dependent manner ( $\text{IC}_{50}=1.2 \times 10^{-8} \text{ M}$ ). The effects of 5-HT on HVA  $I_{\text{Ba}}$  were voltage dependent.

The inhibition of HVA  $I_{\text{Ba}}$  by 5-HT was mimicked by 8-OH-DPAT. A guanine nucleotide binding protein (G-protein) seemed to be involved in the 5-HT induced inhibition of HVA  $\text{Ca}^{2+}$  channels, because the

action of 5-HT was mimicked by an intracellular application of GTP- $\gamma$ -S (0.2 mM) and prevented by pre-incubation with pertussis toxin (PTX), suggesting mediation of PTX sensitive G-protein.

In VMH neurons,  $\omega$ -CgTX,  $\omega$ -Aga-IVA and nicardipine each blocked a fraction of HVA  $I_{\text{Ba}}$  by 32.37, 30.23, 26.27, and 4.94%, suggesting the existence of the N-type, P-type Q-type and L-type  $\text{Ca}^{2+}$  channels. The current, we called R-type, insensitive to these  $\text{Ca}^{2+}$  channel antagonist also exists in the VMH neurons. But N-, P-, and R-type are significantly sensitive to 5-HT. This result suggested which types of HVA  $\text{Ca}^{2+}$  channels are involved in specific functional roles remained to be studied.

#### A-15. 電子伝達フラビン蛋白のフォールディングにおける AMP の役割

佐藤恭介, 二科安三, 志賀潔(熊本大, 医, 第一生理)

電子伝達フラビン蛋白(ETF)が、二つのサブユニット( $\alpha$ ,  $\beta$ )と補酵素 FAD の他に、更に一分子の AMP も含んでいる事を前回報告した。AMP を外した ETF も元の ETF と同等の活性を持っており、AMP の役割はいまだはっきりと解明されていない。今回は、分離した  $\alpha$ ,  $\beta$ , FAD, AMP から ETF を再構成する実験を行い、ETF のホロ蛋白形成過程における AMP の役割を調べた。

$\alpha$  と  $\beta$  と AMP を混合する事により  $\alpha$ - $\beta$ -AMP 複合体を生じた。同様に  $\alpha$  と  $\beta$  と FAD の混合により  $\alpha$ - $\beta$ -FAD 複合体を生じたが、この複合体形成速度は  $\alpha$ - $\beta$ -AMP 形成速度に比べ非常に遅かった。一方、 $\alpha$ - $\beta$ -AMP に対しては FAD は非常に速やかに結合できた。以上の結果から、AMP は FAD に先だってアポ蛋白と結合することによって、アポ蛋白の構造を変化させ、FAD との結合を飛躍的に速める作用をしていると考えられる。

#### A-16. アシル-CoA デヒドロゲナーゼの基質選択機構

二科安三, 佐藤恭介, <sup>\*</sup>樋川岩穂, 志賀 潔(熊本大, 医, 第一生理)

中鎖のアシル-CoA デヒドロゲナーゼは直鎖のアシル-CoA をよい基質とするが、C(3)にメチル側鎖がついたイソバレリル-CoA を基質としない。基質の C(1)=0 での水素結合が基質活性化に重要と考えられてい

る。そこで酸化生成物である 2-エノイル-CoA の  $C(1)=0$  の伸縮振動のラマンバンドを水溶液中と還元型酵素との複合体(逆反応での ES complex)で比較した。直鎖の 2-オクテノイル-CoA の水溶液中で観測される  $1627\text{ cm}^{-1}$  の  $C(1)=0$  のバンドが複合体形成で  $1577\text{ cm}^{-1}$  にシフトした。この  $50\text{ cm}^{-1}$  のシフトは  $C(1)=0$  での水素結合により、 $C(1)=0$  の二重結合性が低下した結果と考えられる。一方、イソバレリル-CoA の酸化生成物である 3-メチルクロトニル-CoA の場合には、水中で  $1626\text{ cm}^{-1}$  に観測される  $C(1)=0$  のバンドが複合体で  $1598\text{ cm}^{-1}$  に移り、 $28\text{ cm}^{-1}$  のシフトにとどまった。これは直鎖の基質に比べて水素結合が弱いことを示している。従って、3-位のメチル側鎖が立体障害となり、基質活性化に重要な  $C(1)=0$  の活性部位での水素結合形成を妨害することがイソバレリル-CoA を基質としない要因と考えられる。

#### A-17. モルモット前頭前野皮質ニューロン自発性発火頻度に対する $\text{Cl}^-$ 依存性電位の作用

田中永一郎, 東 英穂(久留米大, 医, 第一生理)

モルモット前頭前野第 5 層神経細胞では閾膜電位下で TTX および  $\text{Ca}^{2+}$  感受性内向き整流が観察され、膜電位を閾膜電位下に保持すると周期的膜電位振動が見られ、その脱分極相には活動電位が重畳した。活動電位に引き続いて  $\text{Ca}^{2+}$  依存性  $\text{Cl}^-$  透過性上昇による後脱分極電位と  $\text{Ca}^{2+}$  依存性  $\text{K}^+$  透過性上昇による後過分極電位が認められた。FastEPSP は non-NMDA, NMDA 受容体を介して、fastIPSP, slow IPSP はそれぞれ  $\text{GABA}_A$ ,  $\text{GABA}_B$  受容体を介して誘起され、周期的膜電位振動には自発性 EPSPs, IPSPs が混在した。膜電位を  $-60$ ,  $-58$ ,  $-55$ ,  $-40\text{ mV}$  に保持すると、自発性発火頻度は  $3 \pm 1$ ,  $6 \pm 1$ ,  $13 \pm 3$ ,  $17 \pm 3\text{ Hz}$  となった。Bicuculline ( $0.5 \sim 10\text{ }\mu\text{M}$ ) は発火頻度を増加させ、てんかん様発火を誘発した。2-Hydroxy-saclofen ( $100\text{ }\mu\text{M}$ ) および  $1/3$  低  $\text{Cl}^-$  溶液も発火頻度を増加させたが、SITS ( $250\text{ }\mu\text{M}$ ), strychnine ( $3\text{ }\mu\text{M}$ ) は発火頻度に影響を与えなかった。これらの結果から前頭前野皮質神経細胞の自発性発火は介在細胞からの緊張性 GABA 放出により修飾を受けていると考えられた。

#### A-18. 培養中隔野コリン作動性ニューロンの $\text{GABA}_A$ 応答膜電流

熊本栄一, \*村田祐造\*(佐賀医大, 第二生理・\*解剖)

種々の  $\text{GABA}_A$  受容体( $\text{GABA}_A\text{R}$ )サブユニットの組合わせの違いにより多様な再構成チャネルが出来るが、ニューロンで実際に機能するサブユニットの種類は不明である。同定されたニューロンにある  $\text{GABA}_A\text{R}$  の種々の性質を特徴付ける事は、これを知る一つの手段となる。ラット胎仔(17~19日齢)の脳の中隔野から単離培養したニューロン(直径: 約  $20\text{ }\mu\text{m}$ ; 約82%が AChE 陽性)にある  $\text{GABA}_A\text{R}$  チャネルを標本とし、これの膜電流の薬理学的性質をホールセル膜電位固定法により定量的に調べた。結果は、(1) GABA の濃度に依存して増加し ( $\text{EC}_{50} = 21\text{ }\mu\text{M}$ ), bicuculline (BIC) により競合的に ( $\text{K}_D = 0.7\text{ }\mu\text{M}$ ), picrotoxin (PIC;  $2 \sim 100\text{ }\mu\text{M}$ ) により濃度-や使用-依存性に抑制された。(2) ethanol ( $1 \sim 100\text{ mM}$ ) や spermine ( $1\text{ mM}$ ) は作用せず、diazepam (DZP;  $1 \sim 10\text{ }\mu\text{M}$ ) により促進(20%)された。(3) pentobarbital (PB;  $50\text{ }\mu\text{M}$ ) は  $\text{GABA}_A\text{R}$  に対する GABA の親和性を 251%増加した。(4)  $\text{Zn}^{2+}$  ( $100\text{ }\mu\text{M}$ ) は、非競合的に、膜電位非依存性に抑制(20%)した。(5)  $\text{La}^{3+}$  ( $100 \sim 500\text{ }\mu\text{M}$ ) は、 $\text{GABA}_A\text{R}$  に対する GABA の親和性を約200%増加し、この作用は PB 存在下では見られなかった。(6)  $\text{Sr}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$  ( $100\text{ }\mu\text{M}$ ) のうち、 $\text{Cd}^{2+}$  と  $\text{Cu}^{2+}$  はそれぞれ15%, 50%抑制し、その他は作用しなかった。 $\text{Zn}^{2+}$  存在下では、 $\text{Cu}^{2+}$  の作用は見られたが  $\text{Cd}^{2+}$  の作用は見られなかった。中隔野のコリン作動性ニューロンにある  $\text{GABA}_A\text{R}$  チャネルを感覚ニューロンにあるものと比較した時、GABA, BIC, PIC, PB の作用は似ていたが、DZP と重金属イオンの作用が大きく異なっていた。重金属イオンの作用はニューロンにある  $\text{GABA}_A\text{R}$  の多様性、更に、これらの構成サブユニットの類推に役立つかもしれない。

#### A-19. 吸入麻酔薬セボフルレンの急性単離孤束核神経細胞に対する効果

川本郁朗, 原田伸透, 赤池紀扶(九大, 医, 第二生理)

急性単離したラット延髄孤束核神経細胞に対してニスタチン穿孔パッチクランプ法を適用しセボフルレンの効果を検討した。その結果、セボフルレンは低濃度 GABA 惹起電流を著明に増強し、さらに  $10^{-3}\text{ M}$  以上の高濃度では単独で  $\text{Cl}^-$  電流を惹起することが判明した。これに対して選択的  $\text{GABA}_A$  拮抗薬である Bicuculline は濃度依存的にセボフルレン惹起電流を抑制し、その効果は可逆性であった。これらのことからセ

ポフルレンは GABA<sub>A</sub> Receptor-Channel Complex に作用し Cl 電流を惹起しているものと考えられる。またセボフルレンは Diazepam (DZP), Pentobarbital (PB), Pregnanolone (PGN) と同様に GABA 惹起電流を増強することとセボフルレン惹起電流自身も DZP, PB, PGN によっても増強されることから DZP, PB, PGN とは別の binding site に結合して GABA 惹起電流を増強していると考えられる。

#### A-20. ナマズ嗅線毛に存在するイオンチャネル

本田栄子, 平川輝行, 中村修一, 稲永清敏(九歯大, 生理)

嗅線毛膜への匂い刺激後 cAMP, cGMP あるいは IP<sub>3</sub> が生成され、それらをセカンドメッセンジャーとして直接イオンチャネルを開口し嗅細胞は脱分極し、匂い情報を中枢へ伝導することが報告されている。我々は人工脂質膜にナマズやラットの嗅線毛蛋白を融合し tip-dip 法により嗅線毛上に存在するチャネルについて調べた。その結果これらには cAMP, cGMP, IP<sub>3</sub> 感受性チャネルに加えて、GTPγs 感受性チャネルが存在することが明らかとなった。細胞外液 NaCl, 細胞内液 KCl の条件での逆転電位はいずれのチャネルも 0 mV 周辺にありこれらのチャネルが陽イオンに非選択的である可能性を示した。また電流-膜電位関係より cAMP, cGMP, IP<sub>3</sub>, GTPγs 感受性チャネルのコンダンスはナマズでは 38, 51, 47, 386 pS, ラットで 41, 57, 26, 171 pS であった。GTPγs 感受性チャネル以外のこれらの値は他の研究室で報告されているナマズでの値やサンショウウオ, ロブスターなどで報告されている値とほぼ等しかった。ラットでは単一チャネルのコンダクタンスの報告は初めてである。以上の結果、匂い刺激となりうる化学物質の構造は多様であり、cGMP だけをセカンドメッセンジャーとしている視覚などに比べ嗅覚受容過程は多様である可能性が示唆された。

#### A-21. ウシガエル味細胞膜に存在する cAMP 依存性 K<sup>+</sup> チャネルにおけるプロテインキナーゼ インヒビター的作用

藤山理恵, 宮本武典, 岡田幸雄, 内田昌徳, 佐藤俊英(長崎大, 歯, 口腔生理)

ウシガエル味細胞膜には cAMP 依存性 40 pS K<sup>+</sup> チャネルと細胞内 Ca<sup>2+</sup> 依存性 80 pS K<sup>+</sup> チャネルが存在する。これら 2 種の K<sup>+</sup> チャネルは特性だけで

なくその分布様式についても明らかな違いがみられた。40 pS K<sup>+</sup> チャネルは味細胞全体で観察されたが、80 pS K<sup>+</sup> チャネルは味受容膜付近のみで高密度に分布していた。このうち 40 pS K<sup>+</sup> チャネルの活動は、inside-out 法を用いて 5 μM cAMP または 2 mM ATP を単独で細胞内に作用させても変化しないが、2 mM ATP 存在下で 5 μM cAMP を細胞内に作用させると明らかに抑制され、開口確率は約 42% から約 1% に下がった。この抑制がリン酸化に関係するか否かを調べるため、プロテインキナーゼ インヒビターを作用させたところ、チャネルの活動は回復し、開口確率は約 27% まで上昇した。80 pS K<sup>+</sup> チャネルの活動は 2 mM ATP 存在下で 5 μM cAMP を細胞内に作用させても変化しなかった。この結果から、パッチ膜内に cAMP 依存性プロテインキナーゼが存在し、40 pS K<sup>+</sup> チャネルの活動は cAMP 依存性プロテインキナーゼを介したリン酸化により抑制されることが示唆される。

#### A-22. マウス味細胞膜特性の系統差による比較

宮本武典, 内田昌徳, 藤山理恵, 岡田幸雄, 佐藤俊英, \*宮崎敏博\*(長崎大, 歯, 口腔生理・\*口腔解剖 II)

マウスは系統によって味応答特性が異なることが知られている。C57 BL/6 の塩応答は強いアミロライド感受性を示すが、BALB/c は低感受性である。この 2 系統のマウスの味覚応答特性の違いを味細胞レベルで明らかにするために、味細胞の基本的な膜特性を比較することを試みた。舌皮下に 2 mg/ml エラスターゼを注入することによって味蕾を含む剝離上皮標本を得た。剝離上皮内の味蕾ではシナプス構造もよく保存されていた。ルシファー・イエローを充填したパッチ電極を用いて味蕾内の細胞からホールセル記録を行い、味細胞の形態的特徴と細胞膜の電気的特性を同時に得ることができた。味蕾にはその全長にわたって突起を伸ばす細胞と味蕾の底部に位置する球形の細胞のいずれかが染め出された。前者の中に味細胞が含まれており、後者は基底細胞と思われる。電気刺激に対し基底細胞は強い外向きの K<sup>+</sup> 電流を示したが、味細胞の多くは一過性の TTX 感受性の内向き電流をも生じた。以上の性質は 2 系統で共通であった。アミロライド感受性は両系統で認められたが、BALB/c では約半数の味細胞は非感受性であった。したがって、両系統のアミロライド感受性の相違はアミロライド感受性細胞と非感受性細胞の比率に依存するのであろう。

#### A-23. エンドトキシンによる心肺腎の plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) 発現の影響

波種年彦, 吉田悦男, 丸山真杉, 杉木雅彦, 大村さゆり, 穴井慶太, 中山雅美, 美原 恒, <sup>×</sup>浅田祐士郎\* (宮崎医大, 第二生理・\*第一病理)

エンドトキシン投与によって血中の PAI-1 が増加し, DIC の発症に重要な役割を担っている. 今回我々は免疫組織染色を用いて, 心肺腎における正常及びエンドトキシン投与後の PAI-1 の局在とその変化を検討した. Wistar 系ラットに high dose 及び low dose のエンドトキシンを, また対照として生理食塩水を各々静注した. 3 時間後に心肺腎を摘出し, 抗 PAI-1 抗体を使用した ABC 法による免疫組織染色を行った. 対照では心臓の大動脈, 肺動脈, 心室及び乳頭筋の内皮細胞や大動脈弁及びバルサルバ洞に免疫反応性が認められた. また肺では胸膜に, 腎臓では乳頭部移行上皮にその反応性が認められた. 一方エンドトキシン投与ラットにおいては, 心臓では内皮細胞に免疫反応性の増強と心内膜下への拡大を認め, 肺では動脈周囲結合組織にその反応性を認めた. 腎臓では移行上皮にその反応性の増強が認められ, また high dose 投与では Henle の係蹄にその反応性が認められた. 以上より正常での PAI-1 の分布局在及びエンドトキシン投与後のそれらの免疫反応性の増強とその範囲が拡大していることを明らかにした.

#### A-24. 蛇毒の線溶活性を持つ出血毒による血漿線溶活性の上昇について

杉木雅彦, 丸山真杉, 吉田悦男, 穴井慶太, 大村さゆり, 中山雅美, 波種年彦, 美原 恒 (宮崎医大, 第二生理)

南米に生息する毒蛇 *Bothrops jararaca* による咬傷では局所出血だけでなく, しばしば全身出血が認められる. その出血毒の一つである jararhagin が線溶系に与える影響について検討した. 精製した jararhagin を各種動物血漿に加え, その線溶活性をフィブリン平板法で測定すると, モルモット, ウマ, イヌ, ウサギ, ヒトの血漿で線溶活性の著明な上昇が認められた. この線溶活性上昇の機序について, 一番活性の強かったモルモットの血漿を用いて検討を加えると, jararhagin によって血漿中の plasminogen activator (PA) 活性が上昇し, plasminogen から plasmin が産生されることが明らかとなった. さらに各種濃度の jararhagin を血漿に加えた後,  $\alpha_2$ -plasmininhibitor ( $\alpha_2$ -PI) 活性

を測定すると, その活性は濃度依存的, 時間依存的に低下していくことがわかった.

以上より, jararhagin による血漿中の PA 及び plasmin 活性上昇,  $\alpha_2$ -PI 活性低下が線溶活性上昇の機序として重要であると考えられた. jararhagin が *Bothrops jararaca* による咬傷時に見られる線溶活性の亢進, 全身出血に直接的に関与していることが示唆された.

#### A-25. ハブ粗毒の家兎静脈内投与は DIC を惹起する

宮城智恵美, <sup>×</sup>黄 光武, 山下 晋, 砂川昌範, 岡勇次郎, 中村真理子, 小杉忠誠 (琉球大, 医, 第一生理)

【目的】 沖縄本島産ハブ (*Trimeresurus flavoviridis*) の粗毒中には, 止血機構に直接的に関与する物質及びトロンビン様酵素であるハプトビンが含まれている. また, ハプトビンは家兎の fibrinogen に特異的に作用する. 一方, その粗毒を家兎に投与した後, fibrinogen 量の減少と血小板凝集能の亢進等を認めている. そこで, ハブ粗毒投与後の血中毒濃度,  $\alpha_2$ -PI 活性, AT-III 活性, fibrinogen 量を測定し, ハブ粗毒投与後の fibrinogen 量減少の機序を解析した.

【方法】 血中毒濃度は, 我々が開発した ELISA-sandwich 法を用いて測定した.  $\alpha_2$ -PI 活性, AT-III 活性は合成基質法を用い, fibrinogen 量は Quick の方法を用いて測定した. それらの測定結果から, 循環血中毒濃度と上記パラメーター及び DIC 発現時間との相関を解析した.

【結果】 約 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  以上の粗毒投与量では, 投与後早期に上記パラメーターの著明な低下がみられた. 更に, 循環血中毒濃度と,  $\alpha_2$ -PI 活性, AT-III 活性, fibrinogen 量は有意に負の相関を示した. また血中毒濃度と DIC 発現時期との間にも負の相関がみられた.

【総括と考案】 粗毒投与後の fibrinogen 量減少は, ハブ粗毒の直接的作用及び二次的な凝固系, 線溶系の亢進に基づくものと推察された. また, ハブ粗毒の家兎静脈内投与は DIC を惹起することを初めて示した.

#### A-26. 慢性脊髄ラットにおける尾部皮膚血管運動調節に関与するアドレナリン受容体の検討

土屋勝彦, 小坂光男 (長崎大, 熱帯医研, 環境医学)

アドレナリン  $\beta$  作動薬のラット尾部血管に対する作用を検討した.

【方法】 Pentobarbital 麻酔下で雄 Wistar ラットの頸

髓下部を切断し、気温30℃で2～3週間飼育したものを慢性脊髄ラットとして使用した。実験は人工気象室(30℃, r. h. 60%)にて無麻酔、無拘束で行った。アドレナリン $\beta$ 作動薬として0.1 mg/kgの塩酸イソプロテレンール(Isopre, 日研化学)を腹腔に投与した。心電図、直腸温を連続記録した。尾部皮膚温(Ttail)と環境温(Ta)の差(dTtail)を尾部皮膚血流の指標とした。

**【結果】** 血圧は脊髄切断前は100～120 mmHgであったが脊髄切断後著しい低下の後、一週間後に約80 mmHgに回復した。Isopre 0.1 mg/kg(ip)の投与により心拍数は著しく増加し、投与前の約150%に至り、そのレベルは約30分間維持された。投与後60分で直腸温の平均上昇値( $M \pm SE$ )は $0.7 \pm 0.5^\circ\text{C}$ であった。安静時のdTtailの平均値は $3.7 \pm 0.6^\circ\text{C}$  ( $N=5$ )であったがIsopre(0.1 mg/kg, i. p.)の投与10分後に有意に減少し $1.9 \pm 0.8^\circ\text{C}$  ( $p < 0.05$ )となったり、60分後には投与前に比較し有意( $p < 0.05$ )に増大し $4.7 \pm 0.7^\circ\text{C}$ となった。

**【結語】** Isopの投与により体温上昇値以上の持続的なdTtailの増大があったことから尾血管はまず収縮反応を示し、その後に持続的に拡張したものと考えられる。

#### A-27. アドレノメジュリンの末梢及び中枢内投与に対する覚醒ラットの血圧、心拍数と腎交感神経活動の反応

齊田光彦, 下川 歩, 國武孝人, 広田和英, 花森隆充, 北村和雄\*, 江藤麻尚\*, 河南 洋(宮崎医大, 第一生理・\*第一内科)

アドレノメジュリン(AM)は、ヒト褐色細胞腫から精製、単離されたアミノ酸52個からなる新しい生理活性物質である。今回、意識下ラットを用いて、分子量5732のラットAM(rAM)の静脈内並びに側脳室内への投与実験を行った。rAMの静脈内投与では、用量依存性に、持続性の降圧作用と、心拍数と腎交感神経活動の増加がみられた。これらrAMによる反応への圧受容器反射の関与を圧受容器除神経(SAD)ラットで調べた。その結果、SADラットでは、rAMの静脈内投与による降圧反応が正常ラットより大きく、腎交感神経活動の増加反応はほぼ消失したが、心拍数の増加はなお認められた。rAMの側脳室内投与では、静脈内投与とは逆に漸増性の血圧上昇がみられ、また頻脈と腎交感神経活動の増加傾向がみられた。以上より、

rAMの静脈内投与時に見られた腎交感神経活動の増加は圧受容器反射を介すること、一方頻脈反応は圧受容器反射以外の機序によること、さらに、rAMは中枢内で循環関連神経ペプチドとして働いていることが示唆された。

#### A-28. 遺伝性糖尿病マウス血管における収縮反応

太田千穂, \*荒木涼子, \*梶山順子, \*大和孝子, 青峰正裕(中村学園大, 栄養生理)

遺伝性糖尿病マウス(以下DM)の血管平滑筋を用いて、種々の外液K濃度(5～100 mM)に対する収縮(KCl収縮)反応について調べ、対照マウスのそれと比較検討した。実験には、内膜を除去していない摘出胸部大動脈条片(長さ約10 mm, 直径約0.8 mm)を用い、その血管標本は100%O<sub>2</sub>で飽和したタイロード液(36℃)を灌流し、ストレインゲージにて収縮を測定した。

結果: 1. KCl収縮の振幅はDM群において対照群に比し有意に大であり、その50%有効濃度(EC<sub>50</sub>)はより小であった。2. Ca拮抗剤存在下でのKCl収縮はDM群において対照群に比し、その抑制の程度は有意に低かった。3. 細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度を増加させる条件下(ノルアドレナリン, Bay K 8644, 高Ca液の作用)での収縮反応については、DM群と対照群間において収縮反応が異なっていた。4. ヘマトキシリン・エオシン染色による血管組織標本において、光顕レベルでは両群間に差は観察されなかった。

以上の結果から、糖尿病状態が、血管平滑筋細胞におけるCa調節機構に何らかの異常を引き起こしている可能性が示唆された。

#### B-1. 局所選択プロトン磁気共鳴スペクトロスコピーによる脳代謝の研究

柳井莊緑, 西丸直子, 山田和廣(大分医大, 第一生理)

局所選択プロトン磁気共鳴スペクトロスコピー法を用いて、磁気共鳴画像上で選択した領域からの局所スペクトルを得ることにより、小動物の脳代謝を無侵襲に調べた。まず溶液を用いたモデル実験を行い、局所選択性について検討した。局所選択には表面コイルとVOSYパルス系列を用いた。その結果、実際に選択される領域は設定領域よりも数mm表面コイルの方向にずれるが、その境界は比較的鋭く、よい選択性を示すことが明らかになった。次にこの方法を用い、麻酔したウサギの視床より、皮下の脂肪に由来する信号の混

入がほとんどないスペクトルを得ることができた。スペクトルの各ピークは、N-アセチルアスパラギン酸、総クレアチン、コリン類などと同定できた。さらに低酸素の負荷とその回復に伴う変化を観察したところ、乳酸の出現、増加、消失を観測することができた。次いで視床において、本方法と同時にレーザードップラー法による局所脳血流量の測定を行った。その結果、低酸素時の乳酸の増加と酸素供給量の減少の間に有意な相関があることが明らかになった。

脳局所の代謝を無侵襲的、経時的に計測できる本方法は、小動物においても適用が可能であり、今後、脳機能や代謝の解明に応用が期待できる。

#### B-2. ラット中隔核ニューロンに於ける細胞外無グルコースの抑制作用

鶴崎政志, 赤須 嵩(久留米大, 医, 第二生理)

我々は、中枢神経虚血時の変化においてグルコースがどのように関わるのか、スライス標本を用いて研究してきた。今回、細胞外無グルコースにより生じる外向き電流、及びシナプス電流の抑制について、ラット中隔核細胞でスライスパッチ・クランプ法を用いて検討したので報告する。パッチ内液は5 mMのATPを含むグルコン酸カリウムを中心とし、パッチ内ATPの影響をみる場合には、1 mM ATPのものを使用した。ホールセルパッチ・クランプ法による電流記録にて、無グルコース負荷により微小電極法の場合と同様、膜のコンダクタンス増加を伴う外向き電流が記録された。この電流は-90 mV付近に平衡電位を持ち、50  $\mu$ Mのグリベンクラミドによっても抑制されなかった。無グルコースによる外向き電流は、1 mMのATPを含むパッチ液では120分後においても観察されたが、5 mMのATPを含むパッチ液では消失した。また、無グルコースの灌流により、シナプス電流が抑制された。この抑制は、外向き電流が消失した後も観察され、圧駆出法によるグルタミン酸誘起電流が抑制されないことから、シナプス前性に生じていることが示唆された。

#### B-3. ラット脳室内にプロスタグランディン E2 (PGE<sub>2</sub>) を投与すると脾臓交感神経活動が増加する

安藤哲也, 一條智康, 片渕俊彦, 堀 哲郎(九大, 医, 第一生理)

既に報告したように、インターロイキン 1 $\beta$  の中枢投与による細胞性免疫機能低下は、脳内プロスタグ

ランディン産生を介する脾臓交感神経活動の上昇により主として誘起される。そこで今回、プロスタグランディン E2 (PGE<sub>2</sub>) (0.1~10 nmol/kg) を麻酔下ラット第三脳室内に投与したところ脾臓交感神経活動が著明に増加した。次に EP レセプターの3つのサブタイプ (EP1, EP2, EP3) に対する選択的アゴニストをそれぞれ第三脳室内に投与したところ、脾臓交感神経活動は EP1 アゴニストの 17-phenyl- $\omega$ -trilor PGE<sub>2</sub> に最も強く増加反応を示し、その反応の時間経過が PGE<sub>2</sub> に対する反応とよく似ていた。さらに PGE<sub>2</sub> による脾臓交感神経の増加反応は EP1 アンタゴニストの SC 19220 の脳室内前投与によって完全に阻害された。以上のことから PGE<sub>2</sub> は主に EP1 レセプターを介して脾臓交感神経活動を増加させることがわかった。今回の結果は、我々のこれまでの報告と合わせて、脳内の PGE<sub>2</sub> が脾臓交感神経を介して末梢の免疫機能の調節に関与していることを示唆する。

#### B-4. CCK は孤束核内側亜核の反復発火型細胞に反応時間の短い興奮を引き起こす

鈴木健治, 粟生修司, 清水宣明\*, 堀 哲郎(九大, 医, 第一生理・\*金沢大, 工, 物質化学工学)

Cholecystokinin (CCK) は中枢神経系にも豊富に存在し、摂食抑制作用を示す。消化管からの知覚情報を受ける延髄孤束核内側部 (mNTS) も作用部位のひとつと考えられている。この部位の CCK 感受性とその性質を明らかにするため、ラット NTS 切片標本を用い、mNTS の CCK 感受性を肺心血管系入力領域である背外側部 (l NTS) と比較し、さらにその膜特性を検討した。NTS 細胞は CCK (100 nM) に興奮反応を示し、反応率は mNTS (62/165, 38%) と l NTS (50/141, 35%) で差はなかったが、10分以内の短持続興奮を示す細胞が l NTS (24/50) に比べ mNTS (51/62) に有意に多かった ( $p < 0.001$ )。CCKA 受容体拮抗薬 (L-364,718; 1 nM) は短持続性興奮反応を抑制したが、長持続性興奮 (>10分) には効果がなかった。mNTS 細胞は、細胞内脱分極パルス通電に対する活動電位発生様式で、反復発火型、遅延型及び単一発火型の3種類に分類された。CCK (100 nM) に51個中15個の細胞が脱分極反応を示したが、ほとんど (11個) が反復発火型細胞であった。以上の結果、CCK は mNTS では主として反復発火型細胞に作用し、CCKA 受容体を介して短持続性の興奮を起こすことが明らかになった。

#### B-5. ラット視床下部室傍核 (PVN) ニューロンに対する Pituitary Adenylate Cyclase Activating Polypeptide (PACAP) の作用

内村大介, 片瀬俊彦, 堀 哲郎, 矢内原昇\* (九大, 医, 第一生理・\*静岡県立大, 薬, 生物薬品化学)

VIP ファミリーである PACAP 及びその受容体は視床下部にも存在し, 下垂体前葉及び後葉ホルモンの放出を修飾すると想像されている。そこで, PACAP 及び VIP の PVN 大細胞領域ニューロン活動に対する作用をラット脳スライス標本を用いて調べた。1  $\mu$ M 以下の PACAP の灌流投与により, 同領域ニューロンの約70%以上が興奮し, その反応閾値は 1 nM 前後と推定された。これらの反応の多くは, 低カルシウム・高マグネシウム灌流液中において消失しなかった。VIP の作用に比べて, PACAP の作用はより長い時間持続するものが多く, また, PACAP 及び VIP の作用はそれぞれのアンタゴニストによってのみブロックされたことから, 固有の受容体を介した作用であると考えられた。以上より, PACAP の下垂体後葉ホルモン放出調節作用の一部は, PVN 大細胞領域レベルでも行われている可能性がある。

#### B-6. ラット視索前野に 17-phenyl- $\omega$ -trilor PGE<sub>2</sub> (EP1 アゴニスト) を注入すると体温上昇が生じる

岡 佳恵, 岡 孝和, \*細井昌子, 堀 哲郎 (九大, 医, 第一生理)

ブラスタグランディン E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) のレセプターには 3 つのサブタイプが存在するが, PGE<sub>2</sub> による発熱作用に関与するレセプターサブタイプは不明である。そこで, PGE<sub>2</sub> の各レセプターアゴニストをラット側脳室および脳内に投与し, 直腸温の変化を測定した。側脳室内投与では, PGE<sub>2</sub> および 17-phenyl- $\omega$ -trilor PGE<sub>2</sub> (EP1 アゴニスト) をそれぞれ 1 nmol 投与すると平均 1.2℃ の体温上昇が生じたが, butaprost (EP2 アゴニスト) や M & B28767 (EP3 アゴニスト) を 1 nmol 投与しても明かな体温上昇は認められなかった。また, PGE<sub>2</sub> による体温上昇は SC19220 (EP1 レセプターアンタゴニスト) によって抑制された。

次に, 17-phenyl- $\omega$ -trilor PGE<sub>2</sub> の脳内投与によって体温上昇の生じる脳内部位を検討した。17-phenyl- $\omega$ -trilor PGE<sub>2</sub> 250 pmol/200 nl の投与により 1.2℃ 以上の体温上昇を示した部位は, 視索前野・前視床下部領域および対角帯であった。視床下部の他の領域および中隔への注入では 0.6℃ 以上の体温上昇はみられな

かった。

これらの結果から, ラットにおいて PGE<sub>2</sub> による体温上昇は, EP1 レセプターを介していることが示唆された。

#### B-7. インターロイキン 6 の脳室内投与はラットの侵害受容行動を増強する

\*細井昌子, 岡 孝和, 岡 佳恵, 堀 哲郎 (九大, 医, 第一生理)

我々は既に, 発熱を起こさない低濃度の IL-1  $\beta$  が, 中枢性にラットの侵害受容を増強することを, 行動学的及び電気生理学的研究により明らかにした。この IL-1  $\beta$  の中枢性痛覚増強は IL-1  $\beta$  の直接作用の他, IL-1 により産生される IL-6 によっても媒介される可能性がある。また, 炎症局所では逆に IL-6 が IL-1 を産生することによって侵害受容を増強するという報告もある。そこで, 脳 IL-6 が侵害受容を修飾する可否かを調べた。ラット側脳室内に rhIL-6 (30 pg~300 ng/5  $\mu$ l) を投与し, ホットプレートテストで足なめずりを開始するまでの潜時を測定した。3~300 ng の rhIL-6 を注入すると, 15分, 30分で潜時が短縮し, 侵害受容行動が増強した。この潜時の短縮は, サリチル酸ナトリウム (30 ng) や  $\alpha$ -MSH (30 ng) の同時投与で抑制されたが, IL-1 受容体拮抗薬 (30 ng) の同時投与では影響されなかった。またこの IL-6 の侵害受容増強作用は, 有効量及び持続時間で比べると, IL-1  $\beta$  のそれよりも弱かった。以上の結果より, 1) IL-6 はプロスタグランディンの産生を介して, 中枢性に侵害受容を増強すること, 2) その効果は末梢炎症組織の場合と異なり, IL-1 産生を介した作用ではないこと, 及び 3) 抗サイトカイン作用を有する  $\alpha$ -MSH により阻害されることが判明した。

#### B-8. ラットにおいてインターロイキン 1 $\beta$ を視索前野/前視床下部に投与すると侵害受容が増強する

岡 孝和, \*細井昌子, 岡 佳恵, 栗生修司, 堀哲郎 (九大, 医, 第一生理)

ヒトリコンビナントインターロイキン 1  $\beta$  (rhIL-1  $\beta$ ) をラット脳内に局所投与した時の侵害受容に及ぼす影響を, ホットプレートテストを用いて検討した。

視索前野内に rhIL-1  $\beta$  を 5~50 pg/kg 投与すると, 足なめずりを開始するまでの潜時が短縮した。潜時の短縮は 20 pg/kg で最も顕著で, 投与30分後に最大の短縮を示した。0.5 pg/kg, 200pg/kg, 2 ng/kg で

は効果がみられなかった。rhIL-1 $\beta$  20 pg/kg による侵害受容増強作用は、IL-1 レセプターアンタゴニスト (20 ng/kg) もしくはサリチル酸ナトリウム (200 ng/kg) の同時投与により抑制された。侵害受容増強作用は、視索前野の他にも対角帯で認められた。一方、rhIL-1 $\beta$  20 pg/kg を室傍核および視床下部外側野に投与しても効果は認められなかった。腹内側核では、逆に、投与 5 分後のみで潜時が延長した。

IL-1 $\beta$  の中枢性侵害受容増強作用の少なくとも一部に視索前野が関与し、視索前野では、IL-1 $\beta$  は IL-1 レセプターを介し、そしてプロスタグランディンの産生を促すことで、侵害受容増強作用を示すと考えられた。

#### B-9. 遺伝性多飲マウスにおける飲水とナトリウム摂取に及ぼすアンギオテンシンⅡの影響

井上義嵩\*, ×梶島成利\*, 西理枝子\*, 田中宏明\*, 長友敏寿\*, 稲永清敏\*\*, 山下 博\* (原三信病院・\*産業医大, 第一生理・\*\*九州歯大, 生理)

遺伝性多飲マウスのナトリウム摂取について ICR マウスと比較検討した。無ナトリウム食餌により遺伝性多飲マウスでは ICR マウスと同様に、飲水量は有意に減少し、その減少率は遺伝性多飲マウスで大きかった。しかし無ナトリウム食餌による食塩摂取量の増加は遺伝性多飲マウスで少なかった。アンギオテンシンⅡの脳室内投与による刺激では ICR マウスでは直ちに飲水が惹起されたが、遺伝性多飲マウスではさらなる飲水の増加は観察されなかった。2%食塩水の摂取についても、ICR マウスではアンギオテンシンの脳室内投与により直ちに食塩水摂取量は増加したが、遺伝性多飲マウスではアンギオテンシンⅡは2%食塩水摂取に影響を及ぼさなかった。さらにオキシトシンアンタゴニストは、ICR マウスと遺伝性多飲マウスの何れにおいてもラットで報告されているような食塩摂取を惹起しなかった。

以上より遺伝性多飲マウスと ICR マウスの食塩摂取における脳内アンギオテンシン系の役割の違いと、マウスとラットの種差による食塩摂取への脳内オキシトシン系の役割の違いが示唆された。

#### B-10. 酸性線維芽細胞成長因子 (aFGF) の摂食抑制作用の中枢機構

季 愛軍, 大村 裕\*, 堀 哲郎, 栗生修司, 佐々木和男\*\*, ×木村 宏\*\*\*, ×遠山育夫\*\*\* (九大,

医, 第一生理・\*日本臓器, 生物活性研・\*\*富山大, 工・\*\*\*滋賀医大, 分子神経)

われわれはすでに酸性線維芽細胞成長因子 (aFGF) が中枢性満腹物質であることを同定した。そのフラグメント, aFGF (1~15) および [16 Ala]aFGF (1~29) の脳室内投与も摂食量を抑制したが, aFGF (1~29) は無効であった。これはフラグメント配列中の Cys がジサルフィド形成により、その摂食抑制作用を失ったためであろう。今度は Cys を Ser や Glu に変えたフラグメントの作用を検討した。[16 Ser]aFGF (1~29) および [16 Glu]aFGF (1~29) (400 ng) の脳室内投与はラット摂食量を有意に抑制した。夜間量の抑制率は、[16 Ala]aFGF (1~29) とほぼ同じであった。さらに FGF の受容体である FGFR-1 の役割を調べた。抗 FGFR-1 抗体 (250 と 350 ng) を両側 LHA に投与すると、摂食量が有意に増加した。この結果から、摂食中枢ニューロンのもつ FGFR-1 受容体が摂食調節作用に関与することが判明した。

#### B-11. 急性3気圧暴露時の胸腔内圧と中心静脈圧の変化

鳥居理子, 和田 太, 永谷 建, 遠藤 豊, 山崎文夫, 佐川寿栄子, 白木啓三, 中村 正\* (産業医大, 第二生理・\*産業医実務研修センター)

高気圧環境でのガス密度の増加は気道抵抗を増し、陰圧呼吸となり胸腔内圧の陰圧の程度を増加させる。このような胸腔内圧の変動が中心静脈圧に影響を及ぼし、心肺圧受容器を介して循環血液量の調節に関与することも考えられる。そこで急性の高気圧暴露による胸腔内圧の変動が、中心静脈圧に及ぼす影響を知ることが目的とし以下の実験を行った。健康男子被験者8人の座位、1気圧空気環境 (29℃, 湿度60%) をコントロールとした。上大静脈起始部に先端をおいたカテーテルにて中心静脈圧を測定し、同カテーテルから採血を行い血漿 AVP を測定した。胸腔内圧は食道内圧測定用バルーンを用い下部食道内圧で測定した。3気圧空気環境 (3.87 kg/m<sup>2</sup>, 31℃, 湿度60%) に1時間暴露し、座位にて同様の測定をおこなった。急性3気圧暴露では食道内圧と中心静脈圧はともに吸気終末時の陰圧の程度が増加し、吸気時と呼気時の圧の差が増加した。呼気時の圧は変化しなかった。AVP は有意に減少した。高気圧環境では、ガス密度の増加による胸腔内圧の変動が心肺圧受容器を介して循環血液量の調節に影響を及ぼす可能性がある。

**B-12. 頸下浸水による利尿作用発現時 AVP の閾値**

永谷 建, 和田 太, 鳥居理子, 佐川寿栄子, 白木啓三(産業医大, 第二生理)

男子健康被験者 8 名を用い各々に脱水状態(暑熱+運動により 3.7% 体重減少, 血漿浸透圧, Posm, +10 mosmol/kg)と正常状態で 3 時間の頸下浸水を行い腎機能, Posm 及び血漿 AVP を測定した。頸下浸水による尿量増加の程度は浸水前の個人の飲水状況によって大きく変動することが知られている。この研究はヒト腎尿細管における頸下浸水時の水再吸収の血漿 AVP の閾値を検討する目的で行った。脱水群の頸下浸水では AVP 濃度は  $5.3 \pm 0.7$  pg/ml から  $2.9 \pm 0.5$  pg/ml に減少した ( $p < 0.05$ ) が正常群では  $1.8 \pm 0.2$  pg/ml から  $1.1 \pm 0.1$  pg/ml に変化した(有意差なし)。尿量は脱水群では変化はなかったが正常群では  $0.5 \pm 0.1$  ml/min から  $2.6 \pm 0.6$  ml/min に増加した ( $p < 0.05$ )。Posm は脱水群では高値 ( $288 \pm 1$  mosmol/kg) を保ったままであった。血漿 AVP 濃度と尿/血漿浸透圧比との相関関係は AVP 濃度が 2 pg/ml 以下では傾きの急な直線となり, 2 pg/ml 以上では plateau に近い直線となった。正常群の値は急峻な直線上に, 脱水群の値は後者の直線上に位置した。脱水群で頸下浸水中利尿が起らなかった原因は Posm が高値を維持したため AVP 濃度が依然 2 pg/ml 以上の高値を示したためと考えられる。以上より利尿を惹起させるヒトの血漿 AVP 濃度の閾値は 2 pg/ml であると結論した。

**B-13. 低酸素分圧はヒトの頸動脈圧受容器反射を変動させる**

佐川寿栄子, 鳥居理子, 和田 太, 永谷 建, 遠藤豊, 白木啓三(産業医大, 第二生理)

低気圧環境でヒトの姿勢変換時耐性が低下する原因として, 低酸素分圧が心臓の血圧反射応答の感受性を低下させることによるとの仮説を立てた。この仮説を証明する目的で頸動脈洞圧受容器反応と低酸素分圧との関係を 7 名の健康男子(高地登山未経験者)について研究した。頸動脈洞圧受容器反射の反応性はネックチャンパー(頸動脈を外側から圧迫または吸引する装置)を用い, 心拍ごとに頸動脈洞圧受容器に作用する圧力を変動させ, R-R 間隔の圧応答をシグモイドカーブにフィットさせ圧応答曲線から評価した。高度 3800 m ( $P_{iO_2} = 90$  mmHg) における圧応答曲線は正常気圧と差がなかった。高度 4300 m ( $P_{iO_2} = 82$  mmHg) で

の圧応答曲線は正常気圧のそれより下方にシフトし, 最大 R-R 反応幅, 勾配, 最大ゲインが正常気圧にくらべて低下した ( $P < 0.05$ )。この圧応答曲線は正常酸素分圧 ( $P_{iO_2} = 147$  mmHg) ガスの吸入によりほぼ正常レベルに回復した。以上から低酸素分圧 ( $P_{iO_2} < 82$  mmHg) は心臓の圧反射応答の感受性を減弱させることが示唆された。

**B-14. 脊髄循環に対するラット延髄孤束核内の NO の役割**

×高尾聖二<sup>\*,\*</sup>, 前田正信<sup>\*</sup>, ×井上正岩<sup>\*</sup>, 福島武雄<sup>\*</sup>, ×朝長正道<sup>\*</sup>, 中井正継<sup>\*,\*</sup>, 林田嘉朗<sup>\*</sup>(<sup>\*</sup>産業医大, 応用生理・<sup>\*</sup>福岡大, 脳外・<sup>\*,\*</sup>国立循環器病セ)

血圧受容器よりの脳内終末である延髄孤束核内の NO (nitric oxide) の脊髄循環への役割を調べるため, ウレタン麻酔下のラットの孤束核内へ NO を産生する働きのある sodium nitroprusside の微量注入を行った。脊髄血流は, sodium nitroprusside の微量注入により頸髄, 胸髄, 腰髄で各々有意に低下した。脊髄血管抵抗は頸髄, 胸髄, 腰髄で各々有意に上昇した。孤束核の近接野へ sodium nitroprusside の微量注入しても脊髄血流, 脊髄血管抵抗, 血圧, 心拍数は有意には変化しなかった。孤束核へ vehicle solution を微量注入した時も脊髄血流, 脊髄血管抵抗, 血圧, 心拍数は有意には変化しなかった。この結果, NO は延髄孤束核内で脊髄血管収縮機能に関与している可能性がある。

**B-15. ラット延髄孤束核における脳血流調節に対する NO の役割**

井上正岩<sup>\*</sup>, 前田正信<sup>\*</sup>, ×高尾聖二<sup>\*,\*</sup>, ×福島武雄<sup>\*</sup>, ×朝長正道<sup>\*</sup>, 中井正継<sup>\*,\*</sup>, 林田嘉朗<sup>\*</sup>(<sup>\*</sup>産業医大, 応用生理・<sup>\*</sup>福岡大, 脳外・<sup>\*,\*</sup>国立循環器病セ)

圧受容器からの脳内ターミナルである延髄孤束核は脳循環調節機能を持っていることが知られている。近年 NO (nitric oxide) の local transcellular communication に対する役割が示唆されている。今回我々は NO が孤束核内において脳血流量調節に関与しているかどうかを検討するため, 人工呼吸下のラットの孤束核に NO を発生させる sodium nitroprusside の微量注入を行った。その結果, 注入側大脳皮質・上部脳幹・小脳において血流量の有意な減少, 血管抵抗の有意な増加が認められた。また前処置として NO の合成阻害剤である L-NMMA の微量注入を行った孤束核への

L-glutamate の微量注入では、前処置を行っていない時の L-glutamate による脳血流減少反応が消失した。さらに孤束核隣接野への sodium nitroprusside の微量注入、孤束核への vehicle solution の微量注入を行ったが、いずれも脳血流量、脳血管抵抗には有意な変化は認められなかった。以上より延髄孤束核内において NO が脳血流量調節に何らかの役割を有している可能性が示唆された。

#### B-16. 意識下ラットにおける一酸化窒素(NO)合成阻害剤が血圧、心拍数及び腎交感神経活動に及ぼす影響

下川 歩, 齊田光彦, 國武孝人, 広田和英, 花森隆充, 河南 洋

NO 合成阻害剤投与の腎交感神経活動に及ぼす影響は意識下動物ではまだ報告されていない。今回、意識下ラットを用いて NO 合成阻害剤の静脈内投与を行い、血圧、心拍数と腎交感神経活動に及ぼす影響を調べた。

N<sup>ω</sup>-L-nitro arginine methyl ester (L-NAME) 12.5 mg の静脈内投与により血圧の上昇、心拍数と腎交感神経活動の抑制反応が見られた。血圧は投与直後より上昇し、ピークは30~40分で約30%の増加を認め、8時間以上持続した。心拍数は投与後5分以内に約30%減少し1~3時間持続した。腎交感神経活動も投与後5分以内に約75%減少し1時間後より回復し始め、完全回復までに2.5~6時間を要した。D-NAME (12.5 mg) 投与では有意な変化を認めなかった。この心拍数と腎交感神経の抑制反応は圧受容器除神経(SAD)ラットでは認められなかったので圧受容器反射によるものと考えられた。また、圧受容器反射特性に対する効果を調べるために、L-NAME とフェニレフリンによる血圧上昇時の心拍数と腎交感神経活動の変化を比較した。L-NAME による反射性徐脈反応はフェニレフリン投与によるものより大きかった。これより L-NAME による圧受容器反射の促進作用が示唆された。

#### B-17. 骨格筋弛緩及び収縮に対する無機リン(Pi)の効果

香川浩一, 堀内桂輔, 山田和廣(大分医大, 第一生理)

筋収縮におけるクロスブリッジサイクルの中で、無機リン(Pi)は ATP の加水分解産物であり、収縮抑制作用をもつことが知られている。ケージド ATP 光分解で起した、骨格筋の弛緩及び収縮に対する Pi の効

果を調べた。

標本はラット腸腰筋の単一スキンドファイバを用い、実験温度は8℃, pH 7.0, イオン強度 0.2 M とした。ATP の加水分解速度は、収縮が硬直状態に戻るまでの時間と遊離した ATP 量の関係より推定した。また収縮及び弛緩の記録から、それぞれの初期過渡応答の速度を測定した。

Pi (4~10 mM) は明瞭に張力を抑制したが、それに対して ATPase 活性と筋ステイフネスへの抑制効果は小さかった。また Pi は過渡応答における収縮の速度定数を増大した。以上は従来の結果と一致したが、一方、新たに Pi は弛緩の速度を遅くする(10 mM で 10%)という結果を得た。

クロスブリッジ反応において、Pi は力発生ステップに作用するというのが従来説である。しかし、Pi の張力抑制と ATPase 活性抑制の二効果の間に解離があること、及び弛緩を遅くする効果のあること、これらの点を従来説で説明するのは容易ではない。Pi には未知の非特異的な作用があるのかもしれない。

#### B-18. 運動選手の瞬間動作による筋収縮特性に関する研究

×季 丁範, 田井村明博, 山内正毅(長崎大, 熱帯医学研究所, 環境医学)

【目的】 表面筋電図を用いて、運動鍛練者と非鍛練者の瞬発(瞬間)的な手指伸筋動作時における前腕主働筋(伸筋)と拮抗筋(屈筋)の収縮機構の差異を検討した。

【方法】 利き手の前腕伸筋群と屈筋群の筋放電を記録し、信号は、A/D コンバータを介して、パーソナルコンピュータに取り込み、多用途生体情報解析プログラムで、光刺激から筋放電までの時間(PMT), 運動時間(MT), 反応時間(RT)を解析した。

【結果・考察】 非鍛練者では、主働筋である伸筋の筋放電(154 msec)に続いて拮抗筋である屈筋の筋放電(176 msec)が認められたのに対し、運動鍛練者(テコンド)では、逆に屈筋(148 msec)の方が伸筋(153 msec)より PMT が短かった。このことは、運動鍛練者の筋収縮特性として、主働筋と拮抗筋の同時収縮が観察され、手指の伸展終了位置で関節が固定される。これは関節保護のための防御機構と考えることができる。これ等は、運動種目の特徴として、外部環境の変化に対抗しながら競技を行う条件的運動学習を積み重ねていることに起因しているものと推察された。

### B-19. ヒトの前後動揺による平衡感覚誘発電位

阿倍紀一郎, 緒方敬子, 長田知子(熊本大, 医療短大)

研究の目的は平衡感覚誘発電位を用いた平衡機能検査法を開発することである。被験者を揺り椅子に座らせて前後に動かし、揺れ始めると同時に脳波を50回平均加算して誘発電位を記録した。関電極は10/20法のFz・Pz・C<sub>3</sub>・C<sub>4</sub>に置き、基準電極は両耳垂を短絡して用いた。前後への揺れの角度を被験者背面と床との角度で表すと、最後部で50°, 最前部で90°とした。揺れの時間は両方向とも1.3秒とした。椅子を後から前に揺らせると眼球は上に動き、最前部に達すると、眼球は直ちに下に動き始めたが、椅子は0.5秒間停止してから後に揺れ始めた。一方、椅子を前から後に揺らせると眼球は下に動き、最後部に達すると、眼球は直ちに上に動き始めたが、椅子は0.5秒間停止してから前に揺れ始めた。いずれの方向でも、200 msecに頂点潜時をもつ陽性波が現れた。この電位は後-前方向の揺れでは3~10  $\mu$ V, 前-後方向の揺れでは2~4  $\mu$ Vであり、いずれもFzで最高であった。また、380~430 msecに頂点潜時をもつ陰性波が出現した。この電位は後-前方向の揺れでは-2~-8  $\mu$ VでPzで最低、前-後方向の揺れでは-1.5~-5  $\mu$ VでFzで最高であった。CとC<sub>4</sub>の波形はほぼ同一であった。さらに、後-前方向の揺れでは、1秒以内にそれぞれ650 msecと850 msecに頂点潜時をもつ2つの陰性波が出現した。

### B-20. 脊髄後角におけるセロトニンの伝達物質放出に対する作用

吉村 恵, ×水上 潔\*, 矢尻 洋一\*\*, ×馬場 洋\*\*\*, 東 英穂(久留米大, 医, 第一生理・\*京大, 薬, 薬理・\*\*新潟大, 医, 整形・\*\*\*麻酔)

成熟ラット脊髄スライスに後根を付した標本を用いて、後角第2層における5-HTの伝達物質放出に対する作用をblind patch clamp法によって調べた。5-HTは第一次求心性A $\delta$ 線維刺激によって誘起された単シナプス性興奮性シナプス電流(EPSC)を約80%の細胞で抑制した。この作用は5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>2</sub>, 5-HT<sub>3</sub>受容体拮抗薬では抑制されなかった。次に、微小興奮性シナプス電流(m-EPSC)と微小抑制性シナプス電流(m-IPSC)の発生頻度に対する5-HTの作用を解析した。5-HTはm-EPSCの頻度を約20%の細胞において減少させた。また5-HT投与中止後にm-EPSCの頻度の増大が約30%の細胞で観察された。

m-EPSC頻度の増大はforskolinや8-bromo cAMP投与によっても観察されることからcAMPの関与が示唆された。一方、m-IPSCの頻度は5-HTによって何等著名な影響は受けなかった。以上の結果から、セロトニンはシナプス後性に膠質ニューロンを直接抑制すると共に第一次求心性A $\delta$ 線維終末にも作用して、グルタミン酸放出を抑制することによって痛覚伝達を抑制していると考えられる。

### B-21. ウサギ副交感神経細胞に於けるエンドセリン受容体の情報伝達系

西村俊彦, 赤須 崇(久留米大, 医, 第二生理)

血管内皮細胞の培養液中から単離されたエンドセリン(ET)は、神経系にも分布し、多彩な作用が知られている。しかしその細胞内情報伝達系は未知である。そこでウサギ膀胱神経節(VPG)細胞に賦与されている静止電位を調節するET受容体の細胞内情報伝達系を電気生理学的手法により解析した。ETアイソペプチド(10~300 nM)はET<sub>B</sub>受容体を介し、内向きカチオン電流(I<sub>ET</sub>:0.1~2.8 nA)を誘起した。I<sub>ET</sub>はGTP $\gamma$ Sの細胞内注入により消失した。Dibutyryl cyclic GMP(db-cGMP; 10~300  $\mu$ M)は、I<sub>ET</sub>様の内向きカチオン電流(0.2~3.0 nA)を再現し、cGMP(3 mM)及び8-bromo-cGMP(1 mM)は僅かな内向き電流(~0.5 nA)を発生させた。GTP(0.5 mM), GDP(1 mM), GMP(1 mM), guanosine(1 mM)及びdb-cAMP(3 mM)は膜電流に無効であった。Db-cGMPの存在下でI<sub>ET</sub>は抑制された。Sodium nitroprusside(1 mM)は作用がなかったが、SIN-1(1 mM)でI<sub>ET</sub>様の内向き電流が記録された。以上の結果より、ウサギVPG細胞でET<sub>B</sub>受容体はある種のG蛋白質を介し、加水分解型のcGMPを細胞内メッセンジャーとしてカチオンチャンネルを制御すると結論した。また、その情報伝達カスケードにはphosphodiesterase、一酸化窒素等々未知の機序が含まれる可能性も示唆された。

### B-22. 口蓋粘膜からの感覚入力による舌運動の反射的調節

鍛冶屋浩, 岡本富士雄, 岡部幸司, 副田博之(福岡歯大, 口腔生理)

カエル口蓋神経のパルス刺激により舌下神経に誘発される反射性放電を、舌咽神経刺激による放電と比較した。口蓋神経刺激による放電は単一刺激では誘発されず、頻回刺激によってのみ誘発された。他方、舌咽

神経刺激による放電は単一でも頻回刺激でも誘発された。口蓋神経の頻回刺激による放電は、舌咽神経刺激による放電よりも放電頻度が低く、潜時が長く、また閾値も高かった。この放電パターンは、多シナプス性反射を示すのに対して、舌咽神経刺激による放電は単シナプス性と多シナプス性反射から成ることを示した。口蓋神経刺激による放電は、舌咽神経や舌下神経の条件刺激により促通がみられた。口蓋神経刺激による放電は舌の引込み運動に関与する舌下神経の舌骨舌筋枝にのみ誘発されたが、舌咽神経刺激による放電は舌骨舌筋枝のほか、舌の突出し運動に関与するオトガイ舌骨筋枝、内舌筋枝においても放電が認められた。さらに、口蓋粘膜や舌背粘膜の機械的刺激によっても舌下神経にパルス刺激と同様な放電が誘発された。

以上の結果より、口蓋神経からの感覚入力に閾値の高い介在ニューロンを介して多シナプス性に舌下神経運動ニューロンへ入力され、主に舌の引込み運動を反射的に調節していると考えられた。他方、舌咽神経からの入力は単シナプス性と多シナプス性であり、舌の引込み、突出し運動を調節していると考えられた。

#### B-23. ハブの脳神経運動核間の $[^3\text{H}]$ 2-DG ラベルによる相違

× 蔣 彭佳, 寺嶋真一(琉球大, 医, 第二生理)

糖代謝酸素(SDH, G 6 PD)と神経伝達物質(AChE, CGRP)のレベルは脳神経運動核を体性運動核と内臓運動核に分けると、相違があると言われている(Batten et al., 1992; Iijima et al., 1969; Manolov, 1969)。今回の実験は高分解脳オートラジオグラフィ法を用い、ハブの脳神経運動核における  $[^3\text{H}]$  2-deoxy-D-glucose (2-DG) のラベル状態を調べた。麻酔と不動化されたハブの心臓に 2-DG を投与し、45分後、PLP 固定液(periodate-lysine-paraformaldehyde)で灌流固定をした。10  $\mu\text{m}$  のパラフィン切片に Sakura NR-M 2 乳剤を掛けて、3~6週間後の露出後、現像して観察した。脳神経 V, VII 及び XII の運動核の多数の細胞が濃厚にラベルされ、III 核の約半数の細胞、IV と VI 核の少数の細胞が薄くラベルされた。現像銀粒子が細胞体とその突起の起始部に集中しているのが観察された。しかし、迷走神経の背側運動核の細胞はラベルされなかった。その他、頸髄 C1-2 の Rexed's lamina IX 区域の前角運動細胞もよくラベルされた。この結果は脳神経の運動細胞の糖代謝酵素分布の報告結果(Iijima et al., 1969; Kusunoki et al., 1987)と一

致する点が多く、これらの 2-DG の取り込みは体性運動細胞では神経支配範囲の大きい細胞が小さいものより強いことを示唆している。

#### B-24. ラットの開口筋と閉口筋を支配すると運動ニューロンの AChE 活性の比較

河岸重則(九歯大, 口腔科学)

先に10週齢のラットで閉口筋の顎二腹筋前腹の運動ニューロンが閉口筋の咬筋のものより高い acetylcholin-esterase (AChE) 活性を示すことを報告した。今回、授乳期と生後1年のラットで同様な活性の差が見られるか否かを検討した。まずラットの両運動ニューロンを蛍光色素で逆行性標識し、次いで既存の AChE を失活させる為 AChE 阻害剤を投与した。その後3時間生存させて酵素を新たに合成させ、心灌流固定を施した。脳幹を摘出、凍結連続切片を作製し、AChE 反応に供した。反応切片の蛍光色素を含む運動ニューロン細胞体の 470 nm の吸光度を測定し、AChE 活性値とした。解析の対象は  $\alpha$  運動ニューロンとした。AChE 活性は両運動ニューロンとも、授乳期の生後5日目から16日目、10週齢へと順次増加し、生後1年のラットでは10週齢に比べて低下した。運動ニューロン間の活性を比較した場合、授乳期では顎二腹筋運動ニューロンの活性の方が咬筋のものよりも1.2倍高かった。この値は10週齢の1.6倍よりも低いことから、授乳期から10週齢へかけての顎二腹筋運動ニューロンの AChE 活性の増加は咬筋運動ニューロンでの増加より大きいことが示唆された。1年齢のラットでは両ニューロン間の活性の差は検出されなかった。

#### B-25. 多受容体遮断薬クロルプロマジンによるラット咬筋単シナプス反射促通の受容体機構の解析

高月義子, 河岸重則, 天野仁一郎(九歯大, 口腔科学)

多種の受容体に遮断作用をもつ chlorpromazine (CPZ) の静脈内投与によるラット咬筋単シナプス反射(MSR)の促通機序を、各受容体の選択的遮断薬を用いて検討した。

【方法】 頸髄 C<sub>2</sub> 切断の笑気麻酔ラットの右側中脳路核を反復電気刺激し、同側咬筋に誘発される MSR 筋電図の加算平均波形の振幅を指標に各受容体遮断薬の静脈内投与の影響を観察した。

【結果】 ①CPZ の投与両(mg/kg)と MSR 促通程度の関係は、8~20 mg では投与後徐々に振幅は増大し、

90分後に最大値(投与前の300~400%)に達した。0.5~3.2 mgの少ない量では投与直後からはほぼ直線的に上昇する急激な促通を示し、90分後に約800%に達した後、なおも上昇傾向を見せた。50 mgの極多量では投与直後急激に上昇する一過性の促通が生じ、10分後に約300%に達した後は8~20 mgの場合とほぼ同様の傾向を見せた。0.2 mgでは無効であった。②5-HT<sub>2</sub>セロトニン受容体遮断薬 ketanserin では用量を変えても効果はなかった。血液脳関門を通過する ritanserin 0.03~0.1 mgでは用量に比例した、投与直後急激に上昇する一過性の促通が見られた。③D<sub>2</sub>ドーパミン受容体遮断薬 sulpiride 50 mgではMSRに変化は見られなかった。D<sub>1</sub>遮断薬 SCH 23390 0.04 mgでは7例中2例に投与後徐々に増大し続ける促通が生じたが、残りの5例では変化が認められなかった。

【結論】 CPZの静脈内投与によるMSRの促通機序には、複数の受容体の関与が示唆される。

#### B-26. 顎筋活動を誘発するラット大脳基底核部位について

天野仁一郎, 高月義子, 河岸重則(九歯大, 口腔科学)

咀嚼筋のトーンのコントロールに大脳基底核がどのように関わっているかを検討する目的で、連続微小刺激法を用いてラットの開口筋および閉口筋に活動を誘発する大脳基底核部位の特定を試みた。実験には顎髄切断の12匹の成熟SDラットを用いた。Bregma付近の大脳皮質を露出後、ガラス被覆エルジロイ微小電極(1.6~3.2 M $\Omega$ )を大脳基底核内に進めてゆき、100  $\mu$ mおきに333 Hz, 40  $\mu$ Aの40発陰性パルス列刺激を2.5秒間隔で与えながら、刺激に同期した咀嚼筋EMG活動を誘発する部位を探索した。1匹のラットにおいてBregmaを基準に吻尾および内外方向に各4 mm, 0.5 mm間隔でmappingを行った結果、Bregmaの後方0.3~3.3 mm, 外側2.5~3.5 mmの範囲内のほぼ同じ深さに連続微小刺激に顎筋活動を誘発する部位が多数存在することが判明した。誘発される顎筋活動の性質および組織学的同定から、これらの部位は線条体、淡蒼球外節、淡蒼球内節、内包の四つに分かれた。最も誘発性が高いのは内包であり、低いのは線条体であった。本来の大脳基底核の構成要素である線条体、淡蒼球外節および淡蒼球内節では刺激に同期して開口筋だけに同側優位の持続性活動が、他方、内包刺激では開口筋と閉口筋に互いに拮抗的な力強いリズム性

バースト活動が出現した。

#### B-27. 大脳皮質顎運動野から線条体への直接投射

岸川直司\*, 笹本一茂, 太田雅博(九大, 歯, 口腔生理・\*第二補綴)

麻酔下のラットの大脳皮質顎運動野の刺激により、線条体腹外側部の限局した部位(Bregmaの側方4.0 mm, 大脳皮質表面より5.1 mmの深さ)から平均潜時0.7 msと4.7 msのフィールド電位が記録できた。高頻度刺激に対する追従性の違いから、短潜時のものは錐体路線維からの記録で、長潜時のものが線条体の細胞体の発火によるものと考えられる。また、線条体腹外側部刺激により大脳皮質顎運動野から潜時1.0 msと3.3 msの逆行性電位が記録できた。短潜時のものは5層深部から、長潜時のものは5層浅部から記録された。それぞれ線条体で記録された遅速2種の電位に相当すると考えられる。これらの逆行性フィールド電位を構成すると思われるユニット電位が、それぞれ5層浅部および深部から相当する潜時で記録できた。

線条体腹外側部にHRPを注入すると、両側(同側優位)の大脳皮質顎運動野に逆行性にラベルされた神経細胞体が見られた。これらは5層浅部の錐体細胞であった。この結果は、電気生理学的実験の結果と一致する。

以上の結果から、大脳皮質顎運動野の5層浅部から線条体腹外側部の限局した部位に単シナプス性の投射が存在し、投射線維は錐体路を構成する線維より伝導速度の遅いものであることが推察される。

#### B-28. 異なる脳波のときの視床—大脳皮質での感覚伝達反応

三島和夫, 太田雅博(九大, 歯, 口腔生理)

脳波上、低振幅速波のときと高振幅徐波のときで体性感覚の伝達にみられる変動を調べた。実験はウレタン軽麻酔下のラットで行った。徐波化は追加麻酔でも得た。刺激電極は内側毛帯(ML)に刺入し、記録は大脳皮質体性感覚野(SCx)と視床基底核(VB)で行った。ML刺激で、両領野は初期応答につづきスピンドル様リズム波の振動相と、その後の非振動相が誘発される。徐波化により初期SCx反応は振幅を増すが、VB反応は変わらなかった。振動相の持続時間は両領野とも延長し、リズム波は増強した。非振動相での刺激応答性はSCxで抑制された。

ユニット活動実験は今回VB中継ニューロンと視

床網様核 (RtN) ニューロンを対象とした。調査は自発発火、初期応答、振動相および非振動相での応答について行った。徐波化により自発放電パターンは、両ニューロンで不規則な発火からバースト状に変化した。初期応答で、RtN ニューロンはバースト応答に変わり潜時の延長をみた。振動相では、両ニューロンと

も持続時間の延長をみたが、スパイク頻度は VB ニューロンで減少し、RtN ニューロンで増大した。非振動相での刺激応答性は RtN ニューロンで減弱した。以上より、脳波上の変化は両領野に多大な影響を及ぼし、視床では RtN ニューロンが特に影響を受けた。

# 【編集後記】

57巻3号をお届けいたします。

生理学会大会も終り、はっとされていると同時に、新学期でお忙しい日々をお過ごしの方が多いことと存じます。

前号の本郷利憲先生に始まりました巻頭言は、今回は熊田 衛先生にお願いしました。生理学が今日置かれている状況と将来についての先生方の深い洞察に満ちたお考えに接することが出来、日頃目先の研究のみに追われがちな私にとって、生理学という学問領域について改めて考え、今後の研究の方向を見定める上で良い機会となりそうです。皆様には如何がでしょうか。本誌の目指す方向として、会員への情報提供と交換の場としていくことが一つの選択肢であると思えます(常任幹事会議事録参照)。このような立場から、INFORMATION, CALENDAR, RECORDS, TRENDS の充実・新設が金子章道編集委員長の下に行われて来ました。また、生理学実験技術法講座も教育委員会、御執筆頂きました先生方の御協力により実験に直ぐ役立つ情報の提供という点で好評です。皆様からお寄せ頂いたご意見から誌上討論のようなものに発展して行けば、交換の場という面が一層充実して来ると思われます。巻頭言の掲載を機に、是非、会員諸先生方のご意見もご投稿頂けたらと思います。

PROFILE で抱負を述べられておられます稲永清敏先生の今後の一層のご活躍を期待いたします。TRENDS では岡田泰伸先生が外国人研究者の受け入れとポストク制充実の必要性を論じて居られます。これは1大学や1研究所の改革では効果があがらず、我が国全体の研究体制が横への流動性が格段に増す様に変化する必要があると思われます。経済構造と同様に、大きな変革が迫られている問題ではないでしょうか。生理学実験技術法講座は、榎本、古家両先生による「カルシウム蛍光測光／パッチクランプ同時測定法」です。また、実験法として「薬物刺激用圧力制御装置」が掲載されています。どちらもパッチクランプ法による実験を行っている方々には大いに参考になるのではないのでしょうか。その他、東北および九州の地方会の抄録には、幹事の先生による紹介文も付きました。発表内容と共に会全体の雰囲気や幹事の先生のご苦心なども知ることが出来、他地方の方には参考になるのではないのでしょうか。

いずれは本誌もパソコン通信を介したもののへと移行して行くのではないかと想像されます。現在も原稿をフロッピーディスクでも提供して頂くなど、正確な情報をより早くお伝え出来るよう工夫・改善しております。皆様方のご協力と積極的なご意見をお寄せ頂き、一層充実した紙面が構成できればと存じます。宜しくお願い致します。(神田健郎 記)

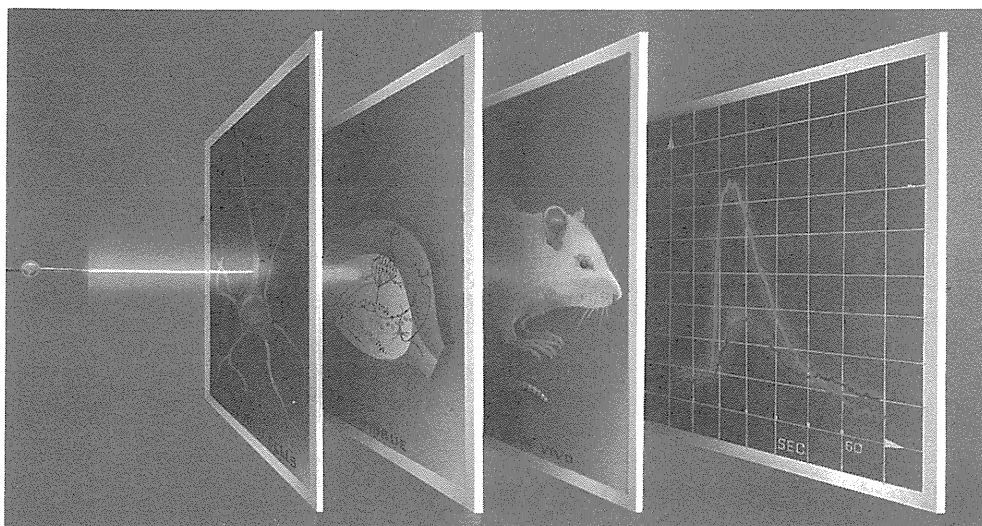
## 編集委員

|           |          |            |
|-----------|----------|------------|
| 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)  |          |            |

## ニューロトランスミッタ濃度測定装置

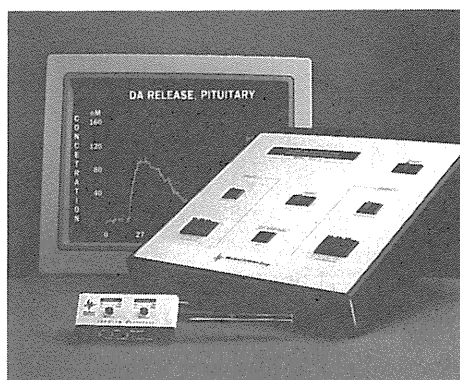
新登場

# IVEC-10



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

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



メディカル・システムス社 日本総代理店

### ショーシンEM株式会社

〒444-02 愛知県岡崎市赤浜町蔵西1番地14 (ショーシンビル)

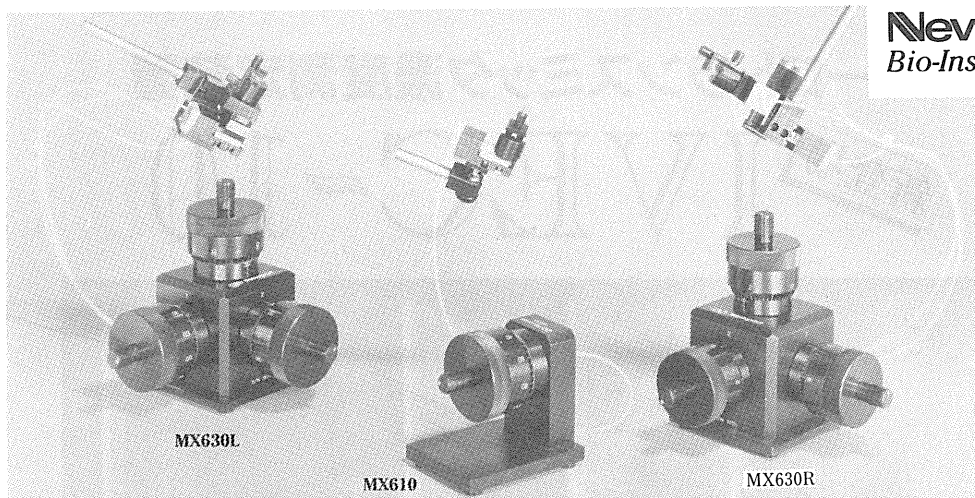
TEL. (0564) 54-1231 番(代表)

FAX. (0564) 54-3207 番

# 水圧式マイクロマニピュレータ



**Newport.**  
Bio-Instruments



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

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

## 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.Francis Benzanillaとの業績によるものです。

日本総代理店



**バイオリサーチセンター株式会社**

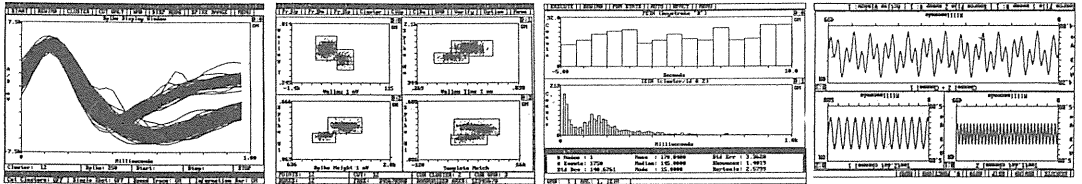
本社 名古屋市中区東2-10-21(錦見ビル2F) ☎ 052(932)6421 FAX 052(932)6755  
東京 東京都江戸川区東葛西6-4-10(第6類長ビル203号) ☎ 03(3878)6471

アナログ信号リアルタイム解析システム

BrainWave社製

# WorkBench & Discovery

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

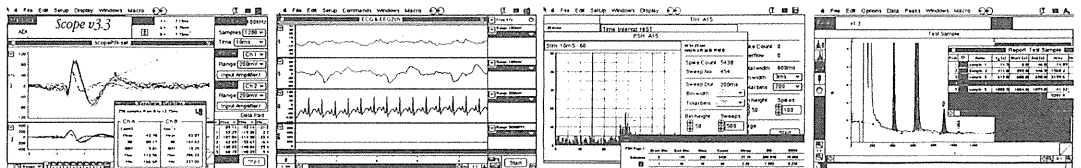


- ユニット分離 1つのユニットより12項目の値を抽出し、最大12のグループに区別します。
- ヒストグラム PETH、IEIH、XCRR、Rate Meter、JPST、Replay、Periodic PETH。
- 波形演算処理 アベレージング、スムージング、FFT、微積分、刺激誘発反応、可変面積、他多数。
- 波形数値抽出 Peak to Peak、dv/dtをはじめ、70種類にも及ぶデータ抽出が可能です。
- ディスプレイ オシロスコープ、ヒストグラム、XYプロット、デジタル表示、他多数。

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

## マックラブシステム

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



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

### 《機能例》

|                  |                                     |                                                                             |
|------------------|-------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|
|                  | マクロによる自動記録                          | ハードディスクレコーディング                                                              |
| <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>周波数カウンター<br>ペリオドメーター                                             |
| <b>Histogram</b> | エアラ、リテンションタイム測定<br>ペリスティラスヒストグラム    | カウンター<br>最高、最低トレンドグラフ<br>オートイベント<br>オートベースライン<br>タイムインターバルヒストグラム<br>BINカウント |

### 《仕様》

|        |                           |                               |                  |
|--------|---------------------------|-------------------------------|------------------|
| アナログ入力 | xch Max. $\pm 10V$        | サンプリング                        | 100KHz (Max 1ch) |
| アナログ出力 | 1ch Max. $\pm 10V$        | (シングルパルス、ノイズポラ、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



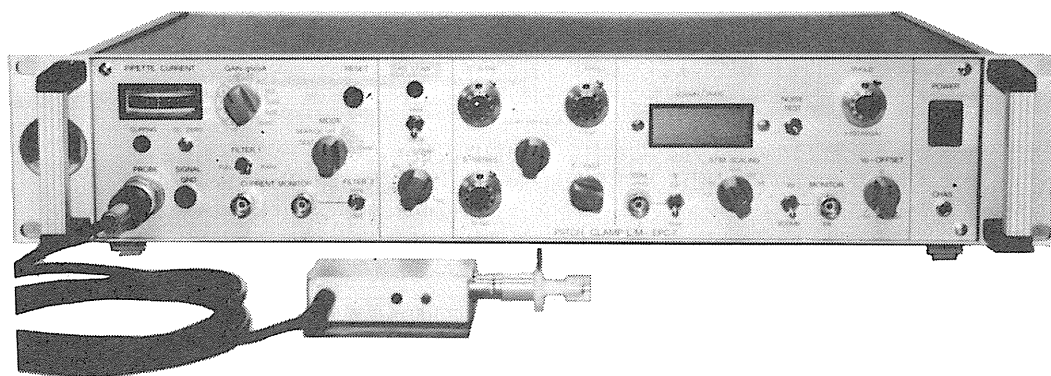
バイオリサーチセンター株式会社

本社 名古屋市中区東栄2-10-21(錦見ビル2F) ☎ 052(932)6421 FAX 052(932)6755  
東京 東京都江戸川区東葛西6-4-10(第6類長ビル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 (50G $\Omega$ ), 20nA (500M $\Omega$ )
- 周波数応答 : 100KHz (500M $\Omega$ )
- 電位増幅度 : X10
- 測定モード : VC, CC, CC+COMM
- Rs補償 : 1-100M $\Omega$
- 容量補償 : 0-10pF (First)  
: 0.2-10pF, 2-100pF (Slow)
- ホールド電位 :  $\pm 200$ mV
- オフセット電位 :  $\pm 50$ mV
- コマンドレベル : 0, .1, .05, .001, -.1, -.05

日本総代理店／西日本地区発売元



**ショーシンEM株式会社**

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

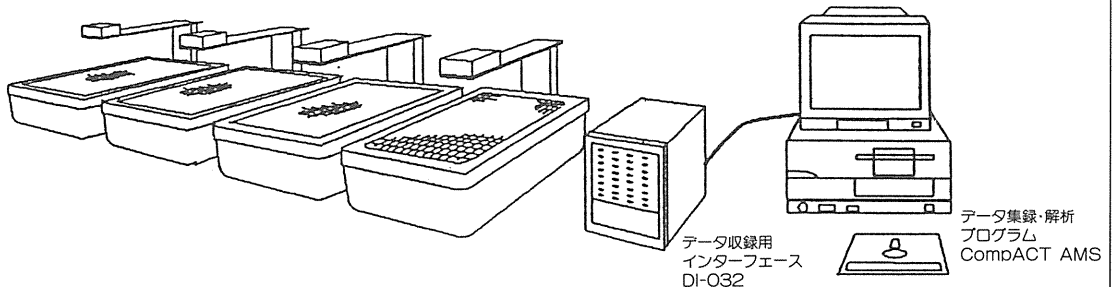
東日本地区発売元

*(Physio-Tech)*

**株式会社 フィジオテック**

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

# ローコスト型 スーパーメックス PAT. P. 自発運動量測定システム SUPERMEX



- 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までのデータを集録し、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)にてデータの集録・解析を行います。
- 増設は簡単にでき、1ch増設の費用は約15万円です。
- 測定場所から離れた所でデータ集録を行なうことができます。(パソコンとインターフェースの最大距離は約1km)
- 自発運動量に加え、飲水量及び餌の摂取量の測定システムも御見積り致します。

**Muromachi**

総発売元 **室町機械株式会社**

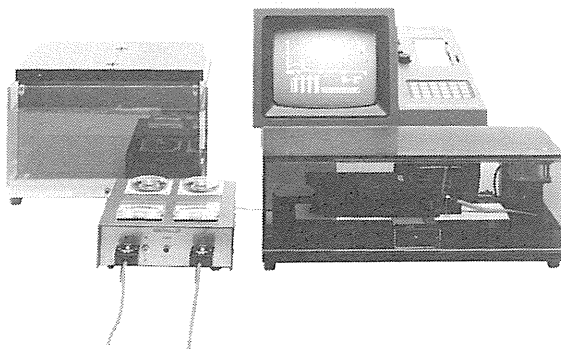
本社: 〒103 東京都中央区日本橋室町4-2-1 大辻ビル  
TEL 03(3241)2444 FAX 03(3241)2940

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

## ラット・マウス用 非観血式血圧測定装置

### MODEL MK-1100

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



#### ■特長

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

**Muromachi**

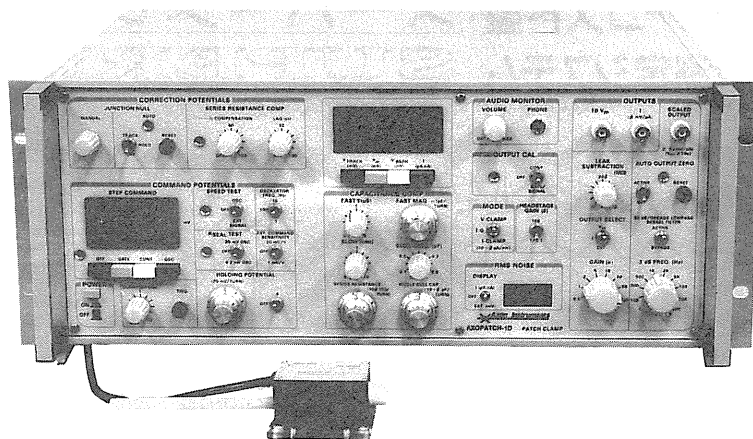
総発売元

**室町機械株式会社**

本社: 〒103 東京都中央区日本橋室町4-2-1 大辻ビル  
TEL 03(3241)2444 FAX 03(3241)2940

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

# AXOPATCH-1D PATCH CLAMP



低ノイズ      ハイスピード      安定性と信頼性

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

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

CV4 ヘッドステージは下記の 3 種類があります。

## AXOPATCH-1Dの特徴

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

## AXOPATCH-1Dのヘッドステージ

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

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

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

西日本地区発売元



INTER MEDICAL CO., LTD.

株式会社 インターメディカル

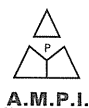
本社/〒461 名古屋市東区葵一丁目25番1号  
TEL (052) 937-7060/9 FAX (052) 937-5423  
TLX 444-3603 WDMC J  
東京支社/〒157 東京都世田谷区柏谷三丁目32番16号  
製造営業部 アビタシオン千歳鳥山102号  
TEL (03) 5384-6387 FAX (03) 5384-6487

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  
コイダビル4F  
TEL (03) 3258-1641 (代)

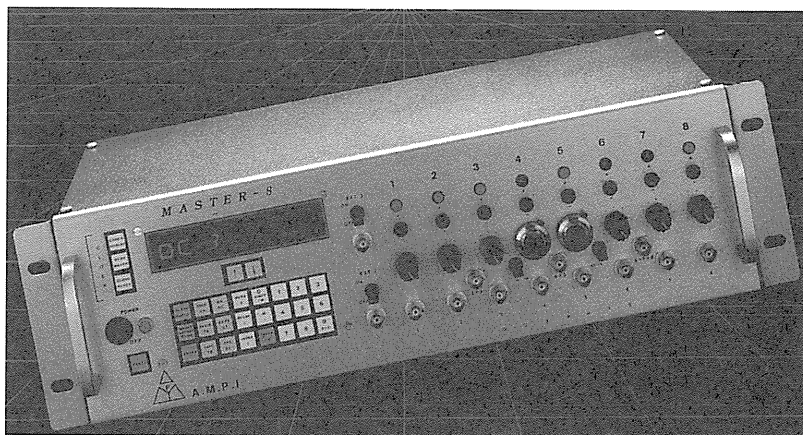


<研究用>

## パルス(電気刺激)発生装置

# スティミュレータ MASTER-8

医学・薬学・生物学等の研究分野に必要な、パルス(電気刺激)発生装置です。



### 特 長

- 8チャンネルのプログラムが可能です。
- 実験の種類ごとのスイッチングが可能です。
- 手動タイプおよびパソコン(IBM PC compatible)によるプログラミングが行えるタイプの2種類があります。
- 使いやすく、操作が非常に簡単です。
- チャンネルの内部接続が可能です。
- 8種類の設定を記憶でき、プログラム済みの8種のセッティングから必要な設定に、簡単に切り換えられます。
- MASTER-8-cpは、コンピュータによるプログラミングが可能です。

### 商品番号

- ✓MASTER-8
- ✓MASTER-8-cp (Computer Programmable)
- ✓MASTER-8-vp (Voltage Programmable)
- ✓FLEXIBLE STIMULUS ISOLATOR

AQ-1208-00  
AQ-1208-10  
AQ-1208-20  
AQ-0805-00

⇒詳細は下記宛にお問い合わせ下さい。

フナコシのライフサイエンス研究用試薬と機器

日本総代理店

## フナコシ株式会社

〒113 東京都文京区本郷2丁目9番7号 ユピテル・ユニビルディング

価格・在庫・納期に関するお問い合わせ……

ライフサイエンス推進本部

営業業務部・研究試薬部・研究機器部 Tel. (代表) 03-5684-1616 Fax. 03-5684-1634

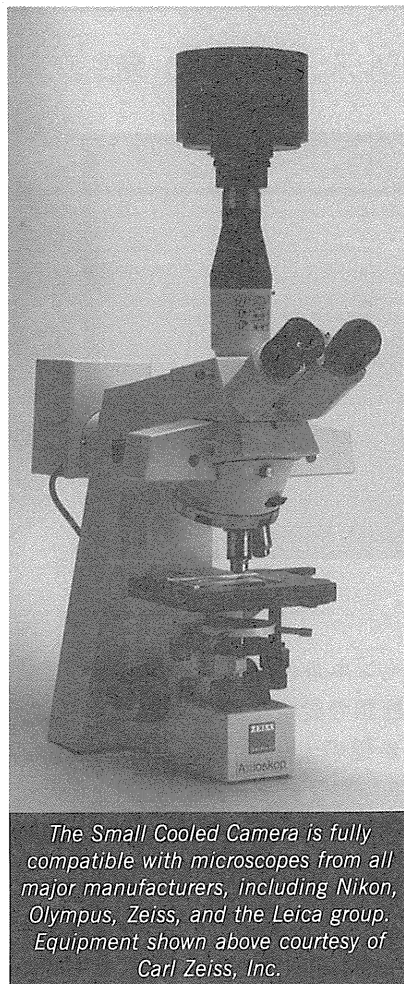
製品内容・資料請求に関するお問い合わせ……

研究開発本部

技術情報部 Tel. (直通) 03-5684-1620 Fax. 03-5684-1775

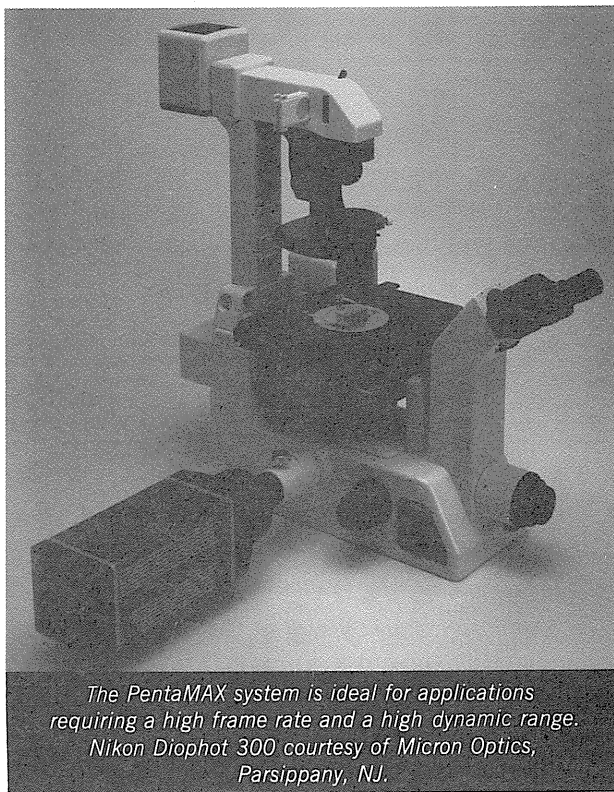
最高性能のデジタルカメラ登場!!

## 高速、高精度デジタルCCDカメラ



*The Small Cooled Camera is fully compatible with microscopes from all major manufacturers, including Nikon, Olympus, Zeiss, and the Leica group. Equipment shown above courtesy of Carl Zeiss, Inc.*

- ★ 広ダイナミックレンジ: 12~18ビット
- ★ 画素数: 512×512~3072×2048
- ★ 感度: ビデオカメラの10倍~1,000倍
- ★ 高速度: 100KHz~5MHz
- ★ ビデオ&デジタル出力



*The PentaMAX system is ideal for applications requiring a high frame rate and a high dynamic range. Nikon Diaphot 300 courtesy of Micron Optics, Parsippany, NJ.*

ダイナミックレンジが12ビットで、

AD変換レートが5MHzと高速、高精度のカメラが遂に発売されました。

画素数は、35万画素~600万画素と豊富です。

読み出しノイズを極限まで下げ、CCDを-50℃まで冷却することで感度を向上しました。

**Nippon Princeton Instruments**

株式会社 日本プリンストン・インスツルメンツ

〒260 千葉県千葉市中央区南町2-24-2 金澤ビル2 TEL.043-268-3610 FAX.043-268-7520  
筑波地区 (有)ルシール: 〒305 茨城県つくば市梅園2-2-4 TEL.0298-54-7160 FAX.0298-54-7170

新製品

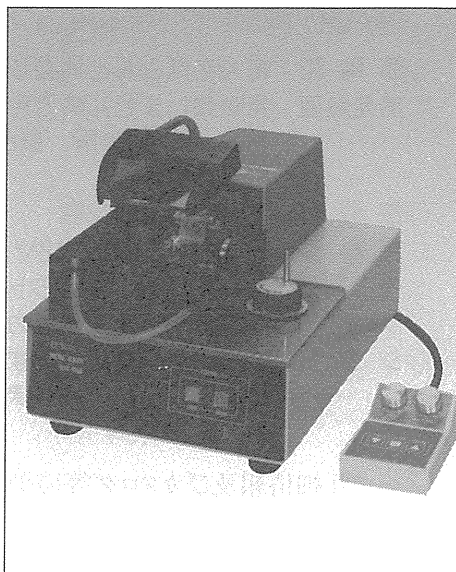
お求めやすい価格で新登場！

新鮮脳切片作製のための

**DSK マイクロスライサー<sup>®</sup>**

**DTK-1500型・セパレートタイプ**

- 新鮮脳の切断面のダメージが、著しく少なくなりました。
- 横振(FREQUENCY)の幅を小さくして、前進スピードを出来るだけおそくする操作を可能にしました。
- セパレート型、コントロール部を独立させる事により生理食塩水、バッファ、水等の浸透を防ぎ、操作性、耐久性がアップしました。
- 刃の作動方式には電磁振動方式を用いず、上下振動のない滑走式(PAT)を採用しています。
- 刃の往復数が自由に変えられるため、柔らかい組織や不均一な組織も切りやすくなりました。

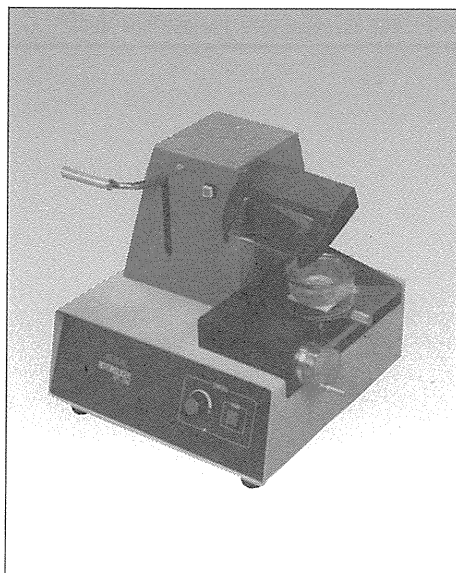


新製品

“生きのいい”脳薄切標本作製装置

**DSK ロータースライサー<sup>®</sup>**

**DTY-7700型・手動式**



- 脳組織など、素早く取り出した生きた軟かい生体組織の薄切標本(70ミクロン以上)が容易に得られます。
- 組織の送り幅(薄切の厚さ)、刃の回転速度をセット。  
あとは組織をカンテン台に固定して、手動でレバーを操作し回転刃を下降すればOK。
- 組織の固定も簡単で熟練を要しません。
- 液中で薄切するので、標本が空気中にさらされる時間も短縮され“生きのいい”切片が順序よく回収できます。
- 特製試料トレイ(多孔質セラミックス製パブラー付 [PAT.P])を標準装備。

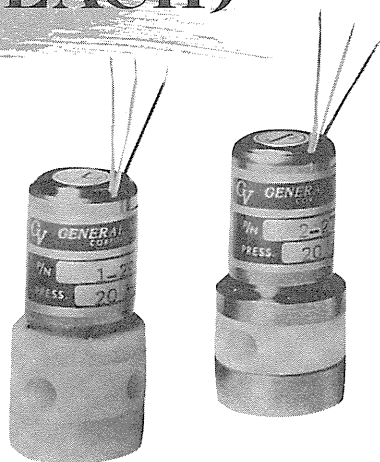
★詳しい資料・文献・デモンストレーションは下記までご請求ください。

**DSK 堂阪イーエム(株)**

本社・工場/〒601-11 京都市左京区静海市原町1032の3 TEL (075)741-3069 FAX (075)741-3026

# 米国ジェネラルバルブ社製 画期的電磁弁(ISOLACH)

- ◎節電型：電力をほとんど消費致しません。
- ◎無発熱型：発熱致しませんので熱に依る変質を嫌う流体(分解、重合、結晶化)に最適です。
- ◎接液部：オールテフロン製
- ◎超小型：25mm径×50mm高(12V、24VDC)
- ◎作動：約15ミリsecのシフトパルスに依り動作致します。(電力は必要無)
- ◎シフト：コモングランドを有する2つのコイルに依り切換致します。



詳細情報及びカタログ等の御必要な方は、今すぐ下記まで御連絡下さい!!

米国ジェネラルバルブ社

日本総代理店 **ユニバーサルシステムコントロールズ株式会社**

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 名古屋市中区中小田井5-20 大鋼設計ビル506号 TEL 052-504-5977 FAX 052-504-4603

# 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

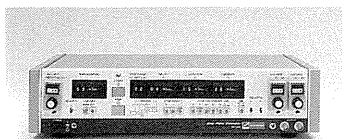
## パッチ／ホールセルクランプ用増幅器 CEZ-2400

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。

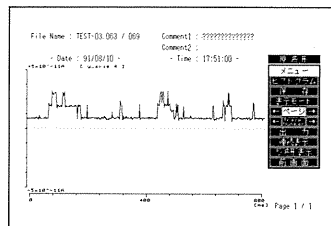
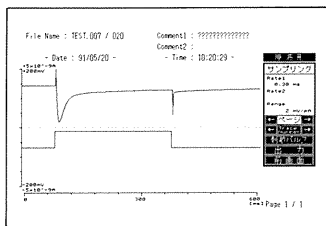
## ステップパルスジェネレータ SET-1201

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。



**日本光電**

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

カタログをご希望の方は宣伝課迄ご請求下さい。

J. Physiol. Soc. Japan Vol. 57, No. 3 (1995)

編集兼  
発行人

金子章道

印刷者  
印刷所

〒九九七  
山形県鶴岡市山王町一四二四  
平田  
鶴岡印刷株式会社 正

発行所

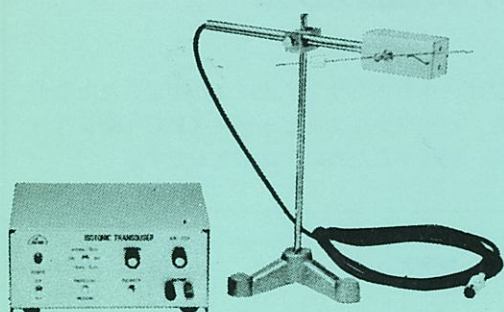
〒一一三  
東京都文京区本郷三三〇一〇  
布施ビル（四階）  
日本生理学会

振替F電  
A 話  
替X

〇〇〇〇  
一三三  
定〇五三八  
価〇八一五  
一〇四一  
千八二六  
六五三  
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