

日本

生理学

雑誌

JOURNAL OF THE PHYSIOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

57巻

10号

1995

〔巻頭言〕 栗原 敏：生理学と生理学教育 387

INFORMATION 389

CALENDAR 395

RECORDS 396

PROFILE 398

生理学実験技術法講座

シリーズ「細胞内 Ca イオン濃度の光学的測定法」

宮川厚夫：細胞内 Ca イオン濃度測定に使われる装置 401

原 著

小河繁敏・山崎先也・岡本 啓・福田 俊・家森幸男・田口貞善：

模擬無重力による高血圧自然発症ラット骨格筋の組織化学的特性

及び骨代謝への影響 419

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 愛知県岡崎市赤浜町蔵西1-14
ショーシンビル2F

TEL. 0564-54-1231

FAX. 0564-54-3207

EPC-9 東日本総発売元

(Physio-Tech)

株式会社 フィジオテック

〒101 東京都千代田区内神田2-6-11
若松ビル2F

TEL. 03-3258-1641

FAX. 03-3258-1657

目 次

〔巻頭言〕 生理学と生理学教育(栗原 敏).....	387
----------------------------	-----

INFORMATION

(財)加藤記念バイオサイエンス研究振興財団

第8回(平成8年度)加藤記念研究者育成助成候補者募集要領.....	389
国立循環器病センター流動研究員募集.....	389
千里ライフサイエンスセミナー	
ブレインサイエンスシリーズ第8回「グリア細胞の最前線—病態との関連—」.....	390
第18回国際比較白血病及び関連疾患学会シンポジウム.....	391
第4回シンポジウム構成内容.....	392
第25回日本心脈管作動物質学会.....	392
第10回「大学と科学」公開シンポジウム	
脳研究の最前線：遺伝子から知能へ.....	393
卒後臨床研修必修化に向けての提言.....	394

CALENDAR

主な学会開催日程.....	395
---------------	-----

RECORDS

平成7年度第1回日本生理学会教育委員会議事録.....	396
第141回 JJP 編集委員会議事録	396
会員消息.....	397

PROFILE

「生理学者群像」(森 滋夫).....	398
(柊屋俊昭).....	399
(柊 秀人).....	399

生理学実験技術法講座

シリーズ「細胞内 Ca イオン濃度の光学的測定法」

宮川厚夫：細胞内 Ca イオン濃度測定に使われる装置	401
----------------------------------	-----

原 著

小河繁彦・山崎先也・岡本 啓・福田 俊・家森幸男・田口貞善：

模擬無重力による高血圧自然発症ラット骨格筋の組織化学的特性

及び骨代謝への影響.....	419
----------------	-----

〔巻頭言〕

生理学と生理学教育

東京慈恵会医科大学生理学講座第2 栗原 敏

生理学の教育問題を考える教育委員会が昭和43年に発足し、初代委員長に藤森聞一教授(北海道大学)が就任された。その後、8人の教授が委員長を務められ、平成5年からは私が委員長をお引き受けすることになった。教育委員会の活動を通して、生理学と生理学教育について考えてみた。

これまで委員会でとりあげられてきた問題は、生理学実習のあり方の検討、実習書の刊行、基礎配属、生理学教育へのビデオの導入、minimum requirement, teacher's training, 少人数制教育など、いわゆる学部学生を対象とした生理学教育がおもに検討されている。学部学生の生理学教育の問題は、医学あるいは歯学教育の中で生理学をどのように位置づけて教育するかということだけでなく、大学院における教育や生理学者の後継者養成にも深く関係している。

教育委員会では、生理学を医学教育の中にどのように位置付けていくか、また、生理学者の養成をどのように行っていくかが常に話題になっている。その背景には、生理学を志す若い医学部出身者が減少しており、その大きな原因の一つに、生理学そのものが従来の姿から大きく変貌していることを考えなければならない。

学部学生に対する生理学教育を考えると、平成3年7月に行われた法令改正によって医学教育が6年一貫になったことが、生理学のカリキュラムに大きな影響を及ぼしている。法令改正により、生理学と生物学、物理学、化学などの科目との連携、および臨床科目との連携・統合カリキュラムがこれまで以上に考慮されるようになり、医学教育全体のなかにおける生理学教育のあり方が模索されている。これまでのように、生理学を独立して体系的に教えるよりも、連携あるいは統合カリキュラムが多く在大学で採り入れられるようになった。その主な理由は、生理学という枠の中で生理学を教えるよりも、ある医学的な問題を解決するときに生理学を学ぶ方がより実証的な知識が身につくというものである。例えば臓器別の教育カリキュラムなどはその一例である。しかし、一方では生理学的な考え方は、従来から行われている体系的教育を通してのみ身につくといった意見もある。両者の教育法にはそれぞれ長所はあるが、少なくとも、一般生理学といわれている細胞に共通な機能は、生理学的な考え方を身につける上でも体系的に教授することが望ましいのではないかと感じている。現在の医学教育の中で生理学教育に主に求められているのは、医師養成に必要な生理学的知識の伝授である。しかし、生理学の後継者養成のためには、単なる知識の教授だけでなく、学生に生理学の魅力を実感させることが必要である。そのた

めに、基礎医学教室で研究を体験する基礎配属などが試みられている。このような試みは、卒業論文の提出が求められない医学部教育のなかで、研究を体験させるよい機会である。しかし、分子生物学が隆盛を極めている中で生理学の独自性を打ち出して、魅力ある生理学を構築していかなければ、若い世代を生理学に惹きつけることは難しいのではないかとされる。学際的研究がますます必要となっている中で、講座の再編成を行い、生理学講座を解体して新しい研究体制を作る動きも盛んである。生理学的な研究手法や思考過程はこれからも医学研究に活かされていくと思われるが、これまでの伝統的な生理学のあり方は変革を迫られている。

分子生物学の発達により、細胞機能が分子や遺伝子との関係で明らかになりつつあるが、細胞あるいは組織としての機能を知るためには、これらの分析的研究によって得られた知見を統合して理解することが必要であり、“統合” (integration)こそが生理学の重要な独自性の一つだという意見がある。確かに統合の重要性は十分に認識できるが、生理学の独自性は統合にあるとしたとき、それが若い世代にインパクトをあたえることができ、生理学に多くの人を惹きつけることができるかが問われる。

教育委員会では、富田忠雄委員長の時から若手の研究者養成を推進するために、毎年、夏期休暇を利用した生理学研究所主催の実験技術法に関する研修会を共催してきた。これまでの、学部学生に対する生理学教育問題から一歩踏みだし、生理学の後継者養成を考えてのことである。本年も、分子生物学に関する講演と、8項目にわたる実習を岡田泰伸教授(生理学研究所)に企画していただいたところ、67名の定員に対して220名の応募があった。大学院生の応募が多かったこと、また、学部学生の応募も相当数あったことが印象的であった。しかし、医学部あるいは歯学部の生理学教室に所属している人の応募者は多くない。今後、医学部および歯学部における生理学の後継者の人材を、どこに求め、どのようなカリキュラムで育成していくのか、具体的な方策を考えることが生理学研究と生理学教育の緊急課題ではないかと思われる。

INFORMATION

（財）加藤記念バイオサイエンス研究振興財団

第8回（平成8年度）加藤記念研究者育成助成候補者募集要領

1. 助成の趣旨

本財団は、真理のたゆみない探究を目指し、若い頭脳に期待し続けた協和醸酵工業株式会社の創立者故加藤辨三郎翁を記念して設立されたもので、翁が終生献身し、その発展を願ったバイオサイエンス分野の基礎研究の助成を目的としています。

本事業は、この設立趣旨に基づいたバイオサイエンスの次世代を担う若い研究者を支援し、その育成を計るためのものです。

2. 助成対象者の条件

- 1) 1996年4月1日現在30才以下の研究者。
- 2) 国内の大学、国公立の研究所等に在籍すること。
- 3) 職業をもたない（無給である）こと。
- 4) 企業などからの奨学金、日本学術振興会の研究奨励金や、類似の助成金の受給者は対象外とする（日本育英会の奨学金は受給してもかまわない）。

3. 助成総金額 360万円

（1人当り120万円 月額10万円 期間1年間）

4. 推薦件数 3件（1学会より1名）

5. 募集・選考方法

当財団評議員会で同意を得、理事会において承認

された学会に一任するが、選考の機会が当該学会の会員に限定されず、広く関連分野の研究者にも与えられるよう配慮をお願いする。

6. 助成開始 1996年4月

7. その他

- ① 推薦理由は原則として候補者の所属する研究室の長（教授、助教授、研究室長等）にお願いする。
- ② 尚、申請用紙の紙面が不足する場合は、適宜追加のこと。

8. 資料請求及び連絡先

〒194 東京都町田市旭町3-6-6

（財）加藤記念バイオサイエンス研究振興財団
事務局 主幹 大島 康 平

☎ 0427-25-2576 FAX 0427-22-8614

9. 申請書送付先

〒113 東京都文京区本郷3-30-10

日本生理学会事務局

☎ 03-3815-1624

12月10日までに送付して下さい。

応募者多数の場合は賞選考委員会にて選考の上財団へ推薦します。

国立循環器病センター流動研究員募集

資格：採用日において、原則として35歳未満の者で、大学（学部を問わない）卒業後2年以上の研究歴を有する者、又はこれに準ずる者。

研究課題：指定5課題のうち1課題を専攻する。

採用日：平成8年4月1日

任用期間：1年度ごとの評価により、3会計年度を

限度として再採用を行う。

願書締切：平成7年10月31日（火）＜必着＞

願書請求先：〒565 大阪府吹田市藤白台5-7-1

国立循環器病センター

企画室研修係

TEL：06-833-5012（内線2216）

（切手を190円分同封して下さい。）

千里ライフサイエンスセミナー

ブレインサイエンスシリーズ第8回

「グリア細胞の最前線—病態との関連—」

日 時：平成7年10月27日(金) 10:00～17:00

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

(地下鉄御堂筋線千里中央駅北口すぐ)

(大阪府豊中市新千里東町1-4-2)

主 催：財団法人千里ライフサイエンス振興財団

協 賛：株式会社千里ライフサイエンスセンター

コーディネータ

大阪大学医学部教授 遠山正彌

プログラム

1. 中枢のミエリン膜はどのようにして形成されるか
慶應義塾大学医学部講師 阿相 皓 晃
2. アストロサイト—ニューロンおよび内皮細胞への
働きかけ—

名古屋市立大学医学部教授 加藤 泰 治

3. ミエリンプロテオリピド蛋白質遺伝子発現異常と
ミエリン形成異常

岡崎国立共同研究機構生理学研究所教授 池 中 一 裕

4. グリア細胞におけるストレス応答の分子メカニズ
ム—虚血、損傷モデルを用いて—

大阪大学医学部助教授 和 中 明 生

5. アストロサイトのシグナル伝達—その活性化と遅
発性グリア細胞死

大阪大学薬学部教授 馬 場 明 道

6. グリア細胞の脳内機能と神経疾患

国立精神・神経センター神経研究所部長 高 坂 新 一

受講料(講演要旨集含む)

会 員 6,000円

(但し、大学、官公庁、主催・協賛団体会員)

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勤務先、所属、役職名、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
申込後に三和銀行千里中央支店普通預金 No.
3656634・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B8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1-4-2

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

担当：林・近藤

October 29 – November 3, 1995 Kyoto, Japan

Plenary Sessions		Symposia		Topics for Updating Symposia (tentative)	
Progress in HTLV Research Kuan-Teh Jeang Guy de Thé Mitsuhiko Osame William A. Blattner Masanao Miwa		HIV and Related Virus Symposia Shigeo Mori Mark A. Wainberg Myron Essex Masanori Hayami Janet K. Yamamoto		Retroviruses and Leukemia Development Chair: Herbert C. Morse, III, Akinoi Ishimoto	
Gene Rearrangement and Leukemogenesis T. H. Rabbitts Giuseppina Nuclefora Yoshiaki Ito Carlo M. Croce Misao Ohki		Viral Pathogenesis in Animal Models Kathryn Radke Laura Levy Linda D. Wolff Takashi Yoshiaki Sandra Ruscelli		Erythroid Transcription Factor Chair: Wolfram Ostertag, Masayuki Yamamoto	
Apoptotic Signals: Gene Therapy Targets Barbara A. Osborne Yoshihide Tsujimoto Shigekazu Nagata Alan Harris Makoto Noda		Retroviral Pathogenesis Neal Copeland Paul Jolicoeur Yoji Ikawa Roland Friedrich Sylvie Gisselbrecht		Cell Cycle Regulation Chair: Robert A. Weinberg, Mitsuhiro Yanagida	
Cytokine Regulation Michael T. Dexter Kazuo Sugamura Robert C. Gallo James N. Ihle Kenneth Kaushansky		Chronic Diseases in CML John M. Goldman Kinuko Mitani Connie Eaves Rüdiger Hehlmann M. Tanimoto		Cyclin Inhibitors Chair: David Beach, Hitoshi Matsushima	
		New Therapeutic Methods Against Leukemias and Retroviral Diseases Ryuzo Ohno Mori Kannagi Toru Nakamura Claude Jasmin Tsuguo Mizuuchi		HTLV-1-Associated Diseases Chair: Steven Jacobson, Toshiki Watanabe	
		Comparative Retroviral Leukemogenesis Michael Kent Don Holtschug Hsing J. Kung Jackie Dudley Malcolm A. Martin		Suppression of HIV Replication Chair: Alan Rein, Kunitada Shimotohno	
		Molecular Leukemogenesis Update Shou Waga Michael L. Cleary Philip Sheridan Hisamaru Hirai Tadashi Yamamoto		Immuno-Genes Therapy Chair: Lieping Chen, Ko Okumura	
		Tumor Suppressor Genes in Leukemogenesis Sam Benchimol Varda Rotter Kanji Ishizaki Rei Takahashi Thomas F. Deuel		Retinoid Biology Chair: Ronald Evans, Akira Kakizuka	
		Hematopoiesis and Leukemias Toshio Suda M. V. Wiles Shinichi Nishikawa Ihor R. Lemischka Yukihiko Kitamura			
Presidential Panel Discussion		Satellite Symposia		Memorial Lectureship	
"Where do life sciences go from here?" Chair: Yoji Ikawa, President of IACRLRD Paul Berg (U. S. A.) Setsuro Ebashi (Japan) Susumu Ohno (U. S. A.) Harold zur Hausen (Germany)		I. Virion-Cell Membrane Interaction—Basis for Entry Block and Gene Transfer— Chair: I. Verma & N. Yamamoto Speakers being arranged		Harvard Temin Memorial Lectureship Recipient: Mitsuaki Yoshida (Japan) Moderator: John Coffin (U. S. A.)	
		II. Stohman Scholars Symposium on Immune System and Lymphomagenesis Chair: R. McCaffrey & T. Uchiyama Speakers: Michael Brenner John Reed Monica Roth Toshikazu Shirai		Charlotte Friend Memorial Lectureship Recipient: Janet Hartley (U. S. A.) Moderator: John B. Moloney (U. S. A.)	
				Frank Rauscher, Jr. Memorial Lectureship Recipient: Françoise Barre-Sinoussi (France) Moderator: Haruo Sugano (Japan)	
				Yohei Ito Memorial Lectureship Recipient: Carlo M. Croce (U. S. A.) Moderator: Robert C. Gallo (U. S. A.)	
				Kenneth McGredie Memorial Lectureship Recipient: Kiyoshi Takatsuki (Japan) Moderator: David S. Yohn (U. S. A.)	

CALL FOR PAPERS: ABSTRACT DEADLINE JULY 31, 1995

**c/o Prof. Yoji Ikawa, Department of Retroviral Regulation
Tokyo Medical and Dental University
Medical Research Division
1-5-45, Yushima, Bunkyo-ku, Tokyo 113, Japan
Phone. 81-3-3813-6111 Ext. 3137, 3139
Fax. 81-3-3814-7172**

事務局：
〒113 東京都文京区湯島 1-5-45
東京医科歯科大学
医学系研究科感染分子制御学講座内
電話：03-3813-6111 内線3137, 3139
FAX：03-3814-7172

第4回シンポジウム構成内容

平成7年11月15日(水) 10:30~17:15

国立教育会館 虎ノ門ホール

〒100 東京都千代田区霞ヶ関3-2-3

メインテーマ:「スポーツは未来を拓くか」

サブテーマ:「健康・体力づくり行政から」

(1) 基調講演

講演:小野清子(参議院議員)

座長:黒田善雄(東京大学名誉教授)

(2) 第1部パネルディスカッション

「健康・体力づくり行政から」

—国が語る現実とビジョン—

パネラー:中根孝司(文部省 体育局長生涯スポーツ課 課長)

藤崎清道(厚生省 保健医療局健康増進課・ビジネス指導室室長)

乾敏一(通産省 産業政策局サービス産業課 課長)

河合誠義(労働省 労働基準局安全衛生部労働衛生課主任中央じん肺診査医)

司会:青山英康(岡山大学教授)

(3) 第2部パネルディスカッション

「健康・体力づくり行政から」

—地域が語る汗と声—

パネラー:種市哲(青森県体育協会理事長)

三浦大助(長野県佐久市長)

佐藤誠治(神奈川県体育センター所長)

橋爪静夫(大阪市保健体育課長)

會田彰(県立鹿児島南高等学校校長)

小野三嗣(東京学芸大学名誉教授、小野スポーツ体力研究財団理事長)

実行委員会:

組織委員長 小野三嗣 東京学芸大学名誉教授
(当財団 理事・学術委員長)

実行委員長 吉岡利忠 聖マリアンナ医科大学教授
(当財団 評議員・学術委員)

実行副委員長 栗原敏 東京慈恵医科大学教授

実行副委員長 下光輝一 東京医科大学助教授
(当財団 理事・学術委員)

顧問 青山英康 岡山大学教授
(当財団 理事)

顧問 岩根久夫 東京医科大学教授
(当財団 理事)

顧問 黒田善雄 東京大学名誉教授
(当財団 理事・学術委員)

事務局 山口利一 (株)デサント取締役相談役他
(当財団 常務理事)

参加費:無料

主催:財団法人 石本記念デサントスポーツ科学振興財団

後援:(依頼中も含む)文部省・厚生省・通商産業省・労働省

連絡先:吉岡利忠 第4回シンポジウム実行委員長
〒216 神奈川県川崎市宮前区菅生2-16-1
聖マリアンナ医科大学 第二生理学教室
TEL & FAX 044-977-3915

第25回日本心脈管作動物質学会

会期:平成8年1月27日(土)

会場:東京医科歯科大学歯学部

会長:室田誠逸

(東京医科歯科大学大学院 細胞機能制御学)

参加費:4,000円

<問い合わせ先>

〒113 東京都文京区湯島1-5-45

東京医科歯科大学大学院 細胞機能制御学

第25回日本心脈管作動物質学会 総会事務局

TEL (03) 3813-6111 内線5286

FAX (03) 5684-3929

事務局長 森田育男

【演題申し込みについて】

演題申し込み締め切り:平成7年10月15日

演題申し込み書類請求先:

〒466 名古屋市昭和区舞鶴町65

名古屋大学医学部薬理学教室内

日本心脈管作動物質学会事務局

TEL (052) 741-2111 内線2035

FAX (052) 733-4774

※なお、演者は本学会の会員に限ります。本学会への入会を御希望の場合は、上記の演題申し込み書類請求先に御連絡下さい。必要書類をお送りします。

第10回「大学と科学」公開シンポジウム 脳研究の最前線：遺伝子から知能へ

平成8年2月1日～2日 有楽町朝日ホール

2月1日(木)

A. 挨拶(10:00～10:10)

第10回「大学と科学」公開シンポジウム組織委員会 文部省

B. 基調講演(10:10～11:00)

司会：外山啓介(京都府立医科大学)
知能とは

甘利俊一(理科学研究所)

C. 情報伝達の分子メカニズム(11:00～12:30)

司会：三品昌美(東京大学医学部)

1. 神経情報の伝達

高橋智幸(東京大学医学部)

2. 情報伝達の調節

清水孝雄(東京大学医学部)

D. 記憶・学習を担う分子(14:00～15:30)

司会：津本忠治(大阪大学医学部)

1. 運動の記憶と小脳

狩野方伸(自治医科大学)

2. 記憶を支える情報受容分子

三品昌美(東京大学医学部)

E. 神経回路の形成と発達(15:50～17:20)

司会：清水孝雄(東京大学医学部)

1. 神経回路網の形成

堀田凱樹(東京大学理学部)

2. 神経回路網の発達と学習

津本忠治(大阪大学医学部)

2月2日(金)

F. 神経回路と知能(10:00～12:15)

司会：川人光男(ATR人間情報通信研究所)

1. 形の認識

田中啓二(理化学研究所)

2. 意志による運動

丹治順(東北大学医学部)

3. 記憶の読み出し

宮下保司(東京大学医学部)

G. 知能のメカニズム(13:30～15:00)

司会：塚田稔(玉川大学工学部)

1. 運動と認知の計算論

川人光男(ATR人間情報通信研究所)

2. 脳の計算過程を見る

外山啓介(京都府立医科大学)

H. パネル討論「脳機能の理解を目指して」

(15:10～16:30)

司会：外山啓介(京都府立医科大学)

甘利, 三品, 堀田, 津本, 宮下

卒後臨床研修必修化に向けての提言

1995年6月

日本医学教育学会

会長 鈴木 淳 一

拝啓 季夏の候、益々ご清栄の段、お慶び申し上げます。

平素は日本医学教育学会の活動にご協力下さり有難うございます。

この度、本学会は卒後臨床教育が医師育成上極めて重要であるとの認識から、討議を重ねた結果、学会としての提言を別紙のようにとりまとめました。ご検討、ご参考いただければ幸いです。

日本医学教育学会は、卒後臨床教育が医師育成上極めて重要であるとの認識から、卒後教育委員会を中心に卒後臨床研修に関して種々検討を加えてきた。全国大学病院および臨床研修指定病院に対して実施したアンケート調査では「条件が整えば卒後臨床研修の義務化に賛成」という意見が多数であった¹⁾。次いで、卒後教育委員会によるワークショップにおいて、その実施のための諸条件を検討した²⁾。

本学会はこれらの意見に基づき、討議の結果、卒後臨床研修の必修化について提言する。

1. 研修医の身分・待遇・立場・生活が保証されること

- 1) 施設長に属し、常勤医師に準じて待遇される。
- 2) 研修者としての立場が尊重される。
- 3) 研修にふさわしい生活環境が配慮される。

2. 研修施設は適正に指定され、研修体制が整備されること

制定された基準に則り、施設・施設群ならびに設備・備品が整備され、研修に必要な診療内容および要員が確保される。

3. 指導医が確保され、継続的に養成されること

研修責任者および指導体制が確立されるとともに、指導医の養成が継続的に行われる。

4. 研修医の募集と採用が適切に行われること

研修施設ごとにカリキュラムが示され、公募により妥当な定員が採用され、その結果が公表される。

5. 研修カリキュラムは幅広い基本的臨床能力の修得を可能にすること

1) カリキュラムは基本的な総合臨床能力の修得を目標として、各研修施設において独自に設定される。研修は総合診療方式あるいはそれに準じた方法による。研修医の目標達成度はカリキュラムとともに適正に評価され、公表される。

2) 研修医各自が

志望する診療科への所属は研修修了の時点において決定される。

6. 研修開始時期は卒業直後に限定しないこと

臨床医学については、大学院進学者を含めて、卒業直後の研修を原則とするが、基礎医学、社会医学あるいは国外での活動などでは例外が認められる。

7. 研修修了の認定はその後の臨床医としての活動につながる

研修の修了は研修施設長により認められ、その後は独立して診療することができる。この認定は学会の認定医、専門医などの資格要件の一つとされることが望まれる。

8. 卒後臨床研修と卒前教育との有機的な連携が保たれること

卒後臨床研修の卒前教育からの連続性が保たれるよう、卒前教育および医師国家試験の見直しが必要である。

9. 卒後臨床研修の適正な運営のために、全国的規模の第三者機構が設置されること

この機構は卒後臨床研修の計画・調整および各施設の機能評価を行う。

なお、卒後臨床研修の必修化の実施にあたっては、関係各方面の理解と支持を得るためにも、十分な準備期間が必要である。

*1 Views on the Requirements for Postgraduate Clinical Training

*2 Japan Society for Medical Education

1) 医学教育 26(1): 19~25, 1995

2) 医学教育 26(4): 233~237, 1995

CALENDAR

主 な 学 会 開 催 日 程

開 催 日 (演題締切)	名 称	会 場	連 絡 先
95.10.26-27	1995 INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON GUSTATORY SIGNAL TRANSDUCTION MECHANISMS IN NAGASAKI	長崎：長崎大 医 ボンベ 会館	長崎大 歯 口腔生理・佐藤俊英 ☎0958-49-7638 FAX：0958-49-7639
95.10.27	千里ライフサイエンスセミナー ブレインサイエンス第8回グリ ア細胞の最前線一病態との関連	長崎：千里ライフサイエ ンスセンタービル	千里ライフサイエンスセミナー 振興財団セミナー係 ☎06-873-2001 FAX：06-873-2002
95.10.29-11. 3	第18回国際比較白血病及び関 連疾患学会シンポジウム	京都：国立京都国際会館	東京医歯大 医 感染分子制御学 ☎03-3813-6111(3137)
95.11.15	石本記念デサントスポーツ科 学振興団第4回シンポジウム	東京：国立教育会館虎ノ 門ホール	聖マリアンナ医大 第二生理・吉岡利忠 ☎ & FAX：044-977-3915
95.11.16-17 (95. 8.20)	バイオメディカル・ファジィ・ システム学会第8回年次大会	盛岡：コミュニケーション ギャラリー LIRI 0	岩手医大 歯科矯正・石川 ☎0196-51-5111(4533) FAX：0196-53-2547
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・戸谷重雄 ☎03-3353-1211(2329)
95.11.29-30	第16回日本大学国際シンポジウム 「脳機能と記憶」	東京：日本大学会館	日大総合科学研究所内事務局 ☎03-5275-8137 FAX：03-5275-8326
95.11.29-12. 1	第3回日米E U新医薬品承認 審査ハーモナイゼーション国 際会議	横浜：パシフィコ横浜	日本製薬工業協会 広報部 ☎03-3241-0326 FAX：03-3242-1767
95.12. 2	第8回臨床神経生理学東京談 話会「眼球運動の神経機構」	東京：エーザイ本館	都精神医総研 精神生理・橋本勲 ☎03-3304-5701 FAX：03-3329-8035
96. 1.24-25 (95.11.30)	第12回日本ポリアミン研究会	宇都宮：ホテル フェア シティー	獨協医大 生化学・松崎 茂 ☎0282-87-2127 FAX：0282-86-5678
95. 1.27 (95.10.15)	第25回日本心脈管作動物質学 会	東京：東京医科歯科大学	東京医歯大 細胞機能制御 ☎03-3813-6111(5286)
96. 2. 1- 2	第10回「大学と科学」シンポ ジウム脳研究の最前線：遺伝 子から知能へ	東京：有楽町朝日ホール	
96. 3. 7- 8	第31回脳のシンポジウム（日 本学術会議脳・神経学研究連 絡委員会主催	東京：慶應大 三田キャンパス	
96. 4. 3- 5 (95.11. 2)	第73回日本生理学会大会	福井：福井大学キャンパ ス	福井医大 生理・大会事務局 ☎ & FAX：0776-61-8101
96. 8.11-16	XII TH INTERNATIONAL BIOPHYSICS CONGRESS	AMSTERDAM：	XII th Internationl Biophysics Congress ☎+31(0)20-549-1212 TELEFAX：+31(0)20-646-4469
96. 8.18-23 (95 9.30)	1996年国際膜会議(ICOM '96)	横浜：パシフィコ横浜	(株)アイシーエス企画内事務局 関・中島 ☎03-3272-7981 FAX：03-3273-2445
97. 5.17-23	OHOLO 41 st CONFERENCE PROGRESS IN ALZHEIMER'S AND PARKINSON'S DISEASE	ISRAEL：	Abraham Fisher, Ph. D., Israel Inst Bio Res ☎972-8-381603 FAX：972-8-401094

* 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

平成7年度 第1回日本生理学会教育委員会議事録

日 時：平成7年7月13日(木) 午前11時～午後1時30分

場 所：学士会館分室

出席者：佐藤(岩手医大), 栗原(慈恵医大), 橋本(女子医大), 高田(浜松医大), 富田(藤田保健衛生大), 今井(大阪医大), 瀬山(広島大), 有田(大分医大), 小坂(長崎大)

欠席者：加藤(北大), 入来(山梨医大), 佐久間(日本医大), 中野(日体大), 本間(昭和), 今永(福岡大)

1. MCQによる生理学問題集(分光堂)が発行されたので, その内容について意見を交換した. 一般的に問題が難しい. 問題自体に問題があるものがある. 国家試験ではK'型の出題がなくなる. これらの点を考慮し, また, 利用者の意見を聞いて早い時期に改訂する努力をする.

2. 生理学研究所における生命科学実験技術トレーニング・コースについての報告があった. 7月10日現在で, 220名の応募があった. これから人選をする. 教育委員会からは20万円の補助をする. これまでに, この講習会の受講者が, 習得した実験技術を実際に使っているか否か追跡調査をする. 但し, 調査の対象になる人の住所が全て明らかでないので, 対象が限定される.

3. 日本生理学雑誌に連載している実験技術法講座に, 寺川教授(浜松医大)から提出されたビデオマイクロスコープ法実験技術に関する案を取り上げることが承認された.

4. パッチクランプに関する実験技術法講座を単行本にまとめることを, 2, 3の出版社に交渉したが,

経済的理由により快諾が得られなかったので, 実現は難しいことになった.

5. 生理学研究で, 実験結果の統計処理がしばしば問題になっているので, 日本生理学雑誌に統計に関する記事を連載することを検討してきた. 有田委員が栗谷典量先生(久留米大)に連載を依頼したところ, 協力したい旨の回答を得たとの報告があった.

6. 来年の日本生理学会大会の折に, 教育シンポジウムを開催することを確認した. 今後, 臨床医学を志望する卒業生には, 前期および後期卒業研修が課せられることが予想される. そのような場合, 大学院教育および, 医学研究にも大きな影響がでるものと考えられる. 若手の生理学者養成にとっても影響が大である. そこで, 来年の教育シンポジウムは“若手生理学者養成の問題点(仮題)”を取り上げ, 司会は, 高田明和, 富田忠雄両委員, 演者は, 濱清(理学研究所所長), 高久史磨(国立国際医療センター総長), 瀬山一正, 栗原敏の各氏に依頼することとした.

7. 次回の委員会は, 平成7年10月28日(土), 午前11時からの予定.

第141回JJP編集委員会議事録

日 時：平成7年5月13日(土) 午後2:00～午後4:00

場 所：学会誌刊行センター(弥生)5F会議室

出席者：金子委員長, 岡田, 熊田, 黒島, 酒田, 佐藤, 菅, 杉, 高橋, 福田, 森本各委員

- 1) 黒島新委員が紹介された.
- 2) 前回議事録が原案通り承認された.
- 3) 論文審査状況の確認と, 編集状況並びに発行状況の報告が行われた.
- 4) ミニレビューの新たな執筆候補者を推薦するよ

う委員長から依頼があった.

5) ミニレビューの名称をレビューとすることが提案され, 45巻3号より実施することとした.

6) 論文の脚注に連絡著者の完全な住所等を掲載することとした.

7) 本誌を宣伝するため、委員が国際学会に出席する際、見本誌やパンフレットの配布に協力することが申し合わされた。そのためのパンフレット、ポスターを作成することにしたが、内容については次回話し合うことになった。

8) 本誌の審査時間を早くする方法について検討した。

9) 日本生理学会大会および日英合同生理学会のプロシーディングスの発行計画が話し合われ、両者を別々に発行するのが適当であるとの結論に達した。

10) 編集委員会の開催日程について話し合った。

次回期日：平成7年7月29日(土) 午後3:00～
岡崎国立生理学研究所

会 員 消 息

<転勤・異動>

氏 名	勤 務 先 名	勤務先TEL・FAX
阿 部 由 美 子	東北大学 医学部 神経内科	022-274-1111・022-272-5818
青 木 一 郎	静岡大学 工学部	053-478-1211
安 西 尚 彦	北里大学 医学部 生理	
石 原 圭 子	佐賀医科大学 生理	0952-31-6511・0952-33-2516
大 澤 一 爽	人間カオス研究所	03-3921-4682
木 村 和 弘	北海道大学 獣医学部 生化学	011-706-5205・011-757-0703
佐 藤 悠	山梨医科大学 第二生理	
高 橋 國 太 郎	明治薬科大学 病態生理	03-3424-1001・03-3424-5040
富 田 忠 雄	藤田保健衛生大学 衛生学部 生理	0562-93-2538
中 根 秀 之	九州大学 医学部 神経精神医学教室	092-641-1151
長 尾 光 城	川崎医療福祉大学 医療技術学部	086-462-1111
長 島 雄 一	釧路市医師会病院	
樋 口 浩 文	岩手医科大学 形成外科	0196-51-5111
藤 井 聡	山形大学 医学部 第二生理	
松 村 幹 郎	川崎医療短期大学 臨床検査科	086-462-1111
丸 山 良 子	北海道医療大学	01332-3-1211
安 原 昭 博	関西医科大学 小児科	06-992-1001
山 本 健 人	福井医科大学 耳鼻咽喉科	0776-61-3111(2398)・0776-61-8118
和 気 秀 文	福島県立医科大学 第一生理	0245-48-2111

<物 故 者>

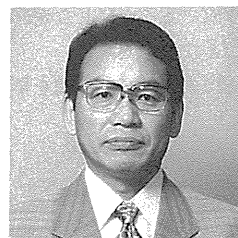
氏 名	勤 務 先 名	
附 田 恵		平成7年4月30日逝去
石 野 卓 弥	新宿病院／九段内科クリニック 医員	平成7年8月7日逝去
後 藤 高 幸	日本歯科大学 新潟歯学部 口腔生理	平成7年4月27日逝去
奥 平 進 之	獨協医科大学 第二生理	平成7年8月5日逝去

PROFILE

「生理学者群像」

森 滋 夫 君

名古屋大学環境医学研究所教授
平成7年4月1日就任



名古屋大学環境医学研究所は、重力、気圧、放射線など特殊な環境への生体適応の機序解明、その破綻による疾病対策を中心的研究課題としたユニークな研究所である。平成3年度には研究所の改組とともに附属施設として宇宙医学実験センターが新設され、昨年度(平成6年度)には専任教授のポストが認められて、この度、私がその任に当たることになった。

私自身、海外遠征に出かけていく登山家たちと低圧実験に励んだことによりヒトの生理的限界を学ぶことができた。御手洗玄洋博士、富田恒男博士(故)から網膜生理学、視覚生理学の難しさを学び、渡邊 悟教授から前庭神経生理学の一端を学んだ。また、宇宙酔いの基礎研究としてコイを使った宇宙実験の実現に十余年を費やす間に、他分野の多くの研究者、技術者から実用に結びつく応用科学の厳しさと達成できたときの大きな喜びを学んだ。これらの経験を若い研究者に伝えることができれば本望と考えている。

旧ソ連が世界に先駆けて打ち上げた衛星スプートニクが日本の上空を通過し、その発信音をラジオから聞いて宇宙時代の到来を感じたのがつい先日のごとくに思いだされる。空を飛ぶ飛行機に胸おどらせた多感な高校生にとっては人生を決める一大出来事であった。それから40年も経ないというのに、今、恒久的宇宙基地が建造され、月面基地や有人火星探査が計画されよ

うとしている。あまりにも速いこの技術の進歩に戸惑いを感じるのは私だけであろうか。歴史が物語るように医学・生物学の進歩はいつも技術の進歩に追われてきた。宇宙開発においても例外ではない。無重力下で生じる宇宙酔い、循環動態の変化、骨からの脱カルシウム、筋萎縮、等々、わからないことばかり。それでもヒトは宇宙へ出かけていく。そして日本も…

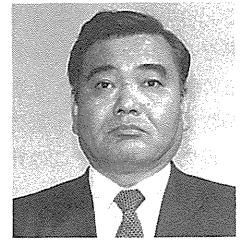
厳しい経済状態がつづき、今、世界は共同して宇宙開発に取り組むことを余儀なくされており、日本もその一員として参加しようとしている。宇宙医学・生理学は地上の医学・生理学を基盤とした応用的研究であり、その成果は地上の医学・生理学にフィードバックされるべきものと考えている。それは始まったばかりで、まだ現象の蓄積段階にあるといっても過言ではないと思う。このことが新しい研究領域として若い研究者を魅惑するようであるが、地に足のついた基礎的研究の積み重ねの中からアイデアが生まれ、それが宇宙実験へと具体化するまでには表にでない地味な過程が必要となることも現実である。この領域を前進させるには若いエネルギーが不可欠である。この夢と現実を調和させながら、国内外からの要望に応えることのできる研究者の育成が私に与えられた課題であると考えている。

「生理学者群像」

柵 屋 俊 昭 君

吉備国際大学保健科学部教授
(理学療法学科)

平成7年4月1日就任



①現在の研究

消化管運動の調節系、特に小腸における蠕動反射の上行性運動促進経路と下行性運動抑制経路を構成するニューロンの連鎖ならびに蠕動反射と消化管ホルモンとの関連を受容体遮断薬の局所投与法を用いて研究している。現在までに、生理的刺激によって誘発される蠕動反射の介在ニューロンはいずれもコリン作動性で、両経路はセロトニン₂受容体を有する共通の知覚ニューロンによって賦活されることを明らかにした。また、セロトニン₂受容体は粘膜の機械的刺激によってEC細胞から遊離される内因性セロトニンによって刺激されていることを間接的に証明した。すなわち消化管ホルモンによって誘発される腸内反射系が存在することを明らかにした。

②これからの研究

これまでの研究を進展させ、消化管運動調節系における消化管ホルモン分泌系と自律神経系との相互作用のしくみを明らかにしてゆきたい。

また、理学療法分野での研究課題の1つである嚥下困難、誤嚥のメカニズムの研究を始める予定である。

誤嚥は呼吸運動調節機能と嚥下反射機能との非協調性によって誘発されると考えているので、嚥下呼吸と嚥下の喉頭・喉頭相ならびに食道相との協調性を司っている神経機構を中心に研究を進めたい。

③生理学教育

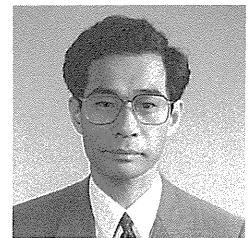
吉備国際大学に今年度増設された保健科学部(理学療法・作業療法・看護学科)ならびに社会福祉学部保健福祉学科の生理学を担当している。医学部に較べると講義時間数が少ないので、臨床領域での講義内容を考慮して、その基礎となる基本項目に絞って講義している。理学療法と作業療法学科では別に重点項目を定めて特論で講義している。図表・板書を多くして、進度が速くなりすぎないように留意している。理学療法と作業療法学科では講義項目の中から出来るだけ多くの実習項目を抽出し、個人レポートを提出させることによって、単に知識を暗記するのではなく多少とも科学的な思考力を身につけさせるべく努力している。今年度の結果をみて、来年度以降徐々にコメディカル領域に適した教育内容、教育方法を考えていきたい。

「生理学者群像」

柵 秀 人 君

鹿児島大学農学部教授
(家畜生理学講座)

平成7年4月1日就任



1) 現在の研究内容と将来の抱負

生殖行動・生殖生理に果たす嗅覚の役割について研究を行っています。とりわけ、マウスの匂い学習記憶のメカニズムの解明に力を注いでいます。幸いにも、記憶の座(副嗅球)が判明したことで、さらにシナプス・分子レベルでの研究が可能になりました。目下、

記憶成立過程にかかわる分子、いわゆる記憶分子をひとつひとつ拾い上げているといった段階です。将来的には、この記憶成立の分子カスケード機構を1枚の図に描くことができる日を夢見ています。この目的達成の有力手段として確立したいのは、副嗅球の培養系で可塑性シナプスを再現することです。副嗅球で形成さ

れる記憶の分子メカニズムが海馬や小脳のそれとかなり異なるのか、あるいは非常に共通しているのかが言えるのではないのでしょうか。

動物では匂いを最も重要な手がかりとして母子間の絆が形成されます。この絆形成のメカニズムの基本原則が上記のメカニズムと非常に共通していることがわかってきました。匂い学習記憶の広範な生物学的意義を探る意味でも母子の絆形成のメカニズムも平行して追究して行きたいと考えています。

2) 生理学教育に対する意見

生理学は理解の学問です。生体の生理機能の骨子となる基本的な概念を学生に十分に理解させることが重要だと思います。また、学生が情報過多による知識の

消化不良を起こさないように十分に注意を払うことも必要だと思います。学生の理解度をチェックするために小テストを行っています。理解度のチェックのみならず学生とのコミュニケーションをはかるためにも試験と平行して口頭試問を行いたいと考えています。また、学生が自ら学び、理解度を自分でチェックできるようなシステムと場を設けることができればと考えています。

「立派な研究者が立派な教育者とは限らないが、立派な教育者は立派な研究者である場合が多い」と瀬戸勝男先生がおっしゃっていたのを思い出します。立派な教育者であることの大変さを改めて痛感するこの頃です。

シリーズ「細胞内 Ca イオン濃度の光学的測定法」

細胞内 Ca イオン濃度測定に使われる装置

宮 川 厚 夫

(浜松医科大学光量子医学研究センター光テクノロジー(ホトニクス)研究部門)

1. は じ め に

Ca イオンは、全ての生物のあらゆる種類の細胞でセカンドメッセンジャーとして共通的に利用されているため、細胞内遊離 Ca イオン濃度 ($[Ca^{2+}]_i$) を測ることで、様々な生命現象で生じる過程を解明できる。このため、以前から arsenazo III や antipyrilazo III などの metallochromic dye を Ca 指示薬に利用¹⁾したり、Ca 発光タンパク質 aequorin^{2,3)}を用いた $[Ca^{2+}]_i$ が行われていた⁴⁾。一方、R. Y. Tsien らによる蛍光性 Ca 指示薬 quin-2 の発表(1981年)⁵⁾を始めとし、多種類の蛍光プローブ試薬が合成^{6,7)}され、生きている細胞や組織での $[Ca^{2+}]_i$ の測定が容易になってきている。

これらの蛍光プローブ試薬が広く使用されるようになったのは、本実験講座の「Ca 指示薬の基礎」で述べられたように、Ca イオン濃度による蛍光強度変化が大きく、細胞に対する毒性が小さいなどの好ましい特徴を持つばかりでなく、アセトキシメチル誘導体を利用することで、細胞内に容易に導入(ロード)できるためでもある。現状では、蛍光プローブ試薬が利用できる多種類の $[Ca^{2+}]_i$ 測定装置が市販されるようになり、単一細胞から組織切片まで、ほとんどの実験はこれらを利用して行えるようになってきている⁸⁾。

したがって、ここでは、主に、蛍光プローブ試薬を用いた $[Ca^{2+}]_i$ 測定機器の種類と特徴について述べる。また、これらの測定機器に求められる光学特性や、使用上の注意点についても示す。最近では顕微鏡、測定装置とも Ca イオン濃度測定仕様のものを用意しているメーカーが多くなっている。新たに購入する場合は、

これらの機種を選択するのが賢明であるが、選択時にどのような点に注意を払わなければならないかを示す。

2. 測定原理と測定装置の種類

蛍光プローブ試薬を利用した $[Ca^{2+}]_i$ 測定の原理は、いずれの装置でも同一であるが、サンプルの種類や形状により、表1のような種類が利用できる。各装置にはそれぞれの特長があり、自分の実験目的に合うものかどうかを検討する必要がある。基本的に顕微鏡と組み合わせる機種は単一細胞レベルで解析が行なえる。現在は、顕微鏡と画像処理装置を組み合わせる $[Ca^{2+}]_i$ 分布が測定できる装置が広く利用されていると思われるので、この装置を中心に、要求される光学特性や使用上の注意点を述べる。

2. 1 細胞内 Ca イオン濃度測定の原理

蛍光プローブ試薬を用いた $[Ca^{2+}]_i$ 測定は、細胞内に導入した蛍光プローブ試薬と Ca イオンの平衡反応に基づく蛍光強度を測ることで行われる⁶⁾。これは蛍光測光による定量法の一つであるため、濃度 C と蛍光強度 F の関係は式1で表される⁹⁾。

$$F = 2.303 I_{ex} \epsilon C \Phi \quad (1)$$

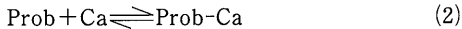
ただし、F は単位体積当たりの蛍光強度で、 I_{ex} は励起光強度、 ϵ はモル吸光係数、 Φ は量子収率である。通常、 ϵ 、 Φ は定数、また、分光蛍光光度計では I_{ex} は一定であり、蛍光を発する体積も、キュベット中の均一な溶液を対象としている限り一定である。このため、蛍光を発している体積や励起光強度が明らかでなくても、検量線を作製すれば、蛍光強度より濃度は

表 1. 細胞内カルシウムイオン濃度測定に使われる蛍光測定装置

測定装置	主な測光方式	対象試料と測定目的
分光蛍光光度計	2 励起 1 蛍光 1 励起 2 蛍光	細胞の懸濁液 細胞集団の 1 秒程度の経時変化
フローサイトメーター	1 励起 2 蛍光 1 励起 1 蛍光	細胞の懸濁液 細胞毎の濃度分布
顕微測光装置	2 励起 1 蛍光 1 励起 2 蛍光	固着単一細胞, または, 組織切片 ポイント測定 10 ミリ秒程度の速い経時変化
蛍光顕微鏡と画像処理装置	2 励起 1 蛍光 1 励起 2 蛍光	固着単一細胞, または, 組織切片 細胞内, 組織内の 2 次元分布 0.1 ~ 1 秒程度の経時変化
走査型レーザー顕微鏡	1 励起 1 蛍光	固着単一細胞, または, 組織切片 細胞内, 組織内の 3 次元分布 数十秒程度の遅い変化

直ちに求められる。

一方, 蛍光プローブ試薬 Prob と Ca イオンは, 式 2 で示される平衡反応をしているため, それぞれの濃度は式 3 で表される。



$$K_d = \frac{[\text{Prob}] [\text{Ca}]}{[\text{Prob-Ca}]} \quad (3)$$

ただし, K_d は解離定数, $[\text{Prob}]$, $[\text{Ca}]$, $[\text{Prob-Ca}]$ は, それぞれ, 蛍光プローブ試薬の濃度, Ca イオン濃度, Ca イオンと結合した蛍光プローブ試薬の濃度である。簡単にするため, Ca イオンと結合した蛍光プローブ試薬 Prob-Ca が蛍光を発する ($C = [\text{Prob-Ca}]$) と仮定して, 式 1 より $[\text{Prob-Ca}]$ が定量できたとしても, 式 3 から明らかなようにプローブ試薬の濃度 $[\text{Prob}]$ が判らなければ, Ca イオン濃度を算出することはできない。

また, 実際の細胞では, キュベットのように入れた濃度のプローブ試薬を入れることはほとんど不可能であるばかりでなく, 蛍光を発している体積もサンプル毎に異なると考えられる。したがって, 通常の分光蛍光光度計と同じ方法で, 正確な $[\text{Ca}^{2+}]_i$ を定量することは非常に困難である。

このような場合, 2 波長測光法が用いられる。

2 波長測光法は, 図 1 に示した等吸収点 (蛍光の場合は, 等蛍光点, または, 等励起点) を持つプローブ試薬¹⁰⁾ にしか適用できない。しかし, 2 種類の波長で測光し, 強度比を求めると, この強度比はプローブ試薬濃度に依存せず, Ca イオン濃度だけで変化するため, 正確な $[\text{Ca}^{2+}]_i$ が測定できる。また, 蛍光強度は, 試料の運動や移動, 細胞内のプローブ試薬の分布変化, 蛍光試薬の退色などでも変化する。蛍光強度の変化だけからは, これらを原因とする変動と, $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 変化との区別も難しいが, 2 波長測光法では Ca イオン濃度の変化に依存しない蛍光強度の変化を補正することができる。

蛍光を用いた 2 波長測光法には励起と測光の方法により 2 種類の方法があり, それぞれ, プローブ試薬の性質により使い分けられる。2 波長測光法を画像計測に応用した場合はレシオイメージング法と呼ばれることが多い¹¹⁾。

a. 2 波長励起 1 波長蛍光測光法

異なる 2 つの波長で励起し, それぞれの励起で発光する蛍光強度を一種類の波長で測定し, その強度比を計算する方法である。この測光法は, 図 1 A の fura-2 のように, 励起スペクトルに Ca イオンの濃度が変化しても蛍光強度が変化しない波長 (等吸収点, または, 等励起点) を持つ種類で用いられる。

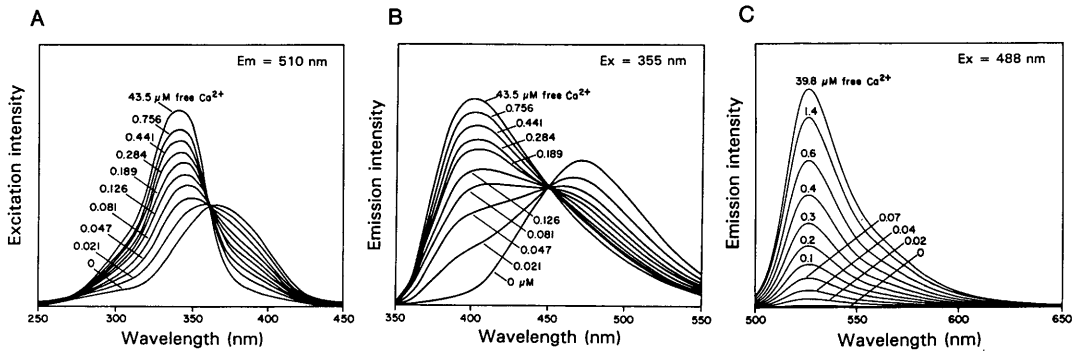


図1. 蛍光性カルシウム指示薬の蛍光スペクトル

A Fura-2 の励起蛍光スペクトル, B Indo-1 の蛍光発光スペクトル, C Fluo-3 の励起蛍光スペクトル, グラフ縦軸の蛍光強度は任意目盛りである。(MOLECULAR PROBES, INC. のカタログより)¹⁰⁾

Fura-2 の励起スペクトルと Ca イオン濃度との関係を見ると, 360 nm 付近に Ca イオン濃度に依存せず蛍光強度が一致する等励起点を持ち, それよりも短波長側では Ca イオン濃度が増すにつれて蛍光強度が増加する。また, 360 nm よりも長波長側では Ca イオン濃度が増すと逆に蛍光強度が減少するという特長を示す。そこで, fura-2 を使った測定では, 励起波長として, 例えば, 340 nm と 360 nm を用い, 510 nm の発光強度を測定する。そして, 340 nm 励起の蛍光強度を 360 nm 励起の蛍光強度で割り算し, 蛍光強度比(レシオ値とも呼ばれる) I_{340}/I_{360} を求める。この蛍光強度比は, fura-2 濃度に依らず一定で, Ca イオン濃度によってのみ変化する。例えば, Ca イオン濃度が変化せず, fura-2 濃度が 2 倍になるとすると, いずれの波長の蛍光強度も 2 倍になるが, レシオ値には変化がない。しかし, Ca イオン濃度が増加するとレシオ値が上がり, 濃度が減少すると値も下がる。

この波長の組み合わせは, 340 nm と 360 nm に限らず, 340 nm と 380 nm の組み合わせや, これらの波長以外の組み合わせでも同じことである。しかし, 変化量が大きいが方が測定誤差が少なくなるので, スペクトルのピークに近い波長を利用するのがよい。

b. 1 波長励起 2 波長蛍光測光法

a とは逆に, 1 波長で励起して, 蛍光を 2 波長に分光して測定しその強度の比, レシオ値, を計算する方法である。図 1 B の indo-1 のように, 蛍光発光スペクトルに Ca イオン濃度に依存せず蛍光強度が一致する波長(等蛍光点)を持つ種類で用いられる。Indo-1 では, 通常, 360 nm で励起して, 405 nm と 480 nm の蛍光が測光される。

2 波長励起 1 波長測光では, 励起光を切り換えて測光する必要がある, 2 波長間のデータに時間の遅れが生じる。しかし, 1 波長励起 2 波長測光では, 検出器を 2 台取り付け, それぞれの波長の蛍光を同時に測光すれば, 2 波長間のデータの時間遅れは生じない。したがって, ミリ秒以下の非常に速い Ca イオン濃度変化や, 心筋細胞のような動きのある試料の測定も可能である。

このためには, ビデオカメラのような検出器が 2 台必要になり, fura-2 用の測定機器と比較すれば, 高価格になる場合が多い。ARGUS-50(図 2 参照)では CAII が 1 波長励起 2 波長測光に対応している。CAII は 2 分岐光学系(W-View 光学系)を用いることで, 1 台のカメラの画面を 2 分割してそれぞれの波長の蛍光像が入力できるようになっている。したがって, 比較的低価格であるが画素数は半分

なる。また、indo-1 の蛍光強度は fura-2 と比較して弱いにもかかわらず、高速の測定を行う関係上、蓄積時間が短くなり、ノイズの多いデータになるなどの欠点がある。このため、fura-2 に比べて、利用している研究者は多くない。

c. 1 波長励起 1 波長蛍光測光法

通常の蛍光法は 1 波長励起 1 波長測光で、等吸収点を持つプローブ試薬でも、強度が変化するだけのプローブ試薬のいずれでも利用できる。しかし、細胞内のプローブ試薬の濃度と蛍光を発光する体積が分かっているなければ定量はできないが、Fura Red や fluo-3 のように、Ca

イオンと結合しても励起、発光スペクトルとも強度のみの変化を示す種類には、この 1 波長励起 1 波長測光法しか使えない。

1 波長の蛍光強度変化で測定した場合には、その実験結果の解析には注意が必要である。例えば、細胞の核内の蛍光強度が強くても Ca イオン濃度が高いのか、プローブ試薬濃度が高いのか、区別できない。また、蛍光強度の変化が観測された場合も、細胞の変形や運動、プローブ試薬濃度の変化がない場合に限り、Ca イオン濃度が変化したことになる。一方、蛍光強度の差分を計算しただけでは、プローブ試薬の濃度の高いところの変化が大きくなるため、変化

表 2. 細胞内カルシウムイオン濃度測定用分光蛍光光度計の製品例

分光蛍光 光度計型名	付 属 品	特 徴
RF-1500 (島津)	シリンジアダプター スターラー付き恒温セルホルダー 恒温水環流装置	波長切り換え 最短0.2秒
RF-5000 (島津)	シリンジアダプター スターラー付き恒温セルホルダー 恒温水環流装置	波長切り換え 1 秒
CAF-100 (日本分光)	専用機のためスターラー、恒温槽 などは内蔵	励起波長は 340 nm と 380 nm 干渉フィルターで分光 オプションに固体試料測定ユニットもある
CAF-110 (日本分光)	専用機のためスターラー、恒温槽 などは内蔵	励起波長切り換え 7.8ミリ秒 2 波長同時測光(ダイクロイック ミラーで分離) オプションに固体試料測定ユニットもある
F-2000 (日立)	スターラー付き恒温セルホルダー マイクロサンプリング用 アッセンブリ マイクロセル	最大 4 波長測定 波長切り換え 1 秒
F-3010/ F-4010 (日立)	スターラー付き恒温セルホルダー マイクロサンプリング用 アッセンブリ マイクロセル	
F-4500 (日立)	スターラー付き恒温セルホルダー マイクロサンプリング用 アッセンブリ マイクロセル	最大 8 波長測定 データ間隔 0.6秒 (340/380切り換え時)

量は不明である。むしろ、同一の波長でも割り算を行った方が、プローブ試薬の濃度の差を吸収できるため、より実態に近い Ca イオン濃度変化になる。

2. 2 分光蛍光光度計

蛍光指示薬を利用した $[Ca^{2+}]_i$ 測定には、通常の分光蛍光光度計が利用できる(表 2)。主に、キュベットに試料を入れて測定するため、浮遊細胞が対象になる。2 波長測光を行うためには、いくつかの付属品と制御プログラムが必要になるが、各社より細胞内カルシウム測定セットとして入手可能である。

分光蛍光光度計は蛍光スペクトルを測定する機器であるため、分光学的な問題は少ない。しかし、元来が溶液の蛍光スペクトルの測定が目的のため、顕微鏡を利用した $[Ca^{2+}]_i$ 測定装置より多量の試料が必要であり、また、 $[Ca^{2+}]_i$ も平均値が求められるだけであり、個々の細胞の $[Ca^{2+}]_i$ を求めることはできない。2 波長測光を行う場合、多くの機器で波長切り換えは分光器のグレーチングを回転させて行うため、数秒程度の時間が掛かる。しかも、この切り換え時間は切り換える波長が離れているほど長時間掛かるようになる。しかし、広い波長範囲にわたっての励起と測光が可能のため、2 波長測光に限らず、4 波長測光でも、8 波長測光でも行える機種もある。したがって、異なった波長のプローブ試薬を選択してロードすること

により、 $[Ca^{2+}]_i$ と細胞内 pH などの同時測定も可能である。

分光蛍光光度計タイプでも、 $[Ca^{2+}]_i$ 測定専用器として 2 組の分光器を設けて 2 波長測光ができるようにした機器もある。

2. 3 顕微測光装置

個々の細胞の $[Ca^{2+}]_i$ を測定するためには顕微鏡を利用した測定機器が必要になる(表 3)。顕微測光装置では、顕微鏡下の 1 点を測光する。測光する点のサイズと位置は任意に変更できるので、1 個の細胞一部や組織全体など、実験目的に合った部分の $[Ca^{2+}]_i$ を測定することができる。

顕微測光装置では、検出器に光電子増倍管を用いていることが多いので、1 ミリ秒以下の時間分解能で速い変化の測定も可能な機種が多い。ただし、2 波長励起を行う fura-2 のようなプローブ試薬の場合は、高速の励起光切り換え装置が必要である。また、indo-1 のような 2 波長蛍光の場合は、それぞれの波長の蛍光に対して検出器を備えた顕微測光装置でなければ特長を生かすことはできない。

2. 4 蛍光顕微鏡と画像処理装置

現在、もっとも広く使用されるようになったのが、蛍光顕微鏡に画像処理を組み合わせた装置であろう。表 4 に示したような装置を用いれば、細胞や組織の $[Ca^{2+}]_i$ 分布が測定できるだけでなく、視野に多数の細胞を入れて、1 個

表 3. 細胞内カルシウムイオン濃度測定のできる顕微測光装置例

機 種 名	特 徴
OSP-3 (オリンパス)	fura-2 専用 時間分解能 10 ミリ秒 測光範囲の確認が容易
OSP 10-CA (オリンパス)	2 波長励起 1 波長測光, 1 波長励起 2 波長測光 時間分解能 2.5 ミリ秒 測光範囲の確認が容易
CAM-230 (日本分光)	2 波長励起 1 波長測光, 1 波長励起 2 波長測光 時間分解能 1 ミリ秒
P 102 (ニコン)	2 波長励起 1 波長測光, 1 波長励起 2 波長測光 時間分解能 1 ミリ秒

表 4. 細胞内カルシウムイオン濃度分布測定装置の製品例

機 種 名	特 長
ARGUS-50/CA (浜松ホトニクス)	Fura-2 などの 2 波長励起 1 波長蛍光測光用 励起波長切り換え時間 最短 0.73 秒 波長切り換え装置はオリンパス, ニコン, ツァイスに接続可能
ARGUS-50/CAII (浜松ホトニクス)	Indo-1 などの 1 波長励起 2 波長蛍光測光用
ARGUS-50/CA/MACRO 1 (浜松ホトニクス)	Fura-2 などの 2 波長励起 1 波長蛍光測光用 組織切片のような 10 倍以下の対物レンズを使用する大きな試料用 励起波長切り換え装置付きの光ファイバー光源が付属
ARGUS-50/CA/MACRO 2 (浜松ホトニクス)	Fura-2 などの 2 波長励起 1 波長蛍光測光用 マクロ撮影レンズを使用した更に大きな試料用 励起波長切り換え装置付きの光ファイバー光源が付属

1 個の細胞の $[Ca^{2+}]_i$ 変動を観察することもできる. 以前は多くのメーカーから種々の機種が発売されていたが, 我国の現状は, 表 4 に示した機種が主流になった様子である. 装置の構成例を図 2 に示す.

検出器にビデオカメラを用いている関係上, 最短の時間分解能は TV レートの 1/30 秒に制限される. しかし, 2 波長励起を行う場合, 実際の時間分解能は励起光切り換え装置の切り換え時間で 1 秒程度に制限されることも多い. TV レートの時間分解能が必要ならば, 励起光切り換え装置がビデオカメラに同期して作動できるかどうか確認する必要がある. また, 2 波長蛍光測光を利用するためには, ビデオカメラを 2 台取り付けて同期させて作動させるか, 1 台のビデオカメラに 2 波長の蛍光像を同時に取り込むような光学系が必要になる.

蛍光プローブ試薬利用時の検出器として使用するビデオカメラは, 蛍光用の高感度な種類を使用する. 多くの場合, SIT, または, ICCD タイプのビデオカメラが用いられる. 一般的に, ICCD カメラの方が高感度であるが, 画質は SIT カメラの方がよいようである. 高感度ビデオカメラには C-CCD (冷却 CCD) タイプもあるが, 速い経時変化を測る場合は適していない機種が多い. さらに, aequorin による微弱発光の場合は VIM カメラが必要になることが多いが, 蛍光プローブ試薬の場合はここまでの感度

は不要であろう.

2. 5 共焦点レーザー顕微鏡

最近共焦点レーザー顕微鏡を利用した $[Ca^{2+}]_i$ の 3 次元分布測定も行われている (表 5). 光源にはレーザーが使用されるため, レーザーの種類により利用できる励起光の波長も決められ, 励起波長も 1 波長に限られる場合が多い. このため, fluo-3 や Fura Red などの可視光で励起できる 1 波長励起 1 波長測光のプローブ試薬がよく利用される¹²⁾. 特に, Ar レーザーの 488 nm で励起できる fluo-3 が多く使われる. レーザー顕微鏡では紫外光励起で 2 波長測光のできる機種は, まだあまり一般的にはなっていないが, 表 5 に示したように, 各メーカーから発売されるようになってきている. より正確な $[Ca^{2+}]_i$ 測定には, indo-1 タイプのプローブ試薬を利用できる機種を使用したい¹³⁾.

レーザー顕微鏡は走査型レーザー顕微鏡とも呼ばれるように, 基本的には, 1 個のスポットを 3 次元走査して立体像を構築している. このため, データを取得するのに数秒から数分かかり, 速い変化を 3 次元で追うのは難しい. しかし, スポットを平面 (2 次元) 走査や, 直線 (1 次元) 走査, 1 点 (0 次元) 測定に限定すれば, 1 秒以下の速い $[Ca^{2+}]_i$ 変化を捉えることができる^{14, 15)}. このような平面や線状の測定でも, 従来の光学顕微鏡のように深さ方向の重なりの影響がない $[Ca^{2+}]_i$ が求められる. した

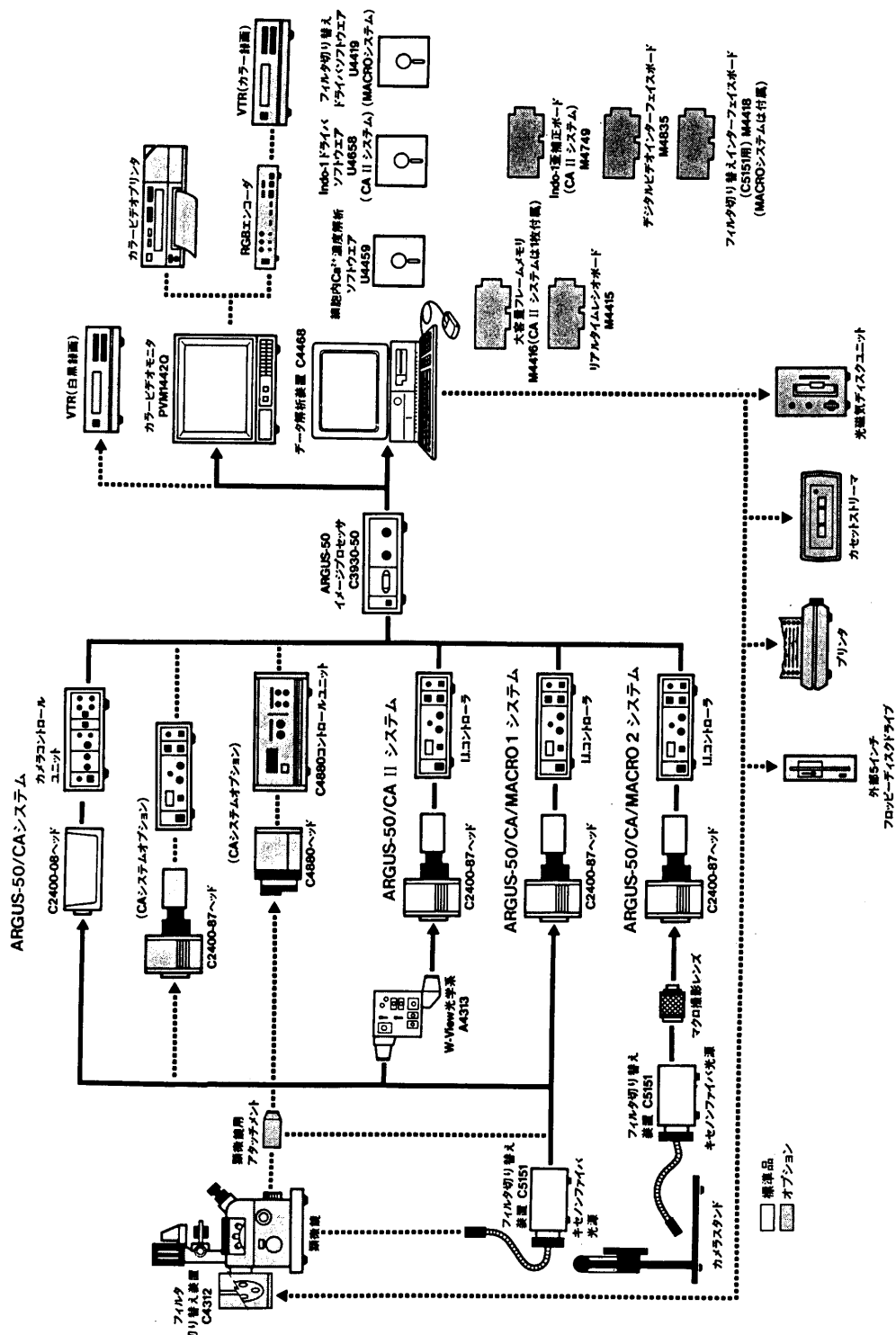


図2. 細胞内カルシウムイオン濃度分布測定装置の構成例
ARGUS-50/CA シリーズの構成。(浜松ホトニクスのカテゴリより)

表5. 主な走査型レーザー顕微鏡

機 種 名	特 長
LSM-BG 200 (オリンパス)	Indo-1 によるレシオイメージング可能 走査速度 1 秒 正立型と倒立型蛍光顕微鏡の両タイプ 検出系 蛍光/反射 最大3チャンネル 透過 1チャンネル
LSM 310/31 UV (ツァイス)	正立型蛍光顕微鏡タイプ 走査速度 0.5秒 Indo-1 によるレシオイメージング可能 検出系 蛍光/反射 最大2チャンネル 透過 1チャンネル
LSM 410/410 UV (ツァイス)	倒立型蛍光顕微鏡タイプ 走査速度 0.5秒 Indo-1 によるレシオイメージング可能 検出系 蛍光/反射 最大3チャンネル 透過 1チャンネル
RCM 8000 (ニコン)	倒立型蛍光顕微鏡タイプ リアルタイム観察可能 走査速度 1/30秒 Indo-1 によるレシオイメージング可能
MRC-500 (バイオ・ラッド)	各メーカーの落射蛍光顕微鏡が利用可能 走査速度 1 秒
MRC-1000 (バイオ・ラッド)	各メーカーの落射蛍光顕微鏡が利用可能 走査速度 1 秒 検出系 蛍光/反射 3チャンネル 透過 1チャンネル
ACAS 575 UVC (メリディアン)	倒立型蛍光顕微鏡タイプ Indo-1 によるレシオイメージング可能
INSIGHTPLUS-IQ (メリディアン)	各メーカーの落射蛍光顕微鏡が利用可能 スリット方式による共焦光学系のため 1/120 秒の高速走査

がって、細胞外の Ca イオンがカルシウムチャンネルを通して細胞内へ移動していく様子などをより正確に観察することができる。

3. 装置の光学的特性と使用上の注意点

分光蛍光光度計を利用する場合は、ほとんど問題を起こすことはないが、顕微鏡を使用した単一細胞での測定では様々な光学的なトラブルを生じることがある。紫外線励起の fura-2 や indo-1 を使用して $[Ca^{2+}]_i$ を測定する場合、測定装置の光学的な問題が多く生じるので、以下の説明もこの点に重点をおいて述べる。Fluo-3 などの長波長の光が利用できるプローブ試薬では測定装置の問題も少なくより容易に測定できるが、2 波長測光で $[Ca^{2+}]_i$ を求められないのは残念である。

3. 1 測定チャンバー

a. 分光蛍光光度計用キュベット

分光蛍光光度計では、付属品の種々のキュベットが使用できる。細胞の懸濁液を測定する場合は、測定中に細胞が沈降しないように攪拌したり、温度コントロールをする必要があるが、いずれも付属品として別途購入できる。培養フラスコに付着した培養細胞をそのまま測定するには、キュベットに入るサイズに切断した基板上に培養したものを、光軸に対して 45° 傾けて挿入して測定する。

b. 倒立型顕微鏡用チャンバー

$[Ca^{2+}]_i$ 測定実験では、顕微鏡を使用する場合がもっとも多いであろう。この場合、試料の形状や測定方法により、様々な工夫が求められる。試料は、倒立型、正立型にかかわらず、原

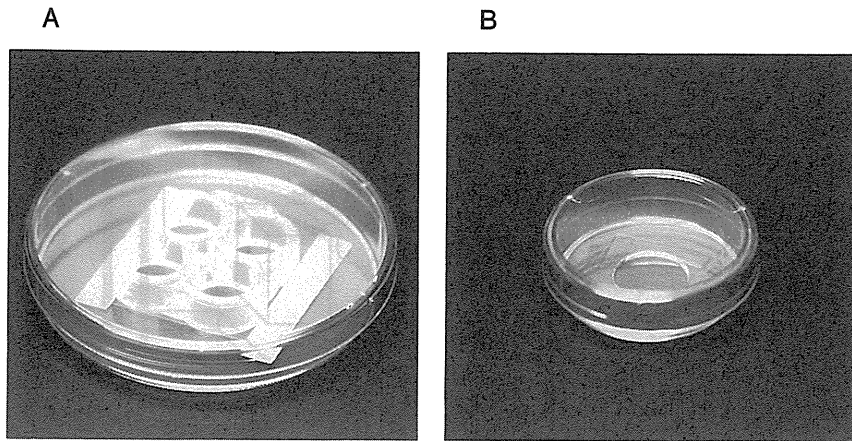


図3. 倒立型顕微鏡用チャンバーの例

A Flexiperm-Disc で組み立てたチャンバー. B ガラスボトムカルチャーディッシュ.

則として、固着し動かないことが必要である。したがって、浮遊細胞は基盤に付着させ、組織切片は固定具などで押さえるようにしなければならない。

培養細胞は倒立型顕微鏡で測定されることが多い。倒立型顕微鏡で fura-2 の蛍光を観察する場合、対物レンズの作動距離が短いこと、また、紫外の励起光がチャンバーの底面を通過して細胞に照射されることから、チャンバーの底面は薄く、紫外光をよく通し、さらに、無蛍光であることが要求される。したがって、細胞培養によく使われているプラスチック製の培養フラスコやディッシュは底が厚く、また、蛍光を生じることがあるため使用を避けた方がよい。

培養細胞の多くの実験では、Flexiperm-Disc (W. C. Heraeus) に、40×50 mm のカバーガラス (No. 1, 0.12~0.17 mm 厚: Matsunami) を粘着させたチャンバーが使用されている (図 3 A)。Flexiperm-Disc はシリコン製の 4 穴のウェルで、下面に粘着剤がついているので、カバーガラスに押しつけて接着させ底にする。Flexiperm-Disc はオートクレーブ滅菌でき、10 回以上繰り返して使用できる。カバーガラスは、 $[Ca^{2+}]_i$ 測定では、無蛍光の石英ガラス製を使用する必要はない。

細胞はこのチャンバーのカバーガラス上に培

養する。培養時には図 3 A のように、濾紙を敷いたシャーレ (直径 90 mm, 深さ 15 mm 程度) に入れて行う。濾紙は水分によりカバーガラスがシャーレに吸いつくのを防ぐ。濾紙は一部分だけ敷くようにすると、培養状態をシャーレのままクリーンベンチの外の顕微鏡で観察するのに便利である。実験時にこのチャンバーを扱うときは、漏水を防ぐために必ずカバーガラスの部分を持つようにする。古くなると粘着力が弱まり、漏水し易くなるので注意する。

また、カバーガラスを貼り付けたプラスチックシャーレ (直径 35 mm: メリディアンなど) も同様に利用できる (図 3 B)。

細胞や組織の $[Ca^{2+}]_i$ 測定では、灌流装置を取り付けたり、刺激用薬剤を投与するためのインジェクターを使用したり、温度を一定に保つことが必要な場合が多い。灌流装置類は自分の実験に合わせて部品を揃え、組み立てる必要がある。一例を図 4 に示す。図 4 の例ではポンプにより培養液や試薬を送り、一方、アスピレーターで液を吸い出すことで、チャンバー内の液量を常に一定に保っている。灌流装置のチューブ類はマニピュレーターに取り付け、位置が調整できるようにする。3 次元マニピュレーターならば左右、前後、上下に移動させやすく便利である。マニピュレーターを顕微鏡のステージ

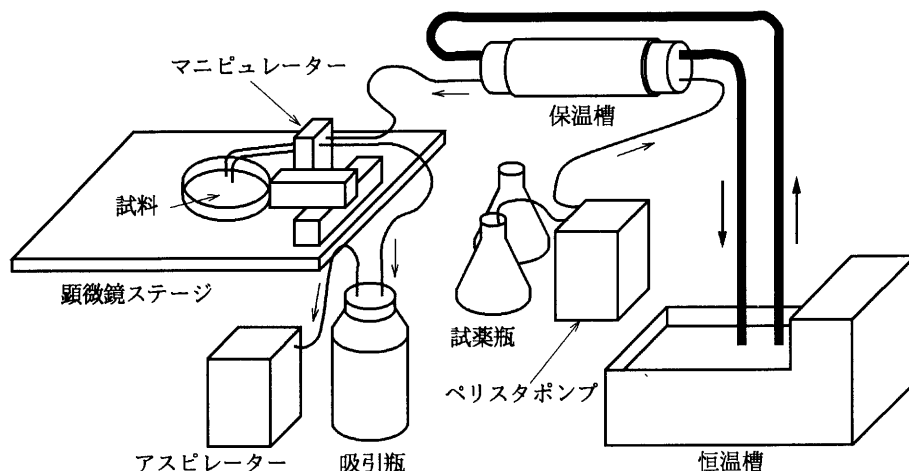


図4. 灌流装置の例

各パーツは径1mm程度のシリコンチューブで接続する。試薬瓶に灌流液や刺激用薬剤溶液を準備しておき、シリコンチューブを差し替えることで薬剤を添加する。チューブを差し替えてから測定チャンバーに溶液が到達する時間を計っておけば、1秒程度の正確さで刺激時間が分かる。

に固定するには、専用のアダプターを使用する。

チャンバー内の温度を一定に保持させたい場合は、図4のように液を恒温装置により一定の温度に保たれた水中を通過させてからチャンバーへ送り込む方式の他、顕微鏡のオプションとして用意されている温風循環方式の保温装置やヒートプレートも利用できる。しかし、小さな容積の部分の恒温に保つのは意外と困難である。正確な温度条件で実験をしなければならないときは、熱容量の十分小さい熱電対やサーミスタ温度計で実測する必要がある。自作の装置などでは、驚くほど設定温度との差が大きい場合も多い。

c. 正立型顕微鏡用チャンバー

正立型蛍光顕微鏡ではチャンバーを光が通過しないため、蛍光を出すことがなければ、自由な材質や形状のものが使用できる。しかし、正立型顕微鏡では、液層の厚さや、表面張力による液面の曲がりが見え方に影響を与える。また、培養液を灌流しながら測定する時には、液面の上下や波が測定に影響することがある。短時間の測定ならば灌流を止めて測定するのもよい。長時間にわたる測定や、薬物投与な

どで灌流を止められない場合は、水浸対物レンズや図5のような蓋のできるチャンバーを利用すると良好な結果が得られる。

倒立型顕微鏡では、落射蛍光観察時にはステージ上を光が通ることもなく、広く使えるので、これらの装置を取り付けても、問題は少ないが、正立型では対物レンズのじゃまになることもある。特に、高倍率対物レンズ使用時に影響が大きくなるので、器具類の形状や配置を工夫する必要がある。

チャンバーを保温する場合、チャンバーだけを加温すると気泡が発生することが多い。特に、図5のようなチャンバーのカバーガラスに気泡が付くと、測定の妨害になる。このため、灌流液をチャンバーの温度より数度高く温めてから供給する。特に、酸素などを通気している灌流液には注意が必要である。

3. 2 顕微鏡

a. 顕微鏡本体

測定サンプルが培養細胞や単離細胞である場合が多いため、おもに、倒立型蛍光顕微鏡が利用される。Fura-2 や indo-1 を使用する場合は、励起が340 nmの紫外光であることを特に考慮

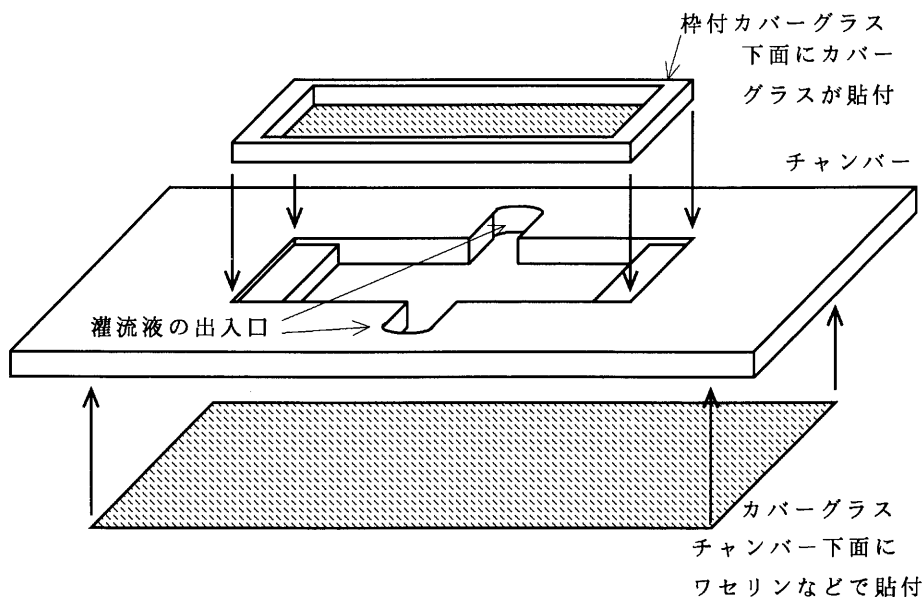


図5. 正立型顕微鏡用チャンバーの例

そのまま測定すると、液面の揺れや、表面張力による液面の歪みにより、測定データが変動したり、像がボケたりする。このため、液面をカバーガラスで覆うとよい結果が得られる。ただし、保温していると、気泡が発生しやすいので注意が必要である。

する。以前は、多くの蛍光顕微鏡が、360 nm より短波長の励起光を透過できなかったが、各顕微鏡メーカーとも、倒立型蛍光顕微鏡は“ Ca^{2+} 対応”と唱った機種を出しているので、340 nm までの励起光を利用する場合は、必ずこの製品を使用する必要がある。これらの顕微鏡は励起光源の光学系と鏡体内部のリレーレンズなどを紫外線の透過率の高い材質に変更してある。旧タイプの倒立型顕微鏡でも、メーカーに改造を依頼できる。

正立型顕微鏡では $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 測定例があまり見られないが、倒立型顕微鏡のように内部のレンズ類が多くないため、励起光源の光学系が340 nm まで利用できれば、多くの機種が使用可能である。

蛍光顕微鏡でレシオイメージングを行う場合には、蛍光像周辺のハレーションに注意する必要がある。通常、レシオ値を計算する前に、バックグラウンド蛍光強度を見積り、これ以下の蛍光強度の場合はレシオ値の計算を行わせない。しかし、蛍光像からだけでバックグラウンド蛍

光を見積るため、ハレーション部分まで含めてしまうことが多い。この結果、蛍光像周辺の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ が低濃度や高濃度に表示され、一見、細胞膜周辺の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 濃度が変化しているように見えることになる。これは、蛍光像と透過光像をスーパーインポーズさせると明らかになるが^{16,17)}、バックグラウンド蛍光強度を僅かに増減させるだけで、周辺部の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ が大きく変化することでも見分けられる。なお、ハレーションの強度は弱いので、顕微測光では問題になることは少ない。また、共焦点光学系を利用しているレーザー顕微鏡では、実用上、ハレーションの影響はない。

顕微鏡を利用する上で忘れてはならないのが、光軸調整である。光軸調整が狂っていると、視野の明るさが均一にならないだけでなく、十分な強度の励起光が得られなかったり、解像度が低下したり、ハレーションが増加する。光軸が大幅にずれていると、全く何も見えないこともあるので、注意しなければならない。光軸調整の手順は、顕微鏡の取り扱い説明書に書い

である。

b. 対物レンズ

Fura-2 や indo-1 を用いる場合、対物レンズは 340 nm を透過する蛍光観察用の種類を使用する(例えば, CF Fluor, NCF Fluor: ニコン)。100倍のレンズは油浸となるので、紫外線を透過し、無蛍光の専用油浸オイルを用いる。

対物レンズとしては、倍率にかかわらず開口数の大きな対物レンズを使用できれば、励起光の強度を弱めることができる。その結果、fura-2 などのプローブ試薬の退色を少なくできるだけでなく、細胞や組織切片の紫外線によるダメージも少なくすることができる。しかし、現在入手可能な対物レンズは目視観察を主目的に設計されているため、倍率が決まれば開口数もほぼ決まってしまう、選択の余地はあまりない。

倍率10倍以上の対物レンズは 340 nm の励起光が利用できる種類があるが、これより低倍率では利用できるレンズはない。したがって、組織切片のように低倍率で広い領域を測定したい場合は、図6に示すように、斜め横から紫外線を透過できる光ファイバーで照射するなどの工夫が必要になる¹⁸⁾。励起光をこのように照射

するならば、蛍光顕微鏡を使用する必要性はなく、どんな種類の顕微鏡でも利用可能になる。むしろ、開口数の小さい対物レンズを使用するよりも、F値の小さい写真用レンズと接写撮影用の装置を利用した方が明るく、容易に測定できる。たとえば、35 mm 1眼レフカメラで一般的な 50 mm F1.2 の標準レンズは開口数 0.42に相当し、計算上は1倍の対物レンズ(開口数0.04, NCF Plan 1×: ニコン)の約100倍も明るいことになる。

3. 3 光源とフィルター

a. 光源

従来型の顕微鏡で、fura-2 を使用して2波長測光を行う場合は、光源には安定した紫外域の光が得られるキセノンランプを用いる(図7A)。蛍光顕微鏡で多く使われている高圧水銀灯は、365 nm などの輝線が強く、340 nm~380 nm 範囲の光強度が波長により大きく異なるため fura-2 には使用できない。Indo-1 や fluo-3, Fura Red などは、キセノンランプでも超高圧水銀ランプでも利用できる。ランプの容量は、通常は、表3, 4に示した測定装置に付属している 75~100 W で十分な明るさが得られる。

共焦点レーザー顕微鏡では、高価なレーザー

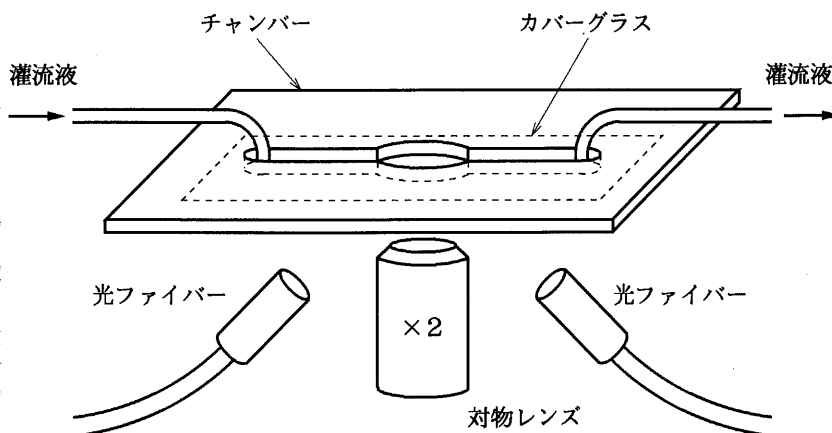


図6. 低倍率で測定するための照明法

多くの低倍率の蛍光用対物レンズは 340 nm の励起光を透過できない。したがって、対物レンズの横から紫外光を透過する光ファイバーで照明する。対物レンズは紫外線を透過する必要がないので、たいがいのレンズが使える。図は倒立型顕微鏡の場合であるが、正立型顕微鏡や、写真レンズを使用したマクロ測定でも同様な照明法が利用できる。

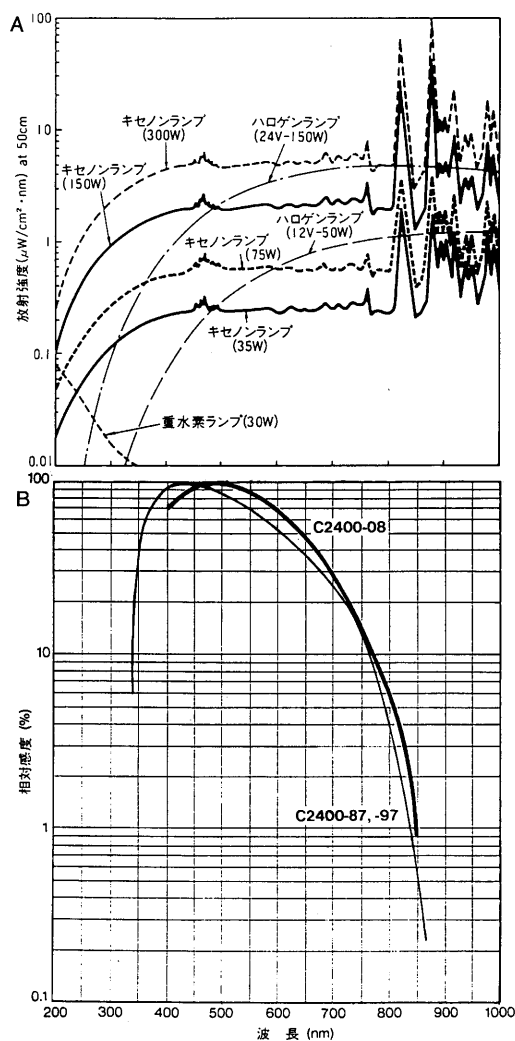


図7. キセノンランプ、蛍光用高感度ビデオカメラのスペクトル例

A キセノンランプの放射スペクトル分布. B SITカメラ (C2400-08), および、イメージインテンシファイヤ付き CCD (ICCD) カメラ (C2400-87, および, C2400-97) の分光感度特性. 分光感度は最大感度を100%とした相対値で示してある. これらのカメラは900 nm 付近まで感度があるので, キセノンランプの強い近赤外領域の光が迷光となって入射すると, 測定の妨害になる.

をプローブ試薬毎に揃えるのは費用がかかりすぎるため, Ar レーザーが励起光源として使われることが多い. したがって, 多くの場合, Ar レーザーの488 nm が利用できる fluo-3 が使用されている.

b. 励起フィルター

キセノンランプを励起光源とする場合, 励起波長はバンドパスタイプの干渉フィルターで選択ことが多い. Fura-2 では, 透過する中心波長は340 nm, 360 nm, および, 380 nm で, 透過させる波長の幅を示す半値幅は10 nm 程度の種類を使用する. 2 波長測光をするため, 測定中に励起波長を切り換えられるように波長切り換え装置を使用し, 励起側のフィルターはその中に組み込む. 2 種類の励起波長での蛍光強度を揃えるため, 強い波長の方に ND (Neutral density) フィルターを入れ, レシオ値が1 付近を中心として変化するようにする. ND フィルターは干渉フィルターより光源側に挿入する. 一般的に干渉フィルターは, 光の照射や熱, 湿度などに弱いため, 色ガラスフィルター類を光源側に入れ, 干渉フィルターも色ガラス側を光源に向けるようにセットする.

Fluo-3 や Fura Red を利用する場合も, それぞれの蛍光スペクトルにあった励起フィルターを使用するが, これらのプローブ試薬の場合は, 標準の蛍光顕微鏡用フィルターセットの中に利用できる種類がある (表6).

c. ダイクロイックミラーと蛍光フィルター

Fura-2 や indo-1 の場合, ダイクロイックミラーは, 各メーカーの標準品では400~455 nm のものが使える. 蛍光フィルターは490~500 nm 以下をカットする吸収フィルターを使用する. バンドパス干渉フィルターでは, 510 nm を中心波長とした, 半値幅は20~40 nm 程度の透過率が高いフィルターを使用する.

これらのフィルター類は, 各メーカーの Ca イオン測定機器に付属しているものを説明書通りに使用する場合は問題ないが, 独自に組み合わせる場合は副透過帯の影響を考慮しなければならない. 図8に示したように, バンドパス干渉フィルターは原理的に透過帯の整数倍の波長を透過する. また, ダイクロイックミラーや色ガラスフィルターも全波長にわたって理想的な特性にするのは困難なため, 近赤外部を透過してしまうフィルターが多い. 近赤外部

表 6. 蛍光プローブ試薬とフィルターの組み合わせ例

試薬名	測光法 ^{*1}	励起フィルター	ダイクロイックミラー	蛍光フィルター	備考
fura-2	2 ex 1 em	MBP 340 W 25 MBP 360 W 25 MBP 380 W 25	DM 400	BA 420	U-MU/FURA (オリンパス)
		EX 340 nm EX 360 nm EX 380 nm	DM 400	BA 492	ニコン
indo-1	1 ex 2 em	MBP 350	DM 385 DM 455	BA 370 MBA 405 MBA 480	U-MM/INDO (オリンパス) *2
		EX 355 nm	DM 380 DM 450	IF 405 IF 480	ニコン *2
fluo-3 Calcium Green-1 Calcium Green-2 Calcium Green-5 N Calcium Orange	1 ex 1 em	MBP 490	DM 505	BA 515 IF	U-NIB/FLUO (オリンパス)
		EX 470-490	DM 510	BA 515 IF	B-1 H (ニコン)
Calcium Crimson	1 ex 1 em	BP 545-580	DM 600	BA 610 IF	U-MWIY (オリンパス)
rhod-2	1 ex 1 em	BP 520-550	DM 565	BA 580 IF	U-MWIG (オリンパス)
Fura Red	1 ex 1 em	BP 470-490	DM 570	BA 610 IF	オリンパス
		EX 470-490	DM 580	BA 610	ニコン

注：*1 2 ex 1 em は 2 波長励起 1 波長蛍光測光を、1 ex 2 em は 1 波長励起 2 波長蛍光測光を、1 ex 1 em は 1 波長励起 1 波長測光を示す。測光法は代表的な例を示したので、これ以外の方法でも可能な場合もある。

*2 1 波長励起 2 波長蛍光測光で、発光して蛍光を分光する時のダイクロイックミラーとフィルターの組み合わせを示す。

備考に示した型名は、各メーカーで標準品として用意されている組み合わせである。型名が示されていないものは、それぞれのフィルターとダイクロイックミラーを組み合わせで使用する。フィルター類は標準品の組み合わせを示したので、最適な条件になっていない組み合わせもある。

は目に見えないが、励起光源としてよく使われるキセノンランプはこの波長領域でも強い光を出している。一方、ビデオカメラなどの検出器はこの近赤外でも感度を持っている。このため、副透過帯を通過してきて迷光となった光で測定が妨害されることが度々ある。この近赤外光をカットするためには熱線吸収フィルター(例えば CM-500 : HOYA など)を用いる。

特に、fura-2 や indo-1 では、340 nm と 360 nm の副透過帯が 680 nm と 720 nm になり、この波長域では検出器の感度が高いこともあり、大きな妨害となる(図 7 B)。Fluo-3 や Fura Red で使用する 450 nm 以上の励起光では副透

過帯が 900 nm 以上になり、検出器の感度も低下するため、影響は小さくなる。

3. 4 検出器

a. ビデオカメラ

ビデオカメラは蛍光観察用の高感度タイプを使う。代表的な種類は、撮像管タイプの SIT (Silicon intensified target) カメラと、CCD (Charge coupled device) カメラにイメージインテシファイアを接続した ICCD (Image intensified charge coupled device) カメラがある。ICCD カメラは SIT カメラと比べ、解像度はやや低い、感度も高く、また、残像が少ないため蛍光強度の速い変化を解析するのに適してい

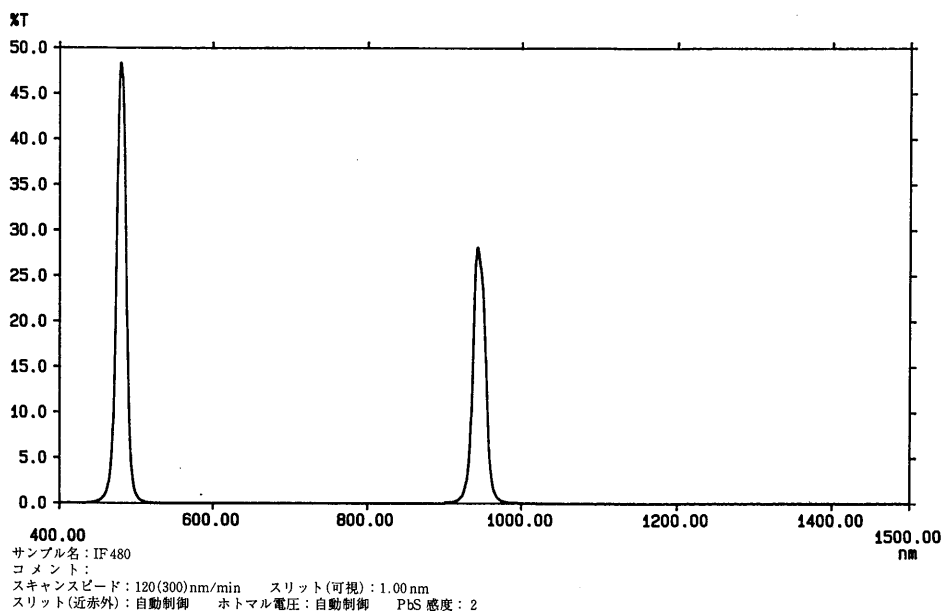


図 8. バンドパスタイプ干渉フィルターの特性例

中心波長 481 nm, バンド幅 14 nm, 透過率46%の干渉フィルターである。透過帯は1峰で、透過帯の裾も狭く、比較的良好な特性ですが、2倍波長の962 nmに副透過帯が出ている。なお、3倍波長以上の副透過帯はこのフィルターでは認められなかった。

る。したがって、SIT より ICCD カメラを選択した方がよいであろう。

これらの高感度ビデオカメラを使用するときの注意点は、強い光を入射させないようにすることである。保護回路は内蔵しているが、光が入射してから作動するので万全ではない。場合によってはカメラの性能が低下したり、最悪の場合、壊してしまうことにもなりかねない。特に、明視野照明を切り忘れて光路をビデオカメラ側へ切り替えることや、外部の強い照明光を入射させたりすることがないように注意する必要がある。

[Ca²⁺]_i 測定では経時変化を測定することが多いため、特殊な場合を除いて、冷却 CCD や VIM (Video intensified microscopy) カメラのような微弱光用の超高感度ビデオカメラは使用できない。これらのビデオカメラは、数秒から数時間の間の光を蓄積することで高感度化している。したがって、時間分解能が悪く、速い [Ca²⁺]_i 変化を観察するのには向いていない。

また、通常の CCD や撮像管タイプのビデオカメラも、高感度タイプと唱っていても、感度が足りないため強力な励起光が必要になり、プローブ試薬の退色や細胞のダメージが大きくなり、利用は薦められない。

フィルターの項でも指摘したが、しばしば、フィルターの副透過帯が問題を起す。赤外光は肉眼で観察する時には問題にならないが、多くの種類のビデオカメラは赤外域まで感度がある(図7B)。赤外光が洩れていると蛍光像に赤外光が加わり、画像のコントラストを落としたり、ダイナミックレンジが狭くなる要因となる。特に、異なるメーカーの部品を組み合わせる時は、フィルターの組み合わせによっては赤外光が透過することもあるので注意が必要である。

b. 光電子倍増管

分光蛍光光度計や顕微測光装置、共焦点レーザー顕微鏡の検出器には光電子倍増管が用いられている。これらを選定したり直接取り扱うことはあまりないと思われるので、注意点を示す

にとどめる。基本的には高感度ビデオカメラと同様に強い光を入射させないことが必要である。蛍光光度計では、測定室の蓋を開けるとシャッターが閉まったり、電源を切ったりして保護するので壊すことはないが、顕微測光装置では構造的に保護が十分に行えないので注意を要する。装置を組み立てたり分解する時には電源を切って行うのは当然であるが、電源を切っても受光面にはできるだけ光を当てないようにする。

また、顕微測光装置では、近赤外光に対するフィルターの副透過帯の問題も同様に注意が必要である。

3.5 画像処理装置

[Ca²⁺]_i 測定を行うための画像処理装置には、画像間での割り算と検量線作成ができる必要がある。また、2波長励起の場合は、画像取り込みと励起フィルターの切り換えを同期をとってコントロールする必要もある。画像処理自体はごく普通の処理であるが、フィルター切り換え装置をコントロールする機能を持った機種が [Ca²⁺]_i 測定専用としてあるので、これを利用するのが簡単である。広く使われている ARGUS-50 シリーズ(浜松ホトニクス)は自社製の切り換え装置 C4312 以外に、オリンパスや日本分光製のフィルター切り換え装置も接続できるようになっている。また、ファイバー光源 C5151(浜松ホトニクス)のフィルター切り換えも行える。これらの [Ca²⁺]_i 測定用機種は、多くの場合、[Ca²⁺]_i 測定の為の処理以外に、一般的な画像処理も実行できる。したがって、得られた [Ca²⁺]_i 分布像にさまざまな画像処理を施して見やすくわかりやすい分布像とすることも可能である。

画像処理装置を [Ca²⁺]_i 用として使用する場合、フレームメモリの画素数と容量に注意する。普通、画素数はあまり必要ない。水平256×垂直256程度で十分で、場合によっては水平128×垂直128でも使用できる。むしろ、メモリ容量の方が1回の実験で取得できる画像の枚数に影響するので重要で、この画像の枚数で、ど

の程度の時間変化をどのくらいの細かさで調べられるかが決まる。ARGUS-50 は、標準では水平512×垂直483のメモリを4枚持っている。このメモリは分割して使用できるので、水平512×垂直483の画素数では2組のデータしか取れないが、水平256×垂直241にすれば8組、水平128×垂直120で32組のデータが取れる。なお、ARGUS-50 では、測定のインターバルが十分長い場合はハードディスクにデータが保存できるので、ハードディスクの容量が許す限り多量の画像データを取得することも可能である。

ビデオカメラによって撮影された画像は画像処理装置により、その明るさに応じたアナログ信号がデジタル化され、輝度と呼ばれる数値に置き換えられ、画像メモリに記録される。このとき、どのくらいの諧調で輝度データが保存できるかにも注意が必要である。通常の画像処理装置では8ビット(256諧調)でAD変換を行う。欲を言えば、もっと多くの諧調、たとえば、10ビット(1024諧調)以上があればなおよいが、現状では非常に高価な装置になる。安価な画像処理装置では6ビットと言うものもあるが、この程度の諧調では利用は困難である。

また、AD変換は8ビットでも、フレームメモリの深さが8ビットでは不足する。これは、ノイズを低減させるために画像積算を行う場合のオーバーフローを防ぐためである。たとえば、64枚積算する場合、理想的には14ビットの深さのメモリが必要となる。ARGUS-50 では、メモリの深さは16ビットになっているので、256枚の積算ができる。

画像処理をリアルタイムで行う必要がないため、パソコンの拡張スロットに挿入するビデオ入力ボードと、フィルター切り換えに使用するデジタル出力ボードも利用できるであろう。これらを利用すれば、安い価格で [Ca²⁺]_i 測定システムを組み上げることができると思われるが、問題はソフトウェアをどうするかである。フリーソフトなどで使うことができるプログラムがあればよいが、基本的には自作するしかないであろう。機能を限ってしまえば比較的簡単

にできるかもしれませんので、時間があり、プログラミングに自信があるならば試みるのもよいであろう。

文 献

- 1) S. M. Baylor, W. K. Chandler & M. W. Marshall (1982) Use of metallochromic dyes to measure changes in myoplasmic calcium during activity in frog skeletal muscle fibers. *J. Physiol.* **331**, 139-177
- 2) J. R. Blinks, F. G. Prendergast & D. G. Allen (1976) Photoproteins as biological calcium indicators. *Pharmacol. Rev.* **28**, 1-93
- 3) 小島 至 (1990) 細胞内カルシウムイオン濃度. 新生化学実験講座 8 細胞内情報と細胞応答 (日本生化学会編) pp. 136-141 東京化学同人, 東京
- 4) 栗原 敏, 須田憲男, 口羽謙二 (1989) 発光蛋白による細胞内カルシウム測定の実験基礎—種々の Ca 指示薬との比較. *実験医学* **7**, 632-636
- 5) R. Y. Tsien, T. Pozzan & T. J. Rink (1982) Calcium homeostasis in intact lymphocytes: cytoplasmic free calcium monitored with a new, intracellularly trapped fluorescent indicator. *J. Cell Biol.* **94**, 325-334
- 6) G. Grynkiewicz, M. Poenie & R. Y. Tsien (1985) A new generation of Ca^{2+} indicators with greatly improved fluorescence properties. *J. Biol. Chem.* **260**, 3440-3450
- 7) A. Minta, J. P. Y. Kao & R. Y. Tsien (1989) Fluorescent indicators for cytosolic calcium based on rhodamine and fluorescein chromophores. *J. Biol. Chem.* **264**, 8171-8178
- 8) 宮川厚夫, 牧野 徹, 玉川 彰, 尾碕一穂 (1989) ビデオ画像処理を用いた蛍光性カルシウム指示薬 Fura-2 による細胞内遊離カルシウムイオン濃度分布の測定. *分析化学* **38**, 643-649
- 9) 御橋廣真 (1983) 蛍光法で何がわかるか. 日本分光学会測定法シリーズ 3 蛍光測定生物科学への応用 (木下一彦, 御橋廣真編) pp. 1-43 学会出版センター, 東京
- 10) R. P. Haugland (1992) *HANDBOOK OF FLUORESCENT PROBES AND RESEARCH CHEMICALS*. Molecular Probes, Inc., USA, pp. 113-128
- 11) D. A. William, K. E. Fogarty, R. Y. Tsien & F. S. Fay (1985) Calcium gradients in single smooth muscle cells revealed by the digital imaging microscope using fura-2. *Nature*, **318**, 558-561
- 12) T. Furuno, T. Hamano & M. Nakanishi (1993) The effects of an inhibitor of the intracellular Ca^{2+} pump on nuclear calcium signals in B cells. *Bioimages* **1**, 9-12
- 13) T. Kawanishi, H. Asou, T. Kato, C. Uneyama, K. Toyoda, H. Ohata, K. Momose & M. Takahashi (1994) Ratio-imaging of calcium waves in cultured hepatocytes using rapid scanning confocal microscope and indo-1. *Bioimages* **2**, 7-14
- 14) K. Kuba, S.-Y. Hua & M. Nohmi (1991) Spatial and dynamic changes in intracellular Ca^{2+} measured by confocal laser-scanning microscopy in bullfrog sympathetic ganglion cells. *Neurosci. Res.* **10**, 245-259
- 15) 久場健司 (1991) 共焦点レーザー顕微鏡: 生理学への応用 (細胞内 Ca^{2+} 動態の分析). *細胞* **23** (3), 73-75
- 16) 宮川厚夫 (1992) データ処理による細胞内遊離カルシウムイオン濃度分布のビデオ蛍光顕微鏡像と細胞構造の対応法. *分析化学* **41**, T113-T118
- 17) 宮川厚夫 (1992) ビデオ蛍光顕微鏡を用いた細胞内遊離カルシウムイオン濃度分布測定におけるバックグラウンド蛍光の補正. *分析化学* **41**, T119-T124
- 18) Y. Kudo, T. Nakamura & E. Ito (1991) A 'macro' image analysis of fura-2 fluorescence to visualize the distribution of functional glutamate receptor subtypes in hippocampal slices. *Neurosci. Res.* **12**, 412-420



模擬無重力による高血圧自然発症ラット骨格筋の組織化学的特性 及び骨代謝への影響

小河 繁彦・山崎 先也・岡本 啓・福田 俊*

家森 幸男・田口 貞善

(京都大学大学院人間・環境学研究科, *放射線医学総合研究所)

要 旨

本研究では、無重力に対して Wistar 系ラットとは異なる反応を有する SHR (高血圧自然発症ラット) を用いて、模擬微小重力環境である不活動のモデリングとして体懸垂を行い、骨格筋の組織化学的特性に及ぼす影響について検討を行った。筋線維組成比率についてみると、SHR ヒラメ筋の SO 線維比率は、Wistar 系ラットの84%に対してほぼ100%を示した。4週間の体懸垂後、SHR ヒラメ筋の FOG 線維比率は、約18%まで増加した。この結果は Wistar 系ラットの変化と同様の傾向であった。またカルシウム含量について、SHR は、Wistar 系ラットと比較して低値 ($p < 0.05$) を示すが、体懸垂後、Wistar 系ラット同様、有意な減少が確かめられた。この知見は、SHR の骨形成には無負荷による不活動が大きく関わっていることを示唆している。

キーワード：SHR, 体懸垂, 筋線維タイプ別組成比率, 筋線維タイプ別横断面積, Ca 含量

I. 緒 言

高血圧自然発症ラット (spontaneously hypertensive rat; SHR) は、食塩負荷などの特別な処置をせずに、また臓器特に腎、内分泌臓器に異常を認めずに、自然に高血圧を発症するモデル動物であり、1963年に岡本と青木[1]によって系統分離が確立された。その最高血圧は、生後2ヶ月までにはほぼ全例が150 mmHg 以上となり、4～5ヶ月ではほぼ最高に達し、多くは180～210 mmHg を示すが、これは、SHR の分離母体である Wistar Kyoto (120～140 mmHg) と比較して明らかに高い[2]。SHR において、岡本[2]は、中枢から末梢までにわたる自律神経系の異常、特に交感神経系の機能亢進、視床下部-下垂体-甲状腺系、同一副腎皮質系の異常及び神経内分泌系の機能亢進、末梢動脈の反応性の亢進であると報告し、これらの多くは高血圧の発生機序と関連を持つことを示唆した。SHR、特に脳卒中易発症 SHR (SHRSP) は加齢に伴って、運動不足などの不動性の影響で起こる骨粗鬆症を自然に発症することが認められている[3,4]。また Doyle et al.[5]は、筋量が多

いと骨量も多いことを報告し、筋萎縮は骨の粗化を招来することを示唆している。

骨格筋において不動性の影響を知る方法としては、神経切断[6]、腱切断[7]、関節固定[8]、身体又は後肢懸垂[9-13]などがあり、微小重力環境 (microgravity) のシミュレーションモデルとしてよく利用され、骨格筋の萎縮のメカニズムが研究されている。一般に、微小重力環境下で骨格筋は、活動量の低下や負荷の減少により萎縮することはよく知られている。特に筋萎縮は抗重力筋であるヒラメ筋で顕著であり、中でも遅筋線維で選択的萎縮を生じ、さらに遅筋から速筋にタイプ移行することも既に報告[9,14,15]されている。さらに、Bachir-Lamrini et al.[16]は、SHR のヒラメ筋では、正常ラットと比較して速筋線維 (IIA) が多いことを報告している。しかし、そのメカニズムについては十分に明らかにされていない。これまで SHR の骨格筋に関する報告[16,17]は数少ない。また、微小重力環境下のシミュレーションモデルに関する先行研究[6-13]は、実験動物として正常ラットを用いており、疾患ラットである SHR の不動性の影響を調査した報告はみられない。しか

し、正常ラットと比較して種々の生理的要因の異なる SHR を用いて、運動負荷や運動制限の影響を分析することは、運動が生体に及ぼす機能を知る有用な手懸りとなり得ると考えられる。

そこで、本研究では本来、骨粗鬆症を早期に発現し、無重力条件に対して Wistar 系ラットとは異なる反応を示す SHR (高血圧自然発症ラット) を用いて、模擬微小重力環境のモデリングとして体懸垂を行い、骨格筋の組織化学的特性と骨代謝に及ぼす影響について検討を行った。

II. 方 法

A. 実験動物

本実験では、9～12カ月齢の Wistar 系ラットと高血圧自然発症ラット (spontaneously hypertensive rat; SHR) の雌を体懸垂群と対照群にそれぞれ分類した。実験群は、

W-C 群; Wistar 系ラットの対照群 ($n=5$)

W-S 群; 体懸垂を施した Wistar 系ラット ($n=5$)

SHR-C 群; SHR の対照群 ($n=5$)

SHR-S 群; 体懸垂を施した SHR ($n=5$)

の計4群とした。

B. 実験手順

体懸垂群においては、後肢に体重が負荷されないような状態を設定するために Musacchia et al.[18]により報告された体懸垂モデルの修正法

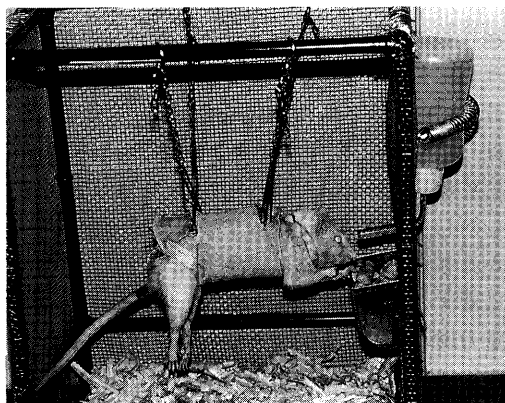


図1. 体懸垂による後肢への無負荷(模擬無重力)法

[31]を用いて、4週間体懸垂を施した(図1)。また対照群においては、体懸垂群の体懸垂を行った同期間(4週間)、通常的环境下で飼育を行った。各群とも恒温室(三洋電機社製プレハブ保冷库 MCU-1000)内で飼育した。室温は $22 \pm 1^\circ\text{C}$ に保ち、室内照明は午前6時から午後6時まで点灯、午後6時から翌日午前6時までを消灯とし、食餌と水は自由摂取とした。

C. 組織化学的分析

4週間の体懸垂を施した後、体懸垂群、対照群ともペントバルビタールナトリウム麻酔下で左後肢よりヒラメ筋(Soleus)ならびに長指伸筋(EDL)と大腿骨を摘出した。摘出した筋は湿重量測定後、液体窒素にて急速凍結し、分析を行うまで -80°C で保存した。また摘出した骨は、エタノール中で保存した。ヒラメ筋及び長指伸筋はクリオスタット(Leica 社製 JUNG CM 1800)により、 -20°C 下で厚さ $10\mu\text{m}$ の連続横断切片を作成した。そして各横断切片に、myosin ATPase (ATPase) 染色[19]とコハク酸脱水素酵素(SDH)染色[20]を施した。筋線維タイプの分類には、Peter et al.[21]の方法に基づいて、slow-twitch oxidative(SO), fast-twitch oxidative glycolytic(FOG), fast-twitch glycolytic(FG), SO 線維と FOG 線維の中間タイプ(INT)の4種類に分類し、各標本ごとに筋線維タイプ別組成比率を算出した。また筋線維タイプ別横断面積(CSA)は、顕微鏡(日本光学社製 Y2F-21)を用いて画像処理装置(ピアス社製 LA-535 FB)へ ATPase 染色切片の映像を取り込み、パーソナルコンピュータ(日本電気社製 PC-9801 RX)で算出した。

大腿骨の骨強度として、小動物骨強度測定装置(マルトーMZ-500 D)で破断力を測定した。その後、 100°C で24時間乾燥、 600°C で24時間灰化、硝酸で溶解した後、クレゾールフタレイン・コンプレキソン法によりカルシウム(Ca)濃度を測定した。

D. 統計処理

統計処理は分散分析(ANOVA)法を用い $p < 0.05$ を有意水準とした。

表1. SHR と Wistar 系ラットの体懸垂群及び対照群の体重とヒラメ筋, 長指伸筋筋湿重量

Group	Body Weight		Muscle Weight (Soleus)		Muscle Weight (EDL)	
	pre(g)	post(g)	(mg)	(mg/100 g B. W.)	(mg)	(mg/100 g B. W.)
W-C	246.5±12.4	265.7±18.1	118.6±10.1	45.0±6.8	108.0± 3.7	40.9±4.0
W-S	240.0± 9.5	173.5±12.2**	58.8± 9.3**	34.1±6.7*	89.4± 8.1**	51.4±2.1**
SHR-C	225.5±12.1	242.6± 9.2	103.8±16.9	42.7±6.0	144.2±18.2	59.3±5.9
SHR-S	226.2± 7.2	195.9±13.4**	48.8± 4.6**	25.1±3.6**	100.8± 5.4**	51.5±2.5*

平均値±標準偏差 *p<0.05, **p<0.01 (体懸垂群 vs. 対照群)

Ⅲ. 結 果

A. 体重, 筋湿重量

表1に各群の実験前と実験後の体重と摘出筋 (Soleus, EDL) の筋湿重量及び体重 100 g 当たりの筋湿重量を示した. W-C と SHR-C の体重に差がみられ, SHR-C の体重は W-C と比較して低値を示した. 実験後の体重は, 対照群と比較して, W-S と SHR-S ともに有意に低値 ($p<0.01$) を示したが, その差異は W-S で -34.6%, SHR-S で -19.2% であり, W-S と比較して SHR-S で体懸垂による体重の減少が小さいことが認められた. ヒラメ筋の筋湿重量は, 体懸垂による萎縮のため対照群と比較して, W-S で -50.4%, SHR-S で -53.0% の低下率を示し, Wistar 系ラット, SHR とも統計的有意差 ($p<0.01$) が観察されたが, その低下率に関して W-S と SHR-S の間に差はみられなかった. しかし, 筋湿重量を体重に対する相対値で比較すると W-S, SHR-S ともそれぞれ低値を示すが, その低下率は W-S が -24.2% であるのに対し, SHR-S は -41.2% と著しい低下を示し, Wistar 系ラットと SHR の萎縮の程度に差があることが確かめられた. また長指伸筋の筋湿重量は, ヒラメ筋同様, 対照群と比較して, 体懸垂群は有意に低値を示した. しかし, 体重に対する相対値でみると SHR-S は, -13.2% 低値であったが, W-S は逆に +25.7% 有意に高値を示し, 筋肥大を起こすことが確かめられた.

B. 筋線維タイプ別組成比率

図2に, 各群別にヒラメ筋と長指伸筋の筋線

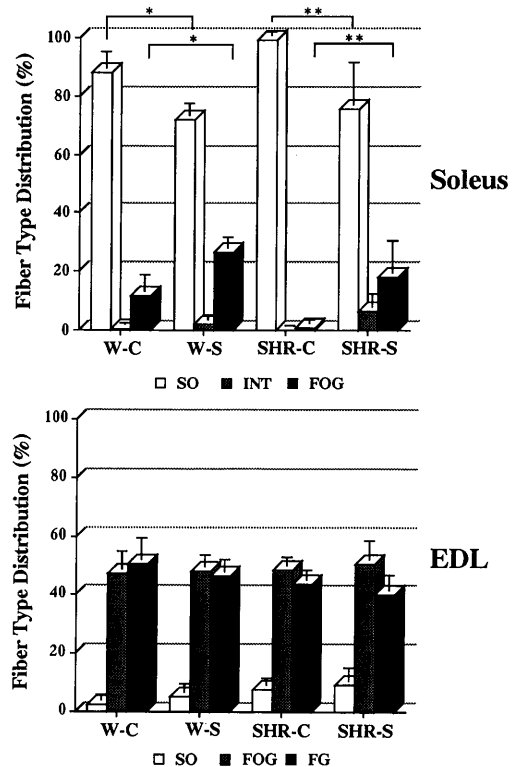


図2. SHR と Wistar 系ラットの体懸垂群及び対照群のヒラメ筋と長指伸筋の筋線維タイプ別組成比.

平均値±標準偏差.

*p<0.05, **p<0.01 (体懸垂群 vs. 対照群)

維タイプ別組成比率を示した. ヒラメ筋についてみると, 体懸垂により W-S の SO 線維比率は, W-C の $83.95 \pm 10.67\%$ と比較して, $71.72 \pm 4.2\%$ と有意に減少し, 一方 FOG 線維比率は W-C の $15.38 \pm 10.09\%$ と比較して, $26.45 \pm 3.67\%$ と有意な増加を示した. SHR-C の組成比率は, W-C のそれと比較して SO 線維の

占める割合は有意に高値を示すが、体懸垂により Wistar 系ラットと同様、速筋化の傾向を示した。つまり SHR-S について、SO 線維組成比率は、 $75.58 \pm 14.57\%$ まで有意に減少し、一方、FOG 線維組成比率は SHR-C の $0.75 \pm 1.12\%$ から $18.08 \pm 10.72\%$ と有意な増加を示した。長指伸筋については、各群間で統計的に有意な違いはみられなかった。

C. 筋線維タイプ別横断面積

各群別にヒラメ筋と長指伸筋の筋線維タイプ別横断面積を図3に示す。ヒラメ筋についてみると、W-S の筋線維タイプ別横断面積は、W-C と比較して SO 線維、FOG 線維とも有意に減少した。SHR-C は W-C と比較して、FOG 線維が有意に低値を示した。また SHR は、体懸垂により SO 線維は減少するが、FOG 線

維については、有意な増加を示した。長指伸筋については、W-C と SHR-C を比較すると SHR-C の FOG 線維が有意に高値を示した。しかし体懸垂により FOG 線維は、Wistar 系ラット、SHR とも有意に減少した。

D. 骨強度と Ca 含量

大腿骨の骨強度と Ca 含量を図4に示した。骨強度は、W-C が 15.41 ± 0.69 kgf, SHR-C が 17.84 ± 1.70 kgf であり、この両群間に統計的有意差 ($p < 0.05$) がみられた。また体懸垂群は対照群と比較して Wistar ラット、SHR とも低値を示したが各間に有意差はみられなかった。Ca 含量については、W-C の $20.1 \pm 0.6\%$ に対し、SHR-C は $19.1 \pm 0.5\%$ を示し、W-C と SHR-C 間に有意差がみられた。さらに、W-S は $18.1 \pm 0.4\%$, SHR-S は $17.6 \pm 0.8\%$ とそれぞれ対照群と比較して有意に低値を示し、Wistar ラット、SHR とも体懸垂の影響を受けて Ca 含量が低下することが確認された。

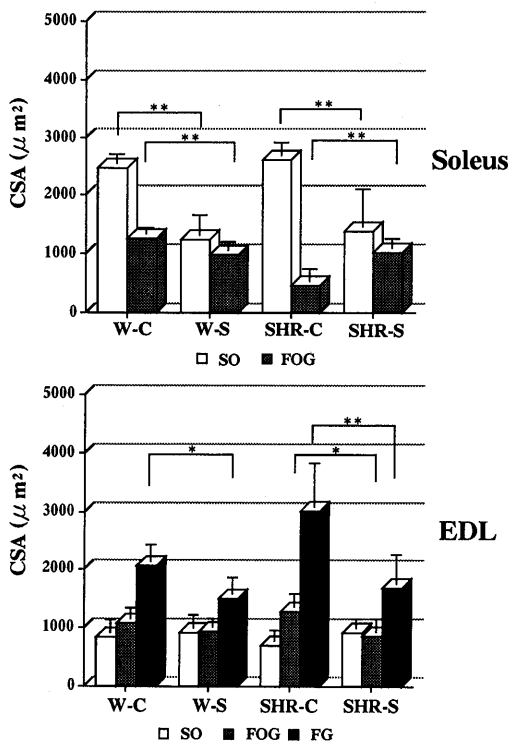


図3. SHR と Wistar 系ラットの体懸垂群及び対照群のヒラメ筋と長指伸筋の筋線維タイプ別横断面積。

平均値±標準偏差。

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ (体懸垂群 vs. 対照群)

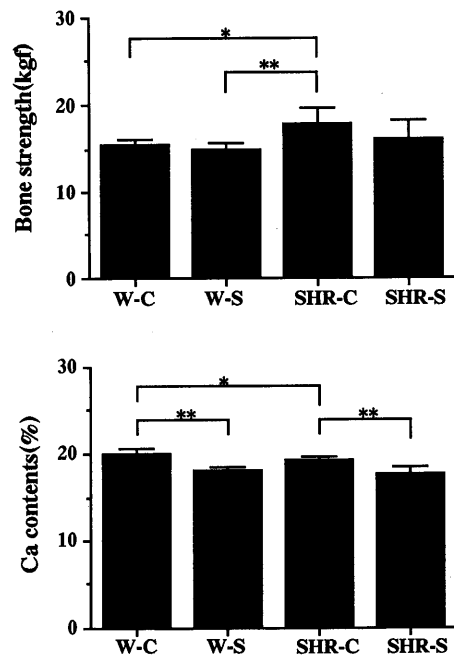


図4. SHR と Wistar 系ラットの体懸垂群及び対照群の大腿骨骨強度と Ca 含量。

平均値±標準偏差。

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ (各群間比較)

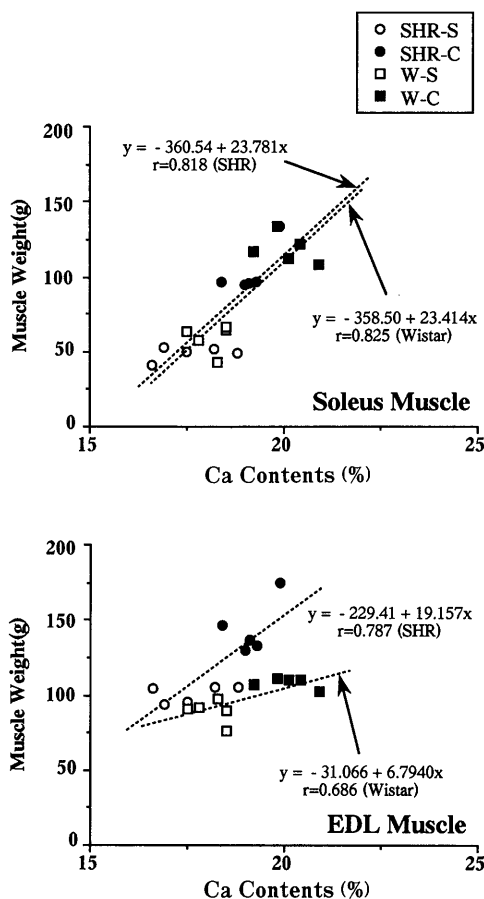


図5. SHRとWistar系ラットの体懸垂群及び対照群のヒラメ筋、長指伸筋筋湿重量と大腿骨Ca含有量との関係。

図5に筋湿重量(ヒラメ筋、長指伸筋)とCa含量(大腿骨)の関係を示した。Wistar系ラット、SHRとも筋湿重量とCa含量に有意な相関関係が認められた。

IV. 考 察

A. 体重、筋湿重量

Wistar系ラットのヒラメ筋において、筋湿重量及び体重100g当たりの筋湿重量が体懸垂により著明な減少を示した(表1)。この結果は、先行研究の報告[10-13, 22-24]と一致した。筋萎縮は、主に微小重力環境による筋蛋白質量の低下、また体懸垂中のストレスによる食餌量の減少やグルココルチコイドなどのホルモンの影響

によると示唆されている[23, 24]。SHRについても、体懸垂によりW-Sと同じ様に筋萎縮が観察された。W-SとSHR-Sを比較すると、体懸垂後、筋湿重量は同程度の低下を示したが、体重の相対値でみると、対照群と比較して、W-S増加率が-24.2%であるのに対し、SHR-Sは-41.2%と著しく低値を示し、萎縮の程度に差がみられた。この差はW-Sの体重がSHR-Sに比して大きな減少を示したことによると考えられる。長指伸筋の筋湿重量は、W-S、SHR-Sともそれぞれ-17.2%、-30.1%の低下を示した。しかしながら、体重に対する相対値でみると、対照群と比較して、W-Sでは25.7%と有意な増加を示したのに対し、SHR-Sは逆に13.2%の減少を示した。体懸垂によって、長指伸筋もW-S、SHR-Sともに萎縮を示すが、その減少率は抗重力筋であるヒラメ筋ほど大きくなく、W-Sでは大きな体重減少の結果、筋湿重量相対値の上昇がおこったものと考えられる。また、実験4週間中のW-CとSHR-Cの体重増加率をみると、両群とも8%であり、自然状態では、ラットの系統による違いではなく、模擬無重力条件に対する反応の差と推察される。

B. 筋線維タイプ別組成比

SHRヒラメ筋の筋線維タイプ別組成比の特徴としては、W-Cと比較してSO線維の比率が高いことであつた。Bachir-Lamrini et al.[16]は、発育期(1~3カ月齢)のSHRのヒラメ筋では、遅筋線維が減少し、速筋線維(IIA)が増加することを示した。甲状腺ホルモンの分泌が亢進すると速筋化し、減衰すると遅筋化するとされるが[25]、本研究に用いたSHRが9~12ヶ月齢と先行研究(4~12週齢)[16]と比して加齢が進んでおり、またSHRは、正常ラットと比較して寿命が短い[2]という点を考えると、加齢による甲状腺ホルモンの分泌の低下が筋線維組成における速筋線維比率の低値を示す原因となっていると考えられる。

体懸垂を行うとSHRはSO線維の比率が高いにもかかわらず、W-S同様、SO線維の比率が減少し、FOG線維の比率が増加した。Kasper

et al. [11] も28日間の後肢懸垂により Type I 線維が減少すると報告している。この遅筋から速筋へのタイプ移行のメカニズムについては、グルココルチコイド[26]や甲状腺ホルモン[25], アドレナリン性 β 受容体[27]などが関与するとされるが、体懸垂による遅筋から速筋へのタイプ移行の詳細なメカニズムは明らかではない。また SHR-S の長指伸筋は、W-S 同様、筋線維組成比率に体懸垂が影響しないことが確かめられた。

C. 筋線維タイプ別横断面積

Wistar 系ラットでは、ヒラメ筋の SO 線維と FOG 線維は萎縮が確認され、しかも SO 線維の萎縮が大きいという結果は先行研究[11-13]と一致した。SHR-S では FOG 線維は、体懸垂により増加し、W-S とは逆の結果を示した。これは SHR-C では FOG 線維は非常に少ない。その原因の1つに、SHR-S の FOG 線維の横断面積が体懸垂によって増加するのは FOG 線維において横断面積が増加したというよりは、組織化学的にみて、筋線維のタイプ移行(比較的 SO 線維から FOG 線維へ)が認められたと考えるのが妥当である。しかし、この原因については明らかでない。長指伸筋においては、SHR-C の FG 線維横断面積が、W-C と比較して有意に大きく、また体懸垂による減少率が大きいことが示された。このことは、SHR の筋湿重量の減少の要因となったと考えられる。萎縮の程度に差はみられるが、SHR においても Wistar 系ラットと同様に選択的筋萎縮が生じたと考えられる。

D. 骨強度と Ca 含量

Yamori et al. [4] や Fukuda et al. [3] は、高血圧自然発症ラット (SHR) とりわけ脳卒中易発症ラット (SHRSP) が加齢に伴って自然に骨粗鬆症化を起すと報告している。本研究の結果も、先行研究[3,4]と同様に Ca 含量は W-C と比較して SHR-C で有意に低値を示し、SHR が骨粗鬆症化していることが確認できた。この骨粗鬆症化の原因は、高血圧によるカルシウムの代謝異常が強く影響していると推察されている[28]。

また正常な Wistar 系ラットの後肢を不動化処置することにより骨粗鬆症モデルを作成した場合、大腿骨の重量や強度、カルシウムと燐の含有量が減少することが報告されている[29]。本研究では体懸垂により後肢に体重が負荷されないような状態を設定したが、体懸垂により SHR、Wistar 系ラットとも、骨強度は減少傾向を示し、Ca 含量は有意に低値を示した。この原因としては、副甲状腺ホルモンの増加やカルシトニンの減少、ビタミンD活性の低下[30]などが考えられるが、主に模擬微小重力環境による骨への負荷刺激の減少によると推察される。SHR は骨粗鬆症化しているにもかかわらず微小重力環境の影響を受けたことは、筋の活動低下がさらに強く作用することを示唆している。

Doyle et al. [5] は、筋量と骨量が相関関係にあることを報告しており、また骨量の減少(骨粗鬆症化)は、骨への負荷刺激の減少を主因とすることから、骨の変化は、間接的に筋の変化を反映すると考えられる。図5はヒラメ筋と長指伸筋の湿重量と大腿骨の Ca 含量の関係を示すが、両筋で有意な相関関係が認められた。一方、Ca 含量と骨量は相関関係[28]にあり、Ca 含量は骨量を示す指標と考えられることから、SHR と Wistar 系ラットとも体懸垂による筋萎縮の原因として骨との関係が示唆される。また、長指伸筋のSHRの筋湿重量と Ca 含量の関係は、ヒラメ筋のそれと比較して傾向が異なった。この結果は、骨粗鬆症は長指伸筋よりも抗重力筋であるヒラメ筋に大きな影響を与え、また筋萎縮が遅筋線維で顕著にみられる[9,14,15]ことを裏付けるものである。SHR では、アドレナリン作動性交感神経や甲状腺ホルモンを含む種々のホルモンの変化があり[17]、本研究で得られた SHR と Wistar 系の骨格筋の組織化学的特性の差に影響していると考えられる。実際、Bachir-Lamrini et al. [16] や Favier et al. [17] は SHR の筋線維タイプの違いが甲状腺ホルモンの影響であると示唆している。また SHR の大腿骨は、骨粗鬆症化しており、このことも骨格筋の特性に影響していると考えられ

る。循環系に疾患をもつ SHR は、Wistar 系ラットと比較して、骨格筋の組織化学的特性筋線維組成と筋線維横断面積や骨の特性について明らかに差が認められた。この SHR と Wistar 系ラットの差異は、主に高血圧に関与する甲状腺ホルモン、毛細血管密度など生理的要因が影響していると考えられる。

謝 辞

本稿で発表した研究の一部は文部省科学研究費 (No. 04680124) ならび文部省宇宙基地利用基礎実験費 (U-41) の援助をいただきました。

文 献

- OKAMOTO K & AOKI K: Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. *Jpn Circ J* **27**: 282-293, 1963.
- 岡本耕造: 高血圧自然発症 (ラット). 疾患モデル動物ハンドブック: 205-209. 1979.
- FUKUDA S, TSUCHIKURA S, IKEDA K, NARA Y, HORIE R & YAMORI Y: Bone metabolism of SHRSP and its characteristics as a model for spontaneous. *Jpn Heart J* **32**: 586, 1991.
- YAMORI Y, FUKUDA S, TSUCHIKURA S, IKEDA K, NARA Y & HORIE R: Stroke-prone SHR (SHRSP) as a model for osteoporosis. *Clin and Exper Hyper. -Theory and Practice* **A13**: 755-726, 1991.
- DOYLE F, BROWN J & LANCHANCE C: Relation between bone mass and muscle weight. *Lancet*. Feb **21**: 391-393, 1970.
- NEMETH P M, MEYER D & KARK R A P: Effects of denervation and simple disuse on rates of oxidation and on activities of four mitochondrial enzymes in type I muscle. *J Neurochem* **35**: 1351-1360, 1980.
- ECCLES J C: Investigation on muscle atrophies arising from disuse and tenotomy. *J Physiol* **103**: 253-266, 1944.
- BOOTH F W: Time course of muscular atrophy during immobilization of hindlimb in rat. *J Appl Physiol Respirat Environ Ex Physiol* **43**: 656-66, 1977.
- DESPLANCHES D, MAYET M H, SEMPORE B & FLANDROIS R: Structural and functional responses to prolonged hindlimb suspension in rat muscle. *J Appl Physiol* **63**: 558-563, 1987.
- HENRIKSEN E J, THSCHLER M E, WOODMAN C R, MUNOZ K A, STUMP C S & KIRBY C R: Elevated interstitial fluid volume in soleus muscles unweighted by spaceflight or suspension. *J Appl Physiol* **75**: 1650-1653, 1993.
- KASPER C E, WHITE T P & MAXWELL L C: Running during recovery from hindlimb suspension induces transient muscle injury. *J Appl Physiol* **68**: 533-539, 1990.
- KRIPPENDORF B B & RILEY D A: Distinguishing unloading-versus reloading-induced changes in rat soleus muscle. *Muscle and Nerve* **16**: 99-108, 1993.
- TAGUCHI S, MORII H & ISHIHARA A: Effect of body suspension on soleus muscle fibers and spinal motoneurons in the rat. *Comp Biochem Physiol* **4**: 801-803, 1991.
- DESPLANCHES D, MAYET M H, ILYINA-KAKUEVA E I, SEMPORE B & FLANDROIS R: Skeletal muscle adaptation in rats flown on Cosmos 1667. *J Appl Physiol* **68**: 48-52, 1990.
- TEMPLETON G H, SWEENEY H L, TIMSON B F, PADALINO M & DUDENHOEFFER G A: Changes in fiber composition of soleus muscle during rat hindlimb suspension. *J Appl Physiol* **65**: 1191-1195, 1988.
- BACHIR-LAMRINI L B, SEMPORE B, MAYET M & FAVIER R J: Evidence of a slow-to-fast fiber type transition in skeletal muscle from spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol* **258**: 352-357, 1990.
- FAVIER R J, GHAEMMAGHAMI F, SEMPORE B, DESPLANCHES D, MAYET M H, FRUTOSO J, GHARIB C & FLANDROIS R: Skeletal muscle adaptation to physical training and beta-adrenergic blockade in spontaneously hypertensive rats. *Eur J Appl Physiol* **58**: 652-660, 1989.
- MUSACCHIA X J, DEEVERS D R, MEININGER G A & DAVIS T P A: A model for hypokinesia: effects on muscle atrophy in the rat. *J Appl Physiol* **48**: 479-486, 1980.
- PADYKULA H A & HERMAN E: The specificity of the histochemical method for adenosine triphosphatase. *J Histochem Cytochem* **3**: 170-195, 1955.
- NACHLAS M M, TSOU K, DESOUSA E, CHENG C & SELIGMAN A M: Cytochemical demonstration of succinic dehydrogenase by the use of a new p-nitrophenyl substituted ditetrazole. *J Histochem Cytochem* **5**: 420-436, 1957.
- PETER J B, BARNARD R J, EDGERTON V R, GILLESPIE C A & STEMPER K E: Metabolic profiles of three fiber types of skeletal muscle in guinea pigs and rabbits. *Biochemistry* **11**: 2627-2633, 1972.
- DIFFEE G M, MCCUE S, LAROSA A, HERRICK R E & BALDWIN M K: Interaction of various mechanical activity models in regulation of myosin heavy chain isoform expression. *J Appl Physiol* **74**: 2517-2522, 1993.
- JASPERS S R: Metabolism of branched-chain amino acids in leg muscles from tail-cast suspended intact and adrenalectomized rats. *Metabolism* **38**: 109-114, 1989.
- THOMASON D B & BOOTH F W: Atrophy of the

- soleus muscle by hindlimb unweighting. *J Appl Physiol* **68**: 1-12, 1990.
25. IANUZZO D, PATEL P, CHEP, CHEN V, O'BRIEN P & WILLIAMS C: Thyroidal trophic influence on skeletal muscle myosin. *Nature* **270**: 74-76, 1977.
 26. FALDUTO M T, CZERWINSKI S M & HICKSON R C: Glucocorticoid-induced muscle atrophy prevention by exercise in fast-twitch fibers. *J Appl Physiol* **69**: 1058-1062, 1990.
 27. ZEMAN R J, LUDEMANN R, EASTON T G & ETLINGER J D: Slow to fast alterations in skeletal muscle fibers caused by clenbuterol, a β 2-receptor agonist. *Am J Physiol* **254**: 726-732, 1998.
 28. 福田 俊: 骨代謝における骨形態計測の応用と展望. *日本骨代謝学会誌* **11**: 194-198, 1993.
 29. 福田 俊, 飯田治三, 土倉 寛, 家森幸男, 奈良安雄, 池田克己: 後肢不動性処置による微小重力骨粗鬆症モデルラットの確立と放射線照, カルシウム投与の効果. *10th ISAS Space Utilization Symposium*: 155-158, 1993.
 30. 福田 俊: 宇宙環境と骨代謝. *RADIOISOTOPES* **42**: 55-56, 1993.
 31. TAGUCHI S, OGOH S, YAMASAKI S, OKAMOTO H, FKUDA S, TSUCHIKURA S, IIDA H, & YAMORI Y.: Histochemical property of single muscle fibers in SHR skeletal muscles after body suspension. *11th ISAS Space Utilization Symposium*: 80-83, 1994.

〔編集後記〕

10号をお届けします。

本号の日本生理学会教育委員会議事録にありますように、シリーズで掲載している好評の実験技術法講座を単行本にまとめる試みは、残念ながらうまくいきませんでした。もっとも、この貴重なシリーズを保存したいがために、本誌を大事に保管していただければ編集委員としては本望です。

今月号の宮川先生による「細胞内 Ca イオン濃度測定に使われる装置」も力作です。実験者が悩みそうなポイントを押さえたこれほどの具体的で詳しい解説は、商業誌ではとても扱えないでしょう。学会誌として、多数の学会員が興味と関心をもつ記事を載せるこ

とは最優先事項ですが、その他に、少数の研究者でも良い、真に有用な記事を掲載することも大事な任務と考えています。

日本生理誌のあり方について編集委員会で議論を重ねています。発行形式の変更についても大分意見がまとまりつつあり、近々具体的な提案を行えると思います。会員の皆様からも積極的な御意見をお寄せ下さい。それにしても現在、多くの会員が意見交換に最も日常的に使っているインターネットによる e-mail が、生理学会の事務所で使用できないとは情けないことです。大学では、学部によっては学生への連絡や実習レポートも LAN を使っているご時世なのに。

(工藤典雄)

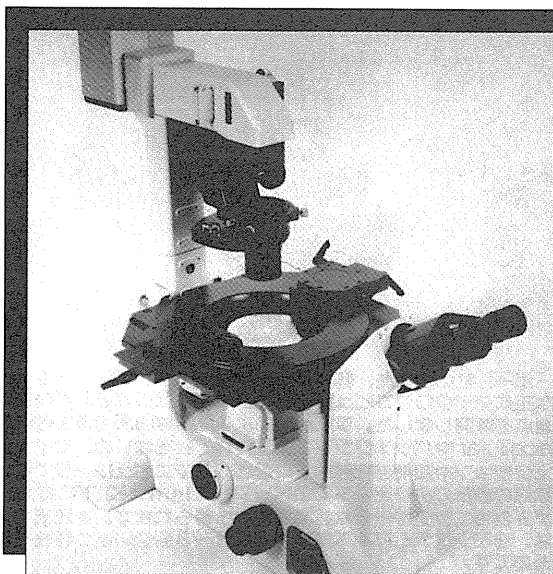
編 集 委 員

金 子 章 道(幹 事)	野 村 正 彦	野 崎 修 一
中 島 祥 夫	佐々木 成 人	高 松 研
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)		



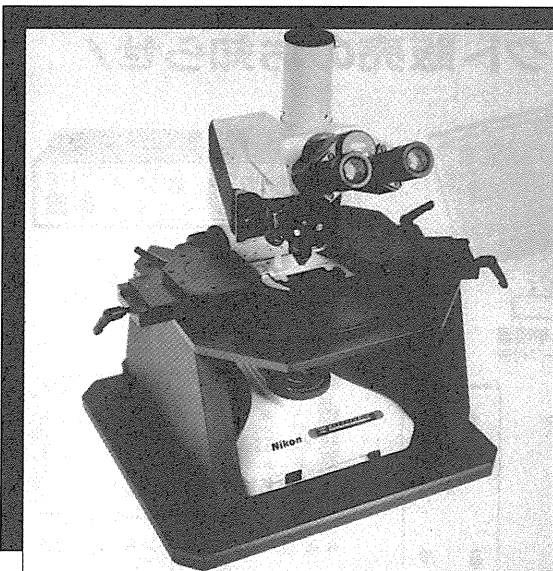
Meridian Manufacturing 社製

ORBITAL STAGE SYSTEMS



倒立顕微鏡用

- Zeiss社製
IM 35
Axiovert
- ニコン社製
Diaphot TMD
Diaphot TMD 300
- 顕微鏡ステージに直接取り付け
けるため、振動から解放され
ます。



鏡筒上下式正立顕微鏡用

- Zeiss社製
Axioskop FS
- ニコン社製
Optiphot UD
MM 22
- オプションとして……
顕微鏡自体をX・Y軸に可動
させる装置があります。



日本総代理店

ショーシンEM株式会社

〒444-02 愛知県岡崎市赤浜町蔵西1番地14(ショーシンビル)

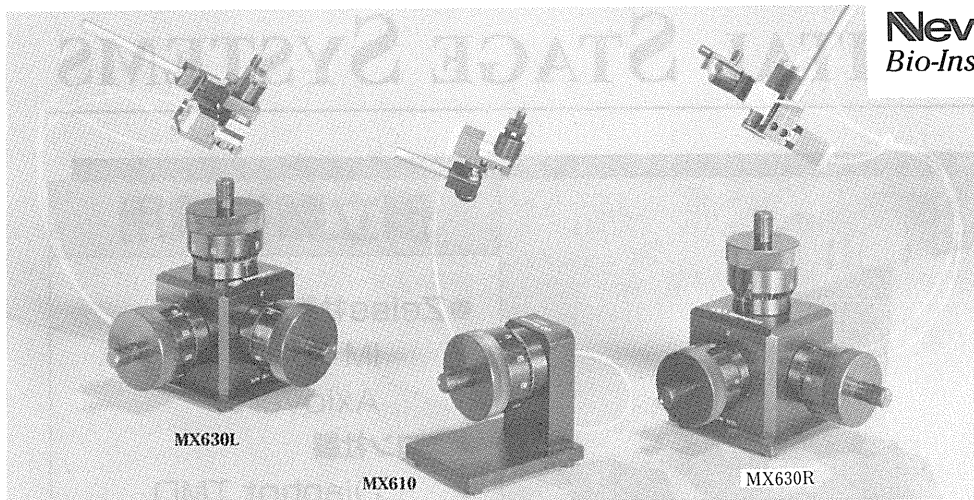
TEL. (0564) 54-1231番(代表)

FAX. (0564) 54-3207番

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 μ m/時以下に抑え、精密なポジショニングが十分な駆動距離から得られます。水圧式のメリットは、油圧システムに比べ熱膨張率が2～3倍低い水の特性を利用したものです。

信頼と実績のヴァリエーション。直販システムで一層お求めやすくなりました。

WPI 製品ダイレクト販売のお知らせ!

円高差益還元 大巾プライスダウン

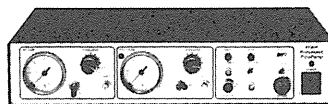
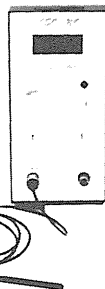
弊社は米国WPI社の日本総代理店として、長年研究者の皆様にとにかくならぬご愛顧を頂いてまいりました。このたび、今春のWPI日本支社開設に伴い同社との協力・連携のもと、ユーザの皆様にダイレクト販売を実施させていただきます。中間マージンカット・円高差益還元により、従来定価を大幅に下回る特別ご奉仕価格は、必ずや皆様にご満足頂けることと存じます。(直販価格はWPI英文カタログに記載)

何卒この機会に、ぜひ弊社のダイレクト販売システムをご活用下さいませようご案内申し上げます。詳細は弊社WPIダイレクト販売課までお気軽にお問い合わせ下さい。

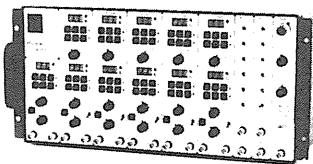


- DAM-80 差動型前置増幅器
ヘッドフロー付
¥221,800

- ISO-NO NOメータ ¥559,200
- ガラスキャピラリー
I B100F-4 500本入り ¥6,400
- I B120F-4 350本入り ¥6,400
- I B150F-4 225本入り ¥7,200



- 気圧式ピコポンプ
(マイクロインジェクション用)
PV-800/820 ¥221,800
PV-830 ¥290,200



- A-300 マルチチャンネル刺激装置 ¥509,600
- 電極ホルダー ¥5,100～
- パッチ用電極ホルダー ¥13,600
- 電極ペレット ¥3,400～
- マイクロフィル ¥5,600～

注：価格は税別の納入価格です。送料は別途申し受けます。



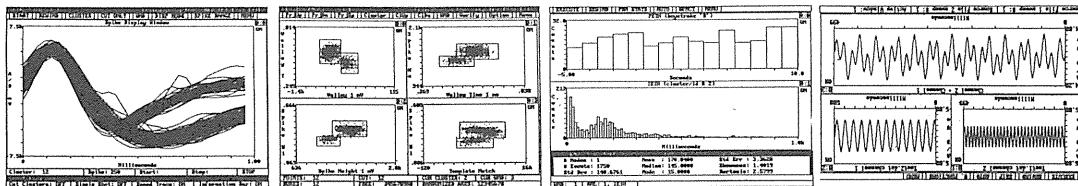
バイオリサーチセンター株式会社

WPIダイレクト販売課

本社 名古屋市東区東桜2-10-21 (錦見ビル2F) ☎052(932)6421 FAX052(932)6755
東京 東京都千代田区岩本町2-10-1(オカジマビル) ☎03(3861)7021 FAX03(3861)7022

WorkBench & Discovery

ワークベンチ&ディスクバリーシステムは、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 アベレーシング、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

マッキントッシュ専用データ収録・解析プロセッサ

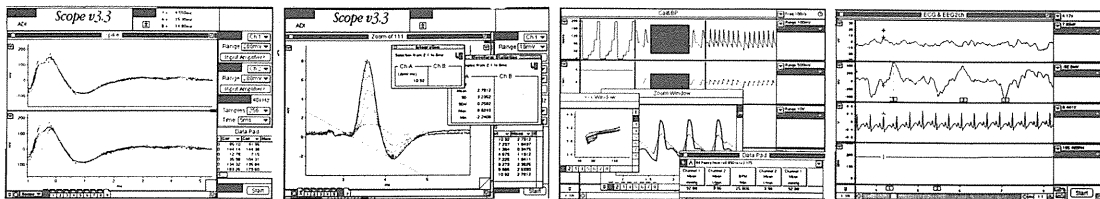
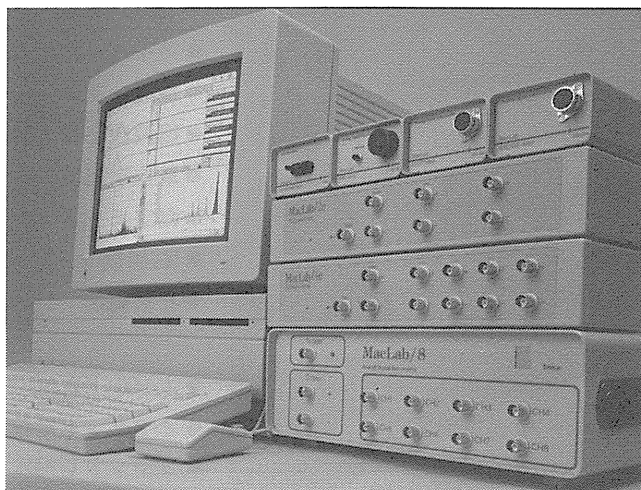
MacLab/2e/4e/8

マックラプ専用アンプを使って、心電、呼吸、脳波、等の生体現象の測定記録として、マッキントッシュをポリグラフとして利用できます。オフセット、オートゼロ、フィルターセッティング、キャリブレーション等全てでディスプレイ上でコントロールできます。

- 微分、積分●平均、加算平均●FFT、カウント
- ピーク検出&ホールド●SD、SEM●最大、最小
- X-Yプロット●単位変換………

データはテキスト、ドロー系、ペイント系、スプレッドシート等ほとんどのソフトにコピー&ペーストOK//

- 価格改訂 MacLab/2e (2ch入力) ¥450,000
- MacLab/4e (4ch入力) ¥790,000
- MacLab/8 (8ch入力) ¥890,000



A. D. I. 社
日本総代理店

ADI

バイオリサーチセンター株式会社

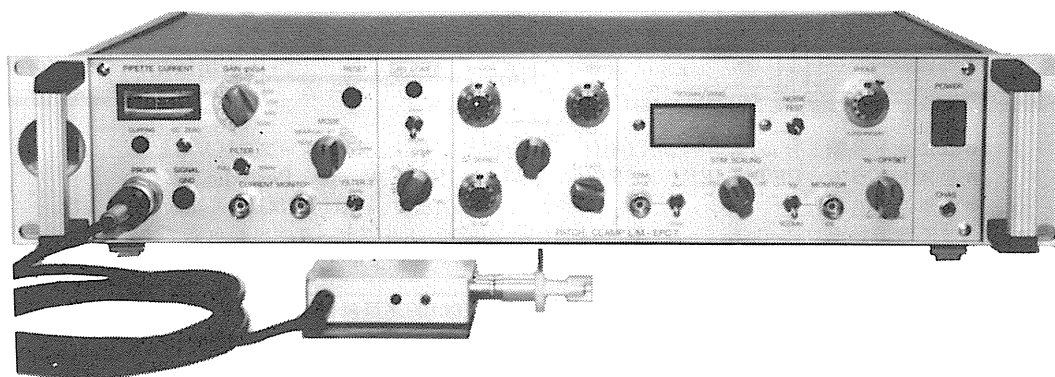
本社 名古屋市中区東桜2-10-21 (錦見ビル2F) ☎052(932)6421 FAX052(932)6755
東京 東京都千代田区岩本町2-10-1(オカジマビル) ☎03(3861)7021 FAX03(3861)7022

実績 No.1!!

F. J. Sigworth, E. Neher のオリジナル

西独リスト社

パッチクランプシステム *EPC-7*



■ 主な性能

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

日本総代理店／西日本地区発売元



ショーシンEM株式会社

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

東日本地区発売元

(*Physio-Tech*)

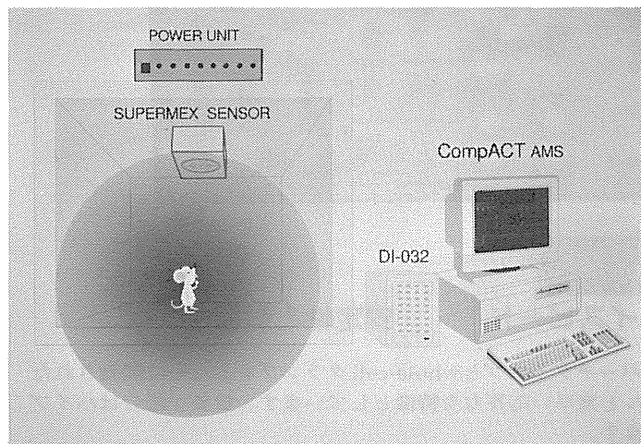
株式会社 フィジオテック

〒101 東京都千代田区内神田2丁目6番11号 若松ビル2F
TEL(03)3258-1641(代)

ローコスト・マルチチャンネル型
自発運動量測定システム

SUPERMEX®
スーパーメックス

PAT. P



- 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)まで自発運動量を測定することが出来ます。
 - お手持ちの飼育ケージ、ラック用ケージ、代謝ケージ等を使用することができます。
 - マイクロダイアリシスやテレメータ測定等との並行測定を行なうこともできます。
 - 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。
(価格例: 4chシステム ¥1,500,000)
8chシステム ¥2,100,000)
 - 標準付属品のインターフェースで32ch、オプションで最大80chまでのデータを集録し、付属の運動量解析プログラムCompACT AMS及び周期計算プログラム(オプション)にてデータの集録、解析を行なうことができます。
 - 測定場所から離れた所でデータ集録を行なうことも可能です。
 - 増設は簡単にでき、費用も安価です。
 - 自発運動量に飲水量を加えた測定システムも用意されております。
- ★特許出願済みにつき類似品には充分ご注意ください。

Muromachi

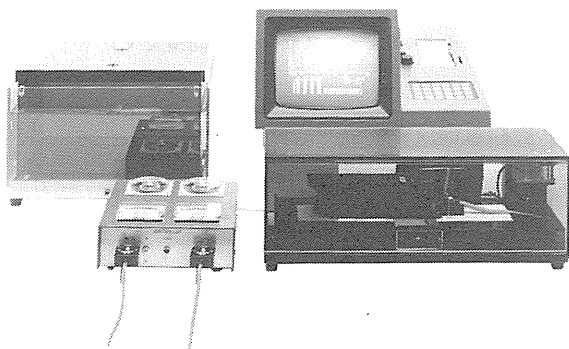
総発売元 **室町機械株式会社**

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unksの測定を行なうこともできます。
- R232C出力が標準装備されています。
- センサーの感度はMK-1000型と比較して約5倍アップしています。

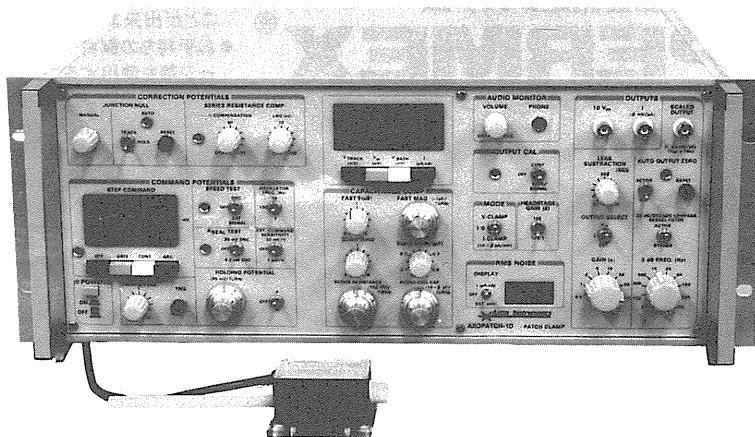
Muromachi

総発売元

室町機械株式会社

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

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。極めて低いノズル・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

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 東京都千代田区神田2丁目6番11号
若松ビル2F

TEL (03) 3258-1641 (代)



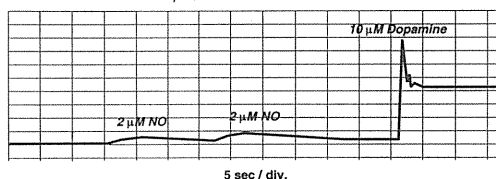
一酸化窒素モニター

World Precision Instruments

ISO-NOシリーズ



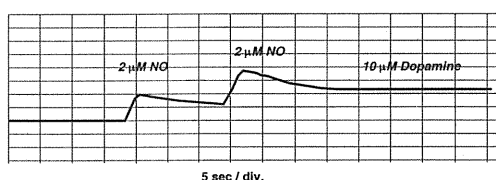
Response of Conventional Nafion Coated Fiber
vertical scale = 3000 pA/div



¥559,200

センサーサイズ
2.0mm, 1.2mm
200μm, 30μm

Response of WPI carbon fiber
vertical scale = 3000 pA/div



最小測定感度 1 pA
最低検出濃度 1 nM

UMS
Laboratory & Medical Supplies

株式会社 エル・エム・エス

本社 〒101 東京都千代田区外神田2-2-19 ロクゴウビル
TEL 03-5296-0950 FAX 03-5296-0946
大阪06-354-8755 名古屋052-505-6361 東北022-226-0697



高品位・低価格・豊富な種類

ガラスキャピラリー

World Precision Instruments

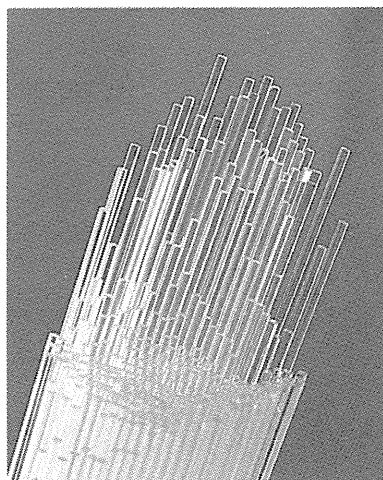
Single-barrel (Thin-Wall含む)
with and without filaments

サイズ Length (inch) 3/4/6
OD (mm) 1.0/1.2/1.5/2.0

Multi-barrel with filaments
(Two/Three/Five/Seven)

サイズ Length (inch) 4/6
OD (mm) 1.0/1.2/1.5

Theta/Piggybackタイプも有ります。



Type	Leng.	Fil.	OD	入数	価格
Single	4	*	1.2	350	¥6,400
T-W	4	*	1.5	225	¥6,900
Single	4	*	1.5	225	¥7,200

その他¥5,100~¥12,000まで

UMS
Laboratory & Medical Supplies

株式会社 エル・エム・エス

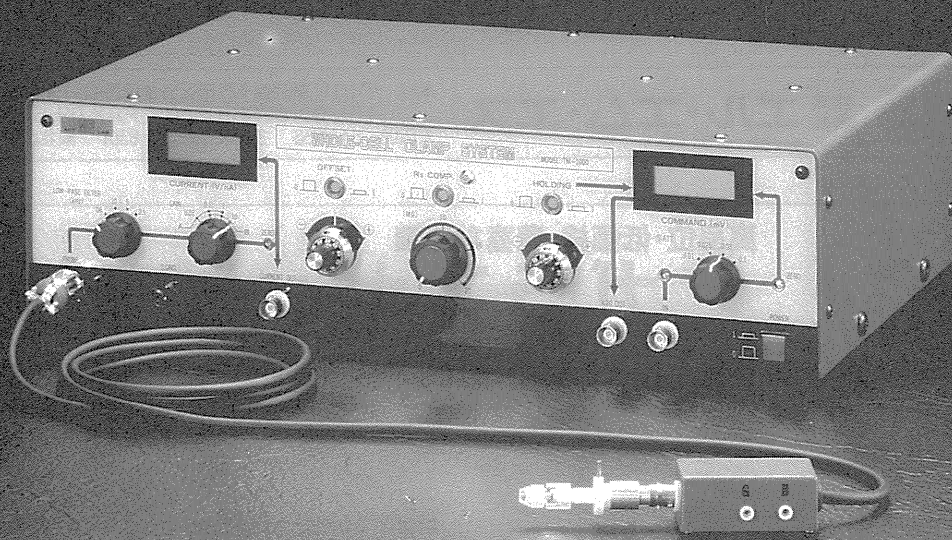
本社 〒101 東京都千代田区外神田2-2-19 ロクゴウビル
TEL 03-5296-0950 FAX 03-5296-0946
大阪06-354-8755 名古屋052-505-6361 東北022-226-0697

Whole-Cell Clamp System

MODEL

TM-1000

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



※2点支持タイプ(メカニカル ドリフト フリー)の電極ホルダー標準装備。



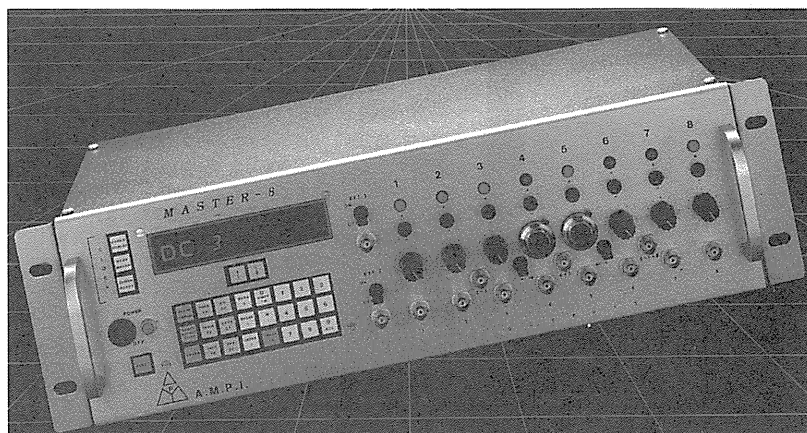
株式会社 アクトME研究所

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

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。

- ✓MASTER-8
- ✓MASTER-8-cp (Computer Programmable)
- ✓MASTER-8-vp (Voltage Programmable)

商品番号

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

☞ 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 ユビテル・ユニビルディング

価格・在庫・納期に関するお問い合わせ……
商品部業務課

Tel. (代表) 03-3850-1121 Fax. 03-3850-1191

製品内容・資料請求に関するお問い合わせ……
研究開発本部

研究試薬に関して: Tel. (代表) 03-5684-1620 Fax. 03-5684-1775
研究機器に関して: Tel. (代表) 03-5684-1619 Fax. 03-5684-1775

OMEGA FLOW

非接触型レーザー血流計

FLO-N1

組織血流量が測定部位に
触れることなく測定できます。



《基礎実験用》

接触型FLO-Q1も用意しています。

【特徴】

- ★非接触
- ★広範囲
- ★再現性
- ★アーチファクト
- ★軽減回路
- ★豊富な出力
- ★接触用
- ★コンピュータ
- ★使い易さ
- 3cm程度離して測定可能
- 最大直径15mm程度円内のサンプルボリューム
- 接触の影響が無く、広範囲に平均化された再現性を実現
- 被測定部の微妙な動きによる影響を軽減
- FLOW, MASS, VELOCITY, REFLEX
- 接触用プローブも接続可能
- NEC製98NOTE又はディスクトップに接続(オプション)
- 標準プローブが小型、ガイド光付き、専用固定器有り

【用途】

- ★脳
- ★神経、脊髄
- ★目(兎、ラット)
- ★皮膚
- ★消化器系臓器
- ★口腔内
- ★その他
- 骨の上から測定ができます。
- ローズベンガル血栓作成時に光の干渉を受けずに測定できます。
- 深部の特定部位に小型センサーを埋め込んで、無麻酔下で測定が可能です。(接触型)
- 接触すること自体問題がある部位でも簡単に測定できます。
- 眼球の外から網膜の血流測定が可能です。
- 軟膏を塗る、薬液をたらす等の今まで困難であった処置ができます。
- 経日的変化の測定も可能です。
- 粘膜に触ること無く測定ができます。
- 水面の上からでも測定が可能です。
- 圧迫の影響無く測定ができます。
- 筋肉、内耳、鼻腔内、骨(骨髄)等の測定が可能です。

製造元

オメガウェーブ

総発売元

NEUROSCIENCE, INC.

株式会社 ニューロサイエンス

本社 〒110 東京都台東区台東3-15-1 平和生命ビル
TEL.(03)5688-1061 FAX.(03)5688-1065
大阪支店 〒532 大阪市淀川区西中島6-1-19
TEL.(06) 307-7311 FAX.(06) 307-7727
福岡支店 〒812 福岡市博多区博多駅東3-1-29 博多第2Mカビル
TEL.(092)414-0251 FAX.(092)414-0125

ミニチュア pH 電極

測定範囲: pH2~12

必要試料: 5 μ l

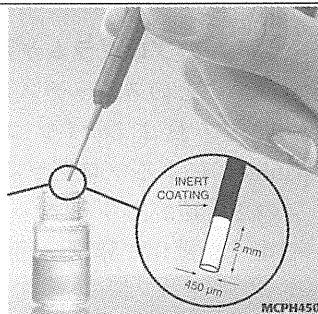
BNC接続をもつ他社のpH計と接続が可能です。

MCPH 750 ミニチュアpH電極750 μ m径 ¥63,200

MCPH 450 " 450 μ m径 ¥79,200

J671P デジタルpH/温度/mV計(100V用) ¥55,000

詳細はカタログをご請求下さい。



ボロシリケート キャピラリー グラス

	長さ	本入り	外/内径(mm)	型番	価格
Single Capillary	4 in.	500	1.0/0.58	1B100F-4*	¥6,400
Single Capillary	4 in.	500	1.0/0.58	1B100-4	¥5,100
Single Capillary	4 in.	350	1.2/0.68	1B120F-4*	¥6,400
Single Capillary	4 in.	350	1.2/0.68	1B120-4	¥5,100
Single Capillary	4 in.	225	1.5/0.84	1B150F-4*	¥7,200
Single Capillary	4 in.	225	1.5/0.84	1B150-4	¥6,400
Single Capillary	4 in.	125	2.0/1.12	1B200F-4*	¥6,400
Thin-Wall	4 in.	500	1.0/0.75	TW100F-4*	¥6,900
Thin-Wall	4 in.	500	1.0/0.75	TW100-4	¥6,400
Thin-Wall	4 in.	350	1.2/0.90	TW120F-4*	¥6,900
Thin-Wall	4 in.	350	1.2/0.90	TW120-4	¥6,400
Thin-Wall	4 in.	225	1.5/1.12	TW150F-4*	¥6,900
Thin-Wall	4 in.	225	1.5/1.12	TW150-4	¥6,400

*F-はフィラメント入り

長さ3インチ、6インチもございます。パッチクランプ用などもありますのでカタログをご請求下さい。



ワールド プレシジョン インストルメンツ

〒153 東京都目黒区中目黒1-4-2, 702 電話: 03-3760-5050 Fax: 03-3760-5055
e-mail: 71124,2173 @Compuserve.com

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。

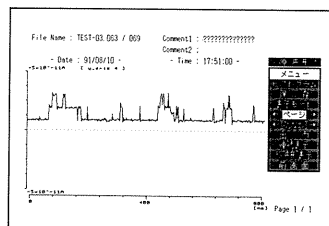
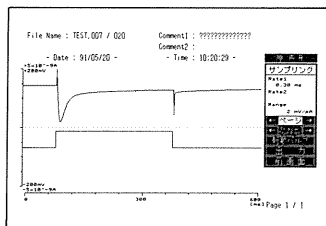
ステップパルスジェネレータ SET-1201

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

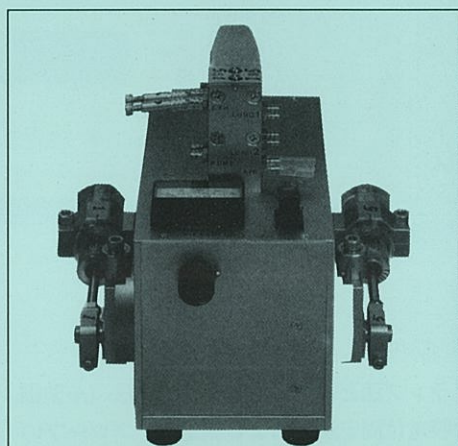
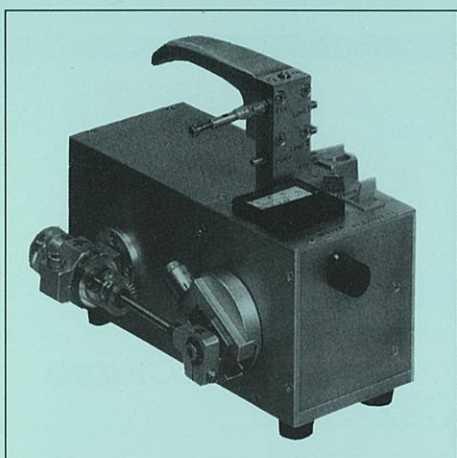
パッチクランプ法及びホールセルクランプ法により測定された微小イオン電流のデータを、パーソナルコンピュータ（PC-98シリーズ）を使用して、保存・解析するためのプログラムです。



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宛ご請求下さい。

KN-55 KN式 小動物人工呼吸器



特長

- 従来のものより小型でコンパクトに設計された呼吸器です。
- スピードコントロールモーターの採用で呼吸回数は、無段階に連続可変が行なえます。
- タイミング弁の採用で、呼吸気量を正確に設定できます。
- 4種類のシリンダーを交換することにより、呼吸気量を更に精密に設定できます。
(標準器には希望シリンダー1本付、他はオプション)
- シリンダーが1連式と2連式の2機種があります。

仕様

シリンダーサイズ	内寸×長さ	容量
L	φ24×L57mm	約25ml用
M	φ20×L57mm	約17ml用
S	φ14×L57mm	約8ml用
SS	φ10×L57mm	約4ml用

本体寸法

W95×D215×H120mm

※実用容量はストローク20mmです
ので異なります。

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

編集兼
発行人

金子章道
東京都文京区本郷三丁目一〇番一
布地ビル(四階)
日本生理学会

印刷者
印刷所

平田正
山形県鶴岡市山王町二四一四
鶴岡印刷株式会社

発行所

日本生理学会
東京都文京区本郷三丁目一〇番一
布地ビル(四階)

振替
A 〇〇三三
替 〇一八
〇〇三三

定価
一〇八
四
八
千
四
三
三
円
〇
九
四