

日本

生理学

雑誌

JOURNAL OF THE PHYSIOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

58巻

1号

1996

生理学論文表題集の原稿記載についてお願い

生理学論文表題集記載要項

平成7年度(1995)論文表題集申込み案内

日本生理学会評議員候補者公募について

評議員推薦書

[巻頭言] 金子章道：自分たちの機関誌を育てよう…………… 1

INFORMATION…………… 3

CALENDAR…………… 5

PROFILE…………… 6

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」

飯野正光：Caged 化合物と Ca イオン濃度測定…………… 7

学会抄録

第46回西日本生理学会…………… 15

第42回中部日本生理学会…………… 37

日本生理学会会則

日本生理学雑誌投稿規定

生理学領域における動物実験に関する基本的指針

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

教 室
主任殿
研究室

生理学論文表題集の原稿記載についてのお願い

日本生理学雑誌編集委員会

生理学論文表題集を編集しますので、原稿をお送り下さい。貴教室（研究室）の1995年1月～12月内に印刷されました生理学に関連する論文、抄録の表題を下記の記載要領に従い記入して下さい。封筒の表には、論文表題と明記して1996年4月末日（厳守）までにお送り願います。

尚、該当するものがない場合もその旨を必ずお知らせ下さい。

生理学論文表題集記載要項

1. 論文の分類は次のA、Bの分類のみとします。
A. 論文（著書、総説を含む、欧文、和文の順で記入して下さい）
B. 学会抄録（予稿集は含みません。欧文、和文の順で記入して下さい）
2. 用紙はA 4の白紙を用い、横160 mm、縦230 mmの範囲（厳守）に、横50字、縦46行で記入して下さい。英文はこれに準じます。使用されるワープロソフトによって字数、行数は多少変わるでしょうが、上記の基準は目安とお考え下さい。原稿をB 5に縮小コピーしてみて、記載例と、ほぼ同じになることをご確認下さい。
3. プリンターは必ずレーザープリンター等のハイクオリティープリンターをご使用下さい。
4. 原稿用紙上段右の所属名欄にはご自分の所属を必ず記入して下さい。
5. A（論文）、B（学会抄録）を通じ、著者名の前に通し番号を附して下さい（記載例参照）。
6. 著者氏名、論文表題名の順にお書き下さい。句読法については Open system を採用します。JJ Pの論文リストをご参照下さい。雑誌名の省略法は Index Medicus に従って下さい。

A. 論文

1. Nagashima T, Ohinata H & Kuroshima A (1994) Involvement of nitric oxide in noradrenaline-induced increase in blood flow through brown adipose tissue. *Life Sci* 54: 17-25
2. Saha SK, Moriya M, Ohinata H & Kuroshima A (1994) Lipid interference with fluorometric assay of DNA in adipose tissues under various conditions. *Jpn J Physiol* 44: 421-431
3. Ohno T, Ohinata H, Ogawa K & Kuroshima A (1994) Fasting-induced modifications of fatty acids composition in brown adipose tissue. *J Therm Biol* 19: 135-140
4. Yahata T & Kuroshima A (1994) Inhibitory role of prolactin in brown adipose tissue thermogenic activity. *Jpn J Biometeor* 31: 63-67
5. Moriya M, Kikuchi K, Nozu T & Kuroshima A (1994) β -endorphin does not directly stimulate BAT thermogenesis. *Jpn J Biometeor* 31: 85-88
6. Yahata T & Kuroshima A (1994) Role of prolactin in brown adipose tissue thermogenic activity. *Temperature Regulation, Recent Physiological and Pharmacological Advances*, Ed. AS Milton (Advances in Pharmacological Sciences) Birkhauser Verlag Basel, 327-331
7. Iwamoto J, Morin III FC, Inaba M, Gorfien SF & Battista PJ (1994) Direct measurement of nitric oxide from ovine endothelium cultured in endothelial-SFM. *Focus* 16: 31-33
8. Iwamoto J, Krasney JA & Morin III FC (1994) Methemoglobin production by nitric oxide in fresh sheep blood. *Respir. Physiol.* 96: 273-283
9. Iwamoto J, Pendergast DR, Suzuki H & Krasney JA (1994) Effect of graded exercise on nitric oxide in expired air in humans. *Respir. Physiol.* 97: 333-345.
10. 黒島晨汎 (1994) 熱産生器官・褐色脂肪組織の適応生理. *臨床体温* 14: 1-13
11. 黒島晨汎 (1994) (分担訳) 第17章 内分泌 In スタンダード 人体生理学 (RFシュミット/Gテウス編) 佐藤昭夫監訳 374-402 シュプリンガー・フェアラーク東京
12. 黒島晨汎 (1994) 寒冷適応と褐色脂肪組織. *臨床環境医学* 32: 81-84

B. 学会抄録

13. Iwamoto J, Pendergast DR & Krasney JA (1994) Effect of graded exercise on nitric oxide in expired air in humans. *FASEB J* 8:A687
14. Ohno T, Ogawa K, Moriya M, Ohinata H & Kuroshima A (1994) Nutritional conditions and brown adipose tissue (BAT) fatty acids (FA) -with sepecial reference to overfeeding and iron deficiency-. *Jpn J Physiol* 44(Suppl) S281
15. Saha SK, Moriya M, Ohinata H & Kuroshima A (1994) Fluorometric assay with hoechst 33258 of DNA in adipose tissues under various conditions. *Jpn J Physiol* 44(Suppl) S281
16. Moriya M, Ohinata H, Yahata T, Ohno T, Ogawa K & Kuroshima A (1994) Nutritional conditions and brown adipose tissue (BAT) thermogenesis -with special reference to overfeeding and iron deficiency-. *Jpn J Physiol* 44(Suppl) S285
17. Nagashima Y, Kikuchi K, Nagashima T & Kuroshima A (1994) Effect of fasting on rat brown adipose tissue with special reference to in vitro thermogenesis and lipolysis-. *Jpn J Physiol* 44(Suppl) S286
18. Nagashima T, Ohinata H & Kuroshima A (1994) Effect of nitric oxide on blood flow through brown adipose tissue in the rat. *Jpn J physiol* 44(Suppl) S286
19. Ohinata H, Saha SK & Kuroshima A (1994) Effect of cold plus immobilization stress on in vitro thermogenesis and GM3 level of rat brown adipose tissue. *Jpn J Physiol* 44(Suppl) S287

平成 7 年度(1995)論文表題集申込み案内

日本生理学雑誌編集委員会

1996年4月末日を以ってご提出願います論文表題集は、1996年7月に出来上がりますのでお申込み下さい。本表題集は、限定版のため追加印刷が許されませんので、至急に購入申込みを完了願います。教室、研究室におかれては最低2部(図書館を含めて)のご購入をぜひお願いいたします。申込みには、郵送用宛名ラベルに必要事項を記入の上、論文表題集用原稿と一緒に送り願います。

尚、ご送金は論文表題集送付の際振込用紙と、国立大学及びこれに準ずる機関には事務処理上必要な見積、納品、請求書を一括したものを同封いたしますから、折り返しご送金下さいますようお願い申し上げます。その際各教室名を明記して下さい。

また、個人でも申込みが出来ます。その際は、下の郵送用宛名ラベルをコピーして必要事項を明記の上お送り下さい。

宛先 日本生理学会(〒113 東京都文京区本郷 3-30-10 布施ビル内)

平成 7 年度(1995)論文表題集

定価 1部 金7,000 円也

(郵送料込み)

郵送用宛名ラベル

郵便番号

住 所

氏 名

殿

平成 7 年度(1995)論文表題集 () 部

教 室
主任殿
研究室

日本生理学会評議員候補者公募について

日 本 生 理 学 会

拝啓 時下益々ご清栄のこととお慶び申し上げます。

さて、本学会におきましては、1996年度評議員を公募致します。教室、研究室に適当な候補者がございましたら、ご推薦を賜りますようお願い申し上げます。

下記の必要書類を2月28日(厳守)までにお送り下さい。

尚、1995年度生理学論文表題集の原稿とは別便にて評議員候補者推薦と明記の上日本生理学会宛お送り下さい。

記

1. 評議員推薦書（所定の書式によるもの）1通
2. 履 歴 書
3. 業 績 目 録

資 格

- A. 満3年以上本会員として在籍し、満5年以上の研究歴があるもの
- B. 会費納入者であること
- C. 評議員は The Japanese Journal of Physiology を購読するものとする

評 議 員 推 薦 書

下記の会員を評議員に推薦いたします。

推薦理由：

日 本 生 理 学 会 御 中

平 成 年 月 日 評 議 員

印

評 議 員 候 補 者 履 歴 要 約

氏 ふりがな 名 _____ 生年月日 _____ 年 月 日

_____ 年 大学 学部卒

卒 業 年 次

_____ 年 大学院

研 究 歴 _____ 年 学 位 有 ・ 無 (○印) _____ 博士

所 属 機 関 _____ 職 名 _____

※日本生理学会入会 _____ 年 月

○業績目録および履歴書を添付すること

※印は学会で記入します

目 次

生理学論文表題集の原稿記載についてのお願い

生理学論文表題集記載要項

平成7年度(1995)論文表題集申込み案内

日本生理学会評議員候補者公募について

評議員推薦書

〔巻頭言〕 自分たちの機関誌を育てよう (金子章道) 1

INFORMATION

財団法人タカノ農芸化学研究助成財団平成8年度研究助成対象者募集要領..... 3

「第2回生理学女性研究者の集い」のお知らせ 3

事務局から 日本生理学会会費払込みのお願い..... 4

CALENDAR

主な学会開催日程..... 5

PROFILE

「生理学者群像」(山根 茂君)..... 6

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」

飯野正光：Caged 化合物と Ca イオン濃度測定 7

学会抄録

第46回西日本生理学会..... 15

第42回中部日本生理学会..... 37

日本生理学会会則..... i

日本生理学雑誌投稿規定..... iii

生理学領域における動物実験に関する基本的指針..... vi

〔巻頭言〕

自分たちの機関誌を育てよう

JJP 編集委員長 金子章道

われわれ研究者の仕事は、世の中に公表されて初めて完結する。公表する方法は幾通りもあるかと思うが、われわれのコミュニティー（研究者の社会）で成果として認められるためには、客観的な評価方法である査読によって適格だと認められた論文が学術雑誌に掲載されることが必要である。学術雑誌の数は多い。日本生理学会が編集している Japanese Journal of Physiology (JJP) もそのひとつである。

第二次世界大戦後長い間、我が国では西欧の科学技術を導入し、それを模倣する時期が続いた。その間、我が国は科学情報の受け手であった。しかし、自らの手でオリジナリティを産み出すべき時代となった今日、こちらからも優れた情報を発信し、対等な立場で研究の国際協力を行う必要がある。科学情報の交換は双方向性でなくてはならない。

最近、論文投稿に関して耐え難い経験をした。JJP に掲載された論文を引用論文としたところ、自分の身の回りにそのような雑誌はないので原稿を評価出来ないというコメントである。これは投稿者を侮辱したコメントである。仮に、その査読者は購読していなかったにせよ、図書館の相互貸借制度などを利用すれば引用論文を見ることは出来ないはずはない。反面、この事実は JJP が余り普及していないことを如実に示している。

研究者は誰しも自分の行った研究が高く評価されることを希望する。そのために、論文が評価の高い学術雑誌に掲載されることを望む。学術雑誌の評価基準としては、優れた論文が多く掲載されていること、世界中に広く配布されていて購読者が多いこと、掲載された論文がそれ以降の研究を進める上で大きな影響力を及ぼすことなどであろう。しかし、これらの要素は複雑に絡み合っている。優れた論文が多く掲載されていれば、自ずと購読者は増えるであろう。購読者の多い雑誌には投稿が増え、紙面は限られているから採択論文は厳選されることになる。このような良循環が学術雑誌の質の向上につながる。

これまで JJP の編集委員を務められた諸先輩が雑誌の質を向上させるためにたゆまぬ努力を重ねてこられた。私自身も委員長をお引き受けして以来、この目的のためにさまざまなことを試みてきた。しかし、この目的は一朝一夕に達せられるものではない。雑誌は投稿者があり、購読者があって成り立つものである。特に、学術雑誌の場合にはそれ以外の要素は何もない。生理学会の機関誌である JJP の場合、主たる投稿者は日本生理学会会員である。

多くの国は自国の学術雑誌を持っている。国際化したといっても、Journal of Physiology は英国生理学会の雑誌であり、American Journal of Physiology は米国生理学会の

雑誌である。その雑誌はその国の研究水準を反映するものとして、それぞれの会員は雑誌に高い誇りを持っている。会員諸賢をはじめ我が国の研究者の中には、国際的にもトップレベルの研究をされている方が大勢おられる。ところが、我が国の雑誌のレベルは日本の研究水準に比べて、あるべき水準より極めて低いと言わざるを得ない。

そろそろわれわれの力で誇れる雑誌を作れる時が来たと思う。我が国の優れた生理学研究論文が JJP に多数掲載されるようになれば、外国の研究者も JJP を無視することは出来なくなるであろう。JJP を生理学会員が誇れる高い水準の学術雑誌に育てるために会員諸賢の一層の努力と協力を望むものである。

INFORMATION

財団法人タカノ農芸化学研究助成財団 平成8年度研究助成対象者募集要領

本財団は、農学、特に農芸化学に関する学術研究を助成し、もって学術研究の発展に寄与することを目的とし、設立されました。

本年度は、農芸化学等に関する研究を行っている大学等の研究機関の研究者に対し研究助成金を交付いたします。特に、若手研究者への助成の枠を設け、今後の当該分野の研究促進に役立ちたいと考えています。

平成8年度は、次の要領で助成対象を募集いたします。

1. 研究課題

- (1) 穀類並びに豆類の栽培・育種に関する研究
- (2) 穀類並びに豆類の品質・成分並びに栄養生理等に関する研究
- (3) 穀類並びに豆類の利用及び加工技術に関する研究
- (4) 納豆菌等微生物の特性・生成酵素等に関する研究

2. 研究助成対象者

- (1) 大学および短大の研究者
- (2) 国立試験研究機関の研究者

- (3) 公立試験研究機関の研究者
- (4) その他本財団が適当と認めた研究者

3. 助成金額

一般研究者 1件100万円を5件程度
若手研究者(昭和36年4月1日以降に生まれた者)
1件50万円を5件程度

4. 交付時期

平成8年5月予定

5. 申請手続き方法

当財団所定の申請書に必要事項を記入し、平成8年3月20日(必着)までに送付願います。尚、申請書用紙は、郵送用切手(130円)同封のうえ、下記あてにご請求下さい。

6. 申請書請求先および送付先

〒311-34 茨城県東茨城郡小川町野田字大沼頭1542
(財)タカノ農芸化学研究助成財団
電話番号 0299-58-3805 タカノフーズ(株)内
財団事務局
FAX 0299-58-3847

「第2回生理学女性研究者の集い」のお知らせ

生理学女性研究者の会 Group Dinner を第73回日本生理学会の折、下記の要領で開きます。今回は、横浜市立大学教授 貴邑富久子先生をお迎えして「ゴナドトロピン分泌の中枢性調節機序」についてお話頂き、その後懇親会に移る予定です。

参加申込みは3月15日までに下記へ葉書(またはFAX, E-mail)で。

日 時: 1996年4月3日(水) 午後6時より

場 所: 福井市平安閣(TEL: 0776-25-8911)
学会会場より徒歩10分、当日マイクロバスが出ます。学会受付に提示。

会 費: 6,000円

世話人: 金沢大学医学部第二生理 少作隆子

〒金沢市宝町13-1

(TEL: 0762-62-8151 ext 2247,

FAX: 0762-62-1657)

shosaku@kenroku.ipc.kanazawa-u.ac.jp

事務局から _____**日本生理学会会費払込みのお願い**

平成8年度会費8,000円をお払込み頂きたいお願いいたします。本号に振替用紙を添付してあります。7年度会費8,000円未納の方々にはお知らせしてありますのでまとめて納入して下さい。各教室等研究機関でまとめてお振込みいただくと幸甚です。所属の変更、入会希望の方がおられましたら、ご連絡下さい。本会の年度は1月～12月となっております。退会等の場合は前年度中に文書でご連絡下さい。図書館、研究所等団体の7年度講読料は9,500円です。なお JJP の講読料の払込先は日本学会事務センター（振替口座 00130-9-55247）です。生理学会会費とは別扱いになります。ご注意下さい。

銀行口座自動引落しシステムご利用の方へ

平成8年度会費8,000円の引落日は、平成8年2月23日(金)ですので銀行口座へのご入金の前日までをお願い致します。

尚、前年度未納分がある場合は合算して引落させていただきます。

日本生理学会

〒113 東京都文京区本郷3-30-10 布施ビル

電話 (03) 3815-1624

振替口座 00130-0-86430

CALENDAR

主 な 学 会 開 催 日 程

開 催 日 (演題締切)	名 称	会 場	連 絡 先
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. 2.10	平成7年度文部省公開シンポジウム チャネルとトランスポーターの 構造・機能協関	東京：東京医科歯科大学	東京医歯大 第二内科 丸茂文昭 ☎03-5803-5212 FAX：03-5803-0132
96. 2.16	千里ライフサイエンスセミナー 細胞周期とアポトーシス	大阪：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振興財団 セミナー係 ☎06-873-2001 FAX：06-873-2002
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	慶應大 医 生理 植村・金子 ☎03-3353-1211 FAX：03-3357-5445
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. 6.29	第8回非侵襲脳機能局在研究会	東京：海運クラブ	世話人：伊藤正男・本間三郎 事務局：千葉大 医 第一生理 ☎043-226-2026 FAX：043-226-2028
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。

PROFILE

「生理学者群像」

山 根 茂 君

電子技術総合研究所
大阪ライフエレクトロニクス研究センター センター長
筑波大学大学院医学研究科 連携大学院教授
平成7年4月30日就任



私は工学部電気工学科の卒業でこの紙面に登場して
くのは場違いと思っていますが、生理学関係の研究
を始めるきっかけは大学にまで逆のぼります。大阪大
学卒業当時の藤井克彦教授、入所当時の電総研の杉江
昇研究室長の、「生体を実際に調べなければいけない、
言葉だけでなく、実験しよう」との雰囲気によって、
ネコを使った視覚系の実験を手伝い始めたのがきっか
けだったように思います。その頃は、基礎的な知識や
技術も乏しく、つまり伝統が無かったので闇夜を手探
りで進んでいた感がありました。

実験技術の上で大きな影響を受けたのは、オースト
リア国立大学に留学した時でした。その John
Curtin School of Medical Research の P. O. Bishoph 教
授のもとで1年半、ネコの視覚領の単一ニューロンの
視覚特性を精密にそして詳細に調べる実験に従事した
わけです。実験の準備から後片付けまですべての作
業・実験がルーチン化され、またその作業に最適な器
具、装置が取りそろえられていた。最良の状態の実験
動物を用意し、出てくるデータは所期の目的にすべて
使おうとする、失敗の無い、無駄の無い研究を進める
環境でありました。これが科学の進歩に貢献する貴重
な実験動物を大事に使うという精神にも通じていたと
思う。つまり、実験技術の腕が良いこと、いい腕前が
常に発揮できる環境を整えておくことという当然のこ
とをオーストラリアで学んだわけです。

世の中、インターネットやマルチメディアと情報社
会の到来が至近に迫っています。情報社会を構築する
ハードは端末からネットワークまで急速に整備が進め

られていきます。しかし、それを使いこなす技術はま
だまだ未熟です。その大きな理由は、使う立場の人間
の特性がよくわかっていないからです。つまり人間の
感覚・認識・記憶や行動の特性とマッチングが取れた
技術が求められています。また機械が人間と同じよう
に言葉や表情、文字を理解できれば、情報弱者でも自
由に情報機器を使いこなすことができるでしょう。

電総研での脳研究はこのような観点から始められま
した。したがって、脳の特性について色々な現象を集
めるだけでは不十分で、様々な現象を統一的に説明で
きる法則や規則性を発見することが必要です。これが
従来の例にない応用問題も解ける知的なコンピュータ
になり、人間から使いやすいと言われることになりま
す。

1995年の4月まで筑波の電総研情報科学部脳機能研
究室で室長を務めていました。そこでは今も無麻酔サ
ルをつかった神経生理学的実験を視覚、眼球運動、学
習、運動制御などの場面で展開しています。5月から
は大阪の電総研のライフエレクトロニクス研究セン
ター(LERC)に移り、新たな研究を展開すべく準備を
進めています。ここには122チャンネルの全頭型脳磁
計があり、人間の脳の働きを完全非侵襲で計測できま
す。今後ここではサルと人間を対象に脳研究の新分野
を開拓したいと思っています。

現象から一般論を推定するために、情報の考えを取
り入れた分析を行う情報生理学に興味のある、大阪
LERCで研究したいという若い情熱ある脳研究者の参
加を求めています。

シリーズ「細胞内 Ca イオン濃度の光学的測定法」

Caged 化合物と Ca イオン濃度測定

飯野 正 光

(東京大学医学部薬理)

I. はじめに

ケージド化合物は主として生理活性のある物質を化学修飾し、活性を隠蔽した状態にした化合物であり、この化学修飾を光照射によって解除して活性を復活させるようにしたものである^{1,7,9,11,12}。ケージド化合物の種類にもよるが、通常光分解反応はミリ秒かそれ以下で完了する。従って、標本にケージド化合物を予め投与しておき、光照射を行うと急速に生理活性物質の濃度を上昇させることができる。このことから、生理活性物質の作用動態の解析にケージド化合物は有効な手段となる。さらに光照射の部位を限定すれば、局所的な投与も可能である。従来、急速に生理活性物質の濃度を人為的に変化させたいときは急速に溶液を交換するか、電荷をもった物質なら電気泳動的に局所に投与する方法に頼らざるを得なかった。しかし、ある程度サイズのある標本全体に投与したい時は拡散に要する時間が無視できず、数秒から数分の時間遅延がどうしても生じていた。ケージド化合物を用いれば比較的大きな標本でも、光透過性が十分あれば急速に濃度変化を生じさせることができる。

一方、単離細胞のように微小な標本を用いるときは、パフイングピペットを用いれば数ミリ秒程度あるいはそれ以下の時間で細胞周囲の溶液交換が可能であると言われている。このような場合、ケージド化合物を使うべきかどうかは目的を考慮して良く考えるべきであろう。ケージド化合物では、単に光を照射するだけなので、溶液交換に伴う液流による細胞の移動などはないという利点があるが、後述する光照射に伴うアーチファクトが生じる可能性もあり、ケージ

ド化合物の種類が限られていることと、現時点では濃度変化の方向は単一(通常、増加のみ)であるという短所もある。もし、細胞内でしかも急速に濃度変化を与えたいのなら、ケージド化合物の有用性は高い。さらに、光照射のスポットを小さくできれば、自由に細胞内で濃度変化を起こす位置を決めることさえ理論的には可能である。

II. 原 理

図1 Aは例としてケージド IP₃ の光分解反応を示したものである。ケージド IP₃ は、IP₃ の4位(ないし5位)のリン酸にニトロベンジル基を修飾したものである。このために IP₃ 受容体はこの物質を IP₃ と認識できない。紫外光(<360 nm)の照射による光化学反応の結果、この修飾がはずれて、IP₃ とニトロソベンズアルデヒドと H⁺ が生じる。この反応自体は数ミリ秒で完了するので、強いパルス状の光照射を行うと IP₃ 濃度を急速に上昇させることができる。多くの生理活性物質は、IP₃ と同様にリン酸基あるいはカルボキシル基を持っているので、同じストラテジーでケージド化合物を作ることができる。

同じくケージド化合物として扱われているが、ケージド Ca²⁺ は Ca²⁺ 自身を修飾するのではなく、Ca²⁺ キレート試薬に修飾を導入することによって作られている。Nitro 5 や Nitro 7 などは、EGTA のアナログであり、光照射により Ca²⁺ に対する結合定数が変化する⁴⁾。しかし、あまり大きな変化ではないので、光分解されたケージド Ca²⁺ にも Ca²⁺ は結合できる。

一方、DM-nitrophen⁸⁾ と NP-caged EGTA²⁾

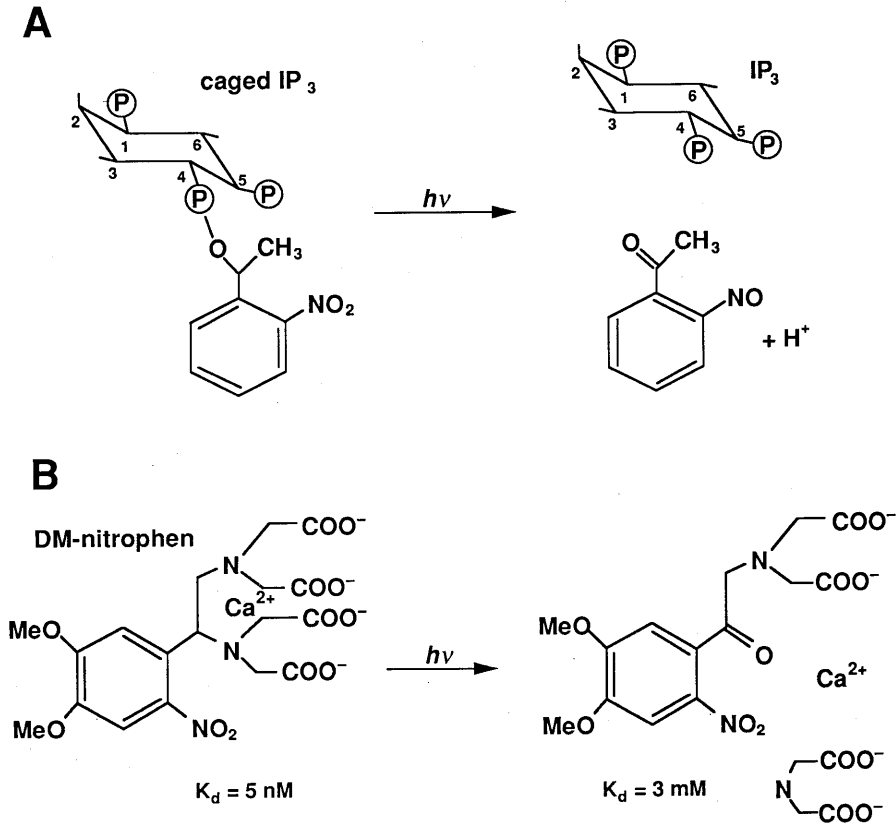


図1. ケージド IP₃(A) と DM-nitrophen(B) の光分解反応

はそれぞれ EDTA と EGTA のアナログであり、光照射によって分子が二つに分かれ Ca²⁺ に対する親和性が著しく低下して Ca²⁺ を遊離する (図1 B)。従って、 μM 付近の Ca²⁺ 濃度では、光分解されたケージド Ca²⁺ に Ca²⁺ が再結合することは事実上無視できる。しかし光照射によって100%光分解反応を起こすことは難しいので、ケージド Ca²⁺ が Ca²⁺ で飽和していない初期条件では、ケージド Ca²⁺ から遊離された Ca²⁺ が、未分解でかつ Ca²⁺ を結合していないケージド Ca²⁺ に再結合する可能性があることに留意する必要がある。DM-nitrophen は Mg²⁺ が存在する条件ではケージド Mg²⁺ としても機能するが、NP-caged EGTA は Mg²⁺ をほとんど結合しない。

1) 分解効率 1回の光照射によって分解されるケージド化合物の量は、光の強度、照射時間

と量子収率によって規定される。量子収率は、吸収された光子数に対して、実際に光化学反応が進行した分子数の比を表し、ケージド化合物では1より小さい。ケージド ATP では0.54と報告されている。したがって、効率良く短時間で光分解を行うためにはできるだけ強い光を照射することが必要となる。

2) 内部遮蔽効果 ケージド化合物は当然紫外部に吸収があるので、ケージド化合物を含む溶液中では光分解用の光が減衰する。光路が短ければほとんど問題にならないが、光分解用の照射光が高濃度のケージド化合物溶液を長い距離通過するときは、光路の前方部と後方で分解量が異なってしまう。そのような実験系はできるだけ避けるのが賢明である。

Ⅲ．必要な実験器材

1) 機器・設備 基本的機器は紫外光の照射装置である。光源として、大きくレーザーとキセノンランプがある。大きな標本全体をレーザー光で照射するには強力なレーザーが必要であ

り、ルビーレーザーの周波数を2倍にして用いたり(347 nm), Nd:YAG レーザー(355 nm)が用いられている。一方, 照射する標本が顕微鏡で観察するような小さなものであれば, 照射光を顕微鏡の落射照明装置から導き対物レンズを用いて集光し, 視野の一部分だけに照射するよ

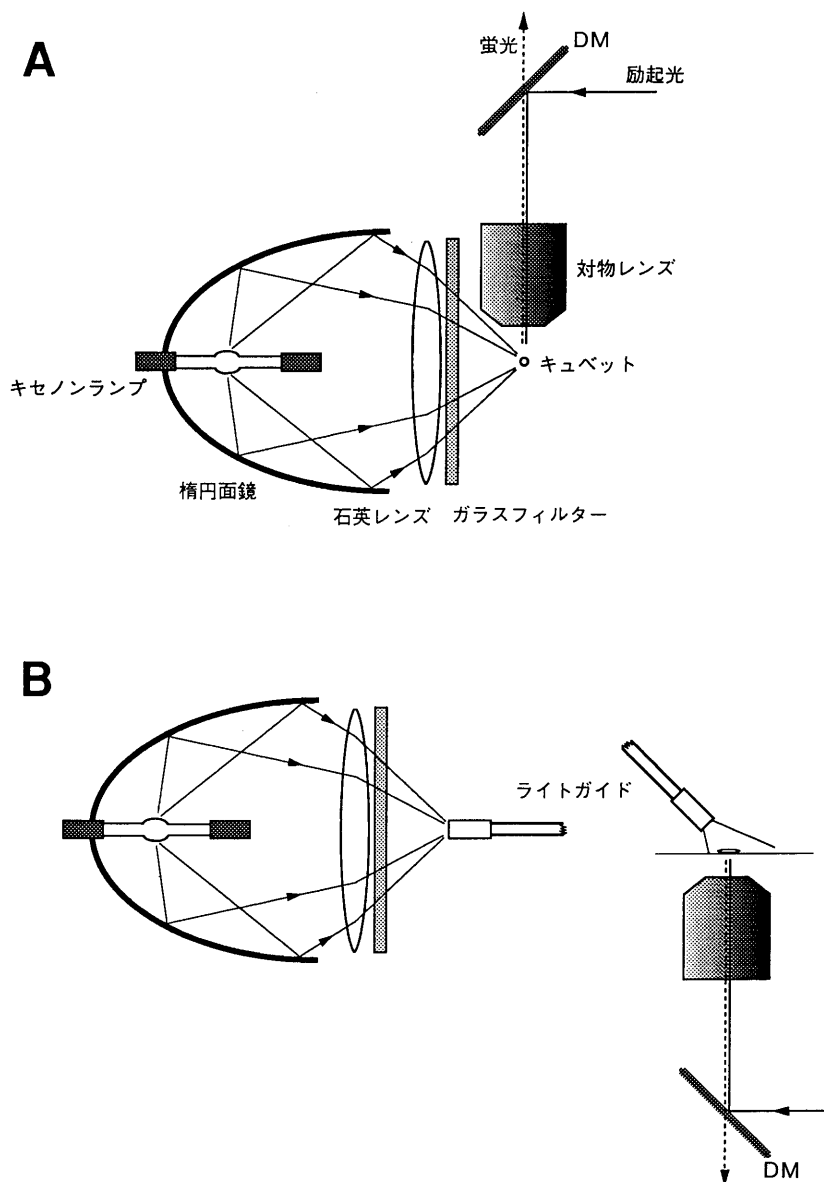


図2. キセノンフラッシュランプを用いた光分解と同時に蛍光測定を行う方法の例。A. フラッシュの焦点にキュベットを置く方法。B. ライトガイドを用いて離れた場所に光を照射する方法。フラッシュランプの代わりにレーザーを用いることも可能。DM: ダイクロイックミラー。

うにすれば、それほど強力なレーザーでなくとも局所的に強いエネルギーを得ることができる。波長 337 nm の窒素レーザーを我々は用いて概ね良好な結果を得ている。

キセノンフラッシュランプは、安価に強力な紫外光を得るのに有効である。堀内と船津によって開発され⁵⁾、現在国内で市販されている光源は、楕円面鏡と石英レンズを用いて集光し、ガラスフィルターによって 300~360 nm の紫外光を選んで照射することができる(図2)。フラッシュの時間は1ミリ秒程度であり、レーザーより 10^5 程度長いが、光分解効率の点ではそれだけ有利である。この光源を顕微鏡の落射蛍光装置に導いて対物レンズを介した光照射を行う装置もニコンとオリンパスから発売され

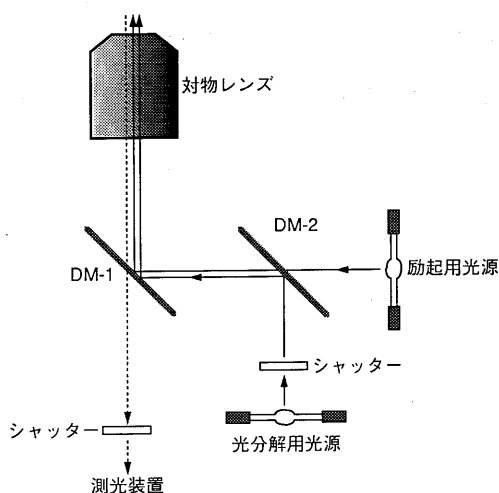


図3. 対物レンズに励起光と光分解光を導く方法の一例。

表1. 市販されているケージド化合物

細胞内メッセンジャー等		ケージドCa ²⁺	
c-AMP*	M,D	Nitr 5 (AM)	D
c-GMP*	M,D	Nitr 7	D
IP ₃	C	DM-nitrophen	C
GPIP ₂	C	NP-caged EGTA (AM)	M
ATP	M,D	ケージドCa ²⁺ キレート剤	
ADP	M	diazo-2 (AM)	M
GTP	M,D	アミノ酸	
GTP-γ-S	M	lysine	M
GDP-β-S	M	tyrosine	M
Pi	M,D	cysteine	M
神経伝達物質等 (含む拮抗薬)		alanine	M
carbachol	M	isoleucine	M
noradrenaline	M	leucine	M
phenylephrine	M	methionine	M
isoprenaline	M	phenylalanine	M
propranolol	M	tryptophan	M
serotonin	M	valine	M
dopamine	M	その他	
haloperidol	M	luciferin*	M
GABA	M	penicillin	M
aspartate	M,D	taxol	M
glutamate	M,D	fluorescein	M,D
glycine	M,D	HPTS	M
NMDA	M	rhodamine green	M
MK-801	M		
arachidonic acid	M		
NO	M,D		

C: Calbiochem, D: Dotite, M: Molecular Probe. (AM)と表示のあるのは、アセトキシメチル体が存在する。*は細胞膜を通過する。

ている。また、連続紫外光の照射時間をシャッターでコントロールして顕微鏡上で用いる装置もオリンパスから市販されている。

レーザーおよびキセノン(あるいは水銀)ランプいずれの場合も、光分解光と蛍光 Ca^{2+} 指示薬の励起光を同時に対物レンズに導くためには、例えば図3に示すように落射蛍光装置の光路に変更を加える必要がある。

ケージド化合物の溶液を調製する部屋と実験室では、紫外光を避ける必要がある。太陽光が入らないように窓には暗幕ないしブラインドを設置するが、完全暗黒にする必要はない。室内の照明は紫外線をカットした黄色い色付きの蛍光灯管を用いる。

2) 試薬 表1にこれまでに市販されているケージド化合物のリストを示す。通常これらの試薬は細胞膜を通過しないので、細胞内に導入してその効果を見る必要があれば、細胞内に注入するか、細胞膜を透過的にした標本を用いる必要がある。但し、表1でアスタリスクを付したケージド化合物は細胞膜を透過することが知られている。また(AM)と付したものは Fura-2 AM 等と同様に細胞内に負荷可能なアセトキシメチル体も市販されている。

IV. 実験法と注意点

1) 試薬の調製 ケージド化合物のストック液：蒸留水か場合によっては DMSO に溶解する。我々の研究室では、ケージド IP_3 は蒸留水で 5 mM に調製している。ケージドノルアドレナリンは、DMSO を用いる必要があった。ケージド化合物は、現在まだかなり高価で微量しかバイアル中に入っていないことが多いので、十分注意して調製する。

ケージド化合物のストック液は、我々の経験ではアルミホイルなどで遮光して -20°C で数ヶ月以上保存可能である(ATP, IP_3 , DM-nitrophenなど)。しかし、個別に確認する必要がある。

2) 蛍光 Ca^{2+} 指示薬の選択 光分解と蛍光測光を同時に行う際には、使用する色素の選択

にも注意を要する。Fura-2 や Indo-1 のような紫外光で励起する色素では、励起光で光分解が起きてしまう。十分に弱い光で励起できるなら別であるが¹⁰⁾、紫外励起の色素は避け長波長励起の色素を用いる方が安全であろう。これまでの、長波長励起色素(Fluo-3, Rhod-2)は、蛍光ないし励起スペクトルに Ca^{2+} 結合による波長シフトがなく、蛍光強度比を用いる測定ができなかったが、最近、BTC の様に蛍光強度比の測定が可能な長波長励起色素も入手可能になってきた。

3) 迷光 ケージド化合物の光照射にはかなり強い光を用いるので、蛍光 Ca^{2+} 測定を同時に行う上で注意が必要である。強い紫外光を照射するので、たとえ長波長励起の蛍光 Ca^{2+} 指示薬を用いても、励起スペクトルの裾野にかかって蛍光が生じる可能性がある。また標本の自家蛍光も生じる。キセノンランプを用いた場合、フィルターで長波長をカットしても、そもそも非常に強い光なので、蛍光 Ca^{2+} 指示薬の蛍光波長領域にもカットしきれない光が残存する可能性がある。このようなことから、測光装置に瞬間的に強い入力加わることが考えられ、光電子倍增管を用いているときはそれが一時的に不安定になる可能性がある。強い入力は CCD カメラでは問題にならないかも知れないが、残像が残る SIT カメラ等では問題となる可能性が高い。従って、場合に応じてフラッシュ中は、シャッターを閉じてセンサーに光が入らないようにする工夫が必要となるかも知れない。

4) 電気生理学的方法との併用 もし、パッチクランプなどによる電気生理学的測定も同時に考えるなら、電気的および機械的なアーチファクトにも注意をする必要が生じる³⁾。照射光が金属にあたると光電効果による光電流が生じる。従って銀塩化銀電極などに光が当たらないようにする工夫が必要となる。放電に伴う電気ノイズも生じる。また放電とともにランプハウスからボンという音が発生するが、これはキセノンランプがランプハウス内で動く音などと考えられ、これが機械的ノイズとして顕微鏡に伝

われれば、電極と細胞のコンタクトが失われることも考えられる。何れにしても、キセノンランプはファラデーケージの外に出せればそのほうがよい。その場合には、紫外光をライトガイドで導くことが必要となる(図2B)。

5) 光分解のキャリブレーション すでに述べたように、光分解がどの程度起こるかは、そのケージド化合物の量子収率、光照射時間、使用する光源の強度、光源から試料までの光学系の集光能および損失率に依存するわけである。従って、各実験装置と用いるケージド化合物で光分解率をキャリブレーションする必要がある。先に述べたように内部遮蔽効果が生じることも考え、キャリブレーションには、実際の試料と同等の光学的条件が得られるように工夫しなければならない。

もし光照射と同時に蛍光強度測定ができる実験装置であれば、BCECFなどのpH指示薬を用いることができる。多くのケージド化合物は分解とともに量子論的に H^+ を放出するので、 H^+ の増加濃度を測定すれば分解量を推定できる。

ケージド Ca^{2+} の場合は、 Ca^{2+} 濃度の増加を Ca^{2+} 指示薬で測れば良いわけであるが、実際にはかなり注意を要する。分解されたケージド Ca^{2+} 、未分解のケージド Ca^{2+} 、 Ca^{2+} 指示薬、(もしその他にも Ca^{2+} バッファーが存在すればそれも)の間で Ca^{2+} の取り合いが起こるため、一般的には分解量に正比例した蛍光強度の変化が見られるわけではない。また、ケージド化合物を高濃度(~ 1 mM以上)用いるときは、ケージド化合物の蛍光や吸収が蛍光 Ca^{2+} 指示薬を用いた測定に影響を与える可能性に注意しなければならない。特に光分解の前後で蛍光や吸収が異なる時は、さらに注意を要する。我々の経験では、Fluo-3(~ 100 μ M)よりDM-nitrophenを低めの濃度で用い、初期遊離 Ca^{2+} 濃度を100 nM程度(DM-nitrophenはほぼ Ca^{2+} で飽和している)にして小さなキューベットで実験すれば、おおむね分解量に比例した蛍光強度の変化が見られるはずである⁶⁾。

光学的測定が行えない状況であれば、分解産物を直接測定することが必要となる。ATPなどは、クロマトグラフィーでケージドATPとATPのピークに分けることも可能である。一方、生じたATPをルシフェリン・ルシフェラーゼ反応を用いて定量することもできる。IP₃の定量キットも市販されている。我々は、細いガラス毛細管中にケージドIP₃を含んだ溶液を0.2 μ l程入れこれに光照射を行い、この液を少量の水に洗いだし、IP₃濃度を測定してキャリブレーションを行った⁶⁾。なかなか測定しにくい物質の場合は、もしケージドATPと同じケージ基を持っているなら、同様の分解が起こるものと仮定してケージドATPで代用して推定することも行われている。

顕微鏡を用いて単一細胞のサイズの照射を行う場合のキャリブレーションはかなり難しい。溶液の一部分だけを光照射しても直ちに周囲の溶液とのミキシングが起きてしまう。従って光照射スポットと同サイズの溶液を用いる必要がある。オイル中にケージド化合物の水溶液の水玉を作り、これを照射する等の工夫が必要となる。しかし、照射スポットが小さいと水玉全体を照射できない。また、水玉を小さくするとオイルに水が吸収されて、水玉が消失したりするので、オイルを予め水で飽和させておく必要がある。

6) うまいかなかったら ケージド化合物による反応が全く見られない理由として次のようなことが考えられる。まずケージド化合物が目的とする部位に到達しているかという問題がある。大きな組織を使う場合、あるいはパッチ電極から細胞内に導入する場合には特に注意を要する。たとえ、十分にケージド化合物が到達していても、照射光の強度が低くて分解が十分に行われないことも考えられる。光学系の検討が必要となる。さらに、ケージド化合物自身に競合拮抗薬としての作用がある可能性も否定できない。これは、純粋な化合物の作用をケージド化合物が抑制しないかなどの実験を行えばチェックできる。また意外な盲点として、ケー

ジド化合物の濃度が高すぎる可能性もある。ケージド化合物の試料にわずかながら分解して活性を持った化合物が混入している恐れもあるし、ケージド化合物自身に弱いながらも作用がある可能性も考えられる。高濃度のケージド化合物を導入すると、それだけで反応が完全に起きてしまい、光分解した時にそれ以上の反応が観察できないということも考えられる。ケージド化合物として歴史の浅いものについては特にこのような点を注意して用いる必要がある。

照射光の影響として考えなければならないのは、強い紫外光による標本の損傷である。当然、照射回数にも依存するであろうが、標本の反応が紫外光照射によって変わらないことを確かめておく必要がある。また、同時に光学的測定を行う場合には、用いる色素の退色なども起こりえる。強力な光照射により温度変化が起こる可能性もある。とくに長波長の光が混入するのは防がなければならない。

光分解によって生じる副産物が試料に対して作用を及ぼすのを防ぐ目的で、通常 mM 以上の DTT を溶液に加えておくのが推奨されている。また、 H^+ が放出される場合には、それによって溶液の pH が大きく変化しないように十分な濃度の pH 緩衝剤を用いることが必要である。

V. お わ り に

ケージド化合物を用いる方法は、それ自体が独立した実験法というより、種々の実験法の中に組み込んで用いる実験であるため、どのように組み込んでいくかという時点で、試行錯誤を繰り返す必要がある。従って、ケージド化合物の実験は、比較的やさしいこともあれば、なかなか困難な場合もある。その辺を覚悟してかかる必要がある。しかし、確立できれば強力な手段となる。

参 考 文 献

- 1) Adams, S.R. & Tsien, R. Y. (1993) Controlling cell chemistry with caged compounds. *Annu. Rev. Physiol.* **55**, 755-784
- 2) Ellis-Davies, G. C. R. & Kaplan, J. H. (1994) Nitrophenyl-EGTA, a photolabile chelator that selectively binds Ca^{2+} with high affinity and releases it rapidly upon photolysis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **91**, 187-191.
- 3) Gurney, A. M. (1994) Flash photolysis of caged compounds. In: Ogden, D. *Microelectrode Techniques*, Chap 15, The Company of Biologists Ltd, Cambridge, 389-406
- 4) Gurney, A. M., Tsien, R. Y. & Lester, H. A. (1987) Activation of a potassium current by rapid photochemically generated step increases of intracellular calcium in rat sympathetic neurons. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **84**, 3496-3500
- 5) Horiuti, K., Sakoda, T., Takei, M. & Yamada, K. (1992) Effects of ethylene glycol on the kinetics of contraction on flash photolysis of caged ATP in rat psoas muscle fibres. *J. Muscle Res. Cell Motil.* **13**, 199-205
- 6) Iino, M. & Endo, M. (1992) Calcium-dependent immediate feedback control of inositol 1, 4, 5-trisphosphate-induced Ca^{2+} release. *Nature* **360**, 76-78
- 7) Kaplan, J. H. (1990) Photochemical manipulation of divalent cation levels. *Annu. Rev. Physiol.* **52**, 897-914.
- 8) Kaplan, J. H. & Ellis-Davies, G. C. R. (1988) Photolabile chelators for the rapid photorelease of divalent cations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **85**, 6571-6575
- 9) Kaplan, J. H., Forbush, B. & Hoffman, J. F. (1978) Rapid photolytic release of adenosine 5'-triphosphate from a protected analogue: Utilization by the Na:K pump of human red blood cell ghosts. *Biochemistry* **17**, 1929-1935.
- 10) Kirby, M. S., Hadley, R. W. & Lederer, W. J. (1994) Measurement of intracellular Ca^{2+} concentration using indo-1 during simultaneous flash photolysis to release Ca^{2+} from DM-nitrophen. *Pflügers Arch.* **427**, 169-177
- 11) McCray, J. A. & Trentham, D. R. (1989) Properties and uses of photoreactive caged compounds. *Annu. Rev. Biophys. Biophys. Chem.* **18**, 239-270.
- 12) Somlyo, A. P. & Somlyo, A. V. (1990) Flash photolysis studies of excitation-contraction coupling, regulation, and contraction in smooth muscle. *Annu. Rev. Physiol.* **52**, 857-874.



第 46 回 西 日 本 生 理 学 会

日 時：平成 7 年 10 月 20 日(金)・21 日(土)

会 場：熊本市産業文化会館

当番幹事：熊本大学医学部第一生理 志賀 潔 第二生理 小川 尚

当学会は毎年一回開催され、主として山口、九州、沖縄地区の生理学会会員が一堂に集まり徹底した学術討論を行いかつ親睦を深めるためのものです。そこで本年度は口演発表、ポスター発表、懇親会を骨格として運営いたしました。また出席者全員が常に同一会場に集まれるようにと考えました。他の専門分野の討論に参加して視野を広め、さらに学会員どうしが親しみを増すためには同一会場全員参加は最重要事であると思ったからです。

10月20日は午後1時から3時まで口演発表、3時から4時までポスター発表、4時から5時15分まで再び口演発表、夜は懇親会へと進行しました。21日は午前9時より口演発表を開始し、ポスター発表、口演発表へと進み、12時30分には全行程終了いたしました。

以前の学会ともっとも異なったところは日本生理学雑誌に掲載する抄録の提出方式です。今までは用紙に記載したものをういていたましたが、本年度は電子メールかフロッピーディスクを利用していただきました。なを学会参加者は約150名、口演発表23、ポスター発表44、使用会場は口演用1室、ポスター用1室でした。

(志 賀)

×は非会員を示す

1. 視交叉上核における GABA_A 受容体応答のアロステリック修飾

志村雅彦(九大, 医, 第二生理)

視交叉上核(SCN)は日内リズムの中核といわれており、in vivo の実験から GABA や Bicuculline の投与によって位相のズレが惹起されることから、GABA_A 受容体が日内リズムの制御に大きな役割を果たしているといわれている。しかしながら SCN での GABA_A 受容体応答について詳細に検討した報告はない。今回我々は生後2週齢のラット SCN から急性単離したニューロンにニスタチン穿孔パッチ法を用いて GABA_A 受容体応答のアロステリック修飾について定量的に検討した。

保持電位 -40 mV にて GABA を投与すると濃度依存性に内向き電流がみられ、濃度応答曲線上で EC_{50} は $1.95 \times 10^{-5}\text{ M}$ 、Hill 係数は 1.01 であった。また Pentobarbital および Pregnanolone の投与においても同様に内向き電流がみられた。GABA 応答による内向き電流は Bicuculline によって濃度依存性に抑制され、 IC_{50} は $2.08 \times 10^{-6}\text{ M}$ であった。この GABA 応答の逆転電位は $-3.4 \pm 0.7\text{ mV}$ であり、これは理論上の Cl^- の平衡電位 -4.1 mV に一致した。GABA_A 受容体にアロステリック修飾をしめす Diazepam, Pentobarbital, Pregnanolone を前投与すると、 $3 \times 10^{-6}\text{ M}$ GABA 応答は増強された。さらに $3 \times 10^{-8}\text{ M}$ Diazepam, $3 \times 10^{-5}\text{ M}$ Pentobarbital, 10^{-7} M Pregna-

nolone を各々前投与すると、SCN での GABA の濃度応答曲線は最大応答を変化させずに左にシフトした。GABA 応答の逆転電位はこれらの薬剤の有無に関わらず一定であった。

SCN における GABA 応答は GABA_A 受容体を介して行われ、中枢の他の部位と同様 Diazepam, Pentobarbital, Pregnanolone によってアロステリック修飾されることがわかった。

2. ウシガエル脊髄後根神経節細胞の GABA_A 電流に対する substance-P の修飾作用

山田 圭、赤須 崇(久留米大, 医, 第二生理)

単離したウシガエル脊髄後根神経節細胞を whole-cell patch-clamp 法にて膜電位を -60 mV に固定し、GABA 誘起内向き電流を記録した。GABA ($100\text{ }\mu\text{M}$) を 5 秒間灌流投与する事によって得られた GABA 電流は、substance-P (SP: 100 nM) 3 分間の存在下で非競合拮抗的に $30.6 \pm 2.7\%$ 抑制された。また Ramp 波 (-60 mV から脱分極、過分極方向へ 1 秒間 70 mV) を用いた I-V curve から GABA の逆転電位 (E_{GABA}) を求めた。SP はこの E_{GABA} を変化させなかった。この GABA 電流の抑制は SP の agonist である neurokinin A (NKA), neurokinin B (NKB) でも再現され、作用強度は $\text{SP} > \text{NKA} \gg \text{NKB}$ であった。この抑制作用は NK_1 受容体の antagonist である spantide ($1\text{ }\mu\text{M}$)、また NK_1 受容体の選択的 antagonist である L-703, 606

(1 μ M)で阻害された。記録電極内から GTP- γ -S (200 μ M), GDP- β -S (500 μ M)をそれぞれ投与すると, GTP- γ -S により SP は不可逆的に GABA 電流を抑制し, GDP- β -S にて阻害された。電極内から protein kinase A 阻害剤の HA-1004 (50 μ M), H-9 (40 μ M)を投与しても SP による GABA 電流の抑制率は有意な変化はなかったが, protein kinase C (PKC) 阻害剤の H-7 の投与により $6.5 \pm 4.7\%$ までに有意に阻害された。従って, SP は NK_1 受容体及び PKC を介して GABA_A 受容体の機能を抑制している事が示唆された。

3. 上頸神経節細胞間シナプスにおけるアセチルコリン性 MEPC 振幅の活動に依存した可塑的な増強

白崎哲哉, 〓 劉 臣, 久場健司 (佐賀医大, 第二生理)

培養ラット上頸神経節細胞において, シナプス形成した細胞にホールセルパッチすると, 高 K^+ 液の濃度 jump により miniature EPSC (MEPC) が高頻度に誘発される。この MEPC は, ニコチン様 ACh 受容体 (nAChR) 拮抗薬 (d-ツボクラリン) により阻害され, 反転電位は約 0 mV であることから, nAChR の活性化により発生していると言える。MEPC の振幅は高 K^+ 液灌流中時間と共に増大し, その前後で nACh 電流の振幅を比較すると, MEPC の増大後に nACh 電流も増大した。MEPC が誘発されないかその振幅の増大が見られない場合には nACh 電流の振幅も変化しなかった。細胞内 Ca^{2+} を BAPTA 5 mM でキレートすると, MEPC 発生に伴う細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇が消失すると共に MEPC 振幅の増大も消失した。MEPC 振幅の増大は比較的長時間続く傾向を示した。MEPC の代わりに ACh を 1 分間前後連続して投与すると nACh 電流は顕著に増大した (ACh による nAChR の感作と命名)。nAChR の感作は MEPC 振幅の増大と同様に 20 分から 1 時間以上にわたり継続し, MEPC 振幅は nAChR の感作により増大した。以上の事から, MEPC の振幅増大を起こす nAChR の感作現象は, シナプス後細胞の細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇が関与した機序によると考えられ, その時間経過から middle term sensitization (MTS) と言う新たなタイプのシナプス可塑性と言える。

4. スライスパッチ法によるマウス視床下部視索上核ニューロンへのシナプス入力の解析

本田栄子, 平川輝行, 中村修一, 山下 博*, 稲永

清敏 (九州歯大, 生理・*産業医大, 第一生理)

われわれは遺伝的に多飲・多尿を示し, 体液性調節系に異常が認められる遺伝性多飲マウスの視索上核ニューロンの電気生理学的性質を調べる研究を計画している。従って, コントロール実験として正常な体液調節機構を有しているマウスを用いて視索上核ニューロンの電気生理学的性質を調べる必要がある。視床下部視索上核のパゾプレッシンおよびオキシトシンニューロンにはグルタミン酸およびガンマアミノ酪酸 (GABA) 含有線維の投射が多いことやそれら興奮性アミノ酸の受容体が豊富に存在することが解剖学的に知られている。われわれはスライスパッチ法を用いて, ICR マウスの視床下部視索上核ニューロンへの興奮性・抑制性シナプス入力および基本的な電気生理学的性質 (膜電位, 活動電位, 膜抵抗) について検索した。興奮性シナプス電流 (EPSC) はキヌレン酸により, 抑制性シナプス電流 (IPSC) はピクロトキシンにより抑制された。以上より, 興奮性神経伝達物質としては主にグルタミン酸が, 抑制性神経伝達物質としては GABA が作用していることを示唆する結果を得た。また, 従来よりシナプス伝達を遮断する目的で Ca free/high Mg 灌流液が用いられているが, この灌流液では focal 刺激によって誘発される EPSC は遮断できるが, 自発性 EPSC はほとんど影響されないことがわかった。

5. IL-1 β 末梢投与による視床下部室傍核領域のノルアドレナリン遊離への最後野の関与

石塚雄太, 加藤和男, 下川 歩, 斉田光彦, 国武孝人, 花森隆充, 河南 洋 (宮崎医大, 第一生理)

インターロイキン-1 β (IL-1 β) を末梢投与すると, 視床下部室傍核 (PVN) 領域の細胞外液中ノルアドレナリン (NA) 濃度が増加することが報告されている。今回, この反応をもたらすメカニズムに関連して, 脳室周囲器官の一つである最後野の関与を検討した。慢性的に最後野を除去した意識下ラットを用いて IL-1 β の投与による PVN 領域の細胞外液中 NA 濃度の変化をマイクロダイアリシス法で調べた。NA の基礎濃度は, コントロールラットでは 103.8 ± 38.8 pg/ml, sham ラットでは 95.2 ± 23.2 pg/ml, 最後野除去ラットでは 91.2 ± 25.5 pg/ml でした。IL-1 β (0.4, 4 μ g/kg) を腹腔内投与すると, PVN 領域の NA 濃度が, 用量依存的に増加した。IL-1 β (4 μ g/kg) を静脈内投与すると, NA 濃度が有意に増加し, その反応の潜時

は腹腔内投与に比較して短い傾向を示した。最後野除去ラットに IL-1 β を腹腔内投与すると、PVN 領域の NA 濃度が有意に減弱し、なおその反応は消失しなかった。以上より、最後野は、IL-1 β 腹腔内投与による PVN 領域の細胞外液中 NA 濃度の増加のメカニズムに少なくとも一部関与することが示唆された。ただ、今回最後野吸引除去を radical に施行し孤束核の一部が障害されたため、最後野除去ラットにおいて NA 濃度の増加反応の減弱を示した可能性も考えられ、今後の課題とされる。

6. ハブの赤外線感覚核と体性運動核の高レベル cytochrome oxidase

寺嶋真一, ^{*}蔭 彭佳(琉球大, 医, 第二生理)

前回調べた [³H] 2-deoxyglucose (2-DG) の取り込み実験では、ハブの脳幹赤外線感覚核と体性運動核はよくラベルされていた。この結果はこれら諸核の代謝活動が高いことを示唆している。今回の実験は組織化学法を用いて、これらの核の cytochrome oxidase (CO) の分布を調べ、前回の [³H] 2-DG の実験結果と比較した。

麻酔され不動化されたハブを 0.1 M リン酸緩衝液に 2.5% paraformaldehyde と 1.5% glutaraldehyde を混合した液で灌流固定した。脳を取り出し、30~50 μ m の凍結切片を作った。この切片を cytochrome C と DAB などを含む反応液に 1 時間 37℃ で反応させて、ガラス slide に乗せ、乾燥させてから光学顕微鏡で観察した。脳幹の外側下行路核と熱核ではこの酵素は濃染した。外側下行路核では大小の細胞と neuropil はよく染まったが、下行路核は染まらなかった。熱核では細胞だけが染まった。体性運動核、特に三叉、顔面神経運動核、及び舌下神経核はよく染まったが、迷走神経背側運動核は染まらなかった。この傾向は前回調べた [³H] 2-DG を取込む神経核の分布と一致した。以上の結果はこれら [³H] 2-DG の高い取込みを示す諸核と CO レベルの高い諸核の代謝活動が高い相関関係にあることを示している。

7. 実験的虚血による脳細胞死はいつ発生するか

田中永一郎, 山本悟史, 東 英穂(久留米大, 医, 第一生理)

成熟雄性ラット海馬スライス標本作製し、CA1 錐体細胞から細胞内記録を行なった。無酸素・無グルコース Krebs' 液を投与(虚血類似負荷)すると、約 6

分後に急峻な脱分極電位が発生し、その直後に正常 Krebs' 液で再灌流(再酸素化)しても持続性脱分極電位が遷延し、約 2 分後には膜電位、膜抵抗が消失した。急峻な脱分極電位の振幅(約 60 mV)と逆転電位(約 -15 mV)は外液の Na⁺, Ca²⁺, Cl⁻ に依存したが、K⁺ には有意な影響を受けなかった。低酸素負荷で急峻な脱分極と同時に細胞外 K⁺ の蓄積が起こることを考え合わせると、脱分極電位発生に K⁺ が関与すると考えられた。急峻な脱分極電位発生後 1 分以内に無 Ca²⁺・2.5 mM Co²⁺ 含有液で再酸素化すると膜電位が回復した。Biocytin 封入電極を用いて錐体細胞を染色してみると、急峻な脱分極電位発生直後に small blebs が、1~2 分後に large blebs が認められた。すなわち細胞膜の small blebs が large blebs に変化することによって不可逆性変化が生じると考えられた。

8. 脳への交感神経は血圧上昇時に興奮する

前田正信, 井上正岩, 平川晴久, ^{*}池上 容, ^{*}高尾聖二, 林田嘉朗(産業医大, 応用生理)

交感神経の特徴は、圧受容器反射により血圧上昇時には抑制され、血圧下降時には興奮する事であるとされている。一方脳血管は、脳血流量を一定に保つ自動調節の働きのため血圧上昇の際に収縮し、血圧下降の際に拡張する。脳循環の自動調節に交感神経が関与すると報告されているので、脳血管を支配する交感神経は血圧上昇時に興奮し、血圧下降時には抑制されるとの仮説をたてた。この仮説を証明した。ウレタンにて麻酔し非動化したラットを用いた。stellate ganglion より椎骨動脈に沿って上行し、椎骨脳底動脈系の脳血管を純粋に支配するとされている vertebral nerve activity (VNA) の記録を行なった。phenylephrine の投与による血圧上昇に伴い、心拍数低下、VNA の上昇がみられた。脱血による血圧低下に伴い VNA は減少し、再注入による血圧上昇に伴い VNA は増加した。hexamethonium の投与により VNA は消失するので、記録していた神経活動は post ganglionic nerve activity であることが判明した。

9. イソアワモチ光受容器細胞の光感受性 K⁺ チャネルに対する 4-AP 及び diltiazem の作用

後藤 司(鹿児島大, 医, 第二生理)

イソアワモチ神経節にある視細胞としては未分化の光受容器細胞の光受容器電流は K⁺ channel が光照射

で閉じることによって発生する。この K^+ channel は同じく光によって閉じる (光感受性の) 脊椎動物視細胞の非選択性の陽イオン・チャンネルのようにセカンド・メッセンジャー, cGMP と結合することによって直接開くことが知られている。今回、この光感受性の K^+ channel を特徴づけるために、4-aminopyridine (4-AP) 及び *l*-cis-diltiazem (diltiazem, 田辺製薬) の効果を調べた。

外液に投与した 4-AP の作用は濃度に依存し、光受容器電流は $250 \mu M$ の 4-AP によって完全に遮断された。しかし、 I_K , I_C に効果的な TEA を、 $50 mM$ 与えてもこの受容器電流は変化しなかった。cell-attached 型記録による当該単一 K^+ channel に対して、外液に与えた $100 \mu M$ 4-AP はチャンネルの開確率及び開時間を減少させたが、単一チャンネル電流の大きさ及び閉時間に有意な変化を示さなかった。一方、外液に投与した $500 \mu M$ diltiazem は光受容器電流を完全に遮断した。単一チャンネルの解析から、 $50 \mu M$ diltiazem は当該 K^+ channel に対して、4-AP と同様に slow open-channel blockers として作用することが示された。

今後、脊椎動物視細胞の光感受性の非選択性イオン・チャンネルを特異的に遮断する diltiazem が当該未分化の視細胞の光感受性の K^+ channel にも 4-AP と同様に作用する意義を明らかにしたい。

10. 非選択的カチオンチャンネル活性化における細胞内 ATP の役割

井上真澄, 今永一成 (福岡大, 医, 第一生理)

モルモット副腎髄質細胞において、G 蛋白刺激薬の AIF 化合物の細胞内投与は、非選択的カチオン (NS) チャンネルを活性化する。そこで、この NS 電流発生における細胞内 ATP の役割をパッチクランプ法を用いて検討した。

AIF 誘発性 NS 電流の最大値は、AIF 含有細胞内液の ATP を AMP-PNP に置換しても又 ATP を全く除去しても影響を受けなかった。しかし、内因性 ATP を CN 化合物で枯渇させてやると、NS 電流の発生は全く AIF 含有細胞内液の ATP 濃度に依存した。Mg ATP 濃度と NS 電流の最大値との関係は、 EC_{50} が $0.265 mM$ のミカエリス・メンテンタイプの式で近似出来た。GTP, ITP 及び UTP と非加水分解性 ATP アナログの AMP-PNP, ATP γ S, 及び AMP-CPP はこの ATP の活性化作用を持たなかった。

これらの結果より、NS チャンネルの活性化には磷酸化が関与すること、そして細胞内 ATP 産生機構と NS チャンネルとは機能的に関連していることが結論された。

11. ニワトリ胚心室筋の DHP-sensitive Ca^{2+} channel の調節系

波多江純真, 河田 博 (福岡大, 医, 第二生理)

心筋の Ca^{2+} チャンネルは cyclic AMP-dependent protein kinase A (PKA) に加え、protein kinase C (PKC) によっても調節されると考えられているが、その詳細は明らかではない。本実験ではニワトリ胚心室筋小条片を用いて、収縮張力と細胞内 Ca^{2+} 濃度および、単層培養細胞を用いた $^{45}Ca^{2+}$ 取り込み実験を行い、PKC の関与についてしらべた。12~13日目のニワトリ胚心室筋小条片に対し、PKC に直接作用する 12-O-tetradecanoyl-phorbol-13-acetate (TPA) $10^{-8} M$ を作用させると、単収縮張力は40%抑制された。単層培養細胞を用いて $^{45}Ca^{2+}$ uptake をしらべると、 $5 mM$ KCl 中での resting uptake は TPA により顕著な変化はなかったが、 $80 mM$ KCl 作用時の total uptake は濃度依存的に抑制された。また心筋小条片に Fura-PE3 を用いて測定した細胞内 Ca^{2+} 濃度は、high K 液中で増大するが、TPA により減少した。このことからニワトリ胚心室筋の Ca^{2+} チャンネルは、PKA に加え PKC によっても調節されていることが示唆された。

12. プリン作動性受容体によるモルモット心室筋遅延整流性K電流(I_K)の調節

松林太郎, 松浦 博, 顓原嗣尚 (佐賀医大, 第一生理)

モルモット心房筋細胞において P_2 -プリン作動性受容体 (P_2 -受容体) 刺激が I_K を増強することはすでに報告した。しかしムスカリン性K電流 (I_K , ACh) も同時に増強されるため、電流解析に困難が伴った。そこで心室筋細胞を用いて同様な反応が起きるか否かを検討するとともに、細胞内情報伝達系、特に second messenger の解明を目的として実験を行った。モルモット心室筋細胞においても、細胞外 ATP ($0.1 \sim 50 \mu M$) によるプリン作動性受容体刺激は I_K を増大させた。用量反応曲線を求めたところ、Hill 定数は 0.82, K_{half} は $1.95 \mu M$ で、心房筋における結果と近似した。最大反応は約1.9倍であった。また、ATP によるこの I_K の増大反応は channel kinetics の変化を伴わず、fast

component および slow component の両者の増大によるものであった。ATP による I_K の増大反応の時間経過は比較的遅く、ATP 投与後約 1 分半で最大反応が得られた。このことは、プリン受容体刺激は何らかの second messenger を介して K チャネルに作用していることを示唆する。さらにこの ATP の効果は、Isoprenaline ($1 \mu M$) による β 刺激に対して付加的であった事より、プリン受容体の情報伝達系に cAMP-PKA 系は関与していないと考えられた。現在、PKC の関与を検討すべく、PKC の activator である TPA ($100 nM$) を用いて実験中である。

13. COS 細胞に発現した心筋 Ca チャネル α_1 サブユニットの電流解析

権藤直樹, 小野克重, ^{*}和田朋之, ^{*}万年和明*, 有田 真 (大分医大, 第二生理・動物実験施設*)

家兎心筋 L 型 Ca チャネルの孔形成 (α_1) サブユニットの cDNA (expression vector: pCARD1) を Liposome 法により CV-1 Origin SV 40 (COS) 細胞に導入し、発現したチャネルの単一電流の解析を行った。発現様式は transient expression であり、transfection 操作 48~72 時間後に電流を記録した。細胞接着型パッチクランプ法を用い、保持電位 $-80 mV$ から $-70 \sim +20 mV$ への脱分極パルス (持続 195 msec, 0.5 Hz) を与えた。透過イオンとしては $110 mM Ba^{2+}$ を用いた。 α_1 サブユニットの cDNA を導入した COS 細胞において、膜電位に依存して変化する Ba イオン電流の存在が認められた。この単一チャネル電流は dihydropyridine agonist である Bay-K 8644 ($5 \mu M$) により開口時間の延長がみられた。すなわち COS 細胞に、機能する L 型 Ca チャネルが発現したものと考えられる。なお平均開口時間は、Bay-K 非存在下で $0.31 \pm 0.02 msec$ であったものが、Bay-K 存在下では $0.90 \pm 0.18 msec$ となった。また、膜電位 $-10 \sim +30 mV$ で得られた単一チャネルコンダクタンスは、 $16.1 \pm 0.6 pS$ であった。

14. フィブリノーゲン及びフィブリノーゲン変性物の線溶活性に与える影響について

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

クサリヘビ科の *Bothrops atrox* の蛇毒中に含まれ

るトロンビン様酵素, Batroxobin はフィブリン塊形成の際トロンビンと異なり、フィブリノペプチド A のみを遊離することが知られている。今回我々は Batroxobin により生じたフィブリノーゲン変性物 (des-A fibrinogen) の線溶系に与える影響について検討した。ラット下肢灌流法を用い、得られた灌流液中の plasminogen activator (PA) 活性についてフィブリン平板、合成基質法で測定した。des-A fibrinogen 投与直後に PA 活性の上昇が認められた。また fibrinogen 投与例にも同様な活性の上昇がみられた。そこで仔牛肺動脈内皮細胞を bovine fibrinogen 存在下で培養し、培養液中の PA 活性について zymography で調べた。control に比べ fibrinogen 存在下培養したものに PA 活性の上昇がみられ、その活性は fibrinogen 濃度依存的、時間依存的に増加することがわかった。またこの活性はアミロライドによって抑制されることから、urokinase-type plasminogen activator であろうと考えられた。以下の結果より fibrinogen あるいはその変性物が血管壁より plasminogen activator を放出する可能性が示唆された。

15. Antivenom はハプトビンのフィブリン形成活性を抑制する

渡慶次賀博, 仲真良彦, 宮城智恵美, 砂川昌範, 中村真理子, 小杉忠誠 (琉球大, 医, 第一生理)

【目的】 ハブ粗毒投与後の「はぶウマ抗毒素」(Habu antivenom) 投与は fibrinogen の減少を抑制する。粗毒による fibrinogen 量の減少は、粗毒中に含まれるハプトビンに依拠するものと想定される。そこで、ハプトビンのフィブリン形成活性に対する Habu antivenom の影響を Hematracer を用いた in vitro の実験にて検討した。

【方法】 Horse serum から Avid AL ゲルを用いて精製した horse IgG は、anti-horse IgG を用いた Ouchterlony 法により同定した。ついで、Habu antivenom 及び horse IgG のハプトビン活性に及ぼす影響を検討した。すなわち、Habu antivenom 及び horse IgG とハプトビンとを混和し、あらかじめ preincubation したものを $1 mg/ml$ rabbit fibrinogen に加え、Hematracer NKKI を用いて fibrin forming time を測定した。また、その結果より fibrin forming activity を算出し、Habu antivenom によるハプトビンのフィブリン形成活性に対する抑制率を求めた。

【結果】 精製 horse IgG は anti-horse IgG との間に沈

降線が認められた。Habu antivenom は 1.5×10^{-5} M $\sim 3.0 \times 10^{-5}$ M の濃度範囲においてその濃度依存性にハプトビンのフィブリン形成活性を抑制した。

【総括と考察】 Habu antivenom がハプトビンのフィブリン形成活性を抑制する機序の詳細は未だ不明だが、本実験により Habu antivenom がハプトビン活性を抑制する事実を初めて明らかにした。

16. 筋線維の収縮に際して生じるミオシン頭部加水分解部位の構造変化とイオン強度の影響

藤田 卓, *香川浩一, 縄田智子, 山田和廣(大分医大, 生理)

蛍光スクレオチドアナログのひとつであるトリニトロフェニル ATP (TNP-ATP) を用いて筋線維を標識すると、収縮に対応するミオシン頭部の構造変化を検出することができると考えられる。TNP-ADP 処理したラット腸腰筋スキンドファイバーを硬直状態にし、ケージド ATP の光分解によって ATP を急速遊離すると、蛍光が増大する。Ca 存在下で ATP を遊離すると蛍光はさらに大きく増大し、その後 Ca なしのレベルまで下がる。Ca が無い時の ATP 遊離直後の蛍光の上昇は ATP のミオシンへの結合によると考えられ、ステイフネスから見積られるクロスブリッジの解離速度に近い。溶液のイオン強度を変えることによってこのようなミオシン頭部の構造変化がイオンの電気的遮蔽効果によってどのような影響を受けるかを調べた。

能動的張力発生及び ATP 加水分解速度はイオン強度(100~300 mM)の影響を受け、イオン強度が増すとともに減少した。蛍光変化の大きさも同様であった。イオン強度を変えるとイオンによる電気的遮蔽効果が変化するために、アクチンとミオシンの相互作用が変化し、収縮に際して生じるミオシン頭部の構造変化が影響を受けること、およびこの変化が力学応答や ATP 分解酵素活性と関連していることが示唆された。

17. Proadrenomedullin N-terminal 20 peptide (PAMP) による副腎髄質ニコチン誘発性電流ならびに Ca^{2+} 濃度上昇抑制

澁谷 泉, 長友敏寿, 梶島成利, 上田陽一, *豊平由美子*, *上園保仁*, *柳原延章*, *泉 太*, *和田明彦**, 山下 博(産業医大, 第一生理・薬理*, *宮崎医大, 薬理**)

Proadrenomedullin N-terminal 20 peptide (PAMP) は

アドレノメデュリンと同一の遺伝子上に見いだされた新しいペプチドであり、アドレノメデュリンとともに副腎髄質細胞カテコラミン分泌顆粒に共存することが知られている。その生理活性はアドレノメデュリンと同様、末梢血管に対する降圧作用を有すること以外には不明な点が多い。最近、副腎髄質のニコチン刺激に対するカテコラミン分泌が PAMP によって抑制されることが報告された。そこでこの PAMP によるカテコラミン分泌抑制の機序を解析する目的で whole-cell-patch clamp 法と Fura-2 Ca^{2+} 画像解析法を用いてニコチンにより誘発されるイオン電流ならびに Ca^{2+} 濃度上昇に対する PAMP の作用を初代培養牛副腎髄質細胞にて測定した。

PAMP はそれ自身では細胞内 Ca^{2+} 濃度に全く影響を与えなかったが、ニコチン 10 mM に対する細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇を濃度依存性にかつ可逆的に抑制した。一方、50 mM K^{+} に対する Ca^{2+} 上昇には影響を与えなかった。Patch-clamp 法にてイオン電流を測定したところ、膜電位依存性 Ba 電流には影響を与えずにニコチン誘発電流のみを濃度依存性に抑制した。これらの結果は PAMP がニコチン受容体を抑制することによりその誘発性電流を選択的に抑制してカテコラミン分泌を抑制することを示唆しており、PAMP が autocrine あるいは paracrine の様式でカテコラミン分泌を抑制する可能性が考えられる。

18. ストレス時循環反応における脳内アンジオテンシン II の関与

佐伯幸男, 渡辺達生, 丹 信介, *松崎益徳*, 中村彰治(山口大, 医, 第二生理・第二内科*)

【目的】 脳内アンジオテンシン (AG) II 受容体のストレス時循環反応への関与を、AG II 受容体阻害剤を用いて検討した。

【方法】 9~11週齢の雄性自然発症性高血圧ラット (SHR) と Wistar-Kyoto ラット (WKY) を用いた。各ラットに脳室内投与用カニューレと血圧測定用テレメトリプローブを植え込み、2週間の回復後、実験に供した。60分間の拘束ストレス開始直前に、人工脳脊髄液 (aCSF)、あるいは AG II 受容体阻害剤 (saralasin または losartan) を脳室内に投与し、ストレスによる血圧・心拍反応に及ぼす効果を調べた。血圧・心拍数はテレメトリシステムを用いて測定した。安静時とストレス開始15分後の血中ノルアドレナリ濃度 (NA) を HPLC で測定した。

【結果】 拘束ストレス時の血圧上昇反応、心拍数上昇反応および血中 NA 上昇反応は、AG II 受容体阻害剤の脳室内投与により有意に抑制された。拘束ストレスにより、SHR は WKY に比べ有意に高い血圧上昇を呈したが、心拍反応には差を認めなかった。SHR では WKY より AG II 受容体阻害剤による血圧反応の抑制は有意に小さかったが、心拍反応の抑制には差を認めなかった。

【結論】 拘束ストレスによる循環反応には、脳内 AG II-AT1 受容体を介した交感神経系の賦活が関与することが示唆された。

19. 拘束ストレス時に増加する血漿インターロイキン(IL)-6 は肝臓に由来する？

高木厚司^{*,**}, [×]有村 章^{**}, 堀 哲郎^{*}(九州大, 医, 第一生理^{*}・チューレン大学, 米日生物医学研究所^{**})

インターロイキン 6(IL-6)は抗体産生を促進させる免疫サイトカインであるが、非炎症性の精神・身体的ストレス時にも血中で増加することが近年報告された。しかし、その産生源、制御機構、生理的意義は未だ明らかでない。そこで、我々は拘束ストレス時の血中 IL-6 の増加メカニズムをラットで検討した。ラットを覚醒下で背臥位に拘束(60 min)し、頸静脈内の留置カテーテルより血液を経時的に採血した。血漿を分離後、血球成分に滅菌生食を加えその都度返還した。血中 IL-6 の測定は IL-6 に対して濃度依存的に増殖する B9 細胞の培養系を使った。実験は、1) 末梢の交感神経終末の化学的破壊(拘束ストレス 3 日前に 6-OHDA を投与)、2) 肝臓の部分(75%)切除(4 日前)及び脾臓全摘(7 日前)、3) 肝臓の交感神経の外科的切除(7 日前)の各条件で実施した。その結果、末梢の交感神経線維の終末破壊により、拘束ストレス時の血中 IL-6 の増加反応が有意に抑制された。肝臓の部分切除や交感神経の外科的切除でも同様の抑制が見られた(脾臓切除ではむしろ増強された)。

【結論】 脾臓などのリンパ組織では、ストレス時の交感神経活動の亢進により免疫応答が一般に抑制されることが知られている。しかし、今回、免疫賦活作用以外にも多様な生理活性(造血作用、肝の急性相蛋白合成など)を持つ IL-6 が身体拘束時に肝臓から血中に放出され、この反応が末梢交感神経活動と密接な関係があることがわかった。これはストレスに対する神経・免疫連関の多面的な応答性を示した点で注目され

る。

20. 破骨細胞の脱分極刺激による細胞内 Ca^{2+} 濃度変化

鍛治屋浩, 岡本富士雄, 岡部幸司, 副田博之(福岡歯大, 口腔生理)

ラットの長管骨より破骨細胞を採集し、細胞内 Ca^{2+} 濃度($[\text{Ca}^{2+}]_i$)変化を fura-2 顕微測光法により測定した。まず、採集した破骨細胞の静止状態における $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の分布を多数例について調べたところ、 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ が高い細胞群と低い細胞群に大別された。これらの破骨細胞に脱分極させる刺激として高 K^+ 溶液を投与すると、静止時の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の高い細胞群では脱分極刺激により $[\text{Ca}^{2+}]_i$ が急激に下降するものが多く、逆に静止時の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の低い細胞群は $[\text{Ca}^{2+}]_i$ が急激に上昇するものが多く存在した。この内、静止時に $[\text{Ca}^{2+}]_i$ が高い細胞は、細胞外液の Ca^{2+} 除去により低いレベルに移行し、この条件下では脱分極による下降は全く認められなかった。また、この脱分極による下降は細胞内 Ca^{2+} 貯蔵部位への取り込みや細胞外への Ca^{2+} 排出機構を抑制した条件下においても認められた。

以上のことより、破骨細胞の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ は膜電位の変化に依存して変化することが解かった。また、静止時に $[\text{Ca}^{2+}]_i$ が高い細胞においては、定常的に細胞外からの Ca^{2+} 流入経路が促進されており、脱分極刺激はこの流入経路を抑制することにより $[\text{Ca}^{2+}]_i$ を下降させると考えられた。

21. 精神薄弱者の体温調節ならびに発汗反応の検討

羅 宗偉, 松本孝朗, 小坂光男, 山内正毅, 田井村明博, [×]加瀬文子^{*}, [×]橋口義久^{*}, [×]松浦 久^{*}(長崎大, 熱帯医学研究所研, 環境生理・虹ヶ丘学園^{*})

精神薄弱者の体温調節を検討する目的とし、長崎市内の精神薄弱者更生施設に入所中の精神薄弱者の体温の日内リズムおよび発汗反応を測定し、健常者と比較した。施設に入所中の男性の内でも最も重度の障害を持ち身体活動のほとんどない20名(33~74才)の腋窩温を4時間ごとに電子体温計にて測定した。また、比較的障害の程度の軽い男性10名(33~55才)について、人工気候室(26.6℃, 33%rh)にて、温熱負荷(両下肢43℃温水浴30分間)時の局所発汗量を換気カプセル法にて測定し、長崎大学大学生11名(対照群)のデータと比較した。重度の精神薄弱者においても体温は午後高く、

深夜に最低値となる日内リズムが見られた。精神薄弱者の発汗潜時は 16.7 ± 2.1 分(胸部), 16.3 ± 1.9 分(腹部)と、対照群(胸部: 9.0 ± 0.7 分, 腹部: 9.9 ± 0.8 分)に比べ有意に長く、発汗量も少ない傾向を示した。精神薄弱者の体温調節能は健常人に比較し、やや劣っており、盛夏時や暑熱環境下での身体活動時には注意が必要と思われる。

22. 酸性線維芽細胞増殖因子(aFGF)と視床下部一下垂体-副腎系

松本逸郎, 李 愛軍, 大村 裕, 佐々木和男, 新島旭, 相川忠臣(長崎大, 九州大, 日本臓器, 富山大学, 新潟大)

脳室及び右心房内に慢性的カテーテルを装着したラットにペントバルビタール麻酔下に aFGF を脳室及び静脈内に投与すると用量依存性に末梢血中のコルチコステロンの濃度が上昇した。aFGF の静脈内投与は ACTH の上昇も同時に引き起こした。aFGF 投与の前に脳室中に Anti-CRF 抗体を投与しておく、aFGF の脳室内投与によるコルチコステロンの上昇は減弱したが、aFGF の静脈内投与による上昇には影響しなかった。グルコースとアルブミンを含むクレブスの重炭酸緩衝液で副腎を灌流しつつ、 $1 \sim 10$ nM の aFGF を投与すると、有意なコルチコステロン分泌の上昇が起きたが、この上昇反応は、 10 pM の ACTH 投与に比較すると、はるかに小さかった。以上の結果は、脳内に増加した aFGF は CRF を介し副腎皮質ホルモン分泌を上昇させ、末梢に増加した aFGF は下垂体に直接働くか、機序不明的作用によって副腎皮質ホルモン分泌を高めることを示唆している。

23. グルココルチコイド慢性投与ラットの飲水、摂食、自発行動および体温について

遠藤 豊, 白木啓三(産業医大, 第二生理)

われわれはこれまでにグルココルチコイド(以下 GC)慢性投与ラットについて、迷路学習の障害、海馬の局所血流量の低下および日内変動消失の傾向、さらに海馬の組織損傷を確認して報告している。今回は、GC 慢性投与の影響が広範に行動リズムに及ぶ可能性を検討することを目的として、GC 慢性投与ラットの行動学的解析を行った。

実験動物には、12週齢のウイスター系雄性ラットを用い、ホルモンの投与法も過去の報告と同様とし、コルチコステロンのピーズ(100 mg)を皮下に植え込む方

法により3か月間投与した。行動の解析項目は、行動量、深部体温(腹腔温)、摂食量、飲水量であり、行動量および深部体温の測定は、DSI社製のテレメトリーシステムを用い、発信器を腹腔内に埋め込むシステムを用いて行った。また摂食量および飲水量に関してはアステック社製摂食・飲水ケージ内で飼育して測定した。その結果、自発行動量、深部体温、摂食量、飲水量いずれについても、両群ともに暗期に多いまたは高い、明期に少ないまたは低いという夜行性ラットの正常の日内変動パターンを示し、2群間に有意差は認められなかった。

以上の結果より、GC 慢性投与ラットでは、脳の特に組織学的に傷害される海馬の日内変動は障害されるものの、代表的な生体リズムは保たれ、例えば視交叉上核のような体内時計は障害されないことが示唆された。

P-1. 剣道鍛錬者の瞬発的手指伸展動作時の筋電図特性

李 丁範, 松本孝朗, 山内正毅, 田井村明博, 小坂光男(長崎大, 熱帯医学研究所, 環境生理)

瞬発的反応を鍛錬している剣道選手の瞬発的反応性を検討することを目的に、10~14年の経験を有する男子剣道選手9名と一般男子学生5名(対照群)を対象に、ランダムな光刺激に対して、瞬発的手指伸展動作を行わせ、手指伸筋群および屈筋群(利き手)の表面電極筋電図および第3指の関節加速度を記録した。信号は、A/Dコンバータを介して、パソコンに取り込み、多用途生体情報解析プログラムを用いて、光刺激から筋放電開始までの時間(プレモータータイム)、筋放電開始から手指伸展開始までの時間(モータータイム)、光刺激から運動開始までの反応時間を解析した。剣道選手では対照群に比較し、反応時間の有意な短縮(146 ± 10 msec, 対照群では 182 ± 18 msec)を認め、これは主にプレモータータイムの短縮(伸筋: 118 msec, 屈筋: 121 msec, 対照群では伸筋: 140 msec, 屈筋: 149 msec)によった。また、剣道選手では伸筋群の放電開始から屈筋群の放電開始までの時間が短い傾向が見られた。長年の剣道トレーニングによる運動学習により瞬発的動作の反応性が向上したと考えられた。また、瞬発的手指伸展においては屈筋群の伸筋群への協調が重要な役割を持つことが示唆された。

P-2. カオス理論を用いた心電図 RR 間隔ゆらぎの解析

村山伸樹, ×伊賀崎伴彦(熊本大, 工, 電気情報工学)

本研究では, カオス理論を用いて, 健常者と疾患者の心電図 RR 間隔のゆらぎの複雑さに対しフラクタル次元を用いて定量化することを試みた. 被験者は, 健常者19名, 心室性期外収縮患者12名, 心房細動患者2名, 房室ブロック患者1名, 糖尿病患者40名, パーキンソン患者7名で, ホルター心電計より記録された心電図原波形のデータから4000個(約50分)の RR 間隔データをいくつか抽出してそれぞれ解析を行い, フラクタル次元を求めた. その結果, 健常者の 5.01 ± 1.15 次元に対し, 心室性期外収縮患者および房室ブロック患者は, 各被験者で最も顕著なものでそれぞれ 3.01 ± 0.99 次元, 1.39 次元と低く, 逆に, 心房細動患者, 糖尿病患者およびパーキンソン病患者は, 7.37 次元, 6.76 ± 1.14 次元, 6.95 ± 2.14 次元と高くなった.

このことから, 疾患者のフラクタル次元は健常者の領域からはずれており, 疾患になるということは健常者のカオスの領域からなんらかの影響ではずれてしまうことが示唆された.

P-3. バックプロパゲーションモデルを用いた咀嚼筋筋電図の解析

×木村博幸, ×孟 揚, 佐藤俊英(長崎大, 歯, 口腔生理)

我々は, artificial neural-network(ANN)を用いて, 咬筋, 顎二腹筋, 顎舌骨筋及び甲状舌骨筋の筋電図を解析し, ベレット, パン咀嚼, 飲水及び, 嚥下時の周期的顎運動の識別に成功している. 今回の実験では, 各筋毎の運動の特徴を分析するために, 咬筋または顎二腹筋の1筋を用いて, 顎運動の識別を試みた. 実験には, 家ウサギから記録されたベレット, パン咀嚼及び飲水時の咬筋と顎二腹筋の筋電図を用いた. 三種類の顎運動の筋電図を各30周期を用い, 計90周期分を標本データとした. ANN は三層構造とし, 学習には Back propagation 法を用いた. データは, 筋電図を1周期分ごとに分割し, それぞれの最大振幅, および, 周期時間に対して規格化し 32 points/cycle で入力層に与えた. 各運動ごとに, 1周期分をトレーニングデータとし, 学習を行った. 咬筋筋電図からの識別においては, 90周期のデータの内, 85周期が, 正確に識別された. このとき, 識別に失敗したデータの1つをトレーニングデータとして加え再度学習させた. これを繰り返すことにより,

全てのデータがそれぞれの運動として識別された. 顎二腹筋では, 学習に必要とされるデータ数が増加した. これらより, 咬筋と顎二腹筋はともに, 各運動パターンごとに, 時間及び最大振幅の情報以外にも, 特徴的な活動パターンを持ち, 食物の性状により両筋活動パターンは修飾を受けているといえる.

P-4. Effects of food consistency on chewing pattern in freely moving rabbits

×孟 揚, ×木村博幸, 佐藤俊英(長崎大, 歯, 口腔生理)

To elucidate the effects of food consistency on chewing patterns, the electromyographic (EMG) activity of the masticatory muscles (masseter, digastric and mylohyoid) and jaw movements orbits were recorded in freely moving rabbits during chewing two different foods in texture. When the hard food was tested, the burst duration of the masseter increased on both sides, but no significant differences were observed in the digastric and mylohyoid muscles. The burst timings varied between the foods, especially in the offset time of bilateral masseter bursts and the onset time in the mylohyoid bursts. The amplitudes of masseter and mylohyoid on both sides were obviously affected by food texture. Although the cycle time and fast closing time were consistent between the foods, the slow closing time during hard food (rice) chewing was significantly longer than that during soft food (bread) chewing. The results indicated that food consistency greatly influences both amplitude and burst duration in the closer activities, but influences only amplitude in the opener activities. Harder food increased the amplitude in the closer activities and softer food increased it in the opener activities.

P-5. ネコ延髄嚥下関連ニューロンにおける両側上喉頭神経からの入力様式

杉本俊彦, 高木誠治*, 梅崎俊郎, 坂本尚志** (佐賀医大, 耳鼻咽喉科・第一生理*, 旭川医大, 第二生理**)

咽頭期嚥下における咽頭・喉頭の筋活動は, 左右対称性でしかも左右同期して認められる. さらに, 一側のみの知覚入力によって惹起された嚥下においても, その同期した左右対称性活動には変化が認められな

い。このことから、末梢知覚情報が同側の弧束核に入力されてから疑核をはじめとする運動核にいたる過程で、左右の出力を同期させる神経機構が備わっていると考えられる。このことを明らかにするために、麻酔ネコを用い、嚥下に同期して一過性の活動変化を示す延髄嚥下関連ニューロンをガラス微小電極を用い細胞外記録し、両側上喉頭神経からの入力様式を検討した。その結果、弧束核の Type I 嚥下関連ニューロンにおいては、対側上喉頭神経からの入力がほとんど認められないのに対し、延髄小細胞性網様体中存在する Type II 嚥下関連ニューロンの34%に、対側上喉頭神経からの順行性応答あるいは促進性効果が認められた。このことから、喉頭粘膜からの末梢知覚情報は Type II 嚥下関連ニューロンに入力される過程で対側に至るものと考えられた。また、これらのニューロンが嚥下における左右同期性出力の形成に関して重要な役割を果たしていると考えられた。

P-6. ネコの歯髄刺激に応答する三叉神経中脳路核一次ニューロンの性質

天野仁一朗, 高月義子, 吉野賢一(九州歯大, 口腔科学)

著者らは HRP 順行性標識法ならびに Waller 変性法を用いて歯髄を支配する三叉神経中脳路核一次ニューロンの存在を報告してきた (Neurosci. Lett. 82, 1987; Brain Res. 503, 1989)。中脳路核歯髄ニューロンはネコ、イヌ、サルに多く認められ、ウサギ、ラットにはまったく見いだされなかった。そこで今回、ネコにおいて、薄層の象牙質を介して弱い電流で長時間作動する歯髄刺激法を開発し、短潜時で応答する中脳路核一次ニューロンの性質を検討した。13頭のクロラロース麻酔ネコの中脳路核(P2.0~2.5)から15個の歯髄ユニットを記録した。これらのユニットは500 Hz以上の歯髄刺激に追従し、35~55 m/secの伝導速度を有した。歯髄刺激に対する下歯槽神経複合電位、中脳路核歯髄ユニット発射および顎二腹筋電図を同時に観察したところ、下歯槽神経にA β 電位の出現し始める強さで中脳路核ユニットが発射し始め、顎二腹筋にも相動性収縮が発生し始めた。歯髄刺激強度を高めると、A δ 電位が出現し始めるとともに筋電図応答の振幅も増大した。W. K. Dong et al. (1985)はネコ歯髄の機械的刺激に応答する三叉神経節ニューロンを報告しているが、同様の性質を持つニューロンが中脳路核にも存在し、顎筋トヌスの亢進に関与している

可能性が示唆された。

P-7. アセチルコリンエステラーゼ阻害による運動ニューロンの HRP 逆行性輸送の促進

河岸重則(九州歯大, 口腔科学)

軸索輸送はニューロンの機能や形態の維持に重要な役割を担っている。我々はこの軸索輸送に影響を及ぼす因子について調べている。今回は神経伝達物質が除去されない時に軸索輸送に変化が現われるか否かを検討するため、アセチルコリンエステラーゼ(AChE)阻害剤を投与したラットで咬筋運動ニューロンの HRP 逆行性輸送の動態を観察した。8週齢のラット6匹に非可逆性阻害剤 diisopropyl fluorophosphate (DFP, 0.2 μ g/kg)をまた3匹に可逆性阻害剤 eserine (10^{-5} M, 10 μ l)をアトロピンとともに投与し、同時に両側の咬筋に7.5% HRPを10 μ l注入した。8時間後、心灌流固定を施し、脳幹を摘出し厚さ60 μ mの凍結連続切片とした。切片を HRP 反応に供した後、画像解析装置を用いて HRP 反応産物の分布面積を3段階の濃度レベルで測定した。片側の三叉神経運動核ごとに測定値を合計し、その値をそれぞれの運動核の咬筋運動ニューロンの HRP 輸送量とした。HRP 輸送量は DFP, eserine いずれの場合も、阻害剤投与ラット群の方が非投与群より有意に多かった。これによりアセチルコリンの分解の阻害すなわちアセチルコリンの蓄積が咬筋運動ニューロンの HRP 逆行性輸送を促進することが示唆された。

P-8. ラット視床下部アドレノメデュリン含有細胞分布の検討

上田陽一, $\times$ 一瀬豊日, 西理枝子, 梶島成利, 澁谷泉, 北村和雄*, $\times$ 寒川賢治**, 山下 博(産業医大, 第一生理・宮崎医大, 第一内科*・国立循環器病センター**)

アドレノメデュリンは副腎髄質由来の褐色細胞腫から発見された新しい降圧ペプチドである。アドレノメデュリンが脳内にも発現していることが報告されているので、免疫組織化学染色法を用いてラット視床下部でのアドレノメデュリン含有細胞の分布様式を調べた。さらに、バズプレッシンおよびオキシトシンとの二重染色により、アドレノメデュリンとの共存の有無を調べた。ウイスター系雄ラットを用いて、Avidin-biotin complex (ABC) 法および Diaminobenzidine (DAB) 反応によりアドレノメデュリン抗体を検出

した。陽性コントロールには副腎髄質を用いた。その結果、アドレノメデュリン陽性細胞が、視床下部室傍核および視索上核大細胞群の存在部位で多数見られた。室傍核では主にオキシトシンと共存しており、視索上核ではオキシトシンとバゾプレッシンのいずれとも共存していた。以上の結果から、アドレノメデュリンは、神経ペプチドとして体液調節に関与していることが示唆された。

P-9. 視索上核神経内分泌細胞におけるアドレノメデュリンの作用：スライスパッチ法による検討

梶島成利, [×]Nurhadi Ibrahim, 澁谷 泉, [×]野口淳, 上田陽一, 北村和雄*, [×]寒川賢治**, 山下 博 (産業医大, 第一生理*・宮崎医大, 第一内科*・国立循環器病センター**)

アドレノメデュリン (AM) は副腎髄質細胞に存在を認められた降圧作用を持つ新しい循環調節ペプチドである。我々は最近、AM が視床下部 magnocellular neuron 領域に多量に存在する知見を得た。そこで視床下部前額断スライス標本を作成し視索上核 (SON) neuron に対する AM の作用を電気生理学的手法を用いて検討した。その結果、細胞外記録法にて SON neuron の自発放電の促進及び抑制。スライスパッチ法では presynapse 及び Postsynapse の Glutamate, GABA の入力に影響を及ぼさなかった。以上より、アドレノメデュリンは GABA, Glutamate 以外の Presynapse neuron に影響を及ぼすか、Postsynapse の Second messenger 系に作用して SON Magnocellular Neuron の自発性放電に影響を与えている可能性が考えられた。

P-10. C-TYPE NATRIURETIC PEPTIDE INHIBITS THE RAT HYPOTHALAMIC SUPRACHIASMATIC NUCLEUS NEURONS

V. Sutarmo Setiadji, I. Shibuya, K. Inenaga* and H. Yamashita (Department of Physiology, School of Medicine, University of Occupational and Environmental Health, and Kyushu Dental College, Kitakyushu, Japan*)

C-type natriuretic peptide (CNP) is one of the natriuretic peptide family and its effect on the brain is not yet clear. The B-type natriuretic peptide receptors, which show highest affinity to CNP, have been identified in the rat hypothalamus but their function is not

yet determined. Using extracellular recordings, we exposed hypothalamic slices containing the suprachiasmatic nucleus (SCN) of new born and adult rats to CNP. Some SCN neurons were inhibited. The percentage of SCN neurons that inhibited by CNP was found to depend on the age of the rat. The highest percentage of inhibition was found in SCN neurons of 0 to 5 days old rats; with increase in age, the percentage decreases. CNP may play some roles in the development of SCN neurons.

P-11. Isaacs 症候群患者血清の K⁺ channel に対する抑制効果

黒野明日嗣, 園田至人, 有村公良, [×]納光弘, 亀山正樹*, 亀山亜砂子* (鹿児島大, 医, 第三内科・第二生理*)

Isaacs 症候群は、筋硬直、全身性の myokymia, 筋収縮後の弛緩困難、発汗過多を特徴とし、筋電図学上 neuromyotonia を認める疾患である。そしてこれらの症状は睡眠中も認められ、局麻や全身麻酔で消失せずクラーレにより消失することから末梢神経にその原因があると考えられた。Sinha ら (1991) は Isaacs 症候群患者には血漿交換が有効なこと、患者血清をマウスに passive transfer し、その横隔膜神経筋標本にてアセチルコリンの放出が患者血清にて増強されることなどから、Isaacs 症候群は自己免疫疾患であり、末梢神経における K⁺ channel の障害を原因として想定した。これまでにわれわれは患者血清中に K⁺ channel を抑制する物質が存在することを patch-clamp 法により直接証明した。(園田ら, 1994) 今回われわれは新たに患者4例を追加し(計6例)いずれの症例でも K⁺ 電流は抑制された。免疫グロブリンでの検討では、患者血清中の IgM が K⁺ 電流を抑制することを初めて確認した。他の神経疾患である重症筋無力症 (MG), Guillain-Barre syndrome (GBS), 慢性炎症性脱髄性多発根神経炎 (CIDP), 筋萎縮性側索硬化症 (ALS) との比較では GBS を除く他の疾患では認められなかった。近年 GBS は generalized myokymia の範疇にはいるとされており、myokymia の発症機序を考える上で興味深い結果である。また最近、episodic myokymia with ataxia にて K⁺ channel の遺伝子異常が指摘され、Isaacs 症候群における myokymia の発症機序としての末梢神経の易興奮性に K⁺ channel 障害が重要な役割を担っているもの考えられる。

P-12. ラット左右第一次体性感覚野の線維連絡

羽山富雄, 小川 尚(熊本大, 医, 第二生理)

ラット第一次体性感覚野(SI)は, パレル構造がある顆粒状皮質とその周囲の不全顆粒状皮質に分けられる。パレル間に介在する septum 部分を除いて前者は脳梁結合を欠くという報告があるが, SI 顆粒状皮質での同側性体性感覚誘発電位が脳梁経由で生じるという報告もある。そこで両側 SI 顆粒状皮質間の線維連絡の有無を再検討した。

ウレタン麻酔した動物の一侧 SI に WGA-HRP を圧注入した。1 日後動物を灌流固定し, 大脳皮質を剥離後平板化し表面に平行に凍結切片を作成した。切片を交互に cytochrome oxidase と peroxidase に対する組織化学法で処理した。

顆粒状皮質の上顎・下顎再現部へのトレーサー注入例では, 対側の homotopical な部分の supragranular layer と infragranular layer に順行性と逆行性標識が観察された。顆粒層の septum には多くの両種の標識があったが, パレル内は両種の標識とも少なかった。顔面ヒゲ, 体幹, 下肢再現部への注入例では, homotopical な部分の順行性と逆行性標識は顔面ヒゲ再現部の septum 部分を除いてわずかであった。上肢再現部への注入例では, homotopical な部分に標識はなかった。本研究は上顎・下顎再現部以外での脳梁結合について従来の解剖学的結果を確認すると同時に, 脳梁結合の密度は SI 内の部位によって異なり上顎・下顎再現部では特に高いことを明らかにした。

P-13. ラット大脳皮質味覚野における味覚ニューロン間相互関係

中村民生, 小川 尚(熊本大, 医, 第二生理)

視床から大脳皮質味覚野に入ってきた味覚情報は皮質内でニューロンからニューロンへ伝達処理される。隣接するニューロンへの同一入力の有無, ニューロン間の興奮性・抑制性結合等の相互作用の有無は味覚情報処理を考える上で重要である。本研究では, ウレタンで麻酔したラットを用い口腔を四基本味で刺激しつつ, 2 本の貼合わせガラス電極等を大脳皮質味覚野に刺入し, 近接した 2 個のニューロン応答を同時記録した。味応答特性と 2 つのニューロン間の相互相関図を求め, ニューロン間の相互作用を調べた。

記録したニューロンペアが食塩ベスト同士, 塩酸ベスト同士あるいは食塩ベスト塩酸ベストとの組み合わせの場合, 有意の相互相関を示す確率が高く (81.4%),

四基本味刺激いずれの場合にも同時発火したり, 数 ms 遅延で有意の発火をするものが多かった。近接している食塩ベストあるいは塩酸ベストニューロンは共通する入力源として食塩ベストあるいは塩酸ベストニューロンから味覚情報を受けている傾向が高いと考えられる。一方ショ糖ベスト, キニーネベストニューロンを含むニューロンペアでは相互相関図上ピークを形成しないものが多い (35.3%)。これは, 近接するこれらのニューロン間では情報を共有していないことを示す。大脳皮質味覚野において, ショ糖ベスト, キニーネベストの視床味覚線維は, 比較的分散して投射している可能性がある。

P-14. 各種炎症メディエーターによる神経膠芽腫細胞産生線溶活性の調節

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

プラスミノゲンアクチベーターやプラスミンなどの線溶系酵素は腫瘍細胞の周辺組織への浸潤過程において重要な役割を果たす。従って腫瘍細胞による線溶系酵素産生の調節は, その浸潤能力に直接影響を与える。我々は T98G 神経膠芽腫細胞株を用いて, 種々の炎症メディエーターによる線溶酵素産生への影響について検討した。用いたのは IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-3, IL-4, IL-6, TNF α , TNF β , デキサメサゾンで, 線溶活性はフィブリン平板法により測定した。IL-1 α と TNF α によって強力な線溶活性の亢進が認められ, IL-2, IL-3 では何ら影響は認められなかった。一方デキサメサゾンは線溶活性を抑制した。ザイモグラフィにより線溶活性はウロキナーゼ型プラスミノゲンアクチベーター (uPA) によるものであることがわかった。ELISA により, IL-1 と TNF による線溶活性の増強は uPA の産生亢進, デキサメサゾンによる線溶活性の抑制は 1 型プラスミノゲンアクチベーターインヒビターの産生亢進によるものであることが確認された。

P-15. 蛇毒より精製した線維素原分解酵素の性質

穴井慶太, 杉木雅彦, 吉田悦男, 波種年彦, 大村さゆり, 中山雅美, 河野次郎, 丸山真杉(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, 消耗性凝固障害が惹起され, 局所出血のみなら

ずしばしば全身出血が認められる。これまでにこの蛇の粗毒中よりトロンビン様酵素、血液凝固活性化因子および出血因子(出血毒)が単離・精製され出血との関連が報告されている。今回我々は、*Bothrops jararaca*の粗毒より新たに線維素原(フィブリノーゲン)分解酵素を精製し、その性質について検討した。精製はFPLC systemを用いて、HiTrap Blue affinity chromatography 及び Mono Q anion exchange chromatography によって行った。精製したこの酵素の分子量は43 kDであり、2本鎖構造であると考えられた。この酵素とフィブリノーゲンとを反応させSDS-PAGEにて分析したところ、フィブリノーゲンのA α 鎖のbandが消失し、新たに分子量44 kDの位置およびそれ以下の領域にbandが出現した。このことより、この酵素はフィブリノーゲンのA α 鎖を分解することが明らかとなった。つぎに、この酵素の性質について調べたところ、このフィブリノーゲン分解活性は1, 10-phenanthroline, dithiothreitol, ethylenediaminetetraacetateにて抑制され、この酵素は金属プロテアーゼであると考えられた。以上の結果より、蛇咬傷時においてみられるフィブリノーゲン低下に従来の因子以外にも今回精製した酵素が関与している可能性が示唆された。

P-16. 家兎フィブリノペプチドのHPLCによる定量法

金城紀代彦, 中村真理子, 花城和彦, 山下 晋, 玉城 昇, *根占哲也, 小杉忠誠(琉球大, 医, 第一生理)

【目的】 家兎fibrinopeptide A (FPA)のfibrinopeptide B (FPB)遊離に対する制御機構を解明するために、FPA および FPB の同時測定・定量法の開発を意図した。

【方法】 精製した家兎fibrinogen にウシThrombin を作用させて得られたfibrin 塊上清を逆相HPLCを用いて分析した。HPLC装置には日立高速液体クロマトグラフを用いた。血漿中FPAの定量法の検討では、血漿をエタノール処理・煮沸処理して分析用試料を調整し、その後HPLC分析を行った。対照に用いた標準FPA・FPBはDowex 50W-X2を用いて精製した。

【結果】 fibrin 塊上清をHPLCで分析した結果、溶媒のピークに続く2つのピークが得られた。その最初のピークは標準FPBの保持時間と一致し、その溶出分画は抗FPB抗体と反応した。2つめのピークは標準FPAの保持時間と一致し、その溶出分画は抗FPA抗

体と反応した。精製したFPA・FPBを用いて検量線を作製したところ、1~25 $\mu\text{g/ml}$ の範囲で良好な直線関係が得られた。血漿中FPAの定量法の検討では、FPA濃度とピーク高との間に良好な直線関係が得られたが、PBS中FPAで作製した検量線と比べ、その傾きの減少・回収率の低下が認められた。

【考按】 本法は、家兎FPA・FPBの同時測定に有用であることが明かとなった。しかしながら、血漿中FPA濃度の測定に関しては、PBS中FPAで作製した検量線と一致する結果が得られず、なお測定法の改善が必要である。

P-17. Lysophosphatidylcholine のアデノシン産生増加作用—In vivo マイクロダイアリシス法による検討—

佐藤俊明, 有田 真(大分医大, 第二生理)

【目的】 In vivo マイクロダイアリシス法を用いて心筋間質アデノシン濃度を測定し、Lysophosphatidylcholine (LPC)のアデノシン産生に及ぼす効果を検討した。

【方法】 開胸ラットの左心室筋層内に装着したマイクロダイアリシス用プローブからタイロッド液を毎分1 μL で灌流し、回収された灌流液中のアデノシン濃度を高速液体クロマトグラフ法にて測定した。

【結果】 定常状態のアデノシン濃度は $0.51 \pm 0.09 \mu\text{M}$ ($n=16$)であった。そこでタイロッド液にAMP (100 μM)を添加するとアデノシン濃度は $9.79 \pm 0.08 \mu\text{M}$ ($n=12$)へと著明に増加した。この増加は5'-nucleotidase (5'-NT)阻害剤であるAOPCP (100 μM)存在下では認められなかった($0.76 \pm 0.12 \mu\text{M}$, $n=12$)。したがってAMP灌流下で産生されたアデノシンは、AMPが5'-NTにより加水分解された結果生じたものと考えられ、ラット心室筋の5'-NT活性を反映していると推定される。AMP (100 μM)灌流下にLPC (50 μM)を灌流すると、アデノシン濃度は45分後には $7.44 \pm 1.23 \mu\text{M}$ から $11.88 \pm 2.05 \mu\text{M}$ ($n=5$)へ有意に増加し、washoutによりほぼ対照値まで回復した。

【結語】 LPCは5'-NTを活性化し、アデノシン産生を増加させる性質を有することが示唆された。

P-18. 延髄孤束核化学刺激によるラット脊髄乳酸値の変化

*池上 容**, 前田正信*, *横田 晃**, 中

井正継***, 林田嘉朗*(産業医大, 応用生理*・脳神経外科**・国立循環器病センター***)

中枢神経の血流は, 神経性, 筋原性及び代謝性因子により調節されていると言われている. 延髄孤束核(NTS)化学刺激で脳・脊髄血流が低下することは既に報告した. 今回我々は, 酵素電極法による biosensor を用いて中枢神経代謝の一つの指標である乳酸値変化を頸髄内でリアルタイムに観察し, NTS 化学刺激による脊髄血流の低下に代謝性因子が関与するかどうかについて検討した.

雄 Wistar rat を用い麻酔下に biosensor を頸髄灰白質に挿入, NTS に L-glutamate を微量注入して化学刺激を行った. 又, 脱血により全身血圧低下の影響も観察した. さらに動脈圧受容器の除神経(Sinoaortic Denervation; SAD)ratでも同様の脱血実験を行った.

NTS 化学刺激による血圧低下程度が autoregulation 範囲内に保たれていた場合, 乳酸値変化は有意でなかった. しかし, それ以下に達した場合, 有意に上昇した($3.5 \pm 3.0 \mu\text{M}$). 脱血により血圧を autoregulation 範囲内で低下させた場合, 乳酸値変化は有意でなかった. しかし, その範囲以下に低下させた場合, 有意に上昇した($11.2 \pm 2.9 \mu\text{M}$). SAD rat でも同様の結果が得られ, Non-SAD rat での結果と比較しても, 有意差はなかった.

以上より, NTS 化学刺激での脊髄血流低下は autoregulation 範囲内では, 局所代謝を介した二次的な変化というより, 一次的な神経性調節機構によるものである事が示唆された.

P-19. 慢性脊髄ラットにおける血圧回復の機序について

土屋勝彦, 松本逸郎*, 嶋津宗典, 大渡 伸, 小坂光男(長崎大, 熱帯医, 環境生理・医, 第一生理*)

脊髄切断後の血圧の回復過程における交感神経系の関与を検討するため本研究をおこなった.

【方法】 ペントバルビタール麻酔下でウィスター系の成熟雄ラットの下部頸髄を切断し室温30℃で飼育して慢性脊髄ラットとした. 実験は室温30℃において無麻酔, 軽度の拘束のもとでおこなった. 血圧は Tail Cuff 法にて, 直腸温はサーミスター温度計で測定した. 慢性的に頸静脈に留置したカテーターを介し随時静脈血を採取し, 約 0.3 ml の血漿に内部標準として DHBA を添加し, カテコールアミン類をアルミナ粉末に吸着した後, 3%の酢酸または 0.2N の過塩素

酸で溶出し高速液体クロマトグラフィーを用いて電気化学的方法でノルアドレナリン及びアドレナリンを測定した.

【結果及び論議】 血圧と心拍数は脊髄切断によって低下した. 脊髄切断後 1 日以降血圧は 80~100 mmHg のレベルを維持した. 脊髄切断 2 週目において心拍及び血圧の回復の傾向が認められた. 脊髄切断後 4~13 日後(平均 8.6 ± 0.8 日, $N=14$)のラットにおいて血漿ノルアドレナリンの濃度は脊髄切断によって著明に低下した($97 \pm 44 \text{ pg/ml}$)が脊髄切断後 1 週目よりも 2 週目において有意に高かった. 脊髄切断後においてもかなりの濃度のアドレナリン($418 \pm 127 \text{ pg/ml}$)が認められた. 以上の結果より脊髄切断後の血圧, 心拍の維持・回復に交感神経及び副腎髄質の活動が一定の役割を果たしていることが示唆された.

P-20. 意識下ラットにおける低酸素暴露時の心血管反応と交感神経活動

平川晴久, 中村 正*, 前田正信, 林田嘉朗(産業医大, 応用生理・産業医実務研修センター*)

低酸素暴露時の心血管系の反応は, 種々の反射や内分泌系および局所作用等の総合的な作用の結果として生じることが報告されている. しかし, 無麻酔状態で循環動態と交感神経活動を同時記録した報告は少なく, また低酸素暴露時の圧受容器反射の関与についても明らかではない.

今回我々は, 意識下の wistar rats を用い 30 分間の低酸素暴露時(Hypocapnic Hypoxia, HH: Isocapnic Hypoxia, IH)の血圧, 心拍数と交感神経活動を測定し, このときの Baroreflex sensitivity を調べた.

HH では, 血圧は低下し, 心拍数は増加, 交感神経活動は約 40% 増加した. IH では, 血圧, 心拍数は変化はなかったが交感神経活動は約 70% 増加した. また, IH の時の Baroreflex sensitivity は HH の時より高かった.

HH と IH 共に交感神経活動は増加した. 低酸素暴露時の血圧, 心拍数の反応は Chemoreflex, Baroreflex sensitivity の変化, ならびに O_2 , CO_2 低下の心臓, 末梢抵抗血管および循環中枢に対する直接効果が関与していると考えられる.

P-21. ACTH による副腎皮質ホルモン分泌の PAF 拮抗抑制のメカニズム

×広瀬妙子, 相川忠臣, 嶋田敏生, 松本逸郎, 小柳

真奈子, 楊 紅, [×]韓 琳(長崎大, 医, 第一生理)

非脂質性の PAF 拮抗剤 SM 10661 は PAF と構造類似の脂質性 PAF 拮抗剤 CV 6209 より著明に ACTH による皮質ホルモン合成を抑制する。その濃度は PAF による副腎皮質ホルモン合成を抑制する濃度よりはるかに高い。イヌ副腎皮質遊離細胞を用いてこの抑制のメカニズムを調べた。アデニレートシクラーゼを活性化する Forskolin 10^{-5} M は ACTH に匹敵するほど皮質ホルモン合成を著明に促進した。其の作用を PAF 拮抗剤 SM 10661 は用量依存的に抑制した。dibutyryl cyclic AMP 10^{-3} M による皮質ホルモン合成促進も SM 10661 は著明に抑制した。SM 10661 は立体構造異性体 SM 12501 と SM 12502 とを含んでいる。SM 12502 の方が SM 12501 より著明に ACTH による副腎皮質ホルモン合成を抑制した。このことは SM 10661 の抑制作用は非特異的な toxic なものではないことを示している。PAF レセプターは細胞膜と細胞内の 2 種があり、後者は前者より高濃度の PAF 拮抗剤で抑制され ACTH の副腎皮質細胞内情報伝達系に組み込まれている可能性がある。そのレベルはサイクリック AMP 以降と考えられる。

P-22. AMP による電子伝達フラビン蛋白の活性調節機構

佐藤恭介, 二科安三, 志賀 潔(熊本大, 医, 第一生理)

哺乳類のミトコンドリアに存在する電子伝達フラビン蛋白は、分子量 33,000, 29,000 のサブユニット (α , β) と一分子の FAD (ビタミン B₂ の補酵素型) の複合体であると長い間考えられていた。我々は電子伝達フラビン蛋白がさらに一分子の AMP も含有している事を見だし、既に報告した。電子伝達フラビン蛋白はミトコンドリアにおけるエネルギー産生にかかわる蛋白である。エネルギー不足の時は、AMP の濃度が上がるので、電子伝達フラビン蛋白が AMP を持っていることには確かに何か意味がありそうである。しかし、AMP を外した電子伝達フラビン蛋白も、元の蛋白と同等の電子伝達活性を持っており、AMP の有無はでき上がった蛋白の活性には関係しない事が分かっている。FAD が $\alpha\beta$ と結合することが活性発現の条件である。

本研究では、 α , β , FAD, AMP のアセンブリ機構を in vitro の実験系で調べ、アセンブリにおける AMP の役割を検討した。FAD を α と β と混ぜても非

常にゆっくりとしか結合しなかった。一方 AMP は α と β と速く結合した。さらに、FAD は AMP- $\alpha\beta$ の複合体とは非常に速く結合できた。すなわち、AMP が $\alpha\beta$ に結合することによって、FAD の結合速度を飛躍的に上昇させることが明らかとなった。AMP は FAD の結合速度を速め、電子伝達フラビン蛋白の生体内濃度を上げることによって、活性を調節しているのではないかと想像される。

P-23. 糖尿病ラットにおける末梢血流量と呼吸に対する香辛料辛味成分の作用

大和孝子, 太田千穂, 青峰正裕(中村学園大学, 栄養生理)

香辛料(スパイス)は、特有の刺激性の香味を有し、食欲増進をもたらすとともに、糖尿病や高血圧疾患などの食事療法による降圧効果など様々な生理、薬理作用を示す調味料のひとつである。そこで本研究では、我が国で最も使用されている代表的な香辛料の辛味成分に着目し、糖尿病ラットを用いて、辛味成分の嗅覚及び味覚刺激による腹部末梢血流量及び呼吸数に対する作用について調べ、糖尿病状態がこれらの因子にどのように影響しているかを検討した。

実験動物は 7~11 週齢、体重 250~300 g の Wistar 系正常ラットと糖尿病ラット(WBN/Kob)を用いた。腹部末梢血流量及び呼吸数は、エーテル吸入麻酔下にて、剃毛した左下腹部にプローブ電極を装着し、レーザー血流量計により測定した。香辛料辛味成分(ピペリン、カプサイシン、ジアリルジサルファイド)は、10 nM から順に濃度を上げ、0.1 mM まで使用した。実験は嗅覚刺激実験から行い、測定時間は約 2 分 30 秒間とした。引き続き味覚刺激実験を行い、測定時間は約 3 分間とした。

辛味成分使用前の糖尿病ラットの腹部末梢血流量は、正常ラットに比し有意に低下していた。嗅覚刺激実験より、糖尿病ラットは正常ラットに比べ、辛味成分の嗅覚刺激に対して鋭敏に反応する傾向があった。また、味覚刺激実験では、糖尿病ラットにおいて腹部末梢血流量と呼吸数は、嗅覚刺激実験とは逆に正常ラットに比し、抑制される傾向があった。このことは糖尿病患者に起こりうる味覚減退反応によるものではないかと考えられる。すなわち、味覚受容体の変化か、あるいは糖尿病の二次障害として知られている知覚神経障害により閾値が上昇した可能性が示唆される。

P-24. ラット脳背外側中隔核ニューロンにおけるカルシウムチャネルの多様性

蓮尾 博, 赤須 崇(久留米大, 医, 第二生理)

背外側中隔核(DLSN)を含む脳スライス標本から, 1) 細胞内電極法を用いてシナプス後電位を, 2) ホールセルパッチクランプ法を用いて電位依存性カルシウムチャネル(VDCC)による電流を記録した. Lタイプカルシウムチャネル阻害剤であるニカルジピン($10\text{ }\mu\text{M}$)を灌流投与しても興奮性シナプス後電位(EPSP)はほとんど影響されなかった. ω -conotoxin(ω -CgTX, Nタイプ阻害剤)-GVIA ($1\sim 3\text{ }\mu\text{M}$)により EPSP がすみやかに約40%抑制された. ω -CgTX-MVHC ($1\text{ }\mu\text{M}$, Qタイプ阻害剤)を追加することにより, さらに EPSP を抑制した(始めのコントロールの約95%). ω -Agatoxin(ω -Aga)-IVA (Pタイプ阻害剤)では低濃度(30 nM)では効果なく, $100\sim 200\text{ nM}$ の濃度でゆっくりと(灌流20分後位まで進行性)に EPSP を約60%抑制した. ω -Aga-IVA 抵抗性の EPSP は ω -CgTX-GVIA の追加により, ほぼ100%抑制された. 一方, ホールセルクランプ法により膜電位を -90 mV から -10 mV にジャンプさせたときに記録されるカルシウム電流は, 上記の阻害剤にてほとんど抑制されず, 非選択的な VDCC 阻害剤であるカドミウム($200\text{ }\mu\text{M}$)にて著明に抑制された. これらの結果から DLSN における興奮性アミノ酸放出に働く VDCC には Nタイプや P/Q タイプのカルシウムチャネルが関与しており, 細胞体には上記以外のタイプが主に存在する可能性が示唆された.

P-25. 副交感神経節内の情報処理に対する交感・副交感神経性制御

西村俊彦, 赤須 崇(久留米大, 医, 第二生理)

ネコ骨盤内副交感神経節を下腹神経(HGN)・骨盤神経(PN)と共に剔出し, 節細胞の膜電位を細胞内微小電極法により記録した. 200細胞の内約30%は脱分極性膜電位振動(DMO)に誘発される自発発火細胞(SDN)であり, 残りは自発発火の無い quiescent neuron(QN)であった. 外向き電流を通電すると QN に DMO 及び緊張性発火が誘発された. 試みた全ての細胞で単発 PN 刺激はニコチン性 fast EPSP を誘起した. HGN 刺激は約5%の細胞に fast EPSP を誘起した. QN に PN 頻回刺激(10 Hz , 30 秒)を与えると, しばしば DMO が増強され SDN へ機能的に移行した. マスカリン(100 nM)投与により, DMO 増強と共に

QN が SDN へ遷移した. アトロピン($1\text{ }\mu\text{M}$)がこれらの効果に拮抗した. HGN 頻回刺激は約30%の SDN で DMO 抑制を起こし, 自発発火が止まった. UK-1404 (100 nM)により SDN は QN へ遷移した. しかし, HGN 刺激による DMO 抑制はヨヒンビン抵抗性の成分があり, 伝達物質候補としてアデノシン(Ad), エンケファリン(ENK)及びソマトスタチン(SOM)が考えられた. 以上より, 次の如く結論した. ネコ骨盤内副交感神経節では副交感神経入力の高頻興奮により, マスカリン受容体を介して DMO が作動状態となり自発発火が起こる. 一方, 交感神経入力の高頻興奮では α_2 或いは Ad・ENK・SOM 受容体を介して DMO は休止状態となり, 自発発火が止まる. これは副交感神経節自体が両自律神経系による拮抗的情報処理の場であることを意味する.

P-26. 毛様体神経節細胞内 Ca^{2+} 濃度変化に及ぼす K^+ チャネル阻害剤の作用

反町 勝(鹿児島大, 医, 第一生理)

鶏, 毛様体神経節細胞には種々のタイプの K^+ チャネルが存在するが, 我々は, この細胞のムスカリン受容体刺激が M-カレントを抑制し, またムスカリンや charybdotoxin による K^+ チャネル阻害下では種々の刺激による $[\text{Ca}]_{\text{in}}$ 反応が増強されることを報告した. 今回は, $[\text{Ca}]_{\text{in}}$ の自発的变化, 刺激に応じた $[\text{Ca}]_{\text{in}}$ 上昇に対する TEA 等の作用を調べた.

【方法】 鶏胚($10\sim 13$ 日)の毛様体神経節よりコラゲナーゼ処理により単離した細胞に fura-2/AM を負荷し, Ca 画像装置により $[\text{Ca}]_{\text{in}}$ を測定した.

【結果】 5 mM 以上の TEA の添加は, しばしば $[\text{Ca}]_{\text{in}}$ 動揺を引き起こしたが, 4-AP, apamin, charybdotoxin の単独または同時添加ではほとんど $[\text{Ca}]_{\text{in}}$ は変化しなかった. TEA による $[\text{Ca}]_{\text{in}}$ 動揺は TTX ($5\text{ }\mu\text{M}$), ω -conotoxin ($1\text{ }\mu\text{M}$), Thapsigargin ($1\text{ }\mu\text{M}$) 存在下においても存続したが, D 600 ($50\text{ }\mu\text{M}$) 下では消失した. TEA による $[\text{Ca}]_{\text{in}}$ 動揺下に 4-AP を添加すると動揺が消失し, $[\text{Ca}]_{\text{in}}$ は持続的な高レベルに維持された. 他方, apamin, charybdotoxin の同時添加は TEA による $[\text{Ca}]_{\text{in}}$ 動揺には影響しなかった. ATP, 高 K^+ による $[\text{Ca}]_{\text{in}}$ 上昇反応は, TEA (2 mM) 存在下に増強された. 以上の結果より, TEA による $[\text{Ca}]_{\text{in}}$ 動揺には L-タイプの Ca チャネルを介した Ca 流入が関与するが, 関与する K^+ チャネルを特定できなかった.

P-27. 内向き整流Kチャンネル遺伝子(IRK1)発現チャネルの構造-機能関連

石原圭子, 大地陸夫* (佐賀医大, 第一生理・順天堂大, 医, 第二生理*)

内向き整流 K^+ チャンネル遺伝子 IRK1 をマウス線維芽細胞の染色体に導入し, 内向き整流 K^+ チャンネルを安定に発現する細胞株を樹立した. パッチクランプ法による膜電位固定下に 5 mM の EDTA を含むピペット液を用いて記録した電流は, 強い内向き整流性を示した. 電流は膜の過分極により時間依存性に活性化され, 細胞内 Mg^{2+} によるブロックとは異なるゲート機構(開状態⇌閉状態)の存在が示された. このゲートのキネティクスは 4 価の有機イオンであるスベルミン(ポリアミン)をピペットに加えると変化し, これは開状態→閉状態の反応定数の増加で説明された. 従ってゲート機構は細胞内に残存するスベルミンによるチャンネルブロックを反映していると考えられた. また推定上二番目の膜貫通部位に唯一存在する陰電荷をもつアミノ酸, aspartate(D)の役割について明らかにするために, これをやはり陰電荷を持つ glutamate(E)及び電荷を持たない asparagine(N)に置換した遺伝子変異体を作成, 発現する細胞株を得た. D/E 変異体は wild type とほとんど同様であった. D/N 変異体では, 5 mM の EDTA を含むピペット液を用いて記録した電流は wild type に比べ弱い内向き整流性を示し, また過分極により電流は瞬時に活性化された. ピペット内のスベルミンは内向き整流性を強くしたが, 時間依存性の電流の活性化は認められなかった. 従って第172番目のアミノ酸の有する陰電荷はスベルミンの結合に深く寄与するが, これ以外の陰電荷も結合に関与することがわかった.

P-28. P_2 -プリン作動性受容体によるムスカリン性K電流(I_K , ACh)の調節

松浦 博(佐賀医大, 第一生理)

モルモット心房筋細胞において細胞外 ATP ($>0.5 \mu M$) による P_2 -プリン作動性受容体(P_2 -受容体)刺激により, $-40 mV$ における保持電流はいったん外向きに偏位し, これは徐々に減衰し定常状態ではコントロールレベルよりも内向きとなり, 受容体刺激をやめるとコントロールレベルに戻った. 差電流による検討からこの外向き電流は I_K , ACh の活性化によるものであり, また定常状態の保持電流の内向き偏位は I_K , ACh の抑制によるものであることがわかった. P_2 -受

容体による I_K , ACh の活性化機転については, 細胞膜内で百日咳毒素感受性G蛋白(G_K)を介してムスカリン性Kチャンネルと連結していることが明らかにされているので, 本研究はその抑制性作用機構について検討した. 細胞外 ATP は ACh ($5.5 \sim 11 \mu M$) により活性化された I_K , ACh を可逆的に濃度依存性に抑制した ($IC_{50}=5.4 \mu M$). また細胞外 ATP は GTP- γS ($100 \sim 200 \mu M$) の細胞内投与により G_K を直接活性化して誘発された I_K , ACh を不可逆的に濃度依存性に抑制した ($IC_{50}=4.5 \mu M$). これらの実験結果は, P_2 -受容体による抑制性のシグナルは, 受容体- G_K -ムスカリン性Kチャンネルの情報伝達路のうち G_K -イオンチャンネルのレベルに作用していることを示唆する. また, P_2 -受容体による GTP- γS より活性化された I_K , ACh に対する抑制性作用が不可逆であったことから, その抑制性情報伝達路に GTP- γS により不可逆的に活性化されるG蛋白が含まれている可能性が示唆された.

P-29. アラキドン酸代謝抑制により活性化されたクロライド電流(I_{Cl})

×坂口昌之, 松浦 博, 顚原嗣尚(佐賀医大, 第一生理)

モルモット心室筋細胞にパッチクランプ法による全細胞膜電流記録を行い, アラキドン酸(AA)代謝抑制剤の背景電流におよぼす効果を検討した. リボキシゲナーゼの阻害薬である Nordihydroguaiaretic acid (NDGA, $20 \mu M$) や AA-861 ($5 \mu M$), もしくはシクロオキシゲナーゼの阻害薬である Indomethacin (Indo, $10 \mu M$) を細胞に作用させ AA 代謝を抑制すると, $-25 mV$ 付近に逆転電位をもつ外向き整流特性を示す電流が誘発された. この逆転電位は実験条件における Cl^- イオンの平衡電位 ($-26.7 mV$) にほぼ等しいため, AA 代謝抑制剤によって Cl^- 電流が活性化されたと考えられた. AA 代謝を完全にブロックした時の方が, 部分的にブロックした時よりもより大きな Cl^- 電流が発現したため, 細胞内に蓄積した AA が Cl^- 電流の活性化に関与していると思われた. 高濃度 ($2 \mu M$) のイソプロテレノールにより c-AMP 依存性 Cl^- 電流を最大限に活性化した後, NDGA と Indo を作用させてもさらなる Cl^- 電流の活性化がおこった. この実験結果は, AA 代謝抑制剤による Cl^- 電流の活性化過程に c-AMP 依存性 protein kinase (PKA) の関与がないことを示唆する. AA による Cl^- 電流の活性化機転としては, 1) AA が直接イオンチャンネルが活性化し

た, 2) AA が他の情報伝達物質(PKC 等)を刺激してイオンチャネルを活性化した, 3) AA 自身が膜流動性の調節を介してイオンチャネルを活性化した, などの可能性が考えられる。

P-30. 青斑核における実験的虚血によるNMDA応答と膜電流の変化

村井 恵良(九大, 医, 第二生理)

脳虚血時には青斑核の活動が低下し, 意識障害を引き起こすことが知られている。この条件下, 細胞内では Ca^{2+} 濃度の上昇や ATP の減少がおこっている。

本実験では, 生後2週齢のラット青斑核からニューロンを単離し, ニスタチン穿孔パッチ法を適用することによって, 実験的虚血条件下における細胞内 Ca^{2+} 濃度 ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) 上昇による Ca^{2+} 依存性 K^+ チャネル ($\text{I}_{\text{K,Ca}}$) を指標にして, $\text{I}_{\text{K,Ca}}$ の発生による保持膜電流の変化や NMDA で惹起される $\text{I}_{\text{K,Ca}}$ を膜電位固定下に検討した。保持電位 -40 mV において虚血によって外向き電流が惹起され, また NMDA によって惹起される外向き K^+ 電流の半減時間 (T_{50}) が遅延した。いずれの外向き電流も charibdotoxin で抑制され, ATP 依存性 K^+ チャネルブロッカーは無効であったことから $\text{I}_{\text{K,Ca}}$ チャネルの関与が示唆された。 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ を Indo-1 を用いて測定したところ, 実験的虚血および NMDA 投与によって $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の上昇が認められた。以上の結果から, 青斑核において虚血条件下では Ca^{2+} 依存性 K^+ チャネルが開き, また NMDA 惹起の $\text{I}_{\text{K,Ca}}$ などを増強して虚血時の過度の興奮を抑制していることが推測された。

P-31. Ontogenic changes of GABA_A function of the rat Meynert neuron

Young Ho Jin (Department of Physiology, Kyushu University Faculty of Medicine)

Functional and developmental changes in GABA_A response were studied in the acutely dissociated rat Meynert neurons. The whole-cell GABA current displayed greater efficacy in the order of $0 \sim 2 \text{ day} > 6 \text{ month} > 2 \text{ week}$ -old rat neurons with changing the receptor affinity and cooperativity. Intracellular Cl^- concentration decreased through the developmental stages; i.e. 35 and 12 mM in 0 -day and 6 -month-old rat neurons respectively. Intracellular ATP sensitive-GABA response was the most evident in

6 -month-old rat neurons. Benzodiazepine receptor sensitivity changed with aging. Potentiation rate of GABA response by a BZD1 receptor agonist zolpidem was larger in 2 week and 6 month than 1 day -old rat neurons.

P-32. ONTOGENIC CHANGE OF GLUTAMATE RESPONSES IN MAMMALIAN CNS NEURONS.

Jeong-Seop Rhee (Department of Physiology, Kyushu University Faculty of Medicine, Fukuoka 812-82, Japan)

We investigated the ontogenic changes of iGluR responses in the neurons freshly dissociated from the nucleus basalis of Meynert of 1 day -, 2 week - and 6 month -old Wistar rats. Electrical measurements were made using the nystatin perforated patch recording mode under voltage-clamp condition. The holding potential was -50 mV . With development of the brain, the amplitude of KA- and AMPA-induced inward currents increased dramatically while the NMDA-induced one rapidly decreased. In 6 month -old rats, the NMDA response became almost sketchy. Moreover, K^+ current was activated by Ca^{2+} -activated K^+ current (I_{KCa}) appeared in the neurons of a few-day-old rats after birth and then developed considerably in the mature rats (2 - to 6 -month-old), raising the possibility that such a developmental increase of I_{KCa} is due to the developmental change either in the Ca^{2+} permeability through the individual receptors or in Ca^{2+} sensitive K^+ channel properties. Thus, we calculated the respective P_{Ca} from the reversal potentials of KA and NMDA responses in external solution containing various Ca^{2+} . The P_{Ca} through KA-operated channels decreased significantly with aging even through the current amplitude increased, while P_{Ca} through NMDA-operated channels did not change. Thus, iGluR-induced I_{KCa} may function as one of the negative feedback systems, preventing the excess cell excitation and neuronal damages of CNS, especially in the mature rats.

P-33. 心筋小胞体リアノジン受容体チャネルの A-キナーゼによるリン酸化

上原 明, 安河内緑*, 今永一成(福岡大, 医, 第

一生理・人間生物系総合研究室*)

ウサギ心室筋の小胞体から, Ca 放出チャネル蛋白を単離精製した後, 単一チャネル電流を記録した. リアノジン結合定数(K_D), 単一チャネルコンダクタンスはそれぞれ数 nM, および約 800 pS であった. 更に ATP, Mg, Ca, リアノジン感受性の全てが確認された. これらの諸性質は, これまでよく調べられているイヌ心室筋の場合と同様であった.

今回は, 同材料より protein kinase A の Catalytic subunit の効果を検討した. まず ATP 単独投与により, 開確率は確実に増加した. Mg 単独投与では, 開確率が減少する場合と変化しない場合に別れた. 然しながら, Mg 単独投与によりチャネルコンダクタンスは常に減少した. 更に, ATP と Mg 共存下, Catalytic subunit を一般によく用いられる単位で加えたところ, 開確率は著しく増加した. その変化は少なくとも約 3 倍以上であった. この時, チャネルコンダクタンスには全く変化が見られなかった. 更に ATP と Mg を washout により単純に除いたところ, コンダクタンスが回復するだけで, 開確率は kinase 投与前の低い状態に戻らなかった.

以上, ウサギ心筋小胞体の精製 Ca 放出チャネルでは, 単一チャネル電流がリン酸化により有意に活性化されることが判明した.

P-34. モルモット胃縦走筋の Mn^{2+} 誘発一過性収縮について

坂本康二, 井上真澄, 今永一成(福岡大, 医, 第一生理)

Mn^{2+} は多くの興奮性細胞で, 膜の脱分極による Ca^{2+} 流入を抑制するというのが一般的である. しかし, モルモット胃の縦走筋のついた輪走筋標本では, 低濃度の Mn^{2+} (0.1 mM) は膜の脱分極とそれに伴う静止張力の増大を起こすことが報告されている. 一方, モルモット小腸では, Mn^{2+} (数 mM) によるゆっくりした静止張力の増大が観察され, この増大は D-600 で抑制されると報告されている. 本実験では, モルモット胃縦走筋のみの標本に対する低濃度 Mn^{2+} (1.0 mM 以下) の収縮への効果を検討した. 0.1 mM Mn^{2+} を Krebs 溶液中で縦走筋に与えると, すぐに 3~10 分間続く一過性の収縮がみられた. この収縮は, Krebs 液中で繰り返し観察され, しかも Ca^{2+} channel blocker, D-600 (10^{-6} M), Nifedipine (10^{-6} M) ならびに TTX (10^{-7} M) などで, 殆んど影響を受けなかった. しかし,

この収縮は, Ca^{2+} 除去ならびに内在性 Prostaglandin 合成阻害剤, Indomethacin (10^{-7} M) の前処置で抑制された. さらに, この Mn^{2+} 誘発一過性収縮は Phospholipase A₂ inhibitor, Quinacrine (10^{-5} M) 前処置で有意に抑制された. 以上の結果より, この低濃度 Mn^{2+} 誘発一過性収縮は, 内在性 Prostaglandin を介した収縮の可能性が考えられる.

P-35. Phosphodiesterase inhibitor の心筋 Ca^{2+} , K^+ 電流に対する作用

松井一哲, 清末達人, 有田 眞(大分医大, 第二生理)

各種 phosphodiesterase (PDE) 阻害薬のモルモット心筋 L 型 Ca^{2+} 電流 (I_{Ca}), 遅延整流 K^+ 電流 (I_K), 収縮張力に対する作用を比較した. モルモット心臓より酵素的に心室筋細胞を単離し, whole-cell clamp 法により isobutyl methylxanthine (IBMX), cilostazol (CIL), milrinone (MIL) の I_{Ca} , I_K に対する効果を検討した. 非特異的な PDE 阻害薬である IBMX ($10\sim 50 \mu M$) と cGMP-inhibited PDE (PDE_3) の阻害薬である MIL ($10\sim 50 \mu M$) は, 濃度依存性にモルモット心室筋細胞の I_{Ca} と I_K を増大させた. これに対し, 血小板における強力な PDE_3 阻害薬とされる CIL の両電流に対する作用は IBMX, MIL に比べて極めて弱かった. また, IBMX, MIL, CIL は $10 \mu M$ の濃度でモルモット心室乳頭筋の収縮張力をそれぞれ, 38, 30, 26% 増加させた. 以上のごとく, 同じ PDE_3 阻害薬に分類される MIL と CIL の I_{Ca} と I_K ならびに収縮張力に及ぼす効果には差違が認められた. PDE_3 については, 膜結合型, 可溶型の 2 種類が報告されている. 細胞質中に PDE が可溶型として存在している可能性を考え, CIL を電極液を介して拡散により細胞内に投与した. しかし I_{Ca} の増大は認められなかったので, 両者における効果の差は脂溶性の違いや PDE_3 の細胞内における局在差違によっては説明できないものと考えられる.

P-36. ラット視床下部外側野による血液カリウム調節

粟生修司, 白峰克彦, 堀 哲郎(九州大, 医, 第一生理)

飲水, 浸透圧ならびにナトリウム代謝については視床下部を中心とする中枢調節機構が明らかにされているが, カリウムやカルシウム代謝の中枢性調節機構についてはよく知られていない. われわれは最近, 視床

下部にカルシウム代謝調節機構があることを見出し報告しているが、本研究では視床下部外側野の血液カリウム調節作用を調べた。無麻酔ウィスター系雌ラットを用い、視床下部外側野ニューロンを $GABA_A$ 受容体遮断薬のピキュキュリンメチオダイド(30 ng/rat)で化学的に刺激し、血液カリウム濃度変化を測定した。さらにいくつかの受容体遮断薬の前処置の効果も調べ、視床下部外側野カルシウム調節機構に対する効果と比較した。視床下部外側野にピキュキュリンを投与すると血液中のナトリウムイオンや塩素イオン濃度は変化しなかったが、カルシウムおよびカリウムイオン濃度が投与30分後有意に低下した。これらの効果はどちらも末梢性ムスカリン受容体遮断薬臭化メチルアトロピンまたはヒスタミン H_2 受容体遮断薬の前処置で消失した。末梢性ノルアドレナリン β 受容体遮断薬のナドロールはカルシウム低下作用だけ抑制し、カリウム低下作用には効果なかった。視床下部外側野には血液カルシウム低下機構だけでなく血液カリウム低下機構が存在し、アセチルコリンおよびヒスタミンが信号分子として作動していることが明らかになった。

P-37. ラット視索前野へのプロスタグランジン E₂(PGE₂)投与は、侵害受容行動を増強する

×細井昌子, 岡 孝和, 岡 佳恵, 堀 哲郎(九州大, 医, 第一生理)

PGE₂ は、末梢局所において痛覚増強作用を示すことはよく知られている。一方、我々は、これまでにインターロイキン- 1β のラット視索前野への投与、及び PGE₂ のラット脳室内投与が、侵害受容行動を増強することを報告しており、中枢性侵害受容増強作用の一部には視索前野での PG 産生が関与していることが推定された。今回、PGE₂ が侵害受容増強作用を生じる脳内作用部位を決定するために、PGE₂ 及びそのレセプターアゴニストを視索前野へ投与し、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ところ、PGE₂ (5~50 fg) 及び M & B 28767 (EP₃ アゴニスト, 0.05 fg~5 fg) 投与 15 分後で潜時が短縮した。さらに、視索前野で最大の侵害受容増強作用を示した M & B 28767 (0.5 fg) を室傍核、視床下部外側野、視床腹内側核に投与しても潜時は短縮しなかった。したがって、PGE₂ は少なくとも一部は視索前野の EP₃ レセプターを介して、中枢性に侵害受容行動を増強することが示唆された。

P-38. Interleukin-6 (IL-6) は海馬の長期増強 (LTP) を抑制する

李 愛軍, 片岡俊彦, ×野村幸伸, 堀 哲郎(九州大, 医, 第一生理)

最近、脳内で産生されるサイトカインが、神経修飾物質として様々な作用をもつことが明らかになってきた。例えば、IL- 1β , IL-2, TNF α および IFN α は海馬の LTP を抑制する。一方、海馬 CA1-CA4 領域の錐体細胞には、IL-6 および IL-6 受容体の mRNA が constitutive に存在するが、海馬におけるシナプス可塑性との関連については全く報告がない。そこで、ラット (200~250 g) の海馬スライス標本 (400 μ m) を用い、Schaffer 側枝-CA1 回路の刺激によって誘発される LTP に対する、IL-6 の作用を検討した。テタヌス刺激 (100 Hz, 1 sec) の 5 分前から 10 分間ヒトリコンビナント IL-6 (50, 200, 500, 2000 U/ml) を灌流投与すると、CA1 領域の LTP が用量依存的に有意に抑制され、加熱不活性化した IL-6 (2000 U/ml, 90°C, 30 min) では効果がなかった。高濃度 (500, 2000 U/ml) の場合にはテタヌス後増強 (PTP), 短期増強 (STP) も抑制された。また、IL-6 の LTP 維持に対する影響を検討するために、テタヌス刺激 10 分後に 10 分間 IL-6 を灌流したところ、テタヌス刺激によって誘発された LTP は高濃度の IL-6 によって軽度ではあるが抑制された。IL-6 を 10 分間灌流投与しただけでは誘発シナプス電位に影響はなかった。以上より、IL-6 は海馬のシナプス後、および前細胞において、テタヌス刺激による LTP の誘発に関与する細胞内シグナル伝達を抑制することが明らかになった。

P-39. 視索前野ニューロンのグルタミン酸応答に対するプロスタグランジン E₂ の効果

×段 樹民, 片岡俊彦, ×武 幸子, 堀 哲郎(九州大, 医, 第一生理)

サイトカインの神経細胞に対する作用の多くは、グリア細胞で産生される PGE₂ を介することが示唆されている。視索前野 (POA) では、皮膚からの温熱情報がグルタミン酸 NMDA 受容体によって伝達されているが、我々は、POA ニューロンの NMDA 応答電流が、インターフェロン α によって抑制されることをスライスパッチ法を用いて明らかにした。本研究では、急性単離した POA ニューロンを用い、PGE₂ によるグルタミン酸応答の修飾機序をアンホテリシン B 穿孔パッチクランプ法で検討した。

Yチューブによるグルタミン酸の投与によって、POA ニューロンでは、1) 経過の速い内向き電流、2) NMDA 受容体の活性化によって誘発される Ca^{2+} 依存性 K^+ 電流、および 3) メタボトロピックグルタミン酸受容体を介した経過の遅い内向き電流が観察された。PGE 2 ($1 \mu\text{M}$) の単独投与では、膜電流はほとんど変化しないかまたは少数で軽度の内向き電流が誘発された。一方、グルタミン酸 ($100\sim 300 \mu\text{M}$) または NMDA ($100\sim 300 \mu\text{M}$) によって誘発される 1) 速い内向き電流は、PGE 2 の同時投与によって影響を受けなかったが、2) Ca^{2+} 依存性 K^+ 電流は、PGE 2 によって著明に増強された。PGE 2 はカイニン酸による内向き電流には影響を与えなかった。3) メタボトロピックグルタミン酸受容体を介した内向き電流については、現在検討中である。

P-40. 雌マカクザルの視覚による性の識別および嗜好性

水野雅晴, 栗生修司, $\times$ 藤田和生*, 堀 哲郎(九州大, 医, 第一生理・京大, 霊長研, 思考言語*)

野外においてマカカ属の雌ザルは繁殖期(冬期)に雄ザルとの随伴行動を示し、非繁殖期には雌と行動を共にすることが多い。一般に性の識別に嗅覚および視覚が重要な働きをしていることが知られているが、それぞれの感覚情報がどの程度重要であるのかを定量的に調べた実験はほとんどない。本実験は、夏期および冬期に撮影した雌雄アカゲザルのビデオ動画を感覚性強化子とした嗜好課題を用い、サルが任意にレバーを押し動画を見る時間を指標として雌マカクザルの視覚による性嗜好性とその季節変化を調べた。アカゲザルとペアで育てられアカゲザルに嗜好性を示すことがわかっている成熟ニホンザル 3 頭、成熟アカゲザル 2 頭、若年アカゲザル 1 頭の計 6 頭に対し、夏期と冬期に実験を行なった。成熟雌ニホンザル 3 頭は夏・冬期共に繁殖期の雄画像を雌画像より長時間見ることから雄への視覚的嗜好性があることが示唆された。これらのサルは夏期に撮影した雄画像にはそのような嗜好性を示さなかったが、このうち 1 頭は冬期に限り非繁殖期の雄画像にも嗜好性を示した。性周期の始まったばかりの若年アカゲザル 1 頭は実験時期に係わらず、夏期に撮影された雌画像に嗜好性を示した。残る 2 頭は、本実験では性嗜好性は検出されなかった。以上の結果より、少なくとも一部の雌マカクザルは視覚情報だけで性および季節の違いを識別でき、とくに成熟雌ザルは

繁殖期の雄ザルに対して視覚的嗜好性があることが明らかになった。本研究は、京都大学霊長類研究所での共同利用研究による。

P-41. 交感神経節における purinergic fast EPSP の再検討

井口敏恵, $\times$ McLachlan, E. M.*, 東 英穂(久留米大, 医, 第一生理・POWMRI*)

最近, ACh に加えて ATP も交感神経節 fast EPSP (C) の伝達物質であるという説が培養交感神経節細胞の実験結果に基づいて受け入れられつつある。そこで、摘出交感神経節でも purinergic fast EPSP が誘起できるか再検討してみた。ウレタン麻酔 (1.5 g/kg I. P.) 下にモルモット ($160\sim 280 \text{ g}$) の腹腔, 下腸間膜, 腰部交感神経節を付随する神経幹と共に摘出し、節後細胞から膜電位(流)記録を行なった。Fast EPSP (C) は節前あるいは末梢神経線維刺激によって誘起した。Suramin (P2 受容体拮抗薬, $0.5\sim 1 \text{ mM}$) は fast EPSP (C) および静止時、活動時膜特性に有意な影響を与えず、ATP ($0.5\sim 1 \text{ mM}$), α , β -methylene ATP (P2X 受容体働薬, $1\sim 40 \mu\text{M}$) も大多数の検討細胞で有意な変化を与えなかった。しかし、2 検討細胞において ATP (1 mM) は膜抵抗の増加する緩徐な脱分極を認めたが、膜抵抗の減少する速い脱分極は誘起されず、fast EPSP (C) も変化がなかった。すべての fast EPSP (C) は C6 ($50\sim 1000 \mu\text{M}$), d-TC ($10\sim 280 \mu\text{M}$) によって可逆的に遮断された。また、節後線維切断後 1~5 日の節後細胞でも ATP, α , β -methylene ATP に対する感受性は増大しなかった。以上の結果、成熟モルモット摘出交感神経節において P2X-受容体を介する fast EPSP の存在する可能性は非常に低いと思われる。

P-42. 食塩・水弁別 GO-NOGO タスク時に活動するサル大脳皮質ニューロンと記録部位

井福裕俊, 大串 幹, 小川 尚(熊本大, 医, 第二生理)

我々は先に、食塩・水弁別 GO-NOGO タスクを学習させたサルの前頭弁蓋部皮質からタスク関連ニューロンを記録し、Angiotensin II (A II) の脳室内投与で cue 刺激に対する応答潜時の短縮、応答の増大、自発放電の増加などの変化を見出した。今回、実験に用いた 2 頭のニホンザル *macaca fuscata* を深麻酔して脳を灌流固定し、厚さ $100 \mu\text{m}$ の連続凍結切片を作成

し、チオニン染色を施し、記録部位の同定を行った。この結果を基に、各領野のニューロン応答の特性を解析した。

タスク関連ニューロン129個の記録部位を同定した。areaGのニューロンは長潜時応答を生じ、味覚応答であることが示唆された。これに反し、その他の領野では長潜時応答と短潜時応答とが混在していた。この所見は、areaGが第1次味覚野であることと一致する。AII投与により、areaGニューロンでは味覚応答の変化が見られなかったが、その他の領野では応答パターンや潜時の変化が見られた。これらのことから、areaGにはAIIでactivateされるsubfornical organからの投射がないと考えられる。

以上の所見より、areaGでは味覚の情報処理が純粋に行われていることが示唆された。

P-43. 高気圧環境(N₂-O₂, 3気圧)における副交感神経ブロックの効果

鳥居理子, 和田 太, 永谷 建, 山崎文夫, 遠藤豊, 佐川寿栄子, 毛利元彦*, 白木啓三(産業医大, 第二生理・海洋科学技術センター*)

高気圧暴露によって心拍数の減少が起こることが報告されている。この心臓の変時作用(徐脈)の発生に対する自律神経の関与を推定するために、3気圧(N₂-O₂混合ガス)環境で、アトロピンを投与して副交感神経をブロックし、心拍数の変化を観察した。

被験者は健康成人男子4名(33.5±7.4才)で、大気圧空気環境にて事前観察後、N₂-O₂混合ガス下で3気圧まで(PO₂=0.4 atm, PN₂=2.6 atm)加圧した。8日間保圧した後、大気圧に戻し、事後観察をおこなった。事前観察期(Predive)2日目、保圧期(Saturation)1日目と7日目、事後観察期(Postdive)3日目に、硫酸アトロピン(0.04 mg/kg)を静脈内に投与し、心拍数を15分間連続測定した。

すべての被験者は、アトロピン静注によって、Predive, Saturation, Postdiveのいずれにおいても、

心拍数が増加した。アトロピン静注前後における心拍数の変化量(Δ HR)と比率(HRb/HRa)はPrediveとSaturationで差がみられず、副交感神経伝達阻害の効果は3気圧暴露によって影響されなかった。

以上の結果から今回の実験では、高気圧環境(N₂-O₂混合ガス3気圧)での心臓の変時作用に対して、副交感神経の関与は少ないと結論した。

P-44. メディア利用による教育の試みについて

沖田千代(純真女子短大・産業医大, 第二生理)

短大での解剖生理学実験で動物実験を組んでいる場合、現在、その内容としてはラットの解剖および組織を使用した機能実験などが多い。動物実験は哺乳動物特にヒトの身体の構成および臓器の機能の理解のために教育効果の高い実験であるが、特に機能実験の場合、動物組織は生体であることが必須条件であり、必要臓器を採取し、実験に供するまで実験はできるだけ短時間の進行が要求される。そのため、学生の理解が不十分なまま進行し生体を使う貴重な実験にも関わらず教育効果は十分には期待できない。ビデオなどの使用では一方的な受講になり、学生の興味を引き出せない。そこで、音声や画像を組み込むことが出来、情報を統括的に扱う事が可能となったマルチメディア機能を用い、学生と対応可能な機能も駆使して、短大生において解剖生理学実験をより深く理解させ、興味を持たせる目的でメディア教材の開発を試みた。

メディア教材は反復学習、擬似体験学習が可能であり、学生は納得するまで使用できる利点があり、また、視覚に訴えることの必要な科目においてはマルチメディアの利用によって様々な視野からの柔軟性に富んだ学習が期待できる。今後、効果は確認したい。また、すべての素材が自前であるため、ビデオの画像解像度に不鮮明さは拭えなかったが、しかし、今回の試みは再編性のある試みであり、高等教育の教材分野にマルチメディアを模索する場合その一助となると思われる。

第 42 回 中 部 日 本 生 理 学 会

日 時：平成 7 年 10 月 17 日(火)・18 日(水)

会 場：愛知県中小企業センター

世 話 人：藤田保健衛生大学医学部第一生理 佐々木 勲 第二生理 永 田 豊
衛生学部生理 曾我美 勝 富田 忠雄

別報のごとく、第 42 回中部日本生理学会を開催した。中部地区で大きな学会が幾つか開催された直後であり、不況のさなかでもあるので、参会者数や寄付金額に不安を持ったが、すべて平年通りでまったく円滑に完了した。

ただ、会員の方々に、「MS-DOS のテキストファイルで入力したディスクを提出する」という生理学会の方針がよく理解されておらず、当教室のパソコンで一枚のディスクにまとめることは不可能であった。この点、一層の啓蒙が必要と思われた。(佐々木)

×は非会員を示す

1. ハトの温度刺激による水平半規管内リンパ圧変化 2

和田佳郎, 渡辺 悟, 鈴木啓之* (名大, 環研, 平衡適応・春日井市*)

我々は、対流の生じない無重力の宇宙において温度性眼振が観察されたことから、これまでの半規管内リンパ対流説以外の温度性眼振発現メカニズムとして、熱膨張・収縮による半規管内リンパ圧変化説を実験的に検討している。今回は、2 台の微小圧測定装置 Micro Pressure System (WPI 900 A) を用いて、ハトの温度刺激に対する水平半規管膨大部クブラ両側内リンパ圧差を検討した。主な結果は以下のとおりである。

1. ハト ($n=7$) の水平半規管温度刺激に対する膨大部のクブラ頭部側 (A) および尾部側 (P) における内リンパ圧の同時測定をおこない、クブラ両側内リンパ圧差 (A-P) について検討した。2. クブラ頭部側、尾部側の内リンパ圧およびクブラ両側内リンパ圧差 (A-P) は刺激温度にほぼ比例して変化した。3. クブラ両側内リンパ圧差 (A-P) は、冷刺激によって $-0.18 \text{ mmHg}/^\circ\text{C}$ 、温刺激によって $0.24 \text{ mmHg}/^\circ\text{C}$ 変化した。4. 外耳道に冷温水 ($0 \sim 46^\circ\text{C}$) を注水することによって、鼓膜の温度は最大 $\pm 4.0^\circ\text{C}$ 、水平半規管の温度は最大 $\pm 0.9^\circ\text{C}$ 、クブラ両側内リンパ圧差 (A-P) は最大 $\pm 0.2 \text{ mmHg}$ 変化した。5. 5 mmHg のクブラ両側内リンパ圧差では眼振は起こらなかった。以上の結果から、長期無重力環境下では半規管感受性が高まり、地上では閾値以下の非常に小さなクブラ両側内リンパ圧差で眼振が起こるという可能性が考えられる。

2. 中耳腔薬物注入によるラットの前庭破壊

森 滋夫, Chen Yani, 和田佳郎, 田中正文, 渡邊 悟 (名大, 環境医研)

鼓膜を介して中耳腔に砒素化合物を 1 回注入するだけで前庭破壊ができるとの報告があり、これをラット (ウイスター系, 7 週齢) で確かめた。無処置群, 生理食塩水注入群, 無水アルコール注入群を対照群として、落下中の立ち直り反射, 立ち直り反射に対する四肢接触の影響, 回転性後眼振, 狭いレール上バランスについて週 2 回, 3 週間にわたり観察したところ、砒素注入群 (パラアミノフェニール砒酸ナトリウム 100 mg/ml , 0.1 ml を両側中耳にゆっくり注入) で特異的にこれらの機能が障害された。体重増加は他群と特に差異はなかった。砒素注入群 5 匹中 2 匹では全ての障害が強く、また両側前庭破壊に特有な頸部背屈姿勢を頻繁に認め、これらは観察期間中回復傾向を示さなかったが、他の 3 匹では両側非対称な破壊によると考えられる。チェック項目による差と頭部の片側傾斜を認め、また 2 週目までにかなり回復した。成功の確率はまだ高くないが前庭破壊ラット作成法としては簡便であり有用と考えられた。

3. 直線加速度負荷の視運動眼振発生への影響

渡邊 悟, 森 滋夫, 和田佳郎, ×羽柴基之* (名大, 環医研・名古屋市大, 医, 耳鼻科*)

両耳軸方向の直線加速度負荷により耳石-眼運動反射 (OOR) による眼振の発現を観察することができる。今回、我々は OOR と視運動眼振を組合わせ、視運動眼振の緩徐相への OOR の影響を調べた。OOR の影響のパラメタとして緩徐相積算眼位 (SCEP) と緩徐相速度 (SPV) の変化について報告する。SECP は振幅一定

にし、加速度の大きさを変化させるとほぼ平行して大きくなるが、加速度の大きさを一定にしてカートの運動の振幅を変えても、即ちカートの動きの周波数を変化させても、周波数とは関係なく加速度の大きさのみに依存していた。SPV についても各加速度について、同様に SPV の平均値を計測して較べてみると、加速度の大きさには依存するが、カートの動きの周波数には関係ないことが示された。OOR は加速度の大きさに依存することが明らかにされた。今回我々の使用した直線加速度負荷装置は実動距離が最大 18 m, 最大加速度 $0.5 \times g$ を得ことができたことより、充分な刺激時間、解析時間を得ることができた。

4. ヒスタミンによる内臓ポリモーダル受容器の誘発放電と熱反応の増強に関わる受容体サブタイプの再検討

甲田久士, 水村和枝, 熊澤孝朗(名大, 環境医研, 器官系機能調節部門神経性調節分野)

侵害受容器の感作機構を解明するため、我々は先の実験で、ヒスタミン(Hist)によるポリモーダル受容器の熱反応に対する感作を研究し、Hist は神経伝導速度が 10 m/s 以下の遅いポリモーダル受容器に放電を多く誘発させることや、神経伝導速度や Hist による誘発放電の出現の有無に関わらずポリモーダル受容器の熱反応を増強させることが分かった。また、この現象に関わる受容体サブタイプは、H1 である可能性が高いことを既に報告した。

今回は、さらに確認のために H3 受容体拮抗薬を用いて Hist による内臓ポリモーダル受容器の誘発放電と熱反応の増強に関わる受容体サブタイプの再検討を行なった。標本は、イヌの精巣を精索と一緒に取り出し精索の上精巣神経からポリモーダル受容器の単一ユニット放電活動を記録し計数した。Hist の H1 受容体拮抗薬は D-chlorpheniramine ($5 \mu\text{M}$) を、H2 受容体拮抗薬は famotidine ($20 \mu\text{M}$) を、H3 受容体拮抗薬は tioperamide ($20 \mu\text{M}$) を用いた。Hist はタキフィラシスを起こすので、初回拮抗薬を投与した群とコントロールとして Hist 単独投与のみを行なった 4 グループで、Hist による誘発放電および熱反応増強効果について比較検討した(Tukey)。この 2 つの現象は、H1 受容体拮抗薬で他の 3 群に比して有意に抑制された。以上の結果、Hist によるポリモーダル受容器の誘発放電および熱反応の増強効果には、H1 受容体が強く関与していると思われる。

5. 新しい交差緩和時間測定法及びタンパク質 molten globule state (MG 状態) 研究への応用

梶原孝彦, 曾我美勝, 中上 寧, 恵良聖一*, 桑田一夫*, ^x加藤一夫** (藤田保健衛生大, 衛生, 生理・岐阜大, 医, 生理*・稲沢市民病院, 中検**)

タンパク質の native state (N 状態) と unfolding state (U 状態) の中間に、分子容、二次構造は N 状態と殆ど差がなく、側鎖のゆらぎの増加した MG 状態がある。筆者らは、 $500 \text{ MHz } ^1\text{H-NMR}$ を用い、Akasaka (1981) のインバージョン・リカバリー (INV. REC.) 法を改良し、 f_2 照射プロトンより主鎖 ($\alpha \text{ CH}$)、側鎖プロトンへの交差緩和時間 (T_{IS}) を測定し、MG 状態におけるゆらぎ増加を研究した。混在する HDO のスピン格子緩和時間 (T_1)、照射時の縦緩和時間 (T_1^*) が $\alpha \text{ CH}$ の T_1 、 T_1^* よりも、かなり長い*ため、HDO 吸収線近傍(高磁場側)に観測される $\alpha \text{ CH}$ の T_1 、 T_1^* 、即ち T_{IS} 値の測定は、Akasaka (1981) の INV. REC. 法では困難であった。非 f_2 照射及び長時間 f_2 照射後、 180° パルスの代わりに 90° パルスを用い、 $\alpha \text{ CH}$ 、側鎖プロトンのスピン・スピン緩和時間 (T_2) の 5 倍以上経過した後、緩和のデータを取り込み、それぞれ T_1 、 T_1^* 値を求め T_{IS} 値を計算した (HALF-INV. REC. 法)。非常に HDO 吸収線の弱いヒト血清アルブミン試料を用い、両法を比較し同一の結果を得た。ついで卵白アルブミンの N、MG 状態の $\alpha \text{ CH}$ 、側鎖プロトンの T_{IS} 値を HALF-INV. REC. 法で測定し、MG 状態における主鎖、側鎖のゆらぎ増加を見出した。

6. 球状タンパク質のモルテン・グロビュール状態とは?—卵白アルブミンを例として

恵良聖一, 曾我美勝*, 梶原孝彦*, 桑田一夫, 中村浩二, 林 知也(岐阜大, 医, 第二生理・藤田保健大, 衛生, 生理*)

球状タンパク質の分子構造上の新しい概念として、1983年に「モルテン・グロビュール状態」と呼ばれる構造が、チトクロム c の研究によって提唱された。その後この構造は、タンパク質の構造のうち、単に例外的で特殊な構造ではなく、種々の球状タンパク質で見いだされ、現在ではその生理的意義の重要性が種々論じられるようになってきた。このモルテン・グロビュール構造とは、タンパク質分子の主鎖は天然状態のようにコンパクトな構造を保っているが、側鎖の状態、即ち三次構造は変性状態のように比較的自由的な動きを

しているという構造である。卵白アルブミン(OVA)のN型(pH 7.0)とE型(pH 2.0)の分子構造を比較すると、E型の分子容や二次構造はN型にほぼ等しいが、側鎖の誘起 CD は大きく変化することが報告された(小関ら, 1988)ので、今回我々は、500 MHz ^1H -NMR を用いて OVA の側鎖の交差緩和時間(T_{IS})を測定し、OVA 分子の側鎖の動き易さについて解析した。

OVA 分子のN型とE型状態での特定のプロトン、即ち -2.45, 0.40, 7.13, 8.65 p. p. m. の部位を f_2 照射して T_{IS} 値を測定したところ、 T_{IS} 値はいずれの部位でも、E型の方がN型よりも長い値であった。 T_{IS} 値のこのような増加は、小関らの CD による結果とよく一致し、E型においては分子の「かたさ」が減少している、即ち側鎖の可動性が増加していることが示唆されたことより、OVA のE型はモルテン・グロビュール状態であろうと考えられた。

7. プラスミノゲンクリングドメインのリガンド結合部位

酒井淳一, 塩野裕之, 松井卓哉, 森下浩靖, $\times$ 真田進, 村瀬 豊, $\times$ 張 淑娟, 岡田 忠, 梶江 勇(愛知医大, 第一生理)

線溶酵素であるプラスミノゲンは5つのクリングドメイン(クリングル1-5)とセリン酵素部分で構成されている。各クリングドメインは約80残基でなり、3つのS-S結合が存在し、構造に高い相同性がみられるが、リジンに対する親和性を異にする特性が知られる。プラスミノゲンをエラスターゼで分解し、クリングル4、ミニプラスミノゲン(クリングル5+セリン酵素部分)のフラグメントを得た。リジンセファロースゲルをこれらフラグメントと懸濁し、その直後の液相中のフラグメントを液体クロマトグラフィーにて測定することで、そのリジン親和性を検討した。クリングル4はリジンセファロースへの親和性を示したが、ミニプラスミノゲンにはみられなかった。さらに dipole length の異なるリジン-グルタミン酸を合成し、セファロースにカップリングして同様な方法で検討したところ、ミニプラスミノゲンに親和性がみられた。これらの結果より、クリングル4、5では zwitter-ionic ligand に対する結合部位を構築している残基の配位に相違があるものと考えられる。

8. 顆粒球エラスターゼによる PAI-1 限定分解の生理的意義の検討

浦野哲盟, 永井信夫, 高橋宏史, 高田由美子, 高田明和(浜松医大, 第二生理)

【はじめに】 プラスミノゲンアクチベーターインヒビター 1 (PAI-1)は線溶活性の制御に重要であるが、N. E. により限定分解される(Levin & Santell, J. Cell Biol. 105, 2543-2549, 1987)。今回我々はこの現象により線溶活性が増強されることを見いだした。

【方法】 PAI-1 は大腸菌にて発現させた遺伝子組み換え PAI-1(rpPAI-1)を用いた。N. E. による rpPAI-1 の限定分解部位は Edman 分解法で同定した。PAI 活性は u-PA の阻害活性により測定した。精製系で種々濃度の N. E. 存在下で thrombin 添加により fibrin clot を作成し、N. E. の clot lysis への影響を検討した。

【結果と考察】 活性型 PAI-1 は N. E. により Val 355-Ser 356 (P4-P3) 結合が限定分解され不活化された。活性潜在型 PAI-1 は限定分解されなかった。クロット溶解時間は PAI-1 の存在下では N. E. 濃度依存性に短縮したが、PAI-1 の非存在下では短縮しなかった。

【結論】 活性型 PAI-1 は N. E. によって反応部位近傍(P4-P3 結合)を限定分解され不活化されることが示された。これは線溶活性の新しい促進経路であると考えられた。

9. ヒト培養マスト細胞の MC_{TC} への分化

岡田 忠, 松井卓哉, 森下浩靖, 塩野裕之, 酒井淳一, $\times$ 真田 進, 村瀬 豊, $\times$ 張 淑娟, 梶江 勇(愛知医大, 第一生理)

ヒトマスト細胞は骨髓幹細胞より派生し組織で固有の分化をとげると考えられる。組織のマスト細胞には heterogeneity が報告され、粘膜や肺の細胞は顆粒に tryptase を含む MC_T、皮膚の細胞は tryptase と chymase を含む MC_{TC} に分類される。幹細胞を stem cell factor (SCF) の存在下で培養して得られるマスト細胞では chymase 陽性の細胞(MC_{TC})が約10%と少ない(Menachem, R., Okada, T., Goff, J. P., Metcalfe, D. D. Blood 84: 1994, 2489)。そこでヒト皮膚線維芽細胞との coculture を行ない chymase 陽性のマスト細胞 MC_{TC} への分化を検討した。臍帯血単核球を SCF 100 ng/ml, 1 L-6 25 ng/ml の存在下で6週間培養すると平均65%の純度でマスト細胞が得られるが、

これを更に2ヶ月間ヒト皮膚組織より得た線維芽細胞の初代培養と coculture して tryptase 含量及び chymase 陽性率を酵素抗体法で調べた。培養2週で tryptase 陽性細胞が認められ、10~16週でマスト細胞は $95.6 \pm 3.7\%$ に達するが、chymase 陽性細胞は $0 \sim 9.6\%$ で tryptase 含量は $8.2 \pm 0.6 \mu\text{g}/106 \text{ cells}$ であった。coculture によって90%以上の細胞は線維芽細胞と adhesion し、顆粒が増加してヒト皮膚マスト細胞と類似の形態を示すようになり、chymase 陽性細胞が3週で58%、2ヶ月で83%に増加した。また、tryptase の含量も約10倍に増加した。以上の結果線維芽細胞への adhesion によってマスト細胞の分化が促進され、SCF 以外の因子が分化に必要なことが推察される。

10. ポリアニオンとリンパ球の相互作用

中島 昭, 森 啓至, 佐々木勲(藤田保健衛生大, 医, 第一生理)

マウスリンパ球にポリアニオンを添加すると、一部のリンパ球が破裂し、放出された核成分によりゲルが生ずる。このゲルの形成メカニズムを解析した。1) Micrococcal Nuclease (MNase) で核から部分分解したクロマチンに、デキストラン硫酸(DS)を作用させ、その反応物をゲル濾過した。DS, DNA, ヒストンからなる複合体が観察された。2) モデル実験として、ヘパリンセファロースと核を混和後、ヘパリンに結合した蛋白成分を SDS-PAGE とウェスタンブロット法で解析した。核蛋白の中で主にヒストンが観察され、その結合力の強さはヒストン H3, H4, ヒストン H2A, H2B, H1 の順であった。3) クロマチンを MNase で分解すると、約150塩基対の整数倍の分子量をもつ DNA が生成した。一方、DS を添加したクロマチンでは、より小さな DNA にまで切断され、ヌクレオソーム構造の破壊が示唆された。さらに、クロマチンに添加した DS を Triethylaminoethyl Cellulose で除去後、NaCl-Urea 法を用いると、ヌクレオソーム構造が再構築することが明らかになった。以上から、DS が核に作用すると、ヌクレオソームからコアヒストンが引き抜かれ、DS/コアヒストン複合体が形成され、この複合体に遊離した DNA が結合し、巨大網状分子が形成されると考えられる。

11. 細胞核に対するポリアニオンの作用—形態学的研究—

森 啓至, 中島 昭, 佐々木 勲(藤田保健衛生大, 医, 第一生理)

Dextran sulfate (DS) などの高分子硫酸エステルは、各種細胞核の膨化、破裂を引き起こす。このメカニズム明らかにする為形態学的に検討し、さらに膨化中の核内圧変化を測定した。光学顕微鏡による観察では、DS は死細胞の核を膨化させリンパ球の場合は破裂に至らしめたが、健全な細胞膜を持つ細胞に対しては無効であった。それに対し SDS は全ての細胞を破壊した。マウス肝細胞核の超薄切片を電子顕微鏡で観察したところ、DS 添加後の核は膨化し核内には無構造の空間が多く見られたが、核膜は残っており核周ははっきりしていた。SDS の添加後では核の構造全てが破壊されていた。クロマチン構造の変化を見るため、核を微量遠心展開法でカーボンメッシュに張り付け白金シャドウイング法で観察したところ、DS により膨化した核の周囲にはクロマチン構造の崩壊した DNA が放射線状に広がっており、DS はクロマチン構造を破壊することが確認された。SDS 添加後の核では、核自身が崩壊し DNA 線維も網状に広がっていた。膨化中の核内圧変化をマイクロプレッシャーシステムで測定したところ、核の膨化が始まると同時に内圧は上昇した。我々は DS がクロマチンよりヒストンを引き抜くことを別報で報告している。今回の結果と合わせ、DS によりヒストンを引き抜き抜かれたクロマチンは崩壊し、遊離した DNA は DS/ヒストン複合体を介してランダムに結合しゲルを作る。このゲルが水を取り込んで膨潤し核は破裂すると考えられた。

12. マウス海馬におけるニューロブシン遺伝子の増加—神経活動依存的な遺伝子誘導

×岡 部 明 仁***, ×百 田 芳 春*, ×伊 藤 治 朗**, ×塩坂貞夫*, 西野仁雄** (奈良先端科技大, 細胞構造学*・名市大, 医, 第二生理**)

短期記憶の中枢とされる海馬において新たな蛋白質を見いだし、神経細胞での局在、神経機能および神経の可塑性に係る可能性からその蛋白質をニューロブシンと命名した。この蛋白質は海馬内の神経成長因子を測定する過程で RT-PCR によって得られた遺伝子断片を詳しく検討することによって得られた新規のセリンプロテアーゼである。この蛋白質は260個のアミノ酸からなり、分子量は約26,000であった。現

在その蛋白質のセリンプロテアーゼ活性, 中枢神経系での遺伝子及び蛋白質の分布, 個体発生, 及び神経可塑性との関連について検討中である。神経可塑性とニューロブシン遺伝子の変動に関して今回は記憶のモデルとされている長期増強モデル動物を使い, in situ ハイブリダイゼーション法によってニューロブシン mRNA を同定し, X線マクロオートラジオグラフのデンストメトリーによる半定量化を行った。その結果, 長期増強現象が成立したマウスにおいて, 刺激側の海馬 CA1 領域, そして, 反対側の CA1 領域でニューロブシン mRNA の増加が有意に認められ, さらにどの領域でも増加する傾向がみられた。このことは長期増強現象を誘導するような刺激を与えることによってニューロブシン遺伝子の発現量が増加したことを示す。従って, 神経細胞の可塑性の変化に際して, 本蛋白質が何らかの関与をし, さらに重要な機能を有している可能性を示唆している。

13. I 型インスリン様成長因子 (IGF-I) 受容体 mRNA 発現に対するホルボールエステルの影響: ヒト神経芽細胞腫 SH-SY 5Y における検討

太田 明(藤田保健衛生大, 総医研, 難治研)

【目的】 ヒト神経芽細胞腫 SH-SY 5Y の 12-O-tetradecanoyl-phorbol-13-acetate (TPA) による神経突起形成に伴う IGF-I とインスリンの役割を検索する目的で, 両ペプチド各々の受容体の mRNA の発現を solution hybridization/RNase protection assay 法を用いて検討した。

【方法】 SH-SY 5Y は 10% FCS 加 DMEM, 10% CO₂ にて継代培養され, リガンド結合実験並びに免疫沈降法を併用した cross-linking に供された。SH-SY 5Y への TPA 1.5 nM 投与は, 2% FCS 加 DMEM に置換後施行され, 以下の項目が検討された; (1) 神経突起を形成した細胞数, (2) ¹²⁵I-IGF-I 並びに ¹²⁵I-インスリン結合, (3) solution hybridization/RNase protection assay による各受容体 mRNA 発現レベル。

【結果】 ヒト神経芽細胞腫 SH-SY 5Y に関し, 特異的 IGF-I 並びにインスリン受容体の存在が証明された。更に TPA 1.5 nM を培養液中に投与することにより以下の結果が得られた; (1) 神経突起形成細胞数は有意に増加した, (2) ¹²⁵I-IGF-I 結合能は増加傾向を示した, (3) IGF-I 受容体 mRNA レベルの有意な上昇を認めた。他方インスリン結合能及びインスリン受容体 mRNA レベルの有意な変動は認められなかった。

【結論】 SH-SY 5Y の神経突起形成に, IGF-I が関与している可能性が示唆された。

14. ヒト神経芽細胞腫培養細胞 NB-OK-1 における PACAP 関連ペプチドの作用

×倉橋康博, ×妻鳥統子*, ×曾根啓紀, 鈴木睦昭*, ×井口和明, ×望月 徹, 星野 稔*, ×矢内原昇** (静岡県立大, 薬, 生物薬品・静岡県立大, 生活健康, 環境生理学*・(株)矢内原研究所**)

【目的】 神経ペプチド PACAP は, ヒト神経芽細胞腫培養細胞系 NB-OK-1 において細胞内 cAMP 濃度を上昇させ, 神経突起の伸長を誘導し, 細胞増殖を抑制する。本研究では PACAP の VIP 産生・分泌に対する作用および細胞内情報伝達経路について検討した。

【方法】 NB-OK-1 細胞を PACAP 存在下 24 時間培養後, 細胞抽出物および培地中の VIP 免疫活性を家兔抗血清 R 502 を用いた RIA 系にて測定した。細胞内カルシウムイオン濃度 ($[Ca^{2+}]_i$) の測定は, NB-OK-1 細胞に Fura-2 を負荷後アルガス-50 システムを用いた蛍光画像解析法にて行った。

【結果・考察】 PACAP は NB-OK-1 細胞において VIP の産生・分泌を用量依存的に促進し, その作用は特に PACAP 38 で著しく, PACAP のこの作用は PACAP アンタゴニストである PACAP (8~27), (10~38), (5~38) により抑制された。また, この促進作用には, A-kinase が関与していることを示した。さらに, PACAP は $[Ca^{2+}]_i$ を一過性に上昇させ, この作用には phospholipase C が関与していることを明らかにした。以上の結果より, PACAP は NB-OK-1 細胞において VIP の産生・分泌を亢進させること, また, PACAP は cAMP を介する経路と細胞内 Ca イオンを介する経路の二つの細胞内情報伝達系に働くことを示した。

15. 筋ジストロフィー症 dy マウス: 筋成長障害と筋節長

戸塚 武, 渡辺貴美, 浦本 勲* (愛知県コロニー研, 筋生理・中枢生理*)

dy マウスの初期病態は, 筋の変性(筋変性説: 世界的通説)ではなく, 筋の成熟成長障害であること(筋成熟成長障害説)を明らかにし, 発育に伴う dy 筋病変と症状の進行・悪化は, 成長できない筋が成長する骨によって引伸ばされるためであろう(一歩進めた筋-骨不均衡説)と提唱してきた。さらに最近私達は, dy

筋の成長障害は骨成長依存性筋成長障害だろうと考えるようになった。骨成長による引伸ばしが刺激となって筋が成長する機構が実在するか不明である。因みに、整形外科領域で広く行なわれている骨延長術に際して、筋は自動的に対応伸長する。

骨成長依存性筋成長機構を担う機械-化学(機械刺激→化学反応)変換器があると思われるが、不明である。一つの候補として、筋節長を調節している機構がすぐ思い浮かぶ。実際、dy ニワトリの休止筋節長が異常に長いと報告された。dy マウスで筋節長を調節する機構に病因的異常があるとすれば、筋節長の異常が容易に観察されるはずである。しかし、本研究で、成獣 dy マウスの後肢筋と横隔膜筋を光顕と電顕で観察したところ、筋節長に異常が認められなかった。dy 筋節長の異常は、あるとしても、続発性の一時的なものであろう。

筋核が容容するらしいことなどから、今のところ、dy マウスの病因として、核の機械-化学変換機能の欠損を仮想している。

16. 初代培養気道上皮細胞管腔側のクロライドチャンネル活性に対するマクロライドの抑制効果

三輪正人, 扶間章博*, 岡田泰伸*, ×岩田重信(藤田保健衛生大, 医, 耳鼻咽喉科・生理研, 機能協関*)

気道分泌の分子的制御機構はいまだ不明な点が少ない。その理由として、従来の研究では、Ussing chamber を用いた気道上皮全体でのイオン輸送量を測定する短絡電流の測定や、プラスチックディッシュ上の極性のない単離細胞を用いたパッチクランプがおこなわれてきたためであると思われる。日常臨床で最も頭を悩ませる症状のひとつである気道過分泌の機構の詳細を検索し、治療の新しい道を切り開くため、今回極性が保たれたままの気道上皮細胞を用い、管腔側のシングルチャンネルレコーディングが可能なシステムを開発した。具体的には、モルモット気管より摘出単離した気道上皮細胞を用い、コラーゲンコートしたメンブランフィルター上に初代培養し、ノマルスキー型正立顕微鏡下にパッチクランプが適用可能な Ussing chamber を新たに開発した。これにより、単一イオンチャンネル電流と短絡電流の同時測定が可能となる。このシステムを用い cell attached 法と inside-out 法による管腔側のシングルチャンネルレコーディングをおこなったが、分泌刺激後にみられる cyclic AMP 依存性 chloride channel である Outwardly rectifying

chloride channel (ORCC) の活性化をマクロライドが直接抑制した。この実験システムは、臨床的に気道過分泌に著効を示すマクロライド剤の作用機序の解明にも有用であると思われる。

17. モルモット胃平滑筋細胞にみられる伸展活性化チャンネルの性質

山本喜通, 鈴木 光(名市大, 医, 第一生理)

単離したモルモット胃平滑筋細胞に存在する伸展活性化チャンネル (SA channel) を、cell-attached patch clamp 法を用いて研究した。ピペット内に陰圧を加えると開口時間が短くコンダクタンスが小さいもの (O_S) と開口時間が長くコンダクタンスが大きいもの (O_L) の 2 種類のチャンネル開口がみられた。生理的条件下におけるコンダクタンスは各々 32 と 48 pS であった。 O_S は O_L より小さな陰圧で開いた。 O_S と O_L は共にピペット内の $100 \mu\text{M}$ の Gd^{3+} により抑制された。 O_S と O_L の逆転電位は共に $[\text{Cl}^-]$ の変化によらず一定であり、またピペット内液が NaCl か KCl によらず 0 mV 付近にあった。さらに、このチャンネルは Ca^{2+} 透過性であった。実験したパッチの多くにおいて O_S と O_L は共存しており、 O_S から O_L への直接遷移が観られた。 O_S と O_L はピペット内の陰圧以外に、低浸透圧液による細胞膨潤化によっても活性化された。以上の結果から、 O_S と O_L は一種類の非選択性陽イオンチャンネルの二つの開口状態であると考えられる。この SA チャンネルは胃平滑筋の伸展誘発性収縮の引き金として重要な働きをしているのであろう。

18. ウシ毛様体平滑筋細胞における Ca^{2+} 依存性 K^+ チャンネルに対する carbachol の作用

高井佳子, ×栗屋 忍, 徳納博幸*, 高井 章*(名大, 眼科・名大, 第一生理*)

ウシ毛様体単離平滑筋細胞においてパッチクランプ法により膜電流を観察した。Excised patch における記録で、膜の細胞外側には正常 Krebs 液 (5.9 mM-K^+ , 2.4 mM-Ca^{2+} ; pH 7.4) を用い、細胞質側 K^+ 濃度は 100 mM とした。膜電位を $-40 \sim +60 \text{ mV}$ に固定すると観察される少なくとも 2 種類の K^+ チャンネルのうち、膜分布が稠密 ($10^6 \sim 10^8$ 個/ mm^2) で、電圧-電流関係が大きな勾配 (最大 110 pS) を示すもの (K_b と略記) につき解析を行った。 K_b の開口には細胞質側に $1 \mu\text{M}$ 以上の Ca^{2+} を要求し、最大の活性化は Ca^{2+} 濃度 $4 \mu\text{M}$ 以上で起った。Charybdotoxin (100 nM) と TEA

(1 mM) は、いずれも細胞外側投与のみ有効で、前者は K_b の開確率を、後者はコンダクタンスをも低下させた。Cell-attach mode による記録で、細胞外灌流液および電極液ともに正常 Krebs 液を用い、ピペット内電位を $-30 \sim -50$ mV に固定し、灌流液中に carbachol (CCh; $1 \sim 10 \mu\text{M}$) を投与すると、多くの細胞で K_b の著明な開口が見られた。この反応は 4-diphenylacetoxy-N-methylpiperidine (10 nM) の灌流液投与で完全に抑制されたが、verapamil ($1 \mu\text{M}$) には影響を受けなかった。CCh は M_3 型受容体の刺激を介して verapamil 非感受性の Ca^{2+} の流入経路を通しての Ca^{2+} 流入を増し、 K_b の活性化を起すものと推察される。

19. 唾液腺水分分泌のエネルギー要求

村上政隆, 瀬尾芳輝, 石川 透 (生理研, 超微小形態生理)

唾液腺腺房細胞の水分分泌は、基底側膜の中性共輸送体 ($\text{Na}^+/\text{K}^+2\text{Cl}^-$) および二つの対向輸送体 (Na^+/H^+ , $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$) が Cl^- を能動的に取込み、管腔への Cl^- 分泌を駆動するとされている。今回血管灌流したラット顎下唾液腺を用い水分分泌と酸素消費を計測、水分分泌のエネルギー要求より分泌時の各 Na 輸送体の寄与を推定した。酸素消費増加は大部分 Na^+/K^+ ATPase の活性化を反映、定常状態では輸送体による流入し細胞外へポンプアウトされる Na^+ 分を推定できる。水分分泌速度は管腔側膜 Cl^- チャネルよりの Cl^- 分泌速度を反映、定常状態では Cl^- 分泌速度と Cl^- の流入速度は一致し、酸素消費速度/水分分泌速度の比は、 Na 流入速度/ Cl^- 流入の比を反映する。Bumetanide 添加により酸素消費は減少しプラトーレベルに達し安定した。酸素消費の減少分 (約 $33 \mu\text{l/g}\cdot\text{min}$) は共輸送体により流入する Na^+ 量を反映し、水分分泌のエネルギー要求 (酸素消費速度/水分分泌速度の比) は 0.35 ± 0.03 ($n=4$, SEM) となった。 Cl^- 二次能動的取込みのエネルギー要求は、 Na^+ と Cl^- の化学量論比に依存、共輸送体の要求は対向輸送体の半分で対向輸送体の値は 0.7 と推定される。阻害剤を添加しない場合エネルギー要求は 0.58 で、共輸送体の Na^+ 輸送分の全 Na^+ 取込みに対する分画 a は次式、 $0.58 = 0.35a + 0.7(1-a)$ より 0.343 と求められた。これは細胞内 Na の NMR 測定の結果と一致した。

20. 大腸起電性 Na 吸収に対する cAMP, cGMP の効果

×山本 武, 鈴木裕一 (静岡県立大, 大学院, 生活健康研, 人体生理)

モルモット大腸アミロライド感受性起電性 Na 吸収機序への cAMP, cGMP の関与を検討した。アルドステロンを実験前日より投与したモルモットから摘出した遠位大腸の粘膜層のみをチャンバー間に装着し、短絡電流の測定を行った。8 Br cAMP (0.3 mM 漿膜側投与) により短絡電流は初期に低下し、その後に基線より高い値にまで上昇した。8 Br cGMP (1 mM 漿膜側) を投与すると同様の二相性の短絡電流の変化が引き起こされた。粘膜側アミロライド (0.1 mM) により短絡電流はほぼ消失し、環状ヌクレオチド類の効果も著明に小さくなった。また、Isoproterenol ($1 \mu\text{M}$ 漿膜側) によっても同様の二相性の短絡電流の変化が見られた。プロテインキナーゼ阻害剤の K252a により 8 Br cAMP の短絡電流に対する効果は抑制、亢進とも消失した。Phosphatase 阻害剤の Okadaic acid は 8 Br cAMP の抑制効果を増強し亢進効果を阻害した。以上のことより、cAMP 及び cGMP は遠位大腸において起電性 Na 吸収の調節機序に関与することが確認され、これらの効果は、プロテインカイネースを介していることが示された。また、Phosphatase の活性制御も cAMP の働きの一つとして重要である可能性が示唆された。

21. トリエチル錫の大腸粘膜に対する作用

×新保 斎, 鈴木裕一 (静岡県立大, 生活健康科学研, 人体生理)

有機錫は船底塗料や殺虫剤など様々な分野で使用され、ヒトへの影響も心配されている。実験の目的は、有機錫の中でも毒性が強いトリエチル錫 (TET) を用い、腸管 (大腸粘膜) のイオン輸送に対する影響を、in vitro 系で検討することである。

モルモットの中位結腸を切り出し、筋層を剥離し、粘膜及び粘膜下層を含む標本を作成した。これを Ussing チャンバーに装着し、短絡電流 I_{sc} の変化を測定した。

TET を漿膜側に $1 \mu\text{M}$ 滴下すると、1~3 分でピークに達する I_{sc} の上昇が観察された。 I_{sc} 上昇は $2\text{Cl}^-/\text{K}^+$ Na 共輸送体阻害剤である Bumetanide より有意に抑制された。Cyclooxygenase 阻害剤である indomethacin により TET による I_{sc} 上昇は半分以下に

有意に抑制された。また, tetrodotoxin 存在下では, TET による Isc 上昇がほぼ完全に抑制された。ムスカリン受容体阻害剤の atropine によっても有意に抑制された。ヒスタミン H1 受容体 blocker の Pyrilamine によって Isc 上昇はほぼ完全に抑制され, H2 blocker の Cimetidine では Isc 上昇に変化を与えなかった。以上の観察より, トリエチル錫が腸壁内神経系を刺激し, 大腸クリプトから C1 を分泌させ, 同様に肥満細胞などに刺激して C1 を分泌させること。さらに, この2つの経路が独立に働くのではなく, 相互作用により C1 を分泌させることが示唆された。

22. 神経活動波伝播の光学的計測によるイメージング

×王 健, ×舟橋康治, 赤池 忠, 曾我部正博(名大, 医, 第二生理)

神経群の活動伝播は電気生理学的手法では観察することが難しいがイメージ化することにより計測できます。ラット脳スライス標本(帯状回領域)を用い, 大脳皮質入力繊維を電気刺激して皮質内への神経興奮伝播の様態を光学的計測システム(Fujix, HR Deltaron 1700)を用いてイメージ化した。電気刺激により同期して惹起された神経活動は皮質内を垂直に伝播し表層に達した後皮質各層に沿って水平方向に伝播します。伝播速度は垂直方向に約0.3 m/s, 水平方向に約0.1 m/s でした。CNQX 投与下では AMPA 型レセプターをブロックするため2次ニューロンへの伝達が遮断され, 刺激によって惹起された活動電位のみが記録されます。これらの結果は垂直方向の伝播は入出力の神経繊維を介して惹起され, 水平方向の伝播は幾つかのシナプスを介して起こるとの考えと一致します。正常液中の反応から CNQX 内での反応を差し引く事により, シナプスを介して引き起こされた神経活動成分を得ることが出来ました。bicuculline 投与下では神経興奮伝播は皮質の全域に互ります。2.4 msec で時間差分をとることにより, この神経興奮伝播の波を, 神経活動の増加減少の境界線の移動として明確にイメージ化する事ができました。

23. 各種病態モデルで観察されたノルアドレナリン性痛覚受容器興奮

佐藤 純, 鈴木重行, 熊澤孝朗(名大, 環境医研, 神経性調節分野)

我々は, 神経部分損傷モデルや慢性炎症モデルにお

いて, 痛覚受容器活動が交感神経刺激やノルアドレナリン投与によって増強されることを報告してきた。今回, 糖尿病性ニューロパチーモデルにおいて, 皮膚痛覚受容器活動に対するノルアドレナリン投与の効果を観察した。

ストレプトゾトシン(55~70 mg/kg, ip)誘発糖尿病ラットを深麻酔後, 下腿または足背部に受容野を持つC線維ポリモーダル受容器(CPN)の単一神経放電を, 伏在神経の微小神経束から記録した。受容野へのノルアドレナリン投与(NE)の方法は, 生理食塩水に溶解した NE 溶液 0.2 ml を大腿動脈の側枝から受容野に向けて注入することとした。

NE 400 ng の投与ではユニットの約4割に, また 800 ng では約6割に放電が誘発された。また, 10 ng という低用量によっても放電が観察された例もあった。この反応は, 選択的 $\alpha 2$ 受容体阻害剤である CH-38083 (0.5~1.0 mg/kg) の投与によって抑制された。

CPN の異常興奮が NE の局所投与によって誘発されたことから, この興奮作用は末梢での機序によるものと考えられる。またこの作用には $\alpha 2$ 受容体が関与しているものと思われる。以上の結果から, 糖尿病性ニューロパチーにみられる痛みにも, 痛覚受容器の可塑的变化を基礎とした交感神経依存性機構が関与することが示唆された。

24. Argyrophil III 法による直流通電後の神経細胞障害の検出

石田和人, Chutcharin Ungsuparkorn, 西野仁雄(名市大, 医, 第二生理)

Argyrophil III (銀染色)法は, 神経細胞障害の初期像を dark neuron (DN) として検出することができ, これは microtubule をはじめとする細胞骨格の破綻によるものと考えられる。今回, 脳組織への直流通電の神経細胞に対する影響を調べるため, ラットの頭蓋骨の両側(bregma のレベル)に電極を取り付け, 一方向(左から右)かつ一過性にコンデンサー放電し, 直後の Argyrophil III 法による DN の出現について検討した。刺激強度は, 電圧(1000, 500, 100 V)と静電容量(248, 120, 64 μ F)の組み合わせによる9段階とした。結果, 1) DN の出現部位は, 電極直下及び近傍を主とする大脳皮質, 中隔野, 海馬, 線条体, 視床および視床下部など広範囲であった。2) DN の出現は, 電圧及び静電容量が高いほど強く, 電圧及び容量依存的であっ

た。3) 大脳皮質, 中隔野, 海馬などでは, 通電方向(+から-方向)に dendrite を伸ばすニューロンが強く染色され, DN の出現には部位及び方向特異性が認められた。Gallyas らは本法の染色性について, 神経細胞が障害される時 neurofilament の内部構造に charge されているエネルギーが急速に放出される結果, 荷電変化が起こり, 全か無の法則に従い DN の出現するとの仮説を出しているが, 今回の結果は, 少なくとも通電直後の急性期の変化はこの仮説に合致する。しかし, microtubule など他の細胞骨格の関与の解析が必要である。

25. アナフィラキシー低血圧における nitric oxide の役割

芝本利重, *王 弘剛, 田中 聡, 小山市三(信州大, 医, 第二生理)

アナフィラキシー低血圧時には出血による低血圧と異なり, 血圧が低下するにもかかわらず圧受容器反射による腎交感神経活動の増加反応が認められないことを我々は報告してきている。近年, nitric oxide (NO) が交感神経活動を抑制すること, またアナフィラキシー反応により NO の産生が増加することが報告されている。今回, アナフィラキシー低血圧時の血圧および腎交感神経応答に対する NO の役割について麻酔下雑種成犬を用いて検討した。アナフィラキシー低血圧はブタ蛔虫抗原の静脈内投与により誘発した。抗原投与前に NO 合成阻害剤である L-nitro-arginine methyl ester (L-NAME: 20 mg/kg, 5 μ g/kg/min)あるいは同量の vehicle である D-NAME を静脈内に投与した。血圧は L-NAME の前投与により抗原投与前に有意に上昇したが抗原投与による血圧低下反応は D-NAME 群と同程度で抗原投与後5分には 85 mmHg 低下した。一方, 腎交感神経活動は両群ともに抗原投与直後に一過性に増加したが D-NAME 群ではその後, 抗原投与前のレベル以下に低下した。一方, L-NAME 群ではその低下反応は有意に抑制された。以上の結果より nitric oxide はアナフィラキシー低血圧時の腎交感神経活動の抑制には関与するが血圧低下反応には影響を及ぼさないことが示唆された。

26. イヌ脳底動脈における緩徐伸展刺激誘発性収縮について

小原一男, 中山貢一(静岡県立大, 薬, 薬理)

イヌ脳底動脈において伸展刺激による収縮性と細胞

内 Ca^{2+} 濃度変化($[\text{Ca}^{2+}]_i$)を測定し, 脱分極性およびホルボールエステル刺激による収縮性と比較検討した。TEA 存在下, 緩徐な伸展刺激により一過性の収縮が惹起され, $[\text{Ca}^{2+}]_i$ もほぼ同様の時間経過で変化した。これらの変化は伸展量には依存せず, 静止長の30%以上の伸展により all or none 的な上昇が認められた。一方, 高 K^+ (80 mM)により2相性の収縮(初期相および持続相)を生じ, $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の変化は収縮の時間経過に一致した。また, 1 μ M 12-deoxyphorbol-13-isobutyrate (DPB)により持続的な収縮を生じたが, $[\text{Ca}^{2+}]_i$ は小さな一過性の上昇のみが認められた。この結果は DPB 収縮においては収縮の Ca^{2+} 感受性が亢進するが, 伸展誘発性収縮においては Ca^{2+} 感受性の亢進が無いことを示唆する。さらに, 伸展誘発性収縮のピークにおける stiffness および短縮速度は高 K^+ 収縮時のそれらとほぼ一致した。しかし, DPB 収縮における stiffness および短縮速度は高 K^+ 収縮時のそれぞれ 1.6 および 0.6 倍で, 伸展誘発性収縮におけるそれらとは異なっていた。また, 伸展刺激によりミオシン軽鎖のリン酸化量は高 K^+ 収縮時のそれと同程度にまで増加した。

以上の結果より, イヌ脳底動脈の伸展誘発性収縮における $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 変動および動力学的性質は高 K^+ 収縮におけるものと類似することが示された。

27. 摘出イヌ前脊髄動脈におけるセロトニンの弛緩反応に対する生理, 薬理学的解析

王 錦 霞, 伊古美文隆, 大橋俊夫(信州大, 医, 第一生理)

私共は脊髄循環の調節機構を解析するため, 摘出イヌ前脊髄動脈を用いて種々の生理活性物質の反応性を検討し, セロトニン (5-HT) はこの標本に対して著明な弛緩反応を誘起することを見出した。そこで, 今回はこの 5-HT の弛緩反応について詳細な生理, 薬理学的な解析を行った。実験には外径約 300 μ m のイヌ前脊髄動脈を用いた。幅 3 mm の円筒状標本を臓器槽内に装着し, 張力変化を等尺性に記録した。10⁻⁷ M の U46619 によって前収縮を負荷した標本に対して 5-HT は内皮依存性ならびに非依存性の弛緩反応を誘起した。この弛緩反応は 5-HT₁-like 受容体拮抗薬メチオテピン 10⁻⁸ M~10⁻⁶ M 前処置によって有意に抑制され, その用量反応曲線は右方に移動した。それに対し, この弛緩反応に対して 5-HT₂ 受容体拮抗薬ケタンセリンと 5-HT₃/5-HT₄ 受容体拮抗薬 ICS 205-

930 は何らの影響を与えなかった。この弛緩反応はアスピリン 5×10^{-5} M と NO 合成阻害薬 L-NAME 5×10^{-5} M との前処置によって相和的に抑制された。また、メチレンブルー 10^{-6} M の前処置によっても有意に抑制された。さらに、内皮剝離によって、5-HT の内皮依存性の弛緩反応は有意に減弱した。U46619 で前収縮を負荷したイヌ前脊髄動脈は 5-HT により内皮依存性と非依存性の両方の弛緩反応を惹起し、このいずれの弛緩反応も 5-HT₁-like 受容体を介していることが示唆された。また、内皮依存性の弛緩反応には内因性の PGs と NO 両方の関与が示された。

28. 摘出ウサギ後脊髄動脈灌流標本に対する種々血管弛緩因子の反応特性

×矢代泰章, 大橋俊夫(信州大, 医, 第一生理)

私共はウサギの脊髄クモ膜下腔を走行する細動脈を内腔外腔別々に灌流できる実験装置を用いてその反応性を検討した。麻酔後脱血死させた日本白色種ウサギから脊髄を摘出し、腰髄のクモ膜下腔を走行する内径 $100 \mu\text{m}$ 前後の後脊髄動脈を摘出した。両端からマイクロピペットによるカニューレーションを施し、内腔を流入圧 60 mmHg, 流出圧 55 mmHg にて 1% ウシ血清アルブミンを含む MOPS 液で持続的に灌流した。標本外腔は pH 7.4, 温度 37.0°C に維持された MOPS 液を持続的に灌流した。今回は血管内径の変化を指標とし, shear stress 及び ACh の反応性と, 内因性血管拡張物質の関与について検討を行った。標本に内因性緊張が存在している状態で標本外腔よりインドメタシン $10 \mu\text{M}$ を投与することにより, 内径は有意に収縮した。また, ACh はこの標本に対して用量依存的な拡張反応を誘起した。これに対しインドメタシン $10 \mu\text{M}$ の前処置は ACh の反応を顕著に抑制したが, NO 合成阻害薬である N ω -nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) $30 \mu\text{M}$ の前処置はインドメタシン処理ほどの抑制効果を与えなかった。PGI₂ の安定アナログであるイソカルバサイクリンはこの標本に対して極めて顕著な拡張反応を誘起した。以上の結果より, 摘出ウサギ後脊髄動脈における shear stress 及び ACh による拡張反応には内因性の血管拡張性プロスタグランジンの関与していることが示唆された。

29. ニコチンのストレス負荷時における脳内セロトニンへの影響

高橋宏史, 浦野哲盟, 永井信夫, 高田由美子, 高田

明和(浜松医大, 第二生理)

【はじめに】ニコチンは脳内カテコラミンの release を促進するといわれているが, セロトニン (5HT) についての報告は少ない。今回我々はストレス負荷時におけるニコチンの脳内セロトニンへの影響についてマイクロダイアリシスを用いて検討した。

【方法】Wister-male rat (9 週) の線条体及び放線核にプローブを挿入し, ニコチン皮下注群, ニコチン局所注入群, コントロール群に, electro foot shock をストレスとして行い, 5HT, 5HIAA を測定した。アセチルコリン, ニコチン性受容体拮抗剤であるメカミラミンを局注し影響を調べた。

【結果】コントロール群は基礎値及びストレス負荷時いずれも 5HT の release はみられなかったのに対しニコチン皮下注及び局注群ではストレス負荷時にみ著名な 5HT の増加がみられた。これらの 5HT の急増はメカミラミンにより有意に減少した。また放線核では基礎値, ストレス負荷時いずれも 5HT の release は全くみられなかった。一方 5HIAA はニコチン皮下注群の基礎値が他群に比し有意に高値であったがストレスによる変化は認められなかった。

【考察】以上からニコチンはストレス負荷時に線条体神経終末において他のカテコラミン同様 5HT の release を促進するが, 特にストレス負荷時にニコチン性受容体を介して 5HT の release 急増することが証明された。

30. 光受容性松果体の光応答機構における cGMP 及び cAMP の関与について

河田光弘*, 内田勝久, 保 智己, 鮫島道和, 森田之大(浜松医大, 第一生理)

下等脊椎動物においては松果体自体が光受容細胞を持ち, その光受容細胞は光により過分極をする。またこの光受容細胞は, 二次ニューロンである松果体神経節細胞と直接シナプスを作っている。今回, 摘出したカワヤツメ (*Lampetra japonica*) 松果体の灌流液に 8 ブロム (Br-) cGMP, cAMP を投与し, そのときの二次ニューロンからの光応答を記録することにより, 松果体の光応答機構にこれらの環状ヌクレオチドがどのように関与しているかを検討した。その結果, 3 mM の 8 Br-cGMP を加えた場合, 感色性神経節細胞における抑制性の光応答及び非感色性神経節細胞の光応答が減弱した。9 mM の 8 Br-cGMP では, 感色性神経節細胞の興奮性の光応答も減弱した。3 mM の 8 Br-

cAMP の場合は、両神経節細胞の光応答にほとんど影響を与えなかった。また暗時におけるニューロンの自発放電頻度には、これらの環状ヌクレオチドによる影響はほとんど認められなかった。以上の結果及び松果体光受容細胞と神経節細胞との関係から、今回用いた 8 Br-cGMP の神経節細胞の光応答に対する効果は、神経節細胞の反応性を減弱させるのではなく、光受容細胞の光応答を直接ブロックした結果と考えられる。したがって、これらの光応答に関与する松果体光受容細胞の細胞内セカンドメッセンジャーは、cGMP であることが示唆される。

31. サイクリック GMP 依存プロテインキナーゼ活性化による網膜ニューロン間ギャップ結合の遮断

西川千恵子, 宮地栄一(藤田保健衛生大, 医, 生理)

網膜水平細胞間のギャップ結合は interplexiform cell から放出されたドパミンが水平細胞 D1 receptor に結合し水平細胞内 cAMP が増加すると閉じると考えられている。われわれは、水平細胞内 NO 合成酵素により産生された NO やアラキドン酸のリボキシゲナーゼ代謝物が水平細胞内 cGMP を増加させ、dopamine/cAMP 系と同様にギャップ結合を遮断することを報告してきた。本研究では cGMP のギャップ結合遮断作用が cGMP 依存プロテインキナーゼ (PKG) を介しているか否かを調べるために、PKG 阻害剤である Arg-Lys-Arg-Ala-Arg-Lys-Glu (M. W. 942.59) のコイ網膜水平細胞内への注入実験を行った。本阻害剤を cGMP と共に注入すると Lucifer Yellow CH の隣接水平細胞への拡散がみられ、cGMP の遮断効果は抑制された。一方 cAMP 依存プロテインキナーゼ (PKA) 阻害剤である Arg-Gly-Tyr-Ala-Leu-Gly (M. W. 635.82) を cGMP と共に注入すると色素拡散はみられず、cGMP の作用は抑制されなかった。以上の結果より、cGMP のギャップ結合遮断作用は、視細胞電位発生機構における cGMP の作用とは異なり PKG を介していること、および水平細胞間ギャップ結合は dopamine/cAMP/PKA 系の他に cGMP/PKG 系により調節を受けていることが明らかになった。

P 1. オフ・レゾナンス照射を用いた NMR による蛋白質内部運動の研究

桑田一夫, 恵良聖一, 曾我美勝*(岐阜大, 医, 第二生理・藤田保健衛生大, 衛生, 生理*)

モルテン・グロビュール状態を理解する事は、蛋白

質の天然状態へのフォールディング過程や、蛋白質の内部運動状態と機能との関連を理解する上で、極めて重要であると考えられている。我々は 500 MHz の NMR を用い、オフ・レゾナンス照射を行った場合の 1 次元及び 2 次元のスペクトルを Cytochrome C について測定し、側鎖の運動状態を調べた。材料は天然状態、モルテン・グロビュール状態または酸変性状態における Cytochrome C を用いた。1 次元スペクトルでは、芳香環プロトンの線幅が天然状態よりも、モルテン・グロビュール状態で広くなり、酸変性状態でまた狭くなる事が分かった。モルテン・グロビュール状態では、複数の構造間のゆっくりした揺らぎに伴う水素結合の生成・消滅が存在すると考えられているが、このような交換に伴う線幅の変化であると考えられる。またオフ・レゾナンス照射を用いて 2 次元 NMR 測定 (O-ROESY 法) を行うと、特定の核間ベクトルの運動に関する情報が得られる。モルテン・グロビュール状態では構造揺らぎのため、観測出来る交差ピークの数に限られているが、幾つかの交差ピークでは、遅い分子内交換 (msec オーダー) を示唆する結果が得られた。

P 2. SH 試薬による ryanodine 受容体 (α, β 異性体) の活性化と不活性化

越田 信, 大羽利治(名古屋市大, 医, 第一生理)

ウシガエル骨格筋の筋小胞体 (SR) ベシクルを脂質平面膜に組み込み、SR の ryanodine 受容体/ Ca^{2+} 遊離チャネルに対するスルフヒドリル (SH) 試薬の作用を調べた。 Ca^{2+} 感受性の異なる 2 種類のチャネルが存在し、 $\text{pCa} 3$ で一方のチャネル (α 異性体) は抑制されたが、もう一方 (β 異性体) は部分的にしか抑制されなかった。 $p\text{-chloromercuriphenylsulfonic acid}$ (pCMPS) は、細胞質側から投与した場合にのみチャネル活性に影響を与えた。 $\text{pCa} 5$ の時、 α 異性体は $1 \sim 2 \mu\text{M}$ pCMPS 投与によって、少なくとも 5 分間は高い開口確率 (P_o) を維持した。 $5 \sim 50 \mu\text{M}$ による活性化は一過性で、 $1 \sim 3$ 分後に P_o がほとんどゼロになった。 $\text{pCa} 8$ では 5 回の実験のうち 2 回で $50 \mu\text{M}$ pCMPS による活性化はみられず、 $\text{pCa} 5$ へと Ca^{2+} を上昇後に一過性の活性化を示した。一方、 β 異性体は $\text{pCa} 8$ で全てのチャネルが $50 \mu\text{M}$ pCMPS によって活性化され、不活性化を受けなかった。 α 異性体は、pCMPS による一過性の活性化後、caffeine への応答性が低下し、ryanodine ($10 \sim 20 \mu\text{M}$) によっては低いコンダクタンスレベルで開口固定された。 Ca^{2+} 遊離

チャネルの阻害物質である Mg^{2+} とルテニウムレッドは、二つの異性体のチャネル活性を抑制した。以上の結果は、 α 異性体は pCMPS に対する親和性の異なる SH 基を細胞質側に持ち、親和性の高い SH 基は活性化に、親和性の低い SH 基は不活性化に関与し、 β 異性体は活性化に関与する SH 基のみを細胞質側に持っていることを示唆している。

P 3. モルモット胃平滑筋における slow wave に対する Co, Ni, Cd の作用

× 庵 亦慰, 富田忠雄* (名大, 医, 第一生理・藤田保健衛生大, 衛生, 生理*)

胃幽門前庭部の輪走筋でみられる slow wave や Na 除去による脱分極は verapamil などの有機の Ca チャネル遮断剤で殆ど影響を受けないことが知られているが、本実験では無機の Ca チャネル遮断剤である Cd, Co, Ni の作用を調べてみた。0.3 mM 程度のこれらのイオンは初回の投与では総て一過性の脱分極を起こし、slow wave の頻度を増した。この頻度の増加からの回復は非常に弱かった。2 度以降の投与では脱分極作用はみられず、より高頻度になることもなく、slow wave に対する抑制作用が強く現れる傾向を示した。この場合、立ち上がり速度と振幅に対しての方が頻度の抑制より著明であった。Na 除去による脱分極も抑制されたが、slow wave の抑制よりも弱く、これらの 2 価イオンで slow wave が完全に抑制されている状態でも、Na を除くことによって slow wave を発生させることができた。Cd, Co, Ni の間には本質的な差は認められないが、slow wave のペースメーカー活動と slow wave の脱分極過程に対しては異なった、しかも複雑な作用を示すと考えられる。

P 4. 等尺性筋収縮時の筋収縮張力と心拍, 筋交感神経反応

斉藤 満, 間野忠明* (豊田工大・名大, 環医研*)

運動時の筋交感神経活動 (MSA) 亢進には central command (CC) と活動筋感覚受容器の入力が関与するが、一定張力発揮時には運動開始に遅れて MSA が増加する。これは、MSA 亢進に対する活動筋代謝受容器反射が主体で、CC および筋機械受容器からの反射が相対的に小さいためと解釈されている。本研究では、運動初期の MSNA 反応に対する CC と筋感覚受容器からの影響を明らかにする目的で CC, 筋代謝, 筋収縮張力が最大となる随意最大収縮時の MSA, 心拍お

よび収縮張力変化を最大下の一定張力発揮時の場合と比較して検討した。健康な成人男女 7 名を対象とし、等尺性随意最大握力 (MVG) と最大握力の 3 分の 1 張力発揮 (33% MVG) をそれぞれ 2 分間行わせた。運動時には心拍数, MSNA, 血圧, 握力張力および呼吸運動を記録した。33% MVG では MSA および心拍数は運動開始から 30~45 秒遅れて有意に上昇した。MVG では運動開始とともに心拍数が上昇し、運動期間持続した。しかし、MSA は運動開始後約 15 秒遅れて有意に上昇し、時間経過とともに高まった。筋収縮張力は運動の 5 秒後から低下し、運動の 30 秒では最大握力の 30% 程度にまで減少した。すなわち筋疲労 (収縮張力低下) は MSA の増加に先行して進行した。MVG においても一定張力発揮の際と同様に MSA 増加に遅延が認められたことから、MSA 亢進に対する CC および筋機械受容器からの入力の影響は小さいと考えられた。しかし、心拍反応に対する影響は相対的に大きいと考えられた。

P 5. 周期的伸展刺激による内皮細胞の形態変化とチロシン磷酸化反応

山田恭子, 成瀬恵治, 曾我部正博 (名大, 医, 第二生理)

血管内皮細胞を伸展可能なシリコン膜チャンバー上に培養し、一方向に周期的伸展刺激を加えると約 30 分から 1 時間で細胞は伸展方向に対して垂直に配向・伸展する。この反応において機械受容チャネル (SA チャネル) の活性化で細胞内へ流入するカルシウムが重要な役割を担うことは既に報告した。また細胞の形態変化には細胞骨格系や細胞接着斑の再編成が伴うことも見出している。

今回これらの細胞応答にチロシン磷酸化反応が関与するかどうかについて検討した。

細胞の形態反応はチロシン磷酸化阻害剤 (ゲニステイン, ハービマイシン A) により強く抑制された。また、刺激開始後約 20 分にピークを持つ蛋白チロシン磷酸化反応の亢進が認められた。またこれらの反応は SA チャネルのブロッカーであるガドリニウムで抑制されることがわかった。

以上のことから血管内皮細胞において伸展刺激は SA チャネルの活性化による細胞内カルシウムの流入を惹起し何らかのシグナル伝達を介してチロシン磷酸化が起こり細胞骨格, 接着斑の再構築が行われると示唆される。

P 6. 視交叉上核スライスカルチャー標本におけるグルタミン酸放出に対するセロトニンの役割

磯部芳明, 飛田秀樹, 西野仁雄(名市大, 医, 第二生理)

哺乳動物の概日リズムの中核である視交叉上核(SCN)は時刻決定を行っている。この機構に光情報が関与し、網膜視床下部路の SCN への入力に神経伝達物質としてグルタミン酸が関与すると考えられている。一方、SCN からの概日リズムの情報の出力には Arg-vasopressin (AVP) 含有神経の活動が示唆されている。今回、明暗周期下(L:D/12h:12h, L=07:00~19:00)飼育の仔ラット(D4-D14)の SCN のスライスカルチャーを行い、培養液中に放出されるグルタミン酸をバイオセンサーを用いて連続的に測定し、その動態に対するセロトニンの作用を調べた。培養液中にセロトニンを加えるとグルタミン酸濃度が増加した。この増加は明期(08:00~09:00)に作製した試料の方が暗期(20:00~21:00)に作製した場合より大きかった。また、培養液中のグルタミン酸濃度が高値を示したとき、スライス(SCN)中の AVP 含量は高かった。培養液中にグルタミン酸を添加(終濃度 100 μ M)すると培養液中の AVP 濃度が上昇した。これらの結果は SCN への入力に関与するグルタミン酸は明期に高値を示す AVP と関係がある可能性を示唆するものと考えた。

P 7. トレッドミル上でのサルの上肢歩行運動とその歩容

森 茂美, 宮下英三, 浅野目充, 中隋克己(生理研, 生体システム研究部門)

本研究では、どのようなストラテジを用いて歩行速度を変化させているのかをトレッドミル上で四足歩行運動を条件付け学習させたニホンザル(*M. fuscata*, 二頭)を用いて解明しようと試みた。トレッドミルの速度を 0.3~1.7 m/s に段階的に加速し、その時の歩容を高速ビデオ撮影装置(ナック社製: 250 frame/sec)にて撮影した。ビデオ画像は 50 frame/sec でコンピュータに取り込み、一側の肩、肘、手首、手指、尻、膝、足首、足指各々の関節につけたマーカの位置をデジタル化し解析に用いた。現在までのところ次の三点が明らかになった。1. 前肢・後肢共、歩行速度の増加に伴い step length および step cycle は増加した。この時、同一の歩行速度では前肢・後肢共同の step length および step cycle で歩行運動を行っていた。

2. 前肢・後肢共 step cycle, stride length, 遊脚相および接地相の変化傾向に約 0.8 m/s の歩行速度を境界点として相転移的な変化があった。この速度域は後肢の接地相に重なって前肢の接地相が始まる歩容から後肢の接地相が終わってから前肢の接地相が始まる歩容に移行する速度域に一致していた。3. 歩行速度の増加に伴う各関節の角度変化の度合いは股、膝および足首の各関節が大きく、後肢が主な推進力を出していると思われる。特に、膝関節は 0.8 m/s の速度域を境界として顕著な変化を示した。

P 8. セロトニン作動系と新生ラットの歩行能力の発達

中隋克己, 松山清治, 森 茂美(生理研, 生体システム研究部門)

歩行運動の生後発達過程におけるセロトニン作動系の機能的役割を解明するため、Sprague-Dawley 系妊娠ラットに PCPA (妊娠第 8 日に 300 mg/kg, 第 9 日より出産まで連日 80 mg/kg) を投与した。それより生まれた仔ラット(P群)と正常妊娠ラットより生まれた仔ラット(C群)の両群で、歩行運動能力の生後発達過程を行動学的に、5-HT 作動系および運動ニューロンの生後発達過程を組織学的に比較検討した。その結果以下の 5 点が解明できた。1. 自発歩行運動において、累積歩行距離および平均歩行速度は、C群に比べP群で生後第12日まで有意に減少した。2. 遊泳運動において、C群では生後第4日までに全例が遊泳可能となり、その四肢の動きは円滑・規則的かつ協調的だった。P群では生後第6日までに全例が遊泳可能となったが、その四肢の動きは不規則かつ非協調的だった。3. 頸膨大部前肢筋運動細胞層における 5-HT 陽性線維は、C群で生後第1日より密に分布したが、P群では生後第1, 6日においてその分布をほとんど認めなかった。4. 大縫線核において、生後第1日で両群ともに 5-HT 陽性細胞が認められたが、P群ではC群に比べ染色性の低い細胞が多数認められた。またC群では大縫線核およびその周囲に 5-HT 陽性線維・varicosity が多数分布したが、P群ではその分布が抑制されていた。5. 前肢抗重力筋(上腕三頭筋)支配運動ニューロンの樹状突起の発達は、C群に比べP群では生後第1, 6日で抑制されていた。

P 9. ラット黒質網様部と脚橋被蓋核および延髄網様体投射細胞との形態学的接続様式

×小倉光博, 山田高嗣, 宮下英三, 森 茂美(生理研, 生体システム研究部門)

黒質網様部(SNr)から脚橋被蓋核(PPTg)を経て延髄網様体(MRF)に投射する経路がネコやラットで研究されている。本研究では11匹の成ラットを用いて, SNr から PPTg に投射する神経終末の分布と, MRF に軸索投射する PPTg 細胞の分布がどの程度一致するか解析した。SNr に順行性標識物質である PHA-L を, また同一個体の MRF に逆行性標識物質である Choleratoxin B subunit (CTb) を注入した。PHA-L には DAB/Ni を, CTb には TAPM/p-cresol それぞれ発色素とし, PHA-L 標識終末と CTb 標識細胞体を免疫組織化学染色法を用いて同定した。本研究により次の結果を得た。(1)順行性標識終末は, SNr 内側注入例では上小脳脚の背外側(PPTg およびその内側領域), 腹側(SPTg)に分布した。一方, 外側注入例では上小脳脚外側 1/3 の脚内に比較的限局していた。また内側注入例では中心灰白質腹側を通過し対側の SPTg に投射する線維を認めたが, 外側注入例では対側投射は認めなかった。(2)逆行性標識細胞体は中心灰白質, 背側縫線核, 上小脳脚近傍に広く分布していた。CTb 注入部位が MRF 内側部(Gi)にあるとき, 上小脳脚近傍により多くの細胞分布を認めた。(3)PHA-L 標識終末と CTb 標識細胞体は PPTg よりも内側の領域において分布が一致した。特に SPTg において, 両者が近接している像も認められた。

P 10. インパルス伝達に見られる短期記憶的な調節

浦本 勲, 渡辺貴美, 戸塚 武(愛知県コロニー研, 生理)

ウレタンで麻酔したラットに, ネオスチグミン投与前後に 0.5 Hz で, 1 セット10個の刺激を坐骨神経に与えた。露出した腓腹筋から, これらの刺激に対する誘発筋電位を同心円電極を用いて記録した。刺激は, 0.05 ミリ秒幅の矩形波で最大強度で行った。投与後 6 ~ 8 分に 1 セットの刺激を与えると, 1 個目に対しては, 投与前と同じ大きさの誘発筋電位がえられたが, 2 個目に対しては著しく抑圧され, その後ゆっくり回復した。次に, 投与後 6 ~ 8 分に 1 セットの刺激を与え, 40 秒の休憩後再び 1 セットの刺激を与えたところ, 2 個目の刺激に対する抑圧の程度は, 休憩後では小さかった。休憩の長さを 2 分以上にすると, 抑圧の程度

はやはり大きかった。また, ネオスチグミン投与直後から 0.5 Hz で刺激を続けていると, 誘発筋電位が急激に抑圧されることはなく, たとえば, 投与後 6 分に記録した10個の誘発筋電位も, 振幅値はほぼ同じであった。最初の神経衝撃によって多量の ACh が放出され, 利用可能な ACh が枯渇状態になるが, 反復刺激によって ACh のリサイクル過程がより活性化されたのであろう。しかもこの活性化の過程が, 反復刺激の終了後もしばらく保持され, 短期記憶的に調節されとも考えられる。

P 11. ラットおよびヒトの脊髄神経変性過程に伴う Transglutaminase (TG) 活性の変動

藤田公和, ×青木則久, 山内理充, 安藤正人, 永田 豊(藤田保健衛生大, 医, 第二生理)

神経細胞質に局在する TG は, Ca^{2+} 依存的に異なるポリペプチド鎖間の cross-linkage を増大させ, グルタミン残基へのポリアミンの付加反応を触媒して, 細胞内タンパクの流動性や細胞構造の生理的な統合性を失わせ, 細胞死を誘発するように作用することが知られている。今回我々は, ラットの後脊髄動脈の右側枝を電気メスを用いて焼灼・閉塞し, 脊髄内の介在ニューロンの変性・脱落を生じさせた。そのラットを一定期間生存させた後に脊髄組織を摘出し, TG 活性値を測定した。脊髄組織中の TG 活性値は術後 1 日目で急激に増加したが, その後徐々に低下していく傾向が観察された。一方, 慢性経過をとる進行性神経変性疾患の筋萎縮性側索硬化症(ALS)患者の死後摘出した脊髄組織では, 病理学的に神経変性が認められる脊髄前角, 側索のみならずそれ以外の後索, 後角でも TG 活性値は著明に減少していた。従って, 脊髄内 TG 活性値は神経変性の初期の段階で急激に増加し, その後神経変性の進行に伴って徐々に減少し, 変性が終末期まで進行するとこの酵素活性値は著明に減少することが示唆された。

P 12. fMRI を用いた覚醒下ラットの摂食行動による脳活動の変化

田淵英一*, **, 小野武年*, 鳥居邦夫** (富山医薬大, 医, 第二生理*・新技術事業技団, 鳥居プロジェクト**)

脳の血液動態を測定することができる Functional Magnetic Resonance Imaging (fMRI) 法は, 脳の活動を非侵襲的に画像化する画期的な方法である。しかしな

がら、これまでの fMRI 法を用いた動物実験では、麻酔下でしか行われていなかった。本研究では、われわれが独自に開発した方法により、fMRI 法を用いて、ラットの各種溶液摂取行動時における脳内各部位の活動の変化を解析したので報告する。ラットを MRI 撮像用特殊脳定位固定装置に固定し、グルコース溶液の 3 分間摂取前、摂取中および摂取後に fMRI (T2* 強調画像) をそれぞれ撮像した。その結果、T2* 強調画像の信号強度は、摂取行動により脳全体的に増加した。とくに、視床下部の外側野と腹内側核、扁桃体中心核、梨状皮質、海馬体 CA1 領域では、摂取行動中に信号

強度が有意に大きく増加した。これら脳全体および部位特異的な信号強度の変化には、有意な左右差はなかった。以上より、摂取行動は、視床下部・外側野と腹内側核、扁桃体・中心核、梨状皮質および海馬体 CA1 領域などが中心的に活動することにより遂行され、このような様々な摂取行動関連脳領域は、全体的および部位特異的に並列に作動していることを明らかにできた。本研究とこれまでの神経行動学および電気生理学的研究結果に基づき、摂取行動における脳活動のダイナミックな変化について考察する。

〔編集後記〕

明けましておめでとうございます。58巻1号をお届け致します。本号がお手元に届く頃は、入学試験の最中、また第73回日本生理学会大会の準備にと、多忙な日々をお過ごしのことと存じます。発行日通りお手元に届くよう編集委員一同努力致しておりますが、なかなか思いどおりには参りません。

生理学論文表題集の原稿の記載方法についてお願いがございます。基本的事項は同じですが、印刷された際の体裁を考えて、同じ様な大きさの活字になるようにしたいと思っています。記載例にならって提出戴きたく存じます。また、あまり大きな活字ですと同じ内容でも印刷ページが2～3倍になってしまいます。講座・研究室の数が多いので印刷や郵送にかかる費用増も無視できません。皆様のご協力をお願い致します。いずれフロッピーまたはE-mailでお送り戴けるようにコンピューター化して行かなければなりません、

もう少し時間がかかりそうです。

評議員候補者の公募は2月28日が締切りで、時間の余裕がありませんのでご注意下さい。

今回の巻頭言は、本誌編集委員長の金子章道先生から戴きました。JJPをはじめ日本の国際学術雑誌が抱える問題点を通して、日本の研究者はいまや「個人の研究」に向ける努力だけでなく、「日本の科学研究」の一員としての努力が要求される時期に至っていることを指摘されています。自己中心的な姿勢を保つのに精一杯な私にとりましては厳しい言葉ですが、近づけるよう努力していきたいと思います。

実験講座では、飯野正光先生から Caged 化合物による細胞内 Ca イオン濃度の測定についての記事を戴きました。その他、二つの地方会の抄録が記載されています。今回は原著はありません。ご協力に感謝致します。

(高松 研)

— 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)		

日 本 生 理 学 会 会 則

(平成7年3月30日改定)

1. 本会は日本生理学会と称する。
2. 本会は生理学の進歩発展をはかることを目的とする。
3. 本会は毎年1回大会を開いて会員の業績を発表討論し、総会および評議員会を開いて会務を評議する。大会の開催は前もって全会員に通知し演題を募集する。なお会員は各所在地において適宜地方会をつくり、業績を発表討論することができる。
4. 本会は会員の原著、大会および地方会の演題あるいは抄録を発表するため邦文機関誌の日本生理学雑誌を発行し、欧文の The Japanese Journal of Physiology を編集する。
5. 会員は正会員、特別会員、名誉会員、準会員、臨時会員とする。

正会員は、本会の趣旨に賛成する同学者で評議員の紹介あるものに限る。学会および機関誌に業績を発表することができ、また日本生理学雑誌の頒布を受ける。

特別会員は多年本会に功労のあった会員で、評議員から推薦され総会の賛同によって定められる。

名誉会員は、本会に多大の貢献のあった外国人で、評議員から推薦され総会の賛同によって定められる。

準会員は学校、図書館、研究所等の団体で会誌の頒布のみを受ける。

臨時会員は、一年間に限り本会の主催する大会および地方会に会員と連名で業績を発表することができる。

会員の会費は別に定める。

6. 本会の役員には評議員、常任幹事、監事および当番幹事がある。
7. 評議員は本会の中核となる会員であって、評議員の推薦により選考委員会を経て評議員会に附議して決定される。

評議員会は毎年大会の際開催され本会に必要な事項を評議する。

評議員会は地区別に定数の常任幹事を選出し、日常および緊急の会務を委嘱する。

8. 常任幹事の中に庶務・会計・編集等幹事をおく。

9. 常任幹事会で選ばれた2名の監事が本会の会計を監査する。

10. 当番幹事は大会の開催を引受けた評議員であって、大会の一切の事務を行なう、大会終了後次回当番幹事に事務引継を行なって任期を終わる。この任期中は常任幹事会の一員に加わる。当番幹事は大会開催中常任幹事会・評議員会および総会を招集しこれを司会する。

11. 常任幹事会は必要に応じて各種の専門委員会を設け委員を委嘱することがある。必要に応じその委員は常任幹事会に出席し専門事項の審議に参加する。

12. 本会の会計年度は毎年1月に始まり12月に終わる。

13. 本会の事務報告は総会および日本生理学雑誌に発表する。

14. 本会の事務所は東京都文京区本郷3-30-10布施ビル(4階)内におく。

15. 本会則を変更するには評議員会の決議を経て総会の承認を得なければならない。

附 則

<常任幹事会に関する事項>

全国8地区に分け、常任幹事は各地区の評議員の互選により選出される。地区及び定員は下表による。任期は3年とし重任を妨げない。各地区の評議員は、地区の定員に相当する数以内の氏名を所定の投票用紙に記入して投票を行う。投票は無記名とする。投票用紙に同一氏名を複数記入した投票は無効とする。得票数同数の場合は入会順、年長順に順位を決定する。欠員を生じた場合は、常任幹事会の議を経た後、次点者を以てこれにあてることができる。この場合の任期は前任者の残任期間とする。選挙事務は選挙管理委員会に委嘱する。選出された常任幹事の氏名は日本生理学雑誌上に報告する。

幹事の選出区分	定員(計31名)
北海道地区	2名
東北地区	2名
関東地区(新潟を含む・東京を除く)	5名

東京地区	7名
中部地区	5名
近畿地区	4名
中国四国地区	3名
九州地区	3名

<会費に関する事項>

正会員の会費は年額8,000円とする。特別会員・名誉会員の会費は免除される。準会員の会費は年額9,500円とする。臨時会員の会費は年額4,000円とする。

内 規

- 1) 評議員選考基準：多年本会員として在籍し相当の生理科学の業績発表があり，満5年以上の研究歴があるもので本会評議員の推薦がなければならない。
- 2) 評議員は The Japanese Journal of Physiology を購読するものとする。
- 3) 会費滞納の会員は会員の資格が自然消滅する。
- 4) 庶務幹事は必要な場合に限り日本生理学会代表と称することができる。
- 5) 本会に次の常置委員会をおく。日本生理学雑誌編集委員会，The Japanese Journal of Physiology 編集委員会，評議員選考委員会，選挙管理委員会。
- 6) 文部省科学研究費補助金審査委員候補者の選出方法は別に定める。

日本生理学雑誌投稿規定

平成7年1月1日

目 的

本誌は日本生理学会の機関誌で、会員相互の情報交換の場を提供することを目的とします。

投 稿

会員に知って欲しいニュース、情報の提供をお願いします。研究成果の発表のための原著、短報の投稿は日本生理学会会員に限られます。原著、短報は査読を行い、掲載の採否は編集委員会で決定します。

日本生理学雑誌に投稿される原稿はハードコピーと共にフロッピーディスクでご提出下さい。原著の場合は、採択の通知を受け取られた後、フロッピーディスクをご提出下さい。ハードコピーはA4用紙に1行40字、20行（1枚800字）でプリントして下さい。本誌1ページは約1,600字と考えて下さい。図は大きさにもよりますが、ほぼ400字に相当します。写真や図はハフトーンの場合には光沢のある印画紙に焼き付けて下さい。線画の場合でコンピュータグラフィックを使用して作成した場合には、レーザプリンタで出力したものであればそのままでも結構です。印画紙に焼き付ける必要はありません。

フロッピーディスクのフォーマット、使用したマイコンの機種、ワープロソフトは一般に使われているもの（MacIntosh, NEC PC98 シリーズ, IBM PC およびその Compatible, DOS/V 機）なら何でも結構ですが、ディスクのフォーマット、使用したマイコンの機種、ワープロソフトおよびファイル名を明記して下さい。印刷所および学会事務局でどうしても対応できない場合には著者にご協力を求めることがありますので、予めご承知置き下さい。

原稿の送り先

〒113 文京区本郷3-30-10（布施ビル4階）

日本生理学会事務局 日本生理学雑誌編集委員会

TEL: 03-3815-1624

FAX: 03-5684-2539

投稿の締め切り

会合通知、公募案内など締め切り日のある件については掲載号の前々月の末日が締め切り日となりますが、余裕を持って早めにお送り下さい。

掲載料

会合通知、公募案内、研究会の報告など INFORMATION, PROFILE, TRENDS, CALENDAR などの欄に掲載希望の記事は無料で掲載します。

原著、短報、テクニカルノートなどの投稿原稿には掲載料をいただきます。掲載料は原稿の長さ、図や写真の量に応じ、そのつど事務局からお知らせします。別刷りは有料です。

総説、実験技術講座など編集委員会が依頼する原稿の掲載には著者負担はありません。ただし、100部を超える別刷りは有料です。

I. 原著

A. 原著論文は日本語とし、長さに制限はありません。2部提出してください。

B. 表紙（原稿の第1ページ）には、表題、欄外見出し、著者名、所属およびその所在地、電話番号、FAX番号、原稿の枚数、図、表の数、別刷り希望部数、編集者への希望などを書いて下さい。

C. 日本語の要旨と5つ以内のキーワードをつけて下さい。要旨は400字以内、はじめに表題、著者名、所属をつけて下さい。

D. 動物名、外来語は原則としてカタカナを用いて下さい。略語、単位、単位記号は下記の Table に従って下さい。これは Japanese Journal of Physiology (JJP) の投稿規定と同一です。

E. 図、表、写真の説明も日本語で書いて下さい。本文の欄外にそれぞれ挿入すべき部位を指定して下さい。

F. 項目分けはI, II, ……とし、下位項目はA, B, ……、さらにその下は1, 2, ……、最下位の項目はa, b, ……として下さい。

G. 文献の記載法

1. 本文中の引用箇所には出現順に〔 〕内に番号を付けます。1つの事柄に複数の論文を引用する場合には〔1, 5, 7〕, あるいは〔8-13〕のように書きます。著者名を引用する場合、3名以上の連名のときは、“ら”あるいは“et al.”とします。

例1: 高木ら〔1〕によれば……

例2: Hodgkin & Huxley〔2〕によれば……

2. 末尾文献リストは Japanese Journal of Physiology (JJP) の投稿規定に従って下さい。すなわち、本文中の出現順に並べ、1. から順に番号を振ります。著者が連名の場合でも省略せず、全員の名前を記載します。

3. リストは著者名：表題、雑誌名(省略形)、巻、開始ページ—終了ページ、西暦年号の順に記載します。例：

1. Watanabe S-I & Murakami M: Phototransduction in cones as examined in excised membrane patch. *Jpn J Physiol* **42**: 309-320, 1992

2. Ueda Y, Kaneko A & Kaneda M: Voltage-dependent ionic currents in solitary horizontal cells isolated from the cat retina. *J Neurophysiol* **68**: 1143-1150, 1992

3. Tokizane T: Studies on the paradoxical phase of sleep in the cat. In: *Progress in Brain Research*, Ed. Tokizane T & Schade JP, Elsevier Publ Co, Amsterdam, Vol 21 B pp 230-268, 1965

4. 河村 悟：視細胞における順応調節蛋白質。生物物理 **32**: 180-185, 1992
コンマは複数の著者の区切りだけに使用し、イニシャルは大文字でスペースを入れないなどの点にご注意下さい。

H. 校正は投稿者の責任において初校のみとします

II. 短報, 研究方法 (テクニカルノート)

1. 刷り上がり 4 ページ以内とします。
2. 図, 表は 4 点以内です。
3. その他は原著に準じて下さい。

III. 総説, 解説, 実験技術講座

A. 内容は専門外の人にも分かるようにお書き下さい。

B. 図, 表, 文献リストを含め、刷り上がり 15~20 ページを目安にして下さい。

C. 執筆要項は原著に準じますが、原稿の提出は 1 部で結構です。

IV. 学生教育, 学会印象記, 資料など

- A. 刷り上がり 2~4 ページを目安とします。
- B. 執筆要項に特別な指定はありません。

V. 談話会抄録

A. 談話会の幹事は刷り上がり 1 ページ程度の会全体のまとめを書いて下さい。

B. 談話会抄録は下記のように、表題、口演者名、所属を記載し、本文は 400~600 字程度 (図, 表は不可)

とします。ただし、予稿を作った場合でその分量がこの範囲を大幅に超えないものであれば、予稿をそのまま使用できます。幹事は抄録を 1 枚のフロッピーディスクにまとめてお送り下さい。談話会抄録は校正を致しませんので作成時に充分御注意下さい。

[抄録見本]

赤血球膜タンパク質の酸化的重合化と微小循環

鈴木一郎, 山田一夫 (北西大, 医, 第一生理)

赤血球毛細血管を通過する際に外力により受動的に変形させられる。その変形能は……

Table 1. 定義せずに使用して良い略語

略	語	定	義
ACh		acetylcholine	
AChE		acetylcholinesterase	
ACTH		adrenocorticotrophic hormone	
ADP		adenosine 5'-diphosphate	
AMP		adenosine 5'-monophosphate	
ATP		adenosine 5'-triphosphate	
¹⁴ C		carbon isotope	
Ca ²⁺		calcium ion	
cAMP		cyclic AMP (adenosine 3':5'-monophosphate)	
CAT		choline acetyltransferase	
cDNA		complimentary deoxyribonucleic acid	
cGMP		cyclic GMP (guanosine 3':5'-monophosphate)	
CM-cellulose		O-(carboxymethyl)-cellulose	
CNS		central nervous system	
CoA		coenzyme A	
CSF		cerebrospinal fluid	
ConA		concanavalin A	
DEAE-cellulose		O-(diethylaminoethyl)-cellulose	
DNA		deoxyribonucleic acid	
EDTA		ethylenediaminetetra-acetate	
ECG		electrocardiogram, electrocorticogram	
EEG		electroencephalogram	
EGTA		ethyleneglycol-bis-(β-amino-ethyl ether) N, N-tetra-acetic acid	
ELISA		enzyme-linked immunosorbent assay	
EM		electron microscope	
EMG		electromyogram	
EPSP		excitatory postsynaptic potential	
GABA		γ-aminobutyric acid	
GDP		guanosine 5'-diphosphate	
GMP		guanosine 5'-monophosphate	
GTP		guanosine 5'-triphosphate	
HEPES		4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazine-ethanesulfonic acid	
HPLC		high performance liquid chromatography	
HRP		horseradish peroxidase	
5-HT		5-hydroxytryptamine (serotonin)	
IgG		immunoglobulin	

I. P.	intraperitoneal
IPSP	inhibitory postsynaptic potential
I. V.	intravenous
K_m	Michaelis constant
Mg^{2+}	magnesium ion
MAO	monoamine oxidase
mRNA	messenger ribonucleic acid
NMDA	n-methyl-d-aspartate
PAGE	polyacrylamide gel electrophoresis
RNA	ribonucleic acid
SD	standard deviation
SDS	sodium dodecyl sulfate
SE	standard error of mean
tRNA	transfer ribonucleic acid
Tris	tris (hydroxymethyl) aminomethane
TTX	tetrodotoxin
UV	ultraviolet

重力加速度	xg
エネルギー	ジュール J
電 荷	クーロン C
電位差	ボルト V
電気抵抗	オーム Ω
コンダクタンス	シーメンス S
電気容量	ファラッド F
インダクタンス	ヘンリー H
周波数	ヘルツ Hz
力	ニュートン N
照 度	ルクス lx
光 束	ルーメン lm
磁 束	ウェーバー Wb
磁束密度	テスラ T
モル濃度	モラー M
物質の量	モル mol
分子量	ダルトン Da
圧 力	パスカル Pa
仕事率	ワット W
放射能	ベクレル Bq
音 圧	デシベル dB

Table 2. 単 位

物 理 量	単 位 名	記 号
面 積	平方メートル	m^2
長 さ	メートル	m
時 間	日	d
	時間	h
	分	min
	秒	s
	ミリ秒	ms
	マイクロ秒	μs
容 積	リットル	l
重 量	グラム	g
	キログラム	kg
	ミリグラム	mg
	マイクログラム	μg
	ナノグラム	ng
	ピコグラム	pg

倍 数		
キロ	k	10^3
メガ	M	10^6
ギガ	G	10^9
テラ	T	10^{12}
デシ	d	10^{-1}
センチ	c	10^{-2}
ミリ	m	10^{-3}
マイクロ	μ	10^{-6}
ナノ	n	10^{-9}
ピコ	p	10^{-12}
フェント	f	10^{-15}

昭和63年12月19日制定

「生理学領域における動物実験に関する基本的指針」**Guiding principles for the care and use of animals
in the field of physiological sciences.****日 本 生 理 学 会**

動物実験に際しての実験計画立案の科学性と動物の福祉の立場に立った倫理的規範は、すでに「実験動物の飼養及び保管等に関する基準、昭和55年総理府告示」、「International guiding principles for biomedical research involving animals. CIOMS 1984」、「Guide for the care and use of laboratory animals, DHEW Publication No. (NIH) 85-23 1985」、「動物実験に関する指針、日本実験動物学会1987」、「サル類を用いる実験遂行のための基本原則、日本霊長類学会1986」等々に示されており、本学会もこれらの精神をふまえて「生理学領域における動物実験に関する基本的指針」を制定する。

生理学の教育、研究の場では動物実験は殆ど必須の手段となっている。そして動物実験を通じて行われた生理学の教育、研究は生命現象の理解と解明に大きな役割をはたし、この研究成果は、医学・医療に応用され、人類福祉のためにはかり知れない貢献をした。今後、日本における生理学教育の一層の充実と生理学研究の飛躍的な発展のため、生理学実験者が主として脊椎動物を用いる動物実験にあたって、科学的な動物実験計画の立案と動物の福祉の観点に十二分な配慮をするため、ここに基本的指針を定める。生理学領域の実験者は以下の指針を遵守し厳正適格な実験を遂行しなければならない。

I. 基 本 的 事 項

(1) 動物実験の目的が生理学的知識の向上と人類福祉に役立ち、動物の福祉にも配慮したものでなければならない。

(2) 動物実験にあたっては、科学的な観点から最も適正な種属と数量を選択しなければならない。

(3) 実験にあたっては、保定や麻酔薬の投与などにより実験動物に不必要な苦しみや痛みを与えないよう十分な配慮をしなければならない。特に痛覚の研究や実験の性質上、軽い麻酔しか用いられない実験を行う場合には、予め動物実験委員会などの意見を聞いた上、倫理的な観点から動物に与える苦痛を最小限にする配慮が必要である。

(4) 実験終了後、動物を処分する場合には「実験動物の飼養及び保管等に関する基準」(昭和55年)に定められているところに従い、速やかに安楽死させなければならない。

(5) 実験動物には適切な給餌、給水を行い、可能な限り清潔で快適な環境で飼育するよう心がけなければならない。

II. 特 記 事 項

(1) 動物実験を実施するにあたっては、専用区域を設け、動物の福祉に配慮した整備された施設で行わなければならない。又、施設の管理、運営のため必要な組織や体制を整備して、有能な専従の飼育技術者を配置して動物飼育に万全を期する必要がある。

(2) 実験者は科学的な計画を立案し、適正な供試動物の選択、実験方法の検討、必要な飼育条件の確保をはかる必要がある。実験計画の立案にあたっては実験動物学の専門家などの助言をもとめることが望ましい。

(3) 供試動物の選択にあたっては、実験目的に則して遺伝学的及び微生物学的品質を考慮する必要がある。飼育管理については管理者の指示に従わなければならない。

(4) 実験者は動物の入手にあたり、検収と検疫を的確に行い、入手時及び飼育期間中の動物の状態を記録し、保管しておく必要がある。この作業は管理者に委嘱する事ができる。

(5) 物理的、化学的に危険な物質、あるいは病原体等を扱う動物実験においては、人の安全の確保や、飼育環境の汚染により動物が障害を受けたり、実験結果の信頼性が損われないよう配慮する必要がある。なお、実験施設周辺の汚染防止についても十分に注意を払う必要がある。

(6) 実験者は各研究機関の「動物実験委員会」の規定、指示にしたがわなければならない。

(7) 研究成果の論文発表にあたっては、本指針にのっとり実験を遂行したことを付記することが望ましい。

Guiding Principles for the Care and Use of Animals in the Field of Physiological Sciences

The Physiological Society of Japan

Animal research requires detailed planning and must be executed incorporating not only scientific principles, but also ethical considerations and a regard for animal welfare. Important regulations and guidelines to meet these requirements are contained in the following publications : —

‘Standards Relating to the Care and Management, etc. of Experimental Animals, Notification of Japanese Prime Minister’s Office, 1980’ ;

‘International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals, CIOMS, 1984’ ;

‘Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, DHEW Publication No. (NIH) 85-23, 1985’ ;

‘Guide for Animal Experimentation, Japanese Association for Laboratory Animal Science, 1987’ ; and

‘Guiding Principles for Animal Experiments using Non-human Primates, Primate Society of Japan, 1986’ ;

In furtherance of these objectives and in response to enquiries from members, The Physiological Society of Japan (hereafter called “The Society”) recommends compliance with ‘Guiding Principles for the Care and Use of Animals in the Field of Physiological Sciences’.

Animal experiments are an unavoidable necessity in pursuing teaching and research activities in the field of physiological sciences. Results obtained from such programmes have contributed much to understanding the scientific function of the living body. Their application to medical and veterinary science and therapeutics have played an important role in the development of human and animal health and welfare. So that even greater developments in education and research in this field may take place, The Society urges all Japanese Physiologists to adopt these guiding principles. It is The Society’s intention that all animal experiments should be designed and conducted on a valid scientific and ethical basis and that sufficient consideration must be given to animal welfare.

I. General Principles

- (1) Animal experiments are to be undertaken only for the purpose of advancing physiological knowledge, and enhancing the well-being of humans and animals.
- (2) Consideration should be given on a scientific basis to the most suitable species of animals to be used and the numbers required.
- (3) Investigators should employ anesthesia, sedation and correct handling techniques appropriate to the procedures to be performed in order to avoid unnecessary pain and stress in the animals. In particular, before investigators proceed to conduct an experiment using only a light level of anesthesia, or employing a neuromuscular blocking agent, an application should be made to the Animal Research Committee in their institutes. This procedure is especially recommended and where permission is given it will be on an assurance that the intensity and duration of the pain are estimated to be minimal, consistent with achieving

the objective of the experiment.

- (4) When animals are to be disposed of after experiments have been completed, they should, in accordance with notification issued from Prime Minister's Office (1980), be killed humanely by administering a lethal dose of anesthetic or by some other recognised means taking into account their species and size.
- (5) Experimental animals must be accommodated in proper housing, and provided with sufficient food and water, thus protecting their welfare and maintaining them in a hygienic environment.

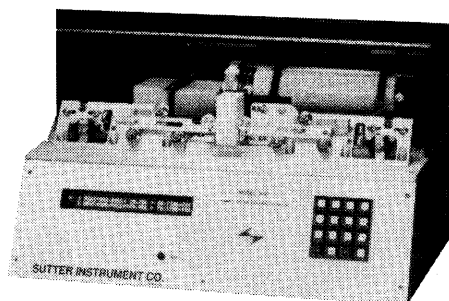
II. Specific Recommendations

- (1) Animal experiments must be performed in specially designated areas where adequate facilities are available in order to ensure the welfare of the animals. The organization and management of the experimental animal facilities must be well planned and the animal caretakers concerned with husbandry and routine care must be competent to perform their tasks in a satisfactory manner.
- (2) In conformity with a well-defined experimental protocol, each experimenter must have assessed the suitability of the species of animal to be used and of the experimental methodology selected. Animals maintained in satisfactory conditions should be used. Consultations with, and advice from, experienced laboratory animal scientists are recommended.
- (3) The experimenter must select with care the species and strain of animals most suitable for the experimental purpose in terms of genetic and microbiological quality. The person in charge of the facility is responsible for seeing that the relevant regulations and internal rules are followed.
- (4) The experimenter should inspect the animals and provide for quarantine conditions in a proper manner. Records of the animals both during the breeding stage and when issued for use must be maintained. This work may be delegated to the Manager of the animal facilities.
- (5) Full consideration must be paid to the avoidance of compromising results by protecting the animals from environmental contamination in the animal facilities. The safety of humans handling physically and chemically hazardous substances or pathogens must also be assured. In addition, special attention should be given to the maintenance of good hygienic practices throughout the animal facilities, with due regard to the fabric of the building and its equipment.
- (6) All experimenters must comply with regulations and decisions made by the Animal Research Committee in that institute.
- (7) All experimenters are urged by The Society to conform with these guiding principles and recommendations. That they have done so should be stated by investigators when they report their experimental work for publication purposes.

孤高の境地に到達するサッターのプラー (ガラス電極作製装置)

P-97 **NEW**

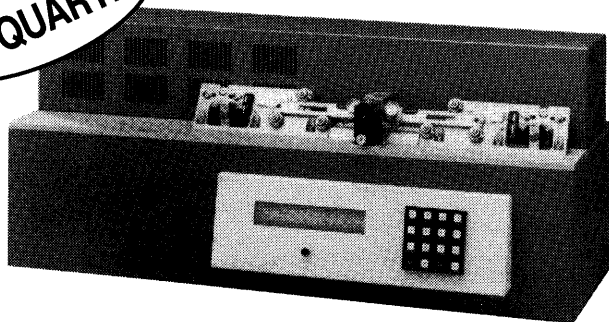
各界で圧倒的な支持を得た
銘器P-87をさらにブラッシュ・アップ。
再現性とユーティリティにいつそう
磨きをかけました。



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

P-2000 **for QUARTZ**

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



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

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

◆詳しい資料をご請求下さい



サッター社 日本総代理店

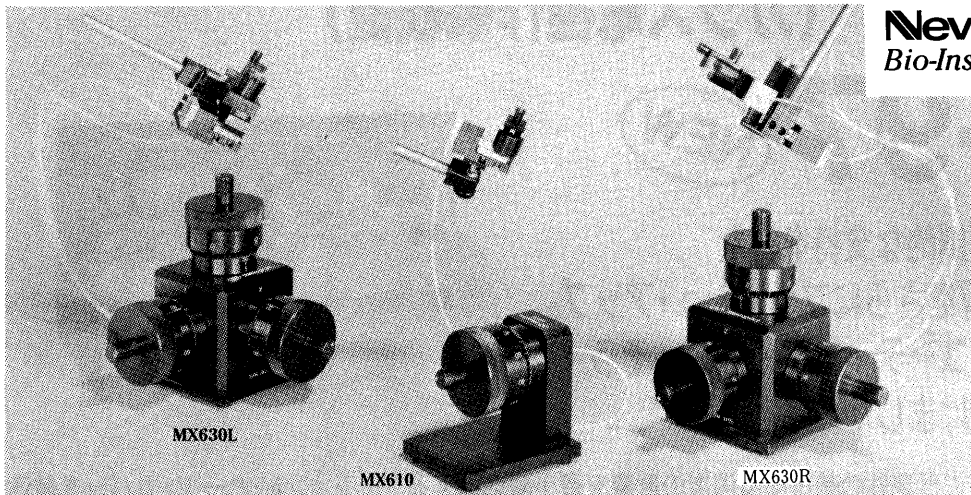
ショーシンEM株式会社

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

水圧式マイクロマニピュレータ



Newport
Bio-Instruments



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

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

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 大巾プライスタウン

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)

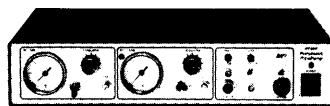
何卒この機会に、ぜひ弊社のダイレクト販売システムをご活用下さいませようご案内申し上げます。詳細は弊社WPIダイレクト販売課までお気軽にお問合わせ下さい。



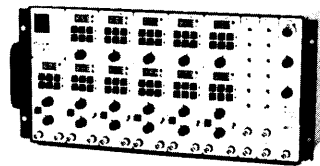
- DAM-80 差動型前置増幅器
ヘッドフロープ付き
¥221,800

- 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
- 電極バレット ¥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。



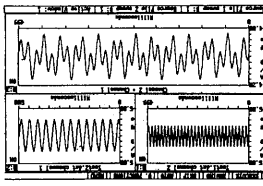
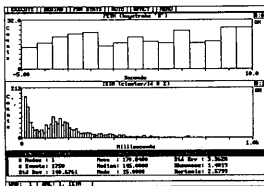
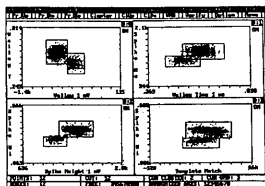
バイオリサーチセンター株式会社

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

マッキントッシュ専用データ収録・解析プロセッサー

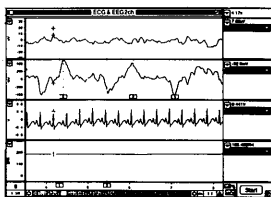
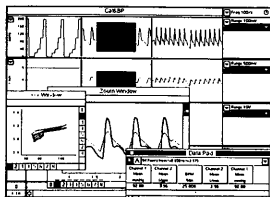
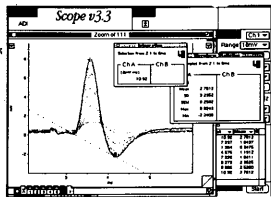
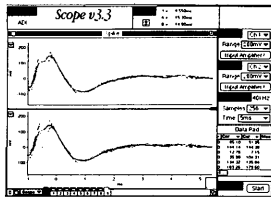
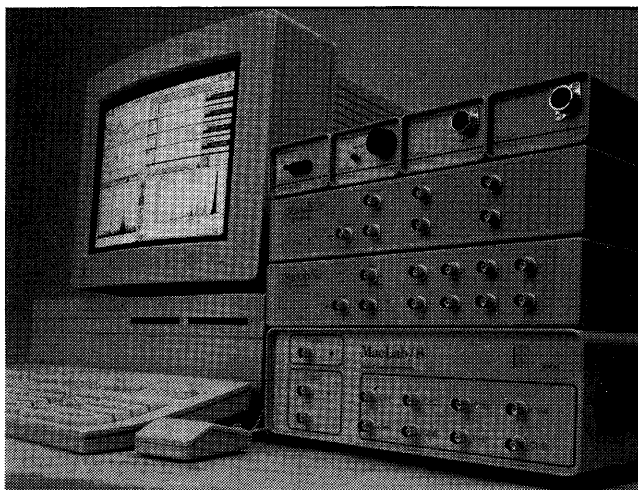
MacLab/2e/4e/8

マックラブ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

ADIC

バイオリサーチセンター株式会社

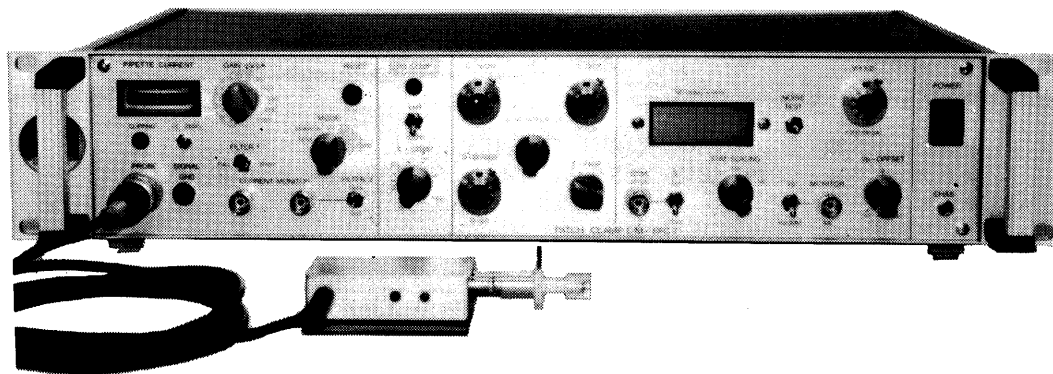
本社 名古屋市東区東桜2-10-21 (錦見ビル2F) ☎052(932)6421 FAX052(932)6755
東京 東京都千代田区岩本町2-10-1(オカジマビル) ☎03(3861)7021 FAX03(3861)7022

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

日本総代理店／西日本地区発売元



ショーシンEM株式会社

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

東日本地区発売元

(Physio-Tech)

株式会社 フィジオテック

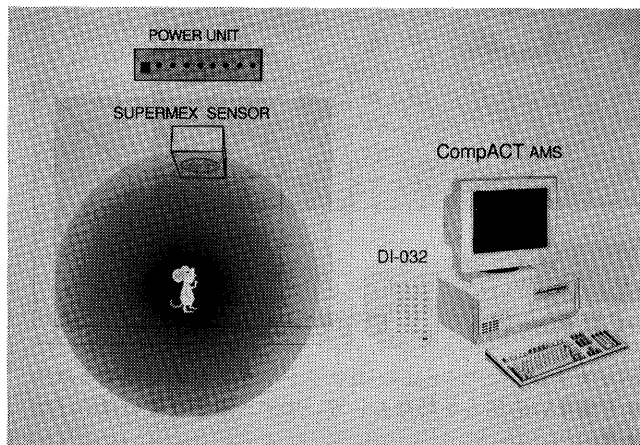
〒101 東京都千代田区内神田2丁目6番11号 若松ビル2F
TEL (03) 3258-1641(代)

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。
 - マイクログアイリ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。

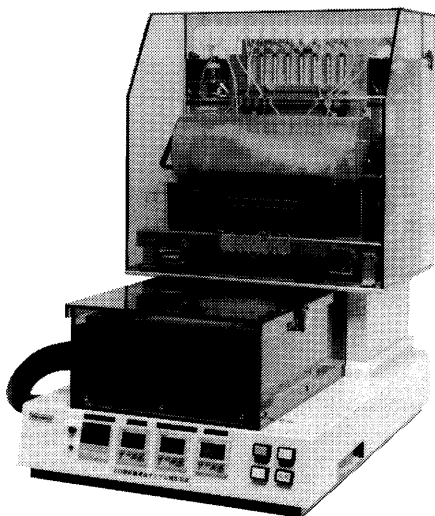
Muromachi

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

全自動

細胞灌流サンプリング装置 MK-4000



脳スライス切片の各部位を灌流しながら、生体内で行なわれている化学的刺激及び、電気的刺激により灌流液中に放出される物質(サイクリックAMP、神経伝達物質、代謝産物等)を捕集することを目的とした装置です。
従来より行なわれていたレセプター結合実験(RRA)と併用することで、より効果的な神経伝達物質、セカンドメッセンジャー間の相互作用の研究が行なえます。

■主な特長

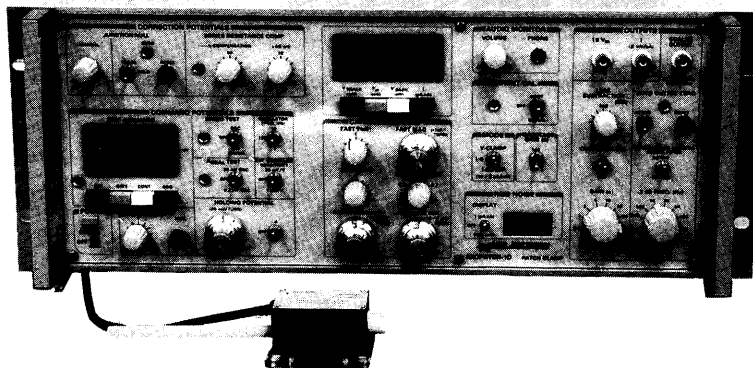
- 脳切片を専用チャンバーにセットするだけで予め設定した灌流操作をし、専用ラックに灌流液を捕集します。
- 切片を入れるチャンバー数及びチャンバーは、ご指定に応じて作成いたします。
- 各チャンバーは、独立した系になっており、コンタミネーションは一切ありません。
- 本体フロントの設定スイッチにより、全ての設定ができます。

Muromachi

総発売元 **室町機械株式会社**

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

AXOPATCH-1D PATCH CLAMP



低ノイズ ハイスピード 安定性と信頼性

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

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

CV4ヘッドステージは下記の3種類があります。

AXOPATCH-1Dの特徴

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

AXOPATCH-1Dのヘッドステージ

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

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

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

西日本地区発売元



INTER MEDICAL CO., LTD.

株式会社 インターメディカル

本社/〒461 名古屋市中区栄一丁目25番1号
TEL (052) 937-7060 FAX (052) 937-5423
TLX 444-3603 WDMC J
東京支社/〒157 東京都世田谷区粕谷三丁目32番16号
製造営業部 アビシオン千歳島山102号
TEL (03) 5384-6387 FAX (03) 5384-6487

東日本地区発売元

(Physio-Tech)

株式会社 フィジオテック

〒101 東京都千代田区内神田2丁目6番11号
若松ビル2F

TEL (03) 3258-1641 (代)

生理学・薬理学・脳神経科学用研究機器

マウス

ラット

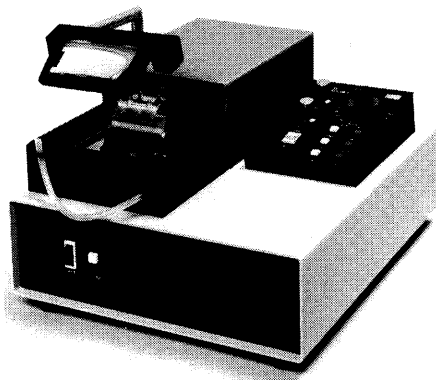
ネコ

....

新鮮脳 50 μ m 70×70の
固定組織 10 μ m ワイド試料台
で全脳もOK

電子顕微鏡用未凍結切片

全自動作製装置 D.S.Kマイクロスライサー DTK-3000W



- 刃の作動方式に滑走式(PAT)を採用し、上下振動もなく、スムーズに均一な連続切片をすばやく作製します。
- 刃の往復数が自由に変えられるため、軟かい組織や、不均一な組織でもとても切りやすくなりました。
- 低温で薄切するための冷却槽を装備しています。

生きのいい脳組織(海馬)の均一な薄切標本70~800 μ mが液中で連続して容易に得られます。



脳組織(生体)専用薄切標本

自動作製装置 D.S.Kロータースライサー DTY-8700

- 丸刃回転方式(PAT.P)の素晴らしい切れ味ですばやく作製します。
- 組織の薄切の厚さ、刃の回転速度、下降速度の三つをセット、あとはスタートボタンを押すのみ。

★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。

D.S.K 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

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

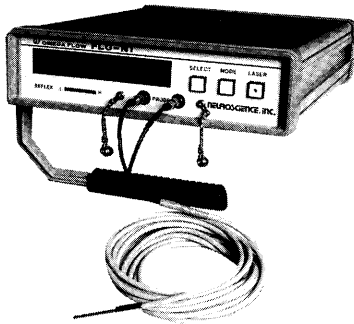
〒173 東京都板橋区大谷口北町89-8-202 TEL:03-3554-5946

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-O1も用意しています。

【特徴】

- ★非接触
 - 3cm程度離して測定可能
- ★広範囲
 - 最大直径15mm程度円内のサンプルボリューム
- ★再現性
 - 接触の影響が無く、広範囲に平均化された再現性を実現
- ★アーチファクト軽減回路
 - 被測定部の微妙な動きによる影響を軽減
- ★豊富な出力
 - FLOW, MASS, VELOCITY, REFLEX
- ★接触用
 - 接触用プローブも接続可能
- ★コンピュータ
 - NEC製98NOTE又はディスクトップに接続(オプション)
- ★使い易さ
 - 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
 - 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)
- ★神経、脊髄
 - 接触すること自体問題が有る部位でも簡単に測定できます。
- ★目(兎、ラット)
 - 眼球の外から網膜の血流測定が可能です。
- ★皮膚
 - 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。
- ★消化器系臓器
 - 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。
- ★口腔内
 - 圧迫の影響無く測定ができます。
- ★その他
 - 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2ムカイビル
TEL.(092)414-0251 FAX.(092)414-0125



1996年版
総合カタログ

下記迄ご請求下さい

マイクロ ピペットプラー PUL-100

- 縦二方向に引きますので、両ピペットが
使えます。
 - 数段階にて引くことができます。
 - 10種類のプログラムを記憶させられます。
 - 電源 100V AC 50/60Hz
- ¥859,000(定価)



ボロシリケイト キャピラリー グラス

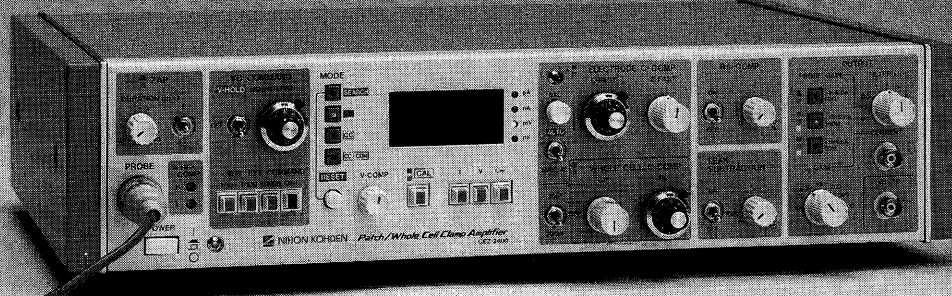
	長さ	本入り	外/内径(mm)	型番	価格
Single Capillary	4 in.	500	1.0/0.58	1B100F-4*	¥6,400
Single Capillary	4 in.	500	1.0/0.58	1B100-4	¥5,100
Single Capillary	4 in.	350	1.2/0.68	1B120F-4*	¥6,400
Single Capillary	4 in.	350	1.2/0.68	1B120-4	¥5,100
Single Capillary	4 in.	225	1.5/0.84	1B150F-4*	¥7,200
Single Capillary	4 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

ワールド プレジジョン 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

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

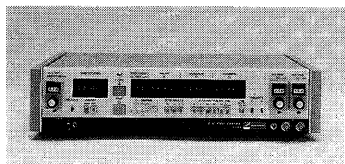
パッチ／ホールセルクランプ用増幅器 CEZ-2400

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。

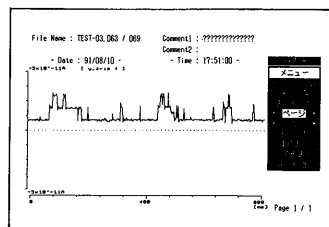
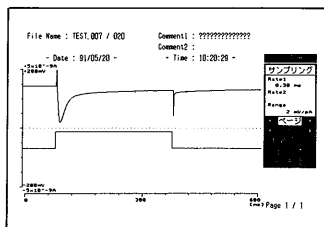
ステップパルスジェネレータ SET-1201

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

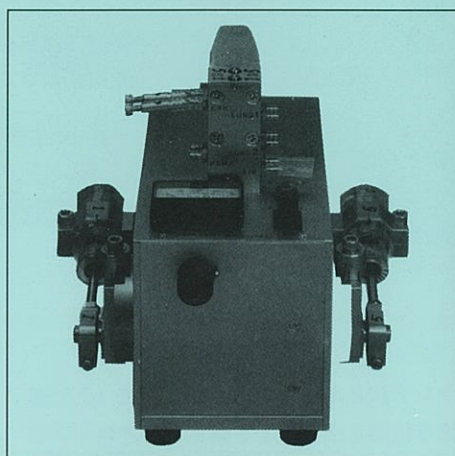
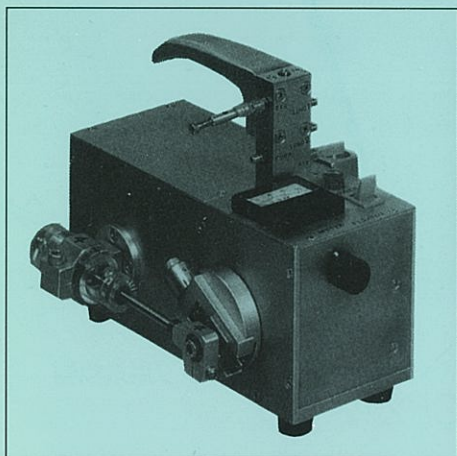
パッチクランプ法及びホールセルクランプ法により測定された微小イオン電流のデータを、パーソナルコンピュータ（PC-98シリーズ）を使用して、保存・解析するためのプログラムです。



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。

KN-55 KN式 小動物人工呼吸器



特長

- 従来のも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
 布施ビル(四階)
 日本生理学会

印刷者
印刷所

平田正
 千九七
 山形県鶴岡市山王町一四二四
 鶴岡印刷株式会社

発行所

日本生理学会
 〒一一三
 東京都文京区本郷三丁目一〇
 布施ビル(四階)

振替
A X 話
替 〇 〇 〇 〇 〇 〇

定価
価 三三八一五
一〇一八四
千 一六二
四 三三九
円 〇