

日本

生理学

雑誌

JOURNAL OF THE PHYSIOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

58巻

2号

1996

〔巻頭言〕 半場 道子：生理学と女性研究者…………… 53

INFORMATION…………… 55

CALENDAR…………… 60

RECORDS…………… 61

PROFILE…………… 66

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」

工藤佳久・宮川博義・中村 健・高木 博：

カルシウム濃度の画像解析による測定法…………… 69

学会抄録

第47回日本生理学中国四国地方会…………… 83

第231回生理学東京談話会…………… 96

日本生理誌
J. Physiol. Soc. Japan

日本生理学会

シングルチャネル・データ
解析用ソフト MAC-TAC、
遂に登場!



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

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

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

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

ヘカ社日本総代理店
EPC-9 西日本総発売元

 ショーシンEM株式会社

〒444-02 愛知県岡崎市赤浜町蔵西1-14
ショーシンビル2F

TEL. 0564-54-1231
FAX. 0564-54-3207

EPC-9 東日本総発売元

(Physio-Tech)
株式会社 **フィジオテック**

〒101 東京都千代田区内神田2-6-11
若松ビル2F

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

目 次

〔巻頭言〕生理学と女性研究者（半場道子）	53
----------------------	----

INFORMATION

平成8年度「難波照男記念健康づくり研究所」研究助成募集要項	55
第9回日本体力医学会スポーツ医学研修会開催案内	56
第11回神経組織の成長・再生・移植研究会学術集会	57
第3回生命工学シンポジウム	58
台湾の Chinese Physiological Society で発行されている Chinese Journal of Physiology について	59

CALENDAR

主な学会開催日程	60
----------	----

RECORDS

会員消息	61
平成7年度第2回日本生理学会教育委員会議事録	61
1995年度生理学研究所生命科学実験技術トレーニング・コースの アンケート調査結果の報告	62

PROFILE

「生理学者群像」(笠井達哉)	66
(松井秀樹)	67

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」 工藤佳久・宮川博義・中村 健・高木 博：カルシウム濃度の画像解析による測定法	69
---	----

学会抄録

第47回日本生理学会中国四国地方会	83
第231回生理学東京談話会	96

〔巻頭言〕

生理学と女性研究者

昭和大学歯学部生理学教室 半場道子

1993年の国際生理学会の折に刊行された *The logic of life* には、生理学の次のステップに向けての多彩な挑戦が述べられていた。今後、生理学の研究テーマも実験方法も大きく変化し、それに伴って優秀な人材を如何に確保・育成していくかが、ますます問われるものと予想される。若手研究者の育成や生理学教育のあり方が、緊急課題として巻頭言に提言されていたが、この10年間の医、歯、獣医学部における女子学生数の比率を見ると、17%から26%に、19%から30%に、29%から50%にそれぞれ増加している(文部省平成7年度調査)。生理学を志す研究者数にこの比率が反映すると推測されるので、女性研究者の育成についても検討頂くべき時期と思い、学会員3442名の11%(1995年3月末で378名)を占める女性会員の現状と、将来の課題について述べさせて頂く事にした。

研究者に男・女の区別はないにもかかわらず、何故女性研究者かと疑問を抱かれるかもしれないが、出産、育児の使命を持つ女性研究者のライフサイクルが男性とは異なっており(科学1985)、それがために研究環境、採用、昇進に大きな差異が生じているからである。現在、生理学会女性会員の地位別比率を大きい順に並べると、定職なし(大学院生・引退を含む)34%、助手30%、講師9.3%、技官8.7%、助教授6.6%、教授(短・看・その他を含む)6.6%となり、自立した研究者と目される講師以上の層が少なく、補助的役割の大きい定職なし、技官、助手の3ランク合計が73%を占めている。採用される事の難しさを示す最多層では、科研費の申請が出来ない事も重なって、優秀な資質を持った研究者がやがて離脱し、学会の底辺が拡大しない要因になっている。

海外でも女性研究者の問題は、実験に長時間の努力傾注を要する分野ほど大きく、*Science*(263, 1993)は自然科学における女性研究者の困難な現状と、それに対する各国諸学会の取組みを特集で報じている。米国生理学会(APS)では女性会員の比率は日本とほぼ同数(12%)であるが、最も数の多い地位が助教授、次いで教授と講師層が同数で3ランク合計が女性会員の40%以上を占め、学術誌編集者や政府委メンバーなど活発な活動を示している。日米の両者を比較する時、国による社会環境・職制上の相違を割りいても、なお大きな格差が感じられる。APSでは、女性が研究から離脱する時期への支援策、研究者や学生に助言や励ましを与える mentor 制度などを通して優秀な人材の確保を図り、好結果を得たとしている。

私達は昨年女性研究者の会を作り、互いの協力で研究環境の向上を図りたいと考え、女

性会員の現状の統計調査に着手したところである。女性研究者の問題には社会構造上のひずみが大きく含まれる事は確かであるが、学会としても海外諸学会の取組みの例にならって、女性の能力を伸ばし活用する方向に、具体的な対応策をお考え頂けるようお願いしている。基礎医学の研究者養成には長い期間がかかり、また自然科学分野の今後の人材不足も危惧されているだけに、緊急に考慮されるべき事柄に加えて頂きたい。生理学が厳しい課題を課せられた現在こそ、出身学部や性の違いに拘泥せず、制度を活かし、時には制度も乗り越えて新しい研究体制を再考すべきであり、その事が生理学を魅力ある学問として、学生や若手研究者を惹きつけることになると考えている。

INFORMATION

平成8年度 「難波照男記念健康づくり研究所」 研究助成募集要項

1. 趣 旨

この助成金は、成人病予防・健康づくりの医学・栄養学・体育学、医学・医療の情報科学及び老人医療についての研究並びに調査を助成し、わが国の成人病予防、健康管理の充実発展に寄与することを目的とする。

2. 対 象 者

- (1) 医学、栄養学、体育学及び医学・医療の情報科学の調査研究に従事している個人またはグループ（グループ研究の場合は実際の主体的研究担当者を申請者（筆頭研究者）とすること）とするが、将来性ある若い研究者の応募を特に期待したい。
- (2) 平成8年度、大学院に在学中の者は、この助成の申請者（筆頭研究者）とすることができない。

3. 研究課題

上記1に掲げる趣旨に沿った研究で、成人を対象とするもの。その課題は自由であるが、あまりにも基礎的にとどまる研究でなく、臨床の実際に即した研究内容が望ましい。

4. 研究期間

原則として1年以内に終了するものとし、助成は単年度とする。

5. 助成金の額

平成8年度の助成金の額は、研究1件につき100万円以内で、研究を10件以内とする。

6. 助成金の対象となる経費

- (1) 助成金は、備品費、図書費、刊行費、旅費、消耗品費、謝金、その他研究に要する雑費とし、人件費は含まない。
- (2) 他の機関から本研究に関連して助成を受けている場合は、その旨を明記すること。

7. 申込方法

- (1) 申込用紙（別紙様式1）は、本研究所への申し出により郵送する。
- (2) 申込用紙（別紙様式1）は、コピーした用紙を使用しても差しつかえないこと。（同寸同大）
- (3) 申込用紙に所定の事項を記入のうえ、平成8年3月末日までに本研究所へ必着するよう郵送すること。

8. 助成金の交付

- (1) 助成金交付の決定は難波照男記念健康づくり研究所選考委員会の選考を経て理事長が行い、その結果を平成8年5月末日までに書面により通知する。
- (2) 助成金は、決定通知後1か月以内に交付する。
- (3) 本研究に関し、当該年度内に海外への長期出張・留学等により研究の完遂が困難となった時はその旨を研究所事務局に連絡し、相談の上辞退または返還の手続きをされたい。

9. 研究成果の報告並びに発表

- (1) 研究報告書を平成9年7月31日までに提出すること。（400字詰原稿用紙20枚程度）
なお本研究所で、この研究成果を刊行或いは使用する場合は、これに同意すること。
- (2) 平成9年5月31日までに助成金決算書（別途、決定者あてに送付する）を提出すること。
- (3) 本研究所が研究成果発表会を開催する際は、本研究所助成による研究成果を発表すること。
発表者は、代表者または共同研究者とし、その旅費は本研究所が負担する。
- (4) 他の機関において研究並びに本調査の成果を発表する場合には、難波照男記念健康づくり研究所の助成を受けた旨を明記すること。（英文名称：T. Nanba Memorial Health Care Foundation, 略語：N. M. H. F）

難波照男記念健康づくり研究所

東京都文京区西片1—15—10 同友会内

☎ 03-3816-2250（担当者 岩崎）

FAX 03-3818-9277

研究助成金に係る留意事項

1. 平成8年度助成金による研究の会計年度は、平成8年4月1日から平成9年3月31日までとする。
2. 助成金は、申込書記載の研究計画を実施するための経費であり有効適切に使用すること。なお助成金を他の用途に使用し、又は不正に使用した場合は全額を返還させることがある。
3. 助成金の支出計画については、でき得る限り詳細に記載すること。

4. 研究目的が完了したとき(研究期間の終了時)に、使用残額が生じた場合は返還すること。また、研究の中止もしくは研究を中断し研究の継続をしない場合も同様とする。
5. 助成金は、銀行等に預貯金するなどして確実に保管すること。
6. 預貯金により生じた利子は、研究の遂行に必要な経費の支出にあてること。
7. 助成金の経理は、帳簿を整備するなどにより収支を明確にし、他の機関から本研究に関連して助成を受けている場合は、本助成金と明確に区分し経理すること。
(研究者が必要経費を支払った場合は、支払ったことを証明する領収書(領収書の徴収が困難なものについては支払証明書等)をとっておくこと。)
8. 助成金の支出に係る関係書類の整理・保管については、決算書提出後1年間保存すること。
9. 次に掲げる経費は、助成金から支出することはいけないこと。
 - (1) 机、椅子等の什器を購入するための経費
 - (2) 複写機、ワープロ等研究機関で通常備えるべき事務用設備・備品を購入するための経費
 - (3) その他、この助成金による研究に関連性のない経費(飲食経費など)
10. 助成金の交付の対象となった研究及び内容の変更は、交付対象となった研究計画、研究目的を変えない範囲でなければならない。この場合には、あらかじめ文書により研究所に協議すること。
難波照男記念健康づくり研究所

第9回日本体力医学会スポーツ医学研修会開催案内

日本体力医学会では、体力科学に関する理解を深め研鑽する目的で、スポーツ医学研修会を開催し、多数の会員の参加により成果をあげてまいりました。

平成8年度も下記の要領で参加しやすく、スポーツ医学の基礎を習得でき、また、これまでに他の研修会を受講いただいた方にも十分ご活用いただける研修会として企画いたしましたので、奮ってご参加いただきますよう、ここにご案内させていただきます。研修会は基礎コース、運動処方・運動療法コース、およびスポーツ外傷・障害コースの3回に分けて行われますが、ご希望のコースを単独で受講することも可能です。また、他の研修会の再教育の場としての研修会を利用される方には、受講証明書を発行いたします。なお、この研修会では、下記の内容についての講義が行われます。講義の中で対象として扱うのは正常および疾病を有する一般人でアスリートではありません。

平成8年1月

日本体力医学会学術委員会

栗原 敏 勝木道夫 村山正博
大島 襄 吉岡利忠 河野照茂

I 日時・会場

- 第1回 平成8年5月17日(金)～19日(日)
東京慈恵会医科大学
- 第2回 平成8年7月12日(金)～14日(日)
東京慈恵会医科大学

第3回 平成8年11月8日(金)～10日(日)

東京慈恵会医科大学

*時間は受講者に追ってお知らせいたします。

II 研修内容(カリキュラム)

第1回 基礎コース

1. 運動と骨格筋・心筋
2. 筋収縮とエネルギー代謝
3. 運動と神経系の働き
4. 運動制御
5. 呼吸機能と血液ガス
6. 呼吸の調節と運動
7. 循環調節と運動
8. 代謝とホルモン

第2回 運動処方・運動療法コース

1. 運動処方の基礎
2. 体力テスト
3. メディカルチェック・内科
4. メディカルチェック・整形外科
5. 運動処方作成と効果判定
6. 運動処方作成演習
7. 運動療法と許可条件

- 1) 高血圧・循環器・呼吸器疾患
- 2) 糖尿病・肥満・肝疾患など

第3回 スポーツ外傷・障害コース

1. スポーツにおける内科障害

2. スポーツにおける循環器障害
3. 運動と外傷
4. 運動による障害
5. 外科的救急処置
6. 発育期・中高年のスポーツ障害
7. スポーツ現場への復帰Ⅰ（関節疾患）
8. スポーツ現場への復帰Ⅱ（脊椎疾患）

第1回から第3回の全コースの受講終了者は、所定の終了試験を受験することができます。合格者には合格証書を発行いたします。終了試験の詳細等は後日ご連絡いたします。

終了試験合格者は所定の手続きをすると、日本体力医学会健康科学アドバイザーの称号を取得することができます。

Ⅲ テキスト

スポーツ医学の基礎（万木良平監修、栗原 敏、大畠 襄、村山正博編集、朝倉書店）テキストは当日配布いたします。

Ⅳ 受講料

1コース 30,000円

全コースの受講を原則としますが、定員に余裕があれば1コースずつの受講でも可能です。次年度以降にその年度に受講しなかったその他のコースを受

講すれば、全コース受講後終了試験を受験することができます。

Ⅴ 参加資格と定員

日本体力医学会の会員であること（会員以外で受講を希望する場合は、入会手続き完了後にお申し込みください）。

各コース 50名

Ⅵ 申込方法

受講希望者は、葉書、または電話で、日本体力医学会スポーツ医学研修会を受講したい旨、日本学会事務センターまでご連絡下さい（下記参照）。申込書をお送りいたします。

また、定員に達しましたら、お断りする場合がありますのでご了承下さい。

受講票、受講料等のご連絡は、受講通知とともに後日ご案内させていただきます。

Ⅶ 申込書送付先

〒113 東京都文京区本駒込5-16-9

学会センターC21

財団法人 日本学会事務センター内

日本体力医学会スポーツ医学研修会係

電話：03-5814-5800

FAX：03-5814-5823

第11回神経組織の成長・再生・移植研究会学術集会

会 期：平成8年6月1日(土)

会 場：千里ライフサイエンスセンター

〒565 大阪府豊中市新千里東町1-4-2

地下鉄千里中央駅前北出口すぐ

特別講演：

“Anatomical and physiological integration of transplanted GnRH cells in hypogonadal mice”

Dr. Marie J. Gibson

Prof. of Medicine, Mount Sinai Sch of Med., New York

演題募集要項：

神経組織の成長・再生・移植に関する演題を募集致します。（特に遺伝子工学を応用した神経再生・移植に関する演題を歓迎します。）発表は口演及びポスターの2形式を予定しております。演者、共同演者共に本研究会会員に限りますので、未入会の方は下記にご連絡の上、入会手続きをお取りください。演題申し込み用紙等をお送りします。

なお英文抄録が“Restorative Neurology and Neuroscience”に掲載されます。

演題申込み締切り：平成8年2月29日必着

参 会 費：4,000円

懇親会費：3,000円

入会申込みおよび演題申込み用紙請求先：

〒113 東京都文京区本駒込5-16-9

財団法人 日本学会事務センター

神経組織の成長・再生・移植研究会係

TEL 03-5814-5810・FAX 03-5814-5825

演題送付および問い合わせ先：

〒565 大阪府吹田市山田丘2-2

大阪大学医学部脳神経外科

第11回学術集会

世話人 早川 徹

TEL 06-879-3652（脳神経外科直通）

FAX 06-879-3659



第3回 生命工学シンポジウム

日時／平成8年3月5日(火)・6日(水)
場所／工業技術院筑波研究センター共用講堂

The 3rd International Symposium on Bioscience and Human-Technology
March 5-6, 1996
Auditorium, AIST Tsukuba Research Center
Tsukuba, Ibaraki, JAPAN

3月5日(火) セッション1 細胞機能制御とシグナル伝達
March 5, 1996 Regulation of cell function and signal transduction

3月6日(水) セッション2 神経発生, イオンチャンネル, 膜タンパク質構造
March 6, 1996 Neural development, ion channels, and membrane protein structure

Time	Title	Speaker
Chair: Y. Jigami and H. Shinshi		
9:50-10:00	Opening address	
		Michio Oishi (Director, NIBH)
10:00-10:25	Regulation of gene transcription by plant hormone ethylene	
		Hideaki Shinshi (NIBH)
10:25-11:00	Gene expression and signal transduction in higher plants under drought stress	
		Kazuo Shinozaki (RIKEN)
11:00-11:25	Regulation of cell wall N-linked oligosaccharide biosynthetic gene and enzyme in yeast	
		Yoshifumi Jigami (NIBH)
11:25-12:10	Control of cell wall assembly in yeast; the incorporation of cell wall proteins	
		Frans M. Klis (Univ. Amsterdam, the Netherlands)
Lunch 12:10-13:15		
13:15-14:00	Cell cycle 'start' control in fission yeast	
		Hiroto Okayama (Univ. Tokyo)
Chair: Y. Mitsui and T. Imamura		
14:00-14:30	Analyses of mortalin in normal and immortal human cells	
		Renu Wadhwa (Childrens Medical Res. Inst., Australia)
14:30-15:10	Telomere and telomerase; its significance in cell aging and immortalization	
		Toshinori Ide (Hiroshima Univ.)
15:10-15:40	The regulation of cyclin D1 expression in senescent human fibroblast	
		Youji Mitsui (NIBH)
Coffee Break (15:40-16:00)		
16:00-16:35	FGF expression and its involvement in brain development and muscle differentiation	
		Toru Imamura (NIBH)
16:35-17:10	Novel functions of HSF-1/FGF-4	
		Masaaki Terada (Natl. Cancer Center Res. Inst.)
17:10-17:45	Improvement by acidic FGF and its fragments in learning and memory in normal and aged brain.	
		Yutaka Oomura (Nippon Zeki Pharmaceutical Co. Ltd.)

Time	Title	Speaker
Chair: Y. Sasai and H. Okamoto		
10:00-10:40	The role of FGF in the early development of <i>Xenopus</i> nervous tissue	
		Harumasa Okamoto (NIBH)
10:40-11:20	Dorso-ventral patterning of the early vertebrate embryo by the organizing factor chordin	
		Yoshiki Sasai (UCLA, USA)
11:20-12:00	Bone morphogenetic proteins and ectodermal patterning in vertebrate embryos	
		Paul A. Wilson (Rockefeller Univ., USA)
Lunch 12:00-13:00		
Chair: Y. Fujiyoshi and Y. Okamura		
13:00-13:40	Regulation of voltage-gated ion channels during ascidian embryogenesis	
		Yasushi Okamura (NIBH)
13:40-14:20	Regulation of sodium channel gene expression by transcriptional silencing	
		Bartholomeus J. L. Eggen (State Univ. New York, USA)
14:20-15:00	Structure function study of inward rectifying potassium channel family	
		Yoshihiro Kubo (Tokyo Metropolitan Inst. Neurosciences)
Coffee Break (15:00-15:20)		
15:20-16:00	Structure of membrane proteins analyzed by electron protein crystallography	
		Yoshinori Fujiyoshi (IIR, Matsushita Electric Industrial Co., Ltd.)
16:00-16:40	Molecular mechanism of protein-retinal coupling in bacteriorhodopsin	
		Sriram Subramaniam (Johns Hopkins Univ., USA)
16:40-16:50	Closing address	
		Shinichi Ohashi (Deputy Director, NIBH)
なお、3月7日(木)~9日(土)、同会場にて生命国際ワークショップ「転写因子の構造生物学-DNA, RNA, 蛋白質の構造とゲノムハイオロジーへの展望」を開催致します。合せてご参加下さい。		

主催/工業技術院 生命工学工業技術研究所(NIBH)

参加申込方法／参加者の会社又は事業所名、所在地、所属、氏名、電話番号、参加日を明記の上、下記申込先へお送り下さい。

申込先 (財)日本産業技術振興協会 〒105 東京都港区虎の門1-19-5 虎の門1丁目 森ビル5階

TEL 03-3591-6272 / FAX 03-3592-1368 FAXでの申込みも受けいたします。

できるだけ事前にお申込み下さい。(当日参加可)

参加費／無料、当日講演予稿集配布(英文)

問合せ先／生命工学工業技術研究所 総務部 業務課 〒305 つくば市東1-1 TEL 0298-54-6037 / FAX 0298-54-6038

協力／(財)日本産業技術振興協会(JITA)、協賛／(財)化学・ハイオつくば財団

台湾の Chinese Physiological Society で発行されている
Chinese Journal of Physiology について

このたび、台湾の Academia Sinica の Dr. H. Y. Lee から日本の生理学会会員にも Chinese Journal of Physiology を紹介し、論文を投稿して欲しい旨の連絡が参りました。アジアの隣国として協力していただきたいと思い、Lee 博士からの手紙を転載します。

Chinese Journal of Physiology

Editorial Office:
Eminy H. Y. Lee, Ph.D.
Institute of Biomedical Sciences
Academia Sinica
Taipei (115), Taiwan, ROC

Telephone: (886) -2-7899125
Facsimile: (886) -2-7822835

November 1995

Dear Colleagues in the Biomedical Community:

I would like to take this opportunity to introduce to you the *Chinese Journal of Physiology*, the official journal of the Chinese Physiological Society in Taiwan, the Republic of China.

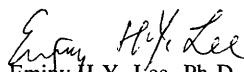
The *Chinese Journal of Physiology* was first published more than thirty years ago. It was initiated by a group of physiologists in Taiwan to publish original research articles in every aspect of physiology. It started as a semiannual publication and was expanded to be a quarterly journal since six years ago. This journal is currently indexed by **Index Medicus**, **Chemical Abstracts**, **Excerpta Medica** and the **Medline** system. As one of the top biomedical journals in Taiwan, it has received the Scientific Publication Award from the National Science Council there annually since 1992. In view of the rapid developments in physiology research and the need for international scientific communication, this journal has decided to further extend its scope to become an international journal.

On January 1, 1996, the Editorial Office will be moved to the Institute of Biomedical Sciences (IBMS), Academia Sinica, Taipei, the top research institute in Taiwan. We are honored to have Dr. Shu Chien from the University of California, San Diego to be the Honorary Editor of this Journal. Dr. Chien was the President of the American Physiological Society from 1990 to 1991. Dr. Eminy H. Y. Lee from IBMS will serve as the Chief Editor. **Starting in January 1996, we will also initiate a new policy of sending out twenty free reprints to any laboratories as the authors wish as soon as the article is published (in addition to the fifty free reprints and any reprints the authors wish to purchase).**

The *Chinese Journal of Physiology* publishes primarily original, full-length research articles, but it also accepts review articles and short communications. We sincerely invite you to submit your manuscript to this journal. We also hope that you would introduce this journal to your colleagues and friends for manuscript submission and journal subscription. The annual subscription rate is US\$80 for individual and US\$120 for institution. We hope to work together with you to make this journal an outstanding international journal.

Best wishes to you for a successful and productive coming year.

Sincerely yours,


Eminy H. Y. Lee, Ph.D.
Editor-in-Chief

CALENDAR

主 な 学 会 開 催 日 程

開 催 日 (演題締切)	名 称	会 場	連 絡 先
96. 3. 5- 6	第3回生命工学シンポジウム	筑波：工業技術院筑波研究センター共用講堂	(財)日本産業技術振興協会 ☎03-3591-6272 FAX：03-3592-1368
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. 5.17-19	第9回日本体力医学会スポーツ医学研修会 第1回	東京：東京慈恵会医科大学	(財)学会事務センター内 体力医学会研修会係 ☎03-5814-5800
96. 6. 1 (96. 2.29)	第11回神経組織の成長・再生・移植研究会学術集会	大阪：千里ライフサイエンスセンター	大阪大 脳神経外科 早川 徹 ☎06-879-3652 FAX：06-879-3659
96. 6.29	第8回非侵襲脳機能局在研究会	東京：海運倶楽部	千葉大 医 生理 中島祥夫 ☎043-226-2026 FAX：043-227-2028
96. 7.12-14	第9回日本体力医学会スポーツ医学研修会 第2回	東京：東京慈恵会医科大学	(財)学会事務センター内 体力医学会研修会係 ☎03-5814-5800
96. 8.11-16	XII TH INTERNATIONAL BIOPHYSICS CONGRESS	AMSTERDAM :	XII th International 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
96.11. 8-10	第9回日本体力医学会スポーツ医学研修会 第3回	東京：東京慈恵会医科大学	(財)学会事務センター内 体力医学会研修会係 ☎03-5814-5800
97. 5.17-23	OHOLO 41 st CONFERENCE PROGRESS IN ALZHEIMER'S AND PARKINSON'S DISEASE	ISRAEL :	Abraham Fisher, Ph. D., Israel Inst Bio Res ☎972-8-381603 FAX：972-8-401094

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

RECORDS

会 員 消 息

<転 勤・異 動>

氏 名	勤 務 先 名	勤務先 TEL・FAX
伊 藤 拳	東京都秋川保健相談所	0425-58-5091
伊 藤 道 郎	天理大学・体育学部	07436-2-3076
加 藤 章	日本医科大学・第一生理	03-3822-2131
加 藤 和 雄	宮崎医科大学・第一生理	0985-85-0870
川 崎 洋	勤医協中央病院麻酔科	011-782-9111
河 村 悟	大阪大学・理学部・生物	06-850-5436
小 林 敏 生	東京商船大学保健管理センター	03-5245-7357
小 林 康	ATR. HIP.	0774-95-1007
東海林 正	横浜市立大学・第一生理	045-787-2575
中 山 秀 章	新潟大学・医学部・第二内科	
永 田 瑞 穂	(財)三菱養和会	03-3915-2711
平 野 泰路郎	平野クリニック	0566-27-5566
廣 田 和 英	宮崎医科大学・第二外科	0985-85-0870
森 谷 滴	帯広市立病院	0155-25-1101
山 越 憲 一	金沢大学・工学部・機械システム工学科	0762-34-4735
和 田 太	中部労災病院リハビリテーション科	052-652-5511

平成7年度第2回日本生理学会教育委員会議事録

日 時：平成7年10月28日(土) 午前11:00～午後1:00

場 所：学会会館赤門分館

出席者：加藤(北海道大), 佐藤(岩手医大), 栗原(慈恵医大), 橋本(女子医大), 本間(昭和大), 佐久間(日本医大), 中野(日体大), 高田(浜松医大), 富田(藤田保衛大), 今井(大阪医大), 瀬山(広島大), 有田(大分医大)

欠席者：入来(山梨大), 小坂(長崎大), 今永(福岡大)

1. 報告事項

- 1) 生理研における生命科学実験技術トレーニングコース

平成7年8月17日(木)～21日(月)まで講演および8項目の実習が行われた。応募者は220名であり、その内生理学会員は18名であった。

- 2) 日本生理学雑誌連載予定の統計学に関して

「医学統計学の問題点」について栗谷典量先生に原稿依頼し、第一回目の原稿を頂いた旨、有田委員より報告があった。できれば来年1月号より掲載する。生理学教育委員より生理学に関する統計上の問題点を具体例を提示して答えて頂くこと

をお願いする。

- 3) 日本生理学雑誌連載予定のビデオマイクロスコープ法実験技術法講座に関して

6回のシリーズで掲載する。すでに5人の先生方(内1人は2回分執筆)に原稿依頼済みである。

- 4) 会計報告

橋本先生より平成7年10月27日現在の会計報告があり承認された。

2. 審議事項

- 1) 第73回日本生理学会大会(福井)での教育シンポジウムについて

「若手生理学者養成の問題点」

司会：高田，富田，演者：濱，高久，瀬山，栗原
で大会3日目午前に行なう予定である。

- 2) 日本生理学雑誌掲載項目に関して
新たに分子生物学に関する記事を連載する。
- 3) 生命科学実験技術法講座受講者の追跡調査に
関して
受講者の所属が変わっているのので，現在調べてい
る。受講者の70%にアンケート用紙を送付するこ

とが可能と思われる。次回教育委員会でアンケー
ト項目に関して討議する。

- 4) 教育スタッフ調査
生理学教育者の実体把握の為のアンケート調査を
行なうことを検討する。
前回は昭和57年10月に実施されているので現状を
知ることが必要ではないかとの発言が富田委員よ
りあった。

1995年度 生理学研究所 生命科学実験技術トレーニング・コースの アンケート調査結果の報告

今年も8月17日から約1週間にわたり猛暑のなか、生理学研究所で生命科学実験技術トレーニング・コースが、生理学研究所主催，日本生理学教育委員会協催，日本神経科学学会研究者育成専門委員会協賛のもとに開催された。岡田泰伸教授の企画により分子生物学に関する講演と，8項目の実習がおこなわれ，応募者は220名におよんだ。受講者は大学，研究所のスタッフ，大学院生，学部学生で，毎年，受講希望者の数も増えている。このような充実したトレーニング・コースが開催できるのは，濱清生理学研究所所長のご理解と，岡田泰伸教授はじめ実習を指導された生理学研究所のスタッフ，ならびにご講演頂いた先生方のご尽力のおかげである。心より感謝の意を表したい。

応募者は大学院学生が最も多く，続いて研究員，助手などである。また，所属学会別では神経科学学会会員の応募者が多く，生理学会会員がそれに次いだ。

トレーニング・コース終了後，参加者を対象にアンケート調査をおこない，岡田教授がとりまとめて下さったので，その結果をここに報告する。

日本生理学会教育委員会
委員長 栗原 敏

生理研生命科学実験技術トレーニング・コースアンケート集計結果

岡崎国立共同研究機構生理学研究所
岡田 泰伸
日本生理学会教育委員会
委員長 栗原 敏

全 体

1. 実習名別人数

実習項目	回収数	参加数
1) 細胞内 Ca^{2+} 濃度変化の画像解析	14	15
2) 神経活動に伴う蛋白質リン酸化および遺伝子発現変化	6	6
3) パッチクランプ	21	24
4) 神経発生における遺伝子発現	8	8
5) 神経ネットワークの標識・同定	4	4
6) 脳磁図を用いたヒト脳機能の研究	5	5
7) 摘出モルモット腸管の蠕動反射記録法	2	2
8) 超高压電子顕微鏡操作実習	2	2
合 計	62	66

2. トレーニング・コースを知ったのは	
1) 「生理学雑誌」より	11
2) 「神経科学ニュース」の案内	9
3) 「実験医学」誌又は「蛋白質核酸酵素」誌の案内	5
4) 「生理学雑誌」「神経科学ニュース」の案内	2
5) ポスター	10
6) その他	25
3. 実習について	
1) 大変有意義	54
2) ある程度有意義	8
3) あまり役立たなかった	0
4. 実習講義について	
1) 説明は十分	42
2) もっと理論的な説明が欲しかった	9
3) 実習に即した具体的な説明が欲しかった	4
4) 実習講義は必要ない	2
他) 参加できなかった	1
他) 2) と 3)	4
5. 実習の内容について	
1) 満足できる内容	50
2) もっと高度な内容を期待していた	11
3) 期待していたほどではなかった	0
他) もう少し具体的な discussion の時間があれば	1
6. 実習の人数について	
1) 適当であった	52
2) 多すぎた	10
7. 実習時間について	
1) 適当であった	50
2) 短すぎた	8
3) 長すぎた	3
他) 1) と 2)	1
8. トレーニング・コース実施時期について	
1) この時期でよい	38
2) 8月上旬がよい	11
3) 8月下旬がよい	7
4) その他	5
他) 1) と 2)	1
9. このトレーニング・コースを受けた後、自分の研究室で習得した実験技術を実行できるか否か	
1) すぐに実行可能である	17
2) 近い将来実行可能である	3
3) 実行は難しい	11
他) 2) と 3)	1

トレーニング・コース 講演アンケート

1. 3講演の内どれを聴かれましたか	
1) 「機能発現法による cDNA クローニング」	
2) 「細胞への遺伝子導入」	
3) 「マウス個体を用いた遺伝子操作」	
• 3講演全部.....	31
• 2) と 3)	1
2. 聴かれた講演のわかりやすさについて	
• 大変わかりやすかった.....	9
• ある程度理解できた.....	16
• あまり理解できなかった.....	0
• 1) 2) は大変わかりやすかったが, 3) はある程度理解できた.....	1
• 1) 3) は大変わかりやすかったが, 2) はある程度理解できた.....	2
• 1) は大変わかりやすかった 2) はある程度理解できた 3) はあまり理解できなかった.....	1
• 大変わかりやすかった, ある程度理解できた.....	3
3. 聴かれた講演の有益度について	
• 大変役に立つ内容.....	17
• ある程度有益であった.....	14
• あまり役に立たなかった.....	0
• 1) 2) は大変役に立つ内容であった.....	1
4. 聴かれた講演の内容について	
• 理論的にも実際的にも十分な内容.....	16
• もっと理論的な説明が欲しかった.....	9
• もっと実際の説明が欲しかった.....	3
• 1) 2) は理論的にも実際的にも十分な内容であった, 3) はもっと実際の説明が欲しかった.....	1
• 1) 3) は理論的にも実際的にも十分な内容であった, 2) はもっと理論的な説明が欲しかった.....	1
• 不明.....	3
今後聴いてみたい講演テーマ	
• 電気生理学	
• 生命体 (生物物質) の物理化学的測定法	
• 神経ネットワークモデル	
• イオンチャネルの基礎	
• 初心者のための分子生物学	
• 神経系の組織学の話	
• 遺伝子療法	
• 発生, 文化に関すること	
• 1つの Neuron について細かく解析した話	
• AntisenseRNA による遺伝子機能の検索	
• Two-Hybrid System について	
• in situ hybridization 法	
• in situ PCR 法	
• Northern blotting などの組織での実験手法について	
• リンパ球系での expression cloning 法	
• expression library のつくり方	
• 脳の高次機能について	

**1995年度 生理学研究所 「生命科学実験技術トレーニング・コース」
の学会別受講者数**

* () 内は実習参加者のうち講演会に出席した人数

*実習の後の番号は実習項目番号を表す。

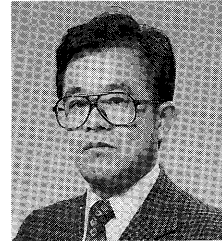
	生理学会	神経科学学会	生理学会・ 神経科学学会	その他	計
実習 ①	2名(2名)	1名(1名)	0名	12名(5名)	15名(8名)
②	1名(1名)	0名	0名	5名(5名)	6名(6名)
③	4名(2名)	10名(6名)	1名	9名(6名)	24名(14名)
④	0名	0名	0名	8名(8名)	8名(8名)
⑤	2名(1名)	0名	0名	2名(2名)	4名(3名)
⑥	1名	0名	0名	4名(2名)	5名(2名)
⑦	0名	0名	0名	2名(2名)	2名(2名)
⑧	1名(1名)	1名	0名	0名	2名(1名)
講演のみ	2名	4名	1名	27名	34名
計	13名	16名	2名	69名	100名
実習	11名	12名	1名	42名	66名
講演	9名	11名	1名	57名	78名

PROFILE

「生理学者群像」

笠井 達哉 君

広島大学大学院スポーツ・健康科学教育部門教授
(国際協力研究科教育文化専攻教育開発講座)
平成7年4月1日就任



広島大学大学院国際協力研究科は、平成6年4月に第一専攻(開発科学専攻)が発足したのに引き続き、第二専攻(教育文化専攻)が平成7年4月に発足した。学部を持たない独立大学院として新たに設立された国際協力研究科の目指すところは、広い分野の国際協力に関わる諸研究と人材育成を行うことで、極めてユニークな大学院である。第二専攻の中に教育開発講座が設立され、その一部門としてスポーツ・健康科学教育部門が開設された。それは、スポーツ科学、運動科学、健康科学等を包括した教育・研究組織であり、その基礎的教育及び研究分野として生理学が位置づけられる。従って、広い生理学分野の研究の中で特に「運動生理学」分野の研究が中心となる。

私の現在の研究は、ヒトを対象として「随意運動機能の運動神経生理学的解析」を行っている。「運動神経生理学」とは、あまり聞き慣れない用語であろうが、随意運動の遂行に関する神経生理学的機序の解析を主たる目的にした分野に対して、私は好んで用いることにしている。その理由の一つは、広い神経生理学分野の研究の中で、特に随意運動機能の研究であることを強調したいからである。随意運動の遂行に関わる神経生理学的機序の解析には、どうしても動物実験では乗り越えられない問題がある。すなわち、ヒトと動物は

コミュニケーションができない。従って、随意運動の遂行に伴う「意志」の問題、そして四肢の微細な随意運動の遂行の機序を知るには、ヒトの実験は欠かせない。その意味で、私はヒトを主たる対象とした運動系の神経生理学分野をこのように呼ぶことにしている。

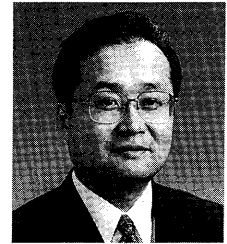
具体的な私の研究は、脊髄反射法と最近開発された大脳皮質刺激法(主に磁気刺激法)を組み合わせ、随意運動の遂行に伴う諸変数(運動の強さ、速さ、方向、大きさ等)を、脳がどのように制御しているかを解析している。そしてまた、トータルなヒトの随意運動制御の対象として、また微細な随意運動の制御機構とも密接な関係のある「予測的な姿勢制御機構」の解析にも大いに関心を持っている。

私の所に入学してくる大学院生の半分は、外国からの留学生(特にアジア地域が多い)であるという特殊事情から、生理学教育に関する私の役目として、ただ単に基礎的な生理学的知識を伝達するのではなく、彼らが帰国してその国のリーダーとして活躍するには何が最も重要かを逐一認識し、彼らの必要に応じた教育に当たりたいと思っている。従って、その意味で底辺の広い生理学を有効な媒介として活用したいと思っている。

「生理学者群像」

松井秀樹君

岡山大学医学部教授
 (生理学第一講座)
 平成7年4月1日就任



脳の可塑性とシグナル伝達をテーマに掲げ、中枢神経の機能を現象論に終わることなく物質のことで説明する事を目指しております。

私は岡山大学医学部を1978年(昭和53年)卒業後、同大学院(第一生理学)にて西田勇先生(後に香川医科大学学長)・島瀬修先生(現在、香川医科大学第一生理学教授)のご指導を頂きました。1982年よりカナダ・カルガリー大学の Jerry H. Wang 教授の元に留学し、カルシニューリン(カルモデュリン依存性脱リン酸化酵素)の研究を開始しました。当時この蛋白質が脱リン酸化酵素であることが見いだされ、かつ脳内に多量に存在しカルシウムイオンにより制御されることから脳機能において重要であることを予測し、活性化様式解析と単クローン抗体の作成に携わりました。

帰国後も香川医科大学第一生理学(島瀬修教授)でお世話になり、カルシニューリンについては脳内分布やアイソフォームの同定・cDNA クローニングまた減数分裂との関連を見いだしました。最近、この酵素はシクロスポリンAやFK506など臨床的にも重要な免疫抑制剤の標的であることが明らかにされ、非常に注目されていることは皆様よくご存知の通りです。さらにサイクリン依存性キナーゼ(Cdk5)とその脳特異的活性化因子(p35)の研究を開始し、これらのリン酸化調節系が神経細胞の突起伸長やネットワーク形成またシナプスの可塑性(長期増強・LTPや長期抑圧・LTD)にどの様に関わるかについて研究を進めております。またこれらのリン酸化調節系の異常がアル

ツハイマー病などの神経変性疾患やてんかん源性の獲得などの病態に関与するとの仮説に基づく研究も進めております。

私が学部学生時代に生理学講座に出入りするようになってからすでに20年近くが経ちました。この間、生理学の方法論は大きな進歩を遂げました。我々は電気生理、細胞生理の手法はもちろん、免疫学的手法、組み替えDNA、形態学的手法などを自在に使う事が出来るようになったわけです。この生理学研究のおもしろさと重要性を学部ならびに大学院学生諸君に理解してもらうことが私の教育における最も重要な任務だと思えます。

また、私は医学部において研究と教育に携わっているわけですが、医学部の使命は良い医師をつくる事だけでは不十分です。高度の医学・生命科学研究所の水準を維持しつつ、その成果を教育に還元してより優秀な医学研究者を養成し、次世代を担う人材を育てる責務も非常に重大と考えます。しかし、生理学を含めた基礎医学の人材不足が問題とされる一方で、それとは全く無関係に卒後研修の義務化構想などが進行している点が多いに懸念される所です。これは医学教育機関だけの問題にとどまらず生理学会全体に影響を与える問題と思えます。この場を借りて会員の皆様に問題提起をさせていただきます。またこの点について皆様のご意見を賜りたく、以下に私の電子メールアドレスを付記させていただきます。matsuihi@cc.okayama-u.ac.jp



シリーズ「細胞内 Ca イオン濃度の光学的測定法」

カルシウム濃度の画像解析による測定法

工藤佳久・宮川博義・中村 健・高木 博
(東京薬科大学・生命科学部・生体高次機能学研究室)

I. はじめに

1980年代の初めに fura-2 を代表とする細胞膜透過性蛍光 Ca 指示薬が登場して以来、この種の試薬を用いた細胞内遊離 Ca 濃度測定法は実験生物科学の分野における標準的な実験項目の一つとされるようになってきている。細胞内 Ca 濃度変化に依存する生物現象が極めて多く、それだけ強くその方法の確立が望まれていたということの意味しているのであろう。もちろん、蛍光 Ca 指示薬の開発がこの方法の発達の大きな要因には違いないが、最近10年間はコンピュータ技術の著しい発達の時期でもあり、それを十分に活用した測定技術が格段に進歩したことが普及を促進した大きな要因の一つに挙げられる。特に細胞内 Ca 濃度の変動の部位差や時間経過の画像処理による測定結果はまさに、“Seeing is believing”であり、その説得力は数値の羅列やグラフなどとは比べものにもならないものである。必要性が認められるにつれて、新しい試薬の開発や測定装置の開発にも拍車がかかり、ますます使いやすく、しかも入手しやすくもなっている。測定の原理や装置の実際についてはこのシリーズのこれまでの解説で詳しく述べられているので、この稿では、これから画像処理による Ca 測定を手掛けようとする研究者が実際に測定し始めた時に陥り易い問題点とその解決策を中心に解説させていただくことにする。

II. 蛍光 Ca 指示薬の選択

現在の Ca 測定基盤を築いたのは蛍光 Ca 指示薬である。これらの指示薬の性質については本シリーズで詳しく述べられているのでそれら

を参考にして頂きたい。この試薬を用いる測定法が急速に広まった理由の一つは、これらをエステル化することによって細胞の中に容易に導入出来るようにしたことにある。細胞内に入ると、そこに存在するエステラーゼで分解されて、もとのキレートに戻る。こうなると細胞膜を通過できないので細胞内に長時間に留まって指示薬として利用できるという仕組みである。しかし、現在では様々な要求に対応するために多様な試薬が合成され市販されており、必ずしも細胞膜透過型のみが求められるわけではない。表Iにまとめたようにその種類も数も多い。現在では測定する標本や用いる装置の特性にあわせて様々な選択ができる。

細胞膜を透過しやすくするために分子設計されたこと、すなわち、蛍光を発する部分が脂溶性であることがいくつもの問題点を含んでいた。その内の一つは、Ca キレート部分にエステル結合させた脂溶性アルコール部分がエステラーゼで分解されて、カルボキシル基がイオン化した状態になった指示薬は細胞外には出ないだろうと思っていたのが、意外にも再び洩れ出してしまおうのである。神経細胞では、測定時間が短いこともあって、それほど大きな問題とはされていなかったが、平滑筋研究者達からは比較的早期に指摘されていた。蛍光に関わる部分構造の脂溶性が高く、キレート部位の陰性荷電も細胞膜の透過には期待したほどには完全なブロックにはならなかったためと考えられる。また、同様な性質が原因で負荷された色素が細胞内で不均一に分布すること（色素の細胞内分画化）もこの種の試薬の避けられない欠点と考えられてきた。こうした問題点を解決するための試薬が Fura-PE 3/AM (Texas Fluorescence

表 I

細胞内透過性色素 (acetoxymethylester 型) ¹⁾							
	試 薬	低 Ca 濃度		高 Ca 濃度		Kd	
		Excit.	Emit.	Excit.	Emit.		
短波長励起型							
低濃度Ca対応型	quin-2	352	492	332	492	126 nM	(EX ratiometric)
	FURA-PE3 ²⁾	370	500	340	500	200 nM	(EX ratiometric)
	fura-2	362	512	335	505	224 nM	(EX ratiometric)
	indo-1	346	475	330	408	250 nM	(EM ratiometric)
高濃度Ca対応型	mag-fura-5 ³⁾	370	511	330	500	6.5 μM	(EX ratiometric)
	mag-indo-1 ³⁾	349	476	330	417	9 μM	(EM ratiometric)
長波長励起型							
低濃度Ca対応型	Fura-Red ⁴⁾	472	645	436	640	133 nM	
	Calcium Green 1	506	534	506	533	189 nM	
	Calcium Crimson	588	611	588	611	205 nM	
	fluo-3	506	526	506	526	316 nM	
	Calcium Orange	554	575	555	576	328 nM	
	Calcium Green 2	506	531	506	531	547 nM	
高濃度Ca対応型	rhod-2	556	578	553	576	1 μM	
	Calcium Green 5N	506	531	506	531	3 μM	
	Magnesium Green ³⁾	506	532	506	532	4.8 μM	
	BTC	480	500	400	500	7 μM	(EX ratiometric)

1) AM型（遊離イオン型も入手できる）。2)漏出が少なく、均一分散する。
3)本来はMg検出試薬であるが、Caにも低い親和性があることを利用する。
4)Ca増大に伴い蛍光が減少する。

細胞内非透過性色素（遊離イオン型）							
	試 薬	低 Ca 濃度		高 Ca 濃度		Kd	
		Excit.	Emit.	Excit.	Emit.		
均一分散型 ⁵⁾							
短波長励起型	fura dextran 10,000	376	501	341	495	346 nM	(EX ratiometric)
	fura dextran 70,000	365	502	341	496	436 nM	(EX ratiometric)
	indo dextran 10,000	356	466	341	408	251 nM	(EM ratiometric)
	inod dextran 70,000	361	464	342	408	363 nM	(EM ratiometric)
膜直下計測型	fura-C18	360	500	340	500	200 nM	(EX ratiometric)
	Calcium Green C18	500	530	500	530	200 nM	

5)直接細胞内に注入する必要がある。

Labs, 和光純薬から入手できる) である。この試薬の蛍光指示薬としての使い方や性質は fura-2 とほとんど同じであるが、蛍光分子内にビペリジンを導入し陽性チャージを持たせることによって、エステラーゼ分解後の膜透過性を低下させる工夫がなされている。T-細胞や平滑筋において確かに有効なことが確かめられているし、我々も神経細胞において確かに fura-2 に比べて格段の残存率であることを確かめている。さらに、細胞内での均一な分布が長時間保たれることも確かめられており、現在入手できる試薬の中では最も理想的な試薬といえる。この試薬より先に細胞内分画化を防止する目的で開発されたのが、デキストランを結合させた蛍光指示薬である。しかし、この場合はエステル化して負荷するということができないので、使いやすさの点では残念ながら劣ることになる(表I)。

初期の指示薬はいずれも紫外線領域で励起されるものであった。そのために、測定装置の設計や測定条件にはレンズの材質や測定用チャンバーの選択、励起光の強さ、照射時間の短縮など配慮が必要であった。さらに、360 nm 前後の励起波長で NADH や NADPH の蛍光がかなり大きくかぶってくる。これは特に、脳のスライス標本や平滑筋組織標本を使ったときには無視できない。さらに、最近、急速に利用されるようになってきた共焦点レーザー顕微鏡においては、標準励起はアルゴンイオンレーザーの 488 nm であり、最も一般的に使われている fura-2 は利用できない。短波長レーザーを使った装置も使われているが、高価で一般性がない。こんな事情から、488 nm 付近で励起される蛍光指示薬が開発されている(表I)。もちろんこれらにも問題はあつた。何より重要な問題点は、先にも述べた分画化である。染色後約1時間後には、細胞膜や核膜に集まってくる。この性質は上述の FURA-PE3 以外の試薬にはどれにも見られる性質であるが、特に fluo-3 にその傾向が強い。可視光励起型の指示薬の多くは、fura-2 に見られるような Ca 濃度に依存した励

起波長の移動がなく、二波長測定により、絶対量を予測することができない。しかし、最近、長波長励起でしかも Ca 濃度に応じた波長シフトのある試薬が開発された。BTC と呼ばれる試薬である。この試薬は表に示すように Kd が大きく、従って高濃度の Ca の変動の測定に有利である。最近では生理現象に伴う細胞内 Ca 濃度の変化幅がこれまでに考えられていたよりはるかに高いらしいとする報告もあり、この種の試薬はこれから重要性を増すかも知れない。また、Fura-Red と Calcium Green1 を併用することによって、Indo-1 と同様な Ratiometry もできる。

Ⅲ. 細胞膜透過性蛍光 Ca 指示薬を用いた細胞内 Ca イオン濃度の画像処理による測定:

Ⅲ-1. 励起装置の工夫

画像処理による細胞内 Ca 濃度の測定に必要な機器類の説明はこれまでの本シリーズの解説で十分である。ここでは測定する際に最も苦勞する励起光の均一性に関する若干の改良法について述べる。

通常の蛍光顕微鏡の光源としては水銀ランプが装着されている。もちろん、これも使えないことはない、しかし、波長によって大きなエネルギー差があるので、二波長励起の際には一方の励起光を neutral density filter で抑え込まなければならない。計測用には比較的エネルギーの均一なキセノンランプの方がよい。もちろんこの場合も二波長励起の場合は両方の励起強度をなるべく同じレベルに合わせる必要があるが、水銀に比べてはるかに容易である。目的の励起波長を得る方法についてもこれまでの解説で述べられているように、干渉フィルターを用いる方法と分光器を用いる方法がある。前者は波長が固定されるので、必要な波長のフィルターをそれぞれ用意する必要がある点で面倒であるが、比較的強い励起光を得ることができるので、75 W 程度の光源で十分である。また、この場合の二波長励起を行う場合はフィルター

を交互に切り替えるための装置が必要である。円盤またはスライド式のフィルターホルダーに必要な干渉フィルターをのせて、コンピュータドライブの切り替え装置で駆動する場合（浜松ホトニクス、フルサワ・ラボ・アプライアンスなど）と光源を二光路に分けて、それぞれの光路に干渉フィルターをおきシャッターを使って切り換える場合（オリンパス、OSP-EXA）がある。どちらも、非常に使いやすく十分に満足に行くものである。

分光器を用いた装置（日本分光、CAM 230）は300~700までの任意の波長の励起光をダイアル操作で作出すことができるので、様々な色素に自由に対応できる利点がある。若干光源を明るくする必要があるので、150 W のキセノンランプを用いている。しかし、干渉フィルター方式に比べてかなり高価になる点が問題になる。

励起光を顕微鏡に導入する方法として、従来型の蛍光顕微鏡用の集光レンズによる光ガイドを用いる方法と光ファイバーを用いる方法がある。前者は最も一般的であるが、しばしば光むらに悩まされることになる。特に対物レンズの倍率が $\times 10$ といった低倍率の場合にはその傾向が強い。キセノンランプの輝点の部分を十分に画像全体に散らすことがなかなか難しく、中央部分がやたらに明るくなってしまふ。ビデオカメラと画像処理システムのダイナミックレンジが十分に大きく、最も暗いところと明るいところが十分にその範囲の中に入っている場合は、画像処理によって光むらをカバーすることも可能であるが、多くの場合、光むらの結果生ずる画像が計測画像の上に被って来る。倍率が高くなるとこの危険は小さくなるが、それでも励起光はなるべく均一にするように努力する必要がある。光むらをなくす最も効果的な方法が光ファイバーによる光の導入である。そのうち一つは光ファイバー束を使う方法である。日本分光の CAM 230 やオリンパスの OSP-3 の光源では細い石英ファイバーを多数束にした光ファイバーを用いている。前者では光ファイ

バーに導入される前に二波長分割して、分光器で作られた目的の波長がファイバーの起始部に集光される。後者では、二カ所に設置された干渉フィルターで作られた励起光が二本の光ファイバーで導出され、二本の光ファイバーは顕微鏡に導入される前に一本にまとめてられている。光の切り替えはどちらかをシャッターで閉じることによって行う。どちらの場合も光源の輝点が多数の光ファイバーに分散される形になるので、非常に均一な励起光を取り出すことができる。欠点と言えば石英光ファイバーが高価なことである。この欠点を解消する可能性のあるのが液体光ファイバー（フルサワ・ラボ・アプライアンス）である。液体では短波長が吸収されてしまうのではないかと思ったが意外にも340 nm もよく通る。値段は5分の1程度であり、使い方によってなかなか有効であることを確かめている。

同じ光ファイバーでも単線の光ファイバーを使う方法もある。この場合はフィルターや分光器を通した光を1 mm 程度の細い単線光ファイバーの起始部に集光し、これを顕微鏡に導入するが、直線的に結び付けたのでは通常集光装置と変わりがない、ところがこの光ファイバーを途中で一回転させてから導入するとみごとにむらがなくなる。「クオーツスクランブラー」と呼ばれている装置であり、アメリカの一部の研究者が利用している。我々の研究室でも利用しているが、非常に有効である。液体光ファイバーも直線的に導入するより、90°以上曲げる方が均一な励起ができる。

こうして、均一かそれに近い励起により、均一な蛍光が得られれば、画像処理装置による解析は非常に容易である。

III-2. 染色時の注意

培養細胞などのように細胞の表面が直接外液にふれるような場合は比較的低濃度（5 μM 程度）で十分染色できる。色素の負荷量は必要最小限がよいとされているが、どこが必要最小かを決めるのがなかなか難しい。色素の負荷が不十分であると、自家蛍光を検出したり、ノイズ

の多い画像しか得られない。どのくらいがよいかは実験的に試行錯誤で判定するしかない。我々の経験では $5\ \mu\text{M}$ 程度の染色で満足の行く結果が得られている。

染まらない場合の原因の一つとして、細胞外にエステラーゼが存在していることが考えられる。培養液をよく洗い流してから、染色液を適用するとよく染まることもある。もし、それでもうまく行かないときは色素適用時に外気温を室温かそれ以下に下げ、約30分ぐらい後に37度に上昇させてさらに30分間インキュベートするとうまく染まることもある。細胞の性質によっていろいろな工夫が必要である。

我々は海馬や小脳のスライスを蛍光 Ca 指示薬で染色している。この種の組織の染色には、さらに高濃度の色素を使う必要がある。しかし、fura-2 などの蛍光色素はすべて脂溶性が高く、高濃度の希釈液を安定な状態に保つのは難しい。Molecular Probe 社から fura-2/AM を買うと、Pluronic F 127 という界面活性剤をおまけに付けてくれた。これを DMSO にとかして溶解補助剤として使うように指示しているが、これでうまく行った試しがない。現在は Cremophore EL (Sigma) という溶解補助剤を用いて非常に良い結果を得ている。これは我が国の平滑筋研究者達が早くから導入していた方法であるが、 $10\ \mu\text{M}$ 液どころか $100\ \mu\text{M}$ 液でも容易に調整できる。スライス標本の染色には $10\ \mu\text{M}$ 液に酸素を通気しながら室温で40~60分間ほど置き、その後、十分な量の栄養液に1時間以上おいた後に測定することにして、この補助剤も界面活性剤であり、酸素の通気時に泡が生ずる。スライスを入れた器に直接通気すると、泡とともにスライスが押し出されてしまうことがある。これを避けるには、スライスをステンレスの金網か、ナイロン網で作った小さな器に入れてから色素液に浸し、その外側に通気する方法をとるとよい。

スライス標本における Ca 濃度の測定には、fura-2 もよいが、rhod-2 が非常に有効である。しかし、fluo-3 は使うべきではない。我々の経

験では fluo-3 はスライス表面の死んだ細胞に結合してしまうためか、細胞外 Ca 濃度を測定してしまう。蛍光発色部分の脂溶性の程度差によるものと考えられるが、これは rhod-2 には見られない。

III-3. 多点同時計測法

染色ができれば計測である。単純に画像処理による計測といってもいろいろな方法がある。そのうちの一つで、我々が初期に開発した方法、多点同時計測法をここに紹介する。

中枢神経系のような不均一系を実験対象する場合。例えば、海馬の初代培養細胞の場合、グリア細胞も含めて、6種類以上の細胞がある。形態も異なるし、生理学的性質も多様である。従って、個々の細胞における反応を個別に検討する必要がある。我々が最初に開発した蛍光顕微鏡画像の画像処理による細胞内 Ca 濃度計測法は、実時間で画面上に映し出された多数の細胞やスライス標本のいろいろな部位の細胞内 Ca 濃度の変動を同時に計測したいという要求の中から生まれたものである。しかし、残念ながら、当時のコンピュータでは画面全体の画像処理には時間がかかりすぎる。そこで、画像の数画素に限定し、その部位の光の強度をデジタル化してコンピュータで逐次解析する方法をとった。当時のパーソナルコンピュータでは 5×5 画素を0.3秒毎に計測する場合は最大でも8点しか同時解析できなかったが、最近のパーソナルコンピュータを用いると、40点以上を楽に計測できる。この種の測定方法が可能な市販の機種は一機種しかない(フルサワ・ラボ・アプライアンス, FC-500)。この方法を使えば計測後統計計算が容易に出来るなど、生理学や薬理学の研究には非常に有用であることは初代培養細胞や脳組織スライス標本における研究で実証されている¹⁻³⁾。画像をビデオ録画しておけば、先に測定できなかった点をビデオを再生することによって、さらに測定できる。これまでの研究方法とは比較にならないほどの能率である。それだけではない。我々が「タイムマシン測定法」と呼んでいる方法では録画できること

を利用して、免疫染色により素性を特定した細胞の反応を測定することができる⁴⁾。この方法によって特定のグリア細胞やニューロンと特定された細胞についての反応を選択的に測定することが容易にできる⁵⁾。図1に示す例では、海馬の初代培養細胞を fura-2 で染色し、NMDA (イオンチャンネル活性化) とキスカル酸 (AMPA 受容体とGタンパク質連動) を与えたときに、グリアのマーカー蛋白質、GFAP に対する抗体に陽性の細胞 (グリア細胞) と陰性の細胞 (おそらくニューロン) がそれぞれどのように反応するかを検討したものである。

Ⅲ-4. 二次元画像処理による反応部位の検出

画像処理による細胞内 Ca 濃度の計測といえば二次元分布計測が一般的である。その方法の詳細についてはこれまでの解説に述べられているのでここでは説明を割愛させていただく。作用薬投与前の Ca 濃度の二次元分布画像と適用後の分布画像を比較すると、反応した細胞だけが、カラーコード上で暖色系に変化して浮かび上がってくる。よく洗浄してから、別の作用薬を適用すれば同じ画面上で別の作用薬に対する受容体の分布部位を検出することができる。これを利用して例えば NMDA と t-ACPD では反応している細胞が大きく異なることを検出できる。このように細胞内 Ca 濃度の変化を指標として機能的受容体の発現を検出することもできる。もちろん細胞内 Ca 濃度上昇に関連する受容体という制限はつくものの、アイソトープを用いた結合実験に比べて、結果が早く、生細胞で、しかも繰り返し「機能的」受容体の存在を示すことができるという点ではるかに優れている。

我々は中枢組織のスライス標本における細胞内 Ca 濃度の分布と変化の時間経過を測定している。中枢組織スライスを Ca 指示薬で染色するのはそれほど容易なことではないが、先に述べたように安定な Ca 指示薬の溶液を調製すれば十分可能である⁶⁾。我々は、海馬を強く電気刺激したときにどの部位に Ca 濃度の変動が生ずるのか、グルタミン酸受容体サブタイプに特

異的な作用薬を作用させたときにどの部位が反応するか、また虚血状態にしたときどの部分の細胞が影響を受けやすいのかなどを見るためにスライス標本全体の画像を得たいと考えた。しかし、ここで、一つ問題が生ずる。培養細胞での蛍光測光をする蛍光顕微鏡画像処理装置を使うとすれば、低倍率の蛍光用レンズが必要である。もともと、蛍光顕微鏡は拡大された細胞の像を観察するために設計されている。そのため、低倍率 (例えば4倍) の蛍光用レンズは発売されていない。この問題は次のような方法で解決することが出来た。励起光を直接サンプルに与え、生じた蛍光 (可視光) を通常の4倍の対物レンズで捕らえるというものである。励起光を直径 8 mm の石英光ファイバーを使って導き、45° の角度で斜め下方からサンプルに与えると、極めて均一に励起することができる (図2)。もちろん二波長で測定することもできる。図3はこの方法により、CA3 部位をテタヌス刺激した時に海馬のどの部位の Ca がどの程度上昇するかを検討したものである。この例では、CA1 の細胞体層の直下の層に約3分間持続する Ca の上昇が見られた。うまく用いれば特定の受容体の存在を画像として示すこともできる⁷⁾。この方法はさらに海馬のスライス培養標本における細胞内 Ca 測定にも利用され、スライス標本で得られた結果を確かめることができた⁸⁾。

Ⅳ. 蛍光 Ca 指示薬を直接細胞内に注入する方法

さきに述べた蛍光 Ca 指示薬のエステル誘導体を用いる方法は、不特定多数の細胞を一気に染色してしまう方法として有効である。しかし、その一方で、多種の細胞が混在しているような中枢組織のスライス標本では、そこで反応が生じたとしても、それがニューロンで生じているのか、グリアで生じているのかを明らかにすることができない。こうした組織の中のある特定の細胞だけに指示薬を注入することができれば、全体の組織としての活動に参与している代表細胞

の中での細胞内 Ca 濃度の変動を測定することができる。この方法はむしろ、細胞内に容易に負荷する事が出来る試薬としての利点を使わないで、微小電極やパッチ電極の先端にエステル化しない色素をつめておいて、ねらった細胞内に直接キレータを注入するのである。我々の経験でも注入された蛍光 Ca 指示薬, fura-2 や rhod-2 の遊離型の注入後の拡散はかなり早く、細胞全域に拡散して行く⁹⁾。この方法は最初に小脳スライスにおけるプルキンエ細胞に適用された¹⁰⁾。この細胞には特徴的な樹状突起があるが、入力線維の刺激によって、細胞内の Ca が上昇する様が見事にとらえられている。当時の画像の時間分解能はビデオレートによるものであったが、最近では冷却 CCD (Photometrics, CC-200 など) をもちいて、画像を捉え、空間分解能を犠牲にして、時間分解能を高めることによって、10 msec/画像の速度での解析が可能になっている。図 4 はホールセルパッチで fura-2 を注入した小脳プルキンエ細胞にこの方法を適用し、脱分極刺激を与えたときの、細胞内 Ca 上昇の部位差を検討したものである。この方法によって、シナプスを介した刺激後のプルキンエ細胞での Ca の上昇が主として Ca^{2+} 依存性活動電位の発生を伴うものであることが示されている¹¹⁾。さらに、海馬ニューロンにも同じ方法が適用され、長期増強現象を生じさせるためのテタヌス刺激が海馬錐体細胞のシナプス層にきわめて一過性の Ca の上昇を生じさせるに留まると報告されている^{12,13)}。しかし、この場合、シナプス部位にあたる位置の画像はスライス内に埋もれているためにぼけており、ニューロン全体としての画像にはなっていないが、シナプス部位の特定ができるほどではないという。それに対して、同様な方法で細胞内に fura-2 を注入し、錐体細胞の樹状突起の部分を拡大して、スパインの部分に焦点を絞って、電気刺激を与えると、確かに、樹状突起の部分の Ca の上昇は数十秒しか持続しないが、スパインの部分の Ca は数分間にわたって上昇していることが認められている¹⁴⁾。この

ように、どんな現象を解析するかによって、測定装置やその利用法を選択する必要がある。Ca がそれだけ多面的ダイナミックスを持っていることのよい証拠かも知れない。

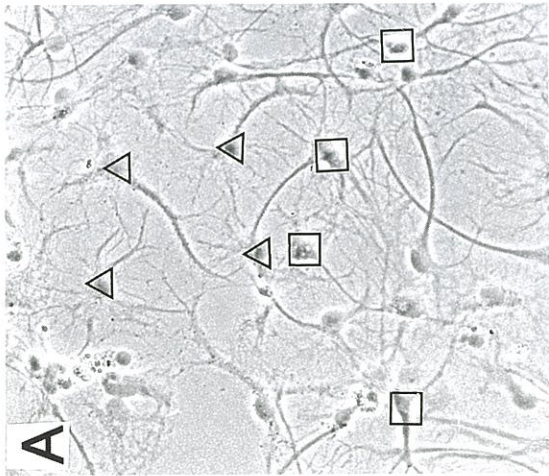
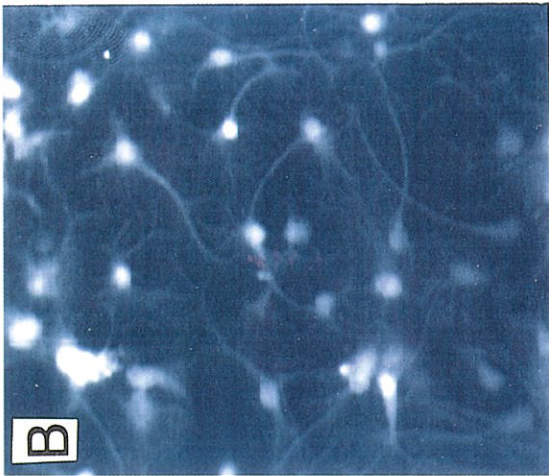
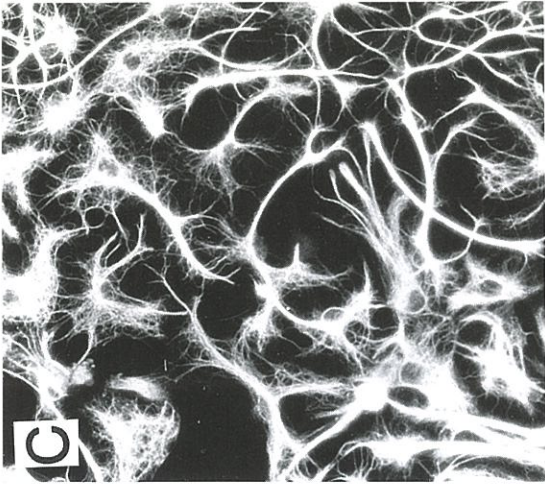
V. お わ り に

以上、細胞内 Ca 濃度の画像解析による測定法についての問題点とその解決法を中心として概説した。現在では、細胞のダイナミックな活動を論議する場合には細胞内 Ca の変動との関係を検討することが必須となってきた。特に、Ca 濃度の変化を蛍光強度の変化に置き換え、これを画像化する事が可能になったことが、データの説得力を増しているように思える。我々が10年前に最初に手掛けた画像処理装置では一画像の解析するのに30分以上が必要であったが、今では同一画像を3秒程度で解析できる。コンピュータの発展はまだ留まるところがないし、周辺のハードウェアの進歩も著しいので、装置だけについての記述はすぐに陳腐なものになってしまうであろう。我々は画像と言え、ビデオカメラと思ひ込み、画像での時間分解能はビデオレートを越えることはできないと思ひこんでいたが、ここに述べた冷却 CCD カメラをうまく使って、msec オーダーの画像解析をする方法やさらにホトダイオードアレーによる光計測装置 (浜松ホトニクス, Argus 50/PDA) や新しく開発された高密度のホトダイオードマトリックス (Deltaron, 富士フィルム) を使えば、電位感受性色素で染色された神経組織の興奮が msec 以下の時間分解能で画像化できる。我々はこれらこの方法の Ca 濃度測定への応用を試みているが、時間分解能を高めることはこれまでは思いもよらなかった生理学的側面を捉える可能性を秘めている。最近、共焦点レーザー顕微鏡も使いやすくまたビデオレートでの計測も可能になっており、画像処理のレベルは文字通り日進月歩で進んできている。蛍光プローブを用いた生物現象の計測は Ca のみにはとどまらない。既に報告されているように cAMP や活性化カルモデュリンの画像化にも応用でき

る^{15,16)}。我々も、蛍光プローブによるリン酸化過程の画像化を試み、すでにそのプロトタイプの開発に成功している¹⁷⁾。今後、生理学者、薬理学者、有機化学者、コンピュータ関連研究者の共同研究によりさらに発展させれば、生物科学研究の様相は一変するはずである。これは夢ではなく、21世紀を待たず実現するものと確信している。

参 考 文 献

- 1) Ogura, A., Akita, K. and Kudo, Y.: Non-NMDA receptor mediates cytoplasmic Ca^{2+} elevation in cultured hippocampal neurones. *Neurosci. Res.* **9**, 103-113 (1990)
- 2) Kudo, Y., Ito, E. and Ogura, A.: Topographical heterogeneity of glutamate agonist-induced calcium increase in hippocampus. *Adv. Exptl. Med. Biol.* **268**, 125-133 (1990)
- 3) Ogura, A., Nakazawa, M. and Kudo, Y.: Further evidence for calcium permeability of non-NMDA receptor channels in hippocampal neurons. *Neurosci. Res.* **12**, 606-616 (1992)
- 4) 工藤佳久, 小倉明彦: 神経細胞の細胞内カルシウム測定法—タイムマシン測定法?—, *Clinical Calcium*, **2**, 82-84 (1992)
- 5) Barry, de J., Ogura, A. and Kudo, Y. Ca^{2+} mobilization in cultured rat cerebellar cells: Astrocytes are activated by t-ACPD. *Europ. J. Neurosci.* **3**, 1146-1154 (1991)
- 6) Kudo, Y., Ito, E. and Ogura, A.: Heterogeneous distribution of glutamate receptor subtypes in hippocampus as revealed by calcium fluorometry. *Adv. Exptl. Med. Biol.* **287**, 431-440 (1991)
- 7) Kudo, Y., Nakamura, T. and Ito, E.: A 'macro' image analysis of fura-2 fluorescence to visualize the distribution of functional glutamate receptor subtypes in hippocampal slices. *Neurosci. Res.* **12**, 412-420 (1991)
- 8) Kudo, Y., Takita, M., Nakamura, K., Sugaya, K. and Ogura, A.: Heterogeneous distribution of functional glutamate receptor subtypes in organotypic slice culture of rat hippocampus revealed by calcium fluorometry. *Bioimage* **1**, 159-166 (1993)
- 9) Takagi, H., Takimizu, H., Barry, J. de, Kudo, Y. and Yoshioka, T. The expression of presynaptic t-ACPD receptor in rat cerebellum. *Biochem Biophys. Res. Comm.* **189**, 1287-1295 (1992)
- 10) Tank, D. W., Sugimori, M., Connor, J. A. and Llinas, R. R.: Spatially resolved calcium dynamics of mammalian Purkinje cells in cerebellar slice. *Science* **242**, 773-777 (1988)
- 11) Miyakawa, H., Lev-Ram, V., Lasser-Ross, N. and Ross, W. N.: Calcium transient evoked by climbing fiber and parallel fiber synaptic inputs in guinea pig cerebellar Purkinje neurons. *J. Neurosci.* **68**, 1178-1189 (1992)
- 12) Miyakawa, H., Ross, W. N., Jaffe, N., Callaway, J. C., Lasser-Ross, N., Lisman, J. E. and Johnston, D.: Synaptically activated increases in Ca^{2+} concentration in hippocampal CA1 pyramidal cells are primarily due to voltage-gated Ca^{2+} channels. *Neuron* **9**, 1163-1173 (1992)
- 13) Regehr, W. G. and Tank, D. W.: Calcium concentration dynamics produced by synaptic activation of CA1 hippocampal pyramidal cells. *J. Neurosci.* **12**, 4202-4223 (1992)
- 14) Muller, W. and Connor, J. A.: Dendritic spines as individual neuronal compartments for synaptic Ca^{2+} responses. *Nature* **354**, 73-76 (1991)
- 15) Bacskai, B. J., Hochner, B., Mahaut-Smith, M., Adams, S. R., Kaang, B.-K., Kandel, E. R. and Tsien, R. Y.: Spatially resolved dynamics of cAMP and protein kinase A subunits in Aplysia sensory neurons. *Science* **260**, 222-226 (1992)
- 16) Hahn, K., DeBiaso, R. and Taylor, D. L.: Patterns of elevated free calcium and calmodulin activation in living cells. *Nature*, **359**, 736-738 (1992)
- 17) Kudo, Y., Omori, A., Sato, K. and Higashi, H. Fluoroprobe labelled syntide 2 as an indicator for dynamics of calcium-calmodulin dependent protein kinase II in neuronal cells. Abstracts for 4th IBRO world congress of neuroscience, p 139 (1995)



☒ 1

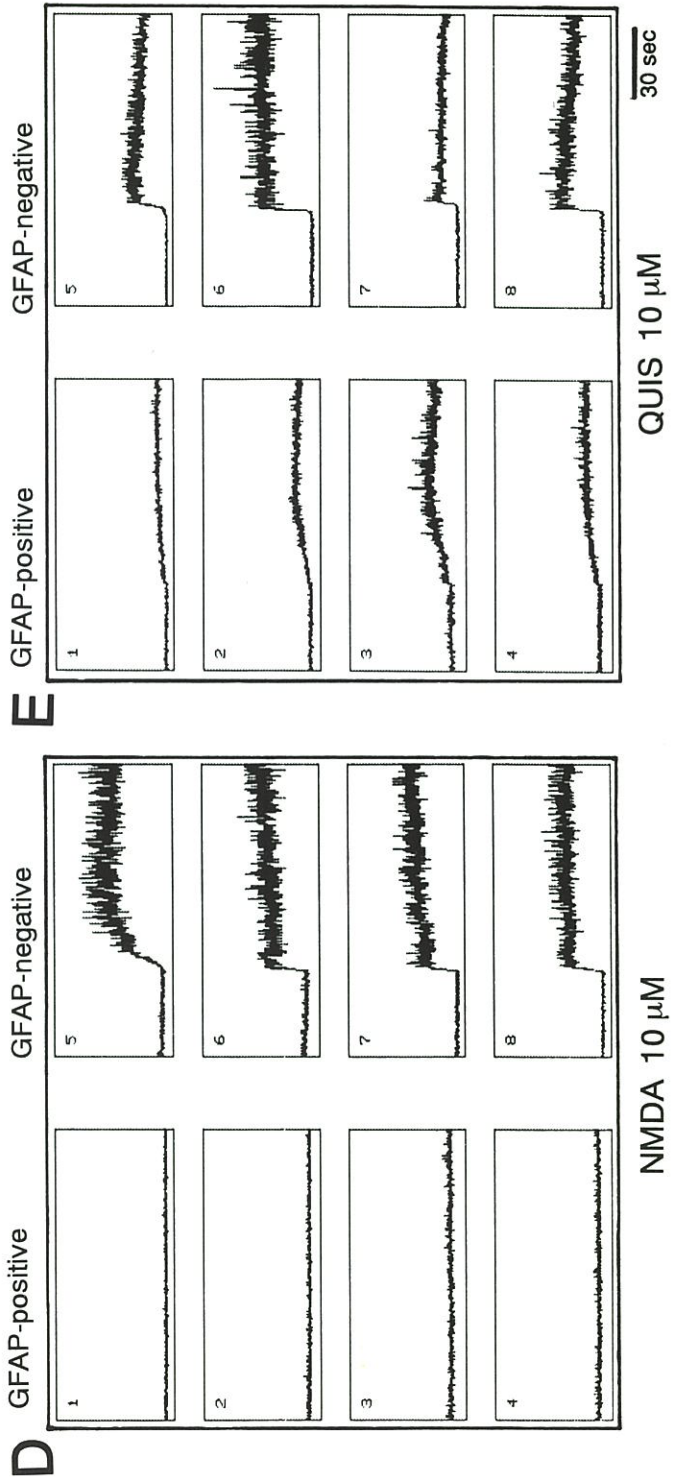


図 2

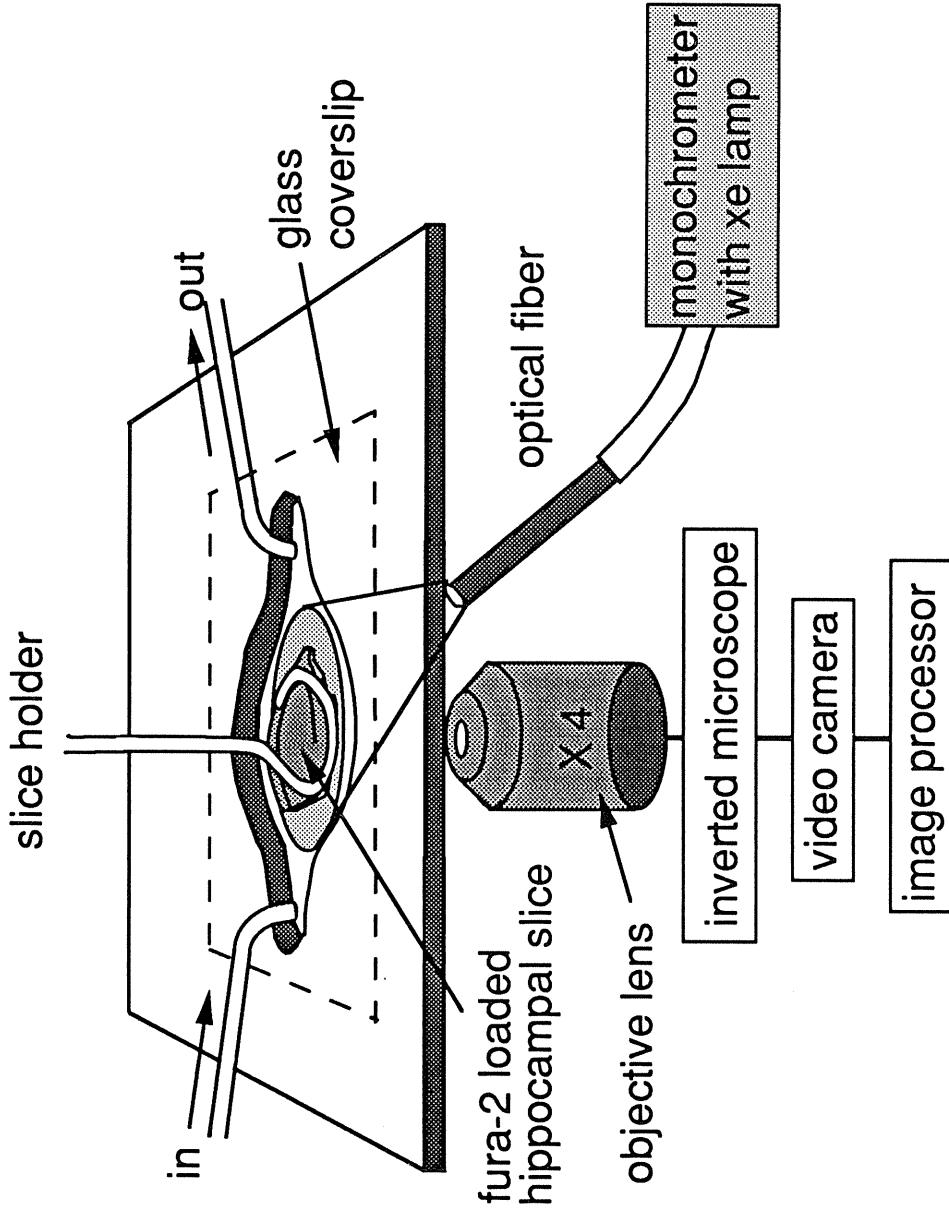
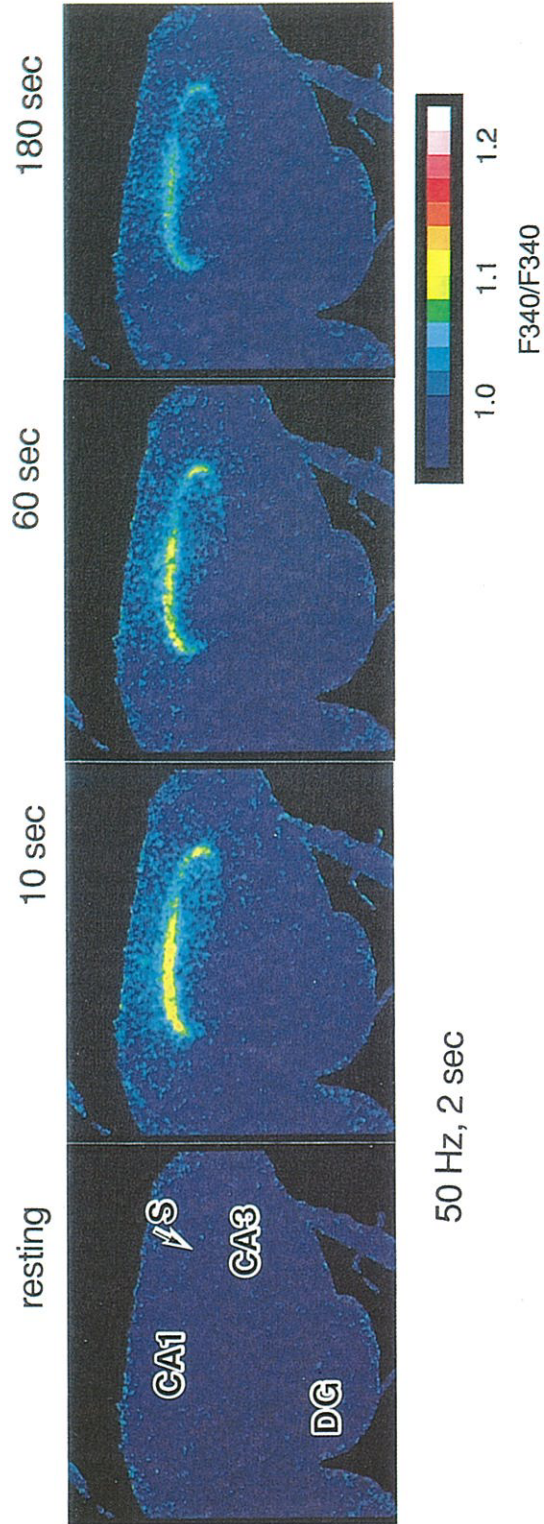


図 3



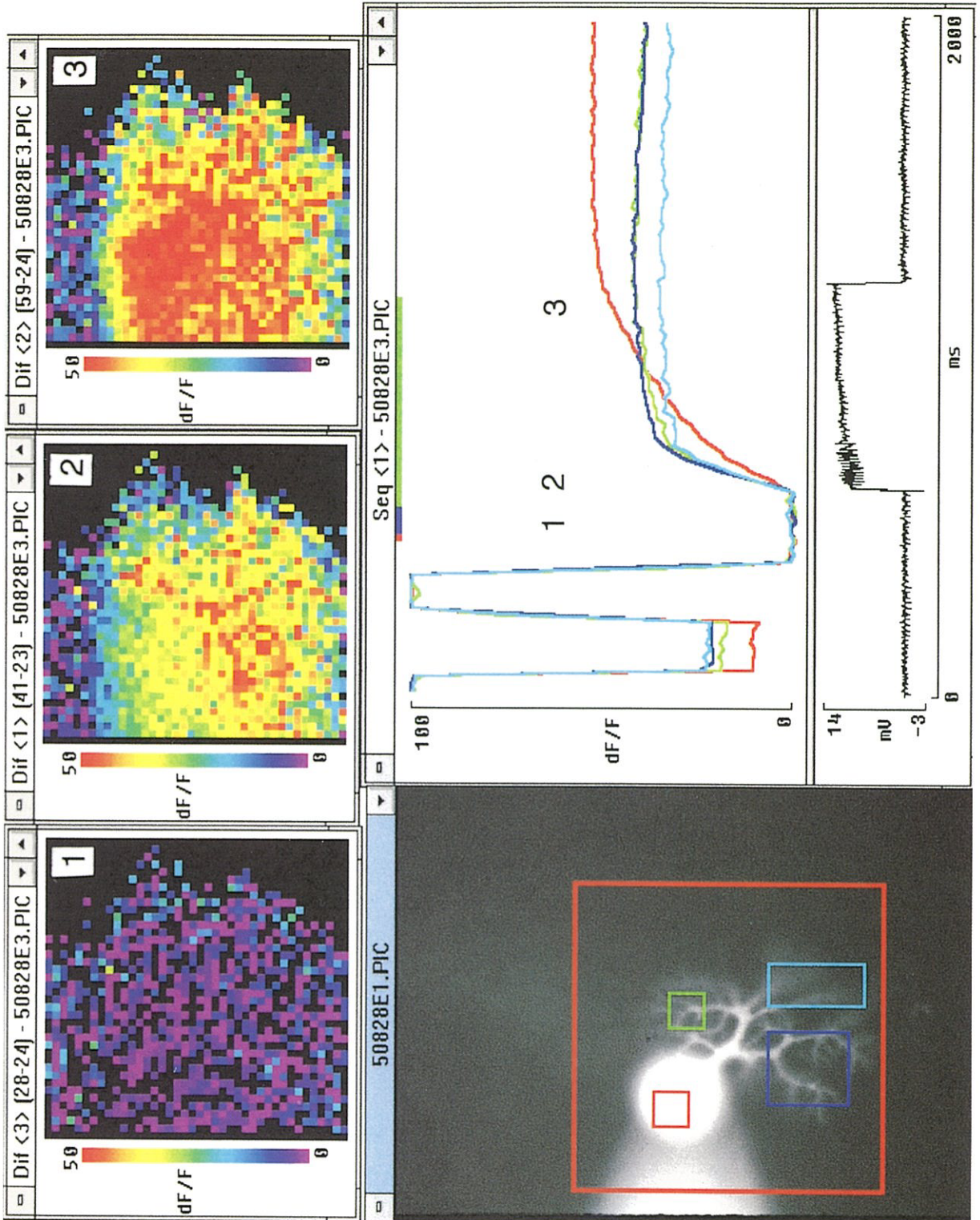


図 の 説 明

図1 免疫細胞化学的に同定された細胞における細胞内 Ca 測定の場合。

A：位相差顕微鏡で捉えた培養細胞。B：Aの細胞に fura-2 を負荷したときの蛍光顕微鏡像、これについて画像処理、多点計測を行う。この間に同時に、ビデオテープで記録しておく。C：実験終了後、GFAP 抗体を用いて、グリア細胞を検出した。ビデオテープを再生し、グリア（三角でマーク）とグリアでない（ニューロンと思われる）細胞（四角でマーク）の蛍光の変動を解析する。D：NMDA を投与した結果、GFAP 抗体に陰性の細胞のみが反応している。E：キスカル酸はニューロンに分布する AMPA 受容体とグリアに分布する G-タンパク運動の受容体の両方を刺激している。

図2 低倍率の対物レンズ（×4）を用いて、スライスなどのマクロな Ca 濃度の変動の解析をする場合の装置。

図3 fura-2 で染色したラットの海馬のスライスを図2の装置で画像処理し、CA3 にテタヌス刺激を与えた時の反応部位を検討した結果。

この結果からでは、上昇している Ca がニューロン由来かグリア由来かは特定できない。

図4 冷却 CCD によるラット小脳プルキンエ細胞内 Ca 濃度の高速画像解析。

プルキンエ細胞にホールセルパッチにより fura-2 を注入し（左下図）、脱分極刺激を与えたときのプルキンエ細胞各部位における Ca 濃度変動を解析した。細胞体部分には脱分極に応じた Ca 濃度の上昇がみられ、樹状突起部分には脱分極刺激によって誘発される Ca スパイクに伴う早い Ca 濃度の上昇が見られる（右下図、フルスケール、2000 msec）。番号を記したそれぞれの時間での画像を上段図に示す（図は左下図の赤枠の範囲を画像処理したもの。空間分解能を低くしてある）。



第47回日本生理学会中国四国地方会

日 時：平成7年11月3日(金)

場 所：香川医科大学

当番幹事：香川医科大学生理学講座 細見 弘, 畠瀬 修

香川医科大学生物学 板野俊文

香川医科大学基礎スポーツ医学 根木哲郎, 岡田泰士

参加者：114名(内 臨時会員：12名)

発表演題：一般演題：33題, PODA：6題, 合計 39題

第47回日本生理学会中国四国地方会を開催するに当たり、2つの目的をもった学会を企画した。(1)若い生理学者を育成するための教育の場となり、かつ新しい研究の芽を育てる学会、(2)地方会の特色を生かし、専門領域は勿論、境界領域の討論も盛んに行われる学会である。これらの目的を達成するため、2つのセクションを準備した。

1. Problem Oriented Discussion and Answer (PODA)のセクション

若い生理学者を育成し、かつ新しい研究の芽を育てるための教育の場となる学会とするため、PODAのセクションを作った。このセクションは、

a) 研究を初めてまだ日が浅く、preliminaryな結果を得たが、結果の解釈、今後の研究の進め方、等について悩んでいる研究者

b) 若い研究者でなくても、最近新しい研究を始めたところ大変興味ある結果を得たが、その意味等について他の領域の研究者の助言を得たいと考えている研究者

が発表し、疑問を聴衆に投げかけ、参加者全員がその問題を考えて討論する。異なる領域の研究者の意見をも聞くため、全会員が1つの会場に集まる必要があり、会場は1つとした。その結果、会員全体による討論が盛んに行われ、15分の発表時間は短く、もう少し長い討論時間の必要性を感じた。地方会であるからこそ可能な企画であると感じた。

2. 一般演題のセクション

地方会の特色を生かした境界領域の討論が盛んに行われる学会とするため、一般演題の発表時間を1題15分とした。全て口演で行うため、このセクションは2会場とした。

評議員会を開催した。

常任幹事：管野義信, 畠瀬 修幹事

評議員：53名

報告事項

1. 新任生理学教授紹介

岡山大学第一生理学 松井秀樹教授

川崎医科大学生理学 辻岡克彦教授

広島大学第二生理学 緒方宣邦教授

島根医科大学第二生理学 廣田秋彦教授

2. 常任幹事会

3. 日本生理学雑誌編集委員会

4. 教育委員会

5. J. J. P. 編集委員会

6. その他

協議事項

1. 次回(平成8年度)開催校

徳島大学医学部第二生理学森田雄介教授の主催で行われる。会期は平成8年12月8日の予定。

2. 次次回(平成9年度)開催校

岡山大学第一生理学松井秀樹教授の主催で行う。

3. その他

住所変更した会員は、次回開催校まで自発的に住所変更を届ける、こととした。

×は非会員を示す

1. 塩感受性高血圧ラットにおける塩の代謝に対する圧受容器反射の作用

×陳 慶輝, ×周 明生, 西田育弘, 山下洋一, 杉本 庸, ×角岡 潔, 森田啓之, 細見 弘(香川医大, 生理学講座, 第二生理)

塩感受性高血圧の発症が, Na 代謝に関与する圧受容器の機能低下に依っているか否かを明らかにした.

4週令の Dahl 塩感受性ラット(DS)を4日間0.4%食塩食で飼育し, その間の塩の代謝を測定した. その後, 圧受容器を除神経(SAD)し, 対照群として準備した SHAM 群と体重が同じになると, ラットを2群に分け, 一群には8%食塩食を他の一群には0.4%食塩食を3週間与え, Na 摂取量, 尿中・便中 Na 排泄量, 体重等を測定した. この値より Na バランスを求め, Na 代謝に対する圧受容器の影響を調べた. 0.4%食塩食の場合, DS-SAD の Na バランスは DS-SHAM よりも高値を示した. すなわち, DS-SAD では Na の排泄が障害される. 8%食塩食の場合, DS-SAD の Na バランスは DS-SHAM とほぼ同じであった. さらに, 全摂取量に対する尿中 Na 排泄量は, 0.4%食塩食では SHAM の方が SAD より多く, 8%食塩食では差がなかった. これらの結果より, 圧受容器反射は高食塩食で障害されるか, 圧受容器反射による Na 排泄能には飽和現象があることが示唆された. したがって, 塩感受性高血圧の発症に, 圧受容器の機能低下が関与している可能性がある.

2. 左心室におけるイソフルレンの心臓エネルギーに与える影響

×中山泰典, ×河野晋久, ×清水壽一朗, ×鈴木俊輔, 松原広己, ×荒木淳一, 高木 都, 菅 弘之(岡山大, 医, 第二生理)

イソフルレンは, 臨床において最もよく使用されている吸入麻酔薬の一つであり, 濃度依存性に心筋の収縮力を抑制し, 冠血管を拡張することが知られている. イソフルレンの陰性変力作用の機序の一つとして収縮蛋白の Ca^{2+} 感受性の減少が指摘されているが意見の一致はみられていない. 我々は, E_{max} (収縮性の指標) — PVA (収縮期圧容積面積) — VO_2 (一拍当たり心筋酸素消費量) の関係を用いて, イソフルレンの心力学的, エネルギー学的影響を検討した.

イソフルレンは E_{max} , PVA, VO_2 を濃度依存性に減少させ, 2%イソフルレンの投与により E_{max} は

対照値の60%まで減少した. Volume loading run の VO_2 —PVA 関係は下方に平行移動し, PVA 非依存性 VO_2 (VO_2 —PVA 関係の Y 切片)のみ減少した. PVA の酸素コスト (VO_2 —PVA 関係の傾き)と E_{max} の酸素コスト (PVA 非依存性 VO_2 — E_{max} 関係の傾き)は変化しなかった.

以上の結果から, イソフルレンは収縮蛋白の Ca^{2+} 感受性を有意には変化させず, ベントバルビタールや β ブロッカーと同様に Ca^{2+} handling の抑制が主因となって陰性変力作用がもたらされていると考えられた.

3. Hiroshima rat (境界域高血圧ラット)における vasopressin 昇圧反応

寺西泰弘, ×水流弘通*, 緒方宣邦(広島大, 医, 第二生理・薬理*)

Wistar rat 系から分離された Hiroshima rat (HR) は境界域高血圧ラットである. これまでの研究で, HR は食塩感受性であること, また, 交感神経節遮断後, vasopressin antagonist (VPA) の投与によって, 血圧が低下することが明らかになっている.

そこで, 今回, ネブタール麻酔下で種々の用量 (10^{-12} — 10^{-7} g/kg) の vasopressin (VP) 投与による昇圧効果を HR と正常血圧ラット (NCR) で比較した. また, VP1 受容体アンタゴニストである VPA (10^{-5} g/kg) 投与後, 同様の実験を繰り返した (投与された VP 用量は 10^{-10} — 10^{-4} g/kg).

その結果, HR の血圧は NCR より低用量の VP で有意に上昇した. また, VPA 投与によって, HR の血圧は有意に低下し, VPA 後の VP 用量—反応曲線も約 200 倍右にシフトした. 以上のことから, 少なくとも麻酔下では HR の血圧維持に VP 系が部分的な役割を演じていること, また, HR の方が NCR より VP 感受性が高いことが示唆された.

実験高血圧ラットのうち, SHR や腎血管性(一腎性及び二腎性)高血圧ラットでは, VP 系が積極的には血圧維持に関与していない. また, HR は食塩負荷で高血圧になる点では, DOCA-salt 高血圧ラットと類似しているが, 食塩負荷をしなくても VP 系が血圧維持に関与している点では, DOCA-salt 高血圧ラットと大きく異なる.

4. 培養心室筋細胞の収縮と Ca^{2+} transient に対する ryanodine の効果

豊田弘子, 松村幹郎* (川崎医大, 生理・川崎医療

短大*)

ニワトリ胚より得た培養心室筋細胞の収縮と Ca^{2+} transient に対する ryanodine の効果が胚の日齢により、また自動能の有無により異なることを検討した。培養早期の電気刺激には応じるが自動能を示さない細胞を選び、細胞径の変化をとらえて収縮の指標とし、 Ca^{2+} transient の測定には Fura2 AM を用いた。12日卵より得た細胞の短縮量は ryanodine によって $0.1 \sim 100 \mu M$ の範囲で濃度依存性に40%抑制され、弛緩時間が約 200 ms 延長した。 Ca^{2+} transient は下降相の時定数が増大した。5日卵より得た細胞では短縮量は ryanodine によって抑制されず、逆に促進される場合もあり、弛緩期の延長もなかった。 Ca^{2+} transient にも影響は無かった。自動能発現後では、5日卵、12日卵細胞ともに ryanodine によって短縮量は抑制された。これらの結果から、5日卵細胞では筋小胞体が未発達であり、培養の時間とともに自動能が発現する時それと並行して筋小胞体も発達するのではないかと考えた。また、12日卵細胞では自動能の有無にかかわらず ryanodine の効果が現れることから、筋小胞体が発達しており、放出される Ca^{2+} が収縮弛緩の調節に役割を果たしていることが示唆された。

5. 微小血管壁の弾力性と微小循環への影響

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

血管壁の固さが微小循環にどのような影響を及ぼすかを検討するために、血管壁を固くしたウサギの腸間膜微小循環系を用いて赤血球の循環動態の測定をおこなった。固定微小血管で得られた結果を未固定のものと比較した。

ウサギ小腸を腸間膜とともに上腸間膜動脈の支配領域で単離し、挿入したカテーテルから人工灌流をおこなった。1時間赤血球を洗い流した後、4%ホルムアルデヒドを10分間灌流して標本内の血管壁を固定した。再び1時間生理食塩水を流した後、任意に調整した赤血球浮遊液を灌流した。倒立顕微鏡で腸間膜内の微小血管を流れる赤血球を観察し、画像処理装置を用いて血漿層の厚さと血管内径を測定するとともに、二点光電相互相関法により赤血球流速を測定した。また、灌流量と灌流圧をモニターし、灌流抵抗を計算した。

(1) 血管壁を固くした血管床の灌流抵抗は固定していない血管床のものに比べて増加していた。

(2) 血管壁を固くすると、血漿層の厚さは、ヘマト

クリット30%以上ではわずかに大きいのが、低ヘマトクリット(8%, 16%)では、明らかに狭くなった。

(3) 血管壁を固くした微小血管での血漿層の形成はガラス毛细管でみられた傾向とよく一致していた。

血管壁の弾力性は赤血球の微小循環挙動ならびに循環抵抗に大きな影響を及ぼしていることが示された。

6. 腎血管性高血圧イヌの冠動脈血流異常における血管内皮機能の意義

後藤真己, 梶谷文彦, 辻岡克彦*(川崎医大, 医用工学・生理学*)

【目的】 高血圧心の拡張期冠動脈血流入遅延現象における血管内皮機能の意義を解明する。

【方法】 ビーグル犬で腎血管性高血圧を作製し(2K2C, H, 4週間, n=7), 麻酔開胸して左冠動脈末梢部血流速度を20MHz超音波血流計で、冠細動脈径をニードル型生体顕微鏡で観測した。計測は Acetylcholine (ACh, $0.5 \sim 1.0 \mu g/kg/min$) と Papaverine (P, 1 mg) をそれぞれ冠動脈内投与して行い、対象ビーグル犬(N, n=8)の結果と比較した。心筋への血液流入動態を EDIT(拡張期流入血液の50%が流入するのに要する時間を拡張期時間で規準化)で、細動脈機能を ACh および P 投与による拡張末期血管径増加率(DD)で評価した。

【結果】 Hの EDITはNよりも遅延した($p < .05$)。AChはNの EDITを短縮、Hでは逆に遅延させた($p < .05$)。その際、Hの DDは Endo, EpiともにNより低値で、Hの Endoの DDはEpiより低値であった($p < .05$)。PはHの EDITを短縮・改善させ($p < .05$)、Hの DDには Endo と Epi の間、Nとの間に有意差がなかった。

【総括】 高血圧心では内皮依存性冠細動脈拡張機能が低下し、これが拡張期冠動脈血流入遅延現象に関与することが示された。また、内皮機能障害は心内膜側で特に著しかった。

7. ウナギの心拍動に及ぼす NPY の影響

×上坂敏弘, 安藤正昭(広島大, 総科, 生理)

哺乳類の心拍動に及ぼす NPY の効果はまだ定まっていない。その原因として、哺乳類の心臓は冠動脈の影響を受け、in vitro の実験が困難なことが挙げられる。それに対してウナギの心房は、摘出後10時間以上も一定の拍動をし続ける。NPY はウナギの腸管より抽出し、一次構造決定後に合成した。ウナギの

NPY (eNPY)は拍動数は変化させないで、収縮高を濃度依存的に増大させた。この効果はベタキソロール存在下でもみられることから、カテコラミンの放出に依るとは考えられない。一方高濃度のアドレナリン(AD)で心拍動を最大に高めた状態では、eNPYの効果はみられず、低濃度のADとeNPYを同時に加えると、その効果はそれぞれの効果の和となったので、ADとeNPYは心筋細胞内での情報伝達系を共有していると考えられる。事実、心筋細胞内 Ca^{2+} 濃度はADやeNPYによって高められた。またADとeNPYの効果と比較すると、ADによる収縮増強効果はすばやく、一過性であるのに対して、eNPYの効果は遅く、持続性のあるものであった。ADとeNPYを同時に作用させると、すばやくしかも持続性のある収縮増強効果がみられるので、もしも交感神経終末よりカテコラミンとeNPYが同時に放出されると、心拍動は長期にわたって増強されると考えられる。

8. 加齢ラットの血小板凝集能について

田中泰明, 橋本道男, 原 俊子, 榊村純生(高根医大, 第一生理)

加齢ラットをコントロール群と運動群に分け、各群の血漿、大動脈について血小板凝集に影響を与える多価不飽和脂肪酸(エイコサペンタエン酸, ドコサヘキサエン酸)およびプロスタノイド(PGI_2 , TXA_2)を測定、血小板凝集におよぼす運動の影響を検索した。

【結果】 運動群ではコントロール群に比し、血漿ドコサヘキサエン酸が50.2%減少し($p < 0.05$)、大動脈エイコサペンタエン酸は61.4%増加した($p < 0.05$)。この場合、血小板 PGI_2 は69.4%増加し($p < 0.05$)、血小板 TXA_2 は57.3%減少した($p < 0.05$)。コントロール、運動両群では、大動脈エイコサペンタエン酸のみが血漿エイコサペンタエン酸に対して、正に相関し($p < 0.05$)、血小板 TXA_2 およびADP-血小板凝集に対して負に相関した($p < 0.05$)。運動群では、上述のように、血小板 PGI_2 が増加したが、ADP-血小板凝集に対して、有意な相関は得られなかった。

【結語】 加齢時の運動によって大動脈エイコサペンタエン酸が増加し、血小板 TXA_2 が減少して、血小板凝集が抑制されるものと考えられる。

9. アルコール代謝と納豆成分

須見洋行(岡山県立大, 栄養学科)

これまで血栓溶解酵素ウロキナーゼあるいはルンブ

ロキナーゼの経口投与による血中線溶発現など各種血栓溶解関連物質の経口下での生理作用を検討してきたが、今回、健康人が飲酒、特に焼酎を30~60 ml EtOHを飲んだ1時間目の血液中にはu-PA型プラスミノゲンアクチベーター活性及び抗原量が増加すること、またブタ耳を用いた血管灌流実験でも焼酎蒸留物あるいはアルコールとしてn-プロパノール及びiso-プロパノールに強いPA産生能を確認した。

高力価ナットウキナーゼを含む乾燥納豆も経口下でヒトに対して同様に線溶亢進効果を示したが、その際はt-PA型プラスミノゲンアクチベーターの抗原量が増加していることが分かった。一方、飲酒に先立って納豆醗酵液を飲んだ場合、血中アルコール濃度の減少傾向が認められた。この納豆醗酵液による消酒効果は血液中のアセトアルデヒド濃度あるいは呼気中のアルコール濃度の低下(34~45%, $p < 0.005$)からも確認された。

10. 赤血球の連鎖形成時の誘電挙動

安藤元紀, 渡辺牧夫, ^{*}A. A. Laogun^{*}, 入交昭彦(高知医大, 第二生理・University of Benin, Nigeria^{*})

【目的】 赤血球の連鎖形成を電氣的に捉えるために、その誘電挙動を調べ、shellモデルによる理論解析を行った。

【方法】 ヒト赤血球を、連鎖を形成する血漿および形成しないアルブミンを含むリン酸緩衝化生理的塩溶液(PBS)に懸濁し、静置あるいは流動条件下で10 kHz~1 GHzにわたり誘電測定した。

【結果】 体積分率を約40%にした時、静置した血漿中赤血球の誘電率の低周波収斂値(ϵ_i)はPBS中のそれに比べ2倍以上になった。さらに、その赤血球懸濁液を静置した状態から流動させると、 ϵ_i が急激に減少し、流動を止めると元のレベルにもどることが判った。これらの現象は連鎖形成の有無と密接に関連しており、連鎖を形成した赤血球を一塊と見なした誘電体モデルにもとづく理論解析により初めて再現できた。急速凍結・凍結置換法による電顕観察では、連鎖を形成している赤血球の隣り合う細胞どうしは膜表面の糖衣の厚さを隔ててほぼ密着していることが判った。

【考察】 誘電解析法により、赤血球の連鎖形成が検知可能であり、 ϵ_i は赤血球の集合状態を定量化する上で有用なパラメータと考えられた。理論解析から、一塊の連鎖が電氣的に一つの大きな細胞のように振る舞うことが示唆された。

11. 遅延性神経細胞死における NGF 受容体の役割

宮本 修, 政田哲也*, 徳田雅明*, 板野俊文, 根木哲朗**, 畠瀬 修*(香川医大, 生物学・生理学*・基礎スポーツ医学**)

両側頸動脈結紮による一過性脳虚血に伴う, 遅延性神経細胞死(DND)は海馬 CA1 領域に特異的に起こる。この機序については不明な部分が多い。しかし, 脳室内への NGF 投与により細胞死から免れることや, 低親和性 NGF リセプター(NGFR)が発現した細胞は, NGF が結合しなければ細胞死を起こすことより, NGF の DND への関与が示唆されている。今回我々は NGF と DND の関連を検索する目的で, 一過性脳虚血後の低親和性 NGFR の発現を, 免疫組織科学的に検討した。オス砂ネズミの片側頸動脈を5分間結紮し, 再還流後, 経時的に脳を取り出した。ピプラトーム切片を作製し, p75 NGFR 抗体(ペーリンガー社製, モノクローナル抗体)を用い, ABC 法により染色した。さらに, 早期の細胞障害を確認するために, MAP2 抗体による染色も合わせて行った。再還流後48時間から, CA1 および dentate 領域に高染色性の部位が発現し始め, 96時間後にはその染色性がさらに強くなった。また, 錐体細胞層以外の部位にも, その発現が見られた。本発表では, CA1 領域に限極している DND と, 広範囲にみられた低親和性 NGFR 発現との関連について討論していきたい。

12. cAMP を介する細胞内情報伝達系はラット子宮縦走筋と輪走筋で異なるか?—細胞内 Mn の効果による検討—

轟 奈津子, 最上紀美子(山口大, 医, 第一生理)

エストロゲン処理ラットの子宮輪走筋において, 細胞内への Mn の流入および relaxin, forskolin, db cAMP の収縮抑制効果に与える Mn の影響を調べ, 縦走筋の結果と比較した。輪走筋において, 細胞内に負荷された fura-2 の蛍光強度は, 外液に Mn を加えると急激に減少し, 外液 Mn 除去後も回復しなかった。これは, 細胞内へ Mn が流入し, fura-2 と結合して消光させたためと考えられる。このような Mn 負荷の前処置を行うと, relaxin の収縮抑制効果が増強される場合と減弱される場合の両方が観察された。forskolin と db cAMP の収縮抑制効果は Mn 負荷の前処置により増強された。これに対し縦走筋においては, Mn 負荷の前処置により, relaxin と db cAMP の収縮抑制効果は減弱され, forskolin の収縮抑制効果は増

強された。これらの結果は, cAMP を介する情報伝達経路あるいは Mn の作用部位が, 縦走筋と輪走筋とで異なる可能性があることを示していると考えられる。

13. モノカルボン酸による局所麻酔増強作用: RI 標識プロカインを用いた検討

永田克己, 市川 修*(鳥取大, 医, 第一生理・鳥取大, 医療技術短大*)

モノカルボン酸による局所麻酔増強作用について, 我々は, モノカルボン酸が細胞内 pH を低下させるために局所麻酔薬の細胞内への流入が増加する, という仮説を立て, アフリカツメガエルの卵母細胞を用いてこの仮説を検討した。卵母細胞が実験系として適当であることは以下の2点により確かめられた。1) 細胞外液の pH を 7.4 から 8.4 に上げると ³H 標識プロカインの取り込みは増加した。これは神経細胞を用いた実験結果と一致する。2) ラット脳 mRNA 注入により卵母細胞に発現させた Na⁺ チャネルを膜電位固定法で観察すると, プロピオン酸ナトリウム塩(27 mM)によるプロカインの麻酔増強作用がみられた。ところが, 60 mM プロピオン酸ナトリウム塩を細胞外液に加えても, 卵母細胞の ³H 標識プロカインの取り込みに変化はなかった。しかし, Na⁺ チャネルを抑制するのはイオン化型プロカインと考えられており, この細胞質内濃度は今回の実験からはわからない。従って, 細胞内 pH の低下によるイオン化型プロカインの細胞質内濃度の上昇が麻酔増強作用の原因である可能性は残る。

14. Postextrasystolic Decay with and without Compensatory Pause

×清水壽一郎, ×河野晋久, ×中山泰典, 松原広己, ×荒木淳一, 高木 都, 菅 弘之(岡山大, 医, 第二生理)

期外収縮に伴う収縮性の変化は, 過去に大変多くの研究がなされている。しかし, 期外収縮に伴う収縮性の変化はその後の興奮間隔が変化しなければ, 再び定常状態に戻っていく。この過程の解析は未だ十分にされていない。我々はこの過程に代償性休止期が含まれる場合と, 含まれない場合に分けて実験を行った。実験データの解析には細胞内カルシウム動態を考慮して提案した式,

$$y = a \times \exp[-(x-1)/b] + c \times \exp[-(x-1)/d] \times \cos(\pi \times x) + 1$$

を用いた。その結果、代償性休止期の有無に関わらず両者は上記の式により、高い精度で表現できた。代償性休止期を含む場合には式中の第2項が優位であり、第1項はわずかな寄与しか認められなかった。一方、代償性休止期を含まない場合には第1項、第2項共に寄与が認められた。時定数(b, d)は定常収縮間隔に大きく依存し、その延長に伴って共に減少する傾向があった。最近、我々は、第1項、第2項がそれぞれ異なる要因により支配されている可能性を示唆しており、今回の研究から収縮間隔と心筋細胞内における細胞膜及び筋小胞体を介したカルシウム動態の理解の一助になるものと考えた。

15. Na 排泄に対する KCl, CaCl₂ 摂取の影響

×沖野恵子, ×亀田智広, ×武智晶子, ×大原美奈子, ×矢野哲也, ×印藤加奈子, ×西谷美帆, ×陳慶輝, ×周明生, 山下洋一, 西田育弘, 森田啓之, 細見弘(香川医大, 第二生理)

うどんは香川県の名産であるが、一食あたりに6~7gの食塩が含まれており、食塩過剰摂取の原因となっている。しかし食塩はうどんのこしを出すために不可欠であり、これを減少させることはできない。今回我々はうどんに含まれるNa量を一定とし、添加するK, Caの量を変え、Na, K, Ca, Clの摂取量と尿中Na, K, Ca, Clの排泄量を調べた(19~26才の健康者:男4名, 女4名)。実験には、NaClのみを添加したもの、NaClとKClを添加したもの、NaCl, KClおよびCaCl₂を添加したものの3種類のうどんを用いた。30分ごとに3回採尿後、うどんを摂取し、以降30分ごとに3時間採尿した。KCl添加によって摂取したKは市販品に比し約18倍(一食当り1.8g)、CaCl₂添加によって摂取したCaは市販品の約70倍(一食当り0.9)であった。NaClのみのうどんを摂取しても、尿中Na排泄は -0.02 ± 2.07 meq/3 hoursで増加しなかった。KCl添加によりNaの排泄は $+9.94 \pm 3.24$ meq/3 hoursに増加し、KClおよびCaCl₂添加によりさらに $+20.75 \pm 4.41$ meq/3 hoursに増加した。また、NaClのみのうどんにはCaは含まれていないにもかかわらず、摂取後Ca排泄は増加した($+0.57 \pm 0.16$ meq/3 hours)。しかし、KCl添加したうどんでは、Ca排泄は $+0.14 \pm 0.14$ meq/3 hoursに抑えられた。NaClのみ添加したうどんと市販されているうどんの成分はほぼ同じである。従って、讃岐うどんを摂取し続けるとNaは体内に蓄積され、尿中Ca排泄が増加

し、体内Ca量は減少すると考えられる。実際、香川県において、尿路結石の発生率が高いことが知られている。これに対し、KCl添加うどんでは、Na排泄が促進され、Ca排泄は抑制される。今後、この機構について解明していく必要がある。

16. 電解質組成の違いが尿中 Na⁺ 排泄におよぼす影響: 静脈内および経口食塩負荷時における検討

×大西英周, ×北川雅史, ×田中佳子, ×大山真有美, 山下洋一, ×陳慶輝, 杉本庸, ×角岡潔, ×周明生, 西田育弘, 森田啓之, ×Galal M. Abdel-Kader, 細見弘(香川医大, 第二生理)

静脈内投与および経口投与時における尿中Na⁺排泄が、NaCl以外の電解質によりどのような影響を受けるかを調べた。健康人18人(19~22才, 男性9人, 女性9人)を対象とした。生理的食塩水またはRinger液の500mlを経口または静脈内投与し、その後1時間おきに7時間にわたって尿中Na⁺排泄量を測定した。各1時間尿中Na⁺排泄量から投与前の1時間尿中Na⁺排泄量を差し引き、7時間分を合計したものを尿中Na⁺総排泄量とした。その結果、尿中Na⁺総排泄量は生理的食塩水の経口投与では 20.4 ± 5.1 mEq/7 hrs, Ringer液の経口投与では 24.7 ± 4.6 mEq/7 hrsを示し、両者に有意差はみられなかった。生理的食塩水の静脈内投与では 18.9 ± 5.0 mEq/7 hrs, Ringer液の静脈内投与では 33.4 ± 5.4 mEq/7 hrsを示し、Ringer液の静脈内投与の方が有意に尿中Na⁺総排泄量が多かった。この結果から次の2点について討議した。1) 静脈内投与ではRinger液の方が生理的食塩水より有意に尿中Na⁺排泄量が多いのは何故か。2) 経口投与では何故その差が生じないのか、である。

17. Induction of an olfactory memory in mice by intrabulbar infusions of a nitric oxide donor.

×Okere C. O. and Higuchi T., Kaba H.* (Dept. Physiol., Kochi Medical School, Nankoku, Kochi 783 · Dept. Vet. Physiol., Kagoshima University, Kagoshima 890*)

We tested the hypothesis that exogenous nitric oxide (NO) administration can permit the formation of an specific pheromonal memory without mating. Two infusions of sodium nitroprusside (SNP; 5 nmol) into the accessory olfactory bulb (AOB) permitted formation of pheromone-specific recognition memory. The memory

formation required coincident activation by SNP and pheromonal inputs. Phentolamine prevented this memory formation and SNP was less effective after depletion of bulbar noradrenergic innervation.

These results showed that exogenous NO is capable of triggering functional changes in synaptic activity underlying formation of a specific recognition memory in the absence of mating. This SNP-induced memory requires intact noradrenergic innervation and the findings are consistent with the idea that NO may modulate noradrenergic activity thereby leading to the formation of a specific olfactory memory.

18. REM 睡眠中の相動的血圧上昇に及ぼす acetazolamide の効果

×曾根未年生, 勢井宏義, 妹尾広正, 佐野敦子, 森田雄介(徳島大, 医, 第二生理)

Acetazolamide (ACTZ) は生体内の炭酸脱水酵素の作用を抑制することで, 中枢神経系の刺激伝達抑制作用を示すことが知られている。REM 睡眠中の相動的血圧上昇(前脳起源)が虚血性心疾患の trigger である可能性が示唆されており, 今回我々は ACTZ がラットの REM 睡眠中の相動的血圧上昇へ及ぼす効果について検討した。5 匹の Wistar 系雄ラットに, 生理食塩水で溶解した ACTZ 0.5 mg/0.5 ml と, コントロールとして生理食塩水 0.5 ml をそれぞれ別の日に腹腔内投与し, その後の睡眠中の血圧変動 (CV%) を記録した。その結果, NREM 睡眠では, ACTZ 群とコントロール群の間に CV% に有意な差は認めなかったが, REM 睡眠では, ACTZ 群においてコントロール群に比して, CV% が有意に小さかった。ACTZ は REM 睡眠中の血圧の相動的上昇の変動を選択的に安定化する作用があることが分かった。

19. NMDA 受容体を介する興奮性シナプス後電位に対するスベルミンの効果

林 泰資****, ×Michel Baudry**, 森 脇 晃義***, 陸 雲飛***, 松井秀樹*** (鳴門教育大, 障害児教育*・南カリフォルニア大**・岡山大, 医, 第一生理***)

我々は, 種々のてんかんモデルの脳内でポリアミン代謝が活性化され, プトレッシン, スベルミジン, スベルミンなどのポリアミン濃度が増加することを報告してきた。今回の研究では, 脳内ポリアミンの機能的

な役割を明らかにするために, NMDA 受容体を介する興奮性シナプス伝達に対するスベルミンの効果を海馬スライス標本を用いて電気生理学的に検討した。生後約40日の Sprague-Dawley 系ラットより厚さ 400 μ M の海馬スライスを作製した。海馬のグルタミン酸性シナプス伝達のうち, NMDA 受容体を介する興奮性シナプス後電位 (EPSPs) だけを分離するために, Mg^{2+} イオン濃度を 50 μ M に下げ, AMPA 受容体の選択的阻害剤である DNQX を 10 μ M 加えた人工脳脊髄液を灌流した。テスト刺激は Schaffer commissural fiber に30秒に1回加え, CA1 の stratum radiatum より EPSPs を記録した。10 μ M のスベルミンを20分間投与すると, EPSPs の振幅が長期増強様の増加を示した。一方, 1 mM のスベルミンは EPSPs の振幅を一過性に減少させた。これらの結果は, スベルミンが NMDA 受容体を介する興奮性シナプス伝達に対して, その濃度によって異なった作用を持つことを示している。

20. 胃腸管粘膜刺激によるリンパ心臓促進反射

×齊藤朋子, 岡田博匡 (川崎医療福祉大, 医療技術学部, 臨床栄養)

昨年の本学会で塩酸, 乳酸, 酢酸などの胃粘膜刺激によりリンパ心臓促進反射が発現することを報告した。今回さらに他の酸による効果および十二指腸粘膜刺激による効果について研究したので報告する。中脳の上端で除脳した食用ガエルを用い, 後リンパ心臓支配の XI 脊髄神経前根よりの遠心性活動を記録した。胃粘膜刺激では, 幽門部を結紮後, 食道を経て胃内にカテーテルを挿入した。小腸粘膜刺激では, 胃幽門部より十二指腸内に外径 3 mm のカテーテルを挿入し, これより刺激液 (3 ~ 4 ml) を注入し, 尾側 10 cm の部で外部に排出させ, その効果を検索した。クエン酸, 酢酸 (0.1 ~ 0.5 M) の胃内およびクエン酸, 塩酸の十二指腸内投与により濃度に依存した神経発射群の頻度増加が発現した。胃粘膜刺激によるこの促進反応は迷走神経切断後は完全に消失するが, 十二指腸粘膜刺激による促進反応は同程度に再現される。他方, 内臓神経切断後には十二指腸粘膜刺激による促進反応は認められず, 胃粘膜刺激による促進反応は同程度に出現する。これらの結果から, 胃粘膜刺激による求心性衝撃は迷走神経を介して, 十二指腸粘膜刺激によるそれは内臓神経を介して脊髄リンパ心臓中枢のリズム発生を促進すると結論される。

21. 除脳イヌにおける嘔吐時の小腸内容逆行性輸送 古川直裕(川崎医大, 生理)

慢性イヌでは、嘔吐に先行した小腸から胃への特異的な逆行性強収縮波(RGC)が観察されている。しかし、嘔吐時の実際的小腸内容の逆流現象と小腸収縮との関係は不明であり、その発現機構にも不明な点が多い。今回、除脳イヌでも小腸内容の逆流が起こるかどうかを観察し、小腸運動との関係についても考察した。イヌはケタミン麻酔後除脳し、ガラミン投与、人工呼吸下の実験した。胃体部から十二指腸に内径5~6mmの管を挿入し、先端部を幽門尾側部に固定した。十二指腸から尾側に5つのforce transducerを縫着し、最終部位より20cm尾側の小腸を結紮した。管より小腸内に等張mannitol液を注入、体外端を電磁流量計のprobeに接続し、幽門尾側部への腸内容液の逆流の様子を観察した。迷走神経求心性刺激、硫酸銅溶液の胃内注入、apomorphine投与によりretchingを誘発した。

除脳イヌにおいても、嘔吐誘発刺激により腸内容液の逆流が認められた。逆流はretchingの開始前後に発現し、しばしば、その後も何度か繰り返して認められた。小腸運動には逆行性の収縮波が認められたが、その伝播距離は短く、小腸内容は数回に分けて逆流すると考えられた。逆行性収縮波の大きさは比較的小さい場合も多く、RGC以外の逆行性収縮波によっても小腸内容の逆流が起ることが示された。

22. ラットの胃伸展刺激による膀胱反応および骨盤神経活動

×安藤孔子, ×岡田充代, 岡田博匡(川崎医療福祉大, 医療技術学部, 臨床栄養)

最近、除脳イヌの排尿反射が胃の伸展刺激によって抑制されると報告された。しかし、ラットについての研究は見当たらないので、この研究を行った。生後7~8週令のSD系ラットを用い、クロラロス麻酔後、ガラミン非動化、人工呼吸下の実験した。膀胱運動は膀胱内に小ゴム球を挿入し内圧変動を示標とした。また左骨盤神経膀胱枝の遠心性活動を誘導しスパイクカウンターで頻度曲線を記録した。胃伸展にはゴム球法を用い、その内圧を歪圧力計で記録した。

【結果】麻酔1.5~2時間後に膀胱伸展により反射性骨盤神経発射および膀胱の大収縮が発現するようになる。膀胱収縮には神経活動に同期した大収縮40~50mmHgと神経活動を伴わない小収縮が認められた。胃

の伸展によって骨盤神経活動の増加と膀胱の大収縮が引き起こされた。両側頸部迷走神経の切断後(N=6)には上記の促進効果は有意に減少するが、なお一部残存した。迷走神経の切断中枢端刺激(左頸部4例、胃枝6例)では促進および抑制の両様の反射効果が認められた。麻酔後長時間を経過した動物で胃伸展により一部抑制効果も出現した。

【結論】麻酔ラットでは、胃伸展刺激によって排尿反射が誘発されると結論される。

23. Immunohistochemical study of calbindin D 28k in reactive astrocytes after electric lesion.

×Bushra Yaqoob, M. Tokuda, O. Hatase, T. Toyoshima*, Li Jin*, T. Itano* and H. Murakami* (Kagawa Med. School・Department of Physiology and Biology*)

Immunoreactivity of reactive astrocytes in the CA1 region of the hippocampus was chronologically studied in the post electric lesioned rats. The monoclonal antibody anti-calbindin D_{28k} and the polyclonal antibody anti-gial fibrillary acidic protein (GFAP) with ABC method were used for immunohistochemical study. GFAP was localized in both resting and reactive astrocytes but calbindin immunoreactivity was observed only in the reactive astrocytes in post lesioned brains. The number of reactive astrocytes were counted in the 2.5mm×5mm area of control and electrically damaged CA1 layer. The calbindin and GFAP immunoreactivity of astrocytes was found in all studied lesioned models. However, no positive staining of reactive astrocytes was observed in control brains. The numbers of calbindin and GFAP immunoreactive astrocytes were increased from 1~3 weeks post lesioned hippocampus. However, no apparent increase was found from 3~6 weeks post lesioned hippocampus. The increasing number of reactive astrocytes from 1~3 weeks post lesioned hippocampus may be due to the neurotrophic factor(s), which promote the cell survival and neurite outgrowth at the site of lesion. While constant number of reactive astrocytes from 3~6 weeks post lesioned brain may be due to the healing processes.

The expression of calbindin in reactive astrocytes after injury suggests the reexpression of early fetal

trait of differentiating cells. This response may represent reversion to a common origin of glial cells/neurons which may be beneficial for repair processes.

24. CaM-kinase R; ラット網膜の新しい Ca^{2+} -calmodulin kinase IV の解析

都村豊弘*, 広岡一行*, 徳田雅明, 藤村貴志*, 山口文徳, 富沢一仁, 長谷川榮一*, 畠瀬 修(香川医大, 第一生理・眼科学*)

Ca^{2+} -calmodulin 依存性リン酸化酵素 IV (CaM-kinase IV) は脳に多量に発現し, 細胞内 Ca^{2+} シグナル情報の伝達に関与しているが, その生理的作用はまだ明らかではない。我々は CaM-kinase IV に対する抗体を用いて網膜における CaM-kinase IV の局在を検討した。

ラット小脳と網膜の 100,000 g 上清を用い, ラット小脳の CaM-kinase IV に対するポリクローン抗体で Western blot 解析したところ, 小脳では分子量 60,000 あたりにバンドが認められるのに対し, 網膜では分子量約 36,500 にシングルバンド (CaM-kinase R と命名) が認められた。また免疫染色において, CaM-kinase R は視細胞外節, 内網状層, 内顆粒層と神経節細胞層の核に局在していた。また生後 3 週以後の網膜が 10 層構造が確立する頃に CaM-kinase R の増量を示し, Western blot 解析でも同様の結果を得た。CaM-kinase R は網膜以外にも脈絡膜, 毛様体, 虹彩にも存在することが判明した。さらに生後暗室内で育てたラットでは CaM-kinase R の発現量が正常の約半分であることが認められ視細胞層及び内網状層の減少が顕著であった。そして, CaM-kinase IV の C 末端側のペプチドを認識する抗体での Western blot で検出されなかったことから N 末端側を持つ可能性が示唆された。

このように, 分子量約 36,500 の CaM-kinase R の視機能との関連が強く示唆された。

25. ラット網膜の神経可塑性における Cdk 5 と P 35^{neck5a} の関与

広岡一行*, 富沢一仁**, 都村豊弘*, 徳田雅明, 山口文徳, 長谷川榮一*, 畠瀬 修(香川医大, 第一生理・眼科*・岡山大, 医, 第一生理**)

Cyclin dependent kinase 5 とその activator である P 35^{neck5a} は脳においては, Neurofilaments, Tau をリン酸化し, 神経細胞の成熟, シナプスの形成に重要で

あることが示唆されている。今回我々は, 出生後ラット網膜の発育における Cdk 5 と P 35^{neck5a} の発現, 局在および活性について検討し報告した。

Cdk 5 の発現は, 出生後より発育に伴い増加し, 生後 3 週で最も高く, その後発現量が減少しアダルトにおいては生後 2 週と同レベルになった。P 35^{neck5a} の発現も生後 3 週で最も高かった。免疫染色では, Cdk 5 では 1 w ではほとんど発現は認められないが, 2 w では内網状層, 神経節細胞, 内顆粒層に発現しており, 3 w では 2 w に比べ内顆粒層で発現している細胞数が増加していた。adult になると発現が内網状層に移行した。活性は, 生後 2 週, 3 週で最も高かった。発現時期, 網膜における局在の変化が GAP 43 と酷似しており CDk 5/P 35^{neck5a} が, 網膜においてシナプスの可塑性に関与していることが示唆された。

26. キンドリングてんかんモデルラットにおける CDK 5/P 35^{neck5a} の発現および活性について

才 暁慧***, 富沢一仁*, 松井秀樹***, 徳田雅明*, 山口文徳*, 長島駿一郎**, 畠瀬 修*(香川医大, 第一生理*・歯口外**・岡山大, 医, 第一生理***)

Cyclin dependent kinase (CDK)-5 およびそのアクチベーターである P 35^{neck5a} は, 発育中の脳において Tau, Neurofilament をリン酸化し, その発現と活性は新生児脳で高く保たれていることから, 神経細胞の成熟, シナプスの形成に関与していると考えられている。キンドリングてんかんモデルラットは, 脳の可塑性, シナプスの再構築のモデルとして有用である。今回私たちは, in vivo において CDK 5/P 35^{neck5a} がシナプスの形成に重要であるかを検討するために, このモデルラットにおける CDK 5/P 35^{neck5a} の発現および活性について調べた。

キンドリングラットは, 電極を留置し, 毎日 2 回電気刺激すると, てんかん源性を獲得し, ラットの行動で C1 から C5 までに分類した。キンドリングラット海馬において, CDK 5 の発現は各ステージでほとんど差はなかった。一方, P 35^{neck5a} は C2 から C3 で発現が多かった。CDK 5 の活性は C1 で低く, C2 から C3 で上昇し, C5 になると低下した。免疫染色では, CDK 5 は無刺激と C1 ラットにおいては, 海馬の神経細胞体に発現は認めなかったが, C3 においては細胞体に発現を認めた。一方, P 35^{neck5a} はどのステージにおいても細胞体に発現し, 特に C3 の神

経細胞体に一番強い発現が認められた。以上のことより、シナプスの再構築の時期と CDK 5/P 35^{ack5a} の発現活性の高い時期が一致した。CDK 5/P 35^{ack5a} がシナプスの形成に重要であることが示唆された。

27. 免疫抑制剤 FK 506 はキンドリング発達に伴う苔状線維の発芽を抑制する

森脇晃義, 林 泰資*, 陸 雲飛, 松井秀樹(岡山大, 医, 第一生理・鳴門教育大, 障害児教育*)

免疫抑制剤 FK 506 は Ca²⁺ カルモデユリン依存性フォスファターゼであるカルシニューリンを阻害する事によって免疫抑制作用を発揮する。FK 506 がキンドリングの行動上のでんかん様反応の発達を抑制することはすでに報告した。キンドリングは、獲得された痙攣準備状態が永続することから脳機能の再編成を伴うと考えられている。そこで、カルシニューリンはこの可塑性変化の誘導あるいは維持に関与している可能性が高い。われわれは、キンドリングに伴って歯状回苔状線維の発芽そして異所性のシナプスが生じることに注目し、キンドリングラットの誘導時に、FK 506 を 1 mg/kg 腹腔内に連日投与して、海馬苔状線維の発芽を Timm 染色法による亜鉛の分布により検討した。FK 506 は脳波上の後発射の持続時間および背景脳波には影響を与えなかった。FK 506 を投与せずキンドリングが完成したラットと比較すると、FK 506 を投与したラットでは、Timm 反応の増加は少なかった。Timm 反応の増加は、神経細胞の発芽とそれに引き続くシナプスの形成を反映していることから、FK 506 は苔状線維の発芽とシナプスの形成を抑制することが示され、カルシニューリンはシナプスの再編成に促進的に働くことが示唆された。

28. 海馬 CA1 領域の興奮性シナプス伝達に対する FK 506 の抑制作用

陸 雲飛, 林 泰資*, 森脇晃義, 松井秀樹(岡山大, 医, 第一生理・鳴門教育大, 障害児教育*)

シナプス伝達長期増強(LTP)の形成におけるプロテインフォスファターゼの作用が注目されている。カルシニューリンはカルシウム・カルモデユリン依存性フォスファターゼであり、FK 506 により特異的に阻害される。本研究では、ラット脳海馬スライス標本を用いて、CA1 領域の興奮性シナプス伝達に対する FK 506 の作用を調べた。生後40~60日の Wistar 系雄性ラットから海馬スライスを作成し、興奮性シナプス

後電位(EPSPs)の記録および LTP の誘導を行った。EPSPs は Schaffer commissural fiber にテスト刺激を加え、CA1 領域の stratum radiatum より記録した。FK 506 (1~50 μM) は、濃度依存的かつ可逆的に EPSPs を抑制した。LTP は、theta burst stimulation により誘導され、刺激後60分でも EPSP の振幅は刺激前の150%を維持した。これに対して FK 506 を投与すると、LTP の誘導が濃度依存的に抑制され、20~50 μM の FK 506 ではほぼ完全にブロックされた。さらに FK 506 は、シナプス前線維の入力の強さを示す fiber volley の振幅には影響を及ぼさず、また paired pulse facilitation に対しても、二つの EPSPs を同程度に抑制した。これらの結果は、FK 506 の作用部位が後シナプス性であることを示している。以上より、FK 506 は興奮性シナプス伝達に対して抑制作用を示しており、この作用にはシナプス後細胞内のカルシニューリンの関与が示唆された。

29. Inhibition of Superoxide Radicals Production by Adenosine Derivatives in Rat Peritoneal Macrophages

Q-S. Si, Y. Nakamura and K. Kataoka (Department of Physiology, Ehime University School of Medicine)

As a part of host-defense immune system, macrophages can response to a variety of stimulants and produce superoxide (O₂⁻), which plays some roles in microbicidal and tumoricidal actions. Adenosine has been reported to modify the biological response of various cells including mast cells, neutrophils, macrophages and microglia. We examined the effect of 2 Cl-adenosine on phorbol ester induced O₂⁻ production in rat peritoneal macrophages using a method of acetyl-cytochrome c reduction. 2Cl-Adenosine inhibited the O₂⁻ production in a dose-dependent manner. The O₂⁻ production was also inhibited by cAMP analogs and reagents which increased intracellular cAMP level. In addition, two clinical drugs, propentofylline and dipyrindamole, showed the same effect as 2 Cl-Adenosine. These results indicate that the O₂⁻ production of macrophages can be interfered by adenosine and the related drugs due to the elevation of intracellular cAMP level.

30. 線維芽細胞由来の新生血管内皮細胞

昆 和典, ×藤原 隆*(愛媛県立医療技術短大, 生理・愛媛大, 医, 動物実験施設*)

【目的】 創傷治癒、腫瘍の成長などに伴う血管新生は、既存血管に由来する血管内皮細胞の遊走と増殖によって行われると考えられているが、このメカニズムで説明できない現象も報告されており、血管新生過程の全体像は未だ明らかでない。我々はこれまで新生血管網の充実過程の組織学的観察を行い線維芽細胞が新生血管の管腔を形成することを示唆する結果を得た。そこで本研究では、標識した線維芽細胞を血管新生部に移植したのち追跡し新生血管の管腔を形成する細胞へと分化することを示すことを目的とした。

【結果と考察】 血管新生の観察は①家兎耳介に透明窓を装着し、透明窓内に充実してくる新生血管網、②マウス角膜を硝酸銀で焼灼したのちに現れる新生血管網(角膜法)、を用いて行った。家兎耳介より自家線維芽細胞を分離、増殖しトリチウムチミジンで標識したのち、あらかじめ透明窓内に注入しておく。そのち新生した血管をオートラジオグラフィ法で調べたところ新生血管内皮細胞にトリチウムチミジンで標識された細胞が認められた。また、lac-Z 遺伝子を導入した。Balb/3T3 線維芽細胞をあらかじめマウス角膜に移植しておき、その部分に新生してくる血管を調べたところ、新生血管内皮細胞に lac-Z 遺伝子が発現している細胞が認められた。以上の結果から、線維芽細胞が新生血管の内皮細胞へと分化することが示唆された。

31. 骨格筋の急速冷却収縮に及ぼす DHP 薬剤の影響

西島博明(川崎医療福祉大, 医療技術学部, 健康体育学科)

骨格筋の生理的な収縮はT管膜電位依存性 Ca チャネルの情報によって小胞体膜 Ca 遊離チャンネルが開き膜内 Ca が遊離される事によって引き起こされる。本実験は電位依存性 Ca チャネルブロッカーである dihydropyridine 薬剤によって小胞体膜電位非依存性 Ca 遊離チャンネルの開口が影響されるかどうかをカエル別出骨格筋線維を用いて検討した。ニカルジピン処理別出骨格筋線維の短縮は20分毎の tetanus 刺激によって40%前後、K-拘縮刺激によって80%以上の低下を引き起こした。また、tetanus 刺激を繰り返された筋では低濃度 caffeine (5 mM 以下) で引き起こされる拘縮は抑制され、急速冷却収縮も抑制された。一方、K-脱分極が繰り返された筋では低濃度 caffeine で引き起こされる拘縮は上昇し、急速冷却収縮も上昇した。

しかし、高濃度 caffeine (5 mM 以上) で引き起こされる拘縮はニカルジピンによって影響を受けなかった。これらの結果はニカルジピンはT管膜電位依存性L型 Ca チャネルブロッカーとして機能するとしたら、低濃度 caffeine での結果からは小胞体膜 Ca 遊離チャンネルの開口にはT-管膜の電位センサーに依存する二つの異なった機能修飾過程を持つ事となる。

32. Mg²⁺ 溶液中における反復刺激による微小終板電位頻度増大

越智和典, 成田和彦(川崎医大, 生理)

無Ca²⁺ Ringer 液 (1 mM Mg²⁺ と 1 mM EGTA を含む) を基準液とし、基準液中でカエルの運動神経を反復刺激 (50 Hz) すると、微小終板電位 (MEPP) 頻度は時間とともに増大した。基準液の Mg²⁺ 濃度を 2~10 mM に増加するとさらに MEPP 頻度は Mg²⁺ 濃度に依存して増大した。Mg²⁺ による MEPP 頻度増大に細胞内 Ca²⁺ が関与しているかどうかを探るためにまず BAPTA-AM を load し、細胞内 Ca²⁺ をキレートした。2~4 mM Mg²⁺ 液で 10~50 μM BAPTA-AM を加え、6~42分後に運動神経を反復刺激すると、MEPP 頻度増大は BAPTA-AM を load する前に比べ 30%以上減少した。刺激前の頻度と比べほとんど増大しない例もあった。ついで、Ca²⁺ の由来を調べるため TMB-8 を作用させ、Ca²⁺ 貯蔵所からの Ca²⁺ 遊離を阻害した。2~2.5 mM Mg²⁺ 液で 3~5 μM TMB-8 を加え、20~30分後に運動神経を反復刺激すると、MEPP 頻度増大は TMB-8 を加える前に比べ 10~40% 減少した。これらのことから、Mg²⁺ 溶液中における反復刺激による MEPP 頻度増大には神経終末内 Ca²⁺ 貯蔵所からの Ca²⁺ 遊離が関与していることが示唆された。

33. 脳温制御システムを用いた軽微低脳温法の開発

柳瀬尚人, 章 龍, 三谷 章, 片岡喜由(愛媛大, 医, 第一生理) スナネズミー過性前脳虚血モデルでは、虚血中の脳温を僅か 2℃ 低下させるだけで、その後発生する虚血ニューロン死を顕著に防禦することが知られている。しかし、虚血後の低脳温処置では、麻醉法、低脳温の開始時期と持続時間、長時間脳温コントロール法などが統一されておらず、その有効性について見解が分かれている。我々は、脳温トランスミッター/コンピューターフィードバックシステムを組み合わせた独自の脳温制御システムを用い、無麻醉・無

拘束下のスナネズミに5分間の一過性前脳虚血を負荷し、虚血後の低脳温法の虚血ニューロン死に対する有効性を検証した。

動物の腹部を剃毛し、水の散布と送風操作による体表面冷却を行い、約 6.3 ± 2.0 分/℃の降下速度で低脳温を導入し、水湿飼育床と低室温(5℃)設定の飼育箱内で温風ヒーターをコンピューター自動制御し、長時間脳温を 31.5 ± 1 ℃の範囲内で維持した。復温は、約 16.4 ± 9.0 分/℃の速度で自然回復させた。この低脳温操作を一過性前脳虚血負荷1時間後より23時間行い、虚血負荷30日後の組織学的検索で、ほぼ完全な虚血ニューロン死防禦作用を認めた。

以上のことより、虚血後の低脳温法は長時間の低脳温操作を行えば、有効かつ普遍的な虚血ニューロン死防禦作用が得られる可能性が示唆された。

34. ラット顎下腺でのカルバコール刺激時水分泌の β 刺激薬による調節

×田中秀司, 杉田 誠, 廣野 力, 柴 芳樹(広島大, 歯, 口腔生理)

ラット顎下腺灌流系では、carbachol (CCh) 刺激時水分泌は、一過性の初期相とこれに続く持続相からなり、持続相の水分泌は、 β 刺激薬の isoproterenol (IPR) により抑制される。この抑制は、cpt-cAMP でも認められ、 β ブロッカーの propranolol により消失するが、Aキナーゼ阻害薬の KT 5720, H-89 では阻害されない。fura-2 による細胞内 Ca^{2+} 濃度変化、およびホールセルパッチクランプ法による K^+ , Cl^- 電流の測定では、IPR は、CCh 刺激による反応に対して顕著な変化を与えなかった。灌流系において、CCh 刺激時水分泌は bumetanide (Bum) により2/3程度抑制され、さらに dimethylamiloride (DMA) との同時投与でほぼ完全に抑制された。IPR は Bum で抑制された水分泌を DMA と同様に抑制した。

以上のことから、CCh 刺激時水分泌の β 刺激による抑制効果は、cAMP 産生を介して引き起こされ、 Na^+/H^+ exchanger が活性化されることによって引き起こされる水分泌系に対し影響すると考えられた。

35. グラヤノトキシンによる Na チャンネル開放機構モデル

瀬山一正, 焼広益秀(広島大, 医, 第一生理)

グラヤノトキシン (GTX) はイカ巨大神経の内側に投与すると Na チャンネルを開放状態にする。膜電位

固定法下において、GTX は単一の脱分極パルスにより電位依存性に Na チャンネルを修飾し、通常では電流の流れない低い電位で Na 電流が流れる。軸索をプロネースで処理し不活性化過程を取り除くと修飾の時間経過が早くなる事から、GTX は主として開状態の Na チャンネルを修飾する事が明らかになった。この事から、短い脱分極パルスを繰り返し与えると、単一の脱分極パルスに比べ不活性化状態にある確率が低くなり、開状態にある確率が高くなるため、より早く修飾が進行する事が予想される。ところが、実際には繰り返し刺激では修飾されたチャンネルを通る Na 電流が小さくなった。この電流の大きさは繰り返し刺激のパルスの持続時間や間隔に依存する。この現象は一般的な GTX の作用のモデルに特別な閉状態 (Ct) を加える事によって説明できた。この状態は、脱分極パルスが終わる度に修飾されて開状態となったチャンネルの一部が移行してくる状態で、Ct からは直接開状態へと移行できない。電流の大きさの繰り返し刺激のパターン依存性は Ct への移行や、Ct から別の状態への移行の割合によって決まる。

36. GABA_B 受容体活性化によるカルシウム電流の増強

緒方宣邦, ×藤川貞敏*, ×本村春彦*(広島大, 医, 第二生理・九州大, 医, 薬理*)

ラットの培養後神経節細胞から、ナスタチン・ホールセルパッチクランプ法によって膜電流を記録した。GABA_B アゴニストであるバクロフェン投与によってカルシウム電流の振幅が減少したが、バクロフェンを除去すると、振幅がコントロール以上に増大し、数分間の時定数で回復した。GABA_B 受容体のアンタゴニストである CGP-35348 の存在下やバクロフェンを極めて短時間(1秒以内)投与した場合は、このようなカルシウム電流の増大は観察されなかった。バクロフェンを低濃度(50 nM)投与すると、既に投与中にわずかながら電流の増大が起こり、またバクロフェンを1分間投与し続けると、明らかに投与中に電流が増大した。バクロフェンを長時間連続して投与し、カルシウム電流を、薬物投与開始の直前および直後、投与終了の直前および直後に観察すると、薬物投与開始の直前および直後に得られた電流の振幅の差は、投与終了の直前および直後に得られた電流の差と殆ど変わらず、GABA_B 受容体によるカルシウム電流抑制作用は殆ど脱感作しないことが分かった。これらの結

果から、バクロフェンによるカルシウム電流の増大は GABA_B 受容体によるカルシウム電流抑制の脱感作や一時的解除によるのではなく、バクロフェンによって抑制されるタイプとは異なるカルシウムチャンネルを介したものである可能性が示唆された。

37. 蝸牛内支持細胞には K チャンネルは存在するか、またその役割についての検討

×奥本香苗, 佐藤幸弘, ×折田洋造, 松村幹郎* (川崎医大, 耳鼻咽喉科・川崎医療短大*)

蝸牛内支持細胞 (Deiter's cell: 以下 DCs, Hensen's cell: 以下 HEs など) は有毛細胞と構造的に密な関係にあるが、その生理的意義は不明である。今回、K チャンネルの存在及び耳毒性薬剤に対する反応から支持細胞の特性を若干の文献的考察を含め検討した。

【方法】 ハートレー系モルモットの蝸牛をハロセン麻酔下に摘出し、細胞を酵素下に単離し、DCs 及び HEs を対象とし、パッチクランプ法 (whole cell clamp 法) を用いた。

【結果及び考察】 細胞外液に 10 mM TEA を加えた結果、外向き電流は抑制され、この変化は可逆的であった。さらに、ガラス電極内の組成を KCl から CsCl に変換したところ、外向き電流は抑制された。次に、 10^{-4} MKM を細胞外液に加えたところ、DCs と HEs では異なった反応を示した。以上より、DCs 及び HEs 両者に電位依存性 K チャンネルが存在し、KM の影響を受けることを確認した。今後は、電位依存性 K チャンネル以外のチャンネルの影響、反応の相違をさらに検討していく予定である。

38. 低 K⁺ 条件下での各種細胞周期調節因子の発現量の差異

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

無血清培地 (K-CDM) で培養した同調 HeLa 細胞の細胞内 K⁺ を Rb⁺ で置換すると (Rb-CDM), 細胞増殖は著しく抑制され、細胞は G1 初期で停止する。この時、insulin と LDL を添加すると増殖は回復し、12 時間後に S 期へ進出した。このような低 K⁺ 条件下で各種細胞周期調節蛋白 (cyclin B, E および retinoblastoma (RB) 蛋白) について、一次抗体に Oncogene Science 社のモノクローナル抗体を処理し、二次抗体法 (LSAB 法) を用いて FITC, cy 3 の蛍光顕微

測光法でそれらの発現量を観察した。細胞周期の各時期の指標は ³H-チミジンの labelling index から求めた。G2-M 期促進因子である cyclin B は細胞周期と共に増加し G2 期で最高値を示し、insulin, LDL および serum の濃度に比例して増加した。G1-S 期移行を制御している RB 蛋白は分裂後の時間経過とともに増加し、逆に insulin, LDL 濃度の増加とともに減少した。serum については cyclin B と RB で同じ傾向がみられた。一方、cyclin E は G1-S 期でピーク値を示し、G1 で休止している Rb-CDM 中でも発現が認められた。cdc 2, PSTAIRE は K-CDM と比べて Rb-CDM でわずかに減少したが、細胞周期を通じて一定値を示した。

39. HeLa 細胞の利尿剤感受性 K⁺ 外向きと Rb⁺ 内向き輸送の関係

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

外液 K⁺ を Rb⁺ に置換し、0.2 M マニトールを添加した高張溶液中で培養 HeLa 細胞の利尿剤感受性 Rb⁺ 取り込み速度 (JRb) と K⁺ 排出速度 (JK) の同時測定を行った。10 μM ウワバイン添加により変化させた内液イオン比 (K⁺/Na⁺) に対し、JRb は飽和曲線を示すが、JK は内液イオン比が 1 付近で最大値を示し、内液イオン濃度に対し取込みと排出の両輸送の関係は一致しないことがわかった。外液 Rb⁺ 濃度の増加に対し、これら両輸送はいずれも飽和曲線を示すが、外液 Rb⁺ を除去しても K⁺ は細胞外に排出された。この JK には Rb⁺ に活性化される成分とこれに依存しない成分があり、前者と Rb⁺ 取り込みは外液 Rb⁺ に対してよく似た Km 値を示した。上記両輸送は、外液 Na⁺ や Cl⁻ に対する関係でも、これらの両イオンに依存しない成分の存在が示された。3 種の外液 Cl⁻ 濃度群に対し、ブメタニドによる阻害曲線を描いたところ、この阻害剤に対して Cl⁻ 依存性及び非依存性の各 JK はブメタニドに対する親和性が異なった。さらに内液イオン濃度に対する関係も、これらの外液イオン依存性成分と非依存性成分とは必ずしも一致しなかった。以上のことより、利尿剤感受性のこれらの 2 種の共輸送系は細胞内外の 1 価イオンによる影響を受けながら、互いに密接な関係を持つことが推察された。

第231回生理学東京談話会

日 時：平成7年11月25日(土) 13:30~17:30

会 場：東京慈恵会医科大学 高木会館7階会議室

当番幹事：東京慈恵会医科大学生理学講座 馬詰良樹 栗原 敏

今回の生理学東京談話会を開催するにあたり、演題を募集したところ11題の応募があり談話会是一般演題だけで行われた。談話会本来の姿を思いだし、できるだけ発表と討論の時間をとり余裕のある会とした。参加者は40名で、コーヒープレイクを利用して開催した評議員会には12名の評議員が出席し、次回の談話会は聖マリアンナ医科大学生理学教室にお願いすることになった。

今回の談話会の発表は、筋と神経の機能に関する内容の演題が多かったが、普段は聞くことができない分野の発表にゆっくりと耳を傾け議論することができた。それぞれに発表内容は充実していたが、例え完成度が高くなくても、自由に研究の成果や途中経過を発表できるという談話会の伝統をこれからも十分に活用し、専門外の分野の研究の進展を知ること意義あることと感じた。

×は非会員を示す

1. モルモット結腸紐の最大短縮速度一活性化の種類および収縮の位相との関連一

×田添貴史, 為安 司, 吉岡利忠(聖マリアンナ医大, 第二生理)

平滑筋の持続性収縮時には最大短縮速度(V_{max})は減少する。その機構に関する知見を得るために、本研究では、モルモット結腸紐の V_{max} を急速解放法を用いて種々の条件下で測定した。急速解放直後の直列弾性要素の急速な縮みに続く短縮過程を解放後0.06~0.15(V_I), 0.15~0.30(V_{II}), 0.30~1.00(V_{III})秒間の3相に分けて、各々の短縮速度を測定した。 V_I ~ V_{III} のどれがクロスブリッジの反応速度を反映しているかを検討するために、短縮途中に短時間(0.1~0.2秒)の stretch を与え、stretch 前後の短縮過程を比較した。その結果、第III相(V_{III})が最もクロスブリッジの反応速度を反映していると考えられたが、本研究では第II相についても検討した。高K拘縮時の張力上昇期とピーク時では、 V_{II} 、 V_{III} とも有意な差はなかった。高K液中のKやCa濃度の減少によってK拘縮の張力を減少させた時、 V_{II} 、 V_{III} とも張力依存性は認められなかった。10 mM Caffeine による拘縮および自発性収縮時の V_{II} 、 V_{III} は、それらと同程度の大きさの張力発生下の高K拘縮における V_{II} 、 V_{III} に比し有意に小さかった($p < 0.05$)。Caffeine 拘縮と自発性収縮の間には差はなかった。このことは高K拘縮時のクロスブリッジの反応速度はCaffeine 拘縮などに比べて大きいことを示唆する。

2. 培養によりブタ気管平滑筋細胞に発現するプリン性反応について

澤井洋子, 山下俊一, 國分眞一朗(日大, 医, 第二生理)

【目的】 ブタ培養気管平滑筋細胞に認められるプリン性反応は、新鮮単離細胞には認められず、培養過程で発現するものと考えられる。このような現象は、正常気管平滑筋細胞においても、刺激が負荷された場合に起こる可能性は充分考えられる。この点で、発現したプリン性反応は興味深く、検討を加えた。

【方法】 培養は、ウシ胎児血清10%を含むDMEMとF12の混合培養液で7~10日間行った。細胞内 Ca^{2+} 濃度($[Ca^{2+}]_i$)は、細胞懸濁液(3×10^6 個/ml)を用い、Fura 2 を負荷して測定した。

【結果および考察】 細胞外 Ca^{2+} 存在下、ATP(10^{-6} M~ 10^{-3} M)は $[Ca^{2+}]_i$ を濃度依存性に増加した。この反応は P_{2X} を抑制するに充分な 10^{-4} M 以下の $\alpha\beta$ -MeATP では抑制されず、高濃度(10^{-3} M)を前投与することで約60%抑制された。ATPの濃度依存性 $[Ca^{2+}]_i$ 増加効果は、細胞外 Ca^{2+} 非存在下でも認められた。アゴニストの効果順位を 10^{-4} M で比較すると $UTP = ATP > ATP \gamma S \gg ADP \gg \alpha\beta$ MeATP = 2 MesATP と P_{2U} に対する効果順位に類似していたが、 10^{-3} M では $UTP = \alpha\beta$ MeATP = ADP = ATP = ATP γ S \gg 2 MeSATP(ただし、 $UTP, \alpha\beta$ MeATP > ATP)で、前者とは異なりいずれの P_2 受容体サブタイプとの類似性も無かった。以上の結果から、ブタ培養気管平滑筋細胞に発現するプリン性反応を示す受容体は、新し

い P₂ 受容体サブタイプである可能性が示唆された。

3. 平滑筋における PKC の転移反応と画像解析の問題点

坂井 泰(昭和大, 医, 第二生理)

細胞内における情報伝達メカニズムを明らかにする上で、細胞内を情報伝達物質がどのような方向に、どのような濃度で広がり、細胞内オルガネラとどのような関係になっているか観察することは重要なことである。Protein kinase C (PKC) は細胞内情報伝達系および成長調節系に関与しているリン脂質依存性の kinase の一つである。今回、ラット胃平滑筋における PKC 活性の変動と転移反応について細胞分画法、蛍光顕微鏡、共焦点レーザー顕微鏡を用いて画像解析を試みた。細胞分画法からカルバコール (CCh) 適用後、細胞質から形質膜を主体とした分画ばかりでなく、収縮蛋白や小胞体を多く含む分画にも PKC が転移することが認められた。単離細胞およびミンズ標本に PKC 蛍光標識化合物 Fim-1, Fim-1 diacetate を蛍光プローブとして生細胞中に取り込ませ、PKC の動態を画像化した。細胞個々の状態により、局在部位の異なること、細胞によっては PKC にもオシレーション様の蛍光強度の変化が観察され、SYTO 17 で核酸染色をして二重染色法を観察すると、核に PKC の蛍光強度の高い細胞では CCh (0.1 μM) 作用後約 3 分では核周辺に PKC が局在するようになった。多用な経路における種々の産物が *in vitro* で PKC を活性化することと考え合わせると、複数の限られた種類の PKC が微妙に異なった細胞内局在や刺激に伴う変化の存在が生細胞を用いることにより明らかになった。

4. カーボンファイバー法による単離心室筋細胞の Stretch

本郷賢一, E. White, C. H. Orchard (慈恵医大, 内科第四・Department of Physiology, University of Leeds)

心臓収縮力の長さ変化による調節機構は、Frank-Starling の法則として良く知られており、これまでに多細胞摘出心室筋標本を用いて検討されているが、単一心筋細胞での報告は殆どない。本研究では、細いカーボンファイバー (CF) を用いラット単一心室筋細胞の Stretch による収縮変化と細胞内 Ca²⁺・Na⁺ 濃度及び膜電流系の変化を観察した。直径が 12 μm の CF を用い 2 本のトランスデューサー (single fibre: 1mm; double fibre: 0.5mm) を作成し、単離ラット心室筋細

胞の両端に装着し、電気刺激による細胞収縮をモニターしながら CF の操作により Stretch を行う。Stretch により収縮には、瞬時の増大とそれに続くゆっくりとした増大 (slow phase) の二相性の変化が認められた。Fura-2 を用いて測定した細胞内 Ca 濃度 (Ca transient) は、Stretch 直後の収縮増大時には変化しなかったが、slow phase ではピークの増大が認められた。しかし、Stretch により拡張期 Ca 濃度に有意な変化は見られなかった。収縮の時間経過は、Stretch 直後に有意に延長したが、slow phase には有意な変化は見られなかった。SBFI を用いて測定した細胞内 Na 濃度には、Stretch により有意な変化は認められなかった。穿孔パッチクランプ法により測定したカルシウム電流は、Stretch 直後の収縮増大時に有意な変化を示さなかった。以上の結果より、Stretch 後の収縮増大には拡張期細胞内 Ca 濃度・Na 濃度及び Ca 電流の関与はあまりないものと考えられた。

5. 筋原繊維の短縮に伴う熱産生

大野哲生 (慈恵医大, 第一生理)

筋肉の収縮中のエネルギー収支を考える上で、エネルギー入力と考えられる ATP 分解経過と、エネルギー出力である仕事量と熱産生経過を測定することは必要である。近年、ATP 分解と仕事についてはかなり詳細に測定されているが、熱測定については熱産生量に対してそのセンサーの感度が低いため測定は全標本で行われていた。全筋を用いた測定では、膜の興奮から張力発生までの細胞内で起こる全ての化学反応による熱産生が含まれているためアクチオシンの相対的滑りに直接関わる熱産生を詳細に測定することは困難である。エネルギー収支を詳細に議論するためには高次構造を保ったアクチオシンつまり筋原線維標本を用いて測定する必要がある。現在センサーの感度が高くなっているため、ストップフロー装置を用いて筋原線維標本の収縮に伴う熱産生の測定を試みている。筋原線維標本では粘性が高いため高速で溶液の混合を行う必要があるが、逆に高速で押すことによって筋原線維の高次構造が壊れてしまう。そこで、混合槽の形状に改良を加え、最適の混合条件を決定した。この装置を用いてウサギの腸腰筋から調整した筋原線維の収縮に伴う熱産生を測定したところ、150 mM KCl, 20 mM MOPS (pH 7.2), 5 mM MgATP, 0.5 mM CaCl₂ の溶液条件で、およそ 6/S の ATP 分解に相当する熱産生が観察された。

6. 骨格筋細胞内 $[Ca^{2+}]$ —張力関係

—生筋とスキンドファイバー—

小西真人, 渡辺 賢* (慈恵医大, 第二生理・第一生理*)

生筋細胞内 Ca 濃度と収縮張力の関係を調べるため, 蛙の前脛骨筋から取り出した単一筋線維に蛍光 Ca 指示薬 fura dextran (分子量約 1 万) を注入し, 細胞内蛍光信号と収縮張力を同時に記録した (16~17°C, 筋節長 2.7~2.8 μm). fura dextran を注入した細胞を β -escin で処理して細胞膜の透過性を高めることにより得た Ca 濃度—蛍光関係をもちいて蛍光信号から細胞内 Ca 濃度を計算した.

細胞外の K 濃度を 20~30 mM に高めるとこにより, K 拘縮中の細胞内 $[Ca^{2+}]$ —収縮関係を得た. この関係を Hill の式であてはめると, スロープ係数 (N) が 3~4, 最大の半分の張力を発生する $[Ca^{2+}]$ (pCa_{50}) が $pCa_{5.8}$ のカーブでフィットすることができた.

筋小胞体の Ca ポンプを抑制する tert-butyl benzohydroquinone (TBQ) 存在下では, 強縮後の弛緩過程が著明に延長した. この遅い弛緩過程中の細胞内 $[Ca^{2+}]$ —張力関係は, 上記 K 拘縮で得られた関係とよく一致した.

この結果から, 生筋細胞内 $[Ca^{2+}]$ —張力関係は, 約 0.7 μM で張力がわずかに発生し, 約 1.6 μM で最大の半分の張力, 約 3.5 μM ではほぼ最大張力に達することが示唆された.

7. コレシストキニン (CCK) -A-receptor 欠損ラットの病態生理

宮坂京子, 増田正雄, ×船越顕博* (東京都老人総合研, 臨床生理部門・国立病院九州がんセンター, 消化器科*)

我々は, Otsuka Long Evans Tokushima Fatty (OLETF) ラットが, 遺伝子の異常により, CCK-A レセプターが先天的に欠損していることを発見した (BBRC, 1994, 1995). 今回, OLETF ラットの機能を正常 (LETO) ラットと比較することにより, CCK-A レセプターの役割を検討した. 膵腺房を用いた in vitro の実験では, LETO ラットでは, CCK-8S では 10^{-10}M を, CCK-8NS では 10^{-7}M を最大とするアミラーゼ分泌反応がみられたが, OLETF ラットでは, いずれも分泌反応がみられず, アミラーゼ分泌は, A レセプターを介して生じているものであり, B レセプターは無関係であることが確認された. In vivo にお

いても同様であったが, 血中 CCK 値も両種間に差がみられなかった. トリプシンインヒビター投与による膵栄養効果も, OLETF ラットではみられなかった. 膵内分泌に関しては, in vivo, in vitro とも, OLETF ラットでは CCK-8S によるインスリン分泌増強反応がみられなかった. LETO ラットでは, 脳室 CCK-8S の投与で餌摂取量が減少したが, OLETF ラットでは減少がみられなかった. Open Field test では, OLETF ラットでは, locomotion の減少, rearing の増加が認められ, LETO ラットに A レセプター拮抗剤を投与すると, OLETF ラットの行動異常と類似した. よって, CCK-A receptor は, 膵, 内外分泌機能を調節し, 脳内においては, 摂食と行動を制御すると結論された.

8. 体性副交感神経反射の解析

鈴木敦子 (東京都老人総合研, 自律神経部門)

我々の研究室では, 会陰部皮膚刺激が副交感神経を介して反射性に膀胱の興奮性 (膀胱低容量時) および抑制性 (膀胱高容量時) 反応を起こすことを麻酔動物で明らかにしてきた. 今回はこの反射の機序を明らかにすることを目的として, 麻酔ラットを用い会陰部を支配する皮膚神経を電気刺激し, 膀胱支配の副交感神経 (骨盤神経) から反射電位を記録した. 膀胱低容量時には, 会陰部支配の皮膚神経 (posterior cutaneous nerve of thigh) を有髄線維が十分に興奮する 2V で電気刺激すると, 潜時約 40 ms の興奮性反射が誘発され, 刺激を無髄線維も十分に興奮する 20V に強めると, さらに潜時約 130 ms の興奮性反射が誘発された. これらの反射は頸髄で脊髄を急性に切断しても見られた. 膀胱高容量時には, 会陰部皮膚神経の 2V 刺激では潜時約 40 ms の興奮とそれに続く抑制反応が, 20V 刺激ではさらに潜時約 130 ms の興奮とそれに続く抑制反応がみられた. 脊髄切断後には抑制反応は消失し, 興奮反応だけが誘発され, この興奮反応の潜時は中枢無傷時とほぼ同じだった. 以上の事実から, 膀胱低容量時には会陰部皮膚神経刺激により骨盤神経に脊髄性の興奮性反射が誘発され, 高容量時には脊髄性の興奮に加えて上脊髄を介する抑制性反射が出現することが明らかになった.

9. 体性感覚刺激による脾臓 NK 活性の調節

木村敦子 (東京都老人総合研, 自律神経部門)

近年, 異物を認識し反応する免疫担当細胞の機能に

ついて、細胞レベルや分子レベルでの解析が著しく進んできている。この免疫の働きは、外部からの刺激、例えば乾布摩擦などの刺激により影響を受けることが経験的に知られている。我々の研究室では、皮膚や筋などへの体性感覚刺激が自律神経を介して反射的に内臓機能を変化させる機序を明らかにしてきており、免疫機能についても皮膚刺激が反射的に何らかの影響を与える可能性が考えられる。そこで交感神経が密に分布することが知られている脾臓を選び、麻酔ラットを用いて、皮膚刺激が脾臓のNK活性に及ぼす効果とその機序を調べた。麻酔ラットの後肢皮膚に侵害性刺激を加えると、脾臓交感神経活動は亢進し、脾臓のNK活性は低下した。脾臓交感神経の切断により皮膚刺激によるNK活性低下反応は消失した。したがって、皮膚刺激が反射的に脾臓交感神経を亢進させ、脾臓NK活性の低下が起ることがわかった。この皮膚刺激の効果は、後肢だけでなく前肢や腹部など種々の部位の刺激により観察された。急性脊髄切断ラットでは、前肢や後肢の皮膚刺激ではNK活性に反応はみられず、腹部の刺激ではNK活性の低下がみられた。以上の事実より、皮膚刺激により脾臓NK活性に交感神経を介して皮膚-免疫反射が起ること、この反射には、脳を介する反射と脊髄性の反射が存在することが明らかになった。

10. 漢字 vs 絵による視覚誘発電位

×下山一郎, 中島祥夫(千葉大, 医, 第一生理)

ヒトの言語/絵認知の視覚誘発電位を右きき男6名(31.6+/-8.1才)から頭部外基準21chで記録(0.05~30Hz)した。刺激は、具体物想起容易漢字30(犬猫等=H), 具体物想起困難漢字30(無何等=L), Hに対応した絵=P, 円の4種を用いた。

正中頭頂葉中心に刺激後90m秒に正ピークが、160m秒に後頭葉側頭葉後部中心に負ピークが、500m秒付近に正ピークが見られた。90m秒の正ピークでは後頭葉で円によるピークが大きく、160m秒の負ピークは、円によるピークが後頭葉で小さく前頭葉で大きかった。他3種の刺激では頭部後半で大きかった。

500m秒付近の正ピークでは前頭葉で円によるピークが早かった。[H]と[P]の差は、100m秒頭頂葉中心に一連の差が、250m秒をピークに頭頂葉後頭葉側頭葉後部と400m秒以降に別の差が見られた。[L]と[P]の差は100m秒頭頂葉中心に一連の差が、200m秒中心に後頭葉側頭葉後部と600m秒以降に別の差が見られた。[H]と[L]の差は200m秒より450m秒に頭部後半広範囲に一連の差が見られた。

漢字/絵認知とも100m秒から広範囲におこり、250m秒付近では活動差が頭部後半広範囲で見られ、言語/絵活動とも両半球の活動が推測された。

11. 横隔神経活動における Short-term Potentiation(STP)の発生機序

林 文明, 福田康一郎(千葉大, 医, 第二生理)

頸動脈洞神経の反復刺激により刺激終了後約5分間続く横隔神経活動の振幅の増加が誘発される(STP, AJP: R811-R819, 1993)。STPの背景となる神経生理学的機序を明らかにするための以下の実験結果を得た。1) ウレタン麻酔, 非動化, 両側迷走神経切断ラットにて、延髄の呼吸中枢から横隔神経核へ投射する下行路(d-path)の反復刺激によりSTPが模倣できた。2) 脊髄化動物にて、Paired-pulseによりd-pathを刺激すると2つの成分からなる誘発電位が横隔神経活動に認められた(I及びII波: 平均潜時は0.8と2.1ms)。Paired-pulse間隔の短縮や100Hzの反復刺激によりII波は著増したが、I波は変化しなかった。3) 横隔神経細胞はd-path刺激による潜時により、それぞれI波とII波に対応するA型(潜時<1.1ms)とB型(潜時>1.6ms)に分類しえた。B型では、Paired-pulse間隔の短縮によりd-path刺激による誘発EPSPの振幅が増大した。反復刺激後に誘発EPSPの振幅の増加、約1分間持続する緩徐な脱分極(平均最大脱分極8mV)やBistability(平均4mV脱分極し、過分極電流の通電により元の膜電位に戻る)が観察された。4) 以上の結果は横隔神経活動におけるSTPがd-pathから横隔神経細胞に至る神経回路で発生するという仮説に合致した。

【編集後記】

今年はず想像外に寒い冬になり、特に大雪に見舞われた日本海側や北国の会員の皆様はご苦労されたことと思います。このところ温かい陽気で、関東地方では梅が開花し、春の訪れも近いようです。春といえば、福井で開かれる第73回日本生理学会大会も間近になりました。福井医大の大会事務局では、インターネットを利用した日本生理学会大会のホームページを開設され、大会の案や全演題の予稿集を公開されています。私も最近拝見しましたが、大変便利に出来ていて印象的でした。皆様も是非一度ご覧になることをお勧めします。高度情報化時代を迎え、学会のあり方も様変わりして来ました。これからいろいろと新しいアイディ

アが生まれてくることでしょう。しかし、一番大切なのは、こうしたマルチメディアに乗せる内容である研究成果であることは言うまでもありません。

会員の皆様とのコミュニケーションを容易にするため、日本生理学会の事務局でも電子メールを開設すべく目下備準中です。また、本誌の編集委員会でも日本生理学会のホームページを作っているいろいろな情報をいち早く会員の方々へお伝えする手段を作ったらどうだろうかと話合っております。編集委員会宛のご意見やご希望がこうしたメディアを通じて寄せられ、会員相互の情報交換が進むよう学会としても努力していきたいと考えております。

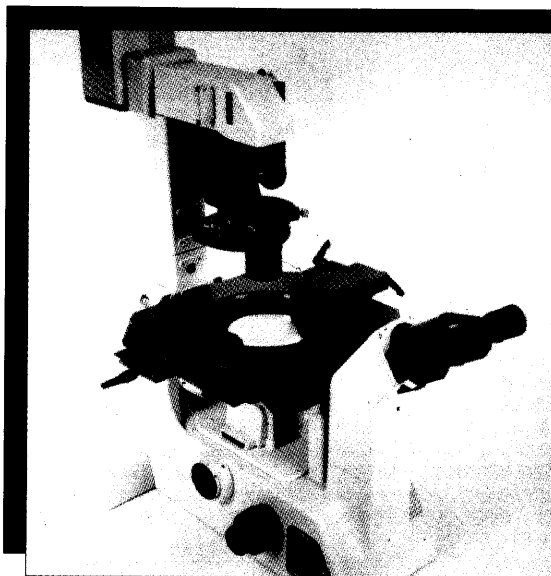
(金子章道)

— 編 集 委 員 —

金子章道(幹事)	野村正彦	野崎修一
中島祥夫	佐々木成人	高松研
青木 藩(北海道)	土居勝彦(東北)	工藤典雄(関東)
松波謙一(中部)	福田 淳(近畿)	片岡喜由(中・四国)
山下 博(九州)		

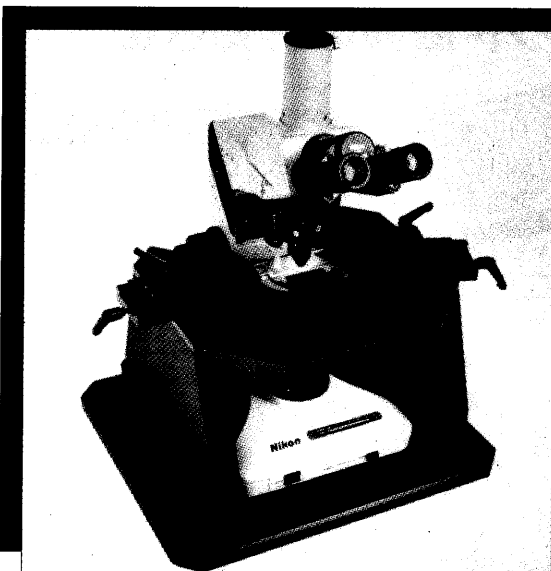
Meridian Manufacturing 社製

ORBITAL STAGE SYSTEMS



倒立顕微鏡用

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



鏡筒上下式正立顕微鏡用

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



日本総代理店

ショーシンEM株式会社

〒444-02 愛知県岡崎市赤浜町蔵西1番地14(ショーシンビル)

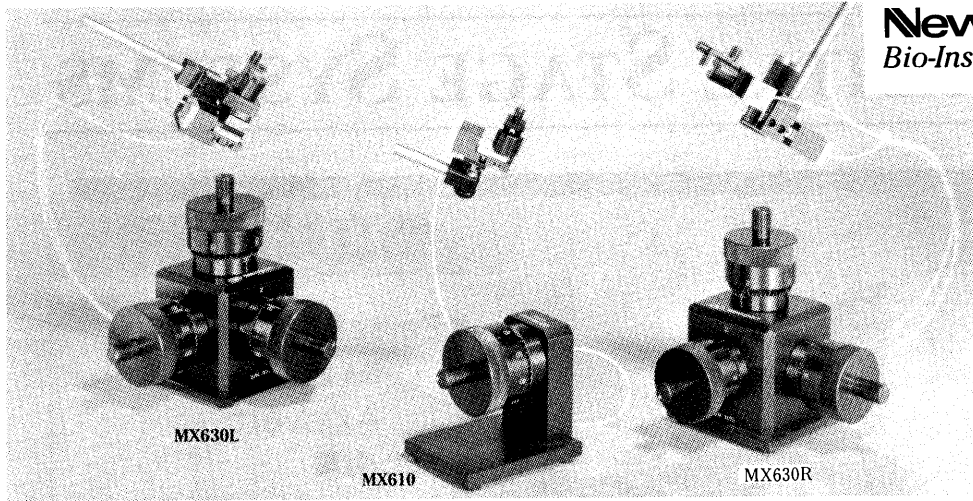
TEL. (0564) 54-1231番(代表)

FAX. (0564) 54-3207番

水圧式マイクロマニピュレータ



Newport.
Bio-Instruments



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

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

信頼と実績のヴァリエーション。直販システムで一層お求めやすくなりました。
WPI 製品ダイレクト販売のお知らせ!

円高差益還元 大巾プライスダウン

弊社は米国WPI社の日本総代理店として、長年研究者の皆様にとにかくご愛顧を頂いてまいりました。このたび、今春のWPI日本支社開設に伴い同社との協力・連携のもと、ユーザーの皆様にダイレクト販売を実施させていただきます。中間マージンカット・円高差益還元により、従来定価を大幅に下回る特別ご奉仕価格は、必ずや皆様にご満足頂けることと存じます。(直販価格はWPI英文カタログに記載)
何卒この機会に、ぜひ弊社のダイレクト販売システムをご活用下さいませようご案内申し上げます。詳細は弊社WPIダイレクト販売課までお気軽にお問合わせ下さい。

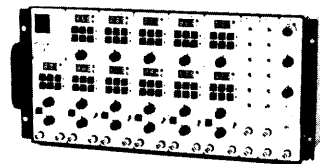


●DAM-80 差動型前置増幅器
ヘッドフープ付き
¥221,800

- 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
- 電極ベレット ¥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。



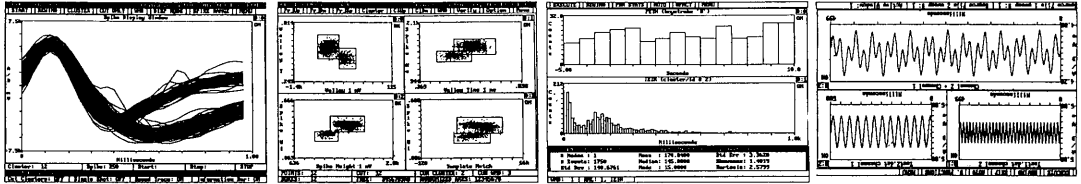
バイオリサーチセンター株式会社

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項目もの値を抽出し、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。
- 波形成値抽出 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

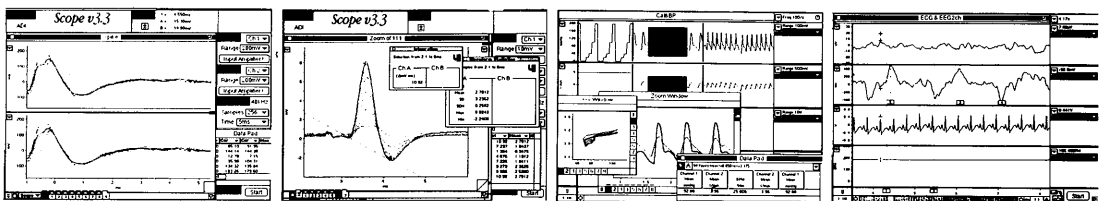
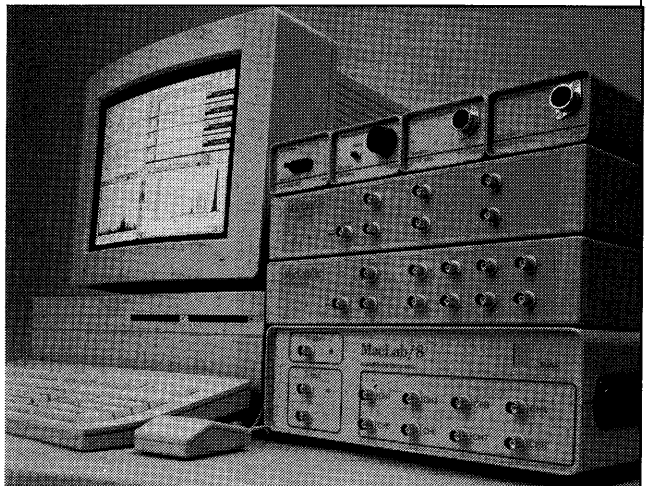
MacLab/2e/4e/8

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



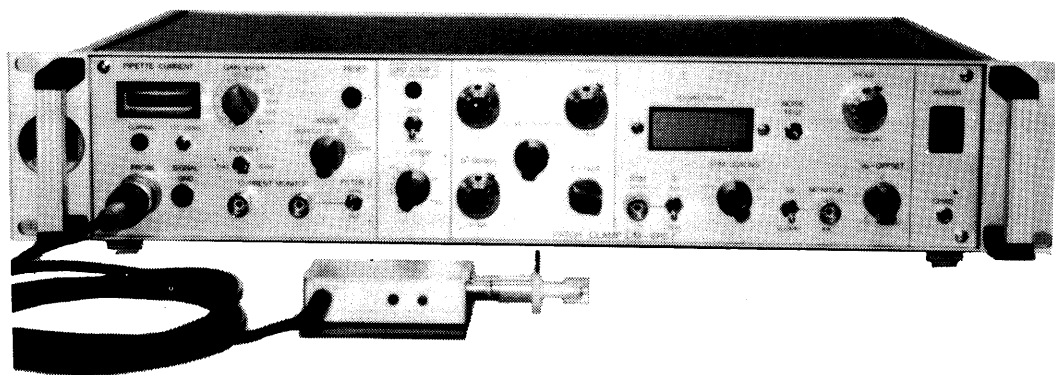
バイオリサーチセンター株式会社

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

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

西独リスト社

パッチクランプシステム *EPC-7*



■ 主な性能

- ノイズレベル (rms) : 0.05pA 1KHz, 0.30pA 3KHz
- 電流レンジ : 200pA (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
- R_s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 愛知県岡崎市赤浜町蔵西1番地14ショーシンビル
TEL(0564)54-1231(代) FAX(0564)54-3207

東日本地区発売元

(Physio-Tech)

株式会社 フィジオテック

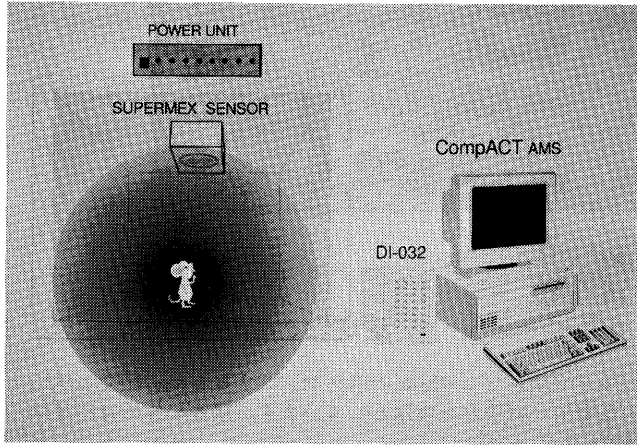
〒101 東京都千代田区内神田2丁目6番11号 若松ビル2F
TEL(03)3258-1641(代)

ローコスト・マルチチャンネル型
自発運動量測定システム

SUPERMEX[®]

スーパーメックス

PAT. P



- 小動物(マウス、ラット、マーモセット等)から大動物(イヌ、サル、ブタ)まで自発運動量を測定することができます。
 - お手持ちの飼育ケージ、ラック用ケージ、代謝ケージ等を使用することができます。
 - マイクロダイアリシスやテレメータ測定等との並行測定を行なうこともできます。
 - 感度調整等の煩わしい操作は不要です。
 - 従来の自発運動量測定装置に比べ少ない予算で多チャンネルのシステム構成が可能です。
(価格例: 4chシステム ¥1,500,000)
8chシステム ¥2,100,000)
 - 標準付属品のインターフェースで32ch、オプションで最大80chまでのデータを集録し、付属の運動量解析プログラムCompACT AMS及び周期計算プログラム(オプション)にてデータの集録、解析を行なうことができます。
 - 測定場所から離れた所でデータ集録を行なうことも可能です。
 - 増設は簡単にでき、費用も安価です。
 - 自発運動量に飲水量を加えた測定システムも用意されております。
- ★特許出願済みにつき類似品には充分ご注意ください。

Muromachi

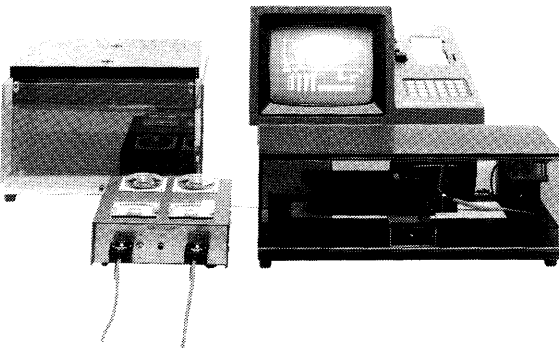
総発売元 **室町機械株式会社**

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

ラット・マウス用 非観血式血圧測定装置

MODEL MK-1100

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



■特長

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

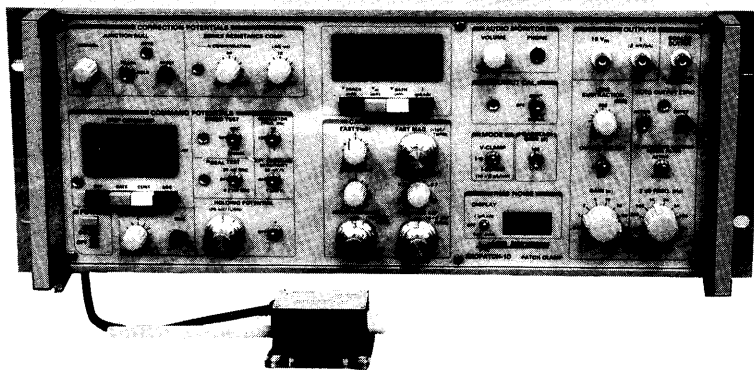
Muromachi

総発売元

室町機械株式会社

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

AXOPATCH-1D PATCH CLAMP



低ノイズ ハイスピード 安定性と信頼性

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

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

CV4ヘッドステージは下記の3種類があります。

AXOPATCH-1Dの特徴

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

AXOPATCH-1Dのヘッドステージ

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

CV4 0.1/100 大きなセル (200nA; >>100pF) のwhole-cellクランプとsingle-channel電流を記録するためのものです。50GΩと50MΩ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50GΩと50MΩのフィードバック抵抗でコントロールできます。(大きなセルのヘッドステージと同型です)

西日本地区発売元



INTER MEDICAL CO., LTD.

株式会社 インターメディカル

本社/〒461 名古屋市東区葵一丁目25番1号
TEL (052) 937-7060 FAX (052) 937-5423
TLX 444-3603 WDMEC J

東京支社/〒157 東京都世田谷区柏谷三丁目32番16号
製造営業部 アビタシオン千歳鳥山102号
TEL (03) 5384-6387 FAX (03) 5384-6487

東日本地区発売元

(Physio-Tech)

株式会社 フィジオテック

〒101 東京都千代田区内神田2丁目6番11号
若松ビル2F

TEL (03) 3258-1641 (代)

マイクロC

ドーパミン、エピネフリン、ルピネフリン、セロトニン、アスコルビン酸などの存在をひろく、IN VIVO及びIN VITROにて検知します。

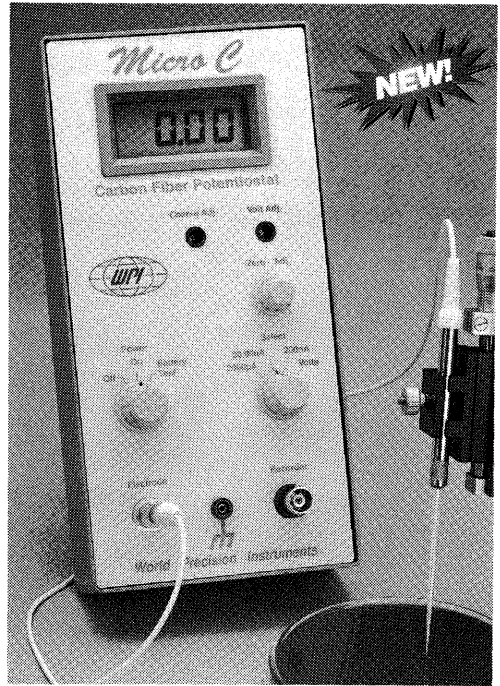
■仕様

検知方式 : 2電極方式
均衡電圧 : プラス 0~1V可変
電流範囲 : 200pA、20nA、200nA
表示 : LCD
レコーダ出力 : 0~2.0V
反応速度 : 1ミリ秒以下
電極ケーブル長 : 1.5m
電源 : 9Vアルカリ電池×2

マイクロC用マイクロ電極 各5本入 ¥10,000

CF30-1 カーボンファイバー 30 μ (径)×1mm
CF8 -1 カーボンファイバー 8 μ (径)×1mm
CF30-05 カーボンファイバー 30 μ (径)×0.5mm
CF8 -05 カーボンファイバー 8 μ (径)×0.5mm
CD -10 カーボンファイバー 10 μ (径)

1996年用カタログが出来ました。ご希望の方は下記迄ご請求下さい。



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

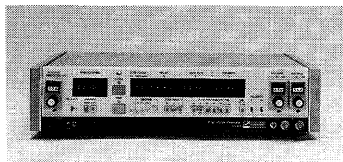
パッチ/ホールセルクランプ用増幅器 CEZ-2400

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。

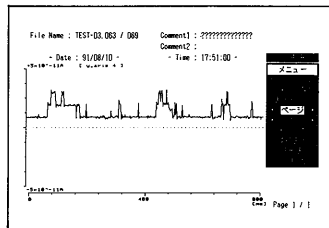
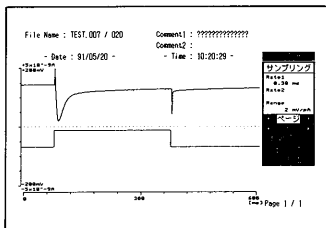
ステップパルスジェネレータ SET-1201

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

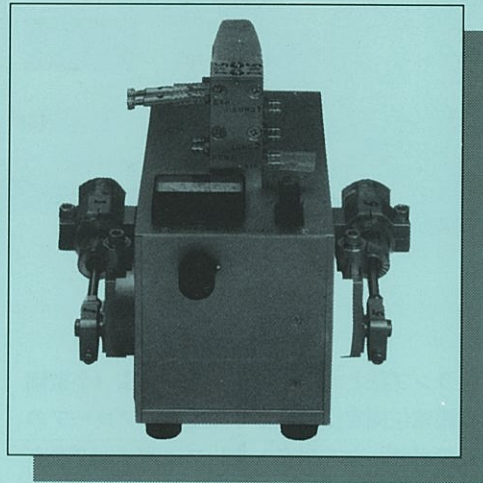
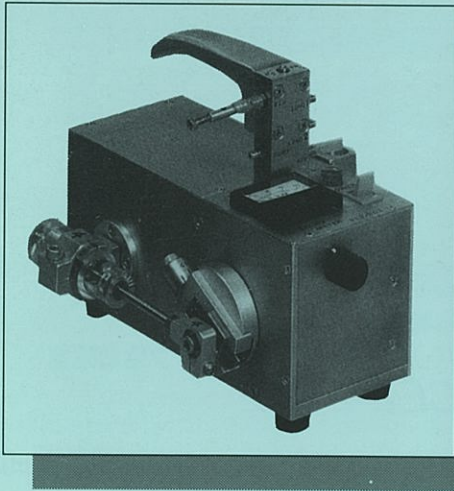
パッチクランプ法及びホールセルクランプ法により測定された微小イオン電流のデータを、パーソナルコンピュータ（PC-98シリーズ）を使用して、保存・解析するためのプログラムです。



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宛ご請求下さい。

KN-55 KN式 小動物人工呼吸器



特長

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

仕様

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

本体寸法
W95×D215×H120mm

※実用容量はストローク20mmですので異なります。

理化学器械・基礎医学器械・実験動物飼育機械器具・薬学研究器械・医科器械一般



株式会社 夏目製作所

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

編集兼
発行人

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
 金子章道

印刷者
印刷所

〒九九七
 山形県鶴岡市山王町一四一四
 平田
 鶴岡印刷株式会社 正

発行所

〒一一三
 東京都文京区本郷三丁目一〇
 布施ビル四階
 日本生理学会

振替
FAX
A X 話
替
〇〇三三
〇〇三三

定価
〇一八六
〇一八六
三〇九四
円