

日本

生理学

雑誌

JOURNAL OF THE PHYSIOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

59巻 1号 1997

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8年度(1996)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〕 入来正躬：生理学のあり方について…………… 1

INFORMATION…………… 3

CALENDAR…………… 8

RECORDS…………… 9

生理学実験技術法講座

シリーズ「VEC-DIC 法実験技術講座」

富重道雄・楠見明弘：

一粒子追跡法と光ピンセット法による膜タンパク質の動態解析…………… 11

学会抄録

第76回北海道医学大会生理系分科会…………… 23

第29回東北生理談話会…………… 33

第89回近畿生理学談話会…………… 41

第48回日本生理学会中国四国地方会…………… 50

第47回西日本生理学会…………… 63

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

日本生理誌

J. Physiol. Soc. Japan

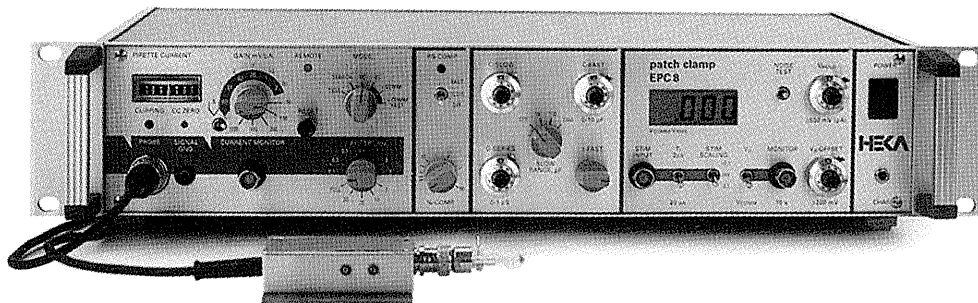
日本生理学会

HEKA EPC-8

Windows 95. NT対応

New!!

パッチクランプ・システム



EPCシリーズの最新作・EPC-8は、名器EPC-7の
正統な後継器として、数々の進歩を刻みました。

- 従来からご要望の多かったホールド電圧のレンジを $\pm 500\text{mV}$ まで、オフセット補正電圧を $\pm 200\text{mV}$ まで、それぞれ大幅に拡大しました。
- ヘッドステージを、EPC-7の2抵抗型からEPC-8と同等の3抵抗型へグレード・アップ。測定レンジを拡大し、大容量の細胞(1000pF)にも対応します。
- 7ポール/12ステップの高性能フィルタを新設。
- ファースト・カレント・クランプやダブルトリプル・パッチにも対応。
- 専用のインターフェイス+ソフトの追加により、パルス・ジェネレーションに始まる一連のデータ収集・解析をコンピュータ上で実行可能。

さらにゲイン、モード、フィルタのスイッチなどをソフト上から遠隔操作できます。


ソフトは、新たにWindows対応版もリリース。

☆フル・コンピュータ・コントロールのEPC-8もいっそう完成度を高め、ますます円熟。



~~~~ 詳しい資料をご請求ください ~~~~

HEKA社 日本総代理店  
EPCシリーズ 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シリーズ 東日本総発売元

  
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1996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1997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A4の白紙を用い、横160mm、縦230mm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B5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ォ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。JJJ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)  $\beta$ -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. 黒島辰汎 (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. 黒島辰汎 (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 シュプリンガー・フェアラー東京* 374-402
12. 黒島辰汎 (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 special 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 8 年度 (1996) 論文表題集申込み案内

日本生理学雑誌編集委員会

1997年4月末日を以ってご提出願います論文表題集は、1997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お願いします。

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 8 年度 (1996) 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 8 年度 (1996) 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、1997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、1996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<sup>ふりがな</sup>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8年度(1996)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] 生理学のあり方について (入来正躬) ..... 1

**INFORMATION**

|                                                       |   |
|-------------------------------------------------------|---|
| 財団法人タカノ農芸化学研究助成財団 平成9年度研究助成対象者募集要領.....               | 3 |
| 千里ライフサイエンス技術講習会 第9回 「生体画像の取得と応用」.....                 | 3 |
| 平成8年度文部省重点領域研究 公開シンポジウム<br>チャンネルとトランスポータの構造・機能協関..... | 4 |
| 「第3回生理学女性研究者の集い」のお知らせ.....                            | 4 |
| Heart Symposium Okayama '97.....                      | 5 |
| 第21回日本リンパ学会総会のご案内.....                                | 5 |
| 第12回神経組織の成長・再生・移植研究会学術集会.....                         | 6 |
| 第3回バイオメカニクス世界会議.....                                  | 6 |
| 事務局から 日本生理学会会費払込みのお願い.....                            | 7 |

**CALENDAR**

|               |   |
|---------------|---|
| 主な学会開催日程..... | 8 |
|---------------|---|

**RECORDS**

|                             |    |
|-----------------------------|----|
| 平成8年度第3回日本生理学会教育委員会議事録..... | 9  |
| 賛助会員一覧.....                 | 10 |

**生理学実験技術法講座**

シリーズ「VEC-DIC 法実験技術講座」

富重道雄・楠見明弘：

|                                   |    |
|-----------------------------------|----|
| 一粒子追跡法と光ピンセット法による膜タンパク質の動態解析..... | 11 |
|-----------------------------------|----|

**学会抄録**

|                        |     |
|------------------------|-----|
| 第76回北海道医学大会生理系分科会      | 23  |
| 第29回東北生理談話会            | 33  |
| 第89回近畿生理学談話会           | 41  |
| 第48回日本生理学会中国四国地方会      | 50  |
| 第47回西日本生理学会            | 63  |
| 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

## 生理学のあり方について

山梨医科大学

入来正躬

生理学は一般的な辞典では次のように説明されている。「生理学は生体又はその器官・細胞などの機能を研究する学問である」(広辞苑)。あるいは「生命現象を物理的・化学的手法によって研究する生物学の一分野、狭義には物理的方法による部門の生物物理学をさす。昔は生物学と区別する傾向にあったが、生物学の発展に伴い、生態学や形態学などと対置される分野となった」(小学館国語大辞典)。

医生物学の中で古典的には、次のように分りやすく説明されていた。「生体の構造を研究するのが解剖学あるいは形態学であり、生体の機能を研究するのが Physiology である(この場合 Physiology は、生体機能学という意味から生機学と訳されていた)。そして生機学には、物理的手法を用いて研究する生理学と、化学的手法を用いて研究する生化学とがある」。

しかし、現在は研究の進展、特に学際的研究の飛躍的な進展によって、形態と機能による区別も、物理的手法と化学的手法という手法による区別も、ともにほとんど不可能に近い。

現在では生理学を簡明に定義することは不可能であり、かえって誤りを招くおそれがあるとの意見が強い。そこでまずあらためて生理学の特徴について述べてみたい。

(1) 生理学の特徴の一つは、heterogeneity(異質性)にある。生理学には、対象も、手法も、それぞれ異なった多様な分野が含まれている。対象によって動物生理学、植物生理学、あるいは人体生理学などに分かれる。異種類の生物を比較する場合は比較生理学といわれる。また注目する生活活動のレベルによって、細胞生理学、組織生理学、器官生理学などに分けられる。対象とする機能の種類によって消化生理学、循環生理学、呼吸生理学、生殖生理学、発生生理学、神経生理学、筋生理学などに分けられる。

このような異質性をもった生理学を、簡明に定義することは非常に困難であろう。

(2) しかし生理学の目的とするものは“機能”の解明という点では一致している。生理学の目的は function(機能)の解明であって、process(過程)の解明ではない。Paul Weis(1947)の見解によれば「われわれは細胞内の物理的または化学的“過程”を、その“機能”について知らなくても解明することが出来る。これはある特定の目的のためには価値あるものであるに違いないが、生理学とはいわれない。この研究は生物物理または生化学と呼

ばれるものであり、生理学というときには、これに加えて、“機能”の解明を目的としていることが必要である。」もちろん分子生物学においても、生化学においても過程とともに機能の解明の研究がなされている。この点からは、生理学が、分子生物学、生化学とは明確に異なった独自の研究領域であるとは言いがたい。しかし生理学では、基本的に重要な、本質的な目的が“機能”の解明であると主張したい。

生理学の将来像を描くためには現在の医生物学的研究の情報を概観し、その中で前述したような特徴をもつ生理学にどのような役割りを期待出来るかを考える必要がある。

万人が認めるように、現代の医生物学的研究が分子生物学にリードされ発展するようになってかなりになる。しかしこれらの研究が分析的であり、process(過程)の解明が主となっていることから、最近では integrative biology の研究の重要さが一方で強調されるようになった。この integrative biology の研究領域こそ、本来生理学の研究の目的とするものであり、生理学の強い関与が期待されている分野である。

しかし、このような研究のすべてを生理学の研究と名づけることも、その成果がすべて生理学会で発表されるようになることも不可能であろう。また医生物学的研究の中で、何が生理学の研究であるかを定義することも不可能であろう。むしろ定義しない方がよいのではないか。“生理学会”あるいは“生理学講座”へのこだわりを考え直す時機に来ているのかもしれない。

医学を学ぶものや、医生物学的研究に携わるものに、他の学問体系では学べない生理学の基本的な考え方を「教育」することは不可欠である。しかし「研究」では“生理学の研究”というわくをこえて発展している医生物学的研究に対する適確な対応が必要とされよう。

# INFORMATION

## 財団法人タカノ農芸化学研究助成財団

### 平成9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(生物資源等)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9年度は、次の要領で助成対象者を募集いたします。

#### 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37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9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9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(190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 0299-58-3805  
タカノフーズ(株)内 財団事務局  
FAX 0299-58-3847

## 千里ライフサイエンス技術講習会 第9回

### 「生体画像の取得と応用」

日時：平成9年2月5日(水)午前10時～午後5時  
場所：千里ライフサイエンスセンタービル9階  
(地下鉄御堂筋線千里中央駅北改札口すぐ)  
主催：(財)千里ライフサイエンス振興財団  
後援：浜松ホトニクス(株)・(株)ニコン  
協賛：(株)千里ライフサイエンスセンター  
内容：

1. 顕微鏡の基礎理論とその応用  
—無限遠光学系の特長と活用方法—

2. 医用画像処理の動向  
—検査・治療への応用—

3. ファイバースコープ顕微鏡によるラット脳  
深部組織の観察

講師：

1. 利光邦夫・大瀧達朗(株)ニコン)
2. 田村進一(阪大医)
3. 山下豊(浜松ホトニクス(株))

定員：30名(先着順)

受講料：3,000円

申込方法：氏名、勤務先、所属、役職、所在地、〒、電話、FAX番号を明記の上、郵便またはFAXで下記宛お申し込み下さい。受講料は申込後に大和銀行千里中央支店普通預金 No. 4601085・財団法人千里ライフサイエンス振興財団口座宛お振込下さい。なお振込者名の前にG9とご記入下

さい。確認次第、領収書兼参加証を送付致します。

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

### 平成8年度文部省重点領域研究 公開シンポジウム チャンネルとトランスポータの構造・機能協関

日時：平成9年2月8日(土) 9時50分～18時  
場所：京大会館 京都市左京区吉田河原町15-9  
TEL 075-751-8311

#### <特別講演>

グルタミン酸受容体の機能と役割

中西重忠(京都大学・医学部)

#### <一般講演>

内向き整流性ポタシウムチャンネルの構造機能連関

久保義弘(東京神経科学研・神経生理)

カルシウムチャンネルとカルシウム放出チャンネルの相互制御分子メカニズム

中井淳一(生理学研究所・液性情報)

増殖因子で活性化されるカルシウム透過性チャンネル

小島至(群馬大学・生体調節研)

小腸及び腎上皮における薬物トランスポータ群の構造と機能

乾賢一(京都大学・医学部)

ATP感受性K<sup>+</sup>チャンネル：ABCタンパクとイオンチャンネルの協関—in vitro, in vivoによる解析

清野進(千葉大学・医学部)

Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>アンチポータの構造と機能における統一性と多様性

土屋友房(岡山大学・薬学部)

膜蛋白質：チャンネルやポンプの立体構造解析

藤吉好則(京都大学・理学部)

チトクロムc酸化酵素におけるプロトン・水・酸素分子チャンネル

月原富武(大阪大学・蛋白質研究所)

参加申し込み：不要

問い合わせ先：京都大学農学部農芸化学科

植田和光

TEL：075-753-6106

FAX：075-753-6104

### 「第3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グループディナーを第74回日本生理学会の折、下記の要領で開きます。今回は関西医科大学教授玄番央恵先生をお迎えして「サルに感謝—随意運動の発現と制御の中枢機序—」についてお話いただき、その後懇談会に移る予定です。参加申し込みは3月10日までに下記へ(葉書、FAX、

E-mailで)。

日時：1997年3月26日(水) 午後6時より

場所：浜松名鉄ホテル (TEL：053-452-5111)  
学会会場より徒歩3分、北側道路をはさんで向い側です。

詳細は、ホームページおよび総合受付の  
掲示板をご覧ください。

会費：6,000円

世話人：亀山良子 静岡県立大学短期大学部  
〒432 浜松市布橋3-2-3

TEL：053-454-4486(内線302)

FAX：053-457-4555

matsuoka@sizcoll. u-shizuoka-ken. ac. jp  
(注意：sizcol "1" の "1" は数字の1です)

## Heart Symposium Okayama '97

### 4-5 April 1997

Sponsored by Okayama University Medical School  
2-5-1 Shikata-Cho, Okayama City  
700 JAPAN

Session I : Cardiac Physiology  
Session II : Cardiovascular Medicine  
Session III : Cardiac Surgery  
Session IV : Cardiac Anesthesiology  
Session V : Pediatric Cardiology  
Session VI : Cardiovascular Biomedical Engineering

Honorary President :

Futami Kosaka, MD.

President Okayama University

President :

Hiroyuki Suga, MD.

Professor & Chairman Department of Physiology II

Vice Presidents :

Tohru Ohe, MD.

Professor & Chairman Department of Cardiovascular Medicine

Shunji Sano, MD.

Professor & Chairman Department of Cardiovascular Surgery

Masahisa Hirakawa, MD.

Professor & Chairman Department of Anesthesiology & Resuscitology

Yoshiki Seino, MD.

Professor & Chairman Department of Pediatrics

Secretariat :

Kiyoshi Morita, MD.

Department of Anesthesiology & Resuscitology

TEL & FAX ; 086-235-7325 /E-mail ; K-morita@cc. okayama-u. ac. jp

## 第21回日本リンパ学会総会のご案内

会期：平成9年6月5日(木)、6日(金)

会場：看護総合センターながの

長野県松本市旭2丁目11番34号

(TEL 0263-35-0421)

プログラム

I. 特別講演

1. 毛細リンパ管—炎症反応と免疫系をつなぐ幹線道路  
鹿取 信(北里大学名誉教授)

2. ガス状モノオキシドによる腹部臓器微小循環機能の調節

末松 誠(慶応大学医化学助教授)

II. シンポジウム(指定)

1. リンパ学の最近の進歩

大谷 修(富山医科薬科大学第1解剖教授)

牛木辰男(新潟大学第3解剖教授)

2. リンパ学と免疫学の連繫

山下 昭(浜松医科大学第2解剖教授)

三浦総一郎(慶応大学消化器内科講師)

## 3. リンパ学と腫瘍学の連携

ーリンパ行性転移の機序とその臨床応用ー

愛 甲 孝(鹿児島大学第1外科教授)

島 田 達 生(大分医科大学看護学科教授)

## Ⅲ. 一般演題

リンパ系の基礎的及び臨床的研究に関するもの  
演題募集：一般演題を募集いたします

- (1) 申込資格 日本リンパ学会会員に限ります。  
非会員(共同演者を含む)は前もって本会に入会  
して下さい。入会に関する連絡先は右記の通り  
です。

日本リンパ学会事務局

〒160 新宿区新宿6-1-1

東京医科大学第1解剖学教室

TEL 03-3351-6141 内線231

- (2) 演題申込先 〒390 松本市旭3-1-1

信州大学医学部第1生理学教室

第21回日本リンパ学会総会

会頭 大橋俊夫 宛

TEL 0263-37-2597(ダイヤルイン)

FAX 0263-36-5149

- (3) 演題締切 平成9年3月15日(土)(必着)

## 第12回神経組織の成長・再生・移植研究会学術集会

会 期：平成9年6月7日(土)

会 場：京都会場

〒606 京都市左京区岡崎最勝寺町13

TEL 075-771-6051

特別講演：シナプスと神経回路形成におけるカドヘ  
リンの役割

竹市雅俊教授

(京都大学理学研究科生物物理学)

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。

原則として、一般口演とポスターを午前、  
午後それぞれ2分して行う予定。

演者、共同演者共に本研究会会員に限ります。  
未入会の方は右記にご連絡の上、入会  
手続きをお取り下さい。

演題申し込み用紙をお送りいたします。

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

演題申込み締切り：平成9年2月末日

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：

〒606 京都市左京区吉田近衛町

京都大学 医学研究科 生体構造医学

第12回学術集会

世話人 井出千束

TEL 075-753-4332 FAX 075-751-7286

## 第3回バイオメカニクス世界会議

(The Third World Congress of Biomechanics)

1990年にカリフォルニア大学サンディエゴ校で開  
催された第1回会議、1994年にアムステルダム自由  
大学で開かれた第2回会議に引き続いて、頭記第3  
回会議が下記の概要で我国において開催されます。

会員各位の積極的なご参加を歓迎致します。

主催：日本学術会議、日本バイオメカニクス研究連  
絡協議会

後援：日本生理学会，北海道，札幌市他20学会，学術団体

期日：1998年8月2～8日

会場：北海道大学(札幌市)

内容：

1. Cardiovascular Biomechanics
2. Respiratory Biomechanics
3. Bone and Hard Tissue Biomechanics
4. Skeletal and Muscular Biomechanics
5. Joint Biomechanics
6. Spine Biomechanics
7. Head Biomechanics
8. Oromaxillofacial Biomechanics
9. Sensory Organs Mechanics
10. Cellular and Molecular Biomechanics
11. Biorheology
12. Biofluid Dynamics
13. Biothermodynamics and bioheat conduction
14. Connective Tissue Biomechanics

15. Biomaterials and Medical Devices
16. Artificial Organs and Implants
17. Biomechanics and Rehabilitation
18. Physical Activities and Sports Biomechanics
19. Measurement and Analysis for Biomechanics
20. Modeling and Simulation for Biomechanics
21. Animal Biomechanics
22. Others

発表申込締切：1997年11月1日

事務局及び会議案内請求先：

〒560 豊中市待兼山町1-3

大阪大学基礎工学部機械工学科内

第3回バイオメカニクス世界会議事務局

TEL：06-850-6170(林紘三郎)，

TEL：06-850-6181(田中正夫)

FAX：06-850-6171

E-MAIL：hayashi@me.es.osaka-u.ac.jp

tanaka@me.es.osaka-u.ac.jp

(1st Circular は1996年12月より配布する予定です)

## 事務局から

### 日本生理学会会費払込みのお願い

平成9年度会費8,000円をお払込み頂きたくお願いいたします。本号に振替用紙を添付してあります。8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いです。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9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9年度会費8,000円の引落日は，平成9年2月24日(月)ですので銀行口座へのご入金  
は前日までにお願ひ致します。

尚，前年度未納分がある場合は合算して引落させて頂きます。

#### 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<br>(演題締切)                | 名 称                                                                          | 会 場                     | 連 絡 先                                                                                              |
|------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 97. 2. 1<br>(96.10.19)       | 第26回日本心脈管作動物質学会                                                              | 東京：全共連ビル<br>本館4階        | 慶應義塾大学 医学部 内科 林 晃一<br>☎03-3353-1211(2312)<br>FAX：03-3354-7446                                      |
| 97. 2. 5                     | 千里ライフサイエンス技術講習会 第9回<br>「生体画像の取得と応用」                                          | 豊中：千里ライフサイエ<br>ンスセンタービル | 千里ライフサイエンス振興財団<br>技術講習会係<br>☎06-873-2001 FAX：06-873-2002                                           |
| 97. 2. 8                     | 平成8年度文部省重点領域研究<br>公開シンポジウム<br>「チャンネルとトランスポータの構造・機能協同」                        | 京都：京大会館                 | 京都大学農学部農芸化学科 植田<br>☎075-753-6106 FAX：075-753-6104                                                  |
| 97. 2.21                     | 千里ライフサイエンスセミナー<br>「細胞内カルシウム動態と<br>シグナル伝達—その生理と病態」                            | 豊中：千里ライフサイエ<br>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係<br>☎06-873-2001 FAX：06-873-2002                                                 |
| 97. 3.26-28<br>(96.11. 5)    | 第74回日本生理学会大会                                                                 | 浜松：アクトシティ浜松             | 浜松医科大学 生理<br>☎/FAX：053-435-2248<br>E-mail：phys71@hama-med. ac. jp                                  |
| 97. 4. 1- 4                  | 第3回環太平洋脳トポグラフィ会議                                                             | 千葉：新浦安<br>オリエンタルホテル     | ピーエムエスアイジャパン(株)<br>☎03-5275-6991 FAX：03-5275-6985                                                  |
| 97. 5.17-23                  | OHOLE 41 st CONFERENCE<br>PROGRESS IN ALZHEIMER'S<br>AND PARKINSON'S DISEASE | ISRAEL：                 | Abraham Fisher, Ph. D.,<br>Israel Inst Bio Res<br>☎972-8-381603 FAX：972-8-401094                   |
| 97. 6. 5<br>(97. 3.15)       | 第21回日本リンパ学会総会                                                                | 長野：看護総合センター<br>ながの(松本市) | 信州大学 医等部 第一生理 小林<br>☎0263-37-2597 FAX：0263-36-5149                                                 |
| 97. 6. 7                     | 第12回神経組織の成長・再生・<br>移植研究会                                                     | 京都：京都会館                 | 京大 医 生体構造医学 井出<br>☎075-753-4332 FAX：075-751-7286                                                   |
| 97. 6.28                     | 第9回非侵襲脳機能局在研究会                                                               | 東京：東京海運クラブ<br>(永田町)     | 千葉大 医学部 生理 中島<br>☎043-226-2026 FAX：043-226-2028                                                    |
| 97. 6.30- 7. 5<br>(97. 2.28) | XXXIII INTERNATIONAL<br>CONGRESS OF<br>PHYSIOLOGICAL SCIENCES                | St. PETERSBURG：         | Juhani Saari CONGREX P. O. Box<br>35 FIN-00621 Helsinki Finland<br>☎3558-0-752-3611 FAX：752-0899   |
| 97. 8. 2- 8                  | 第3回バイオメカニクス世界会議                                                              | 札幌：北海道大学                | 大阪大 基礎工学部 機械工学 林/田中<br>☎06-850-6170/6181 FAX：06-850-6171<br>E-mail：hayashi@me. es. osaka-u. ac. jp |
| 97. 8.24-30                  | 第14回国際脳波臨床神経生理会議                                                             | フィレンツェ：                 | 日本脳波筋電図学会<br>☎03-3815-0843                                                                         |
| 97. 9.15-19                  | 第5回「NOと生物学」に関する<br>国際会議                                                      | 京都：国立京都国際会館             | 滋賀医大 薬理 岡村<br>☎0775-48-2181<br>FAX：0775-48-2183                                                    |
| 97.10.20-22                  | 3rd ASIAN CONGRESS FOR<br>MICROCIRCULATION (ACM '97)                         | BANGKOK：                | Suthiluk Patumral Ph. D., Dept. Phsio,<br>Fac Med. Chulalongkorn Univ. Bangkok<br>国内連絡先：国循七研 新見    |
| 97.10.22-24                  | 第40回日本神経化学学会大会                                                               | 愛媛：松山市総合<br>コミュニティセンター  | 愛媛大学医学部第一生理<br>☎：089-964-5111(2074)<br>FAX：089-964-0863                                            |

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

## RECORDS

### 平成8年度第3回日本生理学会教育委員会議事録

日 時：平成8年10月26日(土) 午前11:30～午後1:30

場 所：学士会館赤門分館

出席者：高田(浜松医大), 瀬山(広島大), 松田(関西医大), 西野(名市大),  
富田(藤田保衛大), 栗原(慈恵医大), 本間(昭和大)

欠席者：本間(北海道大), 泉井(弘前大), 佐久間(日医大), 野村(埼玉  
医大), 宮崎(女子医大), 赤須(久留米大), 有田(大分医大),  
今永(福岡大)

1. 生理研における生命科学実験技術講習会について
  - 1) 生理研技術トレーニングコースの前に行っている講習会については教育委員会委員全員の参加ではなく、教育委員会全員も含め研究会を構成するよう、生理研と打ち合わせを行う。教育委員会では西野(名市大)が担当する。
  - 2) 技術トレーニングコースに関しては、教育委員会からではなく生理学会として補助金を出し、生理学会員を優先するように要望する。補助金に関しては生理学会幹事に計る。
2. 第74回日本生理学会教育シンポジウムについて
  - 1) 教育シンポジウムの時間は2時間30分。
  - 2) 若手生理学者をいかに育てるかを大学院を中  
心として討論するシンポジウムとする。  
具体的には高田教育委員長に一任する。
3. 日本生理学雑誌の技術講座の連載について
  - 1) 「生理学者のための分子生物学技術講座」は14項目、14人の筆者が決まり、来年度から順次掲載する。
  - 2) 新テーマとして「アナログデータのコンピュータへの取り込みとその後の処理法」をあげ最新のコンピュータ技術を解説する。8人の筆者が内定している。
4. 国際生理学会教育ワークショップについて  
日本からも積極的に参加する旨確認した。教育委員会としての担当は佐久間(日医大)とする。

## 賛助会員一覧

下記の諸団体に賛助会員としてご参加頂きました。ご協力を感謝致します。

- |                  |                         |
|------------------|-------------------------|
| 医学書院             | 株式会社成茂科学器械研究所           |
| 株式会社インターメディカル    | 株式会社南江堂                 |
| 株式会社エイコーサイエンス    | 日本光電九州株式会社              |
| 大塚製薬株式会社         | 日本光電工業株式会社              |
| 助学会誌刊行センター       | 日本電子輸入販売株式会社            |
| キッセイ薬品工業株式会社     | 株式会社パーキンエルマージャパン・アップライド |
| キミタケコーポレーション株式会社 | バイオシステム                 |
| 興和株式会社東京研究所      | 浜松ホトニクス株式会社             |
| 株式会社サトール         | 株式会社フィジオテック             |
| ダイヤモンドカルシステム株式会社 | 株式会社文光堂                 |
| タバイエスベック株式会社     | ホシ伊藤KK                  |
| 鶴岡印刷株式会社         | 丸石製薬株式会社                |
| 帝國製薬株式会社         | 安井茂夫                    |
| 東レ株式会社基礎研究所      | 株式会社ユニサイエンス             |
| トーアエイヨー株式会社      |                         |



## 一粒子追跡法と光ピンセット法による膜タンパク質の動態解析

富重道雄・楠見明弘

(東京大学大学院・総合文化研究科・生命環境科学系)

### I. はじめに

生きている細胞を用いて、細胞内や細胞膜上で機能しているタンパク質の分布や動きを見ることができれば、細胞生物学のたいのむく問題は解決してしまうに違いない。夢のような話だが、都合のよい場合には、タンパク質一分子を標識して、その動きを生きている細胞中で観察するという方法が開発された。一粒子追跡法 (Single Particle Tracking: SPT) とは、細胞膜上の膜タンパク質や脂質をプローブでラベルし、プローブの運動をビデオマイクروسコープを用いて追跡する方法である (図1)。プローブとしては、金コロイド粒子、ラテックスビーズ、蛍光色素の集団が用いられている。一粒子追跡法を用いると、個々の膜タンパク質や脂質について 1 nm レベルの空間精度と 33 ミリ秒の時間

分解能 (あるいは 5 nm の空間精度で 0.2 ミリ秒の時間分解能) で運動を追跡することができる。プローブを細胞内に顕微注入することで、細胞内のタンパク質の動きを追うことも可能である。

一粒子追跡法はおもに膜タンパク質や膜脂質の運動観察に用いられてきた。細胞膜の構造としては、Singer と Nicolson によって提唱された流動モザイクモデルが基本になる。しかし、一粒子追跡法によって得られた知見によって、膜の構造はもっと複雑であり、流動モザイクモデルを大きく見直した新しいモデルを考える必要があるということがわかってきた [1,2]。

SPT を用いると、分子の運動を 1 ~ 数分子のレベルで調べることができる。そのため、同じ種類の膜タンパク質が異なった制御を受けていたり、同一タンパク質が時間によって異なる

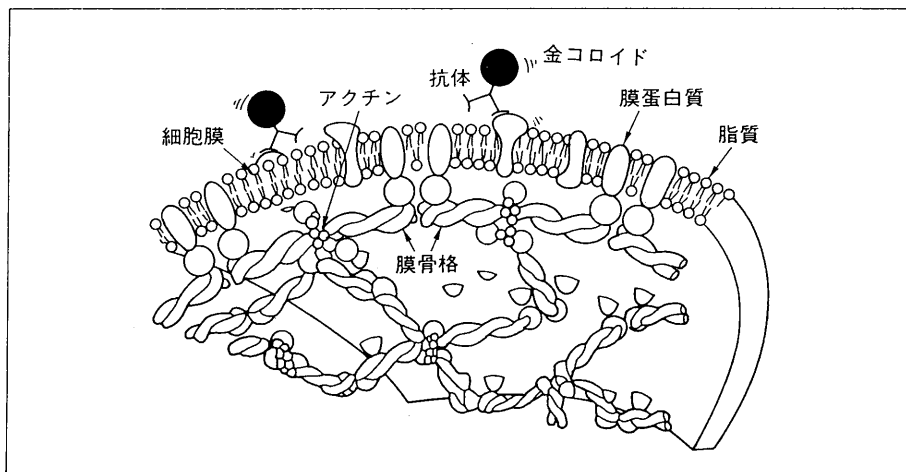


図1. 一粒子追跡法の概略. 直径 20~40 nm の金コロイド粒子を、リガンドや抗体を介して標的タンパク質に結合させる。金コロイド粒子は光散乱能が高いので、ビデオエンハンス顕微鏡法により可視化できる。こうして、生きている細胞で、金コロイドの結合した特定のタンパク質分子の運動を追跡することができる。

制御を受けるといったようすを明らかにすることができる。また、空間分解能はナノメートルレベルであり、膜の微細な構造を反映した膜タンパク質の運動が観察できる。さらに、SPT法は光ピンセット法と組み合わせることが容易であり、それによって、ただ運動を観察するだけではなく、外部から摂動を与えてその影響を見るといったことも可能になった。本稿では、ビデオマイクロスコーピーの応用としての一粒子追跡法について概説し、その適用例として我々の研究室で行った膜タンパク質の運動観察例を挙げる。

## II. 一粒子追跡法の歴史と特徴

寺川氏の総説でも述べられているように、ビデオマイクロスコーピー(ビデオエンハンス顕微鏡法)は生体試料の形態や構造を高解像度・高コントラストで観察することを可能にした。しかし、それでもなおタンパク質1分子をじかに見るというわけにはいかない。そこで、特定のタンパク質の動態を追うために、光散乱能の高いものをマーカーとしてタンパク質分子をラベルし、その複合体を観察するという方法が考えられた。De Brabanderらは、光散乱能の高い金コロイド粒子でレセプタータンパクをラベルして、それをビデオエンハンス顕微鏡法で観察するという、ナノビド顕微鏡法(Nanometer Particle Video Microscopy: Nanovid Microscopy)という方法を開発した[3,4]。彼らはこの方法を用いて、トランスフェリンレセプターの運動などを調べた。

ビデオマイクロスコーピーで直径が40 nmの金コロイドを見た場合、金コロイドの大きさは光の回折限界以下であるので、エアリーディスク(546 nmの光源と開口数1.4の対物レンズを用いた場合、半径は238 nmとなる)の大きさに広がって見える。したがって、エアリーディスクの半径以上近づいた2点を区別することはできない。しかし、金コロイドの重心の位置はきわめて精度よく求めることができる。つまり、分解能は回折限界を超えることはできないが、

検出能はいくらでも上げることができるわけである。Sheetzらは粒子像の相関をとることによって、重心位置をピクセルサイズ以下の精度で求める方法を開発した。彼らは直径190 nmのビーズを用いて1~2 nmの精度で微小管上のキネシンの運動を追跡した[5]。Sheetzらはこの方法を一粒子追跡法(Single Particle Tracking: SPT)と命名した。

それ以降、SPTを用いてさまざまな膜タンパク質、膜脂質の運動が観察されてきたが、その過程で運動の軌跡の解釈に関する問題が提起された。Saxtonは、単純ブラウン運動と、何らかの制御を受けた運動とをきちんと区別するには統計的な解析が必要であることを指摘した[6]。そして、我々は、単純拡散からのずれを表す指標RD(Relative Deviation)を導入し、それを用いて運動のモード分けをする方法を提案し、カドヘリンやトランスフェリンレセプターの運動は4つのタイプの運動に分類されることを示した[7]。

このように一粒子追跡法を実際におこなうには、ビデオマイクロスコーピーによる金コロイドの可視化に加えて、座標決定法や統計的解析にもとづいた運動のモード分類法などが必要とされる。

## III. 一粒子追跡法のシステムと観察方法

### 1) 金コロイドラベルの作製

金コロイド溶液は、15~50 nmの範囲の大きさであれば、くえん酸三ナトリウムによる還元によってサイズのそろったコロイド溶液を簡単に作ることができる[8]。なお、SPTで用いる金コロイドとして、どのサイズのものを選択すべきかについてであるが、金コロイドのサイズが小さくなるほど光散乱能は半径の6乗に比例して小さくなり、SPTで検出できる最小のサイズは5 nmである。しかし、細胞膜上ではバックグラウンドノイズが上昇して見えにくくなることや位置決定の誤差が大きくなることなどのため、通常は20~40 nm程度の大きさのものが使われる。

金コロイドと抗体・リガンドとの結合反応は、ただ混ぜるだけで起こる。その理由は、金コロイド表面は疎水的かつマイナスに荷電しているため、タンパク質と容易に疎水の結合や電氣的相互作用を起こすからである。しかし、安定な金コロイドラベルを作るには、混ぜる際のイオン強度、タンパク質濃度、pHなどをうまく調節する必要がある。金コロイドへの抗体やリガンドの結合法については、くわしい総説がいくつか書かれている[9-11]ので、詳しいことはそちらを参考にさせていただきたい。ここではSPTに特殊な事柄についてのみ触れることにする。

上に挙げた文献に書かれている方法にしたがって金コロイドラベルを作ると、通常は多価のラベルができる。20~40 nm の金コロイド表面に吸着するタンパク質の数は金コロイド粒子あたり50~200個程度(IgGの場合)であるからだ。金コロイド表面に吸着したタンパク質の多くは変性したり、立体障害によって不活性化するので、実際に活性をもつ金コロイド表面の抗体・リガンドはこの数よりも少ないがそれでも一つの金コロイドの価数は高い。このようなラベルを細胞に加えると、ラベルによって複数の膜タンパク質がクロスリンクされて、クラスターを形成してしまう。そうすると、膜タンパク質の並進拡散は見かけ上遅くなってしまう。さらに、クラスター化によってシグナル伝達系を活性化したり、膜骨格の構造変化を引き起こしたりする可能性もあるため、金-タンパク質複合体の結合価をできるだけ一価近くまで引き下げるのが重要である。

金-タンパク質複合体の結合価を下げる方法として、Jacobsonらは、標的タンパク質に対する抗体と非特異的な抗体を適当な比率(30 nm金コロイドの場合には1:20ぐらい)で混ぜ、その混合液を金コロイドと混ぜて反応させることにより、金コロイド表面に吸着した標的タンパク質に対する抗体の量を減らし、結合価を下げた。彼らはこれを paucivalent ラベルと呼んでいる。再構成膜中の fluorescein-PE

(phosphatidylethanolamine)を paucivalent ラベルで標識した場合、通常のラベルを用いた場合に比べて拡散係数が3倍上昇した[12]。

## 2) 試料の準備

我々の研究室では、表皮細胞や繊維芽細胞といった培養細胞や赤血球などの細胞を観察に用いている。培養細胞はカバーグラスの上にまいて培養したものを観察に用いる。浮遊細胞の場合にはポリリシンなどでコートしたカバーグラスの上に固定する。細胞膜が固定されておらずゆらいでいると、レセプターの位置検出の際のノイズの原因になるので、しっかりとカバーグラス上に固定しておく必要がある。

このようにして準備した細胞に、金コロイドラベルを反応させ、特定のタンパク質を金コロイドで標識し、その試料をビデオマイクروسコピーで観察する。観察は生きた状態で行うため、観察時に試料が、バッファーもしくは培地に浸かっている必要がある。我々は、スライドグラス上にビニールテープを貼ってスペーサーとし、その上に細胞の張り付いたカバーグラスを裏返しにしてのせ、その隙間(0.2 mm程度)にバッファーや培地を加えたものをチャンバーとして用いている。四方はパラフィンで密封する。長時間観察を行う場合には、四方を閉じずに一部開けておき、観察の途中で培地を交換することもある。

## 3) ビデオエンハンス顕微鏡法

ビデオマイクروسコピーの手法については、寺川氏の総説やさまざまな本に書かれているのでここでは詳しくは述べない。ここでは、一粒子追跡法の場合に特殊な事柄を中心にして述べることにする[13,14]。

我々の用いている観察システムのブロックダイアグラムを図2に示す[7]。顕微鏡は正立型顕微鏡(Zeiss, Axioplan)で、対物レンズは油浸で開口数1.3の100倍のレンズ、コンデンサーは油浸で開口数1.4のものを用いている。顕微鏡は特別に製作したインキュベーター中に置かれており、温度コントローラーによって試料の温度を一定に保つ。光源は100 W水銀ランプ

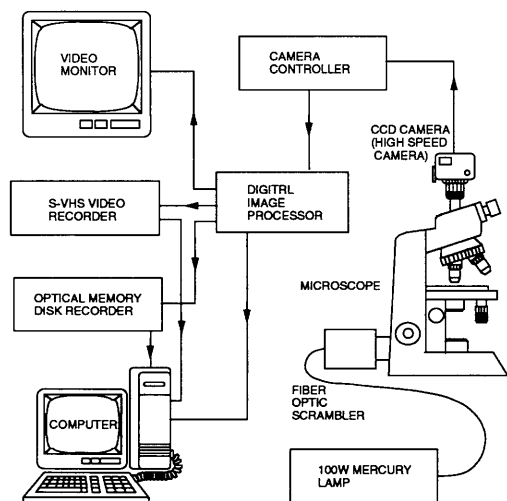


図2. 一粒子追跡法で用いる観察システムのブロックダイアグラム. 光源は100 W 水銀灯の光を光ファイバースクランプラーと546 nmのフィルターに通したものを、CCDカメラ(もしくは高速カメラ)で試料像を得て、アナログエンハンス処理を行った後、必要に応じて画像処理装置でコントラストを増強し、追記型光磁気ディスクレコーダーもしくはビデオレコーダーに記録する. 33ミリ秒ごとに記録した各フレームの静止画像を、画像解析装置を用いてデジタル化し32回積算した後、パーソナルコンピュータにデータを送って、各フレームにおける金コロイド粒子の座標を計算する. 座標の計算には、Gellesらの方法を用いる[5].

を546 nmのグリーンフィルターに通したものをを用いている. なお、コンデンサーターレット、アナライザー、ポラライザーのセットを変更することによって、明視野観察と微分干渉観察との間を10秒程度で切り替えることができるようになっている.

顕微鏡の画像はCCDカメラ(浜松ホトニクス, C2400-77), もしくは高速カメラ(PHOTRON, FASTCAM-ultima)で撮像し、カメラコントローラーでアナログコントラスト増強を行った後、この画像をデジタル画像処理装置(浜松ホトニクス, DVS-3000)に送り、バックグラウンド減算とデジタルコントラスト増強を行う. なお、ローリングアベレージは時間分解能を損なうので通常は行わない. このようにしてコントラスト増強した画像をモニターで観察し、また、光ディスク、もしくはビデオテープ

に録画する.

モニターで見ると、前述したように、金粒子は半径240 nm程度の円盤として見える. 2つの粒子が240 nm以上近づくとその2つを区別することはできないが、スポットの光強度が上昇するため、いくつかの粒子が重なっているかを知ることができる. したがって、観察の際にはそのようなコントラストの高い粒子はのぞいて、一粒子のコントラストのものだけを追うようにすればよい. なお、観察時の倍率については、座標計算の際に粒子の像がある程度大きくないと位置決定の精度が悪くなるので、粒子像(直径約500 nm)がモニター上で10~20ピクセル程度になるように総合倍率を上げている.

我々は、顕微鏡の観察方法として、明視野法と微分干渉法の2種類を用いており、状況に応じて使い分けている(図3). それぞれに利点欠点があり、微分干渉法の利点は、細胞や細胞内の形態が見やすいことであるが、細胞内のオルガネラや顆粒と金とを判別しにくくなる欠点がある. 一方、明視野法では、細胞の形態が見にくくなるが、金はコントラストよく見えるので、細胞内のオルガネラや顆粒と金とを判別しやすくなる. そこで、金コロイドかどうかを確認したい場合には明視野に切り替え、細胞の構造を同時に見たい場合には微分干渉に切り替えるといった使い分けをおこなっている.

観察の時間分解能はCCDカメラを使った場合には、ビデオレート(33ミリ秒)であるが、高速カメラを使用することによって時間分解能を上げることができる. SPTの時間分解能を上げる方法としては、その他に、四分割フォトダイオードを用いる方法がある[15].

#### 4) 座標計算

座標計算のアルゴリズムは、まず対照となる粒子の像をメモリに記憶しておき、各フレームの画像と対照像との相関をとってゆき、相関の一番強くなる場所を粒子の中心の座標とする、というものである. 光ディスクもしくはビデオテープに録画した画像を、画像処理装置(イメージングテクノロジー社, 151イメージングプロ

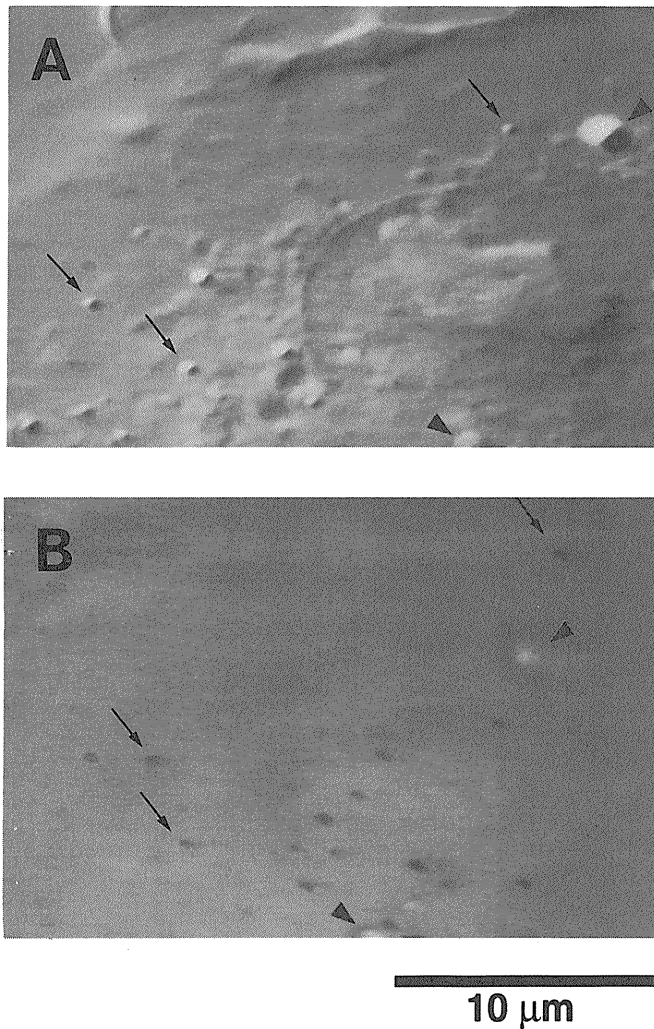


図3. IgG Fc 受容体(Fc $\gamma$ R)に対する抗体の Fab 断片を吸着させた直径 40 nm の金コロイド粒子によって標識された CHO 細胞(Fc $\gamma$ R の cDNA をトランスフェクトした細胞). A はノルスキー微分干渉像, B は同視野での明視野像. 矢印は対応する金コロイド粒子, 矢じりは対応する細胞内顆粒を示す. 微分干渉像では核やオルガネラなどの細胞内の膜構造が確認できる. B の画像は A の画像の約30秒後に取られた画像であり, その間に金コロイド粒子は拡散して移動している.

セッサ)でデジタル化し, 電気的ノイズを減らすために, 32回積算した後, データをコンピュータに送り, 各フレームにおける金コロイド粒子の重心座標を計算する. 計算は Gelles らの方法[5]にもとづいて我々の研究室で作成したプログラムを用いて行っている. 我々のシステムでの, 金コロイド粒子の座標決定の精度は, 画面水平方向に 1.8 nm, 垂直方向に 1.4 nm であ

り, Sheetz らのシステム(ただし彼らの場合は 190 nm のビーズ)とほぼ同じである.

なお, 画像をデジタル化しコンピュータ上で重心計算するという一連のプロセスを33ミリ秒以内に行うことができれば, 観察中の粒子の位置をリアルタイムで決定することが可能になる. 最近の PCI バスに対応した画像ボードで転送速度の速いものが市場に出てきたので,

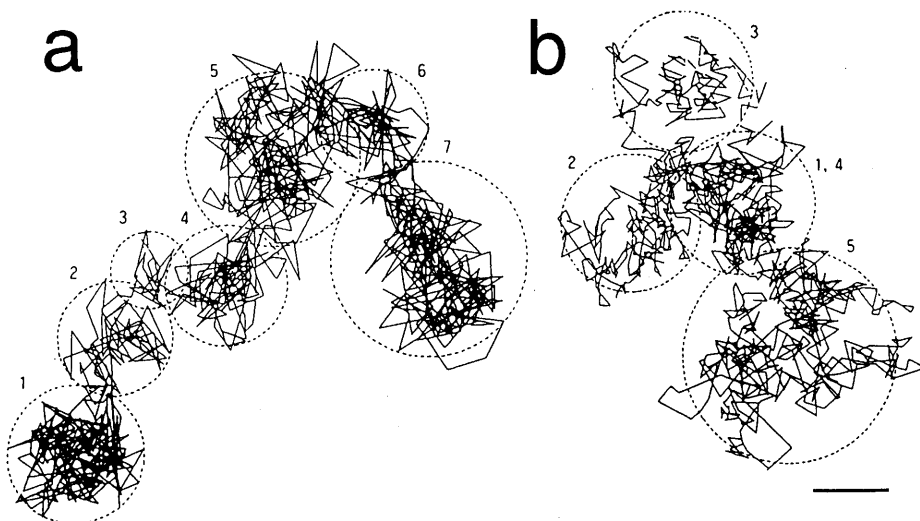


図4. 一粒子追跡法によって測定された膜タンパク質の運動の軌跡. NRK 細胞上のトランスフェリン受容体の330秒間の運動の軌跡. トランスフェリン受容体がドメイン間を移動して隣接するドメインに移っていく様子が明らかになった. 点線は予想されるドメイン構造で, 数字は粒子が移動した順序を示す. Bでは1で示したドメインに粒子がまた戻ってきた. バーは500 nm.

我々は, リアルタイムで座標を決定するシステムも開発した. これによって, 実験を行いながら即座に粒子の運動の軌跡を確認することができる.

このようにして求めた金コロイド粒子の運動の軌跡の例を図4に示す[16]. これはNRK細胞上のトランスフェリン受容体の330秒間の運動である. この図では点が混みすぎるのを避けるために1/10の頻度で座標点を打ち, それを直線で結んで表示してある. この結果は, 細胞膜は, 膜タンパク質にとっては, 微小領域にコンパートメント化されていることを示唆するものである. このような結果は, 他の細胞でも,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase, カドヘリン, アニオンチャネルバンド3などの膜タンパク質について見られた. 我々は, このような細胞膜のコンパートメント構造(膜骨格フェンスモデル)は, 細胞膜構造の一般的な特徴であると考えている.

#### IV. 運動のモード分類

一粒子追跡法を用いて膜タンパク質の運動を観察すると, 同じ種類のタンパク質でも粒子に

よって運動形態が異なり, さまざまなタイプの運動をしていることがわかる. あるものは自由拡散をしていたり, あるものはある領域の内部に制限されているような運動をしたり, あるものは一方向に直線的に輸送されているような運動をしたりする.

これまでのSPTによる膜タンパク質の運動観察の結果から, 膜タンパク質の運動にはいくつかの運動モードが存在することが知られている: 単純ブラウン運動(Simple, 図5B), 方向性をもった拡散運動(Directed, 図5C), ある領域内部に制限された拡散運動(Confined, 図5D), 領域間をつぎつぎとホップしていく運動(Intercompartmental Hop, 図4), 弾力的なひもにつなぎとめられた状態での拡散運動(Tethered), 全く動かないもの(Stationary, 図5A). これらの運動モードは平均二乗変位の時間に対するプロットが互いに異なるので, 統計的に見分けることができる(TetheredとConfinedの区別は困難なことがある). 図6に示すように, 理論的には, Simpleは直線(図6a), Directedは放物線(図6b), Confinedと

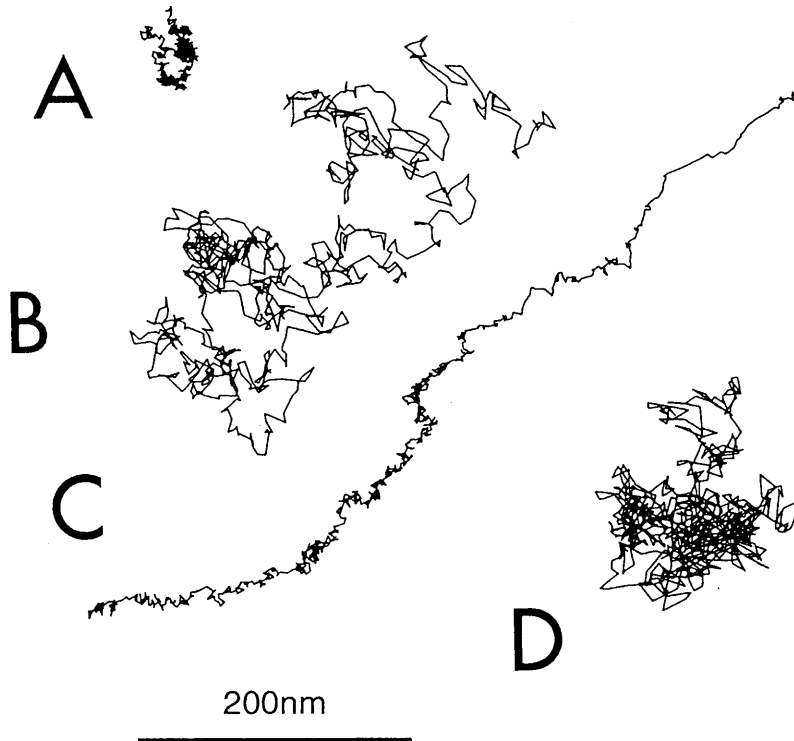


図5. カドヘリン分子のさまざまなタイプの運動. F細胞上のカドヘリン分子の30秒間の運動の軌跡. カドヘリン分子の運動はこの4つのタイプに分類された. 運動のモードはそれぞれ, Aは Stationary, Bは Simple, Cは Directed, Dは Confined.

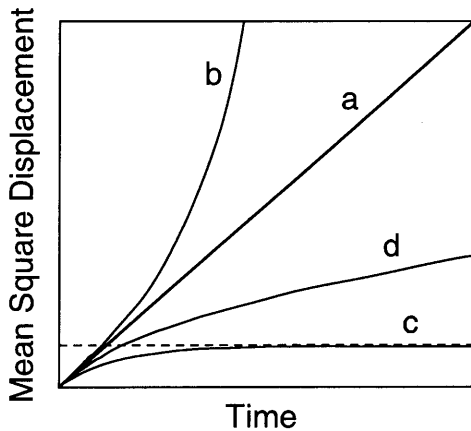


図6. 平均二乗変位の時間に対するプロット. 運動の形態によって, プロットが異なる. 単純ブラウン運動をしている場合 (Simple) には, aのように直線になる. 方向性をもった拡散運動をしている場合 (Directed) には, bのように放物線になる. ある領域内部に制限された運動をしている場合 (Confined) には, cのように頭打ちの漸近線になる. さらに, 何らかの障害物存在下で広い範囲を拡散していく場合 (Anomalous, または Intercompartmental Hop) には dのように aとcの中間のプロットになる.

Tethered は頭打ちの曲線 (図 6 c), Intercompartmental Hop は速い立ち上がり後に緩やかな直線のつづく曲線 (図 6 d) になる. さらに, 実験で得られた平均二乗変位のプロットを, これらの理論式でフィッティングすることによって, 拡散係数, および, Directed の場合にはドリフト速度, Confined の場合には制限範囲, Tethered の場合にはバネ定数, Intercompartmental Hop の場合には制限範囲とホップの頻度が求められる [7,17-19].

図5に, マウス培養ケラチノサイトのF細胞上のカドヘリン分子の典型的な運動の軌跡を示す. 図5のCやDのような運動は単純ブラウン運動であるとは考えにくい. しかし, シミュレーションで単純ブラウン運動の軌跡を生成すると, たまにこのような軌跡が生み出されることもある. しかし, それは確率的に非常にまれにしか起きない. したがって, 単純ブラウン運動

であるか否かを決定するには、統計的な判断基準が必要である。我々は膜タンパク質の運動の分類わけの基準として、RD (Relative Deviation) というパラメータを次のように定義した[7]。

$$RD(\Delta t) = \frac{MSD(\Delta t)}{4 \cdot D_{micro} \cdot \Delta t}$$

RD( $\Delta t$ )は、単純ブラウン運動からの相対的な偏差をあらわす。ある領域内部に制限された拡散運動(Confined)の場合には1よりも小さくなり、方向性をもった拡散運動(Directed)の場合には1よりも大きくなる。実際には、コンピュータシミュレーションで単純ブラウン運動の軌跡をランダムに発生させ、そのRDの分布の上下2.5%を与えるRDの値をそれぞれ $RD_{max}$ 、 $RD_{min}$ とした。そして、実験データから計算したRDの値が $RD_{max}$ より大きければ方向性をもった拡散運動(Directed)に、 $RD_{min}$ より小さければある領域内部に制限された拡散運動(Confined)に、その間であれば単純ブラウン運動(Simple)に分類した。

この分類法にもとづいて、細胞の自由表面上のカドヘリンの運動を分類したところ[7]、低カルシウム濃度(50  $\mu$ M)で培養した細胞(脱分化状態にあるケラチノサイト)では、Directedが37%、Confinedが30%であった。しかし、通常のカルシウム濃度(1.8 mM)で培養した細胞(分化状態のケラチノサイト)では、Directedが2%、Confinedが64%となり、運動形態が大きく変化することがわかった。低カルシウム条件下ではカドヘリンは細胞間接着をおこさず、すべてが自由表面上にある。この時、多くのカドヘリンは細胞骨格に結合して、方向性のある運動を示すということらしい。

## V. 光ピンセットと一粒子追跡法の併用

最近では、一粒子追跡法単独ではなく、光ピンセット法と組み合わせた実験がよく行われるようになった[20,21]。方法は簡単で、顕微鏡に落射照明用もしくはカメラ用のポートが開いていれば、そこから近赤外の連続光レーザービームを入射し、対物レンズでビームを集光して粒

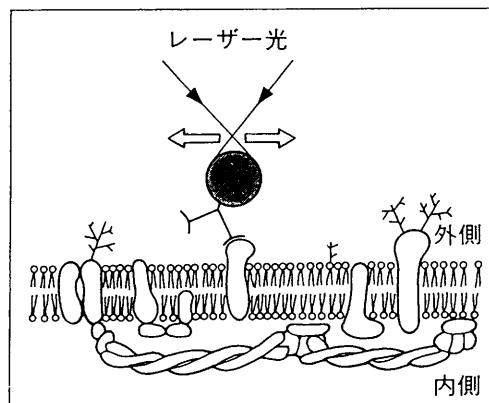


図7. 光ピンセット法の概略。光ピンセットによって金コロイド粒子を捕捉し、細胞膜に沿って膜タンパク質を動かすことを示す模式図。

子に当てればよい。金コロイド粒子は光ピンセットでの捕捉力が強いので、金コロイド粒子を光ピンセットで捕捉して、特定の膜タンパク質を膜中で牽引することができる(図7)。その応答を一粒子追跡法で追うことにより、膜タンパク質と細胞骨格との相互作用を、直接に観察することが可能になったわけである。

光ピンセット法は、1986年にAshkinによって初めて実用化された[22,23]。一本のレーザー光を対物レンズを用いて集光すると、焦点付近で強い電場勾配が生ずる。電場中にある誘電体粒子には分極が誘導され、粒子は、電場の強い方向、すなわち、焦点の方へ引き寄せられ、焦点付近で安定に捕捉される。光ピンセットにより、ラテックス、シリカ、金などの微粒子のほか、細胞や細胞内オルガネラなどを捕捉し、動かすことが可能である。光ピンセット法については、Svobodaらによって書かれた非常によい総説[24]があるので、詳しいことはそちらを参考にさせていただきたい。ここでは、二つの応用例を示すにとどめる。

一つ目の適用例を図8 A, Bに示す。これは、光ピンセットを膜面上で2  $\mu$ m移動(走査)して、その後また原点にまで戻したときの、光ピンセットで捕捉されたトランスフェリン受容体の運動の軌跡である[25]。微視的な拡散係数が大きい受容体(1.5  $\times 10^{-10}$  cm<sup>2</sup>/s以上)につい

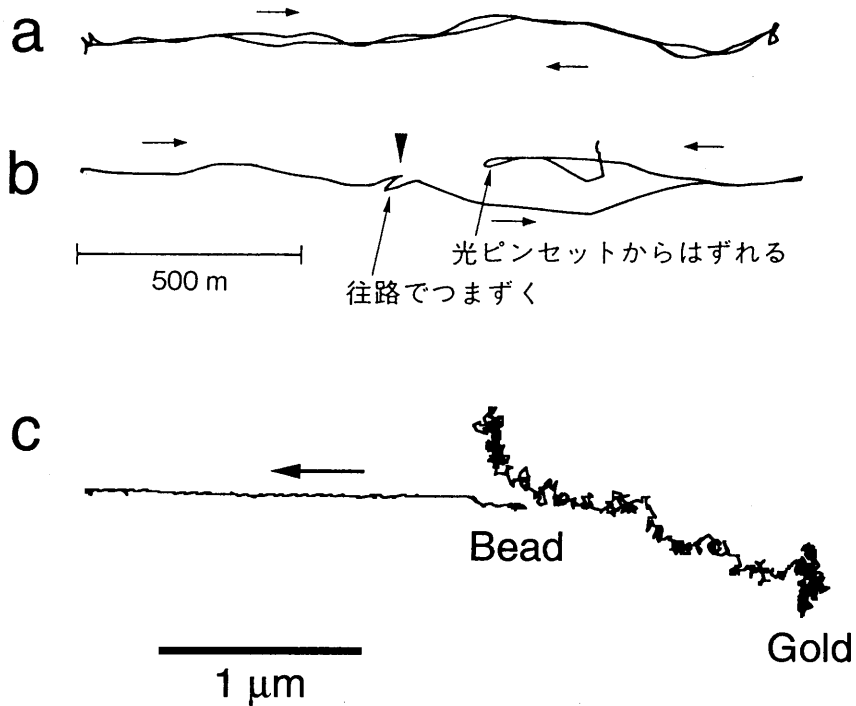


図8. 光ピンセットの適用例. AとBの実験では, 金コロイド-トランスフェリン受容体複合体を光ピンセットで左から右へと  $2\ \mu\text{m}$  動かした後, 右から左へと動かして開始点へ戻っている. Aの実験では, 金コロイド-受容体複合体は光ピンセットの動きに追従して, 往復する. Bの実験では, 往路は完全に追従したが, 復路で複合体は光ピンセットから外れた. 外れた付近の往路の軌跡を見ると, 往路でも同じ障害物らしきものに当たっていることがわかる. Cの実験では, 膜骨格(Bead)を光ピンセットで引っ張ったときの, 同じ膜上のバンド3(Gold)の動きを見ている. これらのバンド3は膜骨格には結合しておらず, ホップしながら広い範囲を運動(Intercompartmental Hop)している. それにもかかわらず, 膜骨格を引っ張ると, このバンド3分子も同じ方向に引きずられてゆく. これはバンド3の細胞質部分と膜骨格との間に立体障害が存在することを示す.

では,  $0.25\ \text{pN}$  の力で引っ張ると, 光ピンセットの走査の端まで(この場合は  $2\ \mu\text{m}$ )追従することが多く(往路), そこから走査の開始点まで光ピンセットを移動すると(復路), それにも追従してくる(図8 A). しかし, 捕捉力を弱くして  $0.05\ \text{pN}$  にすると, 往路の走査中でも復路の走査中でも, 受容体は光ピンセットから逃げるが多くなる. 図8 Bに示したように, 復路で逃げた場合に逃げた場所の近くの往路の軌跡を見ると, 往路でもつまづいている場合(矢印)が多く見られた. これらは, 膜骨格フェンスモデルを支持するものである.

もう一つ適用例を上げる. 図8 A, Bではレセプターを強制的に移動させることにより,

フェンスのような構造によって制限されていることを示したが, こんどは制限している方の膜骨格を光ピンセットで動かしたときに, レセプターの動きに影響が見られるかどうかを調べた(図8 C). 表面に赤血球のバンド3に対する抗体をたくさん吸着させた直径  $1\ \mu\text{m}$  のラテックスビーズを赤血球ゴースト膜に結合させた. 30%程度のバンド3は膜骨格に結合しているので, このラテックスビーズはバンド3を介して膜骨格に結合している. このラテックスビーズを光ピンセットで引っ張ると最大で  $10\sim 20\ \text{pN}$  の力(レーザー強度  $100\ \text{mW}$  の場合)を膜骨格に加えることができる. さらに, 赤血球膜の別の部位にあるバンド3を paucivalent 金コロイ

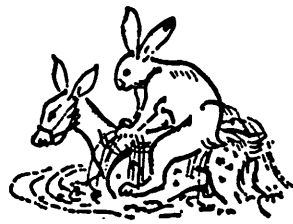
ドラベル(少数の抗バンド3 Fab が結合してある)で標識した。ここで示したバンド3は、膜骨格に結合しておらず、ホップを繰り返しながら拡散運動をしている。図8Cは、ビーズを引っ張って膜骨格ネットワークを変形させたときの、これらのバンド3分子の運動を示したものである。膜骨格を引っ張ると、バンド3は拡散しながらも同じ方向へ引っ張られた。これは、バンド3の細胞質部分が膜骨格におつかつて、その内部に運動が制限されていることを直接的に示すものである。

このように、光ピンセット法を用いることにより、特定の膜タンパク質分子を観察して、さらに、動かしてみることができるようになった。つまり、光ピンセットの利用により、系に攪乱を加え、それに対する応答を観察すること、相互作用の力を直接測定すること、が可能になったわけである。タンパク質一分子を観察して、操作する、といった手法が、細胞生理学における分子間相互作用の解明に大きく役立つものと期待している。

#### 参 考 文 献

- 1) Jacobson, K., Sheets, E. D. & Simson, R.: Revisiting the fluid mosaic model of membranes. *Science*. **268**: 1441-1442, 1995.
- 2) Kusumi, A. & Sako, Y.: Cell surface organization by the membrane skeleton. *Curr. Opin. Cell Biol.* **8**: 566-574, 1996.
- 3) De Brabander, M., Geuens, G., Nuydens, R., Moeremans, M. & de Mey, J.: Probing microtubule-dependent intracellular motility with nanometre particle video ultramicroscopy (nanovid ultramicroscopy). *Cytobios.* **43**: 273-283, 1985.
- 4) De Brabander, M., Nuydens, R., Geuens, G., Moeremans, M. & de Mey, J.: The use of submicroscopic gold particles combined with video contrast enhancement as a simple molecular probe for the living cell. *Cell Motil. Cytoskeleton.* **6**: 105-113, 1986.
- 5) Gelles, J., Schnapp, B. J. & Sheetz, M. P.: Tracking kinesin-driven movements with nanometre-scale precision. *Nature*. **331**: 450-453, 1988.
- 6) Saxton, M. J.: Lateral diffusion in an archipelago: single-particle diffusion. *Biophys. J.* **64**: 1766-1780, 1993.
- 7) Kusumi, A., Sako, Y. & Yamamoto, M.: Confined lateral diffusion of membrane receptors as studied by single particle tracking (nanovid microscopy): effects of calcium-induced differentiation in cultured epithelial cells. *Biophys. J.* **65**: 2021-2040, 1993.
- 8) Frens, G.: Controlled nucleation for the regulation of the particle size in monodisperse gold suspensions. *Nat. Phys. Sci.* **241**: 20-22, 1973.
- 9) De Mey, J.: Colloidal gold probes in immunocytochemistry. In: *Immunocytochemistry. Practical Applications in Pathology and Biology*. Ed. Polak, J. M. & van Noorden, S. Wright PSG Bristol, U. K. pp. 82-111, 1983.
- 10) Roth, J.: The colloidal gold marker system for light and electron microscopic cytochemistry. In: *Techniques in Immunocytochemistry*, Vol. 2. Ed. Bullock, G. R. & Petrusz, P. Academic Press, New York. pp. 217-284, 1983.
- 11) Leunissen, J. L. M. & de Mey, J. R.: Preparation of gold probes. In: *Immuno-Gold Labeling in Cell Biology*. Ed. Verkleij, A. J. and Leunissen, J. M. CRC Press. pp. 3-16, 1989.
- 12) Lee, G. M., Ishihara, A. & Jacobson, K. A.: Direct observation of Brownian motion of lipids in a membrane. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **88**: 6274-6278, 1991.
- 13) De Brabander, M., Geerts, H., Nuydens, R. & Nuyens, R.: Detection of gold probes with video-enhanced contrast microscopy: nanovid microscopy. *Am. J. Anat.* **185**: 282-295, 1989.
- 14) 山本睦也, 佐甲靖志, 楠見明弘: ナノメートル計測による細胞接着レセプター・カドヘリンの動態の解析. *Cell Science.* **7**: 400-407, 1991.
- 15) Kamimura, S. & Kamiya, R.: High-frequency vibration in flagellar axonemes with amplitudes reflecting the size of tubulin. *J. Cell Biol.* **116**: 1443-1454, 1992.
- 16) Sako, Y. & Kusumi, A.: Compartmentalized structure of the plasma membrane for receptor movements as revealed by a nanometer-level motion analysis. *J. Cell Biol.* **125**: 1251-1264, 1994.
- 17) 富重道雄: 一粒子操作・追跡による赤血球膜裏打ちネットワークの機能の解析: 弾性的変形能と膜内在性タンパク質の運動制御機能. 東京大学大学院総合文化研究科広域科学専攻修士論文, 1995.
- 18) Balogh, N., 辻 明彦, 佐甲靖志, 楠見明弘: Detection of rapid intercompartmental hop diffusion. *生物物理*, **36**(suppl.): S 24, 1996.
- 19) Balogh, N., Tsuji, A., Sako, Y. & Kusumi, A. 投稿準備中, 1996.
- 20) 鈴木直哉, 木下一彦: 光ピンセット. *生体の科学*, **44**: 159-165, 1993.
- 21) 佐甲靖志, 富重道雄, 藤原敬宏: 光ピンセット法とその細胞膜研究への応用. *ファルマシア*. **32**: 271-275, 1996.
- 22) Ashkin, A.: Trapping of atoms by resonance

- radiation pressure. *Phys. Rev. Lett.* **40**: 729-732, 1978.
- 23) Ashkin, A., Dziedzic, J. M., Bjorkholm, J. E. & Chu, S.: Observation of a single-beam gradient force optical trap for dielectric particles. *Opt. Lett.* **11**: 288-290, 1986.
- 24) Svoboda, K. & Block, S. M.: Biological applications of optical forces. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **23**: 247-285, 1994.
- 25) Sako, Y. & Kusumi, A.: Barriers for lateral diffusion of transferrin receptors in the plasma membrane as characterized by receptor dragging by laser tweezers: fence versus tether. *J. Cell Biol.* **129**: 1559-1574, 1995.



## 第76回北海道医学会生理系分科会

日 時：平成8年9月14日(土) 9:00~16:42

会 場：北大電子研講堂(2F)

当番幹事：北大電子研細胞機能阻止研究分野 小山富康

北海道地方会は北海道医学会の分科会を兼ねて開催され、道内の医学関係者に周知され、参加者を広く呼びかけている。

当番幹事の私、小山は全口演について時計係を勤めながら、発表を拝聴した。科学の進歩に伴って研究科題は益々多岐に亘り、かつ深化していることを感じた。一方で、思わぬ視点からの質問が飛び交うことから、研究の分化はそれなりに総合を生み出しつつあることを感じた。討論時間の短すぎたことが残念であった。また、留学生の流暢な日本語を駆使した立派な発表があり、参会者一同声も出ないほど感心する一幕もあった。

×印は非会員を示す

### 1. 内因性アンギオテンシン(AG II)のラット左室心筋毛細血管網に対する影響

高明, ×謝忠琳, 小山富康(北大, 電子研, 細胞機能)

AG II は生体内でレニン-アンギオテンシン系により産生され、血管の収縮だけでなく、心筋細胞の調節適応に関与していると見られるようになった。しかしこの系に連動してブラチキニンも関与するので内容は明確ではない。この点に関連して本研究では二種類の検討を行った。第一は24週令の脳卒中易発症高血圧自然発症ラット(SHRSP)にアンギオテンシン変換酵素阻害薬、テモカプリルを飲水に溶かして30日間投与した(平均投与量10.6 mg/kg/day)。心筋細胞肥大は抑制され、毛細血管密度は上昇(2365 vs 1855/mm<sup>2</sup>)した。心筋組織への酸素供給能は改善されたと思われる。細静脈性毛細血管の占める割合が増加し(78.0 vs 59.5%)毛細血管の新生は続行していると思われた。第二は、粉末飼料にAG II-T1受容体の拮抗薬TCV-116を混ぜて固形飼料とし、19週令のSHRSPに自由摂餌させて40日後に心筋組織を検討した。阻害薬と同様に肥大の抑制、毛細血管密度の上昇(1988 vs 1487/mm<sup>2</sup>)が認められた。SHRSPの心筋では内因性のAG IIの寄与が大きいと思われる。

### 2. 左冠動脈の一過性虚血は左心室壁の毛細血管を増加させる

×謝忠琳, 高明, 小山富康(北大, 細胞機能)

内因性物質であるバソプレッシンをラットの尾静脈に注射する(0.5~1.0 U/kg)と心電図上にST波の低下が起り数分続く冠動脈の攣縮が想定された。24時間後には免疫抗体法により左室心筋組織に血管増生物

質の一つbFGFの著増することがみとめられた。30日後犠牲死させて左室心筋の薄切片を作り計測すると毛細血管は有意に増加していた。一過性虚血の影響をより直接的に調べるため、人工呼吸下を開胸し、左冠動脈にエルブ針付き細糸を掛けて3分間冠動脈を結紮した後、結紮を解いて閉胸した。40日間飼育した後、迅速断頭して心臓を切り出し検鏡した。対照として結紮以外全て同じ処置を加えたラットを用意した。その結果、対照群に較べて一過性結紮群では心筋毛細血管は著しく増加していた。一過性の虚血は心筋内に毛細血管を増加させると推定した。

### 3. クレンビュテロールの短期間投与がラット心筋および骨格筋の毛細血管網に及ぼす影響

鈴木淳一, 高明\*, ×謝忠琳\*, 小山富康\*(北海道教育大・\*北大, 電子研)

近年、 $\beta_2$ -アドレナリン受容体の作動薬であるClenbuterol(以下CL)の短期間投与が、心筋や骨格筋細胞の肥大を起こすことが報告されている。しかし、このような筋肥大が毛細血管の増加を伴うかどうかについては報告されていない。そこで本研究では、短期間のCL投与がラットの心筋及び骨格筋の毛細血管網に及ぼす影響を観察した。

実験には、若いラット(10.5週令;YG)と中年ラット(10.5カ月令;MA)を用い、それぞれ投与群と対照群に分けた。CLは飼料に混ぜて(2 mg/kg)10日間摂取させた。CLの摂取量は、YG, MAそれぞれ0.17, 0.10 mg/day/kg・BWであった。

CL投与後、体重は対照群に比べて投与群で顕著に増加し、YGで14%、MAで6%の増加がみられた。左心室(LV)とヒラメ筋(SOL)の湿重量もYG, MAと

もに投与群で有意な増加がみられた。心筋細胞断面積は、YG で37%、MA で31%有意に増加した。SOL の断面積も YG で15%、MA で20%有意に増大した。毛細血管密度は、LV では YG で9%、MA で20%減少し、SOL では YG で26%、MA で19%減少した。このため、毛細血管1本が担当する組織面積(CDA)は、LV では YG で13%、MA で30%有意に増大し、SOL では YG で34%、MA で22%有意に増大した。このようなことから、短期間の CL 投与では、心筋、ヒラメ筋ともに筋肥大は起こるが、毛細血管は増加せず、酸素拡散距離が延長することが推察された。

#### 4. ナトリウム及びカリウムイオンに対して選択的なイオン輸送能を有するカリックスアレーン型人工キャリアー

×神 隆, 金城政孝, 小山富康(北大, 電子科学研)

抗生物質であるモネンシンやバリノマイシンは細胞膜に作用してナトリウムイオンあるいはカリウムイオンの膜透過性を増大させるキャリアーとして有名である。今回我々は、これら天然の抗生物質由来のイオノフォアと同等の輸送能、イオン選択性を有するカリックスアレーン型人工イオノフォアを見いだしたので報告する。

カリックスアレーンはフェノールとアルデヒドからなる環状オリゴマーで、今回は環径の異なる4種類のカリックスアレーンのエステル誘導体を化学合成した。イオン輸送能および選択性の評価は、大豆磷脂質より作成した平面2分子膜を用い Voltage Clamp 法によった。

カリックス[4]アレーンは、ナトリウムイオンに対し極めて高いイオン選択性を示し、輸送速度はモネンシンの約25%であった。またカリックス[4]アレーンのクラウン誘導体は、カリウムイオンに選択的なキャリアーとして機能した。いずれも疎水性が高く容易に脂質2分子膜に取り込まれるため、これら化合物は実用的なキャリアーとして有効である。

#### 5. 蛍光相関分光法を用いたストレス蛋白質の解析

×白燦 基, ×田村 守, 小山富康, 金城政孝, ×青木勝彦\*, ×田口英樹\*, ×吉田賢右\*(北大, 電子研・\*東工大, 資源化学研)

生体が熱などの外界からの刺激(ストレス)にさらされると、細胞内に Heat Shock Protein などのストレス蛋白質が生産されることが知られている。HSP は非

天然型になった蛋白質が致命的な変性状態に至るのを防ぐ役割があると考えられ、このような蛋白質の折りたたみを助ける蛋白質は分子シャペロンと呼ばれている。

我々は分子シャペロンの一つである Gro EL と蛍光標識基質を用い生理的条件下における複合体の安定性を蛍光相関分光法(FCS)により解析した。FCS は微小領域における分子のブラウン運動に由来する蛍光のゆらぎを利用して分子運動と分子数を解析する方法であり、未反応の分子を選り分けることなく反応過程を解析でき、特に連続的観察に有効である。

実験は大腸菌由来の Gro EL を用い、基質としてローダミン標識  $\alpha$ ラクトアルブミン及びペプシンを用いて測定を行った。 $\alpha$ ラクトアルブミンに対する解離定数として  $10^{-6}$  M オーダーであることが示された。

#### 6. 発光蛋白質 Aequorin 遺伝子の transgenic mouse における生物発光活性測定と解析

×棚橋祐典, 本間さと, 本間研一(北大, 第一生理)

発光蛋白質 Aequorin は発光クラゲ由来の Ca 依存性発光蛋白質である。近年その構造や発光メカニズムが解明され、細胞内 Ca イオンの好感度測定系として使用されている。また一方で、レポーター遺伝子としても注目され、Aequorin 遺伝子を導入し発光量を測定することにより特定遺伝子の発現量の測定が試みられている。

今回われわれは、神経特異性エノラーゼ(NSE)のプロモーター領域下流に apoaequorin 遺伝子を組み込んだ transgenic mouse において、リアルタイムでの発光測定をおこなった。

最初にリコンビナントの apoaequorin が Ca イオンを加えることにより、容量依存性に発光することを確認した。さらに、aequorin および NSE 遺伝子の挿入を PCR 法にて確認したマウスの脳組織をホモジネートし、基質セレンテラジンを加えインキュベートした後、Ca を滴下し、マウスの組織での Ca 依存性の発光の測定を試みたので、報告する。

#### 7. 運動がヒト体内時計に与える影響：血中メラトニンリズムと深部体温リズム

宮崎俊彦, 橋本聡子, 本間さと, 本間研一(北大, 第一生理)

齧歯類では運動が体内時計に影響することが知られている。そこで、ヒトでも運動が体内時計に影響する

か否かを知る目的で、午後の一定時刻に運動を負荷し、前後の血中メラトニンリズムと直腸温リズムを解析した。成人男子8名を対象とし、温室22℃と照明50luxに調節した実験室において3日間の実験を行った。被験者には2日目の午後3時から、自転車及びローイングエルゴメーターを15分間負荷、15分間休憩の間隔で、2時間労作させた。その結果、運動は運動中の血中メラトニン濃度に影響を与えず、メラトニンリズムの位相にも影響を与えなかった。一方、直腸温は午後の運動直後より低下し、その低下は翌朝まで持続した。以上の結果より、午後の運動はヒト体内時計には影響しないが、体温調節機構に比較的長期にわたって影響することが明らかとなった。

#### 8. 睡眠位相の強制移動による2振動体モデルの検証

橋本聡子, 中村宏治, 本間研一, 本間さと(北大, 第一生理)

ヒト体内時計の2振動体モデルでは、メラトニンリズムを支配する振動体Iと睡眠覚醒リズムを支配する振動体IIは独立し、両振動体間に相互作用の存在が仮定されている。この仮説を検討するため、睡眠位相を一定期間強制的に移動させ、その後強制を解いた際の睡眠覚醒、メラトニンリズムを測定し、リズムの独立性を解析した。

対象は成人8人、実験は16日間行った。実験2日目の起床後、約30時間被験者を断眠させ、睡眠位相を外野より約8時間前進させ、8日間強制的に固定した(強制睡眠期)。その後5日間、自由に睡眠を取らせた(フリーラン期)。直腸温は実験期間中連続測定し、採血は実験開始日、強制睡眠期とフリーラン期最終日に、1時間毎24~36時間にわたり行い、メラトニンリズムを測定した。室内照明は被験者に50lx以上の光が当たらないよう考慮した。

強制睡眠期後、睡眠覚醒リズムは強制睡眠の時間帯から始まり、主に睡眠位相が徐々にメラトニンリズムと同期する方向に移動することで再同調した。このことから、睡眠覚醒リズムは指定時間帯にいったん同調し、また振動体Iから振動体IIへの作用がより大きいことが考えられた。しかし、強制睡眠期とフリーラン期でメラトニンリズムの周期に変化がみられたことから、睡眠覚醒からメラトニンリズムへの作用も示唆された。

#### 9. CS系マウスの特徴的なサーカディアンリズム—不安定なフリーラン周期とスプリットング—

安倍 博, 本間さと, 本間研一, 海老原史樹文\*, 鈴木 亨\*(北大, 第一生理・\*名大, 農)

近年、哺乳類におけるサーカディアンリズムの振動体構造を遺伝子レベルで明らかにするための一つの方法として、リズム突然変異マウスの開発または発見が盛んに行われるようになった。近交系マウスの一つである、CS系マウスは、恒暗条件下で回転輪走行活動フリーランリズムの周期が不安定であること、また恒暗下で自発的にsplittingするなど、特徴的なサーカディアンリズムを示すことが知られている。このことからCS系マウスは、そのサーカディアン振動体機構に変異を持つことが考えられ、その原因を行動から分子レベルまで調べることにより、哺乳類サーカディアン研究の未解明の問題を明らかにする有効なモデルマウスになり得ることが考えられる。しかし、CS系マウスのリズム一般特性の詳細については、これまで系統的に調べられていない。そこで我々は、CS系マウスの恒暗条件下における回転輪走行活動サーカディアンリズムの周期 $\tau$ 、およびrhythm splittingについて調べた。その結果、フリーランリズムの周期 $\tau$ は、24時間よりも長いもの、短いもの、フリーラン途中で大きく変動するものの3群に分かれた。また、ほとんどのマウスで活動相が2相に分割するsplittingが見られ、splittingと $\tau$ との間に相関関係があることが分かった。

#### 10. 軟骨細胞における膜コンダクタンスの特性

都香仁喜, \*杉本禎志, \*石井清一, 當瀬規嗣\*, 藪 英世\*, 吉野正巳\*\* (札幌医大, 整形外科・\*第一生理・\*\*東京学芸大, 教育, 生物学科)

ウサギ培養関節軟骨細胞における膜コンダクタンスを調べるため、パッチクランプ法にて膜電位および単一チャンネル電流を記録した。この細胞の平均静止膜電位は $-42.2 \pm 13.2$  mV (mean  $\pm$  S.D, n=104)であり、Nernst equation から求められるクロライド平衡電位に近似していた。current-clamp mode 下でSITSは4-APよりも優位に膜脱分極を引き起こした。膜電位は細胞外のカリウムおよびナトリウム濃度を変化させても変動しなかったが、クロライド濃度の変化に対してはNernst equation から予想されるクロライド平衡電位にほぼ一致した。これらの結果は、関節軟骨細胞の細胞膜のCl<sup>-</sup>透過性が高く、K<sup>+</sup>およびNa<sup>+</sup>透過

性が極めて低いことを示唆する。単一チャネル電流記録では 2 type の単一コンダクタンスが同定された。

1 つはコンダクタンス約 220 pS で Cl<sup>-</sup>, もう一方はコンダクタンスやく 200 pS で K<sup>+</sup> によるものと思われる。関節軟骨細胞では電位依存性クロライドチャネルが膜電位生成に重要な役割を果たしていると思われる。

### 11. 妊娠ラット子宮平滑筋細胞における外向き電流密度の妊娠進行に伴う変化

菅原正樹, \*工藤隆一, 當瀬規嗣\*, 長島雅人\*, 山田陽一\*, 薮 英世\* (札幌医大, 産婦人科・\*第一生理)

ラットの妊娠子宮平滑筋細胞における外向き電流の妊娠進行に伴う変化をホールセルパッチクランプ法を用いて観察した。妊娠中期(14日目), 妊娠末期(20日目)のラット子宮の縦走筋層を酵素処理し, 平滑筋細胞を単離して実験に供した。保持電位 -70 mV から 10 mV までの脱分極刺激を与えたところ14, 20日目ともに電位依存性の外向き電流を認めた。保持電位から 0 mV までの脱分極刺激で惹起された外向き電流の電流密度(pA/pF, mean ± SE)はそれぞれ10.8 ± 1.4, 4.7 ± 0.5となり, 20日目で有意に減少していた。子宮平滑筋の収縮を抑制するβ刺激薬 isoproterenol によってはいずれの妊娠時期においても電流の大きさに変化は認められなかった。これは以前報告のあった培養子宮平滑筋細胞での, β刺激により外向き電流が増大するとした研究と一致しなかった。

妊娠の進行に伴う外向き電流密度の減少は陣痛発来に向けて子宮平滑筋の興奮性を高めることに関与していることが考えられた。またβ刺激薬による子宮平滑筋収縮抑制作用には外向き電流が関与していないと考えられた。

### 12. 腸管粘膜筋層に対する薬物反応

石澤光郎(札幌医大, 保健医療, 生理)

雄モルモット(400~500 g)摘出遠位結腸分節標本(長さ 3 cm)から筋層(縦走筋と輪走筋)を機械的に剝奪した粘膜と粘膜筋層を含む粘膜分節標本(長さ 2 cm)を作成した。

本標本の長軸方向の張力に対するいくつかの薬物反応を検討すると共にプロスタグランジン(PG)の作用について検討した。

カルバコール, セロトニンおよびヒスタミン(1

μM)はいずれも収縮反応を示した。一方 PGF<sub>2α</sub> (1 nM~1 μM)は濃度依存性の収縮反応を示したが, PGE<sub>1</sub> と PGE<sub>2</sub> (1 nM~0.1 μM)は収縮反応を, 1 μM の濃度では弛緩反応を示した。

一般に, E型 PG は腸管の縦走筋を収縮し, 輪走筋を抑制ないし弛緩する。しかし, 本標本では PGE<sub>1</sub> と PGE<sub>2</sub> は低濃度(0. μM 以下)で収縮, 高濃度(1 μM)で弛緩という濃度によって相反する 2 つの反応がみられた。

なお, PGE<sub>1</sub>, E<sub>2</sub> および PGF<sub>2α</sub> (0.1 μM)の収縮反応はテトロドトキシンで約50%の抑制を受けたが, PGE<sub>1</sub> と PGE<sub>2</sub> (1 μM)の弛緩反応は影響を受けなかった。

以上, モルモット遠位結腸の粘膜筋層は固有筋層の縦走筋と同様の反応性を有するが, E型 PG に対しては縦走筋的作用(収縮)と輪走筋的作用(弛緩)の 2 つの反応性を有することが示された。また, PG の粘膜筋層収縮反応は神経系を介する作用と筋直接作用によるが, 弛緩反応は筋直接作用による。

### 13. カエル骨格筋の各種収縮における興奮-収縮連関機能

高氏 昌, 筒浦理正(札幌医大, 第一生理)

最近骨格筋における興奮-収縮連関過程, すなわち, T管膜から筋小胞体への情報伝達過程(T-SR 連関過程)の実体として, DHP 結合タンパク質およびリアノジン結合タンパク質などが見出され, さらに, これらのタンパク質の化学的性質, 分子量やα-サブユニットの一次構造の決定などに関し, 著しい進歩が認められている。また, 生理的収縮(twitch)の T-SR 連関のメカニズムに関しても, 現在までに, その概要はかなり明らかにされている。しかし, その情報伝達の仕組みの詳細な部分については, なお未解決の問題が多く残されている。一方, カリウム拘縮の連関機構についても, これまでに, 2~3の可能性が示唆されているが, さらに十分な検討が必要である, と言うのが現状である。

今回は, われわれがこれまでに取り扱ってきた各種タイプの収縮につき, その興奮-収縮連関過程のいずれかのステップに作用することの知られている数種の薬物の効果から, これらの収縮の諸性質を整理・検討した。これより, それぞれの収縮における興奮-収縮連関過程, とくに, T管から筋小胞体への情報がどのような経路あるいは過程を介して伝達されるのかにつ

考察した。

#### 14. ホタテ貝柱平滑筋の筋収縮制御機構 II

×矢沢洋一, ×古石智美, ×上堂地美佳(北教大, 旭川校, 栄養生理)

【目的】 ホタテ貝柱平滑筋より天然アクトミオシン(natural actomyosin: NAM)を調製し, SDS-PAGE にかけてところ, 分子量23万の蛋白質が大量に観察された。本研究では, この蛋白質を単離・精製し, Myosin の Mg-ATPase 活性にどのような影響を与えるかを検討した。

【実験方法】 ホタテ貝柱平滑筋 NAM の32%飽和硫酸分画のカラムクロマトにより 230 K 蛋白質を精製した。Myosin と Myosin に 230 K 蛋白質を加えたものについて Mg-ATPase 活性とその  $Ca^{2+}$  感受性を調べた。

【結果・考察】 Mg-ATPase 活性を測定したところ, Myosin のみの場合,  $10^{-7}$  M  $Ca^{2+}$  存在下では 0.09 U,  $10^{-4}$  M  $Ca^{2+}$  存在下では 0.30 U であり, このときの  $Ca^{2+}$  感受性は70%であった。この Myosin に 230 K 蛋白質を加えると  $10^{-4}$  M  $Ca^{2+}$  存在下では 0.10 U,  $10^{-4}$  M  $Ca^{2+}$  存在下では 0.174 U となった。この結果, Mg-ATPase 活性の  $Ca^{2+}$  感受性は, Myosin のみの場合には70%であったものが, 230 K 蛋白質を加えることによって, 42.5%に低下した。精製した 230 K 蛋白質は約2,000個のアミノ酸からなり, Myosin の Mg-ATPase 活性を modulate する役割をもつことから, 我々は Myomodu-lin と命名した。

#### 15. ウシ副腎髄質クロム親和細胞のニコチン受容体刺激時の細胞内 $Ca^{2+}$ 濃度上昇に及ぼすサブスタンス P の抑制効果

鈴木秀歌, 葉原芳昭, 菅野富夫(北大, 獣医生理)

サブスタンス P は副腎髄質クロム親和細胞においてニコチン受容体を介するカテコールアミン分泌を抑制することが知られている。本研究では, この現象をより直接的に分析するため, 細胞内  $Ca^{2+}$  濃度を指標とし, ニコチン様アセチルコリン受容体の特性の定量的な解析を試みた。また, 細胞内  $Ca^{2+}$  濃度上昇反応に及ぼすサブスタンス P の効果を検討し, 類似構造を持つラナキニンについても同様の実験を行った。

ウシ初代培養副腎髄質クロム親和細胞に fura-2/AM をとりこませ, 光電子倍增管測光装置による蛍光測光法で細胞内  $Ca^{2+}$  濃度変化を連続的に測定し

た。

1, 2, 3, 5 及び  $10 \mu\text{M}$  ニコチンで2分間刺激すると細胞内  $Ca^{2+}$  濃度は急速に上昇した。各ニコチン濃度にサブスタンス P を添加すると, 細胞内  $Ca^{2+}$  濃度上昇反応は濃度依存性に抑制された。ニコチン濃度と細胞内  $Ca^{2+}$  濃度上昇反応を反応速度論的に解析し, サブスタンス P がニコチン刺激時の細胞内  $Ca^{2+}$  濃度上昇反応を, ニコチンとの非競合性拮抗により抑制することが示された。ラナキニンは高濃度ではニコチンと非競合性拮抗し, 低濃度では競合するという結果が得られた。

#### 16. ラットの咀嚼筋の毛細血管網に関する研究

##### 1. 正常ラットの咬筋毛細血管網について

石井久淑, ×山根美子, 太田 勲, 猪股孝四郎(北療大, 歯, 口腔生理)

【目的】 咀嚼筋の一つである咬筋について, 成長にともなう毛細血管網と筋線維の関係を検討した。

【方法】 材料としてラット(♂4~17週齢)の咬筋を用いた。飼育中は固形飼料を自由摂食させた。体重と摘出した咬筋の湿重量を測定した。毛細血管は, ATPase 染色法を用いて染色した。咬筋の横断面における筋線維あたりの毛細血管数(C/F ratio)と筋線維の直径を測定した。

【結果ならびに考察】 4~17週齢のラットでは, 咬筋湿重量は, 体重増加とほぼ等しい割合で増加した。各週齢について右側と左側では有意差が見られなかった。C/F 値と筋線維の直径は, 4 週齢と 5 週齢並びに 7 週齢から 17 週齢の間では有意差が認められなかった。各週齢において右側と左側の有意差は認められなかった。しかし, C/F 値は 5 週齢で  $1.5 \pm 0.26$ , 週齢では  $1.9 \pm 0.28$  と有意な増加を示した。筋線維の直径は, 5 週齢で  $30 \pm 0.1 \mu\text{m}$ , 7 週齢では  $44 \pm 0.5 \mu\text{m}$  と有意に増加した。

以上のことから, 毛細血管と筋線維の発達には何らかの関係があると考えられる。今後は, この点をさらに詳細に検討する。

##### 17. 矯正力負荷による歯根膜機械受容器の応答特性の変化—末梢と中枢の比較—

×野寺義典, ×岡崎恵一郎, ×今井 徹, ×中村進治, 鎌田 勉\*(北大, 歯, 矯正・\*口腔生理)

歯科矯正では装置による歯に対する負荷によって, 患者は不快感を経験する。この神経生理学的原因を明

らかにするために実験動物を用いて、矯正力の歯根膜受容器への影響を末梢と中枢において調べた。

実験にはネコ15匹を使用した。ネコ下顎犬歯に遠心方向に100gの矯正力を1日、4日間負荷した。ケタール・ネブタール麻酔下に末梢では下歯槽神経を機能的単一神経に分離して歯根膜機械受容器からの神経活動を記録し、中枢では、三叉神経感覚核ニューロン活動をタングステン微小電極を用いて記録した。両応答について閾値、潜時、dynamic index について検討した。

末梢では矯正力負荷により応答閾値が上昇したが、潜時、dynamic index には変化がみられなかった。末梢でみられた矯正力負荷によるこの応答閾値の上昇は中枢においてもみられた。なお、中枢ユニットには、犬歯および犬歯以外からの刺激にも応答するものがあり、応答方向角が末梢に比較し広がっていた。また機械刺激に対する応答閾値が末梢に比べ有意に( $p < 0.01$ )高かった。

#### 18. 蒸発性耐暑 FOK ラットの代謝性耐寒能

八幡剛浩,\*内海 計\*,黒島辰汎\*,古山富士弥\*\*\*,西野仁雄\*\*\* (市立名寄短大,看護・\*旭川医大,第一生理・\*\*\*名市大,第二生理)

我々は先に、蒸発性耐暑ラットである FOK が意外にも高い耐寒性を持つ事、及びふるえによる熱生産はこのラットの耐寒能の充進にあまり寄与していない事を示した。一方、ふるえ熱生産の主要な発現因子である NA に対する FOK の反応性は *in vivo* でも褐色脂肪組織細片方を用いた *in vitro* の実験でも特に大きくは無い事から、このラットの耐寒能に果すふるえ熱生産(NST)の役割については不明である。又、FOK は優れた断熱性を持ち、これが耐寒性を高めている可能性が残されている。

本研究ではこれらの点を明らかにするために、FOK, Std:Wistar, WKAH 系のラットについて、急性寒冷暴露時の尾部皮膚温の低下の状況、熱産生量の増加度及び脂質代謝の動向を調べた。寒冷暴露時の尾部皮膚温の経時変化は3群で差が無かったから、FOK が特に優れた断熱性を持つとは考え難い。他方、FOK では *in vivo* での酸素消費量の増加度が大きく、血漿遊離脂肪酸とグリセロールレベルも他2群に比べ有為に高かった。これらの結果は、FOK では脂肪分解能が高く、脂肪をエネルギー基質とする NST が充進している事、又 FOK では NA 意外の因子が NST の発

現に関与している事、更にこのラットの耐寒性の増強には褐色脂肪組織以外で起こる NST が重要な役割を果たしている事を示唆している。

#### 19. ラット耐寒性と一酸化窒素

Shyamal Kumar Saha, 大日向 浩, 黒島辰汎(旭川医大, 第一生理)

$N^{\omega}$ -nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME)により一酸化窒素合成酵素(NOS)を阻害すると、ノルアドレナリン(NA)刺激時の褐色脂肪組織(BAT)血流量の増加が抑制される(Nagasima *et al.* Life Sci., 54:17-25, 1994). 本研究は、Wistar ラットにおける BAT 並びにふるえ熱産生に対する NOS 阻害剤 L-NAME の効果を調べた。L-NAME 慢性投与は、25℃下でラットの BAT 重量と DNA 含量を減少させ、5℃下では寒冷刺激による BAT-DNA 含量の増加を阻害した。L-NAME 慢性投与により、NA 刺激による *in vivo* 酸素消費量の増加が抑制された。耐寒性の程度を調べるため、0℃に急性暴露したラットの直腸温を測定した。L-NAME 慢性投与群は、測定した6時間にわたって急速に直腸温が低下し、その程度は対照群に比べて大であった。この結果は、L-NAME 慢性投与がラットのふるえ熱産生能を低下させること、並びにふるえ熱産生の調節に一酸化窒素が関与していることを示唆する。

#### 20. 呼吸器の肺胞膜界面での移動速度係数の推定

望月政司(西円山病院)

ガス分圧(単位体積当りのガスの energy)の定義が液相でも通用することは、気相-液相間界面をガスが流れる時、界面に生ずる分圧較差が、理論値と符合することにより証明される。界面の分圧差が1 Torr の時、界面を流れるガス量は、気体運動論より、ガスの種類には無関係に、一定(U)となる。一方、界面に1 Torr の分圧差を生ずる単位面積当りの流量を移動係数( $\eta$ )とし、液相内のガスの分配係数を $\phi$ とすると、 $\eta$ ,  $\phi$ , U間には次の関係式が導かれる: $\eta=U/(1-\phi)$ 。気-液間界面でのCO<sub>2</sub>の $\eta$ 値の測定から、 $U=8.66 \times 10^{-6}$  cm/sec/Torr が得られた。上式の信憑性を確かめるため、肺胞膜の気-液間界面でのCOの移動速度をCOの肺拡散能力の実測値から算出、理論値との適合性を検討した。COの肺拡散能力のO<sub>2</sub>分圧-依存性より、肺内赤血球周囲の移動係数の実効値、更に、気-液間界面の $\eta$ 値を推測した。 $\eta$ 値は8.82

$\times U = 8.66 \times 10^{-6} \text{ cm/sec/Torr}$  となり、理論値とよく符号することが分かった。

## 21. Listing の法則に対する急速眼球運動の影響

鈴木康夫, 福島菊郎(北大, 医, 第二生理)

頭部が直立し、前庭入力がない時の眼球運動の自由度が2であることは、Listing の法則として知られている。この法則はサッケード中でも成り立つとされてきた。これに対し、眼球運動の積分機構のモデルで、サッケードに一過性の回旋運動が伴う可能性が示され (Schnabolk & Raphan, 1994)、これに対応した回旋運動がヒトで報告されている (Straumann et al., 1995)。本研究では、ニホンザル2頭を対象に、サッケード中の Listing の法則の妥当性を検討した。

三次元眼球運動は、デュアルサーチコイル法を用いて記録した。頭部を固定した直立位の自発眼球運動を明室下、暗室下で記録し、サッケード中とサッケード後100ミリ秒毎の固視時における眼位の近似平面の厚さを計測した(明室下は1秒、暗室下は2秒迄)。また、 $10^\circ, 20^\circ$  の視覚誘発サッケード中の近似平面の厚さ及びその軌跡も検討した。自発眼球運動の近似平面は、サッケード中が最も厚く、固視時ではサッケード後の時間とともに減少し、ほぼ視覚誘発サッケード中の近似平面の厚さに至った。一過性の回旋眼位の変動は、視覚誘発サッケード中に観察されたが、その出現はランダムであった。この事は、Listing の法則が、少なくとも視覚誘発サッケード中には高精度で成り立っている事を示唆する。

## 22. Distractor が滑動性眼球運動の開始におよぼす影響

田中真樹, 福島菊郎(北大, 医, 第二生理)

通常、滑動性眼球運動の開始には視覚刺激の動きが必要である。動かない視覚刺激がステップ・ランプ課題の最中の眼球運動にどのような影響を与えるのか調べた。

**【方法】** 実験にはニホンザルを用いた。スクリーンに視標を投影し、ステップ・ランプ刺激による滑動性眼球運動課題をよく訓練した。distractor として、緑色の LED を固視点の左右  $5 \sim 25$  度に配置し、視標が動く直前に  $25 \sim 300 \text{ ms}$  点灯した。視標が動く方向と distractor の方向はともにランダムにした。

**【結果】** distractor の提示から約  $120 \text{ ms}$  の潜時で、反対側に向かう slow eye movement (SEM) が観察され

た。これは視標が動く前に  $200 \sim 300 \text{ ms}$  の gap をいれると増大した(平均7度/秒)。distractor を固視点から遠ざけると  $15$  度までは明らかな SEM がみられた。視標の速度を変えると、SEM の大きさはわずかに変化した。滑動性眼球運動の開始から  $100 \text{ ms}$  の平均加速度は distractor が視標の動く方向に提示されたときに増加し、反対側で低下した。この変化は SEM の大きさとよく相関したが、retinal image velocity の変化から予想されるよりも大きかった。

今回観察された SEM は視覚系のフィルター作用によるものではない。これは通常のステップ・ランプ課題による滑動性眼球運動の成分である可能性がある。

## 23. 前庭動眼反射と滑動性追跡眼球運動の干渉により誘発される前庭動眼反射の適応性成分の性質

福島順子, 福島菊郎\*(北大, 医療短大・\*第二生理)

前庭動眼反射と滑動性眼球運動は互いに干渉を起こし、それらが相容れない指令を出し続けると脳は適応性変化を起こすことが知られている。その脳内機構を理解するため、演者らは、前庭動眼反射と滑動性眼球運動が直交する平面で与えられた場合の前庭動眼反射の適応性成分の性質を調べた。これは従来のパターン刺激のかわりに視標を用いた cross-axis paradigm である。ニホンザル4頭を用い、前庭回転刺激と視標刺激を直交軸で正弦波状に与え、視標を追跡するよう訓練すると、訓練開始後  $30 \sim 60$  分で、完全な暗がりでの回転刺激により、回転平面と直交平面に前庭動眼反射が出現した。この直交成分の利得は訓練周波数で最大で、位相は訓練周波数より遅い場合先行し、早い場合は遅れる傾向があった。この周波数特異性は、前庭刺激と視標刺激を  $90$  度位相をずらして与えた訓練後にも認められた。視標の背景パターンを提示し両者を同時に動かして同様の訓練を行うと、得られた応答の利得と位相は視標単独の場合と同様であった。これらの結果は、パターン刺激により誘発される直交成分の前庭動眼反射と、視標刺激により誘発された応答には共通の神経機構が関与することを示唆する。

## 24. 覚醒サルにおける緩徐な垂直眼球運動時の小脳片葉プルキンエ細胞活動

福島菊郎, 恒川拓士, 田中真樹, 福島順子\*,  $\times$ 陳進輝\*\* (北大, 医, 第二生理・\*医療短大・\*\*眼科)

これ迄、私どもはネコの垂直前庭動眼反射における

神経積分機構に、小脳片葉が特異的に関わることを示し、特に片葉の eye velocity Purkinje (EVP) 細胞が下向き眼球速度信号の形成に必要なことを報告してきた (Fukushima et al. 1993, 1995, 1996)。しかし EVP 細胞の応答は覚醒サルの水平眼球運動時によく知られた視線速度 P(GVP) 細胞の応答とは異なる。この違いを調べる目的で今回は、予め、視標追跡課題を訓練した日本サル 2 頭を用い、視標と pitch 回転の組み合わせ刺激による垂直眼球運動時に片葉及び腹側傍片葉の細胞活動を調べた。

**【結果】** 大多数の P 細胞の最適応答方向は下向きで、そのほぼ半数は pitch 回転と同相同振幅で視標を追跡させ前庭動眼反射が抑制されたとき、下向き視線速度にはほぼ対応して発射を増加し、垂直 GVP 細胞と解釈された。残りの半数では前庭動眼反射が抑制された時は P 細胞の応答も消失し、P 細胞の応答振幅は視線速度よりも下向き眼球速度に比例した。これらの細胞の中に垂直回転時の最適応答方向が反対側の後半規管にはほぼ対応した細胞があった。これらの結果は覚醒ネコの場合と同様、覚醒サルにおいても垂直 EVP 細胞が存在することを示す。

#### 25. ラット海馬内ニューロンのシナプス伝達に及ぼすミダゾラムの抑制効果の部位差

里 康光, 青木 藩 (札幌医大, 医, 第二生理)

今回我々は、ベンゾジアゼピン誘導体であるミダゾラムの効果に海馬内で部位差があるかを調べる目的で、ラット海馬スライス標本を用い、CA1 野錐体細胞 (PC) と歯状回顆粒細胞 (GC) のシナプス伝達に及ぼすミダゾラムの効果について細胞内記録法により検討した。

ミダゾラムの投与方法は、ミダゾラムを酸素化した人工脳脊髄液に溶解し、実験層に灌流することで行った。ミダゾラム (75  $\mu$ M) は、GC に比べ PC における順方向性スパイク発射を著明に抑制した。ミダゾラムによるスパイク発生抑制効果は PC では GABA<sub>A</sub> 受容体拮抗薬ピククリン (10  $\mu$ M) によりほぼ完全に拮抗されたが、GC では PC ほど強く拮抗されなかった。ミダゾラムは、単シナプス性抑制性シナプス後電位の振幅を PC では有意に増加させたが、GC ではやや減少させた。GABA<sub>A</sub> 受容体作動薬ムシモール (100  $\mu$ M) は、PC、GC ともに同程度、静止膜電位を変化させ、入力抵抗値を減少させた。

これらの成績から、PC と GC のシナプス伝達に及

ぼすミダゾラム (75  $\mu$ M) の効果には部位差のあることが示された。その機序として、GABA<sub>A</sub> 受容体のミダゾラムに対する感受性そのものの差によることが考えられた。

#### 26. 舌下神経核および pre-Bötzinger complex 内ニューロンの自発性 burst に及ぼす hypoxia 負荷の影響

渡邊昭彦, 青木 藩 (札幌医大, 医, 第二生理)

新生ラット (生後 1~5 日) の延髄 obex レベルで厚さ 1 mm の脳幹スライス標本を作製し、舌下神経核ニューロンの自発性 burst と、そのリズム発生源とみなされる pre-Bötzinger complex 内ニューロンから同期する自発性 burst を、ガラス微小電極 (抵抗 2~5 M $\Omega$ ) を用いて細胞外同時記録を行った。両部位のニューロンの機能的接続様式については前回の本学会において既に報告したが、今回はさらに、CO<sub>2</sub>・pH の他に hypoxia 負荷に対する両者の応答を検討した。

95%O<sub>2</sub>, 5%CO<sub>2</sub> 混合ガスで飽和した人工脳脊髄液中で、自発性 burst は、4~12回/分の頻度であった。10%CO<sub>2</sub> 負荷に対して、両者は同期した関係を維持して反応し burst の頻度は負荷後約 40% の増加を示した。また、pH のみを変化させた成績から、その応答には pH の変化による要因が強く作用していることが示された。また、20~30分間の hypoxia (PO<sub>2</sub> 60~80 mmHg) 負荷に対しては、両者は初期の一過性の burst 頻度の増加 (25%  $\pm$  7.2%) と、それに引き続く burst 頻度の低下を生じた。

#### 27. ラット脊髄下行路への移植末梢神経内再生軸索からの呼吸性神経発射の記録

小浜郁秀, 青木 藩 (札幌医大, 医, 第二生理)

ラット脊髄への自家末梢神経移植後、数週間で移植片内に軸索の再生がみられる。今回、我々は成ラット (体重 170~140 g) の頸髄 C<sub>2</sub> 髄節に自家総腓骨神経を移植し 5~18週間生存させた後、再生軸索から呼吸性神経活動が記録されるかどうか調べた。移植片生着 22 例中 20 例で自発性多重神経発射を認めた。このうち 13 例 (65%) で呼吸運動に同期する律動的発射が記録され、7 例 (35%) では呼吸運動に関係のない非律動的発射のみが記録された。記録された呼吸性発射パターンは正常ラットの呼吸性ニューロンの発射パターンに類似していた。記録後、20 例中 16 例に移植片断端から HRP を取り込ませた。2 日後、延髄 obex レベルの腹

側呼吸性ニューロン群(VRG), 脊髄 C<sub>1</sub> 中間質等に多数のHRP標識細胞が認められた。さらに, 再生軸索の起始ニューロンを同定するために移植片を刺激しVRGにある呼吸性ニューロンに逆行性応答がみられるかどうかを調べた。調べた8個の呼吸性ユニットのうち1個の呼吸性ユニットに逆行性応答がみられた。これらの成績から, 呼吸性ニューロンからの脊髄下行性軸索は移植神経片内に伸長し, 軸索を再生した呼吸性ニューロンは正常に近い呼吸性神経活動を保っていると考えられた。

### 28. ゴキブリの脳における GABA 様免疫反応性ニューロンの分布

×山崎吉之, 水波 誠(北大, 電子研)

ゴキブリの脳機能の解明へのアプローチとして抗GABA 抗血清による GABA 含有ニューロンの染色を試みた。前大脳全体を通じて GABA 様免疫反応性ニューロンの広範囲な分布が見られたが, キノコ体を構成するケニオン細胞は全く染色されなかった。特に強く染色されている組織群はキノコ体周辺部に投射する3つの経路と中心体下部に見られた。3つの経路のうち, α葉周辺部に投射するものはミツバチやタバコスズメガで観察された前大脳傘部経路に相当するものと推測されたが, その走行の様子はどちらの種とも異なっていた。また, β葉周辺部に投射する残り2つの経路に相当するものは今まで報告されていない。これらのニューロンの役割を解明するためにも, この経路の細胞内電極記録及び色素注入による形態の詳細な検討が求められる。

### 29. カタツムリ呼吸 CPG 構成ニューロンの CO<sub>2</sub> 負荷応答

×菅野修二, ×佐藤秀臣, 山内芳子, ×中村孝夫, 河原剛一(北大, 電子研)

水棲有肺類カタツムリ (*Lymnaea stagnalis*) は, 肺呼吸と皮膚呼吸を行う。これまで水棲有肺類カタツムリは陸棲の近縁種に比べ CO<sub>2</sub> 感受性がないとされてきた。しかし, 我々は呼吸行動観察から CO<sub>2</sub> 感受性を見いだした。この神経機序を解明するために, 呼吸CPGを構成するニューロンである R. Pe. D1 から細胞内記録を行った。そしてバースト頻度とバースト持続時間に対する CO<sub>2</sub> の効果を検討した。

1.5% CO<sub>2</sub>, 21% O<sub>2</sub>, 77.5% N<sub>2</sub> の混合ガスで飽和した saline(control) と, 30% CO<sub>2</sub>, 21% O<sub>2</sub>, 76% N<sub>2</sub> の混

合ガスを飽和した saline を灌流した。また両 saline の pH は7.7に合わせた。CO<sub>2</sub> 付加に対しバースト頻度が上昇し, control に戻すと頻度が減少する傾向を示したものが9例中6例, 一方 CO<sub>2</sub> 負荷に対しその頻度が減少する傾向を示したものが9例中3例認められた。またこの応答は, 負荷前のバースト頻度が低いときには CO<sub>2</sub> 負荷により頻度が増加し, 負荷前の頻度が高いときには負荷により頻度が減少するような状態依存性を有していた。この結果から中枢 CO<sub>2</sub> 受容器が存在し, 呼吸調節に関与する可能性が示唆された。

### 30. 末梢筋収縮時糖吸収の神経制御

×峰島一朗, ×中村孝夫, 河原剛一, ×楠 正隆\*, ×原 努\*(北大, 電子研・\*愛知医科大, 医) 骨格筋運動時の末梢筋糖代謝には血流量, インスリン, 細胞内カルシウム等の関与が指摘されているが, 神経系の関与についての直接的な研究はこれまで殆ど見られていない。

本研究では末梢筋収縮時糖代謝への神経系の関与を検討するために, ラット座骨神経の電気刺激により後肢筋収縮を誘発し, 血流量, 血糖値, ならびに血漿インスリン濃度の変化を測定した。その結果, 筋収縮開始直後に血流量やインスリン濃度の変化を伴わずに血糖値が有意に低下したことから, 筋細胞の局所的な機能(カルシウムイオン濃度の変化等), 神経系の関与が示唆された。さらにそのメカニズムを解明するために, 後肢筋徐神経及び筋弛緩剤による神経筋シナプス伝達ブロック影響を調べた結果, どちらにも筋収縮開始直後の有意な血糖値低下が見られなくなったことから, 中枢神経系を介したフィードバックコントロール系の存在と, 末梢筋の収縮によって発生する求心性信号が末梢筋糖代謝神経制御に必要なことが示唆された。

### 31. Cholesterol により誘起されるリン脂質非二重層構造

×早川枝李, 小山富康\*, 下澤楯夫\*, 荒磯恒久\*\* (北大, 癌研遺伝子制御・\*電子研・\*\*先端科学センター)

生体膜融合やリポゾームの融合ではその初期過程においてリン脂質二重層が何らかの非二重層構造をとる必要がある。シナプス膜では, phosphatidylethanolamin(PE)と cholesterol(Chol)の含有率が高く, phosphatidylcholine(PC)とほぼ等しいモル比を持つ。このような組成の脂質膜がどのような形態の非二重層

構造をとることができるかを検討することは、膜融合の機構を明らかにする上で興味深い。

本研究では dioleoylphosphatidylcholine (DOPC), dioleoylphosphatidylethanolamin (DOPE) を基本成分とし、Chol 濃度を 0 ~ 45 mol% まで変化させた多重層リポソームを作り、温度変化によって生じる非二重層構造を  $^{31}\text{P}$ -NMR により検討した。その結果 1) Chol 0

~ 20 mol% では 17 ~ 47°C の範囲で非二重層構造は現れない、 2) Chol 33 mol% では 47°C 以上で逆ヘキサゴナル ( $\text{H}_{\text{II}}$ ) 構造が形成される、 3) Chol 45 mol% では温度を上昇しても  $\text{H}_{\text{II}}$  構造は現れず、等方性の cubic 構造か、小さなサイズのみセルが形成されることが示された。

## 第 29 回 東 北 生 理 談 話 会

日 時：平成 8 年 10 月 4 日(金)・5 日(土)

会 場：八幡平ハイッ

当番校：岩手医科大学医学部生理学第一講座 佐藤 誠

協力教室：医学部第二生理、歯学部口腔生理

最初に私から、本会の目的は自分の専門外の領域の研究発表を聞きながらお互いの親睦を深める事にあると話し、楽しめる会であるように、好きな事を勝手に喋って欲しいと挨拶した。初日は、午後 1 時から 4 時まで一般講演、続いて来年 3 月で御定年退職される両教授(鈴木寿夫先生、小川哲朗先生)の特別講演があり、御二人とも、生理学と人生哲学の混じった味わい深いお話をされ、一同深く感銘した。懇親会は 6 時半から日本式の大広間で一人宛お膳を前に座り盃を交わした。新顔の先生方のご紹介に続いてカラオケの余興に入った。私我先陣を切り、次いで私の助教授が民謡を歌った。その後、懇談の輪がいくつもでき、遅くまで語り合った。翌日は朝 9 時からお昼頃まで一般講演、続いて来年の当番校である東北大学歯学部からのご挨拶があって会は幕を閉じた。その後、八幡平の展望台や籐七温泉への観光バスハイキングがあり、4 時頃ハイッに戻り、来年の再会を期して解散した。

最後に多くの方々に参加していただき、かつ活発な討論をして下さった事を、感謝申し上げます。(佐藤 誠 記)

×は非会員を示す

### 1. ニューロン機能解析のための一手法：遺伝子組換えを行ったアデノウィルス

伊藤憲一, ×澄川勝美\*, ×Anja Kammesheidt\*, ×Luis P. Villarreal\* (山形大, 医, 第二生理・\*カリフォルニア大, 心理生物)

ニューロンの機能分析のために、遺伝子組換えを行ったアデノウィルスを用いる方法を検討した。ニューロンに必要な蛋白等を発現(の阻止)して、その機能がどのように修飾されるかを観察する方法である。実際に、ある特定の部位のニューロン群にだけ目的とする蛋白を発現させるために、その蛋白の遺伝子を組込んだアデノウィルスを感染させる。しかし、アデノウィルスの感染によって、本来のニューロン機能が侵害されないかを調べる必要がある。

今回の実験で、 $\beta$ -galactosidase( $\beta$ -gal) gene を組込んだアデノウィルスをラットの海馬に圧注入し、1~35日後に海馬スライスを作製して、組織化学で $\beta$ -galの発現を、電気生理学でシナプス機能を調べた。その結果、 $\beta$ -galの発現量はウイルス注入後2日で最大になり、注入部位を中心に約0.5~1mmの範囲で感染の広がりが確認された。しかし、 $\beta$ -galが発現しているニューロン群からフィールド電位を記録し、シナプス電位とテタヌス刺激による長期増強の形成をコントロール群と比較した結果、これらの機能はアデノウィ

ルス感染によってなら影響を受けないことが証明された。

### 2. アフリカツメガエルの卵胞細胞膜上にあるプリン受容体とアデノシン受容体の性質

藤田玲子, 木村眞吾, 松本光比古, 佐々木和彦(岩手医大, 医, 第一生理)

アフリカツメガエル卵母細胞は周囲の卵胞細胞と gap junction を介して結合している。卵胞細胞の形質膜には種々の受容体が存在するが卵母細胞膜上には受容体がほとんどない。この性質を利用して卵母細胞を膜電位固定して、卵胞細胞膜にある受容体を刺激して発生する応答の性質を調べた。

細胞内電位を  $-60$  mV に固定して  $1 \mu\text{M}$  の ATP, ADP, UTP を投与すると内向きの早い  $\text{Cl}^-$  電流とそれに続くゆっくりとした外向き電流応答が得られた。 $10 \mu\text{M}$  アデノシン投与では外向きのゆっくりとした  $\text{K}^+$  電流応答が得られた。これらの2つの応答に対してアデノシン受容体の antagonist の theophylline を90秒間前投与するとアデノシンによる  $\text{K}^+$  応答は完全に抑制されるが ATP による  $\text{Cl}^-$  応答は変化しなかった。 $1 \mu\text{M}$  ATP を30秒間投与するとアデノシン受容体刺激で発生する  $\text{K}^+$  応答は抑制され、30分間 wash out すると元の大きさに回復した。しかし、

10  $\mu\text{M}$  アデノシンを30秒間投与しても ATP 応答は変化しなかった。また、アデノシン応答は出すが ATP 応答が発生しない細胞を固定し、それに対し、1  $\mu\text{M}$  ATP を前投与してもアデノシン応答は全く抑制されなかった。この結果は ATP によるアデノシン応答に対する抑制がアデノシン受容体上で ATP が競合的に抑制しているのではないことを示唆している。

### 3. Caged- $\text{Ca}^{2+}$ を用いたマウス卵細胞内カルシウム制御機構の検討

五十嵐秀樹, 高橋英嗣\*, 土居勝彦\*, \*廣井正彦(山形大・\*第一生理)

これまで我々は哺乳動物卵受精時に観察されるカルシウム ( $\text{Ca}^{2+}$ ) オシレーションが、卵の加齢と共に変化することを報告してきた。この変化は細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  制御機構の加齢に伴う変化を反映するものと考え、これを比較検討した。PMSG-hCG 投与による過排卵処理 B6C3F1 雌マウスから hCG 投与後14時間の卵を新鮮卵、20時間の卵を加齢卵として実験に用いた。紫外線照射により任意のタイミングで  $\text{Ca}^{2+}$  を放出することが可能である Caged- $\text{Ca}^{2+}$  をそれぞれの卵に微量注入し、細胞質全体に瞬間的に  $\text{Ca}^{2+}$  を負荷した。その後の細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度減少のパターンから加齢に伴う細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  制御機構の変化を比較検討した。また、小胞体の  $\text{Ca}^{2+}$  Pump の阻害剤である、Thapsigargin (TG) を用い、細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  制御における小胞体の  $\text{Ca}^{2+}$  ポンプの関与を検討した。尚、細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度は Fluo-3 の蛍光から推測した  $\text{Ca}^{2+}$  負荷5分後の Fluo-3 の蛍光強度は新鮮卵で反応前値の97%、加齢卵で115%で、さらに細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度回復の特定数は新鮮卵で37秒、加齢卵で64秒と加齢卵で有為に延長していた。また、TG は細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度回復を容量依存性に抑制し、5  $\mu\text{M}$  で最大80%の抑制を示した。以上の結果から加齢卵では細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  制御が有意に低下していた。この低下は小胞体における  $\text{Ca}^{2+}$  再取込の低下によると考えられる。

### 4. ラット耳下腺単離小胞体標本による $\text{Ca}^{2+}$ 誘発性 $\text{Ca}^{2+}$ 放出

小澤輝高(東北大, 医, 第一生理)

ラット耳下腺腺房細胞の小胞体には、リアノジン感受性  $\text{Ca}^{2+}$  放出機構が存在し、カフェイン、cyclic ADP-ribose (cADPR) と低濃度 (10  $\mu\text{M}$ ) のリアノジンで活性化され、高濃度 (500  $\mu\text{M}$ ) のリアノジンとルテニウムレッドでは抑制されることを、これまでに報告し

てきた。また cADPR は低濃度ではカフェインの効果を増強することも見いだした。このリアノジン感受性  $\text{Ca}^{2+}$  放出機構が、筋肉細胞などで報告されているように、 $\text{Ca}^{2+}$  誘発性  $\text{Ca}^{2+}$  放出としての特性も示すのか否かは不明であった。今回は  $\text{Ca}^{2+}$  選択性イオン電極を用いて、小胞体懸濁液中に加えた  $\text{Ca}^{2+}$  が、 $\text{Ca}^{2+}$  放出を引き起こすか否かを調べた。 $\text{Ca}^{2+}$  電極膜 (ETH 1001) より作成した  $\text{Ca}^{2+}$  電極の電位は、 $10^{-7}\text{M}$  付近まで、 $\log[\text{Ca}^{2+}]$  との間に直線性を示した。ATP を含んだ溶液 (600  $\mu\text{l}$ ) 中に小胞体標本を加えると、 $\text{Ca}^{2+}$  濃度が  $1.5\sim 2.0\times 10^{-7}\text{M}$  になるまで、 $\text{Ca}^{2+}$  が小胞体中に取り込まれた。タブシガルギン (1  $\mu\text{M}$ ) で  $\text{Ca}^{2+}$ -pump を抑制した後、6 nmol の  $\text{Ca}^{2+}$  を投与すると、投与に伴う  $\text{Ca}^{2+}$  濃度の増加に引き続いて、ゆっくりした  $\text{Ca}^{2+}$  放出が見られた。次にカフェイン 10mM 存在下で、同様に  $\text{Ca}^{2+}$  を加えたが、促進は見られなかった。従って、今回観察した  $\text{Ca}^{2+}$  誘発性  $\text{Ca}^{2+}$  放出は、リアノジン受容体とは別な機構を介して起こるものと考えられる。

### 5. 細胞内 $\text{Na}^{+}$ 濃度の上昇は、カフェインプールからの $\text{Ca}^{2+}$ 放出を誘起するか?

富士靖江, \*内室智也(東北大, 医, 第一生理)

耳下腺腺房細胞で見られる細胞外 ATP による  $\text{Ca}^{2+}$  放出は、 $\text{IP}_3$  情報系を介したのではないことが知られているがその詳細はまだ明らかでない。ATP は一過性の  $\text{Ca}^{2+}$  放出を起こすが、外液を無  $\text{Na}^{+}$  または非選択性陽イオンチャンネル抑制薬を与えた状態にするとそれは著明に抑えられる。今回は、ATP 等 ionotropic な物質を与えたときの細胞内  $\text{Na}^{+}$  濃度 ( $[\text{Na}^{+}]_i$ ) を実際に測定して  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  との相関を直接的に証明しようと試みた。ATP、BzATP ( $\text{P}_{2z}$  受容体の特異的アゴニスト)、Gramicidin はいずれも  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  を上昇させたが、他のヌクレオチドに比べて Gramicidin の場合はその程度は小さくかつ緩徐であった。リアノジン前処理した細胞ではいずれも  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  上昇が抑えられた。また三者共  $[\text{Na}^{+}]_i$  を上昇させたが、 $\text{Na}^{+}$  の流入速度は、Gramicidin の場合は他のヌクレオチドに比して特に緩徐であった。 $[\text{Ca}^{2+}]_i$  上昇をおこさせる外液  $\text{Na}^{+}$  濃度の閾値は、BzATP で 10mM、ATP と Gramicidin では 20mM であった。以上の結果から次の機構が示唆された：細胞外 ATP は、 $\text{P}_{2z}$  受容体を活性化し陽イオン透過性チャンネルを開く。そのため細胞外から  $\text{Na}^{+}$  が流入

し  $[Na^+]_i$  が上昇する。これがトリガーになってカフェインプールから、 $Ca^{2+}$  放出を誘起する。

#### 6. レーザードプラー血流計を用いた血流測定の問題点

刈田啓史郎, 和泉博之(東北大, 歯, 生理)

レーザードプラー血流計(LDF)は組織の血流を非観血的に測定できることで好んで用いられているが、相対値血流を測定しているため反応量(刺激による血流の増加又は減少量)を基調血流量(B)を基準として血流変化量(R)の比(R/B 百分率)で表現することが多い。この方法が正しく血流の反応量を表しているかどうかを調べる目的で実験をおこなった。ネコをウレタン・クロラースで麻酔し、非動化、人工呼吸下で下顎口唇血流をLDFで測定した。頸部交感神経(CSN)と舌神経(LN)を電気刺激し、基調血流と刺激による血流の変化との関係を調べた。CSN刺激では血流減少変化量(R)は基調血流量にほぼ正比例しており、基調血流量が変化した場合でも反応量(R/B)は一定となり、R/Bがただしく反応量を表していた。しかし、LN刺激による血流増加反応については、血流変化量(R)は基調血流量に比例せずほぼ反比例していた。したがって、この場合の反応量はR/B以外の表現方法をとるべきである。しかし、血管のトーンスがほぼ同じ状態の異なる組織での増加反応量は、ほぼ基調血流量に比例すると推測される。

#### 7. ラット網膜に存在する GABA $\rho$ 3 受容体のクローニングとアフリカツメガエル卵母細胞上での機能発現

福島央之, <sup>×</sup>柳 一也, <sup>×</sup>秋田博之, <sup>×</sup>坂田和実, <sup>×</sup>小栗栖太郎, 新貝御蔵(岩手大, 工, 情報工学)

ラット網膜のcDNAライブラリーからPCR法を用いて新しいGABA $\rho$ 3受容体をクローニングし、塩基配列を決定した。 $\rho$ 3サブユニットのアミノ酸配列は、ヒトの $\rho$ 1およびラットの $\rho$ 2サブユニットと61~63%の相同性を持っていた。 $\rho$ 3のcDNAから調製されたcRNAを*Xenopus*卵母細胞に注入後、薬理作用を2電極電位固定法(固定電位 -60mV)を用いて調べた。GABAに対する $EC_{50}$ は $7.5 \pm 1.1 \mu M$ 、Hill係数は $1.6 \pm 0.2$ であった。これらの値は他の $\rho$ サブタイプによるものと類似していた。ピキュキュリンはGABAによる内向き電流を阻害できなかったが、ピクロトキシンはGABA電流を阻害した。ペントバル

ピツール、ジアゼパム、ニューロステロイドはGABA電流に対して殆ど効果を示さなかった。 $100 \mu M$  GABAに対するピクロトキシンの $IC_{50}$ は $0.68 \pm 0.01 \mu M$ 、Hill係数は $1.09 \pm 0.01$ であった。 $IC_{50}$ 値は他の $\rho$ ファミリーによるものより小さかった。以上の事より、 $\rho$ 3はホモオリゴマーでイオノトロピックな受容体を形成し、薬理的性質は他の $\rho$ タイプのGABA受容体サブユニットとよく似ているが、ピクロトキシンに対しての感受性は他のものより高い。

#### 8. 麻酔剤で引き起こされるシナプス伝達阻害作用に対するホルボールエステルによる増強効果

染井宏祐, 山内 禎, 奈良一彦, 柄内明啓(岩手医大, 歯, 口腔生理)

ウシガエル交感神経節の細胞外記録で得られた compound action potential (CAP) の振幅を指標として調べると、protein kinase C (PKC) の activator の phorbol dibutyrate (PDBu) によって CAP の振幅が増大し、シナプス伝達が促進されていることがわかった。この時、全身麻酔剤 (pentobarbital) や、局所麻酔剤 (lidocaine, procaine) を投与すると、ノーマルリングー中で得られたより低濃度の麻酔剤で阻害効果が得られた。しかし、局所麻酔剤の tetracaine や dibucaine ではこのような阻害効果の増強はみられなかった。これは、tetracaine や dibucaine の PKC 活性を阻害する効果によるものと考えられる。次に、交感神経節のシナプス後細胞の細胞内記録を行うと、acetylcholine (ACh) の投与で脱分極性応答が得られた。この応答は PDBu の投与で著しく抑制された。このように、シナプス後細胞では PDBu の投与で ACh 応答が抑制されたにもかかわらず、細胞外記録ではシナプス伝達の促進が観察されたことから、この促進は PDBu がシナプス後部より前部により強く作用して PKC が活性化され、シナプス前部での伝達物質の放出が増大したためと考えられる。これらの結果より、PDBu の投与により PKC が活性化すると、種々の麻酔剤の阻害効果の増強は、種々麻酔剤がシナプス前部に作用して起こるのではないかと考えられる。

#### 9. ニワトリ胚毛様体神経節シナプス前終末におけるノルアドレナリン性伝達促進は cGMP をセカンドメッセンジャーとする

八尾 寛(東北大, 医, 病態生体情報)

ノルアドレナリンは、未知の受容体を介してニワト

リ胚毛様体神経節の巨大シナプス前終末からの伝達物質放出を持続的に促進した。ノルアドレナリンの作用は 3-isobutyl-1-methylxanthine (IBMX) により、著明に増強された。同様の作用が cGMP 特異的フォスフォジエステラーゼ (PDE-V) を阻害する zaprinast に認められた。しかし、cAMP 特異的フォスフォジエステラーゼ (PDE-IV) を阻害する Ro-20-1742 はノルアドレナリンの作用を増強しなかった。8 Br-cGMP は伝達物質放出を促進したが、8 Br-cAMP にはこのような作用は認められなかった。神経節中の cGMP 量がノルアドレナリン処理群において有意に上昇した。以上の結果から、ノルアドレナリンの伝達促進作用が cGMP をセカンドメッセンジャーとしていることが示唆される。この受容体を G-アドレナリン性受容体(仮称)と命名する。ノルアドレナリンの伝達促進効果および IBMX による増強効果が cGMP 依存性プロテインキナーゼの特異的インヒビターの KT 5823 により阻害された。ゆえに、G-キナーゼによる開口分泌機能蛋白のリン酸化が伝達物質放出促進のメカニズムであると考えられる。

#### 10. 単離心筋細胞内酸素分圧勾配の推定

高橋英嗣, 遠藤洋志, ×徐 哲龍, 土井勝彦(山形大, 医, 第一生理)

細胞内に形成される酸素分圧勾配の定量を目指し, ラット心室より分離した単一心筋細胞に 3 波長デジタル顕微分光法を適用した。410 nm, 425 nm, および 445 nm における細胞の透過光画像をそれぞれ  $Y_{410}$ ,  $Y_{425}$ ,  $Y_{445}$  とし, 以下の式で表される  $Z$  を用いて, 細胞内の光吸収の分布を高解像度で画像化した (Takahashi and Doi, *Am. J. physiol.* 286: H 2561-H 2568, 1995)。

$$Z = (Y_{445} - Y_{425}) / (Y_{410} - Y_{425})$$

十分酸素化した細胞では光吸収 ( $Z$  値) は一様で,  $Z = -0.8$  に鋭いピークを持つ細胞内分布を示したのに対し, 脱酸素化した細胞では  $Z$  値が  $-1.4$  および  $-0.01$  にピークを有する 2 相性分布となり, 細胞内光吸収の異なる 2 つの分画に分けられることがわかった。さらに, 脱酸素化細胞における  $Z = -1.4$  付近の光を吸収を示す部位は, ローダミン 123 により固定したミトコンドリアの細胞内局在と一致した。また, この部位の光吸収量は, ロテノン投与で変化し, 酸素化した細胞の光吸収料 ( $Z$  値) と一致した。以上より, 単離心筋細胞でミトコンドリアのシトクロムと細胞質

のミオグロビンの光吸収を同時に測定できることがわかった。この結果を利用し, ミトコンドリアと細胞質の酸素レベルを同時に独立に測定することで, ミトコンドリア細胞の酸素分圧力勾配を定量することが可能と考えられている。

#### 11. ラット灌流大腿二頭筋の $^{31}\text{P}$ -MRS —クレアチンリン酸による細胞内 pH の調整—

内田勝雄, イヴルル・ハッサン・チョウドリ\*, ×渡辺好博\*, 土井勝彦(山形大, 医, 第一生理・\*整形外科)

ラットの大腿二頭筋 (biceps femoris) は典型的な FG 線維 (Type II 線維) のひとつであり, クレアチンリン酸 (PCr) を豊富に含んでいる。この PCr が ATP 供給源であるだけでなく, 細胞内 pH ( $\text{pH}_i$ ) を調節している可能性について検討した。

【方法】 体重 300~400 g のオス SD ラットの大腿動脈に 24 G のカニューレを挿入し, 直径 25 mm の NMR 試料管の中で biceps を灌流させた (灌流量 0.5 L/hr, 灌流圧 120~130 mmHg)。灌流液は 95%  $\text{O}_2$  / 5%  $\text{CO}_2$  または 95%  $\text{N}_2$  / 5%  $\text{CO}_2$  に平衡させた Krebs-Henseleit-Bicarbonate 液 (外部標準 phenylphosphonic acid 2 mM) で,  $\text{Po}_2$  は 5~6 回の測定の平均でそれぞれ 655 および 42.8 Torr であった。MRS は JEOL の Lambda-300 を用い, パルス軸 40  $\mu\text{s}$ , パルス間隔 1 s, 積算回数 300~600 で測定した。測定中試料は, 37  $\pm$  0.1°C に保った。

【結果と考察】 Control のラット biceps の ATP, PCr,  $\text{P}_i$  濃度 (mM) および  $\text{pH}_i$  は, それぞれ  $7.5 \pm 1.3$ ,  $34.9 \pm 8.3$ ,  $1.6 \pm 0.5$  および  $7.11 \pm 0.07$  (Mean  $\pm$  SD,  $n=3$ ) で, 低酸素灌流 1 時間後の対応する値は, それぞれ  $4.5 \pm 1.8$ ,  $13.2 \pm 3.5$ ,  $6.8 \pm 1.1$  および  $7.01 \pm 0.05$  であった。PCr は有意に低下 ( $p < 0.05$ ),  $\text{P}_i$  は有意に増加 ( $p < 0.05$ ) したが, ATP および  $\text{pH}_i$  有意な変化を示さなかった。低酸素時に骨格筋では,  $\text{PCr} + \text{ADP} + \text{H}^+ \rightarrow \text{Cr} + \text{ATP}$  の反応が起こり, ATP の減少を防ぐと共に,  $\text{H}^+$  を消去して  $\text{pH}_i$  低下を緩衝していることが示唆された。

#### 12. 微小重力に曝露された直後にみられる総頸動脈流量の変化 —航空機実験による動物での測定—

清水 強, 山崎将生, 永山忠徳, 和気秀文, ×新田新一郎, 片平清昭\*, 金子みち代\*\*, 長岡俊治\*\*\*, ×植村 勝\*\*\*, ×向井千秋\*\*\* (福島県立

医大, 第一生理・\*実験動物研. \*\*東京家政学院短大, 人間科学・\*\*\*宇宙開発事業団)

宇宙では重力が微小のため, 体液は心臓より頭側の部位へより多く分布するようになる。しかし, その動向の詳細は不明である。われわれはこれ迄に麻酔下のウサギを用いて,  $\mu\text{G}$  下で生じる体液移動を模擬すると考えられる head-down tilt (HDT) 時には心拍出量の増加および頭側方向への供給血流量の増加とその尾側方向への減少が生じることを明らかにした。今回は航空機で放物線飛行をしたときに生じる約20秒間の  $\mu\text{G}$  下での麻酔したラットの総頸動脈流量の変化をトランジットタイム式超音波血流計を用いて測定した。 $\mu\text{G}$  になると総頸動脈の流量は増加しその血圧は上昇した。これは先に航空機実験で得たウサギでの結果と相似であった。即ち,  $\mu\text{G}$  に入った直後哺乳動物では頭側方向への動脈内血流量は明らかに増加し, HDTはこの現象を確かに模擬し得る。なお, 本実験は多数の方々のご協力の下に行われた。感謝したい。

### 13. 膀胱知覚終末の活性化因子の検討

河谷正仁(秋田大, 医, 第二生理)

尿が酸性化することによる排尿反射の変化をウレタン麻酔ラットを用いて検討した。膀胱収縮開始時間は pH 6.0~7.0 を100%とすると pH 4.5 では95%, pH 3.5 では85%, pH 3.0 では71%となった。L6 の後根線維の単一線維を用いて放電状況を検討した。膀胱内を酸性液に変化させたところ A $\delta$  線維(伝導速度: CV 18~2 m/s)は pH 4.5・3.5液のいづれでも放電の変化が認められなかったが, C線維(CV 2 m/s 以下)は pH 4.5 液で放電発生する膀胱圧の閾値の低下が半数の線維で認められ, pH 3.5 液では全例で閾値が低下した。サイトカインの一つインターロイキン 1 $\beta$  (IL 1 $\beta$ , 1~100 PM/ml)も酸刺激と同様な変化を示した。したがって, 酸刺激や IL 1 $\beta$  により知覚神経終末が刺激され, 知覚過敏が発生し頻尿をおこすと考えられた。

### 14. 膵B細胞における GLP-1 作用とその glucose 依存性について

菅 世智子, 泉井 亮(弘前大, 医, 第一生理)

Glucagon-like peptide 1(7-36)amide (GLP-1)は膵B細胞からのインスリン分泌を促進する。この作用機構について, ホールセルパッチクランプ法を用いて検討した。Nystatin による whole-cell で記録されるB細胞

の静止膜電位はおよそ  $-50\text{ mV}$  であり, GLP-1 を投与すると多くの場合脱分極が生じ, 活動電位が発生した。脱分極が先行せずに活動電位の生ずる細胞もあった。活動電位の発生する細胞の割合は, 細胞外に glucose が存在すると, また glucose を除いてからの時間が短い場合に高く, 30分以上経過したものは興奮しなかった。しかし, 電極内液に ATP(4 mM)をいれると, glucose がなくとも GLP-1 による活動電位の発生をみた。細胞内液に ATP を加え,  $\text{K}^+$  を  $\text{Cs}^+$  に置換して脱分極パルスを与えると, L-type  $\text{Ca}^{2+}$  ( $\text{Ba}^{2+}$ ) 電流が記録された。1 mM dbcAMP を投与すると, 電流の最大値 ( $\text{I}_{\text{Ba}(\text{max})}$ ) は増大した。GLP-1 も  $\text{I}_{\text{Ba}(\text{max})}$  を  $109 \pm 15$  から  $146 \pm 18\text{ pA}$  ( $n=24$ ,  $P<0.05$ ) に増大させた。この効果は GDP $\beta\text{S}$  または Rp-cAMPs によって消失した。GLP-1 は ATP 存在下に cAMP/PKA を活性化し L-type  $\text{Ca}^{2+}$  channel に促進性に作用することが示唆された。

### 15. 培養ラット下垂体前葉細胞における GH および PRL の分泌動態に対する $\beta$ -メルカプトエタノール (ME) の抑制作用

中村一芳, 安田直毅(岩手医大, 医, 第二生理)

互いに近縁関係にある GH と PRL は, 分子内に 2~3 個の S-S 結合を有しており, この結合の適切な形成はこれらホルモンの高次構造構築上, 重要である。その S-S 結合の還元作用を持つ ME は, 培養ラット下垂体前葉細胞における GH および PRL の分泌動態を用量・時間依存性に, かつ可逆的に抑制した。しかし以下に示す如く, GH と PRL とでは ME の作用様式にいくつかの違いが認められた。(1) ME は PRL の分泌, 細胞内含量双方を減少させたのに対し, GH については分泌を選択的に抑制した。(2) ME の最少有効量は GH に関しては 0.01%, PRL については 0.001% であり最大抑制は GH で 70% (0.1% ME), PRL で 90% (0.03% ME) であった。(3) ME による有意の抑制効果発現は PRL では ME とのインキュベーション開始 2~9 分後であったのに対し, GH では 120 分後であった。(4) 培養細胞から回収した培養液および細胞内内容を試験管内にて ME と共にインキュベートすると, GH の免疫活性はいずれのサンプルにおいても不変であったのに対し, 細胞内 PRL の免疫活性は著減した。以上のことから, GH 細胞と PRL 細胞とでは ME の作用部位が大きく異なり, PRL 細胞の方が ME 細胞に対してより感受性の高いことが示され

た。

#### 16. Norepinephrine による精管平滑筋の電氣的興奮の発生機構

中野京子<sup>\*\*\*</sup>, 菅世智子<sup>\*</sup>, 神村典孝<sup>\*\*\*</sup>, 泉井亮<sup>\*</sup> (\*弘前大, 医, 第一生理<sup>\*\*\*</sup>医療短大<sup>\*\*\*</sup>医, 泌尿器科)

モルモット輸精管平滑筋で, Norepinephrine (NE) が引き起こす脱分極のイオン機構と細胞内情報伝達機構について, ホールセルパッチクランプ法を用いて検討した。電位固定して,  $Ca^{2+}$  電流の発生しない条件下に,  $-90 \sim +30$  mV のランプ刺激を行うと,  $-30$  mV より深いところでは電位非依存性, 浅いところでは電位依存性の外向き電流が生じた。電位非依存性電流は, 4 AP, TEA, Tolbutamide では変化しなかったが, Quinine では抑制された。NE を与えた場合も, この電流が減少し, 脱分極した。NE 投与前の電流の交点はおおよそ  $-90$  mV であった。Phentolamine, Prazosin, Propranolol のいずれの薬剤が存在した場合でも, NE の効果は消失した。GDP  $\beta$ S の電極からの投与, Rp-cAMPs や Staurosporine 処理をおこなった細胞では, NE の効果はみられなかった。一方, TPA, dbcAMP の単独投与では効果がなかったが, 両者の同時投与では電極の抑制, 脱分極が生じた。モルモットの輸精管平滑筋に NE が作用したとき発生する脱分極は,  $\alpha$  受容体と  $\beta$  受容体が同時に活性化され, Protein kinase C と Protein kinase A の作用のもとで, Quinidine に感受性のある  $K^+$  channel の開口が抑制される結果であると考えられる。

#### 17. ペオニフロリンおよびグリチルリチン酸塩による子宮筋収縮抑制について

吉崎克明, <sup>×</sup>楠引美代子, 福原紅子, <sup>×</sup>福島峰子(秋田大, 医療技術短大)

ペオニフロリン (PF) は芍薬根から, またグリチルリチン酸 (GRA) は甘草根からの抽出主成分である。これらの物質が非妊娠ラット子宮筋のプロスタグランジン  $F_{2\alpha}$  ( $PGF_{2\alpha}$ ) 或は高濃度カリウム (HK) 誘発収縮及び自発収縮に対してどのように作用するかを検討した。芍薬エキス及び甘草エキスを子宮筋収縮に直接作用させた場合, 芍薬エキスは  $PGF_{2\alpha}$  誘発収縮を部分的に抑制したが, HK 誘発収縮及び自発収縮を抑制しなかった。一方, 甘草エキスは  $PGF_{2\alpha}$  誘発収縮の一部, HK 誘発収縮及び自発収縮を濃度依存性に抑制

した。PF は芍薬エキスと同様  $PGF_{2\alpha}$  誘発収縮を部分的に抑制したが, HK 誘発収縮及び自発収縮をいずれも抑制しなかった。一方, GRA の収縮抑制作用は甘草エキスに比べると弱い,  $PGF_{2\alpha}$  および HK 誘発収縮並びに自発収縮のいずれも濃度依存性に抑制した。これらの結果から, PF は受容器依存性収縮を, また GRA は受容器依存性及び脱分極性収縮のどちらも部分的に抑制することがわかった。PF は芍薬エキスのもつ子宮筋収縮抑制作用の主役成分である一方, GRA は甘草エキスの示す子宮筋収縮抑制作用に比べて弱いことから甘草エキス中には GRA 以外に子宮筋収縮抑制作用を演じている成分が含まれている可能性のあることが示唆された。

#### 18. 子宮筋における oxytocin receptor の auto-regulation

菅野隆浩<sup>\*</sup>, 中野京子<sup>\*\*\*</sup>, 和田潤郎<sup>\*\*\*</sup>, <sup>×</sup>土橋義房<sup>\*\*\*</sup>, <sup>×</sup>高野静子<sup>\*\*\*</sup>, 泉井亮<sup>\*</sup> (\*弘前大, 医, 第一生理<sup>\*\*\*</sup>医療短大<sup>\*\*\*</sup>産婦人科<sup>\*\*\*</sup>福島医大, 薬理)

非妊娠モルモットの摘出子宮筋標本において oxytocin の間歇的繰り返し刺激の効果を検討した。張力測定において  $100$  nM oxytocin で一時間毎10分間の刺激を行うと, 3 回目以降より持続的な収縮上に phasic な収縮が出現しはじめ, その張力は 4 回目刺激で初回刺激の約 4 倍に増大した。一方 2 及び 3 回目をアセチルコリンで置き換えたところ 4 回目の張力増大は 2.5 倍であった。IBMX ( $1$  mM) で前処置すると繰り返し刺激の効果が約 6 倍に増強され, H-88 ではその増大が 2 倍にまで抑制された。細胞内の cAMP レベルは 3 時間無刺激時の  $1.43 \pm 0.12$  から,  $1.78 \pm 0.08$  (pmol/g tissue) へと増加傾向が見られた。受容体結合実験では受容体の親和性には大きな影響はなかったが, 受容体数は 3 時間無刺激時の約 3 倍に増加した。抗オキシトシン受容体抗体染色では刺激によって染色が著明に増強し, Rp-cAMP の前処置で染色がほとんど抑制された。以上より子宮筋の oxytocin receptor には oxytocin の間歇的繰り返し刺激によって cAMP を介する up-regulation が存在し, receptor 密度の増加が起こることが示唆される。

#### 19. ラット視床 VPM 核の歯根膜機械受容ニューロンの性質

田端孝義, 林 治秀(東北大, 歯, 口腔生理)

歯を機械的に刺激した時の歯根膜情報は三叉神経、延髄の三叉神経感覚核群、視床 VPM 核を経て、大脳皮質体性感覚野へと投射される。しかし、ラット脳内各レベルの歯根膜ニューロンについての研究は未だ殆ど見当たらない。従って、本実験ではラット視床 VPM 核から上・下顎切歯機械刺激に反応する歯根膜ニューロンを記録し、その応答特性を調べた。歯根膜ユニットは VPM 核の吻側 2/3 の腹内側部に局在し、上顎切歯に反応するユニットは背側に、下顎切歯に反応するユニットは腹側に分布していた。歯の持続的な刺激に対し、記録されたユニットの約30%は遅順応性に、残り約70%は速順応性に反応した。遅及び速順応性ユニットとも、その大多数(約90%)は対側切歯のみに反応する単歯支配ユニットであった。切歯を種々な方向から刺激した時の反応角度の広さ(応答野)を観察すると、遅順応性ユニットの多くは反応角度が180度以下で、歯の刺激に対し方向選択性のあるユニットであり、速順応性ユニットの多くは刺激に対し方向選択性のないユニットであった。大多数のユニットの閾値は 0.05 N 以下であった。

## 20. 関節炎ラットにおける結合腕傍核の侵害受容細胞の特徴

松本範雄, <sup>×</sup>H. Bester\*, <sup>×</sup>J. M. Besson\*, <sup>×</sup>J. F. Beranard\* (岩手医大, 歯, 口腔生理・\*INSERMU-161, France)

Freund adjuvant 投与による関節炎は慢性痛のモデルとされている。この炎症が結合腕傍核 parabrachial nucleus (PB) の侵害受容細胞の機械刺激に対する応答特性にどのような影響を及ぼすかを調べた。実験には笑気と酸素の混合ガスおよび0.5%-ハロタンで麻酔、ガラミンで不動化したラットを用いた。関節炎は尾基部への Freund adjuvant 投与によって作られ、関節炎が最大に達する 3~4 週目に実験を行った。PB の単一ニューロン活動の導出には pontamine sky blue を含む 5%-NaCl 溶液を充填したガラス微小電極を用い、機械刺激として 2~80 N/cm<sup>2</sup> の圧刺激が与えられた。両群で記録された侵害受容細胞(コントロール群 22 unit, 炎症群 31 unit)の大部分は PB の外側歪核内にあるいはその周辺に位置しており、その受容野の大きさに差は認められなかった。しかし、コントロール群では低い自発発火頻度が炎症群で有意に上昇していた(0.3 vs 3.6 Hz)。圧刺激の強度-応答曲線を調べたところ、両群の細胞ともに強さを符号化 encode し

たが、炎症群はコントロール群に比して左上方に移動していた。すなわち炎症群で閾値の低下(15.8 vs 5.9 N/cm<sup>2</sup>)、最大応答の発火頻度の上昇(15.7 vs 26.3 Hz)、最大応答の50%を誘発するための刺激強度の低下(34 vs 21 N/cm<sup>2</sup>)が観察された。

## 21. 成熟大脳皮質組織培養における酸素分圧の影響

<sup>×</sup>山田勝也, <sup>×</sup>小番 篤\*, 小川哲朗(秋田大, 医, 第一生理・\*エイブル(株))

成熟大脳皮質を用いた切片培養において、幼弱な組織に用いるのと同様の手法で行うと1日を経ずして組織に著しい浮腫を生じ、神経細胞は死滅する。成熟組織では幼弱な組織と違って酸素や培養液が十分浸透しない可能性が考えられた為、組織を通常より薄く150ミクロン厚に薄切して培養したところ、1週間にわたり一部の神経細胞の生存が認められた。またその際、切片の生存率は培養液の交換頻度に強く依存することが示唆された。

ここで今回、脳組織に対して培養液を連続的に灌流して培養を行い、インキュベーターによる静的培養条件と比較した。組織は通常急性実験に用いられていると同様の400ミクロン厚に薄切した。神経細胞の状態を評価する目的で白質の電気刺激を行い、皮質各層で細胞外ならびに細胞内記録を行った。また、記録後組織を固定し、形態学的検討を加えた。

その結果、培養液を交換しない静的培養条件下では酸素分圧21%下でも90%下でも4時間以内に電気生理学的応答が不可逆的に消失すること、また組織は浮腫をおこしているのに対して大多数の神経細胞は著しく萎縮していることが明らかとなった。これに対して、培養液を灌流した場合には10数時間にわたり電気生理学的応答が持続し、神経細胞の萎縮も見られなかった。

## 22. 活動電位の幅から区別される、外背側被蓋核のコリン作動性および非コリン作動性ニューロン —細胞外記録した単一ニューロンのバイオサイチンによる標識—

小山純正, <sup>×</sup>日下部美智, 香山雪彦, <sup>×</sup>本多たかし\* (福島県立医大, 第二生理・\*第一解剖)

外背側被蓋核(LDT)には、コリン作動性ニューロンが存在し、レム睡眠の調節に重要な役割を果たしている。我々は、頭部のみを無痛的に固定したネコのLDTとその近傍から、レム睡眠時に特異的に活動の上昇するニューロン(PS-onニューロン)を記録し

た。そして、活動電位の幅から、PS-on ニューロンが2つのタイプに分けられることを明らかにした。我々は、いくつかの根拠から、活動電位の幅の広いニューロンがコリン作動性、活動電位の幅の狭いものが非コリン作動性であると考えている。この仮説を証明するため、細胞外記録した単一ニューロンのバイオサイチンによる標識を試みた。ガラス電極によって、麻酔下のラットのLDTから神経活動を記録し、同じ電極から2~10 nAの陽性矩形波電流によってバイオサイチン(3~6%)を5分間投与した。標識されたニューロンはTexas redの蛍光で確認した。コリン作動性か否かは、NADPH-diaphorase染色で確認した。活動電位の陽性成分の持続時間(スパイク幅)が0.8 msec以上の18個のニューロンのうち、17個がNADPH-diaphorase陽性、つまり、コリン作動性であった。スパイク幅0.8 msec以下の38個のうち、35個はNADPH-diaphorase陰性、つまり非コリン作動性であった。以上の結果は、LDTとその近傍において、活動電位の幅によってコリン作動性ニューロンと非コリン作動性ニューロンが区別できることを示す。

### 23. 条件付き運動課題におけるサル大脳運動前野の役割

蔵田 潔(東北大, 医, 第二生理)

これまでの実験により、視覚刺激にもとづいた一側の上肢による条件付き運動課題において、運動前野のうち特に背側部が重要な機能を有していることを明らかにしてきた。そこで本研究では、高音と低音の聴覚刺激を条件刺激とし、左右いずれかの上肢到達運動を選択するという課題を用い、条件付き運動課題における運動前野背側部の役割をさらに検討した。各試行は左右手によるキー押しによって開始された。聴覚刺激は運動の開始前の待機期間中に指示信号として与え、運動の契機となるLEDの点灯後、指示された側の手のキーを放し、別のキーが押されたままであると、成功した試行として報酬が与えられた。訓練終了後、単一ニューロン活動記録を行い、運動前野背側部の上中心前溝の外側部に指示信号呈示後に持続的に発火活動の変化する準備関連活動を示すニューロンを多数記録した。これらの準備関連活動はどちらの手を動かすかを指示されたかに依存して選択的発火を示すものが多かった。このような活動が記録された領域にムシモルを微小注入したところ、行うべき運動の選択のエラーが観察された。これらの実験結果は、運動前野背側部が聴覚による条件付き運動課題の遂行に重要な役割を果たしているとともに、大脳半球の反対側の手のみならず、同側の手の運動の準備あるいは遂行に寄与していることを示唆する。

## 第 89 回 近畿生理学談話会

日 時：1996年 9月14日

場 所：奈良県立医科大学

当番幹事：奈良県立医科大学 第二生理学教室 榎 泰 義

近畿生理学談話会は、1994年より年1回開催され毎回多数の参加を得て活発な学術的議論が交されてきている。今回も2会場に分かれてすべて口演の形式でそれぞれ13名の専門の座長の先生に2～3の演題の司会をお願いした。座長をお引き受けいただきました先生がたにお礼申し上げます。

分子生物学的な研究からシステムを扱った研究に至るまで、27演題、巾の広い発表がもたれた。

日生誌用抄録に関して、当番教室のつごうでコンピュータの機種をさせていただきましたが、ディスクによる提出はトラブルなく回収することができました。

評議員会では日本生理学会常任幹事会の報告を京都府立医大第一生理、森本武利教授、大阪大学第二生理、福田 淳教授、大阪大学神経生理、津本忠治教授、近畿大学第二生理、松尾理教授よりいただきました。

今回の第90回近畿生理学談話会は平成9年(1997年)兵庫医科大学で開催される予定である。

(上月 記)

×は非会員を示す

### 1. ラット嗅球ニューロン活動の時系列分析

小川陽一(奈良医大, 第一生理)

においの検出および弁別の際の背景となるニューロン活動の特徴を調べるため、air-sniffing 時のラットの嗅球から単一ニューロン活動を記録し、スパイク間隔(ISI)を計測・分析した。

僧帽細胞層およびその近傍から16例のニューロン活動が記録された。平均発火頻度は20.31(8.83～41.02)/secであった。13例のニューロンではISIヒストグラムは単峰性であり、指数関数性の減衰を示した。また、14例では連続する二つのISIの間に正の相関が認められた。さらに、Fourier変換およびWalsh変換を用いてスパイク列の周波数分析を行った結果、11例で低周波ゆらぎが認められた。呼吸によると思われるスペクトルピークを示したのは2例だけであった。Hazard関数を用いてスパイク発生後の興奮性の変化を調べたところ、11例で再帰性抑制によると思われる興奮性の低下に続いて興奮性が上昇する傾向があった。

この結果は嗅球ではsniffing時の呼吸リズムによる入力変動が取り除かれる傾向があり、それは再帰性抑制によることを示唆している。また、低周波ゆらぎと連続するISI間の正の相関は再帰性興奮と思われる現象によって生じると思われる。

### 2. ラットバレル皮質ニューロンの組合せヒゲ刺激に対する応答の刺激方向選択性

七五三木聡, 市川健彦, 赤崎孝文, 佐藤宏道(大阪大, 健康体育部, 運動生理)

齧歯類において、ヒゲ刺激の順序および方向が体性感覚系でどのように表現されるのかを検討するために、麻酔したラットの2本のヒゲを静止位置から尾側・吻側方向へ機械的に連続刺激し、一次体性感覚野(バレル皮質)における単一ニューロン活動を細胞外記録した。刺激として2本のヒゲを刺激する順序とヒゲを倒す方向が一致するSense刺激と、それが乖離するNon-sense刺激の2種類を用いた。その結果、2本のヒゲを様々のタイミングで組み合わせ刺激すると個々の単一ヒゲ刺激に対する応答の加算以上のスパイク数増大(促通現象)を生じるニューロンが数多く見出された。その中でも、Sense刺激のみに促通がみられるニューロンがあり、特に、Sense条件でもヒゲを吻側方向から尾側方向へ倒すのか、その逆かで促通の有無や程度に明瞭な差がみられた。このように、物体の動きあるいは動物自身の運動を知覚するための重要な情報になっていると考えられるヒゲ刺激の向き、順番、タイミング(運動速度)は、バレル皮質ニューロンにおける応答の相互作用の違いとして表現されている可能性が示唆された。

### 3. ラットバレル皮質ニューロンの組み合わせヒゲ刺激に対する応答特性

市川健彦, 七五三木聡, 赤崎孝文, 佐藤宏道(大阪大, 健康体育部, 運動生理)

ウレタン麻酔下のSDラット一次体性感覚野ヒゲ対応領域(バレル皮質)において30個のニューロン活動を記録し, 主たる興奮性入力を与えるヒゲを刺激したときの応答が, 隣接するヒゲと組み合わせて刺激することにより, どのように修飾されるかを調べた. その結果, 隣接ヒゲを同時に, または数ミリ秒先行させて刺激すると16個のニューロンは個々のヒゲ刺激に対する応答の加算以上のスパイク数の増大やピーク潜時の短縮など, 促進性の相互作用を示した. このうち10個は先行刺激の間隔を5ミリ秒以上にすると抑制性の相互作用があらわれ, 刺激によって誘発される応答が著しく減弱した. 一方, 組み合わせ刺激によって抑制性の相互作用しか示さないニューロンが7個見られ, このうち4個はIV層に存在していた. 以上の結果から, 1. 周辺受容野の刺激によりバレル皮質ニューロンにまず短時間の興奮とそれに続く抑制の2相性の応答が生じる, 2. IV層では周辺受容野から抑制作用のみを受けるような入力様式がある, 3. 複数のヒゲ刺激によるバレル皮質ニューロンの活動の修飾様式は個々の興奮性反応や抑制性反応の時間的加算に依存している, などの点が示唆された.

### 4. 含流アミノ酸, タウリンの心臓電気生理学作用

佐藤広康(奈良医科大, 薬理)

健常心臓には多量のタウリン(10~20 mM)が存在していて, 虚血時には低下することが報告されている. タウリン適用は, こういった病態下で引き起こされるCa過負荷時に多くの利益をもたらすことが分かってきた. 我々は心筋細胞膜上の各イオンチャネルにどのような変化を示すかを, 単離モルモット心筋細胞を用い, 各イオンチャネルに対する作用と単一チャネルの開閉機構について検討した.

タウリンは, 高または低Ca<sup>2+</sup>濃度が引き起こす活動電位持続時間, 自動能活性, 遅延整流性外向きK<sup>+</sup>電流, L型Ca<sup>2+</sup>電流への効果に拮抗的に作用した. その開閉機構は開口確率に依存するものであった. また, 潜在性T型Ca<sup>2+</sup>チャネルを新たに出現した. TTX感受性Na<sup>+</sup>電流は濃度依存性に抑制された. 内向き整流性K<sup>+</sup>電流, ATP感受性K<sup>+</sup>電流も抑制した.

生理活性物質タウリンは細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度によって, イオンチャネルへの作用を逆転するというユニークな効果を示した. これはタウリンが病態時でも細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度を一定に保持するホメオスタシスの役割を担っていて, 心筋保護作用の役割を果たしていることを強く示唆した.

### 5. ラット洞房結節からのペースメーカー細胞の単離

品川泰子, 過集慶, 鷹野 誠, 野間昭典(京大, 医, 生理)

心臓ペースメーカー電位に関する研究は, 従来殆ど全て, ウサギの洞房結節で行われてきたが, 心拍数は動物によって大きく異なり, 比較生理学的研究が必要である. 我々はこれまで報告のないラットの洞房結節細胞の活動電位と膜電流を解析することにした. 洞房結節をランゲンドルフ灌流することは困難であったので, 先ずラットペースメーカー細胞の単離法を開発した. 即ち, 心房に注射針を穿刺し, これを介して心房内腔を酵素液で灌流する方法である. まずTrypsinで心内皮細胞層を剥離した後, Collaganaseで筋層を消化し, 洞房結節細胞を分離した. 得られた洞房結節細胞は自発的な拍動をし, この細胞からは拡張期緩徐脱分極をもった洞房結節細胞の典型的な活動電位記録が得られた. また電流記録は, 保持電位-50 mVからの脱分極パルスの始めにCa<sup>2+</sup>電流, 脱分極パルスを切った後に外向きTail current, 過分極パルスを切った直後にNa<sup>+</sup>電流, -100 mV以下の過分極パルス中にIf(funny inward current)等を示し, また, 保持電位-80 mVからの脱分極パルスによる電流記録はIst(sustained inward current)を示した. これらの電流成分のうち, IfとIstはウサギと同じくペースメーカー細胞に特有な電流であることがわかった.

### 6. 視索上核ニューロンのオキシトシンに対する膜特性のブラインド・パッチクランプ法による解析

山田順子, 中島敏博, 清原壽一(京都工芸繊維大, 応用生物)

我々は, 細胞外記録により, ラット視索上核(SON)のtoniな放電パターンを示すオキシトシン(OXT)分泌ニューロンと考えられる細胞は, OXT投与により発火活動がバーজন雌ラットでは抑制, 雄では促進されることを示した. また, この雌の抑制反応は, 出産時に反応方向が逆転し促進反応を示し, 授乳期間中促進反応が維持され, 授乳終了により再び抑制反応に戻

る。この反応方向の逆転はエストロゲンにより引き起こされることも確認してきた。しかし、これらの細胞の OXT による免疫組織化学的の同定は今だ行われておらず、これらの反応をおこす細胞が OXT 分泌ニューロンであると言う証拠はなかった。そこで今回まず、OXT 投与による SON ニューロンの自発放電及び膜電位及の変化をグラミシジン穿孔ブラインド・パッチクランプ法により、カレントクランプ・モードで観察し、さらに記録細胞を二重標識法を用いて、含有ペプチドを免疫組織化学的に同定した。その結果、バージン雌ラットの SON ニューロンのうち OXT 投与により膜電位が過分極し、ニューロン活動が抑制されたものは、OXT 抗体による免疫染色で OXT 含有ニューロンであることが確認された。

#### 7. 高浸透圧刺激時の視索上核ニューロンの c-fos 発現に及ぼす AV3 電気破壊の影響

松永 渉, 宮田清司, 中島敏博, 清原壽一(京都工芸繊維大, 応用生物)

第三脳室前腹側部(AV3V)には、体液浸透圧受容器があり、視索上核(SON)や室傍核(PVN)の大細胞神経内分泌細胞(MNCs)に投射して、オキシトシン、バゾプレシンの分泌調節を通じて体液浸透圧調節に深く関わっている。

その一方、MNCs 自体にも浸透圧感受性があるとする報告があり、MNCs も独自に浸透圧調節を行っている可能性がある。本研究では、AV3V を電気破壊した個体と正常な個体との、SON の MNCs の高浸透圧刺激に対する反応性の差を、c-fos タンパク発現の有無から観察し、MNCs と AV3V の、浸透圧調節機構における役割を検討した。

10~11週齢の雄の Wistar 系ラットを、正常群、AV3V 電気破壊群、シャム群の三群に分け、それぞれに無刺激(コントロール)、高張食塩水投与、脱水2日、脱水5日の浸透圧刺激を施した。刺激後、SON を含む凍結切片を作成して c-fos 抗体を用いた免疫染色を行い、c-fos 陽性の MNCs を数えた。

その結果、正常群、シャム群では、刺激の種類によらず多量の c-fos 陽性細胞が見られた。これは、MNCs の代謝活動が活性化し、オキシトシン、バゾプレシンの合成が盛んになっている事を示している。しかし、AV3V破壊群では、高浸透圧刺激時の c-fos 陽性細胞数は、正常群、シャム群と比較して有意に少なく、非破壊個体の5~20パーセント程度に抑制され

ていた。浸透圧受容機構において MNCs が主たる役割を果たしているならば、AV3V 破壊個体でも、MNCs が自身を活性化させ、多量の c-fos 発現が予想されるが、本研究の結果では、破壊個体の c-fos 発現は少なく、MNCs の代謝活動の活性化は抑制されており、浸透圧調節機構のメインは AV3V であると言える。

#### 8. 長期脱水による下垂後葉ホルモン産生ニューロンの肥大化に及ぼす AV3V 電気破壊の影響

門藤裕子, 宮田清司, 中島敏博, 清原壽一(京都工芸繊維大, 応用生物)

下垂体後葉ホルモンにはバゾプレシンとオキシトシンとがある。これらバゾプレシンやオキシトシンは、視床下部の視索上核や室傍核にある大細胞性神経分泌ニューロン(MNCs)で合成され、軸索輸送により下垂体後葉に運ばれ、必要に応じて直接血液中に分泌される。その分泌量は、ストレスや血漿浸透圧の上昇といった刺激で著しく増加する。また、これらの長期刺激により MNCs には細胞の肥大化などの形態学的可塑性が観察される。この形態学的可塑性を起こす MNCs への求心性入力の一つには第三脳室前腹側部(AV3V)からの投射が知られており、血漿浸透圧の変化はここで受容されていると考えられている。一方で MNCs 自身が血漿浸透圧の変化を受容するともいわれている。

そこで本実験では、AV3V を電気破壊し、免疫組織学的方法により MNCs に生じる形態学的可塑性を観察することで、主要な浸透圧受容部位がどこに存在するのかを検討した。intact 群の脱水処理ラットでは、正常飲水ラットに比べて約150~170%の細胞に肥大化が見られ、それは Sham 群でも同様であった。しかし電気破壊を行った脱水処理ラットでは、正常飲水ラットに比べて細胞に肥大化が見られず、その大きさは intact 群や Sham 群の正常飲水ラットと変わらなかった。

#### 9. PC12 細胞の温度応答性における細胞内 Ca<sup>2+</sup> ストアの関与

竹沢 学, 宮田清司, 中島敏博, 清原壽一(京都工芸繊維大, 応用生物)

これまで我々は、神経成長因子によって交感神経節後ニューロン様に分化した PC12 細胞(ラットの副腎髄質褐色腫細胞由来の培養細胞)の電気生理学的研究

と光学的測定を行い、この細胞が冷感受性を持ち、温度刺激によって細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度が一過性に上昇するという結果を得た。また、その上昇は細胞外液中の  $\text{Ca}^{2+}$  を除去しても観察されたことから、その大部分は細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  ストアから遊離された  $\text{Ca}^{2+}$  が関与していることが推測された。さらに、温度上昇と温度下降とでは細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度が上昇する部位が異なる事も観察された。現在のところ2種類の細胞内ストア(IP3-induced  $\text{Ca}^{2+}$  release (IICR),  $\text{Ca}^{2+}$ -induced  $\text{Ca}^{2+}$  release)が知られているが、本研究ではそれぞれの細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  ストアからの  $\text{Ca}^{2+}$  遊離阻害剤等を用いて、そのストアの同定を試みた。その結果、温度下降による細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度の上昇には、IICR系の細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  ストアからの  $\text{Ca}^{2+}$  放出が深く関与している事が示唆された。

#### 10. 褐色脂肪細胞におけるノルアドレナリンによる細胞内 $\text{Ca}^{2+}$ 上昇

尾松万里子, 北里 宏(滋賀医科大, 第二生理学)

ラットを寒冷暴露すると血中ノルアドレナリン(NA)濃度が上昇し、2週間ほどで褐色脂肪組織が数倍増大して熱産生が盛んになり、寒冷馴化を起こすことが知られている。短時間のNA投与によって褐色脂肪細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度 ( $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ) が上昇することが報告されているが、詳細は明らかではない。今回、5~9週齢ラットから得た培養成熟褐色脂肪細胞を用いて、NAによる  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  上昇機構について検討した。NAを細胞に与えると、 $[\text{Ca}^{2+}]_i$  は上昇して1000nMを越え、一定の濃度を維持したが、NAを取り去ると静止状態のレベルまで戻った。この反応は $\alpha 1$ -アゴニストによって再現することができた。細胞外  $\text{Ca}^{2+}$  を取り去るとNAに対する反応は非常に小さくなり、細胞外  $\text{Na}^+$  を取り去ると静止状態の  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  は上昇した。Thapsigarginを与えると  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  は上昇したまま元のレベルに戻らなくなった。これらのことから、NAは $\alpha 1$ 受容体を介する経路で細胞外から流入した  $\text{Ca}^{2+}$  が小胞体の  $\text{Ca}^{2+}$  を放出させる calcium-induced calcium-release を惹起し、細胞からの  $\text{Ca}^{2+}$  排出にはNa/Ca交換輸送機構が寄与している可能性があると考えられた。

#### 11. 末梢神経移植による脊髄損傷の神経修復—胎児脊髄節との比較

×麻田義之\*\*\*, 川口三郎\*\*, 村田宮彦\*\* (\*京都

大学医学研究科, 医, 整形外科・\*\*認知行動脳科学)

損傷脊髄の神経修復の試みとして、新生ラットの胸髄節を切除した後、その空所に1群では坐骨神経を、他群では胎児脊髄を移植し逆行性・順行性標識法により神経結合を調べた。坐骨神経移植群ではFast Blueを腰膨大に注入すると、延髄で少数の細胞が標識されるのみであったが、移植片尾側端と脊髄の境界部に注入すると脳幹部を中心に相当数の細胞が標識され、さらに赤核ら大脳皮質にも標識細胞を観察できる例があった。WGA-HRPを用いて下行性伝導路を順行性に標識してみると多数の軸索が移植片尾側端と脊髄の境界部まで伸びているのが観察されたが、大部分は境界部でブロックされ、一部は脊髄内に侵入するも境界部の近傍に終止した。一方、胎児脊髄移植群では移植片を越えて伝導路が形成され、それらは正常な経路を辿り、正常な終止部位に終止した。以上の結果は中枢神経軸索が中枢神経の中を伸びるにはグリアや細胞外基質に含まれる軸索を誘導する「手がかり」を必要とし、胎児脊髄の移植により整合性のある「手がかり」が導入されれば著明な再生が起こるのに対し、境界部で「手がかり」の整合性が失われる末梢神経移植では限定された再生しか起こらない事を示している。

#### 12. ラット台形体内側核細胞のシナプス伝達における生後発達

中馬奈保, 大森治紀(京都大, 医, 生理)

ラットの台形体内側核細胞は聴覚系の3次ニューロンであるが、そこへの入力巨大な杯状シナプス前終末を形成し、シナプス前終末からの直接の電気記録も可能である。この台形体内側核細胞および入力線維のシナプス前終末から記録を行うことにより、シナプス伝達の成熟過程の解析を行った。記録はシナプス前終末が膨らみを見せ始める生後4日齢(P4)から、シナプス前終末がほぼ成熟した形態をとるP11までの間で行った。興奮性シナプス後電流(EPSC)は、P4では小さくピークまでの時間も長く、大きさのばらつきも大きいのにに対し、成熟が進んだ段階では、大きくばらつきの少ない、ピークまでの時間も短いものへと変化した。これにより、このシナプスの特性である、速くて正確な情報伝達が実現されるようになるものと思われる。

さらに、EPSの大きさの分散( $\sigma^2$ )を平均( $\mu$ )で割ったもの( $\sigma^2/\mu$ )、即ちmEPSCの大きさ(a)と伝達物質が放出されない確率(1-p)の積を取ると、日齢が進む

に従ってその値が減少していく。mEPSC の大きさの日齢に伴う大きな変化がないことから、伝達物質の放出確率(p)が日齢が進むに従って上昇していると考えられる。また、外液のカルシウム濃度に対する EPSC の依存性を見ると、若齢でも外液のカルシウム濃度を上げることにより進んだ日齢のようにばらつきの少ない大きな EPSC が記録された。生後発達に伴うシナプス伝達の成熟にはシナプス前終末のカルシウムチャネルの変化が関与していると推定される。

### 13. ラット蝸牛遠心性ニューロンの電気生理学的特性

藤野清大<sup>\*、\*\*</sup>、古谷野 好<sup>\*</sup>、大森治紀<sup>\*</sup>、(\*京都大, 医, 生理・\*\*耳鼻咽喉科)

ラット蝸牛遠心性ニューロン(olivocochlear neuron; OCN)の膜特性をスライスパッチクランプ法を用いて調べた。ニューロンの同定には蛍光色素による逆行性標識を用いた。二群の OCN(LOC, MOC)は異なる特性を示した。脱分極刺激に対する発火様式は、両群とも tonic であり静止膜電位からの発火では両群間に大差を認めなかった。静止膜電位から 10mV 程度過分極させた膜電位(約 -75mV)から脱分極刺激を与えると、LOC では長い first interspike interval (ISI)を、MOC では長い first spike delay を認めた。電位固定実験では LOC は fast( $\tau=60\sim 120$  ms), sloW( $\tau=500\sim 1,200$  ms)二成分の一過性 K 電流を、MOC は fast( $\tau=20\sim 60$  ms)一成分の一過性 K 電流をそれぞれ認めた。過分極時における発火特性はそれぞれの持つ一過性 K 電流によるものと考えられた。一次聴ニューロンの発火に対して LOC は促進性に、MOC は抑制的に作用することが知られている。我々の実験結果から、両者は単純な拮抗的調節のみならず、膜電位その他の条件により、非線形的でより複雑な調節を蝸牛に対して行い示唆された。

### 14. 層状核細胞での音源定位機構

古谷野好、船曳和雄<sup>\*</sup>、大森治紀(京都大, 医, 生理・\*耳鼻科)

層状核は鳥類の聴覚伝達路を構成する神経核であり、左右の耳に到達する音の時差をコードする機能を担う。ここでコードされた両耳間時差をもとに、より上位の聴神経核で音源の位置が認知されると考えられている。層状核の機能の一部は、左右の大細胞核神経からの興奮性入力と同時に到着した時にだけ発火する

層状核細胞の同時検出機構によると考えられる。個々の層状核細胞がどのような精度で同時検出機構を実現するかは、音源の定位がどのような精度で実現されているかを知る大きな手がかりとなる。

ヒヨコ胚脳幹スライス標本を用い、層状核細胞で同側及び対側の大細胞核からの EPSP を観察した。刺激間隔を漸次短縮し、両 EPSP の重畳によって誘発される活動電位を観察した。刺激間隔と発火確率の関係から、層状核細胞での興奮性入力のみによる同時検出機構は、刺激間隔 0ms で平均最大発火確率 0.6 であり、最大発火確率の 1/2 以上を与える平均刺激間隔(window)は  $\pm 3$  ms であった。同時検出機構の精度はこの window の大きさにより決定され、この大きさは EPSP の時定数に強く依存した。GABA 性抑制性入力はその短絡効果により EPSP の時定数を減少させ、window を小さくすることにより同時検出機構の精度を上げ得ることが示された。

### 15. マイクロエレクトロポレーションによる神経細胞内への物質導入の試み

大森治紀、中馬奈保、古谷野 好(京都大, 医, 生理)

エレクトロポレーションは数 msec の短い、強い電場によって細胞膜を穿孔し物質の導入を行う技術である。1kV 程度の電圧を掛けることで浮遊細胞群に遺伝子を導入することに主として応用されている。また、狭い間隔で並べた金属電極を用いて単層培養された上皮細胞に化学物質を導入する試みも行われている。細胞に実質的に加わる電圧は 1V 程度であるが、神経細胞はたやすく破壊されるために電気穿孔法による安定した物質の導入は行われていない。一方パッチ電極法では電気穿孔法に類似した zapping 法により細胞膜に穿孔し安定した whole cell 記録を行っている。

マイクロエレクトロポレーションはパッチ電極様の電極を用いて細胞膜に電気穿孔を行い同定された特定の細胞に物質を導入する新たに開発した手法である。小脳培養神経細胞系の顆粒細胞およびプルキエニュー細胞に個々にマイクロエレクトロポレーションをおこなう、その後数日間細胞を生存させることが可能であった。電気穿孔した神経細胞は同時に細胞内に導入した蛍光色素によって同定できた。シナプス活動、膜興奮性を初めとして正常の対照群と変わりはなかった。蛍光色素に抱合された dextran の大きさから少なくとも分子量 10K までは神経細胞内に導入が可能であった。cos7 細胞ではマイクロエレクトロポレーション

によって GFP-gene の導入も可能であった。

#### 16. グルタミン酸受容体サブユニットの発現様式によるネコ網膜 A 及び B 型水平細胞の機能分化

森際克子, <sup>×</sup>Noga Vardi\* (大阪大, 医, 第二生理・\*University of Pennsylvania)

ネコ網膜には A, B 型の二種類の水平細胞が存在し, 視細胞に抑制性フィードバックをかける事により周辺受容野を形成する事が知られているが, その機能分化については明らかにされていない。我々はその機能分化を検討するために, グルタミン酸受容体サブユニット (GluR 2/3, 2/4, 4, 6/7) の発現様式を, A, B 型を染め分け得る抗カルビンデイン抗体との二重染色免疫組織化学法で調べた。その結果, 樹状突起終末部は, A 型では抗 GluR 4, 6/7 抗体で鮮明に染まったのに対し, B 型ではこれらの抗体で明確に染まらなかった。抗 GluR 2/3, 2/4 抗体では両型とも濃く染まった。この研究で A, B 型が樹状突起終末部で異なる AMPA/カイニン酸受容体サブユニット構成を持ち得ることが明らかとなった。GluR 6 が PKA によって磷酸化されカイニン酸への応答を増大させ得る唯一のサブユニットであることから, 本研究は A 型が明暗順応に応じて周辺受容野を変化させ得る可能性と, 魚類網膜で既に明らかにされている, 水平細胞においてドーパミンが PKA を介してカイニン酸への応答を増大させるという知見の生理学的機構を示唆する。

#### 17. 磁気刺激による神経・筋の興奮部位

千葉 惇, 秩父志行 (近畿大, 医, 第一生理)

磁気刺激による神経や筋の興奮部位についてカエルの神経・筋標本および坐骨神経標本を用い, 興奮発生する部位を推定した。標本はウシガエルの縫工筋, 腓腹筋, 脊髄-坐骨神経-母趾筋, 坐骨神経で, 19℃ のリンゲル液に浸して実験した。磁気刺激装置は 2.2 Tesla のマグステム 200 (Magstem) で, 70 mm の 8 字コイルを用いた。ストレイン・ゲージによる筋の張力変位や EMG, 吸引電極による電位変化を記録した。磁気刺激の渦電流に対する筋の興奮特性では, 筋走行に対して渦電流が平行又は逆平行時に筋収縮が強く, 垂直の場合には筋収縮が起こらなかった。ツボクラリンや TTX を投与すると筋収縮が起こらなくなった。これにより, 磁気刺激は筋に直接興奮を引き起こすのではなく, 終板へ分布している神経線維が興奮して筋収縮を引き起こすと考えられる。脊髄の磁気刺激では,

脊髄-坐骨神経-母趾筋の標本において脊髄からの分枝部位で, 渦電流と直交する部位で興奮が発生した。坐骨神経の両端に吸引電極を配置しその中央に磁気刺激を与えると, 渦電流の強い部位ではない神経線維の屈曲部位が興奮し, 神経伝導速度からその屈曲部位が興奮部位であることが判明した。

#### 18. ネコの脊髄後角広作動域ニューロンの A 線維反応と C 線維反応のケタミンおよび MK-801 静脈内投与による抑制

<sup>×</sup>長田 昭, <sup>×</sup>藤野義久, 陳 軍\*, 小山なつ\*, 横田敏勝\* (滋賀医科大, 麻酔学・\*第一生理)

脊髄後角広作動域ニューロンの末梢神経刺激に対する A 線維反応と C 線維反応に及ぼすケタミンと MK-801 静脈内投与の効果をウレタンクロラローズで麻酔したネコを用いて調べた。通常の麻酔に使われる用量以下でケタミンは, 低閾値機械受容ニューロンの A 線維反応に影響を与えなかったが, 広作動域ニューロンの A 線維反応および C 線維反応の両方を用量依存的に抑制した。特に C 線維反応は A 線維反応より顕著な抑制を受けた。一方, NMDA 受容体の選択的拮抗薬である MK-801 の静脈内投与は, 広作動域ニューロンの C 線維反応のみを抑制した。この結果から NMDA 受容体は C 線維を介する痛みのみに関与していることが示唆された。本実験の結果からケタミンは NMDA 受容体の選択的拮抗薬ではなく, 麻酔量以下の静脈内投与により, A $\delta$  線維と C 線維の両方を介する痛みを抑制することが示唆された。

以上は, 包帯交換や創傷清拭のような臨床上の処置にケタミンが有用であることの科学的根拠となると考えられる。

#### 19. ラットのトレッドミル運動時の圧受容器反射による腎交感神経活動の調節

三木健寿, 高庄敦子, 梶井鈴子 (奈良女子大, 生活健康学)

【はじめに】 運動は, 圧受容器反射による動脈圧調節系を修飾することが知られているがその詳しい機構は不明である。本研究では, ラットにトレッドミル運動を行わせ, 運動中および運動後の圧受容器反射による腎交感神経活動・心拍数の調節系の変化について検討した。

【方法】 Wistar 系のラットを用い, 腎交感神経活動, 心電図, 動脈圧, 中心静脈圧の測定用の電極およびカ

テーターを慢性留置し、1日以上回復期を経た後トレッドミル運動(20m/分)を30分間行わせた。運動の前、中および後で、フェニレフリンおよびニトロプロシッドを静脈内投与し動脈圧を変化させ、動脈圧変化に対する腎交感神経活動および心拍数の応答を観察した。

【結果・考察】 運動中は、動脈圧変化にたいする交感神経活動の応答が高血圧側にシフトし、その反応域およびゲインが増大した。運動後は、交感神経活動の反応域が減少した。以上より、運動は、圧受容器反射による腎交感神経活動の応答域を増し調節ポイントを高血圧側にシフトさせることが明らかとなった。一方、運動中および運動後の動脈圧変化に対する心拍数の応答は腎交感神経の応答と一致せず、副交感神経の強い関与が示唆された。

## 20. 腎近位尿管管腔膜 $\text{Na}^+/\text{H}^+$ 交換体の kinetics model

相馬義郎, 今井雄介, 喜多野郁夫, 森 禎章, 久保川 学, 窪田隆裕(大阪医大・第一生理, 第二生理)

腎近位尿管管腔膜における  $\text{H}^+$  分泌は、主として、尿管管細胞管腔側膜での  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  交換輸送と側基底膜での起電性  $\text{HCO}_3^-$  輸送とのクロストークを通して行われると考えられてきた。食用蛙二重灌流ネフロンにおいて、近位尿管管血液側を酸性にすると著明な脱分極とともに細胞内 pH が低下するにもかかわらず、管腔内 pH の一過性の上昇が認められる(窪田他, 第73回日本生理学会大会予稿集)。今回我々は、それぞれ6つの状態と反応ステップを持つ  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  交換体の non-equilibrium kinetics model を用いて、この逆説的な近位尿管管腔内の pH 変化のコンピュータシミュレーションをおこなった。その結果、 $\text{Na}^+/\text{H}^+$  交換のために仮定した6つのステップのうち、 $\text{H}^+$  と  $\text{Na}^+$  がそれぞれ膜を横切って動く2つのステップの速度定数が実効電荷約-1の膜電位依存性であると仮定することにより、実験結果をうまく再現することができた。この事は、 $\text{H}^+$  または  $\text{Na}^+$  が運ばれる時に起ると考えられる  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  交換体分子のコンフォメーション変化には、イオンの動きと同方向の実効電荷約-2の電荷移動が伴っていることを示唆している。

## 21. 培養近位尿管細胞膜に存在する内向き整流性 $\text{K}^+$ チャネルの可逆的蛋白磷酸化による調節機序

森 禎章, 久保川 学, 喜多野郁夫, 窪田隆裕, 藤

本 守(大阪医科大, 第二生理)

【目的および方法】 腎近位尿管管由来の OK 細胞には、ATP 依存性を有する約 70 pS の内向き整流性  $\text{K}^+$  チャネルが存在する。今回、このチャネルの蛋白磷酸化・脱磷酸化過程による調節機序を、パッチクランプ法を用いて検討した。

【結果】 Cell-attached patch にて観察される内向き整流性  $\text{K}^+$  チャネルの活性は、浴液にプロテインキナーゼ阻害剤である K 252 a や KT 5720 を添加することで低下した。また、このチャネル活性は db-cAMP の添加ではあまり上昇しなかったが、Ro-20-1724 で前処置をした後 db-cAMP を添加すると明らかに上昇した。浴液  $\text{Mg}^{2+}$  存在下で inside-out patch にすると  $\text{K}^+$  チャネルの活性は徐々に低下し、これが  $\text{Mg}^{2+}$  の除去や orthovanadate の添加により阻止される。一方、浴液の ATP により維持されたチャネル活性は、PKA (catalytic subunit) の追加によりさらに上昇し、K 252 a や KT 5720 の添加により低下した。

【結論】 OK 細胞膜に存在する内向き整流性  $\text{K}^+$  チャネルは、cAMP 依存性キナーゼ(PKA)による蛋白磷酸化によって活性化され、 $\text{Mg}^{2+}$  依存性脱磷酸化酵素により不活性化される。

## 22. L-arginine 長期経口摂取は血圧の低下と血小板機能の抑制をもたらす

×野口孝則\*, 佐々木康人\*, 高 智美\*, ×村木敏明\*.\*, ×渡辺定博\*.\*, ×関 淳二\*.\*, 山本順一郎\*(\*神戸学院大, 栄養, 生理.\*.\*神戸大, 医, 保健.\*.\*神戸市看護大, 基礎医学系.\*.\*.\*.\*国立循環器病センター研究所生体工学)

一酸化窒素(NO)は、血管の弛緩、血小板凝集の抑制等を示すことが知られている。NOの基質のL-arginineの長期摂取はNOの体内レベルを上昇させる可能性がある。6週間にわたるラットのL-arginine経口摂取による血栓傾向の変化を、高ずり惹起血栓形成装置のヘモスタトメーターを用いて測定し、血圧への影響も調べた。7週齢のWistar/ST系雄性ラットを2群に分け、一方には飲料水中に2.25% L-arginineを(Arg群)、他方に蒸留水を与え(Con群)、体重、飲水量、血圧の測定を行った。Arg群とCon群で飲水量や体重に差は見られなかったが、Arg群はL-arginine摂取前に比べてもCon群と比較しても有意に血圧の低下が見られた。ヘモスタトメーターを用いた血小板機能の測定の結果、L-arginineの長期間投与

による有意な血小板活性と凝固能の低下がみられた。以上より、L-arginine の長期経口摂取により、生体内での NO レベルが上昇し、血小板活性及び血圧の低下が生じた可能性が示唆される。

### 23. H-2 二量子フィルター NMR を用いたラット座骨神経内の重水の測定

瀬尾芳輝, \*H. Shinar\* (京都府立医科大, 第一生理, \*テルアピブ大, 理, 化学)

生体組織中の水には種々の存在形態が考えられ、結合水・自由水と言った概念もその一つである。分子の運動や配向に敏感な重水素核 NMR の特性を生かし、末梢神経組織中の水分子の運動状態について検討した。

摘出ラット座骨神経(湿重量約 40 mg)を、99%重水素生理食塩水中で平衡させた後、NMR 試料管内に神経束の長軸を静磁場に平行におき、24℃で測定を行った。

一量子 NMR では、二つの四極子分裂と一つの等方的吸収線からなるスペクトルが測定された。さらに二量子フィルター NMR を用い、非等方的運動状態にある重水素を選択的に測定し、小さい四極子分裂を持つ成分の検出に成功した。重水素水/軽水素水置換・化学シフト剤・磁気緩和剤・コラゲナーゼ処理等の実験により、この3種類の異なる運動モードを持つ水は、perineurium ( $\nu_q = 125$  Hz), endoneurium (470 Hz), および axoplasm (9 Hz) の水分子と同定され、解剖学的構造と対応した水構造が明らかになった。また、これらの水分子は、コラーゲンに“結合”し分子運動が束縛されている状態にあることが示唆された。

### 24. 培養ヒト転移性肺癌細胞による細胞外マトリクスでの線溶調節因子の発現

深尾偉晴, \*萩家康弘, 岡田清孝, 高石知明, 上嶋繁, 松尾 理(近畿大, 医, 第二生理)

【目的】腫瘍細胞は強力な蛋白分解活性によって組織破壊、浸潤および転移を行う。この蛋白分解活性は腫瘍細胞表面や周囲における線溶活性の亢進に起因する。本研究では高転移性腫瘍細胞株における線溶系因子の urokinase-type plasminogen activator (u-PA) およびその受容体の u-PA receptor (u-PAR) の発現を解析し、さらに extracellular matrix (ECM) 中の u-PA 活性増強因子について検討した。

【方法】ヒト肺癌由来の高転移性株 HAL-8 および

無転移性株 HAL-24 の u-PA mRNA 発現量および活性部位をブロックした放射能標識の u-PA ( $^{125}$ I-DEP-u-PA) の結合実験から、u-PAR の発現量を解析、比較した。単層細胞の下面に形成された ECM の抽出液から、u-PA 活性増強因子を単離・精製し、その特性について検討した。u-PA 活性は plasminogen 活性化反応および u-PA 自身の水解活性などで測定した。

【結果と考察】HAL-8 は HAL-24 に比べ u-PA mRNA および u-PAR の発現量ともに有意に増加しており、細胞表面での線溶活性の増加に反映された。さらに HAL-8 では単一細胞周辺に顕著な fibrin 溶解窓が顕微鏡下で観察された。一方、HAL-8 の ECM 抽出液から精製された u-PA 活性増強因子は分子量約 60,000 の蛋白であった。HAL-8 では u-PA および u-PAR の発現増加による細胞性線溶の亢進だけでなく u-PA 活性増強因子による ECM 中の線溶亢進も起きており、これらが高転移性に反映されると思われる。

### 25. 血液凝固因子 Xa 阻害剤の in vitro 全血抗凝固活性

富永恵子, 巽 典之\*, 羽藤文彦(大阪市立大, 医, 第二生理・\*臨床検査医学)

【目的】各種の抗血栓薬は、in vivo における作用を期待して開発された。我々は、Xa 阻害剤の DX-9065a (以下 DX) の in vitro における凝固調節機能剤としての有効利用を考え、全血凝固活性を検討した。

【方法】成人の全血に DX を溶解し、(1)全血凝固阻止活性(Lee & White 法)、(2)プロトロンビン時間(PT)及び活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)の阻害実験、(3)凝固阻害の、血球に与える影響の検討を行った。

【結果と考察】(1)全血凝固時間は、DX の濃度依存性に延長し、凝固活性の完全な抑制(r. t., 24 hr.)は、最少濃度 1~2 mg/ml blood よりみられた。これは in vivo で臨床的に使用される至適濃度を越える濃度であるが、ギムザ染色標本で観察する限り、赤血球、白血球、血小板への影響は認められなかった。(2)(3)DX が 0.1 mg/ml blood の時、PT は正常値(クエン酸血)の約15倍、APTT は約 4 倍に延長した。この系へ、Xa(最終濃度 0.55 units/0.1 mL plasma)を添加すると PT は正常値の約 4 倍にまで短縮したが、さらに Xa 濃度を増加させても正常値まで回復しなかった。一方、APTT は Xa(上記と同濃度)の添加により正常値まで

回復し, Xa 添加により APTT 依存性, 内因系凝固を回復させることが証明された。(3)血小板数は, 5 mg/ml blood 以上において DX の濃度依存性に低下が認められた。

【結論】 DX は全血凝固時間, APTT に対して強い抗凝固活性を示したので, 今後, 定量性の高い新しい臨床検査法の開発の可能性が示された。

## 26. 赤血球酸素解離曲線の自動測定

×ハッサン・マウジュド, 今井清博(大阪大, 医, 第一生理)

血液の酸素解離曲線を測定することは, 一般的な血液の酸素運搬機能の評価, 種々のヘモグロビン異常症での酸素結合特性の解析, 輸血用保存血の機能評価, 赤血球酵素異常症の検出や研究, 薬剤による酸素親和性制御の研究, などにおいて重要である。

今回我々は, 赤血球の酸素解離曲線測定の手法を確立するため, 以前に筆者らが開発したヘモグロビン酸素解離曲線自動測定装置に組み込んでいる分光光度計における工夫と測定条件の検討を行ない, 全血の解離曲線と比較した。分光光度計は日立製作所のダブルモノクロ-ダブルビーム分光光度計モデル U-4000 を用い, 酸素化セルの直後に積分球を置いて赤血球浮遊液の光散乱によるノイズを抑制した。酸素飽和度をモニターする単色光の波長として幾つか試した結果, 470 nm が最適で, 半値幅は 2 nm が適当であった。等張緩衝液として 0.15 M phosphate または 128 mM NaCl, 5 mM KCl, 5.6 mM glucose を含む HEPES を用いたところ, HEPES 緩衝系が全血に近い  $P_{50}$  値 (50% 酸素飽和度での酸素分圧) を与えた。5%CO<sub>2</sub>, 20 mM NaHCO<sub>3</sub> 存在下での測定も行なった。Glucose の  $P_{50}$

値に対する影響はみられなかった。我々の自動化装置は血液の酸素結合機能を簡便に精度よく知るために有用である。

## 赤血球酸素親和性の影響：低流量灌流による 4 Hz 単収縮イヌ腓腹筋の酸素摂取

上月久治, 岸 隆司, 坂田 進, 清水 悟, 大賀好美(奈良医大, 第二生理)

骨格筋の最大酸素摂取量は酸素供給制限下にある。しかし血流量依存性酸素供給と拡散依存性酸素供給がどのように寄与するのかに関しては知られていない。今回最大に近い収縮条件すなわち酸素需要条件での in situ イヌ腓腹筋の酸素摂取に及ぼす灌流赤血球の高酸素親和性の効果を低流量灌流で再検討した。高酸素親和性赤血球はヒト CPD 保存赤血球をシアン酸処理, 正常親和性はイノシン, ビルビン酸, リン酸処理, ヘマトクリット30%に調製した。 $P_{50}$  値は高および正常親和性でそれぞれ20および30 Torr である。腓腹筋-浅趾屈筋群を支配する脛骨神経を刺激(4 Hz, 4 V, 0.2 ms)し, 約 50 mmHg の灌流圧でポンプ灌流を行い3分目で  $50 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  の流量に設定した。血液ガスおよび血液酸素飽和度をそれぞれラジオメーター社血液ガス分析装置と OSM-2 で測定した。 $\dot{V}_{O_2}$  は正常および高親和性で同様の値を示した ( $P > 0.05$ )。筋静脈血液酸素分圧  $P_{vO_2}$  は正常および高親和性でそれぞれ  $25.6 \pm 1.9$  と  $15.9 \pm 1.5$  Torr となり有意の差を示した ( $P < 0.05$ )。今回の結果は最大に近い刺激を行った in situ 骨格筋の  $\dot{V}_{O_2}$  は低流量の条件では  $P_{vO_2}$ -非依存性すなわち血流量依存性酸素供給により規定され約  $6 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$  となることが示された。

## 第48回日本生理学会中国四国地方会

日 時：平成8年11月8日(金)

場 所：徳島大学長井記念ホール

当番幹事：徳島大学医学部生理学第二講座 森田雄介

徳島大学医学部生理学第一講座 吉崎和男

徳島大学医学部栄養生理学講座 岸 恭一

徳島大学歯学部口腔生理学講座 細井和雄

参加者：92名

発表演題：42題(口演27・ポスター15)

第48回日本生理学会中国四国地方会の開催に当たり、過去に徳島が当番校になったときの会場を調べてみたところ、すべて学外で開催されていた。今回は大学の現状を見てもらえるよい機会であると考え学内の長井記念ホールを会場に選んだ。9時より12時24分まで口演発表、13時30分より14時30分までポスター展示説明、14時30分より再び口演発表へ進み、16時30分の終了予定を30分超過したが、全行程を無事終えた。会場は1つで、300席のゆったりしたホールを口演発表用とし、ホールに続くロビーをポスター展示・説明用に当てた。1会場故に、参加者全員が常に同一会場に集まることができ、専門を異にする分野の口演およびポスター展示の発表討論に加わって視野を広めたり、会員同士が親しく交流し易い場となり好評であった。

昼食を共にしながら、12時30分から13時30分まで評議員会(出席者47名)を開催した。次回開催校は岡山大学医学部第一生理松井秀樹教授の主催で行われる。会期は平成9年11月7日(金)の予定。次次会開催校は愛媛大学医学部第二生理前田信治教授の主催で行われることが決まった。その他、大学院・学部学生が本地方会に参加する際には参加費を徴収しないこととした(ただし、会員と連名で業績を発表する場合、日本生理学会会則内規により、臨時会費として4,000円を納める必要がある)。(森田)

×は非会員を示す

### 1. 共焦点レーザー走査顕微鏡を用いた低比重リポ蛋白の血管壁内3次元分布と局所血流条件の関連—動脈硬化局在化機構の解析—

×徳田周子, 後藤真己, 梶谷文彦, \*辻岡克彦(川崎医科大, 医用工学・\*生理学)

動脈硬化局在化の一因として、局所血流条件の血管壁への影響が考えられる。本研究では局所血流条件及び動脈硬化の局在化が異なる3部位(大動脈-腎動脈分岐部頭側, 分岐部尾側, 腎動脈末梢部)で、アセチルLDL(Ac-LDL)及び正常LDL(N-LDL)の血管壁内動態の経時的变化を検討した。雄Wistar Ratに尾静脈からDiI-Ac-LDL又はDiO-N-LDL(20 $\mu$ g)を注入し、5分, 3時間, 18時間後に致死させ、圧灌流固定した後、共焦点型レーザー走査顕微鏡を用いて立体再構築した。画像データより血管壁内分布曲線を求めた。各時点でN-LDL, Ac-LDLとも3部位いずれも内膜層で最も高密度で、外膜側に向かって低密度であった。N-LDL, Ac-LDLは投与後時間が経過するにつれ、全ての部位で血管壁深部での蓄積が増加したが、分岐部頭側(動脈硬化高頻度)で内膜層, 中膜層とも他部位(低頻度)

より高密度であった。N-LDL, Ac-LDLの血中濃度を考慮すると、血管壁内N-LDL, Ac-LDL分布を規制する因子は内膜、特に内皮細胞のリセプタを介した血管透過性であり、その相違が動脈硬化局在化へとつながる可能性が示唆された。

### 2. 虚血再灌流時のラット眼血流動態

×松浦一貴, ×瀬戸川 章, ×土居 充, 河合康明(鳥取大, 第二生理)

虚血再灌流時の血流動態に関しては、脳、心臓においては多くの報告があるが、眼循環においては十分な情報が得られていない。今回、我々は、レーザードップラー血流計を用いて虚血再灌流時の眼血流動態を観察した。ケタミン麻酔下のラットを用い、眼圧15 mmHgにて基線値を測定した後、80 mmHgに上昇させて眼虚血を負荷した。10分後に眼圧を再び15 mmHgに低下させ、虚血再灌流時の眼血流動態を観察した。代謝因子の関与を調べるため体温が38~39度(正常体温群)と30~33度(低体温群)において同様の実験を行った。正常体温群において虚血再灌流時には

hyperperfusion が認められたが、hypoperfusion はみられなかった。低体温群においては、一部のラットで hyperperfusion が認められなかった。以上の結果よりこの再灌流時 hyperperfusion には、代謝因子が一部関与していることが示唆された。

### 3. 微小血管網における酸素放出と赤血球流動の2次元画像

前田信治, 立石憲彦, 鈴木洋司, 田中潤也(愛媛大, 医, 第二生理)

微小血管網レベルにおける酸素放出動態を本質的に理解するためには、赤血球の循環動態を併せて観察することが大切である。ウサギの小腸・腸間膜標本を単離し、小腸付近の微小血管網を利用して実験を行った。上腸間膜動脈からカニューレを通してヘマトクリットを調整したヒト赤血球浮遊液を灌流した。6枚の可視部干渉フィルターを通して得られた微小血管網の画像を画像処理装置を用いてデジタル化し、酸素化型と脱酸素化型ヘモグロビンの吸光度差にもとづいてコンピュータで処理することによって、微小血管領域を流れる赤血球の酸素飽和度の2次元画像を作成した。また、微小血管内のヘモグロビン量と血管径から赤血球濃度(ヘマトクリット)の2次元画像を作成した。

(1)腸間膜表面を脱酸素化液に曝して組織の酸素圧の低下させると、細動脈から細静脈にいたる微小血管網での赤血球の酸素飽和度の低下、すなわち酸素の放出の状態が画像化された。(2)微小血管内における赤血球の濃度は、血管壁のごく近傍で急激に低下して厚さ数 $\mu\text{m}$ の血漿層(血管径、ヘマトクリット、赤血球流速に依存)を作り、中心流の領域ではほぼ均質であった。(3)赤血球濃度は血管径が減少するにつれて低下し(ファールウス効果)、20 $\mu\text{m}$ 付近で最小となった。さらに血管径が減少すると、赤血球濃度は逆に増加した(逆ファールウス効果)。

### 4. マイクログリアのミネラルおよびグルココルチコイドレセプターの作用

田中潤也, 徳和子, 前田信治(愛媛大, 医, 第二生理)

ラット培養マイクログリアが、グルココルチコイドレセプター(GR)およびミネラルコルチコイドレセプター(MR)を発現していることを、イムノプロットおよび $^3\text{H}$ 標識コルチコステロンを用いた結合実験により見出した。副腎皮質ステロイドはGRを介して、

培養マイクログリアの細胞体の収縮や突起伸展の抑制など光学顕微鏡レベルでの形態変化を引き起こした。また、電子顕微鏡レベルではGRを介してライソゾームの著しい空胞化を引き起こし、MRを介してライソゾームの数や面積の増大を引き起こした。ライソゾームのマーカー酵素である酸性フォスファターゼ活性に対し、副腎皮質ステロイドはGRを介して抑制的に働き、MRを介して促進的に作用した。インターフェロン $\gamma$ とLPSによって誘導される一酸化窒素合成酵素活性もGR、MRによってそれぞれ抑制的、促進的な制御を受けた。また、GRは副腎皮質ステロイドのマイクログリアに対する増殖抑制効果を伝達したが、MRは特に影響しなかった。これらの結果は、副腎皮質ステロイドの脳内の標的の一つがマイクログリアであり、GRおよびMRを介してマイクログリアの機能抑制または活性化を引き起こしている可能性を強く示唆するものである。

### 5. 一過性前脳虚血後の低体温法における復温の影響について

中村文洋\*\*\*, 宮本修\*, 山山真一\*\*\*, 豊島哲彦\*, 岡田泰士\*\*\*\*, 根木哲郎\*\*\*\*, 畠瀬修\*\*\*,  $\times$ 長尾省吾\*\*, 板野俊文\*(香川医科大, 医, 生物\*\*\*脳神経外科\*\*\*第一生理\*\*\*\*基礎スポーツ医学・香川大, 教育, 保健体育\*\*\*\*\*)

【目的】低体温法の復温の影響などについては不明な点が多い。麻酔下で水冷ブランケット式の体温制御システムを用い、復温の影響について検討を行った。

【方法】スナネズミに脳温センサー、脳血流センサー挿入術を施し、両側総頸動脈クリッピングによる5分間の前脳虚血負荷後、2時間の低体温法を行った。低体温終了後の復温時間を30分と3時間、また虚血無施行で復温時間30分と3時間の合計4群について、脳血流と1週間後の海馬CA1領域を組織学的(HE染色, MAP2染色)に検討した。【結果】30分群(虚血施行例, 虚血無施行例ともに)で復温時に脳血流の有意な上昇がみられた。虚血施行例で復温3時間群は神経細胞死抑制がみられたが、復温30分群では抑制されなかった。虚血無施行で復温3時間群はほぼ正常であったが、30分群ではMAP2染色性が増強した。【結論】低体温法は一過性前脳虚血の神経細胞死抑制にとって有効であつが、復温速度も重要であり急速な復温は正常脳に対しても影響があることが明らかとなった。

### 6. 軽微低脳温法の虚血ニューロン死防禦作用

柳瀬尚人, 三谷 章, 片岡喜由(愛媛大, 医学部, 第一生理)

スナネズミ一過性前脳虚血モデルで, 低脳温の開始時期・持続時間・低脳温の程度の各条件を変え虚血ニューロン死防禦効果を分析した。また, 虚血後に誘発されるミクログリア増殖が低脳温により影響を受けるかどうかを検討した。

脳温測定は無麻酔・無拘束下のテレメトリーシステムを用い, 脳温プローブは深さ約 2.2 mm の右線条体内に刺入した。虚血処置は 1% ハロセン維持麻酔下で脳温および直腸温を 37~37.5℃ に維持して行い, 虚血再灌流後に条件を変えた低脳温を行い, 30 日後に組織学的検討を行った。また, ミクログリアの染色にはレクチン (GAS I-B<sub>4</sub>) を用いた。

虚血再灌流 5 時間後までにおよそ 24 時間にわたる低脳温処置を開始すると顕著な虚血ニューロン死防禦効果を認めたが, 6 時間後からの開始ではその効果がほとんど認められなかった。しかし, 虚血再灌流 6 時間後からでも低脳温処置を 48 時間まで延長すると明らかに残存するニューロン数が増加した。低脳温の程度としては, 35℃ 以下で顕著な虚血ニューロン死防禦効果を認めた。低脳温処置群では, 虚血後に誘発されるミクログリアの増殖が虚血再灌流 4, 7 日後の時点でほとんど観察されず, 低脳温のニューロン保護効果の一つの作用機序として, 虚血後のミクログリアの増殖抑制の可能性が示唆された。

### 7. 虚血により誘発される脳蛋白合成障害の低脳温による回復

増田晴造, 柳瀬尚人\*, 片岡喜由\*(愛媛大, 医, 実験実習機器センター, \*第一生理)

一過性虚血負荷後, 数時間経過した後の低脳温処理により, 海馬 CA1 ニューロンの多くは生残することが組織学的観察により報告されているが, 生存するニューロンが虚血後数時間経過した後の低脳温処理により, 蛋白合成を回復する時期については明かではない。

今回我々はスナネズミを用いて, 麻酔下で脳温 37℃, 5 分間の虚血を負荷し, 脳温 37℃ で 1 時間飼育した後, 脳温コントロールシステムを用いて無麻酔, 自由行動下で 31~32℃ の低脳温処理を 24 時間施した後, 37℃ に復温して 1 時間, 1 日, 2 日, 或いは 30 日間経過後に <sup>14</sup>C ロイシン静注して, 海馬 CA1 ニューロンの蛋白合成の回復程度を BAS3000 を用いたオートラジオグ

ラフィにより観察した。その結果, 海馬 CA1 ニューロンの蛋白合成は低脳温処理後徐々に回復し, 処理後 2 日目にはほぼ完全に回復した。復温より 30 日経過後も蛋白合成は正常に維持されていた。蛋白合成がニューロン機能維持や蘇生にとって critical な役割を果たす可能性が裏付けられた。

### 8. ラットの十二指腸および食道伸展刺激による骨盤神経活動と膀胱反応

×武内美代子, ×戸川直美, 岡田博匡(川崎医療福祉大, 医療技術, 臨床栄養学科)

昨年の本学会で, 麻酔ラットの胃の伸展刺激により膀胱収縮反応が誘発されることを報告した。今回, 十二指腸および食道の伸展刺激による効果を検討し, 若干の新知見が得られたので報告する。

【実験方法】 生後 10 週齢の SD 系ラットを用い, クロラロス麻酔下に実験した。膀胱内に小ゴム球を挿入し, その内圧変動と積分曲線を記録した。また左骨盤神経膀胱枝の遠心性活動を誘導しインパルスの頻度曲線を記録した。十二指腸伸展はゴム球法による。

【結果】 膀胱内に 0.3~0.4 ml の空気を注入した状態で膀胱内容量を一定に保持して実験した。麻酔初期には膀胱内圧を 10~20 mmHg まで上昇させても反射反応は出現しないが, 麻酔 1.5~2 時間後になると膀胱伸展および尾をコツヘルで軽く頻回に叩くと膀胱収縮反応が出現するようになる。このような時期には十二指腸および食道の伸展刺激によって骨盤神経の遠心性活動と膀胱の大収縮が出現する。迷走神経切断後には食道刺激の反応は消失し, 十二指腸刺激の反応は減少した。従って, この反射の求心路は食道刺激では迷走神経, 十二指腸刺激では迷走神経と他の神経, 多分内臓神経中にあり, 遠心路は骨盤神経であると結論される。

### 9. 嚥下時の喉頭挙上相と嚥下呼吸相との連関

藤野英己, 柵屋俊昭, 水谷雅年\*, 山里晃弘\*\* (吉備国際大, 理学療法・\*岡山県立大, 短期大・\*\*岡山女子短期大)

誤嚥の誘因の一つとして嚥下反射第 2 相と嚥下呼吸相との連関が崩れることが推測される。本研究では軽麻酔時における喉頭挙上(嚥下第 2 相の指標)と嚥下呼吸との位相差を測定した。また, 反射活動が抑制される深麻酔時に誤嚥を起こす原因の一つとなりうる位相差の変動を生じるかを検討した。ウレタン麻酔下にて

ウサギの上喉頭神経内側枝を電気刺激して嚥下活動を誘発した。その結果、嚥下誘発回数は深麻酔時には減少した。また、これに伴って喉頭の挙上相、降下相および喉頭運動持続時間の短縮が生じ、喉頭挙上の振幅も減少した。喉頭の挙上開始点と最大吸息位との位相差は軽麻酔時は最大吸息位から  $26 \pm 5$  msec 遅れて喉頭挙上が生じた。深麻酔時には  $152 \pm 9$  msec 先行して喉頭挙上を開始した。すなわち喉頭の挙上相は軽麻酔時には嚥下呼吸の呼息相に一致したが、深麻酔時は吸息相に一致するようになった。喉頭挙上相が吸息相に一致すると気道内圧が下降した時期に喉頭挙上が生じ、嚥下物が吸引され易い状態になる。これらの結果から、反射活動の低下による気道閉鎖不全とこれに一致する気道内圧下降が誤嚥に関与することが示唆された。

#### 10. コオロギ産卵管の律動運動の発現と pilocarpine の作用

小橋良子, 山口恒夫\* (川崎医療福祉大, 医療技術, 感覚矯正・\*岡山大, 理, 生物)

雌コオロギの産卵行動は、探索→位置決め→産卵管の刺入→産卵管の持ち上げ→静止→卵産下→産卵管の引き抜きという一連の行動連鎖で構成されている。通常、一度の産卵管の刺入で、卵産下→産卵管の持ち上げ→静止が数回繰り返される。又これらの行動の間、産卵管を構成している産卵管弁には特有なパターンで律動運動が発現する。最終(第五)腹部神経節の前で神経索を切断した開腹標本では、腹側産卵管弁駆動筋 M272 に、卵産下時もしくは産卵管の持ち上げ時に見られる律動運動に対応する活動パターンが現れる。更に、pilocarpine を同様の標本に投与すると、卵産下様の活動パターンと産卵管の持ち上げ様の活動パターンが交互に現れる(閾値:  $2 \times 10^{-4} \sim 2 \times 10^{-3}$  M)。又、断頭未開腹標本に pilocarpine を投与すると産卵様の行動が現れる。幼虫(6~8 齢)の開腹標本に pilocarpine を投与すると、成虫と同様な活動パターンが現れる。以上の結果から、最終腹部神経節内に、卵産下と産卵管の持ち上げをそれぞれ駆動する oscillator と、これら2つの oscillator の発現の順序制御機構が存在し、これらの神経回路は、6 齢幼虫の段階で完成していることが示唆される。

#### 11. 除脳イヌの嘔吐運動に対する capsaicin および resiniferatoxin (RTX) 第4脳室への微量注入の効果

古我知成, \*城下恭輝\*, 福田博之(川崎医科大, 生理・\*日本グラクソ, 筑波研究所, 薬理グループ)

近年, NK1 の blocker により, 各種催吐剤による嘔吐が抑制されることが示された。また, 腹部迷走神経求心性線維には substance P を含有するものが存在する。この結果は, substance P 作動性迷走神経線維の活動が, 嘔吐を引き起こしていることを示唆する。今回, その可能性を検討する目的で, substance P を枯渇する capsaicin と resiniferatoxin (RTX) を除脳イヌの第4脳室に適用し, 腹部迷走神経求心性刺激で誘発される retching および孤束核ニューロンの活動に対する効果を検討し, 次の結果を得た。①迷走神経刺激による retching は, capsaicin あるいは RTX の第4脳室への適用によって消失した。②その消失後に, 内側孤束核を刺激すると retching が誘発された。③迷走神経の群パルス刺激による孤束核の誘発電位は, capsaicin あるいは RTX の適用により減弱した。④迷走神経の群パルス刺激に対する内側孤束核ニューロンの応答は, capsaicin の適用による retching の消失に伴って消失した。また, 消失に至るまでに自発発火の増大した期間があった。以上の結果より, 腹部迷走神経求心性線維と内側孤束核の細胞とのシナプスにおける伝達物質は capsaicin および RTX により枯渇される物質であると結論される。

#### 12. 膀胱内圧変化の腎交感神経活動及び動脈血圧に及ぼす影響

松本睦子, 清水順市, \*田原 浩, 村田 潤, 和田哲也, 二宮石雄(広島大, 医, 保健学科)

【目的】 腎臓から腎臓への抑制性反射はよく知られているが, 生理的な膀胱内圧での膀胱-腎反射については明らかにされていない。そこで今回, 我々は膀胱内圧の変化に伴い, 腎交感神経活動が反射性にどのように関与, 変動しているかを解明するために, モデル動物を用いて検討した。

【方法】 麻酔下ラット9匹(平均体重 319g)を用い, 膀胱内に37℃前後の生理食塩水を注入し, 膀胱内圧昇圧時の平均腎交感神経活動(MRNA), 動脈血圧, 心拍数を同時記録した。測定は膀胱内注入10秒前, mRNA最大時, 膀胱内圧最大時, 膀胱内圧最大時から30秒後の4時点でを行い, これらのデータを分析した。

【結果】 膀胱内注入により, 膀胱内圧は注入前より最

大時で平均 31 mmHg 増加し、それに伴い MRNA は注入前より最大時で52%増加した。9 mmHg から 40 mmHg の圧範囲内で MRNA は膀胱内圧の上昇に比例して増加した。30秒後では膀胱内圧は下降し、MRNA は減少したが、膀胱内圧および MRNA は注入前に比べて有意に高かった。また、平均動脈血圧は膀胱内圧の上昇により有意に増加したが、心拍数には変化がみられなかった。

【考察】 膀胱内圧の上昇と腎交感神経活動が強い相関を示したことは、膀胱-腎反射は生理的膀胱内圧変化が直接的に関与していることを示唆した。

### 13. 低酸素血症がイヌ摘出血液灌流心臓標本に及ぼす心力学的及びエネルギー学的影響

×河野晋久, ×鈴木俊輔, ×水野 樹, ×実金 健, ×清水壽一郎, 荒木淳一, 松原広己, 菅 弘之(岡山大, 医, 第二生理)

虚血性心疾患時の急性心不全の一因として、心筋への酸素供給量の制限が挙げられるが、様々な環境の変化が同時に影響していると考えられ、その単独の影響を評価する事は難しい。今回我々は、人工膜型肺を使用したアシドーシス及び虚血を伴わない低酸素動脈血をイヌ摘出心臓標本に交叉灌流し再現性のある急性心不全の作製を試み、その心力学的及びエネルギー学的影響を  $E_{max}$ -PVA- $VO_2$  関係を用いて解析した。予想に反し、低酸素時の  $E_{max}$  は対照(正常酸素分圧)時と比較して軽度の変化しか示さず、一定の傾向は認めなかった。PVA の酸素コストも各心臓毎での比較においても有意な差を示さず、低酸素血症時においてもその仕事に応じた酸素量を摂取し、対照時と同じエネルギー効率を持つ事が示唆された。無負荷  $VO_2$  の変化には規則性が見あたらず、7例中1例が有意に低下し、3例では増加した。実験結果より、冠動脈血の急激な酸素含量低下に対する摘出心臓自体の著明な auto-regulation 機構(冠血管抵抗の低下)が示唆され、虚血時における不全心の形成には、この auto-regulation の破綻あるいはその他の因子の関与が示唆された。

### 14. イヌ右室乳頭筋の等尺性収縮曲線の新しい評価法

×坂本泰祐, ×幡 芳樹, 荒木淳一, 松原広己, 高木 都, 菅 弘之(岡山大, 医, 第二生理)

イヌ摘出交叉灌流心の等容性収縮左室圧曲線は、

我々が考案した Hybrid logistic 関数  $P(t) = A/[1 + \exp\{-4B/A(t-C)\}] - D/[1 + \exp\{-4E/D(t-F)\}] + G$  で、非常に高い相関をもって表記できた。今回はこの Hybrid logistic 関数によってイヌ摘出交叉灌流右室乳頭筋の等尺性収縮張力曲線の表記が可能か否かを検討する。方法は、6例のイヌ摘出交叉灌流右室乳頭筋標本を用い、Hybrid logistic 関数と Obi が提唱する関数  $F(t) = C(t/A)^B \exp^{1-(t/A)^B}$  の2つの関数を用い、右室乳頭筋の等尺性収縮張力曲線に対するカーブフィットを行い、その結果を比較検討した。Hybrid logistic 関数を用いた fitting curve と observed curve の相関係数は  $0.9996 \pm 0.0005$  となり、極めて良い相関を示した。同様に Obi が提唱する関数を用いた時の相関係数は  $0.9840 \pm 0.0094$  であった。Hybrid logistic 関数を用いることにより、等容性収縮左室圧曲線だけでなく、右室乳頭筋の等尺性収縮張力曲線も評価できることが示唆された。また、Obi の関数に比べよりよく表現できた。さらに、乳頭筋の力学的研究への応用の可能性も示唆された。

### 15. セロトニンの静脈内投与によるリンパ心臓抑制の機構

×佐藤邦太郎, 岡田博匡(川崎医療福祉大, 医療技術, 臨床栄養学科)

哺乳動物でセロトニン(5-HT)の静脈内投与により徐脈・血圧下降・呼吸抑制などの自律神経反射が引き起こされることが知られている。しかし、リンパ心臓に対する効果については明らかでないので、この研究を行い、抑制反射の存在を見出したので報告する。実験には除脳ウシガエル37匹を用い、後リンパ心臓支配 XI 脊髄神経前根より遠心性発射を誘導し、スパイクカウンターを介して頻度曲線を記録した。

【結果】 5-HT(10~50  $\mu$ g)の静注により用量依存性にリンパ心臓支配神経活動は抑制された。この抑制反応は 50~100  $\mu$ g/kg のグラニセトロン(5-HT3 antagonist)の投与後には消失した。また頭蓋内迷走神経切断後にも消失した。さらに、心臓枝切断実験では、切断後も依然として抑制反応が出現するが、抑制開始までの潜時が延長した。心臓枝と肺枝の切断後にはこの抑制反応は消失した。5-HTの静注により心臓枝および肺枝の求心性インパルスは用量依存性に増加し、グラニセトロン(100  $\mu$ g/kg)投与後には消失した。結論：上述の結果から、5-HT の静注により心臓と肺の 5-HT3 受容器が刺激され、その情報は迷走神経を経

て脊髄リンパ心臓中枢活動を抑制すると結論される。

#### 16. カフェインのカルシウム過負荷不全心の心機能に及ぼす影響

藤井わか子, 高木 都\*, 菅 弘之\* (美作女子大, 短期大学部・\*岡山大, 医, 第二生理)

コーヒー, 紅茶などに含まれる濃度のカフェインが急性不全心の心機能に与える影響を調べるために, ラングンドルフ灌流摘出ラット正常心およびカルシウム過負荷不全心を用いて, 左心室圧, 心電図, 冠灌流量を計測し, 収縮期末圧容積関係 (ESPVR) を求め, 比較検討した。正常心でカフェインは 0.05~1 mM では無効果で, 2 mM では収縮期末圧 (ESP) を 70% に減少させ, ESPVR は, 下方にシフトさせた。さらに高濃度では, 弛緩期末圧 (EDP) を上昇させた。その後, カフェインの注入を止めて 20 分間タイロッド液で washout すると, EDP は回復した。カルシウム過負荷不全心では, 1 mM で, EDP を 70% に減少させ, ESPVR を下方にシフトさせた。さらに高濃度では EDP を顕著に上昇させ, 1.5 mM では心停止をおこした。そして, 20 分間 washout しても回復しなかった。以上の結果より, カルシウム過負荷不全心においても, カップ一杯のコーヒー, 紅茶に含まれる程度のカフェイン濃度 (0.05 mM) では, 左心室の収縮と弛緩機能に影響を与えないが, 高濃度のカフェインは, カルシウム過負荷不全心では正常心よりも低い濃度 (1 mM) で心機能を抑制することがわかった。

#### 17. カエル心室筋に対する各種ナトリウムチャンネル開放物質の作用比較

焼広益秀, 瀬山一正 (広島大, 医, 第一生理)

ナトリウムチャンネルに特異的に作用し, チャンネルを持続的に開放状態にする事で知られているグラヤノトキシシン (GTX I および GTX III), ベラトリジンおよびアコニチンについてそれらのカエル心室筋細胞のナトリウムチャンネルに対する作用を調べ, 比較してみた。ホールセルパッチクランプ法を用い 100  $\mu$ M の濃度の各毒を電極内液に入れて実験を行った。修飾の程度は通常ではチャンネルが開かない  $-70$  mV へのパルス間に流れる電流の大きさで求めた。各毒とも単に膜を脱分極しておくだけでは修飾が見られず, 繰り返し刺激によりチャンネルを頻回に開状態にする事が必要であった。GTX I と GTX III では 100 回程度, ベラトリジンでは 10 回程度, アコニチンでは 1000 回

上の 4~5 Hz の 0 mV への脱分極パルスで修飾がほぼ最大となった。ベラトリジンではそれ以上の数のパルスでは反対に修飾が弱くなった。また, これらの修飾は両 GTX, ベラトリジンでは可逆的で膜電位を  $-80$  mV に保っておくと数分以内に修飾が見られなくなる。アコニチンでは頻回刺激の後 7 分以上たっても修飾の程度は変わらず, 電流の不活性化も観察された。

#### 18. 幼若ラットの体性感覚刺激によるにおいの記憶形成

奥谷文乃, 樋口 隆, 八木文雄\* (高知医大, 第一生理・\*心理)

生後 2 週以内の未開験幼若ラットは体性感覚と嗅覚情報を手掛かりとして母ラットへの追隨行動を示す。この現象より, 疑似体性感覚と人工的なにおい刺激によりにおいの記憶・学習モデルが確立されている。今回われわれはさらに定量性・再現性に優れた電撃を体性感覚刺激として用い, 改良モデルの確立を試みた。

PND 8 の幼若ラットに, 今後の行動薬理学的実験の基礎実験として全例に嗅球への cannulae implantation 手術を施行し, 翌 PND 9 ににおいおよび電撃の対提示トレーニング及び open maze テストを行った。neutral な濃度のにおい刺激では, オスでは同時に提示した電撃が 0.4, 1.3 mA いずれでも嫌悪反応を示すが, メスでは 1.3 mA のときのみ嫌悪反応を示した。しかも neutral なにおいの濃度がメスでは弱く, 嗅覚機能, および痛みに対する閾値の性差が認められた。

体性感覚刺激によってにおいの記憶が成立するこのモデルを用いて, さらににおいの記憶・学習の際に嗅球の僧帽細胞—顆粒細胞間樹状突起間シナプスに生ずる可塑的变化について行動薬理学的に検索を続ける予定である。

#### 19. ストレス時の栄養素の選択摂取調節に対するオピオイドの役割

×田中順子, 木戸康博, 二川 健, ×六反一仁, 岸恭一 (徳島大, 医, 栄養生理)

我々はラットに電撃ストレスを負荷すると, 総エネルギー摂取量が減少するが, 脂質摂取量は減少しないということを報告してきた。本実験ではその機構を明らかにするために, 摂食量を増加させるオピオイドに着目し, ラットを明期の 12 時間のみ高タンパク質食, 高糖質食, 高脂質食の 3 つを同時に与える self-

selection 法で飼育した。メチオニンエンケファリンもしくは $\beta$ -エンドルフィンを側脳室あるいは視床下部腹内側野に投与すると、投与30分後の総エネルギー摂取量が有意に増加した。この増加は、脂質摂取量の特異的な増加によるもので、タンパク質および糖質の摂取量は変化しなかった。電撃ストレス負荷直前にナロキソンを側脳室に投与すると、ストレスを負荷しても脂質摂取量は増加しなかった。以上の結果から、ストレス時の特異的な脂質摂取量の増加は、ストレス時に分泌されるオピオイドにより調節されることが示唆された。

## 20. ラットの自発行動および睡眠に及ぼすスギエキスの効果

佐野敦子, <sup>\*</sup>山口浩司, <sup>\*</sup>三宮勝隆, 勢井宏義, 妹尾広正, 森田雄介, <sup>\*</sup>守時英喜\* (徳島大, 医, 第二生理・\*薬・薬力薬剤)

樹木の香り成分がヒトの気分をリラックスさせたり、ストレスを解消させる効果をもつことは古くから知られている。今回われわれは、スギエキスへの連続的な曝露がラットの自発活動および睡眠にどのような影響を及ぼすかを検討した。自発活動は、移動を伴う大きな活動 (Locomotion)、小さな動き (Small movement)、立ち上がり (Rearing) の3種に関して自動的に計測された。スギエキスは、ラットの活動期である暗期において Locomotion ならびに Small movement を統計的に有意に抑制したが、Rearing には有意な効果を与えなかった。睡眠に関しては、ポリグラムの視察による判定、および高速フーリエ変換による脳波の周波数解析を行ない、基準日に比べてスギエキス曝露下で24時間の覚醒量が有意に減少し、ノンレム睡眠量が有意に増加することを見いだした。また、覚醒量は、暗期、明期をとうして減少したが、ノンレム睡眠量は、主として、暗期に増加する傾向を示した。徐波睡眠期のデルター波帯域のパワー値には基準日に比べて有意な差は認められなかった。

## 21. LTP, LTD および Depotentiation 形成における NMDA 受容体依存性の差異

陸 雲飛, 大沼英晴, 富沢一仁, 森脇晃義, <sup>\*</sup>岡山征史朗, 徳田雅明\*, 梶瀬 修\*, 松井秀樹(岡山大, 医, 第一生理・\*香川医大, 第一生理)

海馬 CA1 領域の LTP および LTD の形成には NMDA 受容体を介する細胞内  $Ca^{2+}$  の増加, および

$Ca^{2+}$  依存性リン酸化酵素や脱リン酸化酵素などの働きが関与するとされている。我々は脱リン酸化酵素の阻害剤 FK 506 およびシクロスポリンAは LTP を抑制するが、Depotentiation は抑制しないことを報告した。これらの作用は NMDA 受容体に対する部分的抑制によるものと考えた。今回は LTP, LTD および Depotentiation の形成における NMDA 受容体依存性の特徴について調べた。生後6~10週齢の Wistar 系雄性ラットあるいは2~4週齢の幼弱ラットから海馬スライスを作製した。側枝/交連線維を電気刺激し、CA1 領域より興奮性シナプス後電位 (EPSPs) の記録を行った。10  $\mu$ M 以上の NMDA 受容体阻害剤 APV 存在下では、LTP, LTD および Depotentiation はいずれも阻害されたが、低濃度の APV (2.0  $\mu$ M) 存在下では、LTP 形成のみが阻害され、LTD および Depotentiation は阻害されなかった。また、0.3~10  $\mu$ M の APV は NMDA 受容体を介する EPSP を濃度依存的に抑制し、2.0  $\mu$ M の APV は約40%の抑制効果が観察された。この2.0  $\mu$ M の APV の抑制効果は50  $\mu$ M の FK 506 と一致していた。これらの結果は、LTP, LTD および Depotentiation の形成には、NMDA 受容体への依存性の差異が存在し、異なる細胞内  $Ca^{2+}$  濃度に依存することを示唆する。

## 22. 海馬 CA1 領域における VDCC 依存性 LTP に対する FK 506 の抑制効果

大沼英晴\*.\*.\*, 陸 雲飛\*, 富沢一仁\*, 森脇晃義\*, 才 暁慧\*.\*.\*, 徳田雅明\*\*., 梶瀬 修\*\*., 松井秀樹\* (\*岡山大, 医, 第一生理・\*\*香川医大, 第一生理)

海馬 CA1 領域における長期増強 (LTP) の形成はシナプス後細胞内  $Ca^{2+}$  濃度の上昇に依存するとされている。この  $Ca^{2+}$  は主に NMDA 受容体および電位依存性カルシウムチャンネル (VDCC) を介して細胞内へ流入すると考えられる。われわれは、 $Ca^{2+}$ /CaM 依存性脱リン酸化酵素カルシニューリンの特異的阻害剤である FK 506 およびシクロスポリン A (CysA) は NMDA 依存性 LTP の形成を抑制することを報告している。今回は VDCC 依存性 LTP に対する作用を検討した。成熟マウスから海馬スライスを作製し、CA1 領域から細胞外記録法により記録を行った。VDCC 依存性 LTP は、NMDA 受容体の阻害剤 APV (25  $\mu$ M) の存在下で、テタヌス刺激あるいは  $K^+$  チャンネル阻害剤である tetraethylammonium (TEA) の投与により誘導された。これらの LTP はいずれも VDCC のブ

ロッカーである nifedipine (40  $\mu$ M) により阻害された。FK 506 (10~50  $\mu$ M) はテタヌス誘導法および TEA 誘導法により形成される VDCC 依存性 LTP を抑制した。また、CysA (50~100  $\mu$ M) にも FK 506 と同様の抑制効果が認められた。これらの結果はカルシニユリンが VDCC 依存性 LTP の形成に関与していることを示唆する。

### 23. キンドリングラットにおける neuronal cdc2-like kinase のタウ蛋白のリン酸化について

才 暁慧<sup>\*\*\*</sup>、富沢一仁<sup>\*</sup>、陸 雲飛<sup>\*</sup>、森脇晃義<sup>\*</sup>、大沼英晴<sup>\*\*</sup>、徳田雅明<sup>\*</sup>、長島駿一郎<sup>\*\*\*</sup>、畠瀬 修<sup>\*\*</sup>、松井秀樹<sup>\*</sup> (\*岡大, 医, 第一生理・\*\*香川医大, 第一生理・\*\*\*歯外)

キンドリングてんかんラットにおいて neuronal cdc2-like kinase の活性がシナプスの再構築の時期, すなわちステージ3に最も高くなることを我々は既に報告した。このことは本キナーゼが神経細胞の分化とシナプス形成に密接に関与していることを示唆する。今回、キンドリングラットにおいて、実際にタウ蛋白がリン酸化されるかどうか、リン酸化および非リン酸化タウを認識する抗体を用いて検討した。コントロールのアダルトラット海馬では、リン酸化タウの発現は少なく、ほとんどのタウは非リン酸化型であった。キンドリングのステージの上昇に伴い、リン酸化型タウの発現が上昇した。ステージ3でリン酸化型タウの発現は最も高く、その後ステージ5になると発現が減少した。このキンドリングステージにおけるリン酸化型タウの発現の変化は、neuronal cdc2-like kinase の活性の変化とはほぼ一致した。また、MAP kinase はもう一つの重要な Tau をリン酸化するキナーゼであるが、キンドリングラットにおける活性の変化はタウのリン酸化とは一致しなかった。以上のことより、neuronal cdc2-like kinase がタウをリン酸化し、シナプスの再構築に必須の作用をすることが示唆された。

### 24. 免疫抑制剤 FK 506, シクロスポリン A はカイン酸誘導神経細胞死を抑制する

森脇晃義, 陸 雲飛, 富沢一仁, 大沼英晴, 才 暁慧, 松井秀樹(岡山大, 医, 第一生理)

カイン酸誘発てんかんの特徴は、けいれん活動とともに大脳辺縁系の神経細胞死を伴うことである。このてんかんに対する免疫抑制剤 FK 506 およびシクロスポリン A の効果を検討した。ラット腹腔内に FK

506 あるいはシクロスポリン A を投与した後、カイン酸を皮下に投与した。これらの免疫抑制剤はカイン酸誘発けいれん活動には影響を与えなかった。投与の1週間後、海馬 CA1 部位で錐体細胞数を測定したところ、免疫抑制剤投与群では神経細胞死が抑制されていた。また、投与の2日後では錐体細胞の減少は認められなかった。しかし、脳切片を用いて海馬 CA1 部位で興奮性シナプス後電位を測定すると、カイン酸を単独投与したラットでは入力に対する応答が低下していたが、FK 506 とカイン酸を投与したラットではこの応答は低下していなかった。これらの結果は、FK 506 およびシクロスポリン A がカイン酸誘導神経細胞死およびその過程の機能変化を抑制するが、けいれん行動を抑制しないことを示している。これらの免疫抑制剤は  $Ca^{2+}$  カルモデュリン依存性フォスターゼであるカルモデュリンを阻害することから、カルモデュリンはカイン酸誘導神経細胞死に促進的影響を持つことが示唆される。

### 25. $Ca^{2+}$ /Calmodulin 依存性リン酸化酵素 IV は骨端軟骨の分化に関与している

徳田雅明, 小川尊明<sup>\*</sup>, 山口文徳, 後藤孝也, 長島駿一郎<sup>\*</sup>, 畠瀬 修(香川医科大, 第一生理・\*歯科口腔外科)

我々は  $Ca^{2+}$ /Calmodulin 依存性リン酸化酵素 IV (CaMK-IV) が骨端軟骨に存在することを初めて証明した。CaMK-IV に特異的な抗 CaMK-IV 抗体を用いた Western blot では、軟骨の CaMK-IV は分子量6万で小脳で言う  $\alpha$  タイプに相当することが判明した。また免疫組織染色では、分化初期の増殖軟骨層から成熟軟骨層及び肥大軟骨層の8~9割の細胞の核に存在したが、静止軟骨層や石灰化軟骨層ではほとんど認められなかった。また軟骨系の株化培養細胞である ATDC5 は、インスリン添加により分化が促進されシャーレ上で細胞塊を作り、中央部分にはカルシウムの沈着が起こってくる。我々は ATDC 細胞培養上清中にインスリンを添加し、CaMK-IV の動態変化を解析した。その結果、分化の初期段階(4~7日)で分子量6万の CaMK-IV の急激な発現増加が認められた。そしてその後分化が進むにつれて急速にダウンレギュレートされ減少することが判明した。これらの結果より、 $\alpha$  タイプの CaMK-IV は軟骨細胞に存在し、初期の分化過程に於いて重要な働きを持つことが伺われた。

## 26. 養護学校教育の養護・訓練の一つ立川の静的弛緩誘導法の筋反射機構に対する筋電図学的基礎研究

菅野義信<sup>\*,\*\*</sup>, ×西郷建彦<sup>\*\*</sup> (\*広島大<sup>\*\*</sup>上越教育大)

養護学校での養護・訓練(養訓)は学校教育の中での生徒指導にも相当し、各教科の教育と共に教育の重要な柱である。養訓には対象となる障害児の障害の種類や程度により、動作法はか何種かがあり、養訓は“いたわる”と同時に障害を克服する為の“きびしさ”を要求される面もある。しかし、重症心身障害児には“きびしさ”の要求は少し無理があり、立川は少しでも、異常な筋緊張を緩和させること目的に、極く軽く、筋を伸張し、声をかける生理的、心理的方法として静的弛緩誘導法を提唱した。この養訓の効果として、臨床的に骨格筋の異常緊張緩和のみならず、言語、摂食、排泄から呼吸、脈拍・血圧に改善が見られたとの報告もあるが、客観的指標で評価したものが全く無い。本法を先ず正常8, 11, 24, 25歳4名の腹直筋に應用し、腹直筋、胸骨舌骨筋、上腕二頭筋の筋電図を記録し検討した。反射回路の発達途上の8歳児のみ、本法の施行前(ほぼ100sec)、施行中(同)、施行後(同)を比較して筋緊張に変動が見られた。しかし、この反応も2回3回と繰り返すと、成人なみに順応し、以後の変動は減少した。その他は11歳児を含め、変動が少なく、順応も極めて早かった。

## 27. ラッパウニ叉棘レクチンのマイトジェン活性

×中川秀幸(徳島大, 総合, 生命科学)

ラッパウニ *Toxopneustes pileolus* の大型叉棘から単離されたβ-ガラクトシド結合性レクチン(SUL-I)は、モルモット好中球やマクロファージに対して遊走活性を示した。そこで今回は、SUL-Iによるマイトジェン刺激についてMTT法を用いてマウス脾臓細胞および腸間膜リンパ節細胞において検討した。大型叉棘由来のSUL-Iはゲル濾過ならびにアフィニティークロマトグラフィーにより精製した。血球凝集活性はウサギ赤血球を用いて測定し、マイトジェン活性はテトラゾリウム塩であるMTTのホルマザン産物への転換を指標に測定した。ラッパウニの叉棘粗抽出標品は脾臓細胞、腸間膜リンパ節細胞において、10 μg/mlの濃度よりマイトジェン活性を示した。精製レクチンのSUL-Iは両細胞において、0.1 μg/mlの低濃度よりマイトジェン活性を示した。そこで脾臓細胞を吸着カラムで分画し、T細胞を分離してSUL-Iによるマイトジェン

活性を検討した。その結果、SUL-Iは0.5 μg/mlより活性を引き起こし、1.0 μg/mlではCon Aによる活性の約80%に達した。T細胞におけるマイトジェン活性はD-ガラクトースにより阻害された。

以上より、SUL-Iによるマイトジェン刺激はT細胞では細胞表面上のガラクトース残基を介して生じるものと思われる。

## 28. アフリカツメガエル小腸からのSGLT 相同遺伝子のクローニング

永田克己, ×堀 直裕<sup>\*</sup>, ×佐藤建三<sup>\*</sup>, 日地康武(鳥取大, 医, 第一生理) ×鳥取大, 医, 分子生物)

我々は、アフリカツメガエルの小腸からSGLT(Na<sup>+</sup>/glucose co-transporter) 相同cDNAを5'と3'RACE法によってクローニングした。このcDNAから推定されるタンパクは673個のアミノ酸からなり、分子量は約74kdであった。哺乳類においてSGLT1は約85%という高い相同性を示す。今回我々がクローニングしたタンパクのアミノ酸配列を、ヒト、ラット、ウサギのSGLT1のそれと比較すると、4つすべてにおいてアミノ酸が同じ領域が47%、ツメガエルのタンパクのみがアミノ酸が違う領域が39%であった。特にアミノ酸の40番から480番の間で相同性が高かった。そして、4種類の動物でアミノ酸が保存されている領域には、糖鎖が結合するN246や、SGLT1が細胞膜へ運ばれるのに重要と考えられているR421が含まれていた。また、ヒトの遺伝病であるGGM(Glucose-Galactose Malabsorption)について19部位でのアミノ酸の置換が報告されているが、そのうちの15部位(D27, R134, S158, A165, W270, C286, Q289, R294, A298, R373, A382, F399, G420, V464, R493)がアフリカツメガエルのタンパクにも保存されていた。以上のことより、我々がクローニングしたタンパクはアフリカツメガエルのSGLTである可能性が極めて高いと考えられる。

## 29. 局所麻酔薬ジブカインにサイクロデキストリンを添加した場合の麻酔効果

三好美智夫, 井元敏明, 日地康武(鳥取大, 医, 第一生理)

局所麻酔薬ジブカイン(Dibu)とDibu+サリチル酸ナトリウム(SA)に、各種のサイクロデキストリン(CD)を添加した場合の麻酔効果を、アメリカザリガニの腹部神経束の細胞外誘導法で調べ、臨床使用時の

局所麻酔薬の安全性の指標と考えられている安全比(最高回復濃度/最低消失濃度)を Dibu 単独と比較した。0.03% Dibu に各種の CD(同モル)を添加した場合の活動電位消失時間は、 $\alpha$ -CD 添加で大幅に延長したが、 $\beta$ -CD、 $\gamma$ -CD では変化がなかった。回復時間は、 $\alpha$ -CD、 $\beta$ -CD 添加で、半分以下と顕著に短縮した。同様に、0.03% Dibu+0.05% SA に各種の CD を添加した場合の消失時間は、Dibu 単独の半分弱であるが、Dibu+SA と各種 CD 添加で同じであった。回復時間は、 $\alpha$ -CD、 $\beta$ -CD 添加したものは、2時間以内に回復したが、CD 無添加は、 $\gamma$ -CD 添加と同じで回復しなかった。Dibu と Dibu+SA に各種の CD を添加した場合の安全比は、Dibu 単独(2.63)に比して、 $\alpha$ -CD 添加で約2倍、SA と  $\alpha$ -CD 同時添加では、約4.3倍( $\beta$ -CD:約3.5倍、 $\gamma$ -CD:約2.4倍)と大きくなり、臨床使用時の安全性が増したと考えられる。

### 30. ラット摘出交叉灌流心を用いた心力学的エネルギー学的検討

×幡 芳樹, ×坂本泰祐, 高木 都, 菅 弘之(岡山大, 第二生理)

【目的】 ラット摘出交叉灌流心臓標本をイヌと同様に作製し、左室圧容積関係及び収縮期末圧容積面積(PVA)と一拍当たり心筋酸素消費量( $V_{O_2}$ )との関係を検討した。【方法】 薄膜風船に水を入れて容積負荷を変化させ、等容性収縮のみを解析した。収縮期末圧容積関係(ESPVR)は生理的範囲内においてイヌと異なり上に凸の曲線を示した。得られた ESPVR に、以前に仔犬で用いた関数をカーブフィッティングして求めた PVA をもとに、 $V_{O_2}$ -PVA 関係を求めた。【結果】 ESPVR は曲線であるにも関わらず、 $V_{O_2}$ -PVA 関係は直線関係を示し、非常に高い正の相関を示した。 $V_{O_2}$ -PVA 関係の傾きは、ウサギの心臓ではミオシンアインザイムの構成が  $V_1$  優位と  $V_3$  優位の時では大きく異なると報告されている。しかし、ラットでは  $V_1$  優位であるにもかかわらず、イヌやウサギ( $V_3$ )とほぼ同様の値を示した。また、カルシウムの冠動脈内投与によって左室収縮性を高めると、イヌと同様に  $V_{O_2}$ -PVA 関係は上方に平行移動した。【総括】 イヌと比較して ESPVR の形、心拍数、心室容積が大きく異なるにも関わらず、ラット左室の  $V_{O_2}$ -PVA の直線関係は保たれているという事が示された。

### 31. カエル運動神経終末に観察される $Ca^{2+}$ 誘発性 $Ca^{2+}$ 遊離とオシレーション

成田和彦, 越智 和典, 久場健司\*(川崎医科大, 生理・\*名古屋大, 医, 第一生理)

低  $Ca^{2+}$  (0.1~0.2 mM), 高  $Mg^{2+}$  (10 mM) 溶液中でトノサマガエル運動神経を反復刺激(20~50 Hz)すると、微小終板電位(mepp)頻度は数分内に一過性の上昇(transient rise)を示し、その後ゆっくり単調に増加(later slow rise)した。ryanodine 受容体の阻害剤である TMB-8 (10  $\mu$ M) を作用させると transient rise は可逆的に減少したが、later slow rise に対する影響はあまり見られなかった。共焦点レーザー顕微鏡を用いた indo-1 の蛍光変化からも同様の結果が得られた。また反復刺激により transient rise 相が再三出現するオシレーションがいくつかの試料で観察された(96例中7例)。これらの結果から、低  $Ca^{2+}$ , 高  $Mg^{2+}$  液中の運動神経終末で、反復刺激による  $Ca^{2+}$  流入により、 $Ca^{2+}$  誘発性  $Ca^{2+}$  遊離が起こることが示唆された。

transient rise 相で刺激を数秒間停止すると mepp 頻度は急速に下降し、刺激再開とともに頻度は刺激を停止した時のレベル近辺へ速やかに復帰した。また slow rise 相で数秒間刺激を停止すると、mepp 頻度に目だった変化は見られなかったが、刺激再開と共に素早い一過性の上昇が観察され、刺激停止により  $Ca^{2+}$  が直ちに貯蔵所に取り込まれたためと推測された。

### 32. マウス皮膚に存在するカルビンディン D28 K: 免疫組織化学的方法とウイスタンプロット法による検討

金 力, 豊島哲彦, 宮本 修, 村上哲英, 板野俊文(香川医科大, 生物)

カルビンディン D28 K は E-F ハンドを有するカルシウム結合タンパク質で、腸管上皮細胞および脳における局在が多く報告されている。しかし、今回我々は免疫組織化学的方法とウイスタンプロット法を用いてマウス皮膚にカルビンディン D28 K の存在することを証明し、また、その局在が皮膚の切開後、変化することも観察した。

正常マウス皮膚において抗カルビンディン D28 K 抗体の反応は表皮角化細胞の核と細胞質に存在することを明らかにした。しかし、皮膚切開後5日で核の反応は消失し、10日後回復した。ウイスタンプロット法において今回使用した抗体は、脳では 28 kDa のバン

ドのみを認識したのに対し、皮膚では 28 kDa と 56 kDa の二本のバンドを認識した。この抗体はモノクローナル抗体であり、分子量がほぼ倍にあたることより、共役的に結合した二量体の形でカルビンディンは皮膚に存在すると考えられる。また、皮膚切開後、細胞増殖が盛んな時に消失することから、カルビンディン D28K は増殖よりも、むしろ表皮細胞の成熟に関係すると考えられる。これらの結果によりマウスの皮膚に存在するカルビンディン D28K の役割の一端を明らかにした。

### 33. ヒト胆管上皮細胞の長期培養

×小倉 薫\*\*\*, 徳田雅明\*, ×戸谷拓二\*\*, 畠瀬 修\* (\*香川医大, 生理・\*\*小児外科)

胆道系疾患の解明にとって、胆道上皮細胞を用いた *in vitro* の実験系は有用であるが、ヒト胆道から得られる上皮細胞の量が少ないことや、間質細胞の混入が妨げとなること等より、ほとんど利用されていない。またヒト胆道上皮細胞より確立された cell line は数株に過ぎず、その全てがガン細胞由来である。

我々は、D-Val 選択培地と collagenase, dispase を併用した48時間に及ぶ長時間酵素消化を組み合わせた方法(two-days digestion 法)により、5才女兒の良性胆道疾患手術症例より得られた胆管細胞の17週(14継代)以上の継代培養に成功した。培養された細胞は上皮系細胞マーカーであるサイトケラチン7, 17, 18陽性であった。また alcian blue 陽性顆粒が細胞質に散見され機能的にも胆道上皮細胞であることを確認した。

また、従来より行われてきた、組織片を培養 dish で静置培養する方法、コラーゲン・ゲル上で培養する方法も同時に行なったが、長期継代に至らなかった。

今回我々の考案した two-days digestion 法により、ヒトの非ガン胆道上皮細胞の長期継代が可能となった。この長期培養系は、発ガン機構をはじめ胆道系疾患の解明に有用である。

### 34. ヒト肝臓癌細胞で認められた Cdk2, cyclin E の過剰発現

×野垣岳志, ×北川雅史, 徳田雅明, 畠瀬 修(香川医大, 第一生理)

細胞周期を制御している Cyclin-dependent kinases (Cdk)のうち Cdk2 は G1 期から S 期への移行点において重要な働きをしている。我々はヒト肝臓組織を用

いて、癌化した肝細胞と肝硬変において、Cdk2 と cyclin E の発現並びに活性の変動を解析した。また同時に Cdk2/cyclin E のインヒビターである p21 の変動も解析した。

Western blot 解析で、癌部に於いては非癌部肝硬変、或いは肝硬変に比べて Cdk2, cyclin E, p21 の全てがそれぞれ約 9 倍, 4 倍, 4 倍に増加していた。同組織のパラフィン切片を用いた免疫染色法により、Cdk2, cyclin E は癌細胞の核に於ける陽性率が、非癌部肝硬変、或いは肝硬変に比べて増加していたが、p21 はほとんど変わらなかった。抗 Cdk2 抗体を利用した免疫沈降法により Cdk2/cyclin E を各組織の上清より回収し、Histone H1 を基質としてリン酸化活性を測定した。その結果癌細胞に於いては非癌部肝硬変、或いは肝硬変より Cdk2/cyclin E の活性が高かった。従って癌細胞の核での高い Cdk2/cyclin E 活性が、癌細胞の高い増殖性に関与している可能性が強く示唆された。

### 35. HeLa S3 細胞の各種細胞周期調節因子の発現量とその局在

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<sup>+</sup> を Rb<sup>+</sup> で置換(Rb-CDM)すると、同調細胞は細胞周期の G1 期初期で停止する。この時、insulin および LDL を添加すると12時間後に S 期へ進行した。このような低 K<sup>+</sup> 条件下で、細胞周期調節因子(cyclin B, D, E, retinoblastoma(RB)蛋白)に関して、Oncogene Science 社のモノクローナル抗体で処理し、二次抗体法の蛍光顕微測光法でそれらの発現量と局在を観察した。細胞周期の各時期の指標は <sup>3</sup>H-チミジンの labelling index から求めた。cyclin B は細胞周期と共に増加し G2 期で最高値を示し、insulin および LDL 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に伴って増加したが、insulin および LDL を添加するとそれら濃度の増加とともに減少した。一方、cyclin E は S 期の初期でピーク値を示し、Rb-CDM 中でもその発現が認められた。cdc2 および PSTAIRE は K-CDM と比べて Rb-CDM では僅かに減少した。また、M 期の細胞を物理的剝離法によって採取し、1.5% agarose 塗布のカバーガラスに塗抹後、FITC, PI で同様に蛍

光染色し、共焦点レーザー顕微鏡で観察し、cyclin Bの局在を認めた。

### 36. ラット耳下腺腺房細胞でカルバコールとイソプロテレノールにより誘発される $\text{Ca}^{2+}$ 流入

広野 力, 杉田 誠, 古家喜四夫\*, 山岸俊一\*, 柴 芳樹(広島大, 歯, 口腔生理・\*生理研, 生体膜)  
耳下腺腺房細胞においてイオン電流や細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度のカルバコール (CCh) 応答はイソプロテレノール (IPR) により外液  $\text{Ca}^{2+}$  依存的に増強される。今回 CCh のみによる細胞外からの  $\text{Ca}^{2+}$  流入と IPR の添加により新たに増加した  $\text{Ca}^{2+}$  流入成分を比較するために、 $\text{Ca}^{2+}$  channel blocker の作用と  $\text{Mn}^{2+}$  流入による fura-2 の消光を調べた。Wistar 系雄ラット耳下腺よりコラゲナーゼ処理で分離した腺房細胞を用い、イオン電流は whole cell patch clamp 法で、細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度 ( $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ) は fura-2 を使用して測定した。CCh で誘発される  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  上昇の IPR による増強は  $\text{La}^{3+}$  (100  $\mu\text{M}$ ), nifedipine (10  $\mu\text{M}$ ), diltiazem (10  $\mu\text{M}$ ) では block されなかった。verapamil (10  $\mu\text{M}$ ) は CCh 応答自体を減少させたが、IPR の増強作用は block しなかった。 $\text{Cd}^{2+}$  (25  $\mu\text{M}$ ) は CCh のみで誘発されるイオン電流を block せず、IPR の増強効果を抑制した。また CCh で誘発される  $\text{Mn}^{2+}$  流入による fura-2 の消光は IPR により促進されなかった。以上のことから IPR の添加により新たに増加した  $\text{Ca}^{2+}$  流入成分は、CCh のみによる  $\text{Ca}^{2+}$  流入とは異なる経路を通ることが示唆された。

### 37. 真性組織カリクレイン, mK1 の同定と唾液腺における局在

細井和雄, ×松本拓哉, ×多田 淳, ×山中直樹\*, 金森憲雄, ×倉淵真悟\*\* (徳島大, 歯, 口腔生理・\*オリエンタル酵母工業, 長浜研究所・\*\*日本歯大, 解剖)  
マウスの組織カリクレイン遺伝子26種類のうち、他の動物の組織カリクレインの一次構造との比較から、真性組織カリクレインと推定される cDNA がクローニングされていたが、その蛋白質産物はこれまでのところ見いだされていなかった。D 私たちは雌マウス唾液腺から純化したプロテアーゼ F の一次構造を解析したところ、本酵素が真性組織カリクレイン, mK1 であることを見いだした。そこでこの酵素のキニン遊離活性、組織分布を調べ、mK1 が確かに真性組織カリクレインとしての性質をしめすことを明らかにした。ま

た、免疫組織化学的に局在を調べたところ、本酵素は一部の顆粒性導管細胞 (GCT 細胞) に分布した。このことから真性組織カリクレインは必ずしもすべての唾液腺 GCT 細胞で産生されるのではなく、一部の GCT 細胞のみが本蛋白質を産生することが明らかになった。すなわち、mK1 陽性細胞はステロイドホルモンや甲状腺ホルモンに依存して成長因子並びに関連蛋白質を産生する GCT 細胞と全く別種の GCT 細胞であると考えられた。

### 38. マウス唾液腺組織カリクレイン mK9 (EGF-binding protein C) によるプロレニンのプロセッシング

×吉川大和, ×松本拓哉, ×多田 淳, ×山中直樹\*, 金森憲雄, 細井和雄(徳島大, 歯, 口腔生理・\*オリエンタル酵母工業, 長浜研究所)

レニンは不活性なプロレニンとして生合成され、蛋白質分解酵素によるプロセッシングによってレニンとなる。本研究では、4種類のマウス唾液腺組織カリクレイン mK1 (tissue/renal kallikrein), mK9 (EGF-binding protein C), mK13 (prorenin-converting enzyme, EGF-binding protein B), mK22 ( $\beta$ NGF-endopeptidase, EGF-binding protein A) を精製し、mK13 以外の酵素にもプロレニン変換活性が存在するか検討した。その結果、mK13 だけでなく mK9 もプロレニンをレニンに変換する活性を示した。しかし、mK9 による変換活性は mK13 と比べて弱く、プロレニンと等量の酵素量を必要とした。さらに、mK9 は mK13 と異なり弱いながらレニンと結合していた。このことから、mK9 は mK13 とは異なるレニン活性化のプロセッシング酵素であることが示唆された。

### 39. ラットの空間記憶学習能力に対するドコサヘキサエン酸 (DHA) の影響

蒲生修治, 橋本道男, Md. Shahdat Hossain, 原俊子, 榊村純生(鳥根医科大, 第一生理)

ドコサヘキサエン酸 (DHA) は哺乳動物の脳の細胞膜を構成する主要な脂肪酸であり、その脳内での作用が注目されている。今回我々は、DHA がラットの空間記憶学習能力に与える影響を検討した。5週齢のウィスター系雄ラットを魚油抜き飼料で飼育した群 (F1 群) と、F1 群に DHA 300 mg/kg B. W./day の経口投与を行った群 (DHA 群) の2群に分け、経口投与6週目から8方向放射状迷路を用いて迷路選択行動の変化

を検討した。迷路課題は8本のアームのうち報酬ペレットが置いてある4本のアームを全て選択するか、5分間経過するまでを1試行とした。学習の評価として、1) 正選択数、2) 参照記憶エラー数、3) 作業記憶エラー数の3種類のパラメーターを算出し、両群間での比較を行った。DHA群はF1群と比較して、長期記憶の指標と考えられる正選択数、及び参照記憶エラー数において有意な成績の向上が観察された。しかし、短期記憶の指標である作業記憶エラー数においては両群間で有意差を認めなかった。これらの結果は、DHAの継続的な摂取が学習能力、特に記憶の保持に有効である事を示唆している。

#### 40. 睡眠と不整脈：運動量との相関はあるのか

野島一雄，大塚邦明\*，斉藤英郎\*\* (愛媛県立医技短大，臨床検査・\*東京女子医大，第二病院内科・\*\*山口県立大学，看護学部)

ラットは「活動量が多い群と少ない群に分けることができ、活動量が多いラットはその周期が少ない群に比し、短い」といわれている。今回、活動量が多い群と少ない群で不整脈の出現形態に違いがみられるか否かを検討した。

活動量は、回転ケージの回転数を連続10～15日間1時間毎に記録し、活動量およびそのリズムを求めた。活動量が多い群と少ない群に分かれた。その活動の周期は、多い群で延長する傾向が観察された。その後、脳波・心電図記録用電極を埋め込み、6～10日間連続して記録した。徐脈性不整脈の出現頻度は、多い群で $7.5 \pm 4.3$ 回、少ない群で $5.0 \pm 2.9$ 回と、多い群で高い傾向にあった。徐脈の持続時間は、多い群で $11.97 \pm 3.80$ 秒、少ない群で $4.96 \pm 0.83$ 秒と多い群で有意に延長していた。睡眠深度は覚醒・徐波睡眠・逆説睡眠の3段階に分類した。睡眠深度と不整脈の出現との相関は、両群ともに覚醒時、徐波睡眠時に比べ逆説睡眠時に多く出現していた。多い群では、少ない群に比し覚醒時に多く出現する傾向が観察された。その徐脈の持続時間は多い群で有意に延長していた。睡眠-覚醒パターンおよび各睡眠段階の概日リズム周期は両群間に差は見られなかった。

#### 41. 金針菜投与マウスの行動および血液成分の変化

×謝 恵美，×上江洲榮子，×西 香織，×宮城節子，

佐野敦子\*，森田雄介\* (琉球大，教育，家政・\*徳島大，医，第二生理)

金針菜はカンゾー花を蕾の時採取し乾燥させた製品であり、台湾などで市販されている。その種々の効用が記載されているが動物実験によって確かめた報告は少ない。今回は、凍結乾燥粉末(0.4%)をC57BL系マウスに投与し、1～4カ月後に、行動および血液成分の変化について検討し、以下の結果を得た。1) 回転輸走行活動を高めた。2) ステップダウン型の回避学習訓練後の記憶率を高めた。3) 血糖値、血清総コレステロール値およびヘマトクリット値を高めた。植物性食品でありながら、マウスの血液成分に対して、動物性食品に類似した作用を示している。このメカニズムについては今後解明する価値があるものと考えられる。また、回転輸における高活動性や、記憶率の向上が、血糖値やヘマトクリット値の上昇に見られるように単に、一般的な栄養状態の改善に由来するのか、あるいは特定の成分によるものなのかは、今後の課題である。

#### 42. ddY系マウスの行動に対するカンゾー(ユリ科)花投与の影響

×上江洲榮子，佐野敦子\*，森田雄介\* (琉球大，教育，家政・\*徳島大，医，第二生理)

カンゾー(ユリ科植物)は沖縄地方において、滋養強壮作用および精神安定作用をもつ食物として、しばしば食されるが、動物実験によって検証した報告は少ない。さらに、“多食スレバ逆上シテ物忘ルト云フ”と記載している文献もある。今回は、ddYマウスの行動に対するカンゾー花長期投与の影響について検討した。

【方法】 試料となるカンゾー花は9月～10月の間に沖縄県内において採取した。採取後、凍結乾燥し、 $-20^{\circ}\text{C}$ にて保存した。使用前に粉末状とし、0.4%の割合で市販粉末飼料(日本クレアCE2)に混合して与え実験群とした。対照群には、市販粉末飼料のみを給餌した。約1年後にステップダウン型の回避学習訓練、水迷路学習、8方向性放射状迷路学習を行った。

【結果】 回避学習や放射状迷路学習に対しては、改善作用や障害作用を示さなかった。水迷路学習に対して若干の促進効果があった(訓練第3回目において、対照群 $116.85 \pm 69.38$ ，実験群 $34.75 \pm 43.62$  sec,  $n=7$ )。

## 第 47 回 西 日 本 生 理 学 会

日 時：平成 8 年10月25日(金)・26日(土)

会 場：福岡県歯科医師会館

当番幹事：福岡歯科大学口腔生理 副田博之

今回の学会を開催するにあたり「日本生理学会会員でありながら本学会の案内がこない」との声を聞いたため、生理学会事務局より西日本地区の会員住所を取り寄せて会員全員に案内を出した。その甲斐あって参加者、演題数が若干増えたが、反面、当日は他の学会と重なって出席できない会員があり、結局、参加者140名、演題数59題と例年と余り変りはなかった。

学会は会員の交通の便を考えて、一昨年の本学会が使用した都心の福岡県歯科医師会館で行なった。近年の学会はポスターによる発表形式が多いが、都合ですべてを口演発表にし、2会場で行なった。会場では地方会の特色である各自の専門領域は勿論、日頃なじみが薄い他の領域の議論も盛んに行なわれ、両会場を行き来する会員が目についた。25日の口演終了後、本学会の総会と懇親会が行なわれた。懇親会は近くのホテルで行なわれ、約90名の参加があった。会場では料理をつまみ、酒を酌み交わすうちに、会員どうしは次第に打ちとけ、本学学生による民謡の披露によって一層和やかな雰囲気になった。翌26日の口演は午後1時頃終了し、来年の開催地長崎での再会を約して散会した。

A：A会場・B：B会場

×は非会員を示す

### A-1. P<sub>2</sub>-プリン受容体刺激により遅延活性型の遅延整流性カリウム電流(I<sub>Ks</sub>)が増強される

松浦 博, 穎原嗣尚(佐賀医大, 第一生理)

モルモット心房筋細胞において P<sub>2</sub>-受容体刺激により増大する遅延整流性カリウム電流(I<sub>K</sub>)は、急速活性型(I<sub>Kr</sub>)、遅延活性型(I<sub>Ks</sub>)のいずれの成分であるかを、envelope test および E-4031 を用いて検討した。コントロール時および細胞外 ATP (50 μM) 存在下において、-40 mV の保持電位から種々の長さ(50 ms~2000 ms)の脱分極パルス(+40 mV)を与え、I<sub>K</sub> の envelope テストを行った。subtraction により求めた ATP 投与により増大した I<sub>K</sub> 成分の脱分極パルス中の外向き電流とその末尾電流の大きさの比は、パルスの長さに関わらずほぼ一定(約0.4)であった。次に、コントロール時において -30 mV から +40 mV の範囲に 500 ms の脱分極パルスを与えて I<sub>K</sub> を活性化し、続いて I<sub>Kr</sub> の選択的抑制剤である E-4031 の存在下に同様の脱分極パルスを与え、subtraction により I<sub>K</sub> を I<sub>Kr</sub> と I<sub>Ks</sub> に単離した。細胞外 ATP により増大した I<sub>K</sub> も、同様にして E-4031 により I<sub>Kr</sub> と I<sub>Ks</sub> に単離し、それぞれの大きさをコントロールと比較すると、I<sub>Kr</sub> の大きさはほとんど不変で I<sub>Ks</sub> のみが増大していた。これらの結果は、P<sub>2</sub>-受容体刺激により増大した I<sub>K</sub> は主に I<sub>Ks</sub> であること示唆している。

### A-2. nifedipine による心筋ムスカリン性 K (K<sub>ACh</sub>) 電流の抑制

松林太郎, 松浦 博, 穎原嗣尚(佐賀医大, 第一生理)

近年、種々の抗不整脈薬(quinidine, disopyramide, E-4031, MS-551, verapamil)は心房筋 K<sub>ACh</sub> チャネルに対して抑制作用を持つことが明らかにされてきているが、dihydropyridine 系 Ca channel blocker の効果については不明のままである。そこで我々は、nifedipine の K<sub>ACh</sub> チャネルに及ぼす効果をモルモット心房筋細胞に whole-cell patch clamp 法を適用して検討した。nifedipine は ACh (11 μM) により活性化された K<sub>ACh</sub> 電流を濃度依存性に抑制し(IC<sub>50</sub>=0.79 μM), 10 μM にて完全な抑制がみられた。この抑制効果は可逆的であった。また、nifedipine は細胞内に GMP-PNP (1 mM) を負荷して誘発した K<sub>ACh</sub> 電流に対しても抑制作用を示した。このように比較的濃度(サブ μM)において nifedipine は K<sub>ACh</sub> チャネルを抑制し、その抑制反応は G<sub>K</sub> の活性化より下流のレベルで起こっていると考えられた。

### A-3. リン酸化されたリアノジン受容体チャネルの ATP および Mg 感受性

×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)

ウサギ心室筋から精製した小胞体のリアノジン受容体分子を人工膜に埋め込み、単一チャネル電流を記録

した。あらかじめ、リアノジン受容体チャンネルに、ATP および  $Mg^{2+}$  をとに 1 mM の濃度で投与した。その後、プロテインキナーゼAの触媒 subunit を加えた。ATP アナログやプロテインキナーゼAに特異的なインヒビタ等の投与実験結果から、これらの処理によりチャンネルが外因性にリン酸化されることが判った。

更に、 $Mg^{2+}$  の単一チャンネル電流レベルの感受性を、リン酸化処理前後のチャンネル間で比較検討した。リン酸化処理前では、1 mM の  $Mg^{2+}$  投与により、著しく開確率が減少した。しかしながら、同濃度の  $Mg^{2+}$  投与により、リン酸化処理後の開確率は有意に減少しなかった。ATP に対する単一チャンネル電流レベルの感受性についても、リン酸化処理前後のチャンネル間で比較検討した。1 mM の ATP 投与により、リン酸化処理前後のチャンネルとも、開確率は有意に上昇した。

以上の結果から、心筋リアノジン受容体は、プロテインキナーゼAによりリン酸化されると、リン酸化前に存在する  $Mg^{2+}$  感受性が失われるのと対照的に、ATP 感受性は失われないことが強く示唆された。

#### A-4. モルモット単一心室筋細胞の電気現象に対するパーオキシナイトライト ( $ONOO^-$ ) の効果

徳部浩司, 清末達人, 有田眞(大分医大, 第二生理)  
**【目的】** モルモット単一心室筋細胞イオン電流に対する  $ONOO^-$  の効果について検討した。**【方法】**  $ONOO^-$  は、NO donor の SNAP (0.5 mM) と hypoxanthine (0.5 mM) -xanthine oxidase (0.1 U/ml) から生じた  $\cdot O_2^-$  を反応させることにより発生させ、この系から約 0.4 mM の  $ONOO^-$  が発生していることを確認した。**【結果】** 予備実験として、①  $\cdot O_2^-$  は、活動電位持続時間 (APD) を作用30秒後に一過性に延長させ、5分後には著明に短縮させ、APD の短縮には、 $I_{Ca,L}$  の抑制と  $I_{KATP}$  の活性化が関与していること、② NO は、活動電位、膜電流に著明な変化を与えないことを確認した。そこで  $\cdot O_2^-$  と NO を反応させ生じた  $ONOO^-$  の活動電位に対する効果を観察すると、作用約10分後に、 $\cdot O_2^-$  の変化よりも著明な APD の延長が観察され、早期後脱分極 (EAD) の発生も認められた。この APD の著明な延長と EAD の出現は、 $ONOO^-$  除去後も継続し観察されるが TTX 50  $\mu M$  を投与すると APD の延長は抑制され、EAD の発生も認められなくなった。一方膜電流に対し  $ONOO^-$  は、 $I_{Ca,L}$  をコントロールの約4.5倍と著明に増加させた。以上のことから APD

の著明な延長や EAD の出現に、 $I_{Ca,L}$  ならびに TTX 感受性  $I_{Na}$  が関与している可能性が示唆された。

#### A-5. $Na^+ - K^+$ ポンプ阻害は代謝阻害剤による活動電位持続時間短縮を抑制する

×安部隆子, 佐藤俊明, 清末達人, 有田 眞(大分医大, 第二生理)

**【目的】** 代謝阻害剤の  $Na^+ - K^+$  ポンプに対する影響をモルモット単一心室筋細胞および冠動脈灌流右室標本を用いて検討した。**【方法】** Whole-cell patch clamp 法により  $Na^+ - K^+$  ポンプ ( $I_{pump}$ ) 電流を記録した。また冠動脈灌流右室標本の心基部を 3 Hz で刺激して活動電位を記録した。**【結果と考察】**  $Na^+ - K^+$  ポンプ阻害剤である dihydroouabain (DHO, 50  $\mu M$ ) を加える前後の差電流として記録した  $I_{pump}$  は 0 mV で  $198 \pm 42$  pA ( $n=6$ ) であった。 $I_{pump}$  は代謝阻害剤 FCCP (0.1  $\mu M$ ) により完全に抑制された。FCCP (0.1  $\mu M$ ) は冠動脈灌流右室標本の活動電位持続時間 (APD) を時間依存性に短縮した。ATP 感受性 K チャンネル ( $K_{ATP}$ ) の阻害剤である glibenclamide (1  $\mu M$ ) を FCCP 作用 5 分後から投与すると APD の短縮が抑制された。よって FCCP による APD 短縮の主因は細胞内 ATP 減少による  $K_{ATP}$  の活性化と考えられる。DHO (5  $\mu M$ ) を FCCP 作用 5 分後から投与すると APD の短縮が抑制された。しかし 10 分後からの投与ではこの作用は認められなかった。以上より、酸化的リン酸化による ATP 産生がある程度抑制されている条件下では DHO による  $Na^+ - K^+$  ポンプ阻害は細胞内 ATP の消費を抑制し  $K_{ATP}$  をブロックするものと推定される。

#### A-6. PDE 阻害薬の心室筋細胞 L 型 $Ca$ 電流増強作用と収縮張力増強作用の相関

清末達人, 松井一哲, 有田 眞(大分医大, 第二生理)

3 種のタイプ III phosphodiesterase (PDE<sub>3</sub>) の阻害薬、ミルリノン (MIL), シロスタゾール (CIL), ピモベンダン (PIM) および非特異的 PDE 阻害剤イソブチルメチルキサンチン (IBMX) について、L 型  $Ca$  ( $I_{Ca}$ ) 電流増強作用と心室乳頭筋収縮張力増強作用を比較し、各薬剤の心筋作用の特徴を明らかにしようとした。モルモット単離心室筋細胞に細胞全膜型電位固定法を適用して  $I_{Ca}$  を、また、右心室乳頭筋標本から収縮張力 (DT) を記録した。4 種の PDE 阻害薬の  $I_{Ca}$  増強作用および、DT 増強作用の potency は  $IBMX \gg MIL > PIM \geq CIL$  の順であった。各薬剤の  $I_{Ca}$  増強作用と

DT 増強作用は、低濃度 ( $1 \sim 10 \mu\text{M}$ ) では相関したが、MIL と PIM については、高濃度域 ( $> 10 \mu\text{M}$ ) において  $I_{\text{Ca}}$  の増強を伴わずに DT が増加した。次に、 $\text{Ca}^{2+}$  sensitizer としての PIM の作用に注目し、cAMP-dependent protein kinase の阻害剤、H 89 作用下において PIM の DT 増強作用を検討した。H 89 非存在下で PIM  $50 \mu\text{M}$  は DT を  $54 \pm 11\%$  (mean  $\pm$  SE,  $n = 8$ ) 増強したのに対し、 $5 \mu\text{M}$  H 89 存在下での DT 増加率は  $23 \pm 10\%$  であった。以上より、(1) PDE 阻害薬の  $I_{\text{Ca}}$  増強作用と心室乳頭筋収縮張力増強作用は、低濃度域 ( $< 10 \mu\text{M}$ ) においてよく相関すること、(2) ピモベンダンの  $\text{Ca}^{2+}$  sensitizer としての収縮張力増強作用は、PDE<sub>3</sub> 阻害による細胞内 cAMP 増加を介した張力増強作用に比べて弱いことが示された。

#### A-7. モルモット胃縦走筋における CCh 誘発収縮のニトロプルシドの抑制作用について

坂本康二, 今永一成 (福岡大, 医, 第一生理)

本実験では、カルバコール (CCh;  $10^{-6} \text{M}$ ) 誘発拘縮への SNP の弛緩作用について筋小胞体 (SR) の機能を考慮に入れて検討した。標本はモルモット胃縦走筋を用いた。高 K 誘発拘縮は D 600 ( $10^{-6} \text{M}$ ) で完全に抑制されるが、Sodium nitroprusside (SNP;  $10^{-6} \text{M}$ ) では完全に抑制されない。他方 CCh 誘発拘縮においては、SNP は濃度依存的に拘縮高を減少し、 $10^{-6} \text{M}$  投与で完全な拘縮抑制が観察された。また CCh 誘発拘縮は D 600 + SK & F 96365 ( $10^{-5} \text{M}$ ) の存在中でも完全に抑制されないが、しかし、残余拘縮は 8 Br-cGMP ( $10^{-4} \text{M}$ ) or SNP を追加投与することによって完全に抑制された。ただこの両薬物による弛緩の時間経過に大きな差が観察された。この時間差の一因として薬物-反応曲線より SNP と CCh 受容体との拮抗作用が考えられる。蔗糖隔絶法の結果より SNP は、はじめに膜の過分極を起こし、ついで弛緩を起こすと思われる。CPA (cyclopiazonic acid;  $10^{-5} \text{M}$ ) 誘発拘縮は、SK & F 96365 or SNP 投与で完全に抑制されるが、TSG (Thapsigargin;  $10^{-6} \text{M}$ ) 誘発拘縮は、SNP ( $10^{-6} \text{M}$ ) 投与によって一過性の弛緩は観察されるが、完全な弛緩は観察されなかった。すなわち、SNP の抑制効果が TSG によって消失したことになる。さらに Ca 除去液中で観察される CCh 誘発一過性収縮高は、SNP 前処置で増強された。以上の結果より SNP は細胞内貯蔵への Ca 再吸収を促進すると推察される。

#### A-8. ラットの後肢灌流モデルによる NO のリアルタイム測定

中村 正,  $\times$  池田正春\*,  $\times$  南里宏樹\*, 林田嘉朗\*\* (産業医大, 産業医実務研修センター・\*健康開発科学・\*\*応用生理)

血管内皮由来の一酸化窒素 (NO) は種々の物質で生成が誘導され、血管拡張、血小板凝集抑制などの作用を介して循環調節において重要な役割を果たしている。我々はラットの後肢灌流モデルでの NO のリアルタイム測定システムを構築し、アセチルコリン、ブラディキニン、オキシヘモグロビン (NO の捕捉剤) を投与した際の血管反応における NO の関与を検討した。ラットの腹部大動脈から Krebs-Henseleit 緩衝溶液により定常流で灌流し、下大静脈より流出した灌流液の NO 濃度依存電流 (pA) を選択的 NO 感受性電極を用いて記録した。この連続測定系において、NO 生成を介して血管拡張をさせるとされるアセチルコリン投与によって灌流圧の減少がみられ、その際の NO の生成の亢進がとらえられた。また、NO の捕捉剤であるオキシヘモグロビンを加えることにより灌流圧は増加し、NO レベルは低下した。なお、ブラディキニン投与により灌流圧は減少し、NO 生成は一過性の増加を認めたが、その後 NO レベルは遷延する抑制がみられた。ブラディキニン投与による血管の反応と NO レベルの変動の成因については、今後 inhibitor などを用いた検討が必要と考えられる。

#### A-9. 内向き整流 K チャネルにおける ATP の役割

井上真澄, 今永一成,  $\times$  矢野晶子 (福岡大, 医, 第一生理)

副腎髄質細胞に 5 mM CN 化合物を投与すると、2 ~ 3 分後から内向き整流 K 電流 ( $I_{\text{IR}}$ ) が徐々に減少し出した。CN 化合物の投与を止めると、 $I_{\text{IR}}$  は急速に回復した。CN 投与下でも細胞内に ATP や UTP を注入すると、 $I_{\text{IR}}$  は抑制から回復した。一方、GTP、ITP や CTP の細胞内投与では、回復はみられなかった。ATP による回復は、イオン輸送性 ATPase の抑制薬である fluorescein 5-isothiocyanate の同時注入によっては影響を受けなかった。細胞内に非加水分解性 ATP アナログの ATP $\gamma$ S を投与しても、 $I_{\text{IR}}$  は抑制から回復したが、その時間経過は、ATP による回復に比べて緩徐であった。他の ATP アナログの AMPCCP や AMPNP の細胞内投与では、回復はみられなかった。phorbol 12, 13-dibutyrate の投与は、

ムスカリン誘発性非選択的カチオン電流を抑制したが、 $I_{IR}$ には全く影響しなかった。以上の結果より、内向き整流Kチャネルの機能は、蛋白リン酸化により維持されていること、また関与する蛋白リン酸化酵素は nucleotide に対して高い選択性を持っていることが分かった。

#### A-10. ヒト神経芽細胞腫 NB-1 細胞の電気的性質

×堀切 靖\*\*\*, ×瀧川守国\*\*, 亀山正樹\* (\*鹿児島大, 医, 第二生理・\*\*精神科)

NB-1 細胞の電気生理学的性質を調べる目的で、whole-cell パッチクランプを行った。

NB-1 細胞は、形態的に blast 型と mature 型に分けられるが、どちらにおいても Na 電流と K 電流が観察された。

Na 電流は、保持電位 ( $V_H$ ) -80 mV の時、試験電位 ( $V_T$ ) -40 mV より出現し、-15 mV 前後で peak となることが多く、その大きさは 2 nA 前後のものが多かった。また、TTX 0.1  $\mu$ M で電流の大きさは約半分に抑制されたが、1  $\mu$ M では約40%が残存し、TTX 感受性型と TTX 非感受性型の2種が存在することが示唆された。

K 電流は、 $V_H$  -80 mV の時、 $V_T$  -20 mV 前後から時間と共に減衰する電流が出始め、+40 mV の時、peak が 1 nA、400 ms 後の電流値が 0.3 nA 前後のものが多かった。また、4-AP (1 mM)、TEA (10 mM)、いずれの場合でも、K 電流は抑制された。

blast 型と mature 型を比較すると、Na 電流も K 電流も、kinetics や薬物感受性に差はなかったが、その大きさは mature 型の方が大きく、mature 型の方が電気生理学的にもより分化した細胞であることがわかった。

#### A-11. コイ網膜双極細胞の電気発生性 Na-K ポンプ

×賀数康弘, ×図師郁子(九州大, 医, 第二生理)

Na-K ポンプは細胞内外のイオン組成の違いを維持し、静止膜電位を形成するために必要な機構である。今回我々は、コイ網膜より急性単離した双極細胞 (Bipolar cell) にニスタチン穿孔パッチクランプ法を適用し、ポンプ電流特性の検討を行った。

細胞外液の K イオンを 0 mM から 3 mM へとすると、安定した外向きの電流が観察された。このポンプ電流はウワバインによって濃度依存的に抑制された。

この電流の大きさは外液中の K イオン濃度に依存性を示した。また膜電位依存性は観察されなかった。ポンプ電流の大きさは細胞内に十分な Na が存在している場合、細胞外 Na 濃度に無関係であった。しかしパイペット内の Na を 0 mM とした場合、細胞外液の Na 濃度によって大きさや、その形が変化した。これらの結果から Na-K ポンプの活性化を持続させるためには、細胞外から細胞内への Na 流入による一定量以上の Na 供給がポンプになされていることが必要であると判明した。

#### A-12. ラット嗅細胞の $Ca^{2+}$ 誘発電流

岡田幸雄, 藤山理恵, 宮本武典, 佐藤俊英(長崎大, 歯, 口腔生理)

以前に我々は  $Ca^{2+}$  活性化  $K^+$  電流をラット嗅細胞に見出したが、他の研究グループは  $Ca^{2+}$  活性化  $Cl^-$  電流の存在を報告した。今回、我々は通常及び穿孔全細胞クランプ法を用いて、ラット嗅細胞の細胞内  $Ca^{2+}$  で活性化される膜電流を解析した。 $Ca^{2+}$  イオノフォアであるイオノマイシンによって細胞内  $Ca^{2+}$  レベルを上昇させると、11細胞中4細胞が内向き電流を増大させ4細胞が外向き電流を増大させた。残りの3細胞は外向き電流増大の後内向き電流の増大を示した。電極内液の  $Cl^-$  濃度を 137 mM から 10 mM に減らすと、イオノマイシンに対しては8細胞中1細胞だけが内向き電流を増大させ4細胞が外向き電流を増大させた。残りの3細胞は外向き電流の後内向き電流を示した。1 mM  $Ca^{2+}$  を含む 137 mM  $Cl^-$  の電極内液で膜を破り全細胞クランプの状態にすると5細胞中3細胞は内向き電流を示した。この内向き電流は細胞外の  $Cd^{2+}$  で抑制された。一方、1 mM  $Ca^{2+}$  を含む 10 mM  $Cl^-$  の内液は、9細胞中7細胞の外向き電流を増大させた。この外向き電流は、 $K^+$  チャネルの阻害剤である  $Ba^{2+}$  で抑制される成分と  $Cl^-$  チャネルの阻害剤である NPPB で抑制される成分に分けることができた。以上の結果より、ラット嗅細胞は、 $Ca^{2+}$  で活性化される  $Cl^-$  チャネル、 $K^+$  チャネル及びカチオンチャネルを持つことが示唆された。

#### A-13. 蛍光色素 fura-2 と 2 価陽イオン結合体の蛍光特性

波多江純真, 藤城直二, 河田 溥(福岡大, 医, 第二生理)

蛍光色素 fura-2 と 2 価イオン結合体の蛍光を細胞

内イオン測定装置を用いて測定した。回折格子により 300 nm から 425 nm まで 1 nm 間隔の励起波長により蛍光スペクトルを得た。fura-2 と Ca 結合体の蛍光スペクトルに対しては、 $Mg^{2+}$  はほとんど影響を及ぼさなかったが、 $Ba^{2+}$ 、 $Sr^{2+}$  により強く影響された。ここでは、 $Ca^{2+}$  と結合した fura-2 と、これら2価イオンと結合した fura-2 は、お互いに干渉することなく、それぞれの特性に応じた蛍光スペクトルを発し、全体の蛍光スペクトルは、その和になるというモデルをたて理論値をだした。理論曲線は、各2価イオンの free 濃度、fura-2 と2価イオンとの Kd から蛍光強度を求めて得られる。用いた Kd は今回の実験で求めた値 ( $Ca$ -222 nM,  $Ba$ -1.6  $\mu$ M,  $Sr$ -9.0  $\mu$ M  $Mn$  = 3.4 nM) を用いた。その結果、実験値と理論値がほぼ一致したことから、fura-2 に対して、 $Ca^{2+}$  と  $Ba^{2+}$  或いは  $Sr^{2+}$  が fura-2 の同じ結合サイトで競合するということがわかった。

$Mn^{2+}$  についても同様に、fura-2 の結合サイトで  $Ca^{2+}$  と競合し、fura-2 の蛍光は、 $Mn^{2+}$  の濃度に依存して消光された。

#### A-14. スキンドファイバーの「ケージド ATP+X 線回折」実験でみたクロスブリッジの力発生

堀内桂輔, 八木直人\*, 竹森 重\*\*, 山田和廣(大分医大・\*東北大, 医・\*\*慈恵医大)

ケージド ATP 光パルス分解によってスキンドファイバー筋標本を収縮させ、放射光を利用した時分割 X 線回折によってこの収縮を観察した。二次元回折パターンは、X 線イメージインテンシファイアで可視化、レンズで CCD ビデオカメラに映し、12ビット画像処理装置をもちいて実時間で二値化、メモリーに保存した。ビデオの時間分解能(1/60秒)でも追跡できる遅い収縮を得るために、試料にはラットひらめ筋から得た赤筋線維束を用い、また実験温度を低く15℃とした。ATP 遊離直後の ATP 結合反応を十分に速くするために、遊離 ATP 濃度は 1~2 mM と高く設定し、混入 ADP の影響を最小限に止めるためにアピラーゼを利用した。ATP 遊離によって、赤道反射(1, 1)とアクチン層線(act 1L)とは大きく強度が低下した。しかしこの変化は緩やかに起こる張力発生の前であり、張力発生に伴う前二者の変化は殆どなかった。力発生に伴うクロスブリッジの構造変化は、ミオシン子午線反射(143 m)の強度増加として現われていた。

#### A-15. 正常マウスとヌードマウスにおける PAF の関与する副腎皮質ホルモン分泌調節機構の解析

×韓 琳, ×楊 紅, ×小柳真奈子, ×嶋田敏生, ×広瀬妙子, 松本逸郎, 相川忠臣(長崎大, 医, 第一生理)

PAF (platelet activating factor) が ACTH による副腎皮質ホルモン分泌にどのように関わっているかをマウス副腎窩流系を用いて調べた。ACTH によって起こるコルチコステロン分泌促進は非脂質性の PAF antagonist, SM 12502 により正常マウスでは 10  $\mu$ M で有意に抑制され 100  $\mu$ M で著明に抑制されたが、ヌードマウスでは 10  $\mu$ M でほとんど抑制されず、100  $\mu$ M で有意に抑制された。正常マウスでは 1000 nM PAF はコルチコステロン分泌を促進しなかった。100 nM の非代謝性の PAF agonist, N-methylcarbonyl PAF は有意にコルチコステロン分泌を促進したが、ヌードマウスでは全く促進しなかった。Forskolin 10  $\mu$ M によるコルチコステロン分泌は正常マウスでは SM 12502 で著明に抑制されたが、ヌードマウスでは全く抑制されなかった。dibutyrylcyclic AMP 1 mM によるコルチコステロン分泌も SM 12502 で著明に抑制されたが、ヌードマウスでは有意に抑制されなかった。以上の結果より ACTH による副腎皮質細胞シグナル伝達系の中に PAF が産生され細胞内 PAF receptor が関与する系が組み込まれていて、PAF の関与は cyclic AMP 以降の段階にある事がわかった。その細胞内 PAF receptor がヌードマウスでは正常に比べ異常に低いと推測される。

#### A-16. ラット室傍核・視索上核における神経型 NO 合成酵素およびその受容体遺伝子の発現に対する浸透圧刺激の影響

芹野良太, ×徳永昌樹, 一瀬豊日, 野村昌良, 原裕子, 梶島成利, 上田陽一, 山下 博(産業医大, 第一生理)

浸透圧刺激下のラット室傍核・視索上核における神経型 NO 合成酵素(nNOS)およびその受容体である可溶性 guanylate cyclase (sGC) 遺伝子の発現を *In situ* hybridization 法を用いて調べた。高浸透圧として、48時間脱水、2%食塩水負荷(5日間)およびストレプトゾトシン投与(80 mg/kg, 腹腔内)糖尿病モデルラットを用いた。さらにインスリン(6~10 IU)にて血糖コントロールした群も作成した。脱水、2%食塩水負荷、糖尿病モデルラット全て断頭時の血清浸透圧は対

照群に対して有意に上昇し、血糖コントロールした群では改善を認めた。In situ hybridization 法は、nNOS・sGC それぞれ45塩基の RI (35 S) 標識した合成オリゴヌクレオチドプローブにて37°Cで一晩行なった。脱水および2%食塩水負荷において室傍核・視索上核のnNOS 遺伝子の発現は増加したが、sGC 遺伝子の発現には明らかな変化はなかった。高血糖による高浸透圧時においても室傍核・視索上核の nNOS 遺伝子の発現の増加を認め、インスリンの投与によりその増加が抑制された。以上より、高浸透圧下での視床下部におけるバゾプレッシンの合成・分泌への NO の関与が示唆された。また、糖尿病モデルラットにおいては慢性的な高血糖状態でのバゾプレッシンの合成・分泌への NO の関与を検討する必要がある。

#### A-17. ラット脳弓下器官、視床下部における PACAP および PACAP-I 型受容体遺伝子の発現

野村昌良, 芹野良太, 上田陽一, 梶島成利, 澁谷泉, 山下 博(産業医大, 第一生理)

Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) は1989年にヒツジの視床下部から同定された神経ペプチドで、下垂体前葉細胞に作用しアデニル酸シクラーゼを活性化する。その受容体(I型, II型)のうちI型受容体が PACAP と特異的に結合することが知られている。最近、PACAP がバゾプレッシン分泌調節に関与していることが報告された。そこで今回、我々は In situ hybridization 法を用いてラット脳弓下器官および視床下部とくにバゾプレッシン産生ニューロンの存在する室傍核、視索上核における PACAP および PACAP-I 型受容体遺伝子の発現を調べた。脳弓下器官では PACAP 遺伝子発現が見られ、2日間の脱水刺激により有意に増加したが室傍核、視索上核では検出できなかった。また PACAP-I 型受容体遺伝子は室傍核の大細胞および小細胞領域、視索上核の全領域に中等度の発現を認めた。以上の結果より少なくとも脱水時には脳弓下器官からの PACAP の入力が室傍核、視索上核に投射し、この部位での PACAP-I 型受容体を介してバゾプレッシンを調節していることが推測された。したがって PACAP は下垂体前葉系のみならず後葉系における分泌・体液調節に関与していることが示唆された。

#### A-18. リチウム慢性投与ラット視床下部室傍核・視索上核におけるバゾプレッシンと神経型 NO 合成酵素遺伝子の発現

穴井博史\*, 芹野良太, 一瀬豊日, 野村昌良, 梶島成利, 上田陽一, \*高杉昌幸\*, \*中島康秀\*, 山下博(産業医大, 第一生理, \*第二内科)

リチウム(Li)の慢性投与により多飲多尿が引き起こされる。その病因はバゾプレッシン(AVP)抵抗性の腎性尿崩症と考えられている。しかし中枢での病態は不明な点が多く、AVP 合成についても明らかにされていない。一方、視床下部室傍核・視索上核において AVP 合成に NO が関与していると報告されている。そこで今回我々は、Wistar rat に LiCl (60 mmol/Kg) を含有した飼料を4週間投与し、水と生理的食塩水を free access として尿崩症ラットを作成し、その生理病態を調べるとともに、視床下部室傍核・視索上核における AVP、神経型 NO 合成酵素(nNOS) 遺伝子の発現を In situ hybridization 法を用いて解析した。

その結果、Li 慢性投与ラットではコントロールに比べ、体重の減少、尿量の増加および尿浸透圧の低下が見られた。血漿浸透圧は上昇していなかったが血中 AVP 濃度は上昇していた。In situ hybridization 法にて、視床下部室傍核・視索上核での AVP、nNOS 遺伝子の発現が有意に増加していた。また、NOS 活性の指標である NADPH-ジアホラーゼ組織染色でも同様の部位で染色性が增强していた。

したがって、Li 慢性投与による多飲多尿時では、血漿浸透圧が変化しないで体液量が減少する病態を呈すると思われる、この病態下においては、視床下部室傍核および視索上核での AVP 合成が亢進し、NO 合成系も亢進することを明らかとした。

#### A-19. 海馬 Commissural/associational-CA3 シナプスにおける LTP の週齢による変化

明石 馨, 伊藤 功, 杉山博之(九州大, 理, 生物, 生体物理化学)

海馬 CA3 錐体細胞には複数の入力系が存在することが知られており、そのうちの1つである Com/assoc-CA3 シナプスの NMDA 受容体応答、及び LTP に対する、NMDA 受容体  $\epsilon 1$  サブユニットノックアウト効果について週齢を追って検討した。

$\epsilon 1$  サブユニットのノックアウトにより Com/assoc-CA3 シナプスの NMDA 受容体応答ならびに LTP がともに抑制されること、さらに、海馬にお

る  $\epsilon 1$  サブユニット蛋白発現の週齢変化と LTP の週齢変化がきわめて類似していること等より Com/assoc-CA3 シナプスで機能している NMDA 受容体は、すでに報告されている CA1 シナプスの NMDA 受容体よりもさらに、 $\epsilon 1$  サブユニット依存性が強いということを示唆していると考えられる。

#### A-20. ラット青斑核ニューロンにおける実験的虚血

×小山 進, 陳 映昊(九州大, 医, 第二生理)

【目的】 これまで、ニューロンの虚血応答に関する電気生理学的研究はスライス標本を用いて行われてきたが、単一ニューロンの虚血応答に関してはほとんど明らかになっていない。本研究では、ラット青斑核より単離したニューロンを用い、実験的虚血によって惹起される  $K^+$  チャンネル電流について解析したので報告する。

【方法】 2週齢のラット青斑核より急性単離した単一ニューロンに、ニスタチン穿孔パッチクランプ法を適用し、イオン電流を記録した。薬液は Y チューブ法により 20 ミリ秒以内に急速投与した。

【結果と考察】 保持電位  $-40$  mV において、NaCN 投与により、外向き電流が惹起された。この外向き電流の逆転電位は  $K^+$  の平衡電位に一致し、またトルブタミド及びカリブドトキシンによって抑制されたことから、ATP 感受性  $K(K_{ATP})$  チャンネルと  $Ca^{2+}$  依存性  $K(K_{Ca})$  チャンネルの関与が示唆された。この  $K_{ATP}$  チャンネルは虚血のさらなる進行によってランダウンしたが、オカダ酸によってランダウンが抑制されたことから、 $K_{ATP}$  チャンネルの活性にチャンネル蛋白質のリン酸化が関与していることが明らかとなった。

#### A-21. ラット青斑核神経細胞のニコチン様 ACh 受容体応答に対する proadrenomedullin N-terminal 20 peptide (PAMP) の作用

×古川義彦, ×木下聡子(九州大, 医, 第二生理)

PAMP は proadrenomedullin 由来の内因性生物活性ペプチドであり、ニコチン様 ACh 受容体 (nAChR) 応答を抑制することにより副腎髄質細胞からのカテコラミン放出を抑制することが報告された。今回、急性単離したラット青斑核 (LC) 神経細胞にニスタチン穿孔パッチクランプ法を適用し、中枢神経細胞における nAChR 応答に対する PAMP の作用を検討した。

LC 細胞において、nAChR に対する nAChR agonist の作用順位は  $ACh \approx nicotine \approx cytosine \gg DMPP$  であり、nAChR antagonist である hexamethonium は mecamylamine より低濃度で nAChR 応答を抑制した。

$10^{-7}$  M PAMP 存在下にて、 $10^{-4}$  M nicotine で惹起される電流の peak 値 (INic) は nicotine の投与回数に依存して漸減した。この抑制は PAMP の前処置時間とは無関係であった。また、PAMP による INic の抑制作用は非競合的かつ可逆的であった。更に、過分極側において電位依存性は観察されなかった。

以上の結果より、PAMP は、中枢神経細胞において nAChR 応答を抑制する内因性生物活性ペプチドであることが示唆される。

#### A-22. 視床下部視索上核神経分泌ニューロンへのグルタミン酸入力に対するカルシウムの影響

本田栄子, 稲永清敏, 平川輝行, 中村修一, 山下博\* (九州歯大, 生理・\*産業医大, 第一生理)

ブライントパッチ法を用いて、ICR マウス視床下部視索上核ニューロンからシナプス電流を記録し、興奮性および抑制性シナプス入力の特性および伝達物質放出の細胞外カルシウム依存性について調べた。興奮性シナプス後電流 (EPSC) はキヌレン酸により抑制性シナプス後電流 (IPSC) はピクロトキシンあるいはピククリンによって抑制されたので興奮性伝達物質としてはおもにグルタミン酸が抑制性伝達物質としては GABA が考えられる。EPSC は、膜電位依存性すなわち高 K 刺激や視索上核背側部への電気刺激によって生じる誘発性 EPSC, 自発性 EPSC, 自発性 EPSCのうち TTX 刺激によってブロックされない微小 EPSC の 3 種類に分類された。無 Ca 液灌流下で誘発性 EPSC は消失したが、自発性および微小 EPSC は影響を受けなかった。また、無 Ca 液灌流下で活動電位に移行する興奮性シナプス後電位 (EPSP) も観察された。従って自発性グルタミン酸放出は細胞外 Ca に依存しないこと、視索上核ニューロン活動は自発性に放出されるグルタミン酸により絶えず調節されていることがわかった。また、P 型、N 型、L 型の Ca チャンネルブロッカーを灌流液中に添加した場合、P 型および N 型の Ca チャンネルブロッカーである  $\omega$ -アガトキシンと  $\omega$ -コノトキシンにより誘発性 EPSC が顕著に抑制されたので膜電位依存性 (誘発性) EPSC にはおもに P 型と N 型の Ca チャンネルが関与していることがわかった。

### A-23. ラット視床下部視索上核ニューロンの GABA-B 受容体を介した抑制作用

IBRAHIM NURHADI, 田中敬子, SETIADJI SUTARMO, 野口 淳, 梶島成利, 澁谷 泉, 山下博(産業医大, 第一生理)

視床下部視索上核 (SON) ニューロンは GABA ニューロンにより抑制性の調節を受けており, その抑制作用には GABA-A 受容体を介した fast IPSP が関与していることが報告されているが, GABA-B 受容体の関与は不明である. 今回, 我々は SON における GABA-B 受容体の関与ならびにその役割を検討する目的でラット SON スライス標本を用いて細胞外記録法ならびに Whole-cell-patch clamp 法により実験を行った. 選択的 GABA-B agonist である baclofen により濃度依存性に放電の抑制が観察され, この作用は選択的 GABA-B antagonist である 2-Hydroxy-saclofen (2OH saclofen) により拮抗された. この抑制作用は著明な膜電位の過分極を伴わないと言う点で, 選択的 GABA-A agonist である muscimol の抑制作用と対照的であった. また 2OH saclofen 単独投与により放電の増加が観察され, この放電の増加は選択的 GABA-B antagonist である picrotoxin による放電の増加に対して相加的であった. 同様の結果が SON スライス標本の直径を 1 mm と縮小し, SON 以外のニューロンの混入の可能性を除外しても観察された. これらの結果は GABA-B 受容体が SON の神経核内に存在し, SON ニューロンの GABA による抑制作用に重要な役割を果たしていることを示唆している.

### A-24. EFFECT OF PROSTAGLANDIN E2 (PGE 2) ON THE ELECTRICAL ACTIVITY OF THE HYPOTHALAMIC SUPRAOPTIC NUCLEUS (SON) NEURONS

V. Sutarmo Setiadji, N. Ibrahim, K. Tanaka, J. Noguchi, N. Kabashima, I. Shibuya and H. Yamashita. (First Department of Physiology, University of Occupational and Environmental Health, Kitakyushu, Japan 807.)

To examine the function of prostaglandins (PGs) in the neuroendocrine system, we studied the effect of PGE<sub>2</sub> and other PG-receptor agonists on magnocellular neurons in the supraoptic nucleus (SON) of rat hypothalamic slice preparations using extracellular recording and whole-cell-patch-clamp technique. PGE

<sub>2</sub> in a dose-dependent manner, directly modulated the electrical activity of more than 80% of the SON neurons studied. The effects of PGE<sub>2</sub> on SON neurons were mostly excitatory and were mimicked by PGF<sub>2</sub>a and the FP receptor agonist, fluprostenol. PGD<sub>2</sub> or the selective EP or TP agonists was less effective than PGE<sub>2</sub> and PGF<sub>2</sub>a. Patch-clamp analysis in the SON slice preparation revealed that PGE<sub>2</sub>, also in a dose dependent manner, induced inward currents with reversal potential of approximately -30 mV, but did not have clear effects on the inhibitory and excitatory postsynaptic currents. From these results, we conclude that PGE<sub>2</sub> functions in the regulation of magnocellular neurons by acting directly on postsynaptic sites of SON neurons, at least in part, through FP receptors, to activate non-selective cation channels.

### A-25. 実験的脳虚血におけるシナプス伝達抑制の機序

田中永一郎, 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を作成し, CA1 錐体細胞から細胞内記録を行った. 無酸素・無グルコース Krebs 液 (pH 7.4) を灌流 (虚血類似負荷) すると, 4 分後に fast EPSC は著明に抑制され, fast and slow IPSCs は消失した. 一方, glutamate および muscimol 誘起電流の振幅は増大したが, baclofen 誘起電流は消失した. 以上の結果から, 虚血類似負荷による fast EPSC と fast IPSC の抑制はシナプス前性で, slow IPSC の抑制はシナプス前性および後性であることが示唆された. この抑制機序に acidosis が関与するかどうかを検討する目的で酸素・グルコース含有低 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> (5 mM) Krebs 液 (pH 6.9) を灌流投与した. 3 分後 fast EPSC と fast and slow IPSCs は著明に抑制され, muscimol および baclofen 誘起電流も抑制されたが, glutamate 誘起電流には変化がなかった. すなわち, acidosis による fast EPSC の抑制はシナプス前性で, fast and slow IPSCs の抑制はシナプス前性および後性であることが示唆された. 本実験結果から in vivo 脳虚血下でのシナプス伝達抑制には acidosis がその一因となっていると思われる.

### A-26. ラット脳背外側中隔核ニューロンにおける ligand-gated K-channel の解析後

後藤雅史, 蓮尾 博, 赤須 崇(久留米大, 医, 第

二生理)

ラット脳背外側中隔核細胞から細胞内記録法を用いて電位変化を記録し, muscarine, 5-hydroxytryptamine (5-HT), baclofen, norepinephrine を灌流投与すると, 膜抵抗の減少を伴う過分極電位を生じた. 電圧-電流曲線を用いてこれらの過分極電位の逆転電位を調べたところ, 全て約-90 mVで逆転した. このことから, アゴニストによる過分極電位は K-channel の開口により生じることが示唆された. この過分極電位発生にかかわる K-channel の性質を調べるために, 種々の K-channel blocker を用いて検討した. Muscarine (30  $\mu$ M) 投与により生じる過分極電位は, tetraethylammonium (TEA) (3 mM),  $Ba^{2+}$  (1 mM) で阻害されるが<sup>8</sup>,  $Cs^{+}$  (1 mM), glibenclamide (GC) (100  $\mu$ M) では阻害されなかった. Nor-epinephrine (10  $\mu$ M), 5-HT (10  $\mu$ M), baclofen (10  $\mu$ M) 投与により生じる過分極電位は,  $Ba^{2+}$  でのみ阻害され, TEA,  $Cs^{+}$ , GC では阻害されなかった. 以上の結果より, ラット脳背外側中隔核において, muscarine 誘発過分極電位を生じる K-channel は他のアゴニスト投与により活性化される K-channel とは異なる性質を有することが示唆された.

#### A-27. ラット中枢ニューロンにおける電位依存性 $Ca^{2+}$ チャネル

<sup>×</sup>有馬潤一, 石橋 仁(九州大, 医, 第二生理)

【目的】 中枢ニューロンの電位依存性  $Ca^{2+}$  チャネルには, 低閾値(LVA)と高閾値(HVA)チャネルの2種類が存在する. HVA  $Ca^{2+}$  チャネルは最近の研究によってさらに薬理的に L, N, P, Q, R 型の5つのサブタイプに分類され, それらの脳内分布がかなり異なることが明らかとなっている. しかし, LVA  $Ca^{2+}$  チャネルの性質には不明な点が多く残されている. そこで本研究では LVA  $Ca^{2+}$  チャネルの脳内分布がどのようになっているか, ラットの脳より急性単離したニューロンを用いて検討した.

【方法】 2週齢のラットの脳から目的の部位を含む脳薄切片を作製し, 酵素処理後, 機械的にニューロンを単離した. これにニスタチン穿孔パッチクランプ法を適用し, 膜電位固定下にイオン電流を測定した. 薬物を含む細胞外液は Y-チューブ法により 20 msec 以内に急速投与した.

【結果と考察】 細胞外液の  $Ba^{2+}$  濃度 5 mM とした条件下, マイネルト核ニューロンにおいて, 保持電位

-90 mV から -40 mV までの脱分極刺激によって LVA 電流が惹起された. この脱分極刺激を -40 mV 以上にすると LVA とともに HVA 電流も惹起されたが<sup>8</sup>, 保持電位を -60 mV とすると LVA チャネルは不活性化し HVA 電流のみが認められた. 最大 HVA 電流に対する最大 LVA 電流の比は, 大脳皮質0.14, 海馬 CA1 0.39, マイネルト核0.36, 結節乳頭核0.24, 視床下部腹内側核0.16, 黒質0.16, 孤束核0.22であり, ニューロンの LVA  $Ca^{2+}$  チャネルと HVA  $Ca^{2+}$  チャネルの発現率には脳部位による違いのあることが明らかとなった.

#### A-28. ラット視床下部視索上核ニューロンの GABA-B 受容体による抑制機序

梶島成利, IBRAHIM NURHADI, <sup>×</sup>原山信也, 田中敬子, SETIAJI SUTARMO, 澁谷 泉, 山下 博(産業医大, 第一生理)

視床下部視索上核(SON)ニューロンは GABA による抑制性シナプス入力を受けていることはよく知られている. その GABA の作用は今まで GABA-A 受容体を介するものと考えられ, GABA-B 受容体の役割は判明していない. そこで SON ニューロンにおける GABA-B 受容体の作用とその作用機序を検討する目的でラット SON スライス標本を用いてパッチクランプ法により実験を行った. 選択的 GABA-B 受容体作動薬である baclofen により自発性興奮性シナプス後電流 (EPSCs) 及び自発性抑制性シナプス後電流 (IPSCs) は濃度依存性に frequency の低下を呈したが, amplitude には著明な変化は見られなかった. またその効果は選択的 GABA-B 受容体阻害薬である 2 OH-saclofen で拮抗され, 2 OH-saclofen の単独投与で自発性 EPSCs, IPSCs の frequency は共に増加した. これは GABA-B 受容体が SON において Glutamate, GABA ニューロンのシナプス前に存在し, これらの神経伝達物質の放出に関与することを意味する. したがって GABA-B 受容体は SON ニューロンにおいて AVP, OXT の産生分泌に重要な役割を有することが示唆された.

#### A-29. ラット下垂体中葉における PACAP の生理的意義

田中敬子, 澁谷 泉, <sup>×</sup>原山信也, 上田陽一, 野村昌良, 井上義崇, 山下 博(産業医大, 第一生理)

下垂体中葉細胞は, 自発性の  $Ca^{2+}$  流入に依存した

自発性の分泌を、GABA やドーパミンなどの抑制性神経伝達物質が調節するという特殊な内分泌細胞であると考えられている。下垂体中葉に対して生理的に有効な分泌刺激物質が不明であることも、この考えが支持される理由の一つである。我々は、*in situ hybridization* 法により、ラット下垂体中葉に PACAP-I 型受容体および PACAP の mRNA が多量に発現していることを見出した。次に、ラット下垂体中葉に対する PACAP の作用を検討するため、単離した中葉細胞を用いて、細胞内  $Ca^{2+}$  濃度 ( $[Ca^{2+}]_i$ ) 測定と膜電流の記録を行った。その結果、下垂体中葉細胞において PACAP は 2 つの経路を介して細胞外からの  $Ca^{2+}$  流入に依存した  $[Ca^{2+}]_i$  上昇を引き起こすという結論を得た。すなわち PACAP は、protein kinase C を介して内向き電流を引き起こし、それによる膜の脱分極によって電位依存性  $Ca^{2+}$  チャネルからの  $Ca^{2+}$  流入を引き起こすという経路と、protein kinase A を介して電位依存性  $Ca^{2+}$  チャネルの活性を増強することにより  $Ca^{2+}$  流入を引き起こすという経路の両方を誘発すると考えられる。以上のことから、PACAP が下垂体中葉に対する生理的な分泌刺激物質の候補であることが示唆された。

### B-1. 血小板活性化因子 (PAF) およびヒスタミンによるラット低カルシウム血症

粟生修司, 新石健二, 高木厚司, 堀 哲郎(九州大, 医, 第一生理)

血小板活性化因子 (PAF) とヒスタミンは、胃潰瘍や気管支喘息の重要なメディエーターとされている。最近、我々はストレス性低カルシウム (Ca) 血症が胃潰瘍と密接な発生相関があり、ヒスタミンがその発生因子であることを明らかにした。本研究では、ストレス誘発性低 Ca 血症と胃潰瘍における PAF の役割を明らかにするため、PAF の血液 Ca 低下作用および胃粘膜障害作用を調べ、さらにヒスタミン誘発性低 Ca 血症との関係を調べた。10週齢の Wistar 系雌ラットを用い、PAF (0.4~4 mg/kg) 静脈内投与後の血液 Ca イオン濃度および胃粘膜の変化を測定した。PAF 受容体遮断薬の CV 3988 (1 mg/kg) および CV 6209 (0.1 mg/kg)、臭化メチルアトロピン (0.6 mg/kg)、ムスカリン受容体遮断薬) やラニチジン (5 mg/kg、ヒスタミン H<sub>2</sub> 受容体遮断薬) 前処置の効果も調べた。PAF (0.4~4.0 mg/kg) は用量依存性に低 Ca 血症および胃粘膜障害を誘発した。とくに PAF 4.0 mg/kg では低

Ca 血症の遷延化とともに著明な胃粘膜障害が出現した。PAF 誘発性低 Ca 血症および胃粘膜障害は PAF 受容体遮断薬で完全に抑制されたが、ムスカリン受容体遮断薬やヒスタミン H<sub>2</sub> 受容体遮断薬は効果なかった。一方、ヒスタミン (4 mg/kg) 静脈内投与で誘発される低 Ca 血症には PAF 受容体遮断薬は効果なかった。以上の結果、PAF はヒスタミンと同じく低 Ca 血症とそれに続く胃粘膜障害を誘発するが、PAF の作用はヒスタミンやアセチルコリンを介するものではなく、またヒスタミンの血液 Ca 低下作用も PAF を介するものでないことが明らかになった。ストレス下で作動する PAF はヒスタミンと異なる経路で賦活化されている。

### B-2. 脳 PGE<sub>2</sub> 発熱は終板器官および視索前野領域の EP1 レセプターを介して起こる

岡 佳恵, 岡 孝和, 細井昌子, 堀 哲郎(九州大, 医, 第一生理)

Prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) は、炎症性サイトカインにより誘発される発熱の主要な脳内媒介物質と考えられている。PGE<sub>2</sub> の受容体には、四つのサブタイプが存在する。そこで、ラット側脳室内に PGE<sub>2</sub> の各アゴニストを投与したところ、有意な体温上昇は EP1 アゴニストの投与でのみ起こり、さらに PGE<sub>2</sub> 注入による発熱は SC-19220 (EP1 アンタゴニスト) で抑制されたので、PGE<sub>2</sub> による発熱は EP1 レセプターを介することが分かった。次に PGE<sub>2</sub> 発熱が、脳内のどの部位に作用して起こるかを調べた。EP1 アゴニストである 17-phenyl-trinor PGE<sub>2</sub> (17-Ph-PGE<sub>2</sub>, 100 ng/0.2 μl) を投与して 1.1℃ 以上体温が上昇した部位は、腹側対角帯、第三脳室前腹側領域 (A3V)、正中視索前核および内側視索前野であった。これらの部位に 17-Ph-PGE<sub>2</sub> (0.1 μl) の濃度を下げて検討したところ、最も感受性が高かった部位は A3V であった。一方、butaprost (EP2 アゴニスト) 及び M&B 28767 (EP3 アゴニスト) を脳内のいずれの部位に注入しても効果がなかった。また、PGE<sub>2</sub> (50 ng/0.1 μl) を A3V に投与した時の体温上昇は、SC-19220 (0.1 mg) の前投与によって抑制された。以上から、ラットにおいて PGE<sub>2</sub> による体温上昇は、A3V を中心とする部位の EP1 レセプターを介していることが示唆される。

### B-3. 拘束ストレスによる免疫機能抑制の脳内機序

武 幸子, 八坂敏一, 金光芳郎, 片淵俊彦, 堀 哲

郎(九州大, 医, 第一生理)

様々なストレスによって免疫機能は修飾を受ける。特に回避不能な重度のストレスは免疫機能を抑制する。そのようなストレスの一つである拘束ストレスによる脾臓ナチュラルキラー細胞(NK)活性の抑制の脳内機序として、今回、サイトカイン作用の重要なメディエーターの一つである Prostaglandin E<sub>2</sub>(PGE<sub>2</sub>)の関与について検討した。インターロイキン 1-β(IL-1β)は拘束ストレス時に脳内で誘導されること、PGE<sub>2</sub>産生を介して交感神経系および視床下部-下垂体-副腎皮質系を活性化すること、脳室内投与で細胞性免疫機能を抑制することが報告されている。IL-1βの中和抗体(4 μg)を脳室内前投与(30分前)して拘束ストレスを1時間負荷すると、拘束ストレスによるNK活性の抑制は減弱した。さらにPG合成阻害剤である diclofenac を脳室内に拘束開始15分前に投与(1 μg)してにおいても、拘束ストレスによるNK活性抑制は減弱した。PGE<sub>2</sub>(1 μg)を直接脳室内に投与すると1時間後にNK活性は抑制され、視索前野(POA)、室傍核(PVN)への微量投与(0.1 μg/μl)でもNK活性は抑制された。外側視床下部(LHA)への投与は逆にNK活性亢進、腹側核(VMH)への投与は効果がなかった。神経細胞活動の活性化の指標として免疫組織化学染色法によるc-Fos蛋白発現を観察すると、拘束時、PVNで著明な発現増強を認めたと、diclofenacを拘束開始15分前に腹腔内前投与(10 mg/kg)しておく、c-Fos蛋白発現は著明に減少した。PGE<sub>2</sub>脳室内投与1時間後のPVNのc-Fos蛋白発現は著明に増強していた。以上の結果より、拘束ストレスによる免疫機能抑制の脳内機序としてPGE<sub>2</sub>が重要な役割を果たしており、その脳内作用部位としてPVNの関与が強く示唆された。

#### B-4. c-fos アンチセンスオリゴ DNA の視索前野 注入ラットに対する高温暴露の効果

八坂敏一, 片瀬俊彦, 堀 哲郎(九州大, 医, 第一生理)

ラットを高温暴露すると、中枢性体温調節に重要な役割をしている内側視索前野(MPO)にFos蛋白が発現する。神経活動の指標とされている最初期遺伝子、c-fosは、転写因子をコードしているが多くの場合その役割は解明されていない。高温暴露時にMPOで発現するFos蛋白の体温調節機構における役割を検討するため、c-fos mRNAに対するアンチセンスオリゴ

ヌクレオチドを用いて発現を阻害し、その影響を調べた。

【方法】 麻酔下で、オスのウイスターラット(250~300g)の両側MPOにガイドカニューレを植え込み、一週間後、午前10時にセンスまたはアンチセンスオリゴヌクレオチド(S-オリゴ, 0.3 nmol/0.3 μl saline)を注入し、10時間後2時間の高温暴露(33℃)を行った。その間、直腸温を測定した。高温暴露終了後、免疫組織化学法でFos蛋白を染色した。

【結果】 高温暴露時の直腸温の上昇は、センス投与群で約2.8℃、アンチセンスの局所注入でMPOのFos蛋白発現が抑制された群では、約2℃と上昇の程度が有意に抑制された。

【考察】 これらの結果から、高温暴露の際にMPOで発現するFos蛋白は、熱産生の促進、あるいは、熱放散の抑制、または、その両方に関与していると考えられた。

#### B-5. インターロイキン-1の腹腔内投与によって生じる痛覚過敏はジクロフェナック脳室内投与によって抑制される

岡 孝和<sup>\*\*\*</sup>, 細井昌子<sup>\*</sup>, 岡 佳恵<sup>\*</sup>, 堀 哲郎<sup>\*</sup>(九州大, 医, 第一生理・\*\*心療内科)

末梢組織で産生されるインターロイキン-1(IL-1)によって生じる痛覚過敏が中枢性に修飾されるかどうか、ラットを用いて検討した。ヒトリコンピナントIL-1β(1 ng/kg~100 ng/kg)を腹腔内投与すると、ホットプレートテストで、後肢の払い除け動作を開始するまでの潜時(paw-withdrawal latency)が用量依存性に短縮した。最も顕著な変化は100 ng/kgで認められ、IL-1β腹腔内投与30~90分後にpaw-withdrawal latencyの有意な短縮が観察された。一方、IL-1β(100 ng/kg)を腹腔内投与しても、投与後120分間では明らかな体温上昇はみられなかった。IL-1β(100 ng/kg)による痛覚過敏は、シクロオキシゲナーゼ阻害剤であるジクロフェナック1 ngおよびα-メラニン細胞刺激ホルモン(α-MSH, 100 ng)を側脳室内に前投与することで抑制された。ジクロフェナックおよびα-MSH単独投与ではpaw-withdrawal latencyは変化しなかった。また、プロスタグランジンE<sub>2</sub>を側脳室内投与すると非発熱量で痛覚過敏が生じた。したがって、末梢組織で産生されたIL-1により生じる痛覚過敏の一部には、脳内プロスタグランジンが関与し、またIL-1による痛覚過敏は脳内α-MSHによって抑制さ

れうることが示された。

#### B-6. ラット前頭前野に interleukin-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ ) を局所投与するとノルアドレナリンの放出が促進する

上川英樹, 中根秀\*, 粟生修司<sup>1</sup>, 堀 哲郎(九州大, 医, 第一生理・\*宮崎医大, 精神科)

IL-1 $\beta$  の前頭前野ノルアドレナリン放出に対する作用を明らかにするため, マイクロダイアリス法により IL-1 $\beta$  の局所投与時のノルアドレナリン濃度の経時的変化を測定した。IL-1 $\beta$  の前頭前野投与 (3, 10 ng/0.1  $\mu$ l) は用量依存性にノルアドレナリンの放出を 2 相性に促進した。この IL-1 $\beta$  (3 ng/0.1  $\mu$ l) の反応は IL-1 receptor antagonist (800 ng) によって抑制された。cyclooxygenase inhibitor (diclofenac, 500  $\mu$ M) や nitric oxide synthase inhibitor (L-NG-nitroarginine, 100  $\mu$ M) は IL-1 $\beta$  の第 2 相の反応だけを抑制した。IL-1 $\beta$  の局所投与で細胞外グルタミン酸濃度も上昇し, non-NMDA receptor antagonist (CNQX, 50  $\mu$ M) は IL-1 $\beta$  のノルアドレナリン放出促進作用の第 1 相と第 2 相の両方を抑制した。NMDA receptor antagonist (AP5, 100  $\mu$ M) は第 1 相を部分的に抑制した。IL-1 $\beta$  のノルアドレナリン放出促進作用にはグルタミン酸の上昇が関与し, 第 2 相の反応にはさらに prostaglandin 系や nitric oxide 系が作動していることが示唆された。

#### B-7. ラットの発熱反応における脳内アンギオテンシン II の役割について

渡辺達生, <sup>x</sup>佐伯幸男, 坂田義行(山口大, 医, 第二生理)

【緒言】 これまで, 脳室内にアンギオテンシン II を投与すると低体温が起こることが報告されており, 脳内アンギオテンシン II は体温下降に働くものと理解されてきた。しかし紫藤らは, この低体温は圧受容器反射による非特異的交感神経抑制によるものであることを報告しており, いまだ脳内アンギオテンシン II の体温調節における役割は明らかではない。今回, 私達はアンギオテンシン II レセプターのアンタゴニストを脳内に投与し, 発熱反応における内因性アンギオテンシン II の役割について検討した。

【結果】 1. AT<sub>2</sub> レセプターアンタゴニストを脳室内あるいは preoptic area 内に投与すると, インターロイキン 1 あるいはプロスタグランジン E による発熱反応が容量依存性に抑制された。

2. AT<sub>1</sub> レセプターアンタゴニストの脳室内投与により発熱反応はなんら影響されなかった。

3. プロスタグランジン E による発熱反応はアンギオテンシン II の脳室内あるいは preoptic area 内投与により増強した。

【考察】 以上の結果より, 内因性の脳内アンギオテンシン II は発熱反応発現の modulator として重要な役割を果たしているものと推察される。

#### B-8. ナキウサギの体温の日内リズム及び視覚器についての検討

羅 宗偉, 松本孝朗, 大渡 伸, 土屋勝彦, 小坂光男, <sup>x</sup>千馬正敬\*, <sup>x</sup>板倉英世\*, <sup>x</sup>一ノ瀬昭豊\*\* (長崎大, 熱帯医研, 環境生理・\*病理・\*\*社会環境)

ナキウサギは高地・寒冷順化動物モデルとして注目され, 熱産生よりも熱放散機能が深部体温のサーカディアンリズムに関与するという仮説に基づき, ナキウサギの体温及び活動をテレメーターで記録し, 日内リズムについて分析した。ナキウサギ, スナネズミ, ラットの眼底を撮影し, 眼球の直径, 角膜直径を測定し, 光学顕微鏡及び電子顕微鏡で網膜を観察した。

ナキウサギの体温の明確な日内リズムは認められなかった。活動量も昼夜で顕著な変化はなかった。対照群としてスナネズミでは明期に低く, 暗期に高い夜行性の体温の日内リズムを示した。活動量も体温の変化と同調した。スナネズミの網膜血管は鮮明に認められたが, ナキウサギの網膜血管が認められなかった。ナキウサギの眼球の直径 9.0 mm, 角膜の直径は 6.5 mm. 網膜の厚さは 0.15 mm. 脈絡膜の厚さは 0.18 mm であった。電子顕微鏡で周辺部網膜には血管組織が認められなかった。

実験の結果よりナキウサギの熱放散機能が劣っていると共に体温の日内リズムも明確に認められないことが明らかになった。ナキウサギの熱放散能と体温のサーカディアンリズムとの関連が深い。脈絡膜は網膜より厚く, 脈絡膜内に豊富な血管と多量の色素細胞の存在が確認された。このような結果からナキウサギの網膜への栄養が脈絡膜血管から一部供給される可能性があり, 多量の色素細胞が紫外線の吸収に重要な役割を果たしていると推測される。

#### B-9. 新生仔ラットにおける皮質拡張性抑圧中の青斑核ニューロン活動

<sup>x</sup>藤井康弘, 中村彰治(山口大, 医, 第二生理)

我々は、成熟ラットにおいて皮質拡張性抑圧を起こすと、青斑核ニューロンにおいて自発放電頻度の抑制と、初節 (initial segment, IS) スパイクを含む逆行性バースト放電を生じることをすでに報告した。今回は、皮質拡張性抑圧の発生と皮質拡張性抑圧中に見られる青斑核ニューロン活動の発達について検討した。ラットをウレタン麻酔 (1.5 g/kg, i. p.) し、大脳皮質に KCl 液を滴下して皮質拡張性抑圧を発生させた。前頭葉に刺入したガラス管微小電極にて陰性 DC 電位変化を記録した。青斑核は背側ノルアドレナリン線維束の刺激によって得られる逆行性フィールド電位によって同定し、単一神経活動を細胞外記録法により記録した。皮質拡張性抑圧に伴う陰性 DC 電位は生後10日から明瞭に観察され、その振幅、持続時間、間隔は生後30日で成熟ラットと同じレベルに達した。皮質拡張性抑圧発生中には、生後13~20日ラットの青斑核において自発放電頻度の減少は見られなかった。しかし、このような新生仔ラットの青斑核でも逆行性バースト放電を観察できた。また、IS スパイクの出現頻度においても成熟ラットと有意な差を認めなかった。以上より、新生仔青斑核ニューロンにおいては、IS スパイクの発生は細胞体の興奮性の減少によるものではなく、それ以外のもの (たとえば、細胞体の形状の未熟性など) が原因と考えられた。

#### B-10. 大脳皮質顎運動野から直接投射を受ける線条体腹外側部の出入力関係

藏岡直史\*, 笹本一茂, 岸川直司\*, 太田雅博 (九州大, 歯, 口腔生理・\*第2補綴)

大脳皮質顎運動野は線条体の腹外側部の極めて限局した領域に直接投射している。この領域の出入力関係を明らかにするために、HRP 注入実験を行った。pentobarbital 麻酔下の Wistar rat の線条体に 5% WGA-HRP を電気泳動法で注入し TMB 反応を行った。

標識細胞体は以下の領域で観察された。同側優位で両側の大脳皮質、特に無顆粒島皮質に多く見られ、次いで運動野および感覚野にも見られた。すべて第5層の錐体細胞であった。脚内核吻側部に少数、視床髄板内核群の内側中心核、束傍核、中心傍核に多数、視床後核群に中程度、正中核群の前内側中間核、菱形核、背内側核、腹外側核、後腹内側核に少数観察された。黒質緻密部では背外側部に限局して見られ、吻側部に多数、尾側部に少数分布していた。隣接する腹側被蓋

野では、吻側半の背側部に少数観察された。背側縫線核では、両側全域に観察された。

神経終末を含むと思われる標識線維成分は、淡蒼球の腹外側部、黒質網様部の背外側部に限局して観察された。内包に見られた標識線維は腹内側部に限局していた。また、大脳脚から黒質吻側部に入っていく線維が観察された。すなわち、内包は線条体腹外側部—黒質経路の一部であると考えられる。

大脳皮質、背側縫線核以外の標識細胞体および線維成分は全て同側のみで観察された。

#### B-11. c-kit 受容体ミュータントラットにおける海馬シナプス増強現象の異常

片淵俊彦, 李 愛軍, \*廣田誠一\*, 堀 哲郎 (九州大, 医, 第一生理・\*大阪大, 医, 病理)

c-kit 受容体は、多機能幹細胞やマスト細胞に発現し、その分化増殖に関与している。ところが、最近、成熟ラットやマウスの海馬錐体細胞にも強く発現していることが明らかになったが、その機能については、ほとんど不明である。そこで、c-kit 受容体のチロシンキナーゼドメインに4個のアミノ酸欠損が認められる Ws/Ws ミュータントラットの空間学習能力、および海馬スライス標本での CA1 および CA3 領域におけるシナプス増強現象について検討し、c-kit 受容体の海馬における機能について検討した。

c-kit ミュータントラットでは、モリス水迷路学習において、試行の回数を経るほどコントロール (+/+ ) 群と比較してプラットフォーム到達時間が有意に延長した。試行中止5日後に行ったプローブテストでも有意な差が見られた。海馬スライス標本における、テタヌス刺激による長期増強現象は、CA1 領域では、刺激後30分までは +/+ 群と比較して増強現象の減弱が見られたが、その後有意差は消失した。一方、CA3 領域では、テタヌス刺激後1時間以上経過しても増強現象は有意に抑制されていた。また、paired pulse facilitation test では、CA1 および CA3 領域のいづれも、+/+ 群と比較して増強の程度が小さかった。以上から、海馬の c-kit 受容体はシナプス可塑性に促進性に関与していることが明らかになった。

#### B-12. P300 を用いたヒト認知機能の研究

\*下野昌幸, \*原口宏之, \*白幡 聡, 林田嘉朗\*, 前田正信\* (産業医大, 小児科・\*応用生理2)

正常群9名 (C群), 知能正常のてんかん患者6名 (E

群; IQ $\geq$ 85)と知能低下したてんかん患者6名(R群; IQ<85)に、2音を弁別する聴性 Oddball 課題(標的音 2000 Hz; 出現率12%, 非標的音 1000 Hz; 出現率88%)を行った。標的音発生時にボタンを押す作業中の脳波を一試行毎に分析(single-trial)し、事象関連電位 P300(ERP P3)を同定・分類し、認知と反応時間(RT)の関係から知能障害の原因を調べた。

3群共標的音に対して誤って反応する例は無かった。全試行中の artifact 発生率は、3群に有意差は無かった。(1)single-trial ERP を4タイプに分類した。R群は、他の2群に比べP3成分を持つERPの減少とP3成分を持たないERPの増加が有意であった。(2)P3潜時は3群間に有意差は無かった。P3振幅はR群では他の2群より有意に増加し、RTはR群では他の2群より有意に延長していた。(3)C群では9人中7人に、E群は6人中5人にP3潜時とRTの正の相関関係を認め、R群は全例相関を認めなかった。(4)single-trial P3の周波数は3群間に差を認めなかった。以上の結果は、てんかん患者の認知・評価の過程は正常者と同様に存在していることを示唆する。しかしR群では注意や情動等の障害がRTの遅延や評価の機会を減少させ、IQを低下させていることが考えられる。

### B-13. 雌マカクザルの視覚的性弁別および性嗜好性

水野雅晴, 粟生修司, 藤田和生\*, 堀 哲郎(九州大, 医, 第一生理・\*京都大, 霊長類研, 思考言語)

ニホンザルやアカゲザルなどのマカクザルの雄が交尾相手を選択するとき、雌の発情状態を顔など皮膚の色や、匂い、発情に伴う行動変化などが重要な情報になっていることが知られている。しかし、雌がどのような感覚情報をもとに雄を選択するのかはよく分かっていない。雌の雄に対する行動は、発情期である冬と非発情期の夏とでは著しく異なり、雄への嗜好性に季節変化があることが考えられる。本研究では、視覚に重点を置き、雌マカクザルが視覚情報だけで性を弁別できるかを視覚弁別課題を用いて調べ、さらに視覚的性嗜好性およびその季節変化について調べた。

屋外で撮影したアカゲザルあるいはニホンザルの静止映像をテレビモニターに提示し、被写体の性別を被験ザル(雌アカゲザル n=2)に弁別させた。訓練の結果、初めて見る被写体の性別を90%以上の確率で弁別できるようになった。このことよりサルは視覚情報

だけで性を弁別する能力があることが分かった。一方、雌ニホンザルおよびアカゲザル(n=6)を用い、感覚性強化を利用したレバー押し行動で雄あるいは雌を撮影したビデオ動画に対する嗜好性を調べた。その結果、4匹が視覚的な性嗜好性を示した。この性嗜好性は自分自身の季節変化より視覚対象の変化に依存していた。このことよりサルは視覚情報だけでも交尾相手の季節性変化を認識できることが示唆される。

### B-14. 頭皮上記録の大脳 DC 電位

林田嘉朗, 後藤小百合\*, 八木康夫(産業医大, 応用生理・\*奈良県立医大, 第一生理学)

真の直流電位を記録するために、チョッパー・タイプの DC 増幅器を用い、Ag-AgCl 不分極電極の多くの組み合わせから電極糊の中で電位差とドリフトが出来るだけ小さい一対の電極を選択して、頭頂 Cz と両耳朶連結の間で長時間安定した DC 電位を記録した。被験者は18歳から23歳の健康な男女10名を用いた。被験者の安静時には頭頂 Cz と両耳朶の間で +16 mV から -37 mV の定常直流電位が存在した。換気高進(30回/min, 3分間)により、この定常直流電位に重畳して DC 電位の陰性側への偏位が最大 1.5 mV 起こった。換気低下(5回/min, 3分間)では重畳する陰性側への DC 電位の偏位は小さくなる(約 0.5 mV)か、陽性側へ偏位(0.1 mV 以下)した。さらに、この3分間の換気低下時に高炭酸ガス濃度(4~6%)の空気を吸入させると DC 電位は陽性側へ最大約 0.5 mV 偏位した。定常直流電位に重畳した DC 電位の陽性および陰性側への最大偏位は呼気中の炭酸ガス濃度と有意な相関関係があった。一方、換気高進および高炭酸ガスの吸入の際に記録電極間のインピーダンスには変化がなかったため頭皮上記録の DC 電位は血中の炭酸ガス分圧レベルと関連する大脳皮質の興奮性の変化を反映するものと考えられる。

### B-15. 静脈麻酔剤の視床下部室傍核領域の細胞外液ノルアドレナリン量に及ぼす影響

下川 歩, 金精華, 野瀬清孝, 加藤和男, 國武孝人, 花森隆充, 河南 洋(宮崎医大, 第一生理)

動物実験に使用される代表的静脈麻酔剤であるベントバルビタール, クロラロース, ウレタン投与時の中枢内ノルアドレナリン(NA)系の変動についてはまだ充分明らかでない。今回意識下ウィスター系雄性ラットを用い、視床下部室傍核(PVN)領域の細胞外液中

NA 濃度をマイクロダイアリース法を用いて20分間隔で測定し、これら麻酔剤の効果と比較検討した。麻酔剤投与前の NA 量は  $78.5 \pm 9.6$  pg/ml であった。ベントバルビタール (30 mg/kg) の静脈内投与後、NA は40分より減少し、ピークは1時間で約30%の減少を認め、80分持続し覚醒に伴い回復した。クロラロース (50 mg/kg) 投与後も NA は80分より減少し、ピークは2時間で約40%の減少を認め、100分持続し覚醒に伴い回復した。一方、ウレタン (800 mg/kg) 投与後 NA は1時間より有意に増加し、ピークは3時間で約50%の増加を認め、5時間後も回復しなかった。これらの変化は血圧の変化の時間経過とは一致しなかった。以上の結果は、ベントバルビタール、クロラロースは PVN へのノルアドレナリン系を抑制し、ウレタンは促進することを示唆している。PVN は自律神経系と内分泌系の統合部位であるので、静脈麻酔剤による自律神経、内分泌機能の変化にこのノルアドレナリン系が少なくとも一部関与していることが示唆された。

#### B-16. 意識下ラットにおける脳室内高張食塩水投与の腎交感神経活動と循環動態に対する影響

加藤和男, 下川 歩, 國武孝人, 花森隆充, 河南洋 (宮崎医大, 第一生理)

脳室内への高張食塩水投与による血圧 (MBP), 心拍数 (HR) と腎交感神経活動 (RSNA) の反応は種差や麻酔の有無や実験方法によって様々である。我々は、非拘束、覚醒下の雄性的 Sprague-Dawley ラットを用い、側脳室内に 0.15 M と 0.3 M, 0.67 M, 1.0 M の高張食塩水を20分間持続投与 (total 20  $\mu$ l) し、それぞれの応答の差異を検討した。さらにこれらの反応へのバゾプレッシン系の関与を検討した。

週令  $15 \pm 0.51$  の SD 系ラットの安静時平均血圧は  $96.5 \pm 1.5$  mmHg, 心拍数は  $310 \pm 5.1$  bpm であった。0.3 M の NaCl 液投与では、HR, BP と RSNA に有意な変化はみられなかった。0.67 M の NaCl 液投与では、投与中の RSNA の有意な抑制 ( $\Delta$ RSNA:  $-57.1 \pm 6.1\%$ ,  $p < 0.01$ ) がみられた。1.0 M の NaCl 液投与では、RSNA の有意な抑制 ( $\Delta$ RSNA:  $-55.0 \pm 7.5\%$ ,  $p < 0.05$ ) と BP の有意な上昇 ( $35.3 \pm 3.4$  mmHg,  $p < 0.01$ ) がみられた。バゾプレッシン V<sub>1</sub> antagonist (OPC-21268, 大塚製薬, 5 mg/kg, iv) 前処置後の 0.67 M の NaCl 液投与により RSNA の抑制反応は減弱傾向 ( $-71.1 \pm 9.1\%$  vs  $-42.0 \pm 2.7\%$ ;  $n=3$ ) を示した。

覚醒下 SD 系ラットでは高張食塩水の脳室内投与により RSNA は抑制され、その反応にはバゾプレッシン系の関与が示唆された。

#### B-17. 筋原形質の流体力学 —水とイオンと蛋白質—

緒方道彦 (九州大, 健康科学センター)

極めて強い溶媒である水に対して、蛋白質は周囲の水分子を構造化することにより存在を維持している。それを援けるのが無機イオンである。蛋白質の機能がイオンにより修飾される姿は電気生理学で解明されるが、蛋白質周囲の水の生理機能を直接的に明らかにすることは難しい。骨格筋原形質の電気抵抗 (R<sub>i</sub>) は神経細胞に比し高く、各種無機イオンの拡散速度は非特異的に遅い。しかし R<sub>i</sub> は収縮時に半減する。proton-NMR では収縮時の水の分子運動は加速している。いずれも間接的な結果であったが、今回、約0.2ミリ長の蛙骨格筋断片を加圧し膜の無い筋断端界面からの水分流出速度を測り、筋の流体力学的特性を調べた。

その結果、筋形質は非ニュートンの粘性を示し、水分流出速度はカフェイン拘縮時には顕著に増大した。即ち弛緩時には筋形質内の水は強く構造化 (主としてアクチン周辺) され酵素活性も抑制されている。この状態は高吸水性の合成高分子系における膨潤に類似し、mechanochemical に張力が貯えられているのと相似である。今回の実験結果は、SR からの Ca release が水構造の崩壊を促し、筋蛋白質系の酵素活性が増大し、外部負荷に対する筋肉の仕事を可能にするということを示唆している。充分な弛緩は収縮の前提として重要である。筋細胞内の水の積極的な役割を更に解明すべきであろう。

#### B-18. AMP による蛋白質のアセンブリの促進

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質は、分子量33,000, 29,000のサブユニット ( $\alpha$ ,  $\beta$ ) に一分子の補酵素 FAD と一分子の AMP が結合してできている。FAD はこの蛋白質の活性に必要な不可欠であるが、AMP を外した蛋白質もホロ蛋白質と同等の活性を持っており、AMP の役割が問題となっている。先に我々は、 $\alpha \cdot \beta \cdot \text{FAD} \cdot \text{AMP}$  の結合によるホロ蛋白質形成過程を調べ、AMP が蛋白質と FAD との結合を飛躍的に速めることを見いだした。これは、 $\alpha \beta$ -

AMP+FAD の反応が  $\alpha + \beta + \text{FAD}$  の反応に比べて非常に速いためであることが分かっている。今回、 $\alpha + \beta + \text{FAD}$  の反応をさらに詳細に調べ以下の結果を得た。(i)  $\alpha$  と  $\beta$  の混合液中ではサブユニット間の結合は非常に弱く(解離定数  $K_d \gg 1 \mu\text{M}$ )、大部分がモノマー型で存在している。(ii) FAD は  $\alpha$  や  $\beta$  のモノマー型とは結合せず、 $\alpha\beta$  のダイマー型とのみ結合する。この結果から、AMP の作用機序は次のように説明できる。AMP の非存在下では、ダイマー型の割合が非常に低いため、FAD と蛋白の結合は遅い。AMP が結合することによって、ダイマー型を安定化する。このダイマー化によって、蛋白と FAD の結合が促進されると考えられる。

#### B-19. ハプトビンに対する抑制物質の検討

渡慶次賢博, 中村真理子, 金城紀代彦, 花城和彦, 小杉忠誠(琉球大, 医, 第一生理)

【目的】 ハブ粗毒由来のトロンビン様酵素であるハプトビンは、家兎 fibrinogen に作用し、fibrin 形成、 $A\alpha$  鎖分解、FPA 遊離を惹起する。今回我々は、ハプトビンのこれらの活性を抑制する物質について検討した。

【方法】 Leupeptin, DFP, TLCK, AT III-heparin, MD-805, hirudin, 2-mercaptoethanol の、ハプトビンの fibrin 形成活性に対する抑制活性を Hematracer NKK I を用いて測定した。次いで、 $\alpha_2$ -macroglobulin (以下、 $\alpha_2\text{M}$ ) を家兎血液中より精製し、それがハプトビンの fibrin 形成活性、 $A\alpha_2$  鎖分解、FPA 遊離を抑制するかを検討した。また、ハブ咬症患者の治療に用いられている「はぶウマ抗毒素」(以下、Antivenom) のハプトビン活性抑制を検討した。

【結果】 Leupeptin, DFP はハプトビン活性をほぼ 100% 抑制した。一方、家兎  $\alpha_2\text{M}$  はハプトビンの fibrin 形成活性、 $A\alpha_2$  鎖分解活性、FPA 遊離を抑制した。さらに、Antivenom は、ハプトビンの上記活性を抑制した。Antivenom に含まれる IgG の割合が減少したにもかかわらず、ハプトビンの fibrin 形成活性に対する抑制率には差は認められなかった。

【総括と考察】 Antivenom によるハプトビンに対する抑制の本体は、 $\text{F(ab)'}_2$  分画であったと推察された。

#### B-20. プロスタグランジン $I_2$ (PGI<sub>2</sub>) による線維芽細胞のウロキナーゼ型プラスノーゲンアクチベーター (uPA) 産生への影響

波種年彦, 吉田悦男, 杉木雅彦, 大村さゆり, 穴井

慶太, 中山雅美, 河野次郎, 美原 恒, 丸山真杉(宮崎医大, 第二生理)

uPA は線溶系酵素の一種で、血栓溶解に関与しているが、一方で細胞外基質の分解にも関与し、種々の細胞移動に重要な役割を担っている。プロスタグランデインの一種で、強い血小板凝集抑制作用や血管拡張作用などを有する PGI<sub>2</sub> が、線維芽細胞における uPA の産生に及ぼす影響、さらには PGI<sub>2</sub> が創傷治癒に与える影響について検討した。実験は、ヒト線維芽培養細胞である TIG-3-20 及び PGI<sub>2</sub> の安定型誘導体である Beraprost を用いて、フィブリン平板法、zymography, 酵素免疫抗体法, Northern blot 法を施行した。すべての実験で PGI<sub>2</sub> により線維芽細胞における uPA の産生が促進された。また単層の線維芽細胞の一部を削り取り、それを創傷治癒モデルとして PGI<sub>2</sub> の影響を検討したところ、PGI<sub>2</sub> によりその修復速度が促進された。これより PGI<sub>2</sub> は局所の細胞移動に促進的に働き、ひいては創傷治癒に影響を与えることが確認された。またその一因として線維芽細胞における uPA の産生促進が関与していることが示唆された。

#### B-21. ラットおよびヒト血中の蛇毒金属酵素阻害物質

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

jararafibrase-1 (JF-1) は南米に生息する毒蛇である Bothrops jararaca の粗毒中より精製された出血活性をもつ金属酵素で、蛇咬傷時にみられる出血症状に深く関与していると考えられている。しかし、その阻害物質については未だに明らかになっていない。そこで、JF-1 に対するラットおよびヒト血中の阻害物質について検討した。JF-1 に種々の濃度の血清を加え、JF-1 活性を測定すると、ラット血清、ヒト血清ともに濃度依存的に JF-1 を抑制した。また、ラット血清ではヒト血清に比べて約 5 倍強い抑制が認められた。

$\alpha$ -2macroglobulin ( $\alpha$ -M) の不活性化剤であるメチルアミンにて血清を処理すると、ラットおよびヒト血清ともにその JF-1 に対する阻害活性は完全に消失したことから、JF-1 に対する血中阻害物質は  $\alpha$ -M と考えられた。そこで、健康ラットおよびヒトに存在している 3 つの  $\alpha$ -M, すなわち、ラット  $\alpha_1$ -macroglobulin ( $\alpha_1$ -M), ラット murinoglobulin (MG), ヒト  $\alpha_2$ -

macroglobulin ( $\alpha_2$ -M)を用いて JF-1 との反応を検討したところ、これらすべてで、JF-1 との複合体形成が認められ、また、ほぼ完全に JF-1 を阻害することが明らかとなった。以上より、JF-1 に対するラット血清中の阻害物質は  $\alpha_1$ -M, MG であり、ヒト血清中の阻害物質は  $\alpha_2$ -M であることが明らかとなった。また、MG はヒト血清中には存在していないことから、ラット血清における強い阻害活性は MG によるものであると考えられた。

#### B-22. 血液密度の連続測定 一下半身陰圧負荷による影響について

鳥居理子, 山崎文夫, 遠藤 豊, 佐川寿栄子, 白木啓三(産業医大, 第二生理)

下半身に陰圧を負荷すると下半身に血液が貯留し、心臓への静脈還流量が減少する。下肢の組織圧は減少して、血液中の水分は血管外へ移動する。この際の体液シフトを動的にとらえるために種々の循環パラメータとともに血液密度を mechanical oscillator technique を用いて連続的に測定した。10分間の陰圧負荷(-15 mmHg 及び -30 mmHg)では、血液密度は一過性の減少後、急速に増加し、負荷終了時に負荷前に比べ -15 mmHg で  $0.259 \pm 0.048$  g/l, -30 mmHg で  $0.610 \pm 0.067$  g/l, 各々増加していた。陰圧負荷終了後約2分にピークがあり、約20分で負荷前のレベルに回復した。ヘマトクリット値の変化は血液密度と同じ傾向を示した。血漿密度は -15 mmHg では変化せず、-30 mmHg では  $0.336 \pm 0.510$  g/l の増加を示した。この方法は、少ない侵襲で血管内外の水の急速な動きを推定するのに有効な方法であると考えられた。

#### B-23. 連続血液密度測定による血液量変化の推定 一頸下浸水時一

山崎文夫, 鳥居理子,  $\times$  畠山和明, 遠藤 豊, 佐川寿栄子, 白木啓三(産業医大, 第二生理)

頸下浸水(HOI)を行うと、下肢の毛細血管の外側から内側へ体液の移動が起こる。この際の体液の移動動態を詳細に検討するために、健康な男子大学生7名を対象に、水温34.5°Cでの HOI を座位安静にて60分間行った。実験中に前腕部の静脈内に留置したカテーテルより 1.3 ml/分の速度で採血し、mechanical oscillator technique によって血液密度を5秒毎に連続測定した。また同じ方法による血漿密度、計算による赤血球密度およびマイクロヘマトクリット法によるヘマト

クリット値をそれぞれ5分毎に求めた。さらに血漿密度とヘマトクリット値から血管内に移動した体液の密度と量を推定した。血液密度は HOI 開始後30~40分目までは急速に、その後60分目までは緩やかに減少した。HOI 中に血漿密度とヘマトクリット値は血液密度とほぼ同様なパターンで減少したが、赤血球密度には明らかな変化はみられなかった。HOI 中に移動した体液の密度(1.01 g/ml)は HOI 前の血漿密度(1.023 g/ml)より低かったが、蛋白を含まない限外濾過液(1.00 g/ml)よりは高値を示した。HOI 終了時の移動体液量は HOI 前の血漿量の10%の量に相当した。これらのことより HOI に伴う血液密度の減少は、蛋白を含んだ間質液が毛細血管内に流入し、血漿量が増加することによって生じると考えられた。

#### B-24. ヒトにおける血液電解質濃度の連続測定について

遠藤 豊, 鳥居理子,  $\times$  畠山和明, 山崎文夫, 佐川寿栄子, 白木啓三(産業医大, 第二生理)

種々の負荷に対する生体反応にともない、血液中の電解質濃度が変化することが知られている。このような反応は連続的な変化であり、従来の一回毎の採血による測定ではその解釈に限界があると考えられる。この変化を動的に捉えるために、イオン電極法を応用して、ナトリウムイオン・カリウムイオン・塩素イオンの3種の電解質濃度を連続的に測定するシステムを作製し、実際にヒトについて飲水負荷をかけ、その後のこれら電解質の血中濃度の変化についての連続測定を試みた。実験には健康男性被験者を用い、蒸留水1ℓによる飲水負荷を行い、その後60分間測定を継続した。その結果、いずれの電解質濃度も負荷直後には一過性の増加傾向が認められるが、その後は減少し30~40分後に平衡に達した。その濃度は、コントロール値に比べ、ナトリウムイオンで4 meq/l, カリウムイオンで0.15~0.4 meq/l, 塩素イオンで3~6 meq/l の低下を示し、それぞれの濃度は十分検出可能であった。また同時に採血していたサンプルを従来の標準測定装置で測定した数値と比較するときわめて近似していた。今後例数の追加を要するものの、その有用性が十分に示唆された。

#### B-25. ラット大脳皮質味覚ニューロンの四基本味混合液に対する応答

小川 尚, 長谷川佳代子(熊本大, 医, 第二生理)

中枢神経系からニューロンを記録するには、受容野付近に何らかの刺激を与えてニューロンを興奮させる必要がある。味覚ニューロンの記録の際には四基本味混合液を探查刺激として用い、口腔を常時刺激することが行われている。我々はこれまでラットの中枢味覚伝導路に沿って、孤束核から大脳皮質まで味覚ニューロンを記録し、四基本味混合液に対する応答に基づいて味応答の有無を判断してきた。しかし、大脳皮質ではこの方法はうまく働かず、四基本味に対する応答を全て調べている。今回その原因を調べるため、これまでのデータを解析した。その結果、どの中継核や大脳皮質に於いても、四基本味混合液応答は四基本味液中各ニューロンにとってのベスト刺激に対する応答と高い相関を示した。しかし、視床以下の中継核では四基本味混合液に対する応答に基づく味覚ニューロンの同定失敗率は15%以下であったのに対し、大脳皮質では40%を上回った。皮質味覚ニューロンにGABA拮抗薬ビククリンを作用させると味覚同定失敗率は20%台に低下した。大脳皮質では味質間で相互抑制が起こっているため、四基本味混合液に対する応答が減少していると考えられる。従って、皮質味覚野での四基本味混合液に対する応答に基づく味覚ニューロン同定がうまくいかない原因の一つは皮質内抑制に帰せられた。

#### B-27. 急性低圧低酸素環境下における持久的トレーニングが脂質代謝に及ぼす影響

菊地和夫(九州芸術工科大, 芸術工学部, 運動生理)  
**【目的】** 低圧シミュレーターを用いた低圧低酸素環境への急性暴露下における持久的トレーニングが脂質代謝に及ぼす影響を検討することを目的とした。  
**【方法】** 被検者は高所登山・滞在を目指す3グループの計32人であった。低圧シミュレーターを用いて、3,000 m, 3,500 m, 4,000 m, 4,500 m, 5,000 m, 5,500 m, 6,000 m および 6,500 m 相当高度において常圧下で測定した最大酸素摂取量の約50%に相当する強度で、一回当たり30～60分間の自転車エルゴメーター運動を7～9週間にわたり、平均約8回実施した。  
**【結果と考察】** トレーニングにより、HDL コレステロールは、約5 mg/dl 有意に増加し、TG や LDL も有意に低下することが観察された。これらの結果は、急性低圧低酸素環境下における持久的トレーニングは、常圧下における同様なトレーニングよりも、より少ないトレーニング回数で、より効果的に HDL コレ

ステロールの増加や脂質代謝の改善をもたらす可能性のあることを示唆するものと考えられた。

#### B-28. 慢性期脳血管障害者の筋交感神経の寒冷昇圧試験に対する反応性

×美津島 隆, 田島文博, 中村 健, ×緒方 甫(産業医科大, リハビリテーション医学)

延髄より上位のテント上にある上位中枢が筋交感神経活動にどのように関与しているかを調べるために、寒冷昇圧試験を用い、テント上に病巣のある脳血管障害者を対象として健常者と比較した。

テント上に病巣を認める慢性期脳血管障害者10名と年齢を一致させた健常者9名に対し、マイクロニユログラフィーをもちいて患側の腓骨神経より直接交感神経を導出しながら、寒冷昇圧試験をおこなった。同時にフィナプレスによる持続動脈圧測定、心拍数、冷水に浸した手指の皮膚温を記録した。安静時における基礎的な筋交感神経活動量は脳血管障害者群のほうが健常者群に対し、有意に高値を示したが、寒冷昇圧試験を負荷した時、筋交感神経の変化率(反応性)は脳血管障害者群が、健常者群に対し、有意に低いという結果を得た。大脳皮質、視床レベルから延髄までのテント上の経路が筋交感神経活動の反応性に促進的な影響を与えて可能性が考えられた。

#### B-29. 延髄孤束核化学刺激時の脳血流と乳酸値の関係

×池上 容\*\*\*, 前田正信\*, ×横田 晃\*\*, 林田嘉朗\*(\*産業医科大, 応用生理\*\*脳神経外科)

**【目的】** NTS 化学刺激時のラット大脳皮質における細胞外乳酸値、脳血流量の変化を、それぞれ酵素電極法、レーザードップラー血流計(LDF)にて連続的に、同時に観察し、脳血流(CBF)と乳酸値の関係について検討した。

**【方法】** 雄 Wistar rat を用い urethane 麻酔下、人工換気下に、電極を大脳皮質に挿入、CBF 測定は非接触型 LDF を用いた。NTS の化学刺激は、L-glutamate を微量注入することにより行った。又、NTS 化学刺激による全身血圧低下の影響を除外するために、Barostat 法を用いた。

**【結果】** NTS 化学刺激は、全身血圧を $21.2 \pm 8.0$ 及び CBF を $13.7 \pm 5.3\%$ 有意に低下させ、その低下より $16.8 \pm 9.3$  sec 遅れて乳酸値は有意に $51.9 \pm 12.3 \mu\text{M}$ 増加した。血圧を Barostat 法で人為的に一定に保つ

ても、同様に CBF は低下し(9.6±3.4%)、乳酸値は増加したが(37.7±14.2 μM)、その変化量は Barostat 法を用いなかった時に比べて有意に小さかった。

【結論】(1)NTS 化学刺激は全身血圧とは無関係に CBF を低下させることが確認された。

(2)ラット NTS 化学刺激による CBF 低下は、局所酸素供給量を減少させ、大脳皮質において細胞外乳酸値を増加させたと考えられた。

### B-30. 延髄孤束核化学刺激による局所循環反応の地域的差異

前田正信, 井上正岩, ×高尾聖二, 林田嘉朗(産業医大, 応用生理)

血圧受容器よりの脳内 terminal である延髄孤束核の化学刺激では、血圧を低下させるので全身血管は拡張すると考えられるが、脳・脊髄血管は収縮する。全身のどの臓器の血管が、脳・脊髄血管と反対の反応を

示すのかは、不明である。ウレタンにて麻酔し非動化したラットを用い、一側孤束核の神経細胞を、sodium nitroprusside の微量注入により興奮させ、その時の脾臓、腎臓、肝臓、脳、脊髄血流量をマイクロスフィア法で測定した。孤束核の神経細胞の興奮により、脳・脊髄では血流量は減少し血管抵抗は増加した。脾臓・腎臓では血流量は増加し血管抵抗は低下した。肝臓では有意な変化は見られなかった。L-NMMA の一側孤束核への微量注入により、血流量は腎臓を除いて有意な変化を示さなかった。孤束核の近接部位に sodium nitroprusside を微量注入しても、孤束核に人工髄液を微量注入しても、光に48時間以上あて inactivate した sodium nitroprusside を孤束核に微量注入しても、各臓器の血流量は変化しなかった。孤束核による各臓器の局所循環の調節には、質的な地域的差異が存在する。

### 〔編集後記〕

1997年1月号をお届けします。諸般の事情で1月中に発行できず、お手元にお届けするのが大幅に遅くなりましたことをお詫びいたします。INFORMATIONの一部の記事は、すでに過去の情報になってしまうと思いますがご容赦下さい。

巻頭言は山梨医科大学の Incoming 先生からいただきました。生理学を通観し、そのあり方についての格調の高いご意見は、読む者に多くの問題を提起しています。文中、「医生物学の研究の中で、何が生理学の研究であるかを定義することも不可能であろう。むしろ定義しない方がよいのではないか、“生理学会”あるいは“生理学講座”へのこだわりを考え直す時機に来ているのかもしれない。」という先生の視点について、皆様はどうお考えでしょうか。

今月号は、5つの地方会(談話会)からのご報告が寄せられ、それらの抄録を一挙に掲載しました。それぞれの談話会の幹事の先生方には、会全体のまとめを書

いてもらっておりますが、談話会の雰囲気が伝わってきて興味深い記事になっております。それぞれの会は、その名前と同じように、しぼりのない自由闊達な運営をなされているようですが、生理学会大会では難しい異領域間の研究交流の場として、あるいは会員同士の親睦の場としての貴重な機会を提供しているという点では共通しているようです。

皆様もご存じのように伊藤正男先生が文化勲章を授賞されました。日本生理学会にとっても大変名誉なことと感じています。小脳のプルキンエ細胞からダイテルス核ニューロンへの単シナプス抑制の発見についてのセミナーでの感動や、1957年に Jpn J Physiol に掲載された後根神経節細胞の細胞内誘導による研究の論文を初めて読んだときの衝撃を思い出します。今回の伊藤先生の授賞のエネルギーが、生理学会の活性化にとって多きな波紋となって広がって行くことを期待しています。

(工藤典雄 記)

### 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)   |
| 小野田 法彦(中部) | 福田 淳(近畿)  | 日地 康武(中・四国) |
| 山下 博(九州)   |           |             |

# 日 本 生 理 学 会 会 則

(平成8年4月4日改訂)

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議し、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、業績を発表討議することができる。
4. 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、賛助会員、臨時会員とする。正会員は、本会の趣旨に賛同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領布を受ける。  
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。  
賛助会員は本会の趣旨に賛同し、本会を支援する個人または団体とする。  
準会員は学校、図書館、研究所等の団体で会誌の領布のみを受ける。  
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・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>

全国を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。但し在学中の者については5,000円とする。特別会員・名誉会員の会費は免除される。准会員の会費は年額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8年4月4日改訂

### 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。

### 発行形態

会合通知、公募案内、研究会の報告など INFORMATION, PROFILE, TRENDS, CALENDAR, OPINIONなどは毎月発行します。原著、地方会抄録、生理学実験法講座は年4回(1, 4, 7, 10月)の発行となります。

### 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。写真や図はハー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、レーザー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20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, OPINION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部を越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部提出して下さい。

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、単位記号は巻末の用法に従って下さい。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。抄録も原則としてフロッピーディスクでお願いします。

[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             |   | adrenocorticotropic hormone                                    |   |
| ADP              |   | adenosine 5'-diphosphate                                       |   |
| AMP              |   | adenosine 5'-monophosphate                                     |   |
| ATP              |   | adenosine 5'-triphosphate                                      |   |
| <sup>14</sup> C  |   | carbon isotope                                                 |   |
| Ca <sup>2+</sup> |   | calcium ion                                                    |   |
| cAMP             |   | cyclic AMP (adenosine 3':5'-monophosphate)                     |   |
| CAT              |   | choline acetyltransferase                                      |   |
| cDNA             |   | complementary 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                          | キログラム              | kg      |
| GTP       | guanosine 5'-triphosphate                           | ミリグラム              | mg      |
| HEPES     | 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazine-ethanesulfonic acid | マイクログラム            | $\mu$ g |
| HPLC      | high performance liquid chromatography              | ナノグラム              | ng      |
|           |                                                     | ピコグラム              | pg      |
| HRP       | horseradish peroxidase                              | 重力加速度              | xg      |
| 5-HT      | 5-hydroxytryptamine (serotonin)                     | エネルギー              | ジュール    |
| IgG       | immunoglobulin                                      | 電荷                 | クーロン    |
| I.P.      | intraperitoneal                                     | 電位差                | ボルト     |
| IPSP      | inhibitory postsynaptic potential                   | 電気抵抗               | オーム     |
| I.V.      | intravenous                                         | コンダクタンス            | シーメンス   |
| $K_m$     | Michaelis constant                                  | 電気容量               | ファラッド   |
| $Mg^{2+}$ | magnesium ion                                       | インダクタンス            | ヘンリー    |
| MAO       | monoamine oxidase                                   | 周波数                | ヘルツ     |
| mRNA      | messenger ribonucleic acid                          | 力                  | ニュートン   |
| NMDA      | N-methyl-D-aspartate                                | 照度                 | ルクス     |
| PAGE      | polyacrylamide gel electrophoresis                  | luminous flux      | ルーメン    |
| RNA       | ribonucleic acid                                    | 磁気力                | ウェーバー   |
| SD        | standard deviation                                  | magnetic induction | テスラ     |
| SDS       | sodium dodecyl sulfate                              | モル濃度               | モラー     |
| SE        | standard error of mean                              | molecular weight   | モル      |
| tRNA      | transfer ribonucleic acid                           | 分子量                | ダルトン    |
| Tris      | tris (hydroxymethyl) aminomethane                   | 圧                  | パスカル    |
| TTX       | tetrodotoxin                                        | power              | ワット     |
| UV        | ultraviolet                                         | radioactivity      | ベケレル    |
|           |                                                     | 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  | $\mu$ s |
| 容 積   | リットル   | l       |
|       | グラム    | g       |

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 | $\mu$ | $10^{-6}$  |
| 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

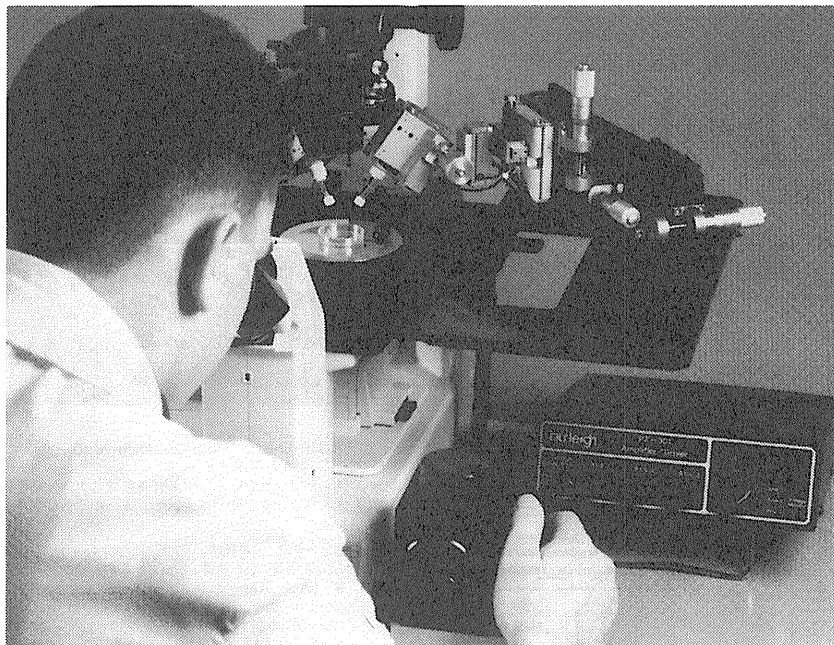
- (1) Animal experiments must be performed in specially designated areas where adequate facilities are available in order to ensure the welfare of the animals. The organization and management of the experimental animal facilities must be well planned and the animal caretakers concerned with husbandry 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.




The Power of Precision  
in Life Science.

burleigh 社の patch clamp 用 piezoelectric micromanipulator の new version PCS-3000 シリーズは、微動用のストロークが大幅に長くなりました。

|            |                               |
|------------|-------------------------------|
| PCS-3400 型 | X・Y・Z 軸共 300 ミクロン             |
| PCS-3300 型 | 1 軸 = 300 ミクロン、2 軸 = 105 ミクロン |
| PCS-3200 型 | X・Y・Z 軸共 105 ミクロン             |
| PCS-3100 型 | 1 軸のみの組合せ = 105 ミクロン          |



◆詳しい資料をご請求下さい

バーレイ社 日本代理店：  
 ショーシン EM 株式会社

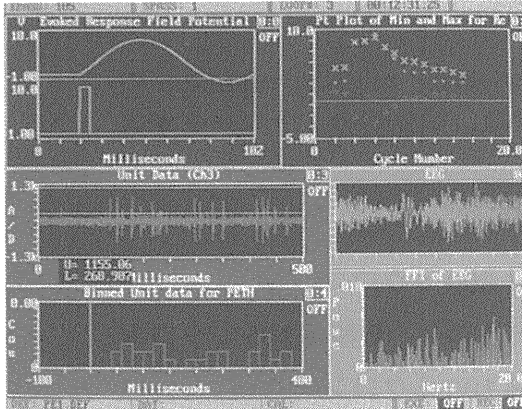
〒444-02 愛知県岡崎市赤浜町蔵西1番地14  
Tel.0564-54-1231 Fax.0564-54-3207

アナログ信号リアルタイム解析システム

DataWave社製

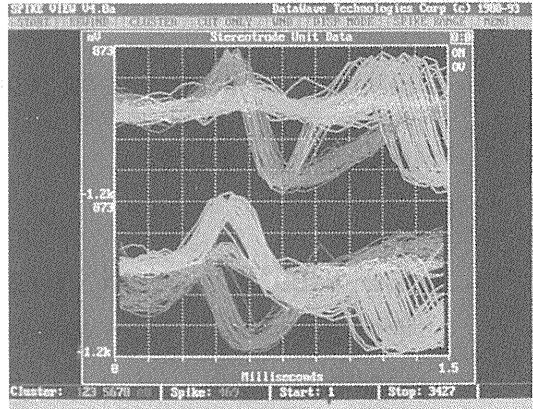
# WorkBench & Discovery

**生体シグナルリアルタイム解析装置**  
すべての作業を完全に自動化



ワークベンチシステムは、EEG、ECG、EMG、ERG等のあらゆる生体信号を取り込み、リアルタイムで多種多様な演算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組み合わせるだけで、サンプリング調整、画面表示、データ記録、演算・解析処理、印刷等が簡単に自動化できます。

**マルチ・シングルユニットオンライン解析装置**  
クラスターカッティング解析



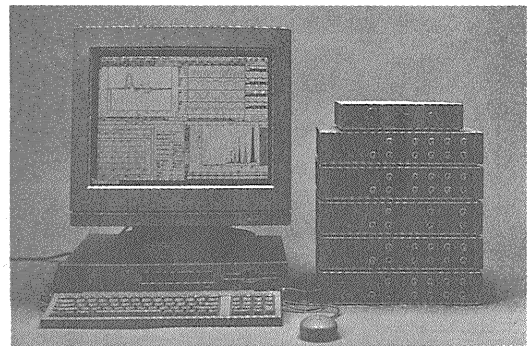
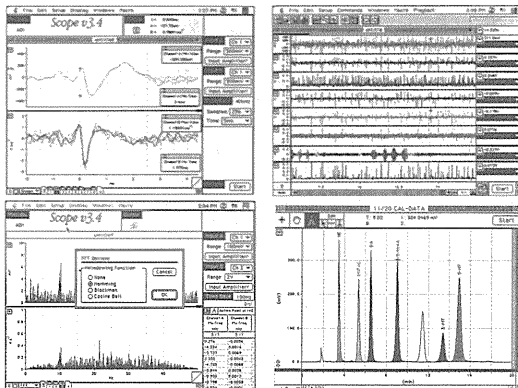
ディスカバリは、多種多様のスパイクが含まれるアナログ信号から、あるパターンを持つスパイクのみを取り出したり、数種類のスパイクパターンに分類(クラスターカッティング)したりする、スパイク信号解析専用開発されたシステムです。

Macintosh 専用データ収録・解析プロセッサー

## MacLab /4s/8s/16s /2e/4e/8e

高速サンプリング/Sシリーズ新登場!!

最大100KHz(100,000サンプル/秒)でサンプリングが可能! マックラプ専用アンプを使って、心電、呼吸、脳波等の生体現象の測定記録として、マッキントッシュをボリグラフとして利用できます。 ホームページ開設 <http://www.adi-japan.com>



Sシリーズは10KHz-8ch、20KHz-4ch、40KHz-2chの

連続サンプリングが可能です。

Chartエクステンションにより将来性を含めて大きく機能向上!!!

Chartエクステンションはアドインモジュールで各種専用解析用を開発予定

### 演算

- ・微分、積分…平均、加算平均
- ・FFT(Real, dB, ハミング処理他)、整流
- ・波形間のSubtract等、四則演算
- ・スムージング、オートベースライン
- ・最大、最小(振幅、スロープ、タイム)
- ・リアルタイムX-Yプロット
- ・ピークホールド、カウント
- ・単位変換、キャリブレーション、演算表示
- ・ステイムレータ、シグナルジェネレータ
- ・タイムベース外部機器コントロール
- ・レートメータ、ペリオドメータ
- ・ベースライントラッキング

### 記録

- ・ハードディスクレコーディング
- ・オンメモリレコーディング
- ・圧縮記録で長時間記録が可能です (EEGで1MBあたり約2時間/100Hz/1CH)
- ・SCSI接続により1台のコンピュータで複数台数同時記録が可能 (例32ch等)
- ・ClassicIIからPowerBook、PowerMacまで接続可能

日本総代理店



## バイオリサーチセンター株式会社

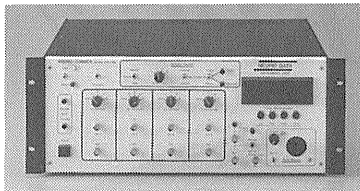
本社 名古屋市東区泉 2-28-24(ヨコタビル4F) ☎052(932)6421 FAX052(932)6755  
東京 東京都千代田区岩本町 2-10-1(オカジマビル) ☎03(3861)7021 FAX03(3861)7022

# NeuroData社生理学機器

キャンペーン価格実施中

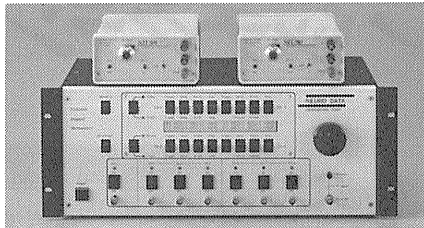
バイオリサーチセンターは、生理学機器の総合メーカーNeuroData社の日本総代理店として販売を開始しました。カタログ等のご請求は下記までご連絡下さい。

## 4/8チャンネル用PCMデジタイザー DR-484/DR-890 (¥1,060,000/960,000)



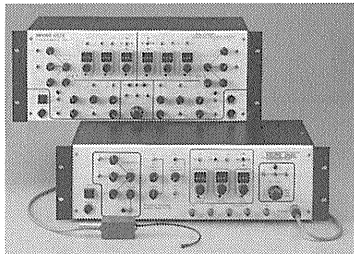
(DR-484の主な仕様)  
デジタル処理 14/12bit  
メモリーバファ 16K  
ダイナミックレンジ 84/72db  
サンプリング速度 88/44/22K  
ボイスチャンネル 1  
トリガーチャンネル 1  
ビデオ形式 NTSC

## デジタル刺激装置/アインレータ PG4000A/SIU90 (¥690,000/150,000)



\*4CH独立してパルス幅、パルス間隔、トリガースourceが設定できます。  
\*CH1とCH2、及びCH3とCH4の加算出力が得られます。  
\*内部メモリーに8種類のセッティングがメモリー可能。  
\*任意のパルスレインモードが導入できます。  
\*パルスパラメータは設定キーから直接入力でき、ディスプレイに表示します。

## シングル・デュアル微小電極増幅器 IR-183/IR-283 (¥580,000/750,000)



(IR-183/283の主な仕様)  
3モード・セルペネトレーションシステム内蔵  
ブリッジバランス ~500Mオーム  
ポーラリゼーション X1, X2, 最大±100nm  
オシロスコープビームファインダー内蔵  
入力容量補償 Fine, Coarseコントロール  
トランジェントサプレッション機能内蔵  
色素注入機能 最大50nA, 200ms ON/OFF

## フィルターアンプ



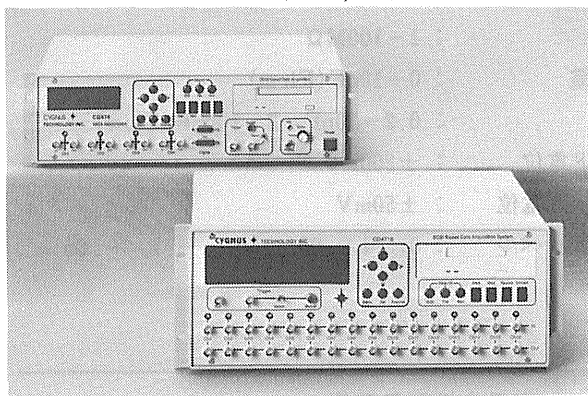
FLA-01  
(¥135,000)

\*8極ベッセルフィルター内蔵  
\*差動入力モード・AC/DCカップリング  
\*入力オフセット補正機能内蔵  
\*周波数レンジ 10Hz~10KHzの10段切り替え  
\*ゲイン X1~X1000の10段切り替え  
\*Notchフィルター内蔵  
\*2CHK加算モード内蔵

# SCSIベース DAT/DDSデータレコーダ Cygnus Technology

16チャンネル用CDAT-16 (¥1,950,000)

4チャンネル用CDAT-4 (+音声/デジタル/Och内蔵)  
(¥998,000)



CDATシリーズはSCSIベースのデータレコーダです。

- \*コンピュータと互換性のあるDAT/DDSフォーマットです。
- \*チャンネル設定とサンプリング速度は、28種類の組み合わせモードから選択します。
- \*連続記録モードとスタート/ストップのバーストモードがあります。
- \*リニアフェーズのアンチエイリアシング入力設計です。
- \*16bitで、各チャンネル個別にアナログ信号をデジタル変換します。
- \*直接コンピュータとSCSIでインターフェースできます。
- \*記録時間に応じて任意にサンプリング速度は設定できます。
- \*バーストモード用に2MBのメモリーを提供します。
- \*ゲイン設定: 1, 2, 5, 10, 20, 50, 100
- \*サンプリング周波数: DC~10KHz, DC~5KHz, DC~10KHz, DC~20KHz
- \*データの最後を、高速サーチするEODモードが設定できます。

### ■高速サーチ機能

CDATはヘッダーに沿ってデータをテープファイルに記録します。情報は各ヘッダー内に、日時、チャンネルのゲイン設定、サンプリングモードと一緒に記録します。高速サーチには、標準テープ速度の200倍の速さで対応します。

サーチ(検索)には下記の三種類のモードがあります。

- 1ファイルの検索(Search for File)  
ユーザ側で特定のファイルやインデックス番号を指定し、CDATがそれに該当するテープポジションを検索します。
- 2次ぎを検索(Search Next)  
プレイバックでのデータ再生時には、CDATはいつでもファイル残をスキップして、自動的に次ぎに続くファイルを検索しプレイバックします。
- 3EODサーチ(Search EOD)  
記録した末端を検索し、未記録部分にデータを追加します。

日本総代理店



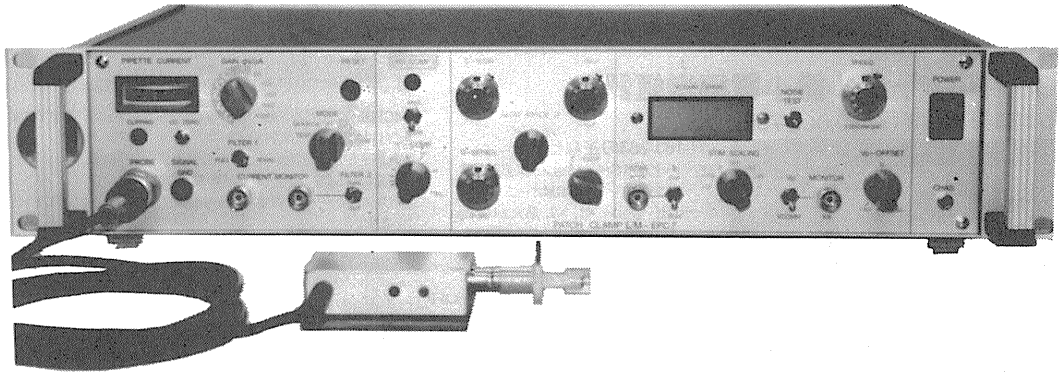
## バイオリサーチセンター株式会社

本社 名古屋市東区泉 2-28-24(ヨコタビル4F) ☎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

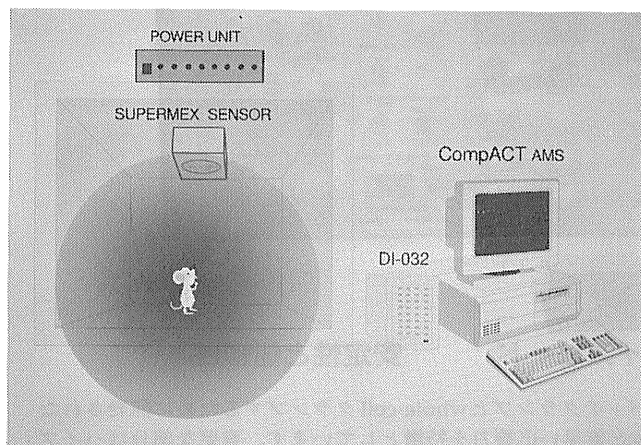
〒101 東京都千代田区内神田2丁目6番11号 若松ビル2F  
TEL(03)3258-1641(代)

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<sup>®</sup>

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います。
- ★特許出願済みにつき粗悪な類似品には充分ご注意下さい。

Muromachi

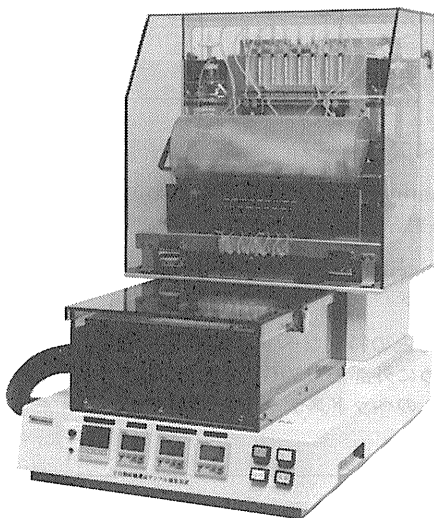
総発売元

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(サイクロリブ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。

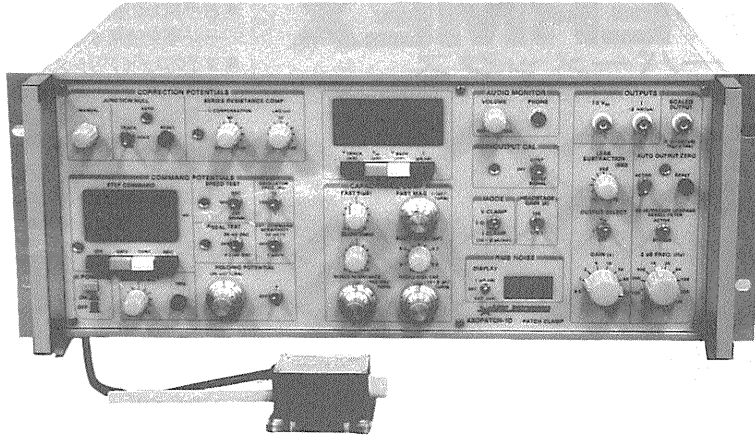
Muromachi

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。極めて低いノズル・レベルと素早い応答力を特徴としています。重要な部分はハイブリッド化により完全シールドされています。

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

CV4ヘッドステージは下記の3種類があります。

## AXOPATCH-1Dの特徴

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

## AXOPATCH-1Dのヘッドステージ

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

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

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

西日本地区発売元



INTER MEDICAL CO., LTD.

株式会社 インターメディカル

本社/〒461 名古屋市中区栄一丁目25番1号  
TEL (052) 937-7060/9 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 アヒタシオン千歳鳥山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)

# 生理学・薬理学・脳神経科学用研究機器

マウス

ラット

ネコ

……

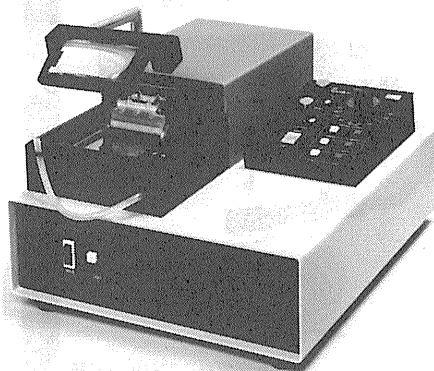
新鮮脳 50 $\mu$ m 70 $\times$ 70の  
固定組織 10 $\mu$ m ワイド試料台  
で全脳もOK

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 $\mu$ 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)**

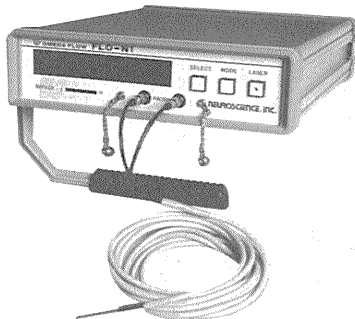
本社・工場/〒601-11 京都市左京区静海市原町1032の3 TEL (075)741-3069 FAX (075)741-3026

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。



承認番号：07日第0805号

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 ●被測定部の微妙な動きによる影響を軽減
- ★軽減回路
- ★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。  
●ロース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、薬液をたらず等の今まで困難であった処置が出来ます。  
●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

総発売元

オメガウェブ



株式会社 ニューロサイエンス

本社 ■〒110 東京都台東区台東2-29-12 サンケイホワイトビル4F  
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南4-3-9 アバント86  
TEL.(092)414-0251 FAX.(092)414-0125

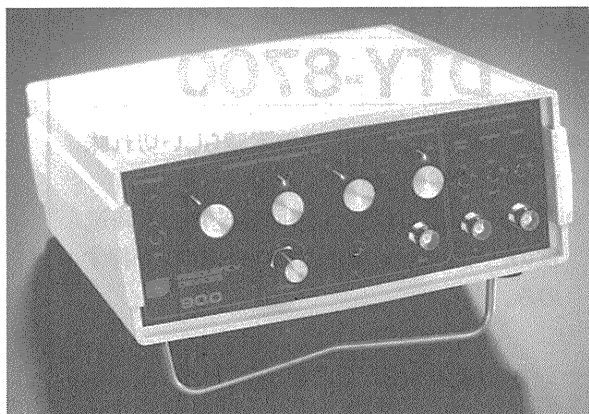


FREQUENCY DEVICES

米国フリークエンシー・デバイス社製

周波数可変・アクティブフィルター

お困りの信号ノイズを除去します



- コンパクトな設計
- 低価格
- フィルターモジュール6種類を用意
  - パターワース
  - ベッセル
  - 一定遅延 (-80dB)
  - 一定遅延 (-100dB)
  - エリプティック、1.77 (-80dB)
  - エリプティック、2.00 (-100dB)

◀900 シングルチャンネル(写真)  
9002 デュアルチャンネル

フリークエンシー・デバイス社  
日本輸入販売総代理店

AMTEC アムテック株式会社

メディカル  
国内総発売元



株式会社 ニューロサイエンス

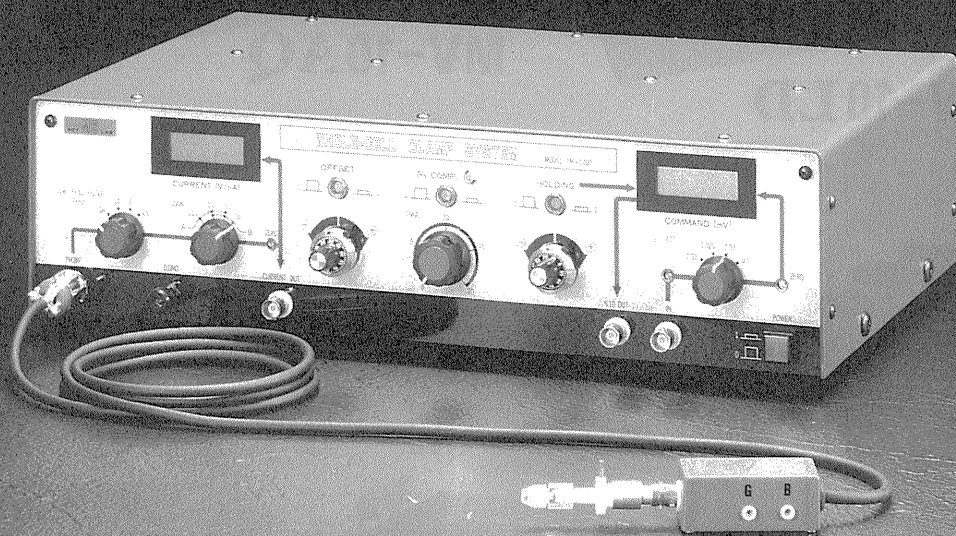
本社 ■〒110 東京都台東区台東2-29-12 サンケイホワイトビル4F  
TEL.(03)5688-1061 FAX.(03)5688-1065  
大阪支店 ■〒532 大阪市淀川区西中島6-1-19  
TEL.(06) 307-7311 FAX.(06) 307-7727  
福岡支店 ■〒812 福岡市博多区博多駅南4-3-9 アバント86  
TEL.(092)414-0251 FAX.(092)414-0125

# 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 $\Omega$ )
- 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

# 小動物行動測定の世界

# SCANETのTOYO

## 《スキャネットシリーズ》

● 薬物依存測定



**MV-10LD**

● 抗うつスクリーニング測定



**MV-10AQ**

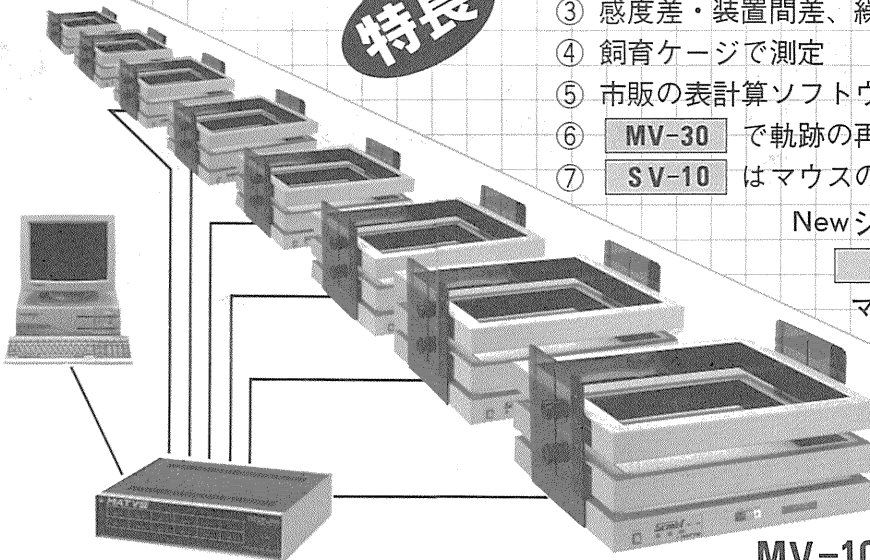
**特長**

- ① High Density SCANNER
- ② 立ち上がり用センサも高密度配置
- ③ 感度差・装置間差、繰り返し誤差なし
- ④ 飼育ケージで測定
- ⑤ 市販の表計算ソフトウェア使用可能
- ⑥ **MV-30** で軌跡の再現
- ⑦ **SV-10** はマウスの測定に最適

Newシステム

**MV-10 MT**

マルチタイプは  
最高です。



**MV-10 システム**



**MATYS**  
メイティス

製造元 **東洋産業株式会社**  
医用機器事業部

本社・工場 / 〒930-02 富山県中新川郡舟橋村舟橋415  
TEL (0764) 62-1881代・FAX (0764) 64-1500  
(医用機器事業部直通)

TEL (0764) 64-1577 ・ FAX (0764) 64-1477

● 東京営業所 / TEL (03) 3401-6596 ・ FAX (03) 3478-5369

● 大阪営業所 / TEL (06) 309-1231 ・ FAX (06) 309-1250

# Thermo-Plate

サーモプレートMATSシリーズ

## TOKRI HIT

顕微鏡観察における温度管理が、適正かつ簡便に行なえます。

コンパクトでスリムな透明発熱プレート専用のコントローラーと、各種顕微鏡にフィットした透明発熱プレートを先生方からのご要望に合わせて、システムとして開発致しました。

(顕微授精(ICS1)・卵子の補集・精子の活力度検査・組織や細胞など生体試料の観察) 観察時における検体の温度管理を、かつてない高品質と使い易さにてお届け致します。

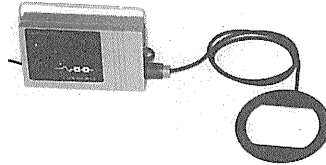
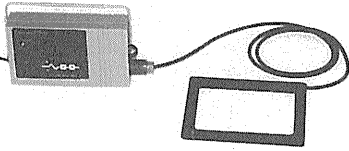
### 加温タイプ

Sタイプ

◆スタンダード(MATS-55SFT)

Rタイプ

◆スタンダード(MATS-55RT)



硬質ガラスを特殊加工した透明発熱プレートにより、検体を適正温度に管理できます。

※上記スタンダードタイプに加え、ハイグレードタイプ、ノイズレスタイプ、実体顕微鏡タイプ、薄型タイプ(ホフマン対応型)、高温タイプ等各種取り揃えておりますので弊社までお問い合わせ下さい。

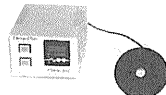
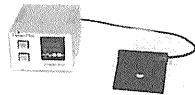
### 加温・冷却兼用タイプ

Sタイプ

(MATS-555ST)

Rタイプ

(MATS-555RT)



電子冷却方式を応用することによりコンパクトで応答性の良い簡易加温冷却システムです。

無料借し出しサンプル機をご用意させて頂いております。ご遠慮なくお申し付け下さい。

顕微鏡ステージ自動温度制御システム

PAT・P

(株)ニコン製の顕微鏡をお使いの先生方におかれましては(株)ニコンインステックの販売店にて取り扱っておりますのでお問い合わせ下さい。

**TOKRI HIT**

株式会社 東海ヒット

〒418

静岡県富士宮市源道寺町306-1

TEL (0544) 24-6699

FAX (0544) 24-6641

# 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

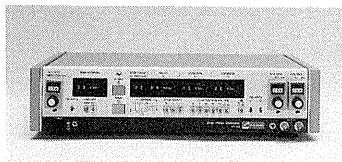
## パッチ/ホールセルクランプ用増幅器 **CEZ-2400**

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。

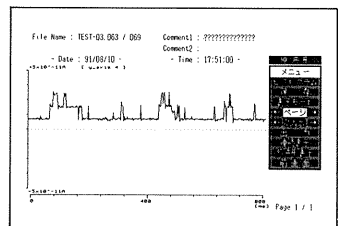
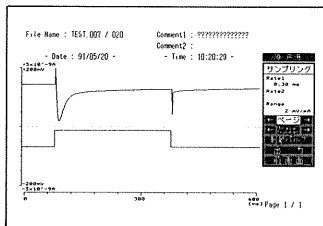
### ステップパルスジェネレータ **SET-1201**

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。

