

日本

生理学

雑誌

JOURNAL OF THE PHYSIOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

59 卷

10 号

1997

〔巻頭言〕 佐々木和夫：生理学は生理学…………… 339

INFORMATION…………… 341

CALENDAR…………… 343

RECORDS…………… 344

PROFILE…………… 374

OPINION…………… 375

実験技術講座

シリーズ「生理学者のための分子生物学技術講座」

森 泰生：Mutagenesis によるレセプター、チャネルの構造機能相関解析…………… 401

木山博資：in situ ハイブリダイゼーション (ISH) 法…………… 409

八木 健：マウス個体における遺伝子ノックアウト…………… 419

シリーズ「データ処理技術講座」

高田明和：「データ処理講座」の連載について…………… 429

鯨島道和・保 智己：パーソナルコンピュータを用いたアナログデータ処理…………… 431

総 説

小林道頼・今井清博：

ヘモグロビンの酸素平衡特性に秘められた意義—成人と胎児を比べて…………… 439

日本生理誌
J. Physiol. Soc. Japan

日本生理学会

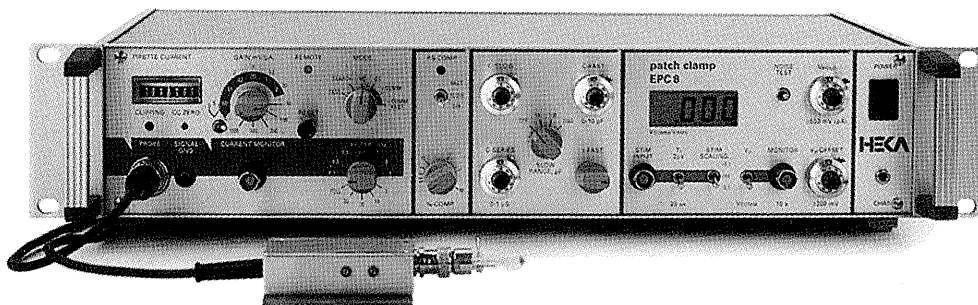
HEKA

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-9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-9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

(Physio-Tech)

株式会社 フィジオテック

〒101 東京都千代田区内神田2-6-11

若松ビル2F

TEL. 03-3258-1641

FAX. 03-3258-1657

## 目 次

|                             |     |
|-----------------------------|-----|
| 〔巻頭言〕 生理学は生理学 (佐々木和夫) ..... | 339 |
|-----------------------------|-----|

**INFORMATION**

|                                 |     |
|---------------------------------|-----|
| 平成10年度宇宙環境利用に関する地上研究公募のご案内..... | 341 |
| 第18回バイオメカニズム学術講演会参加のご案内.....    | 342 |

**CALENDAR**

|               |     |
|---------------|-----|
| 主な学会開催日程..... | 343 |
|---------------|-----|

**RECORDS**

|                                      |     |
|--------------------------------------|-----|
| 会員消息.....                            | 344 |
| 生理学研究連絡委員会報告 生理学の動向と展望「生命への統合」 ..... | 345 |

**PROFILE**

|                      |     |
|----------------------|-----|
| 「生理学者群像」(吉村 恵) ..... | 374 |
|----------------------|-----|

**OPINION**

|                                 |     |
|---------------------------------|-----|
| システムの認識と統合 1, 2, 3 (今井雄介) ..... | 375 |
|---------------------------------|-----|

**実験技術講座**

シリーズ「生理学者のための分子生物学技術講座」

|                                                 |     |
|-------------------------------------------------|-----|
| 森 泰生: Mutagenesis によるレセプター, チャネルの構造機能相関解析 ..... | 401 |
| 木山博資: in situ ハイブリダイゼーション (ISH) 法 .....         | 409 |
| 八木 健: マウス個体における遺伝子ノックアウト.....                   | 419 |

シリーズ「データ処理技術講座」

|                                          |     |
|------------------------------------------|-----|
| 「データ処理講座」の連載について (高田明和).....             | 429 |
| 鮫島道和・保 智己: パーソナルコンピュータを用いたアナログデータ処理..... | 431 |

**総 説**

小林道頼・今井清博:

|                                      |     |
|--------------------------------------|-----|
| ヘモグロビンの酸素平衡特性に秘められた意義—成人と胎児を比べて..... | 439 |
|--------------------------------------|-----|

## 巻頭言

## 生理学は生理学

岡崎国立生理学研究所

佐々木 和 夫

生理学は生体の機能解明を目指す自然科学の一領野であり、医学では人体が主目標となるので、医学の基礎であり要であることは言うまでもない。生理学研究のための方法の変遷と発展により、生化学、薬理学、病態生理学(臨床生理学)などが派生し、大学の講座その他の形で独立発展したのは周知のことであるが、生理学は本来これらを含むものである。医学そのものが生理学であるという見地はヨーロッパは勿論、我が国でも唱える人があったのは当然である(生理学者以外でも例えば、市原硬著 医化学)。このような時代の変遷の中で、我々生理学者が、ややもすれば従来の伝統的方法論に従い、新しい研究方法と概念を取り入れるのに敏捷でなかった傾向は否定できない。生理学の今日問題とされる多くは、この点に関連しているとも考えられる。嘗ては優秀な学生の多くが生理学に憧れ、生理学教室の門を叩いたのが、最近では必ずしもそうでなくなっただけに見受けられる。一般的に言って、本来あるべき姿の生理学そのものよりも、現実の生理学教室とそこで研究教育に携わっている生理学者に、相対的に魅力が減少しているためと思われる。生理学会の中身、すなわち人の問題であり、運営方法などを他の学会に習って手直しするなどは二の次である。内実を伴わないで、外見だけを下手にいじらない方がよいように思える。

臓器によっては、その機能が次第に細胞レベル、細胞下レベル、分子レベルで解明され、還元主義的に解釈されうる例が見られる。ある臓器の基本的要素的機能がそのように解明され、仮にその臓器の機能が要素的機能の比較的単純な量的総和であるとする、それで必要十分であり、その病態が研究され、臨床的診断治療に役立つ。その結果、その臓器の生理学、病態生理学と臨床医学(診断、治療、予防)に関して、臨床家の方が総合的かつ実用的でありうるため、医学の教育に生理学者が必要でなくなる傾向があるように見える。同じことが病理学などについても起こりうる。病理学には臨床に直接結び付いて剖検、組織診断などの需要があるが、概して医学教育にいわゆる基礎医学者は不要に見えてくる傾向もある。これは医学そのものを長期的にみると、根本的に重大な問題である。因に、脳という臓器では、上記の単純な量的総和で近似できない面があまりにも大きい点と、後で触れる「脳心問題」で、他の臓器と多少様相を異にするけれども、ある意味で相対的なものであるかも知れない。

そもそも生理学にとっての原点は、自然認識の一つとして、人体(生体)の仕組みとは何かの間である。しかし、具体的な自然科学的研究手段と方法論では、常に革新的弾力的であるべきである。その原点さえ確然としていれば、どんな手段方法をとっても生理学である。生理学者は可能なあらゆる手段方法を遠慮なく貪欲に試みるべきである。

人体の機能に我々の精神活動を含めるとなると一当然含めるべきと思うが、大きな問題にぶつかる。それはいわゆる「心身問題」であり、最近では「脳心問題」と言われる。この根本は形而上学と形而下学の考え方、すなわち各人の「哲学」の問題である。多分それは自然科学を超えたものかも知れない。それでも敢えて生理学はこの問題に取り組む続けるべきである。現今、具体的に、我々は人間の脳機能について幾つかの非侵襲的計測法を手に入れており、現在は未だ不完全でも、次第に進歩するに違いない。何時までやっても堂々巡りかも知れないが、この自然科学と哲学にまたがる難問に生理学が敢えて挑戦しない手はないと思う。これは生理学が人間の脳研究を介して哲学に通じようとする道であるだろう。

生理学は、一方でより微小物質科学(形而下学)に還元する努力を続け、他方で哲学に向かう試みを行うべき学問であると考え。前途有為の若手研究者を魅了するだけの素材は十分あると思う。第一線の生理学者の見識と実行、およびそれに伴う自信次第であるだろう。自分が直接関わっている脳の研究を例に取り上げたが、人間の環境適応、細胞の生涯(分化、発達、再生、死)の問題など、新しく生理学が切り拓き発展させるべき課題は幾つもあるように思われる。

## INFORMATION

### 平成10年度宇宙環境利用に関する地上研究公募のご案内

国際宇宙ステーションの軌道上における組立の開始が間近になるなど、宇宙環境利用の本格的な時代を迎えようとしています。宇宙では、微小重力環境など地上では得がたい環境の下で、実験を実施することができます。

本制度は、JEM (Japanese Experiment Module: 国際宇宙ステーションの日本の実験棟) での宇宙環境を利用する研究の準備段階として、幅広い分野の研究者による新たな発想に基づく地上研究機会を提供し、宇宙環境利用を推進することを目的としています。

#### 公募制度の概要

●大学、国立試験研究機関、民間企業などの研究者の方々を対象に幅広く研究テーマを募集します。

#### ●公募対象研究分野

微小重力科学、ライフサイエンス、宇宙医学、宇宙科学、地球科学、宇宙利用技術開発の6分野があります。

#### ●研究費

- ・フェーズⅠ研究(平成9年度平均応募額約5百万円/年)

宇宙環境利用の有効性や研究手法、実験手段などについて、調査検討や地上実験を行い、宇宙環境利用を指向した研究テーマを対象とします。

- ・フェーズⅡ研究(平成9年度平均応募額約6千万円/年)

JEM 利用テーマ募集への応募を目標とした本

格的な宇宙環境利用に向けた準備段階にある研究であり、研究の手法や宇宙実験概念が明確に定義された研究テーマを対象とします。

●財団法人日本宇宙フォーラム内に、有識者によって構成される委員会を設置し、応募された研究テーマの選定等を行います。

#### ●研究形態

研究形態としては、委託研究、共同研究、招聘研究のうちいずれかの形態をとります。

#### ●研究期間

1年～3年

#### ●実験施設、試験施設の提供

研究の必要に応じて調整の上、落下塔、航空機の微小重力模擬実験施設等の利用機会を提供いたします。

#### ●スケジュール

・募集期間：平成9年10月から平成10年1月中旬まで(予定)

・研究開始：平成10年4月(予定)

注記：上記事項の詳細については現在検討中であり、10月以降に詳細な応募要領等を下記ホームページに掲載する予定です。

#### ●問い合わせ先

財団法人日本宇宙フォーラム (JAPAN SPACE FORUM)

公募研究推進部担当：大西、北條

電話：03-3459-1653 FAX：03-5470-8426

URL：<http://www.homepage.co.jp/jsforum>

E-mail：[koubo@jsforum.or.jp](mailto:koubo@jsforum.or.jp)

## 第18回バイオメカニズム学術講演会参加のご案内

主 催：バイオメカニズム学会  
会 期：1997年11月29日(土)30日(日)  
会 場：アマダ FORUM 246 (神奈川県伊勢原市)  
特別講演：死を直視するユニバーサルデザイン  
川崎 和 男 氏  
特別セッション：美のバイオメカニズム  
ゲストスピーカー：癒しの研究  
蓮 村 誠 氏  
ゲストスピーカー：歩行の機能構造と片マヒ  
西 勝 人 氏

参 加 費：¥8,000 (協賛会員)  
10月20日までに参加費を前納されますと予稿集が  
事前に郵送されます。

問い合わせ：神奈川リハセンター 野 村 進  
TEL 0462-49-2594  
FAX 0462-49-2598

第18回バイオメカニズム学術講演会  
実行委員長 大橋 正 洋

# CALENDAR

## 主 な 学 会 開 催 日 程

| 開 催 日<br>(演題締切)                                            | 名 称                                                              | 会 場                          | 連 絡 先                                                                                              |
|------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 第1回: 97. 5. 9-10<br>第2回: 97. 7. 11-12<br>第3回: 97. 11. 7- 8 | 第10回日本体力医学会スポーツ医学研修会(3回コース)                                      | 東京: 東京慈恵会医科大学                | (財)日本学会事務センター<br>日本体力医学会スポーツ医学研修会係<br>☎03-5814-5800 FAX: 03-5814-5823                              |
| 97.10.13                                                   | 千里ライフサイエンスシンポジウム<br>「ウイルスと発癌」                                    | 豊中: 千里ライフサイエンスセンタービル         | 千里ライフサイエンス振興財団シンポジウム係<br>☎06-873-2001 FAX: 06-873-2002                                             |
| 97.10.15-17                                                | '98 長野冬季五輪<br>国際スポーツ医科学シンポジウム                                    | 長野: 長野県松本文化会館                | 信州大学 医学部 加齢適応研究センター<br>☎0263-37-2682 FAX: 0263-34-6721<br>E-mail: nosehir@gipac.shinshu-u.ac.jp    |
| 97.10.18                                                   | 第2回分子モニタリング研究会                                                   | 埼玉: 埼玉医科大学専門課程校舎             | 埼玉医科大学 第一生理学 野村正彦<br>☎0492-76-1150 FAX: 0492-95-5573<br>E-mail: mnomura@saitama-med.ac.jp          |
| 97.10.20-22                                                | 3 <sup>rd</sup> ASIAN CONGRESS FOR<br>MICROCIRCULATION (ACM '97) | BANGKOK:                     | Suthiluk Patumraj Ph. D., Dept. Phsiol.<br>Fac Med Chulalongkorn Univ, Bangkok<br>国内連絡先: 国循セ研 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・コミュニティセンター         | 愛媛大学 医学部 第一生理<br>☎089-960-5240 FAX: 089-960-5242                                                   |
| 97.10.23-24                                                | 第6回日本バイオイメージング学会<br>学会術集会                                        | 東京: 東京大学山上会館                 | 東京大学 医学部 栄養 脊山<br>☎03-3812-2111(3495) FAX: 03-5689-2704<br>E-mail: yosuke@m.u-tokyo.ac.jp          |
| 97.11.15<br>(97. 9.13)                                     | 第13回 <sup>13</sup> C 医学応用研究会                                     | 千葉: サンシティ (市川市)              | 日本学務事務センター 会員業務係<br>☎03-5814-5810 FAX: 03-5814-5825                                                |
| 97.11.16-21                                                | 第13回国際比較内分泌学会議                                                   | 横浜: 横浜国際平和会議場                | 早稲田大学 教育学部 生物 菊山<br>FAX: 03-3207-9694<br>E-mail: kikuyama@mn.waseda.ac.jp                          |
| 97.11.19-20<br>(97. 7.19)                                  | 第43回日本宇宙航空環境医学会総会                                                | 神奈川: 神奈川県民ホール<br>小ホール        | 聖マリアンナ医大 第二生理 山下, 寺島<br>☎044-977-3915 FAX: 044-977-3915<br>E-mail: seiri2@marianna-u.ac.jp         |
| 97.11.29-30<br>(97. 7. 1)                                  | 第18回バイオメカニズム学術講演会                                                | 神奈川: アマダ FORUM 246<br>(伊勢原市) | 神奈川県総合リハビリテーション研究・研修所内 野村達<br>☎0462-49-2594 FAX: 0462-49-2598<br>E-mail: NAH04120@niftyserve.or.jp |
| 97.11.29                                                   | 第12回臨床神経生理学東京談話会                                                 | 東京: 持田製薬本社・<br>ルークホール(四谷)    | 東京都精神医学総合研究所 精神生理 橋本<br>☎03-3304-5701・FAX: 03-3329-8035                                            |
| 97.11.29                                                   | 第2回グリア研究会                                                        | 東京: 慶応義塾大学病院<br>新棟11F        | 慶応義塾大学 医学部 生理 矢崎<br>☎03-3353-1211(2613)<br>FAX: 03-3357-5445                                       |
| 98. 3.21-25                                                | 第6回国際誘発電位シンポジウム                                                  | 岡崎: 岡崎コンファレンスセンター            | 生理学研究所 統合生理研究施設 柿木<br>☎0564-55-7769 FAX: 0564-52-7913<br>E-mail: kakigi@nips.ac.jp                 |
| 98. 3.27-29<br>(97.11. 4)                                  | 第75回日本生理学大会                                                      | 金沢: 金沢経済大学                   | 金沢大学 医学部 第一生理<br>☎076-265-2168 FAX: 076-234-4223<br>E-mail: phys75@med.kanazawa-u.ac.jp            |

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

# RECORDS

## 会 員 消 息

### < 転 勤 ・ 異 動 >

| 氏 名     | 勤 務 先 名 ・ 部 署 名            | 勤 務 先 (TEL・FAX)                 | E-MAIL ADDRESS          |
|---------|----------------------------|---------------------------------|-------------------------|
| 穴 井 博 史 | 愛媛労災病院                     | 0897-33-6191・0897-33-6169       |                         |
| 石 崎 泰 樹 | 神戸大学 医学部 衛生学               | 078-341-7451(3314)・078-361-6927 | ishizaki@kobe-u.ac.jp   |
| 岩 渕 輝   | 大東文化大学                     |                                 | iwabuchi@ic.daito.ac.jp |
| 岡 田 泰 昌 | 慶応義塾大学 月ヶ瀬リハビリテーションセンター・内科 | 0558-85-1701・0558-85-1810       |                         |
| 木 戸 康 博 | 京都府立大学 人間環境学部 保健学科         | 075-703-5402                    |                         |
| 櫻 田 昌 己 | 日本 IBM 株式会社                | 03-3808-9981・03-3664-4913       |                         |
| 澤 井 洋 子 | 松山学園 松山福祉専門学校              | 047-392-2211・047-392-2213       |                         |
| 梶 哲 夫   | MARUHO Co. Ltd.            | 089-130758-0・089-130758-13      |                         |
| 長谷川純一   | 鳥取大学 医学部 臨床薬理              | 0859-34-8014                    |                         |
| 日 高 聡   | 藤田保健衛生大学 医学部 第二生理          | 0562-93-2485・0562-93-2649       | shidaka@fujita-hu.ac.jp |
| 山 根 正 信 | 川崎医療短大 第二看護                | 086-462-1111                    |                         |
| 斎 藤 浩 幸 | 国立小諸療養所                    |                                 |                         |

生理学研究連絡委員会報告  
生 理 学 の 動 向 と 展 望  
「 生 命 へ の 統 合 」

平成 9 年 6 月 20 日

日本学術会議

生理学研究連絡委員会

この報告は、第16期日本学術会議生理学研究連絡委員会の審議結果をとりまとめて発表するものである。

- 委員長 本 郷 利 憲（東京都神経科学総合研究所所長）
- 幹 事 岡 田 泰 伸（岡崎国立共同研究機構生理学研究所教授）
- 貴 邑 富久子（横浜市立大学医学部教授）
- 佐 藤 昭 夫（東京都老人総合研究所副所長）
- 委 員 伊 藤 正 男（日本学術会議第16期会長・  
理化学研究所国際フロンティアシステム長）
- 入 来 正 躬（山梨医科大学副学長）
- 金 子 章 道（慶應義塾大学医学部教授）
- 玄 番 央 恵（関西医科大学教授）
- 菅 弘 之（岡山大学医学部教授）
- 福 田 康一郎（千葉大学医学部教授）
- 本 間 生 夫（昭和大学医学部教授）
- 永 坂 鉄 夫（金沢大学医学部教授）

# 生理学の動向と展望

## 要 約

生理学 Physiology は生体の機能を研究する学問であり、遺伝子・分子レベルから、細胞、組織、器官、個体までの機能を統合的・有機的に研究し、そのメカニズムを明らかにする役割を担っている。更には、複数の個体が相互に関係しつつ社会生活を営む上で生じる生態学的、心理学的現象までを含めた機能の解明も生理学に与えられるべき課題である。わけでも、これまで未知であった多くの生体内分子が分子生物学の発展により次々と同定されている現在、それらの分子群の生体機能における役割と意義を明らかにし、生命へと統合することは生理学の最重要課題となっている。

本報告書は、大きな飛躍と展開を見せている生命科学全研究分野の中心にあって「生命への統合」の役割を担っている生理学の位置づけを行うとともに、生理学研究と生理学教育の現状及び問題点を探究して生理学の将来の発展への指針を探ろうとするものである。

**生理学とその課題：**生理学は生体の機能とそのメカニズムを解明する学問である。「生体」とは、人体を含めて全ての生物体を意味し、「機能」とは個体レベルにおける生体機能のみならず、その個々の構成体(分子、細胞、組織、器官)の機能や、複数の個体が社会生活を営む上での(生態学的、心理学的現象を含めた)機能をも意味する。生理学が扱う対象は生きた材料であり、生きている条件下でリアルタイムに観察することが特徴である。生体機能は、多くの分子群や細胞群の働きと、その相互作用によって、更にはそれらが作り上げる器官や個体レベルの働きによって逆に統御されながら、全体としてホメオスタシスを保つ形で実現されている。従って、これを研究する生理学は、生体機能を分子、細胞、器官、個体の各レベルでのメカニズムを解明するとともに、それらをシステムとして統合的に取り扱う「統合生物学」Integrative Biology としても位置づけられる。このような意味で、生理学は生体が働く仕組み(ハードウエア)とその論理・法則(ソフトウエア)及び意義を明らかにする学問である。ノーベル賞の領域名が“医学・生理学”と呼ばれるように、生理学は本来、医学を含め全ての生命科学の基礎を与える重要な学問である。

**生理学研究の現状と展望：**日本の生理学研究は、個々の分野において世界的な業績を上げ、国際的に認められて世界の指導的地位に立ちつつある。一方、分子生物学的手法などを用いた研究の進歩が著しく、それらは生命科学研究全般に大きな革新をもたらした。生理学研究においても、それらの方法を用いて得られる成果を統合することによって、「機能」の解析

をより実体的かつダイナミックに行いうるという新しい状況が生み出されている。それゆえ今後の生理学研究は、分子生物学の発展の成果を細胞レベル、組織レベル、器官レベルのみならず個体レベルでのシステム機能として組み上げ、生命へと統合して行く必要がある。更に、臨床医学における遺伝子治療、生体分子操作、人工臓器、臓器移植、脳死判定など、科学の発展によって生じた医学、生命科学上の問題、人口増加に伴う環境上の問題、長寿化社会に伴う問題など、現在及び未来における諸問題の解決に科学的基盤を与える上でも、生理学研究が果たすべき役割は極めて大である。人類が自然と生命の摂理を深く洞察し、それらに矛盾しない生活を築くという、人間と自然の調和が求められる21世紀においては、「**生体の仕組みと論理・法則**」を明らかにし、**生命の摂理に迫る学問**である生理学の重要性は益々増大することになるであろう。

このような意味で、今後、生理学研究を発展させるために、重点的に取り組むべき研究を提唱し、各々の研究分野について分子生物学やシステム理論の発展の成果を積極的に取り入れた新しい研究手法を駆使して、しかも戦略性の高い「**統合生物学**」的研究を展開して行くことが強く求められる。

**生理学教育の現状と展望**：生理学は、全ての生命科学の基礎を与えるばかりではなく、人類の生活への指針をも与える重要な学問である。しかしながらわが国では現在、生理学研究の重要性と生理学の社会的役割の重要性に見合う程には若い優秀な人材の参入が得られていない。この問題の解決の第一歩として、医系大学及び理系大学における生理学教育の内容を、現在めざましく展開されている分子生物学的研究の成果を基礎に、それらを「**生体機能**」にまでダイナミックに組み上げ、若者の知的好奇心を刺激するような統合生物学的内容に変えていくことが必要であろう。医系・理系大学のみならず、文系大学においても、初等・中等・高等学校においても、生命科学としての生理学教育と人間科学としての生理学教育が取り入れられる必要がある。教育の裾野を広げることは生理学研究に参入する人材を確保していくためにも重要と思われる。

生体の機能を研究し、生体の仕組みと論理・法則を明らかにし、それらを生命へと統合する学問である生理学は、生命科学全研究分野の基礎を与えると共に、自然と生命の摂理に沿った人類の生活の実現への指針をも与えるものである。従って、生理学の研究・教育両面からの健全な発展を促すことは、自然科学にとどまらず人類史的にも極めて重要であり、そのための努力と施策が強く求められる。

## [目 次]

|                                |     |
|--------------------------------|-----|
| 1. はじめに.....                   | 349 |
| 2. 生理学とその課題.....               | 349 |
| 3. 生理学研究の現状と展望.....            | 351 |
| 3.1. 生理学研究の現状.....             | 352 |
| 3.1.1. 研究者—研究者数, 研究機関, 学会..... | 352 |
| 3.1.2. 研究業績.....               | 354 |
| 1) 研究発表項目と数                    |     |
| 2) 原著論文発表数と代表的業績               |     |
| 3.1.3. 研究体制の現状と問題点.....        | 355 |
| 3.1.4. その他の状況.....             | 355 |
| 1) 研究費                         |     |
| 2) 研究情報の発信                     |     |
| 3) 国際協力                        |     |
| 3.2. 生理学研究の展望—生命への統合.....      | 357 |
| 3.2.1. 生理学研究の視点.....           | 357 |
| 1) 新しい手法を用いた研究の推進              |     |
| 2) 統合生物学としての視点の重要性             |     |
| 3) 戦略性を踏まえた研究の重要性              |     |
| 3.2.2. 重点的に取り組むべき研究.....       | 359 |
| 1) 分子・細胞生理学                    |     |
| 2) 神経・脳生理学                     |     |
| 3) 筋生理学                        |     |
| 4) 血液・呼吸・循環及び体液調節の生理学          |     |
| 5) 内分泌・生殖生理学                   |     |
| 6) 環境・適応・協同生理学                 |     |
| 7) 運動・体力生理学                    |     |
| 8) 発生・成長・老化の生理学                |     |
| 9) 栄養生理学                       |     |
| 10) 病態生理学・臨床生理学                |     |
| 11) 心理生理学                      |     |
| 12) 東洋医学の科学的メカニズムの解明           |     |
| 3.2.3. 研究体制の改善の指針.....         | 363 |
| 1) 研究キャリアの複線化と人材の回転            |     |
| 2) 大学以外の生理学研究セクターの新設・拡充        |     |
| 3) 研究費の充実                      |     |
| 4) 研究情報の発信の活性化                 |     |
| 5) 国際協力の推進                     |     |
| 6) 関連分野との学会協力                  |     |
| 7) 女性研究者の積極的登用                 |     |
| 4. 生理学教育の現状と展望.....            | 365 |
| 4.1. 生理学教育の現状と問題点.....         | 366 |
| 1) 初等～高等学校                     |     |
| 2) 大学                          |     |
| 3) 大学院                         |     |
| 4) ポストドクター制度                   |     |
| 5) その他                         |     |
| 4.2. 生理学教育の改善の指針.....          | 368 |
| 1) 生理学研究に参入する人材の確保             |     |
| 2) 生理学教育に参入する人材の確保             |     |
| 3) 生理学教育内容の充実                  |     |
| 4) 生理学教育の裾野の拡大                 |     |
| 5. おわりに.....                   | 369 |
| 付 表 .....                      | 370 |

## 1. は じ め に

生理学 Physiology とは、生体の機能とそのメカニズムを明らかにし、その意義を解明する学問であり、本来医学を含めて全ての生命科学(ライフサイエンス)の基礎を与える重要な学問である。生理学者である Sherrington が提唱した「シナプス」の概念も、Hodgkin や Huxley が提唱した「チャネル」や「ポンプ」の概念も、その当時実体は不明であったが、電子顕微鏡、パッチクランプ法、遺伝子クローニング法などの技術の発展により、それが仮想の概念でなく実体を伴うものであることが明らかになった。このように、生理学は生命現象に関する「概念を形成」し、他の生命科学に指針を与える役割をもつ。一方、生命現象の根底にある分子の実体を解明する分子生物学が著しく発展した現在、多くの分子群や細胞群の働きと意義を探索し、それらを個体の生命へと統合するために生理学のあり方を改めて明確にすべき時期に来ている。人類が自然と生命の摂理を深く洞察し、それらに矛盾しない生活を築くべき21世紀において、生命の摂理へと迫る学問である生理学の重要性は極めて大きい。

本報告書は、生命科学における生理学の位置づけと、生理学研究と生理学教育の現状及び問題点を考究し、生理学の将来の発展への方策を探ろうとするものである。

## 2. 生理学とその課題

生理学は、生体の観察より始まり、分析によって生体機能の要素過程・分子機構を特定し、それらを統合することによって、相互に関係する多数の要素過程や分子群、細胞群がまとまった形で一つの個体としての生体機能を発現するメカニズムを明らかにし、その意義を解明する学問である。

生理学が扱う対象は生きた材料であり、生きている条件下でリアルタイムに観察することが特徴である。組織学は「固定した」材料を、生化学や分子生物学は「すりつぶして抽出した」材料を標本にするが、生理学では、チャネル蛋白質や細胞内分子は「統合された」状態にあり、それによって機能が営まれている、その現場をみることになる。生体機能は、多くの分子群や細胞群の働きとその相互作用によって、更にはこれらが作り上げる器官や個体レベルの統御された働きによって、全体としてホメオスタシスを保つ形で実現されている(図1)。従って、これを研究する生理学は、生体機能の細胞レベル・分子レベルでのメカニズムを解明するとともに、それらをシステムとして統合的に取り扱う「統合生物学」Integrative Biology として位置づけられる。

生理学は、医学、生物学のなかで最も歴史の古い学問の一つとして、発展を遂げてきた。ノーベル賞の領域名が医学・生理学と呼ばれるように、生理学は本来すべての生命科学の基礎を与える学問であり(図2)、とくに生体の機能とそのメカニズム、すなわち「生体の仕組

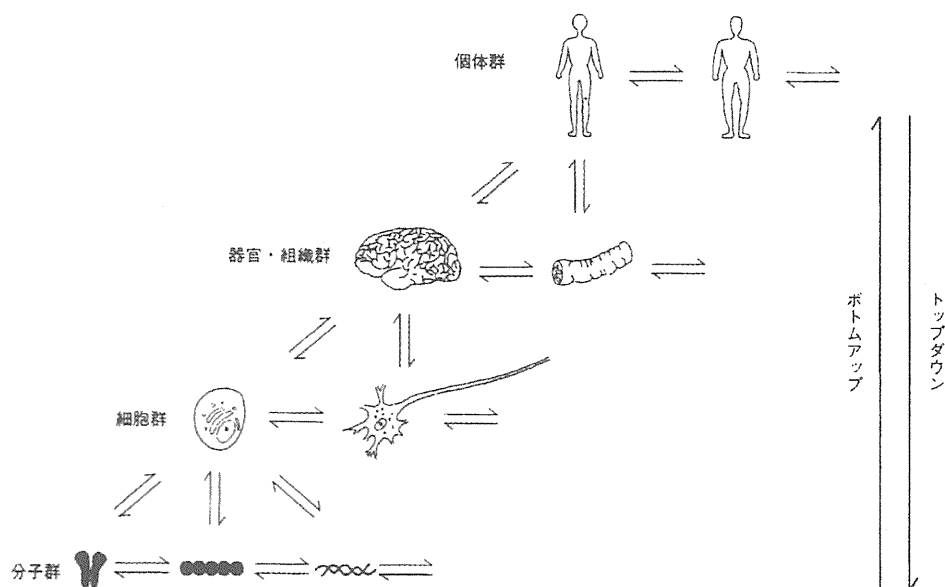


図1. 生理学研究が扱うレベルとその統合的構成

個々の分子、細胞、組織、器官、個体は、ある一定の固有法則のもとに機能すると共に、それらの間に水平的相互作用を結ぶ。更には、異なるレベル間においても垂直的相互関係を結ぶ。個々の構成因子の固有法則やそれらの間の水平的相互関係が総和として（それらからは予測を超えるような）異質の上位機能をボトムアップ的に作り出すと共に、その上位機能が逆にトップダウン的に下位構成因子の機能や振る舞いに制御をかける関係を結ぶ。統合とは、このような複雑系システムとしての生体認識のもとに、下位機能を上位機能へと組み上げていく態度を指し、生理学研究には欠かすことのできない姿勢である。

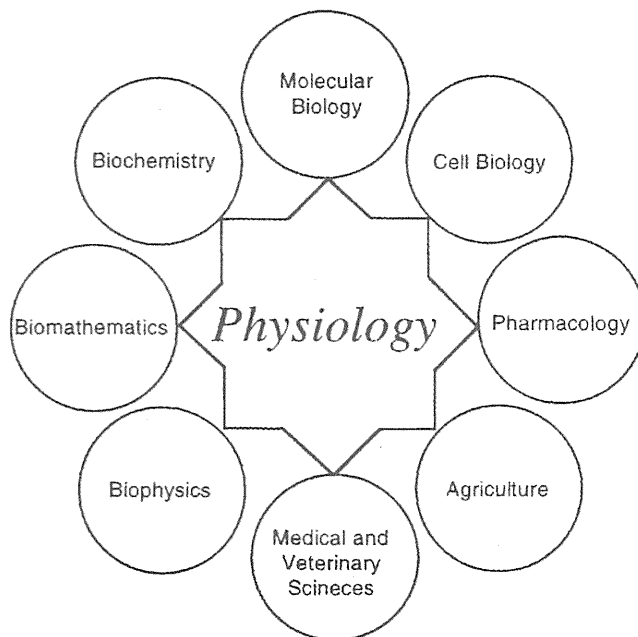


図2. 生命科学研究分野における生理学の位置づけ  
米国生理学会がロゴマークとして用いている図である。

み(ハードウェア)と論理・法則(ソフトウェア)」を明らかにすることを目的とする学問である。

生体機能の本質は、体内の変化にも、体外の物理的環境の変化にも、他の個体との関係においても、適切に反応して適応することにある。分子・細胞レベルの反応から記憶・学習を含む個体レベルの行動まで、統合機能としての適応のメカニズムと意味を解明することが生理学の重要な課題である。

生理学が扱う機能とは、個体レベルにおける生体機能のみならず、その個々の構成体(分子・細胞・組織・器官)の機能や、複数の個体が相互に関係しつつ社会生活を営む上での(生態学的・心理学的現象を含めた)機能を意味する。生理学が扱う分野は分子・細胞生理学から心理生理学まで多岐にわたる(表1)。

表1. 生理学の主要な分野とその説明

---

|                                                          |
|----------------------------------------------------------|
| 分子・細胞生理学：生体の分子・細胞レベルでの機能とそのメカニズムの研究。                     |
| 組織・器官生理学：生体の組織・器官レベルでの機能とそのメカニズムの研究。                     |
| システム工学的生理学：生体をシステムとしてモデル的に捉え、システム工学的手法を用いて行う研究。          |
| 神経生理学：神経系の機能とそのメカニズムの研究。感覚生理学、運動生理学、自律神経生理学、高次脳機能生理学を含む。 |
| 筋肉生理学：筋肉の機能とそのメカニズムの研究。                                  |
| 血液・呼吸・循環及び体液調節の生理学：血液やその他の体液の調節及びその循環のメカニズムの研究。          |
| 消化・吸収生理学：消化系の機能とメカニズムの研究。                                |
| 内分泌・生殖生理学：内分泌系、生殖系の機能とメカニズムの研究。                          |
| 栄養・代謝・体温生理学：栄養・代謝・体温の視点からの生体機能の研究。                       |
| 運動・体力生理学：運動時の生体機能の研究。                                    |
| 環境・適応・協同生理学：生体と環境との関連及び適応の研究。                            |
| 発生・成長・老化：生体の発生から老化までの生理機能の変化の研究。                         |
| 人体生理学：ヒトの体に焦点をあてた生理学の研究。                                 |
| 病態生理学・臨床生理学：病態時の生体機能と疾病の発生メカニズムの研究。                      |
| 心理生理学：高次神経機能と神経心理学に関する研究。                                |

---

人体の生命現象を対象とした人体生理学は、医学や医療の基礎科学としてとくに重要な研究領域であり、臨床医学に直結している。疾病との関わりを重視する臨床生理学や病態生理学は基礎医学と臨床医学の重要な接点である。更に、生理学は、広く薬理学、薬学、獣医学、栄養学、農学、工学、心理学などの応用科学に対して、生命科学の重要な基礎を与える学問として位置づけられる。現代社会は、長寿化を達成したとはいえ、少子化問題が浮上しており、また他方では、人口問題、環境問題なども抱えている。生理学は生命科学の基礎を与える学問として、地球的・社会的諸問題の解明の基盤を与える役割を持っている。

### 3. 生理学研究の現状と展望

現在の日本の生理学研究は、第二次大戦中及びその後の一時期に生じた立ち遅れを克服し、神経生理学研究をはじめとして多くの分野において世界的な業績を上げており、世界の指導

的地位に立ちつつある。

一方、最近の分子・細胞生物学研究分野の進歩は目覚ましく、それらは生命科学研究全般に大きな革新をもたらした。この結果もたらされた分子レベルの生物学的情報を統合することによって、機能とそのメカニズムの解析をより実体的かつダイナミックに行い得る可能性がでてきた。これは、生理学研究にとって新しい局面である。それゆえ今後の生理学研究は、このような発展の成果を組織レベル・器官レベルのみならず、個体レベルへと統合する学問、すなわち「統合生物学」として展開して行かねばならない。

また、臨床医学の最近の進歩によって、遺伝子治療や人工臓器の生体システムへの影響、臓器移植に伴う脳死判定や免疫拒絶などの生命科学上の基本的問題が生み出され、これらは大きな社会問題として取り上げられるようになった。これらの科学的解決には生理学的裏付けが益々必要となってきた。また、長寿化やストレス社会化に伴う疾病動態の変化や、人口問題、環境問題などの地球的諸問題の解決への基礎を与えるものとしても生理学の大きな役割が期待されている。

生理学研究では、ステレオタイプの研究方法を用いることができないため、研究者自らが実験動物の手術を行ったり、研究用の機器を工夫して手作りをしなくてはならない。それは動物によって、また研究課題によって様々であるから、試行錯誤を繰り返す必要があり、時間と労力がかかり、研究業績をまとめるのにも時間がかかるという特質を持つ。しかし、このような研究方法や研究姿勢で生み出されるがゆえに、生理学研究は、その後の全生命科学の基礎や方向付けを与えるような、決して派手ではないが、価値と意義の大きいものとなることが広く認識され始めている。

人類が自然と生命の摂理を深く洞察し、それらに矛盾しない生活を築くという、人間と自然の調和が求められる21世紀においては、「**生体の仕組みと論理・法則**」を明らかにし、**生命の摂理**に迫る学問である生理学の重要性は益々増大することになるであろう。今後の生理学は、医学・人間科学・生物学・応用科学を含めた生命科学の重要な基礎を与える学問として、社会に貢献できるよう発展することが求められている。

### 3. 1. 生理学研究の現状

我が国における生理学研究は、パッチクランプ法などの新しい生理学的実験技術や、分子生物学的手法やコンピューター解析法などを積極的に導入することにより多岐にわたる業績を上げてきた。しかし、研究者数の増加度においても研究費配分においても未だ不十分な状態にあり、このままではその将来が危ぶまれる。

#### 3. 1. 1. 研究者—研究者数、研究機関、学会

生理学研究連絡委員会に関連する学会としては、日本生理学会を含めて18学会がある。こ

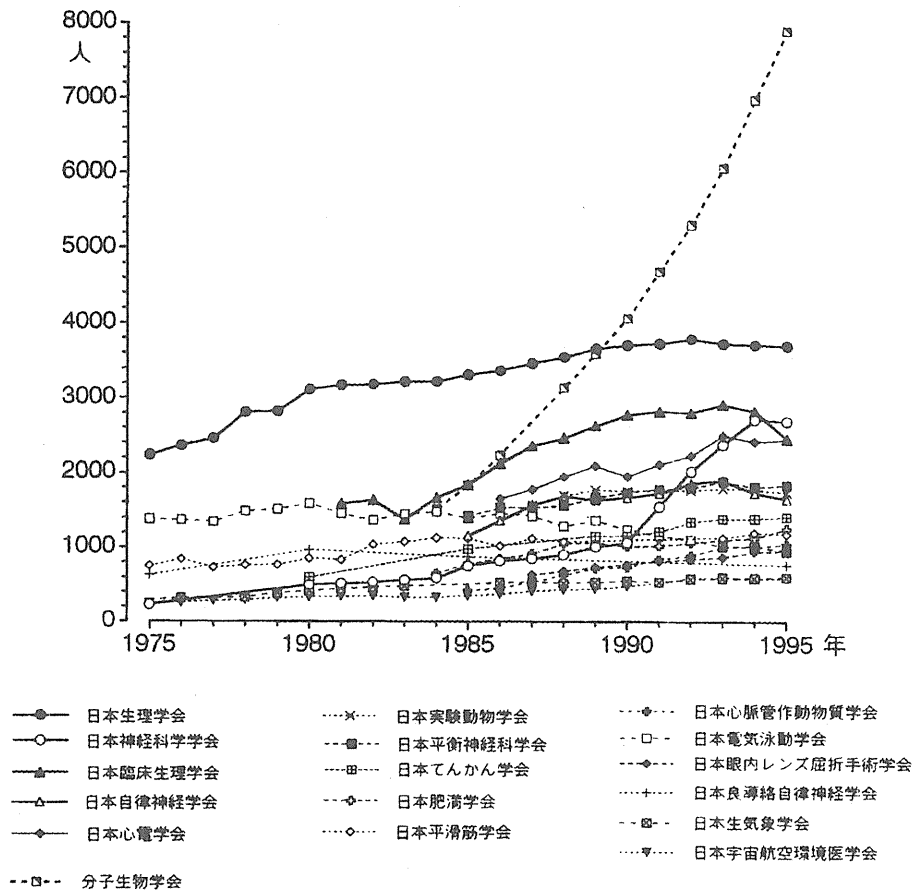


図3. 生理学研究連絡委員会関連学会及び分子生物学会の会員数の推移

これらの学会会員数の推移を調べると(図3に調査可能であった16学会の会員数推移を示す), 大半の学会の会員数は緩やかに増加している。日本生理学会の会員数は1995年において約3,700名であり, 過去20年間に約1.7倍に増加したが, 過去10年間でみると約1.1倍と伸び悩んでいる。これに対し, 基礎領域の日本神経科学学会, 臨床領域の日本臨床生理学学会では会員数が大幅に増加している。とくに脳・神経系の生理学に関連する日本神経科学学会では, 過去10年で3.6倍と, 急速に増加している。これは, 脳・神経系を広い分野から捉える神経科学という学問領域に, 近年関心が集まってきたことによる。同学会の専門会員の中で占める割合(生理学35%, 解剖学17%, 生化学13%, 薬理学11%)は生理学研究者が最大である。

これらの学会の会員は, 国公立大学に所属する者が最も多く, 次いで私立大学, 私立病院となっている(図4)。生理学研究に従事する者は大学関係者が多く, 研究所に所属する者や, 病院や企業に属する者は比較的少ない。

生理学研究連絡委員会所属学会以外の基礎医学系の分野についてみると, 日本解剖学会は会員数約2,700名で10年間で1.2倍, 日本生化学会は約13,500名で1.3倍, 日本薬理学会は約6,000名で1.5倍に増加している。日本分子生物学会は約7,900名で4.3倍に急増し, 会員総数

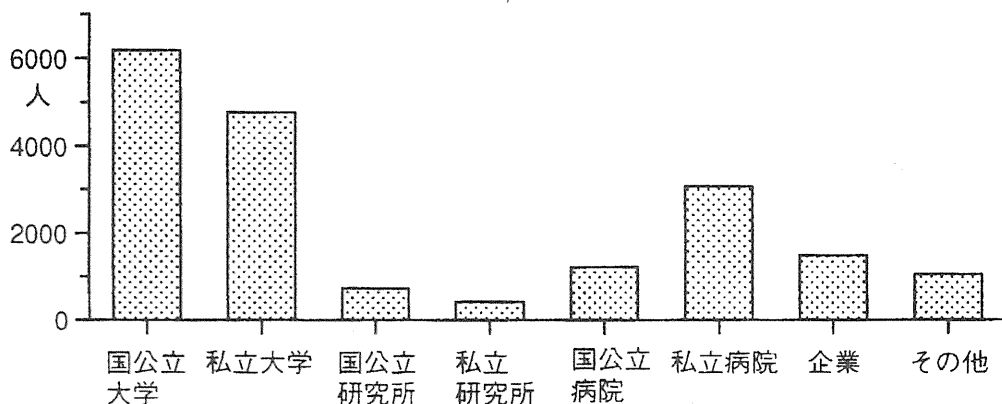


図4. 生理学研究連絡委員会関連学会会員の所属別分類

も増加の割合も生理学会に比べて高い(図3)。これは近年、化学的な分析方法がめざましく進歩し、超微量の化学物質の検出が可能となり、更に分子生物学的研究方法が開発され、多くの基礎医学を志す研究者が分子レベルの研究に向かってきたことを反映していると考えられる。

生理学研究者の中で女性研究者の占める割合を日本生理学会の場合で見ると、女性研究者数は、1995年で約380名で、これは全会員数の約10%に相当する。これを米国生理学会の場合と比較すると、1992年の統計で全会員数約7,300名中、女性会員は約870名と全体の約12%に当たり、女性会員数の比率は日米間でほぼ同じである。しかし、自立した研究者数の目安として講師以上の職にある研究者数を比較してみると、日本生理学会の男性会員の場合は全男性会員の約40%、米国生理学会の女性会員の場合も同じく全女性会員の約40%に達しているのに対して、日本生理学会の女性研究者の場合は約23%にとどまっている。その原因にはいくつか考えられるが、まず重要なものに、日本全体が米国に比し男性優位社会にあることが上げられる。科学研究や大学などの社会でも、出産・育児に伴う職場からの離脱が女性に不利に働いている現状が伺える。

### 3. 1. 2. 研究業績

生理学の基礎分野の主要学会である日本生理学会を例にとって学会発表、論文数などの現状について述べる。

#### 1) 研究発表項目と数

日本生理学会の一般演題総数は、口演発表のみだった1975年度は399であったが、ポスター発表も加わった1985年度には740と急増した。しかし、その後は漸増で、1995年には781であった。項目別の演題数は、1985年度に比べ1995年度には、分子・細胞生理や心臓・循環の項目の演題数が増加し、筋や感覚の項目の演題数が減少している。また1985年度と1995年度の項目名を比較すると、神経系の場合、末梢神経・脊髄、脳幹・間脳、終脳といった部位別分類

から、ニューロン・シナプス、高次中枢機能といった機能別分類に変化してきている。1995年度には、更に、発生・成長・老化、病態生理といった新しい項目も加わっている。

最近の傾向として顕著な点は、分子生物学的手法を用いた研究が盛んに行われるようになってきたことで、生理学会におけるその数は10年間で10倍以上に増加している。

## 2) 原著論文発表数と代表的業績

日本生理学雑誌の生理学論文表題集に掲載された英文論文数の10年間の変化をみると、英文論文数は1985年に1,237であったのが、近年増加傾向にあり1994年には1,628に達しており、確実に業績が伸びてきていることが伺える。

生理学とその関連分野においてどのような研究が進んでいるかを知る手がかりとして、国際的な生理学総説誌に掲載された業績と、文化勲章、学士院賞等を受賞した業績をそれぞれ[付表1]と[付表2]に上げ、最後尾に添付する。

### 3. 1. 3. 研究体制の現状と問題点

生理学分野の研究部門は、生理学論文表題集(日本生理学雑誌1995年度版)に掲載されている研究室数からみると、大学に193、大学以外の国公立研究所などに17ある。大部分の大学の研究部門は、少数のパーマネントポストの研究者から構成される「講座制」をとっている。この体制は、欧米で切り拓かれた新しい研究方向に沿ってすでに確立した方法を用いつつ研究を進めるには効率の良い組織体制であったが、複数の最新の技術を用いて新しい研究方向を切り拓いていくには柔軟性が欠けているように思われる。国立研究所としては1977年に設立された岡崎国立共同研究機構・生理学研究so 1つがあるのみであり、そこで、「分子、細胞から脳、そして個体へ」と生理学全般にわたる研究が行われるよう努力されているが、その専任部門はわずか10しかない。公立研究所としては、東京都及びいくつかの県に所属する医学系研究所の中に、生理学研究を行う研究部門があるが、その数は少ない。全体として生理学研究の教室は、生理学研究の必要性和重要性から考えて非常に不足した状態であり、生理学研究に携わる人材も不足している。生理学研究においては、研究者や研究補助者の育成に時間と労力がかかるので人材確保のための対応策が早急に必要である。

### 3. 1. 4. その他の状況

#### 1) 研究費

1995年度文部省科学研究費補助金の総合研究A、B、一般研究A、B、C、奨励研究A、試験研究A、Bの交付総額(新規)は約350億円である。このうち生理学分野への交付総額(新規)はその約1.5%である。解剖学分野へは約0.9%、薬理学分野へも約0.9%である。これに対して、生化学分野へは約2.5%、分子生物学へは約2.1%の配分となっており、生理学、薬理学、解剖学分野への配分を大きく上回っている(図5)。

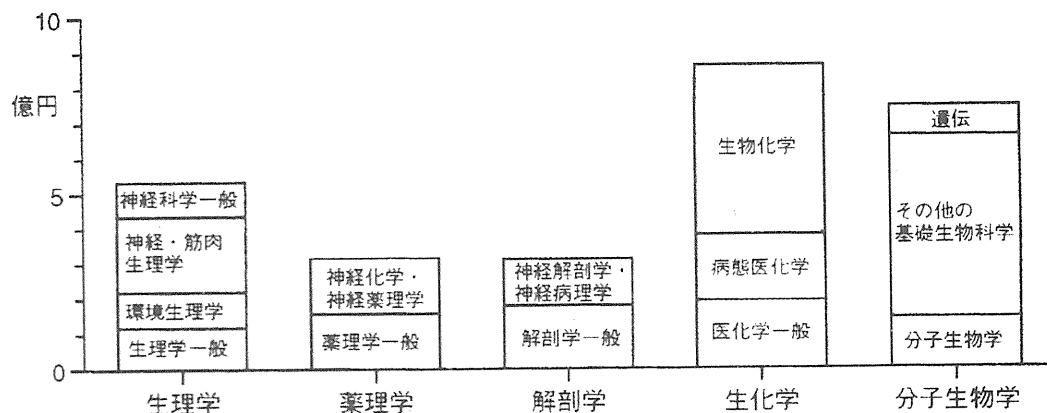


図5. 文部省科学研究費配分の比較 (1995年度新規分)

## 2) 研究情報の発信

生理学研究情報の発信としては、日本生理学会からは学术论文の発表の場として「The Japanese Journal of Physiology」(JJP, 欧文誌, 隔月刊)が、会員相互の情報交換の場として「日本生理学雑誌」(邦文誌, 月刊)が発行されている。

1927年に創刊され47巻を数えるに至っている JJP は、開かれた国際誌として、国内外から会員・非会員の区別なく投稿がある。海外からの投稿も現在では約2割を占めている。購読者数も国内約1,100、海外約300、と生理学関係学術誌として国内外で重要な位置を占める。通常年6冊の他に、生理学会大会の発表論文抄録集が Supplement として発刊される。毎号、目次は Current Contents に掲載され、掲載論文抄録はインターネットホームページに公開発信されている。

1936年に創刊された日本生理学雑誌は、当初は会員の和文原著論文の掲載が主な目的であったが、原著論文を欧文で発表することが一般化した現在、会員相互の情報交換の場を提供することを目的として刊行されている。その内容は、学会の開催通知、演題申込書式の提供、各種会合通知、公募案内、研究会の報告、実験法講座、総説、原著、短報などである。その他、前年の研究業績集を論文表題集として発行している。生理学研究の成果は、上記の学術誌のほか各種の専門学術誌にも多数発表されている。

## 3) 国際協力

日本学術会議は国際生理科学連合(International Union of Physiological Sciences: IUPS)に加盟し(分担金: 約130万円)、生理学研究連絡委員会が実際の対応を行い、国際協力を積極的に進めている。IUPS は4年に1度、国際生理科学学術大会を開催しており、この機会に世界の生理学者が一同に会し、各分野における最新の研究成果について討論や情報交換を行っている。IUPS には世界の約50ヶ国が加盟しており、その運営は15名の理事よりなる理事会によって行われている。我が国からは常に理事が選出され、会長、副会長を務めるなど、世界の生理学の発展に寄与している。1990年にはアジア・オセアニア生理科学連合

(Federation of Asian and Oceanian Physiological Societies : FAOPS)が設立され、そこでも日本の生理学者がアジアのリーダーとしての役割を果たしている。FAOPSの主催による学会もすでに3回、アジア・オセアニア諸国の多くの生理学者が参加して行われ、FAOPSはこの地域の生理学の発展に貢献している。また、1998年に第3回学術集会を開催する国際病態生理学会(International Society for Pathophysiology)においても日本の生理学者が会長を務め、貢献している。この他、日本生理学会は英国生理学会との共催による日英合同生理学大会をこれまで2回(1991年英国、1995年岡崎・名古屋)開催し、学術交流へ成果を上げた。

国際会議において日本が果たしている役割は大きい、若い研究者の育成という点ではまだまだ問題が多い。我が国から欧米諸国へ留学する若い研究者の数は膨大であるが、欧米から日本に研究目的で来訪して長期滞在する生理学者は極めて少ない。これは日本のポストドクター制度の人数枠が少ないことにも起因するが、言語的、文化的、地理的問題も大きな障害となっている。アジア諸国から我が国へ留学する学生は年々増えているが、まだその多くは自費留学生である。

### 3. 2. 生理学 research の展望—生命への統合

分子生物学の発展により、これまで未知であった多数の機能分子が次々と同定されている現在、それらを生命へと統合する事が現代の生理学に求められている課題である。微視的・分子論的研究が進歩すればするほど、これらを統合し生体を有機的に捉える研究がますます重要となる。生理学は遺伝子・分子レベルから、細胞、組織、器官、個体までの機能をそれぞれ研究すると共に、それらを統合的・有機的に取り扱う役割を担っている。更には、複数の個体が相互に関係をもち社会生活を営む上で生じる生態学的・心理学的現象までを含めた機能の解明も生理学に与えられるべき課題と考えられる。すべての生体機能を生命へと統合することにより「生体の仕組みと論理・法則」を解明し、生命の摂理へと迫る学問として生理学の重要性は益々大きなものとなるであろう。

#### 3. 2. 1. 生理学 research の視点

##### 1) 新しい手法を用いた研究の推進

分子生物学は、これまで他に例のなかった新しい実験手法を提供してきた。例えばミュータント動物、トランスジェニック動物、遺伝子ノックアウト動物、切片上のジーンターゲットニングなどは、遺伝子の異常と対応する細胞機能の変化や、動物行動の変化を対応させることを可能とするもので、従来、生理学の重要な研究方法の一つとされてきた「損傷法」の新しい技術として評価することが出来る。分子生物学の発展の成果を更に積極的に取り入れるなどにより、生理学 research の新しい手法を開発することは、生理学の新たな展開につながるものと期待できる。

同時に、核磁気共鳴法(NMR)やX線回折法などの分子的計測法の進歩によって、種々の機能蛋白の構造と機能との相関についての情報が多く得られはじめている。イオンチャネルのゲーティングが単一蛋白レベルで可視化される日も近い。とくに筋肉の研究においては、収縮蛋白の力の計測を単一蛋白レベルでリアルタイムに行うことが可能となり、収縮メカニズムの分子レベルでの解明へと迫りつつある。

近年、光学的測定法や画像解析法の進歩によって、開口放出などの生きた細胞の活動動態もリアルタイムで計測することが可能となった。 $\text{Ca}^{2+}$ をはじめとする各種イオンやサイクリックAMPの細胞内濃度の三次元的計測が可能となり、更には各種酵素活性やその他の分子活性の計測も可能となりつつあり、細胞機能の分子論的解明は大いに進展するであろう。また、脳磁図法(MEG)や機能的磁気共鳴画像法(functional MRI)などのような、(とくにヒトの脳機能の観察に適した)非侵襲的計測法も確立されており、これらを用いての器官レベル・個体レベル機能の生理学的研究の更なる展開が期待される。それらと分子生物学的研究法を組み合わせる統合的な研究にも大きな期待が寄せられる。

## 2) 統合生物学としての視点の重要性

分子生物学的研究の進歩により、部分ないし要素の知識は著しく増大した。しかし、例えば神経系のように多数の要素を含む複雑な系において、それらの要素から如何にしてまとまった高次の機能が作り出されるのかはほとんど解明されていない。ここで、「遺伝子から個体へ」あるいは「分子からヒトへ」の視点に立って、分子生物学研究の成果をより上位の細胞レベル、器官レベル、個体レベルの生体機能へと統合することによって生体機能とメカニズムを解明する、という「統合生物学」としての生理学の流れを作っていくことが重要となる。多くの機能分子の同定を見た現在、それらの機能と法則性を明らかにすると共に、それらを細胞レベル、器官レベル、個体レベルの生体機能へと統合する観点が要求される。「統合生物学」としての生理学の発展の重要性は米国や英国においては既に強調され、それに伴った施策が実行されはじめている。項目別演題数や代表的な業績からわかるように、日本の生理学研究も細分化された分野ごとには業績が上がっている。それらを統合し、生体の全体像の把握を目指す基盤は確立してきており、今後意識的にこれを遂行していく必要がある。個々の細胞機能や器官機能のメカニズムと動作原理を明らかにし、ホメオスタシス、機能適応、行動、脳の高次機能などを、発達・成長・加齢を含めて、統合的に解明すること、そしてそのための(理論モデルを用いたコンピューター解析などの)新しい方法論を開発することが、生理学の重要課題と考える。

## 3) 戦略性を踏まえた研究の重要性

現代社会には、遺伝子治療、人工臓器、臓器移植、脳死判定などの諸問題や高齢者医療や介護の問題など、科学の発展や社会の変化に伴う様々な問題が生じている。これらの多くの問題を根本的に解決するためには、その問題を直接取り扱う学問領域だけでなく、もっと大

きな枠組みの、医療・工業などの発展の明確な目的を持つ戦略研究として推進する必要がある。戦略研究とは、工学、農学、医歯薬学系の基礎研究として行われてきたものと、企業や臨床において目的基礎研究として行われてきたものを含み、基礎研究と応用研究の両方の要素を両立させるカテゴリーである。以下にいくつか例をあげる。

**脳の戦略研究** 脳の生理学的研究には、脳神経系の病気を根絶し、脳の老化を防ぐといった医療上の大きな戦略性、ニューロコンピュータのような新たな原理をもつ情報機械を作り出すという工学上の戦略性や、特異な心理状態への適切な対処をはかるという人文社会科学の分野での戦略性などがある。

**循環系の戦略研究** 心臓の興奮性・調律性の研究から QT 延長症候群の原因遺伝子が明らかにされ、心筋  $K^+$ 、 $Na^+$  チャネルが同定されている。不整脈やそれによる突然死のメカニズムを解明する研究には、それらの予防と治療への基本的原理を与えるという医療上の戦略性と、人工心臓やペースメーカーの改良への指針を与えるという医療工学上の戦略性がある。輸血、輸液のためのより効果的な人工血液の開発、脳梗塞、心筋梗塞などの予防・治療のための血液線維素溶解剤の開発、脳卒中の予防、心肥大、心不全の予防・治療にとってより効果的な高血圧治療法の開発などもまた戦略研究として取り上げる必要がある。

**感覚系の戦略研究** 生体の感覚受容器は、感度の高さ、弁別機能の鋭さ、安定性など、人工的なセンサーよりはるかに優れている。この感覚受容器の機構を取り入れた機器の開発が上げられる。老化などにより低下する視力、聴力などの身体機能の補充、代償に関する研究を進め、効率の良い機能補充器具を開発することは、多くの人々に福音をもたらし、国の経済的利益増大につながる。

**細胞の戦略研究** 細胞容積調節機構は細胞死(アポトーシスやネクローシス)の機序にも深く関係しており、その機序についての生理学的研究には、虚血下における脳神経・心筋細胞死への対策への手がかりを与えるという医療上の戦略性がある。また、その研究は全ての細胞に内在する容積センサーの実体解明につながり、その原理を応用して新しい技術開発が可能になるという工学上の戦略性もある。

**環境の戦略研究** 砂漠や高所、地中、深海、宇宙などこれまでの生活環境とは大きく異なる環境で、ヒトがどのような影響を受け、どのように適応できるかといった近未来に向けての戦略研究が求められている。この研究は、人工気象室や人工農場、模擬都市などの大がかりな環境試験設備の開発や設計、付属機器の開発が必要なことから、工業界の発展に大きく貢献できる。

### 3. 2. 2. 重点的に取り組むべき研究

日本の生理学研究の現状と特徴を踏まえ、今後、世界的・地球的規模で重要となるであろうと推測される研究分野について、11項目に大別して解説する。

### 1) 分子・細胞生理学

分子生物学的実験技術の進歩によって、機能蛋白分子の(一次)構造に関する知見が著しく深まった。今後は、これらの機能蛋白がいかにして機能するかのメカニズムが解明されなければならない。レセプター、チャネル、トランスポーターなどの細胞膜蛋白、細胞骨格蛋白やシグナル分子などの細胞内機能蛋白の働きを、それぞれ単一分子レベルでのみならず、他の機能分子との相互関係においても、統合的に解明していく必要がある。

細胞膜輸送、細胞内輸送、細胞容積調節、刺激応答などのすべての細胞がもっている一般的機能を、神経興奮、筋肉収縮、ホルモン分泌など各種分化細胞の特殊的功能との関連の中で捉えて研究する必要がある。また、それらの機能がいかにして実現されているかを、分子レベルや細胞間相互作用において解明して行かねばならない。とくにアポトーシス、老化、細胞分化など、時系列因子の入った研究の発展が期待される。

### 2) 神経・脳生理学

神経系は直接及び内分泌系を介して生体全体の働きを統御する司令塔の役割を担っており、統合生物学において重要な位置を占める。神経生理学の研究には、先ず神経系の構成要素である神経細胞とグリア細胞の機能の研究があり、細胞内、細胞間の信号の伝達・調節機構を分子レベルまで解明することが目標となる。この研究は、近年の分子生物学その他の研究・計測技術の進歩によって一段と進展することが期待される。細胞レベルの研究の上に、神経細胞が接続して形成する神経回路の機能の研究、神経回路の集合が生み出す感覚、運動、自律機能、記憶・学習、意識、情動、行動などの統合機能の研究、更に言語、思考、意欲などの脳の高次機能の研究がある。これらの脳機能の研究も、遺伝子解析、遺伝子ターゲティング、機能状態での神経活動解析、また機能的磁気共鳴画像法や脳磁図法などの非侵襲的脳画像技術の発達によって、一段と進展することが期待される。一方、神経系が分化発達し、成熟期を経て老化する過程や、神経系が障害を受けた後の機能代償のメカニズムの解明も、神経生理学の重要な課題である。これらの研究による神経系の各要素過程についての分子的理解と各種脳機能の解明は、神経難病を始めとする神経疾患、精神疾患、脳老化などの医学的問題の解決に大きく貢献することが期待される。また最近、臨床の場で問題にされている持続的疼痛も、痛覚機序の一層の解明によって制御可能になると思われる。

### 3) 筋生理学

筋肉はその収縮蛋白の働きによって、体肢(骨格筋)や、心臓(心筋)、消化管・血管・膀胱など内臓(平滑筋)の運動を起こさせる。筋生理学における重要な未解決の問題は、収縮を調節している  $\text{Ca}^{2+}$  の放出と収縮の分子機構である。種々の筋ではそれぞれ特有の  $\text{Ca}^{2+}$  放出機構を備えているが、 $\text{Ca}^{2+}$  放出チャネル開口の分子機構の詳細は明らかでない。このチャネルの遺伝子欠損動物や、遺伝子欠損動物にチャネルを発現させるなどの分子生物学的手法を応用することにより、開口の分子機構の解明が可能となる。この成果により  $\text{Ca}^{2+}$  放出チャ

ネル異常による病態の解明が期待される。また、点変異をおこした収縮蛋白を蛍光色素でラベルし、蛋白分子の挙動を可視化することにより、収縮の分子機構が明らかになると共に、収縮異常によりおこる病態が分子レベルで理解されう。これらの成果は、細胞運動の統一的理解と非筋細胞における情報伝達機序の解明に寄与することが期待される。

#### 4) 血液・呼吸・循環及び体液調節の生理学

心臓、血管、血液・体液生理学は、近年、臓器、組織、細胞、細胞内構造(イオンチャネル、収縮蛋白等)、遺伝子レベルでの分析的研究を強力に押し進め、多くの成果を上げてきた。しかし、血液、呼吸、循環及び体液は機能的に相互の関連が強く、また自律神経や内分泌によって、神経性・液性に強力な調節を受けている。そのため、分析的研究を単に総合するこれまでの方法の限界が明白であり、それらを統合するシステム生理学の発展による戦略的アプローチが今後の緊急の課題となっている。その成果は、人工心臓を始めとする人工臓器の開発を支援するためにも、高齢者の痴呆の原因ともなる脳循環調節機能不全などの機序の解明にとっても必要である。

呼吸に関しては睡眠時の呼吸機能不全の本態の解明が求められており、そのためには呼吸リズムの発生機構を明らかにする研究が必要である。他方、近年、中枢神経系とくに脳機能・脳細胞の機能障害及び脳細胞死とその回復についての研究が飛躍的に進歩しており、これらの新しい成果をもとに、生理学的に脳死をどのように捉えるかを検討する必要がある。

#### 5) 内分泌・生殖生理学

末梢内分泌腺は脳よりの液性・神経性調節を受け、また内分泌腺より分泌されるホルモンは脳に影響を与えている。いずれの場合も末梢内分泌腺の機能はかなり明らかにされてきており、また臨床への応用も緒についてきているが、脳の調節機構とホルモンの脳への影響についての詳細はまだこれからの課題である。例えば、ストレスにより分泌される副腎皮質ホルモンによる海馬の障害、老化ホルモンともされるエストロジェンの視床下部・海馬への作用などは高齢化が促進する今後、重要な課題となろう。また脳の性分化と性差の研究、食料問題に対処するための畜産用動物の研究、実験用動物の繁殖の研究なども、内分泌・生殖生理学の重要な課題であると同時に戦略性が高い。更に、地球環境の劣化に伴う精子・卵子の異常、クローン動物の問題など、生命の誕生にかかわる様々な問題にも(倫理的配慮を踏まえつつ)生殖生理学は目を向けていかなければならない。生殖生理学は地球的な人口問題との関連においても重要である。

#### 6) 環境・適応・協同生理学

人類の身体的・精神的健康は外的環境にうまく適応することによって維持される。例えば地球の公転に伴う温度変化に対しては体温調節機構によって、自転による明暗サイクルに対しては体内時計機構によって適応を行っている。このような生体メカニズムが解明されつつあり、今後の臨床応用が期待される。

また、地球の温暖化、オゾン層の破壊と紫外線の増加、ダイオキシン発生、酸性雨や水質汚染など、人間の営みのために地球環境が近年急速に劣悪化しており、地球上のすべての生体に与えている影響が大きく変化している。地球環境の様々な変化がヒトの生理機能にどのような影響を及ぼすか、長期的に観察しその仕組みを明らかにすることは、現在すでに起こっている環境ストレスの問題解決のためだけでなく、未来の人類存亡に関わる非常に重要な生理学のテーマである。更に、環境生理学は、地球環境のみに止まらず、宇宙空間における生体の生存に関する問題をも対象とし、生命の起源にまでその研究領域を広げている。

#### 7) 運動・体力生理学

生活環境の改善、医学の進歩などの結果、長寿社会化が進んでいるが、一方で、科学技術の進歩、生活習慣の変化、職種の変化などにより、人々は運動不足傾向にある。その結果、健康上新たな問題が生じている。老若問わず健康を維持する上で、適度な運動をし、体力を保持することは必須である。健康上の問題の他にも、運動する目的、年齢は多種多様である。それによって、運動の種類や程度も異なり、激しいトレーニングからゆるやかな散歩までである。目的、年齢にあった運動を適切に効率よく行うために運動時の生体機能を解明することは生理学の課題である。

#### 8) 発生・成長・老化の生理学

近年、発生・成長・分化の過程の生理的仕組みについての分子生物学的研究が発展しつつある。長寿社会の実現した今日、発生に加えて「正常な老化」とは何かを示すことが緊急の課題となっている。老化は、正常な老化と病的な老化に分けて考えられるが、生理学では正常な老化の本質を遺伝子、分子、細胞、組織、器官、個体のレベルから総合的に解明する必要がある。そして、高齢者の労働能力や精神能力を正しく捉え、高齢になると個体差が著しく大きくなる事実を踏まえて、高齢者の社会的役割を提言する役割を担っている。更に、加齢による生理機能低下を予防するために生体に必要な因子は何か（例えば、適度な頭脳的・身体的運動あるいは刺激）を調べ、その機序を解明することも重要である。

#### 9) 栄養生理学

生体は様々な機能を営むために不可欠なエネルギーを栄養から摂取している。栄養は生体の機能を左右する重要な因子であり、とくに食生活が豊かな現代においては、妊娠中や成長期だけでなく成人や老年人も、健康な生活を送るためには代謝機能を把握した上で栄養バランスを考える必要がある。また、小児の頃からの長期的な栄養バランスが成長過程だけでなく、老化過程にも影響を与えることがわかってきており、今後更に栄養生理学的研究の発展が望まれる。

#### 10) 病態生理学・臨床生理学

これまでの病態生理学、臨床生理学分野の研究の多くは、臨床医学研究者が主体となっていて行われてきた。しかし、病態の解明には、先端技術を駆使して行う細胞、分子、遺伝子レベ

ルの研究と、生体の統合的視点に立つ研究の両者が必要であり、患者の診断と治療に相当の時間が必要な臨床医にすべてを委ねるのは至当ではなく、生理学者が積極的に参加し、共同研究を推進することが極めて重要である。このためには、生理学者が病態解明への明確な目的意識を持つことが必要である。興味ある研究領域としては、脳神経細胞死の機序、動脈硬化病変と血管の機能、活性酸素の問題などがある。また種々の病態のモデル動物の開発なども重要な課題と考えられる。

### 11) 心理生理学

進歩、発展を伴って急激に変わっていく現代社会の中で、不安、恐怖、自信喪失などの情動障害が増加している。情動障害は身体機能を低下させたり、知的障害を悪化させたりすることが臨床的に知られており、各種情動状態の高次知的機能及び身体機能に対する影響のメカニズムを研究することは、生理学の重要な課題である。

### 12) 東洋医学の科学的メカニズムの解明

東洋医学は、中国と日本を中心に進められてきた医学であり、多くの疾患に治療効果をもつことが臨床的に知られている。しかしその科学的機序の解明は遅れている。東洋医学の中でもとくに鍼灸の治療効果の機序は、神経系を介することが少しずつ明らかになってきている。我が国の文化的財産ともいえる東洋医学について、日本が中心となって今後更にそのメカニズムを詳細に検討することは日本の生理学の重要な課題である。

## 3. 2. 3. 研究体制の改善の指針

生体を生きた状態で研究する生理学研究の特徴は、それぞれの研究目的に即して、研究者自身が最適の標本を作成・維持し、実験の実時間の判断により最善の観測をしなければならないことである。また、試行錯誤を繰り返して独自の実験技術や機器の開発を必要とする。ステレオタイプの研究方法を用いることは出来ない。このことは研究者の養成にも関係し、若手の育成に当たっては熟練者が実験の現場で1対1で教育することが肝要であり、養成に極めて多くの時間を必要とする。

生理学研究を発展させていくためには、上記の生理学研究の特徴を踏まえて、研究者の育成、増員を計ると共に、研究費を充実させ、外国人を含めた優秀な人材を受け入れ易くする、などの体制を作ることが重要である。また、生理学分野の研究人口は大学に偏っており、国公立研究所などの大学以外の研究セクターを創設、拡充していく必要もある。以下にそのための具体案を列記する。

### 1) 研究キャリアの複線化と人材の回転

少数のパーマネントポストの研究者から構成される「講座制」は、欧米で切り拓かれた研究方向に沿ってすでに確立した方法を用いつつ研究を進め、先進国に追いつこうとしていくには効率の良い組織体制であった。しかし、複数の、最新の技術を用いて新しい研究方向を

切り拓いていかなければならない現在、この研究組織にはあまりにも柔軟性が欠けている。必要なときに一定期間、異なった研究技術と研究背景をもった人材を、リクルートしながら組織化しうる新しい体制が必要である。ポストドクター制度を大幅に導入し、外国人研究者受入をもっと容易に行えるよう改善すべき時期にある。しかし、人材のよどみない回転を保障するには、空間的流動性のみならず、時間的流動性もまた確保される必要がある。そのためには、パーマネントポストを含めて正式研究ポストの数を拡充することもまた不可欠である。ポストドクター制度の飛躍的拡充のみでは、その効果は一時的にしか望めず、将来的には多くの人材を切り捨てることになり、ポストドクターへの希望者も先細りとなる危惧がある。

## 2) 大学以外の生理学研究セクターの新設・拡充

1977年に設立された岡崎国立共同研究機構・生理学研究所は、総合研究大学院大学に属する教育機関であるとともに、「分子、細胞から脳、そして個体へ」と生理学全般にわたる研究を行う研究機関である。生理学が扱う分野が多岐にわたる現在でも、専任部門がわずか10に過ぎない実状はあまりにも貧弱である。生理学研究所の拡充が早急に行われるよう強く望まれる。更には、21世紀の生理学を「統合生物学」として発展させるために、新たに「統合生物学研究所」の設立が望ましい。

## 3) 研究費の充実

生理学分野の卓抜した統合生物学的研究や戦略研究課題に、重点的、長期的な研究費の配分が望まれる。脳研究分野を中心にして、大型の研究費配分が行われ始めるなど、我が国の生命科学(ライフサイエンス)の支援に一定の前進が認められるが、まだまだ不十分であり、戦略性の高い生理学研究や統合生物学的研究にも十分な研究費配分が求められる。一方、生体の仕組みと論理・法則を統合的に明らかにし、新しい概念を創出していくような生理学研究は、短期的視野の研究スタイルでは成し遂げられないものであり、このように息の長い研究に基盤研究的研究費の安定的配分を行い続けることも大変重要である。また、生命科学全分野のバランスのとれた成長も望まれるところである。

## 4) 研究情報の発信の活性化

日本生理学会は、The Japanese Journal of Physiology (JJP) の専門分野への生物物理学の追加、入澤記念 JJP 優秀論文賞の新設、インターネットホームページでの JJP 論文抄録の公開発信、優れた依頼総説論文の掲載など、JJP の充実化の努力を続けている。「生体の仕組みと論理・法則」を明らかにし、「生命への統合」を目指す生理学研究の雑誌として、より一層の努力が必要である。また、今後更に JJP の購読者数を増やすべく、世界へ向けて存在をアピールする必要がある。何よりも我が国から、そしてアジアや世界の国々から、世界的水準にある生理学研究の論文が多く投稿されるような、魅力ある雑誌にしていけることが必要であり、そのための経済的支援の拡充が望まれる。

## 5) 国際協力の推進

国際的共同研究の推進の他に、生理学研究連絡委員会及び生理学関連学会として対処すべき国際協力はおよそ次の3点であろう。

- 外国人研究者の受入(とくに欧米諸国から)
- 国際会議・シンポジウムの開催
- 発展途上国の生理学教育・研究の援助

生理学関連学会に十分な活力、経済力が不足しているため、これらを積極的に推し進める余裕のないのが現状である。奨学金制度などの日本の受け入れ体制の一層の改善が望まれる。また、日本生理学会内に最近設置された「国際交流委員会」において、現在可能で、かつ最も必要とされる国際協力は何かをまず明らかにし、実行に移して行く必要がある。このためにも、十分な資金確保が必要である。

## 6) 関連分野との学会協力

生理学研究連絡委員会に参加している学会同士のみならず、動物学会、獣医学会、歯学会、薬理学会、薬学会、分子生物学会、生物物理学会、農学会、心理学会など広く関連学会との協力を推し進める必要がある。

## 7) 女性研究者の積極的登用

日本の女性研究者は、米国の女性研究者に比べ、研究職を得にくい状態にある。優秀な資質を有し、高い教育水準にある女性研究者が、能力を充分に発揮する場を与えられずに、研究から離脱することは大きな社会的損失である。米国では20年以上も前から女性を積極的に採用しようという政策がとられてきており、日本でもその必要がある。同時に、出産・育児に伴う職場からの離脱が不利にならないような社会制度の改善、周囲の理解が強く求められる。これは、人材難に陥りつつある生理学関連学界が優秀な人材を確保するうえでも必要なことと考えられる。数年前に日本生理学会内に「生理学女性研究者の会」が発足して活動が続けているが、このような女性研究者自身による活動も支援して行く必要がある。

## 4. 生理学教育の現状と展望

生体の仕組みと論理・法則を明らかにする生理学は、全ての生命科学の基礎を与えるばかりではなく、人類の生活への指針を与えるものでもあり、医系・理系大学のみならず、文系大学、高等・中等・初等学校においても生理学の成果を更に取り入れた教育が行われるべきである。また、全医療行為は人体の仕組みと論理・法則の深い理解に裏打ちされていなければならない以上、医系大学における生理学教育の重要性は言うまでもないが、医系以外の理系大学においても「分子からヒト」への統合的視点による生理学教育の行われることが望ましい。しかし、このような初等学校から医系大学までの多層な生理学教育は、人材不足のため、実現にはほど遠い状態にある。

#### 4. 1. 生理学教育の現状と問題点

##### 1) 初等～高等学校

生物学教育が「生体の仕組みと論理・法則」を解明するという生理学の基本姿勢に基づいて行われることは、21世紀を担う人間を育成する初等・中等・高等教育において極めて重要である。神経性食欲不振症の例を上げるまでもなく、社会的矛盾が人体をも蝕む現代社会においては、社会的要因によって人体生理機能がどの様に影響されるかを理解することが極めて重要である。

しかし現在、それを可能とする人材を含めての条件は充分と言い難い。人体機能に関する教育は、小学校では5、6年生で、呼吸、心臓、消化、骨と筋肉、生殖などの大まかな仕組みについての学習がある。中学校では、理科の第2分野上で取り上げられ、小学校よりも数段詳しく学習する。例えば、呼吸に関しては肺胞でのガス交換や横隔膜の働き、循環では全身の血液循環の道筋や血液と細胞との物質交換など、生理学的見地から教科内容が用意されている。しかし、中学校理科での人体機能に関する教育は、教科書のページ数から判断すると理科全体の10%以下で、内容をこなすには十分とはいえない。高校では、神経系や内分泌系の仕組み、遺伝子の働きなどかなり高度な内容が取り入れられているが、内容のわりに教科書の記述が簡潔に過ぎ、優れた教師の説明なしには理解が困難となっている。また、「生物」は選択科目の場合が多く、しかも大学受験でも選択の場合が多いため、生理学教育にまではあまり真剣に取り組まれていないことが多い。したがって、一般の人々が健康や人体機能に関して必ずしも正しい知識を備えているとはいえない。

##### 2) 大 学

大学における生理学の教育は、主に医学部・歯学部・獣医学部・看護学部で行われており、その他、理学部・薬学部・工学部などでも多少行われている。医学部・歯学部においては、60～80時間の講義、40～50時間の実習時間をあてている大学が多く、臨床医学の基礎となる人体生理学全般について詳しい教育がなされている。しかし、学問領域の拡大に伴い、現在の定員では対応しきれない状況が生まれている。その他の学部でも、細胞生理学、生物学、動物生理学、植物生理学など生命科学の一分野としての教育が一部行われている。しかし、その内容は各大学で相当なばらつきがあり、必ずしも十分なものでない場合が多い。

生体の機能とメカニズムを教える生理学教育は、臨床医学を含めて全ての生命科学(ライフサイエンス)の基礎を与えるものである。従って、医系大学のみならず全ての理系大学において生理学教育を取り入れ、とくに「分子から個体へ」という統合的姿勢で、生理学教育を行う必要がある。医系大学では更に、臨床により直結した病態生理学教育を、他の理系大学においては、人体生理学教育を加える必要がある。また文系大学においても、人間科学としての生理学教育を加えることが望ましい。

### 3) 大学院

医学部・歯学部・獣医学部の博士課程，理学部，工学部などの修士・博士課程では，選択科目として学部より更に専門的な生理学講義が20～40時間行われている．生理学を専攻した学生に対しては，研究室において教官が研究指導しており，生理学者を育てるために必要な専門教育が行われている．しかし近年，生理学を専攻する学生は年々減少し，憂慮されている．大学院において生理学に参入する人材を確保することは，生理学研究そのものの推進のみならず，初等・中等・高等学校教育及び文系・理系大学の生理学教育者を育成・供給する上でも重要な課題である．

### 4) ポストドクター制度

我が国の国内研究者に対するポストドクター制度としては，日本学術振興会 (The Japan Society of the Promotion of Science: JSPS) の「特別研究員」制度が中心をなす．この制度でのポストドクターは，研究奨励金が比較的高額な点でも，科学研究費補助金が得られる点でも，その条件は比較的恵まれている．しかしその枠は，人文，社会，自然科学全分野に対して年間約1,070名にすぎない．これに，最近，JSPS「未来開拓学術研究推進事業」や科学技術振興事業団「戦略的基礎研究推進予算」のポストドクターが加えられた．その他に，文部省「中核的研究拠点形成プログラム (COE)」によるポストドクターも最近加わったが，まだまだ少数である．

外国人研究者に対するポストドクター制度としては，文部省管轄の大学・研究所への1年間のみの受け入れを行う JSPS の「外国人特別研究員」制度と，科学技術庁 (STA) 管轄の研究機関への6ヶ月から2年間の「STA フェローシップ」制度の2つが政府資金によるものである．これらの経済的支援条件は，JSPS の「特別研究員」にほぼ準ずるが，いずれも定員は400～700名と極めて少ない．しかも，JSPS の「外国人特別研究員」の1991～1993年の3年間の受け入れは欧米中心であり，最近中国や韓国からは増えつつあるものの，東南アジアからは皆無に近い状態であった．外国人研究者の日本での研究生活を3ヶ月から1年間支援する民間の財団は約10ある．いずれも定員数も支援額も多くはないが，貴重な役割を果たしてくれている．

### 5) その他

近年増加している医療技術や看護教育のための短期大学や専門学校では，必修科目としての生理学教育が，講義，実習あわせて約70～150時間行われている．更に理学療法士など医療技術者の資格修得のための講習会が毎年開催され，生理学の講義が行われている．医療技術の多様化に伴い，医療は医師中心の時代からコメディカルの出身者を交えた専門家集団による時代へとようになってきており，今後ますますコメディカルの専門家に対する人体生理学の教育が必要となるが，現在のところ人体生理学を教える生理学教育者が不足している．

#### 4. 2. 生理学教育の改善の指針

現在の生理学者は、10年、20年後に活躍する真の意味の生理学者を育成するとともに、初等・中等・高等学校及び文系・理系大学教育における生理学教育者を育成する義務がある。生理学教育をととして、受動的な教育から能動的な教育に変換し、人間が本来有する未知への探求心と創造性を刺激し、学生が自ら学び、自ら追求するような教育制度の実現に寄与することが期待される。

しかし、すでに述べたごとく、生理学研究の重要性と生理学が求められている社会的役割の重要性に見合う程には、若い優秀な人材の参入が得られていないのが実状である。この現状は憂慮されるべき事態である。その傾向の長期化は、生理学研究ひいては臨床医学・生命科学研究一般の将来に深刻な問題を投げかけるだろう。医系及び理系大学における生理学教育において、古典的研究成果や概念を教えるのみでは若者の知的好奇心を刺激するには不十分であり、現在急速に進展している分子・細胞生物学的研究の成果を基礎に、それらを「生体機能」にまでダイナミックに組み上げるような教育内容に変えていくことが必要であろう。

更に、長期的に生理学研究に参入する人材を確保していくためには、生理学の本来の性格に立ち返って、教育の裾野を広げることも必要である。生理学は、生命科学としての性格のみならず、医学としての性格、人間科学としての性格もあわせ持ち、これらは互いに切り離すことができない。したがって、このような生理学の性格を踏まえて、広く生理学教育が行われることが望ましい。これによって生理学のあるべき姿に長期的展望を与え、21世紀における生理学の役割の遂行を可能とすることが重要であり、そのための方策を早急に打ち出す必要がある。

生理学教育を改善する方策として考えられる具体案を列記する。

##### 1) 生理学研究に参入する人材の確保

医系学部における基礎医学研究者養成コース(MD-Ph D コース)の導入を図る。この制度により、生理学研究を志望する優秀な学生の、医学部在学中の博士号の取得を可能にする。また、学費の援助を行う。コメディカル教育者養成や生理学者、教育者養成のために新しい医学修士コースを導入する必要がある。生理学博士コースを充実することも必要である。

##### 2) 生理学教育に参入する人材の確保

生理学の重要性及びそのカバーする領域の拡大に対応するためには、生理学者及び教育者の数を増やし、教育者層を厚くする必要がある。定年退職した生理学者の再雇用、女性生理学者の登用、外国人生理学者の雇用を促進する必要がある。

##### 3) 生理学教育内容の充実

医学部教育においては生命科学としての生理学教育に加えて、臨床の場で役立つ生理学教育を、理系大学教育においては人体生理学的教育を行う必要がある。学生自身の自主性を生

かしたセミナー方式や、マルチメディアを活用した視聴覚教育方式の大幅な導入も必要である。いずれの場合にも、分子生物学の成果を踏まえ、しかも統合機能の重要性を理解させるような魅力ある生理学教育への改革が必要である。

#### 4) 生理学教育の裾野の拡大

人間の身体の働きに対する興味を早くから育むことが重要である。初等、中等及び高等教育における生物学や保健体育の教科書の編纂に生理学者が関与することにより、生理学的視点の重要性をより深く理解させうる内容を盛り込むことが肝要である。高齢化社会を迎え、一人一人の健康管理が重要になっている現在、人体機能に関する教育を初等中等教育の中で充実し、一般の人々の人体機能に対する関心と理解を高めることも「生理学」の役目として重要である。人々が若年期から健康管理に留意するようになれば、高齢期に憂慮される身体機能の低下の減少が期待される。このように生理学は、他の生命科学に比べてより直接に、多くの人々に学問の成果を伝えることのできる重要な学問である。

### 5. お わ り に

生理学は、生体の多くの分子群、細胞群及び組織・器官群、更には個体の働きとそのメカニズムを解明し、それらを生命へと統合する学問であり、医学・生命科学の重要な基礎分野を構成する。その飛躍的展開によって、生体の仕組みと論理・法則及び意義が明らかにされ、生命の摂理に関する知識体系が豊富化され、自然と生命の摂理に沿う未来の人類生活の実現に対する重要な指針が与えられる。生理学が、そのような役割を果たして行くためには、生理学研究と教育の現状及び問題点を把握して、将来の発展への方策を探ることが不可欠と考えて本報告書を作成した。本報告書を指標として、日本の生理学のみならず生命科学全体の発展が強力に促され、その恩恵が国や社会に還元されることを期待する。

## [付表 1] 国際的な生理学総説誌に掲載された日本人研究者の業績

## I. Physiological Reviews (1945~1996)

| 年    | 著者                                                  | 題名                                                                                                                                                                                                       |
|------|-----------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1965 | Katsuki Y<br>Kuru M                                 | Comparative neurophysiology of hearing<br>Nervous control of micturition                                                                                                                                 |
| 1967 | Kinoshita H, Murakami A                             | Control of ciliary motion                                                                                                                                                                                |
| 1971 | Kuno M<br>Ono S<br>Wright A, Kanegasaki S           | Quantum aspects of central and ganglionic synaptic transmission in vertebrates<br>Genetic implication of karyological instability of malignant somatic cells<br>Molecular aspects of lipopolysaccharides |
| 1973 | Sato A, Schmidt RF                                  | Somatosympathetic reflexes: afferent fibers, central pathways, discharge characteristics                                                                                                                 |
| 1974 | Allen GI, Tsukahara N<br>Narahashi T                | Cerebrocerebellar communication systems<br>Chemicals as tools in the study of excitable membranes                                                                                                        |
| 1975 | Asanuma H<br>Toida N, Kuriyama H, Tashira N, Ito Y  | Recent developments in the study of the columnar arrangement of neurons within the motor cortex<br>Obliquely striated muscle                                                                             |
| 1977 | Endo M                                              | Calcium release from the sarcoplasmic reticulum                                                                                                                                                          |
| 1978 | Tada M, Yamamoto T, Tonomura Y<br>Irisawa H         | Molecular mechanism of active calcium transport by sarcoplasmic reticulum<br>Comparative physiology of the cardiac pace maker mechanism                                                                  |
| 1985 | Kodama T                                            | Thermodynamic analysis of muscle ATPase mechanisms                                                                                                                                                       |
| 1986 | Ozawa S, Sand O                                     | Electrophysiology of excitable endocrine cells                                                                                                                                                           |
| 1987 | Nakanishi S                                         | Substance P precursor and kininogen: their structures, gene organizations and regulation                                                                                                                 |
| 1989 | Daugherty D, Yamada T                               | Posttranslational processing of gastrin                                                                                                                                                                  |
| 1990 | Suga H                                              | Ventricular energetics                                                                                                                                                                                   |
| 1991 | Kamino K                                            | Optical approaches to ontogeny of electrical activity and related functional organization during early heart development                                                                                 |
| 1992 | Sakai HM                                            | White-noise analysis in neurobiology                                                                                                                                                                     |
| 1993 | Irisawa H, Brown HF, et al.<br>Otsuka M, Yoshioka K | Cardiac pacemaking in the sinoatrial node<br>Neurotransmitter functions of mammalian tachykinins                                                                                                         |

## II. Annual Review of Physiology (1945~1996)

| 年    | 著者                                                                                           | 題名                                                                                                                                                                                                                                      |
|------|----------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1957 | Tasaki I                                                                                     | Hearing                                                                                                                                                                                                                                 |
| 1960 | Spyropoulos CS, Tasaki I                                                                     | Nerve excitation and synaptic transmission                                                                                                                                                                                              |
| 1969 | Sagawa K                                                                                     | Overall circulatory regulation                                                                                                                                                                                                          |
| 1976 | Ebashi S                                                                                     | Excitation-contraction coupling                                                                                                                                                                                                         |
| 1981 | Imura H, Nakai Y<br>Page E, Shibata Y                                                        | "Endorphins" in pituitary and other tissues<br>Permeable junctions between cardiac cells                                                                                                                                                |
| 1982 | Tada M, Katz AM<br>Ikemoto N<br>Kung C, Saimi Y                                              | Phosphorylation of the sarcoplasmic reticulum and sarcolemma<br>Structure and function of the calcium pump protein of sarcoplasmic reticulum<br>The physiological basis of taxis in Paramecium                                          |
| 1984 | Donahoe PK, Kamagata S, et al.                                                               | Mechanism of action of Mullerian inhibiting substance                                                                                                                                                                                   |
| 1987 | Jacobson K, Ishihara A, Inman R                                                              | Lateral diffusion of proteins in membranes                                                                                                                                                                                              |
| 1988 | Polosa C, Yoshimura M, Nishi S                                                               | Electrophysiological properties of sympathetic preganglionic neurons                                                                                                                                                                    |
| 1989 | Stolz A, Takikawa H, et al.<br>van Breemen C, Saida K<br>Tamura M, Hazeki O, Nioka S, et al. | The role of cytoplasmic proteins in hepatic bile acid transport<br>Cellular mechanisms regulating $[Ca^{2+}]_i$ smooth muscles<br>In vivo study of tissue oxygen metabolism using optical and nuclear magnetic resonance spectroscopies |
| 1990 | Tani M                                                                                       | Mechanisms of $Ca^{2+}$ overload in reperfused ischemic myocardium                                                                                                                                                                      |

|      |                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                              |
|------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1991 | Ebashi S<br>Matsuda H<br>Preston RR, Saimi Y, et al.                                                                  | Excitation-contraction coupling and the mechanism of muscle contraction<br>Magnesium gating of the inwardly rectifying K <sup>+</sup> channel<br>Calmodulin mutants and Ca <sup>2+</sup> -dependent channels in Paramecium                   |
| 1992 | Kusuoka H, Marban E                                                                                                   | Cellular mechanisms of myocardial stunning                                                                                                                                                                                                   |
| 1993 | Komuro I, Yazaki Y                                                                                                    | Control of cardiac gene expression by mechanical stress                                                                                                                                                                                      |
| 1994 | Petersen OH, Petersen CC, Kasai H<br>Breyer MD, Ando Y<br>Paul M, Urata H, et al.<br>Makino H, Manganiello VC, Kono T | Calcium and hormone action<br>Hormonal signaling of salt and water transport in the collecting duct<br>Transgenic rats: new experimental models for the study of candidate genes in hypertension research<br>Roles of ATP in insulin actions |
| 1995 | Inagami T, Naruse M, Hoover R                                                                                         | Endothelium as an endocrine organ                                                                                                                                                                                                            |
| 1996 | Gluck SL, Iyori M, et al.<br>Mikawa T, Fischman DA                                                                    | Physiology and biochemistry of the kidney vacuolar H <sup>+</sup> -ATPase<br>The polyclonal origin of myocyte lineages                                                                                                                       |

### III. Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology (1966~1997)

| 年    | 著者                                                       | 題名                                                                                                                                                                      |
|------|----------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1972 | Koizumi K, Brooks CM                                     | The integration of autonomic system reactions: a discussion of autonomic reflexes, their control and their association with somatic reactions                           |
| 1974 | Numa S                                                   | Regulation of fatty-acid synthesis in higher animals                                                                                                                    |
| 1975 | Katunuma N                                               | Regulation of intracellular enzyme levels by limited proteolysis                                                                                                        |
| 1977 | Sato K                                                   | The physiology, pharmacology, and biochemistry of the eccrine sweat gland                                                                                               |
| 1984 | Yamamoto N                                               | Interaction of viruses with tumor promoters                                                                                                                             |
| 1985 | Cash DJ, Aoshima H, et al.                               | Acetylcholine-receptor-mediated ion fluxes in Electrophorus electricus and Torpedo californica membrane vesicles                                                        |
| 1987 | Saheki T, Kobayashi K, Inoue I<br>Katunuma N, Kominami E | Hereditary disorders of the urea cycle in man: biochemical and molecular approaches<br>Abnormal expression of lysosomal cysteine proteinases in muscle wasting diseases |
| 1989 | Ozawa E                                                  | Transferrin as a muscle trophic factor                                                                                                                                  |
| 1992 | Wakabayashi S, Sardet C, et al.                          | Structure function of the growth factor-activatable Na <sup>+</sup> /H <sup>+</sup> exchanger                                                                           |
| 1997 | Sato A, Sato Y, Schmidt RF                               | The impact of somatosensory input on autonomic functions                                                                                                                |

### IV. Annual Review of Neuroscience (1978~1996)

| 年    | 著者                                                       | 題名                                                                                                                                              |
|------|----------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1978 | Bentley D, Konishi M                                     | Neural control of behavior                                                                                                                      |
| 1979 | Kaneko A                                                 | Physiology of the retina                                                                                                                        |
| 1981 | Tsukahara N                                              | Synaptic plasticity in the mammalian central nervous system                                                                                     |
| 1982 | Ito M                                                    | Cerebellar control of the vestibulo-ocular reflex--around the flocculus hypothesis                                                              |
| 1985 | Konishi M                                                | Birdsong: from behavior to neuron                                                                                                               |
| 1989 | Ito M                                                    | Long-term depression                                                                                                                            |
| 1991 | Nakanishi S<br>Mikoshiba K, Okano H, Tamura T, Ikenaka K | Mammalian tachykinin receptors<br>Structure and function of myelin protein genes                                                                |
| 1993 | Miyashita Y                                              | Inferior temporal cortex: where visual perception meets memory                                                                                  |
| 1994 | Tanaka C, Nishizuka Y                                    | The protein kinase C family for neuronal signaling                                                                                              |
| 1996 | Tanaka K<br>Keshishian H, Chiba A, et al.                | Inferotemporal cortex and object vision<br>The drosophila neuromuscular junction: a model system for studying synaptic development and function |

著者が4人以上の場合は、著者名を一部省略した。

〔付表2〕文化勲章、学士院賞等を受賞した業績

## I. 文化勲章（1945年から1996年までのデータ、生理学に関連する受賞者）

| 年    | 受賞者  | 分野  | 年    | 受賞者  | 分野    |
|------|------|-----|------|------|-------|
| 1963 | 久野 寧 | 生理学 | 1984 | 利根川進 | 分子生物学 |
| 1970 | 沖中重雄 | 内科学 | 1986 | 名取禮二 | 筋生理学  |
| 1973 | 勝木保次 | 生理学 | 1987 | 岡田善雄 | 細胞遺伝学 |
| 1974 | 石坂公成 | 免疫学 | 1988 | 西塚泰美 | 生化学   |
| 1975 | 江橋節郎 | 薬理学 | 1996 | 伊藤正男 | 神経生理学 |

## II. 学士院賞及び学士院恩賜賞（1945年から1997年までのデータ、生理学に関連する受賞者）

| 年    | 受賞者                         | 内容                                                     |
|------|-----------------------------|--------------------------------------------------------|
| 1949 | 久留 勝                        | 脊髄後角内に於ける痛温度覚伝導に関する細胞群の決定に関する研究                        |
| 1951 | 小川鼎三、平沢 興                   | 錐体外路系に関する研究                                            |
| 1953 | 桑田義備                        | 染色体構造の研究                                               |
| 1954 | 橋本春雄、田島弥太郎<br>本川弘一          | 家蚕における性決定に関する研究とその応用<br>脳電図の研究                         |
| 1956 | 井関尚栄                        | 微生物の免疫遺伝学的研究                                           |
| 1957 | 福田宗一                        | 昆虫とくに家蚕の内分泌生理に関する研究                                    |
| 1958 | 牧野佐二郎<br>木原卓三郎              | 動物染色体の研究<br>脈管外通路系に関する研究                               |
| 1959 | 藤田秋治、木村 廉、藤原元典、松川泰三<br>岡田正弘 | ビタミン B <sub>1</sub> に関する研究<br>硬組織の生理及び薬理の研究            |
| 1961 | 沖中重雄                        | 自律神経に関する研究                                             |
| 1963 | 勝木保次                        | 聴覚機構の研究                                                |
| 1964 | 西川義正                        | ホルモン処理による家畜繁殖の生理学的研究                                   |
| 1965 | 山岡憲二                        | 血色素並びに胆汁色素の研究                                          |
| 1967 | 三井進午                        | 植物の養分吸収同化に関する生理化学的研究                                   |
| 1969 | 井関尚栄                        | 酵素による血液型の転換に関する実験的研究                                   |
| 1972 | 江橋節郎<br>岡本耕造                | 筋の収縮及び弛緩の機構に関する研究<br>糖尿病と高血圧症の基礎的研究                    |
| 1974 | 石坂公成                        | 免疫グロブリン E の発見とレアギン型アレルギーの機序に関する研究                      |
| 1975 | 富田恒男                        | 網膜における情報処理機構の研究                                        |
| 1977 | 内菌耕二                        | シナプスの機能と形態に関する研究                                       |
| 1979 | 伊東俊夫                        | 肝臓の脂肪摂取細胞に関する研究                                        |
| 1980 | 岡田善雄                        | 細胞融合現象の解析と細胞工学的応用                                      |
| 1981 | 長野泰一<br>岡 小天<br>名取禮二        | インターフェロンの研究<br>生物レオロジーの理論的研究<br>スキンド・ファイバー法による筋収縮機構の研究 |
| 1983 | 小林英司<br>大塚正徳                | 視床下部一脳下垂体系の比較内分泌学的研究<br>ペプチド性神経伝達物質、とくに P 物質の研究        |
| 1984 | 新見嘉兵衛                       | 視床に関する研究                                               |
| 1985 | 沼 正作<br>山村雄一                | 神経情報伝達の分子機構に関する研究<br>細胞性免疫とその制御                        |
| 1986 | 伊藤正男<br>西塚泰美                | 小脳の神経機構と運動学習の機序<br>ホルモン作用における情報の受容伝達機構に関する研究           |

|      |                   |                                                                   |
|------|-------------------|-------------------------------------------------------------------|
| 1988 | 大村 裕              | 中枢神経系及び内在性化学物質による摂食調節の研究                                          |
| 1989 | 松尾寿之              | 生体内情報伝達に係わる超微量ペプチドの研究—とくに心房性ナトリウム利尿ホルモンの構造と機能に関する研究               |
| 1990 | 濱 清               | 神経系の機能形態学、とくに超高压電子顕微鏡による定量的三次元構造解析                                |
| 1991 | 宇井理生              | 細胞情報伝達における GTP 結合蛋白質の役割に関する研究                                     |
| 1994 | 眞崎知生<br>中嶋暉躬、川合述史 | エンドセリンの同定とその生理活性<br>ハチ毒、クモ毒の化学的、生理学的研究、とくにジョロウグモ毒 (JSTX) の神経科学的研究 |
| 1995 | 甘利俊一              | 神経情報処理の基礎理論の研究                                                    |
| 1996 | 本庶佑<br>稲上正、村上和雄   | 抗体クラススイッチ制御に関する研究<br>レニン・アンギオテンシン系に関する生化学ならびに分子生物学的研究             |
| 1997 | 中西重忠              | 神経伝達の分子メカニズムに関する研究                                                |

### III. 日本国際賞

| 年    | 受賞者  | 内容              |
|------|------|-----------------|
| 1996 | 伊藤正男 | 小脳の機能原理と神経機構の解明 |

## PROFILE

「生理学者群像」

## 吉 村 恵 君

佐賀医科大学医学部生理学講座

平成8年8月16日就任



昭和51年久留米大学医学部を卒業、心臓外科医になるべく2年間の外科研修を終えた後、学位論文を終えるために生理学講座の西彰五郎教授を訪ねたのが生理学との出会いでした。学生時代には、纈纈教三教授に教えを受けたにも関わらず、生理学にはあまり興味がわきませんでした。しかし、いざ実験を始めてみると、毎日が新しいことの発見で興味が尽きず、外科に戻る事を忘れてしまいました。結局、米国での6年間の研究生活を含め18年間を生理学教室でお世話になった後、平成8年8月から久場健司教授の後任として佐賀医科大学に移りました。

研究は、西教授の専門であった末梢自律神経活動の解析から始まり、脊髄内交感神経におけるノルアドレナリンの作用機序の研究に進み、脳幹の縫線核、更に海馬にまで中枢神経を上りましたが、最終的には脊髄を主たる研究対象にしています。現在は、脊髄後角における痛覚伝達機序とその抑制機構の解明に焦点を合わせ研究を進めております。

周知のように、病院を訪れる患者の60%近くが痛みを主訴としています。さらに、年齢の高齢化に伴う癌の発生率の上昇や、骨粗鬆症に起因する骨折等により、痛みを訴える患者の数は増加の一途を辿っています。しかしながら、痛みの研究は、その臨床的重要性にも関わらず、他の感覚系に比して遅々としていました。しかし、この30年あまりの間に、痛みの研究やその治療は大きく進歩しました。それには、ゲート・コントロール説の提唱、生化学的・免

疫組織学的方法論の確立や単一末梢神経線維、中枢神経細胞からの記録法、脊髄など中枢神経の *in vitro* 標本の開発などが大きく貢献しています。その中で、私は成熟ラット脊髄スライスに後根を付した標本を用い、後根痛覚線維刺激によって後角細胞に誘起されるシナプス応答を Blind Patch Clamp 法や細胞内記録法によって解析しています。

今までの所、膠様質において痛みを伝える  $A\delta$  及び  $C$  線維は共に glutamate を伝達物質とすること、サブスタンス P は膠様質細胞にはシナプスせず第IV-V層細胞が膠様質に伸ばした樹状突起に slow EPSP を誘起する事、ソマトスタチンは数分にわたる緩徐な IPSP を誘起する事等を報告して来ました。また最近では、神経因性疼痛の発生に関与すると考えられる後角内の可塑性に注目し、坐骨神経損傷モデルラットを用いて、 $A\beta$  線維終末の膠様質への sprouting, 所謂、感覚回路網の可塑的变化を示す結果を得ています。また、痛覚過敏の発生機序と考えられる wind-up 現象における NMDA 受容体の関与を  $\epsilon 1$  及び  $\epsilon 4$  subunit ノックアウトマウスを用いて検索しています。

今後は、*in vivo* patch clamp 法等の開発も合わせて、神経因性疼痛の発生機序を種々のモデル動物を用いて電気生理学的に明らかにし、また、その可塑的变化を誘因する生化学的機序の解明にも取り組んでいきたいと思っております。若い研究者の参加を待っています。

## OPINION

## システムの認識と統合 1

大阪医科大学生理学第1講座

今井雄介

Key words: 認識, 情報, 進化, 目的論, 環境要因—内部要因, 機能と機構, 自律性, 適応, 環境, 不均質環境, システム, 回路網熱力学, モデル, シミュレーション

## はじめに

私は1960年台に微小電極法と言う細胞内電位記録の手法を習い、唾液腺の細胞内電位とその分泌刺激時の変化を調べるという生理学研究を始めた。生物組織は膜と溶液区画からできている。唾液腺の電気現象は電子の移動によるものではなく、イオンの移動に依存する。分泌現象にはイオンと水の輸送が関係する。したがって刺激時の腺の血液灌流法と電気生理学手法の研究を同時に行い、唾液腺のイオンの輸送機構と電気現象から分泌機構を検討してきた。目的は唾液腺は如何なる機構で分泌という機能を持つのかということにある。分泌神経を刺激する実験で、唾液は3.5メートル水柱以上の圧で分泌することを見出し、そのような分泌機能発現についてのいくつかの内部機構を明らかにしてきた。しかし多くの機構は不明なままに残されてきた。

実験研究は知識を整理して仮説を立て、その仮説を能動的に検証するものである。研究はやればやるほど仮説を変更する必要性が生じ、そのかわり色々と違う知識が得られる。さらに信用すべき他人の研究成果を加えるとそれこそ膨大なデータ量となる。それらは收拾が付かなくなるほどに多く収集でき、実験データは相互に矛盾するよう見えたりする。或る説を立てればこちらの説が立たず、こちらを立てればあちらが立たずという事になる。その結果、生命現象は如何に複雑かということが解ったとしても、総合的な理解にはなかなか達することができなくなる。

1975年に入り、研究成果を総合的に理解するする手段としてシステム科学の一手段：回路網熱力学の

研究を始めた。回路網熱力学は分析手段として熱力学を使い、統合手段として工学的な回路理論を用いる。この手段でシステムモデルを統合し、そのシステム挙動をシミュレートすることが可能となる。唾液腺を初めとする各種の生体膜輸送システムがこうした分析と統合を介して理解できる。具体的に生体膜輸送システムを回路モデルとし、そのコンピュータシミュレーションで総合的に理解することが可能となる。この研究では熱力学的な根拠と、回路網の手段を再検討する必要があった。回路網熱力学ではエネルギーというよりは、エネルギーの流、それも仕事に使える有効エネルギーの流であるパワーを基本単位として考える。すなわち熱力学的な根拠は各種のパワー流出入、パワー蓄積、パワー変換、パワー散逸(エントロピー生成過程)の4過程の釣合を考える事で得られることを示した。また回路網の手段としては上記4過程を回路素子で表現し、それらの組み合わせ法を考案することでシステムの統合ができ、シミュレーションができることを示した。

そこでシステムおよびわれわれのシステム認識とは何かということに興味広がる。さらにそれ以前の問題として、われわれの自然についての認識とは何か、われわれは自然を正しく認識できているのか？ という大昔からの問題に興味は広がる。認識について、哲学の問題としてでなく、生物学からの立場から考察する。生物は進化の過程で環境世界に適応してきた。生物の認識機構も進化してきたが、その過程で認識機構はどのように発達し、われわれにいたってどう自然を認識できるようになったかを検討する。環境世界に適応してきたわれわれの認識機構は、それでもって自然のすくなくとも一部

は正しく捉えることはでき、われわれのシステム認識に近い秩序は自然の中に存在すると結論した。またシステムは内部機構とその外部に対する機能役割の両者が解って初めて理解できるという結論をえた。

以上の興味に対する考え方の叩き台として今回の論文を提出する。私の研究経過とは逆に、生物の認識、システム認識、回路網熱力学、モデルとシミュレーションの順で述べていく。この私の意見により新しい論議がおこり、この見解が発展することがあれば幸いである。

## 第1章 生物の認識

### 1. 1 認識機構

生物は環境世界で生き残るために外界を認識する装置を獲得し、それを進化させてきたと考えることができる。従来、認識という概念は人間にだけ適用されるものとされてきた。それはまことに人間を中心とした考え方であって、他の生物の認識機構を認めなかったのである。生物は、環境の物理的、エネルギー的条件が生物の生存にとって不適当となる以前に、存在条件である環境情報を知る。すなわち生物は環境についての情報を獲得し、それらに反応することで適応してきた。情報の入力—反応過程が生物にあることを認識と呼び、そのような生物の認識とはいかなるものなのかを以下に考察する。

ここで情報とは物理的、エネルギー的条件の時間的一空間的、また定性的一定量の微小変化のパターンであって、意味を伝達するものとする。吉田民人氏は、生命登場後の「意味をもつパターンの集合」を広義の情報としている。彼は人間にとって意味を持つシンボル記号の集合を狭義の情報概念とし、自然言語を最狭義の情報概念としている。さらに生命以前にもあったと考えられる物理的、エネルギー的の時間的一空間的、また定性的一定量のパターンを最広義の情報概念の定義としている[1]。しかしパターンを差異の集合と規定すれば、差異を認識する主体の存在を必要とする。さらに意味というものも自律性を持った主体が存在して初めて成立する。したがって情報というものは自律性を持ったものにとってのみ存在することになる。少なくとも物理学の諸法則と呼ばれるものには情報概念は必要でなかった。物理的、エネルギー的条件は生命の有

無に関係なくその存在が考えられるが、生命がない世界での意味をもつ情報は考えることは困難である。以下では最広義の定義を除き、広義の、すなわち生命にとって意味がある情報を「情報」と呼ぶことにする。

環境情報は情報受容器から入り生物の状態を変化させる。まず高等動物についての認識装置をみる。環境からの入力情報は各種の感覚器を通じて動物に入る。神経生理学の教えるところでは、感覚器情報は神経線維を介して大脳の1次感覚野、2次感覚野、3次感覚野、4次感覚野に達する。入力情報は大脳の記憶の領野にも入る。入力情報とは別に脳内部では記憶野等での自律的で自発的な情報過程がある。夢は脳内部の自律的な情報過程であると見られる。神経細胞レベルでも自発的な放電があることが知られている。またそれを抑制する神経細胞もある。伝達情報は自発情報と組合わされる。すなわち記憶野の情報が入力情報に加わる。これら複合神経情報は運動野を経て、さらに末梢の筋反応等の効果器に引き渡される。

各段階において情報は符号化されインパルスとなり、シナプス中継で伝達物質となる。その過程で多数の神経信号が少数の神経信号に収斂し、また逆に少数が多数にと発散する現象がある。このように神経信号は次々と時間的空間的に、また定性的一定量に変容しながら伝達されていく。このように入力情報と出力情報の各々は非常に複雑な処理段階を受けて動物の情報過程すなわち認識行動が成立している。こうして知覚、認識、意識はでき上がっているが、脳がそれら全体像をどうして掴むかは解っていないのが現状である。

ここで強調しておかねばならないことは、神経情報は何段階にもわたって変容して伝達され、しかも脳での自発的な情報がそれらに組み合わせられているということである。したがって物や事象に関する情報伝達は対象のままではありえない。ただしそれらは生物の生存に必要な情報を、素早く、かつできる限り有効に処理する装置になっていることには疑いはない。

スペリーやエクルズの仮説によれば、われわれ人間の認識は脳に言語野があるため他の動物とは異なっている。各種の機能は動物の脳の各所に局在しているが、人間においては左右の脳にも機能に差が

ある。左脳に言語野があり、意識に上る言語、算術、分析、演繹、反省、理論等の論理的で合理的とでもいべき処理装置を持つ。右脳は意識に上り難い非言語、絵画—パターン、音楽、総合、帰納、直感等の発見的で擬合理的とでもいべき処理装置がある[2]。人間の総合認識は、左脳の意識的な合理的装置と右脳の意識下的な擬合理的装置の両者の循環的で、相互に補完する働きにより可能になるとされている。後者には感情が伴いやすいという。人によっては左右が逆転していることもあるが基本として意識に上るもの、意識に上らないものといった脳左右の機能分担がある。言語領がない動物、または言語領の未発達な乳幼児では左脳右脳の認識機能に分担があるとは認められていない。その場合は、一部は意識に上るかも知れないが、主として意識に上り難い擬合理的装置で反射的、自動的、または感情的に認識していると考えられている。そのような認識はさらに下位の脳幹、脊髄での運動、姿勢行動等の無意識の諸反応、さらに反射の情報処理装置にまで及ぶと考える。

次に大沢文夫氏の「細胞の適応を探る」[3]から、ゾウリムシの適応行動について紹介する。ゾウリムシは池に住む体長 0.3 mm くらいの単細胞生物である。単細胞生物であるが、眼点、消化系、排泄系、神経類似繊維を持つ。ゾウリムシは餌であるバクテリアを認識できる。ゾウリムシは障害物を認識し、障害物に遭うと後退し方向転換をする。ゾウリムシは 1 秒間に 2 ~ 3 mm の速さで泳ぐ。障害物がなくてもときどき自発的に方向転換をする。ゾウリムシの方向転換の信号は内部の自発的な膜電位のゆらぎによることが知られている。方向転換は鋭い角度で起こるが、角度は決まっていない。時間間隔、すなわち方向転換の頻度も一定でない。

ゾウリムシは環境温度を認識することができる。一定温で培養されていたゾウリムシはその温度を記憶し、その温度が好む適温となる。培養液に温度勾配をつけた条件ではゾウリムシは適温域のところに集まってくる。これを温度走性行動という。ゾウリムシは適温を記憶し、温度センサーを持ち、それらの温度差が行動信号になると考える。われわれがこの温度走性行動をシミュレートするときは、ランダムに動いているゾウリムシが偶然に適温域に入ると、温度を感知しそこで止まるかまたは泳ぐ速さが

遅くなると考える。そのように仮定をおいてコンピュータ上でこの温度走性行動はシミュレートすると確かに適温域に集まってくる。

ところが観察の結果、ゾウリムシは適温域のところでは止まっているのでも、また遅くなっているのでもないことが解っている。むしろ活発に泳ぎ回っている。しかも方向転換はあまりしていない。適温域の方向へ進むときも方向転換の頻度が少ない。しかし適温域から逆方向へ進むときは方向転換の頻度が多くなる。記憶している適温と環境温度の差が大きくなれば、内部の膜電位のゆらぎが大きくなって、自発的な方向転換をしばしば起こす。すなわち温度情報は走性行動を直接決定するのではなく、方向転換の頻度を変化させるだけである。この行動結果は適温域の方向に泳ぎ、適温域を通過するとしても、結果として適温域近辺のところに集まることになる。

この行動もコンピュータ上でシミュレートできる。シミュレーションではゾウリムシは意志あるものの如くに適温域に集まり、その近辺に分布する。すなわち最適条件で安住するのではなく探索型の行動が促されている。環境は一般に安定なものでなく、常に変動しているものであるから、そこに安住しているよりも探索型行動の方が合理的で巧妙な行動であるといえる。環境の温度情報と内部の自発的な膜電位のゆらぎという情報の両原因があつて、それらの組み合わせで間接的にゾウリムシの探索的な適応行動が決められている。

ゾウリムシを異なる温度の培地に移すと初めは盛んに方向転換する。しかし 2 ~ 3 時間もすると順応して方向転換の頻度は少なくなり、その温度が適温となる。この時ゾウリムシの数が多いほど順応過程での順応時間が短くなる。すなわちゾウリムシが互いに情報を伝達しあっていると考えられている。温度情報ばかりでなくゾウリムシの互いの情報伝達があつて環境に速く順応することができる。

以上ゾウリムシがある環境温のところに集まるといふ行動をみても、それは思いがけなく複雑な機構である。高等動物の認識装置においては外部からの情報と自律的な内部の情報が組合わされ反応があつた。ゾウリムシにおいても環境情報と膜電位のゆらぎという自発情報があつて認識行動が決定されている。

## 1. 2 認識の進化

ローレンツらにより創始された動物行動学は動物の行動が情報となることを明らかにした[4]。動物の行動の多くは社会生活に必要な個体間の情報伝達の機能を担うものである。動物は、生まれつき幾種かの行動様式を示すことができ、かつそれらの意味するところを認識できる。それら学習を必要としない生まれつき持っている発信、受信能力を生得的と呼ぶ。動物の多くは仲間同志の攻撃の信号や連帯の絆を強める信号を出しかつ相互に認識できる。これら生得的な行動様式には摂食、排泄、性行動から攻撃行動や育児行動がある。それら生得的な行動様式を動物社会での威嚇や連帯の信号に転用することもある。信号が発せられた状況において、信号受容者はすばやく認識し、その信号が鍵刺激となって特定の行動を解発(リリース)する[4]。それらはしばしば生得的である。

カントは時間、空間、因果関係といった人間の認識の枠組は経験から得るものでなくアприオリ(先験的)な機構であるとした。カントの説は、この世界の映像を決定している内容、つまり空間、時間、因果律といった直観の枠組は、アприオリにわれわれの精神のうちに見出される。ということは、こうしたアприオリな機構のゆえに、われわれは世界を決してあるがままに経験し得ない、とするものであった。しかし動物行動学は動物の生得的行動は進化の過程で得てきたものとする。したがってカントのいう個体の経験を経ずに生得的に持っているアприオリな機構も、進化の永い過程での期待と経験の循環を介して得てきた後天的な、すなわちアポステリオリな機構ということになる[5~7]。すなわち個体が生得的に持っている機構で環境世界の少なくとも一部は正しく経験できていたことになる。

ここでわれわれは世界の現実性に対しては疑問の余地はないとする。また生物は進化の過程で外界を認識する装置を獲得し、世界の法則性を抽出してきたと考える[4~7]。すなわち秩序ある構造を持った世界は実在し、かつそれらは生物にとって部分的には認識可能であるとする仮説的实在論の立場をとる[2,5~7]。

生物の認識装置は永い進化の時間経過の中で発展してきた。単細胞生物も環境認識装置を持ち、多細胞生物は細胞同志の情報交換もする。さらに人間と

いう分岐に至って高度な認識装置になっているとする。しかし人間といえども世界の真実を究極的に認識できるのではなく、人間に至ってより真実に近く認識できるようになってきたとする。すなわち生物の認識能力は、自然の客観的把握のためにあるのではなく、環境世界で生き残るために進化してきたと考える[5~7]。

生物は試行錯誤を通じて進化してきた。200万種の生物は30億年の進化の時間をかけて分岐し、存在している。こうしてイルカの形態は流体法則を、眼は光学法則を、環境要因と遺伝要因の両者から身につけて進化してきた。それと同じく認識を司る情報処理機構についても、環境要因と内部諸条件の両原因で試行錯誤を行い進化してきたと考える。進化の試行錯誤の過程で、生物は期待と経験を繰り返して得た知識を背景として存在している。

認識における期待とは、内部で自律的に発する知的な構成物であり、実在世界での経験に先行する判断または仮説である。そのような判断または仮説を持って外部世界の経験に当たる。判断または仮説は経験に曝すことで反駁されるかまたは確認される。仮説から演繹的に実際を期待し、批判や実際の経験から帰納的に仮説や理論を修正する。その結果仮説を棄却するか、修正するか、強化する。生物の期待と経験の繰り返しでは常に内部の自律性と環境情報が関係する。

学問の発展におけるモデルと実体、抽象と具体、理論と実際、観念と存在等の循環も、仮説と経験の反復といえる。実験科学では学習や理論から作業仮説を作り、能動的な経験の場としての実験に曝す。ポパーは科学発見において作業仮説は経験で反証可能な形に作る必要があることを強調している[2,8]。仮説は実験で反駁されるかまたは検証される。科学は能動的な仮説と経験の反復ともいえる。

フォルマーは進化からみた認識論はコペルニクスの転回であるとしている[6]。コペルニクスは地球は宇宙の一点であるとした。ダーウィンは進化からみれば人間も200万種の生物の一つに過ぎないとした。さらに動物行動学(エソロジー)では人間の行動も動物行動の進化の結果であるとした。それらは人間中心の見方から全体的世界という広い視野の中に視点を移動させてきた。進化からみた認識論も、生物の認識は進化によって獲得されてきたとして、人

間中心主義を離れて普遍的理解へと視点を転回させる。以下には実世界への適応とする生物の認識機構がいかなるものかについて考察していく。

### 1. 3 生物の期待枠組

生物は進化の過程で、経験に先行する期待、仮説の枠組をいくつも用意し、認識に至る手段としてきた。期待、仮説は常に経験に先行して自律的に作られ、後続する経験によって批判、修正、選択される。一般に生物は制限された情報処理機構しか持っていない。しかし生き残るため、それらでもってできるだけ正しい認識を得る必要がある。経験は情報として感覚器から入るもので期待や仮説の未来にある。過去の経験は期待や仮説に組み込まれて行く。学習において過去の自らの経験の他に、観察、実験、さらに歴史、文化、親、先生、先輩、仲間からの間接経験も期待や仮説に組み込まれてゆく。

まず生得的な期待や仮説の枠組にどのようなものがあり、それらの仮説は経験との循環により如何に変容していくものであるかを検討する。リードルは生得的な期待や仮説の枠組はいずれも迅速で確実度の高い認識を得るためのものであり、同時に省力化も目指しているとしている[7]。期待や仮説の枠組の出発点は「多分こうだろう」という蓋然性仮説である。それと「ああ、あれと同じか」という比較可能性仮説、「A ならば B になる」という原因仮説、および「何かの意図で」という目的因仮説の四つの枠組を生得的に持っているとしている[7]。

(一) 蓋然性仮説の枠組とは、一度出会った経験はある蓋然性をもって繰り返されるであろうという期待である。ここでは確率の高いものを必然と推定し、低いものを偶然と推論する。すなわち明日も陽の上ることを確信し、10個のサイコロが同時に1の目を出すことは有り得ないと考える。さらに直感的、主観的な先行判断も用いる。例えばルーレットに自分の誕生日を賭けたりもする。主観的蓋然性による先行判断は探索的であり、ときに発見、発明がある。

期待と経験、仮説と批判の螺旋状の循環において蓋然性も時間的に変化していく。新しい経験によって期待が、あるいは新しい期待によって経験が変化する。選択的な期待と経験の循環は学習であり、成果を上げれば合理的なものとなっていく。いずれにしても、これらの各種の蓋然性仮説の枠組による期

待を持って行動することは省力的であり、かつ後発経験によって仮説は強化したりまたは修正して有効なものになる。すなわち間違ふことがあるとしても、期待と経験という循環に入ることによって蓋然性仮説の枠組は能動的な意味を持つてくる。

(二) 比較可能性の仮説の枠組とは、いくつかの比較で類似性があれば、他の側面でも類似性があるであろうとする期待である。すなわち経験対象に共在する全てのものを仮説と比較するのではなく、その中の少数のものを抽象化して比較することで判定する。赤さ、丸さ、艶などからリングと判定し、味、匂いまで予測する。比較可能性の仮説の枠組により迅速で省力的な認識が可能となる。この代表はエソロジーでの生得的解発機構という遺伝的プログラムにみられる[4]。親鳥が雛に餌を与えるときのように、嘴の斑点、鳴き声等のほんの二三の特徴が解発因子となって、全体についての判断が下される。そうして親鳥の育雛行動が解発される。この生得的な先行判断は環境が異なると間違ふこともある。しかし通常環境ではまず間違ふことなく種の維持にとって意味を持ってきた。

やや複雑なレベルでの比較仮説の枠組による先行判断に、意識下で抽象化する、ゲシュタルト知覚がある。こうした期待の延長には構造期待も含まれ、草の茂みに見えたライオンの尻尾の先からライオンを予想して、ガゼルが逃げだすことを可能にする。実際、目鼻のみを見て、耳、口のみならず手、足、人体の存在を確信しない人はいない。

比較可能性の仮説の枠組は個体の学習において用いられてきた。この推論の方法は類推と呼ばれ、学習において有効な予見を与えるものである。一を聞いて十を知るという手段は省力化につながる。対象をパターン分けするステレオタイプ的で単純明解な解釈は、間違ふことがあるとしても、好まれるところである。比較可能性仮説の枠組も認識にとって省力的であると共に、無関心に比べるとはるかに有効性を持ってきた。この枠組により事物の類似と差異があることを知らせる。

### 1. 4 原因の仮説

(三) 原因の仮説の枠組とは、似た原因は同じ様な結果をもたらすであろうという期待をもつことである。原因仮説の枠組は「もしAなら、それからBが

つづく」という生命が持つ時間軸と関係した仮定である。原因仮説の枠組は高等動物の持つもので、前述の蓋然性仮説と比較可能性仮説の上に成り立つものである。結果があればそれに先立つ原因について「なぜ」と問うことができるとする。原因があつてその後に結果が起こると因果的に考える。この因果性仮定の枠組を持つことも人間において生得的であると考えられてきた。

アリストテレスは結果に先立つ原因の単一性についての疑義を表明し、四つの原因に区別した。原因の一つ目はその事物の中に内在する物(質料因: material cause)であり、二つ目は外部から与える形(形相因: formal cause)とした。三つ目はその内部で働く力、エネルギー(動力因: efficient cause)とした。四つめは外部からの意図(目的因: final cause)であつて、指令、要請、選別の形でくる目的を原因とするものである。

これら四つの原因は家の建築を例にすると説明しやすい。まず質料因、すなわち建材、瓦、セメント、角材等が内在すべき原因となる。次に形相因、すなわち家としての材料の選択、仕様を決める設計図が外部からの原因となる。第三に動力因、すなわちエネルギー、金、労働力等の消費が内在すべき原因となる。そして第四に目的因、すなわち誰かが家を建てるという意図が外部からの原因となる。家が建てるためにはこれら四つの原因はどれも欠かすわけにはいかない。

われわれ東洋的な多神教の立場からすると、複数の原因が一つの結果を生み、一つの原因も複数の結果を生み出すという考え方は受け入れ易い。西洋的な一神教の立場からすると、単一の結果を生む究極の原因があるとし、四つの原因のどれかが第一原因であるかを探索したくなる。アリストテレスは四原因の中から目的因(究意因)を原=原因とした。一方ガリレイとニュートンに始まる科学では動力因に原=原因を求めた。

質料因と動力因はシステムに内在しなければならぬ原因であつて、それらを纏めて内在原因または内部要因と呼ぶことにする。形相因と目的因はシステムの外部に存在する原因であつて、それらを纏めて外在原因または環境要因と呼ぶことにする。ここで内在する物(質料因)は外部から与える形(形相因)を拘束し、形相因は質料因を拘束するものであるこ

とが解る。一方動力因は目的因を拘束し、目的因は動力因を拘束する。すなわち内在原因と外在原因の関係を見ると、内在原因が外在原因を拘束し、また逆に外在原因は内在原因を拘束することが解る。したがって外在原因と内在原因はどちらが第一原因であるかと考えるより、相互の拘束またはフィードバックする両者の関係を考えることになる。

生物の形態について考える場合、イルカと魚が流線型をしているという相似がある。相似は外在原因となる環境要因からの要請の結果であると考えられている。一方イルカの前ヒレとイヌの前足が起源が同じであるという相同がある。相同は内部要因である遺伝的要請の結果であると考えられている。したがって(環境)と(遺伝)といった相互拘束またはフィードバックする2つの原因の関係を考える必要がある。さらに無生物であっても(環境要因)対(内部要因)の相互拘束を考える必要がある。この両者の内どちらが第一原因であるとはいえず、両者を共に認めることになる。

相互拘束する内外の原因項の一方の条件を固定してみる。たとえば内部要因を固定すれば内部機構の条件内において、環境要因が原因となって対象の機能が決まる。例えば潮流に対するイルカのスピードが決まる。また環境、境界条件を固定すれば環境の要請する範囲内で、内部要因を原因として機構が決まる。例えばイルカとオットセイの機構が決まる。イルカの、鯨の、またオットセイの流線型のいずれも可とする。

自然科学は境界条件が一定の、目的や意図とは関係のない対象を手がかりとして始まり、大きな成功を納めてきた。あらゆる自然現象は内在原因が結果と結ばれるものであつて、どこにも意図—目的を持ったものはないとされてきた。こうして内部要因のみの因果関係を機構とした説明、推量、法則が得られ、それらが必然的でかつ経験と矛盾しないことから自然法則と呼ばれるまでになってきた。境界条件が一定とする限りにおいて、また内部要因をほとんどと下位に求めて行かない限りにおいて、内部要因を第一原因とする因果性は妥当性を持ってきた。

#### 1. 5 目的因の仮説

(四) 最後の目的因仮説の枠組とは、似た機能は似た要請に仕えるであろうという期待である。似た機

能は似た目的があつて作られてきたと判断する。われわれは、何事についても、誰かの、または何らかの意図があつたに違いないと考える習性を持っていることは否定できない。すなわちある外部存在者の目的が原因となつてそれが実現したと考える。人間や動物は意図、目的を持って行動しそれが原因になることがあり、目的因仮説は経験とも矛盾しない。

しかし人間や動物がもつ目的を別とすれば、自然界のどこにも意図—目的を持ったものは存在するとは考えられない。意図—目的を持ったものは存在しない場合にも目的因仮説の枠組は妥当性をもつのだろうか？ 永い間、神の持つ究極の目的が存在すると信じられてきた。19世紀には進化についても神の意図する進歩の概念と結ばれていたこともある。ティヤール・シャルダンも神の意志であり、人間の思考反省の能力等は、進化が究極のオメガ点に向かっていることを指していると考えた[7]。しかし進化は収束せずに200万種の生物に分岐し、各々が存在している。

目的とは上位または外部からの要請、制限、選別が存在することを意味する。鍵はドアを閉めるという目的のためにある。ドアは家を閉めるという目的のためにある。家は人の住むという目的のためにある。という具合に目的は上位または外部にあるものによって根拠づけられている。すなわち上位または外部条件が下位に目的を与えている様に見える。このように目的というものには目的を与える側と受け取る側がある。与える側の目的を受け取る側の機能が果たすのであつて、受け取る側が同じ目的をもつと考えると混乱を起こす。機能が目的に一致しないときは、目的を与える側が一致しない要素を排除する。したがって通常、与えた側の目的と受け取る側の機能が一致する。目的因仮説といった場合、それはあくまで外部の存在が持つ目的をいう。受け取る側は単に機能または作用を持つだけで目的を持っているわけではない。

アイゲンの説得力ある目的の自然史を見ると、核酸と蛋白の相互作用を原因として生命が誕生した。核酸は遺伝情報の担い手として機能し、蛋白は生命過程の担い手となって機能する[9]。すなわち、核酸の内部機構が蛋白製造の原因であり、蛋白の内部機構が核酸製造の原因である。蛋白があるとき核酸は有機体の構造を指図するという目的をもつ。核酸

があるとき蛋白は核酸の遺伝因子を複製するという目的をもつ。かくして生命現象が目的論的に理解される。

カニは「なぜ」鋏を持っているのか？ 柑橘類は「なぜ」刺を持っているのか？ われわれは自然現象について常に何かの意図を問いたくなる。カニは餌を取るための鋏を持つ。柑橘類は実を守るために刺をもつ。岩場で産卵する海鴉の卵は一方が極端に細くなつていて、また斑点を持っている。すなわち転がり難い形態を持ち、保護色になっている。クモの巣やミツバチの巣は、それぞれの行動の産物である。そしてそれらの機能は一目瞭然である。目標設定が存在すると仮定すればそれが原因になって機能が発現したと理解できる。

ここで何が目標の設定をなしたかと考えると、それは生物個体や生物種が目標を設定したのではなく、生物進化がそれを行つたことをわれわれは知っている。それらは生物の永い進化の結果であり、遺伝物質の中に保存されきた。環境要因の要請に合ったものがその適応結果として存在し、適応存在しているという結果が適応目的を与えられていたかのように見える。

適応を起こさせる環境要因は対象の機能、形態を試行して不適当なものを除外し、適当なものを維持する。外部に目的を持つものが存在するときも、やはり選別という除外機能と維持機能がある。一方内部機構をみると、進化の過程において遺伝子の形で形態と行動様式は親から受け継いできた。そこに変異という試行が挿入される。変異が生存許容範囲であればその優劣により自然淘汰を受ける。このようにして生物進化が試行し、環境要因や目的因がその錯誤を明らかにする。生物の試行をチェックするという意味で、環境要因と目的因は共通性がみられる。

生物が存在しているという結果は、数え切れない程の多数の環境要因すべてに対し適応してきたことを意味する。多数の環境要因に適応して存在しているものは、当然その一部である目的因と考えるものにも適応している。したがって、目的因をどんどんと上位に求めて行くことは、システムレベルによって変化する多数に上る環境要因の一部を選び、それを次々と上位に求めて行くことを意味し求めべくもないことが解る。

前節の因果仮説のところで述べた(環境)対(遺

伝), (境界条件) 対 (内部条件) といった外在原因と内在原因の相互作用がここでもでてくる。「どのような機能を?」という問いは外部への作用に対してであり, 外部にあると考える目的因にも共通する問いである。存在条件として環境要因を目的と読み替え, それに対する機能を考えれば, これが目的因仮説となる。機能を要請したと考えた目的因が, 実は外部の制限, 選別, 淘汰をする環境要因の一部に過ぎないことが解る。こうして目的因というものが環境要因の一部を選んで擬人的比喩的に読み替えたものであることを知る。

対象を目的論的に思考することはある意味で省力的である。生物学の理解において「どのような機能を持っているか」という科学的目的論 (teleonomy) は一定の役割を果たしてきた。また今後も果たすと期待できる。しかしそれが唯一の目的因ではないことは念頭におくべきである。環境要因の中からどのような目的も指定することができる。したがって抽象的でその実在性があいまいな形而上学的目的論 (teleology) すらも個人が信じるのが可能となる。しかしそれが集団的な「確信」になるときは危険がある。このとき与えられた目的のためには手段を選ばずといった, 悪しき原理主義者の行動もしばしば起こり得ることになる。

次章のシステム認識では「どのような内部機構が存在し, なんのために機能しているのか?」という問いが重要となることを述べる予定である。

## 第1章 「生物の認識」のまとめ

生物の認識は環境世界で生き残るための装置である。われわれ人間の認識能力にしても, 世界の客観的な把握のためにあるのではなく, 環境世界で生き残るために進化してきた。永い進化の過程で, 生物の認識装置は自発的な期待と現実での経験の繰り返しによってでき上がってきた。すなわち自発的情報と環境情報による修正の循環で作り上げられている。したがってこの認識装置で少なくとも世界の一部は正しく理解できていることになる。

自発的情報は期待または仮説であって, その枠組には生得的に持っているものがある。それらはいずれも迅速で, 確実度の高い認識を得るためにある。生得的な認識の仮説枠組は4つがある。まず蓋然性仮説と比較可能性の仮説がある。これらにより類似

と差異を知る。さらに生命が持つ時間軸と関係した原因仮説の枠組があり, 「AなればB」といった因果的な認識をする。しかし原因と考えるものは認識対象の内部にあるものと外部からの要請の形でくるものの2種が区別できる。すなわち内部機構から発する原因と, 環境要因からくる原因がある。

さらに生得的な認識の枠組として目的因仮説がある。すなわちわれわれは外部の存在者の目的が原因となったと目的論的に認識する習性がある。目的をもつ存在者が存在しない場合でもそう考える。科学では原因を内部機構に求め, 目的論的な思考を極力排除してきた。しかしわれわれは原因には内部機構から発するものと, 環境要因からくるものの2種があること認めてきた。環境要因からくる原因の一部を, 擬人的比喩的に, 目的と読み替えれば目的因仮説も一部妥当性を得ることになる。実際「どのような機能を持っているか」という科学的目的論 (teleonomy) は生物学で一定の役割を果たしてきた。さらに生物に限らずシステムの理解で「どのような内部機構が存在し, どのように機能しているのか?」という問いが重要となることを第2章「システム認識」で述べる予定である。

## (1章) 参考書

1. 吉田民人, 『自己組織性の情報科学, エヴォルーションのウィーナー的自然観』, 新曜社 1990 東京
2. カール・R・ポパー, ジョン・C・エクルズ, 西脇与作, 大村裕訳, 『自我と脳上下』思索社 1986 東京
3. 大沢文夫, 「細胞の適応を探る」, 日経サイエンス 5, 1994 p28-33
4. コンラート・ローレンツ, 日高敏隆, 久保和彦訳, 『攻撃; 悪の自然誌』上下 みすず書房 1970 東京
5. コンラート・ローレンツ, 谷口 茂訳, 『鏡の背面』上下 思索社 1974 東京
6. ゲアハルト・フォルマー, 入江重吉訳, 『認識の進化論』新思索社 1995 東京
7. ルーベルト・リードル, 鈴木達也, 鈴木 直, 鈴木洋子訳, 『認識の生物学』思索社 1990 東京
8. カール・R・ポパー, 森 博訳, 『果てしなき探求; 知的自伝』上下 岩波 1995 東京
9. マンフレート・アイゲン, ルーチルト・ヴィンクラー, 寺本 英, 伊勢典夫ほか訳, 『自然と遊戯—偶然を支配する自然法則—』東京化学同人 1981 東京

## システムの認識と統合 2

### 第2章 システム認識

#### 2. 1 システム認識の必要性

鴨は空を飛ぶ鳥の形、スピード、方向、距離からそれが鷺か鷹であって危険な猛禽であるのか、または鴉か鳶であって危険のない鳥かを判断する。さらに模型実験を繰り返すと、鴨はそれが現実のものであるか、実験者が行っている仮想のものかも判断できるようになる。この時は必ずしも省力的といえない高度の認識法を用いている。そこには思考と学習を踏まえたシステム判断またはシステム認識の萌芽とでもいうべきものを見る。高度で複雑な判断を必要とするときは思考と学習の上の複合的なシステム判断が必要となる。

さてシステム認識とはどういうものを指すのであろうか？ またわれわれの認識通りのシステム秩序というものが現実世界に存在するものであろうか？ 以下では経験する現実世界の秩序とわれわれのシステム認識との間の無矛盾性を問題としていく。

人間が意図一目的を持って素材と計画から作りあげた人工システムはシステムとして認識しやすい。すなわち、意図を持って要素を統合してある目的を果たすシステムに作り上げる。意図を理解すれば対象の機構と機能が理解可能となる。以下では機構(しくみ, mechanism)と機能(はたらき, function)という語は区別して用いる。複雑なシステムは、単純でない仕方で相互に関係し合う多数の部品から成り立っている。自動車、建物、コンピュータもそうして全体としての機能を意図して作られてきたものであり、かつ複雑とはいえ理解できる。そうした要素と要素の相互作用の上に出現するものをシステムと呼び、システムとして認識する。すなわち、人工システムでは人間が与えた目的を果たすことを第一義とする。

一方自己組織化的に進化してきた生物を対象として、われわれはシステムとして認識する。生命科学は物理学を範とした分析的、還元論、内部因果論による機構についての研究により格段の進歩を遂げてきた。また今後もこの手段で進歩してゆくことには疑問の余地はない。しかしそこでは環境要因がしば

しば考慮の外に置かれていたことを想起しなければならない。したがって多数の環境要因のもとでの生命システムが、どのような機能を持ち、内部機構としてのどのような複雑な関係または相互作用を持って環境適応してきたのかを検討し、対象をシステムとして認識することが必要となってくる。

生物対象のみならず、物理的規模が大きくなり、複雑度の増大している自然についてもシステムとして認識する。この場合、対象を要素の関係や相互作用からまとまりのある機能を持つものとして取り出してシステムと呼ぶ。システムとして認識することで、単純でない仕方で相互に関係し合う多数の要素の関係を知り、全体としての機能を理解する手立てとしてきた。生物、物理、化学、工学、社会、経済、言語、記号、建物、都市、通信、河川、森林、地形、生態系その他諸々をシステムとして把握する。このように多種多様なシステムが考えられるが、それらは何らかの重要な特性を共有しているのであろうか？ 共通する特性または法則性といったシステムの性質を抽出することは可能であろうか？

ベルタランフィーは『一般システム理論』でシステムに共通する特性または法則性を抽出することを目指し、各種システムの同形性ことに数学的同形性を強調した[10]。『システムの科学』の著者サイモンは、複雑なシステムの階層的な概念的構造、階層性と進化の過程で形成に必要な時間との関係、動態的な特性、さらに複雑性についての理解可能な記述、ことに状態記述と過程記述の必要性を強調している。しかしベルタランフィーよりもう少し懐疑的な立場から、とてもシステムの性質の一般化は期待できないように思われると述べている[11]。一方 G. M. ワインバーグはシステムとは単に思考空間における物の見方であるとしている[12]。しかし、われわれは多種多様なシステムをシステムという名で呼ぶことはできるから、システムとしての認識の仕方に共通性があり、対象にもそれに近い秩序があると考えられる。逆にいえば自然界の秩序の思考空間での考え方がシステム認識であり、われわれのシステム認識と経験する現実世界の秩序との間の無矛盾性を問題としていく。パターン認識やゲシュタルト認

識は、多くの要素を並列的に知覚し、組合わせて意識下で把握できる。統合的なシステム認識もそれらに似ていて、意識下で認識可能であるが、論理的な直列的な言語化、理論化することが困難な概念であるのかも知れない。とはいえ自然システムを理解していくために、多種多様なシステムに共通する一般性があると考え、その特性または法則性をできる限り普遍化していくことが必要である。

## 2. 2 システムと環境

システムをもっとも単純に定義すれば、世界の一部を明確に限定されたシステム境界を持ってその他の残りの部分(環境)と分離したものである。物理学でシステムを考察するとき、その環境を境界条件として設定する。物質の出入りがなく、熱と仕事の出入りする閉鎖系に対して、境界条件として環境の温度と圧を設定する。物質の出入りのある開放系に対しては、境界条件として環境の温度と圧以外に、環境に存在する成分を含めたあらゆるエネルギー種を考える。成分を考える場合、数十種の原子の組み合わせからなる多数の分子種を考慮する必要がある。すなわち、各種の成分濃度、pH、イオン強度等が境界条件となる。しかし通常、単純化のため環境は均質であると仮定する。

生物は開放系であり、物質を含むエネルギーの出入り、各種情報の出入りに対して開かれている。温度、圧以外に重力、光等の電磁波およびあらゆる成分濃度等のポテンシャル変数の物理的、エネルギー的条件を環境として考える必要がある。生物にとっての現実の環境は、大気のように温度、圧、ガス分圧がほぼ均質で、かつ一定である部分もあるが、液体や物質のその他の大部分は不均質に分布している。その意味で物理学で仮定した均質な境界条件というものと、生物の現実の環境は著しく異なることは十分に強調しなければならない。生物システム自体は極度に複雑で、不均質な構造を持つものであるが、環境もそれ劣らず複雑で不均質な構造を持つ。この構造の中に構造があるという見方は、後に述べるシステムの中にシステムを見るといったシステムヒエラルキーの概念構造と共通する。不均質な構造をもつ生物と不均質な環境の両者の相互作用が生命存在にとって重要となる。

環境が如何に対称性のない不均質な構造を持って

いるかはわれわれの周辺を見渡せばすぐに理解できる。重力にもとづく上下がある。太陽光の変動にもとづく周囲という方向がある。動物に限らず植物も上下、方向を感知できる。環境の成分条件が気相か、液相かまた固相かといった相条件で異なったものになる。さらに流体では圧、流速も問題となる。このように見てくると生物にとっての環境は各種エネルギーのポテンシャル変数と共にその不均質で巨視的な条件も関係することが解る。環境中のあらゆる成分の濃度は生物に重要である。生物では気圧と共に酸素、炭酸ガス、水分の濃度が重要であるし、植物にとっては水、炭酸ガス濃度と共に日照時間は大きな要因となる。動物にとって、高分子の食物のみならず極めて多種の分子またイオンの有無は酸素の存在と共に決定的である。

多細胞動物にとっては食物はある相対的な大きさと量を必要とする。環境の物質成分が不均質に局在していることと、取り込み装置と放出装置を持っていることから、動物は栄養価の高い食物を摂取することもできるし、栄養価の低いものを排出することもできる。比較的均質な環境とみられる液体中の細胞や単細胞生物は幾種かの成分の取り込み装置と放出装置を持つことで環境に適応している。細胞は細胞膜の不均質な構造でエネルギーの流を可能としている。

環境要因は変動する。太陽光は日内変動と季節変動がある。それにより環境の温度は変動する。さらに寒帯の $-30^{\circ}\text{C}$ から熱帯砂漠の $+70^{\circ}\text{C}$ 程度の地理的変動がある。環境要因としての圧は海底の数百気圧から、平地の1気圧、高山の数分の1気圧の変動がある。生物活動が逆に環境を変化させる場合がある。植物は炭酸ガスと水から酸素を作り、動物は酸素と食物を使って炭酸ガスをつくることにより相互の環境を変化させている。生物はこのような不均質で多数にのぼる環境要因とその変動に曝され機能を獲得し適応してきた。

生物や人間の行動は他の生物の環境要因となる。200万種の生物の存在と行動は他の生物に対する環境因子群となる。育種家が行う選別は人為淘汰という環境要因になる。さらに遺伝子操作という新しい環境要因もできた。雄のクジャクの羽根の機能形態のように雌の持つ意図も環境要因となる。雌の淘汰という環境要因が遺伝物質の中の僅かな変異を永い

時間をかけて増幅させる。これは性淘汰として知られている。社会、人間、動物、微生物から無生物現象にいたるまで、それらの存在と行動が発する情報が環境要因となる。情報である家庭、対人関係、社会、教育、理論、文明や文化は人間の環境要因である。実際、文明のある環境下にいる人を文明人と呼び、野蛮な環境にある人を野蛮人と呼ぶ。ダーウィンはフェゴ島からロンドンに連れてこられた現地人が文明に順応し、またフェゴ島に連れ戻されて野蛮に順応したことを見ている。

動物も植物も移動して環境を選ぶことができる。環境に対して生物が時間的に速く反応する場合、それを適応行動 (adaptive behavior) と呼ぶ。気候風土に対する適応のように時間のかかる反応は順応 (acclimation) と呼ぶ。進化の過程のように、さらに時間軸の長い適応で、変化が遺伝子に組み込まれる場合は馴化 (acclimatization) と呼ぶ。適応行動も順応も生活の方向性といった生物側の自律性、主体性が認められる。しかし馴化については、偶発的な突然変異と環境による淘汰によるとされている。生物の自己組織化、自律性、主体性を認めるのであれば、それらが馴化の過程でなんらかの役割を持つことも期待できる。

生物世界を構成する種は、環境に働きかけると同時に環境から働きかけられるといったぐあいに生きてきて調和を持っている。個体、種のいずれのレベルにしても、生物側の試行と環境による選別、また環境からの圧力と生物側の再試行の循環が進化の過程であった考えることはできる。したがって環境が生物を選別し、環境に対して自律的にまたは偶発的に生物側が変化を採用することで適応が成立すると考えることができる。

## 2. 3 自己組織化と自律性

生体システムは不均質な構造を持つ。またエネルギーと情報の出入りに対して開かれている。ここでエネルギーは物質とエントロピーを含むものであり、有効に利用できる部分とできない部分がある。有効エネルギーはシステム内部で蓄積、変換さらに散逸の過程に入る。そこで何種類ものの輸送、反応等といった複雑なエネルギー相互過程がある。また情報も交錯している。すなわちサブシステム同志の間でエネルギーと情報の相互作用がある。またシス

テムと環境との間でのエネルギーの交換があり、熱力学的には非平衡の状態にある。

生物システムの内部機構は自己組織化によってできたもので、自律性または主体性を持っている [13]。自己組織化ではシステムを介するエネルギーの流を必要とする。ここでエネルギーの流について説明が必要かもしれない。エネルギーの流があるということは、そこにポテンシャル差があることを意味し、ポテンシャル差のあるところでのエネルギーの流は仕事に使えるか、またエントロピーを生成することのできるエネルギーになる。それを有効エネルギーと呼ぶ。有効エネルギーは全エネルギーから無効エネルギーを差し引いたものであって、ここで無効エネルギーとはシステムで仕事に使えないエネルギーまたはエントロピーを生成することのできないエネルギーをいう。この熱力学的な詳細は次章に譲る。

有効エネルギーがエントロピーを生成する過程でシステムは散逸構造をもち、そのポテンシャルレベルは環境と異なるものになる。こうした散逸構造やポテンシャルレベルは環境からのゆらぎに対して安定性、柔軟性を持ち、このことを自律性と呼ぶ。自律性をもつシステムは環境のゆらぎに対しても対応できる。また生物システムでは自己再生、自己創出、自己決定をする。

生物に限らず自己組織化する開放システムは散逸構造を持つ。プリゴジンらによるブルッセレーターは概念的な振動化学反応であって、非生物の散逸構造の例として有名である [13]。ブルッセレーターは基質 A、B のある反応槽で、反応生成物である X、Y の濃度が振動する。ブルッセレーターは次のような反応機構で進行する。 $A \rightarrow X \rightarrow E$ ,  $B + X \rightarrow Y + D$ ,  $2X + Y \rightarrow 3X$ 。この3つの反応の中、3つめが自己触媒的な反応である。この場合、ポテンシャルの高い A、B の消費とポテンシャルの低い D、E の生成というエネルギー過程がある。X、Y はそれらの中間のポテンシャルレベルにある。この反応機構は時間経過で中間生成物 X と Y の濃度が反応槽内で振動し、自発的な自己組織化現象を作る。すなわち反応生成物である X の濃度の自乗と Y の濃度に依存する非線型反応を起こし、その結果として自発的振動現象という時間的な散逸構造が出現する。この反応は次の BASIC プログラムで再現することができる。単純化のため反応速度係数をすべて

1 としている。

```
A = 1 : B = 2.7 : dt = .02
FOR i = 0 TO 3000
  X = X + (A + X * X * Y - (X + B * X)) * dt
  Y = Y + (B * X - X * X * Y) * dt
  PSET (150 + X * 75, 400 - Y * 75)
NEXT
```

ここではXとYの濃度変化という反応結果が自己触媒的に反応へポジティブフィードバックまたはネガティブフィードバックが掛け、自己組織化的な振動が起す。すなわちブルッセレーターの例では内部の反応機構が液槽の濃度変化を生成し、その濃度変化が逆に自発的な反応機構に変化を起こして散逸構造がでている。ここでは有効エネルギーの流を必要としているが情報は考えなくてもよい。

次に生物の自律性の由来について考察する。前章で述べたように、生物は、環境の物理的、エネルギー的条件が生物の生存にとって不適当となる以前に、その徴候である環境情報を認識することで生存している。自己組織化では有効エネルギーの流が必須であるが、これに内外の情報が加わると自律性が顕著となる。ゾウリムシは適温域に集合する温度走性行動という自律的な機能を持つ。ゾウリムシが移動した局所の温度情報から、適温方向であれば方向転換の頻度を少なくし、逆方向へ進むときは頻度を多くするという機構を持つ。内部の自発的な方向転換という機能と外部情報が方向転換頻度に変化を与えるという機構から、結果的に自律的で探索的な行動が出現している。もし当初仮定したように、ランダムに動いているゾウリムシが偶然に適温域に入ると、温度を感知しそこで止まるかまたは泳ぐ速さが遅くなることを温度走性行動とすると、これは他律的な行動となる。システムが自発性を持ち、そこに環境の情報を取り込まれると自律性と見られる行動になる。

筋肉は自律的に一定の緊張状態を保つことができる。これは意識に上らない脊髄の伸張反射の結果である。遠心性の運動神経細胞の自発放電により筋が収縮していて、同時に筋内の筋紡錘からの求心性の情報自発放電を制御して筋緊張が保たれる。このとき外部から筋に力が加わると、筋紡錘からの求心性放電が多くなり、新しい筋緊張状態に移る。すな

わち自発的な収縮機構に筋緊張情報のフィードバックが掛かり、自律的な筋収縮という機能がでる。

システムに有効エネルギーの流があり自己組織化がでて、環境のゆらぎや内部のゆらぎについての情報によるフィードバックがあって自律性がでてくる。機構が機能を生み、機能が機構を変化を与えるという循環が自己組織化であり、そこに情報が加わって自律性が現れる。すなわち低レベルのシステムでは自律性に必ずしも意識の存在を必要としない。こうして各レベルの自己組織化的な試行錯誤で自律性が得られ、生物システムの進化の過程においてより大きいシステムの自律性は現れてきたものと考えられる。

## 2. 4 機構と機能

システムの成因としての内部要因と環境要因という2つの原因をもう一度考えていく。この2つの原因に性質の違いがあることは注意しなければならない。システムの内部要因は必然的に機構(しくみ)を決定する。したがって内部要因の変化は機構を変化させ、その結果として機能または作用を変える。これに対しシステムの環境要因は対象に機能(はたらき)を要請するものである。環境要因の変化はシステムに対して機能の変化を要請し、したがって2次的に内部機構の変化を要請する。しかし目標というものが、多くの異なった途を経て同じように到達できるように、機能も多くの異なった機構、手段で実現され得る。環境要因の要請は機能発現のための機構、手段の差異については無頓着である。外部に対する機能さえ満足されればよい。

内在原因に対してそれは「如何にして? どのような内部機構で?」という問いをだし、外在原因に対してそれは「何のために? どのような機能をもつか?」という問いを発する。すなわち自然やシステムについては「かくかくの内部機構を持って、しかじかの機能を」と考えて理解が完了する。システム認識では内部機構とその外部への機能の両面の理解が必要である。

生物学において問題を創り出すことが、時に解答を得ることより重要である。問題を見出せばいずれ解答を得ることができる。生物システムの問題も「どのような内部機構が存在し、なんのために機能しているのか?」という形で作る。ローレンツは動物の

行動についても「どのような仕組みが存在し、なんのために働いているのか?」、さらにそれらは「どのような進化の過程で得られたのか?」を考察する必要のあると述べている[4]。前章の生物の認識についても機構、機能、進化の3側面から考えてきた。

対象を固定化したシステムに「どのような内部機構が存在するか」と問いは常に正当性を持つ。したがってある研究対象について、その内部機構を実験条件下で明らかにできる可能性はある。しかしその時の実験条件が環境要因を構成しているのです、その対象が自然条件に置かれた時「どういう機能をもつか?」また「どのような進化の過程で得られたのか?」という問いに、常に答えが得られるとは限らない。このことは分析的な実験研究で常に念頭に置く必要がある。

## 2. 5 システムとサブシステム

存在が認識できる対象について、システム境界を作り内部をシステムとする。システム境界の外を環境と呼ぶ。しかしシステム認識といった場合、単に境界で仕切られた世界の一部の認識というだけではなく、その内部の多くの要素の相互作用の結果が持つ自律性を含めた複雑な機構と、外部の多くの環境要因に対する機能を問題としなければならない。

われわれは自然システムの中に深い概念的階層構造(ヒエラルキー)を見る。どの階層レベルを選んでも、システムとして認識することが可能である。すなわちシステムは相互作用を持つサブシステムの集合に分解することができ、サブシステムはさらに下位のシステムに分解できる。そこで下位システムの相互作用は上位システムのために機能している。下位システムは他の下位システムと協同して上位のシステムのために働き、上位のシステムの目的のため下位システムが働いているように見える。すなわち相互に作用するサブシステムへの分解可能性、および上位の目的と下位の機能が繋がれた階層構造がシステムの特性の一つとなる。この階層構造の概念は、不均質なシステムが不均質な環境の中にあるとする考え方でもある。

目的因仮説は制限、選別、淘汰といった環境要因の一部にすぎないことは述べてきた。一方われわれは似た機能は似た目的に仕えるものであり、似た意図によって作られてきたと考える習性をもつ。目的

因はそれに対する単一の機能を要求する。しかし環境要因に多くの異なる機能を要求するもので、神ならぬわれわれではそれら全てを数え上げることはできない。環境要因の一部を選んで目的因とし、対象の持つ機能を目的論的に認識することはある妥当性を持っていることを以下に述べる。

私は、私が講義または研究をしているとき大学の一要素であり、大学から目的因を受けている。しかし私が「町を美しくする運動」の清掃作業に従事したり、自治会役員の一人であるときは町内会から目的因を受けている。私が家庭にあるときは家族から目的因を受けている。このように環境が異ると目的因も異なったものを推定することが可能なる。すなわちシステムに対する唯一の目的因というものは決定することできない。しかし逆に環境要因として考えられるものは、いずれも目的因の候補になりそれに対する機能を考えてシステムを固定することは可能となる。大学教員としての私、町内会の私、家庭における私、いずれにしても私というシステムを固定することができる。

環境要因または目的因の選択が恣意的であるが、システムを選べばシステムの範囲を限定することができる。すなわち境界線を引くことができる。世界地図から日本を選ぶことができる。地図上の日本は東京その他各地を含み、東京は各区、市町村を含む。選ばれたシステムはそれより下位のシステム全てを物理的に含む。またそれ以外のものは含まない。システムの規模は常に有限であり、システムは環境との間を概念的なシステム境界で仕切ったものとなる。自然システムの全概念的構造はツリー状の階層のものでなく、システムの外部に上位システムがあり、システムの内部にサブシステムがあるといった、環境要因に対する機能と内部要因による機構が縦横の格子状に繋がれた網目を考えることになる(第1図)。上下システムレベルの縦方向の線が機能(はたらき)の繋がりを示し、サブシステム同志の横方向の線が機構(しくみ)の繋がりを示す。

ここで目的と見たものは前章で述べたように、多数にわたる外部の環境要因の一部を選んだものであることは言うまでもない。特定の河川というシステムの自然環境要因は天候、雲、湿度、地形、降水、森林、野原、動植物、人間、田畑等である。河川の一つの機能は、陸上の降水、積雪、湿原での蓄水を、

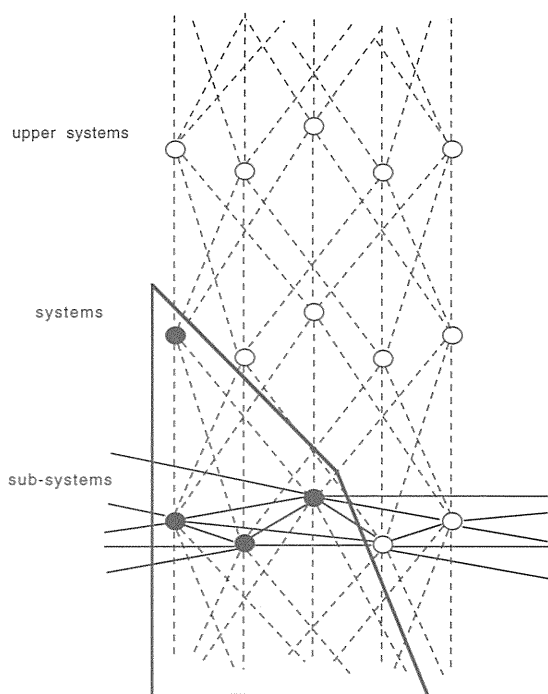


Fig. 1.

蒸発機能を持つ湖沼または海へ還流することにある。このとき河川の水に含まれるすべてものは流水と共に運ばれるため河川は土壌形成の機能も持つ。同時に陸上動植物の水資源、水性生物の生態環境系等の機能役割も持つ。人間的な目的因から見た河川の機能は治水、農業用水、工業用水、上下水道、交通、運河、観光、電力等々である。

上記各機能は、河川のサブシステムとしての山地、森林、湿原、田畑、地下水、流路、小川、堤防、滝、ダム、河川、河口およびそれらの流量、土壌、動植物相等といった内部機構の相互作用をもって実現されている。

一般に多数の環境要因の中から一つを恣意的に目的因として設定し、一つのシステムを指定する。河川の例をとれば治水、用水、水道、交通いずれを目的と考えても誤りではなく、一つの川システムを指定できる。また自然環境要因への機能のいずれかも目的となり得る。こうして特定の河川をシステムとして選ぶ。恣意的に一部の目的、機能から選んだシステムは、当然その機能でもってシステムの全体性を規定することができない。

システムの全体性を考えるときは一部の機能からではなく、内部要因を構成する内部機構を対象とす

る必要がある。自然システムの全概念的構造は網目の格子状構造のものであることを述べたが、システムを指定した場合には通常の意味での概念的ツリー構造となる。すなわち指定したシステムとは相互作用する概念的ツリー構造を形成するサブシステムの集合に与えた名前である。サブシステム以外に加わるものはない。すなわちシステムを構成するサブシステム以下の階層の全てを含むものになる。したがって、サブシステムを内部要因とする機構を考える。

サブシステムに入る外部からのエネルギーの総和がシステムに入るエネルギーとなる。サブシステムに入る外部からの情報の総和がシステムに入る情報となる。システムは環境に対して機能を持つものとしたが、それはシステム内部のエネルギーと情報の過程が自律性ある内部機構となって発現し、その結果として環境要因に適応している。したがってシステム内部機構を構成している構造、エネルギー流と情報流からシステムを考える。

## 2. 6 システムの概念構造

システム的环境への機能を見ると動的エネルギー側面を主とするもの、物質構造側面を主とするもの、また情報側面を主とするものがある。それぞれを人工システムに例えると自動車のように動的エネルギー機能を主とするもの、建築物のように物質構造機能を主とするもの、コンピューターのように情報機能を主とするものがある。一般にシステムはそれら3側面の機能と機構を常に併せ持つものである。生体システムについてもエネルギー、構造、情報の3つの機能と、それらに対応する内部機構を持つ。

エネルギー側面からシステム内部機構を見るときは熱力学法則であるエネルギー保存則とエントロピー生成則に従うことが期待できる。これら熱力学の因果関係を考えれば、どのようなシステムであっても、またどのシステムレベルであっても、そのシステムの全体性を熱力学で保証することが可能となる。したがって対象とするシステム内部機構については熱力学的考察からその全体性を保証し、それに物質構造側面および情報側面を付け加え、システムを考える手段とし、それら内部機構による外部への機能を検討していく。

システム認識についての以上の考察をまとめると第1図のように図式化できる。システムは少数または中程度の数のサブシステムの相互作用からなるが、第1図では単純化して3つのサブシステムから成り立つシステムとしている。各レベルのシステムを丸印で示し、システム階層を上から上位システム、システム、サブシステムと呼べば、認識上で、上位システムとシステム、システムとサブシステムの間の機能的関係といった、循環的な相互条件の構造を考えられることになる。第1図において、縦方向の細い点線で上下システム間の目的因(機能要請)―内部要因による機能といったシステム認識上の循環的格子条件を示している。縦方向の細い点線で示した目的―内部要因といったシステム認識上の循環的格子条件では、システムの全体性を保証することはできない。

網目状の横方向の実線でサブシステム間のエネルギーと情報の流の機構的な因果関係を示し、サブシステムの相互の流と開放性にもとずく外部との交流を表現している。横方向の繋がり方は概念的なシステム構造を表現している。熱力学による要請から、エネルギー流は熱力学の法則のエネルギー保存則とエントロピー生成則に拘束されているので、内部要因である横方向の網目状のエネルギー流からシステムの全体性が保証できる。

自然システムの全概念構造は、ツリー状の階層のものでなく、格子状の網目状のものである。しかし特定のシステムは、図中の太線で切り取った変形4角形の、概念的ツリー構造のものをいう。われわれがシステムとして認識するのは変形4角形内のサブシステムの集合である。すなわち概念的なツリー構造を囲む変形4角形をシステム境界として、システムの内部と環境を分ける。変形4角形の外部が環境要因となり、システムはそれに対して機能を発揮する。変形4角形のシステム内部の諸過程が内部要因、すなわち内部機構となる。

すなわちどのような機能がどのような機構で実現できるかという関係で見る。物理的な規模は上位システムになるほど大きく、下位システムになるほど小さくなる。あまりに深いシステムレベルを考えると上下に変化していく環境要因と内部要因の関係が不明瞭になる。したがってシステムを無意味なほど低い階層まで分解することはしないし、また高い階

層まで統合することもしない。システム認識のためには2～3段のシステムレベルを考える。

自然対象についてそれが存在し、外部に対して機能していることを根拠に、対象にはシステムがあると考え。「どのような機能がどのような機構で実現できるか」、すなわち環境要因(機能要請)と内部要因(機構)による機能の関係といったシステム認識は生物を理解する上で役立ってきた。対象とする自然にわれわれの認識通りの秩序があるということの絶対的な検証は不能であるとしても、対象にもシステム認識に近い秩序が実在し、そこに共通する何物かがあると考えることはできる。このようなシステム認識についても経験に曝し修正していくことで自然の理解に近付ける。

以上のシステム認識を用い、システムの分析と統合の手段を提供する回路網熱力学は次章では解説する。

## 第2章 「システム認識」のまとめ

第1章で、生物の生得的な認識機構で、迅速で確実度の高い認識が得られると述べてきた。しかし一方では生得的な認識機構のみでは環境変動に対する柔軟性がなく、違った条件では間違ふことが多い。高等動物では生得的な認識機構以外に、学習による認識機構を持ち、環境変化に柔軟に対応できるようになっている。すなわち思考と学習により複合的な判断ができるようになってきた。われわれ人間はさらに複雑度の高い自然についてシステムとして認識することができる。

さてシステム認識とは何か、またはシステムとは何かが問題となる。人工システムでは人間が与えた目的を果たす機能と、多くの要素の相互作用からなる機構を持ったものとしてシステムが理解できる。しかし自然システムは何ものかが目的を与えてきたものとは考えられない。自然システムは自己組織化によりできたものである。ここで自然システムとその環境を考える。自然システムは動的で不均質な構造を持つ。一方環境も、その一部である大気のような安定な環境の除けば、同じく不均質な構造を持っている。この構造の中に構造があるという見方はシステムの中にサブシステムを見るといったシステムヒエラルキーの概念構造でもある。したがってわれわれが目的と見たものは環境要請に対するシス

テムの機能の一部であることが解る。

システムと環境の両者での動的で不均質な構造は生物システムを介する有効エネルギーの流を可能として生物システムという散逸構造を維持するため役立ってきた。ここでは自己組織化するシステムの自発性と自律性が環境適応に一役を担う。システムに有効エネルギーの流があって散逸構造と自発性が生まれ、環境と内部のゆらぎについての情報によるフィードバックがあってシステムに自律性がでくる。すなわち環境要因の要請を情報として内部の機構が感知し、それに適応した機能が発揮される。

われわれのシステム認識ではシステムを固定し、システムの機構(しくみ)と機能(はたらき)の関係で理解する。われわれが目的と見たものはシステムの機能の言い換えであることは述べた。システムを目的論的に見ることは、システムの範囲を決定することに役立つ。恣意的な目的論でシステムの全体性を保証することはできないが、システムの範囲を決定すればその内部機構から全体性が保証できることになる。

システム認識ではシステムヒエラルキーの縦方向は機能関係で理解し、サブシステム同志と環境の有効エネルギーと情報の流の横方向の内部機構の関係で理解する。すなわち機能と機構という格子状のシステム構造として世界の秩序を見る。特定のシステムといった場合は切り出したサブシステム以下のツリー状構造のものになる。このとき有限のサブシ

テムの集まりの機構が作り出し、システムが機能を発揮する。いずれのヒエラルキーレベルであっても有効エネルギーの流がサブシステムの機構を作り出すために必要となる。システムの全体性は熱力学的にサブシステムの横方向の有効エネルギーの流から保証できるものとなる。このことは次章の「回路網熱力学」で述べる。

システム認識では「システムにどのような仕組みが存在し、システムはどのような要請のために働いているのか?」を考察する。このようなシステム認識についても経験に曝し修正していくことで自然の理解に近付けると考える。さらに生物システムについては「どのような進化の過程で得られたのか?」を考察するが、システム認識についていえば、学習機能を持つ相当高度な認識装置と自律性を持つ生物の進化段階で得られたものと思われる。

## (2章) 参考書

10. フォン・ベルタランフィー, 長野 敬, 太田邦昌訳, 『一般システム理論』みすず書房 1973 東京
11. ハーバート・A・サイモン, 稲葉元吉, 吉原英樹訳, 『システムの科学』パーソナルメディア株式会社 1987 東京
12. ジェラルド・M・ワインバーグ, 松田武彦監訳 増田伸爾訳, 『一般システム思考入門』紀伊国屋書店 1984 東京
13. エーリッヒ・ヤンツ, 芹沢高志, 内田美恵訳, 『自己組織化する宇宙, 自然, 生命社会の創発的, パラダイム』 工作社 1986 東京

# システムの認識と統合 3

## 第3章 システム統合

### 3. 1 パワー釣合則

自然科学の対象としてのシステムを認識するについては、ダイナミックな内部因果関係による機構の認識が重要となるが、さらに不均質な環境要因に対するシステムの機能を常に考える必要があることを前章までに述べてきた。環境という構造の中にシステムという構造があるという見方は、システムの中にサブシステムを見るといったシステムヒエラルキーの概念でもある。このような環境要因と内部要

因に従って存在している自然対象について、恣意的な目的論であってもシステムを設定することはできる。こうして生体システムのような極度に複雑なシステムについても、システム境界とシステムを設定することは可能である。ここでシステム的环境に対する機能とシステム内部機構の相互補完的な認識が必要不可欠となる。

システム内部機構の全体性を熱力学的因果関係から保証する手段を考える。生体システムは不均質な構造を持ち、物質、エントロピーを含むエネルギーと情報の出入りに対して開かれていて、かつ非定常

状態にある。また環境も不均質な構造を持つ。このような開放システムを理解するためには分析法、統合法共に新しい手段と根拠を必要とする。

まず熱力学を導入するため、ある安定で均質な環境と均質な開放システムを考える。こうした場合、ある環境を基準としたシステムの有効関数という熱力学関数を導入することが可能となる。環境は不均質な構造を持つとしたが、比較的安定で均質な部分もある。例えば大気という環境を基準とすれば温度、圧、気体分圧は安定で均質と見做すことができる。そうした環境を基準としてシステムの有効関数を決める。一方不均質なシステムもその微少部分を考えれば均質と見做すことが可能となる。すなわち局所平衡の仮定をおき、各局所では熱力学関数が使えりとする。そうすれば各局所で有効関数を決めることができ、そうして全体としての不均質なシステムの有効関数を決めることが可能となる[14,15]。

Gibbsは有効関数という熱力学関数を提出している[16~18]。最近にいたり有効関数の有用性が再認識されるようになり、工学でよく用いられるようになってきた[16~18]。有効関数は均質なシステムが使える有効エネルギーを規定するものであって、全エネルギーから無効エネルギーを差し引いた形で定義されている。大気のような安定な環境の温度  $T_0$  と環境圧  $p_0$  に置かれた均質なシステムの温度を  $T$  と圧を  $p$  とした場合、システムが大気環境と平衡になるまでに使用可能なエネルギー変化は、Gibbsの自由エネルギー変化、 $dG(=dU+pdV-TdS)$ 、以外に、圧、温度が平衡になるまで圧差と温度差による部分  $-(p-p_0)dV+(T-T_0)dS$  が利用可能なエネルギーとして加わることになる。したがってシステムの有効関数変化  $dA$  は次になる。

$$dA=dG-(p-p_0)dV+(T-T_0)dS \\ =dU+p_0dV-T_0dS \quad (3-1)$$

有効関数変化の定義では安定な大気環境の温度と圧でもって定義されていて、システム自体の温度や圧に何らかの条件も課せられていない。(3-1)式の表現は、内部エネルギー変化から無効エネルギー変化であるエントロピー変化に環境温度を掛けたものと無効体積仕事を差し引いた形となっている。均質のシステムの温度と圧が環境のそれらと等しいときは、有効関数変化  $dA$  と自由エネルギー変化  $dG$  は同じものになる。

有効関数は環境と異なる圧、温度を持つシステムの考察で有用となる。Rant や押田はある環境下の有効関数からそれと平衡になったときの有効関数の差分を「エクセルギー」と名付けて、その有用性を示している[19,20]。エクセルギー変化と有効関数変化は同一のものであり、変化を問題とするこの論文では有効関数の変化という言い方で統一する。環境の安定な圧条件を考えて、開放システムのエネルギーの出入を成分を含むエンタルピーの出入りで評価する。環境とシステムの間を出入りするエンタルピー流は  $\delta H$  で、エントロピー流は  $\delta_e S$  で示すことにする。以下では同様に環境とシステムの間を出入りする微少変化を記号  $\delta$  で示し、システム内部での微少変化記号  $d$  で示して、両者を区別して用いる。

開放システムにおいても熱力学法則は成立する。熱力学の保存則である第一法則は(3-2)式に示すように、正味エンタルピー流がシステム内部エネルギー変化  $dU$  と無効体積仕事  $p_0dV$  の和と釣り合うという形式で示される[16,17]。

$$\delta H=\delta H_{in}-\delta H_{out}=dU+p_0dV \quad (3-2)$$

一方プリゴジンに習って、環境との間を出入りする熱、成分に含まれるエントロピーを  $\delta_e S$  として、システム内で生成されるエントロピーを  $d_i S$  とすれば、それらの和がシステム内部エントロピー変化  $dS$  と釣り合うという(3-3)式の形式で熱力学第二法則が示される[21,22]。

$$\delta_e S+d_i S=\delta S_{in}-\delta S_{out}+d_i S=dS \quad (3-3)$$

(3-2)式で示したように、内部エネルギー変化と無効体積仕事の和は、正味のエンタルピー流入で表現できる。また(3-3)式の示したように、エントロピー変化  $dS$  は正味のエントロピー流入と生成エントロピーの和で表現できる。したがって(3-1)式は次に書き換えることができる。

$$dA=\delta H_{in}-\delta H_{out}-T_0(\delta S_{in}-\delta S_{out}+d_i S) \quad (3-4)$$

(3-4)式でシステムと大気環境との間を出入りするもの( $\delta$ )を左辺に、システム内部での変化( $d$ )を右辺に別けて整理すれば次の釣合式が得られる。

$$\delta H_{in}-\delta H_{out}-T_0(\delta S_{in}-\delta S_{out})=dA+T_0d_i S \quad (3-5)$$

(3-5)式左辺を見ると、環境の間を出入りするエンタルピー流から環境の間で出入りするエントロ

ピー項を差し引いた形式になっている。すなわちシステムへの正味のエネルギー流から無効エネルギーを差し引いた形で有効エネルギー流を示している。この左辺の有効エネルギー流が右辺のシステムの有効エネルギー変化と生成エントロピー項の和と釣り合う。

エントロピー生成  $d_i S$  に環境の温度  $T_o$  を掛けたもので生成エントロピー項としているが、これは散逸過程を示すものである。散逸過程はシステムでの有効エネルギーが使えなくなっていく過程を示す。

ここで(3-1)式の有効エネルギー変化や(3-5)式の釣合式は均質なシステムに適用されるものであることに注意が必要である。しかし有効関数はシステムの温度や圧に条件を課していないから、局所平衡の成り立つ微少部分をサブシステムとして、それら各々で(3-1)式の有効関数変化を定義することができる。すなわち安定な環境を基準とした有効関数変化の総和からシステム全体の有効関数変化を定義する。局所サブシステムの内部エネルギー変化、体積変化、エントロピー変化、圧、温度が既知とすれば全体の有効関数変化が決定できる。すなわち有効関数変化と局所平衡の仮定から、不均質なシステムについても全体についても(3-5)式の釣合式も定義することができることになる。

有効エネルギー変化の釣合関係(3-5)式は局所サブシステムについても、システム全体についても成立する。動的システムでは状態というよりも状態変化を考える必要がある。したがって有効エネルギーの変化というよりはその変化速度を問題とする。以下においては有効エネルギーの流や変化速度をパワーと呼び、パワーを単位として考えていく。無効エネルギーになっていく過程は散逸と呼ぶ。開放システムへの正味の有効エネルギーの流であるパワー流  $P_{ex}$  を流入出の差分として次で定義する。

$$P_{ex} \equiv (\delta H_{in} - T_o \delta S_{in})/dt - (\delta H_{out} - T_o \delta S_{out})/dt \\ = (\delta H_{in} - \delta H_{out})/dt - T_o (\delta S_{in} - \delta S_{out})/dt \quad (3-6)$$

このことでパワーの正味流入は、システムのパワー蓄積速度とパワー散逸の和になるという次のパワー釣合式(7)が得られる[14,15]。

$$P_{ex} = dA/dt + \Phi \quad (3-7)$$

ここで散逸関数： $\Phi = T_o d_i S/dt$  を定義している。パワー釣合式(3-7)は局所サブシステムについて

も、システム全体についても成立することについても繰り返し述べ、これが動的な生体システムを扱う基本式となることを強調しておく。

### 3. 2 パワー混在系

生体システムでは幾種類ものパワー過程が混在している。局所サブシステムでも同様である。すなわち局所サブシステムに含まれる全ての化学成分の各々のパワー過程、力学的過程、水力学的過程、電気的過程、熱的パワー過程等が進行している。しかもそれら幾種類ものパワー過程は内部各局所で相互に作用してパワー変換したり、散逸したり、さらに外界とシステムの間で出入りしている。動物では栄養物と酸素の化学反応のパワーは力学的な筋運動、水力学的な血液循環、電気的な神経インパルス、生体膜の物質輸送、熱等々の異なるパワーに変換されている。したがって生体システム内部の局所サブシステム毎の、またパワー各種毎の蓄積、変換伝達と散逸を考えていく必要がある。

まず環境と出入りする全てのパワーを考える必要がある。すなわち出入りする全てのエネルギー種の出入りを考える。個々のパワー種を  $i$  とし、それらの外部からの正味流入を式(3-6)にしたがって、 $P_i = (\delta H_{in} - \delta H_{out})_i/dt - T_o (\delta S_{in} - \delta S_{out})_i/dt$  とする。一方システム内部でのパワー変換伝達を考え、パワー  $i$  から  $j$  への変換を  $P_{ji}$  とすれば、個々のパワー種についての釣合式は次になる。

$$P_i = dA_i/dt + \sum_j P_{ji} + \Phi_i \quad (3-8)$$

(3-8)式はパワー種  $i$  についての釣合式を示すものであり、局所についても全体についても成立する。全てのパワー種の局所の総和して全体についてを考えるとパワー釣合式(3-7)も一度成立する。

$$P_{ex} = \sum_i P_i = \sum_i dA_i/dt + \sum_i \sum_j P_{ji} + \sum_i \Phi_i \\ = dA/dt + \Phi \quad (3-7^*)$$

すなわち、パワーの蓄積は  $\sum_i dA_i/dt = dA/dt$ 、パワー散逸は  $\sum_i \Phi_i = \Phi$  であるので、変換伝達パワーの総和は零、 $\sum_i \sum_j P_{ji} = 0$ 、となる。局所の変換伝達パワーは保存的で  $i$  から出るパワーは  $j$  に入るパワーに等しく、変換パワーは  $P_{ji} = P_{ij}$  となる。したがって総和も零、 $\sum_i \sum_j P_{ji} = 0$ 、と保存的な変換になる[14,23]。

パワー変換の間、パワーの蓄積も散逸もなく単にパワー種を変換し伝達する。したがって各種のパ

ワーを考えれば、システムを細分した局所に置けるパワー種の出入り、蓄積、散逸と変換伝達の4種類のパワー過程を考えることになる。動的なシステムでは有効エネルギーの変化速度または流をパワーと呼ぶことは前にも述べた。パワーをワットの単位( $W = J/s$ )を持つ保存的な流変数と共役する力変数の積で表現し、その量と種を明らかにする。上記4種類のパワー過程で流変数と力変数の間に、おのおの実験的な因果関係がある。後に述べるように流と力の因果律の考察は回路として組み上げるときにも重要な情報となる。また因果律の導入は回路グラフ構築時の拘束となりグラフ化を容易にする。

### 3. 3 回路理論

回路とは、何種類かの回路素子が網目状に繋ぎ合わせて作られた物理システムのモデルであって、そこに保存的な流とそれに共役した力が分布しているものをいう。これは回路グラフとして理論的に取り扱うことが可能となる。回路理論は電気回路の発展に負う工学の理論で、約百数十年前にオームによってオームの法則が発見された。これはパワー散逸体としての抵抗という回路素子の特性に関する法則であり、素子での流と力の因果関係を規定するものである。その後、抵抗体のみならず、パワー蓄積体である容量体と誘導体、パワー変換体である変圧器とジャイレーター等の回路素子での流と力の因果関係が求められてきた。

続いて約百五十年前にキルヒホッフによってキルヒホッフの電圧則(KVL)と電流則(KCL)が発見された。この法則は素子特性とは関係せず、接続のされ方、すなわち接続トポロジーのみに関する法則であって、力の連続性と流の保存性に関係するものである[23]。キルヒホッフの電圧則は連続の要請である。直列接続での流変数  $f$  は単一であって、方向( $\sigma_i = 1$  or  $-1$ )を考えた電圧  $e_i$  の総和が零になるという法則を KVL という( $\sum_i \sigma_i e_i = 0$ )。キルヒホッフの電流則は保存の要請である。並列接続での力変数  $e$  は単一であって、方向を考えた電流  $f_i$  の総和は零になるという法則を KCL という( $\sum_i \sigma_i f_i = 0$ )。

直列接続では電流が単一であるので、その電流と各枝の電圧の積であるパワーの総和は KVL からやはり零となる( $f \sum_i \sigma_i e_i = 0$ )。並列接続では電圧が単一であるので、その電圧と各枝の電流の積の和であ

るパワーの和は KCL からやはり零となる( $e \sum_i \sigma_i f_i = 0$ ) (後述 3-16, 3-17式参照)。回路は直列接続と並列接続で接続されているものであるから、任意の瞬間での回路の全ての枝の電位と電流の積の和は零となる。これを電力釣合則という。この法則の一般性と有用性を認識し、喧伝したのが B. D. H. Tellegen あり、回路での電力(電気パワー)釣合則はテレゲン定理と呼ばれている[23]。

テレゲン定理は素子特性や定常性に関するどんな仮定も必要としない。すなわち回路の繋がり方に依存し、熱力学過程の非線形性や時間依存性とは完全に独立している法則である。テレゲン定理を含む回路理論は工学技術的な理論であると共に、グラフの数理理論でもあって、電気回路のみならず各種輸送網を含む一般的な回路網の理論として発展してきた。すなわちテレゲン定理では、電気回路に限らず、一般化した保存的な流と共役する力の積がパワーの単位を持つとき、回路網のパワーは釣合うことを示し一般化が可能となる。

保存的な流変数  $f (= dn/dt)$  は KCL に従うので KCL 変数または通過変数と呼ぶ。それに共役する力変数  $e$  は KCL に従うので KVL 変数または介在変数と呼ぶ。力変数は保存量の単位変化当たりの有効エネルギー変化の値を持つポテンシャル変数である( $e = dA/dn$ )。したがって、パワーは有効エネルギーの変化速度となる( $ef = dA/dt$ )

パワー種によってポテンシャル変数( $e = dA/dn$ )は、化学ポテンシャル、電位、圧、浸透圧、力等と呼ぶ。こうしたポテンシャル変数の差分は駆動力  $X (= \Delta e)$  と呼び、駆動力  $X$  による流は  $J$  (conductive flow) で示し、ポテンシャル変数  $e$  と対になる流  $f$  と区別する。 $f$  と  $J$  は回路によっては一致することもある。各種のパワーと通過変数  $f$ 、介在変数  $e$ 、駆動力  $X$  を単位を付けて第1表に示す。(第1表参照)

前節までに動的システムは熱力学的にパワー釣合が成り立つことを示してきた。また各種のパワー過程に細分し、分析することが可能となることは述べてきた。一方回路はテレゲン定理によりパワー釣合が成り立つ。すなわち熱力学と回路理論で共通するパワー釣合則から動的システムは回路理論で表現できることになる。生体システムについても各種パワー過程を回路モデルとして再構成し、再統合する

第1表 連続体理論

| パワー種     | 保存的通過変数                    | 介在変数( $\partial A/\partial n$ ) | 駆動力(差分)                 |
|----------|----------------------------|---------------------------------|-------------------------|
|          | (KCL 変数)                   | (KVL 変数: ポテンシャル)                |                         |
| 電気(電気量)  | 電流 $I$ (A)                 | 電位 $\Psi$ (V)                   | $\Delta V$              |
| 水力学(体 積) | 体積流 $J_v$ ( $m^3/s$ , L/s) | 圧, 浸透圧 $p, -\pi$ (Pa, kPa)      | $\Delta p, -\Delta \pi$ |
| 化学(物 質)  | 物質流 $J_i$ (mol/s)          | 化学ポテンシャル $\mu_i$ (J/mol)        | $\Delta \mu$            |
| 化学(反応量)  | 反応速度 $J_R$ (mol/s)         | 反応親和力 $A$ (J/mol)               |                         |
| 熱 (熱 量)  | エントロピー流 $J_S$ (W/K)        | 温度 $T-T_0$ (K)                  | $\Delta T$              |

\*\*力学系連続体理論ではオイラー(静止)座標系を使用するが, 力学系ではラグランジェ(運動)座標系を用いるので, 力と流の役割が交換される [23]. 機械的な力は保存則に従い通過(KCL)変数となり, 速度は介在(KVL)変数となる.

| パワー種     | 保存的通過変数            | 介在変数                 |
|----------|--------------------|----------------------|
| 機械力学(並進) | 力 $F$ (N: J/m)     | 速度 $v$ (m/s)         |
| 機械力学(回転) | トルク $\tau$ (J/rad) | 角速度 $\omega$ (rad/s) |

ことが可能となる.

生体システムのような動的システムでは, 構造上のパワー過程に加えて調節効果を持つ情報過程がある. システムの機能は, パワー過程, システム構造と情報過程の三側面の複雑で微妙な有機的統合の上に実現されている. すなわち対象とするシステムについてパワー釣合とシステムの構造(トポロジー)を考えて回路モデルとし, それに情報側面を付け加える手段を考える. 回路網熱力学はそのような手段を提供するものとして開発されてきた [23~25].

回路網熱力学の成立によりシステムの熱力学的な分析と回路理論による統合が可能となった [14, 15, 23]. 実験的な研究成果から, システムを熱力学的に局所における単純なパワー過程にまでに分解する. すなわちシステムをサブシステムに細分する. サブシステムはそれよりさらに下位のシステムを全て含むものであり, 必要に応じてサブシステムはサブサブシステムに細分し, そこでの各パワー種の諸過程を考える. しかし限りなく細分していくことはしない. 熱力学的な基本要素として, 局所での個々のパワー種の流入の過程に加え, 蓄積, 散逸と変換伝達の4種類のパワー過程で表現できるところで細分化は中止する.

局所での各パワー種の諸過程を考え, それらエネルギー過程をシステムとして再統合することが可能かどうかを回路理論により考える. そうしたサブシステムの相互作用からシステムの機能を考える. 段階的に上位システムとして再統合していく.

### 3. 4 結合枝グラフ法: 結合枝

パワー釣合関係から, 各局所の, 各種のパワー流入出, 蓄積, 変換および散逸の基本パワー過程にまでにシステムを細分する. 基本的パワー過程にまでに分解したのち熱力学素子でそれらを表現する回路手段を考える. 多種のパワーの混在する開放系のエネルギー過程の統合表現のため, 過程と繋がり方が表現できる結合枝グラフ法という回路法を用いる [14, 15, 23~25]. 結合枝グラフ法は各種パワー混在系の表現に優れている. 結合枝グラフ法では熱力学的な多種混合のエネルギー過程が表現できると共に, 構造に由来するエネルギー過程の繋がりを示すトポロジー的拘束を表現することができる. さらに過程のパラメータを修飾するという手段で制御情報の記述も可能となる.

まず結合枝グラフ法という技術手段について紹介する [14, 15, 23~25]. 外部とのパワー輸送の流入出およびシステム内部のパワー流を半矢記号の結合枝で示し, 結合枝に流変数 (flow:  $f$ ) と力変数 (effort or potential variable:  $e$ ) を添えることでパワーの種類と量を明らかにする. 例えば電流と電圧であれば電気パワーを示し, 体積流と静水圧であれば水力学パワーを示す. 溶質流と化学ポテンシャルであれば化学パワーを示すものとなる. 結合枝グラフの名の由来は一般化したパワー輸送を方向を持つ半矢記号の結合枝で表現することにある. 結合枝はパワーを損失なしに瞬時に伝達する完全伝導体とみなす.

$$\frac{e}{f} \searrow$$

$$: P = ef \quad (3-9)$$

パワーの出入口をパワーポートまたは単純にポートと呼ぶ。結合枝の両端はパワーポートであり、一方からパワーが入り、矢印のある他端から保存的にパワーを出す。パワー輸送はこの結合枝で示し、外界からの輸送も、システム内の輸送もこの結合枝で示す。システム内部のパワー蓄積過程は一般化した容量体、誘導体(慣性体)を用い、結合枝を添えて可逆的なパワー蓄積と放出を表現する。動的システムの回路化ではエネルギー相互作用として現れるパワーの変換伝達過程の表現が必要となり、これに変換体を用いる。これら各種パワー過程の蓄積と変換は流変数  $f$  と力変数  $e$  との関係で表現する。パワー散逸過程は一般化抵抗体で表現し、抵抗体へ向かう結合枝に駆動力  $X$  と流変数  $J$  を添える。

熱力学素子には結合枝を付ける。このとき熱力学過程に由来する実験的因果律の考察が重要となる。すなわち結合枝を付けた熱力学素子は力が独立変数となるのか、また流が独立変数となるのかの因果関係を考える。力を独立変数とする場合は、熱力学素子に近い結合枝端に因果棒という縦棒を記入しそれを示す。因果棒のない結合枝端は流が独立変数であることを示す。

蓄積、変換、散逸の熱力学素子に添えた結合枝でポート数を表現する。1つの独立変数が1つの従属変数に関係する1変数関数は1ポートの熱力学素子を用いる。2つの独立変数が2つの従属変数に関係する2変数関数は2ポート素子を用いる。多変数関数なら多ポート素子を用いる。

### 3. 5 蓄積体

可逆的なパワー蓄積と放出の表現には容量体や誘導体を用いる。一般化容量体は可逆的にポテンシャルエネルギーを供給または蓄積する。容量体では流が原因となって力変数が変化する。その逆に力変数が原因となって流が起こることはない。すなわち容量体は流を独立変数とし力を従属変数とする実験的因果律を持つ。

1ポート容量体では一つの流  $f$  の時間積分によって一つのポテンシャル変数  $e$  が変化し決定される。流を独立とする容量体の結合枝では、その反対側が

力を独立とするポートになる。力を独立とする結合枝端には因果棒を添え、力を独立とする因果関係を明かにする。下図の結合枝方向はパワー  $ef$  の流出方向を示し、容量体のポテンシャル  $e$  は流出  $f$  により減衰し、流入  $-f$  により増大することになる。

$$C \frac{e}{f} \searrow$$

$$: -de/dt = f/C \quad (3-10)$$

結合枝グラフで運動エネルギーを蓄積放出する表現に誘導体(または慣性体:  $I$ )を用いる。誘導体では力が独立変数となり、流の変化を起こす。1ポート誘導体の関係は次である。

$$I \frac{e}{f} \searrow$$

$$: -df/dt = e/I \quad (3-11)$$

しかしながら膜輸送システムの表現では運動エネルギーの変化は一般に無視できるので誘導体を用いることはない。

溶液は浸透圧、化学ポテンシャルといった2つの力変数変化が体積流と成分流といった2つの流によって起こる。溶液は体積流  $f_v$  と成分流  $f_i$  という二つの流が浸透圧  $-\pi_i$  と化学ポテンシャル  $\mu_i$  という二つの力変数変化を決める次のような可逆的な2変数容量体素子で表現できる[14]。

$$\left| \frac{-\pi_i}{f_v} C \frac{\mu_i}{f_i} \searrow \right|$$

$$: -d\pi_i/dt = -f_v \pi_i/V + f_i RT/V$$

$$d\mu_i/dt = f_v RT/V - f_i RT/n_i \quad (3-12)$$

この蓄積的な2ポート容量体の体積流と溶質流といった矢印方向の2つの流による自由エネルギー変化速度は  $(dA/dt = f_v \pi_i - f_i \mu_i)$  である。2ポート容量体では体積流と溶質流という2つの独立変数によって2つの力変数の変化が起こり、流と力の因果律は浸透圧と化学ポテンシャルが従属変数となることを示している。全ての成分種は浸透圧物質であるので、溶液の成分種が多くなった場合、この2変数素子の組み合わせで表現する。

### 3. 6 パワー変換体

膜輸送系ではエネルギー連結として知られるパワーの変換伝達過程の表現が必要である。結合枝グラフ法では、この表現に変換体という2ポート素子を用意している。ここで相互作用の流と力の因果律

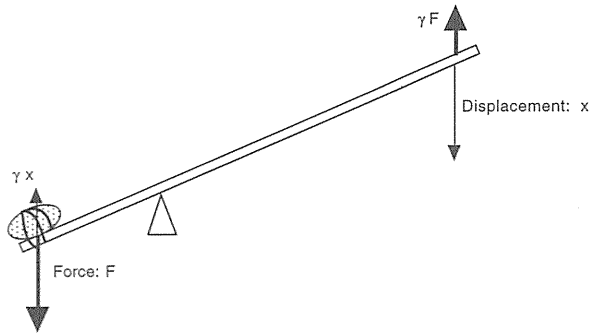


Fig. 3-1. Constitutive relation on energy transmission: Causality of "One displacement and the other force" interaction in a simple lever.

から見たエネルギー伝達の構成素関係を考える。エネルギーの伝達器の単純な例は槌子である。槌子では他端に負荷が掛かっている条件で一端を人が押すことでエネルギーが伝達される。A端の負荷力に比例した力がB端に現れ、人がこれに抗して押すとき、押す方のB端の変位に比例した変位が負荷を掛けているA端に出現する。この槌子の相互作用の因果関係から、「一端の変位と他端の力」がエネルギー伝達の構成素関係の独立変数対となることが解る。

すなわち一方の変位がある比率で他方の変位を起こし、同時に他方の力がその比率で一方の力として掛かる(図3-1)。ここで伝達されるエネルギーはいずれかの端の変位と力の積となる。変換比率を $\gamma$ とし、一方の変位を $x_1$ 、力を $F_1 (= \gamma F_2)$ とし、他方のそれらを $x_2 (= \gamma x_1)$ 、 $F_2$ とすれば、伝達されるエネルギーは $x_1 F_1 = x_1 \gamma F_2 = x_2 F_2$ となる。すなわち変位 $x_1$ と力 $F_2$ が独立変数対となる。

この因果関係は「一方の流と他方の力」に相互作用のある変圧器のエネルギー伝達の形式と同じである。一次の電圧がある比率で二次の電圧を決定し、二次の電流が同じ比率で一次の電流を決定する。従来、変圧器のエネルギー伝達の形式で「一方の流と他方の力」が独立変数対となる因果関係があることは多くの研究者により指摘されてきた。自然の相互作用の因果律においても、しばしば「一方の流と他方の力」のエネルギー伝達の構成素関係が見られ、このエネルギー伝達機構は変圧器型変換器で表現できることになる。

ここで槌子の例で押す人の消費するエネルギーは、伝達したエネルギーの他に、力に抗して押す人の内部エネルギー消費があることに留意しなければ

ならない。変圧器で言えば、消費電力は変換伝達パワーに二次側の内部抵抗によるエネルギー散逸が加わったものとなる。

膜輸送におけるパワー連結は、2つのパワー過程に相互作用があり、一方のパワーの一部が変換され他方に交換伝達される過程である。後述するように、膜輸送での体積流-溶質流連結におけるパワー伝達において、体積流に比例する溶質流(対流)が見られ、他方溶質流駆動力が体積流駆動力を修飾する関係がある。また膜輸送での熱浸透流においては、体積流に比例する熱流があり、他方温度差が体積流駆動力の一部になる関係がある。すなわち一方が流で作用し、他方は力で作用するという「一方の流と他方の力」の相互作用に因果関係がある。一方の流に比例した流が他方に現れ、同時に他方の力に比例した力が一方に作用するという変圧器型のパワー変換の形を取る。したがって変圧器型のパワー変換器でこの関係を表現する。

変換体はパワーを保存的に交換伝達する装置であって、入力パワーの種類を変換して出力パワーとして伝達する。変換は本質的に2変数関数であり二個の独立変数が二個の従属変数を決定する。変換過程で一方の流が他方の流に比例し、他方の力が一方の力に比例する場合、この変圧器型の変換体が用いられる。変圧器型の変換体では一方のポートの流と他方のポートの力が独立変数対になり、一方のポートの力と他方のポートの流が従属変数対になる[23]。力を独立とするポートには結合枝に因果棒を添えて示す。

$$\left| \begin{array}{c} e_1 \\ f_1 \end{array} \right| \boxed{\gamma} \left| \begin{array}{c} e_2 \\ f_2 \end{array} \right|$$

$$\begin{aligned} e_1 &= \gamma e_2 \\ f_2 &= \gamma f_1 \\ e_1 f_1 &= \gamma e_2 f_2 / \gamma = e_2 f_2 \end{aligned} \quad (3-13)$$

変換体はパワー種を変えるもので変換率  $\gamma$  を添える。変換率  $\gamma$  は一般に次元を持った値であって独立な流を  $\gamma$  倍してパワー種を変え、他方の独立な力を  $\gamma$  倍してパワー種を変えてパワーを保存的に変換伝達する。

変圧器型の変換体のほかに、変換過程で一方の流が他方の力に比例し、他方の力が一方の流に比例するジャイレイター型の変換体もある。ジャイレイター型変換体の変換コンダクタンスを  $g$  とするとその関係は次となる。

$$\begin{aligned} \frac{e_1}{f_1} \rightarrow \boxed{g} \left| \frac{e_2}{f_2} \right. \\ f_1 = g e_2 \\ f_2 = g e_1 \\ e_1 f_1 = g e_2 f_2 / g = e_2 f_2 \end{aligned} \quad (3-14)$$

しかしながら膜輸送系では一方の流が他方の力に比例するといった関係はないのでの回路表現にジャイレイター型変換体を用いることはない。

### 3. 7 散逸体

抵抗体は一種の変換体である。抵抗体はそこに入るパワーからエントロピーを生成して、パワー散逸を表現する。すなわち抵抗体は有効パワーを使用できない無効なパワーに変換する装置である。抵抗体はジャイレイター型変換体で表現できる。抵抗体は有効パワーを熱に変換する。このジャイレイター型変換体において変換コンダクタンスを  $g_s$  とする。ここで有効パワーを流  $J$  と共役駆動力  $X$  の積で表現し、変換して生成したエントロピー  $d_i S/dt$  に局所温度  $T$  の積とすると次の表現になる。

$$\frac{X}{J} \rightarrow \boxed{g_s} \left| \frac{T}{d_i S/dt} \right.$$

Haase は熱とエントロピーはエネルギー過程の進行で生成されるので、保存的な通過変数に成り難いということから Kirchhoff's 則を適用する回路化に疑義を提出した[26]。これに対して Perelson & Oster は Prigogine の関係式からエントロピーを保存的に取り扱えることができ、原理的に非等温系が回路化できるとした[27]。熱を有効エネルギーの一部として用いる非等温系のシステムにおいては生成

エントロピーを表現する 2 ポート抵抗体素子  $R_s$  を用いる[15, 24, 27]。2 ポート抵抗体素子は有効パワーがエントロピー生成して熱になり、その熱放出を表現する重要な素子となる。

$$\frac{X}{J} \rightarrow R_s \left| \frac{T}{d_i S/dt} \right.$$

上記変換体表現では変換コンダクタンス  $g_s = J/T$ ，したがって生成エントロピーは  $d_i S/dt = JX/T$  となる。

エントロピー生成と温度の積は熱であり、熱を利用しない等温システムにとって無効パワーになる。熱を有効エネルギーとしないシステムでは散逸表現に 1 ポート抵抗体を用いる。抵抗体の結合枝には通過変数  $J$  と共役駆動力  $X (= \Delta e)$  を添える。すなわち抵抗体は本質的にはパワー変換体であるが、一般システムでは生成したエントロピーは利用しないから散逸体の取扱になる。抵抗体への流入パワーは全てエントロピーを生成して無効エネルギーとなり、パワーが出てくることはない。したがって結合枝の方向は常に抵抗体に向ける。また無効となったエネルギーの表示はしない。

$$\frac{X}{J} \rightarrow R_s$$

$$: R = X/J \quad (3-15)$$

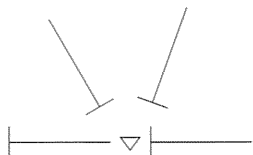
抵抗体それ自体には独立変数と従属変数といった因果律はない。抵抗体では駆動力が原因となって流を起こす場合と、抵抗体を介して流があるから力が発生する場合がある。すなわち駆動力が独立なら流が決り、流が独立なら力が決る。独立変数または従属変数は回路の接続関係により決定される。

### 3. 8 接続素子

結合枝グラフでは熱力学関係のみでなく、さらに熱力学素子の繋がりを示すトポロジー素子：並列接続素子と直列接続素子を導入している。接続素子は 3 つ以上の熱力学過程の組み合わせを表現する。直列接続素子として  $\nabla$  印を、並列接続素子として  $\bigcirc$  印を用いる。 $\nabla$  印で示す直列回路では流変数が単一であり、Kirchhoff の電圧則が成立する。したがって直列接続素子に集まる結合枝は 1 つが流を独立変数とし、他の全ては力を独立変数とする。 $\bigcirc$  印で示す並列回路では力変数が単一であり、Kirchhoff の電流則が成立する。したがって並列接続素子に集まる

結合枝は1つが力を独立変数とし、他の全ては流を独立変数とする。このトポロジー素子の導入でシステムの構造による熱力学過程の拘束を表現することになる。

直列素子は流が等しい直列回路を一括表現するもので、流を独立とする一つのポート以外のすべてのポートは力を独立変数とする因果律をもつ。



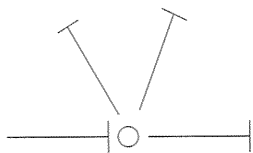
矢印方向を表現する記号として  $\sigma$  を用い、素子に入るときを1, 出るときを-1とすると直列素子でのパワー釣合は次となる。

$$\sum_i \sigma_i e_i f_i = f \sum_i \sigma_i e_i = 0$$

$$\sum_i \sigma_i e_i = 0 \quad (3-16)$$

これはキルヒホッフの電圧則である。すなわち直列素子ではキルヒホッフの電圧則が適用できる。

並列素子では力が単一である並列回路を一括表現するもので、力を独立とする一つのポート以外のすべてのポートは流を独立変数とする因果律をもつ。



矢印方向を表現する記号として  $\sigma$  を用いると、並列素子でのパワー釣合は次となる。

$$\sum_i \sigma_i e_i f_i = e \sum_i \sigma_i f_i = 0$$

$$\sum_i \sigma_i f_i = 0 \quad (3-17)$$

これはキルヒホッフの電流則である。すなわち並列素子ではキルヒホッフの電流則が適用できる。

以上膜輸送システムのための結合枝グラフの熱力学素子と結合枝の実験的因果律表現およびトポロジー素子について述べてきた。これらを組み合わせて基本回路のモデルを作成するときには次章で述べるようないくつかの考案が必要となる。

### 第3章 「システム統合」のまとめ

従来より、生体システムの熱力学的取り扱いが検討されてきたが、不均質で動的開放系であることから困難なものとされてきた[23]。今回は有効関数を導入し、局所平衡の仮定を置くことで、生体システムの熱力学的取り扱いが可能となることを示した。

局所有効関数の変化速度から生体システムのパワー釣合則が導出される。生体システムを細分して、パワーの入出力、蓄積、変換、散逸諸過程の釣合を考える。多種パワーの混在に関してはパワー変換の独立変数についての因果関係を考えたパワー連結機構を考える。一方回路理論はテレゲン定理により、全ての回路でパワー釣合が成立する。したがって熱力学的にパワー釣合のある生体システムが回路で表現できることになる。回路法として多種パワーの混在系の表現に適した結合枝グラフを紹介した。これは一般化した結合枝、蓄積体、変換体、散逸体を回路素子とするもので、さらに接続トポロジーを示す直列接続素子と並列接続素子を用いる手段である。これらを用いた回路モデルについては次の章で紹介する。

### (3章) 文 献

- 14) Imai, Y (1996) Network thermodynamics: analysis and synthesis of membrane transport system. *Jpn. J. Physiol.* **46**, 187-199.
- 15) Imai, Y (1997) Network representation of thermoelectric and thermosmotic phenomena. *Int. J. Cir. Theor. Appl.* **25**, 219-228.
- 16) BEATTIE, J. A. and OPPENHEIM, I. (1979) *Principles of Thermodynamics*. Elsevier, Amsterdam.
- 17) HAYWOOD, R. W. (1992) *Equilibrium Thermodynamics ("Single Axiom" Approach) for Engineers & Scientists*. Krieger Publishing Company, Malabar, Florida
- 18) CARRINGTON, G. (1994) *Basic Thermodynamics*. Oxford Science Publication, Oxford
- 19) RANT, Z. (1956) Exergie, ein neues Wort für 'technische Arbeitsfähigkeit'. *Forsch.-Ing.-Wes.*, **22**, 36-37.
- 20) 押田勇雄 (1986) 「エクセルギー講義」, 太陽エネルギー研究所, 東京
- 21) PRIGOGINE, I and DEFAY, R. (1950) *Thermodynamique chimique*. Edition Desoer. Liege.
- 22) GLANSDORFF, P. and PRIGOGINE, I. (1971) *Thermodynamic theory of structure, stability and fluctuations*. Wiley-Interscience, London
- 23) OSTER, G. F., PERELSON, A. S. and KATCHALSKY, A. (1973) Network thermodynamics: Dynamic modeling of biophysical systems. *Quar. Rev. Biophys.* **6**, 1-134.
- 24) KARNOPP, D. AND ROSENBERG, R. (1975) "System Dynamics: A Unified Approach", John Wiley & Sons, New York
- 25) THOMA, J. U. (1975) "Introduction to Bond Graphs and their Application", Pergamon Press, Oxford.
- 26) HAAS, A., 1974, On the unambiguous generalization of Kirchhoff's laws. *Int. J. Cir. Theor. Appl.*, **2**, 257-259.
- 27) PERELSON, A. S. and OSTER, G. F., 1976. On the application of network theory to nonisothermal systems. *Int. J. Cir. Theor. Appl.*, **4**, 299-305.

## 記 号 一 覧

---

|                                                   |                     |
|---------------------------------------------------|---------------------|
| $A$                                               | : システムの有効関数         |
| $d$                                               | : システム内部の変化         |
| $dA$                                              | : 有効エネルギー変化         |
| $dG$                                              | : ギブスの自由エネルギー変化     |
| $dQ$ ( : $TdS$ )                                  | : 熱変化 $T$ ; 局所の温度   |
| $diS$                                             | : 内部生成エントロピー        |
| $dU$                                              | : 内部エネルギー変化         |
| $\delta$                                          | : 外界との輸送による流        |
| $\delta_e H = \delta_e H_{in} + \delta_e H_{out}$ | : 正味エンタルピー流         |
| $\delta_e S = \delta_e S_{in} + \delta_e S_{out}$ | : 正味エントロピー流         |
| $e = dA/dn$                                       | : ポテンシャル, 力         |
| $f = dn/dt$                                       | : 変化速度, 流           |
| $J$                                               | : 流, 抵抗流            |
| $P$ ( = $ef$ or $JX$ )                            | : パワーまたは有効エネルギー変化速度 |
| $p_0$                                             | : 環境圧               |
| $p_0 dV$                                          | : 環境になす無効な体積仕事      |
| $S$                                               | : エントロピー            |
| $T_0$                                             | : 環境温度              |
| $V$                                               | : 体積                |
| $X$ ( = $\Delta e$ , $\Delta \mu$ )               | : 駆動力               |
| $\mu$                                             | : 化学ポテンシャル          |
| $\pi = RTc$                                       | : 浸透圧               |
| $\Phi = T_0 diS/dt$                               | : 散逸関数              |

---





## Mutagenesis によるレセプター、チャネルの構造機能相関解析

森 泰 生

(生理学研究所液性情報部門)

### I. は じ め に

形質膜に存在するレセプター・イオンチャネルは生理的に枢要な地位を占めており、多くが薬剤受容体として注目されている。しかしながら、これらは膜貫通蛋白質、或いは高分子量蛋白質であり、X線・電子線解析、NMR 等による3次元構造の解析が困難である。そこで、機能的な蛋白質を実験試料とできる利点も相俟って、人工的に導入した変異が蛋白質機能にあたる影響を調べ、3次元構造モデルを構築する試みが広く採用されている。cDNA クローニング及び組み換え発現系の開発により初めて可能になった本アプローチは、広範な受容体・イオンチャネルに対して適用され、イオン選択性、チャネル孔形成、ゲート開閉、電位センサー、リガンド結合、機能調節蛋白質(酵素)との会合等、諸機能の構造的基盤が解明された。

かつてアミノ酸の変換は、主として化学的修飾を用いて行われてきた。化学的アミノ酸修飾法の大きな欠点としては、特定残基を限定的に高効率で修飾することの困難さが挙げられる。また、副反応生成の回避が可能な、蛋白質分解酵素の配列選択的切断による方法にしても、蛋白質の特定の領域だけを標的にすることは不可能である。さらには、特異性を高めた、特定のアミノ酸配列を選択的に認識し、機能を阻害するような抗体(いわゆる neutralizing antibody)を使用する方法がある。しかし本法は機能破壊的であり、部位の重要性はともかくとして、機能発現における位置付けを明かにすることは難しい。一方、遺伝子工学による人工変異導入(mutagenesis)は、副反応を生じる事なく、部位特異的に化学特性の異なる側鎖(アミノ酸)へ

の置換が可能であるため、表現型を破壊するだけでなく、異なった表現型への変換が可能である。

このように、蛋白質の構成成分であるアミノ酸残基変換・修飾の機能に対する影響の検討をとおした、機能上重要な部位の3次元構造予想の諸アプローチは、その有効性は疑うべくもない。しかし、これらに共通な根本的な弱点がある事を忘れてはならない。それは遠隔的なアロステリック効果である。構成アミノ酸は多かれ少なかれ2次元・3次元構造維持に寄与しており、その残基の変換が2次元・3次元構造変化を誘導し、遠隔或いは、近傍の機能領域に変化を加え、表現型としての機能変化が生じる事を必ず考慮するべきである。前稿において、機能発現法については言及されていることから、本稿においては、主として人工的変異導入の方法について言及したい。

### II. 合成オリゴデオキシヌクレオチドを用いた変異導入法

種々の modifying enzyme (修飾酵素)や制限酵素を組み合わせることによって、純粋に酵素的に cDNA 本来の野性型塩基配列を変化させることは可能であるが、導入可能な変異には大きな制限がある。自由自在に、任意の塩基配列を得るためには、化学合成オリゴヌクレオチドに頼るのが有効である。そこでまず、いくつかの合成オリゴヌクレオチドを用いた変異導入法を紹介したい。

#### 1. 合成オリゴヌクレオチドの調製

オリゴヌクレオチドの化学合成は、支持担体に結合させたところに、モノマーを次々に付加

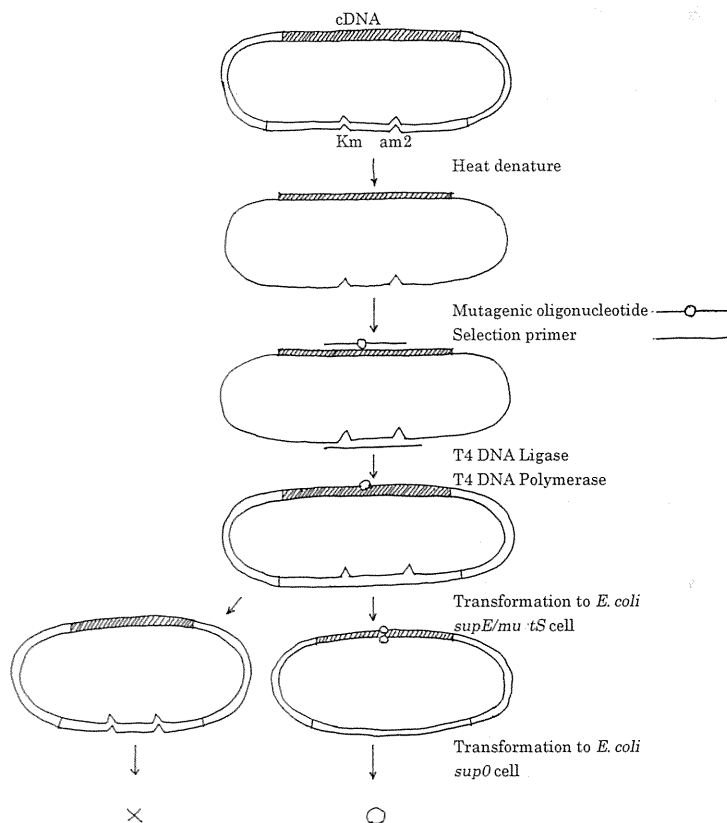


図 1 a. Oligonucleotide-directed Dual Amber (ODA) 法

伸長させていく固相法が主流である。近年、DNA 合成機を備えている研究施設が増えつつあるが、1 塩基あたり200円以下(精製込)で外注が可能である。脱保護した合成オリゴヌクレオチドは、フェノール・クロロホルム抽出或いは、Sephadex G20 (Pharmacia) カラムを用いたゲルろ過等により、有機分子夾雑物を除くことが薦められる。

## 2. 1 本鎖(変成) DNA template への合成 DNA の mismatch annealing による点変異, 欠損の導入

### A. Oligonucleotide-directed Dual Amber (ODA) 法<sup>1)</sup>

まず、カナマイシン耐性遺伝子上に2重のアンバー変異(Amber mutation; TAG)を有するプラスミドに、変異を導入したい cDNA 断片を

挿入する(図 1 a)。熱変成させた後に、望みの変異に配列を変換した部分 cDNA オリゴヌクレオチドと、アンバーを復帰させるための selection primer を anneal させ、ポリメラーゼ/リガーゼ反応により相補鎖を合成し、mismatch 修復酵素を欠損する *supE/mutS* を宿主とすることにより mismatch 修復を抑えながら複製を行う。次いで、*sup0* 株でのみ増幅できるプラスミドを選択すると、目的の変異組み換え体のみが効率よく得られる。アンピシリン耐性及びテトラサイクリン耐性、或いはクロラムフェニコール耐性を損なう変異を有するプラスミドと耐性を復帰させるための selection primer を組み合わせる Altered sites 法もある。

### B. Gapped duplex 法<sup>2)</sup>

M13 ファージベクターのアンバー変異体に cDNA 断片をサブクローニングし、1 本鎖を得

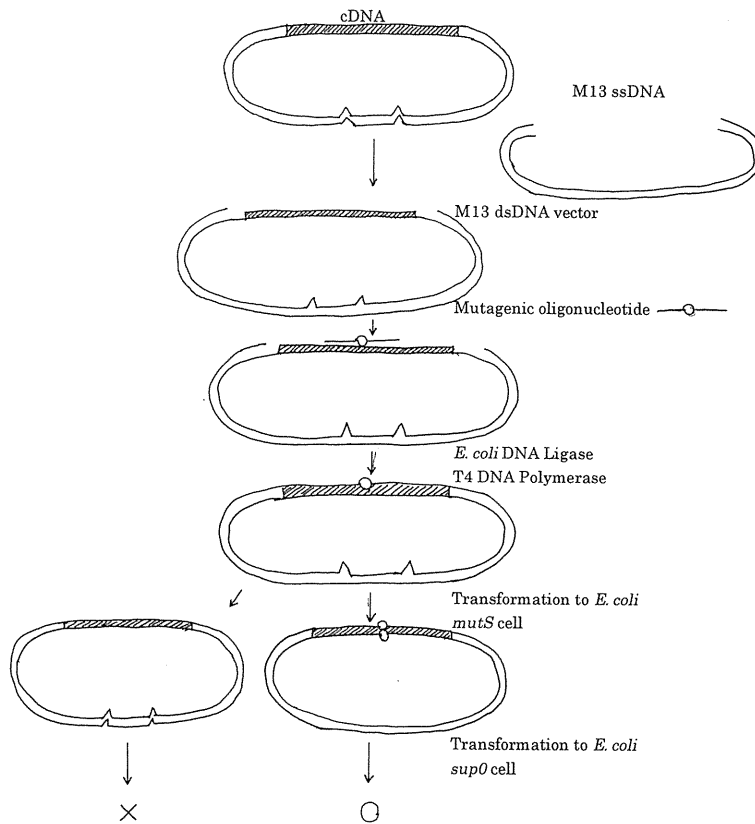


図 1 b. Gapped duplex 法

る(図 1 b). それと, 2 本鎖 M13 ファージのベクター部分とを熱変成後 annealing させ, cDNA 部分が 1 本鎖でベクター部分が 2 本鎖の “Gapped duplex DNA” を形成させる. 次に, 変異配列を含む合成オリゴヌクレオチドを hybridize させ, ポリメラーゼ/リガーゼ反応により Gap をうめる. 上と同様に *mutS* を宿主とすることにより mismatch 修復を抑えながら複製を行い, *sup0* 株でのみ増幅できるアンバーファージを選択すると, 目的の変異体のみが効率よく得られる.

#### C. Kunkel 法<sup>3)</sup>

本法では, dUTPase (Dut) と Uracil-DNA glycosylase (Ung) を欠損し, そのために Thymine の一部が deoxyuracil に置換した DNA を合成する *F'*, *dut*<sup>-</sup>, *ung*<sup>-</sup> の *E. coli* CJ236 を利用する. CJ236 を宿主として cDNA 断片をサ

ブクローニングした M13 ファージの deoxyuracil を含む 1 本鎖を調製する. 変異配列を含む合成オリゴヌクレオチドを hybridize させ, ポリメラーゼ/リガーゼ反応により相補鎖を合成する. *mutS* にトランスフェクションすると, mismatch 修復を抑えながら, 元の deoxyuracil を含む DNA 鎖は Ung によって分解を受け, 合成された DNA 鎖は分解されずに複製される(図 1 c).

#### D. Unique site elimination 法<sup>4)</sup>

プラスミドに, 変異を導入したい cDNA 断片を挿入する(図 1 d). 熱変成させた後に, 望みの変異に配列を変換した部分 cDNA オリゴヌクレオチドと, 制限酵素認識部位の塩基配列を変化させ部位を削除(elimination)する selection primer を anneal させ, ポリメラーゼ/リガーゼ反応により相補鎖を合成する. 得られた

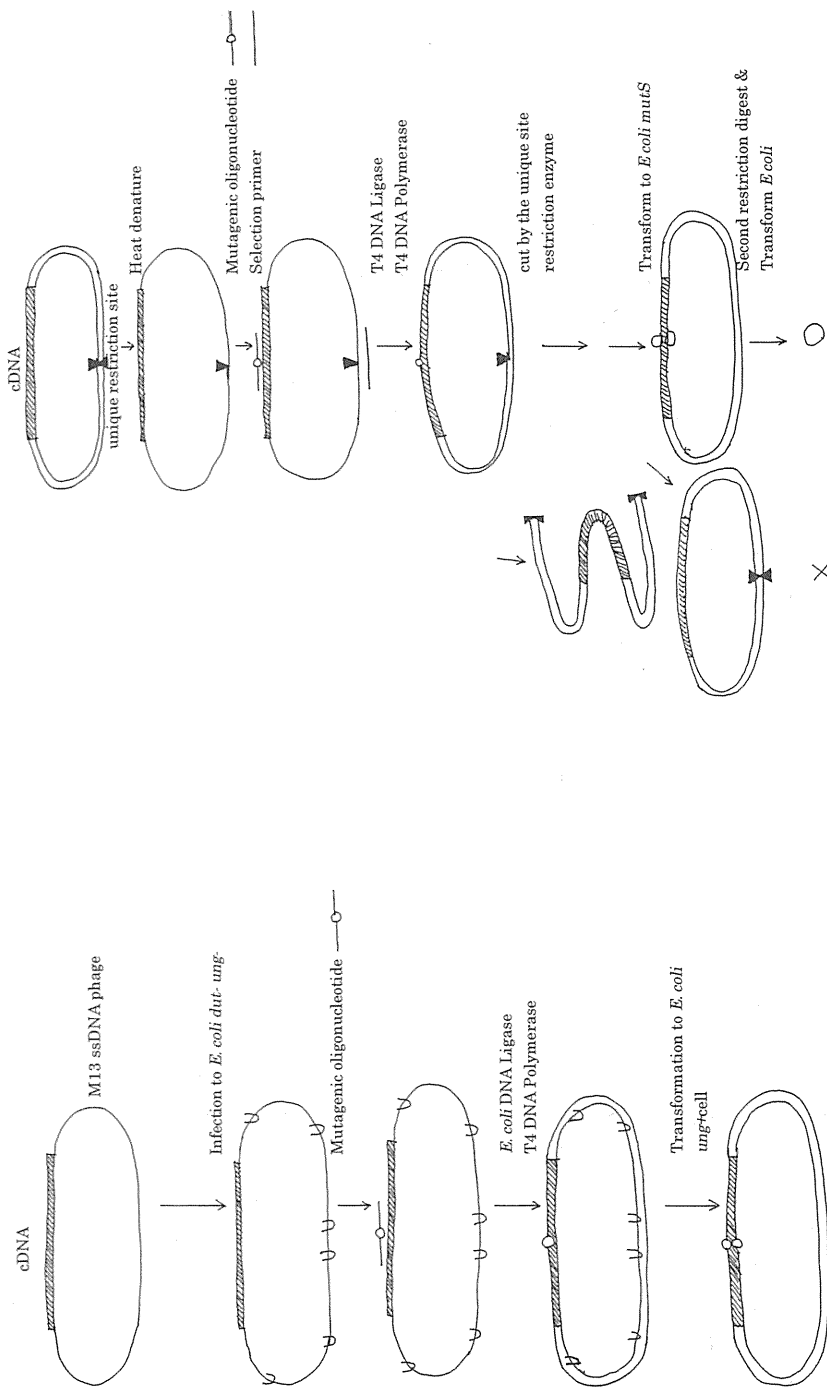


図 1 c. Kunkel 法

図 1 d. Unique site elimination 法

2本鎖 DNA は、元々 selection primer にあたる領域のみをを切断する制限酵素により消化させると、selection primer 側の DNA 鎖には抵抗性があるので切断されず(元のプラスミドだけが切断される), mismatch 修復を欠損する *supE/mutS* を宿主に導入すると mismatch 修復を抑えながら複製される。切断・複製を繰り返す、変異プラスミドが作成される。

#### E. Eckstein 法<sup>5)</sup>

まず、cDNA が挿入されたファージ 1 本鎖 DNA を調製する。変異を有するオリゴヌクレオチドを annealing, ポリメラーゼ/リガーゼ反応により dCTPaS 存在下で相補鎖を合成、環状 2 本鎖 DNA を得る。それを *NsiI* で消化させると S を取り込んでいる DNA 鎖は切断さ

れず、出発材料のファージ 1 本鎖にのみニックがはいるので、その DNA 鎖を cDNA を含む大部分、エキソヌクレアーゼ III で消化する。相補鎖を再びポリメラーゼ/リガーゼ反応により合成し、変異が導入された cDNA を含む 2 本鎖組み換えファージ DNA が得られる(図 1 e)。

#### 2. 配列の合成 DNA カセットによる部分的置き換え

本法は、同一のストラテジーにより特定の領域に複数の変異を導入したものを、多種類作成するのに適しているが、現在ではあまり採られなくなりつつある。2つの異なった制限酵素切断部位を、変異を導入する配列を挟むようにえらぶ。その断片に対応し、変異を有するオリゴヌクレオチドとその相補鎖を合成し、annealing させて本来の断片の代わりに制限酵素切断部位で他の断片に接合する(一度に化学合成するのは50塩基以下が望ましいので、それ以上の長さにはわたる場合は付着端で連結できるように2つ以上の断片に分ける。

#### 3. PCR (Polymerase chain reaction) 法を用いた迅速な変異導入

現在のところ最も汎用性が高く、有効な方法といわれている。上の 1. 法では点変異の導入は可能であるが、2つ以上の異なった蛋白質間のキメラ(chimera)を作成するのには向かず、本法(或いは 2. 法)に頼らなければならない。PCR (Polymerase chain reaction) 法そのものは、今や人工的変異導入だけでなく cDNA クローニング、mRNA の同定、遺伝子の解析等、広く使われる強力な技術である。PCR の仕組みについては詳しく今までに記述されており<sup>6)</sup>、説明の必要もないと思われるが、template になる DNA の熱変成、primer の annealing、高温での DNA ポリメラーゼによる DNA 合成伸長反応の、3つの過程を繰り返す行うことによって特定の cDNA 断片を増幅する技術である。したがって、変異の加わった合成オリゴヌクレオチド primer を用いれば、変異を含む cDNA

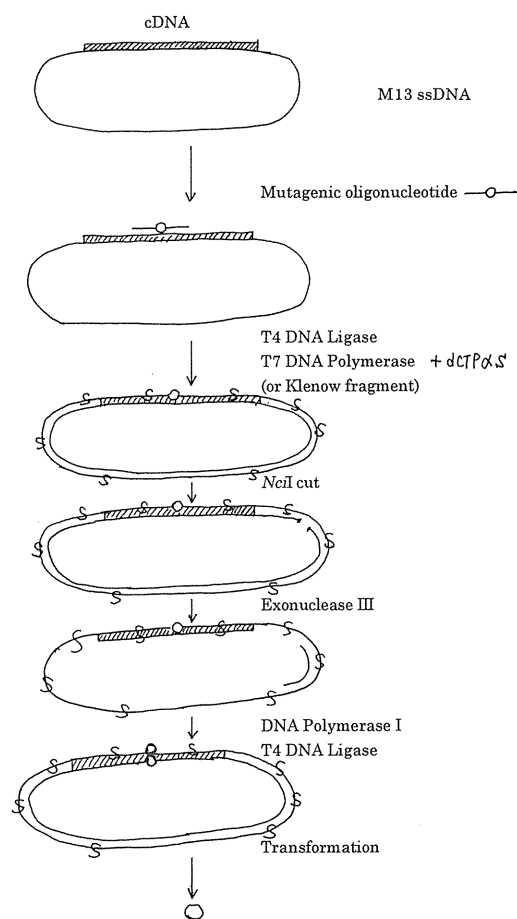


図 1 e. Eckstein 法

断片のみを増幅できる。変異 cDNA 断片を、本来の野性型断片と置き換えるためには、制限酵素切断配列を含むように primer をデザインすることが望ましい(図2)。しかしながら、制限酵素切断配列を primer 中に組み込めない場合は(図2), 切断配列を含む primer を変異導入部位から離れて5'及び3'側にデザインし, それぞれを変異導入部位を含む antisense 及び sense primer と組み合わせ PCR をおこなった後, それらの産物を5'及び3'側 primer と組み合わせて PCR を行うことにより, 中央部に変異が導入された断片が得られる。PCR に使われる熱耐性 DNA ポリメラーゼは本来の Taq ポリメラーゼの他に, その欠点を補うような, 新たな酵素が開発されている。3'-5'exonuc-

lease 活性を有し PCR 産物を proof reading (template の配列との一致を確認し, 合成配列の誤りを削除)する Taq DNA ポリメラーゼ, Vent DNA ポリメラーゼ, Pfu DNA ポリメラーゼ等が, 熱安定性を増して市販されている。ミスプライミングによる非特異的 PCR 生成物を防ぐために, 従来は, 例えば, 酵素を含む PCR 反応試薬の一部を反応チューブの温度が 60~80℃に達するまで除いておく Manual Hot Start 法, PCR 試薬, 反応液をワックスを境に2層に分離する Wax Hot Start 法などの幾つかの改善法が用いられてきた。現在は, より有効な改善が加えられ, PCR による変異導入を非常に有用性を高めている。たとえば, 非加熱時には酵素が非活性状態を維持する Taq DNA

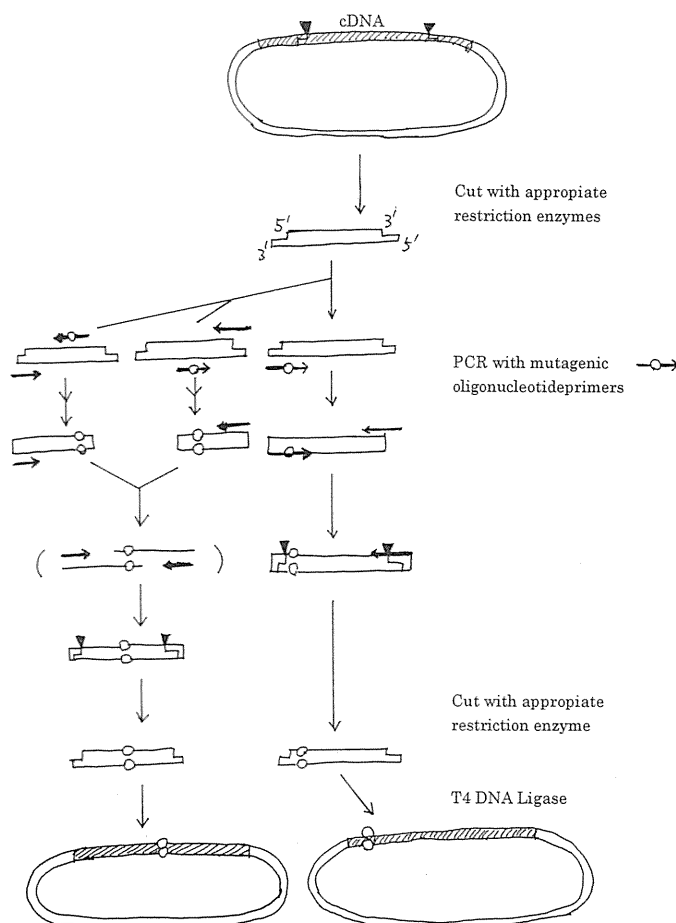


図2. PCR (Polymerase chain reaction) 法を用いた迅速な変異導入

Polymerase を使用する方法 (Perkin Elmer 社), 或いは, 65°C 以下では Taq DNA Polymerase 活性を阻害する抗 Taq 抗体を使う方法 (Clontech 社) 等が, 初期サイクルにおける過剰な酵素活性がもたらす非特異的生成物の抑制に有効である。

### Ⅲ. DNA 分解酵素等を用いた欠損の導入

本法は最も古典的な配列欠損導入法である。現在は上に紹介した各法において, 合成オリゴヌクレオチドの欠損が生じるべくデザイン可能なので, すたれつつあるが, 依然として安価であり, 1 回の試行で多数の欠損変異体の作製が可能であるという長所も持ち合わせている。図 3 に示すような, 一方向性の欠損導入が有効である。即ち, まず消化する側に 5' 突出末端, そのまま保存する側に 3' 突出末端が生じるように, プラスミドにユニークな制限酵素部位を切

断する。ついで, Exonuclease III の 2 本鎖特異的な exonuclease 活性による DNA の 1 本鎖化, Mung Bean Nuclease による 1 本鎖の分解, Klenow Fragment による末端平滑化, Ligase による環状化を経て達成される。反応時間をふり DNA 分解を行った後に, 電気泳動を行い分画・回収する過程を付け加えることにより, 欠損の程度が調整可能である。

### Ⅳ. sequencing による確認

変異導入に用いられた断片への変異が正しいか, あるいは予定外の変異が他の部分に導入されてないかを確認することが薦められる。電気泳動セットを含めて dideoxy 法 (Sanger 法) のための Kit が各社より販売されており, 容易に行うことが可能である。また, 自動 sequencer (ABI 社等) が所属研究施設において利用可能ならば, PCR と組み合わせ, より簡便に sequence の確認が可能である。

### Ⅴ. 発 現 系

他稿において記述されることが期待されるので, 紙面の都合からここには, 概要だけを述べたい。組み換え蛋白質の発現系には, 一過性のものと安定的なものがある。発現系としては多様な細胞があり, それぞれに適した発現ベクターが用意されている。

イオンチャネルの発現系として最も広範に用いられてきたのがアフリカツメガエルの卵母細胞における一過性発現である。本細胞には主として, cDNA から in vitro 転写して得た cRNA を注入してチャネル蛋白質を発現させる。そのために, 各種 RNA Polymerase (T7, T3, および SP6 等) に対する promotor を有する plasmid に当該チャネルの cDNA を挿入し, RNA Polymerase を用いて in vitro 転写, RNA 合成を行う。cDNA 本来, あるいは他 cDNA 由来の poly A 配列が 3' 末端に付加されている必要がある。めざす発現レベルに従って濃度調整した (>2 mg/ml) cRNA が 1 卵母細胞あたり約 50 nl 注入される。

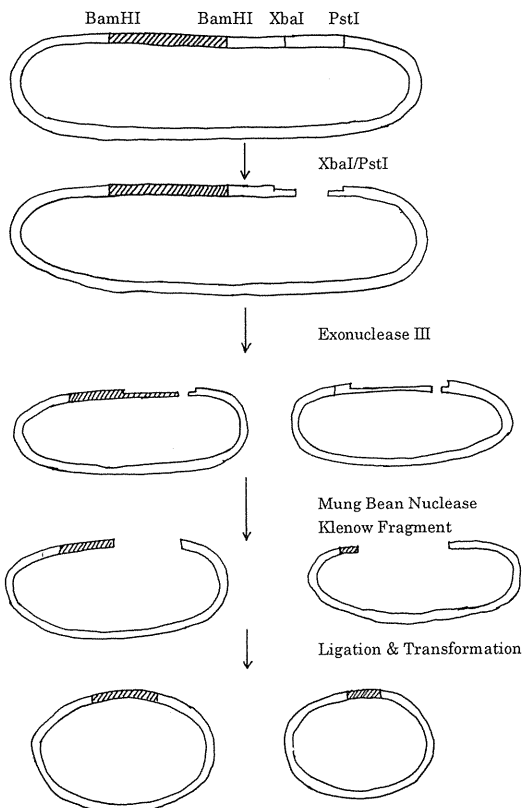


図 3. DNA 分解酵素等を用いた欠損の導入

動物細胞では、一過性(transient)および安定的(stable)発現に human embryonic kidney (HEK) 細胞および chinese hamster ovary (CHO) 細胞、安定的発現に baby hamster kidney (BHK) 細胞および L-細胞、一過性発現に COS 細胞等のいわゆる非興奮性の線維芽細胞が頻繁に使われている。動物細胞発現用の vector は、SV 40 early gene promotor CMV (cytomegaro virus) promotor 等の強発現 promotor を含む。一過性発現用 vector には特に、染色体外で episome として高コピー数複製するための DNA 配列が重要である。染色体上に安定的に導入 DNA が維持された発現細胞を得るためには、選択マーカー(抗生物質等薬剤に対する耐性を賦与する、あるいは特定の栄養を欠く培地での生育を可能にする酵素の活性)遺伝子を同時に transfection する必要がある。選択マーカーとしては、チミジンキナーゼ(thymidine kinase), ジヒドロ葉酸還元酵素(dihydrofolate reductase), aminoglycoside phosphotransferase 等が代表的であるが、host cell は選択マーカー遺伝子を欠損していることが重要である。これらの系は、baculovirus Sf9 昆虫細胞を含め、高蛋白質発現量が見込まれるので、アフリカツメガエル卵母細胞よりもレセプター・イオンチャネルの蛋白化学的同定、リガンド結合測定には適している。また、primary culture における一過性発現には、核への cDNA microinjection が有効である。

発現系の選択をするにあたり非常に重要になってくるのは、用いる細胞における内在性のレセプター・イオンチャネル活性を知ることである。当然の事ながら、解析対象蛋白質を内在

的に発現しているものは使用に適さない。この点、遺伝的に内在蛋白質が欠損した(knock out された)細胞は、心配が全くない。その上、本来の発現組織(環境)に cDNA 導入が可能になるので、G (GTP 結合)蛋白質・細胞内セカンドメッセンジャー系による機能修飾を調べる際に、異所性発現におけるような“artifact”の懸念に煩わされることなく、“native”の現象を観察できる。

## VI. お わ り に

可溶性の球状蛋白におけるように、今後はX線・電子線解析、NMR 等 3 次元構造の解析技術の進歩と共に、詳細な 3 次元構造情報を基にした蛋白質機能発現の構造上の理解が可能なると思われる。しかしながら、各構造要素の機能的重要性をしるためには依然として変異導入は必須であり、今後レセプター・イオンチャネル等の生理的に重要な膜蛋白質群に対する理解は、アミノ酸配列(蛋白質 1 次構造)・蛋白質高次構造・機能の 3 側面から、より総合的なものになると考えられる。

## 文 献

- 1) Zoller, M. J. and Smith, M. (1983). *Methods in Enzymology* **100**, 468.
- 2) Kramer, W. and Frits, H. J. (1987). *Methods in Enzymology* **154**, 350.
- 3) Kunkel, T. A. (1985). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **82**, 488.
- 4) Deng, W. P. and Nickoloff, J. A. (1992). *Anal. Biochem.* **200**, 81.
- 5) Eckstein, F. and Makamaye, K. I. (1986). *Nucleic Acid Res.* **14**, 9679.
- 6) Dieffenbach, C. W. and Dveksler, G. S. (eds.) (1995). *PCR primer. A laboratory manual* (Cold Spring Harbor Laboratory Press).

## in situ ハイブリダイゼーション (ISH) 法

木 山 博 資

(旭川医科大学解剖学第一)

### I. は じ め に

解剖学・生理学・薬理学など古くから体系づけられた学問分野はそれぞれ独自の研究手法を持ち、学問分野の発展に寄与してきた。しかし近年の急速な技術発展にともない分野間の境界領域の爆発的な発展や、従来の分野の範疇に入らない研究領域が急速に膨らんできた。従ってある特定の機能の追求には、従来の様々な分野に属する研究技法を駆使して研究を展開して行かなければならない。解剖学者も電気生理をやれば分子生物学もやって行かなければならない時代の到来である。自前ですべてをやって行くお金と余裕があれば別であるが、異なる分野の研究者どうしが共同研究を流動的に組むことがきわめて重要である。そのためにも、少なくとも他分野の研究手法の概略を把握しておくことが、自らの研究を広く展開して行くために不可欠となってきた。

組織化学の最大の特長は高い空間解像度にあ

る一方、その問題点は定量性にある。しかし、条件設定がうまく行われた実験系で、目的分子の変化の振幅が大きければ、組織中の特定の蛋白や核酸の可視化信号にはある程度の定量性が認められ、最近の画像処理機器などの発達にともない、個々の細胞に於ける蛋白や遺伝子の発現を比較定量する事も可能となってきた。これにより、今まで静的なものにとらえてきた組織学・形態学が動的なものも捉えることができ、様々な生理活性物質の動態を組織上で追跡することが可能になった。従って定量性を兼ね備えた組織学は、多くの生理学的・病理学的現象を高い空間解像度で理解する上で極めて有効な方法として位置づけられつつある。組織化学をよりダイナミックにした手法の一つに、組織中の mRNA を検出する ISH 法がある。一般に組織中の mRNA はその最終産物より是不安定で、mRNA の発現量は蛋白のそれより大きく変化する。従って mRNA を検出する ISH 法は蛋白発現量の変化をより鋭敏に捉えることができ

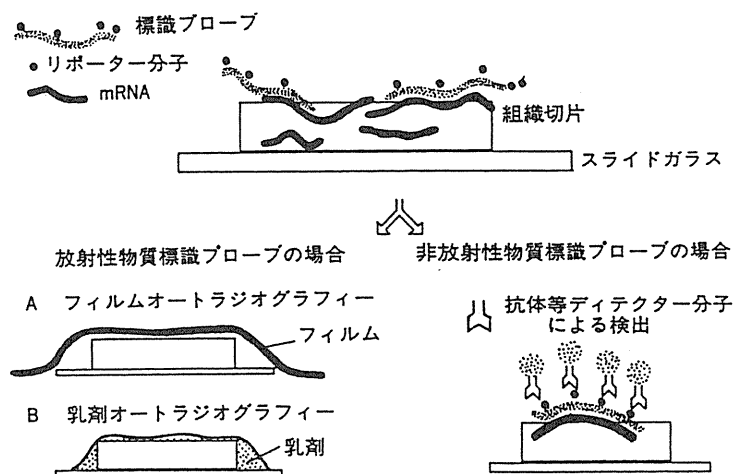


図 1. in situ ハイブリダイゼーション法の概略。

る。本方法では、組織内で特定の mRNA を検出するプローブに mRNA と相補的な塩基配列を持たせ、可視化のためのリポーター分子が標識されている。このリポーター分子が放射性物質であれば可視化はオートラジオグラフィ (ARG) によって行われ、また非放射性物質の場合にはリポーター分子を免疫組織化学的な手法などで可視化しなければならない (図 1)。放射性物質標識されたプローブの可視化にはオートラジオグラフィを用いるが、これが ISH 法の最大の特長である高解像度を低下させることになる。露光時間と解像度の問題は放射性物質標識プローブを用いる際には同時に解決できない問題である。このような問題点を解決する方法として開発が進められたのが、いわゆる非放射性物質標識プローブによる ISH 法である。

## II. プローブの選択

研究で ISH を行う必要に迫られたとき、最初の問題はどのタイプのプローブを用いるかである。現在 mRNA 検出にはオリゴプローブ (20～50 mer) か、RNA プローブ (数百から 1 キロベース程度) のどちらかを用いているものがほとんどである。初期に用いられていた M13 系を用いた一本鎖 DNA プローブや 2 本鎖 DNA プローブを用いる方法は最近ではほとんど見られない。オリゴ・RNA のそれぞれのプローブには長短所があり目的・状況に応じて使い分けが必要である。

オリゴプローブの最大の特長はプローブの合成から ISH の方法が簡単なこと、さらに定量性に優れているということである。シークエンス情報から直ちにオリゴプローブを DNA 合成機にて合成でき、いったん合成すれば数年以上の長時間に渡って保存することができる。また、ターゲットの mRNA とプローブのモル比が 1 : 1 であるため定量性に優れている。さらに特定の短い領域に対するプローブをデザインすることができるため、極めて類似した塩基配列を有する mRNAs を区別できる。例えばスプライシングバリエーションなどを容易に検出でき

る。欠点は、プローブ長が約 20～50 なので 3' 端のテーリング標識により 1 プローブあたりに導入することのできるリポーター分子の数には制限があることである。これが、RNA プローブに比べて検出能が低下する理由である。しかし標的 mRNA の複数の領域に対してそれぞれのオリゴプローブを合成しておき、プローブカクテルとして用いることで、感度は大幅に改善される。一方 RNA プローブの特長はプローブ長が長いので、導入することのできるリポーター分子の容量が大きいことである。これにより標的 mRNA 1 分子に結合したプローブは多くのリポーターを有することになり、検出能 (いわゆる感度) が向上する。短所としては、特定のベクターに組み込まなければならないことや若干の分子生物学的な手法を必要とし手技が複雑である点があげられる。また、スプライシングバリエーションなどのような類似した塩基配列を有する mRNA を識別することは困難な場合がある (図 2)。

プローブの選択においても一つ重要なことは、リポーターにアイソトープを用いるか非アイソトープを用いるかである。プローブには可視化のためのリポーター分子が標識されているが、リポーターに RI を用いればオートラジオグラフィで、non-RI のディゴキシジェン (DIG) やビオチンなどの小分子を用いれば、最終的には免疫組織化学的に酵素標識し、その発色で可視化することになる。非アイソトープのリポーターとして最もよく用いられるのがディゴキシゲニン (DIG) であり、これらのリポーターは抗体などのディテクター分子によって免疫組織化学的に検出される。したがってリポーターとしては、内因性に存在せず分子量が比較的小さく、かつ良いディテクター (抗体など) が存在するものが良い。また、ディテクターには一般に抗体が用いられるが、最終的には酵素反応的に発色可視化が行われなければならない。このとき、化学増幅度を上昇させるために多段階の反応が多く試みられたが、実際には単純な反応のほうがよいようである。これは反応のス

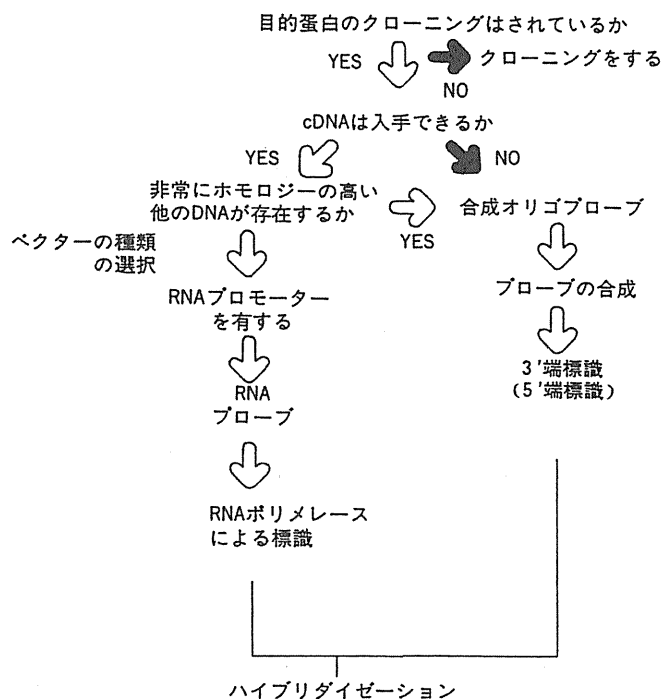


図2. プローブの選択.

テップが増えるにつれてバックグラウンドも増加し S/N 比が良くなるからであると考えられる。したがって発色のための酵素が直接結合した抗体を用いるのが最もシンプルでよい。発色のための酵素としては HRP やアルカリフォスファターゼがあるが、基質の安定性などを考えるとアルカリフォスファターゼが最もよい。アルカリフォスファターゼの基質 (NBT/BCIP) は最も安定しており HRP の基質の DAB などに比べはるかに長時間の発色反応に耐えうる。

### Ⅲ 組織標本の作成

in situ ハイブリダイゼーション法は組織上に存在する mRNA を検出するので、組織の出来不出来が結果に大きく反映する。滑らかなきれいな切片を作成することが大事である。また、RNase に対してはノーザン法の時ほど過度に敏感になる必要はない。組織中の mRNA は意外に安定である。新鮮凍結標本、パラフィン包埋標本、灌流固定標本 (4%ホルムアルデヒド

による灌流固定が一般的) などいずれも用いることができるが、このうち最も簡単で迅速なものが新鮮凍結標本である。新鮮凍結標本は組織試料を取り出した後、ドライアイスなどで急速に凍結するのが良い。ここで、凍結のスピードが遅すぎると組織が傷むので粉末に潰したドライアイスなどでさっと組織全体を包む様にして凍結する。試料が小さいものであれば液体窒素も良いが、凍結によるヒビ割れなどに注意しなければならない。凍結標本はクライオスタットで 5～20ミクロンの切片を作成する。クライオスタットでの切片作成のこつは、温度管理とアンチロールのバランスにある。新鮮凍結切片の場合には、通常-10度から-15度ぐらいが適している。最適温度はその日の湿度にも影響さ

れる。切片は可能な限り表面がなめらかでなければならない (メス傷や波打ったものは、アーティファクトの最も大きな原因になる)。標本はシランコート (3-aminopropyltriethoxysilane, Aldrich) したスライドガラスに貼り付ける。このときスライドガラスの裏から指の腹をあてて切片を暖めながらスライドガラスに貼り付ける。貼り付けた切片は、クライオスタットの庫内でも外でもしばらくの間なら放置してかまわない。但し凍結・融解を繰り返すことだけは避けなければならない。貼り付けた切片は、-20度以下の冷凍庫に保存する。半年から1年ぐらいいまで保存しても反応に大きな差は見られない。培養細胞で ISH を行いたいときには、ガラスのチェンバースライドを用いて培養するのが最も便利である。これはスライドガラスの上で細胞培養できるようになっているもので固定後にチェンバー部分をはずして通常のスライドガラスのように扱うことができる。

#### IV. アイソトープ標識 RNA プローブを用いた ISH

##### IV-1. プローブの調整

目的の遺伝子の cDNA を持っている場合はその全長または一部を特定のベクタープラスミドに導入する。ベクタープラスミドには pBluescript (Stratagene) や pGEM (Promega) に代表されるような、2 種の RNAPolymerase のプロモーター (SP6, T3, T7 など) が逆向きに配置され、その間にマルチプルクロニングサイト (MCS) を有するものがよい (図3)。目的の cDNA 断片を MCS に挿入する。どちらか一方の RNAPolymerase を作動させることによりセンスまたはアンチセンスのプローブを合成することができる。また、cDNA が手許にない場合

はシーケンス情報から PCR 用のプライマーを合成し、ライブラリーから500ベース程の cDNA を PCR で取ればよい。この時 PCR によって取れた DNA は必ずシーケンスして確かめておくか、制限酵素で切断してみて予想通りのフラグメントが得られることを確認しておく。

##### IV-2. プローブの標識

上記のようにして得られたプラスミドは環状であり、RNA 合成の鋳型とするにはこれを直鎖状にしなければならない (図3)。どちらの RNAPolymerase を作動させるかを決め (センスを作るのかアンチセンスを作るのかを決め) 適当な制限酵素で切断し、直鎖化する。RNA プローブ合成のための in vitro transcription キッ

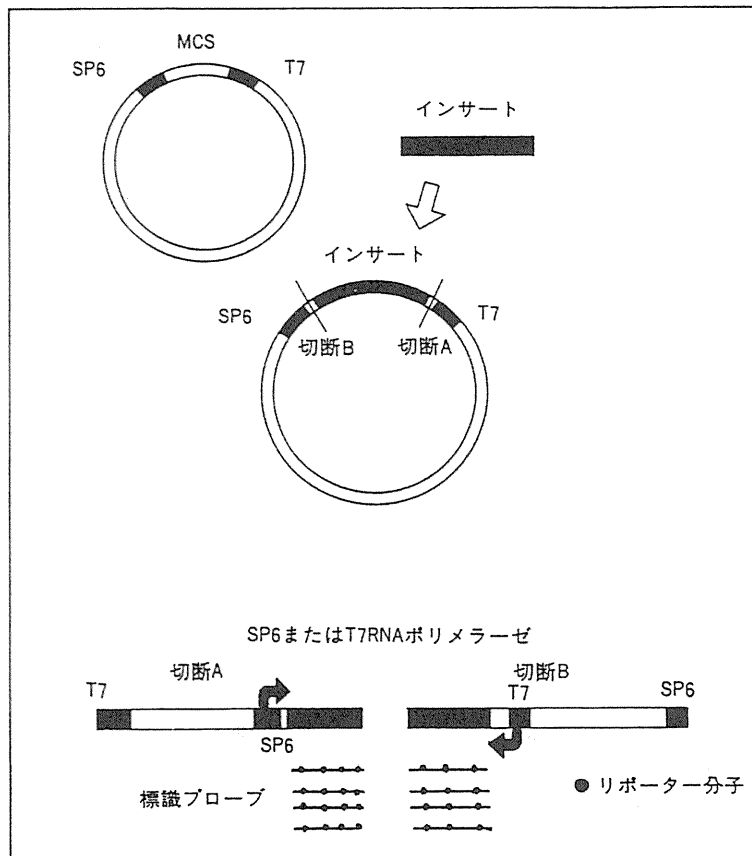


図3. RNA プローブのベクターと標識.

トは各社から販売されており、そのプロトコールに沿って標識すればよい。標識 RI として  $^{32}\text{P}$  はエネルギーレベルが高いため短期間のオートラジオグラフィーで結果が得られるが解像度が落ちる。一方  $^3\text{H}$  は高い解像度が得られるがエネルギーレベルが低すぎるため露出時間が数カ月にもおよぶ欠点がある。ちょうど中間のエネルギーレベルを有するという点で、 $^{35}\text{S}$  が好んで用いられる。最近では  $^{35}\text{S}$  より少しエネルギーレベルの高い  $^{33}\text{P}$  も良く用いられる。

#### IV-3. ハイブリダイゼーションプロトコール

1.  $-80^{\circ}\text{C}$   $\sim$   $20^{\circ}\text{C}$  で保存してあった切片をドライヤーなどを用いて速やかに室温に戻し乾燥させる。
2. 30分間固定液で固定する (4% パラフォルム溶液, 0.1 MPB)。
3. オートクレープした 0.1 M PBS (pH 7.4) で 2  $\sim$  3 回洗浄する (各 5 分)。
4. プロテアーゼ K で 5 分間処理。 (Proteinase K 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$  in 50 mM Tris-HCl, 5 mM EDTA)。
5. ステップ 2. で使用した固定液で 15 分処理し、プロテアーゼを失活させる。
6. PBS で 5 分間洗浄する。
7. 組織の前処理, 前処理液 (無水酢酸 0.25%, 0.1 M トリエタノールアミン) 中で約 10 分切片を処理する。
8. 脱水: 70%, 90%, 100% エタノールにそれぞれ 5 分浸け脱水する。エタノールは滅菌水で希釈する。
9. クロロフォルムまたは、キシレンに 10 分浸ける。
10. 100% エタノールで洗浄する。このエタノールは 5 分以上数時間浸けておいてもよい。実験を数日間延期したい場合にはエタノールに漬けたままで  $-20^{\circ}\text{C}$  に保存すれば良く、この場合結果に影響は認められない。
11. 切片を軽く乾燥させ、プローブを含むハイブリバッファー (5  $\sim$  10  $\times 10^6$  cpm/ml) をかける。スライドガラス一枚あたり 100  $\sim$  200  $\mu\text{l}$  のプローブ含有ハイブリダイゼーション液を

滴下し、気泡が入らないようにしてカバーガラスかカバーガラスの大きさに切ったパラフィルムをかける。

12. 切片は密閉した湿箱内にいれ  $55^{\circ}\text{C}$  の恒温そうで一晩反応する。
13. 4 XSSC につけ自然にカバーガラスがはずれるのを待つと同時に、軽くハイブリバッファーを取り除く。
14. 約  $65^{\circ}\text{C}$  にあらかじめセットした恒温水槽で 2 XSSC, 50% ホルムアミド, 0.1 M DTT 溶液で切片を約 30 分湯煎洗浄する。
15. RNase バッファー (10 mM TrisHCl, 1 mM EDTA, 0.5 M NaCl) で  $37^{\circ}\text{C}$  10 分 3 回洗浄する。
16. RNase A (1  $\mu\text{g}/\text{ml}$  in RNase バッファー) で  $37^{\circ}\text{C}$  30 分処理。
17. RNase バッファーで  $37^{\circ}\text{C}$  10 分洗浄する。
18. 約  $65^{\circ}\text{C}$  にあらかじめセットした恒温水槽で 2 XSSC, 50% ホルムアミド, 0.1 M DTT 溶液で切片を約 30 分湯煎洗浄する。
19. 2 XSSC と 0.1 XSSC でそれぞれ 10 分洗浄する。
20. エタノール系列を通して脱水乾燥させオートラジオグラフィーを行う。オリゴプローブのプロトコール参照。但しカウンター染色の際、ニッスル染色などの染色性はかなり落ちる。(RNase 処理のため)

#### V. DIG 標識 RNA プローブによる ISH のプロトコール

方法は上述の 19. まですべて同じでよく、その後以下のプロトコールを加える。

1. 発色バッファー A で室温 10 分洗浄。
2. ブロッキング: 発色バッファー A に 1% の Blocking reagent (ペーリンガー) を加えたもので 1 時間室温でインキュベーションする。
3. AP 標識抗 DIG 抗体をステップ 2. で用いたブロッキング用バッファーに加え (1 : 500), 室温で湿箱にいれ、オーバーナイトインキュベーションする。
4. バッファー A にて室温 3 回洗浄 (各 30 分)

から1時間).

5. 発色バッファーBで10分洗浄.

6. 発色バッファーBに発色基質 (NBT 225  $\mu\text{g/ml}$ , BCIP 263  $\mu\text{g/ml}$ ) を加え室温遮光で6時間から3日間反応. とときどき顕微鏡で観察して発色の状態を確認することができる. 発色が不十分であれば, 基質を加えて反応を継続できる.

7. 発色停止バッファー (10 mM Tris-HCl pH 7.0, 1 mM EDTA) で10分以上洗浄.

8. 発色停止バッファーとグリセロールを1:1に混合したもので封入する.

## VI. RI 標識オリゴプローブを用いた場合の ISH プロトコール

### VI-1. プローブのデザイン

最近はいくつかの注意点がある. まずは特異

性であるが, 目的の mRNA と相補的な塩基配列を決定後, その配列が本当に特異的であるかどうかを少なくとも最新のデータベースにアクセスして既知の他の遺伝子とクロスしないことを確認しておく. さらにプローブ同士が互いに一部でアニーリングしたり, 一本のプローブがヘアピン構造をとったりすることを避けなければならない. また, G/C 比があまりにも片寄りすぎているとハイブリダイゼーションの温度が大きく変わることがあるので, 50%前後のニュートラルなプローブの方が良いようである. これらの確認は実際に目で見て行うことができるが, 最近ではオリゴのプライマーやプローブ作製のためのコンピューターソフトが利用でき, これを用いて確認するのが最も容易である. 一旦塩基配列が決定されれば, 合成を業者に発注すれば数日以内に十分量のプローブが送られてくる (1回の反応には 1 pmol を使用するので一度合成すればかなりの量が得られる). 現在は1塩基あたり150円から200円程で精製までしてくれる.

### VI-2. プローブの標識

オリゴプローブの標識法として最も一般的な

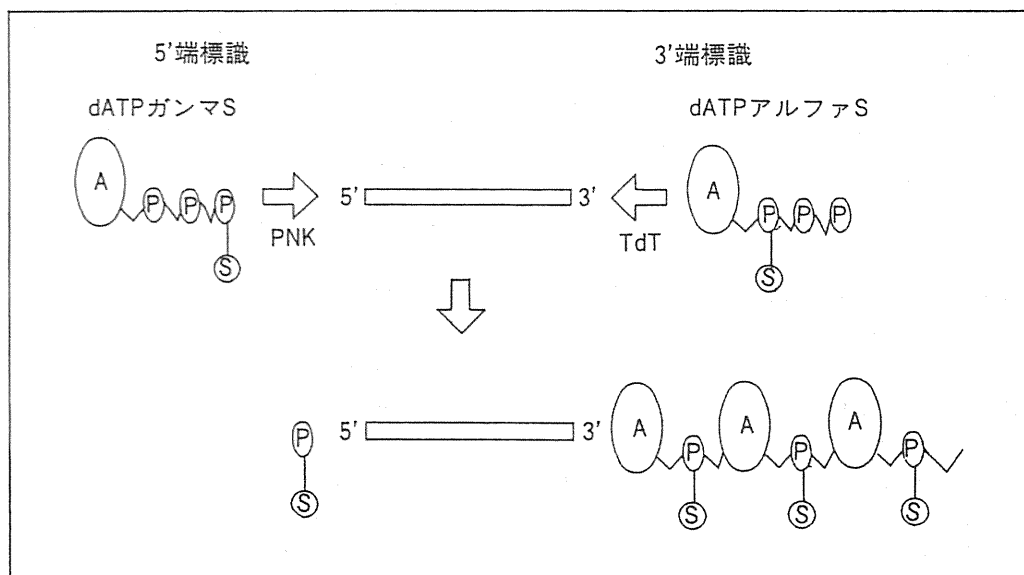


図4. オリゴプローブの標識.

ものは TdT (terminal deoxynucleotide transferase) を用いた 3' 側のテーリングである (図 4)。この標識も各社が販売している 3' 標識のキットを用いればバッファー等も添付されており大変便利である。RI にはやはり  $^{35}\text{S}$  標識の d-ATP または d-CTP を用いる。このとき  $^{35}\text{S}$  の標識が三リン酸のアルファの位置に結合しているものを使用する。ガンマーの位置に結合しているものは 5' 側の標識に用いるので注意する。通常 1 pmol のオリゴプローブ溶液 1  $\mu\text{l}$  を反応すれば、一回の反応には十分な標識プローブを得ることが出来る。標識反応後フェノール抽出、エタノール沈澱すれば、導入されなかった未結合の RI は取り除くことが出来る。また、エタノール沈澱のときにイーストの tRNA や salmon testis DNA などのキャリアを加えて沈澱させる。最終的にはプローブ 1  $\mu\text{g}$  あたり 10 の 9 剰程度の CPM が望ましい。

### VI-3. ハイブリダイゼーションプロトコール

1.  $-80^{\circ}\text{C}$   $\sim$   $-20^{\circ}\text{C}$  に保存してあった切片をドライヤーなどを用いて速やかに室温に戻し乾燥させる。

2. 30分間固定液で固定する (4 % パラフォルム溶液, 0.1 MPB)。

3. オートクレーブした 0.1 MPBS (pH 7.4) で 2  $\sim$  3 回洗浄する (各 5 分)。

4. 組織の前処理。前処理液中で約 10 分切片を処理する。

5. 脱水: 70%, 90%, 100% エタノールにそれぞれ 5 分ずつ浸け脱水する。エタノールは滅菌水で希釈する。

6. クロロフォルムまたは、キシレンに 10 分浸ける。

7. 100% エタノールで洗浄する。このエタノールは 5 分以上数時間浸けておいてもよい。

8. 切片を軽く乾燥させ、プローブを含むハイブリバッファー (5-10  $\times 10^6$  cpm/ml) をかける。スライドガラス一枚あたり 100 $\sim$ 200  $\mu\text{l}$  のプローブ含有ハイブリダイゼーション液を滴下し、気泡が入らないようにしてカバーガラスか

カバーガラスの大きさに切ったパラフィルムをかける。

9. 切片は密閉した湿箱内にいれ 37 度の温度の恒温そうで一晩反応する。

10. 1 xSSC につけ自然にカバーガラスがはずれるのを待つ。

11. 約 55 度にあらかじめセットした恒温水槽で 1 xSSC を用いて切片を湯煎洗浄する。15 分から 20 分ごとに SSC 液をあらかじめ暖めた新しいものに代え約 1  $\sim$  1.5 時間洗浄する。

12. 1 xSSC 中で切片を室温に戻し、素早く蒸留水・70% エタノール (各 1 分以内) に通し乾燥させる。

13. オートラジオグラフィー: 切片がある程度の大きさがある場合 (例えばマウス脳切片) は、まずフィルムオートラジオグラフィーを行うことを薦める。 $^{35}\text{S}$  の場合通常のオートラジオグラフィー用のフィルムをあてて 1 週間露出する。これで実験の成否がおおよそ判る。

14. 乳剤オートラジオグラフィー。暗室内で約 40 度に暖めた乳剤 (通常 1 : 1 に水で希釈する) にスライドグラスをゆっくりと入れ引き上げる。裏面の乳剤をふき取った後、乾燥させる。乾燥させた切片は暗箱に入れ、 $^{35}\text{S}$  で約 3  $\sim$  6 週間、 $^{33}\text{P}$  で 1  $\sim$  4 週間露出する。

15. 現像は暗室で現像液 (Kodak D-19,  $20^{\circ}\text{C}$ , 3  $\sim$  5 min), 停止液 (1 % 酢酸, 数十秒), 定着液 (フジフィックスなど 5 分) に順に浸け、最後に水洗い (15 分) の後乾燥させる。定着を長時間すると銀粒子に影響を及ぼすので注意する。

16. 必要ならばニッケル染色や HE 染色などのカウンター染色を行った後カバーガラスで封入する。

### VI-4. 非アイソトープ標識オリゴプローブを用いた ISH

RNA プローブを用いた場合には DIG をリポーターとして用いたが、オリゴプローブを用いる場合には DIG は比較的バックグラウンドが高くなる。この理由は不明だが、DIG はステロイド様構造を有しこれがプローブの一方の

側に連続して並ぶとプローブに極性が生じ非特異的に膜に結合しやすくなると考えられる。今のところ非アイソトープ標識オリゴプローブによる ISH で比較的良好な成績を上げているものに、アルカリフォスファターゼ (AP) 標識オリゴプローブによる ISH がある。このプローブはオリゴヌクレオチドに AP 蛋白を結合させたもので、オリゴに蛋白質を結合させるためのアミノ基をあらかじめ導入しておく必要がある。これは、DNA 合成の時にアミノ基を有するヌクレオチドを任意の位置に組み込むことによって可能であり、後はオリゴのアミノ基と AP のアミノ基どうしを DSS などのクロスリンカーにて結合させそれを陰イオン交換カラムで精製する。蛋白と核酸のコンジュゲーションなので、蛋白の取扱に慣れた研究者には良いが、初心者には多少繁雑である。また本プローブの作成を外注することもできる (株ヤトロン)。本プローブを用いた時のプロトコルは前述のプロトコルの 1. から 9. までは同じでよい。異なる点は内因性の AP 活性を失活させるために 3. と 4. の間に 10 分間の 0.2 N HCl での処理を行う。これにより内因性の AP 活性はほとんどなくなるが組織上の mRNA には影響を及ぼさない。またハイブリタッシャーには DTT は不要であり、フォルムアミド濃度を 45% にまで下げることができる。前述のプロトコルの 9. より以下に AP 標識プローブの場合を紹介する。

10. カバーガラスを取り除く際にハイブリタッシャーを 1  $\mu$ l 程度取って置き後で酵素活性をチェックする事ができる。

11. 37度から 50度にあらかじめセットした恒温水槽で 1xSSC を用いて切片を湯煎洗浄する。15分から20分ごとに SSC 液をあらかじめ暖めた新しいものの換え約 1 から 1.5 時間洗浄する。

12. 室温の 1xSSC 中で切片を室温に戻す。

13. 発色反応バッファー A 中に 10 から 15 分切片をいれる。

14. 発色反応バッファー B に約 5 分間浸ける。

15. 発色反応バッファー B に基質の NBT/BCIP を加えたものを切片の上にマウントし湿箱中で反応する。湿箱は暗所に置か箱をアルミフォイルで包んで光が当たらないようにする。(反応は数時間から 3 日程まで)

16. 発色停止バッファー中で 30 分から 1 時間洗浄。

17. 封入。反応停止バッファーとグリセロールを 1 : 1 に混ぜたものを用いる。切片は冷暗所に保存する。

## VII. オートラジオグラフィー

ハイブリダイゼーション後の RI の可視化の手法としてオートラジオグラフィーがある。これにはフィルムを用いるフィルムオートラジオグラフィーと写真乳剤を直接組織切片に塗る乳剤オートラジオグラフィーがある。

### VII-1. フィルムオートラジオグラフィー

フィルムオートラジオグラフィーはハイブリダイゼーション後の組織切片にフィルムを圧着し組織切片からでてくる放射線によりフィルム上の銀粒子が感光する性質を利用するものである。適当な期間の露出後にフィルムのみを現像するものである。したがって一般に細胞レベルの高い解像度を得ることは困難であるが、1 週間程度の露出期間 ( $^{35}\text{S}$  の場合) で結果が得られる。また、フィルム中の乳剤の厚みが一定であるため定量性が良い。したがって定量性が求められる実験には乳剤よりフィルムの方が良いし、乳剤をかける前に実験がうまくいっているかどうかチェックに用いることが出来る。一般にコダックの XAR などのフィルムが良く用いられる。またベータ線の飛呈の短い  $^3\text{H}$  などには、解像度を上昇させるために保護膜がないフィルムもある。これらの場合は現像には自動現像機を用いることはできず、皿現像となる。自動現像機にかけることの出来るフィルムであれば、機械現像でよいが、その他の場合はフィルムに適合した現像液や定着液を用いる。

## VI-2. 乳剤オートラジオグラフィー

細胞レベルでの高い解像度が要求されるときには、乳剤オートラジオグラフィーを用いる。解像度が高い分  $^{35}\text{S}$  で約 1 カ月の長期に渡る露出が必要となる。乳剤をかけるポイントは均一に塗ることであるが、なかなかこれが難しい。乳剤の厚い所はバックが高くなるので、厚みにむらがあるとバックグラウンドにもむらができる。また、血管などの穴の多い組織では血管の内側などの組織の端がどうしても乳剤が厚くなり、バックグラウンドが高くなる傾向がある。組織切片標本の作成時の出来具合が大きく反応に現われる。一般に乳剤としては、コダックの NTB II か III, またはイルフォードの K-5 が良く用いられる。乳剤は発注してから手元に届くまでかなりの期間を要するため注意を要する。また、まれに感光している場合もある。

1. 乳剤は暗室内で使用時に温水 (40度程度) で 1 : 1 に溶解希釈し、特定の乳剤瓶にいれ恒温槽 (40度) の中で保温しておく。

2. スライドガラスをゆっくり乳剤に浸けそのままゆっくりと引き揚げる。

3. 標本のない裏面についた乳剤はティッシュペーパーなどで拭っておき乳剤を乾燥させる。この時標本を水平に静置もしくは立てかけて置いてもよい。

4. 乾燥したら暗箱にいれきっちりと遮光し、他の強い放射線に被爆しないところで保管する。 ( $^{35}\text{S}$  で 3 週間から約 1 カ月)

5. 現像は D-19 などの現像液がもっとも一般的である。きっちりと現像液の温度を 20度にして約 5 分浸ける。

6. 軽く水につけ現像液を洗う。

7. 定着液 (フジフィックスなど) に 5 分以上 15 分まで浸ける。長期間定着液に浸けると銀粒子が変性する。

8. 15 分以上水洗し乾燥させる。

9. カウンター染色が必要な場合には染色し脱水封入する。RNA プローブの場合 RNase 処理をするので組織の染色性が落ち良く染色できないことがある。

## 各種溶液作製法

### スライドの準備

1. あらかじめ乾熱滅菌などで処理したものまたはエタノールで洗浄したスライドガラスを用意する。

2. スライドコート用シラン溶液 (100 ml)

|                                         |       |
|-----------------------------------------|-------|
| 3-aminopropyltriethoxy-silane (Aldrich) | 2 ml  |
| アセトン                                    | 98 ml |

3. スライドガラスをシラン溶液に数秒浸け、次に 100% アセトン溶液に軽く浸け乾燥する。

4. オリゴプローブの場合は 0.5% ゼラチン溶液に浸けるだけでも良い。RNA プローブの場合は高い温度で反応するためゼラチンは良くない。

### 固定液 (オリゴ・RNA)

50 ml の水を 70 度に暖め 2-4 N の NaOH を数滴加える。4 g のパラホルムアルデヒドを加え透明になるまで攪拌する。最後に 0.2 M PB (pH 7.5) を 50 ml 加える。

### 前処理液 (100 ml) (オリゴ・RNA)

|                  |                   |
|------------------|-------------------|
| triethanol amine | 1.5 ml            |
| Aceto Anhydride  | 250 $\mu\text{l}$ |
| NaCl             | 0.9 g             |
| H <sub>2</sub> O | 100 ml            |

### ハイブリダイゼーションバッファー (10 ml) (オリゴ)

|                              |                   |
|------------------------------|-------------------|
| deionized formamide          | 5 ml              |
| 20 xSSC                      | 2 ml              |
| 50 xDenhardt                 | 200 $\mu\text{l}$ |
| salmon testis DNA (10 mg/ml) | 400 $\mu\text{l}$ |
| dextran sulfate              | 1 g               |
| H <sub>2</sub> O             | 2.4 ml            |

### ハイブリダイゼーションバッファー (100 ml) (RNA)

|                              |       |
|------------------------------|-------|
| deionized formamide          | 50 ml |
| 1 M Tris-HCl (pH 8.0)        | 2 ml  |
| 0.5 M EDTA                   | 1 ml  |
| NaCl                         | 1.8 g |
| 0.2 M NaPB (pH 8.0)          | 5 ml  |
| 50 xDenhardt                 | 2 ml  |
| salmon testis DNA (10 mg/ml) | 2 ml  |
| yeast tRNA (50 mg/ml)        | 1 ml  |
| dextran sulfate              | 10 g  |
| 10% sarcosyl                 | 2 ml  |

H<sub>2</sub>O で最終 100 ml にあわせ -20度保存

## RNase バッファー (3000 ml)

|                                  |        |
|----------------------------------|--------|
| 1 M TrisHCl (pH 8.0)             | 30 ml  |
| 0.5 M EDTA (pH 8.0)              | 30 ml  |
| NaCl                             | 87.7 g |
| H <sub>2</sub> O で 3000 ml にあわせる |        |

## RNA プローブ洗浄用バッファー (200 ml)

|                  |        |
|------------------|--------|
| 100% フォルムアミド     | 100 ml |
| 20 xSSC          | 20 ml  |
| 1 M DTT          | 20 ml  |
| H <sub>2</sub> O | 60 ml  |

## 発色バッファー A (500 ml) (non-RI の場合)

|                        |        |
|------------------------|--------|
| 2 M Tris Base          | 25 ml  |
| NaCl                   | 4.5 g  |
| H <sub>2</sub> O       | 475 ml |
| conc. HCl で pH 7.5 に調整 |        |

## 発色バッファー B (500 ml) (non-RI の場合)

|                            |        |
|----------------------------|--------|
| 2 M Tris Base              | 25 ml  |
| NaCl                       | 2.9 g  |
| MgCl <sub>2</sub>          | 5 mg   |
| H <sub>2</sub> O           | 475 ml |
| conc. HCl で pH 9.0~9.5 に調整 |        |

## 発色停止バッファー (500 ml) (non-RI の場合)

|                        |        |
|------------------------|--------|
| 2 M Tris Base          | 2.5 ml |
| NaCl                   | 4.5 g  |
| EDTA                   | 86 mg  |
| H <sub>2</sub> O       | 475 ml |
| 1-2 N NCl で pH 7.5 に調整 |        |

## 基質保存液 (non-RI の場合)

Nitro Blue Tetrazolium (NBT) 7.5 mg を 1 ml の 70% dimethyl formamide で希釈.

5-bromo-4-chlore-3-indolyl phosphate (BCIP) 50 mg を 1 ml の 100% dimethylformamide で希釈.

両保存液は -20度で保存し, 使用時には 10 ml の発色バッファー B に NBT 45  $\mu$ l, BCIP 35  $\mu$ l 加え, 発色液とする.

## non-RI の場合の封入液 (2 ml)

|           |      |
|-----------|------|
| 発色停止バッファー | 1 ml |
| グリセロール    | 1 ml |

## 参 考 文 献

- 1) 塩坂貞夫, 木山博資. 神経化学研究の先端技術 プロトコール (I. 分子組織化学), 厚生社, 1994.
- 2) 遠山正弥, 塩坂貞夫, 木山博資. バイオマニユアルシリーズ 9, 蛋白質・核酸分子の in situ 同定法, 羊土社, 1994.

## マウス個体における遺伝子ノックアウト

八 木 健

(岡崎国立共同研究機構・生理学研究所)

### 1. はじめに

安定したマウス胚幹 (ES) 細胞株樹立と相同遺伝子組換え法技術開発により、マウス染色体を目的に応じ自在に変換したマウス個体の作製が可能となった。この技術革新により、染色体上に存在する遺伝情報が哺乳類個体レベルでの生理現象をどの様に制御しているかを解明する方向性が拓かれた。また、これらの手法は現在コンディショナルノックアウト法をも生みだし、特異組織の特異時期における遺伝子欠損法も可能となってきている。ここでは我々が生理学研究所において行っているノックアウトマウス作製技術について紹介したい。

### 2. ノックアウトマウス作製の原理

ES 細胞はマウス 4 日胚の内部細胞塊より樹立されたもので、マウス個体の全ての細胞に分化できる性質を持っている。LIF (leukemia inhibitory factor) は ES 細胞の分化を抑制する因子であり、この因子を培養液中に添加することにより安定した ES 細胞の培養が可能となる。現在までに、129 系統のマウスを中心として多くの ES 細胞株が樹立されているが、我々は CBA と C57BL/6 マウスの F1 より徳永智行博士により樹立された TT2 細胞からサブクローン化した細胞を用いている(1)。このマウス系統の遺伝的背景は重要であり、マウス系統によっては生理現象が全く異なっている場合があることに注意する必要がある。129 系のマウスでは空間学習課題として用いられるモリス水迷路学習ができない系統であることが報告され議論を醸し出している。相同組換え細胞を得てキメラマウスを作製し、特定遺伝子ノックアウト

マウスを得る原理を図 1 に示す。

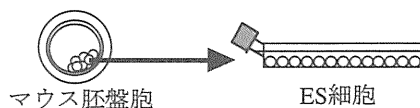
### 3. ターゲティングベクター構築法

ターゲティングベクターを構築する際に重要となるのは、遺伝子変換マウスを作製する目的である。遺伝子欠損による効果を明らかにする場合も null となるのか、一部の遺伝子発現が残るのか考慮をする。現在特に、後に述べるような Cre-loxP システム、テトラサイクリンによる遺伝子発現制御システムを用いることができるので遺伝子変換マウスができた後の研究の展開まで考えておきたい。その際、特に重要となるのは遺伝子座のどの位置に変異を導入するかであるが、翻訳開始コドン、機能ドメイン、スプライシング領域のどの位置に変異を挿入するか十分考えることが必要である。

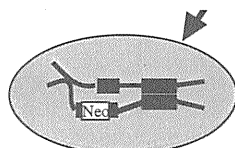
### 4. ゲノミック遺伝子のスクリーニング

どの位置に変異を導入するかがきまったら、その cDNA 領域をプローブに用いてスクリーニングを始める。用いるゲノミック DNA ライブラリーは、できるだけ用いる ES 細胞由来のものを用いる。我々の用いている TT2 細胞などの様なヘテロな遺伝的背景を持つ細胞株については実際に解析を行うマウス系統側でのライブラリーを選択する。マウス系統によりゲノミック DNA の遺伝子配列が完全に一致しているかは不明な場合が多く、系統差による遺伝子配列の違いにより相同組換え体が得られない場合もあるので注意する。我々は杉野英彦博士により作製された EMBL3 の BamHI サイトに TT-2 細胞ゲノミック DNA を MboI で partial digestion した 15 から 20 kbp が入ったライブラリー (EMBL-TT2) を主に用いている。

## (1) ES細胞の樹立

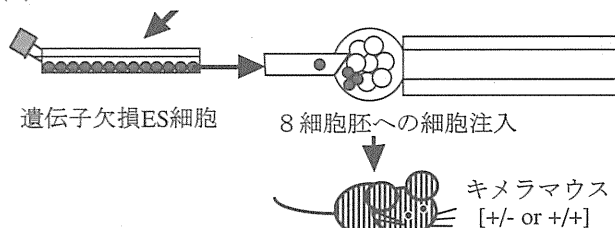


## (2) 相同遺伝子組換えによる遺伝子変換



ターゲティングベクターのES細胞への導入

## (3) キメラマウスの作製



## (4) 遺伝子欠損マウスの作製

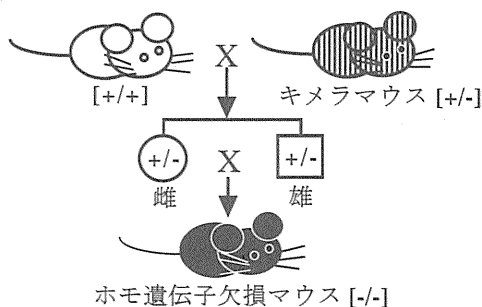


図1. ターゲティングマウス作製の原理

ライブラリーのスクリーニング法は一般的な方法であるが、宿主の大腸菌 XL1-blue MRA (P2) を用い、約106のファージをスクリーニングしている。1st スクリーニングでポジティブがあれば、イエローチップの先をハサミで切ったものを用いてピックアップする。SM 溶液中でピッペティングして1/100量のクロロフォルムを加えて保存する。2nd スクリーニングでは10 cm ディッシュに約10から100個のプラークができるように撒き、シングルプラークをとる。ファージ DNA と ES 細胞ゲノミック DNA を3種ほどの制限酵素で消化し、サザン

プロット法で比較する。得られた DNA が ES 細胞ゲノミック DNA と同様に消化されているか確認する。もし、異なる場合は偽遺伝子、DNA の組換わりなどが考えられるので、更に取り直す必要がある。

次にこのゲノミック DNA を Bluescript 等のプラスミドに挿入する。多くの場合 SalI サイトで切り出されるが、もしゲノミック DNA 中に SalI サイトがある場合は、部分的に入れておき、制限酵素地図より前後をしっかりと決める。ゲノミック DNA がプラスミド中に挿入されたものを用いて、大まかな制限酵素地図、ター

## ターゲティングベクター

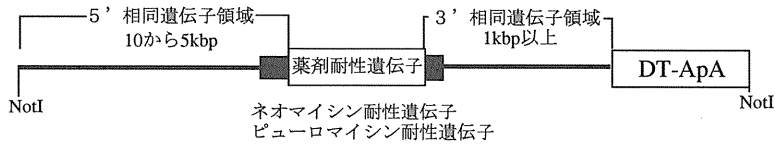


図 2. ターゲティングベクターの略図

ゲティングするエクソンの位置の決定, そのエクソン周辺の塩基配列を決定する。

### 5. ターゲティングベクターの相同遺伝子組換え

ターゲティングベクターは目的とした遺伝子座の DNA と相同組換えさせるためのベクターであり, 挿入したい外来遺伝子を相同遺伝子により挟んで, その両側で相同組み換えを起こさせる。しかし, 相同遺伝子組み換えの頻度は低く, その効率をあげる工夫も必要となる。

1) 5' 側, 3' 側の相同遺伝子領域をなるべく長くする。通常どちらかの片側を 5 kbp 以上にする。10 kbp 以上でもよく, 長いことが望まれる。一方が長ければ, もう片方は短くてもよく, 0.5 kbp 以上あればよいという報告もある。しかし, 安全性を考えて, もう片方も 1.0 kbp 以上にした方がよい。

2) 外来遺伝子の長さには相同組み換えの頻度は影響しないことが報告されているが, 挿入する遺伝子座をある長さ削除してその代わりに外来遺伝子を導入したい場合, 削除される遺伝子領域より外来遺伝子領域が短いと極端に相同組み換えの頻度が低下する。

3) 挿入する外来遺伝子には薬剤耐性遺伝子を用いる。現在, 多くの場合 neo 遺伝子がいわれているが, ピューロマイシン耐性遺伝子も効率よく用いることができる。ハイグロマイシン耐性遺伝子も用いられている。

4) 相同組み換えがおこる外側にネガティブ遺伝子を導入する。このネガティブ遺伝子には, HSV-tk 遺伝子, DT-A 遺伝子がいわれているが, 我々は培養液中に薬物を加える必要がない DT-A 遺伝子を用いている(2)。今までトラ

ンジェントな発現による細胞死が DT-A 遺伝子で危惧され, polyA 付加シグナルを付けないベクターを用いてきたが, トランジェントな発現による細胞死は ES 細胞では起こりにくいことが最近我々の研究室で明らかとなり, 現在我々は DT-A と neo 遺伝子の polyA 付加シグナルを抜くこと無しに選別を行っている。

5) 相同組換え体を選別する際に PCR 法を用いることにより, 労力, 培養スペースを押さえることができる。しかし, PCR の条件検討を十分行う必要があり, 偽陽性が多く得られる場合があるので, 現在我々は, 直接サザンブロット法により解析を行っている。

以上の条件を満たす理想的なターゲティングベクターを図 2 に示す。なお, ターゲティングに必要なベクターは pGKNeopA, pGKPacpA, pMC1DT-ApA である。また, 遺伝子導入の際にターゲティングベクターを線状化する必要があるので注意する。我々は pMC1DT-ApA に NotI サイトを線状化用に挿入している。これらのライブラリー, ベクターについては我々の研究室より供与可能である。

### 6. ターゲティングベクターの ES 細胞への導入法

#### タイムテーブル

| 日数 | ES 細胞        | フィーダー細胞        |
|----|--------------|----------------|
| 1  |              | 凍結プライマリー細胞を戻す。 |
| 2  |              |                |
| 3  |              |                |
| 4  |              |                |
| 5  |              | フィーダー細胞の調整。    |
| 6  | 凍結 ES 細胞を戻す。 |                |
| 7  |              | 凍結プライマリー細胞を戻す。 |
| 8  |              |                |

- 9 継代する.
- 10
- 11                               フィーダー細胞の調整
- 12 エレクトロポレーション
- 13
- 14 G 418 及びピューロマイシン入り培地に交換する.
- 15
- 16 ピューロマイシンの場合ここで薬剤無添加とする.
- 17
- 18                               凍結プライマリー細胞を戻す.
- 19
- 20                               フィーダー細胞を24穴につくる.
- 21       ピックアップ
- 22
- 23 PCR による解析 凍結プライマリー細胞を戻す.
- 24
- 25
- 26 細胞の凍結.
- 27
- 28
- 29 ゲノミック DNA の回収.

\*\*\*継代時にはゼラチンコートした 6 cm dish に  $5 \times 10^5$ 、フィーダー細胞上に  $1 \times 10^6$  として撒く。残りはストックとして凍結する。

## 7. ターゲティングベクターの精製

ターゲティングベクターが得られたら、large scale で DNA を精製する。

- 1) 精製法は CsCl 遠心をする必要はなく、アルカリ法で抽出、PEG 沈で精製している。Quiagen kit による抽出でもよい。
- 2) 線状化法は約 500 mg の DNA に対して、500 units の NotI を加え、3 時間からオーバーナイトで切断する。電気泳動によりチェックして切れ残りがいないかみる。切れ残りがある場合は更に制限酵素を加え切断する。
- 3) 同量のフェノール・クロロフォルム溶液でボルテックス、遠心、上清をとる。
- 4) 1/10 容量の 3 M 酢酸ナトリウム、2.5 倍容量の冷エタノールを加え、エタノール沈殿を行う。
- 5) 70% エタノールを加えよく振り、室温で 5 分ほど置く。この処理により滅菌が行われる。
- 6) クリーンベンチ内で 70% エタノールを吸

い取り、無菌的に開封した 100% エタノールを加え、洗う。エタノールは沈殿を吸い取らぬよう注意する。

7) クリーンベンチ内でふたを開け、10 分程度風乾する。くれぐれも UV ランプを付けることのないよう注意する。

8) 滅菌 HBS 溶液を加え、50 nM の DNA 溶液になるように調製する。エタノール沈殿で約 80% が回収されるため、はじめは濃いめに調整し、DNA 量を測定した後に容量を増やす。最終的に 5 nM とする。10 kbp DNA で 100 nM = 650 mg/ml となる。

9) 一度調整したベクターは  $-20^{\circ}\text{C}$  で保存できる。

## 8. ES 細胞の調製

1)  $2.5 \times 10^6$  で凍結してある細胞を  $42^{\circ}\text{C}$  で融解し、フィーダー細胞上に撒く。

2) 毎日培養液の交換を行い、3 日目に継代する。

3) 細胞数を計算し  $1 \times 10^6 / 6 \text{ cm dish}$  に撒く。この際にできた培養皿数によりエレクトロポレーションできる数が決まる。1 種類あたり 1 枚以上必要である。もし数が足りない場合は、もう一度継代して数を増やす。

4) 毎日培養液を交換し、3 日目は朝一番に交換しておく。

5) 暖めた 3 ml の EDTA-PBS で洗い、0.5 ml の 2.5% トリプシンで処理する。(37 $^{\circ}\text{C}$ , 5 分間)

6) 軽くゆらして細胞が剥がれる状態になったら、細かくゆすり細胞を浮遊させる。

7) 4.5 ml の培養液を加えよくピペティングする。このピペティングは馴れない内は一枚ずつ行う。

8) 1000 rpm, 5 分間遠心した後、よくタッピングして室温にした HBS を加える。この時全細胞数を計算する。(死細胞は数えない)

9) 再度遠心した後、 $2 \times 10^7 / \text{ml}$  となるように HBS で懸濁する。

### 9. エレクトロポレーション法

1) 0.4 cm 幅のエレクトロポレーション (Bio-lad 社) チューブに調製した 50 nM の DNA を 50  $\mu$ l 入れ, 細胞懸濁液を 0.45 ml 加えて 1 ml のピペットでよく混ぜる.

2) 250 mV, 960 mF., 抵抗無限大でエレクトロポレーションをかける.

3) 電気の流れる時間は約 40 msec となる. 35から 45 msec では問題ないが, 極端に違う場合は機械の設定, HBS の組成に誤りがある場合であり, 調べる必要がある.

4) 10分間静置後, 20 ml の培養液に懸濁して, フィーダー細胞を敷き詰めた 10 cm dish に 10 ml ずつ撒く.

### 10. 薬 剤 選 別

1) エレクトロポレーションした翌日に, 通常の培養液交換を行う.

2) エレクトロポレーション後36から48時間で選別培地を加える.

G 418 の場合, 150~200 mg/ml, プューロマイシンの場合, 0.1~1 mg/ml で選別する.

3) 以後毎日, 培地交換を行うが, プューロマイシンの場合は2日間で十分である.

4) エレクトロポレーション後6日目でコロニーがはっきりし始めるが, ピックアップは7日か8日目に行う.

### 11. ピックアップ法

我々はピペットマンによりコロニーをピックアップしている.

1) あらかじめ24穴プレートの培養液を ES 用培養液に変えておく.

2) 10 cm dish 培養皿の培養液を吸い取り, EDTA-PBS を 10 ml 入れる.

3) 20  $\mu$ l のピペットマンを 10  $\mu$ l に設定して, コロニーの周りをつつき一気に吸い取る.

4) 明らかに分化したもの以外はコロニーを捨てる.

5) チップ中に吸い込まれていることを確認

して, 96穴プレートに回収する. 12から24個を1ステップとして捨てる.

6) 50  $\mu$ l の2.5%トリプシン溶液を加え, 24穴プレート中より取った培養液を 150 ml を加えて, 10回ほどピペティングして24穴中に戻す.

7) 24穴プレートで細胞が増えたら, トリプシン処理をして半分を凍結し, 半分をゼラチンコートした24穴に撒く.

### 12. サザンブロット法による解析

1) ゼラチンコートした24穴プレートに撒いた細胞が増えたら, 無菌的に PBS で洗い, DNA 溶出緩衝液を 1 ml ずつ加える.

2) 3分程したら 1 ml のピペットマンでどろどろとなった溶液を吸い取り 2 ml のエッペンドルフチューブに入れる.

3) Proteinase K を加え55℃で一昼夜置く.

4) フェノール, フェノール・クロロフォルムを順次加える. この時1分間ボルテックスをかける.

5) エタノール沈澱により DNA を回収し, 適当な制限酵素消化を行い, 相同組み換え体を判定する.

6) 相同組み換えが起こると, 通常1本であったバンドが2本となるようにプローブ, 制限酵素を設定する. プローブはできるだけターゲットベクターを含まない領域を用いる. 相同組み換えが起こった場合, 得られた2本のバンドの濃さは同じになるはずであり, 極端に異なる細胞株は避ける.

7) サザンブロットで確認された細胞株については, 凍結したものを起こし, キメラマウス作製に用いる. この際, 段階的に細胞を凍結保存して行く.

### 13. キメラマウス作製法

キメラマウス作製法については熟練が必要である. その方法に関しては他にまとめているので参考としてもらいたい(3,4). 現在キメラマウス作製法には, マウス胚に ES 細胞を注入す

るマイクロインジェクション法と、透明帯を除いたマウス胚に ES 細胞を凝集させるアグリゲーション法がある。双方ともマウス胚が正常発生する時点で ES 細胞を導入し、宿主細胞と ES 細胞が混在したキメラマウスをつくる方法である。得られたキメラマウス中で ES 細胞が生殖細胞に分化すれば、ES 細胞中で操作した染色体が子孫に遺伝する。ヘテロ遺伝子欠損マウスができる。これが雄で性染色体上に存在する遺伝子である場合はこの段階で遺伝子欠損マウスが得られることになる。

#### 14. ヘテロ遺伝子欠損マウスからホモ遺伝子欠損マウスの作製

ヘテロ遺伝子欠損マウス同士を掛け合わせるにより、1/4の確率でホモ遺伝子欠損マウスが得られる。ヘテロの状態で異常となり交配が行えないなどの問題が生じる場合も考えられるが、これらの場合は体外受精などの胚操作により解析可能となる場合もある。ホモ遺伝子欠損マウスでは胎生期、離乳期前に死亡することも多く、生まれた遺伝子型の頻度には注意する必要がある。

#### 15. ジーンターゲティングによる新たな戦略

##### 1) ノックイン法

ジーンターゲティング法により遺伝子座を改変できるようになったことから、ターゲット遺伝子の発現を利用することもできる。今までこのような実験は、トランスジェニックマウスによりなされてきたが、トランスジェニックマウスでは発現させたい遺伝子に特定のプロモーター及びエンハンサーを付加する必要がある。この発現制御領域がはっきり決められているものには限りがあった。また、トランスジーンの染色体上の挿入位置により発現様式が変化するので、発現様式をできたトランスジェニックマウス系統毎に確かめる必要があった。lacZ, GFP 遺伝子の挿入による発現様式解析, DT-A 遺伝子などの毒性遺伝子導入による特定細胞の削

除、薬剤耐性遺伝子導入による特定細胞培養系の確立等が考えられる。

##### 2) コンディショナルノックアウト法

遺伝子ターゲティング法は染色体上に存在する遺伝情報の個体レベルでの役割を解析する方法である。しかし、種々の遺伝子欠損マウスの解析結果により幾つかの問題点が指摘されている。その1つは特定の遺伝情報がある組織のある時期に限って用いられているわけではなく、個体発生において重複して用いられていることが多いため、遺伝子を発生の初期より欠損させる遺伝子ターゲティング法では、欠損した遺伝子が最も初期に機能する組織での異常の解析となってしまうことである。例えば、生後に脳神経系で学習・記憶に関連すると想定される遺伝子をターゲティングしたマウスが発生中に死亡してしまったときには、この遺伝子の学習・記憶での分子機能を解析できなくなる。また、死亡しない場合でも遺伝子欠損による二次的異常の問題が残る。この問題を克服する方法として最近、時期及び組織特異的遺伝子ターゲティング法(コンディショナルノックアウト法)が開発され応用されている。この戦略に関しては幾つかの方法が指摘されているが、現在展開されているのは Cre-loxP 系を用いた方法(5)とテトラサイクリンによる阻害・誘導系を用いた方法である(6)。原理については図3に示した通りであるが、それぞれの利点と欠点について考えてみたい。Cre-loxP 系を用いた方法では Cre を発現させることにより、loxP 配列の組み換えを起こさせて遺伝子を欠損させる。この方法の利点としては、一度組み換えが起これば完全に遺伝子発現を押さえることができることである。よって、Cre を時期及び組織特異的に発現させることが可能となれば2つの loxP 配列間での組み換え後は、その細胞由来の子孫細胞では特定の遺伝子発現を完全に押さえることができる。しかし、これを使うにあたり問題点が指摘されている。1つは Cre を時期及び組織特異的に発現させることがどれだけ有効に行

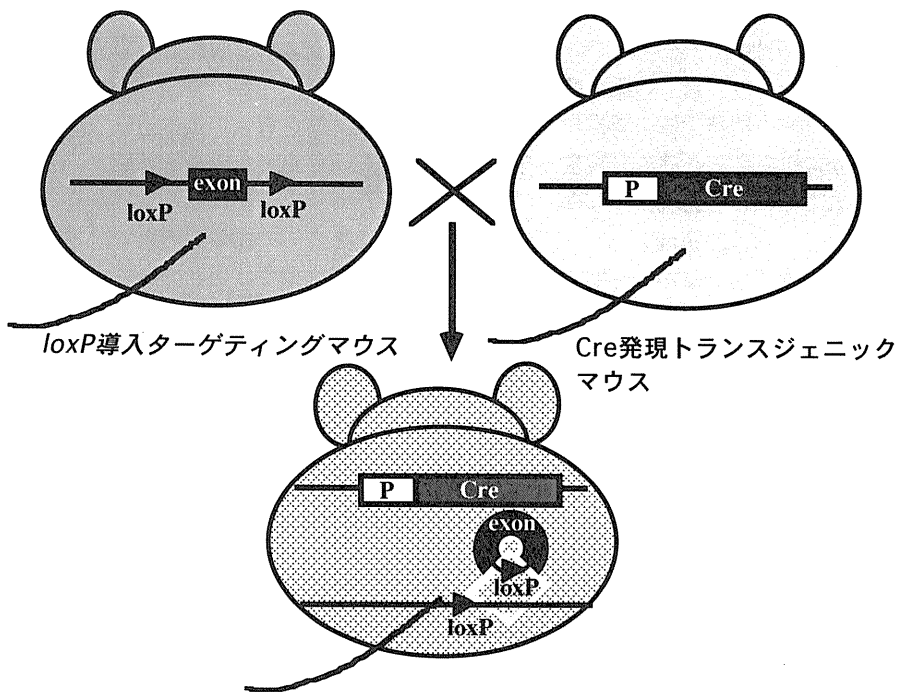
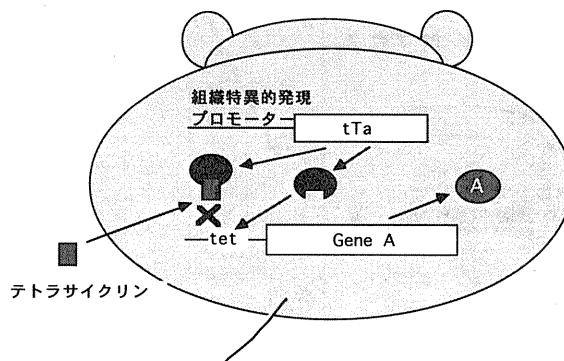


図3 A. Cre-loxP系を用いたコンディショナルノックアウト法  
Cre が組織及び時期特異的に発現するとその領域及び時期以降の遺伝子欠損が実現する。P; プロモーター



テトラサイクリントランスアクティベータ (tTak) を用いた遺伝子発現トランスジェニックマウス。テトラサイクリンの投与により遺伝子Aの発現を抑制できる。A遺伝子欠損マウス中でこの系を導入するとコンディショナルA遺伝子欠損を実現できる。

図3 B. テトラサイクリントランスアクティベータを用いたコンディショナル遺伝子発現制御法

組織特異的プロモータ下でテトラサイクリントランスアクティベータ (tTa) を発現させると、Gene A の遺伝子発現が誘導される。そこにテトラサイクリンを投与することにより tTa がプロモータ領域に結合できず Gene A の発現が抑制される。tet; テトラサイクリントランスアクティベーター結合配列。

えるかということである。トランスジェニックマウスにおいて有用性が確認されているプロモーターには限りがあり、自らの系に關しての有効なプロモーターを開発する必要がある。また、Cre が十分に作用するだけの発現量と発現時期が求められる。Cre の発現により全ての細胞で組み換えが起これば問題はないが、組み換えがどれだけの頻度で起こるかは不明である。この場合には、遺伝子が欠損している細胞と欠損していない細胞とを区別して機能解析する必要がある。

また、テトラサイクリンの遺伝子発現調節系を用いたコンディショナルノックアウト法は、遺伝子欠損マウスに対しテトラサイクリンの遺伝子発現調節系を別に導入することにより、テトラサイクリン投与により遺伝子発現を on-off

する系である。この場合、遺伝子ターゲティングしたマウスに2種類の外来遺伝子を導入する必要がある、作製に時間がかかる。また、テトラサイクリン導入による遺伝子抑制は完全な遺伝子発現停止でない点を考慮する必要がある。テトラサイクリンは飲み水に混ぜることにより投与できるので成体レベルでは容易であるが、胎生・哺乳期では困難である。また、テトラサイクリン投与は導入時期を制御できる利点があるものの、生体内での組織特異性には厳密性が欠けることが予想される。よって、ある組織特異的なプロモーターと組み合わせたストラテジーをとる必要がある。

## 16. 将来性を見越したストラテジー

コンディショナルノックアウト法は今後必要

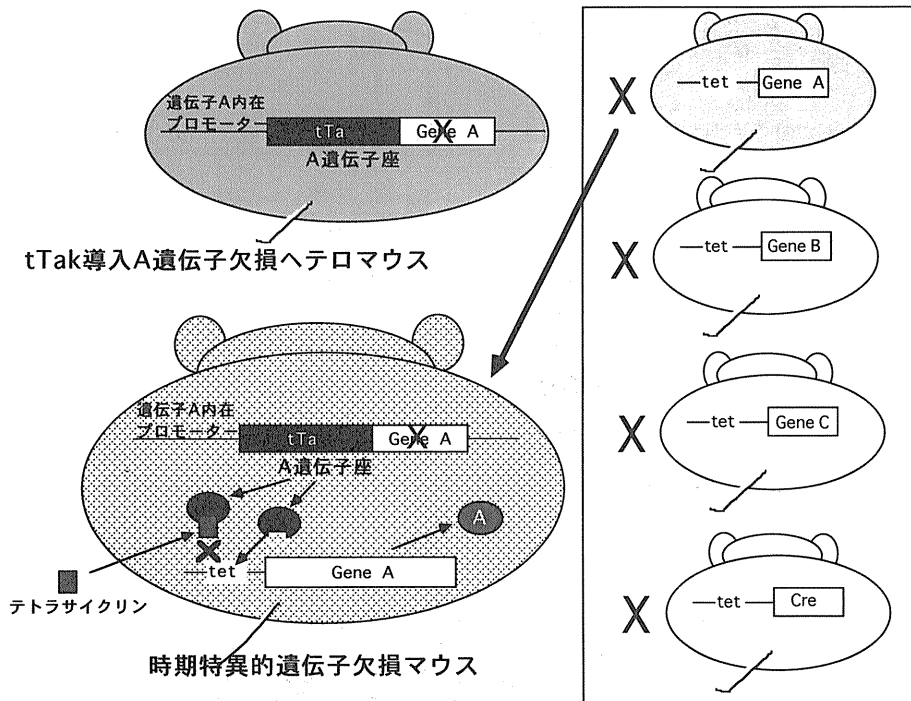


図4. テトラサイクリントランスアクティベータを用いた遺伝子ターゲティングによるコンディショナルノックアウトマウスの作製。相同遺伝子組換えにより tTa 遺伝子をノックアウトしたい遺伝子座 (Gene A) に挿入することにより、Gene A の代わりに tTa が発現する。この発現を利用して tet 下で Gene A を発現させることにより遺伝子欠損を解消しておく。この状態のマウスにテトラサイクリンを投与すると Gene A の発現が抑制されコンディショナルノックアウトが実現する。このマウスは他の遺伝子 (Gene B, C, Cre) を発現させテトラサイクリン投与により発現抑制されることにも用いることが出来る。

不可欠になると予想されるが、現時点での問題としては、時期及び組織特異的に遺伝子を発現させる方法をどの様に系列化していくかである。我々はこの点に関して、次のようなストラテジーを提唱したい。すなわち、遺伝子ターゲティングしたい遺伝子座にテトラサイクリントランスアクティベーター (TET-A) 遺伝子を導入する方法である (図4)。TET-A はテトラサイクリンによって抑制される転写活性因子で、テトラサイクリン非存在下では特定の塩基配列を認識して転写を活性化する。この方法では目的の遺伝子産物は欠損し、代わりに導入された TET-A が挿入遺伝子座の発現パターンを反映して発現することになる。例えば、TET-A 認識配列の下流に欠損遺伝子をつないだ遺伝子を導入したトランスジェニックマウスとこのマウスを交配すれば、見かけ上遺伝子発現を回復した正常なマウスが得られる。そしてこの正常化したマウスにテトラサイクリンを与えれば、その時期だけ遺伝子発現を抑制することができる。すなわち、時期特異的な遺伝子ターゲティングが実現するのである。さらに挿入遺伝子座の発現パターンがユニークであった場合、TET-A 認識配列の下流につなぐ遺伝子を変えれば、挿入遺伝子座の発現パターンを他の遺伝子発現に応用することが可能となる。このようにして行けば、種々の時期及び組織特異的な遺伝子発現マウス系列を揃えることができる。また、ジーントラップ法で TET-A 導入マウスを系列化することも検討する必要がある。その結果、TET-A 下で自らの目的とした遺伝子を発

現させるトランスジェニックマウスを1種つくれば、これらの系列マウスとの掛け合わせにより様々な組織特異的な遺伝子発現マウスの作製が実現でき、テトラサイクリンの投与により時期特異的に発現を抑制することもできる。

## ま と め

ここでは基本的なジーンターゲティング技術とその展開について解説してきた。現在多くの遺伝子操作の道具がそろい、マウスにおいてはほぼ自由自在に染色体上の遺伝子配列を変換できるようになってきた。この技術により個体レベルでの生理現象を分子レベルで迫れる可能性が広がってきた。生理学を目指す研究者にこれらの手法を有効に使ってもらえることを希望する。

## 文 献

- 1) Yagi, T., Tokunaga, T., Furuta, Y., Nada, S., Yoshida, M., Tsukada, T., Saga, Y., Takeda, N., Ikawa, Y. and Aizawa, S. A novel ES cell line, TT 2, with high germline-differentiating potency., *Analytical Biochemistry* **214**: 70-76 (1993)
- 2) Yagi, T., Nada, S., Watanabe, N., Tamemoto, H., Kohmura, N., Ikawa, Y. and Aizawa, S. A Negative selection for homologous recombinants using diphtheria toxin A fragment gene., *Analytical Biochemistry* **214**: 77-86 (1993)
- 3) Joyner, A. L. 'Gene Targeting', IRL press, at Oxford.
- 4) 新生物化学実験のてびき 4, 化学同人, 第5章
- 5) Gu, H., Zou, Y. R. and Rajewsky, K. : *Science*, **265**: 103-106, 1994
- 6) Mayford, M., Abel, T. and Kandel, E. R. : *Curr. Opin. Neurobiol.*, **5**: 141-148, 1995



## 「データ処理講座」の連載について

日本生理学会教育委員会

委員長 高田 明 和

生理学はかつては電気生理学的手法がその研究方法の主体であった。その研究方法としての意義は依然として失われていないと思われるが、最近分子生物学やイメージングの生理学といった新しい流れがこれに合流し、その研究で得られるデータは極めて多様なものになっている。電気信号のような単一のアナログ信号の記録にしても、コンピューターの出現直後の状態から比べると様々な機器の個性に合わせた多様なデータの記録、処理法が出現した。そのために多数の市販のプログラムのなかからたまたま選択した方法に依存して研究を進める形態になってきている。この研究者は自分が日頃用いている手法に満足しながらもそれが最善とは思っておらず、しかし他にどのようなよい方法があるか分かっていくようになってきている。

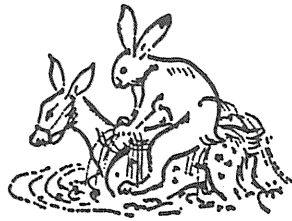
教育委員会のメンバーである富田忠雄教授は次のように述べてデータ処理講座の連載を提案した。「パッチクランプのデータ処理は多くの場合、市販のプログラム(例えば pClamp)が用いられているが、その特徴や有効な利用法についての解説や、自発的活動電位などのアナログ信号のいろいろな分析法(例えば MacLab)。傾向を用いた細胞内イオン濃度の画像解析(例えば Argus)、あるいはスキャナーの利用法(スライド作成まで含めて)についての解説を期待して「データ処理講座」を提案した」と述べている。

このような状況において生理学会の他の研究者の用いている具体的な手法を知ることには大変意義あることではなかろうか。

このような観点から今回「データ処理講座」を連載することになった。この企画には浜松医大光量子センター教授の寺川進教授に大変お世話になった。また私達の依頼に応えこの困難な企画に参画して下さった執筆者の皆様には大変感謝している。

尚執筆者とそのテーマは下記のようなものであるが、その掲載は必ずしもこの順序ではない。

|         |            |                                |
|---------|------------|--------------------------------|
| 伊 藤 憲 一 | 山形大・医・生理   | 「Visual BASIC による処理」           |
| 鯨 島 道 和 | 浜松医大・生理    | 「MacLab による生理実習ほか」             |
| 小 原 正 裕 | 生理研・機能協関   | 「P-CLAM(Axon), DOS-V での取り込み」   |
| 久木田 文 夫 | 生理研・生体膜    | 「Autonics と NEC PC-98」         |
| 島 田 洋 一 | 金沢工業大・人間情報 | 「DOS-V と DSP による処理」            |
| 鶴 崎 政 志 | 久留米大・医・生理  | 「AxonData/AxonGraph と P-clamp」 |
| 蓮 尾 博   |            |                                |
| 今 井 清 博 | 大阪大・医・生理   | 「アナログと画像データの取り込み」              |



## パーソナルコンピュータを用いたアナログデータ処理

鮫 島 道 和・保 智 己

(浜松医科大学第一生理学教室)

### I はじめに(目的)

生理学実験のみならず多くの実験で、計測記録が電氣的なアナログ信号として出力されてくる。これらは、普通には、ペンレコーダやオシロスコープを用いて紙や画面上に表示して記録を取り、それを計測して使っている。この方法は一度取り出してしまった記録を、スケールを変えて書き改めようとしたり、一部分だけを拡大・縮小しようとする場合に、手間が掛かり不便である。また、スライドにする場合にも、一度写真に撮ったり、トレースし直したりせねばならず、仲々手間がかかる。

こうした不便を解消する方法として、アナログ信号をデジタル化して記録・保存する方法がある。これには信号をアナログ・デジタル変換をして、パーソナルコンピュータ(以後、PC)などに取り込むのが普通であるが、これまで、パーソナルコンピュータを利用したデータの取り込みには、アナログ・デジタル変換器やデジタル信号の表示用ソフトの組立にそれなりの専門的な知識や技能が必要とわれて来た。あるいは、アナログ・デジタル変換器やデジタル信号の表示用ソフトの組立は、電気生理学を中心とした一部の実験のための専用装置と考えられて来た。

しかし、PCの普及とアナログ・デジタル変換の一般化によって、電氣的なアナログ信号は簡単にデジタル化して、PCに取り込めるようになり、そうしたデータをPCの補助記憶装置に貯めておいて、後から取り出して繰り返し再現したり、拡大・縮小をして様々な形に表現したり、比較検討することが出来るようになった。記録も使用中のPCのプリンターにそのま

ま出力できるので、これまでのペンレコーダに較べたら簡単に、形を変えた出力が繰り返しできる。さらに、スライドを作るソフトと組み合わせで図表にしたり、多くの計測数値を表計算ソフトに持ち込んで統計処理をしたりすることもできる。PCの補助記憶装置も各種のメディアが安い価格で手にはいるようになったので、ペンレコーダの様に記録紙を大量に保管しておくといった手間も不要になる。

こうした、PCを利用したアナログ電気信号のデジタル記録の具体的な方法と、その利点・欠点、記録上注意すべき事などを述べる。

### II 対象となる記録の範囲

結果として出てくる出力が、アナログの電気信号ならどんなものでも可能であり、特に電気生理学的な実験に限定されない。電気生理学的な実験には、それ専用チューニングされた高度な機器やソフト(Axon社のp-clampとか、日本光電のCEZ-2400・2451/MASCOMP/MAXIONといったもの)があり、専門家にはおなじみなので、ここではそれらには触れない。ここで対象とするのは、もっと簡単な、ごく普通に、実験室でペンレコーダやオシロスコープを用いて記録をする場合を想定して、ペンレコーダの代わりとして普段ワープロや計算に使っているPCを使って記録を取ることを考える。従って、対象となる記録は心電図であったり、張力検出器や圧力センサーの出力、音響・振動・加速度センサー、温度センサー、pHメータ、熱量測定、などの出力である。また、ばあいによっては高速液体クロマトグラフィーや分光光度計の出力であってもよい。要は、ペンレコーダに記録する、あるいはキモグラフで記録

をとる様な実験を想定して、これらの実験のペンレコーダやキモグラフの代わりに手持ちの PC を使うと考えて頂ければ良い。もちろん活動電位の記録や筋電図の記録も可能であるし、簡単な電気生理学実験にも使うことができる。

PC も最先端の高級機である必要はなく、2～3年前の古い PC で十分であり、新しい PC を買った機会に、今までの古い PC を小さなラックに載せて記録専用機として使うことも出来る。以下に述べるようなことを、私たちは、LC 475 という数年前の旧式のマックで実現しているので、CPU の性能については現在の製品であればほとんど気にする必要はない。(もちろん最新の CPU が使えるならそれにこしたことはないけれど。)

### Ⅲ 実際に用いる機器

信号は PC に取り込むわけであるから、もとのアナログデータをデジタル化する必要がある。アナログ・デジタル変換器が必要である。また、PC 上で、取り込んだデータを処理・表示するソフトが必要である。これらは充分原理を知った上で自作することも可能であるが(実際、以前はそうしていた)、すでにアナログ・デジタル変換器とソフトを組み合わせた既存の製品があるのでそれを利用することを考えた方が手っ取り早い。こうした製品には様々なものがあり、どれを選んでも良いわけだが、機能がそれなりで価格が安く、かつ日頃使っている PC が利用可能であるという点から、実際に私達自身が日頃使っている機器を例として話を進める(バイオリサーチセンター(株)が扱っている、マックラブ(MacLab)という製品：本誌広告頁)。類似の製品はいくつかあるので、特段私達が使っている機器でなくても同じことである。この機器の利点は、価格が手ごろだということ、機能を拡張するパーツが豊富にあること、ソフトが比較的良くできていることである。また、多くの基本的な生理学実験に関して、記録方法を紹介したノートが入手可能な点である(無料)。参考までに公表されている価格を上げておく(表

表 1. 価格例 (1997年 9 月 1 日)

| 機 器 名  | 入 力 数   | サンプリング速度 | 価 格(円)    |
|--------|---------|----------|-----------|
| マックラブ  | 2チャンネル  | 1 KHz    | 450,000   |
|        |         | 4チャンネル   | 750,000   |
|        | 8チャンネル  | 20 KHz   | 890,000   |
|        |         | 1 KHz    | 850,000   |
|        |         | 20 KHz   | 980,000   |
|        |         | 16チャンネル  | 1,180,000 |
| パワーラブ  | 2チャンネル  | 1 KHz    | 450,000   |
|        | 4チャンネル  | 1 KHz    | 750,000   |
| ワークベンチ | 32チャンネル | 416 KHz  | 2,700,000 |

1)。

通常使われる 2 チャンネル分なら、アナログ・デジタル変換器とソフトのセット価格は、オシロスコープとペンレコーダの組み合わせ価格とほぼ同じかむしろ安い。これで、1 KHz のサンプリングができ、活動電位の観察まで充分対応出来き、手持ちの PC がつかえるのだから便利だと思う(マックラブの場合は、PC はマキントシュだが、Windows に対応したパワーラブがあるので、DOS/V 機をお持ちの方はそれを使えば良いが、現状ではまだチャートしかない。他の Windows に対応した類似の機器を選んでも基本は同じであり、例えば、Workbench とか Spike 2 を使えば良いと思う。) 以下の話はいちおう私どもの使っている機器を念頭に話を進めるので、その基本的なスペックを表 2 に上げた。

### Ⅳ 実 際 の 記 録

記録しようとする信号の出力は、アナログ・デジタル変換器であるマックラブ本体の入力端子に接続する。入力端子はプラスとマイナスがそれぞれあり、独立にプラス入力／マイナス入力として使うことができるし、差動入力(プラスとマイナスの差)として使うことも出来る。この時注意しなくてはいけないのは、マックラブ本体の入力端子の入力抵抗は 1 M オームしかない事である。従って、必ずしも全てのアナログ出力を直接つなげられる訳ではない。10 K オーム以上の出力抵抗を持つセンサーの類は、

表 2.

|               |                                                                             |
|---------------|-----------------------------------------------------------------------------|
| 入 力           |                                                                             |
| ●入力チャネル幅      | : / 4 s-4cH, /8s-8cH, /16s-16 cH                                            |
| ●入力構成         | : 差動またはシングルエンド (/4s のみ差動)                                                   |
| ●入力範囲         | : フルスケール $\pm 10\text{ V} \sim \pm 2\text{ mV}$ 12段階                        |
| ●最大入力電圧       | : $\pm 15\text{ V}$                                                         |
| ●入力インピーダンス    | : $\sim 1\text{ M}\Omega$ , 47 pF@DC                                        |
| ●入力カップリング     | : DC or AC 0.1 Hz (ソフト上で切替え)                                                |
| ●CMRR (差動)    | : 96 dB @50 Hz                                                              |
| ●チャンネルクロストーク  | : $-110\text{ dB}$                                                          |
| ●入力ノイズレベル     | : $< 1\text{ }\mu\text{Vrms}$                                               |
| サンプリング        |                                                                             |
| ●A/D コンバータ分解能 | : 16 Bit (Chart, Scope は 12 Bit 使用)                                         |
| ●サンプリング速度     | : 0.2 Hz $\sim 100\text{ KHz}$ (Chart) 2.0 Hz $\sim 100\text{ KHz}$ (Scope) |
| 出力アンプ         |                                                                             |
| ●出力構成         | : 差動                                                                        |
| ●出力分解能        | : 12 bit                                                                    |
| ●出力範囲         | : フルスケール $\pm 10\text{ V} \sim \pm 100\text{ mV}$                           |
| ●最大出力電流       | : $\pm 25\text{ mA}$                                                        |
| ●出力インピーダンス    | : $0.1\text{ }\Omega$                                                       |
| 外部トリガー        |                                                                             |
| ●トリガーレベル      | : $+2.9\text{ VTTL}$ ( $> 5\text{ }\mu\text{S}$ )                           |
| ●最大入力電圧       | : $\pm 12\text{ V}$                                                         |
| I/O           |                                                                             |
| ●データ転送        | : SCSI (Max 4 M/s, 使用マッキントッシュに保存)                                           |
| ●12 C         | : フロントエンドユニットの電源, 制御バス                                                      |
| ●デジタル入出力      | : TTL (IN, OUT 各独立ライン)                                                      |
| 外 観           |                                                                             |
| ●サイズ          | : 308 W $\times$ 60 H $\times$ 320 mmD                                      |
| ●重量           | : 5 kg                                                                      |
| ●使用電源         | : 100 $\sim$ 120 V 50 W                                                     |

一度アンプを介してつながなくてはいけない。また、出力抵抗が測定しようとしているパラメータによって変化するようなセンサーもアンプを通して接続する。実際には、多くのセンサーは専用のアンプと組み合わせて使う事になっているので、このアンプの出力を入力端子に接続すれば問題は無い。マックラブにも各種のアンプが用意されているが、必ずしもこれを用いる必要はなく、使用中のセンサーに付属しているアンプの出力ならたいていは接続できる。

もちろん、出力抵抗が 10 K オーム以下で安定していることが分かっているようなものなら直結して構わない。例えば、湿気を十分に保った神経筋標本から銀線を使って活動電位を取るような場合なら、直結しても記録が可能である。

このマックラブを SCSI ケーブルを介してマック本体につなぎ、あらかじめインストールしておいた「チャート」あるいは「スコープ」というソフトウェアを使って信号を読む。

「チャート」と「スコープ」は読んで字のご

とく、ペンレコーダ代わりに PC を使うソフト(「チャート」)と、オシロスコープ代わりに PC を使うソフト(「スコープ」)である。この二つで生理学的な実験の多くの信号が記録可能である。(ここでは、あくまで一般的な話をする。波形の高速な分析や、数日といった長時間の記録を必要とするような実験については、専用の機器・ソフトを使って欲しい。理由は後程述べる。)

チャートの場合、アナログ・デジタル変換器の入力数分のチャンネルをもつペンレコーダのイメージが PC のディスプレイ上に表示され、ペンレコーダの紙が動いていくのと同じ様に記録がディスプレイの右から左へ流れていく。この辺はペンレコーダを使っている時とほとんど同じ感覚である。記録は、実際には PC のメモリ、あるいはハードディスクに蓄えられ、記録中にも後ろへ戻して見ることが出来るし、記録後に必要な場所を自由に取り出して見ることが出来る。

PC 記録の便利な点は、一度取った記録の解析を後から自由に出来る点である。記録の必要な部分に関して、周波数分析をしたり、周期を計算したり、積分したり微分したり、最大値・最小値を算出したり(これらはリアルタイムに可能)、FFT を用いたスペクトラム解析やスロープ・平均値・標準偏差・瞬時値など様々なデータ解析が可能である。ペンで紙に記録してからこうした解析を加えようとする場合の困難さから開放されるのは何者にも代え難い。また専用の装置やフィルターを作ってこうした解析を加えながら記録をしていた事を思うと、後から PC の上で自由に様々なフィルター処理を加える事が出来る利便さは、以前には想像出来なかった快適さを与えてくれる。

ペンレコーダで紙に記録を取っている方がいらっしゃったら、ぜひ一度この PC を用いた記録を試して見ることをお勧めする。難しいデータ解析をしない場合であっても、Y 軸の数値をマウスクリックだけで簡単に読みとっていただけるだけで、実験後の作業の大幅な軽減になること

が体感できる。スケールの読み間違いや読みの誤差を減らして正確度が上がることも、データ処理の助けになる。

一方、スコープはメモリ付きオシロスコープと考えれば良い。利点は、メモリがメモリ付きオシロスコープに較べて格段に多く、相当量の記録が出来る事である。データ処理についても多くのオプションが用意されている。波形の拡大・縮小はもちろん、加算平均や微分・積分が簡単にできる。普通にオシロスコープで記録出来ることは全部出来るし、その他にオシロスコープだったら、追加ユニットで実現する機能の多くが、ソフトの基本機能として組み込まれているので、スコープだけでたいの処理が出来る。さらに、ファイルにして次々にデータを保存していけることは、実験のスピードアップを可能にするし、後のデータ処理がとてもしやすい。これまで、磁気テープ式の記録機に波形をため込んで再生していた事に較べると楽である。

スコープが画面表示するのは 2 チャンネル分だけである。入力装置(=AD コンバータ)が 4 チャンネルや 8 チャンネルあっても表示するのは 2 チャンネル分だけである。どの 2 チャンネルを表示するかを画面上で自由に選ぶ事が出来る。

スコープでは、簡単な刺激装置の機能もシミュレートでき、本体の出力端子から  $\pm 10\text{V}$  のまでの電圧を取り出して刺激として使うことが出来る。ちょっと価格は高いが、アイソレータが別売されているので、それを使えばアースから浮かせた刺激をすることも出来る。出力波形をグラフィックで任意の形に作れるところは(実験にはあまり役には立たないかも知れないけれど)面白い。

## V システムの利点・欠点

こうしたシステムを利用する最大の利点は、紙やペンのわずらわしさ、磁気テープの管理から開放される点である。条件設定さえ正しく取れば(後述)、ほとんど一日分の実験データを苦

もなくファイルとして保存しておいて、後から自由にデータ処理が出来る。

また、実験材料の鮮度保持にも貢献する。オシロスコープで波形を見たいと思うと、その間ずっと刺激を加えていないといけない(ストアレッジオシロならその必要はない)けれども、PCでの記録なら、一回取った記録は消す(あるいはページ送りをする)まで残っているので、オシロスコープを用いて実験をしている時より刺激回数がずっと少なく済み、標本の鮮度を長く保つことが出来る。これは、はじめに予想しなかった思わぬ利点であった。その他、多くの利点があり、表3に気が付く点を上げてみた。表の最後に上げた、直接スライドに持ち込めるというのは、市販ソフトの便利な点である。自

表3. PC 記録の利点・欠点

|   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|---|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 利 | <ul style="list-style-type: none"> <li>○記録を何度でも再現・編集出来る。</li> <li>○必要な記録だけをプリントアウトすれば良い。</li> <li>○チャートの場合、ペンレコーダと較べて早い周波数まで記録できる。</li> <li>○数値化機能が組み込まれているので、縦軸・横軸共にすぐに読み出しが出来る。</li> <li>○統計処理が簡単に出来る。               <ul style="list-style-type: none"> <li>・そのまま簡単な統計処理が可能。</li> <li>・数値データを表計算ソフトフォーマットにして、表計算ソフトに移せるので、そちらで結構高度な統計処理が可能となる。</li> </ul> </li> <li>○波形や分析結果を直接スライド用の図や表として持ち込める。</li> <li>○ネットワーク環境下で使っていれば、データの転送が簡単に出来る。</li> </ul> |
| 欠 | <ul style="list-style-type: none"> <li>○記録が突然消えるおそれがあるので(停電・コンセント抜け)、注意を払う必要がある。</li> <li>○記録時間に制限がある。</li> <li>○紙記録のように超長時間記録はできない。</li> <li>○サンプリング速度の設定に注意がいる。</li> <li>○スコープは2チャンネルしか表示しない。</li> <li>○スコープが対応する周波数は、オシロスコープ程高速ではない。</li> </ul>                                                                                                                                                                                                       |
| 点 | <ul style="list-style-type: none"> <li>○記録の長期保管には注意が必要。</li> <li>○メモの書き込みが困難。</li> <li>○コンピュータの使い方に関する知識を必要とする。</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |

作ソフトだと、ここまで作り込むのは少し面倒だが、既製品はそこまで対応しているので、簡単なコピー&ペーストで、スライド作成用ソフトに波形や表を持ち込んで、さっとカラースライドを仕上げる事が出来る。

欠点の第一は、紙に記録したものは消えないけれども、電子的に記録されたものは、消える点である。記録中に停電があったり、コンセントを誤って抜かれると、記録中のデータは全て失われる。紙だと、少なくとも直前までのデータは残るが、メモリー上に記録されたデータは全て消える。この不安を解消するには、無停電電源を使う事だが、それが出来ないときは、ノートパソコンを使うと良い。ノートパソコンの電池が無停電電源の代わりをしてくれる。機能的にもノートパソコンで充分用が足りるから、むしろノートパソコンの方が便利なくらいである。

記録の容量は無制限ではない。どれくらいのメモリーを積んでいるかによって制限が出てくるし、使うPCによって積めるメモリー容量にも制限がある。特に古いマックでは利用可能なメモリーはあまり大きくない。私達が使っているLC475では32MBが最大であるので、この範囲でしか使えない。これで、どれだけの記録が出来るかは次節で計算してみる。

スコープでは記憶しておける画面数が最大999枚という制限がある(実際はこれで充分であるが)。また、スコープは2チャンネル分しか表示しない。オシロスコープは4チャンネルの表示が可能な場合が多いが、その点でオシロスコープに劣る。

スコープが対応する周波数についても、実質KHzのオーダーであって、非常に高速な現象はやはりオシロスコープにはかなわない。私達も詳細な波形分析を必要とする電気生理学実験にはp-クランプなどの専用ソフト載せた専用機を使っている。また、実験準備のために機器の調整をするような場合で、高周波の観測が必要になるときは、やはりオシロスコープが必要である。

さらに、ファイルとしてハードディスクに保存しているデータは数年放置すると読み出しができなくなる場合がある。重要なデータなら、2年に一度くらい交互に別の所にコピーして保存するのが良い。また、ハードディスクは何かの折りに完全に読み出し不能になることがあるので、要らなくなるまでは、必ずデータのバックアップをとって保管するのが良い。MO などを使うと簡単で良いかも知れない。

他に欠点と云えば、(紙にメモする様に)メモを入れられないことがある。「チャート」にはメモと云う機能があるにはあるが、素早くキーボード入力をしないと追いつかないので、なかなか適切な場所に書き込めない。便宜的方法として、数字だけで素早くマークをして、数字に対応したメモ内容を別にノートに取ると言う方法でしのいでいる。この点については紙の方がディスプレイより優れている。

## Ⅵ こうした方法の注意すべき点

第一に重要なのはサンプリング速度を適切に決めることである。サンプリング速度は、現象の起こる速度より十分に早く取らなくてはならない。例えば、100 ms の持続時間を持った単相波形を記録する場合には、少なくとも 100 ms を 10 ポイントくらいで記録しないと正しい波形は再現できない。従ってサンプリング速度は 10 ms に一回、つまり 100 回/秒のサンプリング速度が必要だということになる。ただ、これは波形の再現方式にも依存する問題で、もっと少ないサンプリング速度でも実は波形の正確な再現が可能な事が理論上は証明されているのだが、その場合は波形の再現をきちんとした推計方法で行わなくてはならない(音楽用 CD-ROM などとはそうした方法でより少ないサンプリング速度による忠実な波形再現を行っている)。しかし、すべてのソフトが正しい波形再現計算をしているとは限らず、単にサンプリングした時点での値をそのまま数値にして画面に表示しているだけの場合が多い。この様な場合に対処するためには、上述のようにひとつのイ

ベントを少なくとも 10 ポイント以上で再現するように考えておかななくてはならない。従って、例えば、筋収縮の疲労曲線を書こうと思ったら、基準となるのは単収縮の波形であって、たとえグラフ上に見える(表現される)単収縮が一本の棒にしか表現されないとしても、単収縮の棒を少なくとも 10 ポイント以上で再現するようなサンプリング速度(100 回/秒)を設定しなくてはならない。しかし、強縮を引き起こして、その全体の時間経過を見ればよいのなら、もっとゆっくりとしたサンプリング速度(5 回/秒)で良い。

次に重要なのは、どれくらい長時間の記録が可能なのかという点である。これは基本的に利用可能な PC のメモリー量と利用可能な補助記憶装置の空き容量に依存する。取り込んだデータを保存する方法には 2 つある。ひとつは PC のメモリーに蓄えていく方法である。この場合は、PC がどれだけメモリーを積んでいるかということと、そのうちどれだけがソフトに割り当てられているかに依存する。従って長時間記録を行うにはなるべく多くのメモリーを PC に搭載するとともに、利用可能なメモリーのなかの多くをソフトに割り当てておく必要がある。マックラブについて云うなら、PC の搭載メモリーを増やし、かつ、スコープやチャートに割り当てるメモリーを増やせば良い(その方法は図 1 と 2)。例えば 16 MB のメモリーを搭載したマックで、10 MB を「チャート」に割り当てたとし、この時上記の 100 回/秒のサンプリング速度だったとすれば、自由に使えるメモリー量が 8 MB だったとして、 $1 \text{ サンプル} = 2 \text{ バイト}$  で記録されるので、 $8000000 \text{ (byte)} \div 100 \text{ (回/秒)} \div 2 \text{ (バイト)} = 40000 \text{ 秒} \div 11 \text{ 時間}$  の記録が可能だということになる。従って、もし 2 チャンネルで記録をしていれば 5.5 時間、8 チャンネルで記録をしていれば 1.3 時間強の記録ということになる。

実際にはデータをメモリーに保存する時には、データ圧縮をかけているそうで、例えば、温度センサー、pH メータ、高速液体クロマト

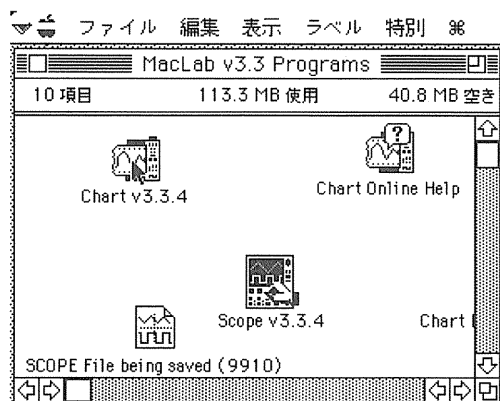


図1. マックでソフトにメモリーを割り振る方法。メモリーを割り当てたいソフトのアイコンをマウスで1回クリックして、選択した状態にしておいてから、「ファイル」メニューから「情報を見る」を選ぶ。そうすると次の図2のウィンドウが開く。

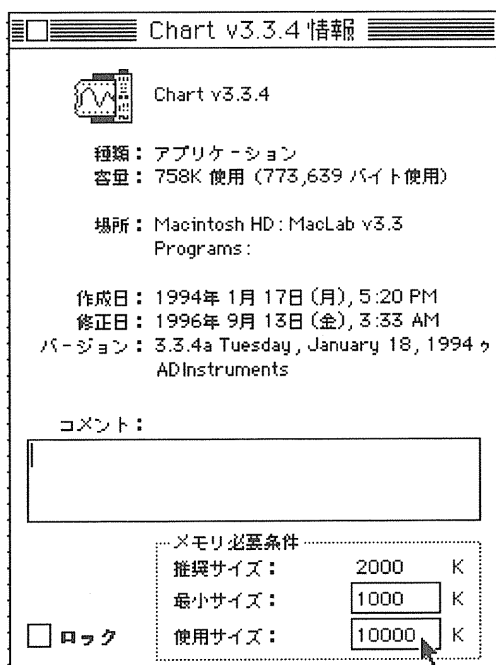


図2: メモリーの割り当て。図1の方法で開いたこの情報ウィンドウの一番したの「メモリー使用サイズ」の中に、必要なメモリー量を割り当てる。図では10MBがChartに割り当てられていることを示している。

グラフィーといったゆっくりとした変化をする出力の記録なら、圧縮の効果が上がって上記の計算より長い記録が可能なのようだ。しかし大き

な振幅変化を伴う変化の激しい出力の記録であれば、圧縮の効果は小さく、ほぼ上記の計算通りの記録時間となる。私ども実際の経験では、数時間にも渡る単一記録というのはあまり無く、あらかじめ見積もった記録時間で不足したということはこれまでなかった。

ときどき起こる間違いは、記録可能容量と必要記録時間からサンプリング速度を決めてしまうことである。そうすると記録したいイベントが、サンプリング速度より早く生じてしまって、正しくイベントが記録されない場合が生ずることがある。サンプリング速度は、あくまで各イベントを正しく再現出来る頻度に決めなくてはならないのであって、その結果、記録時間は使用可能なメモリー量から自動的に決まってしまう。決まってしまった記録時間より長い記録を取る必要があるのなら、メモリーを増やすなり、(それが可能なら)途中で止めて幾つかの分割された記録として保存するなどの別の対策を立てなくてはならない。しかし、私の経験では、チャートの記録を必要とする実験で、100回/秒のサンプリング速度で2チャンネル・5.5時間という記録時間は、実験には十分である。特に秒単位や分単位のゆっくりした記録には、限られた装備のPCでも充分長時間記録が出来る。

すでに述べたが、スコープではメモリーが充分ある場合でも999画面分の記憶容量しかない。この場合も、メモリーが少なければ、メモリーが許す範囲でしか記録は出来ないが、最も記録密度の濃い1画面を2560点で表示する方法でも、999画面だと約6MBのメモリーがあればよいことになるので、たいてのPCで999画面は取れる。もちろん記録を休んで、一旦セーブすればまた改めて999画面を取れる訳だから、実質的にはこれで十分と思う。

もう一つのデータ記録方法は、一部をメモリーに蓄えた後、空き時間を利用して、素早く補助記憶装置に書き出した上で、同じメモリーに新しいデータを蓄え、また素早く補助記憶装置に書き出すという方法を繰り返すやり方である。

この方法だと、主メモリーがそんなに多くない場合でも補助記憶装置に空きがある限りは記録を続けられる。例えば、ハードディスクが 100 MB 空いていれば、上と同じ条件で、延べ 138 時間分の記録が可能と云うことになる。ただ、この補助記憶装置に書き出す方式は、記録を取りながら空き時間を利用して補助記憶装置への書き出しが行われるので、サンプリング速度が速い場合は実行できない。例えば、マックラブの場合は 1000 回/秒以下のサンプリング速度ならこの方法が利用出来ると記されている(高速版を使えば 100 KHz まで出来る様である)。電気生理学用に特化したソフトや機器では、高速のサンプリング速度の下でも、次々に補助記憶装置にデータを書き出して、長時間の記録が出来るようにしているために、それにふさわしい能力のある専用装置と、それなりのアルゴリズムのソフトが必要になり、これが価格を高いモノにしている。普通の生理学実験ではそんなに高速なサンプリングを必要としない場合が多いから、普通の PC の能力を利用でき、価格も安く済む。

上記のいずれの記録方法であれ、記録終了後は必ずファイルとして名前をつけてセーブしておかなくてはならない。

## Ⅶ 学生実習への応用も可能

私どもの研究室では、マックラブを日常の研究の記録用紙代わりに用いると共に、学生実習装置をすべてこれに置き換えてしまっ、効果を上げている。幸い、数年前に実習改善経費がもらえることになり、検討の結果これまでのペンレコーダやオシロスコープからなる実習装置を全て PC に置き換えた。

コンピューターを使っているのも、学生の実習に対する評判が上がったし、学生も面白がって取り組んでいる。学生の中にたいい数人から十数人の PC を良く知っている者がいるので、これを実習のグループに上手に割り振ると、PC に不慣れな学生もすぐにマスターする。

電気生理学用のペンレコーダやオシロスコープからなる学生実習用セットに較べれば格段に安く、保守も簡単であるうえ、実習期間外には、PC 単体として、様々な用途に使えるメリットは大きい。

また、全ての記録が残せる上、最終的に必要な部分だけをプリンターに書き出せば済むから、記録紙が無駄にならないし、全実習データを保存して、実習が終わってから何度でも取り出せる。忘れた頃に学生がやって来ていつかのデータを見たいと云った場合にも、実習の日付からファイルを判別して、対応できてしまう。こうしたことはペンレコーダやオシロスコープを使っていた頃にはできなかったことで、時代の進歩と技術革新のスピードを実感する。

## Ⅷ お わ り に

ずっと以前、生理学研究所の金子先生の研究室にお邪魔して実験を教えて頂いたことがある。その頃、金子先生の研究室では、確かに DEC のミニコンを使って、データのオンライン処理をすでに実現していて、実験台の脇の端末からデータを取り込んで、指示を与えると、結果が直ちにデータ処理されてプリンターに出力される仕組みになっていて、感心したことがある。また、少し遅れたところに、MASSCOMP のデータ処理装置が 68030 を CPU に使うという情報があって、なんとか手に入らないかと思った(結局手には入らなかった)。

今や 68030 は旧式の CPU になってしまい、そうした頃の装置の何倍も進んだ CPU 性能を持った PC が、ノートで、いとも簡単に希望するデータ処理を実現してしまう。これを使わない手はないと思う。しかも、学生実習でもこれを使える云うのは実に有り難い事だと思う。生理学実験に携わる多くの方にこうした装置の有効性を知って頂いて、活用して頂ければ幸いである。

最後になってしまったが、執筆の機会を与えて下さった高田教授に感謝する。

## ヘモグロビンの酸素平衡特性に秘められた意義—成人と胎児を比べて

小林 道 頼・今 井 清 博\*

(新潟大学理学部生物学科・\*大阪大学医学部第一生理学教室)

### 要 旨

ヘモグロビンのもつヘム間相互作用や Bohr 効果などのアロステリック効果は生体内での効率の良い酸素運搬を可能にし、また、成人ヘモグロビンよりも高い酸素親和性をもつ胎児ヘモグロビンは母体から胎児への酸素輸送に適しているという生理学的意義は広く知られている。筆者らが精密な酸素平衡曲線に基づいて実際の生体内の酸素分圧条件下でこれらの意義を検討した結果、胎児の酸素分圧環境下では胎児ヘモグロビンは常に最大の酸素運搬効率が発揮できるように、また、成人ヘモグロビンの場合、安静状態での酸素分圧環境下では酸素運搬効率はある程度抑える反面、Bohr 効果の寄与が最大になるように、そして運動状態では高い酸素需要に対応できるように、それぞれのヘモグロビンの酸素親和性が設定されていることが明らかとなった。本稿ではこれらの最近の知見を中心に、生体内での酸素運搬とヘモグロビン機能との関わりを解説する。

キーワード：酸素平衡曲線、酸素運搬効率、酸素親和性、Bohr 効果、ヘム間相互作用

ヘモグロピンは血液の赤血球中であって、肺で酸素 ( $O_2$ ) と結合し末梢の組織まで輸送する機能蛋白質である。1904年に Bohr et al.[1] が血液の酸素平衡曲線(または酸素解離曲線)が S 字型であり、炭酸ガス分圧の増加と共に右へ移動する(酸素親和性が低下する)ことを発見して以来、1 世紀近くにわたって多くの研究者達によってヘモグロビンの機能発現の分子論的メカニズムの研究が行われてきた。

成人のヘモグロビンは  $\alpha$  鎖、 $\beta$  鎖という 2 種類のサブユニットが 2 個ずつ会合してできた 4 量体 ( $\alpha_2\beta_2$ ) である。母親から  $O_2$  を受け取る胎児のヘモグロビンも 4 量体であるが、サブユニット構成は成人のものと異なり、 $\alpha_2\gamma_2$  である。1 個ずつのヘム基をもつ各サブユニットは 1 分子の  $O_2$  と、従ってヘモグロビンは 4 分子の  $O_2$  と可逆的に結合することができ、このことが後述の理由により生体内での効率的な酸素運搬を可能にしている。ヘモグロビンと  $O_2$  との結合は、酸素飽和度 ( $S$ ,  $0 \leq S \leq 1$ ) を酸素分圧 ( $PO_2$  または  $P$ ) に対してプロットした、酸素平衡曲線 (Oxygen Equilibrium Curve, OEC;  $S$  vs.  $P$  plot) で表される。酸素結合に付随して分子内で起こる正のヘム間相互作用(協同作用)により、OEC は S 字状を示す。呼吸によって末

梢組織で生成する炭素ガスの分圧の上昇によって OEC が右方移動する現象は“古典的 Bohr 効果”[2]と呼ばれている。この効果は、必然的に起こる血液 pH の低下による酸素親和性の低下と、 $CO_2$  が特異的にデオキシヘモグロビンのポリペプチド鎖のアミノ末端に結合して起こる酸素親和性の低下の両方の効果から成るが、前者の pH の効果を単に“Bohr 効果”と呼んでいる。OEC の S 字型の原因としてのヘム間相互作用には、大きな動脈・静脈間酸素飽和度差 ( $\Delta S$ ) を実現することに加えて、静脈血  $PO_2$  変化に対する S の感受性を高めるという酸素運搬効率上昇の意義が、また、Bohr 効果には  $H^+$ 、乳酸などの酸性代謝産物による活動組織への酸素供給量の増大という調節性酸素運搬の意義が、それぞれ指摘されている。実際には、肺胞通過前後の血液の pH の差は小さいことと、酸素飽和度の高い肺循環では少々 OEC が移動しても酸素飽和度の変化が小さいことにより、肺での Bohr 効果の意義は小さい[3]。他方、個々の、特に酸素消費の盛んな末梢組織では、pH の低下は顕著になり、また、S も低くなるので、OEC 移動に対する S の感受性が高くなるので、Bohr 効果の意義は大となる。赤血球内調節因子には、 $H^+$ 、 $CO_2$  以外に 2, 3-

diphosphoglycerate (2, 3-DPG) があり, 慢性酸素不足状態での 2, 3-DPG レベル上昇による代償性酸素運搬量増加の意義が指摘されている. しかしながら, これらの意義付けが精密な OEC データに基づいて実際の生体内の酸素分圧条件下で十分定量的に検討されたとは言い難い. 本稿では, OEC の形状や成人と胎児のヘモグロビンの酸素平衡特性に秘められた生理的意義に関して, 定量的解析を通じて筆者らが最近見出した新しい知見を中心にして解説する.

## I. 酸素平衡曲線の形状の意味

### A. 酸素平衡曲線とその勾配

多くの動物が酸素担体としてもつヘモグロビンのアミノ酸配列はそれぞれ異なり, 酸素平衡特性もまた多様である. ヘモグロビンの酸素平衡特性は OEC の位置と形状で表される. Severinghaus [4] によって生理的条件下で測定された成人の全血液の OEC を図 1 に示した. 通常, OEC の位置はヘモグロビンの 50% 酸素飽和時の酸素分圧,  $P_{50}$ , で表され,  $P_{50}$  の大・小はそれぞれ酸素親和性の低・高を意味する. 図 1 の OEC の  $P_{50}$  は 27 torr である. また, OEC の S 字性の強さは, 通常, Hill plot ( $\log [S/(1-S)]$  vs.  $\log P$  plot) の最大勾配,  $n_{\max}$ , で表される [5].  $n_{\max} = 1$  は S 字性がないこと (直角双曲線) を意味し,  $n_{\max} > 1$  の時に OEC は S

字状となるが, 4 量体ヘモグロビンの  $n_{\max}$  は 4 を越えることはない. 図 1 の OEC では,  $n_{\max} = 2.7$  である. 成人の安静状態では, 動脈血 ( $P = 100$  torr,  $S = 0.98$ ) と混合静脈血 ( $P = 40$  torr,  $S = 0.75$ ) の間のヘモグロビンの酸素飽和度の差 ( $\Delta S_{(100-40)} = 0.23$ ) に相当する  $O_2$  が組織に供給される. 従って, 安静状態では OEC の上方 1/4 しか利用されず, ここの OEC の勾配は緩やかであるが, 運動状態で静脈血の  $PO_2$  がさらに低下すると, OEC の中央付近の急峻な部分が活用されるようになる. このように, OEC の勾配は酸素運搬の効率に直接関わる量であるが, これを定量的に扱った例は少ない. また, S 字性の程度を示す Hill 係数  $n_{\max}$  を与える  $PO_2$  ( $P_{n_{\max}}$ ) は必ずしも OEC の最大勾配を与える  $PO_2$  に等しいとは限らない.

### B. ヘモグロビンの酸素平衡曲線の勾配の定量化

4 量体ヘモグロビンの OEC は, Adair [6] の 4 段階酸素化スキームによって以下のように記述される.

$$S = \frac{(K_1 P + 3 K_1 K_2 P^2 + 3 K_1 K_2 K_3 P^3 + K_1 K_2 K_3 K_4 P^4)}{(1 + 4 K_1 P + 6 K_1 K_2 P^2 + 4 K_1 K_2 K_3 P^3 + K_1 K_2 K_3 K_4 P^4)} \quad (1)$$

ここに,  $K_i$  ( $i = 1 \sim 4$ ) は  $i$  段階目の酸素結合の真性平衡定数 (Adair 定数) である. これらの Adair 定数は, ヘモグロビンの OEC data に curve fitting することによって決定できる. ヒト・ヘモグロビンでは, 異なる実験条件で精密に測定された OEC から求めた Adair 定数が報告されている [7~10]. 従って, これらの OEC の勾配 ( $dS/dP = S'$ ) を,  $PO_2$  の関数として求めることができる. 図 1 の実線は全血液の OEC の一次微分プロット ( $S'$  vs.  $P$  plot) であり, その形状はベル型である. このプロットの極大点 (そこでの  $S'$  を  $S'_{\max}$ ,  $P$  を  $P_{d_{\max}}$  とする) において酸素運搬効率は最大となる. 従って,  $P_{d_{\max}}$  は生理学的に特別な意義をもつ  $PO_2$  であると言える. この OEC では,  $P_{d_{\max}}$  は 20 torr であり, 生理的  $P_{50}$  である 27 torr よりも小さ

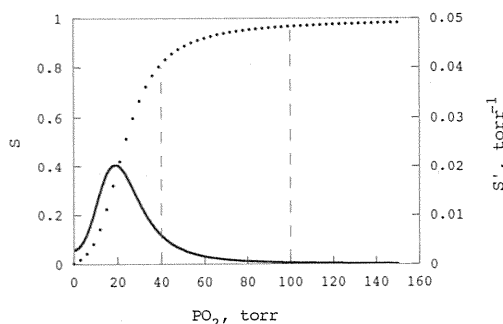


図 1. 生理的条件下で得られた成人の全血液の酸素平衡曲線 (点線) とその勾配 (実線). 縦の破線は動脈と混合静脈の  $PO_2$  を示す. 酸素平衡曲線のデータは文献 4 による.

な値である。実際、成人ヘモグロビンの種々の実験条件下で測定された  $P_{50}$  の異なる38本の OEC [7~10] において、 $P_{dmax} < P_{50} < P_{nmax}$  の関係がみられた。安静時の混合静脈血  $PO_2$  における勾配 ( $S'$ ) は小さく、 $S'_{max}$  の約1/3に過ぎない。運動などによる酸素消費量の増加に伴って静脈血の  $PO_2$  が低下するにつれて、 $S'$  は次第に増大する。最も激しい運動の際に混合静脈血の  $PO_2$  は 20 torr 近傍まで低下することが知られているが、この値は最大の酸素運搬効率を示す  $P_{dmax}$  に等しい。また、ヒト・ヘモグロビンの38本の OEC では測定条件の違いに関わらず、 $P_{dmax}$  での酸素飽和度 ( $S_{dmax}$  とする) は、常に0.38かもしくはそれに近い [11]。これらの事実は呼吸生理学上興味深いことである。

### C. ミオグロビンの OEC の勾配

四量体のヘモグロビンとは異なり、単量体で酸素貯蔵の役割を担う筋肉中のミオグロビンは協同作用を欠き、OEC は直角双曲線となる。この OEC の  $S'$  vs.  $P$  plot は、 $PO_2$  の低下に伴い単調に増加し、 $PO_2 \rightarrow 0$  の時に最大となる (図2) [12]。このことは、ミオグロビンが  $O_2$  の貯蔵体に適した酸素平衡特性をもつことを良く示している。また、ヘモグロビンにみられる協同作用は、特定の  $PO_2$  で酸素運搬効率が高まることを示している。さらに、図2で明らかに、ヘモグロビンやミオグロビンの OEC の形状の違いは、その勾配を求めることによって、より良く知ることができる。

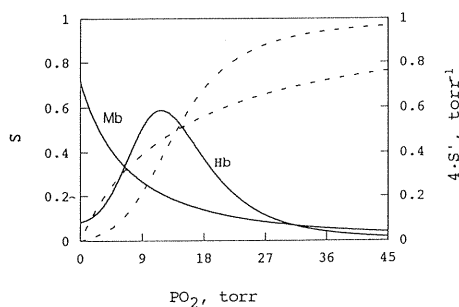


図2. ミオグロビンとヘモグロビンの酸素平衡曲線 (破線) とそれらの勾配 (実線)。  $P_{50}$  値は共に 14 torr。酸素平衡曲線のデータは文献7による。

## II. 胎児と成人のヘモグロビンの酸素平衡特性の意義

### A. 両ヘモグロビンの酸素平衡曲線の差異

胎児と成人のヘモグロビンの生理的  $P_{50}$  はそれぞれ 20 torr と 27 torr であり、この差は両個体の血液間での  $O_2$  の受け渡しを説明する好例として広く知られている。しかし、何故 20 torr と 27 torr なのかについては明快な説明はなされていない。成人の安静時の動脈血と混合静脈血の  $PO_2$  として 100 torr と 40 torr [13] が、また、胎児では 35 torr と 15 torr [14] が、それぞれ報告されている。図3は胎児と成人の

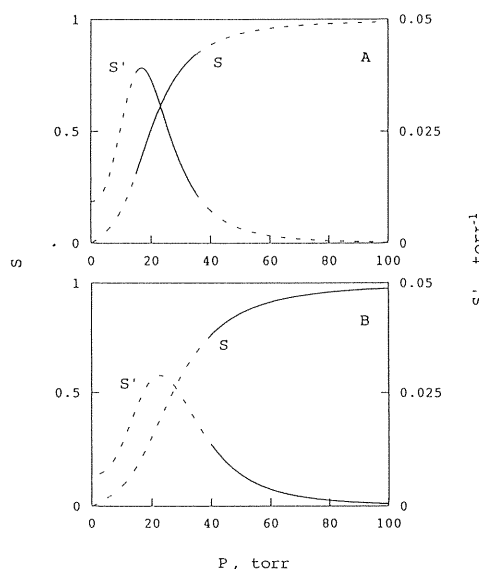


図3. 胎児(A)と成人(B)のヘモグロビンの生理的  $P_{50}$  をもつ酸素平衡曲線 ( $S$ ) とその勾配 ( $S'$ )。実線は生理的  $PO_2$  条件における曲線部分を示す。酸素平衡曲線のデータは文献4, 7による。

ヘモグロビンの OEC とそれらの一次微分プロットであり、生体内での  $PO_2$  範囲での値を実線で示した。胎児では生理的  $PO_2$  範囲内に  $P_{dmax}$  があり、 $S'$  は高い値に維持されている。このことから、胎児ではヘモグロビンの高い酸素運搬能率が恒常的に発揮されているとみなすことができる [15]。これに対して、安静時の成人では  $S'$  は低く、酸素運搬の効率は高くはな

いが、運動などにより酸素消費量が増加して静脈血の  $PO_2$  が低下すると、 $S'$  の高い領域が活用されるようになり、酸素運搬の効率が高められる [15].

### B. ヘモグロビンによる酸素輸送量の比較

血液によって輸送される酸素量は、血中ヘモグロビン濃度、毎分心拍出量、動脈血と混合静脈血の酸素飽和度の差 ( $\Delta S_{(pa-pv)}$ ) の積によって決定される。ここに、 $pa$  と  $pv$  はそれぞれ動脈血と混合静脈血の  $PO_2$  である。図 4 は成

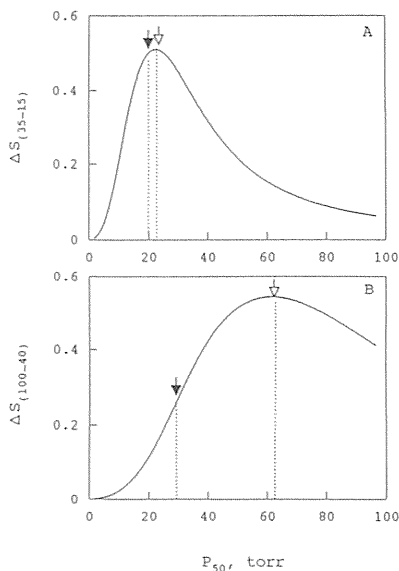


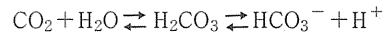
図 4. 胎児(A)と成人(B)のヘモグロビンの生理的  $PO_2$  条件に於ける動脈血と混合静脈血の酸素飽和度の差 ( $\Delta S_{(35-15)}$ ,  $\Delta S_{(100-40)}$ ) の  $P_{50}$  依存性. 白の矢印は理論的に得られた至適  $P_{50}$ , 黒の矢印は生理的条件下での実際の  $P_{50}$ . 酸素平衡曲線のデータは文献 4, 7 による.

人と胎児における  $\Delta S_{(pa-pv)}$  の  $P_{50}$  に対する依存性を表す。ここに、種々の  $P_{50}$  をもつ OEC は、ヒト・ヘモグロビンの OEC の 4 つの Adair 定数に同一の定数を乗じることにより得た。例えば、既に報告されている Adair 定数に 0.1 を乗じるとその OEC の  $P_{50}$  値は 10 倍となり、10 を乗じると  $P_{50}$  は 1/10 となる。このようにして  $P_{50}$  を変えた OEC の形状は変わらない。 $\Delta S_{(pa-pv)}$  は  $P_{50}$  への強い依存性を示し、

胎児の血液の生理的な  $PO_2$  条件下では  $P_{50}=22$  torr の時に最大の  $O_2$  の輸送が可能になることが明らかである。理論的に得られたこの至適  $P_{50}$  は胎児の生理的条件下で得られた  $P_{50}$  ( $=20$  torr) にほぼ一致することから、胎児の血液の酸素親和性は最大の酸素輸送を可能にするように設定されていることが確認される。他方、成人の血液では、 $P_{50}=62$  torr の時に最大の酸素輸送が起こるが、この値は生理的  $P_{50}$  ( $=27$  torr) から大きく隔たっている。この場合、慢性酸素不足での赤血球 2, 3-DPG レベルの上昇によって、 $P_{50}$  が生理的な値より大になることが  $\Delta S$  の増加をもたらすことは明かである。また、成人での  $\Delta S_{(100-40)}$  の実際値はその最大値の約 1/2 であり、胎児の場合と大きく異なっている。従って、成人血液の  $P_{50}$  の意義は胎児の場合とは異なる基礎に求めなければならない。

### C. 酸素平衡曲線の位置と Bohr 効果

血液による酸素輸送は、末梢組織で生成した炭酸ガスによって更に能率が高められていることが知られている。組織で生成した炭酸ガスは赤血球内の炭酸脱水酵素の触媒作用により、



のごとくに水と反応して  $H^+$  の増加 (pH の低下) をもたらし、 $H^+$  は酸素化ヘモグロビンの蛋白質部分の特定の解離基に結合してその  $O_2$  の解離を促進、すなわち OEC の右方移動を引き起こし、組織での酸素放出を促進する。この Bohr 効果の強さは Bohr 係数  $r (= \Delta \log P_{50} / \Delta pH)$  によって定量的に表され、成人ヘモグロビンでは  $r = -0.6$  と報告されている。しかし、このパラメータはあくまで酸素親和性 (OEC の位置) の pH に対する依存性を表すのみで、Bohr 効果が体内での酸素輸送の効率化に如何に貢献しているかを直接示すわけではない。そこで、実際の成人体内の  $PO_2$  条件下で Bohr 効果の有効性を知るために、成人ヘモグロビンの  $\Delta S_{(100-40)}$  vs.  $P_{50}$  plot の勾配である  $d\Delta S_{(100-40)} / dP_{50}$  を求め、それを  $P_{50}$  に対してブ

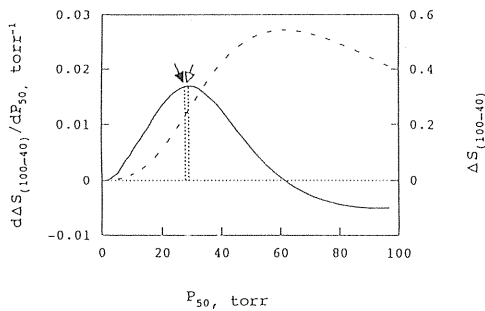


図5. 成人ヘモグロビンにおける  $\Delta S_{(100-40)}$  vs.  $P_{50}$  plot (破線) とその勾配 ( $d\Delta S_{(100-40)}/dP_{50}$ ) と  $P_{50}$  の関係 (実線). 白の矢印は理論的に得られた至適  $P_{50}$ , 黒の矢印は生理的  $P_{50}$ . 酸素平衡曲線のデータは文献4による.

ロットした(図5) [15]. この勾配は  $\Delta S_{(100-40)}$  の  $P_{50}$  の変化に対する感受性を示すもので,  $d\Delta S_{(100-40)}/dP_{50}$  vs.  $P_{50}$  plot はベル形を示し,  $P_{50}=29$  torr の時に最大値をもつ. このことは, Bohr 効果によるガス交換の効率化を最大にする至適  $P_{50}$  が存在することを意味する. この至適  $P_{50}$  は成人血液の生理的  $P_{50}$  ( $=27$  torr) に極めて近い. もし, 生理的  $P_{50}$  がこのプロットの与える至適  $P_{50}$  から大きく離れていれば, *in vitro* で如何に大きな Bohr 係数が観測されていても, その効果はガス交換の効率化には十分に寄与できないことになるが, 成人血液の OEC は Bohr 効果が最大に機能するように設定されていると考えられる.

次に, 動脈血と混合静脈血の  $PO_2$  と共にヘモグロビンの酸素親和性が生理的条件下で測定されているウマ, ラマ, モルモット, ブタの成体やブタの胎仔について, ヒトと同様の計算を試みた. その結果, 成体ヘモグロビンの  $P_{50}$  はいずれの動物においても  $d\Delta S_{(pa-pv)}/dP_{50}$  の最大値を与える  $P_{50}$  にほぼ等しく, またブタの胎仔のヘモグロビンの酸素親和性は  $\Delta S_{(pa-pv)}$  の最大値を与える  $P_{50}$  に極めて近く, いずれもヒト・ヘモグロビンの場合に良く類似していることが分かった.

協同作用をもたないミオグロビンの  $d\Delta S_{(pa-pv)}/dP_{50}$  vs.  $P_{50}$  plot は単調に減衰する曲線を描き ( $P_{50} \rightarrow 0$  の時に最大値), 至適  $P_{50}$  は存在

しない. 従って, ミオグロビンの酸素平衡特性は Bohr 効果によるガス交換の効率化には不適である. 実際ミオグロビンには Bohr 効果は存在しない. Bohr 効果の有意性は協同作用の存在に依存しており, 従って, Bohr 効果によるガス交換の効率化には, Bohr 係数と  $d\Delta S_{(pa-pv)}/dP_{50}$  の2つの要素が関与することになる.

ここまでの考察はあくまで成人と胎児のそれぞれの体内での酸素運搬効率を論じたものである. 胎盤での母体血液から胎児血液への酸素輸送は, 胎児血液の高い酸素親和性と “Dual Bohr effect” によって促進される [16]. ここに, “Dual Bohr effect” とは, 母体血液と胎児血液の Bohr 効果が同時に作用すると, 単独の場合に比べて作用が2倍になるという意味である. 実際には, 胎児血液の Bohr 効果は成人血液のそれより大なので, Dual Bohr effect はその分だけ余分に効くことになる [16].

### Ⅲ. お わ り に

胎児では厳しい酸素分圧条件下にあって, 最も酸素輸送能が高くなるように, 一方, 成人の安静状態では酸素輸送能はある程度抑える反面, Bohr 効果の寄与が最大となるように OEC の位置が設定されていると考えられる. 酸素輸送能率の観点からは, しばしば運動を行なう成人では運動負荷時の酸素需要増大に備えなければならないが, 胎児ではおそらくそのような事態に備える必要性がないと思われる.

ヘモグロビンは  $O_2$  と  $CO_2$  の輸送を生理的的使命として特殊に機能進化した蛋白質であり, 典型的なアロステリック蛋白質である. アロステリック蛋白質の多くは細胞の中で代謝を調節する酵素にみられる. アロステリック蛋白質のリガンドとしては, ホモトロピックとヘテロトロピック・リガンドがある. 前者は酵素では基質に相当するが, ヘモグロビンでは  $O_2$  が対応する. ヘテロトロピック・リガンドは基質以外のリガンドでありヘモグロビンでは  $H^+$ ,  $CO_2$ , 2, 3-DPG などがこれに当たる. 上述の成人ヘモグロビンにおいて Bohr 効果の寄与が最大に

設定されているという論理は、等しく  $\text{CO}_2$  や 2, 3-DPG の効果の寄与に対しても成立することは明かである。従って、胎児と成人のヘモグロビンの酸素親和性は、ホモトロピック作用(協同作用)とヘテロトロピック作用を最大に活用できるようにそれぞれ設定されている典型的な例と考えられる。種々の動物のヘモグロビンや他の酸素担体の OEC data が報告されているが、それらの OEC は S 字状を示し、Bohr 効果などのヘテロトロピック効果も見られるものが多い。これらの酸素担体も、生体内でヒト・ヘモグロビンと同様にアロステリック効果による調節を活用し、それぞれが置かれている酸素分圧環境に適応してその機能を発揮しているものと推察される。

#### 謝 辞

本研究は平成 7～8 年度文部省科学研究費補助金・基盤研究(A)(1)(課題番号 07308071)による補助を受けた。

#### 文 献

- 1) Bohr C, Hasselbalch KA & Krogh A: Über einen in biologischer Beziehung wichtigen Einfluss, den die Kohlensäurespannung des Blutes auf dessen Sauerstoffbindung übt. *Arch Physiol* **16**: 402-412, 1904
- 2) Siggaard-Andersen O, Rörth M, Nørregaard-Pedersen B, Sparre, Andersen O & Johansen E: Oxygen-linked hydrogen ion binding of human hemoglobin. Effects of carbon dioxide and 2, 3-diphosphoglycerate. IV. Thermodynamical relationship between the variables. *Scand J Clin Lab Invest* **29**: 303-320, 1972
- 3) Tyuma I: The Bohr effect and the Haldane effect in human hemoglobin, *Jpn J Physiol* **34**: 205-216, 1984
- 4) Severinghaus JW: Simple accurate equations for human blood  $\text{O}_2$  dissociation computations. *Am Physiol Soc* **34**: 599-602, 1972
- 5) Hill AV: The possible effects of the aggregation of the molecule of haemoglobin on its dissociation curves. *J Physiol* **40**: 4-7, 1910
- 6) Adair G S: The oxygen dissociation curve of hemoglobin. *J Biol Chem* **63**: 529-545, 1925
- 7) Imai K: Allosteric effects in haemoglobin. Cambridge Univ Press, Cambridge 1982
- 8) Imai K & Yonetani T: pH dependence of the Adair constants of human hemoglobin. *J Biol Chem* **250**: 2227-2231, 1975
- 9) Imaizumi K, Imai K & Tyuma I: Linkage between carbon dioxide binding and four-step oxygen binding to hemoglobin. *J Mol Biol* **159**: 703-719, 1982
- 10) Tyuma I, Imai K & Shimizu K: Analysis of oxygen equilibrium of hemoglobin and control mechanism of organic phosphates. *Biochemistry* **12**: 1491-1498, 1973
- 11) Kobayashi M, Ishigaki K, Kobayashi M & Imai K: Shape of the haemoglobin-oxygen equilibrium curve and oxygen transport efficiency. *Respir Physiol* **95**: 321-326, 1994
- 12) Kobayashi M, Kitayama K, Watanabe M & Makino N: The oxygen transport efficiency of arthropod hemocyanin. *Zool Sci* **11**: 271-276, 1995
- 13) Altman PL & Ditter DS: Respiration and Circulation. Federation of American Societies for Experimental Biology, Bethesda, 1975
- 14) Breathnach CS: The stability of the fetal oxygen environment. *Irish J Med Sci* **160**: 189-191, 1991
- 15) Kobayashi M, Kimura S, Ishigaki K, Makino N & Imai K: Significance of oxygen affinity of fetal and adult human hemoglobin. *Zool Sci* **13**: 661-664, 1994
- 16) Poyart C, Bursaux E, Guesnon P & Teisseire B: Chloride binding and the Bohr effect of human fetal erythrocytes and Hb  $\text{F}_{11}$  solutions. *Pflügers Archiv* **376**: 169-175, 1978

## 編集後記

11月に入り一年中で一番快適な季節となりました。会員の皆様は科学研究費などの申請も終わり、研究に集中なされていることと思います。

さて、生理学誌10号をお届けいたします。10号は非常に厚くなっております。Volumeだけでなく、内容も重厚になっており、大変喜ばしいことです。これも様々なご意見の積極的な投稿と原稿依頼に対する会員の皆様のご協力・努力により支えられていると思います。巻頭言は佐々木和夫先生から頂きました。以前は優秀な学生が生理学教室の門をたたいたが、最近は必ずしもそうでなくなった。生理学者に相対的に魅力が減少していると思うというご指摘、謙虚に受ける必要があると思います。会員の皆様はいかがお考えでしょ

うか。「生理学者のための分子生物学技術講座」には木山博資、森泰生、八木健先生から、また今回から新しく始まる「データ処理技術講座」には鯨島道和・保智巳先生から頂きました。いずれも力作で先生方の力の入れ様が伝わって参ります。会員の皆様ぜひご一読ください。Opinionには今井先生から、システムの認識と統合1-3の大作を頂き掲載いたしました。Profileの吉村恵先生、ご健闘をお祈りいたします。小林・今井先生、総説のご投稿ありがとうございました。

また生理学研究連絡委員会報告「生理学の動向と展望」生命への統合という学術会議生理学研究連絡委員会の審議結果の報告書を転載いたしました。ご参考にしてください。

(佐々木成人)

### 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) |
| 河南洋(九州)   |          |            |

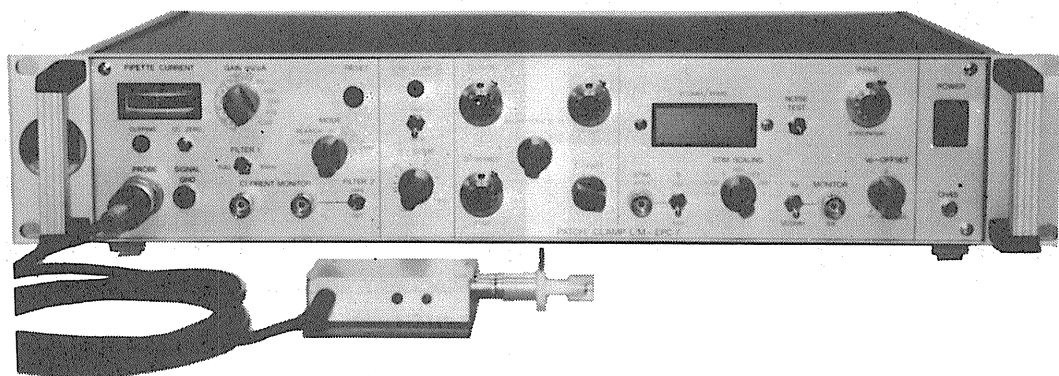


# 実績 No.1!!

F. J. Sigworth, E. Neher のオリジナル

西独リスト社

## パッチクランプシステム *EPC-7*



### ■ 主な性能

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

日本総代理店／西日本地区発売元



ショーシンEM株式会社

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

東日本地区発売元

(Physio-Tech)

株式会社 フィジオテック

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

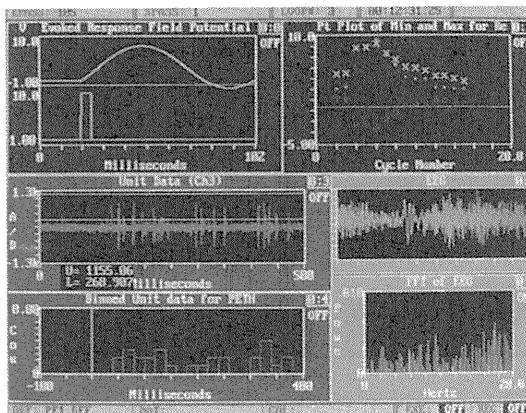
アナログ信号リアルタイム解析システム

DataWave社製

# WorkBench & Discovery

生体シグナルリアルタイム解析装置

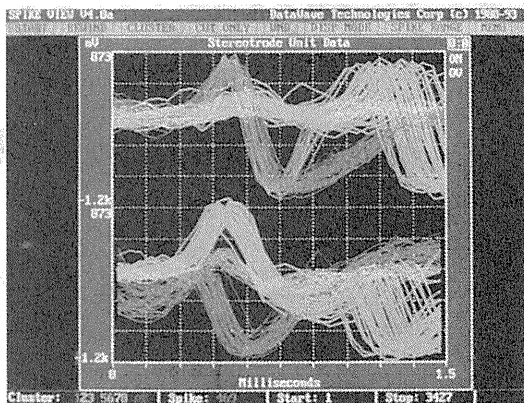
すべての作業を完全に自動化



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



ディスカバリーは、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に開発されたシステムです。

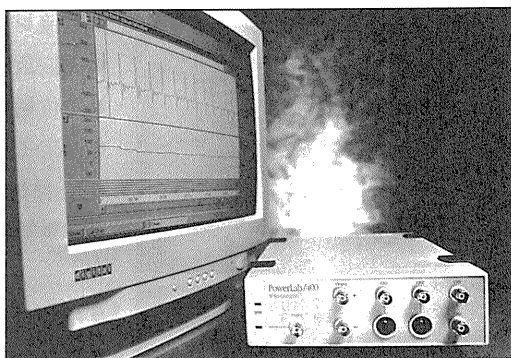
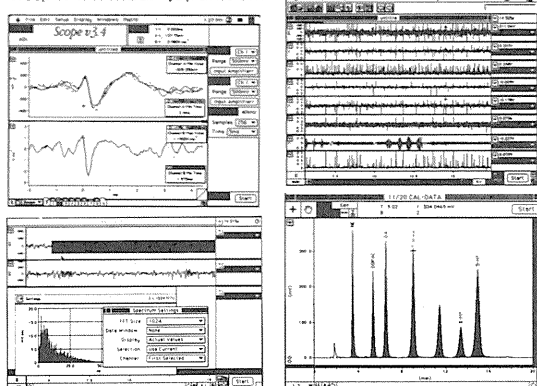
Macintosh 及び Windows 対応シグナルプロセッサ

**Mac Lab** (Mac 対応ソフト: Chart/Scope)  
**Power Lab** (Windows95/NT 対応ソフト: Win Chart)

マルチプラットフォーム化を実現!!

Mac 専用のデータ収録解析システム MacLab に新しく Windows 対応型の PowerLab シリーズが加わりクロスプラットフォーム化を実現しました。Mac 上でも PC 上でも高性能なチャートレコーダ、ポリグラフ、XYレコーダ、デジタルオシロスコープとして機能し、従来の煩雑な作業を一挙に短縮します。

<http://www.adi-japan.com>



Mac Lab/Power Lab は……

特殊なプログラミングを必要とせず、ユーザーの既存の記録作業をシステム化します。現在、幅広い分野で測定、記録、解析、シミュレーション、教育用に活躍しています。

演算

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

記録

- ハードディスクレコーディング
- オンメモリーレコーディング
- 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 Power Book、Power Mac で接続可能。

日本総代理店

**ADIC**

**バイオリサーチセンター株式会社**

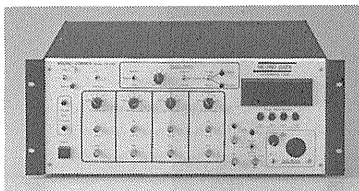
本社 名古屋市東区泉 2-28-24 (ヨコタビル4F) ☎052(932)6421 FAX052(932)6755  
東京 東京都千代田区岩本町 2-10-1 (オカジマビル) ☎03(3861)7021 FAX03(3861)7022

# NeuroData社生理学機器

キャンペーン価格実施中

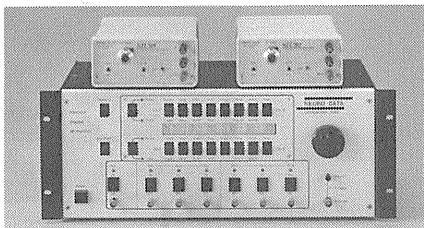
バイオリサーチセンターは、生理学機器の総合メーカーNeuroData社の日本総代理店として販売を開始しました。カタログ等のご請求は下記までご連絡下さい。

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



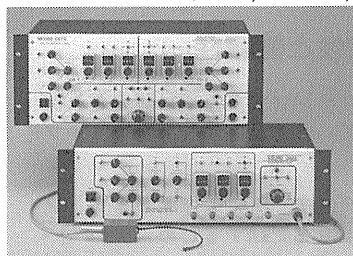
〈DR-484の主な仕様〉  
デジタル処理 14/12bit  
メモリーバファ 16K  
ダイナミックレンジ 84/72db  
サンプリング速度 88/44/22K  
ボイスチャンネル 1  
トリガーチャンネル 1  
ビデオ形式 NTSC

## デジタル刺激装置/アイソレータ PG4000A/SIU90 (¥780,000/180,000)



\*4CH独立してパルス幅、パルス間隔、トリガーソースが設定できます。  
\*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。  
\*任意のパルスストレ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・セルバ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



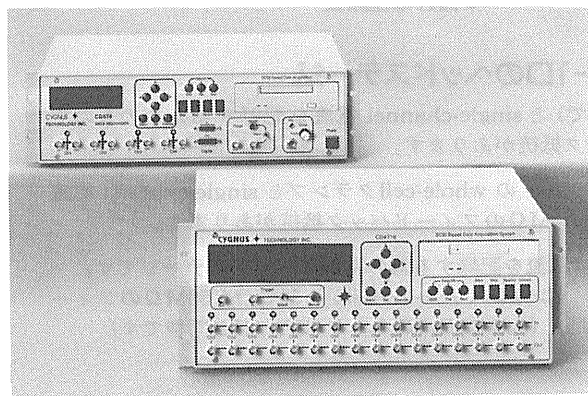
FLA-01  
(¥135,000)

\*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 (¥2,360,000)

4チャンネル用CDAT-4 (+音声/デジタル/Och内蔵)  
(¥1,330,000)



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収録します。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、未収録部分にデータを追加します。

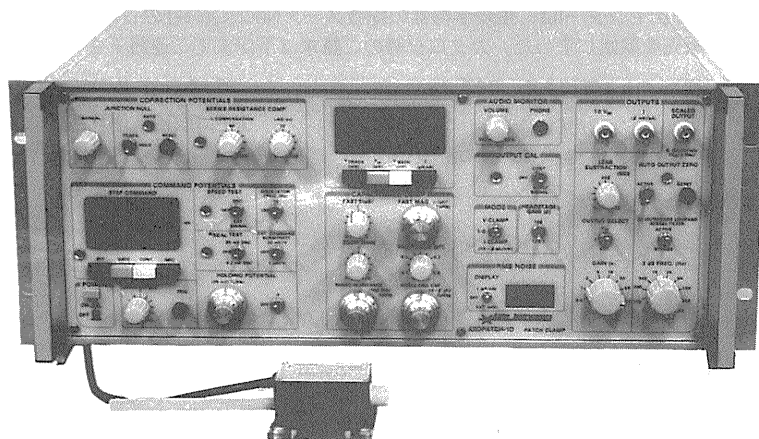
日本総代理店

**BRC**

バイオリサーチセンター株式会社

本社 名古屋市中区東 2-28-24(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

# AXOPATCH-1D PATCH CLAMP



低ノイズ      ハイスピード      安定性と信頼性

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

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

CV4ヘッドステージは下記の3種類があります。

## AXOPATCH-1Dの特徴

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

## AXOPATCH-1Dのヘッドステージ

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

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

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

西日本地区発売元



INTER MEDICAL CO., LTD.

株式会社 インターメディカル

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

東日本地区発売元

(Physio-Tech)

株式会社 フィジオテック

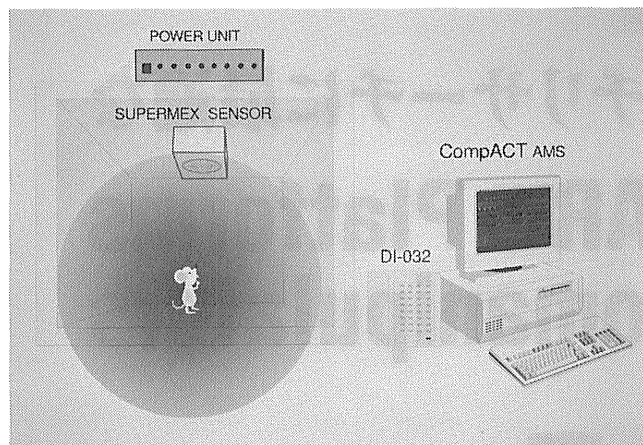
〒101 東京都千代田区内神田2丁目6番11号  
若松ビル2F  
TEL (03) 3258-1641 (代)

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

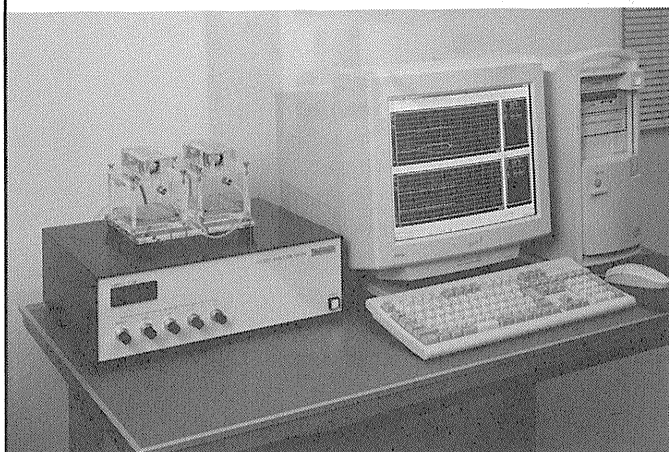


- 小動物(マウス、ラット、マーモセット等)から大動物(イヌ、サル、ブタ)まで自発運動量を測定することができます。
  - お手持ちの飼育ケージ、ラック用ケージ、代謝ケージ等を使用することができます。
  - マイクロダイアリシスやテレメータ測定等との並行測定を行なうこともできます。
  - 感度調整等の煩わしい操作は不要です。
  - 従来の自発運動量測定装置に比べ少ない予算で多チャンネルのシステム構成が可能です。  
(価格例: 4chシステム ¥1,500,000  
8chシステム ¥2,100,000)
  - 標準付属品のインターフェースで32ch、オプションで最大80chまでのデ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

総発売元 **Muromachi**  
**室町機械株式会社**

本社 東京都中央区日本橋室町4-2-1 大辻ビル  
〒103-0022 TEL 03(3241)2444 FAX 03(3241)2940  
大阪営業所 大阪市淀川区木川東4-5-3 オバル新大阪ビル  
〒532-0012 TEL 06 (302)1277 FAX 06 (302)5026  
E-mail : sales@muromachi.com

## 小動物用代謝計測システム MODEL MK-5000



本システムは、エアータイトチャンバーを用いたO<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>ガスによる代謝計測システムです。本システムを使用することにより、従来は困難であったラット・マウス等の小動物のリアルタイム呼吸代謝モニターを実現することができます。

### ■主な特長

- 高精度O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>センサーの採用により正確にモニターできます。
- チャンバー内のガスは小型ファンにより偏向なくミキシングされます。
- コンピュータによる全自動サンプリング。
- 各チャンバーは独立して計測を行うことができます。
- トレッドミル(オプション)を併用することにより運動時の代謝計測を行うこともできます。

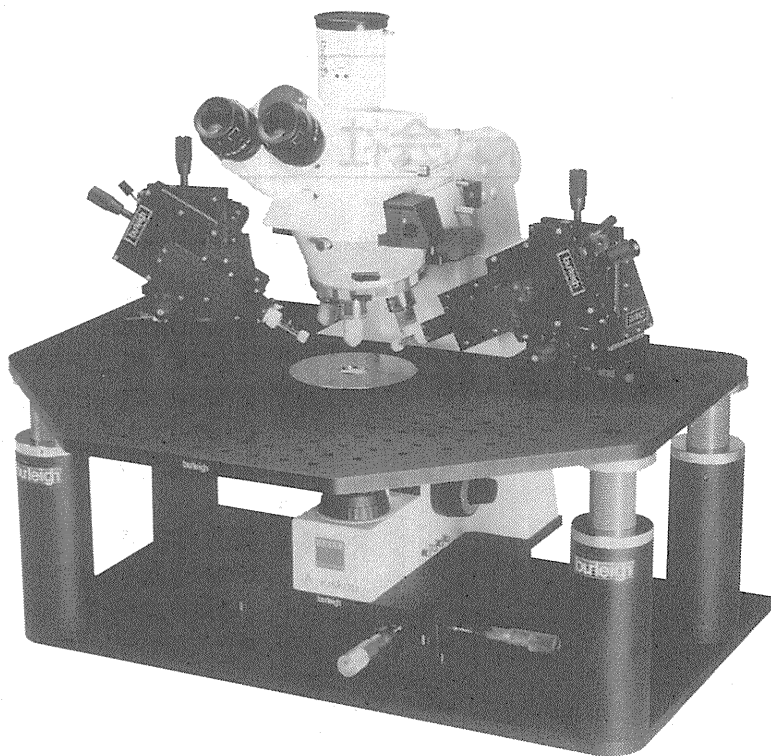
総発売元 **Muromachi**  
**室町機械株式会社**

本社 東京都中央区日本橋室町4-2-1 大辻ビル  
〒103-0022 TEL 03(3241)2444 FAX 03(3241)2940  
大阪営業所 大阪市淀川区木川東4-5-3 オバル新大阪ビル  
〒532-0012 TEL 06 (302)1277 FAX 06 (302)5026  
E-mail : sales@muromachi.com



The Power of Precision  
in Life Science.

# スライスパッチリサーチに最適な GIBALTAR™ Platforms & Micromanipulators



写真は: GIBALTAR™ プラットフォームと新型 Piezoelectric micromanipulator PCS-5400 型

◆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

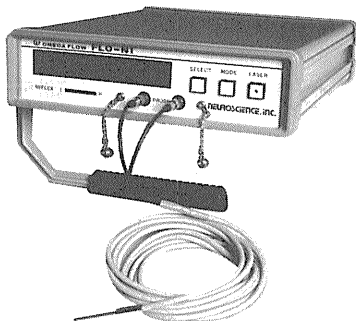
〒444-02 愛知県岡崎市赤浜町蔵西1番地14  
Tel.0564-54-1231 Fax.0564-54-3207

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：07B第0805号

接触型FLO-Q1も用意しています。

製造元

オメガウェーブ

日本総代理店

株式会社  
ニューロサイエンス

### 【特徴】

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

### 【用途】

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

本社 ■〒110 東京都台東区台東2-29-12 サンクエホワイトビル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 アバンタント86  
TEL.(092)414-0251 FAX.(092)414-0125

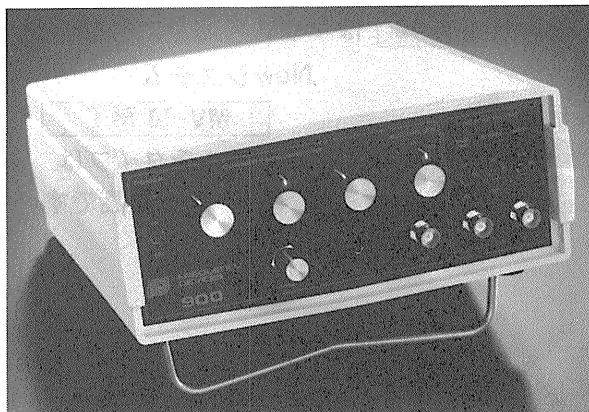


FREQUENCY  
DEVICES

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

日本総代理店

株式会社  
ニューロサイエンス

AMTEC アムテック株式会社

本社 ■〒110 東京都台東区台東2-29-12 サンクエホワイトビル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 アバンタント86  
TEL.(092)414-0251 FAX.(092)414-0125

# 小動物行動測定王者

# 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**

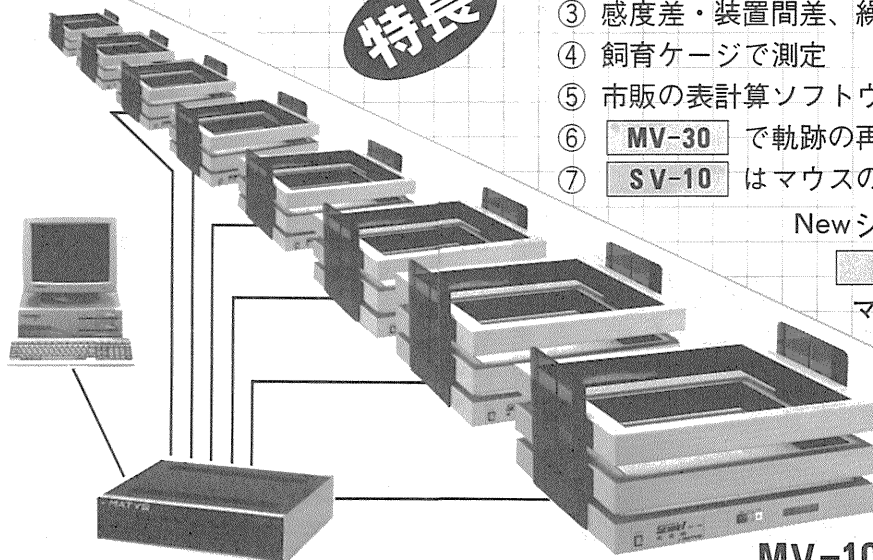
**特長**

- 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

# Experimental Physiology

- The Journal of Physiologyの姉妹誌 -

Chairman of the Editorial Board:  
J. I. GILLESPIE, *University of  
Newcastle upon Tyne*

Impact Factor: 1.354 -from ISI/SCI/ Journal Citation Reports 1996-

1908年、エジンバラ大学生理学教授 Sir. Edward Sharpey-Schaferによって発行された "Quarterly Journal of Experimental Physiology" が本誌の起源です。1981年に「英国生理学会」の公式機関誌に認定され、1990年から現在のタイトルで刊行されています。近年は、この分野では最も権威ある雑誌のひとつ **The Journal of Physiology** 誌の補完的な色彩を強めています。

本誌は、生理学全般、特にシステム生理学の領域に重点をおきます。総合的なメカニズムの理解に寄与する分子・細胞研究の成果やレビュー、また、実験データや実験に直結する仮説を基盤とした理論などの投稿を歓迎しています。

**The Journal of Physiology** 誌をご購読中の皆様には本誌と併せてのご活用をお薦め致します。

▶ 1998年: Vols. 83 #1-6 ▶ 刊行回数: 6 issues ▶ 商品コード: E39265Z ▶ 年間購読概価: ¥55,800

EP割引  
キャンペーン  
実施中



只今、**The Journal of Physiology** 誌の団体ご購読者を対象に、**Experimental Physiology** 1998年年間購読価格・割引キャンペーンを実施中です。1998年新規予約に限り、割安の価格にてご提供いたします。

▶ 商品コード: E39265Z ▶ 割引価格 (年間): ¥30,600

# The Journal of Physiology

- The Physiological Societyの機関誌 -

Chairman of the Editorial Board: R. E. J. Dyball,  
*University of Cambridge*

Impact Factor: 4.327 -from ISI/SCI/ Journal Citation Reports 1996-

本誌は、生理学全般におけるオリジナルの研究報告を掲載します。この分野では国際的に高い評価を受けており、論文の引用度も際立って高くランクされています。特に脊椎動物の神経生理学に重点をおきながら、呼吸、循環、排出、生殖、消化、ホメオスタシス、神経生理、筋収縮などについての原著論文を掲載する他、「英国生理学会」の議事録も収録します。

▶ 1998年: Vols. 506-513 ▶ 刊行回数: 24+5+1 ▶ 商品コード: J43900T ▶ 年間購読概価: ¥303,000

※ 販売価格は、実勢レートをもとに算出し、概算価格にて表示しております。最新価格につきましては改めてご照会下さい。(消費税別)

※ ご購読、見本誌のお申し込み、その他のお問い合わせは、最寄りの紀伊國屋書店営業所にお申し付け下さるか、雑誌部マーケティング課宛にハガキまたはFAXにてご連絡下さい。

日本販売総代理店



紀伊國屋書店 雑誌部

〒156 東京都世田谷区桜丘 5-38-1

Fax. 03-3439-1094

# 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

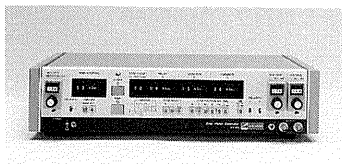
## パッチ／ホールセルクランプ用増幅器 CEZ-2400

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。

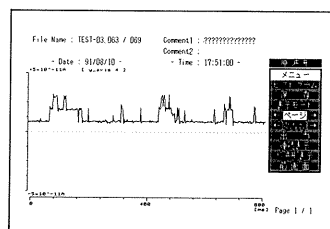
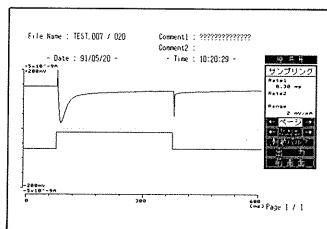
### ステップパルスジェネレータ SET-1201

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

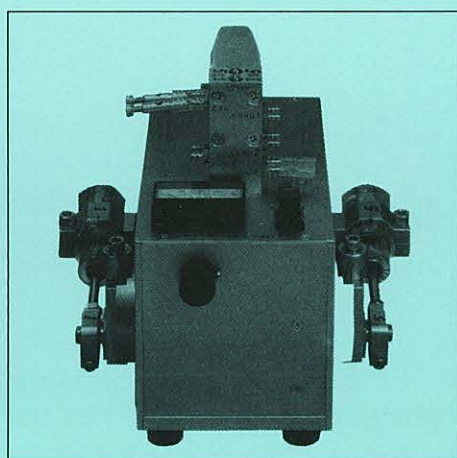
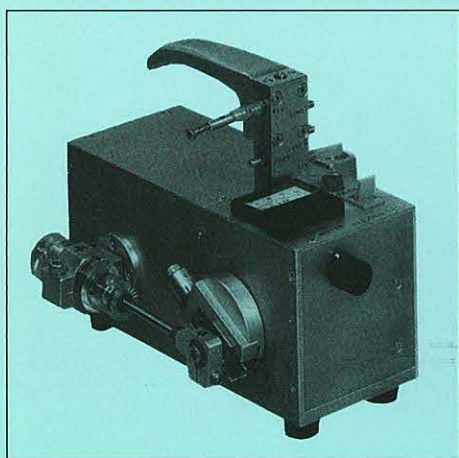
パッチクランプ法及びホールセルクランプ法により測定された微小イオン電流のデータを、パーソナルコンピュータ（PC-98シリーズ）を使用して、保存・解析するためのプログラムです。



**日本光電** 東京都新宿区西落合1-31-4 〒161  
 ☎03(5996)8028

カタログをご希望の方は当社までご請求下さい。

# KN-55 KN式 小動物人工呼吸器



## 特長

- 従来のものより小型でコンパクトに設計された呼吸器です。
- スピードコントロールモーターの採用で呼吸回数は、無段階に連続可変が行なえます。
- タイミング弁の採用で、呼吸気量を正確に設定できます。
- 4種類のシリンダーを交換することにより、呼吸気量を更に精密に設定できます。

（標準器には希望シリンダー1本付、他はオプション）

- シリンダーが1連式と2連式の2機種があります。

## 仕様

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

## 本体寸法

W95×D215×H120mm

※実用容量はストローク20mmです  
ので異なります。

理化学器械・基礎医学器械・実験動物飼育機械器具・薬学研究器械・医科器械一般



株式会社

夏目製作所

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

編集兼  
発行人

東京都文京区本郷三丁目一〇  
布地ビル（四階）  
日本生理学会  
金子章道

印刷者  
印刷所

〒九九七  
山形県鶴岡市山王町一四二四  
平田正  
鶴岡印刷株式会社

発行所

〒一三三  
東京都文京区本郷三丁目一〇  
布地ビル（四階）  
日本生理学会

電 振

A 替  
X 〇  
話 〇  
〇 〇  
〇 〇  
三 〇  
一 〇

定 一 五 三 八  
価 〇 八 一  
一 六 四 五  
千 八 二 一  
四 五 六  
三 二 二  
〇 九 四  
円