

日本

生理学

雑誌

JOURNAL OF THE PHYSIOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

60巻 10号 1998

〔巻頭言〕 黒島晨汎：生理学の知恵…………… 361

NEWS…………… 363

INFORMATION…………… 364

CALENDAR…………… 368

RECORDS…………… 369

PROFILE…………… 370

OPINION…………… 373

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」

武内恒成・山田竜一・井ノ口 馨・高橋直樹：

アンチセンスオリゴヌクレオチドによる生理機能解析…………… 383

日本生理誌
J. Physiol. Soc. Japan

日本生理学会

ラット・マウスを使った行動実験ですか？
ノルダスのシステムにお任せください！



世界最新鋭のオランダ・ノルダス社がついに日本上陸です！
コンピュータによりラット（動くものなら何でも）の行動を完全自動追跡、解析するシステム「エソビジョン」は、圧倒的な安定性、どんな実験系にも対応するフレキシビリティ、200を越す多彩な解析パラメータ数をひっさげて、すでにヨーロッパでは学会を席卷しはじめています。

ノルダス社日本責任代理店：

ショーシンEM株式会社

〒444-0241 愛知県岡崎市赤浜町蔵西1-14

TEL：0564-54-1231
FAX：0564-54-3207
EMail：shoem@sun-inet.or.jp

Noldus
INFORMATION TECHNOLOGY

EthoVision

自動行動追跡・解析コンピュータ・ビジョン・システム

目 次

[巻頭言] 生理学の知恵 (黒島 晨 汎)	361
NEWS	
研究費委員会より	363
INFORMATION	
千里ライフサイエンス技術講習会 第17回 「最新の GFP テクノロジー —ライフサイエンス分野への発展と応用—」	364
千里ライフサイエンスセミナー 「糖尿病性合併症の分子機構とその治療戦略—beyond glucose—」	364
第28回日本心脈管作動物質学会	365
生理学第一講座教授候補者の推薦について (依頼)	365
第2回日本電気生理運動学会大会案内	367
CALENDAR	
主な学会開催日程	368
RECORDS	
会員消息	369
PROFILE	
「生理学者群像」(佐々木和彦)	370
(福田敦夫)	371
OPINION	
システムの認識と統合 6 (今井 雄 介)	373
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」 武内 恒 成・山田 竜 一・井ノ口 馨・高橋 直 樹 アンチセンスオリゴヌクレオチドによる生理機能解析	383

巻頭言

生理学の知恵

旭川医科大学生理学第一

黒島 晨 汎

知恵の女神ミネルバの使者梟が夕暮れに飛翔するのであれば、学生にとって生理学の定義は講義の終了した時点で自ずから理解されると思っても、講義の初めに生理学とはと、つい口が滑る。恐らく今までになく最近生理学のレゾン・デートルなるものが議論される機会が多くなったせいであろう。その理由は遺伝学、分子生物学の成果が生理学の分野に還元主義的発想を台頭させた結果、生理学の独自性が問われるようになったことにあるようである。特にカリキュラム大綱化、大学院大学などの教育制度改革の中で医学の教育研究単位の名称から生理学という単独称が消えつつあるのはそのためであろう。しかし生理学の目指すものはベルナルが「実験医学研究序説」(1865)で“科学的医学の基盤は生理学にあり”と喝破して以来いまでも変わってないのではないか。それは生体の包括的な機能、換言すれば生体機能の内的論理の究明にある。具体的には Starling, E. H. (1912)の Principles of Human Physiology の第13版 (Davson, H. & Eggleton, M. G. 改版編集, 1962)の “It (physiology) now signifies the study of the phenomenon presented by living organisms; the classification of these phenomenon, and the recognition of their sequence and relative significance; allocation of every function to its appropriate organ; and the study of the conditions that determin each function.” という記述に付け加えるべきものはないと思うが如何だろう。そしてすべての道がこの生理学というローマに通じるのなら、君は果敢にゆくべきであろう。生理学は彼女(氏)なしでは済まされないのに、一緒にいるのを公には見られたくないような状況を思わせる目的論でも、単純であるといわれる決定論でも、分子生物学手練でもすべてを受け入れることができる限りない容量を有していると考えられないだろうか。なぜならすべての道は“からだの知恵”を究明する生理学に通じているのだから、それらの道を草むさせることなく我々は生理学を目指さなければならない。生理学の未来は正しくこれらの道を如何に整備して多くの人々が自由に自分のペースで通れるようにするかに懸かっている。知恵が “understanding of what is true, right, or lasting” (The American Heritage Dictionary of the English Language) ということならば、われわれはこのような“生理学の知恵”によってこそ、もう一つの知恵 “capacity of judginfg rightly in matters relating to life and conduct” (The Oxford English Dictionary); ability to discern inner qualities and essential relationships (Webster’s 3rd New Inter-

national Dictionary)としての“からだの知恵”を解明することができるのだといたい。そのために我々はあらゆる方法と手段を行使することが求められているように思うし、それが可能な時代にいるといえる。生理学はこのような時代の状況があるがままに受け入れ、クロストーク的発想を駆使することに生理学の未来が懸かっていると理解したい。

しかしこのような生理学の意義が如何に医学で重要であり、その世界が如何に魅力的であるかを若き学徒が理解して、そこに参加して貫うためには、生理学の現役の研究者であり、かつ教える立場にいる我々が、少なくとも自分の専門分野について大いに語り、学生を魅了するとともに、できるだけ広い層の人々の支持が得られるように努めなければならない。また生理学を学び専攻する人材のあらゆる面(経済、発表の機会、職など)での支援について積極的な方策を工夫することが重要と考える。しかし差し当たり私ができることは生理学を教えることは希望を語ることでなければならないと深く感じている昨今である。

“Il nous faut reconnaitre que ce qui caractérise une science, c'est le problème qu'elle poursuit. (一つの科学を特徴づけるものは、その科学が追求する問題であると認識すべきである。)—Claude Bernard—”

NEWS

研究費委員会より

平成10年度の文部省科学研究費補助金、生理学関係の4専門分野への配分結果を、学術情報センターのデータベースに基づいて表1に纏めました。来年度の申請の参考にして頂ければと存じます。

各専門分野への配分額は、すべて新規申請額および申請件数に対する各専門分野への申請額および申請件数より算出されます。したがって申請の多い専門分野への配分が多くなりますので、それぞれの専門分野からの申請件数を増やすことが必要です。

なお、学術情報センターのデータベースには、この科学研究費補助金採択課題データベースの他に、科学研究費補助金研究成果概要データベース、民間

助成決定課題データベース、民間助成研究成果概要データベース等があり、研究助成申請の参考になります。

また、研究費に関するご意見、ご質問等を下記までお送り頂ければ幸いです。研究費委員会にて検討させていただきます。

〒602-8566 京都市上京区河原町通広小路上

京都府立医科大学第一生理学教室

森本 武利

TEL: 075-251-5310

FAX: 075-251-0295

E-mail: morimoto@Phys. kpu-m. ac. jp

表1 平成10年度科学研究費補助金(生理学関係)

[単位: 千円, ()内は件数]

		生理学一般 602	環境生理学 603	神経科学一般 833	神経筋肉生理学 834
基盤研究(A)	継続	15,000(2)	5,800(2)	20,900(5)	9,100(2)
	新規	12,900(1)	26,800(1)	21,100(1)	9,900(1)
	小計	27,900(3)	32,600(3)	42,000(6)	9,900(1)
基盤研究(B)	継続	26,400(12)	25,900(10)	25,100(13)	34,500(13)
	新規	60,000(10)	59,500(8)	51,900(8)	22,000(3)
	小計	86,400(22)	85,400(18)	77,000(21)	56,500(16)
基盤研究(C)	継続	26,600(29)	15,100(22)	21,900(21)	18,200(23)
	新規	40,400(20)	40,700(20)	45,800(21)	28,200(13)
	小計	67,000(49)	55,800(42)	67,700(42)	46,400(36)
萌芽的研究	継続	5,400(7)	2,000(3)	4,900(8)	1,800(3)
	新規	7,000(5)	3,800(3)	9,400(7)	3,200(2)
	小計	12,400(12)	5,800(6)	14,300(15)	5,000(5)
奨励研究(A)	継続	9,400(14)	8,800(15)	18,900(24)	9,000(13)
	新規	12,800(10)	14,700(11)	19,900(16)	12,100(8)
	小計	22,200(24)	23,500(26)	38,800(40)	21,100(21)
特別研究員奨励	継続	6,500(7)	3,200(3)	7,700(8)	6,100(7)
	新規	5,400(5)	4,800(4)	13,500(13)	7,500(7)
	小計	11,900(12)	8,000(7)	21,200(21)	13,600(14)
合計		227,800(122)	212,200(104)	254,100(146)	161,600(96)
		+11.1%	+5.3%	+11.3%	-23.8%

INFORMATION

千里ライフサイエンス技術講習会 第17回

「最新の GFP テクノロジー —ライフサイエンス分野への発展と応用—」

日 時	平成10年11月26日(木) 10:00~17:00	定 員	50名
場 所	千里ライフサイエンスセンタービル 9階 (地下鉄御堂筋線千里中央駅北口すぐ)	受 講 料	3,000円
主 催	財団法人千里ライフサイエンス振興財団	申込締切	平成10年11月 6日(財団必着)
協 賛	クロンテック株式会社 オリンパス販売株式会社 株式会社千里ライフサイエンスセンター	申込方法	氏名, 勤務先, 所属, 役職名, 所在地, 〒, 電話, F A X 番号を明記の上, 郵便または F A X で下記宛お申込下さい. 受講料はお申込 後に住友銀行・本店公務部・普通預金 No.6262 財団法人千里ライフサイエンス振興財団口座宛 にお振込下さい. なお, お振込の際, <u>振込者名</u> <u>の前に G 17 とご記入下さい.</u> ご送金確認次第, 領収書兼参加証を送付いたします.
内 容	1. 新規 GFP 変異種の性質と応用 2. GFP の生物学分野への応用 3. 最先端のレーザー走査顕微鏡—GFP への 応用 4. ゼブラフィッシュにおける GFP の発現 —最新の知見の紹介とデモンストレーション—	申 込 先	(財)千里ライフサイエンス振興財団 技術講習会係 〒565-0082 大阪府豊中市新千里東町1-4-2 千里ライフサイエンスセンタービル 8階 TEL 06-873-2001 FAX 06-873-2002
講 師	T. R. Yerby (CLONTECH Lab., Inc.) 岡 部 勝(阪大遺伝情報実験施設) 中 村 収(阪大大学院工学研究科) 弓 場 俊 輔(阪大大学院医学系研究科)		

千里ライフサイエンスセミナー

「糖尿病性合併症の分子機構とその治療戦略—beyond glucose—」

日 時	平成10年12月 1日(火) 10:00~16:10	2. 酸化ストレス—脂質過酸化物の意義
場 所	千里ライフサイエンスセンタービル 5階ライフホール (地下鉄御堂筋線千里中央駅北口すぐ) (大阪府豊中市新千里東町1-4-2)	名古屋大学大学院生命農学研究科教授 大澤 俊彦
主 催	財団法人千里ライフサイエンス振興財団	3. 神経障害の発症メカニズムとそれへの対応
協 賛	株式会社千里ライフサイエンスセンター	名古屋大学医学部教授 堀 田 鏡
コーディネータ	滋賀医科大学医学部教授 吉川 隆一	4. 糖尿病性腎症の発症機構とその治療戦略
プログラム	1. AGE とその受容体	滋賀医科大学医学部講師 羽 田 勝 計
	金沢大学医学部教授 山 本 博	5. 糖尿病網膜症の発症機序と治療
		九州大学医学部助教 梅 田 文 夫
		参加費(講演要旨集含む)
		会 員(但し, 大学, 官公庁, 主催・協賛団体会員)
		: 6,000円
		非会員: 8,000円

学 生：3,000円

定 員 300名

参加申込方法 ①氏名 ②勤務先, 所属, 役職名, 所在地, 〒, 電話, F A X 番号を明記の上, 郵便または F A X で下記宛お申し込み下さい. 参加費は申込後に住友銀行千里中央支店普通預金 No.128278財団法人千里ライフサイエンス振興財団口座宛お振込下さい. なお振込の際, 振込

者名の前に M 1 とご記入下さい. ご送金確認次第, 領収書兼参加証を送付致します.

申込先 (財)千里ライフサイエンス振興財団 セミナー係
〒565-0082 大阪府豊中市新千里東町1-4-2
千里ライフサイエンスセンタービル8階
TEL(06)873-2001 FAX(06)873-2002
担当: 松本

第 28 回 日 本 心 脈 管 作 動 物 質 学 会

会 期：平成11年2月12日(金)

会 場：三重県医師会館

〒514-0003 津市桜橋2丁目191-4

TEL(059)228-3822(代表)

会 長：田中利男(三重大学医学部薬理学)

参加費：4,000円

〈シンポジウム予定〉

シンポジウム I 「受容体の分子治療学」

座長 国立小児医療研究センター分子細胞薬理部

辻本豪三

東京大学医学部細胞分子生理教室 多久和 陽

シンポジウム II 「心脈管リモデリングと遺伝子発現」

座長 大阪市立大学医学部薬理学教室 岩尾 洋

三重大学医学部薬理学教室 田中利男

[問い合わせ先]

〒514-8507 津市江戸橋2丁目174番地

三重大学医学部薬理学教室

第28回日本心脈管作動物質学会 年会事務局

TEL(059)231-1111(内線6343)

FAX(059)232-1765

担当者：橋本雅美, 矢原加奈子

[演題申し込みについて]

演題申し込み締め切り：平成10年10月31日(土)

演題申し込み書類請求先：

〒466-8550 名古屋市昭和区鶴舞町65

名古屋大学医学部薬理学教室内

日本心脈管作動物質学会事務局

TEL(052)744-2076

FAX(052)744-2083

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

生理学第一講座教授候補者の推薦について(依頼)

このたび本学部では, 平成11年3月31日付で定年退職する生理学第一講座教授の後任教授の選考を行うことになりました.

つきましては, 貴学(部)または貴学(部)関係機関に適任者がございましたら, 下記の書類を添え, 平成10年11月20日(必着)までにご推薦賜りますようお願い申し上げます.

なお, 現在本学部の生理学第二講座は, 主題として「植物生理系, 特に血液生理学」についての研究

と, それに関連する領域の教育等を行っております. ご推薦賜りました方には, 選考の過程におきましてご来学のうえ, 講演等していただくことがありますので, あらかじめご承知おき下さい.

〈必要書類等〉

1. 推薦書(様式1) 1通
2. 履歴書(様式2) 1通
3. 業績目録(様式3) 1通

4. 論文別刷

イ. 英文原著 各1部

ロ. 主要論文10編については 各8部(コピー可)

ハ. 参考になる総説等ありましたら添付可 各8部(コピー可)

ニ. 別刷には, 業績目録と照合しやすいように鉛筆で番号を付けて下さい.

5. 「教育と研究の経過と将来に対する抱負」(様式自由)2000字程度

〈提出及び問合わせ先〉

〒545-8586

大阪市阿倍野区旭町1丁目5番7号

大阪市立大学医学部庶務課厚生係

電話 06-645-2721~2

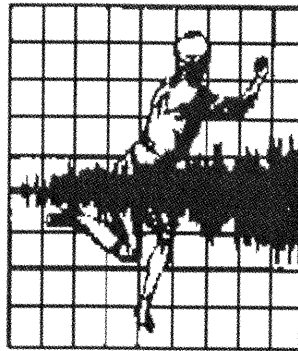
(郵送の場合は, 表に「生理学第一講座教授応募書類在中」と朱書し, 簡易書留等にて送付して下さい. なお, 公募開始は10月12日からです.)

大阪市立大学医学部長

大谷周造

2nd Congress of Japanese Society of Electrophysiology and Kinesiology(JSEK)

第2回日本 電気生理運動 学会大会案内



札幌 98/ 11/7

特別講演:神経系回路の可塑性と機能修復 青木藩(札幌大)
 教育講演:骨格筋の力学 赤澤堅彦(神戸大)
 教育講演:ノルディックスキーからみた高度な運動能力
 川初清典(北大)

会 期:1998年11月7日(土)

会 場:北海道大学学術交流会館

大会長:真野行生(北大医学部リハ医学講座教授)

副会長:河原剛一(北大電子科学研究所 教授)

関連する講演会予定

11月6日(金)13:00-16:00(医学部臨床大講堂)

Functional Electrical Stimulation(FES) 半田康延(東北大)

11月8日(日)(学術交流会館,電気生理運動センター,リハ医学研修会)

筋電図の波形分析 木村淳(京大)

神経系のReorganization L.G.Cohen(NIH)

音の福祉工学 伊福部達(北大)

一般演題締切:1998年9月15日(消印有効)

連絡先:〒060-8638札幌市北区北15西7

北海道大学医学部リハ医学講座

第2回日本電気生理運動学会 渡部一郎

電話011-706-6066, FAX:011-706-6067

E-mail: wichiro@med.hokudai.ac.jp

CALENDAR

主な学会開催日程

開催日 (演題締切)	名 称	会 場	連 絡 先
98.11. 6- 7	第11回日本体力医学会スポーツ医学研修会 第3回スポーツ外傷・障害コース	東京：東京慈恵会医科大学 高木会館	(財)日本学会事務センター内 日本体力医学会 ☎03-5814-5800 FAX：03-5814-5823
98.11.13	千里ライフサイエンスセミナー ブレインサイエンスシリーズ第11回 「脳虚血に勝つ分子生物学的ストラテジー」	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 セミナー係 ☎06-873-2001 FAX：06-873-2002
98.11.26	千里ライフサイエンス技術講習会 第17回 「最新のGFPテクノロジー —ライフサイエンス分野への発展と応用—」	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 技術講習係 ☎06-873-2001 FAX：06-873-2002
98.12. 1	千里ライフサイエンスセミナー 「糖尿病性合併症の分子機構と その治療戦略—beyond glucose—」	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 セミナー係 ☎06-873-2001 FAX：06-873-2002
98.12.11-12	第3回静岡健康・ 長寿学術フォーラム	静岡：静岡市 「グランシップ」	(財)静岡総合研究機構 静岡学術フォーラム事務局 ☎054-221-2323 FAX：054-221-2853
99. 2.12	第28回日本心脈管作動物質学会	三重：三重県医師会館 (津市)	名古屋大 医 薬理内 日本心脈管作動物質学会事務局 ☎052-744-2076 FAX：052-744-2083
99. 3.28-30 (98.11. 7)	第76回日本生理学大会	長崎：長崎大学 文教キャンパス	長崎大 熱帯医研環境生理 ☎095-849-7820 FAX：095-849-7821
99. 8.22-25	第4回頭・頸部運動制御 国際シンポジウム	東京：東京医大 臨床講堂	JCS：日本コンベンションサービス(株) ☎03-3508-1214 FAX：03-3508-0820 E-mail：ishns@convension.co.jp
99. 8.24-28	The 1 st International Conference on Control & Diseases of Sodium Dependent Transport Proteinins & Channels	静岡：コンベンション アーツセンター	静岡県立大 薬 祐田 ☎054-264-5673 FAX：054-564-5672 E-mail：suketa@ys.shizuoka-ken.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 >

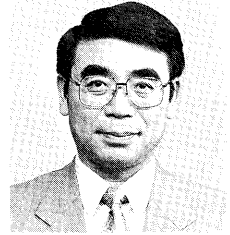
氏 名	勤 務 先 名 ・ 部 署 名	勤 務 先 (TEL ・ FAX)	E-MAIL ADDRESS
伊 藤 孝	東京都三鷹武蔵野保健所 保健サービス課	0422-54-2161	
池 野 英 利	姫路工業大学 環境人間学部	0792-92-1515(309) ・ 0792-93-5710	ikeno@hept.himeji-tech.ac.jp
梅 崎 俊 郎	九州大学 医学部 耳鼻咽喉科	092-642-5668 ・ 092-642-5685	
小山内 実	東京都医科歯科大学 医学部 薬理学教室内 科学技術振興事業団 戦略的基礎研究脳を守る 理化学研究所 脳科学総合センター	03-5803-5169 ・ 03-5803-0122	osanai.mphm@med.tmd.ac.jp
岡 本 仁	発生・分化研究G 発生遺伝子制御研究	048-467-9712 ・ 048-467-9714	hitoshi@bran.riken.go.jp
小 阪 淳	岡山大学 医学部 第一解剖	086-235-7085 ・ 086-235-7079	junsk@med.okayama-u.ac.jp
澤 井 洋 子	松山学園 松山福祉専門学校	047-392-2211 ・ 047-392-2213	
柴 田 政 章	山梨県環境科学研究所 生気象学	0555-72-6184	mshibata@yies.pref.yamanashi.jp
須 佐 見 憲 史	通信・放送機構 本郷3Dリサーチセンター	03-5803-3387 ・ 03-5804-7918	susami@3dpro.tao.go.jp
相 馬 彰	甲南病院	0748-86-3131	
田 中 晋	大阪労災病院		
玉 城 昇	のぼる耳鼻咽喉科	098-929-1187	
早 野 尚 志	京都市立医科大学 小児疾患研究施設 内科	075-251-5311	
樋 口 秀 男	東北大学大学院 工学研究科金属工学専攻		
松 川 俊 義	財団法人 神奈川県予防医学協会 中央診療所 産業保健部	045-641-8504 ・ 045-641-6140	matsu@riem.nagoya-u.ac.jp
宮 石 香	老人保険施設 さくら苑		
村 瀬 澄 夫	信州大学 医学部 医療情報部	0263-37-3016(6562) ・ 0263-37-3016	murase@hsp.md.shinshu-u.ac.jp

PROFILE

「生理学者群像」

佐々木 和彦 君

岩手医科大学医学部生理学第一講座
平成10年4月1日就任



大学院時代に染料レーザーの研究に手をそめ、教官の指導の下に自分が作った装置で初めてレーザー光を出すのに成功した。感動的な出来事であった。それ以来研究の面白さに引き込まれ、会社に就職後もその事が頭から離れず、遂に研究生(学費と生活費自弁)として母校に舞い戻った。しかし母校で大学職員として position を得る事は難しかった。岩手医大に佐藤誠教授が赴任され、たまたま助手を募集していたので応募し、幸いにも拾われた。生物学は昔から好きではあったが、この時から私の生理学が始まった。

入局当初は、生理学の基礎もさることながら、論理的なものの考え方や表現の仕方について教室セミナーやリサーチフォーラム等で徹底的に鍛えられた。現在の自分にとり極めて有益な教育と訓練を受けたと感謝申し上げている。その後の米国留学から帰任後、アプリシア単一神経細胞を用いて本格的にシナプス伝達の研究を開始した。1985年末頃に、実験データの上で「一般に受容体刺激で K^+ チャネルが開く場合には、受容体、細胞、組織、動物の種類を問わず悉く百日咳毒素感受性G蛋白の活性化を介する」との原則的な考えに辿り着いた(nature 1987年出版)。神経細胞の中に GTP アナログや、活性化した百日咳毒素を注入すると種々の受容体刺激による K^+ チャネル応答だけが次々と抑制された時は身震いする程感動的であった。岩手医大独自の力で辿り着いた結論なので今でも誇りに思っている。これで生理学から足を洗えなくなった。

研究には、結論に至る迄に長く苦しい試行錯誤の時間が必要である。これに対して、新しい概念が実験的に検証されるのはその時間経過の中での瞬間的な出来事である。そして感動はまさにその一瞬の中にある。研究者はこの瞬間のために長いこと夢を持ち続ける。生理学は自分の自然観ないしは宇宙観を醸成する為の手段の一つである。ギリシア時代から生理学は学問の根幹であったが、現代でもその様に広大で包含的な学問であると思っている。

医学生が基礎医学に興味と関心を示さないという

傾向がみられる。というよりも大学生全体が理科離れを起こしている。実験や体験に裏打ちされた教育をせず、教師が本で読んだ知識のみをただ詰め込めばそうなるのは当然だと思う。実感も感動も伴わないからである。教える側は、必要と思われる項目を次々とこなす事に追われるわけだから自分でも面白くないであろう。ましてや学ぶ側はほぞでも咀嚼している様な気持ちになるに違いない。厳密な論理展開の中にもストーリーのある実体験と感動とロマンチズムが入っていないなければならない。実際に日夜実験研究をしている、或いはその様な研究経験を持つ者が学生に生理学の面白さを最も良く語る条件を備えていると思う。語弊を招くかもしれないが、そこが大学人が高校教師と質的に異なるところでもある。

但し、自分の専門とするところだけを教えればよいということではない。生理学全体を教える事が必要である。しかも教えているテーマが、生理学全般、さらに医学全般の中でどの様な位置にあるのかを常に強調しなければ、学生は木を見て森を見ずに終わる。

昨今は、大学人にも教育技法や教育の評価法の重要性が叫ばれている。しかし、教えるべき内容や思想と伝えるべき感動を持たずに、単に技法に走ったとしたら、また評価法を工夫したとしても、果たして学生はその学問に心を燃やし、将来とも関心をはらうようになるだろうか？ 教えるべき内容や思想と伝えるべき感動に基づいた上で、初めて教育技法の真価が発揮されるのであろう。

【略歴】

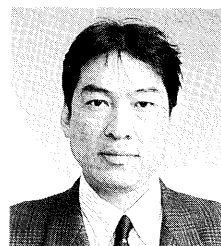
- | | |
|-------|--------------------|
| 1969年 | 岩手大学工学部卒業 |
| 1971年 | 同大学院工学研究科修了 |
| 1971年 | 日本電気株式会社開発部 |
| 1977年 | 岩手医科大学医学部助手 |
| 1980年 | 米国オレゴン大学医学部薬理学部門留学 |
| 1985年 | 岩手医科大学医学部 講師 |
| 1995年 | 岩手医科大学医学部 助教授 |
| 1998年 | 同 教授 |

「生理学者群像」

福田 敦 夫 君

浜松医科大学生理学第一講座

平成10年4月1日就任



昭和58年に九州大学卒業後産婦人科(中野仁雄教授)に入局し、2年間の臨床研修で胎児の脳の発達と周産期脳障害の病態に興味を持ちました。神経生理学的手法を用いてこれを研究したいと考え、第一生理学教室の門をたたいて大村裕教授の大学院生となったのが研究生生活の始まりでした。以後一貫して脳の機能的発達過程とその病態生理を自らの研究テーマと位置づけています。

大学院時代には脳スライスを用いた細胞内記録法により視床下部、辺縁系、延髄などのニューロン活動と摂食調節の神経回路・液性調節機構との関係についての研究を行いました。また、大村先生はじめ、赤池紀生先生(助教授/現第二生理教授)や諸先輩方には実験の基礎から考え方に至るまで生理学者に必要な多くのことを教えていただきました。Stanford大学(D. A. Prince 教授)に留学中は、パッチクランプ法、微小電極法により大脳皮質、海馬のスライスを用い、神経回路機能の発達やてんかん発作の発生メカニズムに関する研究を行いました。また、当時の研究室はスライスパッチクランプ法のバイオニア的存在であったので、その開発改良に携わる事が出来たのも良い経験になりました。帰国後、九大産婦人科に戻りヒト胎児・新生児の中枢神経機能発達と発達障害に関する研究・診療を行っていましたが、このときの経験からまず基礎研究の充実が急務であると考えようになりました。そこで中野教授のご理解を頂いて産婦人科を退局し、基礎研究に専念すべく名古屋市立大生理学第二講座に職を頂きました。その時点で、卒後十年間は臨床と基礎をほぼ半分ずつ経験していたこととなります。基礎研究者としてはいささか遅いスタートでしたが、臨床的興味から始まり脳の機能的発達過程と障害時の病態生理を研究テーマとしてこれたことを考えると、生理学者のキャリアとしてもこの臨床経験は決して回り道ではなかったと思っています。

名古屋市立大赴任後は、それまでのインビトロ実験系に加えて、西野仁雄教授の種々の疾病モデルラットを用いたインビボ実験にも参加させていただき、その病態、神経細胞死のメカニズム、神経移植の効果等を分子生物学的手法、免疫組織化学、行動評価などを用いて解析することにより、分子および個体レベルまで研究のテーマを広げる事が出来ました。さらに、分子・細胞レベルと個体レベルの研究は、それらが連続的につながってこそ機能の解明を目指す生理学としての意義が出てくるものと考え、そのために神経回路網レベルの研究を推し進める必要があると感じ、数年前から脳スライス標本に光学的測定法を応用しニューロンの細胞内イオン濃度の変化を多点で同時に観察できる方法に取り組んできました。現在も、細胞内 Ca^{2+} 濃度や細胞内 Cl^{-} 濃度の変化を神経ネットワークレベルでとらえ、脳の各部位での差を解析する事により神経回路網の発達過程や脳損傷後の神経回路障害、特に Cl^{-} 輸送体/ポンプ作用による Cl^{-} 濃度勾配の変化に基づく GABA 作動性の抑制機構の変化に着目し、脳の発達や病態の理解に役立てようと試みています。

平成10年4月からは、浜松医科大学生理学第一講座を担当させていただく機会を与えられましたので、これからも上記のような観点から研究を推し進めていきたいと思えます。また、前任の森田之大教授時代の教室テーマである松果体の生理に関しましては、最近、メラトニンの free-radical scavenger としての作用が大きな注目を集め、神経細胞障害との関連から glutamate excitotoxicity や種々の病態に対する保護的作用に期待がもたれており、この分野での全く新しい局面を迎えています。今後は教室スタッフの協力を得てこの新局面の研究も積極的に教室テーマとしてとりいれて行くとともに、多くの人達が集まってくる教室にしていきたいと思っています。

教育に関しては、学生達の最近の傾向として、分子生物学的知識と生体機能に関する生理学的知識の分離がおこり、これらが連続的につながってこないために遺伝子・分子レベルで制御される細胞システム自体が生体システムのすべてを制御しているかのような錯覚に陥っているのではないかと常々感じてきました。これは生理学者としては大変憂慮すべきことですので、分子・細胞を個体として機能させるためのオペレーティングシステムのなものとして、生体機能の動作原理に関する理解を深めることに主眼を置いた教育をしていきたいと思っています。

また教育に限らず、今、神経科学の研究分野でも分子レベルと個体レベルへの脳研究の2極化が問題であると感じています。すなわち、分子生物学の爆発的進歩を基盤とした、神経系の分子機構の解明を指向した研究と、無侵襲的な脳機能イメージングの進歩に裏打ちされた高次脳機能のシステムの理解を指向した研究です。また、分子レベルにおける研究成果を個体レベルへ対応させる試みとしてノックアウトマウスを用いた行動解析的研究も盛んに行われています。しかし、脳機能の生理学的なメカニズムの解析がまだ十分になされたとはいえ、今後の課題であると考えています。そのためには、神経回路網レベルの機能解析による研究を推し進めていき、その動作原理の解明を実現可能な目標として据えていく必要があるのではないかと考えています。

分子機構と高次機能をつなぐ神経回路に関する研究はスライスパッチクランプ法の登場により細胞レベルでは大きな進歩を見ましたが、回路網レベルの

研究は未だ breakthrough を待っているのが現状ではないでしょうか。そのためには、分子生物学的手法、電気生理学的手法に加えて空間的分解能を持つ実験系が今後ますます必要になってくるのではないかと思います。幸い、脳スライス法に細胞内イオンや膜電位の光学的測定法を取り入れることにより、今までは細胞個々の情報しか得られなかったのを神経ネットワークレベルで解析する事が出来るようになってきましたので、これら神経回路網レベルでのデータを、分子・細胞レベルの情報や高次機能レベルの情報と組み合わせて、より統合的な解析を行っていくのに良い時期に来たと考えています。

今後さらに 2-photon laser 顕微鏡などにより、いっそう高い空間分解能での解析が可能となり、これと GFP による分子の可視化などの技術が組み合わせられれば、任意の分子を生きた神経回路網の中で蛍光標識し、遺伝子・分子・細胞レベルの現象を脳の特定構造での現象として回路網レベルで解析することができるので、そうなれば生理的な意味付けを今まで以上に考えていけるのではないのでしょうか。

益々のご指導ご鞭撻のほど宜しく申し上げます。

【略歴】

昭和58年	九州大学医学部	卒業
昭和58年	九州大学医学部産婦人科	研修医
平成元年	九州大学大学院医学系研究科	修了
平成元年	Stanford 大学医学部神経科学講座	研究員
平成4年	九州大学医学部附属病院産婦人科	医員
平成5年	名古屋市立大学医学部生理学第二講座	講師
平成7年	同上	助教授
平成10年	浜松医科大学生理学第一講座	教授

OPINION

システムの認識と統合 6

大阪医科大学生理学第1講座

今井雄介

第6章 反応その他のパワー連結

6.1 変換伝達

生命体という複合システムにとって、パワー連結という相互作用が必須であることを述べてきた。そうしたシステム内部の相互作用が切断されることは生命にとって死を意味する。その意味でパワー連結過程に含まれるパワー変換伝達は複合現象の最小単位となる。膜輸送過程以外にもパワー連結過程がある。温度差があると電流が流れる熱電現象があり、各種成分濃度に依存する化学反応があり、それらもパワー連結過程として理解できる。

ここでも一度手短かに結合枝グラフ法のパワー連結とパワー変換体表現について検討する。パワー連結の回路表現には変換体素子を用いる。変換体はあるパワーを他のパワーに変える2つのポートをもつ2ポート素子で示す。その積がパワーの単位となる力変数と流れ変数をポートを示す結合枝に添える。変圧器型の変換体では結合枝は1端は流れを独立変数とし、他端は因果棒という縦棒を添えて力を独立変数として表現することは述べてきた。

一般の変換体素子では2ポートの各々を流れ変数と力変数の積でパワーを表現するので、4つの変数 e_1, f_1, e_2, f_2 で2つのパワー変換関係が示される。変換を表現するこれら4つの変数の中2つは独立変数であり、他の2つが従属変数となる。4つの中2つの変数を任意に選ぶとすると、① e_1, f_1 、② e_2, f_2 、③ e_1, f_2 、④ f_1, e_2 、⑤ e_1, e_2 、⑥ f_1, f_2 の6つの変数対が独立変数の候補となる。しかしポートを示す結合枝自体は1端を力と流れを同時に独立変数とする表現はできないので① e_1, f_1 と② e_2, f_2 は除外できる。さらに①または②を選ぶことは変換体の如何に係わらず一義的に伝達パワーを決定するものであるので変換体の独立変数となり得ないことは明らかであ

る。したがって上記のうち③、④、⑤と⑥が独立変数対の候補として残る。

パワー変換伝達には変圧器型とジャイレーター型のものがあることは第3章で述べた。第4章では膜輸送過程に用いる変圧器型変換を中心として述べた。変換伝達において、一方の力と他方の力に、または一方の流れと他方の流れに比例関係が見られるとき変圧器型の変換体表現を用いる。変圧器型の変換体では「一方の力と他方の流れ」が独立変数となるので、上記の③ e_1, f_2 または④ f_1, e_2 を選ぶことになる。すなわち③を選び変換率を γ とし、右辺に独立変数、左辺に従属変数をおけば $e_2 = \gamma e_1$ と $f_1 = \gamma f_2$ であって、伝達パワーは $e_1 f_1 = e_1 \gamma f_2 = e_2 f_2$ となる(3-13式参照)。

変圧器型の変換体の独立変数対として⑤ e_1, e_2 を選ぶと $e_2 = \gamma e_1$ となる変数対のとき以外で不合理が生じる。または⑥ f_1, f_2 を選ぶと $f_1 = \gamma f_2$ となる変数対のとき以外で不合理が生じる。すなわち変圧器型の変換体では⑤ e_1, e_2 または⑥ f_1, f_2 を独立変数対とすると矛盾が生じるので選ぶことはできない。

変換伝達の一方の力と他方の流れに、または一方の流れと他方の力に比例関係が見られるときはジャイレーター型の変換体表現を用いる。ジャイレーター型の変換体表現では「一方の力と他方の力」または「一方の流れと他方の流れ」が独立変数となる関係がある。すなわち変数対⑤ e_1, e_2 または⑥ f_1, f_2 を選ぶことになる。ジャイレーター型の変換体の変換コンダクタンスを g とし、右辺に独立変数、左辺に従属変数をおけば $f_2 = g e_1$ と $f_1 = g e_2$ または $e_2 = f_1/g$ と $e_1 = f_2/g$ となって、伝達パワーは $e_1 f_1 = e_1 g e_2 = e_2 f_2$ となる(3-14式参照)。

ジャイレーター型の変換体の独立変数対として③ e_1, f_2 を選ぶと $f_1 = g e_2$ のとき以外で不合理が生じる。④ f_1, e_2 を選ぶと $e_2 = f_1/g$ のとき以外で不合

理が生じる。すなわち③または④はジャイレーター型変換体の独立変数対として選ぶことはできない。

変圧器型の変換はすでに述べたように多く見られるが、一方の流れと他方の力に比例関係が見られるジャイレーター型の変換の数は少ない。しかしジャイロスコープ、スピーカーやマイクロフォンのムービングコイルや電磁石にその例を見る。ムービングコイルや電磁石での力の発生維持には電流が必須である。ムービングコイルの速度は電位差に依存する。すなわち一方の流れと他方の力に比例関係が見られ、ジャイレーター型の変換体で表現できる。電磁石の力は電流に比例する。筋での力の発生に維持熱として測定される化学反応速度が関係する。著者は筋の化学-機械パワー変換伝達はジャイレーター型の変換で表現できるのではないかとの意見をもっている。

6. 2 化学反応

2種のパワー過程間の変圧器型のパワー連結現象は化学反応にも見ることができ、化学反応は多数の成分が関係してエントロピーを生成する散逸過程であり、本質的に多変数関数で示される複合現象である。化学反応過程は個々の成分は保存されず新しい成分になっていく。しかし化学反応は個々の成分種パワーと反応進行パワーの2種のパワー過程間のパワー連結の総和として考えることが可能である。

散逸的な反応進行に伴い、全体の有効エネルギーの総和は減少していくが、個々の成分の有効エネルギーは減少するのみでなく増大する場合がある。高エネルギー成分が作られるATP合成過程はその例である。化学反応で個々の成分のパワー過程は個々の成分の化学ポテンシャル(μ_i)と変化速度(dn_i)の積で考える(：化学ポテンシャル*変化量)。成分個々に注目すると、各成分のエネルギーが刻々と増減していくパワー過程を見ることになる。一方反応進行のパワー過程は化学反応の親和力(A)と反応進行($d\xi$)の積で考え、散逸的な反応進行パワーの過程を見ることになる。

化学反応において各成分種のパワー過程と散逸的な反応進行のパワー過程を概念的に分離して考える。その上である成分の1つのパワー過程と散逸的な反応進行のパワー過程間の連結を考える。すなわち各成分種のパワー過程と反応進行間のパワー連結

の総和として化学反応を考える。化学反応では、一方で反応にあずかる全ての成分の化学ポテンシャルが反応進行の親和力に係わり、他方散逸的な反応進行が個々の成分の変化速度を決定する[23]。すなわち力は力に比例し、流れは流れに比例して変圧器型のパワー連結で表現できるものとなる。反応親和力Aは化学量論的係数(ν_i)と成分の化学ポテンシャルの積の総和($A = \sum_i \nu_i \mu_i$)で表現でき、成分変化は反応進行に比例($dn_i = \nu_i d\xi$)する。この時、化学反応は成分の化学ポテンシャルと反応進行を独立変数とした変圧器型変換体の構成素関係で表現できる。すなわち成分変化は反応進行の、親和力は成分化学ポテンシャルの従属変数となる。

Osterらは散逸的な反応進行のパワー過程の関係を回路モデルとするに当たり、反応進行速度は単一の反応親和力という力変数の関数で表現することはできないことを示した[23]。このことは基質の濃度を各々2倍にすると反応速度は2倍になるが、反応親和力が変化しないことから明らかである。Osterらは、ある化学反応を順行反応と逆行反応に分け、順行反応の基質の化学量論的係数(ν_i^f)と化学ポテンシャル(μ_i)に係わる順行親和力 A^f と順行反応の生成物の化学量論的係数(ν_i^r)と化学ポテンシャル(μ_i)に係わる逆行親和力 A^r の2変数で表現すれば、散逸的な反応進行のパワー過程の関係が決定できることを示した[23]。この散逸的な反応進行 $d\xi$ のパワー過程の関係を結合枝グラフ法で表現するために2変数関数である2ポート抵抗要素を導入している。

この2ポート抵抗要素は散逸ポートを省略したものであって、第3章で紹介したジャイレーター型の2ポート抵抗体とは異なる。散逸ポートを加えると3ポート抵抗体となるものである。Osterらによる2ポート抵抗要素による反応進行のパワー過程は次の表現である[23]。すなわち2つの力変数で散逸的な反応進行 $d\xi$ が決定されるものとした。ここで反応進行速度 J_R は $d\xi/dt$ である。

$$\begin{array}{ccc} A^f & & A^r \\ \text{-----} \searrow & | R | & \swarrow \text{-----} \\ J_R & & J_R \end{array}$$

$$J_R = L_R(A^f, A^r)$$

$$A^f = \nu_A \mu_A + \nu_B \mu_B$$

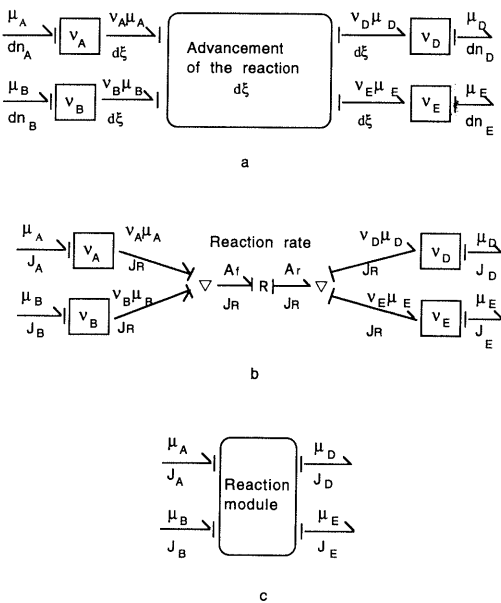


Fig. 6-1. Graphic representation of chemical reaction, a) Power conversion between the advancement rate of the reaction and the chemical potential of each substrate is represented by a transformer type transducer, b) Bond graph representation of dissipation due to chemical process by a 2-port chemical resistor, c) module expression.

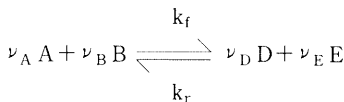
$$A^f = \nu_D \mu_D + \nu_E \mu_E$$

$$A = A^f - A^r \tag{6-1}$$

化学反応進行過程の順行親和力 A^f と逆行親和力 A^r の2つの親和力の方向を考えた和は反応親和力 A になる。したがって反応進行で散逸過程に入るパワーは反応進行速度 $J_R (= d\xi/dt)$ と反応親和力 A の積で表現できる。

$$\Phi_R = AJ_R \tag{6-2}$$

他方各成分パワー過程の関係は変換率を化学量論的係数 (ν_i) とした変圧器型の変換体で表現できる。反応基質を A, B とし, 反応生成物を D, E とし, 化学量論的係数を $\nu_A, \nu_B, \nu_D, \nu_E$ とすれば図 6-1 (a) の結合枝グラフで表現できる。



ここで反応進行はブラックボックスで示しているが, 2ポート抵抗素子を用いた反応進行のパワー

過程の記号法を用いることもできる。すなわち多くのポテンシャル変数が係わって一つの反応進行速度という流れ変数を決定する図 6-1 (b) の結合枝グラフができる。こうして散逸的な反応進行のパワー過程と個々の成分のパワー過程の連結が表現できる。

多くの化学反応は質量作用の法則に従い, 反応進行速度は成分濃度の関数となる。すなわち基質, 生成物の濃度, 化学量論的係数および反応速度定数の多変数関数として表現できる。

$$J_R = k_f [A]^{\nu_A} [B]^{\nu_B} - k_r [D]^{\nu_D} [E]^{\nu_E}$$

$$J_A = -\nu_A J_R$$

$$J_B = -\nu_B J_R$$

$$J_D = \nu_D J_R$$

$$J_E = \nu_E J_R \tag{6-3}$$

上式のように化学反応の内容が既知であり, 反応速度を成分濃度の関数として表現できる場合, 反応グラフ表現をさらに単純化して図 6-1 (c) の反応略号モジュールで表現できる。この反応略号モジュールは前章の Na-K-ATP pump や Na-K-2Cl 共輸送の表現にも用いたものである。

自己組織化で紹介したプリゴージンらの振動する化学反応であるブルッセルレーターについても, この反応略号モジュールを用いて回路網表現とすることができる(図 6-2)。全ての反応速度定数を 1 と仮定した場合の X, Y の変化速度の反応式を図 6-2 に書き込んだ。ここで逆反応は無視できるものとし

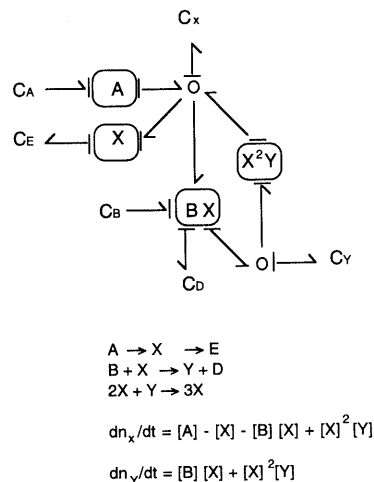


Fig. 6-2. Graphic representation of Burusselator.

ている。図では成分の濃度変化を表現するため一般化容量体を用いている。これを用いてシミュレートできることは第2章において述べた。

6. 3 緩衝反応

緩衝システムについてはすでに Van Slyke [53] が報告しているが、まさにシステムとして理解する対象にふさわしい。緩衝反応はグラフから求めると容易であるばかりではなく、複雑なシステムへの拡張が可能となる。

前記の化学反応の反応略号モジュールは、十分な攪拌後の水素イオン緩衝反応のように、反応が瞬間に終了するような平衡反応の表示にも使うことができる。溶液に溶解している非揮発性の弱酸 HB の解離定数を K_B とした場合、解離定数に応じて弱酸は $[H^+]$ と $[B^-]$ に解離している。緩衝系の酸滴定実験を考えた場合、これは開放系である。この場合、反応略号モジュールを用いて各成分の力変数である濃度が作用して解離反応の進行が表現できる。この水素イオンの滴定流入による水素イオン H^+ の濃度変化は図 6-3 (a) で示した。被験溶液の体積を V とし、滴定によりここに酸 $f_a (= a dV)$ が入る。ここで、滴定量は一定濃度 (a) の微量体積 (dV) の酸であり、十分な攪拌後の被験溶液の水素イオン濃度変化を考える。

図における半矢記号の結合枝は反応進行(流れ)の方向を示す。○印は反応進行が分配される並列回路、四角は濃度依存性の反応略号モジュールを示す。すなわち弱酸の解離反応と水酸イオンとの中和反応を示し、平衡定数を記入した。矢印に添えた縦棒は反応進行で濃度(力変数)が決定されていることを示す。大文字 C_i は各成分 i の反応進行により濃度が変化する溶液容量体を示している。

図 6-3 (a) に水素イオンの滴定 $a dV (= f_a)$ の方向を考え、水素イオン濃度変化を起こす反応進行 $f_1 (: dn_{H^+})$, H^+ が水酸イオン (OH^-) と中和反応 (dR_1) を起こす反応進行 f_2 , および H^+ が弱酸緩衝反応 (dR_2) に入る 反応進行 f_3 の釣合となること示されている。中和反応を起こす H^+ の反応進行 f_2 と OH^- の反応進行 f_6 は等しく、また弱酸緩衝反応に入る H^+ の反応進行 f_3 は弱酸 HB の生成速度 f_5 に等しくかつ弱酸イオン B^- の消失速度 f_4 に等しい。したがって図 6-3 (a) から次の関係が導かれる。

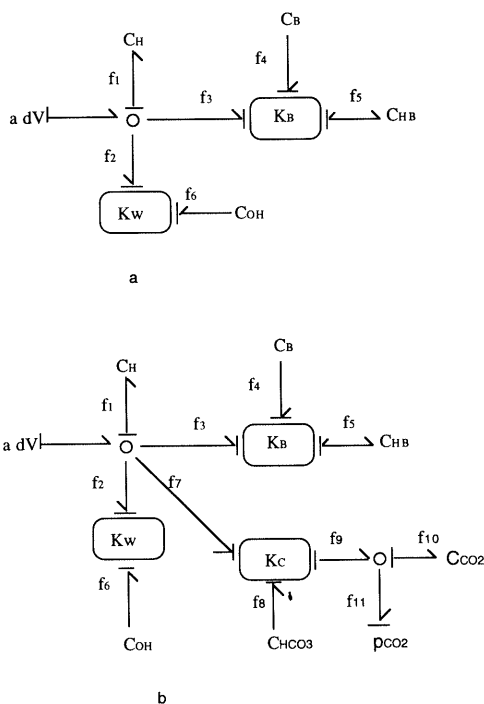


Fig. 6-3. Graphical representation of buffer system, a) The relationship of the concentration and reaction of the buffer solution, b) The relationship of the concentration and reaction of the buffer solution under constant CO_2 pressure.

$$a dV = f_1 + f_2 + f_3$$

$$f_2 = f_6$$

$$f_3 = f_5 = f_4$$

すなわち、

$$a dV = dn_{H^+} + dR_1 + dR_2 \tag{6-4}$$

であって、被験液の体積も dV 変化することより濃度変化を起こす反応進行は次になる。

$$dn_{H^+} = [H^+] dV + V d[H^+] \tag{6-5}$$

$[OH^-]$ との中和反応 $H^+ + OH^- = H_2O$ を水の解離定数で示す。

$$[H^+][OH^-] = K_w = 10^{-14}$$

$$dR_1 = -[OH^-] dV + V K_w d[H^+] / [H^+]^2$$

$$= -[OH^-] dV + V [OH^-] d[H^+] / [H^+] \tag{6-6}$$

被験液中の緩衝成分の総量を m_B とし、これは非揮発性のものとしているから一定である。

$$m_B = ([B^-] + [HB])V \quad (6-7)$$

この弱酸の解離反応を考え、解離定数を K_B とすれば次の反応進行式が得られる。

$$\begin{aligned} [HB] &\rightleftharpoons [H^+] + [B^-] \\ K_B &= [H^+] [B^-] / [HB] \\ &= [H^+] (m_B/V - [HB]) / [HB] \end{aligned} \quad (6-8)$$

$$[HB]V = [H^+] m_B / (K_B + [H^+]) \quad (6-9)$$

$$dR_2 = d([HB]V) = K_B m_B d[H^+] / (K_B + [H^+])^2 \quad (6-10)$$

したがって、

$$\begin{aligned} a dV &= V d[H^+] + [H^+] dV - [OH^-] dV \\ &\quad + V [OH^-] d[H^+] / [H^+] \\ &\quad + K_B m_B d[H^+] / (K_B + [H^+])^2 \end{aligned} \quad (6-11)$$

以上から水素イオン濃度の変化をも求める式が得られる。

$$d[H^+] = \frac{(a - [H^+] + [OH^-]) dV}{V + V [OH^-] / [H^+] + K_B m_B / (K_B + [H^+])^2} \quad (6-12)$$

被験液中に非揮発性の独立した緩衝成分の進行 (dR_n) が多数存在するときは、(6-12)式の分母の最終項 $K_n m_n / (K_n + [H^+])^2$ を緩衝成分の数だけ加えていくことで水素イオン濃度変化が表現できる。すなわち非揮発性の弱酸緩衝成分が既知の溶液について、初期条件、解離定数、滴定液濃度を知れば、この滴定回路モデルから得る式を用いて、コンピュータ上で滴定シミュレーションができる。緩衝成分が複数存在するときもシミュレーション結果は実験結果と一致する。

さらに複雑な例として炭酸の緩衝作用を考える。緩衝成分である炭酸は揮発性である。一定の炭酸ガス分圧下におかれた条件で、酸滴定する場合の結合枝グラフ表現を図6-3(b)に示す。ここで液-ガス相の平衡する CO_2 輸送を考える。重炭酸 HCO_3^- は外界との出入りはないものとする。

水素イオンの滴定液 $a dV$ は H^+ の濃度変化を起こす反応進行 f_1 、 OH^- と中和反応 (dR_1) を起こす反応進行 f_2 と、 H^+ が非揮発性の弱酸緩衝反応 (K_B) に入る反応進行 f_3 および H^+ が揮発性の炭酸緩衝反応 (K_C) に入る反応進行 f_7 の釣合となる。中和反

応を起こす H^+ の反応進行 f_2 と OH^- の反応進行 f_6 は等しい。また弱酸緩衝反応に入る H^+ の反応進行 f_3 は弱酸 HB の生成反応進行 f_5 に等しくかつ弱酸イオン B^- の消失反応進行 f_4 に等しい。

炭酸緩衝反応に入る反応進行 f_7 は炭酸イオン HCO_3^- の消失反応進行 f_8 に等しく、炭酸 H_2CO_3 の生成反応進行 f_9 、すなわち溶液中の炭酸ガス生成反応進行 f_{10} と一定分圧のガス相への放出反応進行 f_{11} ($=f_{CO_2}$) の和に等しい。したがって次の関係が図から導かれる。

$$\begin{aligned} a dV &= f_1 + f_2 + f_3 + f_7 \\ f_2 &= f_6 \\ f_3 &= f_5 = f_4 \\ f_7 &= f_8 = -f_9 = f_{10} + f_{11} \\ a dV &= V d[H^+] + [H^+] dV + dR_1 + dR_2 + dR_3 \end{aligned} \quad (6-13)$$

炭酸は次の緩衝効果を持つ。



生体溶液中で $[CO_2]$ と $[H_2CO_3]$ が平衡状態にあるものとして、次の解離定数を K_C を定義する。

$$\begin{aligned} K_C &= [H^+] [HCO_3^-] / [CO_2] \\ &= [H^+] [HCO_3^-] / (\alpha p_{CO_2}) \\ dR_3 &= -V d[HCO_3^-] - [HCO_3^-] dV \\ &= [CO_2] dV + f_{CO_2} \end{aligned} \quad (6-14)$$

$[CO_2]$ 一定の条件で、 $[H^+] [HCO_3^-] = K_C [CO_2] = \text{const.}$ である。したがって、

$$0 = [H^+] d[HCO_3^-] + [HCO_3^-] d[H^+] \quad (6-15)$$

5-14), 5-15) 式よりもまず $d[HCO_3^-]$ を消去する

$$\begin{aligned} [HCO_3^-] d[H^+] / [H^+] &= ([CO_2] dV + f_{CO_2} + [HCO_3^-] dV) / V \\ f_{CO_2} &= V [HCO_3^-] d[H^+] / [H^+] \\ &\quad - [CO_2] dV - [HCO_3^-] dV \\ dR_3 &= V [HCO_3^-] d[H^+] / [H^+] - [HCO_3^-] dV \end{aligned} \quad (6-16)$$

したがって次の関係が得られる。

$$\begin{aligned} a dV &= V d[H^+] + [H^+] dV - [OH^-] dV \\ &\quad + V [OH^-] d[H^+] / [H^+] \\ &\quad + K_B m_B d[H^+] / (K_B + [H^+])^2 \end{aligned}$$

$$+V[\text{HCO}_3^-]d[\text{H}^+]/[\text{H}^+] - [\text{HCO}_3^-]dV \tag{6-17}$$

$$\begin{aligned} &(a - [\text{H}^+] + [\text{OH}^-] + [\text{HCO}_3^-])dV \\ &= d[\text{H}^+] (V + V[\text{OH}^-]/[\text{H}^+] + K_B m_B / (K_B + [\text{H}^+])^2 \\ &\quad + V[\text{HCO}_3^-]/[\text{H}^+]) \end{aligned}$$

$$d[\text{H}^+] = \frac{(a - [\text{H}^+] + [\text{OH}^-] + [\text{HCO}_3^-])dV}{V + V[\text{OH}^-]/[\text{H}^+] + K_B m_B / (K_B + [\text{H}^+])^2 + V[\text{HCO}_3^-]/[\text{H}^+]} \tag{6-18}$$

揮発性の炭酸，炭酸ガス分圧，および弱酸緩衝成分が既知で，初期条件，解離定数，滴定液濃度と滴定量を知れば，式(6-18)を用いることによりコンピュータ上で十分な攪拌後の滴定シミュレーションができる。

緩衝反応が進行しているシステムでは溶液中の成分分子またはイオンの数が変化していくことに注意が必要である。ことに細胞系では溶質のモル数と体積に依存する浸透圧の変化に考慮しなければならない。非揮発性の弱酸 [HB] は解離定数に応じて [H⁺] と [B⁻] に解離するときはその数は増す。逆方向では数が減少する。また [H⁺] と [OH⁻] の中和反応ではイオンが消失する。[H⁺] と [HCO₃⁻] の反応でそれらが炭酸ガスになるときに溶液からイオンが消失する。逆反応では数が増大する。生体系において緩衝反応を考察するときはそれに付随する溶液の浸透圧変化の考察も必要となる。

回路網表現は難しくはないが複雑である。しかし回路網表現は拡張していくことが容易であり，相互作用のある複雑な対象の考察に適している。

6. 4 熱浸透流 (Thermosmosis)

熱パワーの関係するパワー連結について考察する前に，熱パワーの流である熱伝導の回路表現を考察する必要がある。熱伝導において熱は保存的に伝達される。回路表現でパワーを力変数と流れ変数の積で表した場合，流れ変数は保存量である必要がある。熱パワーを駆動力である温度差と流れ変数としてのエントロピー流の積で表現した場合，エントロピーは伝導時に生成されるので保存量でなく刻々と増大していく量になる。したがって保存的な輸送エントロピーと伝導体で生成されるエントロピーは別けて考えることになる。熱伝導の輸送エントロピーを輸送熱量を局所温度で割ったもので表現する。生

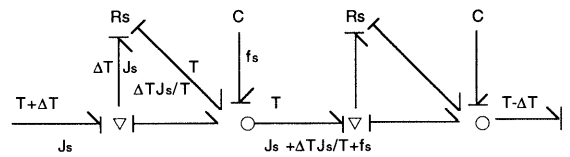


Fig. 6-4. Bond graph representation of thermal conduction using 2-port thermo-resistors.

成エントロピーは局所間の温度差と輸送エントロピーの積である熱量を局所温度で割ったもので表現する [15]。

熱伝導の結合枝グラフでは，温度差のある熱伝導体の微小区画をジャイレイター型の2ポート抵抗体で表現する。1つは輸送ポートであり，他は散逸ポートである。2ポート抵抗体の一方のポートを輸送エントロピー伝導体として直列に接続し，他方のポートで散逸的な内部エントロピー生成を表現する。両者を1ポートのエントロピー容量体を並列に接続して全エントロピー流を表現する。抵抗体と容量体を一まとめの単位として扱う RC 集中モデル(図6-4)でこれを示す。ここで容量体はエントロピーを蓄積するものであるが，その温度とエントロピーの積で蓄積熱量が示される。

図6-4で伝導体の微小区画を隔てて温度 (T + ΔT) と (T) があり，温度差に比例する輸送エントロピー流 $J_{in} (= \partial_e S_{in}/dt$ ，ここで $\partial_e S_{in} = \partial Q_{in}/(T + \Delta T)$) がある。輸送エントロピー流は温度差とエントロピー伝導率と断面積 A に比例し， $J_{in} = A\alpha \Delta T$ となる。輸送エントロピー $J_{in} (= \partial_e S_{in}/dt)$ と伝導体で生成されるエントロピー ($d_i S/dt = J_{in} \Delta T/T$) は区別して表現している。この熱伝導についての結合枝グラフ表現は，局所温度が変化しない定常条件で Thoma が考案したものと等価となる (Fig. 6, 7 in ref. [25])。すなわち Thoma は図6-4のエントロピー容量体を除外した表現になっていて，容量体流 $f_s = 0$ の定常状態の条件に相当するものとなっている。微小区画を経る毎に輸送エントロピーは $J_{in} + J_{in} \Delta T/T$ と増大していくが，温度は ΔT 低下するので次のような熱の保存の関係が得られる。

$$\begin{aligned} \partial Q_{in} &= J_{in} (T + \Delta T) \\ &= (J_{in} + J_{in} \Delta T/T) T \\ &= \partial Q_{out} \end{aligned} \tag{6-19}$$

ここでエントロピー容量体の容量値 C_S は有効エ

エネルギーを出し入れするものであって、単に熱エネルギー $dQ = T dS$ を出し入れするものではない。環境温を T_0 、局所の温度を T とした場合、エントロピー流出 dS によって熱の有効エネルギー $dA_Q = (1 - T_0/T) dQ = (T - T_0) dS$ を放出する。容量体からエントロピー流 dS に温度差 $(T - T_0)$ を掛けることで熱の有効エネルギー変化 $-(T - T_0) dS$ が評価できる。

非定常条件でエントロピー容量体のエントロピーの出入により局所の温度は変わる。

$$dT = dS/C_S = -f_c dt/C_S \tag{6-20}$$

伝導体の比熱 c_p とした場合、 $dQ = c_p dT = T dS$ であるので、エントロピー容量体の容量値 C_S と比熱 c_p との間に $C_S = c_p/T$ の関係がある。

膜輸送系で膜を介する熱流と体積流がある場合、膜を介する熱浸透現象がみられ、これは温度差と体積流の相互作用として理解されてきた[29]。またこうした体積流は異常浸透 (anomalous osmosis) と呼ばれたこともある。熱浸透現象は温度差が体積流を起こす。これは実験的にも、非平衡熱力学理論によっても研究されてきた[29]。純水と膜からなる熱浸透現象の場合熱エネルギーと水力学エネルギーを考える。熱浸透現象では温度差が体積流駆動力の一部となるので、体積流駆動力を独立変数とすることはできない。熱浸透現象では温度差を独立変数として選び、その対となる体積流をもう1つの独立変数とする。

膜を介する液槽は大きくて温度、圧といった示強変数は安定であるとする。膜をシステムと考へ、有効関数の変化のない定常状態にあるものとする。一方の液槽は温度 $T + \Delta T$ と静水圧 $p + \Delta p$ をもつエネルギー源と考え、他方を安定な温度 T と静水圧 p をもつ環境と考える。エントロピー輸送を J_S 、膜を介する体積流を J_v とすればパワー釣合式は次になる。

$$\Delta T J_S + \Delta p J_v = \Phi \tag{6-21}$$

熱浸透流は膜を介する温度差が体積流を起こすことによってその存在を知ることができる。膜を介する温度差に比例した駆動力が体積流をおこす水分輸送駆動力に加わり、同時に体積流に比例した熱(エントロピー)流があると考え、熱と共に通る以外

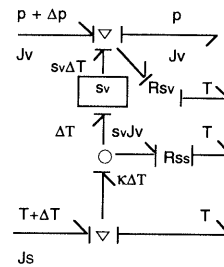


Fig. 6-5. Bond graph representation of thermosmosis.

に独立に水が輸送されるとは考えないので図6-5で表現できることになる。ここでエントロピー流とは熱流をその部位の温度で割った単位である。エントロピーには輸送エントロピーと散逸過程でのエントロピー生成を区別する。

抵抗体は駆動力と流の積で入る有効パワーを、全て生成エントロピーに変換し、無効パワーとするものである。ここで抵抗体に有効パワーを無効パワーに変換する装置としてジャイレイター型の2ポート抵抗体の記号法を用いる。

熱浸透現象はパワー連結として理解できる。エントロピーを生成するパワー連結は2つの抵抗体と1つの変換体を用いて表現できること述べた。熱浸透現象では温度差が体積流の駆動力の一部となることを知っていることから、並列回路にはエントロピー回路を対応させ、直列回路には水力学回路を対応させる。抵抗体には各々2ポート抵抗体を用い、生成したエントロピーは環境に放出する。変換体の変換率は流体が膜を通過するときの膜内流体の体積単位当たりのエントロピーすなわち部分体積エントロピー $r = s_v$ とする。これにより温度差が体積流の駆動力を発生させる表現になる。

直列水力学回路では静水圧差 (Δp) と温度差 (ΔT) に比例する力 ($s_v \Delta T$) の和 ($\Delta p + s_v \Delta T$) が駆動力となり、この駆動力と水分透過度 L_p により体積流 (J_v) が流れる。輸送エントロピー流 (J_s) は、温度勾配によるエントロピー伝導がエントロピー伝導度 κ とすると、エントロピー流 ($\kappa \Delta T$) となり、これと体積流 J_v に比例するエントロピー流 ($s_v J_v$) の和となる。すなわち温度差によるエントロピー伝導のほかには体積流に比例したエントロピー対流が加わる。

回路図から次の現象論的方程式が導かれ、非平衡熱力学から導かれている方程式と同一になる。

$$\begin{aligned} J_v &= A L_p (\Delta p + s_v \Delta T) \\ J_S &= A \kappa \Delta T + s_v J_v \end{aligned} \quad (6-22)$$

変換率 $r = s_v$ を Tasaka らによる非平衡熱力学からの式と対応させると、変換率 s_v は膜を介して温度差がないとき流体が運ぶ膜内平均モル輸送エントロピー S^* と外液中の水の部分モルエントロピー S の差分を水の部分モル体積 v で割った値 ($s_v = (S^* - S)/v$) になる [54]。変換率 s_v の符号は膜が親水性か疎水性かで変わり、温度差による体積流の駆動力の方向は逆転する [54]。

(6-22)式より両抵抗体での散逸量を求めると、

$$\begin{aligned} \Phi &= A \kappa \Delta T^2 + A L_p (\Delta p + s_v \Delta T)^2 \\ &= A \kappa \Delta T^2 + J_v (\Delta p + s_v \Delta T) \\ &= \Delta T (A \kappa \Delta T + s_v J_v) + \Delta p J_v \\ &= \Delta T J_S + \Delta p J_v \end{aligned} \quad (6-21)$$

すなわち散逸の連結は、エントロピー輸送回路から体積流回路への変換伝達パワーが $s_v \Delta T J_v$ であり、釣合の(6-21)式が満足されていることが解る。

6. 5 熱電現象 (Thermoelectric phenomena)

19世紀初頭に、2種の導体からなる熱電対に温度差があると熱電流を発生する Seebeck 効果、2種の伝導体接触面で電流の方向に依存した発熱または吸熱の起こる Peltier 効果が発見された。Peltier 効果や Seebeck 効果のような熱電現象も温度差と電流の相互作用として理解できる [29,55]。これら熱電気連結現象に関して実験はもとより、理論的には Kelvin が考察し、さらに非平衡熱力学から研究されてきた [29]。この熱電気現象を回路網で表現した場合、非平衡熱力学から導かれた既存の方程式が再度導出されるばかりでなく、熱電気現象の理解が容易かつ豊かになることが期待できる。

熱電気現象は Seebeck 効果のように2種の金属を接続して両接続点に温度差があると閉回路に電流が流れる現象をいう。すなわち熱は両金属中を一端から他端へ流れるが、電流は循環する。ここで一方の金属では電流の流れる方向に従って温度が減少し、他方の金属では電流の流れる方向に従って温度が増大する。これは Thomson 効果として知られている。開回路では温度差に比例した電位差が発生し、この熱電能(熱起電力)を用いて熱電対による温度測

定が行われている。

熱電現象では温度差が電位を発生させるので、電位差を独立変数とすることはできない。熱電現象は温度差を独立変数として選び、その対となる電流をもう1つの独立変数とする。熱電気現象の回路化を単一の導体で微少部分での RC 集中モデルで考える。微少区画の温度差を $\Delta T = (T + \Delta T) - T$ 、流入エントロピー流を $J_{in} (= \delta Q_{in} / (T + \Delta T) / dt)$ 、流出エントロピー流を $J_{out} (= \delta Q_{out} / T / dt)$ 、電位差を $\Delta E (= (E + \Delta E) - E)$ 、流入電流を I_{in} 、流出電流を I_{out} として導体に電気とエントロピーが同時に流れている場合を考える。この微少区画は環境と離れているので、環境温 T_0 とした場合、パワー釣合式は次になる。

$$\begin{aligned} J_{in} (T + \Delta T - T_0) - J_{out} (T - T_0) + (E + \Delta E) I_{in} - E I_{out} \\ = dA_Q / dt + dA_E / dt + T_0 d_i S / dt \end{aligned} \quad (6-24)$$

すなわち、電気と熱が流れている微少区画では有効関数変化 ($dA_Q / dt + dA_E / dt$) と散逸的なエントロピー生成 ($T_0 d_i S / dt = \Phi$) がある。

熱-電気現象はエントロピーを生成するパワー連結と有効関数の変化があるシステムとして理解できる。この回路は1つの変換体、2つの2-ポート抵抗体と2つの容量体を用いて表現できる。ここで温度差が電位差を発生させることを知っているので、有効パワーの変換伝達過程の表現にも変圧器型の変換体を用いている。パワー連結は図6-5と似たものになる(図6-6)。直列回路には電気回路を対応させ、並列回路にはエントロピー回路を対応させる。これにより温度差が電位差を発生させる表現になる。ここで変換体の変換率は Seebeck 効果の絶対熱電能(絶対熱起電力)の係数 s_A となる。係数 s_A

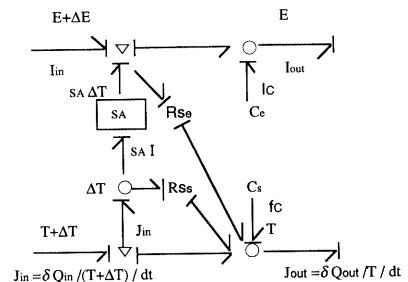


Fig. 6-6. Bond graph representation of thermoelectric phenomenon; the Seebeck effect.

は導体中の単位電気量当たりのエントロピーの正負の値を持ち、電流もエントロピーを運ぶことになる。

直列電気回路では電位差 (ΔE) と温度差 (ΔT) に比例する力 ($s_A \Delta T$) の和 ($\Delta E + s_A \Delta T$) が駆動力となり、この駆動力と電気電導度 g により電流 (I_{in}) が流れる。輸送エントロピー流 (J_{in}) は、温度勾配によるエントロピー伝導がエントロピー伝導度 κ とすると、エントロピー流 ($\kappa \Delta T$) となり、これと電流 I_{in} に比例するエントロピー流 ($s_A I_{in}$) の和となる。結合枝グラフのパワー連結表現から導かれる式は次となり、非平衡熱力学から導かれている方程式と同一になる [29, 55]。

$$\begin{aligned} I_{in} &= g(\Delta E + s_A \Delta T) \\ J_{in} &= \kappa \Delta T + s_A I_{in} \\ &= (\kappa + s_A^2 g) \Delta T + s_A g \Delta E \end{aligned} \tag{6-25}$$

現象論的方程式として見た場合、交差係数は $s_A g$ であり相等的なことが解る。熱と電流の方向が同じで、かつ変換係数 s_A が正のとき、温度勾配から熱伝導として期待される以上のエントロピー流が起こる。変換係数 s_A が負のとき、温度勾配から期待される以下のエントロピー流が起こる。

電気抵抗体での散逸は電流に依存し、エントロピー抵抗体での散逸は温度差に依存し、両抵抗体の散逸量の和は次になる。

$$\begin{aligned} T_o d_i S/dt &= \kappa \Delta T^2 + g(\Delta E + s_A \Delta T)^2 \\ &= \kappa \Delta T^2 + I_{in}(\Delta E + s_A \Delta T) \\ &= J_{in} \Delta T + I_{in} \Delta E \end{aligned} \tag{6-26}$$

すなわち $s_A I_{in} \Delta T$ なるパワーがエントロピー輸送回路から電気回路に変換伝達される。

エントロピー容量体と電気容量体での放熱または蓄積で有効関数変化は表現する。有効関数変化は次になる。

$$\begin{aligned} dA_Q/dt + dA_E/dt &= J_{in}(T + \Delta T - T_0) - J_{out}(T - T_0) \\ &\quad + (E + \Delta E) I_{in} - E I_{out} - T_o d_i S/dt \\ &= J_{in}(T + \Delta T - T_0) - J_{out}(T - T_0) + (E + \Delta E) I_{in} \\ &\quad - E I_{out} - J_{in} \Delta T - I_{in} \Delta E \\ &= (T - T_0)(J_{in} - J_{out}) + E(I_{out} - I_{in}) \\ &= -f_c(T - T_0) - I_c E \end{aligned} \tag{6-27}$$

ここでエントロピー容量体からのエントロピー流

を $f_c (= J_{out} - J_{in})$ とし、電気容量体から電流を $I_c (= I_{out} - I_{in})$ とする。輸送エントロピー (J_{in}) と電気抵抗体とエントロピー抵抗体での生成エントロピーの和はエントロピー蓄積体と次区画に向う。この3種のエントロピー流を並列にエントロピー蓄積体 (C_S) に接続する。したがって次区画へのエントロピー流 ($J_{out} = \partial Q_{out}/\partial t$) は次となる。

$$\begin{aligned} J_{out} &= J_{in} + J_{in} \Delta T/T + I_{in} \Delta E/T + f_c \\ &= (\kappa \Delta T + s_A I_{in})(1 + \Delta T/T) + I_{in} \Delta E/T + f_c \end{aligned} \tag{6-28}$$

または両辺に局所温度 T を掛けて次になる。

$$\partial Q_{out}/\partial t = \partial Q_{in}/\partial t + I_{in} \Delta E + f_c T \tag{6-29}$$

すなわち局所で $f_c T$ という熱の吸収または発生があり Thomson 効果の結合枝グラフによる解釈になる。

Peltier 効果は2種の導体の接続面で起こる電流の向きに依存した熱の発生または吸収をいう [29, 55]。今絶対熱電能係数を s_A, s_B が異なる A と B の2種の導体の接続面で一方に電流が流れている場合を考える。これは図 6-6 を2つ接続したものになる (図 6-7)。

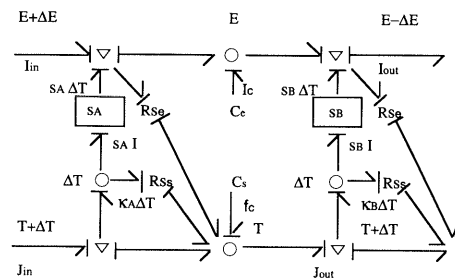


Fig. 6-7. Bond graph representation of the Peltier effect.

この電流が流れている接続面では導体 A と B の熱流の差分から吸熱または発熱が起こる。接続面にソースまたはシンクとしてのエントロピー容量体を置きエントロピー流 f_c を考える。接続面はエントロピーのソースまたはシンクであるので A と B の2種の導体で温度差は両方向性となり、 ΔT の符号は逆転する。すなわち一方では電流の方向にしたがって温度は上昇し、他方では下降する。

$$\begin{aligned}
 f_c T &= \delta Q_{out}/dt - \delta Q_{in}/dt - I \Delta E \\
 &= (-\kappa_B \Delta T + s_B I) T - (\kappa_A \Delta T + s_A I) (T + \Delta T) \\
 &\quad - I(l/g - s_A \Delta T) \\
 &= (-\kappa_B \Delta T + s_B I) T - (\kappa_A \Delta T + s_A I) T \\
 &\quad - (\kappa_A \Delta T + s_A I) \Delta T - I(l/g - s_A \Delta T) \\
 &= -T(\kappa_B \Delta T + \kappa_A \Delta T) \\
 &\quad + I T(s_B - s_A) - \kappa_A \Delta T^2 - I^2/g \quad (6-30)
 \end{aligned}$$

接続面での $f_c T$ が正であれば熱吸収を、負であれば発熱発生を示す。Peltier 熱係数 $\Pi_{AB} = T(s_A - s_B)$ であるので、(6-30) 式を Peltier 熱の項 $I \Pi_{AB} = T(s_A - s_B)$ で次に書き換える。

$$\begin{aligned}
 I T(s_A - s_B) \\
 = f_c T + T(\kappa_B \Delta T + \kappa_A \Delta T + \kappa_A \Delta T^2/T) + I^2/g \quad (6-31)
 \end{aligned}$$

すなわち Peltier 熱の内容は熱吸収発生量 $f_c T$ 、エントロピー輸送による熱量 $T(\kappa_B \Delta T + \kappa_A \Delta T + \kappa_A \Delta T^2/T)$ および Joule 熱 I^2/g の各項の和となる。

第6章「反応その他のパワー連結」のまとめ

この章では複合現象の最小単位としてのパワー変換伝達の表現について再度考察を加えた。ことに膜輸送現象にも見られるパワー連結の例として、化学反応を取り上げた。化学反応は数種の成分が関係する散逸過程であるが、成分種パワーと反応進行パワーの連結現象として回路表現が可能となる。個々の成分種パワー過程は化学ポテンシャル(μ_i)と変化速度(dn_i)の積で考える。一方反応進行パワー過程は化学反応の順行親和力と逆行親和力および反応進行($d\xi$)で考える。反応略号モジュールを用いれば個々の成分の濃度と反応進行速度で化学反応が表現

でき、内容の数式表現には反応速度式を用いることになる。この拡張は能動輸送や共輸送の表現にも用いる。

酸塩基の緩衝反応についても回路表現が可能である。緩衝反応は平衡反応であり、解離定数が解れば反応式が導かれる。緩衝成分が多数にある場合にも回路で表現すると酸塩基変化に対する pH 変化を予測できるものになる。殊に反応と輸送による生成消失がある複雑な系の分析に適するものとなる。

その他のパワー連結の例として熱パワーの関係する熱浸透と熱電現象がやはり回路で表現すると理解しやすくなることを示した。これらは非平衡熱力学によって解析されてはいるが、回路化することにより直感的な理解と拡張性が出てくることを示した。

謝 辞

稿を終るに当たり、本誌 OPINION の欄に今回の「システムの認識と統合」全6章を取り上げていただいた金子編集長および編集委員各位に深く感謝します。また長い論文を読んでいただき、貴重なご意見を頂いた読者諸氏および各種の批判、討議を頂いた大阪医科大学の先生方および教室員諸君に御礼申し上げます。

文 献

- 53) VAN SLYKE, D. D. (1922) On the measurement of buffer values and on the relationship of buffer value to the dissociation constant of the buffer and the concentration and reaction of the buffer solution. *J. Biol. chem.* **42**: 525-570
- 54) TASAKA, M., URATA, T., KIYON, R. and AKI, Y. (1992) Solvent transport across anion-exchange membranes under a temperature difference and an osmotic pressure difference. *J. Memb. Sci.* **67**: 83-9
- 55) MacDONALD, D. K. C. (1964) Principles of Thermo-electricity, Section 1, John Wiley & Sons Inc., New York.

アンチセンスオリゴヌクレオチドによる生理機能解析

武内恒成*・山田竜一*・井ノ口馨**・高橋直樹*

(* 奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス研究科・

** 三菱化学生命科学研究所)

I. はじめに

生体内分子の機能を解析するには、その分子の欠損や不活性化を用いた手法が、現在最も有効な研究方法であることは間違いない。ジーンターゲティング法は、そのなかでも最も多くの成果をもたらした。しかし、このジーンターゲティング法では発生初期で致死となる分子では、詳細な生理機能の解析ができないこともある。また、類縁分子による代償作用や redundancy がある分子の解析では、期待されただけの明らかな変化を生じることなく、やはり解析が困難であることも多い。そのために、その分子の機能が発揮される組織部位特異的、あるいは個体発生の特定の時期特異的に遺伝子をノックアウトする技術が必要とされてきている。さらに、細胞レベルでの機能が示唆され、個体レベルでの解析まで必要としない場合にはジーンターゲティングまで求めないこともある。いくつもの分子を様々な組み合わせで発現抑制したり、ふたたび再発現し解析を試みる必要がある場合にもジーンターゲティング法ではなかなか困難である。

アンチセンス法は、このような要求に答える研究方法の一つであると考えられる。アンチセンス法に用いられる分子には、リボザイムやベクターが産生するアンチセンス RNA も含まれるが、本稿ではオリゴヌクレオチドを用いたものに限定する。リボザイムは分子設計が大変な上、標的とする組織に安定してデリバリーし、機能させるためには問題点が多い。ベクター産生型のアンチセンスは多くの成果をあげているが、ベクター作製の手間とアンチセンス分子の

発現効率をいかにして高めるかが問題となる。これに対しアンチセンスオリゴ法は、特別な設備やテクニックを必要とはせず実験系として最も簡単である。また、数種類の分子を狙った時期で発現抑制する実験系なども可能で、様々な応用が考えられる。しかしながらその簡易さゆえに、一度試してみたがうまく行かなかった、アンチセンスは効かないという声も非常によく耳にする。汎用できる方法論は確立しておらず、未だ試行錯誤によりそれぞれの分子の発現抑制のために試みなければならない点も多い。しかし、一度、実験系として確立できれば、生理機能を見たい分子の解析に非常に強力な手段となりえる。そこで本稿では、アンチセンスオリゴ法を実際の解析に用いる際に考慮すべき問題点などについて、我々の実験結果を基に概説したい。前半では細胞機能解析にこの系を用いる際のいくつかの注意すべき項目と我々の改良点を紹介する。後半部は *in vivo* での我々の解析例を紹介し、アンチセンスオリゴ法を生体内で実際に解析に用いる際のポイントと応用、今後の展望について考えてみたい。

II. 原 理

アンチセンスオリゴヌクレオチドの機能は、標的遺伝子の発現を抑制することである [1-4]。しかし、その制御機構については未だ不明な点が多い。現在考えられる機構としては、翻訳の阻害が主たる要因であると考えられている。RNase H, RNase III が DNA-RNA の二本鎖に作用して、mRNA を切断する効果の重要性が最も指摘されている [5] (図 1)。また、AUG 翻訳開始コドン近傍、リボソーム結合部位での阻

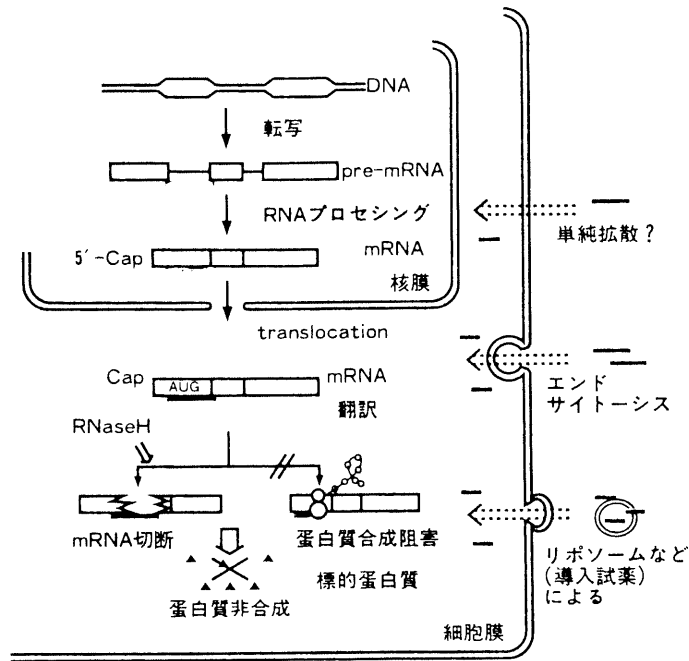


図1. アンチセンスオリゴの作用機構
 ■ : アンチセンスオリゴ

害で、蛋白質合成を阻止する可能性も示唆されている。作用機構の詳細は今後のさらなる解析を待たなければならないが、実際は mRNA の分解と翻訳阻害両方の要因が寄与しているものと考えられている。原理の詳細な解明が進められる一方で、今日までに、アンチセンスオリゴ法を用いた細胞機能の解析が数多く行われ、成果をあげている。しかし、狙った成果をあげるまでに問題となる点も多い。大きくわけて

1. オリゴの化学的安定性、
2. 細胞毒性の抑制、
3. 標的遺伝子の選択と特異性、
4. オリゴの細胞膜透過性と導入効率などがもっとも問題とされる。

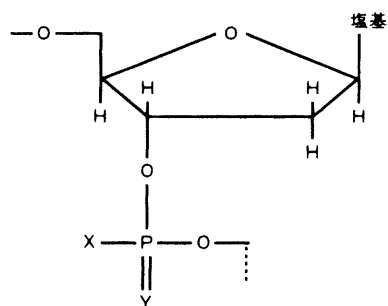
ここでは、それぞれの問題点ごとに注意すべきポイントと我々の具体的なプロトコルを示すので、読者の方々がそれぞれの分子で試す際の参考にしていただければ幸いである。

Ⅲ. 細胞機能解析 (in vitro) でのアンチセンスオリゴ法の実際

A. アンチセンスオリゴの分子設計の指針

1. オリゴの化学的安定性

アンチセンスオリゴがその効果を発揮するためには、前述のような標的部位に到達するまで安定でなければならない。ホスホジエステルオリゴ(D-オリゴ)も、かつては多く用いられてきたが、天然型であるためヌクレアーゼにより分解される。また、ポリアニオンであるために、細胞膜透過性も悪い。そこで、図2に示すような、修飾型アンチセンスオリゴが利用されている。メチルホスホネートオリゴ(MP-オリゴ)は細胞への透過性はあがるが、水性溶媒に溶けにくい。このほかにも糖鎖部位を修飾したオリゴが開発されている。それらの中でも現在主流を占めているのは、ホスホチオネートオリゴ(S-オリゴ)である。S-オリゴはD-オリゴの骨格を残したまま、安定性、水溶性、ともに優れている。負電荷を帯びていることから細胞膜透



X-Y

O-O	ホスホジエステル (D-オリゴ)
S-O	ホスホロチオネート (S-オリゴ)
CH ₃ -O	メチルホスホネート (MP-オリゴ)
S-S	ホスホジチオネート
NHR-O	ホスホラミデート

図2. アンチセンス分子の基本構造

過性もよく、通常の DNA 合成機で作製できるという利点もある。我々の経験からも、現状では S-オリゴの利用が最適と考えられる。現在では様々な業者が受託合成を行っている。ただし、2. の細胞毒性の抑制の問題とも絡んで、どのような業者に如何に合成してもらうかが大きな問題となる。この点については、後で解説する。

オリゴヌクレオチド全長のうち、どこに S-型の修飾をするかも問題となる。実際、末端数残基のみや 1 塩基おきに修飾している例も見受けられる。しかし、我々は問題がなければ全長全ての残基に修飾することを勧めている。我々の解析例では、全修飾では効果があったオリゴが、一部の修飾だけに置き換えると効果が低減したケースがあった。ただ、S-型オリゴが細胞表面層や細胞内高分子に特異的に結合してしまうことによる細胞毒性の問題も指摘されている。このために、我々はかなり高濃度のアンチセンスオリゴでないと効果が得られない場合や生体内 (in vivo) に投与して用いる場合には、検討を重ねた上で部分修飾に置き換える場合もある。

2. 細胞毒性の抑制、アンチセンスオリゴの合成と精製

アンチセンス法の実験系において、S-オリゴは D-オリゴに比べ、細胞毒性が強いことが知られている。合成したオリゴを逆相 HPLC にかけて、その溶出パターンをみると、S-オリゴは D-オリゴの場合に比べてブロードなピークが多くみられる。これらは、合成の際に生じる立体異性体や未反応の短鎖 S-オリゴの不純物である。この不純物が細胞毒性に影響することを我々は確認している (未発表)。すなわち、S-オリゴの精製度を上げることにより、細胞毒性は大幅に軽減される。そのために二段階の逆相 HPLC で精製を行っている。トリチル基 ON で合成した S-オリゴを逆相 HPLC で分取し、短鎖 S-オリゴや不純物を除く。トリチル基をはずした後に、再度逆相 HPLC にて高純度の S-オリゴを得ている。少なくとも 2 回 HPLC で精製したものをを用いるのが確実である。

実際には業者に受託合成を依頼することが多いが、この際にはできる限り精製を丁寧に行ってくれる業者に頼むべきである。どこに頼むかで実験の成否を大きく分けることがある。我々もある業者では細胞毒性が高く解析に用いることができないことがあった。業者が用いているカラムの種類、カラムのメンテナンスの状況も大きく反映していると思われる。ラージスケールも含めた合成と精製は東亜合成(株)が詳しく、成功例も多いため、我々も勧めている。

3. 標的遺伝子への特異性

a. 何を標的とするか

アンチセンスオリゴ法の成否は、アンチセンス領域の選択、つまりどこを標的配列として選ぶかにかかっているとんでも過言ではない。

アンチセンスオリゴの標的としては、前述のとおり mRNA である。DNA が標的となる可能性も指摘されているが (3 重鎖形成, トリプレックス形成), 3 重鎖を形成する部位がホモプリン・ホモピリミジンに限定されるので結合特異

性は低いと思われる。実際、mRNA を標的とした細胞系での RNaseH の関与の指摘からも [5,6], mRNA との相補的二重鎖形成による分解は標的として最も考慮される。また、多くの成功例を検討すると、構造蛋白質が標的の場合には、一般的には翻訳開始部位を含むアンチセンスオリゴを用いた例が多い [7,8,9]。つまり、mRNA の分解と翻訳阻害両方の要因を考えた設計である。mRNA 前駆体からのプライミング領域に対するアンチセンスオリゴを用いて効果をあげた報告 [6] も多くある。つまり mRNA 前駆体もその対象として全く無視するわけには行かなくなる。塩基配列のうちどこを標的として選択するかは、アンチセンスオリゴの作用機構について完全なコンセンサスがない以上、まだ確立されていない。全ての可能性を考えた標的配列を選択することは困難であるが、最も考慮すべきは mRNA とのハイブリッド形成であることは間違いない。

b. 標的部位の検索

二次構造予測から設計するのであれば、ヘアピンループの閉鎖部よりは、開放部を標的とした方が効果的であるとされている。しかし、現状での mRNA 二次構造予測が本来の mRNA の形態を正しく反映しているとも考えられにくいことから、あまり実際的ではない。ただし、あくまで参考として一本鎖を取りそうな領域を選択することは価値があるかもしれない。最近では、mRNA とアンチセンスオリゴとのハイブリッド形成を熱力学的安定性をもとに計算する方法が出されている。受託計算も含めて利用できるプログラムとしては、Computer Hybridization Simulation (AGCT, CHS社)、日立化成の受託解析、Oligo (National Bioscience 社)、Primer-Detective (Clonetech 社)、東亜合成(株)と甲南大学の杉本らによる接塩基対モデルを基礎としたプログラム [10] などが知られているが、受託では驚くほど高価であり、また決して確実ではないことからあまり一般的ではない。今後、これら解析プログラムの研究が進み、有効なものとなることが期待される。

我々は、開始コドン近傍で検索し、その中にあたりがなければ解析プログラムを利用するようにしている。いずれにせよ、現状ではいくつかの配列を実際に細胞レベルで検討する必要がある。この時、試験管内での蛋白質合成系(ウサギ網状赤血球系)などで、発現抑制を検討する方法もあるが、我々はこの *in vitro* 合成系で効果のあったアンチセンス配列が全く細胞レベルでは効果がなかった場合を何度も経験しており、あまり相関がなさそうである。細胞培養系においてできる限り多くの部位で検討する必要があると考えられるが、現実的ではないので、我々は以下のような手順とアッセイ系を用いるようにしている。

① アンチセンスオリゴの長さは 15 mer から 30 mer の間にする。15 mer あれば特異的な mRNA に結合することが、統計的に知られている。30 mer を越えると、細胞内への取り込みが悪くなる。我々は 24 mer 前後で良い成果を得ている。実際、24 mer で効果のあった物が 30 mer 以上では効果が低下したことがある。7 mer や 10 mer でも成功した例はあるが、我々が塩基配列の似たファミリーを形成する類縁分子で検討した際には、10 mer では塩基配列の非常に似た分子の発現もわずかながら低下させた経験がある。特異性を考えるならば 15 mer 程度は必要であると考えられる。

② 余裕のない時には、開始コドン周辺の 5 ~ 6 カ所でとりあえず検討する。ATG 開始コドンを含む配列で前後にずらして作製する。この際に、合成するオリゴ内での二次構造予測も行っておく。(③④参照) 選択した配列は、ホモロジー検索で他の mRNA と相互作用がないことを確認する。

これで全くアンチセンス効果がなく標的配列が見つからないときの最終手段、あるいはアッセイ系を立ち上げている間に、標的配列の受託計算検索を依頼している。受託検索では、いくつかの候補となる標的配列があげられてくる。もしも、非常に(!)余裕があれば、複数の受託先に検索を依頼して、それぞれの候補配列を比

較してみても良い(オーバーラップしたものがあれば可能性は高い)。しかし、現状では依頼して提示された配列が全てはずれであることも覚悟しなければならない。いままでの経験では、確実性の高い業者のシステムで候補10領域のうち1, 2領域が効果がある配列であった。あくまで、可能性を高めるとい意味でトライする方が良いと思われる。以前は100カ所近く実際に検討してみても領域を決められたものもあったが、その意味においては可能性を絞り込む上では受託検索なども行う意味があると思われる。さらに、アンチセンス効果のある配列でも、前後に3塩基動かしただけでも全く効果が失われ

た場合もある。

③ アンチセンスオリゴが自己構造をとったり、お互いハイブリッド形成しないように設計する。

④ 蛋白質などとの特異的相互作用が示唆されているものは避ける。たとえば、繰り返しCG配列が含まれるものは、免疫系B細胞レセプターとの結合が高く活性化すること[11]や、G4配列も非特異的な蛋白質との結合[12]が知られている。なるべく、GC配列、G残基の繰り返しは避ける。

⑤ 出来るだけ少ない培地で培養できる細胞株を選択して、図3に示すようなアッセイ系で、

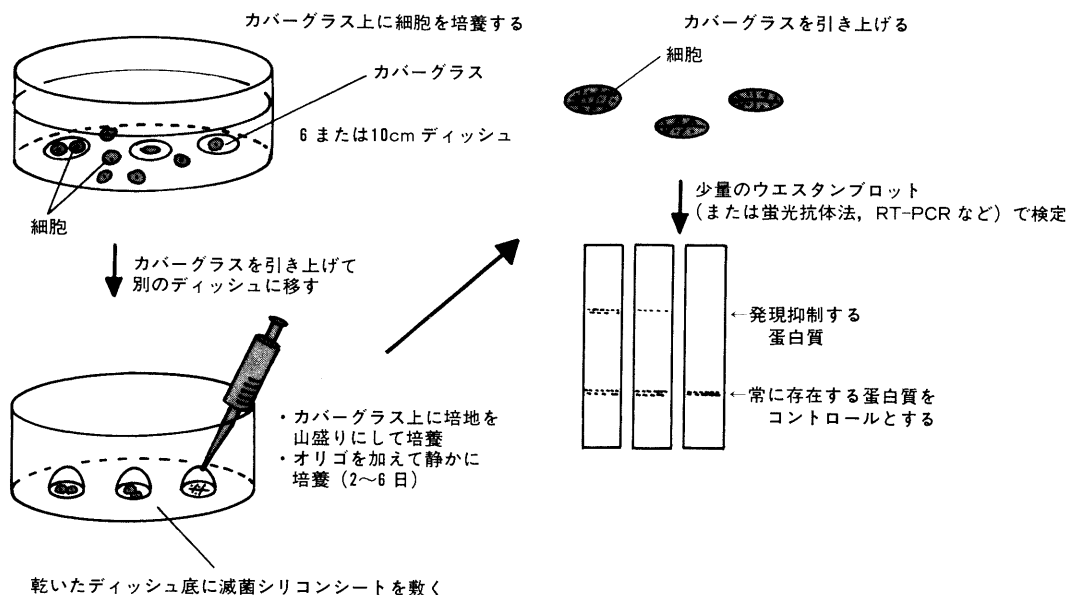


図3. アンチセンス標的配列スクリーニングのアッセイ系の一例

6cm または 10cm ディッシュ内に細胞培養用カバーガラス (Matsunami 社, 10~15mm 径) を入れて培養を行い、細胞を定着させる。細胞の定着したカバーガラスを引き上げて、新しいディッシュ上に置き、ピペットマンでメデイウムをのせる。この方法であれば、表面張力でメデイウムが予想外に載せられる。200 μ l から 500 μ l 程度のメデイウムで培養できるが、細胞がこの方法でどの程度の量で耐えうるかどうか前もって調べておく。(24 ウェルディッシュなどを用いると、ウェル壁面への表面張力でメデイウムが上がってしまい、微量培地での培養がうまくゆかない)。心配ならば、滅菌シリコンシートを敷いた上にカバーガラスを載せるとうまくゆく。培地の pH が心配であれば、HEPES ベースのメデイウムを用いると良い。ピペットマン 1~2 回/日でアンチセンスオリゴの入ったメデイウムと交換しながら、CO₂ インキュベーター内に静置して培養する。数日後、カバーガラスごと引き上げて、ウエスタンブロット、蛍光抗体法、RT-PCR などで分子の発現抑制を確認する。ウエスタンブロットでは対象とする分子の他に、別の類縁分子などの抗体とともに発色させて、同じレーンでその分子との相対的な量の変化で検定するのが確実である。

アンチセンス効果を検討する。(解析をおこないたい細胞ではなくとも、効果のあるアンチセンス領域は変わらない。動物種が変わるときでは、当然その塩基配列に準じるが、種間でアンチセンス標的領域はほとんど同じところに落ちる)

c. アッセイ系の確立

アンチセンスオリゴ法は組織、個体レベルでの解析にも適用しうるが、株細胞などの均一な性質を持つ培養細胞を用いた細胞レベルで、まずアンチセンス効果を評価するアッセイ系を用いるのが先決である。標的配列や濃度などの条件を決定したのちに、様々な解析に用いることが近道である。そのためには、できるだけ少量の培地下で培養できる細胞種を用い、オリゴの量も少量に押さえて、スクリーニングできる系をそれぞれ確立することが、確実にかつ安価に済ませるポイントである(図3)。

我々は、以前、RT-PCRを用いて mRNA の定量を行った後に、ウェスタンブロットで、蛋白質の発現量の変化を調べていたが、現在は蛋白質の発現変化のみで、定量を行っている。検出できる mRNA 量には変動が少ないが、蛋白質量は大きく発現抑制された例をわれわれは得ている。ウェスタンブロットにより、アンチセンス領域のスクリーニングを行う場合、発現抑制する分子と分子量が異なる別の分子も同時に検出し、同一メンブレン上の同じレーンで異なるサイズのバンドの濃さとして相対的に比較すると定量性があり安全である(図3)。この他に、蛍光抗体などで蛋白質の発現を確認する方法もあるが、定量性からはウェスタンブロットの方が無難であろう。

標的配列の検索の段階では、アンチセンスオリゴのどれか1種類のセンスオリゴを用いてコントロールとする。効果が見られたものがあれば、そのアンチセンスオリゴのセンスオリゴといくつかの変異を導入したミューテーションオリゴも検討する。与える濃度はどのオリゴにおいても細胞の増殖が変化しない程度に抑える。基本的にはアンチセンス効果は、アンチセンス

オリゴの投与濃度に比例するが、高濃度では毒性を与えてしまう。検索の際には、通常は5 μM ~10 μM で十分であり、この濃度で効果が上がらなければその配列では可能性は薄いと考えられる。

少量のアッセイ系で、可能性のある領域が見つかったら、解析を行いたい細胞で毒性を与えない範囲で最適な濃度と投与間隔を検討する。センス、ミューテーションオリゴで変化がないことと、さらに前後に数残基移動させてみたアンチセンスオリゴでも検討を加えておくと良い。その後、調べたい生理機能に見合ったスケールまでレベルアップして解析に移る。

4. オリゴの細胞膜透過性と導入効率

a. 細胞膜透過機構

アンチセンスオリゴの細胞膜の透過機構に関しても、多くの研究が行われているが、明確な答えはまだない(図1)。われわれは、温度依存性が見られることからエンドサイトーシスではないかと考えているし、多くの解析からもそれは示唆されつつある。そのための受容体様分子の存在を示唆する解析も行われているが、明快な答えは出ていない[13,14]。いずれにしろ、培養細胞において、培地に添加した量の1~5%が細胞内に取り込まれると考えられる。

b. 導入効率の向上

アンチセンス効果を上げるためには、合成オリゴが確実に細胞内に取り込まれる必要がある。我々は、かつて構造蛋白質の発現抑制に高濃度の合成オリゴ(20 μM)を連続的(3~4時間ごと)に細胞に投与してアンチセンス効果を得た[9]。オリゴの濃度が低い、または投与間隔が長い場合はアンチセンス効果は低下した。すなわちアンチセンス効果はオリゴの細胞内への導入効率と相関していると考えられた。しかし、この方法は労力とコストの点で問題がある。

そこで、より導入効率を高めるため、様々な導入法を検討した。一般的にDNAトランスフェクションに用いられるリン酸カルシウム法、DEAE-デキストラン法、エレクトロポレー

ション法, また, 市販の遺伝子導入試薬であるリポフェクチン試薬, リポフェクトアミン試薬, リポフェクトエース試薬, トランスフェクタム試薬, ジェントランスファー試薬, Tfx-10, 20, 50などを検討した. リポフェクチン試薬, リポフェクトアミン試薬, リポフェクトエース試薬, トランスフェクタム試薬はそれぞれポリカチオン分子であり, ジェントランスファー試薬などはリポソーム封入により遺伝子を細胞内に

導入する.

リン酸カルシウム法, DEAE-デキストラン法, エレクトロポレーション法では, 導入効率とアンチセンス効果の増加は全くみられなかった. 遺伝子導入試薬の併用はいくつかで若干の効果認められた. また, 別のグループの解析からもカチオン性リポソームであるリポフェクチンを用いて ICAM-1 の mRNA に対するアンチセンス効果を約1000倍増強した例が報告され

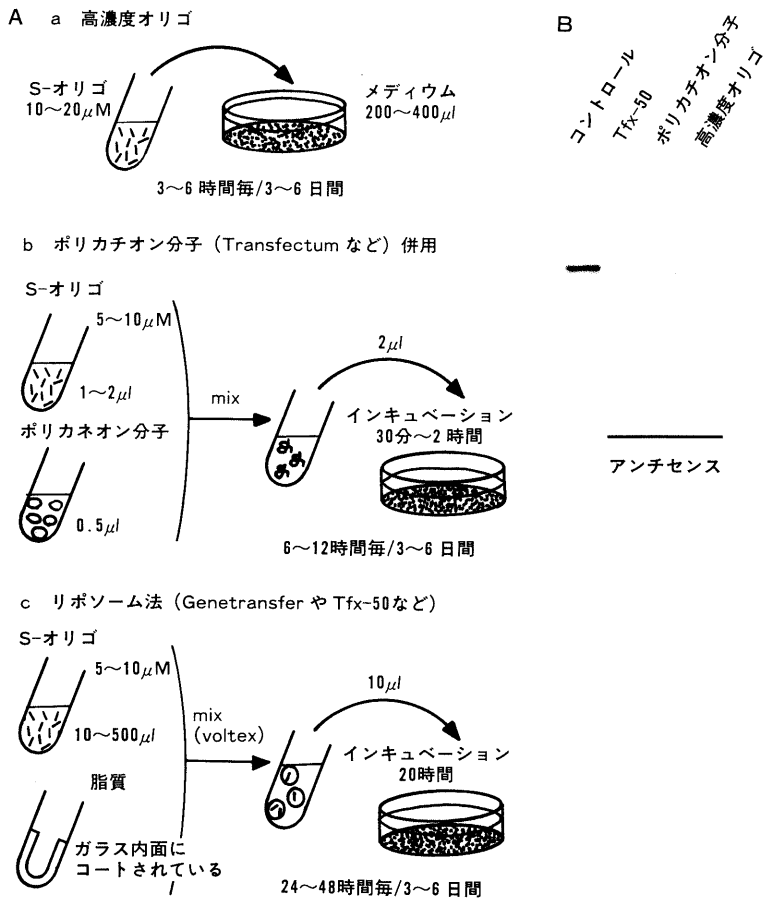


図4. アンチセンスオリゴの細胞への導入方法

a) 構造蛋白質の発現抑制のため, 高濃度のオリゴを連続投与(3~6時間ごとに投与を3~6日間繰り返す. 3~4回の投与ごとに培地交換)した方法. b) 導入試薬(ポリカチオン分子)を用いた方法. 例えば Transfectum を用いると, オリゴの濃度を半分(5~10 μl)にし, かつ投与間隔も長くしても, 同等の効果もあげた(ウエスタンブロット参照). c) リポソーム型の導入試薬ではさらに投与間隔を長くしても(1回投与/1日)でもさらにより抑制効果があった. a, bの方法ではまだわずかに発現がみられるが, リポソーム型ではほとんど発現が消失した. いずれも細胞接着分子 contactin の発現抑制の例(実験例参考)

ている[12]. ただ, 細胞種によりどの試薬が効果的であるかは若干の差はあるようである[13,14]. 付着性の上皮系細胞ではおよそ以下の順序で効果がみられた. Tfx-10, 20, 50, ジーントランスファー試薬, リポフェクトアミン試薬, トランスフェクタム試薬, リポフェクトエース試薬, リポフェクチン試薬(全て商品名). 効果のある遺伝子導入試薬を用いることにより, 高濃度のオリゴを連続投与する場合に比べ, 半分以下のオリゴで, アンチセンス効果が得られる. また, オリゴの投与間隔を長くしても(1回投与/1日)十分なアンチセンス効果が得られる(図4). 現時点では上皮系, 神経系細胞では, リポソーム型の試薬の導入効率が良く, また血清存在で使用可能な Tfx-50 が最も有効である(図5).

試薬の種類と細胞種の組み合わせによっては, これらの試薬は毒性を示し, 実験系が逆に成り立たない場合もある. また, 適切な S-オリゴの濃度, 試薬の濃度は細胞により若干異なるので, 前もってアッセイ系で検定する必要がある.

ある. 基本的に導入試薬の濃度は, 通常のベクター導入に用いるよりもかなり少量で導入効率を上げることができる. それぞれの試薬でベクター導入に用いる量換算に比べ, 100分の1程度で十分なものが多い.

B. 注意点

細胞種によって, オリゴの毒性が出てしまう濃度や導入試薬の適正な濃度などが異なる. この設定を誤ると標的配列が見つかっていても解析ができない. おおのこの細胞でアッセイ系で前もって検定しておく.

アンチセンス効果であることをはっきりさせるために, 必ずコントロールを確実に取る. アンチセンスオリゴ一つだけで, 生理的变化を示すことは危険である. コントロール実験としてセンス側オリゴだけでなく, アンチセンス配列のうち数残基を置き換えた変異型オリゴやスクランブルオリゴも用いる. 現在では, しっかりした専門誌では, いくつかのコントロールを検証しないと受け付けてくれなくなっている. さ

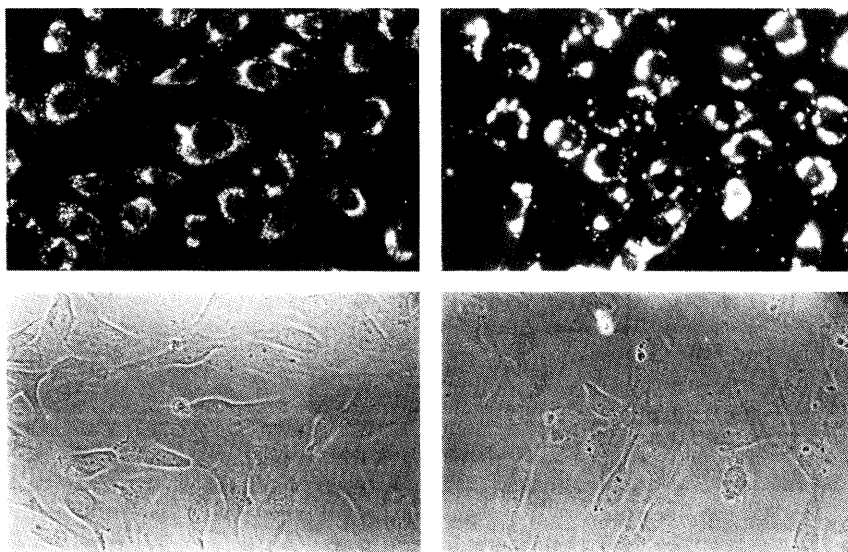


図5. アンチセンスオリゴの細胞への導入効率例(Tfx-50)

FITC 蛍光標識した S-オリゴ(24mer)を, S-オリゴ単独(写真左)と Tfx-50 併用下(写真右)で細胞に導入して比較した. (細胞は sol-8(マウス骨格筋細胞株). 血清存在下の培養で $10 \mu\text{M}$ を投与後 6 時間で固定観察した)蛍光標識オリゴの挙動を観察すると導入初期は写真のように, 細胞内に粒子状に認められる. 明らかに Tfx-50 存在下(右)のほうが導入効率は高い. (下はそれぞれの位相差像)

らに、アンチセンスオリゴによって、細胞増殖がコントロールと比べて低下しているといった生理的条件だけの議論は避けるべきである。アンチセンスオリゴによって確実に蛋白質か mRNA の発現レベルが抑制されているデータを示すことは絶対に必要である。

細胞内構造蛋白質のようなターンオーバーが遅いと思われる分子の発現抑制には、より慎重な検討を要する。細胞周期に関わる核内の因子、細胞内の酵素系では分子全体の何割かが発現抑制されれば生理的効果が現れることが多い。しかし、構造蛋白質などではかなりクリアな発現抑制がみられないと、細胞になんら変化が生じない場合も多い。アンチセンスオリゴ法で 100% 発現抑制することは現状では困難であるが、このような分子においてはオリゴの投与濃度や投与期間をできる限り検討して、望まれるレベルでの発現抑制を行う必要があるかもしれない。

IV. アンチセンスオリゴ法による細胞生理機能の解析例

A. 上皮系細胞における細胞接着裏打ち分子群の機能解析

ERM ファミリー分子群は、きわめてよく似たエズリン、ラディキシン、モエシン 3 種類の蛋白質から構成されている。これらは種々の細胞や組織に広く共発現し、細胞間および細胞-基質間接着部位、微絨毛、分裂溝などアクチンフィラメントが細胞膜に結合する部位に濃縮している。このことから、細胞膜とアクチンフィラメントの結合とその機能制御に重要な役割を果たしていると考えられている。似た分子が同じ局在を示すことから、これらの分子間には redundancy があり 1 分子のターゲティングでは変化が生じない可能性が高い、また、3 分子とも同時にターゲティングするのは困難があること、分子の性格上致死になる可能性もあることから、これらを検証するためにアンチセンスオリゴを用いて機能解析を行った[9]。

ERM 3 分子をそれぞれ開始コドン近傍 24

mer のオリゴで、特異的に発現抑制することに成功した(図 6 A)。これら ERM 3 分子は、それぞれ単独の発現抑制によっては、残りの他の分子の発現や局在には変化を及ぼさなかった。生理機能ではエズリン、ラディキシンはそれらの単独の発現抑制で、形成過程の細胞接着を阻害した。また、ERM 1 分子や 2 分子の組み合わせの発現抑制ではすでに形成されている細胞接着は変化しないが、3 分子とも伴って発現抑制すると既に形成されている細胞接着の離脱が認められた(図 6 B)。さらに、アンチセンス法の有利な点であるが、途中でアンチセンスを洗い流すことによって、リバーシブルに接着が元に回復した。モエシン単独の発現抑制では接着には大きな影響はみられなかったが、浮遊系細胞においては微絨毛の消失傾向がみられた。さらに、ERM 3 分子の抑制によって微絨毛は劇的に消失した(図 7)。これら高いホモロジーをもった ERM 3 分子は redundancy をもちながら細胞間、細胞基質間接着及び微絨毛形成に直接関与している事がアンチセンスオリゴ法を用いることによって明らかになった。

B. 神経系細胞における接着分子群の機能解析

Contactin (F3/F11) 分子は免疫グロブリンスーパーファミリーに属し、GPI アンカーで膜に結合している神経特異的接着分子である。出生後の脳で急激に発現が増加し、神経軸索とシナプス部位に存在するが、その機能の詳細は明らかではない。我々はこの Contactin 分子の発現がみられるラット脊髄後根神経節(DRG)の初代培養系とラット PC12 細胞において機能解析を試みた。培養細胞系 PC12 細胞では発現がみられるものの、他の接着分子と比べても機能解析に十分な高い発現ではなかったため、Contactin 発現ベクターを導入して Contactin をさらに Over expression した細胞株(PC12 dfh)を作製した。この Contactin 高発現細胞株のアンチセンスオリゴによる機能解析を行った。アンチセンスオリゴ導入にあたっては、

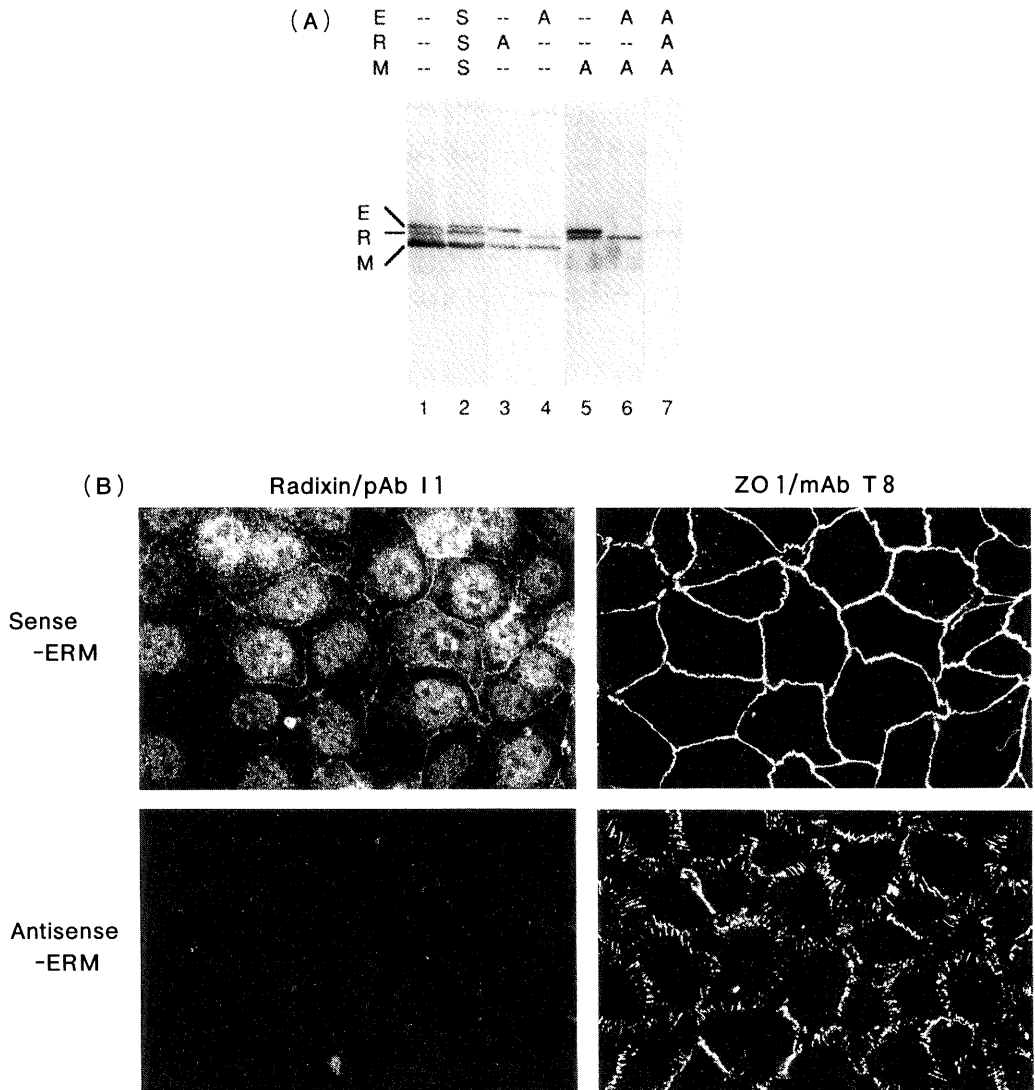


図6. ERMファミリーのアンチセンスS-オリゴによる発現抑制と細胞間接着に与えた影響の一例

(A) S-オリゴ連続投与96時間後(MTD 1A, 上皮系細胞). ウェスタンブロットでERMファミリー分子群の発現をみた. (E:エズリン 85 kD, R:ラディキシン 82 kD, M:モエシン 75 kD) アンチセンス(A)とセンス(S)の組み合わせをそれぞれのレーンの上に示した. 1分子抑制(レーン3~5), 2分子抑制(レーン6), 3分子抑制(レーン7)でアンチセンスを投与するとそれぞれの分子の発現が, 検出出来ない程度にまで落ちていることがわかる.

(B) センスオリゴ(左上)ではERMファミリーの1分子ラディキシンは細胞間に局在しているが, ERM 3分子ともアンチセンスオリゴで発現抑制すると(左下)そのうちのラディキシンも蛍光抗体で確認できないまでに発現抑制されている(残りの2分子も同様)(48時間後). タイトジャンクションのマーカー分子であるZO-1抗体で観察すると, センスオリゴ(右上)でみられる細胞間接着境界部位がERMを発現抑制することによって壊れつつあることがよくわかる. この後, 細胞は離れ浮いてくるが, 途中でアンチセンスオリゴを洗浄し除去すると元通りに接着構造は回復する.

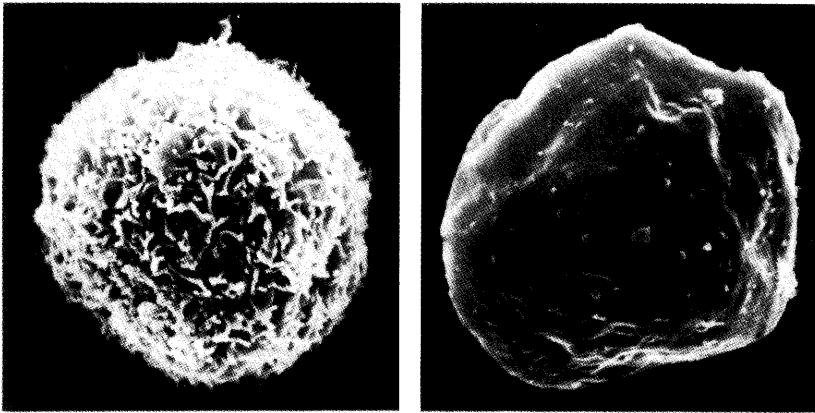


図7. ERM ファミリーのアンチセンス S-オリゴが微絨毛形成に与えた影響の一例
1分子の発現抑制ではコントロール同様の微絨毛形成がみられる(左). 3分子とも発現抑制すると, 6日目で完全な微絨毛消失が認められる(右). (thymoma 細胞)

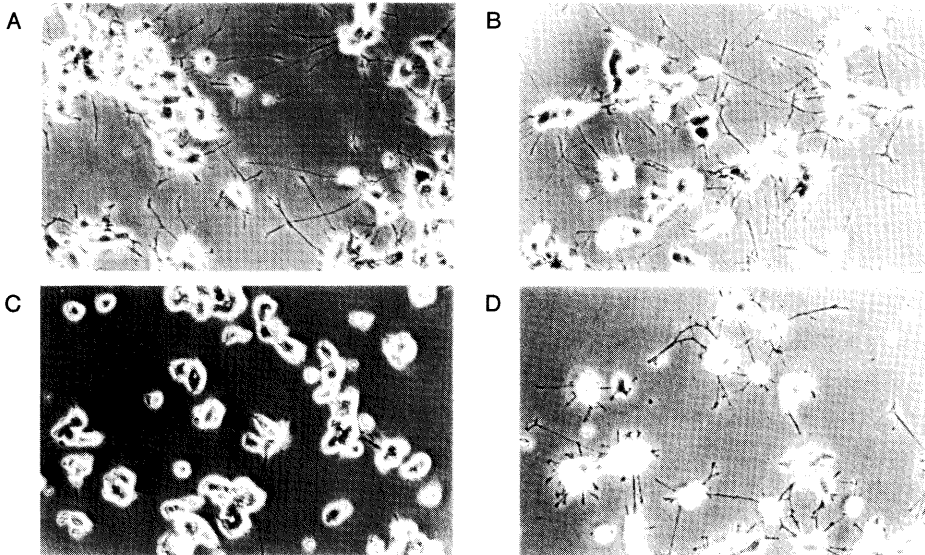


図8. 神経細胞接着分子 Contactin のアンチセンス S-オリゴによる解析例

Contactin 高発現細胞(PC 12 dfh)を Phosphacan をコートしたディッシュ上に蒔き, contactin に対するアンチセンス(C), センス(B)オリゴを投与, 4日目の形態変化をみた. コントロール(A, 導入試薬 Tfx-50 のみ投与)とセンスオリゴ投与(B)では, 非常に低濃度の神経成長因子(NGF)処理によって神経突起の伸長がみられるが, アンチセンスオリゴによって Contactin が発現抑制された細胞では突起伸長が明らかに低下する(C). これがアンチセンスによる効果であることは, 1.5倍量のセンスオリゴを途中投与することで突起伸長が回復し, アンチセンス効果が中和されていることから証明できた. (D: アンチセンス+センスオリゴ投与)

Tfx-50 導入試薬を用いた. この培養細胞系と DRG 培養系において, Contactin 分子の発現を蛍光抗体法とウエスタンブロットで発現が確認できない程度にほぼ完全に抑制することに成功

した(図4). PC 12 dfh では, Contactin 分子のリガンドである Phosphacan をコートした基質上で, Contactin を発現抑制することによって, 神経突起(Neurite)伸長の阻害がみられた. こ

の現象は、Contactin と相互作用しない別の基質上では認められなかった。実際にアンチセンス効果であることは、アンチセンスオリゴを洗い流して培養を続けると Contactin の発現が回復して神経突起伸長がみられること、センサーオリゴを投与してアンチセンスの効果が中和されるなど、リバーシブルな解析からも証明された(図8)。Contactin は phosphacan をリガンドとして神経突起伸長に機能していることが明らかとなった。

V. アンチセンスオリゴ法の *in vivo* (脳内) 投与解析系への応用

A. *in vivo* 投与の現状と応用

アンチセンスオリゴを生体に投与する方法は組織部位特異的ノックアウトを可能にし、また発生過程での時期特異的なノックアウトも可能にする可能性も秘めている。また、したたかな生体システムにおいて、ジーンターゲットング法では分子間の保護作用や redundancy によって分子の機能が劇的にみえてこない場合も多いが、アンチセンスオリゴ法はそのような発生過程に伴う影響もなく、よりクリアに現象を捉える可能性も備えている。その点からも、ジーンターゲットング法を補える可能性も備えている。

in vivo の投与で成功している例は、大量に全身投与するか、あるいは局所でのデリバリーに限られている。いずれも核酸医薬品や遺伝子治療としての可能性から頻繁に行われるようになってきた。中には臨床試験に入っているものもあり、将来が有望視されている。エイズウイルスのように血流中に大量に存在するものは、全身投与で効果をあげている。局所投与ではブルーロニックゲルを用いて体温でゲル化する性質を生かして局所貯留性を高めた例がある。また、心臓の冠状動脈において、c-myc に対するアンチセンスオリゴを局所投与して、実験的に作った血管再狭窄において内皮細胞の肥厚を抑制した例も報告されている。この場合 S-オリゴは3日間に渡り投与局所で安定であった[15]。

導入効率をあげるための導入試薬の併用は、あらかじめ検定する必要がある。一般的にはリポソーム型の導入試薬が効果があるようである。しかし、*in vitro* の細胞で効果があったものが全て有効であるという相関はなさそうである。例えば、細胞で効果のあったポリカチオン系の導入試薬は *in vivo* ではかえって導入効率が下がるともいわれ、実際に我々も効果がなくなってしまった場合もある。また、1週間以上の長期投与では、後半ではリポソーム型もさほど効果をあげなくなってくる。我々も現状では導入試薬を併用しないか、あるいは短期でリポソームで試すかである。この点では今後改良と検討を要する。阪大の金田らが行っているセンダイウイルスを用いたリポソーム法はかなり有効な手段であると思われる。

B. 生体脳内投与の指針

生体の脳組織へのアンチセンスオリゴ法の適用には、脳室内に投与する方法と、標的となる脳組織部位にマイクロフュージョンする方法のどちらかが用いられる。ここではわれわれの脳室投与方法[16]について紹介するが、脳組織実質投与も基本的には同様の方法である。

アンチセンスオリゴの脳室内投与は、脳室に接する脳内部位の比較的広範囲にわたって効果が及ぶことが示されている。しかし、単発的な投与では、脳脊髄液(CSF)からのクリアランスが大きいため効果は期待されない。そのため mini-osmotic-pump (ミニ浸透圧ポンプ)を用いた連続的な投与を行う。脳組織内への直接投与では、単発的な投与でもオリゴがまわりの細胞に取り込まれることは確認されており、かなり広範囲への浸潤性が知られている。例えば、脳室内投与であれば海馬領域までの浸潤は認められている。しかし、恒常的な蛋白質のレベルをアンチセンスで抑制するには、当然、投与を繰り返す必要がある。

実際の実験に際して注意する点は、事前に *in vitro* の系で十分に検証された効果のある領域のアンチセンスオリゴを用いることである。

まず, *in vitro* で検証して実際に蛋白質の発現抑制を確認してから, *in vivo* でのアンチセンスオリゴの投与を行うことが確実に無駄のない解析を行うための近道である。

C. 脳室内投与の実際

1. *in vitro* で効果の確認されているアンチセンスとセンス(またはスクランブルの)S-オリゴを 200 μ l の滅菌生理食塩水に溶かす。オリゴの濃度は我々は 0.25 mM から 1 mM の濃度で用いている。脳室内へは, ミニ浸透圧ポンプで 1 μ l/時間で 7 日間連続投与で, 1.5 mM までは毒性は示さないとされている。発現抑制の効果がないようであれば, 少しずつ濃度をあげて行くが, かなり多量のオリゴが必要となり実験としては少し難しい。

2. マイクロシリンジの径の細いもの(27 G など)で, ミニ浸透圧ポンプ(Alzet 社, mode 12001 など)に S-オリゴ溶液を絶対に気泡が入らないように注入する。

3. ラットを麻酔(ペントバルビタール(50

mg/kg, i. p.))し, 頭を剃毛し消毒後, 脳定位固定装置(成茂, ラット用 SR-6N など)に固定する。頭皮を切開し, 露出させた頭骨をピンセットで擦るか乾燥させて出血を抑える。

4. L型カニューレ(brain infusion kit(Alzet 社))の挿入部位を決める。(例えば, 側脳室を狙う場合は, bregma -0.8 mm, 正中 1.5 mm の位置に dura から 3.5 mm の深さに入れている)デンタルドリルで頭骨に穴をあけ, マニピュレーターで垂直に挿入する。深さの設定は動かないようにスペーサー(図9)で固定する。

5. L型カニューレをミニ浸透圧ポンプのチューブに気泡が入らないように接続する。ミニ浸透圧ポンプを切開部から背側皮下に挿入し, デンタルセメントでカニューレを完全に固定後, 皮膚を縫合する。イソジン液で消毒, テラマイシンなどを筋注しておく。

6. クリーンルームで1ケージ1個体ずつ(お互いひっかかないよう)静養させ, 7日後, 目的とする実験に用いる。その際あるいは実験後, 投与部位周辺の組織を出来るだけ速やかに

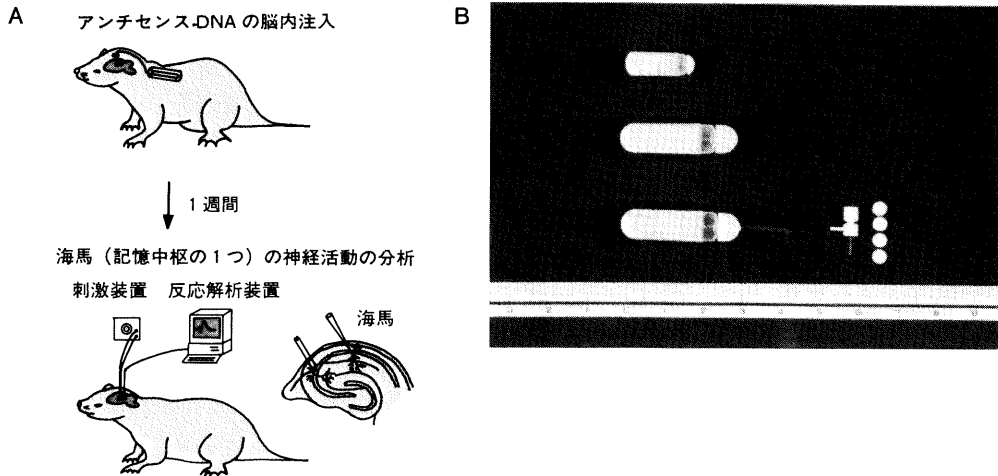


図9. アンチセンスオリゴの *in vivo* (脳内)投与の原理とミニ浸透圧ポンプ
ミニ浸透圧ポンプはラット体内で体液を吸収して, 決まった速度でポンプ内の溶液を放出できる。右の写真に示したものは, 上から順に 100 μ l を 3 日間放出するタイプ, 200 μ l を 1 μ l/時間で 1 週間放出するタイプ(実験例(1)で使用), 200 μ l を 0.5 μ l/時間で 2 週間放出するタイプ(実験例(2))である。写真右下はL型カニューレと深さを固定するためのスペーサー。これらを用いて, 特定の分子を組織部位特異的に発現抑制することによってAに示すような生理学的な解析にも応用できる。

取っておく。組織切片など作製し何か異常はないか、実際に狙った分子の発現がどの程度抑えられていたかを、ウエスタンブロット、組織染色などで確認する。

これらを用いて *in vivo* での電気生理への応用や動物行動実験に応用することも可能である。また、いくつかの分子をまとめて発現抑制したり、ターゲティングマウスでの更なる他の分子の抑制も可能である。組織培養や、スライスカルチャーでの解析も試みられている。さらに、最近、我々は発生過程での解析を考え、マウス胎仔子宮外培養や胎仔子宮外手術法などにアンチセンスオリゴを利用した新たな方法を模索している。ジーンターゲティングでは、分子間の redundancy や、個体の発生過程のしたたかさから期待しただけの機能が現れない分子の解析や、さらには個体を致死たらしめる分子の解析においても、アンチセンスにより組織部位と時間特異的に発現抑制することによって、切れ味よく生理機能が現れるのではないかと期待している。いずれにせよ、*in vivo* への応用は様々な可能性が考えられる実験系である。

VI. 脳内 *in vivo* 投与による解析例

A. カルシニューリンの *in vivo* アンチセンス投与による解析

シナプス伝達の長時間にわたる促進現象である長期増強 (long-term potentiation; LTP) は、記憶の細胞レベルの素過程であると考えられている。LTP の誘導には Ca/カルモジュリン依存性蛋白質キナーゼ (CaMKII) の活性化が必要である。これに対して、シナプス伝達効率の減少 (long-term depression; LTD) には、キナーゼの作用を消去する Ca/カルモジュリン依存性蛋白質ホスファターゼであるカルシニューリンの活性化が必要である。シナプス伝達が増強するか減少するかは、これらキナーゼとホスファターゼの活性のバランスによるという仮説が立てられている。これを検証するために、カルシニューリンのアンチセンスオリゴを脳室内に投与して、生体脳の海馬における LTP の誘導が

どのような影響を受けるか調べた [16]。

LTP を記録する側の側脳室海馬の近傍にカニューレを植え込み、ミニ浸透圧ポンプによってカルシニューリンのサブユニット ($A\alpha$, $A\beta$) を標的としたアンチセンスオリゴを 1 週間連続的に投与した (0.25 mM, 200 μ l)。ウエスタンブロットで海馬のカルシニューリン蛋白質を定量すると、アンチセンス投与群では LTP を記録した側の海馬で $A\alpha$ は 67%, $A\beta$ は 55% に減少していた。スクランブル DNA 投与群では、おのおの 92% と 90% にとどまった。これらのラットを用い、ウレタン麻酔下で LTP 実験を行った。アンチセンス DNA を注入したラット群では、通常のラットに比べ LTP が成立しやすくなった。これに対してスクランブルオリゴ投与群では、この弱いテタヌス刺激では (50 Hz, 200 パルス), LTP の誘導が認められなかったことから、スクランブルオリゴ投与群の海馬の機能自体には問題がなかったことがわかる。これらの結果は、カルシニューリンが LTP の誘導を抑制していることを示すとともに、神経細胞内の Ca/カルモジュリン依存性蛋白質キナーゼとホスファターゼの活性バランスが、シナプス伝達効率の方向性 (LTP と LTD) を決定していることを示唆している (図 10)。

2. 神経細胞接着分子 Contactin の *in vivo* アンチセンス投与による解析

免疫グロブリンスーパーファミリーに属する接着分子は、その機能解析のためにジーンターゲティングも数多く行われている。しかし、その発現の領域特異性などから期待されるだけの劇的な変化は現れていない。それには、このファミリーに属する分子種の多さなどからも想定される発生過程での redundancy によるものであるとも考えられる。そこで、アンチセンスによる発生過程、部域特異的な分子の発現抑制を狙った。Contactin (F3/F11) 分子は出生後、神経系で発現が認められる免疫グロブリンスーパーファミリー接着分子であり、大脳皮質全体と海馬領域で広く発現が認められる。

この分子の *in vitro* で最も効果のあったアン

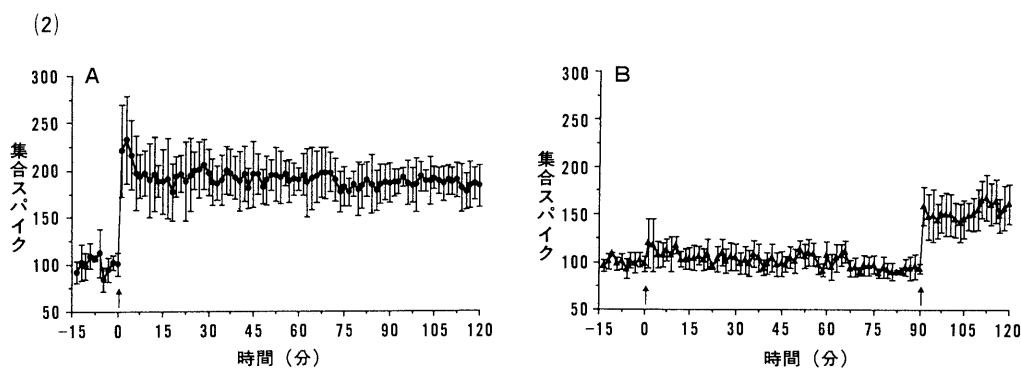
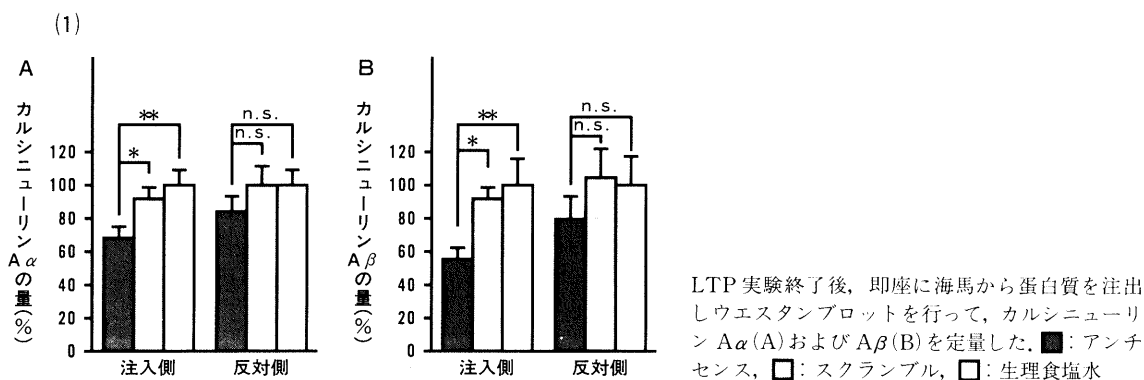


図10. カルシニューリンの脳内アンチセンスオリゴ投与による実験の一例

(1) アンチセンスオリゴ投与によるカルシニューリンの発現抑制例

(2) アンチセンスオリゴ投与によるカルシニューリン発現抑制でのLTPの促進

A) カルシニューリン A α および A β に対するアンチセンスオリゴを側脳室に1週間連続投与した。海馬のCA3に100Hz, 7-pulse trainのテタヌス刺激を与え(矢印, 時間0), 反対側の海馬CA1から集合スパイクを記録した。このテタヌス刺激は通常, LTPもLTDも誘導しない中立的な刺激である。B) スクランブルオリゴを投与したラットに同様のテタヌス刺激を与えた(最初の矢印)。90分後に50Hz, 200pulseのテタヌス刺激を与えた。この場合はA)でみられたようなLTPの促進はみられない。

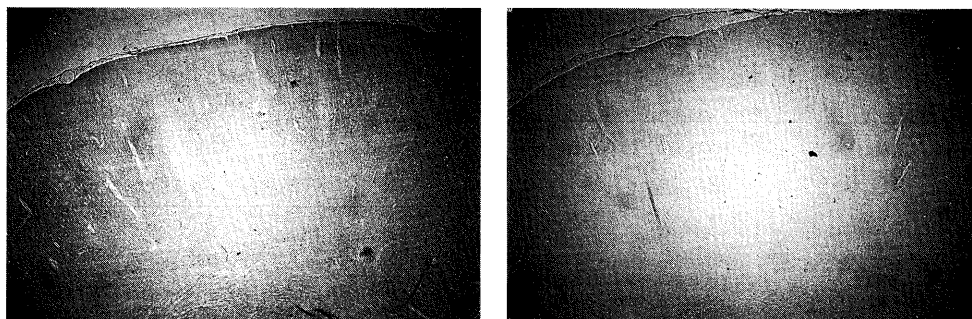


図11. 神経接着分子 Contactin の脳内アンチセンス投与による発現抑制の一例

contactin に対するセンス(左), アンチセンス(右)オリゴを大脳実質に12日間連続投与した。投与後連続切片を作製し, カニューレから2mm離れた部位で免疫染色を行った。センスオリゴ(左)投与では全体に Contactin の発現が認められるが, アンチセンスオリゴ(右)では全く発現が抑制されている。

チセンスオリゴを海馬近傍の側脳室あるいは大脳皮質実質にカニューレを植え込み、ミニ浸透圧ポンプで12日間連続投与した(0.5 mM, 200 μ l). 投与後にカニューレ挿入部位から2 mm離れた隣接部位の組織切片を免疫染色すると、明らかに Contactin の発現抑制が起こっていることがわかる(図11). この時に NCAM など他の接着分子の発現には何ら変化がなかったことから、脳の部位特異的な発現抑制が可能となった。

Ⅶ. お わ り に

生体内分子の機能を解析する最も有効な方法は、その分子を欠損あるいは不活性化することである。このシンプルな発想のもとに酵素阻害剤などの薬剤からジーンターゲット法に至るさまざまな方法が現在までに考案され、分子の機能を知るうえでの重要な手がかりとなる情報を与えてきた。今回紹介したアンチセンスオリゴ法は、生きた細胞、組織レベルで分子を欠損させ、分子の働きをみることのできる簡易な方法として大きな可能性を秘めている。

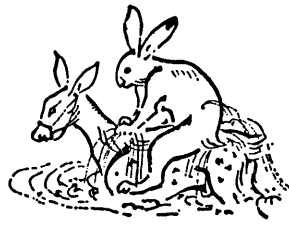
アンチセンスオリゴ法は多くの研究において試され大きな成果をあげている一方、その簡便さから一度は試みたもののうまく行かないケースも多いようである。とくにアンチセンス標的配列の決定がたまたまうまく行った例が報告され、不運にも標的配列に行きあたらなかったために結果が出なかった場合、あるいは精製が不十分なオリゴを用いたため毒性が強く実験系が組めなかった場合が、うまく行かないという声の大部分を占めていると考えられる。さらに、アンチセンスではなんらかの生理的効果が現れているが、コントロールでは何も起きなかったために良しとして、細かい検討を行っていない“ずさん”なデータもまた多い。それゆえ、アンチセンス法は岐路にさしかかっているともいえる。そのためにも詳細なアンチセンスの分子機構の解明と、確実な方法論、そして確実な結果を積み重ねて行くことが今後きわめて大切である[17]。現時点では方法論でいまだ確立して

いない点も多いが、アンチセンス法は非常に魅力的な遺伝子制御法である。臨床応用も含めて、大きな可能性を秘めており、医薬品としての開発は、すでに眼科用抗ウイルス炎症剤として発売されたものもある。研究は端緒にすぎたばかりで、これから多くの改善もなされることによって、生理学、分子生物学や発生生物学の手法としても確立してゆくものと思われる。生体内での応用も広がりつつあり、様々な工夫が行われている。基本的には大がかりな準備や機器を必要としないため、とにかく一度やってみることのできる系である。本稿がそのためにいくらかでも参考になれば幸いであるし、ますます多くの方に試みていただき、有効な手段として進展して行くことを願っている。

文 献

- 1) Uhlmann E & Peyman A: Antisense oligonucleotides: A new therapeutic principle. *Chem Rev* **90**: 543-584, 1990
- 2) Agrawal S: Antisense oligonucleotides: towards clinical trial. *Trends in Biotech* **14**: 376-378, 1996
- 3) 武内恒成, 渡辺和忠, 月田承一郎: S-oligo アンチセンスを用いた細胞機能解析, *実験医学* **12**: 1657-1663, 1994
- 4) 武内恒成, 池上司郎, 井ノ口馨, 渡辺和忠: アンチセンスオリゴ法—より高効率な細胞機能解析系と in vivo 中枢神経系への応用—*実験医学* **14**: 573-583, 1996
- 5) Shuttleworth J, Colman A: Antisense oligonucleotide-directed cleavage of mRNA in *Xenopus* oocytes and eggs. *EMBO J* **7**: 427-434, 1988
- 6) Condon Y P & Bennett C F: Altered mRNA splicing and inhibition of human E-selectin expression by an antisense oligonucleotide in human umbilical vein endothelial cells. *J Biol Chem* **271**: 30398-30403, 1996
- 7) Tominaga M, Tominaga T, Miwa A & Okada Y: Volume-sensitive Chloride Channel Activity Does Not Depend on Endogenous P-glycoprotein. *J Biol Chem* **270**: 27887-27893, 1995
- 8) Nakanishi H, Obashi H, Sato A, Wada M, Mandai K, Satho K, Nishioka H, Matsuura Y, Mizoguchi A & Takai Y: Neurabin: A novel neural tissue-specific actin filament-binding protein involved in neurite formation. *J Cell Biol* **139**: 951-961, 1997
- 9) Takeuchi K, Sato N, Kasahara H, Funayama N, Nagafuchi A, Tsukita Sa & Tsukita Sh: Pertuba-

- tion of cell adhesion and microvilli formation by antisense oligonucleotides to ERM family members. *J Cell Biol* **125**; 1371-1384, 1994
- 10) 杉本直己: 最近接塩基対パラメータを用いた核酸の安定性予測とその機能との関係 *生物物理* **33**; 61-67, 1993
 - 11) Krieg A M, Yi A-K & Matson S: CpG motifs in bacterial DNA trigger direct B-cell activation. *Nature* **374**; 546-549, 1995
 - 12) Chiang M-Y, Chean H, Zounes M A, Freier S M, Lima W F & Bennet C F: Antisense oligonucleotides inhibit intercellular adhesion molecule 1 expression by two distinct mechanisms. *J Biol Chem* **266**; 18162-18171, 1991
 - 13) Yakubov L A, Deeva E A, Zarytova V F, Ivanova E M, Rytte A & Vlassov V V: Mechanism of oligonucleotide uptake by cells. *Proc Natl Acad Sci USA* **86**; 6454-6458, 1989
 - 14) Zelphati O & Szoka F C: Mechanism of oligonucleotide release from cationic liposomes. *Proc Natl Acad Sci USA* **93**; 11493-11498, 1996
 - 15) Simons M, Edelman E R, DeKeyser J L, Langer R & Rosenberg R D: Antisense c-myc oligonucleotides inhibit intimal arterial smooth muscle cell accumulation in vivo. *Nature* **359**; 67-70, 1992
 - 16) Ikegami S, Kato A, Kudo T, Ozawa F & Inokuchi K: A facilitatory effect on the induction of long-term potentiation in vivo by chronic administration of antisense oligodeoxynucleotides against catalytic subunits of calcineurin. *Mol Brain Res* **41**; 183-191, 1996
 - 17) Wagner R W: Gene inhibition using antisense oligodeoxynucleotides. *Nature* **372**; 333-335, 1994



編集後記

10号をお届けします。

巻頭言では黒島教授から、1865年に記されたベルナールの「実験医学研究序説」からの有名な「科学的医学の基盤は生理学にあり」のお話を、改めて頂きました。知恵の女神ミネルバは何を遺わしてくれるでしょうか。

世の中の物事全てがそうであるように、受けとめる側にいる者が、どのように反応し、何をどれだけ感じ取り、どれだけ物をそこから吸収できるかにかかっていることは誰も承知している。ミネルバはたったひとつのことしか、伝えてくれないかもしれない。しかし、我等はこれを大切に受けとめて、大切に生かさなければならぬのです。型ち(解剖学)があり、物(生化学)があり、これらを生命の力で包み込んで機能す

る命にしたのが生理学ではなかったのか。いま、いくら分子・遺伝子・原子レベルで解明が進んでも、生命を育むことはかないません。学問としてどのように分化して行っても、この生命を考えないでは何も存在することは許されません。

諸学の王と言われた“生理学”を、今一度原点に立つて見直し、意義深いものである証を示し、伝えようではありませんか。

二人の教授の誕生に相応しい、PROFILEでは、岩手大学佐々木和彦教授と浜松医大の福田敦夫教授の抱負があります。

そして、来年長崎で開催されます、第76回日本生理学会大会の締め切りが締め切り日が11月7日です。皆様お忘れなく。

(野村正彦)

編集委員

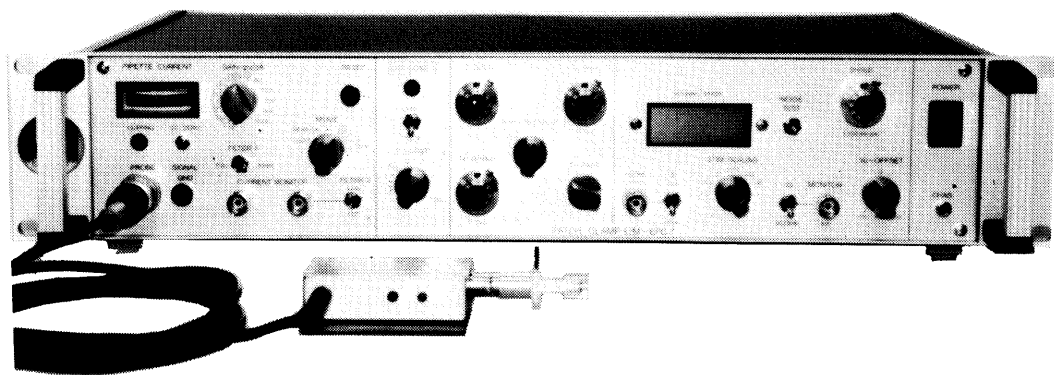
金子章道(幹事)	野村正彦	野崎修一
中島祥夫	佐々木成人	高松研
小山なつ	青木藩(北海道)	土居勝彦(東北)
工藤典雄(関東)	小野田法彦(中部)	福田淳(近畿)
日地康武(中・四国)	河南洋(九州)	



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

日本総代理店 / 西日本地区発売元



ショーシンEM株式会社

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

東日本地区発売元

(Physio-Tech)

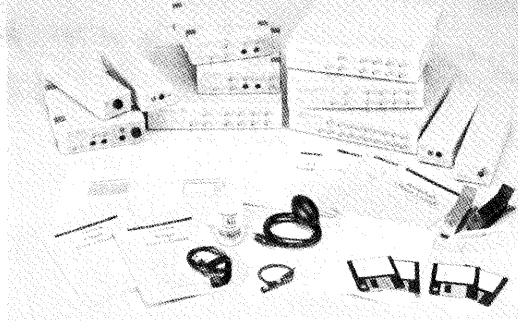
株式会社 フィジオテック

〒101-0047 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)

データ収録・解析システム

MacLabから PowerLabへ

名称が変更になりました!



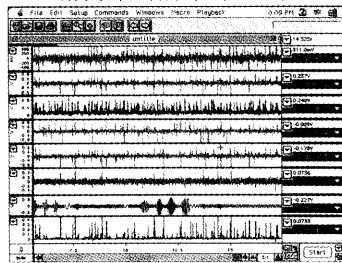
PowerLabファミリー

PowerLabはMacLabの機能を全て引き継ぎさらにマルチプラットフォーム化を実現、MacOSにもPC Windowsにも対応します。長年ご愛顧頂きましたMacLabの名称は今後PowerLabに引き継がれます。ハード的にもソフト上でも次々と強力にアップグレードされます。ご期待下さい。

<標準PowerLab Eシリーズ>

PowerLab/200	標準	2ch入力
PowerLab/400	標準	4ch入力
PowerLab/800	標準	8ch入力

使用チャンネル数	最大サンプリング	Scope	Chart
1	100KHz	○	バースト
2	40KHz	○	—
	1KHz	○	連続
4	1KHz	—	連続
8	1KHz	—	連続

Chart
マルチチャンネルチャートレコーダ

<高速PowerLab Sシリーズ>

PowerLab/4s 高速 4ch入力 PowerLab/8s 高速8ch入力
PowerLab/16s 高速 16ch入力

使用チャンネル数	最大サンプリング	Scope	Chart
1	100KHz	○	連続
2	40KHz	○	連続
3	20KHz	—	連続
4	20KHz	—	連続
5	10KHz	—	連続
6	10KHz	—	連続
7	10KHz	—	連続
8	10KHz	—	連続

注：20KHzは、チャートスピード1,000cm/秒に相当します。

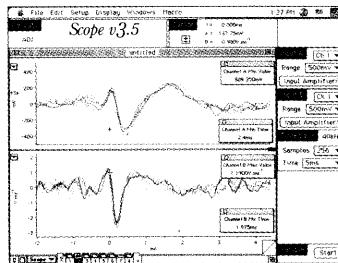
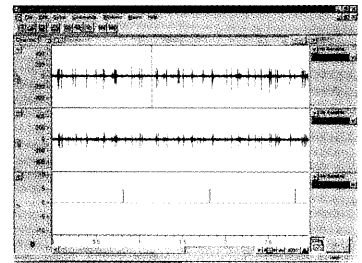
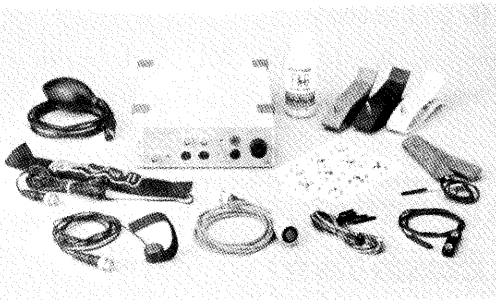
Scope
デジタルオシロスコープChart for Windows
マルチチャンネルチャートレコーダ

Chart for Windowsのユーザには1年間の無償バージョンアップサービスが受けられますので、必ずユーザ登録して下さい。その間にMac版Chart & Scopeと同等の機能にアップグレードします。

PowerLab/410
基礎医学実習システム

PowerLab/410には2chのバイオアンプ、2chのブリッジアンプ、1chの刺激アインレタを組み込まれた記録装置です。

特に基礎医学系の学生実習用として大変経済的で機能的なパッケージです。
●トランスジューサ入力2ch●刺激アインレタ出力1ch●ECG、EEG、EMG等バイオアンプ入力2ch●生体実習マニュアルが付いたPowerLabリソースキットを発売中



BRC バイオリサーチセンター株式会社

本社 〒461-0001 名古屋市東区泉二丁目28番24号ヨコタビル
TEL (052)-932-6421 FAX (052)-932-6755
東京支店 〒101-0032 東京都千代田区岩本町二丁目10番1号オカジマビル
TEL (03)-3861-7021 FAX (03)-3861-7022
東京第二営業所 〒286-0134 千葉県成田市東和田555番地5
TEL (0476)-20-1766 FAX (0476)-22-8625
E-mail: brc@po.ijnet.or.jp http://www.adi-japan.com/brc

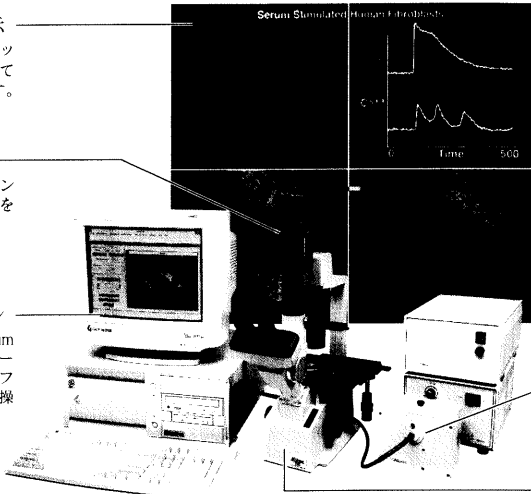
コストパフォーマンスを追求したパーソナルタイプです。

InCyt Im™ “蛍光画像処理システム”

画像とデータの表示
I¹のモニターグラフィックソフトウェアを使用して簡単にデータを表示します。

カメラ
低光量、低ノイズイメージング用のCCDビデオカメラを採用。

画像収集と解析用ワークステーション
32ビット画像処理用のPentium Pro PCとWindows NT。ユーザフレンドリなインターフェイスによりスムーズな操作で実験可能。



- 個別の解析用に視野内を最高50エリアまで設定できます。
- 実験中のデータ解析、あるいは解析後に画像を保存します。
- ノイズを減少させるための画像アベレージング処理します。
- グレースケールからカラーへ変換するためのパレットをカスタムデザインできます。
- InCytモニタージュとアノテーションソフトウェア機能で、簡単に結果を表示します。又、スプレッドシートや別のプレゼンテーションパッケージへTIFFやASCIIファイルでエクスポートします。
- 画像は動画で再生できます。
- シングル又はデュアル波長測定ができます。
- 驚くほど低価格設定です。

イルミネーションシステム
信頼性の高いXenon光源をコンピュータ制御のフィルターチェンジャーで二波長の切り換えを高速で実行します。

顕微鏡
I¹開発のGroony™蛍光モジュールを搭載したNikonTMS-F倒立顕微鏡。

定価 **¥6,980,000**
(顕微鏡・コンピュータを含む)

日本総発売元



バイオリサーチセンター株式会社

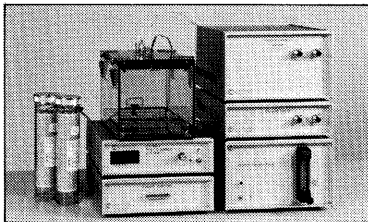
本社 名古屋市東区泉2-28-24(ヨコタビル4F) ☎052(932)6421 FAX052(932)6755
東京 東京都千代田区若本町2-10-1(オカジマビル) ☎03(3861)7021 FAX03(3861)7022

実験動物用薬理関連機器

VO₂/VCO₂呼吸代謝モニター

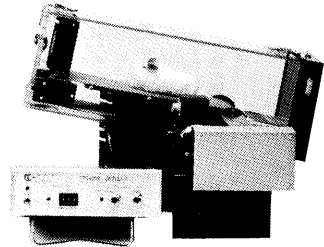
小～大動物の長期間のモニターが可能です。

- 酸素消費量
- CO₂発生量
- 呼吸置換比
- コンピュータ制御
- トレッドミルとの併用可



ラット・マウス用トレッドミル

- 1～4レーン
- ベルト速度可変
- 走行傾斜角度可変
- エアーパフ刺激可
- 電流刺激可
- 逃避センサー付き
- 代謝用チャンパー可
- コンピュータ制御も可



動物用呼気CO₂モニター CAPSTAR-100

(小～中・大動物まで)

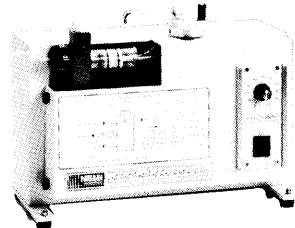
呼気CO₂モニター CAPSTAR-100は、赤外線シングルビームにより正確且つ連続的にラットから各種動物の呼気ガスを応答性良く、最小限のサンプル量で、長期間安定してモニターします。



- 分析原理 赤外線シングルビーム
- 測定レンジ 0～100%
- 応答時間 (T₁₀ - T₉₀) 130ms (50ml/min. Sample)
(T₁₀ - T₉₀) 150ms (10ml/min. Sample)
- 測定呼気流量 10～100ml/min.

動物用人工呼吸器

軽量設計された、苛酷な長期間の使用にも安心して使用出来るように設計されており、小動物から大動物まで全ての動物用に各種モデルを揃えています。



- Model: 131 シリンダー容量 5ml 10ml (モルモット・ラット用)
- Model: 141 シリンダー容量 10ml 30ml (ラット用)
- Model: 121 シリンダー容量 30ml 70ml (ネコ・ウサギ用)
- Model: 101 シリンダー容量 750ml (イヌ用)

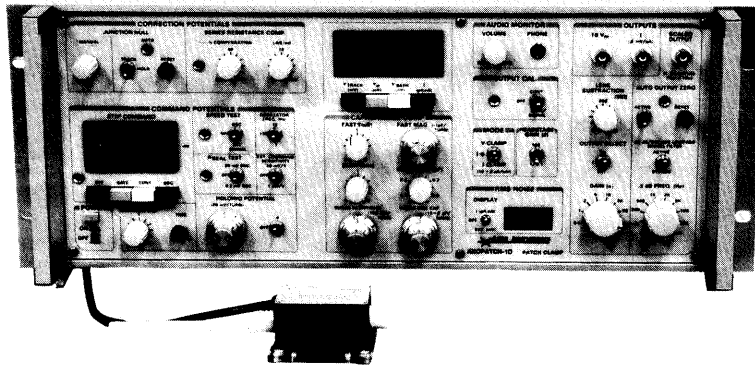
日本総代理店



バイオリサーチセンター株式会社

本社 名古屋市東区泉2-28-24(ヨコタビル4F) ☎052(932)6421 FAX052(932)6755
東京 東京都千代田区若本町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。極めて低いノズル・レベルと素早い応答力を特徴としています。重要な部分はハイブリッド化により完全シールドされています。

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

CV4ヘッドステージは下記の3種類があります。

AXOPATCH-1Dの特徴

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

AXOPATCH-1Dのヘッドステージ

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

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

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

西日本地区発売元



INTER MEDICAL CO.,LTD.

株式会社 インターメディカル

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

東日本地区発売元

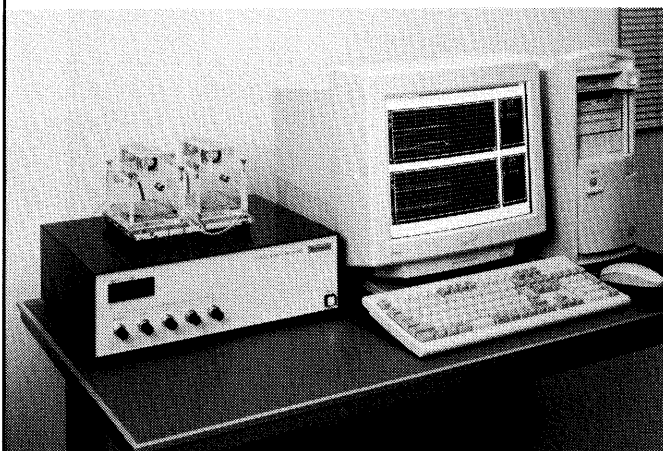
(Physio-Tech)

株式会社 フィジオテック

〒101 東京都千代田区内神田2丁目6番11号
若松ビル2F

TEL (03) 3258-1641 (代)

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O₂/CO₂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O₂/CO₂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。

Muromachi

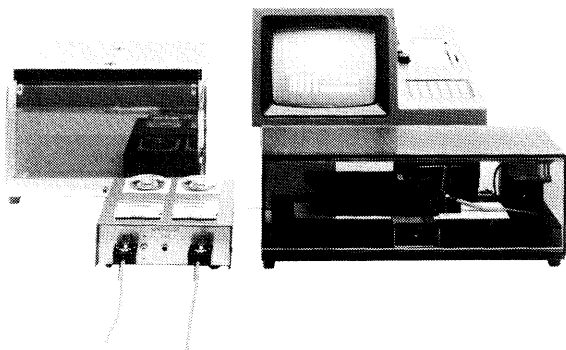
総発売元 **室町機械株式会社**

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
URL : <http://www.muromachi.com>

ラット・マウス用 非観血式血圧測定装置

MODEL MK-1100

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



■特長

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

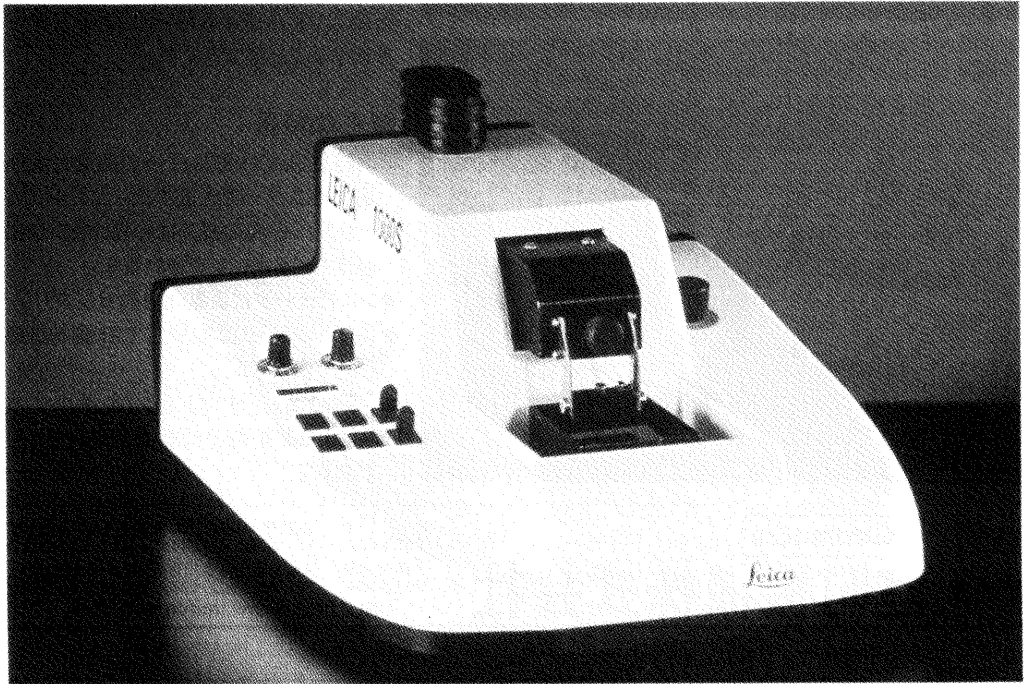
Muromachi

総発売元

室町機械株式会社

本社 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
URL : <http://www.muromachi.com>

Leica



脳機能の解明に 最適な マイクローム

未固定、未凍結の組織から
高品質な切片を作製

ライカVT1000S(EM)は、神経生理学、神経病理学、実験病理学等の分野で必要とされる極めてデリケートな切片作製のために開発された、新しい振動刃マイクロームです。

包埋や凍結などの試料の前処理を必要とせず、新鮮な組織から切片を作製できるため、パッチクランプやレシオ・イメージング法に最適です。また、神経病理の固定組織切片も高いクオリティーで作れます。

- ブレードの前進速度を直線的に連続調節
- 切片厚の合計表示
- 振幅は5段階調節
- 切削面積を自由に調節できるカッピングウインドー
- プログラム式試料リトラクション
- 緊急停止ボタン
- 2重壁のバッファトレーで試料の温度を一定に保持

ライカ振動刃マイクローム
VT1000S(EM)

発売元

ライカ株式会社

本社 Tel.03-3292-9833 大阪支店 Tel.06-374-9771

名古屋営業所 Tel.052-222-3939 福岡営業所 Tel.092-731-9771

つくば出張所 Tel.0298-36-7875

神経科学分野 総代理店

ショーシンEM株式会社

〒444-0241 愛知県岡崎市赤浜町蔵西1番地14(ショーシンビル)

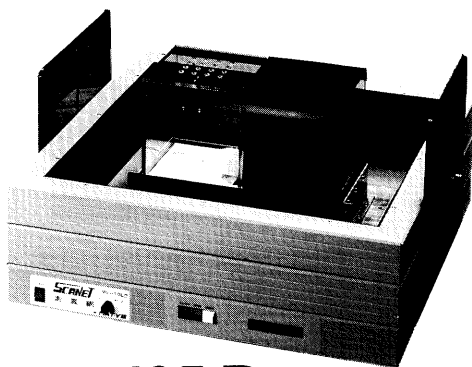
TEL.0564-54-1231(代表) FAX.0564-54-3207

小動物行動測定の世界

SCANETのTOYO

《スキャネットシリーズ》

● 薬物依存測定



MV-10 LD

● 抗うつスクリーニング測定



MV-10 AQ

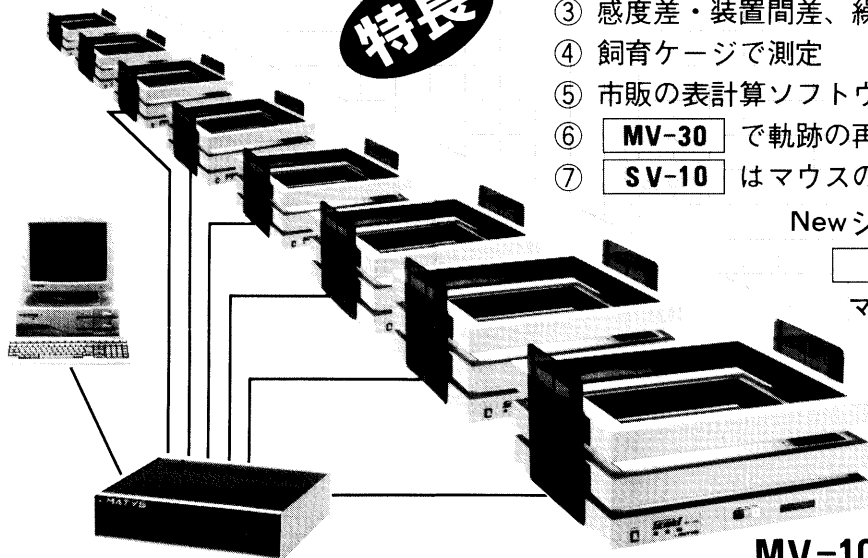
特長

- 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 / 〒930-0281 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

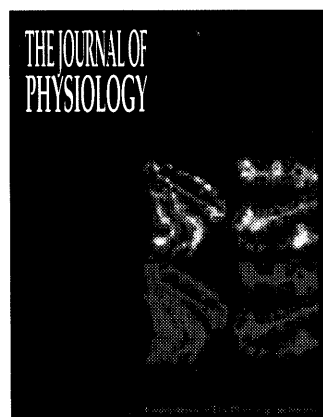
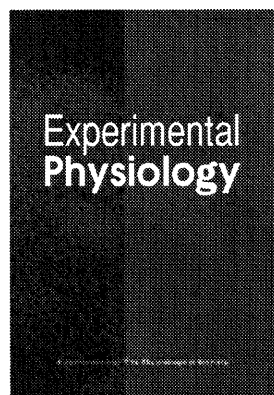
～ Cambridge University Press 生理学誌 ～

Experimental Physiology

Experimental Physiology は、1908年に創刊された **Quarterly Journal of Experimental Physiology** を起源とします。当時、英国生理学会 (The Physiological Society) の公式学会誌として既に著名であった **The Journal of Physiology** に続く英国第二の生理学専門誌としてスタートし、1990年のタイトル変更以降、近年では、**The Journal of Physiology** の補完誌的な色合いをより強めています。

The Journal of Physiology 同様、生理学全般を対象としていますが、特に動物生理学、システム生理学の領域に重点をおき、総合的な生理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、実験データまたは実験に直結する仮説を基礎とした理論の投稿を歓迎しています。

The Journal of Physiology をご購入中の皆様には本誌と併せてのご活用をお薦めいたします。



Experimental Physiology

- ▶ 1999年巻号: Vol.84 (6 issues)
- ▶ 年間購読概価: ¥73,100 (税別)
- ▶ 商品コード: E39265Z

The Journal of Physiology

- ▶ 1999年巻号: Vols.514-521
(24 issues + 5 proceedings & 1 annual index)
- ▶ 年間購読概価: ¥394,000 (税別)
- ▶ 商品コード: J43900T

* 価格は実勢レートの変動にともない毎月変わりますので、概算にて表示しています。



日本販売総代理店

 紀伊國屋書店

雑誌部

〒156-8691

東京都世田谷区桜丘5-38-1

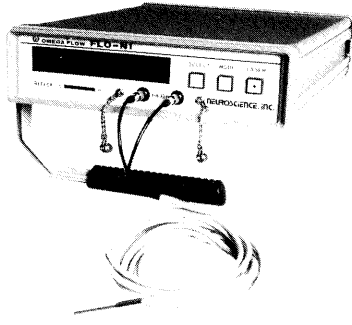
FAX: 03-3439-0124

OMEGA FLOW

非接触型レーザー血流計

FLO-N1

組織血流量が測定部位に
触れることなく測定できます。



承認番号：07日第0805号

接触型FLO-O1も用意しています。

製造元

オメガウェーブ

総発売元

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
 - 接触用フローフも接続可能
- ★コンピュータ
 - NEC製98NOTE又はディスクトップに接続(オプション)
- ★使い易さ
 - 標準フローフが小型、カイト光付き、専用固定器有り

【用途】

- ★脳
 - 骨の上から測定かてきます。
 - ロースヘンカル血検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、無麻酔下で測定か可能です。(接触型)
- ★神経、脊髄
 - 接触すること自体問題か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か可能です。
- ★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かてきます。
 - 経日的変化の測定も可能です。
- ★消化器系臓器
 - 粘膜に触ること無く測定かてきます。
 - 水面の上からでも測定か可能です。
- ★口腔内
 - 圧迫の影響無く測定かてきます。
- ★その他
 - 筋肉、内耳、鼻腔内、骨(骨髄)等の測定か可能です。

本社 ■〒110-0016 東京都台東区台東2-29-12サンケイホワイトビル4F
TEL.(03)5688-1061 FAX.(03)5688-1065
大阪支店 ■〒532-0011 大阪市淀川区西中島6-1-19
TEL.(06)307-7311 FAX.(06)307-7727
福岡支店 ■〒812-0016 福岡市博多区博多駅南4-3-9 アバント06
TEL.(092)414-0251 FAX.(092)414-0125

パーソナルコンピュータベースの研究システム

基礎医学研究用システム

Biomedical Research System / **LEG-1000**

多岐にわたる基礎医学の研究に、
先進の技術でデータ収集・処理・解析・レポートの
作成までをトータルにサポートする、
パーソナルコンピュータベースの
研究用システムです。

フレキシブルなシステム構成

各種カブラ・プラグインタイプの小型ヘッドアンプ・システム本体・アナライザで構成されています。またソフトウェアで用意された各種VI（仮想計測器）とカスタマイズ機能により、実験目的に合わせたシステム構築に柔軟に対応します。

高精度ヘッドアンプ・カブラ群

アイソレーション方式を採用し、電気的安全性が大幅に向上、デジタル化により外部雑音除去能力も向上。

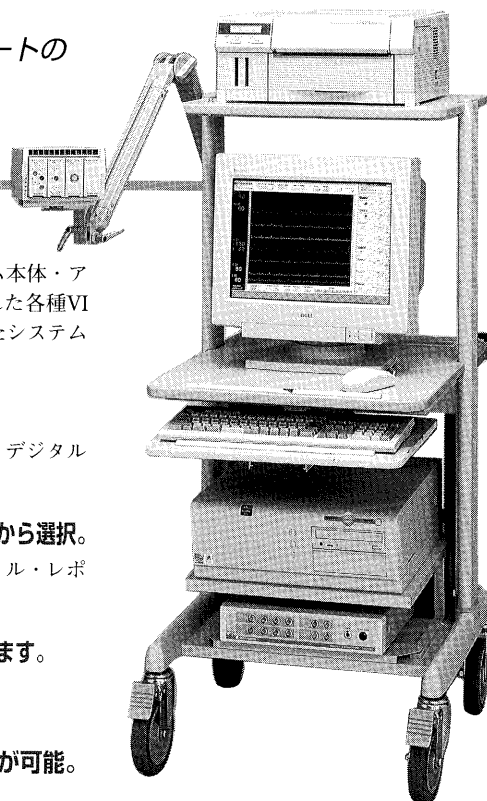
ノートタイプ、デスクトップタイプのパーソナルコンピュータから選択。

動作環境は MS Windows95、測定データの解析・データファイル・レポート作成が容易。

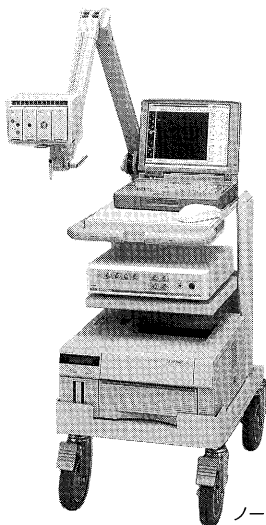
アンプはソフトウェアで管理、長期間安心してご使用いただけます。

16チャンネルまでの信号の同時計測・処理が可能。

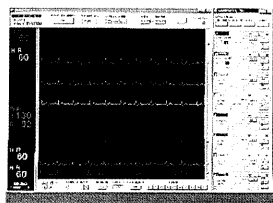
ポリグラフ等、既存装置からのアナログ信号の取り込みが可能。



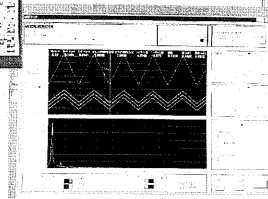
デスクトップ型パソコン構成



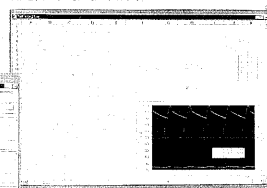
ノート型パソコン構成



POLY計測画面



VC計測画面



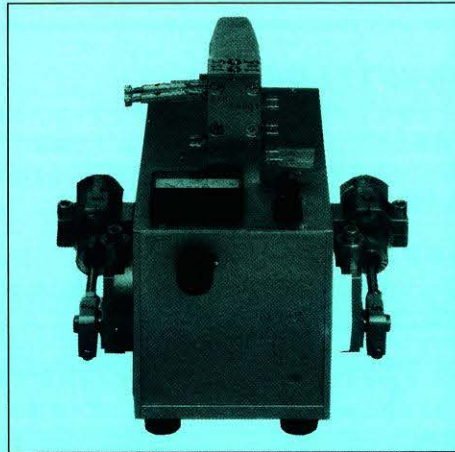
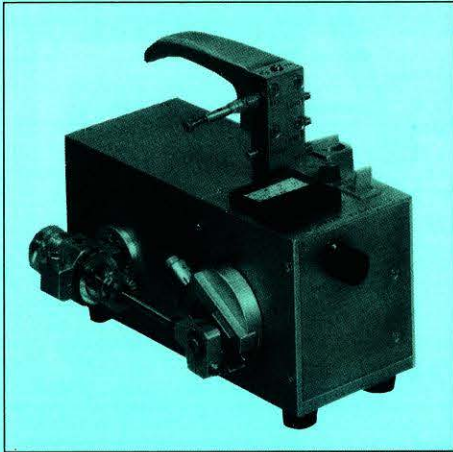
エクセル画面

日本光電

〒161-8560 東京都新宿区西落合1-31-4
☎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

〒113-8551 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)
〒565-0082 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三〇一〇
布施ビル四階
日本生理学会
金子章道

印刷者

〒九九七〇〇二八
山形県鶴岡市山王町一四二四
平田
鶴岡印刷株式会社 正

発行所

〒一三三〇〇三三
東京都文京区本郷三丁目三〇一〇
布施ビル四階
日本生理学会

振替電
A 話
替 X (〇〇三三)
〇〇三三
一三三

定価 三八一円
〇八八五
〇八一五
千六二六
四三三二
円三〇九四