

日本

生理学

雑誌

JOURNAL OF THE PHYSIOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

61 巻 10 号 1999

〔巻頭言〕 西野仁雄：生理学の面白さ，楽しさ…………… 321

INFORMATION…………… 322

CALENDAR…………… 323

RECORDS…………… 324

PROFILE…………… 349

実験技術講座

シリーズ「生理学者のためのモニタリング技術講座」

横山 秀 克：一酸化窒素の *in vivo* 計測…………… 351

中原大一郎・加 藤 武：マイクロダイアリシスによる細胞外物質濃度の測定…………… 363

原 著

大石康晴・石野昭彦・永野 恵・飯島典生・大平充宣・宮本英七・井端泰彦：

後肢懸垂によるラットヒラメ筋線維のミオシン重鎖

アイソフォーム発現パターンの変化…………… 377

石野昭彦・大石康晴・永野 恵・飯島典生・大平充宣・宮本英七・井端泰彦：

2,5-ヘキサンジオン投与によるラット会陰筋の

ミオシン重鎖アイソフォーム成分の変化…………… 383

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巻しはじめています。

ノルダス社日本責任代理店：

ショーシンEM株式会社

〒444-0241 愛知県岡崎市赤沢町蔵西1-14

TEL：0564-54-1231

FAX：0564-54-3207

E-Mail：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〕 生理学の面白さ, 楽しさ (名古屋市立大学医学部第二生理学教室 西野 仁 雄) … 321

INFORMATION

Workshop on The Molecules of Pain : Molecular Approaches to Pain Research …… 322

CALENDAR

主な研究集会開催日程…………… 323

RECORDS

日本生理学会平成11年度第1回常任幹事会議事録…………… 324

日本生理学会平成11年度評議員会・総会議事録…………… 330

第76回日本生理学会大会教育シンポジウム報告 (高田明和) …… 336

佐賀医科大学医学教育の現状と課題 大講座制20年の経験から (舘原嗣尚) …… 337

琉球大学におけるカリキュラム改革 (小杉忠誠) …… 338

久留米大学における医学教育ワークショップ (東 英穂) …… 340

医学教育の改革; 現状と将来像 (西園昌久) …… 342

基礎医学の後継者養成問題—サイエンスの論評

「Physician-scientists ; endangered but essential」の紹介 (高田明和) …… 343

教育シンポジウムの「まとめ」と

大分医科大学新カリキュラム(案)の概要 (有田 眞) …… 345

会員消息…………… 348

PROFILE

「生理学者群像」(多久和 陽) …… 349

実験技術講座

シリーズ「生理学者のための分子モニタリング技術講座」

横山 秀 克: 一酸化窒素の *in vivo* 計測 …… 351

中原大一郎・加藤 武: マイクロダイアリシスによる細胞外物質濃度の測定 …… 363

原 著

大石康晴・石原昭彦・永野 恵・飯島典生・大平充宣・宮本英七・井端泰彦:

後肢懸垂によるラットヒラメ筋線維のミオシン重鎖

アイソフォーム発現パターンの変化…………… 377

石原昭彦・大石康晴・永野 恵・飯島典生・大平充宣・宮本英七・井端泰彦:

2, 5-ヘキサンジオン投与によるラット会陰筋の

ミオシン重鎖アイソフォーム成分の変化…………… 383

巻頭言

生理学の面白さ、楽しさ

名古屋市立大学医学部第二生理学教室

西野 仁 雄

昨年12月に、バナーラスで開かれた第10回インド生理学会に出席し、インドを旅する機会があった。その際、機内の座席に配布されている小冊子に興味ある記事を見つけた。それはチベット仏教と近代物理学の奇妙な類似点について述べている小文である。

チベット仏教では、“nothing exists in itself or by itself as a separate unit, but is dependent on a variety of conditions and related to everything else in the world……”と考えられているようで、一方近代物理学の Quantum Theory では、“An elementary particle is not an independently existing unanalysable entity. It is, in essence, a set of relationships that reach outward to other things.”と考えられているという。

このような発想は「生理学」の考え方、研究方法そのものではなかろうか。生理学では個々の細胞あるいは細胞下の生理及び生物物理現象の解析からはじまり、細胞の集団としての組織や器官のはたらき、さらには器官系を経て最終的に個体のもつ機能を解明していく。逆に個体の機能を細胞あるいは細胞下のレベルに還元してその成り立ちを解析する。チベット仏教、近代物理学、生理学、ちょっと奇妙な組み合わせではあるが、基本的な考えには共通するものがあるのだろう。

しかし、現状はどうであろうか。生理学の研究対象分野がすごく拡大するとともに、一方で非常に細分化、専門化したため、各研究者はそれぞれの分野における課題を解決するために、一定の方法論を使って悪戦苦闘していて、仲々全体像を描くところ迄は至らないというのが現状ではなかろうか。そしてこのような傾向は今後益々加速されるものと予想される。

生理学の面白さ、楽しさは、個々の細胞の現象が個体レベルで、また個体機能が一つの細胞レベルで論じられ、橋渡しされるところにあるのであって、この視点が欠落すればもはや生理学とはいえなくなるだろう。我々生理学教育に携わるものとしては、生理学のもつこのような面白さ、楽しさをいかに学部学生、大学院学生ぶつけることができるか、また感じさせることができるかであろう。

研究の手法や技術は日進月歩で、時代とともに移り変わる。それらの技術を十分に活用し、常に個体レベルに立ち帰って生物機能の成立つ仕組みを追求するという生理学の研究姿勢を持ちつづけるならば、21世紀において新しい飛躍があると考えられる。

INFORMATION

* 最新の情報は生理学会ホームページをご覧ください(URL: <http://wwwsoc.nacsis.ac.jp/psj/>)

Workshop on The Molecules of Pain: Molecular Approaches to Pain Research

会 期: 2000年2月28日～3月1日

会 場: Instituto Juan March de Estudios e
Investigaciones (マドリッド, スペイン)

会の形式: 招待演者による講演と
一般演題(ポスター発表)

招待演者: A. I. Basbaum (San Francisco)

一般参加: 最大25名まで. 参加費無料. 旅費援助あり(大学院後半の院生または若いポスドクが対象. 申込時に略歴, 業績一覧, 現在の研究の興味についての簡単な文書を添付のこと, ポスター発表の意思(1ページの抄録を添付)があるとポジティブに評価される). Application form はない.

一般参加の申込締め切り: 1999年11月29日

申 込 先: Insituto Juan March, Castello 77, 28006
Madrid, Spain

TEL: 34 91 435 42 40

FAX: 34 91 576 34 20

オーガナイザー:

F. Cervero (Universidad de Alcala, Madrid, Spain)

S. P. Hunt (University College London, UK)

講 演 者:

A. I. Basbaum (San Francisco, CA. USA)

C. Belmonte (Alicante, Spain)

F. Cervero (Madrid, Spain)

D. L. Hammond (Chicago, IL. USA)

S. P. Hunt (London, UK)

J. C. Hunter (Palo Alto, CA. USA)

M. J. Iadarola (Bethesda, MD. USA)

D. Julius (San Francisco, CA. USA)

B. Kieffer (Illkirch, France)

A. B. MacDermott (New York, NY. USA)

R. Maldonado (Barcelona, Spain)

P. Mantyh (Minneapolis, MN. USA)

S. B. McMahan (London, UK)

K. Mizumura (Nagoya, JAPAN)

P. W. Reeh (Erlangen, Germany)

H. G. Schaible (Jena, Germany)

I. Silos-Santiago (Cambridge, MA. USA)

W. D. Snider (St. Louis, MO. USA)

G. L. Wilcox (Minneapolis, MN. USA)

J. N. Wood (London, UK)

B. J. Woolf (Charlestown, MA. USA)

A. Zimmer (Bethesda, MD. USA)

CALENDAR

主な研究集会開催日程

開催日 (演題締切)	名 称	会 場	連 絡 先
00. 2.28- 3. 1 (99.11.29)	The Molecules of Pain : Molecular Approaches to Pain Research	スペイン：マドリッド	Insituto Juan March, Castello 77, 28006 Madrid, Spain ☎ : 34 91 435 42 40 FAX : 34 91 576 34 20
00. 3.27-29 (99.11. 6)	第77回日本生理学会大会	日吉：慶應大学日吉キャンパス	慶應大 医 生理 E-mail : physio77@physiol. med. keio 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送りください。

RECORDS

日本生理学会平成11年度第1回常任幹事会議事録

日 時：平成11年3月27日(土) 午後1時～4時45分

会 場：長崎大学医学部

出席者：黒島晨汎，青木 藩，本間研一，丹治 順，伊藤正男，小澤滯司，工藤典雄，中島祥夫，板東武彦，植村慶一，金子章道，栗原 敏，佐藤昭夫，高橋國太郎，本郷利憲，本間生夫，御子柴克彦，宮崎俊一，入来正躬，岡田泰伸，久場健司，西野仁雄，熊沢孝朗，富田忠雄，永坂鉄夫，津本忠治，福田 淳，松尾 理，森本武利，菅 弘之，瀬山一正，前田信治，有田 眞，堀 哲郎，山下 博，高田明和(教育委員会委員長)，久保田競(動物実験委員会委員長)，小坂光男(当番幹事)，佐藤俊英(同)，相川忠臣(同)，松田好弘(同)

欠席者：佐藤 誠，土居勝彦，貴邑富久子，三浦光彦，熊田 衛，小野武年，曾我部正博，大森治紀

議 長：小坂光男(当番幹事)

<報告>

1. 庶務報告(本郷庶務幹事)：会員について，平成10年11月～平成11年3月の期間の入会111名，退会45名，自然消滅141名，会員総数3486名(一般会員3206名，特別会員31名，名誉会員10名，準会員168名，賛助会員37名，寄贈交換34件)である旨報告され，一般会員が若干減少傾向にあることに対する懸念が表明された。

評議員 菊地邦雄氏及び田中育郎氏の逝去が報告され哀悼の意が表明された。

日産科学振興財団学術研究助成奨励研究の候補として推薦した佐藤容子氏(東京医科歯科大)の「ニューロン活動の光学的イメージング解析による循環・呼吸中枢の機能構築に関する研究」が採択されたことが報告された。

「音楽の神経科学：国際シンポジウム'99」(1999. 10. 15～17)への後援および「第8回インテリジェント材料シンポジウム」(1999. 3. 16)への協賛の要請に対し応諾したことが報告された。

常任幹事の選挙が行われ，選挙管理委員会より投票結果の通知を受け幹事会に報告したが，その後2名の辞退者があったので直接意志を確認の上次点者を繰り上げ，最終的に決定したことが報告された。

IUPS に対する醸金の問題が決着したことが報告された。(後述)

昨年発足した生物科学学会連合から日本生理学会へ加盟要請があり，三専任幹事で協議して受諾したことが報告された。本連合は生物科学関係の情報連絡並びに必要なに応じての連合としての意志表示を行うことを目的としているが，加盟学会への拘束は比較的緩やかであり当学会としてもデメリットはないと思われること，但し運営費として年額5000円の拠出が必要であること，が述べられ諒承が求められた。

2. 会計報告(栗原会計幹事)：平成10年度の会計決算報告が行われ細目についての説明があった。主要収入である会費収入が数年来の会員数減少傾向に伴い減ってきていること，日生誌の発行形態の変更に伴い論文掲載料が減少していること，生理学用語集の刊行による印税収入の増加があったこと，論文表題集からの収入が申し込み件数の減少によって数年前より減っていること，日生誌に連載が複数掲載されるようになって印刷頁が増え会誌印刷代が増えたこと，会誌発送代はニュースレター形式になって軽減していること，日生誌の連載講座で寄稿者が会員外の場合1件5000円を原稿料として支出したこと，委員会活動費から教育委員会への補助20万円を

支出したこと、通信費には生理研連のアンケート發送代金が含まれていること、FAOPS 会費は1人1ドルで計算したものであること、生理研での実験技術トレーニングに対して予備費から20万円の補助を行ったこと、などが述べられた。尚、国際交流基金の10年間の蓄積分約250万円から IUPS への醸金(後述)13800ドル(約160万円)を支出した旨の説明があった。

植村会計監事より、高橋監事とともに監査した結果平成10年度の会計が適切に処理されたことを確認した旨の報告があり、提出された決算報告が承認された。

3. 日本生理学雑誌編集委員会報告(金子編集幹事): 委員会は平成11年1月30日及び3月27日に開催されたこと、前回の常任幹事会で認められた編集委員選出内規に基づき、専門分野を考慮して新委員を選出したことが報告された(任期: 平成11年3月末日)。新委員は以下の通り: 金子章道(感覚)、青木 藩(呼吸)、小野田法彦(感覚)、河南 洋(自律神経、内分泌)、工藤典雄(運動、発生・成長・老化)、窪田隆裕(腎・体液)、黒島晨汎(環境)、小西真人(筋)、佐久間康夫(生殖)、佐々木成人(運動)、高田明和(血液)、菅屋潤壺(栄養・代謝・体温)、高松研(神経化学)、土居勝彦(心臓・循環)、中島祥夫(運動)、成瀬 達(消化・吸収)、野崎修一(運動)、野村正彦(高次中枢、行動・リズム)、日地康武(感覚)、福田 淳(感覚、高次中枢)、村上政隆(膜輸送)、吉岡利忠(体力)、小山なつ(ホームページ担当)。

新しい会員名簿を作成中であること、日生誌1, 2号の発行が会員名簿の作成作業と重なったために遅延したこと、現在61巻4号まで編集が完了していること、平成10年度論文表題集を発行したこと、が報告され、実験技術講座を教育委員会の協力により連載中であることにに関して同委員会への謝意が表明された。

ホームページの充実に努めているとの報告があり、会の案内や人事公募状況の広報などに一層の活用を期待したい旨述べられた。

4. JJP 編集委員会報告(菅委員長): 委員会(第155回)は平成11年3月6日に開催されたことが報告され、投稿状況、審査、編集に関する説明が行われた。この中で、過去1年間で投稿は93編(総説13, 原著70, 短報10, 却下16, 取り下げ7)あったこと、

総説を除く却下率は22%(取り下げを含めると29%)であったこと、過去8~9年の却下率は12~36%(取り下げを含めると23~43%)の範囲にありこれはJJPの質を保つ上で必要な最低限の却下率と判断されること、48巻1~6号の総頁数は794頁で文部省刊行助成を受けるための条件は満たしていること、1997年度のデータで Impact factor が1を越えたが、更に高い値を目指して委員会としては機会ある毎に投稿の勧誘と適宜の引用の宣伝を心がける所存であることが述べられた。

入澤賞(日本生理学会入澤記念 JJP 優秀論文賞)受賞論文として48巻4号掲載の Involvement of NMDA and non-NMDA receptors in the neuronal responses of the primary motor cortex to input from the supplementary motor area and somatosensory cortex: studies of task-performing monkeys, Keisetsu SHIMA and Jun TANJI が選ばれたこと、受賞理由を評議会で説明する予定であること、受賞者には日生誌への受賞論文紹介原稿執筆と写真提出を既に依頼したことが報告された。

今期を以て編集委員の任期が満了する分野での次期委員候補者として、委員会で各分野毎に定員の倍数の候補者を推薦したこと、この中から当常任幹事会での投票により新委員が決定されること、その結果が評議員会で承認され次次期委員長が互選により選出されることの説明があった。

Stanford 大学の非営利の on-line ジャーナル社 High Wire Press から JJP へ full-text on-line 化の勧誘があるが、これには初期投資として300~400万円、また週当たり30万円前後の支出が(JJP 関連の刊行センターの会計で)必要となることが述べられ、小さい学術雑誌にとっては on-line 化は充分メリットがあるのではないかと考えられるが予算が絡むことでもあるので(後段参照)慎重に、しかし前向きに検討して行きたいとの意向が表明された。

昨秋来試行している査読委員間での査読結果の相互開示に関して、セクションエディターから編集委員長宛に審査結果を報告する書類で相互開示に関するセクションエディターの指示を具体的に示すように書式を変更したことが報告された。

特別会員への JJP 贈呈を検討してきたが見送ることになった旨報告があった。

学会誌刊行センターの JJP 関連の平成10年度決算

(見込み)ならびに平成11年度予算の説明があり、製作費として毎年本誌に約1400万円、supplementに約250万円、送料として国内、国外各々300万円前後支出していること、on-line化されると製作費と送料の軽減が見込まれること、収入として大きいのは文部省助成金800万円であるがon-line化した場合これがどのように扱われるか検討が必要であることが述べられた。

5. 評議員選考委員会報告(高橋委員長):平成11年3月15日に委員会を開催し、平成11年度評議員候補者の検討を行い35名の候補者を決定したこと、候補者の中に学位のない者が若干あるが規定上問題はなく、推薦者に問い合わせたところ事情があつて学位取得が遅れているが学会への貢献は充分と考えるので推薦したい旨の返答を得たことが報告された。

6. 選挙管理委員会報告(佐藤委員長):本年は常任幹事の改選期にあたるので、次期常任幹事を各地区所属の評議員の中から地区単位で選挙して572票(有権者数1278名)の投票を得、平成11年2月23日の委員会で開票を行い開票結果を庶務幹事に報告したこと、東北および九州地区の当選者各1名(加藤宏司氏、赤池紀扶氏)から辞退の申し出があつたので次点者を繰り上げて当選とし、31名の次期常任幹事を下記の如く決定したことが報告された。

北海道地区:青木 藩, 本間研一;東北地区:丹治順, 土居勝彦;関東地区:小澤滯司, 貴邑富久子, 工藤典雄, 中島祥夫, 板東武彦;東京地区:植村慶一, 金子章道, 栗原 敏, 本郷利憲, 本間生夫, 御子柴克彦, 宮崎俊一;中部地区:岡田泰伸, 小野武年, 久場健司, 曾我部正博, 西野仁雄;近畿地区:大森治紀, 津本忠治, 福田 淳, 松尾 理;中国四国地区:菅 弘之, 瀬山一正, 前田信治;九州地区:有田 眞, 堀 哲郎, 山下 博。

7. 教育委員会報告(高田委員長):平成10年12月26日に委員会を開催し、次期委員長として佐久間康夫氏(日本医大)を選出したとの報告があり、承認された。

医学・歯学領域の生理学会員に対するアンケートを研究費委員会と共に行い95%を越える回答を得て現在集計中であることが報告され、結果はなるべく早く日生誌に掲載したいとの意向が述べられた。

8. 研究費委員会報告(森本委員長):平成10年11月14日および平成11年3月27日に委員会を開催した

こと、教育委員会とともに研究費、教室スペース、スタッフ数などに関するアンケート調査を実施したが集計結果は来年度に報告する予定であること、本年度国家予算で科学技術振興費は約8%伸びているが詳しくは日生誌60巻1号にアドレスを掲載した各省庁のホームページを通じてチェックしてほしいこと、昨年度日生誌10月号に掲載した生理学関係の科研費配分結果に一部集計ミスがあつた(神経・筋肉生理学の部に900万円の漏れがあつた)ことが報告された。

研究費委員会の次期委員長の推薦に関して、委員会としては継続性などを考慮して小澤滯司氏を推薦したい旨表明された。

9. 動物実験に関する委員会報告(久保田委員長):平成11年3月27日に委員会を開催したこと、昨年5月から日本神経科学学会と合同で新しい動物実験のガイドラインを作るための作業をしてきた結果、今回昭和63年に制定された動物実験指針の改定案である「生理学領域における動物実験指針」を提出することになったことが報告され、資料によって内容の説明が行われた。動物実験に反対する立場から「動物の保護及び管理に関する法律」を改訂しようとする動きがあることに鑑み、「実験指針」に加えて委員会としての意見を「説明」として書いたこと、不完全な部分もあるが米国生理学会の指針よりいくらか良いものが出来たと考えていること、会員に周知徹底して来年度以降会としての規約にしてほしいと考えていること、などが述べられた。

10. 生理学用語委員会報告(植村委員長):懸案であつた「生理学用語集 改訂第5版」が昨年8月南江堂から出版されたこと、庶務幹事と南江堂の間で出版契約書の調印が終わり第1回の印税329000円が日本生理学会宛振り込まれたことが報告された。

用語委員会は当初の目的を達成したので前例にならって解散し、関連の事務は編集幹事の扱いとし、次回改訂が必要な時に新たに委員会を組織するとの提案がなされ了承された。

11. 国際交流委員会報告(金子委員長):Sankt Petersburgで開催されたIUPS第33回大会(1997年)で出来た赤字をめぐる問題が決着したことが報告され、経過が説明された。IUPSはシンポジウムの組織委員長及びlecturerに対する未払い金処理のための特別基金を作るのに各国生理学会へ資金援助

要請を行ったこと、日本生理学会に対しては23000ドルの要請があったこと、前回常任委員会でやむを得ることとして応諾を決定し具体的な金額については庶務、会計、編集の三幹事に委ねたこと、IUPSとの交渉の結果要請額の60% (13800ドル)を拠出することになったことが述べられ、昨年12月31日付けのWeibel (President)とNoble (Secretary)の署名入りの最終報告が資料として示された。第34回IUPS Congress (2001年)の説明と日本からの参加勧誘のためにNew Zealand Physiological Conference SocietyのPaul Hill博士(Executive Secretary)が来日されており、常任幹事会と総会で挨拶されることになった旨の報告があった。

日本生理学会の第34回IUPS Congressへの取り組みに関して、国際プログラム委員として岡田泰伸および金子章道の両氏が指名されていること、来月ワシントンで委員会が開催されること、が報告され、次回大会はsynthesiaという形でdiscussionを中心として行われるがテーマ、演者などについて案があれば提出してほしい旨の要望が述べられた。

IUPSへの拠金問題に関して質疑があり、今回の処理は前例となるのか、また今後このようなことが起こらないようにする対策が考えられているのかとの質問に対し、前例とはしないこと、大会開催までの中間期に再確認作業を行って必要ならば代替地を採用する等の対策をとることが考えられている旨、金子委員長より返答があった。

12. 将来計画委員会報告(松尾委員長):平成11年3月28日に委員会を開催する予定であること、「若手の会」が活動を始めていること、が報告された。

13. 日本医学会評議員会報告(植村幹事):平成11年2月23日に第66回日本医学会評議員会が開催され、第25回日本医学会総会の準備状況報告、平成10年度日本医学会年次報告があったこと、平成11年度日本医学会事業計画として第25回日本医学会総会(東京、平成11年3月30日～4月8日)、日本医学会シンポジウム、医学用語管理事業、日本医師会医学賞、医学研究助成事業が承認されたこと、平成10年度日本医学会新規加盟学会として日本集中治療学会が承認されたこと、第26回日本医学会総会は平成15年福岡で開催されることになったこと、が報告された。

14. 日本学術会議第7部生理学研究連絡委員会報

告(本郷委員長):平成10年11月27日委員会(第17期、第3回)を開催し、第129回日本学術会議総会及び第7部部会(平成10年10月27日～30日)の主要事項として、吉川会長の「新しい学術研究プロジェクトの推進と総合的な科学技術制作樹立のための体制の早期整備について」の試案が審議されたこと、各研究委員会の学問研究領域の説明文書がまとめられたこと、第7部部会で「動物の保護及び管理に関する法律」の改正問題が審議され効果的な方法で対応して行くとしたこと、などについて委員長より説明されたことが報告された。また、報告書「生理学の動向と展望」に関するアンケート調査の集計方法として回答データ(約1200名分)を委員全員で分担して生理研岡田研究室の森島氏作成のソフトで入力することが決められたこと、「動物の保護及び管理に関する法律」の改正問題について委員長から状況と経過が説明され今後の対応を協議したこと、が報告された。

学術会議第4常置委員会から検討依頼があったことが報告された。その内容は、平成12年から科研費の基盤研究、萌芽的研究、奨励研究Aは日本学術振興会へ移管する予定で作業が続けられており、その際審査体制を充実させる目的で予算要求が行われているようであるが、もしそれが認められると審査員の人数が増えることが予想されるので、そのような場合審査員の推薦をどこへ依頼するか検討してほしいというものである。これに関して、生理学関係の科研費の細目(生理学一般、環境、筋・神経)の中で環境と筋・神経の審査員は各々現在の3名から6名に増える可能性があることが説明され、この問題は研連の中で審議検討すべきことであるが生理学会として重要なことであるので意見があれば研連委員(長)宛申し出てほしいという要望が述べられた。

15. 第77回(平成12年)日本生理学会大会の準備状況報告(植村幹事):植村及び金子両氏が当番幹事となって慶應義塾大学で担当すること、会期は平成12年3月27日(月)～29日(水)とし、会場は慶應義塾大学日吉キャンパスとしたこと、参加者は1500人程度、演題数は1000程度を見込んでいること、プログラムの細部は未定であるが関東・東京方面の会員に協力を依頼して組織委員会を作り検討中であること、予定会場には大きい教室が十分あるので口頭発表かポスター発表かの選択は発表者の意向に沿うつもりであることが述べられた。また、これまでのような邦文

予稿集は止めて JJP の proceedings を学会開催までに作り配布することを考えているが、賛否区々に分かれるようなので未だ決定には至っておらず、意見があれば聞かせてほしい旨の要望が述べられた。

16. 第76回(平成11年)日本生理学会大会報告(小坂当番幹事):平成11年3月28日~30日長崎大学文教キャンパスを会場として行うこと、これに先立って生理学を一般市民へ解放する目的で公開講演会を開催したこと、発表形式として口頭発表を増やすことを意図したが種々困難があり、実際上は前3回の大会を参考としてほぼ昨年の金沢での大会運営方式を踏襲したこと、参加受付もほぼ前大会と同様であること、特別講演3題、シンポジウム20題、一般発表850題が行われる予定で2000人近い参加者が見込まれること、また次期 IUPS Congress 開催地の New Zealand から Executive Secretary の Hill 博士が来日され宣伝と挨拶を希望されていること、などが述べられた。

<議題>

1. 前回議事録の承認:前回の常任幹事会議事録(案)が提出され、訂正(字句修正1カ所、語句補填1カ所)の後承認された。

2. 役員の改選:本郷庶務幹事より各種委員会の委員長選出方法について説明があった。従来常任幹事会での選挙による選出を行ってこなかった委員長に関して、動物実験に関する委員会の委員長は今回から常任幹事会で選出することにしたいこと、教育委員会の委員長はこれまでの経緯もあるので委員会から推薦を受けてこれを常任幹事会が承認するという方式で行いたいこと、賞選考委員会は若手奨励賞選考委員会が発足すれば肩代わりされる可能性もあるが今回は今まで通り一応庶務幹事が委員長になっておくこと、が述べられた。

投票を行い、選挙管理委員立ち会いの下に開票を行い、以下の新役員が選出された。庶務幹事:本郷利憲、会計幹事:栗原 敏、編集幹事:金子章道、会計監事:植村慶一、宮崎俊一、評議員選考委員会委員長:宮崎俊一、選挙管理委員会委員長:本間生夫、会則委員会委員長:工藤典雄、研究費委員会委員長:小澤滯司、動物実験に関する委員会委員長:中島祥夫、将来計画委員会委員長:松尾 理、国際交流委員会委員長:金子章道、教育委員会委員長に

は同委員会佐久間康夫氏が推薦され、常任幹事会で承認された。

各種委員会委員の選出に関して本郷庶務幹事から、これまで同一人があまりにも重複して各種委員会の委員に推薦されている場合は庶務幹事が調整してきたが、各委員長はこのことを理解した上で委員を推薦願いたい旨の要望が述べられた。

3. 平成11年度予算案について:栗原会計幹事より平成11年度予算案が提出され、承認された。

審議の中で、一般会員の減少傾向に鑑み会費収入を昨年度より低く見積もったこと、若手の会への助成金支出のため委員会活動費を昨年度より増やしたこと、名簿積み立て金を収入との関係で昨年度の半分にしたこと、FAOPS 会費は会員1人あたり2ドルで計上したので昨年度の2倍になっていること、などが説明された。また、若手奨励賞が承認された場合必要となる40万円(10万円×4件)は賛助会費から支出する予定であること、賛助会費は現在46口(1口5万円)、過去3年で約460万円貯まっており、賛助会員募集の趣意書に若手会員の活性化ということが書かれていることでもあるので奨励賞を賛助会費から支出するのは妥当と考えること、が述べられた。

質疑で、来年度は繰り越し金が殆どなくなるのではないかと質問があったが、栗原幹事より、減少は確かであるが、収入増のための会費値上げは反って会員数の減少につながると思われるので賛助会員の増加をはかりたい旨の意向が述べられ、賛助会員勧誘への協力が要望された。

4. JJP 編集委員会委員の半数改選について:菅 JJP 編集委員会委員長の説明に基づき編集委員会から推薦された候補者について投票を行い、以下の委員を選出した。高橋國太郎(興奮膜生理)、岡田泰伸(分子・細胞生理)、大森治紀(感覚生理)、菅 弘之(循環生理)、野間昭典(循環生理)、黒島晨汎(環境生理)、佐藤昭夫(自律神経生理)。

5. 評議員の推薦について:評議員選考委員会から推薦のあった35名の評議員候補者を評議員会において評議員に推薦することが承認された。

6. 若手奨励賞について:本郷庶務幹事より若手奨励賞の審議経過について説明があり、前回常任幹事会以降三専任幹事で検討された規定の案文が提出され、説明がおこなわれた。特に注意すべき事項と

して、「選考委員は直前に科研費審査委員の任期を終えた日本生理学会会員」という規定は、「直前に任期を終え且つ公表された会員」という意味であり、平成11年度に関して言えば(平成10年度の審査員にはまだ氏名を公表できない人がいるので)平成9年度に審査を行った人が該当することが説明された。案文は、細則及び申請書について各々1カ所字句修正の上承認された。

7. 動物実験指針改訂案について：久保田委員長より「動物の保護及び管理に関する法律」改正への動きの現状、今回の動物実験指針改訂案提出に至った経緯ならびに改訂方針が説明され、今後この案を会員に周知徹底して意見を求め、学会の規約にして行くことが提案され、了承された。関連して、「ガイドラインの説明」をインターネットに乗せることの可否について質問があったが、久保田委員長より差し支えない旨の返答があった。

8. 常任幹事の特別枠について：本郷庶務幹事より、将来計画委員会から出された提案で未だ懸案に

なっている議題の中、今回は常任幹事の特別枠に関する件のみ話題とすることが述べられた。常任幹事の特別枠については前回の常任幹事会で女性の枠、若手の枠、医学部外会員の枠などについて討議されて以後懸案事項になっているが、三専任幹事の意見として、とりあえず女性の枠を考慮すること、女性の枠を認める場合それを明文化する作業は会則委員会に委ねること、を提案したい旨表明された。これに対して、女性の枠を特に明文化するのは時代遅れではないか、むしろ庶務幹事推薦の枠を2～3人作りその中に女性を選べば良いのではないかと、との質問があったが、本郷庶務幹事より、そのような方法をも含めて会則委員会で検討願いたい旨返答があり、提案は了承された。

9. 第78回(平成13年)日本生理学会大会開催地について：京都大学の川口、野間、大森、平野の各氏を当番幹事として行われることが前回の常任幹事会で承認されているが、今回の常任幹事会で再度確認された。

日本生理学会平成11年度評議員会・総会議事録

日 時：平成11年 3月29日(月) 午後 4時50分～6時45分
 場 所：長崎大学中部講堂
 議 長：小坂 光 男(当番幹事)

1. 平成11年度第1回常任幹事会報告(小坂当番幹事)

常任幹事会は平成11年 3月27日(土) 午後 1時から 4時45分まで開催され、以下の議事で述べる報告事項及び審議事項を検討した。今年度は常任幹事の改選の年度であり、旧幹事及び新しく選出された新幹事の両者が出席し、各種委員会等の報告がなされた後、旧幹事は退席し、平成11～13年度の3年間の庶務幹事、会計幹事、編集幹事、会計監事及び各種委員会等の委員長等を選出した。

なお、評議員会・総会に先立って、2001年のIUPS大会(ニュージーランド)の Executive Secretary の Paul Hill 教授より大会の準備状況の説明と出席勧誘がなされた。

2. 庶務報告(本郷庶務幹事)

一般会員3,206名、特別会員31名、名誉会員10名、準会員168部、寄贈・交換34部、合計3,449名(部)であることが報告された。

3. 特別会員の推薦について(本郷庶務幹事)

日本生理学会の特別会員として、川崎医科大学名誉教授の岡田博匡氏が推薦され、福田博之氏(川崎医科大学)より推薦理由が述べられたのち、承認された。

4. 会計報告及び11年度予算(案)について(栗原会計幹事)

平成10年度の会計決算報告が提出され、収入合計40,430,850円、支出合計36,117,453円で、平成11年度への繰越金は4,313,397円になること、支出項目は前年度と同じであったが委員会活動の活性化のために旅費が予算額より増額になったことが報告された。植村会計監事より、高橋監事とともに会計監査をした結果、適切な会計である旨、報告された。その後決算書の通り合計決算報告が承認された。

平成11年度予算案が提出され、収入見込額および支出見込額が35,351,397円であること、FAOPS会費は会員1人分2ドルとなり増額になったことなど

日本生理学会庶務報告
(平成10年12月末現在)

会 員	
一般会員	3,206名
特別会員	31名
名誉会員	10名
準会員	
学校図書館	104部
研究所・書店	64部
寄贈及び交換	
外 国	21部
国 内	13部
合 計	3,449

特別会員(31名)

井 上 章	伊 藤 真 次	石 河 延 貞
市 岡 正 道	岩 瀬 善 彦	岩 間 吉 也
内 蘭 耕 二	及 川 俊 彦	大 村 裕
岡 本 彰 祐	河 村 洋 二 郎	後 藤 昌 義
額 額 教 三	酒 井 敏 夫	須 田 勇
杉 靖 三 郎	鈴 木 達 二	錢 場 武 彦
中 馬 一 郎	塚 田 裕 三	間 田 直 幹
名 取 禮 二	中 村 治 雄	中 山 沃
永 井 寅 男	長 嶋 長 節	西 田 勇
古 河 太 郎	本 間 三 郎	松 下 宏
望 月 政 司		

名誉会員(10名)

Tasaki Ichiji	Arimura Akira
Charles Edwards	Eckhart Simon
Edward R. Perl	Robert F. Schmidt
Thomas B. Bolton	Wolfgang Trautwein
Kiyomi Koizumi	Denis Noble

が説明され、原案通り予算案は承認された。

5. 日本生理学雑誌編集委員会報告(金子編集幹事)

第60巻(平成10年)の編集は、製本4冊、ニュース

平成10年度日本生理学会会計決算報告

(自 平成10年1月1日 至 平成10年12月31日)

(単位: 円)

		収		入	
(内 訳)	10年度予算	10年度決算	差	額	備 考
A 前年度繰越金	6,873,349	6,873,349			
B 平成10年度収入	32,969,500	33,557,501			
会 費	25,880,000	25,770,500	－109,500		一般会員・臨時会員
購 読 料	1,624,500	2,101,000	476,500		準会員(研究所・図書館等)
論 文 掲 載 料	200,000	128,591	－71,409		
広 告 料	2,700,000	2,666,160	－33,840		
会誌分冊売り	5,000	10,600	5,600		
預 金 利 子	10,000	5,505	－4,495		
日本医学会奨励金	200,000	200,000	0		
印 税	300,000	522,008	222,008		用語集・実習書・MCQ
論 文 表 題 集	2,000,000	2,086,000	86,000		
雑 収 入	50,000	67,137	17,137		
収入計(A＋B)	39,842,849	40,430,850	588,001		

支		出		
(内 訳)	10年度予算	10年度決算	差 額	備 考
会 誌 印 刷 代	11,600,000	13,517,911	－1,917,911	59.10～60.9, サプルメント
会 誌 発 送 代	2,700,000	2,610,620	89,380	同上
編 集 会 議 費	50,000	40,912	9,088	日本生理学雑誌
校 正 料	100,000	0	100,000	同上
原 稿 料	50,000	40,000	10,000	同上
委 員 会 活 動 費	400,000	200,000	200,000	教育委員会
大 会 援 助 費	900,000	900,000	0	長崎大学
事 務 室 使 用 料	2,784,000	2,784,000	0	
事 務 室 光 熱 費	330,000	273,797	56,203	
通 信 費	900,000	985,341	－85,341	
事 務 費	900,000	942,802	－42,802	
備 品	50,000	47,302	2,698	ISDN ターミナル, LAN ボード
会 合 費	380,000	309,780	70,220	幹事会, 委員会
旅 費	1,550,000	2,542,095	－992,095	同上
人 件 費	5,500,000	5,304,898	195,102	含(アルバイト)
社 会 保 険	550,000	504,449	45,551	
退職金積み立て	120,000	120,000	0	
名簿積み立て	1,000,000	1,000,000	0	
論 文 表 題 集	2,000,000	2,021,326	－21,326	
国 際 交 流 基 金	250,000	250,000	0	
IUPS 大会準備金	250,000	250,000	0	
FAOPS 会 費	400,000	374,650	25,350	
雑 費	180,000	105,170	74,830	献花, 清掃, 会費返金他
予 備 費	6,898,849	992,400	5,906,449	生理研実験技術トレーニング他
支 出 計	39,842,849	36,117,453	3,725,396	
平成10年度繰越金			4,313,397	

平成11年度日本生理学会予算

(自 平成11年1月1日 至 平成11年12月31日)

(単位:円)

収 入		
(内 訳)	11年度予算	備 考
A 前年度繰越金	4,313,397	
B 平成11年度収入	31,038,000	
会 費	24,434,000	一般会員・臨時会員
購 読 料	1,539,000	準会員(研究所・図書館等)
論 文 掲 載 料	100,000	
広 告 料	2,600,000	
会 誌 分 冊 売 り	5,000	
預 金 利 子	10,000	
日本医学会奨励金	200,000	
印 税	100,000	用語集・実習書・MCQ
論 文 表 題 集	2,000,000	
雑 収 入	50,000	
収入計(A+B)	35,351,397	

支 出		
(内 訳)	11年度予算	備 考
会 誌 印 刷 代	12,000,000	60.10~61.9, サプリメント
会 誌 発 送 代	2,700,000	同上
編 集 会 議 費	50,000	日本生理学雑誌
校 正 料	100,000	同上
原 稿 料	50,000	同上
委員会活動費	500,000	教育委員会・若手の会他
大会援助費	900,000	慶應大学
事務室使用料	3,050,000	含更新料
事務室光熱費	330,000	
通 信 費	900,000	
事 務 費	900,000	
備 品	50,000	
会 合 費	380,000	幹事会, 委員会
旅 費	2,500,000	同上
人 件 費	5,600,000	含(アルバイト)
社 会 保 険	650,000	
退職金積み立て	120,000	
名簿積み立て	500,000	
論 文 表 題 集	2,000,000	
国際交流基金	250,000	
IUPS 大会準備金	250,000	
F A O P S 会費	800,000	
雑 費	150,000	献花, 清掃, 他
予 備 費	621,397	生理研講習会
支 出 計	35,351,397	

日本生理学雑誌第60巻(平成10年度)編集報告

60巻1～12号(7・8号合併)発行11回

60巻総ページ数 430ページ

(内訳)

巻頭言	4
NEWS	6
INFORMATION	62
CALENDAR	11
RECORDS	25
IN JJP	4
PROFILE	7
OPINION	3
TRENDS	1
BOOK REVIEWS	2
追悼	1
生理学実験技術法講座	9
原著	1
学会抄録	7

尚、業績表題集は別冊として刊行

レター形式7冊、発行回数11回(7・8号は合併)、総ページは430ページである、現在会員名簿は印刷中である旨報告された。日本生理学会のホームページを開設しているので、急いで知らせたい学会・シンポジウムの開催や人事の公募等の案内に利用されたい、日生誌とホームページに掲載したい各種情報や意見は、編集委員長と学会の事務局の両方へ同じ原稿で送付して欲しい旨の要望が述べられた。

6. JJP 編集委員会報告(菅委員長)

平成10年度は投稿論文数93編、掲載論文数60編、論文返却率(取下げも含む)29%であった。1997年度JJPのImpact factorは1を越えた、本年度はJJP編集委員の半数改選の年なので、編集委員会は改選分野の次期委員候補者を選考し、本年度第1回目の常任幹事会(平成11年3月27日)で候補者の中から新委員(高橋國太郎(興奮膜生理)、岡田泰伸(分子・細胞生理)、大森治紀(感覚生理)、菅弘之(循環生理)、野間昭典(循環生理)、黒島晨汎(環境生理)、佐藤昭夫(自律神経生理))が選出された、まもなく委員長が選出される(4月7日に菅現委員長の再選が決まった)、旨報告された。

入澤賞候補論文としてJJP 48(4):275-290(1998) K. Shima and J. Tanji を決定した、JJPを

JJP論文投稿状況

(1999年3月5日現在)

月	新規投稿数	掲載数	却下	取下げ
平成10年3月	5(0)	Vol. 48-1	2	
4	7(1)	13		
5	4(0)	Vol. 48-2	3	
6	10(4)	8+Rv1		3
7	10(0)	Vol. 48-3	3	
8	9(2)	6+Rv1		
9	6(2)	Vol. 48-4	1	3
10	7(0)	6+Rv3	2	1
11	15(2)	Vol. 48-5	1	
12	8(1)	8+Rv1		
平成11年1月	5(1)	Vol. 48-6	3	
2	7(0)	9+Rv2		1
3	0(0)	Vol. 49-1:13+Rv2	1	

審査中原稿数 37

過去1年 [()内は Review]: 投稿数93(13), 掲載数60(10), 却下率22%(29%)*
(1998.3~1999.2) *却下率()内は取下げも却下とみなした場合。

1998年度刊行実績: 794頁(Vol. 48-2~49-1: 548;
Suppl: 246) 達成率93%

online化する方向で検討中であることが報告された。

7. 評議員の選考について(高橋委員長)

評議員選考委員会は平成11年度の新評議員候補者35名を推薦し、平成11年度第1回常任幹事会で承認された旨報告された。本評議員会で全員が承認された。

8. 選挙管理委員会報告(佐藤委員長)

本年度は常任幹事の改選期のため、評議員の投票によって8地区から合計31名の次期常任幹事を選出した旨報告された。

9. 教育委員会報告(高田委員長)

昨年、研究費委員会と一緒に医学部と歯学部の各教室に対して、アンケート調査を行った、データ処理の完了次第日生誌に掲載する旨報告された。

10. 若手奨励賞について(本郷庶務幹事)

日本生理学会奨励賞の規定及び選考細則について説明がなされ、諒承された。なお本則は平成11年4月1日より施行され、日生誌およびホームページで

日本生理学会常任幹事

(任期平成11年～平成14年改選時)

北海道地区	青木 藩	本間 研一	
東北地区	丹治 順	土居 勝彦	
関東地区	小澤 滯司	貴邑 富久子	工藤 典雄
	中島 祥夫	板東 武彦	
東京地区	植木 慶一	金子 章道	栗原 敏
	本郷 利憲	本間 生夫	御子柴 克彦
	宮崎 俊一		
中部地区	岡田 泰伸	小野 武年	久場 健司
	曾我部 正博	西野 仁雄	
近畿地区	大森 治紀	津本 忠治	福田 淳
	松尾 理		
中国四国地区	菅 弘之	瀬山 一正	前田 信治
九州地区	有田 眞	堀 哲郎	山下 博

も案内される。

11. 研究費委員会報告(森本委員長)

平成10年度の文部省科学研究費補助金中、生理学関係の4専門分野への配分結果を日生誌60巻10号(1998年)に記載した、平成11年度の家計予算中、科学技術振興費は昨年より8.1%増額になっているので、詳細は各省庁のホームページで見て欲しい旨述べられた。

12. 動物実験に関する委員会報告(久保田委員長)

「動物の保護及び管理に関する法律」を改正しようとする動きがあることから、本会で昭和63年に制定した「生理学領域における動物実験に関する基本的指針」を改訂すべく検討して、「生理学領域における動物実験に関する具体的方針」及び「動物実験研究ファイル」からなる新指針の案を作成した、本改訂案を日生誌やホームページを通して会員に周知させ、コメントを受けた後、最終の改訂案を作成して、再度常任幹事会にはかりたい旨の報告がなされた。

13. 生理学用語委員会報告(植村委員長)

「生理学用語集」改訂第5版(日本生理学会編)は1998年8月南江堂より出版された、本委員会は当初の目的を達成したので解散し、関連の事務は編集幹事の扱いとして、次回改訂の時に新たに委員会を組織することになる旨報告された。

14. 国際交流委員会、IUPS. FAOPS 報告(金子委員長, IUPS 理事, FAOPS 理事) IUPS 会長の Dr.

Weibel から要請があった第33回 IUPS 大会(St. Petersburg)の赤字補填に対する資金援助として日本生理学会は US\$13,800 拠出した、2001年の第34回 IUPS 大会(ニュージーランド)の国際プログラム委員会には日本生理学会から岡田泰伸教授と金子章道教授が選出され、まもなく行われる委員会に出席する旨報告された。

15. 将来計画委員会報告(松尾委員長)

前回の常任幹事会で本委員会から5つの提案がなされ審議されたこと、今回は常任幹事の定数の中に女性の枠を設ける件について継続審議され、この問題の検討が会則委員会に付託されたこと、が報告された。また本委員会の提案により生まれた「日本生理学会若手の会」の第1回目が、大会の第1日目にJ会場でランチョンセミナー発見への道しるべとして12:00～13:30に開催された、その会の活動費は平成11年度の日本生理学会予算にも計上された旨報告された。

16. 日本医学会評議員報告(植村評議員)

第66回日本医学会評議員会が開催され、平成11年度の事業計画としては、第25回日本医学会総会(3月30～4月8日東京)、日本医学会シンポジウム、医学用語管理、日本医師会医学賞、医学研究助成を行う、第26回日本医学会総会は平成15年(2003年)に福岡で行う、旨報告された。

17. 日本学術会議生理研連委員会報告(本郷委員長)

「生理学の動向と展望」に関するアンケート調査の集計を行っている、まともにもう少し時間を要する、「動物の保護と管理に関する法律」改正問題についての今後の対応を協議した旨の報告があった。

18. 第76回(平成11年)日本生理学会大会報告(当番幹事)

小坂当番幹事より、今大会の参加者は当日参加者を含めて約2千人であること、予稿集に案内の通り、特別講演3題、一般演題841題、公募シンポジウム18題、教育シンポジウム1題、動物実験シンポジウム1題であることの報告があった。

19. 第77回(平成12年)日本生理学会大会の準備状況報告(次期当番幹事)

次期当番校の慶應大学の植村当番幹事より、次期大会は3月27～29日、日吉キャンパスで開催すると報告された。金子当番幹事より、会の運営方式とし

平成11年度日本生理学会新評議員名簿

(敬省略)

氏 名	勤 務 先 名	氏 名	勤 務 先 名
井 川 正 治	日体大 健康管理部	関 泰一郎	日大 生物資源科学
池 田 正 明	埼玉医大 第一生理	高 橋 聖 一	高知医大 第一生理
稲 瀬 正 彦	電子技術総合研究所	竹 内 俊 二	高知医大 第二生理
今 井 一	岐阜大 教育	田 中 健 一	岡山大 医 分子細胞医学研
緒 方 宣 邦	広島大 医 第二生理	中 澤 健	千葉大 医 第一生理
賀 来 智 宏	兵庫医大 第二生理	中 田 恭 史	富山化学工業(株) 総合研
金 丸 新	昭和大学 医学部 第二生理	中 村 一 芳	岩手医大 医 第二生理
金丸みつ子	昭和大学 医学部 第二生理	中 山 貢 一	静岡県立大 薬 薬理
河 端 隆 志	大阪市大 保健体育	畠 義 郎	大阪大 医学部
北 川 誠 一	大阪市大 医 第二生理	飛 田 秀 樹	名古屋市大 医 第二生理
木 村 龍 生	富山化学工業(株) 総合研究所	本 莊 晴 朗	名古屋大 環境医学研究所
工 藤 雅 治	新潟大 脳研 神経生理	前 川 正 夫	獨協医大 第二生理
黒 川 衛	大分医大 第一内科	松 崎 竜 一	関西医大 医 第二生理
小 高 泰	通産省工業技術院 電子総研	三 浦 章	秋田大 医 第二生理
後 藤 真 己	川崎医療短大	横 井 功	岡山大 医 分子細胞医学研
齊 田 光 彦	宮崎医大 第一生理	芳 田 哲 也	京都工芸繊維大
柴 啓 介	千葉大 医 耳鼻咽喉科	吉 村 弘	関西科大 第二生理
砂 川 昌 範	琉球大 医 第一生理		

て、従来型の予稿集と JJP の Proceedings の両方を作成する方式と、新型の大会時に JJP の Proceedings だけを作成する方式のどちらを選ぶかの質問がなされ、前者を要望する方が多数を占めた。したがって従来型で次年度の学会も運営される予定である。

20. 第78回(平成13年)日本生理学会大会の当番校について(本郷庶務幹事)

開催校は京都大学にお願いしたいとの説明があり承認された。京都大学の川口教授から、当番幹事は川口、野間、大森、平野の4名の教授で引き受けること説明された。

21. その他。会場から日生誌に記載されている日本-カナダ合同生理学会の計画はどうなっているのかとの質問があり、金子国際交流委員会委員長より、間もなく計画が発表され、予定通り開催されると報

告された。

22. JJP 平成10年度優秀論文賞(入澤賞)の表彰

JJP 編集委員会より平成10年度の JJP 優秀論文として Shima と Tanji の論文「補足運動野及び体性感覚野からの入力によりサル1次運動野で誘発されるニューロン応答における NMDA と非 NMDA 受容体の関与：運動課題遂行時の細胞活動研究(和訳)」を選んだこと、更に受賞者嶋啓節氏の略歴紹介と選考理由の説明が述べられ、本郷庶務幹事から賞状と賞金が授与された。

23. 謝辞

第75回生理学会大会当番幹事の永坂鉄夫、東田陽博、加藤聖氏を代表して永坂氏から小坂光男、佐藤俊英、相川忠臣、松田好弘第76回生理学会大会当番幹事に対して謝辞がなされた。

第76回日本生理学会総会教育シンポジウム報告

平成8年～10年度教育委員会委員長 高 田 明 和

第76回日本生理学会の教育シンポジウムは3月29日の午後2時より4時40分まで、大会会場で開催された。

九州地区に新設医科大学が開校した時には当時としては斬新なカリキュラムを実践し、全国的にも注目されて来たことは周知の事実である。今回は九州地区で開催されるということで、九州地区に関連する話題をを考え、有田委員、今永委員に相談した。その結果開校以来大講座制を実施し、さらにすべてのカリキュラムを器官系別にしてきた佐賀医科大学について、開校20年を経て、その結果はどうであったかを佐賀医大の顓原教授からお話を伺うことにした。さらに久留米大学では最近学生も含めたユニークなワークショップを開催しているということで、久留米大学の東教授にその実態を、また最近「南方に開かれた大学を」を合言葉にして、抜本的な教育改革を実施している琉球大学医学部の現状を小杉教授にお話し頂くことにした。また座長の有田教授は大分医科大学でまさに実施直前にセまっているカリキュラム改革案を話して頂いた。

また文部省の医学教育関連の委員会で長く委員をされた福岡大学の西園教授には医学教育改革；現状と将来像という講演をお願いし、今後の医学教育の進むべき方向についての意見をうかがった。

さて平成8年から10年までの教育委員会では主として後継者養成問題を取り上げて来た。それは大学院の改革、研修医制度の義務付けなどで基礎医学を目指す医学部卒業生が減少していることをなんとかしたいという委員の希望に基づいたものであった。

今回委員会が3年の任期を終えるにあたり、この議論の総括をする義務が委員長にはあると考えていた。

医師が研究に意欲を失っていることは米国でも大きな問題になっている。平成11年1月15日号の「サイエンス」ではこの問題の論説が載せられている。高田はこの論説を紹介して、現在生理学または基礎医学が抱えている問題に関心を促したいと思い、追加の発表を行った。

教育シンポジウム

「医学教育改革—九州地区の現状をふまえて」

司会 有 田 眞(大分医大 第二生理)

高 田 明 和(浜松医大 第二生理)

1. 始めに

高 田 明 和(浜松医大 第二生理)

2. 大講座制施行20年の経験から

顓 原 嗣 尚(佐賀医大 第一生理)

3. 琉球大学におけるカリキュラム改革

小 杉 忠 誠(琉球大・医・第一生理)

4. 大分医大におけるカリキュラム改革

有 田 眞(大分医大 第二生理)

5. 久留米大学における「教育ワークショップについて」

東 英 穂(久留米大学・医・第一生理)

6. 医学教育の改革；現状と将来像

西 園 昌 久(福岡大・医・精神科)

7. 基礎医学の後継者養成問題—サイエンスの論評「Physician-scientists; endangered but essential」の紹介

高 田 明 和(浜松医大 第二生理)

8. 討 論

9. ま と め

有 田 眞(大分医大 第二生理)

佐賀医科大学医学教育の現状と課題 大講座制20年の経験から

佐賀医科大学生理学講座 瀬原 嗣 尚

[はじめに]

大学改革、教育改革が叫ばれている状況の中で、医学教育は如何にあるべきかを考えるとき、比較的にユニークであるとされてきたわが佐賀医科大学医学教育の現状を吟味して、その長所短所、功罪を「点検・評価」せよ、というのが今回の討論会で私に課せられた役割である。「個性が輝く大学」というキーワードとはうらはらに、改革の名のもとに教育が結局画一化することを危惧するが、それはともかく、以下は私の行った考察の概略である。

[佐賀医科大学医学教育の特色]

20年前の開学以来佐賀医大は徹底した6年一貫教育・統合カリキュラム方式をとってきた。以下、その主な特徴のみを列挙する。

1. 臨床教育重視

いわゆる座学は4年次までに終了し、5年次6年次では臨床実習(選択実習を含む)のみを行う。したがって、各教科の講義コマ数は大変少ない(いわゆる植物機能生理学に相当する部分はたった19コマ、1コマは90分)。

2. 集中講義型・教科目制

統合カリキュラムにそって教科目が設定され(生理学とか外科学とかの講座名を冠した教科目はなく、教育は講座制から離脱する)、それぞれに教科主任がいて責任を持つ。基礎医学教育(フェイズ2)、臨床医学講義(フェイズ3)では、各教科の講義は原則として集中講義方式で行われる(例えば、40コマを3週間で終了)。試験も講義終了直後に課せられる。

3. 学習要項の充実

学習要項に各教科のGIO, SBO, Key Wordsを具体的かつ詳細に記述する。これは講義時間の少ない分学生の自学自習を促し、またそれに役立たせることを希望しているのである。さらに、学習要項を見れば何がいつどのように教育されているかが誰にでも簡単にわかり(簡明な教育情報の公開)、一つの講

座が恣意的な内容の講義プログラムを組むようなことは起こり得ない。

[上記方式の側面的性質のいくつか]

1. 集中講義方式であるので学生もきついが教官もきつい(教官は風邪もひけない)。しかし教官の研究に費やせる時間は増えると考えられる。

2. 休日などの変動により毎年日程が変わらざるを得ないので、教科主任による調整(他の教授たちとの交渉など)が毎年必要である。すなわち教育内容の設定も含めて教科主任の役割負担が大きいが、それだけに教科主任である教授は教育に深く関わることになる(日程は助教授任せなどはありません)。権威主義的な教授にはあわない方式である。

3. 試験が講義に連続するせいか、学生の出席率はよい(どの教科も出欠チェックなしでも60%以上)。

4. 集中講義方式であるため、教官は十分な講義準備(新しい知識の収集など)をする余裕がないなどと言いつつ、つい講義内容がマンネリ化することがある。

5. 講座(教授)が教育の責任を持つという方式ではないので、より専門性を高めるという旗印のもとに、一つの教科に多数の教官(非常勤講師を含む)が関与する傾向があり、そのため教官の人間性(哲学)が学生に伝わりにくいという側面がある。全教官が非常勤講師のようだ、という評判がある。

6. 講義時間の少ない統合カリキュラム方式はたしかに効率の高い方法であるが、一面窮屈であるとも言える。それだけに実は教官の教育技法の熟達が要求されているのである。

[成果があがるには]

1. 教官側

開学当時、斬新な教育方式の開発に日夜努力した先輩諸氏の姿が髣髴とするのであるが、うまく機能すればこの上ないと思われるこの教育方式も、20年たった今やや苦むしてその精神が日常のルーチンの

なかに埋没しかかっているのは否めない。この方式を踏襲する以上は、全教官が統合カリキュラム精神を再確認し、自己の果たすべき役割を再認識する必要があるであろうが、それでは具体的にどうしたらいいかという、なかなかいい知恵が浮かばないのが現状である。おそらくは教育担当副学長や、教育(学務)委員会が中心になって教科主任、教官への不断の啓蒙活動(FDプログラムなど)を行うべきなのである。しかし啓蒙のみで教育の質が向上してゆくのかどうか、これもはなはだ心許ない。

2. 学生側

講義時間が少ないことから知れるように、当初この方式は学生に自学自習の充実を求めたものであった。発足間もない大学に入学した初期の学生たちも、開学の精神に燃え、教官と一体感をもって自ら学んでいったものと思われる。しかし年を経て学生たちの気質も少し変わってしまった観がある。もともと学生に積極性と能動性があった初めてよく機能するシステムなのである。何にでも受動的になったといわれる現代学生にこの方式の良さをどう伝えていくか、また学生に何を求めていくか、よく考えてみる必要がありそうである。

【最後に】

以上、佐賀医大の教育方式を簡単に紹介し、現状での問題点のなかの限られたいくつかを洗い出してみた。しかし私はこの方式は基本的には悪くないと思っている。今たしかに改善を要することがあり、また今後も新しい問題点が現れてくるには違いないが、それらを着実にクリアーしていけば、この方式はなお捨てがたい教育方式の一つではなかろうか。佐賀医大でも最近チュートリアル学習導入について議論されているが、どのような教育方式であれ、その成否は結局は第一に教官の教育に対する情熱、第二に学生の積極性に帰するのであり、教育に王道はないのであろう。さらに注意してみると、教育システムのバックグラウンドとして学生と教官のコミュニケーションということがある。この点、佐賀医大では教室外のいろいろな場で学生と教官とが接触できるチャンスを作っているが、このようなコミュニケーションが案外現今の学生に対する教育には効果があるのかも知れない。最後に、究極的には教育への情熱とその実践が教官自身の人生を豊かにするシステムが構築される必要があることを述べて、締めくくりとしたい。

琉球大学におけるカリキュラム改革

琉球大学医学部生理学第一講座 小 杉 忠 誠

I) はじめに

教育に関する種々の規則、履修認定基準等は医学科独自に制定されたものもあるが、多くは全学の琉球大学学則に則ったものである。その特徴的なものとしては、学年制の履修ではなく、単位制を採用している点である。従って、学科目の新設等に関して、作業手順やカリキュラムの改訂は、他大学に比して比較的容易であるように思われる。六年間一貫教育を目標としてのカリキュラム改訂作業も単位制を基盤に作られたものが多い。教育改革は、本学部の「教育研究の理念・目標」を達成できる内容や支援でなければならない。また、そのためには、入学者選抜方法の吟味にも立ち入らざるを得ないのが現状である。本稿では平成3年度以後の教育改革の現

状と、近い将来に行われる予定の改革について記述する。また、これらの教育改革を主体的に担っている生理学教育の一端を記述する。

II) 平成3年度以後の授業科目変遷・概要

共通教育等科目は、2年次前期ではほぼ終了するが、同時に基礎医学系科目が開始される。共通教育等科目履修と併行して、1年次前期に医学概論A(ヒトの科学と人間の医学)、1年次後期に医学概論Bが開設されている。医学概論Bの中には、early exposureとしての救急車同乗実習があり、生命科学・人間科学知識の習得の motivation の向上を意図して行われている。bioethics のテーマのもとに「動物実験の基礎」が開講されている。基礎医学系では、

表1. 大学設置基準の大綱化以後に新設された授業科目

年 度	授 業 科 目	年 次	備 考
平成3年度	救急車同乗実習	1 年次 後期	基礎教育科目, 医学概論の一部
平成4年度	基礎研究(基礎系)	4 年次 3 学期	
平成6年度	医学概論 A	1 年次 前期	共通教育, 総合領域, 総合に移行
	動物実験の基礎	1 年次 前期	共通教育, 総合領域, 総合
	医学概論 B-1	1 年次 後期	
	医学概論 B-2	1 年次 後期	救急車同乗実習
平成7年度	生理学 A, 生化学 A	2 年次 前後期	
	統合科目 (I), 実験動物学	2 年次 前期	
	医学外国語 III	2 年次 前期	
	医学外国語 IV	2 年次 後期	
	生理学 B, 生理学 C	3 年次 1 学期	
	高年次倫理総合討論	5・6 年次	
平成9年度	教養部廃止(教育センターの設置)		
平成10年度	体験学習, tutorial 学習	3 年次 2 学期	
平成11年度	OSCE	5 年次 1 学期	
平成13年度	学士入学制		3 年次に編入

各基礎系講座に配属されて行われる基礎研究の他に, 統合科目 (I), 実験動物学, 医学外国語 III が新設された。また, 5, 6 年次では, 高年次倫理総合討論が開設された。臨床医学系では, 平成3年度より系統別講義が講座の枠を越えて開設されている。平成10年度からは病院等の体験学習, Tutorial 学習が一部開設された。平成11年度には, 基本的身体診察法 (BPE) を大幅に取り入れ, その評価として客観的臨床能力試験 (OSCE) を取り入れた。また, それに伴い臨床実習科目のうち7科目について選択制が導入された。平成13年度からは, 学士入学制が導入されるにあたり, カリキュラムの大幅改訂が行われる予定である。

Ⅲ) 生理学(植物系機能学)教育の実態

授業科目は生理学 A と生理学 B からなっている。生理学 A は生理学 A (1) と A (2) に区別されている。生理学 A (1) は生理学入門として基礎的植物系機能学知識を修得する。生理学 A (2) は, 止血機構, 内分泌・外分泌の生理機能, 生殖器の生理機能, 平滑筋の生理学を講義する。他は Tutorial 学習を行う。生理学 B は, 生理学実習とグループセミナーを

行っている。

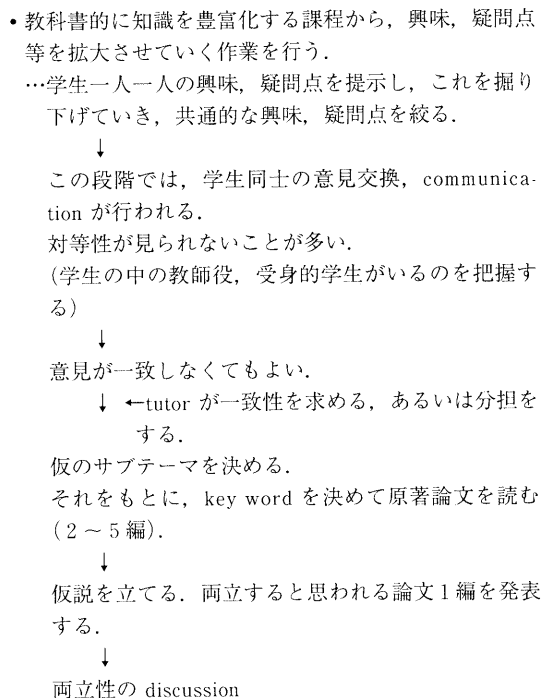
1) Tutorial 学習

ユニット名は, 「人体の構造と機能」とし, チューターは生理学教室より5名, 解剖学教室より2名, 生化学教室より1名の合計8名からなっている。1グループの学生数は, 8名として13グループを作っている。課題となるべき case report を New Eng. J. Medicine より13症例を選択し, 呼吸, 腎, 心, 循環, 血液学等の基本的知識を得るのに有効と思われる case report を学生に呈示している。この case report を通じて生理学, 解剖学, 生化学領域の基本的知識を学生自らが取得するのを意図している。

2) グループセミナー

1グループの学生数を11~12名としている。項目(テーマ)は, 止血機構, 呼吸, 排卵機構, 循環, 平滑筋の生理, 体温の調節機構, 心臓, 腎臓, 体液の酸・塩基平衡, 内分泌とし, 各グループに1テーマずつ与えている。グループセミナーを実施するに至る手順を, 表2に示した。最終的に, 原著論文1編を抄読し発表するが, セミナー発表に際して以下の点を, 特に学生に要求している。総説論文は対象外とする。「講義」ではなく, 学生自身の作った仮説

表2. セミナーの作業手順



と著者との対称性と両立性の吟味を目的としている点を強調している。論文中の実験方法に関しては、原理的なものを徹底的に理解してもらう。種々の実験方法を用いて得られた結果の解釈には、限局性があるのを知ってもらう。実験順序(Fig. 1…Fig. 5)はどのように決まるのかを、知ることの面白さを会得するのを強調している。

IV) おわりに

最近では教育のための種々のツールも整備されてきており、琉球大学においてもSCSを利用した他大学との双方向性のカリキュラム構築が一部行われている。MINCSを利用した遠隔授業も行われる予定である。講座枠を単位とした古典的な講義、実習と、講座枠を越えた種々の授業形態をどのように共存させていくかが、今後の課題である。本学部の教育研究の理念を達成するために、他大学のものとは異なったカリキュラムへと改訂をすすめるのが、個別的課題として浮上している。

久留米大学における医学教育ワークショップ

久留米大・医・第一生理 東 英 穂

1974年、第1回医学教育者のためのワークショップ(厚生省・文部省主催)が富士教育研究所で開催された。当時、医学情報量が急速に増加する一方、単科医科大学が新設され、入学者の学力低下が顕著となり、さらに、医師になるという心構えに欠ける医学生が増えつつあった。そこで、「自ら学び、積極的に問題解決に当たる」医学生を育成するためのカリキュラム改編が必要となり、1977年、久留米大学でも教育スタッフに学生を加えた独自の医学教育ワークショップをもつことになった。以来、1998年まで計13回のワークショップが開催され、下記のカリキュラム改革を実現してきた。

1) カリキュラムの改編

1981年新カリキュラム導入、1992年講義時間数18%削減、1995年カリキュラム改編(教養1、

基礎1.5, 社医・臨床3.5)

2) 総合講義の導入

1983年神経科学(3学年)、1987年体液、感染(4学年)

3) Early exposure

1985年施設体験学習(1学年)、研究室体験学習(3学年)、1987年看護体験実習(2学年)、1991年蘇生法実習(1学年)、1993年開業医見学実習(4学年)

4) 全人的医療の重視

1994年医療科学講義(全学年)の導入

5) 臨床医学の改編

1983年診察入門(4学年)、1985年内科・小児科BSL延長(5学年)、1998年診断学実習(4学年)、ユニット講義(6学年)の導入

6) 評価法の改善

1978年総合試験導入(6学年), 1991年BSL評価法改正(5学年), 1995年総合試験出題形式改編(6学年), 1997年推薦入試制度, 1998年臨床各科試験廃止, ユニット試験導入(6学年)

7) 自主学習の試み

1984年環境衛生自主学習(4学年), 1996年医療科学自主学習(3学年), 1998年神経科学自主学習(3学年)

具体的には1983年以降, 隔年毎に夏休み期間中2泊3日の日程でワークショップが開催されている。第1回の参加者は45名, 第13回の参加者は90名(教育スタッフ77名, 学生13名)で, 20年間で2倍に増加している。第13回ワークショップでの討議テーマは下記の通りである。

テーマ 1. 「国試必修・禁忌肢問題導入とその対策」

テーマ 2a. 「効果的な教授法」

テーマ 2b. 「マルチメディア時代におけるコンピュータ教育の導入」

テーマ 3. 「入試制度の検討」

テーマ 4. 「卒後研修はどうあるべきか」

参加者を5グループに分け, 次の日程で討論を行い, それぞれのテーマについて具体的提言をまとめてもらった。

8月6日 13:30 スクールバスで大学出発
15:00 ホテル受付
15:20 オリエンテーション(日程及び施設説明)
15:30 基調講演Ⅰ「久留米大学の医学教育—その現状と近未来」
16:30 グループ討議(自己紹介その他)
18:00 入浴及びフリータイム
19:00 夕食及び懇親会

8月7日 7:30 朝食
9:00 グループ討議
12:00 昼食
13:00 グループ討議
15:50 基調講演Ⅱ「医学における学習と教育—国家試験を見据えて」
17:30 夕食

19:00 グループ討議・まとめ

8月8日 7:30 朝食

9:00 グループ別発表及び全体討論

12:30 昼食

13:30 ホテル出発

15:00 大学到着後解散

スケジュールは過密であったが, 感想アンケートを集計してみると, 概ね好評であった。すなわち, 設問に対して「大変良い」あるいは「かなり良い」と回答した参加者の割合(%)を示すと次の通りとなる。

あなたの参加されたテーマは意義がありましたか。

82%

ワークショップは2泊3日で良いですか。

61%

全体のスケジュールはこれ位で良いですか。

62%

参加者の数はこの位で良いですか。

57%

学生の参加は良かったと思いますか。

58%

各講座1名以上の参加は良かったと思いますか。

67%

今回のホテルの設備・食事は良かったですか。

72%

なお, これからもワークショップを続けるべきだと思いますかの設問に対し, 続けるべきと回答した人は98%に及んだ。

ワークショップでは提言をまとめるだけでなく, 参加者の個人的交流にも大きな意義がある。基礎・臨床スタッフ間および教育スタッフ・学生間の疎通を図るため, 午後9時以降のフリータイムでは団欒室を2部屋設け, お酒やつまみを準備して自由に歓談してもらった。「フリータイムの交流に最も大きな意義があった」という感想が多数あった。

1) 運営委員による十分な事前準備・計画, 2) 学生参加, 3) 単なる会議討論の場でだけでなく, 人間的交流のできるフリータイムの設定, 4) 参加者を中心とするリラックスした環境作り, 5) ワークショップ記録小冊子の作成, 6) ワークショップ提言の実行が, 久留米大学医学教育ワークショップを20年以上にわたって持続させてきた要点と思われる。

医学教育の改革；現状と将来像

福岡大学医学部精神医学教室 西 園 昌 久

1. 文部省21世紀医学医療懇談会の提言、その他の動き

医学教育の改革は世界的規模で論じられすすめられている。わが国でも文部省の医学教育の改善に関する調査研究協力者会議が「最終まとめ」(1987)のなかで広範囲に及ぶ改革案を提言している。その中の「基礎医学・社会医学の充実振興」には、本学会の活動と直接関連することも述べられている。すなわち、「医学教育における基礎医学の役割は、学生に対し臨床医学を学習するのに必要な基礎的知識を授けるとともに科学的な物の見方及び考え方を体得せしめることにある。」と述べ、従来からの基礎医学教育の問題点とその解決策が提示されている。しかし、残念なことに医学教育の内容はそれぞれの大学、文部省のいろいろの基準、医師国家試験、医療制度などとシステムとしてふかいかかわっているのが、その後、「大学設置基準の一部を改正する省令」(1991)が公布施行されてようやく、多くの大学がカリキュラムの改革に手をつけてきた。その内容は①進学課程の廃止、6年一貫教育の導入(86%)、②統合カリキュラム採用(50~83%)、③early exposure(99%)、④テュートリアルシステム導入(0~21%)、⑤大幅なカリキュラム改定(95%)、⑥「すべてが単位性」ないし「一部が単位性」(83%)、⑦専門教科における選択制(29%) (斎藤, 1998)。

さらに文部省は「21世紀医学医療懇談会」ではかなり思い切った医学教育の改革を広い医療人の育成という視点で呼びかけている。そのなかには、①メディカル・スクール構想、②臨床教授、③単位制の拡大、単位互換、④コア・カリキュラムと選択制、⑤進級試験の国内的基準、⑥卒前段階における基礎医学等の研究のためのコース、⑦大学院の改善などである。同時に、日本学術会議第7部会は教師の教育能力の研修のための医学教育センター創立を勧告したのをうけて日本医学教育学会ではその実現に向け活動がなされている。

2. 世界の医学教育の改革の動き

20世紀は国際交流が日常化した世紀であったが、次世紀はさらにグローバル化がすすむであろう。その際、医学、医療、保健の分野はすべてが同時ではないけれども例外ではなく、むしろ先駆者的役割を期待されるであろう。つまり、世界に通用しリードする医師・医学者への期待である。その国の現実の医療制度が政治・経済、文化、伝統と深くかかわっているため医学教育もまたその国特有の伝統から抜けきれないところがあるが、それがながく維持されるとは思われない。先にあげた医学教育の改革についての勧告の大部分はすでに先進諸外国では日常化していることである。それもそれほど昔から行われていたわけではない。やはり、改革運動から生みだされたものである。したがってわが国でも不可能なことでは決していない。世界の医学教育の改革に大きな影響を与えているいくつかの潮流をあげるとしたら①WHOのNGOとしての世界医学教育協会(WFME, World Federation for Medical Education)②英国医学協議会(GMC, General Medical Council)③米国医科大学協会(AAMC, Association of American Medical Colleges)などであろう。WHOとWFMEはプライマリケア指向と学科を超え、地域と密着したmulti-disciplinary educationの重要性を力説し医学教育に関する国際協力プログラムをつくることを提言している。また、WFMEの「エディンバラ宣言」(1988)「医学教育世界サミット・コミュニケ」(1993)は世界に大きな影響力を及ぼしている。GMCの「明日の医師たち」(1993)では、医学教育のgoalとobjectivesが定められ、前者には知識・理解、技能、態度が明記されている。後者ではknowledge objectives, skills objectives, attitude objectivesがあげられているが、本学会に関連することとしてはknowledge objectivesの中に、a)医学の基礎となる科学(知識の発見、研究方法の理解、証拠を評価する能力)があげられている。AAMCはアメリカの医療経済の深刻化の中でいかに合理的な医学教育を行うかに苦心している。そうしたアメリカ

からはただ経験にもとづく医療でなく、証拠にもとづく医療 evidence-based medicine が唱えられている。

3. 学生の生活スタイルと学生尊重の医学教育

今日の学生は大学入試のための勉強しかしておらず、他学部ではいわゆる一流大学に入学した学生でも基礎学力や学問的好奇心に大きな欠損があるといわれる。同質の問題は医学部学生にも例外でないであろう。科学的論証や推理力の学習さらに学問的好奇心を啓発するには基礎医学ことに生理学教育への期待は大きい。

4. 新しい医学教育をめざして

演者は第61回日本薬理学会(1988)に招かれて「21世紀にむけての医学教育の動向」と題して講演した。その中でわが国における医学教育改善の方向として、①教育目標を明らかにし、それに基づくカリキュラムをつくる、②学生尊重の医学教育をめざし、授

業時間の削減など実施する、③入試の改善、④知識、技能、態度の教育のバランスをとる、⑤臨床教育の改善をはかる、の5点を強調した。それから10年経過した現在、医学教育の改革は先述したように次第に理解されるようになってきた。それは日本医学会に所属する学会の多くが教育委員会を設けていることにもあらわれていると思われる。さらに、新しい学問の発達をただしく取り入れ、広い視野で質のたかい医師づくりをするならば、⑥として、水平ならびに垂直統合のコア・カリキュラムと選択科目が準備されるべきであると考えられる。

文 献

- 1) 文部省；医学教育の改善に関する調査研究協力者会議，最終まとめ，1987
- 2) 西園昌久；21世紀にむけての医学教育改革の動向，日本医師新報，No3341；107-109，1988.
- 3) 西園昌久；世界の医学教育と国際交流，医学教育白書，175-178，篠原出版，1998.
- 4) 齊藤宣彦；卒前医学教育カリキュラムの現状と改革の動向，3) と同書，28-31.

基礎医学の後継者養成問題—サイエンスの論評

「Physician-scientists ; endangered but essential」の紹介

浜松医大 第二生理 高 田 明 和

冒頭にも述べたように教育委員会では過去3年間基礎医学の後継者養成問題に関係する問題点を討議してきた。今回委員会の任期を終えるにあたり、委員長としてこの問題を総括する義務を感じていた。

医師が研究者の道に興味を示さなくなることは米国でも大きな問題になっている。すでに20年前にNIHの前所長であったJames Wyngardenが「臨床研究者は危機に瀕している」という論説をNew Eng J. Med. (301; 1254, 1979)に報告している。このサイエンスの論評はLeon Rosenberg教授によるものである。彼はPrinceton大学の分子生物学の教授であることにも注目したい。

さて図1に示すように1970年にはNIHのgrantの応募数と採択率はMDもPhDもほとんど同じであった。その後PhDの申請は増す一方なのに、MDの申請は伸び悩んでいる。ではMDの方が申請が

却下される率が高いかと言えばそんなことはなく、採択率はMDもPhDも常に同じ率である。

次にMDのNIH grantの第1回の申請で採択されている件数は1994年には800件位あったが、その後直線的に減少し、1997年には550件位になり、この傾向が続けば、第1回でNIH grantを受けるMDの数は2003年にはゼロになる勘定である。

次に米国では研究者の生活は主としてNIHのpostdoctoral fellowshipによっているが、1980年にはMDの受給者は34%位であり、その後次第に増加し、1988年には42%位になった。しかしその後激減し、1992年から1996年までに51%減少している。図2に示すようにHoward Hughes Medical Instituteのpostdoctoral fellowshipのMDの申請者は1996年の174件から1998年の74件と57%減少している。

また医学部卒業生で研究に強い意欲を示している

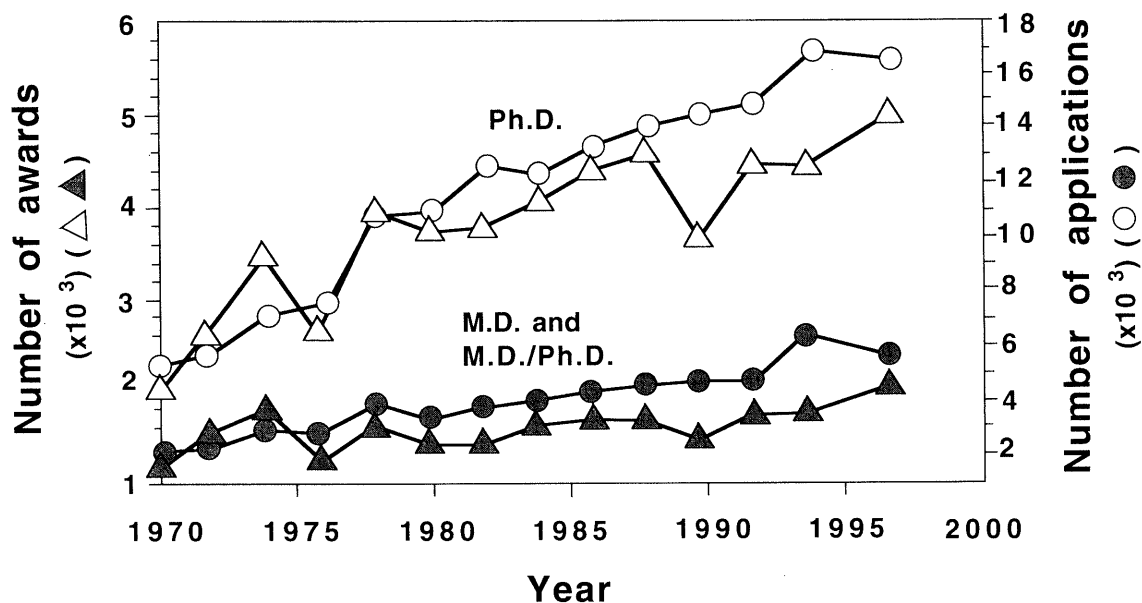


図1. NIH research project grant awards, 1970-1997.

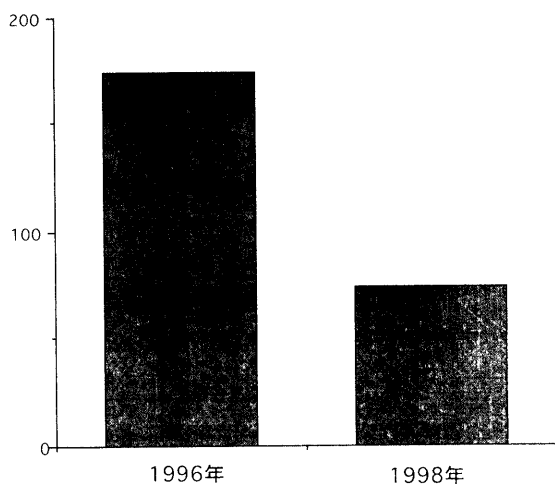


図2. MDでHoward Hughes Med. Inst.のfellowshipにapplyした者の数.

Science 283;331, 1999年

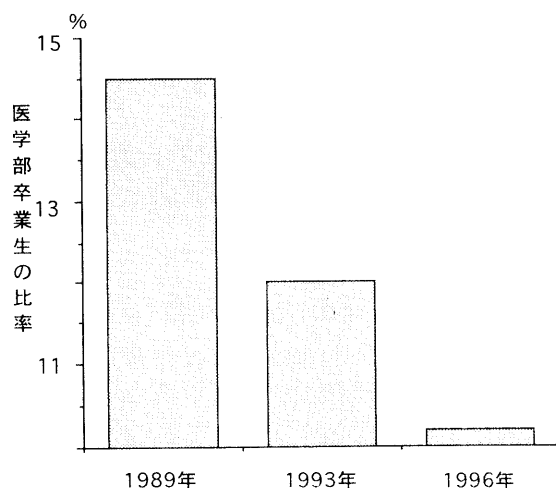


図3. 1989年から1996年までに医学部を卒業した者のうちで研究に強い興味をもつ者の比率.

L. E. Rosenberg Science 283;331, 1999年

MDは1989年には14%もいたのに1996年には10%に減少しているのである(図3)。

何故こんなことがおこっているのだろうか。著者は次のように論じている。

1) 過去30年間医学教育者、学生、医師は「医師はもっと primary care のことを考えるべきで、あまり専門化する教育はいけな」と聞かされてきた。またもっと社会につくすような医師を育てるべきだということも主張されていた。その結果が現れてい

るのである。

2) 第二には収入の問題がある。医学部の卒業生は平均して8万ドルの借金をしている。また NIH の fellowship も高額ではない。とくに医療に携わる医師と研究者の間の収入の差は拡大している。さらに学問の複雑さのためにトレーニングの期間も長くなっている。

3) NIH の支持による研究生活は非常に不安定に

なっている。研究費をうることが困難になっているし、PhD との熾烈な研究費獲得争いも困難に拍車をかけている。

4) 最近の病院経営の困難さが、医師により多くの患者を診ることを強要しており、研究に時間を割くことが許されなくなっている。

この対策として1996年に米国上院の Mark Hatfield と Ted Kennedy 上院議員が法案を通した。この法案により NIH, 学会, 企業, 財団, 市民代表などが参加したパネルを作り, 12ヶ月以内に対策の推薦をすることになっている。

著書は次のような対策を提案している。

1) 医学部はもっと研究に興味のある学生を入学させるべきである。医学生は早くから研究に触れさせ、それが将来の昇進などで評価されるようにすべきである。学部長や主任教授は研究の重要性について発言すべきである。また病院の管理者は今日の研究が明日の医療につながることを理解すべきである。

2) 医学部学生, 卒業生, postdoctoral fellow に魅力的なトレーニングプログラムを作るべきである。またこのプログラムに基づいて, 医学部学生が1年位 NIH で研究するような機会を与えるべきである。

3) NIH と地方の病院とを結ぶ全国的なネットワークを作るべきである。これにより患者を主体とする研究をより推し進めることが出来る。

4) このパネルに財団, 医薬品業界, 保険会社, managed care の会社を参加させるべきである。最近ではファイザーが NIH の fellowship のために毎年150万ドルを寄付することになっている。

5) パネルは全国的なデータベースを作るべきである。そこには医学部学生, 卒業生で研究に興味を示す人の数, NIH や他の資金で支持されている MD の数, MD で学会, NIH, 企業などで独立して働いている人の数を記載し, さらに研究を辞めた MD の記録も明示すべきである。

著書は“我々はあまりに長くこのような対策が打ちだされるのを待ち過ぎてきた。そのために対策が効果を示すには時間がかかり, また経費も高額になると思われる。しかし今日の physicaian-scientists の行動と発言が医学生の進路を決めるのに大きな影響力をもつことを自覚すべきである”と締めくくっている。

この論文は日本の現状と将来を考えるうえでも非常に参考になるのではないだろうか。

教育シンポジウムの「まとめ」と 大分医科大学新カリキュラム(案)の概要

大分医科大学生理学第二 有 田 眞

今回の教育シンポジウムは、大会が久し振りに九州で行われたため、「医学教育改革—九州地区の現状をふまえて」というテーマで行うことが過日の教育委員会において決定され、高田明和教育委員長と有田眞教育委員で司会をつとめさせて頂くことになった。

お願いした4名のシンポジストの発表の内容はそれぞれの抄録に譲ることにし、ここではその印象のみを記すにとどめる。さて、シンポジウムの第1演者は、開学当初から大講座制の採用を強力に打出し、かつ20年間に亘りそれを鋭意実行してこられた佐賀医科大学・第一生理の頼原教授に、その経験と成果について語って頂いた。講座制からの脱却を目指し

て取り組んだ、当時としては極めて斬新な集中講義・集中実習の導入は、多くの戸惑いと試行錯誤を重ねながらも一つの流れとして定着した。しかしその成果については、なお一定の評価は下し難い思いである、との考えが述べられた。一方、特別参加の福岡大・医・精神科の西園教授によれば、佐賀医大の学生は他学出身者に比べ、自立性が高く、自分で意思決定し行動するタイプが多いとの印象があるとのことで、これらの資質は大講座制・統合教育がもたらした長所ではなかろうかとのコメントであった。第2演者、琉球大・医・第一生理の小杉教授には、最近行われた琉球大学のカリキュラム改革について語って頂いた。同学部の教務委員長として改革

に直接従事された氏の発言は、自信と具体性に満ちたものであった。改革の基本は「生命科学と人間科学の同時的教育」にあり、そのためには、体験学習、チュートリアル学習、グループセミナー等に入れていることなどが紹介された。第3演者、久留米大学・医・第一生理の東教授には、すでに13回に亘って経験しておられる、大変ユニークな「久留米大学教育ワークショップ」の内容とその有用性について語って頂いた。このワークショップは、教官と学生が大学キャンパスから離れて寝食を共にし、授業や実習のやり方、成績評価、学生生活全般について語り合うものである。このワークショップからの提言が教育の改革に具体的に生かされている事例が多数紹介された。「良い教育は学生と教官との人間的交流のあるところにおいてのみ可能である」という evidence を示された思いである。

最後に、特別講師としてお招きした福岡大・医・精神科の西園教授には、この方面のオピニオンリーダーとして、「医学教育の改革についての現状と将来像」について講演を頂いた。「何故、医学教育は

改革を求められているのか」、その理由を世界の医学教育の動向とも関連させての説明は極めて具体的、明確で、医学部教育改革の強力な motivation の提示であったと言えよう。最後に同氏から生理学者に向けた期待のメッセージとして、「教育目標の再検討と明確化を計ること」の重要性が強調された。明確化の目安となるのは、a) 科学的判断力と理論的思考のできる、問題解決能力を醸成しうる生理学教育、b) 臨床医学を学習してゆく上で必須な基礎的理解に到達しうる生理学教育、と言うことになるのであろう。学部学生における生理学教育の目標の明確化とその設定は、今後多くの医科系大学で導入されるであろう。チュートリアルシステムに沿った教育を行ってゆく上で避けては通れないプロセスである。今後、生理学会の教育委員会等が中心になり、具体的検討に入るべき時機が到来したことを、西園教授の講演から感じ取った参加者も多かったことであろう。

最後に座長からのコメントとして、高田教育委員長から、「米国においては、最近、MD でかつ研究

大分医科大学新カリキュラム構成図（案）

合計 210 単位

学 年	一		二		三		四		五		六	
学年	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
修学期間	Ⅰ				Ⅱ				Ⅲ			
主たる 修学段階	一般教育等				専 門 教 育							
	イ ン ト ロ Ⅰ	人間コミュニケーション科学	イ ン ト ロ Ⅱ	医学専門教育 (チュートリアルを含む)				イ ン ト ロ Ⅲ	臨床実習 (クリニカル・クラークシップ)			
		自然科学		人体の構造と機能 病理と病態 社会医学 治療学					特別講義・C P C			
	3	6 3 単位	8	7 2 単位				9	5 5 単位			

● 進級の認定
● 学士入学

● 進級の認定

● 卒業の認定

Introductory Course Ⅰ：医学概論，Early Clinical Exposure など

Introductory Course Ⅱ：生物医学，医用工学，医学英語 など

Introductory Course Ⅲ：診断学，医療記録，医療倫理，臨床医学英語

臨床社会心理学，救急医療，ターミナルケア など

者であるものの、全研究者に対する割合が激減しつつあること」を詳細なデータに基づき報告した、Dr. L. E. Rosenberg (Science, 1999) による論文の紹介があり、その問題点についての所感が述べられた。日本における現状は一体どうなっているのだろうか。目下、教育委員会が行っている医学部生理学教室アンケート調査の結果が集計されれば、ある程度判明するものと期待される。また有田からは、小杉教授の演題に対する追加として、この2年間、大分医科大学教育改革ワーキンググループにより策定され、最近、教授会で了承された大分医科大学新カリキュラムの構成(案)について簡単な紹介がなされた。実施は平成12年度からの予定であるが、その概要を図に示す。

実施までにはある程度の手直しが予想されるが、その基本骨格は、6年間の一貫教育体制はとりながらも、修学期間をⅠ、Ⅱ、Ⅲに3分割しているところにある。また第Ⅰ修学期間(一般教育等)の冒頭に Introductory Course (イントロ)Ⅰをおき医学概論、Early Clinical Exposure などを行い、第Ⅱ修学期間の直前にイントロⅡを置き、医学生物学を中心とした学習を行わせる。これは、近年高校において生物学を全く履修せずに入学する学生が急増しているこ

と(最近、国大協医学教育特別委員会によって、国立の医・歯系学部・大学における入試センター試験に、生物・物理・化学の3教科を必須とする提案がなされたが、それが実施されることになれば、多少事情は異なってこようが…)、さらに本学では第2学年の後期(10月)から学士入学を受け入れる予定であること、などを考慮したものである。第Ⅱ修学期間における医学専門教育は講座の枠をはずした統合カリキュラム制をとるが、そのうち約30%をチュートリアル学習に当てる予定である。第Ⅲ修学期間は臨床実習が中心となるが、その直前にイントロⅢを行い、ここで、診断学、医療記録、医療倫理、臨床社会心理学などの学習を行わせ、patient-doctor's relationship に関する基本的理解と手技を修得したことが認定された学生のみが臨床実習に進み得る。新カリキュラムでは、6年間で210単位を習得させることになる。学年制をとっている現行のカリキュラムを単純に時間的計算してみると294単位となるので、総時間数としては約29%の削減である。この新しいカリキュラム改革が実を挙げ、自主性、積極性に富んだ良い医師、研究者が多数育つことを念じつつ、本年度の生理学会大会(長崎)における教育シンポジウムの「まとめ」としたい。

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
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
伊 藤 挙	東京都三鷹武蔵野保健所 保健サービス課	0422-54-2161	
梅 崎 俊 郎	九州大学 医学部 耳鼻咽喉科	092-642-5668・092-642-5685	umetoshi@qent. med. kyushu-u. ac. jp
岡 本 仁	理化学研究所 脳科学総合研究センター 発生・分化研究G	048-467-9712・048-467-9714	hitoshi@brain. riken. go. jp
小山内 実	東京医科歯科大学 医学部 薬理学教室内 科学技術振興事業団	03-5803-5169・03-5803-0122	osanai. mphm@med. tmd. ac. jp
加藤まどか	理化学研究所 脳科学総合研究センター 脳統合機能研究チーム	048-462-1111(6416)・048-462-4696	
小 阪 淳	岡山大学 医学部 第一解剖	086-235-7085・086-235-7079	junksk@med. okayama-u. ac. jp
柴 田 政 章	山梨県環境科学研究所 生気象学研究室	0555-72-6184・0555-72-6205	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	
早 野 尚 志	京都府立医科大学 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	045-641-8809・045-641-6140	
宮 石 香	老人保険施設 さくら苑	0773-22-2120・0773-22-2353	
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」

多久和 陽 君

金沢大学医学部医学科第一生理学講座
平成11年1月就任



平成11年1月1日付で永坂鉄夫名誉教授の後任として金沢大学医学部生理学第一講座教授に就任致しました。

私は医学部卒業後2年間の臨床研修を経て東京大学第4内科学教室に入り、尾形悦郎教授のもとで代謝内分泌学の研鑽を積みました。この間、ホルモンの作用や細胞内情報伝達に興味を持つようになりました。その後米国留学の機会を得、ホルモン作用のセカンドメッセンジャーとしてのカルシウム研究のパイオニアであるハワード・ラスムッセン教授(当時、エール大学医学部細胞分子生物学/生理学/内科学教室)の研究室で、平滑筋の収縮・弛緩を制御する細胞内情報伝達機構の研究に取り組みました。当時ラスムッセン教授の研究室では、受容体刺激によって生ずる細胞膜イノシトールリン脂質加水分解反応のトランスメンブレンシグナリングにおける生理的意義を解明せんとして、主として内分泌腺細胞を用いて活発に研究が行われていました。研究テーマについて教授と話し合ううちに、「平滑筋の情報伝達はおもしろい。これこそ重要な研究テーマである。」という彼の言葉にすっかり洗脳されてしまいました。結果的には、あの時の“洗脳”のおかげで今日生理学会の一員に加えていただいています。この留学中には、平滑筋においては受容体アゴニストは持続的なイノシトールリン脂質加水分解反応を惹起し、イノシトール-1, 4, 5-3リン酸と1, 2-ジアシルグリセロールを産生すること、発光タンパクエクオリンを用いた細胞内カルシウム濃度($[Ca^{2+}]_i$)測定によるアゴニスト刺激時の $[Ca^{2+}]_i$ 動態の観察、1, 2-ジアシルグリセロール産生によるプロラインキナーゼCの賦活とその収縮メカニズムへの関与、などを明らかにできました。私にとって実に刺激的な存在であったラスムッセン教授のもとで研究に専念できた3年間は、充実した貴重な経験となりました。

ました。帰国後筑波大学に着任した頃は、ちょうど筑波大真崎グループによって発見されたエンドセリンの最初の論文がネイチャー誌に掲載された時期であり、私の得意な受容体、情報伝達の分野でエンドセリン研究に貢献できました。平成3年にはツムラの援助により東京大学に開設された寄附講座脈管病態生理学に着任しました。研究室の活力を維持する上で若い研究者を惹き付けることは研究室にとって死活的に重要なことですが、寄附講座は時限の講座という制約をかかえていたため、この点は特に努力を要しました。幸い熱心な研究パートナーに恵まれ、寄附講座在職中には血管の生理ならびに病態生理の両テーマに取り組むことができました。この間、血管壁に発現している新規生理活性因子受容体ファミリーのクローニングと情報伝達機構、血管平滑筋の機械力受容機構、Rho-ミオシンホスファターゼからなる新しい平滑筋収縮制御系の発見、血管内皮の細胞周期、血管れん縮・増殖病変形成の病態生理、について成果をあげることができました。

今後ともこれまでの研究をさらに進展させ、心血管系の機能調節を分子レベルで解き明かしたいと考えています。この過程で必然的に他領域との関連が生じてくると予想されます。積極的にこれまでの境界を乗り越えて、生体機能の理解に向けて努力したいと考えています。

略 歴

昭和54年3月	東京大学医学部卒業
昭和59年2月	東京大学第4内科助手
昭和60年1月	米国エール大学医学部研究員
昭和62年10月	筑波大学臨床医学系内科講師
平成3年7月	東京大学医学部脈管病態生理講座助教授
平成11年1月	金沢大学医学部第一生理学講座教授

シリーズ「生理学者のための分子モニタリング技術講座」

一 酸化窒素の *in vivo* 計測

横 山 秀 克^{1,2)}

(¹⁾山形県テクノポリス財団生物ラジカル研究所・²⁾福島県立医科大学神経精神科)

I. は じ め に

一酸化窒素(NO)は不対電子を有する無機のフリーラジカルであり、その生体内における様々な役割に多くの医学生物学分野の関心を集めている。例えば、NOが血管内皮細胞、神経細胞、マクロファージ等の細胞でNO合成酵素の働きにより、L-アルギニンから産生され、血管を拡張して血圧を調整し、中枢神経では神経伝達物質として作用し、免疫系ではマクロファージによる標的細胞への細胞障害因子として作用していることなどが、明らかにされてきている[1,2]。

NOは反応性の高いフリーラジカルである故、生体内での消失速度は大変速い[3]。このため、NOの*in vivo*計測は困難であり、NOの生体内における挙動には、今なお、解明されていない点が多々残されている。従来から知られているNOの計測法には化学発光法と吸光法がある。これはマイクロダイアリースと組み合わせるNOを*in vivo*計測しようとするものであるが、NOの代謝産物である亜硝酸イオンにも反応するという重大な技術上の欠点がある[4,5]。現時点で、最も信頼性の高いNO計測法は電子スピン共鳴(ESR)法とポルフィリン修飾電極法である。ESR法はラジカルの不対電子を直接観測する唯一の手段であり、すでに、*in vitro*において特異性の高いNO計測が行われている[6]。一方、ポルフィリン修飾電極法は、最近Malinskiら[7]によって開発されたもので、NOに優れた選択性をもっている。本稿では、ESR法によるNOの*in vivo*計測と、Malinskiらの原法に改良を加えた電極によるNOの*in vivo*計測に関して、その具体的な手

技について筆者の経験をもとに述べてみたい。

II. ESR 法による NO の *in vivo* 計測

前述したように、ESRはフリーラジカルの不対電子を直接観測できる唯一の手法である。しかし、種々の理由により、従来のESR装置による計測は*in vitro*に限られ、*in vivo*計測は不可能であった。この点を解決するため、ここ十年にわたり、筆者らは実験用小動物を対象とした*in vivo* ESRイメージング装置の開発を行ってきた。しかし、この装置は現段階では生体内で発生するフリーラジカルを観測できる感度は有していない。そこで、筆者らはNOの不対電子を安定な形態に変換するスピントラップ剤を新たに開発することにより、NOのESRイメージングが可能になるのではないかと考えた。本項では、まず*in vivo* ESRイメージング装置について概説を行ったうえで、NOのESRイメージングの手法について、内毒素ショックマウスにおけるNOイメージングを例にあげて解説する。

A. *in vivo* ESR イメージング装置

1. 共振周波数と共振器

in vivo ESR計測を行うためには、生体という、大容量で水の多い試料を常温で測定できなければならない。空洞共振器に試料を挿入し約9.5 GHzのマイクロ波(Xバンド)を照射して感度の向上を図る従来のESR装置では、試料挿入空間は狭く、水による誘電損失が大きいため*in vivo*計測は不可能であった[8,9]。また、ESR計測においては、マイクロ波の磁界成分のみが必要であり、誘電損失を引き起こす電界成分は邪魔な存在となる。従って、誘電損失の

大きい *in vivo* 計測においては、両成分を分離して広いマイクロ波磁界空間のみを利用できることが望ましい。筆者らは、感度は低下するが誘電損失の少ない 700 MHz マイクロ波を使用している [10-20]。また、共振器にはループギャップ型を用いた [10-20]。これは円筒状ループがインダクタンスをギャップ部がキャパシタンスを与える集中定数素子による共振器であり、電界はギャップ部にのみ集中し、ループ内に試料を挿入することにより、ループ内に広く分布した磁界のみを有効に利用できる [21-23]。

2. 高速磁場掃引法

ESR は核磁気共鳴 (NMR) と同一の原理に基づく現象であり、観測アルゴリズムには共通のものが多い。しかし、ESR の緩和時間は NMR に比べ遥かに短いため、測定法には連続波法が主に使われている。そのため、測定時間は磁場掃引速度に依存する。そこで、筆者らは磁気ヒステリシスを有しない空心コイルを主電磁石と

した高速磁場掃引法を開発した [12,25]。この手法を用いれば、最大 15 mT/s の高速掃引が可能であり、また、安定なスピントラップ剤をもちいることにより高積算処理をも可能にする。積算回数の平方根に感度は比例するので、これは、感度向上にも寄与する。

3. 装置構成

図 1 に *in vivo* ESR イメージング装置のブロックダイアグラムを示す。本装置は、主電磁石、一對の磁場掃引コイル、一對の磁場勾配コイル、電源、パソコン、ループギャップ共振器、発振器、700 MHz マイクロ波分光部、磁場変調コイルから構成される [10-15,17-20]。主電磁石は水冷式ヘルムホルツ型空心コイルであり、最大電流 10 A を流すことにより、最大静磁場 60 mT を発生させることができる。磁場掃引コイルを電流制御することにより、最高 15 mT/s の磁場掃引が可能であり、これが前述の高速磁場掃引法である。磁気ヒステリシスが存在しな

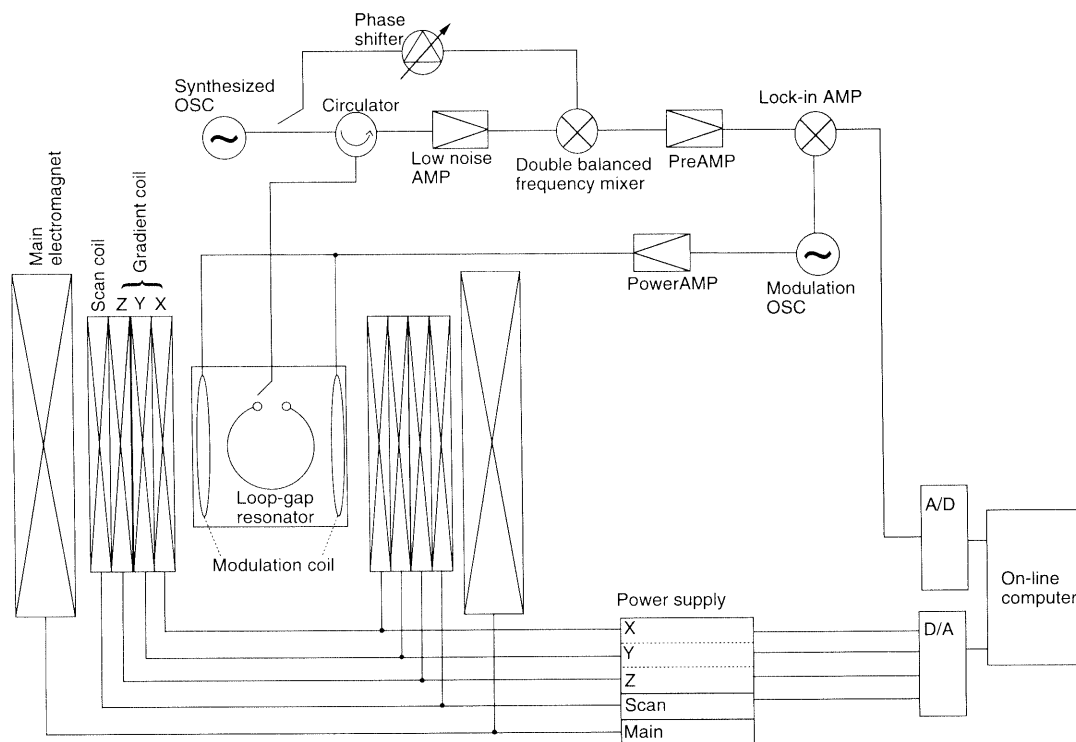


図 1. ESR イメージング装置のブロックダイアグラム。文献20より。

いため[25], 空心コイルは高速磁場掃引を繰り返すことができる.

磁場勾配コイルは, 最大 1 mT/cm , 中心から 20 mm の範囲で, X-, Y-, Z-軸に直線性の良好(設定値からのずれは $\pm 0.01 \text{ mT}$ 以下)な勾配磁場を発生することができる. 磁場勾配の直線性が良好な領域は共振器の占める空間と一致している. 対向した磁場勾配コイルの間隔は 101 mm である. これらのコイルは Z-軸用の反ヘルムホルツ型コイルと, X-, Y-軸用の 8 の字形のシムコイルと呼ばれるコイルからなる.

共振器には前述のループギャップ共振器を用いている. これは, 内径 41 mm , 軸長 10 mm の 2-ギャップ型であり, 材質は無酸素銅で表面は金メッキ加工してある. ギャップの内側にループ内に電界が漏れるのを防ぐブリッジシールド(テフロンと銅板の二層構造)を有している(図 2). この共振器内部にはラットなら頭部, マウスなら全身の挿入が可能である. 共振点は約 700 MHz で, この周波数帯域の波長は共振器の大きさに充分対応する長さである[22].

共振器はシールドケース(日本電子)に装着してある. このシールドケースには外部回路と共振器を磁気的に結合させる結合コイル, 磁場変調を引加するため的一对の磁場変調コイルが実装済みである. このシールドケースに装着した状態での無負荷 Q 値は約 600 である. シールドケースは, 内部の共振器の中心が, 対向した磁場勾配コイルの中心に位置するように固定した. これにより, 共振器内部の空間(内径 41 mm , 軸長 10 mm)が, 磁場勾配の直線性が保証されている空間(直径 40 mm の球)にはほぼ含まれるようになる. 共振器の磁界は共振器の軸長より軸長方向に約 5 mm 遠方まで有効であることが報告されている[11, 26]. また, 共振器内部における変調磁界強度の平坦性が保証されているのは中心から 15 mm の範囲なので[22], 共振器を中心として直径 30 mm , 軸長 20 mm の円筒内の空間が, 有効な画像範囲となる.

共振器は発振器(R4262, アドバンテスト)で駆動される. ESR 測定時には共振器からの反

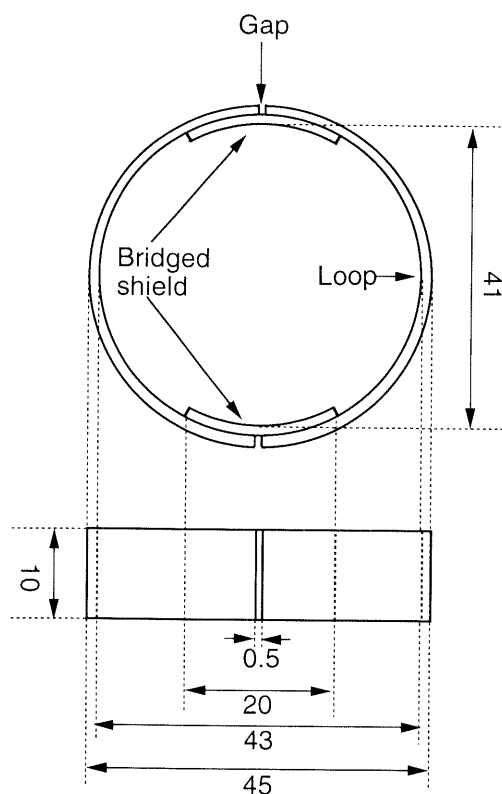


図 2. ループギャップ共振器. 単位は mm . 文献 20 より.

射波が最小になるように, 結合コイルの位置を合わせ, その時の共振周波数に発振器をチューニングする. 700 MHz マイクロ波分光部はホモダイン検波のための, 分波器(HDH, ヒロセ), サーキュレータ(60N50, ウィルトロン), 位相器(PS3, R&K), 低雑音増幅器(AFS-2, MITEQ), ダブルバランスドミキサ(M-19CA, R&K)から構成される. 検波増幅された信号は磁場変調周波数でロックイン増幅される. 一对の磁場変調コイル(日本電子)はロックイン増幅器(5210, PARC)の内部発振器とパワーアンプ(日本電子)で駆動される.

4. イメージングアルゴリズム

イメージングのアルゴリズムには, NMR でも一部使われていたズームグラフ法[27, 28]を用いている. これは, 一定の面内で磁場勾配強度を一定に保ち, 磁場勾配角度を系統的に変

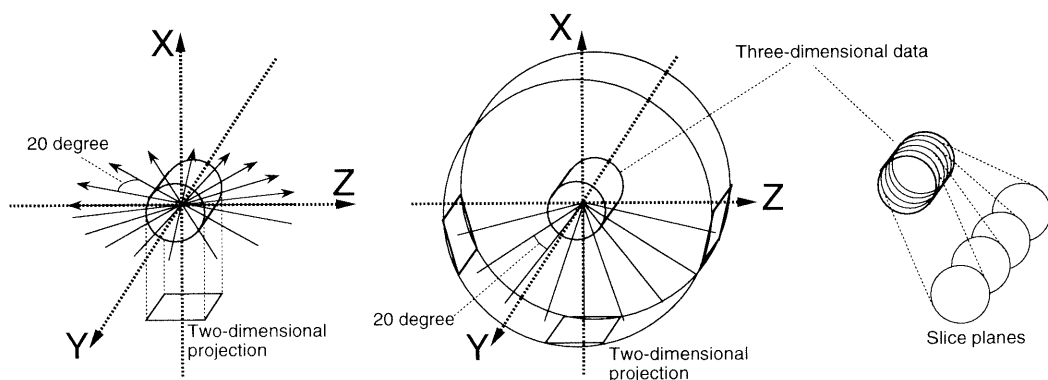


図3. 三次元ズームグラフ法の図解. 磁場勾配変更角度を20度とした場合. 文献20より改変.

化させて、投影スペクトルを得る手法である。例えば、YZ 平面上に磁場勾配を20度刻みで回転させながら9回測定を行うことにより、YZ 平面に平行な二次元投影像を得る。この二次元投影像を同じく20度刻みで9枚取得することにより、このデータから試料の三次元データを得ることができる。ここより、任意の面のスライス(すなわち CT 画像)を切り出す。すなわち、二次元投影像の取得には9回、CT 画像の取得には 9×9 回、つまり81回の磁場勾配下の測定が必要となる(図3) [11, 17, 20]。

B. NO の ESR イメージング

1. ジチオカルボキシサルコシン鉄錯体

従来用いられてきた NO のスピントラップ剤には、ヘモグロビン、ジエチルジチオカルバメイト鉄錯体(Fe-DDC)、メチルグルカミンジチオカルバメイト鉄錯体(Fe-MGD)などが知られている。しかし、ヘモグロビンは常温で測定ができず、Fe-DDC は水溶性が低く、生体内での使用には適さなかった。また、Fe-MGD はトラップ剤自体の水溶性は非常に高いが、NO との反応の後に生ずる NO アダクトの水溶性が極端に低下する点が問題である。そこで、筆者らは、トラップ剤および NO アダクトの水溶性が高く、かつ常温で使用可能な NO のスピントラップ剤である、ジチオカルボキシサルコシン鉄錯体(Fe-DTCS)を開発した[29]。

Fe-DTCS は以下の手法で合成した。まず、

水酸化ナトリウム (4 g, 0.10 mol) を蒸留水 (30 ml) に溶解し、氷浴させた。サルコシン (4.45 g, 0.05 mol) を加え、攪拌し、固体が全て溶解したのち、二硫化炭素 (5 ml, 0.083 mol) のエタノール溶液 (15 ml) を激しく攪拌しながら滴下した。滴下中、反応液の温度は $0 \sim 10$ 度になるよう注意した。滴下終了後、反応液を減圧下濃縮後、エーテルと分液し水層を乾固させ、DTCS を得た。さらに、純粋窒素ガスで十分に酸素をパージした生理食塩水中で、塩化第二鉄と DTCS を 1 : 3 の割合で混合することにより、Fe-DTCS を得た。

Fe-DTCS のスピントラップ剤としての特性を、通常の X-バンド ESR 装置を用いて *in vitro* で検討を行ない、以下の結果を得ている。Fe-DTCS は NO と反応して NO アダクト (Fe-DTCS-NO) となり、常温で3本線の ESR 信号が観測される(図4)。また、この Fe-DTCS-NO はヘモグロビンなどと同様に、低温での測定も可能である。さらに、Fe-DTCS-NO は酸素雰囲気下に曝露されても、その信号強度はほとんど減少することなく、Fe-DTCS-NO が極めて安定な NO アダクトであることが示された[29]。

2. マウス腹部における内在性に発生した NO のイメージング

先に述べたように、現在の *in vivo* ESR 装置は感度では、内在性のフリーラジカルを検出するのは非常に困難なので、内在性の NO イメー

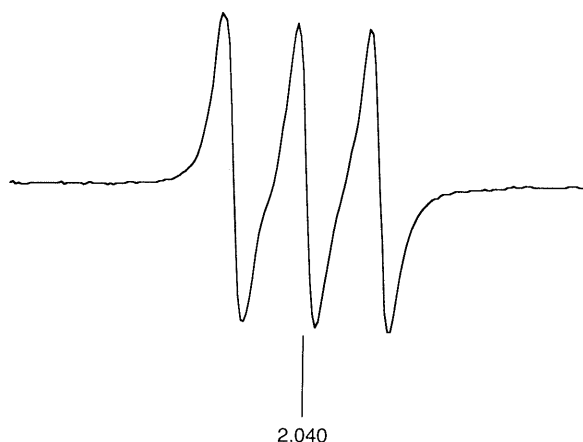


図4. Fe-DTCS-NO の ESR スペクトル. 文献29より.

ジングを行うためには、多量の NO が発生している系を使う必要がある。そこで、筆者らは、免疫系で産生される NO に着目し、リポ多糖 (LPS) 誘発内毒素ショックを NO 発生系として用いることにした。LPS を投与するとマクロファージ等の免疫系細胞内の NO 合成酵素から NO が産生されることが、血中の亜硝酸イオンや NO-ヘモグロビン濃度の上昇により示唆されている [30,31]。筆者らは LPS 投与マウスで NO の ESR イメージングを試み、これに成功した [19]。これは世界で初めての内在性の NO の *in vivo* イメージングであるだけでなく、内在性のフリーラジカルの *in vivo* イメージングとしても、初めてのものである。ここでは、この LPS 投与マウスでのイメージングを例にとりながら、NO の *in vivo* ESR イメージングについて説明する。

まず、マウス (ICR 系雌性 30 g) に大腸菌由来の LPS (10 mg/kg) を I. P. 投与し、その 5.5 時間後にスピントラップ剤 Fe-DTCS (300 mM) を 0.3 ml 皮下に投与した。Fe-DTCS 投与の 3 時間後に、マウスを体軸が Y-軸に一致し、かつその腹部が共振器内に納まるように固定した。そして、約 25 mT の静磁場下に約 700 MHz のマイクロ波を照射して ESR 測定を行ったところ、NO アダクトの ESR 信号が検出された。この ESR 信号は NO 合成酵素阻害剤であるモ

ノメチル L アルギニン (NMMA) を LPS 投与後に間歇的に腹腔内投与することによって抑制される。このことより、NO アダクトの ESR 信号として捉えられた NO の発生は、NO 合成酵素由来であることが示された。また、摘出腹部臓器の ESR 信号強度を測定することにより、NO の臓器分布を検討したところ、肝臓により多く分布していることが示された。

NO アダクトの ESR 信号検出時に、ESR イメージングを行うために、1 mT/cm の磁場勾配を 20 度刻みで回転させながら変更しながら、ESR 計測を行った。詳細な計測条件は以下のとおりである。共振周波数 710 MHz、マイクロ波電力 40 mW、静磁場 25 mT、磁場掃引幅 15 mT、磁場掃引速度 15 mT/s、磁場変調幅 0.2 mT、磁場変調周波数 100 kHz、積算回数 32 回。得られた ESR 信号から位置情報を抽出するために、磁場勾配下 ESR 信号に対して無勾配下 ESR 信号の線形を用いてデコンボリューション処理を施した。デコンボリューション処理には高速フーリエ変換法を用いた。さらに、デコンボリューションされた信号にフィルタ補正逆投影法を施して、画像再構築を行った。こうした画像処理の結果、図 5 に示すような画像を得た。この画像は ZX 面におけるマウス腹部の二次元投影である。先に行った臓器分布の結果より、この画像は肝臓が描出されたものと考え

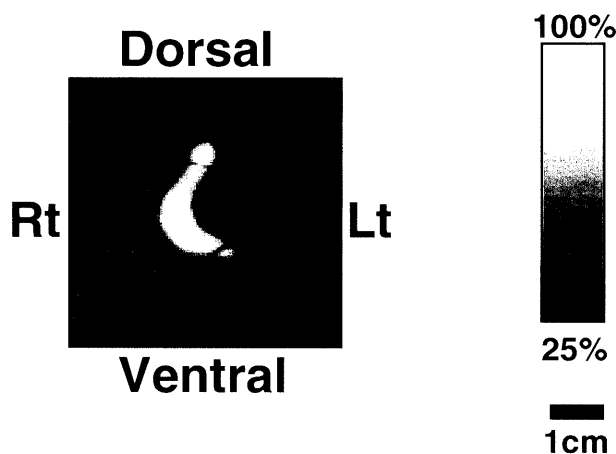


図5. マウス腹部における LPS 誘発内毒素ショック時に発生した NO の ESR 画像(ZX 面における二次元投影像). 文献19より改変.

られた. 無勾配下 ESR 信号に, 無勾配下 ESR 信号自身を用いてデコンボリューション処理を施すと, デコンボリューション処理に使われた本来の信号線形が得られる. こうして得られた線形の半値幅より空間分解能が求められる. この画像における空間分解能は約 6.3 mm である.

Ⅲ. ポルフィリン修飾電極法による NO の *in vivo* 計測

ポルフィリン修飾電極は電気化学的に NO の酸化電流値を検出するものである. ここでは, この電極を NO 電極と呼称する. NO 電極は炭素電極の表面に重合した Ni-ポルフィリン誘導体を, さらにその外層にナフィオン膜を有している. Ni-ポルフィリン誘導体は NO に対する感度を高める役割を担っている. すなわち, Ni-ポルフィリン誘導体は NO の電気的酸化を触媒して, ポルフィリン修飾電極の NO に対する感度を高めている. 一方, ナフィオン膜は NO に対する選択性を高めている. これは NO の代謝産物である亜硝酸イオンは NO と酸化電位がほぼ同じであるため, NO 電極が特異性をもつには, 亜硝酸イオンを排除しなければならないからであり, ナフィオン膜は亜硝酸イオンを通さないイオン交換膜として機能してい

る. これらの機構によりポルフィリン修飾電極は NO に対する高い選択性と感度を有している(図6) [7,32]. 筆者らは Malinski ら [7] の NO 電極を改良して構造を強化し, それをラット脳内に植え込み, 無麻酔無拘束下で使用できるようにした. 以下に, 筆者らの NO 電極の作成手順と, その *in vivo* 応用について, NMDA レセプター刺激後のラット脳内 NO 濃度計測を例にあげながら解説する.

A. ポルフィリン修飾電極の作成 [32-35]

1. 炭素電極の作製

カーボンファイバー(外径10 μm)を10本束にしたものを, 銀ペーストを用いて銅線と導通させ, その接合部をテフロン溶液を用いて絶縁・保護し, 130℃で1時間放置してテフロンを固化させた. 続いて 50 mM アミノプロピルシラン溶液にカーボンファイバーを浸して表面を活性化した後, ベンゼンで数 10 s, 蒸留水で 1 min 間洗浄した. その後カーボンファイバーの束をテフロン溶液に 5~6 s 浸した後, 30 min 風乾することにより絶縁した. このカーボンファイバーの束を低粘性のエポキシ樹脂を用いてガラス管(外径 1 mm)内に封入し, ガラス管と銅線の接合部をデンタルセメントで固定した後, 70℃で8時間放置してエポキシ樹脂を固化

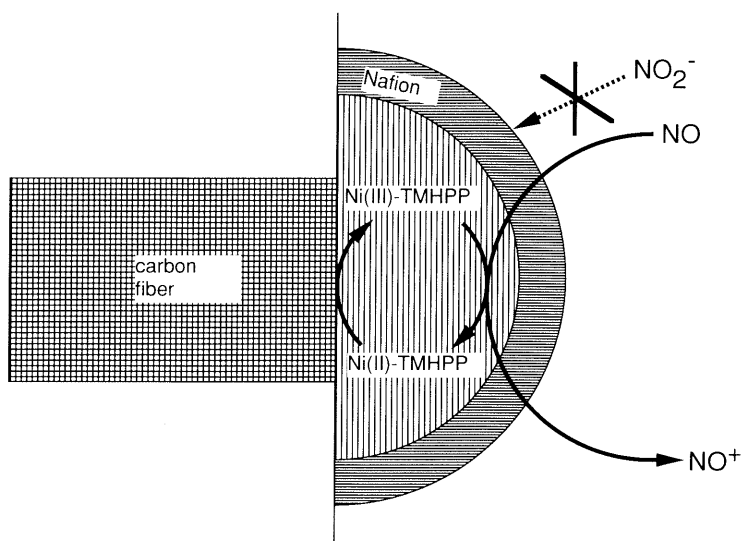


図6. ポリフィリン修飾電極の原理.

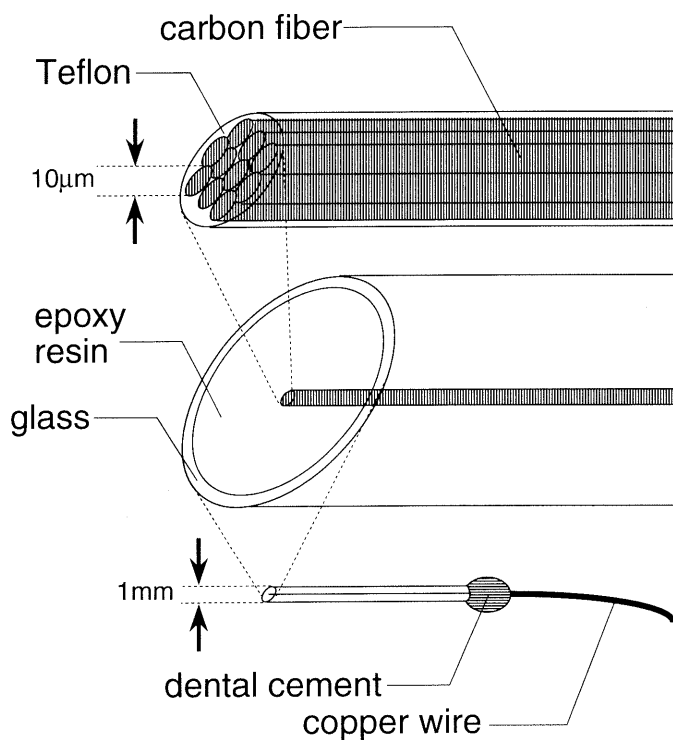


図7. 炭素電極の構造. 文献34より.

させた. 続いて, ガラス管の先端を研磨してカーボンファイバーの断面を露出させ, これを炭素電極として用いた(図7).

Malinski の原法では, 炭素電極のカーボンファイバーはシリンダ状に露出しており, 強度は低い. 彼らの電極も *in vivo* 実験に供されて

いるが、麻酔下の動物を用いた報告しかなくされていない。我々の手法では、上述のように、外径 1 mm のガラス管内に充填されたエポキシ樹脂でカーボンファイバーを保護することにより、電極の強度を増強している。これにより、無麻酔無拘束下での計測に耐えうようになった。

2. Ni-ポルフィリン誘導体の重合とナフィオンによるコーティング

炭素電極を 0.1 N NaOH を含む 1 mM の Ni-

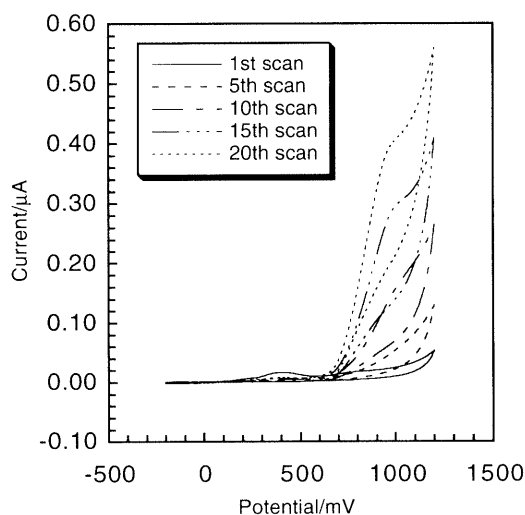


図 8. Ni-ポルフィリン誘導体の重合. 文献34より.

テトラキス(3-メトキシ-4-ヒドロキシフェニル)ポルフィリン(Ni-TMHPP)溶液中において $-200 \sim 1200$ mV vs 銀/塩化銀電極, 50 mV/s でサイクリックヴォルタンメトリー(CV)を20 スキャンを行なうと、炭素電極の表面に Ni-TMHPP を酸化電解重合した。この電気化学操作には、コンピュータ制御電気化学計測装置(CS1090, サイプレス)を用いた。後述の電気化学操作はすべて、この装置を用いて行っている。CV スキャンを繰り返すと、電極表面に析出した重合 Ni-TMHPP に起因する酸化還元ピーク(カーブの右端)の増大が観察され、このピークの増大により、電極上に Ni-TMHPP が重合されていることを確認した(図8)。重合後、電極を 5 % 低級アルコールを含むナフィオン溶液に 15 s 間浸漬した。5 min の風乾の後、電極は pH 7.4 磷酸カリウム緩衝液(PBS)内に保管し、NO 電極を得た。この NO 電極は作用極として機能する。

3. 検量線の作成

100 ml の PBS で満たされたバブラー内(図9 A)の酸素を純粋アルゴンガスで十分にバージした後、純粋 NO ガスでバブリングすることにより飽和 NO 水溶液を得た。4 ml の PBS が注入された電解セル内に NO 電極の作用極(WE)、対極(CE)としての白金線、および参

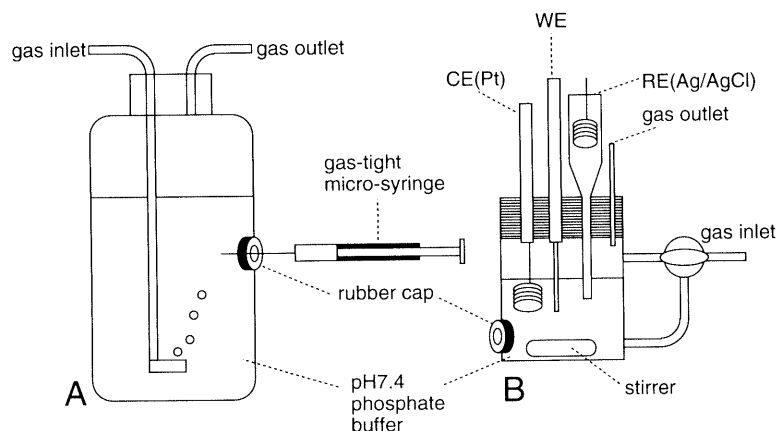


図 9. 飽和 NO 水溶液作成用のバブラー(A)と NO 電極の検量線作成用の電解セル(B). 文献34より.

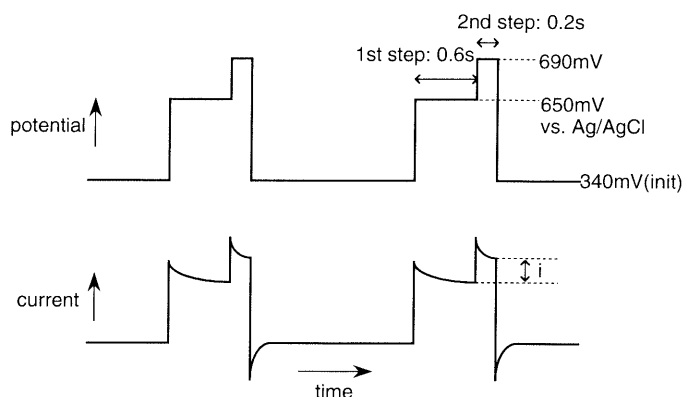


図10. NO 計測用の DDPA. 文献32より.

照極(RE)としての銀/塩化銀電極を留置した(図9B). 酸素をパージした電解セル内のPBSへ, 飽和NO溶液をマイクロシリンジで注入して希釈することにより, セル内に各種濃度のNO水溶液を調製した. 本電極は *in vivo* 応用を前提にしたものである. 従って, 分析法には, ある酸化電位を有する物質のみを選択的に高感度に定量できる微分ダブルパルスアンペロメトリー(DDPA)を採用した. 1st step: 650 mV/0.6 s, 2nd step: 690 mV/0.2 s の条件でDDPAを行うと(図10), NO濃度に比例した応答酸化電流が得られた. これをもとに各種NO濃度に対応した触媒酸化電流値との関係をプロットし, 検量線を作成した. これを見ると本電極により 10^{-6} M オーダーのNOの計測が十分に可能なことがわかる(図11). しかし, このような良好な濃度-電流関係を得られない電極も多々存在する. このような不良電極を選別するためにも, 検量線の作成は必須である. 電極作成手技が熟練すれば, 電極不良率は低下するが, ある程度熟練しても, 60~70%は覚悟しなければならない.

B. NMDA 投与後の脳内 NO 濃度の変化

我々が採用したDDPA法は, 測定対象物質の濃度の変化量を計測することはできるが, 対象となる物質の絶対濃度を求めることはできない. したがって, NO濃度を変化させるような

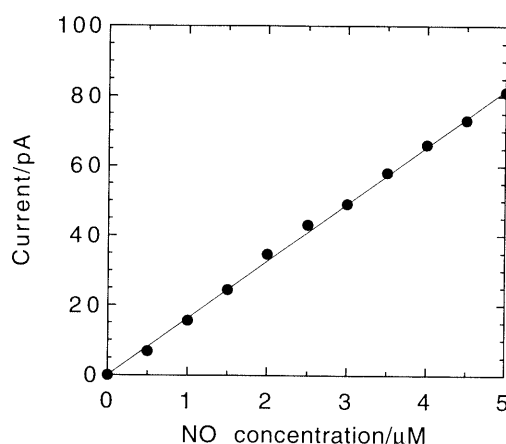


図11. NO 電極の検量線. 文献32より.

薬物を投与した後の, NO濃度の推移を知るのに適した手法である. 前述したように, 中枢神経系において, NOが神経伝達物質として機能していることはよく知られている. そのなかでも, NMDAレセプターの作用の一部がNOを介するという事実[36]には多くの関心がよせられている. なぜなら, NMDAレセプターは, 長期増強効果[37], てんかん現象[38,39], 精神分裂病の成因[40,41]などに深く関与していると考えられるからである. しかし, NMDAレセプター賦活後の脳内のNO濃度の変化を *in vivo* で計測した報告はなかった. そこで, 筆者らは, NO電極を用いて, NMDA投与後のラット脳内のNO濃度の時間変化を無麻酔無

拘束下で計測し, NMDA レセプター賦活により脳内 NO が上昇していることを *in vivo* で実証した [32]. ここでは, NO 電極の *in vivo* 応用について, NMDA 投与ラットの脳内 NO 計測を例にあげて説明する.

ペントバルビタール麻酔下で, ラット(ウイスター雄性 200~250 g)の右側海馬背側部に NO 電極(作用極)を留置した. 参照電極は対側半球の硬膜上に留置した. 参照電極は作用極に対して十分大きいので, 対極は使用せず, 参照電極でその機能を兼用している. 術後 2~4 日後に, NO 濃度を計測のための DDPA (設定値はⅢ-A-3 参照)を, ラットに植え込んだ電極に対して無麻酔無拘束下で行った. 得られた電流値を経時的に記録し, その電流値を, あらかじめ作成しておいた検量線を用いて NO 濃度に変換する. したがって, 植え込んだ電極全て

に対して, Ⅲ-A-3 に示した方法で検量線を作成しておく必要がある.

以上のような手法で, NMDA 20 mg/kg (5 ml/kg)を I. P. 投与したラットの NO 濃度を無麻酔無拘束下で測定したところ, 対照群(生理食塩水 I. P.)に対して有意な NO 濃度の上昇が観察された. この NO 濃度の上昇は NO 合成酵素阻害剤である NMMA の前処置 (30 mg/kg, I. P.)により阻止されており, NMDA 刺激後の NO 上昇が NO 合成酵素由来の反応であることが示された(図12).

Ⅳ. ま と め

NO は *in vivo* 計測が困難である. その高い反応性と速い消失速度のためである. 最近, 新たな技術の開発によりこれらの問題点が克服されようとしている. ひとつは *in vivo* ESR イ

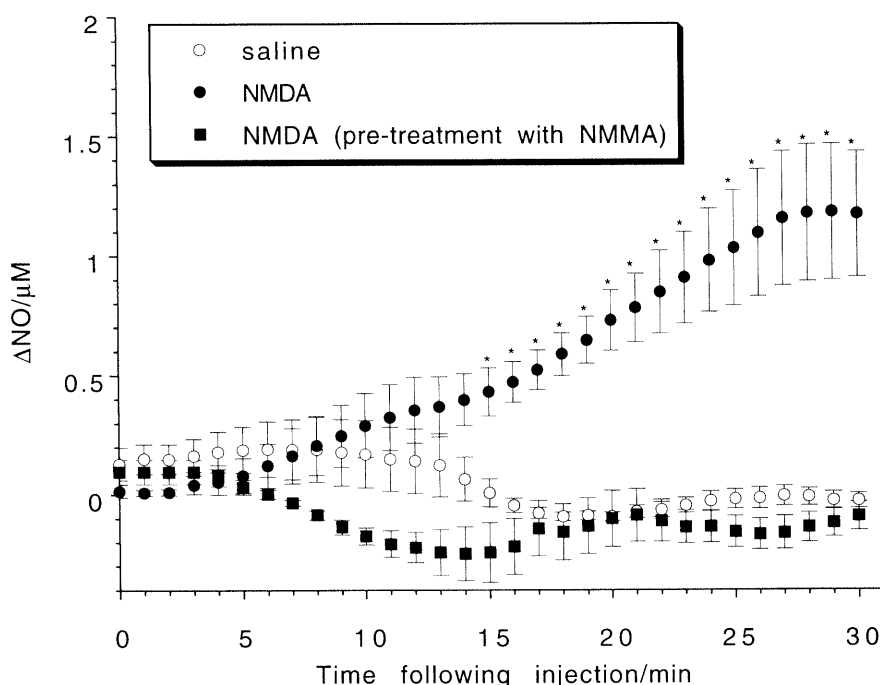


図12. NMDA または生理食塩水腹腔内投与後の NO 濃度の推移.
 平均値±S. E. M. (Student's t-test: $p < 0.01$, *)
 生理食塩水投与ラット n=5
 NMDA 投与ラット n=5
 NMMA 前処置後 NMDA 投与ラット n=4
 文献32より.

メージングである。現状では NO が大量に発生する系でしか成功していないが, *in vivo* ESR は進歩の著しい開発段階の技術であり, 将来, 多くの領域で有効な研究手段となるだろう。もうひとつはポルフィリン修飾電極法, すなわち, NO 電極を用いる方法である。電極の作成功率が低く, 作成者の習熟度に依存している点が問題だが, 現時点では, この方法が生体内の NO の挙動を理解する上で最も優れている。以上の技術における最近の筆者の知見を紹介した。

謝 辞

本稿で紹介した研究成果は次の方々との共同研究によるものです。記して謝意を表します(敬称略)。

山形県テクノポリス財団生物ラジカル研究所;

藤井敏司, 吉村哲彦, 平松 緑, 大矢博昭,

鎌田 仁

山形大学工学部; 尾形健明

山形県工業技術センター; 及川和夫

大分医科大学薬理学; 高山房子

NTT 物性科学基礎研究所; 河西奈保子

東北大工学部; 末永智一, 内田 勇

東北大理学部; 小林長夫

浜松医科大学精神科; 森 則夫

福島県立医科大学神経精神科;

小藺江浩一, 丹羽真一

福島県立医科大学 RI 研究室; 土橋宣昭

文 献

- Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA: Nitric oxide: physiology, pathology, and pharmacology. *Pharmacol Rev* **43**: 109-142, 1991.
- Kerwin Jr JF, Lancaster Jr JR, Feldman PL: Nitric oxide: a new paradigm for second messengers. *J Med Chem* **38**: 4343-4362, 1995.
- Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S: Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* **327**: 524-526, 1987.
- Huygen C, Lanting RW: Short communications on the Saltzman factor. *Atmos Environ* **9**: 1027-1029, 1975.
- Menon NK, Pataricza J, Binder T, Bing RJ: Reduction of biological effluents in purge and trap micro reaction vessels and detection of endothelium-derived nitric oxide by chemiluminescence. *J Mol Cardiol* **23**: 389-393, 1991.
- Mordvintcev P, Mulsch A, Busse R, Vanin A: On-line detection of nitric oxide formation in liquid aqueous phase by electron paramagnetic resonance spectroscopy. *Anal Biochem* **19**: 142-146, 1991.
- Malinski T, Taha Z: Nitric oxide release from a single cell measured in situ by a porphyrinic-based microsensor. *Nature* **358**: 676-677, 1992.
- Schwan HP, Foster KR: Microwave dielectric properties of tissue. *Biophys J* **17**: 193-197, 1977.
- Schwan HP, Foster KR: RF-field interactions with biological systems: Electrical properties and biophysical mechanisms. *Proc IEEE* **68**: 104-113, 1984.
- Ishida S, Kumashiro H, Tsuchihashi N, Ogata T, Ono M, Kamada H, Yoshida E: In vivo analysis of nitroxide radicals injected into small animals by L-band ESR technique. *Phys Med Biol* **34**: 1317-1323, 1989.
- Ishida S, Matsumoto S, Yokoyama H, Mori N, Kumashiro H, Tsuchihashi N, Ogata T, Yamada M, Ono M, Kitajima T, Kamada H, Yoshida E: An ESR-CT imaging of the rat head of a living rat receiving an administration of a nitroxide radical. *Magn Reson Imag* **10**: 21-27, 1992.
- Yokoyama H, Ogata T, Tsuchihashi N, Hiramatsu M, Mori N: A spatiotemporal study on the distribution of intraperitoneally injected nitroxide radical in the rat head using an in vivo ESR imaging system. *Magn Reson Imag* **14**: 559-563, 1996.
- Yokoyama H, Ogata T, Tsuchihashi N, Hiramatsu H, Mori N: An analysis of the intracerebral ability to eliminate a nitroxide radical in the rat after administration of idebenone by an in vivo rapid scan ESR spectrometer. *MAGMA* **4**: 247-250, 1996.
- Yokoyama H, Fujii S, Yoshimura T, Ohya-Nishiguchi H, Kamada H: In vivo ESR-CT imaging of the liver in mice receiving subcutaneous injection of nitric oxide-bound iron complex. *Magn Reson Imag* **15**: 249-253, 1997.
- Yokoyama H, Itoh O, Ogata T, Obara H, Ohya-Nishiguchi H, Kamada H: Temporal brain imaging by a rapid scan ESR-CT system in rats receiving intraperitoneal injection of a methyl ester nitroxide radical. *Magn Reson Imag* **15**: 1079-1084, 1997.
- Yokoyama H, Sato T, Tsuchihashi N, Ogata T, Ohya-Nishiguchi H, Kamada H: A CT using Longitudinally Detected ESR (LODES-CT) of Intraperitoneally Injected Nitroxide Radical in a Rat's Head. *Magn Reson Imag* **15**: 701-708, 1997.
- 横山秀克: NO の ESR イメージング. 血管と内皮 **7**: 26-31, 1997.
- Yoshimura T, Fujii S, Yokoyama H, Kamada H:

- In vivo electron paramagnetic resonance imaging of NO-bound iron complex in a rat head. *Chem Lett* **309**:310, 1995.
19. Yoshimura T, Yokoyama H, Fujii S, Takayama F, Oikawa K, Kamada H: In vivo EPR detection and imaging of endogenous nitric oxide in lipopolysaccharide-treated mice. *Nature Biotech* **14**: 992-994, 1996.
 20. Yoshimura T, Yokoyama H, Fujii S: Electron paramagnetic resonance detection and imaging of endogenous synthesized and exogenously supplied nitric oxide. *J Magn Reson Anal* **3**: 125-140, 1997.
 21. Froncisz W, Hyde J.: The loop-gap resonator: a new microwave lumped circuit ESR sample structure. *J Magn Reson* **47**: 515-521, 1982.
 22. 尾形健明, In vivo 測定用 L-バンド ESR システムの開発とその応用. 昭和59~61年度科学研究費補助金試験研究(2)研究成果報告書, 1987.
 23. Ono M, Ogata T, Hsieh K, Suzuki M, Yoshida E, Kamada H: L-band ESR spectrometer using a loop-gap resonator for in vivo analysis. *Chem Lett* **491**:494, 1986.
 24. Hirata H, Ono M: Resonance frequency estimation of a bridged loop-gap resonator used for magnetic resonance measurements. *Rev Sci Instrum* **67**: 73-78, 1996.
 25. Oikawa K, Ogata T, Lin Y, Sato T, Kudo R, Kamada H: Rapid field scan L-band electron spin resonance computed tomography system using an air-core electromagnet. *Anal Sci* **11**: 885-888, 1995.
 26. 土橋宣昭: 小動物用 L-バンド電子スピン共鳴画像システムの開発. 昭和62~平成元年度科学研究費補助金試験研究(2)研究成果報告書, 1990.
 27. Lauterbur PC: Image formation by induced local interaction: Example employing nuclear magnetic resonance. *Nature* **242**: 190-191, 1973.
 28. Lauterbur PC, Lai CM: Zeugmatography by reconstruction from projections. *IEEE Trans Nucl Sci NS-27*: 1221-1231, 1980.
 29. 吉村哲彦, 藤井敏司, 横山秀克: 一酸化窒素測定試薬. 公開特許広報 JP96179024, 1996
 30. Stuehr DJ, Marletta MA: Mammalian nitrate biosynthesis: mouse macrophages produce nitrite and nitrate in response to *Escherichia coli* lipopolysaccharide. *Proc Natl Acad Sci USA* **82**: 7738-7742, 1985.
 31. Westenberger U, Thanner S, Ruf HH, Gersonde K, Sutter G, Trnz O: Formation of free radicals and nitric oxide derivative of homoglobin in rats dying shock syndrome. *Free Rad Res Comms* **11**: 167-178, 1990.
 32. Yokoyama H, Mori N, Kasai N, Matsue T, Uchida I, Kobayashi N, Tsuchihashi N, Yoshimura T, Hiramatsu M, Niwa S: Direct and continuous monitoring of intrahippocampal nitric oxide (NO) by an NO sensor in freely moving rat after N-methyl-D-aspartic acid injection. *Denki Kagaku* **63**: 1167-1170, 1995.
 33. Yokoyama H, Mori N, Osonoe K, Kasai N, Hiramatsu M, Yoshimura T, Matsue T, Uchida I, Kobayashi N, Tsuchihashi N, Niwa S: Increase of central nitric oxide during pentylenetetrazol-induced seizures in rats. *Psych Clin Neurosci* **49**: S277-S279, 1995.
 34. 横山秀克, 河西奈保子, 平松 緑, 吉村哲彦, 末永智一, 内田 勇, 小林長夫, 土橋宣昭, 森則夫, 丹羽真一: NO マイクロセンサーの中樞神経領域における in vivo 応用. *生物物理*, **35**: 123-124, 1995.
 35. 横山秀克: 一酸化窒素の in vivo 計測法の進歩. *脳と精神の科学* **7**: 249-254, 1996.
 36. Bread DS, Snyder SH: Nitric oxide mediates glutamate-linked enhancement of cGMP levels in the cerebellum. *Proc Natl Acad Sci USA*, **86**: 1989, 9030-9033.
 37. Gustafsson B, Wingstrom H: Physiological mechanisms underlying long-term potentiation. *Trends Neurosci* **11**: 156-162, 1988.
 38. Mori N, Wada JA, Sato T, Saito H, Kumashiro H: Important roles of N-methyl-D-aspartate receptors in expression of amygdaloid-kindled seizure demonstrated by intraperitoneal administration of L-aspartate in dimethyl sulfoxide. *Epilepsia*, **33**: 583-588, 1992.
 39. Nevins ME, Arnolde SM: A comparison of the anticonvulsant effects of competitive and non-competitive antagonists of the N-methyl-D-aspartate receptor. *Brain Res* **503**: 1-4, 1989.
 40. Kemp JA, Foster AC, Wong EHF: Non-competitive antagonists of excitatory amino acid receptors. *Trends Neurosci* **10**: 294-298, 1987.
 41. Sonders M, Keana JFW, Weber E: Phencyclidine and psychotomimetic sigma opiates; recent insights into their biochemical and physiological sites of action. *Trends Neurosci*, **11**: 37-40, 1988.

シリーズ「生理学者のための分子モニタリング技術講座」

マイクロダイアリシスによる細胞外物質濃度の測定

中原 大 一 郎¹⁾・加 藤 武²⁾

(¹⁾浜松医科大学心理学・²⁾横浜市立大学大学院総合理学研究科分子認識部門)

I. は じ め に

1960年代初めに、ホルムアルデヒド蒸気と反応させた生体アミンを蛍光で見ることができるようになった。この技法を用いてモノアミンの脳内分布を調べていた Ungerstedt (スウェーデンのカロリンスカ研究所) は、ニューロンの細胞体や終末だけでなく遠く離れた血管周囲にも多数の蛍光が存在することに気がついた。そこで、彼は腎透析に用いられる細い人工血管を脳に埋めてモノアミンを回収することを思いついたという。1974年に彼らが初めて試みた中空糸状の透析チューブによる組織透析を一般にマイクロダイアリシスと呼んでいる [1]。

生きている動物を用いて細胞外液からさまざまな物質を連続的に回収する技法として最も古いのはプッシュ・プル法である [2]。この方法は幾つかの研究室で今でも使われている。プッ

シュ・プルカニューレは、送液と吸液用の2つのステンレス管からなり、先端のところで灌流系が開放されている (図1)。灌流液の回収率が高く、微量な神経伝達物質の測定に有効と考えられるが、一般に送液速度が速く、組織の剥離によるダメージや感染をおこすなどの欠点がある。そこで、1972年に Delgado (スペインの生理学者) らによってこれを補うための改良がなされた [3]。カニューレの先端に半透膜を張りつけたダイアリトロード (dialyetrode) の考案である。マイクロダイアリシスプローブの登場はその2年後のことになる。図に示すように、ダイアリトロードとマイクロダイアリシスプローブに構造上の大きな違いはない。しかし、前者に比べ、後者は製作が容易であり物質の回収量が大きいという利点がある。その結果、プッシュ・プルカニューレやダイアリトロードに代わって、マイクロダイアリシスプローブが次第

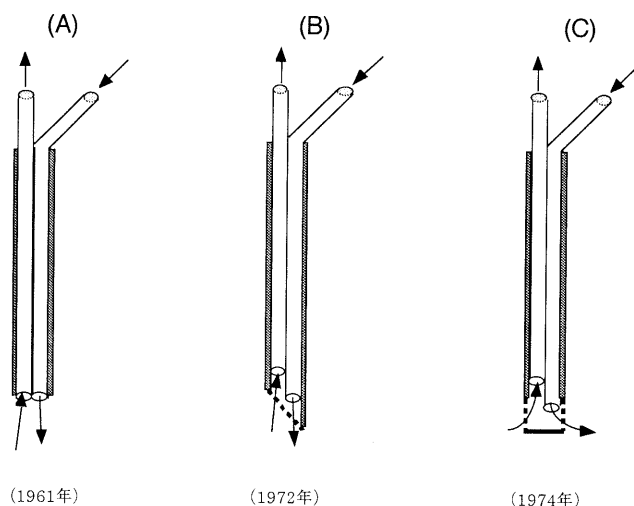


図1. (A): プッシュ・プルカニューレ, (B): ダイアリトロード, (C) マイクロダイアリシスプローブ

に普及するようになった。こうして、現在では、マイクロダイアリシスは神経化学領域における標準的技法の一つに加えられるまでに発展している。これまでにマイクロダイアリシスは、神経伝達物質系に対する各種薬物の作用機構、薬物誘発性行動や記憶・学習行動と神経伝達物質の関係、および虚血、パーキンソン病、てんかんなどのヒトの病気のモデル動物における脳内伝達物質機序の探索、などさまざまな神経科学的研究に応用され、多くの成果を挙げている。

Ⅱ．原　　理

マイクロダイアリシスは、基本的には、中空糸状の透析膜を用いて生体組織の細胞外液に含まれる物質を抽出する技術である。図2のような細い透析チューブ(直径0.2～0.5 mm)を特定の脳領域に植え込み、細胞外液と灌流液を半透膜で隔てる。次に、微量注入ポンプを用いて人工脳脊髄液(またはリンゲル液)を透析チューブの中にゆっくりと送り込む。その結果、半透膜の分画分子量より小さい物質は細胞外液あるいは灌流液からそれぞれ濃度勾配の低い方向へ

と拡散していく。マイクロダイアリシスの原理は、この半透膜の性質を利用して、細胞間隙に存在するさまざまな物質を灌流液に回収することである。逆に、薬物を溶かした灌流液を組織内に送り込めば、局所的な微量薬物注入法としても利用できる。

マイクロダイアリシスでは、注入される人工脳脊髄液(もしくはリンゲル液)は膜の内側を灌流することになるので組織と直接触れることはない。したがって、神経などの組織損傷は比較的少なく長時間にわたる試料の採取が可能になる。透析膜の種類によっては大きさや性質の異なった分子が回収される。一般に、低分子量の物質の透析には再生セルロースやセルロースアセテート膜が使用され、神経ペプチド類の透析にはポリアクリロニトリル(PAN)、ポリカーボネート(PC)などが使用される。透析膜はフィルターの役目をしており、分解酵素などの高分子量の物質を通過させない。したがって、回収した伝達物質が灌流液の中で分解されることはない。また、膜を介して得られるサンプルは汚れが少なく精製しなくても分析できる。以上の

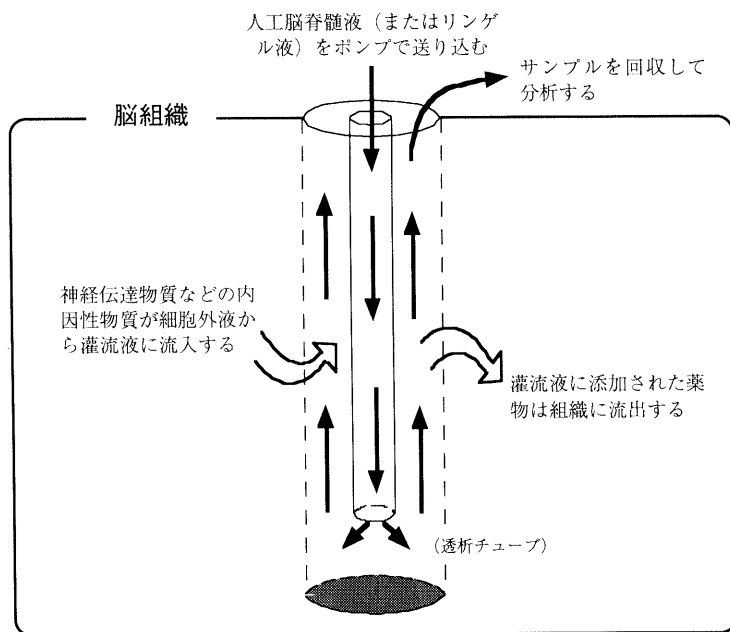


図2. マイクロダイアリシスの原理

ような利点がある反面, 伝達物質や各種イオン, その他の物質を絶えず排出することになるので, 細胞外液のホメオスタシスを崩す危険がある。これが欠点である。そのため, できる限りゆっくりとした灌流を行ったり, グルコースなどの栄養源を補充した灌流液を使用する研究者もいる。

マイクロダイアリシスによって回収した物質は, 高速液体クロマトグラフィー (HPLC), ラジオエンザイムアッセイやラジオイムノアッセイ, あるいはエンザイムノアッセイなどを用いて分離定量する。どのアッセイを用いるかは測定物質の性質による。ドーパミン, ノルアドレナリンのカテコールアミン類とセロトニンなどの電気化学的活性を有する物質については, 電気化学検出器 (ECD) を備えた HPLC 法により高感度分析が簡便におこなえる。アセチルコリンやアミノ酸などの電気的に不活性な物質でも酸素反応や化学反応により電気化学的に活性な物質に誘導化すれば HPLC-ECD 法で測定できる。神経ペプチドの分析にはラジオイムノアッセイやエンザイムノアッセイを利用する。現在では, ECD や蛍光検出器を組み合わせた HPLC 法により, nM のオーダーのモノアミン, アセチルコリンおよびアミノ酸の測定が素人でも簡単にできる。神経ペプチドの細胞外濃度は pM オーダーであり, 高感度な抗血清と高い回収率で灌流を行えば測定も可能である [4]。

Ⅲ. 方 法 論

マイクロダイアリシスプローブには, U字型と貫通型と I 字型の 3 種類がある (図 3)。I 字型の中には慢性実験用の着脱式のプローブも含まれる。Ungerstedt が最初に用いたプローブは U 字型である。このプローブは短時間で簡単に作ることができる。しかし, 当時のプローブの径は大きかったので, その分組織損傷も大きくなり, 小さな脳部位 (例えば視床下部) への適用は難しかった。貫通型のプローブは他のプローブに比べ透析範囲が広く, それゆえ物質の回収率 (後述) は高い。微量物質の高感度分析が困難であった初期の研究で主に回収量を稼ぐために使われた。このプローブは深部の脳組織には適用しにくい。深部構造には I 字型プローブが使われる。着脱型プローブは, ガイドカニューラを用いることによって, 取り外しができる。つまり, 手術による損傷から回復させた後に挿入するため, 測定したい部位をフレッシュに使用できる。これによってプローブの再使用と長期の行動実験が可能になった。例えば, 回転ケージ, トレッドミル, 水迷路, 記憶課題, オペラント学習などの行動事態におけるマイクロダイアリシスが行われている。

慢性実験を行う際, 感染に充分注意する必要がある。以前, 脳には免疫反応がないと考えら

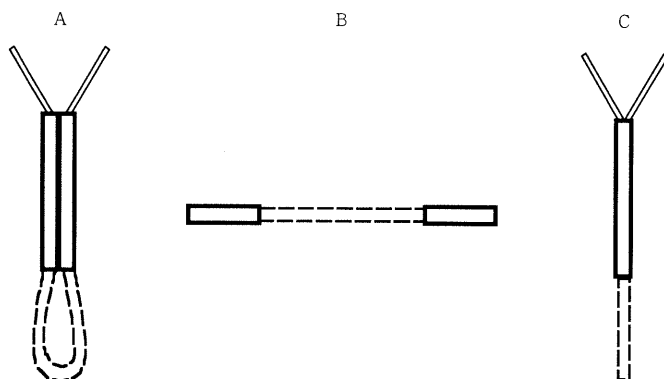


図 3. 3 種類のプローブ
A: U 字型, B: 貫通型, C: I 字型

れていたが、グリア細胞による反応が明かとなっており、利用するプローブは必ず消毒済みであるか、消毒可能なプローブをエチレンガスなどで消毒する必要がある。サルなどの実験では繰り返し実験したいことがある。しかし、同じ脳部位に何回もプローブを挿入することは、組織を破壊するため、行ってはならない。

いずれのプローブも、慣れれば、誰にでも容易に作製できる。現在最もよく使われるプローブはI字型である。その作製法を簡潔に述べると次のようになる。(図4)。

- ① 電動ドリル(またはカッター)を用いて注射針(23G x 1 インチ, テルモ)ハブを肩の位置で切断する。注射針のステンレス管は植え込み部位に適した長さに切断する。たとえば、ラットの線条体に挿入する場合、注射針起始部から先端までのステンレス管の長さは5~7 mm とする。次に、別の注射針(同径)のステンレス管を長(12 mm)、短(8 mm) 2つに切断する。
- ② フューズドシリカチューブ(内径 75 μm ; 外径 150 μm , エイコム)をハサミで長短2

本に、線条体の場合 30 mm と 10 mm の長さに、切断して、①で切断した2本のステンレス管の中に通してエポキシ樹脂(アラルダイド・ラピッド, ニチバン)で接着する。このうち長い方をインレットチューブ, 短い方をアウトレットチューブとして用いる。

- ③ インレットチューブとアウトレットチューブを本体①で作製した注射針の中に挿入する。インレットチューブは本体のステンレス管の先端より4 mm 以上突き出るようにする。次に上端部にエポキシ樹脂を流し込み、2本のチューブと本体ステンレス管の隙間を充填して、チューブを固定する。
- ④ 透析膜チューブ(再生セルロース膜; 外径 0.23 mm; ALF-80G, 日機装)を約7~8 mm の長さにハサミで切断して、切り口の一端をエポキシ樹脂で塞ぐ。封入幅は0.2~0.3 mm にする。
- ⑤ エポキシ樹脂が完全に硬化した(3時間から1日)後に、③で作製した本体ステンレス管の先から突き出ているフューズドシリカチューブを一定の長さに切断する。線条体の

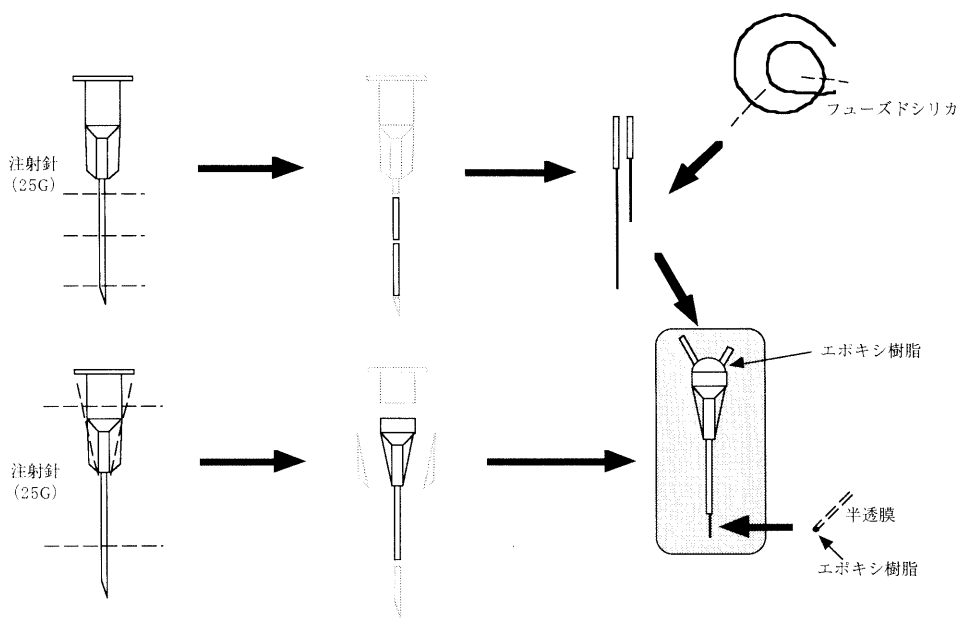


図4. I字型プローブ作製法の概略

場合には3~4 mm とする。次に、④で作製した透析チューブの開口している側をフューズドシリカチューブの上にかぶせながら、慎重に本体ステンレス管の中に挿入する。フューズドシリカチューブの先端と透析膜チューブの先端封入部の間は0.2~0.3 mm 前後の隙間を残す。最後に、エポキシ樹脂で透析チューブを本体に接着する。この作業は実体顕微鏡下でおこなう。

完成したプローブは、実験に使う前に、試験管内キャリブレーションを済ませておく。というのは、回収した物質の濃度は細胞外液の実際の濃度の一部に過ぎないからである。標的物質の細胞外濃度を正確に知るために、あらかじめ、その物質に対する回収率を求めておく必要がある。通常、回収率は次のような手続きで求める。まず、プローブを既知濃度の標準物質を含むテスト溶液の中に浸ける。たとえば、セロトニンとその代謝物質の測定をおこなう場合、テスト液には標準物質としてセロトニンと代謝物質であるジヒドロキシインドール酢酸(例えば各1 μ M の濃度)を含むリングル液を用意する。次に、インフュージョンポンプを用いてリングル液をプローブの中に送り込む。数分灌流した後、一定のサンプリング間隔(通常10~20分間)で数個のサンプルを回収する。サンプルの分析はHPLC-ECD 法などでおこなう。得られたクロマトグラムの数値から回収率を次式で求める。

$$\text{回収率} = \frac{\text{試験管内透析液の物質濃度}}{\text{テスト液の物質濃度}} \times 100 \quad \dots\dots(1)$$

このようにして算出した回収率(および単位時間あたりに回収される物質の絶対量)と灌流液速度の間には図5の関係が成立する。多くの実験では2~4 μ l/分の灌流速度が用いられている。これは、図から明らかなように、その流速で最大の透析効率を得られる(単位時間あたりに回収される絶対量が最も多い)からである。図6は回収率と温度の関係を示している。回収率は温度の影響を受けるので、テスト溶液の温

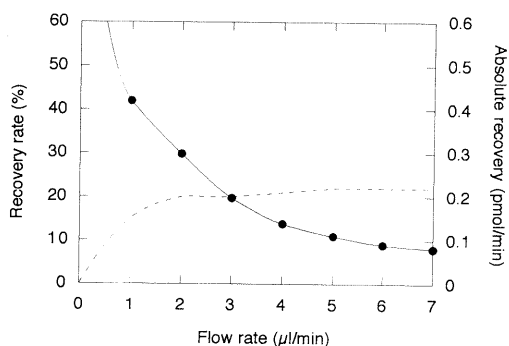


図5. 回収率と流速の関係
実線が回収率、点線が1分当たりの回収量。
プローブの膜長は4 mm.

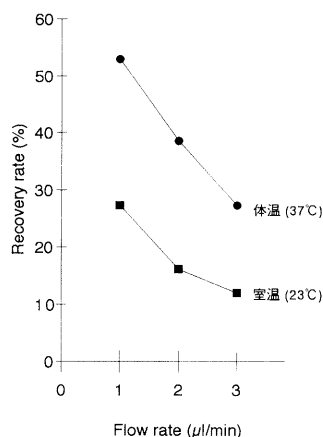
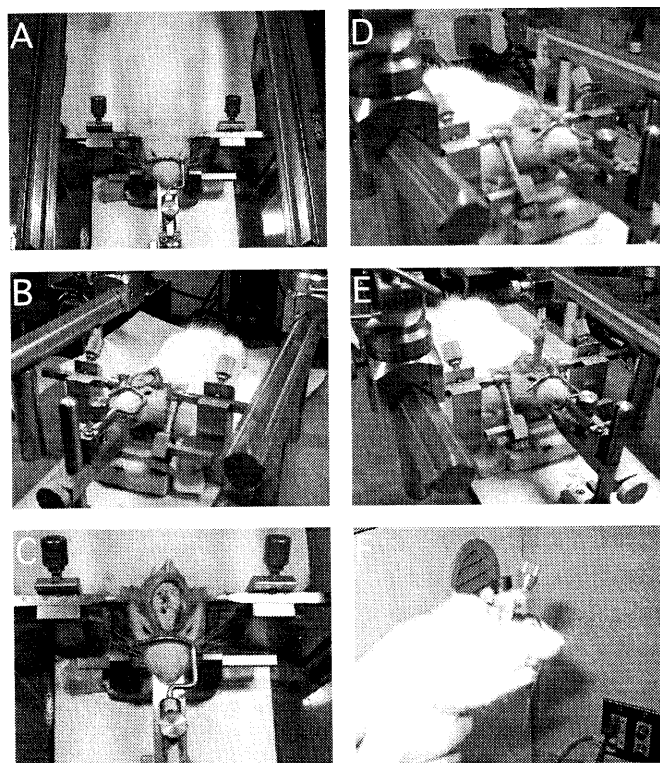


図6. 回収率と温度の関係
プローブの膜長は4 mm.

度は動物の体温(37~40℃)に近づける。

I字型プローブは脳のどの部位にも植え込むことができる。植え込み手術は、以下の手続きでおこなう(図7)。まず、ネプタール麻酔下(40~50 mg/kg, 腹腔内投与)で脳定位固定装置に実験動物(ラット)の頭部を固定する。頭髪を消毒後刈り取る。頭皮を切開した後、出血しないようドリルで頭蓋に穴を開ける。その際、脳部位によっては硬膜の直ぐ下に血管があり、硬膜を丁寧に開けないと出血の原因になる。測定する脳部位にキャリブレーションを済ませたプローブを1~2分かかってゆっくりと挿入する(慢性実験では、ガイドカニューレ、プローブ、アンカーネジなどを十分に消毒して感染を防



A : 脳定位装置による固定
B : 頭皮の切開
C : 頭蓋の穴空け

D : プローブの挿入
E : デンタルセメントでの固着
F : 手術の終了

図7. プローブ植え込み手術

ぐ)。次に、プローブ周辺の頭蓋内にアンカー用のネジを2～3個埋め込む。最後に、デンタルセメントを使ってガイドカニューラを頭蓋に固着して手術を終了する。

術後数日の回復期間を経てからマイクロダイアリシスを行う。まず、インフュージョンポンプを用いて2～4 μ l/分の流速でリングル液をしばらくの間灌流する。これは、図8に示すように、プローブの挿入によって神経組織の一部が壊れ、それにより細胞外液に大量に放出される伝達物質がクリアランスされるのを待つためである。約3時間後には基礎値が安定するので、そこからサンプルの採取を開始する。サンプリングの間隔は、物質の濃度にもよるが、一般的には5～20分とする。採取した脳内物質はなる

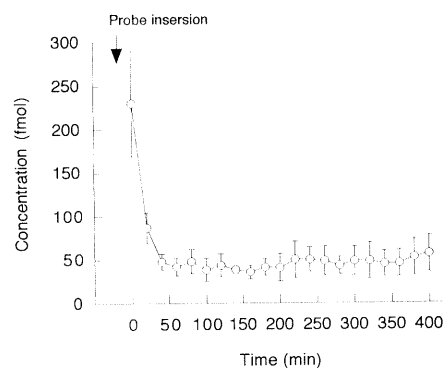


図8. プローブ挿入による細胞外ドーパミン濃度の経時的変化

べくその日のうちに分析を済ませる。後日分析する場合には -80°C で保存する。細胞外液の物

質濃度は次式で計算する。

$$\text{物質の細胞外濃度} = \frac{\text{生体内透析液の物質濃度}}{(1)} \times 100 \quad \dots\dots (2)$$

ただし、この式が成り立つのは、生体と試験管の条件が等しい場合に限られる。しかし、生体内では、物質の拡散に種々の要因が影響を及ぼしており、試験管内条件は再現されない。したがって、(2)式から得た値はその物質の細胞外濃度の実際値と若干異なる。より正確な値を求める場合にはインビボキャリブレーション法を用いる。その手続を、ドーパミン濃度の測定を例として、述べると以下ようになる[5](図9)。すなわち、灌流液にまず低濃度の(外来性)ドーパミンを添加させ、その後徐々に濃度を上げていく。その結果、ある濃度に達すると、細胞外液からの(内因性)ドーパミンの流入がなくなる。この時、透析膜を横切るドーパミンの濃度勾配がゼロになる。すなわち、透析液のドーパミンの濃度とプローブ周辺組織のドーパミン濃度が平衡点に達する。したがって、添加したドーパミン濃度と回収液のドーパミン濃度が一致した時、その濃度が細胞外液の実際の濃度に相当すると考えればよい。図の例では、ドーパミンの細胞外濃度は2.72 nMと推測された。

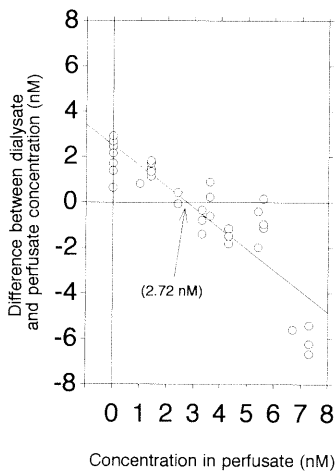


図9. インビボキャリブレーション：線条体細胞外ドーパミン濃度の実測値

もう一つの生体濃度の測定は、灌流液速度を例えば0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0 $\mu\text{l}/\text{分}$ で行い、得られた細胞外液濃度から、外挿法により、灌流液速度ゼロに相当する濃度を推定する方法である。ただし、これらの手続きは煩雑なので通常の実験で使うことはあまりない。

マイクロダイアリシスの時間分解能は分のオーダーである。時間分解能を決めるのは物質の回収率とアッセイの感度である。回収率は透析膜チューブの径と長さおよび物質の拡散特性などに依存する(図10)。最近の分析技術の進歩は目覚ましく、特にHPLC-ECDによるモノアミン、アセチルコリンおよびアミノ酸の感度が格段に向上した。モノアミンとアセチルコリンの検出限界値は今や1フェムトモル/サンプル、GABAやグルタミン酸については10フェムトモルにまで近づいている。この結果、アセチルコリンが生理的条件下でも(アセチルコリン分解酵素阻害剤を添加しなくても)検出できるようになった[6,7]。アセチルコリンのマイクロダイアリシスを行う時の重要な注意点は、灌流するラインをすべて70%アルコールなどで洗浄することである。そうすれば、灌流液が通過するラインに存在する細菌内アセチルコリン分解酵素を除去できる。

マイクロダイアリシスはオフラインだけでな

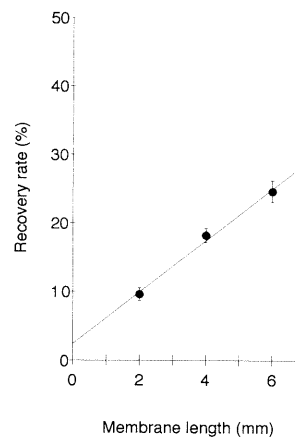


図10. 透析チューブの長さとの回収率の関係(流速2 $\mu\text{l}/\text{分}$)

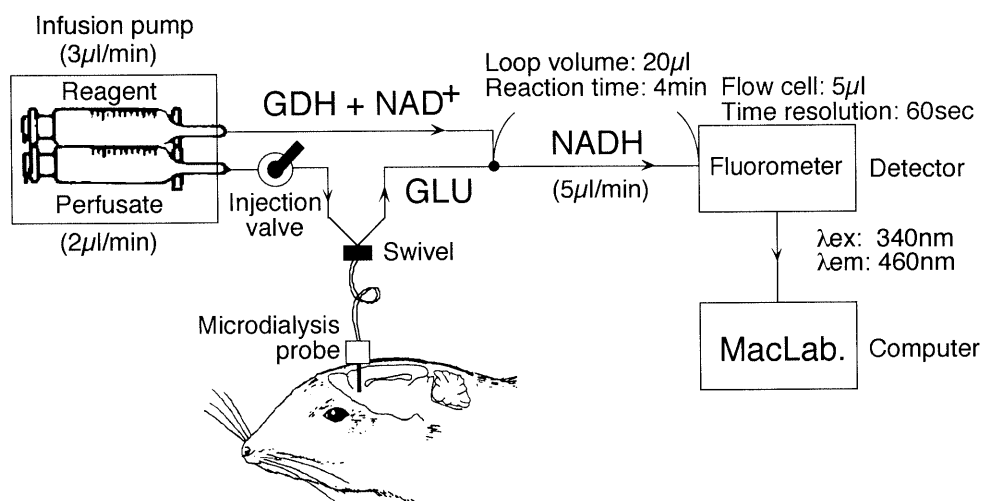


図11. オンラインでのグルタメート測定系

くオンラインの実験もできる(図11)。その場合にはシーベルとオートインジェクターが必要になる。オンラインでの24時間の連続的モニタリングにより、サーカディアンリズムの研究も可能になる。しかしながら、プローブを数日あるいは数週間にわたって植え込んだままで実験を行う事には制約がある。プローブ植え込み後は、グリオーシスなどの組織反応が徐々に起こり、透析チューブ近傍の物質の拡散が妨げられる。その結果、数日経つと回収率が徐々に低下する。したがって、プローブを植え込んで数日以降の成績は組織反応の程度により大きく影響されることを忘れてはならない。

IV. 意 義

シナプス前終末から放出された伝達物質はシナプス後(および前)膜にあるレセプターを介して情報の伝達を終えると、おもに再取り込みと酸素による分解処理によってシナプス間隙から速やかに取り除かれる。したがって、細胞外液の伝達物質はシナプス間隙におけるクリアランスを免れた流出成分に相当する。つまり、放出された伝達物質の一部に過ぎず、その細胞外濃度は極めて低い。シナプス間隙濃度の1/1000～1/10000程度になる(nMのレベル)。

透析液の伝達物質が神経活動由来の成分であるか否かを定める古典的な基準は2つある。1つは神経毒テトロドトキシン(TTX)に対する感受性である。TTXは電位依存性ナトリウムチャネルを低濃度で阻害する。それゆえ、回収した伝達物質が神経活動に由来すれば、TTXの投与により、その物質の透析液濃度は消失する(TTX感受性、図12)。2つめは、カルシウム依存性である。カルシウムイオンは伝達物質がシナプス末端から放出される際の引き金となる。したがって、カルシウムイオンを含まないリンゲル液を用いると透析液からその物質は消失する(カルシウム依存性、図13)。ドーパミン

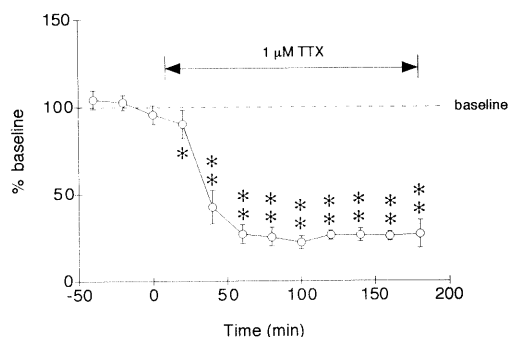


図12. テトロドトキシン感受性
*P<0.05; **P<0.01

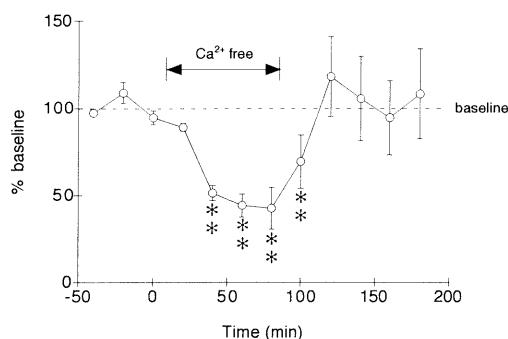


図13. カルシウム依存性
* * $P < 0.01$

やノルアドレナリンなどのカテコールアミン、セロトニンおよびアセチルコリンは、いずれも TTX 感受性を示す。ドーパミンの場合、ニューロンの発火活動を阻害する物質である、 γ -butyrolactone によっても同じ効果が得られる。また、カルシウム拮抗剤であるマグネシウムイオンや Verapamil を注入するとカルシウムイオンを含まないリング液とほぼ同じ効果が得られる。これらのことから、透析液中のモノアミンとアセチルコリンはシナプス伝達に直接関係する成分であることが示唆される。

しかしながら、プローブにより大きな脳損傷を生じた場合や損傷後の回復が遅れた時にはこのような性質が観察されないことがある。たとえば、サイズの小さい貫通型プローブの場合、神経組織の損傷は比較的少なく、透析液のドーパミンは植え込んでから2時間後にはすでにカルシウム依存性を示し、24時間後には TTX 感受性も認められる。それに対してサイズの大きいU字型プローブの場合には、損傷範囲も広がり、植え込み3時間後ではこのような性質はまったく認められず、24時間後でも部分的なカルシウム依存性(～70%)と TTX 感受性(100%)が認められるに過ぎない [8]。このように、植え込み直後のU字型プローブで回収される伝達物質は、エキソサイトシス(exocytosis)によらない、すなわち、ニューロン活動に直接関係しない成分を含んでいる。これは恐らく損傷ニューロンから生じたものであ

ろうが、植え込み間もない時期にはプローブの大きさの違いが透析の結果に大きな影響をもたらす一つの例である。したがって、マイクロダイアリシの利用に際しては、まず TTX 感受性とカルシウム依存性を示す実験条件を厳密に確立してから研究を開始すべきである。

いっぽう、脳内伝達物質の大部分を占めるアミノ酸には上に述べた神経伝達の基準は当てはまらない。すなわち、ほとんどの研究で、グルタメートと GABA の基礎値には TTX 感受性とカルシウム依存性の両性質が認められていない(図14)。この理由は、透析液に含まれるアミノ酸の基礎値のほとんどが、神経活動ではなく、非神経活動に由来する成分だからである。例えば、グルタメートの脳内分布は次のようになる。すなわち、神経終末に含まれるグルタメートが全体の20～30%余りで、残りの50%はニューロン内代謝性プール、15%はグリア、そして10%(あるいはそれ以下)が GABA ニューロンにある [9]。このように、透析液の伝達物質に寄与するプールが、ニューロンのみであるモノアミンやアセチルコリンとは異なり、アミノ酸の場合には多数個存在しており、それがシナプス伝達に由来する成分の検出を困難にしている。しかしながら、電気刺激や行動刺激によって誘発されるアミノ酸については、部分的ではあるが TTX 感受性あるいはカルシウム依存性が認められる。TTX 感受性やカルシウム依存性の程度は、刺激の種類によって異なり、おおよそ30

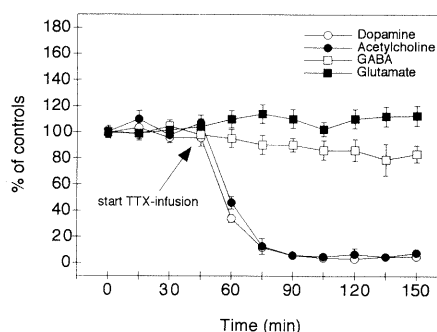


図14. グルタメートと GABA の TTX 非依存性
(Westerink (1995) より改変)

～70%の間にある。こうして、刺激時には神経活動と非神経活動が共に活性化され、両活動に由来する成分が共に透析液に回収される。

最近、この刺激誘発性のアミノ酸における2つの成分を分ける試みがなされている。中原らのデータについて述べてみよう。先に見た図11はオンラインでの酵素-蛍光分析とマイクロダイアリシスを組み合わせたグルタメート測定系を示している。この方法の特徴は高い時間分解能(60秒)にある。その原理は、透析液に回収したグルタメートを補酵素 NAD⁺(酸化型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド)とグルタミン酸脱水素酵素(GDH)に反応させ、この酸化的脱アミノ反応によって生じる NADH(還元型

ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド)の蛍光強度をモニターすることにより、透析液に回収されるグルタメート濃度を連続的にモニターすることである[10,11]。この方法によって得られた前頭葉におけるグルタメート反応を図15に示す。自己刺激行動と不動化ストレスの両刺激に対する前頭葉グルタメートの反応パターンは明らかに異なっており、刺激特異性の変化が認められる。図16から、これらの誘発反応は、部分的ではあるが、TTX 感受性を示すことが見て取れる。興味あることに、原波形から TTX 非感受性成分を差し引いて得た TTX 感受性の波形は、ストレス誘発性の場合にも自己刺激誘発性の場合にも、共によく似た単峰性の増加パターンを示している(図17)。したがって、

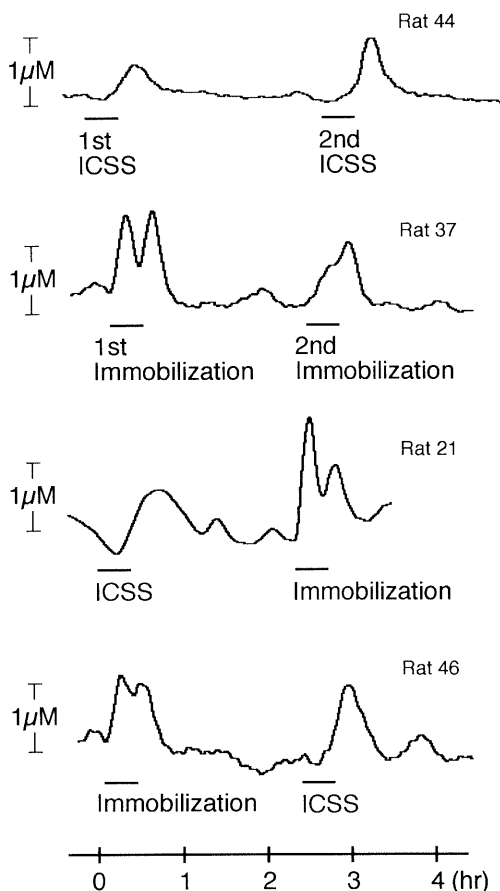


図15. 前頭葉内側部(MFC)のグルタメート反応 (ICSS: 脳内自己刺激行動, Immobilization: 不動化ストレス)

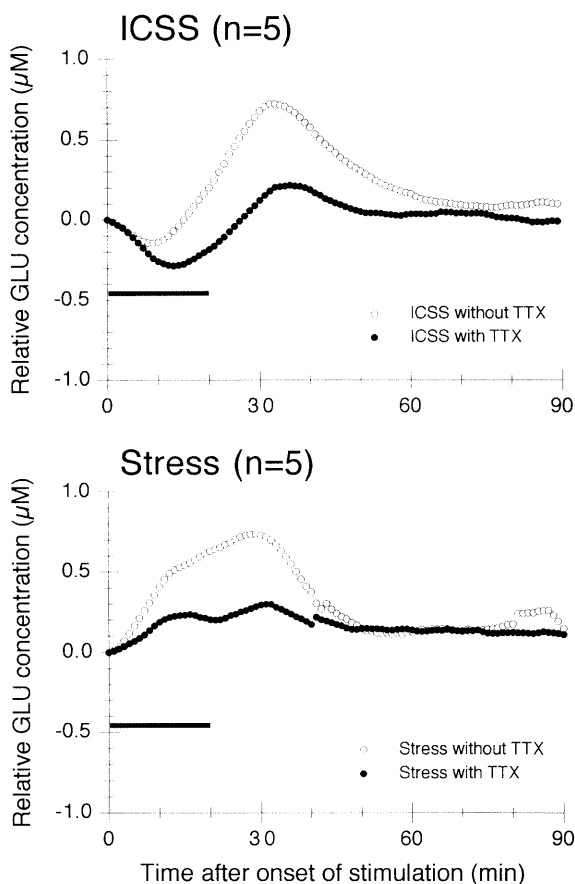


図16. グルタメートの TTX 感受性(平均値)

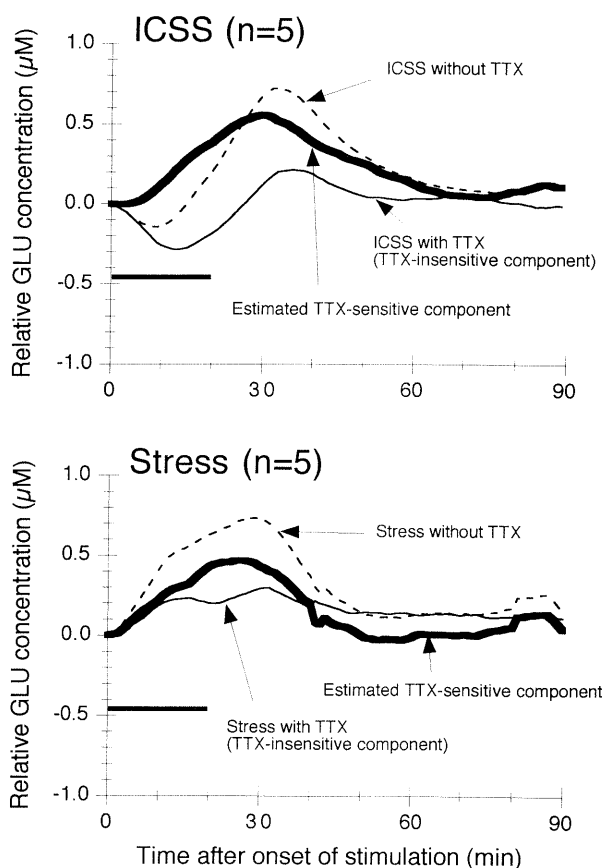


図17. TTX 感受性成分(平均値)

原波形にみられる反応パターンの違いはおもに TTX 非感受性成分によってもたらされたものであることがわかる。このように、より高い時分解能を有するグルタミン酸測定法により、刺激特異的な反応パターンを抽出することが可能になる。なお、これらの刺激誘発性グルタミン酸反応は取り込み阻害剤である PDC (1-trans-pyrrolidine-2,4-dicarboxylate) の影響を受けない。したがって、グルタミン酸が細胞外液に大量に放出される虚血などの病理的条件と異なり、生理的条件では TTX 非感受性成分の生成にトランスポーター機構の逆転 (reversal of uptake carriers) が関与する可能性は低い。

なお、神経ペプチドについては、細胞外濃度がきわめて低く、基礎値の検出が困難なため、TTX 感受性とカルシウム依存性について詳し

いことは調べられていない。

マイクロダイアリシスは生理的条件下で測定できると言われている。しかし、Ungerstedt のグループはしばらくの間麻酔下で実験していた。その理由の一つは、動物が行動することにより薬理的評価が複雑化すると考えたからである。例えば、フリームービング (無麻酔無拘束) 下では動物の起立などの行動変化によってアセチルコリンが増加する。その主な要因はもちろん脳内アセチルコリン神経の活性化である。しかし、その他の要因として、ラットが立ち上がった際、脳そのものが振動し、頭蓋に固定されているプローブが揺れ、その結果アセチルコリンの増加につながった可能性もある。また、ストレスや痙攣発作に伴い、血液脳関門が開放して、グルタミン酸が血管から細部外液に漏出する可

能性もある[12]。グルタメートの血液濃度は細胞外濃度の50～100倍も高い。したがって、漏出が例え僅かでも細胞外液濃度を大きく変えることにつながる。フリームービング下のマイクロダイアリシスでは、これらのアーチファクト要因に細心の注意を払う必要がある。

V. お わ り に

マイクロダイアリシスが初めて登場したのは今から25年前のことになる。しかしながら、一般に普及するようになったのは、モノアミンの高感度微量分析技術(HPLC法)が簡便に使えるようになった1985年以降のことである(図18)。その意味において、マイクロダイアリシスは比較的最近になって標準化された神経化学的手技の一つと言ってよい。

マイクロダイアリシスの初期の研究は薬理学的な急性実験が主であったが、近年は覚醒動物を使った行動神経化学的研究も増えている。たとえば、カタレプシー、痙攣、常同行動などの薬物誘発性行動、サーカディアン行動、性行動、母性行動、摂食および飲水などの動機づけ行動、自己刺激行動、欲求性および嫌悪性学習行動、ストレス行動などのさまざまな行動事態における神経伝達物質の測定にマイクロダイアリシスが利用されている。加えて、生理学の分野では脳波や誘発電位を同時記録するなどの新しいタイプのマイクロダイアリシスの利用も始まっている。また、最近になってスウェーデン

を中心とする諸外国では積極的に臨床場面への応用が試みられている。文献的には、昨年までにすでに約200件の臨床応用例が報告されている。その中味は、糖尿病患者のグルコース量のモニタリング、透析患者の窒素量の測定、頭部外傷患者や移植組織における乳酸値のモニタリング、および肥満患者の脂肪代謝マーカーとしてのグリセリロールの測定などである。本邦でも、血中グルコースのモニタリングの臨床応用が始まっている。将来的には、さらに他の臨床科での応用が広まり、標準的な臨床検査の一つに加わる可能性もあろう。

マイクロダイアリシスの弱点は、すでに多くの識者の指摘するところであるが、時間分解能と空間分解能に劣る点と長期間のモニタリングに不向きな点にある。時間分解能と空間分解能の問題点は、部分的には、代替法のインビボ・ボルタンメトリーによって解決できる。しかしながら、この方法は測定対象物質が電気化学的に活性な物質(モノアミン)に限られるという難点があるので、アミノ酸には適用できない。ファーストメッセンジャーであるグルタメートやGABAのシナプス事象の変化はモノアミンよりも迅速におこると予想される。また、すでに述べてきたように、透析液のグルタメートとGABAにはシナプス伝達に直接関わる成分と代謝によって生じる成分が共に含まれており、それが神経活動由来成分の検出を困難にしている。したがって、よりシナプス間隙に近いところでより早い事象を検出し得るインビボ・ボルタンメトリー電極(7～30 μm の径)様の微小プローブがアミノ酸の測定には必須になる。アミノ酸の脳機能における役割の大きさを考えると、この種のプローブの早急な開発が望まれる。長時間のモニタリングについては、最近になって生体適合性のよい透析膜が開発されつつあるので、近いうちにその道が開かれるであろう。これらが実現すれば、マイクロダイアリシスの利用価値はますます高まるに違いない。

なお、マイクロダイアリシスのもう一つの欠点は、一部といえども、脳および末梢組織に損

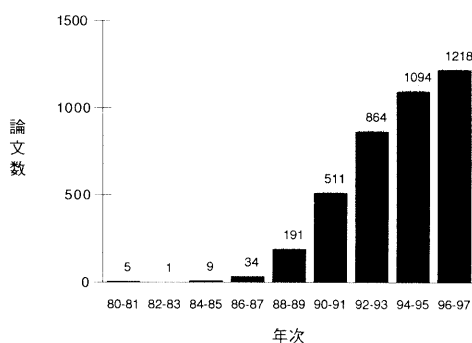


図18. マイクロダイアリシス関連論文数
(メドラインによる)

傷を与えることである。最近、無侵襲の神経活動モニタリングとして PET, fMRI, 脳磁図法などが多く用いられている、しかし、これらの無侵襲のモニタリングでは、神経伝達物質などを(半)定量的には測定できず、今後はマイクロダイアリシスとの併用が益々進むものと思われる。

(図の作製に御協力頂いた浜松医科大学教務職員
中村直人氏に感謝致します。)

V. 引 用 文 献

- 1) Ungerstedt U & Pycock C: Bulletin der Schweizerischen Akademie der Medizinischen Wissenschaften, **127**: 44-55, 1974
- 2) Gaddum JH: Journal of Physiology (London), **155**: 1, 1961
- 3) Delgado JMR, DeFeudis FV, Roth RH, Ryugo DK & Mitruka BK: Archives Internationales de Pharmacodynamie, **198**: 9-21, 1972
- 4) Liu JK & Kato T: Brain Research, **735**: 30-35: 1996
- 5) Nakahara D, Ozaki N & Nagatsu T: In: Methods in Neurotransmitters and Neuropeptide Research, Ed. Parvez SH, Naoi M, Nagatsu T, Parvez S, Elsevier, Amsterdam, pp 219-248, 1993
- 6) Kato T, Liu JK, Yamamoto K, Osborne, PG & Niwa O: Journal of Chromatography B, **682**: 162-166, 1996
- 7) Sakurai T, Kato T, Mori K, Takano E, Watanabe S & Nabeshima T: Neuroscience Letters, **246**: 69-72, 1998
- 8) Westerink BHC & De Vries JB: Journal of Neurochemistry, **51**: 683-687, 1988
- 9) Fonnum F: Journal of Neurochemistry, **42**: 1-11, 1984
- 10) Obrenovitch TP, Sarna GS, Millan MH, Lok SY, Kawauchi M, Ueda Y & Symon L: In: Pharmacology of Cerebral Ischemia 1990, Ed. Kriegelstein J, Oberpichler H, Wiss-Verlag, Stuttgart, pp 23-31, 1990
- 11) Takita M, Kaneko H, Suzuki SS & Akamatsu M: Neuroreport, **8**: 567-570, 1997
- 12) Belova TI & Jonsson G: Acta Physiologica acta Scandinavica, **116**: 21-29, 1982



後肢懸垂によるラットヒラメ筋線維のミオシン重鎖 アイソフォーム発現パターンの変化

大石 康晴¹⁾・石原 昭彦²⁾・永野 恵³⁾・飯島 典生⁴⁾
大平 充宣⁵⁾・宮本 英七⁶⁾・井端 泰彦⁴⁾

(¹⁾熊本大学・教育学部・運動生理学研究室)

(²⁾京都大学・総合人間学部・神経化学研究室)

(³⁾熊本大学・医学部・公衆衛生学教室)

(⁴⁾京都府立医科大学・第二解剖学教室)

(⁵⁾鹿屋体育大学・体力科学講座)

(⁶⁾熊本大学・医学部・薬理学教室)

要 旨

生後10週齢のウィスター系雄ラットに2週間にわたり後肢懸垂を施し、ヒラメ筋の筋線維におけるミオシン重鎖(MHC)アイソフォームの発現パターンを免疫組織化学的方法ならびに電気泳動法により検討した。対照群のヒラメ筋では、type I (78.8%), type IIa (17.5%), type I+IIa (3.6%)の3タイプの筋線維が認められた。後肢懸垂群のヒラメ筋では、type I+IIa 線維(2.8%)に変化はみられなかったが、type I 線維(68.1%)が減少し、type IIa 線維は消失した。さらに、後肢懸垂群のヒラメ筋では、type IIa+IIx 線維(27.7%)と type I+IIa+IIx 線維(1.4%)が認められた。後肢懸垂による type IIa+IIx 線維の発現は、一部の type I 線維において MHC I の発現が MHC IIa および MHC IIx の発現に変化したこと、さらにすべての type IIa 線維において MHC IIa の発現に加えて MHC IIx が発現したことによるものと結論される。

キーワード：筋線維，後肢懸垂，ヒラメ筋，ミオシン重鎖アイソフォーム，ラット

I. は じ め に

ラットのヒラメ筋では、後肢懸垂により fast type のミオシン重鎖(myosin heavy chain, MHC)アイソフォームが増大し、slow type の MHC アイソフォームが減少することが報告されている[1]。さらに、後肢懸垂により新しい MHC アイソフォーム(MHC IIx または MHC IId)が発現することが報告されている[2-6]。しかしながら、後肢懸垂によるヒラメ筋での MHC IIx の発現パターンについては一致した見解が得られていない。そこで本研究では、生後10週齢のラットに2週間の後肢懸垂を施し、ヒラメ筋の筋線維における MHC アイソフォームの発現パターンについて免疫組織化学的方法ならびに電気泳動法により検討した。

II. 実 験 方 法

実験には生後10週齢のウィスター系雄ラット10匹を用いた。ラットを対照群(5匹)と後肢懸垂群(5匹)に分けて、後肢懸垂群には Wronski and Morey-Holton[7]の改良法[8]を用いて2週間にわたり後肢懸垂を施した。この改良法では、ワイヤーによりラットの尾部を釣り上げるために後肢は床から数 cm 浮き上がり負荷が加わらない。ワイヤーの上部は車輪に接続しており、車輪は飼育ケージ内の上部に取り付けられたケーブル上を前後に移動することができる。前肢は床に接しているために前肢を使用して自由に動くことができる。両群とも12時間サイクルの明暗で飼育し、餌と水は自由摂取とした。

2週間の後肢懸垂が終了した後、両群ともネンブタールにより麻酔(50 mg/kg 体重)を施し、両後肢からヒラメ筋を摘出して湿重量を測定し

た。筋は液体窒素で冷却したイソペンタン中で急速凍結した。凍結した筋は分析まで -80°C のフリーザーに保存した。

左後肢のヒラメ筋については、ホモジナイズ後に SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動を行い、ゲルに銀染色を施した。その後、MHC アイソフォームの割合をデンストメーターを用いて分析した[9]。

右後肢のヒラメ筋については、 -20°C においてクリオスタットにより厚さ $10\ \mu\text{m}$ の連続横断切片を作成した。切片を乾燥させた後、一次抗体として type I (slow, Novocastra Laboratories Ltd., Newcastle, UK), type IIa (71), type IIb (F3), type IIb+IIx (D9) の 4 種類のモノクローナル抗体 (抗 MHC 抗体) を使用して免疫組織化学的染色を施した[10]。切片は 4°C で一晩、一次抗体と反応させた。その後、室温で 1 時間、二次抗体 (抗マウス IgG 抗体または抗ラット IgG 抗体) と反応させ、脱水、透徹を行った。IgG (slow と 71) に対しては PK-6102 kit (Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA) を使用し、IgM (F3 と D9) に対しては AK-5010 kit (Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA) を使用した。また、緩衝液として IgG (slow と 71) にはりん酸緩衝液、IgM (F3 と D9) にはトリス緩衝液を使用した。

コンピュータに接続した画像解析装置 (Neuroimaging System) を用いて筋横断面の画像を取り込み、免疫組織化学的染色の反応により筋線維をタイプ分類した。さらに、タイプごとに筋線維の横断面積を算出した[11, 12]。

すべてのデータは平均と標準偏差で示した。対照群と後肢懸垂群のデータの比較には t -test を用いた。

Ⅲ. 実験結果

対照群と後肢懸垂群の体重は、 $342 \pm 9\ \text{g}$ ($n=5$) と $291 \pm 5\ \text{g}$ ($n=5$) であった ($p<0.001$)。対照群と後肢懸垂群のヒラメ筋の湿重量は、 $98.0 \pm 23.0\ \text{mg}$ ($n=5$) と $65.7 \pm 7.8\ \text{mg}$ ($n=5$) であった ($p<0.05$)。

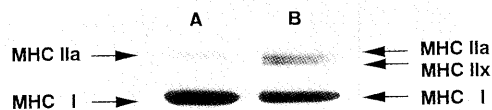


図 1. 電気泳動法により検出された対照群 (A) と後肢懸垂群 (B) のヒラメ筋のミオシン重鎖 (MHC) アイソフォーム

対照群では MHC I と MHC IIa の 2 バンドが認められる。一方、後肢懸垂群では、MHC I, MHC IIx, MHC IIa の 3 バンドが認められる。

対照群のヒラメ筋では、電気泳動により 2 タイプの MHC アイソフォームが検出された (図 1 A)。その割合は、MHC I が $83.1 \pm 3.0\%$ ($n=5$)、MHC IIa が $16.9 \pm 3.0\%$ ($n=5$) であった。一方、後肢懸垂群のヒラメ筋では、MHC I, MHC IIa に加えて新たに MHC IIx が検出された (図 1 B)。その割合は、MHC I が $69.2 \pm 8.4\%$ ($n=4$)、MHC IIa が $16.3 \pm 5.0\%$ ($n=4$)、MHC IIx が $14.5 \pm 3.5\%$ ($n=4$) であった。後肢懸垂により MHC I の割合に有意な減少が認められた ($p<0.01$)。

筋線維で発現している MHC アイソフォームからヒラメ筋の筋線維をタイプ分類した (図 2)。対照群では、3 タイプの筋線維 (type I, type IIa, type I+IIa) が認められた。後肢懸垂群では、type I 線維の割合に有意な減少が認められ、対照群で認められた type IIa 線維は消失した (図 3)。さらに、後肢懸垂群では、MHC IIx が混在する 2 タイプの筋線維 (type IIa+IIx, type I+IIa+IIx) が認められた。

筋線維のタイプ別に横断面積を検討したところ、後肢懸垂群の type I+IIa 線維、type IIa+IIx 線維、type I+IIa+IIx 線維の横断面積は、対照群のすべてのタイプの筋線維および後肢懸垂群の type I 線維の横断面積より有意に低い値を示した (図 3)。

Ⅳ. 考察

ラットのヒラメ筋では、後肢懸垂後に MHC IIx だけを発現する筋線維は認められないが、

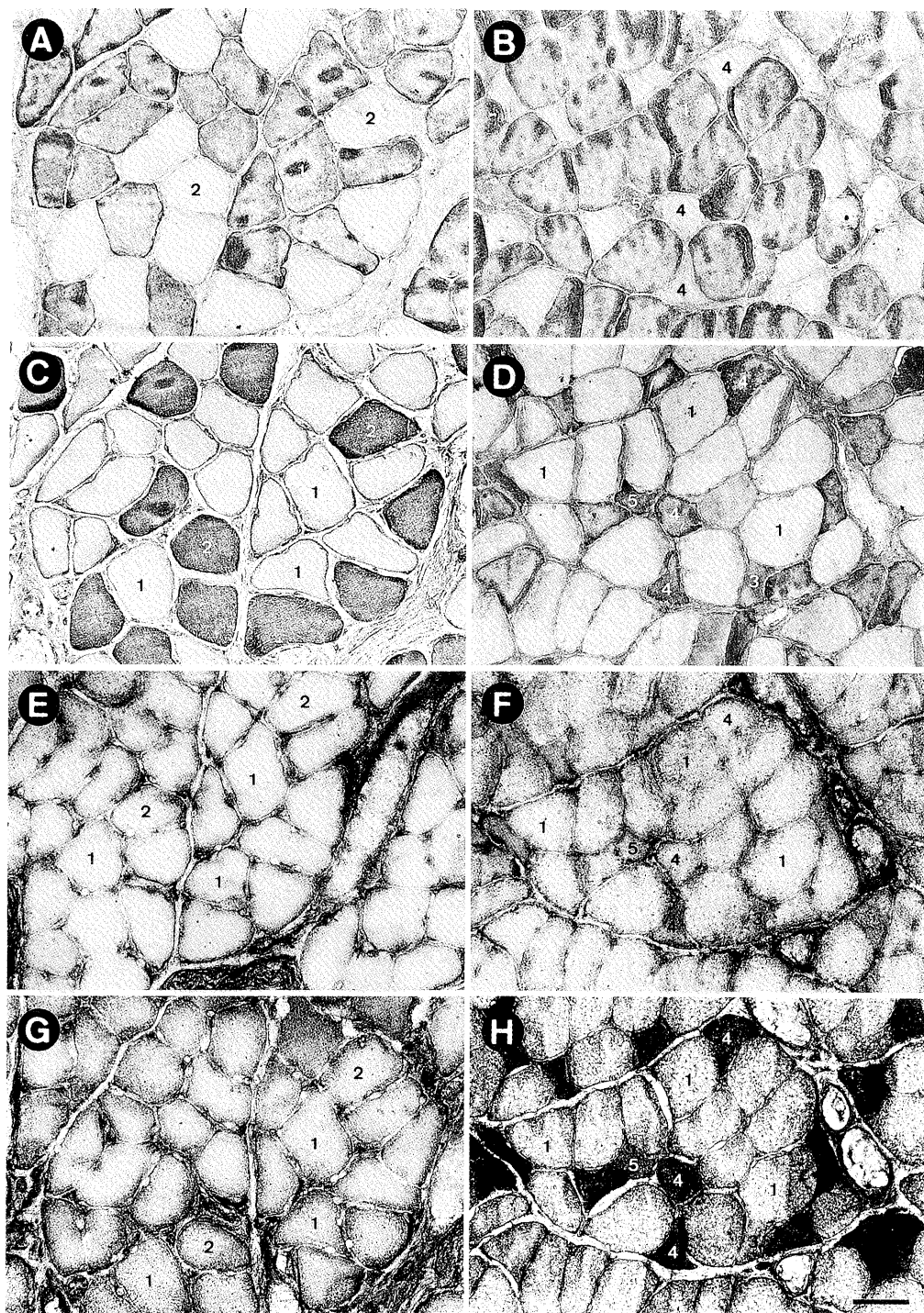


図2. 対照群(左)と後肢懸垂群(右)のヒラメ筋の横断面

AとB, type I 抗体による反応; CとD, type IIa 抗体による反応; EとF, type IIb 抗体による反応; GとH, type IIb+IIx 抗体による反応; 1, type I 線維; 2, type IIa 線維; 3, type I+IIa 線維; 4, type IIa+IIx 線維; 5, type I+IIa+IIx 線維. Scale bar=50 μ m.

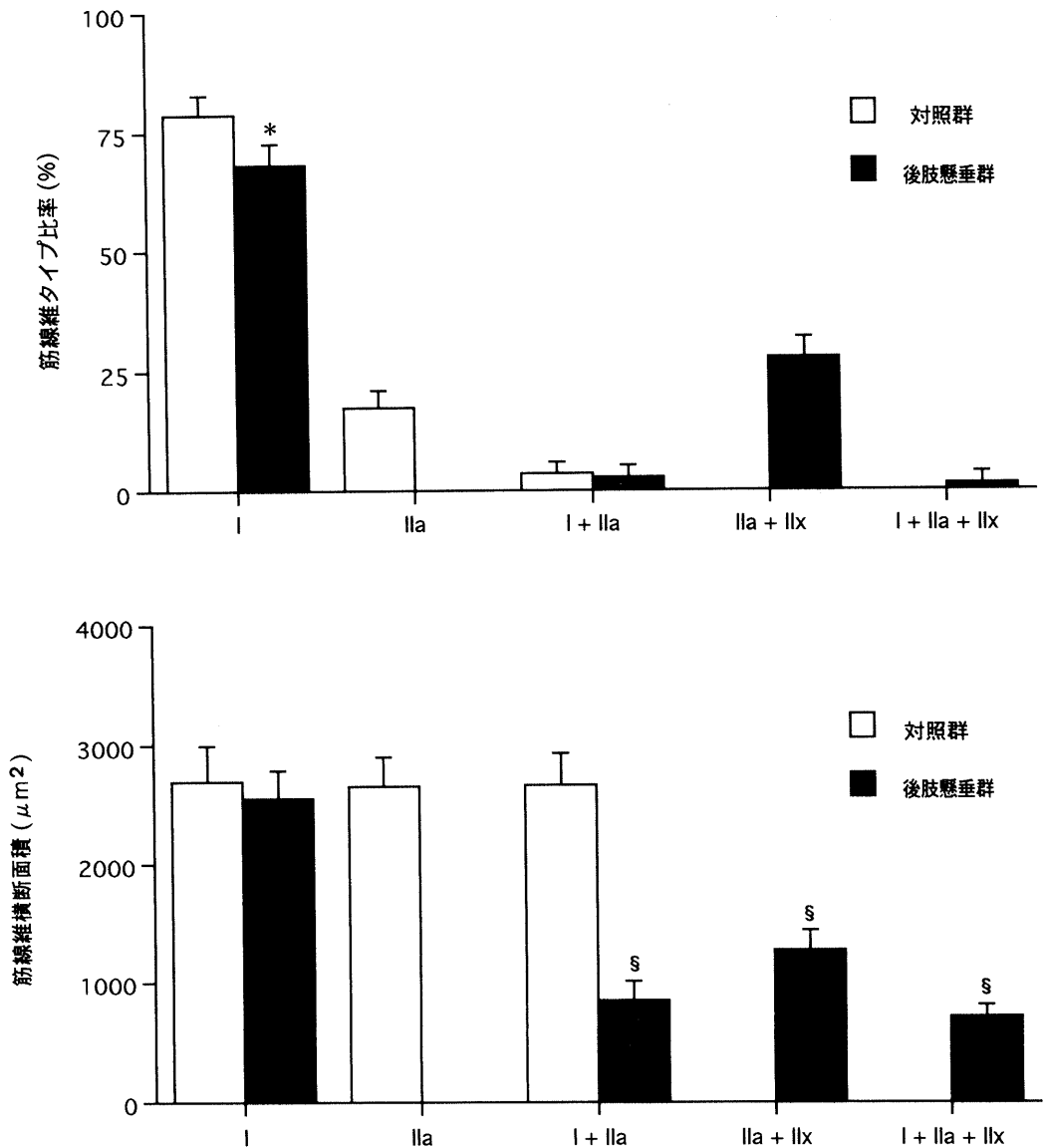


図3. 対照群と後肢懸垂群のヒラメ筋の筋線維タイプ比率(上)と筋線維横断面積(下)データは平均と標準偏差(n=5)で示してある。* $p < 0.01$ (対照群の type I 線維に対して), ^s $p < 0.001$ (対照群のすべてのタイプの筋線維と後肢懸垂群の type I 線維に対して)。

MHC IIx を他の MHC アイソフォームと混在して発現する筋線維が存在することが報告されている[1,6]. Talmadge et al.[1]は、免疫組織化学的分析により後肢懸垂後のヒラメ筋で MHC IIx が混在する筋線維として、type I + IIx, type IIa + IIx, type I + IIa + IIx, type IIa + IIb + IIx, type I + IIa + IIb + IIx の 5 タイプを報告し

ている。一方、Oishi et al.[6]は、単一筋線維を電気泳動法により分析し、後肢懸垂後のヒラメ筋で MHC IIx が混在する筋線維として、type IIa + IIx, type I + IIa + IIx, type IIa + IIb + IIx の 3 タイプを報告している。本研究では、後肢懸垂後に MHC IIx が混在する筋線維として、type IIa + IIx と type I + IIa + IIx の 2 タイ

ブの筋線維が認められた。

電気泳動法を用いた研究では、後肢懸垂後のラットのヒラメ筋で MHC IIb が発現したとする報告[4,5]と発現しなかったとする報告[2,3]がある。本研究では、後肢懸垂後に MHC IIb は発現しなかった。これは、後肢懸垂の期間に関係しているものと推察される。すなわち、後肢懸垂によりヒラメ筋の MHC アイソフォームは、MHC I→MHC IIa→MHC IIx→MHC IIb の方向に発現がシフトすることが報告されており[1,6]、後肢懸垂の期間が延長するにしたがって MHC IIx または MHC IIb の発現が増大することになる。したがって、本研究で用いた2週間の後肢懸垂の期間では、MHC IIb が発現するには至らなかったと推察される。

本研究では、後肢懸垂後に type I 線維の割合に減少が認められた。これは、一部の type I 線維において MHC I の発現が MHC IIa および MHC IIx の発現に変化したことによるものと推察される。また、後肢懸垂後のヒラメ筋で MHC IIa だけを発現する筋線維が消失した。これは、MHC IIa を発現するすべての筋線維で MHC IIx が発現したことによるものと推察される。MHC IIa→MHC IIx→MHC IIb と発現がシフトする途中の段階では、このような複数の MHC アイソフォームが混在する筋線維が現れるものと推察される。この結果は、Talmadge et al.[1]および Oishi et al.[6]の結果と一致している。したがって、本研究では、後肢懸垂後に type IIa+IIx 線維の割合に増大(0%から27.7%)が認められたが、これは type I 線維の割合の減少(78.8%から68.1%)および type IIa 線維の割合の減少(17.5%から0%)によるものと結論される。

本研究では、後肢懸垂後に MHC アイソフォームが混在する type I+IIa, type IIa+IIx, type I+IIa+IIx の3タイプの筋線維で萎縮が認められた。これらの筋線維は、MHC IIa や MHC IIx などの fast type の MHC アイソフォームを発現している。したがって、後肢懸垂は fast type の MHC アイソフォームを発現

している筋線維に選択的に影響をおよぼすものと結論される。

V. ま と め

生後10週齢のウィスター系雄ラットに2週間にわたり後肢懸垂を施し、ヒラメ筋の筋線維における MHC アイソフォームの発現パターンを組織化学的方法ならびに電気泳動法から検討した。その結果、後肢懸垂により type IIa+IIx 線維の割合が増大した。これは、後肢懸垂により type I 線維および type IIa 線維の MHC アイソフォームの発現が変化したり、他の MHC アイソフォームが発現したことによるものと結論される。さらに、後肢懸垂により fast type の MHC アイソフォームを発現している筋線維で顕著な萎縮が認められた。

謝 辞

本研究は、日本宇宙開発事業団(the National Space Development Agency of Japan)の助成を受けた。3種類のモノクローナル抗体(71, F3, D9)については、S. Schiaffino 博士(University of Padova, Italy)より贈与を受けた。

参 考 文 献

- [1] Talmadge RJ, Roy RR and Edgerton VR: Distribution of myosin heavy chain isoforms in non-weight-bearing rat soleus muscle fibers. *J Appl Physiol* 81: 2540-2546, 1996
- [2] Takahashi H, Wada M and Katsuta S: Expressions of myosin heavy chain IIx isoform in rat soleus muscle during hindlimb suspension. *Acta Physiol Scand* 143: 131-132, 1991
- [3] Campione M, Ausoni S, Guezennec CY and Schiaffino S: Myosin and troponin changes in rat soleus muscle after hindlimb suspension. *J Appl Physiol* 74: 1156-1160, 1993
- [4] Adams GR, Haddad F and Baldwin KM: Interaction of chronic creatine depletion and muscle unloading: effects on postural and locomotor muscles. *J Appl Physiol* 77: 1198-1205, 1994
- [5] Fauteck SP and Kandarian SC: Sensitive detection of myosin heavy chain composition in skeletal muscle under different loading conditions. *Am J Physiol* 268: C419-C424, 1995
- [6] Oishi Y, Ishihara A, Yamamoto H and Miyamoto E: Hindlimb suspension induces the expression of multiple myosin heavy chain isoforms in sin-

- gle fibres of the rat soleus muscle. *Acta Physiol Scand* 162: 127-134, 1998
- [7] Wronski TJ and Morey-Holton ER: Skeletal response to simulated weightlessness: a comparison of suspension techniques. *Aviat Space Environ Med* 58: 63-68, 1987
- [8] Ishihara A, Oishi Y, Roy RR and Edgerton VR: Influence of two weeks of non-weight bearing on rat soleus motoneurons and muscle fibers. *Aviat Space Environ Med* 68: 421-425, 1997
- [9] Oishi Y: Relationship between myosin heavy chain IId isoform and fibre types in soleus muscle of the rat after hindlimb suspension. *Eur J Appl Physiol* 66: 451-454, 1993
- [10] 大石康晴, 石原昭彦: 骨格筋の免疫組織化学的分析. 最新運動生理学実験法-分子・細胞・組織レベルからのアプローチ-(今泉和彦, 石原昭彦編), 大修館書店, pp. 196-198, 1998
- [11] Ishihara A, Roy RR and Edgerton VR: Succinate dehydrogenase activity and soma size of motoneurons innervating different portions of the rat tibialis anterior. *Neuroscience* 68: 813-822, 1995
- [12] Ishihara A, Ohira Y, Roy RR, Nagaoka S, Sekiguchi C, Hinds WE and Edgerton VR: Effects of 14 days of spaceflight and nine days of recovery on cell body size and succinate dehydrogenase activity of rat dorsal root ganglion neurons. *Neuroscience* 81: 275-279, 1997

2,5-ヘキサンジオン投与によるラット会陰筋の ミオシン重鎖アイソフォーム成分の変化

石原昭彦¹⁾・大石康晴²⁾・永野 恵³⁾・飯島典生⁴⁾
大平充宣⁵⁾・宮本英七⁶⁾・井端泰彦⁴⁾

(¹⁾京都大学・総合人間学部・神経化学研究室)

(²⁾熊本大学・教育学部・運動生理学研究室)

(³⁾熊本大学・医学部・公衆衛生学教室)

(⁴⁾京都府立医科大学・第二解剖学教室)

(⁵⁾鹿屋体育大学・体力科学講座)

(⁶⁾熊本大学・医学部・薬理学教室)

要 旨

生後10週齢のウィスター系雄ラットに4週間にわたり神経毒である2,5-ヘキサンジオン(hexanedione, HxD)を投与し、会陰筋(球海綿体筋と肛門挙筋)の筋線維におけるミオシン重鎖アイソフォームの発現パターン、横断面積、酸化系酵素(succinate dehydrogenase, SDH)活性を検討した。対照群の球海綿体筋と肛門挙筋ではtype IIb線維とtype IIx線維が認められた。対照群とHxD投与群で両筋の筋線維タイプ比率に違いはみられなかった。一方、HxD投与群では球海綿体筋と肛門挙筋の両タイプの筋線維で横断面積が減少した。さらに、HxD投与群では両筋のtype IIb線維でSDH活性が低下した。本研究では、HxD投与により会陰筋のtype IIb線維とtype IIx線維で萎縮が認められたが、これは会陰筋がHxDの影響をうけやすいfast typeの筋線維から構成されていることによるものと結論される。

キーワード: 会陰筋, 筋線維, 酸化系酵素活性, 2,5-ヘキサンジオン, ミオシン重鎖アイソフォーム

I. は じ め に

神経毒である2,5-ヘキサンジオン(hexanedione, HxD)の投与は軸索の変性を引き起こし、骨格筋の萎縮を誘発する[1,2]。HxD投与による軸索の変性は、ランヴィエの絞輪前部において神経フィラメントが集合してできた膨化に起因すると報告されている[3,4]。絞輪前部での神経フィラメントの膨化は、インパルスの伝導や軸索流を阻害する。また、HxD投与による軸索の変性は、神経フィラメントを多く含む大径神経線維で顕著であると報告されている[1,2,5]。

軸索は末梢の神経筋接合部で骨格筋線維に接続している。骨格筋線維は速筋線維と遅筋線維に大別されており、速筋線維は遅筋線維よりも神経フィラメントを多く含む大径の神経線維と接続している。ラットの会陰筋は速筋線維だけ

で構成されている[6]のために、HxDの影響をうけやすいと推察される。そこで本研究では、生後10週齢のラットに4週間にわたりHxDを投与し、会陰筋(球海綿体筋と肛門挙筋)の筋線維におけるミオシン重鎖(MHC)アイソフォームの発現パターン、横断面積、酸化系酵素(succinate dehydrogenase, SDH)活性を検討した。

II. 実 験 方 法

実験には生後10週齢のウィスター系雄ラット10匹を用いた。ラットを対照群(5匹)とHxD投与群(5匹)に分けて、HxD投与群には週5回、1回につき体重1kgあたり4.5mmolの2,5-HxDを4週間にわたり皮下注入した。対照群にはHxDを含まない生理食塩水を注入した。両群とも12時間サイクルの明暗で飼育し、

餌と水は自由摂取とした。なお、対照群の食餌量は、前日の HxD 投与群の食餌量に合わせた。

4 週間の HxD 投与が終了した後、両群ともネブタールにより麻酔 (50 mg/kg 体重) を施し、球海綿体筋と肛門挙筋を摘出した。筋は液体窒素で冷却したイソペンタン中で急速凍結した。凍結した筋は分析まで -80°C のフリーザーに保存した。

左側部の球海綿体筋と肛門挙筋については、ホモジナイズ後に SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動を行い、ゲルに銀染色を施した。その後、MHC アイソフォームの割合をデンストメーターを用いて分析した [7]。

右側部の球海綿体筋と肛門挙筋については、 -20°C においてクリオスタットにより厚さ $10\ \mu\text{m}$ の連続横断切片を作成した。切片を乾燥させた後、一次抗体として type I (slow, Novocastra Laboratories Ltd., Newcastle, UK), type IIa (71), type IIb (F3), type IIa+IIx (N1.551), type IIb+IIx (D9) の 5 種類のモノクローナル抗体 (抗 MHC 抗体) を使用して免疫組織化学的染色を施した [8]。また、neonatal (B6) と embryonic (F1.652) の抗体も使用した。切片は 4°C で一晩、一次抗体と反応させた。その後、室温で 1 時間、二次抗体 (抗マウス IgG 抗体または抗ラット IgG 抗体) と反応させ、脱水、透徹を行った。IgG (slow, 71, B6, F1.652) に対しては PK-6102 kit (Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA) を使用し、IgM (F3, N1.551, D9) に対しては AK-5010 kit (Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA) を使用した。また、緩衝液として IgG (slow, 71, B6, F1.652) にはリン酸緩衝液、IgM (F3, N1.551, D9) にはトリス緩衝液を使用した。

筋線維の酸化系酵素活性を検討するために、切片に SDH 染色を施した [9]。室温で 10 分間染色した後、脱水、透徹を行った。コントロールとしての反応をみるためにコハク酸ナトリウムまたはニトロブルーテトラゾリウムを除いて同一の染色を行った。

コンピュータに接続した画像解析装置

(Neuroimaging System) を用いて筋横断面の画像を取り込み、免疫組織化学的染色の結果より筋線維をタイプ分類した。さらに、タイプごとに筋線維の横断面積と SDH 活性を分析した [10, 11]。

すべてのデータは平均と標準偏差で示した。対照群と HxD 投与群のデータの比較には t -test を用いた。

Ⅲ. 実験結果

HxD 投与終了時の生後 14 週齢における対照群と HxD 投与群の体重は、それぞれ $282 \pm 6\ \text{g}$ ($n=5$) と $222 \pm 24\ \text{g}$ ($n=5$) であった。

対照群の球海綿体筋と肛門挙筋では、電気泳動によって 2 タイプの MHC アイソフォームが検出された (図 1)。その割合は、球海綿体筋では MHC IIb が $97.8 \pm 0.6\%$ ($n=5$)、MHC IIx が $2.2 \pm 0.6\%$ ($n=5$) であり、肛門挙筋では MHC IIb が $98.0 \pm 0.8\%$ ($n=5$)、MHC IIx が $2.0 \pm 0.8\%$ ($n=5$) であった。HxD 投与群については、球海綿体筋では MHC IIb が $97.4 \pm 0.8\%$ ($n=5$)、MHC IIx が $2.6 \pm 0.8\%$ ($n=5$) であり、肛門挙筋では MHC IIb が $97.5 \pm 1.0\%$ ($n=5$)、MHC IIx が $2.5 \pm 1.0\%$ ($n=5$) であった。HxD 投与により MHC アイソフォームに変化はみられなかった。

筋線維で発現している MHC アイソフォーム

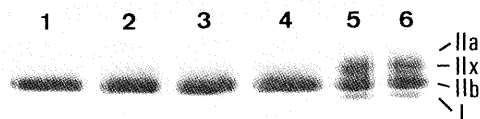


図 1. 電気泳動法により検出された対照群と HxD 投与群の球海綿体筋と肛門挙筋のミオシン重鎖 (MHC) アイソフォーム

1, 対照群の球海綿体筋; 2, 対照群の肛門挙筋; 3, HxD 投与群の球海綿体筋; 4, HxD 投与群の肛門挙筋; 5 と 6, マーカー (いずれも腓腹筋とヒラメ筋を混合したもの)。マーカーでは、MHC I, MHC IIb, MHC IIx, MHC IIa の 4 バンドが認められる。一方、対照群と HxD 投与群の球海綿体筋と肛門挙筋では、MHC IIb と MHC IIx の 2 バンドが認められる。

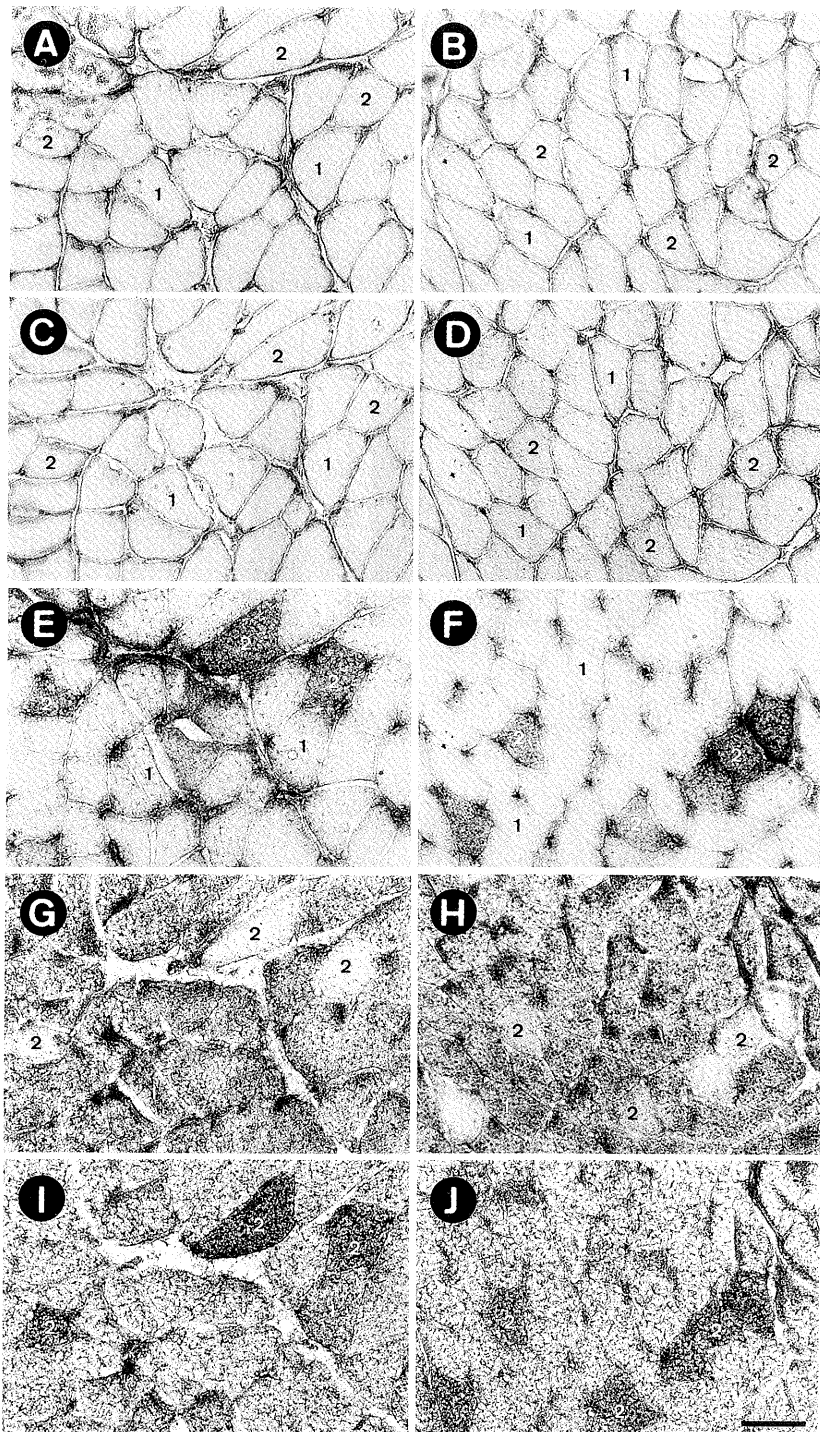


図2. 対照群(左)と Hx/D 投与群(右)の球海綿体筋の横断面.

A と B, type I 抗体による反応; C と D, type IIa 抗体による反応; E と F, type IIa + IIx 抗体による反応; G と H, type IIb 抗体による反応; I と J, type IIb + IIx 抗体による反応; 1, type IIb 線維; 2, type IIx 線維. Scale bar = 50 μ m.

から筋線維をタイプ分類した(図2). 对照群の球海綿体筋と肛門挙筋では, 2タイプの筋線維(type IIb と type IIx)が認められた. その割合

は, 球海綿体筋では type IIb 線維が $97.2 \pm 1.3\%$ (n=5), type IIx 線維が $2.8 \pm 1.3\%$ (n=5)であり, 肛門挙筋では type IIb 線維が $97.3 \pm$

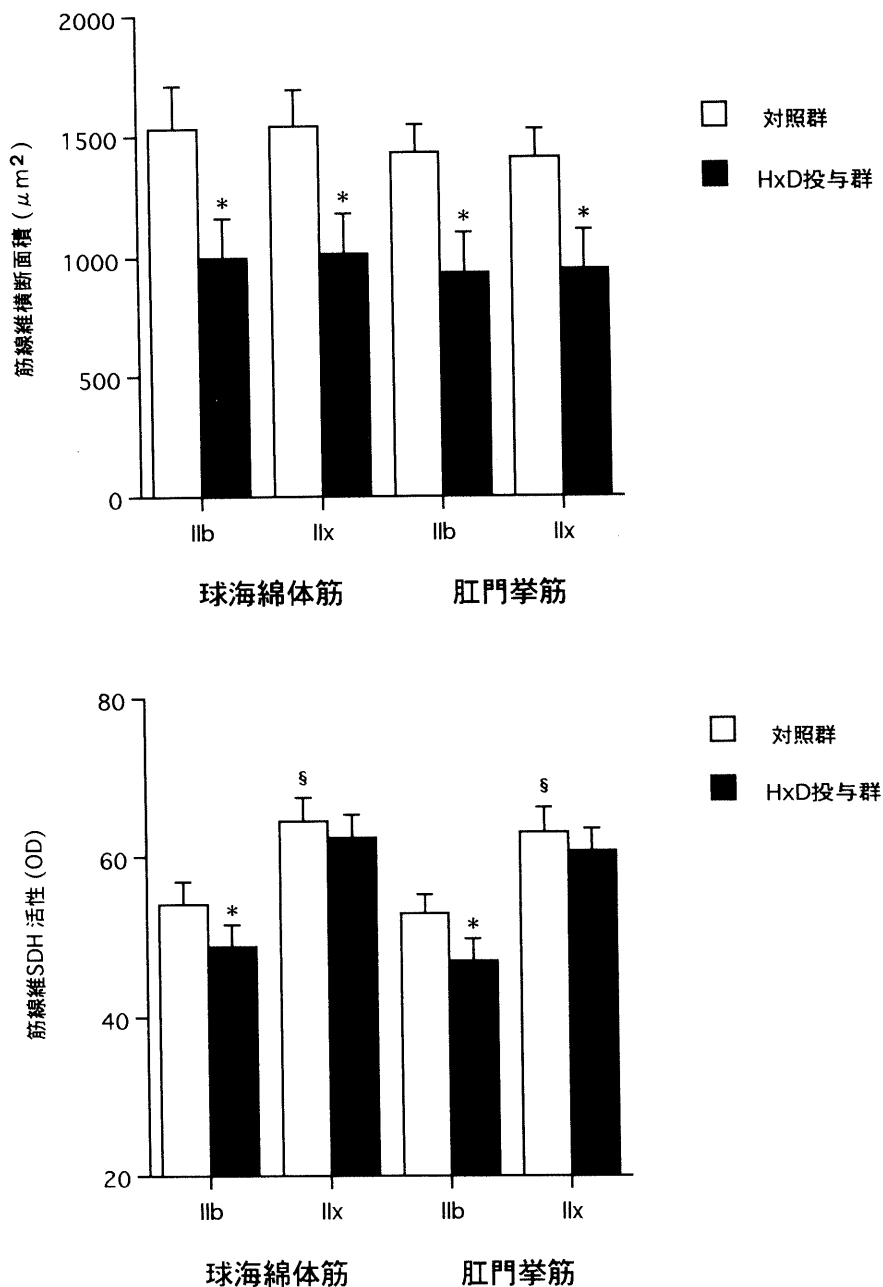


図3. 对照群とHxD投与群の球海綿体筋と肛門挙筋の筋線維における横断面積(上)とコハク酸脱水素酵素(SDH)活性(下)

データは平均と標準偏差(n=5)で示してある. OD, optical density. * $p < 0.001$ (对照群に対して), § $p < 0.001$ (对照群の type IIb 線維に対して; type IIx 線維は type IIb 線維より高いSDH活性を有している).

1.4% (n=5), type IIx 線維が $2.7 \pm 1.4\%$ (n=5)であった。同様に HxD 投与群の球海綿体筋と肛門挙筋でも 2 タイプの筋線維が認められ、球海綿体筋では type IIb 線維が $97.1 \pm 1.2\%$ (n=5), type IIx 線維が $2.9 \pm 1.2\%$ (n=5)であり、肛門挙筋では type IIb 線維が $96.9 \pm 1.5\%$ (n=5), type IIx 線維が $3.1 \pm 1.5\%$ (n=5)であった。HxD 投与により筋線維タイプ比率に変化はみられなかった。なお、対照群、HxD 投与群ともに neonatal と embryonic の抗体に反応する筋線維はみられなかった。

筋線維のタイプ別に横断面積を検討したところ、HxD の投与により球海綿体筋と肛門挙筋の type IIb と type IIx の両タイプの筋線維において横断面積の減少が認められた(図3)。

筋線維のタイプ別に SDH 活性を検討したところ、HxD 投与により球海綿体筋と肛門挙筋の type IIb 線維において SDH 活性の低下が認められた(図3)。

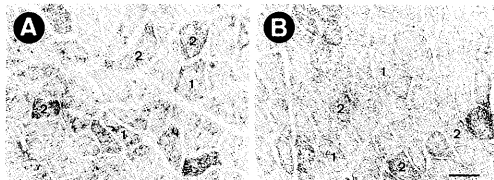


図4. 対照群(A)と HxD 投与群(B)の球海綿体筋の横断面

コハク酸脱水素酵素(SDH)染色を施してある。筋線維のタイプ分類については図1と同一の連続切片を使用しているので図1を参照。1, type IIb 線維; 2, type IIx 線維。Scale bar=50 μ m.

Ⅳ. 考 察

HxD 投与は後肢を麻痺させるが、投与期間の延長や投与量の増大によって前肢の麻痺も生じることが報告されている[2,12]. 本研究では、HxD 投与により前肢の麻痺を起こすには至らなかった。

先行研究[13]では、4週間にわたる HxD 投与によって座骨神経の伝導速度が 42.8 ± 2.0 m/秒から 27.5 ± 4.2 m/秒に低下したことが報告されている。このような変化は大径の神経線

維が選択的に変性することによるもので、神経毒の投与を中止すると回復することが報告されている[1,2,14].

脊髄の切除[15-17]や後肢懸垂[18,19]による神経筋活動の減少により、ラットのヒラメ筋において MHC IIa を含んだ筋線維の割合を増加させたり、MHC IIx や MHC IIb などの新たな MHC アイソフォームを発現することが報告されている。これは、神経筋活動が減少すると fast type の MHC アイソフォームが発現することを意味している。本研究では、HxD 投与により球海綿体筋と肛門挙筋の筋線維における MHC アイソフォームの発現パターンに変化はみられなかった。これは、両筋がすでに fast type の筋線維によって構成されていることによるものと推察される。しかしながら、球海綿体筋と肛門挙筋の type IIb 線維は、HxD 投与によってそれぞれ34.8%と34.6%の萎縮を示し、同様に両筋の type IIx 線維は、それぞれ34.1%と32.7%の萎縮を示した。この結果は、HxD 投与が速筋線維に対して顕著な影響をおよぼすことを示唆している。

先行研究[13]では、神経毒の影響を slow type の筋線維で構成されるヒラメ筋(type I 線維の割合が $88.2 \pm 5.9\%$)を用いて検討している。その結果、4週間の HxD 投与により筋線維タイプ比率に変化が認められなかったことを報告している。この研究[13]では、酸性(pH 4.3 と pH 4.5)およびアルカリ性(pH 10.3)の前処理後の ATPase 活性の違いにより筋線維をタイプ分類しており、この方法では異なるタイプの MHC アイソフォームを混在する筋線維を識別することはできない。筋をホモジナイズして得られた電気泳動の分析結果では、HxD 投与によりヒラメ筋を構成するミオシン重鎖アイソフォームの比率に変化が認められたことを報告している[13]. したがって、slow type の筋では、HxD 投与により筋線維で新たな MHC アイソフォームを発現するものと推察される。

先行研究[20-22]では、type IIx 線維は type IIb 線維よりも高い SDH 活性を持つことが報

告されている。本研究でも球海綿体筋と肛門挙筋の type IIx 線維は type IIb 線維よりも高い SDH 活性を示した(図3と図4)。本研究では、HxD 投与によって球海綿体筋と肛門挙筋の type IIb 線維で SDH 活性の低下が認められた。type IIb 線維で選択的に認められた SDH 活性の低下については、さらに検討が必要である。

V. ま と め

生後10週齢のウィスター系雄ラットに4週間にわたり神経毒である HxD を投与し、会陰筋(球海綿体筋と肛門挙筋)の筋線維における MHC アイソフォームの発現パターン、横断面積、SDH 活性を検討した。HxD 投与により球海綿体筋と肛門挙筋の type IIb 線維および type IIx 線維で横断面積の減少が認められた。さらに、HxD 投与により両筋の type IIb 線維で SDH 活性の低下が認められた。本研究では、HxD 投与により type IIb 線維および type IIx 線維で萎縮が認められたが、これは会陰筋が HxD の影響を受けやすい fast type の筋線維から構成されていることによるものと結論される。

謝 辞

本研究は、日本宇宙開発事業団(the National Space Development Agency of Japan)の助成を受けた。4種類のモノクローナル抗体(71, F3, D9, B6)については、S. Schiaffino 博士(University of Padova, Italy)より贈与を受けた。

参 考 文 献

- [1] Spencer PS and Schaumburg HH: Ultrastructural studies of the dying-back process. III. The evolution of experimental peripheral giant axonal degeneration. *J Neuropathol Exp Neurol* 36: 276-299, 1977
- [2] Spencer PS and Schaumburg HH: Ultrastructural studies of the dying-back process. IV. Differential vulnerability of PNS and CNS fibers in experimental central-peripheral distal axonopathies. *J Neuropathol Exp Neurol* 36: 300-320, 1977
- [3] Lapadula DM, Irwin R, Suwita E and Abou-Donia MB: Cross-linking of neurofilament proteins of rat spinal cord in vivo after administration of 2,5-hexanedione. *J Neurochem* 46: 1843-1850, 1986
- [4] Nagano M, Yamamoto H, Harada K, Miyamoto E and Futatsuka M: Comparative study of modification and degradation of neurofilament proteins in rats subchronically treated with allyl chloride, acrylamide, or 2,5-hexanedione. *Environ Res* 63: 229-240, 1993
- [5] Cleveland DW and Hoffman PN: Neuronal and glial cytoskeletons. *Curr Opin Neurobiol* 1: 346-353, 1991
- [6] Blanco CE, Micevych PE, Zhan W-Z and Sieck GC: Succinate dehydrogenase activity of sexually dimorphic muscles of rats. *J Appl Physiol* 78: 2147-2152, 1995
- [7] Oishi Y: Relationship between myosin heavy chain IId isoform and fibre types in soleus muscle of the rat after hindlimb suspension. *Eur J Appl Physiol* 66: 451-454, 1993
- [8] 大石康晴, 石原昭彦: 骨格筋の免疫組織化学的分析. 最新運動生理学実験法-分子・細胞・組織レベルからのアプローチ-(今泉和彦, 石原昭彦編), 大修館書店, pp. 196-198, 1998
- [9] Roy RR, Ishihara A, Kim JA, Lee M, Fox K and Edgerton VR: Metabolic and morphological stability of motoneurons in response to chronically elevated neuromuscular activity. *Neuroscience* 92: 361-366, 1999.
- [10] Ishihara A, Roy RR and Edgerton VR: Succinate dehydrogenase activity and soma size of motoneurons innervating different portions of the rat tibialis anterior. *Neuroscience* 68: 813-822, 1995
- [11] Ishihara A, Ohira Y, Roy RR, Nagaoka S, Sekiguchi C, Hinds WE and Edgerton VR: Effects of 14 days of spaceflight and nine days of recovery on cell body size and succinate dehydrogenase activity of rat dorsal root ganglion neurons. *Neuroscience* 81: 275-279, 1997
- [12] Krasavage WJ, O'Donoghue JL, DiVincenzo GD and Terhaar CJ: The relative neurotoxicity of methyl-*n*-butyl ketone, *n*-hexane and their metabolites. *Toxicol Appl Pharmacol* 52: 433-441, 1980
- [13] Oishi Y, Yamamoto H, Nagano M, Miyamoto E and Futatsuka M: The effects of 2,5-hexanedione and acrylamide on myosin heavy chain isoforms of slow and fast skeletal muscles of the rat. *Toxicol Appl Pharmacol* 139: 15-21, 1996
- [14] Schaumburg HH and Spencer PS: Degeneration in central and peripheral nervous systems produced by pure *n*-hexane: an experimental study. *Brain* 99: 183-192, 1976
- [15] Alaimo MA, Smith JL, Roy RR and Edgerton VR: EMG activity of slow and fast ankle extensors

- following spinal cord transection. *J Appl Physiol* 56 : 1608-1613, 1984
- [16] Talmadge RJ, Roy RR and Edgerton VR : Prominence of myosin heavy chain hybrid fibers in soleus muscle of spinal cord-transected rats. *J Appl Physiol* 78 : 1256-1265, 1995
- [17] Talmadge RJ, Roy RR and Edgerton VR : Myosin heavy chain profile of cat soleus following chronic reduced activity or inactivity. *Muscle Nerve* 19 : 980-988, 1996
- [18] Talmadge RJ, Roy RR and Edgerton VR : Distribution of myosin heavy chain isoforms in non-weight-bearing rat soleus muscle fibers. *J Appl Physiol* 81 : 2540-2546, 1996
- [19] Oishi Y, Ishihara A, Yamamoto H and Miyamoto E : Hindlimb suspension induces the expression of multiple myosin heavy chain isoforms in single fibres of the rat soleus muscle. *Acta Physiol Scand* 162 : 127-134, 1998
- [20] Sawchak JA, Leung B and Shafiq SA : Evidence for new isoform of fast myosin heavy chain in rat skeletal muscle. *Muscle Nerve* 15 : 1349-1353, 1992
- [21] Hämaläinen N and Pette D : The histochemical profiles of fast fiber types IIB, IID, and IIA in skeletal muscle of mouse, rat, and rabbit. *J Histochem Cytochem* 41 : 733-743, 1993
- [22] Delp MD and Duan C : Composition and size of type I, IIA, IID/X, and IIB fibers and citrate synthase activity of rat muscle. *J Appl Physiol* 80 : 261-270, 1996



編集後記

秋の学会シーズンがあけて科研費の申請も済み、座業に一段落して、年末の喧噪までの一時しばし落ち着いてオシロスコープと向かいあえる頃かと思います。本号は、西野先生のチベット仏教と生理学を結ぶ巻頭言、長崎での教育シンポジウムの記録などと、生理学・サイエンスの明日についてじっくり考えることのできる記事が満載です。

先日、北米神経科学学会に参加して来ました。その膨大でエネルギーな研究発表内容もそうですがそれとは別に、日本のサイエンスを省みてちょっと感じるところがありました。それは、700をこえるブースにひしめく Exhibitors の活況です。大企業から零細個人企業に至るまで、多様な業者がそれぞれ研究者のニーズに合わせて工夫をこらした製品を展示していました。科学研究予算が、研究機関をとおして実社会の隅々に行き渡って、一つの大きな Science Community を形作っているあらわれだと思えます。また、Publishers Row の情報発信力にも目を見張るものがありました。研究の面白さ・楽しさを、その成果を還元しながら社会にア

ピールしてゆこうとする情熱が感じられます。

このような“学会社会”の態度には、古来の「貴族や富豪のパトロンの庇護下の孤高の科学者」から脱却して、「社会資本や公的資金に立脚した社会現象としての担い手」としての新しい科学者像を目指す戦略が感じられます。これからのアメリカ科学界を率いるのは、1960年代のケネディ・ジョンソン政策下に小学校教育を受けた世代です。私もこのころ2年程アメリカの小学校に在学する機会がありましたが、そこでは「君たちは、科学を通して世界のリーダーになるのだ」ということを徹底的に教育された覚えがあります。

日本でも、世界に対抗するための基礎科学の充実が叫ばれ、緊縮財政の中にあって科学技術予算だけは確保して頂いています。このような状況の中で、日本のサイエンスはどのような方向を目指し、国際社会にどう貢献するつもののかを、真の「戦略眼」をもってじっくり考えてみるべき時なのかもしれません。

こんなことを、秋の夜長にチベット仏僧よろしく、瞑想してみました。(入来篤史)

*編集執行委員

編集委員

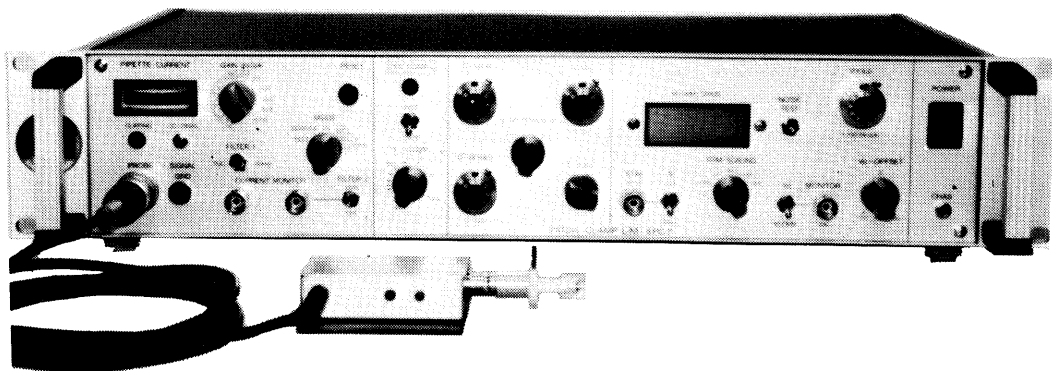
- | | |
|---------------------|------------------|
| *金子章道(編集幹事)(感覚) | 青木 藩(呼吸) |
| 小野田法彦(感覚) | 河 南 洋(自律神経, 内分泌) |
| *工藤典雄(運動, 発生・成長・老化) | 窪田隆裕(腎・体液) |
| 黒島晟汎(環境) | 小西真人(筋) |
| 佐久間康夫(生殖) | *佐々木成人(運動) |
| 高田明和(血液) | 菅屋潤壹(栄養・代謝・体温) |
| *高松 研(神経化学) | 土居勝彦(心臓・循環) |
| *中島祥夫(運動) | 成瀬 達(消化・吸収) |
| *入来篤史(感覚・運動・高次中枢) | *川上順子(高次中枢) |
| 辻岡克彦(循環) | 福田 淳(感覚, 高次中枢) |
| 村上政隆(膜輸送) | 吉岡利忠(体力) |
| 小山なつ(HP担当) | |

日本生理学会事務局：〒113-0033 東京都文京区本郷3-30-10 布施ビル
 TEL：03-3815-1624 FAX：03-3815-1603(勤務時間 10：30～18：30)
 E-mail：psj@qa2.so-net.ne.jp
 URL：http://wwsoc.nacsis.ac.jp/psj/

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
- R_s 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)

パーソナルコンピュータベースのリサーチシステム
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

各種カプラ・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・カプラ群

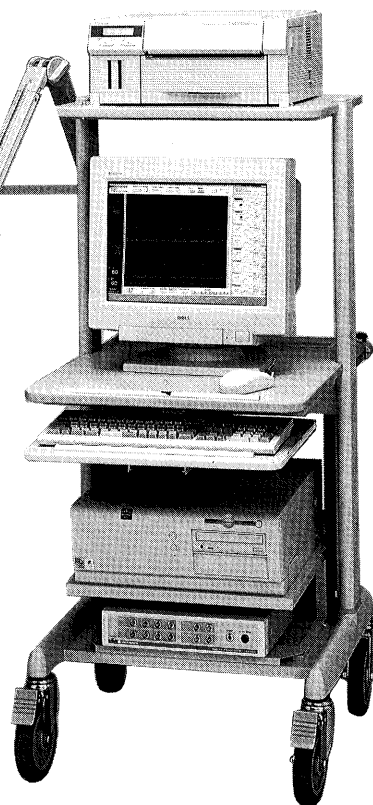
アイソレーション方式を採用し、電気的安全性が大幅に向上、デジタル化により外部雑音除去能力も向上。

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。

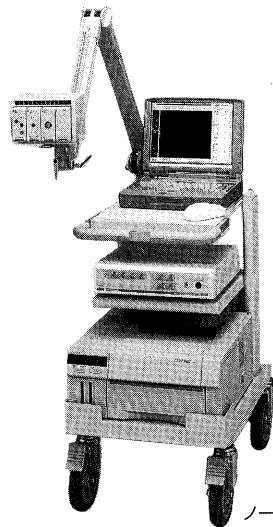
アンプはソフトウェアで管理、長期間安心してご使用いただけます。

16チャンネルまでの信号の同時計測・処理が可能。

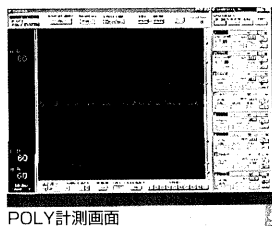
ポリグラフ等、既存装置からのアナログ信号の取り込みが可能。



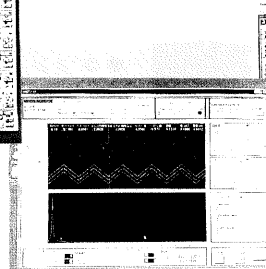
デスクトップ型パソコン構成



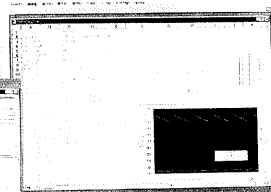
ノート型パソコン構成



POLY計測画面



VC計測画面



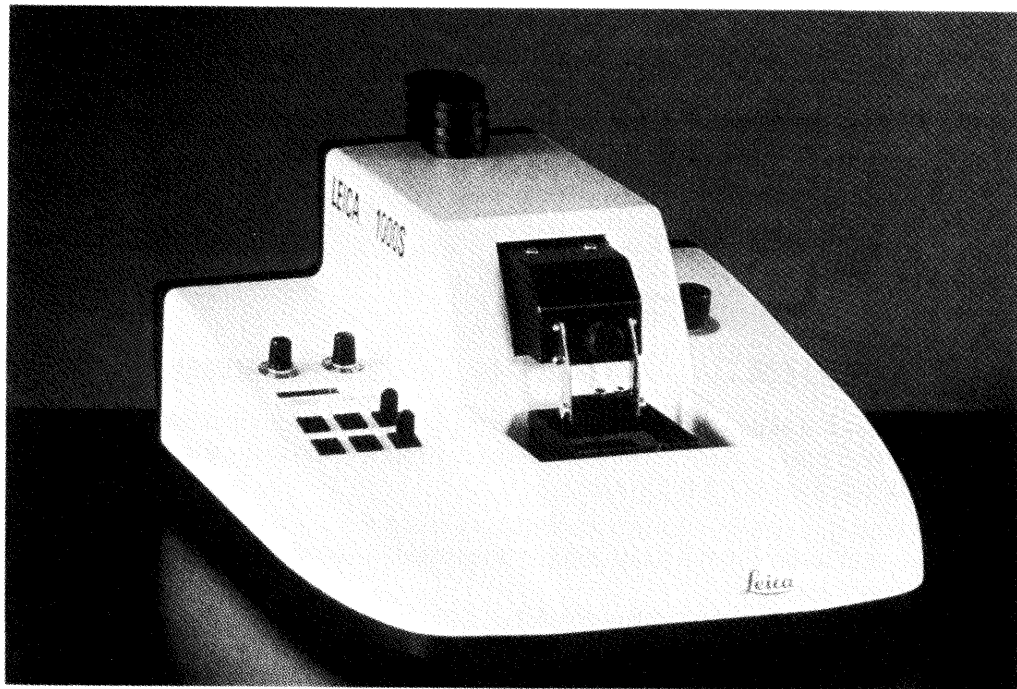
エクセル画面

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。

Leica



脳機能の解明に 最適な ミクローム

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、新しい振動刃ミクロームです。

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
カッティングウインドー
- 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

ライカ振動刃ミクローム
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

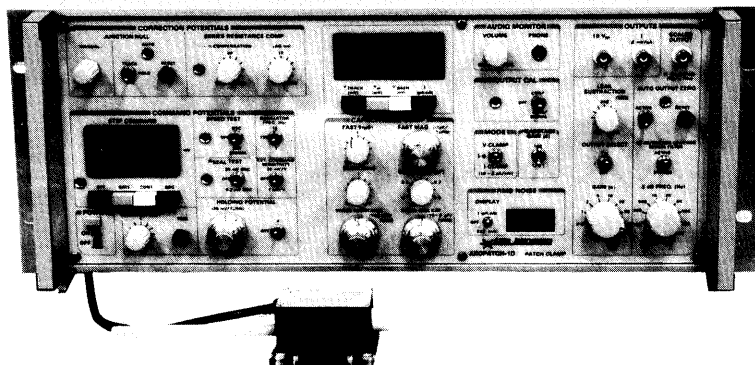
神経科学分野 総代理店

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

AXOPATCH-1D PATCH CLAMP



低ノイズ

ハイスピード

安定性と信頼性

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

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

CV4ヘッドステージは下記の3種類があります。

AXOPATCH-1Dの特徴

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

AXOPATCH-1Dのヘッドステージ

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

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

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

西日本地区発売元



INTER MEDICAL CO., LTD.

株式会社 インターメディカル

本社/〒464-0850 名古屋市千種区今池3丁目40番地4
TEL (052)731-8000(代) FAX (052)731-5050
東京支社/〒157-0063 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

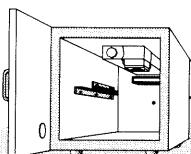
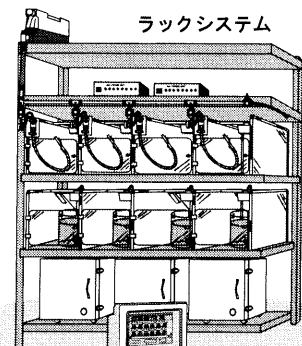
〒101-0047 東京都千代田区内神田2丁目6番11号
若松ビル2F
TEL (03)3258-1641

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, 強制水泳試験システム

SUPERMEX[®]

スーパーメックス PAT. P

ラックシステム

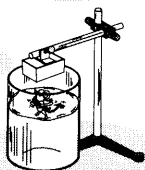


防音箱



DI-064W

CompACT AMS



強制水泳

- 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。
- インターフェース及びソフトウェアは Windows95以降対応。（NEC MS-DOS対応版もごさいます）
- ほとんどの場合お手持ちの飼育ケージ、代謝ケージ等を使用することができます。（飼育状態での測定が可能）
- 自発運動量と並行して飲水量及び立ち上がり回数を測定できるシステムもご用意できます。
- 専用ソフトウェア CompACT FSS（オプション）を使用することにより強制水泳試験を行うことができます。（参考文献あり）

★ 詳細についてはお問い合わせください。
★ 特許出願済みに付き粗悪な類似品には充分ご注意ください。

Muromachi

総発売元 **室町機械株式会社**

本社 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(6302)1277 FAX 06(6302)5026
URL : <http://www.muromachi.com>



ラット・マウス用 無加温型非観血式血圧計 BP MONITOR FOR RATS & MICE Model MK-2000

ラットやマウス等の小動物の血圧を測定する場合、従来の非観血式血圧計では何らかの方法により動物を暖めておく必要がありました。これに対し MK-2000 は室温が 23℃ 以上あれば自然の（無加温の）状態のままで測定を行うことができます。

薬物の影響を調べるのに最適な装置であり、尾動脈圧の経時変化をモニタすることもできるなど従来の非観血式血圧計の概念を覆す画期的な装置です。格納式のオペレーションキーボードは本体下部に配置されていてコンパクトに設計されています。

操作は至って簡単で、動物を測定台にセットした後はボタンを押すだけの全自動測定が行えます。

Muromachi

総発売元 **室町機械株式会社**

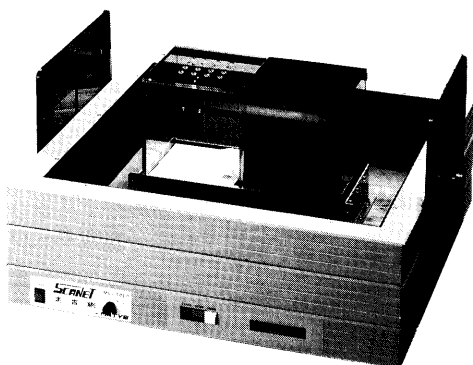
本社 東京都中央区日本橋室町4-2-1 大辻ビル
〒103-0022 TEL 03(3241)2444 FAX 03(3241)2940
大阪営業所 大阪市淀川区木川東4-5-3 オバル新大阪ビル
〒532-0012 TEL 06(6302)1277 FAX 06(6302)5026
URL : <http://www.muromachi.com>

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

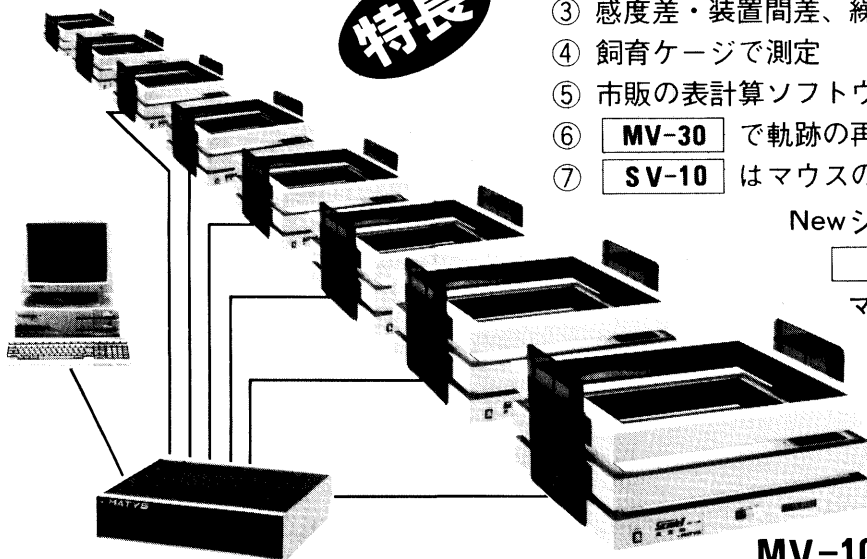
特長

- 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／〒930-0281 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) 6309-1231・FAX (06) 6309-1250

ケンブリッジ大学出版局から生理学関連雑誌のご案内

Published for The Physiological Society

生理学ジャーナル **Journal of Physiology**

Free Online

with 5 Proceedings & 1 Index

Chairman of the Editorial Board

D. A. EISNER, University of Liverpool, UK

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。

◆2000 年巻号: Vol.522-529(24+6 issues) ◆年間購読概価: ¥292,000 ◆商品コード: J43900T

実験生理学 **Experimental Physiology**

Free Online

New B4 format for 2000

Chairman and Distributing Editor

J. I. GILLESPIE, The Medical School, Newcastle upon Tyne, UK

本誌は著名な生理学誌 **Journal of Physiology** と同様、英国生理学会の刊行物です。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。

Journal of Physiology をご購入の方には、本誌とあわせてのご活用をお勧めいたします。

◆2000 年巻号: Vol.85 (6 issues) ◆年間購読概価: ¥55,000 ◆商品コード: E39265Z

- ※ Free Online: プリント版購読者はオンライン版を無料でご利用になれます。
- ※ 販売価格は実勢レートをもとに算出し、概算にて表示しております。(税別)
- ※ ご注文、見本誌のご希望、その他のお問い合わせは、最寄りの弊社営業所までお申しつけ下さい。



日本販売総代理店

紀伊國屋書店 雑誌部

FAX: 03-3439-1094

<http://www.kinokuniya.co.jp>

ラット フリームービング 生体信号・物質回収

Originality is our Business

~~スリッピング
シーベル
トランスミッター~~

不 用

ネジレン

特許

研究者の皆様へ▶▶▶

この度弊社 **ネジレン** は特許が成立した事をお知らせ申し上げます。
ネジレン によりフリームービング(無拘束・自由行動)での実験が可能となりました。
ネジレン を使えば今まで大変困難な実験がとても簡単にできます。
例えばマイクロダイアリシスを4CH(チャンネル)、脳波測定を3CH……
こんな実験が簡単に行なえます。

【How…?】原理は簡単です。動物に接続したチューブやリード線の「ねじれ」を検出して、床を逆回転する。こんな簡単な方法で「ねじれ」を発生させないのです。

【ほんとかな?】3500匹以上のテストの実績があります。

【動物に影響を与えませんか?】全く与えません。ラットはご機嫌です。

【どんな分野に使いますか?】フリームービングが必要な研究分野です。

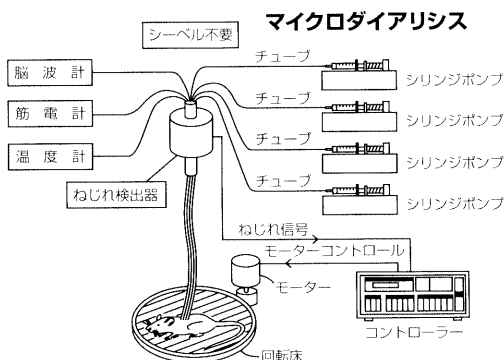
【具体的には?】マイクロダイアリシス、睡眠、血圧、血流、持続注入・回収等です。さらに、もっと別な分野はあなたが開拓してください。

【スリッピングは?】電気信号用のスリッピングは不要です。

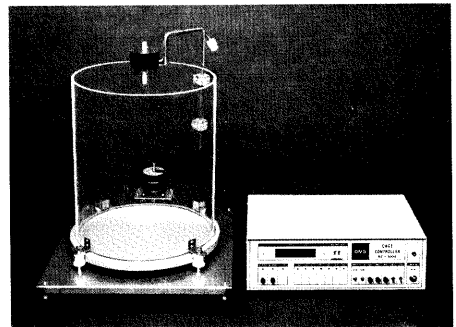
【カニューラ・シーベルは?】薬液用のシーベルは不要です。

【評判は?】一度使うと、「**ネジレン**」なくては実験にならないと評価されています。今やフリームービング実験には必須なインフラと言われています。

【研究実績は?】プロスタグランジン研究に多くの実績があります。



ホームページもみてね!!



文 献▶▶▶

1. A novel apparatus that permits multiple routes for infusions and body-fluid collections in a freely-moving animal
Hitoshi Matsumura, Osamu Hayaishi
2. Continuous recording of brain regional circulation during sleep/wake state transitions in rats
Dmitry Gerashchenko

当社の特許を侵害した粗悪な輸入品等が出まわっています。それらを購入されますと法的に問題となりますので、くれぐれも注意下さいますようお願い申し上げます。

当社オリジナル商品▶▶▶

脳研究: PET・MRI用ステレオ固定装置(猿・猫・ラット、犬)、PETを使った視覚実験装置、PET用オペラント実験装置、PET(縦形ガントリー)用猿覚醒下実験用チェアー、猫視覚実験装置、眼球運動測定装置
睡眠研究: 脳波・筋電・眼電・脳温測定装置、電極、赤外線照明、CCDカメラ、照明リズムコントローラー、記録計、人工環境チャンバー(恒温・恒湿[快適な湿度環境])、摂食・摂水装置
代謝研究: 薬効評価用ペアーフィード装置(糖尿病等の生活習慣病薬評価用)、ペレットフィーダー、トレッドミル
薬理研究: アイソニック・トランスジューサー、スキナーケージ、スキナーコントローラー、シャトルケージ、シャトルコントローラー、防音箱、スクランブラー方式刺激装置、T・Y・十字型メイス、高磁場培養槽

<http://www.osakamicro.co.jp>

大阪マイクロ

12月初旬スタート予定

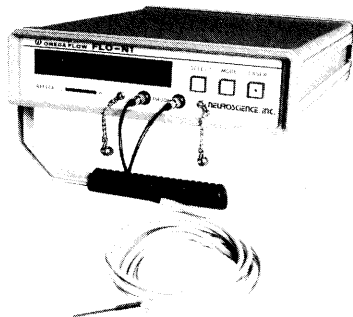
(有)大阪マイクロシステム
〒566-0055 大阪府摂津市新在家1-30-20
TEL.06-6340-9886 FAX.06-6340-9890
E-mail:info@osakamicro.co.jp

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

総発売元

オメガウェーブ

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又はディスクトップに接続(オプション)
- ★使い易さ
 - 標準プローブが小型、カイト光付き、専用固定器有り

【用途】

- ★脳
 - 骨の上から測定ができます。
 - ロースヘンカル血栓作成時に光の干渉を受けずに測定できます。
 - 深部の特定部位に小型センサーを埋め込んで、無麻酔下で測定が可能です。(接触型)
- ★神経、脊髄
 - 接触すること自体問題が有る部位でも簡単に測定できます。
- ★目(兎、ラット)
 - 眼球の外から網膜の血流測定が可能です。
- ★皮膚
 - 軟膏を塗る、薬液をたらす等の今まで困難であった処置ができます。
 - 経日的変化の測定も可能です。
- ★消化器系臓器
 - 粘膜に触ること無く測定ができます。
 - 水面の上からでも測定が可能です。
- ★口腔内
 - 圧迫の影響無く測定ができます。
- ★その他
 - 筋肉、内耳、鼻腔内、骨(骨髄)等の測定が可能です。

本社 ■〒110-0016 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 ■〒532-0011 大阪市淀川区西中島6-1-19
TEL. (06) 6307-7311 FAX. (06) 6307-7727

ディスカバリー・テトロードパラレルレコーディングシステム

DataWave社の生体シグナル・リアルタイム解析装置Experimenter's WorkBenchの姉妹品、マルチ・シングルユニットオンライン解析装置Discoveryの強力な拡張モデルとして、テトロード・パラレルレコーディングが開発されました。

この拡張モデルはテトロード、即ち4極電極を使ったユニット電位測定用として特に開発されたソフトウェアです。さらに、複数のコンピュータを使い同じタイミングでパラレルにデータを収録することができます。

テトロードではシングル電極やデュアル電極に比べてユニットの単離が格段に向上します。1本のテトロード電極で実質4チャンネルのアナログデータ(W.X.Y.Zと表示されます)が得られますので、ソフトウェアによるウィンドウディスクリミネータで各チャンネルのマルチユニットデータを検出し、分類します。標準のDiscoveryと同じようにクラスター解析でオンライン、オフラインでユニットデータを分類します。テトロードで記録されたマルチユニットデータのクラスター解析のパラメータにはW.X.Y.Zからの波形ピークとバレーが含まれています。

このピークとバレーが一体化した情報が、ユニットを最も良く分離させます。

パラレルレコーディングでは、システムを拡張して多数の1,2,4本電極を使った記録が可能です。1台のマスターコンピュータで複数台のスレーブコンピュータによるデータを収録し、そのタイミングを遠隔コントロールします。クロックシーケンスをはじめ標準のDiscoveryの全機能がパラレルレコーディングで実行できます。

＜パラレルレコーディング＞

1台のコンピュータ(マスター)から、複数のコンピュータ(スレーブ)のデータ収録及びそのタイミングを遠隔コントロールします。これにより複数の動物で複数本の記録電極を使ってDiscoveryシステムを拡張し、ネットワーク化して、一層パワフルなシステムが構築できます。

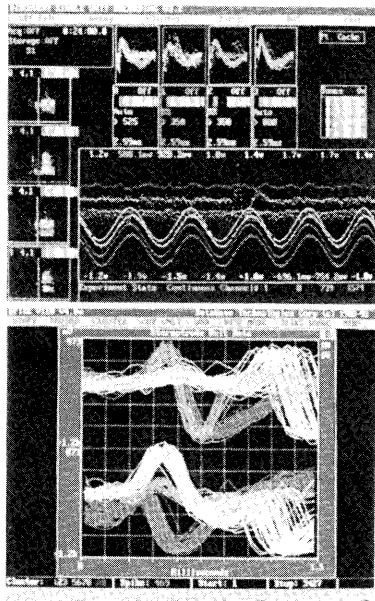
＜AutoCut Online＞

DiscoveryにAutoCut Online拡張ソフトウェアが登場しました。

オンラインで自動的にスパイク波形を分類し分離します。

簡単なマウス操作で実行でき複雑な分類プログラミングから解放されます。

※ディスカバリーの詳細はDataWave社のカタログをご参考下さい。



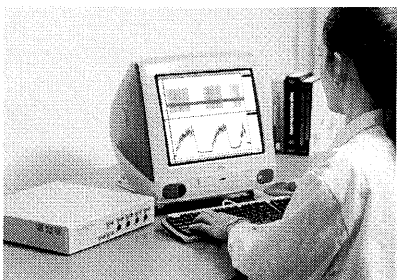
アナログデータ収録・解析システム

PowerLab

データの収集から解析・処理まで……
パワーラブシステム

For Macintosh &
For Windows

PowerLab
ADInstruments



☆高速パワーラブ/Sシリーズ(連続10KHz/16ch) ☆標準パワーラブ/Eシリーズ(標準1KHz/8ch)
USB/SCSI 対応 最大サンプリング速度 200KHz 最大サンプリング速度100KHz/バースト

PowerLab/4sp : 高速4ch入力
PowerLab/8sp : 高速8ch入力
PowerLab/16sp : 高速16ch入力

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

PowerLab 新シリーズ

基礎医学実習システム

PowerLab/410 : 標準4ch入力、+2Bio, 2GP, 1stim
PowerLab/4st : 高速4ch入力、+2Bio, 2GP, 1stim

設定&データ

- 高性能可変ゲインアンプを内蔵、測定機器の出力を接続するだけで記録をコンピュータ化できます！
- セッティングファイルのSave&Loadで即時スタートが可能！
- テキスト、Pict等優れたデータの互換性！
- ネットワークによりデータの共有化を簡単に実行！

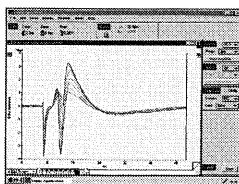
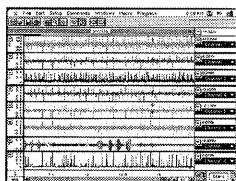
拡張性

- 1台のコンピュータによるマルチドライブが可能！
- エクステンション機能により機能拡張性(Dose Response、心電図解析、スパイクヒスト等のソフトウェア)が充実！
- 生体アンプ、ブリッジアンプ、血圧アンプなど豊富なフロントエンド！

記録処理

- usecオーダーの瞬間的な信号から数時間、数日オーダまで幅広い記録レンジ！
- ハードディスクへのダイレクトレコーディングにより長時間記録にも対応！
- 優れたデータ圧縮技術により長時間記録もコンパクトにデジタル保存！
- 入出力同時記録が可能(AD, D/A, TTL, パラレルコントロール)！
- Pre-Trigger, Post-Trigger, Signal-Trigger等の幅広い記録モード！
- dv/dt, Rate, Period, Count等のリアルタイムでのオンライン処理！
- Max Value, Max-Min, Slope等の数十種類の読取り項目とオフライン処理！
- ライン、ドット、ヒストグラムの表示をはじめ、X-Y, FFT, Zoom, DataPad表示！

《Chartソフトウェア》
パワフルな
多目的チャートレコーダ
機能を網羅！



《Scopeソフトウェア》
デジタルストレージ
オシロスコープ機能を
満載！

日本総代理店

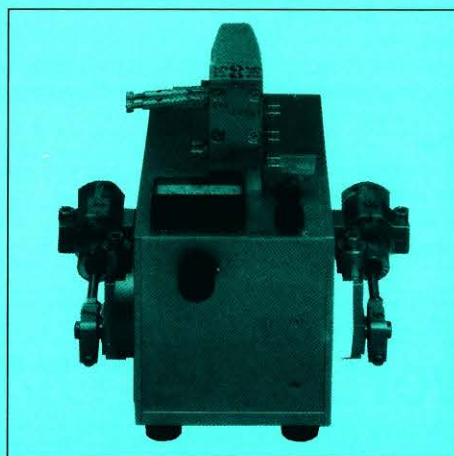
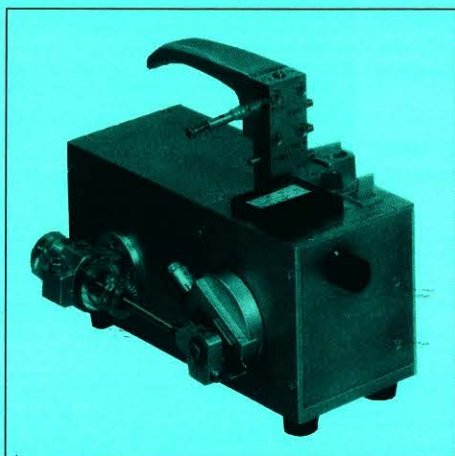
BRK

バイオリサーチセンター株式会社

本社 〒461-0001 名古屋市中区泉2丁目28番24号(ヨコタビル4F)
東京 〒101-0032 東京都千代田区岩本町2-10-1(オカジマビル)

E-mail : Sales@brck.co.jp
URL : http://www.brck.co.jp
TEL (052) 932-6421 FAX (052) 932-6755
TEL (03) 3861-7021 FAX (03) 3861-7022

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	φ 24×L57mm	約25ml用
M	φ 20×L57mm	約17ml用
S	φ 14×L57mm	約 8ml用
SS	φ 10×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(6873)3251 FAX 06(6873)2045

編集兼
発行人

金子章道

印刷所

平田正
鶴岡印刷株式会社

発行所

日本生理学会

振替

A

替

〇〇

〇〇

〇〇

〇〇

〇〇

〇〇

〇〇

〇〇

〇〇

〇〇