

日本

生理学

雑誌

JOURNAL OF THE PHYSIOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

62巻 1号 2000

生理学論文表題集の原稿記載についてのお願い
生理学論文表題集記載要項
平成11年度(1999)論文表題集申込み案内

〔巻頭言〕 宮崎俊一：2000年雑感..... 1

NEWS..... 3

INFORMATION..... 4

CALENDAR..... 7

RECORDS..... 8

実験技術法講座

「生理学実習法」

豊田順一・明間立雄・近藤博明・新保 清・鯨岡 徹：

生理学実習におけるベクトル心電図法..... 9

シリーズ「生理学者のための分子モニタリング技術講座」

野村正彦：マイクロダイヤリシス法で獲えた弁別学習課題により起きる神経伝達物質の変化... 13

シリーズ「Freshman 技術講座」

中島祥夫：「Freshman 技術講座：動物実験法」の掲載にあたって 31

大塚曜一郎・照井直人：ウサギの手術..... 33

学会抄録

第32回東北生理談話会..... 45

第46回中部日本生理学会..... 51

第50回西日本生理学会..... 69

日本生理学会会則..... i

日本生理学雑誌編集委員会選出内規..... ii

日本生理学雑誌投稿規定..... iii

生理学領域における動物実験に関する基本的指針..... vi

日本生理誌

J. Physiol. Soc. Japan

日本生理学会

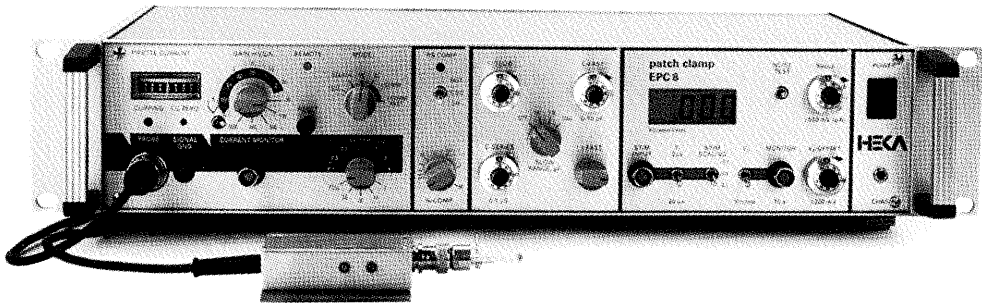
HEKA

EPC-8

Windows 95. NT対応

New!!

パッチクランプ・システム



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

- 従来からご要望の多かったホールド電圧のレンジを $\pm 500\text{mV}$ まで、オフセット補正電圧を $\pm 200\text{mV}$ まで、それぞれ大幅に拡大しました。
- ヘッドステージを、EPC-7の2抵抗型からEPC-9と同等の3抵抗型へグレード・アップ。測定レンジを拡大し、大容量の細胞(1000pF)にも対応します。
- 7ポール/12ステップの高性能フィルタを新設。
- ファースト・カレント・クランプやダブル/トリプル・パッチにも対応。
- 専用のインターフェイス+ソフトの追加により、パルス・ジェネレーションに始まる一連のデータ収集・解析をコンピュータ上で実行可能。

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

ソフトは、新たにWindows対応版もリリース。

☆フル・コンピュータ・コントロールのEPC-9もいっそう完成度を高め、ますます円熟。



~~~~ 詳しい資料をご請求ください ~~~~

HEKA社 日本総代理店  
EPCシリーズ 西日本総発売元



ショーシンEM株式会社

〒444-02 愛知県岡崎市赤浜町蔵西1-14  
ショーシンビル2F

TEL. 0564-54-1231

FAX. 0564-54-3207

EPCシリーズ 東日本総発売元

(Physio-Tech)

株式会社 フィジオテック

〒101 東京都千代田区内神田2-6-11  
若松ビル2F

TEL. 03-3258-1641

FAX. 03-3258-1657

教室  
主任殿  
研究室

## 生理学論文表題集の原稿記載についてのお願い

日本生理学雑誌編集委員会

生理学論文表題集を編集しますので、原稿をお送り下さい。貴教室（研究室）の1999年1月～12月内に印刷されました生理学に関連する論文、抄録の表題を下記の記載要領に従い記入して下さい。封筒の表には、論文表題と明記して2000年4月末日（厳守）までにお送り願います。

尚、該当するものがない場合もその旨を必ずお知らせ下さい。

### 生理学論文表題集記載要項

1. 論文の分類は次のA、Bの分類のみとします。
  - A. 論文（著書、総説を含む、欧文、和文の順で記入して下さい）
  - B. 学会抄録（予稿集は含みません。欧文、和文の順で記入して下さい）
2. 用紙はA4の白紙を用い、横160mm、縦230mmの範囲（厳守）に、横50字、縦46行で記入して下さい。英文はこれに準じます。使用されるワープロソフトによって字数、行数は多少変わるでしょうが、上記の基準は目安とお考え下さい。原稿をB5に縮小コピーしてみて、記載例と、ほぼ同じになることをご確認下さい。
3. プリンターは必ずレーザープリンター等のハイクォリティープリンターをご使用下さい。
4. 原稿用紙上段右の所属名欄にはご自分の所属を必ず記入して下さい。
5. A（論文）、B（学会抄録）を通じ、著者名の前に通し番号を附して下さい（記載例参照）。
6. 著者氏名、論文表題名の順にお書き下さい。句読法についてはOpen systemを採用します。JJJの論文リストをご参照下さい。雑誌名の省略法はIndex Medicusに従って下さい。

A. 論文

1. Nagashima T, Ohinata H & Kuroshima A (1994) Involvement of nitric oxide in noradrenaline-induced increase in blood flow through brown adipose tissue. *Life Sci* 54: 17-25
2. Saha SK, Moriya M, Ohinata H & Kuroshima A (1994) Lipid interference with fluorometric assay of DNA in adipose tissues under various conditions. *Jpn J Physiol* 44: 421-431
3. Ohno T, Ohinata H, Ogawa K & Kuroshima A (1994) Fasting-induced modifications of fatty acids composition in brown adipose tissue. *J Therm Biol* 19: 135-140
4. Yahata T & Kuroshima A (1994) Inhibitory role of prolactin in brown adipose tissue thermogenic activity. *Jpn J Biometeor* 31: 63-67
5. Moriya M, Kikuchi K, Nozu T & Kuroshima A (1994)  $\beta$ -endorphin does not directly stimulate BAT thermogenesis. *Jpn J Biometeor* 31: 85-88
6. Yahata T & Kuroshima A (1994) Role of prolactin in brown adipose tissue thermogenic activity. *Temperature Regulation, Recent Physiological and Pharmacological Advances*, Ed. AS Milton (*Advances in Pharmacological Sciences*) Birkhauser Verlag Basel, 327-331
7. Iwamoto J, Morin III FC, Inaba M, Gorfien SF & Battista PJ (1994) Direct measurement of nitric oxide from ovine endothelium cultured in endothelial-SFM. *Focus* 16: 31-33
8. Iwamoto J, Krasney JA & Morin III FC (1994) Methemoglobin production by nitric oxide in fresh sheep blood. *Respir Physiol* 96: 273-283
9. Iwamoto J, Pendergast DR, Suzuki H & Krasney JA (1994) Effect of graded exercise on nitric oxide in expired air in humans. *Respir Physiol* 97: 333-345.
10. 黒島晨汎 (1994) 熱産生器官・褐色脂肪組織の適応生理 *臨床体温* 14: 1-13
11. 黒島晨汎 (1994) (分担訳) 第17章 内分泌 In *スタンダード 人体生理学* (RFシュミット/Gテウス編) 佐藤昭夫監訳 シュプリンガー・フェアラーク東京 374-402
12. 黒島晨汎 (1994) 寒冷適応と褐色脂肪組織. *臨床環境医学* 32: 81-84

B. 学会抄録

13. Iwamoto J, Pendergast DR & Krasney JA (1994) Effect of graded exercise on nitric oxide in expired air in humans. *FASEB J* 8:A687
14. Ohno T, Ogawa K, Moriya M, Ohinata H & Kuroshima A (1994) Nutritional conditions and brown adipose tissue (BAT) fatty acids (FA) -with special reference to overfeeding and iron deficiency-. *Jpn J Physiol* 44(Suppl) S281
15. Saha SK, Moriya M, Ohinata H & Kuroshima A (1994) Fluorometric assay with hoechst 33258 of DNA in adipose tissues under various conditions. *Jpn J Physiol* 44(Suppl) S281
16. Moriya M, Ohinata H, Yahata T, Ohno T, Ogawa K & Kuroshima A (1994) Nutritional conditions and brown adipose tissue (BAT) thermogenesis -with special reference to overfeeding and iron deficiency-. *Jpn J Physiol* 44(Suppl) S285
17. Nagashima Y, Kikuchi K, Nagashima T & Kuroshima A (1994) Effect of fasting on rat brown adipose tissue with special reference to in vitro thermogenesis and lipolysis-. *Jpn J Physiol* 44(Suppl) S286
18. Nagashima T, Ohinata H & Kuroshima A (1994) Effect of nitric oxide on blood flow through brown adipose tissue in the rat. *Jpn J Physiol* 44(Suppl) S286
19. Ohinata H, Saha SK & Kuroshima A (1994) Effect of cold plus immobilization stress on in vitro thermogenesis and GM3 level of rat brown adipose tissue. *Jpn J Physiol* 44(Suppl) S287

# 平成11年度(1999)論文表題集中込み案内

日本生理学雑誌編集委員会

2000年4月末日を以ってご提出願います論文表題集は、2000年10月に出来上がりますのでお申込み下さい。本表題集は、限定版のため追加印刷が許されませんので、至急に購入申込みを完了願います。教室、研究室におかれては最低2部(図書館を含めて)のご購入をぜひお願いいたします。申込みには、郵送用宛名ラベルに必要事項を記入の上、論文表題集用原稿と一緒にお願いします。

尚、ご送金は論文表題集送付の際振込用紙と、国立大学及びこれに準ずる機関には事務処理上必要な見積、納品、請求書を一括したものを同封いたしますから、折り返しご送金下さいますようお願い申し上げます。その際各教室名を明記して下さい。

また、個人でも申込みが出来ます。その際は、下の郵送用宛名ラベルをコピーして必要事項を明記の上お送り下さい。

宛先 日本生理学会(〒113-0033 東京都文京区本郷 3-30-10 布施ビル内)

平成11年度(1999)論文表題集

定価 1部 金7,000円也

(郵送料込み)

郵送用宛名ラベル

郵便番号 \_\_\_\_\_

住 所

氏 名

殿

平成11年度(1999)論文表題集 ( ) 部

## 目 次

生理学論文表題集の原稿記載についてのお願い

生理学論文表題集記載要項

平成11年度(1999)論文表題集申込み案内

〔巻頭言〕 2000年雑感 (宮崎俊一) ..... 1

## NEWS

動物の愛護及び管理に関する法律 (中島祥夫) ..... 3

## INFORMATION

International Conference on "Optical Approaches to  
Physiological Functions" のお知らせ ..... 4

第6回ソフトコンピューティングに関する国際会議

6th International Conference on Soft Computing (IIZUKA 2000) ..... 5

生理学女性研究者の会 (WPJ) からのお知らせ ..... 5

第6回 WPJ 講演会 ..... 5

第6回生理学女性研究者の集い ..... 6

WPJ ワークショップ ..... 6

生理学会大会時の保育所情報 ..... 6

## CALENDAR

主な研究集会開催日程 ..... 7

## RECORDS

会員消息 ..... 8

## 実験技術法講座

「生理学実習法」

豊田順一・明間立雄・近藤博明・新保 清・鯨岡 徹:

生理学実習におけるベクトル心電図法 ..... 9

シリーズ「生理学者のための分子モニタリング技術講座」

野村正彦: マイクロダイヤリシス法で獲えた弁別学習課題により起きる

神経伝達物質の変化 ..... 13

シリーズ「Freshman 技術講座」

中島祥夫: 「Freshman 技術講座: 動物実験法」の掲載にあたって ..... 31

大塚曜一郎・照井直人: ウサギの手術 ..... 33

**学会抄録**

|                             |     |
|-----------------------------|-----|
| 第32回東北生理談話会.....            | 45  |
| 第46回中部日本生理学会.....           | 51  |
| 第50回西日本生理学会.....            | 69  |
| 日本生理学会会則.....               | i   |
| 日本生理学雑誌編集委員会選出内規.....       | ii  |
| 日本生理学雑誌投稿規定.....            | iii |
| 生理学領域における動物実験に関する基本的指針..... | vi  |

## 巻頭言

## 2000年雑感

東京女子医科大学医学部第二生理  
宮崎俊一

西暦2000年を迎えた。この切りのいい年に巡り合わせたことは、1000年に一度ということを見ると、幸運とも思えてくる。またふと歴史をふり返り、未来を想う気持ちにさせる。今から1000年前の時代という、年表では十字軍開始より約100年前、神聖ローマ帝国、宋、平安朝藤原道長が勢力を強めていくころとある。遙か昔々の世界である。1000年後の未来は、超加速的な近年の変化を目のあたりにして、遙かに想像を超える。せめて100年、いやそれすらが難しい。20世紀の科学は、前半は物理学、後半は生物学の時代と言われ、キーワードは原子核とDNAとされる。生命科学の時代は、科学技術の進歩と高度情報化と相まって、このまま当分継続しそうである。他方、資源や環境といった現実的問題への科学のさらなる関与の必要性が予測される。

このような時点で生理学会員として想うことの一つは、本誌巻頭言に既に論じ尽くされた感はあるが、「生理学の行方」であろう。「生理学」を標榜しているものに、講義科目・教科書・講座・学会などがある。大学院大学制を導入した大学では生理学講座は既に消失しており、私共の大学のように学部教育に統合カリキュラムを採用した場合は生理学という講義科目はない。研究室での研究内容・実験手法も従来の生理学とは大きく変わってきており、スタッフの出身学部も多様である。学会あるいは研究成果を見ても、対象が生体・器官系から細胞レベルになるにしたがって、生理学というアイデンティティーが見失われそうな状況にある。上記のような教育システムを経た卒業者が増えてくると、生理学(少なくとも語としての「生理学」という意識は益々希薄になると予想される。そこで従来の生理学教室で育ってきた我々の生理学者像を改めて考えてみるに、生体・器官・細胞のダイナミズム(発達や病的変化も含めて)に興味をもち、どのようにどうして動くのかを見るために、生きた系で可能な限り定量性を持った実験系を開発して記録・解析し(多くの場合記録の横軸は時間)、解析しつつも究極的には種々の生物・生体现象の総合的なメカニズムを解明したいという希求を秘めたロマンチストということか。してみると「ダイナミズムは? メカニズムは?」という問いが頭から離れない「機能へのこだわり」の強さが生理学のアイデンティティーではないかという考えにたどりつく。

生物あるいは生体機能の解明にはもちろん形態や物質の知見が必須であり、現在最も先鋭的に展開されている分子生物学は極めて有用である。それらの研究もしかし、いずれそのベクトルは機能へと向かい、機能解明への高次化が、次の必然的な発達段階であるに違いない。ポストゲノムはそのベクトルを指すのであろう。このような観点から、機能学の

立場は必然的に存在し続けるはずである。「生理学」という名称に必ずしもこだわらずに、何々機能学という教科書が出てきてもいいと思うが、ノーベル賞の領域に(医学・)生理学としているおそらく生きる理に迫る生物学という希求を込めた広義の「生理学」という語は、座右の銘的に生き続ける必要がありそうである。我々生理学会員は、機能へのこだわりというアイデンティティーをより鮮明にしていく必要があるように思える。学会の進展は、医学部生理学教室の枠をさらに越えて、機能にこだわる同志を引きつけることにかかっているのではないだろうか。てこ入れとともに、名称を国際学会のように生理科学会とするのはどうだろうか。

科学の進展は、天才的な研究者の突出した偉業と、そのギャップを埋め先端を広めていく多数の作業の繰り返しからなることが歴史から読みとれる。進展の幅は大小様々であり、個々の研究者は夫々に役割を果たしている。業績の真の評価は歴史の歳月に耐えたのち、画期的(epoch making)と評される。昨今の我々は眼前の評価に曝され、研究費の審査、役職の選考といった現実的問題を意識させられる。なんとなく住み心地のよくない時代はさらに進むものと思われる。その評価には通常重要である(important)あるいは意義がある(significant)という基準が用いられる。研究費申請時には(忸怩たるものを感じつつも)自らの研究をそう評している。しかし研究には別の側面があり、別の評価もある。日常の研究活動を実際に駆動しているのは、未知なところを知りたいという素朴な欲求と、面白いという主観である。そして自分たちの仕事を他の研究者に話したときに、“Interesting!”という言葉が嬉しい評価である。シンポジウム講演後に、座長の美辞よりも“I enjoyed your talk.”という一研究者の語りかけによって報われる。私がかつて留学した萩原長生先生(昨年10回忌の記念シンポジウムがUCLAで開かれた)は、Interestingの他に、記録が美しい(beautiful)、データがごたごたしたdiscussionを要しない程に鮮やか(bright)あるいは優雅(elegant)であることを要件として挙げられ、実践しておられた。また研究者の生物学的センスを重視された。これは研究者が生命現象の面白さと機能解明への糸口を本能的に嗅ぎとっているかということに思える。

ともあれ、主観・客観の評価の中で研究の営みは継続され、時が流れ、数十年もすれば殆どの論文は土に埋もれ、あたりまえの知見として地盤を築いているであろう。

## NEWS

### 動物の愛護及び管理に関する法律

動物実験に関する委員会 委員長 中 島 祥 夫

「動物の愛護及び管理に関する法律」が平成11年12月9日衆議院本会議を全会一致で通過し、12月14日に参議院本会議において全会一致で成立しました。これは、昭和48年に制定された「動物の保護及び管理に関する法律」を動物の愛護の観点から改正されたものです。この法律は、「公布の日から起算して一年を超えない範囲内において政令で定める日から施行する。」とありますが、生理学会会員の皆様には引き続き動物実験にはなお一層の動物愛護、動物倫理の精神を発揮していただきたいと願います。新動管法の条文は次号に紹介します。

## 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://www.soc.nacsis.ac.jp/psj/>)

### International Conference on “Optical Approaches to Physiological Functions” ものお知らせ

下記の通り、生理機能の光学測定に関する国際カンファレンスを開催します。このカンファレンスでは、膜電位、脳皮質ニューロン活動、細胞内  $Ca^{2+}$  に関する光学計測のバイオニアの講演とともに、情報交換の場にしたいと考えております。多くの方々の御参加をお待ちしております。

- 日 時 2000年2月22日(火) 9:00~18:10
- 場 所 東京ガーデンパレス 雅の間  
113-0034 東京都文京区湯島1-7-5  
phone: 03-3813-6211
- 海外からの招待講演者
  - L. B. Cohen (Yale Univ)
  - B. M. Salzberg (Univ Pennsylvania)
  - A. Grinvald (Weizmann Inst/Israel)
  - W. N. Ross (New York Med Coll)
  - W. K. Chandler (Yale Univ)
  - R. L. DeHaan (Emory Univ)
  - A. L. Obaid (Univ Pennsylvania)
  - M. Cattarelli (CNRS/France)
- 国内からの招待講演者 数名
- 主 催 東京医科歯科大学医学部生理学第二講座

- オーガナイザー
  - K. Kamino (Tokyo Med Dent Univ)
  - B. M. Salzberg (Univ Pennsylvania)
  - Y. Kudo (Tokyo Univ Pharmacy)
  - S. Terakawa (Hamamatsu Med Univ)
  - Y. Momose-Sato (Tokyo Med Dent Univ)
  - K. Sato (Tokyo Med Dent Univ)

- 参加費 無 料
- 参加申し込み  
会場の都合上150名で締め切らせていただきます。参加御希望の方は下記宛、email か F A X にてご連絡ください。

〒113-8519 東京都文京区湯島1-5-45  
東京医科歯科大学医学部生理学第二講座

佐藤勝重

phone: 03-5803-5157

FAX: 03-5803-0118

email: [katsushige.phy2@med.tmd.ac.jp](mailto:katsushige.phy2@med.tmd.ac.jp)

- カンファレンス終了後、懇親会(Friendship Party for Professor K. Kamino's Retirement)を行います。併せて御案内申し上げます。(但し参加費10,000円)

## 第6回ソフトコンピューティングに関する国際会議 6th International Conference on Soft Computing (IIZUKA 2000)

○開催期間：平成12年10月1日～4日(4日間)

○開催地：福岡県飯塚市

○開催目的：

不確実な情報あるいは欠陥のある情報に対しては、従来の方法では処理が困難でした。この点、我々の脳は、あらゆる情報を有効かつ効率的に処理する能力を有しています。本国際会議は、この優れた脳の情報処理能力を目標とし、その候補となる様々な情報処理方式の長所と問題点、類似点等を検討し、これらの情報処理方式の長所を融合することで脳の機能に迫る新しい情報処理方式の可能性を探ることを目的としています。

○参加費(予定)：

(本会議)

会 員 40,000円

非会員 50,000円

学生(Full-time Students) 25,000円

○規 模：参加者総数 400名

(海外からの参加者100名)予定

○主催団体(予定)：

- 国際ファジィシステム学会(IFSA)
- 国際ニューラルネットワーク学会(INNS)
- 日本ファジィ学会(SOFT, 日本)
- 日本神経回路学会(JNNS, 日本)
- 九州工業大学(KIT, 日本)
- 財団法人ファジィシステム研究所(FLSL 日本)

国際会議組織委員会事務局

財団法人 ファジィシステム研究所内

〒820-0067 福岡県飯塚市大字川津680-41

Tel : 0948-24-2771 Fax : 0948-24-3002

E-mail : iizuka2000@flsi.cird.or.jp

## 生理学女性研究者の会(WPJ)からのお知らせ

生理学女性研究者の会では、第77回生理学会大会前日に、下記のような、講演会、グループディナー、ワークショップを予定しております。詳細情報はWPJのホームページ(URL : <http://web.kanazawa-u.ac.jp/med2/05/WPJ-MENU.html>)に掲載されておりますのでご覧下さい。多数の皆様の参加をお待ちしております。

## 第6回WPJ講演会

「伝達物質放出を制御する神経終末蛋白質の働き」

持田 澄子(東京医大・第一生理学教室)

WPJでは、“生理学女性研究者の集い”の中で会員による講演会を開いて参りました。

今回は第19回猿橋賞受賞を記念して、持田澄子さんに講演していただきます。生理学会会員のご来聴歓迎いたします。

日 時：平成11年3月26日(日) 17時～18時

場 所：いせやま会館(予定)

TEL : 045-252-1711 FAX : 045-252-1967

横浜市西区、市営地下鉄、JR、東横線

「桜木町駅」下車徒歩7分

参加費：無料(申し込み不要)

世話人：WPJ 河野貴美子(日本医大情報科学センター)

佐野あかね(横浜市大第2生理)

## 第6回生理学女性研究者の集い

生理学会前日の3月26日にグループディナーを開きます。女性研究者の皆様どうぞふるってご参加下さい。グループディナーの最後にWPJの総会を開きます。ディナー参加申し込みの締切は3月1日、下記e-mail, FAX, WPJホームページまたは葉書にてお願い致します。

日 時：平成11年3月26日(日曜日)18時半～20時半  
会 場：いせやま会館(予定)

横浜市西区, 市営地下鉄, JR, 東横線  
「桜木町駅」下車徒歩7分

参加費：6000円(予定)(参加申し込み必要)

申込先：河野貴美子

TEL：03-3822-2131 FAX：03-3823-2675

E-mail：kim@nms.ac.jp

世話人：河野貴美子(日本医大情報科学センター)

佐野あかね(横浜市大第2生理)

## WPJ ワークショップ

—女性研究者のための研究・生活スキルアップ講座—

WPJ主催のワークショップを開催します。今回は第1回目として、WPJ会員の持っている情報をお互いに交換し合い、研究生活に役立ててもらおう、という趣旨で企画しました。WPJに興味をお持ちの女性研究者・学生の方もご参加下さい。参加希望者は3月1日までに下記申込先までご連絡下さい。

日 時：平成11年3月26日 10時～16時

会 場：いせやま会館(予定)

プログラム：WPJホームページをご覧ください。

URL：[http://web.kanazawa-u.ac.jp/](http://web.kanazawa-u.ac.jp/med2/05/WPJ-MENU.html)

[med2/05/WPJ-MENU.html](http://web.kanazawa-u.ac.jp/med2/05/WPJ-MENU.html)

参加費：3000円(学生は1500円)参加費には会場費、昼食代、菓子&飲物代が含まれます。

宿 泊：ワークショップ前日(3月25日)に

「いせやま会館」での宿泊は可能。宿泊費用は別。

申込先：少作隆子(金沢大学医学部第二生理)

TEL：076-265-2171, FAX：076-234-4224

E-mail：shosaku@med.kanazawa-u.ac.jp

## 生理学会大会時の保育所情報

慶應大学日吉キャンパスは、東急東横線「日吉」にあります。横浜から急行なら3つ目、WPJグループディナー会場の桜木町は横浜から逆方向に各駅で二つ目(急行で一つ目)、ここにご紹介する「関内」はさらにその隣です。詳細情報はWPJホームページに掲載されています。

### 1. ちやいど保育園

(ベビーシッター協会グループ)

場 所：横浜駅西口, または関内。

保育時間：24時間, 年中無休

対 象：生後1か月～10才

### 2. ちびっこ園

場 所：横浜市中区吉田町5-10

関内ロジストビル2F

(JR 関内駅北口徒歩5分)

保育時間：7:00～夜2:00, 年中無休

対 象：生後52日～10才

いずれも、全国組織の保育園ですので、直接、園に電話でお確かめ下さい。ご利用の際は、印鑑と保険証のコピーが必要になります。

情報提供：WPJ 河野貴美子(日本医大)

佐野亜加根(横浜市立大)

# CALENDAR

## 主な研究集会開催日程

| 開催日<br>(演題締切)             | 名 称                         | 会 場                              | 連 絡 先                                                                                                        |
|---------------------------|-----------------------------|----------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 00. 3.27-29<br>(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<br>E-mail: physio177@physiol. med. keio ac. jp                                                      |
| 00. 4. 3- 8               | 第21回国際重力生理学会議               | 名古屋：名古屋国際センター<br>ホテルキャッスル<br>プラザ | 名大環研 自律神経 岩瀬<br>☎052-789-3883 FAX: 052-789-5047<br>E-mail: iwase@riem. nagoya-u. ac. jp                      |
| 00.10. 1- 4               | 第6回ソフトコンピューティング<br>に関する国際会議 | 福岡：飯塚市                           | (財)ファジィシステム研究所内<br>国際会議組織委員会事務局<br>☎0948-24-2771 FAX: 0948-24-3002<br>E-mail: iizuka2000@flsi. circl. or. 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ってください.

## RECORDS

## 会 員 消 息

## &lt; 転 勤・異 動 &gt;

| 氏 名     | 勤 務 先 名・部 署 名                 | 勤 務 先(TEL・FAX)                  | E-MAIL ADDRESS                   |
|---------|-------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|
| 青 崎 敏 彦 | (財)東京都老人総合研究所<br>自律神経部門       | 03-3964-3241(3087)・03-3579-4776 | toshi@nagoya.riken.go.jp         |
| 秋 山 喬   | 横河電機株式会社 M&M事業部<br>CSUセンター    | 0422-52-5662・0422-52-5946       |                                  |
| 石 井 徹   | 国立千葉病院                        |                                 |                                  |
| 石 田 暁 宏 | 室井病院 内科                       | 0287-23-6622                    |                                  |
| 椛 島 成 利 | 産業医科大学 第一生理                   |                                 |                                  |
| 北古賀 修   | きたこが歯科医院                      |                                 |                                  |
| 澤 口 俊 之 | 北海道大学 医学研究科<br>神経機能学講座 機能分子分野 | 011-706-6899・011-706-6899       | toshi-sw@med.hokudai.ac.jp       |
| 鈴 木 紀 光 | 金沢大学 医学部 第二生理                 |                                 |                                  |
| 関 島 恒 夫 | 新潟大学大学院 自然科学研究科               |                                 | sekijima@libra.ls.m-kagaku.co.jp |
| 多久和典子   | 金沢大学 医学部 第一生理                 |                                 | ntakuwa@m.u-tokyo.ac.jp          |
| 多久和 陽   | 金沢大学 医学部 第一生理                 | 076-265-2165・076-234-4223       |                                  |
| 武 田 泰 生 | 東京都老人総合研究所<br>実験生物学部門         |                                 |                                  |
| 田 代 倫 子 | 東京慈恵会医科大学 第二生理                | 03-3433-1111                    |                                  |
| 田 中 敬 子 | 大坂バイオサイエンス研究所<br>第4部門         |                                 |                                  |
| 広 江 晃   | 社会福祉法人 養寿会 なんぶ幸朋苑             |                                 |                                  |
| 福岡大太朗   | 横浜みなとクリニック                    |                                 |                                  |
| 本 多 祥 子 | 東京女子医科大学 解剖学                  | 03-3353-8111(22132)             |                                  |
| 松 岡 高 史 | 信州大学医療技術短期大学<br>看護学科          | 0263-26-2604                    |                                  |
| 山 内 理 充 | 愛知学泉短期大学                      | 0564-34-1212                    |                                  |
| 沼 田 憲 治 | 昭和大学医療短期大学                    | 045-985-6545                    |                                  |



シリーズ「生理学実習におけるベクトル心電図法」

## 生理学実習におけるベクトル心電図法

豊田 順一・明間 立雄・近藤 博明・新保 清・鯨岡 徹

(聖マリアンナ医科大学大学生理学教室)

### 1. はじめに

学生に心電図の基礎を学習させる際に、興奮ベクトルの概念を理解させることは必ずしも容易ではない。このベクトルの概念の理解に役立っていることを目的に当教室では過去10年以上に亘って学生実習に簡易型のベクトル心電図の実習を組み入れてきたので紹介したい。正式のベクトル心電図の導出も可能と思われるが、目的はあくまでも一般の心電図の理解に役立っていることと、導出法は通常的心電図の12導出法を利用することとした。実習は単純でしかも短時間で行えるが、これまでの経験から学生の理解にはなお幾つかの工夫も必要と思われる。

なおヒトの正常心電図の実習は既に経験しているものとするが、心電図の実習と組み合わせると同時にすることも可能であろう。

### 2. 概要

実習ではQRSの前額面および水平面のベクトル環を描かせる。前額面ベクトルについては、標準肢導出の第Iおよび第III導出を100または200 mm/秒の紙送りスピードで同時記録し、QRSの瞬時ベクトルを等間隔(1 mm)毎に求め、アイントーフェンの三角上にプロットする。そのベクトルの先端をつないでいったものを前額面のベクトルとする。

つづいて第I導出の出力をブラウン管オシロスコープのX軸に、第III導出の出力を極性を反転してY軸に接続し、そのベクトル環を観察し、撮影記録する。

水平面ベクトルについては便宜上双極導出ではなく、単極胸部導出の $V_6$ および $V_2$ の同時記録を行い、前者をX軸、後者をY軸とする直

交軸上に各瞬時ベクトルをプロットし、その先端をつなぐ。また、 $V_6$ の出力をオシロスコープのX軸に、 $V_2$ の反転した出力をY軸に接続し、ベクトル環を観察、記録する。

### 3. 機器

機器としては最低限心電図2チャンネルの同時記録が可能な心電計とオシロスコープが必要であり、それにポラロイド撮影装置があると便利である。これまで我々が使用したのは多用途2素子記録装置(日本光電 RM-25、現在は製造中止)で、生体電気用プリアンプ(RB-5)と2チャンネル生体用入力箱(RB-J5)を組み合わせていた。ただし、この入力箱では第1チャンネルでは心電図の12導出が記録可能であるが、第2チャンネルでは心電図の記録が選択できないため、第2チャンネルのロータリースイッチを改造し、第III導出および $V_1$ の出力が選択できるようにした。現在は学生実習用として別の多素子記録装置(日本光電)が市販されているが、心電図の2導出同時記録にはプラグインユニットとして心電図用アンプ(AC-601G)2台と心電図用導出パネル(PC-630G)の組み合わせが利用できる。

オシロスコープでの観察は前記の2素子記録装置の出力、例えば第I導出をX軸の+端子に第III導出をY軸の-端子に接続し、X-Y記録計として用いる。我々は以前はストレージ型(テクトロニクス5100シリーズ)を用いていた。心電図の1周期をタイミングを合わせて記録し、次の周期が重ならないように記録計のインスタントスイッチを利用して入力を切ると静止したベクトル環が記録される。適当な波形が記録できたならばポラロイド写真機にてそれを撮影記

録する。

しかし、ストレージ型のオシロスコープも現在ほとんど市販されていない状態であり、今後はデジタル型のものを利用せざるを得ないであろう。ストレージ型の方が波形が観察しやすいが、デジタル型になると余りに機械的すぎるきらいがある。デジタル型になると実際のベクトル環の動きが観察されないで、出来ればデジタル、アナログを切り替えられるタイプのものが望まれる。このようなものに例えばリアルタイム&ストレージオシロスコープ(日立VC-6523)などがある。この場合、デジタル表示にしておくと、直接ブラウン管面上に静止したベクトル環を表示できず、一旦通常の2チャンネルの記録を取り込んだ後にX-Yに変換する。最初はアナログに切り替えて、1周期毎の

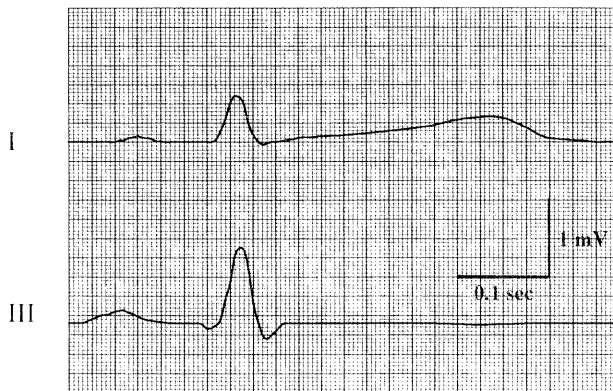
ベクトル環を直接観察するようにし、記録のための静止したベクトル環はその後デジタルに切り替えて記録することになる。

#### 4. 実習データ

実際の前額面ベクトル作図のための心電図波形および各時点での瞬時ベクトルをもとめるための第Iおよび第III導出の振幅データを図1に示した。また作図された前額面ベクトルおよびオシロスコープ上のベクトル波形を写真撮影したものを図2に示した。

また、水平面ベクトルの記録のための心電図波形および振幅データを図3に、作図による水平面ベクトルとオシロスコープ上のベクトル環の写真を図4に示した。

注意点として、導出を取り違えたり、Y軸で



| No. | Time (msec) | I (cm) | III (cm) |
|-----|-------------|--------|----------|
| 1   | 0           | 0.00   | 0.00     |
| 2   | 10          | 0.00   | -0.14    |
| 3   | 20          | 0.07   | -0.05    |
| 4   | 30          | 0.60   | 0.65     |
| 5   | 40          | 1.20   | 1.74     |
| 6   | 50          | 1.00   | 1.90     |
| 7   | 60          | 0.20   | 0.53     |
| 8   | 70          | -0.06  | -0.30    |
| 9   | 80          | 0.00   | -0.30    |
| 10  | 90          | 0.02   | -0.06    |

図1. 標準肢第Iおよび第III導出波形と作図のための振幅データ

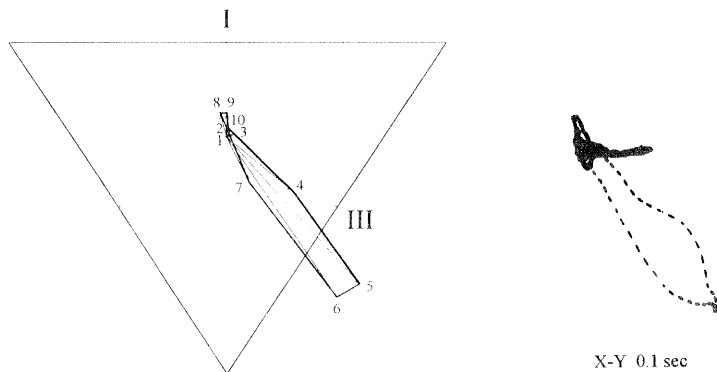
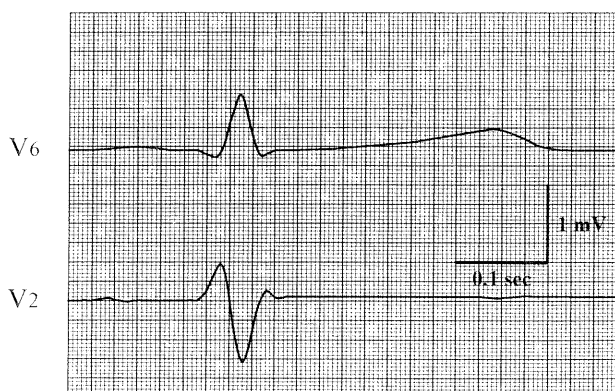


図2. 作図による前額面ベクトル(左)とオシロスコープ上のX-Y記録(右)



| No. | Time (msec) | V6 (cm) | V2 (cm) |
|-----|-------------|---------|---------|
| 1   | 0           | 0.00    | 0.00    |
| 2   | 10          | -0.11   | 0.24    |
| 3   | 20          | -0.18   | 0.75    |
| 4   | 30          | 0.25    | 0.75    |
| 5   | 40          | 1.10    | -0.73   |
| 6   | 50          | 1.34    | -1.58   |
| 7   | 60          | 0.33    | -0.80   |
| 8   | 70          | -0.15   | 0.05    |
| 9   | 80          | -0.05   | 0.20    |
| 10  | 90          | 0.00    | 0.05    |

図3. 胸部導出 V<sub>6</sub> および V<sub>2</sub> の波形と作図のための振幅データ

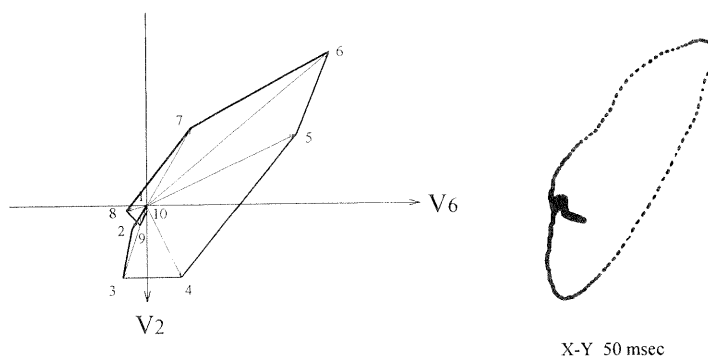


図4. 作図による水平面ベクトル(左)とオシロスコープ上の X-Y 記録(右)

一端子への接続を誤ると、計算によるプロットと写真の記録が一致しないので、必ずチェックするようにすること、および、胸部導出では V<sub>2</sub> は右室パターン、V<sub>6</sub> は左室パターンとなっていることを確認するよう、指導した方がよい。

### 5. 実習の進め方のポイント

正常のヒト心電図の実習は終了しているが、既に記憶も薄れていることもあり、当日の実習前に以下の事項について説明を加えるようにしている。

1. 興奮の伝導系および心室内での興奮の伝搬と興奮のベクトルについて復習する。
2. ベクトル心電図の導出法について、通常の12導出法心電図のどの導出法を用いれば前額面と水平面のベクトル心電図の代用に

なりうるか、考えさせる。

3. オシロスコープの原理を説明するとともに、1 mV の較正電圧を X 軸、Y 軸、それに両軸に同時に加えたときの光点の動きを観察させることが必要である。

また心電図ベクトルの観察に先立って、X 軸上の第 I 導出波形の動き、また Y 軸上の第 III 導出波形の動きのみをそれぞれに観察させておくことも重要である。これは後に討論で、実習とは逆に、ベクトル心電図波形より第 I、第 II、第 III 導出波形を推定させる際の基礎知識として役立つ。

### 6. 実習後のレポートおよび討論

実験後の考察として現在は次の項目をあげている。

1. ベクトル心電図上で時間のファクターは何で表すことができるか考えてみよ。  
討論ではベクトルの進行方向を表す方法についても説明し、実際に成書にあるベクトル心電図の記録を参考に見せることとしている。
2. 左室肥大、右室肥大、心筋障害でベクトルはどう変化するか考えよ。  
左室側の肥大、心筋障害は比較的単純に説明できる。右室肥大は興奮時期の問題が絡むので、説明しにくい面がある。
3. 期外収縮時のベクトルはどうなるか考えてみよ。  
心房性、心室性の期外収縮波形の違いを述べさせる。期外収縮を持つような被験者がいれば実際に示説できる。
4. アイントローフェンの三角で求めた平均電気軸は、どの点をプロットしたものか。またその理由を考えてみよ。  
得られた前額面ベクトルから平均電気軸を

求めさせても良い。それがベクトル環の重心の方向にほぼ一致することを確認させる。

最後に任意のQRSベクトル環を描き、それより第Ⅰ、第Ⅱおよび第Ⅲ導出波形並びにaVR、aVL、aVF波形を予測させる。それができれば、一応ベクトルの概念は理解したものとして実習を終了する。

## 7. おわりに

2年前より、オシロスコープをデジタル型に切り替えたが、2導出の心電図波形がダイヤル操作のみで一気にX-Y波形に変換されるため、学生の操作する部分が減り、記録の実感がわからないように感じられる。出来れば従来のアナログ型のストレージオシロスコープか、あるいはオンラインでのデジタルX-Y表示が出来るオシロスコープが入手出来るようになればと願っている。

## マイクロダイヤリシス法で獲えた弁別学習課題により起きる神経伝達物質の変化

野村 正彦

(埼玉医科大学第一生理学)

### I. はじめに

分子モニタリングを論じるときに、文字通り分子レベルの物質変化を時間の経過とともに追求して行って、生体に何が、どのように変化し、その結果何が分かったかを知ることが可能であれば、こんな理想的な実験方法は他にないと考えられる。例えば、動物が一步前に進もうとした、これは脳内で GO の命令が発せられたために、身体の中で“足を前に出せ”と言う命令が、大脳から足へ向けて送られるのである。しかし、足だけでなく、足を前に出すと、反対に腕は足の前に出たと同じだけバランスを取るために、後ろに向かって交叉運動が起きなければ、一步前へ進めないし、またバランスを崩して転びかねない。しかし、分子レベルと言っても、原子・分子・細胞と言った、各々の言葉の意味に対応するレベルでモニタリングが出来ているのであろうか疑問である。事実、compute tomography (CT), magnetic resonance imaging (MRI), positron emission tomography (PET) 等で、臓器内の真の分子運動変化を、正確に捉えている物もある。しかし、現実にはそこまで到達できていないのが事実である。

ここで述べる“学習・記憶の分子モニタリング”は以上の見解からすると多少かけ離れていることを断っておかねばならない。新しい一つの事実なり物事の名称なりを、学習したばかりの時点、仮に設定してみよう。インプットしたばかりのこの“事実”は、個体の脳内に初めて入力された物なら、確かにこれは覚えておかなければならないとの判断の上、短期記憶の事象として記憶するよう働くはずである。この時点の、各々の脳部位での、学習過程と記憶過程

が随時、分子レベルの変化として捉える事が可能であれば申し分ない。しかし、いくら発達した function MRI (fMRI) だとしても、これが海馬の CA1 領域のどの細胞の、更にどの分子内での変化であると言う事までは、残念ながらモニタリングはできない。

そこで、脳を対照として、また学習・記憶に関与する変化を分子レベルでモニタリングするには、以下に述べる神経活性物質その物を測定する事によって、何がどのように変化したのか測定できる唯一の方法であると考えられる学習・記憶の分子モニタリングを紹介する。それは、まさしく microdialysis と言う、透析膜を装着したプローベを使い、目的の脳内部位に挿入をして、それに接している数百数千かあるいは数万の細胞から遊離された神経活性物質を灌流した後、回収をして集めた試料を分析して、定量する方法である。

### II. 概要

#### MICRODIALYSIS 透析膜

##### A. 活性物質を生体から直接測定する

目的とする部位が、“脳”であればその組織全てを取り出し、分析・定量する方法がある。しかし、これでは in vivo の状態でしかも経時的に測定することは不可能である。生きていてこそ可能性が生じる。そこで、灌流を利用する方法が考え出された。

1. 灌流するために、生理食塩水、リンゲル液あるいは人工脳脊髄液を生体中に流し込み (push)、その部位から導出してきた灌流液を採取する (pull) 方法が始まりである [1]。この push-pull を組み合わせることにより、採取したい目的の部位から目的とする試料を採取する

方法が Ungerstedt & Pycock [2] により開発されて in vivo dialysis 法がはじまった。

2. 分析能力と検出感度の精巧さが high performance liquid chromatography (HPLC) の急速な発展と工夫によって、微小部位の微量試料からでも充分分析と定量が可能になり、これを MICRODIALYSIS 法と呼ばれるようになった。これは、in vivo の条件下で、しかも free moving を維持しながら試料を採取できる利点が十分に生かされ広く使われるようになった。

### B. 透析膜の種類

強力な分析の精度と微量中の試料でも定量が可能になり、透析膜にも種々の工夫が試みられて、急速の進歩を遂げた。Microdialysis のプローブは多種類のもので工夫されている。その装置は大きく分けて5種類の型があり、目的に応じてそれぞれの型が使われている [3]。

1. TRANSVERSE 型：この型は最も基本的なもので、脳を含むある一つの臓器を貫通させて灌流液を採取するものである。脳では左右を貫通させ流入側と貫通した流出側にいたる、全ての貫通経路中に透析膜を装着して灌流液をできるだけ多く採取する事が可能であり、大量の灌流を行える利点がある。

開発された当初は、透析膜部分から灌流して得られた試料は出来るだけ多に越したことはない、その為に、回収して集めた量をできるだけ多く得るために、使用された。その後、脳の目的の部位を選んだ方法が求められた。

2. U字型：流入側と流出側を並列させて灌流する。その先端部位のU字をした部分に透析膜を装着して灌流液を採取する。

3. I字型：I字型をした内外2重の管チューブの先端の一部が透析膜を装着したものである。灌流を行う部位と量が著明に制限されるが、限られた局所的に決めて、定位置での採取が可能であるため測定部位の精密度が非常に優れている。

4. REMOVABLE 型：ガイド型で固定をしておき、測定時のみ透析膜のプローブと置き換え

る型である。手術によりプローブを植え込んだ時点と、実際に灌流をして測定を行う時点とを、自由に操作できる利点が大きく、最も広く利用されている型である。

5. プローブ本体に側枝の管が別に付けた型：この側枝の管が重要であり、灌流操作中に側枝から、薬物や活性物質等種々の作用する物質を注入することにより、反応作用系を直接調べる事が可能な型。

以上回収した試料の分析と定量するための機器の感度が改良を加えられ、特に発展した。そして、ごく限られた小部位から少量の試料でも分析と定量が可能になった。

### C. 実際の使用例

#### 1. 対照となる動物の種類

使用されている報告例の多いのはラットであり、盛んにラットを使つての研究が行われて来たことが分かる。

a. ヒト：Human はスウェーデン等で、伝統的に脳疾患の焦点を追跡した治療を目的に、人への応用も積極的に行われている。それはアルツハイマー病、癲癇やパーキンソン病患者の脳に直接 microdialysis を試行した報告がある [4,5]。例えば、パーキンソン病患者の脳内でドーパミン量の過不足の測定をモニタリングを行いながら、治療として使用するドーパミン量を定める等の適切なる治療に直結させる利用が行われている [6]。

b. サル：高次の脳機能を詳細に調べるのに不可欠の動物であり、多くの論文がある [7,8]。特に、両手を自由に操作でき、知能が高く課題が豊富に選べるのが最大の長所であり、種々の成果が期待される。

c. ウサギ [9,10] とネコ [11,12]：動物がある程度大きく、脳の局在部位と神経経路網関係を追求することが可能であるために、初期には良く使用された。瞬目反射等を条件反射として記録が比較的簡単に行えるために、実験例の報告が多い。

d. イヌ [13]、ヒツジ [14]、ブタ [15]：更に

大型の動物であるため、人の臓器移植等を念頭に置いた実験が考えられて来た。例えば、ヒツジに人工心臓を移植して、何日間生存したか、またその間の各臓器がどのように適応して行ったか等はモニター法を導入することで、全身の臓器の経過を観察できるだけでなく、応用範囲とその意義が数量化でき、豊富な資料のもとで評価できる意義深い実験系である。

e. 以上の他には哺乳動物に限らず、ヤツメウナギ[16]や鳥類の報告もある。例えば、孵化後、最初に眼に入力した映像を、追跡する習性を利用した“インプリンティング”をモニターした報告がある[17]。

f. マウス：また最近、トランスジェニックマウスやノックアウトマウスが、分子生物学の急速な進歩と発展のため、各研究室レベルで盛んに作成できるようになった。そして、その“機能は”と言うと分子レベルでの物質や酵素や活性物質を変化させ、それによって生じた機能変化を知る必要性が大きくなってきた。これらを全てモニタリングを行い、その一端である脳の機能とは言えば、学習と記憶の実験系に持っていければ願ってもないところである。その為、当研究室で新たに高次の学習系を評価するマウスの実験系を確立した[18]。今後の多方面への応用が実現できるのを期待している。

## 2. 臓器の種類

対照となる臓器や組織は全てのあらゆるものに適応する可能性があると考えられる。

脂肪組織[19]、心筋、[20,21]、副腎[22]、胃や腸管[23,24]、眼[25]、脊髄[16,26]や脳脊髄液[13]から、血液[13,19]からも測定が可能である。従って、臓器単位のみならず、移植を目的にした移植組織[27,28]が、移植後経過を含めて、極微小の組織からでも、その機能を維持していれば簡単にその動態を追跡することが可能である。

動物の組織に限らず、植物への測定応用例として、リンゴから分析した報告がある[29]。

## Ⅲ. 実験方法

学習実験および学習遂行時の神経伝達物質測定方法の実際例を示す。測定する物質は、早くから脳の機能を反映する意味から注目されてきたアセチルコリンの報告が非常に多く認められる[30,31]。また、測定の容易さからアミン類に関する報告も多い[32,33]。更に、アミノ酸、ペプチド、またオピオイドにおよぶ神経伝達物質と考えられている種々の測定可能な物質[11,26,34-38]は次々と工夫がなされ、測定が可能になってきた。また、アミノ酸代謝に関与するグルタミン酸受容体(NMDA)が酸化窒素(NO)と関与することが、学習・記憶の発現系で報告がされはじめ関心を集めている[39,40]。

今回は実際に手がけてきたアセチルコリンとモノアミンに限って述べる事にした。

### A. 学習実験：

実験には無処置のままの実験動物を検体として、透析膜プローブを直接生体内に挿入する系と、既に学習課題や自己刺激条件を習得させた等の特定の処置を施した実験動物を検体として使用する系とがある。

ここでは、後者である学習課題を修得させた学習完成後のラットを使った症例を紹介する。

#### 1. Mult 学習課題

1) 実験には12週齢のFischer 344 ラットを使って、ラット用スキナー箱に設置してあるレバーを押せば、その報酬として餌ペレットが呈示される正の強化課題下で行った[41]。ラットが学習をする手がかりには、スキナー箱内に設置してあるルームランプのON及びOFFを対応させ、ON時のレバー押し反応には餌強化を、OFF時のレバー押し反応には餌強化をしないという課題とした。当研究室で行っている課題は多元変時強化学習課題(Multiple Variable Interval 15 seconds Extinction Discrimination Schedule)で、これをMult学習課題群と呼ぶ[42]。そして、スキナー箱のランプがON時に、レバーを押せば平均15秒に1度の餌強化が呈示

される時間の因子があり、OFF 時には餌強化が行われない課題である。

2) 一つの応用例として加齢によりこの学習課題の成績がどのように変化するかを24月齢の Fischer 344 ラットを使って調べた。

## 2. Mix 学習課題：

もう一つの課題はランプは ON のままで、餌強化は Mult 学習課題群と同様に従来の課題通り行う。混合変時強化学習課題 (Mixed Variable Interval 15 seconds Extinction Discrimination Schedule) である。これを Mix 学習課題群と呼ぶ[43]。この課題は、ラットはいつ餌が強化されるか否かは認識していない、学習課題の存在しない課題である。以上の二つの課題をそれぞれ2群に分けたラットに試行して、30日間連日連続して行った。以上の2種類の学習課題の概略を図-1に示した。

## B. マイクロダイヤリシス法：

### 1. 透析膜プローブ装置

学習課題終了後のラットを麻醉下に、透析膜プローブを挿入する為に脳内に特定した部位を

設定し、脳地図は Paxinos & Watson [44] によった。定位脳固定装置のもとにステレオタキシクにガイドカニューレを装着する。そしてラットを両側の耳固定バーで固定し、内耳の固定により基線が決定すれば、これを基準位置 Bregma と決める。この位置からの上下前後左右の距離によって、それぞれ目的の部位を決め、定位脳固定装置のもとに3次元に場所が決定できる。そして、目的点にガイドカニューレの先端を進める。先端の確定が行えると、定法に従って歯科セメントで外管を含み固定する。

通常よく使用されている、ラット脳内灌流による試料採取と試料分析を、当教室で実際行っている学習課題遂行中の実験系の概略図を図-2に示した。また、ラット海馬から灌流実験を行っている Microdialysis 装置図を図-3に示した。

### 2. 学習課題遂行時の脳内神経伝達物質の同時測定

学習課題遂行時の脳内神経伝達物質の測定までの時間経過を明確にするために、その手順を図-4に示した。

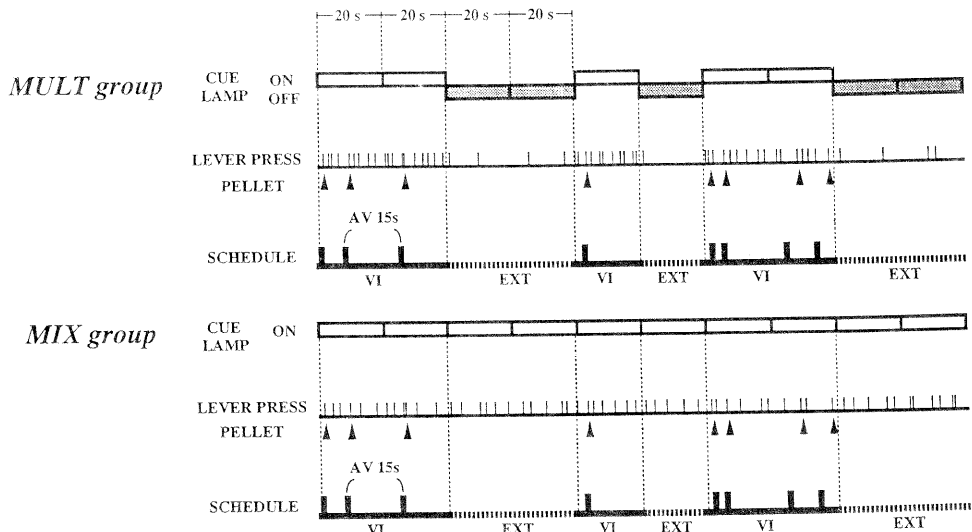


図-1. オペラント型弁別学習課題。

オペラント型弁別学習課題はスキナー箱内にあるキューランプの ON (S+) 時に餌を呈示して強化 (R+), および OFF (S-) 時に餌を呈示しない (R-) 条件下で行い、これを MULT 課題とした。MIX 課題はランプが ON のみの条件下で、MULT 課題と同様に (R+) と (R-) を呈示して、弁別学習課題のみが存在しない。

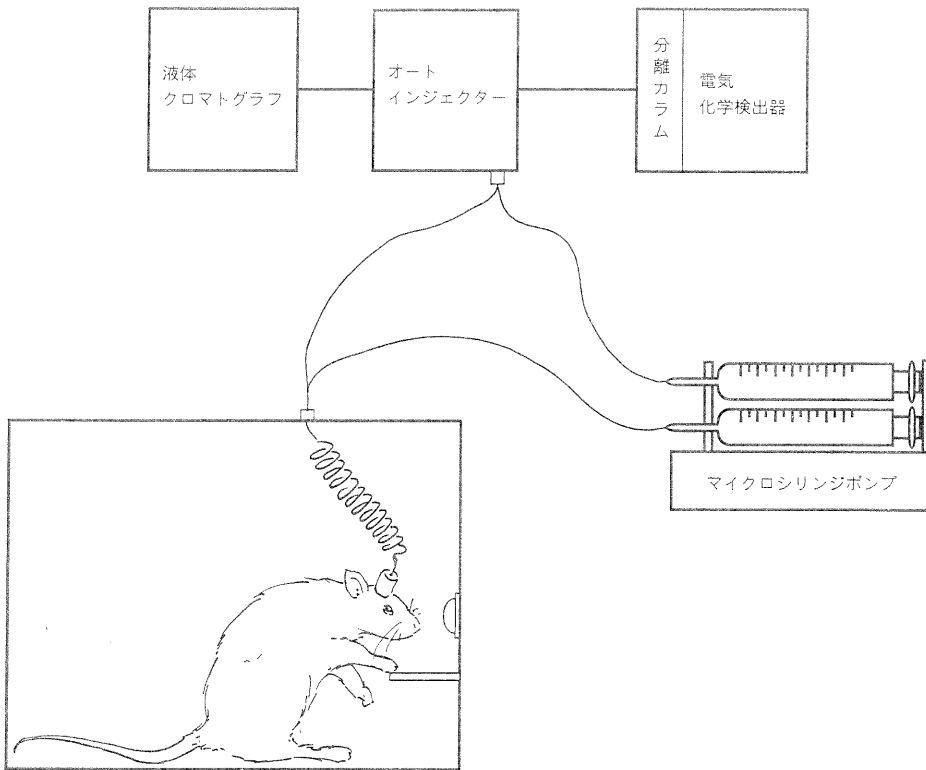


図-2. オペラント型スキナー箱と脳内に装着したマイクロダイヤリシス法から採取した灌流液を試料として、液体クロマトで分離分析定量する概略図。

オペラント型弁別学習課題はスキナー箱前面にあるキューランプの ON (S+) 時および OFF (S-) 時に対応して、レバー押し反応を餌で強化 (R+) および強化しない (R-) 課題で学習を行った。脳内に装着したマイクロダイヤリシス法により採取した灌流液を連続的に、学習前・学習中・学習後の各条件下で採取して、各々の神経伝達物質を分離分析定量した。

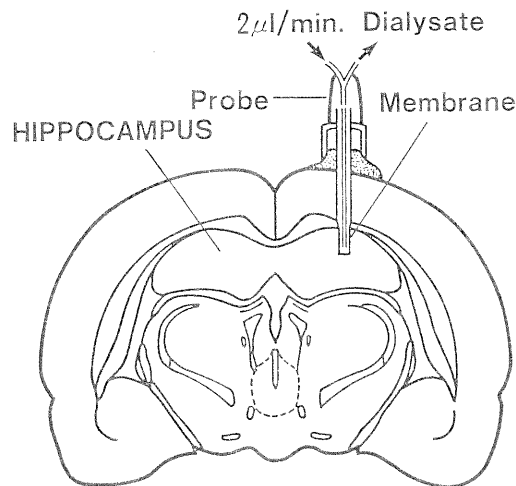


図-3. ラット海馬に固定したマイクロダイヤリシス法により灌流して試料を採取する概略図。

脳地図に従って、特定した部位にマイクロダイヤリシスを挿入し、装着した膜部分から灌流した灌流液を採取し、この中の含まれる神経伝達物質を分離分析定量した。

## 方法

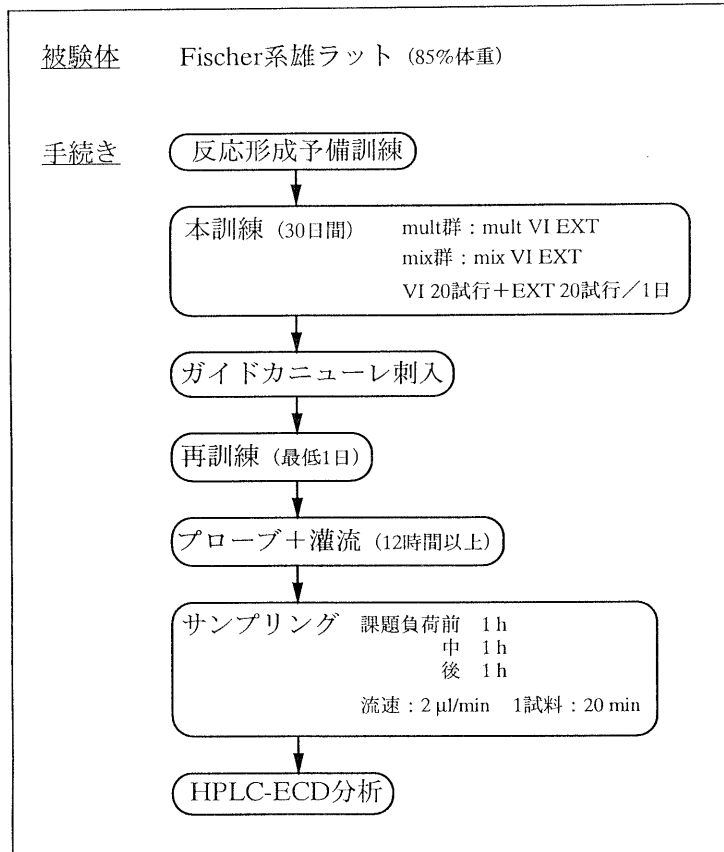


図-4. 学習完成後のラットにマイクロダイヤリシス法を行う装着と灌流による試料を採取する過程。

それぞれの学習課題獲得後のラットに、マイクロダイヤリシス法による透析を行うためのガイドカニューレの装着を行い、学習行動に影響の有無を確認する確認学習実験を行った後、脳内灌流を開始して学習遂行時の試料採取と定量に至る手順。

- 1) 手術によりガイドカニューレを装着する手術の当日は、学習実験を終了直後に行う。
- 2) 翌日の手術後24時間経過した第1日目は、通常どおり学習実験を行う。そして、手術による影響の有無を確認するために、手術以前の学習成績と比較検討する。
- 3) 手術後第2日目は、通常どおり学習実験を行った後、ダミーカニューレを透析膜プローブに交換する。脳内を流速(1  $\mu$ l/min.)のリンゲル液で灌流を開始しこれを12時間行う。
- 4) 手術後第3日目は、脳内灌流の流速(2  $\mu$ l/min.)を変えると同時に、学習を行うスキナー

箱にラットを移動する。

灌流12時間後に、学習実験遂行時の脳内神経伝達物質の測定を行うため、

a) 1時間前から、各20分づつの試料をそれぞれ採取を開始する。これを、学習課題負荷遂行前の試料とする。

b) 続いてスキナー箱にレバーを自動的に出して、ルームランプのON及びOFFが呈示される課題を遂行する。課題の負荷時間は1時間行い、学習開始前と同様各20分づつの試料を採取する。これを、学習課題負荷遂行時の試料とする。

c) 1時間の学習課題終了後、自動的にレバーがスキナー箱外に引っ込めて、更に1時間各20分づつの試料を採取する。これを、学習課題負荷遂行後の試料とする。

以上の3条件下の3試料づつ、即ち9試料を定法に従って、各種神経活性物質を分離・分析および定量する。定量にはHPLC(高速クロマトグラフ)を使って、目的に合った物質を測定する。

#### IV. 学習と脳内神経伝達物質の変化

##### 1. 学習課題遂行時の脳内神経伝達物質の変化の評価

各々20分間づつ採取した試料は、灌流速度が(2  $\mu$ l/min.)であるために、40  $\mu$ lの容量として最終的に集める。これを試料として、現在行われている分析能力精度から見ると、充分の試料の分量とその中に含まれている神経活性物質量が集められており、これらを正確に分析および定量する事が可能である。しかし、一匹の個体から、学習前値が3、学習中値が3、学習後値が3試料づつしか得られないために、それぞれの3条件下の3試料を平均化して比較する方法が一般的に行われている。即ち、学習前値を100とした場合、学習中値がどれだけ変化し、また学習後値がどのようになるかを比較するのである。此の表現方法で、実測値の変化と、学習課題負荷による時間経過の両方を同時に知ることが可能になる。

##### 2. 脳内灌流液中に採取された試料が本当の学習課題負荷による変化を捉えているか。

此の課題は非常に重要である。即ち、学習行動を起こした為に生じた種々の脳内変化を、正確に捉えていなければならないが、はたしてそれができているだろうか。例えば、報酬である“餌ペレット”を獲得する為の動きを伴う運動、レバー押しや餌そのものを食べる動作からの変化を、神経活性物質変化として拾っていないだろうかと言うことである。これをはっきりと確認しなければならない。

ここで是非引用しなければならない Hernan-

dez & Hoebel [45]の論文がある。学習実験中の脳内モノアミン量変化を microdialysis で見事駆使して捉えた報告である。スキナー箱内にランプをONして、レバー押しに対して餌を与える課題である。その実験結果はレバー押しで脳内側座核にモノアミンが有意に増加を示し、ラットが明らかに餌の獲得できる条件を学習した為の変化のように見えた。しかし、同一条件下でレバー押しまで行わせたが、餌の呈示のみをしなかった時、モノアミンの増加は見られなかった。ここで起きた違いは何か、モノアミンの増加は餌を食べたか否かの違いで起きた可能性は否定できない事が分かった。この問題は非常に重要である。即ち、単にスキナー箱のレバー押しに対して餌を食べた為に起きた現象を、捉えただけであって、学習をした為に起きた変化を捉えたのではなかったのである。従って、この時までには多くの論文報告があったにもかかわらず、以後この学習・報酬系で起きた脳内神経活性物質変化を追求した論文が見られなくなった。この方法では、本来の学習による脳内変化を捉えられない事が分かった。餌を摂食した因子を拾うのではなく、真の学習による変化を捉えなければならないとの考えで、次の実験課題を考え出した。即ち、当研究室で行ってきた学習実験系である Mult 学習課題に対して、もう一つの課題はランプはONのまま、餌強化は Mult 学習課題群と同様に従来の課題通り行う、混合変時強化学習課題(Mix 学習課題群)である [43]。この課題は、ラットにはいつ餌が強化されるか否かは認識することができない学習課題の存在しない課題である。以上の二つの課題をそれぞれ、2群に分けたラットに試行して、30日間連日連続して行った。これらの2群の結果を以下に示す。

## V. 結果

### A. 学習成績

#### 1. Mult 学習課題：

全ての学習実験は飽食条件下の体重が85%になるまで1週間餌を制限した後、開始した。

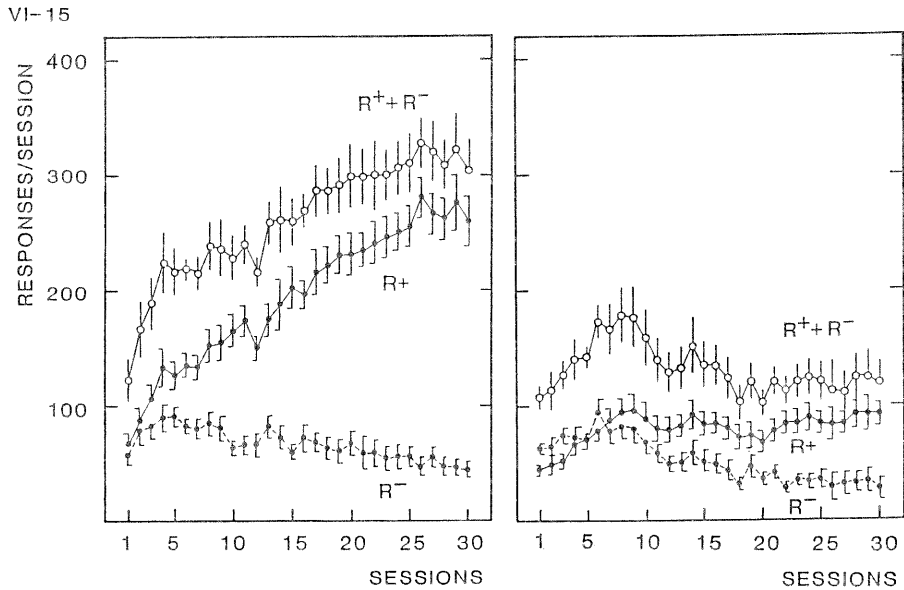


図-5. オペラント型弁別学習課題成績の加齢変化 1.

若齢ラットは3月齢，老齢ラットは24月齢のオペラント型弁別学習課題を，30日間連続して行った。その間の成績を，正の反応数(R+)と負の反応数(R-)は黒丸で示し，総反応数は白丸で示した。

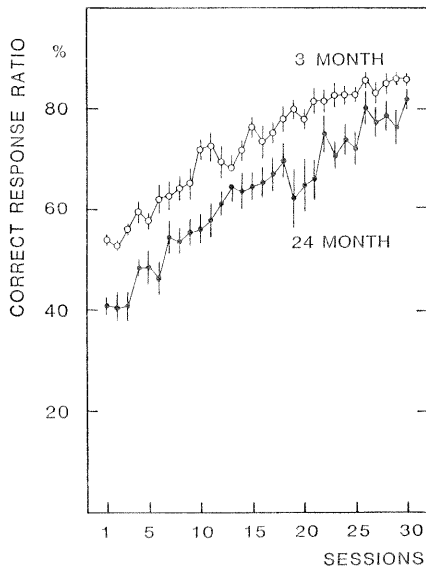


図-6. オペラント型弁別学習課題成績の加齢変化 2.

若齢ラットおよび老齢ラットのオペラント型弁別学習課題を，30日間連続して行った。成績は，正の反応数を負の反応数で除する正反応率  $\{(R+) / (R+) + (R-)\} \times 100$  で表現し，学習能力の指標とした。

1) 生後12週齢時に学習が開始できるようにした Fischer 344 ラットを10匹若齢群として用いた。

学習成績は図-5左に示した。図中にある黒丸を実線で結んだのは正の反応数であり，レバー押し反応に対して餌強化がされる。一方，黒丸を点線で結んだのは負の反応数であり，レバー押しに対して餌強化されない。白丸は総反応数であり，正と負両者の和である。学習成績の指標となる正反応率は正の反応数を総反応数で除した値である。これを，生後24月齢時との両齢群で比較して，図-6に示した。

2) 24月齢 Fischer 344 ラットを10匹老齢群として用い，加齢による変化を比較し図-5右に示した。反応数はいずれも，老齢群では著明に低下を示し，特に正の反応数が10日目以降から増加を示さなかった。従って，正反応率は低いまま推移した。

## 2. Mix 学習課題：

生後12週齢 Fischer 344 ラットを2群10匹，同一条件下で，Mult 学習課題群と比較し図-

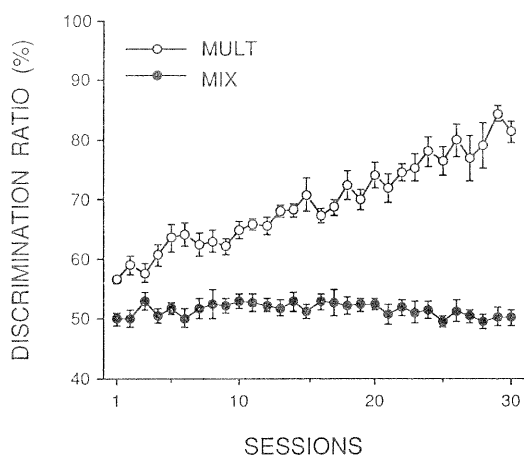


図-7. オペラント型弁別学習課題である多元変時強化学習課題(MULT 課題)と混合変時強化学習課題(MIX 課題)の学習成績。

3月齢ラットを2群に分けて、1群はMULT課題、他群はMIX課題をそれぞれ30日間行い、2群の学習成績を正反応率で比較した。

7に示した。

## B. 脳内神経伝達物質の変化

### 1. 脳内モノアミン量の変化

ラットが30日間学習実験を行った後、microdialysis法で脳内モノアミン量を測定した。

#### 1) 脳内部位差による脳内モノアミン量の変化

脳内の学習に関与していると考えられる海馬、扁桃体および視床前核各部位から採取した試料を、学習前値および学習中の含有量の変化を測定をした。学習前値を白のカラムで、学習中の値を斜線カラムで図-8に示した。量的な数値の大小に差があったが、学習制御に関与していると考えられる各部位で、dihydroxy phenylacetic acid(DOPAC), homouanillic acid(HVA), 5 hydroxy indole acetic acid(5 HIAA)量はいずれも学習前値に比べ、学習中の値は著明に増加を示した。

2) Mult および Mix 学習課題遂行時の時間の経過とともに変化する経緯を詳細に見るために、扁桃体 DOPAC 量を経時的に図-9に示した。Mult 学習課題では学習前を100として、学習開始と共に300から800へと著明に増加した。

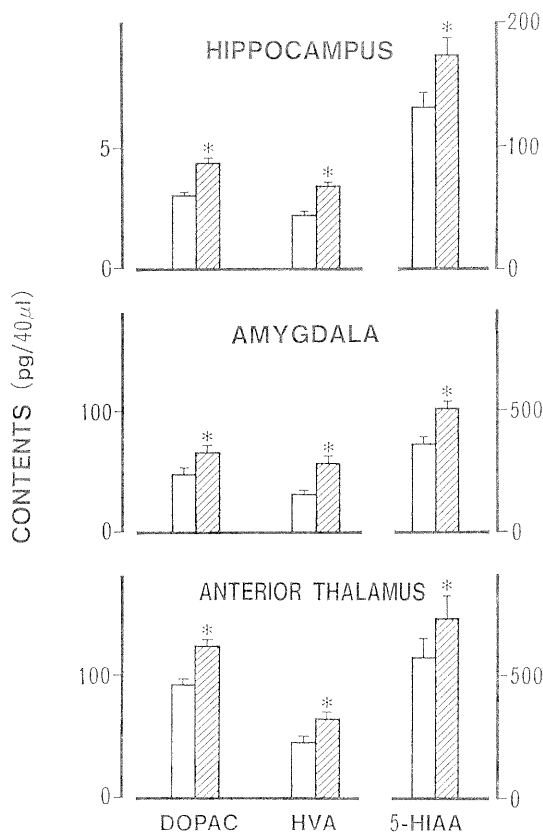


図-8. オペラント型弁別学習課題遂行時の脳各部位での神経伝達物質の変動。

学習前および学習課題遂行中の脳各部位での神経伝達物質の変動を、学習機能に関与すると考えられる、海馬・扁桃体・前視床核でマイクロダイヤリシス法による透析法で測定した。各試料は灌流して採取した20分間の試料中に含まれる量を示した。

そして、学習終了とともに急激に減少した。一方、Mix 学習課題では学習中および学習終了後も変化が全く見られなかった。更に、症例数を増やして、dopamine(DA), DOPACおよびHVA量を測定した。前2者の学習中の著明な増加とHVA量の増加を認めた。一方、Mix 学習課題では変化がなく、これらを図-10に示した。

### 2. Mult および Mix 学習課題の違いにより何が分かったか

学習制御に関与していると考えられる海馬部位で、明らかに学習課題のある Mult 学習課題でのみモノアミンの変化があり、課題の存在し

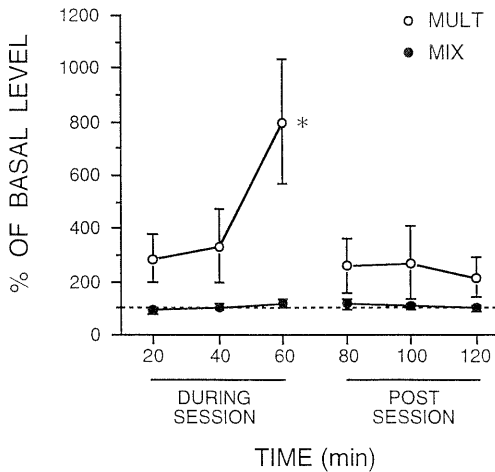


図-9. オペラント型弁別学習課題遂行時の海馬での DOPAC 含有量の経時的変化。

学習前値を100として、学習課題遂行中の60分(20分づつ3試料)に続き、課題終了後60分の経過中、それぞれの時間での DOPAC 含有量の経時的变化を、MULT 課題群と MIX 課題群で比較した。

ない Mix 学習課題では認めなかった。はたして、両者から得た結果は本当だろうか。学習中に行った、レバー押し運動や餌を食べた等の他の因子が、強く影響を及ぼしていないのか疑問が残る。そこで、学習課題を行った、前・中・後すべての間に2群課題間にラットが示した全ての動きを比較した。即ち、レバー押し総数とその間食べた総餌の数を学習成績である正反応率と共に図-11に示した。正反応率以外は、有意差検定では差を示さなかった。このことは、学習課題の存在の有り無しにより、起きた変化であって、レバー押し回数の変化や獲得した餌の数の違いではなく、所定部位でのモノアミンの変化が起きたことが分かった。

3. 脳内アセチルコリンの変化

学習中の中隔-海馬領域のアセチルコリンの変化を測定した[46]。

脳内アセチルコリンはモノアミンと異なり、種々運動系の変化を敏感に捉えているかも知れない。これを確認するために、Mult 学習課題と Mix 学習課題とを平行させて行い、脳内アセチルコリン量の変化を測定した。

その結果は、モノアミンと同様に学習課題遂行時に明らかな増加を示し、神経伝達物質として DA と共に関与していることが考えられた。そして、学習課題遂行前に比較して Mult 学習課題中に高い値を示し、Mix 学習課題との有意差を示したことは意義深い。これを図-12に示した。

更に、学習形成時期に起きる脳内変化を中心に調べる目的で、連続強化学習(CRF: continuous reinforcement)時の前頭前野部位での脳内アセチルコリンの変化を図-13に示した[47]。即ち、レバー押しの獲得において、これを制御していると考えられる前頭前野部位で、

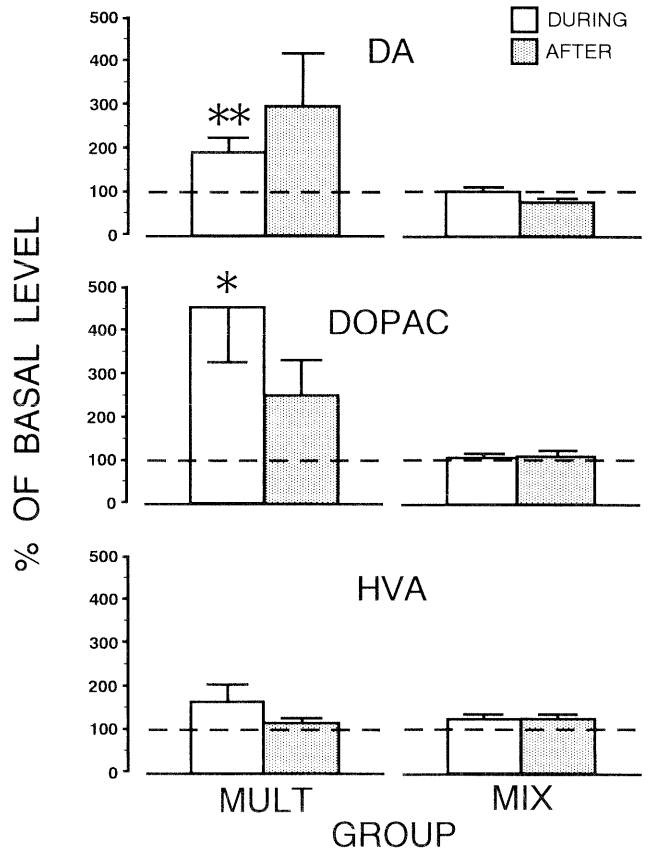


図-10. MULT 課題群と MIX 課題群間で学習前・中・後の時期の扁桃体での DA・DOPAC・HVA 量を比較した。

学習前値を100として、学習課題遂行中の60分(20分づつ3試料)を一つの値に表現し、課題終了後60分の値を学習後値として、それぞれの物質の変化を、MULT 課題群と MIX 課題群で比較した。

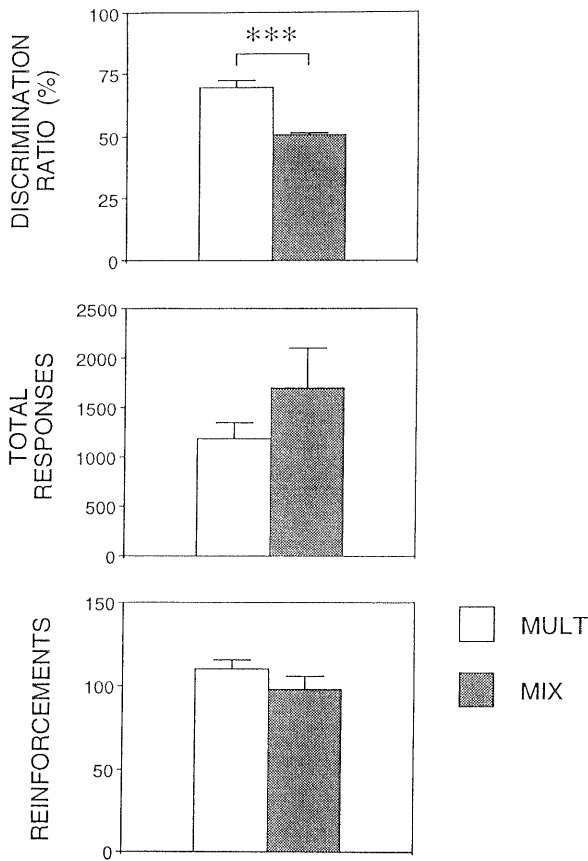


図-11. MULT 課題群と MIX 課題群間で、学習課題遂行中に示した正反応率、総反応数および獲得した餌の数を比較した。

MULT 課題群において、学習を獲得したことを示す正反応率にのみ有意差を示し、レバー押し回数および餌を食べた数には有意差を認めなかった。

著明なアセチルコリン量の増加を認めた。また、図-14に示したドーパミン量の変化は同様に、レバー押し学習課題を行っている際に於いてのみ、学習前・後時よりも有意に増加を示した。これらの結果は学習形成時期に於いても変化を捉えたのみならず、長期に及び形成された学習・記憶過程へと繋がる連続学習完成時期にも、同様の変化が起きていることは重要である。

## VI. 種々の応用例

モニタリングを最大限に利用して、脳内の学習・記憶のありさまを直接みえる“モノ”とし

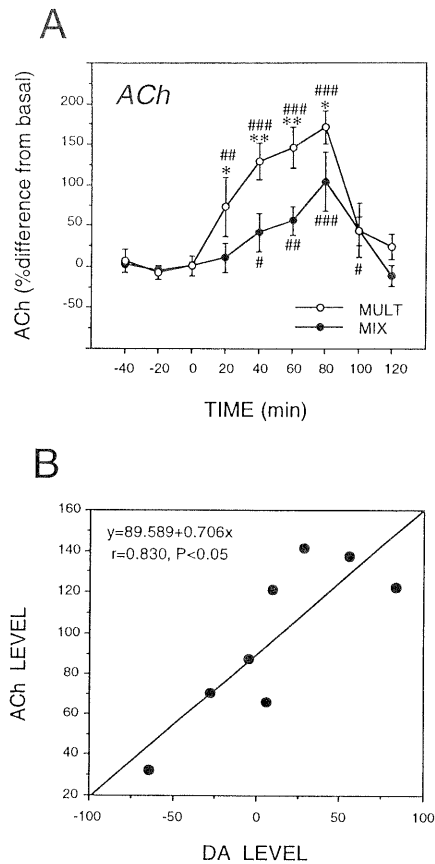


図-12. MULT 課題群と MIX 課題群間で、学習課題遂行時に示した海馬の ACh 量および DA 量の変化。

学習課題遂行時には、著明な ACh 量の増加と、これに続く DA 量の変化を認めた。そして、この ACh 量の増加は DA 量の変化と相関性があった。

てその実体を捉えたい。それには、今後どう言った課題や試みの可能性が存在するかを考えなければならぬ。

### A. 疾患モデル動物

1. 加齢変化：Fischer 344 は加齢変化を見るときに非常に重要である [48, 49]。12や24月齢と言う年齢まで飼育すると、他の Wistar ラット等は体重700も800グラムにもなる。すると、学習箱内に身動きも自由にできず真の行動変化を調べるには、あまりにも不自然すぎる。しかし、空間認知能力が極端に低下していることを

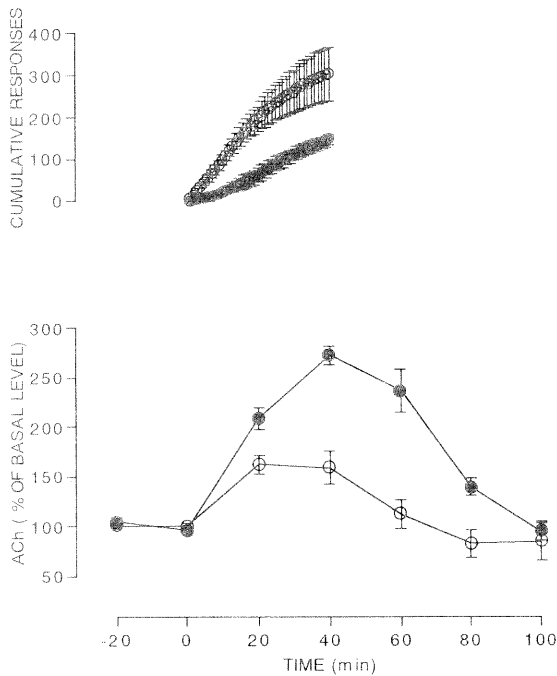


図-13. 初回の連続強化レバー押し獲得課題遂行中(これを獲得課題と呼ぶ), および数回目の課題遂行中(保持課題)の前頭前野皮質での ACh 量の変化。

40分のレバー押しに対して, 前頭前野皮質領域から採取した ACh 量の変化を示した。初回の連続強化レバー押し獲得課題群は反応数は低いにもかかわらず, ACh 量の変化は急激な増加を示した(黒丸)。数回目の保持課題群は反応数は高いにもかかわらず, ACh 量の変化は50%増加を示した(白丸)。

強調して調べた報告が多かったが, 更に多方面からの検討がなされ始めた[48-51]。学習成績を支える脳内モノアミン変化をモニターリング測定をすることで, この加齢変化を検討した。図-6で示した学習変化のあった老齢ラットとの比較で, 図-15は海馬内モノアミン量の変化である。即ち, DA・DOPAC・HVA・5HIAA量の学習遂行時の変化は, 3月齢が24月齢に比較していずれも著明に増加を示した。この時の, 学習成績を正反応率で示すと, 加齢によるモノアミン量の変化の減少と, 学習成績の低下とを認め, これは意義深いことである。

更に, 図-15では, 若齢ラットが示した脳内モノアミン量変化が, 老齢では全く認めなかつ

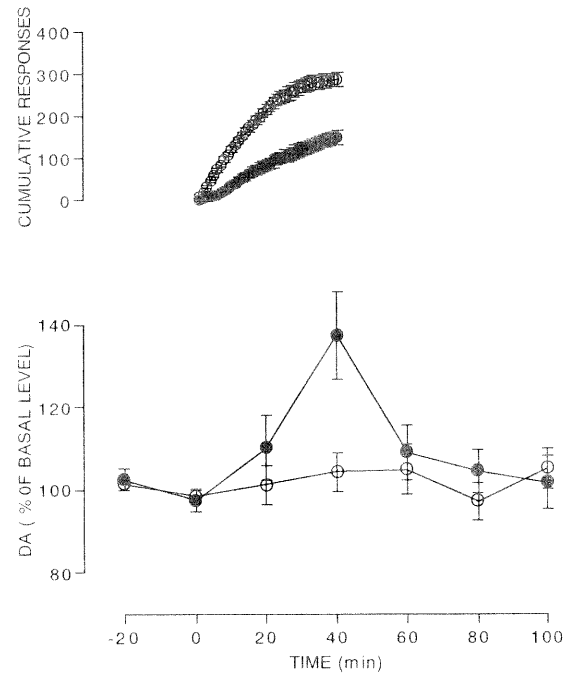


図-14. 初回の連続強化レバー押し獲得課題遂行中(これを獲得課題と呼ぶ), および数回目の課題遂行中(保持課題)の前頭前野皮質での DA 量の変化。

40分のレバー押しに対して, 前頭前野皮質領域から採取した DA 量の変化を示した。初回の連続強化レバー押し獲得課題群は反応数は低いにもかかわらず, DA 量の変化は急激な増加を示した(黒丸)。数回目の保持課題群は反応数は高いにもかかわらず, DA 量の変化は全く示しなかった(白丸)。

た。これは, 図右下に示した, 学習成績が低かったために, 充分量のモノアミン量変化が起こらなかったと考えられ, 非常に貴重な結果である。

2. 高血圧症: Wistar Kyoto (WKY)系から見いだされた高血圧を発症する高血圧自然発症ラット Spontaneously hypertensive rat (SHR)がある。行動面では多動を特徴としており, 種々のモノアミン系の異常も報告されている[52]。また, その活動性の高さを見るために, 種々の時間や反応頻度の因子を導入して評価する方法がある。そのひとつに定率学習課題 Fixed Ratio (FR)がある。即ち, FR50は第50回目のレバー押しをして, 初めて1個の餌ペレットが報酬として得られる学習課題である。SHRの

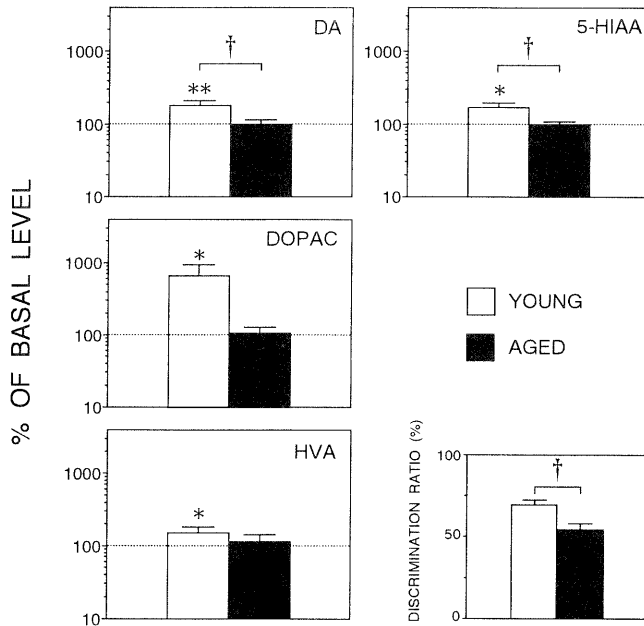


図-15. 加齢変化が海馬での神経伝達物質にどう変化するか。

若齢ラットおよび老齢ラットのオペラント型弁別学習課題を、30日間連続して行った。その間の正反応率は若齢ラット群72%であり、老齢ラット群51%であった。そして、この学習成績を反映して、海馬内 DA・DOPAC・HVA・5HIAA 量を測定した。若齢ラット群はいつでも、学習成績と平行して著明な増加を示し、老齢ラット群は変化がなかった。

ように活動性が高いラットは絶え間なくレバー押しを続けて、対照の WKY の数倍の反応数を示す [53-56]。

また、定時学習課題 (Fixed Interval: FI) と定率学習課題 (Fixed Ratio: FR) および定率定時学習課題 (FRFI) を組み合わせた課題等がある。例えば、FR 30 FI 60 はスキナー箱内の左のランプが ON の時に 30 回レバーを押して餌が得られ、右のランプ ON の時に 60 秒間経過後の最初のレバー押しに対して餌が得られる課題である。FR は如何に速くレバーを押すか、FI は如何に一定の時間待っているかを評価する複雑な課題である。そして、それぞれの数字はそれぞれの目的にあった課題に対応して選ぶ事ができる [55-57]。高血圧症の病態との変化を調べる事にはじまり、血圧動態を司る自律神経系の変化や、これに作用する薬効効果を用いると、際限なく知りたいこと調べたい事が湧き出てくる [57, 58]。

3. 脳虚血：ラットの総頸動脈を結紮することにより、脳内循環血液流量を制限し、脳虚血条件を作成して脳梗塞および脳出血の疾患モデルとする [59-61]。最近、虚血持続時間を変動させた実験系、および虚血処置後の経過時間、即ち数日から数週間の間を変動させる実験系を中心にして、急性および慢性症状を考えに入れた種々の実験系が考えられ大きな評価を受けている [62-64]。

4. 脳部位の神経薬物処置による損傷実験：カイニン酸およびイボテン酸等による、神経毒作用を利用して、神経細胞を局所的に破壊する方法がある [57, 65, 66]。これは、ごく限られた小さな部位を選定して破壊することができて、好んで使用される実験方法である。

5. 外科手術および電気焼却による損傷実験：神経薬物処置に比較して、脳実質組織・細胞の破壊が広い範囲に及び障害が著明であるので、あまり使用されなくなった。特に、電気焼却で

は神経細胞以外に神経線維やシナプス伝導系の障害が広く著明に起きると考えられている [67].

### B. ラットからマウスへの応用

マウスは種々のトランスジェニックやノックアウトマウスが、多く作成されて研究が加速度的に行われている [68,69]. ノックアウトマウスに関しては、その行動解析の標的として処置された“モノ”が出現していないだけでなく、“臓器”や“部位”に至るあらゆる面を選択して、実験者が狙ったものを作り出せる。従って、狙ったものが何の役目を行っているのかと言う“機能”を少しでも早く、かつ確実に調べなければならない。学習と記憶に実験に限ってもこの分野の研究は急速に進んでいる [70-72]. そして、機能面ではマウス水迷路を好んで使用されて来た [69,73]. しかし、運動系に障害があると、いくら目的のゴールが頭で分かっている、身体が動かずそこまでたどり着けない [74-76]. その前に、泳げなければ水中に沈んでしまい、学習の評価どころではない結果を生じてしまう [69,74].

また、学習系には、反応に対して報酬を与える“正の学習系”だけでなく、電気ショック等の罰を負荷して逃避学習や回避学習と言う、それから如何に上手に逃げるか、避けるかを評価する“負の学習系”がある。これらは、予備訓練を含む前処置が単純であるため、好んで使用されてきた [75-77]. しかし、実験動物が学習課題を理解していたとしても、種々刺激—電気ショックや水中に入れる—に対して恐怖を示し、フリージングという立ちすくみ等の種々の行動を起こす動物がいる。これでは、刺激に鈍く、かつ強い動物を学習課題に良く対応した成績の良い動物という結果と評価をしてしまう危険性がある [77]. また逆に、これらの刺激によって、更に攻撃的になってしまうものもある [78].

更に、同じ学習行動を評価するにも、ラットとマウスでは、その表現系が全く、異なっているとされている [79,80]. その報告によると、

上に述べた、迷路でも、水迷路と水のない迷路で、全く反応が異なる [81]. 従って、電気ショックを与えて、その後の反応を見る等と言った、ストレス下の条件を因子として加えると、両動物間で全く異なった、刺激・反応系を見ていることになる [82,83,84].

### C. 今後の展望

以上の方法が今後どのように発展をし、応用が可能であるかが重要である。

1. ラットからマウスへの応用を積極的に進める。

両動物間で、その違いをはっきりさせて、どの学習課題が、どちらの種により適しているか見極めなければならない [85-87].

2. 種々疾患モデル動物を組み入れて、学習を制御している脳部位とそれに関与する活性物質の同定を進めたい [84-88].

3. 学習によって獲得した記憶が、分子レベルであれ、蛋白レベルであれ、また細胞レベルであっても、必ずや“モノ”として同定することが可能であると信じている。従って、学習獲得をした動物は、記憶物質も充分に脳内に発現しているはずである [86,88,89].

## VII. おわりに

学習実験を開始するには、まず摂食と体重制限を行い、レバー押しを自由に行い、実験動物が自分で餌を獲得することを学習させる。これらの前処置とも言う段階を経た後、本実験に入る時間と労力を必要とするオペラント学習である。しかし、好きでもない電気ショックを与えられたり、突然水中へ放り込まれたり、さまざまな強要されたのでは、動物もたまったものではない。そこで、実験動物を強制も強要もしないで、また条件刺激も餌を報酬として与えるために、嫌悪なものでないから強制反応ではなく、動物個体の意志で全てが行えるのが著者等が行ってきた学習方法である。このような最良の学習評価の系であれば、多少時間がかかっても、じっくりと時間をかけて、動物の本来の正確な

学習成績の評価と形成された記憶の質的、また量的な変化を正確に確認でき、かつ評価ができれば望むところではないか。

## 文 献

- Gaddum JJ: Push-pull cannulae. *J Physiol* **155**: 1-2, 1961
- Ungerstedt U & Pycock C: Functional correlates of dopamine neurotransmission. *Bull der Schweizerischen Akademie der Medizinischen Wissenschaften* **30**: 44-55, 1974
- Benveniste H: Brain microdialysis. *J Neurochem* **52**: 1667-1679, 1989
- Denman RB, Rosenzwaig R & Miller DL: A system for studying the effect of familial alzheimer disease mutations on the processing of the  $\beta$ -amyloid peptide precursor. *Biochem Biophys Res Comm* **192**: 96-103, 1993
- During MJ: In vivo neurochemistry of the conscious human brain: intrahippocampal microdialysis in epilepsy. In: *Microdialysis in the neurosciences*, Ed. Robinson TE & Justice JB, Jr, Elsevier Publ Co, Amsterdam, pp 452-442, 1991
- Meyerson BA, Linderoth B, Karlsson H & Ungerstedt U: Microdialysis in the human brain; extracellular measurements in the thalamus of parkinsonian patients. *Life Sci* **46**: 301-308, 1990
- Delgado JM, DeFundis FV, Roth RH, Ryugo DK & Mitruka BM: Dialytrode for long term intracerebral perfusion in awake monkeys. *Arch Int Pharmacodyn* **198**: 9-21, 1972
- Skirboll S, Wang J, Mefford I, Hsiao J & Bankiewicz KS: In vivo changes of catecholamines in hemiparkinsonian monkeys measured by microdialysis. *Exp Neurol* **110**: 187-193, 1990
- Bradbury MWB, Cserr HF & Westrop RJ: Drainage of cerebral interstitial fluid into deep cervical lymph of the rabbit. *Am J Physiol* **240**: F 329-F 336, 1981
- Jacobson I & Hamberger A: Veratoridine-induced release in vivo and in vitro of amino acids in the rabbit olfactory bulb. *Brain Res* **299**: 103-112, 1984
- Brodin E, Linderoth B, Gazelius B & Ungerstedt U: In vivo release of substance P in cat dorsal horn studied with microdialysis. *Neurosci Lett* **76**: 357-362, 1987
- Sandberg M & Lindstrom S: Amino acids in the dorsal lateral geniculate nucleus of the cat-collection in vivo. *J Neurosci Meth* **9**: 65-74, 1983
- Bito L, Davson H, Levin EM, Murry M & Snider N: The concentration on of free amino acids and other electrolytes in cerebrospinal fluid, in vivo dialysis of brain, and blood plasma of the dog. *J Neurochem* **13**: 1057-1067, 1966
- Kendrick KM, Baldwin BA, Cooper TR & Sharman DF: Uric acid is released in the zona incerta of the subthalamic region of the sheep during rumination and in response to feeding and drinking stimuli. *Neurosci Lett* **70**: 272-277, 1986
- Jarry H, Einsparrier A, Kannpiesser L, Dietrich M, Pitzel L, Holtz W & Wuttke W: Release and effects of oxytocin on estradiol and progesterone secretion in porcine corpora lutea as measured by an in vivo microdialysis system. *Endocri* **126**: 2350-2358, 1990
- Brodin E, Tossman U, Ohta Y, Ungerstedt U & Grillner S: The effect of an uptake inhibitor (dihydrokainate) on endogenous excitatory amino acids in the lamprey spinal cord as revealed by microdialysis. *Brain Res* **458**: 166-169, 1988
- Tsukada Y, Kanamatsu T & Takahara H: Neurotransmitter release from the medial hyperstriatum ventrale of the chick forebrain accompanying filial imprinting behavior, measured by in vivo microdialysis. *Neurochem Res* **24**: 315-320, 1999
- Nomura M & Hori K: Operant learning tasks for mice: a controlling system and some data. *Abst Inter Congr Physiol Sci PO 91.9*, 1997
- Arner P, Bolinder J, Eliasson A, Lundin A & Ungerstedt U: Microdialysis of adipose tissue and blood for in vivo lipolysis studies. *Am J Physiol* **255**: E 737-E 742, 1988
- Hamberger A: Microdialysis in clinical diagnosis: amino acid patterns in the temporal cortex and the myocardium. *Current Separations* **9**: 119, 1989
- Akiyama T, Yamazaki T & Ninomiya I: In vivo monitoring of myocardial interstitial norepinephrine by dialysis technique. *Am J Physiol* **261**: H 1643-H 1647, 1991
- Medvedev OS, Kuzmin AI, Selivanov VN, & Sysoev AB: Pharmacological and physiological analysis of catecholamine secretion by the adrenal gland using in vivo microdialysis in the awake rat. *Current Separat* **9**: 89, 1989
- Bunnett NW, Mogard M, Orloff M, Corbet HJ, Reeve JR & Walsh JR: Catabolism of neurotensin in interstitial fluid of rat stomach. *Am J Physiol* **246**: G 675-G 682, 1984
- Meirieu O, Pariret M, Sutra JF & Ruckerbusch M: Local release of monoamines in the gastrointestinal tract: an in vivo study in rabbits. *Life Sci* **38**: 827-834, 1986
- Ben-Nun J, Cooper RJ, Cringle SJ & Constable JJ: A new technique for in vivo intraocular pharmacokinetic measurements. *Archs Ophthal N Y* **106**: 254-259, 1988
- Khan IM, Marsala M, Printz MP, Taylor P &

- Yaksh TL: Intrathecal nicotinic agonist-elicited release of excitatory amino acids as measured by in vivo spinal microdialysis in rats. *J Pharmacol Exper Therap* **278**: 97-106, 1996
27. Kalen P, Cenci MA, Daszuta A, Lindvall O & Bjorklund A: In vivo microdialysis: a new approach for the study of functional activity of grafted monoaminergic neurons and their interaction with the host brain. *Prog Brain Res* **82**: 329-338, 1990
  28. Sinden JD, Rashid-Doubell F, Kershaw TR, Nelson A, Chadwick A, Jat PS, Noble MD, Hodges H & Gray JA: Recovery of spatial learning by grafts of a conditionally immobilized hippocampal neuroepithelial cell line into the ischemia-lesioned hippocampus. *Neuroscience* **81**: 599-608, 1997
  29. Ekulund L & Collin AK: Microdialysis, a new tool for sampling and manipulation of internal ethylene concentration in apples. *J Plant Physiol* **137**: 375-377, 1991
  30. Ajima A & Kato T: Brain dialysis: detection of acetylcholine in the striatum of unrestrained and unanesthetized rats. *Neurosci Lett* **81**: 129-132, 1987
  31. Damsma G & Westerink BHC: A microdialysis and automated on-line analysis approach to study central cholinergic transmission in vivo. In: *Microdialysis in the neurosciences*, Ed. Robinson TE & Justice JB, Jr, Elsevier Publ Co, Amsterdam, pp 237-252, 1991
  32. Impero A & Di Chiara G: Transstriatal dialysis coupled to reverse phase high performance liquid chromatography with electrochemical detection: a new method for the study of the in vivo release of endogenous dopamine and metabolites. *J Neurosci* **4**: 966-977, 1984
  33. Di Chiara G: Brain dialysis of monoamines. In: *Microdialysis in the neurosciences*, Ed. Robinson TE & Justice JB, Jr, Elsevier Publ Co, Amsterdam, pp 175-187, 1991
  34. Hamberger A, Berthold CH, Karlson B, Lehmann A & Nystrom B: Extracellular GABA, glutamate and glutamine in vivo perfusion dialysis of the rabbit hippocampus. In: *Glutamine, glutamate and GABA in the central nervous system*, Ed. Herz L, Kvamme E, McGeer EG & Schousboe AF, Alan R Liss, NY, pp 473-492, 1983
  35. Benveniste H, Drejer J, Schousboe A & Diemer NH: Elevation of the extracellular concentrations of glutamate and aspartate in rat hippocampus during transient cerebral ischemia monitored by intracerebral microdialysis. *J Neurochem* **43**: 1369-1374, 1984
  36. Mogensen J, Wortwein G, Hasman A, Nielsen P & Wang Q: Functional and neurochemical profile of place learning after l-nitro-arginine in the rat. *Neurobiol Lear Mem* **63**: 54-65, 1995
  37. Dourmap N, Michael-Titus A & Costentin J: Differential effect of interstriatal kainic acid on the modulation of dopamine release by  $\mu$ - and  $\delta$ -opioid peptides: a microdialysis study. *J Neurochem* **58**: 709-713, 1992
  38. Vezzani A, Ruiz R, Monno A, Rizzi M, Lindfors N, Samanin R & Brodin E: Extracellular somatostatin measured by microdialysis in the hippocampus of freely moving rats: evidence for neuronal release. *J Neurochem* **60**: 671-677, 1993
  39. Ingram DK, Shimada A, Spangler EL, Ikari H, Hengemihle J, Kuo H & Greig N: Cognitive enhancement: New strategies for stimulating cholinergic, glutamatergic, and nitric oxide systems. *Ann N Y Acad Sci* **786**: 348-361, 1996
  40. Meyer RC, Spangler EL, Kametani H, Ingram DK: Age-associated memory impairment assessing the role of nitric oxide. *Ann N Y Acad Sci* **854**: 307-317, 1998
  41. Tsukada Y, Nomura M, Nagai K, Kohsaka S, Kawahata H, Ito M & Matsutani T: Neurochemical correlates of learning ability. In: *Behavioral neurochemistry*, Eds. Delgado JMR & DeFeudis FV, Spectrum Pub, N Y, pp. 63-84, 1977
  42. Nomura M: Effects of aspartame on schedule controlled behavior in rats. *Res Comm Psychol Psychiat Behav* **9**: 373-384, 1984
  43. Hori K, Tanaka J & Nomura M: Effects of discrimination learning on the rat amygdala dopamine release: a microdialysis study. *Brain Res* **621**: 296-300, 1993
  44. Paxinos G & Watson C: *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Academic press, Sydney, 1986.
  45. Hernandez L & Hoebel BG: Feeding and hypothalamic stimulation increase dopamine turnover in the accumbens. *Physiol Behav* **44**: 599-606, 1988
  46. Yamamuro Y, Hori K, Iwano H, Nomura M: Septo-hippocampal cholinergic system under the discrimination learning task in the rat: a microdialysis study with the dual-probe approach. *Brain Res* **684**: 1-7, 1995
  47. Izaki Y, Hori K, Nomura M: Dopamine and acetylcholine elevation on lever-press acquisition in rat prefrontal cortex. *Neurosci Lett* **258**, 33-36, 1998
  48. Ogawa N, Nomura M, Haba K, Asanama M, Tanaka K, Hori K & Mori A: Effects of dihydroergotamine on central cholinergic neuronal systems and discrimination learning test in aged rats. *Brain Res* **586**: 229-234, 1992
  49. Kametani H, Iijima S, Spangler EL, Ingram DK & Joseph JA: In vivo assessment of striatal dopamine release in the aged male Fischer 344 rat.

- Neurobiol Aging **16**: 639-646, 1995
50. 野村正彦, 加齢と学習・記憶: 神経精神薬理 **18**: 269-275, 1996
  51. Yurek DM, Hipkens SB, Hebert MA, Gash DM & Gehardt GA: Age-related decline in striatal dopamine release and motor function in Brown Norway/ Fischer 344 hybrid rats. *Brain Res* **791**: 246-256, 1998
  52. McCarty R & Kopin IJ: Alterations in plasma catecholamines and behavior during acute stress in spontaneously hypertensive and Wistar-Kyoto normotensive rats. *Life Sci* **22**: 997-1005, 1978
  53. Nomura M & Ohtsuji M: Changes of learning performance in rats with spontaneous hypertension. *Hypertensive Mechanisms*. In: Eds, Rasher W, Clough D & Ganten D, FK Schattauer Verlag, Stuttgart, 658-661, 1982
  54. 野村正彦, 岡村邦博: 高血圧自然発症及び脳卒中易発症ラットのカテコールアミンと学習行動変化, *神経化学* **23**: 147-149, 1984
  55. Nomura M: Effect of nimodipine on brightness discrimination learning test in wistar kyoto and spontaneously hypertensive rats. *Arzneim-Forsch Drug Res* **38**: 1282-1286, 1988
  56. 野村正彦, 本態性高血圧のモデルとしての高血圧自然発症ラット, 情動・行動・学習面からの SHR, *医学のあゆみ* **189**: 171-175, 1999
  57. 堀 耕治, 田中健一, 和田尚子, 野村正彦, 側座核ドーパミンニューロン破壊はモチベーションを低下させるか? I. 累積比率スケジュールによる検討. *神経化学*, **35**: 236-237, 1996
  58. 野村正彦・堀 耕治, 記憶と学習, *生体の科学* **48**: 20-24, 1997
  59. Fisher M: Occlusion of the carotid arteries. *Arch Neurol Psychiat*. **72**: 187-204, 1954
  60. Volpe BT, Pulsinelli WA, Tribuna J & Davis HP: Behavioral performance of rats following transient forebrain ischemia. *Stroke* **15**: 558-562, 1984
  61. Hillered L, Persson I, Ponten U & Ungerstedt U: Neurometabolic monitoring of the ischemic human brain using microdialysis. *Acta Neurochir* **102**: 91-97, 1990
  62. Yamamuro Y, Iwano H, Sensui H, Hori K & Nomura M. Acetylcholine in the hippocampus during the discrimination learning performance in a rat model of chronic cerebral ischemia. *Neuroreport* **7**: 1837-1840, 1996
  63. Tanaka K, Ogawa N, Asanama M, Kondo Y & Nomura M: Relationship between cholinergic dysfunction and discrimination learning disabilities in Wistar rats following chronic cerebral hypoperfusion. *Brain Res* **729**: 55-65, 1996
  64. Tanaka K, Wada N, Hori K, Asanama M, Nomura M & Ogawa N: Chronic cerebral hypoperfusion disrupts discriminative behavior in acquired-learning rats. *J. Neurosci.Meth* **84**: 63-68, 1998
  65. Aggleton JP & Passingham RE: An assessment of the reinforcing properties of foods after amygdaloid lesions in rhesus monkeys. *J Comp Physiol Psychol* **96**: 71-77, 1982
  66. Nomura M: Schedule controlled learning ability on left-right discrimination in rats after lesion of the nucleus basalis magnocellularis by ibotenic acid. *Neurosciences* **15**: 160-162, 1989
  67. Joel D, Tarrasch R, Feldon J & Weiner I: Effects of electrolytic lesions of the medial prefrontal cortex or its subfields on 4-arm baited, 8-arm radial maze, two-way active avoidance and conditioned fear tasks in the rat. *Brain Res* **765**: 37-50, 1997
  68. Hanahan D: Transgenic mice as probes into complex systems. *Science* **246**: 1265-1274, 1989
  69. Silva AJ, Paylor R, Wehner JM & Tonegawa S: Impaired spatial learning in a (alpha)-calcium-calmodulin kinase II mutant mice. *Science* **257**: 206-211, 1992
  70. Abeliovich A, Paylor R, Chen A, Kim JJ, Wehner JM & Tonegawa S: PKC $\zeta$  mutant mice exhibit mild deficits in spatial and contextual learning. *Cell* **75**: 1263-1271, 1993
  71. Tonegawa S: Gene targeting: a new approach for the analysis of mammalian memory and learning. *Prog Clin Biol Res* **390**: 5-18, 1994
  72. Sakimura K, Kutsuwada T, Ito I, Manabe T, Takayama C, Kushiya E, Yagi T, Aizawa S, Inoue Y, Sugiyama H & Mishina M: Reduced hippocampal LTP and spacial learning in mice lacking NMDA receptor (epsilon) 1 subunit. *Nature* **373**: 151-155, 1995
  73. Morris RGM: Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *J Neurosci Meth* **11**: 47-60, 1984
  74. McHugh TJ, Blum KI, Tsien JZ, Tonegawa S, & Wilson MA: Impaired hippocampal representation of space in CA1-specific NMDAR1 knockout mice. *Cell* **87**: 1339-1349, 1996
  75. Anisman H & Wahlsten D: Responses initiation and directionality as factors influencing avoidance performance. *J Comp Physiol Psychol* **87**: 1119-1128, 1974
  76. Heyser CJ, MacDonald JS, Polis IY & Gold LH: Strain distribution of mice in discrimination Y-maze avoidance learning: genetic and procedural differences. *Behav Neurosci* **113**: 91-102, 1999
  77. Owen EH, Logue SF, Rasmussen DL & Wehner JM: Assessment of learning by the morris water task and fear conditioning in inbred mouse strains and F1 hybrids: implications of genetic background for single gene mutations and quantitative trait loci analyses. *Neurosci* **80**:

- 1087-1099, 1997
78. Saudou F, Amara DA, Dierich A, LeMeur M, Ramboz S, Segu L, Buhot MC & Hen R: Enhanced aggressive behavior in mice lacking 5-HT<sub>1b</sub> receptor. *Science* **265**: 1875-1878, 1994
79. Whishaw IQ: A comparison of rats and mice in a swimming pool place task and matching to place task: some surprising differences. *Physiol Behav* **58**: 687-693, 1995
80. Bovet D, Bovet-Nitti F & Oliverio A: Genetic aspects of learning and memory in mice. *Science* **163**: 139-149, 1969
81. Whishaw IQ & Tomie J: Of mice and mazes: similarities between mice and rats on dry land but not water mazes. *Physiol Behav* **60**: 1191-1197, 1996
82. Takahashi JS, Pinto LH & Vitaterna MH: Forward and reverse genetic approaches to behavior in the mouse. *Science* **264**: 1724-1733, 1994
83. Gerlai R: Gene-targeting studies of mammalian behavior: is it the mutation or the background genotype? *Trends Neurosci* **19**: 177-181, 1996
84. Roush W: New knockout mice point to molecular basis of memory. *Science* **275**: 32-33, 1997
85. 野村正彦・堀 耕治・田中淳一, IN VIVO MICRODIALYSIS 法による学習行動時の脳内神経伝達物質の定量化, *日本生理学会雑誌* **58**: 281-292, 1993
86. 野村正彦, 学習と行動, 脳と神経: 分子神経生物学入門, 共立出版(金子・川村・植村編)pp. 72-82, 1999
87. MacDonald RJ & White NM: Parallel information processing in the water maze: evidence for independent memory systems involving dorsal striatum and hippocampus. *Behav Neural Biol* **61**: 260-270, 1994
88. Balk JH, Picetti R, Saiardi A, Thiriet G, Dierich A, Depaulis A, LeMeur M & Borrelli E: Parkinsonian-like locomotor impairment in mice lacking dopamine D2 receptors. *Nature* **377**: 424-428, 1995
89. Nalbantoglu J, Tirado-Santiago G, Lahsaini A, Poirier J, Goncalves O, Verge G, Momoli F, Welner SA, Massicotte G, Julien JP & Shapiro ML: Impaired learning and LTP in mice expressing the carboxy terminus of the Alzheimer amyloid precursor protein. *Nature* **387**: 500-505, 1997

## 「Freshman 技術講座：動物実験法」の掲載にあたって

動物実験に関する委員会

委員長 中島祥夫

昭和48年に制定された「動物の保護及び管理に関する法律」（動管法）が26年ぶりに「動物の愛護及び管理に関する法律」として平成11年12月15日に改正された。議員立法としての動管法改正の動きは数年前より始まったが、動物実験排絶運動の活発化のなか、欧米、特にヨーロッパでは動物実験に対し厳しい法規制が実施されている現状から、我々生理学会は動管法改正の動きに高い関心を払い、対策を練ってきた。新動管法の詳しい内容は次号に紹介したいと思うが、法律の名称が示すようにペットとしての動物に対する愛護関係が改正の中心となっており、動物実験については「総理府の実験動物の飼養及び保管に関する基準等に基づく自主管理を基本とすべき」との考えから改正が加えられていない。

生理学会としても「自主管理」こそ動物実験のあるべき方向として、昭和63年12月に制定された「生理学領域における動物実験に関する基本的指針」を改正し、より具体的な指針とすべく現在検討中である。検討案には基本原則として、「実験に用いる動物の生命を尊重し、実験に伴う苦痛やストレスを最小限に抑え、飼育施設を整備して快適な環境で飼育するよう最大限の努力を払わなければならない。また動物実験に置き換えることのできる方法があれば積極的に取り入れ(replacement)、実験計画を綿密に立てて(refinement)、できるだけ少数の実験動物(reduction)で有効に科学的成果を生むように努力を払わなければならない。」と、動物愛護、動物倫理、3R (responsibility を加えて 4R) を前面にうちだす方針である。

さて、日本生理学雑誌では第62巻1号から「Freshman 講座：動物実験法」を連載することにした。これは、上述の動物愛護、動物倫理、4R を強く推進するためであり、また、最近の分子生物学の隆盛にともない、このままではシステムとしての機能を whole animal で扱える研究者が少なくなり、研究の継続が困難になるのではという危惧の念も含まれている。成書には書かれてない、先輩と共に行った実験を通してのみ体得した動物実験法を記録として残すのも21世紀を背負う次世代に対する我々の責任であると考え次第である。

シリーズ「Freshman 技術講座」

## ウサギの手術

大塚曜一郎・照井直人

(筑波大学基礎医学系)

### はじめに

ウサギの一般名 rabbit, ウサギであり, 学名は *Oryctolagus cuniculus* で, 重歯目 (Lagomorpha) に属し, 重歯目にはウサギ科 (Leporidae) とナキウサギ科 (Ochotonidae) の 2 科がある. 実験動物として使われるウサギの大部分はウサギ科に属するカイウサギ (*Oryctolagus cuniculus* var. *domesticus*) であり, 歴史的にはよくわかっていないが, 少なくとも 19 世紀の中頃にはヨーロッパで生理学の実験などにもちいられたという. 実験動物としてのウサギの開発は, 畜産分野として育種開発された品種を実験動物として流用することからはじまり, 現在日本で多く使用されている品種は肉, 毛皮兼用種である日本白色種 (Japanese White) とニュージーランドホホワイト種 (New Zealand White) である. この 2 種はアルビノである.

ウサギの多くの種は大きな耳を持つという特徴がある. 日本白色種はニュージーランドホホワイト種より大きい耳を持っている. 実験動物としての用途は, 耳に太い血管がよく見え, 採血や静注が容易なことから, 注射薬などの発熱性の検定や血清抗体の作成用に, あるいは癌移植などの癌研究, 毒性試験など, 多岐にひろがっている. 一方, 前庭動眼反射が観察されやすいことから, ウサギで電気生理学的手法による前庭動眼反射の研究が行われてきた [1]. 近年では, 循環の神経性調節機構に主眼を置いた研究でも利用されている [2,3].

我々の研究室では, 心臓血管運動調節の中樞性機構を解明するために電気生理学的手法を用いて研究を行っている. そこで, 本稿では, 日

本白色種ウサギに電気生理学的手法を適用するための基本的な方法を説明する. 具体的には神経活動の記録例として腎交感神経活動, 中枢内の単一ニューロン活動の記録例として延髄腹外側野にある網様体-脊髓路ニューロン活動の記録方法などを, 動物の取り扱い, 手術法を中心に述べていく.

### 生体・生理的特徴

ウサギは全身やわらかい被毛に覆われ, 他の動物種とちがって, 四肢の掌にまで厚い毛が生え肉球はない. 鼻端と鼠径部および雄の陰囊では毛がない. 個体によっては体幹の皮膚が部分的に厚くなり, その部分の被毛の発育が早くなるアイランドスキン (island skin) という現象が見られる.

日本白色種の体温は平均 39.5°C である. 平均血圧は 80 mmHg 程度である. 発情周期がなく, 繁殖期中は常時発情状態にあり, 雄の交尾刺激で雌の排卵が誘発される交尾排卵という特徴をもつ. その他の生理学的計測値 [4,5] を下記に示す.

- 体 重 3 ~ 5 キログラム
- 性成熟年齢 4 ~ 8 ヶ月
- 交配開始年齢 6 ~ 9 ヶ月
- 妊娠期間 27 ~ 34 日
- 生仔数平均 8 匹
- 離乳日齢 42 ~ 55 日
- 食 餌 量 150 ~ 170 g/日/匹
- 飲 水 量 300 ~ 400 ml/日/匹
- 寿 命 5 ~ 12 年
- 体 温 38.6 ~ 40.1°C

## I 取り扱い

ウサギを持ち上げる場合、成熟した動物では、両肩の皮膚を片手で大きく握り、片手を後肢を抱きかかえるように腰部にあてがい体を支える(図1)。この状態で運搬することができるが、

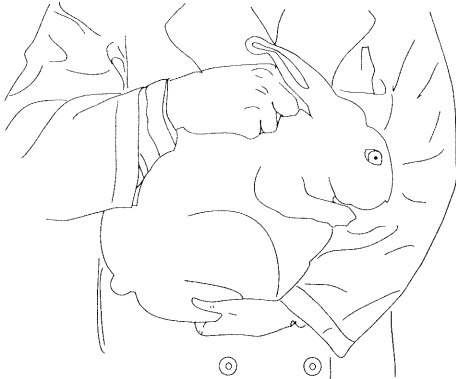


図1. ウサギの抱き方

長きにわたって運搬する時は籠に敷き物をし、これに入れて運ぶようにする。幼児期や体が小さく体重の軽い場合は、片手だけで背中中の皮膚をしっかり握って取り扱うことができるが(図2)、ウサギがあばれた時、後肢の爪でひっかかれることがあるので後肢の保持に注意する。

ケージからウサギを取り出す時は、片手で背



図2. ウサギの持ち上げ方

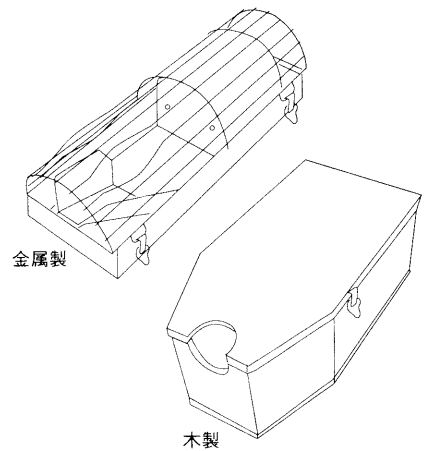


図3. 保定器

部の皮膚を握り取り出す。金網式の床では、取り出す際に後肢の爪が網に引っかかることがあるので、もう一方の手を胸部から差し入れて腹部を持ち上げるようにして取り出す。いずれの場合も耳を握って持ち上げることは、暴れるので絶対にしてはいけない。

ウサギを固定する場合は保定器(固定器、拘束箱)を用いる。金属製、木製の箱型保定器(図3)など種々のタイプのものが市販(夏目製作所)されているので用途に応じて適当なものを選択する。

## II 麻 酔

ウサギに適用する麻醉薬として、ハロセン(halothane)、ウレタン(urethane)、ペントバルビタール(pentobarbiturate)、ケタミン(ketamine)があげられる。必要であれば、恐怖、緊張、ストレスの軽減目的として、ジアゼピン(diazepam, 1.0~2.0 mg/i. m.)、唾液分泌や気管での分泌物の抑制目的でアトロピン(atropine, 0.03~0.03 mg/kg i. p あるいは i. v.)を前投与で用いる[6,7]。

### 1. 麻醉薬の選択

ハロセンは吸入麻醉法で用いる。ハロセンは商品名フローセン(武田薬品)として流通しており、強力な麻醉薬である。引火、爆発性はなく、

気道の刺激も軽く、安全に麻酔を実施できる。気化しやすく高濃度になるのを避けるために、専用の気化器を使用する。ハロセンには比較的強い循環系の抑制作用があり、手術麻酔期においても中程度の血圧の低下が認められる。覚醒は早い。導入は小児用の呼吸マスクで鼻と口を覆い、2～4容積%のハロセンを与える。気管カテーテル(図5)から人工呼吸器で与える場合は1～2容積%で十分な麻酔効果が得られる。

ウレタンはカルバミン酸エチルである。生理食塩水に溶かし250 mg/mlの濃度の麻酔液を作成し静脈内投与(1 g/kg)で用いる。ウレタンは呼吸循環系の抑制が僅かであり、ウサギでは8～10時間に及ぶ長時間の麻酔効果が得られる。しかしながら、本剤は発ガン性を有すると考えられていることと、回復しにくいことから慢性実験には適さない。

ペントバルビタールは商品名ネブタールとして流通している。各種実験動物に広く用いられてきた全身麻酔薬であり、静脈内(25 mg/kg)、腹腔内(30 mg/kg)に投与できる。ペントバルビタールは心臓血管系および呼吸系の抑制が強い。全身的に手術麻酔期が得られる容量は、呼吸停止量に近いので、呼吸管理に注意する。市販の50 mg/mlを生理食塩水で半分に希釈し、呼吸状態を観察しながらゆっくり静脈に投与する。比較的早く回復するので慢性実験に利用できる。

ケタミンは商品名はケタラールであり、静脈内投与(10 mg/kg)、筋肉内投与(25 mg/kg)、腹腔内投与(25 mg/kg)のいずれによっても麻酔効果が得られる。血圧上昇、呼吸抑制がしばしば観察される。数週間・数ヶ月と長期間行なう慢性実験の手術に使用する。麻酔効果は1時間程で、長時間の麻酔を必要とする場合はケタミンの持続投与を行なう。

## 2. 麻酔薬の静脈内投与(静注, i. v.)

耳介静脈は、辺縁に後耳介静脈と前耳介静脈、正中に後耳介静脈中間枝(図4)の3本が走行しており、その内前者の2本が明確に同定するこ

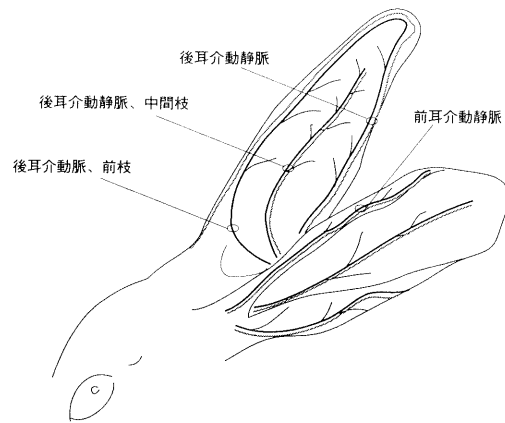


図4. 耳介の血管

とができ、通常後耳介静脈から静注する。ウサギを箱形ないし円筒形の保定器に入れて保定する。血管の走行に沿って軽く指で摩擦する。これにより血管が拡張する。耳の裏側より人さし指で血管を少し押し上げるようにする。注射針は23ゲージの翼状針を用いる。注射針を耳根部に向け、針先の断面を上にして静脈に刺入する。針を刺入してからシリンジを少し引いて血液が混入したら、呼吸が抑制されないか注意しながら、約10分間かけてゆっくりと麻酔薬を注入する。針を抜いた後はガーゼか脱脂綿で圧迫して止血する。

## Ⅲ 手 術 法

### 1. 手 順

手術は麻酔後、以下の手順で行なう。

- 毛の刈り取り
- ↓
- 気管カテーテルの挿入
- ↓
- 大腿動静脈へのカテーテルの挿入
- ↓
- 非動化・人工呼吸
- ↓
- 固定装置への頭部・体幹の固定
- ↓
- 腎交感神経の露出

↓  
 大脳皮質の露出

## 2. 器具の準備

手術に必要な器具を用意する。主な器具は「VI-1 手術器具」の項目を参考にして欲しい。器具の種類、個数は行なう手術にあわせて適宜準備する。

慢性実験のための手術の場合は、全ての手術器具は前もってヒビテン(0.05%)に浸し消毒する。また手術終了後、感染を防ぐために、抗生物質(筋注用ペニシリンG, 30万 unit/ml, 明治製薬)を1ml 筋注する。皮膚の縫合部は1日1回ヒビテン液で消毒し、抗生物質(フランセチン・T・パウダー, 持田製薬)を塗布する。ネコに比べ傷口が化膿することは少ない。麻酔から覚醒させることなく24時間内外で終了する急性実験での手術では、感染症などに備える必要は特にない。

## 3. 毛の刈り取り

ウサギの毛を必要に応じて刈り取る。バリカンは市販されている。当研究室では夏目製作所から発売されている動物実験用のバリカン(MODEL 900)を使用している。ヒトの散髪用のバリカンを流用してもよい。気管切開のために頸部腹側の毛を、大腿動静脈カテーテル挿入のために鼠径部近傍の毛を刈り取る。さらに、導出する神経に応じて、神経が存在する組織・器官を露出するのに適当な部位の皮膚の毛を刈り取る。腎交感神経、延髄に存在する単一ニューロンの神経活動を記録する場合は、体幹部の背外側、頭部の毛をそれぞれ刈り取る。

## 4. 気管、大腿動静脈へのカテーテルの挿入

人工呼吸を行なうために、気管にL字のポリエチレンチューブを挿入する。気管カテーテルにはポリエチレンチューブをL字型(図5)のように加工したものを用いる。3kg前後のウサギでは内径4mm, 外形6mmのポリエチレンチューブが適合する。太いチューブを必要とす

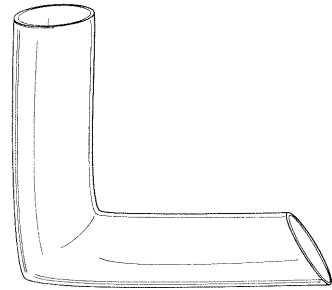


図5. 気管カテーテル

る場合は、内径5mm, 外形7mmのポリエチレンチューブを使用する。チューブはホットガン(ヘアードライアーより強力な熱風器)やハンダこてでL字型に加工したり、太さを調節する。気管は頸部腹側から皮膚、続いて筋層(胸骨舌骨筋)を切開して露出する。気管付近には迷走神経、頸部交感神経など神経叢が走行しており、局所麻酔薬はこれらの神経に影響を及ぼすので、筋層切開後は使用しない。露出した気管の吻側、尾側端を結紮できるように糸(木綿糸8番, Kanebo, あるいは手術用絹糸7号, 白川糸業)をそれぞれ巻き付けておく。気管腹側を一部切開し、吻側の気管を結紮する。切開部から木軸棉棒を挿入して気管内の分泌物を拭い取り、ポリエチレンチューブを挿入する。挿入後、予め用意した糸で気管の尾側をチューブと共に強く縛る。

動脈圧を観血的に計測するために動脈を、薬剤を投与するために静脈をそれぞれ確保する(図6)。局所麻酔剤(キシロカイン)を鼠径部の皮下に投与し、大腿三角付近の皮膚を切開する。切開部直下の縫工筋と内転筋の間に大腿動静脈が見える。赤白色の血管が動脈で、赤黒色の血管が静脈である。動静脈周囲の結合組織を割くようにして動静脈を分離する。動静脈のそれぞれ末梢側を糸(木綿糸50番, Kanebo)で結紮し(図6-2)、切開部位より中枢側の血管をブルドック鉗子で挟み、血管壁の一部を切開し(図6-3)、開孔部から、予め溶液を満したポリエチレンチューブを挿入する(図6-6~7)。挿入後、ブルドック鉗子を取り外し、さ

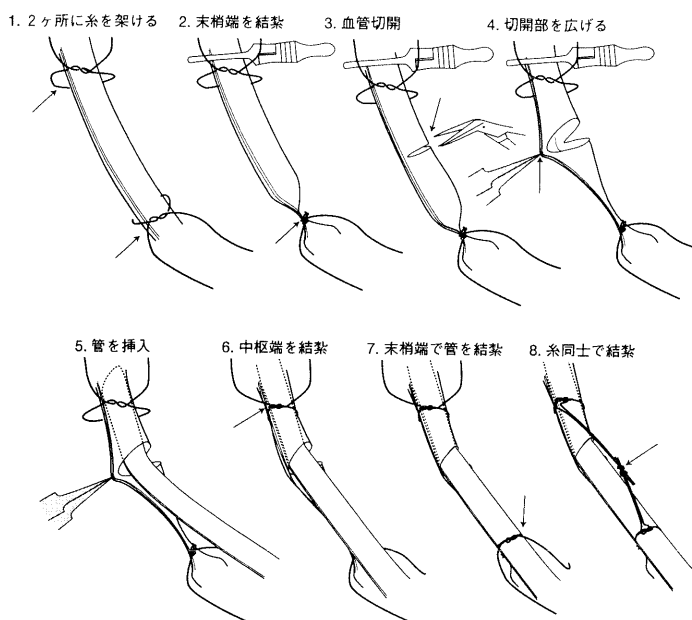


図6. 血管へのカテーテル挿入

らにポリエチレンチューブを挿入する。動脈用カテーテルには SP70(内径 1.0 mm, 外径 1.5 mm, 夏目製作所), 静脈用カテーテルには SP 61(内径 0.86 mm, 外径 1.27 mm, 夏目製作所)のポリエチレンチューブを使用し, 先端をヤスリで削り落とした18ゲージ, 20ゲージの注射針を挿入し, それぞれ三方活栓を取り付ける(図7)。静脈用カテーテルには生理食塩水を, 動脈用カテーテルには血栓による閉塞を阻止するためにヘパリン(生理食塩水で 200 unit/ml に希釈)をそれぞれ満たしておく。カテーテルの先端を斜めに切っておく(図7)が, 先端が鋭角であるほど血管に挿入し易くなる一方, 血管壁(特に静脈)を破き易くなるので, 注意する。挿入する際は, 血管壁を破らないようにカテーテル先端の向きに注意し, その先端が腹部大動静脈に達するよう約 15 cm 挿入する。ポリエチレンチューブの先端に 5 cm 間隔でマジック等で予め目印を付けておくと, どの程度挿入したか目安となる。先端が血管壁や分岐部に当たって挿入しづらい時は, 無理に押し込まずチューブを回転させながら挿入すると良い。特に静脈

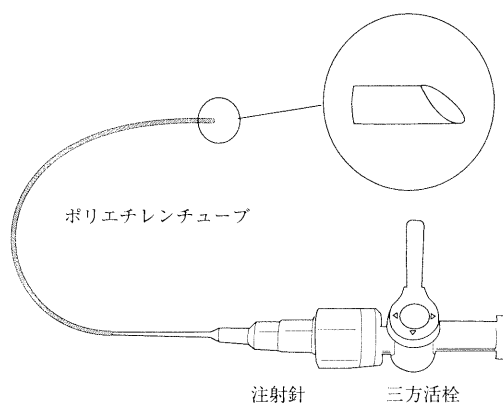


図7. 挿入用カテーテル

では, カテーテルの先端で血管をすぐ破く恐れがあるので, 決して無理に挿入してはいけない。

### 5. 非動化・人工呼吸

カテーテル挿入後, 筋弛緩薬ガラミン(20 mg/ml)を動物一体(2.5~3.5 kg)あたり初め 30 mg を静注し, 非動化する。筋弛緩薬の効果は短時間なので, その後必要に応じて随時投与する。当研究室では, 筋弛緩薬ガラミン(20 mg/ml)

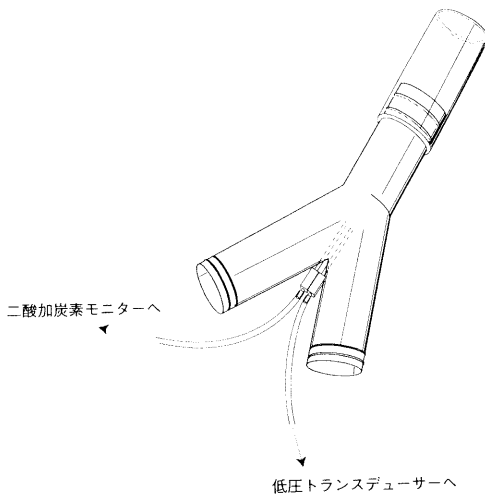


図8. Y字管

をシリンジポンプ(STC-521, テルモ)で1 ml/時間の注入速度で連続投与している。

ガラミンを投与すると胸部の動きが止まる。この後、すぐさま呼吸器からのチューブを気管カテーテルに接続し、人工呼吸を行なう。吸気ガスは空気80%、酸素20%の混合気にする。呼吸回数は60回/分、呼吸量は約20 ml/回が標準的であるが、随時呼気ガスモニタ(Respina IH 26, NEC 三栄)で呼気中の二酸化炭素濃度を4%前後になるように呼吸量を調節する。また、気管カテーテル内の圧(気管内圧)を観察することで、気管の閉塞を察知することができる。

呼気ガス採取、気管内圧検出するためには、気管カテーテル内に管を留置する。プラスチック製であるY字管の分歧部に翼状針を2本刺入し(図8)、接着剤で隙間の無いように固定する。一方の翼状針からのチューブを呼気ガスモニタに、他方を低圧トランスデューサーに接続する。

## 6. 頭部、体幹の固定・人工気胸

ラット、ネコはイヤーパーで、頭部を固定装置に固定することができるが、ウサギの耳管は背腹方向に延びているので、イヤーパーを用いることができない。ウサギの頭部固定装置は成茂科学から市販されており、詳しい形状につい

てはSawyer, C. H.らの(Sawyer, C. H. et al, 1954)論文を参照してほしい。Sawyerは頭骨のBregmaとLambda(図13)の高低差をBregmaが1.5 mm高くして頭部を固定している。これにより大脳皮質背側表面が水平になる。一方、LambdaをBregmaより10 mm高くすると、延髄背側表面が水平になる。

体幹を固定するには、第10胸椎と第3腰椎の棘突起を露出し、棘突起を金具(図9)で挟み、体幹を吊り下げる(図10, 12)。

中枢神経内の単一ニューロン活動を記録する際、人工呼吸の胸郭の動きが障害となる。胸郭の動きを押さえる目的で人工気胸を施す(図10)。第9と第10肋骨間で背腹方向の中ほどの位置の皮膚、筋層をハサミで切開し、胸腔内まで穴を開ける。胸腔まで勢いよくハサミを刺入すると誤って肺泡を傷つけることがあるので、ゆっくり刺入する。開口した小孔にポリエチレ

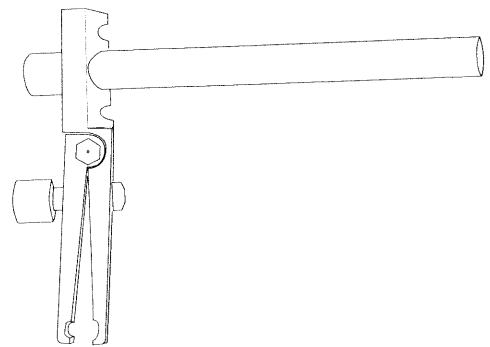


図9. 脊椎棘突起を挟む器具

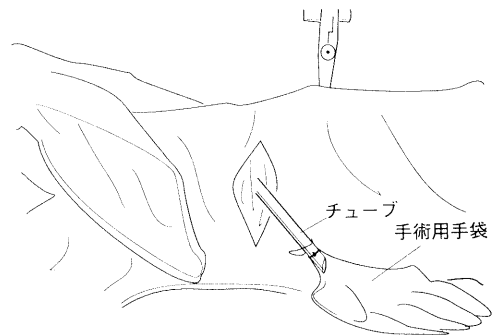


図10. 人工気胸

ンチューブ(内径 8.0 mm, 外形 6.0 mm)を挿入する。ポリエチレンチューブに手術用手袋などを流用して作成した風船を取り付けると、呼吸状態を観察することができる。

### 7. 腎交感神経の露出

腎交感神経の遠心性の放電は、交感神経血管収縮線維の活動を表すことが知られている(Dorward et al., 1987)。そこで血管収縮線維の活動として、腎交感神経活動を記録する。

腎交感神経の放電を記録するためには、第12助骨膝から尾側方向に7 cm程、左腹部背外側面の皮膚を切開し、その皮下にある体幹皮筋と浅腹筋外側群(外腹斜筋, 内腹斜筋, 斜筋, 腹横筋)を電気焼灼器を用いて、止血をしながら切開する。さらに腎後筋膜を切開する。次に腎

臓および腎動静脈を露出する。その際、脂肪内を走行する血管を誤って切断し出血することのないように、また、腹膜を傷つけることのないように脂肪組織を注意深く取り除き、腎臓および腎動静脈を露出させる。手術用実体顕微鏡下で、露出した腎動脈に伴走している腎交感神経を同定、剥離する。神経放電を記録するために神経の末梢側(腎臓の近い側)を絹糸で結紮し、さらに、その絹糸で記録電極に取り付けるための輪を作り(図11)、神経を結紮部位より末梢端で切断する。切開した皮膚、筋組織を利用してプールを作成し(図12)、神経の乾燥を防ぐためにパラフィンオイルを満たす。

### 8. 延髄背側表面の露出

延髄のニューロン活動を記録するために、小脳尾部、延髄を背側から露出する(図15)。外後頭隆起から第2頸椎(軸椎)にかけて、頸部背側の筋群を正中から電気焼灼器を用いて左右に切り開き、後頭骨、第1、第2頸椎の背側面および後頭環椎間膜を露出する。骨膜を鋭匙で剥離し、歯科用ドリル(Torx TR-2, Morita)および骨鉗子を用いて外後頭隆起とその尾側の後頭骨および第1頸椎の背弓前縁の一部を切除する。ドリル刃(ST1 HP 014, バイエル日本歯科)を頭骨にあてる圧を注意深く調節する。圧が足り

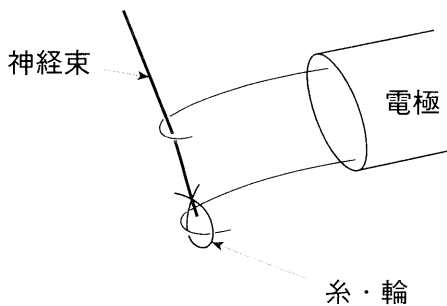


図11. 神経と電極

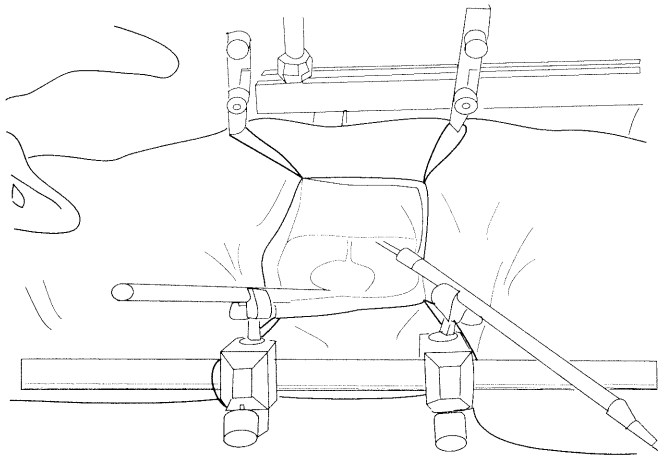


図12. 腎周囲のプール

ないと削れないが、逆に圧が強すぎると、脳内まで一気にドリル刃が刺入し、脳組織を傷つけてしまう。また、ボーンワックスを骨断面に塗布しこまめに止血する。硬膜を破らないように頭骨を剥がす。硬膜を切り開き、その切開端を外側に引き、瞬間接着剤で周囲の骨に接着する。硬膜切開後に見えるクモ膜を切り開き、延髄表面を露出する。網様体-脊髓路ニューロンの同定のために上脊髄を刺激する場合は第2頸椎の棘突起および椎弓の一部を延髄の場合と同様、ドリルを用いて削り取り、硬膜、クモ膜を切り開き第2頸髄背面を露出する。さらに下位の胸

腰髄等を露出することはネコ同様可能だが、ウサギの脊髄では浮腫が起きやすいので、脊髄の実験にはあまり適当な動物ではない。

単一ニューロン細胞外記録の詳細は当「Freshman 技術講座」の「細胞外誘導用金属電極」に譲り、ここでは簡単に述べる。外形1mmの中芯入りガラス管を電極作成用プーラーで引いて、ガラス微小電極を作成する。電極には0.5M酢酸ナトリウムにポンタミン・スカイプルーが2%になるようにした混合液を充填する。

### 9. 大脳皮質背側表面の露出

大脳皮質あるいは視床下部などの中脳より吻側の上位中枢内で記録、薬物投与を行なう場合は、大脳皮質背側表面からアプローチする。そのために頭頂骨の一部を取り除く(図16)。まず頭頂部の皮膚を切開し、頭頂の薄筋肉層を電気焼灼器を用いて左右に切り分け、骨膜を鋭匙で剥離する。皮膚が邪魔にならないように、切開部の皮膚に糸を結付け左右に牽引し、糸を頭部固定装置に縛りつける。つぎに、露出した頭頂骨に鉛筆で取り除く部位の輪郭を描く。この輪郭線上を歯科用ドリルを用いて、脳表面が傷つかないように慎重に骨を削り取り、頭頂骨を硬

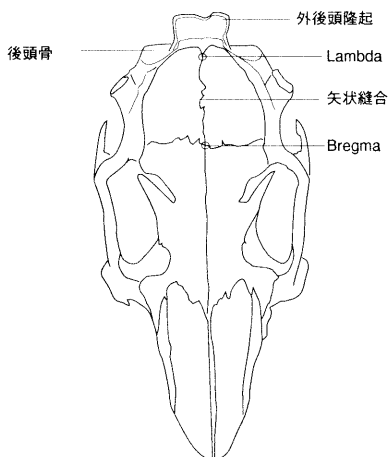


図13. 頭蓋背側面

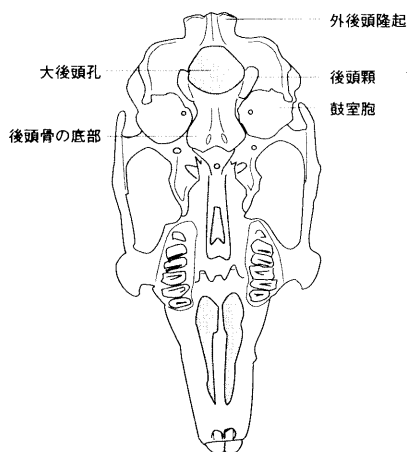


図14. 頭蓋腹側面

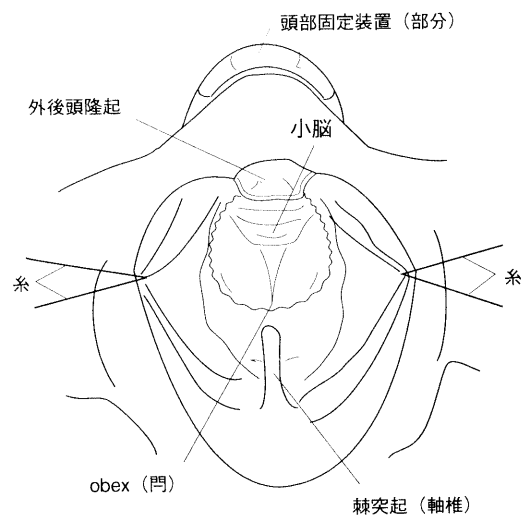


図15. 延髄背側表面の露出

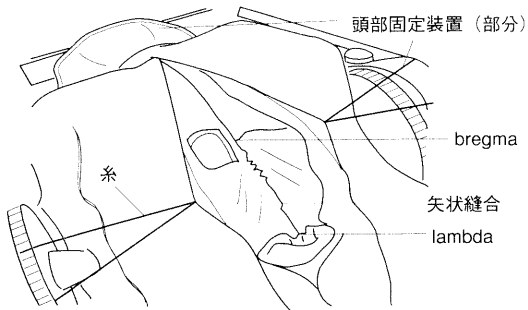


図16. 大脳皮質の露出

膜から剥がし取り除く。硬膜に静脈洞が張り付いており、無理に頭頂骨を剥がそうとするとこの静脈洞が裂け出血するので慎重に剥がす。静脈洞が裂けてしまうと止血が難しく、ほとんどの場合ウサギの状態が悪くなり実験を続けることが不可能となる。頭部が心臓より高い位置にあると静脈から空気が入り、空気栓塞になるので骨の断面はボーンワックスで塞ぐ。

#### IV 種々の生体信号の記録

血圧は、大腿動脈に挿入した血圧測定用カテーテルを血圧トランスデューサーに接続し、キャリアアンプで増幅して得る。平均血圧はローパス・フィルター(0.2 Hz)を通して得られる。

気管内圧は、低圧用・圧トランスデューサーで電気信号に変換し、キャリアアンプで増幅して得る。

心電図は右前肢および左後肢の皮下に注射針(23 G)を利用して作った記録電極を挿入し、標準肢誘導の第Ⅱ誘導により導出し、周波数帯域150 Hz~3 kHzの生体電気アンプで増幅して得る。増幅率はおよそ1万倍が目安である。

末梢神経活動を記録するために、神経を銀双極電極にのせる(図11)。電極によって導出される電位変化を前置増幅器、周波数帯域100 Hz~5 kHzの主増幅器(生体電気アンプ)で増幅して得る。増幅率はおよそ5千倍から1万倍が目安である。

導出した信号はオシロスコープ上あるいは、

A/D変換器を通してコンピューターに取り込むことでコンピューター画面上で観察することができる。信号の解析を実験後行なうためには多チャンネルのデータレコーダーを用いて信号を記録する。

#### V 実験後の処理

組織学的検索を行なう場合は実験終了後ウサギを灌流固定する。実験終了後、腹側から胸骨・肋骨を切断し開胸して心臓を露出する。左心室から上行大動脈にポリエチレンチューブ(内径4.0 mm, 外径5.0 mm)を挿入し、チューブを上行大動脈とともにしっかりと糸で縛り固定する。体循環を経た灌流液を排出するために右心耳を切開する。まず2リットルの生理食塩水で灌流し、次に2リットルの10%ホルマリンで灌流固定する。固定後、切り出した標本はさらに2日以上ホルマリンで浸漬固定する。組織学的検索方法は他を参照してほしい。ウサギの脳神経核などを検索するには、Sawyer, C. H. らの「The rabbit diencephalon in stereotaxic coordinates」[8], Sheck, J. W. らの「Atlas of the rabbit brain and spinal cord」[10]が参考になる。

#### VI 機器・薬物

これまで述べてきた手術・実験に必要な機器、薬物を列挙する。型番・製造元が明らかなものは併記する。

##### (1) 手術器具等

|          |          |        |
|----------|----------|--------|
| ハサミ      | 14117-14 | FST 社  |
| バネバサミ    | 15006-09 | FST 社  |
| ピンセット(大) | 11006-12 | FST 社  |
| ピンセット(小) | 11254-20 | FST 社  |
| 骨鉗子      |          |        |
| 止血鉗子     |          |        |
| ブルドック鉗子  |          |        |
| 骨鋭匙      |          |        |
| 開胸器      |          |        |
| 木綿糸      | No.50    | Kanebo |

木綿糸 No.8 Kanebo  
 手術用絹糸 No.7 白川糸業  
 木軸綿棒 栄研器材  
 メンパン No.4 白十字  
 バリカン model 1990 夏目製作所  
 歯科用ドリル TR-2 Morita  
 ドリル刃 STIHP014 パイエル日本歯科

塩酸リドカイン局所麻酔用 藤沢薬品  
 ヘパリン 和光純薬  
 ガラミン SIGMA  
 ネンプタール 大日本製薬  
 フローセン 武田製薬  
 ケタラール 三共  
 酸素ガス 日本酸素  
 気化器 FLUOTEC 3 CYPRANE

## (2) シリンジ・注射針・チューブ

シリンジ 1 ml テルモ  
 シリンジ 5 ml テルモ  
 シリンジ 10 ml テルモ  
 シリンジ 20 ml テルモ  
 注射針 18 Gx 1.1/2" テルモ  
 注射針 20 Gx 1.1/2" テルモ  
 翼状針 23 Gx 5/8" テルモ  
 動脈用チューブ SP 70 夏目製作所  
 静脈用チューブ SP 61 夏目製作所  
 気管用チューブ(内径 4.0 mm, 外径 6.0 mm)  
 灌流用チューブ(内径 4.0 mm, 外径 5.0 mm)  
 人工気胸用チューブ(内径 6.0 mm, 外径 8.0 mm)

## (3) 機器

防振台  
 頭部固定装置 RA-5 成茂科学  
 人工呼吸器 661 Harvard  
 血圧用トランスデューサー MPU-0.5 日本光電  
 低圧用トランスデューサー LPU-0.1 日本光電  
 キャリアーアンプ AP 621 G 日本光電  
 前置増幅器  
 主増幅器  
 シリンジポンプ STC-521 テルモ

## (4) 薬物

ウレタン 和光純薬  
 NaCl 和光純薬

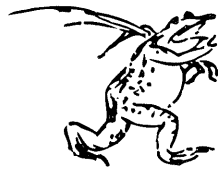
## Ⅶ おわりに

ウサギの手術に関する参考書として、もっとも薦めるのが鈴木潔著の「初心者のための動物実験手技 II—ウサギ・モルモット—」である。この書籍は動物の実験の準備から、飼育管理、麻酔、殺処分、採尿、簡単な解剖、手術、各種試験法と体系的にまとめられている。操作、手順の説明には白黒であるが写真が使用されており、とてもわかりやすい。この書籍は三巻からなり講談社から発行されている。ラットについての第1巻は入手可で獣医系教育現場で教科書として使用されている。しかし、第2巻、3巻は1995年に絶版となり、1999年5月現在で入手不可である。ウサギの手術に関する書籍が少ない現在ではとても残念なことである。今後、ウサギの電気生理実験への応用が増え、ウサギに関する実験書が復刊あるいはあらたに発刊されることを切に願う。

## 文 献

1. Ito, M., Highstein, S. M. and Fukuda, J.: Cerebellar inhibition of the vestibulo-ocular reflex in rabbit and cat and its blockage by picrotoxin. *Brain Res.*, **17**: 524-526, 1970
2. Terui, N., Saeki, Y., & Kumada, M.: Barosensory neurons in the ventrolateral medulla in rabbits and their responses to various afferent inputs from peripheral and central sources. *Jpn. J. Physiol.*, **36**: 1141-1164, 1986
3. Dampney, R. A. L., & Moon, E. A.: Role of ventrolateral medulla in vasomotor response to cerebral ischemia. *Am. J. Physiol.*, **239**: H 349-H 358, 1980
4. 田嶋嘉雄(監修): 実験動物の生物学的特性データ, ソフトサイエンス社, 1989
5. 田嶋嘉雄(監修): 実験動物学, pp 284-298, 朝倉書店, 1991

6. Westhues, M., Fritch, R. : 「動物の麻酔」第二巻 全身麻酔(宮川知典訳), 学窓社, 1968
7. Flecknell, P. : ラボラトリーアニマルの麻酔 : げっ歯類・犬・猫・大動物(倉林讓監修), 学窓社, 1998
8. Sawyer, C. H., Evertt, J. W. and Green, J. D. : The rabbit diencephalon in stereotaxic coordinates. *J. Comp. Neurol.*, **101** : 801-824, 1954
9. Dorward, P. K., Burke, S. L., Jänig, W., & Cassell, J. : Reflex responses to baroreceptor, chemoreceptor and nociceptor inputs in single renal sympathetic neurones in the rabbit and the effects of anaesthesia on them. *J. Auton. Nerv. Syst.*, **18** : 39-54, 1987
10. Shek, J. W., Wen, G. Y., Wisniewski, H. M. : Atlas of the rabbit brain and spinal cord. Karger, Staten Island, N. Y., ISBN 3-8055-3814-6, 1986
11. Barone, P., Pavaux, C., Blin, P. C., Cuq, P. (共著) : 兎の解剖図譜(望月公子訳), 学窓社, 1977
12. 川道武男 : 兎がはねてきた道, 紀伊国屋書店, 1994
13. 鈴木 潔(編) : 初心者のための動物実験手技II -ウサギ・モルモット-, 講談社, 1983



## 第32回 東北生理談話会

会 期：平成11年10月9日(土)～10日(日)

場 所：艮陵(ごんりょう)会館 記念ホール

当番幹事：東北大学大学院医学系研究科生体情報学分野 八尾 寛

参 加 者：52名

生理学会大会のような大きな学会では、専門分野以外の演題に接する機会が少ない。ポスターセッションも数が多くなり、専門分野をカバーすることすらも困難になってきた。このような「発表のための学会」には失われた「教養のための学会」としての機能が地方会には求められよう。今回は、各演題に先立って3分程度のショートレビューを行うことにより、お互いの研究の道筋がわかり、活発な討論が行われた。生理学の全体像を把握する良い機会になり、大きな学会にない耳学問の楽しさを味わうことができた。(発表演題20題)

### 1. チロシンキナーゼ活性化からみたアンジオテンシンⅡおよびエンドセリン-1の血管収縮機序の相違

田崎勝成, 石幡 明\*, 片野由美(山形大, 医, 基礎看護薬理, \*山形大, 医, 第一生理)

アンジオテンシンⅡ(AⅡ)はチロシンキナーゼを介してMAPキナーゼを活性化し、細胞増殖を惹起することが知られている。ところで最近、牛の頸動脈ではセロトニンやエンドセリン-1(ET-1)による血管収縮にチロシンキナーゼが関与しているという報告がなされている。そこで本研究では、AⅡとET-1の血管収縮におけるチロシンキナーゼとMAPキナーゼの関与を明かにするためにラット胸部大動脈平滑筋を用いて検討した。実験には雄性Fischer 344ラットを用い、血管内皮を除去した摘出血管条片をorgan bathに懸垂し、その等尺性張力を測定した。ET-1の血管収縮反応は、MEK1阻害薬(PD 98059)およびチロシンキナーゼ阻害薬(genistein)の前投与によって抑制されなかった。一方、AⅡの血管収縮反応は、PD 98059およびgenisteinの不活性型アナログであるdaidzeinにより影響されなかったが、高濃度 $K^+$ による血管収縮を抑制しない濃度のgenisteinによって有意に抑制された。以上の結果よりAⅡによる血管収縮反応は、ET-1による血管収縮と比較してチロシンキナーゼ依存性であることが示唆された。

### 2. 細胞内酸素センシング機構活性化は遺伝子レベルで心筋の低酸素耐性を増強する

遠藤洋志, 高橋英嗣, 土居勝彦(山形大, 医, 第一生理)

低酸素に対するエリスロポエチン産生応答の研究か

ら、細胞内酸素センサーの存在が明らかとなってきた。細胞が低酸素環境に暴露されると、ヘム蛋白からなる細胞内酸素センサーが転写因子であるHIF-1を活性化させることで、低酸素適応に関連する種々の遺伝子発現を誘導すると考えられている(酸素センシング機構)。また細胞内酸素センサーは、低酸素のみならず $Co^{2+}$ によっても活性化されることが知られている。SDラットに低濃度の $CoCl_2$ を6週間経口投与すると、ヘマトクリットが対照群の $45 \pm 1\%$ に対し $51 \pm 3\%$ と有意に増加し、細胞内酸素センサーの活性化が示唆された。この時、ラット摘出心のランゲンドルフ標本では、 $Co^{2+}$ 群の低酸素灌流および再酸素化時の心仕事量および冠灌流量が対照群より高値を示し、一方、拡張末期圧は低値を示した。RT-PCRでは、 $Co^{2+}$ 投与2週間以内に心筋中のVEGF、Glut-1およびアルドラーゼのmRNA発現誘導を認めた。よって、 $Co^{2+}$ 群に見られた心臓の低酸素耐性は、 $Co^{2+}$ が細胞内酸素センシング機構を活性化し、低酸素適応に有利な遺伝子を誘導したことによると結論できる。

### 3. 微小重力下の循環調節に関する研究 —航空機を用いた実験例の紹介—

清水 強<sup>1</sup>, 永山忠徳<sup>1</sup>, 山崎将生<sup>1</sup>, 和気秀文<sup>1</sup>, 勝田新一郎<sup>1</sup>, 片平清昭<sup>2</sup>, 菅野隆浩<sup>3</sup>, 松本茂二<sup>4</sup>, 金子みち代<sup>5</sup>, 長岡俊治<sup>6</sup>(福島県立医大, 医, <sup>1</sup>第一生理, <sup>2</sup>実験動物研究施設, <sup>3</sup>弘前大, 医, 第一生理, <sup>4</sup>日本歯大, 生理, <sup>5</sup>東京家政学院短大, 人間科学, <sup>6</sup>藤田保健大, 衛, 生理)

地球圏内で微小重力状態を作る方法には、落下塔や気球を使つての自由落下, 航空機による放物線様飛行,

ロケットによる弾道飛行などがある。我々は放物線様飛行による20秒間の微小重力催起時に動物の循環動態等の測定を試みてきた。ウサギとラットを用い、有線またはテレメトリーにより麻酔下或いは覚醒自由行動下で、総頸動脈、腹大動脈、大腿動脈等の血流量や血圧を測定し、脈拍数の測定と大動脈神経の活動導出や呼吸運動の記録を試みた。その結果、微小重力になると、麻酔下では心臓より上方の総頸動脈の流量と血圧は明らかに増加し、心臓より下方の腹大動脈と大腿動脈の圧は低下した。大腿動脈流量は多くの場合は増加し、覚醒時のラット腹大動脈圧は上昇した後低下するか、時には僅か上昇したままであった。神経活動はテレメトリーにより麻酔下及び覚醒時にラット大動脈神経で記録し得た。また、腎神経活動記録の準備もしてきた。以上の如く、循環動態や神経活動記録は有線及びテレメトリーの両方法を用いて航空機内でも記録し得る。宇宙ステーションでも応用できる段階へきた。

#### 4. 培養近位尿管細胞膜に存在する ATP 依存性 $K^+$ チャネルの蛋白脱リン酸化による不活性化

平野順子, 中村一芳, 吉岡芳親, 中屋重行, 久保川学(岩手医大, 医, 第二生理)

培養オボソサム腎近位尿管細胞膜には ATP 依存性を示す約 90 pS の内向き整流性  $K^+$  チャネルが存在し、このチャネル活性は A キナーゼ(PKA)および cGMP 依存性キナーゼによる蛋白リン酸化で上昇し、C キナーゼによる蛋白リン酸化で低下する。今回、このチャネル活性に対する蛋白脱リン酸化酵素の影響についてパッチクランプ法を用いて調べた。Cell-attached patch にてこのチャネル活性は脱リン酸化酵素 1 型(PP-1)および 2A 型(PP-2A)の阻害剤である okadaic acid(OA, 1  $\mu$ M)を投与すると著明に上昇し、PKA 阻害剤である KT5720 (200 nM) 存在下では OA の効果は抑制された。また、ATP (3 mM) 存在下の inside-out patch においても OA (1  $\mu$ M) はチャネルを活性化し、逆に PP-1 (1 U/ml) および PP-2A (1 U/ml) の投与はチャネルを不活性化させた。この PP-1 および PP-2A によるチャネルの不活性化は PKA (20 nM) でチャネルを活性化させた状態でも認められた。以上より、PP-1 あるいは PP-2A によるチャネルの不活性化は PKA 依存性蛋白リン酸化を脱リン酸化した結果であると考えられた。

#### 5. マウス卵の加齢と細胞内カルシウム制御機構

松田秀雄<sup>1</sup>, 高橋俊文<sup>1</sup>, 高橋英嗣<sup>2</sup>, 土居勝彦<sup>2</sup>(山形大, 医, <sup>1</sup>産婦人科, <sup>2</sup>第一生理)

哺乳動物卵細胞は、排卵後卵管内で遅延なく受精が成立する。卵細胞の受精時にみられる細胞内  $Ca^{2+}$  濃度の周期的変動は  $Ca^{2+}$  oscillation と呼ばれ、卵の活性化、細胞周期の進行、その後の胚発育と深く関与していることが知られている。我々は卵管内における卵の加齢により受精時の  $Ca^{2+}$  oscillation が変化し、それは caged  $Ca^{2+}$  (Nitr-5) を用いた実験により、小胞体膜  $Ca^{2+}$ -ATPase の機能低下が主要因であることを報告してきた(Mol. Reprod. Dev. 1997. 48: 383-390)。また、卵の加齢により、小胞体からの  $Ca^{2+}$  放出機構の一つである inositol 1,4,5-triphosphate (IP3) induced  $Ca^{2+}$  release (IICR) が変化することを caged IP 3 を用い明らかにした。さらに thapsigargin を用いた実験により、この IICR の変化は、小胞体  $Ca^{2+}$  ストアの減少に起因していると考えられた。我々は、この卵の加齢に伴う細胞内  $Ca^{2+}$  制御機構の変化が、卵の加齢による細胞内 ATP 量の減少と関係すると考え、現在卵における  $Ca^{2+}$  制御機構とエネルギー代謝の面から検討を加えている。

#### 6. CIC-2 チャネルの細胞容積調節作用と卵分割への関与の検討

古川哲史<sup>1</sup>, 稲垣暢也<sup>1</sup>, 片山芳文<sup>2</sup>, 平岡昌和<sup>2</sup>(秋田大学医学部生理学第一, <sup>2</sup>東京医科歯科大学難治疾患研究所)

【目的】 細胞伸展活性化  $Cl^-$  チャネル CIC-2 の浸透圧変化時の細胞容積調節機構、および卵分割時の容積変化に果たす役割を検討した。

【方法】 (1) 卵母細胞における CIC-2 の発現電流と卵母細胞の直径を同時にモニターし、浸透圧変化に対する反応を比較した。(2) CIC-2 電流に対するプロゲステロン、cyclin-dependent kinase (cdk) 阻害剤の作用を検討した。

【結果】 (1) 細胞外液の浸透圧を 1/2 に減少させると卵母細胞の直径は 9.0% 増大したが CIC-2 を発現させた細胞では 5.3% の増大にとどまった ( $p < 0.01$ )。

(2) ステージ VI 卵母細胞をプロゲステロン 10  $\mu$ M で処理し卵分割を進行せしめると CIC-2 電流は 25% 減少した。CIC-2 の C 端に cdk によるリン酸化の consensus sequence があることから cdk 阻害剤を投与すると CIC-2 電流は増大し、同効果は cyclosporin A 1

$\mu\text{M}$  前処理により抑制された。

**【結論】** CIC-2 チャネルは細胞容積調節作用を有し、同作用の生理的意義の一つとして卵分割時の細胞容積変化に関与する可能性が示唆される。

### 7. ムスカリン性 $\text{Ca}^{2+}$ 応答からの cyclic ADP-ribose 成分の分離—CD38欠損マウス膵腺房細胞を用いて—

福土靖江(東北大(院), 医, 細胞生理)

CD38 と ADP-ribosyl cyclase の DNA 配列は互いに高い相同性を持つので、CD38 欠損マウスでは cyclic ADP-ribose (cADPR) の発現は少ないと期待される。cADPR の生理的役割を見る為に、CD38 欠損マウス膵腺房細胞を用い、顕微蛍光測光法にて ACh による Ca 応答を検討した。野生型では CD38 の発現が見られ cADPR が検出されたが、CD38 欠損型では CD38 の発現は見られず、cADPR 量は殆ど無いことを確認した。野生型には、400 nM を転換点として ACh の低濃度 (10–400 nM) と高濃度 (400–20,000 nM) 領域に 2 種の CD38 依存性 Ca 応答成分が存在した。欠損型ではこの両成分が欠除していた。Ca 応答の閾値は野生型と欠損型で差は見られなかったが (10 nM)、欠損型では低濃度 Ca 応答 (Ca oscillation) が著しく減弱していた。高濃度 Ca 応答 (phasic response) については、その減弱の程度は少なかった。次に ryanodine を野生型細胞に投与したとき、欠損型 Ca 応答を再現しうるか否かを検討した。その結果、ryanodine 投与は欠損型の低濃度 Ca 応答を再現しうるということがわかった。以上の結果から、ムスカリン性 Ca 応答には 2 種の cADPR 感受性成分があり、その 1 つは Ca oscillation 生成に必須であることが示唆された。

### 8. 膵 $\beta$ 細胞における GLP-1 の脱分極機構

泉井 亮, 菅 世智子, 武尾照子, 神村典孝(弘前大, 医, 第一生理)

Glucagon-like peptide 1 (GLP-1) は cAMP を second messenger として機能するホルモンであり、膵  $\beta$  細胞のインスリン生成、分泌を促進する。一方、GLP-1 応答性インスリン分泌においては、カルシウム流入による細胞内カルシウム濃度の上昇がその大きな要因であり、この現象と cAMP との関連性が検討されてきた。GLP-1 で膵  $\beta$  細胞を刺激すると脱分極が発生する。このイオン機構を whole-cell patch-clamp 法で検討すると、GLP-1 が ATP-sensitive  $\text{K}^+$  channel

( $\text{K}_{\text{ATP}}$  channel) の活性を低下することが判明した。この効果は G タンパクや protein kinase A (PKA) を阻害しても認められ、また、cAMP の投与では再現できなかった。Inside-out 法を用いた ATP による  $\text{K}_{\text{ATP}}$  channel の抑制実験から、20 nM GLP-1 が電極内に存在すると、 $k_i$  値が 11.6 から 5.6  $\mu\text{M}$  に低下することが明らかになった。GLP-1 受容体が活性化すると  $\text{K}_{\text{ATP}}$  channel の ATP に対する感受性が促進して channel 活性が低下し、脱分極が発生すると考えられる。また、この機構には cAMP/PKA は関与せず、膜分子による  $\text{K}_{\text{ATP}}$  channel 調節機構が関与していることが推測される。

### 9. Quisqualic acid 投与で発生する $\text{K}^+$ 電流応答に対する脱リン酸化酵素による促進作用

○木村真吾<sup>1</sup>, 川崎 敏<sup>1</sup>, 藤田玲子<sup>2</sup>, 高島浩一郎<sup>1</sup>, 佐々木和彦<sup>1</sup> (1岩手医大, 医, 第一生理, <sup>2</sup>岩手医大, 教養, 化学)

*Aplysia* の口球神経節細胞に quisqualic acid (QA) を投与すると G-蛋白の活性化を介せずによりゆるやかにした  $\text{K}^+$  電流応答が発生する。この応答はそれぞれ  $\text{Ca}^{2+}$ /calmodulin (CaM), protein kinase, CaM kinase に対する inhibitor の W-7, H-7, KN-93 の投与後、何れの場合も著しく増大した。また、protein phosphatase (PP) 様作用を持つ 2,3-butanedione monoxime (BDM) の前投与でも増大した。一方、PP inhibitor の calyculin A 投与では、わずかに抑制された。更に、calyculin A 注入後は、同じ細胞の QA 応答に対する W-7 による増強作用が完全に消失した。また QA 応答は、PP1 または PP2B の細胞内注入で影響を受けなかったが、PP2A の注入によって著しく増大した。以上の結果から、QA 投与による  $\text{K}^+$  電流応答の発生に対して PP2A は促進的に、一方、CaM kinase は抑制的に作用していることが示唆された。

### 10. 脳血管平滑筋の Serotonin (5HT) による収縮の発生における Rho kinase の関与

西川泰正<sup>1,2</sup>, 渡辺美喜雄<sup>2</sup>, 土肥 守<sup>2</sup>, 小川 彰<sup>2</sup>, 佐々木和彦<sup>1</sup> (岩手医大, 医, <sup>1</sup>第一生理, <sup>2</sup>脳神経外科)

摘出したウシ中大脳動脈からリング状標本を作製し、タイロード液で灌流した。これに Serotonin (5HT) 投与した時に発生する等尺性収縮を指標として脳血管収縮における Rho kinase の関与について検討した。同標本に 5HT 又は high  $\text{K}^+$  (40 mM  $\text{K}^+$ ) 溶液を投与

すると時間経過の早い収縮が可逆的に発生する。Calmodulin inhibitor の W-7 を前投与すると 5HT 収縮, high  $K^+$  収縮の両者とも抑制された。一方, PKC inhibitor の Calphostin C 投与では 5HT 収縮は全く抑制されなかった。また, Rho kinase inhibitor の Y27632, HA1077 は 5HT 収縮を著しく抑制した。以上の結果から 5HT 収縮の発生と増強に Rho kinase が介在していることが示唆された。

#### 11. アメフラシ神経節細胞のイオノトロピック受容体応答に対するプロゲステロンの選択的抑制効果

高島浩一郎, 川崎 敏, 木村眞吾, 藤田玲子\*, 佐々木和彦(岩手医大, 医, 第一生理, \*教養, 化学)

ステロイドホルモンが, 細胞膜表面にある神経伝達物質などの受容体に対して, 遺伝子発現を介さないで作用して modulation 効果を示すことがいくつか報告されている。今回我々は, 種々の神経伝達物質の受容体を持つ Aplysia 神経節細胞を用いて, 各種受容体応答に対してプロゲステロンを 5 分間前投与した効果を膜電位固定法を用いて比較検討した。その結果, ニコチン性受容体が刺激されて  $Na^+$  電流が流れる応答と, 別の種類のニコチン性受容体が刺激されて  $Cl^-$  電流が流れる応答, 更に,  $GABA_A$  受容体が刺激されて  $Cl^-$  電流が流れる応答は, プロゲステロンの前投与により抑制された。しかし, 共に G 蛋白を介する応答である, ムスカリン性受容体が刺激されて  $K^+$  電流が流れる応答とドーパミン受容体が刺激されて  $K^+$  電流が流れる応答とは抑制されなかった。従って, これまで調べた限りでは, プロゲステロンはイオノトロピック応答のみを選択的に抑制した。

#### 12. 単一シナプスにおける NMDA 型と AMPA/KA 型グルタミン酸受容体の分布とシナプス伝達

梅宮正志, 千田麻里子(東北大(院), 医, 生体情報)

神経細胞間の早いシグナル伝達はイオンチャンネル直結型の AMPA/KA 型および NMDA 型グルタミン酸受容体により伝達されている。単一シナプスにおけるそれぞれのサブタイプの機能的分布を検討するために培養大脳皮質神経細胞を用いカルシウムイメージング法とパッチクランプ法の同時記録により部位を確認した単一シナプスからの微小シナプス電流(mEPSC)を記録した。TTX で細胞の興奮を抑え, 細胞外  $Mg^{2+}$  フリーの条件下で自発的伝達物質放出に伴うシナプス後電流を記録したところ, mEPSC は早い成分

と遅い成分の 2 成分に分けることができた。時間経過と薬理的性質から早い成分は AMPA/KA 型受容体を介した成分で, 遅い成分は NMDA 型受容体を介したシナプス反応であることが確認できた。個々の単一シナプスにおける mEPSC ごとの APMA/KA 型受容体成分と NMDA 型受容体成分の大きさを比較したところ両者の間には正の相関が見られた。この相関は 1 個のシナプス小胞からグルタミン酸によってはどちらの受容体も飽和しておらず, 伝達物質の放出量がシナプス後反応を制御していることを示唆する。さらにシナプス間の NMDA 型受容体と AMPA/KA 型受容体の分布を比較したところ有意な正の相関が見られた。この結果より何らかの機構によりシナプスにおける受容体の分布は調節を受けており, 個々の受容体の分布は比較的一定の範囲に保たれていることがわかった。

#### 13. カエル舌咽神経の塩応答: 疎水性蛍光物質の増強効果

北田泰之, 奥田・赤羽和久(岩手医科大, 歯, 口腔生理)

塩味刺激は味細胞のどこに(先端受容膜, 基底外側膜)作用して味細胞を興奮させるのか問題になっている。カエル舌咽神経の塩応答は疎水性蛍光物質の 1-anilino-naphthalene-8-sulfonate (ANS) 舌表面処理により増強されるとの報告があるので ANS を使い塩刺激の作用部位を明らかにしようとした。ウレタン麻酔のウシガエル舌咽神経束の塩応答において 1 mM ANS の舌表面処理後,  $NaCl$  の閾値 100 mM は 20 mM にまで減少した。しかし, ANS の効果は 2 分以内で消失した。ANS 処理は  $KCl$  の閾値を減少させたが  $NH_4Cl$  と  $CaCl_2$  の閾値を変えなかった。また amiloride はラット鼓索神経の  $Na$  応答を抑制する薬物として知られているがカエルにおいて ANS によって増強された  $Na$  応答は amiloride 非感受性であった。ANS の効果が短時間で消失すること, ANS の効果は刺激塩の種類により大きく異なること, また大きな分子の ANS は味細胞間のタイトジャンクションを通れないと思われることから ANS は基底外側膜や味細胞の内部から作用したのではなく先端受容膜に作用して塩応答を増強したものと思われる。従って, カエル味細胞の先端受容膜には amiloride 非感受性  $Na^+$  受容体が存在するものと推察した。

#### 14. PACAP の新生ラット副交感神経節前ニューロンに及ぼす影響

三浦 章, W.C.de Groat\*, 河谷正仁(秋田大, 医, 生理学第二)・\*ピッツバーグ大, 医, 薬理)

Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP) 陽性線維終末が新生ラットの排尿中枢である副交感神経節前ニューロン(PGN)領域で同定された。この PACAP 陽性線維の生理機能を fast blue で標識した PGN の電気生理学的特徴の変化を新生ラット脊髄薄切スライス標本とパッチクランプ法を用いて検討した。PACAP (20 nM) 投与により, phasic PGN と tonic PGN の活動電位発火閾値がそれぞれ  $-34.0$  mV から  $-38.4$  mV へ (phasic PGN),  $-35.2$  mV から  $-39.6$  mV へと (tonic PGN), 有意に低下した。両 PGN の自発性活動電位の頻度も増加した。また, phasic PGN の放電様式が持続性放電に変化し, tonic PGN の発火頻度が 109~120% まで有意に増加した。さらに, PACAP による 4-アミノピリジンで抑制される一過性の外向き電流の抑制が PACAP で認められた。以上より, PACAP は新生ラットの腰仙髄副交感神経反射経路において興奮性に作用している可能性が示唆された。

#### 15. 三叉神経節刺激による口唇血管拡張反応の機序について

伊達 久, 和泉博之, 刈田啓史郎(東北大, 歯, 口腔機能解析)

【目的】 人間において三叉神経節の電気刺激により顔面の紅潮が見られることが広く知られている。しかし, その機序については不明点が多い。今回我々は, ウレタン-クロラロース麻酔下ネコにおける三叉神経節の電気刺激による口唇血管拡張反応を用いてその機序について検討してみた。

【方法】 ウレタン-クロラロース麻酔下のネコ(調節呼吸下)を脳固定装置を用いて小開頭下に三叉神経節に双極電極針を刺入した。下口唇の血流の変化をレーザードップラー血流計で測定した。また, 舌神経にも刺激電極を付け同様に測定した。

【結果・考察】 ネコに脳固定装置の Ear Bars を挿入すると舌神経刺激による口唇反応に変化が見られないタイプ(Type A)と反応が減弱するタイプ(Type B)に分かれた。三叉神経節を電気刺激した場合両タイプとも口唇の血流増加反応が見られるが, これに自律神経節遮断薬(Hexamethonium 10mg/kg)を投与すると,

Type A の場合は反応が消失した。また, Type B では反応は減弱するものの約 50% 程度保たれた。このことにより, Type A の場合はこの反応のほとんどが反射によるものと考えられ, また, Type B の場合は反射によるものと逆伝導性によるものの両者の混じた状態と考えられた。

#### 16. ラットにおける体性-副交感神経反射の存在について

水田健太郎, 和泉博之, 刈田啓史郎(東北大, 歯, 口腔機能解析)

【目的】 唾液分泌は一般には舌, 口腔からの味覚, 機械的刺激で血管拡張反応と共に反射性に起こる。しかしながらこれまで麻酔動物では両反応とも起こらないと報告されてきた。近年我々は麻酔(ウレタン-クロラロース)下ネコ顎下腺において反射性唾液分泌, 血管拡張反応が起こることを報告した。本研究では麻酔下ラットで反射性血管拡張反応が起るかどうかを検討し, さらにその機序について検討した。

【方法】 実験には, ウレタン麻酔, 人工呼吸下のラットを用いた。舌神経に中枢性の電気刺激を与え求心性刺激とし, そのときの顎下腺の血流変化をレーザードップラー血流計にて測定した。

【結果・考察】 duct を chorda-lingual nerve との分岐部付近で切断しても舌神経刺激による顎下腺の血流増加反応が見られた。しかし, chorda-lingual nerve を duct との分岐部付近で切断するとこの反応は見られなくなった。また Hexamethonium (10 mg/kg) 投与によりこの反応は強く抑制された。故に, この反応は中枢を介した体性-副交感神経反射であることが確認された。また, ネコとは異なり, Atropine (0.1 mg/kg) 投与によりこの反応は強く抑制された。よってこの反応に対するムスカリン受容体の関与が示唆された。

#### 17. ガングリオシドによる長期増強(LTP)の促進

五十嵐浩太郎, 藤井聡, 金子健也, 伊藤憲一, 加藤宏司(山形大学, 医, 第二生理)

海馬薄切片を作成し, CA1ニューロンに高頻度(100 Hz)の電気刺激(テタヌス刺激)を与えるとシナプスの長期増強(long-term potentiation, LTP)が誘導される。多くの物質がこの LTP に対して修飾効果があることが知られている。ガングリオシドも修飾物質の候補であるが, 異論もある。そこで, ガングリオシドの LTP に対する効果を以下の 4 つの方法で検討した。1)

ガングリオシド(GM1, GQ1b)を10~15分還流液に入れ、LTPの大きさを検討する。2)ガングリオシドの入った溶液に2時間以上インキュベーションした標本で検討する。3)  $\beta$ -1,4GalNAc transferase(GM2/GD2 synthase)transgenic mice で検討する。4)ガングリオシド合成酵素活性を抑制あるいは促進する合成剤(D-あるいはL-PDMP)を6日間腹腔注射したマウスのLTPを比較検討する。これらによる実験の結果から、ガングリオシドには海馬CA1ニューロンのLTPに促進効果があると結論した。

#### 18. 経路選択課題遂行に関するヒト大脳皮質運動関連領域のfMRI信号へのゴール反転条件の影響

虫明 元<sup>1,2</sup>, 丹治 順<sup>1</sup>(1東北大(院), 医, 生体システム生理, 2科学技術振興事業団)

問題解決行動の際のヒトの脳活動を調べる目的で、迷路課題を課して其の遂行中の大脳皮質を機能的磁気共鳴画像法fMRIにより調べた。課題は、右手又は左手の指で4つのスイッチを操作して、スクリーン上のカーソルを動かしてスタート地点からゴールへと導く事である。活動部位としては、前頭前野、運動関連領域、頭頂連合野に有意な活動焦点が見いだされた。特に運動関連領域に関しては、複数の課題関連部位が活動した。そこで、課題を操作する手が右手か左手かという条件、またゴールを空間的に反転させて解答させる反転条件が特に運動関連領域の活動に与える影響を調べたので報告する。

#### 19. サル上丘へのニコチン微量注入はサッカード課題反応時間を短縮する

相澤 寛<sup>1,2</sup>, 小林 康<sup>2</sup>, 山本 優<sup>2</sup>, 伊佐 正<sup>2</sup>(1弘前大, 医, 第二生理, 2生理学研究所, 統合生理)

哺乳類上丘の中間層・深層に密に存在するアセチルコリン作動性入力機能は未だ明らかにされていない。我々は、この入力浅層から中間層・深層に至る上丘内神経回路での信号伝達を促進してサッカード生成に要する反応時間に大きな影響を与えているとの仮説を立て、覚醒ニホンザル3頭の上丘中間層にニコチンの微量注入(1~20 mM, 1.0~2.0  $\mu$ l at 0.2  $\mu$ l/min)を行ってサッカード課題遂行に対する影響を調べた。

ニコチン注入後、1)注入部位が上丘マップ上で再現するサッカードについて、より短潜時のサッカード、特に express saccade の見られる頻度が増加すること、2)サッカードの振幅及び最大速度-振幅特性に変化がないこと、3)注視点の消灯後指標の提示まで数百ミリ秒の gap を導入すると反応時間が短縮するという gap 効果に対してさらに相加的に作用することを観察した。これはアセチルコリン作動性入力 gap 効果とは異なる機構によってサルの上丘中間層細胞に局所的に作用し、運動の動的パラメータを変えずに反応時間を制御しようという仮説を支持するものである。

#### 20. 排尿系と睡眠・覚醒系とのクロストーク

山尾 裕<sup>1,2</sup>, 小山純正<sup>1</sup>, 今田直樹<sup>2</sup>, 香山雪彦<sup>1</sup>(1福島県立医大, 医, 第二生理, 2京都府立医大, 泌尿器)

膀胱に尿が溜まって膀胱内圧が高くなることは覚醒レベルを上げる刺激となる。しかし、一方で、睡眠時にはより多くの尿が溜められる。このように、排尿・蓄尿系と睡眠・覚醒系は密接な関係にあると考えられる。排尿機能の調節に関係するパーリントン核は、睡眠・覚醒の調節に関わるノルアドレナリン作動性の青斑核とアセチルコリン作動性の外背側被蓋核の双方に隣接するかたちで存在することが知られており、この点からもこの2つの系の相互作用に興味を持たれるが、この点を追求した研究はほとんどない。われわれは、ウレタン麻酔下のラットを用い、橋のこれらの神経核を電気刺激あるいは興奮性アミノ酸によって化学刺激した時の排尿系におよぼす影響や、逆に膀胱の自発収縮時や伸展時のこれらの部位の神経活動を調べてきた。その結果、

- 1) 排尿系は、脳幹の覚醒系に働きかけ、覚醒を引き起こす。
- 2) 膀胱の活動性は、睡眠・覚醒系から強い影響を受けている。
- 3) ラットの脳幹には、膀胱収縮を引き起こす部位のごく近傍に、外尿道括約筋を興奮させる部位が存在する。

などの結果を得ることができたので、それらを総合的にながめて報告する。

## 第46回 中部日本生理学会

会 期：平成11年10月15日(金)～16日(土)

会 場：名古屋市立大学

当番幹事：名古屋市立大学医学部 鈴木 光, 西野 仁雄

参加者：130名

### 第46回中部日本生理学会報告

参加者：130名, 演題53(講演36題, ポスター17題), 懇親会80名

今回の地方会は若手研究者の歓迎と, 他分野の生理学者との交流促進を狙い,

1. 口演時間を15分にし, 長い introduction を加える
2. 発表者が座長を勤める
3. 総会に討論会を組み入れる

などの工夫をした。

### 第47回中部生理学会について

金沢医科大学生理学教室(小野田, 今西, 両教授担当)を満場一致で推薦

#### 1. 加圧による水平半規管膨大部頂(クブラ)の反応

服部輝昭<sup>1</sup>, 渡邊暢浩<sup>1</sup>, 松田太志<sup>1</sup>, 時々輪浩穂<sup>2</sup>, 水野義雄<sup>3</sup>, 羽柴基之<sup>4</sup>, 渡邊 悟<sup>5</sup>(<sup>1</sup>名古屋市大・耳鼻咽喉科, <sup>2</sup>愛知県立看護大, <sup>3</sup>大同工大, <sup>4</sup>名古屋赤十字病院耳鼻科, <sup>5</sup>大同産業医学研究所)

半規管膨大部頂(クブラ)の構造が swing door 様であるか, drum membrane 様であるかは明確にされていない。今回, 半規管内に加圧しその圧変化を測定することにより, クブラの機能解剖を推察した。

ハトにケタラール(150 mg/kg 体重)筋注し, 水平半規管が水平となるように固定した。次いで, 皮膚切開, 側頭骨削開し, 水平半規管及びその膨大部を露出した。膜半規管に小孔をあけ, 外径 98  $\mu$ m のマイクロシリンジの針を小孔に挿入した。マイクロシリンジと針の間に圧トランスデューサーを接続した。注入する液体にはエバンスブルー染色液を使用。マイクロマニピュレータで徐々にエバンスブルー染色液を注入しているとき, 半規管及び膨大部に確実に注入されていることを確認すると同時に, 内圧の変化を圧トランスデューサーから生体電気用アンプを介してコンピュータに記録した。圧測定及び染色液の通過の様様には2通りあり, Dohliman のデータに類似しクブラの破碎には 100 mmHg 付近の高い圧力を必要とする群と 20 mmHg 前後の低い圧力の群があった最大圧力と加圧速度には一定の傾向は認められなかった。

#### 2. ヒトチロシン水酸化酵素1型の活性調節部位の解析

中島 昭, 森 啓至, 金子葉子, 太田 明(藤田保健衛生大学・医学部・第一生理)

カテコールアミン生合成系律速酵素であるチロシン水酸化酵素(TH)は補酵素 6 R-tetrahydrobiopterin (6 RBPH<sub>4</sub>)存在下, L-tyrosine から L-DOPA への変換を触媒し, その酵素活性は生合成されたカテコールアミンによるフィードバック抑制により制御されている。この抑制に影響を及ぼしている TH のN端部分の特異的部位を特定するため, ヒト TH(1型)の wild-type 並びに35, 38, 44個のアミノ酸を欠失したN端欠損変異体(del-35, del-38, del-44)をマルトース結合蛋白質融合体として大腸菌に発現・精製後, ドーパミンによる酵素活性抑制作用を検討した。

ドーパミンによる酵素活性の抑制は wild-type と del-35 に比し del-38 と del-44 で有意に低下していた。N 端欠損変異体とドーパミンをインキュベートして結合させた後 6RBPH<sub>4</sub> を添加すると, ドーパミンの解離が観察されたが, その解離量は del-35 に比し del-38 で高値を示した。

N端部分の Gly<sup>36</sup>-Arg<sup>37</sup>-Arg<sup>38</sup> 配列は TH 分子へのドーパミンと 6RBPH<sub>4</sub> の競合的結合に影響を及ぼすことにより, ドーパミンによる酵素活性の抑制に重要な役割を果たしていることが示唆された。

### 3. 足底部局所加温の深部温と皮膚交感神経活動に与える影響について

道上大策, 神谷厚範, FuQi, 岩瀬 敏, 間野忠明(名古屋大学・環境医学研究所・自律神経分野)

「頭寒足熱」という言葉があるように、昔から足を温める有効性は経験的に知られている。今日までにその経験を元に湯たんぽ、床暖房など幅広くその知識が利用されている。この局所を温めた時に、生体にどのような反応が起こるのかは体温調節のレベルでは十分に検討されていない。

そこで本研究は、足底部局所加温の深部温および皮膚交感神経に及ぼす影響について検討を行った。被験者は、健康な成人男性14名、実験は室温27度、湿度40%の人工気候室内で行った。加温部位は左側足底部で、加温時間は60分、最初の10分でヒートパッドを40度まで上昇させ、そのまま維持させた。両側足底部、左下腿外側の皮膚血流量、発汗、皮膚温および深部温としての鼓膜温の測定を行った。皮膚交感神経の活動は加温足底部の皮膚を支配している脛骨神経と下腿外側の有毛部を支配している腓骨神経から行った。

加温中、被験者間で共通していた点は、血流増加に伴う深部温の低下と後半の血流量減少の後(血管収縮成分の活動の賦活化後)の深部温上昇の2点であった。

足底部の加温のみでは、血液の加温効果は得られず、加温中の深部温の低下は、血管収縮神経活動の抑制による血流増加を介したヒートロスが寄与していることが示唆された。この深部温の低下は、後半では、ヒートロスを減らすために血管収縮成分が賦活化されるとともにその賦活化の程度が深部温の上昇に関与していることが示唆された。

### 4. 培養副腎髄質細胞からのエンドセリン誘発性カテコールアミン遊離におけるカルシウム流入経路

李 憲, 土谷 庸, 田中邦彦, 森田啓之(岐阜大学医学部・第一生理学)

副腎髄質からのエンドセリン(ET)によって誘発されるカテコールアミン(CA)遊離におけるカルシウム調節機構を明らかにするために、培養ウシ副腎髄質クロム親和細胞(AMCC)を用いて、nifedipine(L-type 電位依存性  $Ca^{2+}$  チャンネル(VOC)阻害剤)、SK & F96365(非選択的陽イオンチャンネル(NSCC)阻害剤)等のET-1誘発性CA遊離及び細胞内カルシウム濃度( $[Ca^{2+}]_i$ )に対する影響を検討した。ET-1刺激によりAMCCからのCA遊離および $[Ca^{2+}]_i$ は、濃度

依存的に増加した。これらの増加に対して、 $\omega$ -toxinsは全く影響を与えなかったが、nifedipineにては、一部分(対照群の約60%)のみ抑制された。一方、外液  $Ca^{2+}$  非存在下においては、これらの増加は消失した。一方、nifedipine存在下でSK & F96365は、これらの増加を対照群の約40%程度に抑制し、LOE 908は、ほぼ完全に遮断した。これらの結果は、AMCCにおいて、ET-1刺激に反応する3つの異なる  $Ca^{2+}$  流入経路(L-type VOC、SK & F96365感受性 NSCC、及び、SK & F96365抵抗性 NSCC)が存在することを示唆している。

### 5. 網膜神経節細胞の電位感受性 $Na^+$ 電流(一過性型と持続性型)の特性：矩形波及びスパイク形状脱分極刺激後に測定された電流成分とその変化

日高 聡, 宮地栄一(藤田保健衛生大学医学部生理学第二教室)

電位感受性  $Na^+$  電流は活動電位の発生と伝播に深く関わっている。網膜神経節細胞における  $Na^+$  電流の不活性化を調べるために、本研究ではキンギョ網膜から単離された神経節細胞にホールセルパッチクランプ法を用いた2つのタイプの脱分極刺激実験が適用された。初めの実験では、これまでに報告されている  $Na^+$  電流の活性化曲線とHodgkin & Huxleyのsteady-state不活性化曲線から、網膜神経節細胞において  $Na^+$  イオンが“window”電流(Attwell et al., Pflugers Arch., 379: 137-142, 1979)を運ぶ可能性が検討された。網膜神経節細胞は組織中では連続したスパイク列を発生するので、次の実験では、スパイク発生後にどれくらいの  $Na^+$  電流が活性化することが可能であるかが測定された。  $Na^+$  電流は  $-65$  mV よりも正の電位で活性化し、矩形波およびスパイク形状の脱分極刺激を行った所、全く減衰しない成分は残りながら、連続する活性化が可能な  $Na^+$  電流は少なくなった。  $Na^+$  電流の大部分はこの不活性化から早い指数関数で示される時間経過( $t = 3$  ms)に沿って回復した。  $-70$  mV の保持電位では少なくとも4秒以内に不活性化から完全に回復した。本研究の解析で、  $Na^+$  電流のsteady-state不活性化に関するこれまでの測定からは予測されなかった電流成分、持続性  $Na^+$  電流が同定された。スパイク形状の脱分極刺激実験の解析から、最初のスパイク発生後の1ミリ秒における  $Na^+$  電流密度はスパイク形状の脱分極刺激によって活性化される電流密度の約25%であるこ

と、その後10ミリ秒以内に不活性化から50~90%ほどに回復することが明らかになった。電位感受性 $\text{Na}^+$ 電流の振幅は、比較的低い頻度で繰り返されたスパイク列の発生の際に減衰し、この減衰は不活性化から完全に回復するまでの過程に見られる遅い成分に一致した。今回調べた $\text{Na}^+$ 電流の特性から、網膜神経節細胞は数十Hzに及ぶスパイク列応答を生じることが可能であると考えられた。

#### 6. カルバコールによるウシ毛様体平滑筋の非選択性陽イオンチャネル開口過程におけるGTP結合性蛋白の関与

高井佳子・三宅養三、高井 章<sup>1</sup>(名大・医・眼科,  
<sup>1</sup>名大・医・生理)

ウシ毛様体筋においては、 $\text{M}_3$  ムスカリン受容体刺激に伴いある種の非選択性陽イオンチャネル(NSCC)が開口する。その信号伝達経路にGTP結合蛋白が関与する可能性を検討した。ウシ毛様体から酵素処理により平滑筋細胞を単離、全細胞クランプ法で電流を記録した。電極液には100mM- $\text{Cs}^+$ 、200 $\mu\text{M}$ -GTPと5mM-BAPTA(pH7.0;遊離 $\text{Ca}^{2+}$ 、70nM)を含む液を、細胞外灌流にはHEPES-Krebs液(pH7.4)を使用、液温は30℃に保った。保持電位-50mVで灌流液にCCh(2 $\mu\text{M}$ )を加えると内向の電流が発生した。そのノイズ成分の解析により、単位コンダクタンス $40 \pm 5$  pS、平均開口時間 $17 \pm 1$  ms(n=25)のNSCCの存在が予想された。電極液のGTPをGTP $\gamma\text{S}$ で置換すると、記録開始5~10分後、CChなしでも矩形波状の内向き電流の発生をみた。その見かけの単位コンダクタンスと開口時間の平均値は $39 \pm 4$  pSと $18 \pm 1$  ms(n=5)で、上記予想値と符合した。コレラ毒素や百日咳毒素の電極内添加はCChの効果に無影響であった。 $\text{M}_3$ 受容体刺激からNSCC開口に至る過程には、Gs、Gi以外のGTP結合蛋白が関与するらしい。

#### 7. マウス発達期小脳顆粒細胞の電位依存性 $\text{K}^+$ チャネルの発現調節機構

柴崎真志、柴田理一、中平健祐、池中一裕(岡崎国立共同研究機構・生理学研究所・神経情報部門)

我々は小脳顆粒細胞の発生過程において、Kv3.1、Kv4.2、Kv1.1の各 $\text{K}^+$ チャネルが順次発現することを明らかにしたが、その発現調節機構、機能については未解明のままである。そこでこの顆粒細胞の形態的成熟過程に伴うKv4.2の発現がどのような機構で

調節されているのか解析を行った。我々はin vivoを反映した形態変化がみられる小脳microexplant culture用いて、細胞外と細胞内の因子の両面から検討している。細胞外因子の中で、Shhは顆粒細胞を増殖フェーズに保つため、Kv4.2の発現がみられないことが明らかとなった。また、IGF-1、NGF、NT-3、BDNFにより、Kv4.2の発現が増加することが観察され、これらの因子がKv4.2の発現を制御する要因となっていることが示唆された。一方、これらの細胞外因子の下流にKv4.2の発現調節に関わる転写因子のカスケードがあると考えられる。そこでKv4.2の発現時期を指標に小脳顆粒細胞特徴的な転写因子に注目した。その中でBrn-5は、この培養系においてもin vivo同様にKv4.2と同時期に出現した。現在、強制発現系を用い、Kv4.2の発現やA-type電流の変化を検討している。

#### 8. 学習課題遂行中のFSニューロンのバースト発火

海野俊平、加藤啓一郎、三上章允、姜 英男\*、松元まどか、小山哲男、長谷川良平(京都大学・霊長類研究所・行動神経研究部門、\*京都大学・医学部・第一生理)

大脳皮質ニューロンは発火パターン、形態学的、化学的性質などからいくつかのクラスに分類することが可能であり、それぞれが皮質神経回路において固有の機能的役割を担っている可能性が示唆されている。このことは皮質内の情報処理を理解するうえでの神経回路の構造を解明することの重要性を示しているが、同時に動物の実際の情報処理過程を直接調べることも不可欠である。

そこで本研究では、学習課題遂行中のサルから細胞外記録したニューロン活動のバーストの特徴による分類を試みた。その結果、Fast Spiking(FS)ニューロンと類似した発火パターンを示すニューロンが存在し、これらのニューロンはバースト内の平均スパイク間隔が5ms以下、かつ平均スパイク数が5発以上という特徴によって他のニューロン群からの分離が可能であった。このうち課題と関連した活動を示したニューロンでは、単一スパイクは非特異的な活動を示したのに対し、バーストは特定のイベントにのみ関連して現れていた。このことはこの課題の遂行に必要な情報処理過程において、FSニューロンのバーストが単一スパイクとは異なる機能を持つ可能性を示唆して

いる。

### 9. 学習課題遂行中に関連した FRB ニューロン活動のバースト発火

加藤啓一郎<sup>1</sup>、海野俊平<sup>1</sup>、三上章允<sup>1</sup>、姜 英男<sup>2</sup>、小山哲男<sup>1</sup>、松元まどか<sup>1</sup>、長谷川良平<sup>1</sup> (<sup>1</sup>京都大学・霊長類研究所・行動神経部門、<sup>2</sup>京都大学・医学部・第一生理)

学習課題遂行中に前頭葉から細胞外記録したニューロン活動の皮質内局所回路における役割を明らかにするために、バースト内スパイクの振幅 (Amplitude)、スパイク間の時間間隔 (Inter-spike interval)、スパイク幅 (Spike duration)、バーストとバーストとの間の時間間隔 (IBI: Inter-burst interval) を測定し、バースト発火したニューロンの分類を行った。細胞内記録のデータと比較することにより、FRB (Fast Rhythmic Bursting) ニューロンを同定した。FRB ニューロンは、ISI が 2 ~ 5 ms 前後と短く、バースト内の変動は小さい。振幅はバースト内であまり変動せず、スパイク数は 2 ~ 6 スパイクと比較的数が少ない。またこれらの特徴をもつニューロンはしばしば 15 ~ 50 ms の短い間隔で繰り返しバースト発火した。

FRB ニューロンと同定した神経細胞の一部は課題と関連してバースト発火した。ある FRB ニューロンのバーストは RS (Regular Spiking) ニューロンを同期的に 1 回発火させた。この結果は FRB ニューロンが興奮性の錐体細胞であり、その周期的バースト活動が情報処理の中で多くのニューロンの同期的な活動をひき起こしている可能性を支持するものである。

### 10. 開口放出反応に伴う水動態の解析

坪井貴司<sup>1,2</sup>、菊田敏輝<sup>2</sup>、寺川 進<sup>2</sup> (<sup>1</sup>日本学術振興会特別研究員、<sup>2</sup>浜松医科大学・光量子医学研究センター)

開口放出反応時には、分泌顆粒が細胞膜と融合し、伝達物質を細胞外に放出するが、その詳細なメカニズムは明らかになっていない。そこで、分泌顆粒を選択的に蛍光染色し、細胞膜近傍だけを観察できる全反射照明法を用い、単一顆粒の開口放出反応を可視化解析した。また、伝達物質放出が、単純な拡散によるものか、能動的な放出によるものかを明らかにするために、細胞膜近傍に光ピンセットでトラップしたビーズの動態を観察することにより解析した。培養ウシ副腎髄質細胞の分泌顆粒を蛍光染色し全反射照明法で観察する

と、蛍光輝点が多数認められた。微小電極による刺激をすると数秒間で、蛍光染色した分泌顆粒が蛍光強度を一瞬上げてから広がりながら消失する反応が主に観察された。この反応は、Cl<sup>-</sup>チャンネル阻害剤により抑制された。また、ボツリヌス毒素を与えた場合、蛍光増加反応も消失反応も、共に完全に抑制された。また、免疫蛍光染色法により、分泌顆粒膜上に Cl<sup>-</sup>チャンネルが分布することが分かった。光ピンセット法で細胞近傍の水中にビーズを置くと、開口放出反応に伴ってわずかに動くことが分かった。以上の結果から、開口放出反応時には、融合孔から短い水噴出が起ることが明らかになった。

### 11. ファンクショナル MRI における磁化移動コントラスト法の応用

桑田一夫、根川常夫、林 知也、富田美穂子、恵良聖一 (岐阜大学・医学部・生理学第二)

磁化移動コントラスト法は、生体中の高分子プロトンから水分子プロトンへの交差緩和を通じて、高分子成分を強調して描出しようとする方法である。一方、ファンクショナル MRI は、BOLD 効果による見かけの T<sub>2</sub> 緩和の変化を通じて脳血流の変化を検出し、脳活動部位を検出しようとする方法である。本研究では、ファンクショナル MRI 法に磁化移動コントラスト法を応用し、どのようなメリットがあるかを調べた。一般に、脳血流の増加に関与しない部分は、オフ・レゾナンス照射によって、高分子成分から水プロトンへの交差緩和によりシグナル強度が減少するだろうと考えられる。一方、BOLD 効果による T<sub>2</sub> の延長が見られる活動部位では、この減少の程度は少ないと考えられる。それは、①活動部位では血液量 (CBV) が増加する (~20%) ので、高分子成分が相対的に少ない、②神経細胞内では脱分極に伴い縦緩和時間の延長が見られるためである。そこで我々は、MTC-EPI パルス系列を構築し、SPM 解析を用いて、オフ・レゾナンス照射の影響を調べた。この結果、オフ・レゾナンス照射周波数が増加するに伴い、みかけの活動範囲の増加が観察された。これは、上述のメカニズムで説明されるだろう。よって、磁化移動効果を用いることにより、より感度の高いファンクショナルイメージングが可能になると考えられる。

### 12. キンドリングラット脳における Cl<sup>-</sup> トランスポーター遺伝子発現

岡部明仁, 周 西任<sup>\*\*</sup>, 西野仁雄<sup>\*\*</sup>, 佐藤康二<sup>\*</sup>, 福田敦夫(浜松医大・医・生理学第一, <sup>\*</sup>解剖学第一, <sup>\*\*</sup>名市大・医・生理学第二)

神経細胞の活動を抑制するための主要なイオンである  $\text{Cl}^-$  の細胞内外の濃度勾配が, 脳虚血や神経損傷によって変化しその結果, 神経細胞において  $\text{Cl}^-$  をチャージキャリアとする GABA による抑制作用が消失, あるいは逆に興奮性に作用し得ることが見いだされた。我々は,  $\text{Cl}^-$  濃度勾配の変化を起こす因子の一つとして,  $\text{Cl}^-$  ホメオスタシスに必要な  $\text{Cl}^-$  トランスポーターに注目した。近年, 数種類の  $\text{Cl}^-$  トランスポーター遺伝子が同定されたが, 脳におけるそれらの役割については, 未だ不明な点が多い。そこで, これらトランスポーターが脳機能に対してどのような役割を果たしているのかを知る目的で, 抑制性シナプス伝達の可塑性・病的変化に着目し, 神経回路機能異常を示す, てんかんの病態モデルであるキンドリングラットを用いて実験を行った。各種  $\text{Cl}^-$  トランスポーター遺伝子からデザインした, アンチセンスオリゴプローブを用いて, in situ ハイブリダイゼーション法を行い, キンドリングラット及びシャムオペレーションラットにおける  $\text{Cl}^-$  トランスポーター遺伝子の脳内の発現状態の違いについて検討したので報告する。

### 13. Strain differences in norepinephrine excitation of C-fiber nociceptors in Sprague-Dawley and Lewis rats rendered arthritis by Freund's adjuvant

R K Banik, J Sato, H Yajima and K Mizumura. (Dept. Neural Regulation, Res. Inst. Env. Med., Nagoya Univ.)

We investigated whether there was any differences in norepinephrine (NE) excitation between Sprague-Dawley (SD) and Lewis strain of adjuvant-induced arthritis (AA) as have in neuropathic model reported recently. C-fiber polymodal receptor (CPR) activities were recorded in an in vitro skin-saphenous nerve preparation. No CPRs from control rats of either strain were excited by NE (10  $\mu\text{M}$ ). In AA rats 90% (9/10) and 41% (7/17) CPRs from Lewis and SD strain, respectively, were excited by NE (10  $\mu\text{M}$ ). CPRs from Lewis strain had a tendency to respond at ongoing low frequency discharges, while CPRs from SD strain at sudden burst of discharges.  $\alpha_2$ -adrenoceptor blocker, CH-38083 (10  $\mu\text{M}$ ) and yohimbine (10  $\mu\text{M}$ ) blocked the

NE excitation in both strains. These results demonstrated that there is a strain difference in incidence and pattern of NE excitation of CPRs in chronic inflammatory condition and Lewis rats are more sensitive to NE.

### 14. 脳梗塞に対する組織型プラスミノゲンアクティベーター (t-PA) および他の PA の影響の検討

永井信夫, Desire Collen<sup>\*</sup>, 高田明和(浜松医科大学・医学部・生理学第二, <sup>\*</sup>ベルギールーベン大学)

組織型プラスミノゲンアクティベーター (t-PA) はプラスミノゲンをプラスミンに活性化する。プラスミンはフィブリンの分解による血栓溶解とともに, 細胞外マトリックス蛋白質分解を介して組織の修復・細胞の移動に寄与する。今回我々は脳梗塞形成における t-PA, および他の PA の影響を比較した結果を報告する。実験にはハムスターモデル(中大脳動脈閉塞 + 頸動脈閉塞)を用い, 血管閉塞後に t-PA (rt-PA), streptokinase (SK), staphylokinase (SAK) を投与し 24 時間後の脳梗塞を測定するとともに t-PA, SK, SAK の投与後 90 分での血中線溶活性を測定した。その結果, t-PA, SK, SAK の用量依存的な脳梗塞形成の促進を認めた。また脳梗塞の促進は血中線溶活性の促進に一致した。さらに SK とプラスミノゲンの同時投与は, SK 単独投与より線溶活性を有為に亢進したが, 脳梗塞形成は亢進しなかった。以上の結果は t-PA に限らず他の PA も脳梗塞の増悪作用を持つこと, それらの作用がプロテアーゼ活性に起因すること, プラスミン活性化を介さずに脳梗塞を促進することを示唆した。

### 15. 空間移動課題遂行中に同時記録したサル海馬体ニューロンの相互相関解析

田淵英一<sup>1</sup>, 堀 悦郎<sup>1</sup>, 松村内久<sup>2</sup>, 田村了以<sup>3</sup>, 永福智志<sup>3</sup>, 小野武年<sup>3</sup>, 西条寿夫<sup>1</sup>(富山医科薬科大学・医学部・<sup>1</sup>第一生理, <sup>3</sup>第二生理, <sup>2</sup>脳神経外科)

本研究では, 海馬体内の神経ネットワークにより文脈情報が符号化されている可能性を調べるため, 4 種類の空間移動課題遂行中のサル海馬体から複数のニューロン活動を同時記録し, 錐体細胞-錐体細胞, 介在細胞-介在細胞, および錐体細胞-介在細胞間の相互相関解析を行った。その結果, 海馬体から同時記録した 53 個のニューロンペア(錐体-錐体細胞: 37 個, 介在-介在細胞: 11 個, 錐体-介在細胞: 5 個)のうち, 39 個のペアで有意な相関が認められた。これら 39 個のペ

アを詳細に解析した結果、1) 90% (35/39個)のペアで正の相関がある(錐体-錐体細胞: 25個, 介在-介在細胞: 9個, 錐体-介在細胞: 1個), 2) 59% (23/39個)のペアで相互相関のピークが10~20 ms程度シフトしている, 3) 31% (12/39個)のペアで課題選択的に有意な相関が認められることなどが明らかになった。以上の結果から, 各課題(状況や環境)ごとに異なる応答特性を有するニューロン集団が海馬体および海馬傍回内に形成され, 各課題を符号化していることが示唆された。

#### 16. 空間・課題依存性応答を有するサル海馬体ニューロンによる認知地図の再現

堀 悦郎<sup>1</sup>, 田淵英一<sup>1</sup>, 松村内久<sup>2</sup>, 田村了以<sup>3</sup>, 永福智志<sup>3</sup>, 小野武年<sup>3</sup>, 西条寿夫<sup>1</sup>(富山医科薬科大学・医学部・<sup>1</sup>第一生理学, <sup>2</sup>第二生理学, <sup>3</sup>脳神経外科)

広い空間内における移動や自己の居場所の認知には, 認知地図が重要な役割を果たしていることが示唆されている。しかし, 霊長類のサル海馬体における認知地図の詳細は不明である。本研究では, 空間移動課題遂行中のサル海馬体ニューロンの場所に対する応答性から, 海馬体における認知地図の再現を試みた。空間移動課題では, 液晶パネルを備えた特殊駆動装置にサルを乗せ, ジョイスティックを操作することにより室内を移動する実空間移動(RN)課題, および液晶パネル上のポインターを移動させる仮想空間移動(VN)課題を訓練した。これら空間移動課題遂行中のサル海馬体から, サルが室内あるいは画面上の特定の場所を通過するときに活動が上昇するニューロンを記録した。これら場所識別ニューロンの各場所に対する応答性から, 各場所についての多次元尺度分析(MDS)を行った。MDS上に再現された各場所と実際の各場所の位置関係を比較・解析した結果, より高度な空間情報処理が要求されるRN課題において, 実際の場所の配置がよく再現されていることが判明した。以上の結果から, サル海馬体には, 認知地図の存在が示唆された。

#### 17. 暗算負荷による脳波および自律神経反応の変動スペクトル, コヒーレンスおよび伝達関数解析

梅野克身<sup>1</sup>, 高倉大匡<sup>1</sup>, 酒井重数<sup>1</sup>, 菅田慶一<sup>2</sup>, 永嶋義直<sup>2</sup>, 矢田幸博<sup>2</sup>, 服部道廣<sup>2</sup>, 西条寿夫<sup>1</sup>(<sup>1</sup>富山医科薬科大学医学部第一生理, <sup>2</sup>花王研究所)

精神活動に伴う自律機能変動の中枢性調節機構を調

べるため, 健康女子11名を用い, 暗算負荷時の瞬時肺容量(IVL), 心拍のRR間隔, 収縮期(SBP)および拡張期血圧(DBP), ならびに脳波を8~10分間計測し, FFTによる変動スペクトル, コヒーレンス, および伝達関数解析を行った。暗算負荷では, デジタル音声を用い, 4桁あるいは2桁の一組の整数を10あるいは20秒周期で被験者に聞かせて加算させた。11名中7名において, 暗算自体ではなく, 暗算に先行するデジタル音声のトリガー信号とHRおよびSBPとの間にそれぞれ0.69および0.70の高いコヒーレンスが認められた。HRの位相はSBPより90°先行し, 暗算周期とはほぼ一致していた。IVLとHR間では, 暗算負荷中は, 暗算周期に一致した低周波数帯域で0.73の高いコヒーレンスが認められ, 利得が有意に上昇した。また, 暗算負荷により, 心拍変動の平均HF成分は有意に低下し, LF成分およびLF/HF比は有意に上昇した。一方, 脳波では,  $\gamma$ 波のパワー値が暗算負荷により前頭部および頭頂部で有意に増加し,  $\gamma$ 波とHRおよびIVLの間に比較的高い0.4~0.7のコヒーレンスが認められた。以上の結果から,  $\gamma$ 波に関連した何らかの中枢性メカニズムにより, 暗算負荷に先行して暗算負荷に対する準備状態を形成する中枢性自律神経調節機構の存在が示唆された。

#### 18. RED GINSENG AMELIORATES PLACE LEARNING DEFICITS IN YOUNG RATS WITH SELECTIVE HIPPOCAMPAL LESIONS AND AGED RATS

Yongmei Zhong, Teruko Uwano, Hisao Nishijo, Takeshi Ono ((Dept. Physiol., Fac. Med., Toyama Med. & Pharmaceu. Univ., Sugitani 2630, Toyama 930-0194, Japan)

Effects of hippocampal lesions and aging on spatial learning and memory, and ameliorating effects of red ginseng on learning deficits were investigated in the following 2 experiments; performance of young rats with selective hippocampal lesions with and without treatment of red ginseng (p. o.) (Experiment 1), and aged rats with and without treatment of red ginseng (p. o.) (Experiment 2) in the spatial tasks was compared with that of intact or sham-operated young rats. Each rat in these 2 behavioral experiments was tested with the 3 types of the spatial learning tasks (distance movement task, DMT; random reward place search

task, RRPST; and place learning task, PLT) in a circular open field using intracranial self-stimulation (ICSS) as reward. Analyses in DMT and RRPST indicated motivational and motor activity was not different among 3 groups of rats in Experiment 1; young rats with hippocampal lesions with and without ginseng and sham-operated young rats. Treatment with red ginseng significantly ameliorated place-navigation deficits in young rats with hippocampal lesions in the PLT task. Similarly, red ginseng improved performance of aged rats in the PLT task in Experiment 2. The results, along with previous studies showing significant effects of red ginseng on the central nervous system, suggest that red ginseng ameliorates learning and memory deficits through effects on the central nervous system, partly on the hippocampal formation.

### 19. 幼若期ニホンサル(M. Fuscata)の起立姿勢と直立二足歩行運動の学習過程

橋 篤導<sup>1,2</sup>, 森 大志<sup>1</sup>, 高須千慈子<sup>1</sup>, 松山清治<sup>1</sup>, 森 茂美<sup>1</sup>(<sup>1</sup>生理研・生体システム, <sup>2</sup>総研大)

幼若期のニホンサル(M. Fuscata, n=3, 推定年齢2.2~3.5歳, 体重2.8~5.0kg)がトレッドミル上で直立二足歩行運動を学習・修得していく過程を観察しその歩容を比較解析した。サル(M. Fuscata)の歩容は高速カメラおよびビデオ録画装置を用い解析した。幼若サルは4段階の学習ステージを経てトレッドミル上での直立二足歩行能力を修得した。

1. トレッドミル上での後肢律動運動の学習: サルの体幹を他動的に保持し左右後肢をトレッドミル上に置くと律動的な歩行様運動を開始した

2. 床上での直立姿勢の保持: 直立姿勢の保持には外部からのサポートを必要としたが、トレーニングの進行と共にサルはその姿勢を自発的に保持するようになった

3. トレッドミル上での直立姿勢の保持と自発的な二足歩行の開始: 直立姿勢の保持が可能となったサルはトレッドミル上において持続的な歩行運動を開始した  
4. トレッドミル上における直立二足歩行の遂行: 個体差はみられたがトレーニングの進行に伴い、サルは直立二足歩行時の安定性(体軸の保持)を獲得した

トレッドミル上における直立二足歩行運動の遂行には中枢神経系内における姿勢の保持機構と歩行運動遂行機構との機能統合が必要と考えられた。

### 20. 光学的計測による副嗅球と主嗅球における興奮伝播の相違

須貝外喜夫, 杉谷道男, 小野田法彦(金沢医科大学・第一生理)

副嗅球(AOB)と主嗅球(MOB)は、各々鋤鼻神経線維、嗅神経線維の投射を受けフェロモンあるいはニオイ情報処理を行う。今回、モルモット嗅球スライス標本を用い入力神経層の電気刺激でAOBおよびMOBに生じる興奮伝播パターンを光学計測から調べ、比較検討した。AOBでは鋤鼻神経層刺激後、興奮は糸球体層に侵入し、その後、外叢状層/僧帽細胞層へと広がりこの層で200ms以上続く持続的興奮とそれに重畳する特徴的な振動性の光応答(oscillation)が認められ、顆粒細胞層でも小振幅のoscillationが記録された。一方、MOBでは嗅神経層刺激後、興奮は直下の糸球体層へ伝わり個々の糸球体で、AOBとは異なり、100ms以上続く比較的大きな光応答が観察された。その間、興奮は外叢状層、僧帽細胞層に到達するが、外叢状層/僧帽細胞層の光応答は糸球体層の光応答に比べると著しく小振幅であった。また、顆粒細胞層では光応答は殆ど検出されなかった。このようにAOBとMOB各層で層特有の光応答が各々観察されたが、それらはAOBとMOBでは異なり、両者は同様な層構造を持つにもかかわらず信号伝播パターンに大きな違いがあることが判った。これは、感覚情報処理に重要な層がAOBとMOBで異なることを示唆する。

### 21. 単離脳学習によるウミウシ視細胞の形態学的変化

川合 亮, 堀越哲郎, 榊原 学(東海大学・開発工学部・生物工学科)

エムラミノウミウシ(以下ウミウシ)は光を条件刺激、振動を無条件刺激として連合学習することから、学習記憶の神経機構を解析するモデル動物として用いられてきた。この連合学習はB型視細胞において、1)興奮性の増大(入力抵抗の増大、光応答の延長)、2)カリウムチャネルの選択的不活性化、3)21KDのG蛋白質のリン酸化亢進、4)軸索末端部-シナプス部位の狭小化など、電気生理学的、生化学的、形態学的な特性変化が報告されている。ウミウシにおいては連合学習に関わる感覚受容器が、それぞれ神経節上に位置することから、神経節のみを摘出して学習が成立するための器官は保持される。このような標本に対しin vivoと同様に光と振動を組み合わせで呈示した結

果、興奮性の増大が生じることは報告されている。今回、摘出単離脳標本での連合学習によっても形態変化が起こるかを検討した。持続時間3秒の光刺激と、それに1秒遅れ、2秒間の振動刺激を5回組み合わせ与えた。その結果、入力抵抗は有意に増大し光応答持続時間も3倍に増加するなど *in vivo* での観察結果と一致した。このような標本を蛍光色素により細胞内染色し、共焦点顕微鏡で観察・解析したところ、単離脳学習でも *in vivo* と同じ傾向の形態変化が生じた。

## 22. リンパ節被膜平滑筋の収縮性に関する生理薬理的解析

伊古美文隆、大橋俊夫(信州大学・医学部・第1生理)

リンパ節や脾臓の自発的な収縮とリンパ球・血球放出との関連を示唆する報告は今までいくつか行われている。しかしながら、リンパ節被膜平滑筋の収縮性についての生理薬理的解析はほとんど行われていない。そこで今回私共は、摘出リンパ節標本を用い、リンパ節被膜平滑筋の収縮反応について詳細な解析を行った。実験にはイヌ気管支支リンパ節標本を用い、種々刺激に対する張力変化を等尺性に記録した。この結果、アセチルコリン(ACh)、アドレナリン、そして、電気刺激(25 V, 0.7 ms, 16 Hz)によって著明な収縮反応の生ずることが判明した。AChの収縮はアトロピン( $3 \times 10^{-8}$  M)によって抑制され、N-ニトロ-L-アルギニンメチルエステル( $3 \times 10^{-5}$  M)によって増大し、L-アルギニン( $10^{-3}$  M)の追加投与によって回復した。一方、電気刺激による収縮はテロドトキシン( $3 \times 10^{-7}$  M)により完全に消失し、ブラゾシン( $3 \times 10^{-8}$  M)、もしくは、ヨヒンビン( $3 \times 10^{-7}$  M)によって有意に抑制された。以上より、AChはムスカリン受容体を介してリンパ節平滑筋を収縮し、この反応は内因性NOによって抑制されていること、また、神経刺激によってアドレナリンの $\alpha_1$ 、 $\alpha_2$ 両受容体を介する収縮の生ずることが示唆された。

## 23. 洞房結節自動能の発生機序：分岐理論による数学的解析

倉田康孝、今西 愿(金沢医科大学・生理学第二)

心筋洞結節に生じる生理的並びに異常自動能の発生機序を明らかにするために、ウサギ洞結節細胞の電気現象を記述する数学的モデルを作成し、その非線形力学的構造解析を行った。洞結節は不安定な平衡点(定

常電流-電圧曲線の零電流電位)をもつ構造安定なシステムであり、生理的自動能は、不安定平衡点のまわりの安定リミットサイクルであると考えられた。自動能の発現には、時間依存性電流としてのL型Caチャンネル電流( $Ca_L$ )の存在が必要(かつ十分)であり、平衡点の不安定化は $Ca_L$ の速い活性化によるものであった。遅延整流K電流( $K$ )は自動能発現に必要なではないが、活動電位振幅の増大、構造安定性の強化(構造安定領域の増大)に寄与していると考えられた。 $Ca_L$ の抑制もしくは背景K電流の増強による自動能消失過程において、周期倍分岐が生じ、“skipped-beat runs”が再現された。また、 $Ca_L$ の増強と遅い不活性化、あるいは $K$ 活性化の抑制を想定することにより、心室筋にみられる早期後脱分極と同様の異常電位振動(周期倍分岐)を再現することができた。このように、心筋洞結節における生理的並びに異常自動能の発現は、非線形システム一般にみられる力学的分岐現象に関連していると考えられた。

## 24. スフィンゴシン-1-リン酸受容体 EDG1, EDG3, EDG5/AGR16の機能解析

岡本宏之<sup>1</sup>、多久和典子<sup>1</sup>、権太浩一<sup>2</sup>、多久和陽<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>金沢大学医学部生理学第一、<sup>2</sup>東京大学医学部細胞分子生理)

【目的】 スフィンゴシン-1-リン酸(S1P)は細胞の遊走、形態変化、増殖など多彩な生物活性を示す脂質で、最近受容体ファミリーの存在が明らかになった。私達はS1P受容体EDG1, EDG3, EDG5/AGR16を同定し、機能解析を行ったので報告する。

【方法】 各受容体遺伝子をCHO細胞に一過性に発現させ、細胞内 $Ca^{2+}$ 濃度( $[Ca^{2+}]_i$ )およびMAPK活性の変化を測定した。また各々の安定発現株を樹立し、cAMP反応、イノシトールリン酸産生を測定した。

【結果】 各受容体遺伝子を発現させたCHO細胞(CHO-EDG1, -EDG3, -AGR16)ではいずれも、S1Pはイノシトールリン酸産生を増加させ、 $[Ca^{2+}]_i$ 上昇をひきおこした。CHO-EDG1では百日咳毒素に感受性であったが、CHO-EDG3およびCHO-AGR16では非感受性であった。S1PはRas依存性にMAPK活性を著明に増大させ、いずれの受容体も百日咳毒素に感受性であった。さらにCHO-EDG1とCHO-EDG3ではForskolinによるcAMP増加を抑制したが、CHO-AGR16ではcAMPを増加させた。

【結論】 S1Pは受容体によって、GiまたはGq蛋白

を介して PLC·Ca<sup>2+</sup> 動員系に共役し、Gi 蛋白を介して Ras/MAPK 活性化に、またアデニル酸シクラーゼ系に対しては増強あるいは抑制的に共役する。各受容体サブタイプは異なる情報伝達能を有する。

## 25. Morphological changes in single retinal ganglion cells of the goldfish during optic nerve regeneration

M. Devadas, K. Sugawara, S. Kato (Dept of Molecular Neurobiology, Graduate School of Medicine, Kanazawa University)

It is known that the optic nerve of goldfish can regenerate after transection, with full reinnervation of the tectum being completed by 30 days. However, some complex behavioural patterns do not return until up to 4 months after transection. As not much is known about the changes which occur in the cell body during this regeneration process, we have quantitatively investigated the morphological changes which occur in retinal ganglion cells over a 4 month period after optic nerve section. In the present study, Lucifer Yellow (LY) was injected into single ganglion cells in flat-mounted retinas from common goldfish (body size 6 ~ 7 cm) at various times after optic nerve transection. In this way, we could monitor changes in the size of ganglion cell's soma and dendrites in relation to time after optic nerve section and the location of the ganglion cell in the retina. In normal retinas the size of ganglion cell somas increases with increasing distance from the optic disc. We found that the peak of hypertrophy occurred at 60 days after optic nerve section, but there was no regional difference in cell size. By 120 days after optic nerve transection the ganglion cells had returned to their control size. Hypertrophy in the LY-filled dendrites followed the same time course, although the full dendritic tree could not be traced. This delayed return to control levels suggests that there may be a relationship between these changes in the cell body and complex behavioural patterns.

## 26. 金魚視神経再生の諸過程について

加藤 聖, 松川 通, Malini Devadas (金沢大学大学院医学研究科分子神経情報学)

金魚の視神経は切断しても完全に再生する。そこで

体長 6 ~ 7 cm の金魚を用い、視神経を切断し網膜神経節細胞とその軸索である視神経線維の再生に伴う形態変化を精査した。神経軸索は、視神経切断後 18 ~ 20 日で視蓋に到達し始め、ほぼ 30 日で正常に復した。他方神経節細胞は 20 日前後より核小体物質の増加を伴って細胞体が肥大化し、60 日でピークとなりほぼ 120 日で正常に復した。この軸索線維の視蓋への到達と細胞体の肥大化とのピークのずれに呼応した視神経切断金魚の行動異常及びその回復をコンピューター画像処理装置を用いて計測した。片側視神経切断後の単数個金魚の姿勢制御(左右回転や体軸の傾き)は早く(30日)、両側視神経切断後の複数個金魚による追尾行動は遅く(120日)回復した。次に分子レベルでの対応を調べるため、視神経切断金魚の網膜および視蓋から、蛋白の架橋酵素であるトランスグルタミナーゼ cDNA をクローニングし mRNA 発現量をノーザン法で検討した所、視神経切断網膜及び視蓋では未処置群と比較し、切断早期より mRNA 量が増加しているのが観察された。以上より視神経再生のシナプス機序および分子機序について論じた。

## 27. 小脳片葉中間ゾーンプルキンエ細胞における運動ダイナミクス情報

佐藤 悠、北間敏弘(山梨医科大学・医学部・生理学第二)

ネコ小脳片葉は水平面の眼球運動を制御する中間ゾーンと垂直面の眼球運動を支配する吻側、尾側ゾーンに分けられる。このうち中間ゾーンのプルキンエ細胞の複雑スパイクは水平方向に動く視覚刺激に反応する。今回は慢性覚醒ネコにおいてランダムドット視覚パターン移動刺激を行ない視運動性眼球運動を解発し、中間ゾーンのプルキンエ細胞より細胞外記録を行った。複雑スパイクは記録と反対側へ向かう刺激で活動増加し、同側刺激で減少した。単純スパイクは反対側刺激で活動減少し、同側刺激で増加した。単純スパイクの発火頻度と視運動眼球運動との経時的な相関を重回帰分析法で調べた。単純スパイク発火頻度は眼球の位置、速度、加速度パラメーターの線形代数和として再構成できた。速度と加速度の平均係数はプラスで、位置係数はマイナスであった。以上より小脳片葉中間ゾーンプルキンエ細胞は、視運動眼球運動中に眼球に作用する粘性、慣性力に拮抗するための運動ダイナミクス情報をコードすると思われる。この実験結果は、中枢神経系による運動制御のために、大脳皮質の運動

関連領域は感覚入力情報を基に運動軌跡(キネマティクス)情報を作り出し、小脳はこのキネマティクス情報を運動力学(ダイナミクス)情報に変換するという逆ダイナミクス理論を支持する。

## 28. 肝虚血再灌流障害における肝類洞圧の役割—ラット摘出灌流肝での検討—

芝本利重, Ling Yi-Qun, 上門千哲, 小山省三(信州大, 医, 第二生理)

肝類洞圧の上昇により肝腫大が生じる。肝臓手術、肝移植時には虚血再灌流障害により肝腫大を来すことがあるが肝類洞圧の動態については不明である。今回、門脈と肝動脈から灌流するラット摘出肝において両血管の1時間閉塞、1時間再灌流による虚血再灌流障害を作成し、その時の肝類洞圧、肝重量および肝機能の関係を検討した。肝類洞圧は門脈、肝動脈、肝静脈の3血管を同時に閉塞した時に平衡に達する圧であるTriple occlusion pressure (Pto) (Am. J. Physiol. 271. R 1130, 1996)により評価した。肝重量は再灌流直後と1時間後の2峰性に増加した。Ptoは門脈圧とともに再灌流直後に増加したが、その後、低下し1時間後にはほぼ基準値に復した。再灌流直後のPtoと肝重量の間には有意の正の相関が認められた。しかし、再灌流後1時間にはそれらの間に有意な相関はみられなかった。また、再灌流1時間後には灌流液中の肝逸脱酵素の上昇と胆汁流量の減少がみられ、肝機能障害が生じた。以上の結果から、再灌流直後の肝重量の増加はPtoの増加をともない肝類洞圧の上昇によることが示唆された。一方、後期の肝重量増加は肝細胞障害によるものと推定された。

## 29. NT-4の通常分布と、筋肥大、修復、除神経にともなう変化

佐久間邦弘<sup>1</sup>, 渡辺 貴美<sup>2</sup>, 浦本 勲<sup>3</sup>, 戸塚 武<sup>2</sup> (愛知県コロニー・研究所・<sup>1</sup>生理第三, <sup>2</sup>生理第二, <sup>3</sup>生理第一)

神経栄養因子の一つであるNeurotrophin-4 (NT-4)は、筋肉に多く存在する。NT-4の筋肉における役割に関して最近研究が進んでおり、post-synaptic potentiation, 神経筋接合部の構築( agrin によるAChRのclusteringを抑制)などに重要な役割をしているようである。本研究では、このNT-4の通常分布(どのようなタイプの筋に多く存在するか?)と、筋肉が肥大したり、修復される際の変化の様相について蛋白レベ

ルで検討した。NT-4 mRNAについて報告されているように、NT-4蛋白は筋肉以外にも、大脳、小脳、脊髄、腎臓、精巣などで検出された。筋肉のタイプ別で比較すると、NT-4蛋白は速筋に多く存在し、遅筋や横隔膜(活動的な速筋)に少なかった。NT-4蛋白は、足底筋に対する肥大刺激により有意に減少し、初期の損傷筋においては劇的に減少した。Bupivacaine注射を筋に施すと、神経筋接合部が部分的に損傷を受けることが報告されており、この時期のNT-4蛋白の著しい減少はその再構築を円滑に進めるために重要であるかもしれない。

## 30. 筋ジストロフィー症とBupivacaine:筋細胞周囲膜厚 $1+1=1(?)$

戸塚 武<sup>1</sup>, 渡辺貴美<sup>1</sup>, 佐久間邦弘<sup>2</sup>, 浦本 勲<sup>3</sup> (愛知県コロニー・研究所・<sup>1</sup>生理第二, <sup>2</sup>生理第三, <sup>3</sup>生理第一)

筋ジストロフィー症(MD)dyマウスの初期病態は、筋の変性(通説)ではなく成熟成長障害で、筋病変と症状の悪化に骨の伸長成長が関係しているらしいことを明らかにした(筋成長障害説:一歩進めた筋-骨不均衡説)。dy筋の成長障害として骨成長依存性筋成長障害を、また、それに関わる機械-化学変換器として筋核を想定している。

さて、筋線維が収縮する時、筋原線維~細胞骨格~細胞膜(原形質膜)~細胞周囲膜は一体となって収縮すると考えられている。隣接する筋線維の周囲膜との関係はどうだろうか。筋原線維~細胞骨格~細胞膜~周囲膜~隣接筋線維の周囲膜の間で、緩やかな滑らかな結合があるかもしれない。

このような観点と、MD筋病変の発生機序と生理的意味を探るため、MD筋病態モデルの一つbupivacaine(局所麻酔薬)注射による損傷筋(正常ラット)の横断切片における筋線維の周囲像(HE非染色)を観察した。二本の筋線維の接触面の周囲膜厚が必ずしも両筋線維の周囲膜厚の足し算ではないらしいこと、周囲膜~周囲膜の結合は比較的緩やからしいことなどを紹介した。

## 31. HEK 293細胞に発現させたTRP5の単一電流の解析

若森 実, 山田久信, 岡田峯陽, 井本敬二, 森 泰生(生理学研究所・液性情報)

代謝型受容体刺激によるPI応答に引き続いて起こ

る  $\text{Ca}^{2+}$  流入は受容体作動性  $\text{Ca}^{2+}$  チャネル電流と名付けられ注目されている。このチャネルの一端を担う TRP 蛋白質は7つの遺伝子によりコードされ、各々の機能は未だ不明な点が多い。今回は TRP5 をコードする cDNA を HEK 293 細胞に導入し、単一チャネル活性を全細胞膜パッチクランプ法で記録した。細胞内液の  $\text{Ca}^{2+}$  濃度を EGTA で 50 nM に調整した。  $\text{Ca}^{2+}$  濃度 90 nM の細胞外液中、保持電位  $-50$  mV に於いて約 3 pA の単一チャネル活性が認められた。一方、コントロール HEK 293 細胞は、チャネル活性を示さなかった。電流-電圧関係から TRP5 の単一チャネルコンダクタンスは 43 pS であった。また、NPo は膜電位依存性を示し、ボルツマンの式でフィットすると half-activation 電位は  $-62.6$  mV で slope factor は 7.6 mV であった。外液  $\text{Ca}^{2+}$  濃度を 2 mM にするとチャネル活性は上昇した。以上の結果より、TRP5 は受容体刺激の有無にかかわらず活性化されており細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度の恒常性維持に影響している可能性が示唆された。また、単一チャネルの性質は従来報告されている他の TRP サブタイプの性質とは異なることが判明した。

### 32. 浸透圧性細胞収縮によるアポトーシスの誘導

前野恵美<sup>1,2</sup>、金関恵<sup>2</sup>、岡田泰伸<sup>1,2</sup>(<sup>1</sup>生理研・機能協同、<sup>2</sup>科技団・CREST)

多くの細胞は異常浸透圧環境下に置かれ続けても、一時的に浸透圧膨張や収縮を強いられるが、もとの正常容積へと復帰する能力をもっている。細胞外高浸透圧または細胞内低浸透圧条件下では、多くの細胞は収縮後に細胞外より NaCl と水を流入させて Regulatory Volume Increase (RVI) を示す。アポトーシスには持続性の細胞収縮が伴われるので、細胞容積調節機能の破綻がその原因に関与する可能性がある。そこで本研究では、比較的他の細胞に比して RVI 能の低かったヒト組織性リンパ腫細胞 (U 937 細胞) に高浸透圧負荷条件下で持続的細胞収縮を誘導し、cell viability, DNA degradation, caspase 活性そして電子顕微鏡による形態変化を調べた。その結果、U 937 細胞を 2 倍の高浸透圧処理すると、cell viability は著しく低下し、caspase 活性は著しく上昇することが明らかとなった。また、DNA 電気泳動によってラダー構造を確認した。これらの事実から RVI 能の乏しい U 937 細胞においては、高浸透圧処理の際にも caspase カスケードを介したアポトーシスが誘導されることが結論

された。今後は、さらに高浸透圧処理による細胞死のメカニズムを検討し、系を確立していく。

### 33. ウシガエル交感神経節シナプスの可塑性におけるシナプス前繊維内 $\text{Ca}^{2+}$ 遊離の役割

竹内晋平、叢 雅、徳納博幸、久場健司(名古屋大学・医学部・第一生理)

ウシガエル交感神経節細胞から、低  $\text{Ca}^{2+}$  高  $\text{Mg}^{2+}$  液中で興奮性シナプス後電位 (EPSP) を細胞内記録し、シナプス前繊維の反復刺激による伝達物質放出促進機構に細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  遊離が関与するかどうかを検討した。50 Hz、5 発のテスト刺激により、EPSP の振幅は Facilitation により 3 ~ 6 倍に増大し、この増大は 1 秒前後の時定数で減衰した。長い条件刺激 (20 Hz、4 分間) を与えると、EPSP の振幅は 1.6 ~ 2 倍に大きくなり、Facilitation の大きさは少し減少した。細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  貯蔵オーガネラの  $\text{Ca}^{2+}$  ポンプの阻害剤であるサブシガーギンの存在下で、EPSP とその Facilitation は不変だが、条件刺激後の EPSP の増強が消失、または減少が見られた。ライアノジン受容体の阻害剤であるライアノジンは、長い条件刺激による EPSP の増加に大きな影響を与えなかった。シナプス前終末内に  $\text{Ca}^{2+}$  蛍光色素を負荷し、ビデオイメージングによりテタヌス刺激 (50 Hz、30 発) による  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  上昇を記録した。長い条件刺激により、この  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  上昇は時間と共に増大し、この増大はサブシガーギンにより抑制された。以上の結果から、条件刺激により細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  遊離機構が活性化準備され、テスト刺激による  $\text{Ca}^{2+}$  流入により  $\text{Ca}^{2+}$  遊離が活性化され、伝達物質の開口放出が促進されることが示唆される。この  $\text{Ca}^{2+}$  遊離に関与する  $\text{Ca}^{2+}$  遊離チャンネルは  $\text{IP}_3$  受容体である可能性が高い。

### 34. カエル運動神経終末のライアノジン受容体の活性化と伝達物質放出促進機構

蜂須賀淳一<sup>1</sup>、成田和彦<sup>2</sup>、秋田天平<sup>1</sup>、黄樹明<sup>1</sup>、越智<sup>2</sup>、久場健司<sup>1</sup>(<sup>1</sup>名古屋大学・医学部・第一生理、<sup>2</sup>川崎医科大学・生理)

カエル胸皮筋の神経終末内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度変化 ( $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ) を蛍光プローブ法により、EPP を細胞内記録した。神経終末は蛍光ライアノジンにより神経刺激依存性に染色された。短いテタヌス刺激 (20 Hz、20 発) による  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  の上昇は、長いテタヌス刺激 (10 ~ 20 Hz、5 ~ 10 min) により増大し、ライアノジンやサブシガー

ギンにより消失した。[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>は高頻度テタス(30~50 Hz)により2相性に増大し、30秒間隔でのテタススの反復により、二つの成分は増加後減少した。この[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>上昇の時間と共に増加及び減少する成分はCa<sup>2+</sup>遊離機構のプライミング、活性化、不活性化によることが示唆される。

この[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>上昇過程は、KN-62及びスタウロsporリンの投与により大きく影響されなかったが、終末内に負荷されたCyclic ADP-riboseのカゴメ化合物の活性化により速くなった。従って、Ca/カルモジュリンキナーゼやプロテインキナーゼCはこのプライミング、不活性化過程に関与しないが、Cyclic ADP-riboseの産生がプライミングの過程に関与する可能性を示唆する。テタススの反復により、EPPの振幅も同様の変化を示し、EPPの増大はテタス後2相性に減衰し、その成分はテタススの進行と共に増大後、一部減少した。従って、Ca<sup>2+</sup>遊離機構のプライミングと共に伝達物質放出の促進が起こり、不活性化によりその減少することが解る。2相性の減衰は短期可塑性のAugmentation、とPotentiationに対応し、増強がPotentiation消失後も続くことから、Ca<sup>2+</sup>遊離による伝達物質放出の促進は、可塑性機構と開口放出に関与する[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>上昇の促進によると言える。

### 35. マウス盲腸Cl<sup>-</sup>イオン分泌調節におけるProteinase-activated receptorの役割について

池原 修, 鈴木裕一(静岡県立大学大学院 生活健康科学研究科 人体生理学)

G protein-coupled receptorのファミリーに属するProteinase-activated receptorは現在4種類のisoformが知られている。本実験では、マウス盲腸の摘出標本を用いて、Cl<sup>-</sup>イオン分泌調節におけるProteinase-activated receptorの役割を明らかにすることを目的とした。今回はProteaseとしてTrypsinを用いたが、Trypsinは4種類のProteinase-activated receptor全てを活性化するが、とりわけtype2および4の強力なactivatorである。方法は、マウスより摘出した盲腸の筋層と漿膜層を剥離後Ussing-typeのチャンパーに装着し、短絡電流(Isc)の変化を測定した。Trypsin(10<sup>-8</sup>~10<sup>-4</sup>M)を漿膜側に投与するとIscの上昇が観察された。Trypsin 10<sup>-7</sup>M漿膜側投与によるIscの上昇は、Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-2Cl<sup>-</sup>共輸送体の阻害剤であるBumetanide存在下で一部抑制され、リンゲル液を両側Cl<sup>-</sup>-free液にしたときにほとんど消失した。また、

神経遮断薬であるTetrodotoxin(TTX)存在下でほとんど完全に抑制され、シクロオキシゲナーゼの阻害剤であるIndomethacin存在下でも一部抑制された。これらの結果より、マウス盲腸漿膜側に、おそらくProteinase-activated receptorが存在し、その活性化は、神経を介し、プロスタグランディンも一部関与したCl<sup>-</sup>分泌を引き起こすことが示唆された。

### 36. 大腸菌毒素STbの下痢発症機序

梅田 謙, 鈴木裕一(静岡県立大学大学院 生活健康科学研究科 人体生理学)

エンテロトキシンの一種であるSTbは、ある種の動物において下痢を引き起こす。STbによる下痢発症機序を解明する目的で、粘膜と粘膜下層からなるマウス遠位大腸標本をUssing-typeチャンパーに装着し、短絡電流(以下Isc)測定およびHPLCを用いた管腔側Cl<sup>-</sup>分泌量の測定を行った。なお、前処理としてBenzamil 10<sup>-5</sup>M(管腔側)、Indomethacin 10<sup>-5</sup>M(両側)、TTX 3×10<sup>-7</sup>M(漿膜側)投与した。STb管腔側投与により濃度依存性にIscが増加した。HPLCを用いたCl<sup>-</sup>分泌量測定より、STbによるCl<sup>-</sup>分泌量はIsc上昇の2/5であり、HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>など、他のイオン輸送の変化も起こっていると思われた。管腔側Na free条件下でIsc上昇の低下が認められた事から、STbによりNa吸収が亢進されると思われた。次にSTbの効果のシグナル伝達系に関して検討した。漿膜側、管腔側各リンゲルのCa-free条件下でもSTbによるIsc上昇は影響を受けなかった事より、STbによるIsc上昇反応に細胞外Ca<sup>2+</sup>は関与しない事が示された。Carbachol 1 mM漿膜側投与によりSTb誘発性Isc上昇が一部抑制された事から、おそらくムスカリン受容体を介するSTb反応に対する抑制機構があるものと考えられた。

### P-1. マウス盲腸における短鎖脂肪酸による重炭酸分泌機序

川俣幸一, 鈴木裕一(静岡県立大学大学院・生活健康科学研究科・人体生理学)

大腸管腔内には腸内発酵により産生した種々の短鎖脂肪酸が比較的高濃度(100~150 mM)で存在している。生成された短鎖脂肪酸は管腔側アルカリ化を伴って速やかに吸収され、自身の蓄積による酸障害を防いでいる。今回この短鎖脂肪酸の管腔側アルカリ化を伴う吸収機序を明らかにする目的で、マウス盲腸In

Vitro において pH stat 法によるアルカリ分泌フラックスと HPLC による短鎖脂肪酸吸収フラックスの定量を行った。短鎖脂肪酸はプロピオン酸を用いた。アルカリ分泌フラックスもプロピオン酸フラックスも漿膜側の重炭酸イオン依存性でした。それらの依存性量は同等でした。故に短鎖脂肪酸と重炭酸イオンの交換輸送体の存在が示唆された。また炭酸脱水酵素阻害剤は重炭酸イオン存在下で、重炭酸イオン非存在下のそれと比べて大きくアルカリ分泌とプロピオン酸吸収を低下させた。その効果は両フラックス間で差が無かった。炭酸脱水酵素阻害剤によりフラックスが低下しても、短絡電流  $I_{sc}$  は変化しなかった。プロトン共役型モノカルボン酸輸送体阻害剤の漿膜側投与は重炭酸イオンの存在非存在下で、変わらず、アルカリ分泌フラックスとプロピオン酸吸収フラックスを低下させた。この事は短鎖脂肪酸の単純拡散にこの輸送体が漿膜側から関与する事を示唆する。この阻害剤の管腔側投与は効果なかった。マウス盲腸における *In vitro* の系でプロピオン酸吸収の大半が、1:1の短鎖脂肪酸/重炭酸イオン交換輸送体により起っており、また一部は単純拡散を介する吸収である事を強く支持する結果が得られた。

#### P-2. 動眼神経核ニューロンの電位依存性 $K^+$ イオン流

林 民, 西村嘉洋, 山本哲朗(三重大学・医学部・第2生理)

動眼神経核ニューロンの電気生理学的特性は放電様式等の詳細な研究はあるが、イオン流に関する報告は見当たらない。本研究では生後2~10日齢の Sprague Dawley rat の動眼神経核ニューロンを fast blue で逆行性に標識した後、単離し、Whole-cell voltage clamp 法を用いて  $K^+$  イオン流を同定し、その特性を解析した。動眼神経核ニューロンの外向き流は一過性及び持続性外向き流の2種類が同定された。一過性外向き流の活性化は約  $-70$  mV から生じ、tail current の逆転電位は  $-105.0 \pm 5.8$  mV であった。活性化は電位依存性を示し、half activation voltage ( $V_h$ ) は  $-38.2 \pm 0.4$  mV, slope factor ( $V_c$ ) は  $10.4 \pm 0.4$  mV であった ( $N=4$ )。不活性化も電位に依存し、half inactivation voltage ( $V_h$ ) は  $-65.9 \pm 0.4$  mV,  $V_c$  は  $10.8 \pm 0.4$  mV であった ( $N=4$ )。一過性外向き流は 4-AP に対し高い感受性を持ち、5 mM で完全に阻害された ( $IC_{50}$ :  $0.8 \pm 0.1$  mM,  $N=4$ )。持続性外向き流の活性化は

約  $-60$  mV から生じ、tail current の逆転電位は  $-97.5 \pm 5.0$  mV であった。電位依存性の活性化を示し、 $V_h$  は  $-8.4 \pm 1.0$  mV,  $V_c$  は  $13.5 \pm 0.5$  mV であった ( $N=4$ )。不活性化も電位に依存し、 $V_h$  は  $-65.9 \pm 0.6$  mV,  $V_c$  は  $12.3 \pm 0.6$  mV であった ( $N=4$ )。持続性外向き流は TEA に感受性を持ち、20 mM で完全に消失した ( $IC_{50}$ :  $6.9 \pm 0.3$  mM,  $N=4$ )。

#### P-3. 気腹による腎交感神経活動への影響

田中邦彦, 土谷 庸, 李 憲, 森田啓之(岐阜大学医学部第一生理)

近年、外科領域において気腹法を用いた腹腔鏡下手術が急速に普及している。これは開腹法に比して低侵襲で術後疼痛が少ないなどの利点を持つ一方、気腹に伴う循環動態の変調も指摘されている。

特に気腹中の尿量減少は多くの報告がなされているがそのメカニズムについては不明な点が多い。

そこで我々は、特に気腹に伴う腎交感神経活動への影響を検討した。ネブタール麻酔下ラットの大腿動脈及び外頸静脈にカテーテルを挿入し動脈血圧、心拍数及び中心静脈圧をそれぞれ測定した。腎神経に電極をかけ交感神経活動を記録するとともに対側の尿管にカテーテルを挿入し尿量及び Na 排泄量を計測した。人工呼吸下に前腹壁より送気し、腹腔内圧  $+10$  mmHg まで気腹を60分間行なった。動脈血圧、心拍数は変化を認めなかったが、中心静脈圧は気腹に伴って上昇し、解除後前値に復した。腎神経活動は気腹に伴って速やかに上昇し気腹解除後徐々に低下した。尿量及び Na 排泄量は気腹中減少を認めたが解除後は前値よりも増加した。また、気腹後の尿量増加は除神経群については認めなかった。これらの結果から気腹に伴う循環動態の変化、特に尿量の変化には腎交感神経が重要な役割を果たしていることが示された。

#### P-4. 老人性白内障患者におけるヒト前房水アルブミンの酸化・還元状態の解析

林 知也, 今井 一, 永井直樹, 根川常夫, 富田美穂子, 桑田一夫, 恵良聖一(岐阜大学・医学部・生理学第二)

特殊なカラムを用いた高速液体クロマトグラフィー解析によって、ヒト血清中のアルブミンの SH 基の酸化・還元状態の割合が、種々の肝・腎疾患、加齢に伴って変化することが知られている。今回我々は、老人性白内障患者の前房水中に微量に存在するアルブミンの

酸化・還元状態を解析し、血清中のそれらと比較、検討した。

前房水および血清は、白内障以外の眼疾患および肝・腎疾患が認められない老人性白内障患者51名から採取した。患者血清中の還元型アルブミン(HMA)分画の割合の平均は66.4%であったのに対して、前房水中のHMA分画のそれは3.5%と極端に減少していた。それに対応して、前房水中の酸化型アルブミン(HNA)分画のそれは逆に極端に増加していた。これらの結果は、これまでに報告された各種疾患における血清中の各分画の割合とは、全く異なるものであった。白内障の原因の一つとして、水晶体内タンパク質のSH基の酸化が考えられており、今回の前房水中のHMA分画の極端な減少とHNA分画の極端な増加は、老人性白内障における水晶体の極度の酸化状態を間接的に反映していると考えられた。

#### P-5. 活性化凝固因子による線溶系インヒビターの不活性化に伴う線溶活性増強反応に対する正常血管内皮細胞に発現する thrombomodulin の影響

浦野哲盟, 井原勇人, 永井信夫, 高田由美子\*, 高田明和(浜松医大第2生理, \*基礎看護)

凝固系の活性化に伴い線溶活性が増強する機構の一つとして、plasminogen activator inhibitor type 1 (PAI-1)を介する機構を報告してきた。線溶は血漿中に存在する酵素前駆体である plasminogen を plasminogen activator (PA)が活性化することにより開始されるが、この反応は PAI-1 と tissue type PA (tPA)のバランスにより制御されている。PAI-1 は tPA 以外に活性化凝固因子である thrombin や活性化X因子とも反応し、これらの酵素と高分子複合体を形成してその酵素活性を阻害すると共に自身の活性も失う。従ってこれらの凝固因子が大量に活性化されると PAI-1 活性を中和し、tPA 活性を相対的に増加させて線溶活性を増強する。今回は正常血管内皮細胞で発現し thrombin 活性を制御する thrombomodulin (TM)の影響を検討した。細胞外 domain よりなる可溶性 TM は thrombin 活性を濃度依存性に変化させ、また thrombin と PAI-1 の反応も阻害した。これに伴い thrombin による PAI-1 中和に伴う線溶活性増強反応は TM 存在下では認められなかった。従って凝固に伴う線溶活性の過剰発現は正常血管内皮細胞上ではおこりにくいものと考えられた。

#### P-6. 双極子追跡法による聴覚誘発電位発生源の推定

高倉大匡<sup>1,2</sup>, 麻生伸<sup>2</sup>, 渡辺行雄<sup>2</sup>, 梅野克身<sup>1</sup>, 小野武年<sup>3</sup>, 西条寿夫<sup>1</sup>(富山医科薬科大学・医学部・<sup>1</sup>第1生理学, <sup>2</sup>耳鼻科, <sup>3</sup>第2生理学)

脳内双極子追跡法(Dipole Tracing: DT法)は、脳内の局所で同期した電氣的活動を1つ或いは2つの電流双極子で近似し、その大きさとモーメントの方向を頭皮上の電位分布より推定する方法である。本研究では、頭頂部緩反応N1成分の電流発生源を明らかにするため、健常成人から聴覚誘発電位(AEP)を記録し、頭皮、頭蓋骨、脳脊髄液、脳からなる4層実形状モデル(SSLB model)によるDT法(SSLB/DT法)を用いて解析した。閾値上60~80dBの1kHzトーンバーストで一側耳を刺激した。頭部関電極は計32CH装着し、鼻尖部に不関電極を置いた。誘発脳波は、刺激前100msecから刺激開始後400msecまでを100回加算平均した。これらAEPの電流発生源を、SSLB/DT法で潜時150msecまで0.5msec毎に推定した。推定双極子の解剖学的位置は、被検者の頭部3-DMRI上にスーパーインポーズすることにより脳定位的に同定した。その結果、刺激呈示から約100msec後にN1成分に相当する波形が記録され、その推定双極子は側頭葉の聴覚皮質付近に存在することが明らかになった。

#### P-7. ドパミン D2 受容体ノックアウトマウスの fMRI 法による脳活動の画像化

栗脇淳一<sup>1</sup>, 近藤高史<sup>2</sup>, 田村了以<sup>1</sup>, 勝本元也<sup>3</sup>, 饗場 篤<sup>3</sup>, 鳥居邦夫<sup>2</sup>, 小野武年<sup>1</sup>(<sup>1</sup>富山医大・医・第二生理, <sup>2</sup>味の素(株)・中研・基盤研, <sup>3</sup>東大・医科研)

【目的】ドパミン D2 受容体(D2R)は、線条体に密に分布し、運動機能や精神機能の調節に関与していることが知られている。本研究では、機能的磁気共鳴画像法(fMRI)を用い、野生型(WILD)マウスにD2R作動薬または拮抗薬を投与した時の脳活動変化を調べ、さらにドパミン D2 受容体ノックアウト(D2R-KO)マウスにおける薬物効果と比較・解析した。

【方法】ウレタン麻酔下でマウスの頭部をMRIマグネット(4.7T/400mm)ボア内に固定し、プロモクリプチン(BROMO, 5mg/kg)またはスピベロン(SPP, 0.05mg/kg)皮下投与後の脳活動変化を、血流強調グラジエントエコー法により撮像した。撮像は、プレグマより前方0.5mmおよび後方1.5mmに相当する部

位の冠状断面(スライス厚, 1.4 mm)で行った。

【結果】 WILD マウスへの BROMO 投与により大脳皮質, 海馬および視床の信号が有意に増加し, SPP 投与により大脳皮質, 線条体, 海馬および視床の信号が有意に減少した。D2R-KO マウスではいずれの薬物でも有意な変化が認められなかった。

【結論】 以上より, 1) WILD マウスにおける局所脳血流変化部位の差違は, ドパミンによる脳活動調節部位の差を反映すること, および, 2) D2R-KO マウスにおける D2R 作動薬および拮抗薬への応答性の消失は, 脳内 D2R の欠損を反映することが示唆された。

#### P-8. Effects of Leg Venous Hemodynamics on Cardiovascular Responses to Lower Body Negative Pressure with Aging

QI FU, SATOSHI IWASE, YUKI NIIMI, ATSUNORI KAMIYA, DAISAKU MICHIKAMI, AND TADA AKI MAN (Department of Autonomic Neuroscience Research Institute of Environmental Medicine Nagoya University)

In order to investigate the age-related changes in leg venous hemodynamics and their contributions to cardiovascular homeostasis during gravitational stress, 9 young and 10 older healthy males were exposed to a nonhypotensive lower body negative pressure (LBNP) of 15 mmHg. Venous occlusion plethysmography was used to determine the leg venous hemodynamics. We found that baseline venous distensibility index (VDI) was decreased ( $0.057 \pm 0.004$  vs.  $0.048 \pm 0.003$  ml·100 ml<sup>-1</sup>(mmHg<sup>-1</sup>, young vs. older;  $P < 0.05$ ), venous tonic index (VTI) tended to increase, and half-emptying time ( $T_{1/2}$ ) was shortened ( $1.6 \pm 0.1$  vs.  $1.3 \pm 0.1$  s, young vs. older;  $P < 0.05$ ) in the older subjects. At 15 mmHg-LBNP, VDI decreased significantly in the young group ( $P < 0.05$ ) but slightly in the older group; VTI increased and  $T_{1/2}$  was shortened markedly in the young but slightly in the older subjects. Cardiovascular responses to LBNP were attenuated in the older group compared to the young group, with a less decrease in peripheral venous pressure, smaller increases in muscle sympathetic nerve activity and calf vascular resistance, and a less decrease in calf blood flow. It is suggested that reduced responses of leg venous hemodynamics with advancing age, pro-

ducing a less fluid shift towards the lower body, contribute to the attenuated cardiovascular responsiveness to LBNP in the elderly. The reduction in viscoelasticity of the peripheral venous walls and the skeletal muscle surrounding the veins, as well as a decline in the vasoconstrictor response to the sympathetic stimulation with age may play a role.

#### P-9. 活動電位により誘発される細胞膜直下及び核周囲 Ca<sup>2+</sup> ストアからの Ca<sup>2+</sup> 遊離による細胞膜興奮性の調節機構

秋田天平, 久場健司(名古屋大学医学部・生理学第一)

神経細胞における Ca<sup>2+</sup> 誘起性 Ca<sup>2+</sup> 遊離機構の生理的意義を追求するため, 活動電位及び短い脱分極刺激により生ずる細胞内 Ca<sup>2+</sup> 濃度上昇について検討した。培養ウシガエル腰部交感神経節細胞に対してホールセル電極を通じて Ca<sup>2+</sup> 指示薬を負荷し, 共焦点レーザー顕微鏡を用いて観測したところ, 1~数発の活動電位により細胞膜直下から中心部に向かって拡がり速度に二相からなる一過性の Ca<sup>2+</sup> 濃度上昇が認められた。核境界内縁より二方向性にそれを認める場合もあり, 核膜からの Ca<sup>2+</sup> 遊離が示唆された。これらは ryanodine・thapsigargin により細胞膜 Ca<sup>2+</sup> 流入に影響なく抑制され, また nifedipine はこの上昇に殆ど影響しないが  $\omega$ -conotoxin により完全に消失した。蛍光 ryanodine を付加すると細胞膜直下及び核周囲にその集積が認められた。Ca<sup>2+</sup> 遊離抑制に伴い活動電位の後過分極の長さは減少するが, その背景の 2~3 相の指数関数成分よりなる電流のうち apamin 感受性のある遅い成分に加えて, 速い成分の抑制も認められた。活動電位の降下相の傾きは Iberiotoxin 及び  $\omega$ -conotoxin により減少するが, Ca<sup>2+</sup> 遊離抑制に伴い同様な傾きの減少が認められた。以上のことは SKCa channel の活性化に加えて, N-type Ca<sup>2+</sup> channel と Ca<sup>2+</sup> microdomain レベルで共役した細胞膜直下 Ca<sup>2+</sup> 遊離による BK<sub>Ca</sub> channel の活性化機構の存在を示唆する。

#### P-10. Propagation and synchronization of Ca<sup>2+</sup> transients via Ca<sup>2+</sup> action potentials in the network of cultured hippocampal neurons

F.-M. Lu & K. Kuba (Dept. of Physiology, School of Medicine, Nagoya Univ.)

Ca<sup>2+</sup> imaging and patch clamp techniques were applied to cultured rat hippocampal neurons. In the presence of tetrodotoxin (0.5 μM), 4-aminopyridine (50 μM) and Cs<sup>+</sup> (2 mM), synchronized Ca<sup>2+</sup> transients occurred at interval of 6–47 s, and were accompanied by synchronous excitatory postsynaptic currents (EPSCs). Synchronized Ca<sup>2+</sup> transients and EPSCs were blocked by CNQX (10 μM) plus CPP (20 μM), nicardipine (10 μM) and ω-conotoxin MVIIC (10 μM). Ca<sup>2+</sup> action potentials at the cell soma were largely blocked by nicardipine, but only slightly by ω-conotoxin MVIIC. ω-Conotoxin MVIIC blocked completely autaptic EPSCs in the absence of tetrodotoxin. Ryanodine, caffeine and thapsigargin did not block Ca<sup>2+</sup> transients. The direction of propagation of Ca<sup>2+</sup> transients differed for each episode of synchronization, while Ca<sup>2+</sup> transients propagating in the same direction showed variability in their latency over hundreds of ms, resembling the latency of a Ca<sup>2+</sup> action potential generating from summated EPSPs. These results suggest that Ca<sup>2+</sup> action potentials mediate propagation and synchronization of Ca<sup>2+</sup> transients in the network of cultured hippocampal neurons.

#### P-11. ネコ尾状核における cholinergic-GABAergic-serotonergic interaction: 免疫組織化学的検索

奥村 哲<sup>1,2</sup>, Arpad Dobolyi<sup>1</sup>, 松山清治<sup>1,2</sup>, 森大志<sup>1</sup>, 森 茂美<sup>1,2</sup>  
(<sup>1</sup>生理研・生体システム, <sup>2</sup>総合研究大学院大学)

本研究ではネコ尾状核のコリン作動性介在細胞および出力細胞に対する 5-HT 神経支配様式を明らかにすることを目的とした。このためネコを灌流固定し、尾状核を含む脳組織の 50 μm 前額断切片を作成した。これらの切片を用いて第一に抗コリンアセチル転移酵素 (ChAT) 抗体を用いて ChAT 陽性介在細胞を同定した。第 2 に逆行性標識物質 (BDA) を尾状核の主たる投射部位である淡蒼球 (GP), 黒質網様部 (SNr), 脚内核 (EP) に微小注入し尾状核の出力細胞を逆行性標識した。第 3 にさらに 1, 2 で標識した組織切片に抗 5-HT 免疫組織化学染色を加え 5-HT 線維を標識した。これらの切片を光顕的観察することにより 5-HT 線維の介在細胞, 出力細胞に対する投射様式を解析した。この結果第 1 に ChAT 陽性介在細胞は直径 20~

50 μm の大型細胞が主体であり, これらは吻尾側全体にわたって多数分布していた。第 2 に出力細胞は直径 10~20 μm の中型細胞が主体であり GP, EP への出力細胞は主として尾状核背外側に, SNr への出力細胞は中央部に密に分布していた。第 3 に 5-HT 線維は標識介在細胞および出力細胞の細胞体・樹状突起の周囲に多数分布していた。さらに 5-HT 線維終末が標識介在細胞および出力細胞に近接する像も多数確認できた。以上の成績より 5-HT 作動系は尾状核に存在する介在細胞と出力細胞の両者を直接支配していることが確認できた。

#### P-12. 3-ニトロプロピオン酸の投与による線条体特異的細胞障害における NO 代謝

飛田秀樹, 武井教恵, 増田 匡, 馬場広子, 西野仁雄 (名古屋市立大学・医学部・第 2 生理学)

コハク酸脱水素酵素の阻害剤である 3-ニトロプロピオン酸 (3NPA) 投与による線条体特異的細胞障害において NO 代謝がどのように関与しているのかを調べるため, 自由行動ラットの脳内透析灌流液中の NO 代謝産物 (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) の動態をマイクロダイアリシス法を用いて調べた。線条体では, 視床および小脳に比べ NO 代謝基礎値および 3NPA 投与後の値 (回復期値) がともに高く, また回復期値が高値を示す個体と症状の出現との間に相関を示した。3NPA がグルタミン酸に類似した酸であり, また 3NPA 急性投与によってアストロサイトがまず障害されるという事実より, 線条体アストロサイトのグルタミン酸トランスポーターが線条体の NO 代謝の亢進に関与するかどうかについて調べた。線条体グルタミン酸トランスポーター蛋白の発現をアンチセンスヌクレオチドの脳室内連続投与によって抑えてアストロサイトへのグルタミン酸取り込みを抑制させた状態では, 3NPA 投与前後の線条体の NO 代謝が亢進することが分かった。以上のことから, 3NPA 急性投与後の線条体特異的な細胞障害に NO 代謝の亢進が関与し, この亢進にアストロサイトのグルタミン酸トランスポーターが関与している可能性が示された。

#### P-13. 線条体出血モデルラットの黒質に認められた二次的変性

今村暢希, 飛田秀樹<sup>1</sup>, 相原徳孝, 西野仁雄<sup>1</sup>, 山田和雄 (名古屋市立大学・脳神経外科, <sup>1</sup>第 2 生理学)

脳内出血において脳虚血時のような遠隔部二次的変

性が認められるかどうかについての詳細な報告はない。我々は、コラゲナーゼ注入による線条体出血モデルラットを用いて黒質の二次的変性について検討した。線条体出血モデルラットは、Wistar系ラットの線条体に、0.28Uのコラゲナーゼ(type IV)1.4  $\mu$ lを7分間かけて注入し作製した。1週後に、線条体へ投射する黒質における組織学的変化を、抗チロシン水酸化酵素 (TH) 抗体、抗 OX-41 抗体、抗グリア線維性酸性蛋白 (GFAP) 抗体を用いて解析した。その結果、TH 染色において、出血側黒質ドーパミン (DA) ニューロンの染色性の低下、特に神経突起の減少を認めた。また、出血側黒質において OX-41 陽性細胞の出現と GFAP 染色性の増強を認めた。一方、正常側の黒質にはこれらの変化は認められなかった。8 週後では TH 陽性細胞の神経突起の減少は著しかった。本実験より、コラゲナーゼ注入線条体出血モデルにおいて、出血の遠隔部である黒質において DA ニューロンが二次的変化を起こしており、この変化に microglia が関与することがわかった。このことから、出血部位へ投射する神経が二次的な影響を受け変性へと陥ることが考えられた。

#### P-14. 神経軸索上の電位依存性 $K^+$ チャンネルのクラスター形成における PSD-95 の役割

石橋智子<sup>1,2</sup>, 馬場広子<sup>1</sup>, 金本 猛<sup>1</sup>, 池中一裕<sup>2</sup>, 西野仁雄<sup>1</sup> (<sup>1</sup>名古屋市立大学医学部第二生理, <sup>2</sup>国立生理学研究所)

有髄神経線維上の電位依存性 Na チャンネルはランヴィエ絞輪部、電位依存性 K チャンネルは paranode 近傍に局在する。我々はシナプス後膜でチャンネルや NMDA レセプターの局在に関与する PSD-95 が軸索上にも存在し、K チャンネルと同じ部位にクラスター形成することを明らかにした。軸索上の K チャンネルは、Kv1.1 と Kv1.2 の 2 つの  $\alpha$  サブユニットと  $\beta$  サブユニットが複合体を形成している。K チャンネルのクラスター形成におけるこれらの分子の役割を明らかにする目的で、Kv1.1, Kv $\beta$ 2 および PSD-95 を MDCK 細胞に発現させ局在の変化を観察した。単独で発現させた場合、Kv1.1 は核周囲に Kv $\beta$ 2 は細胞質全体に、PSD-95 は膜直下に局在した。Kv1.1 と PSD-95 を共発現すると colocalize するがクラスター形成は認められず、Kv1.1 と Kv $\beta$ 2 を共発現すると Kv1.1 の局在は膜へ移行する傾向が見られた。そこで Kv1.1, Kv $\beta$ 2, PSD-95 を共発現させたがクラスター形成は

認められなかった。この結果 Kv1.1 の膜への移行には Kv $\beta$ 2 が必要でありクラスター形成には K チャンネルと PSD-95 のみでなく他分子の関与が考えられた。

#### P-15. 運動ストレス負荷により脳内に出現する Argyrophil III 陽性ニューロン

石田和人<sup>1,2</sup>, 飛田秀樹<sup>1</sup>, 猪田邦雄<sup>2</sup>, 西野仁雄<sup>1</sup> (<sup>1</sup>名市大・医・第二生理, <sup>2</sup>名大・医・保健学科)

Argyrophil III 法は神経細胞障害の初期像を dark neuron (DN) として検出する。ラットに水泳(水深 25~45 cm, 30分~3時間)およびトレッドミルランニング(速度 600~1200 cm/分, 1~2時間)を負荷し、脳内に出現する DN について検討した。また DN 出現部位の連続切片を HE 染色にも供した。DN は、水泳 30分で海馬 CA1~CA2 錐体細胞層および線条体、1 時間では、海馬および大脳皮質体性感覚野の最下層、2~3 時間では、海馬 CA1~CA2 錐体細胞層、oriens layer, 内側手綱核, 扁桃核, 内嗅野, 視床下部, 背外側中隔核, 線条体などに出現した。一方、トレッドミルランニングでは、600 cm/分では出現せず、1200 cm/分では 18 野最背内側部, 17 および 18 a 野の最下層, 運動野, 体性感覚野, 赤核, 内嗅野, 海馬歯状回などに出現した。HE 染色では、海馬 CA1~CA2 錐体細胞層で、細胞体の濃染像が見られたが、他の部位では特徴的所見がなかった。以上より、運動ストレス負荷は脳内に DN を出現させ、水泳では主に大脳辺縁系、ランニングでは辺縁系、運動系および視覚系のニューロンがそれぞれ障害される可能性が示唆された。

#### P-16. モルモット胃輪走筋の自発活動の $Ca^{2+}$ 反応

福田裕康, 野瀬清孝, 鈴木 光(名古屋市立大学・医学部・生理学第一)

胃平滑筋の自発的膜電位変化 (slow wave) の発生機序には未だ不明瞭な点が多い。今回モルモット胃輪走筋 (1~2  $\times$  0.5 mm) のみを含む標本を用い、自発活動の性質を微小電極法による膜電位と Fura-2 による細胞内  $Ca^{2+}$  の同時測定によって調べた。自発活動の細胞内  $Ca^{2+}$  濃度上昇は膜電位の変化に続いて観察された。Nifedipine は電位の自発活動変化にみられる  $Ca^{2+}$  スパイク成分のみを消失させ、それに伴う細胞内  $Ca^{2+}$  の増加を半分に減少させた。この自発活動は BAPTA-AM,  $Ca^{2+}$ -ATPase の阻害薬である CPA

と細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  ストアーからの  $\text{IP}_3$ -sensitive  $\text{Ca}^{2+}$  release を抑制する 2-APB によって消失した。これらの結果から slow wave による  $\text{Ca}^{2+}$  の流入は、電位依存性L型  $\text{Ca}^{2+}$  channel を介する  $\text{Ca}^{2+}$  流入と電位に依存はしているものの電位依存性L型  $\text{Ca}^{2+}$  channel を介さない  $\text{Ca}^{2+}$  流入がある事がわかった。しかし、どちらの  $\text{Ca}^{2+}$  流入も律動的に変化していたので、胃平滑筋の自動運動に関与していると考えられた。また、胃平滑筋の自発活動にはイノシトールリン酸の代謝による筋小胞体からの  $\text{Ca}^{2+}$  遊離が重要な役割を果たしていると考えられた。

#### P-17. モルモット胃体部平滑筋自発活動の膜電位依存性

野瀬清孝, 高野博充, 福田裕康, 山本喜通, 鈴木光(名古屋市立大学医学部第一生理)

胃体部や幽門部の平滑筋の膜電位は規則的に緩やかな変動をしており、この自発活動は緩電位とよばれている。標本の部位や縦走筋の剥離の有無でこの緩電位

の頻度に膜電位依存性があるかないか報告が異なる。そこで今回われわれは、モルモット胃体部平滑筋から作成した縦走筋、間質細胞、輪走筋のついた平滑筋全層標本と輪走筋以外の層を剥離した輪走筋標本を用いて、膜電位と緩電位頻度について検討した。膜電位は細胞外カリウム濃度および細胞外電極による通電で調節し、ガラス微小電極によって細胞内電位を測定した。

平滑筋全層標本、輪走筋標本ともに細胞外カリウム濃度を高くすると膜が脱分極し、緩電位頻度は増加し、緩電位振幅は小さくなった。緩電位の頻度はコントロールでは標本により多少のばらつきがみられたが、脱分極による頻度増加であるレベルに落ち着き、ばらつきが小さくなるのが観察された。その平均頻度は平滑筋全層標本では7.9秒に一回、輪走筋標本では9.5秒に一回であった。細胞外電気刺激により膜を脱分極させると緩電位頻度は増加し、過分極させると緩電位頻度は減少した。

以上からモルモット胃体部平滑筋の自発活動には電位依存性があることが示された。

## 第50回 西日本生理学会

会 期：平成11年10月15日(金)～16日(土)

会 場：トキハ会館(大分市府内町)

当番幹事：大分医科大学生理学教室 山田和廣, 有田 眞

参加者：109名

第50回を記念して野間昭典教授(京都大学)に記念講演を依頼したほか、一般演題として52題の申込があった。金曜の午後から開始し、隣り合った二つの会場での同時進行によって一般演題の発表を行い、翌土曜の正午すぎに閉会した。第一日の最後に野間教授による記念講演を聞き、その後評議員会・総会を、また夕刻から懇親会を開いた。

一般演題の座長は助教授および講師に依頼し、発表時間は各々15分で、その内5分を質疑とした。持ち時間についての表示を行ったこともあって、時間いっぱいまで活発な質疑応答が行われた。第51回は産業医科大学、第52回は琉球大学で開催される。(山田和廣)

### 1. モルモット心室筋細胞遅延整流 $K^+$ 電流と活動電位に対する Mosapride の作用

王 金城, 清末達人, 有田 眞(大分医科大学 生理学 2)

腸管運動機能亢進剤 Cisapride は遅延整流  $K^+$  電流の急速活性化成分 ( $I_{Kr}$ ) をブロックして心電図の QT 期間を延長し、不整脈を誘発することが報告された。そこで、本研究では化学構造が類似している新規腸管運動促進薬 Mosapride の心室筋細胞の遅延整流  $K^+$  電流に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。単離したモルモット心室筋細胞に Whole Cell Patch-Clamp 法を適用し、活動電位持続時間 (APD) と遅延整流  $K^+$  電流に対する Mosapride 及びその主要代謝産物 M1 の作用を検討した。1  $\mu$ M の Mosapride は刺激頻度 0.5～4 Hz で発生した APD<sub>90</sub> を変えなかった。同濃度の Mosapride は遅延整流  $K^+$  電流の急速活性化成分 ( $I_{Kr}$ ) を軽度 ( $9.8 \pm 4.3\%$ ) 抑制した。緩徐活性化成分 ( $I_{Ks}$ ) には 1～10  $\mu$ M の Mosapride は有意な変化を生じなかった。これに対して、M1 は、早い刺激頻度 (2, 3 と 4 Hz) では APD<sub>90</sub> に有意な変化を生じなかったが、遅い刺激頻度 (0.5 Hz) では APD<sub>90</sub> を有意に延長した。M1 は  $I_{Kr}$  を濃度依存性に抑制し、その IC<sub>50</sub> は 2.9  $\mu$ M であった。1, 10  $\mu$ M の M1 は  $I_{Ks}$  に有意な変化を生じなかった。以上より、Mosapride の代謝産物 M1 は  $I_{Kr}$  をブロックして、逆頻度依存性に APD を延長する作用を有することが分かった。しかしながら、臨床使用量での Mosapride の最高血漿中濃度 (Cmax) は約 0.48  $\mu$ M、M1 の Cmax は約 0.15  $\mu$ M であり、臨床通常使用量では、Mosapride、

M1 ともに遅延整流  $K^+$  電流阻害による催不整脈作用を示す可能性は低いと考えられる。

### 2. 穿孔パッチクランプ法で記録したモルモット心室筋内向き整流性 $K$ 電流

石原圭子, 巖原嗣尚(佐賀医科大学 第一生理)

内向き整流  $K$  チャネルを流れる外向き電流の振幅は細胞内の陽イオン性粒子であるポリアミンや Mg によるブロックにより制御されている。私たちは以前に conventional パッチクランプ法 (電極液遊離 Mg 1 mM) で記録したモルモット心室筋内向き整流  $K$  電流 ( $I_{K1}$ ) が、再分極にともない一過性の増加と減衰を示し、これは Mg ブロックからの開放とポリアミンによる再ブロックによって説明されることを示した。今回は電流の時間依存性変化が細胞内が生理的な状態であるときに認められるのかどうかについてアンホテリン B 穿孔パッチクランプ法をも用いて検討した。遊離 Mg 10  $\mu$ M の電極液を用いて conventional パッチクランプ法で  $I_{K1}$  を記録すると、一過性の外向き成分は実験開始直後には観察されたがその後次第に振幅が減少して見えなくなった。穿孔パッチクランプ法で記録した  $I_{K1}$  には再分極にともなう一過性の外向き電流成分が観察され、電流減衰の時間経過は遊離 Mg が 1 ないし 0.5 mM の電極液を用いて conventional クランプ法で記録した電流の時間経過と同程度であった。以上の結果から生理的な細胞内環境において再分極時に流れる  $I_{K1}$  の外向き電流には時間依存性の成分が加わると考えられた。

### 3. ヒト心筋電位依存性T型 $\text{Ca}^{2+}$ チャネル $\alpha_1$ サブユニット ( $\alpha_{1H}$ ) の機能発現

賀来俊彦, 小野克重, 李 泰成, 有田 眞 (大分医科大学 生理学第二)

【背景】 電位依存性T型  $\text{Ca}^{2+}$  チャネルは心臓洞房結節のペースメーカー機能などに関与する事が知られており, 最近その  $\alpha_{1H}$  サブユニットの分子構造が明らかとなった。

【目的】 ヒト胎児腎臓細胞 (HEK 293) にヒト心筋由来電位依存性T型  $\text{Ca}^{2+}$  チャネルの  $\alpha_1$  サブユニット ( $\alpha_{1H}$ ) を発現させ, T型  $\text{Ca}^{2+}$  チャネルの細胞全体電流を記録し, その電流解析 (電流-電圧関係, 使用依存性減衰の形成過程, 弦コンダクタンス等) を行い, 透過イオンに依存する電流特性を解明する。

【方法】  $\alpha_{1H}$  サブユニットを HEK 細胞に発現させ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$  (1, 10, 50 mM) を透過イオンとした細胞全体電流を測定した。

【結果】 発現した  $\alpha_{1H}$  チャネル電流は  $\text{Ca}^{2+}$  1 mM を透過イオンとするとき,  $-60$  mV より活性化され ( $V_{1/2} = -46.5$  mV),  $-30$  mV で  $G_{\text{max}}$  に達する内向き電流を示した。一方,  $\text{Ba}^{2+}$  1 mM を透過イオンとするとき, 活性化・定常状態不活性化曲線は約 5 mV 過分極側に偏位した。また電流の減衰 (relaxation) は  $\text{Ba}^{2+}$  電流に比べ  $\text{Ca}^{2+}$  電流で緩やかであり, 透過あるいは細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  による  $\alpha_{1H}$  チャネルの開閉調節が示唆された。

### 4. ヒト心筋 T 型 $\text{Ca}^{2+}$ チャネル $\alpha_{1H}$ サブユニット電流に対する $\text{Ca}^{2+}$ 拮抗薬の作用

李 泰成, 小野克重, 賀来俊彦, 有田 眞 (大分医科大学 生理学第二)

【背景】 心筋に存在する電位依存性T型  $\text{Ca}^{2+}$  チャネルは, 主として刺激伝導系細胞に分布しており, 歩調取り電位の形成や興奮伝播に関与している。しかし,  $\text{Ca}^{2+}$  拮抗薬に対するT型  $\text{Ca}^{2+}$  チャネルの反応様式についてはほとんど報告されていない。1998年, Cribbs らはその  $\alpha_1$  サブユニット ( $\alpha_{1H}$ ) の cDNA のクローニングに成功した。

【目的】 T型  $\text{Ca}^{2+}$  チャネル選択的な  $\text{Ca}^{2+}$  拮抗薬とされている非ジヒドロピリジン系の mibefradil, L型  $\text{Ca}^{2+}$  チャネル選択的とされているジヒドロピリジン系の nifedipine, そしてジヒドロピリジン系でもT型  $\text{Ca}^{2+}$  チャネル選択性を併せ持つ efonidipine について, T型  $\text{Ca}^{2+}$  チャネル電流抑制様式を比較検討する。

【方法】 human embryonic kidney-293 細胞に, ヒト心筋由来の  $\alpha_{1H}$  サブユニットをリン酸カルシウム法で発現させ, 1.8 mM  $\text{Ca}^{2+}$  イオンを透過イオンとする細胞全膜電流 ( $\alpha_{1H}$  電流) を記録した。

【結果】  $\alpha_{1H}$  電流は心筋 L 型  $\text{Ca}^{2+}$  チャネルよりも電流活性化閾値が深く (約  $-70$  mV), 急速な減衰過程を示した。  $\alpha_{1H}$  電流に対する各薬剤の 50% 抑制値 ( $\text{IC}_{50}$ ) は, mibefradil 0.89  $\mu\text{M}$ , nifedipine 1.91  $\mu\text{M}$ , efonidipine 0.43  $\mu\text{M}$  であり, ヒル係数は各々 2.29, 0.98, 2.11 であった。また,  $\alpha_{1H}$  電流の活性化曲線, 定常状態不活性化曲線は, 各薬剤 ( $\text{IC}_{50}$ ) 投与により両者とも過分極方向へ約 6 mV 偏位した。

【総括】 mibefradil, efonidipine の  $\alpha_{1H}$  電流抑制効果は nifedipine より強く, その作用は正の協調性を示すことが判明した。

### 5. 心筋 CFTR クロライド電流は炭酸水素イオンによって抑制される

Yan Ding-Hong, 穎原嗣尚 (佐賀医科大学 生理学第一講座)

$\beta$  受容体刺激で活性化される心筋 CFTR クロライド電流 ( $I_{\text{Cl}}$ ) の性質は主として HEPES buffer 液中で調べられてきた。そのため  $\text{HCO}_3^-$  イオンは体液中の重要な陰イオンであるにもかかわらず, このイオンの心筋  $I_{\text{Cl}}$  に及ぼす影響については不明である。上皮細胞の CFTR チャネルは  $\text{HCO}_3^-$  を通過するとされている。そこで今回モルモット心室筋細胞に whole cell 記録法を適用し, 細胞外  $\text{HCO}_3^-$  存在下での  $I_{\text{Cl}}$  の性質を調べた。基準細胞外液の陰イオン組成を 102 mM Cl + 50 mM aspartate とし, 後者と置換することにより 25 または 50 mM  $\text{HCO}_3^-$  を含む試験液を作った。  $\text{HCO}_3^-$  含有液には 5 または 10%  $\text{CO}_2$  の混合ガスを飽和させ pH を 7.4 に調整した。 Adrenalin または forskolin により活性化される  $I_{\text{Cl}}$  の大きさは  $\text{HCO}_3^-$  含有液中で有意に減少した。この際  $I_{\text{Cl}}$  の逆転電位のシフトは観察されず, 電流抑制に電位依存性は無かった。外液 Cl 濃度を極端に低く (24 mM) した場合にも同様に  $\text{HCO}_3^-$  による  $I_{\text{Cl}}$  の抑制のみがみられ,  $\text{HCO}_3^-$  の CFTR チャネル透過を示すデータは得られなかった。生理的条件にもっとも近い外液 (127 mM Cl + 25 mM  $\text{HCO}_3^-$ ) 中で  $\text{HCO}_3^-$  による  $I_{\text{Cl}}$  の抑制率は約 10% であった。細胞外  $\text{HCO}_3^-$  は CFTR チャネルの単純な弱いブロッカーとして働いていると考えられる。  $\text{HCO}_3^-$  イオンと Cl イオンに対してチャネルの multi-ion pore behavior はみ

られない。

## 6. マウス心筋細胞の一過性内向き電流は Na/Ca 交換電流だろうか？

塩谷孝夫, 山本信太郎(佐賀医科大学 生理学講座)

マウス心室筋細胞は、負電位側(-40 mV 付近)にプラトー相を持つ活動電位を発生する。このプラトー相をつくる膜電流成分について解析した。ホールセルパッチ記録法をもちいて、生理的条件下でマウス心室筋細胞の膜電流を記録すると、電流波形には、脱分極により誘発される遅い一過性内向き電流(Isi/slow)成分が認められた。細胞外にリアノジン(10  $\mu$ M)を投与して筋小胞体からの Ca 放出を抑制すると、膜電流固定下では活動電位持続時間の著しい短縮が、膜電位固定化では Isi/slow の消失が認められた。これから、1) マウス心室筋細胞活動電位のプラトー相は、この Isi/slow により形成されており、2) Isi/slow は収縮にともなう細胞内 Ca レベルの上昇で活性化されることが示された。また、Isi/slow は、1) 持続時間が 100~200 ms と長く、2) 電流振幅が最大となる膜電位が -40 mV 付近にあり、3) 電流の減衰に強い電位依存性がないことから、Ca 電流とは異なることが示された。さらに、1) Isi/slow の電流振幅の増大は膜コンダクタンスの増大をともなわず、逆転電位の脱分極側へのシフトに起因すること、2) 細胞収縮時の Isi/slow の逆転電位は +20 mV 付近にあること、3) Na/Ca 交換電流をブロックする Ni(2 mM)の細胞外投与がこの電流を消失させることから、この Isi/slow の正体は Na/Ca 交換電流であることが強く示唆された。以上の結果から、マウス心室筋細胞では、収縮にともなう細胞内 Ca トランジェントを反映して、Na/Ca 交換電流によりプラトー相が形成されると考えた。

## 7. モルモット摘出右心室標本における bradykinin の心筋虚血再灌流障害改善作用

李 玉龍, 佐藤俊明, 安部隆子, 有田 眞(大分医科大学 生理学第二)

Ischemic preconditioning (IPC)は内因性虚血心筋防衛機構であり、ヒトを含めた多くの動物種で報告されている。その機序として、noradrenaline, adenosine, bradykinin が  $\alpha_1$ ,  $A_1$ ,  $B_2$  受容体をそれぞれ刺激し、protein kinase C (PKC)を活性化させることが、IPC 成立の重要な経路であると考えられている。しかし、

モルモットではこれらの薬物による pharmacological preconditioning の効果は報告されていない。そこで、モルモット冠動脈灌流右室自由壁標本を用いて、IPC ならびに bradykinin が虚血再灌流(20分虚血60分再灌流)時の収縮張力に及ぼす効果を検討した。IPC は再灌流早期の収縮張力を僅かに改善したが、再灌流後期の収縮張力は改善しなかった。Bradykinin (1  $\mu$ M)は、虚血再灌流後の収縮張力を著明に改善した。低濃度(0.5  $\mu$ M)の bradykinin または ACE inhibitor である enalapril 存在下に IPC を行うと、IPC 単独と比較して、虚血再灌流後の収縮張力の改善作用が増強した。一方、bradykinin の収縮張力改善作用は  $B_2$  receptor antagonist である HOE 140, PKC inhibitor である chelerythrine, または  $K_{ATP}$  channel blocker である glibenclamide によりそれぞれ著明に抑制された。すなわち、bradykinin は  $B_2$  receptor を介する PKC の活性化により  $K_{ATP}$  channel の開口を促進し、虚血再灌流後の心筋収縮能を改善する。

## 8. 糖尿病ラットにおける心臓支配自律神経障害の心拍変動解析による検討

シャマレンドラ-ナス-サニアル, 小野克重, 有田 眞(大分医科大学 生理学第二)

糖尿病ラットの自律神経障害の発症とその障害出現様式の特徴を判定するため、ストレプトゾトシン(STZ)誘発糖尿病ラットの腹腔内に心電図テレメトリ-送信機を装着し無麻酔無拘束下における心電図(ECG)を記録して、その心拍数と RR 間隔変動の高速フーリエ変換による周波数解析を行なった。STZ の静脈注射後1ヶ月以内にラットの血糖値は 500 mg/dl まで上昇し、その後高血糖は数ヶ月間持続した。糖尿病ラットの心拍数は STZ 静注後 2 週間て低下をきたした。ECG の RR 間隔の変動には、0.04~0.73 Hz の低周波数領域(LF)と 0.73~2.00 Hz の高周波数領域(HF)の2つの周波数ピークが認められ、STZ 静注後 2 週間より Total Power と HF Power の著明な低下が認められ、この低下は4ヶ月以上持続した。しかし、ムスカリン受容体遮断薬(atropine)や  $\beta$ -受容体遮断薬(propranolol)に対する心拍数や HF 値の反応性は保持されたままであった。自然発症糖尿病(Kob/WBN strain)ラットの心拍変動異常が DM 発症後長期間(> 1年)を経て出現する結果と比較考案すると、STZ 誘発 DM ラットモデルの心拍変動異常は DM 発症後ごく早期から出現することが判明した。

### 9. “新しいサシミの歯応えから定数 $\beta$ まで”筋の力学的特性に関する自励振動解析

緒方道彦(九州大学健康科学センター)

新しいサシミの歯応えは「蛋白・イオン・水」複合体としての筋の静力学的特性の表現であり、負荷が小さい間は KPa, 大きくなると MPa, 程度の「ゴム状弾性体」であるが、圧縮率は非圧縮性の水のため極めて低い。静止筋が骨と協働して動物個体の構造を保つとき「水」は構造要素であり、単純な溶媒ではない。

筋の力学的特性の基本は、“force-velocity relationship”にある。収縮時、水分子の動態変化は、短縮開始に先行するとともに、蛋白の水和性が急減、即ち機械的な負抵抗が生じる。そこで自励振動解析を試みた結果、基礎方程式の解曲線が実験記録とうまく一致することがわかった。なお、同一標本の張力と短縮の同時記録の検討から、位相平面の様態が異なり、筋は外部負荷に対応する応力を形成しつつ、余力を以て短縮する、即ち「筋は、構造を保ちながら、短縮する」という実態が明らかになった。

また、理論解析の過程で、A. V. Hill の定数、 $a$ 、 $b$  を単一の  $\beta$  に集約し、対象筋標本の特性係数として、機械的効率やエネルギー利用の定量的研究に有用であることが分かった。

### 10. ADN から投射される孤束核ニューロンの生理学的特性

桂林秀太郎(九州大学大学院医学系研究科細胞・システム生理学講座)

延髄にある孤束核(NTS)は体内の pH 調節や体温調節、また血圧調節など末梢からの情報の一次ニューロンとして様々な機能を持っている。特に血圧調節に関して NTS の役割は数多く報告されているが、実際に圧受容器からの情報を得ている NTS ニューロンにおける生理学的特性を報告したものは皆無である。

そこで、大動脈弓にある圧受容器からの求心性 Aortic depressor nerve (ADN) に Di-I を注入し、スライス標本にて ADN が投射されている NTS ニューロンを同定し、電気生理学的に検討した。その結果、NTS における ADN の神経終末は殆ど medial NTS の樹状突起に投射されており、一部細胞体に投射しているものが確認された。

そこで、NTS ニューロンにおいて細胞体に直接投射されているものと樹状突起に投射されているもの、ならびに ADN の投射を受けないもの、の 3 群に分類

しカイニン酸、GABA、グリシン、ATP、ニコチンの作用を検討した。その結果、細胞体に直接投射されているものと樹状突起に投射されているものにおいて、カイニン酸の応答が有意に増強していた。

以上より、大動脈弓圧受容器からの求心性 ADN から情報を受ける medial NTS ニューロンは non-NMDA 受容体が多く存在していることが明らかとなった。

### 11. ラット脊髄後角におけるシナプス伝達に対するノルアドレナリンの作用

川崎康彦, 熊本栄一, 古江秀昌, 吉村 恵(佐賀医科大学・生理学講座)

脊髄後角の膠様質ニューロンは末梢から A $\delta$  線維及び C 線維を介して痛み情報の入力を受け、痛覚伝達の制御・統合において重要な役割を果たすことが知られている。この制御機構の一つに、脳幹橋部に存在する青斑核から膠様質に伸びる下行性抑制系であるノルアドレナリン (NA) 作動性神経を介するものがある。NA が膠様質ニューロンを過分極することは以前報告した。今回、膠様質における NA の役割を詳しく知る目的で、後根を付したラット脊髄横断スライス標本にブラインド・ホールセル・パッチクランプ法を適用し、後根の電気刺激により膠様質ニューロンで誘起されるグルタミン酸作動性の興奮性シナプス電流 (EPSC) に対する NA (50 nM) の作用を調べた。パッチ電極内液は GDP- $\beta$ -S と K $^{+}$  チャネル阻害剤 (Cs $^{+}$  と TEA) を含んでおり、NA のシナプス後細胞に対する作用を抑制した条件下で実験を行った。NA は A $\delta$  線維と C 線維を介して単シナプス性に誘起される EPSC の振幅を抑制した。この抑制の大きさはそれぞれ 50 $\pm$ 6% (n=20) と 28 $\pm$ 5% (n=8) で、この差は有意であった (P<0.01)。これより、NA は 1 次感覚神経の終末に作用してグルタミン酸の放出を抑制し、この作用は C 線維終末よりも A $\delta$  線維終末に対するものが大きいと結論される。この NA の作用は脊髄膠様質における痛み情報の伝達の制御に寄与することが示唆される。

### 12. ヒト神経芽腫細胞 NB-1 における Ca チャネル電流

宋 偉峰, 富満久教, 松川 浩, 亀山正樹(鹿児島大・医・第二生理)

細胞株 NB1 は、三宅らによりヒト神経芽細胞腫よ

り分離、樹立されたもので、紡錘形をした未分化 (blast) 型と神経細胞様の成熟 (mature) 型があり、カテコラミン分泌能などの交感神経節性ニューロンの性質を有している。これまで、dibutyl (db)-cAMP や神経成長因子などの刺激により、成熟型への形態変化やカテコラミン代謝の促進などが明らかにされているが、イオン電流の組成がどのように変化するかは未詳である。そこでこの研究では、db-cAMP による分化刺激が Ca チャネル電流に与える影響について検討した。

未分化細胞では、ほとんどの例で高閾値型 Ca チャネル電流のみが見られ、ピーク電流値の30%が nifedipine (DHP系L型チャネル阻害薬) 感受性で、70%が  $\omega$ -conotoxin GVIA (N型チャネル阻害薬) 感受性であった。分化刺激後の成熟型細胞では、低閾値型の T 型電流が出現し、高閾値型電流も2.3倍に増加した。後者の電流の26%は nifedipine 感受性で、残りの74%は  $\omega$ -conotoxin GVIA 感受性であり、 $\omega$ -agatoxin IVA (P/Q 型チャネル阻害薬) には感受性を示さなかった。これらの結果より、NB1 細胞の Ca チャネルは分化に伴ってその電流値を増加させるとともにそのサブタイプの組成にも若干の変化が現れることが明らかになった。

### 13. 脳のエネルギー供給におけるグリアの役割

吉岡敬太郎, 西丸直子, 柳井荘緑, 山田和廣 (大分医科大学 生理学第一)

神経細胞はグリア細胞内で生成される乳酸をエネルギー基質として使用するという、いわゆるアストロサイト-ニューロン乳酸シャトル説が網膜における観察から提唱されている。しかし、脳においての明らかな証拠はない。我々は、ラット脳スライス標本を対象として、リン-NMR を用い高カリウム刺激による高エネルギーリン化合物 (PCr) の変化を測定し、乳酸のエネルギー基質としての能力をブドウ糖およびピルビン酸と比較した。解糖系阻害剤であるヨード酢酸で処理したスライスにおいて、乳酸は高カリウム刺激により減少した PCr の回復を支持したが、その回復の速度はブドウ糖と比較するとやや遅い。このことは、乳酸は脳に対するエネルギー基質として使われることを示唆する。スライスを選択的グリア毒であるフルオロサイトレートで処理すると、乳酸のエネルギー基質としての能力は完全に消失したが、ブドウ糖およびピルビン酸中では変化がなかった。これらの結果は乳酸はグ

リア細胞を経由してエネルギー代謝されており、ピルビン酸が神経細胞へ供給されるエネルギー基質であることを示唆する。

### 14. ラット脳神経核における光学的応答に対するグルコースの影響

蓮尾 博\*, 小路眞護\*\*\*, 赤須 崇\* (\*久留米大学医学部第二生理, \*\*内分泌代謝内科)

我々は、自律神経高位中枢の神経核である中隔核 (LSN), 海馬核 (CA1) における神経活動のエネルギー代謝依存性を電位感受性色素 (RH 482) を用いた光学的記録法 (HR Deltaron 1700 System) により検討した。両神経核で電気刺激による光学的応答は低グルコース溶液 (0 ~ 2.2 mM) により濃度依存性、時間依存性に抑制された。0 mM グルコース溶液 (G (-) 溶液) による灌流15分でコントロールの約50%に抑制され、正常グルコース溶液に戻すと20から40分で回復した。しかし回復後、2度目の G (-) 溶液負荷を行うと、その抑制程度が減弱した。グルコーストランスポーター阻害剤 (CCB) のみを投与した場合 G (-) 溶液と同様な抑制がみられたが、モノカルボン酸トランスポーター阻害剤 (4-CIN) を併用した場合、抑制発現までの時間が短縮された。興味あることに、4-CIN (100  $\mu$ M) は基本的な光学的応答は変化させず、2度目の G (-) 溶液負荷による抑制を著明にした。これらの結果から、ニューロンの機能にグリアがエネルギー代謝の面から密接に寄与していることが示唆された。

### 15. ラット海馬 CA1 領域における虚血負荷解除後の $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger の作用

田中永一郎, 内門久明, 東 英穂 (久留米大学・医学部・第1生理学講座)

成熟ラット海馬スライス標本を作成し、CA1 領域 (放射状層) の細胞外電位とグリア細胞の細胞内電位を同時記録した。虚血負荷 (酸素・グルコース除去液灌流) により5分後に急峻陰性 DC 電位と急峻脱分極電位が発生し、虚血負荷を解除すると、緩徐陰性 DC 電位と再分極時一過性脱分極電位とが一致して発生した。緩徐陰性 DC 電位は虚血負荷時間の延長あるいは  $\text{O}_2$ , グルコースのみの再灌流で著明に抑制されたことから、エネルギー依存性が示唆された。緩徐陰性 DC 電位は低  $\text{Na}^+$  溶液,  $\text{Co}^{2+}$  含有液,  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  exchanger 拮抗薬 ( $\text{Ni}^{2+}$ , benzamil) 含有液の灌流投与で抑制されたことから、exchanger の関与が示

唆された。Fura 2 蛍光法で放射状層の細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度 ( $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ) を検討すると、急峻陰性 DC 電位発生と同時に急激に上昇した  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  は緩徐陰性 DC 電位に伴って減少した。高濃度 ouabain (30  $\mu\text{M}$ )、 $\text{O}_2$ 、グルコース含有液を灌流すると、6 分後に急峻陰性 DC 電位が発生したが、正常液再灌流では緩徐陰性 DC 電位は誘起されなかった。以上の結果から、1) 緩徐陰性 DC 電位は主にグリア細胞の一過性脱分極電位に由来し、 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  exchanger の順回転により惹起され、2) この活性化には  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ -ATPase の再活性化が必要であることが示唆された。

### 16. 酸素欠乏による副腎髄質細胞非選択的カチオンチャンネルの活性化機構

井上真澄、今永一成(福岡大学医学部生理学第一)

酸素欠乏や代謝抑制は、Na ポンプの抑制及び非選択的カチオン(NS)チャンネルの活性化により膜電位を脱分極し、カテコールアミン分泌を促進する。この NS チャンネルの活性化は、Na ポンプを抑制した条件下でも起こることより、低酸素を感受する中心的機構であると考えられる。そこで、シアンによる NS チャンネルの活性化機構をニスタチン法を用いて調べた。細胞外 K イオンの除去により Na ポンプを抑制した条件下では、シアン誘発性 NS 電流は誘発ごとに減少した。この減少はシアンをグルコースとともに投与するとさらに著明になった。ムスカリン誘発性 NS 電流の刺激中止後の脱活性化は、シアン投与による電流発生中遅延した。この遅延は、ムスカリン投与時のシアン誘発性電流が大きくなるに従い著明になった。蛋白磷酸化酵素抑制薬は、ムスカリン誘発性 NS 電流を可逆的に抑制したが、シアン誘発性電流には全く作用しなかった。以上の結果は、化学的酸素欠乏による NS チャンネルの活性化にはチャンネルの脱活性化の抑制が関与すること、さらに、この抑制に細胞内 ATP の減少が関与することを示唆する。

### 17. ラット中脳中心灰白質(PAG)における GABA 放出に対するオピオイドとセロトニンの効果

岸本 恭紀(九州大学大学院医学系研究科細胞・システム生理学講座)

in vivo では副作用のあるオピオイドの量を減らすため他の薬との混合投与により、鎮痛効果を有し、なおかつ副作用を軽減する試みがある。そこで in vitro でのメカニズムを調べた。オピオイドの中樞性の鎮痛

作用に重要な役割を果たす PAG から機械的処置のみにより、シナプス前神経終末付着単離細胞標本を作成した。本標本にニスタチン穿孔パッチクランプ法を用い、GABA 作動性シナプス後電流を記録した。

同一の細胞にオピオイド  $\mu$  受容体 agonist である DAMGO とセロトニンは様々な解析により、それぞれ神経終末からの GABA 放出を濃度依存的に抑制することが分かった。また、単独投与では効果を示さない閾値下濃度(3 nM)の DAMGO とセロトニンを混合投与すると、GABA 放出の有意な抑制を惹起できた。

今回の結果でオピオイド  $\mu$  レセプターアゴニストとセロトニンは神経終末に働き GABA の放出を抑制する事により、PAG ニューロンが脱抑制をうけて興奮し、下行性に侵害刺激伝達の抑制に関与することが推察できた。

また単独では作用のない濃度のオピオイドとセロトニンを混合投与することで GABA の放出を抑制する細胞は 2 種類のレセプターが同じ神経終末に存在し相互作用をしていることが推察された。

### 18. 加齢に伴った P2X 受容体サブタイプの変化

張 一成(九州大学大学院医学系研究科細胞・システム生理学講座)

【目的】 痛覚に重要な役割をもつ ATP 受容体(P2X)の加齢に伴う変化を、機械的に単離したラット脊髄 Dorsal Horn の第 2 層細胞にパッチクランプ法を用いて検討する。

【結果および考察】 1. Postnatal 10~30 日の間で mIPSCs は frequency と amplitude に変化がなかった。また、mIPSCs の decay time constant の変化にも有意差がなかった。

2. ATP の作用は 4 種類で区分され、加齢とともに反応のない細胞が減少し、pre と post 反応が同時にある細胞が増えた。

2. P2X 受容体アゴニスト、ATP、2 MeSATP では発達に伴った変化はなかった。しかし、 $\alpha$ 、 $\beta$ metATP に対しては発達に伴って反応が増強された。また、それぞれの EC50 は 10~5 M 前後であった。

4.  $\alpha$ 、 $\beta$ metATP に感受性の P2X subtype が P2X 阻害薬によって完全に抑制されることで、この新しく現れた受容体は P2X3 であることが示唆された。

5.  $\alpha$ 、 $\beta$ metATP に感受性の P2X subtype は細胞外のカルシウムに依存し、膜電位依存性カルシウムチャンネルとは関連性がなかった。

### 19. 副腎髄質細胞内 $\text{Ca}^{2+}$ 濃度変化の細胞間伝達 —共焦点レーザー顕微鏡による検討

山神和比己, 森豊隆志, 反町勝(鹿児島大, 医, 一生理)

細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度 ( $[\text{Ca}]_{\text{in}}$ ) の自発的動揺は, 単離したラット副腎髄質細胞においては高頻度に出現することが知られおり, 我々も fura-2 顕微測光法および共焦点レーザー顕微鏡による測定で報告している. この自発的  $[\text{Ca}]_{\text{in}}$  動揺はラット副腎髄質切片の細胞層においても発現する. 今回, 静脈灌流により Oregon-Green-BAPTA-1/AM を負荷した後, マイクロスライサーで作成したラットおよびマウス副腎髄質切片を用いて, 自発的  $[\text{Ca}]_{\text{in}}$  動揺の隣接した細胞への伝搬を共焦点レーザー顕微鏡 odyssey (Noran 社) を用いて測定した. ラット副腎髄質切片での自発的  $[\text{Ca}]_{\text{in}}$  動揺は個々の細胞で独立して見られる例が多く, 1 個の細胞の自発的  $[\text{Ca}]_{\text{in}}$  動揺が隣接細胞に伝えられる例は 20% 程度であった. 他方, マウス副腎髄質切片では自発的  $[\text{Ca}]_{\text{in}}$  動揺の隣接細胞への伝搬は多くの細胞で見られた. この隣接する細胞への伝搬は, アトロピン (100 nM) およびヘキサメソニウム (10 mg/ml) 処理では抑制されなかったことより, この伝搬への分泌神経の関与は否定された.

### 20. カルシトニンの破骨細胞 $\text{H}^+$ 輸送体に対する抑制性調節機序

鍛治屋 浩, 岡部幸司, 岡本富士雄, 都築 尊, 岡田博之(福岡歯科大学・口腔生理)

破骨細胞は骨を溶解, 吸収する細胞であり, 骨のミネラル分解, 吸収するため  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger (NHE) や液胞性  $\text{H}^+$  pump (V-ATPase) の  $\text{H}^+$  輸送体が発現していることが形態学的に明らかになっている. しかしながら, どの  $\text{H}^+$  輸送体による  $\text{H}^+$  放出が骨吸収に関与するか直接的な証拠はなく, さらに骨吸収抑制ホルモンであるカルシトニン (CT) がこれら  $\text{H}^+$  輸送体に対してどの様に作用し骨吸収を抑制するか明らかではない. そこで, ラット破骨細胞を用い, 骨吸収時の  $\text{H}^+$  放出能と CT による調節機序について細胞内 pH 測定法により検討した.

吸収時における破骨細胞の細胞内 pH は, 非吸収時に比較し高く維持されていた. 非吸収時の  $\text{H}^+$  放出能は主に NHE が関与していたが, 吸収時の細胞には NHE ばかりでなく V-ATPase が発現し,  $\text{H}^+$  放出能がより活性化されていた. CT の投与は非吸収時の

$\text{H}^+$  放出能に効果を与えなかったが, 吸収時の放出能を抑制した. 吸収時における細胞の  $\text{H}^+$  放出能は PKA 作動薬によっても抑制されたが, PKA 阻害薬は CT による抑制効果を減弱した.

以上より, 破骨細胞は骨吸収時には, 非吸収時に発現している NHE に加えて V-ATPase が発現し, そのために  $\text{H}^+$  放出能が上昇していることが解った. さらに, CT は PKA を介して  $\text{H}^+$  放出活性を抑制することによって最終的に骨吸収を抑制すると考えられた.

### 21. カエル味細胞のサッカリン誘発電流と $\text{GTP}_{\gamma}\text{S}$ 誘発電流の比較

岡田幸雄, 藤山理恵, 宮本武典, 佐藤俊英(長崎大学歯学部口腔生理学講座)

甘味物質であるサッカリンは, 受容膜に存在する特異的なリセプターサイトに結合し, G 蛋白を介して生化学的カスケードを誘発すると考えられている. 全細胞記録法を用いてカエルのロッド型味細胞のサッカリン応答を記録した. 対照実験において, 30 mM サッカリンは, 30 個中 8 個の味細胞に  $-50$  mV の保持電位で  $-34 \pm 14$  pA の内向き電流を誘発した. 電極内液に 0.5 mM  $\text{GTP}_{\gamma}\text{S}$  を加えて細胞内に灌流した. 25 個中 2 個の細胞だけが  $\text{GTP}_{\gamma}\text{S}$  により一過性の内向き電流を示したが, サッカリンには全く応答しなかった.  $\text{GTP}_{\gamma}\text{S}$  灌流下で 6 個の細胞は,  $-59 \pm 36$  pA のサッカリンによる内向き電流を示した. このように,  $\text{GTP}_{\gamma}\text{S}$  にはサッカリン応答を増強する傾向が見られたが, サッカリンに反応する細胞の割合には影響しなかった.  $\text{IP}_3$  リセプターの阻害剤であるヘパリン (1 mg/ml) を細胞内に投与すると, サッカリン応答は強く抑制された.  $\text{G}_q\alpha$  蛋白とカップリングするホスホリパーゼ  $\beta 1$  の活性化剤である *Pasteurella multocida* 毒素 (5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) の細胞内灌流は, 味細胞に何の応答も誘発しなかった. 以上の結果より, カエル味細胞においてサッカリンは,  $\text{G}_q\alpha$ -PLC  $\beta 1$  以外のカスケードにより  $\text{IP}_3$  濃度を上昇させ内向き電流を誘発すると考えられる.

### 22. クロット形成後トロンビンは家兔洗浄血小板凝集を惹起する

曾 鋼, 金城紀代彦, 中村真理子, 小杉忠誠(球大学医学部生理学第一講座)

【目的】 クロット形成後トロンビンの血小板への作用

機序を解析するために、クロット形成後トロンビンの家兎洗浄血小板に対する凝集能、および血小板内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度を測定し、さらに、Argatroban の抑制効果を検討した。

【方法】 家兎 fibrinogen に Native thrombin (ウシ) を作用させ、fibrin 塊を作製した。その上清から回収したクロット形成後トロンビンを Intact thrombin, fibrin 塊を押しつぶした後の上清から回収したものを Bound thrombin とした。これらを家兎洗浄血小板に作用させ、Born 等の方法に従って血小板凝集能測定し、同時に Grykiewicz 等の方法に従い、血小板内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度を測定した。次いで、Native, Intact および Bound thrombin に Argatroban を混合した後、血小板凝集能および血小板内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度を測定した。

【結果】 Native, Intact および Bound thrombin の濃度依存性に最大凝集率および血小板内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度の上昇が認められた。しかしながら、Native, Intact および Bound thrombin 間に、有意差はみられなかった。

また、Argatroban は Intact および Bound thrombin の最大凝集率および血小板内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度上昇を抑制した。Native thrombin も同様に抑制されたが、三種の thrombin 間で有意差は無かった。

【考按】 Intact および Bound thrombin による血小板活性化機序は、Native thrombin によるものと類似の機序であろうと推察された。

### 23. 蛇咬傷時における蛇毒出血因子の役割

穴井慶太, 大村さゆり, 杉木雅彦, 吉田悦男, 丸山真杉 (宮崎医大 第二生理)

【目的】 Crotalidae 科の毒蛇による咬傷では蛇毒中の血液凝固毒 (トロンビン様酵素, 凝固因子) に起因する消耗性凝固障害が引き起こされる。また、局所病変として、出血因子による咬傷部位の出血・壊死もみられる。今回我々は、南米産の毒蛇 *Bothrops jararaca* 蛇毒中の出血因子である jararafibrase I (JF I) が、血液凝固毒成分の咬傷部位から循環血中への移行に及ぼす影響について検討した。

【方法】 ラットに *B. jararaca* 粗毒あるいは抗体により JF I を阻害した粗毒を皮下注射し、その後の凝固系の変動を凝血学的検査にて検討した。

【結果および考察】 粗毒投与群では、投与 2 時間後よりプロトロンビン時間の延長、フィブリノーゲンおよびプロトロンビンの減少が認められ、消耗性凝固障害が引き起こされた。一方、JF I を阻害した蛇毒を投与

した群では、ほぼ完全に凝固障害が抑制された。JF I 自体では凝固障害を起こし得なかったことから、蛇毒中の JF I を阻害することにより血液凝固毒成分の投与局所から循環血中への移行が阻害されることが示された。また、JF I の阻害により局所における出血も約 70% 減弱した。以上より、JF I は局所病変の原因であるのみならず、蛇毒成分の局所からの浸潤に重要な役割を担っていることが示唆された。

### 24. 抗ラット IgE モノクローナル抗体を用いたラット IgE 微量定量法の確立

仲宗根敏幸<sup>1,2)</sup>, 花城和彦<sup>1)</sup>, 渡慶次賀博<sup>1)</sup>, 小杉忠誠<sup>1)</sup> (<sup>1)</sup>琉球大学医学部生理学第一講座, <sup>2)</sup>歯科口腔外科学講座)

【目的】 ラット IgE に対する家兎ポリクローナル抗体を用いた IgE-capture ELISA を我々は既に確立している。しかしながら、微量 IgE の定量を必要とするアレルギー実験に適応するには、十分な感度ではなかった。そこで、ラット IgE 分子上の単一抗原決定基に対する、高い結合能を持つモノクローナル抗体を用いた微量 IgE の定量法を確立する必要があると考えられた。

【方法】 DNP 特異的ラット IgE (IgE FE-3) を免疫した BALB/c マウスから脾細胞を採取し、P3U1 ミエローム細胞との細胞融合を行った。得られたハイブリドーマのスクリーニングには、native IgE FE-3 を用いた ELISA 法および Western-blotting 法を用いた。

【結果】 IgE FE-3 の重鎖を認識する抗体産生ハイブリドーマを確立した。このハイブリドーマより得られたモノクローナル抗体を用いた従来の IgE-capture ELISA は、ポリクローナル抗体を用いた従来の IgE-capture ELISA に比較して約 10 倍高い感度を有し、数 ng/ml という微量 IgE の測定が可能であった。

【結論】 ラット IgE に対するモノクローナル抗体を用いることにより、IgE-capture ELISA による微量 IgE 定量が可能となった。

### 25. FE-3 細胞由来 IgE (IgE FE-3) 関連 mRNA 定量法の確立

渡慶次賀博, 花城和彦, 砂川昌範, 小杉忠誠 (琉球大, 医, 第一生理)

【目的】 IgE FE-3 関連 mRNA 動態を知るために、我々の決定した IgE FE-3 の塩基配列から、CH3, CH4 ドメイン特異的 primer を合成し、RT-PCR を用

いた IgE FE-3 関連 mRNA の定量法を確立した。

**【方法】** FE-3 細胞から NucleoSpin RNA II Kit を用いて total RNA を抽出した。ついで oligo(dT) primer と M-MLV RTase を用いて total RNA を逆転写し、1st strand cDNA に合成した。続いて、IgE FE-3 の CH3, CH4 ドメイン特異的 primer と Taq DNA polymerase とを用いて PCR を行った。Ethidium bromide を含む Agarose gel を用いた電気泳動後、1 バンドの増幅した cDNA が得られた。ついで total RNA 濃度の増加と蛍光強度の増加が相関する条件を見つけるために、抽出した total RNA 濃度を 0.1, 0.5, 2.0 mg に調整し、上述した方法を用いて逆転写した。サイクル数を 15, 20, 25, 30 回と増加させ PCR を行い cDNA の変化量を調べた。その PCR 産物を Agarose gel 電気泳動後、Ethidium bromide を染色を行い、その蛍光を Gel Doc に取り込んだ。取り込まれた蛍光の強度を NIH Image を用いて定量した。

**【結果】** RT-PCR 後の Agarose gel 電気泳動にて単一バンドの増幅した cDNA が得られた。また、PCR のサイクル数が 30 回の条件のときに IgE FE-3 関連 mRNA は、その濃度依存性に蛍光強度が増加した。

**【考察】** 本実験により得られた条件下においては、IgE FE-3 関連 mRNA の定量が半定量的に可能であると考えられた。

## 26. IgE FE-3 の CH3, CH4 ドメイン塩基配列の同定

高田誠二, 渡慶次賀博, 花城和彦, 小杉忠誠(琉球大学医学部生理学第一講座)

**【目的】** FE-3 細胞は、DNP を用いて感作したラットの脾細胞とマウスミエローマ細胞とを融合して得られた細胞である。本研究では、FE-3 細胞の生物学的特性を調べるために、house keeping gene である beta-actin 及び FE-3 細胞由来 IgE の CH3, CH4 ドメインの DNA 配列を検討した。

**【方法】** FE-3 細胞より Total RNA を抽出し、beta-actin の DNA 配列を RT-PCR し、Dideoxy 法により決定した。次いで beta-actin の DNA 配列をラット及びマウスのそれと比較した。一方、IgE FE-3 の DNA 配列も同様な方法を用いて決定し、その IgE FE-3 の CH3, CH4 ドメインの DNA 配列とラット IR 162 ミエローマ細胞由来 IgE (IgE IR 162) の DNA 配列との相同性を比較検討した。

**【結果】** 我々が決定した FE-3 細胞由来 beta-actin 遺

伝子の一部はラットとマウスのヘテロ接合体であった。IgE FE-3 の CH3, CH4 ドメインの DNA 配列は、IgE IR 162 のそれと 100% の相同性がみられた。

**【結論】** FE-3 細胞自体はラットとマウスのキメラであるが、IgE FE-3 CH3, CH4 ドメインの起源はラット由来であると同定された。

## 27. 小脳循環調節部位から脳幹への遠心性投射について

定金香里<sup>1,2)</sup>, 近藤真喜子<sup>1)</sup>, 西丸直子<sup>1)</sup> (1)大分医科大学 生理学第一, (2)大分県立看護科学大学 生体反応学)

我々が既に報告した、循環調節部位である小脳虫部小節及び垂移行部外側の電気刺激を行い、腎交感神経活動及び血圧の反応をウサギを用い、麻酔下と除脳、無麻酔とで比較した。その結果、全く逆の反応が見られた。このことは、小節及び垂移行部外側からの循環調節経路が、麻酔剤に対する感受性の異なる 2 つの経路を通る可能性を示唆している。小節外側からの解剖学的投射は、これまでに前庭核と小脳核の中位核、外側核にあることが明らかになっている。前庭核が循環反応に関与していることは報告がある (Yates, 1992) が、小脳核ではない。そこで循環調節に関与する投射部位が別に在るのではないかと考え、順行性標識、デオチン化デキストラン (BDA) 及び逆行性標識、西洋ワサビペルオキシダーゼ (HRP) を用い、小節及び垂移行部外側のプルキンエ細胞の遠心性投射を調べた。その結果、これまで報告されている上前庭核及び内側前庭核に加え、循環調節への関与が示唆されている、延髄結合腕傍核に直接投射していることが明らかになった。また、標識された神経線維が上小脳脚と下小脳脚の両方で観察され、それぞれ末梢部分が、結合腕傍核の外側核と上前庭核の付近にあった。このことから、結合腕傍核への投射は上小脳脚を通り、前庭核への投射は下小脳脚を通っている可能性が考えられる。

## 28. 3 絶対気圧暴露時における下半身陰圧負荷時の筋交感神経活動

山内克哉, 筒井由香, 遠藤豊, 佐川寿榮子, 山崎文夫\*, 白木啓三(産業医科大学. 第二生理・\*臨床病態)

高気圧環境で、交感神経活動が低下することを推察する知見(血中ノルアドレナリン値の低下、起立耐性の低下等)はあるが、ヒトで直接交感神経活動を測定した報告はない。高気圧環境での交感神経活動を直接

測定する目的で、ヒトの筋交感神経活動(MSNA)を測定した。実験は、下半身陰圧(LBNP)により central hypovolemic stress を負荷したときの交感神経活動に及ぼす影響を検討した。9名の健康な成人男子(平均年齢 $21.0 \pm 1.4$ 歳)を3絶対気圧(空気加圧)に暴露し、 $-20$ 、 $-40$  mmHg の LBNP を各4分間行ない、MSNAを測定した。安静状態のMSNAは、3絶対気圧環境で減少( $p < 0.05$ )した。両気圧とも $-20$ 、 $-40$  mmHg(LBNP)で共にMSNAは増加( $P < 0.05$ )したが、増加量は気圧間では差がなかった。以上の結果から高気圧環境では、交感神経活動は低下するが、central hypovolemic stress に対する反応性には、気圧間で差がないことが判明した。

### 29. 降圧剤を服用している高齢者の下半身陰圧負荷に対する下肢血管コンプライアンス

筒井由香, 佐川寿栄子, 山内克哉, 遠藤豊, 山崎文夫\*, 白木啓三(産業医科大学・第二生理学・\*臨床病態)

これまで正常血圧の高齢者で下半身陰圧(LBNP)負荷時の血圧維持反応が、若年者に比して減弱していないことを観察してきた。今回、高血圧と診断され降圧剤を服用している高齢者(65~72歳)13名に、LBNP 漸増負荷(0~60 mmHg, 10 mmHg 間隔)テストを行い、LBNP 耐性を降圧剤を服用していない対照高齢者(65~74歳)と比較した。LBNP 負荷による失神前徴候は対照高齢者17名中3名(17.6%, いずれも $-60$  mmHg)であるのに対し、降圧剤を服用している高齢者には出現しなかった。下肢血管コンプライアンスは降圧剤服用高齢者の方が低かった( $p < 0.05$ )。Stroke volume の低下は対照高齢者で LBNP,  $-30$  mmHg から開始するのに対し、降圧剤を服用している高齢者では $-50$  mmHg まで低下を示さなかった。降圧剤服用高齢者で LBNP に対し失神前徴候を示さなかった理由として、下肢血管コンプライアンスの低下により LBNP 時に下肢への血液貯留が増加しないことが考えられた。降圧剤が高齢者の下肢血管コンプライアンスに影響を及ぼすと結論した。

### 30. 運動時の単一試行 P3 の特性とモダリティーとの関係

八木康夫<sup>1)</sup>, 下野昌幸<sup>2)</sup>, 林田嘉朗<sup>3)</sup> (<sup>1)</sup>西南女学院短期大学・<sup>2)</sup>産業医科大小児科・<sup>3)</sup>同大応用生理)

有酸素性の運動が高次の情報処理過程に及ぼす影響

を検討する目的で、2種類のモダリティーに対する事象関連電位 P3 とその反応時間(RT)を単一試行毎に解析した。健康女子6名( $20 \pm 1$ 歳)を対象とし、被験者に各12分間の安静(C)と運動(1 Kp 負荷のエルゴメータ, 50回/分)期(E)にそれぞれ聴覚 Target(T): 2 kHz 純音20%, Non-Target(N): 1 kHz 純音80%と視覚オドボール課題(T:黄○字20%, N:白○字80%)を施行し、T発生毎の単一 P3 と RT を解析した。結果、RT は視覚より聴覚で短く、両モダリティー共に E で C より短縮した。P3 の発生率は運動にもモダリティーにも関係なく T-T 刺激連鎖(単純反応)時で低く、P3 潜時は RT 同様に視覚より聴覚で短く、両モダリティー共に E で単純反応時のみ短縮した。また、P3 潜時と RT の差は視覚より聴覚で大きく、両モダリティー共に E で T-T 刺激連鎖以外(選択反応)の時に大きかった。以上より、運動は単純反応の認知の過程を短縮する。また、選択反応自身が反応過程を短縮させ運動はそれをさらに促進することがわかった。

### 31. 糖尿病ラットにおける脳内セロトニンレベルとドーパミンレベルへのイオンチャネル阻害剤の影響

三隅幸子<sup>1)</sup>, 大和孝子<sup>1)</sup>, 辻真知恵<sup>2)</sup>, 青峰正裕<sup>1)</sup> (<sup>1)</sup>中村学園大学, 解剖生理・<sup>2)</sup>アニマルセンター)

糖尿病動物における脳内神経伝達物質であるセロトニン(5-HT)とドーパミン(DA)レベルについては未だ評価が定まっていない。我々が自然発症型糖尿病ラット群(WBN/Kob:以下 WBN 群)と STZ 投与糖尿病群(以下 STZ 群)の脳海馬 5-HT レベルを調べた結果、正常群(Wistar 系:以下 C 群)に比べ低下しており、特に WBN 群においては有意に低く、C 群の約半分であった。そこでその原因を探るためにマイクロダイアリシス法を用いて無麻酔、無拘束下で、ラット脳内の細胞外 5-HT レベルを測定し、各種イオンチャネル阻害剤、各種イオンの影響を上記のラットを用いて比較検討した。

糖尿病群における 5-HT レベル低下の原因としてまず考えられるのが、シナプス小胞内に貯留されている 5-HT 量の低下である。しかし、4-aminopyridine を作用した場合、5-HT レベルは C 群と STZ 群はおよそ2倍の、WBN 群では4倍以上もの増加を示した。このことから糖尿病群においてのシナプス小胞内の 5-HT レベルの低下の可能性は低い。また、verapamil 存在下では 5-HT は 3 群とも低下傾向を示し、wash で回復した。Mg 添加溶液、Ca 除去溶液を作用させ

ると 5-HT レベルは有意に低下した(C, WBN 群). tetrodotoxin 存在下では 5-HT レベルは 3 群ともに半分以下まで抑制された. DA においても 5-HT ほどではないがこれらの阻害剤作用でほぼ同様の傾向があった. 以上のことから, 糖尿病群(特に, WBN 群)において 5-HT ニューロンの膜電位がやや過分極側にシフトしていた可能性が考えられ, その結果, 活動電位持続時間が短縮し, 5-HT 放出量の低下を招いたと推測された.

### 32. Acetylcholine による血管弛緩反応における NO と NO 以外の弛緩因子の関与について

原田裕治, 鈴鹿浩史, 林田嘉朗(産業医科大学 応用生理)

ラットの血管を用いた灌流系において, acetylcholine(ACh)などの血管作動性物質による NO の産生を, NO 電極を用いて直接測定し, 同時に灌流圧の変化を記録・解析することによって, 局所循環調節における NO と NO 以外の因子の役割を検討した. ACh は, rat の大動脈, 大動脈ム大腿動脈, 及び後肢灌流系において, 用量依存性に灌流圧を低下させた. NO 合成酵素阻害剤の存在下では, ACh による灌流圧の低下は, 大動脈灌流系ではほぼ完全に抑制されたが, 大動脈ム大腿動脈及び後肢灌流系では抑制されなかった. その時, NO 産生はおこらないことを後肢灌流系で確認した. ACh による灌流圧の低下は,  $K^+$  チャンネル阻害剤によって約 90% 抑制され,  $K^+$  チャンネル阻害剤と NO 合成酵素阻害剤が共に存在する条件下では, ACh による灌流圧の低下はさらに減少し, 除内皮した場合と有意差はなかった. 以上のことから, ACh による血管弛緩反応において, 大動脈系における血管弛緩には NO が関与が大きく, 大動脈ム大腿動脈及び後肢灌流系では, NO 以外の因子の関与が大きいことが明らかになった.

### 33. 自然発症高血圧ラットの孤束核内で nNOS の発現を分子生物学的に制御した時の循環変化

前田正信<sup>1)</sup>, 平野英保<sup>2)</sup>, 工藤秀明<sup>3)</sup>, 土肥良秋<sup>3)</sup>, 中井正継<sup>4)</sup>(<sup>1)</sup>産医大・産生研・応用生理, <sup>2)</sup>同・医・生化学, <sup>3)</sup>同・医・第 2 解剖, <sup>4)</sup>国立循環器病センター)

自然発症高血圧ラット(SHR)の高血圧発症のメカニズムを調べるため, 延髄孤束核(NTS)に神経型一酸化窒素合成酵素(nNOS)の antisense oligodeoxynucleotide

(ODN)を両側性に注入し, SHR の NTS 内での nNOS の発現を遺伝子レベルで抑制し, 血圧・心拍数等の変化を観察した. また, その結果を SHR と Wistar-Kyoto ラット(WKY)で比較検討した. antisense(5'-CTTCCATGGTATCTGTG-3')は nNOS の mRNA の initiation codon を含むように作成した. それに相当する sense と scrambled sequence の作成も行った. SHR で, antisense の両側 NTS への微量注入後の平均血圧は, sense および scrambled ODNs と比べ, 15 分後で有意に上昇した. SHR における血圧上昇反応は, WKY に比べ, 早く出現し, 血圧上昇の程度も大きかった. SHR における血圧上昇反応が WKY に比べ早く出現するのは, SHR の NTS における nNOS の発現量が WKY での発現量より多いことが関係するかも知れない.

### 34. 食塩感受性高血圧発症モデルラットの室傍核および視索上核における神経型 NO 合成酵素遺伝子の発現

芹野良太, 花宮舞, 野村昌良, 山本幸代, 野口 淳, 澁谷 泉, 山口賢一\*, 上田陽一, 山下 博(産業医大・医・第一生理, \*新潟大・医・第二生理)

自律神経系と内分泌系の統合部位として知られる視床下部室傍核および視索上核において神経型 NO 合成酵素(nNOS)遺伝子が多く発現している. 今回, 食塩負荷により高血圧症を発症する Dahl S ラット(DS)および発症しない Dahl R ラット(DR)を用いて, 室傍核および視索上核における nNOS, バゾプレッシン(AVP)およびオキシトシン(OXT)遺伝子の発現動態を In situ ハイブリダイゼーション法を用いて検討した. また, 血漿 AVP 濃度も測定した. さらに, nNOS 遺伝子の発現量の変化についてニカルジピンおよびカプトプリル投与による検討も行った. 実験には, SD, DS, DR を用い, 高ナトリウム食(8% NaCl)群(H), 普通食群(R)に分けた. DS-H のみ高血圧となった. DS-H は他の群より nNOS 遺伝子の発現が著明に増加した. SD-H, DS-H, DR-H 各群とも AVP・OXT 遺伝子発現は増加していた. AVP 遺伝子発現は DS-H > DR-H であった. 血中 AVP 濃度は DS-H のみで他の群より有意に増加していた. DS-H にニカルジピンを投与すると血圧と nNOS 遺伝子発現は減少した. カプトプリル投与では血圧上昇は抑制されたが nNOS 遺伝子の発現は増加した. したがって, DS の高血圧の病態に視床下部 NO と下垂体後葉ホルモンが関与

していることが示唆された。

### 35. 高張食塩水の視床下部室傍核局所投与による一酸化窒素系の活性化—MK-801 の効果

金 清華, 石塚雄太\*, 國武孝人, 河南 洋(宮崎医科大学第一生理, \*精神医学)

我々は覚醒ラットの視床下部室傍核(PVN)への高張食塩水局所投与によってPVN領域の細胞外一酸化窒素(NO)代謝物質濃度並びに血圧(BP)と心拍数(HR)が増加することを既に報告した。今回, これらの変化にグルタメートレセプターのうち, NMDA レセプターが関わっているかどうかを検討した。in vivo マイクロダイアリシス法を用いて, NMDA レセプターのブロッカーであるMK-801(100  $\mu$ M)を含む高張食塩水でPVN局所を灌流し, PVN領域のNO代謝物質( $\text{NO}_2^-$ と $\text{NO}_3^-$ )の増加反応と血圧, 心拍数増加反応に対するMK-801の効果調べた。MK-801はPVNの高張食塩水局所刺激によるNO代謝物質の増加反応には影響を与えなかったが, 血圧と心拍数の増加反応を有意に抑制した。この結果はNMDAレセプターがPVNの高張食塩水局所刺激による血圧と心拍数の増加反応に一部関わっているが, NO系の活性化には関与していないことを示唆している。また, PVN局所の高張食塩水刺激によるNO系活性化と心血管系反応との間に関連性は認められなかった。

### 36. 生後発育に伴うラット視床下部オレキシン遺伝子の発現動態の検討

山本幸代<sup>1)</sup>, 上田陽一<sup>1)</sup>, 伊達 崇<sup>2)</sup>, 中里雅光<sup>2)</sup>, 原裕子<sup>1)</sup>, 野村昌良<sup>1)</sup>, 芹野良太<sup>1)</sup>, 澁谷 泉<sup>1)</sup>, 松倉 茂<sup>2)</sup>, 山下 博<sup>1)</sup>(<sup>1)</sup>産業医科大学・医・第一生理, <sup>2)</sup>宮崎医科大学・医・第三内科)

オレキシンA, Bは1998年に発見された新規のペプチドで, 摂食行動の中枢性調節に深く関与すると考えられている。また最近オレキシンノックアウトマウスでナルコレプシーと同様の症状を呈することが報告され, オレキシンは睡眠・覚醒に深く関与していることが示唆されている。オレキシン遺伝子の発現について, 出生後の動態を調べるため, 出生直後から成熟期に至る過程のラット視床下部におけるオレキシン遺伝子の発現様式をIn situ ハイブリダイゼーション法を用いて検討した。また, 免疫組織化学的染色法を用いて, 同様の過程のラット視床下部におけるオレキシンA, Bの脳内分布の検討も行った。オレキシン遺伝子の発現は出生直後から, 視床

下部外側野(LHA)及びその周辺部位に局限して少量認められたが, その発現量は離乳が開始される生後15日目から, 完全に離乳が終了する生後20日目までの期間に著明に増加した。それ以後は, 思春期, 成熟期に至るまで発現量はほぼ一定であった。免疫組織化学的染色法では, オレキシンA, B陽性ニューロンは生後15日目からLHA及びその周辺部位に局限して存在した。オレキシンは母乳栄養から離乳する時期において重要な働きをしていることが示唆された。またこの時期は睡眠におけるREM睡眠の割合が著明に減少するなど睡眠の形態が変化する時期でもあり, オレキシンは生後発育に伴う睡眠の変化においても重要な働きをしていることが示唆された。

### 37. グルコース枯渇状態および給餌制限におけるラット視床下部オレキシン産生ニューロンの活動亢進

上田陽一, 原 裕子, 山本幸代, 野村昌良, 芹野良太, 澁谷 泉, 山下 博(産業医科大学・医・第一生理)

オレキシンA, Bは1998年桜井らにより発見された新しい神経ペプチドである。オレキシンA, Bをラット脳室内に投与すると摂食が惹起される。オレキシン産生ニューロンは視床下部外側野およびその周囲に局限しているが, その軸索は脳内に広く分布している。今回我々は, ウィスター系成熟雄ラットに(1)オレキシンAの脳室内投与90分後, (2)2-デオキシグルコースの脳室内投与90分後および(3)3週間の給餌制限(9:00-11:00のみ食餌を与える)後, それぞれの場合についてオレキシン産生ニューロンにおける神経活動をFos蛋白を指標に検討した。それぞれのラットは灌流固定後免疫組織化学法によりオレキシンAとFos蛋白の抗体を用いて二重染色を行った。その結果, オレキシン産生ニューロンのうちFos蛋白陽性であったのは(1)で約15%, (2)で約25%, (3)で約23%であった。オレキシン産生ニューロンは, オレキシンAの脳室内投与, グルコース枯渇状態および給餌制限で活動の亢進が起こることが明らかとなった。

### 38. オレキシンの中枢作用について

井田隆徳<sup>1)</sup>, 村上昇<sup>1)</sup>, 中原桂子<sup>1)</sup>, 花田礼子<sup>2)</sup>, 中里雅光<sup>2)</sup>(<sup>1)</sup>宮崎大学農学部獣医学科家畜生理学教室, <sup>2)</sup>宮崎医科大学第三内科)

昨年, 外側視床下部(LH)に局限して発現し, 摂食量を増加させる2つの神経ペプチド, オレキシンA, Bが発見され, その免疫組織学的特徴が明らかにされた。私たちは, オレキシンの生理作用を他の摂食促進ホルモンMCHと比較検討し, 以下の結果を得た。1. オレキシ

ンをラットの側脳室に投与するとグルーミングなどの特異的な行動が発現し、これはCRFアンタゴニストで一部阻止される。2. 拘束や寒冷などのストレス附加に対しLHでのオレキシン mRNAは増加し、MCH mRNAは変化しない。3. オレキシンによる摂食促進作用はNPY、MCHなどに比較すると、極めて微弱か、ほとんど認められない。4. p-chlorophenylalanine投与により、脳内セロトニン含量の低下を起こすとLHでのオレキシン mRNAが増加し、MCHの mRNAは変化しない。以上の結果より、オレキシンは食欲調節よりむしろ生体の恒常性維持機構に関与している可能性があると推測された。

### 39. PGE<sub>2</sub>はEP<sub>1</sub>受容体を介してcaffeine/ryanodineストアからのCa<sup>2+</sup>放出を誘発する

澁谷 泉, 田中敬子, 野口 淳, 一瀬豊日, 上田陽一, 山下 博(産業医大・医・第1生理)

PGE<sub>2</sub>によるCa<sup>2+</sup>放出の細胞内機構を初代培養ウシ副腎髄質細胞においてFura-2を用いたCa<sup>2+</sup>画像解析法により検討した。PGE<sub>2</sub>は細胞外Ca<sup>2+</sup>除去時においても濃度依存性に著明な細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度上昇を引き起こした。このCa<sup>2+</sup>放出反応はIP<sub>3</sub>依存性Ca<sup>2+</sup>放出に拮抗するcinnarizineによっては影響を受けずにcaffeine/ryanodineの前投与によって消失した。さらにPhospholipase Cの抑制薬であるU-73122はPGE<sub>2</sub>によるIP<sub>3</sub>産生を完全に抑制したにも関わらずCa<sup>2+</sup>放出反応には影響を与えなかった。PKAの阻害薬であるRpCAMPSもPGE<sub>2</sub>によるCa<sup>2+</sup>放出に影響がなかった。EP<sub>1</sub>/EP<sub>3</sub> agonistである17PT-PGE<sub>2</sub>およびsulprostoneはPGE<sub>2</sub>に対する反応に類似のCa<sup>2+</sup>放出反応を引き起こした。これに対してEP<sub>2</sub> agonistであるbutaprostあるいはEP<sub>2</sub>/EP<sub>3</sub> agonistであるmisoprostolはCa<sup>2+</sup>放出を引き起こさなかった。またEP<sub>1</sub> antagonistであるSC-51322はPGE<sub>2</sub>によるCa<sup>2+</sup>放出を有意に抑制した。これらの結果はPGE<sub>2</sub>がウシ副腎髄質細胞においてEP<sub>1</sub>受容体を介してIP<sub>3</sub>ならびにcAMP非依存性にcaffeine/ryanodineストアからのCa<sup>2+</sup>放出を誘発することを示唆する。

### 40. 両側腎摘ラットにおける視床下部室傍核および視索上核でのCRHおよびバゾプレッシン遺伝子発現の変化

野村昌良, 上田陽一, 芹野良太, 山本幸代, 澁谷 泉, 山下 博(産業医大 医学部 第一生理)

両側腎摘ラットでは、高アルドステロン血症を呈する。

この原因の一つとして腎摘後の副腎レニン活性の増加による副腎局所でのレニン-アンジオテンシン-アルドステロン系の活性化が考えられている。下垂体摘除ラットでは腎摘後に副腎レニン活性が増加せず、ACTHの投与により増加することから副腎レニン活性の増加にACTHが関与することが報告されている。今回我々は、両側腎摘後の副腎レニン活性の増加をひきおこすACTHの分泌調節に視床下部-下垂体系の中枢性調節が関与しているかを調べる目的でIn situ ハイブリダイゼーション法を用い、両側腎摘ラットにおける室傍核でのCRHおよび室傍核・視索上核でのバゾプレッシン遺伝子発現の変化について検討した。さらに血中ACTH濃度を測定した。ウイスター系成熟雄ラットを用いて両側腎摘群および偽手術群を作成した。腎摘後3, 12および20時間で断頭し、採血および脳を摘出した。CRHおよびバゾプレッシン遺伝子の発現は<sup>35</sup>Sでラベルした合成オリゴヌクレオチドプローブで検出した。腎摘後12および20時間で室傍核のCRH遺伝子の発現は増加し、室傍核および視索上核のバゾプレッシン遺伝子の発現は減少した。腎摘後20時間で、血中ACTH濃度は上昇した。したがって両側腎摘後に室傍核のCRHがACTHを介して副腎レニン活性の調節に関与することが示唆された。

### 41. ラット視床下部視索上核ニューロンにおけるG蛋白αサブユニット・サブタイプの同定

野口 淳, 原 裕子, 芹野良太, 上田 陽一, 山下 博(産業医大・医・第一生理)

アデノシンによるラット視索上核(SON)神経分泌ニューロンでの膜電位依存性Ca<sup>2+</sup>電流(VDCC)の抑制機序についてホールセルパッチクランプ法、In situ ハイブリダイゼーション法および免疫組織化学染色法を用いて検討した。アデノシンによるVDCC抑制は強い前脱分極刺激により解除されたので、アデノシン受容体に共役したG蛋白3量体から解離したbgサブユニットが直接膜電位依存性カルシウムチャンネルに結合したことを示唆した。一方、細胞内投与した百日咳毒素(PTX)はアデノシンによるVDCC抑制に影響を及ぼさなかった。ラット下垂体中葉細胞ではセロトニンによって抑制されたBa<sup>2+</sup>電流がPTXの投与により有意にその抑制が解除された。次に、SONにおけるG蛋白αサブユニット遺伝子の発現を検討したところ、コレラ毒素感受性G蛋白であるGsの遺伝子は大量に発現していたが、PTX感受性G蛋白であるGiおよびGoの遺伝子発現は検出できなかった。また、免疫組織化学染色法によりSONでは

PTX 非感受性G蛋白である Gz 免疫陽性細胞が認められた。以上の結果は、SON 神経分泌ニューロンでは PTX 感受性G蛋白がアデノシンの VDCC 抑制に関与せず、PTX 非感受性G蛋白が関与していることを示唆している。

#### 42. アトロピンによる脳弓下器官ニューロンへの GABA 性シナプス入力抑制

稲永清敏, 小野堅太郎, 本田栄子(九歯大・生理)

脳弓下器官は第三脳室に突き出るように位置する脳室周囲器官のひとつで、体液調節や循環系調節に重要な役割を担っている。この部位への主な神経性入力として、グルタミン酸を介する興奮性入力および GABA を介する抑制性入力がある。ムスカリン受容体拮抗剤として知られているアトロピンの GABA 入力に対する作用を、Wistar 系雄ラットの脳スライス標本を用い、パッチクランプ法によりシナプス後電流を測定することにより調べた。低濃度(0.1~1 $\mu$ M)のアトロピンはカルバコールによる IPSC に対する抑制反応を遮断した。高濃度(10~1000 $\mu$ M)のアトロピンは濃度依存性に IPSC の発生頻度と大きさを減少した。アトロピンの抑制効果は、EPSC に対しては認められなかった。高濃度の他のムスカリン受容体拮抗剤でも同じ様な効果が認められた。高濃度のアトロピンは、GABA やムシモルにより誘発される外向き電流を抑制したが、カイニン酸により誘発される内向き電流には影響しなかった。また、コンダクタンスの減少が観察された。逆転電位は Cl<sup>-</sup>チャンネルの平衡電位に近かった。以上の結果より、低濃度のアトロピンはムスカリン受容体拮抗剤として働くが、高濃度のアトロピンは脳弓下器官ニューロンのシナプス後膜に存在する GABA 受容体に直接作用し、Cl<sup>-</sup>チャンネルを閉じるように働いていることが示唆された。

#### 43. 脂肪酸代謝におけるプロピオン酸の特異性

佐藤恭介, 二科安三, 志賀 潔(熊本大・医・一生理)

脂肪酸の炭素数が4以上のアシル-CoA は $\beta$ 酸化によって代謝されるが、炭素数3のアシル-CoA であるプロピオニル-CoA だけは $\beta$ 酸化は受けずにメチルマロニル経路という別の経路で代謝されることが知られている。しかし、何故プロピオニル-CoA だけが $\beta$ 酸化を受けないのかという理由はこれまで認識されていなかった。 $\beta$ 酸化の初発反応は、アシル-CoA のエノイル-CoA への酸化である。標準酸化還元電位は酸化還元反応に関する物質の重要な性質の一つであるが、今回我々はプロピ

オニル-CoA/アクリリル-CoA の標準酸化還元電位の測定を行い +70 mV と求めた。これは炭素数4以上のアシル-CoA/エノイル-CoA の標準酸化還元電位(-10 mV)に比べて非常に高い値である。すなわち、炭素数3のアシル-CoA であるプロピオニル-CoA はその物質の性質としてエノイル-CoA に酸化されにくい特質を持っている事が明らかとなった。そのためにプロピオニル-CoA は $\beta$ 酸化を受けないのだと考えられる。

#### 44. 核酸食が消化管粘膜防御システムの形成に果たす役割

高木厚司, 松永政司\*, 堀 哲郎(九州大学大学院・医学系研究科・統合生理学, \*核酸普及協議会)

母乳(特に初乳)に大量に含まれる高分子の核酸が乳幼児の生体防御システムの形成に与える影響が注目されているが、発育期における栄養学的/生理学的な役割はまだ未知の点が多い。

そこで、雄 BALB/c マウスを、ヒト乳児の標準的な腸内フローラを移入した HF 群、SPF 環境下で飼育された SPF 群、通常的环境下で飼育された群に分け、離乳期から4週間(5~9 W)核酸制限食を与えた。

その結果、(1)無核酸群で回腸上皮粘膜の特に基底部に著明な萎縮が見られた。(2)HF、SPF マウスの何れにおいても、無核酸群では血中 IgG1, IgE 値が有意に高値であった。(3)無核酸群では、in vitro での IL-4, IL-10 の産生増加、IFN- $\gamma$  の産生減少が認められた。(4)OVA-specific-IgG1, -IgE も核酸無添加群で有意な高値が見られた。(5)無核酸群で LPS ショック(50 mg/kg, ip)による致死率が最も高かった。

以上より、食物に含まれる高分子核酸が、(1)消化管の正常な形態の形成・維持に必要な栄養因子である事、(2)生体免疫システムの Th1/Th2 バランスを Th1 型反応へシフトさせる事、(3)致命的な細菌性ショックに対する耐性を高める事、等が明らかとなり、乳幼児期ばかりでなく発育期においても重要な栄養因子となっていることが示唆された。

#### 45. メスアカゲザル正中隆起における黄体ホルモン誘導性 LHRH 放出に対する神経ペプチド Y の役割

水野雅晴<sup>1,2)</sup>, Ei Terasawa<sup>1)</sup> (1)米ウイスコンシン大・霊長類研究センター, (2)九州大学大学院・医学系研究科・統合生理学)

成熟メスアカゲザルにおいて黄体形成ホルモン刺激ホルモン(LHRH)ニューロンからの LHRH パルス状放出に

対し神経ペプチドY (NPY)が促進的に働いていることが知られている。一方、卵胞期における黄体ホルモン(P)の増加はLHRH大量放出を促すが、この大量放出にNPYがどのように関与しているか詳細はあまり知られていない。そこで本研究ではNPYの生成を抑えたと考えられているNPY mRNA アンチセンス(AS)オリゴを用い、P誘導性LHRH放出に対するNPYの役割を調べた。

実験にはエストロゲンを前処置した卵巣摘出ザルを17頭用いて、正中隆起からのLHRHおよびNPY放出量をpush-pull 灌流法によって測定した。LHRH, NPY濃度測定はRIAに拠った。Push-pull 灌流はP投与4時間前より開始し、合計16時間行なった。このうちASもしくはスクランブルオリゴはP投与2時間前より10時間灌流した。

その結果、NPYスクランブルオリゴ( $10^{-5}$  M)灌流群ではP(2.5 mg SC)によって6~8時間の潜時でLHRH大量放出が観察された。このP誘導性LHRH大量放出はNPY ASオリゴ( $10^{-5}$  M)長時間灌流によって有意に抑えられた。

以上より卵巣摘出メスザルにおいてNPYニューロンは、LHRH放出に対するPの正のフィードバックに促進的に関与していることが示唆された。

#### 46. ラット黒質網様部破壊のリズミカルな顎運動のパターンに対する影響

西牟田国博, 笹本一茂(九州大学 歯学部 口腔生理)

我々は顎運動に対する大脳基底核の役割を調べてきた。線条体の腹外側部の限局した領域が大脳皮質顎運動野と相互投射を持ち、その領域のニューロンの中には顎運動中に活動を変化させるものがあることはすでに報告した。さらに、この領域は黒質網様部の背外側部へ投射し、黒質緻密部の背外側部から投射を受けていたことから、黒質背外側部が顎運動に関与しているのではないかと考えた。黒質網様部を片側破壊すると、健常側方向への旋回運動が起こることが知られているが、その破壊が顎運動に及ぼす影響は報告されていない。そこでラットを用い、黒質網様部破壊前後の顎運動を記録し、破壊の影響を検討した。麻酔下のラットにおいても口腔内の触刺激によりリズミカルな顎運動を誘発することができる。正常動物は、一周期毎に開口時に下顎を左右に振る運動を示すが、破壊後の動物では、これが健常側方向へ偏位する傾向がみられた。また、左右交互運動中、破壊側の閉口相を一部欠く顎運動が数例みられた。同時記録した筋電図活動にも異常が観察されたが、閉口相を一部

欠く側の閉口相において両側咬筋の活動が大きいなど、運動パターンと矛盾する結果が得られた。おそらく、今回記録していない他の咀嚼筋活動によってこれらの異常運動が導かれているものと思われる。本実験の結果から、正常な顎運動パターンの維持に黒質背外側部が関与していることが示唆された。

#### 47. 糖尿病(db/db)マウスの行動特性

粟生修司, 大村 裕, 堀 哲郎(九州大・医・統合生理)

db/db マウスはレプチン受容体の細胞内ドメインが欠損している肥満・糖尿病モデル動物である。レプチン受容体は脳内に広く分布していることから、摂食調節以外の役割を担っている可能性がある。そこで、本研究では、雄 db/db マウスの行動特性を調べ、摂食行動以外に行動異常があるかどうか調べた。オープンフィールド試験で移動量および移動速度が低下し、さらに立ち上がり行動や中心エリアへの進入回数が少なく、一般活動性および探索行動が低下していた。高架プラス迷路試験でも活動性の低下が認められたが、オープンアーム進入率は対照と差はなく不安レベルに異常を認めなかった。受動的回避試験では電気ショック24時間後の暗室への移動潜時が延長した。ホットプレートテストで侵害受容に異常はなかったため、移動潜時の延長は情動性変化や痛覚過敏によるものでなく、活動性の低下または学習過程自体の促進による。Morris 水迷路試験では、対照マウスと比べ、ゴール到達距離の延長、およびprobe testにおけるゴール領域横断回数や滞在時間の減少が認められ、空間学習障害が示唆された。db/db マウスは活動性の低下と空間学習障害を示すことが明らかになった。

#### 48. レプチン-神経ヒスタミンによる食行動調節, 脂肪分解作用

正木孝幸, 吉松博信, 但馬大介, 坂田利家(大分医科大学 内科第一)

食行動調節, 脂肪分解作用におけるレプチン-神経ヒスタミンに情報伝達の機能的意義を明らかにするため、Histamine H1 受容体欠損(HIKO)マウスを用いレプチン、ヒスタミンの摂食行動及び脂肪分解作用を検討した。HIKO マウス(N4)の定常状態における摂食量, 体重, 体脂肪率等を解析した。次にレプチンの末梢および中枢性投与時における摂食量, 体重, 体脂肪率等を解析した。またレプチン抵抗性肥満モデルマウスである db/db obese mice へヒスタミンを中枢性に投与し、その摂食抑制効果, 体重, 体脂肪率の変化も合わせて検討した。

HIKO mice の定常状態における摂食量, 体重, 体脂肪率変化は認めなかった. また末梢及び中枢性にレプチン投与時の摂食, 体脂肪率低下反応の減弱を HIKO mice で認めた. 更にレプチン抵抗性肥満モデルマウスの db/db obese mice へ中枢性にヒスタミンを投与したところ, 摂食, 体重, 体脂肪率の有意な減少を認め db/db-HIKO double mutant mice ではその反応が減弱していた. 以上の成績より神経ヒスタミンはレプチンの視床下部作用のターゲットとして H1 受容体を介して摂食, 脂肪分解に関与している可能性が示唆された.

#### 49. みどりの香りのヒトへの作用

粟生修司<sup>1)</sup>, 金光芳郎<sup>1)</sup>, 水野雅晴<sup>1)</sup>, 上川英樹<sup>1)</sup>,<sup>1)</sup> 安倍務恵<sup>1)</sup>, 李 学良<sup>1)</sup>, 久保和彦<sup>1)</sup>, 堀 哲郎<sup>1)</sup>, 畑中顯和<sup>2)</sup> (<sup>1)</sup>九州大・医・統合生理, <sup>2)</sup>東亜大・植物生命科学)

緑葉や果実, 野菜が放つみどりの香りは, 必須脂肪酸の  $\alpha$ リノレン酸やリノール酸から産生される炭素数が6つのアルコールおよびアルデヒドの異性体の集団の総称である. この物質は植物-昆虫-微生物間の情報伝達や生理活性因子として作動していることが明らかになっており, またヒトを含む高等生物にも重要な生理作用をもつことが想定されているが, その詳細は不明である. そこで本研究では, みどりの香りのヒトへの生理作用を明らかにすることを目的として, 花, 木, みどりの香りに対する嗜好性の比較し, さらにみどりの香りに対する嗜好性を 10 cm 線分法による評価した. また, 自発脳波に及ぼす影響を調べ, 感覚運動反応過程に及ぼす影響を単純反応時間および選択反応時間を指標に評価した. アナルゲージメーターにより痛覚閾値を測定し, 顔スケール, STAI(不安評価尺度), 心拍数を調べ, 情動への影響を調べた. その結果, みどりの香り(0.03%青葉アルコール+0.03%青葉アルデヒド混合液)に対する嗜好性は花の香りよりも低いが, 半数以上が快いと評価した. 快いと評価した被験者の一部で香り曝露中に脳波の  $\beta$  波の振幅が減少した. みどりの香りは視覚応答性や運動反応性には影響しなかったが, 鎮痛作用を示した. 不顕性暴露下では情動反応性や自律機能への影響は認められなかった.

#### 50. 脳温指標としての鼓膜温の生理学的意味

小坂光男, 李 丁範, 大渡 伸, 金田英子, 松本孝朗  
(長崎大学熱帯医学研究所・環境生理)

1960年初頭, 体温調節研究分野で, 脳温が問題になっ

たのは, ①脳温変化が生体反応に多大なる影響を与えること, ②脳内に温度感受性ニューロン(温ニューロン)の存在が立証された事(Nakayama 中山他 1961~63年)③脳温の指標として鼓膜温(Benzinger 1959年)が提唱された事である. 鼓膜温度計測にはサーミスター, サーモカプセルによる接触型鼓膜温度計があるが, 測定に技術練習を要し, さらに鼓膜や外耳道の損傷の危惧により, 口腔温・腋窩温・直腸測定用の水銀体温計に比し使用頻度は高くない. しかるに, 最近, 赤外線放射による非接触型鼓膜温度計の開発・改良が進み, プローグを外耳道挿入, 数秒で鼓膜温測定が可能となった. 今回, OMRON 社開発の赤外線放射鼓膜温度計(Gentle Temp TM, MC-505)を用いて(a)被験者(n=107)による鼓膜温を測定し,  $36.88 \pm 0.46^\circ\text{C}$ の値を得た. 水銀温度計による口腔温 $36.81 \pm 0.32^\circ\text{C}$ , 腋窩温 $36.54 \pm 0.36^\circ\text{C}$ , (b)被験者(N=8)による,  $43^\circ\text{C}$ 温水の下肢負荷による誘発高体温中の鼓膜温, 口腔温, 平均体温を赤外線放射型およびサーミスターにて同時記録(c)サーミスター温度計による外耳道内壁の測定 of (a), (b), (c)の結果を総合し, 鼓膜温からみた平常および有熱, 体温基準を夫々に $36.6, 37.1^\circ\text{C}$ と考へ高温順に, 鼓膜温>口腔温>腋窩高温>平均体温の可能性を提唱し, 鼓膜温は臨床応用, 特にハイパーサーミア治療に関する誘発高体温時の脳温管理に重要であると考えている.

#### 51. 暑熱および寒冷暴露時の脳内体温調節関連物質の mRNA 動態: 定量的キャピラリー RT-PCR 法による検討

片岡俊彦, 近藤哲哉, 八坂敏一, 堀 哲郎(九州大学大学院・医学系研究科・統合生理学)

ラットを暑熱( $33^\circ\text{C}$ ), または寒冷( $4^\circ\text{C}$ )環境下に2時間暴露すると, 体温がそれぞれ, 約 $+3^\circ\text{C}$ , および $-1.5^\circ\text{C}$ 変化した. この時の脳内 c-fos, および体温調節に関与する神経ペプチドのうち CRF と TRH の mRNA 産生動態を検討した.

mRNA の定量は, 逆転写の後, キャピラリーによる PCR 法を用いた. この方法は, サイバークリーン1によってリアルタイムで増幅をモニターし, 段階希釈した既知濃度の cDNA の増幅曲線から, サンプルの濃度を推定することができる. その結果, c-fos mRNA は, 視床下部内側および外側視索前野(MPO, LPO), 室傍核(PVN), 外側野(LHA), および腹内側核(VMH)の各部位において, 寒冷暴露時に増加し, 特に MPO, LHA, および VMH で著明であった. CRF mRNA は, 暑熱暴露時の MPO, お

よび PVN, 寒冷暴露時の MPO, LHA において著明に増加した。また, TRH mRNA は, いずれの各部位も暑熱暴露より寒冷暴露時の方が増加度が大きく, c-fos mRNA の変化と類似していた。さらに, MPO に c-fos mRNA のアンチセンスオリゴ DNA を微量注入し, Fos 蛋白の発現をブロックすると, c-fos mRNA は, むしろ増加したことから, c-fos mRNA の発現調節に Fos 蛋白による自己抑制機序が存在することが示唆された。

#### 52. 熱帯地滞在・帰国した日本人発汗機能解析

李 丁範, 小坂光男, 大渡伸, 金田英子(長崎大学熱帯医学研究所・環境生理)

長期熱帯環境に暴露されている熱帯地住民は, 少ない発汗量で効率よく(汗中の Na 濃度も低い)体温を調節できると報告されている。

今回, 我々は熱帯地滞在(平均経験年数3.6年)で暑熱順化されたと考えられる日本人女性の発汗機能を検討する目的で, 実験環境を, 温度 $24 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ , 湿度 $40 \pm 0.3\%$

の条件下に設定し, 発汗誘発実験を行い暑熱非順化の通常群( $n=20$ )と比較した。被害者の前腕屈側に定量的軸索反射性発汗試験(QSART)用の発汗カプセルを装置し, 10%の ACh 液を 2 mA の直流電流を用いて 5 分間通電した。暑熱順化群( $n=10$ )の発汗潜時は  $2.2 \pm 0.6\text{min}$ , 通常群  $1.5 \pm 0.4\text{min}$  に比較して有意に長く, ACh 液直接刺激に対し発汗量は, 暑熱順化群は, 通常群に比して明らかに少量であり, 軸索反射性発汗量も有意に少量であった。この結果, 汗腺を支配する交感神経節後線維から分泌される神経伝達物質である ACh に対する汗腺の反応性が抑制されたことによるものであり, 暑熱順化群の温熱性発汗は, 過剰な無効発汗を生じないよう効率的に調節されていることを示唆する。また, 熱帯地に滞在した事によって, 熱帯地定住民と同様に ACh の感受性が低下した結果と考えられる。このことは, 先に小坂らによって報告された中枢性機序と同様に末梢性発汗機序においても抑制が検証された事を意味する。

## 編 集 後 記

1999年と決別し、いよいよ2000年になりました。Millenniumの言葉が周囲に氾濫していますが、Oxford Dictionaryによれば、period of 1000 yearsの意味と同時に coming time of justice and happinessの意味もあるようです。世紀から言えばいよいよ世紀末にあたる今年、scienceにはどのような年になるのでしょうか。宮崎先生は巻頭言で、生理学という言葉が教育機関から無くなりつつあり、生理学の新しいアイデンティティーが形成されつつある現状を分析されています。このような時期に、生理学雑誌に「Freshman技術講座：実験動物法」のシリーズがスタートしました。掲載にあたり、中島先生が whole animal の実験手法を21世紀に伝えることに意味があると書いておら

れるのは、様変わりする大きな流れの中にあっても失うことなく続いていくことが必要なものが存在することを思い出させます。人の未知の物に対する知りたいという要求は、いつになっても変わる物ではないでしょう。この要求がある限り、形が変化することがあっても生理学の概念が失われることは無いはずです。我々の生体機能の解明に向かう強い要求が、この世紀末に justice はもとより happiness をもたらしてくれることを願うものです。輝かしい21世紀まであとチョットの最後の一年に生理学雑誌はどのような展望と内要を目指すことができるでしょう。

(川上順子)

### \*編集執行委員

### 編 集 委 員

- |                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>*金子章道(編集幹事)(感覚)</li> <li>小野田法彦(感覚)</li> <li>*工藤典雄(運動、発生・成長・老化)</li> <li>黒島晟汎(環境)</li> <li>佐久間康夫(生殖)</li> <li>高田明和(血液)</li> <li>*高松 研(神経化学)</li> <li>*中島祥夫(運動)</li> <li>*入来篤史(感覚、運動、高次中枢)</li> <li>辻岡克彦(循環)</li> <li>村上政隆(膜輸送)</li> <li>小山なつ(H P 担当)</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>青木 藩(呼吸)</li> <li>河南 洋(自律神経、内分泌)</li> <li>窪田隆裕(腎・体液)</li> <li>小西真人(筋)</li> <li>*佐々木成人(運動)</li> <li>菅屋潤壺(栄養・代謝・体温)</li> <li>土居勝彦(心臓・循環)</li> <li>成瀬 達(消化・吸収)</li> <li>*川上順子(感覚)</li> <li>福田 淳(感覚、高次中枢)</li> <li>吉岡利忠(体力)</li> </ul> |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

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://wwwsoc.nacsis.ac.jp/psj/

# 日 本 生 理 学 会 会 則

(平成8年4月4日改訂)

1. 本会は日本生理学会と称する。
2. 本会は生理学の進歩発展をはかることを目的とする。
3. 本会は毎年1回大会を開いて会員の業績を発表討議し、総会および評議員会を開いて会務を評議する、大会の開催は前もって全会員に通知し演題を募集する。なお会員は各所在地において適宜地方会をつくり、業績を発表討議することができる。
4. 演題あるいは抄録を発表するため邦文機関誌の日本生理学雑誌を発行し、欧文の The Japanese Journal of Physiology を編集する。
5. 会員は正会員、特別会員、名誉会員、準会員、賛助会員、臨時会員とする。正会員は、本会の趣旨に賛同する同学者で評議員の紹介あるものに限る。学会および機関誌に業績を発表することができ、また日本生理学雑誌の領布を受ける。  
特別会員は多年本会に功労のあった会員で、評議員から推薦され総会の賛同によって定められる。  
名誉会員は、本会に多大の貢献のあった外国人で、評議員から推薦され 総会の賛同によって定められる。  
賛助会員は本会の趣旨に賛同し、本会を支援する個人または団体とする。  
準会員は学校、図書館、研究所等の団体会誌の領布のみを受ける。  
臨時会員は、一年間に限り本会の主催する大会および地方会に会員と連名で業績を発表することができる。  
会員の会費は別に定める。
6. 本会の役員には評議員、常任幹事、監事および当番幹事がある。
7. 評議員は本会の中核となる会員であって、評議員の推薦により選考委員会を経て評議員会に附議して決定される。  
評議員会は毎年大会の際開催され本会に必要な事項を評議する。  
評議員会は地区別に定数の常任幹事を選出し、日常および緊急の会務を委嘱する。
8. 常任幹事の中に庶務・会計・編集等幹事をおく。
9. 常任幹事会で選ばれた2名の監事が本会の会計を監査する。
10. 当番幹事は大会の開催を引受けた評議員であって、大会の一切の事務を行なう。大会終了後次回当番幹事に事務引継を行なって任期を終わる。この任期中は常任幹事会・評議員会および総会を招集しこれを司会する。
11. 常任幹事会は必要に応じて各種の専門委員会を設け委員を委嘱することがある。必要に応じその委員は常任幹事会に出席し専門事項の審議に参加する。
12. 本会の会計年度は毎年1月に始まり12月に終わる。
13. 本会の事務報告は総会および日本生理学雑誌に発表する。
14. 本会の事務所は東京都文京区本郷3-30-10布施ビル(4階)内におく。
15. 本会則を変更するには評議員会の決議を経て総会の承認を得なければならない。

## 附 則

### <常任幹事会に関する事項>

全国を8地区に分け、常任幹事は各地区の評議員の互選により選出される。地区及び定員は下表による。任期は3年とし重任を妨げない。各地区の評議員は、地区の定員に相当する数以内の氏名を所定の投票用紙に記入して投票を行う。投票は無記名とする。投票用紙に同一氏名を複数記入した投票は無効とする。得票数同数の場合は入会順、年長順に順位を決定する。欠員を生じた場合は、常任幹事会の議を経た後、次点者を以てこれにあてることができる。この場合の任期は前任者の残任期間とする。選挙事務は選挙管理委員会に委嘱する。選出された常任幹事の氏名は日本生理学雑誌上に報告する。

| 幹事の選出区分定員         | (計31名) |
|-------------------|--------|
| 北海道地区             | 2名     |
| 東北地区              | 2名     |
| 関東地区(新潟を含む・東京を除く) | 5名     |
| 東京地区              | 7名     |

|        |    |
|--------|----|
| 中部地区   | 5名 |
| 近畿地区   | 4名 |
| 中国四国地区 | 3名 |
| 九州地区   | 3名 |

#### <会費に関する事項>

正会員の会費は年額8,000円とする。但し在学中の者については5,000円とする。特別会員・名誉会員の会費は免除される。準会員の会費は年額9,500円とする。臨時会員の会費は年額4,000円とする。

#### 内規

- 1) 評議員選考基準：多年本会員として在籍し相当の生理科学の業績発表があり、満5年以上の研究歴があるもので本会評議員の推薦がなければならない。
- 2) 評議員は The Japanese Journal of Physiology を購読するものとする。
- 3) 会費滞納の会員は会員の資格が自然消滅する。
- 4) 庶務幹事は必要な場合に限り日本生理学会代表と称することができる。
- 5) 本会に次の常置委員会をおく。日本生理学雑誌編集委員会、The Japanese Journal of Physiology 編集委員会、評議員選考委員会、選挙管理委員会。
- 6) 文部省科学研究費補助金審査委員候補者の選出方法は別に定める。

## 日本生理学雑誌編集委員会選出内規

平成10年11月14日制定

日本生理学雑誌編集委員会

1. 日本生理学雑誌編集委員会は執行委員と編集顧問により構成する。
2. 日本生理学会編集幹事は編集委員長を務める。
3. 編集委員の任期は3年とする。重任を妨げない。
4. 執行委員は毎月の編集業務を行う。
5. 編集顧問は雑誌の編集に関し、各自の専門領域から助言を行う。
6. 執行委員は若干名とし、事務局の所在地(現在は東京)周辺に所属する日本生理学会評議員から選出する。
7. 編集顧問は約20名とし、専門領域を勘案して選出する。
8. 本内規の改廃は日本生理学雑誌編集委員会が発議し、常任幹事会の承認を得るものとする。

## 日本生理学雑誌投稿規定

平成8年4月4日改訂

### 目的

本誌は日本生理学会の機関誌で、会員相互の情報交換の場を提供することを目的とします。

### 発行形態

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

### 投稿

会員に知って欲しいニュース、情報の提供をお願いします。研究成果の発表のための原著、短報の投稿は日本生理学会会員に限られます。原著、短報は査読を行い、掲載の採否は編集委員会で決定します。

日本生理学雑誌に投稿される原稿はハードコピーと共にフロッピーディスクでご提出下さい。原著の場合は、採択の通知を受け取られた後、フロッピーディスクをご提出下さい。ハードコピーはA4用紙に1行40字、20行(1枚800字)でプリントして下さい。本誌1ページは約1,600字と考えて下さい。図は大きさにもよりますが、ほぼ400字に相当します。写真や図はハーフトーンの場合には光沢のある印画紙に焼き付けて下さい。線画の場合でコンピュータグラフィックを使用して作成した場合には、レーザープリンタで出力したものであればそのままです。印画紙に焼き付ける必要はありません。

フロッピーディスクのフォーマット、使用したマイコンの機種、ワープロソフトは一般に使われているもの(Macintosh, NEC PC98 シリーズ, IBM PC およびその Compatible, DOS/V 機)なら何でも結構ですが、ディスクのフォーマット、使用したマイコンの機種、ワープロソフトおよびファイル名を明記して下さい。印刷所および学会事務局でどうしても対応できない場合には著者にご協力を求めることがありますので、予めご承知置き下さい。

### 原稿の送り先

〒113-0033 文京区本郷3-30-10 (布施ビル4階)  
日本生理学会事務局 日本生理学雑誌編集委員会  
TEL: 03-3815-1624  
FAX: 03-3815-1603

### 投稿の締め切り

会合通知、公募案内など締め切り日のある件については掲載号の前々月の20日が締め切り日となりますが、余裕を持って早めにお送り下さい。

### 掲載料

会合通知、公募案内、研究会の報告など INFORMATION, PROFILE, TRENDS, CALENDAR, OPINIONなどの欄に掲載希望の記事は無料で掲載します。

原著、短報、テクニカルノートなどの投稿原稿には掲載料をいただきます。掲載料は原稿の長さ、図や写真の量に応じ、そのつど事務局からお知らせします。別刷りは有料です。

総説、実験技術講座など編集委員会が依頼する原稿の掲載には著者負担はありません。ただし、100部を越える別刷りは有料です。

### I. 原著

A. 原著論文は日本語とし、長さに制限はありません。2部提出して下さい。

B. 表紙(原稿の第1ページ)には、表題、欄外見出し、著者名、所属およびその所在地、電話番号、FAX番号、原稿の枚数、図、表の数、別刷り希望部数、編集者への希望などを書いて下さい。

C. 日本語の要旨と5つ以内のキーワードをつけて下さい。要旨は400字以内、はじめに表題、著者名、所属をつけて下さい。

D. 動物名、外来語は原則としてカタカナを用いて下さい。略語、単位、単位記号は巻末の用法に従って下さい。これは Japanese Journal of Physiology (JJP) の投稿規定と同一です。

E. 図、表、写真の説明も日本語で書いて下さい。本文の欄外にそれぞれ挿入すべき部位を指定して下さい。

F. 項目分けは I, II, ……とし、下位項目は A, B, ……、さらにその下は 1, 2, ……、最下位の項目は a, b, ……として下さい。

### G. 文献の記載法

1. 本文中の引用箇所には出現順に [ ] 内に番号を付けます。1つの事柄に複数の論文を引用する場合には [1, 5, 7], あるいは [8-13] のように書きます。

著者名を引用する場合、3名以上の連名のときは、“ら”あるいは“et al.”とします。

例1：高木ら [1] によれば……

例2：Hodgkin & Huxley [2] によれば……

2. 末尾文献リストは Japanese Journal of Physiology (JJP) の投稿規定に従って下さい。すなわち、本文中の出現順に並べ、1. から順に番号を振ります。著者が連名の場合でも省略せず、全員の名前を記載します。

3. リストは著者名：表題、雑誌名(省略形)、巻、開始ページ-終了ページ、西暦年号の順に記載します。例：

1. Watanabe S-I & Murakami M: Phototransduction in cones as examined in excised membrane patch. Jpn J Physiol 42: 309-320, 1992

2. Ueda Y, Kaneko A & Kaneda M: Voltage-dependent ionic currents in solitary horizontal cells isolated from the cat retina. J Neurophysiol 68: 1143-1150, 1992

3. Tokizane T: Studies on the paradoxical phase of sleep in the cat. In: Progress in Brain Research, Ed. Tokizane T & Schade JP, Elsevier Publ Co, Amsterdam, Vol 21 B pp 230-268, 1965

4. 河村 悟：視細胞における順応調節蛋白質。生物物理 32: 180-185, 1992

コンマは複数の著者の区切りだけに使用し、イニシャルは大文字でスペースを入れないなどの点にご注意下さい。

H. 校正は投稿者の責任において初校のみとします。

## II. 短報, 研究方法 (テクニカルノート)

1. 刷り上がり 4 ページ以内とします。
2. 図, 表は 4 点以内です。
3. その他は原著に準じて下さい。

## III. 総説, 解説, 実験技術講座

A. 内容は専門外の人にも分かるようにお書き下さい。

B. 図, 表, 文献リストを含め、刷り上がり 15~20 ページを目安にして下さい。

C. 執筆要項は原著に準じますが、原稿の提出は 1 部で結構です。

## IV. 学生教育, 学会印象記, 資料など

- A. 刷り上がり 2~4 ページを目安とします。
- B. 執筆要項に特別な指定はありません。

## V. 談話会抄録

A. 談話会の幹事は刷り上がり 1 ページ程度の会全体のまとめを書いて下さい。

B. 談話会抄録は下記のように、表題、口演者名、所属を記載し、本文は 400~600 字程度 (図, 表は不可) とします。ただし、予稿を作った場合でその分量がこの範囲を大幅に超えないものであれば、予稿をそのまま使用できます。抄録も原則としてフロッピーディスクでお願いします。

[抄録見本]

赤血球膜タンパク質の酸化的重合化と微小循環

鈴木一郎, 山田一夫 (北西大, 医, 第一生理)

赤血球毛細血管を通過する際に外力により受動的に変形させられる。その変形能は……

Table 1. 定義せずに使用して良い略語

| 略語               | 定義                                                             |
|------------------|----------------------------------------------------------------|
| ACh              | acetylcholine                                                  |
| AChE             | acetylcholinesterase                                           |
| ACTH             | adrenocorticotrophic hormone                                   |
| ADP              | adenosine 5'-diphosphate                                       |
| AMP              | adenosine 5'-monophosphate                                     |
| ATP              | adenosine 5'-triphosphate                                      |
| <sup>14</sup> C  | carbon isotope                                                 |
| Ca <sup>2+</sup> | calcium ion                                                    |
| cAMP             | cyclic AMP (adenosine 3':5'-monophosphate)                     |
| CAT              | choline acetyltransferase                                      |
| cDNA             | complementary deoxyribonucleic acid                            |
| cGMP             | cyclic GMP (guanosine 3':5'-monophosphate)                     |
| CM-cellulose     | O-(carboxymethyl)-cellulose                                    |
| CNS              | central nervous system                                         |
| CoA              | coenzyme A                                                     |
| CSF              | cerebrospinal fluid                                            |
| ConA             | concanavalin A                                                 |
| DEAE-cellulose   | O-(diethylaminoethyl)-cellulose                                |
| DNA              | deoxyribonucleic acid                                          |
| EDTA             | ethylenediaminetetra-acetate                                   |
| ECG              | electrocardiogram, electrocorticogram                          |
| EEG              | electroencephalogram                                           |
| EGTA             | ethyleneglycol-bis-(β-amino-ethyl ether)N,N'-tetra-acetic acid |
| ELISA            | enzyme-linked immunosorbent assay                              |
| EM               | electron microscope                                            |
| EMG              | electromyogram                                                 |
| EPSP             | excitatory postsynaptic potential                              |
| GABA             | γ-aminobutyric acid                                            |
| GDP              | guanosine 5'-diphosphate                                       |

|           |                                                     |                    |          |
|-----------|-----------------------------------------------------|--------------------|----------|
| GMP       | guanosine 5'-monophosphate                          | キログラム              | kg       |
| GTP       | guanosine 5'-triphosphate                           | ミリグラム              | mg       |
| HEPES     | 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazine-ethanesulfonic acid | マイクログラム            | $\mu$ g  |
| HPLC      | high performance liquid chromatography              | ナノグラム              | ng       |
| HRP       | horseradish peroxidase                              | ピコグラム              | pg       |
| 5-HT      | 5-hydroxytryptamine (serotonin)                     | 重力加速度              | xg       |
| IgG       | immunoglobulin                                      | エネルギー              | J        |
| I.P.      | intraperitoneal                                     | 電 荷                | C        |
| IPSP      | inhibitory postsynaptic potential                   | 電位差                | V        |
| I.V.      | intravenous                                         | 電気抵抗               | $\Omega$ |
| $K_m$     | Michaelis constant                                  | コンダクタンス            | S        |
| $Mg^{2+}$ | magnesium ion                                       | 電気容量               | F        |
| MAO       | monoamine oxidase                                   | インダクタンス            | H        |
| mRNA      | messenger ribonucleic acid                          | 周波数                | Hz       |
| NMDA      | N-methyl-D-aspartate                                | 力                  | N        |
| PAGE      | polyacrylamide gel electrophoresis                  | 照 度                | lx       |
| RNA       | ribonucleic acid                                    | luminous flux      | lm       |
| SD        | standard deviation                                  | 磁 力                | Wb       |
| SDS       | sodium dodecyl sulfate                              | magnetic induction | T        |
| SE        | standard error of mean                              | モル濃度               | M        |
| tRNA      | transfer ribonucleic acid                           | molecular weight   | mol      |
| Tris      | tris(hydroxymethyl) aminomethane                    | 分子量                | Da       |
| TTX       | tetrodotoxin                                        | 圧                  | Pa       |
| UV        | ultraviolet                                         | power              | W        |
|           |                                                     | radioactivity      | Bq       |
|           |                                                     | 音 圧                | dB       |

Table 2. 単 位

| 物 理 量 | 単 位 名  | 記 号     |
|-------|--------|---------|
| 面 積   | 平方メートル | $m^2$   |
| 長 さ   | メートル   | m       |
| 時 間   | 日      | d       |
|       | 時間     | h       |
|       | 分      | min     |
|       | 秒      | s       |
|       | ミリ秒    | ms      |
|       | マイクロ秒  | $\mu$ s |
| 容 積   | リットル   | l       |
|       | グラム    | g       |

倍 数

|      |       |            |
|------|-------|------------|
| キロ   | k     | $10^3$     |
| メガ   | M     | $10^6$     |
| ギガ   | G     | $10^9$     |
| テラ   | T     | $10^{12}$  |
| デシ   | d     | $10^{-1}$  |
| センチ  | c     | $10^{-2}$  |
| ミリ   | m     | $10^{-3}$  |
| マイクロ | $\mu$ | $10^{-6}$  |
| ナノ   | n     | $10^{-9}$  |
| ピコ   | p     | $10^{-12}$ |
| フェント | f     | $10^{-15}$ |

昭和63年12月19日制定

## 「生理学領域における動物実験に関する基本的指針」

Guiding principles for the care and use of animals  
in the field of physiological sciences.

## 日 本 生 理 学 会

動物実験に際しての実験計画立案の科学性と動物の福祉の立場に立った倫理的規範は、すでに「実験動物の飼養及び保管等に関する基準、昭和55年総理府告示」、「International guiding principles for biomedical research involving animals. CIOMS 1984」、「Guide for the care and use of laboratory animals, DHEW Publication No. (NIH) 85-23 1985」、「動物実験に関する指針、日本実験動物学会1987」、「サル類を用いる実験遂行のための基本原則、日本霊長類学会1986」等々に示されており、本学会もこれらの精神をふまえて「生理学領域における動物実験に関する基本的指針」を制定する。

生理学の教育、研究の場では動物実験は殆ど必須の手段となっている。そして動物実験を通じて行われた生理学の教育、研究は生命現象の理解と解明に大きな役割をはたし、この研究成果は、医学・医療に应用され、人類福祉のためにはかり知れない貢献をした。今後、日本における生理学教育の一層の充実と生理学研究の飛躍的な発展のため、生理学実験者が主として脊椎動物を用いる動物実験にあたって、科学的な動物実験計画の立案と動物の福祉の観点に十二分な配慮をするため、ここに基本的指針を定める。生理学領域の実験者は以下の指針を遵守し厳正適切な実験を遂行しなければならない。

## I. 基本的事項

(1) 動物実験の目的が生理学的知識の向上と人類福祉に役立ち、動物の福祉にも配慮したものでなければならない。

(2) 動物実験にあたっては、科学的な観点から最も適正な種属と数量を選択しなければならない。

(3) 実験にあたっては、保定や麻酔薬の投与などにより実験動物に不必要な苦しみや痛みを与えないよう十分な配慮をしなければならない。特に痛覚の研究や実験の性質上、軽い麻酔しか用いられない実験を行う場合には、予め動物実験委員会などの意見を聞いた上、倫理的な観点から動物に与える苦痛を最小限にする配慮が必要である。

(4) 実験終了後、動物を処分する場合には「実験動物の飼養及び保管等に関する基準」（昭和55年）に定められているところに従い、速やかに安楽死させなければならない。

(5) 実験動物には適切な給餌、給水を行い、可能な限り清潔で快適な環境で飼育するよう心がけなければならない。

## II. 特記事項

(1) 動物実験を実施するにあたっては、専用区域を設け、動物の福祉に配慮した整備された施設で行わなければならない。又、施設の管理、運営のため必要な組織や体制を整備して、有能な専従の飼育技術者を配置して動物飼育に万全を期する必要がある。

(2) 実験者は科学的な計画を立案し、適正な供試動物の選択、実験方法の検討、必要な飼育条件の確保をはかる必要がある。実験計画の立案にあたっては実験動物学の専門家などの助言をもとめることが望ましい。

(3) 供試動物の選択にあたっては、実験目的に則して遺伝学的及び微生物学的品質を考慮する必要がある。飼育管理については管理者の指示に従わなければならない。

(4) 実験者は動物の入手にあたり、検収と検疫を的確に行い、入手時及び飼育期間中の動物の状態を記録し、保管しておく必要がある。この作業は管理者に委嘱する事ができる。

(5) 物理的、化学的に危険な物質、あるいは病原体等を扱う動物実験においては、人の安全の確保や、飼育環境の汚染により動物が障害を受けたり、実験結果の信頼性が損われないよう配慮する必要がある。なお、実験施設周辺の汚染防止についても十分に注意を払う必要がある。

(6) 実験者は各研究機関の「動物実験委員会」の規定、指示にしたがわなければならない。

(7) 研究成果の論文発表にあたっては、本指針にのっとって実験を遂行したことを付記することが望ましい。

## Guiding Principles for the Care and Use of Animals in the Field of Physiological Science

The Physiological Society of Japan

Animal research requires detailed planning and must be executed incorporating not only scientific principles, but also ethical considerations and a regard for animal welfare. Important regulations and guidelines to meet these requirements are contained in the following publications : —

- 'Standards Relating to the Care and Management, etc. of Experimental Animals, Notification of Japanese Prime Minister's Office, 1980' ;
- 'International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals, CIOMS, 1984' ;
- 'Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, DHEW Publication No. (NIH) 85-23, 1985' ;
- 'Guide for Animal Experimentation, Japanese Association for Laboratory Animal Science, 1987' ; and
- 'Guiding Principles for Animal Experiment using Non-human Primates, Primate Society of Japan, 1986' ;

In furtherance of these objectives and in response to enquiries from members, The Physiological Society of Japan (hereafter Called "The Society") recommends compliance with 'guiding Principles for the Care and Use of Animals in the Field of Physiological Sciences'.

Animal experiments are an unavoidable necessity in pursuing teaching and research activities in the field of physiological sciences. Results obtained from such programmes have contributed much to understanding the scientific function of the living body. Their application to medical and veterinary science and therapeutics have played an important role in the development of human and animal health and welfare. So that even greater developments in education and research in this field may take place, The Society urges all Japanese Physiologists to adopt these guiding principles. It is The Society's intention that all animal experiments should be designed and conducted on a valid scientific and ethical basis and that sufficient consideration must be given to animal welfare.

### I . General Principles

- (1) Animal experiments are to be undertaken only for the purpose of advancing physiological knowledge, and enhancing the well-being of human and animals.
- (2) Consideration should be given on a scientific basis to the most suitable species of animals to be used and the numbers required.
- (3) Investigators should employ anesthesia, sedation and correct handling techniques appropriate to the procedures to be performed in order to avoid unnecessary pain and stress in the animals. In particular, before investigators proceed to conduct an experiment using only a light level of anesthesia, or employing a neuromuscular blocking agent, an application should be made to the Animal Research Committee in their institutes. This procedure is especially recommended and where permission is given it will be on an assurance that the intensity and duration of the pain are estimated to be minimal, consistent with achieving

the objective of the experiment.

- (4) When animals are to be disposed of after experiments have been completed, they should, in accordance with notification issued from Prime Minister's Office (1980), be killed humanely by administering a lethal dose of anesthetic or by some other recognised means taking into account their species and size.
- (5) Experimental animals must be accommodated in proper housing, and provided with sufficient food and water, thus protecting their welfare and maintaining them in a hygienic environment.

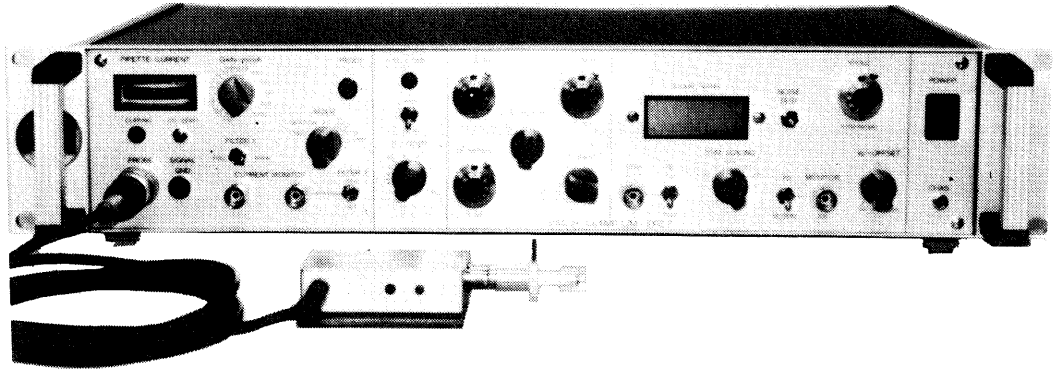
## II. Specific Recommendation

- (1) Animal experiments must be performed in specially designated areas where adequate facilities are available in order to ensure the welfare of the animals. The organization and management of the experimental animal facilities must be well planned and the animal caretakers concerned with husbandry and routine care must be competent to perform their tasks in a satisfactory manner.
- (2) In conformity with a well defined experimental protocol, each experimenter must have assessed the suitability of the species of animal to be used and of the experimental methodology selected. Animals maintained in satisfactory conditions should be used. Consultation with, and advice from, experienced laboratory animal scientists are recommended.
- (3) The experimenter must select with care the species and strain of animal most suitable for the experimental purpose in terms of genetic and microbiological quality. The person in charge of the facility is responsible for seeing that the relevant regulations and internal rules are followed.
- (4) The experimenter should inspect the animals and provide for quarantine condition in a proper manner. Records of the animals both during the breeding stage and when issued for use must be maintained. This work may be delegated to the manager of the animal facilities.
- (5) Full consideration must be paid to the avoidance of compromising results by protecting the animals from environmental contamination in the animal facilities. The safety of humans handling physically and chemically hazardous substances or pathogens must also be assured. In addition, special attention should be given to the maintenance of good hygienic practices throughout the animal facilities, with due regard to the fabric of the building and its equipment.
- (6) All experimenters must comply with regulations and decisions made by the Animal Research Committee in that institute.
- (7) All experimenters are urged by The Society to conform with these guiding principles and recommendations. That they have done so should be stated by investigators when they report their experimental work for publication purposes.

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

西独リスト社

## パッチクランプシステム *EPC-7*



### ■ 主な性能

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

日本総代理店/西日本地区発売元



ショーシンEM株式会社

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

東日本地区発売元

(Physio-Tech)

株式会社 フィジオテック

〒101-0047 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研究システム 基礎医学研究用システム

Biomedical Research System / LEG-1000

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

## フレキシブルなシステム構成

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

## 高精度ヘッドアンプ・カブラ群

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

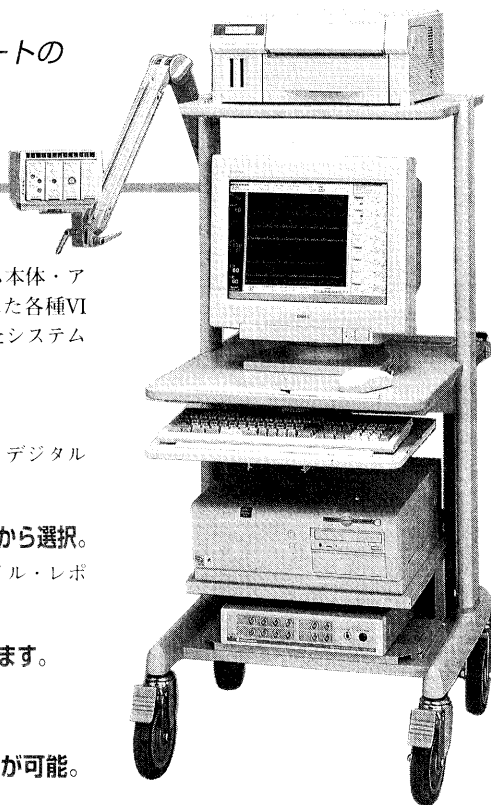
## ノートタイプ、デスクトップタイプのパーソナルコンピュータから選択。

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

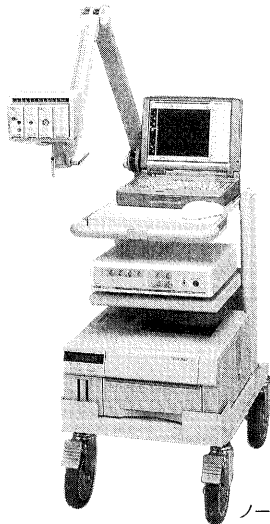
アンプはソフトウェアで管理、長期間安心してご使用いただけます。

16チャンネルまでの信号の同時計測・処理が可能。

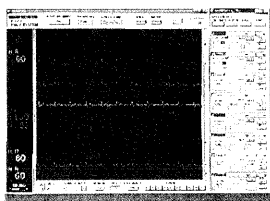
ポリグラフ等、既存装置からのアナログ信号の取り込みが可能。



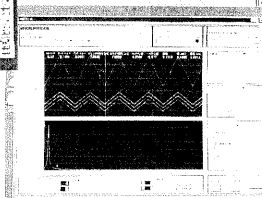
デスクトップ型パソコン構成



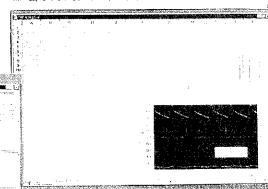
ノート型パソコン構成



POLY計測画面



VC計測画面



エクセル画面

**日本光電**

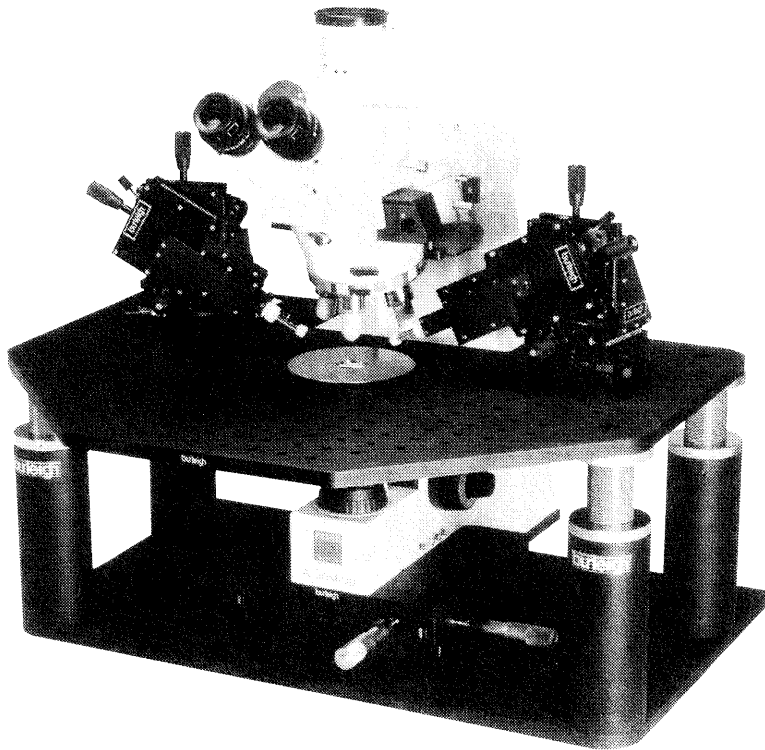
〒161-8560 東京都新宿区西落合1-31-4  
☎03(5996)8028

カタログをご希望の方は当社までご請求下さい。

**burleigh**

The Power of Precision  
in Life Science.

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



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

◆詳しい資料をご請求下さい

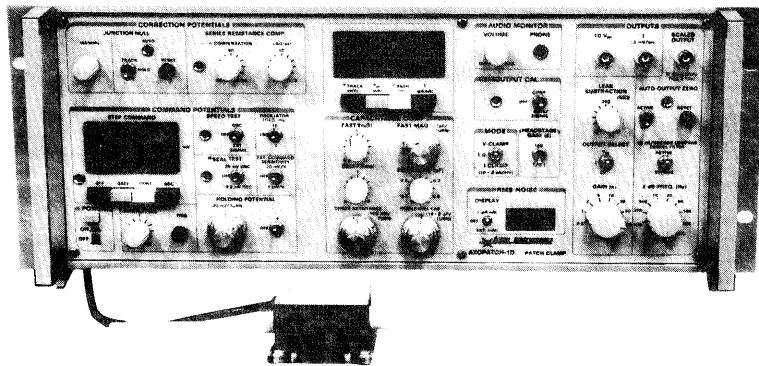


バーレイ社 日本代理店:

**シヨージン EM 株式会社**

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

# 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 G $\Omega$ と500 M $\Omega$ 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 G $\Omega$ と50 M $\Omega$ 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 G $\Omega$ と50 M $\Omega$ 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 名古屋市中種区今池3丁目40番地4  
TEL (052)731-8000(代) FAX (052)731-5050  
東京支社/〒157-0063 東京都世田谷区箱谷三丁目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

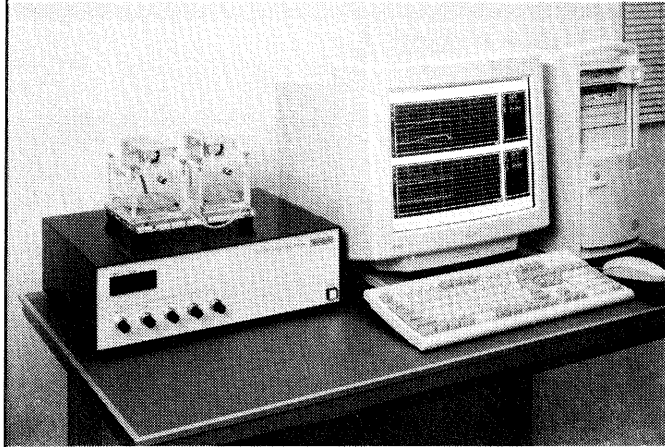
東日本地区発売元

(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

# 小動物用代謝計測システム MODEL MK-5000



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

## ■主な特長

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

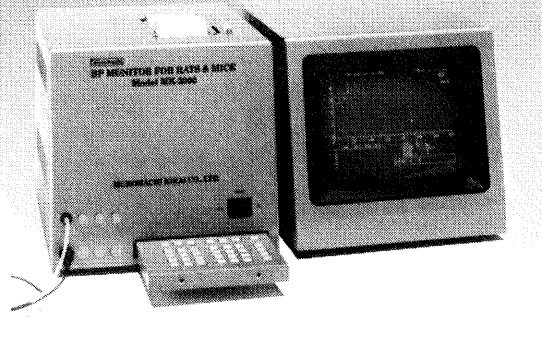
**Muromachi**

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 オパール新大阪ビル  
〒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す。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ー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**

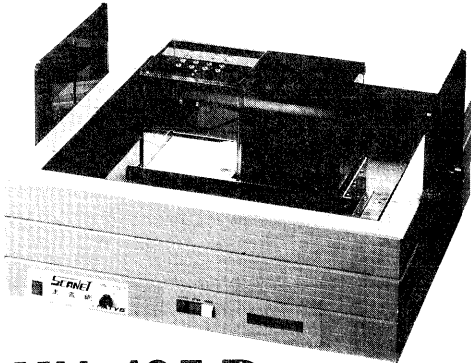
本社 東京都中央区日本橋室町4-2-1 大辻ビル  
〒103-0022 TEL 03(3241)2444 FAX 03(3241)2940  
大阪営業所 大阪市淀川区木川東4-5-3 オパール新大阪ビル  
〒532-0012 TEL 06(6302)1277 FAX 06(6302)5026  
URL : <http://www.muromachi.com>

# 小動物行動測定の世界

# SCANETのTOYO

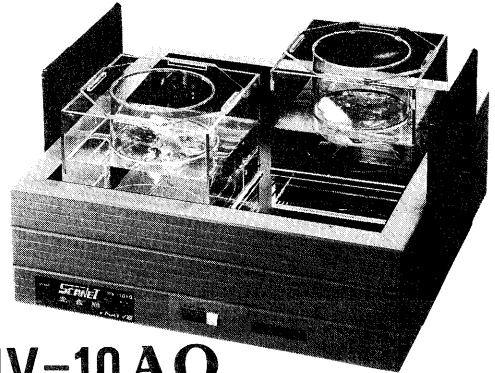
## 《スキャネットシリーズ》

● 薬物依存測定



### MV-10LD

● 抗うつスクリーニング測定



### MV-10AQ

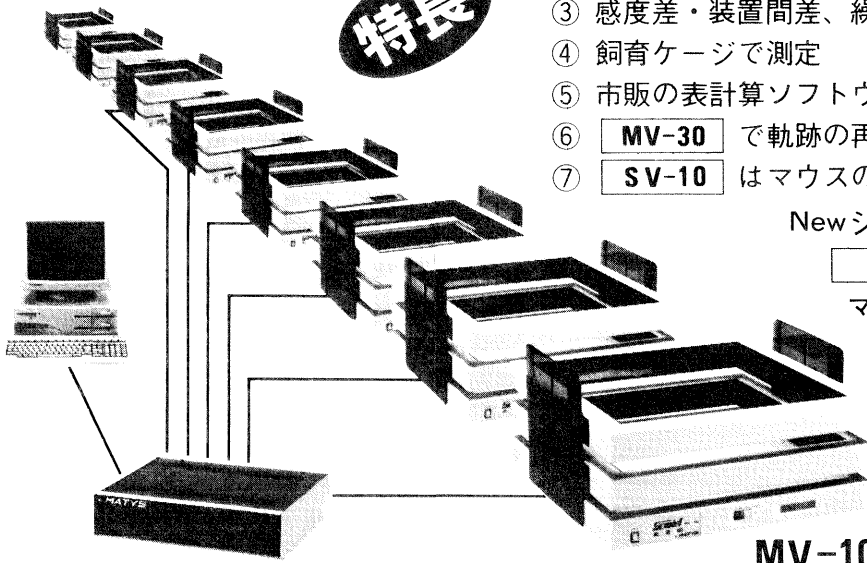
特長

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

Newシステム

**MV-10 MT**

マルチタイプは  
最高です。



### MV-10 システム



## MATYS

メイティス

製造元 **東洋産業株式会社**  
医用機器事業部

本社・工場 / 〒930-0281 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

より薄く、よりダメージの少ない新鮮切片を  
さらなる進化

# SUPER MICROSLICER® ZERO 1

さらなる進化、ZERO 1はひと味違います。

周知のごとく、刃物は

“引きながら”切ること切れ味が増し、

その“引き”は大きいほど切れ味が良いため  
振巾を少し大きくしました。

よりダメージを少なくするために

手動式では難しい

自動リトラクション機能を装備。

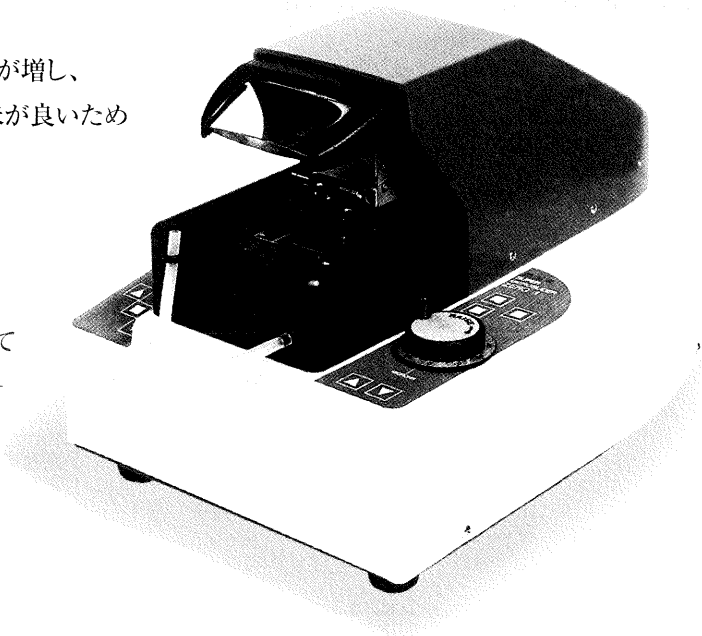
どこをとっても高性能、それでいて

シンプルで使いやすい操作性—

「ZERO 1」は、あなたの研究を  
サポートします。

デモンストレーションをお待ちしています。

●弊社ではアフターサービスを迅速に  
対処できるよう心がけております。



DOSAKA EM CO., LTD.

**D.S.K** 堂阪イーエム株式会社

本社・工場 〒601-1123 京都市左京区静海市原町619-1  
TEL.075-741-3069 FAX.075-741-3026

# 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。

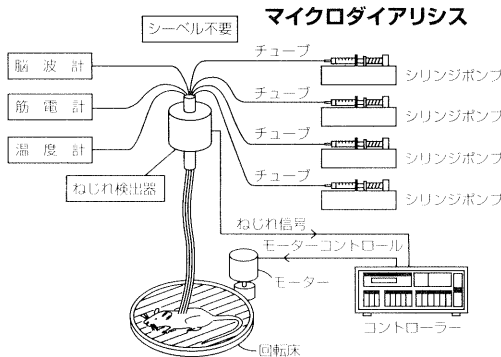
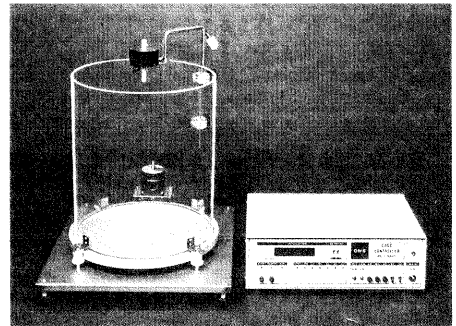
**【カニューラ・シーベルは?】** 薬液用のシーベルは不要です。

**【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、くれぐれもご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: 薬効評価用ベアーフィード装置(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: アイソトニック・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ルラー、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

# Thermo-Plate

MATS-Uシリーズ  
サーモプレート MATSシリーズ PAT.P

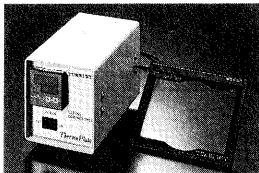
## TOKAI HIT

### 顕微鏡ステージ自動温度制御システム

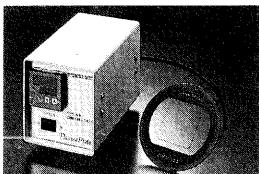
更なる品質・性能の向上を目指し「**UL**規格取得・**CE**適合シリーズ：MATS-Uシリーズ」を拡充  
豊富なラインアップでバイオテクノロジーをサポートします。

#### MATS-Uシリーズ：UL規格・CEマーク適合

温度設定(室温~50℃)



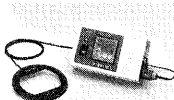
型式：MATS-U55S  
汎用タイプのプレート  
Sタイプ(平型フラット)  
をワールドワイドなコ  
ントローラーで制御す  
るUL規格・CEマーク  
適合機種。



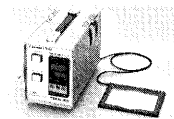
型式：MATS-U55R30  
(ホフマン対応)  
倒立顕微鏡用で、ホフ  
マンモジュールシ  
ョン対応のプレートR30  
タイプ(丸型)をワ  
ールドワイドなコ  
ントローラー  
で制御するUL規格・  
CEマーク適合機種。

#### MATSシリーズ：スタンダード・ハイグレード・ノイズレス

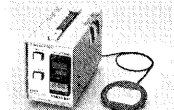
温度設定(室温~50℃)



スタンダード(温度精度:±0.3℃)  
薄型でコンパクトな省スペース設計。  
しかもPID制御と無接点リレーを  
採用したコントローラー。  
プレートは倒立・正立・実体顕微鏡  
用と各種取り揃えています。



ハイグレード(温度精度:±0.1℃)  
シリーズレギュレーター方式電源  
により連続的な温度制御を行う高  
精度なコントローラー。  
プレートは倒立・正立顕微鏡用と各  
種取り揃えています。



ノイズレス(温度精度:±0.1℃)シ  
ールド機構を組み込むことにより、  
ノイズを軽減した直流タイプの高  
精度なタイプ。  
パッチクランプ・膜電位測定時の換  
体の温度管理に。

#### 冷却・加温兼用・冷却専用プレート

温度設定(3~50℃)(室温~3℃)



STタイプ(正立・実体顕微鏡用)  
MATS-555ST(3~50℃)  
MATS-500ST(室温~3℃)



RTタイプ(倒立顕微鏡用)  
MATS-555RT(3~50℃)  
MATS-500RT(室温~3℃)

**Nikon**：株式会社 **ニコン** インステック **OLYMPUS**：オリンパス販売株式会社 にもお取り扱い頂いて居ります。

製造・販売元

(詳しくは弊社宛お問い合わせ頂けますようお願いいたします。)

**TOKAI HIT** 株式会社 **東海ヒット**

〒418 静岡県富士宮市源道寺町306-1 TEL.0544-24-6699 FAX.0544-24-6641

コストパフォーマンスを追求したパーソナルタイプです。

# InCyt Im™ “蛍光画像処理システム”

## 画像とデータの表示

I<sup>1</sup>のモニターにグラフィックソフトウェアを使用して簡単にデータを表示します。

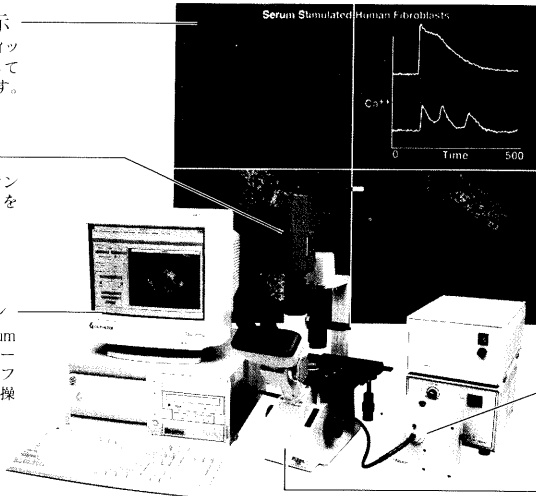
## カメラ

低光量、低ノイズイメージング用のCCDビデオカメラを採用。

## 画像収集と解析用

### ワークステーション

32ビット画像処理用のPentium Pro PCとWindows NT。ユーザフレンドリーなインターフェイスによりスムーズな操作で実験可能。



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

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

## 顕微鏡

I<sup>1</sup>開発のGroony™蛍光モジュールを搭載したNikonTMS-F倒立顕微鏡。

定価 ¥6,980,000  
(顕微鏡・コンピュータを含む)

日本総発売元



## バイオリサーチセンター株式会社

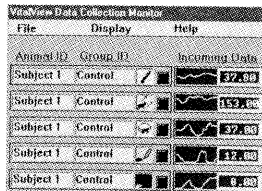
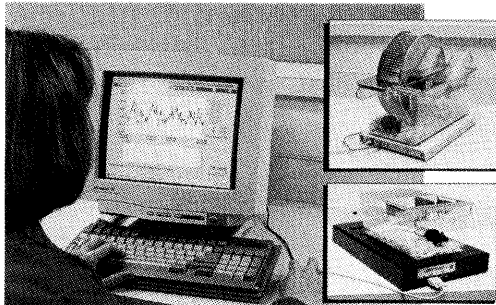
本社 名古屋市東区泉2-28-24 (ヨコタビル4F) ☎052(932)6421 FAX052(932)6755  
東京 東京都千代田区若本町2-10-1 (オカジマビル) ☎03(3861)7021 FAX03(3861)7022

E-ミッターは電池を使用しませんので、半永久的に使用できます!

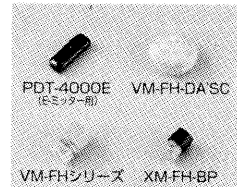
# VitalView 小動物用テレメータシステム

マウス・ラット用心拍・体温・運動量測定用テレメータ

VitalViewデータ収録システムは同時に24チャンネルのテレメータ受信入力データをオンラインディスプレイします。マウス操作で個々のチャンネルデータをフォーカスできます。4000シリーズE-Mitterは、従来のテレメータの概念を打ち破る画期的なシリーズです。この革命的なデータ送信装置には電池が必要ありません。アンリアルケースの下に設置したER-4000励起レーザーから、送信に必要なパワーを送信部に常時供給します。



〈3000シリーズ用〉



## 〈VitalViewメインウインドウ〉

近日にマウス・ラットの心電測定が可能、E-ミッターがそろいます。詳細は弊社「小動物用テレメータシステムカタログ」をご請求下さい。

## 〈各種送信器〉

## New! 心拍・体温・運動量測定用E-ミッター



E-ミッターシリーズ送信器  
●PDT-4000E (体温・運動量用)  
サイズ: 22.1×8.2×5.3mm  
重さ: 1.5g  
●PDT-4000HR (心拍数・体温・運動量用)  
サイズ: 22.1×8.2×6.3mm  
重さ: 1.8g

## 〈VitalView 4000・3000シリーズ・テレメータシステム〉

### 〈VitalViewの便利さ〉

- セットアップや構成が簡単です。
- アーチファクトリーで信頼性の高いデータが得られます。
- E-Mitterシリーズは煩雑な電池交換が必要ありません。
- オンラインでデータ処理しディスプレイします。
- 機能的で汎用性の高いデータ収録システムです。



## バイオリサーチセンター株式会社

本社 〒461-0001 名古屋市東区泉2丁目28番24号(ヨコタビル4F) TEL(052)932-6421 FAX(052)932-6755  
東京 〒101-0032 東京都千代田区若本町2-10-1(オカジマビル) TEL(03)3861-7021 FAX(03)3861-7022

