

日本

生理学

雑誌

JOURNAL OF THE PHYSIOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

44巻 2号 1982

研究法

栗原 敏・小西真人・高橋智幸：Aequorin による筋細胞内 Ca^{++} transient の測定 …………… 37

原 著

河瀬雅夫：トレーニング効果の生理学的基礎に関する研究—特に骨格筋ミオグロビン
に関連して—Ⅱ．イヌ骨格筋のミオグロビン含量について…………… 49

第62回近畿生理学談話会…………… 59

第50回日本生理学会北海道地方会…………… 70

会 報 日本生理学会昭和56年度第2回常任幹事会議事録…………… 79

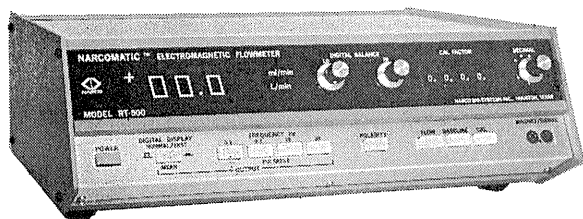
北米神経科学協会に出席して思ったこと(伊藤正男)…………… 80

生理学の広場 新生理学用語集の編集経過報告と一つの言いわけ(酒井敏夫)…………… 84

NASAの技術を導入した未来のフローメーター登場!



NARCOMATIC 電磁血流計



RT-500

米国ナルコ・バイオシステムズ社がRT-400に続き開発したナルコマチックRT-500はこれまでの常識を破る革命的な新型の自動血流計で、ナル調整やゲイン調整は必要ありません。オートマチック・ゼロの特徴により、血管上のプローブが動いてもベースラインの変動はなく、正確かつ迅速な血流測定ができます。

※カタログ等の御請求は本社医用電子課へ

《特長》

- オートマチック・ゼロによりゼロレベルの変動はありません。
- 流量はデジタル表示で直読できます。
- 操作が簡単ですから臨床用として最適です。
- コンパクトで持ち運びに便利です。
- プローブはすべて較正済みで臨床用から研究用まで豊富に用意されています。

日本総代理店



株式会社 **東海医理科**
TOKAI IRIKA CO., LTD.

〒101 東京都千代田区内神田3-2-12クリハラビル ☎(03)254-0052(代)
札幌:(011)752-0176 北陸:(0764)78-5652 名古屋:(052)524-5408
大阪:(06)787-0544 広島:(0822)93-2163 福岡:(092)472-3800



米国A-VOX社製

動静脈間の酸素消費量を連続的にモニター A-V酸素アナライザー

本装置は、動脈血液と静脈血液間の光学的濃度差を測定することによって、全血がキューベット中に流れる際の動静脈の酸素差 (a-vO₂) を測定します。

本装置には、波長660nmの光を使用しており、この酸化ヘモグロビンと還元ヘモグロビンの吸光係数が大きく違います。LED (発光ダイオード) により、フロー・スルーキューベットを照射し、ログリズミック・アンプで直線性のある出力電圧として、デジタルメータに a-vO₂ 単位 (ml O₂/100ml blood) で表示します。



日本総代理店



株式会社 **東海医理科**
TOKAI IRIKA CO., LTD.

本社 〒101 東京都千代田区内神田3-2-12クリハラビル ☎(03)254-0052(代)
札幌(011)752-0176/仙台(0222)75-2514/金沢(0762)23-4648
名古屋(052)524-5408/大阪(06)305-6328/広島(0822)93-2163
愛媛(0899)21-3015/福岡(092)472-3800

Aequorin による筋細胞内 Ca^{++} transient の測定

栗原 敏・小西 真人・高橋 智幸*
(東京慈恵会医科大学第二生理学教室・京都大学医学部第二生理学教室*)

Measurement of Ca^{++} transients in muscle cells with aequorin. Satoshi KURIHARA, Masato KONISHI and Tomoyuki TAKAHASHI* (*Department of Physiology, The Jikei University School of Medicine, Department of Physiology, Faculty of Medicine, Kyoto University**)

1. はじめに

細胞膜の興奮, 筋収縮, 細胞の分泌活動, 伝達物質の遊離, ホルモンの作用, 細胞間の連結・融合など多くの細胞機能の発現に細胞内 Ca^{++} が重要な役割りを果たしていることが広く認められつつある。これらの細胞の機能と, 細胞内 Ca^{++} との関係 を明らかにするために, 細胞内 Ca^{++} 濃度の経時的定量が必要となってくる。

この総説では, Ca^{++} 感受性タンパク, エクオリン (aequorin) による細胞内 Ca^{++} 濃度の経時的変化 (Ca^{++} transient) の測定法の実際について, 骨格筋および心筋への応用を中心に述べてみることにする。

現在までに細胞内 Ca^{++} の経時的測定に用いられている方法を大別すると, 1) Ca^{++} 電極法⁴⁷⁾⁶¹⁾, 2) Ca^{++} 感受性色素による吸光度変化測定法 (metallochromic dye など)⁵⁸⁾, 3) Ca^{++} 感受性蛍光色素法 (chlorotetracycline など)²¹⁾²⁹⁾, 4) Ca^{++} 感受性発光タンパク法 (aequorin, obelin など)¹⁵⁾²⁰⁾ が主なものである。

Ca^{++} 電極は, 検出感度および, Ca^{++} 濃度に対する直線性 (対数的) が優れているが, 時間分解能が, 通常 0.2~1 秒程度のため, より時間経過の速い Ca^{++} transient の測定は, 現在まで, なされていない (註 1)。蛍光色素法は, Ca^{++} に対する選択性に問題があり, 応用の範囲が限定される。吸光度測定法の内, murexide は, 直線性は優れているが, Ca^{++} 感受性が低い欠点がある⁵⁰⁾。このような状況の中で, 現在 Ca^{++} transient の測定には, metallochromic

dye (arsenazo III antipyrilazo III など) による吸光度変化測定法と, aequorin, obelin²⁰⁾ などによる発光測定法が広く用いられている。それぞれの方法には, 利点と, 欠点があり, 目的および標本に応じた選択が必要であるが, 目的によっては, 両方を同一標本で試みることも必要である。

Metallochromic dye については総説および論文を参照されたい⁴⁸⁾⁵¹⁾⁵⁸⁾。

2. Aequorin の一般的性質

1962年, Shimomura は, Johnson, Saiga らと共に発光クラゲ *Aequorea aequorea* から, Ca^{++} と特異的に反応して光を発する蛋白を抽出し, aequorin と名付けた⁶⁰⁾。Ridgway と Ashley は, 1967年, 始めて, aequorin を barnacle の巨大筋線維内に注入し, 活動電位の発生, 細胞内 Ca^{++} 濃度の変化, 筋収縮の一連の現象の時間的關係を明らかにし, aequorin の生理学的有用性を示した⁷⁾⁵⁵⁾。その後は主として, イカの巨大軸索¹⁰⁾¹²⁾¹³⁾⁸⁶⁾, 巨大シナプス⁴⁴⁾⁴⁵⁾⁴⁶⁾など, 大型細胞へ応用が行なわれたが, 最近では, 冷血, 温血動物の卵細胞¹¹⁾⁵⁷⁾, 骨格筋⁸⁾⁹⁾¹⁴⁾¹⁷⁾²³⁾²⁴⁾²⁷⁾³²⁾³⁴⁾³⁵⁾⁴²⁾⁵⁶⁾⁶²⁾, 心筋²⁾⁶⁾⁴³⁾, 平滑筋³⁰⁾⁴⁹⁾, など, 中型から小型細胞にも注入が試みられるようになってきた (表 1)。

(1) Aequorin の抽出と入手

Aequorin は, 発光クラゲ (*Aequorea aequorea*) のカサの周囲に存在する photocyte と呼ばれる球状をした細胞構造の中の粒子に含まれている。Aequorin 抽出の際には, 新鮮なクラゲの photocyte から aequorin の第一段階抽出

表1. Aequorin の筋生理への応用例

Tissue	Species	Reference
SKELETAL MUSCLE		
Giant muscle fibres	Barnacle, <i>Balanus nubilus</i>	7, 8, 9, 23, 24, 33, 35, 42, 55, 56
	Spider crab, <i>Maiasquinado</i>	9
Fast twitch muscle fibres	Amphibians, <i>R. temporaria</i> , <i>R. pipiens</i> , <i>Xenopus laevis</i> , & <i>Necturus americanus</i>	14, 17, 62
	Rat	27
skinned fibres	<i>Xenopus laevis</i>	26
Slow twitch muscle fibres	Rat	27
CARDIAC MUSCLE		
Atrial trabecula	<i>R. pipiens</i>	2
Ventricular muscle	Rat & cat	6, 43
Purkinje fibre	Dog	64
SMOOTH MUSCLE		
Gastric muscle	Toad, <i>Bufo marinus</i>	30
	Dog	49

を効率よく行い、その後の精製に供することが要求される。このため aequorin の抽出には *Aequorea aequorea* が大量に捕獲できる場所であつ簡単な実験室がある条件を備えた海洋研究所が必要となる。米国 Washington 州, Friday Harbour には毎年、9~10月にかけて大量の *Aequorea aequorea* が押し寄せ、Washington 大学が維持する研究室で、aequorin の抽出が行なわれている。現在主に、aequorin を抽出・精製しているのは、Princeton 大学の Shimomura と Johnson⁴¹⁾ のグループと、Mayo Clinic の Blinks⁴⁸⁾ らのグループで、多くの生理学者は、ここから、抽出・精製された aequorin を入手している(註2)。日本では、神奈川県三崎、岡山県牛窓で *Aequorea aequorea* を捕獲でき、実際に Hamaguchi と Mabuchi³⁷⁾ は aequorin を抽出し、実験に供しているが、クラゲの数も限られており、出現する期間も短いので大量の aequorin を得ることは困難である。このため、他の色素や indicator のように入手が容易というわけにはいかない。aequorin の抽出方法は、Shimomura⁴¹⁾⁶⁰⁾ ら、および Blinks¹⁵⁾¹⁸⁾ らの文献を参照されたい。

(2) Aequorin の発光の特徴

Aequorin は分子量約 20,000 と推定されているタンパク⁵⁴⁾で、 Ca^{++} と結合することにより波長 465 nm にピークを有する光を発する。発光の機構は、 Ca^{++} が aequorin 分子と結合すると、三次元構造に変化が起り、発色団が露出されて酸化されることにより発光を生じると説明されている。結合 Ca^{++} が aequorin から離脱する際には酸化された発色団も同時に離脱し、aequorin は apoaequorin と呼ばれるタンパクになる¹⁵⁾。

Apoaequorin は Ca^{++} とは再び結合せず、この反応は、実際上は非可逆的である(註3)。したがって、高濃度の Ca^{++} を繰り返し測定する場合には、aequorin の消費に注意を払う必要がある。

(3) Aequorin と Ca^{++} の反応

a) Ca^{++} 濃度と光信号との関係

細胞内 Ca^{++} 濃度と光信号の関係を知るため、Allen らは aequorin と 10^{-9} ~ 10^{-2} M Ca^{++} 溶液を、暗箱中においたキュベットの中で瞬時に反応させ、光信号のピーク値(L)と Ca 濃度の関係を求めた¹⁾(図1)。縦軸に、各 Ca^{++} 濃度の光信号の大きさ(L)を最大値に対する比の対数(Log L/Lmax)で表し、横軸に Ca 濃度

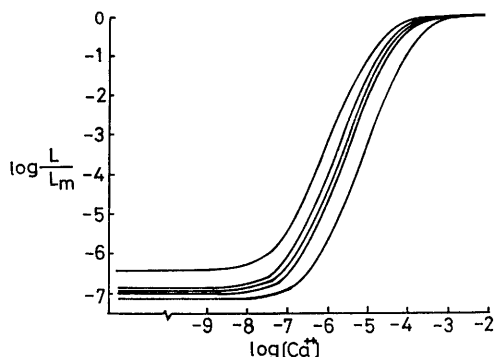


図1. Aequorin の光信号と Ca^{++} 濃度との関係に対する Mg^{++} の影響。

溶液組成は 150mM KCl, 5 mM PIPES, pH7.0 で、溶液中の Ca^{++} 濃度を希釈法と、Ca-EGTA buffer で変えた。温度 21°C。 Ca^{++} 濃度は $\log[\text{Ca}^{++}]$ として表示した。 Aequorin と各濃度の Ca^{++} が反応した時の発光量を L, aequorin が過剰 Ca^{++} (10 mM) と反応した時の発光量 L_m とし、光信号を $\log L/L_m$ で示した。 グラフは左から、 Mg^{++} 濃度が 0, 0.5, 1.0, 2.0, 10.0 mM の時の光信号と Ca^{++} 濃度との関係を示している。

の対数 ($\log[\text{Ca}^{++}]$) をとると、両者の関係は、S 字状曲線となり、 10^{-8}M 以下では、光信号は一定の値をとるが、この値は、 Ca^{++} キレート剤の有無に関りなく一定である (Ca^{++} independent light)。この曲線の最大勾配が 2.5 であることから、彼らは、 aequorin は、3 個以上の Ca^{++} 結合部位を有すると考えた。図 1 に示された結果は、10mM Mg^{++} 存在下では無 Mg^{++} の時に比べて曲線は、およそ 1 log unit 右方に平行移動し、 Ca^{++} independent light は数分の 1 以下となることを表している。細胞内に Mg^{++} が数 mM 存在することを考慮すると、Ca 濃度の aequorin による検出限界は、同様の測定方法による限り、60nM 程度と推定される³⁾。

b) Aequorin と Ca^{++} の反応速度

Aequorin と十分高濃度の Ca^{++} とを、瞬時に混合すると、光信号は、指数関数的に立ち上がりプラトーに達した後、指数関数的に減衰する。立ち上りの時定数は 10°C で約 12msec、減衰の時定数は約 2.4 sec である (図 2)。立ち上りに要する時間は、大半 aequorin 分子と

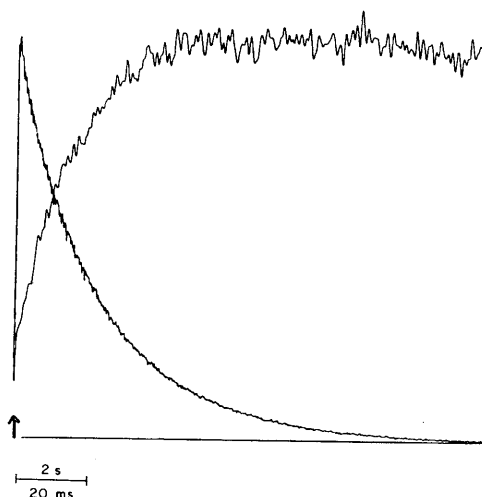


図2. Aequorin と過剰 Ca^{++} との反応における光信号の時間的变化。

ストップフロー法により、0.2 μM aequorin と 150 mM KCl, 5 mM PIPES, 10 mM CaCl_2 , (pH7.0) とを瞬時に混合した時の光信号を速い掃引 (時間軸 20ms) と遅い掃引 (時間軸 2s) で記録したもの。温度 10°C。 Aequorin と Ca 溶液の混合により光信号は指数関数的に急速に立ち上がりプラトーに達した後 (速い掃引)、指数関数的に減衰した (遅い掃引)。光信号の立ち上りの時定数 12m sec, 立ち下りの時定数 2.4 sec であった。

Ca^{++} が結合してから、発光するまでの反応時間で、減衰時間は、 aequorin の消費時間経過を反映している¹⁶⁾³⁹⁾。これに対して、過剰の EDTA を瞬時に Ca^{++} -aequorin 反応液中に混合することによって急激に Ca 濃度を下げた場合に得られる光信号の減衰の時定数は 10°C で約 17 msec であり³⁹⁾、プラトーの値は、 aequorin の量に正比例する。立ち上がり時間、プラトー値、減衰時間はいずれも温度依存性を有し、それらの Q_{10} は、1.4~1.8 である³⁹⁾⁵³⁾。

3. 細胞内 free Ca^{++} 測定法の実際

1) Aequorin の保存と取扱上の注意

Aequorin は、 Ca^{++} と反応すると消費されるので、保存中、操作上で Ca^{++} が混入することを極力避けなくてはならない。ガラス壁 (Pyrex) からは、 Ca^{++} が徐々に漏出されるため、水晶かプラスチックの容器内に保存する。保存温度

は、凍結 ($-70^{\circ}C$) が最も好ましい。Aequorin は、少量の注入で、充分の信号を得るために飽和濃度 (約 10 mg/ml) 近くの溶液を調整するが、しばしば、結晶が析出し、実際にはこれが電極の先端を閉塞する原因となる。したがって、 $1\sim 5\text{ mg/ml}$ 程度に希釈して用いる方が望ましく、使用前に溶解した aequorin をミリポアフィルター ($0.05\ \mu\text{m}$ 以下) に通すか、軽く遠沈した上清だけを用いることが必要である。Aequorin を移し変える場合は、ポリエチレン管を用いる。Aequorin に直接触れる管や容器は、 $1\sim 10\text{ mM}$ の EDTA でよく洗浄し、最後は、 Ca^{++} を含まない再蒸留水でよく洗浄し、自然乾燥するかまたは、ミリポアフィルターを通した空気水滴を除去して乾燥させる。

Aequorin を溶解、希釈するための溶液は $120\sim 150\text{ mM KCl}$, $3\sim 5\text{ mM HEPES}$ ($\text{pH } 7.0\sim 8.0$) を Chelex-100 のカラムを通して、 Ca^{++} をできるだけ除去したものをを用いる。 Ag^{+} は、ごく微量で aequorin を不活化するため、混入しないよう注意する。とくに、溶液の調製に際して、 pH 電極から漏出する Ag^{+} が溶液に混入して、aequorin を不活化させることがしばしばあり、 pH 電極を溶液に直接接触させてはならない。 Ag^{+} はまた、aequorin を不活化させ

ると同時に Ca^{++} independent light を増大することが知られているので、aequorin を溶解した溶液に Ag^{+} の混入が疑われるときには、KCN を加えた後の Ca^{++} independent light の減少を観察して、 Ag^{+} の混入を調べることができる。

Aequorin 溶解用の溶液、器具の洗浄などには Ca^{++} を含まない再蒸留水を用いることが最も好ましい。しかしながら、ごく微量の Ca^{++} を取り除くことは非常に困難なため、低濃度 ($5\sim 20\ \mu\text{M}$) の EDTA を用いることができる。この場合、細胞内にわずかの EDTA が注入されることになるが、細胞内に数 mM 存在する Mg^{++} に結合することから、aequorin の信号に対する実際上の影響は、少ないと考えられる。その点、EDTA の代りに Ca^{++} 特異性の高い EGTA を用いることは好ましくない。

Aequorin を取扱う際に溶液や再蒸留水中の Ca^{++} 濃度を知っておくことは役に立つ。 Ca^{++} 電極または arsenazo III 色素を、この目的に用いることは有用である。

2) Aequorin 活性の測定

Aequorin は、 Ca^{++} の混入や溶液の状態で長期保存することにより失活するため、実験に先立って、用いようとする aequorin の活性を知

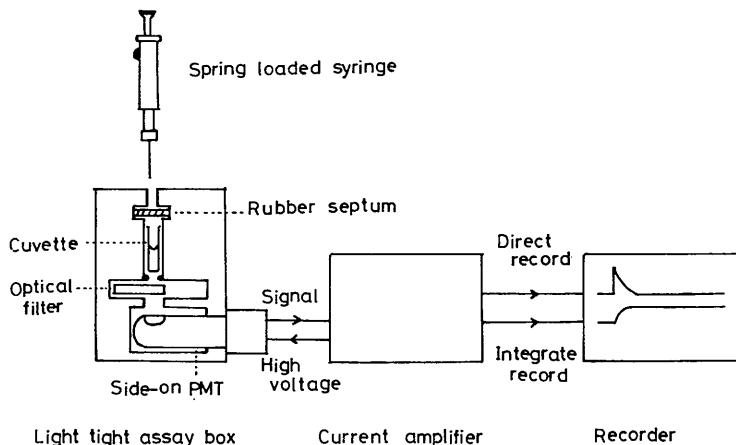


図3. Aequorin 活性測定用装置

暗箱の中に装着した PMT の陰極面上で、キュベット中の溶液 (1 ml) に、噴射装置のついている syringe にとった aequorin ($5\sim 10\text{ nl}$) を噴射して瞬時に反応させ、増幅、記録する装置。発光量に応じてフィルターが挿入でき、また、直接記録と積分値記録が行なえる。

ることが必要である。この目的には、少量の aequorin と過剰の Ca^{++} を瞬時に反応させて、光信号の積分値を測定する方法が用いられる(註4)。この操作は、光電子増倍管、キューベット、注入器を装置した暗箱内で反応を行い、発光電流の積分値から活性を推定する方法で、いったん、装置を作製すれば、簡便で再現性が優れている(図3)。

同様の方法は、先端の体積を校正した手製のマイクロピペットから一定量(1~10 nl)の aequorin を高濃度の Ca^{++} 溶液に圧注入することによっても行える。

実験後に、細胞内に残存する aequorin 活性を知るには、Triton X-100 などの界面活性剤により細胞破壊を行ない、細胞内に注入した aequorin と Ca^{++} を反応させ、その時の光信号の積分値から計算できる。Aequorin が外液 Ca^{++} と反応して生じる光信号の積分値から、その aequorin が過剰 Ca^{++} と瞬時に反応した時の最大値(L max)を算定し、この値と光信号のピーク値(L)とから、図1に示した光信号(Log L/L max)と、 Ca^{++} 濃度の関係が細胞内でも成立するとの仮定の上に、 Ca^{++} transient における細胞内 Ca^{++} 濃度の絶対値を推定することが可能である²⁾³⁾。

実験中に細胞内 aequorin 活性を知る目的には、 CaCl_2 (0.4~1 M) を充填した電極を aequorin を注入した細胞内に刺入し、一定の大きさのパルスにより、電気泳動的に一定量の Ca^{++} を与え、通電気量当りの光信号の大きさから相対的な aequorin 活性を知ることができる。この方法は aequorin の消費が問題となる実験では、特に有用である。Aequorin が充分、細胞内に負荷された状態では、約 1 nC の電流で発光が検出されるが、 Ca^{++} の輸率を 0.1 (Kusano ら1975)⁴⁴⁾ とするとこれは約 5×10^{-16} mol Ca^{++} に相当する。

3) Aequorin 注入用微小電極の作製

Aequorin は分子量約 20,000 の蛋白のため、細胞内には、加圧して注入する方法がとられる。巨大細胞への注入は、注射筒によっても可

能であるが、小型細胞には、微小電極をプレーで引いた微小電極を用いて注入する。電極に用いる Pyrex 管は、クロム硫酸などに一昼夜浸した後、pH を指標にしながら、流水で充分洗浄し、再蒸留水を通した後、乾燥させる。これをそのまま使用してもよいが、使用直前に、1~10 mM EDTA (pH 7~8, 予めミリポアフィルターを通したもの) で洗い、さらに 5~20 μM EDTA で内壁を洗浄した後に空気乾燥させた電極を用いると一層確実に Ca^{++} の混入を防ぐことができる。

Pyrex 管は、洗浄前に適当な長さに切りそろえ両端を fire polish しておき、洗浄後には、切らないようにする。これは、切断の際ガラスの粉が内壁に付着して aequorin の不活化や圧注入の妨げの原因となることを避けるためである。

用いる Pyrex 管は、aequorin の充填を容易にする目的で、シリコン処理を行なうか、フィラメント入りのガラス管(WPI社、成茂科学など)を用いると良い。

Aequorin 注入用の微小電極の先端は、aequorin を充分、細胞内に圧注入でき、しかも細胞に損傷を与えないという、2つの条件を備えていなくてはならない。この条件は当然、細胞が小型になるほど厳しいものになる。電極の作製法としては、1) プレーの条件を設定して、多くの電極の中から良いものを選ぶ方法と、2) 先端を破壊または研磨する方法とが行われている。前者の方法の場合、例えば心筋では 3 MKCl 充填で、20~50 M Ω の電極が得られるように設定したプレーで電極を引き、約 0.5 μl の aequorin を軸端から充填する。細胞内に電極を刺入する前に、加圧によって先端から aequorin を一部 Ringer 液中に放出させ、光電子増倍管で発光を確認する。圧に比例して、発光が増大する電極を選択し実験に用いる。先端に、積極的に破壊または、研磨を加える場合は、先端の直径を反映する指標が必要となる。電極抵抗を測定する方法は一般に行われるが、より直接的には、電極内の溶液に加圧しなが

ら、先端を研磨する方法がある (Eusebi, Miledi, Stinnakre & Takahashi 未発表). 電極に連結した注射筒を用いて加圧しながら (1~5 気圧), 電極の先端を回転研磨台に徐々に近づける. 先端が研磨されて溶液が先端から放出されるのを, 実体顕微鏡 ($\times 40$) 下で確認したら研磨を止める. aequorin は, 先端部だけに陰圧で吸引する. 吸引された aequorin の量 (10~100 nl) は, バッファのメニスカスの移動から, およそ推定できる (註5). この方法で作製した電極は, 刺入が容易で, aequorin も十分注入できる. また, 最近 Cobbold は aequorin 溶液と電極先端の両方を密閉して加圧しながら, 電極に吸引される aequorin を目安に先端を破壊し, この電極を用いて, 直径約 $20 \mu\text{m}$ の線維芽細胞に aequorin を注入している (EMBO course 1981).

4) 圧注入法

加圧注入装置は, 加圧時に微小電極を十分に保持することができ, 装着, 取り外しが容易なもので, 膜電位が測定できるようにデザインされているものが望ましい. ガラス電極を保持する部分は, 電極がやっと入る程度のテフロン環を金属のネジで閉めつけて固定する. テフロン環の内径が適切であれば10~15気圧の加圧にも耐えることができるが, 不適切の場合は, 標本を傷つけるばかりか危険でもある¹⁹⁾. 圧は, 窒素ポンプの圧調整器に取付けた三方活栓型高耐圧バルブから電磁弁を経てポリエチレンチューブで圧注入器に接続して加える¹⁸⁾.

膜電位の測定は, 注入器に封入した導線を介して行なうが, aequorin に銀線が触れることは好ましくないため, 代りに白金線を用いる¹⁵⁾¹⁸⁾.

Aequorin を充填した電極を圧注入器に装着し加圧により aequorin が放出されることを光電子増倍管の下で確認の後, 膜電位を測定しながら, 電極を細胞内に刺入する. 静止膜電位が記録されたら, パルスまたは直流で圧注入器に接続している電磁弁を開き, aequorin を圧注入する. 骨格筋では, aequorin が注入されると, 電極の先端を中心として, 波紋が生じるが, 心

筋では細胞が小さく確認できない. 一回の注入量を圧と, パルス幅とで調節することによって, 膜電位や入力抵抗を損うことなく, 繰返し注入することが可能である. 注入量は, 経験的に設定できるが, Ca^{++} transient を十分測定するための aequorin の濃度は $0.1 \mu\text{M}$ 程度とされている¹⁸⁾. カエル骨格筋などの場合は, 500 msec のパルスによる1~3回の注入で, 通常 Ca^{++} transient を検出できるが, 直径数 μm の心筋の場合は注入の条件が, より困難なことで, 生理的収縮における Ca^{++} transient の最大値が骨格筋の場合より低いことの理由により, 30~100の細胞に注入することが必要である⁶⁾⁴³⁾.

5) 光信号の検出

光電子増倍管 (photomultiplier tube, PMT) は, spectrum の中心が 465 nm 付近にあるもののうち, 高利得で高感度, 低暗電流のものが望ましく, 光感部が標本の測定範囲を十分カバーする大きさを持ち, かつ, 小型なものがよい. 実際には, Hamamatsu TV の R 647, EMI 9789 などが用いられている. PMT の暗電流は, 陰極面に強い光を照射すると長時間回復しないため, 使用していないときには, 光感部にキャップなどして, 遮断しておくことが必要である. さらに, アラルライトなどの接着剤や, 銀線などは, 蛍光を発して, 暗電流を上昇させるので注意が必要である (Cobbold 私信). 暗電流は PMT を冷却することによって低くすることができる (註6).

PMT の感度を較正するためには, 長期間一定量の光を発する光源が必要で, われわれは ^{14}C $40 \mu\text{Ci}$ を instagel に混合した後キュベットに封入して作ったものを用いている.

集光効率を良くするには, PMT をできるだけ標本に近づけることが必要であるが, この目的には, よく研磨したアクリル棒を PMT の光感部分にとり付けて light guide とする方法がとられる. また, 試料の下に反射鏡を入れて, 集光を計る方法も簡便である⁶⁾.

4. 骨格筋, 心筋より得られる Ca^{++} transient とその解釈

(1) 骨格筋の Ca^{++} transient

両棲類骨格筋の Ca^{++} transient と, それに続く収縮過程の関係は, Blinks らによって示されている¹⁷⁾⁶²⁾. この章では, aequorin 応用の一例として, 膜電位と Ca^{++} transient の関係について得られた結果²⁸⁾の一部を簡単に紹介する.

第4図Aは, 活動電位によって生じた Ca^{++} transient を示す. 外液の Ca^{++} を完全に除去した後にも同様の transient が得られることから, Ca^{++} は細胞内 Ca^{++} store である筋小胞体 (sarcoplasmic reticulum; SR) から遊離したものと考えられる. Ca^{++} transient の立ち上り速度は, aequorin の反応速度に近いので, 解釈が困難であるが, 下降速度は, *in vitro* で過剰EDTAで強制的に Ca^{++} 濃度を下げた場合の光信号の減衰時間経過, (2章3(b))より常に (5~35°C)遅いため, 細胞内 Ca^{++} 濃度の減少を反映するものと解釈できる. Ca^{++} transient の下降相は, ほとんど単一指数関数的である

が, Ca^{++} -光信号の非直線関係 (2章3(a))を考慮すると, 実際の Ca^{++} 濃度減少の時定数は, Ca^{++} transient の下降時定数の約2.5倍と推定される.

第3図BおよびCは, 脱分極矩形パルスによって生じる Ca^{++} transient を示している. テトロドトキシンで活動電位の発生を抑えて, 2本の電極で, 膜電位を局所的に, 静止膜電位に (-90 mV) 固定した上にパルス状に電位変化を与えると, 脱分極の大きさと, パルスの幅に応じて, Ca^{++} transient が観察される. 一定のパルス幅で, 脱分極の大きさを変えると, 電位がおよそ-40mVに達すると光信号が検出され始め, 張力が飽和に達する-15mV近辺を⁴⁰⁾を越えても, Ca^{++} transient は増大し続け, +50mVあたりで頭打ちの傾向をとる. 張力が飽和した後にも Ca^{++} transient が増大し続ける例は他に, 強縮刺激の場合にも見られている¹⁷⁾.

比較的短いパルス幅の脱分極によって生じた Ca^{++} transient は, 活動電位によるものと同様の時間経過で下降する. 下降相の時定数は, 同一細胞内では, 脱分極の大きさ, aequorin の注用量と無関係に, ほとんど一定であるが, 同一

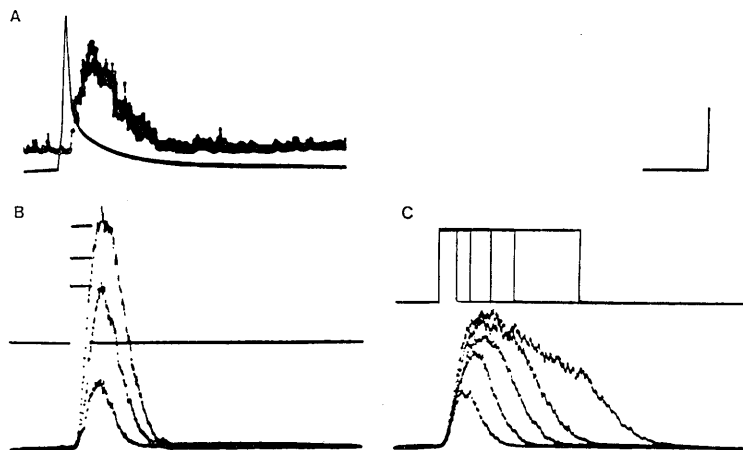


図4. A: 活動電位による Ca^{++} transient

Calibration は, 膜電位 40mV (下トレース), aequorin 光信号 4 nA (上トレース). Time scale は 40msec. B, C: 脱分極パルスによる Ca^{++} transient. Calibration は, 膜電位 100mV (B, C, 上トレース), 光信号 (下トレース) 40nA (B) および 80nA (C). Time scale は 200 msec. 3-5 トレースをオシロ上で superimpose した. A-C: 15°C (Eusebi, Miledi & Takahashi, 未発表)

筋でも細胞によって多少の差があり、さらに筋の種類によって大きな差が見られる。例えば、速筋線維 (fast twitch muscle fibre) から成るラット長趾伸筋の Ca^{++} transient の下降時定数は、約 16 msec の平均値を持つが、遅筋線維 (slow twitch muscle fibre) が 90% を占めるヒラメ筋での値は約 42 msec である (25°C)²⁷⁾。同一温度で比較すると、カエル速筋は、ラットの長趾伸筋よりさらに短い時定数を持つ。時定数の温度依存性は、いずれの筋でも Q_{10} が 2.0 ~ 2.3 程度である。

いったん上昇した Ca^{++} 濃度の回復が、SR への Ca^{++} とり込みだけで説明できる²⁵⁾かどうかは議論のあるところだが (註 7)、速筋の SR が遅筋のそれよりよく発達して大きな容積を占めており⁵⁹⁾、かつ分離筋小胞体の Ca^{++} とり込み速度もより速いこと¹⁹⁾³¹⁾³⁸⁾などは、速筋と遅筋とで Ca^{++} transient の下降速度が異なることをよく説明する。

脱分極の大きさを一定にして、パルス幅を長く維持すると、膜電位が一定であるにもかかわらず光信号が低下し (図 3 C)、遂には基線のレベルに戻る現象が見られる。細胞内に一定のパルスで Ca^{++} を与えて、aequorin の Ca^{++} 感受性をモニターすると (3 章 2)、 Ca^{++} transient が完全に基線のレベルに戻った状態でも aequorin 感度は、ほとんど変わっていないので、発光の低下は aequorin の消費に依らず、細胞内 Ca^{++} の減少に依っていると考えられる。カリウム拘縮の張力発生は一過性に経過し、この弛緩の主な原因として、細胞内 Ca^{++} 濃度の減少が考えられている。細胞内 Ca^{++} 濃度の減少をきたす要因は、おそらく、興奮収縮連関の不活化²²⁾による SR からの Ca^{++} 放出量の減少であろう²⁸⁾。

(2) 心筋の Ca^{++} transient

心筋細胞の Ca^{++} transient は、最初に Allen と、Blinks²⁾ により、カエル心房筋から記録された。その後、温血動物心臓の Purkinje 線維⁶⁴⁾、心室筋⁶⁾⁴³⁾からも Ca^{++} transient が得られ報告された。

図 5 はネコの右室肉柱から得られた光信号と

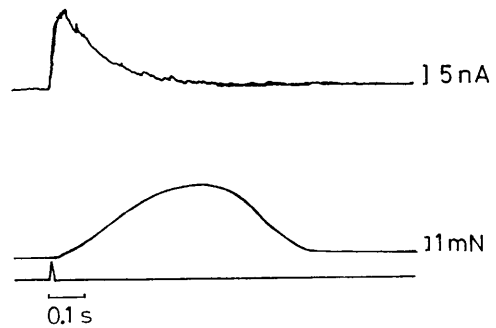


図 5. ネコ右室肉柱から得られた Ca^{++} transient と張力との関係。

上段は Ca^{++} transient で光電子増倍管の電流値で表示した。中段は張力、下段は刺激を示している。

張力である。筋長は最大張力を発生する筋長 (L_{\max}) で、刺激頻度は 1/5 s、測定時の温度は 30°C である。光信号は、刺激後約 60 ms でピークに達し、その後、指数関数的に減衰している。光信号のピーク値の 1/2 のところで持続時間を測定すると約 100 ms である。張力がそのピークに到達するには 370 ms 要し、光信号がピークの時には、張力はピーク値の 10% 程度しか発生していない。逆に、張力がピークに到達した時には、光信号はピーク値の約 90% に減衰してしまっている。光信号は光電子増倍管の電流値で表してあるが、実験の終りに Triton X-100 (5%) を流して、細胞を破壊し、細胞内に注入された aequorin 量から L_{\max} を計算すれば、 $\log L/L_{\max}$ が求まり、 Ca^{++} 濃度を知ることができる (3 章 2)。ネコ心室筋では、1/5 s の刺激頻度の時、光信号のピーク値は、およそ 0.3 ~ 1 μM 程度の Ca^{++} 濃度である。この数値の解釈には aequorin が細胞内に均一に分布しているか否かが問題で、その上、細胞内 Ca^{++} 濃度に勾配があって局所的に Ca^{++} 濃度が高いと、その部分の発光が一層強くなるので、これらの点を考慮しなければならない。光信号のピークは刺激後約 60 msec でピークに達するが Ca^{++} と aequorin の反応の half time は 30°C で約 3 msec 程度なので、光信号は Ca^{++} の動きをほぼ追跡していると考えられる。 Ca^{++}

の濃度と、光信号の関係は直線関係にないので、光信号から Ca^{++} 濃度を計算して、真の Ca^{++} transient を求めてみると、真の Ca^{++} transient は光信号よりも立ち上がりが速いことがわかる。Wier はイヌの Purkinje 線維で、2相性の Ca^{++} transient を記録し、第1の成分は Ca^{++} 電流で、第2の成分は Ca^{++} store からの Ca^{++} 遊離によるものと結論している⁶⁴⁾。心室筋では通常、1相性の Ca^{++} transient しか得られず、これは、心室筋の方が Purkinje 線維よりも筋小胞体の発達が良く、細胞膜興奮に続いて Ca^{++} 遊離がおこるため、 Ca^{++} 電流と Ca^{++} 遊離が重なり合っているか、または、 Ca^{++} 電流による Ca^{++} 遊離が主な成分ではないかと推察されている。

光信号はピークに達した後、指数関数的に減衰するが、光信号により真の Ca^{++} transient を算出すると、真の Ca^{++} transient の減衰は光信号よりも遅い。光信号の減衰過程は、筋小胞体による Ca^{++} の取り込み、細胞内から細胞外への Ca^{++} の排出、 Ca^{++} 受容タンパク、トロポニンへの Ca^{++} 結合などの機構が同時に働いていると考えられる。caffeine は光信号の減衰過程を遅延させ、adrenaline は促進するので、筋小胞体の Ca^{++} 取り込みも関与していると考えられる。他方、筋長の伸長により収縮タンパク系の Ca^{++} 感受性を増加させた場合には、トロポニンからの Ca^{++} の解離速度が遅くなり、 Ca^{++} transient 減衰過程が促進される。このことは、トロポニンへの Ca^{++} 結合も無視できない機構であることを示唆している⁴⁾⁵⁾。実際に、張力は Ca^{++} transient が減衰してもさらに増大している。

Aequorin により得られた光信号の解釈には、実験条件、 Ca^{++} と aequorin との反応の特徴を充分考慮しなければならない。Aequorin が注入されているのは、数十個の細胞であるが、張力は試料全体から得られているので、この点にも注意を払わなければならない。今後、他の方法により、aequorin 法と同時に Ca^{++} transient を記録することも必要となろう。

5. おわりに

Aequorin は、実験系が比較的単純で、SN比のよい Ca^{++} シグナルが、記録できるため、広く細胞内 Ca^{++} の測定に用いられている。しかし細胞内 Ca^{++} 濃度変化の絶対値を定量するには、細胞内・外の条件、 Ca^{++} と aequorin の反応など考慮すべき点が多くあり、慎重でなければならない。しかし、細胞内 Ca^{++} の相対的、経時的变化の測定や、特定の生理機能との時間的つながりなどを明らかにする上では有力な方法であり、筋細胞の様に、収縮のための“動き”があるような試料には適していると考えられる。

Aequorin に限らず、従来、 Ca^{++} indicator の欠点は、小型細胞への応用が困難なことであったが、最近では、赤血球 ghost cell に aequorin を負荷した後、Sendai virus などで、目的の細胞に ghost cell を融合させることによって aequorin を負荷する試みがなされている (Campbell, 1981, EMBO course)。また R. Tsien は、最近、細胞膜を透過する色素を EGTA の構造を変えて作製し、これによってリンパ球の静止 Ca^{++} 濃度(約 200 nM)を測定した (Tsien Nature 290 : 529, 1981, EMBO course)。細胞内に、mM 程度の負荷を要するため、現在のところは、時間分解能に問題があるが、今後この方法は改良される余地を持っているものと思われる。

現在、aequorin を含めた Ca^{++} indicator の研究は、小型細胞内の free Ca^{++} の測定に向けて進歩しているように思われる。

脚注

註1：しかし、最近、同軸電極を用いて、電極抵抗を下げる試みがなされた結果 (Ujec ら 1979年)⁶⁵⁾ Ca^{++} 電極でも、時定数 7 msec の分解能が得られた (Ammann ら 1981, EMBO course)

註2：Blinks は、最近、良質の aequorin を製品化した。(連絡先 Dr. J. R. Blinks, Dept. of Pharmacology, Mayo Clinic, Rochester, Minnesota 55901 USA)。また、Sigma からは、製品化されて

いる aequorin が以前からあるが、筆者らの経験では活性が著しく低く、細胞内適用には適していない。

註 3: apoaequorin→aequorin 反応は試験管内では環元型発色団と酵素の存在下で、部分的に可逆的であるが、数時間を要する。

註 4: 光電流の積分値を求める代りに、photon の数をデジタル的に直読する方法は、アナログ法の 10~100 倍良好な感度が得られる (A. Campbell. 1981, EMBO course).

註 5: Aequorin は拡散係数が低く (10^{-7} cm²/sec), 電極先端の aequorin の溶液による希釈は実際上問題にならない。

註 6: EMI 社から、PMT 冷却装置が市販されている。

註 7: トロポニン_iは、細胞内に 70 μ M 程度存在し、4つの Ca^{++} 結合部位中 2つは、高親和性を有する⁵²⁾ため、SR とともに、 Ca^{++} 濃度の減少に関与する可能性があるが、骨格筋の、特に高温 (25~30 $^{\circ}$ C) においては、 Ca^{++} transient の下降相の大部分は、張力発生に遅れることから、下降相にトロポニン_iが関与しているとは考えにくい。Parvalbumin や mitochondria の Ca^{++} 緩衝作用は SR よりずっと遅いとみなされているが、定量的に、どの程度関与するかは明らかでない。

総説を終るにあたり御助言頂きました、酒井敏夫教授に深謝いたします。著者らが共同研究した、University College London, 生理学教室 D. G. Allen 博士, 同じく生物物理学教室 R. Miledi 教授, Mayo Clinic, 薬理学教室 J. R. Blinks 教授に感謝します。われわれの研究で使った aequorin は、J. R. Blinks 教授, O. Shimomura 教授 (Princeton 大学) の御厚意によるものであることを付け加えます。

文 献

- Allen, D. G., Blinks, J. R. & Prendergast, F. G. (1977) Aequorin luminescence: Relation of light emission to calcium concentration—A calcium independent component. *Science*, **196**, 996-998
- Allen, D. G. & Blinks, J. R. (1978) Calcium transients in aequorin-injected frog cardiac muscle. *Nature*, **273**, 509-513
- Allen, D. G. & Blinks, J. R. (1978) The interpretation of light signals from aequorin injected skeletal and cardiac muscle cells: A new method of calibration. Detection and measurement of free Ca^{2+} in cells. pp. 159-174, ed by Ashley, C. C. and Campbell, A. K. Elsevier
- Allen, D. G. & Kurihara, S. (1979) Calcium transients at different muscle lengths in rat ventricular muscle. *J. Physiol.*, **292**, 68-69p.
- Allen, D. G. & Kurihara, S. (1980) Intracellular calcium transients in mammalian cardiac muscle following a change in muscle length. *J. Physiol.*, **305**, 29-30p.
- Allen, D. G. & Kurihara, S. (1980) Calcium transients in mammalian ventricular muscle. *Eur. Heart J.* **1**, 5-15
- Ashley, C. C. & Ridgway, E. B. (1968) Simultaneous recording of membrane potential, calcium transients and tension in single muscle fibres. *Nature*, **219**, 1168-1169
- Ashley, C. C. & Ridgway, E. B. (1970) On the relationships between membrane potential, calcium transient and tension in single barnacle muscle fibres. *J. Physiol.*, **209**, 105-130
- Ashley, C. C., Ellory, J. C. & Hainaut, K. (1974) Calcium movements in single crustacean muscle fibres. *J. Physiol.*, **242**, 255-272
- Baker, P. F., Hodgkin, A. L. & Ridgway, E. B. (1971) Depolarization and calcium entry in squid giant axons. *J. Physiol.*, **218**, 709-755
- Baker, P. F. & Warner, A. E. (1972) Intracellular calcium and cell cleavage in early embryo of *Xenopus laevis*. *J. Cell Biol.*, **53**, 579-581
- Baker, P. F., Meves, H. & Ridgway, E. B. (1973) Effects of manganese and other agents on the calcium uptake that follows depolarization of squid giant axons. *J. Physiol.*, **231**, 511-526
- Baker, P. F., Meves, H. & Ridgway, E. B. (1973) Calcium entry in response to maintained depolarization of squid axons. *J. Physiol.*, **231**, 527-548
- Blinks, J. R. (1973) Calcium transients in striated muscle cells. *Eur. J. Cardiol.*, **1**, 135-142
- Blinks, J. R., Prendergast, F. G. & Allen, D. G. (1976) Photoproteins as biological calcium indicators. *Pharmacol. Rev.*, **28**, 1-93
- Blinks, J. R. (1978) Measurement of calcium ion concentrations with photoproteins. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **307**, 71-85
- Blinks, J. R., Rüdell, R. & Taylor, S. R. (1978) Calcium transients in isolated amphibian skeletal muscle fibres: Detection with aequorin. *J. Physiol.*, **277**, 291-323

- 18) Blinks, J. R., Mattingly, P. H., Jewell, B. R., van Leeuwen, M., Harrer, G. C. & Allen, D. G. (1978) Practical aspects of the use of aequorin as a calcium indicator: Assay, preparation, microinjection, and interpretation of signals. *Methods in Enzymology*, **LVII**, 292-328 ed by Deluca, M. A.
- 19) Briggs, F. N., Poland, J. L. & Solaro, R. J. (1977) Relative capacities of sarcoplasmic reticulum in fast and slow mammalian skeletal muscle. *J. Physiol.*, **266**, 587-594
- 20) Campbell, A. K., Lea, T. J. & Ashley, C. C. (1979) Coelenterate photoproteins. Detection and measurement of free Ca^{2+} in cells. pp.13-72 ed by Ashley, C. C. & Campbell, A. K. Elsevier
- 21) Caswell, A. H. & Hutchison, J. D. (1971) Visualization of membrane bound cations by a fluorescent technique. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **42**, 43-49
- 22) Curtis, B. A. (1964) The recovery of contractile activity following a contracture in skeletal muscle. *J. Gen. Physiol.*, **47**, 953-964
- 23) Desmedt, J. E. & Hainaut, K. (1976) The effect of A_{23187} ionophore on calcium movements and contraction processes in single barnacle muscle fibers. *J. Physiol.*, **257**, 87-107
- 24) Desmedt, J. E. & Hainaut, K. (1977) Inhibition of the intracellular release of calcium by dantrolene in barnacle giant muscle fibres. *J. Physiol.*, **265**, 565-585
- 25) Ebashi, S. (1976) Excitation-contraction coupling. *Ann. Rev. Physiol.*, **38**, 293-313
- 26) Endo, M. & Blinks, J. R. (1973) Inconstant association of aequorin luminescence with tension during calcium release in skinned muscle fibres. *Nature*, **246**, 218-221
- 27) Eusebi, F., Miledi, R. & Takahashi, T. (1980) Calcium transients in mammalian muscle. *Nature*, **284**, 560-561
- 28) Eusebi, F., Miledi, R. & Takahashi, T. in preparation.
- 29) Fabiato, A. & Fabiato, F. (1979) Use of chlorotetracycline fluorescence to demonstrate Ca^{2+} -induced release of Ca^{2+} from the sarcoplasmic reticulum of skinned cardiac cells. *Nature*, **281**, 146-148
- 30) Fay, F. S., Shlevin, H. H., Granger, W. C. & Taylor, S. R. (1979) Aequorin luminescence during activation of single isolated smooth muscle cells. *Nature*, **280**, 506-508
- 31) Fiehn, W. & Peter, J. B. (1971) Properties of fragmented sarcoplasmic reticulum from fast and slow twitch muscles. *J. Clin. Invest.*, **50**, 570-573
- 32) Gordon, A. M. & Ridgway, E. B. (1975) Muscle activation: The effects of small length changes on calcium release in single muscle fibers. *Biophys. Soc. Abstr.*, 151a
- 33) Gordon, A. M. & Ridgway, E. B. (1976) Length-dependent electromechanical coupling in single muscle fibers. *J. Gen. Physiol.*, **68**, 653-669
- 34) Hainaut, K. & Desmedt, J. E. (1974) Calcium ionophore A_{23187} potentiates twitch and intracellular calcium release in single muscle fibres. *Nature*, **252**, 407-408
- 35) Hainaut, K. & Desmedt, J. E. (1974) Effect of dantrolene sodium on calcium movements in single muscle fibres. *Nature*, **252**, 728-729
- 36) Hallett, M. & Carbone, E. (1972) Studies of calcium influx into squid giant axons with aequorin. *J. Cell Physiol.*, **80**, 219-226
- 37) Hamaguchi, Y. & Mabuchi, I. (1978) Measurement of intracellular free calcium concentration of the starfish egg by means of the microinjection of aequorin. *Cell Structure and Function*, **3**, 259-263
- 38) Harigaya, S., Ogawa, Y. & Sugita, H. (1968) Calcium binding activity of microsomal fraction of rabbit red muscle. *J. Biochem.* **63**, 324-331
- 39) Hastings, J. W., Mitchell, G., Mattingly, P. H., Blinks, J. R. & van Leeuwen, M. (1969) Response to aequorin bioluminescence to rapid changes in calcium concentration. *Nature*, **222**, 1047-1050
- 40) Hodgkin A. L. & Horowicz, P. (1960) Potassium contractures in single muscle fibres. *J. Physiol.*, **153**, 386-403
- 41) Johnson, F. H. & Shimomura, O. (1978) Introduction to the bioluminescence of medusae, with special reference to photoprotein aequorin. *Methods in Enzymology*, **LVII**, 271-291, ed by Deluca, M. A.
- 42) Kaminer, B. & Kimura, J. (1972) Deuterium oxide: Inhibition of calcium release in muscle. *Science*, **176**, 406-407
- 43) Kurihara, S. & Allen, D. G. (1981) Intracellular Ca^{2+} transients and relaxation in mammalian cardiac muscle. *Jap. Cir. J.*, **46**, (in the press)
- 44) Kusano, K., Miledi, R. & Stinnakre, J. (1975) Postsynaptic entry of calcium induced by transmitter action. *Proc. Roy. Soc. Ser. B. Biol. Sci.* **189**, 49-56
- 45) Linás, R., Blinks, J. R. & Nicholson, C. (1972) Calcium transient in presynaptic terminal of squid giant synapse: Detection with aequorin. *Science*, **176**, 1127-1129
- 46) Linás, R. & Nicholson, C. (1975) Calcium role in depolarization-release coupling: An aequorin

- study in squid giant synapse. Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A. **72**, 187-190
- 47) Marban, E., Rink, T. J., Tsien, R. W. & Tsien, R. Y. (1980) Free calcium in heart muscle at rest and during contraction measured with Ca^{2+} -sensitive microelectrodes. Nature, **286**, 845-850
- 48) Miledi, R., Parker, I. & Schalow, G. (1977) Measurement of calcium transients in frog muscle by the use of arsenazo III. Proc. R. Soc. Lond. B., **198**, 201-210
- 49) Neering, I. R. & Morgan, K. G. (1980) Excitation-contraction coupling in mammalian smooth muscle: Use of aequorin to measure calcium transients. Nature, **288**, 585-587
- 50) Ogawa, Y., Harafuji, H. & Kurebayashi, N. (1980) Comparison of the characteristics of four metallochromic dyes as potential calcium indicators for biological experiments. J. Biochem., **87**, 1293-1303
- 51) Parker, I. (1979) Use of arsenazo III for recording Ca^{2+} transients in frog skeletal muscle fibres. In Detection and measurement of free calcium ions in cells. pp. 269-285. ed Ashley, C. C. & Campbell, A. K., Elsevier
- 52) Potter, J. D. & Gergely, J. (1975) The calcium and magnesium binding sites on troponin and their role in regulation of myofibrillar adenosine triphosphate. J. Biol. Chem. **250**, 4628-4633
- 53) Prendergast, F. G., Allen, D. G. & Blinks, J. R. (1977) Properties of the calcium-sensitive bioluminescent protein aequorin. In Calcium binding proteins and calcium function, pp. 469-480 ed. Wasserman, R. H. et al., Elsevier
- 54) Prendergast, F. G. & Mann, K. G. (1978) Chemical and physical properties of aequorin and the green fluorescent protein isolated from *Aequorea forskalea*. Biochemistry, **17**, 3448-3453
- 55) Ridgway, E. B. & Ashley, C. C. (1967) Calcium transients in single muscle fibers. Biochem. Biophys. Res. Commun. **29**, 229-234
- 56) Ridgway, E. B. & Gordon, A. M. (1975) Muscle activation: The effect of small length changes on calcium release in single fibers. Science, **189**, 881-884
- 57) Ridgway, E. B., Gilkey, J. C. & Jaffe, L. F. (1977) Free calcium increases explosively in activating medaka eggs. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., **74**, 623-627
- 58) Scarpa, F., Brinley, F. J., Tiffert, T. & Dubyak, F. R. (1978) Metallochromic indicators of ionized calcium. Ann. N. Y. Acad. Sci. **307**, 86-112
- 59) Schiaffino, S., Hanzlikova, V. & Pierobon, S. (1970) Relations between structure and function in rat skeletal muscle fibres. J. Cell Biol. **47**, 107-119
- 60) Shimomura, O., Johnson, F. H. & Saiga, Y. (1962) Extraction, purification and properties of aequorin, a bioluminescent protein from the luminous hydromedusa. J. Cell. Comp. Physiol., **59**, 223-239
- 61) Simon, W., Ammann, D., Oehme, M. & Morf, W. E. (1978) Calcium-selective electrodes. Ann. N. Y. Acad. Sci. **307**, 52-70
- 62) Taylor, S. R., Rüdell, R. & Blinks, J. R. (1975) Calcium transients in amphibian muscle. Fed. Proc., **34**, 1379-1381
- 63) Ujec, E., Keller, O., Machek, J. & Pavik, V. (1979) Low impedance coaxial K^{+} selective microelectrodes. Pflügers. Arch., **382**, 189-192
- 64) Wier, W. G. (1980) Calcium transients during excitation-contraction coupling in mammalian heart: Aequorin signals of canine Purkinje fibers. Science, **207**, 1085-1087

トレーニング効果の生理学的基礎に関する研究

—特に骨格筋ミオグロビンに関連して—

II. イヌ骨格筋のミオグロビン含量について

河 瀬 雅 夫

(奈良県立医科大学第二生理学教室)

A Study on the Physiological Basis of Training Effect—With Special Reference to Myoglobin. II. Determination of Myoglobin Contents in Canine Skeletal Muscles. Masao KAWASE (*Second Department of Physiology, Nara Medical University, Kashihara, Nara*)

A modification of the Reynafarje's spectroscopic method (1963) was described for determining myoglobin contents in canine skeletal muscles. A new version of the method was developed, which based on the Soret absorption of the muscle extract and required only one tenth quantity of the muscle compared with the original procedure. Further reduction of the necessary muscle amount was shown to be possible with a further decrease in the volume of the extraction buffer. Myoglobin contents of 15 skeletal muscles (five from fore-limb, two from abdominal and eight from hind-limb) were measured in ten mongrel dogs. The contents in the hind-limb muscles were significantly higher than those in the other two muscle groups ($P < 0.01$) and the probable causes of the difference were discussed. A positive correlation existed between the muscle myoglobin and cytochrome c contents ($r = 0.702$).

〔J. Physiol. Soc. Japan (1982) 44, 49-58〕

key words : Myoglobin ; Dog ; Skeletal muscles ; Cytochrome c

まえおき

いわゆるトレーニング効果については、従来、体力科学的ないし生理学的観点から多くの知見が集積されており、運動生理学領域における一重要課題であることは論をまたない¹⁰⁾。

著者は特にミオグロビン(Mb)の動態を手がかりとしてこの問題の検討を企図し、その第一歩としてイヌMbの化学的、物理化学的、生理学的諸特性について先に報告した¹²⁾。Mbとトレーニング効果との関連に関する研究は、それ自体興味ある課題であるのみならず、さらに進んで、現在に至るもなお完全に解明されたとはいえない筋におけるMbの生理機能を明らかにする上でも、重要な手がかりを与えるものと期待することができる。

さてこのような線に沿って研究を進める場

合、まず基礎データとして体内各部の筋についてそのMb含量を測定する必要がある。しかるに、イヌに関するこの種のデータとして系統的なものは、古く1926年に発表されたWhippleの報告があるのみである²⁵⁾。しかしこの研究に用いられた方法は必ずしもMbに特異的かつ正確なものとは言いがたく、その後半世紀を経た今日、再検討の要ありといわねばならない。そこで今回、前報¹²⁾で明らかにしえたイヌMbの物理化学的諸特性(なかんずく分光学的特性)を基礎に、まずReynafarje(1963)の方法²³⁾にほぼ準じ比較的少量(0.1~1g)の筋試料についてMb含量を簡便、正確に測定する方法を確立した。ついでこの方法により、10頭のイヌについて前肢、軀幹部、後肢の総計15筋のMb含量を測定した。また同時に今回の方法によって測定したイヌ骨格筋におけるMb含量と、別途に測定したCytochrome-c(Cyt-c)含量との関連についてもあわせて報告する。

実験方法

1. 実験材料：実験材料としては雑種成犬10頭（体重7.5～13kg）を用い、ペントバルビタール麻酔下に瀉血，致死させた後，前肢5，軀幹部2，後肢8，総計15の筋肉を採取した（Table 4）。採取筋は直ちにそれぞれサララップで包み，使用まで氷冷保存した。

2. Mbの抽出と定量：Mbの抽出と定量法に関してはいろいろな報告があるが，種々比較検討の結果，われわれは以下の方法が最良であることを知った。まず筋片から筋膜，脂肪などをできるだけ丁寧に除き，氷冷したガラス板上で剃刃を用いて細切後，正確に秤量し，あらかじめCOガスを通気飽和しておいた氷冷酢酸緩衝液（0.01 M, pH 4.5）10.0 ml でガラス製 Potter-Elvehjem 型ホモジナイザーを用いて均等化，抽出する。ついで均等化液を冷却遠沈機（久保田KR-200）により冷却遠沈（0°C, 22,600×G, 15 min）後，澄明赤色の上清7.0 ml をCOガスで満した試験管に取り，さらに気相にCOガスを通気した後これに5 M-K₂HPO₄ 0.1 ml を加えてpHを7.6前後にする。再度気相をCOガスで置換後，極微量のdithionite結晶を添加し混和する。以上の操作によって試料中のヘム蛋白（主としてMbおよびヘモグロビン(Hb)）は全てCO型となる。この試料について538 nm, 568 nmでの吸光度を測定すれば，(4)式により試料1 mlあたりのMb含量(mg)がえられる。また，試料筋が0.1 g程度で可視域での吸光度が低すぎる場合は，同様の抽出法で抽出した試料をSoret域422 nm, 416 nmで測定し，(6)式によって試料液1 ml当りのMb含量(mg)が算出できる。以上の分光学的測定にあたっては光電分光光度計124（日立）またはユニオン技研高感度自記分光光度計SM 401を用いた。

3. 筋Mb含量測定に関する分光学的諸定数（モル吸光係数）：イヌMbに関する前報¹²⁾の結果から， $\epsilon_{568}^{Mbco} = 11.20 \times 10^3$ ， $\epsilon_{538}^{Mbco} = 14.11 \times 10^3$ ，

$\epsilon_{422}^{Mbco} = 186 \times 10^3$ ， $\epsilon_{416}^{Mbco} = 129 \times 10^3$ を，またイヌHd

については $\epsilon_{568}^{Hbco} = \frac{Hbco}{\epsilon_{538}^{Hbco}} = 13.97 \times 10^3$ ， $\epsilon_{422}^{Hbco} = \frac{Hbco}{\epsilon_{416}^{Hbco}} = 174 \times 10^3$ の実測諸値を用いた。

4. 筋の水含量測定：異なる6種のイヌ骨格筋0.3～1 gを採取し，定温乾燥器により110°Cで乾燥しその重量が一定になった時の値から，生筋の水分量を算出した。乾燥重量は乾燥開始3時間後には一定になるが，その後デシケーター中にさらに24時間保存し重量変化のないことを確認した。

5. 筋のCytochrome-c (Cyt-c)含量の測定：Cyt-cの測定はWilliamsらの方法²⁷⁾に準じておこなった。

結果

1. Mb定量法について：従来報告されている定量法では，抽出溶媒として酢酸緩衝液を用いるのがふつうであるが³⁾²²⁾²³⁾，この場合試料液にしばしば濁濁が生じ，吸光度測定時の大きな誤差の原因となる。この点については今回，抽出溶媒に稀薄な酢酸緩衝液（0.01 M, pH 4.5）¹⁾を用いることにより濁濁の発生を防止することができ，再現性の高い測定が可能となった。さらに，操作にあたっては可能な限り氷冷下に行うことが良好な結果をもたらした。

このようにしてえられた筋抽出液中には，Mb以外にもいくつかの有色物質が混在するが，とくに大量にあるのは同じくヘム蛋白であるHbである。このため筋抽出液の吸光度測定から直ちにMb含量を算出することはできない。この難点を克服すべくde Duve⁶⁾以来いくつかの方法が案出されているが，われわれはReynafarje²³⁾にほぼ準じ以下のようにしてMb含量を算定した。

1) 可視域法：538 nm, 568 nmにおける抽出液の吸光度 A_{538} , A_{568} は，それぞれ当該波長におけるMbcoならびにHbcoによる吸光度の和になるから下式が成立する。

$$A_{538} = \epsilon_{538}^{Hbco} \cdot C^{Hb} + \epsilon_{538}^{Mbco} \cdot C^{Mb} \dots\dots\dots(1)$$

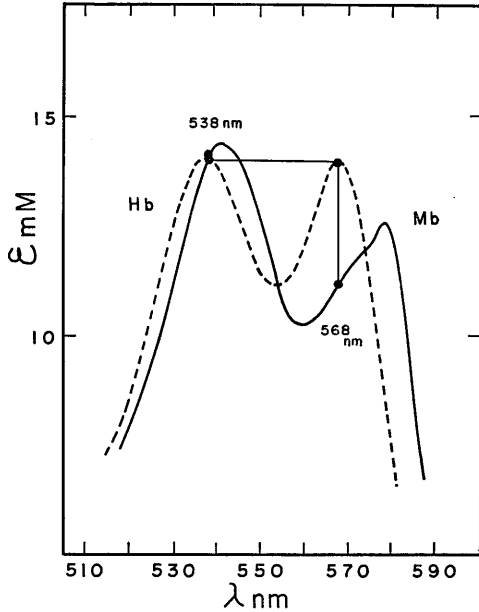


Fig. 1. Explanation of the "Visible" method for determination of myoglobin content in canine skeletal muscle. Visible absorption spectra of carboxy-myoglobin (—) and carboxy-hemoglobin (---) were shown¹²⁾. See text for the details.

$$A_{568} = \epsilon_{568}^{Hbco} \cdot C^{Hb} + \epsilon_{568}^{Mbco} \cdot C^{Mb} \dots\dots\dots(2)$$

ただし、 C^{Hb} は試料液中の Hb モル濃度、同じく C^{Mb} は Mb の濃度である。(1) から (2) を減ずることにより式 (3) がえられる。

$$(A_{538} - A_{568}) = (\epsilon_{538}^{Hbco} - \epsilon_{568}^{Hbco}) \cdot C^{Hb} + (\epsilon_{538}^{Mbco} - \epsilon_{568}^{Mbco}) \cdot C^{Mb} \dots\dots\dots(3)$$

前述の通り $\epsilon_{538}^{Hbco} = \epsilon_{568}^{Hbco}$ であるから (Fig. 1), Hb に関する項は 0 となり (3') 式をえる。

$$(A_{538} - A_{568}) = (\epsilon_{538}^{Mbco} - \epsilon_{568}^{Mbco}) \cdot C^{Mb} \dots\dots\dots(3')$$

これから、筋抽出液中の C^{Mb} を与える式 (4) がえられる。

$$C^{Mb} \text{ (mg/ml)} = \frac{(A_{538} - A_{568})}{(\epsilon_{538}^{Mbco} - \epsilon_{568}^{Mbco})} \times 1.81 \times 10^4 \times 7.1/7.0 \dots\dots(4)$$

さらに抽出液についてえた C^{Mb} をもとに、試料筋 1g あたりの Mb 含量 C^{Mb} (mg/g) は下式で算出される。

$$C^{Mb} \text{ (mg/g)} = \frac{(A_{538} - A_{568}) \times 1.81 \times 10^4 \times 7.1/7.0 \times (V + 0.75W)}{(\epsilon_{538}^{Mbco} - \epsilon_{568}^{Mbco}) \times W} = 6.306 \frac{(A_{538} - A_{568}) \times (V + 0.75W)}{W} \dots\dots\dots(5)$$

Table 1. Water content of fresh canine skeletal muscle as measured by the dry weight method*

Muscles	H ₂ O %
M. quadriceps femoris (rectus)	76.12
"	75.41
M. tibialis cranialis	74.64
M. extensor digitorum longus	73.30
M. gastrocnemius (lateralis)	75.59
"	75.38
M. gastrocnemius (medialis)	75.83
M. flexor digitorum superficialis	75.01
"	75.51
Mean ± SD	75.20 ± 0.78

* Muscles were dried at 110°C till attaining the constant dry weight.

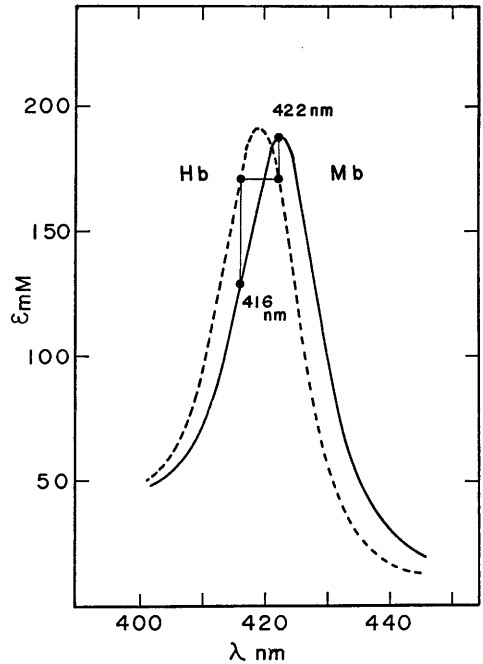


Fig. 2. Explanation of the "Soret" method for determination of myoglobin content in canine skeletal muscle. Soret absorption spectra of carboxy-myoglobin (—) and carboxy-hemoglobin (---) were shown¹²⁾. See text for the details.

ただし、W：試料筋の重量 (g), V：試料均等化にさいし用いた酢酸緩衝液の量 (ml), 0.75：生筋 1 g 中の平均水含量 (Table 1), 1.81×10^4 ：イヌ Mb の分子量¹²⁾, 7.1/7.0：5 M-K₂HPO₄ 添加に関する補正。

試料筋が充分量えられ、また Mb 含量が充分高い場合には上記のように A₅₃₈, A₅₆₈ の測定結果から正確な C^{Mb} を算出することができる。

2) Soret 域法：しかしながら、試料として採取できる筋量が僅少であったり Mb 含量が低いような場合には、(A₅₃₈-A₅₆₈) 値が低いため C^{Mb} 測定値の信頼性が低下する。このような場合のために、可視域に比べ約10倍程度高い吸収を有する Soret 域での測定 (Fig. 2) から、可視域での場合と同様に次のような算定式を導いた。

$$C^{Mb} (\text{mg/ml}) = \frac{(A_{422} - A_{416})}{(\epsilon_{422}^{Mbco} - \epsilon_{416}^{Mbco})} \times 1.81 \times 10^4 \times 7.1/7.0 \dots (6)$$

$$C^{Mb} (\text{mg/g}) = \frac{0.311 (A_{422} - A_{416}) \times (V + 0.75W)}{W} \dots (7)$$

筋抽出液の吸光度が低い場合、吸光度測定に Soret 域を用いる以外に、抽出に用いる緩衝液の量を少なくするのも有効な手段であると考え

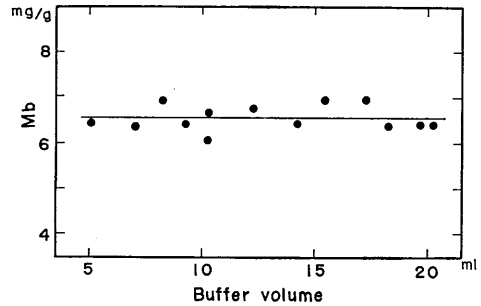


Fig. 3. No significant variation in the value of myoglobin content when volume of the buffer for the extraction was changed. Approximately 1 g each of specimen from the same portion of m. biceps femoris was extracted.

Table 2. Comparison of the "Visible" and "Soret" method for measuring canine myoglobin content in solution

Exptl. No.	Myoglobin content (mg/ml)		
	by "Visible" procedure (A)	by "Soret" procedure (B)*	(A) - (B)
1	0.820	0.834	-0.014
2	0.656	0.644	0.012
3	0.233	0.222	0.011
4	0.276	0.257	0.019
5	0.378	0.375	0.003
6	0.284	0.263	0.021
7	0.317	0.351	-0.034
8	0.391	0.372	0.019
9	0.509	0.494	0.015
10	0.522	0.457	0.065
11	0.535	0.579	-0.044
12	0.591	0.591	0.000
13	0.578	0.584	-0.006
14	0.578	0.630	-0.052
15	0.591	0.599	-0.008
16	0.697	0.629	0.068
Mean ± SD			0.005 ± 0.032

* Myoglobin solutions used for the "Visible" determinations were ten-fold diluted with CO-saturated buffer.

Table 3. Comparison of the "Visible" and "Soret" method for measuring myoglobin content in canine skeletal muscles

Exptl. No.	Myoglobin content (mg/g muscle)		
	by "Visible" procedure (A)*	by "Soret" procedure (B)*	(A) - (B)
1	3.73	4.25	-0.53
2	4.56	4.90	-0.33
3	4.36	4.58	-0.21
4	3.60	3.79	-0.18
5	4.74	4.86	-0.12
6	4.44	4.12	0.33
7	3.57	3.35	0.21
8	4.17	3.79	0.38
9	3.76	3.67	0.09
10	4.77	5.42	-0.64
11	4.67	5.00	-0.32
12	7.06	7.19	-0.13
13	8.37	9.15	-0.77
14	8.82	8.69	0.13
15	5.46	5.24	0.21
16	5.70	5.53	0.17
17	4.54	4.26	0.28
18	6.03	6.11	0.08
19	6.04	5.88	0.15
20	7.75	8.20	-0.45
Mean±SD			-0.08±0.33

* The same portion of the same muscle was used, approximately 1 g in the "Visible" method and 0.1 g or less in the "Soret".

られる。Fig. 3はこの点について検討したもので、同一筋1gをいろいろな量(5ml~20ml)の緩衝液で抽出した場合の結果を示してある。抽出液量とは関係なく、えられた値は互いによく一致することがわかる。

Table 2は可視域法(筋量~1g)によって測定した結果と、この試料液をさらに緩衝液によって10倍に稀釈し、Soret域法により測定した結果を比較したもので、両法による値はよく一致していることがわかる。またTable 3は同一筋の同部分から試料1gと0.1gをそれぞれ秤量分取し、前者を可視域法、後者をSoret域法で測定したもので、両者間には良好な一致がみられる。

2. イヌ諸筋のMb含量について:10頭のイ

ヌにおける上に述べた15筋(前肢筋:5, 軀幹筋:2, 後肢筋:8)のMb含量測定結果をTable 4に一括した。結果の表示には生筋1gあたりのMb含量(mg)の外に、M. gastrocnemiusでのMb含量を100として算出した各筋Mb含量の%も示した。結果を一見してまずわかることは、筋間でMb含量に大きな差があることである。特に平均して高いMb含量を示すものとしてM. extensor digitorum longus, M. gastrocnemius, M. biceps femorisなどがみられる。一方、M. cleidobrachialisでの平均Mb含量はこれら諸筋の60%ていどに過ぎない。また全体として、軀幹部ならびに前肢の諸筋でのMb含量(それぞれ平均5.11mg/gおよび5.29mg/gで差がない)に比べ、後肢諸筋で

Table 4. Myoglobin contents in skeletal muscles from ten dogs

Muscles	in mg/g muscle	in %*
A. Fore-limb group		
cleidobrachialis	4.58±0.95	60.3±10.8 81.5± 8.7 75.6± 7.1 80.9± 8.9 84.7±10.1 76.6±8.6
pectoralis superficialis	5.42±0.89	
pectoralis profundus	5.05±0.94	
supraspinatus	5.31±0.89	
triceps brachii	5.99±1.74	
B. Abdominal group		
rectus abdominis	5.17±1.40	5.11±1.38 76.2± 6.6 73.8± 6.6 75.0
obliquus externus abdominis	5.03±1.35	
C. Hind-limb group		
biceps femoris	6.48±1.34	6.26±1.41 97.9± 4.2 86.2± 7.8 89.6± 6.9 77.1± 8.7 86.3± 8.4 94.4± 8.3 100.0 105.0± 8.5 92.0±8.4
quadriceps rectus	5.84±1.74	
quadriceps lateralis	6.09±1.35	
sartorius	5.15±1.03	
gracilis	5.86±1.58	
tibialis cranialis	6.43±1.31	
gastrocnemius	6.75±1.42	
extensor digitorum longus	7.50±1.71	

* Myoglobin content in *M. gastrocnemius* was taken as 100. The values were not statistically different between the fore-limb and abdominal group, whereas the value for the hind-limb group was significantly higher than those for the other two groups ($P<0.01$).

のMb含量が平均6.26 mg/gと明らかに高値を示す事実 ($p<0.01$)も注目される。前肢筋群における最高Mb含有筋 (*M. triceps brachii*)と最低筋 (*M. cleidobrachialis*)との間のMb含量差はt-テストにより有意 ($p<0.05$)であり、同じく後肢筋群における *M. extensor digitorum longus* と *M. sartorius* との間にも有意差が検定された ($p<0.01$)。一方、軀幹部の2筋の間には有意差はみられなかった。また Fig. 4 にそれぞれ10頭のイヌにおける前肢、軀幹、後肢の代表的な各3、2、3筋のMb含量測定結果を示した。Table 4 とともに、同一筋であっても大きな個体差のあることがわかる。

3. 筋Mb含量とCyt-c含量との相関について：骨格筋におけるMbの生理機能をうかがう上で、Mb含量と骨格筋の他の諸特性（生理学的、生化学的）との関連をみるのは、有望な一方法といえる。Mbのin situでの生理機能についてはなお不明な点があるとはいえ、いずれ

にせよ筋細胞におけるO₂の供給、利用に関係あることは論をまたない¹¹⁾。そこで今回、細胞でのO₂利用において枢要な位置を占めるCyt-cの骨格筋含量と、Mb含量との関連をみたのが Fig. 5 である。これら両者間には明らかに正の相関関係がみられた ($r=0.702$)。

考 察

1. イヌMb含量測定法

Reynafarjeの方法²³⁾は筋Mb含量の簡便、正確な測定法として現在ひろく用いられている。しかし計算に際し用いられる e_{538}^{MbCO} および e_{568}^{MbCO} 値 (14.7×10^3 , 11.8×10^3)は本来ヒトMbについてえられた値で、他種動物Mbにそのまま用いることには問題がある²⁾。今回イヌMbについてえた値 (それぞれ 14.11×10^3 および 11.20×10^3)¹²⁾によった場合、原法²³⁾そのままによる結果に比し約6%ほど高いMb含量がえられた。Reynafarje法も含め現在までに報告されてい

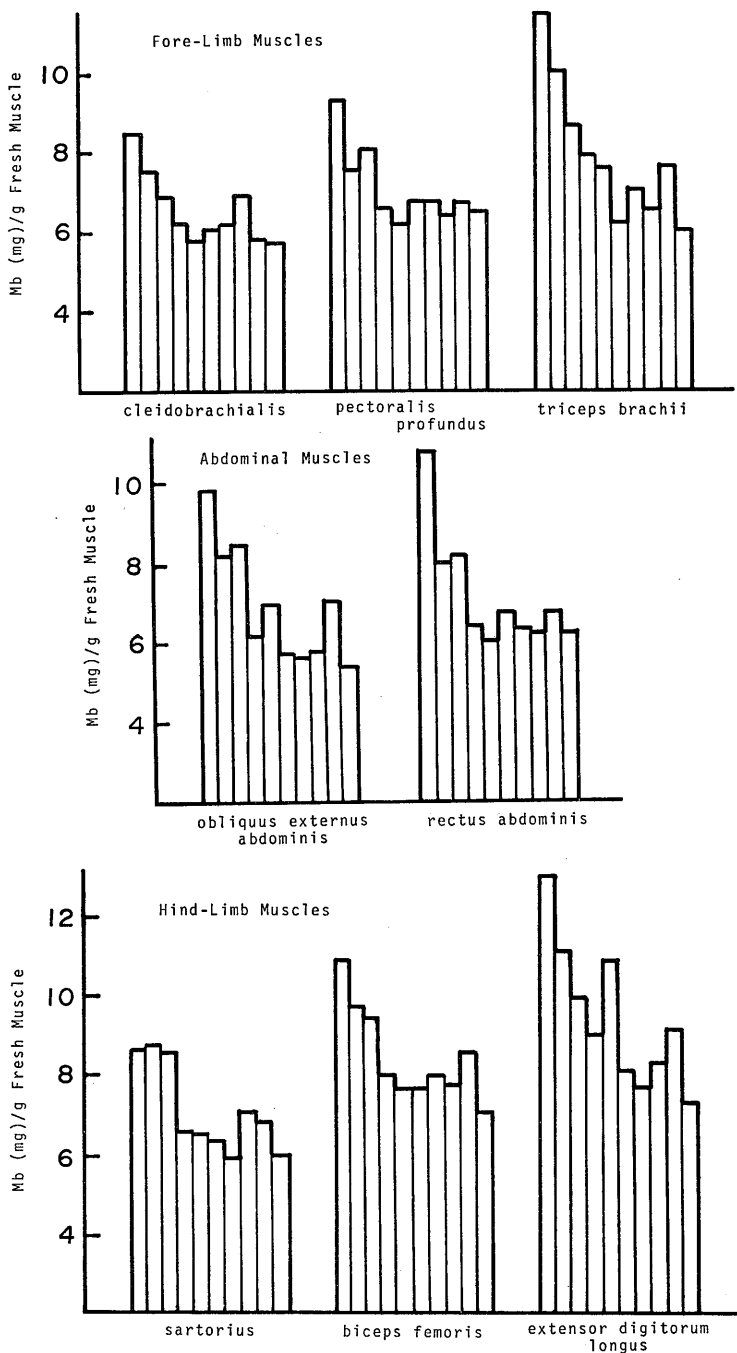


Fig. 4. Individual variations of myoglobin content in several representative canine skeletal muscles from the fore-limb, abdominal and hind-limb regions in ten dogs.

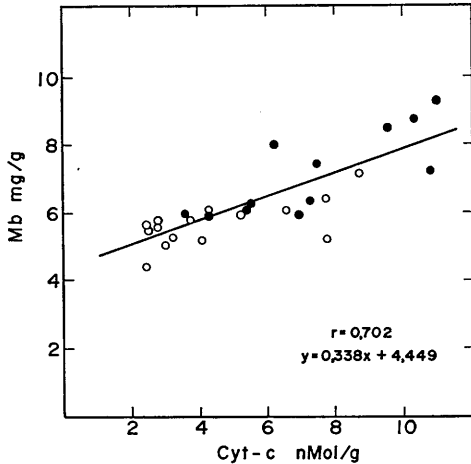


Fig. 5. Correlation between myoglobin and cytochrome c contents in various canine skeletal muscles. Myoglobin content in mg/g wet muscle and cytochrome c in nmol/g wet muscle. Different symbols represent the results for two different dogs.

る Mb 含量測定法は³⁾²²⁾²³⁾, そのほとんどが筋からの Mb 抽出に磷酸緩衝液を用いている。この場合, 抽出液にしばしば濁濁が生じ誤差の原因となることを経験したので, いろいろ検討した結果, 低濃度の酢酸緩衝液 (0.01 M, pH 4.5) により抽出を行い, この難点を完全に解決することができた。

今回の方法のみならずこれまでに報告されている方法で信頼性のある結果をえるには, 試料として 1g 前後の筋を必要とする。ところで生きた動物について経時的に何度も測定しようとするような場合, 一回あたりの所要筋量はできるだけ少ないのが望ましい。このような観点から, 先報の分光学的データ¹²⁾を基礎として Soret 帯 (416 nm および 422 nm) での吸光度測定から, さらに微量 (100 mg 以下) 試料についての測定法を開発した (Fig. 2, Tables 2 & 3)。また抽出にさいし緩衝液量を半減しても結果に影響のないことから (Fig. 3), 試料筋量をさらに半減しても同様に正確な結果えられることが期待される。なお, Reynafarje 法²³⁾は系内に存在する光吸収物質として Mb と Hb だけを想定し, 他の有色物質たとえば Cytochrome 系の

影響のないことを前提としている。この前提の正しいことは, 今回直接 Cyt-c を測定した結果からも明らかである (Fig. 5)。

2. イヌ諸筋の Mb 含量

哺乳動物から無脊椎動物に至るまで Mb は動物界にひろく存在しているが, その筋含量は動物種によって大きく異なる。たとえば哺乳動物に限ってみても, イヌ後肢筋での値 (2.8~5.2 mg/g 生筋) とラット後肢筋での値 (0.06~0.7 mg/g 生筋) との間にはかなり大きな差がみられる²¹⁾。また, このような種属差に加えて, 個体差および筋による差の大きいことも従来から報告されており, このことは今回イヌについての測定結果からも明らかである (Table 4, Fig. 4)。個体差の原因としては, 性差³⁾, 食餌性要因²⁶⁾, 発育段階による差²⁵⁾などが想定される外, 特に筋間の差とも関連して運動の影響について考えなければならない。運動負荷による筋 Mb 含量の増加については, 古く狩猟犬と通常の飼犬とで Mb 含量に差のあることを見出した Whipple の先駆的研究があり²⁵⁾, さらに Lawrie はブタおよび挽馬と競走馬の比較測定によって同様な結果をえている¹³⁾。その後 Pattengale らはネズミに一定量, 一定期間のトレッドミル走を負荷した実験から, 運動時の Mb 増加が決して全身的な現象ではなく, 運動参画筋のみに局限した局所的な反応であることを明確に示した²⁰⁾。今回みられた個体差, 筋差は上記諸要因の反映によるとみられるが, Pattengale らの結果とも関連して興味あるのは, 軀幹筋, 前肢筋群に比し後肢筋群の Mb 含量が明らかに高い事実である (Table 4)²⁵⁾。この差の原因の少なくとも一つに, イヌの日常の歩~走行における上記各筋群の寄与の差が関係していると思われるが, その解明は今後の研究に待ちたい。

骨格筋さらにそれを構成する筋線維は, その色調により赤筋, 白筋および中間筋の三群に通常わけられる¹⁸⁾。各群は色調のみならず, その機能的特性⁴⁾⁵⁾, 生化学的特性⁹⁾¹⁴⁾¹⁹⁾などに関しても差のあることが明らかにされている。しか

し、この区別はあくまで便宜的なものであって、最近個々の筋線維の酵素活性パターンを測定、比較した結果によれば、筋線維はさらに数群にわけられるという¹⁶⁾。ところで赤筋線維 (Type I 線維ともいう) の赤い色は主としてその Mb 含量によることが知られており¹⁶⁾、一方またこの筋線維は好気性代謝を主とすることが確認されている¹⁵⁾¹⁹⁾。したがって、Mb 含量の高い筋においては当然好気性代謝に関連した物質 (たとえば Cytochrome 系) が高濃度に存在すると予想される¹⁵⁾。今回えた結果は、この予想の正しいことを直接実証した (Fig. 5)。今後さらに筋線維レベルで Mb 含量をめぐるこの種の検討を計画しているが、この種の研究は *in situ* での Mb の生理的役割が、O₂ の運搬²⁸⁾²⁹⁾にあるのか、それとも O₂ 貯蔵¹⁷⁾²⁴⁾にあるのか、あるいは何らかの触媒作用⁷⁾³⁰⁾を担っているのか、等、なお最終的な結論に達していないこの問題の解明に、有力な証拠を提供するものと期待される。

要 約

1. イヌ骨格筋 (1g) について、その均等化抽出液の可視部分光測定から、Reynafarje (1963) にほぼ準じてミオグロビン含量を算出する新しい式を導出した。この式によってえられる値は、原法による値に比し約 6% 高値を示した。

2. さらに Soret 域での分光測定から、筋ミオグロビン含量を算出する新しい方法を開発した。この場合所要筋量は 0.1g で、抽出溶媒量を減ずればさらに少量での測定も可能になる。

3. 今回の方法により、イヌ 10 頭について骨格筋 15 (前肢筋 5、軀幹筋 2、後肢筋 8) のミオグロビン含量を測定した。後肢筋群のミオグロビン含量は、他の 2 筋群にくらべ明らかに高値を示した ($p < 0.01$)。また、この差の原因について考察した。

4. イヌ骨格筋のミオグロビン含量とチトクローム-C 含量との間には正の相関関係が認められた ($r = 0.702$)。

終りにあたり、御指導、御校閲を賜った榎 泰義教授に深謝すると共に、助言をいただいた富田晋助教授に感謝の意を表します。

またいろいろ御援助をいただいた奈良県立医科大学第二生理学教室の諸氏に感謝いたします。

(本論文の要旨は昭和 55 年 10 月 18 日、第 35 回日本体力医学会大会、昭和 56 年 4 月 1 日、第 58 回日本生理学会大会において発表をした。)

References

- 1) Anthony, A., Ackerman, E. & Strother, G. K. (1959) Effects of altitude acclimatization on rat myoglobin. Changes in myoglobin content of skeletal and cardiac muscle. *Amer. J. Physiol.* **196**, 512-516
- 2) Antonini, E. & Brunori, M. (1971) Hemoglobin and myoglobin in their reactions with ligands. Chapter 2. The derivatives of ferrous hemoglobin and myoglobin. North-Holland, Amsterdam. 13-20
- 3) Åkeson, A., Björk, G. & Simon, R. (1968) On the content of myoglobin in human muscles. *Acta Med. Scand.* **183**, 307-316
- 4) Buller, A. J., Eccles, J. C. & Eccles, R. M. (1960) Differentiation of fast and slow muscles in the cat hindlimb. *J. Physiol.* **150**, 399-416
- 5) Cooper, S. & Eccles, J. C. (1930) The isometric responses of mammalian muscles. *J. Physiol.* **69**, 377-385
- 6) de Duve, C. (1948) A spectrophotometric method for the simultaneous determination of myoglobin and hemoglobin in extracts of human muscle. *Acta Chem. Scand.* **2**, 264-289
- 7) Edwards, D. L. & Criddle, R. S. (1966) The interaction of myoglobin with mitochondrial structural protein. *Biochem.* **5**, 588-591
- 8) Froning, G. W., Daddario, J. & Hartuug, T. H. (1968) Color and concentration in turkey meat as affected by age, sex and strain. *Poultry Sci.* **47**, 1827-1835
- 9) Henneman, E. & Olson, C. B. (1965) Relations between structure and function in the design of skeletal muscles. *J. Neurophysiol.* **28**, 581-598
- 10) Hettinger, Th. & Müller, E. A. (1953) Muskelleistung und Muskel training. *Int. Z. Angew. Physiol.* **15**, 111-126
- 11) Kagen, J. L. (1973) Myoglobin: Biochemical, Physiological and Clinical Aspects. Columbia Univ. Press, New York, 36-39
- 12) 河瀬雅夫 (1979) トレーニング効果の生理学的基礎に関する研究、一特に骨格筋ミオグロビンに関する

- して—I. イヌ骨格筋ミオグロビンの単離・純化とその諸特性について. 日本生理学雑誌**41**, 509-521
- 13) Lawrie, R. A. (1950) Some observation on factors affecting myoglobin concentration in muscles. *J. Agri. Sci.* **40**, 356-366
 - 14) Lawrie, R. A. (1952) Biochemical differences between red and white muscle. *Nature* **170**, 122-123
 - 15) Lawrie, R. A. (1953) The activity of the cytochrome system in muscle and its relation to myoglobin. *Biochem. J.* **55**, 298-305
 - 16) Lowry, C. V., Kimmey, J. S., Felder, S., Chi, M. M. -Y., Kaiser, K. K., Passonneau, P. N. & Lowry, O. H. (1978) Enzyme patterns in single human muscle fibers. *J. Biol. Chem.* **253**, 8269-8277
 - 17) Millikan, G. E. (1937) Experiments on muscle hemoglobin in vivo, the instantaneous measurement of muscle metabolism. *Proc. Roy. Soc. (London)* **B 123**, 218-241
 - 18) Needham, D. M. (1926) Red and white muscle. *Physiol. Rev.* **6**, 1-27
 - 19) Ogata, T. (1960) The differences in some labile constituents and some enzymatic activities between the red and white muscle. *J. Biochem. (Tokyo)* **47**, 726-732
 - 20) Pattengale, P. K. & Holloszy, J. O. (1967) Augmentation of skeletal muscle myoglobin by a program of treadmill running. *Amer. J. Physiol.* **213**, 783-785
 - 21) Perkoff, G. T. & Tyler, F. H. (1958) Estimation and physical properties of myoglobin in various species. *Metabolism* **7**, 751-759
 - 22) Poel, E. E. (1949) Effect of anoxic anoxia on myoglobin concentration in striated muscle. *Amer. J. Physiol.* **156**, 44-51
 - 23) Reynafarje, B. (1963) Simplified method for the determination of myoglobin. *J. Lab. Clin.* **61**, 138-145
 - 24) Theorell, H. (1934) Kristallinisches Myoglobin. V. Die Sauerstoffbindungskurve des Myoglobin. *Biochem. Z.* **268**, 73-82
 - 25) Whipple, G. H. (1926) The hemoglobin of striated muscle. *Amer. J. Physiol.* **76**, 693-707
 - 26) Whipple, G. H., Groth, A. H. & Robscheit-Robbins, F. S. (1928) Muscle hemoglobin concentration during growth as influenced by diet factors. *Amer. J. Physiol.* **87**, 185-191
 - 27) Williams, J. N. & Thorp, S. L. (1969) Re-evaluation of cytochrome c concentrations in rat organs using a new method for cytochrome c. *Biochim. Biophys. Acta* **189**, 25-28
 - 28) Wittenberg, J. B. (1959) Oxygen transport—a new function proposed for myoglobin. *Biol. Bull.* **117**, 402-403
 - 29) Wittenberg, B. A. & Wittenberg, J. B. (1975) Role of myoglobin in the oxygen supply to red skeletal muscle. *J. Biol. Chem.* **250**, 9038-9043
 - 30) Wu, C.-S. C., Duffy, P. & Brown, W. D. (1972) Interaction of myoglobin and cytochrome c. *J. Biol. Chem.* **247**, 1899-1903

第 62 回 近畿生理学談話会

日 時：昭和56年9月26日(土)
場 所：神戸学院大学6号館
当 番：神戸学院大学栄養学部生理学研究室

1. 人乳プラスミノゲン・アクチベーターのトロンビン様作用について

堀江 登, 岡本歌子, 松本和賀子, 松田里香 (神戸学院大, 生理)

目的：粗製ミルク・アクチベーターには血漿を凝固させる作用がある。また人乳中のプラスミノゲン・アクチベーター (M-Act) は、ウロキナーゼ (UK), ストレプトキナーゼ活性化アクチベーターに比較して、より迅速にトロンビン (Th) の特異的合成基質といわれる H-D-Phe-Pip-Arg-pNA (S-2238, KABI) を分解する*。本実験は、この Th 様作用が M-Act の本来の属性であるか否かを検討する目的で行った。

材料および方法：M-Act は、分娩後10日以内に採取した人乳のスキムミルクを、クロロホルム脱脂、硫酸塩析、イオン交換クロマトグラフィー、ゲル濾過、アフィニティー・クロマトグラフィーにより高度に純化した。Th は市販品をイオン交換クロマトグラフィーにより純化し、また UK は市販品をそのまま使用した。

成績：(1)M-Act は、種々の S シリーズ基質中、S-2288 をもっとも迅速に分解し、Th および UK とは明らかに特異性の差を示した。(2)アフィニティー・クロマトグラフィーにより高度に純化した M-Act は Fg をゲル化しなかった。(3)M-Act による Fg 分解は、SDS 電気泳動により、Th とは異なり、A α 鎖のみを分解することが認められた。

* J. Yamamoto, N. Horie, U. Okamoto: *Thromb. Res.* 18: 263(1980)

2. ヒト顆粒球エラスターゼ：その精製と新規合成基質

永松陽子, 岡本歌子, 白川雅秀, 中田美智子, 岡田芳男*, 津田裕子* (神戸学院大, 生理・薬化学*)

ヒト顆粒球酵素としては、カテプシン G, コラゲナーゼの他にエラスターゼ様酵素 (GE) の存在が知られている。この GE の合成基質として、Suc-Ala₃-pNA が一般には用いられているが、最近スウェーデンの研究者により <Glu-Pro-Val-pNA が選択性の高い合成基質であることが報告された。一方筆者らはヒト脾よ

り、諸性質が GE と類似しているフィブリン分解酵素 (SFP) を精製し、その特異的合成基質として新規に合成された -Val-pNA type ポリペプチド基質をえている。本研究では、ヒト白血球より、フィブリン分解活性を指標として、筆者らの方法により、GE を抽出、部分純化し、種々の合成基質に対する反応を SFP と比較した。

その結果、GE は SFP 同様、2MNaClO₄ でよく抽出され、CH₃Cl 処理、塩析、ゲル濾過により比活性が約 40 倍に上った。また、Suc-Tyr-Leu-X-pNA の X (Val, Ile, Ala, Leu, Met, Arg, Gly, Phe) に対して、GE は SFP 同様、Val に高い選択性を示した。さらに、筆者らの新規 -Val-pNA type 基質 (Suc-Tyr-Leu-Val-pNA, Suc-Ala-Tyr-Leu-Val-pNA 他) は、<Glu-Pro-Val-pNA (KABI 社) と比較して、GE および SFP に対してより高い特異性を示した。特に、その物理化学的性質から、Suc-Ala-Tyr-Leu-Val-pNA は GE に対し好個の基質であると結論される。

3. 選択的ペプチド基質による凝固因子測定における選択的抑制物質添加の意義について

池沢且子, 山下 勉, 松岡 瑛, 岡本彰祐 (兵庫医大, 中検, 血液・神戸大, 医, 第一生理)

血液の主要な凝固因子は酵素学的に見れば、高度に選択的な限定分解を行う蛋白分解酵素である。したがって基質蛋白質のアミノ酸残基の配列を mimic した選択的ペプチド基質が相ついで合成され、それぞれの凝固因子の選択的測定に使用されつつある。しかしながら、その選択性は必ずしも充分ではなく、選択的抑制物質を併用することが強く望まれていた。

著者らの見いだしたアルギニン誘導体 No. 805 は、高度にトロンビンに選択的で、かつ、Ki は 0.019 μ M に達し、最終濃度 5 μ M で 99.5% 以上のトロンビン活性抑制が見られる。したがってこの物質を用いることによって、第 X 因子のペプチド基質による定量の精度向上の試みが初めて可能になった。

第 X 因子ペプチド基質としては S-2222 (Bz-Ile-Glu-Gly-Arg-pNA) を用いた。その結果正常血漿トロンボプラスチン系では、S-2222 の分解の約 20% が抗

トロンビン物質により抑制された。ワルファリン投与患者からえられた血漿においても同様の結果がえられた。しかし、第 X 因子欠乏血漿に正常量の25%または50%の X を加えた系では、抗トロンビンによる抑制はおおの50%または30%に達した。以上の結果から合成抑制物質の添加は選択的ペプチド基質による因子定量に当り、選択性を飛躍的に増強させると結論される。

4. マイクロ・トノメータを用いた血液酸素解離曲線(ODC)作成法と P_{50} の一点測定法の信頼性

上月久治, 榎 泰義, 富田 晋, 坂田 進 (奈良医大, 第二生理)

少量の血液で、ガス混合ポンプ—マイクロ・トノメータ— SO_2 計の組み合わせによる簡便、正確な ODC 測定法を開発したので報告する。

ガス混合ポンプにより任意の O_2 — CO_2 — N_2 混合ガスを作ってアストラップのマイクロ・トノメータに流し、約 250 μ l の血液を3分間混合ガスと平衡させた。ポンプのギヤを変えて任意の PO_2 7 点をとり PO_2 を電極法、 SO_2 を分光法により測定し ODC を作成した。

19名の非喫煙健康成人の血液について pH7.4 PCO_2 , 40torr, 37°Cにおける標準 ODC を作成し P_{50} 27.6 \pm 1.1 torr をえた。pH7.6, 7.2 での P_{50} はそれぞれ 21.5, 34.2 torr, 臍帯血(pH 7.4)の P_{50} は 22.4 torr となった。

またこの方法によりえた標準 ODC の P_{50} を用い、任意の血液試料についての pH, PO_2 , SO_2 , 一点測定値からその P_{50} を算出し(Weiskopf ら, 1972)実測値と比較した。健康成人血(pH7.4, P_{CO_2} 40torr)での計算値と実測値の差は全 SO_2 域で 0.4 ± 2.5 torr (n=126), $30 < SO_2 \leq 80\%$ 域で 0.3 ± 1.7 torr, $SO_2 \leq 30\%$ 域では -0.1 ± 2.9 torr, $SO_2 > 80\%$ 域で 1.0 ± 3.7 torr となり両者はよく一致した。同様な結果は pH7.6, 7.2 での成人血および臍帯血(pH 7.4)についてもえられた。

5. 血清アルブミンの Na^+ , K^+ -ATPase 阻害

蟹池健一 (近畿大, 医, 第二生理)

ウシ血清アルブミン (シグマ A4503, BSA fraction V)により Na^+ , K^+ -ATPase の ATP 分解活性および K^+ 依存性の *p*-nitrophenylphosphate phosphatase 活性が抑えられた。この BSA の阻害能は BSA の熱処理で変わらず、加熱 BSA 懸濁液の遠心後沈渣の方にも阻害能が残り、BSA の透析によって阻害効果は失われず、アルコール抽出物には阻害効果がなかったことか

ら、阻害因子は BSA 自身あるいは BSA に強固に結合する金属イオンと考えられた。

さらに Na^+ , K^+ -ATPase の BSA による阻害を検討した結果、阻害発現には 1~2 mM 以上の Mg^{++} , K^+ を必要とし、Na, ATP により拮抗され、バナジウムによる阻害と類似を示した。BSA 阻害はまた EDTA で抑えられず、バナジウムと結合する 4-(2-ピリジルアゾ) レゾルシノールやカテコールアミン、アスコルビン酸により抑えられることもバナジウムによる Na^+ , K^+ -ATPase 阻害と一致し、バナジウムが BSA に含まれる可能性が考えられる。この BSA のバナジウム量を測定したところ、阻害能に見合う量(14.2 μ g/g)が存在し、BSA 中の阻害因子はバナジウム酸であろうと考えられる。

バナジウム酸は Na^+ , K^+ -ATPase の生体内微量調節物質として働くことが考えられており、アルブミンはこのバナジウム酸の血中における結合部位として、あるいはキャリアーとして Na^+ ポンプの調節に関与することが考えられる。

6. 赤血球膜の機械的脆弱性—インパクト法の開発—

上坂伸宏, 安田 譲*, 塩 巢夫*, 品川嘉也 (京大, 医, 第二生理・神経内科*)

浸透圧抵抗は赤血球膜の脆弱性の指標としてよく用いられるが、生理的条件下での指標でないことなど難点が多い。ちなみに、ラット赤血球は機械的刺激に弱い、浸透圧抵抗はヒト赤血球とほぼ同じである。浸透圧法以外の方法も多少あるが、“簡易”かつ“定量的”な方法とは言い難い。弾性管に密封した赤血球に対して外から衝撃的な圧力(インパクト)を加えることによって、赤血球膜の機械的脆弱性を調べる方法(インパクト法)を試みた。すなわち、tygon tube 中に赤血球試料を封じ、これを先端に鈍角な金属片のついた金属棒で tube と交叉するように叩いた。インパクトの再現性を良くするために、金属棒を傾け(5°~65°)、支点には ball bearing を用いて摩擦を減らし、自然落下(金属棒の倒れ)によるインパクトを利用した。インパクトは Impact Force Transducer(PCB, 200A2)を用いて検出し、それを transient memory に入力したものをオシロスコープで読みとった。インパクト—溶血曲線、hematocrit 値の効果(Hct 値約 25%~50%の間では、赤血球の機械的抵抗が強く、それ以上および以下では弱いという陽緩和現象が見出された)、温度効

果, インパクトによる赤血球膜の変形および破片化(走査電顕像), 膜流動性と機械的脆弱性の関連などを報告し, 機械的脆弱性は, 生理学的に有意義な新しい指標を与えることを示した。

7. Capillary Tube Centrifugation による簡易赤血球変形能測定法

児島 駿, 長沢貴志, 木下喜博, 木村英一 (大阪市大, 医, 第二生理)

Capillary tube を用いて, 赤血球変形能を測定する方法を開発した. 長さ 8 cm, 内径 2 mm の毛細管の top portion (1.5 cm) に赤血球浮遊液, middle portion (5 cm) に PBS, bottom portion (1.5 cm) に 1% glutaraldehyde PBS を入れる. 全血 5 μ l を 5 ml の Eagle-MEM 溶液に加え, その 50 μ l を top portion に入れ, 37°C にて, 遠心器で 12000 rpm, 1 min で遠心し bottom で固定された変形赤血球を顕微鏡で観察し, その cell elongation を測定した.

Middle と bottom portion の pH を変えることによって, pH 5.2 では jellyfish form, pH 6.0 では shellfish form, pH 7.4 では handbag form, pH 8.0 では engagement-ring-form, pH 8.5 では octopus form となる.

44~49°C, 10 min の heated RBC と nystatin で作製した hydrated, dehydrated RBC などの変形能測定により, 毛細管遠心法では, 赤血球変形能は, 赤血球の surface area to volume ratio と membrane elasticity に支配された.

8. Rheocytometry による赤血球変形能測定法

長沢貴志, 表野 篤* (大阪市大, 医, 第二生理・生物物理*)

Flat cell (0.022 \times 0.7 \times 2.5 cm) と helium neon laser beam を用いて赤血球変形能を測定する方法を開発した. 15~25% dextran PBS (290 mOsm, pH 7.4) 10 ml に全血 0.05 ml を加え, この赤血球浮遊液をインジェクターを用いて flat cell 中を流し, レーザービームでスクリーン上に diffraction pattern をえた. negative film でこの diffraction pattern をとり, 長径 (L) と短径 (W) を計測し, Deformability index を $(L-W)/(L+W)$ とした. Heated RBC, nystatin で作製した hydrated, dehydrated RBC の変形能測定により Rheocytometry では赤血球変形は (1) viscoelastic properties of membrane, (2) surface area to volume ratio, (3) internal viscosity に支配されていた. 0.5 μ M MA23187, 500

μ M CaCl₂ で処理した赤血球は変形能が低下し, 15 分処理では完全に undeformable となった.

9. 異った動物種により認識される卵白リゾチームの抗原決定基の共通性

吉田 豪, M. Z. Atassi* (三重大, 医, 第一生理・Department of Immunology, Mayo Clinic*)

ヤギおよびウサギの免疫初期抗体を用いて同定された卵白リゾチーム (LYSO) の 3 つの抗原決定基が, 他の動物種, 今回はマウスとネコでも共通して認識されるかどうかを調べて以下の成績をえた.

1. ¹²⁵I-ヤギ抗 LYSO と LYSO-免疫吸着体との結合に対する, マウスおよびネコ抗 LYSO の阻止能を調べると, その阻止の程度は, いずれも, 阻止体の濃度に依存し, ほぼ 100% におよんだ. これに対して, 1 つの抗原決定基に似せて作った合成ペプチドの擬似抗原決定基に対するウサギ抗体は, 上記の結合をほぼ 20% しか阻止しなかった.

2. マウス抗 LYSO と 3 つの抗原決定基との結合を, 個別に, また直接的に調べるため, それぞれの抗原決定基に似せた合成擬似抗原決定基を microtiter plate に吸着させて抗血清を作用させ, 結合した抗体に 2 次抗体を反応させ, この操作でえられた二重抗体複合体を, ¹²⁵I-protein A により同定した. こうして測定されたマウス抗血清中の 3 種の擬似抗原決定基に対する結合活性は, それぞれ互に似た経時変化を示し, またそれらは, 抗 LYSO 抗体価の経時変化にはほぼ一致していることが確認された.

10. トロンビンの活性中心の立体地勢

岡本彰祐, 奥宮明子, 池沢且子*, 佐々木邦子**, 玉尾嘉邦*** (神戸大, 医, 第一生理・兵庫医大, 中検*・神戸学院大, 栄, 生理**・三菱化成, 総研***)

本研究はトロンビン (Th) の高度の基質選択性の機構をその活性中心の stereogeometry から解明することを目的とする. 私共は, Th の基質フィブリノーゲンのコードを有機化学的にシミュレートした合成物質として約 770 種のアルギニン (Arg) 誘導体を追求し, きわめて選択性が高く, k_i が 10^{-8} M に達する著しく強力な一連の Th 抑制物質を発見することに成功した.

Th の活性中心は, これらの強力にして選択的な抑制物質のレプリカ構造をとるものと推定された. すなわち, 活性中心には, 正確に Arg のグアニジノ head

に対応する深さの第一ポケットの他に、ArgのC末に対応してKiを大きく左右する第二ポケットがあり、その立体的条件はきわめて厳格であることが示された。さらに、ArgのN末に対応して特異な蛍光増強作用に関与するトリプトファンの存在が注目された。D-Arg誘導体およびL-Argの α -Cのメチル化が抑制を示さないことから、二つのポケットならびにトリプトファンの三者は、きびしいstereogeometryをとることが示された。

11. リズミカルな音刺激が生体におよぼす影響に関する電気生理学的研究

安原基弘, 内藤博江, 平井タカネ (関西医大, 第二生理)

一定のリズムを伴う音刺激が生体におよぼす生理学的影響を明らかにするために、無麻酔のウサギを用いて以下の電気生理学的実験を行った。今回観察の対象とした現象は、①脳幹網様体(RF)100Hz刺激による覚醒反応および誘発筋放電の閾値、②脛骨神経刺激によって、腓腹筋に誘発されるM波およびH波、③脛骨神経刺激により、大脳皮質および海馬に誘発される求心性加算誘発電位、④大脳皮質および海馬刺激による誘発筋放電などである。

本実験の結果、速度120/minのメトロノーム音によつては、RF100Hz刺激による誘発筋放電にのみ、音のない時より促進的影響が認められたが、それ以外の反応には抑制的影響が認められた。一方、450/min PITCH1000Hzの音では、求心性加算誘発電位に抑制的影響がみられた他は、いずれの反応にも促進的影響が認められた。したがって、速度が遅くPITCHが低い音では意識・知覚・運動などの現象に対して主として抑制的影響が認められるが、速度が速くPITCHが高い音の場合は、それとは逆の影響が多く認められることが明らかとなった。

12. ラット視床前野加温時の皮膚血管反応

石川洋蔵, 中山昭雄, 彼末一之, 松村 潔 (阪大, 医, 第二生理)

陰囊皮膚温受容器からの信号は視床前野・視床下部の温度感受性ニューロンに収束する。30℃以上の陰囊皮膚温度刺激が尾血管反応を修飾する。今回、視床前野(PO)加温時の皮膚血管反応を観察し、温度感受性ニューロンからの遠心性信号の伝達様式について検討をすすめていこうと考えた。ウレタン麻酔ラットの

POを加温すると、前肢・後肢足底および尾皮膚温は上昇し、血管拡張反応を示す。皮膚温上昇開始のPO閾値温度は尾が最も低く(約40℃)、後肢足底(約41℃)、前肢足底(41℃以上)の順に高くなる。閾値の差を利用して尾と後肢足底の皮膚血管反応を任意に制御できるか否かを皮膚温を指標にして調べた(室温:27℃)。①後肢足底血管反応閾値より低いPO温(Tpo)で、尾血管反応が誘発される閾上閾下にTpoを上げ下げすると尾皮膚温のみが上昇下降した。②後肢足底血管反応閾値以上にTpoを上げると、尾皮膚温・後肢足底温は上昇する。尾血管反応閾値以上で後肢足底血管反応が誘発される閾上閾下にTpoを上げ下げすると、後肢足底温は上昇下降するが尾皮膚温は上昇したまま一定の値を維持した。③耳・背側および腹側部の皮膚血管はPO加温に対して拡張反応を示さなかった。ラットが体熱を有効に放散するのに適した順序(尾・後肢足底・前肢足底)で血管拡張反応が起こることがわかった。

13. 視床前野・前視床下部温度感受性ニューロンにおよぼす中脳縫線核刺激の影響

松村 潔, 中山昭雄, 石川洋蔵 (阪大, 医, 第二生理)

視床前野, 前視床下部(POAH)には局所脳温に応じて放電頻度の変化する温度感受性ニューロンが存在し、末梢皮膚の温度刺激にも応答する。中脳縫線核(MRN)にも局所脳温と末梢皮膚温度刺激に応ずるニューロンが存在する。今回、MRNの体温調節系における役割を明らかにするために、MRNに温度刺激および電気刺激を加えPOAH温度感受性ニューロンにおよぼす影響を調べた。1)温度刺激:124例のPOAHニューロン中POAHおよびMRN温度刺激のいずれにも反応しないものが最も多く48例、POAH加温でのみ放電頻度が増加するもの32例、POAH加温とMRN冷却で放電頻度の増加するもの26例となり、他の反応型は少数であった。またMRN温度刺激に対する感度はPOAHのそれに比べて小さかった。2)電気刺激:刺激後時間ヒストグラムの解析から、Median raphe刺激に対してPOAHニューロン56例中16例(温度感受性(W)4, 冷感受性(C)1, 非感受性(I)4, 未確認(U)7)が促進され、18例(W7, I6, U5)が抑制された。逆行性応答は2例(UZ)記録された。Dorsal raphe刺激に対しては24例中8例(W3, I4, U1)が促進、5例(W2, C2, I1)が抑制された。潜時は3~72ms.の

範囲であったが、5～10ms. の値をとるものが最も多く見られた。

14. Gagging の神経機序に関する研究

鳥居宏充, 河村洋二郎 (阪大, 歯, 口腔生理)

Gagging とは、咽・喉頭刺激により生じる吐物を伴わない嘔吐様の防御反射である。本研究は、Gagging の反射機序を解明する目的で行なったものであり、特に咽・喉頭刺激で誘発される嚥下・咳と比較検討した。

実験には、除脳ネコを用い口腔後部および咽・喉頭粘膜に機械的刺激を加え、顎運動、気管内圧および Gagging に関する諸筋の筋電図などを記録した。

Gagging は喉頭の機械的刺激で最も起りやすく、次いで咽頭後壁、軟口蓋後部が好発部位であり、これらの部位は嚥下誘発部位とはほぼ一致した。咳は喉頭刺激で最もよく誘発された。また喉頭部は、いずれの反射についても最も刺激閾値が低く、嚥下、咳、Gagging の順に高い閾値を示した。

次に嚥下・咳・Gagging の反射の求心路である上喉頭神経線維の活動分析から、Gagging の誘発には、特に、弱い刺激によっても刺激中持続して反応を示す線維を介する情報が強く関与することが示唆された。

15. リスザル (*Saimiri sciureus*) における、小脳・視床・大脳皮質投射の研究

山本哲朗, 佐々木和夫*(三重大, 医, 第二生理・京大, 医, 脳研生理*)

小脳-視床-大脳皮質応答は、浅層性および深層性視床大脳皮質応答に分類できる。本研究ではリスザルを用い、小脳-大脳皮質応答の層的電場電位解析を行ない、*Macaca* 属での報告と比較し、さらに視床核刺激と Horseradish peroxidase (HRP) 法を用い、小脳-大脳皮質応答の視床中継核を同定した。実験はネンブター麻酔下で行ない、一側小脳核を刺激し両側大脳皮質で層的電場電位を記録した。歯状核、中位核刺激では、対側の4, 6野に潜時3～4msで浅層性視床大脳皮質応答が出現し、室頂核刺激では、両側の4野内側部と5野に潜時4～5msで深層性視床大脳皮質応答が誘発され *Macaca* 属での報告と一致したが、前頭前野(9, 10野)での応答は検出されなかった。HRPの大脳皮質内注入による視床内標識細胞の分布と、視床核刺激による応答と、小脳性誘発電位との比較により、歯状核、中位核はおもに VA, VLo, VLc, X, CL

核などより、浅層性視床大脳皮質投射を介して、4, 6野に投射し、室頂核はおもに VLo, VPLo 核腹外側部より深層性視床大脳皮質投射を介して、4野に投射すると考えられる。室頂核-頭頂連合野(5野)への中継核は、今回の実験では明らかにされなかった。(本研究は Max-Planck 研究所の Dr. R. Hassler および Dr. A. Wagner との共同研究である。)

16. サルの小脳-視床-大脳皮質投射に関係する視床細胞の分布について

川村真弓, 佐々木和夫 (京大, 医, 脳研生理)

電気生理学的に研究されたサルの小脳-視床-大脳皮質投射¹⁾²⁾における視床の中継核について、小脳核刺激に応答する皮質各領野に HRP を注入し、視床大脳皮質投射細胞の分布を Olzewski の命名により調べた。小脳内側核より投射のある4野の下肢領野には VLo, VLc, VPLo にかけての外側核群と、Cl, MDdc の内側核群より投射がみられ、5野には VLc, VPLc, VLps, LP にかけての外側核群と Pcn, Cl Csl, MDdc, Pulo, Pulm, Cn-Md にかけての内側核群から投射がみられた。小脳外側核刺激により応答がみられる4野の上肢領野には VLo, VPLo, VLc の外側核群と、Cl, MDmf, MDdc より内側核群からの投射が、6野外側部には VA, VLc, VLps にかけての外側核群と Pcn, Cl Csl, MDpc, MDmf, MDdc, Cn-Md にかけての内側核群から投射があり9野(6野の隣接部)には、VLc, VLps にかけての外側核群と VAmc, Pcn, X, midline nuclei, MDpc, MDmf, MDdc, Cn-Md, Pf, Li, Pulm の内側核群より投射のあることがわかった。一方、4野上肢領野から、Cn-Md への投射が著明にみられた。本研究により視床外側核群と、内側核群の皮質への二重投射様式が特徴づけられ、視床の機能を考えるうえに重要である。

- 1) K. Sasaki et al.: Exp. Brain Res. **24**, 495-507 (1976); 2) K. Sasaki et al.: Exp. Brain Res. **37**, 193-198 (1979)

17. ネコの体性感覚野への視床-大脳皮質投射の生後発達

鯨島章郎**, 川口三郎, 宮田啓史, 山本哲朗*(京大, 医, 脳研生理・三重大, 医, 第二生理*・現在, 福井医大, 第一生理**)

生下時から成獣に至る種々の日令のネコで、体性感覚野における誘発応答の層的フィールド電位の解析

と、HRP 法による神経終末の皮質内の層的分布の検索により、視床一大脳皮質投射の生後発達を機能と形態の両面から調べた。浅撓骨神経刺激に対する応答は生下時には表面陰性一深部陽性波であった。成育とともにこの波に先行して表面陽性一深部陰性波が出現増大し、生後3~4週で成ネコの応答と同様の波形を示した。HRPの注入は、酵素を充填したガラス電極を視床に刺入し電気生理学的にVPL核を同定し、同じ電極から電気泳動的に注入し順行性軸索輸送で標識された視床一大脳皮質投射線維の終末をDe Olmos & Heimer法で検出した。成ネコでは第4層に高密度の終末が標識されたのに対し新生ネコでは第1層に高密度の終末が標識された。以上の結果は、視床一大脳皮質投射には主に第1層に投射する系(浅層性投射)と、主に第4層に投射する系(深層性投射)の2種が存在し生下時には前者が優勢で生後発達の過程で後者が優勢になることを示す。浅層性投射は皮質表面陰性一深部陽性波に、深層性投射は表面陽性一深部陰性波に対応すると考えられる。

18. ラット超音波発声に同期する延髄腹外側部ニューロン放電について

矢島幸雄, 林 泰正, 吉井直三郎 (兵庫医大, 第二生理)

Wetzelらが疑核に存在すると報告したラット超音波発声運動ニューロンの性質の電気生理学的検索を行った。ウレタン麻酔ラットの延髄腹外側部にファストグリーン封入ガラス微小電極を定位的に刺入して、中脳中心灰白質刺激で誘発された超音波発声に同期する単位放電を記録、検索した。ファストグリーンスポットの組織学的検索にもとづいて、86個のユニットが疑核内部または近傍にあると同定された。86個の疑核ニューロン放電は超音波発声時の放電パターンにより、2つのタイプ、55個のTonic burst unit(T-unit)と33個のPause unit(P-unit)に分類された。このうち、38個のT-unitは、背景放電を示さず、超音波発声に55(±42)ms先行して群発放電を開始し、発声の終止前42(±30)msに放電を終了した。また群発放電の持続と超音波の持続の間に正の相関($r=0.97$)がみられた。残り15個のT-unitは呼吸に同期した背景放電を示した。P-unitは主として吸息に同期した背景放電を示し、超音波発声時には放電を停止した。以上の結果は、規則的な背景放電を示すT-unitとP-unitは、それぞれ呼息と吸息に密接に関与する呼吸ニューロンで

あり、背景放電を示さないT-unitは喉頭の超音波発声筋支配の運動ニューロンであることを示唆している。

19. 新生児期片眼摘出ラットにおける迷入性同側上丘投射の網膜部位複現様式について

福田 淳, 蕭 啓方, 岩間吉也 (阪大, 医, 高次研生理)

新生児期に片眼摘出を施した成熟ラットでは残存眼から同側上丘への迷入性投射がみられる。この投射において、網膜での神経節細胞の部位配列がどの程度正確に上丘内に複現されているかを調べるため、上丘の前後および内外方向に記録電極を移動させ各部位での集合ニューロン活動を指標に、光受容野の大きさと位置を調べた。比較対照として、残存眼と反対側での網膜部位複現様式についても調べた。結果: 1) 対側上丘では健常ラットの場合と同じく、上丘の内→外側軸に網膜の下→上方軸が、また前→後方軸には側頭→鼻側軸が複現されている。2) 同側上丘での内→外側軸には対側上丘と同じく網膜の下→上方軸が複現されるが、前→後方軸では側頭→鼻側軸の場合(N=4)、逆の場合(N=2)および両者混在の場合(N=1)があった。3) 同側上丘では対側に比べ、一般に光反応が弱く受容野が大きい。4) 同側上丘ではことに内→外側方向の電極移動に際し、受容野中心の移動幅が小さい。5) 同側上丘に複現される視野は残存眼の鼻側上方視野の特定の領域に限られている。

以上の結果から、迷入性同側上丘投射には網膜の下側頭側が主として関与し、その部位からの入力はかなり拡大されて上丘に投射するが、なお一定の部位複現の規則性は保たれていることがわかった。

20. 延髄腹側網様亜核の侵害受容ニューロン

小山なつ, 横田敏勝 (滋賀医大, 第一生理)

三叉神経脊髄路核尾側亜核に隣接する延髄外側網様体は、背側網様核と腹側網様核にわけられ、それぞれ三叉神経支配領域の侵害刺激によって興奮するニューロンがある。これらのうち、背側網様核には広作動域ニューロンがみられるが、腹側網様核のニューロンは、すべて同側または両側の角膜の機械的刺激によって興奮し、耳介・舌・顔面などの侵害刺激によって興奮するものが多い。また、両側犬歯齒髓の電気刺激によって興奮するものも、ネコで見出された。同様な末梢受容野をもつニューロンは、第一頸髄尾側部

の第Ⅶ層にもあって、腹側網様核の背外側部が脊髄の第Ⅶ層に類似するとみられる。

犬歯歯髄の電気刺激によって興奮するニューロンは、三叉神経脊髄路核尾側核の辺縁部や背側網様核にもあるが、腹側網様核のニューロンの歯髄刺激に対する反応の潜時は、他のニューロンにおけるよりも長い。また反対側犬歯からの直接的な投射は形態学的にも証明されていない。したがって、間接的投射を考えなければならぬ。腹側網様核の背外側にHRPを微量注入すると、三叉神経脊髄路核の吻側核および中間核にラベルされ見出された。それは反対側にもあって、それらが三叉神経支配領域からの入力を腹側網様核へ中継しているとみられる。

21. ¹H-核磁気共鳴法による脳浮腫の研究

吉崎和男, 瀬尾芳輝, 西川弘恭, 成瀬昭二*, 堀川義治*, 田中忠蔵*, 森本武利 (京都府医大, 第一生理・脳外科*)

脳浮腫のうち, vasogenic type と cytotoxic type について核磁気共鳴法を用い, その水の緩和時間の変化を経時的に追跡した。

Vasogenic type には右頭頂葉に直径 4 mm の骨窓を開け, -80℃ に冷却した銅柱を硬膜上から30秒あて, cold injury を生じさせたラットを用いた。cytotoxic type には triethyltin bromide (TET) を 1mg/kg/day, 7 日間連続腹腔内投与したラットを用いた。正常脳組織の皮質および白質(基底核を含む)の水の縦緩和時間(T₁)は 1.1~1.2s であり, 横緩和時間(T₂)は 76ms であった。vasogenic type では損傷側の皮質および白質において T₁ および T₂ の延長化が認められた。また T₂ に関しては正常脳組織では認められない遅い緩和成分が出現し, 自由水の増加が示唆された。これらの変化は損傷後 1~2 日目が最大となり, 7~8 日後に正常値に回復した。一方, cytotoxic type では TET 投与中, 白質において T₁ および T₂ が延長し, T₂ に関しては同様に遅い緩和成分が出現した。ところがこのような変化は皮質ではほとんど認められなかった。

このように, 脳浮腫に伴う水の緩和時間の変化, すなわち自由水の変化が認められ, また発生機序による皮質と白質での相異が認められた。

22. 脳切片の NADH 蛍光量と電気活動の同時測定について

藤井崇知, S. Ji*, D. W-Lübbers** (京都府医大, 第二生理・North Carolina 大, 薬理, USA*・MPI für System, FRG**)

モルモット嗅脳切片(厚さ約 400μm)から組織ピリジンスクレオチド(NADH)蛍光量と誘発電位を同時に測定するプローブを考案したので報告する。組織 NADH 量は 2 本の石英ガラスファイバー(直径: 80μm)からなる微小 light guide を使って測定する。これは波長 360±50nm の UV に近い光を組織に照射すると NADH により 450±50nm の蛍光が出ることを利用している。電気活動は Ag-AgCl 線(直径: 300μm)を切片皮質表面に接触させて記録する。これら 2 本のガラスファイバーと 1 本の銀線を一つにまとめてプローブとした。これを脳切片に応用したところ組織 NADH 蛍光量は組織温度変化に敏感であることがわかった。すなわち低温になるにつれて NADH 蛍光量は増加する。そこであらかじめ脳切片温度と NADH 蛍光量の関係をあらわす較正曲線を作った。次にこのプローブを用いて嗅脳切片に対する低酸素効果を検討した。窒素ガス下では組織 NADH 蛍光量は増加し, 誘発電位は 2 分 30 秒で消失した。酸素ガスの供給により NADH 蛍光量は減少し, 電気活動は回復し始めた。温度較正曲線を用いて低酸素により起こった正味の NADH 蛍光量はゆっくりと増加しプラトーを形成する。

23. 間接肥満細胞脱顆粒試験 (RMCT) のアスピリン性蕁麻疹の診断への応用

谷井 司*, 岡田 忠, 藤沢正佳, 蔭山勝弘, 木下喜博, 佐々木隆晴** (大阪市大, 医, 皮膚科*・第二生理・耳鼻科**)

即時型アレルギー疾患の *in vitro* の検査法である RMCT は信頼性に異論がある。その原因として, (1)ラット肥満細胞 (RMC) の分離に用いられるフィコールなどの高密度分離溶液が IgE receptor を障害すること, (2)異種血清添加にもとづく非特異的なヒスタミン遊離 (H. R.) が抗原特異的な H. R. の検出を困難にしていることが考えられる。そこで, 改良コイルプラネット型遠心分離機で, 高密度分離溶液を用いず, 生理的に純粋分離した RMC を indicator cell として用いることにより (1)の原因を解消した。(2)の非特異的な H. R. の原因を調べるために, (a)反応液中の Ca⁺⁺ の除去, (b)ヒト血清の非働化, (c)ラット赤血球によるヒト血清の吸収操作を行ない, いずれも著明な抑制を認めたので, ヒト血清中に存在する heterophile antibody が

非特異的な H. R. の原因と考えられた。したがって、RMCT を改良し、生理的に純粋分離した RMC、赤血球で heterophile antibody を吸収したヒト血清および抗原を反応させれば、抗原特異的な H. R. の検出が可能となる。抗原としての化学構造の明らかなアスピリン性蕁麻疹患者を対象に選び、RMCT の有用性を検討中である。

24. 寒気曝露による手の寒冷血管反応の発現条件

綿貫 勝, 飯塚平吉郎, 堀 清記, 門脇一郎*(兵庫医大, 第一生理・京都府立医大, 衛生*)

成人男子を被験者として、夏および冬の午後3時頃、中和温域の室内に30分安静をとらせたのちに、左手を水平位にして風を指先よりあて寒気曝露を行わせた。30分の曝露時間を目標とした場合、空気の温度が -15°C 以下では風がない時でも30分耐えられない被験者が多かった。 -10°C 風速 40 cm/sec 以上では耐えられない被験者が多かった。 -10°C , 風速 20 cm/sec ではすべての被験者が耐えることができ左手中指末節背部の皮膚温の変化でみると寒冷血管反応がほとんどの被験者に発現した。この条件では約半数の被験者で曝露中の皮膚温が 20°C 以下に下がらなかったが皮膚温は、 $2\sim 3^{\circ}\text{C}$ の上下動をくりかえした。 -10°C , 無風状態では寒冷血管反応の発現頻度が少なく、発現した場合の反応の大きさも小さかった。左手背部中央の皮膚温は左手中指背部の皮膚温より寒気曝露中の低下度は小さく、寒冷血管反応の発現も遅くその変化度も小さかった。左手中指背部では約半数の被験者で回復期に寒気曝露前の皮膚温よりも高くなった。この現象は左手背部中央ではみられなかった。右手の中指背部、右手背部中央も左手の寒気曝露中に皮膚温が低下した。寒冷血管反応の大きさは個人差が大きかった。その個人差の順位は夏・冬であまり変動はなかった。

25. ニューギニア高地人と日本人の寒冷血管反応の比較

辻田純三, 綿貫 勝, 堀 清記, 奥田豊子*, 小石秀夫*, 藤田美明**(兵庫医大, 第一生理・大阪市大, 生活科学*・東京都老人研, 栄養**)

ニューギニア高地人 (N群) 成人男子 8 名 (27~36 歳), 8~12歳の男児12名, 女児 9 名, 日本人成人男子 20名 (M群) および沖縄出身本土在住 2~3 年の成人男子 10名 (O群) の氷水への浸漬による寒冷血管反応を測定した。N群は12月, M, O群は7月に測定した。測

定は中和温域で30分間安静をとらせた後、右手中指をよく攪拌された氷水中に30分間浸せて中指末節の皮膚温の変化を記録した。成人における血管反応発現時間の平均値はN群, O群, M群でそれぞれ10分, 8.6分, 5.9分であった。N群の血管反応発現温度の平均値は 1.2°C でM群 (4.7°C) O群 (4.9°C) より低かった。N群の平均皮膚温の平均値は 3.31°C でM群 (8.4°C) O群 (9.2°C) よりかなり低かった。

抗凍傷指数の平均値はN群, O群, M群でそれぞれ 4.9, 6.9, 7.3 であった。N群の子供の測定値を吉村らの同年令の日本人男児の測定値と比較すると、寒冷血管反応発現がおそく、血管反応発現温度および平均皮膚温は低く、抗凍傷指数も小さかった。N群の寒冷血管反応が日本人より現われにくく、抗凍傷指数が小さいことは彼らの日常生活において寒冷血管反応の発現するような寒気曝露の機会が少ないことによるものと思われる。

26. ラットの交感性循環調節系におよぼす静脈麻酔薬の影響

白幡真知子, 岡田芳和, 二宮石雄 (国立循環器病センター研, 心臓生理)

麻酔薬は循環調節系に重大な影響を与えていることが報告されている。静脈麻酔薬ケタミンは交感神経興奮作用を持つことが、間接的に示唆されてきた。そこで、交感神経活動の指標として腎臓交感神経活動 (RNA) を導出し、同時に動脈血圧 (AP), 心拍数 (HR) を観察記録して、ケタミンの交感性循環調節系におよぼす影響を調べた。

14~24週齢の Wistar 系ラット 28匹を用い、笑気一酸素一筋弛緩剤で麻酔を維持し、人工呼吸下に実験を行なった。ケタミン 1, 5, 10mg/kg 投与により RNA は一過性に減少した後増加した。AP も減少の後増加を示した。減少の持続時間と程度は投与量に比例し、25mg/kg 投与では RNA, AP とも有意の増加はなかった。HR は投与量に比例して減少した。舌咽神経および迷走神経を切断すると、ケタミン投与により、RNA, AP, HR は大きく減少した。一方、ノルアドレナリン投与により動脈血圧を上昇させ、圧受容器一腎臓交感神経系の動作曲線を調べると、ケタミン投与後の動作曲線は、傾きを変えずに右方に移動した。以上より、ケタミンは腎血管運動中枢に対して抑制的に働くこと、RNA の増加は圧受容器一交感神経系の resetting によるものであることが示唆された。

27. 虚血心伸展受容器を介する腎臓交感神経活動の反射性抑制

末広茂文, 岡田芳和, 二宮石雄 (国立循環器病センター研, 心臓生理)

冠動脈閉塞に伴う心筋虚血時, 腎臓交感神経活動 (RNA) は求心性迷走神経を介した反射性抑制を受ける. この抑制に関与する心臓受容器の存在部位を明らかにすることを目的として以下の実験を行った.

方法: 雑種イヌ15頭 (9~11kg) を用い, ネブター麻酔下に頸動脈洞除神経を行い, 人工呼吸下に開胸し左冠動脈回旋枝 (Cx) を剥離, 同時に左腎臓神経を剥離, RNA を記録した. 以下の4群においてCx閉塞 (60秒間) に対する RNA の相対的変化 (%) と動脈圧, 左房圧の変化を定量化した. I 群 (n=15): 対照, II 群 (n=10): 左冠動脈前下行枝周囲神経をリドカインにてブロック (LAD-B), III 群 (n=5): Cx 周囲神経をブロック (Cx-B), IV 群 (n=10): LAD-B, 次いで Cx-B を行った群.

結果および結論: I 群, II 群では Cx 閉塞により RNA は閉塞後30~60秒で閉塞前値より減少した [I 群: -42 ± 6 (SE)%, II 群: -34 ± 10 %]. これに対し III 群 (-3 ± 3 %), IV 群 (7 ± 3 %) ではこの減少はみられなかった. すなわち, RNA の抑制に対する LAD-B の影響は小さく, 主に Cx-B によりこの抑制が消失したことから, 心筋虚血時の RNA の反射性抑制に関与する受容器は心室壁に存在し, しかも主に虚血部心室壁に存在する伸展受容器であることが示唆された.

28. 筋長依存性の収縮性変化について—休止時間—張力曲線の立場から

久納隆一, 菅 弘之, 二宮石雄 (国立循環器病センター研, 心臓生理)

休止時間—張力曲線とは心筋標本を一定頻度で刺激後種々の休止期を設け, 再刺激1拍目の発生張力を休止時間の関数として表示したものである. 種々の陽性変力効果はこの曲線を上方に偏位させることが知られている. 一方, 心筋の等尺性発生張力は収縮性と筋長により規定されるが, 近年両者は独立でなく筋長が収縮性に影響するといわれている. そこでわれわれは休止時間—張力曲線におよぼす筋長の影響を他の変力効果の影響と比較した. 摘出ネコ乳頭筋を用い対照として Ca_2^+ 2.5mM/L, L_{max} (最大発生張力を示す筋長) の90%筋長, 定常刺激頻度毎分12回の条件で, 休止後1拍目の発生張力を定常状態の発生張力に対する百分率

で表わし, 休止時間—張力曲線を求めた. 次に①筋長増加時 (L_{max} , 95% L_{max}), ② Ca_2^+ 濃度増加時 (3.75, 5.0mM/L), ③定常刺激頻度増加時 (20, 30回/分) の休止時間—張力曲線を同様求めた. ①の場合, 曲線は, 休止30~480秒で対照に比し有意に上方に偏位し ($P < 0.01$), 12例中4例で Rest Potentiation が出現した. L_{max} と対照との差は休止120秒で最大であり17%であった. この偏位は②, ③の場合の変化と定性的に類似し, 心筋長が収縮性に影響することを従来とは別の立場から示唆する所見である.

29. 能動輸送の回路表示法

今井雄介, 村上政隆, 中張隆司 (大阪医大, 第一生理)

生体膜輸送は一つのシステムとして理解する必要がある. すなわち膜は各種成分に対するコンダクター, 相互連結および化学反応により駆動されるポンプなどの諸要素を含み, 溶液区画は静水圧, 浸透圧, 各種成分の化学ポテンシャルおよび電位を発生させる諸要素がある. これら諸要素の適当な表示と接続から膜輸送システムの回路模型ができる. 今回, 回路網熱力学に準拠して, 輸送システムの重要な要素である能動輸送の回路表示法を考察した. 能動輸送は物理化学過程では説明できない膜を介した登り坂輸送に与えられた名称であったが, 近年, 膜内での化学反応過程または他成分の受動輸送過程と相互連結して起る輸送現象として理解されるようになってきた. すなわち, システムの諸要素をさらに広い立場から増加させることにより正しい理解に達した. この膜内で起るパワーの変換連結現象の結果, ある種の成分については電気化学ポテンシャルの増大させる方向への能動輸送が起る. またその輸送速度は膜と接した溶液中の成分の電気化学ポテンシャルに依存する. これら能動輸送の特徴を考慮して, 輸送—反応, 輸送—輸送間のパワー変換器を用いた連結表示法を完成させた. これを用いて生体膜輸送システムの回路模型を報告した.

30. 液体 Na^+ 交換剤 (ETH 227) を用いた微小 Na^+ 電極の作製とその生物学的応用

梶野興三, 小寺邦彦, Kim J. Peterson-Yantorno, 森本義康, 藤本 守 (大阪医大, 第二生理)

細胞内 Na^+ 活量 (a^iNa) を直接測定する目的で, 液体 Na^+ 交換剤 (ETH 227) を用いて, 先端外径 $1 \mu m$ 以下の二連型 Na^+ 感受性微小電極を作製した. この Na^+

電極は、 Na^+ 濃度 10~100mM の範囲で、 -56.3 ± 3.2 (SD)($n=15$)mV の勾配定数を示した。検出限界は 3~5 mM であり、 K^+ に対する選択係数 (K_{NaK}) は 0.023 ± 0.012 で、 Ca^{++} に対しては $K_{\text{NaCa}}=1.585$ であった。電極抵抗は $2 \times 10^9 \Omega$ 程度で、90% 応答時間は約 5~30 秒であった。1 時間の安定性は ± 1 mV 程度、電極寿命は約 36~48 時間であった。この微小 Na^+ 電極を用いて、食用カエル縫工筋細胞、および腎近位尿管細胞の a^i_{Na} を測定した。その結果、縫工筋では、 $a^i_{\text{Na}}=14.5 \pm 3.9$ mM (膜電位 -72.5 ± 3.3 mV) の値をえた。また腎近位尿管細胞の a^i_{Na} は 8.2~24.2 mM の広範囲にわたり、膜電位 -50 mV 以上では、 $a^i_{\text{Na}}=9.4 \pm 1.2$ mM、 $-30 \sim -50$ mV では、 $a^i_{\text{Na}}=17.9 \pm 3.8$ mM の値をえた。さらに尿管周囲側から約 1 分間 10^{-4} M ウアバインを投与すると、膜電位は 6 mV 脱分極し、 a^i_{Na} は 5.8 mM 増加した。また管腔側から同濃度のアミロライドを投与すると、3 mV の過分極と、3.5 mM の a^i_{Na} の減少をみた。以上の如く本電極は細胞内 Na^+ の動きの観察に応用可能である。

31. Effect of Amiloride on the Ion Activities in the Proximal and Distal Tubule Cells in the Bullfrog Nephron

K. Peterson-Yantorno, K. Kajino, Y. Morimoto, K. Kotera and M. Fujimoto (大阪医大, 第二生理)

It is widely accepted that amiloride, a potent natriuretic agent, effectively reduces passive permeability of Na^+ in the luminal or mucosal membrane of cells of tight epithelia. Recently, Boron and Boulepaep (1981) reported that this agent acts by blocking exclusively Na^+-H^+ exchange sites of the distal tubule. Our previous studies on the bullfrog proximal tubule showed a significant effect of amiloride on luminal Na^+ permeability and a change in pH of luminal fluid. We have performed further experiments with amiloride using K^+ - or Na^+ -selective and potential microelectrodes in the bullfrog nephron.

In proximal tubule, control level Na^+ and K^+ activities averaged 17.3 and 56.5 mEq/L, with the membrane potential difference (PD) of -72 mV and -66 mV for the peritubular and luminal membranes, respectively. After luminal administration of amiloride (10^{-4} M), a hyperpolarization of the

peritubular PD by 2~3 mV, of the luminal PD by 4~5 mV, and a fall of cell Na^+ (to 13.7 mEq/L) were noted. These results support the theory that amiloride-sensitive entry of Na^+ across the luminal membrane has an electrogenic component.

In the early distal tubule, amiloride caused no change in luminal positivity (transepithelial potential with respect to the intersitium), which averaged +6.2 mV, and a hyperpolarization of 1 mV in the peritubular PD, matched by the luminal membrane change. These data suggest that the amiloride-sensitive Na^+ entry may be electroneutral, therefore supporting either Na^+-H^+ exchange or Na^+-Cl^- coupled amiloride-sensitive Na^+ entry in the early distal tubule.

32. メチルグルコース (MG) 輸送におよぼす Na^+ , インスリンおよびウバインの影響

丸中良典, 北里 宏, 村山公一, 西尾恭介 (滋賀医大, 第二生理)

インスリンが骨格筋におけるグルコースの取込みを促進させることはよく知られているが、その作用機構およびグルコースの輸送機構自体まだ不明な点が多い。われわれはウツガエル縫工筋を用いこれらの点を明らかにするための実験を行い、多少の知見をえたので報告する。Na-free Ringer 中での MG 取込みは Na-Ringer 中よりも小であったが、MG-efflux は同じ値を示した。これは、MG-influx には Na dependent な部分が存在することを示している。また、Na-Ringer 中では、インスリンは MG 取込みおよび efflux 両者を増大させた。これはインスリンにより MG-efflux 増大分以上の influx 増大があったと思われる。一方、Na-free Ringer 中においてはインスリンは Na-Ringer 中よりもさらに MG-efflux を増大させたが、インスリンによる MG 取込み促進はみられなかった。すなわち、Na-Ringer 中でみられたインスリンの MG-efflux 増大分以上の influx の増大が Na-free Ringer 中ではみられなかったことを意味する。インスリンは主に MG-influx のうち Na-dependent な部分を促進させ、またウバインにより MG 取込みが抑制されたことから考え合わせると Na-K pump と MG 取込みは何らかの関連性を持っていると思われる。

33. 培養線維芽細胞における ATP レセプターと過

分極応答

岡田泰伸, 矢田俊彦, 大野隆子, 町田高一*(京大, 医, 生理・理, 生物物理*)

線維芽L細胞は自発性過分極応答を周期的に繰返すところの膜電位振動を示す。この時の細胞内 ATP の役割を検討する目的で細胞内への ATP 注入を圧力法で行ったところ、最終細胞内濃度 0.2~5 mM の注入によっても何らの影響も見られなかった。これに対し、微小ピペットからの細胞外表面への投与により直ちに過分極応答がひきおこされた。ADP も同様の膜応答をひきおこすが、AMP, アデノシン, PNP では無効であった。酵素的に水解を受けない ATP 類似体 (AMP-PNP, β , γ -メチレン-ATP) によっても膜応答は発生し、ATP や ADP は細胞外膜表面での酵素的分解を経ずに直接細胞膜表面に作用し、おそらくこの細胞は ATP や ADP に対するレセプターを持つものと考えられる。また脱感作をお互いにもたらすところから、この二つは同一レセプターを占めるものと思われる。この細胞は、LDL や HDL などのリポ蛋白に対するレセプターおよび補体に対するレセプターを持つことはすでに報告したとおりである。したがって、自発膜電位振動は、リポ蛋白・補体・ATP(ADP)に対するレセプター電位に関係し、線維芽細胞の生理学的機能に深くかかわっていることが示唆される。

34. 視細胞の OFF 応答について

安藤啓司, 埴 功 (神戸大, 医, 第二生理)

暗順応したカエル剥離網膜に微弱光を長時間照射すると、照射終了時に視細胞より一過性の OFF 応答が発生する。この OFF 応答の特性をしらべる目的で、カエル剥離網膜を 5 mM アスパラギン酸および 0.5 mM Ba⁺⁺ を含む浸漬液に浸して、ERG の fast P III 応答のみを導出記録し、OFF 応答発生におよぼす刺激光 (503nm) の照射条件、ロドプシン含有量および背景光照射の効果についてしらべた結果をえた。1) 照射時間を一定(30秒)にして光強度を変化させると、ON 応答は光強度の増大に伴って振幅が増大するが、OFF 応答振幅は中等度の光強度の時最大となる。またこの光強度で照射時間を変化させると、照射時間の延長に伴って OFF 応答振幅は増大した。2) 約20%のロドプシンを部分退色させると、最大振幅の OFF 応答を発生させる光強度が増大するとともに OFF 応答振幅も増大した。さらに退色させると、OFF 応答の最大振幅は減少した。3) 適当な強度の 480 nm 背景光照射

により ON 応答は照射前の 1/2, OFF 応答は1.3倍の振幅になった。しかし、700nm 背景光照射 (強度は 480 nm のものと同じ ON 応答を出すように調整) により ON は 1/2, OFF は 4 倍の振幅を示すようになった。

以上の実験結果から、OFF 応答に関しては、杆状体-錘状体間の相互作用の可能性が示唆される。

35. キンギョ聴神経線維の発火様式

河瀬郁夫, 久野みゆき, 松裏修四 (大阪市大, 第一生理)

キンギョの自発活動を有する聴神経線維はスパイクが burst 状に発火するものと、そうではなく regular あるいは irregular 状に発火する線維に大別されている。この研究では burst type の線維の各種反応様式について調べた。burst type は最も高頻度に記録された。個々の burst に含まれる spike 数は同一線維にて 2~5 個の変動を示すものが多かったが、少数の線維は 8 個以上の spike を生じた。inter burst interval は先行する burst 内の spike 数が増すほど、延長する傾向がみられ、その 1 例を示すと、平均値は先行する burst 内の spike が 1 個 (single spike), 3 個, 5 個の時にそれぞれ 5.2msec, 6.8msec, 7.1msec であった。burst の interval histogram では、regular type が最も多く、この他、irregular, multimodal type などが観察された。自発放電の最小スパイク間隔は、burst type の線維では他の群に比べ小値を示し、最小値 0.36msec, すなわち、最大発火頻度は約 2800Hz であった。burst type の線維は約 200Hz 付近に特徴振動数を持つものが多く、音圧がある程度強い約 300Hz 以下の音刺激では音の各波に burst が phase-locked に応答し、それより高音では、spike が phase-locked に応答し、さらに高音では phase-locked 性が失われ、自発活動に似た発火様式をとるようになった。

36. X線微小分析法によるカエル網膜視細胞杆体の元素分布の検討

佐々木貞雄, 中垣育子, 大藪 卓, 志熊道夫*, 東克**, 東 真美*** (大阪医大, 生理・脳外*・生物** 大阪教大, 保健***)

カエル網膜視細胞の杆体においては、暗順応の状態では絶えざる電流が外節に流れ込んでおり、光刺激は視物質に作用してカルシウムのようなメッセンジャーを介して、その電流を遮断するという仮説がたてられている。今回、この仮説を検討するため暗順応および明

順応の状態のカエル網膜の新鮮凍結超薄切片を作製し、その電子プローブX線微小分析を行い、両状態の視細胞杆体外節における元素分布を明らかにした。暗順応の状態の外節のX線（エネルギー分散型）スペクトラムには高いPおよびSのピークの他に、比較的高いNaとClおよびKのピーク、また低いCaのピークが認められた。明順応の状態の外節のX線スペクトラムには、高いPおよびSのピークの他に比較的高

いKのピーク、また低いNaとClおよびCaのピークが認められた。また外節におけるこれらの元素濃度の測定を、スペクトラムのピーク/バック値と各種元素の標準検定直線を用いて行った。以上の結果は、暗順応でのナトリウム電流の杆体外節への流入および光刺激でのカルシウムの関与したナトリウム電流の遮断の可能性を示唆した。

第50回日本生理学会北海道地方会

日 時：昭和56年9月26日(土) 10:00~16:45

会 場：旭川医科大学講義実習棟第5講義室

当番幹事：旭川医科大学医学部生理学第二講座 森 茂美

1. グルカゴンの寒冷馴化褐色脂肪組織血流量への効果

八幡剛浩, 葉原芳昭, 黒島晨汎 (旭川医大, 第一生理)

寒冷馴化時の非ふるえ熱産生の亢進にはノルアドレナリン (NA) とともにグルカゴン (G) が関与する。G の熱産生促進効果は、非ふるえ熱産生部位である褐色脂肪組織 (BAT) 細胞の代謝を直接刺激する他にBAT への血流量の促進によることも考えられる。この点を明らかにするため、¹¹³Sn 標識微小球を用いてG の血流量への効果を検討した。

25℃、ヘキソバルビタール麻酔下で温暖対照群 (25℃: WC) および寒冷馴化群 (5℃: CA) についてG, NA (2 μg/5 μl/分, 30分間) 連続注入後の心拍出血量、各部位BAT への血液配分率および血流量を測定した。

心拍出血量はCAのG投与群で生理食塩水投与対照群 (S) に比べて有意の上昇がみられた。頸部、肩甲骨間、腋窩、大動脈周囲、腎周囲の各BAT への血液配分率、血流量はWA, CAともにGおよびNAで有意に上昇したが、その程度はNAで大きくであった。G, NAの血流量増加反応はCAでWAより大きくであった。しかし各部位のG, NAによるBAT単位重量当り血流量増加度には、WAとCAの間で一部のBATを除き差がみられなかった。

以上の結果は、GがNAとともに、直接褐色脂肪細胞の熱産生を刺激すると同時に、その血流量増加作用により、非ふるえ熱産生の促進に関与していることを

示唆している。

2. グルカゴンと非ふるえ熱産生

土居勝彦, 黒島晨汎 (旭川医大, 第一生理)

われわれは寒冷および暑熱馴化の成立にグルカゴン (G) が関与していること、またその作用部位として褐色脂肪組織 (BAT) が重要であることを報告してきた (Experientia 33: 240, 1977; Jpn. J. Physiol., 29: 683, 1979, Life Sci., 28: 2603, 1981)。本実験ではウィスター系オスラットを用いて、無麻酔、無拘束状態、25℃の中性温度領域下でG (100 μg/100g, ip) による酸素消費量 (閉鎖式連続自動酸素消費量測定器使用) と体温 (腹腔内埋込み温度センサー使用) の変動を同時連続測定 (G投与前60分, 投与後60分) して温度馴化によるGの熱産生作用の変化について検討した。Gは温暖対照群 (25℃) において有意の酸素消費量と体温の上昇をひきおこしたが、これらの上昇作用は寒冷馴化 (5℃, 4~5週) によって著明に促進され、暑熱馴化 (33℃, 4~5週) により抑制された。Gによる酸素消費量の増加と体温の上昇度、酸素消費量の増加とBAT重量、体温の上昇度とBAT重量との間にはそれぞれ有意の正の相関関係がみられた。すでにGによるBAT温上昇作用も寒冷馴化群で促進され、暑熱馴化群で抑制せられることを報告した (日生気誌17: 61, 1980)。したがって、以上の結果はGが非ふるえ熱産生の調節因子として寒冷馴化では促進的に、暑熱馴化では抑制的に働いていること、そしてその作用の少なくとも一部はBATを介していることを

示唆する。

3. 寒冷・暑熱への同時馴化とその代謝性機序

黒島辰汎, 八幡剛浩, 土居勝彦, 大野都美恵*(旭川医大, 第一生理・北海道教育大, 栄養生理*)

寒冷と暑熱への同時馴化の成立とその機序について検討した。Wistar系オスラットを4~5週間, 対照温暖25℃(WC), 寒冷5℃(CA), 暑熱34℃(HA), 12時間寒冷-12時間暑熱(CHA)に暴露した。各群は実験開始前18時間絶食で25℃に置いた。-5℃での結腸温の低下度はHA>WC>CHA>CAであった。酸素消費量の増加はCA>CHA>WC>HAであった。血中グリセロールは同程度の上昇を示したが, 遊離脂肪酸レベル(FFA)の上昇はHA>CHA=WC>CAであった。これらの結果はCHAが寒冷に対して脂肪代謝を介するエネルギー代謝の促進によって馴化していることを示す結果と考えられる。34℃での結腸温の上昇度は各群で同程度であり差がみられなかった。しかし熱産生(酸素消費量)の上昇はWC>CHA>CA=HAであった。CHAはエネルギー代謝の抑制により暑熱に馴化していることが考えられる。CHA, CAの熱産生の抑制には一部血管拡張による熱放散の増大, それに伴う熱負荷の減少が関係しているのかも知れない。また肩甲骨間褐色脂肪組織(BAT)の重量と寒冷による熱産生の間に正の相関が認められたから, CHAの代謝性温度馴化にBATによる非ふるえ熱産生の関与が示唆される。

4. 血漿コルチコステロン概日リズムの食餌性修飾—食餌性修飾と中枢神経系—

本間研一, 高田明生, 白石 巖, 広重 力(北大, 医, 第一生理)

ラットの給餌を一定時刻に制限すると, 数日で血漿コルチコステロン概日リズムに変化が生じる。この食餌性修飾は(1)給餌直前のコルチコステロン分泌, (2)給餌後のホルモン分泌の急速な停止, (3)暗期直前にみられるコルチコステロン概日性分泌の減弱で特徴づけられる。給餌前のホルモン分泌は一種の生物時計によるものであるが, 給餌後の急速な分泌停止は給餌の直接的効果である。明暗条件下で明期に2時間および暗期に2時間の制限給餌を1週間おこなった2群のラットについて, 食餌性修飾の(1), (2)を検討した。その結果, 食餌性のホルモン分泌は概日性分泌に累積的に生じることがわかった。これは盲目ラットのフリーラン

の状態でも確認された。次に脳幹麻酔薬であるペントバルビタールを給餌3時間前に腹腔内投与すると, 給餌前のホルモン分泌は抑制された。この薬物は正常ラットのコルチコステロン概日性分泌は抑制しないから, その作用は食餌性分泌に特異的であると考えられる。

以上の結果より, 食餌性のホルモン分泌を支配しているメカニズム(オシレーター)は概日性オシレーターとは異なるもので, コルチコステロン分泌に関してはペントバルビタール依存性である。

5. 血漿コルチコステロン概日リズムの生後発現—リズム振動の始動時期—

本間研一, 本間さと, 広重 力(北大, 医, 第一生理)

目的:(1)ラット血漿コルチコステロン概日リズムを支配する振動体の機能開始は出生前か後か, (2)母ラットの授乳リズムは仔ラット振動体の同調因子になりうるか否かを知る。

実験方法:(1)明暗条件の異なる(LDおよびDL)母から出生した仔ラットを直に盲目にし, 2匹の母ラットに交互に飼育させることにより母ラットの授乳リズムを消去する。(2)LDの母から出生した盲目仔ラットを明期あるいは暗期のみ母ラットと同居させ, 授乳リズムの位相を変化させる。これらの条件下で出現するホルモンリズムを測定した。

実験結果:(1)発現するリズムの位相は出生前の明暗条件によって2群にわかれ, LD由来仔ラットでは24時に, DL由来では14時に頂値を示した(生後4週のリズム)。(2)明期授乳ラットの4週でのリズム頂値は24時であった。一方暗期授乳ラットのリズムは2相性を示し, 12時と24時に頂値を認めたが, 6週以後は12時に相当するピークは消失した。

結論:仔ラットのリズムは出生前の明暗周期の影響を受けることから, 振動体の機能開始は出生前と考えられる。母ラットの授乳リズムの位相変化は仔ラットリズムの位相変化をおこなったことから, 授乳リズムは同調因子にはなりえないと思われる。

6. 赤血球変形能と小孔通過性の解析

菊池佑二, 新居 孝, 垣内美弘, 小山富康(北大, 応電研, 生理)

赤血球の小孔通過性を直径5μmおよび3μmの小孔通過時間を測定して検討したところ, 赤血球の変形

の度合によって赤血球の小孔通過性をきめる主因子が異なってくることを示唆する結果がえられた。5 μm 小孔の場合に比べて、赤血球が3 μm 小孔を通過する際の変形の度合は著しく大きくなる。そのため赤血球膜および血球内物質の物理的性質の変化がより顕著に赤血球の小孔通過時間に反映されると考えられる。この知見の応用として赤血球の3 μm 小孔通過時間を測定して以下の結果を得た。赤血球を生食水に浮遊させ赤血球表面に吸着している血漿蛋白質の量を減少させると、5 μm 小孔の場合小孔通過性が改善されるのに対し、3 μm 小孔の場合往々通過性が損なわれることが見られた。ペントキシフィリンの作用は5 μm 小孔の場合不明確であったが、3 μm 小孔の場合明らかに通過時間を短縮させる効果が認められた。高脂食ウサギの赤血球の3 μm 小孔通過性は著明に低下しており、それに対しVE-ニコチネートを高脂食餌と並行して静注投与(9 mg/kg, day)すると、小孔通過性の低下が防げるだけでなく、かえって改善されることが見られた。VEに赤血球膜に直接働く作用があるものと思われる。

7. 金魚血液の膠質浸透圧におよぼす塩水の効果

垣内美弘, 新居 孝, 菊池佑二, 小山富康 (北大, 応電研, 生理)

環境液と体液との間に浸透圧差をもつ魚類は、巧妙な水分調節機構により内部環境の恒常性を維持している。その機序解明への手がかりをえるために、淡水魚におよぼす塩水の効果を細胞内液、細胞外液について調べてみた。体液量の変化には体重(BW)を、細胞外液の変動は血液の膠質浸透圧(COP)およびヘマトクリット値(Hct)を指標として、水道水0.5%および1%の食塩水中で飼育中の金魚と比較した。採血は1日1回約0.1ml(プラズマ量の約10%に相当)エラに出血させて行った。BWは水道水中で1日当り1.7%の増加となったが、0.5%液中で-1.1%、1%液中では-3.7%と減少した。一方COPは-11%、-14%、-21%、Hctも同様に-18%、-24%、-33%と減少して著しいhemodilutionを呈した。水道水中でのBWの増加は採血による失血を補償するためのhypovolemic drinkingによるものであり、また食塩水でBWの減少はosmosisによる脱水が原因であろう。COPやHctに反映されている食塩濃度に応じたhemodilutionの進行は、hypovolemic drinkingの結果として生じた血中塩水濃度の上昇による飲水刺激(THIRST)が原因

と考えられる。

8. 肺微小血行動態

小山富康, 菊池佑二, 堀本和志, 垣内美弘, 新居 孝 (北大, 応電研, 生理)

カエル肺の微小血管床とTV顕微鏡を用いて検討した。径数十 μm の末端細動脈から約20 μm ごとに血球は肺毛細血管床へ吹き出すように流出する。肺胞細胞は海面に浮かぶ小島のように分布し、その周囲の空間が肺毛細血管を構成している。細動脈から噴出した血球は金魚の群のように流出し、肺胞細胞に衝突すると左右いずれかの分岐血管へと流れ込む。なかには分岐点に掛かって屈曲した垂鈴状に変形し、いずれの毛細血管へも進むことのできない血球もあらわれる。しかし白血球は殆ど変形することなく球形のまま流れていく。照明光の方向を変えると血管床の凹凸を明確にすることができる。毛細血管は肺胞細胞を囲んでパイプラインのように蛇行する様子が観察される。肺表面上に気体導入用の小孔を備えたプラスチック円板をおき、円板内に湿った30%、100% CO₂を導入すると毛細血管内の血流は約10分後に停止した。血球は個々の弁別不能なほどにパックされる。ついで空気を導入すると5秒後には解離しはじめ、血球は流動を開始した。カテーテルをとおして過剰の空気を導入して、肺内圧を5~7 cmH₂Oにまで高めると、毛細血管の血流速度は小さくなる。白血球は細動脈内壁上をころがり、毛細血管床への開孔に接触する機会が多い。赤血球よりも短い時間で、肺毛細血管床へと流出した。

9. 圧反射系を介した心拍数調節における位相特性

高橋英嗣, 大沼英雄, 山本克之, 三上智久 (北大, 応電研, 生体制御)

迷走神経に心周期の様々な位相でバースト状の電気刺激を加えた場合、心周期の延長の度合は刺激の位相に依存することが知られている。このような位相依存性は心拍数をbeat-to-beatで調節しているといわれる圧反射系を介しても存在するだろうか。本研究ではイヌを用いウレタン・クロラロス麻酔下に頸動脈洞圧受容器の拍動流による灌流を行いこれを検討した。まず、心周期の適当な位相でパルス的な圧波形により灌流を行ない心周期の延長が、灌流時の呼吸位相によりどのように変調されるかを調べた。つづいてECG・P波に同期し各心周期の様々な位相で灌流を行い、それに対する心拍間隔から位相依存性の定常的な応答

を、さらに、ある一心拍に対してのみ灌流を行ない過渡的な応答を調べた。実験により圧反射系を介し求心性の位相情報が心拍間隔を変調することがわかった。また、この応答はアトロピン投与により消失した。このような圧反射系の位相特性により完全 AV ブロックや心移植時あるいは、人工心臓駆動時においてみられる洞リズムの引き込み現象 (entrainment) が説明しうると思われる。

10. 多目的超小型デジタルレコーダによる無拘束生理情報計測と分析

柴田政広, 島津秀昭, 川原田淳, 田中志信, 山越憲一, 神谷 瞭 (北大, 応電研, メディカル・トランスデューサ部門)

各種生理情報を無拘束状態で長時間計測することの重要性は多くの分野で高まってきているが、従来の方法では、その測定範囲の制限や情報量の面で多くを望めないことが多かった。また、運動負荷時における心肺機能の分析を行う場合も、従来は実験室内での測定が主で、その運動の種類も限られている。筆者らは、近年進歩の著しい半導体記憶素子を利用した無拘束データ収集法を考案し、生理情報として心拍数、呼吸数、体温、また測定時の行動と環境に関連した情報として毎分歩数、外気温、騒音などのうち任意の4情報が選択測定記録できる小型簡易な多目的デジタルレコーダを試作した。

試作装置を用い、日常作業時、フィールドワーク時、ジョギングなど運動時を含む各種生理情報の長時間計測を行い、その使用性能、測定不可発生頻度などについて検討した結果、特殊な環境下や運動時でも十分に実用に供しうるものであった。また、えられた各情報から日内変動分布を調べるとともに、ジョギングを含む運動時や睡眠時における変動の分析を行い、無拘束計測分野での本装置の有用性を確認した。

11. 耳下腺唾液の分泌と pH の連続記録

玉川恭子, 猪股孝四郎, 伊藤克之, 中村治雄*, 倉橋昌司*(東園大, 歯, 生理・口腔生理*)

舌を酸刺激したとき、耳下腺からの唾液分泌に関しては多くの研究報告があるが、そのときの pH の変化についての報告はあまりみられない。われわれは耳下腺からの唾液分泌時の pH の変化を直接、連続的に記録することを試みた。これに用いる pH 電極および不閉電極は共に小型のものが望ましいが、直径 1.6 mm

の pH 電極と直径 2 mm の不閉電極を入手できたのでこれを用いた。次に、両電極を採唾管に装置する器具も種々試作したが結局は直径(内径) 1 mm のものを用いると一番能率がよかった。すなわち、耳下腺開口部から pH 電極に至るまでの間で直接 pH 電極に作用しない唾液の量は約 40 mm³ であり、pH 7 の標準液の流通試験で pH の最大変化の 75% に至るまでの時間は 3.5 秒 (10 回平均) であった。この装置を用いて 3% 酒石酸で舌背を刺激したときの耳下腺からの唾液分泌時の pH 変化をみると、刺激後唾液の分泌が開始すると、それまではほぼ pH 7 を示していた pH は 6.95 に一時下がり、約 7 秒後には再び上昇し、約 1 分後には pH 7.3 位となり、その後、少し下がる傾向を示した。これらのことから唾液の分泌量の増減と pH の上昇、下降との間には類似的な関係はみられなかった。

12. 構音筋活動のコンピュータ解析

米沢功至, 亀田和夫 (北大, 歯, 口腔生理)

構音筋の一つである口輪筋の活動を、筋電図、口唇の変位量、口腔内圧によって解析した。筋電図の解析は、これを定量化するための自作のプログラムを用いて、波形解析装置 (ATAC-450) によって行なった。Integrated EMG および Fitch の原理による電位累積値 (アンプリチュード値) にそれぞれ対応する処理値を計算し、それらを筋の電気的活動量とした。実験は、口唇の突き出しを変位計によるコントロールの下で行ない、その時の筋電図を記録した。また、口腔内圧とその時の筋電図も記録した。筋電図の処理値は、変位に対してはおおよそ比例関係をもっていた。また、口腔内圧については、比較的弱い圧では大きな増加率を示すが、中等度以上の圧では活動量はわずかに増加するのみであった。これらのことより、口輪筋は、いかなる程度の変位にも、その活動は関与していると考えられた。しかしながら、口腔内圧については、その関与するのは主にその弱い圧の範囲であり、中等度以上の口腔内圧においては、他の筋、特に頬筋などの関与があると考えられた。

13. 両生類の胃平滑筋における興奮収縮連関

篠原義文, 小坂 功*, 小原一男*, 藪 英世*(札幌医大, 第一外科・第一生理*)

従来、消化管平滑筋の収縮の活性化 Ca⁺⁺ の起源としては、細胞外あるいは細胞内の stored Ca⁺⁺ が考えられている。われわれは、活性化 Ca⁺⁺ の起源に注目

しつづつ、ガマガエルとウシガエルの胃平滑筋の輪状筋細束を用い各種収縮について検討した。1) K 拘縮, ACh 拘縮はきわめて経過の速い phasic 収縮のみを示し, 外液 Ca^{++} 除去に対し, 後者の方がより抵抗性を示した。2) K 脱分極下の ACh 拘縮, Caff 拘縮は, K 拘縮直後に著明に抑制されたが, さらに脱分極を持続させると次第にあるレベルまで回復した。低濃度 (30 mMK) K 脱分極後の 117.5mMK 拘縮も同様の経過で変化した。3) $Ca(-)30mMK$ で conditioning した後の 117.5mMK 拘縮は, 徐々に 10~20% 程度に抑制された。4) Ca 拘縮は, $Ca(-)117.5mMK$ 添加時の K 拘縮発生の有無で異なり, 拘縮が起きた時の方が著明に抑制された。5) Procaine は, K, ACh, Caff 拘縮, さらに K 脱分極下の ACh, Caff 拘縮, Ca 拘縮をも抑制した。以上の結果より, ACh 拘縮においては, その活性化に主として細胞内の stored Ca^{++} の遊離が, また K 拘縮, Ca 拘縮においても一部は細胞内の stored Ca^{++} の遊離が関与しているものと思われ, その遊離機構には外液から流入した Ca^{++} が関与す, いわゆる Ca-induced-Ca release 機構の存在が示唆された。

14. 筋伸張による神経筋伝達の促通効果におよぼす脚延長の影響

青木光広, 太田 勲*, 藪 英世* (札幌医大, 整形外科・第一生理*)

カエルの下腿に脚延長手術を施行し, 手術後約 4 週間経過した個体から, 坐骨神経-腓骨筋からなる神経筋標本を摘出し, 筋伸張による神経筋伝達の促通効果におよぼす脚延長の影響を, mechanical recruitment 効果および M. E. P. P., E. P. P. の面から検討し, 以下の成績をえた。

1. 15%の脚延長により, 延長脚標本の mechanical recruitment 効果は著明に低下した。また, 同標本において, quantal content および M. E. P. P. の frequency に関し, 筋伸張による神経筋伝達の促通効果は有意に低下した。

2. いずれの例においても, 延長脚標本における M. E. P. P. の amplitude と健脚標本におけるそれとの間に有意な差は認められなかった。

以上の成績より, 脚延長により神経筋接合部の presynaptic side に quantum 放出の低下が生ずることが明らかにされた。一方, postsynaptic side は, ほとんど影響を受けないことが推測された。

15. 平滑筋細胞の電顕像—特に収縮・弛緩にともなう収縮性線維の形状変化について

森谷 恵 (札幌医大, 第二生理)

生理的な収縮, 弛緩に対応して, 平滑筋細胞の微細構造, 特に収縮性線維の構造や, 分布がどのように変化するかを明らかにするため, モルモット胃の輪走筋標本について, 各収縮状態での電顕像を比較検討した。摘出した筋条片の K—拘縮の最大収縮期 (phasic 相) と, それに続く低い持続性収縮期 (tonic 相) で固定した。対照として, アドレナリン添加などにより自動運動の消失した時期 (rest) で固定した。筋条片を等尺性に保持して刺激しても, phasic 相では, 標本の部位によって筋細胞が短縮しているところや, 伸展しているところがみられたが, このいずれの細胞でも, thick filament が rest のものに比べ明らかに細くなっていた。thin filament は rest では規則正しい結晶状配列をなしているが, 短縮した細胞では, thin filament 間隔が広がっていた。tonic 相で固定された細胞では, thick filament は太く, 電子密度の高い状態に戻っていたが, thin filament に関しては, 結晶状配列には戻っていなかった。短縮と弛緩状態で, thick-thick filament 間隔を計測したところ, rest では約 80nm 離れたところの分布が最も多いのに対し, 短縮時には, より近距離での分布率が増していた。短縮時に, thick filament が thin filament 間に入り込むような機構を示唆しているように思われる。

16. プロスタグランジンの腸管運動亢進作用

石沢光郎 (札幌医大, 第二生理)

E 型および F 型プロスタグランジン (PG) はヒト経口および血管内投与により腸管運動を亢進する。このような腸管運動亢進作用の機序を明らかにする目的で, 摘出モルモット結腸分節標本 (長さ 4 cm) の内腔に挿入した bolus (5×10mm) の推進運動から PG の作用を検討した。その結果, 16(R)methyl PGE₁ (M-PGE₁) 10⁻⁹—10⁻⁶M は濃度依存性に口側から尾側へ向う推進運動を亢進した。また, 同時に測定した長軸 (縦走筋) の張力増加はこの亢進作用に先行する。なお, 推進運動亢進作用はアトロピンやテトロドトキシン (10⁻⁶M) で消失した。

一方, 同標本から分離した縦走筋と輪走筋条片 (2×10mm) に対する M-PGE₁ (10⁻⁹—10⁻⁶M) の作用を検討すると, 縦走筋は収縮反応を, 輪走筋は弛緩反応を示した。しかし, これらの作用はアトロピン (10⁻⁶M)

の影響をうけなかった。

以上の結果から、M-PGE₁による推進運動の亢進作用は腸管内在神経を介して起こることを示している。またその機序はM-PGE₁の縦走筋収縮が二次的に腸管内在神経を刺激することにより推進運動反射が惹起され、その結果口側の輪走筋がM-PGE₁の筋直接作用の弛緩反応を上廻る強い収縮を起こすためと考えられる。

17. 指の交互運動における学習効果

高橋憲一, 大野幹夫, 福島菊郎, 加藤正道 (北大, 医, 第二生理)

運動の習熟過程を解析するために指で交互に鍵盤を打つ動作をとりあげその学習効果について筋電図学的な解析を試みた。健康な被検者をピアノやタイプに習熟している群(習熟者群)とそうでない群(非習熟者群)にわけ、一側の母指と薬指、および両側の人差し指で鍵盤を交互に打つ指示が与えられた。打鍵の頻度は(1)あらかじめ指示された頻度(0.5, 1, 2, 3, 4, 5 Hz)で打鍵する。(2)できる限り速く打鍵するの2つの課題を与えて打鍵させた。打鍵のパターンと指の主働筋である屈筋と伸筋の筋活動は表面電極でそれぞれ同時に記録した。打鍵の頻度が低い時、屈筋と伸筋の筋活動は交互によく分離して現われたが打鍵の頻度が高くなると時間的に同期して両者の活動する部分が生じた。さらに頻度が高まると同期して活動する部分が頻発しバックグラウンドにみられる筋電図活動が増大した。この時、打鍵頻度の不規則性は最大となった。習熟者群は非習熟者群に比べてより高頻度の打鍵が可能であり、筋電図上でもbackground activityや屈筋と伸筋の筋活動が同期してあらわれる部分がより高い打鍵頻度の時に発生した。

18. 大脳補足運動野ニューロン活動のlateralityについて

蔵田 潔, 丹治 順 (北大, 医, 第二生理)

運動の遂行に関係したニューロン活動は動作している四肢と反対側の大脳中心前回の運動野(4野)においてのみならず、同側の運動野にも存在することが知られているが、その活動は反対側に比べて小さい。

今回のわれわれの実験では6野内側の補足運動野について同側および反対側のニューロン活動を調べることが目的とした。まず動作する四肢と反対側ならびに同側の補足運動野における上肢領域と下肢領域とをそ

れぞれ同定した後に、運動肢と同側、反対側の補足運動野のニューロン活動を比較した。

赤毛ザルを光刺激に応じて右足首関節の伸展によるペダル押し動作を行わせるように訓練した。サルには十分な固定を加えて、ペダル押しに際し筋活動が右下腿に限局するように工夫を加え、それを筋電図記録により確認した後、微小電極によりニューロン活動を記録し、その応答を解析した。その結果、運動に先行して発射活動に変化のみられるニューロンは、反対側の補足運動野では記録した174個のニューロンのうち75個(43%)にみられたが、同側の補足運動野では98個中のわずか9個(9%)であり、さらに同側性ニューロンの発射活動の変化の大きさは反対側に比べて小さいことが明らかとなった。

19. カハル間質核刺激に対する前庭核ニューロンの応答

福島菊郎, 高橋憲一, 大野幹夫, 加藤正道 (北大, 医, 第二生理)

カハル間質核と前庭核は解剖学的に密接な線維連絡を有する。われわれは最近前庭核に投射する細胞の位置をカハル核周囲で同定し前庭入力解析した。今回はそれらが前庭核内でどのような効果をおよぼすかを調べるためにカハル核部の微小刺激に対する前庭核細胞の応答を解析した。実験はガラミン非動化クロロコース麻酔除小脳ネコを用い、タングステン微小電極をカハル核部で前庭核投射細胞が逆行性に記録できる部位に固定した。前庭核細胞は両側前庭神経と各半器官の個別電気刺激、脊髄C₁と橋および中脳内側縦束の逆行性刺激により、細胞の性質および投射部位を調べた。成績:カハル核の微小刺激は同側前庭内側核細胞の大多数(自発発射細胞の約80%)に興奮あるいは抑制効果を与え、効果的刺激部位は、前庭核投射細胞のある部位に一致していた。興奮を受けた細胞の約20%は応答潜時1.2~1.8 msで単シナプス性興奮と考えられた。応答は脊髄に投射する細胞群と内側縦束を上行する細胞群の間で差はなかった。カハル核の刺激効果は、3つの半器官のいずれに反応する細胞にも同様に認められたが、それらのうち、対側前庭神経刺激で興奮を受けた細胞は、抑制を受けたものより、カハル核から興奮を受ける頻度は有意に高かった。

20. 前根後根無傷ネコにおけるα運動細胞の同定

熱田裕司, 坂本尚志*, 森 茂美* (旭川医大, 整形

外科・第二生理*)

前根・後根・末梢神経を無傷に維持したネブタール麻酔ネコで、後肢筋支配の筋肉内神経末端部刺激により α 運動細胞の逆行性同定が可能であるかを検索した。刺激電極として筋活動導出用の直径 50μ ステンレス線を筋腹内に電極間距離 5mm で2本、皮下針を用いて埋め込んだ。その先端から単一矩形波電流を通电した。この方法により目的とする筋肉内神経末端部を選択的に刺激することができた。 α 運動細胞の細胞内電位は、 3MKCl 封入ガラス管微小電極を用いて導出記録した。本研究では、外側・内側腓腹筋、ヒラメ筋、大腿二頭筋支配の α 運動細胞を同定した。筋肉内同一刺激部位から通常 $6\sim 7$ 個の α 運動細胞が逆行性に同定できた。刺激電流を閾値から次第に増強すると多くの細胞で最初にEPSPが出現し、次に細胞は逆行性スパイクを発射した。同定できた66個の細胞について、刺激の持続時間を 0.01msec から 1msec まで変化し、強さ-時間($i-t$)曲線を求めた。それらは末梢神経直接刺激の場合と同様な曲線を示したが、刺激強度は神経直接刺激の場合と比較して約2倍を要した。また同一筋支配の α 運動細胞についてみると、 $i-t$ 曲線はほぼ平行にばらつく傾向が見られた。この場合、えられた運動神経伝導速度は平均 73.6m/sec であった。

21. 中脳ネコの姿勢調節におけるダイテルス核細胞の機能的役割

富山知隆, 河原剛一*, 森 茂美* (旭川医大, 耳鼻科・第二生理*)

中脳ネコは反射直立姿勢を維持する。そのさい橋中心被蓋野背側部(DTF)に微小電気刺激を加えると後肢の筋緊張レベルは一過性に低下し刺激後もその状態を持続する。また一過性姿勢変化の程度は刺激の強さと刺激前の筋緊張レベルに依存し、刺激が強ければ急激な姿勢変化をひきおこす。このDTF刺激を直立姿勢への中枢性外乱として用い、ダイテルス核細胞の活動様式を解析した。ダイテルス核細胞活動は微小電極で細胞外から導出記録し、腰部刺激で逆行性に同定した。姿勢外乱に対する姿勢応答は後肢抗重力筋の筋活動を導出し、さらに後肢に加わる力の変化をカトランスデューサで導出記録し評価した。

反射直立姿勢を維持しているさい、ダイテルス核細胞は持続性発射活動(平均 17Hz)を示した。それらは一過性姿勢変化に対応してその発射頻度を増強する傾

向を示した。さらにその発射活動がpeak frequency(PF)(平均 51Hz)に達するまでの時間は一過性姿勢変化が急激な場合には短縮し、逆にそれらが長時間で緩徐な場合にはPF時間は延長する傾向を示した。

以上の成績から、ダイテルス核細胞の多くは中枢性の姿勢外乱を加えたさいに、姿勢変化のvelocity componentに依存してその発射活動を増強していることが推定された。

22. 中脳歩行誘発野の機能的構築—筋緊張調節に関して—

坂本尚志, 河原剛一, 森 茂美, 富山知隆*(旭川医大, 第二生理・耳鼻咽喉科*)

歩行標本の中脳歩行誘発野は、楔状核(Nucl. Cuneiformis)に相当し、内外側方向約 1.5mm 、背腹側方向約 1mm 、吻尾側方向約 1.5mm の広がりを持つ。この部位の刺激で誘発される歩容が、その際の四肢の筋緊張の程度に依存していることが観察された。今回は歩容の変化と筋緊張の相互関連に注目して解析を試みた。

微小電極を楔状核の中心部(Horsley-Clarke軸, Lor R4, P1.5, H ± 0)を基点とし、3次的に 0.5mm 間隔でsystematicに移動し、おのおのの部位に矩形波刺激(0.2ms , 50Hz , $30\sim 50\mu\text{A}$)を加えた。誘発された歩容は後肢伸屈筋から導出した筋電図を指標として解析した。筋緊張の変化は同一歩行標本で静止床面上直立時に、後肢筋活動と接地面上の力の変化を記録し解析した。

楔状核背外側部吻側の刺激では、しばしば誘発された歩行が刺激中にもかかわらず停止した。筋緊張レベルの変化も、ほぼ同様な時間経過で増強し、また減弱した。内側部刺激では、歩行は刺激中のみ持続し、筋緊張増加は刺激中持続し刺激後、刺激前の値に戻った。

これらの成績から、(1)四足歩行運動の発現と筋緊張レベルが機能的に関連していること、(2)中脳歩行誘発野が機能的に異なる部位より構成されている可能性が明らかとなった。

23. 中脳歩行誘発野と筋緊張レベル設定機構との接続様式

河原剛一, 森 茂美, 富山知隆*(旭川医大, 第二生理・耳鼻咽喉科*)

歩行標本の中脳歩行誘発野(MLR)に微小電気刺激

を加えると踏み車上で歩行運動を誘発できる。その際、MLR 刺激は歩行標本の筋緊張レベルが高い場合にはそれを減弱させてから、低い場合にはそれを増強させてから歩行運動を誘発する。一方、橋中心被蓋野背側部 (DTF) への刺激は筋緊張レベルの持続的減弱をもたらす、腹側部 (VTF) への刺激はその持続的増強をもたらす。今回は、MLR と DTF および VTF 間の神経接続様式を探るために、(1)MLR および橋中心被蓋野にそれぞれ微小電極を刺入し、脳幹内でそれらを systematic に移動させながら刺激効果を確認した。

(2)一方を刺激、他方を記録電極として用い、刺激と記録とを切り換えて field potential (FP), ユニット電位を記録した。DTF 刺激によっては MLR の背側部にほぼ限局して逆行性の FP が記録され、逆に MLR の刺激では DTF から逆行性の FP とそれに続く順行性のユニット電位が記録できた。また、VTF 刺激によっては MLR のほぼ腹側部に限局して逆行性の FP およびそれに続く順行性の FP が記録できた。逆に MLR 刺激では VTF で順行性のユニット電位が記録できた。神経伝導速度は共に約 7 m/s であった。



〔会報〕

日本生理学会昭和56年度第2回常任幹事会議事録

日時：昭和56年12月19日(土)午後1時半～6時

会場：学士会館(本館)

出席者：広重 力，加藤正道，田崎京二，鈴木泰三，本間三郎，高木貞敬，新島 旭，本郷利憲，伊藤正男，星 猛，島津 浩，酒井敏夫，真島英信，塚田裕三，竹内 昭，古河太郎，入沢 宏，内藺耕二，御手洗玄洋，岩間吉也，中馬一郎，藤本 守，久野 宗，中山 沃，及川俊彦，大村 裕，瀧瀬教三，菊地隼二，勝木保次，村上元彦
議長：伊藤正男(当番幹事)

1. 報告

1. 庶務報告(伊藤庶務幹事)：会員につき昭和56年1月より11月の期間入会247名，退会75名，会員総数3,195(一般会員2,916名，評議員888名，特別会員21名，名誉会員1名，準会員257名)であることが報告され，鈴木正夫特別会員の逝去に対する追悼の辞が述べられた。

名取礼二氏が文化功労者に選出された。

研究助成援助推薦について山田財団援助Aに塚原仲晃，Bに中井正継の両氏，日産科学財団に竹中敏文氏を推薦した。国際生理科学連合事業の募金について昭和56年5月より11月の期間，総額967,000円の協力が得られた。

2. 会計報告(星 会計幹事)：昭和56年11月末日迄の会計中間報告がなされた。

3. 日本生理学雑誌編集報告(酒井編集幹事)：日生誌(和文)の発刊及び編集状況が報告された。昭和57年度第44巻より生理学論文表題集は，日生誌と切り離して印刷されることになった。

4. J. J. P. 編集報告(入沢編集委員長)：J. J. P. の発刊及び投稿の現状が報告された。

5. 教育委員会報告(菊地委員長)：生理学実習書改訂版の進行状況，英文版の出版について，酒井，大村両幹事を中心に進めている。第59回生理学大会に於いて教育シンポジウムは中止になったが解説講演内容の執筆依頼及びビデオ記録をすることを計画している。生理学カリキュラムに関する再調査を行いたいと考えている。

6. 会則委員会報告(島津委員長)：臨時会員制度設置案について報告された。

7. 選挙管理委員会報告(島津委員長)：文部省科学研究費審査委員の予備選挙の開票を9月18日，本選挙

を10月5日に行い，第一段審査委員候補者として，生理学一般に富田忠雄，真島英信，渡辺 昭，神経筋生理学に佐々木和夫，高木貞敬，環境生理学に入来正躬，中山昭雄，村上 憲の各氏を推薦した。

8. 用語委員会報告(酒井委員長)：各専門委員より送られた生理学用語の検討整理を行っている。出版は予定より遅れる。

9. 日本生理学教室史編集委員会報告(酒井委員長)：57年6月完成のための協力が要請された。

10. 国際生理科学連合及び生理科学研究連絡委員会報告(勝木理事)：発展途上国における生理学教育の促進に対する援助募金についての学会の協力に対して謝辞が述べられた。

IUPS 大会開催地に関して1983年シドニー，1986年バンクーバー，1989年には，フィンランドと日本の両国があがっていることが報告された。

56年11月28日大阪大学に於て生理研連のシンポジウムを行った。IUPS の役員の任期満了による交替についてIUPS 内に委員会が設けられた。

11. 生理学研究所について(内藺幹事)：岡崎国立共同研究機構の改称ともなう生理学研究所の運営内容について詳しい説明がなされた。

12. 第59回日本生理学大会に関する報告(塚田，村上両当番幹事)：昭和57年3月30日～4月1日，慶応大学日吉校舎で開催される日本生理学大会の計画概要が報告された。

13. 第60回日本生理学大会に関する報告(岩間幹事)：昭和58年4月5日～7日大阪大学教養部校舎を考慮中である。

14. その他

医学会総会の分科会長の選出法につき，総会開催年の生理学大会当番幹事のきまった時点で当番幹事の互

選によるものとする事が申し合せられた。

第21回日本医学会総会に岩間幹事が分科会長をつとめられることとなった。

II. 議 題

1. 前回議事録の承認：承認された。

2. 特別会員推薦の件：大村，加藤両幹事より，問田直幹，藤森聞一両氏の紹介があり57年度の評議員会，総会に提出されることになった。

3. 臨時会員の開設について：従来の会則の一部字句訂正を併せて57年度の評議員会に提案されることになった。

4. 生理学教室史の出版印刷費について：終戦迄の教室史出版の印刷費用について，いくつかの方法が話しあわれたが，具体的な見積りを次回に提出し審議されることになった。

5. 生理学の将来像に関する委員会について：委員会設置に関する種々の問題点が長時間論じられ，継続審議されることとなった。

6. 国際生理科学連合事業の募金について：当初の目標額100万円の不足分を国際交流基金より支出することになった。

7. 第61回日本生理学会大会開催地について：群馬大学での開催が承認された。

北米神経科学協会に出席して思ったこと

東京大学医学部第一生理 伊 藤 正 男

昨年10月19日から23日にかけてロスアンゼルスで行われた北米神経科学学会に出席して帰ってきました。10日程の短い旅でしたがいくつか印象深いことがありましたので，日本生理学会の皆様へ御報告したいと思います。筆をとりました。昨年5月オーストラリアへ参った時の報告についてはいろいろな方が御意見をお寄せ下さいました。この小文についても忌憚のない御意見をたまわれれば幸いです。

〈古きよき時代〉

10月19日の夜会長主催のシンポジウム「近代神経科学の起源」が行われました。3,500人が埋めつくした大きな教会の演壇にまず Hubel と Wiesel が立ってノーベル賞受賞の挨拶をしました。満場総立ちの拍手には，今度の受賞が当然のことであり，むしろ遅きに失したという気持と，これによって神経科学，とくに生理学領域の研究が久し振りに評価されて皆が引き上げられた (lifted up) と感じている気持がよく表われていました。シンポジウムの第一番の演者 Cole 氏は「ボルテージ・クランプの起源」について話しました。交流ブリッジを使ったインピーダンス測定の有名な実験につきボルテージ・クランプ法を思いついてこれを改良していった経過を述べ，そして得られた内向き電流と外向き電流の曲線，I-V プロットのスライドを示しました。当時ホジキンがシカゴの Cole 氏の研究室にやってきてそのやり方を教わっていき，Na 電流と

K 電流をわける実験を行ったいきさつが淡々とした語り口で述べられ，最後にウッズホールで使った1万匹のイカに感謝するとの軽妙で感動的な言葉で締めくくりました。万感胸に迫るものがあるといった素晴らしい話でした。ついで Eccles 氏が「電気シナプスから化学シナプスへ」と題して Dale や Feldberg らの化学説が台頭して，初め一般的に電気説を信奉していた電気生理学者たちがどのようにして考えを次第に修正していかざるをえなくなったかの経過を語りました。脊髄抑制についての golgi II 型細胞仮説を立てたが，IPSP の発見によって自らそれを撤回した経過はまことに劇的なできごとでした。Eccles 氏は元氣一杯で張りのある声に昔のままの精気を感じさせました。3番目に Levi-Montalcini 女史が神経成長因子を発見した経過について話しましたが，昔の話よりも最近している仕事の話に夢中になり，何枚ものスライドを次々と出し，腕を振り上げてしゃべりまくるのにいささかびっくりしました。容姿端麗な上品なおばあさんに見える女史のこの猛烈さはさすがにあれだけの仕事をした人だと思わせるものがありました。最後に Hubel が「大脳視覚領の構造と機能」という題で視覚領に微小電極をさし入れた経過を話しました。大脳の機能局在論が脳外科の領域で盛んに論じられ，生理学でも誘発電位による研究が盛んであった当時，単一神経細胞の活動の記録を如何にして思い立ち，やり始めたのかという話でした。いまでは当り前のように使われている実験

パラダイムが1960年代に実際に動き出したのはやはり大きな歴史的なできごとであったと痛感させました。Hubel氏は「古きよき時代」について話せと注文されたが、いまこそよき時代ではないのか。20年前にこんな話をしてもせいぜい20人位の人しか聞いてくれなかったが、いまはこんなに多勢の人が聞いてくれる。もっとも少し混みすぎているが」といって聴衆を笑わせました。

Hubel氏の話にも出てきましたが、無麻酔のサルの大脳のニューロンから単一発射を初めて記録したのはJasper氏です。同氏は次の20日夜の会合でRalph W. Gerard賞(副賞2,000ドル)を贈られました。ロスの大会のあとサンフランシスコ近くのモントレーで「条件づけ」のシンポジウムが行われ私も出てきましたが、この会でJasper氏が「何故最初にあのような素晴らしい工夫をしておきながらそのままつづけなかったか」と少しひやりとするような質問を受けました。Jasper氏は苦笑しながら「すさまじい量のデータに埋まってしまって当時のこととてコンピューターもなく身動きがとれなかったのが第1、国際脳研究機構創立のため走りまわらなければならなかったのが第2の理由だ」と答えていました。

10月22日夜シナプスのグループディナーがあり、グランドフェスト氏が主賓ということで参加しました。私は遠来の客ということで同氏の隣りに坐わらせられ、多勢おられるお弟子さんに申し訳ないような気持でしたが私にとってはこんなに嬉しいことはありませんでした。毎日気楽にやっているよといっておられました。食事の後演壇に立って静かな口調でシナプス研究の初期の話しをされました。

北米神経科学学会は若い人の会です。6,000人の参加者の平均年齢をとれば随分低い所へ行くでしょうし、理事会や委員会も比較的若手が活躍しています。その会でこういう風に昔の話を一杯きかされるというのは一寸驚きでしたが、あとで考えるとこれはやはり有意義な企画だったと思います。若い人々にとっては教科書の中で名をきいた人々が目の前で熱っぽい口調で語るのを見ることだけでも大きな意味があるのでしょう。ある人は自分の未来の長い年月をこれらの人々の歴史に重ね合せて想像するかもしれません。あるいは、昔のことは昔のこととして、これから作り上げるべき歴史について想いをはせることでしょう。そして、われわれの年代の人間もまた、われわれ自身がとおり抜けて来た時代が一体どんなものであったかにつ

いてあらためて認識を深くすることでしょう。

古きよき時代ということで一つ蛇足ですがつけ加えたいことがあります。私の泊ったアレクサンドリア・ホテルは大変に古い建物で、昔は大統領やハリウッドの俳優が泊ったとかいう大変に由緒あるホテルですがいまは見ればなしくちかおれた感じで、家具はこわれっぱなし、お湯はぬるま湯しか出ない、エレベーターはのろのろとし、がたがたと不気味な震動をするし、夜になると隣りの部屋のテレビの音がうるさくてやりきれないという有様です。フロントも無愛想極まるもので、日本から電話があってもそんな人は泊っていないといったそうで、こんなホテルは私も初めてでびっくりしました。しかし中のレストランは昔の英国風の感じで、感じのよい夫婦が交替でレジにおり、私をみるとにこにこして「何時も忙しそうですね」とか「よく働きますね」、また「お疲れでしょう」などと声をかけてくれました。混んでいてウェイトレスがなかなか来ないと自分でコーヒーをもって来てくれて「もう少し待ってやってくれ」といったりします。本当に古きよき時代の人々にめぐり会ったような心温まる思いでした。

＜国際神経科学連合への動き＞

こんどの私の旅行には1つの大事な任務がありました。御存知の方も多いと思いますが20年程前にできた国際脳研究機構IBROはユネスコの援助を受けていろいろな国でシンポジウムを開いたり、とくに発展途上国でワークショップを催したり、フェローシップを扱ってきました。また最近ではベルガモン社からNeuroscienceという機関誌を出しています。このIBROと北米神経科学学会との関係が最近ひどく悪くなってきました。IBROはもともと神経科学学会などこの国にもない時代にできた組織ですから、個人会員を母体として構成されており、他の国際的な連合のように各国の学会をメンバーとして作られてはいません。しかし各国で神経科学学会が次々とできてきたので、7年程前から団体会員制度をつくり現在では19ヶ国が加入しています。北米神経科学学会も6年前に加入しているのですが、IBROとの間に意志の疎通が悪く、脱退の動きまで出てきました。1980年の北米神経科学学会の理事会では1981年はIBROに会費を払うのがこれが最後であるとの容易ならぬ決議までされました。私は1979年来IBROの理事会と執行委員会の議長をつとめております。IBROには会長というポストが

なく、議長が会長の役にあたります。この事態を開閉すべく、北米神経科学学会会長の Kandel 氏と相談した結果、北米神経科学学会の理事会に出て IBRO の現状を説明して誤解をとき、相互の信頼をとり戻そうということになりました。それで10月18日北米神経科学学会の理事会に Bullock 氏と2人で出席して当方のいい分を述べました。IBRO に対する北米神経科学学会の理事会の認識はこれで余程改まったようで、22日に開かれた第2回目の理事会ではこの件について票決を行い、IBRO との関係は維持すること、何人かの委員を出して IBRO 側と今後の活動についての意見の調整をはかるようにするとの方針を決めてくれました。これで私の任務は一応果すことができたわけで、22日の夜は上に述べたグルンドフェスト先生を囲む会に居てひとり喜びをかみしめていました。

しかし、今回の騒動は、2つの機構の仲たがいがいった単純なことではなく、もっと深い問題を含んでいます。IBRO がヨーロッパ主導型で、米国にあまり発言権がなかったという歴史的な経過も影響していますが、やはり一番の問題は、これだけ盛大になった神経科学の国際的な統合をどうするのかという所にあります。IBRO ではすでに1975年パリで行われた理事会でこの問題をとり上げ、国際会議の開催へ向けて計画を立て、本年4月にはローザンヌで第1回目の IBRO 国際会議を開く所まで槽ぎつきました。この国際会議の性格については最初は教育的なものにしようという声が強かったのですが、それでは魅力がないと比較的若い理事からの突き上げがあり、やはり一般の国際会議式にしようという所で着きました。その一方では、北米神経科学学会と欧州神経科学連合の2つの機構の間で、日本神経科学協会を加えて3つの学会の連合大会を開き、これを中軸として国際組織に発展していこうという案が出てきました。1984年にドイツで第1回の連合大会を行うよう日本に呼びかけがありました。昨年一月京都で行われた日本神経科学協会の理事会ではこの件について長い時間をかけて討議しましたが、合同会議の性格がはっきりしないという理由で、少くとも第1回目は参加しないことに決めました。このようにして、2つの国際的な大会が行われて競合する可能性が出てきているわけで、この成行きを放置すると重大な結果になる怖れが出てきました。今回の北米神経科学学会の理事会ではこの件については適当な委員を選んで IBRO 側と協議するという歩み寄りができたわけで、今後数年間にわたりそのような協議が行われ

ることでしょう。

北米神経科学学会の今期会長の Kandel 氏、次期会長の D. Cohen 氏、その次の会長の Purpura 氏や他の理事と個別に話し合った結果でも、いままでの IBRO が払ってきた大きな努力と積み重ねて来た実績は十分に評価し、神経科学の将来像を考える上で十分に考慮していくという点はよく一致しています。ある理事が「古いものを何でも、えい面倒だとこわしてしまうのがアメリカ式の悪い所だね」と笑っていましたがそういう風な反省が出てきてくれたことはまことに喜ばしいことです。

所で、このような話しを日本神経科学協会ではなくて日本生理学会の皆様に報告することについて不審に思われる方もあるかもしれませんが、それはこの件が国際生理科学連合 IUPS、ひいては日本生理学会の将来にも大きな影響をもつのではないかと考えるからです。上述のように IBRO を改組するか、あるいは先進国の神経科学学会を糾合して別の組織を作るかという問題はありますが、何れにしても国際神経科学連合 IUNS とでも呼ぶべき組織を作ろうという機運は大変に高まってきています。北米だけの年会で6,000人が集まり2,000以上の演題が出るのです。もうそれだけで IUNS といってもよい位の実力があるわけです。さらに Journal of Neuroscience を発刊し、今度は従来の News Letter に Commentaries と称する解説論文をつけて出し始めました。学会としてこれ程ポルテージの高い所があります。このような北米神経科学学会の活動は一方では米国の生理学会から神経生理学をほとんど空にしていまいりました。J. Neurophysiology はアメリカの生理学会の編集ですが、編集委員会は生理学会の時にではなく、神経科学学会の時に行われるようになってしまいました。国際生理科学連合が同じパターンを踏むことを大変に心配した同連合の理事会が Pappenheimer 氏を委員長とする委員会をつくり、IUPS にいろいろの改善案を建築したことは御存知だと思います。1983年のシドニーで開かれる国際生理科学連合大会ではその勧告案の内容が可成り取り入れられるものと思われます。しかしそれ位のことでこの事態が変るかという頭をかしげざるをえません。

では日本ではどうなるのでしょうか。日本生理学会の庶務幹事としてのこの件に関する考えをよくただされませんが、私はいつも生理学会は縦の糸であり、神経科学は横の糸であると答えております。横の糸には心臓や腎臓などの臓器別の学会などほかにいくつも例があ

ります。日本は幸い比較的せまいので両方の学会に出ることもそう困難ではありません。この点米国では年に一回しか学会出席の旅費がもらえないので、どちらかを選択せざるを得ないと少し事情が違います。生理学会には生理学会独自の歴史と論理があります。これと新しい神経科学の論理とエネルギーと問題意識を組合せた所に神経生理学を位置づけたいと思っています。しかし私たちの次の世代にあってもそのような考えが成立つか、これは私にも判りません。これはやはり次の世代の会員の意志によって決ることでありましょう。日本生理学会に将来像に関する委員会を作ろうというお約束を昨年4月の評議員会、総会でいたしました。その後いろいろな方の御意見をうかがっております。この件について私が一番意を用いているのはそれが上から一方的に引きづるようなものでは駄目だということです。下から吹き上げて来るエネルギーがなければいくら上から形をつけてもどうにもなるものではありません。水筋のない所に井戸を掘るようなものでしょう。もっともっと中堅会員の方々がこの問題にコミットして下さることを願っております。

＜若者への苦言＞

前回につづいて日本の若い世代に向けて重ねて発言することは少しく気の重いことです。忠言は耳に逆うという諺もあります。しかし、嫌われてもいわねばならぬことはいわねばならぬと思って敢て書きます。

今回の会議には日本から何人も参加されておりました。日本の研究に対する評価の高さはますます上昇してきているとの意を強くしました。その一方で、日本の研究者に対する見方のきびしさが増し、底意地の悪いやがらせや容赦のない攻撃に身をさらされる機会も増えてきていることを痛感しました。それは別に驚くことではないとして、私が今回初めて経験したのは研究の内容よりも社会的な振舞に対する辛らつな批判を何度も耳にしたことです。一言でいえば日本の若者は子供すぎるといっていいのでしょうか。一昔前の日本人は大人びて礼儀正しすぎて、とまどうことが多かったがいまの日本人は子供すぎて礼儀もなにもあったものではない。研究室の中でも横のつき合がうまくできない。人の意見ばかりきいて自分からは何もいわない。自分のやることの目的や意図がはっきりしない。要するに子供がむちゃくちゃやっているのしか見えない。さらに、悪いのは、実験室の外での社会人としての振舞が全くなっていない。最近日本から来た若い研究者

を世話したという婦人がため息をつきながらいいました。はるばるやってきた客だと思い、自分の家にとめてやった。スーツも新しく、食事も心をこめて作った。彼女の主人も方々へたのんで彼が最良の経験をするようはからった。2人とも働いている彼らにとってこれがいかに大変なことであるか察するに余りある。「所がどうでしょう」と彼女は大きなため息をつきました。「その人は私の家を無料のホテル位にしか思わなかったようです。スーツも何もどっちかし、あげくの果に日本へ電話してよいかというからどうぞと言ったら、女の相手らしく長々と電話でしゃべり続け、一体何万円の電話賃のつけがあとでこの家に廻ってくるのか気にもかけなかったようですよ。」「あんな日本人は初めて見たがいまはみんなあんなのですか」。隣りにいた別のアメリカ人が口を出して「そんな奴が俺の研究室へ来たたら、3日とたたぬうちに日本へ帰れといてやる。お前たちは一体彼らにどんな躰をしているのだ」。これには私もびっくり仰天していきさか抗弁を試みました。それはやはり言葉の問題、表現の問題であろう。悪気はないので、少し様子が判ればよくなると思う。自分もオーストラリアやアメリカに初めて行った時のことを考えると今でも冷汗がしたたるとような失敗をいくつもしている。キャンペラに居た頃、お茶の時間に Eccles 教授からある訪問客を紹介されたが、緊張のあまりその人の目の前で茶碗を引っくりかえしてしまい、Eccles 教授にそれはそれはこわい目でにらみつけられた覚えがある。緊張の余り自分を保っているだけでせい一杯で、まわりに目をやる余裕がないこともあるのだ、などと言いましたが、それは古い昔のこと、いまの日本人はそんな言いわけですむ立場にはないのだとそのアメリカ人は重ねていいました。「若者の振舞が悪かったら何故尻を叩かんのか。何故けとばしてやらんのか。自分の子供にはそうしているのではないのか」。私も遂に絶句しました。これを読まれる方はそんな馬鹿な人間が生理学会にいる筈はないと思われるでしょう。しかしほかにもいくつも苦情を耳にしました。スープを音をたてて飲むとかナプキンで眼鏡をふいてしまうという話は前にもよくありましたが、よその家へ行って平気で便所をかりるとか、水洗の水を流す大きな音のしている最中に平気で戸をあけて出てくる、などという話までありました。人ごとのように思っていた、いわゆる日本人旅行者の珍談がわれわれの身近にもいっぱいあるのだなと初めて気がつきました。何年も外国に滞在すれば最初に失

敗してもそれをとりもどす機会があるわけですが、最近のように若い人々までが短期間の外国旅行をすることが増えるところいう失敗をとりもどす機会のないまま悪い印象を残したままで帰ってきてしまうこともおこり勝ちなのでしょう。しかしそうだからといって言いわけにはなりません。その上、私をもっと心配になるのは上にのべたような私自身のしている言いわけが本当かという疑いです。申すのも恥かしいことですが、自分の研究室でも、タオルでも綿でも床上にふりちらかして平気でいたり、実験室に動物の汚臭をしみつかせて何とも感じなかったり、机や本棚をくづ籠同

然にしておいて知らぬ顔でいる若者に出合うとまるで火星にでも出会ったような無気味な思いに襲われます。昔、私がかげ出しの頃、先輩から叱られた時の2つの言葉、「君の実験室を一目見れば君がどの程度の研究者かすぐ判るよ」、「君は自分の家でもこんなに汚くしておいて平気なのか」はいまでも私の耳のはたで鳴りひびいています。この2つの言葉をくり返しなから、これではいくら生理学の将来像を論じてみても、肝心の足場がくずれてしまうのでないかと案じないわけにはいきません。とんだ落ちになりました。重ねて読者の寛容を願ってこの報告を終ります。

〔生理学の広場〕

新生理学用語集の編集経過報告と一つの言いわけ

生理学用語集の改訂作業を開始してから3年の歳月が流れた。実質作業に入ったのは、一昨年6月で、各専門委員に選語、修正、削除などの作業をして頂き、これを受けて昨年1月より編集庶務委員により全体的調整の過程に入り、今日まで20回近い委員会を開催、ようやく作業内容の90%のところまでに漕ぎつけた。実は、出版を昭和57年3月末日に焦点を合せて努力したわけであるが、机上の計算では測り知れない障壁——博学なる委員諸先生間の激しい議論——に出合い、予定の出版が遅れ誠に申し訳ない次第。これはより良き、より広く、長期に耐えられるものを作製しようとの熱意の現れと云ってよかろう。一定の原則の下で作業をしてみても、生きている用語は必ずしも公式通りに取り扱いが困難な場合もあり得る、ある場合には、少々の不満があっても現世的妥協の一手を使わざるを得ないと云っては、不謹慎であろうか？

多くの皆様から新生理学用語集に寄せられる期待が

大きいだけ決断の悩みが深かった。本書が皆様の座右の書となるためにも、利用度の高い編集であらねばと考へ、編集方針の中に幾つかの附録を入れることが企画された。Council of Biology Editors, Style Manual (久保田, 中村共訳“生命科学論文まとめ方のコツ”協同医学出版, 1980) や真島英信著の“医学論文と図表の書き方”文光堂, 1981などは多分に座右の書たるべき性格があり、これらと調和したものが附録へのイメージであった。編集の最終段階では、附録として掲載されるべき対象が議論されるであろうが、これも一編集者の趣味に愜することがないようにしたい。

何れにしても、単調で根気を要する仕事ではあったが、多くの会員の御支援を得て完成の灯が見えてきた。少々駄文にすぎた感があるが、皆様の声に答えて編集の経過報告をする次第です。

(昭和57年1月18日. 酒井敏夫記)

予 告

日誌に掲載されてきた論文表題集は、昭和57年度(1982)より、本誌から独立した体裁で刊行されますことをお知らせ致します。

日誌編集委員会

〔編集後記〕

日生誌 第44巻第2号をお届けいたします。昨年来、酒井編集委員長のもとに進められてきました新しい日生誌編集方針に多少とも近づいた内容で、原著、研究法、地方会抄録と、ブルーページの国際学会出席会員による学会印象記、さらには生理学の広場から構成され、比較的バランスのとれた号であると自賛いたします。

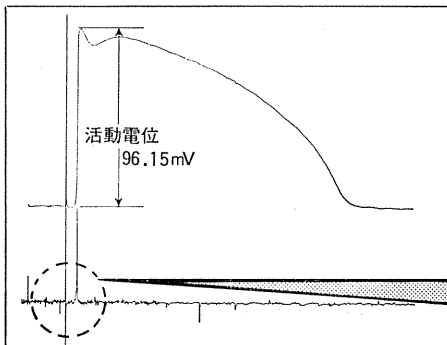
日生誌の編集方針につきましては、今迄多数の会員の方から貴重なご意見をいただきました。ご意見を集約いたしますと、日生誌を会報として興味のある、特徴のある、かつ格調の高いものにして行きたいということに尽きるようです。有難うございました。生理学

の研究をしていますと、一寸した思いつき、工夫、苦心談など仲々まとまった論文には出来ないが、何らかの形で発表しておくと思われることが多くあります。また、生理学の大先輩の方々の貴重な経験が、その方個人とごく限られた周辺の方々の知識としてのみ存在し、やがて失われてしまうことも多いと思います。そのような事柄も、何らかの形でこの日生誌の内に盛りこめられないものであろうかと考えたりしております。

この号をお読みいただくのは、第49回日本生理学会大会も間近の頃と思います。大会の折などに、日生誌編集について更に皆様のご意見をいただけたら幸いです。
(永坂鉄夫)

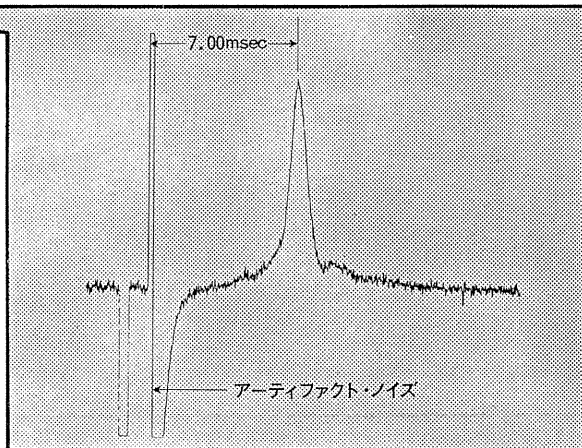
— 編 集 委 員 —

酒井敏夫(幹事)	馬詰良樹	上山章光
田中励作	中村嘉男	平野修助
菅野富夫(北海道)	中浜博(東北)	新島旭(関東)
永坂鉄夫(中部)	品川嘉也(近畿)	村上憲(中・四国)
河田溥(九州)		



心筋活動電位(上段)とその微分波形(下段)をA/D変換速度200 μ sec(5kHz)で、各々2kワードで捕捉しました。

グラフは犬の心臓の筋肉に電気的な刺激を与え、心筋活動電位(EMG)をデジタル・オシロスコープで捕捉し、X-Yレコーダで記録した例です。ブラウン管上の観測波形を写真撮影するといった面倒なプロセスは一切必要ありません。デジタル・オシロではさらにブラウン管上でカーソル機能を使って、時間・電圧の計測がデジタルで可能です。



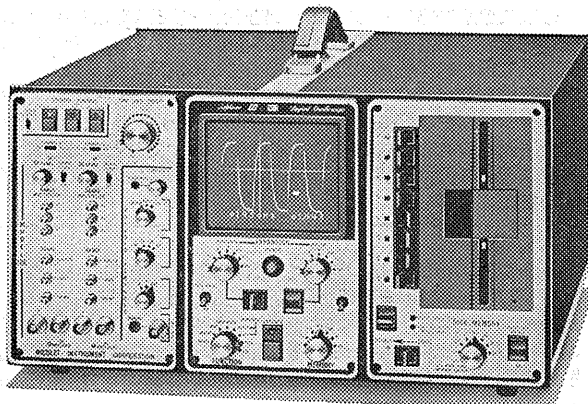
微分波形をより明確に観測するため、A/D変換速度を5 μ sec(200kHz)とし、4kワードで再捕捉。

あらゆる生体現象の計測に デジタル・オシロスコープ、

model 2090-3C/206-2 特徴

- 高分解能:12ビット(1/4096), 50 μ V 最高感度
- 2MHz(0.5 μ sec)A/D変換速度(最大)
- 記憶容量:4kワード
- トリガー以前の波形観測
- カーソル機能により、時間・電圧値をデジタル読み取り
- 捕捉波形のデジタル拡大表示
- フロッピー・ディスクによる大量波形記憶32kワード

デジタル・オシロスコープ model 2090シリーズ



Nicolet is a Problem-Solving Company

model 2090-3B/206-2



NICOLET
JAPAN
CORPORATION

ニコレー・ジャパン株式会社

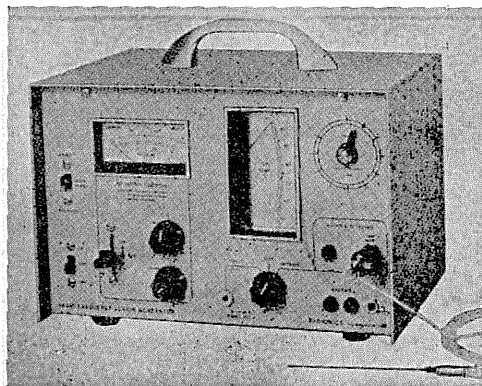
東京都目黒区東山1丁目1番2号(東山ビル) 〒153 TEL 03(715)2551(代)
大阪市淀川区西中島6丁目7番8号(大昭和ビル) 〒532 TEL 06(305)2150(代)
名古屋市千種区内山3丁目10番17号(今池ビル) 〒464 TEL 052(741)2150(代)

詳しい資料を
ご請求ください。

0.7mmのリージョンから脳浮腫までを
均一なサイズ、すばらしい再現性をもって作成する!

RADIONICS社

動物用 高周波 RF リージョン ジェネレータ



主な特徴

- Lesion Generator による損傷は、小動物の脳組織の損傷に適しており、また手技が極めて簡単です。
- いくばく損傷条件(損傷温度、損傷時間)でも生体組織に出血をひきおこすことはありません。
- 熱センサーによって損傷組織の温度を正確にコントロールすることができ、再現性、均一性に優れた損傷巣を作製することができます。
- 50℃以上の損傷条件では、損傷温度が高ければ高いほど、また損傷時間が長ければ長いほど大きな損傷巣を作製することができます。
- 外部の刺激装置と本体を接続することにより、同一電極から電気刺激を与えることもできます。

新発売

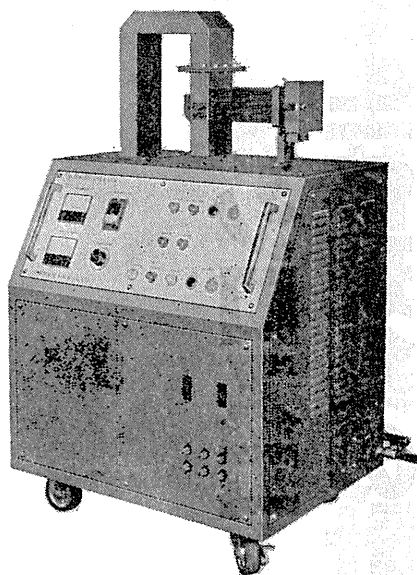
実験動物脳内酵素不活性化装置

東芝マイクロウェーブ アプリケーション アプリーケーター

TMW-6402A型(改良型)

実験動物の脳内物質の測定に先立ち、測定物質に関連する諸酵素を不活性化する方法として凍結法があります。しかしながら凍結法では生体内酵素を不活性化させるまでにかなりの時間を必要とし、この間に測定物質が変化するおそれがあります。

最近この解決方法としてマイクロウェーブの瞬時照射により諸酵素を不活性化する方法が用いられるようになりました。とくに照射後は凍結法で行われる低温処理の必要もなく室温にて処理ができ、安定した測定値が得られます。アセチルコリン、サイクリックAMP、サイクリックGMP、GABA、DOPA、5-HTP、セロトニン、カテコールアミンとその代謝産物、エンドルフィンなどの正確な測定の前処理装置として薬理学、生化学、生理学、内科学など広い分野にご活用いただけます。



主な特長

1. 均一な照射が得られ、更に従来組織破壊の見られた視床下部もきれいに残ります
2. アプリケーター内のラットの脳波を記録することができます。
3. サイズの異なる実験動物を使用する場合、ホルダーを交換するだけで済むので手間がかかりません。
4. マイクロ波エネルギーは0~5,000Wまで連続可変、照射時間は0.1~9.9秒まで0.1秒単位で設定できます。
5. 電源部・アプリケーション部・出力部が1つにまとまっているので設置に要するスペースが少なく済みます。

日本総代理店

室町機械株式会社

〒103 東京都中央区日本橋室町4-3(大辻ビル)
電話 (03)241-2444(代表)

2点間の電位差を ダイレクトに捉える

ME-3241は2つの独立したプリアンプを備えた差動型の微小電極用増幅器です。各プリアンプから直接の出力で異なる2点の同時観測もできるなど、豊富な機能が注目されています。

- 操作しやすい小型化プローブ
微細な操作のしやすい小型化プローブを採用
- 刺激通電をしながら観測可能
チャンネル別に外部装置を使った通電が可能
- 電極抵抗値をテントル直読
ブリッジのバランスで電極抵抗が読み取れます
- 差動増幅器をビルトイン
2つの電極の電位差が1台の装置で検出可能



差動型微小電極用増幅器

ME-3241



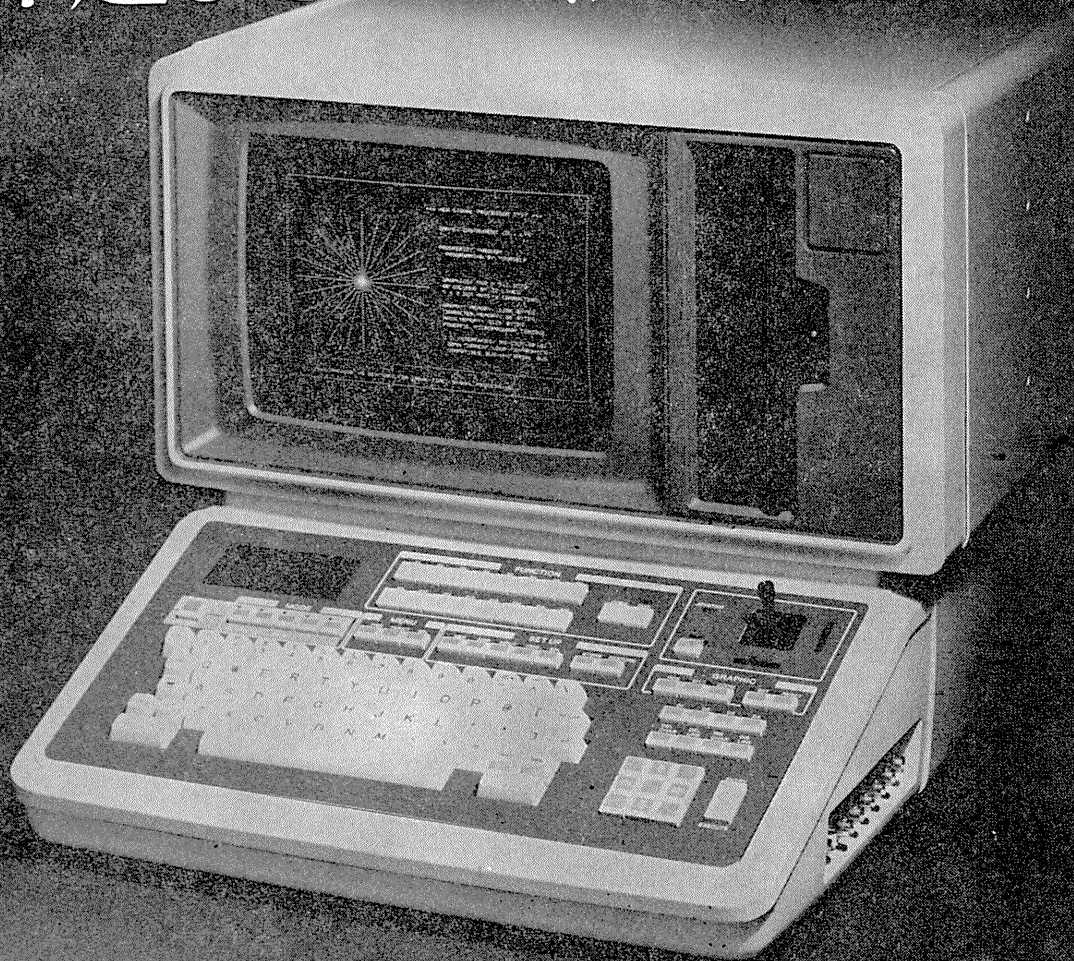
株式会社

エム・イー・コマーシャル

本社 〒166 東京都杉並区和田3-54-11 ☎(03)317-1451(代)

大阪営業所 ☎(06)380-2601 名古屋営業所 ☎(052)451-3255 広島営業所 ☎(0822)92-3581 福岡営業所 ☎(092)863-2757

最大20チャンネルの高速処理 卓越したグラフック機能。



- 多チャンネルリアルタイム処理
- 12インチの大形ブラウン管を彩用
- フロッピーディスク(8インチ)搭載
- BASIC言語でプログラム作成可能
- 多彩なインターフェイス
- サーマルプリンタを標準付属

シグナルプロセッサ

NEW 7T17

シグナルプロセッサ7Tシリーズの最高機種として7T17を新開発しました。最大20chの生体データを高速処理できるため、能率的な多チャンネル解析をおこなえます。

明日の健康と福祉を守る

AAA San-ei 三栄測器

東京都新宿区大久保1-12-1 〒160 ☎03(209)0811(代)

超微量炎光々度計

$10^{-9} \text{g} \sim 10^{-6} \text{g}!!$

AFA-707-R

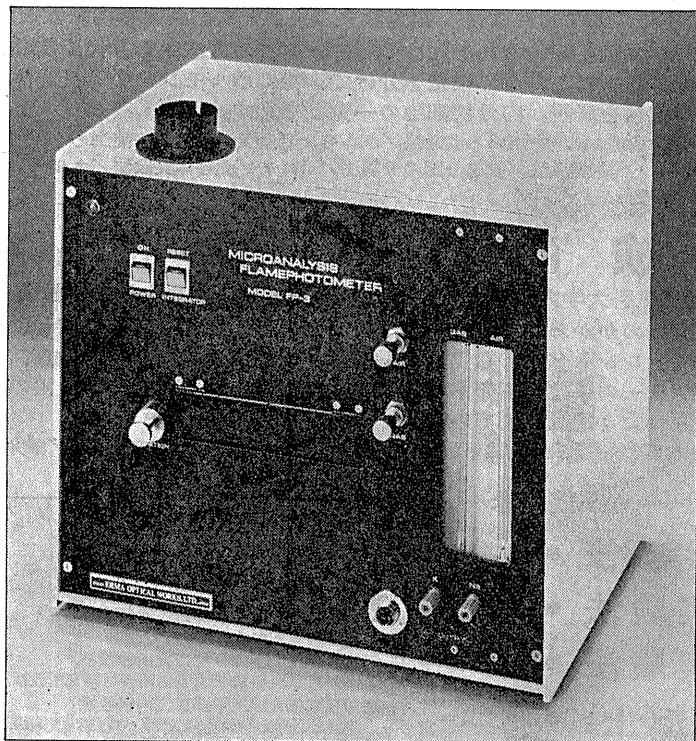
(△レコーダー表示タイプ)

AFA-707-D

(△デジタル表示タイプ)

AFA-707-M

(△メーター表示タイプ)



★超微量炎光々度計の原理
本器は、超微量サンプルを白金線に添付、フレーム中での炎光反応によりNa, Kの濃度を測定します。

Na, K元素特有の光は、フィルターを通して受光体で検知され、さらに増幅、積分された後、メーターまたはデジタルパネルメーターに表示されます。

- ◇昆虫等微小生物の体液の分析
- ◇動物臓器の分泌物の分析
- ◇細胞液の分析
- ◇その他微量サンプルの分析

分析項目	ナトリウム、カリウム
使用ガス	プロパンガス
最小サンプル量	10^{-9}g
濃度	Na 0~350mEg/l K 0~30mEg/l
分析所用時間	4秒以内

研究室で御使用になれる器機器具・測定器等の特別注文を受けたまわります。

株式会社
ATL

アペル

〒333 埼玉県川口市根岸1155 0482-69-3040

革新の医学として、注目の内分泌学。

そのすべてを初めて実験・臨床の立場からまとめあげた講座。

内分泌実験講座(全7巻)

編集：鎮目和夫(東京女子医科大学内科教授)・井村裕夫(京都大学医学部第二内科教授)・矢内原昇(静岡薬科大学教授)

◎造本・体裁—A5判／各巻平均330頁／クロス装製本／函入り
各巻定価 5,800円 <隔月刊行予定>

講座の特色

本講座は実験法を集大成した他に例をみない指導書である。実験の際に必要な事項をもれなく収録し、基礎医学、臨床医学の研究者、医師、臨床検査関係者はもとより、畜産など農学関係者、生命科学全般の研究者、技術者に広く用いられる内容である。執筆陣は全国にわたり、医・農・理・薬など諸分野の第一線研究者を網羅している。わが国の研究成果は当然のことながら、世界の最新の技術を紹介している。

〔第3巻〕内分泌細胞実験法 <第1回配本 昭和57年1月下旬発売>

- 編集委員＝鎮目和夫(東京女子医科大学内科教授) 對島敏夫(東京女子医科大学内科教授)
ホルモンを作る細胞、ホルモンの働く細胞それぞれについて、培養の方法から、代謝実験やホルモンを作る実験を解説。さらにこれらの細胞を分けて、特にホルモンの働く受容体を取り出し、それを使つての実験を詳説。内分泌細胞の一覧表を付す。

主要目次：細胞培養の基礎／内分泌臓器の細胞を用いる実験法／ホルモン産生腫瘍細胞の培養法とその利用／単離細胞を用いるホルモン作用・代謝実験法／細胞分画の分離法／ホルモン受容体実験法／ホルモンの合成 [附] 内分泌細胞株一覧表

〔第7巻〕臨床検査法 <第2回配本 昭和57年3月中旬発売>

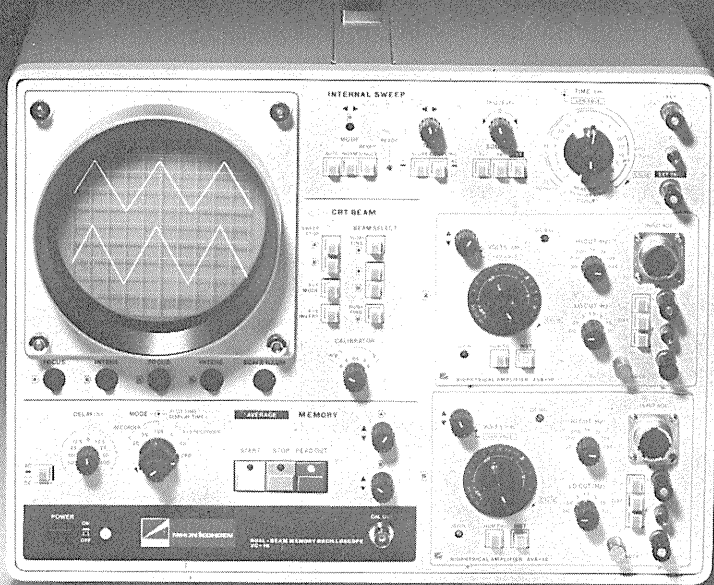
- 編集委員＝鎮目和夫(東京女子医科大学内科教授) 出村 博(東京女子医科大学内科教授)
ホルモンと病気、患者との直接のかかわりを扱う検査法の紹介を行う。内分泌器官ごとに詳細な手技の扱いを解説して、レントゲン、CTスキャン、シンチグラム、超音波検査、血管造影などのほかバイオプシーの手技も紹介する。また機能検査としてホルモン分泌の予備能検査なども診断上役立つよう配慮されている。

主要目次：視床下部下垂体検査法／甲状腺検査法／副甲状腺検査法／膵内分泌検査法／副腎検査法／睪丸検査法／卵巣機能検査法

続 巻

- 〔第1巻〕内分泌器官形態学実験法 ●編集委員＝矢内原 昇(静岡薬科大学教授)
小林 繁(山梨医科大学第一解剖教授)
- 〔第2巻〕内分泌動物実験法 ●編集委員＝井村裕 夫(京都大学医学部第二内科教授)
加藤 譲(京都大学医学部第二内科講師)
矢内原 昇(静岡薬科大学教授)
- 〔第4巻〕内分泌化学実験法 ●編集委員＝宇井信 生(群馬大学内分泌研究所教授)
中嶋 輝 躬(東京医科歯科大学医用器材研究所教授)
- 〔第5巻〕ホルモン測定法(上) ●編集委員＝井村裕 夫(京都大学医学部第二内科教授)
宮 井 潔(大阪大学医学部臨床検査診断学・中央臨床検査部教授)
- 〔第6巻〕ホルモン測定法(下) ●編集委員＝井村裕 夫(京都大学医学部第二内科教授)
宮 井 潔(大阪大学医学部臨床検査診断学・中央臨床検査部教授)

グレードアップして新登場!!



〔2-4現象 メモリオシロスコープ VC-10〕

DUAL-BEAM MEMORY OSCILLOSCOPE

2ch メモリ内蔵。

記憶内容を静止波形として表示できます。リアルタイム波形と記憶波形の同時表示も行えます。また、記憶内容 (X・Y) のリサーチ表示も可能です。

トリガ点前の記憶も可能。

刺激後の誘発反応だけでなく、刺激前の現象を観察することもできます。±100%までのデレイ設定が行えます。

アベレージヤ(別売)の追加可能。

誘発反応加算装置を追加することにより、2チャンネルアベレージングが行えます。

専用モニタを用意。

4現象モニタVC-MA-10は、今までと違い1ガンチョップ方式としたため、経済的な価格でお求めになれます。

さらに性能アップしたプリアンプ群。

(VC-9シリーズも使用可能)

- ①チョップ増幅器 (AVM-10) を使用した時も、両チャンネルの信号出力 (1V/cm) が得られます。
- ②AVH-10は、DC~10 μ V/cmの感度 (入力インピーダンス10M Ω) とLO. CUT, HI. CUTフィルタの追加によりさらに使い易くなりました。
- ③AVB-10は、入力換算雑音5 μ V以下、入力インピーダンス180M Ω 以上となり、バッファ・アンプ付入力箱により性能がアップしています。

エレクトロニクスで病魔に挑戦する



日本光電

〒161 東京都新宿区西落合1-31-4

☎03(953)1181

販売推進部宣伝課

J. Physiol. Soc. Japan Vol. 44, No. 2 (1982)

Technical Note

KURIHARA, S., KONISHI, M. and TAKAHASHI, T.: Measurement of Ca^{++} transients in muscle cells with aequorin..... 37

Original

KAWASE, M.: A study on the physiological basis of training effect—with special reference to myoglobin—II. Determination of myoglobin contents in canine skeletal muscles 49

昭和五十七年一月二十日印刷

編集兼
 発行人

酒井敏夫
東京都文京区本郷三丁目一〇
 布旗ビル(四階)日本生理学会

印刷者
 印刷所

三浦経夫
山形県鶴岡市山王町一四二四
 鶴岡印刷株式会社

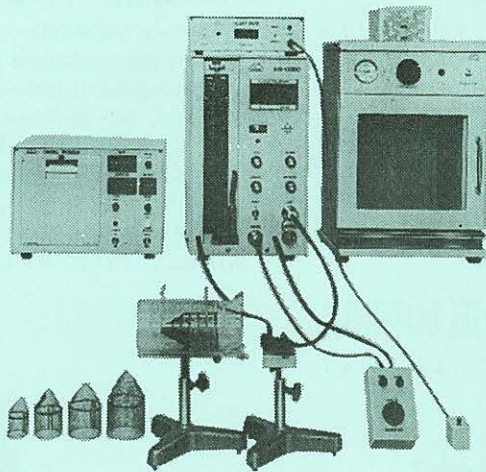
発行所

日本生理学会
東京都文京区本郷三丁目一〇
 布旗ビル(四階)

電話
 振替
 価
東京一八五—一六二四
 三七八六四三〇
 百四〇

NAIUME ラット尾動脈圧測定装置 KN-209

非観血的にラットの尾動脈圧を測定するデジタル血压計です。



実験動物解剖器具・一般研究実験器械器具・動物実験器械器具・動物飼育管理器具

株式会社 夏目製作所

東京都文京区湯島2丁目18番6号
 電話 03(813)3251(代表)