

日本

生理学

雑誌

JOURNAL OF THE PHYSIOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

53巻

1号

1991

原 著

泉田洋司：赤血球集合現象のメカニズム—血漿タンパク質と赤血球表面陰性荷電の役割—	1
学会抄録	
第79回近畿生理学談話会	13
第23回東北生理学談話会	21
生理学の広場	
「生理学者群像」(吉岡利忠)	33
「生理学者群像」(小杉忠誠)	33
お知らせ	
チャンドラー・ブルックスフェローシップについて	34
千里ライフサイエンスセミナー：ブレインサイエンスシリーズ	
第1回「神経伝達機構」	34
宇宙生命科学シンポジウム：宇宙生命科学への招待—生命の宇宙進出の条件は何か—	35
第4回アサヒ・フェローシップ（朝日国際奨励金）	36
生理学総説集お買い求めのお願い	36

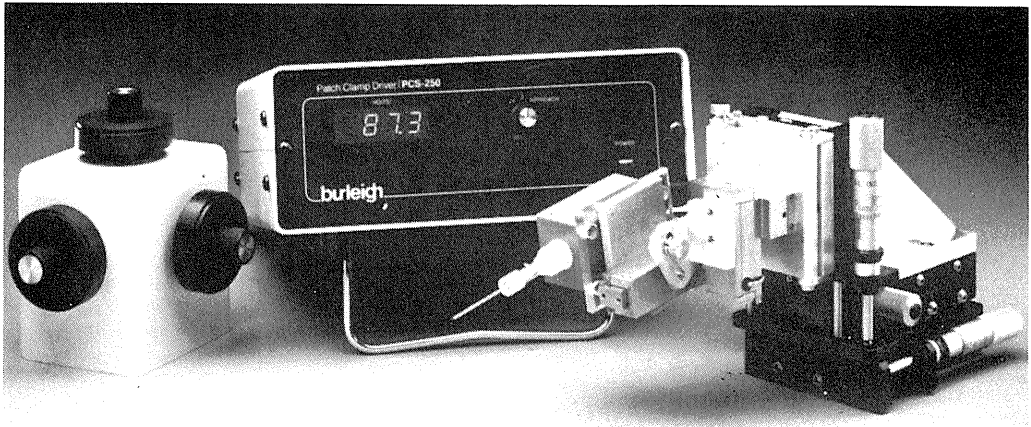
日本生理学会会則，投稿規定

生理学領域における動物実験に関する基本的指針

日本生理誌
J. Physiol. Soc. Japan

日本生理学会

burleigh



バーレイ/PCS-1000型 パッチクランプ・ マイクロポジショニング・システム

パッチクランプ手法に欠かせない絶対的な安定性能と、
パッチ専用機ならではの数々のアドバンテージを備えた
インテグレート型マイクロポジショニング・システムが、
遂に日本にも上陸しました。

- ◆駆動方式は、バーレイ社が誇る最新テクノロジー、 piezo・エレクトリックを採用。電圧の変化にのみ反応するこの方法は抜群の長時間安定性を誇り、あらゆるドリフトやメカニカル・バックラッシュから実験を解放しました。
- ◆「クラムシェル・ピポット・アセンブリー」を採用。ヘッドステージを回転体として、頻繁に要求されるパッチ電極の脱着・交換を容易にしたうえ、交換後には確実にもとのポジションを確保します。
- ◆Z軸チルト・メカニズムを採用して、パッチクランプ実験に不可欠な電極のアプローチ角度調節を可能にしました。
- ◆オリンパス倒立顕微鏡IMT-2、ニコン倒立顕微鏡TMDのそれぞれに、専用マウントをオプションでご用意いたしました。

バーレイ社
日本総代理店

MARUBUN CORPORATION
丸文株式会社

南砂事業所 〒136 東京都江東区南砂3-3-4
第4事業本部営業第2部第1グループ
TEL.(03) 3648-9318(ダイヤル・イン)

バーレイ社製PCS-1000型
日本総発売元



ショーシンEM株式会社

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

赤血球集合現象のメカニズム ——血漿タンパク質と赤血球表面陰性荷電の役割——

泉 田 洋 司
(愛媛大学医学部第二生理学教室)

Roles of plasma proteins and surface negative charge of erythrocytes in erythrocyte aggregation. Youji IZUMIDA (2nd Department of Physiology, School of Medicine, Ehime University, Shigenobu, Onsen-gun, Ehime 791-02, Japan)

The effect of plasma proteins (and IgG fragments) and sialic acid content of erythrocytes on the aggregation of human erythrocytes was quantitatively examined by using a rheoscope combined with a television image analyser and a computer. (1) The velocity of erythrocyte aggregation by plasma proteins was increased with increasing in their molecular weight, i. e., IgG < IgA < fibrinogen < IgM. F(ab')₂, Fab and Fc could not induce the aggregation. (2) The aggregation induced by fibrinogen was accelerated by IgG and its peptic fragment, F(ab')₂, but was unaffected by the plasmic fragments, Fab and Fc. The accelerating effect by IgG and F(ab')₂ was inhibited by Fab and Fc. (3) The aggregation of erythrocytes was accelerated by decreasing the sialic acid content (due to the reduction of the electrostatic repulsive force among erythrocytes), and the effect of desialylation on the IgG-induced aggregation was greater than that of desialylation on the fibrinogen-induced aggregation. (4) The roles of plasma proteins and of sialic acid content of erythrocytes on the aggregation of erythrocytes were discussed.

key words : Erythrocyte aggregation, Fibrinogen, IgG, Sialic acids

1. はじめに

赤血球集合は、低血流速度領域で赤血球同士が高分子血漿タンパクを架橋物質として接着し、血流速度が増加すると離散する可逆的な現象である。しかし、赤血球集合体形成が著しくなると血液の流動抵抗が増し、血液粘度が上昇することにより循環障害を引き起こす。この循環障害により血流はさらに停滞するので集合体形成を起こしやすくなり、悪循環を繰り返す^{9, 29)}。臨床的には、各種ショック時の低血流状態、fibrinogen や免疫グロブリンおよび病的グロブリンの増加を伴う疾患^{1, 10, 14, 20, 21, 31)}、多糖類²³⁾や免疫グロブリン製剤¹⁸⁾の投与などが問題になる。生理学的にも、生体内での赤血球老化にともなって集合体形成が促進されていることが示されており、網内系における老化赤血球の処理機構と関連して興味がある^{24, 28)}。

赤血球集合現象は(1)赤血球の性状(赤血球数、変形能、表面荷電、形態など)、(2)架橋物質の性状(分子量、分子の立体構造、荷電など)、(3)流速、(4)mediumの性状(pH、温度、イオン強度、浸透圧、イオン組成、粘度など)によって左右されている^{3, 25, 27)}。基本的には赤血球同士を結びつける力(タンパク質による架橋力など)が、これを阻止する力(赤血球間の静電的な反発力、流速など)に打ち勝つ場合に赤血球集合現象が起こると考えられる(Fig. 1)。しかし、これらの力のバランスの定量的な関係については不明な点が多い。

本研究は赤血球集合のメカニズムに関して、fibrinogen, IgG とその酵素分解フラグメント(Fab, Fc, および F(ab')₂)、IgA, IgM のような血漿タンパク質を用いて赤血球集合体形成速度を測定することにより、(1)各血漿タンパク質の架橋力(集合体形成力)(2)架橋物質間の相互作用(3)赤血球表面のシアル酸の陰性荷電による静電的な反発力と架橋分子の架橋力との関

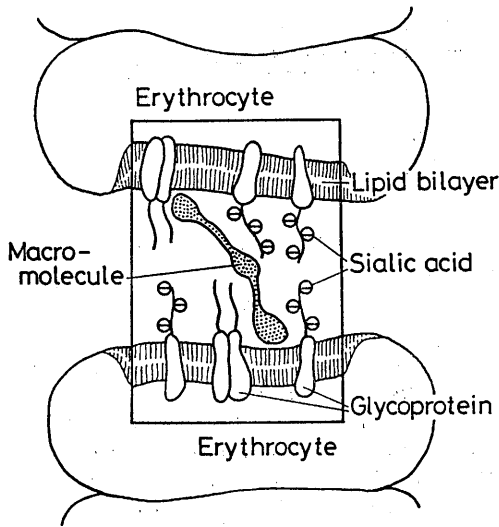


Fig. 1. Scheme of erythrocyte aggregation.

係を定量的に検討し考察した。

II. 実験材料と方法

(1) 赤血球の調製：O型 Rh (+) の健康成人（輸血歴がなく、直接クームテスト陰性）の肘静脈より採血後、ヘパリン処理で凝固を止め、4℃、3000 rpm、5分間遠心して血球と血漿とに分離した。Buffy coat を除去した後、赤血球をグルコース (5 mM) 加等張リン酸緩衝食塩水 (50 mM Na-phosphate, 90 mM NaCl, 5 mM KCl, pH 7.4) (PBS-G) で3回洗浄し、採血後5時間以内に用いた。（この間、同一高分子によ

る赤血球集合体形成速度は変わらず、赤血球の形態、ATP量にも変化はなかった。）

(2) 赤血球集合体形成の定量的測定：Fig. 2に示すように、レオスコープ装置²²⁾（透明円錐—平板型粘度計と倒立顕微鏡とより構成される）に画像処理装置（東洋インキ, Luzex 450）とコンピューター（Hewlett Packard 社製, HP-85）を接続して解析を行った^{25,26)}。洗浄赤血球を種々の medium に浮遊させ（最終 Ht=0.3%）、直ちにレオスコープ装置の透明円錐とガラス平板との間に注入し、一定の低流速（ずり速度、 7.5 s^{-1} ）下で起る赤血球集合体形成の経時的変化を顕微鏡下に観察した。赤血球集合体形成速度を測定するため顕微鏡の一定枠 ($130 \times 180 \mu\text{m}^2$) 内の粒子数 (N) と粒子の全投影面積 (A) とを1.3秒毎にコンピューターに転送し、20秒間毎 (15~16画面) の平均値±SD を計算させてその時間経過を記録させた。なお本法において観察される赤血球集合体形成は赤血球沈降期、一次元集合（連銭）形成期および三次元集合形成期の三期の経過をたどるが²⁵⁾、速度の計算は定量性のある赤血球の連銭 (rouleau) 形成段階において行った。連銭形成期における A/N の時間経過より A/N/時間 ($\mu\text{m}^2/\text{min}$)、すなわち単位時間当たり1個の粒子の平均投影面積の増加率を赤血球集合体形成速度として表現した。速度の計算は定量性のある赤血球の連銭 (rouleau) 形成段階において行った。再現性の確認のため

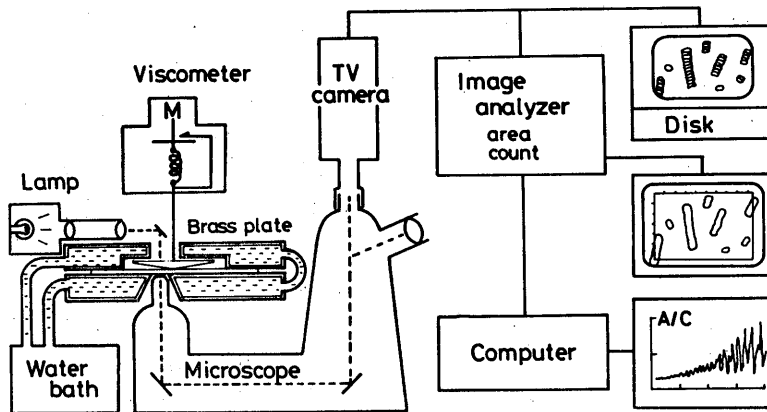


Fig. 2. Diagram of apparatus for measuring the velocity of erythrocyte aggregation.

同一 medium での測定は3回以上行った。全ての測定値の標準偏差は±5%以内であった。

(3) medium の調製: a) Fibrinogen: AB-Kabi 社製 [Stockholm, Sweden; 分子量(MW) 340,000] のものを Lysine-Sepharose 4B カラムを通し, plasminogen と plasmin を除去した後に⁶⁾, 等張リン酸緩衝化食塩水 (PBS) で一晚透析して用いた。濃度は 1 g/dl の 280 nm での吸光係数 ($E=15.1$)¹⁰⁾ を用いて決定した。b) IgG とその関連タンパク質: IgG (Sigma 社製, St. Louis, MO および Miles Lab. 社製, Naperville, IL; MW=150,000, $E=14.0$), IgA (ミドリ十字社製, 大阪, MW=160,000~400,000, $E=13.4$), IgM (ミドリ十字社製, 大阪, MW=900,000, $E=13.3$), Fab (ミドリ十字社製, 大阪, MW=50,000, $E=14.2$), Fc (ミドリ十字社製, 大阪, MW=50,000, $E=14.1$), $F(ab')_2$ (ミドリ十字社製, 大阪, MW=100,000, $E=14.1$), c) アルブミン: Miles Lab. 社製 (human albumin, fatty acid free, Fraction V: MW=66,000, $E=5.5$) を用いた。いずれのタンパクも PBS に対して一晚透析した後に, 分光学的に濃度を決定し, 各種 medium の調製をおこなった。なお, 赤血球のガラス平板への付着を防止するため各 medium には 5 g/dl の albumin を添加した。

(4) 赤血球の脱シアル化およびシアル酸量の測定: PBS-G に洗浄赤血球 ($Ht=20\%$) を浮遊させ neuraminidase (Sigma 社製, St. Louis, MO) を 2~90 mU/ml の濃度で用い, 37°C で 1 時間処理して脱シアル化を行なった。処理後, 赤血球は冷却した PBS-G により 3 回洗浄し酵素の影響を除去した。シアル酸量の測定は, Dodge et al.⁷⁾ の方法により赤血球膜ゴーストを作製した後に, チオバルビツール酸法³⁰⁾ によって決定し, 赤血球 1 個当たりの量 (amoles/cell) として表現した。

III. 結 果

A. 各種血漿タンパクによる赤血球集合体形成

5 g/dl の albumin 加 PBS に, 各血漿タンパ

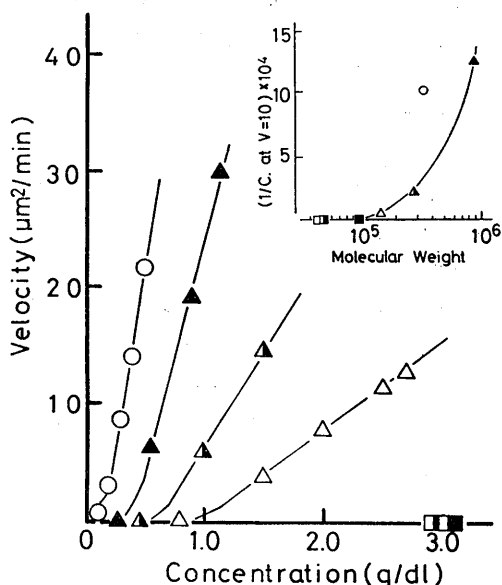


Fig. 3. Effect of plasma proteins on the velocity of erythrocyte aggregation. Measured in 5 g/dl albumin in isotonic phosphate-buffered saline at 25°C. In the inserted figure, ordinate represents the aggregation force (C , molar concentration of plasma protein at $10 \mu\text{m}^2/\text{min}$.) and abscissa represents the molecular weight of each plasma proteins. Fibrinogen (○), IgM (▲), IgA (△), IgG (△), $F(ab')_2$ (■), Fab (□), Fc (□).

ク質を種々の濃度で溶解した medium 中で測定した赤血球集合体形成速度を Fig. 3 に示す (albumin は 20 g/dl までの範囲では, 単独で赤血球集合を起こさなかった)。Fibrinogen, IgG, IgA, および IgM は各々赤血球集合体を形成した。集合体形成速度 ($V, \mu\text{m}^2/\text{min}$) は各々のタンパク質濃度とともに増加した。しかし, Fab, Fc, および $F(ab')_2$ では, 3 g/dl までの範囲においては赤血球集合体形成が認められなかった。各血漿タンパク質の分子量と分子当たりの集合体形成力 (挿入図) は, $\text{IgM} > \text{fibrinogen} > \text{IgA} > \text{IgG}$ の順に大きく, 明らかに架橋分子の分子量に依存していた。しかし, fibrinogen による集合体形成力は, 免疫グロブリンおよびその関連化合物の分子量から予想される赤血球集合体形成力よりも大きかった。

B. Fibrinogen による赤血球集合体形成に対する IgG ならびにそのフラグメントの影響

Fibrinogen を含む medium に IgG およびその酵素分解フラグメントである $F(ab')_2$, Fab, Fc を種々の濃度で加えて赤血球集合体形成速度に及ぼす影響を検討した, Fig. 4 に示すように, IgG および $F(ab')_2$ はともに fibrinogen による赤血球集合体形成を促進した. その促進の程度は IgG のほうが $F(ab')_2$ よりも大きかった(挿入図). 一方, Fab および Fc は, fibrinogen による赤血球集合体形成に影響を及ぼさな

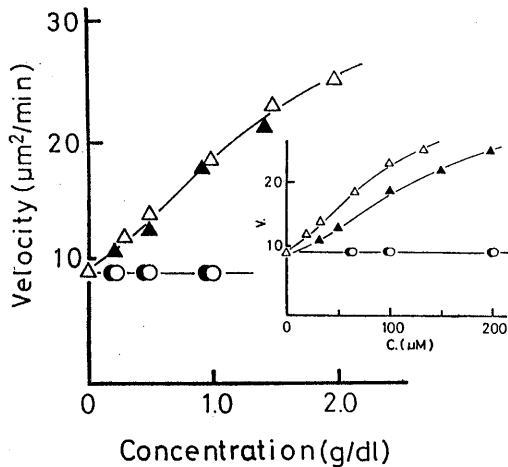


Fig. 4. Effect of IgG and IgG degradation products on the velocity of erythrocyte aggregation in 0.3 g/dl fibrinogen+5 g/dl albumin in isotonic phosphate-buffered saline at 25°C. IgG(Δ), $F(ab')_2$ (\blacktriangle), Fab(\circ): Fc(\bullet).

かった.

1. IgG による集合体形成の促進

血漿中の主要タンパク質である IgG と fibrinogen との共存下に於ける赤血球集合体形成速度を測定した結果を Table 1 に示す. Fig. 5 はこの関係を 3 次元的に示したものである. IgG と fibrinogen との共存下に於ける集合体形成速度は各タンパク質単独での集合体形成速度の和よりも大きかった. また, 各々のタンパク質が単独では集合体を形成できない量においても両者が共存することにより集合体形成が認

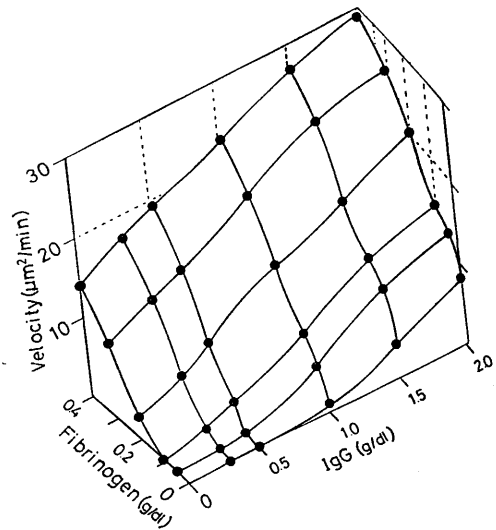


Fig. 5. Cooperating effect of fibrinogen and IgG on the velocity of erythrocyte aggregation. Measured in 5 g/dl albumin in isotonic phosphate-buffered saline at 25°C.

Table 1. Effect of coexisting of fibrinogen and IgG on the velocity of erythrocyte aggregation.

Fibrinogen(g/dl)	IgG(g/dl)					
	0	0.05	0.1	0.2	0.3	0.4
0.0	*0	*0	**0	3.0±0.07	9.4±0.13	14.0±0.79
0.3	*0	**0	1.0±0.03	5.3±0.06	12.0±0.38	16.8±0.95
0.5	*0	**0	2.0±0.05	7.5±0.07	14.0±0.62	19.0±0.94
1.0	1.0±0.01	4.2±0.09	7.0±0.26	12.8±0.86	18.5±0.58	22.8±1.06
1.5	3.9±0.12	9.6±0.23	12.0±0.93	16.2±0.91	23.1±1.03	27.0±1.11
2.0	7.9±0.22	12.2±0.66	14.3±0.87	20.3±1.14	25.0±1.15	29.5±1.13

Values represent the velocity of erythrocyte aggregation, mean±SD($\mu\text{m}^2/\text{min}$) (n=6 except * n=3, ** n=9)

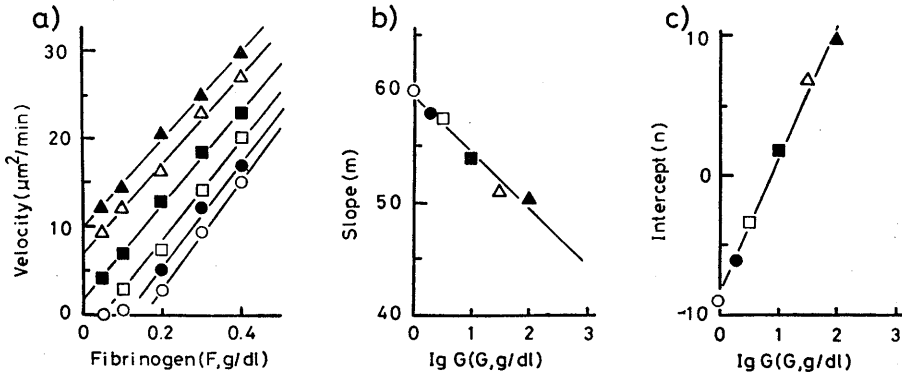


Fig. 6. Effect of fibrinogen and IgG on the rouleau formation of erythrocytes. a) Relationship between the velocity of rouleau formation and fibrinogen concentration, measured in the artificial medium containing various concentration of IgG : 2.0(\blacktriangle) 1.5(\triangle), 1.0(\blacksquare), 0.5(\square), 0.3(\bullet), 0(\circ)g/dl. b) Dependence of the slope in a) on IgG concentration. c) Dependence of the intercept in a) on IgG concentration, (see text).

められた。さらに、両タンパク質の共存下に於ける赤血球集合体形成速度は IgG よりも fibrinogen の濃度の変化に強く依存していた。以上の実験結果にもとづいて、今回の実験条件下 (Ht=0.3%, ずり速度=7.5 s⁻¹, albumin 濃度=5 g/dl, fibrinogen 濃度 \leq 0.5 g/dl, IgG 濃度 \leq 2.5 g/dl) に於ける赤血球集合体形成速度 (V, $\mu\text{m}^2/\text{min}$) と medium 中の fibrinogen 濃

度 (F, g/dl) および IgG 濃度 (G, g/dl) との関係を示す近似式を以下のように導いた。すなわち、各々の IgG 濃度において V と F との関係は直線に近似することができた (Fig. 6 a)。

$$V = m \cdot F + n \quad (r > 0.990)$$

また、この直線の勾配 (m) および切片 (n) は各々 IgG 濃度に依存し、その関係も直線に近似することができた (Fig. 6 b), 6 c)。

$$m = -5.12 \cdot G + 59.7 \quad (r = 0.966)$$

$$n = 9.59 \cdot G - 8.47 \quad (r = 0.990)$$

これらの関係から、IgG と fibrinogen との共存下に於ける集合体形成速度は以下のように表現できた。

$$V = -5.12 \cdot [F] \cdot [G] + 59.7 \cdot [F] + 9.59 \cdot [G] - 8.47 \quad \textcircled{1}$$

(但し、 $F > 0.15$ g/dl あるいは、 $G > 0.85$ g/dl)

Fibrinogen と IgG とをモル濃度で表現すると次のようになる。

$$V = -0.0026 \cdot [F_M] \cdot [G_M] + 2.03 \cdot [F_M] + 0.14 \cdot [G_M] - 8.47 \quad \textcircled{1}'$$

(但し、 $F_M > 4.4 \mu\text{M}$ あるいは、 $G_M > 57 \mu\text{M}$)

2. Fab および Fc による抑制作用

IgG と fibrinogen による赤血球集合のメカニズムについてさらに検討するために、両者を含む medium に IgG の酵素分解フラグメントである Fab および Fc を添加し、集合体形成速

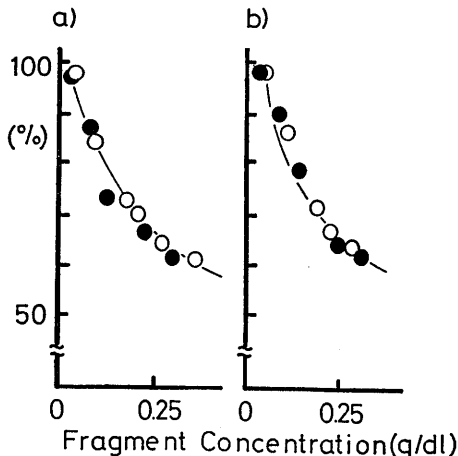


Fig. 7. Inhibitory effect of Fab and Fc on the velocity of erythrocyte aggregation (a) in 0.3 g/dl fibrinogen + 1.0 g/dl IgG + 5 g/dl albumin and (b) in 0.3 g/dl fibrinogen + 1.0 g/dl F(ab')₂ + 5 g/dl albumin in isotonic phosphate-buffered saline at 25°C. Velocity of erythrocyte aggregation without inhibitor, Fab(\circ) or Fc(\bullet), is expressed as 100%.

度に及ぼす影響を調べた。Fig. 7 に示すように、Fab および Fc はともに IgG と fibrinogen との共存下の集合体形成を抑制した。また、F(ab')₂ と fibrinogen との共存下について行った実験についても同様の結果を得た。

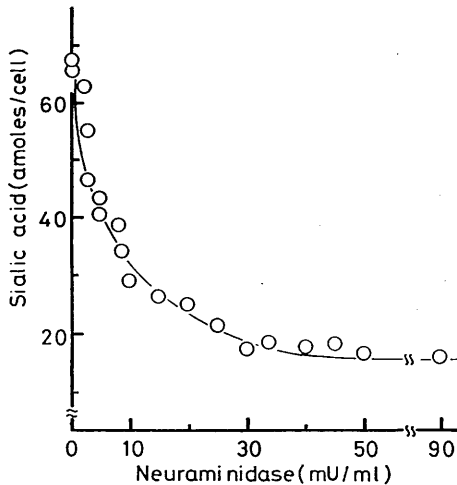


Fig. 8. Sialic acid content in erythrocytes treated by neuraminidase. Erythrocytes (Ht=20%) were incubated with neuraminidase (2-90 mU/ml) in isotonic phosphate-buffered saline (pH 7.4) at 37°C for 60 min.

C. 赤血球表面の陰性荷電と架橋分子の関係

赤血球集合は、架橋分子による赤血球間の架橋力が、赤血球表面の陰性荷電による静電反発力に打ち勝ったときに起こると考えられる。赤血球表面の陰性荷電を形成し、静電反発力を生みだしているのは、赤血球膜糖タンパク質の側鎖であるシアル酸が主体である。そこで、赤血球集合現象に於ける静電反発力の影響を調べるために、赤血球シアル酸量が IgG 並びに fibrinogen による集合体形成速度に及ぼす影響について検討した。

1. 赤血球に対する脱シアル化

種々の濃度の neuraminidase で処理した赤血球のシアル酸量を、チオバルビツール酸法により測定した結果を Fig. 8 に示す。この処理により、シアル酸量を無処理赤血球の約25%まで減らすことができた。尚、この処理によって赤血球の形態、赤血球指数、ざり応力に対する変形能には変化は認められなかった。

2. 脱シアル化赤血球の IgG による集合体形成速度

種々の濃度の IgG を含む medium 中に於け

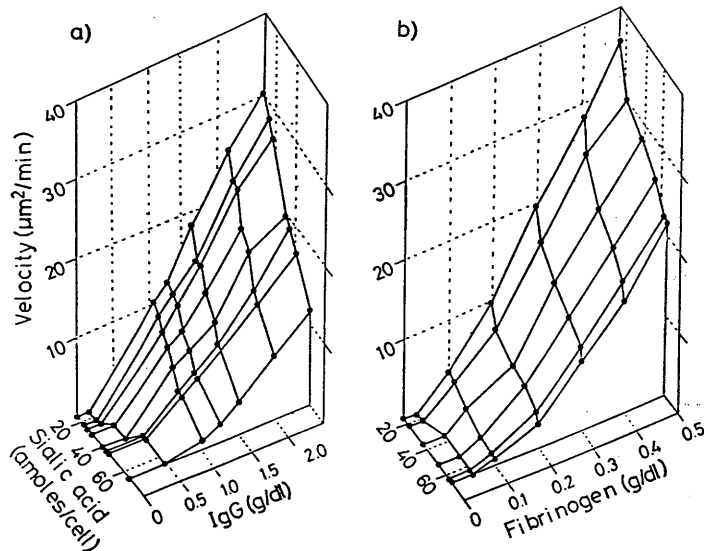


Fig. 9. (a) Effect of IgG and sialic acid content in erythrocytes on the velocity of erythrocyte aggregation. (b) Effect of fibrinogen and sialic acid content in erythrocytes on the velocity of erythrocyte aggregation. Measured in 5 g/dl albumin in isotonic phosphate-buffered saline at 25°C.

る脱シアル化赤血球の集合体形成速度とシアル酸量の測定結果を Table 2 に示した. Fig. 9 a) は IgG 濃度と赤血球シアル酸量が赤血球集合体形成速度に及ぼす影響を 3 次元的に表現したものである. IgG 濃度を増加させると集合体形成速度は増加した. また, シアル酸量を減少させても集合体形成速度は増加した. さらに, 集合体形成を引き起こし始めるのに要する IgG の濃度はシアル酸量の低下にともない減少していた. しかし, シアル酸を最大限にまで減らした場合においても, IgG が存在しなければ, 赤血球集合は起らなかった. 赤血球集合体形成速度 (V , $\mu\text{m}^2/\text{min}$) に対するシアル酸量 (S , amoles/cell) と IgG 濃度 (G , g/dl) との影響を

①式と同様の操作により以下のように近似することができた.

$$V = -0.12 \cdot [G] \cdot [S] + 15.7 \cdot [G] - 0.12 \cdot [S] - 1.57 \quad \textcircled{2}$$

(但し, 今回の実験に於けるシアル酸の濃度範囲で, なおかつ $G \geq 1.3 \text{ g/dl}$ の場合)

3. 脱シアル化赤血球の fibrinogen による集合体形成速度

種々の濃度の fibrinogen を含む medium 中に於ける脱シアル化赤血球の集合体形成速度とシアル酸量の測定結果を Table 3 に示した. Fig. 9 b) はこれらの関係を 3 次元的に表現したものである. fibrinogen 濃度を増加させるにともない集合体形成速度は増加した. また, シ

Table 2. Effect of sialic acid content on the IgG-induced erythrocyte aggregation.

Sialic acid (amoles/cell)	IgG (g/dl)							
	0.2	0.3	0.5	1	1.2	1.5	2	2.5
65.5	—	—	**0	0.8±0.001	2.1±0.08	3.9±0.12	7.9±0.21	11.9±0.26
46.4	—	—	*0	1.3±0.02	3.6±0.18	7.3±0.19	11.8±0.23	17.7±0.43
43.7	—	—	**0	1.5±0.02	4.1±0.10	8.1±0.17	12.7±0.22	18.2±0.31
40.5	—	*0	—	2.7±0.09	5.5±0.14	10.1±0.13	15.1±0.20	19.5±0.29
29.2	—	**0	7.3±0.17	8.6±0.29	12.2±0.27	19.2±0.35	—	—
25.0	*0	—	—	8.3±0.20	10.7±0.23	14.8±0.26	22.6±0.38	26.8±0.41
21.6	*0	—	—	9.5±0.23	11.4±0.19	15.1±0.22	21.8±0.30	29.1±0.36
17.8	**0	—	—	10.4±0.40	12.0±0.39	18.5±0.41	26.0±0.46	30.2±0.51

Values represent the velocity of erythrocyte aggregation, mean±SD ($\mu\text{m}^2/\text{min}$)
(n=6 except * n=3, ** n=9)

Table 3. Effect of sialic acid content on the velocity of fibrinogen-induced erythrocyte aggregation.

Sialic acid (amoles/cell)	Fibrinogen (g/dl)						
	0.03	0.05	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
65.5	—	**0	1.0±0.01	2.9±0.11	8.6±0.24	14.0±0.40	22.0±0.65
63.5	—	*0	1.2±0.02	3.9±0.15	10.1±0.31	15.9±0.41	22.1±0.73
51.6	—	*0	1.6±0.02	5.5±0.19	12.0±0.25	18.5±0.38	25.0±0.55
36.0	—	**0	2.5±0.10	5.9±0.16	13.5±0.28	20.8±0.51	27.3±0.67
21.6	*0	—	3.6±0.13	7.8±0.21	15.9±0.31	25.4±0.70	30.2±0.87
17.3	**0	—	3.9±0.18	10.3±0.23	20.3±0.33	28.6±0.67	36.0±0.95

Values represent the velocity of erythrocyte aggregation, mean±SD ($\mu\text{m}^2/\text{min}$)
(n=6 except * n=3, ** n=9)

アル酸量を減少させるにともなっても集合体形成速度は増加した。さらに、集合体形成を引き起こし始めるのに要する fibrinogen の濃度はシアル酸量の低下にともない減少していた。しかし、シアル酸を最大限に減らした場合においても fibrinogen が存在しなければ、赤血球集合は起らなかった。IgG の場合と同様に、今回の実験条件下に於けるシアル酸量 (S, amoles/cell) と fibrinogen 濃度 (F, g/dl) とが集合体形成速度 (V, $\mu\text{m}^2/\text{min}$) に及ぼす影響を以下のように近似することができた。

$$V = -0.76 \cdot [F] \cdot [S] + 106 \cdot [F] + 0.027 \cdot [S] - 10.1 \quad (3)$$

(但し、今回の実験におけるシアル酸の濃度範囲で、なおかつ $F \geq 0.15 \text{ g/dl}$ の場合)

IV. 考 察

血漿タンパク質などの高分子化合物の架橋によっておこる赤血球集合現象に於いて、高分子化合物と赤血球との相互作用は基本的には van der Waals 力、水素結合、あるいはイオン結合に依るものである³⁾。従って、赤血球集合は架橋分子の物理化学的性質や medium の性状により影響される²⁷⁾。

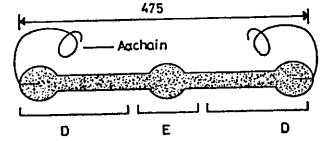
Chien and Jan は、赤血球同士が高分子化合物により接着する過程について次のように説明している。2個の赤血球はその表面のシアル酸を主とする陰性荷電が引き起こす静電反発力に依り互いに反発しあっている。赤血球間の架橋に於て静電反発力の影響が弱い場合か、或は高分子化合物の架橋力が強く静電反発力に打ち勝つ場合に、赤血球間に部分的な接着が成立する。この部分的な接着はさらに次の高分子による架橋を促し、赤血球間に最大接着面積を得るように架橋が進む。この際に赤血球膜の柔軟性も架橋を促す。一方、血流は接着した赤血球を引き離すように作用し、高分子による架橋力と拮抗する。赤血球集合はこれらの力のバランスによって決定される⁵⁾。

A. 血漿タンパク質の架橋力

血漿タンパク質の架橋力は、主として分子サ

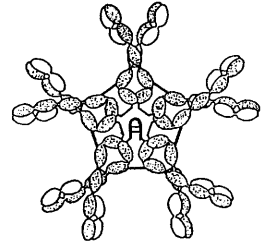
Fibrinogen

M.W.: 340000



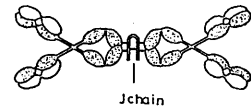
IgM

M.W.: 900000



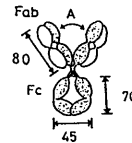
IgA

M.W.: 160,000-400,000



IgG

M.W.: 150000



F(ab')₂

M.W.: 100000



Fig. 10. Simplified molecular model of plasma proteins. Modified from Doolittle²⁷⁾ and Cathou²⁹⁾ (length in Å).

イズおよび赤血球との結合力 (結合部位の数、結合の強さなど) により決定されるものと考えられる。Chien ら^{3,5)}は、各種分子サイズのデキストランを用いて赤血球集合体における分子と赤血球との相互作用について電顕学的検討を行った。その結果分子サイズの大きい分子では赤血球との結合部位が増すことおよび接着している赤血球間距離が大きくなって静電反発力の影響が小さくなることを示した。今回の研究においては、赤血球表面の陰性荷電が変わらなければ、血漿タンパク質の架橋力は赤血球集合体形成速度(集合体形成力)と関連するものと考えられる。したがって架橋力を赤血球集合体形成速度により評価すると、免疫グロブリンにおいては、IgM (MW=900,000) が最も強く、IgA (MW=160,000~400,000; 分子が不均一)、IgG

(MW=150,000) の順に小さくなり、分子量に依存していた。しかし、fibrinogen (MW=340,000) による架橋力は IgG 及びその関連分子の分子量から予想されるよりも大きく、血漿タンパク質の架橋力は分子の形態、特に分子の長さにも重要な関連があると考えた。(なお、タンパク質分子自身の荷電も赤血球と相互作用するときには重要と考えられるが、fibrinogen と IgG のセルロースアセテート膜を用いて測定した電氣的泳動度はほぼ同じであり、両分子の間には分子全体としての荷電状態に大きな差はないものと考えた。) 分子サイズからみると (Fig. 10),¹⁾ fibrinogen は両端 (D 部位) に直径 65 Å, 中央部分 (E 部位) に直径 50 Å の節状構造をもつ 475 Å 長の棒状分子であるとされている⁹⁾。Maeda et al. は¹⁰⁾, fibrinogen に於ける赤血球との結合部位は D 部位の A α 鎖付着部近傍に存在すると報告している。従って、fibrinogen の架橋に携わる分子サイズは約 500 Å と考えられる。

一方、IgG は 70 Å 長の Fc 部分に対して 2 本の 80 Å 長の Fab 部分がある角度をもって結合している²⁾。Grob et al.¹¹⁾ は免疫グロブリンと赤血球との非特異的な結合が Fab ないし Fc で起ると報告している。このように Fab 及び Fc で架橋するとすれば架橋の長さは約 150 Å となる。2 本の Fab で架橋するとしても、Fab-Fab 間の角度が最大限開いた状態で架橋の長さは約 160 Å となる。従って、fibrinogen と IgG とを比較したとき、fibrinogen のほうが赤血球間の距離が長いので静電反発力の影響を受け難いと考えられる。今回の実験結果から、血漿タンパク質の生理的濃度範囲 (fibrinogen 濃度, 0.3 g/dl ; IgG 濃度, 2.0 g/dl) に於て、仮に集合体形成速度を 20% 増加させるとすれば、IgG では濃度を約 0.2 g/dl 増加させる必要がある。これに比べて、fibrinogen では濃度を約 0.03 g/dl 増加させればよい。このことから fibrinogen が IgG に比べて赤血球間を架橋しやすいことが理解される。

IgM 分子のサイズを構造から推測すると約

400 Å となる。IgM 分子は fibrinogen に比べて分子サイズは短いにもかかわらず、集合体形成力が大きかった。これは、分子あたり赤血球との間の結合部位の数が多いためと考えた。

また分子量 100,000 の F(ab')₂ は単独では集合体形成を起さなかった。これは IgG による赤血球間の架橋が Fab 及び Fc 間でおこなっていることを支持するものと考えた。しかし、F(ab')₂ における Fab 部位の赤血球との結合力の変化、構造の変化についても考えなければならない。以上のことから、血漿タンパク質による赤血球間の架橋には少なくとも分子サイズとして 150~160 Å が必要であると考えた。

B. 血漿タンパク質の相互作用

Fibrinogen による赤血球集合体形成が IgG の添加により促進された。これら二者が共存した場合の集合体形成速度は各々単独による集合体形成速度の和よりも大きかった。Fibrinogen と IgG との共存下に於ける赤血球集合体形成速度に対する各タンパク質の影響を、これらのタンパク質のほぼ生理的濃度 (F=0.3 g/dl すなわち 8.8 μ M, G=2.0 g/dl すなわち 133 μ M) に於て評価してみると、式①'より $\partial V/\partial G_M=0.12$, $\partial V/\partial F_M=1.7$ となり IgG よりも fibrinogen の濃度の変化に強く依存していることが解った。また fibrinogen による集合体形成は単独には赤血球間を架橋しない F(ab')₂ によっても促進された。以上のことから、IgG, F(ab')₂ の添加による集合体形成の促進は、これらのタンパク質が fibrinogen と何らかの相互作用 (例えば複合体形成) をすることによるものと考えた。Imaizumi and Shiga¹³⁾ は 60% 血漿に IgG, F(ab')₂ を添加し赤血球集合の促進を観察しているが、この現象はこれらのタンパク質と血漿中の fibrinogen との相互作用によるものと考えられる。

Fab 及び Fc の添加は fibrinogen による集合体形成に影響を与えなかったが、IgG 及び F(ab')₂ による fibrinogen の集合体形成促進作用を抑制した。Grob et al.¹¹⁾ は結合実験により免疫グロブリンと赤血球との非特異的な結合が

Fab あるいは Fc で起こり、また Fab 及び Fc が単独に赤血球と結合することによって免疫グロブリンと赤血球の結合を抑制することを報告している。また、Imaizumi et al.¹²⁾は、Fab 及び Fc が 60% 血漿中で起る IgG および F(ab')₂ による赤血球集合を抑制することを報告している。以上のことは、赤血球側からみた場合、fibrinogen と IgG および F(ab')₂ とでは赤血球表面に於ける結合部位が異なり、Fab 及び Fc が IgG 及び F(ab')₂ の赤血球との結合をその構造上の類似性によって競合的に阻害したものと考えた。一方、架橋分子側からみると、fibrinogen と IgG あるいは F(ab')₂ 間の相互作用の形式は明らかでないが、Fab、Fc がこれら分子間の相互作用を阻害している可能性も考えなければならない。これらの相互作用は、血漿中ではさらに多種類のタンパク質の間に存在し、赤血球集合現象に複雑に関与しているものと考えられる。

C. 静電反発力と架橋分子

赤血球膜表面に存在する糖タンパク質の側鎖であるシアル酸の陰性荷電は、赤血球間にみられる静電反発力の主因を成すものであり、シアル酸量と赤血球表面の陰性荷電密度の指標である電気的移動度とはよく相関していると報告されている¹⁵⁾。高分子による架橋力が、赤血球同士の陰性荷電による反発力を上回る場合に赤血球は互いに接着するので、陰性荷電を減少させると赤血球集合は起こりやすくなる。今回の研究では IgG 及び fibrinogen を架橋分子として、それらの架橋力とシアル酸量との関係を定量的に比較検討した。Fig. 9 からも明らかなように、シアル酸の減少にともなう赤血球集合体形成速度の増加は、fibrinogen による赤血球集合に於けるよりも IgG による赤血球集合において顕著であった。生理的な fibrinogen 濃度 (0.3 g/dl) および IgG 濃度 (2.0 g/dl) において、シアル酸を 10% 減少させることによる赤血球集合体形成速度の増加は、fibrinogen の場合 11% であるのに対して、IgG の場合 18% であった (式②から $G=2.0 \text{ g/dl}$ の時 $\partial V/\partial S=-0.36$ 、ま

た、式③から $F=0.3 \text{ g/dl}$ の時 $\partial V/\partial S=-0.20$ となることから明らかである)。このことは、fibrinogen では分子が長いために赤血球間を架橋するに当って、静電反発力の影響を受けにくいのでシアル酸を除いてもその効果は少ないが、IgG の場合は分子が短いため、シアル酸による静電反発力の影響を少なくすることによって赤血球集合がより起こりやすい状態になったものと考えた。病態生理学的には、赤血球表面の構造変化¹⁷⁾、シアル酸の減少⁴⁾ などによって赤血球間の静電反発力が減少してくるときには、赤血球集合に対する IgG の関わりが重要性を増してくるものと考えた。

V. おわりに

画像処理法を用いて、赤血球集合現象を定量的に測定し、各種血漿タンパク質ならびに IgG の酵素分解物および赤血球の表面陰性荷電の赤血球集合現象における役割について検討した。

1) 血漿タンパク質による赤血球集合は、 $\text{IgM} > \text{fibrinogen} > \text{IgA} > \text{IgG}$ の順に強くなり、分子量に依存していた (fibrinogen は分子量から予想されるよりも強い集合を起こした)。F(ab')₂、Fab および Fc は赤血球集合をおこさなかった。

2) IgG および F(ab')₂ は fibrinogen による赤血球集合体形成を促進した。この促進作用は Fab 及び Fc により抑制された。

3) 赤血球表面のシアル酸量を減らすことにより、IgG および fibrinogen による赤血球集合は増強され、この脱シアル化の効果は分子の長い fibrinogen よりも分子の短い IgG に対してより顕著であった。

4) 以上の結果にもとづいて、血漿タンパク質および赤血球表面陰性荷電の赤血球集合現象に果たす役割について考察を加えた。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導・御校閲を賜りました前田信治教授ならびに本研究の機会を与えていただきました第一外科学恒川謙吾教授に深甚なる感謝

の意を表します。また数々の御助言をいただきました精山明敏博士、立石憲彦博士及び鈴木洋司博士に深く感謝いたします。

文 献

- 1) Bing, J. & NeeL, A. V. (1936) Two cases of hyperglobulinemia with affection of the central nervous system on a toxic-infectious basis. *Acta Med. Scand.* **88**, 492-506
- 2) Cathou, R. E. (1978) *Comprehensive Immunology* 5, ed., Litman, G. W. and R. A. Good, 37-84
- 3) Chien, S. (1975) Biophysical behavior of red cells in suspensions. In: *The Red Blood Cell*, D. M. Surgenor (Ed), Vol. 2 (2nd ed), Academic Press, New York, 1031-1133
- 4) Chien, S., Cooper, G. W., Jan, K.-M., Miller, L. H., Howe, C., Usami, S. & Lalezari, P. (1974) N-acetylneuraminic acid deficiency in erythrocyte membrane. *Blood*, **43**, 445-460
- 5) Chien, S. & Jan, K. M. (1973) Red cell aggregation by macromolecules: Roles of surface adsorption and electrostatic repulsion. *J. Supramol. Struct.* **1**, 385-409
- 6) Deutsch, D. G. & Mertz, E. T. (1970) Plasminogen: Purification from human plasma by affinity chromatography. *Science*, **170**, 1095-1096
- 7) Dodge, J. T., Mitchell, C. & Hanahan, D. J. (1963) The preparation and chemical characteristics of hemoglobin-free ghosts of human erythrocytes. *Arch. Biochem. Biophys.* **110**, 119-130
- 8) Doolittle, R. F. (1981) Fibrinogen and fibrin. *Sci. Am.* **245**, 92-101
- 9) Dormandy, J. & Nash, G. (1987) Importance of red cell aggregation in venous pathology. *Clin. Hemorheol.* **7**, 119-122
- 10) Fahey, J. L., Barth, W. F. & Solomon, A. (1965) Serum hyperviscosity syndrome. *J. Am. Med. Assoc.* **192**, 464-467
- 11) Grob, P. J., Frommel, H. C. & Masouredis, S. P. (1967) Interaction of IgG and its fragments with red cells. *Immunology*, **13**, 489-499
- 12) Imaizumi, K., Imai, A., Maruyama, T. & Shiga, T. (1984) Inhibition of IgG-, F(ab')₂-, and myeloma protein-induced erythrocyte aggregation by small IgG fragments. *Clin. Hemorheol.* **4**, 431-439
- 13) Imaizumi, K. & Shiga, T. (1983) Effect of immunoglobulins and IgG-fragments on the human erythrocyte aggregation, studied by a rheoscope with image analyzer. *Biorheology*, **20**, 569-577
- 14) Isogai, Y., Mochizuki, K., Yokose, T., Okabe, H., Asikaga, M., Akiyama, M. & Abe, M. (1981) Intravascular erythrocyte aggregation and hemorheological abnormalities in diabetes. *Bibli. Anat.* **20**, 161-165
- 15) Maeda, N., Imaizumi, K., Sekiya, M. & Shiga, T. (1984) Rheological characteristics of desialylated erythrocytes in relation to fibrinogen-induced aggregation. *Biochim. Biophys. Acta.* **776**, 151-158
- 16) Maeda, N., Seike, M., Kume, S., Takaku, T. & Shiga, T. (1987) Fibrinogen-induced erythrocyte aggregation: erythrocyte-binding site in the fibrinogen molecule. *Biochim. Biophys. Acta.* **904**, 81-91
- 17) Maeda, N., Seike, M., Nakajima, T., Izumida, Y., Sekiya, M. & Shiga, T. (1990) Contribution of glycoproteins to fibrinogen-induced aggregation of erythrocytes. *Biochim. Biophys. Acta.* **1022**, 72-78
- 18) Maeda, N., Sekiya, M., Kameda, K. & Shiga, T. (1986) Effect of immunoglobulin preparations on the aggregation of human erythrocytes. *Eur. J. Clin. Invest.* **16**, 184-191
- 19) Marder, V. J., Shulman, N. R. & Carrol, W. R. (1969) High molecular weight derivatives of human fibrinogen produced by plasmin. I. Physicochemical and immunological characterization. *J. Biol. Chem.* **244**, 2111-2119
- 20) Rand, P. W., Barker, N. & Lacombe, E. (1970) Effects of plasma viscosity and aggregation on whole-blood viscosity. *Am. J. Physiol.* **218**, 681-688
- 21) Satoh, M., Imaizumi, K., Bessho, T. & Shiga, T. (1984) Increased erythrocyte aggregation in diabetes mellitus and its relationship to glycosylated haemoglobin and retinopathy. *Diabetologia*, **27**, 517-521
- 22) Schmid-Schonbein, H., Wells, R. & Schildkraut, R. (1969) Microscopy and viscometry of blood flowing under uniform shear rate (rheoscope). *J. Appl. Physiol.* **26**, 674-678
- 23) Seike, M. (1988) Effect of plasma substitutes on the velocity of erythrocyte aggregation. *Jpm. J. Transf. Med.* **34**, 420-431
- 24) Seike, M., Nakajima, T., Suzuki, Y., Maeda, N. & Shiga, T. (1989) Acceleration of erythrocyte aggregation with in vivo aging. *Clin. Hemorheol.* **9**, 909-922
- 25) Shiga, T., Imaizumi, K., Harada, N. & Sekiya, M. (1983) Kinetics of rouleaux formation using TV image analyzer. I. Human erythrocytes. *Am. J. Physiol.* **245**, 252-258
- 26) Shiga, T., Imaizumi, K., Maeda, N. & Kon, K. (1983) Kinetics of rouleaux formation using TV image analyser. II. Rat erythrocytes. *Am. J. Physiol.* **245**, 259-264

- 27) Shiga, T., Maeda, N. & Kon, K. (1990) Erythrocyte rheology. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* **10**, 9-48
- 28) Sowemino-Cocker, S. O., Whittingstall, P., Pietsch, L., Bauersachs, R. M., Wenby, R. B. & Meiselman, H. J. (1989) Effect of cellular factors on the aggregation behavior of human, rat and bovine erythrocytes. *Clin. Hemorheol.* **9**, 723-737
- 29) Stolz, J. F. & Donner, M. (1987) Importance of erythrocyte aggregation. *Clin. Hemorheol.* **7**, 15-23
- 30) Warren, L. (1959) The thiobarbituric acid assay of sialic acids. *J. Biol. Chem.* **234**, 1971-1975
- 31) Wells, R. (1970) Syndromes of hyperviscosity. *New Engl. J. Med.*, **283**, 183-186

第 79 回 近 畿 生 理 学 談 話 会

日 時：1990年10月6日(土)
場 所：三重大学医学部基礎校舎
当 番：三重大学医学部生理学教室
当番幹事：野坂昭一郎，田中 任

*は非会員を示す

A 1. 漕運動における作業成績と有酸素能力との関係

佐藤尚武，田中 任*(滋賀大，教育・三重大，医，第二生理*)

ボート選手における陸上での模擬的漕運動から，その作業成績(漕力)と有酸素能力との関係を検討した。初心者から国際大会出場者にわたる大学生および社会人の男子377名を対象に，電磁式に改良した Gamut 型エルゴメータで6分間の全力漕運動を負荷した。ドラム回転数を計測し，運動中および運動後の酸素摂取量を測定した。

総ドラム回転数から求めた漕力の平均値と標準偏差は， 203 ± 23.6 watt であった。この平均値を基準にして漕力を10段階に得点化し，パワー得点とした。日本選手権に出漕したエイトについて，クルー別の平均パワー得点をベスト記録に対応させたところ，両者の間には直線関係が認められた。このパワー得点は，実漕の競技力を知る有力な手段になると考えられる。次に，漕運動におけるエネルギー需給関係を調べると，有酸素的供給の割合が65~75%を占め，この割合は漕力の大きい選手ほど高かった。また，漕運動中の酸素摂取量は2分以後ほぼ一定の水準にあり，総酸素摂取量は漕力の大きい選手ほど多かった。酸素摂取量の最大値は2.78~5.62 l/min の範囲にあり，この最大値はパワー得点に比例して直線的に増大した。漕力の発揮には，有酸素能力がきわめて重要な因子になることが推察される。

A 2. トレッドミル走行中の生理的反応に及ぼす風の影響

辻田純三，石指宏道，土屋素明，堀 清記，梅林 薫*(兵庫医大，第一生理・大阪体育大*)

トレッドミル走行中の生理的反応に及ぼす風の影響について検討した。成人男子5名を被検者とし，30℃，湿度60%の人工気候室内で実験を行った。被検者は30分間人工気候室内で安静を保った後，トレッドミル走を60分間行った。トレッドミルは水平位とし180 m/

min のスピードで，無風状態と前方より 3 m/sec の向い風の2種の条件で行った。走行前，走行中及び回復時20分の $\dot{V}O_2$ ， $\dot{V}CO_2$ ，直腸温，皮膚温(前額部，胸部，腹部，背部，前腕部，大腿部)心拍数を経時的に測定した。背部より発汗カプセル法にて10分おきに局所発汗量を測定した。測定前後の体重を測定し総発汗量とした。

無風状態と比較して風の影響について検討すると，風を受ける前面の皮膚温の低下，運動中の心拍数の減少，運動中の $\dot{V}O_2$ の減少，直腸温上昇の低下及び体重減少量の低下が観察された。

風による汗の水分蒸発の促進や限界層の減少は放熱を促進させ，皮膚温を低下させ，中枢温の上昇度を抑えたと思われる。 $\dot{V}O_2$ のわずかな減少は平均体温の低下による van't Hoff 効果により代謝量が減少したためと推定される。発汗量と心拍数の減少は中枢温と皮膚温の低下によるものと推定される。

A 3. 高酸素親和性血液による骨格筋の発生張力— $\dot{V}O_2$ への影響

上月久治，榎 泰義，坂田 進，清水 悟，松村一仁(奈良医大，第二生理)

灌流骨格筋の発生張力あたりの $\dot{V}O_2$ (O_2 cost) に対する血液の高 O_2 親和性の影響を検討した。イノシン処理した保存ヒト赤血球を正常親和性血液 (P_{50} 31 torr)，未処理を高親和性血液 (P_{50} 27 torr) として用いた。イヌの単離した腓腹一足底筋を4 Hz 等尺性単収縮を行わせ定流量で灌流を行った。エピネフリンの灌流液への添加により発生張力の値が無添加に比べ90%増大し， O_2 cost が改善された。以後，灌流液 (Ht 30%) のエピネフリン濃度 3.0 ng/ml で灌流した。

正常親和性血液の灌流 ($n=10$) により $\dot{V}O_2$ (ml/min \cdot 100 g) と発生張力 (kg/100 g) はそれぞれ3分目で11.19と8.34，15分目で9.05と6.80となった。 O_2 摂取率は0.46から0.35に低下した。 O_2 cost (μ l/g^{TD} \cdot tw) は 5.64 ± 0.98 から 5.62 ± 1.01 と一定であった。高 O_2 親和性血液 ($n=7$) の結果は $\dot{V}O_2$ と発生張力が3分目，

10.91 と 9.32 から15分目, 7.81 と 7.25 に低下した。O₂ 摂取率は 0.40 から 0.29 に低下した。O₂ cost は 5.11 ± 1.10 から 4.63 ± 1.10 と一定の値となった。P₅₀ の差 4 torr の O₂ 親和性変化により $\dot{V}O_2$, O₂ 摂取率, O₂ cost に有意な変化は生じなかった。

A 4. 顕微分光法による微小血管からの酸素放出速度の測定

原田 昇, 吉原治正, 志賀 健 (阪大, 医, 第一生理)

微小血管内を流動する赤血球から組織への酸素放出速度を求めるために, 上流・下流の2点におけるヘモグロビン濃度, 酸素飽和度及び赤血球速度を同時計測するシステムを開発した。ラット腸間膜を露出後, 顕微鏡ステージに固定し, sodium hydrosulfite (10 mM) 添加リン酸緩衝液 (pH 7.4, 37°C) にて表面灌流した。顕微鏡下に微小血管上の2スポット (径 8 μm) の透過光を, それぞれ接眼部と密着した2本の光ファイバー (径 400 μm) を通じて, 回折格子型分光光度計に導き, 高感度フォトンカウンターにて 450~650 nm の各波長での光子数を計測した。血管近傍の腸間膜を対照として吸光度を算出し, 非線形最小自乗法によりヘモグロビン濃度及び酸素飽和度を算出した。又, 同様に他方の接眼部と密着した2本の光ファイバーを通じて, 同一血管上の2スポットの透過光を光電子増倍管へ導き, dual-slit 相互相関法により赤血球速度を算出した。血管径は CCD カメラによる画像を処理して計測した。

本システムを用いることにより, ラット腸間膜微小血管 (径 8~24 μm) の2点 (距離 150 μm 以上) における酸素飽和度の較差を測定することができた。得られた酸素放出速度は 1~8 nmoles O₂/cm²/sec であり, 酸素放出速度は赤血球速度と逆相関を示した (r = -0.57, P < 0.01)。

A 5. 傾斜微細管における赤血球沈降現象のレオロジー的研究

*鐘 貴輝, 山口三郎, 新見英幸 (国立循環器病センター研究所)

傾斜した微細管 (径 0.2~1 mm) における赤血球沈降の増大に関する物理 (レオロジー) 現象を2種類のサスペンション (血漿及び生食) で実験及び理論的に研究した。実験では, ステレオ式顕微鏡ビデオシステムを用いて, 観察分析を行なった。血漿サスペンション

では赤血球の凝集が起り, 生食サスペンションでは赤血球凝集はみられないが, 傾斜角が 0°~60° で, 次の相異が見出された。1) 赤血球の凝集は赤血球沈降率 (ESR) を著しく増加させた。2) 血漿サスペンションでは, 常に管壁 (下面向) に赤血球を含まない薄い層が存在したが, 生食サスペンションでは, 管径が 0.4 mm 以下の微細管でのみ観察された。3) ヘマトクリットを20%から30%に増加させると, ESR が減少した。これらの実験結果は, ESR の増大は管壁無赤血球層の存在によることを示している。この背景にあるレオロジー的機構を解明する為, 円管二相モデル (管壁の無赤血球層と管中央部のサスペンション) に基いて, 微分方程式を展開し, これを数値解析を行なった。赤血球凝集による赤血球沈降の時間変化が, 初期の非平衡時を含め, 極めて良くシミュレートすることが出来た。

A 6. 幼若ラットにおける血中 Na 濃度変化に対する髄液 Na 濃度の過渡的応答

土井康生, 能勢 博, 森本武利 (京都府立医大, 第一生理・小児科*)

脳室内の髄液 Na 濃度の連続測定が可能な微小 Na 電極を開発し, 幼若ラット (n=7) において, 血液中に体重 100 g 当り 0.2 ml の 1 M NaCl 溶液を10分間かけて輸液した際の血中 Na 濃度 ([Na]_P) と髄液 Na 濃度 ([Na]_{CSF}) を連続測定し, 成熟ラット (n=6) における結果と比較した。

[Na]_P は 1 M NaCl 溶液注入直後より直線的に増加して注入終了時にピークを示し, その後急激に減少し, 注入終了後13分ではほぼ定常状態となった。幼若ラットの [Na]_P の増加量はピーク時および注入終了後20分の時点でも, 成熟ラットにおける増加量の約 1/2 であった。[Na]_{CSF} は注入開始2分後より漸増しはじめ, 注入終了2分後ではほぼ定常値に達し, 両群とも 2 mEq/kg H₂O の増加を示した。1 M NaCl 溶液注入時の [Na]_P の増加量に対する [Na]_{CSF} の増加量の比は幼若ラットの 0.42 ± 0.03* に対し, 成熟ラットでは 0.23 ± 0.04 であった。また注入終了後20分での $\Delta[Na]_{CSF}/\Delta[Na]_P$ は, 幼若ラットの 0.56 ± 0.05* に対し, 成熟ラットでは 0.30 ± 0.06 であった (*P < 0.01)。

以上の結果から, [Na]_P の急激な上昇時における [Na]_{CSF} の増加量は, 幼若ラットでは成熟ラットに比して高く, 血液脳関門の機能が低いことが示唆された。

A 7. 静止分泌状態の腺細胞容積は何が調節しているのか？

今井雄介, 中張隆司, 吉田秀世, 宮本 学, 相馬義郎 (大阪医大, 第一生理)

静止状態の唾液腺細胞は Sucrose 付加高張 Ringer 液灌流で収縮し, かつ安定な収縮容積状態に保つ. 分泌状態の腺細胞は多量の K 脱出があり, 同時に収縮する. 定常分泌相では安定な収縮容積を維持する. 腺細胞の安定な容積維持はどのような機構に因るものだろうか? 腺細胞膜には張力はなく Rigidity, Compliance 等が容積を保っているのではない. 細胞内イオン量を定常にして容積が決定されていると見られる. イオン量は並列の input-output 機構で決まる. 拡散, 能動輸送, 共輸送, 対流の釣合で, 静止および分泌各状態の定常イオン量が決まる. 定常状態は一般に柔軟性がありイオン輸送によりレベルが変化する.

今回は, 腺細胞には容積感知装置があってそれがイオン透過性を介してイオン流-イオン量を調節し, その結果容積を決定するという複雑な negative feedback 機構があると仮定してモデルを作り, 回路網シミュレーションでもって検討した. すなわちイオン透過性変化率が容積変化率に比例して変化すると仮定して, 実験結果とほぼ等しい高張 Ringer 液灌流で収縮容積を保ち, かつ定常分泌時の定常容積を保つシミュレーションができた. すなわち細胞容積変化率情報が透過性変化率に作用する negative feedback 機構が安定容積維持機構になっていると推定した.

A 8. 細胞内の膜分画に store された Na/K pump の insulin による形質膜への移送促進

尾松万里子, 北里 宏 (滋賀医大, 第二生理)

カエル骨格筋にインスリンを与えると形質膜分画の Na, K-ATPase 活性及びウアブイン結合が増大した. 界面活性剤を用いて形質膜を leaky にすると活性がさらに 2 倍に増大したことからインスリンによって形質膜の Na/K ポンプ数が増加したと思われる. 次に細胞内分画を調べてみると, 細胞を破碎して超遠心分離した上清に Na, K-ATPase 活性を見出した. この上清をさらに陰イオン交換体によって分離して, 比活性の高い分画 (fraction II) を得た. この分画は一般には可溶性分画と言われているので, この分画中に膜成分が存在するかどうか調べた. 脂質分析の結果, fraction II 中に膜脂質に含まれる 5 種類のリン脂質を見出した. そのコレステロール/リン脂質比は形質膜のものに比

べて極めて低く, この分画に含まれる膜成分は形質膜とは異なることがわかった. fraction II に界面活性剤を加えると Na/K ポンプ活性は約 30% 増大したため, Na/K ポンプ分子は leaky な, しかし, 一部は tight sealed されたベシクルに埋込まれていると思われた. これらのことから, 骨格筋細胞内において Na/K ポンプは膜分画中にストアーされており, インスリンによって形質膜への移送が促進されると考えられる.

A 9. 内耳血管灌流による血管条イオン輸送の検討 進藤昌彦, 宮本 学*, 今井雄介* (京都府立医大, 耳鼻科・大阪医大, 第一生理*)

脊椎動物のカタツムリ内リンパ腔には, 高い正電位 (+80~+90 mV) のカタツムリ内電位 (Endocochlear potential (EP)) が存在し, また高カリウム, 低ナトリウムという特徴的なイオン組成をもつ内リンパ液が存在する. この特徴的な電位とイオン組成を維持している部位は血管条であり, なかでも内リンパ腔に接している辺縁細胞が大きな役割を役じていると考えられている. そこでモルモットのカタツムリを前下小脳動脈から人工液で血管および外リンパ腔を灌流し微小ガラス電極法にてカタツムリ管内電位を測定することにより, 辺縁細胞のイオン輸送機構と酸素依存性について検討した. 灌流はシリンジ型ポンプにて行い, 灌流液は (1) Krebs-Henseleight Ringer (2) 人工血液 (20 w/v% FC-43) を用いた. 95% O₂, 5% CO₂ にてバブリング後灌流した. さらにイオン置換実験は Ringer 液の Na⁺ を choline に置換, Cl⁻ を SO₄²⁻ に置換したイオン組成液を用い行った. さらにフロセミド, ウワバインなどの輸送阻害薬物に対する反応を合わせ検討した. これらの結果からカタツムリ管内電位 (EP) を維持するためのイオン輸送機構を考案し, 内リンパを生成する辺縁細胞イオン輸送モデルを提出した.

A 10. X線微小部分分析法による灌流ウサギ心筋細胞内のイオン動態

佐々木貞雄, *澤田吉英*, *森田雅文*, 小池 龍*, 中垣育子, *近藤久雄** (大阪医大, 第一生理・胸部外科*・京大, 医, 衛生**)

心筋細胞の細胞膜には dihydropyridine を初めとする Ca⁺⁺ 拮抗剤に感受性のある Ca⁺⁺ チャネルが存在し, 心筋の機能の調節に重要な役割を担っていると考えられている. また心筋細胞に於いても, 平滑筋と同様, 細胞膜の燐脂質代謝産物が筋小胞体よりの Ca⁺⁺

の遊離を調節しており、細胞膜や筋小胞体膜を介しての H^+ 勾配がこの調節を修飾している可能性も指摘されている。臨床的には人為的心筋虚血状態である開心術後の再灌流時、カルシウムの細胞内への異常流入が生じ、これが同時に発生すると考えられる free radical とともに、再灌流心筋障害の主役を演ずると云う報告もある。

今回ウサギ心室筋における虚血時および再灌流時のイオン動態が CoQ 10 のような細胞膜を介しての H^+ 勾配を増強すると考えられる薬剤にどのような影響を受けるかを検討するため開心術中の虚血前、虚血心停止中、再灌流時の3時点で心室筋小片を採取し、X線微小部分分析法で細胞内の元素濃度を測定した。CoQ 10 を投与した場合、再灌流時に心室筋筋原線維A帯上の Ca, Na 濃度は対照に比し低下した。細胞膜、筋小胞体膜上における Na^+ , H^+ および Na^+ , Ca^{2+} 交換輸送担体の存在が検討された。又、摘出ウサギ心室筋に nicardipine ($10^{-6}M$, $10^{-5}M$) を作用させた場合、固有心筋の収縮要素のA帯上の Ca 濃度は減少した。

A 11. 近位尿細管細胞のイオン輸送に対するドーパミンの効果

萩原暢子, 窪田隆裕, 久保川学, 小寺邦彦, 藤本守 (大阪医大, 第二生理)

【目的】 近位尿細管細胞のイオン輸送におけるドーパミンの効果、イオン電極および蛍光色素を用いて調べ、サイクリック AMP の効果と比較検討した。

【方法】 カエル腎近位尿細管細胞の周囲側よりドーパミン (DA , $10^{-6}M$), dibutyl-*cyclic* AMP (db-cAMP, $10^{-4}M$) およびドーパミン拮抗剤 (DA_1 -antagonist, SCH 23390, $10^{-6}M$) 等を投与した時の細胞内 Na^+ , Ca^{2+} 活量 ($(Na)_i$, $(Ca)_i$), 細胞内 pH (pH_i) と細胞膜電位 (E_m) を測定した。また、蛍光色素のアクリジン・オレンジを用いて細胞内 H^+ 分布の変化を調べた。

【結果】 DA 投与により、 E_m は対照時に比べて約 6.5 mV 過分極し、 $(Na)_i$ は約 4 mEq/l 減少した。 $(Ca)_i$ については、二相性の変化を示し、一過性の初期増加の後、約 8 nM 減少した。また、 pH_i は約 0.07 アルカリ化し、細胞内 H^+ の細胞内酸性小胞への取り込みが、有意に増加しているのが見られた。db-cAMP 投与では、 E_m , $(Na)_i$, $(Ca)_i$, pH_i および細胞内 H^+ 分布において、 DA 投与時と同様の変化を示した。さらに、 DA_1 拮抗剤投与により、 DA の効果はほぼ完全

に阻害された。

【結論】 近位尿細管細胞のイオン輸送に対する DA 作用は、adenylate cyclase cAMP system を介している可能性が考えられる。その作用は 1) 管腔側よりの Na^+ 流入の阻害、2) 細胞内酸性小胞への H^+ ポンプの促進、3) Ca^{2+} プールからの放出促進および細胞内 Ca^{2+} ポンプの活性化の可能性が考えられた。

A 12. 腎近位尿細管細胞の Cl チャネル

森 禎章, 少作隆子, 山口 淳*, 藤本 守(大阪医大, 第二生理・整形外科*)

腎近位尿細管には種々イオンチャネルが存在し、糸球体濾液の再吸収に重要な役割を果している。これまで、この部位に Na, K, 非選択性陽イオンチャネルの存在することが報告されているが、Cl チャネルに関する報告は極めて乏しい。そこで我々は、近位尿細管由来の培養細胞であるオポッサム腎細胞 (OK 細胞) を用い、その膜に Cl チャネルが存在するか否かを調べた。

patch-clamp 法を用い、全細胞電流および単一チャネル電流を種々の実験条件下において測定した。得られた結果は以下の通りである。1) 細胞を低張液にさらすと Cl conductance が著しく増大し、それは Cl チャネル阻害剤、DIDS により抑制された。Ca を含まない液中でも同様の結果が得られた。2) outside-out patch の実験より、低張処理により活性化される Cl conductance の少なくとも一部は、20 pS Cl チャネルにより形成されていることがわかった。3) 膜を excised することにより活性化される 60 pS Cl チャネルが約 5% の inside-out patch 膜で観察された。このチャネルは弱い外向き整流性を示し、細胞外に加えられた DIDS により著明に抑制された。

以上より、細胞容積調節に関与すると思われる 20 pS Cl チャネルと、その生理的役割の不明な 60 pS Cl チャネルの 2 種類が OK 細胞の膜に存在することが判明した。

A 13. 冷水一温水ストレス下的水棲昆虫のリン酸代謝の変化

千葉 惇, 浜口雅光, 徳野達也, 朝井俊治, *奥田裕章, 秩父志行 (近畿大, 医, 第一生理)

in vivo ^{31}P -NMR を用いて水棲昆虫における温度ストレス下の高エネルギーリン酸代謝の変化を調べた。材料はミズカマキリ (体長 8~9 cm) で、拘束並びに冷水一温水ストレスを行なった。

環境水温18℃でミズカマキリを直径10mmのNMR試料管に入れると、はじめの1時間内ではアルギニンリン酸(Arg-P)は初期濃度から10%減少したが、その後はほとんど変化しなかった。 β -ATPは6時間以内の拘束ストレスではほとんど変化しなかった。水温を18℃から30℃に上昇させると、Arg-P濃度の低下と無機リン酸(Pi)濃度の上昇が観察された。また、水温を18℃から4℃に変えた場合にはArg-PやPiのシグナルはほとんど変化しなかったが、4℃から18℃に上昇させた時にはArg-Pの低下とPiの上昇がみられた。18℃の水温から4℃冷水に15分間曝露させ、次に15分間30℃の温水に戻す冷水-温水ストレスを繰返すと、曝露回数に依存してArg-Pや β -ATPが著しく減少した。糖リン酸の濃度も拘束ストレスより冷水-温水ストレスの方が著しかった。

以上のことから昆虫のストレス検出の方法には *in vivo* ^{31}P -NMRが有効な手段であり、冷水-温水ストレスは昆虫のリン酸代謝に著しい影響を及ぼすことがわかった。

A 14. 胸腺リンパ球の concanavalin A 応答系におけるビタミン D₃ 誘導体の抑制的影響に関する研究

児嶋 晃, 羽藤文彦, 木下喜博 (大阪市大, 医, 第二生理)

Concanavalin A (Con A) 刺激に対するラット胸腺リンパ球の増殖反応は、1, 25-(OH)₂D₃(D₃)により抑制される。この抑制は、混在する粘着性細胞〔おそらく macrophage (M ϕ)〕の除去や、indomethacin の併用投与により著減する事から、その抑制的効果は、D₃により刺激された混在性 M ϕ より産生・放出される prostaglandin E₂ (PGE₂) によると想定された。また、Con A 刺激に伴い胸腺リンパ球は、自己増殖を促進する IL-2 を産生・分泌するが、IL-2 依存性増殖を示す CTLL-2 細胞株を用いた IL-2 産生量検定系において、Con A+D₃ 添加群では Con A 単独添加群に比べて、産生量の低下が認められた。一方、胸腺リンパ球表面膜に発現する IL-2 受容体数については、Con A+D₃ 添加群と Con A 単独添加群との間に差がない事が、抗 IL-2 受容体モノクローナル抗体を用いたフローサイトメトリーにより確認された。さらに、Con A+PGE₂ の添加においても同様に IL-2 産生量が低下するが、IL-2 受容体数に変化がみられなかった。以上より、胸腺リンパ球の Con A 応答系に対する D₃ による

抑制的影響は、D₃に刺激された混在性 M ϕ より産生・放出される PGE₂が、Con A で刺激されたリンパ球の IL-2 産生を減弱させるためであろうと推定された。

A 15. Staphylokinase の作用機序について

*富岡良城, 岡田清孝, *軽部伊智郎, 田中久夫, *深尾偉晴, 上嶋 繁, 松尾 理(近畿大, 医, 第二生理)

【目的】 Fibrin に強い親和性を有する tissue-type plasminogen activator は、血栓溶解機序に新局面を開いた。今回は、Staphylokinase(SAK)についてその特性及び作用機序を Streptokinase(SK)と比較検討した。

【方法】 PA 活性は、plasmin の合成基質 (S-2251) と plasminogen を用い、fibrinogen の CNBr 分解産物 FCB-2 の存在、非存在下で測定した。¹²⁵I・fibrinogen を用いて標識血栓を作製し、閉鎖循環モデルを用い、血栓溶解状態と残存 fibrinogen 量を測定した。

【結果】 合成基質 S-2251 との反応では、SAK 単独では反応せず、plasminogen の添加により活性が出現した。SAK は FCB-2 の存在下で活性が増強した。これに対し SK は FCB-2 に反応しなかった。一定量の plasminogen の存在下で SAK の濃度を変化させた場合に、最大活性を示す濃度があった。閉鎖循環モデルを用いた血栓溶解実験では、時間及び濃度依存的に血栓を分解し、SAK は SK よりも明らかに低濃度で血栓を溶解した。Fibrinogen の分解は、SK が SAK よりも明らかに強かった。

【考察】 SAK の作用機序は、plasminogen と反応して PA となり、fibrin 上で活性を増強すると推測され、SK よりも優れた血栓溶解剤になり得ると考えられた。

B 1. チック毛様体神経節シナプス前終末の Na チャネル

八尾 寛 (京大, 医, 第一生理)

脊椎動物のシナプス前終末の Na チャネルは、一般にその密度が軸索に比べて低いことが報告されている。しかし、活動電位発生における Na チャネルの役割に関しては、十分な研究が為されていない。13日目のチック胚から、毛様体神経節を摘出し、厚さ 100 μm のスライスを作成した。大きさ 10~20 μm の杯状のシナプス前終末にパッチ電極法を適用した。シナプス前終末を whole-cell 電位固定し、Na 電流を測定した。Na 電流は、-40 mV から認められ、Ca 電流よりも低

い活性化閾値を示した。Na チャネルコンダクタンスが最大値の半分になる電位は、 -28 mV だった。また、静止膜電位に於ては、Na チャネルの50%以上が不活性化されていた。この結果、シナプス前終末の Na チャネルの密度は、 $15 \mu\text{m}^{-2}$ 以下と推定され、極めて低いことが明らかになった。50 μM の Cd により Ca チャネルを阻害することにより、活動電位のピーク値は、約 10 mV 減少し、最大立ち上がり速度は、30% 減少した。しかし、活動電位発生の際には、Cd の影響を受けなかった。即ち、シナプス前終末においては、Na チャネルの活性化により活動電位が引き起こされるが、引き続いて Ca チャネルが活性化されることにより、充分大きな活動電位が発生すると結論される。

B 2. 上丘小脳投射について

久宝真一、松崎竜一 (京大, 医, 認知行動脳科学)

上丘小脳投射は、小脳虫部後葉への視覚性入力経路と考えられるが、詳細な電気生理学的検索は少ない。本研究では、上丘小脳投射の投射様式と中継部位を電気生理学的に検索した。ネブタール麻酔下 (35 mg/kg) のネコで、上丘を電気刺激すると、小脳虫部後葉 (VI~VII 小葉) に苔状線維 (MF) および登上线維 (CF) 応答が惹起された。MF 応答に関しては、刺激部位により応答野の分布に違いが認められたが、規則性は見出せなかった。CF 応答は刺激と同側の小脳虫部後葉に誘発され、さらに上丘尾側部の刺激に対する応答野は、上丘吻側部の刺激に対する応答野より外側に分布していた。上丘小脳投射の中継部位を検索する目的で、上丘と小脳虫部後葉に刺激電極を刺入し、脳幹で細胞外ユニット記録を行った。MF 応答を中継しているユニットは、背外側橋核、橋被蓋網様核の外延部と内側部に見出された。前二者におけるユニットが上丘から同側性投射を受けるのに対して後者におけるユニットは対側性投射を受けていた。CF 応答を中継しているユニットは、上丘刺激と反対側の内側副オリブ核尾内側部に見出された。上丘尾側部の刺激に応じるユニットは、上丘吻側部の刺激に応じるユニットより吻側寄りに分布していた。

B 3. 硬膜上誘導によるウサギの中長潜時聴覚誘発電位

川口藝洋, 堀あいこ, 内藤博江, 安原基弘, 安原昭博 (関西医大, 第二生理・小児科*)

ウサギの中長潜時聴覚誘発電位の発生源を明らかに

する為、15~19ヶ所の電極配置を行い、三種の基準電極にて硬膜上電位分布を検討した。刺激音には 100 dB (HL) のクリックを用い、時定数 0.3秒, high cut 120 Hz, 分析時間は 256 msec および 128 msec とし、300 回加算記録した。基準電極を両耳介短絡 (A1+A2) としたものと、平均基準電極法 (AV), ソース・デリベーション法 (SD) としたものとでは記録波形はそれぞれ異なっていた。特に SD 法によるものは、両側頭の聴覚野付近の電極に限局して、誘発反応が観測され、潜時 15 msec と 42 msec 付近の陽性波 (P 15, P 42) が特徴的であった。P 15, P 42 共に刺激反対側で著明であった。また、P 15 は A1+A2 と AV においても SD と同様に記録されたが、P 42 は SD 法において顕著で AV では振幅が小さく、A1+A2 においては正中付近の陰性波 (N 42) として記録された。比較の為、ABR を測定したところ、SD 法においては、ABR のすべての波形が記録されなくなった。これは far field potential が硬膜上において一様の電位分布を示す為 SD 法では記録されない為と考えられる。したがって、本実験の SD 法によって記録された P 15, P 42 は near field potential と推定され、聴覚野起源のものと考えられた。

B 4. 口腔内から体性感覚入力を受ける視床後内側腹側核ニューロンの大脳皮質投射について

長谷川彰則 (大阪歯大, 生理)

ネコの視床後内側腹側核小細胞部は外側部と内側部とに分けられ、同側口腔内からの体性感覚入力を受けるニューロンが外側部に存在することが明らかとなった。そこで、小細胞部外側部で中継される同側性体性感覚入力の機能的意義を解明するため、この入力を受ける視床後内側腹側核ニューロンの大脳皮質投射を検索した。実験にはウレタン・クロラロースで麻酔したネコを用い、両側の鼓索神経を切断して、舌からの味覚性入力を遮断した。舌神経電気刺激による大脳皮質誘発電位は、SI, SII, SIII のほか、大脳皮質冠状回の間隙面からも記録された。口腔内の非侵害性機械的刺激に反応するニューロンは、後内側腹側核の小細胞部外側部と固有部内側部とから検出された。小細胞部のニューロンは、同側の舌あるいは歯根膜に機械的刺激を加えると反応した。対側の舌あるいは歯根膜に同様な刺激を加えると興奮するニューロンが固有部から検出された。小細胞部ニューロンは、冠状回の舌投射野に、また、固有部ニューロンは、体性感覚野 SI に電

気刺激を加えるとそれぞれ逆方向性に興奮した。その結果、小細胞部外側部で中継される同側性体性感覚入力冠状回投射が見い出された。

B 5. ラットのにおい弁別学習における扁桃体破壊の影響

豊田ふみよ, 小川陽一 (奈良医大, 第一生理)

扁桃体は、解剖学的には嗅球や眼窩前頭皮質と線維連絡を持っていることが知られている。また、電気生理学的にも、におい刺激に対して扁桃体ニューロンが応答することが報告されており、これらのことから扁桃体は嗅覚と関係があると考えられている。本研究では、扁桃体が嗅覚に関してどのような役割をもっているかを探るために、扁桃体の破壊がにおい弁別学習にどのような影響を及ぼすのかを調べた。ラットは8週齢以上のものを使用した。手がかりとなるにおいには、バナラエッセンスとチーズを用いた。学習装置は密閉式T型迷路で、2つのゴールボックスに上記のにおいを充満させ、チーズのにおいのあるゴールボックスに入るように訓練した。報酬としては、0.2gのチーズを用いた。弁別学習成立後、ペントバルビタール麻酔下で扁桃体を高周波電流(約60℃, 2~3分)により破壊し、9~10日後に手術前と同じ手続きで訓練を行い、弁別学習が保持されているかどうかを調べた。破壊部位が外側核、基底核、皮質核の一部である場合、弁別学習は保持されず、いったん学習前の状態(50%の正反応率)にまでもどったが、訓練を続けると、70~110試行で再び弁別学習は成立した。この結果は、破壊部位が上記の範囲の場合には、少なくともにおい弁別能に関しては障害がないことを示唆している。

B 6. ネコ橈骨神経筋枝、皮膚枝刺激による脊髄誘発電位と脊髄血流量の変化

関 昌彦, 松裏修四 (大阪市大, 医, 第一生理)

まず筋枝と皮膚枝刺激を行いその所属頸髄節レベルを脊髄誘発電位で同定した。ケタミンおよびGOF麻酔下で刺激電極をとりつけC^{5/6}椎弓間を露出した後、非動化し人工呼吸を行った。脊髄血流量(SCBF)測定は前角部に直径100 μ mの白金黒電極を刺入し水素クリアランス法でおこなった。脊髄誘発電位の記録も同電極で行った。刺激は持続時間0.1msecの矩形波を用い脊髄電位が現れる閾値の20倍の強度で周波数は10Hzおよび30Hzで行った。測定は α -クロラール麻酔にきりかえてから開始した。灰白質血流量は

刺激前25~40ml/100g/minであったが皮膚枝刺激では平均78%の増大で30~110ml/100g/minとなった。その血流量測定前後の皮膚枝刺激の誘発電位は持続時間6~10msec、陽性波のピークの振幅は300~500 μ Vであった。一方30Hzの皮膚枝刺激では平均50%の増大で40~80ml/100g/minとなった。尚、誘発電位は持続時間4~6msec、陽性波のピークの振幅は200~400 μ Vであった。皮膚枝刺激でより大きな脊髄血流量の増加が生じると結論されるが10Hz、30Hzの筋枝刺激ではSCBFに著明な増大はなく誘発電位の大きさは皮膚枝に比べ小さかった。筋枝と皮膚枝による血流量の相違はその際の脊髄における神経活動によって説明されると考えられた。

B 7. 脱毛突然変異マウス(Rhino-Wakayama)におけるDNAの欠失

真壁恭子, 坪田裕司, 辻 繁勝 (和歌山県立医大, 第二生理)

Rhino Wakayama (hr^{rhw})は、当研究室のB6 CBA/J-Ta-jpコロニー中から見い出された脱毛突然変異形質を発現するマウスである。交配テストの結果、単一の常染色体劣性遺伝子によって継代することが判明し、リンケージテストによりhr遺伝子上の新しいalleleであることが明らかになった。このマウスの形質には、adult hairの白毛化後体毛が脱落し、続いて皮膚の肥厚がおこるといった他のマウスのalleleには見られない特徴がある。

今回、B6 CBA/J系+/+マウスとhr^{rhw}/hr^{rhw}マウスとの間で異なるDNA領域の検索を行なった。双方のマウスから高分子量DNAを抽出しサザン法により解析を行なった。プローブは、HRS/J系マウスの脱毛突然変異個体において脱毛突然変異と密接に関連するプロウィルス近傍の330bpのBgl II-Xba I断片である。Xba I消化では、共通な2.6Kbのバンド以外に16Kbのバンドが、Pst I消化では1.0Kbの共通なバンド以外に1.5Kbのバンドが+/+マウスに見られ、hr^{rhw}/hr^{rhw}マウスではそれらは検出されなかった。以上の結果は、Rhino Wakayamaにおける脱毛突然変異が、正常対応遺伝子の欠失により生じたことを示唆するものである。

B 8. 筋ジストロフィー症(dy)マウス筋一骨不均衡説と耳介の筋線維

戸塚 武, 渡辺貴美, 浦本 勲 (愛知県コロニー,

研究所, 生理)

dy マウスの初期病態は, 筋変性ではなく, 筋成熟成長障害であり, 発育につれ病状が悪化するの, 成長の止まった筋が, 成長する骨により引き伸ばされるためだろうと, 提唱してきた(筋一骨不均衡説). この説を支持すると思われる次のような事実が報告された: 1. 骨を含む全身の成長障害を合併する(或いは背が低い)と, dy 病状が軽減する(ヒト, マウス, ニワトリ, ハムスター, イヌで). 2. 抗成長ホルモン抗体の投与が運動機能の保持に有効である(dy ニワトリで). 3. 正常ニワトリで, 筋の引き伸ばしにより dy 様筋病変が誘起される. 4. dy マウスで, 骨成長の影響を受けない舌, 食道, 耳介(本報告)の横紋筋線維は, 筋病変を免れる.

dy マウス (C57 BL/6 J-dy 株の dy/dy 個体) と, 同腹正常マウス (?/+ 個体) を用いた. 組織を生のまま, 或いは固定(必要に応じて脱灰)後ゼラチン包埋し, 凍結横断切片 (H 或いは HE 染色) を作製し, 顕微鏡で観察した.

dy マウスで, 骨格筋で見られる筋線維の萎縮 (進行性萎縮ではなく, 成長障害による相対的見掛けの萎縮), 径の大小不同 (成長のバラツキによる), 中心核の異常増加などの顕著な病変像は, 耳介では認められなかった.

B 9. 遺伝性成長遅延症マウスの下垂体—甲状腺系の加齢変化

吉田 豪, *渥美伸一郎*, 戸塚 武** (三重大, 医, 第一生理・病理*・愛知県コロニー, 研究所, 生理**)

遺伝性侏儒症マウス (DW) コロニー中に, 我々が見いだした遺伝性成長遅延症マウス (GR) では, 正常マウスで 2~3 週齢頃にみられる下垂体 GH 含量の著明な増加と, これとはほぼ平行した成熟に至る急激な成長が, 共に遅れて起こる. 正常マウスでは, 2 週齢頃をピークとした血中サイロキシン (T_4) 濃度の一過性増加がみられたが, GR の血中 T_4 濃度は, 1~2 週齢と 6 週齢および 4~5 月齢以降で正常値の 20~30% を示し, 他の期間では測定感度 ($0.5 \mu\text{g}/\text{dl}$) 以下の場合が多かった. DW では, 血中 T_4 濃度は, 1 週齢では正常の 30~50% で, その後加齢と共に低下を示した. 年齢

の進んだ (14~23 月齢) GR では, 色素嫌性細胞の増加によると思われる下垂体の過形成が観察された. 免疫組織化学的検索の結果, これらの色素嫌性細胞は, 抗 GH, 抗 ACTH, 抗 TSH および抗プロラクチン抗体で染まらなかった.

以上の結果は, DW では, 個体の成熟に必要な下垂体の分化・成熟が完全に抑制されているのに対し, GR では, DW と異なる特有の下垂体細胞の分化・成熟の異常が存在し, それが GR の内分泌動態の異常, および成長遅延の発症の原因となっている可能性を示唆する.

【誌上参加】

鎌状赤血球変形能に対する酸素分圧の影響

伊藤俊之, *S. Chien*, *S. Usami** (京都府医大, 第一生理・Univ. Calif., San Diego, Dept. AMES/Bio-eng.(USA)*・Inst. Biomed. Sci., Academia Sinica (Taiwan)**

赤血球変形能は赤血球膜と細胞質の二因子で規定されるが, 鎌状貧血症は後者の異常が変形能を障害する代表例である. 今回, 微小ガラス管吸引法を用い, 鎌状赤血球の変形能を, 同一赤血球について PO_2 の関数として逐次測定して, 以下の知見を得た.

【方法】 実験には, 比重別に五段階に分画した鎌状赤血球を用いた. 37°C に保持したチェンバー内に赤血球をおき, PO_2 を変化させながら微小ガラス管で吸引し, その際の変形の時間経過の顕微鏡記録像から, 変形能を粘性・弾性値として定量化した.

【結果】 脱酸素化しつつ粘・弾性値を追跡してゆくと, 細胞の鎌状化前には有意な変化を示さないが, いったん鎌状化するや両パラメータとも $10^2 \sim 10^3$ 倍に急激に増加し, 再酸素化につれて強いヒステリシスを示しつつ減少した. このことは異常ヘモグロビン (HbS) の重合過程と単一赤血球の変形能との間に強い非線型関係が存在することを示唆しており, microsieving 法など多数の赤血球標本の統計的挙動の測定からは見出しえなかった結果である. また, 変形能の障害やヒステリシスの程度と赤血球分画の比重との間には正の相関が見られ, 細胞内 HbS 濃度が鎌状赤血球のレオロジー的な異常を強く規定していることが示された.

第23回東北生理学談話会

日 時：平成2年10月6日(土), 7日(日)

会 場：八幡平ハイッ

当 番：岩手医科大学歯学部口腔生理

当番幹事：鈴木 隆

*は非会員を示す

1. カタツリの外有毛細管における Na^+ - Ca^{2+} 交換輸送

*池田勝久, *須納瀬弘, 斎藤禎隆*, 西山明徳*, *高坂知節 (東北大, 医, 耳鼻咽喉科・第一生理*)

モルモットから単離された外有毛細胞の細胞内 Ca^{2+} と Na^+ 濃度を蛍光指示薬を用いて測定した。静止状態では Ca^{2+} は $91.1 \pm 8.5 \text{ nM}$ ($n=51$), Na^+ 濃度は $107.4 \pm 5.4 \text{ mM}$ ($n=12$) であった。外液の Na^+ を $\text{N-methyl-D-glu camine}$ (NMDG) に置換すると, Ca^{2+} 濃度は $267.0 \pm 15.7\%$ ($n=27$) の増加を示し, Na^+ 濃度は $22.5 \pm 3.6 \text{ mM}$ ($n=6$) の減少を示した。両イオンの変化は, 0.1 mM La^{3+} と $100 \text{ uM amiloride 5-(N, N-dimethyl) hydrochloride}$ によって阻害された。外液 Ca^{2+} を 20 mM 上昇させると, Na^+ 濃度は $8.1 \pm 6.4 \text{ mM}$ ($n=5$) 減少した。以上の所見は, 外有毛細胞において Na^+ - Ca^{2+} 交換輸送が存在することを示している。また細胞内 Ca^{2+} を BAPTA によって除去すると, NMDG による Na^+ 濃度の低下が抑制された。この所見は他の細胞で報告されている Na^+ - Ca^{2+} 交換輸送の細胞内 Ca^{2+} の必要性と一致している。外液の pH を 7.4 から 8.4 とアルカリ化させると, NMDG による Ca^{2+} 濃度は上昇し, pH を 7.4 から 6.4 と酸性化させると低下し, この交換輸送が外液の pH に依存していることを示唆した。

2. ラット顎下腺腺房細胞のイオン性膜電流—細胞内, 外 Ca^{2+} -依存性について—

泉井 亮, 澤田悦子, *手塚光彦*, 林 曠**, 西山明徳(東北大, 医, 第一生理・第四内科*・医療短期大学部**)

Whole-cell clamp 法を用いて, 細胞膜電位を 0, -30, -60 mV に保持すると (電極液; KCl, 外液; NaCl), ACh, $\text{GTP}\gamma\text{S}$, 1 P_i によって振動性 ($\sim 20/\text{min}$) の外向き K^+ 電流 (0 mV) と内向き Cl^- 電流 (-60 mV) が細胞内 Ca^{2+} 依存性に生ずる。ここで外液に 5 mM EGTA ($\text{pCa}=7.5$) を投与したところ, K^+ 電流の大きさは急速に抑制された。一方 Cl^- 電流は振動数

は減少したが, 大きさは変わらなかった。EGTA は静止状態でも K^+ 性膜電流を抑制し, 膜を数 mV 脱分極した。Inside-out mode で得られる約 250 pS の K^+ -channel は膜内側の Ca^{2+} に依存して開口した ($\text{K}_{(\text{Ca})}$ -channel)。Outside-out mode で EGTA を膜外側に与えると, この channel の開口が著明に抑制された。しかし, Cell-attached mode で EGTA を電極外側に投与した場合は, この channel 開口の電位依存性は抑制されなかった。以上の結果から 2 つの可能性が考えられた。① EGTA 低 Ca^{2+} は膜外側から, $\text{K}_{(\text{Ca})}$ -channel の開口を直接抑制する。② $\text{K}_{(\text{Ca})}$ -channel に近接した部位に Ca^{2+} -pathway が存在し, ここを通る Ca influx が $\text{K}_{(\text{Ca})}$ -channel の開口調節や, 細胞内への Ca^{2+} 供給に関与している。

3. ラット顎下腺腺房細胞膜の Na^+ - H^+ 交換輸送活性化のメカニズム

岡田美穂*, 澤田悦子, 斎藤禎隆, 西山明徳(東北大, 医, 第一生理・小児科*)

ラット顎下腺単離腺房の細胞内 pH (pHi) を蛍光顕微測光法により測定し, 細胞膜に存在する Na^+ - H^+ 交換輸送の活性化メカニズムを検討した。非刺激時の細胞内 pH は 7.29 であり, ACh $1 \text{ }\mu\text{M}$ 刺激により 0.1 上昇した。この上昇は外液の Na に依存し, amiloride 感受性を示したので, Na^+ - H^+ 交換輸送活性化によると考えられた。無 Ca 溶液に TMB-8 を添加して ACh 刺激時の細胞内 Ca 上昇を抑制すると, Na^+ - H^+ 交換輸送も抑制された。一方, protein kinase C 阻害剤 Staurosporine による前処理は, ACh の pHi 上昇を抑制しなかった。ionomycin 投与により細胞内 Ca を増加させると, pHi は 0.05 上昇した。この上昇は外液の Na に依存し, amiloride に感受性を示したが, protein kinase C の関与は見られなかった。しょ糖を添加した高張液を灌流して細胞容積減少をひきおこすと細胞内 Ca は増加しなかったが pHi は上昇し, それは amiloride で抑制された。また, 無 Ca 溶液に TMB-8 を添加した場合でも細胞容積減少による pHi 上昇は抑制

されなかった。結語：(1) ACh, ionomycin 投与時の $\text{Na}^+\text{-H}^+$ 交換輸送活性化の主因は、細胞内 Ca 上昇と考えられ、protein kinase C の関与は小さいと思われる。(2) 細胞容積減少による pHi 活性化は、細胞内 Ca 変化に無関係である。

4. 唾液 pH 時間曲線における後期変化分の O_2 依存性

佐藤 匡, 古和田一成, 鈴木 隆 (岩手医大, 歯, 口腔生理)

舌背・口蓋間で採取した安静時唾液の pH 変化曲線は初期の pH 上昇成分 (DpHi) と後期の下降成分 (DpHL) とからなる。そこで、唾液 pH の部位差と唾液 DpHL の O_2 依存性を調査した。

唾液 pH 時間曲線の記録には過渡現象 pH メータ (堀場, C-1 の改造型) を用いた。通常の計測は空気中で行なったが、その他には湿度約 80% まで加湿した純酸素および純窒素ガス中で行なった。唾液資料の採取には中性の紙片 (堀場, YO 11) を用いた。被験者は唾液 DpHi の値が平均値 +1 SD よりも大きい一人の 48 才の男性である。

口腔内の舌下部や舌背より採取した唾液は頬粘膜部のもより若干アルカリ性であり、DpHi の値は著しく大きかった。また DpHL の絶対値も舌下部や舌背の方が頬粘膜部のもより大であった。その他、舌背から採取した唾液の DpHL の極性は負であるのに対して舌下部のそれは正であった。この舌背から採取した唾液の DpHL を空気や酸素ガス中で計測した場合には有意差が無かったが、窒素ガス中で計測した場合には著明に減少した。従ってこの負の DpHL の値には、好気条件下での唾液中の酸産生要素が強く関わっていると推定される。

5. 培養舌上皮細胞の envelope 形成におよぼす神経作動物質の影響

葛西四朗, 秋元久仁章 (奥羽大, 歯, 口腔生理)

4-NQO 処理によって得られたラット舌由来の DTC 細胞は正常皮膚上皮細胞に認められると同様な Ca による分化誘導を受ける。すなわち X 537 A 存在下に外液 Ca 濃度を変えるとその濃度に依存した分化した envelope 形成細胞の増加が認められる。また角化染色陽性細胞数も Ca に依存して増加する。このような Ca-ionophore や外液 Ca 濃度への反応は当然のことながら正常細胞での Ca のとりこみを想定させる。

本研究では受容体を介する Ca チャネルの存在を検討するため種々の神経作動物質を与えた場合の分化誘導の発現を envelope 形成率によって評価した。その結果、まず acetylcholine 受容体の agonist として methacholine (20~500 μM) 及び carbachol (20~500 μM) を 2 時間、及び 22 時間作用させたがいずれも negative な結果であった。これに対し adrenaline (0.15~40 mM) を 1~4 時間作用させた結果、濃度及び作用時間依存性を示す envelope 形成率の有意の増加が認められた。そこで α , β のいずれの作用によるかを phenylephrin noradrenaline (0.1~10 mM) と isoproterenol (0.1~10 mM) で検討した結果、前二者では negative、後者では濃度及び作用時間に依存した positive な応答が得られた。結論として、DTC 細胞には β 受容体が存在し、これを介する Ca-チャネルの活性化が起きると考えられる。

6. 頸動脈小体主細胞における無酸素、シアン誘起 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 増加への Ca^{2+} チャネル, $\text{Na}^+\text{-H}^+$ 交換輸送系の関与について

佐藤 実, 岩崎 斉, 吉崎克明, 古谷野速雄 (秋田大, 医, 第二生理)

頸動脈小体の主細胞は興奮性のある酸素受容細胞と考えられている。酸素受容機構を研究する目的で、新生児頸動脈小体の培養主細胞における無酸素、シアン誘起 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 増加への無 Ca^{2+} , 無 Na^+ , low pH (5.5~6.0) の影響を Fura-2 蛍光顕微測定法で調べた。

無 Ca^{2+} では、 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 増加の抑制が 95% の細胞で完全に、5% の細胞で部分的にみられた。引き続き wash out した直後に一過性の増加 (ASI) が全細胞で出現し、この ASI は $5 \times 10^{-6} \text{M}$ D 600 (Ca^{2+} チャネル阻害剤) で消失した。これから、無酸素、シアン誘起 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 増加に寄与する Ca^{2+} は、大部分が細胞外から電位依存性 Ca^{2+} チャネルを通して流入し、細胞内由来は少量であるといえる。

無 Na^+ では、 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 増加の抑制が、45% の細胞で完全に、36% の細胞で部分的に、計 81% の細胞でみられた。そして、wash out 直後に無 Ca^{2+} の場合と同様に ASI が出現した。残り 19% の細胞では全く抑制されなかった。low pH でも、無 Na^+ の場合と同じ結果が得られ、 $\text{Na}^+\text{-H}^+$ 交換輸送系の関与も示唆された。

以上から、無酸素、シアン誘起 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 増加の過程に $\text{Na}^+\text{-H}^+$ 交換輸送系と電位依存性 Ca^{2+} チャネルが協同して関与すると考えられる。

7. ウサギの大動脈神経性圧反射の求心路における有髄化は出生直前に開始する

山崎将生, 清水 強 (福島県立医大, 第一生理)

我々は動脈神経性圧反射機構の生後発達を追求してきたが, ウサギを用い大動脈神経線維の生後の髄鞘形成過程を明らかにし, この反射の確立には求心路の有髄化が重要な意味をもつことを知った. 今回はその有髄化の発現時期を明らかにすべく, 胎生期の検索を行った. 交尾排卵を行った日を基準にして正確に胎生齢を決めた胎生21(5例), 25(1例), 26(2例), 28(2例) および29日(1例)の胎仔をそれぞれの母体を麻酔した上で取り出した. 胎仔にも麻酔を施したうえで灌流固定を行い, 常法にしたがって電顕用標本を作製して, 神経の横断切片を電顕で観察, 撮影し, 原則として12,000倍に拡大再構築した写真上で大動脈神経を構成する神経線維の数を計測するとともに有髄線維の有無を調べた. 神経線維に1本でも有髄化の観察できた個体は26日1例, 28日2例ならびに29日1例であり, その数はそれぞれ左で15(総線維数の1.3%), 74(6.6%), 59(6.1%) および71(3.0%); 右で, 3(同0.4%), 17(1.8%), 12(1.6%) および1(0.1%)であった. なお, ウサギの妊娠期間は約4週間である. 従って, 以上より, ウサギの大動脈神経性圧反射の求心路における有髄化は出生直前になって開始することがわかった.

8. 単一心筋細胞の単収縮時における細胞内 pH と $[Ca^{2+}]_i$ の変動

松山清治, 田中万博, 土居勝彦 (山形大, 医, 第一生理)

本研究では虚血時などにみられる心筋の細胞内 pH (pHi) 変動と細胞内 Ca^{2+} ($[Ca^{2+}]_i$) 調節との関連について検討した. 単一心筋細胞で細胞内アシドーシス誘発時の pHi および $[Ca^{2+}]_i$ の変動を静的および単収縮誘発時の動的状態において光学的手法を用いて観察した. 静的細胞で $[Ca^{2+}]_o$ 2 mM, 37°C の条件で NH_4Cl (20 mM) を負荷後に除去すると細胞内は急激に酸性化し, その後に pHi の回復相が続いた. また pHi と $[Ca^{2+}]_i$ の同時測定の結果, pHi 回復相に一致して $[Ca^{2+}]_i$ の増加も認められた. 単収縮時の急激な $[Ca^{2+}]_i$ 増加を示す $[Ca^{2+}]_i$ 一過性変動について NH_4Cl 負荷前および除去後の pHi 回復相について観察したところ, 回復相での変動のピーク値は負荷前に比べて増加した. 次に amiloride 添加 (300 μM) または低温暴露 (23°C) 時の NH_4Cl 除去後の pHi および

$[Ca^{2+}]_i$ 変動を静的細胞でみると, pHi 回復相は抑えられ $[Ca^{2+}]_i$ の増加も認められなかった. 同様な条件のもとでは, NH_4Cl 除去後の単収縮時 $[Ca^{2+}]_i$ 一過性変動のピーク値は NH_4Cl 負荷前に比べて低下した. 以上の成績より細胞内アシドーシス時には単収縮時の $[Ca^{2+}]_i$ 変動は抑制されるが, アシドーシス時でも Na^+/H^+ 交換輸送系の活性の高い状態では Ca influx の増加に伴い単収縮時の $[Ca^{2+}]_i$ 変動は増大することが示唆された.

9. 単一心筋細胞膜の O_2 拡散制限因子

内田勝雄, 松山清治, 田中万博, 土居勝彦 (山形大, 医, 第一生理)

脂溶性の蛍光試薬 pyrene butyric acid (PBA) を用いて生体膜の O_2 の拡散係数 (Do_2) を測定する方法を開発した. 単一分離したラットの心室筋細胞に PBA を load させたとき, 分配係数20以上で形質膜の脂質二重層に濃縮された. 同様に, 分離したミトコンドリア (Mt) に load させた場合は, 主に外膜の脂質に取り込まれ, それぞれの膜の Do_2 を測定できた. 蛍光強度の Po_2 依存性から蛍光の消光定数を求め, それを脂質の粘度に変換し, Stokes-Einstein の式から Do_2 を算出した.

心筋虚血および再灌流により膜の Do_2 がどのように変化するかを検討するために, 30分間の灌流停止に引き続き, O_2 飽和緩衝液を15分間灌流させた. 無処置群の形質膜の Do_2 ($2.9 \times 10^{-6} \text{cm}^2/\text{sec}$, 37°C) が, 処置群では 2.5×10^{-6} に低下した ($p < 0.001$). Do_2 の低下は虚血のみの場合より大きく, 再灌流による膜の障害が示唆された. Ca^{2+} 高負荷および高張処置も Do_2 の低下を招来した. 温度低下も Do_2 を低下させたが, これは主に脂質の粘度の温度依存性に起因するとして解釈出来る (活性化エネルギー 2.3 kcal/mol). 一方, Mt 膜の Do_2 ($2.2 \times 10^{-6} \text{cm}^2/\text{sec}$) は処置群でも有意な低下を示さず, また温度依存性も小さかった (1.1 kcal/mol).

10. 単一心筋細胞の pHi と $[Ca^{2+}]_i$ の変動

田中万博, 松山清治, 土居勝彦 (山形大, 医, 第一生理)

本研究では, 心筋細胞の代謝抑制時における pHi 及び $[Ca^{2+}]_i$ の変動について観察した. このために単一心筋細胞を用いて pHi と $[Ca^{2+}]_i$ の同時測定を行った. 細胞外液 pH=7.4 及び $[Ca^{2+}]_o=1 \text{mM}$ の条件

では pHi と $[Ca^{2+}]_i$ はそれぞれ平均 7.16, 88.6 nM であった ($N=320$). 次に以下の代謝抑制条件下, ① glucose を 2-deoxy-glucose (10 mM) に置換, ② NaCN (2 mM, glucose 10 mM) 負荷, ③ NaCN (2 mM, glucose free) 負荷での測定を行った. いずれの条件下でも, pHi の著明な低下と $[Ca^{2+}]_i$ の増加がほぼ同時に認められた. 特に③では, pHi 低下は他の条件と同程度であったが, $[Ca^{2+}]_i$ の増加は他に比べ著明であった. 次に, この持続的 pHi 低下について検討したところ, 乳酸 (30 mM) 負荷による acidosis からの pHi 回復相が NaCN 負荷により消失した. またこの pHi 回復相は amiloride によっても抑制された. 次に $[Ca^{2+}]_i$ の増加についても検討したところ, 細胞外 $[Ca^{2+}]$ が free の条件下で NaCN を負荷すると, pHi は低下を示したが $[Ca^{2+}]_i$ の増加は認められなかった. 以上の成績より, 代謝抑制時の持続的 pHi 低下には Na^+/H^+ antiporter の活動抑制が, また $[Ca^{2+}]_i$ の増加には細胞外からの Ca^{2+} 流入が大きく関与していることが示唆された.

11. 周期的ランプ負荷運動時における呼吸・循環反応

新関久一, *マイケル・ジョン・マッセル, 宮本嘉巳 (山形大, 工, 電子情報)

ランプ負荷運動時に換気量 (\dot{V}_E) や心拍数 (HR) の応答に on-off 間の非対称性が見られ, on 応答にくらべ off 応答の時定数が短縮する. その成因を検討するため, 周期的に繰り返されるランプ負荷で \dot{V}_E , HR, 心拍出量 (\dot{Q} , Impedance 法による) の応答を調べた. 男子 6 名 (平均年齢 24 才) を被験者とし, 0~100 W のステップ負荷を対照として, 33.3 W/min, 20 W/min, 14.3 W/min の 3 種類のランプを, それぞれ 3 サイクル, 2 サイクル, 1 サイクル負荷した. 各パラメータの応答にむだ時間要素を含んだ一次遅れモデルを適用し, 平均応答時間 (MRT) を算出した. 1 サイクル目の on では, \dot{V}_E と HR の応答にランプ傾斜依存性が見られた. すなわち, ランプ傾斜が緩やかになる程応答は遅延した. on-off 応答の非対称性は 1 サイクル目の応答に顕著に見られ, 引き続く 2, 3 サイクル目にはほとんど消失し, MRT は収斂する傾向を示した. その値は \dot{V}_E で 65 秒, HR で 35 秒, \dot{Q} では 50 秒程であり, 従来ステップ運動負荷等で報告されている値と一致した. \dot{V}_E と HR の MRT は非常に相関が高く ($r=0.97$), 呼吸と循環の整合がとれている. 非対称性は最

初の on 応答の遅延からくるものであり, 先行する運動量に応じて変化するような, 比較的遅い因子が呼吸循環系の調節に関与していることが示唆された.

12. 酸素飽和度・血流量測定用透過型光ファイバカテーテル

岩崎 斉, 吉崎克明, 佐藤 実, 古谷野速雄 (秋田大, 医, 第二生理)

反射型光ファイバカテーテルを局所静脈に逆行性に挿入すると, カテーテル先端が血管壁に接近し, 光が血液からではなく主に血管壁から反射され, 酸素飽和度測定に誤差を与える. この問題を解決するため透過型光ファイバカテーテルを考案作成した. 酸素飽和度および血流量を求める基本原理は Twersky の理論を応用することで得られた. ヘパリン化兎新鮮血液をガス交換を行なうデスク・オキシゲネータを通してカテーテルへ循環させた. 血管壁との接触による影響, 血液の pH および流速の変化による影響は赤色光と赤外光の比をとることにより除かれた. このカテーテルとオキシメータの同時記録の結果は良く相関した: $SD=1.1\%$, $\gamma=0.99$ (酸素飽和度 13~100%). シリコンチューブ内を流れている人保存血にインドシアニン・グリーン溶液を一定速度で注入した. 注入部位から 2.5 cm 以内で血液と色素溶液の十分な混合が達成された. このカテーテルと直接法による流量の測定結果は良く相関した: $SD=1.7\%$ (平均流量 480 ml/min), $\gamma=0.99$ (90~1172 ml/min). この透過型光ファイバカテーテルは, 静脈血酸素飽和度および血流量を測定することにより, 全身のみならず局所における酸素の需要と供給のバランスをモニターすることに極めて有効であると結論づけられた.

13. 脳阻血時にみられる gasping について

松本茂二, 永山忠徳, 菅野隆浩, 山崎将生, 清水 強 (福島県立医大, 第一生理)

ウサギへの供血をほぼ完全に遮断すると, 著明な徐脈と血圧の上昇に伴う無呼吸が見られる. さらに, この脳阻血時間を 30 秒以上継続すると無呼吸が続いてしばしば gasping が生じる. 今回は, 脳血流 (灌流圧と流量) と gasping 発生との相互関係を調べて, 若干の知見を得たので報告する. ウレタン麻酔した成熟ウサギで, 脳阻血を 30 秒以上継続した際にみられる呼吸, 血圧ならびに脈拍を調べた. さらに, 右総頸動脈のみで脳を灌流したウサギで, 右総頸動脈血流量 (RCCBF)

を人為的に減少させた際におこる gasping についても調べた。脳阻血時におこる血圧の上昇水準が維持された時にはしばしば無呼吸後におこる gasping が過呼吸にシフトした。この際に、血圧を下降させる sodium nitroprusside を静注すると再び gasping が生じた。また、RCCBF の低下がコントロールの約13%にまでなると、無呼吸後にみられる gasping が出現した。これらの事より、脳阻血時にみられる gasping の発生は脳血流の灌流圧と流量があるレベル以下になると出現する事が判明した。

14. MRS 法でみたコリン代謝物質の尿中排泄状態

中屋重行, 吉岡芳親, 田中康夫, 花岡秀人, 安田直毅 (岩手医大, 医, 第二生理)

尿の MRS (Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy) では、クレアチニンや各種アミノ酸等の CH_3 ・ CH_2 基などを同定・定量できるが、その他に多くの成分が混在していて、特に磁場位置 3.2 ppm のピークは未同定である(1982年, 松下)。

今回は各種トリメチルアミン化合物 (アセチルコリン・コリン・ベタイン・トリメチルアミン・トリメチルアミノキシド・カルニチン・エルゴチオニン) 水溶液の MRS をみて、さらに尿に添加してスペクトルを比較することにより、未同定ピークはトリメチルアミノキシドであると帰属同定できた。

コリンはアセチルコリンやレシチン由来で肝で酸化されてベタインになり、トリメチルアミンは腸内で酸化されてトリメチルアミノキシドにかわる。

コリン 10 mM をラット皮下注射および口腔内投与すると、24時間尿中にトリメチルアミノキシド50%、トリメチルアミン5%、ベタイン10%、コリン5%が排泄されてトリメチルアミン基としての回収率は70%であった。

ラット及びイヌ腎皮質・髄質をホモジナイズして MRS をとると、髄質は皮質より3~10倍高濃度にグリセロフォスフォコリン・ベタインが検出され、それらは抗利尿時に腎髄質内層で多かったの、コリン代謝物質が尿細管細胞内の浸透圧調節物質 Organic Osmolytes として働いていると考えた。

15. 大腸クリプト細胞のアセチルコリン刺激に対する反応: Whole cell clamp study

鈴木裕一, 金子健也, 泉井 亮*, 西山明德* (山形大, 医, 第二生理・東北大, 医, 第一生理*)

モルモット大腸粘膜をコラゲナーゼ及びトリプシンで処理し単離クリプトを得た。これに whole cell clamp 法を適用しアセチルコリン(ACh)に対する膜電流反応を解析した。ACh 投与により $V_m = -80 \sim -90$ mV で逆転する K 電流と思われる電流が活性化された。この電流は細胞内液 Ca を EGTA 5 mM により強く緩衝すると消失し、Ca 依存性であることが示された。細胞外 Ca を除去した時や La (0.5 mM) 存在下でも ACh に対する反応はあまり抑制されず、主として細胞内 Ca ストアからの Ca 遊離が関与していることが示された。Ca イオノフォアの ionomycin (1 μM) でも ACh で誘発されたのと同様の電流が活性化された。ACh によるのと同様の反応は細胞内に GTP- γS (200 μM) や IP_3 (10~20 μM) を投与しても引き起こされ、さらにいずれの反応も 5 mM EGTA を同時投与し、細胞内 Ca を強く緩衝すると抑制された。

【結論】 ACh 受容体 \rightarrow G 蛋白 \rightarrow ホスフォリパーゼ C \rightarrow IP_3 \rightarrow 細胞内 Ca ストアからの Ca 遊離 \rightarrow K チャネルの活性化、のプロセスが大腸クリプト細胞で起こるものと考えられる。

16. μ スカリン受容体刺激による大腸 K 分泌亢進

金子健也, 鈴木裕一, 矢島高二* (山形大, 医, 第二生理・ヤクルト中央研*)

大腸粘膜上皮の Cl 及び K 輸送に対するアセチルコリン (ACh) の効果を検討した。実験はラット大腸粘膜を用い Ussing-type のチャンパーに取り付け、短絡電流を測定した。さらに、ラジオアイソトープの ^{86}Cl 及び ^{42}K を用いて、Cl と K のフラックスを測定した。ACh (50 μM) によって短絡電流は一過性に減少した後、著明に増大した。この様な変化はアミロライドにより起電性の Na 吸収を抑制した条件でも変わらないことから、短絡電流の減少は K 分泌の亢進と思われた。実験に K フラックスを測定すると、ACh によって K の分泌方向のフラックスが増大した。この K 分泌の亢進は、血液側への プメタニド (100 μM) 又は管腔側への TEA (20 mM) の投与により抑制を受けた。さらに、これらの阻害剤は ACh による短絡電流の減少を抑制した。ACh は Cl の分泌方向のフラックスの増大による Cl 分泌の亢進も起こした。この Cl 分泌は血液側への プメタニド又はインドメサシン (10 μM) の投与で消失した。K 分泌はインドメサシンで抑制されなかった。これらの結果は、ACh で Cl 分泌のみならず K 分泌も同時に刺激されることを示している。さらに、

Cl 分泌はプロスタグランジン合成を介して起こり、K分泌はそれを介さず直接ムスカリン受容体を刺激して起こるものと考えられた。

17. 大腸粘液分泌

*飯塚 篤, 鈴木裕一, *高橋恒男*, *石川 誠*(山形大, 医, 第二生理・第二内科*)

ウサギ大腸粘膜切片を、生きたままノマルスキー顕微鏡下におき、画像処理装置 (Argus-10) を介してコントラストの強調をはかり観察したところ、粘液顆粒を多数持つクリプト杯細胞からのムチン分泌 (エキソサイトーシス) をリアルタイムに観察することができた。まず、ムスカリン作用薬である Carbachol (Cch) 刺激により、濃度依存性に分泌亢進を示すことが観察された。今回は、この方法を用いて粘液分泌過程における cAMP の役割につき検討したところ、8 Br. cAMP (1 mM) 単独ではほとんどエキソサイトーシスは認められなかったが、8-Br. cAMP (1 mM) 存在下では Cch による刺激効果は著しく増強された。さらに、アデニル酸シクラーゼを活性化する Forskolin (1 μ M), あるいはアデニル酸シクラーゼを活性化すると考えられる Prostaglandin E₂ (1 μ M) も同様に単独ではほとんどエキソサイトーシスは認められなかったが、Cch (1 μ M) による刺激効果を増強した。以上より、粘液分泌制御に関し主役をなすと考えられるムスカリン受容体を介する Ca 経路に対し、細胞内 cAMP の上昇が増強効果を示すことが示唆された。

18. 生理学教育のための援助者の役割とその充実を図ることの必要性について

清水 強, 松本茂二, 山崎将生, 菅野隆浩, 永山忠徳 (福島県立医大, 第一生理)

教育機関での生理学教室の技術員の仕事はともすると研究の補助の面が強調され易く、教育のための援助活動の面が十分語られていない嫌いがある。それは必ずしも外部から理解されないというのみでなく、内部における教員や技術員自身の認識にも問題があるのかもしれない。今日実際には、生理学教育の推進に際し、実習はもちろんその教育過程全般にわたって技術員の援助を必要とする場面は非常に多く、それだけに技術員の教育に対する理解や認識の仕方がその技術的熟練度と共に教育成果にも反映してくる。教育に関する補助業務には、教材の作製や開発、実習の準備とその進行中の援助や後片付け、講義の進行補助、実習室

や講義室の整備、教育業務用事務処理、更には生理学教育の研究の補助やコメディカルの生理学教育の援助などがある。これらを遂行するには専門的で高度な技術をもっと共に教員の立てる教育方針や計画を十分理解し、学生教育における自らの位置づけと教育の一端を担っていることの認識をもつことが要求される。この要求を満たすには研究の補助業務のみならず教育面での援助業務の専門的訓練が必要であり、コメディカルと同じようにいわば教育研究援助職としての資格とその身分の確立が必要であろう。

19. 動物福祉に配慮した搬入雑犬の利用

片平清昭 (福島医大, 実験動物)

医科系大学や学部では、実験用ビーグル犬の使用は少なく、保健所由来の雑犬の利用が多い。雑犬は遺伝的背景や経歴が不明確で、実験動物としての品質の安定性にも欠ける。雑犬を用いた実験を無制限に行うことに対する避難もある。動物福祉上の配慮をしながら、雑犬の実験用動物としての利用方法の改善を図ってみた。

搬入犬はすべて、犬体の洗浄消毒、外部寄生虫の駆除、外貌検査、性別判定、体重測定、体温測定を行い、3 ml の血液を採血し血液学的検査を実施している。必要に応じて血清生化学的検査を追加している。実験に適する状態を維持し慢性実験にも耐えるように栄養状態改善のための給餌に工夫した。給餌は市販固形飼料とビタミン剤添加のドッグミールを混合してイヌ 1 頭につき 200~300 g を、さらに乳清タンパク 10 g を添加した牛乳 200 ml を 1 日 1 回行っている。

マイクロフィラリアの検出率はオス 43.6%, メス 33.6% であった。検査結果には個体差によると思われる変動の大きい項目もあったが、ビーグル犬よりも著しく劣る所見はみられなかった。飼育中の死亡率は改善前には 16% 以上であったが、改善後には 10% 程度に低下し、その分実験者への提供率が 83% から 90% に上昇した。徐々にではあるが、改善効果が認められている。

20. 眼球運動の非接触測定 (示説)

鈴木寿夫, *船水亮平 (弘前大, 医, 第二生理)

ヒトも含めた動物の眼球位置と運動を、正確かつ迅速に、非接触で、連続測定する装置を開発した。角膜を赤外光源で照射し、生じた反射を固体カメラでとらえる。捉えた像を、リアルタイムに処理し、反射像重

心の水平及び垂直成分を算出する。そして、算出位置に比例した電圧を、逐次出力するものである。この装置を使って、ヒトの眼球位置を、精度 0.3° で、4 msec ごとに測定出来ることを示した。

21. 視差画面刺激による視覚誘発電位と視差抽出細胞との関連

二唐東朔, *飯塚和彦*, *中島理子*(弘前大, 医療技術短大部, 生理・岩手医大, 眼科*)

赤点と緑点からなるランダムドットステレオグラム(STP), アンコロログラム(UCP), コレログラム(CRP)をTV画面に無作為に提示し, それを赤一緑眼鏡を通して被験者に観察させる。CRPの画面の大きさは $14^\circ \times 10^\circ$ で, STPとUCPの画面はCRPの画面の中央を $4^\circ \times 4^\circ$ の大きさに切り取り, その部位に提示される。10~20法により, 14個の脳波用電極を頭皮上に置き, 各刺激画面に対する視覚誘発電位を64回加算記録する。頂点時約200 msecの陰性波が両半球のO, P, Cの部位に著明に出現するが, 最大の振幅はO部位にみられた。STP刺激とUCP刺激による電位の振幅はCRPのそれより常に大きく統計学的にも有意であった。一方, STPとUCPの両電位振幅の間には有意の差がなかった。TV画面の中央部に散布する点の数を112, 224, 448, 896, 1792個の五段階に増やした。STPの振幅は448個以上, 他方, UCPのそれは896個以上の点の数では, 電位振幅は増大しない。この条件では応答できる視差抽出細胞が存在しないことを示唆する。2~4分の視野範囲の視差情報を一個の視差抽出細胞が処理していると算出される。

22. 顔面神経核の逆行性誘発電位—術中モニターとしての可能性について—

*太田 守, *浄土英一, 香山雪彦, *児玉南海雄*(福島医大, 第二生理・脳神経外科*)

小脳橋角部の手術時には頭蓋内顔面神経の損傷がおこることがある。それを避けるための術中モニターの可能性を探るために, ベントバルビタール麻酔下の非動化したネコで, 顔面の末梢顔面神経を電気刺激した時の顔面神経核の逆行性誘発電位の遠隔部での記録を試みた。まず顔面神経核に電極を刺入したところ, 3~4 ms にピークを持つ約 $20 \mu\text{V}$ の陰性波が記録でき, これが顔面神経核の逆行性誘発電位であることを高頻度刺激等の実験で確かめた。次に, この電位を脳表面に置いた電極で記録できるかどうかを加算法を用

いて確かめた。しかし従来の加算器では明確な誘発反応は得られなかった。そこで, 前置増幅器の出力をA/D変換器を通してパーソナルコンピュータに取り込み, ここで基線を合わせながら加算しこれに対してデジタルフィルター処理を行なったところ, 再現性よく記録された明確な電位は3~4 msの潜時の陰性波だけであった。この陰性波は同じネコで記録された顔面神経核での逆行性誘発電位と同じ潜時を有し, また, 両電位は末梢顔面神経の伝導ブロックや切断により同時に消失した。これらのことから, 今回表面電極で得られた電位は顔面神経核の逆行性誘発電位を遠隔部で記録したものと考えられる。

23. 三叉神経主感覚核の歯根膜機械刺激応答性ニューロンの性質

田端孝義, 刈田啓史郎(東北大, 歯, 生理)

ネコの歯に機械的刺激を加え, 三叉神経主感覚核より歯根膜応答性ニューロンを検出し, その受容野の大きさ, 刺激に対する方向特異性, response fieldの広がり等について調べた。受容野の大きさを単歯支配ユニットと多歯支配ユニットで分類すると, 主感覚核の単歯支配ユニットは74%, 多支配ユニットは26%であった。また, 単歯支配ユニットの99%は犬歯刺激のみに応答した。機械刺激に対し方向特異性を有するものは90%であった。犬歯に水平面上で12の方向より機械的刺激を加え, その応答性からresponse fieldの広がり調べると, 65%が 180° から 360° までの範囲の刺激に応答した。以上の結果と第一次求心性神経の場合との比較から, 多くの主感覚核ニューロンは第一次求心性神経の応答特性をほぼ保持し, 上位中枢へと歯根膜の情報を伝えているものの, その多くはresponse fieldが拡大しており, また一部のニューロンではある程度受容野が拡大しているものと考えられる。

24. サル大脳補足運動野より吻側の細胞活動

*松坂義哉, *相沢 寛, 丹治 順(東北大, 医, 第二生理)

サル大脳補足運動野は, 二次運動として確立されているが, その吻側にもうひとつの運動関連領野の存在を示唆する報告が最近なされた。そこで今回は, 複数の手法でその存在を確かめ, 次にその吻側領野(pre SMA)が, 本来の補足運動野(SMA)と如何なる点で異なるかを, 細胞活動の特性比較によって調べた。まず一次運動野に埋込んだ刺激電極を用いて, 運動野投

射領域すなわち SMA を同定した。その前方領域は微小電流刺激によって一定した効果が得られない部位であったが、動物の運動に伴う神経細胞活動は明らかにみられた。次に訓練された運動課題を行わせ、その際の細胞活動を比較検討した。Pre SMA では、運動の方向指示を示す光信号に対する応答と、運動の準備過程における活動変化の出現率が、SMA よりも有意に高かった。また運動そのものの直前における活動を示す細胞も少なからずみられた。

25. 蛍光トレーサーによる視床の補足運動野投射細胞の検討

*相沢 寛, *王 艶, *松坂義哉, 丹治 順(東北大, 医, 第二生理)

補足運動野は小脳からの入力を受けるかという問題につき以下の2点, 1. 両領域の同定を生理学的に行う。2. 両者の分布をダイレクトに比較する。に留意しながら行った。サル大脳皮質補足運動野(SMA)を皮質内微小電流刺激と単一神経細胞活動記録をもとにして生理学的に同定した。次に Fast Blue を微量局所注入して SMA へ投射する視床の細胞を逆行性に標識した。さらに小脳核にも WGA-HRP を注入して順行性に神経終末を標識して出力分布を調べ、両者の局在部位の関係を検討した。SMA への投射細胞は主として VLo, CL 核に存在した。また、小脳からの求心性の神経終末は主として VPLo, VLc, X₁ 及び CL 核に存在した。ほとんどの部位で両者が重なり合うことはなかった。相互に近接して存在する部位においては、両者を同時に観察したが、やはり重なり合いはなかった。結果として、SMA は小脳からの入力を受け難いことがより明瞭に示されたと考える。

26. ヒトの総腓骨神経刺激で腓腹筋に出現する SBS 反射の性質

野田美保子, 二唐東朗, *宇野美澄, *相馬雅之(弘前大, 医療技術短大部, 作業療法学)

ヒトの SBS 反射は脛骨神経あるいは総腓骨神経のどちらに電気刺激を与えても、前脛骨筋に出現するが腓腹筋には誘発されないと報告されている¹⁾。今回、総腓骨神経に電気刺激を与えて、腓腹筋から SBS 反射性電位と思われる応答(潜時60~80 msec)を記録できた。この反応は健常成人全員(12名)から記録された。0.2 msec の刺激パルスの電圧を 30 V~80 V まで変化させた時、その波は約 45 V で出現し、50~60 V

の間に最大振幅を示し、その後徐々に振幅を減少させ、80 V で消失することが多かった。この波の消失は刺激強度の増大で生じる痛みによるものではない。この波形は被験者により単峰性や多峰性を示し、その波の数は一定していない。また多峰性の波の中で最大の振幅を示す波の潜時は種々異なっていた。この反応は単発刺激より2発刺激で出現しやすく、その2発刺激の間隔は4~6 msec が最も効果的であった。握力を発生させている条件下ではこの波の振幅が増大する傾向にあった。潜時の長さや、握力が反応の増大に影響を与えることなどからこの反応は延髄網様体を迂回する SBS 反射であることが推察される。

1) 島村宗夫, 他(1967)日生誌, 29, 324-325

27. セロトニンで引き起こされるゆっくりとした脱分極応答の細胞内機構

工藤敦子, 佐々木和彦, 藤田玲子, 高島浩一郎, 松本光比古, 佐藤 誠(岩手医大, 医, 第一生理)

アメフラン神経節を用い、セロトニン(5 HT)を投与すると膜抵抗の増大を伴うゆっくりとした脱分極応答を示す細胞を同定した。この細胞で膜電位固定下、5 HT 投与で発生する内向き電流を示標として、応答発現のイオン機構、並びに細胞内機構を調べた。

5 HT による電流応答は、膜電位を脱分極すると増大し、過分極すると減少したが K⁺ の平換電位で逆転することにはなかった。外液の K⁺ 濃度を変えても影響されず、Na⁺-free で著しく減少し、Ca²⁺-free では逆に増大した。

この応答は G 蛋白に対する GTP の結合阻害剤の GDP β S を細胞内注入すると著しく抑制された。また、コレラ毒素 (CTX) の注入でも不可逆的に抑制されたが、百日咳毒素は効果がなかった。しかしながら A-Kinase inhibitor(H-8)や adenylate cyclase inhibitor (3'-deoxyadenosine) で抑制されず、細胞内注入した高濃度の BrcAMP による電流応答の発現中でも 5 HT 応答は抑制されなかった。

以上の結果より、5 HT 応答は、受容体刺激により CTX 感受性の G 蛋白が活性化し、その結果電圧依存性をもつ Na⁺, Ca²⁺-dependent channel が開いて発現すること、また、細胞内 cAMP の上昇が応答発現の主要な原因でないことが結論された。

28. 培養中枢神経細胞内神経伝達物質感受性 high-voltage-activated Ca チャネルの制御機構

徳富直史 (東北大, 医, 病態生体情報)

培養ラット海馬錐体細胞内, high-voltage-activated (HVA) Ca チャネル電流の神経伝達物質感受性と受容器相互作用について以下の知見を得た。

(1) 妊娠18日目のラット胎児由来の培養海馬錐体細胞には, Cd^{2+} と dihydropyridine 誘導体に対して感受性の高い HVA Ca チャネルが存在し, その総電流の約45%は ω -conotoxin によって抑制された。

(2) 同 HVA 電流の ω -conotoxin 感受性成分は, GABA_B , α -アドレナリン, ムスカリン, アデノシン, δ -オピエート, κ -オピエートおよびソマトスタチン受容器活性化により抑制された。

(3) 各アゴニストの HVA 電流抑制作用は膜の強い脱分極によって一過性に解除され, その解除過程の時定数はアゴニスト種に関係なく一定(5 ミリ秒)であった。

(4) 各アゴニストの作用は グアノシン誘導体, $\text{GDP } \beta\text{S}$ の細胞内灌流により消失し, 一方 $\text{GTP } \gamma\text{S}$ はアゴニスト類似の電流抑制作用を示した。

(5) 同時投与された異種アゴニストは低濃度で, HVA 電流を互いに相加的に抑制したが, 抑制の最大値(45%)は変化しなかった。

以上の結果から, 培養中枢神経内 ω -conotoxin 感受性 HVA Ca チャネルは多種類の受容器活性化の信号を convergent に受け取る GTP 結合蛋白によって抑制的に制御されることが示唆された。

29. PC 12 細胞の電気生理活性の NGF, cAMP による経時変化

*古川勝敏, *小野寺宏*, *杉本 晃*, *小暮久也* (東北大, 医, 病態生体情報・神経内科*)

神経細胞の分化のモデルとして用いられている PC 12 細胞の膜容量(細胞の表面積の指標), 膜電位依存性 Na と Ca 電流, アセチルコリン (ACh) で賦活されるイオン電流が NGF (Nerve Growth Factor) 及び 8-Br-cAMP 存在下の培養期間 (10日間) 中にどの様に変化するのか検討した。なお電流量の変化は電流密度 (電流/膜容量) として表した。

(1) 膜容量は NGF 存在下の培養10日間直線的に増大したが cAMP による増大は 3~4 日で plateau に達した。10日後の膜容量は control 値に対して NGF 処置群で 4 倍, cAMP 処置群で 1.5 倍であった。(2) Na

電流密度は NGF 存在下に直線的に増大し, cAMP では 5~6 日で plateau に達した。10日後の値は NGF と cAMP で control の 20 倍と 5 倍であった。(3) Ca 電流密度は NGF, cAMP により培養 4~5 日後より急速に増大し, その後も増大傾向が続いた。10日後は両者共 control 値の約 2.5 倍であった。(4) ACh によるイオン電流密度は NGF により 4~5 日で plateau に達し, 10日後は 2 倍であった。cAMP では 2~7 日後には control より小さな値を示したが, 10日後には control と同程度の電流密度に戻った。

以上より NGF と cAMP は PC 12 の表面積の増加, Na, Ca チャネルさらにアセチルコリンレセプター (NGF のみ) の発現を促しその時間経過に差があることが認められた。

30. ラット大脳皮質視覚野単離神経細胞にみられるグリシンの直接応答と NMDA 応答に対する増強作用

高橋彌穂, *吉原 康*** (東北学院大, 教養, 情報・東北大, 医, 病態生体情報*・小児科**)

グリシン (Gly) は脊髄運動ニューロン Cl イオンチャネルを開き細胞を過分極することから, GABA と共に有力な抑制性神経伝達物質の一つである。しかし, Gly が単独で効果を発現しない濃度 (10^{-8} ~ 10^{-6} M) でニューロンの NMDA 応答を増強することが近年知られて以来, Gly の抑制と興奮作用の二面性が注目されている。今回我々は, これまでの脊髄や脳幹部ニューロンの結果を踏まえ, 大脳皮質ニューロンに対する Gly と GABA の直接効果と Gly の NMDA 応答の増強効果について調べた。

光刺激によって誘発された集合電位を指標にして, ラット(生後 2~3 週齢)の大脳皮質視覚野ニューロンを急性単離した。Whole-cell 様式下にパッチクランプ法により, Gly, GABA によって惹起される Cl イオン電流および Gly による NMDA 応答の増強電流を測定した。

【結果】 全てのニューロンで GABA (10^{-5} M) による Cl イオン電流が記録され, また低濃度 Gly による NMDA 応答の増強も認められた。しかし, 高濃度 Gly (10^{-4} M) の直接効果である Cl イオン電流の惹起は 42% (25/60) のニューロンでのみ記録された。ところで脳幹部・脊髄のニューロンは全て GABA や Gly に直接応じることから中枢神経系の抑制機構において, 大脳皮質ニューロンは脳幹部・脊髄のそれとは機能的に異なることを示唆している。

31. ラット視床下部ニューロンのプロトンレセプター

*上野伸哉(東北大, 医, 病態生体情報)

末梢神経細胞で急激な外液 pH 低下により一過性の電流が惹起されることが知られている。Lux らは培養感覚神経を用いて、この電流が H^+ により構造変化した Ca チャネルを Na^+ が透過して発生すると報告している。今回我々は、急性単離したラット視床下部腹内側核 (VMH) 細胞における H^+ 惹起電流の電気生理学的、薬理的性質を検討し、この電流を担うチャンネルの同定を試みた。

VMH 細胞は脳切片を酵素処理後、機械的に単離し、吸引電極法で細胞内灌流を行った。外液交換、薬物投与は外液瞬時交換法を用い、膜電位固定下に whole-cell 様式で H^+ で惹起される電流を記録した。VMH 細胞の H^+ 惹起電流は pH 6.5 以下より活性化され pH 4 前後で最大となった。また従来の末梢神経細胞の H^+ 惹起電流は、pH 7.4 前後で不活性化されたが、VMH 神経ではされなかった。I-V 関係から求めたこの電流の逆転電位は外液 Na^+ 濃度に依存し、Nernst の式を用いて細胞内外の Na^+ 濃度より算出した Na 平衡電位に一致し、よってこの電流は Na 電流であることが示された。薬理的には高濃度 TTX が電流の不活性化過程に軽度の抑制を与え、サソリ毒は容量依存性に不活性化過程を延長させ、ピーク電流も増大した。以上の結果からこのチャンネルの性質を考察する。

32. 登上線維入力によってモルモット小脳単一プルキンエ細胞の細胞内カルシウム濃度が一過性に増加する

*宮川博義, *V. Lev-Ram**, *N. Lasser-Ross*, *W. N. Ross*(山形大, 医, 第二生理・Dept. Physiol, New York Medical College*・Dept. Neurosci. UCSD School of Medicine**)

小脳プルキンエ細胞は唯一本の登上線維入力を受ける。このシナプスの役割として、樹状突起内のカルシウムレベルを増加させることが期待されている。我々は、モルモットの小脳スライス標本内の単一プルキンエ細胞にカルシウム指示薬を注入した。登上線維入力に伴う細胞内カルシウムレベルの変化を、膜電位の変化と同時にに行った。その結果以下のことが判った。

1) 登上線維入力にもなって樹状突起内のカルシウムレベルが増加する、2) その時間経過は一過性であって数百ミリ秒内にもとに戻る、3) EPSP の立ち上

がりからカルシウムレベル上昇までの間に約 2 ミリ秒の遅れがある、4) カルシウムレベルの増加は樹状突起の全域で見られるが、先端部ではその大きさが入力ごとに異なり得る。

これらの結果より、登上線維入力は直接にカルシウムレベル増加をもたらすのではなくて、カルシウムスパイクのはっせいを引き起こすことによってカルシウム上昇をもたらすのだと結論した。

33. 海馬シナプスの長期増強をもとに戻す (脱長期増強) ための入力刺激の条件

加藤宏司, 藤井 聡 (山形大, 医, 第二生理)

海馬シナプスでは、短時間・高頻度の入力刺激によりシナプスの伝達効率が長期にわたり増強する (海馬シナプスの長期増強)。一方、一旦おこした長期増強を、入力刺激によりもとに戻すこと (脱長期増強) ができる。

モルモット海馬 CA1 ニューロンで、100 Hz, 100 発のテタヌ刺激でおこした長期増強をもとに戻す入力刺激の条件 (消去刺激: 周波数 1, 2, 5, 10 Hz; 刺激発数 200, 500, 1000 発; 消去刺激を与える時間 20, 100 分後) およびその性質を field EPSP, Population spike の振幅および潜時を記録し検討した。

1 Hz, 1000 発の消去刺激をテタヌ刺激 20 分後に与えると field EPSP, Population spike の振幅および潜時の増大分は、平均でそれぞれ、68.5, 80.1, および 56.1% 減少した (n=6)。この刺激だけでは (Control), 4.3, 7.1, および 1.9% の減少率であった (n=6)。高い周波数、少ない刺激発数、あるいは 100 分経過後の場合では消去率が有意に小さかった。繰り返して与えた消去刺激により脱長期増強は加算されたが、消去後のテスト刺激による反応がもとのコントロールレベル以下になることは無かった。また、脱長期増強は APV (50 μ M) 存在下で有意に減少した。

34. 単離海馬 CA1 錐体細胞における 2 種類の K 電流

若森 実, *古川勝敏(東北大, 医, 病態生体情報)

K チャネルは神経細胞や筋細胞など各種の細胞に存在し、生体膜の興奮の制御に寄与している。海馬 CA1 錐体細胞ではてんかん発作や脳虚血時に異常興奮が起こる事が知られており、その細胞の K チャネルの役割が注目されている。今回海馬 CA1 領域より単離した錐体細胞を whole-cell 様式下に膜電位固定し、遅延

整流性K電流 (I_{KD}) とA電流 (I_A) を分離し、各々のチャネル特性を調べた。

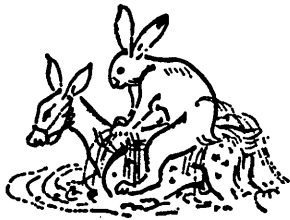
10 mM の 4 AP 存在下で I_{KD} は膜電位 -30 mV 付近から活性化され $+20$ mV 付近で100%活性化された。 I_{KD} の不活性化をダブルパルス法で調べると -35 mV で50%不活性化された。140 mM の TEA 存在下で I_A は -40 mV から活性化され $+60$ mV で100%活性化された。 I_A の不活性化は膜電位依存性を示し -25 mV で50%不活性化された。活性化の time to peak も膜電位依存性を示し、 $+70$ mV 以上では 7 msec であった。また、 I_A は single exponential に不活性化されその時定数も膜電位依存性を示し、 $+50$ mV 以上では最小値 23 msec となった。不活性化状態からは 6 msec の再分極で 50%、150 msec の再分極で 100%回復した。

I_{KD} は遅い kinetics を、 I_A は速い kinetics を持つことから末梢神経と同様に I_{KD} は静止膜電位の決定と発火リズムに、 I_A は活動電位の再分極に関与していることが示唆された。

35. 急性単離海馬 CA1 錐体細胞の細胞内 pH の測定

中江俊夫 (東北大, 医, 病態生体情報学)

海馬 CA1 領域の遅延性脳細胞壊死には、興奮性アミノ酸受容器や Ca チャネルを介する細胞内 Ca 濃度の異常上昇が関与する。この細胞内 Ca の濃度上昇と細胞内 pH (pH_i) 変動との関連が最近注目されてきており、遅延性脳細胞壊死の機構の解明には、 pH_i および細胞内 Ca の動態の解析が必要である。本研究では、ラット海馬 CA1 領域より急性単離した錐体細胞を用い、 pH_i の変化を測定した。錐体細胞に pH 感受性色素 BCECF-AM ($5 \mu M$) を取り込ませ、 pH_i は励起 2 波長 (490/455 nm) による放射光の強度比から算出した。静止時の pH_i は、 6.9 ± 0.2 ($N=93$)。NH₄Cl 負荷による pH_i の経時的変化を画像処理により二次元計測した。細胞内の周辺部・中央部で pH_i の変化に偏りはなかった。NH₄Cl を洗浄した後の酸性シフトからの pH_i の回復過程は、Na 欠如灌流液やアミロライド (1.5 mM) の投与によって明かな遅れを示した。これは、海馬 CA1 領域の錐体細胞に Na-H 交換機構が存在していることを示唆する。また、電気生理学による透過性測定の結果 ($P_{acetate-}/P_{Cl-} = 0.5$, $P_{formate-}/P_{Cl-} = 0.15$) に関連して、酢酸・蟻酸 (30 mM) 存在下に GABA によって Cl イオンチャネルを賦活したが、 pH_i の変動は観察されなかった。



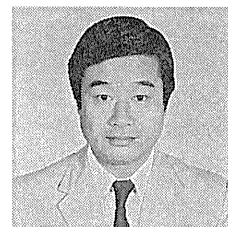
〔生理学の広場〕

「生理学者群像」

吉岡利忠君

聖マリアンナ医科大学教授（第二生理学教室）

昭和63年5月就任



① 現在の研究内容

骨格筋の興奮収縮連関の観点から、拘縮中の微細構造変化と筋小胞体からのカルシウムイオンやその他のイオンの動態について、電子線マイクロプローブ微量元素分析法(EPMA)を用い研究してきた。また瞬時凍結試料から筋小胞体容積の変動や筋節および暗帯の動きをみている。最近哺乳類動物から分離された単一骨格筋の解糖系ならびに酸化系酵素活性と電子顕微鏡による細胞内小器官、たとえばミトコンドリアの量・数との関係について、擬似無重力状態を想定した骨格筋(萎縮筋)あるいは持久性トレーニングを負荷した骨格筋(肥大筋)について研究が進められている。

② 将来の研究活動の抱負

細胞内膜系である筋小胞体や横行小管系, feet 構造,

収縮蛋白系に結合するカルシウムイオンを免疫電子顕微鏡学的手法を用いて可視化し、これと同時にEPMAから各種イオンの動きを知りたい。さらに哺乳類単一骨格筋細胞の生化学的、微細構造学的検索も加え総合的に筋収縮のメカニズムを追究したい。

③ 生理学教育に対する意見

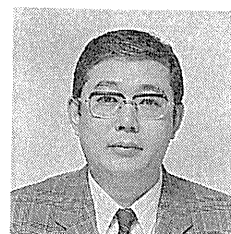
生理学を医学教育の中の1つの過程として捕らえるのではなく、医学部入学時から卒業時に至る一貫教育の中に幅広く位置づけたいと考えている。また特に私立医科大学においては、学生と教師間における良い意味での接触や融和は必要であり、それによってお互いに刺激され反応し合うことが貴重であろう。そしていわゆる座学を極力少なくし実習主体でかつ小グループによる生理学教育が当面の望みである。

「生理学者群像」

小杉忠誠君

琉球大学医学部教授（生理学第一講座）

昭和63年4月就任



① 現在の研究内容

気道粘膜細胞の増殖性（炎症性、癌性）病態における、線溶系活性化酵素の特性と意義、および血小板由来ヒスタミンの生理的、病態生理的役割を各種病態モデルを作製し解析している。ハブの蛇毒由来トロンビン様酵素(A-type)の構造解析と各種モノクローナル抗体の作製を行っている。気管支喘息モデルをラットに作製し、アストグラムを用いての呼吸生理学的な指標の吟味と解析を行い、ヒト喘息病態との異同を検討している。

② 将来の研究活動の抱負

u-PA, t-PA の共存細胞が気道粘膜細胞にみられるかを遺伝子工学的手法にて明らかにしたい。血小板由来ヒスタミンの役割と意義の解析を生理的な止血機構とI型アレルギー病態との比較を通して行いたい。ハブ毒由来トロンビン様酵素の血栓形成予防薬剤としての臨床応用への研究を押し進めたい。

③ 生理学教育に対する意見

基礎医学から臨床医学への単なる段階的知識の積み上げを教育するのではなく、この両分野の知識は、相

互に関連し、循環しながら豊富化されているということを学生に徹底させて行きたい。そのためには、第一段階として生理学の講義を行い、ついで種々のテーマのもとに、グループセミナーを行い、最後に実験動物を用いた in vivo 実験を実習に取り入れて行く。すなわち、種々の並列的生理学的知識を学生実習において、統合化、総合化することが大切であると考えている。そのためには、実習終了後に観察されたデータの

解析を十分に時間をかけて学生と討論することが重要である。また、その機会に病態生理学的観点での討論を加えることにより、生理学に対する重要性和興味を高めることができると思う。また、興味のある学生には基礎配属を三学期の午後に行き、実験室、教室への出入りを自由にするにより、現象の解析、観察の面白さと重要性を認識させていきたい。

【お知らせ】

チャンドラー・ブルックスフェローシップについて

この度ニューヨーク州立大学医学部に設立されましたブルックスフェローシップに御協力をお願い致しましたところ多くの日本生理学会々員の方々から多額の御寄附をいただきまことに感謝にたえません。

このフェローシップは、1989年11月末急逝されました日本生理学会名誉会員ブルックス教授の御貢献と御功績をたたえ、先生の御在世中よりの御希望にそって、大学院学生養成の目的で、当ニューヨーク州立大学に設けられたものであります。この大学院はブルックス教授が35年前に設立されたもので、ブルックスフェローシップが将来長く生理学者の育成と生理学への貢献に寄与することを思い、日本生理学会の方々の御厚意を深く感謝する次第です。

ニューヨーク州立大学、ブルックリン
ヘルスサイエンスセンター生理学教授
小泉喜代美

尚、ブルックスフェローシップについて御質問がありましたら、小泉宛下記の住所又は山下教授迄御連絡下さい。

Dr. Kiyomi. Koizumi, Interim Chair

Dept. of Physiology, Box 31

SUNY Health Science Center at Brooklyn

450 Clarkson Ave., Brooklyn, NY 11203

TEL (718) 270-3104 ; FAX (718) 270-3378

山下 博教授

〒816 北九州市八幡西区

産業医科大学第一生理学教室

TEL 093-691-7234 FAX 093-692-1711

千里ライフサイエンスセミナー

ブレインサイエンスシリーズ 第1回「神経伝達機構」

日時：平成3年3月15日(金)午前10時～午後4時
場所：信用保証ビル3F

(地下鉄御堂筋線千里中央駅すぐ)

大阪府豊中市新千里東町1-2-4

TEL 06 (835) 2715

主催：財団法人 千里ライフサイエンス振興財団
協賛：株式会社千里ライフサイエンスセンター
開催趣旨：

脳の科学の発展は、記憶や思考、更には心や精神と

いような脳の高次機能の物質的背景の解明にもつながるものと考えられております。また、老人性痴呆やパーキンソン病などの疾患の発症機序、予防と治療についても研究が進められており、脳の科学への関心がますます高まり、まさに『脳の時代』が始まろうとしております。

本シリーズは、このような状況の中、第一線の研究者、研究企画・開発担当者、更には本分野に興味をお持ちでこれから研究を始めようとしている方々を対

象として企画いたしました。

第一回は、「神経伝達機構」をテーマに当該分野の著名な先生方をお招きしてご講演頂き、併せて自由に討論頂く質疑応答の時間も設けました。是非ともこの機会をお見逃しなく奮ってご参加下さい。

プログラム：

1. 21世紀を迎えての神経科学の展望
(理化学研究所国際フロンティア研究システム
チームリーダー) 伊藤正男
2. 神経伝達物質の受容体と受容機構
(京都大学医学部附属免疫研究施設長・教授)
中西重忠
3. 神経細胞の情報伝達と細胞骨格
(東京大学医学部教授) 廣川信隆
4. 受容体の薬理学
(京都府立医科大学教授) 栗山欣彌
5. 受容体の遺伝子発現と多様性
(大阪大学医学部教授) 遠山正彌

参加費：主催・協賛団体会員 5,000円
一般(非会員) 7,000円
大学関係 3,000円

(講演要旨集含む)

参加申込締切：定員(100名)になり次第

参加申込方法：①会社団体名②所在地(〒, TELも)
③参加者氏名, 年齢, 所属名・役職名④振
込月日を明記の上, 葉書(又はFAX)で下
記宛お申し込み下さい。参加費は三和銀行
千里中央支店・普通預金 No. 3656634・財
団法人千里ライフサイエンス振興財団口座
宛お振込下さい。なお振込の際振込者名の
前にB1とご記入下さい。

申込先：〒565 豊中市新千里東町1-4-1
阪急千里中央ビル9階
(財)千里ライフサイエンス振興財団
プレイサイエンスシリーズ係
TEL 06 (871) 5535
FAX 06 (871) 5530

宇宙生命科学シンポジウム

宇宙生命科学への招待 ―生命の宇宙進出の条件は何か―

主催：日本宇宙生物科学会

講演題名及び講師：

1. 宇宙の夢
野田春彦(放送大学)
2. 宇宙進出計画
長岡俊治(宇宙開発事業団)
3. 人類の宇宙進出のための生物学, 医学,
心理学的課題
渡邊 悟(名古屋大学)
4. 人類が宇宙へ進出するための環境創製技術
新田慶治(航空宇宙技術研究所)
5. 宇宙での生命誕生(仮)
J. M. Greenberg
(オランダライデン大学)
6. 地球外生命, 文明を求めて(仮)
大島泰郎(東京工業大学)

7. 宇宙生命科学への注文(仮)

小松左京(作家)

期日：1991年3月30日(土)12時10分～17時

会場：国立科学博物館講堂(東京上野公園内)

定員：200名

参加費：無料

参加申し込み：往復葉書にてお申し込みください。

定員になりしだい締めきります。

申し込み, 問い合わせ先：

〒194 東京都町田市南大谷11
三菱化成生命科学研究所
河崎行繁
電話0427-24-6289
FAX0427-29-1252

第4回アサヒ・フェローシップ（朝日国際奨励金）

謹 啓

平素より朝日新聞社の文化事業にご理解、ご協力を賜り、まことにありがとうございます。

朝日新聞社は1988年の東京朝日創刊100周年を記念して「アサヒ・フェローシップ(朝日国際奨励金)」を創設いたしました。この制度は、日本に関心を持ち、日本での研究を希望する外国の若手研究者、芸術家、ジャーナリストらを日本に1年間招き、滞在研究を通して日本理解を深めてもらうものです。発足以来、9か国から10人(男性7人、女性3人)のフェローを迎えています。

本年も同送の通り、募集要項、申請書類一式を作成いたしました。つきましては、貴誌中の告知欄等に、本奨励金をお取り上げいただきますよう、お願い申し上げます。また、フェローとしてどなたか適当な人物をご存じでしたら、本奨励金の存在をご紹介いただければ幸いです。

なお、昭和24年度から続いた「朝日学術奨励金」制度は所期の目的を果たしたと考え、昭和62年度をもっ

て打ち切り、本奨励金に改変いたしました。長い間のご協力に感謝いたします。当方よりの通知が行き届かず、「学術奨励金」を継続して告知いただいております。お詫び申し上げますとともに、本奨励金に差しかえて引き続き掲載いただきますよう、お願いいたします。

ご多用中とは存じますが、何卒宜しくご高配賜りますよう、お願い申し上げます。

敬 具

1990年12月

朝 日 新 聞 社

問い合わせ先：〒104-11 東京都中央区築地5-3-2

朝日新聞社文化企画局企画第二部内

アサヒ・フェローシップ事務局

TEL 03-3545-0131(内線 5484)

FAX 03-3546-1894

〔担当者：大倉、長浜〕

生理学総説集お買い求めのお願い

日本生理学会生理学総説集上・下(1set 6,000円)は昨年6月に刊行になりました。編集委員会は声を嚙らして、会員の皆様に刊行のお知らせをしてきましたが、不思議なことに予期に反して、お求めの需要数が延びません。一昨年、この計画の発想に対する賛否を問う際には、驚く程多数の会員からの声援をいただきました。

唯今までにお求めいただいた数は300部、目標の500部には未だしの感があります。刊行費だけでもと皆様の声援を期待しています。

日 本 生 理 学 会
日本生理誌編集委員会
振替口座 東京 1-539902

【編集後記】

53巻1号をお届けします。「明けましておめでとう
ございます」という間もなく、本号がお手元に届く頃
は、立春の声も既に通り過ぎていた頃と思います。平
成の世になってから早いもので、まる2年が経ちまし
た。還暦を過ぎて Biological Clock が一段とスピード
を増して回っているような気が致します。

本号には総説が間に合わず、原著1篇、2ヶ所の談
話会の抄録と、1号ですから、会則、投稿規定、動物
実験の指針が載っております。また、先々月、先月の
編集後記で予告したとおり、53巻から〔生理学の広
場〕、我々が通常ブルー・ページと呼んでいる所に、
新たに「生理学者群像」と称して、新任の教授および
研究室指導者を紹介するコラムを設けることに致しま
した。先ず1号には昭和63年に就任された、聖マリア
ンナ医科大学、吉岡利忠教授、琉球大学医学部、小杉
忠誠教授のお二人をご紹介致しました。先月号の後記

に見られる通り、編集委員会としてはどなたが該当者
になるのか、なかなか把握できにくいので、進んでご
投稿されることをお願い致します。

このところ毎号「総説集のお買い求め」のお願いを
出しておりますが、現在のところ約300部しか応募が
ありません。以前の編集後記に、お買い求め予定の事
前調査の結果をご報告したことがありますが、その時
には優に500部を越すことが予想されました。500部
を越さないと生理学会の会計を圧迫するのみならず、
保管場所にも事欠く始末です。会員皆様のご協力を切
にお願いするとともに、図書館、関連研究室などにも
声をかけて頂ければ幸いです。

平成3年が、イラク戦争によって幕明けされ、連日
テレビ、新聞をにぎわしておりますが、本号が皆様
のお手元に届く頃には既に終結していた、となるよう祈
っております。

(登坂恒夫)

編 集 委 員

酒井敏夫(幹事)	林秀生	真野範一
登坂恒夫	松井洋一郎	野口鉄也
薮英世(北海道)	丹治順(東北)	本間信治(関東)
小野武年(中部)	藤本守(近畿)	片岡喜由(中・四国)
有田眞(九州)		



日 本 生 理 学 会 会 則

(平成2年4月4日改定)

1. 本会は日本生理学会と称する。
2. 本会は生理学の進歩発展をはかることを目的とする。
3. 本会は毎年1回大会を開いて会員の業績を発表討議し、総会および評議員会を開いて会務を評議する。大会の開催は前もって全会員に通知し演題を募集する。なお会員は各所在地において適宜地方会をつくり、業績を発表討議することができる。
4. 本会は会員の原著、大会および地方会の演題あるいは抄録を発表するため邦文機関誌の日本生理学雑誌を発行し、欧文の The Japanese Journal of Physiology を編集する。
5. 会員は、本会の趣旨に賛成する同学者で評議員の紹介あるものに限る。会員は年額7,000円の会費を負担し、学会および機関誌に業績を発表することができる。また日本生理学雑誌の頒布を受ける。

学校、図書館、研究所等の団体は準会員として年額9,500円の購読料を前納し、会誌の頒布のみを受ける。

特別会員は多年本会に功労のあった会員で、評議員から推薦され総会の賛同によって定められる。特別会員の会費は免除される。

名誉会員は、本会に多大の貢献のあった外国人で、評議員から推薦され総会の賛同によって定められる。名誉会員の会費は免除される。
6. 本会の役員には評議員、常任幹事、当番幹事がある。
7. 評議員は本会の中核となる会員であって、評議員の推薦により選考委員会を経て評議員会に附議して決定される。

評議員会は毎年大会の際開催され本会に必要な事項を評議する。

評議員会は地区別に定数の常任幹事を選出し、日常および緊急の会務を委嘱する。
8. 常任幹事の中に庶務・会計・編集等幹事をおく。
9. 当番幹事は大会の開催を引受けた評議員であって、大会の一切の事務を行なう、大会終了後次回当番幹事に事務引継を行なって任期を終わる。この任期中は常任幹事会の一員に加わる。当番幹事は大会開催中常任幹事会・評議員会および総会を招集しこ

れを司会する。

10. 常任幹事会は必要に応じて各種の専門委員会を設け委員を委嘱することがある。必要に応じその委員は常任幹事会に出席し専門事項の審議に参加する。
11. 本会の会計年度は毎年1月に始まり12月に終わる。
12. 本会の事務報告は総会および日本生理学雑誌に発表する。
13. 本会の事務所は東京都文京区本郷3-30-10布施ビル(4階)内におく。
14. 本会則を変更するには評議員会の決議を経て総会の承認を得なければならない。

附 則

<常任幹事会に関する事項>

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

幹事の選出区分	定員(計30名)
北海道地区	2名
東北地区	2名
関東地区(新潟を含む・東京を除く)	5名
東京地区	7名
中部地区	5名
近畿地区	4名
中国四国地区	2名
九州地区	3名

内 規

- 1) 評議員選考基準：多年本会員として在籍し相当の生理科学の業績発表があり、満5年以上の研究歴が

- あるもので本会評議員の推薦がなければならない。
- 2) 評議員は The Japanese Journal of Physiology を購読するものとする。
 - 3) 会費滞納の会員は会員の資格が自然消滅する。
 - 4) 庶務幹事は必要な場合に限り日本生理学会代表と称することができる。
 - 5) 常任幹事会で選ばれた 2 名の監事が本会の会計を監査する。
 - 6) 本会に次の常置委員会をおく。日本生理学雑誌編集委員会, The Japanese Journal of Physiology 編集委員会, 評議員選考委員会, 選挙管理委員会。
 - 7) 文部省科学研究費補助金審査委員候補者の選出方法は別に定める。
 - 8) 臨時会費として 3,500 円を納めたものは, 当該年度のみ, 本会の主催する大会および地方会に会員と連名で業績を発表することができる。

日本生理学雑誌投稿規定

昭和45年6月制定 昭和58年1月1日改訂
昭和49年8月1日改訂 昭和62年3月31日改定

本誌は日本生理学会会員の原著、短報、総説その他の記事を掲載します。依頼原稿の場合は会員でなくても掲載することがあります。掲載の採否は編集委員会で決定致します。

I. 原 著

A. 原著論文は日本語とし、長さに制限はありません。A4版(21×29cm)の400字詰横書原稿用紙を用いて下さい。ワープロ原稿の場合は、同じくA4版を用い、1頁、800字(40×20行)としダブルスペース間隔でプリントして下さい。いずれの場合も原稿2部を提出して下さい。

B. 表紙(原稿第1頁)の上半には表題、欄外見出し、著者名、所属およびその所在地を書き、下半には原稿の枚数、図、表の数、別刷請求部数、編集者への希望などを書いて下さい。

C. 英文摘要(表題、著者名、所属および200語以内の抄録)をダブルスペースでタイプし、末尾に5つ以内のkey wordsをつけて下さい。可能ならIndex MedicusのMedical Subject Headingsのリストからのものを用いて下さい。これを2部添付して下さい。

D. 本文とくにローマ字などではできるだけ読みやすく書き、イタリック指定をしたいところはアンダーラインをしてその下にイタリックと書きます。動物名、外来語などは原則として片カナを用います。単位および単位記号は国際単位系(本誌28巻, 141頁, 1967; 新版生理学用語集, 国際単位系について, 付録221頁, 南江堂, 1984参照)によって下さい。

E. 図、表、写真の説明は英文で書きます。本文の欄外に赤字でそれぞれの挿入すべき位置を指定しておきます。

F. 項目分けはI, II, ……さらにA, B, ……さらに1, 2, ……さらにa, b, ……というように分けて下さい。

G. 文献記載の様式

1. 本文中の引用箇所の右肩に番号を付けます。1つの事象について複数の論文を引用する場合は、1, 5, 7) あるいは⁸⁻¹⁰⁾のように書きます。著者名を引用する場合、3名以上の連名のときは、“ら”あるいは“et al.”とします。

例1: 高木ら¹⁾によれば……

例2: Hodgkin & Huxley²⁾によれば……

2. 末尾文献リストは著者名をABC順に整理し、本文の番号と照合します。著者が連名の場合は省略せず全員を掲げます。

3. 雑誌は著者名、(西暦年数)、表題、雑誌名、巻、頁(始-終)の順に記します。

例1: 藤本 守, 宮尾賢爾(1969)電磁流量計の応用による腎血行調節機転の研究. 日本生理誌 31, 65-75

例2: Hodgkin, A. L., Huxley, A. F. & Katz, B. (1952) Measurements of current voltage relations in the membrane of giant axon of *Loligo*. *J. Physiol.* 116, 424-448

4. 単行本は著者または編者名、(西暦年数)書名、版数、章名、発行所、その所在地、引用頁の順に記します。論文集などの場合には雑誌に準じますが、雑誌名のところに上記単行本の項が入ります。引用部位が単行本中の数箇所におよぶ場合に限り、その書物の始めと終わりの頁を記入してもかまいません。

例1: Conway, E. J. (1950) Microdiffusion analysis and volumetric error, 1st Ed., Carbon monoxide, Crosby Lockwood & Son Ltd, London, 326-330

例2: Scher, A. M. (1965) Electrical correlates of the cardiac cycle. In: Ruch, T. C. & Patton, H. D. Physiology and Biophysics, 19th Ed., Chap. 30, Saunders, Philadelphia, 365-599

例3: Barrow, G. M. (1973) Physical Chemistry, 3rd Ed., McGraw-Hill, New York, 1-787

5. 雑誌名の省略名は、雑誌により決めてあるものについてはそれに従い、そうでないものについては、医学中央雑誌、収載誌目録、医学中央雑誌刊行会またはIndex Medicusによって下さい。

H. 校正は投稿者の責任において、再校までとします。

II. 短報・研究方法

A. 和文短報

1. 刷り上がり4頁以内とします。400字詰原稿用紙15枚程度です。2部提出して下さい。

2. 図, 表は4個以内です。
3. 文献リストはスペースの関係で表題名を省略することができます。

4. その他必要事項はすべて原著の項を参照して下さい。

B. 英文短報

1. 刷り上がり4頁以内とします。ダブルスペースでタイプ用紙約8枚です。2部提出して下さい。

2. 図表は4個以内です。

3. 表紙をつけ, 表題を英文で, 著者名, 所属は和文と英文と両方記入します。(原著の規定B参照)。

4. 文献リストはスペースの関係で表題名を省略することができます。

5. 和文要旨をつけて下さい。

6. その他必要事項はすべて原著の項を参照して下さい。

C. 研究方法

執筆要領は原則として短報に準じます。

Ⅲ. 総説・解説

A. 内容は専門外の人にもわかるように留意して下さい。

B. 刷り上がり15頁を原則とします。図, 表, 文献リストを含めて400字詰原稿用紙約40枚です。

C. 執筆要領は原則として原著の項に準じますが, 下記の点に留意して下さい。

1. 原稿は1部提出して下さい。

2. 英文摘要をつける必要はありません。

3. 表紙の表題, 著者名, 所属には英文もつけて下さい。

4. 図, 表の説明文は日本語とします。

5. 既に出版公表された図, 表を使用する場合は, 出版社および著者から(自著の場合は出版社のみから)引用許可をとり, そのコピーを原稿とともに提出して下さい。また, その図, 表の出典を明示して下さい。

Ⅳ. 学生教育・学会印象記・資料など

A. 刷り上がり2頁前後を希望します。400字詰原稿用紙約8枚です。ただし, 編集委員会で必要と認められたものについてはその限りではありません。

B. 執筆要領に特別な指定はありません。

Ⅴ. 談話会抄録

A. 談話会英文抄録

当番幹事が定める用紙の枠内にカーボンリボン付き英文タイプ(シングルスペース)で清打ちします。

B. 談話会抄録は表題, 著者名, 所属, 本文を含めて600字以内(図, 表は不可)とします。外国人講演者の場合は欧文(本文200語以内)でも受付ます。

Ⅵ. その他

会員相互, 学会からの連絡事項, 意見を色紙頁別に掲載します。投稿を歓迎します。図, 表, 写真など含めて400字詰原稿用紙5枚以内にまとめて下さい。ただし, 掲載の採否は編集委員会に一任して下さい。

ピンク頁: 大会案内, 特別な学会からの通知。

イエロー頁: 生理学会会則, 日本生理誌投稿規定など(各巻1号に掲載)。

ブルー頁: 日本生理学会各種会議事録, 生理学者群像, 集会などの内容紹介, 海外だより, 研究助成金の公募, ニュース, 展望, 討論, 意見など。

その他: 物故会員(特別会員ならびに常任幹事, 当番幹事経験者)に対する追悼文(写真を含む), 大会写真などは表紙の次頁に掲載されます。

Ⅶ. 印刷費用

A. 雑誌印刷費には, 組代, 凸版代, 紙代, 別刷代などが含まれます。

B. 原著, 短報はすべて著者負担になります。

C. 日本生理誌編集委員会依頼の総説の場合, 刷り上がり15頁を越えた分については著者負担となります。別刷は100部まで無料とします。

D. 任意投稿の総説, 解説などは印刷費を頂くことがあります。

Ⅷ. 原稿の送り先は「日本生理学会事務局」です。封筒の表に「日本生理学雑誌原稿」と朱記して下さい。

〒113 東京都文京区本郷3-30-10, 布施ビル 4階

日本生理学会 日本生理誌編集委員会 宛

註: 原稿作成に当たって以下の論文が参考になることを付記します。

International Committee of Medical Journal Editors (1982) Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. *Brit. Med. J.* 284, 1766-1770

昭和63年12月19日制定

「生理学領域における動物実験に関する基本的指針」

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

日 本 生 理 学 会

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

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

I. 基本的事項

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

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

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

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

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

II. 特記事項

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

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

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

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

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

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

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

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

The Physiological Society of Japan

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

'Standards Relating to the Care and Management, etc. of Experimental Animals, Notification of Japanese Prime Minister's Office, 1980' ;

'International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals, CIOMS, 1984' ;

'Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, DHEW Publication No. (NIH) 85-23, 1985' ;

'Guide for Animal Experimentation, Japanese Association for Laboratory Animal Science, 1987' ; and

'Guiding Principles for Animal Experiments using Non-human Primates, Primate Society of Japan, 1986' ;

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

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

I. General Principles

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

the objective of the experiment.

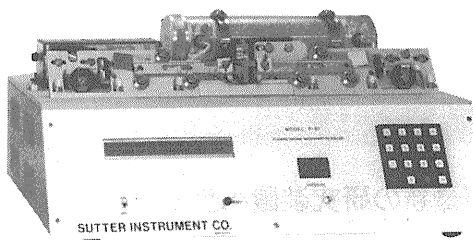
- (4) When animals are to be disposed of after experiments have been completed, they should, in accordance with notification issued from Prime Minister's Office (1980), be killed humanely by administering a lethal dose of anesthetic or by some other recognised means taking into account their species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

II. Specific Recommendations

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

生理学実験を フル・ラインアップでサポートします

Model P-87

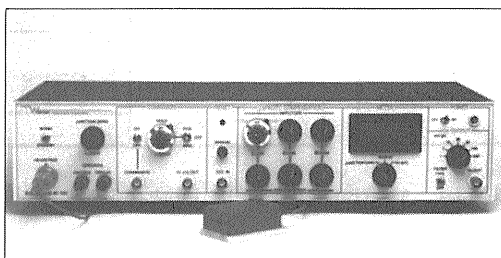


米国サッター社製

マイクロピペット・プラー

P-87型プラーは、日本の生理学界に静かな旋風を巻き起こしている、名門サッター社製量産モデルの最高峰です。ループ機構、ランプ・テスト、ヴェロシティ・センサーなど、サッター社の持つノウハウがすべて具現化されています。とくにパッチ電極、細胞保持用ピペットの作製に、他の追随を許さぬオリジナリティと信頼性を誇ります。

Model BC-525

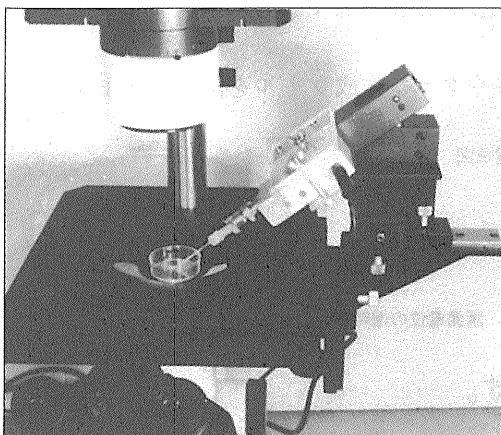


米国ワーナー社製

バイレーヤー・クランプ・システム

バイレーヤー・クランプ・システムBC-525型は、脂質二重層膜におけるイオン・チャンネルの研究に焦点を絞ってデザインされた米国ワーナー社の意欲作です。ホルテージクランプ手法に最大限の配慮を払ったインテグレート型FETヘッドステージを採用し、従来の抵抗型では得られなかった低ノイズおよび耐トランジェント性能を獲得しました。

Model 3D-PCM



西独リスト社製

3次元パッチクランプ・ マイクロマニピュレーター

西独リスト社の3Dパッチクランプ・マイクロマニピュレーターは、すぐれた安定性を誇るパッチ専用機です。バックラッシュ自動補正機能によりドリフト・フリーを実現し、プッシュボタン・コントローラーを分離デザインして、使い易さと安定性を併せて達成しました。ステップ駆動、連続駆動を選べるほか、数々のメリットを備えています。



日本総代理店

ショーシンEM株式会社

〒444-02 愛知県岡崎市赤浜町蔵西1番地14(ショーシンビル)

TEL. (0564) 54-1231番(代表)

FAX. (0564) 54-3207番

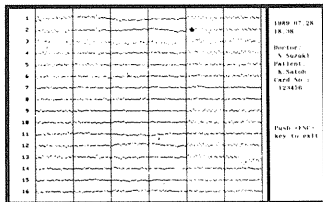
Genius™
(ジーナス)

最上位モデル誕生!!

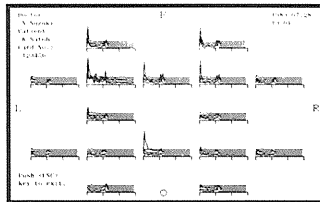
脳波および誘発電位解析システム
多彩な波形解析，トポグラフィック機能を搭載

コンベンショナルな脳波計やポリグラフが最新の研究装置へ生まれ変わります。

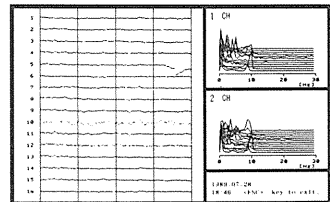
▼16chモニタ



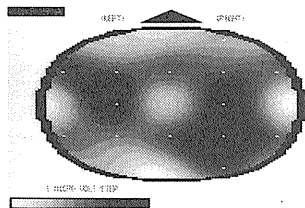
▼16chリアルタイムFFT



▼16chモニタ+2chリアルタイムFFT

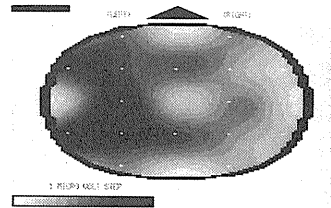


- ◎最大32チャンネルの脳波及び誘発電位を解析，筋電図や心電図も同時に解析できます。
- ◎解析画面は，レーザービームプリンタやカラービデオプリンタにより高品位に出力されます。
- ◎解析結果はバイナリー，アスキー，SYLK，K3等の様々な形式でファイル化できます。
- ◎データの解析には，一般の表集計ソフトやグラフ作成ツールを併用できます。



◀脳波の帯域パワー等電位図

カラートポグラフィックマッピング



▶誘発電位の潜時▶

多彩な機能が研究をアシストします。

目的に合わせた性能を持つ経済版Geniusサブセットもあります。

■開発・発売元

株式会社 メディカル リサーチ イクイップメント

■販売元

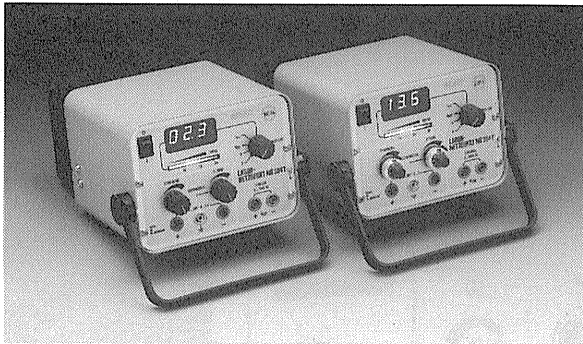
明邦交易株式会社 メディカル システム部

〒104 東京都中央区銀座6-9-7 TEL.03-3573-3591(代) FAX.03-3592-1705

我々は、世界中から先進的な装置を見つけ、明邦交易株式会社を通じて、日本あるいは極東市場に紹介してきました。
 西独CH.BEHA社は、優れた回路設計技術に基づき、ケース部分の板金加工に至るまで、社内で一貫生産しております。また、全製品についてエージングを行い、品質管理にも十分な時間をかけて生産しております。

UNIWATT®

von
CH. BEHA GmbH, Deutschland



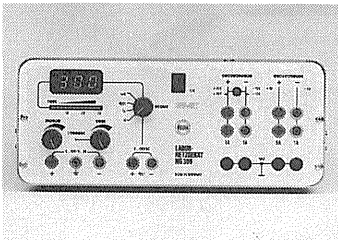
NG304T

NG303とならぶ基本モデルの1つ。電流のトレンドを表示する機能を持つNG304Tモデルもあります。0-30Vの可変定電圧モード、0-3Aの定電流モードを持ち、メーターは外部回路測定に切替えが可能。異なる仕様品の受注も可能。



NG308

±5、±12(15)Vの固定出力を持ち、特に±12Vと±15Vが切替えられることで、マイクロプロセッサ回路、オペアンプ回路に共用出来ます。



NG309

NG304TとNG308を組合せたモデル。0-30V(0-3A)の可変定電圧(定電流)出力を1系統、±5、±12(15)Vの固定出力を備えています。外部回路の測定を行う為に、表示部を切替えることが可能です。

高品質なDC電圧
 が、より高度な研
 究に安定した条件
 を提供致します。

NEWS

行列演算用プログラミング言語 Gauss 輸入開始。
 定価 118,000円 只今、支払条件等により特價販売中
 です。御問合わせ下さい。

■輸入・発売元

株式会社 メディカルリサーチイクイップメント

■販売元

明邦交易株式会社 メディカル システム部

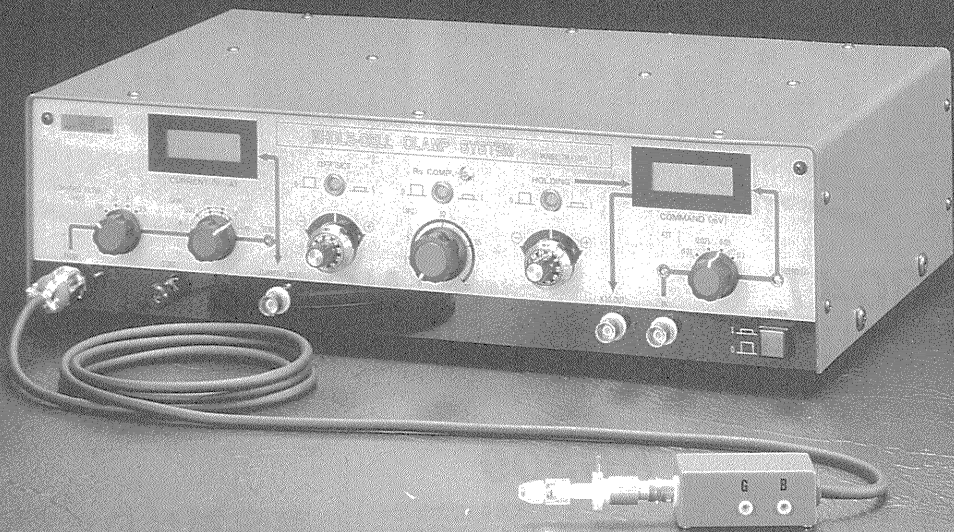
〒104 東京都中央区銀座6-9-7 TEL.03-3573-3591(代) FAX.03-3592-1705

Whole-Cell Clamp System

MODEL

TM-1000

- 人間工学的なデザイン、簡便で確実な動作。
- 安全性の高い直列抵抗の補償。(Rs:0~20M Ω)
- ダイナミックレンジの大きなオフセット及びホールド電圧設定。

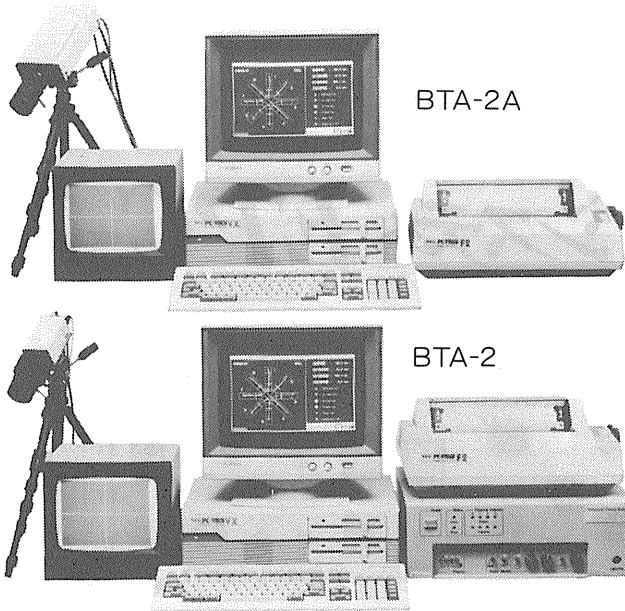


※2点支持タイプ(メカニカルドリフトフリー)の電極ホルダー標準装備。



株式会社 アクトME研究所

〒173 東京都板橋区大谷口北町89-8-202 TEL:03-3554-5946



実験動物 行動解析装置 BTA-2/BTA-2A型

実験動物行動解析装置BTA-2型、BTA-2A型の両機種は、ビデオカメラからの画像信号をリアルタイムに処理し、小実験動物の行動軌跡、移動速度ほか、各種の定量データを高速に算出します。用意されているソフトウェアは

- 1) 8方向放射状迷路
 - 2) 円型オープンフィールド
 - 3) Morris 水迷路
 - 4) マルチプルT型水迷路(Biel型水迷路)
 - 5) 角型オープンフィールド
- の5種類があります。

BTA-2型はオプションが用意されており、必要に応じた構成をとれば、ビデオテープの再生画像の解析処理も可能です。(BTA-2A型は不可)

- サンプル周期…0.1秒
- 適用コンピュータ…PC-9801(NEC)シリーズ
- 画像信号……………白/黒 画像信号

※詳細はお問い合わせ下さい。

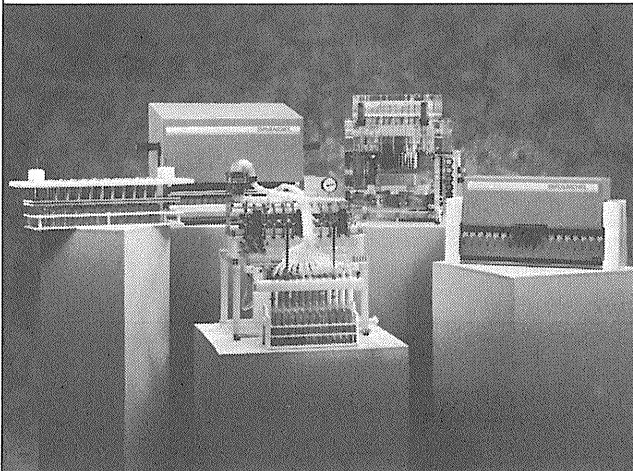
Muromachi

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4-2-1 大辻ビル ☎03(241)2444(代)
〒532 大阪市淀川区西中島5-7-19 第7新大阪ビル ☎06(302)1277(代)

Automatic Sample Preparation System

BRANDEL

レセプタ・バインディング専用 セル・ハーベスタ



米国BRANDEL社は、セルハーベスタの専門メーカーとして設立され、米国内では数多くの文献で紹介され、圧倒的なユーザーを有しています。本装置は、近年注目を集めているReceptor Binding Assayの測定を主として開発・設計されたハーベスタです。

■主な特長

- 従来の面倒な手作業をなくし、多数の検体を能率よく処理する事ができます。
- 従来のハーベスタとは違い、ろ過スピードが速く、目詰りする事無く、均一にろ過する事ができます。
- ディスペンサを使用する事により、ハーベスタで処理したフィルタをバイアルに落とし込み、カクテル液を同時に分注する事ができます。
- 様々なアクセサリを付ける事によりグレードアップが出来ます。

※レセプタ・バインディング・アッセイ用以外のハーベスタも各種取扱っておりますので、詳しくはカタログを御請求下さい。

米国ブランデル社
日本総代理店

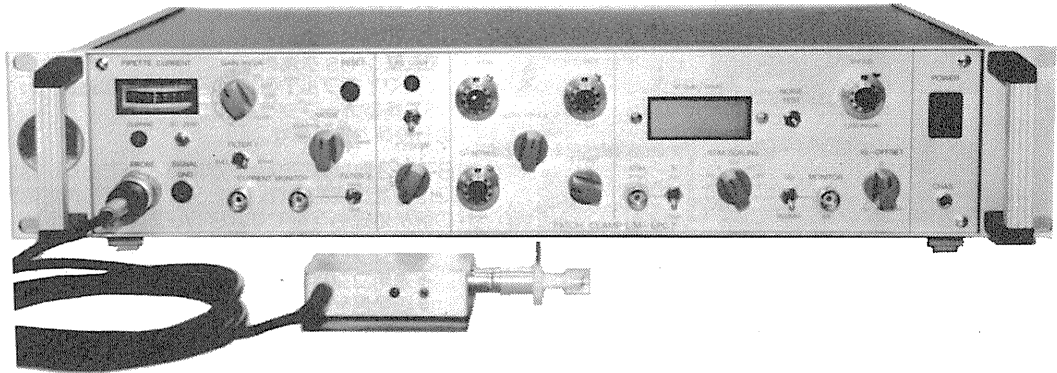
室町機械株式会社

本社 〒103 東京都中央区日本橋室町4丁目2番1号 ☎03-3241-2444
大阪営業所 〒532 大阪市淀川区西中島5丁目7番19号 ☎06-302-1277

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

西独リスト社

パッチクランプシステム *EPC-7*



■ 主な性能

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

日本総代理店 / 西日本地区発売元



ショーシンEM株式会社

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

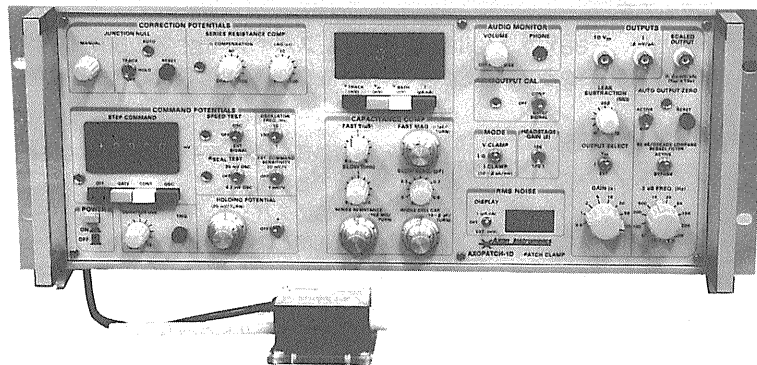
東日本地区発売元

(*Physio-Tech*)

株式会社 *フィジオテック*

〒101 東京都千代田区内神田3丁目10番3号コイイダビル4F
TEL (03) 3258-1641(代)

AXOPATCH-1D PATCH CLAMP



低ノイズ ハイスピード 安定性と信頼性

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

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

CV4ヘッドステージは下記の3種類があります。

AXOPATCH-1Dの特徴

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

AXOPATCH-1Dのヘッドステージ

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

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

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

西日本地区発売元



INTER MEDICAL CO., LTD.

株式会社 インターメディカル

本社/〒461 名古屋市中区東一丁目25番1号
TEL (052) 937-7060/90 FAX (052) 937-5423
TLX 44-3603 WDMEC J
東京支社/〒157 東京都世田谷区粕谷三丁目32番16号
製造営業部 アビタシオン千歳烏山102号
TEL (03) 5384-6387 FAX (03) 5384-6487

東日本地区発売元

(Physio-Tech)

株式会社 フィジオテック

〒101 東京都千代田区内神田3丁目10番3号
コイダビル4F
TEL (03) 3258-1641(代)

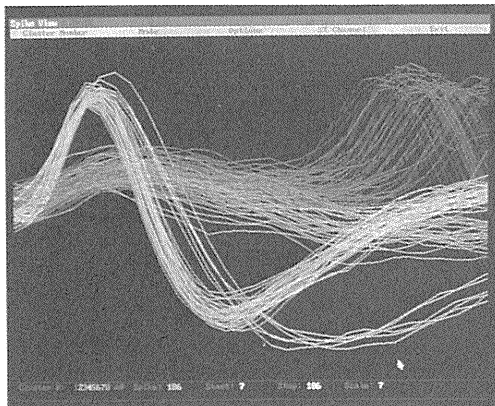
多チャンネル用
シングルユニット解析システム

Discovery™

BrainWave社製

Discovery(ディスカバリー)は、IBM-AT仕様のコンピュータを使った多チャンネル・シングルユニットの解析レコーディングシステムです。

オンラインでユニット信号を、Peak値、Vallay値、タイム、スパイクHigh等の8項目によりクラス分け(Cluster Cutting)します。分類したクラスは、後で様々な解析法で処理したり再分類できる画期的なシステムです。

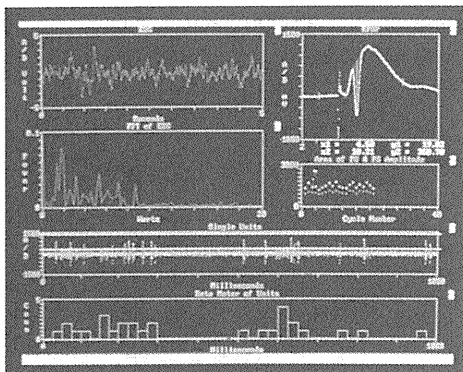


- 各種ヒストグラム、スパイクソート、アベレージング等の解析処理の他に、TTL入出力により外部機器と連動させて測定できます。
- 25種類のスパイクソート・ライブラリーを用意。
- 交叉相関ヒストグラム(XCF)。
- ペリイベント・スティムヒストグラム(PETH, PSTH)。
- インタースパイク・インターバルヒストグラム ISIT。
- ジョイントヒストグラム。
- 各種イベントフラグのメッセージ。
- アベレージ、スパイクソート。
- カットファイル、各種データのASCIIファイルの作成。
- 波形パラメータリストの作成。
- ハードコピーに対応。
- Spike Channelは4ch/EEG、EMGの連続記録は6ch。
- プログラムのカスタムサイズも可能。

脳波及び生体信号記録解析システム(IBM-AT仕様)

Experimenter's WorkBench™

ワークベンチシステムは、EEG、ECG、EMG等のあらゆる生体信号を取り込み、オンラインで解析する優れたシステムです。豊富なコマンドファクションを持ち、順に組み合わせるだけでディスプレイ、演算処理、記録等の実験解析処理が自在で、作業系の自動化ができます。



- Peak及びPeak to Peakの検出。
- 刺激誘発反応の解析。
- 周波数解析(FFT)。
- アベレージング、スムージング。
- プロット及びカーブフィッティング。
- イベントディテクション。
- レートメータ、各種ヒストグラム解析。
- 微分、積分、可変エリア値、面積等の波形演算処理。
- タイム及びループコントロール。

〈メインコマンド〉

ACQUIRE	DISPLAY	ANALYZE
RECORD	STIMULATE	RESET
TIME	UP DATE	TEST
PAUSE 他数十種のファンクション		

〈応用〉

- シングルユニットの記録
- EEGのFFT解析
- Evoked Potential
- Synaptic potential
- EMG、EKG、ERG
- 心血管研究
- Dose-Response Curve
- 薬理学研究

BrainWave社
日本総代理店



バイオリサーチセンター株式会社

本社：名古屋市東区東桜2-10-21(錦見ビル2F) ☎052(932)6421 FAX.052(932)6755
東京：東京都江戸川区東葛西5-1-15(第2頼長ビル403号) ☎03(3878)6471

新鮮脳スライス装置 生理・薬理学分野向け

D.S.K.

ロータースライサー[®]

ROTOR SLICER

PAT・P

NEW



MODEL
DTY-8700

『もっと薄く、もっと簡単に』とご希望の先生方に
画期的なロータースライサー新発売。

特 長

- 丸刃回転方式 回転する丸刃が下降し、柔らかい組織をはじめ皮膜をもった組織でも押し潰すことを最小限に薄切します。
- ボタン1つの簡単操作 組織の送り幅(切り幅)、刃の回転速度・下降速度を任意に設定、ボタン1つで均一な切片が自動的に作製できます。
- 試料固定の簡略化 試料の固定も簡単で、熟練を要しません。
- 液中切断を用いた連続切片の回収 液中で切断するため標本が空气中にさらされる時間も短縮され、連続切片として順序よく回収できます。

詳しい資料・デモンストレーションは下記へご請求ください。

D.S.K. 堂阪イーエム

本社・工場/〒601-11 京都市左京区静海市原町1032の3 電話(075)741-3069

コンパクト! 新レーザー血流計ALF21



販売定価
¥1,000,000 (本体)

末梢循環の検査と微小循環のモニタリングがより手軽に……

幅広い臨床応用が可能に!!

レーザー血流計ALF21は汎用・普及型組織血流計として、臨床現場から歯科・薬科領域における応用まで、生体のほとんどあらゆる組織のマイクロサーキュレーションを連続測定・モニタリングできる最新の血流計です。

特長

- 軽量・小型で持ち運びが便利なので、外来・病棟等あらゆる臨床現場で使用できます。
 - 従来の半導体レーザーの欠点を改良し、操作が非常に簡単で、即座に血流測定ができます。
- ※研究用モデルとして上位機種ALF2100もございます。

カタログ・資料請求及びデモ、試用の御要望は弊社ME事業部まで 医療用具承認番号 1B第543号



製造販売元

株式会社アドバンス ME事業部

〒103 東京都中央区日本橋小舟町5-7
TEL 03(3664)6271 FAX 03(3667)9523

先進技術を医療に

Human-touch Technology

新 型登場



創造環境の充実・高機能データ処理

「何を観るか」「如何にして知るか」、創造力を駆使して仕事をしている人のために、その創造環境の整備、充実を実現するために作られた、多チャンネル高速データ処理装置—シグナルプロセッサ。

- 本機は生体信号処理に必要なさまざまな機能をコンパクトなサイズにまとめた、コストパフォーマンスの良い生体信号処理装置です。
- 高性能な生体アンプや、電気・音・光などの刺激装置と、高精度の表示装置・記録器を有し、高性能なCPUの制御のもとに入力から出力まで高度な、処理機能を提供いたします。
- ソフトウェアは、7T18シリーズのソフト資産を継承し、医療の場において、研究分野から臨床分野までの幅広い、使用目的に対応できます。

New 多チャンネル高速データ処理装置
シグナルプロセッサ

DP1100

医療用具承認番号02B第0190号



日本電気三栄

医用電子機器販売本部
東京都文京区本郷3丁目42番6号
(NKDビル) 千113 ☎ 03(5684)1413

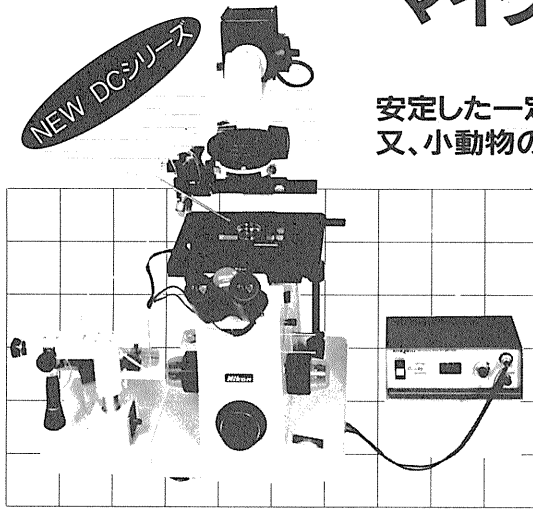
KITAZATO®

顕微鏡用透明加温板

マイクロウォーム・プレート®

Microwarm Plate PAT. P

安定した一定温度のもとでの細胞培養や、細胞電位。
又、小動物の生体電流の精密測定に。



- 安定した一定温度の透明加温板
透明なガラス板の面全体が発熱体で、フィードバック方式によりガラス面の温度を精密にコントロール(±0.2℃)。又、定温状態における歪が改善されました。
- 細胞培養時や微生物の観察・研究に
- 細胞電位や小動物の生体電流の精密測定が可能
プレート、コントローラーともに特殊なシールド加工を行い、電気的なノイズを徹底的にカットしました。それにより、単一チャンネル電流を精度よく測定記録できます。(ノイズレベル: 1kHzフィルター使用時で0.3pA, 2kHzフィルター使用時で0.6pA)
※特殊仕様のご要望はご相談下さい。

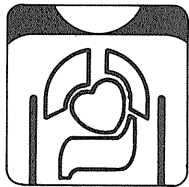
NEW DCシリーズ	加温面の大きさ	ガラスの厚さ
DC-MP10DM	84×106mm	1.0mm
DC-MP100DM	170×255mm	1.0mm
DC-MP300DM	170×255mm	3.6mm

製造元: 株式会社 北里サプライ
 営業部 ●静岡県富士宮市万野原新田3518-7 千418
 TEL.0544(27)8831 FAX.0544(27)6060
 東京出張所 ●東京都北区赤羽2-70-4-201 千115
 TEL.03(3903)7410

TOTAL PLANNING

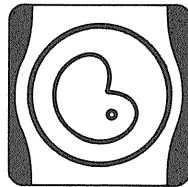
トータル・プランニング

- 医学専門誌・抄録・プログラム・名簿等の広告
取扱い及び企画作製
- 広告・パンフレット等の企画・制作
- 医学会情報・各種医学関連統計データのご提供
- 学術研究論文の投稿代行

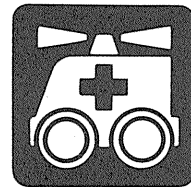


■内科

- 皮膚科・泌尿器科
- 眼科・耳鼻咽喉科・歯科
- 看護・助産婦
- 基礎・検査・衛生

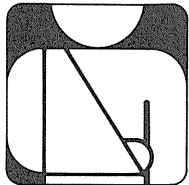


■産婦人科



■総合

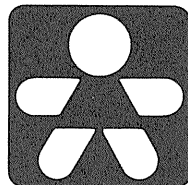
- 化・理・工学
- 医科器械・設備・病院



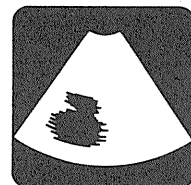
■外科・整形外科



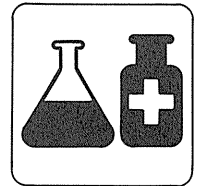
■脳・精神・神経科



■小児科



■放射線・画像診断・レーザー



- 薬学
- 保健・体育・産業衛生
- 栄養・食品学

Medical Advertising Agency

日本医学広告社

〒101 東京都千代田区神田駿河台2-9
 TEL.03-3292-6961(代表) FAX.03-3295-2134

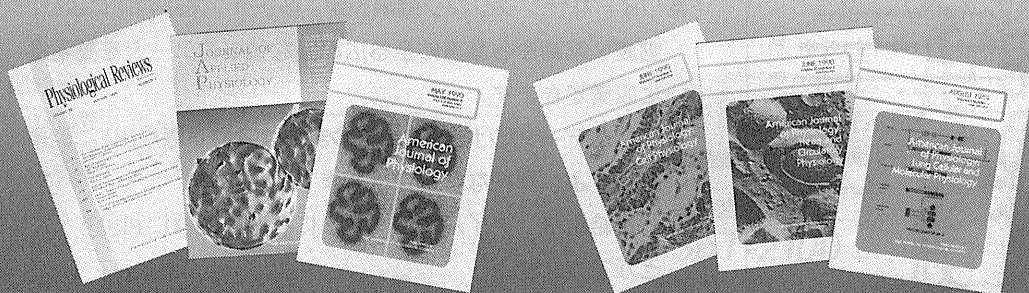


AMERICAN PHYSIOLOGICAL SOCIETY

アメリカ生理学会学術誌

アメリカ生理学会は、一世紀の歴史を誇る世界的に権威ある学会であります。本学会は生理学の研究の進歩、発展の中で常に研究業績の最先端を追求し、新分野を取り込んだ数多くの優れた学術雑誌を発行しています。

なお、学術雑誌の購読が図書館や研究所の図書室の利用の時代から個人の時代へと移行していることを考慮して、新たに個人価格が設定されました。



	個人	法人
American Journal of Physiology (Consolidated)	月刊 ¥ 237,600	¥ 268,400
AJP:Lung Cellular and Molecular Physiology	隔月刊 ¥ 23,100	¥ 26,400
AJP:Heart and Circulatory Physiology	月刊 ¥ 63,800	¥ 71,500
AJP:Renal, Fluid and Electrolyte Physiology	月刊 ¥ 54,300	¥ 60,500
AJP:Endocrinology and Metabolism	月刊 ¥ 44,000	¥ 49,500
AJP:Gastrointestinal and Liver Physiology	月刊 ¥ 45,100	¥ 50,600
AJP:Cell Physiology	月刊 ¥ 45,100	¥ 50,600
AJP:Regulatory, Integrative and Comparative Physiology	月刊 ¥ 49,900	¥ 56,100
Journal of Applied Physiology	月刊 ¥ 112,200	¥ 125,400
Physiological Reviews	季刊 ¥ 41,800	¥ 47,300
Journal of Neurophysiology	月刊 ¥ 79,200	¥ 89,100
* Advances in Physiology Education	年2回 ¥ 3,800	¥ 4,400
* The Physiologist	隔月刊 ¥ 7,700	¥ 8,800

* 印以外は航空貨物(エアカーゴ)で送られます

■表示「円」価格は、消費税抜き価格です。 ■詳細は、本社「マーケティング部」まで問い合わせ下さい。

<日本総代理店>

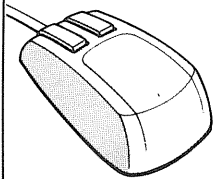
ユサコ株式会社

本社：〒105 東京都港区新橋1丁目13番12号堤ビル ☎(03)3502-6473

営業所：大阪 ☎(06)344-6624 名古屋 ☎(052)931-2601

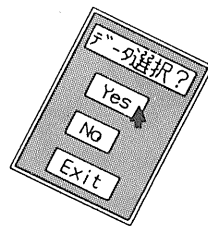
筑波 ☎(0298)23-1773

-USACO®-

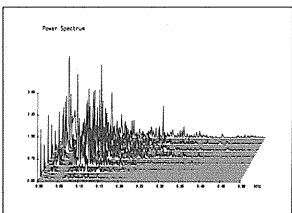
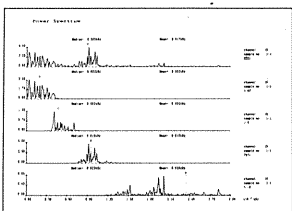
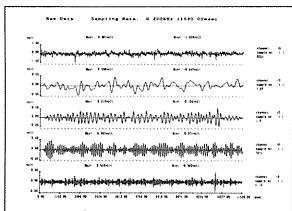


多用途生体情報解析プログラム

BIMUTAS



多彩な機能で広範囲な領域に対応。



- 生体信号でA/D変換から選択・編集・解析・保存までを一連の作業として、パソコン上で高速かつ容易に行えます。
- ワイドなサンプリング間隔設定、多チャンネル対応により、脳波・筋電から音声に至る広範囲な領域のデータを高精度に収集できます。
- 必要なデータだけをマニュアルまたは自動で取り出し、能率良く、より詳細な解析が行えます。
- 解析結果をファイル化し、さらに高次な処理に利用することができます。
- 高度な解析も分かりやすい対話式の画面と、マウスによるプログラムの選択だけで効率よく処理できます。
- 解析操作手順を登録するカタログ処理(自動実行)で、自由にカスタムメイド手法が可能となり、効率がアップします。
- 編集データの出力は、プロッタやレーザープリンタ等により高品位に得られます。

本プログラムの機能一覧

- | | | | |
|-----------|---------------|---------------------|----------------|
| ● 数値読み取り | ● 2次元プロット | ● 全波整流 | ● 振幅分布 |
| ● ズーム | ● ローパスフィルタ | ● 半波整流 | ● 自己相関 |
| ● マーキング | ● ハイパスフィルタ | ● 周波数パワースペクトル | ● 相互相関(FFT) |
| ● 脚注入力 | ● ハンドストップフィルタ | ● 周波数dB表示 | ● 累積積分 |
| ● コメント入力 | ● ハンドストップフィルタ | ● 周波数バンドスペクトル(Δf変更) | ● 積分(リセットレベル) |
| ● チャンネル分割 | ● 正規化 | ● 窓関数(ハミング) | ● 積分(リセットタイム) |
| ● チャンネル併合 | ● キリブレーション | ● 窓関数(ハニング) | ● 移動平均 |
| ● 多次データ作成 | ● オフセット電圧指定 | ● 窓関数(テーパ) | ● RMS |
| ● 環境設定 | ● データマニュアル選択 | ● 窓関数(矩形) | ● 包絡線 |
| ● 並列表示 | ● データトリガ選択 | ● Median Power F | ● XYプロッタ出力 |
| ● 重ね書き表示 | ● データ自動選択 | ● 同期加算 | ● レーザプリンタ出力 |
| ● 3次元表示 | ● 数値リスト出力 | | ● カタログ処理(自動実行) |

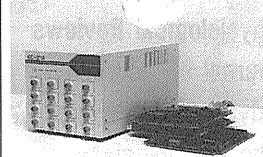
■ BIMUTASは、キッセイコムテック株式会社の商標です。

詳しい資料は、今すぐ下記へご請求下さい。

(0263) 25-9081(代) キッセイ薬品工業株式会社 関連事業室

広帯域アナログ入力装置 KC-210

16ch完全同時サンプリング
(サンプリングレート最大400KHz)



データ収集用プログラムから、必要なハードウェアまで、オール・イン・ワン

NEC PC-9801シリーズ対応(機種限定あり)

発売元



キッセイ薬品工業株式会社
〒399 長野県松本市芳野19番48号

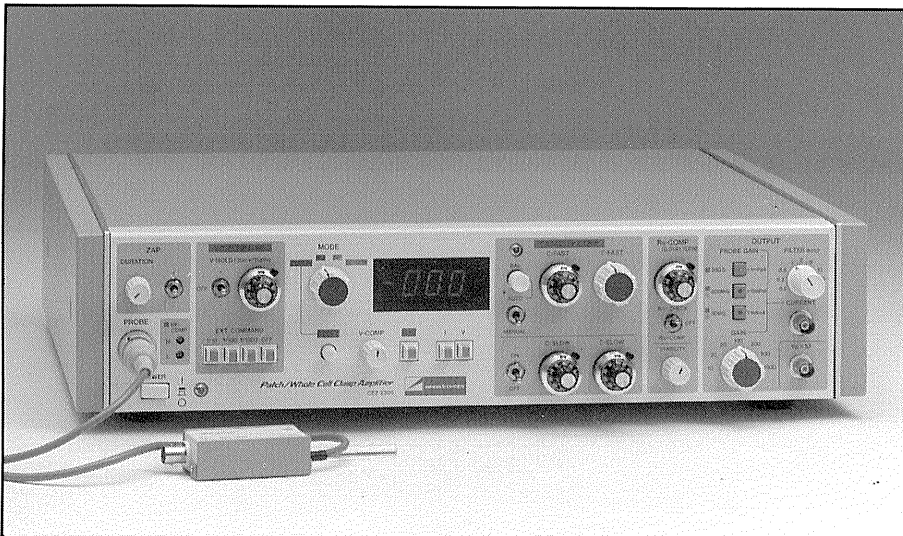
開発元



キッセイコムテック株式会社
〒390 長野県松本市双葉10番22号

実験研究用機器の

トータル供給をめざして！

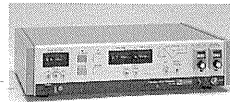


細胞膜の研究用

パッチ/ホールセルクランプ用増幅器 CEZ-2300

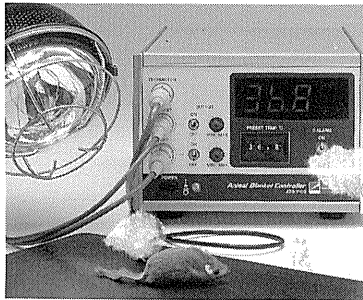
パッチクランプ法に加え、ホールセルクランプ法（小型細胞全体の膜電位固定法）までプローブの交換無しで測定可能、セルアタッチレコーディングからホールセルレコーディングまで効率よく実験が行えます。

- ・同一プローブ内で50GΩ/500MΩの電流検出抵抗切り換え可能
- ・電極容量の補正がワンタッチ
- ・4次ベッセルフィルタを内蔵、より低雑音に



三角波発生装置 SET-2100

高精度のパルス発生器と、デジタル回路の組合せにより、長時間の三角波を精度よく発生します。細胞内電位測定装置を使用して、細胞膜の順応作用、IVカードなどの測定を行う場合の必需品です。

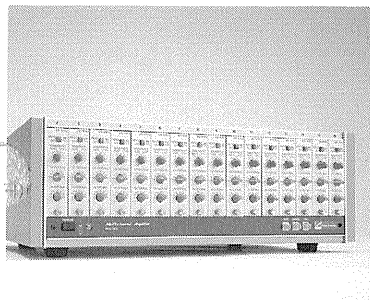


麻酔下の小動物用

体温制御装置 ATB-1100

赤外線ランプとヒーター入りブランケットの2方向からの加温で精度の高い温度制御ができます。

しかも、小動物はブランケットにくるまれていませんので、状態の確認もしやすく、電極等の取り扱いも容易です。



生体信号一般用

多チャンネル増幅器 MEG-6100

生体信号用高感度増幅器を用途に合わせて最大16チャンネルまでコンパクトに構成できます。4・8・16チャンネルの各入力箱を用意。

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(5996)8028 宣伝課

詳しい資料を用意しております。
当社までお気軽にご請求下さい。

J. Physiol. Soc. Japan Vol. 53, No. 1 (1991)

Original

IZUMIDA, Y.: Roles of plasma proteins and surface negative charge of erythrocytes in erythrocyte aggregation..... 1

編集
兼
行人

酒井敏夫
東京都文京区本郷三丁目一〇
 布地七九四番
 日本生理学会

印刷者

三浦印刷株式会社
山形県鶴岡市山王町一四二四
 九九七

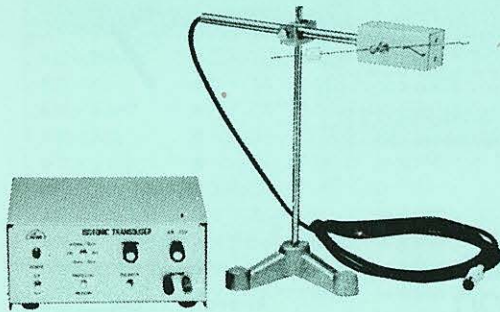
発行所

日本生理学会
東京都文京区本郷三丁目一〇
 布地七九四番
 四番

振替
A
替X
電話
〇〇
三三
三三
五三八
一八八
一四一
八四一
一四一
二六
三三
〇
千九
四
番
九
四

KN-259 生体用変位計 PAT.P

トランスジューサーと増幅器からなる、微小変位測定装置です。これまでキモグラフィオン・ヘーベルを用いて行なっていた測定を電氣的測定におきかえることにより、取扱いの簡便さ、再現性および信頼性を高めました。



- 測定範囲 0～50mm (±25mm)
(中心軸より100mmの時)
- 分解能 無限大
- 最大摩擦トルク 50mg・cm以下
- 直線性 ±3%
- 出力インピーダンス 5KΩ以下
- 校正器 10mm
極性切換スイッチ付

理化学器械・基礎医学器械・実験動物飼育機械器具・薬学研究器械・医科器械一般

株式会社 夏目製作所

〒113 東京都文京区湯島2丁目18番6号
 電話 03 (3813) 3251 (代表)
 FAX 03 (3815) 2002