

日本

生理学

雑誌

JOURNAL OF THE PHYSIOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

40巻 1号 1978

原 著

坂田茂樹：ウシ血漿アルブミンの分子レベルでの老化Ⅰ．N-B 転移における
S-S 結合の分子表面への露出…………… 1

短 報

KANEKO, M. : The effect of previous states of shortening on the load-velocity
relationship in human muscle…………… 12

第29回日本生理学会中国・四国地方会…………… 15

会 報 昭和52年度科学研究費補助金の審査、配分について (佐藤昌康)…………… 27
第27回国際生理科学連合大会およびその他の事業報告 (勝木保次)…………… 28

お知らせ 第9回 (昭和53年度) 三菱財団自然科学研究費助成応募要項…………… 29

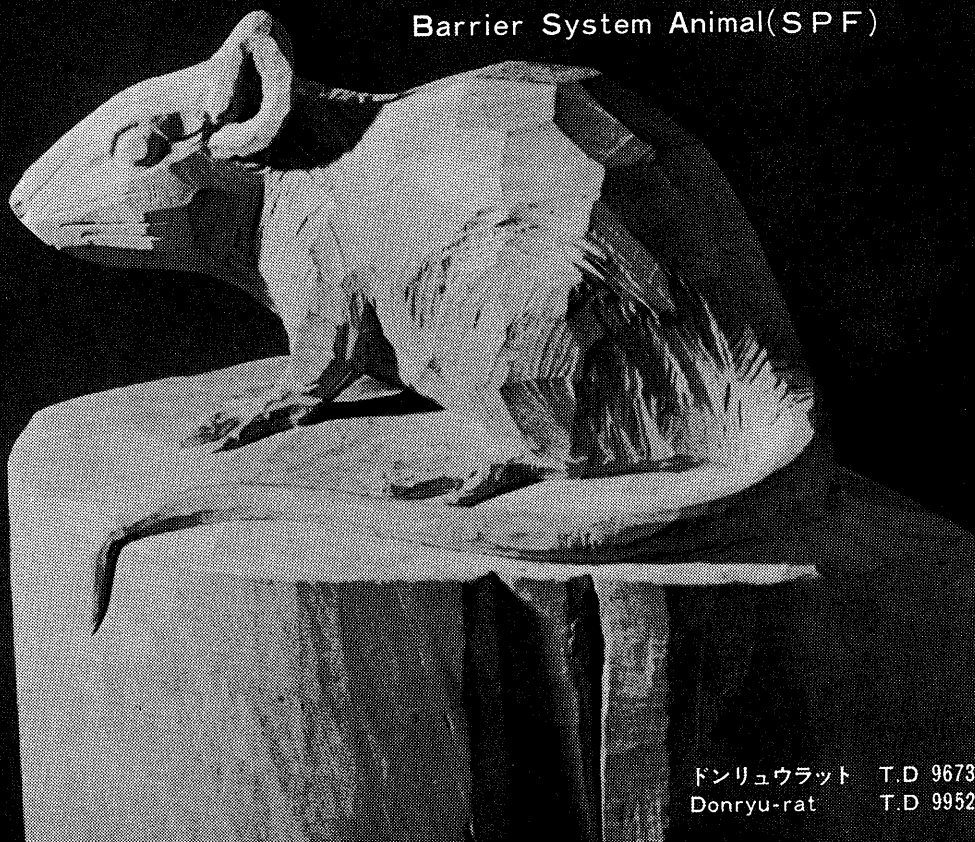
日本生理誌
J. Physiol. Soc. Japan

日本生理学会

新発売

NRC:Donryu[®]

Barrier System Animal(SPF)



ドンリュウラット T.D 967394
Donryu-rat T.D 995227

Donryu-rat を開発した日本最大のラット専門ブリーダー、
日本ラットは BS(Barrier System)Donryu[®] を発売いたしました。

特長

- 吉田肉腫に対して高感受性を有す。
- 性周期4日で安定。Skin Graft 高率。
- 温順、発育良好、飼育容易。
- 毒性、栄養、薬理、内分泌その他、
広く用いられます。

〈生産品目〉

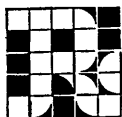
Barrier System Animal(SPF)

Conventional Animals

NRC:Donryu[®]

Donryu[®] Wistar

Buffalo S H R



日本ラット株式会社 〒336埼玉県浦和市根岸608-3
TEL (0488) 61-6850・6401

ウシ血漿アルブミンの分子レベルでの老化 I 612.12-085:577.7
N-B 転移における S-S 結合の分子表面への露出

坂 田 茂 樹

(岐阜大学医学部第二生理学教室・現所属 岐阜大学医学部第三内科教室)

Molecular ageing in bovine plasma albumin I. Exposure of disulfide bonds in the N-B transition Shigeki SAKATA* (*Department of Physiology, School of Medicine, Gifu University*)

An accessibility of the disulfide bonds of defatted SH-blocked bovine plasma albumin (BPA) to reduction by dithiothreitol was studied at 4°C. Upon reduction SH-blocked BPA acquired one SH per mole in the pH range from 4.0 to 6.0. Above pH 6.5 (the pH range of the N-B transition) an increasing number of the disulfide bonds became susceptible to reduction by dithiothreitol. Chemicals, such as KCl, fatty acid, sodium dodecylsulfate which suppress the structural fluctuation of BPA in the alkaline region decreased the accessibility of the disulfide bonds to reduction. The conversion of buried disulfide bonds into exposed ones is interpreted as being due to conformational changes in the N-B transition (pH 7.0~9.0).

* Present address : 3rd Department of Medicine, School of Medicine Gifu University.
〔J. Physiol. Soc. Japan (1978) 40, 1-11〕

key words : reduction, intramolecular SH, S-S exchange reaction.

I. 結 言

ウシ血漿アルブミン (Bovine Plasma Albumin 以下 BPA) は 17 個の S-S 結合と 0.7 個の SH 基をもち、Brown ら⁶⁾⁸⁾⁹⁾により three domain-nine-subdomain structure が提示されている。BPA は酸性側 (pH 4.5~3.8) で異性化反応をする事が電気泳動の実験から見出され Aoki & Foster¹⁾²⁾により N-F 構造転移と名付けられた。この異性化反応に伴い BPA 分子の α -helix 含量の変化⁴⁰⁾などの 2 次構造の変化や 3 次構造の変化⁴³⁾⁴⁵⁾などが報告されている。中性からアルカリ領域にかけ (pH 7~9) では $N \rightleftharpoons B + nH^+$ (N : native form, B : basic form) でのべられる構造転移をおこすことが見出され、Wallevik⁵³⁾により N-B 構造転移と名付けられた。この構造転移は N-F 転移に比べ pH 依存性がなだらかで α -helix 含量の変化も N-F 転移に比べ少ない事が知られている。また N-B 構造転移領域で、他の蛋白質では認められない分子内 SH, S-S 交換反応による異性化反応 (N-A

isomerization)³⁴⁾³⁹⁾⁴⁰⁾⁴⁹⁾が知られている。この反応は $N \rightleftharpoons A + mH^+$ (N : native form, A : aged form) であらわされ、この反応が血漿アルブミンの分子レベルでの老化現象 (Molecular ageing) に関与していると報告されている³⁴⁾³⁹⁾⁴⁰⁾⁴⁹⁾。分子内 SH, S-S 交換反応において、分子内に埋もれた S-S 結合の分子表面への露出が必要であると指摘されたが (Sogami ら³⁹⁾)、この S-S 結合の分子表面への露出についての系統的な研究は Katchalski²⁸⁾らの thioglycolic acid による報告以外には認められない。Katchalski らは、S-S 結合の露出に大きな影響をもち、BPA 分子のゆらぎを抑制する脂肪酸²⁴⁾³¹⁾などの結合した未処理 BPA を使用し測定を行っている。筆者は、これら結合不純物をとり除いた BPA と、ゆらぎを抑制する KCl, 脂肪酸, Na dodecylsulfate (SDS) を加えた BPA の dithiothreitol (DTT)¹³⁾による S-S 結合の還元性を用い、埋もれた S-S 結合の分子表面への露出について研究した。

II. 実験方法

結晶 BPA (Armour 社 Lot H72012, F71601)

を, Chen ら¹¹⁾, Sogami ら⁴⁰⁾の charcoal 処理法により脱脂し, ageing をさけるため 0.03 M 以上の KCl を加え pH 5.3~5.5, 4°C に保存した. またバクテリアの繁殖を防ぐため, 脱脂後 Triton X-100 の入っていない millipore 膜 ($\phi=0.45\mu$) を用い加圧ろ過を行った. BPA の脱イオンは, 20倍量の脱イオン水で 3 回以上, 2 日間 4°C で透析を行った後, Dinitzis カラム¹⁴⁾ を用いて行った. SH 基のブロックは, iodoacetamide (半井化学 Lot V2H 9576) を BPA 1 分子当り 10 分子の比に加え, pH 7.50 (0.20 M KCl) 4°C で 7 日間行った. ブロックの程度は, 反応液から Bio-Gel P 4 (50~100 mesh) を用い余分の iodoacetamide をとり除き, Ellman の方法¹⁶⁾で SH 基を分析した. 7 日間の反応で遊離 SH 基は完全にブロックされていた. SH 基をブロックした BPA は, 上述の透析を行った後, Dinitzis カラムを用い脱イオンを行った. このようにして SH 基をブロックし脱イオンした BPA の S-S 結合の還元は, S-S 結合 1 個当り 10 分子の DTT を加え, 0.10 M KOH, 0.10 M HCl を用い pH を合わせ 4°C で行った. 還元後 DTT を Bio-Gel p4 (50~100 mesh) を用いとり除き, BPA の SH 基の定量を行った. BPA の濃度は日立 139 分光光度計を用い, $E_{1\text{cm}}^{1\%}=6.67$ (279 nm) で決定した. pH は日立-堀場のモデル F-7SS を用い, GK 2026C (Radiometer 社) の複合電極を用い測定した. 脱イオン水 (deionized distilled water) は重金属イオンの混入, mixed bed からの有機物混入のないようにした特殊な方法で作った⁴¹⁾⁴²⁾. 透析用のセロファン膜 (Visking 社) は, 50% 飽和 NaHCO_3 で加熱処理した後使用した⁴⁰⁾. SH 基の定量は Ellman の方法¹⁶⁾を用い, Tris-HCl 緩衝液 (pH 8.00, $\mu=0.10$) 中で行った. その際 BPA の分子量は 66,000 とし, 3-carboxylate-4-nitrothiophenolate の分子吸光係数 (412 nm) を 13,600 とし計算した¹⁶⁾. 412 nm 吸光度の経時的測定は日立 EpS-3T 分光光度計を用い行った. 5, 5'-dithio bis (2-nitro benzoic acid) (DTNB) は pH 7 以上で不安定な

め²⁶⁾, pH 7.0, $\mu=0.10$ のリン酸緩衝液にとかし, 4°C に保存し 10 日以内に使用した. S-S 結合を還元した BPA の濃度分析 (279 nm 吸光度) および Ellman 法による SH 基分析の際の光散乱の補正は Leach & Scheraga の方法²⁹⁾を用いた. BPA の S-S 結合の DTT による還元とトリプトファン (TRP) 蛍光の経時的変化の同時測定の際 (25°C) には, Iyer & Klee の方法²⁵⁾を用い 310 nm 吸光度を日立 EpS-3T を用いて測定した. TRP 蛍光は日立 MPF-3 型蛍光分光光度計 (radio mode) を用い, 300 nm⁵⁴⁾ (バンド巾; 5~6 nm) で励起し, 蛍光はバンド巾 6 nm で測定した. TRP 蛍光の測定の際, 励起光の散乱の影響を少なくするため水平方向に偏光した光で励起した⁴³⁾. TRP 蛍光偏光解消測定は Chen の方法¹²⁾⁴³⁾により行った.

III. 結果および考察

1. BPA の SH 基定量について

Janatova ら²⁶⁾により DTNB による BPA の SH 基の測定で, SH 基の数は BPA 濃度に依存すると報告されている. このため Janatova ら²⁶⁾, Hagenmaier & Foster¹⁹⁾は SH 基の分析を BPA 0.3% 以上の濃度で行っている. DTNB を BPA 1 分子当り 10~40 分子に加え, Tris-HCl 緩衝液 (pH 8.0, $\mu=0.10$) 中で反応させ 45 分後に 412 nm の吸収で SH 基の数を測定し, その蛋白濃度依存性を調べた. Fig. 1 に BPA の濃度と SH 基の数との関係を示す. BPA (Lot F71601) の SH 基の数は 0.678 ± 0.11 / 分子で, Janatova らの結果に反して, 蛋白濃度依存性は認められなかった. DTNB は pH 8.0 で不安定である事が知られており²⁶⁾, Janatova らの報告においても, また筆者らの実験中においても 412 nm の経時的減少を認めたので, 加える DTNB の BPA に対する比をかえ, SH 基定量に対する影響を経時的に調べた. 412 nm の吸収は時間と共に直線的に減少し, 加えた DTNB の量に比例して減少が著しいが, 時間 0 に外挿した SH 基の数は DTNB 濃度に無関係で一定であった (Fig. 2). この外挿法は

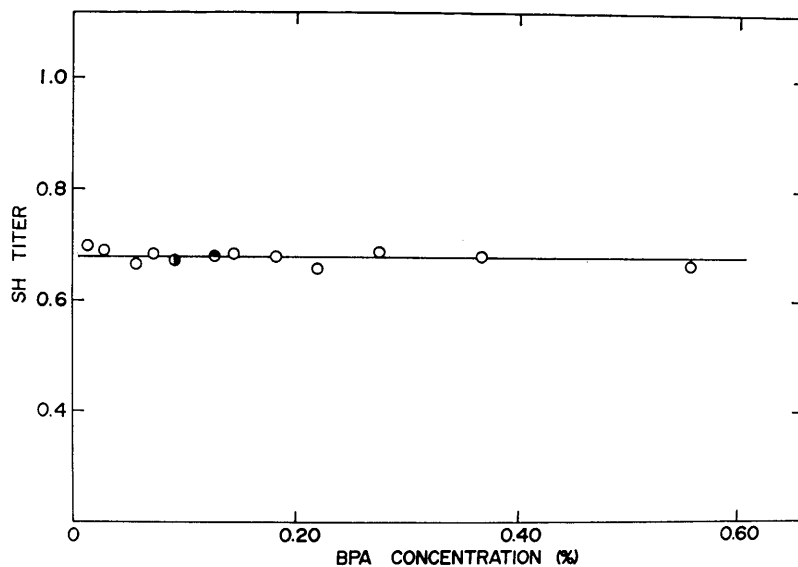


Fig. 1. SH titer of BPA as a function of protein concentration. (○) DTNB/BPA=10 ; (●) DTNB/BPA=25 ; (◐) DTNB/BPA=40. After reaction with DTNB for 45 minutes (10~40 fold), A_{412} was measured and SH titers in various protein concentrations were determined.

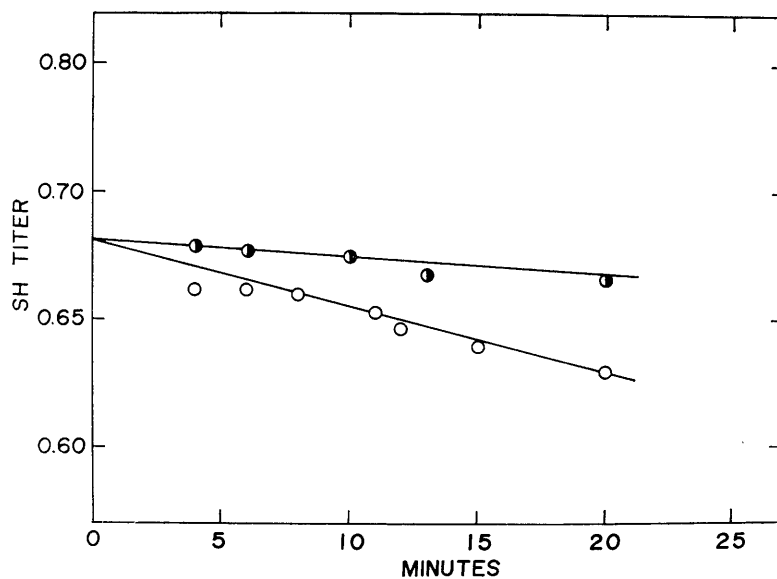


Fig. 2. SH titer of two DTNB-BPA solutions of differing molar ratio of DTNB to BPA as a function of time. (●) DTNB/BPA=50 ; (○) DTNB/BPA=140.

Telegdi & Staub⁵²⁾により amylase の DTNB による SH 基の定量に用いられている。筆者はこの方法を SH 基の定量において用いた。Janatova らの pH 7.0 での測定は、この pH で

は SH 基の解離が不十分なため、また BPA はゆらぎの少ない N 型の状態にあり、約 10 Å の分子内裂け目にある SH 基²³⁾との反応に時間がかかるなどの複雑な要因が介入し、SH 基数の

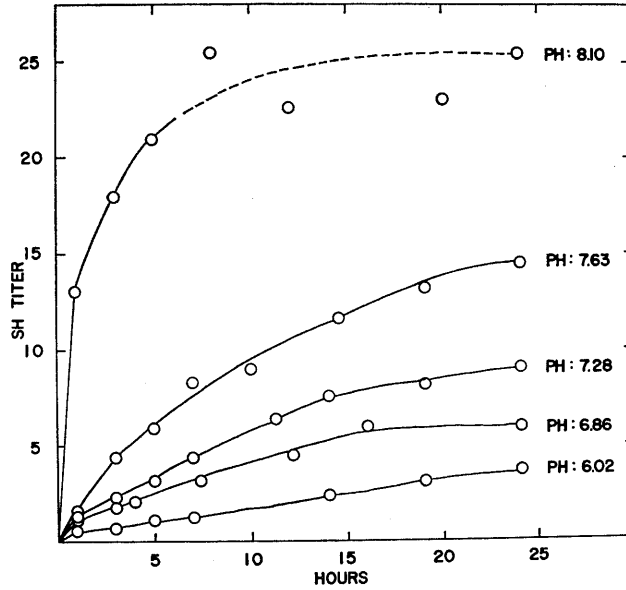


Fig. 3. Time course of reduction of defatted deionized SH-blocked BPA at $4 \pm 1^\circ\text{C}$. Data in dotted line region (-----) were corrected for the light scattering using $\frac{1}{\lambda 3.28}$ (Leach's method²⁹).

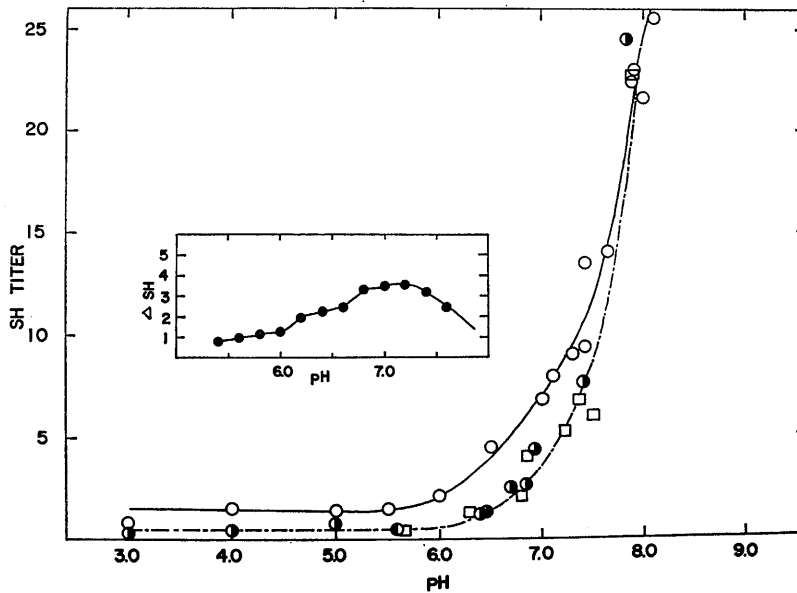


Fig. 4. pH-Profile of reducibility of defatted SH-blocked BPA at $4 \pm 1^\circ\text{C}$ in 24 hours. (○) salt-free solution; (●) 0.10 M KCl; (□) 0.20 M KCl; (●) $\Delta\text{SH}=4$ [no. of reduced SH groups in salt-free solution-those in salt-solutions (0.10 M KCl and/or 0.20 M KCl)].

BPA 濃度依存性を生み出したものと考えられる。

2. BPA の S-S 結合の還元性

Charcoal defatted SH-blocked deionized BPA の S-S 結合当り10分子の DTT を加え、4°C で還元を行った。Ellman 法で求めた還元された BPA の SH 基の数とその時間経過を Fig. 3 に示す。pH 8.10 でのデータで一部点線になっている部分は、還元された BPA を Bio-Gel p4 カラムから溶出の際白濁したため、279 nm の吸光度による BPA 濃度分析において Leach & Scheraga の方法²⁹⁾により光散乱の補正を行ったものである。この白濁は還元された BPA が何等かの機序で aggregation をおこしたためと考えられる。光散乱は $\frac{1}{\lambda^{3.28}}$ に比例した。還元される S-S 結合の数は時間と共に増加し、24時間では平衡に達しなかったが、24時間後の還元された SH 基の数を pH に対して示した (Fig. 4)。pH 6 近辺から S-S 結合の急激な還元性の増大が認められた。BPA は酸性側において N-F 転移 (pH 4.5~3.8)、酸膨潤 (pH 3.6 2.8) を示し、この転移における固有粘度⁵⁰⁾、比旋光度 ($[\alpha]_{233}$, $[\alpha]_{222}$ など)⁴⁰⁾、旋光分散、分子楕円率 ($[\theta]_{208}$, $[\theta]_{222}$ など)³⁵⁾⁴⁷⁾、蛍光強度²⁰⁾⁴⁵⁾、蛍光寿命の変化⁴³⁾が観察される。この構造転移はさらに、N-F₁, F₁-F₂ の2段階にわけられ、N-F₁ 転移は ionic interface, F₁-F₂ 転移は hydrophobic interface の開裂と説明されている¹⁷⁾⁴⁴⁾。またアルカリ側においては、N-B 転移 (pH 7.0~9.0) を示し、 $[\alpha]_{300}$, $[\alpha]_{313}$ ²²⁾³⁰⁾, $[\alpha]_{233}$ ⁵⁾, $[\theta]_{208}$, $[\theta]_{222}$ ⁵⁵⁾, NMR による Cys³⁴⁾ の SH 基にラベルした 19F の化学シフト⁵⁶⁾、TRP 側鎖の蛍光強度²⁰⁾⁴⁸⁾などの変化が観測されている。N-F 転移、酸膨潤の構造転移のみられる酸性側では、S-S 結合の還元性の変化は Katchalski らの報告に反し認められなかった。この相違は Katchalski らは未処理 BPA を用い、筆者は charcoal defatted deionized BPA を用いた可能性もある。しかしながら、筆者が行った未処理の BPA の還元の実験では charcoal defatted

SH-blocked deionized BPA と質的に大きな差を認めなかったため、この差は還元剤、すなわち、DTT と thioglycolic acid の差によるものであろう。ちなみに γ -globulin の S-S 結合の酸性側における還元反応において、thioglycolic acid (Katchalski ら²⁸⁾) と β -mercaptoethylamine HCl³³⁾ の間に反応性の差が認められている。アルカリ側では、pH 6 近辺より S-S 結合の還元性の増加が認められ、charcoal defatted SH-blocked deionized BPA と未処理 BPA の間には大きな差は認められなかった。(S-S 結合の還元性の pH プロフィールはこの二つの BPA 間で多少の差は認められたが³⁷⁾、酸性側で還元性の増大が認められなかった事、アルカリ側で pH 6 近辺から急激に還元性の増大が認められた点では同じ傾向を示した。) アルカリ側において DTT により還元された S-S 結合の数 (Fig. 4) は、Katchalski らの結果に比しかなり多い。この差は、Katchalski らが還元剤として thioglycolic acid を用いているため、アルカリ側の還元の際イオン強度が増加し、BPA 分子のゆらぎを低下させ、還元される S-S 結合数に変化を生じること起因するものであろう。

3. ゆらぎを抑制するイオン強度、陰イオン表面活性剤などの影響

アルカリ側における D-H 交換において、イオン強度の増加が BPA のゆらぎを抑制する事が Benson & Hallaway⁷⁾により報告されている。またアルカリ側における分子内 SH, S-S 交換反応がイオン強度の増加により抑制されることも Sogami ら³⁹⁾、Nikkel & Foster³⁴⁾、Stroupe & Foster⁴⁹⁾、坂田ら³⁸⁾により報告されている。Defatted SH-blocked deionized BPA のゆらぎの抑制とそれに伴った S-S 結合の還元性の変化を 0.10 M および 0.20 M KCl 下で比較検討を行った。Fig. 4 の点線が 0.10 M および 0.20 M KCl 存在下での還元性のプロフィールを示している。pH 7.9 より酸性側で S-S 結合の還元性の減少が認められ、pH 7.2 近辺で最高 2 個の S-S 結合の masking が認められた。ま

た 0.10 M と 0.20 M KCl の間には S-S 結合の還元性に差を認めず, defatted SH-blocked deionized BPA と同様に pH 6 近辺からの還元性の増加傾向を認めた. pH 7.9 で還元性に対するイオン強度の影響を認めなかったが, BPA の SH, S-S 交換反応の実験から pH 8.0 においても, 0.10 M KCl はこの反応を完全に抑制する³⁷⁾³⁹⁾事から, どのような機序でこういった事がおこりうるのか興味深い. BPA の分子内 SH, S-S 交換反応は, Cys³⁴ の SH 基を触媒にし約 3 個の domain⁶⁾⁸⁾⁹⁾のなかで Cys³⁴ に近い domain の S-S 結合の間で行なわれる. したがってイオン強度の影響は Cys³⁴ のゆらぎと S-S 結合近傍の構造のゆらぎのいずれかを抑制すればよい. S-S 結合の反応性に対するイオン強度の効果より考えると, 分子内 SH, S-S 交換反応に対するイオン強度増加による抑制は Cys³⁴ 近傍への効果であろう.

BPA, HSA 分子には脂肪酸に対する 3 種類の結合部位 (binding site) が報告されている¹⁸⁾. 最も強い binding site は 2 個 ($K=10^7 \sim 10^8$)¹⁸⁾³⁶⁾存在している. さらに結合脂肪酸により D-H 交換反応が抑制される事が Hvidt &

Wallevik²⁴⁾により報告されている. Na dodecylsulfate (SDS) もウマ血漿アルブミンと AD₁₂ (detergent/Albumin=12), AD₅₀, AD₁₀₀ なる co-operative な結合をする事が Aoki³⁾⁴⁾により報告された. ついで Halfman & Nishida²¹⁾, Sogami ら⁴⁶⁾により AD₀₋₁₂ について詳細に研究され, AD₀₋₄ と AD₅₋₁₂ の 2 種類の binding site が報告された. SDS も脂肪酸と同様に BPA の H-D 交換反応を KCl の抑制効果に比べ非常に強く抑制する事が Benson & Hallaway⁷⁾, Hvidt & Wallevik²⁴⁾により見出された. Lovrien & Linn³¹⁾は SDS により N-B 転移で B 型のゆらぎの増加が抑制される事を観測した. Markus³²⁾らも 6 M 尿素中における HSA の unfolding が AD₁₀ で抑制される事を報告した. 上述の抑制について Markus ら³²⁾は陰イオン表面活性剤の疎水性部位 (疎水結合) と負の荷電 (イオン結合) が分子表面に cross-linking し, ゆらぎを抑制し安定化すると説明している. Stearate を AF2 (fatty acid/albumin=2) の比率に defatted SH-blocked deionized BPA に加えると, やはりかなりの S-S 結合の還元性の抑制が認められた³⁷⁾. また SDS を上

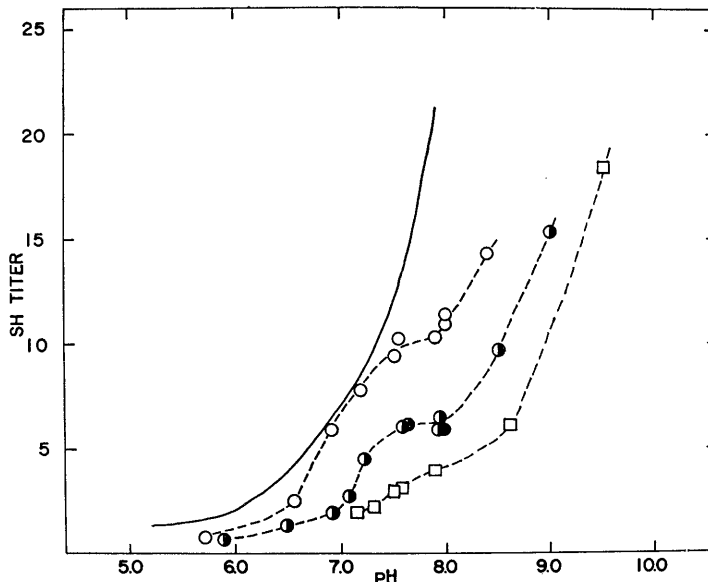


Fig. 5. Effect of SDS on reducibility of defatted SH-blocked BPA. (—) defatted SH-blocked deionized BPA; (○) AD_{4.4}; (●) AD₁₀; (□) AD₅₀.

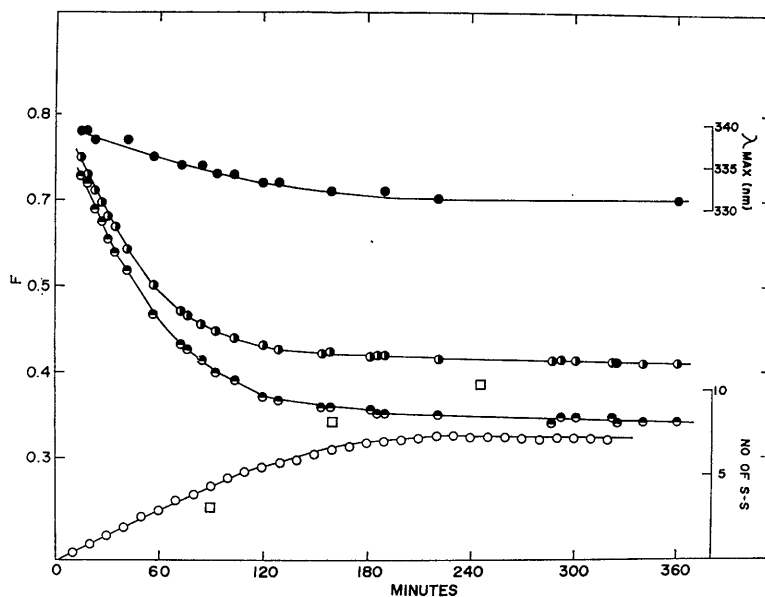


Fig. 6-A. Effects of reduction of disulfide bonds of defatted SH-blocked BPA on tryptophyl fluorescence (the excitation wavelength : 300 nm, pH 7.5, $\mu = 0.008$, 25°C) (○) no. of reduced disulfide bonds determined by Iyer's method²⁵⁾; (□) no. of reduced disulfide bonds obtained by the present author's method; (●) wavelength of fluorescence maximum, λ_{max} ; (○) fluorescence intensity at λ_{max} ; (●) fluorescence intensity at 345 nm.

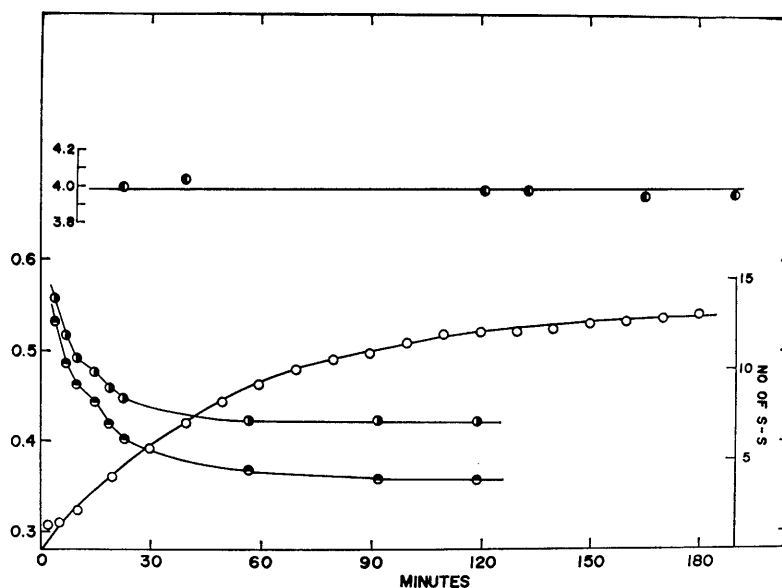


Fig. 6-B. Effect of reduction of disulfide bonds of defatted SH-blocked BPA on tryptophyl fluorescence (the excitation wavelength : 300 nm, pH 8.2, $\mu = 0.008$, 25°C). (○) no. of reduced disulfide bonds determined by Iyer's method²⁵⁾; (○) reciprocal of fluorescence polarization at 340 nm; (●) fluorescence intensity at λ_{max} ; (●) fluorescence intensity at 345 nm.

述の AD_4 , AD_{12} , AD_{50} の比率に近い $AD_{4.4}$, AD_{10} , AD_{50} の複合体で S-S 結合の反応性を測定すると Fig. 5 の結果がえられた. pH 7.4~8.0 にかけてのプラトー相の出現の機序は不明だが, 生理的 pH の近傍で観測される事は興味深い問題である.

4. S-S 結合還元にともなった BPA の 3 次構造変化

Iyer & Klee の方法²⁵⁾を用いて S-S 結合の還元に伴った BPA の 3 次構造の変化を調べた. 実験は全く同じ試料を用い, 分光光度計 (日立 EPS-3T), 蛍光分光光度計 (日立 MPF-3) を同時に使用し測定した. Defatted SH-blocked deionized BPA の pH 7.5, 8.2 における S-S 結合の還元とそれに伴った λ_{max} (nm), 345 nm および λ_{max} での蛍光強度, 蛍光偏光度の逆数 $1/p$ の変化を Fig. 6-A, 6-B に示す. pH 7.5 では 360 分にわたり還元を行った (Fig. 6-A). S-S 結合は 360 分後に約 7.2 個還元され, それに伴って 345 nm および λ_{max} の蛍光強度の減少を認めた. また λ_{max} (nm) は 339 nm から 360 分後には 331 nm と blue shift を認めた. 150

分後 S-S 結合が約 7 個還元された時点で 345 nm および λ_{max} の蛍光強度はほぼ一定となり, λ_{max} (nm) の変化も以後わずかとなった. S-S 結合還元の際の TRP の蛍光の blue shift を Burnstein ら¹⁰⁾の方法で, 蛍光スペクトル半値巾 (width of fluorescence spectrum at half height (nm) $\Delta\lambda_{1/2}$ と λ_{max} を用い解析した. $\Delta\lambda_{1/2}$ と λ_{max} はほぼ直線関係を示し (Fig. 7), S-S 結合の還元とともに左方に移動している. この $\Delta\lambda_{1/2}$ と λ_{max} の関係は N-F 転移において F 型への変化に伴う TRP 蛍光の blue shift と同様の関係である. TRP 蛍光の blue shift は TRP 側鎖が S-S 結合の還元により疎水性部位に移動する事によるか¹⁰⁾¹⁵⁾, あるいは TRP 側鎖が還元された BPA 分子内の比較的 rigid な部位に挟まれる¹⁵⁾ためであろう.

Iyer & Klee の direct spectrophotometric reduction による還元された S-S 結合の数が, DTT での還元後ゲル透過を行い DTNB を用い求めた数と一致するか否か, pH 7.5 (Fig. 6-A) における 90 分, 160 分, 245 分で比較を行った. 結果は 90 分においては前者では還元された S-S

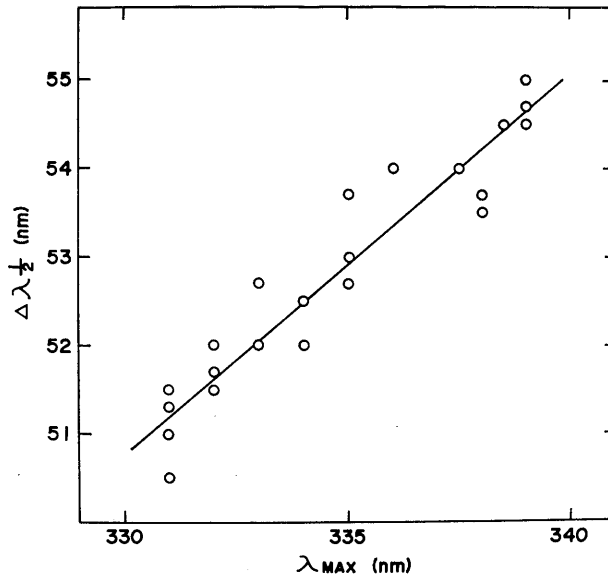


Fig. 7. Dependence of half-width of tryptophyl fluorescence ($\Delta\lambda_{1/2}$) on wavelength of fluorescence maximum (λ_{max}) during reduction of disulfide bonds of defatted SH-blocked BPA (pH 7.5, $\mu=0.008$, 25°C (Fig. 6-A)).

結合の数は 4.3, 後者では 3.1, 160分では前者は 6.1, 後者は 8.1, 245分では前者は 7.2, 後者は 10.3 を示した. このように還元的时间と共に両者の差が大きくなる傾向が認められた. また direct spectrophotometric 法で, 230分近辺で還元された S-S 結合の数がピークに達し, 以後減少傾向をたどった. しかしながら次の実験結果から, pH 7.5 では還元されうる S-S 結合の数は 7.2 でそれ以上は還元されないという事は意味しないものと思われる. すなわち DTT を脱イオン水にとかし pH 5.6, 10.8 に合せ, その自然酸化の程度を DTNB を用いて調べたが, pH 5.6 では 10 時間室温放置でほとんど酸化されなかったのに対し, pH 10.8 ではほぼ直線的に酸化され, 10 時間後には 50% 近くの DTT が自然酸化をうけた. したがって direct spectrophotometric 法と, 還元後ゲル透過し DTNB で求めた S-S 結合の数の差は reference セル側の DTT の自然酸化も関与しているものと考えられる.

5. まとめ

1. 4°C における DTT を用いたアルカリ側における BPA の S-S 結合の還元において pH 6 近辺より S-S 結合の還元性の増大を見出した.

2. BPA の構造のゆらぎを抑制する 0.10 M KCl, 0.20 M KCl, AF₂, AD_{4,4}, AD₁₀, AD₅₀ などで S-S 結合の還元性の抑制を認めた.

3. S-S 結合の還元により TRP 側鎖の近傍がより疎水的になることを示唆する TRP 蛍光の blue shift が認められた. しかも蛍光偏光度の逆数 1/P は S-S 結合還元初期に減少したが, 以後一定だった.

稿を終るに臨み, 終始懇篤なる御指導と御校閲の労を賜った曾我美 勝教授に深甚なる感謝の意を捧げます. 併せて, いろいろと御助力頂いた第二生理教室諸氏に感謝いたします.

文 献

- 1) Aoki, K. & Foster, J. F. (1956) Electrophoretic demonstration of the isomerization of bovine plasma albumin at low pH. *J. Am. Chem. Soc.* **78**, 3358
- 2) Aoki, K. & Foster, J. F. (1957) Electrophoretic behavior of bovine plasma albumin at low pH. *J. Am. Chem. Soc.* **79**, 3385-3393
- 3) Aoki, K. (1958) Interactions of horse serum albumin with anionic and cationic detergents. *J. Am. Chem. Soc.* **80**, 4904-4909
- 4) Aoki, K. (1959) Ultracentrifugal study of horse serum albumin-sodium dodecyl sulfate interaction. *J. Phys. Chem.* **63**, 1336-1337
- 5) Avruch, J., Reynold, J. A. & Reynold, J. H. (1969) Perturbation of proton and detergent binding sites in bovine serum albumin by acetimidation. *Biochemistry* **8**, 1855-1859
- 6) Behrens, P. O., Spiekerman, A. M. & Brown, J. R. (1975) Structure of human serum albumin. *Federation Proc.* **34**, 591
- 7) Benson, E. S. & Hallaway, B. E. (1970) On the mechanism of pH-dependent hydrogen exchange of bovine plasma albumin in the range of pH 5 to 8.5. *J. Biol. Chem.* **245**, 4144-4149
- 8) Brown, J. R. (1975) Structure of bovine serum albumin. *Federation Proc.* **34**, 591
- 9) Brown, J. R. (1976) Structural origins of mammalian albumin. *Federation Proc.* **35**, 2141-2144
- 10) Burnstein, E. A., Vedenkina, N. S. & Ivkova, M. N. (1973) Fluorescence and the location of tryptophan residues in protein molecules. *Photochem. Photobiol.* **18**, 263-279
- 11) Chen, R. F. (1967) Removal of fatty acids from serum albumin by charcoal treatment. *J. Biol. Chem.* **242**, 173-181
- 12) Chen, R. F. & Brown, R. L. (1965) Fluorescence polarization: Measurement with ultraviolet-polarizing filters in a spectrophotofluorometer. *Science* **147**, 279-282
- 13) Cleland, W. W. (1964) Dithiothreitol, a new protective reagent for SH group. *Biochemistry* **3**, 480-482
- 14) Dinitzis, O. H. M. (1952) Ph. D. thesis, Harvard University, Boston, Mass.
- 15) Eftink, M. R. & Ghiron, C. A. (1976) Exposure of tryptophanyl residues in proteins. Quantitative determination by fluorescence quenching studies. *Biochemistry* **15**, 672-680
- 16) Ellman, G. L. (1959) Tissue sulfhydryl groups. *Arch. Biochem. Biophys.* **82**, 70-77
- 17) Foster, J. F. (1975) Personal communication.
- 18) Goodman, D. S. (1958) The interaction of human serum albumin with long-chain fatty acid anions. *J. Am. Chem. Soc.* **80**, 3892-3898
- 19) Hagenmaier, R. D. & Foster, J. F. (1971) Preparation of bovine mercaptalbumin and an investigation of its homogeneity. *Biochemistry* **10**, 637-645

- 20) Halfman, C. J. & Nishida, T. (1971) Influence of pH and electrolyte on the fluorescence of bovine serum albumin. *Biochem. Biophys. Acta* **243**, 284-293
- 21) Halfman, C. J. & Nishida, T. (1972) Method for measuring the binding of small molecules to proteins from binding-induced alterations of physicalchemical properties. *Biochemistry* **11**, 3493-3498
- 22) Harmsen, B. J. M., De Bruin, S. H., Janssen, L. H. M., Rodrigues, J. F. & Van Os, G. A. J. (1971) pK change of imidazole groups in bovine serum albumin due to the conformational change at neutral pH. *Biochemistry* **10**, 3217-3221
- 23) Hull, H. H., Chang, R. & Kaplan, L. J. (1975) On the location of the sulfhydryl group in bovine plasma albumin. *Biochim. Biophys. Acta* **400**, 132-136
- 24) Hvidt, A. H. & Wallevik, K. (1972) Conformational changes in human serum albumin as revealed by Hydrogen-Deuterium exchange studies. *J. Biol. Chem.* **247**, 1530-1535
- 25) Iyer, K. S. & Klee, W. A. (1973) Direct spectrophotometric measurement of the rate of reduction of disulfide bonds. *J. Biol. Chem.* **248**, 707-710
- 26) Janatova, J., Fuller, J. K. & Hunter, M. J. (1968) The heterogeneity of bovine albumin with respect to sulfhydryl and dimer content. *J. Biol. Chem.* **243**, 3612-3622
- 27) Janatova, J. (1974) On the heterogeneity of serum albumin. *J. Med.* **5**, 149-216
- 28) Katchalski, E., Benjamin, G. S. & Gross, V. J. (1957) The availability of the disulfide bonds of human and bovine serum albumin and of bovine γ -globulin to reduction by thioglycolic acid. *J. Am. Chem. Soc.* **79**, 4096-4099
- 29) Leach, S. J. & Scheraga, H. A. (1960) Effect of light scattering on ultraviolet difference spectra. *J. Am. Chem. Soc.* **82**, 7490-7492
- 30) Leonard, W. J., Jr. & Foster, J. F. (1961) Changes in optical rotation in the acid transformations of plasma albumin. Evidence for the contribution of tertiary structure to rotatory behavior. *J. Biol. Chem.* **236**, 2662-2669
- 31) Lovrien, R. & Linn, T. (1967) Mutual distortion mechanisms in macromolecular catalysis. *Biochemistry* **6**, 2281-2293
- 32) Markus, G., Love, R. L. & Wissler, F. C. (1964) Mechanism of protection by anionic detergents against denaturation of serum albumin. *J. Biol. Chem.* **239**, 3687-3693
- 33) Markus, G. & Karush, F. (1957) The disulfide bonds of human serum albumin and bovine γ -globulin. *J. Am. Chem. Soc.* **79**, 134-139
- 34) Nikkel, H. J. & Foster, J. F. (1971) A reversible sulfhydrylcatalyzed structural alteration of bovine mercaptalbumin. *Biochemistry* **12**, 3824-3830
- 35) Noel, J. K. F. & Hunter, M. J. (1972) Bovine mercaptalbumin and nonmercaptalbumin monomers. Interconversions and structural differences. *J. Biol. Chem.* **247**, 7391-7406
- 36) Reed, R. G., Feldhoff, R. C., Clute, O. L. & Peters, T., Jr. (1975) Fragment of bovine serum albumin produced by limited proteolysis. *Biochemistry* **14**, 4578-4583
- 37) 坂田茂樹 : Unpublished data.
- 38) 坂田茂樹, 長岡俊治, 井上洋, 曾我美勝 (1975) 血漿アルブミンの分子内 SH, S-S 交換反応 — Molecular Ageing. 日本生物物理学会第14 回年会予稿集 p.168
- 39) Sogami, M., Petersen, H. A. & Foster, J. F. (1969) The microheterogeneity of plasma albumin. V. permutations in disulfide pairing as a probable source of microheterogeneity in bovine albumin. *Biochemistry* **8**, 49-58
- 40) Sogami, M. & Foster, J. F. (1968) Isomerization reactions of charcoaldefatted bovine plasma albumin. The N-F transition and acid expansion. *Biochemistry* **7**, 2172-2182
- 41) Sogami, M. & Ogura, S. (1973) Structural transitions in bovine plasma albumin. Location of tyrosyl and tryptophyl residues by solvent perturbation difference spectra. *J. Biochem.* **73**, 323-334
- 42) Sogami, M., Ogura, S., Itoh, K. B., Sakata, S. & Nagaoka, S. (1972) Dimmerization of bovine plasma albumin in low pH region. *Biochim. Biophys. Acta* **278**, 501-504
- 43) Sogami, M., Itoh, K. B. & Nemoto, Y. (1975) Fluorescence polarization studies on the conformational transition of bovine plasma albumin in acidic solutions. *Biochim. Biophys. Acta* **393**, 446-459
- 44) Sogami, M. (1971) Effect of salts on the N-F transition of bovine plasma albumin. *J. Biochem.* **69**, 819-822
- 45) Sogami, M., Nagaoka, S., Itoh, K. B. & Sakata, S. (1973) Fluorimetric studies on the structural transition of bovine plasma albumin in acidic solutions. *Biochim. Biophys. Acta* **310**, 118-123
- 46) Sogami, M., Uyeda, M. & Ogura, S. (1973) Conformational changes induced by the interaction of sodium dodecyl sulfate with bovine plasma albumin. *Biochim. Biophys. Acta* **310**, 487-494

- 47) 曾我美 勝, 上田基二, 長岡俊治, 小川 諭, 森島 績 (1976) 血漿アルブミン分子の N-F 転移. 日本生物物理学会第15回年会予稿集 p.256
- 48) Steiner, R. F. & Edelhoch, H. (1961) Influence of pH and urea on the ultraviolet fluorescence of several globular proteins. *Nature* **192**, 873-874
- 49) Stroupe, S. D. & Foster, J. F. (1973) Further studies of the sulfhydrylcatalyzed isomerization of bovine mercaptalbumin. *Biochemistry* **12**, 3824-3830
- 50) Tanford, C., Buzzell, J. G., Rands, D. G. & Swanson, S. A. (1955) The reversible expansion of bovine serum albumin in acid solution. *J. Am. Chem. Soc.* **77**, 6421-6428
- 51) Teale, F. W. (1960) The ultraviolet fluorescence of proteins in neutral solution. *Biochem. J.* **76**, 381-388
- 52) Telegdi, M. & Straub, F. B. (1973) Study of correlation between structural motility and reactivity of SH groups in α -amylase. *Biochim. Biophys. Acta* **321**, 210-219
- 53) Wallevik, K. (1973) Reversible denaturation of human serum albumin by pH, temperature and guanidine hydrochloride followed by optical rotation. *J. Biol. Chem.* **248**, 2650-2655
- 54) Weber, G. & Young, L. B. (1964) Fragmentation of bovine serum albumin by pepsin. II. Isolation, amino acid composition, and physical properties of the fragments. *J. Biol. Chem.* **239**, 1424-1431
- 55) White, D. D., Stewart, S. & Wood, G. C. (1973) The use of reporter group circular dichroism in the study of conformational transition in bovine serum albumin. *FEBS Letters* **33**, 305-310
- 56) Zurawski, V. R., Jr. & Foster, J. F. (1974) The neutral transition and the environment of the sulfhydryl side chain of bovine plasma albumin. *Biochemistry* **13**, 3465-3471



The effect of previous states of shortening on the load-velocity relationship in human muscle

Masahiro KANEKO

Laboratory of Exercise Physiology, Osaka College of Physical Education, Ibaraki, Osaka, Japan

The shortening velocity of contracting muscle is usually measured by the quick release method (QR)⁵⁾ or the afterload method (AL)³⁾⁶⁾. The main difference between them is the active state at the instant of velocity measurement. The muscle is fully tetanized before the release in QR, while it starts contracting from the resting state in AL. The effect of these different previous states on the load-velocity relationship was investigated in the elbow flexors of six male subjects, ranging in age of 20~24 years.

The apparatus was basically the same as described by Wilkie⁶⁾. A rectangular lever with long and short arms was used. The subject in sitting position placed one of his upper arms horizontally on an adjustable table, keeping his forearm almost vertical. A belt around the wrist was connected to a force transducer and then to the long arm of the lever (at the level of the wrist) with a steel wire. The lever rotated from 140° to 70° from the horizontal as the elbow flexed, but reverse rotation was hindered by an one-way gear. The linear velocity of the lever was detected by a velocity transducer (Scheivitz 7L6VT-Z) attached close to the axis of the lever. The load was hung to the short arm at 10 cm from the axis. A stopper supported the lever at the initial position of 140° and another stopper held the end of elbow flexion at 70°. The isometric tension (P_0) or the velocity (V) was measured always at 90°, around which the maximum tension or velocity was attained. The quick release was effected by the release of electromagnet with a hook, which previously hooked to the long arm. The

velocities were measured by both QR and AL for the loads of 10, 20, 30, 50 and 60% P_0 ; firstly from light to heavy loads and then in the reverse order. The maximum velocity (V_0) was measured without loads (0% P_0).

Fig. 1 shows the time courses of force and velocity at the loads of 0% P_0 and 30% P_0 . The force fell quickly to the load level (P) after the quick release, but in AL it was maintained over the load level for a relatively long time. The load-velocity relations are shown in Fig. 2. The velocities obtained by AL were, in all subjects examined, greater than those by QR at the loads above 10% P_0 , although the maximum velocity by QR was greater than that by AL, except two subjects who had the weakest isometric forces. The measured values were fitted to Hill's hyperbolic equation ;

$$(P+a)(V+b)=b(P_0+a),$$

where P is the load, V the velocity, P_0 the isometric tension, and a and b the dynamic constants. The constants were determined by plotting $(P_0-P)/V$ against P and fitting the resulting straight line by least squares. The constants in the mean for QR were $a=8.8$, $b=1.21$, $a/P_0=0.26$ and $V_0=18.8$ (forearm length/sec), while those for AL were $a=14.5$, $b=1.91$, $a/P_0=0.43$ and $V_0=18.4$. It is noticed that the constants obtained by AL are fairly greater than those by QR which are quite similar to the constants of isolated skeletal muscle. The maximum mechanical powers calculated from the P - V curves were 151 and 189 Watts for QR and AL respectively. It is interesting that the velocity and power measured by AL are greater at the loads above 10% P_0 , because the voluntary contraction in man usually occurs in a similar manner to afterload

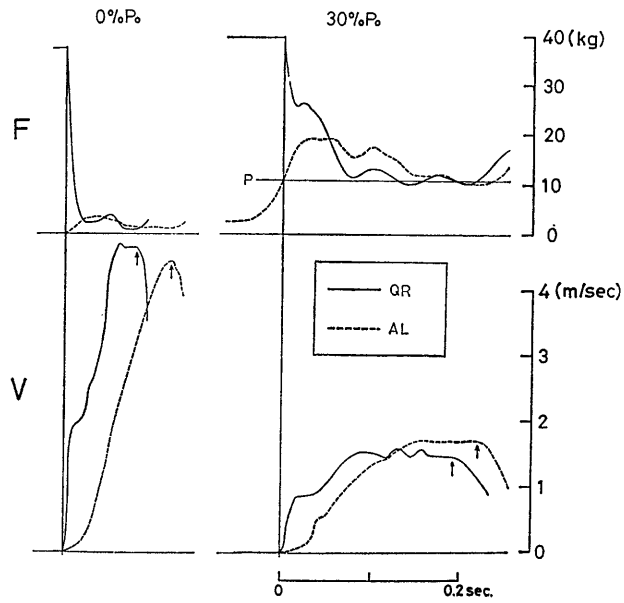


Fig. 1. The time courses of force (F) and velocity (V) at 0% P₀ and 30% P₀ in the quick release method (QR) and the afterload method (AL). The arrow indicates the instant of velocity measurement. Line P indicates the load level.

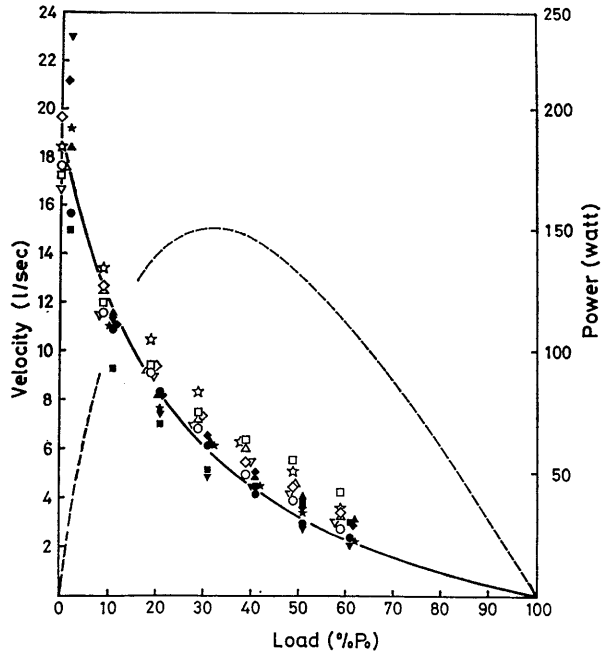


Fig. 2. The load-velocity relation for the flexion of human forearm. The data from six subjects are distinguished with different symbols. Open symbols : afterload method (AL), Filled symbols : quick release method (QR), Load-velocity curve : calculated from Hill's equation using averaged dynamic constants. Dotted curve : load-power relation.

contraction.

The lower maximum velocity in AL can be attributed to the time laps from the onset of contraction to the full active state. In Fig. 1, left, the shortening velocity increased rather slowly, probably due to the series elastic element as proved by Wilkie⁹). In QR the initial acceleration is far bigger than that in AL, because as described by Fenn²), the forearm movement begins with an acceleration determined by P_0'/I , where P_0' is isometric tension before movement and I the moment of inertia of forearm. Mashima *et al.*⁵) have shown in isolated muscle that the relative load-velocity relation and the maximum velocity are independent of the contractile force or the degree of excitation if the initial length is constant. In the present experiment, however, the effective load is not completely zero even at 0% P_0 , so that a low acceleration in AL must result in a low maximum velocity. On the other hand, above 10% P_0 the higher velocities were observed in AL than in QR. This could be explained by the maintained force over the load level in AL. The effect of inertia of the load was examined by changing the distance from

the axis to the load, but no difference was observed in the final velocities. In some cases, the integrated action potentials of brachial biceps muscle were also recorded using surface electrode during entire period of shortening, but no significant difference was found between QR and AL. The delayed release of elastic energy from the series elastic element^{1,4}) might be one of the causes of higher velocities in AL above 10% P_0 .

The author wish to thank Prof. H. Mashima for his encouragement and advice, and Mr. T. Fuchimoto for his help.

References

- 1) Cavagna, G. A., Dusman, B. & Margaria, R. (1968) *J. Appl. Physiol.* **24**, 21-32
- 2) Fenn, W. O. (1938) *J. Appl. Physics*, **9**, 165-177
- 3) Hill, A. V. (1938) *Proc. Roy. Soc. B*, **126**, 136-195
- 4) Hill, A. V. (1950) *Proc. Roy. Soc. B*, **137**, 273-280
- 5) Mashima, H., Akazawa, K., Kushima, H. & Fujii, K. (1972) *Jap. J. Physiol.*, **22**, 103-120
- 6) Wilkie, D. R. (1950) *J. Physiol.*, **110**, 249-280

key words : load-velocity relation, human muscle, quick release, afterload, maximum velocity.

第29回日本生理学会中国・四国地方会

日 時：昭和52年10月18日(火)9:00~17:12

場 所：岡山大学医学部

当番幹事：西田 勇, 中山 沃

1. 運動神経反復刺激後の微小終板電位頻度の回復過程に対する2価陽イオンの影響

喜多 弘, 成田和彦 (川崎医大, 第一生理)

Mn, Co あるいは Ni を唯一の2価陽イオンとして含む生理的塩類溶液中でカエル縫工筋の支配神経に反復刺激 (50 Hz, 2 分間の最大刺激) を与えると, 微小終板電位の頻度が上昇する. 刺激終了後頻度は Mn の場合10分内外で刺激前の値に減るが, Co や Ni の場合は1時間以上経過しても前の値にもどらない. 微小終板電位の頻度は主に運動神経末端内の2価金属イオンの濃度に規制されると考えられるので, 反復刺激後の頻度の減少経過は刺激によって末端内に取り込まれた金属イオンが排除される過程を反映しているといえる. Mn の場合回復過程が速いのは, Co や Ni が末端膜のポンプ作用によってのみ排出されるのに対して, Mn はポンプ作用に加え末端内のミトコンドリアへの取り込みによっても排除されるためと考えられる. これらの排除過程はエネルギーを要し, したがって回復過程の温度依存性が期待される. 刺激終了時から最大頻度が半減する迄の時間 ($T_{1/2}$, 分) および刺激前の値にもどる迄の時間 (T_c , 分) を低温 (6~9°C) ならびに高温 (22~26°C) で測定してみると (平均値 \pm S.D., $n=3$), Mn の場合 $T_{1/2}$ および T_c は低温で 1.67 ± 0.76 および 21.17 ± 3.82 , 高温で 1.00 ± 0.50 および 11.00 ± 1.73 となった. Co の場合 T_c と低温時の $T_{1/2}$ は1時間後でもえられず, $T_{1/2}$ は高温時のみ3分となった.

2. 同定された軟体動物巨大神経細胞に対する histamine とその関連物質の作用

竹内 宏, 横井 功, 堀坂和敬*(岡山大, 医, 脳研・神戸女子薬大, 薬理*)

巨大アフリカマイマイ (*Achatina fulica Férussac*) 食堂下神経節中に同定される巨大神経細胞 TAN (tonically autoactive neurone) の興奮性に対する, histamine とその関連物質15種 (imidazole, imidazole-5-acetic acid, imidazole-5-

acrylic acid, 4-methyl histamine, pyrazole-5-ethylamine, N-methyl histamine, N-acetyl histamine, L-histidine, L-1-methyl histidine, L-3-methyl histidine, L-N-acetyl histidine, L-carnosine, L-homocarnosine, L-anserine, L-ophidine) の作用を検定した. Histamine は TAN に興奮作用 (脱分極作用) を持ち, その臨界濃度は 3×10^{-5} kg/l 程度であった. 4-methyl histamine の TAN に興奮作用を呈するが, それは histamine よりも弱く, 臨界濃度 5×10^{-5} 程度であった. 他の14物質は, 10^{-4} kg/l の濃度で TAN に作用を持たなかった. また 5×10^{-5} kg/l histamine の TAN に対する興奮作用は, 2.5×10^{-4} の nepyramine および burimamide により拮抗されなかった. 以上の点より見て, TAN の histamine 受容の性質は, H_1 および H_2 receptor のどちらとも異なっている.

3. ラット直腸輪走筋に対する ATP の効果

渡辺雅夫, 大川博通 (山口大, 医, 第一生理)

ラット大腸各部の輪走方向の自発運動性に対する ATP の効果をマグヌス法で検討した. 上行結腸や横行結腸においては, 高濃度の ATP で phasic な収縮が抑制されたが, 低濃度では効果はなかった. これと対照的に直腸の下部においては, 10^{-7} g/ml 位の濃度から活動性促進効果が見られ, $10^{-5}\sim 10^{-4}$ g/ml でその作用は最大に達した. ラットにおいては内肛門括約筋は肛門側から 3 mm 位までに限られているが, この部位を含めて, 肛門側から 2~4 cm 位までの輪走筋は ATP により収縮を発生した. また輪走方向標本が ATP で収縮する部位の縦走方向標本では ATP により phasic な収縮が抑制された. 輪走筋の ATP による収縮は, cholinergic, alpha adrenergic blockers で影響をうけず, キニジンによっても block されなかった. また高カリウム溶液中においても ATP は収縮高を上昇させ, カリウム拘縮を増大させた. さらにカルシウム拮抗剤ベラパミール投与下でも ATP により収縮を発生した. 以上よ

り、直腸下部輪走筋における ATP の収縮には、細胞膜 store Ca^{++} の遊離作用もあることが示唆された。

4. L細胞の高分子物質合成とエネルギー代謝について—2-deoxyglucose の影響

山口久雄, 石黒成人, 米津武郎, 田辺伸悟, 岡芳包 (徳島大, 医, 第一生理)

単層培養した L細胞を用いて、高分子物質合成とそれともなうエネルギー代謝の様相について研究している。今回は、解糖阻害剤である 2-deoxyglucose (2-DG) を短時間 (2時間) 作用させ、同時に培養液中の glucose 含量を変化させた条件下で、細胞呼吸、細胞内 ATP 含量を測定し、また核酸および蛋白質の前駆物質の取り込み速度におよぼす影響について調べた。1.0% 2-DG は培養液の glucose 含量を低下させても、細胞増殖、蛋白質含量には影響しない。しかし、細胞呼吸に対しては、glucose 含量低下ともない阻害が強くあらわれた。0.1% の 2-DG を作用させ、glucose 含量を正常 (0.5%) の半分にしたとき、対照の約 85%, glucose を除去したときは対照の約 50% に低下していた。また細胞内 ATP 含量に対しても、0.1% 2-DG を作用させた時、正常培養では対照の 70%, glucose を除去したときは 40% に低下していた。以上の条件下において、高分子物質の前駆物質の取り込みは、正常培養では 3H -ウリジン、glucose 除去培養では アミノ酸の取り込みが強く阻害されていた。このことは、細胞内 ATP 含量の変化ともない高分子物質の合成速度に相違がみられることを示唆している。

5. 骨盤臓器より反射性に誘発されるいきみ

福田博之 (川崎医大, 第二生理)

いきみは声門の閉鎖と呼おおよび吸息筋の同時収縮により腹腔内圧が上昇する現象を指し、一般に大脳皮質より誘発される運動と考えられている (Mendeloff, 1968)。一方、骨盤神経の求心性刺激 Yamamoto et al., 1961)、膣の伸展 (森, 1968) により腹腔内圧は反射性に上昇し、これはいきみ様反応と呼ばれている。イヌの直腸、膀胱、膣の伸展、肛門管粘膜の機械的刺激および骨盤神経と陰部神経の切断中枢端刺激により誘発されるいきみ様反応時にいきみ時と同様に声門が閉鎖するか

どうかを検討に両者の異同を確かめた。また、この反射反応と呼吸中枢活動との関係を解析し次の結果をえた。1) 平常な呼吸状態では、上記刺激により誘発される横隔神経の活動促進に同期して、外側輪状被裂筋 (声門閉鎖筋, 呼息筋) の活動は促進し、後輪状被裂筋 (声門開筋, 呼息筋) の活動は抑制された。すなわち、声門は閉鎖された。この結果はいきみといきみ様反応が基本的には同じ運動であることを示している。2) 肺の萎縮による呼吸促進時にはこの反射反応は誘発されない。3) 肺の拡大、過剰な人工呼吸あるいは灰白翼中央の高さでの延髄の切断により、呼吸性周期活動の消失した状態では、この反射により、上記の 2筋と横隔神経に同期した活動が誘発された。4) Obex の高さで延髄を切断するとこの反射は消失した。

6. MAMA 小頭症ラットの脳波像について

佐野勝徳, 松本淳治 (徳島大, 医, 第二生理)

妊娠ラットに Methylazoximethanol acetate (MAMA) を腹腔内投与すると、新生仔は大脳両半球の小さくなった小頭症になって生れる。この MAMA 小頭症ラットの 1 昼夜の睡眠像については、全睡眠量に対する逆説睡眠量 (PS) が MAMA 群において減少する傾向にある点以外、対照群との間に有意な差は認められなかった。昼間 (6:00 ~ 18:00) と夜間 (18:00 ~ 6:00) の差について両群間を比較すると、MAMA ラットの全睡眠に対する逆説睡眠量においては、その差が減少する傾向にあり、5% 水準で有意であった。また、MAMA ラットの PS 期脳波には対照群ラットには見られない 8 ~ 14 Hz の周波数成分からなる spindle 様の波形が認められた。この spindle 様活動が生じている時には急速眼球運動は出現せず、呼吸は規則的であった。さらに、SP 期において、徐波成分の混入と、それに伴う一過性の筋電図の電位増がしばしば見られた。

7. ラットにおける条件行動と覚度の関係

木村龍雄, 我部山光弘, 小山倉雄, 松本淳治 (徳島大, 医, 第二生理)

人間の場合、徐波睡眠 (slow wave sleep) の第 2 度、逆説睡眠 (paradoxical sleep) から覚醒した場合の覚度は最も高く、SS の第 4 度の覚度は最

も低いという報告がみられる。

しかし、動物についての報告はみられず、あまり明らかでないのでラットを用いて実験を行った。まず、実験環境、条件刺激に対して、1週間の慣れ形成を行なった Wistar 系ラット(雄)を用いて、一方向性回避装置による回避条件行動を形成させ、つぎにポリグラフ用手術を行った後に、再び条件行動を形成させた。条件行動の形成確認後、ラットを自由に眠らせ、light sleep (LS), deep sleep (DS), PS のときに強制的に覚醒させ、また DS, PS から自然に覚醒した際の条件行動の成績について比較検討を行った。その結果、LS 時に強制的に覚醒させたときは、条件行動の成績が最もよく、DS 時は最も悪く、潜時も不安定である。PS 時はその中間であり、覚醒直後は目覚めは悪いが、その後の目覚めが早く、潜時は安定している。しかし、自由に覚醒させた場合は、DS, PS の間に差は認められなかった。

8. ラット睡眠に対するサイクロヘキシミド、 アクチノマイシン D の影響

上江洲栄子, 佐野敦子, 松本淳治 (徳島大, 医, 第二生理)

Wistar 系 rat (♂ 200~250 g) にサイクロヘキシミドを投与して、蛋白質生合阻害と睡眠との関係について検討した。サイクロヘキシミド (25 mg/kg) を側脳室内に投与すると、逆説睡眠 (PS) は10時間にわたって完全に抑えられ、正常に回復するのに12時間を要した。24時間の PS 量の減少は1%水準で有意であった。しかし、徐波睡眠 (SS) には有意差はなかった。なお、サイクロヘキシミド (2.5 mg/kg) 腹腔内投与の際の影響も同様であった。RNA 合成阻害剤であるアクチノマイシン D についても検討した。0.1 mg/kg を側脳室内に投与すると、10~30分間脳波が消失していわゆる脳死の状態になるが、後に回復し、PS も発現した。0.05 mg/kg では、脳波には変化がなく、PS, SS 共に24時間量に有意差はなかった。

9. 歯牙内外間の電位の温度による変化

山田 守, 飯田元通, 笠木 健, 山田博子 (鳥取大, 医, 第一生理)

第54回日本生理学会大会において、歯牙内外間には電位差があり、この電位差は温度によって変

化することを報告し、この変化は誘導電極を形成する金属間の熱電対によって生ずる電位差より大きいことを報告した。しかし、その温度変化による増減の方向は標本によっては相反する方向に動いたので、今回はこの増減の方向と温度との変化との関係について調べた。その結果は、大多数の例において、温度の上昇によって負の電位差が大となり、温度の下降にしたがって負の電位差が小となった。すなわち、温度の上昇は一般に歯牙内外の電位差は過分極になり、温度の下降は一般にその電位差は脱分極の方向に動くことが明らかにされた。この電位差は実験に用いた約 5°C から 45°C の約 40°C の温度変化でも大きな時には数十 mV から百数十 mV に迄達した。また、この電位は同一標本で実験を繰り返して行なうと、同一温度で常に一定の電位を示さなかったが、同一温度で時間的経過を見るとほぼ一定していた。したがって電位の不安定は実験条件によるものと考えられる。以上の事実から、カリエス、金属インレー装着の際、温度変化により歯痛を生ずるのは、このような電位差の発現により、歯牙内外間に電流を生じ、大きさが閾値以上になった時にも起こるものと考えた。

10. 呈味発現における糖分子と受容体分子との結合様式

日地康武, 山田 守 (鳥取大, 医, 第一生理)

ラットの鼓索神経から積分回路を通して記録し、えられた濃度 (C)・応答 (R) 曲線のデータを理論的に解析することによって、味覚の方程式として広く知られているバイドラーの式が、なぜシロ糖に対しては成立するが、ブドウ糖、果糖に対しては当てはまらないのか、その理由を明らかにすると共に、味覚方程式が成立するのに必要条件として糖分子と受容体分子との結合様式を推定した。すなわち、呈味の発現には単糖類では2分子が、2糖類および3糖類では1分子がそれぞれ関与すること、また単糖類ではバイドラーの式

$$C/R = \frac{C+K}{R_m}$$

が適応可能であるが (K: 解離定数, R_m: 最大応答値), 2糖類, 3糖類に対しては、

$$C/R = \frac{K_1 \cdot K_2 + K_2 \cdot C + C^2}{R_m \cdot C}$$

の式が妥当であることなどを明らかにした。これ

らの結果は、甘味受容体には2種類の受容サイトがあって、糖分子はこの二つのサイトを占有することによって、はじめて甘味の発現があることを示唆させる。さらに、この結合様式は、ハエのような昆虫からニホンザルのような高等動物に至るまで、共通したものであることなどが突止められた。

11. 白ネズミの全水分量と除脂肪体重との関係

白木啓三, 久岡文子, 佐川寿栄子 (徳島大, 医, 栄養)

全水分量 (TBW) は個体の体重変化の要因を説明する上に重要である。体液は正常な個体でも環境温度や栄養状態によって変動しうる。この時同時に体脂肪量や体窒素量にも変化がみられる。実験には Wistar 白ネズミを使用し、食餌中の蛋白および脂肪レベルを変化させたり、あるいは低温 (5°C) に馴化させた後の体組織を測定し全水分量の変動に一定の法則性があるかどうかを検討した。結果：食餌の蛋白レベルが低下すると共に体脂肪量が減少し、TBW 割合は増加する。また低温馴化白ネズミでは体脂肪量の著しい減少と TBW 割合の増加がみられる。しかるに以上のような条件においても TBW と除脂肪体重 (LBW) との比 (TBW/LBW) は一定であった。さらに体重 (100~450 g), 加齢および性による差を検討したが TBW/LBW は全ての動物において一定値 (0.72) となった。以上のように TBW/LBW が一定値をとる理由として、TBW と体窒素量との関係が一定であることから説明しうる。以上の事実から TBW を測定することにより体重変動の大きな要因である LBW および体窒素蓄積量が推定できることを示した。

12. 微量迅速膠質滲透圧測定法

三木健寿, 佐川寿栄子, 白木啓三 (徳島大, 医, 栄養)

血漿膠質滲透圧を直接測定することは、血管内外の水の動きを知る上で重要である。しかし、従来膠質滲透圧測定には、比較的多量の試料と時間を要した。そのため、実測は困難な場合が多く、一般に、近似式、ノモグラムを用いて、血漿蛋白濃度より近以値を求め代用してきた。われわれは、従来の測定法の問題点を解決し、微量のサン

プルで、迅速に測定できる膠質滲透圧計を試作検討した。この膠質滲透圧計を用いると、最少サンプル量 2~5 μ l で測定が可能であり、1分以内に安定した値がえられた。再現性も良好であり、この膠質滲透圧計は十分実用に耐えるものである。応用例として、白ネズミを用いて、脱血を行ない、循環血漿量、血漿蛋白濃度、血漿膠質滲透圧の変化を経時的に測定した。脱血により急激な循環血漿量の増加がみられ、その時の血漿膠質滲透圧の変化を追うことができた。これらの血漿膠質滲透圧の値は、血漿蛋白濃度より求めた膠質滲透圧の計算値と一致しておらず、実測の重要性を示した。また、小動物においても、血管内外の水の動きおよびそれを制御する因子の測定が可能であることを実証した。

13. 微小循環について

西丸和義, 加藤真理 (広島女学院大, 生理)

微小循環については、現在主として毛細血管のみと考えられている研究が多い。これについて Foster の *History of Physiology* (1901) が教えるように、一般に信じられている概念が禍をしているように思える。すなわち Aselli (1622) は乳び管を発見してこ踊りしながら、その推理を Galen の血流の概念に捕えられたため、リンパ系への発展を誤った。これが Harvey (1628) の血液循環の概念によって、Pequet (フランス), Bartholin (デンマーク), Rudbeck (スウェーデン), Jolive (イギリス) らが、同時にリンパ系の研究を進めた。ここに概念の重要さがある。しかし今度は血液のみが循環するという Harvey の概念のため、体液流についての組織間、毛細リンパ管が等閑にされていることは Cowdry の *Histology* (1938), Houssay の *Human Physiology* (1955), 佐武, 藤田の生理学教科書 (1968), Starling の *Human Physiology* (1962) などを見ても明らかであると思う。そこで微小循環の研究は、体液循環の概念のもとで、毛細血管、組織間、毛細リンパ管についての一連の研究でなければなるまい。こうしたことについて述べる。

14. 正常者と精神分裂病患者におけるまばたきのおこる時間間隔

久田研二, 藤谷嘉子, 当山貞雄, 細貝正江, 白

石義光, 清水泰治, 及川俊彦 (鳥取大, 医, 第二生理)

まばたきは, 三叉神経, 視神経などを求心路とし, 顔面神経を遠心路とし反射性におこり, また随意的にもおこしうる。臨床上, 精神状態により瞬目数が変動したりすることはよく経験される。そこで発病後数年を経て, 自閉, 能動性減退を主徴とする入院中の精神分裂病者13例と正常者21例について, 瞬目間隔を測定し検討した。まばたきは, 頭皮上で単相性の陽性変動として記録され, 眼球運動電位も参考にした。10分間記録中の後半5分間の結果から, 瞬目間隔は正常者の平均および標準偏差が 5.6 ± 3.78 秒, 病者では 2.93 ± 2.10 秒であり, 有意の差があった ($P < 0.05$)。病者の向精神薬服薬量 (クロールプロマジン換算量/日) と瞬目間隔について有意の相関はみられなかった。また, 正常者の平均瞬目間隔と年齢間には負の相関があり, 加齢につれて有意に平均瞬目間隔が短くなることが認められた ($P < 0.01$)。しかし, 病者では有意な関係はみられなかった。

15. イヌの覚醒・睡眠周期と尿管筋電図活動

上桝次郎, 白石義光, 及川俊彦 (鳥取大, 医, 第二生理)

腎臓はその日内リズムにより, 生体の恒常性維持に重要な役割を演じているが, 一方腎で生成された尿の輸送路としての尿管の日内リズムに関する研究は殆どみあたらない。そこでイヌ6頭で, 鉤状双極電極を腎門部近くの上尿管筋層に慢性的に植め込み, 無麻酔・無拘束状態で尿管筋電図の24時間連続記録を行った。動物の意識レベルとの関連を検討するために, 皮質脳波・頸筋筋電図・眼球運動図から覚醒期・睡眠期を同定した。また3頭で筋電図導出側の腎動脈を結紮し, その影響をみた。尿管筋電図は周期的な多相性群放電で, その放電間隔の60~80%は $3.5 \sim 5.5$ sec に全頭とも集中し, これが基本放電間隔と考えられた。5頭で深夜から朝にかけて平均放電間隔が延長した。平均放電間隔は覚醒期で 5.53 ± 1.95 sec, NREM 期で 6.49 ± 2.61 sec, REM 期で 6.25 ± 2.61 sec となり, 覚醒期に比べ, 睡眠各期で有意に延長した ($P < 0.01$)。一方, 放電振幅は覚醒期に比べ, NREM 期・REM 期で有意に減少した ($P < 0.005$)。放電間隔と放電振幅の間には, 各期全

てに負の相関があったが, 有意ではなかった。記録中, まれに過剰な尿管筋電図が観察された。NREM 期・REM 期の間ではその発現率に有意差はなかったが, 腎動脈結紮後には, 前に比べ有意に多く出現した ($P < 0.025$)。

16. ウサギの延髄温度受容細胞の発射様式について

村上 恵, 坂田義行 (山口大, 医, 第二生理)

ウサギの延髄に温度受容細胞が多数存在しており, 体温調節反応発現に関与していることについては, これまで報告して来た通りである。そこで種々の延髄温レベルで記録した本細胞の活動について, その発射間隔をミニ・コンピューターにより計測し, その時系列の簡単な統計量ならびに発射間隔ヒストグラムから, 延髄温度受容細胞の発射様式を検討した。発射間隔の時系列の平均値と標準偏差の関係を検すると, さきに行なった視床下部温度受容細胞のそれにくらべて, 同一平均値でも標準偏差が小さい。すなわち発射間隔が比較的規則正しく, したがってその保有している情報量はすくないと解される。また標準偏差と平均値の比-変異係数 coefficient of variation-は小さいものが多いが, 記録した延髄温の変化に伴って C. V. が変動するものと, 変動しないものに2大別される。そうして前者の C. V. は後者のそれに比して大きい。後者の場合は常に同じ精度で温度受容が可能なることを保証しており, 温度受容の面ではきわめて都合が良い。発射間隔ヒストグラムを検すると前部温度受容細胞では指数分布もしくは低次の Gamma 分布を呈するものが多かったが, 観察された24コの延髄温度受容細胞の多くは, 高い次数の Gamma 分布を示した。

17. ウサギにおける LSD 投与による体温上昇作用について

坂田義行, 村上 恵 (山口大, 医, 第二生理)

前部視床下部のセロトニン (5-HT) は脳幹の縫線核群に細胞体をおく 5-HT 含有ニューロンの軸索末端から遊離されていることが明らかにされて来ているが, 体温調節機構におけるこの 5-HT system の役割について未だ明らかにされていない。そこで本実験は, これまで脳幹の縫線核細胞の働きを抑制することが明らかにされている

lysergic acid diethylamide (LSD) を投与することによって 5-HT system の体温調節における役割を明らかにするために、行なった。LSD を静脈内に投与すると、直腸温は、耳翼皮膚温の下降を伴って短い潜時で上昇した。ついで LSD をカニウレを植え込んだ慢性ウサギの縫線核領域に microinjection すると、同様に、皮膚血管の収縮と共に、直腸温は、dose dependent に上昇した。かかる LSD 投与による体温上昇は、解熱剤 (スルピリン) や 5-HT の静脈内投与により、直腸温の下降が認められた。これらの諸成績から、LSD 投与による体温上昇は、縫線核群の 5-HT 含有ニューロンを介して発現したものと考えられ、その端末から遊離される 5-HT の減少に基づくものと思われる。そうして、かかる体温の上昇作用は環境温の高低によって、放熱系の抑制によって、産熱系の関与に由来することから、5-HT system は、体温調節系の afferent 側に存在するものと解される。

18. 核黄疸ラットに見られる行動異常と化学伝達系の病態

大野拓夫, 片岡喜由 (愛媛大, 医, 第一生理)

Gunn ラットは、先天性高ビリルビン血症により誘発される核黄疸症を示す突然変異系であり、新生児の核黄疸症の病態モデルとして注目されている。今回、われわれは、核黄疸により誘発される神経症状の発生機構を解明する一つの試みとして、成雄 Gunn ラット (実験群: 遺伝子型 j/j , 対照群: $+/+$) の行動の異常性をオープンフィールドテスト装置とロータロッドとを用いて追跡し、その結果、遺伝子型 j/j ラットでは、情動性や協調運動に異常がみられ、黄疸ラットでは、少なくとも、大脳辺縁系および運動調節系に何らかの異常が局在しているのではないかと予想された。また、同時に脳諸領域 (前頭皮質, 嗅球, 嗅結節, 海馬, 扁桃体, 線条体, 中隔, 視床, 視床下部, 黒質, 脚間核, 小脳皮質) におけるコリンアセチルトランスフェラーゼ, グルタミン酸脱炭酸酵素活性を分析したところ、ビリルビンが大脳辺縁系の GABA 作動性ニューロン系を特異的に破壊する可能性が示唆された。また、ビリルビン投与による急性高ビリルビン血症ラットの脳所見との比較検討を行なった結果、黄疸ラットで、

コリン作動性ニューロン系において、何らかの代償機能が働いている可能性が示唆された。

19. 青斑核チロシン水酸化酵素誘導におよぼす求心性ニューロンの影響

反町 勝 (愛媛大, 医, 第一生理)

ノルアドレナリン性ニューロンである青斑核に局在する合成酵素の一つであるチロシン水酸化酵素 (TH) 蛋白の合成は、レセルピン投与により著明に増加する。今回この機構にシナプス活動の関与する可能性を検討した。遠心性線維の束である背側束を脚間核中央のレベルで電気的に破壊すると、青斑核において TH およびドーパミン・ベーター・水酸化酵素活性の減少が見られたが、レセルピンによる TH 酵素誘導はほとんど影響が見られなかった。そこで吻側より青斑核に入力すると報告されている、いくつかの核を電気的に破壊した。視床下部外側部, 黒質, 楔状核の焼灼ではレセルピンによる反応は消失しなかった。他方、セロトニンニューロンである縫線核の焼灼により 5, 8 日後に TH 活性の増加が見られた。レセルピン投与は、さらに TH 活性を増加させた。さらに未知の求心性ニューロンの吻側よりの入力を断つ目的で脚間核中央レベルで背側より腹側にナイフを通し半側を切断したが、これによっても反応は消失しなかった。レセルピンによる誘導機構にシナプス活動が関与すると仮定するならば、少くとも脚間核より吻側のニューロンからの求心性線維は含まれていないと考えられる。

20. 赤血球の変形能に関与する要因. I. 毛細管吸引法による変形能測定

志賀 健, 前田信治, 昆 和典, 須田武雄, 関谷美鈴 (愛媛大, 医, 第二生理)

赤血球の変形能を定量化する方法は大別して 3 種類あるが、それぞれ測定できる物理量が異なっている。われわれは変形能と膜の物性との関係に興味を持っており、したがって、膜の物性との相関が高い手技として毛細管吸引法の一変法を考案した。先端部内径約 $3 \mu\text{m}$ の硝子毛細管を用い、 $5 \sim 30 \text{ cm H}_2\text{O}$ の陰圧で、血球計算板上のヒト赤血球を 1 個ずつ吸引する。同時に $5 \times 10^{-9} \text{ A}$ 通電し、赤血球が毛細管先端部を占めているときの電導度変化を連続的に記録する。電導度変化の初速

度は主として膜の粘弾性と内容物の粘性に支配され、電導度低下期間は主として赤血球容量と膜-壁間摩擦に関係する。(両者の相関係数は、0.7程度であった。)初速度は赤血球毎に異なるが、その変動は正規分布にしたがっている。吸引圧と初速度は比例する。したがって、変形能に関する指数をうるため、1個の毛細管を用い異なった試料中の多数の赤血球について吸引初速度を測定すればよい。たとえば、流血中の老・若赤血球を比較して、老化赤血球における変形能の低下・脂質膜流動性低下(スピラベル法)・浸透圧脆弱性増加・解糖系活性低下および血色素-酸素結合力増加を認めた。

21. 重合化ヘモグロビンの諸性質

前田信治, 昆和典, 関谷美鈴, 須田武雄, 志賀健(愛媛大, 医, 第二生理)

ヒトヘモグロビン(Hb)分子は生理的には赤血球内で4量体- $\alpha_2\beta_2$ -として存在するが、膜固定剤として知られる glutaraldehyde (GA) を作用させると、重合化 Hb 分子を形成することが溶血液の sephadex G-200 ゲル濾過によりわかった。この現象を Hb 溶液について検討した結果、1) 重合化の程度は Hb および GA 濃度に依存し、高濃度での相互の作用はゲル化を起す、2) 重合化分子は澱粉ゲル電気泳動で不均質帯を形成する、3) ゲル濾過法で推定する限り、この分子は少なくとも約50万の分子量を有する、4) 可視および紫外外部吸収スペクトルでは正常分子との間に差が認められない、5) 反応性 SH 基はわずかに減少している、6) 沈降速度法による Schlieren 像は非対称な $S_{20,w}=2.1$ 成分(正常分子の $S_{20,w}=4.2$ S)のピークが時間と共に消滅沈降するがごときパターンを示す、ことがわかった。重合化分子の酸素平衡機能を解析の結果、1) 酸素親和性の著しい増加、2) ヘム間相互作用の著しい低下(Hill plot では n 値の異なる成分が混在)、3) Bohr 効果の減少、4) 2, 3-DPG 効果の減少、を認めた。以上の結果は、GA により形成された重合化 Hb 分子は $(\alpha_2\beta_2)_n \rightleftharpoons \dots \rightleftharpoons \alpha_2\beta_2$ 平衡状態にあり、しかも非常に複雑な conformation をとっていることを示唆している。

22. ピクロトキシンによる K 拘縮増強の濃度効

果

竹田公久(鳥取大, 教育, 生理)

本年度生理学会大会でウシガエル縫工筋小線維束の高濃度(5 mM)ピクロトキシンによる K 拘縮増強作用を報告したが、1.5 mM ピクロトキシンでは K 濃度-張力曲線において K 拘縮閾値、発生張力とも明白な増強作用は認められなかった。2 mM では高 K 濃度で K 拘縮が増強された筋標本と、明白な増強が認められなかったものがあった。3 mM では K 拘縮閾値には顕著な影響はみられなかったが、閾値以上の K 濃度-張力曲線の勾配が明白に増大した。以上の結果からピクロトキシンによる K 拘縮増強の閾値は約 2 mM と考えられ、ピクロトキシンによる K 拘縮増強作用は高濃度では閾値の低下と、閾値以上での K 濃度-張力曲線の勾配の増大、つまり単位脱分極あたりの発生張力の増大という二つの作用様式によってのに対し、低濃度では主として後者の作用のみによることが明らかになった。演者が以前行なった膜電位固定法による局所的脱分極の収縮閾値に対するピクロトキシンの作用でも比較的長時間の脱分極による場合は同様な濃度効果が認められており、通電による局所的収縮と K 拘縮という実験条件に違いがあってもピクロトキシンが一貫した収縮増強効果を示すことが結論される。

23. ウサギ洞房結節静止電位の微小振動電位

入沢宏, 野間昭典(広島大, 医, 第一生理)

種々の条件下で洞房結節の自発放電が停止すると、-30ないし-40 mV の静止電位が出現する。この静止電位を交流増幅器を用いて増幅すると、約 1 mV 内外の振動電位がつづき、膜は完全には静止しない。この微小電位は心房筋よりも洞房結節細胞の方が大きい。振動電位は外液の Na を完全にとり去っても存在し、その振幅はむしろ大きくなる。振動電位は外液の K をなくすと大きくなるが、その濃度を高めると振幅は減少する。また、外液の Ca をなくすと振幅は減少し、その濃度を高めても再び振幅は減少する。10~20 mM の濃度では、振幅はまし時には閾下振動(5~10 mV)に移行する。これらの振動は膜電位を一定のレベルに固定した場合、電流の変化としてみられる。膜電流の振動は 20 mM Ca 作用下で大きく

なり、ウァバイン作用下で極大となる事から、膜電位に依存しない何らかのイオン流の変化が関与していると考えられる。自律神経終末から遊離されるアセチルコリンやノルアドレナリンなどは振動電位の大きさを変動させるがブロッカーの作用後でも存続することから、これら物質は直接リズム生成には、関係ないと考えた。

24. ウサギ洞房結節細胞の静止電位におよぼす Na, K および Cl の作用

瀬山一正 (広島大, 医, 第一生理)

この細胞の静止電位は、大約 -30 から -50 mV の範囲にあり、正常 Na^+ 存在下で外液 K^+ 濃度変化に余り反応を示さない。この事から K^+ 以外に Na^+ および Cl^- の関与の大きい事が示唆される。Na, K, および Cl^- はおのおの濃度電池を構成し、それらが膜を介して並列に存在すると仮定した。先ず Cl^- の関与を消去する目的で、 Cl^- を2.1倍透過性の高い SCN イオンにて置換した。その結果 anion の分布は完全に受動的となったと仮定し、その時の膜電位から K と Na の膜伝導度の比を計算した結果 1 : 0.58 となった。Cl⁻ の半分の透過性を有する acetate を不透過の anion と仮定した。強力な electrogenic Na-K pump の影響を除去するために、実験は無 Na 環境中で行なわれた。種々の割合に Cl^- を acetate に置換すると一過性の脱分極を生じた。Cl⁻ 濃度の10倍変化に対し -6.8 mV 膜電位は変化した。一方無 Na, 一定 Cl 濃度の環境下で K^+ 濃度10倍変化に対し、膜電位は 44 mV 変化した。この結果 K と Cl の膜伝導度比は、Hodgkin & Horowicz (1959), Brown, Walker & Sutton (1970) の関係式より 1 : 0.15 と計算された。以上の結果からウサギ洞房結節静止電位は主として K^+ および Na^+ により維持され、Cl⁻ の関与は、全膜伝導度の約 9% にしか過ぎない事が解った。

- 1) Hodgkin, A. L. & Horowicz, P. (1959) J. Physiol. **148**, 127
- 2) Brown, A. M., Walker Jr, J. L. & Sutton, R. B. (1970) J. Gen. Physiol. **56**, 559

25. イガイ平滑筋における haloperidol の弛緩抑制効果

宗岡洋二郎, 柴 芳樹, 菅野義信 (広島大,

歯, 生理)

イガイ足糸前牽引筋の特異的持続性収縮 catch は、弛緩神経性伝達物質 serotonin によって弛緩するばかりでなく、他の indoleamine およびその類似物質や dopamine などの catecholamine およびその類似物質によっても弛緩する。これら弛緩物質の作用部位は弛緩神経終末部と筋細胞側の弛緩性受容体に大別でき、さらに、受容体への弛緩物質の結合には serotonin 型結合と dopamine 型結合が考えられている。強力な dopamine 拮抗物質として知られている haloperidol (10^{-4} M) は興奮神経電気刺激による収縮は抑制しないが、弛緩神経電気刺激による弛緩を完全に抑制する。しかし、外液に加えた serotonin による弛緩に対しては抑制効果はなく、逆にこれを増強する。最大弛緩をもたらず濃度よりやや低い濃度の各種弛緩物質による弛緩に対する効果を調べてみると、tryptamine 弛緩は部分的に、他の indoleamine (gramine) とその類似物質 (ergotamine) や catecholamine とその類似物質による弛緩はすべて完全に抑制されることがわかった。本薬物は serotonin 遊離を阻害すると共に、dopamine 型結合をも阻害し、上記弛緩抑制をもたらずと考えられる。また、本薬物による serotonin 弛緩増強は serotonin 不活化の抑制による可能性が考えられる。

26. カエル摘出半規管の adaptation について

原田康夫, 平田賢三 (広島大, 医, 耳鼻咽喉)

トノサマガエル摘出後半規管を用いて、cupula の偏位を control する事のできる刺激装置を作成し、後膨大部神経小枝より活動電位を記録した。今回われわれは phasic component の性質について検討を行なった。Phasic component の反応は刺激の強さの対数に比例しており、Weber-Fechner の法則によく一致する。刺激の変化速度 dl/dt と phasic component の反応との関係は、刺激の変化速度の増大と共に反応の増大がみられるが、刺激の変化速度が 1.3 mm/sec 以上に達する phasic component の反応は飽和に達した。クブラの偏差が 23μ となる持続刺激を与えると約 8 秒の時間経過で adaptation を生じた。クブラの偏位が 23μ となる刺激を 1.3 秒間の刺激時間で反復すると刺激間隔をせばめて行くと phasic

componentの反応低下がみられたが、クブラの偏位が 7.5μ となる刺激に、さらにクブラの偏位が 15μ となる刺激を adaptation の色々な時期に重ねると、追加刺激に対し、phasic component はどの時期にも同じ反応を示した。したがって、閾値の異なる phasic component を生ずる receptor が存在すると考えられる。

27. 神経性ガストリン分泌と胃液分泌促進反応について

長尾由尚, 藤井一元 (広島大, 医, 第二生理)
先きに著者らは、神経性ガストリン分泌は、迷走神経を介して生ずるのみならず、内臓神経中の腹腔神経節でニューロンをかえない神経を介しても生ずることを報告した。今回は、これら両神経の興奮によって分泌されたガストリンによる胃液分泌促進機構について報告する。実験には、Nembutal 麻酔, gallamine 無動化イヌを用いた。血中ガストリンは radioimmunoassay で測定し、これと、胃体部および Heidenhain pouch の胃液分泌との関係について検討した。血中ガストリンは、神経の刺激中から増加しはじめ、刺激終了25~35分後に最高値を示した。胃液分泌量は、刺激中著明に増加し、刺激終了後一時回復したが、血中ガストリンが高値を示す時期に再び増加した。刺激終了後の胃液分泌促進反応は、幽門前庭部、十二指腸内腔の酸性化によって、抑制または消失した。

28. 胃筋条片の伸展性におよぼす外来神経切断の影響について

池田禎仁, 錢場武彦* (広島大, 医, 第二外科・第二生理*)

胃壁の tone におよぼす外来神経切断の影響を検討する目的で、ネプタール麻酔を施したイヌを用いた急性実験および外来神経切断後3カ月間の慢性実験を行った。胃体部前壁に、血流および神経支配がほぼ無傷な、 $1 \times 3 \text{ cm}$ の大きさで、 $1 \sim 2.5 \text{ g}$ の重さの筋条片を作成して、 35°C の恒温槽中で、1分毎に、 $10 \text{ g} \cdot 20 \text{ g} \cdot 30 \text{ g}$ の負荷で伸展した時の筋条片の伸展性を検討した。その結果、急性実験では、迷走神経と内臓神経のいずれを先きに切断しても、対照に比べて、筋条片の伸び率や弾性および粘性が低下して、静止時張力が

増加し、胃壁の伸展性が低下した。さらに両外来神経切断後には、より伸展性が低下した。慢性実験でも、同様な傾向が認められた。したがって、外来神経切断後の胃内圧上昇の機序は、迷走神経と内臓神経とをそれぞれに反射経路とする receptive relaxation 機序の消失により、胃平滑筋の伸展性が低下して、静止時張力が増大して、胃壁の tone が上昇するためと考えられ、迷走神経と内臓神経は共に、同じような支配の程度で関与している。また、これらの変化は、少なくとも外来神経切断3カ月後までは持続する事が明らかとなった。

29. モルモットの排便反射における上位中枢の影響

柘屋俊昭, 高木 都, 中山 沃 (岡山大, 医, 第二生理)

モルモットの排便は、基本的には壁内神経叢を介する局所反射によって充分におこる (中山ら, 1976)。一方、イヌでは脊髄反射のみでは不十分で、橋排便反射中枢の関与が不可欠だという主張がある (岡田ら, 1976)。そこでモルモットの排便に対する脊髄反射の機能およびそれに対する上位中枢の影響について検討した。仙髄後根 (S1~S3) を30秒間刺激 (20 Hz, 1 msec, 8 V) すると、直腸に強力な収縮 (大体 $100 \text{ cmH}_2\text{O} \sim 200 \text{ cmH}_2\text{O}$) がおこった。L1あるいはL2で脊髄を横断すると、最大収縮圧は2例ではそれほど減弱せず、4例では50%以下に減弱した。次に脊髄横断のショックによる影響を避ける為に、Th 11~12で脊髄を冷却遮断して比較した。その結果、収縮圧は67~88%に減弱した。脊髄横断時に比して、減弱の度合ははるかに少なかった。以上の結果からモルモットの脊髄反射による直腸運動の亢進効果は、脊髄遮断によりある程度減弱すること、したがって上位の中枢から、イヌに比して軽度ではあるが、促進的影響を受けていると考えられる。さらに、本実験において、脊髄反射が強力におこったこと、中山ら (1976) の報告とをあわせ考えると、モルモットの排便には、粘膜内反射が生起すれば充分であろうが、さらに脊髄反射が、これを促進すると考えられる。

30. Caerulein の十二指腸運動抑制について

山里晃弘, 水谷雅年, 中山 沃 (岡山大, 医, 第二生理)

Caerulein はイヌの胆嚢, および大部分の小腸運動を高進させるが, oddi 括約筋およびその周辺の十二指腸筋の運動を抑制する。この抑制作用は筋直接作用か, あるいは反射効果であるかについて検討を行なった。胆嚢および十二指腸運動は balloon 法および活動電位で記録した。迷走神経の頸部および肝臓枝のみの切断および大内臓神経の切断はこの抑制反応に対して何んら効果はなかった。あらかじめ胆嚢を除去した例では抑制効果は現われず高進効果のみであった。また胆嚢除去例での腹腔動脈への投与は下行十二指腸を高進させた。腹腔および上腸間膜動脈神経節の除去例では高進効果を示したが, 初期わずかに抑制の残る例もあった。Caerulein 投与による下行十二指腸の抑制は atropine, propranolol, phentolamine の投与では消失しなかったが, C_6 の投与によって消失した。胆嚢の電気刺激は十二指腸運動を抑制したが, 大内臓神経の切断によりこの抑制は減弱した。Atropine により電気刺激による効果が抑制に変わると十二指腸運動の抑制も起らなかった。以上の結果より, caerulein の十二指腸の抑制作用は腹腔神経節およびその近傍の神経節を介する反射であるが, 一部筋への直接作用もあるものと思われる。Oddi 括約筋への弛緩作用も同じ機序によるものであろう。

31. ウシガエルの排尿に対す腹筋の役割

内藤蔵夫, 岩田淳子 (川崎医大, 第一生理)

排尿機序についての比較生理学的な研究の一環として, 両棲類であるウシガエルの排尿について調べた。カエルでは, 排尿時に著しい腹筋収縮が認められるが, この腹筋収縮をおさえるために腹神経を切断したところ, 膀胱内に多量の尿がたまってきた。400~500g のウシガエルの腹神経を切断した後, 日をおって過宜開腹して膀胱内の尿量を測定したところ, 神経の切断後約60日以内では, 尿量は, 26~149 ml, 体重の 6~25% であった。これに対し, 腹神経をひとたび露出はするが, 切断は行なわなかった対照例の尿量は, 0.3~16 ml, 体重の 0.6~3.6% であった。また, 腹神経の切断後約60日を過ぎると, 腹筋に対する神経の再支配が認められるようになり, 期を同じくして, 膀胱

内の尿量も減少した。このような結果から, 腹筋収縮による腹圧の上昇が, 哺乳類の排尿では補助的な役割しかはたさないの比して, 両棲類のカエルの場合, 膀胱内の尿を体外に排出する原動力となっていることが, 明らかとなった。

32. 心筋の収縮に対する pH および緩衝液の影響

越智和典, 松村幹郎 (川崎医大, 第一生理)

ウサギの右心室乳頭筋の収縮に対する pH の影響を調べた。pH の調節には bicarbonate-phosphate, tris-maleate, histidine, HEPES の緩衝液を用いた。Bicarbonate-phosphate は溶液中の Ca の沈殿を生じ Ca 濃度を正確に保持することができない。Histidine または HEPES を使い, pH 4.0~10.2 の範囲で pH を増すと, 単収縮張力の大きさおよび最大立ち上り速度はともに増大する。外液 Ca 濃度 2.5 mM, 刺激頻度 6/分の条件では pH 9.4 の張力は pH 7.4 のその 1.9~3.2 倍に達する。Tris-maleate を使った場合も pH を増すと張力は増加するが, histidine と比べて張力の増加する割合が著しく, pH 9.4 において発生する張力は pH 7.4 のその 4.7~6.2 倍に達する。ただし, tris-maleate の場合, pH 7.4 で発生する張力は 0.1~0.2 g と histidine の場合の 0.3 g より小さい。刺激頻度を 60/分に増すと張力-pH 関係は pH の低い方向へ移動するが平行関係にはならない。外液中の Ca 濃度を増した場合も刺激頻度を増した場合とほぼ同様になる。pH を増した時の張力の増大の理由は, 膜を介して Ca が H と拮抗的に流入する機構によるとしても, それがすべてではなく, $C1$ コンダクタンスの減少あるいは細胞内 pH の変化が張力に関係していると推測される。

33. ウシガエルの胃・小腸よりリンパ心臓への反射について

山根正信 (川崎医大, 第二生理)

胃および小腸を加圧伸展すると, リンパ心臓の拍動は抑制される。両側迷走神経を切断すると胃よりの反射は消失するが小腸よりの反射は軽度ではあるが残存する。延髄の尾側端で脳幹を切断すると小腸伸展の抑制効果は促進効果に変化する。内臓神経の胃および小腸枝の切断中枢端をそれぞれ

れ電気刺激すると、リンパ心臓の拍動は一過性に抑制され、延髄の尾側端を切断するとこれらの抑制は促進に変化する。この場合、低頻度刺激 (1 Hz 以下) では刺激とリンパ心臓の拍動は 1 対 1 に対応する。刺激によって誘発された収縮とその次に生じる自発性収縮の間隔は自発収縮の周期に等しく代償性休止期は存在しない。一側の内臓神経切断中枢端の電気刺激に対する後リンパ心臓支配の神経の誘発活動の潜時は非常に長く、同側の刺激で約 320 msec, 反対側の刺激で約 640 msec であった。第Ⅳ第Ⅴ脊髄間で脊髄を切断すると、反射側の内臓神経の切断中枢端刺激による反射は消失する。この事実は内臓神経を介する促進反射では、求心性の興奮が直接にリンパ心臓の拍動中枢に作用し、リンパ心臓の拍動をひき起こし、さらに後リンパ心臓に対しては同側性の興奮は脊髄を下行して拍動中枢に作用するのに対して、反対側の興奮は 1 度脊髄を上行した後再び下行して拍動中枢に作用することを示している。

34. イヌの胃-大腸反射における橋排便反射中枢の役割

岡田博匡, 深井喜代子 (川崎医大, 第二生理)

胃の伸展刺激によって大腸運動の促進および抑性反射がひき起こされることが知られている。しかし、この胃-大腸反射に対する橋排便反射中枢の役割については明らかにされていないのでこの実験を行なった。その結果の概要はつぎのようである。1. 無麻酔・除脳イヌの胃幽門部, 胃体部の伸展刺激によって骨盤神経直腸枝の遠心性発射は 36 例中の 34 例で増加し, 他の 2 例で減少した。他方, 遠位結腸の運動は骨盤神経の発射増加例で促進または抑制される。2. 胃伸展による骨盤神経発射の反射性増加は迷走神経および内臓神経を求心路として起こる。また, この反射反応は下丘の下端の高さで脳幹切断後もなお存続するが, さらに橋中間部の高さでの切断後には消失し, 遠位結腸への促進反射も消失する。3. 横隔膜上部で胸部迷走神経前枝, 後枝および頸部迷走交感神経幹の切断中枢端の頻数刺激によって骨盤神経直腸枝の遠心性発射の増加がひき起こされる。この効果も橋中間部の高さで脳幹切断後, 完全に消失する。4. 上述の実験結果より, 橋排便反射中枢は迷走神経および内臓神経を求心路とし, 骨盤神経

を遠心路とする胃-遠位結腸促進反射の発現に重要な役割をなしていると結論されるであろう。

35. ラット肝上清中に存在する細胞増殖因子および促進因子について

倉光 誠, 板野俊文, 高橋史生, 島瀬 修, 西田 勇 (岡山大, 医, 第一生理)

ラット正常肝上清を, エタノール分画法によって, 45%飽和画分, 70%飽和画分, さらにその上清, の三つの画分に分けると, 45%画分と, エタノール上清画分に, L₉₂₉ 線維芽細胞の増殖を抑制する因子が存在し, 70%画分には促進因子が存在していることが確認され, すでに報告した。45%画分に存在する抑制因子は, kinetical な系により, 直接的に DNA 合成を抑制することが確認された。また同時に, RNA 合成抑制効果も, わずかに認められ, 45%画分には, 抑制因子が複数存在する可能性が示唆された。45%画分に存在する抑制分子は, 肝部分切除後, 24時間にピークをもつ DNA 合成に対しても抑制効果をもつことが in vivo 系で確認され, in vivo においても, DNA 合成を直接的に抑制することが確認された。このことから, この因子が, 肝細胞増殖制御因子の 1 員である可能性が, 強く示唆される。45%画分に存在する抑制因子のうちの一つは, エタノール上清画分に存在する抑制因子と, 共通であることが, SDS-PAGE により示唆され, われわれが報告してきたコルニンの相関性について同定を含めて検索, 考察した。

36. ラット肝小胞体画分より分離される細胞分裂抑制因子について

稲葉耕三, 土井昭孚, 西田 勇 (岡山大, 医, 第一生理)

前回にはラット肝の小胞体および核画分より分離された 4S RNA 画分が, とともにマウス由来の L 細胞の増殖を顕著に抑制することを報告した [日本生理誌 39, 140 (1977)]. 今回はこの細胞分裂抑制能を有する肝小胞体画分より分離した RNA (mh RNA と呼称) を低温下で酸抽出すると, 酸可溶性区分 (mh-AS) に L 細胞の増殖に対する抑制活性が観察されること, さらにこの mh-AS 画分の精製およびその化学的性質について検討を加えたので報告する。mh AS 画分の増殖抑

制活性は Dowex 1 でカラムクロマトを行なうと、蒸溜水で溶出される画分 (mh AS-1) に大部分回収され、その増殖抑制能は mh RNA の比活性に較べて約 100 倍高い。次にこの mh AS-1 画分をセファデックス G-10 のカラムで分画すると六つの画分 (それぞれ mh AS-1-a ~ f と呼称) がえられ、このうち L 細胞の増殖に対する顕著な抑制活性は e 画分に観察された。e 画分の 50% 増

殖抑制添加量 (ID_{50}) は 0.006 吸光度単位/ml であり、5-フロウラシル ($1 D_{50} = 0.012$) より約 2 倍活性が高く、また肝小胞体の最初の熱食塩水抽出物の比活性に比較するとほぼ 2,000 倍高いことを示す。この mh-AS-1-e 画分は 263 nm に λ_{max} , 245 nm に λ_{min} を示し、分子量 300 前後の塩基の 1 種と推定される。



〔会報〕

昭和52年度科学研究費補助金の審査、配分について

東京都神経科学総合研究所
佐藤昌康

昭和52年度の科学研究費補助金の医学および生物系審査会は52年4月末から5月始めに開催され、第一段審査委員の評点に基づき、第二段審査委員の合議により、総合、一般、奨励、試験研究に関する採択課題が決定された。その結果は、すでに「学術日報」増刊号、「昭和52年度文部省科学研究費補助金の配分結果」に集録、発表されているが、その結果を要約しておく。

52年度の科学研究費補助金の予算総額は226億円（前年度の16%増）であるが、生物系および医学の各研究費種目の申請課題数、採択課題数などは表1のとおりである。また各研究費種目の生理

学関係分は表2のとおりである。一般研究(A)、(B)、総合研究(A)においては、平均より高い比率で研究課題が採択される結果になっている。表2で、各研究費種目の採択課題数に細目間でバラツキがあるのは、申請件数に比例して採択件数を決定したからである。

なお審査会においては、申請課題数に応じて採択課題数が決定されることに注意すべきである。また下記の場合は自動的に採択を拒否されるので留意する必要がある。一般研究と奨励研究との重複申請、研究設備購入のための経費が申請経費の90%を超える場合。

表1. 昭和52年度科学研究費配分結果（生物系，医学）

		申請件数	採択件数	採 択 率 (%)	配分予定額 (千円)	課題当配分額 (千円)
生物系 医学	一般研究 (A)	317	81	25.6	986,300	12,177
	〃	231	59			
生物系 医学	一般研究 (B)	1,680	381	22.7	1,369,800	3,595
	〃	1,227	241			
生物系 医学	総合研究 (B)	61	25	41.6	37,300	1,492
	総合研究 (A)	165	55	33.0	175,710	3,195
〃	一般研究 (C)	2,668	521	19.5	787,050	1,511
〃	一般研究 (D)	1,864	328	17.6	137,700	420
〃	奨励研究 (A)	2,196	634	28.9	208,600	329
〃	試験研究	717	192	26.8	415,920	2,166

表2. 昭和52年度科学研究費配分結果（生理学）

	細 目	継 続	新規申請	採 択	割 当 額 (千円)		
一般研究 (A)	712 (生理学一般)	}	6	2	}		
	713 (神経筋生理)		7	2			
	714 (環境生理)		6	2			
一般研究 (B)	712	}	22	6	}		
	713		45	13			
	714		18	4			
総合研究 (A)	712~714	2	18	5	}		
一般研究 (C)	712		}	160		7	}
	713					16	
	714	8					
一般研究 (D)	712	}	96	6	}		
	713			7			
	714			3			
奨励研究 (A)	712	}	124	11	}		
	713			15			
	714			10			
試験研究	712~714		56	15			

第27回国際生理科学連合大会および其他の事業報告

生理科学研究連絡委員会

委員長 勝 木 保 次

第27回国際生理科学連合 (IUPS) 大会は1977年7月18日より23日に至る6日間パリー大学で開催された。本大会に出席した人は62ヶ国におよび、登録した正会員数は4,460名におよんだというから、同伴会員を加えると5,000名を越えたと思われる。我国から参加した正会員数も269名に達した。その中20名に参加援助費が与えられた。

I. 開会式はソルボンヌの大講堂で行われ、内部の柱の上には創設者のソルボンヌの他 *Dés-cartes* や *Lavoisier, Pascal* などこの国の科学の先達の像がずらりと並んで下を見下している様子は、流石にこの国の過去の偉大さを示し、威圧される思いであった。大統領の出席が予定されていたが、都合でこれれず文部大臣の挨拶があり、大会長は海洋生物学者の *M. M. Fontaine* 教授で、開会式の講演は米国 *Tufts* 大学長 *M. T. Mayer* 博士の *The Physiology of Nations: Nutrition and stages of development*, と題するもので、会期中の公開講演としては米国 *Durham* の *M. K. Schmidt Nielsen* 博士の *Physiological and cultural adaptation to life in deserts* と *Canada Québec* の *M. T. Leblanc* 博士の *Adaptation to cold climates*, 23日の閉会式も同じ場所で厚生大臣の *Madame S. Veil* の挨拶の後西独ハイデルベルグの *M. H. Schaefer* 博士の *Physiology, Medicine and Society* と題する講演があった。

何れも医学、生理学と社会や環境との関係が論ぜられたのが目立った。

学会の主会場は *Jussieu* のパリー大学校舎の18の講堂で最初の2日間には68の招待講演が行われ、東大伊藤正男教授の「眼球運動制御の小脳性機構」と順天堂大医学部の竹内昭教授の「無脊椎動物に於ける神経性伝達物質としてのアミノ酸の作用」の講演がその中に入っていた。

後半の3日間はこれらの講堂の他、自然科学博物館や医学部のある *Pitie-Salpetriere* の10講堂も加え、12分科の自由口演発表やポスター、100の特別課題の円卓討論が行われた。

東大薬理の江橋節郎、京大霊長研の久保田競、

京大医の佐々木和夫、山口大生物の千葉喜彦の諸博士は円卓討論の座長を勤められた。

このようにして2,500題の発表が処理されたのであった。

尚学会終了後26の本大会衛星シンポジウムが仏国内で16が、10が近傍の国で開催された。これは前大会時、開催国以外の国であり多くの会合が持たれた事に対する批判に答えたためであった。

II. 大会の直前7月16日には連合の理事会が開われ、i) 各国の分担金値上げが議せられた。この理由は世界的な物価騰貴のため、連合の正常な業務遂行が不可能となった為で、米、英、仏、西独、日本、スカンデナヴィア諸国などに対し、特に値上げが望まれた。現在多くの石油産出国には尚学会の組織が充分でなく、一方で連合として調査支援が続けられている。我国の毎年の分担金は現在\$1,500であり、連合の事務総長 *G. A. B. Kovach* 氏より\$3,000に値上げしてほしい旨の手紙が来ている。日本学術会議に増額について折衝中である。ii) 21の *commissions* の改編が行われ、その中6 *commissions* の委員長が交代した。口腔生理学の *commission* の委員長に大阪大学河村洋二郎教授が選ばれた。また新たに *Microcirculation and capillary transport, Gastro-intestinal physiology* および *psychophysiology* の3 *commissions* が認められた。

III. 連合 (IUPS) の総会が7月17日 *Barry* 大学 *Jussieu* 校舎で各国代表70名が出席して行われた。我国よりは伊藤正男、勝木保次、高木健太郎、竹内 昭、内菌耕二代表が出席した。

議せられた主な事項は i) *ICSU* (国際科学ユニオン委員会) が1963年決議した「科学者の自由交流」およびその後引続決議された各国からの学会への出席に関する問題で、学会への政治的介入の排除が主題であり、本大会への出席について仏国政府は何れの国からの出席希望者にも入国査証を与え、問題がおこらなかった。尚本年9月ハンガリー国ブタペスト市で *ICSU* 総会が開かれるの

で、その決議を待って最終的決定を下す事になった。

これに関連して第28回大会を開催する予定になっているハンガリー国生理学会から、如何なる個人も、学会出席の為の入国許可申請を適当な時期に行えば、人種、宗教、政治哲学、民族的家系、市民権、言語、性別などの理由から本大会への出席を妨げられる事はないという保証を書類で提出して、大会開催が1980年8月4～10日の間に行われる事が決定した。

尚第29回大会開催予定国としてオーストラリアが決定した。1983年シドニー市において開催される予定である。

ii) 1977～1980年の間の執行部は現在のまま理事は10名中2名は任期満了にて交代、新しく D. Denton (オーストラリア), A. Trzebski (フィンランド) が選ばれた。

iii) 発展途上国の基礎科学教育について IUPS

と IUPSB (International Union of Pure and Applied Biophysics) と協力する事について ICSU に要望した。

iv) IUPS 理事会は米国生理学会と共同して万国生理学者名簿を作成し、その第1版が7月できあがった。今後その完成が逐次行われる予定である。会員は1部 \$ 6.50 にて入手できる筈である。

v) 講演会 本年3月31日1970年 Nobel 賞を受賞した英国の Bernard Kalz ロンドン大学生物物理学教授の来期を期し、京都市京都会館で日本生理学会その他と共催にて、「神経伝達物質の放出とシナプス小胞仮説の現状」について講演会を開いた。講演の全訳は雑誌「生体の科学」27巻6号に掲載された。

尚1978年1月14日には筑波大学会館ホールにて「行動の生理学」と題して公開講演会を開催、生理科学研連と筑波大学公開セミナーとの共催で行われる。

[お知らせ]

第9回 (昭和53年度) 三菱財団自然科学研究助成応募要項

1. 助成の趣旨：自然科学の基礎分野における重要かつ独創的な研究を助成して、わが国基礎科学部門の一層の向上、発展を期待するものであります。

本年度は下記の分野を重点的に助成の対象とすることにいたします。しかし、その他の分野における研究も、勿論選考の対象から除外するものではありません。また、この助成金は研究達成のためにもっとも有効に使用されるようにいたしたいので、その用途はとくに制限いたしません。

2. 重点対象分野

- (1) 非線型現象の基礎的研究
- (2) 無定形物質系の基礎的研究
- (3) 極低温における物理現象とその応用に関する基礎的研究
- (4) 化学および物性分野における新しい着想、新測定方法による研究
- (5) 破壊の機構に関する研究
- (6) 発生および分化に関する基礎的研究
- (7) 生物現象に直接関係する新しい有機化合物

物の研究

- (8) 遺伝と環境の相互作用による疾患に関する基礎的研究
- (9) 臓器の機能的構築に関する基礎的研究

3. 助成の金額と期間

イ. 金額：総額 約1億1千万円 1件2千万円以内 (本年度は10件程度を目標とします)

ロ. 期間：1年を原則とします。研究計画の都合上継続を必要とする場合は、毎年提出された申込書にもとづき選考いたします。

4. 応募方法：当財団所定の申込書に必要事項をご記入のうえ、正1通、副1通 (コピー) を当財団宛ご送付願います。申込書用紙はご請求あり次第お送りいたします。

5. 応募締切日：昭和53年5月31日 (水) 必着

6. 選考方法：下記委員からなる選考委員会において選考のうえ、9月中旬開催の当財団理事会で決定します。

藤井 隆 (委員長), 柴田承二, 秋田康一, 高木

佐知夫, 飯島宗一, 橋口隆吉, 岡村総吾, 山本正, 久保昌二 (敬称略)

7. 助成金の贈呈: 昭和53年10月19日 (木)

8. 申込書送付先: 財団法人 三菱財団

〒100 東京都千代田区丸の内2丁目5番2号
(三菱ビルディング15階)

電話 東京 (03) 214局 5754番

(注)

- (1) 1件当たりの助成金額は最高2千万円といたしますが, この助成はいわゆる総合研究を対象とするものではありません。また, 研究の性質上比較的小額で足りるものも考慮の対象といたします。
- (2) 助成金の使途は制限いたしませんので, 通常の設備費, 消耗品, 旅費等はもちろん, とくに研究に必要な場合は, 研究補助者への謝金等の項目も申込書に含めることができます。ただし, この場合は, 当該研究者個人の責任において運用上の処理をされることが必要であります。

(3) 助成金は贈呈決定後の1年間に使用することを原則とします。

(4) 助成金を受領した後, 申込書の記載と異なる使途に充てる必要が生じた場合は当財団の承諾を得ていただきます。

(5) 当研究助成金の受領者に対しては, 研究の経過, 研究の結果および助成金の使用状況についての報告を求めるほか, とくに条件はつけません。

(6) 応募に際しては, 代表研究者が, 当該研究が行なわれる主たる大学・研究所等の機関長から, この研究助成を申込むことについての承認を得てください。

(申込書の末尾の書式による)

また, 他機関に属する協同研究者の参加が必要な場合には, 代表研究者が, 協同研究者の所属する機関長の了承を予めとりおき願います。

詳細については, 日本生理学会事務局又は大学事務局にお問い合わせ下さい。

【編集後記】

生理学会会員名簿印刷に追われて本号の初校が少々遅れぎみになっていますが, これは会員名簿の原稿出来が大巾に遅れてしまった皺寄せが現われたともいえるでしょう。

1号編集後記であるから“新年 明けましておめでとうございます”と晴れ晴れしく筆を走らせようと思いましたが, 本誌編集子の立場からすると必ずしもそうとは云っておられない気持ちです。会員名簿作製カードの刷り込み様式, 締切期日など技術的判断の甘さと云ったものが重なったとはいえ, 原稿が予定通り集まらなかったことは, 本

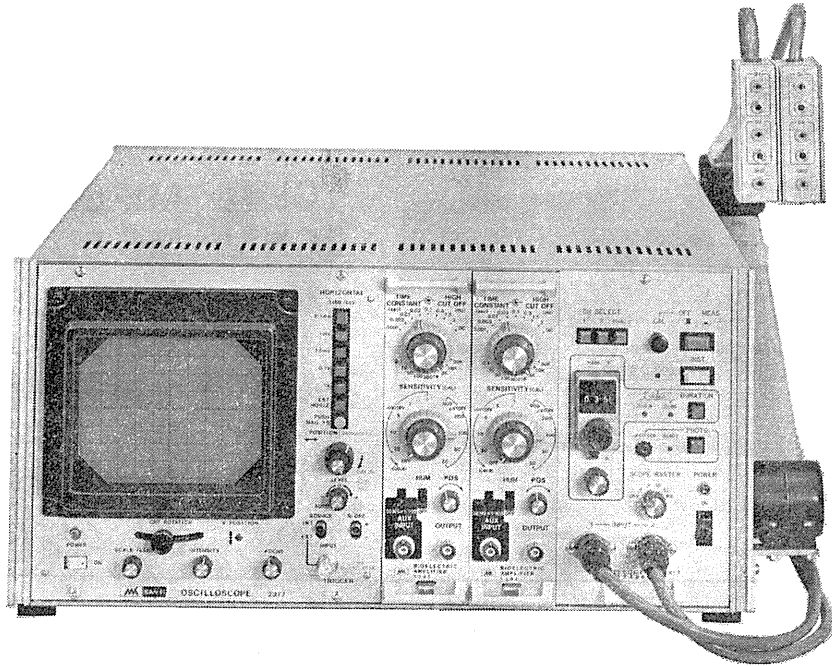
誌を配本と同時にご覧いただけない事が多々あるとする理由であるとすれば編集委員会としては大変無責任な行為をしている事といえます。限られた予算の枠内で, しかも原稿投稿の会員には大変ご迷惑を掛けながらの編集である為, 飛びついて頁を繰って見ようとするチャーミングな学会雑誌に仲々できない事が, 編集幹事を中心に委員の頭を痛めるところです。本誌が会誌としての機能を保っている以上, より会員に読まれる工夫は如何にされたら良いか, 関係幹事だけでなく全会員の問題意識が高まることを再度考えて見てはどうであろうか? (酒井敏夫)

— 編 集 委 員 —

塚田 裕三 (幹事)	入内島 十郎	酒井 敏夫
植村 慶一	戸塚 武彦	大島 知一
村田 計一	菅野 富夫 (北海道)	星 猛 (東北)
新島 旭 (関東)	角 忠明 (中部)	品川 嘉也 (近畿)
及川 俊彦 (中・四国)	河田 溥 (九州)	

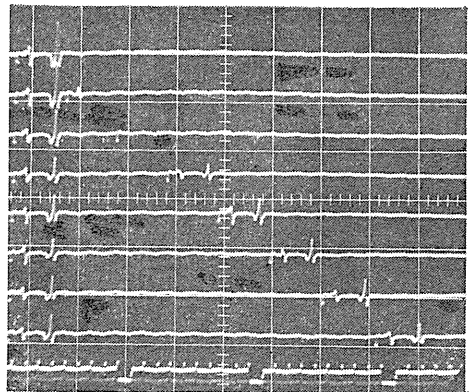
神経や筋などの生体電気現象の正確な測定に NEW メディカルオシロスコープ

311



生理学の実験研究に画期的な特長

1. ジャンクションボックスに高入力インピーダンス (100M Ω)、低雑音のヘッドアンプ(ゲイン20倍)を内蔵していますので、信号を正確にとらえ、誘導障害を最小限に押えられます。
2. ブラウン管上にラスタ方式で最大64本までの輝線を表示でき、写真撮影により測定中の一連の経過が一目でわかります。
3. ブラウン管上で波形の任意の間隔をダイヤル目盛から直読できます。(0~9.9ms、0~99ms)
4. プラグイン式生体用アンプを2チャンネル内蔵、1チャンネルを刺激コントロールユニット(オプション)と差しかえることにより刺激の自動コントロールによる反応測定が可能です。



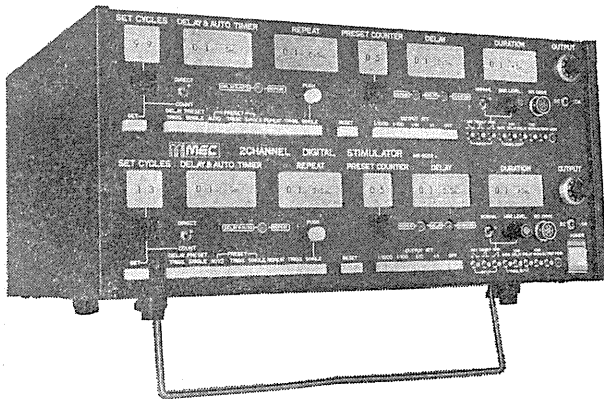
明日の健康と福祉を守る

SAN-EI 三栄測器

本社 東京都新宿区西大久保2-223-2 〒160 ☎03(209)0811代表
工場 東京都小平市天神町1-57 〒187 ☎0423(41)0821代表

電気生理現象の研究に 豊富な機種をそろえています

100%の再現性とすぐれた操作性



デジタル刺激装置

1CH型 ME-6011

2CH型 ME-6022

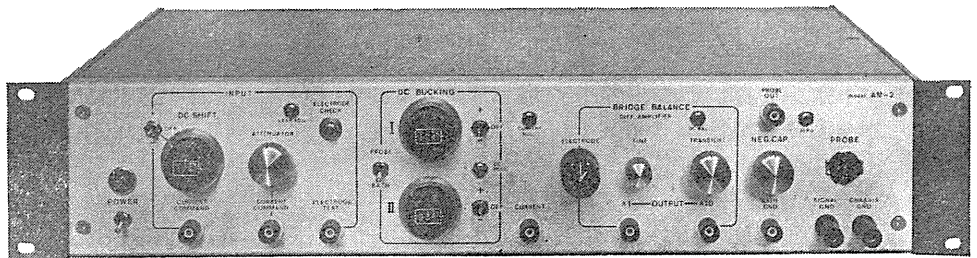
水晶発振器をもとに出カパルスの間隔や持続時間などすべての数値設定をデジタルスイッチでおこない、100%の再現性をもつ高精度刺激装置です。遅延および自走タイマーの設定値が $10\mu\text{sec}$ ~ 9900sec と非常に広い、などすぐれた特性をもっています。

刺激通電も可能・幅広い応用力 微小電極用増幅器

ME-3211

ME-3221 DCシフト 2CH DCバックリングつき

入力インピーダンスが $1 \times 10^{12} \Omega$ と大変高く、 1000Ω まで各種の電極が使用できる特長をもった微小電極用の増幅器です。高級形のME-3221は色素注入ができ、分極補償電圧と静止膜電位補償電圧が独立して測定できる2CH。DCバックリングつきです。

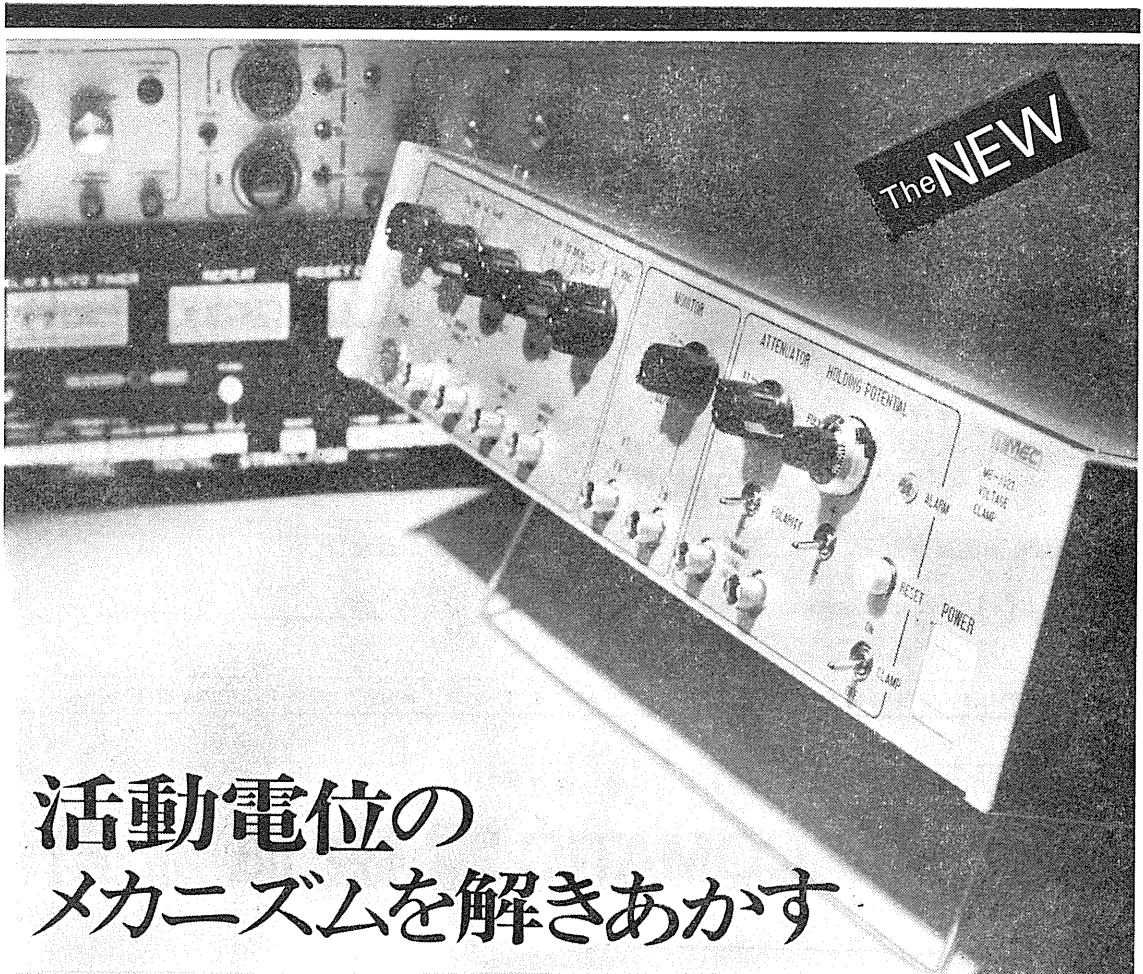


株式会社

エム・イー・コマーシャル

東京都杉並区上荻 1-15-13 柴ビル内 〒167 TEL 03(391)2203代表

※詳しくはカタログをご請求ください



活動電位の メカニズムを解きあかす

ボルテージクランプユニット ME-3321

Na・K・Caなど細胞の活動に重要な役割をはたすイオンの動きをさぐり、数ミリ秒のうちに起こる活動電位発生メカニズムを追求する膜電位固定法のための専用装置です

- 通電範囲が±130Vと広く、高抵抗の電極も使用できます。
- 2系統の入力信号を組みあわせ複雑な通電波形が得られます。
- 応答速度のはやい二重の標本保護回路つきです。

★関連装置

微小電極用増幅器 ME-3200シリーズ
細胞膜内外の電位差をとらえます。
3機種シリーズ。

デジタル刺激装置 ME-6000シリーズ
クランプ電圧波形をつくりだします。
3機種シリーズ。

※詳しいカタログを用意しています。ご請求ください。



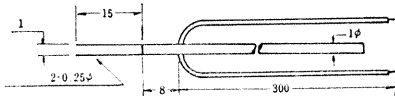
株式会社

エム・イー・コマーシャル

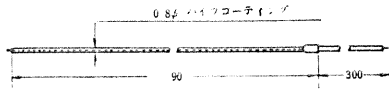
東京都杉並区上荻 1-15-13 柴ビル内 〒167 TEL 03(391)2203代表

生体現象導出・電気刺激に欠かせない MT技研社製 実験・研究用電極

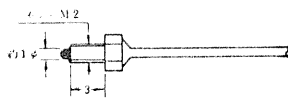
■刺激電極



■同芯円電極



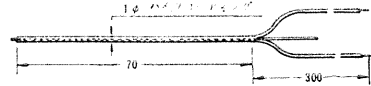
■コルチコ電極



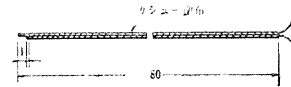
■双極形面鉈電極



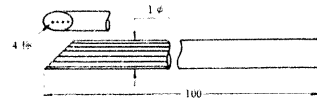
■薬液注入電極



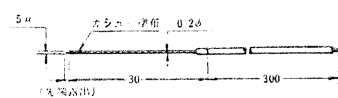
■双極形貼合せ電極



■多極深部用針電極



■金属微小電極



※上記以外の各種電極も製造販売致しておりますので、総合カタログを御請求下さい。

NASAの技術を導入した未来のフローメーター登場!



NARCOMATIC 電磁血流計



RT-500

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

※カタログ等の御請求は本医用電子課へ

《特長》

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

日本総代理店



東海医理科
TOKAI IRIKA CO., LTD.

本社 東京都千代田区内神田3-6-2 トリサクビル
〒101 TEL (03) 254-0052 (代表)
大阪営業所 大阪市東淀川区南方町2-24-1
〒533 TEL (06) 322-6792 (代表)

静岡協の受託試験研究所

医薬，食品添加物，農薬，化粧品，化学物質等の諸物質に
関する安全性試験をお引受けいたします。

生産から試験終了まで、一貫してSPF施設で実施

〈 受 託 項 目 〉

- ◇ 一般毒性試験
- ◇ 催奇性試験
- ◇ 発癌性試験
- ◇ 世代試験
- ◇ 刺激性試験
- ◇ 組織標本の作成並びに検査

株式会社 生物科学技術研究所

〒430 静岡県浜松市葵町95番地の10 TEL(0534)36-1957

—Barrier System(SPF) 実験動物の生産販売—

SPF動物

クローズドコロニー生産

マウス Slc:ddY (国立予防衛生研究所)
マウス Slc:ICR (Charles River)
マウス Slc:C3H/He (東大医科学研究所)

近交系生産

マウス BALB/cCr Slc (東大医科学研究所)
マウス C57BL/6Cr Slc ()
マウス C3H/He Slc ()
マウス DBA/2Cr Slc ()

交雑系生産

マウス SLC-CDF₁ (東大医科学研究所)
マウス SLC-BDF₁ ()
クローズドコロニー生産
ラット Slc:SD (Charles River)
ラット Slc:Wistar (東大医科学研究所)
ラット Slc:Wistar/ST ()
ラット Slc:Fischer(F344)(Charles River)
ラット HOS®:Donryu (星野試験動物飼育所)

Conventional動物

クローズドコロニー生産

マウス Std:ddY (国立予防衛生研究所)
ラット Std:Wistar (東大医科学研究所)
ラット Std:Wistar/ST ()

モルモット Std:Hartley (国立予防衛生研究所)
ハムスター Std:Golden ()

カニクイザル アカゲザル 輸入検疫9週間経過後出荷

静岡県実験動物農業協同組合

〒435 静岡県浜松市小池町1616番地 TEL(0534)63-0865(代)

新版 日本人の体力

A 5・400頁・図149・表139

¥3900 円200

船川幡夫・小野三嗣・石河利寛・松井秀治 編

日本人の体力がどのようなものであるかをあらためて考え、理解しておくことは、単に国際的な競技の場における必要だけでなく、日本人すべての社会活動や日常生活の中においてかせないことである。本書はこのような認識のもとに第一線に立って取り組んでいる研究者に体力の考え方をオムニバス型式で日本人の体力を叙述していただいた。

- I. 体力の考え方
- II. 日本人の由来と体格の推移
- III. 形態発育からみた日本人の体力
- IV. 機能発達からみた日本人の体力
- V. 日本人の体力と域差
- VI. 食生活からみた日本人の体力
- VII. トレーナビリティーからみた日本人の体力
- VIII. 体力と日本人の疾病像
- IX. 老人の体力
- X. スポーツと体力
- XI. 職業と体力
- XII. 障害者の体力
- XIII. 疾病予防としてのスポーツ
- XIV. 日本人の体力とその向上

朝比奈一男
木村 邦彦
高石 昌弘
小野 三嗣
沢田 芳男
長嶺 晋吉
松井 秀治
秋山 房雄
勝木 新次
石河 利寛
沼尻 幸吉・大西 徳明
矢部京之助
黒田 善雄
船川 幡夫

体力科学からみた健康問題

B 6・164頁・図47・表30

¥900 円120

日本学術会議第9期
加藤 橋夫編

人間生命の尊厳を基調としてすべての問題を考えるならば、多くの問題を根本的に見直さねばならない、具体的にいえば、まずすべての人間が健康であることをいかに保障するかである。体力科学はこうした体力や健康の現状分析をもとに、課題解決のための具体的方策を提示している。

筋力研究のための三部作

新刊

人体筋出力の生理的限界と心理的限界

矢部京之助著
A5・252頁・図144・表15
¥4,600 円200

……神経的抑制の機序について動作に先行する silent periodの問題および疲労の問題はいずれも筋作業学の中心課題となる重要なテーマであるが、著者が真正面からこの問題にとり組み筋電図を武器として解析を進めていく経過は読みごたえがある。〈真島英信教授評〉

重版

瞬発的パワーからみた

人体筋のダイナミクス

金子 公宥著
A5・180頁・図84・表25
¥2,000 円200

筋パワーの意義の理解が深ければ深いほど応用の分野は広がるはずである。各競技種目における筋パワーの意義や、生理的限界、加齢変化、トレーニング効果などはこの基礎に立てば必然的に導き出されることである。そういう意味で有名なHillの方程式が人体の筋にもあてはまることを証明したことは高く評価される。〈真島英信教授評〉

近刊

ヒトの絶対筋力——超音波法による体肢組成・筋力の分析

福永 哲夫著
A5・264頁・図155・表34
¥4,600 円200

体肢を構成する皮下脂肪、筋、骨の横断面積を測定する方法を開発、検討した。そしてヒトの生体について絶対筋力を算出し、絶対筋力の性・年齢別差異および体肢別差異を明らかにし、絶対筋力におよぼす肥満およびトレーニングの影響を明らかにした。

生理学の研究・実験に
柔軟性あふれる
多目的電気刺激装置

システムスティムレータ

Model SEN-6000シリーズ

筋・神経・細胞等への電気刺激を、さまざまなパターンで行えます。当社製ポリグラフシステムと共通設計となっているため、アンプユニット、2次処理ユニット、表示ユニット等と組み合わせて、システム的使用が可能です。

構成ユニット ● トリガパルス発生器 ● 2CH増幅器 ● パルス列発生器
● パルス発生器 ● 階段波発生器 ● 出力増幅器
● サイクル型スライサ ● 音声増幅器 ● パルスカウンタ
● ランダムパルス発生器

エレクトロニクスで病魔に挑戦する



NIHON KOHDEN

日本光電

東京都新宿区西落合1-31-4 ☎03(953)1181

J. Physiol. Soc. Japan Vol. 40, No. 1 (1978)

Original

SAKATA, S.: Molecular ageing in bovine plasma albumin I. Exposure of disulfide bonds in the N-B transition..... 1

Short communication

KANEKO, M.: The effect of previous states of shortening on the load-velocity relationship in human muscle..... 12

昭和五十三年十二月二十日印刷

編集兼
発行人

東京都文京区本駒込二丁目一八十二番
日本生理学会
塚田裕三

印刷者
印刷所

山形県鶴岡市山王町一四の二四
三浦経夫
鶴岡印刷株式会社

発行所

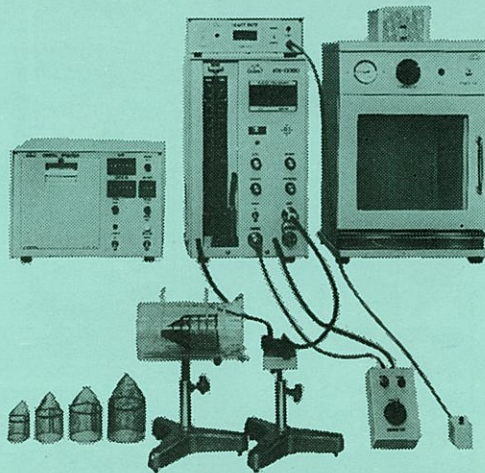
東京都文京区本駒込二丁目一八十二番
日本生理学会

電話
振替
定価
東京九四五一二八四〇
三三八六四三〇〇
三五五〇



ラット尾動脈圧測定装置 KN-0090

非観血的にラットの尾動脈圧を測定するデジタル血压計です。



実験動物解剖器具・一般研究実験器械器具・動物実験器械器具・動物飼育管理器具

株式会社 夏目製作所

東京都文京区湯島2丁目18番6号
電話 03(813)3251(代表)