

日本

生理学

雑誌

JOURNAL OF THE PHYSIOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

44巻

12号

1982

解説講演

- 加藤正道：運動の中樞プログラム……………651
本間三郎：ガンマ運動神経と伸張反射……………652
酒井敏夫：骨格筋の生理学……………656
山田和広：骨格筋の熱発生……………656
杉 晴夫：筋収縮の滑り説の現状と問題点……………659

原 著

- 梶野興三，松村 裕，藤本 守：重炭酸イオン電極による Henderson-Hasselbalch
式の炭酸解離指数の決定……………663

日本生理学雑誌第44巻総目次，人名索引

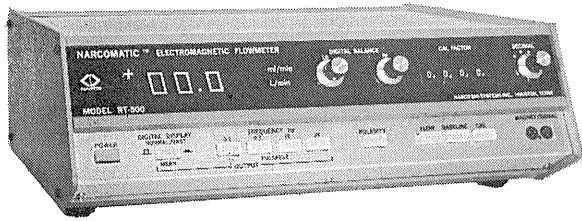
日本生理誌
J. Physiol. Soc. Japan

日本生理学会

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社医用電子課へ

《特長》

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

日本総代理店



株式会社 **東海医理科**
TOKAI IRIKA CO., LTD.

本社 〒101 東京都千代田区内神田3-2-12クリハラビル ☎(03)254-0052(代)
札幌(011)752-0176/仙台(0222)75-2514/金沢(0762)23-4648
名古屋(052)524-5408/京都(075)241-3908・9/大阪(06)305-6328
広島(0822)93-2163/愛媛(0899)21-3015/福岡(092)472-3800

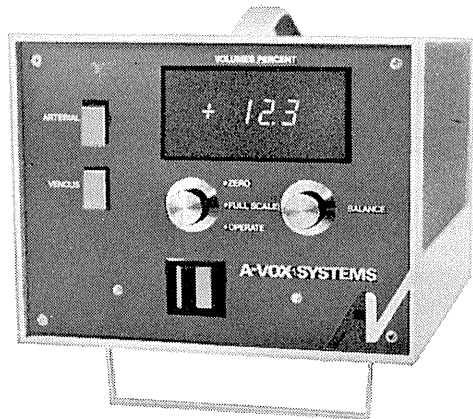


米国A-VOX社製

動静脈間の酸素消費量を連続的にモニター A-V酸素アナライザー

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

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



日本総代理店



株式会社 **東海医理科**
TOKAI IRIKA CO., LTD.

本社 〒101 東京都千代田区内神田3-2-12クリハラビル ☎(03)254-0052(代)
札幌(011)752-0176/仙台(0222)75-2514/金沢(0762)23-4648
名古屋(052)524-5408/京都(075)241-3908・9/大阪(06)305-6328
広島(0822)93-2163/愛媛(0899)21-3015/福岡(092)472-3800

運動の中核プログラム

北海道大学医学部
加藤正道

中枢プログラムあるいはプログラミングという言葉が神経科学に携わる者の中で広く使われるようになってきたのは1970年代の初め頃からであるが、その考えの源は今世紀初頭まで遡ることができる。

今世紀の前半は“反射学”が研究の主流を占めていた時期であり、したがって“中枢プログラム”は“反射”に対立する概念として神経生理学の中に登場してきた。まず“反射”とは何かを手短に整理してみると、1) 遺伝的に決まっている神経回路により引き起こされ、2) 末梢に加える入力により出力が予想でき、3) その機能は体を保護あるいは運動を調節するものであり、4) 不随意的に誘発され、しかも、5) 意識にのぼることがない、などの特徴をそなえている。

これに対し“中枢プログラム”によって引き起こされる運動には、歩行運動とか呼吸運動のような律動的な繰り返し運動をひき起こすいわゆるパターンジェネレーターにもとづく比較的単純で生得的であり、それだけにその神経機構の解析も進んでいるものから、手先のこまかい運動とか、言語運動などのようにきわめて高度の熟練を経て形成されるであろうプログラムにもとづくものにいたるまで、多くの運動が含まれるであろう。したがって“中枢プログラムとは何か？”と問われても明解な返答を提供することは容易ではない。ここでは“中枢プログラムとは末梢性の入力に依存することなく、何らかの入力を受けて、中枢神経回路網の活動により、時間的・空間的に目的にかなった一連の運動を発現させる機構”とひとまず定義づけておくことにする。

1. 中枢プログラムと反射の関係

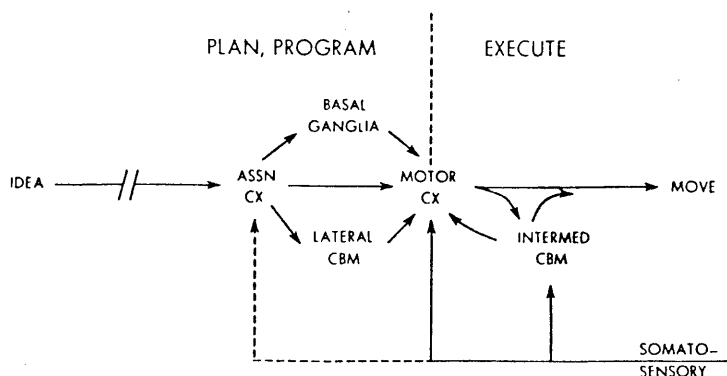
中枢プログラムと反射とのかわりを示す具体例として、歩行運動と脊髄反射の逆転につい

て述べる。ネコの足背部の皮膚に刺激を加えればその肢に屈曲反射がひきおこされる。これはすでに古くから教科書にも記載されてきた有名な反射である。ところが歩行中のネコにおいてはその立脚期と遊脚期で反射の現われ方は逆転する。すなわち遊脚期に刺激を加えれば古典的な屈曲反射がひきおこされるが、立脚期に刺激を加えれば屈曲反射はおきず、逆にすでに活動の亢進している伸筋の活動がさらに増す。これは歩行運動のパターンジェネレーターが反射経路のシナプス伝達に影響を与えることを示す例である。

2. 熟練を要する運動の中核プログラム

生後、くり返して行うことによって形成される随意運動の中核神経機序には多くの要因が関係しているが、なかでも運動の発動、構成および帰還制御は最も重要な要因に数えられ、とくに前二者は中枢プログラムに関与している事柄と考えられる。

現段階で運動のプログラムに関する仮説はいくつか提唱されているが、ここではAllenと塚原(1974)のダイアグラム(第1図)を引用することとする。左方にIdea(意志発動)と書かれている。自由意志がどこで形成され、発動されるかは今日では不明といわざるをえないが、何らかの形で連合野とくに前頭葉(9野?)が関与することは考えうることである。動作を行うという意志決定がなされたのに引きつづき、動作目標の設定、運動姿勢、運動方向・範囲、タイミング、使用する筋、力の調節等々の諸条件を中枢神経系内で決定しなければならないが、これらの過程に連合野、大脳基底核、小脳外側部、運動前野などの関与が考えられる。例えば、小脳半球部のプルキンエ細胞は筋活動のうちその位置の変化速度(dP/dt)あるいは発生する力の変化速度(dF/dt)に密接に関連してそ



第1図

の発射活動を変えることから (真野, 1982), おそらくこのようなパラメーターを制御しているものと考えられ, また大脳基底核は姿勢制御のための頸部, 軀幹, 上下肢などの相対的位置関係の設定その他の運動姿勢の時・空間パターンのプログラムに関与しているものと考えられる. 前運動野は運動の準備状態の設定あるいは運動野の機能を調節する系として働くことが示唆されている (丹治, 谷口, 1978).

運動には例えば野球の投手が全力で球を投げるときのような衝撃性運動 ballistic movement

のほかに, ゆっくりした運動でその遂行中に微細な調整を必要とする運動 ramp movement がある. 前者の場合は運動が開始されるときわめて短時間に終了してしまうため末梢からの感覚性フィードバックがかかることはないが, 後者の場合には運動が始まってからの末梢からのフィードバックが運動の遂行に大きな役割を演じているものと考えられる. 小脳中間部をとめる系がこれらに関与しているものと考えられている.

ガンマ運動神経と伸張反射

千葉大学医学部生理学教室
本間三郎

体肢筋を支配する前根の神経線維のなかに細い線維が含まれていることは古くから知られていた (Eccles & Sherrington, 1930). この運動神経にはガンマとアルファの2種の型があり, ネコ下肢筋を支配するものは前者で15~50m/sの伝導速度を, 後者は55m/secの伝導速度をもっていた (Kuffler ら, 1951). 筋を伸展すると求心性単一神経に発射がみられ (Matthews B., 1933), その終末は筋線維と並列 in parallel にあるため, 筋収縮に際しては無負荷 unloaded となる. この受容器が筋紡錘であるということはすでに知られていた (Fulton & Pi-Suner, 1927)が,

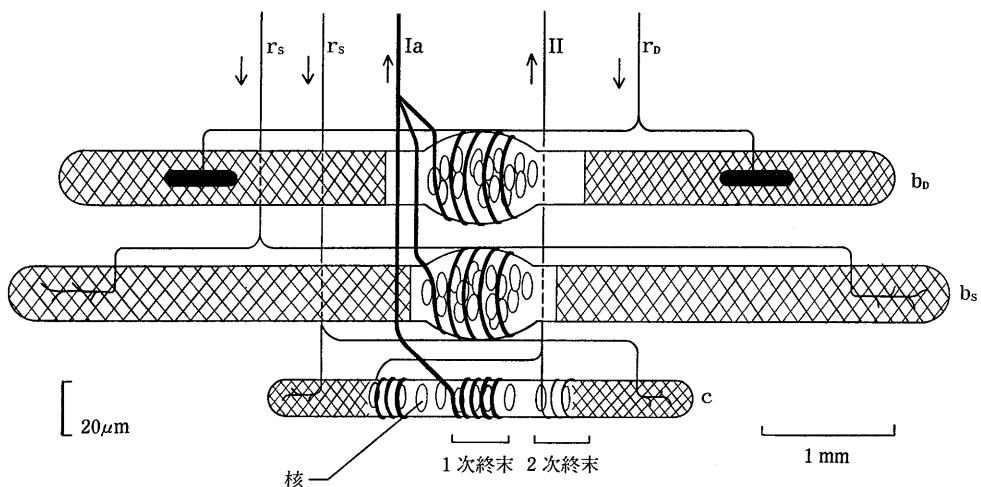
無負荷によって求心性神経発射は停止する. 筋の単収縮の期間中, 発射は沈黙する. 一方伝導速度の遅いガンマ運動神経が共同して活動すると, この沈黙期を埋め合わせるように発射が却って増強する (Leksell, 1945). このことから筋紡錘がガンマに属する遠心性神経の支配を受けており, その活動により求心性神経発射を変える. 求心性発射によりなされる運動制御を間接的に行っていることになる. 運動制御についての研究はこのガンマ運動神経の働きが判明してから一段と進展することになる. 形態学的には筋紡錘が核袋線維と核鎖線維という2種類の錘

内筋線維より成るということが、筋紡錘の系統発生的な研究から明らかにされてきていたが、それぞれを支配するガンマ運動神経を区別し、核袋線維を γ_1 運動神経が核鎖線維を γ_2 運動神経が支配するとした(Baker, 1962; Boyd, 1962). 機能的に分類すると γ_1 は静的ガンマ運動神経, γ_s , γ_2 は動的ガンマ運動神経, γ_D に相当する.

筋紡錘はネコの下腿三頭筋のそれぞれの筋中にはほぼ50個、ヒトの内側腓腹筋に約100個含まれている(Cooper, 1966). ネコのそれら筋紡錘は2~3本の核袋線維, 5~6本の核鎖線維から成っている. 筋紡錘の赤道部では各線維とも横紋筋成分はなく, 名のごとく核が密集している. この部分を求心性神経である Ia 群線維がラセン状に取り巻いている. 一次終末という. これら Ia 群線維が一本に集合し, 末梢神経となり, 後根を経て脊髄に入る. 後根より単一の Ia 群線維を分離して, その発射を記録することができる. 筋を伸展するとその発射は増加するが, 伸展している間発射は次第に増加し, 伸展を止めその長さを維持すると発射は減少して, 以後一定の頻度の発射を持続する. 相動性と持

続性発射とに区別する (Matthews, B., 1933; Granit & Homma, 1959). 相動性発射の最高周波数から持続性発射で安定した周波数を差引いた値が動的指数 *dynamic index* といわれている (Brown & Matthews, P., 1966). ガンマ運動神経の活動によって, この動的指数が変わってくる. 前根より単一のガンマ運動神経を分離する. そのうち γ_s を刺激すると持続性発射は増加するが, 動的指数は変わらない. 一方 γ_D を刺激すると相動性発射が著しく増加し, 動的指数が増大する.

筋紡錘の形態はさらに細かに区分された. 核袋線維は動的 b_D と静的核袋線維 b_s に分かれた. 両者の形態はわずかに相違しているが, 基本的には b_D を γ_D が, b_s を γ_s が支配している. しかも γ_D の終末は板状であり, γ_s の終末はトレイル状である. 核鎖線維を支配する γ_2 の終末はトレイル状である (Homma, 1976の総合討論を参照). トレイル状とは γ_2 線維が枝分かれして小道をつくっている状態である. γ_D のインパルスにより b_D 線維はゆるやかに収縮する. この筋線維が粘弾性に富んでいる. したがって筋の伸展の度合を十分正確に感受し, その



第1図 筋紡錘の模式図

b_D : 動的核袋線維, b_s : 静的核袋線維, c : 核鎖線維, γ_D : 動的ガンマ運動神経, その終末は板状, γ_s : 静的ガンマ運動神経, その終末はトレイル状, Ia, Ia 群線維, 各錘内筋線維の一次終末からでた線維が集合して一本の Ia 群線維となる. II II 群線維, この終末は二次終末といわれている. 本文ではこの機能は述べていない.

伸びぐあいを一次終末に伝えるとされている。これに対して、 γ_s からのインパルスにより b_s やC線維は急速に収縮する。 γ_s を高頻度で刺激すると、それが数百 Hz におよんでもC線維の収縮はこれに追従し、Ia 群線維に同じ頻度すなわち数百 Hz のインパルスが発生する。 γ_s のインパルスにより Ia 群線維のインパルスが駆動されたという (Emonet-Dénand & Laporte, 1969)。ガンマ運動神経の定常的な活動がそのままの形で求心性情報として伝えられている。持続性活動である姿勢の制御に役立っていると考えられる。

随意運動をするときアルファ運動神経の活動により筋が収縮し、筋紡錘は無負荷の状態となる。このとき、外界から筋を伸ばすような影響が加わったとする。無負荷である筋紡錘はこれに応ずることができず、外界の変化を自動的に制御できない。この場合アルファ運動神経とともにガンマ運動神経も活動していれば、筋紡錘の一次終末を緊張状態に保つことができる。特に重い負荷が筋に加わってもわずかな筋紡錘の伸びで強力に反応し、伸張反射によりその負荷を支えることができる。ガンマ運動神経の活動による負荷補償 load compensation である (Corda et al., 1965)。

一方最近では、ヒトの単一 Ia 群線維から発射を記録できるようになったが、随意運動中にこの発射が著しく増加していることが判明した (Hagbarth & Vallbo, 1967)。これはガンマ運動神経の活動がアルファ運動神経のそれに優り、筋収縮による無負荷状態に打ち勝って一次終末がかえって引き伸ばされていることを意味する。特殊な方法であるが、軽い随意収縮下でガンマ運動神経の活動がアルファの 2.4 倍のインパルス数の増加をもたらしたとしている (Hirayama et al., 1974)。これらはアルファ・ガンマ連合であり (Granit, 1962; Granit, 1970)、一つには皮質脊髄路の終末が枝分かれして、脊髄前角内でアルファとガンマ運動ニューロンを支配したことにより起こるとされている。このような連合が脊髄上位中枢で行われており、しか

もガンマ運動神経がアルファに先立って活動しているとき、筋の長さをガンマ運動神経の活動そのものがコントロールしていることになる。

この長さ追従 follow-up-length 機構により伸張反射を介して筋は収縮させられ (Hammond et al., 1956)、筋紡錘と筋の長さが同じになると Ia 群発射が停止する。サーボ機構による運動の制御である。

文 献

- 1) Barker, D. (Editor) (1962) "Symposium on Muscle Receptors". Hong Kong; Hong Kong University Press
- 2) Boyd, I. A. (1962) The structure and innervation of the nuclear bag muscle fibre system and the nuclear chain muscle fibre system in mammalian muscle spindles. *Phil. Trans. Ser. B.* **245**, 81-136
- 3) Brown, M. C. & Matthews, P. B. C. (1966) On the subdivision of the efferent fibres to muscle spindles into static and dynamic fusimotor fibres. In "Control and Innervation of Skeletal Muscle" (Andrew, B. L., ed.), pp. 17-31. Edinburgh: Livingstone Ltd.
- 4) Cooper, S. (1966) Muscle spindles and motor units. In "Control and innervation of Skeletal Muscles" (Andrew, B. L. ed.), pp. 9-16. Edinburgh: Livingstone Ltd.
- 5) Corda, M., Eklund, G. & Euler, C. V. (1965) External intercostal and phrenic α motor responses to changes in respiratory load. *Acta Physiol. scand.* **63**, 391-400
- 6) Eccles, J. C. & Sherrington, C. S. (1930) Numbers and contraction-values of individual motor-units examined in some muscles of the limb. *Proc. Roy. Soc. B.*, **106**, 326-357
- 7) Emonet-Dénand, F. & Laporte, Y. (1969) Frequencygrams of rabbit spindle primary endings elicited by stimulation of fusimotor fibres. *J. Physiol.* **201**, 673-684
- 8) Fulton, J. F. & Pi-Suñer, J. (1927-28) A note concerning the probable function of various afferent end-organs in skeletal muscle. *Amer. J. Physiol.* **83**, 554-562
- 9) Granit, R. (1962) Some problems of muscle spindle Physiology. In "Symposium on Muscle receptors" (Baker, D., ed.), pp. 1-12. Hong Kong: Hong Kong University Press
- 10) Granit, R. (1970) *The Basis of Motor Control*. Academic Press, London
- 11) Granit, R. & Homma, S. (1959) Phasic stretch and 'Spindle Constant' in slow and fast rabbit

- muscle. *Acta Physiol. scand.* **46**, 174-184
- 12) Hagbarth, K. -E. & Vallbo, Å. B. (1967) Mechano-receptor activity recorded percutaneously with semimicroelectrodes in human peripheral nerves. *Acta Physiol. scand.* **69**, 121-122
 - 13) Hammond, P. H., Merton, P. A. & Sutton, G. G. (1956) Nervous gradation of muscular contraction. *Brit. Med. Bull.* **12**, 214-218
 - 14) Hirayama, K., Homma, S., Mizote, M., Nakajima, Y. & Watanabe, S. (1974) Separation of the contribution of voluntary and vibratory activation of motor units in man by cross-correlograms. *Jap. J. Physiol.* **24**, 293-304
 - 15) Homma, S. (1976) Understanding the Stretch Reflex. *Prog. in Brain Research* **44**, Elsevier, Amsterdam
 - 16) Kuffler, S. W., Hunt, C. C. & Quilliam, J. P. (1951) Function of medullated small-nerve fibers in mammalian ventral roots: efferent muscle spindle innervation. *J. Neurophysiol.* **14**, 29-54
 - 17) Leksell, L. (1945) The action potential and excitatory effects of the small ventral root fibres to skeletal muscle. *Acta Physiol. scand.* **10**, Suppl. 31
 - 18) Matthews, B. H. C. (1933) Nerve endings in mammalian muscle. *J. Physiol.* **78**, 1-33

骨 格 筋 の 生 理 学

東京慈恵会医科大学生理学教室

酒 井 敏 夫

昭和45年6月、当時の教育委員会が調査した生理学教育アンケートによると、筋生理、特に骨格筋関係の講義時間は平均11時間（最低5時間、最高70時間）と記載されている。カリキュラムの組立て方、筋生理の位置づけなどにより、その配分時間は各大学により異なってくる。筋収縮機序（分子レベル）の知見が増すにしたがい、この内容は次第に一般生理学的色彩が強くなり、医科生理の立場からすると生物学的基礎科目に包含されてもよい傾向になっている。

筋収縮に関する知見は、生理学への興味と、基本的な分子レベルでの理解が学生への提示としての恰好な内容であり、研究過程で登場してくる研究者なり、彼らのエピソードは教育材料として捨て難いものがある。一方、現行の限られた医学教育のカリキュラム内にあっては、人体生理学が重点となり上述の如き内容を時間を

掛けていくわけにはいかない。医師に必要な筋生理の知識は、生体内にあって“神経支配下の効果器”あるいは“速筋、遅筋と motoneuron の役割”、または“筋タイプそれぞれの筋収縮特性”の把握が必要となり、これらに時間を割かなければならないと思われる。臨床医学と連絡を密にしようと考えると特にその重要性が問われるであろう。このような観点から諸教科書を通覧すると、外国書よりもわが国生理学者による2、3の教科書の方が優れているように思われる。

本解説講演には、最近研究が進み内容の修正が望まれる、筋収縮の滑走機構、筋の熱発生の2項目をとりあげてみた。司会者の講演主旨と相異した感があるが、教授する立場の相異で教育の教材内容の重点が変わってくるという意味であえて司会者提案を行ってみたい。

骨 格 筋 の 熱 発 生

大分医科大学生理学教室

山 田 和 広

筋のはたらきによって、化学エネルギーが熱と仕事に変換される。筋の熱発生の研究は、筋のエネルギー変換過程を理解するための研究上の一つの手段として用いられている。最近、筋の熱発生についての研究上の進歩が続いた。

1. 等尺性収縮の熱発生

カエルの骨格筋（0℃）に強縮刺激を加えるとき、等尺性張力の発生に伴って熱が産生される。

(1) 維持熱 maintenance heat

等尺性収縮による熱発生率をみると、刺激開始後しばらくは熱発生率が大きい、次第に減

少して約5秒経過すると熱産生率が一定の相に移る。熱発生は弛緩とともに急速に減少する。Aubert¹⁾は、等尺性強縮による熱発生の時間的経過が、次の式に示すような指数関数で表わされることを示した。

$$Ht = \frac{ha}{\alpha} (1 - e^{-\alpha t}) + hbt$$

Ht は刺激開始後時間 t までの熱発生量を表わす。右辺の最初の項は labile heat とよばれる。 ha はその産生率であり、 α はその指数的減少を表わす速度定数である。0℃のカエルの筋では α は約 1.0 S^{-1} の値をもつので、labile

heat は約5秒で終わってしまう。右辺の第2の項は stable heat とよばれる。hb はその産生率であり、stable heat は収縮が続く間一定の率で産生される。筋の標準長（筋節長 2.0—2.2 μm ）において、約5秒の収縮の持続による labile heat の全量は 1g の筋湿重量当り約10 mJ (0 $^{\circ}\text{C}$) であり、一方 stable heat の産生率は g 筋湿重量当り約13 mJ S⁻¹ (0 $^{\circ}\text{C}$) である。stable heat は筋節長の増大とともに直線的に減少することが知られており、収縮に直接に関与する熱発生である。

(2) 活動化熱 activation heat

維持熱の項で説明した Aubert の解析では、強縮開始後の最初の 0.3—0.5 秒間の熱発生は除かれている。実際はこの期間にかなり大きな熱がパルス状に産生される。このような筋の静止状態からの活性化に関連していると思われる熱の産生を A. V. Hill²⁾ は activation heat とよんだのである。活動化熱だけを分離するために最もよいと考えられる方法は、筋を引き伸してフィラメント間の重なりをなくすることであろう。Homsher³⁾ らおよび Smith⁴⁾ によると、フィラメント間の重なりは消失する筋節長 (3.6 μm) において、刺激による熱産生は標準長 (筋節長 2.2 μm) における熱産生の 20—30% (1g の筋当り 2.6—4.2 mJ) である。静止筋を収縮させるための、興奮収縮連関における一連のできごとのうち、実際に熱量計を用いて反応熱が測定されているのは、トロポニンと Ca の結合反応である。その結果⁵⁾ は、収縮の制御すなわち筋の活性化に必要な Ca の結合によって、活動化熱を十分説明することのできる熱の産生があることを示している。

2. 等尺性収縮による熱の産生と化学的変化

等尺性収縮に際しては、わずかな内部的仕事をのぞくと、筋は仕事をしないから、このときの熱の産生はほとんど収縮に伴う反応の熱変化 (エンタルピー変化) と一致している。またこの熱の産生は高エネルギー-リン結合 ($\sim\text{P}$) の加水分解によると考えられ、実際に結合によってクレアチンリン酸の分解が生じることが確かめら

れている (エネルギー収支の項参照)。

1971年になって Wilkie⁶⁾ はこのことに関して大変重要な結果の報告を行った。それは、収縮によるクレアチンリン酸の分解量と、筋のエネルギー産生 (すなわち熱+仕事) を正しく比較すると、熱と仕事の和の方が、クレアチンリン酸分解量の測定値から導かれるエネルギー遊離量に比べ大きいことである。すなわち、後に述べるエネルギー収支が一致しない。

このような収縮によって余分に産生される“説明することのできない熱産生” unexplained heat については多くの追討による確認が行われた。このような筋のエネルギーの産生量とこのためのエネルギーを供給していると思われる化学物質の分解量との間にみられるくいちがいの成因は何であろうか。現在知られていない何か未知の物質が存在していて、この物質が収縮のエネルギーを供給している可能性はいろいろな証拠からみるときわめて小さい。アクトミオン ATPase 反応の中間体が収縮によって変化する可能性および、収縮による Ca の遊離とその結合反応のどちらかがその成因と考えられ、これを確かめるための研究が行われている。

3. 筋の短縮と熱発生

(1) 短縮熱

強縮刺激を与えて等尺性に収縮している筋を短縮させるとき、短縮中の筋の熱産生率は短縮前の等尺性収縮のときに比べて大きくなる。このとき短縮によって余分に産生される熱は短縮熱 shortening heat とよばれている。⁷⁾ 1 cm の短縮あたり産生される短縮熱の大きさは負荷 (P) に依存し、短縮熱の大きさを $\text{g} \cdot \text{cm}$ の単位で表わしたときの定数 (α) の値は、 $\alpha = 0.16 P_0 + 0.18 P$ (P_0 は標準長における筋の最大発生張力) で表わされる。このような短縮熱は、アクトミオシンの ATPase 反応、すなわちクロスブリッジのサイクリング⁸⁾ によって生じるものであろうと考えられる。このことをテストするためにまず行われるべき実験は、短縮熱の筋節長に対する依存性を調べることである。Yamada と Kometani⁹⁾ はカエル半腱様筋およ

びその線維束を用いて、また Homsher¹⁰⁾ は同じ筋の全筋を用いて、短縮熱は筋節長の増大に伴って直線的に減少し、筋節長 3.6 μm 付近で零となることを報告している。

(2) 短縮熱の産生と化学的变化

前項で述べたように、短縮熱がアクトミオシン ATPase 反応によるとすると、短縮によって ATP 分解の率が增大しているはずであり、このことについては多くの実験によって支持される¹¹⁾。しかしさらに詳しくその時間的関連を調べると、最大短縮速度付近の速い速度での短縮に際しては、ATP の分解は短縮熱産生とは時間的に分離して、おくらせて生じる¹²⁾。一方、最大短縮速度の半分程度の比較的おそい速度での短縮によっては、このような時間的分離は生じない¹⁰⁾。

(3) Fenn の効果

Fenn^{13,14)} は、等張力性単収縮によって熱と仕事として遊離されるエネルギー量は仕事量が大きいほど大きくなることを発見した。Fenn の効果は筋肉のもつ最も基本的な性質の一つであると考えられる。一方、持続的に収縮を続けている強縮筋の短縮によるエネルギー産生率も、等尺性に収縮しているときに比べて、短縮して仕事をしているときの方が大きいという、Fenn の効果の一般的な特徴を備えている¹⁵⁾。

4. エネルギー収支 energy balance

筋の熱産生の熱力学については Wilkie¹⁶⁾ によるすぐれた考察がある。化学変化によって遊離されるエネルギーは筋の張力に変換されるか、あるいは熱変化として現われる。このことを数式で表わすと

$$-\sum(\xi_m \Delta H_m) = h + w$$

ここで ξ_m はある一つの反応 m の進行した程度 (mol) であり、 ΔH_m はその反応のモルエンタルピー (J/mol) であり、 h は熱変化であり、 w は筋のなした仕事である。低温 (0 $^{\circ}\text{C}$) で 10 秒程度持続する収縮では、筋で生じる反応の数は限られていて、ATP および クレアチン 燐酸 (PCr) の分解だけが生じていると考えられる。

すなわち、ATP の ADP と Pi (無機燐) への分解、および PCr の分解と共役した ADP の ATP への燐酸化 (Lohmann 反応) である。Lohmann 反応が非常に速く進むために、ATP の分解が生じていても実際に ATP 量の変化が生じることはない。したがって、上の式はこのような場合には次のように書くことができる。

$$-\sum(\xi_{\text{PCr}} \cdot \Delta H_{\text{PCr}}) = h + w$$

このようなエネルギー収支法にとって重要であるのは ξ_m , ΔH_m , ($h+w$) それぞれの正確な測定を行うことである。 ξ_m および ($h+w$) についてはくわしい測定が行われてきた。 ΔH_m については最近になって熱量計を用いてその正確な測定が行われるようになった¹⁷⁾。 ΔH_m の測定は、細胞内の条件 (とくに H^+ および Mg^{2+} イオン濃度) の影響を受ける。

文 献

- 1) Aubert, X. (1956) Le couplage énergétique de la contraction musculaire. Editions Arscia : Brussels.
- 2) Hill, A. V. (1949) The heat of activation and the heat of shortening in a muscle twitch. Proc. Roy. Soc. B, **136**, 195-211.
- 3) Homsher, E., Mommaerts, W. F. H. M., Ricchiuti, N. V. & Wallner, A. (1972) Activation heat, activation metabolism and tension-related heat in frog semitendinosus muscles. J. Physiol., London **220**, 601-625.
- 4) Smith, I. C. H. (1972) Energetics of activation in frog and toad muscle. J. Physiol., London **220**, 583-599.
- 5) Yamada, K., Mashima, H. & Ebashi, S. (1976) The enthalpy change accompanying the binding of calcium to troponin relating to the activation heat production of muscle. Proc. Japan Acad. **52**, 252-255.
- 6) Gilbert, C., Kretzschmar, K. M., Wilkie, D. R. & Woledge, R. C. (1971) Chemical change and energy output during muscular contraction. J. Physiol., London **218**, 163-193.
- 7) Hill, A. V. (1938) The heat of shortening and the dynamic constants of muscle. Proc. Roy. Soc. B, **126**, 136-195.
- 8) Huxley, A. F. (1980) Reflections on muscle. Liverpool Univ. Press : Liverpool.
- 9) Yamada, K. & Kometani, K., Dependence of the shortening heat on sarcomere length in fiber

- bundles from frog semitendinosus muscles. Proceedings of the Symposium on Cross-Bridge Mechanisms in Muscle Contraction, held in Univ. of Washington, 1982, in press.
- 10) Homsher, E. The effect of shortening on energy liberation and high energy phosphate hydrolysis in frog skeletal muscle. Proceedings of the Symposium on Cross-Bridge Mechanism in Muscle Contraction, held in Univ. of Washington, 1982, in press.
- 11) Homsher, E. & Kean, C. J. (1978) Skeletal muscle energetics and metabolism. *Ann. Rev. Physiol.* **40**, 93-131.
- 12) Rall, J. A., Homsher, E., Wallner, A. & Mommaerts, W. F. H. M. (1976) A temporal dissociation of energy liberation and high energy phosphate splitting during shortening in frog skeletal muscles. *J. gen. Physiol.* **68**, 13-27.
- 13) Fenn, W. O. (1923) A quantitative comparison between the energy liberated and the work performed by the isolated sartorius muscle of the frog. *J. Physiol., London* **58**, 175-203.
- 14) Fenn, W. O. (1924) The relation between the work performed and the energy liberated in muscular contraction. *J. Physiol., London* **58**, 373-395.
- 15) Curtin, N. A. & Woledge, R. C. (1978) Energy change and muscular contraction. *Physiol. Rev.* **58**, 690-761.
- 16) Wilkie, D. R. (1960) Thermodynamics and interpretations of biological heat measurements. *Progr. Biophys. biophys. Chem.* **10**, 259-289.
- 17) Woledge, R. C. (1972) In vitro calorimetric studies relating to the interpretation of muscle heat experiments. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* **37**, 629-634.

筋収縮の滑り説の現状と問題点

帝京大学医学部生理学教室

杉 晴 夫

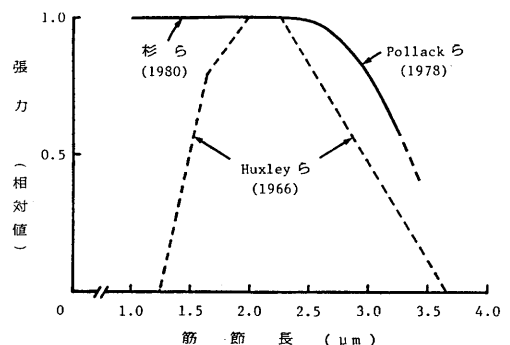
1. 滑り模型の現状

1950年代はじめに主として H. E. Huxley によって行われた一連の研究⁸⁾は、筋収縮の分野に飛躍的な発展をもたらした。筋肉の主要な二つの蛋白質アクチンとミオシンはそれぞれ独立してフィラメントを形成し、これら筋フィラメントは規則的な立体配置をとり、収縮は筋フィラメントの間の相対的な滑りによっておこることが明らかとなり、残された問題は滑りをひきおこす分子的機構にしぼられることになった。滑り機構に関する理論的考察を行い、滑り模型を提出したのは A. F. Huxley^{6),7)}で、1971年の模型はミオシン分子の頭部の形状をとり入れた具体的なものになっている。しかし、滑り模型が提出されてすでに四半世紀が経過したにもかかわらず、筋フィラメント間の滑りをおこす原動力は依然として不明である。以下に筋収縮研究のこの分野の現状と問題点について述べることにする。

2. 筋節長—張力曲線

A. F. Huxley の滑り模型では、(1)筋フィラ

メントは完全剛体であり、(2)各々のクロスブリッジはたがいに独立にアクチンフィラメントと結合—解離をくり返すことにより張力を発生することが仮定されている。この仮定から、1個の筋節の発生する張力は個々のクロスブリッジの発生する張力の総和となる。張力を発生するクロスブリッジの数は筋フィラメント間の重なり合いに比例するので、筋節を伸張するにつれて等尺性収縮張力は直線的に減少していくことが期待される。実際に、A. F. Huxley らは単

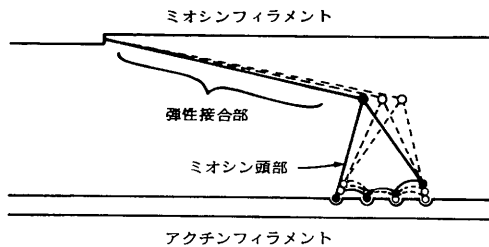


第1図 筋節長—張力曲線(本文参照)

一骨格筋線維中央部の筋節長の一様な部分を選び、この部分の長さを等尺性収縮中フィードバックで一定に保つことにより、上記の仮定が正しいことを示した⁵⁾ (長さ-張力曲線 の下降脚、第1図)。また、筋節が短くなると等尺性収縮張力は急激に減少していくが、これはアクチンフィラメントの二重の重なり合いやミオシンフィラメントのZ膜への衝突などがクロスブリッジの発生する張力を減ずることによるとして説明された (長さ-張力曲線の上昇脚)。しかし、Pollack ら¹⁸⁾は、単一筋線維の筋節長をレーザー光回折により全長にわたって測定することにより、曲線の下降脚は直線的でないと主張している。また、収縮中に伸長された筋節は長さ-張力曲線から期待されるよりはるかに大きな張力を発生し保持しうる現象が以前から知られているが¹⁾、この事実は現在の滑り模型では説明ができない。一方、長さ-張力曲線の上昇脚は短い筋節長で興奮収縮連関がよく働かなくなり、筋フィラメントが十分活性化されないためであることが指摘されている¹⁷⁾。グリセリン筋から分離した筋原線維束をCaイオンで直接活性化すると、筋節が1 μm に減少しても最大張力の発生がみられる^{12,13)}。したがって筋フィラメントが十分に活性化された条件下では長さ-張力曲線の上昇脚は存在しないと考えられる。最近、生きた単一筋線維でも収縮増強剤の存在下で短い筋節長での張力が著しく増大することが報告されている¹⁰⁾。

3. クロスブリッジの首ふり運動

第2図はA. F. Huxley ら⁷⁾のクロスブリッジによる収縮機構の模式図であり、筋節長一張

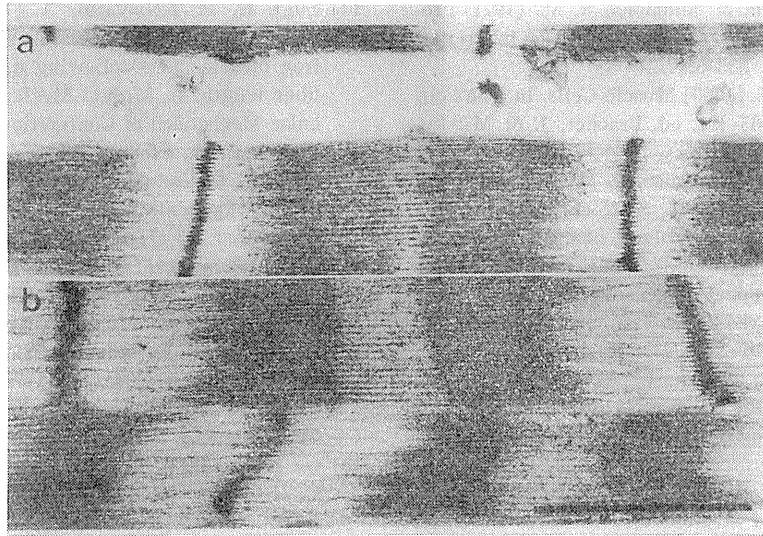


第2図 クロスブリッジの首ふり運動を示す模式図⁷⁾ (本文参照)

力曲線とならんで多くの教科書に記載されている。多くの研究がクロスブリッジ (ミオシンフィラメントから突き出たミオシン分子頭部) が筋収縮時にアクチンフィラメントと結合解離サイクルを行う際の首ふり運動を証明する目的で行われてきたが^{9,19)} いずれも成功せず、むしろ否定的な結果が集りつつある。上記の模型はクロスブリッジが頭部および弾性をもつ接合部からなると仮定しており、収縮あるいは rigor 状態の筋線維の長さを変化させることにより、頭部がフィラメントに対してなす角度分布が変化すると期待される。たとえば、硬直筋ではすべてのミオシン頭部がアクチンフィラメントと結合状態にあるので、硬直筋を伸長して頭部の角度変化をX線回折の赤道反射や適当なプローブによって検出する試みがなされたが結果は否定的である^{8,11)}、また、生きた筋肉に quick release を与えると張力は急激に減少するが、赤道反射には変化がみられない^{2,9)} 以上の結果は、ミオシン頭部が筋フィラメントに対する角度を大きく変えうるとする第2図の模型に対して否定的である。

4. 筋線維の張力過渡現象の意味

ミオシンフィラメントのクロスブリッジとアクチンフィラメント間の結合、解離の動的性質を調べるには一般にA. F. Huxley らが行ったように、筋線維の一端に急激な長さ変化を与え、これによっておこる張力の過渡的变化を解析する方法が用いられる⁷⁾。しかし、この方法がクロスブリッジの性質に関して正しい情報を与えるためには、筋線維の一端に与えられた変位が筋線維を構成する数千個の筋節のクロスブリッジに平等に加わらねばならない。超高速シネカメラによる観察によれば、筋線維の一端を急激に短縮すると筋線維の開放端に局在したたるみを生ずる¹⁶⁾。最近のわれわれの研究¹⁴⁾によれば、筋線維の一端に加えられたステップ状の長さ変化 (0.2 msec 以内に完了) によっておこる機械的インパルスは毎秒約150 m の速度で筋線維長軸にそって伝わり、筋線維の固定端に張力変化をひきおこすが、筋節の長さ変化 (レ



第3図 硬直状態の筋原線維の伸長による筋フィラメントの伸展¹⁵⁾(本文参照)

レーザー光による高感度測定)は筋線維固定端付近では張力変化よりおくれる。この結果は機械的インパルスの伝わりがクロスブリッジの変位を介さずに伝わることを示しており、従来クロスブリッジの動的性質の反映と考えられてきた張力過渡現象の意味を再検討する必要を示している。

5. 筋フィラメントの弾性

すでに述べたように、滑り模型では筋フィラメントを完全剛体とみなしてきた。しかし分離された筋フィラメントが flexibility を示すこと⁴⁾などから、この仮定は正しくないと考えられる。われわれは硬直筋のクロスブリッジがすべてアクチンフィラメントと結合しており、フィラメント間の滑りがおこりにくいことを利用し、硬直状態のグリセリン筋原線維束を伸長して筋フィラメントの長さ変化を電子顕微鏡下に調べた¹⁵⁾。第3図に示すようにA帯中央部のH帯(おそらくミオシンフィラメントの bare zone)とI帯のアクチンフィラメントが著しく伸長されているが、H帯以外のA帯(筋フィラメントの重なり合い部分)の長さには著しい変化がみられない。この結果は従来クロスブリッジの弾性と考えられてきた筋線維の弾性のかなりの部分が筋フィラメントの弾性である可能

性を強く示唆している。

以上述べたように、現在の滑り模型はきわめて不完全なものであり、教科書の見解にとらわれない研究が今後ますます必要であることを理解していただければ幸いである。

文 献

- 1) Abbott, B. C. & Aubert, X. (1952) The force exerted by active striated muscle during and after change of length. *J. Physiol. (Lond.)* **117**, 77-86.
- 2) Amemiya, Y., Tameyasu, T., Tanaka, H., Hashizume, H. & Sugi, H. (1980) Time-resolved X-ray diffraction from frog skeletal muscle during shortening against an inertial load and a quick release. *Proc. Japan Acad.* **56B**, 235-240.
- 3) Cooke, R. (1981) Stress does not alter the conformation of a domain of the myosin cross-bridge in rigor muscle fibres. *Nature* **294**, 570-571.
- 4) Fujime, S., Yoshino, S. & Umazume, Y. (1979) Optical diffraction study on the dynamics of thin filaments in skinned muscle fibers. In *Cross-bridge Mechanism in Muscle Contraction*, ed. Sugi, H. & Pollack, G. H. pp. 51-67, University of Tokyo Press.
- 5) Gordon, A. M., Huxley, A. F. & Julian, F. J. (1966) The variation in isometric tension with sarcomere length in vertebrate muscle fibres. *J. Physiol. (Lond.)* **184**, 170-192.
- 6) Huxley, A. F. (1957) Muscle structure and theories of contraction. *Prog. Biophys.* **7**, 257-318.

- 7) Huxley, A. F. & Simmons, R. M. (1971) Proposed mechanism of force generation in striated muscle. *233*, 533-538.
- 8) Huxley, H. E. (1960) Muscle Cells. In *The Cell*, vol. 4, pp. 365-481, ed. Brachet, J. & Mirsky, A. E. Academic Press.
- 9) Huxley, H. E., Simmons, R. M., Faruqi, A. R., Kress, M., Bordas, J. & Koch, M. H. (1981) Millisecond time-resolved changes in X-ray reflections from contracting muscle during rapid mechanical transients, recorded using synchrotron radiation. *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.* **78**, 2297-2301.
- 10) Lopez, J. R., Wanek, L. A. & Taylor, S. R. (1981) Skeletal muscle : Length-dependent effects of potentiating agents. *Science* **214**, 79-82.
- 11) Naylor, G. R. S. & Podolsky, R. J. (1981) X-ray diffraction of striated muscle fibers in rigor. *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.* **78**, 5559-5563.
- 12) Schoenberg, M. & Podolsky, R. J. (1972) Length-force relation of calcium activated muscle fibers. *Science* **176**, 52-54.
- 13) Sugi, H. (1981) Sarcomere length-tension relation in glycerinated rabbit psoas muscle fibers. *Proc. Int. Biophys. Congr.* **7**, 273.
- 14) Sugi, H. & Kobayashi, T. (1982) Sarcomere length and force changes in single tetanized frog muscle fibers following quick changes in fiber length. In *Muscle Mechanics and Molecular Mechanism of Contraction*, ed Pollack, G. H. & Sugi, H., Plenum Press.
- 15) Sugi, H. & Suzuki, S. (1980) Extensibility of the myofilaments in vertebrate skeletal muscle as studied by stretching rigor muscle fibers. *Proc. Japan Acad.* **56 B**, 290-293.
- 16) Sugi, H. & Tameyasu, T. (1979) The origin of the instantaneous elasticity in single frog muscle fibres. *Experientia* **35**, 210-211.
- 17) Taylor, S. R. & Rüdell, R. (1970) Striated muscle fibers : Inactivation of contraction induced by shortening. *Science* **167**, 882-884.
- 18) ter Keurs, H. E. D. J., Iwazumi, T. & Pollack, G. H. (1978) The sarcomere length-tension relation in skeletal muscle. *J. Gen. Physiol.* **72**, 565-592.
- 19) Yanagida, T. (1981) Angles of nucleotides to cross-bridges in glycerinated muscle fiber at various concentrations of ϵ -ATP, ϵ -ADP and ϵ -AMPPNP detected by polarized fluorescence. *J. Mol. Biol.* **146**, 539-560.

重炭酸イオン電極による Henderson-Hasselbalch 式の炭酸解離指数の決定

梶野興三・松村 裕・藤本 守
(大阪医科大学第二生理学教室)

Determination of dissociation exponent of CO₂ used in Henderson-Hasselbalch equation by means of bicarbonate-selective microelectrode. Kozo KAJINO, Yutaka MATSUMURA and Mamoru FUJIMOTO (*Department of Physiology, Osaka Medical College, Takatsuki City, Osaka 569, Japan*)

To measure intracellular ion activity of bicarbonate directly, a double-barreled bicarbonate-selective microelectrode was constructed with a liquid ion exchanger(LIX) containing tri-n-octylammonium, trifluoroacetyl-butyl benzene and octanol. A new dissociation exponent of CO₂ (pK') was determined experimentally for a modified Henderson-Hasselbalch equation, in which HCO₃⁻ activity was used instead of HCO₃⁻ concentration. The temperature effects on pK' and solubility coefficient of CO₂ were analyzed over the range of 10 to 40°C. The average values of pK' at room temperature (22°C) were 6.377 and 6.348 in water and frog serum, respectively, and the solubility coefficients of CO₂ were 0.048 and 0.046 mM/L/mmHg. The values of pK' plotted on Arrhenius plot were shown linear with 1/T, indicating that the pK' thus obtained can be treated thermodynamically as a first-order kinetics. Under normal circumstances, the values for the intracellular pH predicted from the intracellular bicarbonate activities in the proximal tubule and sartorius muscle of bullfrogs were virtually identical with those obtained directly by the LIX-pH-microelectrodes.

Key words: Bicarbonate electrode, Ion-selective electrode, Dissociation constant of CO₂, Intracellular bicarbonate

結 言

生体内における重炭酸イオン(HCO₃⁻)の動態は、炭酸ガス(CO₂)とともに緩衝対を形成し、細胞内外の水素イオン濃度(それぞれ、pH_i, pH_eで表わす)の安定化に役立っている。この場合、全身的なCO₂が主に肺の換気能により調節されているのに対し、血漿中のHCO₃⁻レベルは、腎により生理的にコントロールをうけている。今日まで、腎近位尿細管におけるCO₂動能やHCO₃⁻の再吸収機構が体液生理学の研究対象としてとり上げられ、その大枠が明らかにされてきた(Pitts¹⁸⁾, 1974), しかし、その正確な機序の解明には、直接細胞内HCO₃⁻活量(または濃度)の測定ならびにpH_iの測定によってそれらの細胞膜の輸送機序、H⁺やHCO₃⁻

とほかのイオンとの関連性などを詳しく調べることが必要である。

今日、HCO₃⁻を測定する方法は間接法と直接法がある。まず、間接的方法では、pHとCO₂分圧(PCO₂)、あるいは、pHと全CO₂濃度(TCO₂)の実測値をHenderson-Hasselbalch式(以下H-H式と略記する)に適用して、HCO₃⁻濃度を算出するもので、最も一般的な方法である。したがって、細胞外液HCO₃⁻濃度の測定には、しばしば用いられてきた。しかし一定量の試料が必要なため微量サンプルや、細胞内のHCO₃⁻測定には明らかに不適である。次に、HCO₃⁻の直接測定法は電極測定法であって、HCO₃⁻に選択性をもつイオンセンサー(Sensor)を用いて、電気的に測定するものである。著者らは近年、液体イオン交換剤(liquid ion exchanger, LIXと略す)を用いて微小HCO₃⁻電極を開発し、細胞内外のHCO₃⁻分布を調べ

てきた¹²⁾¹³⁾。

さて、 HCO_3^- 電極法は、イオン活量(activity, a)が直接測定され、その値は必ずしも濃度(concentration, C)とは一致しない。pHと HCO_3^- の関係式として一般に知られているH-H式では、 $\text{HCO}_3^-/\text{CO}_2$ の緩衝対に対し、従来は濃度を用いていた。この度、イオン電極法でえられる HCO_3^- 活量を直接代入するには、 HCO_3^- 濃度の代わりに活量で使える、新たな解離指数(dissociation exponent, pK' と略す)の決定が必要である。

本研究は、(1)実用可能な pK' の決定と、(2)それによってえられた細胞内 HCO_3^- 活量の妥当性の検討を目的としたものである。

I. 方 法

A. HCO_3^- 微小電極と細胞内 HCO_3^- 活量の測定

1. HCO_3^- 微小電極

細胞内外の HCO_3^- 活量の測定には、二連型 HCO_3^- 電極を用いた(Fig. 1)。二連の一侧には、0.5M KClを入れ、それを膜電位測定脚と

し、また他側には、その先端に HCO_3^- 交換剤(LIX)を充填しイオン測定脚(イオン脚)とする。このイオン脚には、LIXに接して内液として0.49M KCl, 0.01M K-citrate, 0.01M KHCO_3 濃合液を充填した。この二連型電極によって、膜電位と HCO_3^- 活量を同時に直接測定することができる。 HCO_3^- 交換剤には、Tri-n-octyl-n-propyl-ammonium chloride(TNOPACと略す)と, Trifluoro-acetyl-p-butyl benzene(TFABB), さらに Octanol(OCT)を容積比3:10:1に混合したものを用いた。この電極の勾配定数(slope, α)は通常30~50mV/(HCO_3^- 活量10倍増加), で主な妨害イオンである Cl^- との選択比(selectivity ratio, 選択係数 $S_{\text{HCO}_3^- \text{Cl}}$ の係数)は、4~8:1であった。この電極についての作製法、および電極特性の詳細はほかに記載した(梶野¹²⁾(1981)。

電位導出法、測定法、さらにイオン活量算出法は、Fujimoto & Kubota⁹⁾(1976)の方法にしたがって行なった。

2. 細胞内 HCO_3^- 活量の測定

この二連型 HCO_3^- 電極を用いて、食用ガエ

Double-Barreled HCO_3^- Microelectrode

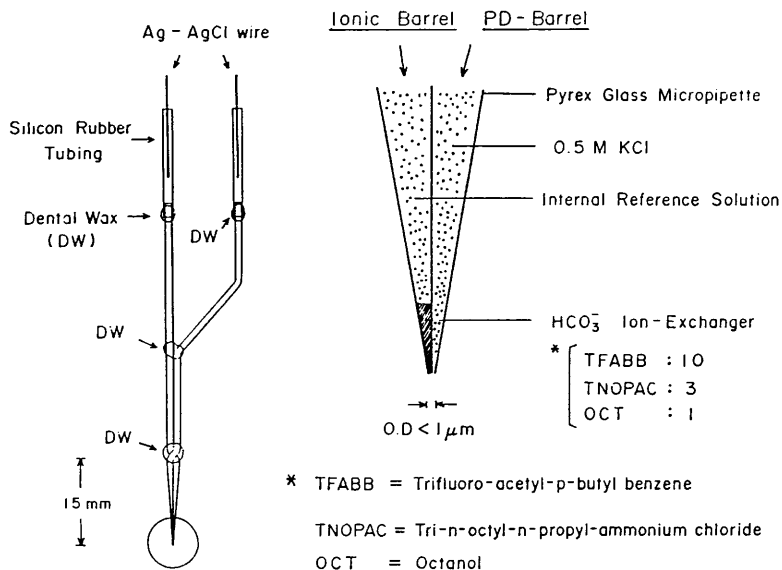


Fig. 1. Construction of HCO_3^- -selective double-barreled microelectrode.

ル縫工筋細胞および、腎近位尿細管細胞の細胞内活量を実測した。体重 100~150g の雄性食用ガエル (*Rana catesbeiana*) 3% ウレタン液にて約 20 分間浸漬麻酔を行い、実験に供した。動物実験に際しての、剥離法および穿刺法については別誌を参照されたい。(Kubota¹⁵) ら 1980, 梶野¹²) 1981)。なお、腎近位尿細管細胞の測定には、*in vivo* 腎 (Fujimoto⁹) ら、1976) と、分離腎をもちいた *in vitro* 灌流腎 (Kubota¹⁵) ら、1980) の二つの方法で測定した。腎灌流に用いた灌流液の組成(単位 mM)は、NaCl 100, NaHCO₃ 15, KCl 3.5, NaH₂PO₄ 0.5, MgCl₂ 0.5, CaCl₂ 1.8, D-glucose 5.0, glycine 1.0, L-alanine 0.5, polyvinyl pyrrolidone (PVP) 20g/L で、Heparin 2,000U/L を加えた。さらに、室温 (22~25℃) においては、カエル血漿 pH は 7.5~7.7 であるから、灌流液の pH をそれに合わせるためには、1.5%CO₂, 98.5%O₂ ガスを通気した。細胞内 HCO₃⁻ 活量の算出は、Eisenman-Walker 式 (Fujimoto and Kubota⁹), 1976) を応用し、その標的イオンに HCO₃⁻ を、妨害イオンに Cl⁻ をあてはめて計算した。数値表現は平均値±標準偏差 (SD), (例数, n) で表わし、有意差検定は student の *t* 検定を用いた。なお、本論文では活量符号に () を用い、濃度表現は [] を使用して、双方を区別した。

B. 炭酸解離指数の測定

Henderson-Hasselbalch 式に (HCO₃) を代入して用いる際に、実際問題として必要なことは炭酸の第 1 段解離指数を決定することである。これには熱力学的解離指数 *pK* と従来から用いられている見掛け上の解離指数 *pK'* などと、実験的に求まる (HCO₃) と (CO₂) を採用したときの解離指数 *pK'* の異同を知る必要がある。なおここに *pK'* は、H-H 式に [H₂CO₃] の代りに [CO₂] を代入するために、理論的な *pK* との間に生じる差を含めた実験値であるのに対し、*pK'* は [HCO₃]/[CO₂] の代りに (HCO₃)/(CO₂) を用いるための実験値である。この *pK'* の決定のためには、既知濃度および活量の HCO₃ 溶液を用い、その溶液の pH (正確には *p_{aH}*) と CO₂

分圧の実測値から算出した。

まず、5, 15, 25, 50 mM の濃度をもつ NaHCO₃ 溶液を調製し、25℃ の液温のもとに、5%CO₂ (+95% O₂) ガスを通気した。それらの溶液 pH を、ガラス電極 pH メーター (TOA, HM-15A) によって、経時的に測定しながらガスの十分な通気と共に安定した pH が示された時点 (平衡状態) で、その pH 値を記録した。同時にそれら溶液の一部ずつを嫌氣的に採取し、血液ガス分析装置 (Corning, Model 161 を室温で測定できるように改作したもの) にて、CO₂ 分圧を測定した。

さらに、より実際的な溶液の *pK'* 値を求めるため、混合溶液、すなわち、15, 25mM の HCO₃⁻ 濃度に調製した冷血動物用 Ringer 液を作製し、CO₂ ガス濃度を 5% (+95% O₂), 1.5% (+98.5% O₂) の 2 種類のガスで通気し、同様の測定を行なった。なお用いられた Frog Ringer 液の標準組成(単位 mM)は、NaCl 110, KCl 3.0, CaCl₂ 1.0, KH₂PO₄ 0.5, MgCl₂ 0.5, NaHCO₃ 15 である。

[HCO₃] を 25mM, 5mM にする際には、その過不足量を NaCl により補った。また、これらの溶液のイオン強度は、Lewis-Randall 式により 0.120 と求まり、25℃ の活量係数は、Debye-Hückel 式により 0.760 と計算された (Robinson & Stokes¹⁹), 1955)。

pK' 値は以下の式から計算した。

$$pK' = p_{aH} - \log \frac{[HCO_3] \times \gamma}{s \times PCO_2} \quad (1)$$

ここに γ は HCO₃⁻ に対する活量係数であり、較正液については Debye-Hückel による近似式から計算した。pH と PCO₂ はそれぞれの溶液の実測値である。また、実験条件 (室温 25℃) における炭酸ガス吸収係数 *s* を 0.044mM CO₂/L/mmHg として用いた。なお各種の実験温度における *s* と *pK'* の値をそれぞれ Table 1 と Table 2 に挙げておく。なお、データの基礎となった各種温度の実験法については Satake²⁰) ら (1980) に記載されている。

細胞内 PCO_2 が必要である。しかし、その細胞内 PCO_2 の実測が不可能な現状では、 CO_2 が細胞内外で等しい平衡条件を想定して細胞外液 PCO_2 (mmHg) を代用するほかはない。このとき用いる CO_2 の解離指数 (pK') は、冷血動物においては、Table 2 に示すように、 25°C で、6.312、 22°C で 6.348 であり、また、 CO_2 ガス吸収係数 (s) は、Table 1 から 25°C で 0.042、 22°C で 0.046 mM $\text{CO}_2/\text{L}/\text{mmHg}$ であることがわかる。 s の妥当性はイオン電極の使用如何によって変わることはないが、 pK' の結果および考察の項で詳細に述べることにする。

それに関連して、本研究では動物実験として、実測 $(\text{HCO}_3^-)_i$ と細胞外の PCO_2 より算出した細胞内 pH の予想値に対し、実際の細胞内 pH 実測値を比較することにした。細胞内 pH 測定用の微小 pH 電極は LIX pH 微小電極 (Matsumura et al¹⁶, 1981) で Nigericin を H^+ -Ligand として用いたものである。

II. 結 果

A. pK' 値の決定

Table 3 は、 HCO_3^- の単純溶液、混合溶液

Table 3. Determination of a new dissociation exponent of carbon dioxide with bicarbonate ion-selective microelectrodes in various solutions containing different concentrations of bicarbonate.

Temp. 25.0°C $s=0.0439$

1. Simple Solutions (Bicarbonate Solution)

Sample	$[\text{HCO}_3^-]$	γ	(HCO_3^-)	pH	PCO_2	$\log \{(\text{HCO}_3^-)/(s \times \text{PCO}_2)\}$	pK'
1	5	0.928	4.6	6.771	35.8	0.4702	6.301
2	15	0.887	13.3	7.263	37.0	0.9123	6.350
3	25	0.863	21.3	7.465	36.5	1.1297	6.335
4	50	0.826	41.3	7.792	36.9	1.4065	6.386

2. Mixed Solutions (Frog Ringer I=0.120)

Sample	$[\text{HCO}_3^-]$	γ	(HCO_3^-)	pH	PCO_2	$\log \{(\text{HCO}_3^-)/(s \times \text{PCO}_2)\}$	pK'
5	5	0.760	3.8	7.340	8.7	0.9978	6.342
6	15	0.760	11.4	7.773	8.8	1.4700	6.303
7	25	0.760	19.0	8.003	8.6	1.7018	6.301
8	5	0.760	3.8	6.813	32.8	0.4214	6.392
9	15	0.760	11.4	7.180	35.5	0.8642	6.316
10	25	0.760	19.0	7.431	35.0	1.0922	6.339

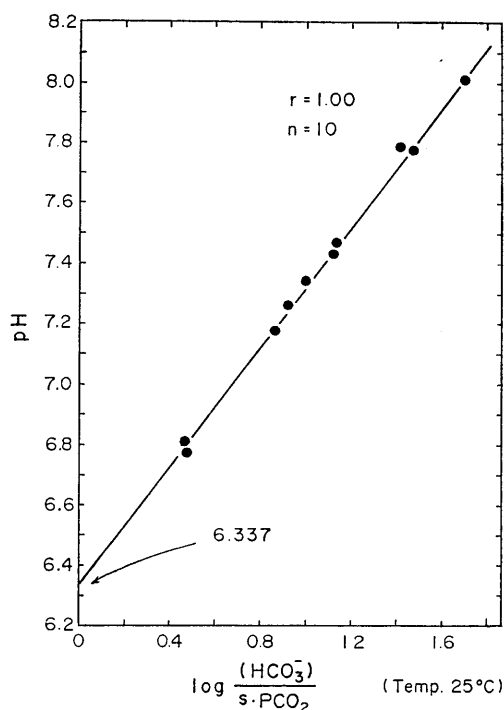


Fig. 2. Relationship between the measured bicarbonate activities and pH in simple solutions and mixtures containing different concentrations of bicarbonate, as listed in Table 3.

(HCO_3^-) の異なる Frog Ringer 液) の 2 系列の溶液群で求められた pK' 値を示す(25°C). 表中では $[\text{HCO}_3^-]$ は名目上の濃度, γ は活量係数であり, 理論値を用いている. $(\text{HCO}_3^-)_i = \gamma \times [\text{HCO}_3^-]$ として計算されている. 表の中の pH と PCO_2 は, その溶液の実測 pH 値と実測 PCO_2 値であり, それより $\log\{(\text{HCO}_3^-)_i / (s \times \text{PCO}_2)\}$ を求め, pK' 値を算出した. Table 3 の下半分に示すように混合溶液では, 2 種類の CO_2 ガス(5% CO_2 , 95% O_2 および 1.5% CO_2 , 98.5% O_2) を平衡せしめ, 実測 PCO_2 としてそれぞれ 34.4 ± 1.4 および $8.7 \pm 0.1 \text{ mmHg}$ の値がえられている. なお, 上半分に示した単純溶液群をもふくめて, H-H 改良式から求められる pK' の平均値は, 6.337 ± 0.033 ($n=10$) であった. Fig. 2 は, Tedle 3 をもとに, 25°C における pH と $\log\{(\text{HCO}_3^-)_i / (s \times \text{PCO}_2)\}$ との関係を図示したものである. この図での y 切片が pK' 値を示す. これら 2 つのパラメーターの関係は, きれいな直線(相関係数 $r=1.00$)を示した.

B. 細胞内 HCO_3^- の測定

Table 4 に実測した細胞内 HCO_3^- 活量を膜電位とともに示した. *in vivo* の腎近位尿管の周囲側の膜電位 (E_m) は $-61.5 \pm 4.2 \text{ mV}$ ($n=9$) で, $(\text{HCO}_3^-)_i$ は $7.7 \pm 4.8 \text{ mM}$ であった. これに対し, *in vitro* の灌流腎において, 細胞外液を $(\text{HCO}_3^-)_o = 11.4 \text{ mM}$, $\text{PCO}_2 = 10.8 \text{ mmHg}$, $\text{pH} = 7.5 \sim 7.6$ に調整した場合は, E_m が $-46.9 \pm 7.3 \text{ mV}$, $(\text{HCO}_3^-)_i = 5.3 \pm 1.0 \text{ mM}$ ($n=7$) であった. さらに, 食用ガエルの縫工筋細胞では, $E_m = -66.7 \pm 12.8 \text{ mV}$, $(\text{HCO}_3^-)_i = 1.6 \pm 0.3 \text{ mM}$ ($n=10$) の結果をえた.

C. pH_i の算出と実測 pH_i の比較

実測された細胞内 HCO_3^- 活量を用いて, 細胞内外の CO_2 平衡が比較的良く保たれていると仮定し, 細胞内の pH を算出した. Table 5 に, 実測した細胞外液の PCO_2 値, 細胞内 HCO_3^- 活量, さらにそれら 2 つを H-H 改良式に代入して求めた細胞内 pH 値が示してある.

pK' や s 値は細胞外液(カエル血清)のものを用

Table 4. Intracellular bicarbonate activities and the simultaneously observed membrane potential differences in proximal tubular cells of *in vivo* and *in vitro* perfused kidney and sartorius muscle.

	E_m (mV)	$(\text{HCO}_3^-)_i$ (mM)	n
1. Proximal tubule <i>in vivo</i>	-61.5 ± 4.2	7.7 ± 4.8	9
2. Proximal tubule <i>in vitro</i>	-46.9 ± 7.3	5.3 ± 1.0	7
3. Sartorius Muscle	-66.7 ± 12.8	1.6 ± 0.3	10

Values shown are mean \pm SD; n=number of animals

Table 5. Comparison of predicted and measured pH_i with two different kinds of liquid-ion exchanger (LIX)-microelectrodes. Predicted pH_i was calculated from the measured $(\text{HCO}_3^-)_i$ and extracellular PCO_2 , assuming the CO_2 is at equilibrium across the cell membranes. Measured pH_i was obtained using LIX pH microelectrodes.

	(n)	Extracellular PCO_2 (mmHg)	Measured $(\text{HCO}_3^-)_i$ (mM)	Predicted pH_i	Measured pH_i
Proximal Tubule <i>in vivo</i>	9	14.0 ± 5.7	7.7 ± 4.8	7.39 ± 0.07	7.36 ± 0.05
Proximal Tubule <i>in vitro</i>	7	10.8	5.3 ± 1.0	7.37 ± 0.09	7.34 ± 0.04
Sartorius Muscle	10	10.8	1.6 ± 0.3	6.85 ± 0.10	6.98 ± 0.05

The values are expressed as means \pm SD. Temperature: 22°C.

いた(Table 1, 2を参照). さらに最右欄には, 液体イオン交換剤 pH 微小電極を用いて実測した細胞内 pH 値が示されている. *in vivo*の食用ガエル細胞外液の PCO_2 の平均値は, 14.0 ± 5.7 mmHg ($n=9$)であり, そのときの細胞内 (HCO_3^-)_i は, 7.7 ± 4.8 mM ($n=9$)であるから, これらの数値から算出した細胞内 pH の値は 7.39 ± 0.07 である. 一方 pH 電極で実測した pH_i は 7.36 ± 0.05 であった. 次に *in vitro*の灌流腎の, 細胞外液は $1.5\% \text{CO}_2$, $98.5\% \text{O}_2$ ガスの通気によって, $\text{PCO}_2 = 10.8$ mmHg の一定値に維持しているため, 細胞内外が平衡していると仮定し, さらに細胞内 (HCO_3^-)_i 実測値を H-H 改良式に代入して, 細胞内 $\text{pH} = 7.37 \pm 0.09$ ($n=7$)の値をえた. 一方, これに対しこの際の実測細胞内 pH 値は, 7.34 ± 0.04 ($n=7$)であった. 最下段には縫工筋細胞の成績も示されている. 同様にして HCO_3^- 活量からの計算による細胞内 pH 値は 6.85 ± 0.10 ($n=10$)であり, 電極による実測 pH_i は 6.98 ± 0.05 ($n=10$)であった.

III. 考 察

A. 炭酸解離指数について

pH, CO_2 , HCO_3^- の3つの酸塩基パラメーターを相互に関係づける Henderson-Hasselbalch 式は, そのパラメーターのうち2つを知って, 残りの1つを類推するために用いられる溶液論的に極めて重要な式である. にも拘わらず, 特に過去においては, この式に用いられるべき炭酸の第1段解離指数には, 25°C とか 37°C のような典型的な室温とか体温条件でえられた値が用いられており, また知見的にも希釈水溶液で求められた熱力学的解離指数 (pK) と, 哺乳類血漿について求められた見掛け上の解離指数 (pK') 以外は, あまり一般的に知られていない. 今日まで哺乳類の血漿について pK' の温度係数を求めた研究は幾つかあるが (Bartel & Wrbitzky⁴⁾ 1960, Austin²⁾ 1963, Greenburg & Moulder¹⁰⁾, 1965), 冷血動物のようにイオン強度や, 温度が異なる場合のそれは研究が少なく, さらに HCO_3^- や CO_2 の活量を導入した

pK' の測定は皆無である.

一般に弱酸 HA の解離反応を



とすれば, 解離恒数 (dissociation constant, K) は

$$\text{K} \equiv \frac{(\text{H}^+)(\text{A}^-)}{(\text{HA})} \quad (3)$$

と定義される. また解離指数 pK の一般形は, $\text{pK} \equiv -\log \text{K}$ と表現される. ()内の活量を濃度 [] でおきかえることにより,

$$\begin{aligned} \text{pK}' &= \text{p}a_{\text{H}} - \log \frac{(\text{A}^-)}{(\text{HA})} \\ &= \text{p}a_{\text{H}} - \log \frac{\gamma_{\text{A}^-}}{\gamma_{\text{HA}}} - \log \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]} \quad (4) \end{aligned}$$

がえられる. ここに γ は活量係数を示す.

HA としての CO_2 や H_2CO_3 はイオンではなく, また体液のような比較的希薄な溶液では $\gamma_{\text{HA}} \approx 1$ である. さらに, CO_2 を HA とする場合 Henry の法則によって

$$[\text{CO}_2] \approx (\text{CO}_2) = s \times \text{PCO}_2 \quad (5)$$

のように, 溶解度係数 (solubility coefficient, s , mM/L/mmHg) と CO_2 分圧 (mmHg) の積で表わされる. $[\text{H}_2\text{CO}_3]$ の代りに (CO_2) を用いることによって生じる差を考慮して見掛け上の解離指数 pK' を求めると, 前提の(1)式のようなわれわれの実験に適用する式がえられる.

今回の実験で, (HCO_3^-) を HCO_3^- 電極法で測定したときの pK' 値を実測したが, その値は 25°C で, 6.337 ± 0.031 であり, 同温での理論的解離指数 pK とほとんど一致した. たとえば 25°C では Robinson & Stokes¹⁰⁾ (1955) や Bates⁵⁾ (1973) によれば, それぞれ 6.352, 6.37 であり, また Teble 2 に示したわれわれの成績は 37°C における Siggaard-Andersen²¹⁾ (1973) の推定値 6.330 という値と合致する.

さて, 次にこの pK' 値の温度に対する影響について考察する. これについてはすでに経験的に求められた Harned¹¹⁾ ら (1943) の補正式が報告されている. しかし, これには活量の概念が

含まれていない。一般に、解離恒数 K の温度に対する依存性は、平衡条件において、

$$\frac{d(\ln K)}{dT} = -\frac{\Delta H^0}{RT^2} \quad (6)$$

で表わされる (Barrow²⁾, 1973)。ここに dT は温度の微小変化、 T は絶対温度、 R はガス恒数、 ΔH^0 は標準状態における反応系のエンタルピー (熱容量) の変化である。(6)式を積分すれば

$$pK = -\frac{\Delta H^0}{2.303 \cdot R} \times \frac{1}{T} + \text{const} \quad (7)$$

がえられる。もし反応系が一次反応であれば、 pK (または pK') を縦軸に、また $1/T$ を横軸にとって、実験値をプロット (Arrhenius plot) すれば、直線関係がえられるはずである。

個々の実験値の温度の影響は、反応系の各項目の温度変化から調べることも可能である。前掲(1)式の各成分を温度で微分すれば、

$$\begin{aligned} \frac{d pK'}{dT} &= \frac{d_p a_H}{dT} - \frac{d \log \gamma_{HCO_3}}{dT} \\ &\quad - \frac{d \log [HCO_3]}{dT} + \frac{d \log s}{dT} \\ &\quad + \frac{d \log PCO_2}{dT} \end{aligned} \quad (8)$$

となる。いま、右辺における $[HCO_3]$ と PCO_2 を含んだ項は内容的に溶媒に対する溶質の比率を表わしており、実験温度にかかわらないと考えられるので、 $d \log [HCO_3]/dT \doteq 0$ と $d \log (PCO_2)/dT \doteq 0$ と考える。したがって温度に対する勾配は、

$$\begin{aligned} \frac{d pK'}{dT} &= \frac{d_p a_H}{dT} - \frac{d \log \gamma_{HCO_3}}{dT} \\ &\quad \text{(A)} \quad \text{(B)} \\ &\quad - \frac{d \log s}{dT} \end{aligned} \quad (9)$$

となる。

この場合、上式(A)は実測により、また(B)、(C)は Debye-Hückel の理論ないしは、物理化学表から近似的に算出することができる。そこで、5~50℃の範囲で、 pK' 値がどう変化するかを算出し、Fig. 3 にプロットした(黒丸印)。

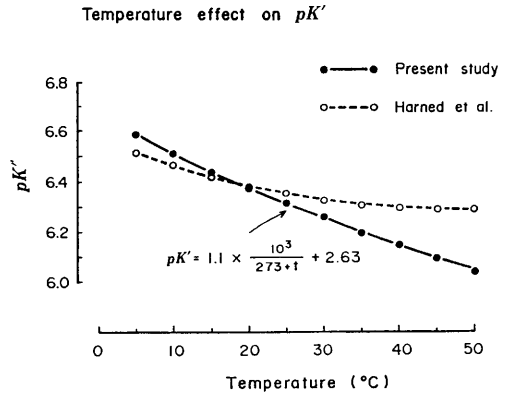


Fig. 3. Plot of pK' against temperature. The data of the present study (solid curves) are compared with those of Harned et al. (dotted curve).

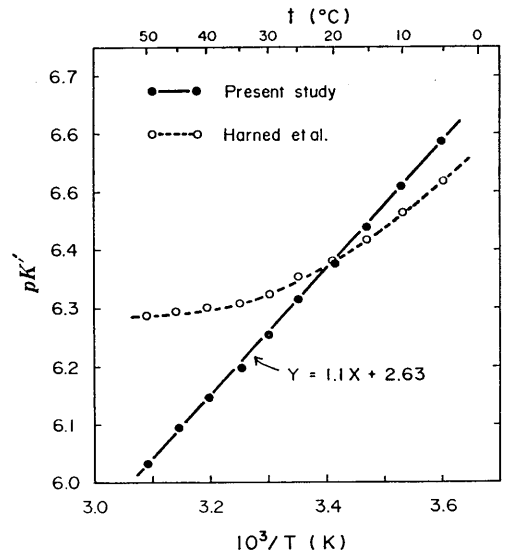


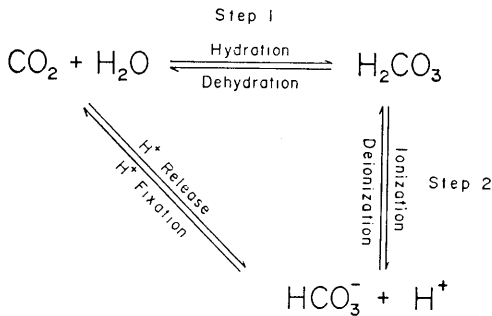
Fig. 4. Arrhenius plot for temperature effect on pK' . Comparison of the present study (●—●) with Harned et al. (○—○). The X-axis is defined as $10^3/T$, whereas the Y-axis is the dissociation exponent of CO_2 .

さらに比較検討のために、すでに報告されている Harned¹⁰⁾(1943) の温度補正式をつかって求めた pK' 値を同時にプロットした(白丸印)。またこれらの2つの結果の違いを詳しく調べるため、次に Arrhenius のプロットとして、たて軸に pK' 値を、横軸に $1/T$ をとって表わした (Fig. 4)。黒丸で示すように、 HCO_3 活量として求めた pK' と $1/T$ (Kelvin 単位) の関係はほぼ

直線となり、したがって温度と pK' の関係は熱力学的に一次の反応系として取扱うことができる。この回帰式は $Y=1.10X+2.63$ であった。

Fig. 5 に示す模型は、著者らと Harned らの結果とのくい違いの理由を考察するための模型である。まず、反応系として CO_2 と水から炭酸となり、それが直ちに HCO_3^- と H^+ に解離すると考える。一般的にこの反応は、step 1, step 2 と間接的に進行すると考えるが、H-H 改良式は、一次的に CO_2 と HCO_3^- , H^+ を直接的に結びつけて表現している。われわれが求めた pK' 値は、step 1, step 2 の両方を同時に温度補正しうるので、一次的な CO_2 と HCO_3^- との平衡反応としてあつかうことができたものであろう。それに対して、Harned らの式は、step 2 の活量依存性の因子を補正しきれなかったために、Fig. 4 のように曲線となったと考えられる。すなわち HCO_3^- 活量として測定し、この pK' 値を求めると、 CO_2 と H_2O から直接 HCO_3^- と H^+ の反応がおこるように扱いうる。したがって熱力学的に一次反応として扱え、さらに温度補正が直線式となり、より便利と思われる。

B. 細胞内 HCO_3^- 測定と pH_i 推定の妥当性
 実測した腎近位尿細管の細胞内 HCO_3^- 活量の値は、*in vivo* 腎で $7.7 \pm 4.8mM$, *in vitro* 腎で $5.3 \pm 1.0mM$ であり、一方、縫工筋細胞では $1.6 \pm 0.3mM$ であった。かつて、Khuri¹⁴⁾ ら (1974) はネクチュルスを用いて測定した腎近位尿細管 (HCO_3^-)_i の値は $11.1 \pm 0.6mM$ であった



Step 1 : Solubility dependent

Step 2 : Activity dependent

Fig. 5. Model for reactions involved in dissociation of carbonic acid.

と報告している。さらに、カエルの骨格筋での細胞内 HCO_3^- 濃度は、 $4.4 \pm 0.3mM$ であったと述べている。今回われわれが実測した値は、すべてこれらの値より低値を示したが、細胞内 HCO_3^- 濃度は細胞外液条件により大きく影響をうけると思われ、外液条件によりその値は大きく変化する。Khuri ら¹²⁾ (1974) が実測したときの細胞外液は、 $PCO_2=21 \sim 23mmHg$; HCO_3^- 濃度 $11 \sim 12mM$ であった。これに比較し、われわれが実測した細胞外液の PCO_2 は $11 \sim 14mmHg$ であり、細胞外液 HCO_3^- 活量は $11 \sim 12mM$ であり、 $pH 7.6 \sim 7.7$ であった。さらに Clancy と Brown⁷⁾ (1966) は、化学的方法によりラットの骨格筋細胞で細胞内 HCO_3^- 濃度は $14.7mM$, Fenn ら⁸⁾ (1937) は $14mM$ といった値を求めたが、測定方法や条件によりその正常値はまちまちであった。たとえば、Burnell⁶⁾ (1968) や、Miller ら¹⁷⁾ (1963) は、その値はそれぞれ $4.8mM$ または、 $8.7mM$ であると報告している。

さて、本研究において、細胞内 HCO_3^- 活量から算出した pH_i の値は、*in vivo* 腎で 7.39, *in vitro* 腎で 7.37 であったが、 H^+ 微小電極で実測した値、すなわち 7.36, 7.34 とはわずか 0.03pH 以内の偏位にすぎない。このことは、細胞内外での CO_2 平衡が良好に保たれているとの仮定が正しいことを示しており、腎近位尿細管における H^+ の分泌、あるいは HCO_3^- の再吸収過程において CO_2 が重要な働きをもつことが予想される。さらに、この予想は、腎尿細管細胞および管腔側壁に多くの炭酸脱水酵素があることとも矛盾しない。さらに、実測によって求められた、 HCO_3^- 活量を用いたときの H-H 改良式の pK' 値が、充分細胞内液でも利用しうる数値であると思われる。一方、縫工筋細胞の細胞内 pH の算出値は 6.85, 実測値は 6.98 であり、0.13pH の偏位がある。これについては、前述の腎近位尿細管に比し、やや大きい、これは腎近位尿細管が大量のイオンおよび水を輸送する上皮細胞であるのに対し、筋細胞は、筋収縮をおこす実質細胞であるためと考えられる。

すなわち、筋細胞では多量の CO_2 が発生し、 pH_i も低く、 HCO_3^- も少なく、さらに炭酸脱水酵素も腎に比較して少ないであろう。だから求められた pK' 値は、筋細胞内の状態により非平衡が生じ、若干補正して用いる必要があるのかもしれない。しかし大局的には、細胞外液 PCO_2 と、細胞内 HCO_3^- 活量の実測値から求めた細胞内 pH の値は実測されたそれとほとんど一致し、細胞内外の CO_2 平衡が良好に保たれていると考えて大きい誤りはないであろう。またそれは、 HCO_3^- に比べて細胞膜を通過する CO_2 速度がかなり速いことから予想できる。

以上、今回 HCO_3^- 電極を用いて、 HCO_3^- を活量として測定したときに、従来から用いられてきた H-H 式の解離指数 pK' の値を用いることができないため、新たに、 HCO_3^- 活量を用いたときの、すなわち H-H 改良式のための pK' を実測した。そしてこの pK' を用いて細胞内 pH を推定したところ、特に腎近位尿管では実測した細胞内 pH とほぼ一致し、細胞内外での良好な CO_2 平衡が成立する証拠をえた。さらにこの pK' は熱力学的 pK にほぼ等しく、H-H 式の HCO_3^- 含有項を活量であらわすことにより、 pK' は温度補正が容易となり、いろいろの実験条件で合理的な解析が可能になった。

IV. 結 論

著者らは近年微小 HCO_3^- 電極と、 pH 電極を開発し、細胞内外の HCO_3^- 、 H^+ を活量として測定できることを示した。この際、Henderson-Hasselbalch 式には従来から用いられてきたのとは異なった見掛け上の炭酸解離指数 (pK') の決定が必要となった。この pK' 値を求めるため、*in vitro* で、単純 NaHCO_3 液と、Frog-Ringer 液を用いて、 HCO_3^- 含有量、温度、イオン強度を変化させた液を作り、その液の PCO_2 と pH を実測した。それらの成績より各温度における水溶液、冷血動物血清、温血動物血漿における pK' を求めた。それによると、 25°C における Frog-Ringer 液の実測 pK' は 6.337 であり、この値は熱力学的炭酸解離指数 $\text{pK}=6.34$ に一

致した。また pK' 値の温度に対する影響は、Arrhenius のプロットで表わすと直線回帰を呈し、したがって、熱力学的に一次反応として、より簡単に取扱うことができる。

文 献

- 1) Arrhenius, S.(1973)General kinetics principles. In : Laidler, K. J. & Buring, P. S. The Chemical Kinetics of Enzyme Action. 2nd Ed., Chap. 2, Clarendon Press, Oxford, 35-67
- 2) Austin, W. H., Eleanor, L., Rand, P. W. & Manu, C.(1963)Solubility of carbon dioxide in serum from 15 to 38°C . J. Appl. Physiol. **18**, 301-304
- 3) Barrow, G. M.(1973)Physical Chemistry.(3rd Ed.)pp. 211-215 McGraw-Hill, New York
- 4) Bartels, H. u. Wrbitzky, R.(1960)Bestimmung des CO_2 -Absorptions-koeffizienten zwischen 15 und 38°C in Wassen und Plasma. Pflügers Arch. **271**, 162-168
- 5) Bates, R. G. (1973) Determination of pH . 2nd Ed., Wiley-Interscience Publication, New York, pp. 479
- 6) Burnell, J. M.(1968)*In vivo* response of muscle to changes in CO_2 tention or extracellular bicarbonate. Am. J. Physiol. **215**, 1376-1383
- 7) Clancy, R. L. & Brown, E. B.(1966)*In vivo* CO_2 buffer curves of skeletal and cardiac muscle. Am. J. Physiol. **211**, 1309-1312
- 8) Fenn, W. O., Cobb, D. M., Manery, J. F. & Bloor, W. R.(1937)Electrolyte changes in cat muscle during stimulation. Am. J. Physiol. **121**, 593-608
- 9) Fujimoto, M. & Kubota, T.(1976)Physicochemical properties of a liquid ion-exchanger microelectrode and its application to biological fluids. Jpn. J. Physiol. **29**, 631-650
- 10) Greenburg, A. G. & Moulder, P. V. (1965) Temperature coefficient for PCO_2 and pH in whole blood. Arch. Surg. **91**, 867-871
- 11) Harned, H. S. & Owen, B. B.(1943)The Physical Chemistry of Electrolytic Solutions. Reinhold, New York
- 12) 梶野興三(1981)二連型 HCO_3^- 感受性微小電極による細胞内 HCO_3^- の測定. 大阪医大誌 **40**, 194-205
- 13) Kajino, K., Matsumura, Y., Kubota, T., Kotera, K. & Fujimoto, M.(1981)Reabsorptive mechanism of bicarbonate ions across the luminal membrane of proximal tubule. Advance in Physiol. Sciences **11**, 513-517, Pergamon Press, Oxford
- 14) Khuri, R. N., Agulian, S. K., Bogharian, K.,

- Nassar, R. & Wise, W. (1974) Intracellular bicarbonate in single cells of *necturus* kidney proximal tubule. *Pflüger Arch.* **349**, 295-299
- 15) Kubota, T., Honda, M., Kotera, K. & Fujimoto, M. (1980) The effect of diffusible ion on the peritubular membrane potential of proximal tubular cells in perfused bullfrog kidneys. *Jpn. J. Physiol.* **30**, 775-790
- 16) Matsumura, Y., Aoki, S., Kajino, K. & Fujimoto, M. (1981) The double-barreled microelectrode for the measurement of intracellular pH, using liquid ion-exchanger, and its biological application. *Advances in Physiol. Sciences* **11**, 387-391, Pergamon Press, Oxford
- 17) Miller, R. B., Tyson, I., Relman, A. S. (1963) pH of isolated resting skeletal muscle and its relation to potassium content. *Am. J. Physiol.* **204**, 1048-1054
- 18) Pitts, R. F. (1974) *Physiology of the Kidney and Body Fluids*. 3rd Ed., Year Book, Chicago, pp. 315
- 19) Robinson, R. A. & Stokes, R. H. (1955) *Electrolyte Solutions*. Basic concepts and definitions. Butterworths, London 24-29
- 20) Satake, N., Matsumura, Y. & Fujimoto, M. (1980) Temperature coefficient of and oxygen effect on the antimony microelectrode. *Jpn. J. Physiol.* **30**, 671-667
- 21) Siggaard-Andersen (1974) *The Acid-Base Status of the Blood*. Chap. 2, Acid-base biochemistry, Munksgaard, Copenhagen, 29-83

日本生理学会雑誌第44巻(1982)は本号(12号)を以って完了致しますが、これに号外として出版した生理学論文表題集が加わって完成されるわけです。

第44巻を装丁なさる場合には、是非生理学論文表題集(号外)をお入れ下さい。号外御希望の方は、日本生理学会事務所へお問い合わせ下さい。

残部僅少!!

〔編集後記〕

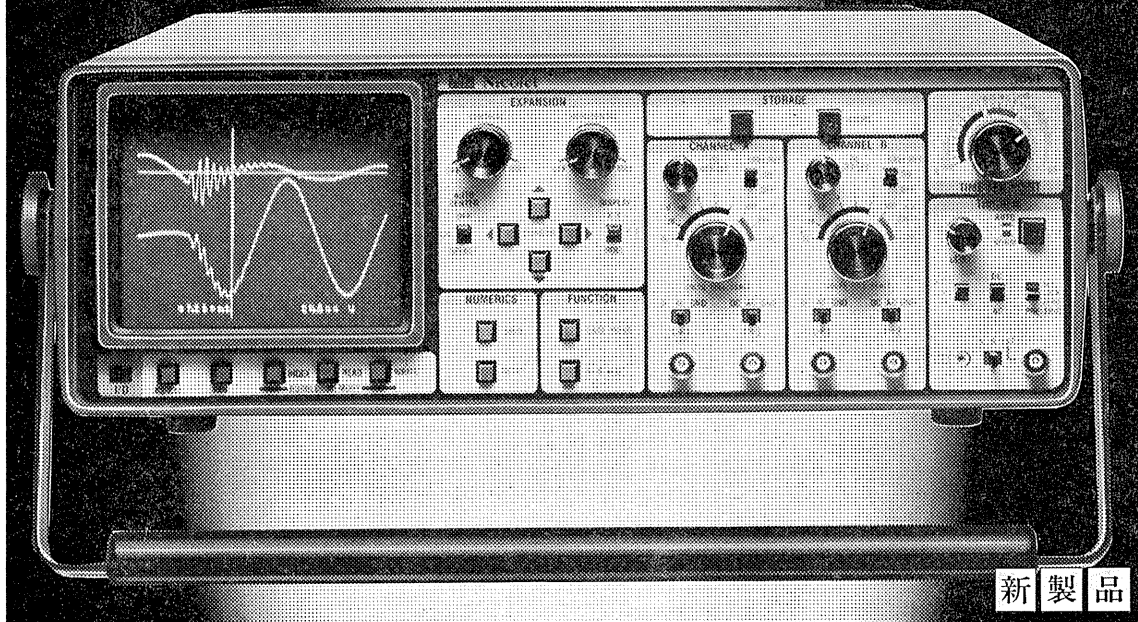
日生誌44巻12号をお届け致します。本44巻をふり返ってみますと、総説4, 研究法1, 解説講演7分野、生理学の広場等の多くの原稿が寄せられました。読まれる雑誌、会員相互のコミュニケーションに役立つ雑誌をと願って企画致しましたが、会員の皆様の御協力でなんとか当初の目的を達成できたのではないかと存じております。今後もより良い雑誌とするため会員の皆様からの御意見を期待しております。

また44巻は新企画として生理学論文表題集を号外といたしました。装丁をなさる場合には是非この表題集をお入れ下さい。多少残部がありますので御希望の方は日本生理学会事務局へお問い合わせ下さい。

この表題集に関しては、生理学の広場へ貴重な御意見が寄せられ、たとえば森先生からは「キーワード索引」などの御提案がありました。より利用しやすい表題集とするため、御意見をお持ちの方々で小委員会のようなものを持たれて、具体的な企画案をまとめていただくという案はどうでしょうか? (馬詰良樹)

編集委員

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



新製品

ザ・バブルマシーン

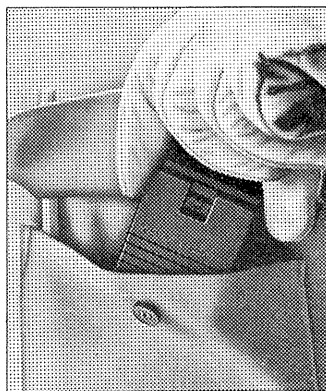
ポケットに大切な波形を——

使いやすさで定評のあるニコレーのデジタル・オシロスコープにバブルメモリを搭載した新しい仲間model3091Bが加わりました。

大切な波形をポケットに入れて持ち歩ける、新しいメモリ媒体(磁気バブルカセット)の採用により、高性能はそのままに小型軽量化を実現。さらに数々の使い易い新機能を追加し、ぐんとグレードアップ。しかも価格は従来機種種の半分以下という低価格を実現。まさに新時代のオシロスコープといえる新型model3091、あなたの右腕としてあらゆる測定現場へお連れください。(バブルカセット付: Model3091B)

他の追随を許さない新機能

- 新世代のメモリ媒体、磁気バブルカセットメモリ
 - どこにでも持ち運べる小型軽量8kg
 - この高性能で、この価格! (Model3091B:198万円)
- 1,450,000円**
- 60倍まで波形拡大率は連続可変
 - 低周波領域で威力を発揮するロールモード
 - RS-232Cを標準装備



新世代のメモリ媒体磁気バブル

カセット式のため着脱自在。持ち運び、交換が容易。機械的動可部分がなくメンテナンスフリー。情報20Kワードの書き換えが可能。新しいメモリ媒体です。(最大10波形を記憶)

デジタル オシロスコープ

model 3091

- 分解能/12ビット ● サンプルング/1μsec ~ 200sec
- トリガモード/AUTO, NORMAL, プリ・トリガ
- メモリ容量/8Kワード(4Kワード/ch)
- 波形拡大機能/連続60倍(水平・垂直)
- 表示/電圧値、時間値、チャンネル表示
- 表示モード/Y/T, X/Y, ROLL
- 外部記憶/磁気バブルカセット
- 外部出力/RS-232C, XYレコーダ用
- 重量/8.2kg (3091基本モデル)
- 寸法/37×13×43cm

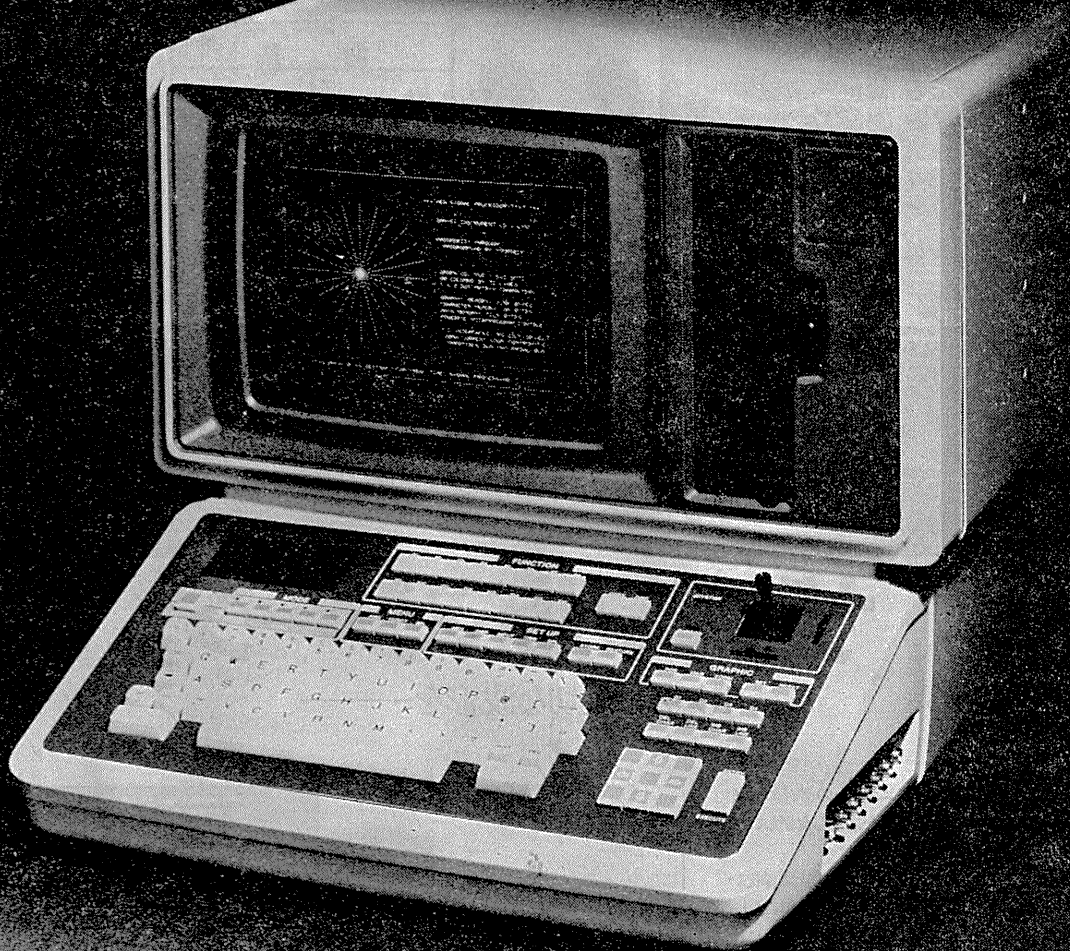
■資料の請求・製品デモのご依頼をお待ちしています。



NICOLET
JAPAN
CORPORATION
ニコレー・ジャパン株式会社

〒153 東京都目黒区東山1丁目1番2号
東京 ☎03 (715)2551(代)
大阪 ☎06 (263)1550(代)
名古屋 ☎052(741)2150(代)

最大20チャンネルの高速処理 卓越したグラフィック機能。



- 多チャンネルリアルタイム処理
- 12インチの大形ブラウン管を彩用
- フロッピーディスク(8インチ)搭載
- BASIC言語でプログラム作成可能
- 実装メモリ容量512KByte
- サーマルプリンタを標準付属

シグナルプロセッサ

NEW 7T17

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

明日の健康と福祉を守る

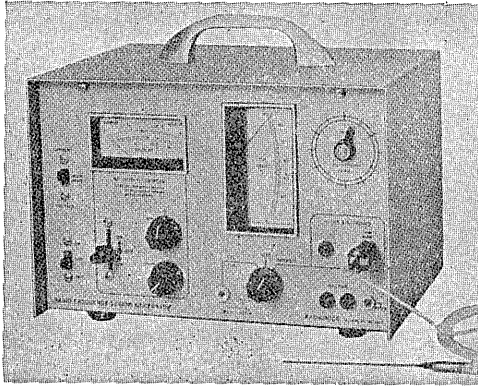
AAA San-ei 三栄測器

東京都新宿区大久保1-12-1 〒160 ☎03(209)0811代

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

RADIONICS社

動物用 高周波 RF リージョン ジェネレータ



主な特徴

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

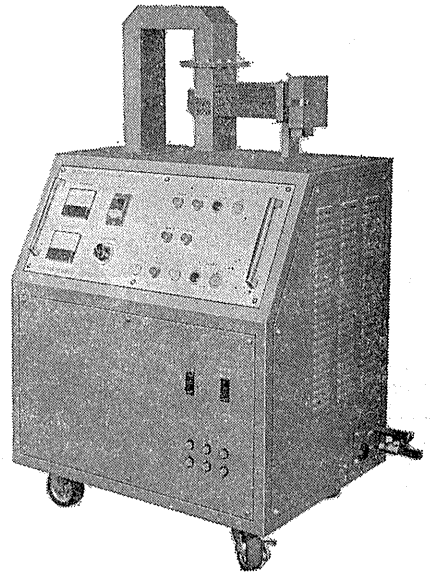
実験動物脳内酵素不活性化装置

東芝マイクロウェーブ アプリケーション アプリーケータ

TMW-6402A型

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

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



主な特長

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

日本総代理店

室町機械株式会社

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

2点間の電位差を ダイレクトに捉える

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

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



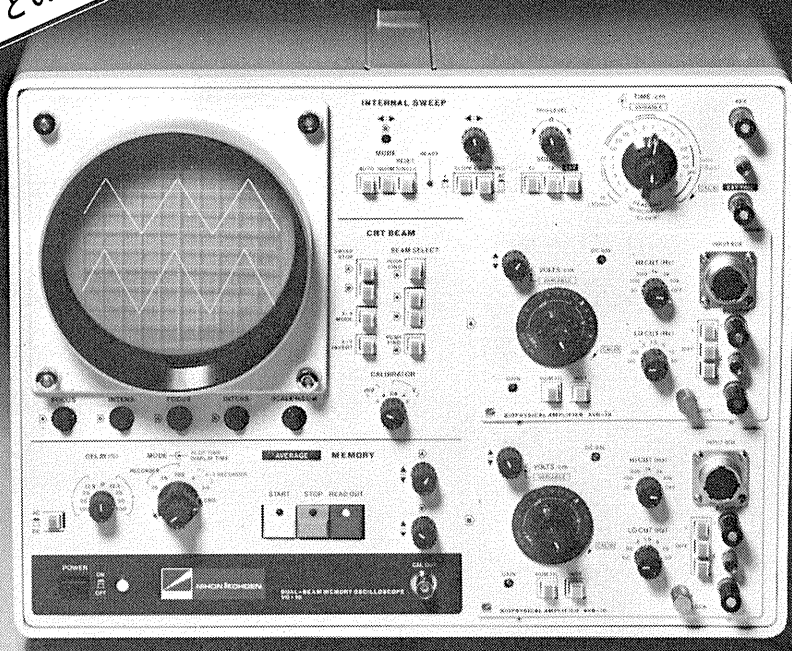
差動型微小電極用増幅器

ME-3241

株式会社
エム・イー・コマーシャル

本社 〒166 東京都杉並区和田3-54-11 ☎(03)317-1451代
大阪営業所 ☎(06)380-2601 名古屋営業所 ☎(052)451-3255 広島営業所 ☎(0822)92-3581 福岡営業所 ☎(092)863-2757

パソコンとの接続も可能!



アベレージ・ヒスト… 拡張性を秘めたVC-10。

〔2-4現象 メモリオシロスコープ VC-10〕

- VC-9の使い易さをそのままにメモリオシロにグレードアップしたVC-10
- 2チャンネルメモリを内蔵、アベレージャヒストグラムユニットの追加が可能
- それに加え、これらの出力をパソコンへ接続するためのインターフェイスを内蔵等、大きな拡張性を秘めています。

〈オプション〉

■アベレージャ (DAT-1100)

チャンネル：2チャンネル

A/D変換：8ビット

メモリ：16ビット×1024ワード×2ch

出力：CRT用、直記式レコーダ用、XYレコーダ用、パソコン用（インターフェイス内蔵）

■ヒストグラムユニット (DAB-1100)

チャンネル：1チャンネル

処理プログラム：INTERVAL

DWELL TIME

LATENCY

PULSE COUNT

PULSE HEIGHT

SEQUENTIAL及び
NON SEQUENTIAL

スライサ：ウインド型スライサ内蔵

出力：アベレージャに同じ

エレクトロニクスで病魔に挑戦する



日本光電

〒161 東京都新宿区西落合1-31-4

☎03(953)1181

J. Physiol. Soc. Japan Vol. 44, No. 12 (1982)

Original

KAJINO, K., MATSUMURA, Y. and FUJIMOTO, M.: Determination of dissociation exponent of CO₂ used in Henderson-Hasselbalch equation by means of bicarbonate-selective microelectrode663

昭和五十七年十一月二十日印刷

編集兼
 発行人

酒井敏夫

東京都文京区湯島三丁目一〇番地
 日本生理学会

印刷者
 印刷所

山形県鶴岡市山王町一四一三四
 三浦経夫
 鶴岡印刷株式会社

発行所

東京都文京区本郷三丁目一〇番地
 日本生理学会

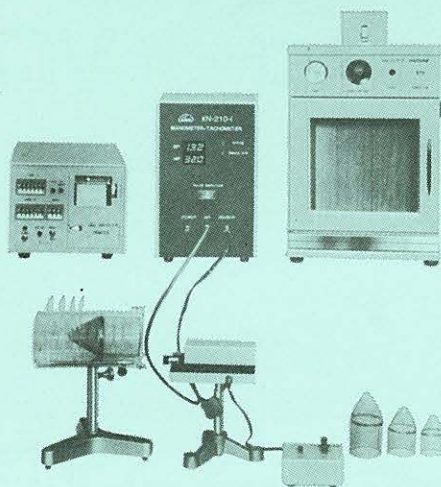
電話一五六一六二〇
 代替東京三七八四三〇
 価目百円四

ラット尾動脈圧・脈拍測定装置 KN-210

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。

NEW RAT TAIL MANOMETER-TACHOMETER SYSTEM

- 加圧時測定方式
- 再現性抜群
- ワンタッチ測定



- 構成
- KN-210-1 血压計・脈拍計 (センサー、コントローラー付)
 - KN-210-2 ラット固定器
 - KN-210-3 予熱箱
 - KN-210-4 プリンター

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 (813) 3 2 5 1 (代表)