

日本

生理学

雑誌

JOURNAL OF THE PHYSIOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

48巻

11号

1986

総 説

田中勲作：H反射-ヒトにおける神経生理学研究の一技法……………719

原 著

永井甲子四郎・須田泰子：カルノシン，ホモカルノシンの免疫賦活作用……………735

永井甲子四郎・須田泰子：カルノシン， β -アラニンの抗腫瘍作用
——抗腫瘍作用の生理学的考察——……………741

学会抄録 第72回近畿生理学談話会……………748

海外だより IUPS サテライトシンポジウム：Initiation and conduction of the cardiac
Pacemaker response (Banff) に出席して(百瀬弥寿徳)……………759

生理学の広場 国際生理学会のプログラムの是非(久野 宗)……………761

お知らせ J. J. P. の投稿規定一部変更について……………762

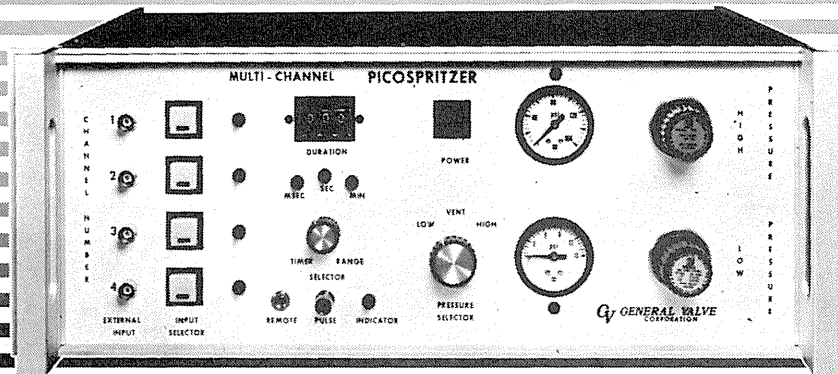
Satellite Symposium to the Second World Congress of Neurosciences,
International Brain Research Organization (IBRO)……………763

日本生理誌
J. Physiol. Soc. Japan

日本生理学会

PICOSPRITZER

圧力駆出に依る細胞内及び細胞外に
極微量(ピコリター単位)試薬押出装置



4 channel PICO SPRITZER

PICO SPRITZER は標準ラックに取り付ける事が出来ます。
繰り返し連続使用が可能で、駆出量は設定時間と圧力調整に依り任意に変える事が出来ます。

PICO SPRITZER に依る圧力駆出装置はイオン泳動法に依る注入方法に比較して神経組織に対する電気的な影響を心配する必要が全くありません。
本装置は御使用に際し直ちに稼動出来ます様必要な物は全て用意されて居り、亦廉価で経済的に御使用頂けます。

PICO SPRITZER には Single channel 用、multi channel 用があります。

■仕様

電源：115 V A.C.・50, 60 Hz

電流：1 Amp. max

消費電力：15 watts. max

電源コード：8 feet

操作圧力範囲：0-100 PSIG

圧力パルス信号：2 ms~999 ms

タイムマークシグナル：1~30 mv

GV GENERAL VALVE CORPORATION

日本韓国総代理店 ユニバーサルシステム コントロールズ株式会社

本社 〒150 東京都品川区東五反田5-28-12 東商ビル6F
TEL 03-447-3581(代)

大阪営業所 〒532 大阪市淀川区西中島6-1-26 大旺第一ビル407号
TEL 06-305-0335(代)

名古屋営業所 〒464 名古屋市中村区則武1-10-6 側島ノリタケビル506号
TEL 052-452-1923(代)

熊本営業所 〒862 熊本市白山2-1-1 白山堂ビル303号
TEL 096-366-5100

和光事業所 〒351 埼玉県和光市新倉2042
TEL 0484-65-2401

H反射-ヒトにおける神経生理学研究の一技法

田 中 勳 作

(東京都神経科学総合研究所, 病態神経生理学部門)

THE HOFFMANN REFLEX. Reisaku TANAKA (*Department of Neurobiology,
Tokyo Metropolitan Institute for Neurosciences*)

I. はじめに

H反射 (Hoffmann 反射) は, ヒトの脛骨神経の電気刺激により下腿三頭筋に誘発される短潜時の反射性筋電図反応として, ドイツの生理学者 Paul A. Hoffmann (1884~1962) により 1910年に初めて報告されたものである (Hoffmann, 1910; 1918). H反射という用語は, もちろん Hoffmann 自身が命名したものではない. 彼はこれを電氣的に誘発された腱反射 *Sehnenreflexe durch einen elektrischen Reiz* と呼んだ. 1950年代初頭にこの反射を取り上げて, その生理学的意義・臨床的価値を再確認させたアメリカの Magladery たちが Hoffmann にちなんで命名したものである (Magladery & McDougal, 1950; Magladery, 1955). 今では, III. に述べる基本的性質を備えていれば, 下腿三頭筋にかぎらず身体の中の筋に誘発されても H反射と呼ぶ. 同様の手技を用いて, サルで誘発することもできる (Roll et al., 1973).

H反射は, 脊髄における単シナプス性反射として一般に受け入れられており, したがって運動プールの興奮性を表す指標として広く利用されている. この反射をもっとも有意義たらしめる点は, 手技が比較的容易であり, かつ被検者を無麻酔・無侵襲・無苦痛の条件で試験できることである. いい換えれば, 意識を清明に保ったヒトにおいて, 脊髄運動ニューロンに生ずるシナプス機序を測ることを可能にする. さらに, 被検者に実際の運動課題を与えて, その遂行過程における運動ニューロン・脊髄反射回路の機能状態を探ることも可能である. これは,

慢性動物実験では非常に難しいことである. これらのことが, H反射を生理学・心理学実験において良く用いられる方法とした理由である.

しかしながら, 手技の容易さのゆえか, 実際の使用のされ方がやや安易に流れ, 問題の残る例が少なからず見受けられる. その一因として, 基本的な知識とその理解の不十分さがあげられる. 本稿は, H反射を生理学研究・臨床研究にすでに利用している, あるいはこれから用いようとする人達のために, 必要な基本的知識の整理・理解と応用の一助になれば, との願いから書いたものである. H反射は, 脊髄反射機構の理解のため, 神経生理学実習にも用いられている (生理学実習書, 1977). その指導の際の参考にも利用して頂ければ, 望外の喜びである. もとよりこの方面についてはすでに優れた綜説・解説書がいくつか出ているが (Magladery, 1955; Paillard, 1955; 三木と時実, 1964; Hugon, 1973; Desmedt, 1973), その後重要な知見が相継いで発表されてきた. 本稿は古典的な基礎知識にそれらを加えて, 新たな構成にまとめたものである. H反射の運動神経生理・臨床生理研究の具体的成果に関しては, 別の機会に譲る.

II. H反射の誘発・記録法

もっとも良く用いられる下腿三頭筋における H反射の誘発・記録法について述べる. 他の筋についても原理的には同じである. 表1に掲げた文献を参考にされたい.

被験者の姿勢として, 背臥位・伏臥位・坐位などいろいろ用いられているが, 要は被検者にとってできるだけ無理のない安楽な姿勢が良

い。安静時における検査が主体ならば、背臥位が楽である。特に、患者を対象とする場合は、これが良い。しかし、運動課題を負荷しての実験なら坐位が優れている。筆者は長時間にわたる実験に備えて、自動車用リクライニング式椅子（前後位置、背もたれ角度の調整が可能）を改造して、下肢の保持装具・足のトルク測定器を装備したものをを用いている（図1）。後述するように、肢位、特に、被試験筋の長さ・緊張状態の変化は、H反射の誘発に大きな影響を与える。したがって、下腿三頭筋においては膝および踝関節角度に注意を要する。膝関節の角度を約120度、踝関節のそれを100~120度に保持すると、下腿三頭筋が適度に弛緩し、安定した反応が得られる。記録中は体動を避け、精神の安静を保ち、必要を除いて睡眠に陥らないようにする。

誘発筋電図記録のために、一对の表面電極（径約10mmの皿電極）を下腿三頭筋の筋腹に縦方向に約3cm離して装着する。H反射は、主としてヒラメ筋に誘発される（後出）ので、腓腹筋筋腹下縁よりやや遠位に置く。汚れた皮膚・年長者の皮膚などでは電極-生体間の電気

抵抗が容易に100k Ω 以上におよび、ノイズを拾うことがまれでない。電極装着直前に皮膚表面に軽くサンドペーパーをあて、さらに消毒用アルコールで良く清拭すると良い。電気抵抗を10k Ω 前後にまで落とせれば理想的である。必要に応じて針電極・細ワイヤー埋め込み電極を用いる。

刺激用（表面）関電極を膝窩部で脛骨神経に装着する。その位置は、目指す反応の閾値がもっとも低いところを選ぶ。適度の圧迫を加えて電極を神経に近づけ、かつ電極の位置が容易にずれないように、しかも足末梢端への血流を妨げないようにすることが肝要である。着脱の簡単なものが望ましい。Simonの電極（図2A）は理想的であるが、自家製造には工作が難しく、外注も費用が掛かる。現在筆者の使用しているものは、5mm径ボルトを木製ブロックに頭部（径8mm）のみ出して埋め込み、台部にマジックバンドをつけ、膝の周囲に強く巻きつけやすくしたもので、身近な材料で簡単に製作できる（図2B）。陽極電極は、幅の広い銀板をガーゼでくるみ、電極クリームを塗りつけて膝前面に粘着テープで装置する。



図1. 実験用椅子と足トルク測定装置

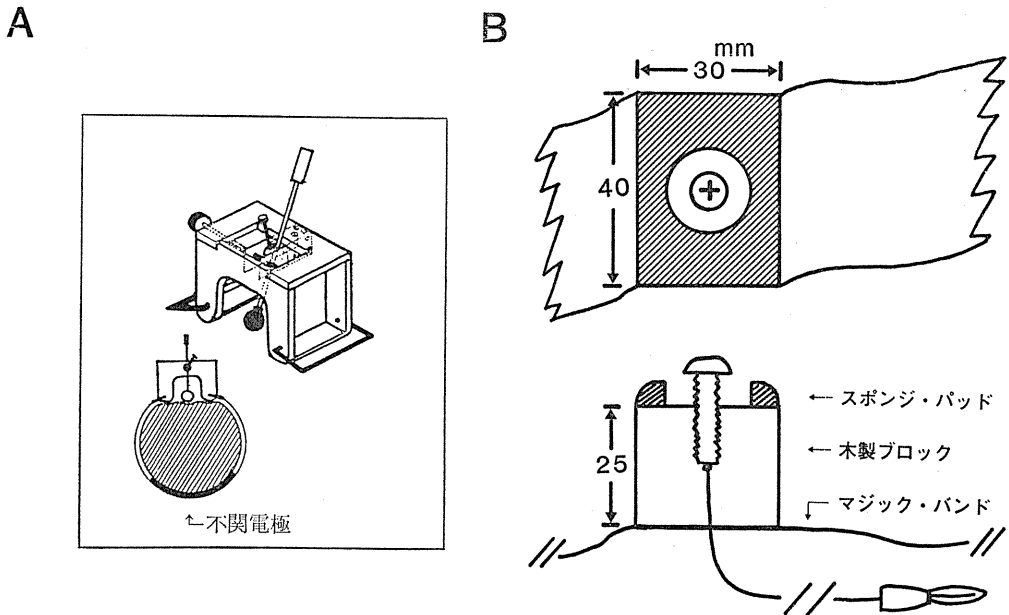


図2. 脛骨神経刺激用電極. A: Simon の電極とその膝部装着図(1962; from Desmedt, 1973). B: 簡易型電極.

刺激電流は、アイソレーターを通じて加える。パルス幅は通常 1 ms 前後を用いる。経皮的に筋神経を遠方から刺激するのであるから、短いパルス幅では効率が下がり、また余りに広い幅のものは、脊髓反射の潜時を問題とするとときに誤差が大きくなる。パルス幅を狭くしていくと、H 反射の閾値電圧が上昇するのは当然であるが、本来ならそれよりさらに高いはずの M 波の閾値(次項参照)が相対的に低くなり、両者の関係が逆転することがある(Paillard, 1955)。この現象のメカニズムについては、幾つか仮説があるが、実態は不明のままである。

刺激電極間抵抗は一度装着すれば常に一定というわけではなく、汗・乾燥などの要因により皮膚との接触状態に変化を生じ、時々刻々変動することが多い。安定した刺激効果を得るために定電流刺激が優れており、一般に推奨されている。しかし、神経を露出し電極を直接装着できる動物実験ならいざ知らず、上記の経皮的刺激条件のもとでは問題が生ずる。すなわち、市販のアイソレーターの定電流供給能力は、負荷抵抗 10 k Ω 以下に限られている(各社電子刺

激装置規格参照)のに対し、表面電極による電極間抵抗は数十から百数十 k Ω にも及び(前述)、正しい機能は保証されないからである。したがって、定電圧刺激を用いざるを得ない。刺激強度の定常性の確認には、適時生理学的方法を用いることができる。動物実験では、脊髓後根から電位を記録して求心性入力モニターに利用するが、ヒトでは小さな M 波を誘発してその振幅に変化がないことを確かめる方法がとられる(Mizuno et al., 1971)。

刺激頻度は、通常 3 ~ 5 秒に 1 回が用いられる。頻度の影響については、次項で述べる。

Ⅲ. H 反射の基本的性質

A. 刺激強度と H 反射の誘発

図 3 A に下腿三頭筋に誘発される H 反射の記録例をあげる。脛骨神経の刺激を上げていくと、最初に潜時約 30 ms の筋電図反応が誘発される。これが H 反射である。電圧をさらに高めていくと、この反応は増大してゆく。この過程で新たに潜時約 5 ms の筋電図反応が加わっ

てくる。この新しい反応は、 α 運動線維が刺激電流により直接興奮した結果であり、M波と呼ばれる。さらに、刺激を高めてゆくと、M波は当然増大してゆくが、H反射は逆に減衰し始め、M波が最大値に達するころには、完全に消失する。この変化の移り変わりの一例をグラフとして図3 Bに示した。

しかし、すべてのヒトでこのパターンを取るわけではなく、被検者・刺激条件によっては、H反射の閾値がM波のそれに接近し、少数例では逆転することもある。これらの場合でも、M波の出現と増大に対するH反射の反応は同じであるから、H反射の振幅が余り発達しないうちに減衰が始まり、結果として、最大H反射の振幅も小さく抑えられることになる。H反射の閾値がM波のそれより高い場合でも、試験筋に随

意収縮などの負荷を加えると、H反射は促通されて閾値がM波のそれより低くなり、図3 Bのパターンをとるようになる。

このように、一般にヒラメ筋H反射の閾値はM波のそれより低い。これは、求心性入力がそのもっとも太い成分、すなわちIa群線維を介することの証左と見なされる。実際に、刺激部位より近位側の坐骨神経の極く近傍に記録用針電極を挿入すると、M波の閾値はもちろんのこと、H反射の閾値よりもさらに低い刺激強度で上行するインパルス記録できる(図3 B, 黒四角)。この電位の潜時は4msであり、伝導速度は65m/sと算定され、少なくともI群線維と判定される。刺激を高めていく際、M波の出現にやや遅れてこの電位の発達勾配がより急峻になるのは、逆行性 α 運動線維発射電位が重

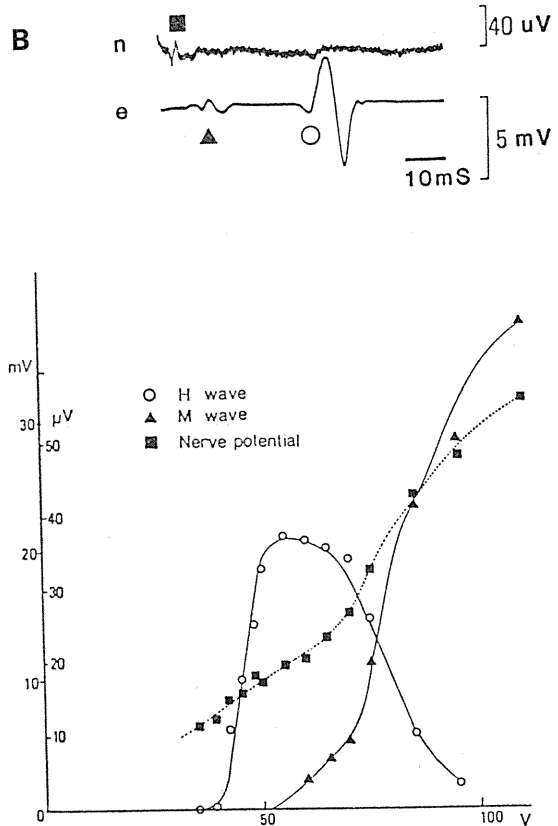
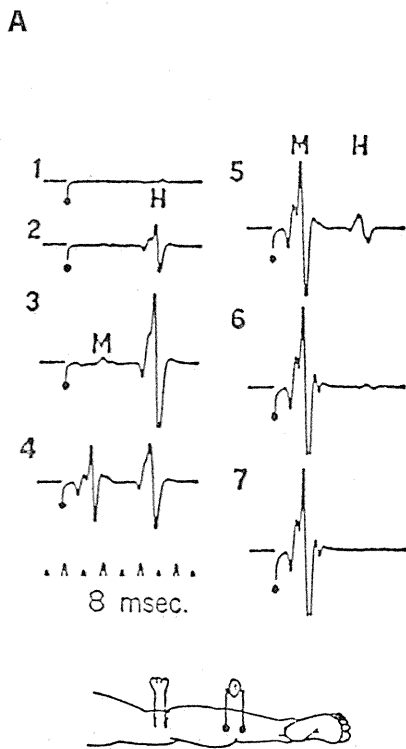


図3. 誘発筋電図と刺激強度の変化。A: 記録例 (Magladery et al., 1951)。B: 誘発筋電図発達曲線の一例。挿入図の n, e はおのおの座骨神経の神経電図およびヒラメ筋筋電図 (Fukushima et al., 1982, 改変)。

畳してくるためである。

M波の増大に伴ってH反射が減衰するのは、伝えらるべき α 運動ニューロンの反射性興奮・遠心性発射がM波を生ぜしめた α 運動線維の逆行性発射と衝突し閉塞を起こすためと当初から考えられた(Hoffmann, 1922). 実際にネコ・サルの後根・前根を保存した標本で、筋神経を刺激し、運動ニューロンから細胞内電位記録を撮ると、この現象を再現できる。部分的に反回抑制が関与する可能性を示す結果も報告されている(Coquery, 1963).

誘発されるH反射の最大値(H_{max})は、単シナプス性に興奮した運動ニューロンの最大量と見なされ、この値をもって運動プール興奮性の指標とすることが良く行われる。しかし、 α 運動線維の逆行性ヴォレイによる閉塞現象のために、このことが必ずしも正当化されないことは留意しておきたい。

B. 潜時(中枢性時)

日本人健康成人におけるH反射の潜時は、ほぼ26~32 msの値をとる。一般に、身長の高い者ほど長い。潜時を決定するもっとも重要な因子は、Ia群線維と α 運動線維の伝導速度および伝導距離である。ヒトにおけるIa群線維と α 運動線維の最大伝導速度は、おのおの60~70および50~60 m/sと報告されており(Hodes et al., 1948; Magladery & McDougal, 1950;

Fukushima et al., 1982; Burke et al., 1983), ネコでの値とは大きく異なっている。幼児と老人でより低い値をとるが、それ以外には際だって大きな個人差はない。正常人において、潜時の違いを生むもっとも大きな因子は伝導距離であり、これが身長による差として表れる理由である。

ネコ脊髄の単シナプス性反射において、後根の脊髄節入力部で記録した求心性Ia発射と前根から記録した遠心性発射の時間差は、約1 msである(Renshaw, 1940; Lloyd, 1943). この値から、Ia群線維の脊髄内終末・ α 運動線維近位端の活動電位伝導時間0.3 msを差し引いて計算されたシナプス遅延時間は0.7 ms前後となり、細胞内誘導法による結果(Eccles, 1957)と良く一致する。ヒトにおけるH反射の中枢潜時は、まだ正確に測られていない。Ia群線維・ α 運動線維の末梢神経レベルで測られた伝導速度と伝導距離による計算値は精度が低く、信頼できる値は得られない。しかし、動物実験に準じて脊髄根よりH反射の要因となる求心性および遠心性発射電位を記録すれば、これも可能である。Magladery et al. (1951)は、実際に複数の針電極を腰椎レベルの脊柱管内に挿入して根電位を記録した(図4)。最初のa電位は、脊柱管内を上行するに連れて潜時を増し、第二のr電位はそれを減じるから、おのおの求心性お

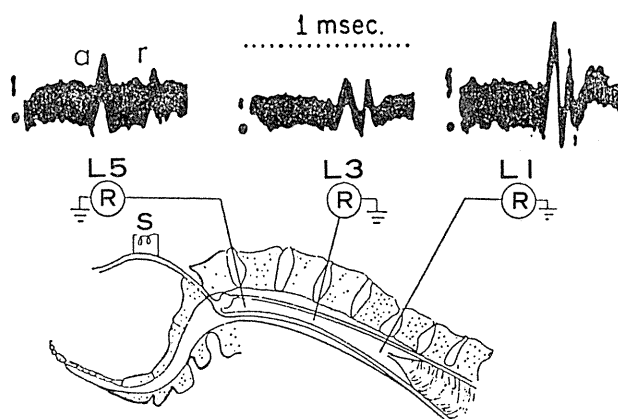


図4. 脊髄根より記録した単シナプス性反射. 上段に重ね書きトレース記録, 下段に記録位置を示す(Magladery et al., 1952). 詳細本文.

よび遠心性発射であると判定した。第一腰椎(L1)レベルにおける両者の潜時差は1.5 msであり、後根および前根の記録部位-脊髄節間の伝導時間を0.6 msと評価してこれを差し引くと、0.9 msの中樞潜時を得、r電位が単シナプス性反射と結論した。近年平均加算装置の進歩により根電位の記録は、容易かつ確実に行われるようになったので(Shimoji et al., 1971; 黒川, 1975; Abbruzzese et al., 1985), さらに正確な測定も可能である。

ネコでは以前から同名筋運動ニューロンに対する複シナプス性Ia興奮の存在が報告されて

おり(Tsukahara & Ohye, 1964; Schomburg & Behrends, 1977), さらに近年, Ia群線維がIb介在ニューロンに収束して同名筋を含む運動ニューロンを抑制あるいは興奮させる機構が報告され, 介在ニューロンそのものも細胞内染色で同定されるようになった(Jankowska et al., 1981 a, b). これらの観察を踏まえて最近, H反射は純粋な単シナプス性反射とはいえず, 複シナプス性要素も含む, と主張する意見が出された(Burke et al., 1984). その主要な実験根拠は, ヒトにおけるIa-EPSPのrise time(軽度の随意収縮により自発発火しているヒラメ筋運動単

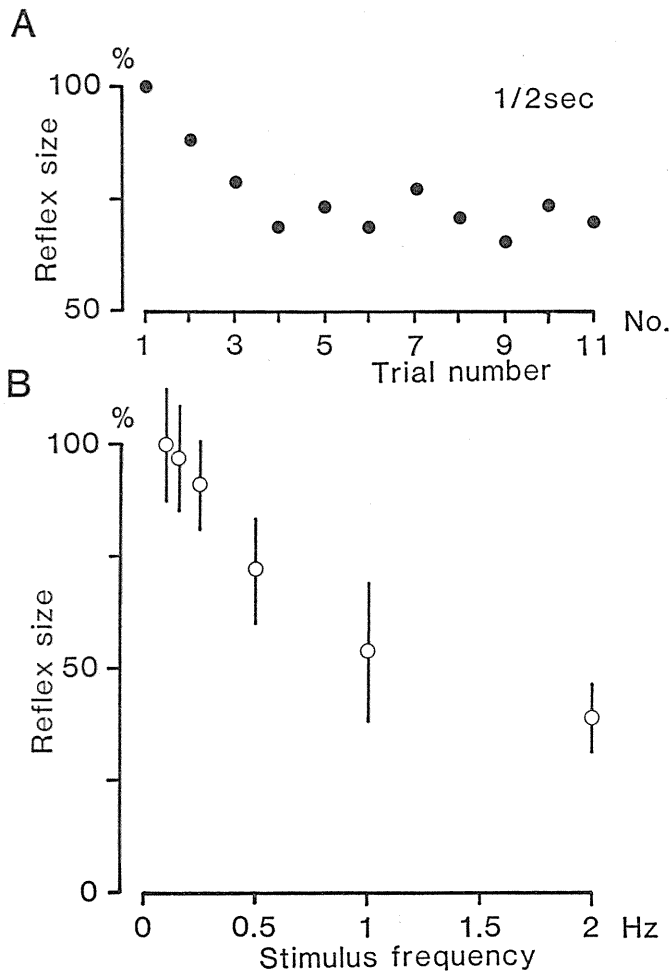


図5. 刺激頻度とH反射振幅の関係. A: 試行順序(X軸)における変化. 初回値を100%として表示. B: 刺激頻度に対する変化. 1/10sの試行の平均値を100%(縦線は標準偏差, n=10)として表示.

位に、閾値下の Ia 群線維刺激を加えて、生じたその発射確率の上昇期間から推定する) が平均 2.4 ms と比較的長く、寡シナプス性結合が十分関与し得る範囲にある、ということである。

この主張は、幾つかの状況証拠に基づいているのみであるが、原理的に妥当である。さらに、この意味するところは重大である。なぜなら、条件刺激などを加えて生じた H 反射の変化が単に運動ニューロンに生じたもののみでなく、介在ニューロンレベルに生じた効果をも反映している可能性を示唆し、結果の解釈が単純でなくなるからである。目下のところ、寡シナプス性要素の存在を積極的に証明することも否定することも難しい。問題は寡シナプス性要素がどの程度かわかり得るかであろう。一般的には、動物実験のデータから類推して、単シナプス性要素が寡シナプス性に対して十分大きいだろう、と仮定して研究が進められており、従来からの立場を基本的に変えるまでには至っていない。

C. 刺激頻度と H 反射の振幅

繰り返し刺激を与えて、その H 反射の振幅の変化を見ると、最初の反応に対して第二・第三……と振幅が暫時減少して行くが、数発後には一定した値を保つようになる (図 5 A)。この減少の程度は刺激頻度を高くするほど著明にな

る (図 5 B)。これは、先行する刺激の影響が次の反応に及ぼされるためである。しかしこの効果も 0.2 Hz の頻度では目立たなくなり、0.1 Hz 以下ではほとんど認められない。

このような刺激頻度の単シナプス性反射に及ぼす影響は、すでにネコの脊髄で系統的に調べられた (Eccles & Rall, 1951; Lloyd & Wilson, 1956)。その主たる原因としては、頻回刺激により EPSP の振幅が減少することに現されているように、Ia 群線維終末部における伝達物質の潤渇現象 transmitter depletion が挙げられる (Curtis & Eccles, 1960; Eccles, 1964)。ヒトにおいても同様の機序が働いていると思われるが (Taborikova & Sax, 1960; 中島たち, 1984)、刺激頻度によっては、これのみに限らないことにも注意すべきである。I 群線維刺激によるシナプス前抑制・長潜時反射性抑制効果も関与する可能性は十分にある。これらは、100 ms 前後の時間経過で作用し、高頻度刺激の際意味を持つことになろう。また、ネコにおける実験では、末梢神経は通常切断されて完全に不動化された状態で調べられているが、ヒトでは筋電図記録によるため、先行 H 反射による筋収縮はまぬがれず、その機械的動きによる二次的作用も加わることは当然である。足の固定がしっかりしていれば、この影響も数百 ms 以下のオーダーであり (Buchthal & Schmalbruch, 1970; Borg,

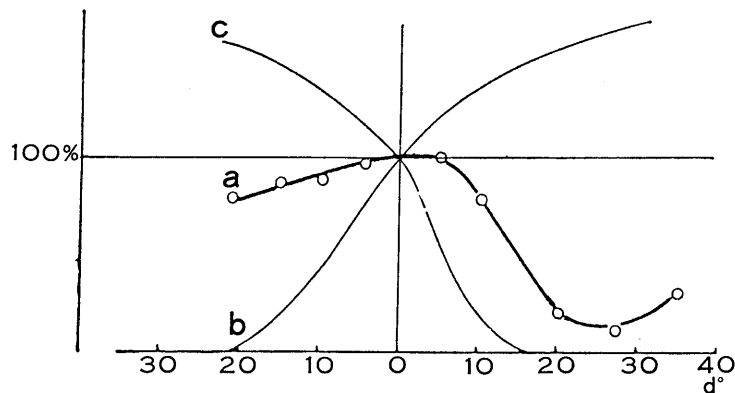


図 6. 膝関節の角度 (X軸) と H 反射の振幅 (Y軸) の関係。伏臥位における膝関節の自然肢位を 0 度とし、足背屈・足底屈をおのおの右・左方向に示してある。(Paillard, 1955; 一部削除)

1984), 通常の使用頻度では無視できるだろう。

D. 肢位の影響

筋の長さが変われば、それに伴って筋紡錘受容器の活動も変動し、ひいては運動ニューロンの興奮性を変化させることになる。肢位変化のH反射の振幅に対する影響を初めて系統的に調べた Paillard(1955)の結果を図6に示す。もっとも良く見られる変化がaであり、受動的足底屈時にはやや減衰するのみであるが、足背屈時には著しく減衰する。しかし、少数ながらbまたはcのパターンをとるケースもある。足背屈時の抑制のメカニズムとして自源性Ib抑制が想定された。しかし、同時に拮抗筋の長さ、記録電極と被検筋との位置関係などにも変化を生じていることを考慮に入れる必要があり、単純ではない。逆パターンをとる例についての説明は、一層困難である。

E. H反射の同定基準と誘発される筋

表1に見るごとく、これまで数多くの筋が試験されている。このとき、H反射としての同定は、被試験筋のその脊髄節までの距離に見合った潜時を持つこと、閾値がM波のそれより低く

なり得ること、そしてM波増大に伴って減少・消失すること、の3点から行われる。

安静時においては、Hoffmannの原著に見るごとく、下腿三頭筋でもっとも安定して誘発でき、その後の研究の主たる対象となっている。他の筋では大腿四頭筋・短母趾屈筋・尺骨手根屈筋などで比較的安定して記録できる。しかし、H反射の閾値がM波のそれより高くなり、振幅も小さくなる場合が多い。大腿四頭筋の場合、刺激部位が鼠蹊部であり、実地の使用はやややかいかである。その他の筋では、極少数例に誘発されるにすぎない。これらの特殊例は、優れた運動家が多い。長期にわたる激しいトレーニングが反射活動を持続的に高めているためであろう。

被試験筋のほとんどすべてについて、たとえ安静時に誘発されなくても随意収縮を行わせると、H反射が出現し、その閾値がM波より低くなり得る。H反射は、条件を選べば、原理的に筋紡錘受容器を有するすべての筋において誘発し得るはずである。

表1 身体各部の筋の非活動時におけるH反射の誘発

筋名	被刺激神経	誘発の有無と程度	主な報告文献	
下	下腿三頭筋	脛骨神経	++	Hoffmann, Magladery, Paillard Hagbarth, Hugon
	ヒラメ筋		++	
	腓腹筋		-/+	
肢	前脛骨筋	総腓骨神経	-/+	Hoffmann, Takase/Hohman, Tanaka Takase/(Tanaka) Bathien
	長腓骨筋	"	-/+	
	短母趾屈筋	脛骨神経	+	
肢	大腿四頭筋	大腿神経	-/+	Hoffmann/Takase, Bratzlavsky, Guiheneuc Pierrot-Deseilligny
	大腿二頭筋	座骨神経	+	
上	前腕伸筋群	橈骨神経	-/+	Hoffmann, Magladery, Takase /Cavallari, Rothwell
	前腕屈筋群	正中神経	-/+	
		尺骨神経	-/+	
肢	上腕二頭筋	筋皮神経	+	Bratzlavsky
	上腕三頭筋	橈骨神経	+	
	三角筋	腋神経	+	

[注] ++, +++: 誘発可能の程度を示す。-/+ : 当初誘発不能とされたが、後に可能例も有ると報告されたもの。報告文献は、代表的なものについて先頭著者名のみを掲げた。詳細は、巻末文献を参照のこと。

IV. Hoffmann の業績

彼は筋電図記録に Einthoven の弦検流計、筋神経刺激に楕形インデクトリウム (Du Bois Reymonds 型電磁コイル刺激装置) を用いて、主として自分の身体を対象に実験を行った。記録精度を上げるための増幅器はまだなかった。この刺激装置では、反復刺激の回数を広い範囲にわたって変化させることは困難で、彼の用いた刺激頻度は 8~25/s といういま考えれば頻度効果による H 反射の抑制がもっとも著明な範囲にあった。加えて、Erlanger & Gasser による陰極線オシロスコープの神経伝導の研究への導入が 1922 年であったことから分かるように、神経伝導に関する基礎的研究がやっと端緒についたばかりの時代であり、ヒトの知覚神経の伝導速度に関して信頼に足る知見はまだ得られていなかった。

伝導距離については、自分自身で死体解剖を行って計測していた。このようなきわめて不利な条件にもかかわらず、以下のように、若干の細部における違いはあれ、H 反射に関する基本的な知見の大部分を明らかにしている。すなわち、

1. 反射の閾値が M 波のそれより低くなり得ること、したがって太い求心性線維がこの反射を起こすこと。
 2. 反射時間は約 30 ms であり、単シナプス性結合を示唆されること。
 3. 筋の弛緩時の状態でこの反射を常時誘発できるのは、下腿三頭筋に限られること (ただし、前項を見よ)。
 4. 随意収縮により促進を受けること、このため、弛緩時に誘発できない他の筋でも出現するようになること。
 5. 拮抗筋の収縮により抑制されること。
 6. この反射がおそらく筋緊張に関与すること。
- などを述べている (代表文献, 巻末)。

V. H 反射実験に重要なパラメータと注意事項

H 反射は、被検者の種々の心理学的・運動学的・臨床的状态 (意識レベル・覚醒・睡眠、運動準備状態、運動遂行過程、疾患状態など) における運動ニューロン・プールの興奮性の変化を見るのに広く応用されている。この際、試験刺激単独で、あるいは他の刺激 (条件刺激) と組み合わせて用いられる。

条件刺激組合せ実験は、種々の入力運動プールにどのような効果を持つかを調べるのに有効である。1930~40 年代に Renshaw および Lloyd はネコの単シナプス性反射を用いて脊髄運動ニューロンに対する種々の下行性・反射性・逆行性入力の運動ニューロンへのシナプス結合の機序を詳細に研究した。それらの結果が基本的に正しいことは、細胞内誘導法により確認された (Eccles, 1957, 1964)。このことは、急性動物実験で詳細に調べられた脊髄反射にかかわる神経回路網の存在をヒトにおいて同定し、さらにその機能を自然条件下で調べることが原理的に可能であることを示している。実験を行う際、注意すべき諸点を以下に述べる。

A. H 反射の大きさ size

H 反射の大きさは、振幅値 (peak-to-peak amplitude) あるいは面積値 (area size) として測定される (図 7 A)。定量的には、2 次元の面積値のほうが優れていると思われるが (Clamann et al., 1974)、前者のほうが計測が簡単なので、一般に好まれている。参考までに、同一実験における両者の関係を図 7 B に示す。このヒラメ筋 H 反射のように、持続時間が比較的一定していて、振幅に主とした変化の出る場合には、両者は比較的広範囲にわたって綺麗な直線比例関係を取り、実地上問題がない。それでも値の小さな所では、この関係が崩れてくる傾向がある。前脛骨筋などに誘発される H 反射は、振幅の割に持続が長く形も不規則なので、振幅のみの計測では判断に迷うことがある。

H 反射の大きさは、被検者・記録条件によっ

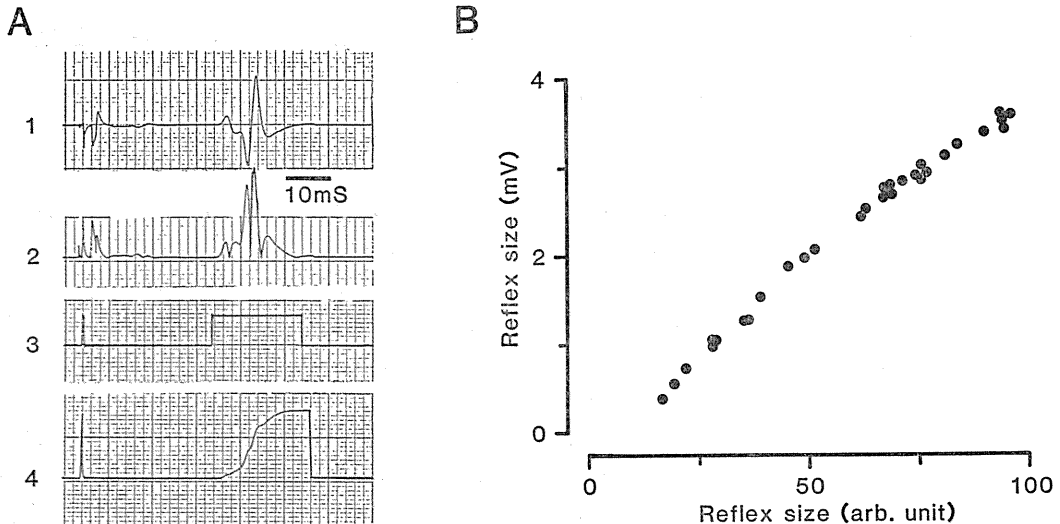


図7. A: H反射の大きさの計測. 1~4はおおの原波形, 全波整流波形, 積分器作動ゲート, 積分器出力を示す. 振幅, 面積値は1および4より読みとる. B: ヒラメ筋H反射の振幅 (Y軸) と面積値 (X軸) の関係.

てまちまちである. 一般に, 試験H反射として H_{max} の40~70%の大きさが好んで用いられている. なぜなら, 通常この範囲が入力の変化に対してもっとも鋭敏に振幅を変えるからである (図3 B). しかし, 既述のようにH反射とM波の発達曲線が常に図3の形をとるとは限らない. 最大M波 (M_{max}) に対する割合も勘案して選ぶのがよい.

一定条件のもとでの条件刺激効果を示すために, 対照条件下における試験H反射の大きさを100%として表す方法が, もっとも一般に用いられており, 分かりやすい (図5における表示). この際, サンプル数としては1条件10個以上が望ましいが, H反射の変動が小さくて効果ははっきりしている場合, 減らすことも可能である.

この表示法において注意すべきことは, まったく同じ条件刺激を与えても, 対照H反射の振幅を変えると, その効果の量が見かけ上変わることである. この現象は, ネコの脊髄で最初に報告された (Kuno, 1959). 図8 Aにおいて抑制量 (絶対値) は, 対照反射の振幅が35%に至るまで増大を続け, その後60%まで一定値をとり, それ以上では逆に減少する. この変化を各

コントロール値を100%として再プロットすると, 図Bのように, 効果量が対照値に応じて変わるのが見てとれる. 同じことがH反射についても最近注目されるようになった (Crone et al., 1984; Fournier et al., 1986; Cowan et al., 1986). このことは, 被検者が同一であるか否かを問わず, 異なる実験間での効果の定量的比較を行う場合重要な意味を持つ.

したがって, ある条件刺激の効果を異なった被検者間で比較ができるようにする客観的な基準が必要となるが, 満足すべき方法はまだない. 目下のところ, もっとも分かりやすい方法は, 図8 Aに準じてH反射の振幅を最大M波の振幅 (M_{max}) に対する百分比として表すものである. M_{max} をその運動プール内すべての α 運動ニューロンが興奮した場合の筋電図量と見なすと, この値は全運動プールに対する反射性に興奮した α 運動ニューロンの割合を示すことになる. そのうえで図8 Aのプラトー部分に相当する範囲内で比較を行うか, あるいは試験H反射をまったく同一振幅に保つようにするかであろう. いずれも一長一短あり, 状況に応じて使い分けるしかない.

M_{max} 比率法においては, 個々の運動単位に

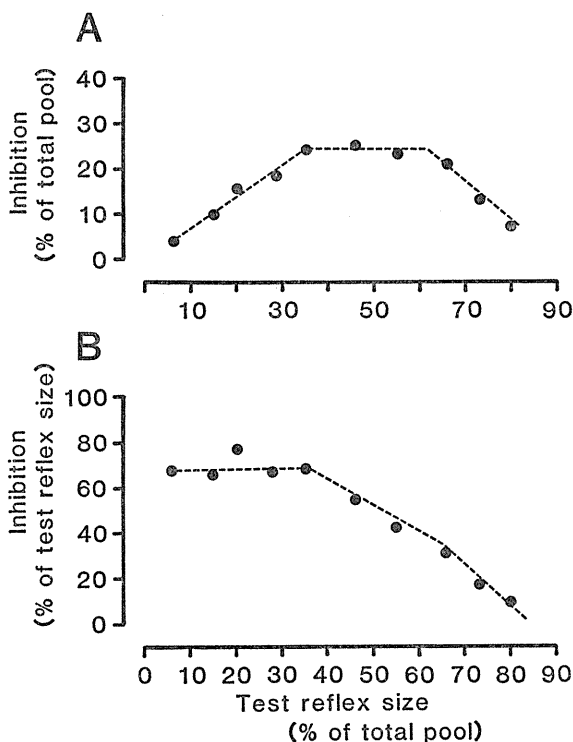


図8. ネコにおける実験. 横軸に試験単シナプス性反射の振幅, 縦軸にレンショウ抑制の量を示す. A, Bは抑制量をその全運動プール量あるいは試験反射サイズに対する割合として表示 (Kuno, 1959, 改変).

よって生ずる筋電図活動が実際に記録された誘発筋電図に対して及ぼす量的寄与の程度が不明なので, 得られた数値が額面どおりの全運動プールに対する割合を示すことにはならないが, 大まかな目安として有用であると思う. この方法による定量判定の一層客観的・理論的な基盤の確立が望まれる.

B. H反射の閾値

H反射誘発の閾値 (H_{thr}) を通常M波のそれ (M_{thr}) の相対値 (H_{thr}/M_{thr}) として表すことができる. 一般に, この値が小さいほど運動プールの興奮性が高いと考えられている. しかし実際には, この値は Ia 群線維と α 運動線維の閾値の相違を反映するのみならず, 刺激電極装着の良否も重大な要因としてかかわっており, それほど単純ではない. 例えば, 高い電極抵抗あるいは太った被検者で誘発に高電圧を必要とし, 刺激効率が悪い場合, この比が1に近づ

く. また, H反射が主としてヒラメ筋に誘発されるのに対して, M波が腓腹筋に先に誘発され, ヒラメ筋のM波との鑑別に困難をきたして正確な値を得難い場合も少なくない. したがって, この比の変化は, 同一被検者・実験条件のもとでは, 優れた意味を持つが, 異なった被検者・実験条件の間では確度が低くなり, 慎重さを要する.

C. 試験刺激の繰返し頻度

H反射の大きさは, 刺激頻度が上昇すると, 強く抑制される (図5). したがって, 先行刺激の影響を受けないH反射を得るためには, 10秒以上に一度ほどの頻度を用いるのが望ましいが, 余りの低頻度は被検者の集中度を低下させてH反射の変動を大きくすることが多く, また十分な資料数を得るのに時間もかかるため, 実際的でない. 実用的には, 4秒に1回 (0.25 Hz) 前後の頻度で刺激し, 最初の2~3試行

を除いて安定したところ (図5 A) から記録を採用的のが一般的である. 0.5~1 Hz を用いることもある.

D. 条件刺激の管理

末梢神経が異なった太さの神経線維を含んでおり, その太さは異なった種の感覚受容に關与

すること, および電気刺激による神経線維の興奮閾値は太さの関数であり, 太いものほど低いことは良く知られている. したがって, 刺激強度が異なった種の受容器の効果を表し得ることになり, すでに動物実験で利用されている (Eccles et al., 1957). 末梢神経刺激により誘発

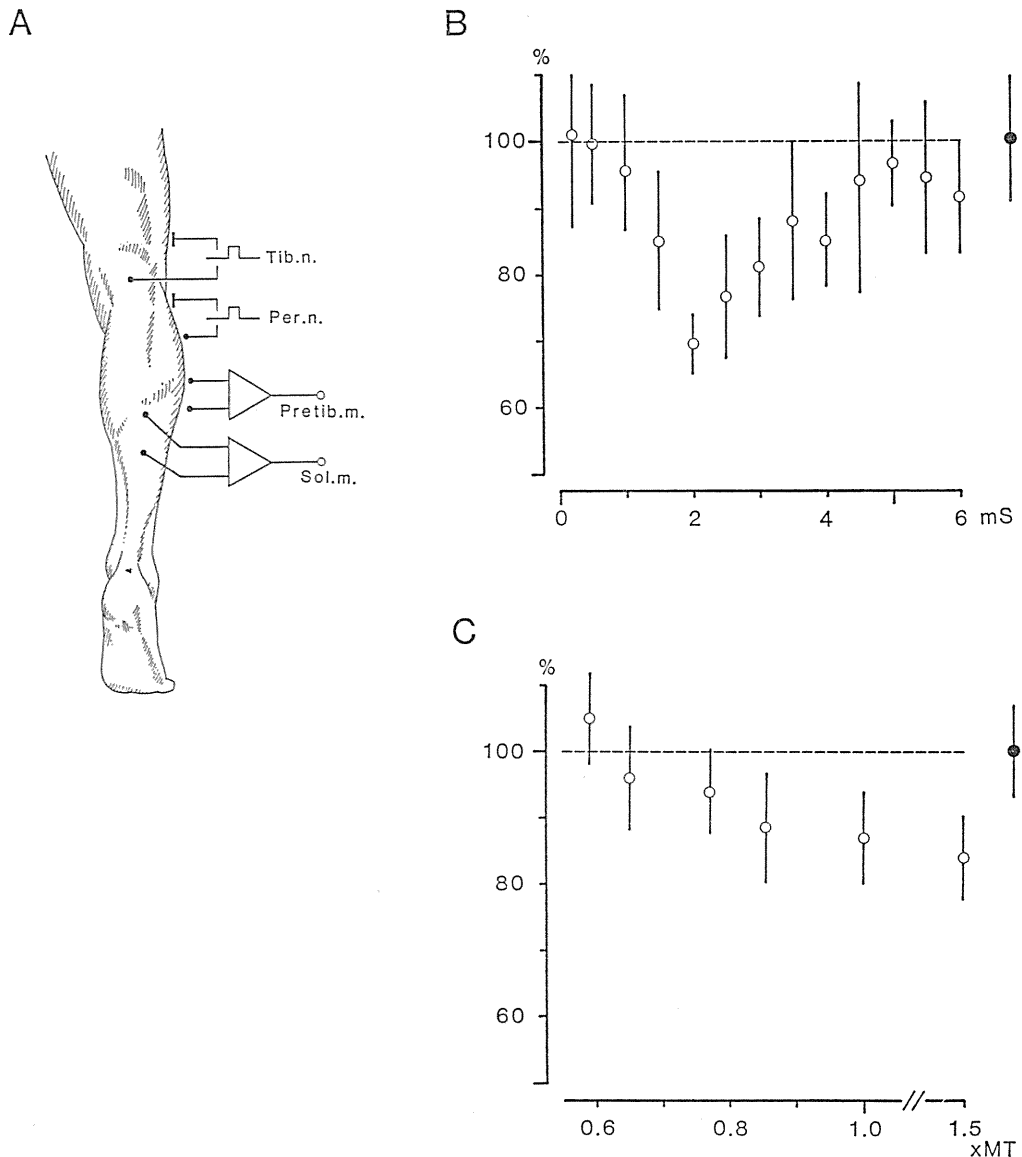


図9. ヒトにおける二シナプス性 Ia 抑制の例. A: 実験の構成. B: ヒラメ筋H反射に対する総腓骨神経刺激効果の時間経過. C: 刺激強度変化の影響 (条件一試験刺激間隔=2 ms). H反射振幅 (縦軸) は右端黒丸で示した対照値を100%として表示. 各プロットの縦線は標準偏差値.

された求心性神経発射を脊髄後根で記録し、そのもっとも太い、したがってもっとも閾値の低い Ia 群線維の閾値を基準1.0として、刺激強度をその倍数で表す。

ヒトの筋神経刺激の場合、求心性線維の活動電位を記録するのはきわめて困難なので、通常 M波の閾値、すなわち α 運動線維の閾値、を基準 (1 xMT ; times motor threshold) として、その強度を表現する。一般には、これ以下の刺激強度による効果は、I 群線維入力によるものと見なされる。ただし、表面電極による経皮的刺激条件のもとでは、刺激電極直下の皮膚に分布する表在皮膚神経も同時に刺激されていることがほとんどで、観察された効果が、この皮膚感覚入力によらないことをなんらかの別の方法で確認しておく必要が生ずることがある。また、刺激強度による Ia 群線維と Ib 群線維の選別は容易でなく、神経支配・反射パターンなどを加味して判定している。

図9にヒトにおいて二シナプス性の相反性 Ia 抑制の存在を同定する方法を示す。ヒラメ筋の拮抗筋を支配する神経を含む総腓骨神経を腓骨小頭レベルで刺激すると、ヒラメ筋 H反射に短潜時抑制効果が生ずる。Bに示すように、抑制は条件-試験刺激間隔約 1 ms に始まり、2 ms で最大値に達し、その後 5 ~ 6 ms にかけて暫時減少していく。この抑制効果を起こす最小有効刺激強度は、Cに示すように、M波の閾値以下 0.65 xMT であり、1.0 xMT で最大値に近い値に達している。これは、I 群線維が関与することを示す。すると先の最小有効刺激間隔 1 ms は、脊髄での中枢潜時 0 ms にあたることになり、二シナプス性結合を示唆する (議論の詳細は Tanaka, 1974, 1983)。したがって、この抑制は相反性 Ia 抑制と結論された。

同様の手技を利用して、Ib 反射効果も研究されている (Pierrot-Deseilligny et al., 1981)。皮膚神経・表在神経刺激の場合は、刺激により生ずる皮膚感覚・遠位方向への放射感覚、さらには痛覚の有無・強度を被検者から聞いて、その閾値を判定して基準とする。!

なにぶんにも神経を経皮的に遠方から刺激するのであるから、近接する神経にも刺激電流が滑走する危険が常に伴うことを留意しておきたい。

E. 構え (psychological set)

H反射の振幅は、精神状態によって影響を受けることは、例えば覚醒・睡眠諸相における変化・運動準備状態との関係などの心理学的研究で良く知られている (Paillard, 1955 ; Brunia, 1971 ; Pierrot-Deseilligny et al., 1971)。しかし、このことは意外に生理学的実験条件の管理に反映されていなかった。記録中は、被検者が他のことに注意を逸したり眠ったりすることのないよう、その集中力を一定に保つよう工夫を凝らす必要がある。

特に問題となるのは、試験刺激に条件刺激を組み合わせる実験の場合、試験刺激単独および条件刺激つき試験刺激を規則的に交代させて与えると、被検者が次にくる刺激の内容を予測するようになり、それだけで対照 H反射の振幅が変化することである。このため、得た変化を条件刺激自体によるものか、あるいは予測の影響によるものか判定できかねることもなる。この影響は意外に大きく、しかも意識清明な被検者を対象とする限り避けられぬことである。

この難点は、刺激の組合せをそのときどきに無作為 (ランダム) に変更設定して与え、被検者の予測を不可能にすることにより克服できる。この設定は、これまで実験者が任意に刺激装置の出力スイッチを切り替えて行ってきたが、煩雑であり無意識のうちに一定の繰返し傾向をとりがちになり、結果として被検者に予測されてしまうこともあり、相当な注意が必要であった。刺激装置をコンピューターのコントロール下に置いて、それに刺激条件の設定を任せると実験者への負担が少なく、確実さも増す。今ではマイクロコンピューターの普及により、このような実験管理のみならず実験中の H反射計測をも安価かつ容易に実現できるようになった。実際のシステムに関する説明は別の機会に譲る。

F. 運動課題の負荷

被検者に一定の運動を負荷して、その遂行過程における運動ニューロン・脊髄反射回路の活動状況を調べるのが重要な研究課題となっている。ヒトにおける運動課題実験の構成上注意すべき一般的な条件については、すでに他誌で触れたのでそれを参照されたい (田中, 1982)。ここでは、特にH反射を組み合わせた場合に生ずる2個の大きな問題について述べる。

第一の問題は、運動の過程で筋神経の刺激が加わるために、H反射の出現その他で目的とする運動が変容する可能性があることである。運動そのもののH反射への影響は、当然目的とするものである。しかし、逆に神経刺激が運動の内容を一時的にせよ変化させると、それがひいてはH反射の変化の意味づけに誤りを生ずる危険を生み出す。たとえば、足底屈運動開始の直前を見計らってH反射を誘発すると、H反射の直後に数十ms以上に及ぶ強い抑制を生じ、運動開始が遅れて見かけの反応時間が異常に長くなる。また、先行するH反射による動きに影響されて、本来の運動パターンを無意識のうちに変えてしまうこともある。これらをまったくなくすることは不可能である。しかし、これらの危険を初めから察知していれば、それらにより誤った結論に達しないような対照実験を組むことが可能である。

第二は、ある運動課題の負荷により得た効果を安静条件あるいは他の課題におけるものと比較するとき、ともすれば対照H反射の振幅が異なってしまう場合が多いことである。これは、図8で説明した問題に帰着することになり、得た効果を負荷条件に起因せしめようとする場合の重要な論点となる。

文 献

- 1) Abbruzzese, M., Ratto, S., Abbruzzese, G. & Favale, E. (1985) Electroneurographic correlates of the monosynaptic reflex: experimental studies and normative data. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* **48**, 434-444
- 2) Bathien, N. & Bourdarias, H. (1972) Lower limb cutaneous reflexes in hemiplegia. *Brain*, **95**, 447-456
- 3) Borg, J. (1984) Conduction velocity and refractory period of single motor nerve fibres in motor neuron disease. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* **47**, 349-353
- 4) Bratzlavsky, M., Isch, F. & Vander Eecken, H. (1971) Study of evoked responses in proximal muscles of the superior and inferior limbs. *Europ. Neurol.* **5**, 171-185
- 5) Brunia, C. H. M. (1971) The influence of a task on the achilles tendon and Hoffmann reflex. *Physiol. Behav.* **6**, 367-373
- 6) Buchthal, F. & Schmalbruch, H. (1970) Contraction times of twitches evoked by H-reflexes. *Acta physiol. scand.* **80**, 378-382
- 7) Burke, D., Gandevia, S. C. & McKeon, B. (1983) The afferent volleys responsible for spinal proprioceptive reflexes in man. *J. Physiol.* **339**, 535-552
- 8) Burke, D., Gandevia, S. C. & McKeon, B. (1984) Monosynaptic and oligosynaptic contributions to human ankle jerk and H-reflex. *J. Neurophysiol.* **52**, 435-448
- 9) Cavallari, P., Fournier, E., Katz, R., Pierrot-Deseilligny, E. & Shindo, M. (1984) Changes in reciprocal Ia inhibition from wrist extensors to wrist flexors during voluntary movement in man. *Exp. Brain Res.* **56**, 574-576
- 10) Clamann, H. P., Gillies, J. D., Skinner, R. D. & Henneman, E. (1974) Quantitative measures of output of a motoneuron pool during monosynaptic reflexes. *J. Neurophysiol.* **37**, 1328-1337
- 11) Coquery, J.-M. (1963) Mise en évidence de l'intervention des circuits de Renshaw dans les effets inhibiteurs d'une activation antidromique des motoneurones du muscle soléaire chez l'Homme. *J. Physiol. (Paris)*, **55**, 124-126
- 12) Cowan, J. M. A., Day, B. L., Marsden, C. & Rothwell, J. C. (1986) The effect of percutaneous motor cortex stimulation on H-reflexes in muscles of the arm and leg in intact man. *J. Physiol.* **377**, 333-347
- 13) Crone, C., Hultborn, H. & Jespersen, B. (1985) Reciprocal Ia inhibition from the peroneal nerve to soleus motoneurons with special reference to the size of the test reflex. *Exp. Brain Res.* **59**, 418-422
- 14) Curtis, D. R. & Eccles, J. C. (1960) Synaptic action during and after repetitive stimulation. *J. Physiol.* **150**, 374-398
- 15) Desmedt, J. (ed.) (1973) Human reflexes, pathophysiology of motor systems, and methodology of human reflexes, *New Developments in Electromyography and Clinical Neurophysiology*,

- vol. 3, Karger, Basel
- 16) Eccles, J. C. (1957) *The Physiology of nerve Cells*, 270pp. Baltimore, Johns Hopkins Press
 - 17) Eccles, J. C. (1964) *The Physiology of Synapses*, 314pp., Springer, Berlin
 - 18) Eccles, J. C., Eccles, R. M. & Lundberg, A. (1957) Synaptic actions on motoneurons in relation to the two components of the group I muscle afferent volley. *J. Physiol.* **136**, 527-546
 - 19) Eccles, J. C. & Rall, W. (1951) Repetitive monosynaptic activation of motoneurons. *Proc. Roy. Soc. B.* **138**, 465-498
 - 20) Fournier, E., Meunier, S., Pierrot-Deseilligny, E. & Shindo, M. (1986) Evidence for interneuronally mediated Ia excitatory effects to human quadriceps motoneurons. *J. Physiol.* **377**, 143-169
 - 21) Fukushima, Y., Yamashita, N. & Shimada, Y. (1982) Facilitation of H-reflex by homonymous Ia-afferent fibers in man. *J. Neurophysiol.* **48**, 1079-1088
 - 22) Gasser, H.-S. & Erlanger, E. (1922) A study of the action currents of nerve with the cathode ray oscillograph. *Amer. J. Physiol.* **62**, 496-524
 - 23) Guiheneuc, P. & Ginet, J. (1974) Étude du réflexe de Hoffmann obtenu au niveau du muscle quadriceps du sujets humaines. *Electroencep. clin. Neurophysiol.* **36**, 225-231
 - 24) Hagbarth, K. -E. (1962) Post-tetanic potentiation of myotatic reflexes in man. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* **25**, 1-10
 - 25) Hodes, R., Larrabee, M. G. & German, W. (1948) The human electromyogram in response to nerve stimulation and the conduction velocity of motor axons. *Arch. Neurol. and Psychiat.* **60**, 340-365
 - 26) Hoffmann, P. (1910) Beiträge zur Kenntnis der menschlichen Reflexe mit besonderer Berücksichtigung der elektrischen Erscheinungen. *Arch. Physiol.* 1910, 223-246
 - 27) Hoffmann, P. (1918) Über die Beziehungen der Sehnenreflexe zum willkürlichen Bewegungen und zum Tonus. *Z. Biol.* **68**, 351-370
 - 28) Hoffmann, P. (1922) Untersuchungen über die Eigenreflexe (Sehnenreflexe) menschlicher Muskeln. Springer, Berlin
 - 29) Hoffmann, P. (1934) Die physiologischen Eigenschaften der Eigenreflexe. *Ergeb. Physiol.* **30**, 15-108
 - 30) Hoffmann, P. & Keller, C. I. (1928) Ueber gleichzeitige willkürliche und künstliche Reizung von Nerven. *Z. Biol. Bd.* **87**, 527-536
 - 31) Hohman, T. C. & Goodgold, J. (1960) A study of abnormal reflex patterns in spasticity. *Amer. J. phys. Med.* **40**, 52-55
 - 32) Hugon, M. (1973) Methodology of the Hoffmann reflex in man. *New Developments in Electromyography and Chemical Neurophysiology*, edited by J. E. Desmedt, vol. 3, pp. 277-293, (Karger, Basel).
 - 33) Jankowska, E., Johannisson, T. & Lipski, J. (1981a) Common interneurons in reflex pathways from group Ia and Ib afferents of ankle extensors in the cat. *J. Physiol.* **310**, 381-402.
 - 34) Jankowska, E., McCrea, D. & Mackel, R. (1981b) Oligosynaptic excitation of motoneurons by impulses in group Ia muscle spindle afferents in the cat. *J. Physiol.* **316**, 411-425
 - 35) Kagamihara, Y. & Tanaka, R. (1985) Reciprocal inhibition upon initiation of voluntary movement. *Neurosci. Lett.* **55**, 23-27
 - 36) Kuno, M. (1959) Excitability following antidromic activation in spinal motoneurons supplying red muscles. *J. Physiol.* **149**, 374-393
 - 37) 黒川高秀 (1975) 誘発脊髄電位 (I). *臨床脳波.* **17**, 57-66
 - 38) Lloyd, D. P. C. (1943) Neuron patterns controlling transmission of ipsilateral hind limb reflexes in cat. *J. Neurophysiol.* **6**, 293-315
 - 39) Lloyd, D. P. C. & Wilson, V. (1956) Reflex depression in rhythmically active monosynaptic reflex pathways. *J. Gen. Physiol.* **40**, 409-426
 - 40) Magladery, J. W. (1955) Some observations on spinal reflexes in man. *Pflug. Arch. ges. Physiol.* **261**, 302-321
 - 41) Magladery, J. W. & McDougal, D. B. Jr. (1950) Electrophysiological studies of nerve and reflex activity in normal man. I. Identification of certain reflexes in the electromyogram and the conduction velocity of peripheral nerve fibers. *Bull. Johns Hopk. Hosp.* **86**, 265-290
 - 42) Magladery, J. W., Park, A. M., Porter, W. E. & Teasdall, R. D. (1952) Spinal reflex patterns in man. *Res. Publ. Assoc. Res. nerv. ment. Dis.* **30**, 118-151
 - 43) Magladery, J. W., Porter, W. E., Park, A. M. & Teasdall, R. D. (1951) Electrophysiological studies of nerve and reflex activity in normal man. IV. The two-neurone reflex and identification of certain action potentials from spinal roots and cord. *Bull. Johns Hopk. Hosp.* **88**, 499-519
 - 44) 三木威勇治, 時実利彦編 (1964) 筋電図入門. 南山堂, 東京
 - 45) Mizuno, Y., Tanaka, R. & Yanagisawa, N. (1971) Reciprocal group I inhibition on triceps surae motoneurons in man. *J. Neurophysiol.* **34**, 1010-1017
 - 46) 中島八十一, 鏡原康裕, 長岡正範, 田中勲作, 橋本博太郎 (1984) L-DOPS の H 反射回復曲線に及ぼす影響. *臨床脳波.* **26**, 714-719

- 47) 日本生理学会編(1977)生理学実習書. 南江堂, 東京
- 48) Paillard, J. (1955) Reflexes et regulations d'origine proprioceptive chez l'homme : Etude neurophysiologique et neuropsychologique, Arnette, Paris
- 49) Paillard, J. (1959) Functional organization of afferent innervation of muscle studied in man by monosynaptic testing, *Amer. J. phys. Med.* **38**, 239-247
- 50) Pierrot-Deseilligny, E., Lacert, P. & Cathala, H. P. (1971) Amplitude et variabilité de réflexes monosynaptiques avant un mouvement volontaire, *Physiol. Behav.* **7**, 495-508
- 51) Pierrot-Deseilligny, E., Morin, C., Bergego, C. & Tankov, N. (1981) Pattern of group I fibre projections from ankle flexor and extensor muscles in man. *Exp. Brain Res.* **42**, 337-350
- 52) Renshaw, B. (1940) Activity in the simplest spinal reflex pathways. *J. Neurophysiol.* **3**, 373-387
- 53) Roll, J. P., Bonnet, M. & Hugon, M. (1973) The baboon (*Papio papio*) as model for the study of spinal reflexes. *New Developments in Electromyography and Clinical Neurophysiology*. edited by J. E. Desmedt, vol. 3, pp. 194-208 (Karger, Basel).
- 54) Rothwell, J. C., Day, B.L., Berardelli, A. & Marsden, C. D. (1984) Effects of motor cortex stimulation on spinal interneurons in intact man
- 55) Shimoji, K., Higashi, H. & Kano, T. (1971) Epidural recording of spinal electrogram in man, *Electroenceph. clin Neurophysiol.* **30**, 236-239
- 56) Schomburg, E. D. & Behrends, H. B. (1978) The possibility of phase-dependent monosynaptic and polysynaptic Ia excitation to homonymous motoneurons during fictive locomotion. *Brain Research*, **143**, 533-537
- 57) Simon, J. -N. M., Dispositif de contention des électrodes de stimulation pour l'étude du réflexe de Hoffmann chez l'homme. In: *Progress in Electromyography*, edited by P. Pinelli, Elsevier, Amsterdam, p. 174-176
- 58) Taborikova, H. & Sax, D. S. (1969) Conditioning of H-reflexes by a preceding subliminal H-reflex stimulus. *Brain*, **92**, 203-212
- 59) 高瀬武平, 清水信之, 手井喜久男, 山谷登志 (1959) 誘発筋電図の臨床診断的応用. *低周波医学*, **3**, 11-28
- 60) Tanaka, R. (1974) Reciprocal Ia inhibition during voluntary movements in man, *Exp. Brain Res.* **21**, 529-540
- 61) 田中勳作(1982) 上肢における運動解析—研究方法に関する考察—. *脳波と筋電図*, **10**, 78-81
- 62) Tanaka, R. (1983) Reciprocal Ia inhibitory pathway in normal man and in patients with motor disorders, *Advances in Neurology*, **39**, 433-441
- 63) Tsukahara, N. & Ohye, C. (1964) Polysynaptic activation of extensor motoneurons from group Ia afferents in the cat spinal cord. *Experientia*, **20**, 628-629

カルノシン, ホモカルノシンの免疫賦活作用

永井甲子四郎・須田泰子
(日本大学歯学部総合歯学研究所・病態生理学研究室)

Immuno-enhancing Actions of Carnosine and Homocarnosine. Kineshiro NAGAI and Taiko SUDA (*Department of Pathophysiology, Dental Research Center, Nihon University, 1-8 Kanda Surugadai, Chiyodaku, Tokyo 101 Japan*)

Abstract

Immuno-enhancing actions of carnosine, β -alanine, homocarnosine, and γ -aminobutyric acid were studied in ddY mice by evaluating plaque-forming cell reaction against sheep red blood cells. Animals were administered the test agents in prior to, or simultaneously with, various treatments that are known to reduce immune function such as administration of the anti-tumor agents, mitomycin C and 5-fluorouracil, immunosuppressant cyclophosphamide, antiinflammatory agent hydrocortisone, or cancer implantation and γ -irradiation. Experiments were performed also in aged mice with reduced immune function. The administration of these drugs showed non-specific immuno-enhancing effects under all conditions examined and on all cell groups that may have been affected by these immunosuppressive stimulus.

key words : carnosine, homocarnosine, immunoregulator.

抄 録

ddY マウスを用い SRBC (sheep red blood cell) に対する PFC (plaque forming cell) 反応を indicator として carnosine (CAR), β -alanine (ALA), homocarnosine (HCAR), γ -aminobutyric acid (GABA) (以下 CAR 等と略す) の免疫賦活作用を検討した。実験は種々の方法で動物を免疫機能低下状態とし, CAR 等の前投与または同時投与による回復作用を試験した。機能低下を起こす化学物質としては, 抗腫瘍剤の mitomycin C (MMC), 5-fluorouracil (5-FU), 免疫抑制剤の cyclophosphamide (CPD), そして抗炎症剤の hydrocortisone (HC) を使用した。その他, Sarcoma-180 の担癌, γ 線照射および老化マウスなどを使用した。結果はいずれの条件で低下した免疫機能も CAR 等の投与でいずれの原因に対しても, また影響を受ける細胞群のいずれに対しても非特異的に免疫賦活作用を示した。

Abbreviations used in this paper :

CAR=carnosine (β -alanyl-L-histidine)	5-FU=5-fluorouracil
ALA= β -alanine	CPD=cyclophosphamide
HCAR=homocarnosine	HC=hydrocortisone
(γ -aminobutyryl-L-histidine)	PFC=plaque forming cell
GABA= γ -aminobutyric acid	SRBC=sheep red blood cell
MMC=mitomycin C	SHA=spontaneous healing action

I. 緒 論

結合組織の生理機能の一つは免疫と組織修復により制御される homeostasis である。この二つの機能は, 生体防衛の機能を果たすうえで不可分の関係にあり, いずれか一方の機能のみで

は, 病理学的認識である殺滅, 融解, 吸収, 包被, 排除, の生体防衛は成立しない。著者らは先に CAR, HCAR についてそれらの granulation 促進作用, 組織修復促進作用¹⁾²⁾, 免疫調節作用 (抗体産生調節作用)³⁾⁴⁾ を発見し, また CAR, HCAR と等モルの ALA, GABA にも同様の作用があることを発見した。今回さらに, SHA 作用物質のもう一つの条件として, 免疫機能低

下に対する賦活作用を CAR 等で試験した。本論文は、種々の免疫阻害剤の投与、 γ 線照射および加齢により、免疫機能の低下した動物を用い、CAR 等の非特異的免疫賦活作用について報告し、CAR 等の SHA について考察するものである。

II. 材料と実験方法

動物は Shizuoka Laboratory Animal Center より購入した雄性、5週齢の ddY マウスを使用し、室温 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ の環境下、固形飼料と水道水を自由に摂取させた。免疫機能低下状態の作製および CAR 等の投与法は以下のごとく行った。

1. 薬物の投与は、MMC (100, 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$, Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd.), 5-FU (20 mg/kg, F. Hoffmann-La Roche & Co., Ltd.) および CPD (10 mg/kg, Aldrich Chemical Co., Inc.) を腹腔内に 0.1 ml, 9日間連日投与した。CAR (100 mg/kg, Hamari Chemicals, LTD.), ALA (40 mg/kg, Wako Pure Chemical Industries, Ltd.), HCAR (10 mg/kg, Sigma Chemical Co.), GABA (4.3 mg/kg, Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) は同時に背部皮下に 0.1 ml 注射した。Saline 0.1 ml 投与群を control とした。なお CAR 等の投与量は、免疫調節作用を示す有効量を使用した。

2. HC (10, 20 mg/kg, Merck & Co., Inc.) を10日間腹腔内に投与し、同時に CAR 等を皮下投与した。

3. 北里研究所より供与され当教室で ddY マウスの皮下で継代移植していた固形肉腫 Sarcoma-180 を 10^5 cells, 背部皮下に移植し、翌日から5日間 CAR 等を移植部位より 2cm 離れた皮下に投与した。

4. CAR 等を9日間皮下投与したマウスに、 ^{60}Co - γ 線照射装置を用いて 29.7R/min, SSD 60 cm, F.S. 15×15 cm の条件で γ 線を照射した。マウスをステンレス製の網ケージに入れ、照射時間を変えることにより照射量が 50, 100 rad となるよう全身に照射した。また、Sar-

coma-180 10^5 cells を皮下移植し、翌日から6日間 HCAR 10, 50 mg/kg を投与し、7日目に 25 rad の γ 線を全身照射した。

5. 30週齢以上の老化マウスを購入し CAR 等を8日間皮下投与した。

免疫反応は PFC 法に測って、Cunningham 法を改良した Hashimoto 法⁵⁾により測定し、一群5匹とした。感作には SRBC (Shizuoka Laboratory Animal Center より購入) $5 \times 10^8/\text{ml}$ の phosphate buffered saline 溶液の 0.2 ml (1×10^8 cells) をマウスの尾静脈より注入した。4日後に spleen をとりだし、spleen cell ($4 \times 10^7/\text{ml}$) 0.1 ml と SRBC ($1 \times 10^9/\text{ml}$) 0.5 ml と 1/4 希釈補体用モルモット血清 0.4 ml を混合した溶液 (10%の fetal calf serum を含む MEM 溶液) をチェンバー内に封入し、 37°C で1時間 incubation した。この方法で約 0.02 ml のチェンバー内で plaque 50~150 が検出できた。

統計処理には、Student's *t* test を使用し、各種の条件で低下させた PFC 値を基準として CAR 等を投与した群の回復率をみた。

III. 実験結果

A. 抗腫瘍剤による免疫機能低下に対する CAR 等の効果

MMC による免疫機能低下と CAR 等による賦活作用は、Table 1 に示すごとく、MMC 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ および 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の腹腔内投与で spleen あたりの PFC は、saline 投与の control 群の 79, 42% に低下したが、CAR 100 mg/kg の皮下同時投与でそれぞれ 128, 79% に回復上昇した。また、ほぼ等モルの ALA 40 mg/kg でも 132, 129% と control 以上の賦活作用が観察された。HCAR 10 mg/kg では 100, 65%, ほぼ等モルの GABA 4.3 mg/kg では 140, 65% と、HCAR とその構成アミノ酸 GABA でも賦活作用が観察された。Table 2 は 5-FU による機能低下とその賦活作用であるが、5-FU 20 mg/kg の9日間連続投与で spleen あたりの PFC は、control 群の 54% に低下したが、CAR, ALA, HCAR, GABA の皮下同時投与でそれぞれ 79,

129, 149, 100%に回復上昇した. CPD は抗腫瘍作用があり, 一般には臓器移植などに免疫抑制剤として使用されている薬物である. その CPD 10 mg/kg の腹腔内投与で, control群の63%に低下した spleen あたりの PFC が CAR,

Tabel 1. Effects of CAR, ALA, HCAR and GABA on PFC in mice treated with MMC.

MMC	drug	Number of PFC(% of control)	
		per chamber	per spleen
—	Saline	153.6±6.8(100)	22.9×10 ⁴ (100)
100	Saline	123.7±6.6(81)	18.1×10 ⁴ (79)
100	CAR *	199.7±9.1(130)	29.3×10 ⁴ (128)
100	ALA *	150.5±7.7(98)	30.2×10 ⁴ (132)
100	HCAR	118.3±6.3(77)	22.9×10 ⁴ (100)
100	GABA*	192.0±5.7(125)	32.1×10 ⁴ (140)
500	Saline	54.5±5.2(35)	9.6×10 ⁴ (42)
500	CAR *	78.3±9.4(51)	18.1×10 ⁴ (79)
500	ALA *	122.9±4.7(80)	29.5×10 ⁴ (129)
500	HCAR*	82.9±6.2(54)	14.9×10 ⁴ (65)
500	GABA	61.4±6.3(40)	14.9×10 ⁴ (65)

PFC was enumerated 4 days after immunization with 1×10⁸ SRBC by i. v. injection. MMC (μg/kg, i. p.) and drugs (saline 0.1 ml, CAR 100 mg/kg, ALA 40 mg/kg, HCAR 10 mg/kg, GABA 4.3 mg/kg) were administered s. c. for 9 days prior to immunization. Mean of 5 mice±S. D. * *p*<0.001 vs MMC and saline group.

Table 2. Effects of CAR, ALA, HCAR and GABA on PFC in mice treated with 5-FU.

5-FU	drug	Number of PFC(% of control)	
		per chamber	per spleen
—	Saline	173.8±5.7(100)	21.6×10 ⁴ (100)
20	Saline	85.7±6.8(49)	11.7×10 ⁴ (54)
20	CAR *	118.2±2.8(68)	17.1×10 ⁴ (79)
20	ALA *	118.2±6.3(68)	27.9×10 ⁴ (129)
20	HCAR*	144.3±6.2(83)	32.2×10 ⁴ (149)
20	GABA*	104.3±3.8(60)	21.6×10 ⁴ (100)

PFC was enumerated 4 days after immunization with 1×10⁸ SRBC by i. v. injection. 5-FU (mg/kg, i. p.) and drugs (saline 0.1 ml, CAR 100 mg/kg, ALA 40 mg/kg, HCAR 10 mg/kg, GABA 4.3 mg/kg) were administered s. c. for 9 days prior to immunization. Mean of 5 mice±S. D. * *p*<0.001 vs 5-FU and saline group.

ALA, HCAR, GABA でそれぞれ102, 108, 196, 276%に回復上昇した (Table 3).

B. 抗炎症剤による免疫機能低下に対する CAR 等の効果

HC 10, 20 mg/kg の腹腔内10日間連続投与

Table 3. Effects of CAR, ALA, HCAR and GABA on PFC in mice treated with CPD.

CPD	drug	Number of PFC(% of control)	
		per chamber	per spleen
—	Saline	80.3±5.9(100)	16.4×10 ⁴ (100)
10	Saline	83.4±2.4(104)	10.3×10 ⁴ (63)
10	CAR *	114.0±7.4(142)	16.7×10 ⁴ (102)
10	ALA *	116.4±3.8(145)	17.7×10 ⁴ (108)
10	HCAR*	110.0±4.6(137)	32.1×10 ⁴ (196)
10	GABA*	163.0±4.0(203)	45.3×10 ⁴ (276)

PFC was enumerated 4 days after immunization with 1×10⁸ SRBC by i. v. injection. CPD (mg/kg, i. p.) and drugs (saline 0.1 ml, CAR 100 mg/kg, ALA 40 mg/kg, HCAR 10 mg/kg, GABA 4.3 mg/kg) were administered s. c. for 9 days prior to immunization. Mean of 5 mice±S. D. * *p*<0.001 vs CPD and saline group.

Table 4. Effects of CAR, ALA, HCAR and GABA on PFC in mice treated with HC.

HC	drug	Number of PFC(% of control)	
		per chamber	per spleen
—	Saline	118.1±6.0(100)	14.6×10 ⁴ (100)
10	Saline	79.8±4.5(68)	8.0×10 ⁴ (55)
10	CAR *	122.8±4.2(104)	14.2×10 ⁴ (97)
10	ALA *	127.5±8.1(108)	15.9×10 ⁴ (109)
10	HCAR*	125.2±7.9(106)	13.7×10 ⁴ (94)
10	GABA*	160.6±4.8(136)	18.7×10 ⁴ (128)
20	Saline	62.6±3.7(53)	6.0×10 ⁴ (41)
20	CAR *	115.7±9.0(98)	13.4×10 ⁴ (92)
20	ALA *	108.7±2.8(92)	12.3×10 ⁴ (84)
20	HCAR	61.4±4.8(52)	11.2×10 ⁴ (77)
20	GABA*	79.1±2.9(67)	9.6×10 ⁴ (66)

PFC was enumerated 4 days after immunization with 1×10⁸ SRBC by i. v. injection. HC (mg/kg, i. p.) and drugs (saline 0.1 ml, CAR 100 mg/kg, ALA 40 mg/kg, HCAR 10 mg/kg, GABA 4.3 mg/kg) were administered s. c. for 10 days prior to immunization. Mean of 5 mice±S. D. * *p*<0.001 vs HC and saline group.

で spleen あたりの PFC は, Saline 投与の control 群の55, 41%に低下した. これに CAR 100 mg/kg, ALA 40 mg/kg を皮下に同時投与すると, それぞれ97, 92%, 109, 84%に賦活した. また, HCAR 10 mg/kg, GABA 4.3 mg/kgでも 94, 77%, 128, 66%に回復上昇した (Table 4).

C. 癌細胞移植による免疫機能低下に対する CAR 等の効果

Sarcoma-180 を移植し, 6日目に免疫して PFC 反応を行ったところ, spleen あたりの PFC は control 群の24%に低下した. 一方, 癌移植の翌日から免疫 前日まで, CAR, ALA, HCAR, GABA を移植部位より 2 cm 離れた皮下に投下した群では, control の94, 65, 68, 71%の値で, 賦活作用が観察された (Table 5).

D. γ 線照射による免疫機能低下に対する CAR 等の効果

Table 6 に示すごとく, 50, 100 rad の γ 線全身照射で spleen あたりの PFC は, control 群の88, 50%に低下した. CAR 100 mg/kg を9日間皮下投与しておいた群では, 165, 70%, ALA 40 mg/kg では143, 55%, HCAR 10 mg/

Table 5. Effects of CAR, ALA, HCAR and GABA on PFC in immunosuppressive mice with tumor.

Sarcoma-180	drug	Number of PFC(% of control)	
		per chamber	per spleen
—	Saline	131.0±6.6(100)	22.8×10 ⁴ (100)
10 ⁵	Saline	56.8±3.5(43)	5.5×10 ⁴ (24)
10 ⁵	CAR *	127.7±6.8(97)	21.4×10 ⁴ (94)
10 ⁵	ALA *	88.3±7.6(67)	14.8×10 ⁴ (65)
10 ⁵	HCAR*	88.5±6.9(68)	15.5×10 ⁴ (68)
10 ⁵	GABA*	92.0±6.8(70)	16.1×10 ⁴ (71)

PFC was enumerated 4 days after immunization with 1×10⁸ SRBC by i. v. injection. Drugs (saline 0.1 ml, CAR 100 mg/kg, ALA 40 mg/kg, HCAR 10 mg/kg, GABA 4.3 mg/kg) were administered s. c. for 5 days from the next day of inoculation of Sarcoma-180 tumor (s. c.) to the day before of immunization. Mean of 5 mice± S. D. * $p < 0.001$ vs Sarcoma-180 and saline group.

kg では138, 120%また GABA 4.3 mg/kg では 90, 133%と, 低下の抑制または上昇作用が観察できた. Table 7 は, 癌治療のモデル実験をしたもので, Sarcoma-180 10⁵ cells の皮下移植 8日

Table 6. Effects of CAR, ALA, HCAR and GABA on PFC in mice treated with γ -irradiation.

irrad.	drug	Number of PFC(% of control)	
		per chamber	per spleen
—	Saline	126.4±6.9(100)	16.5×10 ⁴ (100)
50	Saline	107.3±6.8(85)	14.6×10 ⁴ (88)
50	CAR *	139.0±8.3(110)	27.2×10 ⁴ (165)
50	ALA *	139.0±8.7(110)	23.6×10 ⁴ (143)
50	HCAR**	128.9±8.3(102)	22.8×10 ⁴ (138)
50	GABA*	141.6±3.5(112)	14.9×10 ⁴ (90)
100	Saline	84.4±5.1(67)	8.3×10 ⁴ (50)
100	CAR *	112.5±7.0(89)	11.6×10 ⁴ (70)
100	ALA	89.7±5.8(71)	9.1×10 ⁴ (55)
100	HCAR*	125.1±2.9(99)	19.8×10 ⁴ (120)
100	GABA	92.3±8.1(73)	21.9×10 ⁴ (133)

PFC was enumerated 4 days after immunization with 1×10⁸ SRBC by i. v. injection on the next day of γ -irradiation (rad). Drugs (saline 0.1 ml, CAR 100 mg/kg, ALA 40 mg/kg, HCAR 10 mg/kg, GABA 4.3 mg/kg) were administered s. c. for 9 days prior to γ -irradiation. Mean of 5 mice± S. D. * $p < 0.001$, ** $p < 0.01$ vs γ -irradiation and saline group.

Table 7. Effect of HCAR on PFC in mice tumor-bearing and treated with γ -irradiation.

tumor	irrad.	HCAR	Number of PFC(% of control)	
			per chamber	per spleen
—	—	—	91.0±3.3(100)	11.8×10 ⁴ (100)
+	—	—	51.8±4.8(57)	5.1×10 ⁴ (43)
+	+	—	54.2±5.0(60)	4.0×10 ⁴ (34)
+	+	10 *	118.8±7.5(131)	11.0×10 ⁴ (93)
+	+	50 *	78.3±7.0(86)	8.8×10 ⁴ (75)

PFC was enumerated 4 days after immunization with 1×10⁸ SRBC i. v. injection on the next day of γ -irradiation (25 rad). HCAR (mg/kg) was administered s. c. for 6 days from the next day of inoculation of Sarcoma-180 tumor (10⁵s. c.) to the day before γ -irradiation. Mean of 5 mice± S. D. * $p < 0.001$ vs tumor(+), irradi. (+) and HCAR(−) group.

Table 8. Effects of CAR, ALA, HCAR and GABA on PFC in old mice.

weeks old	drug	Number of PFC(% of control)	
		per chamber	per spleen
5	Saline	89.2±6.5(100)	17.4×10 ⁴ (100)
>30	Saline	52.1±4.4(58)	12.3×10 ⁴ (71)
>30	CAR *	106.4±4.4(119)	26.2×10 ⁴ (151)
>30	ALA *	102.3±7.9(115)	20.9×10 ⁴ (120)
>30	HCAR*	133.3±9.1(149)	37.8×10 ⁴ (217)
>30	GABA**	70.0±5.1(78)	24.7×10 ⁴ (142)

PFC was enumerated 4 days after immunization with 1×10^8 SRBC by i. v. injection. Drugs (saline 0.1 ml, CAR 100 mg/kg, ALA 40 mg/kg, HCAR 10 mg/kg, GABA 4.3 mg/kg) were administered s. c. for 8 days prior to immunization. Mean of 5 mice \pm S. D. * $p < 0.001$, ** $p < 0.01$ vs >30 weeks old and saline-treated group.

目で spleen あたりの PFC は control の43% に低下した。さらに、移植7日目に 25 rad の γ 線を全身照射すると、34% まで低下した。一方、移植翌日から γ 線照射前日まで HCAR 10, 50 mg/kg を皮下投与した群では、control 群のそれぞれ93, 75%の低下にとどまり、賦活作用が見られた。

E. 老化マウスの免疫機能に対する CAR 等の効果

ddY マウスは、老化により生理的に免疫機能が低下する³¹⁴⁾。Table 8 に示すように、30週齢以上の老化マウスは、5週齢の若いマウスに比べて spleen あたりの PFC は71% に低下していたが、CAR, ALA, HCAR, GABA の8日間皮下投与で151, 120, 217, 142%と、いずれも100%以上に賦活された。

IV. 考 察

著者らは、CAR 等が granulation を促進し、HC, MMC, 5-FU, bleomycin による granulation 阻害に対して賦活作用を示し、創傷治癒促進¹¹²⁾、免疫調節³¹⁴⁾に作用することを実験により確かめていたので、これらの物質が諸種の条件で起こした免疫機能低下の回復に有効であり、SHA の作用物質であることは予測してい

た。免疫機能低下の誘導に用いた薬剤、MMC, 5-FU, CPD は、核酸合成阻害で T, B 両細胞を抑制し、HC は helper T cell および macrophage などの単球を血中から移動させることによって、これらの細胞を減少させ免疫機能低下を起こす。 γ 線照射は T, B 両細胞を抑制して機能低下を起こし、癌の増殖は biological blocking factor の産生や suppressor T 細胞の活性化などにより機能低下を起こす。また、老化は生理的な全般的機能低下により免疫機能低下を起こす。CAR 等は、前述のようにいずれの原因に対しても、また影響を受ける細胞群のいずれに対しても非特異的に免疫賦活作用を示した。

CAR 等の作用を核酸に関して考察すると、核酸合成阻害剤、たとえば DNA と結合してその複製を阻害する MMC や CPD, DNA 前駆体の合成を阻害する 5-FU などの抗腫瘍剤, DNA 鎖を切断してその複製を阻害する γ 線照射などのすべての原因に対して、非特異的に有効に回復作用を示し、さらに老化による生理的免疫機能低下をも回復した。このことは、CAR 等の免疫異常低下に対する回復作用の機序は、諸種の原因により損傷される核酸化学構造の修復によるものでなく、非特異的核酸生合成促進作用が生理的免疫機能を促進して機能低下を補う、量的作用にあるといえる。このことは、組織修復作用についても同様に、核酸生合成, collagen 生合成で証明されたこと¹¹²⁾であって、核酸生合成との関連に未解決の部分を残すが、CAR 等の SHA の基礎は核酸生合成にあるといえる。

SHA の作用物質としては、基本的に次の3条件が満たされなければならないと考える。

1. homeostasis の上限の破綻の原因となる炎症組織を修復する作用。
2. 抗体産生調節作用 (免疫調節作用)。
3. 2の範疇に入るが、homeostasis 下限の破綻となる免疫異常低下を賦活する作用。

先に発表した免疫調節作用、組織修復促進作用に加えて、今回の非特異的免疫賦活作用の証明により、CAR 等が SHA の生理活性物質であ

ることが証明された。またそれは、CAR 等の臨床報告⁶⁾⁷⁾⁸⁾⁹⁾により裏づけられている。

病理学的認識である殺滅, 融解, 吸収, 包被, 排除, のいわゆる生体防衛反応は, 機能的にも組織学的にも本来相互に不可分の関係にある—防衛積分機能 (integral defensive function)—であるが, これらを一括制御する生体物質が発見されなかったため, 機能として実体が理解し得なかったが, CAR 等の SHA の発見により人為的増強可能な実体となった。

免疫概念が, 病理学概念の生体防衛反応, 生理学概念の homeostasis, さらに老化にまでと, 初期に比べて著しく拡大している現在, 細胞性液性免疫と末端効果器機能により構成される初期免疫理論のみではその全容は解明しつくし得なくなっている。新理論は, 初期理論に, 間質機能の組織修復作用と, 効果器の上位にあって homeostasis を制御する機能を加えた理論である。その作用は, 外部環境に対して生命を独立させ維持する barrier を強化するという, 生体防衛整合の治癒であり, 治癒促進し得ず, の初期理論では実体化し得なかったものである。

謝 辞

本研究は昭和59, 60, 61年度日本大学歯学部佐藤奨学金により行われたことを記し, 感謝の意を表する。

文 献

- 1) Nagai, K., Suda, T., Kawasaki, K. & Mathuura, S. (1986) Action of carnosine and β -alanine on wound healing. *Surgery*. **100**, 815-
- 2) Nagai, K., Suda, T., Ikenoya, H. & Kawasaki, K. (1984) Promotion of granulation and collagen synthesis with homocarnosine. *The Saishin Igaku*. **39**, 1938-1940
- 3) Nagai, K. & Suda, T. (1986) Immunoregulative effects of carnosine and β -alanine. *J. Physiol Soc. Japan*. **48**, 564-571
- 4) Nagai, K. & Suda, T. (1986) Immunoregulative effects of homocarnosine and γ -aminobutyric acid. *J. Physiol. Soc. Japan*. **48**, 572-579
- 5) Hashimoto, Y. & Ohshima, H. (1979) Techniques for immunological experiments A. *Japanese Society of Immunologists, Kanazawa*, 491-494
- 6) Ikenoya, H., Suda, T., Kawasaki, K. & Nagai, K. (1984) Spontaneous healing promotive effect of conjoint dosage of carnosine and cortisone on the surgical wound and aphtha ulcus. proceeding in IUPHAR 9th International Congress of Pharmacology. London, Book of abstracts, 628P
- 7) Nagai, K. (1976) The effect of L-carnosine on wound healing process. proceeding in tenth International Congress of Biochemistry. No. 16-8-286, Hamburg
- 8) Nagai, K. (1980) Entzündungshemmung durch die Förderung der Spontanen Heilung mittels L-Carnosin. *Langenbecks Arch. Chir.* **351**, 39-49
- 9) Shimanaka, S. (1984) Spontaneous healing promotive effect of carnosine (β -alanyl-L-histidine) on the cervical erosion. proceeding in IUPHAR 9th International Congress of Pharmacology. London, Book of abstracts, 626P

カルノシン, β -アラニンの抗腫瘍作用 —抗腫瘍作用の生理学的考察—

永井 甲子四郎・須田 泰子
(日本大学歯学部総合歯学研究所・病態生理学研究室)

Antineoplastic Effects of Carnosine and β -Alanine—Physiological Consideration on Antineoplastic Effect— Kineshiro NAGAI and Taiko SUDA (*Department of pathophysiology, Dental Research Center, Nihon University 1-8, Kanda Surugadai, Chiyodaku, Tokyo 101, Japan*)

Abstract

Antineoplastic effects of carnosine (CAR) and β -alanine (ALA), were examined in vivo using ddY mice implanted with the solid tumor Sarcoma-180. The sarcoma was treated with trypsin, 10^5 cells were implanted subcutaneously in the back of the animals, and CAR and ALA were administered subcutaneously 2 cm from the implantation site starting on the next day. The animals treated with ALA alone showed prolongation of survival to a T/C value of 132%; the growth of the tumor was inhibited and mortality reduced in those treated with CAR alone. Regression of the tumor was observed in the animals treated with either drug. The effects of these agents were enhanced when administered in combination with the non-specific active immuno-enhancing agent OK-432. More than half the animals treated with CAR and OK-432 survived the observation period (T/C > 218%), and survival was prolonged in those treated with ALA and OK-432 to a T/C value of 132%. The agents also showed potent antineoplastic effects on Sarcoma-180 when the tumor had been attenuated in vivo with mitomycin C (MMC).

key words : carnosine, β -alanine, antineoplasma, immunoregulator

抄 録

固形移植肉腫 Sarcoma-180(S-180)を皮下に移植した ddY マウスに, Spontaneous healing action (SHA) の生理作用物質 carnosine (CAR), β -alanine (ALA) を投与し antineoplastic effect を試験した。

固形肉腫をトリプシンで遊離処理し, 10^5 cells を背部皮下に移植して, 翌日から CAR, ALA を移植部位より2cm離れた皮下に投与した。単独投与では, ALA に T/C(%)132の延命効果があり, CAR では tumor サイズの抑制, 死亡率の低下が見られた。いずれの場合も tumor の regression が観察できた。臨床に使用されている非特異性能動免疫剤 OK-432 と併用すると, その効果を増強して, CAR の場合は半数以上が生き残り (T/C(%)>218), ALA でも T/C(%) 132の延命効果が見られた。また, あらかじめ *in vitro* で mitomycin C(MMC) を作用させて弱毒化した S-180 に対しても, 強い antineoplastic 作用を示した。上記の結果に対して, 生理学的に癌と SHA の関係について考察した。

Abbreviations used in this paper

CAR=carnosine(β -alanyl-L-histidine)
S-180=Sarcoma-180
HC=hydrocortisone
Bleo.=bleomycin
PBS=phosphate buffered saline

ALA= β -alanine
MMC=mitomycin C
5-FU=5-fluorouracil
CPD=cyclophosphamide
SHA=spontaneous healing action

I. 緒 論

Carnosine (β -alanyl-L-histidine) は, Gule-

witsch ら¹⁾によって発見された dipeptide である。主として, 哺乳動物の骨格筋に約 0.1~0.3%含有されている。著者らはすでに次のごとく CAR が homeostasis の維持に作用する SHA の作用物質であることを同定している。

組織修復促進作用²⁾: CAR, ALA は HC, MMC, 5-FU, Bleo. などで阻害された granulation を賦活し, 創傷治癒を促進する. 投与した CAR は, carnosinase により L-histidine と ALA に分解される. Histidine は, 炎症局所で活性の高まっている histidine decarboxylase (HDC) により histamine を生成し, histamine は炎症初期滲出に作用する. 一方 ALA は, collagen 生合成を促進して, 治癒過程が促進される.

免疫調節作用 (抗体生産調節作用)³⁾: SRBC (sheep red blood cell) に対する PFC (plaque forming cell) 反応により試験した結果, CAR, ALA は少量抗原には増強的に, 大量抗原には抑制的に作用する. 幼若動物の過剰な反応を抑制し, 30週齢以上の加齢動物の生理的に低下した免疫機能を有意に賦活する.

免疫賦活作用⁴⁾: 免疫阻害物質 MMC, 5-FU, CPD, HC の投与, S-180の担癌, γ 線照射による免疫機能低下および老化による生理的免疫機能低下を, 有意に非特異的に賦活する.

臨床作用: surgical wound⁵⁾, cervical erosion⁶⁾ に対し免疫調節, 組織修復作用による治癒効果が証明された.

これらの作用は, 免疫と修復の末端効果器の上位にあって結合組織生理機能の homeostasis を制御する SHA で, 病理学的認識の, 殺滅, 融解, 吸収, 包被, 排除を実体化したものである. この生体防衛整合な作用は, 従来宿主機能に求められている対癌抵抗力の条件を満たすものである. CAR, ALA の投与による SHA の人為的増強による癌治療の可能性を S-180移植癌により実証し, SHA による癌制圧の新概念について, 病態生理学的考察を加え, 報告する.

II. 材料と実験方法

A. 動物と腫瘍

Shizuoka Laboratory Animal Center より購入した雄性, 5週齢 (体重 20 g 前後) の ddY マウスを使用し, 室温 $24 \pm 1^\circ\text{C}$, 湿度 $55 \pm 5\%$ の環境下で個別飼育した. Funabashi Farm, Shizu-

oka の飼育用固形飼料 F2 (cubes) と水道水を自由に摂取させた. 固形肉腫 S-180 は北里研究所制癌教室 (小宮山保存株) から供与され, 当研究室において継代維持されている S-180 を用いた. 長径 1.5 cm 程度に生長した時点で無菌的に採取して細切し, 0.25% Trypsine-0.05% EDTA (Mg^{2+} , Ca^{2+} free PBS) を加え攪拌し 37°C で25分間消化した. ガーゼ濾過して S-180 細胞を遊離し, さらに遠心分離処理により洗浄した後, 生細胞数 $5 \times 10^4 \sim 1 \times 10^5$ cells を ddY マウスの背部皮下に移植した. MMC (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd.) 処理の場合は, Trypsine 消化後, 5×10^7 cells/ml (5 mg MMC/ml PBS) とし, 37°C で60分間 incubation 後, 1×10^5 cells を移植した.

B. 薬物および投与方法

薬物投与は 1群 7~13匹として移植翌日より開始し, 生理的食塩水に溶解した 0.1 ml を注入した. CAR (Hamari Chemicals LTD.) 50-250 mg/kg/day, ALA (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) 25-125 mg/kg/day を移植翌日かを毎日 1回10日間, あるいは 1日おきに15回ないし死亡するまで, 背部皮下の sarcoma 移植部位より 2 cm 尾側に注射した. OK-432 は 0.5 KE/mouse/day を隔日 1回計15回, または死亡するまで腹腔注射した. 非特異性能動免疫剤 OK-432 (Chugai Pharm. Co., Tokyo) は, host defense stimulator anti-tumor Str. pyogenes preparation でA群型溶連菌の弱毒株をペニシリン処理し凍結乾燥したものである. 1KE (Klinische Einheit) は 0.1 mg の乾燥菌体に相当する. CAR, ALA は, 上記投与方法で単独あるいは OK-432 と併用投与した.

C. 評価の方法

米国国立癌研究所, 抗癌剤研究開発部門で採用している方式によった. 移植後60日間毎日マウスの一般状態を観察し, 一定期間ごとに tumor 径 (長径 \times 短径) を測定し, Saline 投与の対照群と治療群の平均値を求めた. さらに各表の各値は, 次のように求めた.

Survival days =

$$\frac{\sum(\text{死亡日} \times \text{その日の死亡動物数})}{\text{死亡した全動物数}} \times 100$$

(死亡開始日 - 死亡終了日)

$$T/C(\%) = \frac{\text{処置群の M.S.T.}}{\text{対照群の M.S.T.}} \times 100$$

$$M.S.T. (\text{median survival time}) = L + \frac{J}{fM}$$

L = 中間のマウスの死亡日の下限値, fM = 中間のマウスの死亡日に死亡したマウスの総数, J = 中間のマウスの死亡日のマウスのなかで中間

マウスに到達するまでのマウス数. なお, $T/C(\%) \geq 125$ を最低有効値とした.

III. 実験結果

S-180 に対する CAR および OK-432 併用は, Fig. 1, Table 1 に示した. CAR 50 mg/kg の隔日15回投与で tumor の生長阻害が見られ, regression (生着し生長していた tumor が途中で生長が止まり退縮して生体に吸収され肉眼的に消滅してしまうという現象) が 30% のマウ

Table 1. Effects of CAR and OK-432 on S-180

Treatment	Tumor size (cm ²) (long × short axis)	Survival days	mortality (%)	T/C (%)
	20 d			
Saline	545.8	29.2(16~39)	12/12(100)	
CAR	280.1	26.4(17~35)	7/10(70) ^a	97
OK-432	427.3	29.8(16~43)	10/12(83) ^b	103
CAR+OK-432	177.8	29.7(19~41)	6/13(46) ^c	>218 *

ddY mice were inoculated with S-180 (5×10^4 s. c.) and administered saline (0.1 ml s. c.), CAR(50 mg/kg/day s. c.)and OK-432 (25 KE/kg/day i. p.) every second day (total 15th) from the next day of inoculation. ^a regression in 3 animals (Regression: After growing for a few weeks, tumors began to regress and were absorbed.), ^b regression in 2 animals, ^c regression in 5 and no-growth in 2 animals * significantly effective, ≥ 125

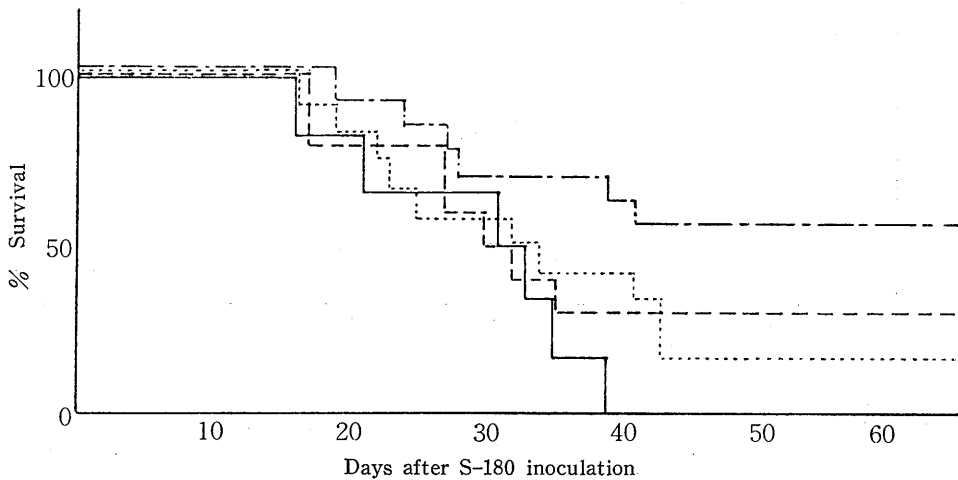


Fig. 1. Effects of CAR and OK-432 on S-180. ddY mice were inoculated with S-180 (5×10^4 s. c.) and administered saline 0.1 ml (—), CAR 50 mg/kg/day s. c. (---), OK-432 25 KE/kg/day i. p. (.....) and CAR+OK-432 (-.-) every second day from the next day of inoculation.

スに出現した。この効果は、OK-432 との併用でさらに増強され、13匹中5匹のマウスの tumor が regression を起こし、肉眼で確認できる tumor の生長が認められない動物も加えて、50%以上の動物が生き残るという結果が得られた ($T/C(\%) > 218$)。Fig. 2, Table 2 は ALA の結果で、ALA 25 mg/kg および OK-432 との併用で $T/C(\%)$ 132 と有意の延命効果が得られた。

MMC 処理した S-180 に対する作用は、Fig. 3 および Table 3 に示した。CAR 250 mg/kg 連続10日間投与による延命効果は弱かったものの、移植11, 17日目の tumor サイズに強い抑制効果が見られた。ALA 125 mg/kg では tumor サイズの抑制とともに $T/C(\%)$ 有意の延命効果 (151), 死亡率の低下が見られた。その生き残った動物には、肉眼で確認できる tumor の生長が認められないものが多かった。

Table 2. Effects of ALA and OK-432 on S-180

Treatment	Tumor size (cm ²) (long × short axis)		Survival days	mortality (%)	T/C (%)
	10 d	18 d			
Saline	217	561	24.4(18~36)	11/11(100)	
ALA	166	520	30.3(18~50)	9/10(90) ^a	132 *
OK-432	169	528	22.7(14~37)	10/10(100)	100
ALA+OK-432	173	553	29.7(18~45)	10/10(100)	132 *

ddY mice were inoculated with S-180 (10^5 s. c.) and administered saline (0.1 ml), ALA (25 mg/kg/day s. c.) and OK-432 (25 KE/kg/day i. p.) every second day (until death) from the next day of inoculation. ^a tumor regressed in 1 animal
* significantly effective, ≥ 125

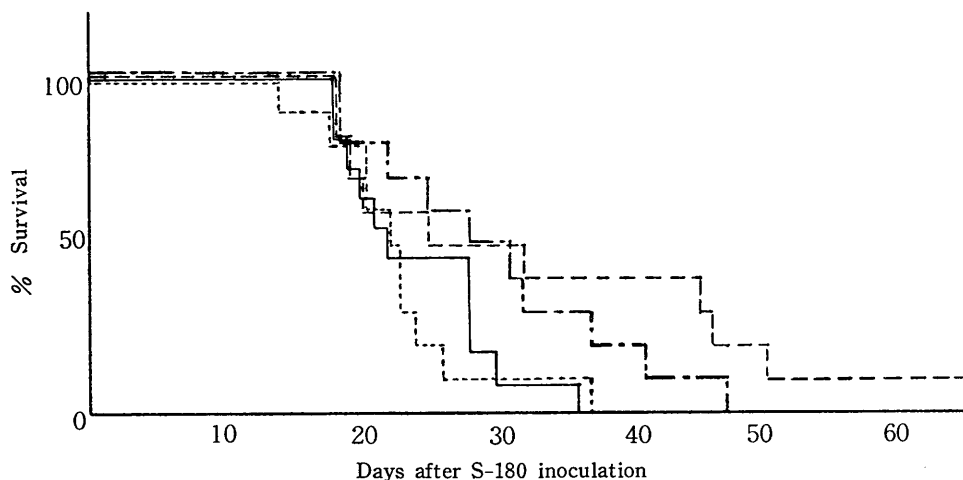


Fig. 2. Effects of ALA and OK-432 on S-180. ddY mice were inoculated with S-180 (10^5 s. c.) and administered saline 0.1 ml (—), ALA 25 mg/kg/day s. c. (---), OK-432 25 KE/kg/day i. p. (-·-·-) and ALA+OK-432 (- - -) every second day (until death) from the next day of inoculation.

Table 3. Effects of CAR and ALA on MMC-treated S-180

Treatment	Tumor size (cm ²) (long \times short axis)			Survival days	mortality (%)	T/C (%)
	11 d	17 d	27 d			
Saline	184.8	453.4	892.0	28.6(15~47)	9/9(100)	
CAR 250	102.9	142.4	628.5	34.3(22~53)	7/7(100)	118
ALA 125	104.7	309.7	687.4	43.0(29~54)	7/7(100)	151 *

S-180 cells ($5 \times 10^7/ml$) were incubated with 5 mg MMC/ml in PBS for 1 hr at 37°C and then inoculated into ddY mice (10^5 s.c.). Saline (0.1 ml), CAR and ALA (mg/kg/day s.c.) were administered daily for 10 days from the next day of inoculation. * significantly effective, ≥ 125

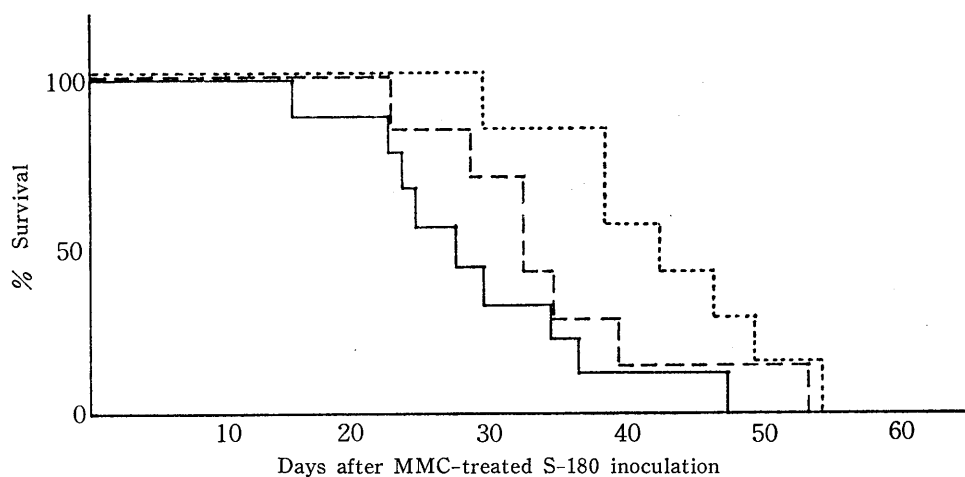


Fig. 3. Effects of CAR and ALA on MMC-treated S-180. S-180 cells ($5 \times 10^7/ml$) were incubated with 5 mg MMC/ml in PBS for 1 hr at 37°C and then inoculated into ddY mice (10^5 s.c.). Saline 0.1 ml (—), CAR 250 mg/kg/day (---) and ALA 125 mg/kg/day s.c. (----) were administered daily for 10 days from the next day of inoculation.

IV. 考 察

緒論に述べるごとく, CAR, ALA の抗腫瘍の作用原理となる CAR の SHA 増強作用についてすでに発表している, それに基づいて実験結果を考察する.

癌化した細胞の増殖, 癌の減衰は, 結合組織生理機能の免疫と組織修復による SHA と相互に variable な相対関係にあることは推測されるが, SHA が解明されなかったため実体とならなかった. CAR, ALA が SHA 作用物質であることが同定されたので, 癌と SHA の相対性病因論的認識が可能となり, SHA の強化による癌の制圧が可能を持つこととなった.

従来の宿主機能による癌制圧の免疫に関連する諸種の療法は, “自然治癒促進し得ず”の史的固定概念の下で SHA が解明し得なかったので, 上位概念による人為的制御のない細胞性免疫, 液性免疫機能, およびそれらの対癌抵抗因子の末端効果器のみで理論を構成せざるを得ない事情にあった. 本来, 生体防衛の機能的, 組織学的に不可分の関係にある組織修復を除外した, 生体防衛の生理機能を再現し得ない生体防衛非整合な作用に依存した療法であって, その臨床は血清療法に限定されている. 免疫調節・組織修復の促進を含む防衛積分—integral defensive action—のポテンシャルを上げ, 癌に対する宿主の barrier を高めることはでき

ず、癌の治療に完全な効果を発揮し得なかった。

CAR, ALA は、免疫調節、組織修復促進に作用する。すなわち、neoplasma の増殖による T, B リンパ球の免疫機能低下を非特異的に回復し、諸種の原因による免疫機能低下を賦活し、老化による生理的免疫低下をも賦活する。さらに、collagen 生合成、組織修復を促進して、殺滅、融解、吸収、包被、排除の防衛積分により antineoplastic に作用するのである。従来、免疫、組織修復を一括制御する生理活性物質が発見されなかったため、collagen 生合成促進作用、組織修復促進の間質機能は、antineoplastic factor としては除外されていた。今回、CAR, ALA によりこれらが一括制御される対象であることが証明されたので、antineoplastic factor の一つに加えられるであろう。非特異性能動免疫剤である SSM (Specific Substance of Maruyama, Purified Polysaccharides Bacillus) の抗腫瘍作用機序の報告があるように⁷⁾、tumor を collagen 繊維が被包し tumor の生長阻害、ひいては退縮、消滅させることが考えられる。

きわめてまれではあるが、確実にある、癌の spontaneous regression (自然治癒) は癌の増殖に勝る免疫力による癌細胞の殲滅と、組織修復作用による病巣の修復がタイムリーにパーフェクトに起こった場合に見られる現象である。その偶発的に起こる機序の解明はさておいて、免疫調節、組織修復促進作用による防衛積分の人為的強化により、それと同じ効果を得ることができる。上記実験結果に見るごとくである。

放射線療法、化学療法の障壁となっている問題点は、mitosis の抑制という抗腫瘍作用と homeostasis の阻害による防衛非整合な副作用の発現である。今までは、この不都合な部分の除去は個体の自然治癒力に依存する外はなかったが、これらの癌療法を完成する課題は CAR, ALA の免疫賦活作用によって解決されている(4)。限度なく増殖する癌組織の mitosis を、SHA で制御可能な所まで抑えるために、化学療法剤の投与、放射線照射などを行い、またそ

れらによって低下する宿主の免疫機能、組織修復機能を CAR, ALA で生理値以上のレベルに賦活増強する方法は、癌制圧に効果的な手段である。実験的には、MMC 処理 S-180 に対する CAR の効果で証明されている。また、共同研究者 Shimanaka, S.⁸⁾ は、cervical squamous cell carcinoma の治療に γ 線の遠隔間接照射と CAR 200mg 腫瘍挿入を併用し、病理診で治癒と判定する効果を報告した。いずれも次期治療手段を示唆する療法である。

非特異性能動免疫剤が期待するような臨床効果を得られない原因は、癌の増殖または癌療法により低下した SHA potential に免疫応答を求め、これに抗癌効果を期待するためである。また、防衛積分の組織修復作用の増強作用も欠けている。能動免疫療法で成果を得るためには、低下した SHA potential を CAR であらかじめ生理値以上に増強したうえで、応答を求めなければならない。非特異性能動免疫を利用した癌治療剤 OK-432 と CAR, ALA との併用結果は、能動免疫療法による効果を CAR, ALA が増強することを示した例である。

V. 終わりに

細胞の悪性化と消滅を反復するであろう癌の制圧は、化学療法剤で癌細胞を標的とする現在の療法から、結合組織の免疫と組織修復による内部環境恒常性維持機能 (SHA) との相対的認識で、防衛積分を高めることにより治療と予防が行われるものと考えられる。恒常性維持機能の限界を越えて増殖した癌に対しては、生理機能により制御可能な所まで γ 線、抗腫瘍剤、外科的療法により mitosis を抑制し、さらに SHA を増強するのが生理学的に考えた癌制圧の方法と考える。

謝 辞

本研究は昭和59, 60, 61年度日本大学歯学部佐藤奨学金により行われたことを記し、感謝の意を表す。

文 献

- 1) Gulewitsch, W. & Amiradzibi, S. (1900) Über des Carnosin, eine neue organische Base des Fleischextraktes. Ber. Drch. Chem. Ges., **33**, 1902-1905
- 2) Nagai, K., Suda, T., Kawasaki, K. & Mathuura, S. (1986) Action of carnosine and β -alanine on wound healing. Surgery., **100**, 815-
- 3) Nagai, K. & Suda, T. (1986) Immunoregulative effects of carnosine and β -alanine. J. physiol. Soc. Japan., **48**, 564-571
- 4) Nagai, K. & Suda T. (1986) Immuno-enhancing effects of carnosine and β -alanine. J. Physiol. Soc. Japan., **48**, 735-740
- 5) Nagai, K. (1980) Entzündungshemmung durch die Förderung der Spontanen Heilung mittels L-Carnosin. Langenbecks Archv. Chir., **351**, 39-49
- 6) Shimanaka, S. (1984) Spontaneous healing promotive effect of carnosine (β -alanyl-L-histidine) on the cervical erosion. proceeding in IUPHAR 9th International Congress of Pharmacology. London, Book of abstracts, 626P
- 7) Kimoto, T. (1982) Collagen and stromal proliferation as preventive mechanisms against cancer invasion by purified polysaccharides from Human Tubercle Bacillus (SSM). Cancer Detection and prevention., **5**, 301-314
- 8) Shimanaka, S. (1986) Treatment of cervical carcinoma by γ -irradiation combined with local administration of carnosine or homocarnosine. Jap. Soc. Cancer Ther., **21**, 310



第72回近畿生理学談話会

日 時：昭和61年10月4日(土)

場 所：兵庫医科大学

当番幹事：兵庫医科大学生理学教室

林 泰正・堀 清記

1. プロスタグランジン A_{1w} 水酸化反応の生理的意義

賀来正俊, 堀 清記, 鈴木啓文*, 楠瀬恵美**, 楠瀬正道** (兵庫医大, 第一生理, 第四内科*・大阪市大, 医, 刀根山結核研**)

プロスタグランジン (PG) の代謝分解についてはまだ不明な点が多い。われわれは、ウサギ小腸および大腸粘膜マイクロゾームより PGA を活発に w 水酸化するチトクローム P-450 (おのおの P-450 ia, P-450 ca と命名) を初めて精製した。さらに、PGA_{1w} 水酸化反応の意義を検討するために、PGA₁ とその代謝産物 20-OH-PGA₁ の生理作用をウサギを用いて比較した。まず耳静脈より PG を 4 μg/分40分間投与し Entero-poolingassay を行った結果、20-OH-PGA₁ は腸内容物増加の効果において、PGA₁ のそれに比べ回腸では 66%、盲腸では 50% の活性を示した。同時に直腸温の変化も測定したが、両 PG とも最高値で 0.10~0.12℃ の上昇にとどまり大差がなかった。また、経静脈的ブドウ糖負荷 (0.5 g/2 秒) における PG 4 μg/分 連続投与の影響を調べたところ、インスリンの増加は対照群では 18 μU/ml であったが PGA₁ により 5 μU/ml、20-OH-PGA₁ により 9 μU/ml と抑制された。次に、経静脈的に種々の量の PG を 2 秒以内に投与し大腿動脈圧の降下を調べた結果、20-OH-PGA₁ の降圧作用は PGA₁ の 52~78% であった。以上より、20-OH-PGA₁ は弱いながらも生理作用を有しており PGA_{1w} 水酸化反応は完全失活経路である 15-OH-PG 脱水素経路とは意義の異なった代謝経路であると推測された。

2. 関節液中 collagenase, plasminogen activator 活性における酵素阻害剤の効果

菊池 啓, 板東博志, 岡田清孝, 上嶋 繁, 酒井鉄博, 田中清介*, 松尾 理 (近畿大, 医, 第二生理, 整形*)

(目的) 関節液中には種々の酵素が存在し、軟骨破壊を引き起こす。中でも collagenase 活性、また procollagenase を活性化させる plasminogen activator (PA) 活性は軟骨破壊を考えるうえで重要な役割

をなす。そこで、慢性関節リウマチ (RA) 関節液中の両活性に対する酵素阻害剤の効果を検討した。

(方法) RA 関節液 (n=25) を用い、阻害剤は urinary trypsin inhibitor (UTI), gabexate, tranexamic acid を 0.1~100 mg/ml にて、aprotinin を 5~5000 KIE/ml にて用いた。PA 活性の測定は、関節液の euglobulin 分画と阻害剤を 37℃ 2 時間反応させた後、enzymography を行った。Collagenase 活性は NaI により活性化し、阻害剤と同様に反応させ collageno-kit CLN-100 を用い測定した。

(結果) 関節液中の PA 活性は 0.9 U/ml で、collagenase 活性は 7.9 U/ml であった。UTI は選択的に urokinase type PA 活性と collagenase 活性を強く抑制し、fibrin と親和性の高い tissue type PA 活性は維持した。Gabexate は高濃度でのみ両 PA 活性および collagenase 活性を抑制した。他剤は PA 活性を約 50% 抑制したが、collagenase 活性は抑制しなかった。UTI の関節内投与により、*in vivo* でも同様な結果を得、症状も軽快した。

3. ラット胸腺上皮性細胞培養上清からの胸腺ホルモンポリペプチドの分離-ロゼット形成能誘導活性および thymosin α₁ との相互関係に関する研究一

豊川 奉, 沖本俊明, 押谷伸英, 羽藤文彦, 谷山敏子, 盛岡京子, 田路吉朗, 木村修平, 木下喜博 (大阪市大, 医, 第二生理)

胸腺上皮性細胞 (TEC) より分泌される胸腺ホルモンは、T 細胞系への分化・成熟過程において重要な役割を演じていると想定される。そこで、Wistar 系ラット TEC を初代培養し、高速液クロにてその培養上清を分析した結果、A (分子量約 7,000), B (約 4,700), C (約 3,000) 3 種のポリペプチド画分画が分離された。これらの生物学的活性をモルモット赤血球とのロゼット形成能を指標として検討した結果、C には有意なロゼット形成能誘導活性が認められたが、A, B には、認められなかった。C の分子量は、胸腺ホルモン活性を有する thymosin α₁ の分子量 3,108 と近似する。そこで、C を家ウサギ抗 thymosin α₁ 抗体で前処置した

ところ、その活性は抑制された。一方、抗 thymosin α_1 抗体を用いた間接蛍光抗体法により、TEC 培養試料を検討すると、細胞質内に顆粒状蛍光が認められた。さらに、Cで抗 thymosin α_1 抗体を吸収したところ、その蛍光強度の減弱傾向を認めた。以上のことより、Cには thymosin α_1 と類似した抗原決定基を有するポリペプチドが存在すると想定され、胸腺内T細胞の分化・成熟過程に重要な役割を演じていることが示唆された。

4. レーザー回折法による赤血球ゴーストの変形能測定

長澤貴志, 木下喜博 (大阪市大, 医, 第二生理)

レーザー回折法による赤血球ゴーストの変形能測定を試み、膜変形能がどのような因子によってコントロールされるかを検討した。

(方法) ヒト全血を3,000 rpm, 20分間遠心した後、白血球層を除き、40倍量の等張トリス緩衝液で2回洗浄した。1 mM Mg ATP を含む4℃の40倍量低張トリス緩衝液で溶血させた。同溶液でゴーストを2回洗浄し、4℃で1/10量の高張トリス緩衝液を徐々に加えた後、37℃で1時間静置した。ゴーストの変形能は、高屈折率を有する arabinogalactan 溶液を用いて測定した。

(結果) ①調製されたゴーストは厚みのある biconcave disc であった。②ゴーストを40~50℃で10分間静置すると、変形能は温度依存性に低下した。③ゴーストの変形能は、浸透圧の影響を受けなかった。④pH 5~9の間では、膜変形能は変化しなかった。⑤1~20 μ M の diamide 処理によって変形能は、濃度依存性に低下した。以上の結果より、調製されたゴーストの変形能は、内部粘度、表面積/容積比、膜の弾性の三因子のうち、膜因子によって決定されと考えられた。この方法は、ヘモグロビンを有さない血液細胞や癌細胞の膜変形能測定にも応用できるものと考えられる。

5. 改良コロニー形成アッセイ法による血漿エリスロポエチン (E_{Po}) の測定

坂田 進, 榎 泰義, 清水 悟, 上月久治, 大賀好美 (奈良医大, 第二生理)

先にわれわれは、培養マウス胎仔肝細胞における CFU-E コロニー形成に基づく E_{Po} 測定法を報告した。その後、形成コロニーの一部に細胞集合による偽コロ

ニーが混在していることを見いだした。そこで今回、培養条件を再検討して改良測定法を確立し、これを用いて健常成人、腎透析患者の血漿 E_{Po} 値を測定したので報告する。材料と方法: 96孔マイクロプレートに1孔当たり Ficoll 処理したマウス胎仔肝細胞 (7×10^3) を含むメチルセルロース培地 100 μ l をとり、さらに10 μ l 標準 E_{Po} あるいは検体試料を添加、37℃, 5% CO₂-95%空気下で培養した。48時間後に1孔当たり生成する赤血球系コロニー数を算定した。結果: 1孔当たりの細胞数が 10^4 以下では、コロニー形成のピークは培養48時間目であった。1孔当たり $10^3 \sim 7.5 \times 10^3$ 細胞の範囲で、植えた細胞数と形成コロニー数の間に直線関係が得られた。Ficoll での細胞分離により CFU-E の濃度を1.5~2倍に高めることができた。酸-煮沸処理血漿がもっともコロニー形成を刺激し、この血漿の dose-response 曲線は標準 E_{Po} 曲線と平行した。今回の方法による22人の腎透析患者の平均血漿 E_{Po} 値は66 mU/ml で、健常成人血漿 E_{Po} 値 161 mU/ml より明らかに低い値であった。

6. 脱水回復時の salt appetite 変化と血液量ならびに血中 Na 濃度

杉本英造, 奥野 直, 矢知多多姫子, 森本武利 (京都府立医大, 第二生理)

われわれはさきに、温熱脱水ラットに水道水と食塩水を同時に与えて選択させると、ラットは当初の約2時間は約 50 meq/l の食塩水濃度に希釈して飲水を行い、その後約 100 meq/l の食塩水を摂取することを認め、脱水回復過程では行動性に体液の調節を行うことを報告した。今回その機序を明らかにするため、飲水刺激である循環血液量と血中 Na 濃度を、脱水回復過程において連続的に測定した。

(方法) ラットの動静脈に慢性的に留置したカテーテルを用いて、A-V shunt を作成し、これを γ カウンターおよび Na 電極を含む回路に接続し、意識下ラットの血液量、血中 Na 濃度を水道水、1.8%食塩水の摂取量とともに連続測定した。

(結果) 血液量と血中 Na 濃度とも飲水開始後、約4時間で一定レベルに安定し、このときの値を100%とすると、飲水イオン濃度の resetting が認められるのは、血液量が40~50%、Na 濃度が60~70%回復した時点であった。また、排尿開始時期は血液量、Na 濃度ともに約80%回復した時点で認められ、残り20%を飲水と腎機能の動きによりさらに2時間かけて回復

した。脱水回復過程では、飲水行動によってまず血中 Na 濃度の調節が血液量の調節に先行し、次いで血液量回復のためには、cation のバランスが重要な働きをしていることが示唆された。

7. 収縮期圧容積面積 (PVA) と張力表面積面積 (TAA) の等価性について

安村良男, 能沢 孝, 二木志保, 菅 弘之 (国立循環器病センター研究所, 循環動態機能部)

収縮性が一定のもとでは、左心室の収縮期圧容積面積 (PVA) は収縮様式および負荷条件によらず、一拍酸素消費量と直線相関する。さらに、可変弾性体モデルにおいて、PVA はエネルギーの単位を持つ物理量であることから、PVA は心室のエンジェティクスのみならずクロスブリッジレベルのエンジェティクスを理論的に解析しうる可能性を示唆する。その一歩として、PVA を圧容積座標から、より直接的にクロスブリッジの挙動を反映すると考えられる張力表面積座標への変換を試みた。変換には、薄膜球モデルを用いた。その結果、収縮末期張力表面積曲線、表面積軸および張力表面積軌跡で囲まれる面積 (TAA) は、PVA と面積のおよびエネルギー的に等価であることがわかった。この等価性には、収縮末期圧容積関係の直線性を必要としなかった。さらに、可変弾性体モデルを適用すると、収縮中の任意の時間 (t) における化学エネルギーより変換された機械的エネルギー ($G(t) = \text{ポテンシャルエネルギー} + \text{仕事}$) は t における張力表面積曲線、表面積軸および張力表面積軌跡で囲まれる面積 (TAA(t)) に等しいことがわかった。

8. 生体内における収縮期圧容積面積と酸素消費量の関係——大動脈一心拍閉塞法による検討

能沢 孝, 安村良男, 二木志保, 菅 弘之 (国立循環器病センター研究所, 循環動態機能部)

イヌ摘出交叉灌流心臓標本において、心臓の収縮性が一定であれば、エネルギー単位を持つ収縮期圧容積面積 (PVA) が左心室の一拍酸素消費量 (VO_2) と良く直線相関する。しかし、生体内の PVA と VO_2 についてまだ十分検討されていない。最近、当研究室では、大動脈一心拍閉塞法により生体内で収縮性をかえず、また左心室容積を知ることなしに、心臓の収縮性の指標である E_{max} を得る方法を考案した (Am. J. Physiol., 250 : H685, 1986)。

今回、この方法を用いて収縮性が一定のもとで生体

内の PVA と VO_2 の関係を検討した。右心バイパス術を施行し、大動脈起始部に電磁流量計を装着した。大動脈閉塞は、流量計プローブと腕頭動脈の間で、拡張期に行い、心尖部より Millar catheter を挿入して左心室圧を測定した。酸素消費量は、右心室からドレーナジされる冠血流を電磁流量計にて測定し、これに動脈静脈酸素較差を乗じて求めた。心拍出量を生理的範囲内で変動させて得られる E_{max} は一定であり、それぞれの心拍出量で得られる定常収縮の PVA と VO_2 は良好な正の直線関係を示した。この結果から、PVA は生体内においても、酸素消費量をよく反映することが明らかになった。

9. 心筋張力の時間積分は酸素消費量に比例するか?

菅 弘之, 後藤葉一, 安村良男, 能沢 孝, 二木志保 (国立循環器病センター研究所, 循環動態機能部)

われわれは、収縮性が一定のもとで、異なる負荷に対して収縮、拍出する左心室の一拍酸素消費量 (VO_2) は、収縮期圧容積面積 (PVA) と良く直線相関することを報告してきたが、一方 Weber & Janick(1970)は、 VO_2 が収縮期心筋張力の時間積分 (FTI) に比例すると報告している。PVA はエネルギー単位を持つが、FTI は力×時間の単位を持つ。はたして、PVA と FTI とがどのような関係にあるかをシミュレーションで調べたところ、PVA を一定に保つておいても、FTI は等容性収縮に比べて拍出収縮のほうが小さく、その差は駆出率に比例して増した。そこで、実際にイヌ摘出交叉灌流心臓標本の左心室をサーボポンプに接続して、その圧、容積を自由に制御、かつ精度よく計測しながら、等容性収縮の PVA と同じ値の PVA を拍出収縮においても保ちながら、FTI を求めてみると、シミュレーションの結果と同様に、駆出率に逆比例して FTI が減少した。同時に、この左心室の VO_2 を求めてみると、PVA を一定に保つ限り、等容性収縮、拍出収縮にかかわらず、 VO_2 は一定であったが、FTI は著しく変化した。この結果から、心筋張力の時間積分は、酸素消費量とは必ずしも比例しないことが明らかになった。

10. 耐低酸素性電位に対する解糖機能亢進剤の効果 藤井崇知 (京都市立看護短大)

モルモット嗅脳切片を、酸素ガスに代わって窒素ガス状態で培養すると、嗅脳切片誘発電位の振幅は減

少し、数分後に消失する。酸素ガスによって電位を回復させて後、再び窒素ガスを送る。この操作を数回繰り返すと、電位の振幅は次第に減少しにくくなる(耐低酸素性機能の形成)。この現象を説明するエネルギー供給系として、解糖系機能の亢進が考えられる。そこで [^{14}C] Deoxy-glucose を使ってブドウ糖の取り込み量を調べてみると、1回目より4回目の低酸素状態下のほうが、ブドウ糖の取り込み量が多くなる傾向を示した。次に、あるモデルを考えた。それは、アデニレート・サイクレスの活性化によって、cAMP 量を増加させるアドレナリンおよびノルアドレナリンの解糖機能亢進剤を投与すると、解糖系の機能はより亢進して、エネルギー産生量が増し、電位の振幅は増大するのではなからうか、と考えた。結果は、アドレナリン投与によって、1回目より4回目の低酸素状態で電位の増大現象が認められた。ノルアドレナリンの場合も同様な傾向を示した。これらのことは、嗅脳切片では、数回の低酸素状態を繰り返すと、解糖系の機能がより亢進し、そのことがエネルギー産生量の増大をもたらし、その結果耐低酸素性電位が形成される、と思われる。

11. 骨格筋 plasma membrane における insulin-stimulated Na, K-ATPase に対する界面活性剤の影響

神戸万里子, 北里 宏 (滋賀医大, 第二生理)

カエル骨格筋より plasma membrane を精製する方法を改良した。骨格筋を細かく切断した後、300mM KCl 溶液 (pH 7.4) 中でホモジナイズし、遠心分離した。この沈殿物を 200 mM sucrose 溶液 (contg, 2 mM EDTA, pH 7.4) 中でホモジナイズと遠心を繰り返して洗浄し、microsome 分画を調製した後、不連続蔗糖密度勾配遠心によって purified plasma membrane を得た。筋肉に insulin を与えてから、上記の方法で調製した plasma membrane の Na, K-ATPase 活性は control に比べて増大した。これは、より mild な条件、すなわち、sucrose 溶液のみを用いた場合と同様であった。この plasma membrane を種々の界面活性剤を用いて leaky にしたところ、control および insulin-stimulated Na, K-ATPase ともに活性が saponin によって約 2 倍、Lubrol-PX によって約 1.5 倍上昇した。また、SDS は低濃度でも Na, K-ATPase を失活させた。saponin と Lubrol-PX の効果から、insulin によって plasma membrane Na, K-ATPase の active

pumping units が増加するために、Na/K 輸送が促進されると考えられた。

12. X線マイクロアナリシスによる心筋細胞内元素分布

中垣育子, 小池 龍, 志熊 隼, 佐々木貞雄 (大阪医大, 生理, 胸部外科*)

心筋細胞の細胞膜には、 K^+ チャンネルとともにカルシウム拮抗剤によって阻害される Ca^{2+} チャンネルが存在し、この Ca^{2+} チャンネルから流入する Ca^{2+} が心筋の機能の調節に重要な役割を担っていると考えられている。また、心筋細胞においても、平滑筋と同様に、細胞膜のフォスファティデル、イノシトール代謝産物が筋小胞体よりの Ca^{2+} の遊離を調節しており、カルシウム拮抗剤はこの細胞質への Ca^{2+} の遊離を促進する可能性も指摘されている。ヒト人為的心筋虚血後の再灌流時、 Ca^{2+} の細胞内への異常流入が生じ、心筋傷害の主要を演ずるといわれている。ヒト心筋における虚血時およびカルシウム拮抗剤投与時のイオン動態を、開心術中の虚血前、虚血心停止中、再灌流時の3時点で心房筋小片を採取し、X線マイクロアナライザー法によって検討した。虚血前の心筋正常状態では、diltiazem 投与時細胞内 Ca 濃度はやや上昇しており、虚血心停止時および再灌流時はほぼ元に復した。しかし、拮抗剤無投与時には、再灌流時の細胞内 Ca 濃度は異常に上昇し、細胞内 K 濃度は下降、Na 濃度は上昇した。

13. 蛙皮のウアバイン効果

田中晴夫, 吉田秀世, 宮本 学, 中張隆司, 今井雄介 (大阪医大, 第一生理)

Na 能動輸送の示標となるといわれている蛙皮短絡電流は、amiloride で急速に消失する。一方、Na-K pump の阻害剤である Ouabain の作用は、非常に緩徐である。これは蛙皮が Ouabain に対して耐性を持ったためか、pump 以外のなんらかの機構が短絡電流を維持するためかは明らかではない。今回、経上皮電位-電流関係および細胞内電位の測定から、Ouabain 効果を検討した。amiloride では作用後、直ちに経上皮電位、短絡電流が減少し、かつ経皮コンダクタンスが減少した。また、表皮側に対極をおいた細胞内電位は、負電位で amiloride で過分極を示した。一方、Ouabain では緩徐に作用し、経上皮電位、短絡電流ともにその消失まで約 1 時間を要する。経皮コンダクタンスは、一過性に上昇する。細胞内電位は脱分極する。この脱分

極は、表皮側を正電位に保持しておく、さらに著明となる。蛙皮の Na-K pump を止め、かつ細胞内イオン濃度を保つため、Ouabain 高K低Na リンガー液で1時間作用させた蛙皮を用意した。Ussing chamber の両側を正常リンガーに戻すと、20~30 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ におよぶ短絡電流がみられた。この電流は、表皮側からの細胞内 Na 流入と基底側からの K 流出による受動的拡散過程による。以上、非正常で非対称イオン拡散系での短絡電流には、受動輸送部分が存在する。

14. インピーダンス法から見た唾液腺細胞外液の経時的変化

宮本信一, 中張隆司, 吉田秀世, 今井雄介 (大阪医大, 第一生理)

唾液の分泌は初期相, 定常相の二つからなり, 大量の水輸送が存在する。その際には, 細胞外液の大きな変動が認められる。細胞外液の経時的モニターにインピーダンス法が有用である。今回 5 kHz, 500 kHz, 5 MHz における腺の導電率 (κ), 誘電率 (ϵ) を測定し, 花井の濃厚細胞浮遊液の式 $\kappa/\kappa_m = (1 - \phi)^{3/2}$ を用いて細胞外液量を求めた。また, 唾液分泌量, 腺血流量および血圧も測定した。

インピーダンス法により測定された ECF は, 刺激によって減少し, その後刺激前のレベルより増加した。腺血流量は, 刺激中数倍に増加し, 刺激後も 3~4 倍に増加した状態が続く。これは, ECF の増加の時期と一致していた。血圧は腺血流量に大きく影響し, 正常血圧下で観察された刺激後の高い腺血流量は, 血圧の低下により消失し, 刺激前のレベルに戻った。また, 唾液分泌の定常相は, 血流に依存した分泌相であることも明らかになった。

15. サシガメ・マルピギー管の K^+ 輸送機序

藤本 守, 松村 裕, 佐々木貞雄, 中垣育子, Guillermo, Whittembury (大阪医大, 生理学)

南米産昆虫 *Rhodnius prolixus* (サンガメ) では, 一對のマルピギー管が中腸と後腸の境界部に開口する。その盲管状排泄管の近位部は, 特にイオン分泌を起こすことが知られている。今回われわれは, 二連続小 K 選択性電極を用いて, その細胞内 K^+ 活量 (K)_i, 膜電位ならびに分泌刺激物質であるセロトニンの効果を検討した。

分離マルピギー管を浴液 ($\text{K} 10, \text{Na} 145, \text{Ca} 2, \text{Mg} 5, \text{ブドウ糖} + \text{アミノ酸} 35\text{mM}$) に浸しながら, 微小穿刺

を行った。安静時細胞膜電位は, 約 -50mV , (K)_i は約 85 mM, K^+ 平衡電位は約 -56mV であった ($n=5$)。したがって, 細胞膜電位は K^+ 拡散電位よりも数 mV 低いことになる。浴液に 10^{-4} ~ 10^{-5}M セロトニン (5-HT) を滴下すると, 膜電位は 1 分後に -53mV , 6 分後に -56mV と過分極した。その間 (K)_i は 1 分後に 55 mM まで低下し, 6 分後に約 52 mM まで下がる。以後回復し, 10~12 分後には 67 mM に戻った。約 20 分後の X 線プローブによる分析結果では, 細胞質が対照時 77 mM/kg 湿重が, 20 分後に 127 mM/kg 程度に上昇することを見ている。

(結論) 1) 5-HT の分泌刺激は, 膜の K 透過性を亢進させて過分極を起こし, 2) 分泌開始後は, 細胞の形態変化とともにイオン分布の変化 (二相性の (K)_i の変化) を伴う。

16. 螢光色素 Lucifer Yellow による近位尿管 Cell-to-Cell communication の検討

松村 裕, 藤本 守, 萩原暢子, 森本義康, 井上 豪 (大阪医科大, 第二生理)

腎近位尿管の Cell-to-Cell communication (おそらく gap junction) の開閉について, 螢光色素 Lucifer Yellow CH を用いて経時的に追究した。

螢光は, 落射螢光顕微鏡 (X200) で観察し (主に自家螢光を少なくするために, Excitation Filter として 395~415 nm, Emission Filter として 435 nm を使用), 写真撮影した。食用カエル腎近位尿管を顕微鏡のステージ上に移し, 長焦点レンズを用いて直視下で螢光色素のイオントフォレシスを行った。5% Lucifer Yellow を充てんした抵抗 30~100 M Ω の微小電極 (あらかじめ研磨した) を用い, 60 nA の過分極性の電流を 3 分間通電した。

1) コントロールで 2 分間の拡散時間をおいた写真を画像解析し, 螢光表面積として $6.80 \pm 5.20 \text{ SE} \times 10^3 \mu\text{m}^2$ ($n=5$) (尿管細胞を $25 \times 25 \mu\text{m}^2$ とすると, この値は 10.7 個に当たる) を得た。2) 呼吸性アシドーシス (1.5% $\text{CO}_2 \rightarrow 5\% \text{CO}_2$) では, 螢光表面積は $4.78 \pm 3.80 \times 10^3 \mu\text{m}^2$ ($n=5$) (7.5 個の細胞) に有意に減少した ($p < 0.02$)。またさらに, 2 分間の色素再注入の後, コントロールに戻すと, この色素は再び拡大した。3) 代謝性アシドーシス時 (15 mM \rightarrow 2 mM HCO_3^-) にも色素の広がりには制限され, 可逆性も認められた。

17. 食用カエル腎における循環系構築と組織の形態

小池 透, 藤本 守, 山口 淳, 松村 裕, 小寺邦彦 (大阪医大, 第二生理)

カエル腎の循環系は, 腎動脈, 腎静脈, 腎門脈の三系統からなる。その詳細な血管の走行や微小循環の動態については, まだ不明の点が多い。われわれは今回, カエル腎循環の構築を形態計測法で分析した。

(方法) 食用ガエルをウレタン麻酔し, その腎に入りする血管系を PVP 加リンゲル液, 墨汁加リンゲル液, シリコン樹脂などを注入し, その後腎組織を固定した。形態計測は, 10 μ と 5 μ のおのおの 100 枚の連続切片または, シリコン鋳型標本にて行った。

(成績と結論) 1) 近位尿細管には, 二種の異なった細胞が存在する。暗細胞(小)は 24 \times 12 μ , 暗細胞(大)は 32 \times 12 μ , 分布比率は, 1:0.7 であった。また, 遠位尿細管細胞は 18 \times 14 μ であった。2) 尿細管周囲毛細管血管は扁平管で, 表層と深層の毛細管では, その構造が異なる。表層:長径 83 μ , 短径 4 μ および深層:長径 32 μ , 短径 6 μ 。3) 尿細管周囲の活動毛細管の走行を立体構築すると, ネフロン全長にわたって追跡できる血管連絡がある。4) 尿細管周囲の循環は, その大部分が腎門脈系より供給される。5) 腎糸球体のサイズは, 直径約 100 μ で, その輸入・輸出血管は, 20 μ 前後であった。

18. 免疫センサーによる尿中アルブミンの測定

堀口和男, 郭 茂樹, 中西節子, 西村将司*, 河野猛**, 臼井誠次** (進工業(株), シオノギ製薬(株)*, (株)堀場製作所**)

アイソトープを用いない免疫センサー (電流測定) による尿中アルブミンの酵素免疫測定法を開発した。プラズマ処理により直径 6 mm の円形に親水化した多孔性ポリピレン膜 (厚さ 25 μ m) に, 抗ヒト血清アルブミン抗体を固定し, 正常血清とウシ血清アルブミンでブロックした後, 検体尿とグルコースオキシダーゼ標識アルブミンとの混合液 50 μ l を滴下する。25 $^{\circ}$ C で 1 時間のインキュベーション後, 洗浄することで競合反応を停止する。膜をディスク型の白金-銀二極ポラロ型過酸化水素電極に装着し, PBS 中に挿入して, 基質液 (グルコース) を投入後, 30 秒後の出力電流を測定する。標準アルブミンの検量線より検体尿中のアルブミン値を求める。

この免疫センサーは, アルブミンに対して特異的であり, 尿を濃縮することなく 1~100mg/l の範囲のア

ルブミンを測定することができる。糖尿病性腎症初期に尿中アルブミンが微量に増加することが近年明らかになっており, この測定法が病気の予知診断に役立つことが期待される。

19. Ca²⁺-EGTA 緩衝溶液作製の問題点と計算用プログラム

老木成稔, 岡田泰伸 (京大, 医, 生理)

EGTA バッファを使って遊離 Ca²⁺ 濃度をコントロールするための計算には, いくつかの問題点が含まれている。その諸点について, Ca²⁺ 選択性微小電極を使った実測値との比較において検討した。

(1) 市販の EGTA 標品は, 純度 100% のものではなく, 96~98% のものが多い。今回, イオン電極の特性を考慮して新しいプロットを用いることにより, 簡単に純度を求めることができた。半井製の EGTA は 97.2% であった。

(2) Mg²⁺ や ATP が存在する生理的溶液のような混合溶液系での計算を行うには, 絶対結合定数を使うことが望ましい。0.1M のイオン強度において, もっとも fit する結合定数は Schwarzenbach のものであった。

(3) 絶対結合定数使用に際する注意として, 活量係数の問題を検討した。

以上の諸点を考慮して任意の遊離 Ca²⁺ 濃度の溶液作製のためのプログラムを報告した。

これによって作製した溶液で Ca²⁺ 電極の校正を行うと, pCa 7.5 付近まで linear な応答を示した。Ca²⁺ 電極がある領域で super-Nernst や sub-Nernst な応答を示したという以前の報告は, EGTA 溶液の問題であることを証明した。

20. 電気融合における細胞内 Ca 結合蛋白の役割と大容量融合装置の開発

岡田泰伸*, 少作隆子*, 稲葉浩子** (京大, 医*, 生理**, 放医研)

誘電泳動下で接着させた細胞に高電圧パルスを与えると, 高頻度に細胞融合が発生する。この電気融合は, 10⁻⁵M 以上の Ca イオンの存在により促進される。A 23187 によって融合促進が見られること, 2 価陽イオン選択性が認められることは, 細胞内 Ca²⁺ 結合蛋白の関与を推定させる。そこで, この可能性をリンパ腫細胞と各種インヒビターを用いて検討した。その結果, 細胞骨格系 (マイクロフィラメント, マイクロテュブ

ル) や、内在性 Ca^{2+} 依存性プロテアーゼ (カルパイン) の関与を示す証拠は得られなかった。しかし、CPZ や TFP が電気融合を抑制するところから、カルモデュリンの関与は示唆された。

電気融合法を細胞工学的目的などに応用するためには、多数個の細胞を同時に高収率に融合させうるシステムが必要である。そこで、パルストランス方式を採用して、高出力電圧、低出力インピーダンスのパルス発生装置を2種 (10kV, 200 Ω と3kV, 50 Ω) 開発した。本装置を用いることにより、電極間距離の広い融合用セル内で大量の融合細胞を得ることに成功した。

21. 蛋白分解酵素標品による細胞間接着の促進とそのメカニズム

山本 隆, 少作隆子, 岡田泰伸 (京大, 医, 生理)

Protease Type III (Sigma) 標品は、0.1~1mg/ml オーダーの濃度で、数10mM 以下の低イオン強度の等張液に浮遊させは T リンパ腫 L5178Y 細胞どうしを接着させる。本接着能は、細胞種を問わず、B リンパ腫、骨髄腫細胞、線維芽細胞、上皮細胞系のいずれに対しても有効であった。その接着頻度は、細胞密度の対数に、そして酵素濃度の自乗に比例して上昇した。熱処理不活化した酵素標品は無効であり、蛋白分解酵素阻害剤 PMSF により抑制を受けるので、本酵素標品の蛋白分解活性が接着能に不可欠であるものと結論された。しかし、他の蛋白分解酵素標品 (Trypsin, Dispase, Protease I など) ではまったく接着能が認められず、また本 Protease III 標品で前処理した細胞も本酵素をとり除けば、まったく接着性を示さないもので、本酵素標品にはなんらかの接着因子が含まれているものと推定された。本接着能は、高 pH によって抑制され、アミノ基修飾剤 SITS によって抑制されるので、細胞表面または酵素成分の陽性荷電アミノ基が接着サイトに重要な関与をしていることが示唆された。

22. 淡蒼球入力を受けるサル視床ニューロンの大脳皮質への投射について

南部 篤, 吉田伸一, 陣内皓之祐* (京大, 医, 脳生理・滋賀医大, 第一生理*)

慢性的に小脳核、淡蒼球内節、大脳皮質運動野、運動前野、前頭前野に刺激電極を設置した日本ザルの視床より、67個の単一ニューロン活動を記録し、その入出力を同定した。1. 視床-皮質ニューロンへの小脳核からの入力は興奮性 (平均潜時 2.3 ms) であるのに

対し、淡蒼球内節からの入力はすべて抑制性で、潜時は大部分が、2.5 ms 以内であった。2. 34個が淡蒼球内節より入力を受け、そのうち17個が運動野に (皮質からの逆行性潜時の平均: 2.0 ms), 15個が運動前野に (同 3.2 ms), 2個が前頭前野に投射した。3. 30個が小脳核より入力を受け、29個が運動野に (同 1.1 ms), 1個が運動前野に投射した。4. 3個が淡蒼球内節、小脳核の両者より、それぞれ抑制性と興奮性入力を受け、運動野に投射した。

以上より、1. 淡蒼球内節から抑制性入力を受ける視床ニューロンは、大脳皮質運動前野、前頭前野ばかりでなく運動野にも投射する。2. 視床-皮質投射ニューロンの中で、小脳核、淡蒼球内節の両者より入力を受けるものは少数である。3. 淡蒼球内節入力を受ける視床ニューロンは、小脳核入力を受けるものより、皮質からの逆行性潜時が長いことが明らかになった。

23. ネコの前頭眼野-小脳皮質投射について

久宝真一, 川口三郎 (京大, 医, 脳生理)

ネコの前頭眼野である前シルビウス溝底部の皮質 (以下 PRS と略す) は、小脳内側核からの投射を受ける (既報告)。本研究では、PRS からの大脳-小脳皮質投射の有無について電気生理学的、形態学的に検索した。ペントバルビタール麻酔下のネコで、PRS の電気刺激により、小脳皮質で苔状および登上線維応答が誘発された。苔状線維応答は、主に虫部 V-VII 小葉、単小葉、係蹄小葉第 I 脚に、登上線維応答は、主に虫部 V-VII 小葉、傍正中小葉に認められた。PRS から小脳皮質への投射の中継部位を HRP 法で検索した。PRS と単小葉に HRP を注入すると、PRS 由来の順行性標識終末の分布と単小葉への注入による逆行性標識細胞の分布が橋核のもっとも尾側の部分と橋被蓋網様核において重なることが確認された。また、橋核のもっとも尾側の部分に HRP を限局注入すると、PRS の V 層の細胞が逆行性に標識され、虫部 VI 小葉、単小葉、係蹄小葉第 I 脚を中心とした領域に順行性に標識された苔状線維終末を認めた。これらの所見から、PRS から小脳皮質へ苔状および登上線維を介する投射が存在し、そのうち苔状線維投射は主に橋核のもっとも尾側の部分と橋被蓋網様核で中継されることが判明した。

24. ネコの変性副神経脊髄核運動ニューロンの電気生理学的特性について

西村嘉洋, 浅原俊弘, 樋口和郎*, 田中 任 (三重

大, 医, 第二生理・国立療養所鈴鹿病院*)

ネコの副神経を結紮切断し, 21日から117日経過した後, 再びネンプタール麻酔(35 mg/kg/, i.p.)し, 第2頸髄付近の副神経脊髄核(Acc)運動ニューロンより細胞内電位を記録し, 変性 Acc ニューロンの膜の電気的特性を分析した. 変性 Acc ニューロンの逆行性活動電位の潜時の平均値は, 0.8 ± 0.2 ms ($N=71$, $0.4 \sim 1.5$ ms) で正常ニューロン (0.7 ± 0.2 ms, $N=61$) の場合より有意に延長していた ($p < 0.05$). 変性 Acc ニューロンの軸索伝導速度 (67.6 ± 22.3 m/s, $N=71$) は正常ニューロン (88.1 ± 23.6 m/s, $N=61$) と比較して減少した ($p < 0.05$). 33個の変性 Acc ニューロンの基電流量の平均値 2.4 ± 1.6 nA ($0.3 \sim 7.6$ nA) は, 正常ニューロンの平均値 7.3 ± 3.6 nA ($N=43$, $1.4 \sim 16$ nA) と比べて有意に低下し ($p < 0.01$), 変性 Acc ニューロンの膜の興奮性の上昇が認められた. Spike height 法により測定された13個の変性 Acc ニューロンの入力抵抗値の平均は 1.8 ± 0.8 M Ω であり, 7個の正常ニューロンの平均値 1.2 ± 0.3 M Ω より増大していた. 変性 Acc ニューロンの活動電位の開始から後, 過分極電位の頂点までの平均時間は 14.0 ± 3.3 ms ($N=8$) であり, 正常ニューロンの場合と比べて短縮する傾向が見られた.

25. ラット視床網様核および腹側基底核ニューロンの群発放電-細胞内記録での比較

住友一丈*, 高橋弥穂, 香山雪彦, 小川哲朗 (大阪経済大, 生物科学*・秋田大, 医, 第一生理)

ウレタン麻酔したラットを使用し, 体性感覚入力を受ける視床網様核(S-TR)および腹側基底核(VB)ニューロンの細胞内記録を試み, 両者の群発放電発現機構を比較した. 4~6発のスパイクで構成されるS-TRニューロンの群発放電は, 常に持続40~60 msのPhasic Depolarization (PD) 上に重なって記録された. PDは自発性にまたは通電により静止膜電位が過分極側に移行したときのみ反復出現した. ほとんどの場合, 単発あるいは同期した複数のEPSPがPDの引き金となっていた. IPSPのような一過性分極電位の関与は認められなかった. S-TRニューロンの群発放電発火には, 興奮性入力が必要な役割を果たしていることが示唆された. VBニューロンの群発放電も常に膜電位に依存して出現するPD上に重なって観察された. 普通, 2~3発のスパイクよりなるが, 条件によっては5~6発のスパイク発火を示すことがあった. EPSP

によってPDが誘発されることもあったが, 先行するIPSPあるいは過分極通電からのほねかえり興奮によるものが主であった. VBニューロンの群発放電発火には, 興奮性入力は必ずしも必要でない.

26. 移植外側膝状体細胞と宿主大脳皮質視覚野間のシナプス結合——電気生理学的, 形態学的研究——

濱崎公順*, 平川公義*, 中嶋章作**, 小松由紀夫, 山本亘彦, 外山敬介 (京都府立医科大, 脳神経外科*, 第二生理, 精神神経科**)

脳組織移植は標的細胞の認識, synapse 形成などの問題解明に有効な手法である. われわれは視覚中枢において, これらの問題を解明するためにWistar系ラットを用い, 胎仔の外側膝状体(LGN)を新生仔視覚野へ移植し, transplant-host cortex間の神経結合を調べた. 胎齢14~17日胎仔のLGNを含む間脳組織を実体顕微鏡下に切り出し, マイクロピペットを用いて新生仔視覚野へ移植した. 移植後1~4カ月でtransplant host cortexを含む脳切片標本を切り出し, 電気生理学的実験を行った. また, これと同時に, HRPの細胞内注入も行い, transplantおよびhost cortexの神経細胞の形態を調べた. 一部では, True Blueで移植片をラベルしておき, 蛍光顕微鏡により, その生着を確認した. transplantを刺激して行ったCD analysisでは, 視覚野IV層に短潜時EPSP電流を認めた. また, LGN transplantおよびhost cortexで細胞内記録を行い, 逆行性および順行性の細胞反応を得た. これらの実験結果は, LGN transplant-host visual cortex間に正常と同様のpatternの神経結合が形成されていることを示唆している.

27. ネコ大脳皮質視覚野における興奮性アミノ酸

萩原幸一郎, 津本忠治, 佐藤宏道, 畠 義郎 (大阪大, 医, 高次研生理)

ネコ大脳皮質視覚野ニューロンにグルタミン酸(Glu)/アスパラギン酸(Asp)の拮抗薬キヌレン酸を電気泳動的に投与すると, 光反応の抑制または消失が起こる¹⁾. この効果は, 外側膝状体(LGN)から直接入力を受ける4, 6層の細胞で顕著であることから, LGNよりの求心性シナプスで, Glu/Aspが伝達物質として働いている可能性が考えられる. そこで今回, LGNおよび視交叉電気刺激に対する視覚野ニューロンの反応がキヌレン酸および別のタイプのGlu/Asp拮抗薬である2-amino-5-phosphonovaleric acid

(APV)の投与によりどのように変わるかを調べた。その結果、キヌレン酸は LGN 刺激に対するスパイク応答を減少させ、その効果は LGN から単シナプス性に誘発されるスパイクに対して顕著であった。また、視交叉刺激に対するスパイク応答も抑制した。一方、APV の効果は、無効か有効であっても、キヌレン酸ほど強くなかった。この結果、膝状体線維-皮質細胞間シナプスでは Glu/Asp が伝達物質であることが示唆された。また、APV は N-methyl-D-aspartate (NMDA) 型レセプターに 特異的な拮抗薬であることから、当シナプスでは非 NMDA 型レセプターの関与が示唆された。

文 献

- 1) Tsumoto, T., Masui, H., Sato, H. (1986) J. Neurophysiol. 55 : 469-483

28. ラット後視床下部ニューロンの温度感受性について

沈 再文, 梁瀬素子, 石川洋蔵, 中山昭雄 (大阪大, 医, 第二生理)

無麻酔, 無拘束ラットの後視床下部 (PH) を加温すると, grooming が発現する。ラットの PH に温度感受性ニューロンが存在するか否か明らかではない。そこで, PH 局所の温度刺激に対する PH ニューロンの反応を検討した。また, 陰囊温度刺激と, 痛覚と触覚刺激に対する反応も観察した。視床前野の温度変化の影響を少なくするために, 熱極の先端部位を Bregma から後方 5.6 mm, 右側方 1.7 mm, 深さ 9 mm に配置した。温度測定用の熱電対は, 熱極先端部位を中心に記録部位と対称位置に挿入した。ガラス微小電極を用いて, Bregma から 3~5 mm 後方, 左側方 0~2 mm の PH で単一放電を記録した。196個のニューロンのうち, 温ニューロンは28個 (14%), 冷ニューロンは20個 (10%), 非温度感受性ニューロンは 148 個 (76%) であった。83個の PH ニューロン中, 7 個に陰囊刺激に対する促進反応が見られた。温ニューロンの温度特性を調べてみると, 特徴的な所見として, PH 局所温度が高温域に達すると, 放電頻度が増加するタイプが 28個のニューロンのうち13個存在した。今回の結果は, 体温調節性の grooming, すなわち唾液塗布行動の発現に PH の温ニューロンが関与している可能性を示唆する。

29. ラット脳内自己刺激レバー押し行動時の体温調節反応に及ぼす刺激電流強度の影響

田中英登, 石川洋蔵, 中山昭雄 (阪大, 医, 第二生理)

環境温22℃におかれたラットが100 g の負荷をかけたレバーを1時間押し続けると, 深部温 (T_{core}) は上昇し, あるレベルに達すると, 尾血管が拡張する。 T_{core} はそのレベルに維持され, レバー押しは続けられる。脳内自己刺激電流強度によって尾血管拡張 T_{core} 閾値は変わり, 電流強度が強いときには, レバー押し回数は増加し, 尾血管はより高い T_{core} で拡張する。その結果, T_{core} は高いレベルに維持されることは, すでに本大会(1984)で報告した。今回は尾血管拡張後, T_{core} が定常状態になった時点で (通例開始後30分), 10分間電流強度を変え, さらに再び元の電流強度に戻したときの尾皮膚温 (T_{tail}), T_{core} および行動の変化を調べ, 刺激電流強度の違いによる T_{core} 維持レベルの違いについて検討した。刺激電流強度を上げた場合, 常に T_{tail} は下降し, T_{core} は上昇した。一方, 電流強度を下げた場合, レバー押しは中断され, Grooming あるいは Body Extension などのラットの熱放散行動が発現し, その過程で T_{core} は下降した。 T_{core} があるレベルまで下降すると, ラットは再びレバー押しを始めた。その間, T_{tail} は上昇したままであった。刺激電流強度の変化に伴う T_{core} の維持レベルの差は, レバー押し行動と熱放散行動との競合レベルが変化したためと思われる。

30. ヒトの温度覚と体表面温度に及ぼす日内変動の影響

堀川隆志, 山田富美雄, 錦織綾彦, 樫葉 均, 上田至宏 (関西鍼灸短大, 生理学)

人の温度覚閾値と体表面温度の日内変動を検討した。被験者は男子大学生10名であった。温度覚の測定には, 北辰製電子温度覚計を用いた。体表面温度は, 三栄製医用サーモグラフィ 6 T66によって立位で測定した。実験は, 恒温恒湿室内で2人1組で行い, 被験者の入室後, 舌下温, 状態不安, 眠気尺度, 温度覚を順次計測し, 20分経過後, 皮膚温を計測した。測定は1日6回とし, 入室時刻は9時, 10時45分, 12時30分, 14時45分, 16時30分, 18時と定めた。測定部位は前正中線部, 後正中線部および左右示指先端部などで計16点とした。①冷覚弁別閾値は平均1.4℃で, 日内変動の効果は有意であった。温覚弁別閾値は, 平均1.9℃で,

冷覚弁別閾値と同様の傾向を示した。②14の部位で平均皮膚温の有意な日内変動の効果が認められた。10時以降温度が上昇し、12~14時をピークにその後低下した部位もあれば、ほぼ一定値を示し続けた部位もあった。③平均体温(舌下温)には、日内変動の効果が認められなかったが、被験者を朝型群と夜型群に2分し、両群に平均体温を求めたところ、朝型群の体温は午前中に高く、夜型群では午後になる傾向を示した。④状態不安は実験の進行に伴って低下した。

31. 覚醒反応刺激閾値に及ぼす大後頭神経・頸部交感神経幹刺激の影響

斎藤貴徳, 内藤博江, 安原基弘(関西医大, 第二生理)

頭頸部症候群の成因に関しては、まだ不明な点が多い。本研究においては、その発現と密接な関係が考えられているところの大後頭神経および頸部交感神経幹に電気刺激を考え、それによる脳幹網様体の興奮性の変化について検討した。

無麻酔のウサギを脳定位固定装置に固定して実験を行った。中脳網様体100 Hz 刺激による覚醒反応および前・後肢誘発筋放電の刺激閾値は、大後頭神経および頸部交感神経幹に3 Hz, あるいは100 Hz の電気刺激を与えることにより、いずれも上昇することが認められた。この刺激閾値の上昇は、一般に筋放電よりも脳波のほうが、3 Hz よりも100 Hz のほうが、またおのおの神経単独刺激の場合よりも両神経同時刺激の場合のほうが著明となる傾向が認められた。また、これら刺激閾値の変化におよぼす薬物の影響を、Pentazocine および Diazepam の投与により調べたところ、これら神経刺激による刺激閾値の上昇に対しては Pentazocine よりも Diazepam のほうがより強い抑制効果を示した。

32. 完全生菜食1年間実施の経験

山口雄三, 松浦義昌, 清水教永, 甲田光雄(大阪府大, 総合科学)

民間療法に低カロリー生菜食療法がある。著者らは、この食事療法を1年間実施した際の基礎代謝などを測定する機会を得た。被験者は、この食事療法に強い関心を持つ男子2名, 女子6名(28歳~66歳)で、健康人6名, 慢性関節リウマチ, 進行性筋ジストロフ

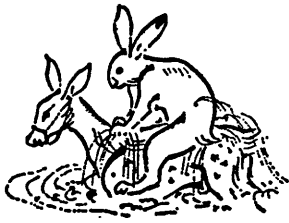
ィー各1名を含む。

食事は完全生菜食で、1日量蛋白質26 g, 脂質6 g, 糖質182 g を含み、エネルギー量は875 kcal と見積られた。これに食塩8 g が加えられた。期間は昭和60年5月から1年間で、測定は約1カ年間隔で期間前後を含めて11回行った。体重ははじめ平均50 kg であったものが、療法開始後2.5~7カ月で44~41 kg まで減少したが、その後42~43 kg に増加した。心拍率ははじめ平均66であったが、2カ月半で56となり、1例では45まで落ちた。これはその後漸増傾向を示し58~59となった。基礎代謝率は2カ月半~7カ月で-25%前後を示し、-50%~-60%以下になるものもあった。これはその後回復し、-15%以内に維持された。これらの期間を通じて被験者は日常生活に差し支えがなく、一般に爽快感が強かったという。

33. 運動知覚(奥行き方向)に関する事象関連電位

投石保広, 志村 剛, 下河内稔, 堀尾 強*(大阪大, 人間科学部, 行動生理学・甲子園大, 栄養学部*)

種々の動物実験によって、奥行き方向の図形変化に対応して活動する神経細胞が大脳皮質に存在することが明らかにされている。しかし人間の場合には、両眼視差のない平面的な図形の大きさの変化であっても、相似的变化であれば、接近または離反の奥行き方向の運動知覚が生じることが知られている。そのような運動知覚に関連すると考えられる事象関連電位(ERP)を頭皮上から記録できたので報告する。被験者に大きさの変化(拡大または縮小)する3種類の円形図形を見せ、ERPを測定した。すなわち、被験者に運動知覚を生じさせる条件として、立体感を持った球が変化するB条件、および平板な円の中に描かれている格子が相似的に変化するS条件の2条件を設定した。さらに、運動知覚を生じさせない条件として、S条件とよく似た変化ではあるが、その中の格子の大きさが変化しない固定条件(F)を設定した。上記の3条件下で測定したERPを比較した結果、F条件には出現しないがB条件とS条件に出現し、しかも接近と離反の両方にはほぼ同様に出現する成分が観察された。その成分は、接近の場合に約304 ms, 離反の場合に約323 ms に頂点を持ち、振幅が約2.5 μ V であり、中心-頭頂部で高振幅となっていた。



[海外だより]

IUPS サテライトシンポジウム

Initiation and conduction of the cardiac Pacemaker response (Banff) に出席して

百瀬 弥 寿 徳 (富山医科薬科大, 医, 薬理学)

心筋のペースメーカー応答とその伝導に関する第30回国際生理学学会サテライトシンポジウムがカナダ・Alberta州 Banff で1986年7月20, 21日の2日間にわたり開催された。主催者はカナダ・カルガリー大学医学部生理学教室 Wayne Giles 教授であり、この時期に当教室で研究中の私はシンポジウムに参加できる幸運に恵まれた。シンポジウムの会場は美しいカナディアンロッキー山脈に囲まれた Banff の町の郊外にあるコテージ風のホテルである。そこには、心筋の分野で活躍する D. Noble(U. K.), W. Trautwein(Germany), H. Reuter(Switzerland), 入沢 宏(岡崎)の他、この分野での第1線の研究者らが多数参加した。シンポジウムのテーマは、心筋の電気生理で次の五つのトピックスについて、活発な議論がなされた。

- (1) The role of If in cardiac pacemaker activity
- (2) Na^+/K^+ pump in cardiac cells
- (3) $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger currents in single cardiac cells
- (4) Intracellular communication between cardiac cells
- (5) Conduction of the cardiac impulse

心筋洞房結節ペースメーカー細胞には、過分極で誘発される特異な内向き電流が存在する。奇妙な電流という意味で、If, funny current と呼ばれ、また、Ih, hyperpolarization-activated current と呼ばれる。この電流が心臓の自動能に果たす役割、さらには If それ自身が pacemaker current であるかどうか、これまで議論が別れていた。シンポジウムは、D. Noble (Oxford, U. K.) の司会によりこのテーマで始まった。D. DiFrancesco(Italy)は、ウサギ洞房結節の単一細胞を用いて、If 活性化の電位領域が歩調取り電位の領域に一致すること、adrenaline が If を増強し、微量の acetylcholine(nM)が If を抑制することから従来どおり If current が pacemaker current であることをイタリア人特有の情熱的な表現で主張した。さらに、

Path clamp 法を工夫して、whole-cell clamp 法により膜電位をコントロールし cell-attached 法でパッチの電流を記録することにより、初めて 0.5 pA と微小な If single channel current の記録に成功した。

A. van Ginneken(Netherlands) W. Giles らは、ウサギ洞房結節単一細胞を用いて If current の同定を行い、If が pacemaker current に関与しうることを電流-電圧曲線、その平衡電位などから示した。E. Carmeliet(Belgium)もヒツジの Purkinje 単一細胞を用いて、If current の自動性に果たす役割に対して肯定的な見解を示し、さらに If current が一部 Cl^- イオンによって運ばれることを Cl^- を大きな陰イオンに置換した実験より示した。一方、R. Nathan(Texas, U. S. A.) は、ウサギ洞房結節の cultured cells を用いて Cs イオンが If current を block しても、なお自動性が残ることを示し、If の pacemaker current に果たす役割を否定した。彼のデータは非常にわかりやすく、説得力があったが、培養細胞という標本の特異性から考えると、やはり酵素処理による単一細胞での実験が必要と思われた。今回のシンポジウムでは、If(Ih) の心筋ペースメーカー電位への関与について結論されなかったが、洞房結節ペースメーカー細胞および Purkinje 細胞には If 電流が確かに存在し、その性質(平衡電位 $-20 \sim -30 \text{ mV}$ 付近、 Na^+ および K^+ イオンにより運ばれる)はまったく明らかな事実であって、心筋の電氣的活動になんらかの意義を持つことが明らかにされた点で意味が大きいと思われた。近い将来、If が funny 電流でなくなる日も近いと思われる。If は、英国 Oxford の D. Noble, Ih は岡崎生理研の入沢らによる命名である。If, Ih とも心筋電気生理学の分野では広く受け入れられ、論文でも必ず注釈が付くが、次のヘルシンキには是非統一した名前にして欲しいと感じた。

D. Noble の名司会でスタートした今回のシンポジウムの特徴は、研究の流れが多細胞標本から酵素処理

による単一細胞標本を用いた Whole cell recording による macroscopic current や Patch clamp 法による single channel に移っていることを示すこの分野の最近の発展の目ざましさを感じた。

第1日目午後は、W. Trautwein(Germany)の司会により心筋における Electrogenic Na^+/K^+ pump について討論が行われた。D. Gadsby, M. Nakano(New York, U. S. A.)らはモルモット心室筋単一細胞より Na^+/K^+ pump current を同定し、ouabainを用いた実験により、このpump current がきわめて voltage dependent に変化することを発表した。C. M. Baumgarten(Ottawa, Canada)らは、 Na^+/K^+ pump と同時に細胞内 Na^+ activity を計測した。J. Lederer (Maryland, U. S. A.)はラット単一心室筋細胞を用い、細胞内 Ca 濃度の増加によって引き起こされる不整脈発生に与える、いわゆる一過性内向き電流について Ca^{2+} イオンに感受性蛍光色素 Fura 2 を用いた実験から、弛緩時および収縮時の peak 細胞内 Ca^{2+} 濃度はそれぞれ80~90 nM, 510 nMであることを発表した。Videoにより直接単一細胞の収縮時の Ca^{2+} 濃度変化を画像として示した発表は、興味深かった。

このシンポジウムでは新しい試みとして、心筋膜イオン電流 (channel, pump, exchanger などによる) からの活動電位や pacemaker 活動の再構築が IBM のパソコンを用いて “Demonstration” された。学会会場と Calgary 大学のコンピューターを電話回線で結び、key をたたきながら討論が行われた。この分野では、現在コンピューターの助けなしでは研究を進めることは困難となっている。さらに、近い将来発表にもコンピューターを用い、disk を持って学会に参加する時代も近いことを感じた。

2日目は H. Reuter (Switzerland) の司会により $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger current について討論された。A. Noma, J. Kimura* H. Irisawa*(九州大, 岡崎生理研*)らは、モルモット心室筋単一細胞を用い、細胞内還流が可能な電極を用いて、すべてのチャンネル電流を完全に遮断した条件下で、 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger current を分離し、この電流におよぼす ATP, ouabain, Ni^+ の影響について発表した。また、 Ca^{2+} イオンを Sr^{2+} イオンに置換したとき exchanger current が著明に増大し、 Ba^{2+} イオンでは逆に減少することを報告した。D. Campbell, W. Giles(Calgary, Canada)らは、カエル心房筋において、 Ca^{2+} 電流の後に現れる、いわゆる Slow tails がその時間経過より $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ ex-

change によることを報告した。また、J. Hume(Michigan, U. S. A.)もカエル心房筋を用い、 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchange current を “Creep current” として示し、四つの特異的遮断薬について発表した。さらに、 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchange が tonic tension に関与することを報告した。これらの発表は、従来 slow inward current の要素として考えられた電流の一部が $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchange 電流であったことを意味する。Exchange current の研究においては、 Na^+/K^+ pump 電流同様 exchange 電流をいかにチャンネル電流から単離するかの実験上の問題がある。この点、Noma らの発表は、Nature にも一部発表されているが、非常に説得力のあるものであった。

2日目の午後は、H. Jongsma(Netherlands) の司会により細胞間カップリングについては討論された。N. Tsuboi, A. Noma*, H. Irisawa(岡崎生理研, 九州大*)らは酵素処理によって得られたペアとなった細胞を用い、junction conductance におよぼす Ca^{2+} , Mg^{2+} , pH の効果について発表した。R. DeHaan(Atlanta, U. S. A.)は、初めて gap junction の single channel current の測定に成功し、H. Jongsma も 40 pS の channel 電流を追加発表した。D. Spray(New York, U. S. A.)は、生化学的に分離したチャンネル蛋白のコンダクタンスとリン酸化による修飾に言及した。また、R. Weingardt(Berne, Switzerland)は、ペアの心筋細胞のカップリングについて最近の研究をレビューした。Impulse の伝導という点で gap junction の問題は非常に重要であるが、これまでこの分野の研究報告は比較的少なかった。今回のシンポジウムを機会に、チャンネルのコンダクタンス、その電位依存性、ゲート開閉の修飾などの問題をめぐっての研究は活気をおびてくるものと思われる。

最後に、入沢(岡崎生理研)の司会により、Conduction of the cardiac impulse について討論された。このセッションは、これまでの単一細胞とはがらりと変わり、従来の多細胞標本を用いての研究発表であったが、ガラス管微小電極法では不可能な数である100以上の部位より活動電位を膜電位に感受性の高い色素を用いて記録し、pacemaker area の同定あるいは impulse conduction spread などについて報告された。日本からは第一人者である神野耕太郎教授(東京医科歯科大)が招待された。G. Salama(Pittsburgh, U. S. A.)は、心筋の119の部位より potential-dependent fluorescent dyes を用い、Ischemia やインパルス伝

播について発表した。K. Kamino (東京医科歯科大) は、発生初期の embryonic chick heart を用い、pacemaker area が約 $2,000 \mu\text{m}^2$ であり、100個前後の pacemaker 細胞が存在する状態でのペースメーカー活動について発表した。この研究方法は、ガラス管微小電極法では、不可能な情報が得られるので、心筋の pacemaker のみならず、ニューロン rhythm の発現などの研究にも非常に有力な研究方法と思われる。R. Joyner (Iowa, U. S. A.) は、電気生理学的にプルキンエー心室筋伝導の遅れを示し、不整脈発生への寄与をコンピューターにより検討した。

以上招待講演の内容を抜粋して紹介した。このほか31題の一般演題の中にも非常に興味ある高い内容の演題が見られたが、紙面の都合で紹介できないのは残念である。シンポジウムは、主催者である W. Giles 教授の発想により、全員が会場となったホテルに宿泊したのであるが、朝から夕方まで発表と討論のハードスケジュールで夜にはさすがにぐったりした。しかし、2日目の朝6時半にをかけて、山麓の林で見たバッファローの群も忘れ難い思い出となろう。私にとってこ

れまで論文上でしか名前の知らなかった著名な研究者とも親しく話すことができ、シンポジウムに参加できたことは大きな経験となった。しかし、密度の濃い発表内容に圧倒される感じであり、理解できないところは、大地陸男先生(順天堂大)に助けていただいた。

今回のシンポジウムでは、心筋の電気生理学の分野において、客観的にみて現在岡崎生理学研究所が世界をリードしていると感じた。世界の研究者も入沢、野間グループを強く意識し、新しい target にしているように思われた。シンポジウムは、すべての点で良く organize され、86人という参加も適当であり、お互いに十分 discussion することができ、新しい知識と今後の研究の方向について学ぶことができた。最後の夜は、バーベキューパーティと D. Noble のギター演奏を楽しみながら、3年後のヘルシンキまでの研究発展を思い、再会を楽しみに深夜まで過ごした。

なお、このシンポジウムの内容については、1987年4月に ALAN LISS 社(New York)より出版される予定である。

【生理学の広場】

国際生理学会のプログラムの是非

久野 宗 (京大, 医, 生理)

本年7月にバンクーバーで開催された第30回国際生理学会 (IUPS) には日本からも多数の出席者が見られました。しかし、ポスターの演題の取り消しが多く、各国から出席を予定していたかなりの人達が発表をキャンセルしたように思われました。一つの理由は、世界的に研究費の緊縮の傾向があり、旅費の工面が困難であったためかと考えられます。特に、メキシコからの出席者はほとんど見られませんでした。

学会後、日本のある生理学者の方から、今年の IUPS 学会には視覚、特に、網膜のセッションが皆無であったというご指摘を受けました。Hubel の特別講演や、眼球運動調節に関するセッションはありましたが、確かに網膜の生理学はプログラムに組み込まれていませんでした。さらに詳細に再検討すれば、同様な片手落ちは他の分野にもあったかもしれませんし、またそれゆえに学会を欠席した人もいたかと思われま

は今回の IUPS の学会のプログラム委員を勤めましたので、この点に関して責任を感じると同時に、何故そのようなことが起こり得るか、どうすればある程度改善できるかについて私見を記したいと思います。

バンクーバーの学会プログラム委員は、シドニーの学会のときに顔合わせをし、そのときに前回のプログラム委員長および開催地区の委員からシドニーの学会プログラム決定に関して種々の経験談を聞き、改善すべき点の教訓を受けました。正式のプログラム委員会は、1984年の夏にバンクーバーで5日間行われ、その期間中に、招待講演者、シンポジウムの内容、セッションの分類がすべて決定されました。この委員会に先立って、各委員は自分の国における希望プログラムを取りまとめて委員長に報告するように指示を受けましたので、筆者もこの旨を生理学会の常任幹事会で述べ、また、伊藤正男教授はプログラムに関する意見の

募集についての記事を日生誌(1984年1月)に掲載されました。しかし、その結果、私のところに意見を寄せられたのはお二人だけでしたので、これに私の作った案、約10件を加えて提出しました。これらは委員会では1件を除いてすべて採用になりました。プログラム委員会の5日間の期間で全プログラムを作成するには、あらかじめたき台ができていたプログラムが優先され、新たに付加されるプログラムはむしろ各委員のその場での思い付きで十分に検討されていない印象を受けました。IUPSのプログラム委員は15名ですが、3名は委員会を欠席しましたので、大多数は、開催地区から参加した委員によってプログラムが作られました。例えば、神経生理学部門の委員は Iggo 教授と私だけで、これに5名の地区委員が参加しました。地区委員はほとんどが、研究歴の浅い若い人で、率直にいまして、現在どのような領域の研究が重要であるかということについて十分な理解を持っているとは思われませんでした。しかし、これらの地区委員の人達が準備してきたプログラムをすべて拒否することもできませんので、私個人としては、その結果は必ずしも満足すべきものでなかったのは事実です。また、各国から提出されたプログラム案には、シドニーの学会で行われたシンポジウムと同じグループからの意見が多く、その結果、この3年間に特に著しい進展が見られ

なかった分野でも、同じテーマで、同じようなグループによるシンポジウムが再びバンクーバーで開かれたのも私としては心外でした。同時に、そのような不満があるならば、私自身ももっと多数の案を準備しておくべきであったと後悔しています。プログラム委員長は、プログラムの分類の大体の骨格は準備していましたが、委員が5日間会合するだけで綿密に企画された公平なプログラムを作成するのは不可能であるというのが今回の経験から得た私の結論です。

次のヘルシンキの学会に対しては、伊藤正男教授が再びプログラム委員を勤められると伺っています。今度は、できるだけ多くの人が、自分の希望する招待講演者、シンポジウムの企画リストを伊藤教授に提出されて、積極的にIUPSのプログラムの作成と改善に参加して頂きたいと存じます。これらの案には、単に日本の研究者の名前だけを挙げるだけでなく、国際的に優れた研究者のリストを作り、また、特定の国の研究者に偏重する事のないようにする配慮が必要かと思えます。

科学の進展のスピードが速くなっていますから、3年後にどの分野が重要研究領域になるかを予測するのは困難ですが、そのような時代であるからこそ、国際学会のプログラムの作成にはより多数の人の意見と協力が必要と思えます。

【お知らせ】

J. J. P の投稿規定一部変更について

J J P 編集委員会

The Japanese Journal of Physiology 投稿ガイドの一部が以下の如く手直しされました。

採択する論文の種類

- 2) Short Communication: 図、表、文献を含んで刷り上がり5ページ以内。図、表は合わせて4点以内。長さの概算は、表題のページを除きグロススペースでタイプ用紙約10枚です(これから図、表などに用いられるスペースを除いてください)。

尚、昭和62年1月1日(1987)以降の受付論文からこれを適用します。

**Satellite Symposium to the Second World Congress
of Neurosciences, International Brain
Research Organization (IBRO)**

Title : SELECTED TOPICS IN HYPOTHALAMIC RESEARCH

Date : August 12-14, 1987

Place : Semmelweis Medical University, Budapest, Hungary

Organizers : Dr. Mark Kollai (Hungary)

Dr. Yutaka Oomura (Japan)

Dr. Hiroshi Yamashita (Japan)

Dr. Kiyomi Koizumi (USA)

Tentative program is planned to cover various fields related to the morphology and functions of the hypothalamus.

- I. Introductory Session
- II. Recent progress in morphology of the hypothalamic neurons and their connections
- III. Endocrine functions of the hypothalamus
- IV. The hypothalamus and the autonomic nervous system
- V. Homeostasis

Poster sessions will also be included.

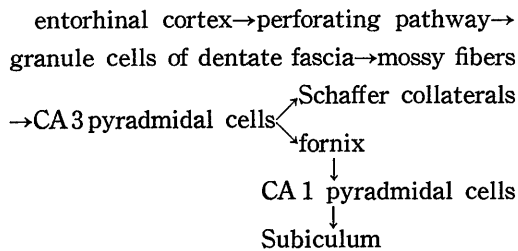
Information concerning the symposium can be obtained from :

Dr. Mark Kollai
Semmelweis Medical University
II Department of Physiology
Üllői út/78/a
Budapest, 1082 HUNGARY

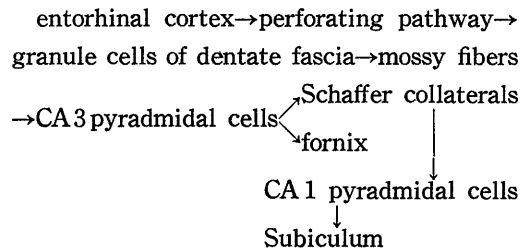
訂 正 の お 願 い

第48巻第9号の p. 681 の神経回路網に一部誤りがありましたので、次のように御訂正をお願いいたします。

誤



正



日本生理学会特別会員 東邦大学名誉教授 朝比奈一男君は、昭和61年10月23日にご逝去されました。ここに謹んで哀悼の意を表します。

〔編集後記〕

総説，原著，生理学談話会抄録，生理学の広場並びに海外だより等，調和のとれた編集が出来よるこんでいます。田中勳作博士の力作は，編集会議を盛りあげた起爆剤であり，久野宗教授の“国際生理学会のプログラムの是非”はプログラム委員会の雰囲気が伝わってくる感じでした。百瀬弥寿徳さんのIUPSサテライトシンポジウムの投稿は，バンクーバーの生理科学会議が終って，静かに反省する時期には格好の読物として本誌を飾ることができました。それぞれの先生方には心からお礼を申し上げる次第です。

本号の編集の最中に，特別会員 朝比奈一男東邦大学名誉教授の訃報を知り，謹んで哀悼の意を捧げました。

日本生理誌編集委員会は，年に1回は特集を計画することを目ろむことを考えてきました。昨年，第47巻では生理学談話会の推移を取り上げました。余外集，試道集の復刻は，これに附随して実行されましたが，温古知新はこれだけでは十分でないとの話でした。こ

んな底流があったのでしょうか。名著復刻がさらに発展して，編集委員会の特別企画として前号（9月号）の如き“名著復刻への道”が実現しました。未だ未だ名著は，若い会員達の中から埋もれているようにも思われます。お気付きの時には，9号に準じて本誌ブルー頁に御投稿下されれば幸甚です。すでに“生理学関係出版物調査のお願い”もお届けしてありますが，地道な生理学関係図書は，兎角出版の洪水の中に埋没しかねません。どうか会員皆様の御協力を切にお願いします。

会員カードの提出も願います。会員名簿の整理・更新ということに連がる意味があります。

さて，いよいよ「日本生理学教室史 下巻」の原稿締切も近づいてまいりました。新しい息吹で充実した多くの生理学教室，研究所研究室の全貌が，見渡らせるかと思うとワクワクした気持を抑えることが出来ません。師走の風が吹き荒れてくるのも間近かでありましょうが，皆様の御健闘を祈ってやみません。

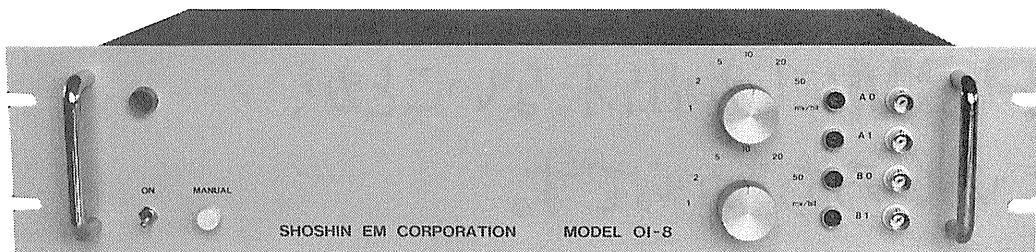
（酒井敏夫）

編集委員

酒井敏夫(幹事)	林秀生	真野範一
登坂恒夫	松井洋一郎	平野修助
黒島晨汎(北海道)	西山明德(東北)	本間信治(関東)
小野武年(中部)	藤本守(近畿)	村上憲(中・四国)
堀哲郎(九州)		

生理学，薬理学の研究実験に!!

Trigger入力により各種パルス及びファンクションを出力!!



コンピュータースティムレーター OI-8型

¥298,000

既生概念に囚れないシンプルな意匠のコンピュータースティムレーターOI-8型は
外観からは想いもつかない高性能な電気刺激装置です。

特長

NEW

- ・信頼性の高いマイクロプロセッサ制御
- ・RS232Cシリアルインターフェースにて外部からの制御可※
- ・内部トリガー，外部トリガー，マニュアルトリガーの3つのトリガー入力の完備
- ・発生波形はシングルパルス，ダブルパルス，P/4パルスモードを持ち，正弦波，三角波，台形波，ランプ波です。
- ・256シーケンスまでの反復出力可能
- ・出力最大振幅は $\pm 0.128V$ (1mV/bit) から $\pm 6.4V$ (50mV/bit)
- ・パルス幅は100マイクロ秒から256秒で可変可能

※ コンピューター，又はCRTディスプレイが必要です。
(ハンドヘルドコンピューターでも可)

製造・販売



ショーシンEM株式会社

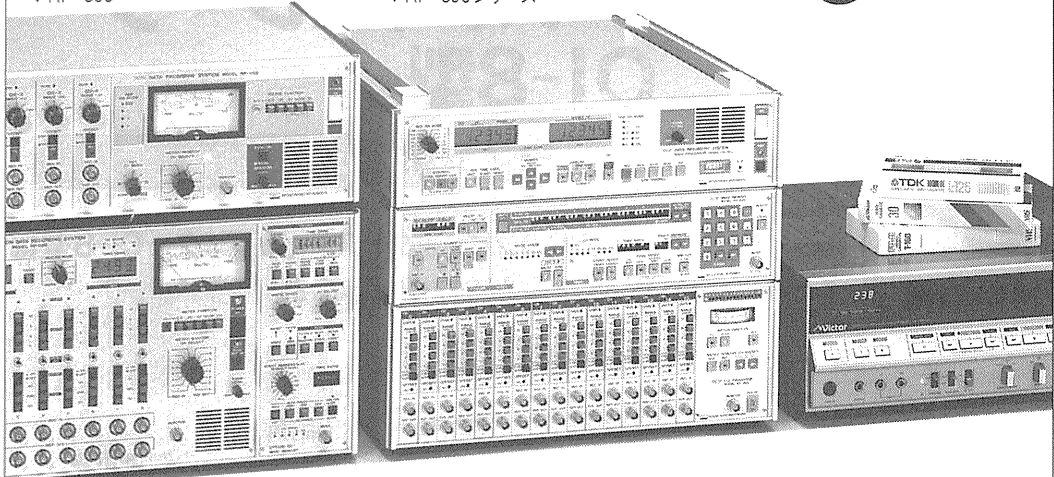
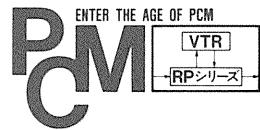
〒444 愛知県岡崎市羽根東町2丁目8番地の5 福樹ビル
TEL. (0564) 54 - 1 2 3 1 代表
FAX. (0564) 54 - 3 2 0 7

エヌエフのデータレコーダが
PCM方式なのは、
PCMにしか出来ないことが、
いろいろあるからです。

DATA RECORDER

▼RP-880

▼RP-890シリーズ



▲RP-882

GP-IB

エヌエフの《PCMデータレコーディングシステムRPシリーズ》なら、

- ① データの品質が素晴らしい。[テープ、メカ性能に影響されないPCM方式だから]
- ② ランニングコストが安い。[市販のVTRやカセットテープを使うシンプル・システムだから]
- ③ 多現象の同時記録ができる。[最大128チャンネルまで拡張可能だから]
- ④ 取扱いが簡単。[ゼロ点調整などが不要だから]

など、PCM方式の圧倒的な利点の上に、エヌエフならではのアイデアが満載されています。

《PCMデータレコーディングシステムRPシリーズ》には、

- 4チャンネルの普及モデル《RP-880》
- 8チャンネルの標準モデル《RP-882》
- 多チャンネルの最高級モデル《RP-890シリーズ》

が用意されています。詳細は、045-542-0411まで、お気軽にお問い合わせください。

エヌエフ

株式会社エヌエフ回路設計ブロック

本社・工場：横浜市港北区綱島東6-3-20 〒223 TEL.045(542)0411(営業直通)
札幌011(281)4120 水戸0292(52)4411 千葉0472(43)3161 西東京0425(73)1277
名古屋052(701)3136 大阪0726(23)5341 広島082(263)8431 福岡092(411)4301

alzet[®] ミニ浸透圧ポンプ

alzet[®]ミニ浸透圧ポンプは、マウス、ラット、イヌ、サル等の実験動物の皮下、あるいは腹腔内に埋め込むことができ、厳密に制御された流量で薬物を体内に連続注入できる小型自動ポンプです。埋め込み後は体液の浸透圧により、一定流量で連続的に動物体内の全身系又は、脳内、脊髄、静脈等の局部へ目的の薬物をデリバリーできる画期的なポンプです。



モデル	2001	2002	2ML1	2ML2	2ML4	
輸液流速 ($\mu\text{l/hr}$ at 37°C)	1	0.5	10	5	2.5	
リザーバー容量 (μl)	200	200	2000	2000	2000	
サイズ	長さ (cm)	3.0	3.0	5.1	5.1	5.1
	直径 (cm)	0.7	0.7	1.4	1.4	1.4
総容量 (m l)	1.0	1.0	6.5	6.5	6.5	
重量 (g)	1.1	1.1	5.1	5.1	5.1	

日本総代理店

Muromachi

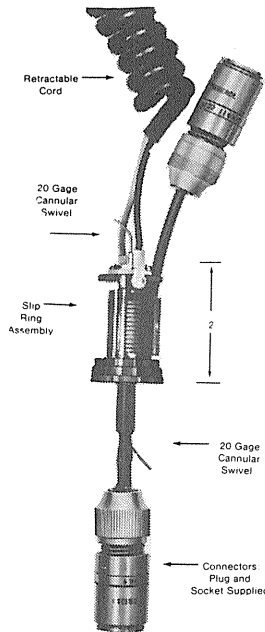
室町機械株式会社

本社 〒103 東京都中央区日本橋室町4丁目3番地 ☎03-241-2444
大阪営業所 〒541 大阪市東区道修町3丁目17 高原ビル ☎06-229-8260

Airflyte Electronics Co.

ELECTRO-CANNULAR SLIP RING

FOR SMALL ANIMAL ELECTROPHYSIOLOGY



エアフライト社のカニューラ・スリップ・リングは、動物の脳波を連続的に記録したり、体液を抽出することができ、動物がケージの中で動き回っても、動物に接続されているリード線やプローブはねじれたり、もつれたりすることはありません。

このスリップ・リングは、脳波研究、慢性的カニューレーション、EEG記録、リセッション作成、および、これらの関連研究に最適のものです。

●電気的特性 電流：1 μA - 1 A/ring
電圧：1 μV - 115V/ring
絶縁抵抗：500M Ω 以上 (500V DCの時)

●機械的特性 トルク：
12circuit assembly is less than 1/2in-oz.
including 20 gage swivel
寿命：10,000,000回転以上
重量：57グラム以下 (リトラクタブルコードを付けない時)

日本総代理店

Muromachi

室町機械株式会社

本社 〒103 東京都中央区日本橋室町4丁目3番地 ☎03-241-2444
大阪営業所 〒541 大阪市東区道修町3丁目17 高原ビル ☎06-229-8260

D.S.K

新鮮脳のスライス作製に!

Automatic



未凍結切片作製装置

マイクロサイザー MICROSLICER

DTK-3000W

生理・薬理学の分野において、主に電位差測定にラット、ネコなどの新鮮脳切片(200~500 μ m)が用いられています。従来は、カミソリの刃をつかった手作業、あるいは未凍結切片作製のマイクロトームを使用していましたが、切片の厚さが一定しなかったり、切片作製に膨大な時間がかかり、大きな切片や薄い切片が切りにくいという難点がありました。「マイクロサイザーDTK-3000W」は、これらの欠点を克服し、先生方のニーズにこたえるべく開発されました。

【特長】

- ラットはもちろんネコ・サルの全脳までも貼付可能なワイドな試料台(70×70mm)。
- 新鮮脳で約50 μ m、固定(ホルマリン・グルタル等)組織で10 μ mの均一な薄さで連続切片作製可能。
- 試料台の任意上昇(5~1,000 μ m)の自動化により、作業時間が一層短縮され、また操作性が格段にアップ。

【姉妹機】

DTK-1000・DTK-2000・DTK-3000

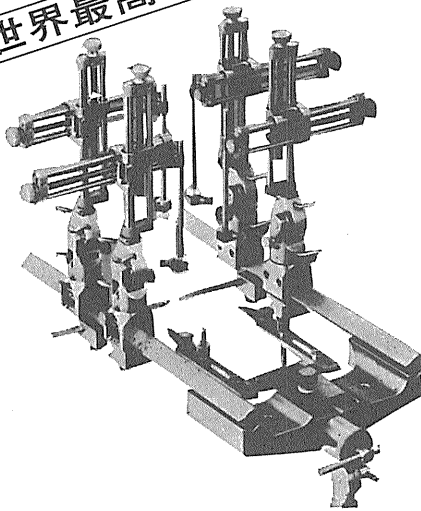
堂阪イーエム

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

実験動物用ステレオタクシク装置

米国DKI社は、実験動物用脳定位固定装置及び関連機器の製作に関して世界のリーダーシップとしての役割を果たしています。同社のねらいは進歩的な学者に、精巧で信頼できる研究用器械を提供することにあります。これらの装置は現在世界中で数多く使われています。

世界最高級品!!

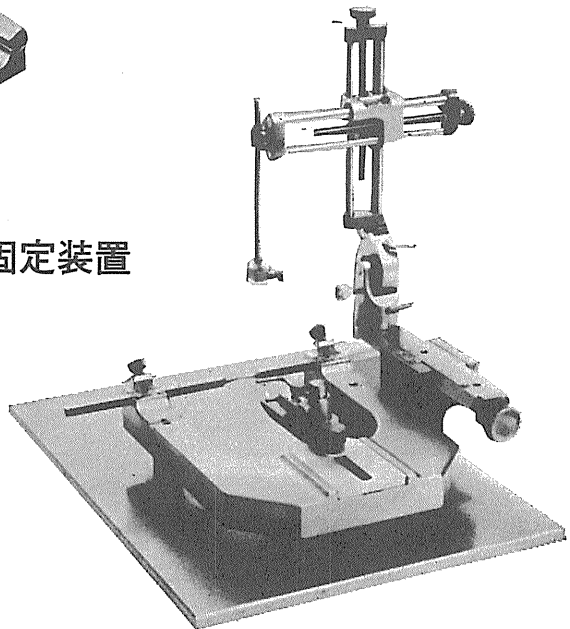


#1504 犬・猿用脳定位固定装置

- 犬、猫、猿、うさぎ用からラット等の小動物にいたるまで附属品の交換で適用できます。
- 素材は特殊合金で精密加工しており、長年酷使しても歪はなく精度は保証されています。
- 電極の位置設定及び復元は従来不可能とされていたほどの正確さでできます。
- 電極挿入の角度調整は自在です。
- メンテナンス・フリーです。

#900 小動物用脳定位固定装置

- ラット、マウスの研究に最適です。
- 操作が簡単で精度の高い万能の装置です。
- エレクトロード・マニプレーターは3方向とも0.1ミリの副尺付です。長年の使用にもマニプレーターにくりい・がたつきはありません。
- フレームの反対側にも別のマニプレーターをつけることもできます。



盟和商事株式会社

大阪：大阪市西区京町堀1丁目12番14号(天真ビル)
〒550 TEL 代表 (06) 448-3474 番
東京：東京都新宿区西新宿6-12-4(コイトビル)
〒160 TEL 代表 (03) 344-3901 番

新製品 F.J.Sigworth・E. Neherのオリジナル

西独リスト社

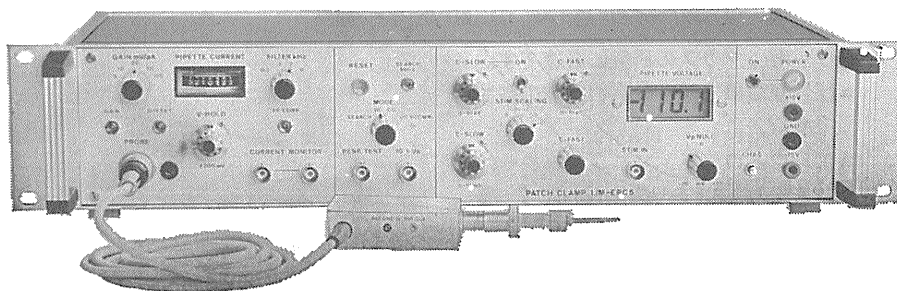
パッチクランプシステム EPC-7



主な新機能

- さらにローノイズ 0.05PA(RMS) 1 KHz
0.30PA(RMS) 10KHz
- 2レンジ切換 50GΩ 200PA
500MΩ 20nA
- R_s COMPENSATION 1~100MΩ
- 独自のTRANSIENT CANCEL機能

姉妹機 EPC-5型



東日本地区発売元

(Physio-Tech)

株式会社 **フィジオテック**

〒101 東京都千代田区内神田3丁目6番2号トリスビル5F
TEL 03(258)1641(代)

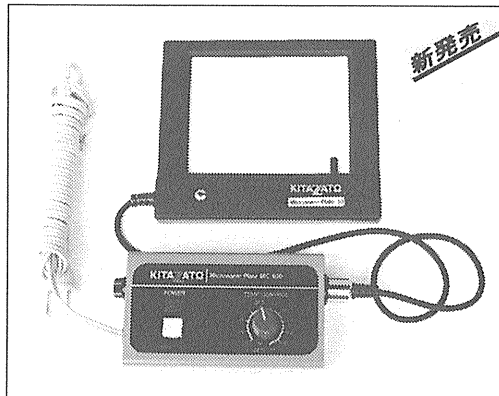
西日本地区発売元

 **WORLD MEDICAL CO., LTD.**
株式会社 **ワールド・メデカル**

〒461 名古屋市中区葵1丁目25番1号ニッシンビル701
TEL 052(937)7060

至適温度で生体組織の顕微鏡観察が容易。

顕微鏡用透明加温板



新発売

マイクロウォーム・プレート[®]

倒立顕微鏡用 MP-10 | 普通顕微鏡用 MP-30 特許出願中

用途

- 精子の活力検査や卵子の捕集
- 薬剤感受性試験時の定置観察
- 受精卵や組織の細胞培養等の観察
- 非定型抗体の抗原抗体反応や好中球の儀足の観察
- 寄生虫およびアメーバなどの観察
- 生体電流測定と観察(特別仕様品)

仕様

設定温度 25°C、33~43°C (1°C可変)

加温板面寸法 84×106mm

この他、大型マイクロウォームプレート、加温板面寸法170×255mmもあります。マイクロプレート(96穴)が4枚載ります。保温カバーケースを付けますと、ウォーター・バスやインキュベーターの代りとして、免疫血清反応に使用できます。

安定した一定温度の透明加温板!

マイクロウォーム・プレート[®] (Microwarm Plate) は、透明なガラス板の面全体が発熱体で温度むらのない均一な表面温度を示します。コントローラで表面温度を自動制御しますので、至適温度で長時間の観察等ができる画期的な万能型顕微鏡用透明加温板です。

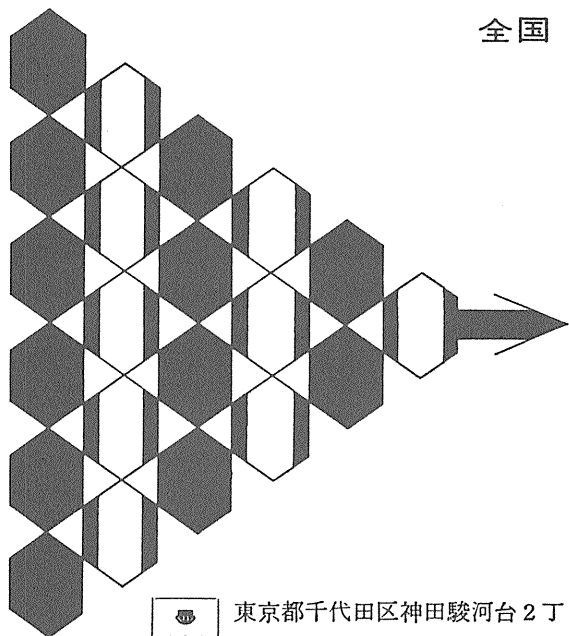
- ご注文は貴研究室のお取引業者を通し、お申込みください。
- 不明な点は本社営業部にお問合せください。
- 仕様変更等の試作品のお問い合わせやお申込みは営業部宛にご相談ください。

KITAZATO

製造・発売元: 株式会社 北里サプライ

本社 ● 東京都北区東十条3-3-1-219
 本社営業部 ● 静岡県富士宮市舟久保町12-6 〒418
 Tel. 0544(27)8831 Fax. 0544(27)6060

全国 医学・薬学・化学・雑誌広告取扱
 本誌 広告 取扱



各学会の雑誌、抄録、プログラム及び名簿等の印刷並に広告掲載のお世話を致します

広告代理店

101

東京都千代田区神田駿河台2丁目9番地
 電話 (292) 6961 (代表)

日本医学広告社

NEC San-ei

936μS

スピードが、グラフィックが、 生体信号処理をかえた。



オンラインの多チャンネル生体信号処理を実現した、シグナルプロセッサのベストセラー7T17。その実績と実力のすべてを受け継ぎながら、一段と成長した最新鋭機が7T18です。定評ある処理スピードはさらに向上、実装メモリも1Mバイトにパワーアップして適応領域がグンと拡大しました。きめ細かな画面表示はサーマルプリンタでハードコピーがとれます。生体信号処理用Signal-BASICの特殊コマンドが強化され、優れたフレキシビリティと共に高次の解析をサポートしています。また、ルーチン用として各種のアプリケーションプログラムも用意されていますので、臨床から基礎研究まで幅広い対応が可能です。

多チャンネル高速データ処理装置

シグナルプロセッサ

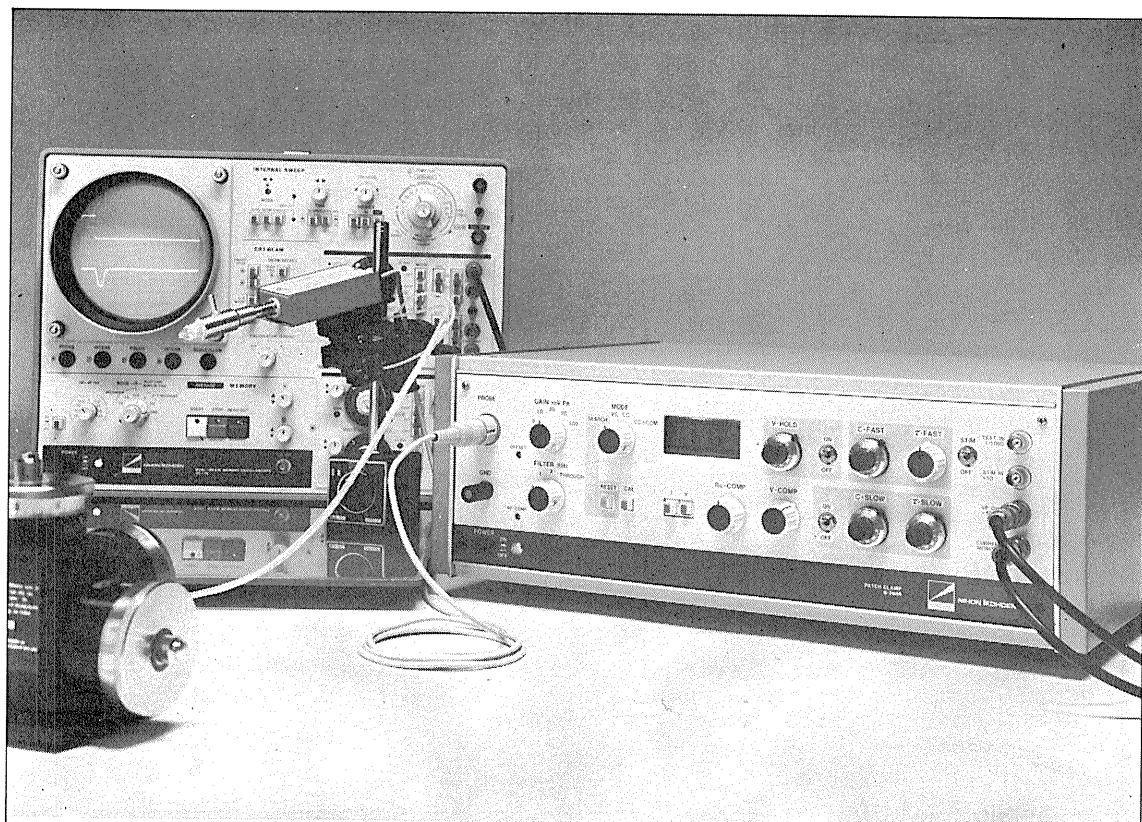
7T18

明日の健康と福祉を守る



日本電気三栄

〒160 東京都新宿区大久保1-12-1 ☎03(209)0811(代表)



パッチクランプ法にこの一台!

New パッチクランプ用増幅器

S-3666

〈特長〉

1. Whole-cell clamp時にクランプ速度を補正できます (series resist comp.)。
2. head stageの容量を補正するtransient cancellationは、fastとslow (OFF付) が有り、電極に応じて補正できます。
3. シールを確認するために、command inputとは別に、test pulse input ($\frac{1}{1000}$ OFF付) が付いています。
4. 分極電圧を自動的に補正します (search mode)。
5. 入力回路の高域特性をcheckするための三角波発生回路を内蔵しています。
6. 電極ホルダが付属しています。

〔定価 40万円〕

エレクトロニクスで病魔に挑戦する



日本光電

本装置の外観・仕様は改善のため、お断りなく変更することがあります。予めご了承ください。東京都新宿区西落合1-31-4 ☎03(953)1181

J. Physiol. Soc. Japan Vol. 48, No. 11 (1986)

Review

TANAKA, R.: THE HOFFMANN REFLEX. 719

Original

NAGAI, K. and SUDA, T.: Immuno-enhancing Actions of Carnosine and
 Homocarnosine. 735

NAGAI, K. and SUDA, T.: Antineoplastic Effects of Carnosine and β -Alanine
 —Physiological Consideration on Antineoplastic Effect— 741

昭和六十一年十月二十日印刷

編集兼
 行人

酒井敏夫
東京都文京区本郷三丁目一〇
 有楽ビル四階
 日本生理学会

印刷者
 印刷所

三浦経夫
山形県鶴岡市山王町一四一二四
 鶴岡印刷株式会社

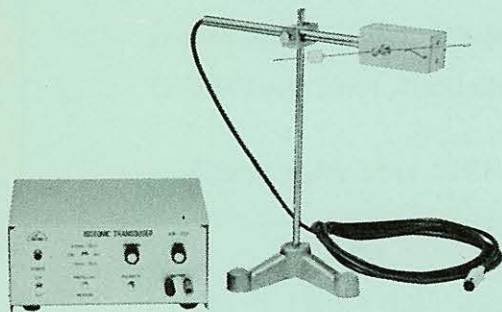
発行所

日本生理学会
東京都文京区本郷三丁目一〇
 有楽ビル四階

定振電話
 替東八一五
 仙京三十一
 七八六二
 百四三〇
 円〇四

KN-259 生体用変位計 PAT.P

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



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

理化学器械・基礎医学器械・実験動物飼育機械器具・薬学研究器械・医科器械一般



株式会社 夏目製作所

〒113 東京都文京区湯島2丁目18番6号
 電話 03 (813) 3 2 5 1 (代表)
 FAX 03 (815) 2 0 0 2