

日本

生理学

雑誌

JOURNAL OF THE PHYSIOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

49巻

4号

1987

原 著

村上順子：赤血球変形能に及ぼすカルシウムとカルモジュリン阻害剤との影響……………119

学 会 抄 録 第73回近畿生理学談話会……………134

教 育 日本生理学会教育委員会の歩み……………143

会 報 第95回 JJP 編集委員会議事録……………147

お 知 ら せ 循環障害の微小循環に関するシンポジウム開催のお知らせ……………147

1987年国際膜会議 (ICOM '87) ……………148

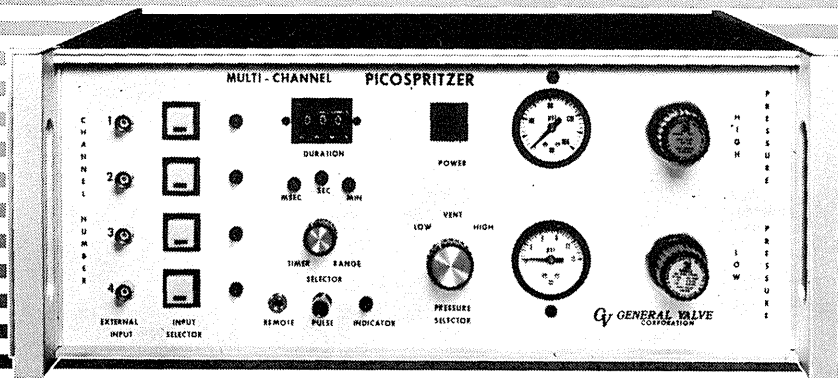
公益信託成茂神経科学研究助成基金昭和62年度助成先の募集について……………148

第4回神経内分泌学ワークショップ……………149

再び 日本生理学教室史（下巻）原稿執筆のお願い……………149

PICOSPRITZER

圧力駆出に依る細胞内及び細胞外に
極微少量(ピコリター単位)試薬押出装置



4 channel PICOSPRITZER

PICOSPRITZER 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。

PICOSPRITZER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氣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。

PICOSPRITZER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 埼玉県和光市下新倉 2042
TEL 0484-65-2401

赤血球変形能に及ぼすカルシウムとカルモジュリン阻害剤との影響

村 上 順 子
(愛媛大学医学部生理学第二)

Changes of erythrocyte deformability induced by calcium accumulation and calmodulin inhibitors. Junko MURAKAMI (2nd Department of Physiology, School of Medicine, Ehime University, Shigenobu, Onsen-gun, Ehime 791-02, Japan)

The deformability of human erythrocytes was investigated with a rheoscope to study the role of intracellular calcium in the dynamic cytoskeletal structure. Calcium was loaded to or depleted from erythrocytes with a calcium ionophore (A 23187) in a Na- or a K-HEPES buffer. (1) After calcium loading in the Na-HEPES buffer, the cell volume of erythrocytes was greatly reduced due to dehydration. On the contrary, upon calcium-loading or -depletion in the K-HEPES buffer, the intracellular calcium content could be varied in the range of 1/4 to 3 times as much as that of control cells without the reduction of mean cell volume. Further incubation without A 23187 and calcium in the K-HEPES buffer enabled the calcium-loaded erythrocytes to restore the cell shape and the ATP concentration. (2) When intracellular calcium content was increased to above 1.5 times of the normal value, the deformability was distinctly decreased. On the other hand, the deformability was unchanged when the intracellular calcium content was reduced below the normal level. (3) The deformability, once decreased due to the calcium accumulation, was recovered by the treatment with a calmodulin inhibitor, W-7 or trifluoperazine, while these drugs were not effective on the deformability of control or calcium-depleted erythrocytes.

We conclude that the membrane stiffness which influence the deformability of erythrocytes, is modulated by the intracellular calcium content through the interaction between the calcium-calmodulin complex and the cytoskeletal proteins.

key words : deformability, calcium, calmodulin inhibitor, human erythrocytes

I. 緒 言

赤血球は両凹円板形というその特異な形態のため、わずかな外力で受動的に変形し、毛細血管中を通りぬけることができる。また、赤血球の量は血液有形成分中では最も多いため、その変形能は血液粘度を定める重要な因子でもある。したがって変形能が低下すると、微小循環の通過障害をおこすばかりでなく、血流抵抗が増し循環血流量の減少をきたす。赤血球変形能が低下する要因としては、i) 表面積/容積比の低下, ii) 内部粘度(赤血球内ヘモグロビン(以下Hb)濃度)の上昇, iii) 膜の“かたさ”の増加などがある³⁹⁾。

赤血球内カルシウム(以下Ca)含量が増加す

ると変形能が低下することはすでに報告されている³⁴⁾。その機序は、Ca蓄積によりK⁺チャンネルが活性化されてK⁺が赤血球外へ脱失し、同時に水も脱失する結果、細胞容積は低下し、内部粘度が上昇することが変形能低下の主因(上記i, ii)にあたる)と考えられている¹¹⁾²⁰⁾。しかしCaが蓄積すると赤血球膜の物性の変化もおこる⁴⁰⁾⁴⁶⁾。したがってCa蓄積による変形能の低下は単に内部粘度の変化だけに起因するものではないと思われる。

赤血球膜の力学的性状には膜タンパクとくに赤血球膜を構築している多数の骨格タンパクが関与している。これらのタンパクは種々の複合体(spectrin 四量体, spectrin-ankyrin-band 3, spectrin-actin-band 4.1 など)をつくって網目状の骨格構造を構成し、脂質二重膜、赤血球内Caとも相互作用して、赤血球特有の形態や機

能を維持するうえで重要な役割を果たしている⁴⁾
13). Ca と骨格タンパクとの関連については,
Husain et al.²⁴⁾, Sobue et al.⁴⁸⁾⁴⁹⁾による *in vitro*
実験から, calmodulin (以下 CaM) と Ca との
複合体(Ca-CaM 複合体)が骨格タンパクと相互
作用していることが知られている. したがって,
細胞内 Ca の変動が CaM を介して細胞骨格の
動的構造を制御している可能性が考えられる.
しかし, 赤血球の変形能に対する赤血球内 Ca,
CaM の関与について定量的に調べた報告はみ
あたらない. Ca が赤血球膜の物性変化を介し
て変形能に影響を与えるかどうかを知るため
には, 変形能を支配する他の要因 (赤血球形態・
内部粘度・ATP 含量など) に変化のないような
状態で, 赤血球内 Ca 濃度と変形能の関係を検
討することが必要である

本研究では, 赤血球の流体力学的挙動と Ca
を介する膜の動的構造調節との関連性について
検討し, 赤血球内 Ca が赤血球変形能を調節し
ていることを定量的に示した. すなわち, (A) ヒ
ト赤血球について内部粘度や形態に差がなく,
赤血球内 Ca 含量の異なる赤血球を調製した.
(B) 高ずり応力レオスコープ法⁴⁴⁾⁴⁷⁾により, 赤血
球変形能の Ca 依存性を定量的に調べた. (C)
CaM 阻害剤²²⁾を用いて Ca 負荷後に低下した
変形能の回復について検討した. また Ca 負荷
による変形能低下の程度を骨格タンパク, 特に
spectrin の重合化による変形能低下と比較し
た.

II. 実験材料と方法

A. 赤血球試料の調製

ヘパリン処理した成人の新鮮静脈血を遠心分
離(3,000 rpm, 10 min, 4℃)し, plasma と buffy
coat 除去後, 約20倍量の等張 HEPES (N-2-
hydroxyethylpiperazine-N'-2-ethane sulfonic
acid) 緩衝液で3回洗浄した. HEPES 緩衝液は
目的に応じて次の3種のものを用いた: (i) 等
張 Na 緩衝液 (50 mM HEPES, 123 mM NaCl,
5 mM KCl, 5.6 mM glucose), (ii) 等張 K 緩衝
液 (50 mM HEPES, 130 mM KCl, 5.6 mM glu-

cose), (iii) EGTA 加-等張 K 液 (1 mM EGTA
を加えた等張 K 液) (いずれも pH 7.4, 285 mOsm
に調製した.)

1. **Ca 負荷赤血球**: 等張 Na または K 緩衝
液に浮遊した赤血球に 1.5 μ M A 23187 (Ca-
ionophore, Calbiochem 製, San Diego, CA,
USA; Dimethyl sulfoxide-Ethanol (1 : 3)
混液に溶解して原液とした) と CaCl₂, EGTA
を加えてインキュベートした (60 min, ヘマト
クリット (Ht) 20%, 37℃). 反応液中の遊離
Ca²⁺ 濃度は CaCl₂ と EGTA の濃度を変えて調
節した (Harafuji & Ogawa²¹⁾による $K_a=9.63$
 $\times 10^6$, pH 7.4, 37℃を用い計算した). 反応終了
後, 赤血球を 0.5 g/dl ヒト血清アルブミン
(fatty acid free, fraction V, Miles Lab., Elk-
hart, IN, USA) を含む各緩衝液に浮遊 (5 min,
4℃) させて A 23187 を除去し, さらにアルブ
ミンを含まない緩衝液で洗浄した. しかし等張
K 緩衝液を用いた Ca 負荷でも, Ca 負荷赤血
球では ATP 含量の減少と形態変化 (echino-
cytosis) がおこるので, その修復のため等張 K
緩衝液で再度インキュベートした (75 min, Ht
20%, 37℃).

2. **低 Ca 赤血球**: 1.5 μ M A 23187 と 1 mM
EGTA を加えた等張 K 緩衝液中で赤血球をイン
キュベート (60 min, Ht 20%, 37℃) した後,
EGTA 加-等張 K 緩衝液に溶解した 0.5 g/dl
アルブミン溶液で A 23187 を除去し, さらに洗
浄した. 低 Ca 赤血球では ATP 含量の減少や
形態変化はみられなかったが, Ca 負荷赤血球
と同じ後処理 (75 min, Ht 20%, 37℃) を行な
った.

3. **対照赤血球**: Ca 負荷赤血球および低 Ca
赤血球調製にあたって, A 23187 および CaCl₂
を添加しない各緩衝液中でインキュベートした
赤血球をそれぞれの対照赤血球とした.

4. **CaM 阻害剤による処理**: 等張 K 緩衝液
および EGTA 加-等張 K 緩衝液中で調製した
Ca 負荷赤血球, 低 Ca 赤血球および対照赤血
球に CaM 阻害剤を加え処理した (30 min, Ht
10%, 37℃). CaM 阻害剤として, W-7 (N-(6-

aminohexyl)-5-chloro-1-naphthalene sulfonamide hydrochloride; 生化学工業) および TFP (trifluoperazine-2 HCl; Sigma Chem. Co., St Louis, MO, USA) を用いた。

B. 赤血球の分画

赤血球の比重差分画は、Percoll (Pharmacia Fine Chem., Uppsala, Sweden) を用い⁴²⁾、アングルローターで遠心分離した (10,000 rpm, 20 min, 20℃). Percoll の密度勾配形成により二層に分画され、各分画赤血球を緩衝液で3回洗浄した。分画比は Hb 濃度から求めた。

C. 血液学的指標

Ht は、毛細管ヘマトクリット遠心機 (久保田製作所, Model KH-20) を用い、赤血球は自動血球計算装置 (東亜医用電子, Model CC 110) を用いて測定した。Hb 濃度はシアノメトヘモグロビン法⁵³⁾により求めた。平均赤血球容積 (MCV) と平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCHC) は上記各測定値から算出した。

D. 赤血球形態

1% glutaraldehyde を含む等張 Na または K 緩衝液中で 25℃, 24 時間固定後、さらに 2% オスミウム酸で処理して、走査型電子顕微鏡 (SEM, 日立製作所, Model S-500) により観察した。CaM 阻害剤で処理した赤血球では、固定中に CaM 阻害剤が脱失するのを防ぐため、処理濃度と同濃度の CaM 阻害剤を含む固定液を用いた。

赤血球形態の指標としては、Bessis の分類⁵⁾に基づく Fujii et al.¹⁸⁾ の形態指数 (M. I., morphological index) を用い、外方突出 (echinocytosis) を正、内方陥没 (stomatocytosis) を負であらわし、100~150 個の赤血球についての平均値で示した。

E. 赤血球内スクレオチドの定量と酵素活性

一定量の赤血球から 10% トリクロル酢酸で有機リン酸塩を抽出後、トリクロル酢酸をエーテルで除去し、さらにエーテルを窒素気流下にて除いた³⁾。抽出物中のスクレオチド量は、陰イオン交換樹脂 (Permaphase AAX, 島津製作所; カラムサイズ 2.1 mm×100 cm) を用い、40℃で

高速液体クロマトグラフ (島津製作所, Model LC-3A) により分析した⁷⁾³¹⁾³³⁾。アデニレート のエネルギー荷電 (E. C., energy charge) は、 $EC = (2[ATP] + [ADP]) / 2([ATP] + [ADP] + [AMP])$ から求めた。

Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PDH) 活性は、G-6-PDH-UV テスト (Boehringer-Mannheim, F. R. G.)³⁰⁾ を用いて測定した。

F. 赤血球内総 Ca 量の測定

1. 赤血球処理: 赤血球試料を 20 倍量の等張食塩水で 4 回洗浄した後、遠心分離して濃縮赤血球浮遊液 (Ht ≈ 80%) とした。なお等張食塩水は超純水 (超純水製造装置, Culligan, 18MΩ 以上, Ca 含量; $0.13 \pm 0.03 \mu\text{M}$, $n=30$) に高純度 NaCl (Sodium chloride 99.9%, 松永化学工業) を溶解させた (等張食塩水の Ca 含量; $0.12 \sim 0.18 \mu\text{M}$)。濃縮赤血球浮遊液を超純水より作成した 20 倍量の 0.1 N HNO₃ (有害金属測定用, 和光純薬工業) で溶血 (30 min, 25℃) させ、15,000 rpm, 25 min 遠心し、その上清を Ca 量測定の試料とした⁴⁶⁾。

2. 原子吸光分析法: 分析にはフレイムレス原子吸光測定装置 (島津製作所, Model A 646) を用いた。標準添加法から Ca 濃度を算出する⁵¹⁾ ために、試料を 0.1 N HNO₃ で 5 倍希釈し、異なる既知の Ca 量 (0~200 ppb) を含む 0.1 N HNO₃ を加えて 2 倍希釈した。各試料について、パイロ化グラファイトチューブ内で乾燥、灰化後 (条件設定: 20~80℃, 20 秒; 80~120℃, 15 秒; 120~700℃, 10 秒; 1,200℃, 15 秒の順序), 2,400℃にて 6 秒間原子化を行ない 422.7 nm における吸光度を測定した⁴⁶⁾。添加 Ca 量と吸光度の関係から、最小二乗法による外挿を行ない赤血球内の総 Ca 含量を求めた。

G. 変形能の測定

倒立顕微鏡 (オリンパス光学, Model IMT) と透明円錐 (0.8°)-平板型粘度計 (東京計器, Model B), フラッシュ灯 (菅原製作所, Model MS-230) より構成されるレオスコープ⁴⁷⁾⁵⁰⁾ を用いた。Fig. 1, 上に装置模式図を示した。赤血球は、デキストラン (Dextran T-40, Phar-

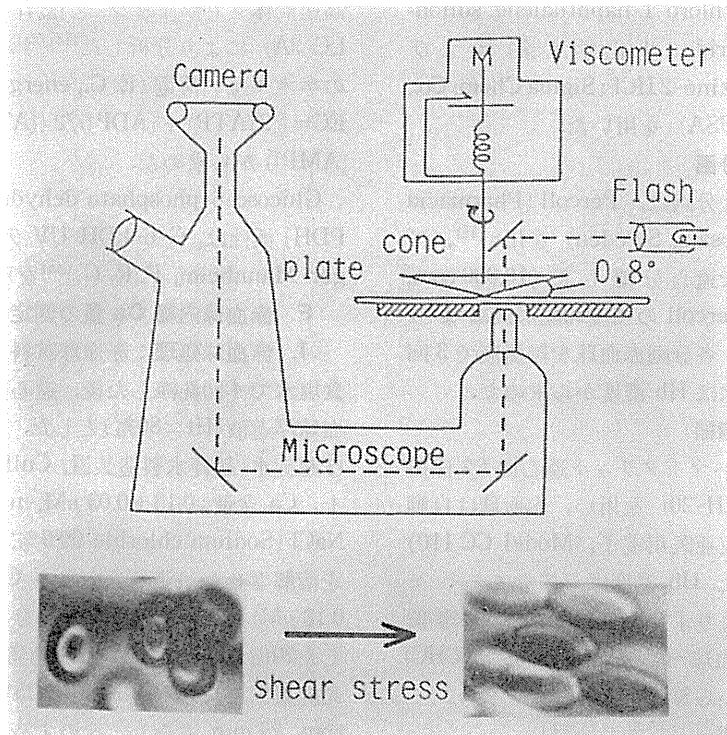


Fig. 1. Schematic diagram of rheoscope for the measurement of erythrocyte deformability. Flash photographs show erythrocyte deformation under uniform shear stress.

macia Fine Chem., Uppsala, Sweden) の14% (12 cP) または20% (19 cP) 溶液 (Na またはK 緩衝液で等張としたもの, pH=7.4) に浮遊させ, 25℃でずり速度75~750 sec⁻¹ の範囲, ずり応力では10~100 dyn/cm² で測定した. このずり応力の変動範囲は, 実測された血管内壁ずり応力の範囲にあり²⁹⁾, 血管内での状況に対応している.

等張K緩衝液中で Ca 負荷を行なうと, 赤血球容積はわずかに増加し (~3%), 内部粘度が減少する. そこで変形能測定前にあらかじめ各赤血球試料の MCHC を測定し, 試料間に差がある場合は, 対照赤血球試料の外液浸透圧を調節(275~285 mOsm の範囲)することによって, 変形能測定時に試料間の MCHC (すなわち赤血球内部粘度) が等しくなるようにした.

ずり応力下で楕円板状変形した赤血球のフラッシュ写真を撮影し, 長軸(L)と短軸(B)をコンピュータ(日本電気, Model PC-9801)に接続

したデジタイザグラフィック, Mitablot II)で読み取った. 変形の程度は変形指数(Deformation Index : D. I. = (L-B)/(L+B))で表現した. この変形指数(DI)は, 個々の赤血球については異なるが, 全体としては正規分布をなしているからその赤血球試料の変形能を反映している⁴⁴⁾. DIが大きい程, 赤血球は変形しやすいことをあらわす³²⁾⁵⁰⁾.

H. 浸透圧および Na⁺, K⁺ 濃度の測定

浸透圧は氷点降下法により測定した(Halb-micro-Osmometer, Knauer, Type M, F. R. G.). 赤血球内 Na⁺, K⁺ 濃度は, 赤血球を洗浄した後, 濃縮赤血球浮遊液(Ht>80%)とし, 超純水で溶血・希釈後, イオンメータ(東洋科学産業, Model PT-3D)と, Na⁺, K⁺ 選択性電極(Na⁺ 1100型, K⁺ 1200型)を用いて測定した.

I. 膜タンパクの電気泳動

膜タンパクの電気泳動は, 1% Sodium dodecyl sulfate 存在下で, 支持体として2mm

厚の4% polyacrylamide slab gel を用い、40mA にて4時間行なった。ゲルは、Coomassie brilliant blue R-250 で染色後、デンストメーター（島津製作所、二波長クロマトスキャナ、PC-910）を用いて各バンドの定量的測定を行なった³²⁾。

Ⅲ. 結 果

A. Ca 負荷赤血球および低 Ca 赤血球の性質

A 23187 を用いて、赤血球内 Ca 含量を変化させると、赤血球の形態学および生化学的性状が変化する。ただし、本研究では、Ca の赤血球変形能に及ぼす影響とくに赤血球膜の動的構築に与える影響を検討することが目的であるから、変形能を支配する他の因子（たとえば形態・赤血球内 Hb 濃度、エネルギー代謝など）に変動のないような試料を調製する必要がある。そこでまず A 23187 を用いて調製した Ca 負荷赤血球および低 Ca 赤血球について検討した。

1. Ca 量と赤血球容積：対照赤血球の Ca

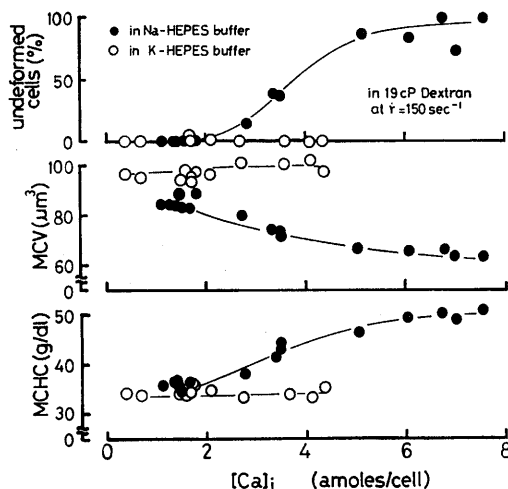


Fig. 2. Formation of undeformable cells upon Ca-loading in Na- and K-HEPES buffer, and the effect of Ca content on mean cell volume (MCV) and mean cell hemoglobin concentration (MCHC). Erythrocytes (Ht=20%) were incubated with A 23187 (1.5 μM), CaCl₂ (0 or 50 μM) and EGTA (30~1,000 μM).

Table 1. Na⁺ and K⁺ concentration in control and Ca-loaded erythrocytes prepared in K-HEPES buffer

	^a [Ca] _i μmoles/l packed cells (amoles/cell)	^b [Na ⁺] _i mM	^c [K ⁺] _i mM
control erythrocytes	18.3 (1.80)	5.4	125
Ca loaded erythrocytes	34.5 (3.42)	5.6	124

Incubation was carried out for 60 min at 37°C with gentle stirring (for details, see method).

a. [Ca]_i: intracellular calcium content

b. [Na⁺]_i: intracellular Na⁺ concentration

c. [K⁺]_i: intracellular K⁺ concentration

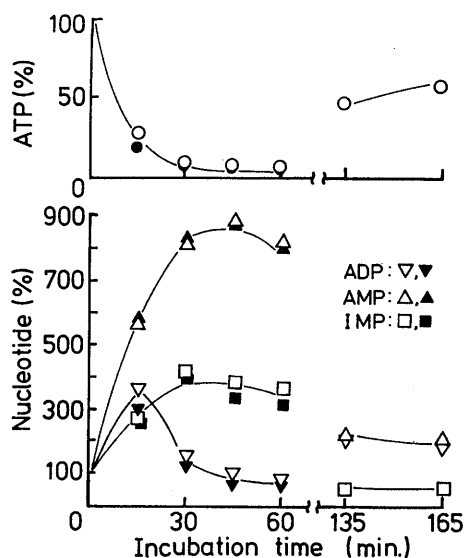


Fig. 3. Time course of nucleotides concentration. Erythrocytes (Ht=20%) were incubated with A 23187 (1.5 μM), CaCl₂ (50 μM) and EGTA (40 μM) in Na- (closed symbols) and K- (open symbols) HEPES buffer at 37°C for 60 min ($t=0\sim60$ min). After removing A 23187, the Ca-loaded erythrocytes were further incubated for 75 min to restore ATP content in K-HEPES buffer ($t=60\sim135$ min). Then the restored erythrocytes (Ht=10%) were treated with 30 μM W-7 for 30 min ($t=135\sim165$ min). ATP and nucleotides concentration were represented by the percentage of their original concentration at the beginning of incubation ($t=0$ min).

含量は、 $16.6 \pm 1.4 \mu\text{moles/l}$ packed cells ($n=20$) であり、O'Rear et al.⁴⁰⁾の報告に一致した。MCV との関係は、Fig. 2 に示すように等張 K 緩衝液中で Ca 負荷を行なったときは Ca 含量を 3 倍まで増加させても脱水はみられず、むしろ MCV はわずかに増加 ($\sim 3\%$) した。しかし、等張 Na 緩衝液中では Ca 含量の増加につれて脱水がおこり、MCV が著しく減少した (比較のため、Ref. 46 中の Fig. 2 を併せて示した)。低 Ca 赤血球 (Ca 含量: 対照赤血球の 1/4) では MCV の変化はみられなかった。

2. 赤血球内 Na^+ , K^+ 濃度: 等張 K 緩衝液を用いて Ca 負荷を行ない Ca 負荷前後の赤血球内 Na^+ , K^+ 濃度を比較した。Table 1 に示すように、その差は検出限界 ($[\text{Na}^+] > 0.3 \text{ mM}$, $[\text{K}^+] > 2 \text{ mM}$) 以下であった。すなわち等張 K 緩衝液中で Ca 負荷を行なったとき、Gardos 効果²⁰⁾はみられなかった。

3. エネルギー代謝: Ca 負荷時の ATP 変化を Fig. 3 上、に示した。等張 Na, K 緩衝液いずれも Ca 負荷開始の 15 分後には ATP 濃度が急激に低下して初濃度の 20~30% になり、60 分後には 10% に減少した。Table 2 に示すように

赤血球内 Ca 含量の増加がわずかであっても ATP 消費量は大きい。ATP 以外のヌクレオチド濃度を Fig. 3 下、に示した。ADP は一時的に増加するがやがて減少した。AMP は 9 倍に増加するだけでなく、IMP もふえていた。またエネルギー荷電 (E. C.) も ATP の減少に対応して減少した (Table 2)。

等張 K 緩衝液中で作成した Ca 負荷赤血球を、A 23187 と Ca を除去後、再度インキュベート (75 min, 37°C) すると ATP はもとのレベルの 55% まで再生産され、エネルギー荷電はもとのレベルにもどった。低 Ca 赤血球と対照赤血球では ATP の変化はみられなかった。

4. 形態: Fig. 4 (a), (b) に示すように Ca 負荷操作により赤血球の形態は有棘金米糖状となった。これは ATP 量の低下によるものと思われる。ATP 回復操作 (75 min インキュベーション, 37°C) を行なうと Fig. 4 (b) のように形態は正常な円板状に復元した。

5. 膜タンパク: Ca 過負荷により活性化された transglutaminase は膜タンパクを重合化させる¹²⁾。しかし、今回の Ca 負荷量は軽度であり、polyacrylamide slab gel 電気泳動で膜

Table 2. Properties of calcium-loaded erythrocytes prepared in Na-and K-HEPES buffer by incubation with A 23187, CaCl_2 and EGTA.

	A 23187	CaCl_2	EGTA	$^a[\text{Ca}]_i$		^bMCV	$^c[\text{Hb}]_i$	Nucleotides				$^e\text{E. C.}$	
								[ATP]	[ADP]	[AMP]	[IMP]	$^d\text{Total}$	
	(μM)	(μM)	(μM)	*	**	(μm^3)	(g/dl)	(amoles/cell)					
Na-HEPES buffer	0	0	0	18.6	1.72	92.4	36.8	135.4	16.4	1.3	1.8	153.1	0.94
	1.5	50	46	50.9	3.56	70.0	49.0	6.9	6.6	13.6	7.4	27.1	0.39
	1.5	50	40	62.0	4.20	67.8	50.6	7.8	7.2	12.9	7.3	27.9	0.40
K-HEPES buffer	0	0	0	18.6	1.72	92.4	35.1	114.2	17.7	1.6	2.2	133.5	0.92
	1.5	50	46	18.9	1.81	96.1	33.8	13.5	11.5	13.6	7.0	38.6	0.50
	***	1.5	50	39.4	3.81	96.8	33.5	10.5	8.7	14.7	8.6	33.9	0.44
after incubation ^f				39.2	3.79	96.8	33.5	66.0	25.2	3.7	0.9	94.9	0.83

The washed erythrocytes were incubated for 60 min at 37°C with gentle stirring (for details, see method).

a. $[\text{Ca}]_i$: intracellular calcium content; * $\mu\text{moles/l}$ packed cells, ** amoles/cell

b. MCV: mean cell volume.

c. $[\text{Hb}]_i$: mean cell hemoglobin concentration.

d. Total adenylates = $[\text{ATP}] + [\text{ADP}] + [\text{AMP}]$

e. Energy charge = $(2[\text{ATP}] + [\text{ADP}]) / (2[\text{ATP}] + [\text{ADP}] + [\text{AMP}])$

f. Sample from *** was further incubated in K-HEPES buffer for 75 min at 37°C .

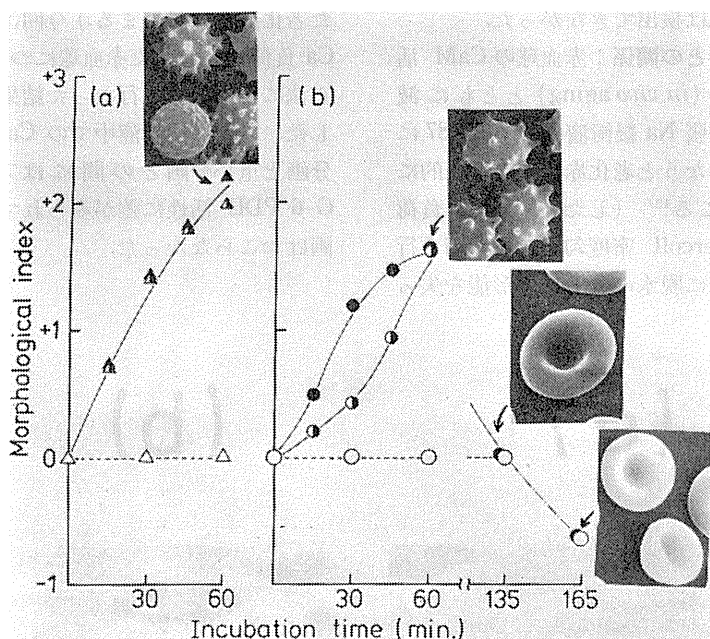


Fig. 4. Morphological changes of erythrocytes during Ca-loading, the restoration of shape and the effect of CaM inhibitor. (a) After Ca-loading in Na-HEPES buffer, intracellular Ca contents were increased to 18.6 (Δ), 50.9 ($\blacktriangle$), and 62.0 ($\blacktriangle$) (μ moles/l packed cells), respectively. (b) After Ca-loading, the restoration of shape and the treatment of 30 μ M W-7 were performed in K-HEPES buffer. Ca contents were 18.6 ($\bigcirc$), 18.9 ($\bullet$) and 39.4 ($\bullet$) (μ moles/l packed cells), respectively.

Table 3. Properties of erythrocytes fractionated by the density gradient centrifugation with Percoll (75.4%), after calcium loading in K-HEPES buffer.

	^a [Ca] _i	^b MCV	^c [Hb] _i	^d Nucleotides				^e Total	^f E. C.	^g G 6 PDH
	[ATP]	[ADP]	[AMP]	[IMP]						
Before incubation	17.6	91.7	36.6	1.54	0.20	0.02	0.06	1.76	0.93	
After incubation										
Control	17.6	92.4	36.4	1.27	0.18	0.02	0.05	1.47	0.92	116
light fraction (3 %)	—	94.2	35.3	1.26	0.17	0.03	0.06	1.46	0.92	186
heavy fraction (97%)	—	88.7	38.2	1.28	0.16	0.03	0.04	1.47	0.92	136
Ca loaded	27.8	98.6	34.1	0.11	0.09	0.22	1.30	0.42	0.37	187
light fraction (23%)	—	96.9	35.8	0.24	0.24	0.16	0.91	0.64	0.56	188
heavy fraction (77%)	—	94.2	36.8	0.25	0.27	0.18	0.89	0.70	0.55	187

Incubation was carried out for 60 min at 37°C with gentle stirring (for details, see method).

a. [Ca]_i: intracellular calcium content (μ moles/l packed cells).

b. MCV: mean cell volume (μ m³).

c. [Hb]_i: mean cell hemoglobin concentration (g/dl).

d. Nucleotides (μ moles/l packed cells)

e. Total adenylates=[ATP]+[ADP]+[AMP]

f. Energy charge=(2 [ATP]+[ADP])/2([ATP]+[ADP]+[AMP])

g. The activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase (mmoles/10⁹ erythrocytes)

タンパクの重合化は検出できなかった。

6. 赤血球加齢との関係：赤血球の CaM 活性は赤血球の加齢 (*in vivo* aging) とともに減少する¹⁶⁾。また等張 Na 緩衝液中で A 23187 による Ca 負荷を行なうと老化赤血球に優先的に Ca 取り込みがおこる⁴⁶⁾。(したがって Ca 負荷赤血球に対し, Percoll 密度勾配遠心分画を行なうと, 重い分画に脱水の著しい変形能を失っ

た老化赤血球が集まる。) 今回, 等張 K 緩衝液で Ca 負荷を行なった赤血球について密度勾配遠心法による分画を行なった結果を Table 3 に示した。等張 K 緩衝液中での Ca 負荷では, 軽い分画と重い分画との間にはアデニレート量・G-6-PDH 活性に差がみられず, 加齢による分画はおこらなかった。

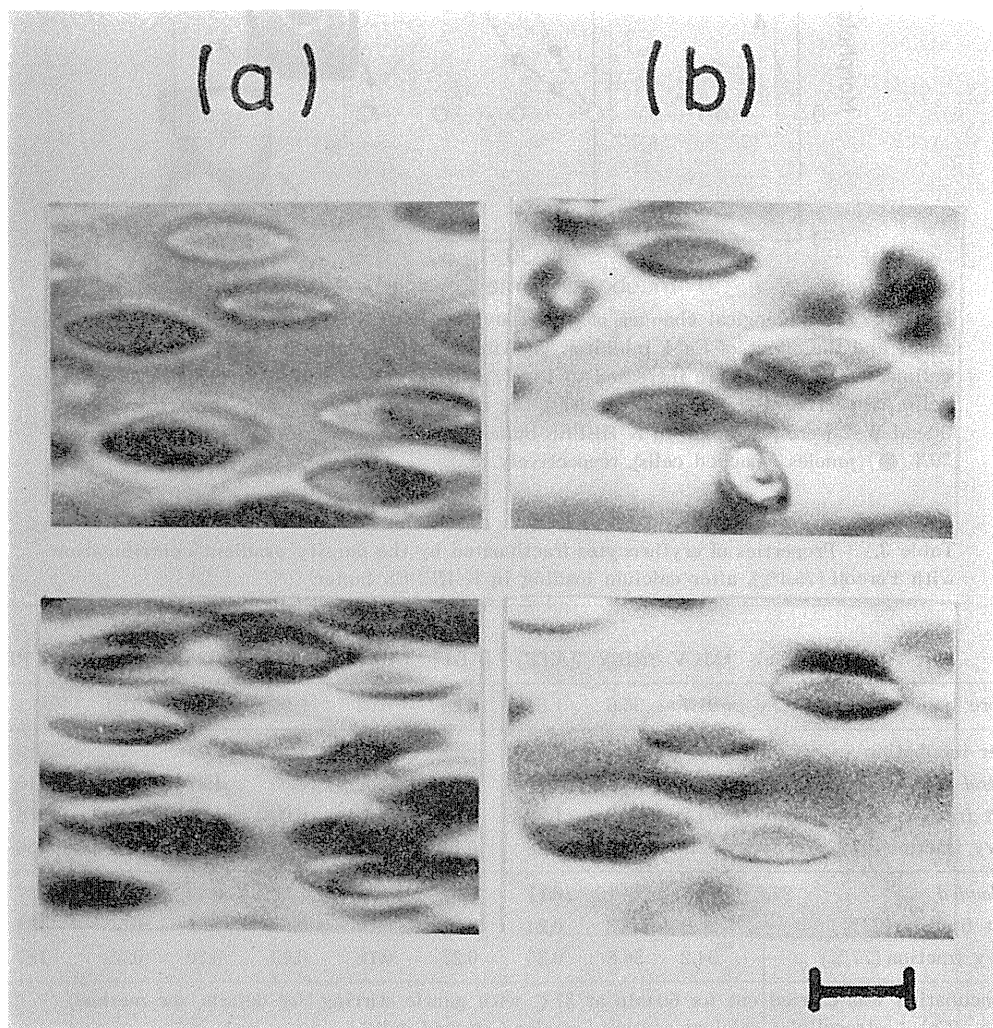


Fig. 5. Flash photographs of erythrocyte deformation. After Ca-loading into erythrocytes in Na-(upper) or K-(lower) HEPES buffer, erythrocyte deformation was observed at the rate of 750 sec^{-1} in 20% Dextran (19 cP). Upper: Na-HEPES buffer (a) control cells; $[\text{Ca}]_i = 16.3$, $[\text{Hb}]_i = 36.4$, (b) Ca-loaded cells; $[\text{Ca}]_i = 44.6$, $[\text{Hb}]_i = 41.5$. Lower: K-HEPES buffer (a) control cells; $[\text{Ca}]_i = 17.0$, $[\text{Hb}]_i = 35.6$, (b) Ca-loaded cells; $[\text{Ca}]_i = 47.0$, $[\text{Hb}]_i = 35.4$. $[\text{Ca}]_i$; total Ca content ($\mu\text{moles/l}$ packed cells), $[\text{Hb}]_i$; mean cell hemoglobin concentration (g/dl). The scale indicates $10 \mu\text{m}$.

B. Ca 負荷赤血球および低 Ca 赤血球の変形態

等張 Na 緩衝液中で Ca 負荷すると、内部粘度の上昇によりまったく変形できない赤血球（とくに老化赤血球）が出現した。一方、等張 K 緩衝液中で調製した赤血球はすべて高ずり応力下で楕円板状に変形した (Fig. 2, 上). このときのレオスコープ写真を Fig. 5 に示した ((b) 上; 等張 Na 緩衝液, (b) 下; 等張 K 緩衝液中でおのおの Ca 負荷を行なった赤血球, (a) は対照赤血球).

赤血球内 Ca 含量と高ずり応力変形の関係を Fig. 6 に示した. 変形態測定時の試料の MCV, MCHC はおのおの $MCV=98.6 \pm 2.34 \mu\text{m}^3$ ($n=14$), $MCHC=33.9 \pm 0.46 \text{ g/dl}$ ($n=14$) と一定であった. 赤血球内 Ca 含量が対照赤血球の約 1.5 倍をこえると変形指数 (DI) が有意に減少し変形態の低下を認めた (Student's *t*-test で $p < .001$). さらに Ca 含量を正常の約 3 倍に増加させても変形態低下の程度は変わらなかった. 他

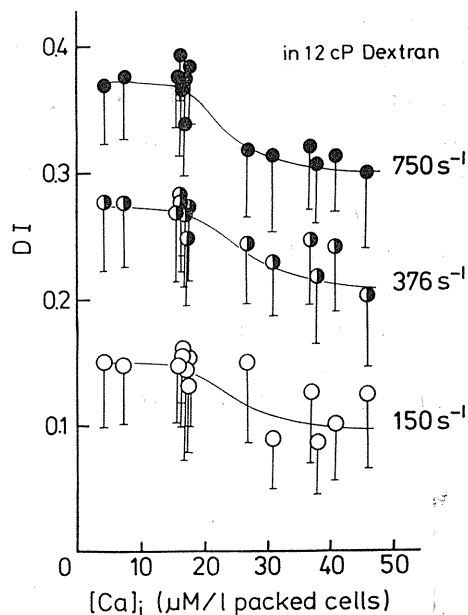


Fig. 6. Changes of the deformability as a function of intracellular Ca content. Deformation (D. I.) were measured in 14% Dextran (12 cP) at the shear rate of 150 (○), 376 (◐) and 750 (●) sec^{-1} .

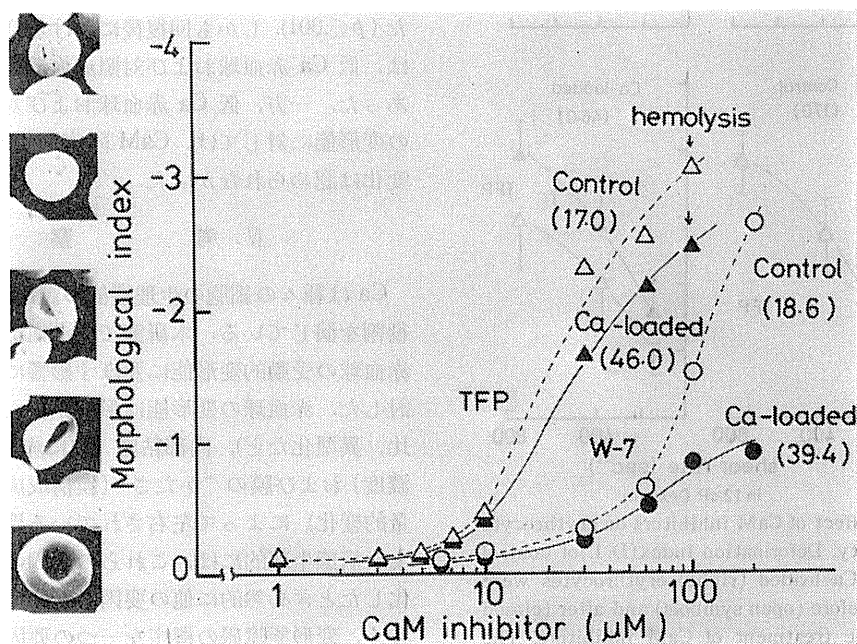


Fig. 7. Morphological changes of erythrocytes by calmodulin inhibitors. Control (open symbols) and ATP restored Ca-loaded erythrocytes (closed symbols) were treated with various concentration of W-7 (○, ●) or TFP (△, ▲). Values in parentheses show intracellular Ca content ($\mu\text{moles/l}$ packed cells).

方、低 Ca 赤血球と対照赤血球との間では、変形能の差は認められなかった。

C. 赤血球に対する CaM 阻害剤の影響

1. 形態に対する影響：一般に CaM 阻害剤は赤血球の内方陥没 (stomatocytosis) をひきおこす²⁶⁾³⁷⁾。Fig. 7 に示すように、CaM 阻害剤 (W-7 と TFP) の濃度を増すと内方陥没化がすすむが、その効果は TFP の方が W-7 よりも大きい。また Ca 負荷赤血球では対照赤血球に比べて形態変化が起こり難いことがわかった。

内方陥没化が進んで赤血球の球状化がおこる

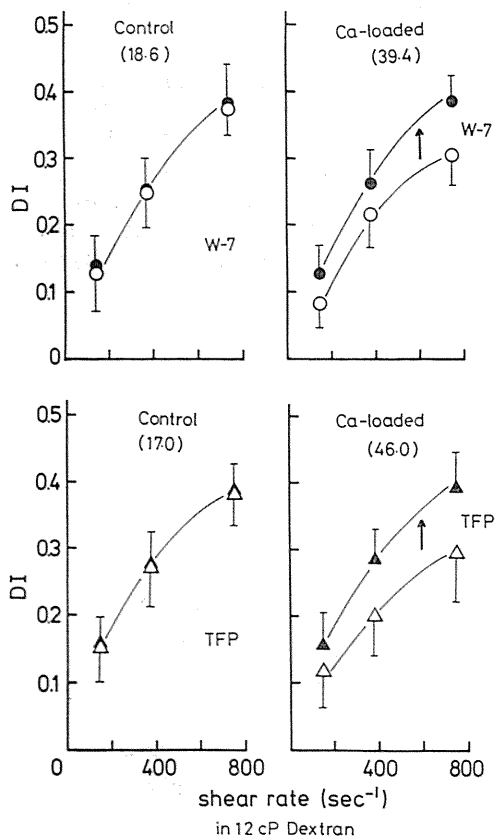


Fig. 8. Effect of CaM inhibitors on erythrocyte deformability. Deformation index (D.I.) of control (left) and Ca-loaded (right) erythrocytes were measured before (open symbols) and after (closed symbols) the treatment of CaM inhibitors. The treatment of CaM inhibitors were performed with $30 \mu\text{M}$ W-7 (top) or $7 \mu\text{M}$ TFP (bottom). Values in parentheses show intracellular Ca content ($\mu\text{moles/l}$ packed cells).

と、ずり応力を与えても楕円板変形をしなくなり (楕円体となる)、変形能を比較することが困難となる⁵⁰⁾。このため CaM 阻害剤の用量としては、楕円板変形ができる範囲の形態変化にとどめ、かつ赤血球内 Ca 含量と無関係に同程度の形態変化をおこす濃度を選んだ (W-7; $30 \mu\text{M}$, TFP; $7 \mu\text{M}$)。 $30 \mu\text{M}$ W-7 で処理したときの赤血球形態を Fig. 4 (b), $t=165 \text{ min}$ に示した。

2. 赤血球内 Ca 含量に対する影響：等張 K 緩衝液中で Ca 負荷後、形態および ATP 含量を回復させた赤血球に W-7 あるいは TFP を加えて等張 K 緩衝液中で処理 (75 min , Ht 10%, 37°C) したが、処理前後の赤血球内 Ca 含量に差は認められなかった。

3. 変形能に対する影響：レオスコープ法により変形能を測定するさいには、デキストラン溶液中に、処理したときと同じ濃度の CaM 阻害剤をそれぞれ加えた。Fig. 8 に示したように、Ca 負荷により変形能が低下していた赤血球では、CaM 阻害剤処理後有意に変形能は回復した ($p < .001$)。しかも回復後における変形の程度は、低 Ca 赤血球および対照赤血球と同程度であった。一方、低 Ca 赤血球および対照赤血球の変形能に対しては、CaM 阻害剤処理による変化は認められなかった。

IV. 考 察

Ca は種々の細胞の生理機能の調節に重要な役割を演じている。本研究では赤血球内 Ca が赤血球の受動変形能に及ぼす影響について検討した。赤血球の変形能は形態 (表面積/容積比, 異型化など)、内部粘度 (主に赤血球内 Hb 濃度) および膜の“かたさ” (膜構成成分の質的量的変化) によって左右されている¹⁰⁾³⁵⁾³⁹⁾⁴¹⁾。

また病態生理的には、これらの要因の一つが変化したとき必然的に他の要因も変化する事が多く、変形能障碍の機序を一つの要因のみに求め解明することはきわめて難しい。今回はこの点に注意して、赤血球内 Ca 含量だけを変化させ、可能な限り他の要因を変動させない試料を

調製した。

A. Ca 負荷赤血球の調製について

赤血球内 Ca 含量を人工的に変化させるためには、Ca-ionophore (A 23187) が用いられている。しかし、従来の方法では、(i) K^+ と水の脱失により、MCV の減少と内部粘度の上昇がおこること、(ii) 形態が金米糖状に変化すること、(iii) 負荷された Ca を汲み出すさいに ATP が大量に消費されることなど²⁾¹⁵⁾²⁰⁾²⁷⁾⁴⁶⁾ の理由から変形能を測定してもそれぞれの要因を独立に考えることはできない。すなわち Ca の赤血球変形能に及ぼす真のメカニズムをとらえることができない。

Gardos²⁰⁾, Dreher & Eaton¹⁴⁾ は、Ca 負荷時に反応液中の K^+ イオンを増加させておくことと赤血球からの K^+ と水との脱出を抑制できることを報告した。今回の Ca 負荷赤血球調製法の特長は、まず等張 K 緩衝液を用いて脱水を防ぎ (Fig. 2), さらに Ca 負荷操作後にグルコースを含む等張 K 緩衝液でさらにインキュベートすることにより、金米糖状になった形態を完全に回復できたこと (Fig. 4) にある。これは ATP 量の回復 (もとのレベルの 60% 前後) とエネルギー荷電の正常化 (Fig. 3, Table 2) によるところが大きいと思われる。なおこの操作中に蓄積されていた赤血球内 Ca 含量はわずかに減少した (5% 以下)。この調製法によって変形能の支配因子のうち Ca 含量以外の因子については同一条件で変形能を比較でき、変形能に対する膜の“かたさ”の関与と、膜の“かたさ”に与える Ca の影響をみる事が可能となった。

B. エネルギー代謝について

A 23187 を用いて Ca 負荷を行なうと ATP が消費される¹⁴⁾¹⁵⁾²⁷⁾。これは赤血球が負荷される Ca を Ca-pump によって汲み出すために ATP を消費するからである⁹⁾。ATP は Ca 負荷直後から低下し始め (Fig. 3), エネルギー荷電を指標にすると ATP 消費が ATP 補給を上廻っている。さらに IMP が増加していることから、アデニン核の脱アミノ化も進行していることがわかる。また ATP 回復操作によっても

総アデニレート量は完全にもどらないことから、大量の ATP が Ca 汲み出しのエネルギー源として使われているほか、AMP の脱リン酸化と脱アミノ化がすすみ、さらに一部はヒポキサンチン・キサンチン・尿酸へと移行して赤血球外に脱失するものと推測される²⁸⁾³³⁾。

C. 変形能低下の機序について

ATP が枯渇すると赤血球は有棘化し³⁶⁾、変形能は低下する⁵⁴⁾。一方、正常の 50% まで ATP が低下しても赤血球変形能に対する影響はないことが確められている¹⁷⁾³³⁾。今回の方法では、レオスコープ測定時には形態は完全に回復し、また赤血球内 ATP レベルは正常値の 60% 前後である。したがって変形能を比較するうえで ATP はとくに問題にならない。これはエネルギー荷電が正常に回復していることと関係するかもしれない³³⁾。

低 Ca 赤血球と対照赤血球とでは変形能に差はみられないが、Ca 含量が増加して対照赤血球の 1.5 倍をこえるところから変形能の低下がみられた。内部粘度 (MCHC) は一定としたので、Ca 含量の増加に伴う変形能の低下は赤血球膜がかたくなったことに起因するものと考えられる。

赤血球膜の動的構築を制御するメカニズムはまだよくわかっていない。in vitro 実験において、Sobue et al.⁴⁸⁾⁴⁹⁾ は、Ca-CaM 複合体が尿素存在下で spectrin に結合することをはじめで示した。最近では尿素を含まない場合でも spectrin に Ca-CaM 複合体が結合することが確認された⁶⁾⁸⁾²³⁾。また、Ca-CaM 複合体が band 4.1 にも強く結合するとの報告もある。²⁴⁾ 赤血球内部でこのような Ca-CaM 複合体と赤血球膜タンパクとの相互作用がおこれば、赤血球内 Ca 含量の増加は Ca モジュレーターである CaM を介して細胞骨格構造に動的変化をひきおこしてくる可能性がある⁵²⁾。このほか、他の CaM 結合タンパク¹⁹⁾、あるいは spectrin kinase のような Ca-CaM 依存性リン酸化酵素³⁸⁾、も関与しているかもしれない。ただし、spectrin リン酸化の影響を否定する報告もあり¹⁾、その詳細

は今後の問題である。

赤血球変形能のずり速度依存性をみたとき、Ca 蓄積による変形能の低下は diamide 処理によって spectrin を重合化させたときの変形能低下の状況とよく類似している。Maeda et al.³²⁾は人工的に spectrin を重合 (S-S linkage) させたときの重合度%と変形能低下との関係を示した (比較のため Ref. 32中の Fig. 4 (A) を併せて示した)。これと Ca 負荷による変形能低下の程度を対応させてみると、Fig. 9 のように

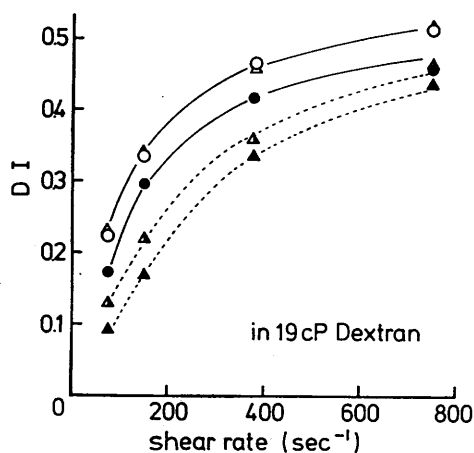


Fig. 9. Shear rate dependence of deformability of Ca-loaded and diamide-treated erythrocytes. Deformation indices (D.I.) were measured in 20% Dextran T-40 at 25°C under various shear rate. The dotted lines show D.I. of erythrocytes treated with 0 mM (Δ), 0.4 mM ($\blacktriangle$) and 0.8 mM ($\blacktriangle$) diamide, respectively. The degree of spectrin crosslinking determined by electrophoresis was 0, 4 and 9% respectively which are represented by % loss of band 2 (see Fig. 4 (A) of Ref. 32). The solid lines show D.I. of control ($\circ$) and Ca-loaded ($\bullet$) erythrocytes. Ca content of control and Ca-loaded erythrocyte was 17.0 and 46.0 μ moles/l packed cells, respectively.

赤血球内 Ca 含量が正常の約 2.5 倍のときの変形能低下の程度は、spectrin 重合度の 2%程度のもに相当している。したがって Ca 含量増加に伴う変形能低下の程度は、従来の方法で膜を人工的に硬化させた場合 (たとえば glutaraldehyde による) と比較すると軽度である。

D. CaM 阻害剤の影響について

1. 赤血球形態への影響: CaM 阻害剤は赤血球を内方陥没化させる。これは Sheetz & Singer⁴⁵⁾の仮説では薬剤が脂質二重膜の内側により多く取り込まれるためと説明される。しかし、CaM 阻害剤が赤血球内 CaM に作用して形態変化に影響を与えている可能性も示唆されている²⁶⁾³⁷⁾。Fig. 7 に示すように、CaM 阻害剤の赤血球形態への影響は Ca 負荷赤血球ではむしろ減少している。すなわち、CaM 阻害剤のような薬物は脂質二重膜および細胞質内の両方に取り込まれるので、Ca 負荷赤血球の形態に対する CaM 阻害剤の影響を直ちに骨格タンパクと Ca-CaM 複合体の結合阻害によるものと断定することはできない。Ca-CaM 複合体と骨格タンパクとの間の相互作用が機能上の変化をおこしているかどうか問題である。

2. 赤血球変形能への影響: CaM 阻害剤は Ca-CaM 複合体に結合して、Ca-CaM 依存性酵素 (Ca^{2+} -ATPase, phosphodiesterase など) の活性を阻害することはよく知られている²²⁾²⁵⁾⁴³⁾⁵⁵⁾。また *in vitro* 実験では、赤血球膜骨格タンパク (spectrin および band 4.1) と Ca-CaM 複合体との結合が CaM 阻害剤により抑制されたとの報告がある⁸⁾²⁴⁾。Fig. 8 で示したように、変形能の低下した Ca 負荷赤血球に低濃度の CaM 阻害剤処理 (形態変化をほとんどおこさない程度) を行なうと、Ca 負荷赤血球の変形能は回復した。これは Ca-CaM 複合体に CaM 阻害剤が結合し、Ca 負荷赤血球の骨格タンパク構築の変化を回復させたものと考えられる。一方低 Ca 赤血球および対照赤血球では、変形能に対する CaM 阻害剤の影響は認められなかった。日高²²⁾、Sobue et al.⁴⁹⁾田中たち⁵²⁾によれば、CaM に Ca が結合し活性化がおこって骨格タンパクに結合するには、 10^{-6} ~ 10^{-5} M 程度の遊離 Ca^{2+} 濃度を必要とする。またヒト正常赤血球内遊離 Ca^{2+} 濃度は、 10^{-7} ~ 10^{-6} M である (Bennett⁴¹⁾)。したがって Berglund et al.⁶⁾が示唆したように、正常赤血球内の遊離 Ca^{2+} 濃度では CaM を活性化するには十分でない

め、CaM は活性化されておらず、骨格タンパクとも結合していないのであろう。以上のことは対照赤血球、低 Ca 赤血球の変形能が CaM 阻害剤の影響をうけなかったことの一つの説明となる。

V. お わ り に

Ca 負荷赤血球、低 Ca 赤血球、およびおのおの対照赤血球を調製し、赤血球内 Ca 含量が増加するにつれて変形能が低下することを示した。さらに CaM 阻害剤が Ca 負荷によって低下した赤血球変形能を回復させることを見出した。以上のことから、赤血球内 Ca 含量の増加に伴う変形能低下の機序として、増加した Ca が赤血球膜骨格タンパクと Ca-CaM 複合体との相互作用を介して、細胞骨格の動的構造に何らかの影響を与え、変形能を調節していることを示した。

謝 辞

稿を終えるにあたり、懇切なる御指導を賜りました志賀 健教授に心から感謝します。また終始適切なご教示・ご協力を頂いた前田信治助教授、昆和典講師、岡寄正治博士、関谷美鈴薬学士ならびに走査電顕標本作成にご協力下さった清水大三郎技官に深く感謝します。

References

- 1) Anderson, J. M. & Tyler, J. M. (1980) State of spectrin phosphorylation does not affect erythrocyte shape or spectrin binding to erythrocyte membranes. *J. Biol. Chem.* **255**, 1259-1265
- 2) Anderson, R. A. & Lovrien, R. E. (1981) Erythrocyte membrane sidedness in lectin control of the Ca^{2+} -A 23187-mediated discocyte $\rightleftharpoons$ echinocyte conversion. *Nature* **292**, 158-161
- 3) Bartlett, G. R. (1968) Phosphorus compounds in the human erythrocyte. *Biochim. Biophys. Acta* **156**, 221-230
- 4) Bennett, V. (1985) The membrane skeleton of human erythrocytes and its implications for more complex cells. *Ann. Rev. Biochem.* **54**, 273-304
- 5) Bessis, M. (1973) Living blood cells and their ultrastructure, Experimental changes in the shape of erythrocytes. Springer-Verlag, New York, 146-155
- 6) Berglund, Å., Backman, L. & Shabbag, V. P. (1984) Calmodulin binding to human spectrin. *FEBS Lett.* **172**, 109-113
- 7) Brown, P. S. (1970) The rapid separation of nucleotides in cell extracts using high-pressure liquid chromatography. *J. Chromatog.* **52**, 257-272
- 8) Burns, N. R. & Gratzer, W. B. (1985) Interaction of calmodulin with the red cell and its membrane skeleton and with spectrin. *Biochemistry* **24**, 3070-3074
- 9) Carafoli, E. (1984) Calmodulin-sensitive calcium-pumping ATPase of plasma membranes: isolation, reconstitution, and regulation. *Fed. Proc.* **43**, 3005-3010
- 10) Chien, S. (1975) Biophysical behavior of red cells in suspensions. In: Surgenor, D. M. *The Red Blood Cell*, vol. 2, 2nd Ed, Academic Press, New York, 1031-1133
- 11) Clark, M. R., Mohandas, N., Feo, C., Jacobs, M. S. & Shohet, S. B. (1981) Separate mechanisms of deformability loss in ATP-depleted and Ca-loaded erythrocytes. *J. Clin. Invest.* **67**, 531-539
- 12) Coetzer, T. L. & Zail, S. S. (1979) Cross-linking of membrane proteins of metabolically-depleted and calcium-loaded erythrocytes. *Brit. J. Haematol.* **43**, 375-390
- 13) Cohen, C. M. (1983) The molecular organization of the red cell membrane skeleton. *Seminars Hematol.* **20**, 148-158
- 14) Dreher, K. L., Eaton, J. W., Kuettner, J. F., Breslawec, K. P., Blackshear, P. L. & White, J. G. (1978) Retention of water and potassium by erythrocytes prevents calcium-induced membrane rigidity. *Am. J. Pathol.* **92**, 212-226
- 15) Dreher, K. L. & Eaton, J. G. (1980) Calcium-induced erythrocyte rigidity: the roles of cellular metabolism, hydration, and ionic balance. *Am. J. Pathol.* **101**, 543-556
- 16) Ekholm, J. E., Shukla, S. D. & Hanahan, D. J. (1981) Change in cytosolic calmodulin activity of density (age) separated human erythrocytes towards membrane $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ ATPase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **103**, 407-413
- 17) Feo, C. & Mohandas, N. (1977) Clarification of role of ATP in red cell morphology and function. *Nature* **265**, 166-168
- 18) Fujii, T., Sato, T., Tamura, A., Watafsuki, M. & Kanaho, Y. (1979) Shape changes of human erythrocytes induced by various amphipathic drugs acting on the membrane of the intact cells. *Biochem. Pharmacol.* **28**, 613-620
- 19) Gardner, K. & Bennett, V. (1986) A new erythrocyte membrane-associated protein with calmodulin binding activity. *J. Biol. Chem.* **261**,

- 1339-1348
- 20) Gardos, G. (1958) The function of calcium in the potassium permeability of human erythrocytes. *Biochim Biophys. Acta* **30**, 653-654
 - 21) Harafuji, H. & Ogawa, Y. (1980) Re-examination of the apparent binding constant of ethylene glycol bis (β -aminoethyl ether)-N, N, N', N'-teraacetic acid with calcium around natural pH. *J. Biochem. (Tokyo)* **87**, 1305-1312
 - 22) 日高弘義 (1982) カルモデュリン薬理学とその応用. 蛋白質, 核酸, 酵素 **27**, 2393-2402
 - 23) Husain, A., Howlett, G. J. & Sawyer, W. H. (1984) The interaction of calmodulin with human and avian spectrin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **122**, 1194-1200
 - 24) Husain, A., Howlett, G. J. & Sawyer, W. H. (1985) The interaction of calmodulin with erythrocyte membrane proteins. *Biochem. Int.* **10**, 1-12
 - 25) Kawasaki, H., Itoh, S., Kasai, H., Mitsui, Y., Iitaka, Y., Nakanishi, M. & Okuyama, T. (1985) Crystallization of calcium-calmodulin-trifluoperazine complex and an attempt at crystallizing calcium-free calmodulin. *J. Biochem. (Tokyo)* **97**, 1815-1818
 - 26) Kidoguchi, K., Hayashi, A., Sobue, K., Kakiuchi, S. & Hidaka, H. (1982) A possible involvement of calmodulin-spectrin interaction in the regulation of erythrocyte shape: A study with calmodulin antagonists. In: Kakiuchi, S., Hidaka, H., and Means, A. R., *Calmodulin and intracellular Ca^{++} receptors*, Plenum Press, New York, 438-439
 - 27) Kirkpatrick, F. H., Hillman, D. G. & La Celle, P. L. (1975) A 23187 and red cells: Changes in deformability, K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} and ATP. *Experientia* **31**, 653-654
 - 28) Lew, V. L. & Garcia-Sancho, J. (1985) Use of the ionophore A 23187 to measure and control cytoplasmic Ca^{2+} levels in intact red cells. *Cell Calcium*, **6**, 15-23
 - 29) Lipowsky, H. H., Kovalcheck, S. & Zweifach, B. W. (1978) The distribution of blood rheological parameters in the microvasculature of cat mesentery. *Circ Res.* **43**, 738-749
 - 30) Lohr, G. W. & Waller, H. D. (1974) Glucose-6-phosphate dehydrogenase In: Bergmeyer, H. U., *Methods of enzymatic analysis*, 2nd Ed. vol. 2, Verlag Chemie Weinheim and Academic press, Inc., New York, 636-641
 - 31) Maeda, N., Kon, K., Sekiya, M. & Shiga, T. (1980) Functional restoration of ACD-blood by pyridoxal 5'-phosphate. *Brit. J. Haematol.* **45**, 467-480
 - 32) Maeda, N., Kon, K., Imaizumi, K., Sekiya, M. & Shiga, T. (1983) Alteration of rheological properties of human erythrocytes by crosslinking of membrane proteins. *Biochim. Biophys. Acta* **735**, 104-112
 - 33) Maeda, N., Kon, K., Sakiya, M. & Shiga, T. (1986) Increase of ATP level in human erythrocytes induced by S-adenosyl-L-methionine. *Biochem. Pharmacol.* **35**, 625-629
 - 34) Mohandas, N. & Shohet, S. B. (1978) Control of red cell deformability and shape, *Current Topics Hematol.* **1**, 71-125
 - 35) Mohandas, N., Chais, J. A. & Shohet, S. B. (1983) The influence of membrane material properties and shape. *Seminars Hematol.* **20**, 225-242
 - 36) Nakao, M., Nakao, T. & Yamazoe, S. (1960) Adenosine triphosphate and maintenance of shape of the human red cells. *Nature* **187**, 946-947
 - 37) Nelson, G. A., Andrews, M. L. & Karnovsky, M. J. (1983) Control of erythrocytes shape by calmodulin. *J. Cell Biol.* **96**, 730-735
 - 38) Nelson, M. J., Daleke, D. L. & Huestis, W. H. (1982) Calmodulin-dependent spectrin kinase activity in resealed human erythrocyte ghosts. *Biochim. Biophys. Acta* **686**, 182-188
 - 39) Oka, S. (1981) Red cell deformability. In: *Cardiovascular Hemorheology*, Chap. 4, Cambridge University Press, Cambridge, 67-86
 - 40) O'Rear, E. A., Udden, M. M., McIntire, L. V. & Lynch, E. C. (1982) Reduced erythrocyte deformability associated with calcium accumulation. *Biochim. Biophys. Acta.* **691**, 274-280
 - 41) Palek, J. & Liu, S-C. (1979) Dependence of spectrin organization in red blood cell membrane on cell metabolism: Implication for control of red cell shape, deformation, and surface area. *Seminars Hematol.* **16**, 75-93
 - 42) Pertoft, H., Laurent, T. C., Låås, T. & Kågedal, L. (1978) Density gradient prepared from colloidal silica particles coated by polyvinylpyrrolidone (Percoll). *Anal. Biochem.* **88**, 271-282
 - 43) Sarkadi, B., Enyedi, A., Nyer, A. & Gardos, G. (1982) The function and regulation on the calcium pump in the erythrocyte membrane. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **402**, 329-348
 - 44) Schmid-Schönbein, H. & Wells, R. (1969) Fluid drop-like transition of erythrocytes under shear. *Science* **165**, 288-291
 - 45) Sheetz, M. P. & Singer, S. J. (1974) Biological membranes as bilayer couples. A molecular mechanism of drug-erythrocyte interactions. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **71**, 4457-4461
 - 46) Shiga, T., Sekiya, M., Maeda, N., Kon, K. &

- Okazaki, M. (1985) Cell age-dependent changes in deformability and calcium accumulation of human erythrocytes. *Biochim. Biophys. Acta.* **814**, 289-299
- 47) 志賀 健(1982)赤血球のレオロジー. *日本生理誌* **44**, 187-198
- 48) Sobue, K., Fujita, M., Muramoto, Y. & Kakiuchi, S. (1980) Spectrin as a major modulator binding protein of erythrocyte cytoskeleton. *Biochem. Int.* **1**, 561-566
- 49) Sobue, K., Muramoto, Y., Fujita, M. & Kakiuchi, S. (1981) Calmodulin-binding protein of erythrocyte cytoskeleton. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **100**, 1063-1070
- 50) Suda, T., Maeda, N., Shimizu, D., Kamitsubo, E. & Shiga, T. (1982) Decreased viscosity of human erythrocyte suspension due to drug-induced spherostomatocytosis. *Biorheology*, **19**, 555-565
- 51) 鈴木正己(1984)原子吸光分析法. 共立出版, 東京 44-91
- 52) 田中敏彦, 上木 昇, 祖父江憲治 (1986) Ca^{2+} 結合蛋白質とその生理. *蛋白質, 核酸, 酵素*, **31**, 1784-1795
- 53) Van Kampen, E. J. & Zijlstra, W. G. (1961) Standardization of hemoglobinometry II. The hemoglobincyanide method. *Clin. Chim. Acta* **6**, 538-544
- 54) Weed, R. I., La Celle, P., Merrill, E. W., Craig, G., Gregory, A. & Karch, F. (1969) Metabolic dependence of red cell deformability. *J. Clin. Invest.* **48**, 795-809
- 55) Weiss, B., Prozialek, W. C. & Wallace, T. L. (1982) Interaction of drugs with calmodulin. Biochemical, pharmacological and clinical implications. *Biochem. Pharmacol.* **31**, 2217-2226

第73回 近畿生理学談話会

日 時：昭和62年2月21日(土) 午前9時15分
 会 場：大阪市立大学医学部基礎学舎1階大講義室
 当 番：大阪市立大学医学部 第1生理学教室 松 裏 修 四
 第2生理学教室 木 下 喜 博

1. 画像解析によるヘモグロビンの酸素飽和度の測定法

橋本正史, 秦 龍二, 磯本昭夫, 中馬一郎, 福田全克* (阪大, 医, 第一生理・阪大, 医, 眼科*)

デジタル画像入力, 処理システムを用いて, 対象物の色調を, デジタル化された赤(R), 緑(G), 青(B)の輝度によって表した. Lambert と Beer の光吸収に関する基本法則により, 入射光, 反射光の強度をそれぞれ I_0 , I , 光が対象物を通過する距離に濃度を掛けたものを C とすると,

$$-\log I + \log I_0 = \epsilon \cdot C \dots\dots\dots(1)$$

の関係が成立する. ここで, ϵ は吸光係数で, 波長によって定まる物質定数である. 上記の R, G, B, の輝度は(1)式の I に相当し, R, G, B の波長領域でも(1)の関係が成立することから, 対象的に白色光をあてた場合, 次の関係が成立する.

$$-\log I(i) + \log I(j) = c\{\epsilon(i) - \epsilon(j)\},$$

$$i=R, G, B, j=R, G, B, i \neq j \dots\dots\dots(2)$$

ここで, $x = \log I(G) - \log I(B)$, $y = \log I(R) - \log I(G)$ とおき, x, y 空間に, 酸素飽和度 Y ($0 \leq Y \leq 1$) のヘモグロビンの輝度データをプロットすると, プロットは $Y=0$ および $Y=1$ のときに表示される点の間を直線的に Y に比例して移動することが, 理論的および実験的に明らかになった.

この画像入力, 処理システムを用いた, 位置感応型の Y の決定法を, ヘモグロビン溶液中を拡散する酸素の動態の研究に応用し, その有用性が確かめられた.

2. イヌ単離骨格筋(安静時)の O_2 供給量-消費量関係に対する血液 O_2 親和性の影響, II. 高 O_2 親和性血

上月久治, 榎 泰義, 坂田 進, 清水 悟 (奈良医大, 第二生理)

normoxia の条件下, 高 O_2 親和性血液は末梢組織への O_2 運搬, 輸送に対して不利な効果をもたらし, その結果組織の hypoxia をきたすとされている. 今回, 高 O_2 親和性血液と正常 O_2 親和性血液を用いてイヌ単離薄筋 *m. gracilis* (37℃) を交互に灌流し, O_2

delivery (動脈血酸素含有量 $\times$ 灌流量) を任意に変化させて安静時 $\dot{V}O_2$ に与える O_2 親和性の影響について検討した. 方法: イヌの *m. gracilis* の単離, 灌流の方法は当教室の方法により行った. 高 O_2 親和性血液は 30 mM シアン酸との孵置処理 (37℃, 1時間) により作成した. 高ならびに正常 O_2 親和性の P_{50} 値 (pH 7.40, P_{CO_2} 40 Torr, 37℃) はそれぞれ 24.8 ± 1.0 と 33.2 ± 1.7 Torr であった. 両灌流用血液のヘマトクリットは 45% とした. 結果: 正常のイヌ血液を用いた場合 *m. gracilis* の安静時 $\dot{V}O_2$ は O_2 delivery が 0.45 ml/min. 100 g 筋重量未満で delivery 依存性を示し, 以上になると一定 (delivery 非依存型) となる. 高 O_2 親和性血液を用いた場合も P_{VO_2} 値は正常と比較して有意に低下するが, この $\dot{V}O_2$ - O_2 delivery 関係に変化をきたすことはなかった. さらに乳酸の放出量に関しても両者間で有意差は認められなかった. 結論: P_{50} 値にして約 25 Torr の高 O_2 親和性血灌流時にも, 骨格筋組織で hypoxia は存在しない.

3. 糖尿病患者でみつかった一異常ヘモグロビン (Hb) の構造と機能

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

赤血球内の Hb は血糖 (アルドース) と非酵素的に直接反応して Hb A_{1c} を主とするいわゆる Glyco-Hb を形成する. またその血中レベルが長期血糖値をよく反映するため, 近年 Glyco-Hb 測定は糖尿病の病態把握に必須な検査の一つとなっている. 最近, 一糖尿病患者で, 治療にもかかわらず Hb A_{1c} の持続的異常高値 (30~40%) を示す一例がみつかった. その後さらに精査したところ, 1) クロマトグラフィー, ゲル電気泳動および TBA 反応の結果から, はじめ増量した Hb A_{1c} と誤認されたこの Hb が異常 Hb であること, また逆相 HPLC および単離サブユニットの電気泳動結果から, 異常部位が β 鎖にあることを明らかにした. 2) さらにアミノエチル化 β 鎖トリプシン消化物につき, ペプチド, マップ分析 (ろ紙法およ

び逆相 HPLC 法) と異常ペプチドのアミノ酸分析から、この異常 Hb の構造が $\alpha_2^A \beta_2^{136G17 \rightarrow Asp}$ (Hb Hope) であることを確定した。3) 当該 Hb は、軽度ながら明白な安定性の低下を示すほか、いくつかの機能異常 (特に O_2 親和性と CO_2 効果の著明低下) を示した。一連の機能異常は、 β 136 位 Asp のカルボキシル基と β N 末との間に塩橋形成があると考ええるとよく説明できる。

4. 女子大生の血液性状に関する研究—貧血検査項目を中心に—

井上太郎 (神戸女子大学, 家政学部)

目的と方法: 性周期にともなって、貧血検査項目を中心とした血液性状がどの程度まで変動するかを検討した。

女子大生 (21~22才) 6 名について週 1 回の割合で安静空腹時に採血し、血液比重, Ht, 赤血球数 RBC, 白血球数 WBC, Hb, 血清の鉄 Fe と銅 Cu を定量した。

成績と考察: 各個人値のレベル差を消去するために、各人の 3 性周期の測定値の平均値を 100% とし、各測定値の分布状況を変動率で示して比較検討した。その結果

(1) Fe と WBC とは性周期の高温相の方が高値を示す傾向があったが、他の項目には性周期差がなかった。

(2) 血液比重は変動率が小さく、ほぼ一定に保たれ、Hb との間に良い正の相関があり、日赤血のスクリーニングを比重で行うことの合理性を物語っている。

(3) 血液比重について変動率の小さいのは Hb, RBC, Ht 順で、一方変動率の大きいのは WBC, Cu, Fe で、いずれの項目も高温相の方が変動率が小さかった。

(4) 6 名の平均日差変動率の順位と別途に測定を実施した 186 名の個人差変動率の順位とはほぼ一致した。

生体にとって重要な血液性状の項目ほど homeostasis がよく作用して、変動率が小さいと理解される。

5. メラノーマ細胞の t-PA 分泌に及ぼす培養液中の ATP および Ca^{2+} イオンの効果

酒井鉄博, 岡田清孝, 坂東博志, 田中順也, 松尾理 (近畿大, 医, 第二生理)

ヒトメラノーマ由来の培養細胞 (Bowes 株) を tissue-type plasminogen 分泌のモデル細胞系として用い、t-PA 分泌機構解明の一端として、細胞外から与えた ATP、培養液中の Ca^{2+} 濃度の変化に対する t-PA 分泌能の変化を検討した。細胞は 10% FCS を含む Eagle MEM で monolayer になったものを用いた。実験前 10 分に 1m MEGTA を含む MEM に置換し、その後 0 分で MEM に 0~5.0 mM ATP を加えたものと、0.45~18.0 mM の範囲で Ca^{2+} 濃度を変化させたものとを組合せ、66 とおりの ATP、 Ca^{2+} の濃度変化をもつ実験液に交換した。サンプリングは 6, 24 時間におこない、細胞外に分泌された PA 活性、細胞内の PA 活性をおおの S-2288 分成基質の発色から比較した。液交換 6 時間後では、ATP 無添加時に 4.5 mM 以上の Ca^{2+} 濃度域で、分泌能の亢進がわずかにみられた。24 時間後では、t-PA 分泌能は 0.1 mM ATP、0.45~3.6 mM Ca^{2+} でわずかに亢進したが、0.5~2.5 mM ATP と 4.5 mM 以上の Ca^{2+} の共有下では著しい分泌能の抑制がみられた。細胞内 t-PA は 4.5 mM 以上の Ca^{2+} により細胞内蓄積が著しかったが、5 mM ATP の存在下では、 Ca^{2+} の効果が減少した。また Ca^{2+} 、ATP は t-PA 分泌だけでなく他の合成系にも影響を及ぼした。

6. In situ ラット心筋 ^{31}P -NMR 測定法

西川弘恭, 嶋本典夫*, 新谷元章*, 沈行 良, 吉崎和男 (京都府立医大, 第一生理・武田薬品, 中央研究所*)

近年生体の in vivo または in situ でのリン含有化合物測定に ^{31}P -NMR 法が応用されつつある。表面型コイルを用いた静止筋や体表近傍の組織の測定は比較的容易であるが、心臓は心拍動による速い位置的変動と胸腔内の深い位置のため、胸壁に表面型コイルを当てて心筋の ^{31}P -NMR スペクトルを得ることは困難である。本研究で、われわれは in situ でのラット心筋の ^{31}P -NMR スペクトル測定用プローブを自作し、正常、虚血、その回復過程での心筋のスペクトルをえた。用いた NMR 装置は wide bore 超伝導磁石 NMR (4.8 Tesla, 口径 7 cm) であった。実験動物はラット (250~300 g) で、開胸陽圧呼吸条件で用いた。自作したプローブは本体部とコイル部よりなり、本体部は外径 7 cm のアクリル樹脂筒で作られた。コイル部は本体に固定されたラットの心臓の位置 (高さ, 深さ, 左右) に合わせられるようにした。開胸されたラットの

心臓近傍に置いたこのコイルにより心筋のみの ^{31}P -NMR スペクトルが200回の加算平均(6.4 min)で得られた。本法を左冠状動脈下行枝結紮によるラット虚血心に適用し、虚血前、中、回復過程での ^{31}P -NMR スペクトルを経時的に測定し、無機リン酸、ホスフォクレアチンの信号強度の著明な変化を見た。

7. バゾプレッションの in situ ラット骨格筋エネルギー代謝への影響

沈行 良, 西川弘恭(京都府立医大, 第一生理)

バゾプレッショによる骨格筋でのエネルギー代謝への影響を検討するため ^{31}P -NMR法を用いて in situ でそのスペクトルをえ、また同一条件で ECG により心拍数、水素クレアランス法で NMR 測定部位の血流量、 ^{125}I でラベルされた AVP (arginine vasopressin) により投与した血中 AVP 濃度を測定した。実験動物としてラット(ウィスター系, 200~250 g)を麻酔(pentobarbital, 30 mg/kg, ip)下で用いた。AVP は 1 IU/0.3 ml 生食を背部皮下に1回活入した。NMR 装置は wide bore 超伝導磁石 NMR (4.8 Tesla, リンの観測周波数 80.75 MHz) であった。 ^{31}P -NMR スペクトルは表面型コイルにラット大腿部を密着させ AVP 投与前および後で経時的にえられた。スペクトルより無機リン酸(Pi)の増加とホスフォクレアチン(PCr)の減少が AVP 投与後 10~20 min で著明にみられ、40~50 min で回復した。このエネルギー代謝変化に対応し、心拍数の減少(20.2%)と血流量の減少(39.7%)がみられた。注入後 20 min での AVP 血中濃度は $17.2 \pm 1.9 \mu\text{U}$ であった。これら事実より AVP による骨格筋での Pi の増加と PCr の減少は筋細胞への AVP の直接作用よりも、血流量の低下による低酸素状態によることが示された。

8. 呼吸性アシドーシスにおける骨格筋および腎尿細管の変化

藤本 守, 室田隆裕, 松村 裕, 森本義康, 大塚みき子*, 口分田理**, 高木雅矩** (大阪医大, 第二生理・麻酔科*・近畿大, 医, 麻酔科**)

PCO_2 を上昇させたときの骨格筋と腎尿細管電解質輸送機能の変化を、微小イオン電極や蛍光法で比較検討した。実験には、食用ガエルの腎と縫工筋を用いた。まず、正常対照条件(室温 22°C in vitro, 冷血動物用 Ringer 液 (1.5% CO_2 , 98.5% O_2 , pH=7.65) にて外液を灌流し、静止膜電位 (E_m) に対する細胞内イオン

活量 (K^+ , H^+) の関係の違いを明らかにした。次いで、呼吸性アシドーシス (5% CO_2 , 95% O_2 , pH=7.1) 数分間灌流時の電解質の挙動の違いを調べた。 CO_2 負荷により、 E_m は、両臓器共数 mV~10 mV の脱分極を呈した。そのとき筋の細胞内 K^+ 活量は10数 mM も減少するに対し、腎では数 mM 以下の減少に止まった。筋における不相応な K^+ の減少は、Na, K-ATPase の抑制、結合組織への漏洩、細胞内への水の侵入による。電位変化は Na/K の透過性比減少をともなっていた。腎の不相応な脱分極は Na/K の透過性比増加による。細胞内に導入した Lucifer Yellow の隣接細胞への経時的拡がり、5分値として、正常細胞約10個、 PCO_2 を3倍に上昇させた時は、約6個に低下した。すなわち、アシドーシスでは gap junction の低下が起こる、この細胞間連絡低下には、細胞内 Ca^{2+} の増加をとまわず、 H^+ の上昇が関与することを、イオン電極法によって確認した。

9. X線微小分析法, 蛍光分光法によるモルモット胃壁細胞内イオン分布とその変動

佐々木貞雄, 中垣育子, 金田能尚*, 尾崎隆之*, 角田康弘** (大阪医大, 第一生理・内科*・北大臨床検査医学**)

モルモット胃壁細胞においては、分泌刺激時、細胞内の Ca 濃度が上昇し、分泌小胞の腺腔への開口放出によって胃酸が分泌されると報告されている。またこの時 Ca は細胞内プールより遊離されると考えられているが、このことにマイクロチュブルやマイクロフィラメントのような細胞骨格が関与するという報告もなされている。今回モルモット胃粘膜上皮より遠心分離法によって胃壁細胞を単離分離し、えられた選別細胞群に分泌刺激剤(ガストリン, イオノマイシン)を投与し、一部を瞬間凍結しX線微小分析法によって各種イオンの細胞内分布とその変動を検討した。また他の一部はただちに培養皿に移し、種々の Ca 感受性蛍光色素を含んだ培養液中で培養し、蛍光分光光度計を用いて壁細胞内 Ca 濃度と分泌刺激時のその変動を検討した。X線微小分析法では分泌刺激時細胞内分泌細管周辺に Ca 濃度の上昇を認めたが同時に腺腔内での K および Cl の増量も認めた。また蛍光分光法では刺激時エクオリでのみ Ca の増加を認め、他の色素では外液の Na を減じた時にのみそれを認めたことよりこの Ca は細胞辺縁部より遊離され $\text{Na}^+\text{-Ca}$ 交換機構についてすみやかに排出されることが示唆された。

10. イヌ顎下腺細胞外液量が分泌初期相に及ぼす影響

宮本信一, 中張隆司, 吉田秀世, 武内 徹, 宮本学, 今井雄介 (大阪医大, 第一生理)

イヌ顎下腺においては神経刺激による唾液分泌は刺激直後に見られる高い分泌速度を持つ一過性の初期相とそれに続くやや低い分泌速度ながら安定な定常相から成り立っている。細胞外液は初期相に一致して減少することが観察されている。そこで、細胞外液量の変動と初期分泌相の関係を調べるために以下のような実験を行った。まず顎下腺の血流を庶断し神経刺激を行った。この時には初期分泌相が認められた。しかし刺激をくり返し続けると分泌は認められなくなった。次に血流を再開し同時に腺を刺激すると唾液分泌が認められるが定常相のみで初期相は認められなかった。刺激中止後10分で再度刺激すると初期相、定常相を有する分泌が認められた。また血流の存在下に1分間刺激をくり返しても初期分泌相は消失しなかった。以上の実験より次のことがわかった。すなわち、分泌唾液は細胞外液より供給される。そして初期分泌相は細胞外液量と密接に関係していることが明らかとなった。また、細胞外液の経時的モニターとして用いたインピーダンス法の有用性があらためて確認された。

11. ラット (Na^+ , K^+) ATPase β subunit のクローニング

大森浩一郎, 大森京子*, 森本 孝**, D. Sabatini**
田代 裕 (関西医大, 第一生理・薬理*・New York 大, 医, 細胞生物**)

ラット脳 polyA⁺ mRNA より作製した cDNA ライブラリー (約 20 万個) から、(Na^+ , K^+) ATPase β subunit の cDNA を hybridization method を用いて選別した。得られた cDNA の全塩基配列 (約 2,300 塩基対) を Sanger 法の変法を用いて解析し、その全塩基配列の結果にもとづいて (Na^+ , K^+) ATPase β subunit の全アミノ酸配列を決定した。

次いで、上記のクローニングした cDNA を *in vitro* の transcription, translation system に適用し、最終的に合成される蛋白質の同定を行ったところ、生成物は抗 β subunit 抗体と特異的に反応した。さらに、cell free translation 系に microsome membrane を加えると、膜にとり込まれて糖付加の修飾を受けた。これらの結果より、合成された蛋白質は β subunit であることが確認された。

12. 近位尿細管細胞の電解質輸送に対するインシュリンの影響

井上了豪, 室田隆裕, 森本義康, 萩原暢子, 小寺邦彦, 藤本 守 (大阪医大, 第二生理)

インシュリンが筋肉の Na^+ - K^+ ポンプを活性化することは、北里らにより報告されている。一方、最近腎臓にもインシュリンレセプターの存在が証明されているが、細胞レベルでの電解質輸送機序の実験はあまりない。今回われわれは食用ガエルの筋肉と灌流腎でイオン選択性二連型微小電極法を用い実験した。方法：体重 100~150 g の食用ガエルをウレタン麻酔し、脊髄破壊後筋肉では縫工筋を分離、灌流液にインシュリン (300 wIU) およびウアバイン (10^{-4}M) を加えた。腎臓では近位尿細管管腔側と周囲側を灌流し、インシュリンを周囲側に加えて、二連型 K^+ , Na^+ 電極を用い膜電位 (E_M), K 電位 (E_K), Na 電位 (E_{Na}) を測定した。結果：食用ガエルの縫工筋、腎ともインシュリンによる膜電位の過分極変化は、 K^+ 平衡電位の変化より大であり、 Na^+ 発電ポンプの活性化によってのみ説明可能であった。またインシュリンは筋肉において、ウアバインによる細胞内 Na^+ の上昇を回復させた。腎においても、インシュリン投与により、細胞内 Na^+ の低下がみられた。以上より、インシュリンは、筋肉、腎両組織において、 Na^+ - K^+ 交換ポンプの Na^+ 結合部位を増強するものと考えられる。

13. 食用ガエル腎尿細管構成細胞の計測の *in vitro* および *in vivo* における計測値の比較

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

今回は種々条件下で腎細胞を生存させながら、顕微鏡下にその細胞長を計測、生存条件下における細胞の存在態を明らかにしようとした。

方法：食用ガエルをウレタン麻酔し、腎を取り出し、ネフロンに分け、ノマルスキー顕微鏡で構成細胞の外径を計測した。次に尿細管細胞を Freeze-Thawing 法により分離し、リングル液中に浮遊させ、個々の細胞長を計測した。これらの HE 染色連結切片標本による結果と比較した。

結論：分離ネフロン標本では 1) 近位尿細管に 2 種の異なった細胞を同定した (20μ , 30μ)。遠位尿細管細胞は 18μ であった。2) 単離細胞群では、長径に 3 つのピークがあり (10μ , 18μ , 12μ)、短径にも 2 つのピークがあり (10μ , 16μ)、形態的には 3 種類の細胞を

認めた。3) HE 染色標本では近位部に暗調の $24 \times 10 \mu$ の細胞, 明調の $32 \times 12 \mu$ の細胞, 遠位部には $18 \times 14 \mu$ の細胞からなっており, その分布率の差は少ない。細胞の形状からその機能状況へと短絡させるには無理があるが, 組織の染色性が異なり, 細胞形態に変化があることは, 機能に差が生じていることを示唆する。当実験用に開発した, 単離ネフロン, 細胞単離技術は, 諸他の実験に多くの便宜と可能を開拓した。

14. Nectrus 胃酸分泌細胞基底側膜の K チャネルについて

上田俊二**, 小寺 徹**, Donald D. F. Loo, George Sachs* (U. C. L. A. 生理, C. U. R. E.*・京大, 第一内科**)

酸分泌刺激により胃酸分泌細胞膜のコンダクタンスの増加が見られること, およびこの増加は細胞膜の K 透過性の亢進によっていることが報告されている。われわれは Nectrus の胃酸分泌細胞を用い, パッチクランプ法によりこの細胞の基底側膜に K チャネルを見出し, その性質について 2, 3 の検討を加えたので報告した。

Nectrus より胃を摘出し, Blum などの方法により単離胃酸分泌細胞または単離胃腺をえた。Hamil などの方法によりこれらの細胞にパッチクランプを行ったところ $5 \sim 10$ ギガオームの電気的シールが得られた。この方法により胃酸分泌細胞には 60 pS と 30 pS の異ったコンダクタンスを持つ 2 種類の K チャネルが存在することが明らかとなった。 60 pS の K チャネルの Open Probability は Voltage Dependency を示し, また Ca 濃度により制御されていた。これに対し 30 pS の K チャネルの Open Probability は電圧変化に対して変化を示さず, また cAMP により制御されていた。このように胃酸分泌細胞では異った細胞内伝達物質は異った K チャネルに作用することが明らかとなった。

15. L 細胞 K チャネル電流の whole-cell-recording

老木成稔, 岡田泰伸 (京大, 医, 生理)

マウス由来の線維芽細胞株である L 細胞は, 補体成分, リボ蛋白成分, ATP によるレセプター刺激などによって細胞内 Ca^{2+} 濃度が増加し, それによって賦活化される Ca^{2+} 依存性 K^+ チャネルを持っている。この点は, 多核巨大細胞に通常の微小電極を刺入した実験によって明らかにされてきたが, 今回はパッチ電

極を単一の小細胞に適用し whole-cell-recording 法によって検討した。 Ca^{2+} 依存性 K^+ 電流の存在は ATP による刺激下で確認された。加えて, 膜電位固定下に異常整流性 K^+ チャネル電流の存在が確認された。静電位より過分極側へのコマンドパルスによって内向き電流の発生がみとめられた。この電流は Ba^{2+} によって抑制され, コンダクタンスは外液の K^+ 濃度の平方根に比例して増加した。このような異常整流性 K^+ 電流には 2 種類あり, 1 つは時間依存性にすみやかに不活性化を示し, もう 1 つはゆるやかに活性化を示した。このチャネルのゲートは, 電流発生を示さない脱分極性パルスによっても開くことが明らかとなった。開チャネルの割合のプレパルス電圧に対する依存性から, ゲートのチャージは $2 \sim 3$ 価であることが示唆された。

16. 食品の物性が咀嚼運動パターンに及ぼす影響

堀尾 強, 河村洋二郎 (甲子園大, 栄養, 生理)

生体は食品の硬度, 大きさなどの物性に応じて無意識的にその食品に適合した咀嚼運動を行っている。ヒトが日常摂食する各種の食品に対してどのように咀嚼運動パターンが変化するかに関する従来の生理学的研究は不十分であってなお不明な点が多い。

本研究ではタクアン, タコ, カマボコ, ハンペン, トウフを対象とし, テクスチュロメーターで測定した物性とそれに応じた咀嚼運動との関係を明らかにするために, 咀嚼時の咀嚼筋筋電図と顎運動を記録し, 各試料を嚥下するまでの咀嚼運動パターンを分析した。その結果, 硬度が増すほど咬筋の筋電図の振幅が増し咬筋の活動が大きくなった。また硬度が増すほど最終嚥下までの咀嚼回数が多くなり, その時間が延長するグループと, 硬い試料でも咀嚼回数が極端に少なく, 試料の硬度の大小に関係なく最終嚥下までの咀嚼回数, 時間がほとんど変わらないグループに分けることができた。ただし, 咀嚼リズムは両グループとも試料の物性とほとんど関係なくほぼ一定であった。以上の実験から, 食品の硬度, 剪断性などの物性に関する感覚情報が反射的に咀嚼筋の収縮性に関与し, 咀嚼運動パターンに大きな影響を及ぼすことが推察できた。

17. 眼柄引き込み反射の持続時間の調整に関係する non-spiking local interneuron

千葉 惇, 小坂正明, 松下公一, 秩父志行 (近畿大, 医, 第一生理)

アメリカザリガニ (*Procambarus clarkii*) の頭胸部に機械刺激を与えると一過性の眼柄引き込み反射が生じる。その持続時間は、約1秒以内であるが、繰り返し刺激を与えると刺激終了後の眼柄引き込み時間は数十秒も持続する。出力系に関与する動眼神経は、切断実験より phasic 型が optic nerve motor bundle をとおり、tonic 型が oculomotor nerve (OCN) をとおることがわかった。求心性神経に繰り返し刺激を与えると、脳神経節内の local interneuron が脱分極し、脱分極中は OCN のインパルス発火頻度の増加がみられた。この local interneuron に脱分極性通電刺激を行なうと OCN のインパルス発火頻度の増加がみられ、過分極通電の場合には増加はみられなかった。求心性神経の刺激および local interneuron 自体に通電刺激を与えてもこの神経では発火がみられなかった。この non-spiking local interneuron の dendritte は、脳神経節内の deutocerebrum に分布し、soma は tritocerebrum に存在していた。ザリガニの眼柄引き込み反射の持続時間は、脳神経節内に存在する non-spiking local interneuron の膜電位の変化によって調整されていると考えられる。

18. イヌ飲水行動の解析

伊藤俊之, 小田慶喜, 森本武利 (京都府立医大, 第一生理)

飲水は脱水状態からの回復に不可欠な、最も基本的な行動性調節である。ラットは脱水水分を序々に補給するが (late drinker), イヌはほぼ脱水量に相当する水分を一挙に摂取する (early drinker)。水分吸収速度を考慮すると両者の飲水行動調節機転が同一であるとは考えがたい。今回、われわれはイヌ飲水の急速な発現と停止に焦点を当て、イヌ飲水時の血液量、血漿 Na 濃度、中心静脈圧 (CVP) を連続測定して新知見をえた。脾摘し、動静脈へ慢性カニューレーションを行なったイヌ (6 頭) に体重の 9.3% 脱水を負荷し、体外循環回路に接続後、自由飲水 (水道水、生理食塩水) を許した。水道水の場合、イヌは脱水量の 80% 相当の水分を 2 分間に摂取して飲水を停止したが、それにもなつて CVP は 6 mmHg 上昇し、60 分で飲水前値へ漸減した。血漿 Na は飲水中には無変化で、飲水 7 分後より低下が認められた。血液量はむしろ一過性に 1.5 ml/kg 減少した。生理食塩水の場合、水道水と同量を摂取後 CVP 上昇と共にいったん飲水を停止するが、その後こきぎみに飲水し、CVP は高値を持続した。こ

の結果から、イヌの short term の飲水停止因子は低圧系受容器であり、これの作動後は long term の停止因子たる浸透圧受容器を介してそれ以降の飲水が抑制される (水道水) と考えられ、行動性体液量調節への容積受容器の関与が示唆された。

19. 無麻酔下での心臓交感神経活動の周期性発現機構について

宮石 雄, 松川寛二, 本田俊弘, 西浦直亀 (国立循環器病センター研究所心臓生理部)

心臓や腎臓に分布する交感神経の放電が、心周期に同期して変動していることは麻酔下動物の実験で観察されていた。しかし、この心周期に同期した放電の発現機構については 2 つの対立した説明、すなわち外因説 (血圧受容器の入力によって反射性に発現) と内因説 (血管運動中枢が 3~5 Hz の周期で発振、中枢起源) があった。

無麻酔状態下では、中枢神経系への麻酔薬の影響はなく、したがって血管運動中枢ならびに高位中枢の心臓交感神経活動への影響がより著明に出現していると考えて、無麻酔下のネコの安静時と興奮時の 2 つの状態下で上記 2 つの説について検討した。安静時には心臓交感神経活動は主として 2 つの峰をもつ周期で放電していた。第一の峰は 10 Hz 前後にあり、第二の峰は心周期よりやや短かいものであった。アトロピン投与で心拍数を増加すると、第一の峰の周期はそのままであったが、第二峰の周期は比例して短縮した。興奮状態下では第二峰が消失し、第一峰の周期成分のみとなった。結論：心血管運動中枢は約 10 Hz 前後で発振しており、血管受容器からの入力によって第二峰の周期成分でも発振するようになる。

20. ネコ摂食時にみられる腎交感神経活動と腎血流の変化

松川寛二, 二宮石雄 (国立循環器病センター研究所心臓生理部)

無麻酔ネコの摂食行動時には、腎交感神経活動、心拍数および動脈血圧が増加する。この結果は腎交感神経活動が摂食行動と関連して腎血管抵抗を調節することを示唆している。そこでわれわれは摂食前後における腎交感神経活動、腎血流および動脈血圧を同時記録し、腎交感神経活動と腎血管抵抗の相互関係について検討した。両側の腎交感神経活動が摂食時ほぼ一致した増加を示したので、ネブタール麻酔下において左腎

動脈に電磁血流計プローブそして zero-flow チェック用バルーンを埋め込み、右腎神経束に交感神経活動記録用電極を埋め込んだ。手術に先立って胴体と四肢を袋に入れた状態で摂食するように動物を訓練した。手術から回復後エサ提示により摂食行動を誘発した。摂食時、腎交感神経活動は61%増加し動脈血圧は17%上昇した。他方、腎血流は減少ないし無変化であった。これは腎血管抵抗が摂食中17%以上増加することを示している。以上の結果は、摂食時にみられる交感神経活動増加が直接腎血管抵抗を増加し、動脈血圧上昇にもとづく受動的な腎血流の増加を抑制していることを示唆する。

21. 脳内自己刺激ラットのレバー押し行動に伴う尾血管反応と深部体温の推移について

石川洋蔵, 田中英登, 中山昭雄 (阪大, 医, 第二生理)

脳内自己刺激 (ICSS) ラットのレバー押し行動にもなって深部体温 (T_c) が上昇し尾血管が拡張するまでの尾血管反応初期相に神経性収縮機序が作動しているか否かについて検討した。〔方法〕 右後視床下部内側前脳束に刺激電極を植えこまれ、訓練後規則的な頻度 (100~400回/10分) でレバー押しをする6例の慢性ラットを実験に用いた。外界温 22°C で 50 g 負荷のレバー押しを観察したのち、約15分 ICSS の電源を切り放置した。ついで、25 g ずつ負荷を増し5分間ラットにレバー押しさせては電源を切り約12分間休息させるという手順をくりかえした。各レバー押し開始時には ICSS を誘導するために数回の脳刺激を与えた。〔結果〕 50 g 負荷10分間のレバー押し終了後平均 8.3°C の尾皮膚温 (T_t) の上昇が認められ、15分間の休息期にも高い T_t を維持し、尾血管拡張状態を示した。その後の5分間毎のレバー押し期間中常に T_t は下降し、相反的に T_c は上昇した。12分間の休息期には T_t は常に再上昇し、 T_c は相反的に下降した。〔考察〕 これまで、外界温に近い T_t から実験を開始したため尾血管反応初期相に神経性収縮機序が作動しているか不明であったが、今回の実験での T_t の下降から ICSS ラットの行動開始と同時に尾血管を支配する交感神経活動が高進するものと考えられる。

22. 電気生理学的諸現象に及ぼすキンドリング効果の影響 (第5報)

岡本峰夫, 内藤博江, 安原基弘 (関西医大, 第二生

理)

キンドリングウサギについて、覚醒反応および誘発筋放電の刺激閾値に及ぼすコンタクトレンズ (CL) 装着の影響を検討した。No kindling 群では、これらの刺激閾値は、閃光刺激のない状態では CL 装着により上昇し、閃光刺激下では下降したが、Kindling 群 (扁桃核, 海馬) では、閃光刺激の有無にかかわらず、CL 装着によりこれらの閾値は下降した。したがって、Kindling 群においては、No Kindling 群に反し、閃光刺激のない状態においても意図ならびに運動機能が CL 装着により亢進することが明らかとなった。

次にキンドリングウサギにおける胃粘膜の変化について病理組織学的に検討した。No Kindling 群に比し、Kindling 群においては胃粘膜に潰瘍性の所見が多く認められた。すなわち、19例中13例にびらん (UL-I) を認め、うち2例においては潰瘍 (UL-III) の発現を認めた。特に海馬、扁桃核 Kindling 群においては、大脳皮質 Kindling 群に比し、その変化が著明であったところから、ストレスによる潰瘍の形成にこれらの部位がより密接に関与することが示唆された。

23. モルモット上丘、カエル視蓋切片のシナプス電位に対する GABA の抑制効果

荒川俊雄, 山内了平, 岡田安弘 (神戸大, 医, 第一生理)

GABA (γ -アミノ酪酸) は、冷血および温血動物において抑制性伝達物質として作用している。その用量作用曲線は、ザリガニ神経筋接合部では 10^{-5} ~ 10^{-4}M の濃度範囲で作用するが、モルモット海馬切片では 10^{-3} ~ 10^{-2}M である。かかる差違が、末梢あるいは中枢神経系の構造的差違に由来するのか、冷血・温血動物の種差によるのかを検討する目的で、GABA 濃度の高いモルモット上丘およびカエル視蓋の切片で誘発されるシナプス電位 (PSP) に対する GABA の抑制効果を調べた。

(1) モルモット・カエルの脳の部位別 GABA 濃度を定量した。モルモット上丘およびカエル視蓋では、各々 34 mmol/kg 蛋白, 36 mmol/kg 蛋白であり、他の部位より高値であり、上丘の浅灰白質層上半分では 39 mmol/kg dry wt と最高を示した。

(2) モルモット上丘、カエル視蓋から厚さ $400\mu\text{m}$ の切片を作製、電気刺激により近傍から PSP を誘発記録、これに対する GABA の抑制作用の用量作用曲線の作用濃度範囲は 10^{-3} ~ 10^{-2}M であり、両者に大

差を認めなかった。

以上より GABA の作用範囲は、冷血・温血の種差によらないことが明らかとなった。これには、中枢神経系におけるグリアなどの構造的差の考慮が必要と思われる。

24 モルモット海馬切片における無酸素、無グルコースの効果

谷本道則, 岡田安弘 (神戸大, 医, 第一生理)

モルモットの海馬切片を用いて、灌流液 (標準液: 10 mM glucose を含む Ringer 液, 95% O_2 5% CO_2 で飽和) を無酸素 ($-O_2$), 無 glucose ($-G$) にしたときの神経活動 (CA_{3-4} 野から誘発される PSP) および高エネルギーリン酸 ($\sim P$: ATP と CrP) 濃度の変化を追求した。PSP は ($-O_2$, $-G$) の場合、約 5 分後に消失し、20 分を超えると回復しなかった。すなわち機能的生存時間 (PSP が元の 80% 以上に戻る $-O_2$ and/or $-G$ の最大許容時間) は 15 分であった。 ($+O_2$, $-G$) では PSP は約 30 分で消失し生存時間は 90 分であった。 ($-O_2$, $+G$) では PSP は約 60 分で消失し生存時間は 150 分であった。錐体細胞の細胞内誘導の検索から、いずれの処置の場合も静止電位が脱分極する以前に IPSP-Spike-EPSP の順で消失していった。PSP が消失した時点での ATP, CrP 値は ($-O_2$, $-G$) ではおのおの処置前の 40%, 10% に, ($+O_2$, $-G$) では 70%, 50% に, ($-O_2$, $+G$) では 70%, 45% に低下した。切片を再び標準液に戻したときに PSP が回復するには, ATP は ($-O_2$, $-G$) では処置前の 77% 以上, ($+O_2$, $-G$) では 81% 以上, ($-O_2$, $+G$) では 64% 以上の回復を要した。一方, CrP 値は PSP が回復しない時点で

も処置前と同程度に回復した。PSP の消失, 機能的生存時間, $\sim P$ の減少や回復などの点からみて, 切片の生理的, 生化学的機能維持には, 酸素の存否よりも glucose の存否の方が重要な影響をもつことが明らかとなった。

25. コンピュータを用いた生理学実習

今井雄介, 相馬義郎, 武内 徹, 藤本勝久, 藤原秀哉, 宮本 学 (大阪医大, 第一生理)

高速演算とグラフィック機能をもつパソコンを学生実習に導入し、一般生理学の内容のシミュレーションやアニメーションを行っている。今回のデモンストレーションは実習手引として作ったものである。学生は、この中のいくつかのシミュレーションの、プログラミングおよび実行をかいして、コンピュータ学習を兼ねて、生理学の学習をする。

- 1) 乱数を用いた粒子の Random motion の 2 次元画面への描記: 拡散アニメーション
- 2) Limit cycle に入る化学反応 Brusselator のシミュレーション: 連立微分方程式の数値解法
- 3) イオン拡散系の膜電位生成のシミュレーション
- 4) イオン透過性変化による膜電位変化のシミュレーション: 活動電位の発生
- 5) イオン輸送により区画濃度が変化する場合の濃度, 電位の時間変化: Donnan 平衡, 電気浸透
- 6) 容積流をともなうイオン輸送シミュレーション: Donnan 圧, Donnan 平衡, 電気浸透
- 7) 連結輸送系: 能動輸送を含み定常状態となる膜輸送系のシミュレーション



〔教 育〕

日 本 生 理 学 会 教 育 委 員 会 の 歩 み

昭和43～44年（藤森委員長）

昭和42年12月9日の常任幹事会において、藤森聞一常任幹事から、同年10月福岡で開催された第27回国立大学医学部長会議の席上、文部省大学学術局より配布された「学生実験実習設備基準」をみたところ、設備基準額が2,000万円を越える二、三の学科があるのに対し、生理学の設備基準額は最低に近い僅か700万円程度となっていることが報告された。そして、この基準は速やかに改訂されるよう文部省に要請すべきであると提案された。この提案は昭和43年4月3日熊本大学で開催された常任幹事会においても審議され、生理学実験実習設備基準の合理的改訂と設備拡充の実現を進めるため、生理学教育委員会を設置することとなり、藤森聞一教授（北大）を委員長に委嘱し、委員の人選は委員長に一任となった（日生誌，30，689，（昭和43））。

藤森委員長は早速17名の委員を決定し（その後2名が追加されて、委員の総数は19名となった）、翌4月4日第1回の教育委員会が開催された。当面の活動目標は上述のとおりであるが、当時は戦後20年を経て生理学の研究・教育もようやく立ち直り、これからの医学研究・教育のあり方が各方面で論じられようになった時期でもあった。医科大学新設の要望も高まり、生理学会では生理学将来計画委員会の活動が活発で、人体基礎生理学研究所設立準備委員会も設置された。したがって、教育委員会が設置されたことは、まさに時宜にかなったものであった。さて、実験実習設備基準の改訂については、生理学会のみで対処できるものではないので、藤森委員長は松田庶務幹事を通じ、関連基礎医学会に対し、合同教育委員会を設置するよう呼びかけた。緊急を要する問題ではあったが、藤森委員長の熱意により、早くも5月2日には合同委員会を開催する運びとなった。この会の名称は基礎医学会教育懇談会とされ、解剖、生理、生化、薬理、細菌、寄生虫、法医、衛生、および公衆衛生の諸学会が参加した。この間の経過は、日生誌，30，513-516（昭和43）に記載されている。

基礎医学会教育懇談会では、実験実習設備基準の改訂を含め、貧弱な学生実習設備の現状を打破すべく、文部省に実習設備費の特別配分を申請することとし

た。また、基礎医学教育のあり方の基本問題を検討することの重要、緊急性を認識し、全国医学部長、病院長会議の懸田会長、牛場副会長との懇談を企画するなど、医学教育の改善、強化について幅広い活動を行った。基礎医学各科の実習教育、教官定員、医学部卒業者の基礎医学志望の減少対策等が論議の中心であった（日生誌，30，692-695（昭和43）；31，122-124（昭和44））。同懇談会には生理学会から藤森聞一、内菌耕二、高橋 恵の3名が出席していたが、のちに真島英信、本間三郎の2名が加えられた。

懇談会では、学科別に教育の実態調査を行うことになったが、生理学会のメンバーが中心となってアンケートが作成された。生理学教育の実態については、とくに高橋委員の尽力によりまとめられ、日生誌，31，183-197（昭和44）に詳細報告されている。基礎医学会教育懇談会は第4回以後基礎医学会教育委員会と改称された。同会に対し文部省大学学術局大学課から、基礎医学振興の具体案を提出して欲しいとの要望があったので、ただちに基礎医学振興についての要望書、基礎医学教育の実態調査結果、基礎医学学生実験・実習設備関係の調書を取りまとめ基礎医学教育の実態調査成績として提出した。一方、委員会としては、上記調査以外の基礎医学教育のあり方、その振興策についての審議が遅れがちであることを反省し、これらの基本問題に取り組むこととなった。そして、委員長に飯島宗一（病理）、副委員長に森 亘（病理）と高橋 恵（生理）が選出された。生理学教育委員会では、藤森委員長が学術会議会員に選出されたので、昭和44年度から高橋 恵教授（日本医科大学）が委員長となった。（本間三郎）

昭和44～47年（高橋委員長）

学生実験・実習設備関係の作業が一段落したので、新しい観点から生理学教育委員会のあり方を考えて、委員会内規の作成に着手した。その経過および内規案は、日生誌，31，709-712（昭和44）に掲載されている。しかしながら、この内規案は、昭和44年5月7日の常任幹事会でその趣旨が了承されたが、当時懸案となっていた生理学会会則改正と関連するので、決定には至らず、委員の任期を3年とすることが慣行として

僅かに残っている。

昭和44年10月、佐藤昌康日本学術会議会員から、基礎医学大学院制度のあり方について検討依頼があり、教育委員会はそれを受けて、この制度の検討を行った。その結果は日生誌、32、308-315 (昭和45)に「医学大学院制度の改革意見」として掲載されている。この検討結果は、約10年をへて昭和54年に筑波大学と大阪大学に医科学修士課程が誕生するのに役立つことになる。

昭和45年になると、教育工学的手法を生理学教育に導入することの検討がなされ、これに関連して教育機器調査アンケートが実施され、5月7日生理学会大会後ワークショップが開催された。また、生理学教育に関するアンケートおよび生理学第三講座(教室スタッフの充実)に関するアンケート調査がなされ、結果はそれぞれ日生誌、33、611-623, 751-763および33、679-683 (昭和46)に報告された。第三講座の設置については、強く希望する意見が多かったが、疑問ないし反対の意見も無視できないものがあって、実現にはいたらなかった。さらに、free quarter (基礎配属)教育の現状が東京大学および大阪大学から報告され、その教育的意義の大きいことが理解された。このfree quarter 制度を採用したいくつかの大学から、その成果と反省が昭和61年の生理学教育シンポジウム「特別研修制度」で発表されることになる。

一方、基礎医学教育委員会も活発に活動し、基礎医学各学科の医学教育における minimum requirement が関連各学会から報告された。生理学教育委員会では、「生理学教育の立場からは minimum requirement の考えは妥当でない。けれども、医学(部)教育における生理学教育としては時間的制約もあり、minimum requirement を考えざるをえない。」との立場から、生理学講座のみならず臨床各講座にもアンケートを発送し、意見を求めた。(本間三郎)

昭和47～50年 (本間委員長)

高橋 恵は昭和47年4月教育委員会委員長に再任されたが、翌昭和48年1月9日死去したので、本間三郎教授(千葉大)がその後任となった。前述の minimum requirement に関するアンケートの結果は、日生誌、35、45-54 (昭和48)に報告された。

昭和48年4月7日、第50回生理学会大会(九大)において「生理学教育シンポジウム」が初めて開催され、学生を被験者とする場合の安全対策、推奨する実

習項目、生理学教育への時間配分についてがテーマとして取り上げられた(日生誌、35、551-562 (昭和48)。以後おおむね毎年、生理学会大会時に教育シンポジウムが持たれるようになった。

昭和48年度は、生理学実習設備改善の要望書作成をめぐって審議が重ねられ、実習改善に必要と思われる実習機器と実習のために使われている費用についての現況調査が行われた。その結果は、日生誌、36、43-46 (昭和49)に報告されているが、年間の実習費の平均は1,651千円で二講座分の校費の約1/3に相当し、学生一人当たりになると16.2千円であった。これらの作業と審議の結果をまとめて、「生理学学生実習設備改善に関する要望書」とし、昭和49年3月1日付で文部省大学学術局長宛提出した。その要旨はつぎのようであった。

1. 120名の学生を、1グループ各6名の20グループに分ける。
2. 10グループに対して10台のポリグラフを準備する。
3. 残り10グループには、10種類各1台の実習機器を準備する。
4. 以上の予算として35,770千円が必要である。

この要望書は、全公・私立大学にも送付された。要望書の効果ばかりとはいえないが、後日学生実習改善費が大幅に増額された。しかし、それが生理学実習に実際に配分された大学はほんの少数に留まった。

昭和49年6月27日、第51回生理学会大会(北大)の教育シンポジウムでは、生理学実習改善、生理学実習の目的と意義、客観試験について討議が行われた(日生誌、36、415-430 (昭和49))。(本間三郎)

昭和50～53年 (酒井委員長)

次期委員長には酒井敏夫教授(慈恵医大)が選ばれた。そして、このときから委員長には、国・公立および私立大学の教授が交互に選ばれるのが慣例となった。昭和50年4月3日、第52回生理学会大会(三重大)の教育シンポジウムでは、Teachers Training、医進教育と生理学、基礎医学と医師国家試験がテーマに取り上げられた。

この時期の教育委員会の最大課題は、文部省へ提出した要望書の実現であった。そして、そのためには要望書の内容に見合い、かつ要望書に迫力を与える「生理学実習書」の刊行が必要であると考えられた。一方、第50回大会の教育シンポジウムに関連して、現

在各大で行われている実習の項目、種類、時間数などの調査が行われたが、教育委員会が生理学実習書を編集することの要望がかなり多いことが注目された。各大学がそれぞれ単独で毎年、生理学実習用の教本を作成することは、かなりの負担でもあった。そこで、日本生理学会編として刊行できる「生理学実習書」の計画が進められることとなった。

まず全国の生理学教室手製の実習書が集められ、その内容が検討されると同時に、再度生理学実習についてのアンケート調査が行われた（日生誌, 39, 27-28 (昭和52)）。これらを基礎にして実習項目を選択した第一次案を「生理学実習書編集計画の経過」として常任幹事会に報告し、その結果、あらためて実習書編集の作業を委嘱されることとなった。この一次案は、さらに検討を加えられ、「生理学実習書目次案」として、昭和51年6月2日、第53回生理学会大会（東北大）の教育シンポジウムにおいて発表された（日生誌, 38, 215-218 (昭和51)）。

本計画および目次案は、大方の賛同をいただくと共に、出版社の厚意を得て順調に進捗し、「生理学実習書・日本生理学会編」として、早くも昭和52年4月に南江堂から出版された。幸い売行きが良く、医学部以外の学部でも使用され、印税収入は生理学会会計に寄与することとなった。翌昭和53年には、本書刊行一年の反省として、「生理学実習書に対する反省と将来の問題点」というアンケート調査をお願いし、将来の改訂に際しての参考資料を残した（日生誌, 40, 79-81 (昭和53)）。本書の序文には、医学の進歩、教育体制の変化に対応して、数年ごとに、その時点での日本生理学会教育委員会が音頭をとって改訂を行うようお願いしてある。昭和53年には、本書の中国語訳が早くも現れている。昭和53年4月、酒井委員長は、本間、大村両委員と伊藤庶務幹事と共に文部省に医学教育課長を訪れ、「生理学実習書」を添えて生理学実習改善の要望書を手交した。その効果は極めて著しく、昭和54、55年度に医学設備費がそれぞれ200万円増額されることとなった。

一方、医学・歯学修士課程の設置が大学設置審議会から答申されたのを機会に、この問題が論議され、昭和52年4月4日、第54回生理学会大会（鹿児島大）の教育シンポジウムのテーマとなった。（酒井敏夫）

昭和53～56年（大村委員長）

次期委員長には、慣例にしたがって国立大から大村

裕教授（九州大）が選出された。生理学実習を教育効果があがるように適切に行うためには、同一種類の器械設備を多く備えて、同一課題の実習を同時に行うことが一番望ましい。教育委員会が編集した生理学実習書が昭和52年4月に発売されたことと、昭和54年から文部省の医学設備費が200万円増額されて、その2年分計400万円を生理学実習設備の整備拡充に使用可能になったことが、ある程度上記の希望をかなえてくれることになった。各実習項目の具体例についての講習会を年1回生理学研究所で開催してはどうかという案が出たが、実現にはいたらなかった。

一方、生理学実習書を活用するために、視聴覚教育機材およびシミュレータを積極的に利用することが提案され、昭和53年4月1日、第55回生理学会大会（新潟大）の教育シンポジウムでは、「生理学教育におけるVTRの利用」と「生理学教育における実習と実験供覧」がテーマにとりあげられた（日生誌, 40, 121-125 (昭和53)）。さらに、各教育委員がそれぞれ一つの実習項目についてビデオテープを作成し、実習教育の効率化を計るとともに、希望会員にはビデオテープを有料頒布することを計画した。この企画は幸い文部省科学研究費（代表：本間三郎）と医学教育振興財団（代表：酒井敏夫）の援助を受け、29の実習項目についてビデオテープを作成することができた。これらのビデオテープは、第57および58回（昭和55および56年）生理学会大会の会場および教育シンポジウムで公開し、また項目のリストを各大学に配布し、生理学会から販売することとなった。第55回生理学会大会以降の教育シンポジウムのテーマはつぎのとおりである。

第56回（昭和54年4月4日、慈恵医大）：生理学教育と独創性、生理学教育法（日生誌, 41, 459-463 (昭和54)）

第57回（昭和55年3月27日、神戸大）：VTR利用による生理学教育（日生誌, 42, 397-401 (昭和55)）

第58回（昭和56年4月1日、徳島大）：教育委員会年次報告、医科学修士課程について、中学・高校における生理学教育（日生誌, 43, 466, 589-590 (昭和56年)）

生理学実習書については、中国で上海生理学研究所、斜科教授ほか9名の生理学者によって翻訳され、16,200部印刷されたことが明らかとなった（定価2.25元）。この翻訳は生理学会には無断で行われたが、本書が中国生理学の教育と研究に貢献していることは喜ば

しいことである。また、本書発行後すでに4年間経過し、その間に1万部販売されたので、昭和56年度に改訂することとなった。改訂の要点は、1) 歯学部の実習書にも使用できるようにする、2) 生物学関係の実習書にも使用できるようにする、3) 設問をより適切なものにする、であった。改訂作業は、大村裕、酒井敏夫両編集者が中心となり、各教育委員会委員がそれぞれに割り当てられた実習項目をレビューして、執筆者にコメントを送り、加筆訂正を依頼するという形ですすめられた。

昭和55年8月、第28回国際生理科学会 (IUPS) がバダベストで開催されるにあたり、生理学教育シンポジウムに参加の要請があった。これに対し生理学実習書の説明と作成したビデオテープの解説および供覧をすることとした。まず、各教育委員会委員がそれぞれに割り当てられた実習項目の要旨を英訳するとともに、体液調節 (星 猛)、筋肉 (杉 晴夫)、および心筋活動 (後藤昌義) については全文を英訳し、昭和医大 A. Simpson 教授の校閲をへて、小冊子とした。この小冊子は、各国 IUPS 教育委員に送付し、国際会議場でも無料で配布した。シンポジウムでは、本間三郎委員が実習書について、大村裕委員がネコ誘発電位のビデオについてそれぞれ解説を行った。実習書の全英訳も考慮されたが、内容が主たる販売先と考えられるアジア諸国の実習実状にそぐわないので、売行きが懸念されたため見送られた。(大村 裕)

昭和56～59年 (菊地委員長)

次期委員長には、菊地録二教授 (東京女子医大) が選ばれた。前委員会からの引継事項であった実習書の改訂作業は順調に進められ、昭和58年4月10日、第二版が出版された。この第二版は昭和62年3月までに5,000部発行されている。

第59回生理学会大会 (昭和57年4月、慶応大) では教育的な解説講演が数多くおこなわれるので、教育シンポジウムは行わず、全解説講演の要旨を日生誌に掲載し、またいくつかの講演についてはビデオテープに収録し、会員に有料頒布することを計画した。そして、山下 博委員が中心となり産業医大視聴覚センターの協力を得て、下記の4講演のビデオテープを作成した (日生誌, 44, 236-237, 572-573 (昭和57))。

1. P. O. Bishop 教授: Central Visual Pathway
2. 伊藤真次教授: 神経内分泌学
3. 富田恒男教授: ERG の細胞起源

4. 浅沼 宏教授: 大脳運動野の構造と機能

このビデオテープも会員の協力によって、予定数を頒布することができ、若干の黒字となったので、学会会計に寄与することとなった (日生誌, 45, 175-176, 317-318 (昭和58))。

教育委員会では、いままで数回にわたって教育に関するアンケート調査を行ってきたが、最終調査から5年以上経過し、教育内容も相当変化したであろうと考えられたので、再び広範な調査を行うことが計画された。まず、調査項目選定のための作業グループが作られたが、電算機処理のため東京女子医大第一衛生学教室の清水悟氏に特別参加をお願いした。アンケートの回収率は60%を越える好成績で、集計結果の分析は各教育委員が分担して行い、第一報 (日生誌, 45, 318-330 (昭和58)), 続報 (日生誌, 46, 270-278 (昭和59)), および歯学部編 (日生誌, 47, 33-46 (昭和60)) として報告された。

昭和58年8月24～26日、New South Wales, Australia で IUPS の教育ワークショップが初めて開催された。これに菊地委員長が出席し、会議の様子は日生誌, 46, 165-169, (昭和59) に詳細述べられている。次期の委員長には、副委員長であった中馬 一郎教授 (大阪大) が選出された。(菊地録二)

昭和59～60年 (中馬委員長)

委員長の交代にともなう、委員も約半数が交代した。そして、全常任幹事にアンケートが発送され、新委員会が取り上げるべき事項について意見が求められた。寄せられた意見および委員会での討議の結果、大会時の教育シンポジウムを再開することになり、昭和60年3月28日、第62回生理学会大会 (久留米大) では「生理学の新しい分野への教育的展望」と題するシンポジウムが行われた (日生誌, 47, 690-692 (昭和60))。その一つのテーマであった臨床生理学・病態生理学の教育に関連して、アンケート調査が行われた。このアンケートは生理学担当教授のみならず、内科系教授280名および外科系教授177名にも発送された。調査結果は日生誌, 47, 243-252 (昭和60) に報告されている。

昭和60年7月28, 29両日、生理学研究所において、研究会「医学教育と生理学」が開催された。この研究会は、医学教育のなかで生理学をどのように位置づけ、また生理学各領域の教育内容はどうかあるべきかを論議するため、教育委員会が企画し、「生理学研究所

研究会」に応募，採択されたものである。16名の教育委員に加えて，各分野から7名の参加者を得，盛会であった（日生誌，47，787-798（昭和60））。同年12月14日には，Goettingen 大学生理学教授 H. D. Henatsch 博士の「西独の生理学教育」と題する講演会を，学士会館赤門分館において開催した（日生誌，48，533-535（昭和61））。

第63回生理学会大会（山形大）の教育シンポジウムのテーマには，free quarter，基礎配属などの名称で呼ばれている「特別研修制度」が取り上げられ，そのためにアンケート調査がなされた。アンケートの回収

率は，大学別で97.5%という高率で，この制度に対する関心の高さが伺われた。調査結果は，昭和61年4月2日の教育シンポジウムの冒頭に報告されたが，現在29大学（69.1%）で特別研修制度が実施されている実体が明かとなった（日生誌，48，650-657（昭和61））。

昭和62年4月1日，第64回生理学会大会（千葉大）の教育シンポジウムには，「生理学教育の中で『死』をどのように捉えるか」がテーマとなった。また，教育委員会の発足から現在までの活動状況をまとめた「日本生理学会教育委員会の歩み」が企画され，日生誌に掲載されることとなった。（中馬一郎）

〔会 報〕

第 95 回 JJP 編 集 委 員 会 議 事 録

日 時：昭和62年1月10日（土）10：30 a.m.～12：00 a.m.

場 所：（財）学会誌刊行センター分室

出席者：星委員長，菅野，酒井，佐藤，中山，広重，本田各委員

1) 前回議事録について

原案どおり承認された。

2) 論文審査状況等について

各委員より審査状況の報告ならびに説明があり，また第37巻1号掲載論文を確認した。

3) ミニレビュー執筆予定の確認がなされ，また，

引き続き依頼をする候補者をリストアップした。

4) その他：

次回期日：昭和62年3月19日（木）

10：30 a.m.～12：00 a.m.

（財）学会誌刊行センター分室において開催予定

〔お知らせ〕

循環障害の微小循環に関するシンポジウム開催のお知らせ

微小循環は物質代謝と直接関係するばかりでなく，循環器疾患にも深く係っていることが明らかになっています。本シンポジウムは，第4回世界微小循環学会の SATELLITE SYMPOSIUM として，微小循環とその障害に関して基礎および臨床から最近の知見を交換することを目的に開催されます。多数御参加下さいますよう御案内申し上げます。

会長：曲直部寿夫（国立循環器病センター）

会期：1987年7月31日（金）～8月2日（日）

会場：大阪千里（豊中市）千里阪急ホテル

登録費（アブストラクト集，歓迎パーティーなどを含む）：世界微小循環学会（本会議）登録者 無料

非登録者 15,000円

Special Lectures：

B. W. Zweifach (USA)：Microvascular Basis of Disease

P. Gaetgens (FRG)：Microvascular flow disturbances：rheological aspects

P. C. Johnson (USA)：Microvascular regulation：its disturbance in diseases

D. W. Lubbers (FRG)：O₂ delivery and microcirculation in brain

L. H. Smaje (UK)：Microvascular permeability：its disturbance in diseases

S. Oka (Japan)：Microcirculatory dysfunction in an environment of weightlessness

Symposia : Myocardial ischemia, Cerebral ischemia, Ischemia of peripheral tissues, Multiple organ failure, Gastrointestinal disorders 他

連絡先：大阪府吹田市藤白台5-7-1
国立循環器病センター研究所
二宮石雄または新見英幸

1987年国際膜会議(ICOM '87)

主催：日本膜学会・ヨーロッパ膜科学技術学会
協賛：日本腎臓学会・日本生理学会・日本生化学会・日本薬学会・日本化学会・高分子学会・繊維学会・化学工学協会・日本生物物理学会（順不同）
後援：通商産業省・厚生省・農林水産省・科学技術庁日本学術会議（順不同）

下記のように人工膜や生体膜に関する国際会議が開催されますので多数ご参加下さい。

記

1) 日時：昭和62年6月8日(月)～12日(金)

2) 場所：東京全日空ホテル
〒107東京都港区赤坂1-12-33
Tel. 03-505-1111

3) 参加費：一般50,000円，学生25,000円

4) 連絡先：日本膜学会 事務局
〒113 東京都文京区本郷4-14-9
Tel. 03-815-2818

または、(株)国際会議事務局

〒103 東京都中央区日本橋2-14-9
加商ビル Tel. 03-272-7981

公益信託成茂神経科学研究助成基金 昭和62年度助成先の募集について

当基金は、下記募集要項により助成先を募集致して居ります。応募御希望の向は、受託者にお問合せ下さい。

記

〔募集要項〕

1. 助成対象および助成額

(1) 神経科学の研究に対する研究費の補助、奨励金の交付

助成額 総額120万円以内

(2) 神経科学に関する講演会・研究集会等の開催、外国学者の招聘又は論文発表・図書の刊行等に対する費用の補助

助成額 総額40万円以内

(3) 神経科学に関する海外の学会に参加する為の渡航費の補助

助成額 総額40万円以内

2. 応募資格

特に制限はないが、銓衡に当っては、40歳未満の研究者を優先する

3. 応募期限 62年7月10日(金)

4. 助成決定の時期 62年10月の予定

公益信託成茂神経科学研究助成基金

受託者三菱信託銀行本店営業部

千代田区丸の内1-4-5

電話03-212-1211

内線4135

第 4 回 神 經 内 分 泌 学 ワ ー ク シ ョ ッ プ

下記によりラットの神経内分泌学研究のための基礎技術ワークショップを開催します。参加御希望の方の御申込みを待ちます。

記

日 時：昭和62年7月21日(火)～7月24日(金)

場 所：群馬大学内分泌研究所形態学、生理学部門

担当者：黒住一昌，井上金治，谷口 豊，田中滋康，
鈴木光雄，松崎 茂，石川巧一，加藤昌克，
掛川忠雄，征矢英昭，鯉淵典之，武田 守，
井嶋邦彦，小沢一史

課 題：

1. 視床下部ホルモンの免疫組織化学(固定法, free floating 法, パラフィン切片染色法)

2. 視床下部一下垂体ホルモン分泌実験(電気刺激, 脳室注入, 電気破壊, ナイフ・カット, 留置カテーテルからの採血法)

費 用：参加費4,800円

実習実費(主として動物代)とテキスト代10,000円の実費をいただきます。

申込み：〆切日 昭和62年7月5日(日)

〒371 前橋市昭和町3-39-15

群馬大学内分泌研究所生理学部門神経内分泌学ワークショップ係

葉書でお申込み下さい。

定員10名，参加御希望の方が多数の場合は選考を当方におまかせ下さい。

再び 日本生理学教室史(下巻)原稿執筆のお願い

日本生理学教室史編集委員会

委員長 望 月 政 司

去る第64回日本生理学会総会にて日本生理学教室史下巻の原稿執筆状況の報告を申し上げ、今一息の感じをお伝えしました。来る昭和62年8月31日を最終脱稿日にすることも申し添えました。新学期に入り、生理学実習等で御多忙のことと思いますが、是非共御協力方を切にお願い致します。

〔編集後記〕

会員の皆様は、第64回生理学会大会を桜花爛漫と咲き乱れている千葉大学で済ませ、次回の御準備へと少し寛がれていることと思います。頃は新緑の季節でもあり、連休の5月を迎えて新学期とともに新たな活動を進められておられることでしょう。

本誌の発行が遅れておりましたが、少しずつ取りもどすよう努力を致し4号は1ヶ月遅れの発行になって参りました。

第4号は、総説はありませんが、原著1編の掲載がございます。この原著からも伺われますように、嘗て電気生理学的なアプローチが主であった生理学誌も物質代謝や分子生物学の分野が進み、あらゆる分野のものが包含された形として学会誌の内容も広がってゆくものと考えられます。

そのような意味でも、従来の投稿規定の見直し作業は時宜を得たものと考えております。お気付きの方もあろうかと存じますが、投稿規定は昭和45年に制定され昭和49年と昭和58年に改訂されておりますが、今回

は従来のものを大幅に変えたこともあり、改定の字句に“定”を用いたという次第です。

生理学会は、全ての学会を代表する顔としたいもので、原著のみならず総説をも通して学問の動向はこの一冊を読めばよいというふうにしたいと考えているのは、独り小生のみではないと思います。会員諸兄姉の御教示をお願いする次第です。

本年は、星会計幹事を始めとして数人の方々が退官されました。本号には、生理学における教育委員会の歩みを集録してあります。視聴覚教育を始めとし教育の在り方は、急速に変わりつつあり、新しい情報も急速に増えて教育すべき分野も多岐に亘ってきております。委員会の歴史は今後の教育の在り方を探る意味で温古知新の糧として大切なものであり、多くの委員の方々の足跡に思いを馳せる次第です。

来年は、和歌山大学で第65回の大会が開催されます。その第1報が先月3号に掲載されましたが、皆様との出会いを楽しみにしている次第です。

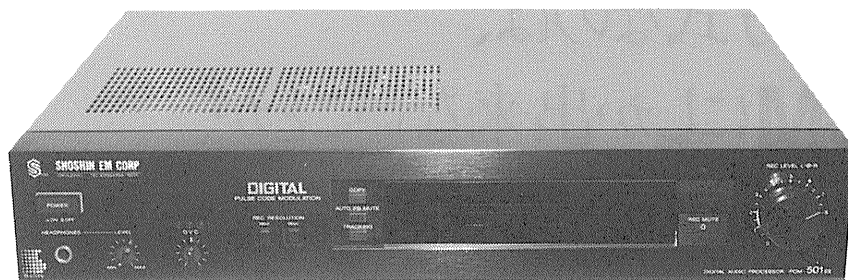
(平野修助)

— 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)	丹 治 順(東 北)	本 間 信 治(関 東)
小 野 武 年(中 部)	藤 本 守(近 畿)	村 上 恵(中・四国)
堀 哲 郎(九 州)		

PCMデータ・プロセッサ

—PCM-DP16型—



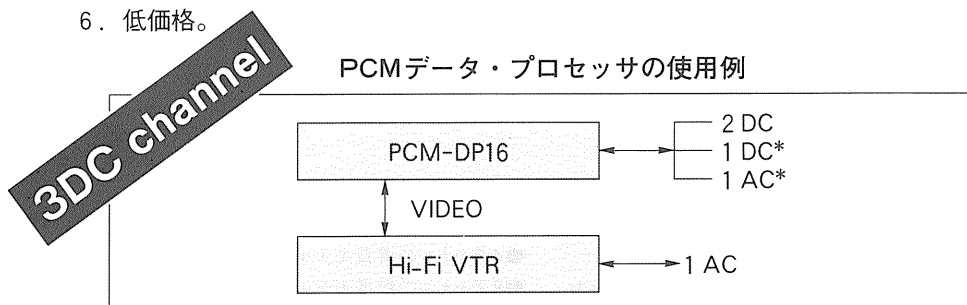
PCM-DP16型はカレントクランプ、パッチクランプ、ボルテージクランプを含めた生理学現象のあらゆるアナログデータをPCM信号に変換する装置です。PCM-DP16型を使用すれば市販のVTRを高性能なデータ・レコーダーとして用いる事ができます。

また、市販のVTRテープを使って長時間の記録が可能なので、大量のデータを安価に記録できます。

特 長

1. SN比が良く(80dB程度)記録データが劣化しない。
2. 周波数特性が良い(DC~15KHz)。
3. 長時間の記録ができる(最大でVHS 8H、 β 5H、8ミリVTR 4H)。
4. 記録密度が高い(0.3Gbyte/H)。
5. 入出力レンジが $\pm 10V$ あるのでコンピューターのA/D基板との接続が容易。
6. 低価格。

PCMデータ・プロセッサの使用例



DC*チャンネルはトリガー信号、ゲート信号など高い周波数特性を必要としない信号の記録用です。

AC*チャンネルは音声記録用として使用できます。



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) 54-1231 番代表

FAX (0564) 54-3207 番

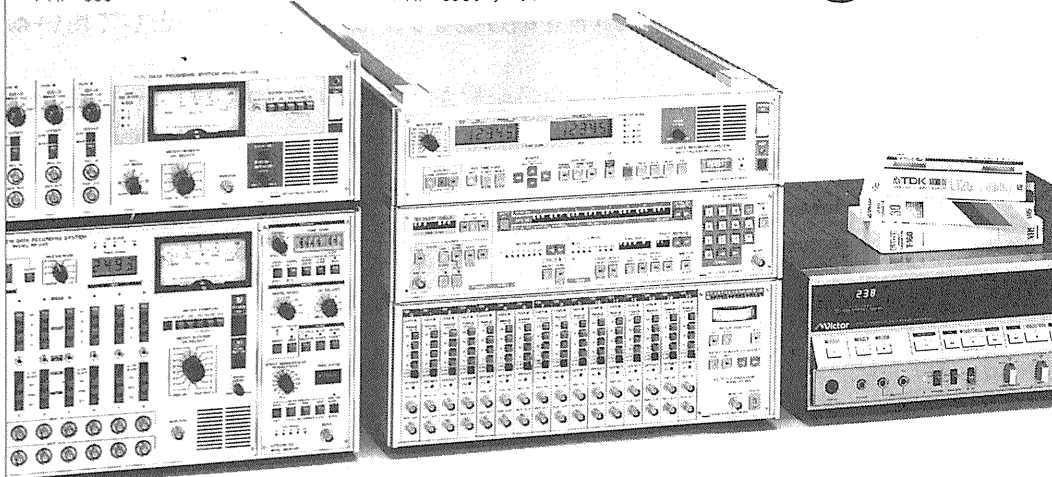
エヌエフのデータレコーダが
PCM方式なのは、
PCMにしか出来ないことが、
いろいろあるからです。

DATA RECORDER

▼RP-880

▼RP-890シリーズ

ENTER THE AGE OF PCM
PCM
VTR
RP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

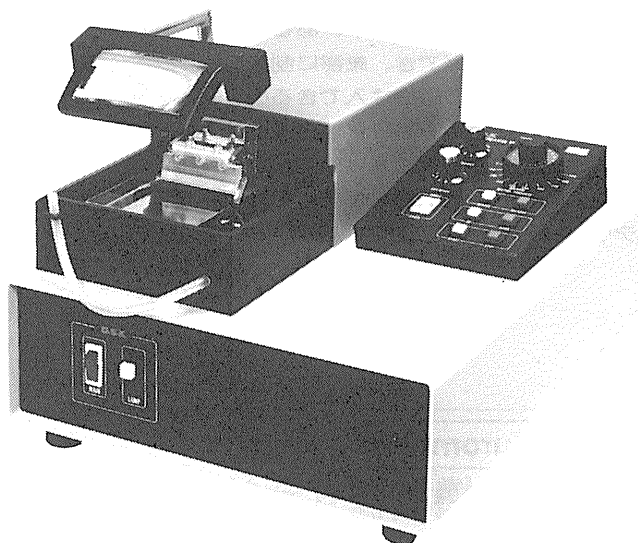
株式会社エヌエフ回路設計ブロック

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

D.S.K

新鮮脳のスライス作製に!

Automatic



未凍結切片作製装置

マイクロスライサー 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。「マイクロスライサー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 of 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

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
	直径 (cm)	0.7	0.7	1.4	1.4
総容量	量 (ml)	1.0	1.0	6.5	6.5
	重さ (g)	1.1	1.1	5.1	5.1

日本総代理店

Muromachi

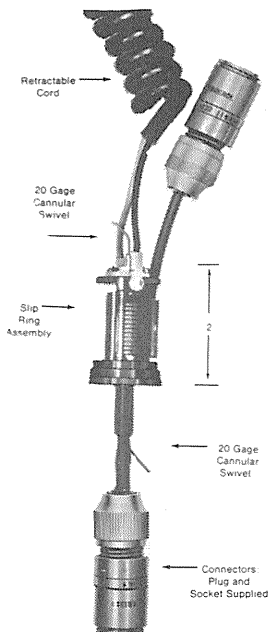
室町機械株式会社

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: $1\mu\text{A} \sim 1\text{A/ring}$
電圧: $1\mu\text{V} \sim 115\text{V/ring}$
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

936μS

スピードが、グラフックが、
生体信号処理をかえた。



オンラインの多チャ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ぐんと拡大しました。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



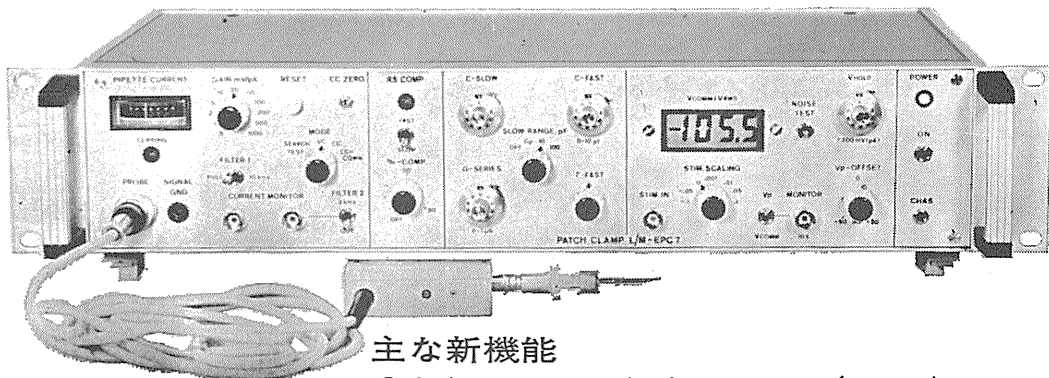
日本電気三栄

〒160 東京都新宿区大久保1-12-1 ☎03(209)0811(代表)

新製品 F.J.Sigworth・E. Neherのオリジナル

西独リスト社

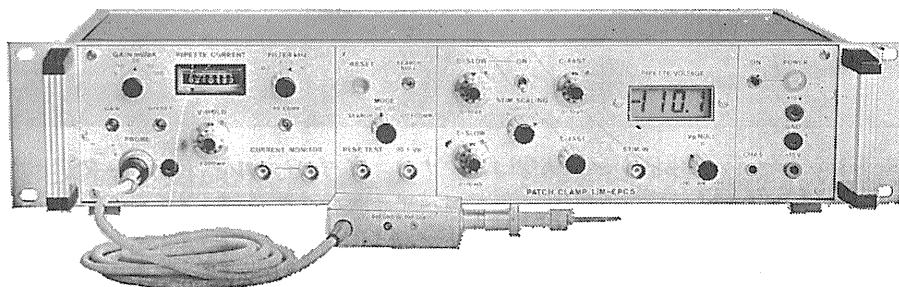
パッチクランプシステム EPC-7



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
- Rs 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10番3号 コイダビル4F
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 名古屋市東区葵1丁目25番1号 ニッシンビル701
TEL 052(937)7060

神経科学研究機器



〈新製品シリーズ〉 低価格・高性能で新発売

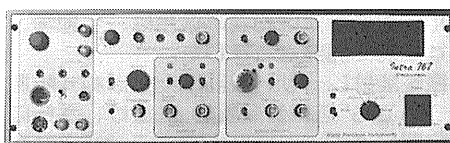
■微小電極用増幅器

Electro 705



- 低ノイズ設計……………RS=20 500 μ V P-P以下
- 超小型プローブ……………15 g
- バッテリーパワー採用…9V $\times$ 4ヶ

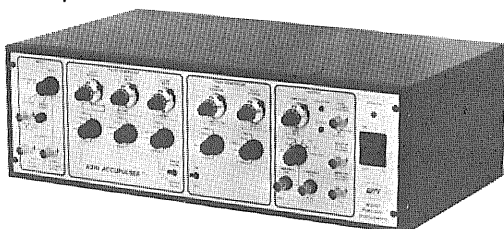
Intra 767



- 単一電極による電位誘導及び定電流通電
- ブレーク機能による色素、薬物の注入($\pm$ 200V)
- デジタルパネルメーターによるカレントモニター

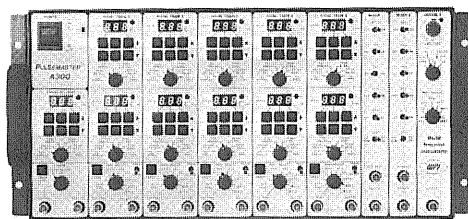
■刺激装置

Accupulser A310



- 水晶クロック方式を採用したシングル、ダブル及びトレインパルスを取り出せる1チャンネル型の刺激装置

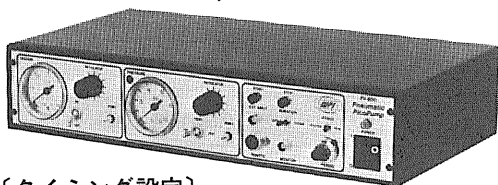
Pulse Master A300



- すべての時間設定をLEDで表示するマルチチャンネル刺激装置
- インターバルジェネレーター……1, ミキサーチャンネル……………2
- パルストレインチャンネル……5, バリアブルアウトステージ……1

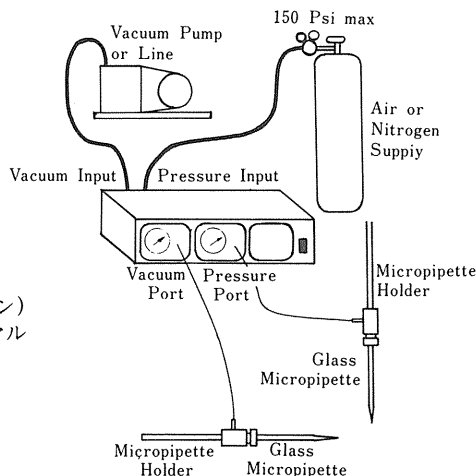
■細胞内／細胞外用マイクロインジェクション 気圧式ピコポンプ

Pneumatic PicoPump PV-820/PV-800



〔タイミング設定〕

- 期間モード GATED (入力信号による)
TIMED (内蔵時計による)
- パルス始動 手動、外部入力及びフットスイッチ (オプション)
- パルス幅 TIMED モードで10msec~10sec (10回転ダイヤル設定) 最低設定幅は設定圧による。
(ex. 8msec at 0 psi, 3msec at 100psi)
- 精 度 フルスケールの0.1%
- 外部入力 +5 VTTL-compatible (BNC)
- モニター出力 +5 VTTL-compatible (BNC)



バイオリサーチセンター株式会社

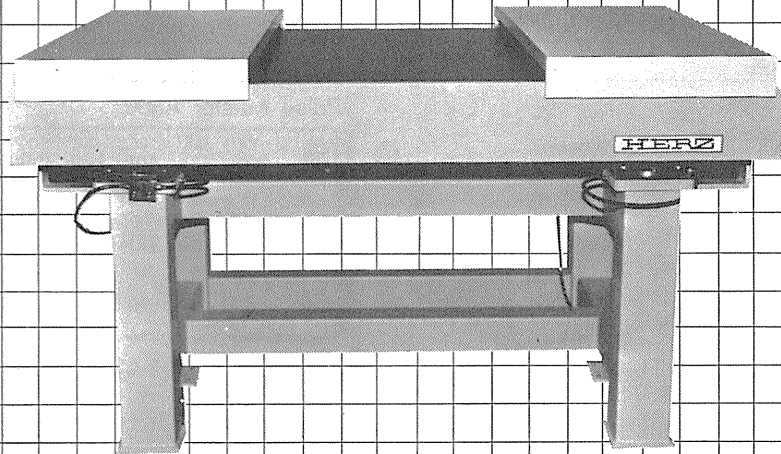
本社 名古屋市東区白壁1-45 (白壁ビル808号) FAX 052(951)3205 ☎052(951)3271
東京 東京都江戸川区東葛西5-1-15 (第2 頼長ビル403号) ☎03(878)6471
大阪 大阪市淀川区中島5-7-17 (ビップ第2 新大阪ビル10F) ☎06(308)5732

HERZ

大形空気ばね式防振台 (微小電極用空気ばね式防振台)

ヘルツ大形空気ばね式防振台は、生理学・薬理学の分野に多く使用されている「微小電極装置」を搭載する為に開発されました。

防振性能はレーザー機器用空気ばね式防振台と全く同一であり性能において変わらず、また操作性についても「搭載盤保護枠」を設け、さらに防振性能を損なわぬよう「肘当台」を具備しております。機器配置による「水平アンバランス」は「自動水平レベルセンサー」により自動的に水平を保ちます。



HRAS-129LA-S

仕様

寸法mm

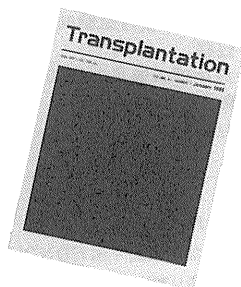
項目	形式	HRAS-107LA-S	HRAS-129LA-S
固有振動数		約1.7Hz	
防振方式		HERZ空気ばね	
制振方式		オルフィスによるエアードンピング	
搭載盤寸法		1000×700	1200×900
外形寸法		1060×800×750	1260×1000×750
搭載可能重量		200kg	
全体重量		130kg	155kg
付属品		肘当台および保護枠（本体に取付）	
その他		空気源は御客様にてご用意ください。	

ヘルツ工業株式会社

〒252 神奈川県藤沢市遠藤1980
TEL.0466-88-1301(代) FAX.0466-88-3273

TRANSPLANTATION

Editors: J. R. Batchelor, P. J. Morris, E. J. Eichwald, Anthony P. Monaco,
David Steinmuller, Mary L. Wood



臓器および組織移植における拒絶反応、組織の
かけ合せ、免疫処置、感染など重要問題に関す
る世界各国からの原著論文と簡単なレポートに
よる研究成果を掲載。

月	個人 ¥28,800/年
刊	法人・図書館 ¥34,800/年

STAIN TECHNOLOGY

Editor: J. B. Longley, MD.
A Journal for Microtechnic and Histochemistry



染色標準作成の技術に専門に取扱う雑誌で、関
連するテーマに関する原著論文のみを掲載、顕
微鏡学、組織化学、病理学、組織学等における
方法論での革新的発展を展示。

隔月刊	個人 ¥12,000/年
刊	法人・図書館 ¥16,800/年

移植及び免疫分野の
学術誌。

'87/1月創刊 白血病及び関連疾病のあらゆる面に関する最新で総合的な情報源

LEUKEMIA

月	個人 ¥25,200/年
刊	法人・図書館 ¥86,400/年

Editors-in-Chief: C. Nicole Muller-Berat, Sven-Aage Killmann

'87/1月創刊 ホルモンの働きの分子メカニズムに関する学術誌。リンホカイン
や腫瘍遺伝子の分野の研究も掲載。

MOLECULAR ENDOCRINOLOGY

Editor: E. Bradbridge Thompson, MD.

月	個人 ¥26,400/年
刊	法人・図書館 ¥39,600/年

■1987年「円」価格は、版元の都合で変更されることがありますので、予めご了承下さい。

■ご注文・お問い合わせは直接本社「マーケティング部」までお願いいたします。■カタログご請求下さい。

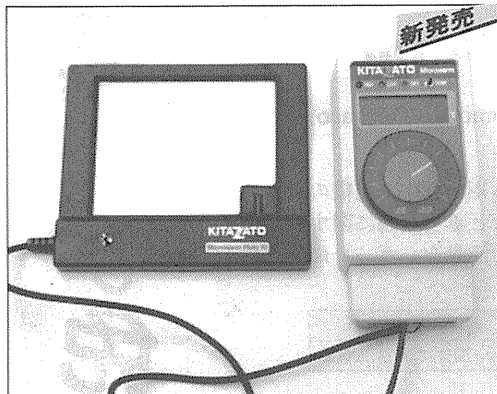
日本総代理店
USACO

ユサコ株式会社

本社 〒105 東京都港区新橋1丁目13番12号堤ビル ☎(03) 502-6473(代表)
大阪営業所 〒530 大阪市北区堂島1丁目2番2号日昭ビル ☎(06) 344-6624(代表)
名古屋営業所 〒461 名古屋市中区栄3丁目63番地 ☎(052) 931-2601(代表)
筑波営業所 〒300 土浦市富士崎1丁目7番21号和光ビル ☎(0298) 23-1773(代表)

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®

デジタル表示
設定温度モニター付

MP-10 DM

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 室温～37°C～50°C

加温板面寸法 84×106mm ガラス厚:1mm

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て、お申込みください。●ご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。

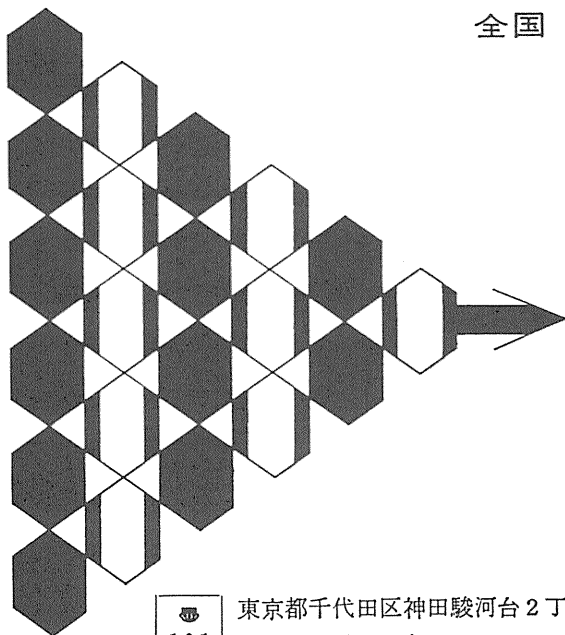
KITA ZATO

製造: 株式会社 北里サプライ

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



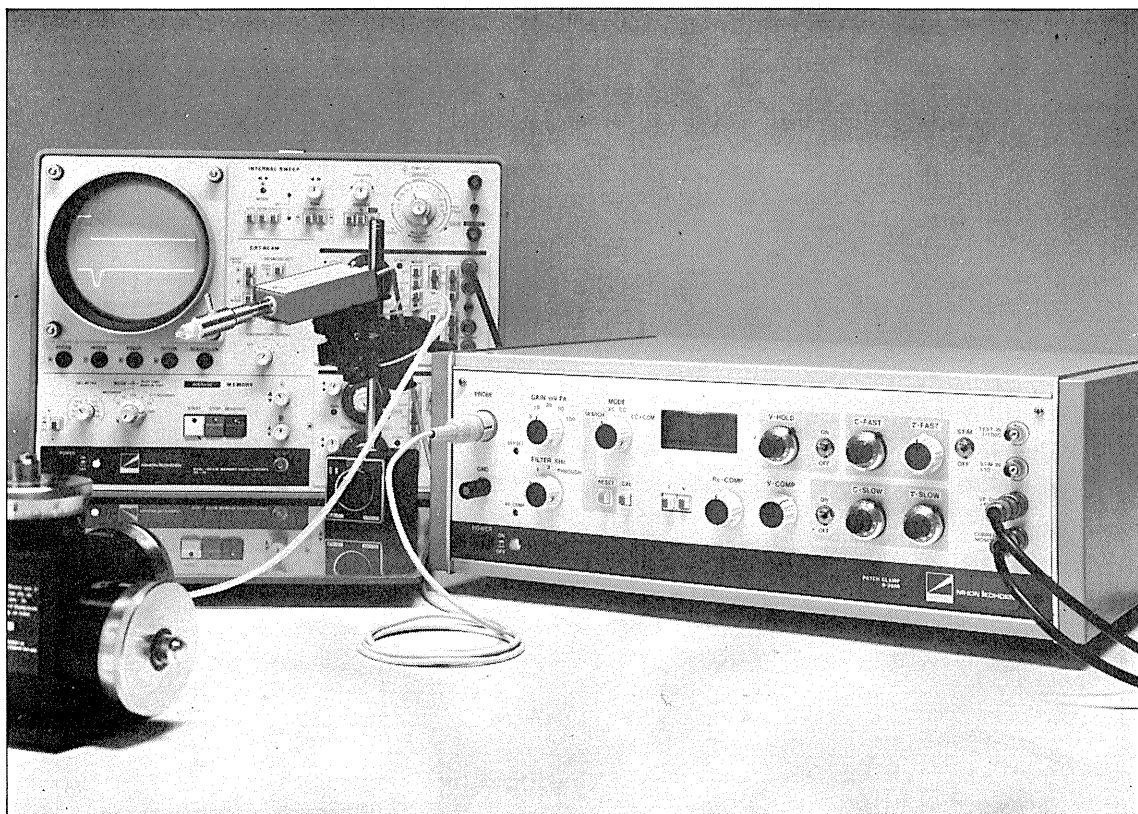
各学会の雑誌、抄録、プログラム及び名簿
等の印刷並に広告掲載のお世話を致します

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



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) があり、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. 49, No. 4 (1987)

Original

MURAKAMI, J.: Changes of erythrocyte deformability induced by calcium
 accumulation and calmodulin inhibitors 119

昭和六十二年三月二十日印刷

編集兼
 発行人

酒井敏夫
 東京都文京区本郷三丁目一〇
 市地ビル（四階）
 日本生理学会

印刷所

印刷者
 三浦経夫
 山形県鶴岡市山王町二丁目二四
 鶴岡印刷株式会社

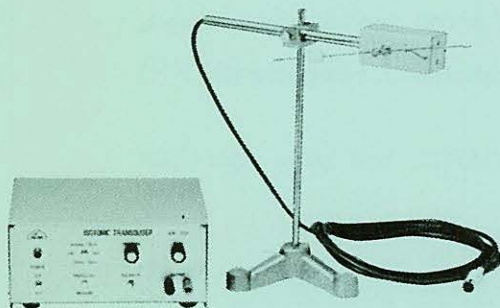
発行所

〒一〇三
 東京都文京区本郷三丁目一〇
 市地ビル（四階）
 日本生理学会

定振電話
 替東八
 価京三一
 百七五
 四六一
 三六二
 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っていた測定を電氣的測定におきかえることにより、取扱いの簡便さ、再現性および信頼性を高めました。



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

理化学器械・基礎医学器械・実験動物飼育機械器具・薬学研究器械・医科器械一般



株式会社 夏目製作所

〒113 東京都文京区湯島2丁目18番6号
 電話 03 (813) 3251 (代表)
 FAX 03 (815) 2002