

日本

生理学

雑誌

JOURNAL OF THE PHYSIOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

50巻

2号

1988

総 説

曾我美 勝, 恵良聖一, 亘 弘: 生体内における水構造と $^1\text{H-NMR}$ 情報..... 53

資 料

渡辺和人, 古閑睦好: 複数の金属イオンを含む溶液にキレート剤を加えた時の遊離
金属イオン濃度の計算方法..... 70

学会抄録 第74回近畿生理学談話会..... 75

第39回日本生理学会中国四国地方会..... 83

教 育 日本生理学会編「生理学実習書」改訂のためのアンケート調査報告書..... 95

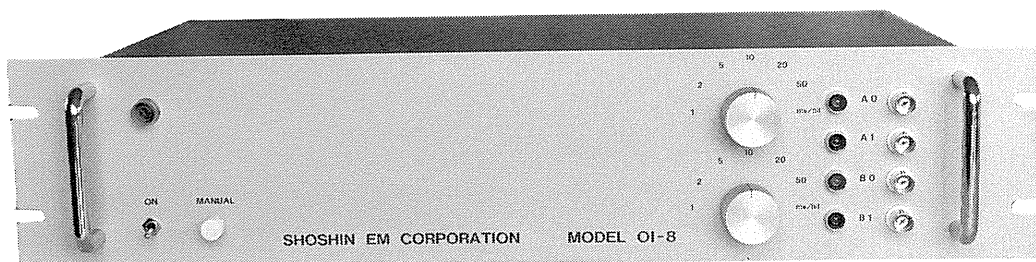
会 報 昭和62年度第2回日本生理学会教育委員会議事録..... 98

お 知 ら せ 第19回(昭和63年度)三菱財団自然科学研究助成応募要領.....100

上原記念生命科学財団国際シンポジウム.....100

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) 54-1231 代表
FAX. (0564) 54-3207

生体内における水構造と $^1\text{H-NMR}$ 情報

曾我美 勝・恵 良 聖 一・亘 弘*
(岐阜大学医学部第二生理学教室・岡崎生理学研究所分子生理*)

$^1\text{H-NMR}$ Studies on the water Structure in Biological System. Masaru SOGAMI, Seiichi ERA and Hiroshi WATARI* (*Department of Physiology, School of Medicine, Gifu University, Gifu 500 and *Department of Molecular Physiology, National Institute for Physiological Sciences, Okazaki 444*)

I. はじめに

一般生理学の分野で、水輸送機序については多くのグループが興味をもち研究を進めてきたが、生体内、特に細胞内水構造については、最近まであまり興味をもたれなかった。一部の生理学者は、何故細胞内に水構造を壊す K^+ (order-destroying ion) が多く、細胞外には、水構造を壊さない Na^+ (order-producing ion) が多いかということについて疑問をもった (Ling³³, Wiggins⁴³) の図書、総説参照). Gurney (1953)²⁰ が、Ionic Processes in Electrolyte Solution なる著書中で、水溶液中の水構造変化の目安になるユニタリー・エントロピー (ΔS_u) なる物理量を用い、イオンを order-producing ion と order-destroying ion に分類した。Kauzmann (1959)³⁰ は Gurney の手法を用い、水溶液中の疎水分子による水構造変化、特にユニタリー・エントロピー変化より疎水結合 (hydrophobic bond) のアイデアを提案した。ついで Pauling (1960)³⁶ は、一般の麻酔、低温麻酔の機構の一つとして神経細胞内水構造変化の重要性を指摘した。Kauzmann (1959)³⁰ の疎水結合の考えは生命科学、特に生化学に応用され、この分野の大きな進歩があった。Peschel と Adlfinger (1967, 1969, 1979)³⁷⁻³⁹ は 2枚の石英板 (100~1,000 Å 間隔) 中の水構造が 0 °C から 70 °C に上昇するにつれ、15°, 31°, 45°, 61 °C において周期的に構造変化することを見出した。Drost-Hansen (1971)¹⁴ は Peschel, Adlfinger の報告³⁷⁻³⁹ を

参照にし、生物の体温、温度変化についての膨大なデータを解析し、次のような推論をした。即ち、「15°, 31°, 45°, 61 °C は生物にとって好ましくない温度であり、これらの温度の前後に生物の好ましい温度がある」と推論した (上平 (1977)⁴², 逢坂, 吉川 (1985)⁶ の総説参照)。Wiggins (1979)⁴³ は Peschel と Adlfinger (1967, 1969)^{37, 38} の報告を彼等と全く異なる方法を用いて再確認した。このような微小間隙中の水 (マイクロ・サイズの水) 構造変化の研究が Kauzmann (1959) の疎水結合³⁰ の報告より、約10年後、多数のグループにより開始された^{11, 14, 26, 27, 31-33, 36-39}。これら微小間隙 (マイクロ・サイズ) における水構造変化の報告と前後して、 $^1\text{H-NMR}$ による腫瘍細胞内の水分子の縦緩和時間 (T_1), 横緩和時間 (T_2) が正常細胞の T_1 , T_2 値より長いことが Damadian (1971, 1973)^{12, 13}, Hazlewood ら (1972)²³ により報告された。腫瘍細胞内水分子の T_1 , T_2 増加の機序は、含水量の増加によるとの報告もあったが^{24, 25}, Damadian^{12, 13}, Hazlewood ら^{7, 8, 23} は単に含水量の差でなく細胞内水構造の差によることを強調した。この腫瘍組織 (細胞) と正常組織内水分子の T_1 , T_2 値の差は MRI (magnetic resonance imaging) として、水構造差発現の機序が不明のまま、臨床で応用されている。さらに、この細胞内水分子の T_1 , T_2 値の差を用いた NMR 顕微鏡が開発され、Aguayo ら (1986) は1個の細胞の MRI (分解能 ~10 μm) を観測した¹。また、Wiggins (1979)⁴³, Ling (1984)^{32, 33} らは細胞内外の Na^+ , K^+ の分布における水構造の役割について興味深い考察を加えた。

筆者らは、岡崎・生理学研究所における共同研究「 $^1\text{H-NMR}$ によるウシ血漿アルブミンの分子老化現象の研究」において、ウシ血漿アルブミン(bovine plasma albumin, BPA)が、混在する微量のプロテアーゼにより Gln-392 と Cys-435の間で1~2箇所ペプチド鎖が切れ BPA*と呼ばれる構造になると、重水 (D_2O) 中でゲル化することを見いだした。この蛋白質の溶液状態における $^1\text{H-NMR}$ の各種緩和時間、即ち T_1 , T_2 及び蛋白質より水への分子間交差緩和時間(T_{1s}) に大きな差を見いだした。蛋白質の溶液・ゲル変換(ゾル・ゲル変換)における水構造変化を系統的に研究し^{17,18,40)}、その成果をラット正常肝、腫瘍肝の水構造¹⁶⁾、ソフト・コンタクト・レンズ内水構造^{4,22)}の研究に応用した。この総説では、生理学的観点から見て興味ある微小間隙における水、鎖状高分子網目内の水(マイクロ・サイズの水)の不思議な性状、蛋白質溶液・ゲル変換における水構造変化とその機序(細胞のモデル系)、正常、腫瘍肝における水構造などについて述べよう。

II. 微小間隙における水と鎖状高分子網目内の水の性状—マイクロ・サイズの水

細胞内には、細胞骨格蛋白と呼ばれる3種のフィラメント系、即ちマイクロチューブル(直径 $\sim 250 \text{ \AA}$, 図1の MTL), インターメディアートフィラメント($\sim 100 \text{ \AA}$), ミクロフィラメント($\sim 60 \text{ \AA}$)などの球状蛋白質の線状集合体が図1に示すように狭い間隔で配列している。Clegg(1983)¹⁰⁾は図1に示す線状集合体の表面で少なくとも $25\sim 30 \text{ \AA}$ にわたって水が構造化していると指摘した。このような狭い空間における水構造の変化は、細胞生理学以外の分野において基礎的研究が進められた。Israelachviliら(1983)^{26,27)}は非常に精巧な界面間分子力測定装置を試作し、2枚のマイカ板間に 2.8 \AA (水分子の Stokes 直径)の周期で斥力、引力によるポテンシャル・エネルギーの山、谷がマイカ板表面より約 30 \AA にわたり観測されることを報告した。このマイカ表面の構造化された数層の水

J.S.CLEGG (1983)

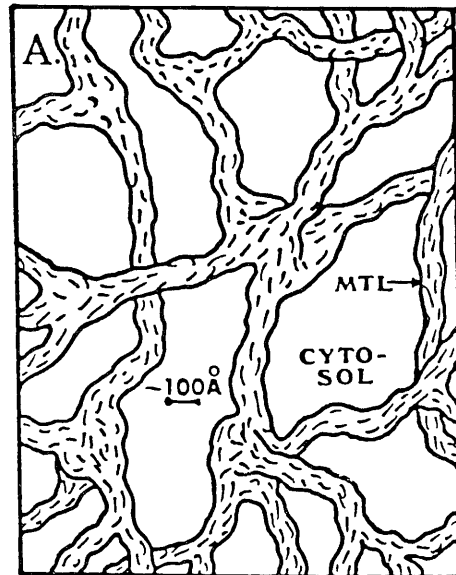


図1. 細胞骨格蛋白と呼ばれる3種のフィラメント系(マイクロチューブル(MTL), インターメディアートフィラメント, ミクロフィラメント)の模式図(Clegg(1983)).

分子の厚さは、Cleggの示唆したマイクロチューブル(図1, MTL)などの表面の構造化された水層の厚さ¹⁰⁾とほぼ同じであった。Peshelら(1967, 1969, 1979)^{37~39)}は2枚の石英板間(距離, $300\sim 1,000 \text{ \AA}$)の水の分離圧(disjoining pressure: 分離圧とは、狭い界面間の一層の水を界面外の自由水相に押し出すに必要な自由エネルギー変化に比例し、分離圧が大きいほど水の構造化が大きい)が、図2に示すように奇妙な温度依存性を示すことを報告した。この分離圧のピーク温度で水分子のエントロピーが減少し、水分子は、より構造化されている。狭い界面間($300\sim 900 \text{ \AA}$)の界面粘度(surface viscosity)も図2(分離圧の温度依存性)に対応した変化を示した^{11,14,38)}。即ち、界面粘度の極大と分離圧の極大がほぼ一致している^{37~39)}。この極大の位置は、 15° , 32° , 45° 及び 61°C であった。このような奇妙な分離圧、界面粘度の温度依存性は狭い界面間の距離が約 $1,000 \text{ \AA}$ 以下において観測された。このような狭い界面内の水の構

G. PESCHEL (1979)

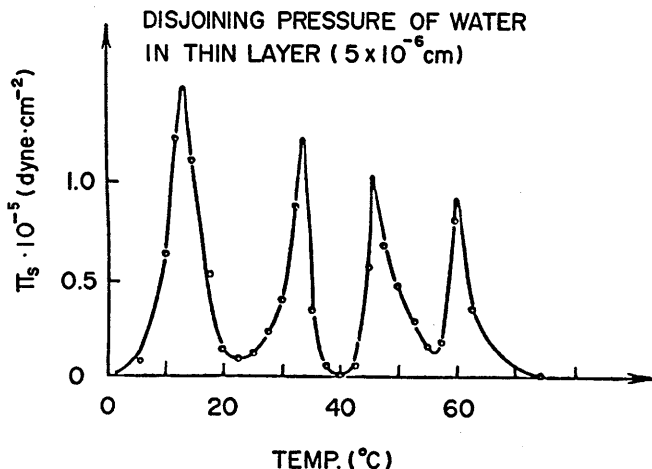


図2. 2枚の平行石英板に挟まれた水相(厚さ 500 Å)の分離圧(disjoining pressure)の温度依存性(Peschel(1979)).

造,特に界面近傍の水性状が,細胞質内の水の役割を考える際に重要であると Clifford (1975)¹¹⁾が指摘した. Drost-Hansen(1971)¹⁴⁾は図2の異常な分離圧温度依存性と各種生物の至適温度(体温)の関係について考察を加えた. 細胞内部には,図1に示すようにフィラメント系による多数の狭い界面があり,これら狭い界面間の水構造はPeschelらの発見した図2のような変化を示すであろう. 図2の分離圧の極小になる15~32°C, 32~45°C, 45~61°Cの間では水構造が減少している. このような水構造の減少した温度域に生物の至適温度(体温)があることをDrost-Hansenが指摘した^{6,14,42)}. 例えば,好熱菌などの至適温度(体温)は53~55°Cの間,大部分の哺乳動物の至適温度は35~40°Cに集中し,160種類の哺乳動物の体温の平均は38°Cであった. 鳥類の至適温度(体温)は41.5°Cに集中している. 多種類の昆虫,魚,土壤微生物などの至適温度は22~26°Cに集中している. 微生物の孢子発芽至適温度について大変興味ある実験がある(Levinsonら(1970). Drost-Hansenの総説参照)¹⁴⁾. 特定の栄養素の不足状態で,孢子発芽至適温度が3°,25°,41°Cにおいて観測された. これらの温度は,狭い界面間の水の構造化の少ない図2の分離圧極小温度に良く対応し

ている.

狭い界面間の水構造変化について,全く別の実験による証明もある. Wiggins(1979)⁴³⁾は多孔質シリカ・ゲル・ポア内の界面による水構造変化について研究した. この際,Wigginsは低pHの電解質溶液を用い,シリカ・ゲル(small-pored silica gel)の荷電の非常に少ない状態で実験した. 図3Aは,模式的に多孔質シリカ・ゲルを示している. K_1^+ , Na_1^+ はシリカ・ゲル・ポア内水相の K^+ , Na^+ 濃度, K_o^+ , Na_o^+ はポア外・自由水(bulk water)中のイオン濃度, λ_{K^+} , λ_{Na^+} はそれぞれ K_1^+/K_o^+ , Na_1^+/Na_o^+ ,即ち,ポア内外の分配係数を示している. $K_{Na^+}^{K^+}$ は $\lambda_{K^+}/\lambda_{Na^+}$ である. Gurneyの分類²⁰⁾によると,図3Bの右下方の K^+ , Rb^+ , Cs^+ , Cl^- などは水構造を壊すイオン(order-destroying ion)であり,図3Bの左上方の Na^+ , H^+ , Li^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} などは水構造を壊さないイオン(order-producing ion)である. 図3Bに示すように,order-destroying ionのポア内水相(構造化された狭い隙間の水相)への分配係数(λ_i)が大きく,order-producing ionの分配係数は1より小さい. 図3Bの縦軸は各イオンの水粘性活性化エネルギーに対する寄与分の相対値を示している. 粘性の活性化エネルギーはorder-destroying ionとor-

der-producing ion 分類法の別の規準になっている。粘性の活性化エネルギーと各種イオンの

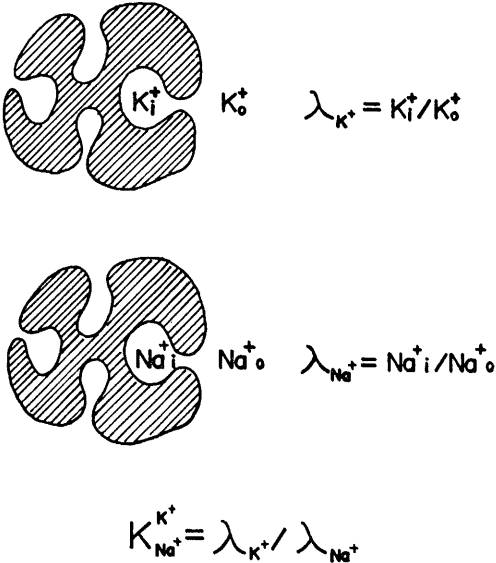


図3 A. シリカ・ゲル・ポア内の水相と外部水相(自由水)間のイオン分配係数(λ_i)の模式的説明図。 K_i^+ , K_o^+ および Na_i^+ , Na_o^+ は K^+ , Na^+ のポア内外の濃度を示す。 $K_{Na^+}^{K^+}$ は図のように K^+ , Na^+ の分配係数の比, $\lambda_{K^+}/\lambda_{Na^+}$ を示す。

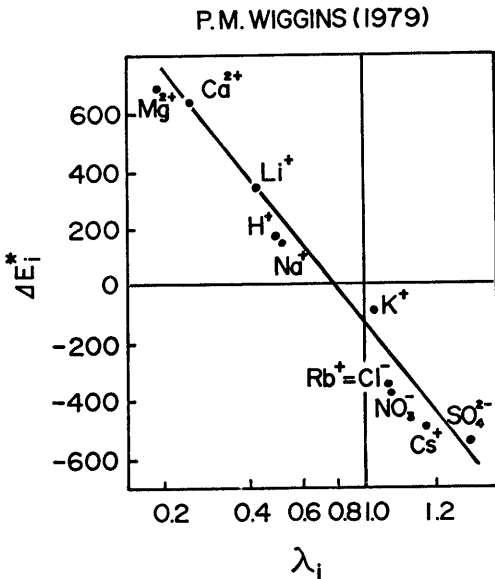


図3 B. 各イオンの水粘性活性化エネルギーに対する寄与分 (ΔE_i^* , 縦軸スケールは相対値) と図3 Aの各イオン分配係数 (λ_i , 横軸スケールは対数) の関係を示す (Wiggins(1979))。

シリカ・ゲル・ポア内の狭い隙間の水相への分配係数の間に大変良い相関がある。即ち、水の構造を壊すイオンほど構造化されたシリカ・ゲル・ポア内の水相に良く分配する。ところで、構造化されたシリカ・ゲル・ポア内の水の 1H -NMR スペクトルは大変高磁場側に化学シフトし、しかも T_1 , T_2 値も減少している (Cliford の総説参照)¹¹⁾。

このような order-destroying ion と order-producing ion の分配係数の比, $K_{Na^+}^{K^+} = \lambda_{K^+}/\lambda_{Na^+}$ を用い、Wiggins(1979)⁴³⁾ は1967年の Peschel と Adlfinger (図2と同様の実験)³⁷⁾の実験を追試した。当時、多数の研究者は Peschel の結果を実験誤差として疑問視したので、Peschel 自身も1967~1979年にわたって、繰り返し測定し³⁷⁻³⁹⁾、Wiggins も全く別の方法で追試した⁴³⁾。図4の SO_4^{2-} は、測定に K_2SO_4 , Na_2SO_4

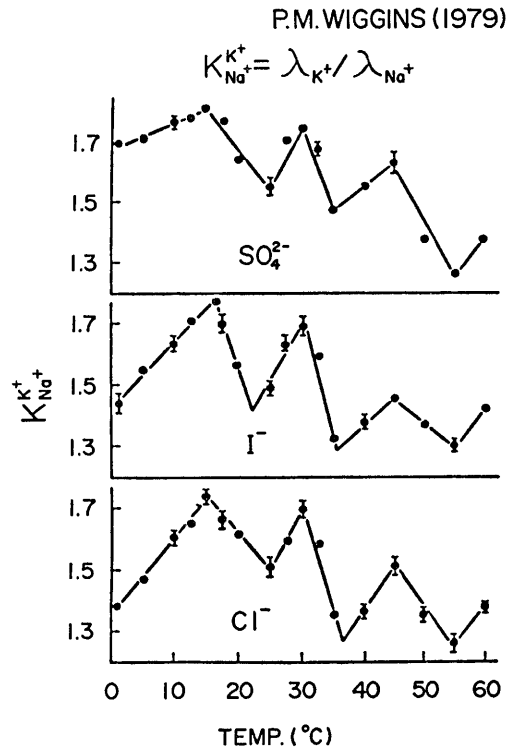


図4. K^+ , Na^+ のシリカ・ゲル・ポア内の水相と外部自由水間の分配係数の比 ($K_{Na^+}^{K^+} = \lambda_{K^+}/\lambda_{Na^+}$) の温度依存性。 SO_4^{2-} , I^- , Cl^- は陰イオンの種類を示している (Wiggins(1979))。

を用い λ_{K^+} , λ_{Na^+} を測定し, $K_{Na^+}^{K^+}$ を算出したことを示している. 陰イオンの種類に関係なく, $K_{Na^+}^{K^+}$ は 1 より大きく, しかも Peschel (図 2) の報告した分離圧の極大^{37,39)}, 15°, 32°, 45°C に対応して $K_{Na^+}^{K^+}$ のピークが観測された. 即ち, これらの温度で, 狭い界面内における水が, 界面の影響により, さらに構造化し, $K_{Na^+}^{K^+}$ のピークを示した. Peschel と Adlfinger (1967~1979)^{37~39)}, Wiggins (1979)⁴³⁾ らの実験結果は, 別の観点から見ると微小体積の水の性状と説明するよりは, Clifford (1975) の説明のように, 界面とその近傍の水の共同的性状と説明すべきであろう¹¹⁾.

order-destroying ion と order-producing ion の分配係数の差と同様の現象が, order-destroying organic molecule と order-producing organic molecule の分配係数においても観測されている. Ling (1972, 1984)^{31,33)} は CH_3OH (order-destroying molecule) と D-glucose, D-xylose, D-arabinose などの単糖類 (order-producing molecule) のイオン交換樹脂ポア内外, 筋細胞内外の分配係数について系統的な研究を進めた. CH_3OH の場合は何れの場合も分配係数はほぼ 1 に近いが, 単糖類の場合は 0.3 前後であった. イオン交換樹脂ポア内及び筋細胞内の水は自由水の水構造と異なり, 狭い隙間の界面効果により構造化していると報告した. Ling は, 有機分子細胞内外の分配による細胞質水構造の研究結果を細胞内外の K^+ , Na^+ の分布にも応用し, Na^+ ポンプ以外に細胞質の水構造も K^+ , Na^+ の内外の分布に影響することを示唆する研究結果を報告した (文献 33, 5 章をも参照)^{32,33)}. 構造化された水が筋細胞内に存在することは, 前節で述べたが, この構造化された水が筋細胞内における K^+ , Na^+ の拡散に対して, 図 4 の $K_{Na^+}^{K^+} = \lambda_{K^+} / \lambda_{Na^+}$ の場合のように識別していると報告した^{32,33)}. 同様の K^+ , Na^+ の細胞質内における拡散に対する水構造の寄与は, Wiggins (1979) の総説においても指摘された⁴³⁾. このような構造化された水が K^+ , Na^+ 拡散に対して影響することは, 筆者らも, 想像

だにしなかった興味ある現象である.

後章で説明するが, Damadian (1971, 1973)^{12, 13)}, Hazlewood ら (1972)²³⁾ は ^1H-NMR を用い腫瘍細胞内の水の T_1 , T_2 値が, 正常組織に比し長いことを報告した. 腫瘍組織内の T_1 , T_2 値増加の機序は, 大きく分類すると次の 2 種類がある. (1) 含水量の増加により, 後述 1 式の自由水の増加による T_1 , T_2 の増加と^{24,25)}, (2) Damadian (1971)¹²⁾, Hazlewood ら (1972, 1976, 1980)^{7,8,23)} の報告のように, 含水量の差だけでなく, 腫瘍細胞における水構造化の程度が正常組織中よりも少なく, そのため水の運動性が増加し, T_1 , T_2 が大きくなる^{5,6,42,45)}. Ling ら (文献 33, 20 章参照) は水の構造化の少ない, 即ち T_1 , T_2 の長い腫瘍細胞・内外における水構造を壊さない有機分子の分布を測定した. D-xylose, D-arabinose の腫瘍細胞 (Ehrlich 腹水癌) への分配係数が殆ど 1.0 に近いことを発見し, 腫瘍細胞内の水構造は壊れた状態に近いと推論した (図 5).

シリカ・ゲル・ポア内の水構造に関連して鎖状高分子の網目内の水, W/O 型エマルジョン (W/O 型は water in oil を意味する) 内の水構

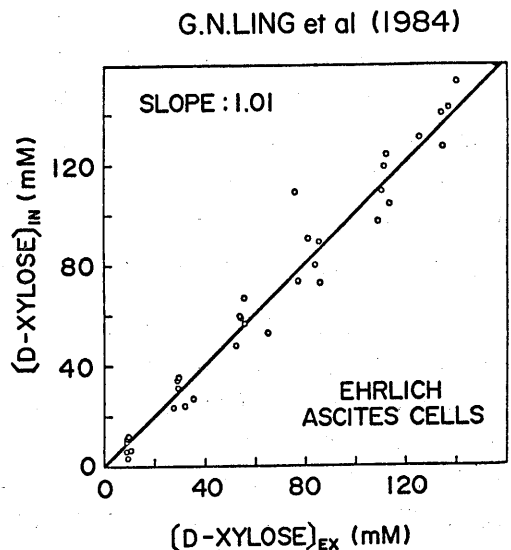


図 5. 水構造を壊さない有機分子 (order-producing organic molecule), D-xylose の Ehrlich 腹水癌細胞に対する分配 (Ling (1984)).

造について説明しよう。Childら(1972)⁹⁾は寒天構成高分子、アガロースのゾル・ゲル変換において、¹H-NMR測定では、化学シフトに見るべき変化なく、 T_1 値がゲル化により少し減少するが、不連続的な変化は観測されない。しかしながら、 T_2 に著しい減少がある。このようなゾル→ゲル変換による緩和時間の変化は、鎖状高分子であるアガロースのプロトンの T_1 値は比較的長く、 T_2 はかなり短い。このため結合水分子の T_1 値は長く、 T_2 は大変短い。このような結合水の T_1 、 T_2 値の性状のため、ゾル→ゲル変換において、 T_2 のみ不連続的に変化すると説明されている。Hatakeyamaら(1984)²¹⁾はポリビニールアルコールのゲルを用い鎖状高分子網目内の水性状について¹H-NMR、走査示差熱分析を用いて研究した。架橋の増加につれ、水の T_1 値が大幅に減少することを見出した。走査示差熱分析の結果も架橋度の増加につれ、自由水の減少を示唆している。このような鎖状高分子網目内の水性状は、シリカ・ゲル・ポア内の水、セファデックス網目内の水の性状^{29,34,35)}に比較的よく似ている。また、W/O型エマルジョン内の水相^{41,44)}もシリカ・ゲル・ポア内の水に似て、サイズの減少とともに水シグナルは高磁場側に化学シフトし、 T_1 値も減少する。このような性状の水と後述の蛋白質ゲル内の水は性状が¹H-NMR的に、かなり差があるようである(測定法の都合上、ソフト・コンタクト・レンズ内水構造については次章の終わりに説明する)。

Ⅲ. 蛋白質ゾル・ゲル変換における水構造変化

約580個のアミノ酸による市販ウシ血漿アルブミン(BPA)は微量のプロテアーゼを含み、pH3.8で、BPA分子がF型と呼ばれる構造にある時、Gln-392とCys-435の間で1~2箇所ペプチド鎖が切れ、BPA*と呼ばれる分子になる。BPA*の分子量は、ほぼBPAに等しい(66K)か63K程度である(Wilson & Foster(1971)。文献40の引用論文参照)。BPA*は重水(D₂O)中、7%以上では透明な強固ゲルに

なる。このゲル化の機構はD₂O中において疎水合、重水素結合の強いためである^{17,18,40)}。一方、精製したウシ・メルカプトアルブミン(BMA)は1分子当たり1個のSH基(Cys-34)をもち、しかも上述のプロテアーゼを、殆ど含まない。このためBMA-D₂O溶液を、ゾル状態(溶液状態)の基準として使用することが出来る。上述のような蛋白質のゾル状態における¹H-NMR的水構造研究の必要性は、Ling(1972, 1984)^{31,33)}、Clifford(1975)¹¹⁾らの多数の研究者により指摘されたが、適当なモデル系がなく、従来はゼラチン溶液、ゲルが使用された。筆者らは、全く偶然にD₂O中におけるBPA*のゲル化現象を見いだしたので、BMA溶液(D₂O)とBPA*ゲル(D₂O)の状態の水構造について系統的に、360MHz¹H-NMRを用い、D₂O中のHDOの挙動を研究した。

MRI(magnetic resonance imaging)による

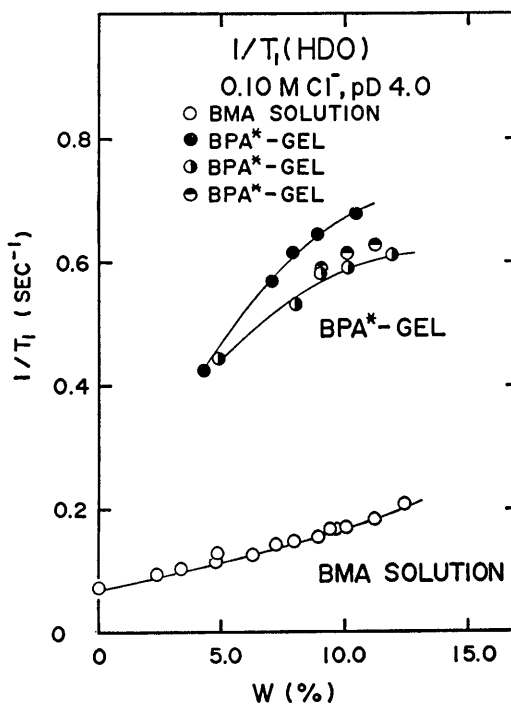


図6A. BMA溶液、BPA*ゲル(本文参照)中のHDOの25℃における縦緩和時間の逆数、 $1/T_1$ vs W(%). (○)BMA溶液、(●, ●, ●)ロットの異なるBPA*ゲル。

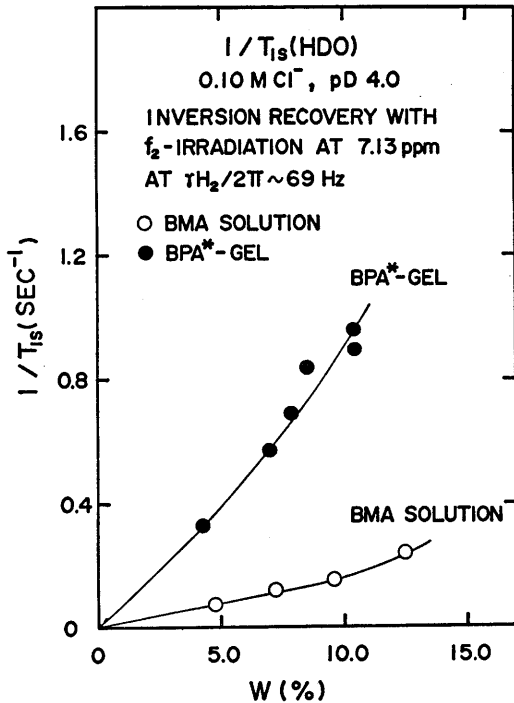


図6B. BMA 溶液, BPA* ゲル中の HDO の 25℃における交差緩和時間の逆数, $1/T_{1s}$ vs W (%), ○, ●は図6A参照. f_2 照射は, 7.13 p.p.m. で $\gamma H_2/2\pi \sim 69$ Hz を使用し, T_{1s} 測定はインバージョン・リカバリー法を使用した.

画像診断では, 正常組織, 腫瘍組織などの水分子の縦緩和時間 (T_1), 横緩和時間 (T_2) の差が応用されている. このため, BMA 溶液及び BPA* ゲル中の HDO の T_1 , T_2 を測定した. 寒天などのゲル化と異なり, 球状蛋白質の溶液→ゲル変換 (ゾル→ゲル変換) により著明に T_1 , T_2 値が減少した. $1/T_1$ を蛋白質濃度 (W (%)) に対してプロットすると, 溶液 (○) とゲル (●, ○, ●. 異なるロットのゲル試料を示す) の間に, 図6Aに示すような大きな差が観測された¹⁷⁾. $1/T_2$ vs W (%) においても, 図6Aと同様な大きな差が観測された^{17,40)}. BPA* 分子の 4.24% の場合でも試料はゲル化しないが, 大変粘ちょうな液で BMA 溶液に比し, 図6Aに示すように, T_1 , T_2 の大幅な減少が観察された. 4.2~4.8% の BPA*-D₂O 粘ちょう溶液は, ゲル化しなくとも, かなり大きな蛋白質分子の集合体が

形成されており, このような状態でも図6Aに示すように, HDO の T_1 値に大幅な減少をきたす水構造の変化があるのだろう. 球状蛋白質, 例えば, チュプリン, タバコモザイク・ウイルス蛋白質の二次結合により重合を, D₂O が促進することが良く知られている. この章のはじめに簡単に説明したが, この現象の機序は, D₂O 中における重水素結合, 疎水結合が H₂O 中より強いと説明されている. BPA* 分子の D₂O 中におけるゲル化は, おそらく, 上述の現象と同じ機構によるのであろう¹⁷⁾. H₂O と D₂O 中では, このように溶媒の挙動に大きな差があるが, 1式を用い $1/T_1$ 値の蛋白質濃度依存性を用い pD 4.0 における BMA 溶液と BPA* ゲル (pD 値はゲル化する前の値) の結合水量を推定した.

$$1/T_1 = C(1/T_{1b} - 1/T_{1f}) \cdot X / (1 - X) + 1/T_{1f} \quad (1)$$

T_{1b} , T_{1f} , T_{1b} はそれぞれ観測縦緩和時間, 自由水縦緩和時間, 結合水縦緩和時間である. また, X は蛋白質濃度の重量分率である^{19,46)}. 溶液状態 (BMA 溶液), BPA* ゲルでは, それぞれ約 1 g/g, 9 g/g となった⁴⁰⁾, この推定は D₂O 中のデーターで, H₂O 中でないことを注意する必要がある. BPA* ゲルの場合, 1式のプロットは約 9% ぐらいまで直線で, それ以上では, 直線より下方にずれた. ところが, 観測横緩和時間 $1/T_2$ vs $X/(1-X)$ の場合は, 溶液, ゲル状態の何れの場合も直線となった. この $1/T_1$ vs $X/(1-X)$ における 9% 以上における直線よりのずれは, T_2 vs τ_c (分子相関時間) は τ_c の増加につれ単調には減少するが, T_1 は同一プロットで, τ_c の増加につれて減少し, ついで増加することによるだろう.

図6Aに示すような T_1 値のゾル・ゲル変換による大幅な変化の機序は大変興味ある問題である. Clifford(1975)が, 生物を構成する不思議な細胞質 “witches brew” における水の挙動, 役割を理解するためには, 細胞内の図1に示したような球状蛋白質の線状集合体 (フィラメント系) 表面 (界面) が水構造の変化の重要な因

子の一つであることを指摘したが、BMA 溶液 → BPA* ゲル変換における水構造変化は、Clif-
ford の予想どおりであろう¹⁷⁾。

蛋白質と水との相互作用(結合水)を分子間交
差緩和時間 (T_{1s}) を用いて研究する方法があ
る (Akasaka, 1981, 1983)^{2,3,15~18,40)}。図 7 A に
示すように、例えば、芳香族側鎖 (7.13 p. p. m.)
を選択的にラジオ波で f_2 照射すると、7.13 p. p.
m. のシグナルは数ミリ秒で消失し、この側鎖
より蛋白質の分子内に、ついで蛋白質分子より

HDO へと「スピン拡散」する。HDO シグナル
(4.7 p. p. m.) は図 7 A のように強度が減少し、
数秒で平衡値になる。このような測定法は飽和
移動法 (saturation transfer method) と呼ばれ
る^{2,3,15~18)}。I を時間 τ 、 I_0 、 I_∞ をそれぞれ、 $\tau =$
0、 $\tau = \infty$ (普通は数秒で平衡値になる) における
HDO のシグナル強度とすると、I は 2 式で与
えられる。

$$I = I_\infty + (I_0 - I_\infty) \exp(-\tau/T_1^*) \quad (2)$$

$1/T_1^*$ は $(1/T_1 + 1/T_{1s})$ であり、 $\ln(I - I_\infty)$ vs τ

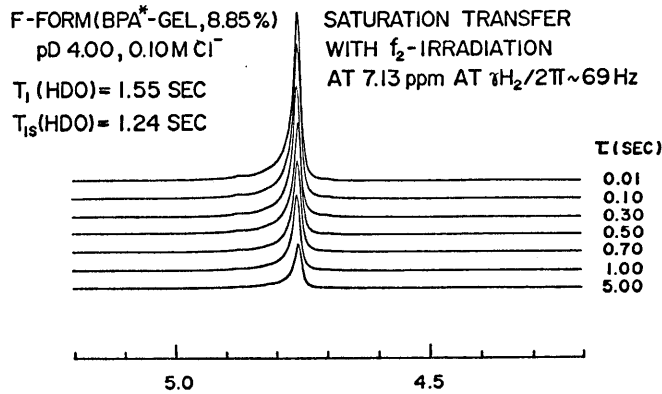


図 7 A. 25°C, 7.13 p. p. m., $\gamma H_2/2\pi \sim 69$ Hz で f_2 照射した際の分子間交差緩和時間 (T_{1s}) の飽和移動法による測定例。BPA* ゲル (8.5%, pD 4.00 (ゲル化前の pD 値), 0.10 M Cl^-)。

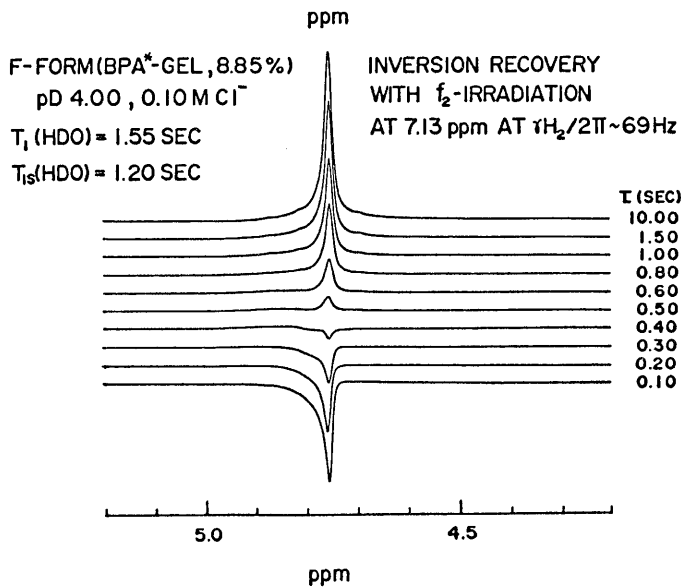


図 7 B. BPA* ゲルを図 7 A と同じ条件で f_2 照射し、インバージョン・リカバリー法による分子間交差緩和時間 (T_{1s}) の測定例。

より T_1^* を求め、ついで T_{1S} を求める。8.85% BPA* ゲルの場合、7.13 p. p. m. を f_2 照射 ($\gamma H_2/2\pi \sim 69$ Hz) して求めた T_{1S} は 1.24 秒であった。 T_{1S} の測定には、図 7 A の $\tau = 5$ 秒の状態、即ち HDO シグナル強度が f_2 照射下でほぼ平衡になった状態で f_2 照射しながら、通常の T_1 測定と同様に 180° パルスを与え、HDO シグナルのインバージョン・リカバリーを用いて T_{1S} を求めるインバージョン・リカバリー法 (inversion recovery method. 図 7 B 参照) がある^{2,3,17,18)}。この方法では 180° パルスで反転後、時間 τ における HDO のシグナル強度、 I は 3 式で与えられる。 I_∞ は 180° パルスを与えた後、十分な時間 ($\tau = \infty$) 経過した時の HDO シグナル強度である。

$$I = I_\infty [1 - 2 \exp(-\tau/T_1^*)] \quad (3)$$

$1/T_1^*$ は 2 式と同様に $1/T_1 + 1/T_{1S}$ である。図 7 B に示すように、図 7 A と同じ BPA* ゲルの T_{1S} をインバージョン・リカバリー法で測定すると 1.20 秒で、飽和移動法による 1.24 秒とほぼ同一値であった。図 6 B に、7.13 p. p. m. を f_2 照射 ($\gamma H_2/2\pi \sim 69$ Hz) しインバージョン・リカバリー法で求めた BPA* ゲル、BMA 溶液の蛋白質より水への分子間交差緩和時間 (T_{1S}) の逆数、 $1/T_{1S}$ vs $W(\%)$ を示している。図 6 A の $1/T_1$ vs $W(\%)$ に比し、縦軸のスケールが異なることに注意していただきたい^{17,18)}。溶液・ゲル変換 (ゾル・ゲル変換) において、蛋白質より水へのスピン拡散速度、即ち分子間交差緩和時間 (T_{1S}) が短縮しているのは大変興味ある現象である。これは、ゲル化による球状蛋白質の線状集合体表面の水和量の増加、または水の構造化によるのだろう (第 4 章参照)。生体高分子と水分子間における分子間交差緩和現象の研究が、細胞内水構造研究のために必要かつ重要であると Ling (1984) らにより指摘されていたが (文献 33, 9 章参照)、良いモデル系のないため殆ど系統的な生体高分子と水分子間の交差緩和現象 (分子間交差緩和時間、 T_{1S}) についての研究がなされていない。

従来、正常組織、腫瘍組織の水分子の T_1 ,

T_2 値の差の機序について論争があった。即ち、Damadian^{12,13)}, Hazlewood ら^{7,8,23)}, Ling^{31,33)} は、単に含水量の差でなく、水構造に差があると発表し、Inch ら^{24,25)} は上述の説に反対し、正常組織、腫瘍組織の T_1 , T_2 の差は、単に含水量の差であると発表している。図 6 A の $1/T_1$ vs $W(\%)$ は、正常、腫瘍組織の T_1 , T_2 値の差を示す機構が Inch らの説のように簡単でないことを示唆しているが、さらに筆者らの見出した球状蛋白質の溶液→ゲル変換による $1/T_{1S}$ の大きな変化 (増加) は生体系水構造変化研究のモデル系として、即ち正常、腫瘍組織の水分子の T_1 , T_2 の差の発現機序解析のために非常に有用であろう (第 IV 章参照)。

蛋白質ソル・ゲル変換における水構造変化研究の参考資料として、hydroxyethyl methacrylate とその誘導体コポリマー (含水量: 29~39%), N-vinylpyrrolidone と glyceryl methacrylate のコポリマー (含水量: 61~68%) のソフト・コンタクト・レンズ (SCL) 内水構造についても T_1 , -4.00 p. p. m. を f_2 -照射 ($\gamma H_2/2\pi \sim 67$ Hz) して求めた鎖状高分子から水への分子間交差緩和時間 (T_{1S}) を測定した^{4,22)} (第 II 章において説明すべき問題であるが、分子間交差緩和時間 (T_{1S}) 測定値を蛋白質ゲルと比較するため本章で説明する)。従来、鎖状高分子ヒドロ・ゲル内の水構造は T_1 , T_2 値のみ測定し、分子間交差緩和時間 (T_{1S}) 測定報告がなかった。SCL についての交差緩和の研究は球状蛋白質のゾル・ゲル変換における水構造変化 (T_1 , T_2 , T_{1S} 値の変化) と鎖状高分子網目内における水構造変化の比較のため必要であろう。図 8 に含水量 61% の SCL 内水 (H_2O) の化学シフト、 T_1 , T_{1S} を示してある。自由水 (おそらく SCL 表面の水) を示唆する 4.72 p. p. m. の水シグナルと 4.62 p. p. m. の強い水シグナルが観測される。含水量 29, 29, 39, 61, 64, 68% の 6 種類の SCL の水構造について、 1H -NMR を用いて測定した。上述の高磁場側の水シグナルの化学シフト (図 8 の 4.62 p. p. m. に対応) 及び T_1 はそれぞれ含水量の増加につれ 4.47, 4.50,

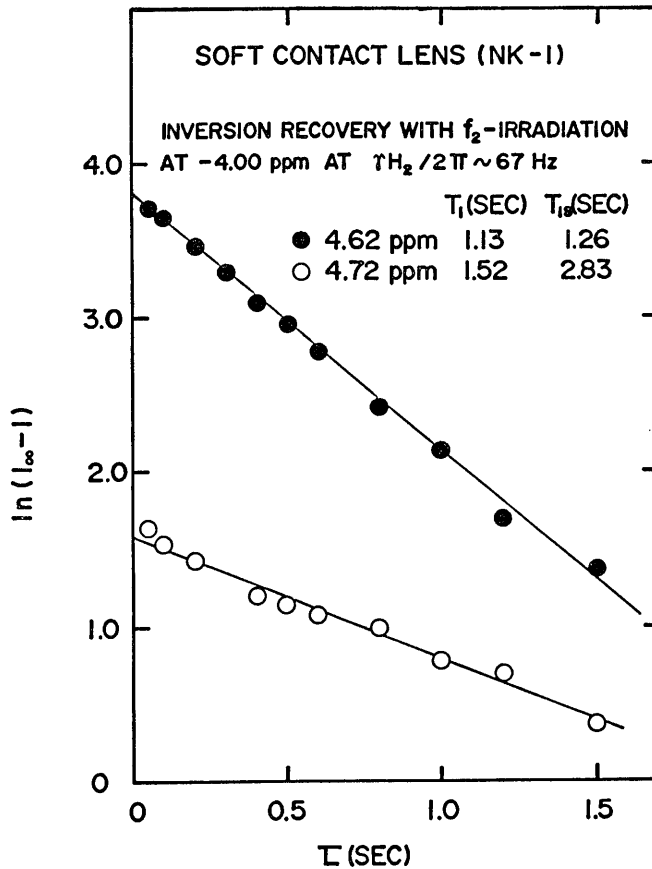


図8. 含水量61%のソフト・コンタクト・レンズ, NK-1 (N-vinylpyrrolidone と glyceryl methacrylate のコポリマー) の25℃における T_{1s} 値の測定例. T_{1s} は -4.00 p. p. m., $\gamma H_2 / 2\pi \sim 67$ Hz で f_2 照射し, インバージョン・リカバリー法により測定した. (●) 4.62 p. p. m. の水, (○) 4.72 p. p. m. の水 (ソフト・コンタクト・レンズ表層の水). 縦軸, 横軸は, 本文3式参照.

4.52, 4.62, 4.63, 4.65 p. p. m., 及び 0.56, 0.59, 0.59, 1.13, 1.11, 1.25秒であった. 即ち, 含水量の増加につれ, 4.72 p. p. m. の水より高磁場側の水の化学シフト, T_1 値は, それぞれ 4.47→4.65 p. p. m., 0.56→1.25秒と変化した^{4,22)}. -4.00 p. p. m. を f_2 照射 ($\gamma H_2 / 2\pi \sim 67$ Hz) し, インバージョン・リカバリー法で求めた鎖状高分子より水分への分子間交差緩和時間, T_{1s} (4.72 p. p. m. より高磁場側の水) は, 6種類のSCLで含水量の増加につれ, それぞれ 0.37, 0.36, 0.36, 1.26, 1.89, 2.00秒であった. 含水量が29→68%と増加につれ, 分子間交差緩和時間, T_{1s} は, 0.36→2.00秒と大幅に増加し, T_1

は0.56→1.25秒と2倍程度増加した. このように, T_1 値の変化に比し, SCLの鎖状高分子から水へのスピン拡散による交差緩和現象は, より良く, SCLゲル内における鎖状高分子と水の相互作用の指標になるだろう. また, 図8に示した4.72 p. p. m. の水への鎖状高分子からの分子間交差緩和時間, T_{1s} は含水量が61, 64, 68%と増加するにつれ, 2.83秒(図8), 他は10秒以上, T_1 は1.52, 2.14, 1.74秒であった²²⁾. 4.72 p. p. m. の水信号は, 上述の測定結果, 即ち, T_1 , T_{1s} 値より, SCLゲル表面の水であろう. また4.72 p. p. m. より高磁場側の水信号はSCL鎖状高分子網目内の水信号に対

応するのだろう。この鎖状高分子網目内には、少なくとも2種類の水、結合水と自由水があり、これら2種類の水はNMR的には速やかに交換し、4.72 p. p. m. (SCL表面の水)より高磁場側にシグナルが観測されるのだろう。SCL内ゲル含水量の減少につれ、結合水量の比率が増加する。これと平行して T_{1s} の減少が観測された。この現象は、鎖状高分子より結合水へのスピン拡散速度(交差緩和)が、自由水へのスピン拡散速度よりも速いことを示唆する重要な実験事実であろう(第IV章, 図11参照)。

IV. 生体内における水構造と $^1\text{H-NMR}$ 情報

Damadian(1971, 1973)^{12,13}, Hazlewoodら(1972, 1976, 1980)^{7,8,23}は、正常組織と腫瘍組織内の水構造、たとえば、 $^1\text{H-NMR}$ の T_1 , T_2 値に差のあることを報告した。彼らは単に含水量の差でなく、水構造に差があると報告したが、かなり多数の研究者^{24,25}は、単に含水量の差、即ち、自由水の増加による T_1 , T_2 値の差であると反論している。Lingら(1984)は $^1\text{H-NMR}$ 以外の測定法(文献33, 20章参照)を用い、第II章(図5)で説明したように、腫瘍細胞と正常細胞の水構造に明確な差のあることを、order-producing organic moleculeの細胞内外の分配係数を用いて示した。また、正常細胞においてWiggins(1979)⁴³, Ling(1984)^{32,33}は、細胞質内外の水構造の差が Na^+ , K^+ の分布に大きく寄与していることを指摘した。このような細胞質内外の水構造の差の機序、また正常細胞、腫瘍細胞内水構造の差異を示す機構が十分に解析される前に、NMR-CT (MRI) として臨床分野で、市中病院においても、日常の診療に利用され、基礎ではNMR-CT顕微鏡として、生きた細胞が解像能 $10\mu\text{m}$ で細胞内水構造が研究されている¹。一方、生理学、一般生理学の分野で多数の研究者が上皮細胞層をとうしての水輸送について研究を進めているが、現状では、細胞内、細胞間隙における水構造測定用のNMR-CT顕微鏡もなく、上皮細胞層内水構造については、ブラック・ボックス的取り扱いで

研究を進めている。また、細胞内水構造の動的变化と生理機能の変化をマイクロ・レベルで同時に観測解析することは、現状ではかなり設備的に困難である。第三章で説明したBMA溶液、BPA*ゲルの基礎的研究と平行して進めた腫瘍組織、正常組織の水構造、ついで生理的機能と水構造について簡単に説明しよう。

Damadian(1971, 1973)^{12,13}, Hazlewoodら(1972, 1976, 1980)^{7,8,23}は腫瘍組織の水の T_1 , T_2 が正常組織の T_1 , T_2 よりも長いことを見出した。彼らは腫瘍細胞内の構造化された水が減少していると説明した。このような水構造化の減少の機序について次のように説明されている^{5-8,12,13,23,33,45}。(1) order-destroying ion (K^+ など)²⁰の増加。(2) 生体高分子と水との相互作用の変化(Lingらの association-induction hypothesis)による説明がある(文献33, II The Association-Induction Hypothesis, pp. 145-315 及び III Application of the Association-Induction Hypothesis to Traditional Problems in Cell Physiology, pp. 319-500参照)。(3) 1式の原型 $1/T_1 = C_f(1/T_{1f}) + C_b(1/T_{1b})$ で、腫瘍細胞において含水量が増加すると観測される $1/T_1$ が減少するという説明もある。前式の T_1 , T_{1f} , T_{1b} は1式と同じで、 C_f と C_b は自由水と結合水の割合 ($C_f + C_b = 1$) を示している。図6Aの蛋白質溶液のゾル→ゲル変換における $1/T_1$ の大きな変化は、「Lingの association-induction hypothesis で述べた蛋白質構造変化と水構造変化が結びついている」ことを示唆している。それ故、筆者らは図6A, 6Bの蛋白質ゾル・ゲル変換と正常細胞、腫瘍細胞を比較研究した。

筆者ら¹⁶)はラット正常肝、腫瘍肝の水構造について360 MHz $^1\text{H-NMR}$ を用いて研究した。肝を低温生理食塩水でかん流した後、内径1.1 mmφのNMR用ガラス毛细管に封入し、ロック用 D_2O を入れた5 mmφ標準NMR試料管の中心部に挿入し、25°Cで測定した。図9に、 $1/T_1$ vs dry weight(%)を示している。正常組織の $1/T_1$ (図9, ○) と腫瘍肝 (●) の間には明

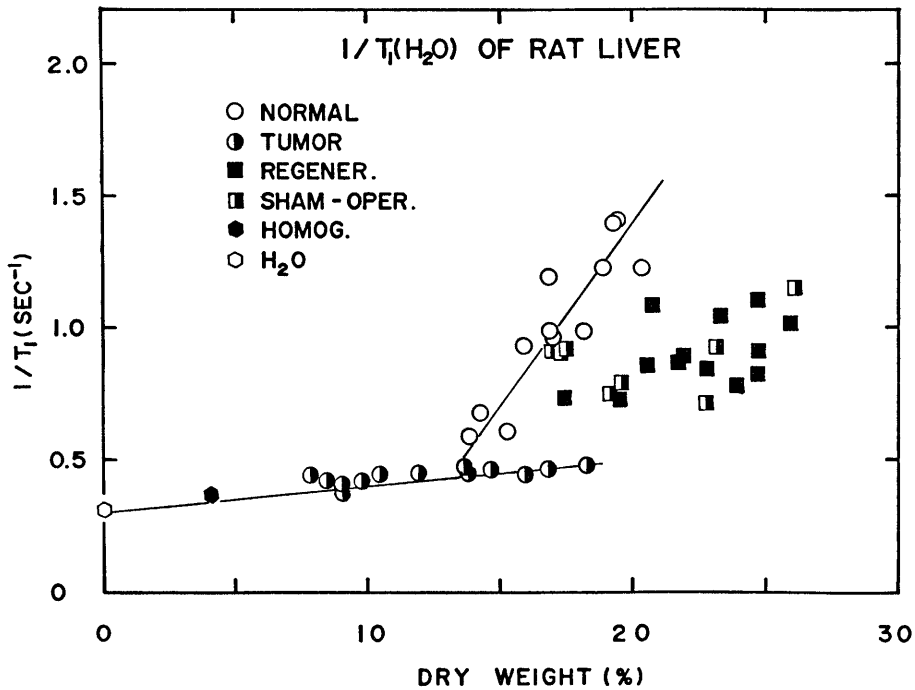


図9. ラット正常肝 (○), 腫瘍肝 (●), 再生肝 (■, 術後72時間), 疑似手術肝 (□, 術後72時間), 肝ホモジネート (●) および水 (○) の25℃における縦緩和時間の逆数, $1/T_1$ vs dry weight (%).

確かに $1/T_1$ プロットに差が見出された. 図9の結果も図6Aと同様に単に含水量の変化のみでなく, 他の因子が $^1\text{H-NMR}$ 的水構造に影響していることを示唆している. 図9の再生肝 (術後約72時間, ■), 疑似手術後約72時間 (□) の $1/T_1$ vs dry weight (%) は正常肝, 腫瘍肝の中間に位置している. $1/T_1$ プロットにおいても再生肝 (■) は正常肝と異なる挙動を示している. また, 正常肝のホモジネート (●), 内径 $1.1\text{mm}\phi$ の NMR 用 ガラス毛細管内の水 (○) と腫瘍肝 (●) の $1/T_1$ プロットが同一直線上にあるのは興味深い. 即ち, 図6Aの BMA 溶液の $1/T_1$ vs W (%) と同様に, 図9の $1/T_1$ vs dry weight (%) プロットにおいて, 普通の水 (○), 構造化された水の少ない肝ホモジネート上清 (●) (図9に示していないが, 肝ホモジネートの観測点8例追加) と腫瘍肝 (●) の $1/T_1$ 値が同じ線上にあることは, ○, ● と同様に腫瘍肝 (●) では, 含水量が多く, しかも構造化

された水の少ないことを明らかに示している. Ehrich 腹水癌細胞に対する D-xylose の分配係数より推定した水構造³³⁾と同様に, 腫瘍肝細胞内の水構造が普通の蛋白質溶液のそれに近いことを示唆している. 図9の結果は, Damadian^{12, 13)}, Hazlewood ら^{7, 8, 23)}の報告, 即ち腫瘍細胞では, 単に含水量の増加するだけでなく, 水の構造化に差があるという彼らの報告と筆者らの結果は一致している. Hazlewood らは同調培養した HeLa 細胞の各細胞周期における含水量と水の T_1 を測定し, ある時期では T_1 変化と含水量変化は対応しているが, S 期(静止期)から G_2 期(分裂期)にかけて含水量は, ほぼ一定であるにもかかわらず T_1 値が増加することを見出した⁷⁾. この結果は, 図9の正常肝 (○) と腫瘍肝 (●), 再生肝 (■) の差に対応した現象である. また, Hazlewood らの培養正常乳腺細胞の水 T_1 値が同一含水量でも培養腫瘍乳腺細胞の T_1 値より短いとの報告⁹⁾と, 図9の結果

は良く一致している。

図6 Aの $1/T_1$ vs $W(\%)$ よりも, $1/T_{1s}$ vs $W(\%)$ (7.13 p. p. m. を $\gamma H_2/2\pi \sim 69$ Hz で f_2 照射して求めた分子間交差緩和時間 (T_{1s}) が BPA 溶液のゾル→ゲル変換 (実際には BMA 溶液と BPA* ゲル) により大きな変化を示したので, 筆者らは, 7.13 p. p. m. を $\gamma H_2/2\pi \sim 67$ Hz で照射し, 飽和移動法を用いて, 正常肝, 腫瘍肝の分子間交差緩和時間 T_{1s} 値を測定した. 正常肝 (○), 腫瘍肝 (●) の $1/T_{1s}$ vs dry weight (%) は図10に示すように, $1/T_1$ vs dry weight (%) よりも, 大きな差を示した. また, 再生肝 (術後約72時間), 疑似手術後約72時間の肝組織も図10に示すように, $1/T_1$ vs dry weight (%) よりも, 正常肝とより明確な差を示した. 肝ホモジネート (●), 腫瘍肝 (●), 再生肝 (■) の $1/T_{1s}$ vs dry weight (%) の外挿において, 図6 Bの BMA 溶液の $1/T_{1s}$ vs $W(\%)$ のように, 原点を通過しないのは, 図6 Bの T_{1s} 値はイ

ンバー・ジョン・リカバリー法で求めたため (溶液では一般に T_{1s} 値が長く), $1/T_{1s}$ vs $W(\%)$ を $W=0$ に外挿すると $1/T_{1s}=0$ になる. 図10では肝ホモジネート (●), 腫瘍肝 (●) の分子間 T_{1s} を飽和移動法で求めたため, 一般に T_{1s} 値が短い傾向にある. このため $1/T_{1s}$ vs dry weight (%) を 0% に外挿した時 $1/T_{1s}=0$ にならない (文献17の考察参照). 何れの T_{1s} 測定法によっても, 正常肝, 腫瘍肝の T_{1s} 値に大きな差の見出されたことは大変興味深い水の挙動である. 図10の正常肝 (○) と腫瘍肝 (●), 再生肝 (■) の $1/T_{1s}$ 値の差は図6 Bの蛋白質のゾル・ゲル変換 (BMA 溶液と BPA* ゲル) と同様に, 単に含水量の差でなく, 細胞内の水構造化に差のあることを明らかに示している. 即ち, 正常肝 (○) がゲル状態より, 腫瘍肝 (●), 再生肝 (■) がゾル状態よりであろう.

第三章, 第四章で説明した蛋白質から水への分子間交差緩和 (T_{1s}) の機構について模式的に

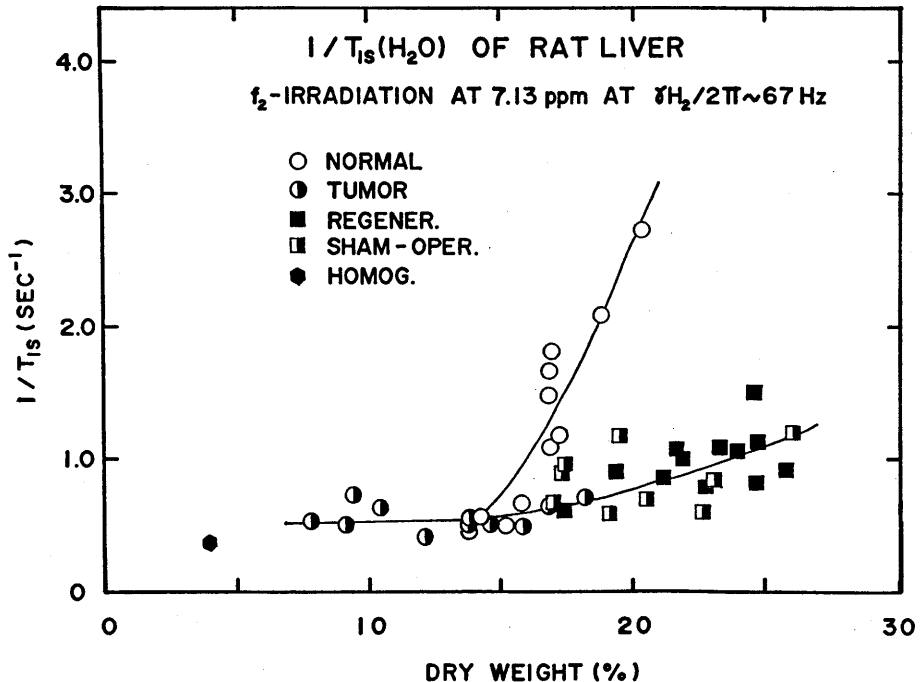


図10. ラット正常肝 (○), 腫瘍肝 (○), 再生肝 (■, 術後72時間), 疑似手術肝 (□, 術後72時間) および肝ホモジネート (●) の25℃における飽和移動法 (7.13 p. p. m., $\gamma H_2/2\pi \sim 67$ Hz で f_2 照射) による分子間交差緩和時間の逆数, $1/T_{1s}$ vs dry weight (%).

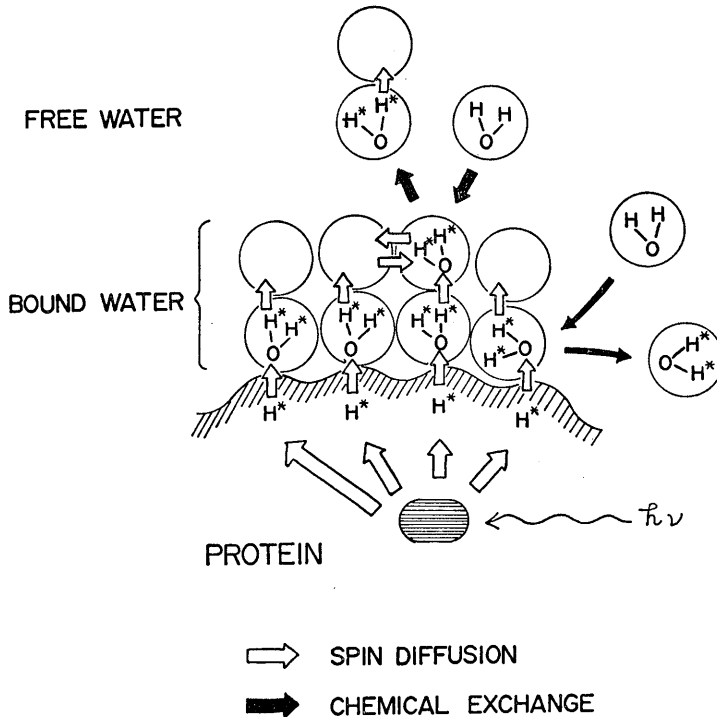


図11. 交差緩和現象の模式的説明図. 適当な蛋白質側鎖(●)を f_2 照射($h\nu$)し, その部位のスピン温度が上昇し, 次に, 蛋白質分子内をスピン拡散(⇨)し, ついで結合水相にスピン拡散する. 結合水と自由水は化学交換(⇨)し, 自由水相に, 飽和移動する. H^* はスピン温度の高いプロトンを示している.

説明しよう. 図11に示すように, 蛋白質分子の特定の部位(例えば芳香族側鎖, 7.13 p. p. m.)をラジオ波照射(f_2 照射, 図中の $h\nu$)すると, 蛋白質分子内のスピン飽和した部位(図中の●. スピン温度の高い部位)より, 双極子相互作用により, 図のように蛋白質分子内をスピン拡散(図中の⇨)し, ついで結合水(蛋白質表面において構造化した水)へ, スピン拡散する. 結合水から自由水へは化学交換(図中の⇨)によりスピン飽和が伝えられる. 図11において, スピン温度の上昇したプロトンを H^* と表示してある. 図中の結合水層は水素結合の方向などを考慮せず, 単に, 水分子を van der Waals 直径 2.8 \AA の円で代用して配列しただけである. 図11に示したような分子間交差緩和によって, まず蛋白質のプロント緩和が結合した水分子に伝えられ, これがさらに化学交換により媒質の水分子のプロント全体に伝えられる. 図11のよ

うな過程の蛋白質より水への分子間交差緩和時間(T_{1s})がウシ血漿アルブミンの溶液→ゲル変換(BMA溶液→BPA*ゲルに対応)において, T_1 , T_2 の変化以上に大きく変化した(図6A, 図6B参照. ただし, T_2 のデータは本誌説では示していない). 正常肝, 腫瘍肝においても, 分子間, 即ち, 蛋白質より水への分子間交差緩和時間(T_{1s})に大きな差が観測された. 同一蛋白質濃度(図6B)或いは同一乾燥重量(図10)における分子間交差緩和時間(T_{1s})の短縮は, 結合水の増加(双極子相互作用による蛋白質より結合水への交差緩和が容易になるであろう), または図1のような蛋白質集合体周辺の水の構造化などが, 少なくとも, 分子間交差緩和時間(T_{1s})短縮の一因であろう. この分子間交差緩和時間(T_{1s})測定による水構造研究の他の例を説明しよう. 岩間ら²⁸⁾はラットの正常脳組織, グリオーマ周辺の浮腫脳組織, グリオーマ(T_9)

内水構造について、含水量, T_1 , T_{1s} (7.13 p. p. m. を $\gamma H_2/2\pi \sim 67$ Hz で f_2 照射) を測定した。ラット正常脳組織, グリオーマ周辺の浮腫脳組織, グリオーマの含水量は, それぞれ 78.9 ± 1.5 , 79.5 ± 0.8 , $82.0 \pm 1.0\%$, T_1 と T_{1s} はそれぞれ 1.86 ± 0.04 , 1.87 ± 0.06 , 2.00 ± 0.04 秒と 1.80 ± 0.30 , 1.43 ± 0.34 , 2.18 ± 0.44 秒であった。ラット正常脳組織とグリオーマ周辺の浮腫脳組織は含水量, T_1 には, 殆ど差がなく, しかも分子間交差緩和時間 (T_{1s}) が有意に変化している。この機構は図11に示したように, 蛋白質の結合水量の増加, 或は蛋白質分子周辺の水の構造化によるのだろう。蛋白質のような高分子と水分子の相互作用, 特にプロント緩和現象の研究で, 交差緩和現象の重要性及び有用性が Akasaka により指摘^{2,3)}され応用されたが, 筆者らの経験では, 大変便利な水, 生体高分子相互作用を研究する方法であろう。また, MRI (NMR-CT) において, T_1 , T_2 モードと同様, あるいはそれら以上に交差緩和時間モードの NMR-CT は有用であろう。

生体内, 組織内, 細胞内水構造の研究は, 前述の 1H -NMR による方法以外に, 顕微フーリエ変換赤外分光光度計, 顕微レーザー・ラマン分光光度計, 誘電分散測定など非常に多種類の方法がある。例えば *Methods in Enzymology* 127, pp. 3-418 (1985) に, 多数の分担執筆による最近の生体における水構造の理論, 研究法の総説がある。また, Israelachvili による界面近傍の水構造の理論, 実験例を述べた単行本²⁷⁾がある。Israelachvili は界面より約 30 \AA の距離にわたって, 2.8 \AA (水分子の van der Waals 直径) 周期の引力, 斥力を詳細に測定した。細胞膜の表面近傍においても, 2.8 \AA 周期で引力, 斥力の谷と山がありイオン, 化学物質の拡散に対して大きな意味をもつであろう。しかも, Israelachvili の開発した装置が現在市販されている。また, 最近の細胞等の凍結保存, 解氷について Franks, F. (1985) の単行本 (*Biophysics and biochemistry at low temperatures*, Cambridge University Press, Cambridge, pp.

1-205), 水構造の総説は Franks, F., *Water—A comprehensive treatise*, Plenum Press, New York (現在 vol. 1 ~ 7 発行) を参照されたい。

本総説は生理学研究所共同研究 (1H -NMR による血漿アルブミン分子の構造転移と molecular aging および水構造研究), 生理学研究所研究会 (生体内における水構造および水輸送の研究) の成果の一部をまとめたものである。稿を終るに当たり, 1H -NMR 測定, 特に交差緩和現象の理論, 測定において協力いただいた赤坂一之助教授(京大・理)に深謝します。生体における水構造研究情報の収集に多大の協力戴いた上平 恒教授(北大・理), 吉田昭彦助教授(産能率大)及び共同研究者の早野三郎学長(岐阜大), 山田 弘教授, 加藤一夫助教授, 桑田一夫博士(岐阜大・医), 長岡俊治博士(宇宙開発事業団), 鈴木英司博士(生理研)に感謝いたします。また, 総説作製に多大の協力をいただいた宇野紀子嬢に感謝いたします。

文 献

- 1) Aguayo, J. B., Blackband, S. J., Schoeniger, J., Mattingly, M. A. & Hintermann, M. (1986) Nuclear magnetic resonance imaging of a single cell. *Nature* **322**, 190-191
- 2) Akasaka, K. (1981) Longitudinal relaxation of protons under cross saturation and spin diffusion. *J. Magn. Reson.* **45**, 337-343
- 3) Akasaka, K. (1983) Spin diffusion and dynamic structure of protein. *J. Magn. Reson.* **51**, 14-25
- 4) 天野 肇, 河合憲司, 高橋捷允, 早野三郎, 長岡俊治, 曾我美 勝, 亘 弘 (1984) 1H -NMR によるソフトコンタクトレンズ水構造の研究, *日コレ誌* **26**, 237-244
- 5) 逢坂 昭, 吉川研一, 上平 恒 (1984) 病態と水: 核磁気共鳴医学会編. *NMR 医学・基礎と臨床*. 1版, 6章, 丸善, 東京, 159-183
- 6) 逢坂 昭, 吉川研一 (1985) 生体内における水の存在状態. *病態生理* **4**, 97-103
- 7) Beall, P. T., Hazlewood, C. F. & Rao, P. N. (1976) Nuclear magnetic resonance patterns of intracellular water as a function of HeLa cell cycle. *Science* **192**, 904-907
- 8) Beal, P. T., Asch, B. B., Chang, D. C., Medina, D. & Hazlewood, C. F. (1980) Distinction of normal, preneoplastic, and neoplastic mouse mammary primary cell cultures by water nuclear magnetic relaxation times. *J. Natl. Cancer Inst.* **64**, 335-338

- 9) Child, T. F. & Pryce, N. G. (1972) Steady-state and pulsed NMR studies of gelation in aqueous agarose. *Biopolymers* **11**, 409-429
- 10) Clegg, J. S. (1983) Intracellular water, metabolism and cell architecture. In: Frohlich, H. & Kemer, F. *Coherent Excitations in Biological Systems*, 1st Ed., Chap. 16, Springer-Verlag, Berlin, 162-176
- 11) Clifford, J. (1975) Properties of water in capillaries and thin film. In: Franks, F. *Water—A Comprehensive Treatise*, vol. 5, 1st Ed., Chap. 2, Plenum Press, New York, 75-132
- 12) Damadian, R. (1971) Tumor detection by nuclear magnetic resonance. *Science* **171**, 1151-1153
- 13) Damadian, R., Zaner, K., Hor, D & Dimaio, T. (1973) Human tumors by NMR. *Physiol. Chem. Phys.* **5**, 381-402
- 14) Drost-Hansen, W. (1971) Structure and properties of water at biological interface. In: Brown, H. D. *Chemistry of the Cell Interface*, Part B., 1st Ed., Chap. 6, Academic Press, New York, 1-184
- 15) Era, S., Nagaoka, S., Sogami, M., Watari, H. & Akasaka, K. (1985) Sodium dodecyl sulfate-bovine plasma albumin complex. *Int. J. Peptide Protein Res.* **26**, 21-32
- 16) Era, S., Kato, K., Sogami, M., Nagaoka, S., Kuwata, K., Takahashi, M., Suzuki, E., Miura, K., Watari, H. & Akasaka, K. (1986) Comparative ¹H-NMR studies on water structure in hepatic tissues and protein gel. *Biomed. Res.* **7**, Sup. 2, 41-46
- 17) Era, S., Sogami, M., Kuwata, K., Fujii, H., Suzuki, E., Miura, K., Kato, K. & Watari, H. (1987) ¹H-n. m. r. studies on water structure and protein conformation in modified bovine plasma albumin (BPA*) gel. *Int. J. Peptide Protein Res.* **29** (in press)
- 18) 恵良聖一, 桑田一夫, 藤井裕子, 曾我美 勝, 鈴木英司, 亘 弘, 赤坂一之 (1987) 血漿アルブミンの溶液, ゲル状態における水及び蛋白質構造の研究. 第26回 NMR 討論会講演要旨集, 159-162
- 19) Gaggelli, E., Niccolai, N. & Vlahsin, G. (1982) ¹H-NMR relaxation investigation of water bound to bovine rod outer segment disk membranes. *Biophys. J.* **37**, 559-561
- 20) Gurney, R. W. (1953) *Ionic Processes in Solution*, 1st Ed., McGraw-Hill, New York, 1-275
- 21) Hatakeyama, T., Yamauchi, A. & Hatakeyama, H. (1984) Studies on bound water in poly (vinyl alcohol)—hydrogel by DSC and FT-NMR. *Eur. Polym. J.* **20**, 61-64
- 22) Hayano, S., Funahashi, M., Takahashi, K., Amano, H., Kawai, K., Sogami, M., Nagaoka, S., Era, S., Kuwata, K., Watari, H., Shiga, K. & Kanome, S. (1985) ¹H-NMR studies on the water structure in the soft contact lens. *China-Japan Bilat. Symp. on Biophys. Abstract*, 39-41
- 23) Hazlewood, C. F., Chang, D. C., Medina, D., Cleveland, G. & Nichols, B. L. (1972) Distinction between the preneoplastic and neoplastic state of murine mammary glands. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **69**, 1478-1480
- 24) Inch, W. R., McCredie, J. A., Knispel, R. R., Thompson, R. T. & Pintar, M. M. (1974) Water content and proton spin relaxation time for neoplastic and non-neoplastic tissues from mice and humans. *J. Natl. Cancer Inst.* **52**, 353-356
- 25) Inch, W. R., McCredie, J. A., Geiger, C. & Boctor, Y. (1974) Spin-lattice relaxation times for mixtures of water and gelatin or cotton, compared with normal and malignant tissue. *J. Natl. Cancer Inst.* **53**, 689-690
- 26) Israelachvili, J. N. & Pashley, R. M. (1983) Molecular layering of water at surface and origin of repulsive hydration forces. *Nature* **306**, 249-250
- 27) Israelachvili, J. N. (1985) *Intermolecular and Surface Forces—with Application to Colloidal and Biological Systems*, 1st Ed., Academic Press, London, 1-296
- 28) 岩間 亨, 坂井 昇, 山田 弘, 恵良聖一, 桑田一夫, 曾我美 勝, 加藤一夫, 亘 弘 (1987) ¹H-NMR による脳内水構造の研究. *NMR 医学* **7**, 補冊 2, 215
- 29) Katayama, S. & Fujiwara, S. (1979) NMR studies of the spatial effect of polyacrylamide gel upon the water molecules confined in it. *J. Am. Chem. Soc.* **101**, 4485-4488
- 30) Kauzmann, W. (1959) Some factors in the interpretation of protein denaturation. *Adv. Protein Chem.* **14**, 1-63
- 31) Ling, G. N. (1972) Hydration of macromolecules. In: Horn, R. A. *Water and Aqueous Solutions*, 1st Ed., Chap. 16, Wiley-Interscience, New York, 663-700
- 32) Ling, G. N. (1978) Maintenance of low sodium and high potassium levels in resting muscle cells. *J. Physiol.* **280**, 105-123
- 33) Ling, G. N. (1984) *In Search of the Physical Basis of Life*, 1st Ed., Plenum Press, New York, 1-758
- 34) 村勢則郎, 権田金治 (1986) 生体系における氷晶形成. *日本冷凍協会論文集* **3**, 13-26
- 35) 村勢則郎 (1987) 高分子ゲルの凍結. 熱測定 **14**, 133-142
- 36) Pauling, L. (1961) A molecular theory of general anesthesia. *Science* **134**, 1-7

- 37) Peschel, G. & Adlfinger, K. H. (1967) Temperaturabhängigkeit des Spaltdruckes sehr dünner Wasserschichten zwischen Quarzglasoberflächen. *Naturwissenschaften* **54**, 614
- 38) Peschel, G. & Adlfinger, K. H. (1969) Temperaturabhängigkeit der Viskosität sehr dünner Wasserschichten zwischen Quarzglasoberflächen. *Naturwissenschaften* **56**, 558
- 39) Peschel, G. & Belouschek (1979) The problem of water structure in biological systems. In : Drost-Hansen, W. & Clegg, J. S. *Cell-Associated Water*, 1st Ed., Chap. 1, Academic Press, New York, 3-52
- 40) Sogami, M., Nagaoka, S., Era, S., Inouye, H., Kuwata, K., Kida, K., Watari, H., Shiga, K. & Akasaka, K. (1986) Water structure in modified bovine plasma albumin (BPA*) gel and bovine mercaptalbumin solution, *Int. J. Peptide Protein Res.* **28**, 130-140
- 41) Thompson, K. F. & Gierasch, L. M. (1984) Conformation of a peptide solubilizate in a reversed micelle water pool. *J. Am. Chem. Soc.* **106**, 3648-3652
- 42) 上平 恒(1985)水とは何か—ミクロに見たそのふるまい, 14版, 講談社, 東京, 1-202
- 43) Wiggins, P. M. (1979) Metabolic control of the properties of intracellular water as a universal driving force for active transport. In : Drost-Hansen, W. & Clegg, J. S. *Cell-Associated Water*, 1st Ed., Chap. 3, Academic Press, New York, 69-114
- 44) Wong, M., Thomas, J. K. & Nowak, T. (1977) Structure and state of H₂O in reversed micelles. *J. Am. Chem. Soc.* **99**, 4730-4736
- 45) 吉川研一, 逢坂 昭(1981)NMRによる病態解析. *化学の領域* **35**, 174-184
- 46) Zimmerman, J. R. & Brittin, W. E. (1957) Nuclear magnetic resonance studies in multiple phase systems : lifetime of a water molecule in an adsorbing phase on silica gel. *J. Phys. Chem.* **61**, 1328-1333

複数の金属イオンを含む溶液にキレート剤を 加えた時の遊離金属イオン濃度の計算方法

渡辺 和人・古閑 睦好
(独協医科大学第一生理学教室)

A simple method for calculation of free metal ion concentrations in the presence of a chelating agent and multiple metal ions by successive approximation. Kazuto WATANABE and Mutuyosi KOGA
(Department of Physiology, Dokkyo University School of Medicine, Mibu, Tochigi 321-02, JAPAN)

Calculation of free metal ion concentrations in the presence of a chelating agent (ligand) and multiple metal ions is complicated. In this paper we describe a simple method for calculation of free ion concentrations from given total ion concentrations. The outline of this method is as follows: i) Using an arbitrarily chosen provisional value of free ligand concentration ($p-L_f$), calculate a total ligand concentration (L_t). ii) Divide the $p-L_f$ by the ratio, the calculated L_t ($c-L_t$)/the specified L_t ($s-L_t$). Take the resulting value as the next $p-L_f$ and repeat the calculation until $c-L_t$ is close enough to $s-L_t$. At this point, $p-L_f$ is supposed to be set to a good approximation of true free ligand concentration. iii) Finally, calculate free metal concentrations from the above approximation.

key words: Chelating agents, EDTA, Trace metal, Computer application, Successive approximation

I. 緒 言

各種の金属イオンは生体内でさまざまな重要な働きをしている。実験においてこれらの金属イオンの濃度を μM 以下のレベル調整するために、しばしば EDTA, EGTA 等のキレート剤が用いられている。既知の濃度の金属イオンを含む溶液にキレート剤を加えた時の遊離金属イオンの濃度は、各金属に対するキレート剤の結合定数を用いて計算できる。ただしこれは金属イオン、キレート剤とも一種類である場合に限られ、実際に実験上で問題となる「複数の金属イオンを含む溶液にキレート剤を加える」という場合には、遊離イオン濃度を求めるのが難しい。(逆に与えられた遊離イオン濃度から各イオンの総量を求めることは容易である。)このうち、金属イオンが二種類でキレート剤が一種類(あるいはキレート剤が二種類で金属イオンが一種類)の場合については、三次方程式を解いて遊離イオン濃度を求める方法が知られている^{1,2,5,6,10)}。しかし、金属が三種類以上の場合に

は四次以上の方程式を解かねばならず、更に複雑になる。

今回、複数の金属イオンを含む溶液にキレート剤を加えたときの遊離金属イオン濃度をマイクロコンピュータを利用して求める方法を開発したので紹介する。

II. 方法と原理

金属イオン M それと一対一に結合するキレート剤 E について遊離の金属イオン、遊離のキレート剤、金属と結合したキレート剤の濃度をそれぞれ $[M]$, $[E]$, $[ME]$ とすると、温度、 pH , イオン強度が一定の条件下では、結合定数 $K = [ME]/[M][E]$ は一定となる。この K は pH 等の補正をした「見かけの」結合定数 (apparent stability constant, K_{app}) であり、絶対結合定数 (absolute stability constant) より求める^{注1)}。(やや複雑ではあるが、コンピュータを用いずとも計算できる。)これについては様々な問題点も指摘されているが⁷⁾、ここでは詳細については触れずに K_{app} は求められたものとして話

をすすめる。金属，キレート剤とも一種類の場
合，既知の全M，全Eの濃度を $[M_T]$ ， $[E_T]$ と
すると，

$$K = \frac{[E_T] - [E]}{([M_T] - [E_T] + [E])[E]}$$

より二次方程式

$$[E]^2 - ([E_T] - [M_T] - 1/K)[E] - [E_T]/K = 0 \quad (1)$$

を解いて $[E]$ が，また $[M] = [M_T]/(1 + K[E])$
より $[M]$ が求められる。

複数の金属 M_i ($i=1$ to N) が存在する場合，

$$K_i = [M_i E] / [M_i][E]$$

$$[E] + \sum_i [M_i E] = [E_T]$$

$$[M_i] + [M_i E] = [M_{iT}]$$

となるが，これから導かれる $[E]$ を求める方
程式は $(N+1)$ 次方程式になるので一般的に解を
求めるのは困難である。しかし逆に， $[E]$ が与
えられた場合に $[E_T]$ を求めることは

$$[M_i E] = K_i [M_{iT}][E] / (1 + K_i[E])$$

$$[E_T] = \sum_i [M_i E] + [E]$$

より容易である。したがって，“仮の $[E]$ ” の値
を設定してそれをもとに $[E_T]$ を計算し，その
結果が与えられた $[E_T]$ と等しくなるように漸
次“仮の $[E]$ ” を補正して $[E]$ の近似を求める
ことができる。最初の“仮の $[E]$ ” の値 $[E]_1$ は，
真の $[E]$ より若干大となるように任意に取る。

(各 M_i が単独で存在したと仮定して方程式(1)
より求めた $[E]$ の値の最小値，あるいは $[E_T]$
を $[E]_1$ とすると良い，この時，明らかに $[E]_1 >$
 $[E]$ となる。)

$$[M_i E]_1 = K_i [M_{iT}][E]_1 / (1 + K_i[E]_1)$$

$$[E_T]_1 = \sum_i [M_i E]_1 + [E]_1$$

とすると， $[E_T]_1$ は $[E_T]$ より大であり

$$[E]_1 / [E] > [E_T]_1 / [E_T] > 1$$

となる^{註2)}。もし $[E_T]_1$ が $[E_T]$ とほぼ等しいな
らば $[E]_1$ ， $[M_i E]_1$ はそれぞれ $[E]$ ， $[M_i E]$
の近似値となる。それ以外の場合には， $[E]_1$ を
 $[E_T]_1 / [E_T]$ で割った値を新しい“仮りの $[E]$ ”
($[E]_2$) とすると， $[E]_1 > [E]_2 > [E]$ となる。以
下同様に

$$[M_i E]_n = K_i [M_{iT}][E]_n / (1 + K_i[E]_n)$$

$$[E_T]_n = \sum_i [M_i E]_n + [E]_n$$

$$[E]_{n+1} = [E]_n [E_T] / [E_T]_n$$

とすると

$$[E]_n > [E]_{n+1} > [E]$$

となる。そして，数列

$$\{[E_T]_n / [E_T]\}, \{[E]_n\}, \{[M_i E]_n\}$$

はすべて収束し^{註3)}， $[E_T]_n / [E_T]$ が十分 1 に近づ
いた時 $[E]_n$ は $[E]$ の近似値となる。また $[M_i]$
は，この近似値を $[M_i] = [M_{iT}] / (1 + K_i[E])$ に
代入することにより求められる。

Ⅲ. 応用と考察

この方法は，金属イオン，キレート剤とも複
数存在する場合にも応用できる。その場合

$$K_{ij} = [M_i E_j] / [M_i][E_j]$$

とすると

$$[M_i] = [M_{iT}] / (1 + \sum_j K_{ij}[E_j])$$

$$[M_i E_k] = K_{ik} [M_{iT}][E_k] / (1 + \sum_j K_{ij}[E_j])$$

となるので， $[E_{kT}]$ すなわち $\sum_i [M_i E_k] + [E_k]$
は $\{[E_j]\}$ の関数としてあらわされる。ここで
すべての j について $[E_j]_1 > [E_j]$ となるように
 $\{[E_j]_1\}$ をとり，先程と同様に

$$[E_j]_{n+1} = [E_j]_n [E_{jT}] / [E_{jT}]_n \quad \text{註4)}$$

とすると，すべての j について $[E_{jT}]_n / [E_{jT}]$ が
十分 1 に近づいた時， $[E_j]_n$ は $[E_j]$ の近似値と
なる。

これと本質的に同じ方法としては Fabiato &
Fabiato⁹⁾ のものがあげられる。彼らは，仮の
 $\{[E_j]\}$ から $\{[M_i]\}$ を計算し，そこで得られた
 $\{[M_i]\}$ から次の $\{[E_j]\}$ を計算するという繰
り返し計算を，新しい値と前の値の差が十分小
さくなるまで続けて近似値を求めている。しか
しそこではどの程度その差が少なくなればよ
いかの評価がなされていない。今回の方法はキ
レート剤の総量 ($[E_T]$) について，計算された値
と真の値との誤差をみているので，どの程度ま
で繰り返し計算をすればよいか判断が出来る。
 $[E]_n / [E] > [E_T]_n / [E_T]$ であるので， $[E_T]_n$ と
 $[E_T]$ との誤差が 0.1% 以下となっても $[E]_n$ は
 $[E]$ とずれている可能性がある。しかし，実験
誤差やキレート剤の純度⁷⁾ を考慮すると， $[E]$

についてこれ以上の正確さを求めることは無意味で、さらに繰り返し計算を続けることによって[E]や[M]の近似値が有意に変わるならば、実験条件そのものを考え直さねばならない。

別表に BASIC で書かれた遊離イオン濃度を計算するプログラムおよびその出力の例を示

す。このプログラムは、pH7.4において Cu^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} の6種の金属イオンを含む溶液に EDTA を加えた時の遊離の金属イオン及びキレート剤の濃度を求めるものであるが、pH, キレート剤の種類, 金属種類を変える場合は文番号80, 90に記されている

別表

```

10 REM "Calculaion of Free EDTA and Metal Concentrations at pH7.4"
20 DIM EM(6), MT(6), MF(6), E(6), K(6)
30 DEFDBL E,M
40 PRINT "Input Total Molar Concentration"
50 INPUT "EDTA"; ET
60 INPUT "Cu";MT(1):INPUT "Zn";MT(2):INPUT "Fe(2+)";MT(3)
70 INPUT "Mn";MT(4): INPUT "Ca";MT(5): INPUT "Mg";MT(6)
80 K(1)=10^15.79: K(2)=10^13.39: K(3)=10^11.19
90 K(4)=10^10.99: K(5)=10^7.59 : K(6)=10^5.68
100 EF=ET
110 FOR I=1 TO 6
120 E(I)=(ET-MT(I)-1/K(I)+((ET-MT(I)-1/K(I))^2+4*ET/K(I))^.5)/2
140 IF EF>E(I) THEN EF=E(I)
150 NEXT I
160 J=1
170 EMT=0
190 FOR I=1 TO 6
200 EM(I)=K(I)*EF*MT(I)/(1+K(I)*EF)
210 EMT=EMT+EM(I)
220 NEXT I
230 A=ET/(EMT+EF)
240 PRINT USING "##      #.#####      #.####";J,EF,A
250 IF A>.999 GOTO 300
260 IF J>50 GOTO 300
270 EF=EF*A
280 J=J+1
290 GOTO 170
300 FOR I=1 TO 6: MF(I)=MT(I)/(1+K(I)*EF): NEXT
310 LPRINT
320 LPRINT "      Total      Free"
330 LPRINT USING "EDTA #.#####      #.#####";ET,EF
340 LPRINT USING "Cu      #.#####      #.#####";MT(1),MF(1)
350 LPRINT USING "Zn      #.#####      #.#####";MT(2),MF(2)
360 LPRINT USING "Fe      #.#####      #.#####";MT(3),MF(3)
370 LPRINT USING "Mn      #.#####      #.#####";MT(4),MF(4)
380 LPRINT USING "Ca      #.#####      #.#####";MT(5),MF(5)
390 LPRINT USING "Mg      #.#####      #.#####";MT(6),MF(6)
400 END

```

	Total	Free	Total	Free
EDTA	0.500D-03	0.244D-07	EDTA	0.500D-03
Cu	0.801D-06	0.532D-14	Cu	0.801D-06
Zn	0.320D-05	0.534D-11	Zn	0.532D-04
Fe	0.180D-05	0.476D-09	Fe	0.180D-05
Mn	0.309D-06	0.129D-09	Mn	0.309D-06
Ca	0.100D-02	0.513D-03	Ca	0.100D-02
Mg	0.609D-03	0.602D-03	Mg	0.609D-03

	Total	Free
EDTA	0.200D-03	0.113D-06
Cu	0.801D-06	0.115D-14
Zn	0.320D-05	0.116D-11
Fe	0.180D-05	0.103D-09
Mn	0.309D-06	0.281D-10
Ca	0.200D-03	0.372D-04
Mg	0.609D-03	0.578D-03

K_{app} の値を変更すればよい。この方法で計算することにより、肝細胞の初代培養において他の条件が全て整っていても、培地中の亜鉛の遊離イオンが $5 \times 10^{-11} M$ 以下になると増殖が抑制されることが分かった⁴⁾。この様に実測するのが困難な微量金属の遊離イオン濃度を求める場合に、この計算方法は有用と思われる。

注 1)

$$K_{app} = [\text{bound M}] / [\text{free M}][\text{free E}]$$

であるが、ここで free E とは「いかなる金属とも結合していない」E を指す。(単に「M と結合していない」E とする方法もあるが⁷⁾、他の金属が共存する場合、 K_{app} がその濃度に依存することになり計算が複雑になる。) 例えば EDTA の場合、free E としては E^{4-} 、 HE^{3-} 、 H_2E^{2-} 、 H_3E^{-} 、 H_4E の形があり、pH によってその分布が変わる。このうち強いキレート効果を持つのは E^{4-} であり、また HE^{3-} も弱いながらキレート能を持つので bound M とは ME と MHE との和である。文献に記されている金属 M と E^{4-} との絶対結合定数 K_{ME} 、M と HE^{3-} との絶対結合定数 K_{MHE} 、及び H^+ と E との絶対結合定数 ($K_1 - K_4$) を用いると見かけの結合定数は

$$K_{app} = \frac{[ME] + [MHE]}{[M]([E] + [HE] + [H_2E] + [H_3E] + [H_4E])} \\ = (K_{ME} + K_{MHE} K_1 [H^+]) / \alpha_{pH} \\ (K_i = [H_i E] / [H][H_{i-1} E], \quad \alpha_{pH} = 1 + [H^+]K_1 \\ + [H^+]^2 K_1 K_2 + [H^+]^3 K_1 K_2 K_3 + [H^+]^4 K_1 K_2 K_3 K_4)$$

として求められる。中性付近では $K_1 [H^+]$ は 10^3 程度であるので、 K_{ME} と K_{MHE} が 5 桁以上違うなら上の式の分子第二項は無視できる⁹⁾。一方、pH によっては金属の加水分解 (OH^- イオンによるキレート形成) の程度を考慮する必要もあるが⁹⁾、中性付近では一般に無視できる。 $[H^+]$ は水素イオン濃度で、pH の表す水素イオンの活量としばしば混同されるが同じではない⁷⁾。

絶対結合定数もイオン強度、温度などの測定条件によって変化する⁷⁾。従ってそれらの補正を行うか、なるべく実験条件に近い条件で測定した定数を用いるようにする。もっとも同一条件で測定された定数にも文献によって開きがある。

注 2)

なぜなら

$$[E_T]_1 = [E]_1 (\sum_i [K_i [M_i T] / (1 + K_i [E]_1)] + 1)$$

$$[E_T] = [E] (\sum_i [K_i [M_i T] / (1 + K_i [E])]) + 1$$

$$\sum_i [K_i [M_i T] / (1 + K_i [E]_1)] < \sum_i [K_i [M_i T] / (1 + K_i [E])]$$

注 3)

数列 $\{[E]_n\}$ は有界単調なので収束する。したがって

$$\lim_{n \rightarrow \infty} [E_T]_n / [E_T] = \lim_{n \rightarrow \infty} [E]_n / [E]_{n+1} = 1$$

すなわち、

$$\lim_{n \rightarrow \infty} [E_T]_n = [E_T]$$

となる。また全ての i について

$$[M_i E] < [M_i E]_n, \quad [E] < [E]_n$$

であるので、数列 $\{[E_T]_n\}$ すなわち数列

$$\{ \sum_i [M_i E]_n + [E]_n \}$$

は項別に収束し

$$\lim_{n \rightarrow \infty} [M_i E]_n = [M_i E], \quad \lim_{n \rightarrow \infty} [E]_n = [E]$$

となる。

注 4)

先ほどの場合と異なり、 $[E_k T]_n > [E_k T]$ となるとは言い切れない。もしある k について、 $[E_k]_n / [E_k]$ が他の $[E_j]_n / [E_j]$ に比べて非常に 1 に近ければ、 $[E_k T]_n / [E_k T] < 1$ となる可能性もある。その時には、 $[E_k]_{n+1} = [E_k]_n$ とするとよい。

謝 辞

稿を終えるに当たり、適切な助言を下された独協医科大学大竹英樹先生、長谷川薫先生、英文の校閲を下された榎並淳平先生、また原稿作成に協力して下さった青木佳子さんに感謝いたします。

文 献

- 1) Bartfai, T. (1979) Preparation of metal-chelate complexes and the design of steady-state kinetic experiments involving metal nucleotide complexes. *Adv. Cyclic Nucleotide Res.*, **10**, 219-242
- 2) Bass, M. B. & Fromm, H. J. (1985) trans-1, 2-Diaminocyclohexane-N, N, N', N'-tetraacetic acid is superior to ethylenediamine-N, N, N', N'-tetraacetic acid for sequestering Mg^{2+} in ^{31}P NMR experiments involving ATP spectra at neutral and acidic pH. *Annal. Biochem.*, **145**, 292-301
- 3) Fabiato, A. & Fabiato, F. (1979) Calculator programs for computing the composition of the solutions containing multiple metals and ligands used for experiments in skinned muscle

- cells. *J. Physiol. (Paris)*, **75**, 463-505
- 4) Hasegawa, K., Watanabe, K., Ohtake, H. & Koga, M. (in preparation)
 - 5) 中村健一(1984)生化学パソコン戦略法. 培風館, pp. 78-82
 - 6) 老木成稔(1986)任意の遊離 Ca 濃度溶液作成のための計算プログラム. 文部省特定研究「生体電気信号」, *CIRCULAR*, **22**, 2-6
 - 7) 老木成稔, 岡田泰伸(1987)Ga-EGTA 緩衝液の作成とその問題点. *生体の科学*, **38**(1), 79-83
 - 8) Perrin, D. D. & Dempsey, B. (1974) Buffers for pH and metal ion control, Chapman and Hall, London
 - 9) Wolf, H. U. (1973) Divalent metal ion buffers with low pH-sensitivity. *Experientia*, **29**, 241-249
 - 10) Zucker, R. S. & Steinhardt, R. A. (1978) Prevention of the cortical reaction in fertilized sea urchin eggs by injection of calcium-chelating ligands. *Biochim. Biophys. Acta*, **541**, 459-466

第74回近畿生理学談話会

日 時：昭和62年10月31日(土)
場 所：大阪大学医学部附属病院
当 番：大阪大学医学部生理学教室

A 1. 運動選手の血液凝固線溶能

高島規郎, 東 照正*, 渡辺 学**, 中馬一郎**, 磯本昭夫, 鶴田宏次 (近畿大, 教, 健体・阪大医療技術短大*・阪大医, 第一生理**)

運動負荷が血液凝固線溶系にどのような影響をおよぼすかを検討した。運動部選手4名を対象とし自転車エルゴメータを用いて30分でオールアウトにいたる運動を負荷した。負荷前後の組織プラスミノゲン・アクチベータ (t-PA), 第8因子関連抗原 (VIII R: AG) を測定した。t-PA は運動開始にやや遅れて急激に増加し, 前値の約2倍になり運動後30分で前値より30%低くなって, 最終測定時 (運動後120分) まで定常値を保った。VIII R: AG は運動中約1.3倍まで上昇した後, 運動後60分からは前値とピーク値の間 (約15%増) で定常となった。t-PA と VIII R: AG の増加は運動に伴うカテコールアミンの分泌と, 機械的振動によって血管内皮細胞が刺激されることによると考えられる。運動後 t-PA は前値より低レベルとなるが, これは分泌顆粒が exhaust されるためであろう。これは特に中高年の増健運動処方において, 注意すべき事実と考えられる。

A 2. Wistar 系ラット胸腺上皮性細胞株 IT-45 R 1 の放出する胸腺ホルモン様物質に関する研究

羽藤文彦, 谷山敏子, 押谷伸英, 盛岡京子, 田路吉朗, 富永恵子, 金太 章, 豊川 奉, 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 (TH) が, T細胞系の分化・成熟過程に重要な役割を演じていることが示され, 胸腺全体より数種の TH 様物質が分離・精製されている。教室では, 初代 TEC の培養上清 (TECS) 中に分泌される TH 様物質を分離し, 得られた物質が胸腺リンパ球の分化・成熟に与える影響を検討してきた。しかし, 生体内 TEC 機能をよく反映する初代培養では他細胞の混在は避け難く, 他細胞由来の活性物質である可能性が否定し難い。今回, Wistar 系ラット TEC 細胞株 IT-45 R 1 の TECS をゲル濾過カラムにてポリペプチド分画 (PF)

に分離し, 各 PF のラット胸腺リンパ球に対する生物活性をロゼット形成能 (RFA) および Con A 応答能誘導活性を指標として検討した。その結果, 初代 TECS に認められる MW 約7Kd, 3Kd に加え, 10Kd, 2.5Kd の PF が分離された。RFA 誘導活性は初代培養と同様に約3Kd の PF に, Con A 応答能誘導活性はすべての PF に検出された。以上より, 初代培養と細胞株の TECS の相違は, 長時間培養される TEC の環境変化に対する適応が一因であると想定された。今後, 活性物質のアミノ酸配列を解析し, 初代培養と比較検討したい。

A 3. カエル胃粘液層の H イオン動態の検討

長野文昭, 正木秀博, 藤本 守, 小寺邦彦, 窪田隆裕 (大阪医大, 第二生理)

カエル胃粘膜上皮細胞の管腔表面には約650 μ の粘液ゲル層が内張りされており, 管腔-粘液ゲル層間境界 (LMI) と粘液ゲル層-表層上皮間境界 (MEI) の両者からなる。これらの胃酸防御機構を明らかにするために以下の実験を行った。食用ガエル胃粘膜を改良型 Ussing 装置に装着し, 経上皮膜電位 (PD), 短絡電流 (Isc), 膜抵抗 (R) を測定し, 酸分泌刺激または抑制時と定常時とを比較した。さらに二連型微小 pH 電極を用いて胃粘膜表層上皮細胞内 pH (pHi) と粘液層の pH 勾配を測定し, 粘液層の H イオン動態を検討した。酸分泌刺激にはヒスタミン (10⁻⁴ M 漿膜側) を投与した。酸分泌抑制には, ヒスタミン H₂ 受容体拮抗剤であるシメチジン (10⁻⁴ M), あるいはプロトンポンプ阻害剤であるオメプラゾール (10⁻⁴ M) を漿膜側から投与した。その結果, ヒスタミン刺激によってカエル胃粘膜の PD, R, Isc はいずれも減少した。これらは一部, オメプラゾール投与によって抑制された。ヒスタミン刺激によって, 粘液ゲル層の pH 勾配は数倍以上に増加した。オメプラゾールは粘液ゲル層の pH 勾配を半減したが, シメチジンは著変を示さなかった。胃酸分泌時にはゲル層の表層上皮境界面の pH 低下が著明であった。以上より, 分泌された H イオンの少なくとも一部は, 局所ゲル層の pH に影響を与えることが判明

した。

A 4. 膵 β 細胞の ATP 感受性 K チャネルに対する ATP の二つの作用

少作隆子 (大阪医大, 第二生理)

膵 β 細胞には細胞質側の ATP により阻害される K チャネルが存在する。パッチクランプ法を用いてこの K チャネルに対する ATP の作用を詳しく調べた結果, ATP にはチャネルを阻害する作用のほか、チャネルの機能を維持する働きもあることがわかった。

【方法】 単離・培養したマウス膵 β 細胞を用いてパッチクランプを行った。inside-out patch を用いて、細胞質側を ATP (あるいは ATP 類似物質) を含む液にさらした後、ATP (および類似物質) を含まない液中で ATP 感受性 K チャネルの単一チャネル電流を記録した。

【結果】 1) ATP-free 液に長時間さらすと open するチャネルの数が次第に減少するが、ATP を含む液に一度さらした後、再び ATP を除くとチャネルの回復が見られた。2) 分解されない ATP 類似物質 (AMPPCP, AMPPNP) および蛋白をリン酸化しうるが、脱リン酸化されない ATP 類似物質 (ATP γ S) ではこのチャネルの回復がみられなかった。3) ATP によるチャネルの回復には Mg が必要であった。

【考察】 ATP 感受性 K チャネルの機能を維持するために ATP が必要であり、この過程は ATP の分解を伴うと考えられる。(なお本研究は西独・Max-Planck 研究所にて B. J. Zünkler および G. Trube 両博士とともになされた。)

A 5. 胃壁細胞内の Ca^{2+} 局在とシグナル・トランスダクション—蛍光画像解析システム, fura-2, aequorin を用いた検討—

角田康弘^{*,**}, 淀沢 進^{*}, 松宮英視^{**}, 田代 裕^{*}
(関西医大, 第一生理^{*}・北大, 医, 臨検医^{**})

ガストリン刺激による胃壁細胞内 Ca^{2+} シグナル・トランスダクションは IP_3 を媒体とした滑面小胞体からの Ca^{2+} 遊離と C-キナーゼ活性化に連動した細胞膜直下での局所的 Ca^{2+} 流入・排泄から構成されている。今回これらの現象が蛍光画像解析および fura-2, aequorin を用いた分光蛍光光度測定により確認された。ガストリン受容体刺激応答後の Ca^{2+} シグナルのイメージ化は Ca^{2+} イオノフォアによる細胞外 Ca^{2+} 流入のパターンとは異なっていた。また、C-キナーゼ

活性化物質 TPA 刺激による細胞膜直下への Ca^{2+} 勾配の移動と、その後の Ca^{2+} 排泄パターンがイメージ化された。

A 6. 両側孤束核へ微量注入したバソプレッシンの心拍数, 血圧および腎交感神経活動へおよぼす影響

山崎登自, 二宮石雄 (国立循環器病センター研, 心臓生理部)

バソプレッシン (AVP) は中枢神経系を介して循環調節に関与することが報告されている。本研究では延髄の孤束核 (NTS) に、微量注入した AVP が心拍数, 血圧ならびに腎交感神経活動に対して、いかなる影響をおよぼすかを検討した。ペントバルビタール麻酔したウサギで脳固定装置に頭部を固定し、AVP 30 ng を両側 NTS に微量注入した。注入後、血圧の軽度上昇 (2.5 ± 1.2 mmHg), 腎交感神経活動の増加 ($18 \pm 9.6\%$), 心拍数の低下 (-10 ± 3 bpm) を認めたが、生理的食塩水微量注入群と比較して、有意の差は認められなかった。大動脈神経ならびに迷走神経を切断し、頸動脈洞圧のみを一定に保った群では、AVP 注入後、有意の昇圧 (32 ± 5.3 mmHg) を認めた。AVP の NTS への微量注入による昇圧反応は、動脈圧反射の存在に強く影響を受けており、頸動脈洞圧を一定に保った群のみ昇圧反応が出現した。以上の結果は、ウサギの NTS において、AVP と動脈圧反射の間に血圧調節に関して interaction が存在することを示唆する。

A 7. 酸素消費量と収縮期圧容積面積からみた心臓の Fenn 効果

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

骨格筋の Fenn 効果に類似な現象が心臓にもあることが知られている。外的仕事 (EW) とポテンシャルエネルギー (PE) からなる収縮期圧容積面積 (PVA) は、酸素消費量 (VO_2) をよく反映し、心臓の収縮により生じる総機械的エネルギーを表す。そこで、この心臓の Fenn 効果が PVA の概念により説明しうるか否かについて検討した。【方法】 左心室が容積制御ポンプに接続されたイヌ摘出交叉灌流心標本を用いた。PVA, EW および PE はオンラインコンピュータにより、 VO_2 は冠血流量と動静脈酸素差の積として求めた。一定の収縮性のもとで、同じ収縮末期容積、つまり、ほぼ等しい収縮末期圧 (Pes) をもつ駆出性収縮 (EC) と等容性収縮 (IC) における VO_2 の差を求めた。これ

ら二つの収縮において PE は同じであり、IC では EW が 0 である。【結果】EC から得られた VO_2 、PVA とも上に凸の Pes の 2 次関数として近似され、IC から得られた VO_2 、PVA とも下に凸の Pes の 2 次関数に近似できた。EC の VO_2 は IC の VO_2 より大であり、その差は EW の大きさに比例した。EC と IC の PVA の差に相当するエネルギー値は、それらの VO_2 のエネルギー差に等しかった。【結語】PVA の概念から心臓の Fenn 効果を説明することができた。

A 8. 心臓の酸素消費量からみた最適収縮性

田中伸明, 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, 循環動態機能部)

従来、心臓の酸素消費量 (MVO_2) の決定因子として挙げられているおもな因子は心収縮性、心筋張力、心拍数の三つである。心拍数と外的仕事を一定に保ちつつ収縮性を高めると、収縮性による MVO_2 の変化は増加の方向にある。一方、収縮性を低下させると心筋張力が増加し、これによる MVO_2 の変化も増加の方向にある。すなわち、心拍数一定、外的仕事一定のもとで MVO_2 と収縮性の関係を考えるときには、 MVO_2 に極小値を与える収縮性 (最適収縮性) が存在することが予想される。われわれは、まず MVO_2 -収縮性 (E_{max}) 関係をシミュレーションによって検討した。用いた式は Suga の可変弾性体モデルの式 (Circ Res 35:1974) と、与えられた条件下での圧容積面積 (PVA) を表す式 (AJP 236:1979) と、われわれのデータから求められた PVA から MVO_2 への変換式 (Heart Vessels 1:1985) の三つである。その結果、例えば心拍数 150/分、後負荷圧 100 mmHg、心拍出量 1.2 L/分の心臓では、 E_{max} 6.3 mmHg/(ml/100 gLV) において MVO_2 の極小値をうることができた。しかし、イヌの右心バイパス標本を用いた急性実験では、心拍数、外的仕事を一定として収縮性を変化させても、計算で示されたような最適収縮性をうることは困難であり、収縮性を低下させるほど MVO_2 も低下する傾向を示した。

A 9. Pressure-work Index の問題点

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

Pressure-work Index (PWI) は Rooke と Feigl (1982) により提唱された心臓の酸素消費量 (VO_2) の指標である。PWI はダブル・プロダクトと外的仕事の

線型結合で定義され、(1) 生体内心に使用しやすい、(2) 外的仕事に着目している、(3) いわゆる "oxygen wasting effect" (OWE) がみられないなどの特徴をもつ。しかし、PWI は直接的に収縮性の指標を含まず、その限界性も内在すると考えられる。そこで、8頭のイヌ摘出交叉灌流心を容積制御サーボポンプに接続し、おのおの三つの異なった収縮性のもとに、外的仕事を多段階に変化させ VO_2 を測定し、PWI の有用性と限界性を検討した。同時に、収縮期圧容積面積 (PVA) と E_{max} よりの VO_2 の予測式との対比を行った。 VO_2 の実測値の予測値に対する誤差の標準偏差 (SD) は平均 VO_2 の PWI で 14%、PVA で 13% であった ($N=189$)。回帰直線の傾きは全体で PWI では 0.68 ($r=0.921$)、PVA では 0.84 ($r=0.933$) であった。さらに、従来の報告と異なり OWE がみられた。retrospective な検討では平均 VO_2 の PWI で 13%、PVA で 9%、回帰直線の傾きは全体で PWI では 1.00 ($r=0.929$)、PVA では 1.01 ($r=0.968$) と改善した。しかし、個々の VO_2 -PWI、 VO_2 -PVA 関係をみると PVA、 E_{max} よりの予測式では OWE がほぼ消失したのに対し PWI では残存した。

A 10. 豚ランゲルハンス島β細胞の静止時における内向き電流成分について一炭酸脱水酵素阻害剤の影響一

北里 宏, 杉本喜久 (滋賀医大, 第二生理)

豚 β 細胞では細胞外 Na^+ を取り去ると脱分極が起こる。この脱分極は、 Na^+/H^+ 交換輸送の抑制による細胞内 H^+ 濃度の上昇が K^+ コンダクタンスの低下を来たした結果であると考えられる。脱分極が起こるからには外向き K 電流が減少する一方、内向き電流は不変でなければならない。しかし、この内向き電流をなにが運んでいるか不明である。最も可能性の高いものは陰イオンの流出である。ミトコンドリアで産生される CO_2 の水和から HCO_3^- が生じるので、これは細胞内呼吸が続く限り細胞内から細胞外へ流出し、これが内向き電流を運んでいる可能性がある。また、もし β 細胞にも HCO_3^-/Cl^- 交換輸送系があれば、この系を介して細胞内に Cl^- が蓄積され、蓄積された Cl^- が細胞外に流出することによって内向き電流が流れる可能性もある。本実験では、細胞内呼吸産物である CO_2 が内向き電流を運ぶ陰イオンの供給源となっている可能性を確かめるため、炭酸脱水酵素阻害剤 acetazolamide の膜電位におよぼす影響を調べた。

細胞内呼吸阻害剤を与えておくと、細胞外 Na 濃度を下げても脱分極は起こらない。acetazolamide, (1×10^{-4} M) が存在すると、細胞外 Na^+ 濃度を 135 mM から 25 mM に下げたときの脱分極の大きさは intact cell のその約 1/2 であった。

A 11. 筋ジストロフィー症マウス (mdx) で活性上昇するセリンプロテアーゼは筋収縮タンパク質の turn over に関与する

楠本茂夫, 辻 繁勝, 松下 宏 (和歌山医大, 第二生理)

アルカリ側に至適 pH 域をもつプロテアーゼを筋ジストロフィー症マウス (mdx) の後肢筋粗ミトコンドリア分画より 1.5M NaCl で抽出し Phenyl-Sepharose, Lima bean trypsin inhibitor Sepharose クロマトグラフィーにより精製した。精製酵素は分子量 25,000, 等電点 7.7 の単鎖ポリペプチドで活性の至適 pH は 8.0~9.5 であり、インヒビタースペクトルより chymotrypsin type のセリンプロテアーゼに属することがわかった。

本酵素の筋構造タンパク質に対する作用をみたところ、収縮系タンパク質を速やかに分解し、本酵素が筋のタンパク分解に関係し疾病の進行に深くかかわっていることが示唆された。また、粗抽出液中に本酵素に対する阻害活性があることがわかり、各カラムの非吸着部を濃縮し、ゲルろ過して検索したところ、阻害活性は分子量 60 万以上と約 1 万の分画に存在することがわかった。

本酵素は粗抽出液中では至適 pH が 10.0~12.0 であり、精製された状態では 8.0~9.5 に変化することにより生理的条件下では精製過程で見つかったインヒビターにより、その作用を regulate されているものと思われる。しかしながら、ジストロフィー筋という病態下ではなんらかの機転により regulate されなくなり筋の分解に関与している可能性が考えられる。

A 12. 造血とカドミウム (Cd)

坂田 進, 榎 泰義, 上月久治, 清水 悟, 松田正昭 (奈良医大, 第二生理)

In vitro および in vivo 造血におよぼす Cd の影響を血液幹細胞培養法を用いて検討した。【方法】In vitro 実験—ラット骨髓細胞を Cd 存在下で 48 時間培養し、生ずる CFU-E コロニー数を算定した。さらに細胞数、細胞生存率およびヘム分画への ^{59}Fe 取込みを測定し

た。In vivo 実験—ラットに Cd 含水を飲ませた後、骨髓中の CFU-E, 血漿鉄, 血漿エリスロポエチン (EPO) および腎皮質 Cd を測定した。【結果】In vitro 実験—Cd は量に依存して CFU-E コロニー形成を阻害した。Cd の CFU-E に対する阻害曲線は細胞数あるいは細胞生存率に対するそれとよく一致した。 ^{59}Fe 取込みは Cd に影響されなかった。これらの結果は Cd による CFU-E 成熟の阻害が、少なくとも Hb 合成阻害によるものではないことを示唆する。【In vivo 実験】Cd の経口投与は小球性低色素性赤血球, 血漿鉄減少および総鉄結合能上昇により特徴づけられる鉄欠乏性貧血をひき起こした。Cd 投与により血漿鉄が減少するにつれて、骨髓中の CFU-E は増加した。また、腎皮質での Cd 蓄積にもかかわらず、血漿 EPO は上昇した。さらに鉄の同時投与は Cd による鉄欠乏性貧血と CFU-E の増加を防いだ。これらの結果は、Cd の経口投与は鉄欠乏を介しての CFU-E レベルでの骨髓過形成をひき起こすことを示す。

A 13. SHR の肝と小腸の P-450 および血液性状へおよぼす分離大豆蛋白質と運動の影響

賀来正俊, 鈴木啓文*, 河野節子**, 新村芳雄***, 新田千佳子, 堀 清記 (兵庫医大, 第一生理・第四内科*・名古屋女子大, 家政学部**, 杏和総合医学研究所***)

SHR 24 匹を高大豆蛋白 (40%) 食運動 (トレッドミル: 15 m/分, 30 分/日, 週 3 回) (A) 群, 同非運動 (B) 群, 低大豆蛋白 (10%) 食運動 (C) 群, 同非運動 (D) 群にわけ、生後 7~16 週齢まで飼育し 16 週齢目のラット肝ミクロソーム (Ms) の P-450 含量と NADPH-P-450 還元酵素 (fp_2) 活性, チトクローム b_5 (b_5) 含量, それに小腸粘膜 Ms の P-450 含量や血液成分を測定した。さらに肝 Ms の P-450 による Dimethylnitrosamine 脱メチル化活性 (DMN-d) も測定し、これらを 4 群間で比較した。その結果、低蛋白食群は体重, 肝重量, 種々の血液蛋白質成分において有意な低値を示したが、逆に肝 1 g 当りの Ms 蛋白質量 (mg) は A-15.0, B-14.0, C-19.8, D-19.8 と有意に高値を示した。さらに Ms mg 蛋白質当りの [P-450 含量 (nmol), DMN-d (nmol HCHO/分)] は、A[1.41, 1.20], B[1.19, 1.17], C[1.52, 1.56], D[1.24, 1.60] であり、長期低蛋白食非運動によって肝 Ms に DMN-d を有する P-450 が比較的増加していること、および血液成分にはほぼ無影響の運動によっても、肝 Ms には別の P-450 が誘導

されていることが判明した。なお肝 Ms の fp_2 , b_5 と小腸 P-450 には有意な差はなかった。

A 14. 閉塞性動脈硬化症の患者におけるプロスタグランジン E_1 経静脈的連続投与によるインスリン分泌抑制作用

賀来正俊, 鈴木啓文*, 堀 清記(兵庫医大, 第一生理・第四内科*)

先にわれわれはウサギ腸粘膜ミクロソームの P-450 ia, P-450 ca が活発にプロスタグランジン A_1 (PGA_1) を ω 水酸化することを見出し, さらに本反応の生理的意義を調べるために PGA_1 とその ω 水酸化物である 20-OH- PGA_1 および PGA_1 の前駆物質である PGE_1 の 3 種の PG をおのおのウサギに静脈内投与してインスリン分泌への影響を調べた。その結果インスリン分泌抑制効果は $PGE_1 > PGA_1 > 20-OH-PGA_1$ の順であった。これら 3 種の PG のうち PGE_1 がすでに製剤化され閉塞性動脈硬化症 (ASO) などの患者に血流改善剤として使われている。今回 ASO の患者 4 名に PGE_1 を 7.5 ng/分/kg 体重の速度で経静脈的連続投与し, 投与前, 1, 5, 10, 20, 30 分後の血中インスリン, C-ペプチド, グルカゴン, 遊離脂肪酸, 血糖などの濃度を測定した。その結果 4 例とも PGE_1 投与 1 分後からインスリン, C-ペプチド, 遊離脂肪酸が低下し, おのおのの前値に対する最大減少量は 2.3~9.0 $\mu U/ml$ (27.8~37.5%), 0.3~1.8 ng/ml (15.8~35.3%), 0.03~0.3 mEq/l (7.9~41.1%) であった。いずれも前値が高いほど 1 分後の減少量が大きかった。しかし, 血糖やグルカゴン濃度には著明な変動はみられず, ASO 患者においては PGE_1 が比較的強く, 膵臓 β 細胞に作用していることが示唆された。

B 1. ウサギ咀嚼筋中の感覚受容器の反応

長島 正*, 井上富雄, 増田裕次, 森本俊文(阪大, 歯, 生理・歯科補綴学第二講座*)

食物を咀嚼しているときの閉口筋の活動は, 食物の性状に対応して自動的に調節されている。これには歯根膜感覚を中心とした口腔内感覚および閉口筋中の感覚受容器による筋感覚が関与しているものと考えられている。そこで今回は咀嚼筋中の感覚受容器の応答特性およびリズムカルな顎運動中の放電パターンについて調べた。

実験にはウサギを用い, 下顎に種々の受動的運動を与えたとき, Succinyl choline を静注したとき, およ

び薄いウレタンフォームの薄片を咬ませたときの三叉神経中脳路核のユニットの活動を記録した。

その結果, ウサギの閉口筋中の感覚受容器は台形状の伸張に対する応答により dynamic type と static type の二つのタイプにわけることができた。しかし, 振動に対する追従性や Succinyl choline 投与による応答性の変化だけでは二つのタイプにわけることができなかった。また, リズムカルな顎運動中の活動については, その活動パターンには主として開口相に活動を示すもの, 主として咬合相に活動を示すもの, その中間型のもが存在した。また, 上下臼歯間でウレタンフォームを咬んでいるとき, 単にリズムカルな顎運動をしているときとは, ユニットの放電パターンが異なっていた。

B 2. 各種食品咀嚼パターンにおよぼす姿勢の影響

堀尾 強, 河村洋二郎 (甲子園大, 栄養, 生理)

寝たきり老人をはじめ, 臥位で食事をとらざるを得ない人が最近増加している。このような坐位と臥位の姿勢の違いによって咀嚼運動がどのような影響を受けるか, またその生理学的機序はどのようなものであるかを明らかにすることは健康な食生活の指導上きわめて重要である。姿勢変化による咀嚼運動や咀嚼効果に対する影響の背後には末梢からの感覚性制御が関与していることが推測される。本実験では, 種々のテクスチャをもつ食品について坐位と仰臥位の二つの異なる姿勢における咀嚼運動パターンを比較検討した。健康な男女大学生を対象に, 前回報告した早食いグループと遅食いグループにわけ, 実験を行った。7 種の食品を用い, 咀嚼側の咬筋, 側頭筋, 顎二腹筋筋電図および顎運動を, 坐位と仰臥位について咀嚼から嚥下まで記録した。両グループともに最終嚥下までの咀嚼回数, 咀嚼時間は坐位に比べ仰臥位で増加した。その増加の割合は食品の硬度による差はあまりなく, 粘着性が大きい食品では仰臥位における咀嚼回数, 咀嚼時間の増加率が小さかった。遅食いグループでは, 両姿勢において硬度が大きい食品および粘着性の食品では, 咀嚼筋筋電図の振幅, 放電持続時間が増加した。坐位と仰臥位における咀嚼パターンの相違におよぼす影響は, 食品のテクスチャによって異なることが示唆された。

B 3. ラット末梢神経切断後自傷行動に対する末梢刺激効果と内因性モルフィン様物質

安雲和四郎, 宮川弘久, 浅田 博, 山口雄三 (大阪

府大, 総合科学)

ラットの四肢などの末梢神経を慢性的に切断すると, 切断神経支配領野やその近傍部を掻きむしり噛み切るなどの自傷行動が出現する。これは脊髄ニューロンの活動亢進を伴っており, その部分の異常感覚ないし痛みと関係があると考えられている。われわれはすでにこれらの自傷行動に対して, 末梢電気刺激が著明に影響することを報告している。今回はこれらの自傷行動および末梢電気刺激効果への内因性モルフィン様物質の関与を調べる目的で, その分解酵素の阻害剤であるローフェニルアラニン (DPA) 投与の結果について報告する。実験には Wister 雄ラットを用い, 前肢主要神経を一側性に切断したラットを4群にわけ, ① 生理的食塩水, ② DPA 250 mg/kg をそれぞれ腹腔内投与, ③ DPA 投与後神経切断端近傍部電気刺激1時間, ④ DPA 投与後遠隔部(対側後肢)電気刺激1時間をそれぞれ3週間行い, さらにその後3週間の観察を行った。その結果, 1) 生理的食塩水投与群とDPA 投与群の間で自傷行動に差はなかった。2) DPA 投与後の電気刺激では遠隔部刺激で自傷行動の発現は著明に抑制され, 内因性モルフィン様物質の関与が示唆された。近傍部刺激ではDPA 前投与の効果は不著明であった。

B 4. 正座後にみられる下肢の一時的機能麻痺

千葉 惇, 小坂正明, 浜口雅光, 菊池 啓*, 秩父志行 (近畿大, 医, 第一生理・整形外科*)

長時間正座をしていると足がしびれ, ついには下肢の自由がきかなくなる。この下肢の機能麻痺について調べた。被験者は, 20~35歳の男女35名を用いた。まず, 正座前に脛骨神経刺激によるヒラメ筋, または母趾外転筋, 小趾外転筋からの誘発筋電図, H波とM波を記録した。正座後30分または1時間後に再度同様の検査を行った。

その結果, 以下のことがわかった。1) 誘発筋電図発達曲線を求めると, H波M波はともに正座前に比べて曲線の傾きは小さくなった。刺激強度を強めても, H波は消失しなかった。2) 閾値の相対値 H/M 比は正座後4分間は一過性に20%上昇し, ついで低下を示した。その後, 正座前の値に近づいた。3) 正座直後4分以内は, H波M波ともに興奮伝導速度は正座前に比べて低下した。この値は4~7分間にH波で一過性に上昇したが, 約10分後には正座前の値にもどった。

4) H波の反復誘発筋電図法では, 正座後3分間は振

幅が増大する傾向を示し, 約10分後に正座前の値にもどった。5) Ia 抑制は正座前と比べると正座後は小さくなり, 約10分後に正座前の状態にもどった。

以上のことから, 正座後の下肢の機能麻痺は, 一過性の脊髄性機能不全の可能性が考えられる。

B 5. 運動神経終末端の発芽に伴う終板電位の変化 辻本哲宏, 久野 宗 (京大, 医, 第二生理)

ラットの骨格筋を慢性的に不動化させると, その神経筋接合部での伝達効率が上昇するとともに, 運動神経終末端に発芽が形成されることが知られている。この伝達効率の上昇は, 発芽によって運動神経終末端が長くなりそのために伝達物質の放出部位が増加することによると一般的に考えられている。もしそうならば運動神経終末端の全長と神経筋伝達効率の増加率は一致するか, あるいは前者の方がより大きくなるはずである。この可能性を定量的に検討した。成熟ラットの坐骨神経の神経上膜下に, テトロドトキシンを満たしたガラス微小管を刺入して神経伝達をブロックすることにより, 10日間下肢 EDL 筋を不動化させた。運動神経終末端は NBT 法で染色し, Quantal analysis は 1 mM, カルシウム 8 mM, マグネシウムの Mammalian Ringer 液灌流下で行った。骨格筋を不動化させると発芽が起こり運動神経終末端の全長は正常側に比べて 1.7 倍であったのに対して, mean quantum content, miniature epp の発生頻度はおのおの 2.7 倍, 2.8 倍に増加して前者とは一致しなかった。このことより, まず伝達物質の放出部が形成されて伝達効率が上昇し, その後に終末端の全長の増加が発芽形成により起こるのか, あるいは両者は独立した現象と考えることができる。

B 6. ラット脊髄運動ニューロンの Ia シナプスに対する不使用効果

真鍋俊也, 久野 宗 (京大, 医, 第二生理)

哺乳動物の脊髄運動ニューロンは支配筋の筋紡錘から由来する Ia 感覚神経の興奮性入力を受ける。ネコにおいては, 末梢の感覚神経の伝導を2週間にわたってブロックすると, その筋神経刺激によって発生する運動ニューロンの単シナプス性 EPSP が有意に増大することが知られている。しかし, このシナプス効率の増大を発生するのに必要な感覚神経の伝導ブロック期間は不明である。この問題を検討するために, ラットの坐骨神経の神経上膜下にテトロドトキシン(TTX)

を満たした微小ガラス管を刺入し、その伝導を数日間ブロックした後、実験の半日前に TTX ガラス管を除去し伝導の回復した状態で、下肢の筋神経を刺激して運動ニューロンから単シナプス性 EPSP を記録した。末梢神経の伝導を2日間ブロックすると、単シナプス性 EPSP は正常ラットに比して平均で1.7倍、4日間ブロックの場合は、1.6倍の有意な増大を示した。この EPSP の増大は、2週間の伝導ブロック後に観察されたネコの結果(1.2~1.4倍)より、より著明であった。運動ニューロンの入力抵抗の平均は、正常ラット(1.6 M Ω)と伝導ブロックしたラット(1.6 M Ω)で差はみられなかった。

B 7. 視床腹側基底核群の侵害受容ニューロン

横田敏勝, 西川 望*, 西川泰夫, 小山なつ, 増田卓也**, 野村哲也***, 安里文雄, 田口久夫**(滋賀医大, 第一生理・麻酔科*・第一内科**・産婦人科***)

われわれは先にネコの視床の後内側腹側核固有感部を後外側腹側核とからなる腹側基底核群尾側部被殻領域から特異的侵害受容ニューロンと広作動域ニューロンを見出したが、ニホンザルでもこれら2種類の侵害受容ニューロンが腹側基底核群尾側部被殻領域に分布していた。ネコの後外側腹側核尾側部被殻領域におけるニューロンの局在部位と末梢受容野の分布領域の関係を調べたところ、背側被殻領域では上部頸髄後根の皮膚分節が被殻領域の最内側より尾側の皮膚分節が順次外側にそれぞれ投射していることがわかった。腹側被殻領域では前肢蹠が内側部、後肢蹠が外側部の広い部位を占拠していたが、これらと混在しながら、他の腹側体表部位が背側被殻領域でみられたのと同様な順序で配列していた。内臓からの痛覚線維を含む下心臓神経、大内臓神経および下腹神経に電気刺激を加えて、それに応じる後外側腹側核ニューロンの分布を調べたところ、これら3種類の交感神経のそれぞれから内臓求心性入力を受けるニューロンは、すべて皮膚に末梢受容野をもつ被殻領域侵害受容ニューロンで、被殻領域の特定部位を占拠することを明らかにすることができた。

B 8. ネコの 21a 野の光反応性

溝部恵子*, 飼原寿夫, 外山敬介(京府医大, 第二生理・眼科*)

ネコの 21a 野は上シルビウス後回にあり、19野と PMLS 野とに隣接している高次視覚野の一つである。

21a 野は視野の中心部を再現していて、中心視に関係していると考えられている。この点に注目してわれわれは、いままでまったく調べられたことのなかった 21a 野細胞の光反応性を調べた。21a 野の領域は、Retinotopy に基づく区分と、神経結合による区分とが一致していない。われわれは神経結合と光反応性の両方から領域を検討した。17野に WGA-HRP を注入し、17野に遠心性に投射する細胞を調べ、上シルビウス後回における 17野への投射の強弱により 19野と PMLS から、光反応性の有無により 7野から、21a 野を区分し、67個の 21a 野・PMLS・19野の細胞につき、方位選択性、方向選択性、end-stop 性を比較した。その結果、21a 野細胞は鋭い方位選択性のみをもち、PMLS 細胞は方向選択性と end-stop 性をもつが方位選択性を欠き、19野細胞は end-stop 性と方位選択性をもつが方向選択性を欠くことが示された。このことは、三つの高次視覚野はそれぞれ異なった反応選択性をもち、固有の視覚情報処理を行っていると考えられる。

B 9. ラット移植外側膝状体と宿主大脳視覚野間神経結合の生後発達

黒谷 亨, 山本亘彦, 外山敬介(京府医大, 第二生理)

われわれはラットの外側膝状体(LGN)を宿主の大脳皮質視覚野(VC)の近傍に移植すると、両者の間にほぼ正常な神経回路が形成されることをすでに報告したが(Hamasaki et al., 1987)、この標本において、移植後に神経結合が形成される過程を解析したので報告する。

胎令15~17日のラットより LGN 組織片を切り出して新生ラットの VC 近傍に移植し、その後1週ごとに移植 LGN を含む VC の切片標本作製した。VC や LGN を刺激し、それぞれ LGN, VC より細胞内記録を行い、あるいは LGN 刺激下での VC の電場電位の電流源密度解析(CSD)を行った。その結果、移植2週目以降で移植 LGN-宿主 VC 間に神経結合が形成されていることが細胞内記録により確認された。また CSD により、移植1週後で LGN-皮質細胞間結合による単シナプス性電流が、宿主 VCII 層~IV 層にわたり広範に分布することが示された。2~3週後に、単シナプス性電流は IV 層に限局され、これに伴って皮質細胞間シナプスによる多シナプス性電流が II, III 層に出現した。この神経回路が形成される過程は、すでにネコについて報告されている視覚野の神経回路の生

後発達 (Komatsu et al., 1985) に類似している。

B 10. 低張負荷時における上皮細胞容積調節

挟間章博, 岡田泰伸 (京大, 医, 生理)

市販の血球計数装置にパソコンを接続して自動的、経時的 (1秒おき) に浮遊細胞容積を測定できるような中間回路 (ピーク・ボトムホルダー) とコンピュータプログラムを開発した。今回これを用いて培養小腸上皮細胞 (Intestine 407) の低張負荷時における容積調節機構について検討を加えた。

disperse 処理により浮遊化させた本細胞を NaCl 60 mM の低張液 (約 50% 浸透圧) 下におくと直ちに swell (約 70% の体積増加) を起こし、約 120 秒で 15% の体積増加にまで回復する。このような regulatory volume decrease (RVD) は、細胞外低 Cl^- 濃度にする と促進されるのに対し細胞外高 K^+ 濃度にする と抑制される。また K^+ チャネル阻害剤の quinine, Ba^{2+} あるいは Cl^- チャネル阻害剤の SITS 投与によりこの RVD は抑制される。さらに細胞外 Ca^{2+} 除去, Ca チャネル阻害剤 (nifedipine, verapamil) 投与あるいは細胞内 Ca^{2+} キレート剤 (Quin-2 AM) 投与により RVD は抑制された。また、等張液下で Ca イオノフォア A 23187 を加えても細胞の体積変化は認められなかった。

以上の結果から RVD には K^+ チャネル, Cl^- チャネル両方の賦活化が必要であること、細胞内 Ca の増加は必要条件であるが十分条件でないことが結論された。

B 11. P-NMR スペクトル走査法の基礎的検討

吉崎和男, 西川弘恭 (京府医大, 第一生理)

NMR イメージング法の原理を応用することにより、骨格筋の筋線維軸に沿った ^{31}P -NMR スペクトルの走査法の開発に成功し、その基礎的検討を行った。

装置は JEOL SMR-200 でリンの共鳴周波数 80 MHz, ワイド・ボアの超伝導磁石を用いた。スペクトル走査には JEOL NMR イメージング・システムの一部を用いた。

^{31}P -NMR スペクトルの測定には自作した 4 ターン の直径 25 mm のソレノイド・コイルを用い、コイル内にモデル溶液あるいはウシガエルの骨格筋を置いた。スペクトル走査にはスピン・エコー法を用い、走査軸方向に最大約 1 gauss/cm の種々の強度の磁場勾配パルスを加え、位置情報を位相変調としてとらえ、

二次元フーリエ変換によって走査軸に沿ったスペクトル群を得た。その空間分解能は約 0.5 mm であったが、磁場勾配の強度が大きいほど、また静磁場の均一度がよいほど、分解能をさらに上げることが可能である。カエル骨格筋では約 30 分の積算で走査スペクトルが得られ、クレアチンリン酸と無機リン酸の筋線維に沿った濃度分布が検出でき、しかも両者の化学シフト差から細胞内 pH の分布も求まることが明らかとなった。

B 12. 血管抵抗の変化を調べる一イヌ後肢灌流実験にて

相馬 彰, 重見研司, 小田慶喜, 伊藤俊之, 森本武利 (京府医大, 第一生理)

【目的】血管抵抗は、名種循環機能研究の一指標として用いられている。血管抵抗の変化には多くの要素が関係するが、今回血管抵抗の変化を流量、拍動の 2 要素から検討した。【方法】イヌ後肢を用いて、灌流実験を行った。拍動流の定量化には、流量波形を Fourier 変換して得られる Pulse Power Index (PPI, 1985, Grossi et al.) を用いた。PPI は定常流で 0 となり、拍動の程度が増すほど大きな値をとる無名数である。実験は、まず流量を一定にして PPI を 6 段階に変化させ ($2.8 \pm 4.9 \sim 215.7 \pm 132.2$) 血管抵抗を求める。次に同様のことを流量を変えて繰り返し行った。データの解析は京都大学大型計算機センターの登録プログラムである FFT, SALS を用いた。【結果】 $VR(F, PPI) = 41,600 \times (F-1.37)^{-0.95} + 913 - PPI \times \{3.99 \times (F-1.33)^{-0.40} - 0.69\}$ なる関係式に示されるごとく、流量 F と PPI の二変数にて血管抵抗 VR を近似することが可能であり、高流量ほど、また低流量域では PPI の大きいほど血管抵抗が低下することが明らかとなった。

B 13. 神経遮断による脈管コンプライアンスの増加

重見研司, 伊藤俊之, 森本武利, 夏山 卓, 橋本悟*, 田中義文*, 宮崎正夫* (京府医大, 第一生理・麻酔科*)

脈管コンプライアンスに対する神経遮断の影響について、全脊髄麻酔を用いて検討した。

【方法】脾摘した雑種イヌを使用し、循環血液量は体外循環回路を右大腿動静脈に接続し、 ^{51}Cr でラベルした赤血球希釈法にて連続的に求め、中心静脈圧は左大腿静脈より下大静脈まで挿入したカテーテルにて測定した。対照群はハロセン麻酔下 (1.5%) に、また神経遮断群は 0.5% プピバカイン 0.5 ml/kg を大槽より緩

徐に注入して全脊髄麻酔下に、リンガー液輸液(10 ml/kg・10分)による血液量変化と中心静脈圧の応答を測定した。

【結果】 神経遮断群では、対照群に比べ輸液中水分脈管内貯留率が高値を示し、中心静脈圧の変化は小さいが、輸液終了後の回復は遅い。この圧応答を Maxwell の粘弾性モデルの伝達関数を用いて、最小自乗法にて定量化した結果、神経遮断により、脈管コンプライアンスは5から9.8 ml/mmHg に、delayed compliance を表す時定数は、34.5から78.5分にそれぞれ増加した。

【考察】 自律神経系は神経遮断時の2倍の緊張を脈管系に与え、また、血液量の変動による圧の変化に対しては2倍の速さで対処し、中心静脈圧の調節に関与することが明らかとなった。

B 14. 女子大生の血液の生化学的性状に関する研究 井上太郎 (神戸女子大, 家政学部)

【目的と方法】 女子大生 (18~22才) の空腹安静時の血清について、その生化学的性状17項目を東芝製

TBA-480型 Autoanalyzer で分析し、非貧血群81名と貧血群100名の成績を比較検討した。

【成績と考察】 ① 17項目中 GLU, LAP, CHE 以外は両群間に大差なかった。GLU は貧血群のほうが正常幅よりも高値にも低値にもはみ出す者が10%ずつあり、LAP と CHE は貧血群で低値にはみだす者が8~16%あった。

② 正常値幅からの高値はみだし項目は、両群を通じて TP, ALB, CHE, LAP, GLU で、その傾向は貧血群に強かった。また、測定値の個人差は貧血群のほうが全般的に大きかった。

③ 参考正常値はおもに男子成人値であるから、今後女子大生レベルの正常値を設定する必要がある。

④ 今回得られた各項目の個人差変動率の大小の順位と、別途に測定した6名の被検者の平均日差変動率(毎週1回の採血を3カ月間実施)の順位とはほぼ一致した。この事実は、生体にとって重要な項目ほど homeostasis の機転がよく作用し、血中濃度を一定値に保つ傾向の強いことを物語っているといえよう。

第39回 日本生理学会中国四国地方会

開催日時：昭和62年11月6日 8:35~18:00

場 所：岡山大学医学部図書館3階講堂

当番幹事：岡山大学医学部第二生理学教室 中山 沃

*は非会員を示す

1. セロトニンおよびトリプタミンのモルモット小腸筋間神経細胞への過分極作用

高木 都, 水谷雅年, 中山 沃 (岡山大, 医, 第二生理)

高木ら(1985)は、5-hydroxytryptamine (5-HT, セロトニン)類似化合物の tryptamine (Try, トリプタミン)が、モルモット腸管筋間神経叢にある5-HT受容体に直接作用するのではなく、神経細胞にとりこまれた後、内因性5-HTの遊離を介して作用すると報告した。このTryの5-HT遊離作用は外液Ca非依存性で、norepinephrine (NE)もTryにより、同様に遊離されるが、筋間神経細胞では、その作用は検出できなかった。しかし、今回、5-HTと同様のTryによる筋間神経細胞に対する過分極作用(振幅: 11.8 ± 0.8 mV, 持続時間: 26.8 ± 0.5 S, $n=6$)が得られた。この過分極作用は高 Mg^{2+} -低 Ca^{2+} Krebs 溶液の灌

流、NE作動性神経遮断薬 guanethidine ($10 \mu M$) の灌流によっても影響を受けず、5-HT遊離作用をブロックする5-HTとりこみ阻害剤 zimelidine ($10 \mu M$) (高木ら, 1985) の灌流によっても影響されなかった。一方、筋間神経叢付き縦走筋標本の Try ($5 \mu M$) による収縮反応はNEとりこみ阻害剤 cocaine ($3 \mu M$) および guanethidine ($2 \mu M$) によっても影響されなかった。これらの実験結果から、Tryによる過分極作用は、NE、5-HTの遊離を介する間接作用ではなく、Tryの筋間神経細胞への直接作用である可能性が高いと考えられる。

2. イヌの骨盤神経膀胱枝と陰部神経尿道枝の遠心性活動に対する扁桃核刺激の効果

小山幸次郎 (川崎医大, 第二生理)

【目的】 ネコで小池上(1964), Gjone(1966), Edverson

(1968)らの扁桃体刺激による膀胱運動への効果が報告されているが、イヌについての報告はほとんどない。今回、われわれはイヌにおいて骨盤神経膀胱枝、陰部神経尿道枝の遠心性活動に対する扁桃体刺激の効果を追究した。

【方法】ケタミン、クロラロース麻酔後、両側下腹神経を切断したイヌ33頭を用い、扁桃体のおのおのの核を刺激し、骨盤神経膀胱枝と陰部神経尿道枝の遠心性活動、膀胱容量の変化を記録した。扁桃体の電気刺激は白金線封入ガラス電極を用い、梨状葉表面から刺入して行った。

【結果】① 骨盤神経活動促進例における頻度効果は2 Hz, 100 Hz で効果がなく5, 10, 20, 50 Hz で効果を得た。抑制例のそれは2 Hz で効果なく、5, 10, 20, 50 Hz で効果を与えた。② 骨盤神経活動の増加の潜時は約115 msec で、陰部神経活動はこれにほぼ同期して抑制された。他方骨盤神経活動の減少が得られた場合は、逆に陰部神経活動は増加した。③ 膀胱収縮反応の得られる刺激部位は中間主格の内側部、内側主格の内側部、皮質核の一部、周辺皮質核の一部で、弛緩反応の得られる部位は内側主格の外側部、中心核、内側核、周辺皮質核の一部であった。外側核刺激では両反応ともみられなかった。

3. イヌの中脳刺激による排尿、排便、息み反射と歯髄-顎二腹筋反射の抑制

古我知成、福田博之（川崎医大、第二生理）

除脳イヌの骨盤神経求心性刺激によって引き起こされる排尿、排便、息み反射は、上下丘間より2 mm 吻側の① 中脳中心灰白質の腹側部、② その腹外側に続く網様体、③ 背側縫線核および4 mm 吻側の④ 中心灰白質背側部の刺激で強く抑制される。また同じ部位の刺激は歯髄-顎二腹筋反射 (TP-JOR) を抑制し、抑制の閾値は骨盤神経反射のそれと同じであった。さらに、頸髄で記録した上行性の骨盤神経誘発電位も中脳刺激によって抑制される。したがって、A δ およびC線維で構成される骨盤神経求心性線維の活動が、中脳刺激による鎮痛と同じ機序によって脊髄で抑制されるものと考えられる。

一方、中脳刺激による鎮痛はエンケファリン、セロトニン作動性線維などを介して発現するといわれている。そこでこれら骨盤神経反射と TP-JOR の中脳抑制に対する naloxone (1~3 mg/kg) と methysergide (1~3 mg/kg) の静注の効果を調べた。Naloxone は排

尿反射および息み反射を促進し、排便反射を抑制したが、TP-JOR には影響を与えず、またそれら反射の中脳刺激による抑制に対しても効果はなかった。Methysergide はこれら4反射をすべて抑制し、TP-JOR の中脳刺激による抑制に拮抗したが、骨盤神経反射の中脳刺激による抑制には影響しなかった。

4. 食物の唾液 pH におよぼす影響

難波良司（岡山大、教育、養護教育）

われわれが食事をとると、唾液の分泌は促進され、それに伴って唾液の pH が変化することが知られている。しかしながら種々の食物と唾液 pH との関係についてはよく知られていない。そこで著者は健康な女子学生を被験者にして、種々の食物が唾液 pH にどのような影響をおよぼすかについて調べ、下記のような結果を得た。

1. 米飯やめん類を食した場合、それらのなかに香辛料が含まれていると、たとえばカレーライスやつけ汁にワサビが入っているソバなど、唾液の pH はより強くアルカリ側に傾く。

2. 口腔内に食物が存在するときの唾液 pH の変化を調べる目的で、飴とチュウインガムを用いて実験を行った。その結果、口腔内に飴が存在する間は唾液の pH は上昇したままの状態であったが、チュウインガムの場合は咀嚼運動を続けていても、一度上昇した唾液の pH 値は徐々に下降してくるのが認められた。

3. これらの結果から、唾液の pH は、口腔内粘膜や舌表面を機械的に刺激するよりも、化学的・味覚的な刺激を加えるほうが、より強く影響を受けることが認められた。

5. ラット ERG における slow oscillatory potentials 類似の律動性電位について

高橋 徹,*吉田和之,北川康介,玉井嗣彦,*中城登仁*,斎藤英郎*,高辻博義** (高知医大,眼科・第一生理*,機器センター**)

ERG において通常の律動様小波に引き続いてみられる頂点潜時の非常に遅い律動性電位に関しては、Auerbach や渡辺らが slow oscillatory potentials (slow oPs) として報告している。今回われわれはラット ERG を記録した際、slow oPs によく似た電位を観察したので報告する。

ウレタン麻酔をした Wistar 系雄ラットを用いて ERG の記録を行った。記録電極は、ガラス管電極(先

端外径=200~300 μ)を用い、これを硝子体内に挿入し網膜直前に先端を置いた。刺激光としてキセノン内光を用いた。光刺激は20~50回繰り返し行い、加算平均した結果を記録した。周波数解析は高速フーリエ変換を用いて行った。

今回記録された電位は15~20個の小波よりなり、各頂点間隔は約25 msecできわめて一定しており、約40 Hzの周波数帯域に存在することより通常の律動様小波とは明瞭に区別された。刺激閾値はa波、律動様小波のそれとはほぼ同じであった。また振幅が非常に小さくノイズとの判別には上述の加算平均が必要であった。発生源に関しては現在不明であるが、慎重な検討を要すると思われた。

6. 空中、水中両用 ECG テレメータ装置の開発とその応用

山口久雄, *宇都山登, 小原 繁, 田中弘之, *福田精一, 池原敏孝, 岡 芳包, 宮本博司 (徳島大, 医, 第一生理)

心電図を空中テレメトリと水中テレメトリによって連続的に記録する方法について、空中は電波、水中は搬送波電流方式による同時発信装置と受信装置を開発し、水泳時および潜水泳の激しい動作時の ECG テレメトリに成功した。空中発信は79 MHz, FM VHFの電磁波を用い、FM ラジオで受信した。水中発信では、77 KHzの微小 FM 電流(10 μ A 以下)で受信した。両発信前に、特殊な高域消去(low-pass) 濾波器を通過させることにより一般コマーシャル電波や種々のノイズから隔離した。また、2個の前置増幅器を組み合わすことにより、運動時の早い電位変化に対応できるようにした。その結果、鮮明な ECG をうることができた。また、受信後は種々の周波数変調と濾波、検波した後、ビデオテープの音声部分に画像と同期して記録し、再生することを可能にした。実時間でモニターする場合は交流電源からのリークを考慮し、受信装置とオシロスコープまたはレコーダ間は光ファイバー通信とし、安全性に配慮した。また、この水中テレメータ方式は淡水中のみならず、コンダクタンスの大きい海水中でもテレメトリすることが可能である。

7. 生物試料の誘電測定のための電極分極の補正法

洲崎敏伸, 入交昭彦 (高知医大, 第二生理)

細胞や組織などの生体試料を交流電場中におき、そのインピーダンスを測定することにより、試料のい

ろな相(たとえば、細胞膜や細胞質など)の電気的性質を明らかにすることができる。測定は通常、広い周波数範囲で行うことが必要であるが、100 kHz 以下の低周波域においては、測定電極の分極現象によるアーティファクトが問題となる。特に組織や臓器は、単純な懸濁系の場合とは異なり、低周波域においてもそれらに特徴的な誘電分散を示すことから、電極分極の回避は、試料のインピーダンスを正確に知るために必須の操作となる。今回は、測定されたインピーダンスのデータから、電極分極の影響を効果的に取り除くためのデータ処理の方法(周波数変化法、電極間距離変化法、置換法など)について検討し、その計算プログラムを作製した。その結果、周波数変化法が最も信頼性の高い、簡便な方法であることがわかった。

8. イカ神経の Na チャネルを解放する生物毒の作用部位

瀬山一正, 加藤 亮 (広島大, 医, 第一生理)

グラヤノトキシン(GTX)の作用部位を決定する試みを、イカ巨大神経で膜電位記録法・細胞内灌流法・トレーサ法を用いて行った。細胞内灌流下と非灌流下の一對の軸索に対し、細胞外へ GTX を投与したところ後者のみに著明な脱分極を生じた。 $[^3\text{H}]\text{-GTX}$ は細胞膜を透過し細胞内灌流液に入ってくるのが実験的に明らかになった。 $[^3\text{H}]\text{-GTX}$ の膜透過はフグ毒によって Na チャネルを閉塞した条件下でも生ずる。膜担体によって GTX が輸送される可能性は Trans 効果および Cis 効果の無いことから否定された。以上の事実と細胞外の $[^3\text{H}]\text{-GTX}$ の量と細胞内へ現われる量が正比例関係にあることから、GTXは細胞膜の脂質部を透過した後、細胞内面より Na チャネルと結合することが予測された。さらに最も水溶性である GTX 類似体(desacyl ATX VII)は、細胞内面に投与されたときのみ効果を現わすことから細胞外に GTX 受容体は存在しないと考えられる。Batrachotoxin, Veratridine, Aconitine も非灌流軸索にのみ定性的に類似の脱分極を認めたので、これら生物毒も GTX 同様細胞内面から Na チャネルの受容体へ結合すると推測された。

9. Xenopus Oocyte の外向き電流について

*太田原顕, 市川 修, *倉田康孝, 日地康武 (鳥取大, 医, 第一生理)

アフリカツメガエルの卵母細胞(Xenopus Oocyte)

膜の電気生理学的性質を探る目的で、膜電位固定法を用いて膜を流れる電流を測定した。

20°Cで+24 mVに膜電位固定した際、外向きの緩徐な電流を認めた。この電流は時間とともに増加し、60秒で約200 nA流れる。この電流の逆転電位を求めると-14 mVとなり、この卵膜のCl⁻の平衡電位に近い。また測定に用いたリンゲル液中の塩化ナトリウムをプロピオン酸ナトリウムに置換すると、この電流は消失した。このことより、この電流は大部分がCl⁻によるものと考えられる。

さらにこの電流は膜電位依存性があり、電位を上昇させると電流は増加する傾向をもつ。任意の電位におけるこの電流の時間依存性はHodgkin-Huxleyの単一イオンgateモデルより得られる式 $I = I_0(1 - \exp(-T/\tau))$ で非線形最小二乗法を用いて近似し得た。Iは電流、I₀は電流の最大値、Tは時間、τは時定数である。

この電位依存性の緩徐な外向き電流は、channel-gateモデルで説明しようと考えられる。

10. 神経ペプチド FMRF amide によるアメフラシ神経細胞の脱分極応答機序について

一ノ瀬充行, 沢田正史, 前野 颯(鳥根医大, 生理)
軟体動物の心臓活性化物質として発見されたFMRF amide(Phe-Met-Ary-Phe-NH₂)は、免疫組織化学的方法により、アメフラシの神経節および神経終末で存在が示唆されている。さらに、ある神経細胞に対して、G_{Na}上昇による脱分極やG_K上昇による過分極を生じ、神経伝達物質候補と考えられている。このペプチドを腹部神経節細胞 R14 に投与したところ、脱分極を生じた。膜電位固定下で、コンダクタンス測定のため command pulse に対して、この応答中電流パルスは小さくなり、コンダクタンス減少を示唆した。膜電位—電流 (I-V) 関係を調べたところ、-50~-30 mV で負性抵抗を示す N 型の曲線関係が得られた。そして、このペプチドは負性抵抗成分を増大した。イオン機序を調べるために、外液 Na⁺ を N-methyl-D-glucamine で置換したところ、ペプチド応答は減弱した。外液 K⁺ 濃度には依存性を示さなかった。外液中の Ca⁺⁺ や Cl⁻ の濃度を下げると増大した。以上の結果より、R14 の FMRF amide による脱分極応答は、I-V 関係の負性抵抗成分増大として現われる電位依存性の Na⁺ コンダクタンス上昇によるものであると考えられた。Ca⁺⁺ は Na⁺ 透過性を下げ、Cl⁻ はペプ

チドにより G_{Cl} 上昇することにより、応答抑制効果を生ずると考えられた。

11. Furosemide 感受性 1 価イオン共輸送における細胞内 ATP の作用機序

池原敏孝, 山口久雄, 細川敬子, 宮本博司(徳島大, 医, 第一生理)

K⁺ のアナログである Rb⁺ を用い、HeLa 細胞のウワバイン非感受性、フロセミド感受性 1 価イオン共輸送の速度論的解析を行い、この共輸送と細胞内 ATP の関係を調べた。細胞内 ATP は、各濃度の glucose と 2 μM CCCP の存在下、細胞を 37°C で 2 hr preincubate することで正常値以下の種々のレベルに調節した。フロセミド感受性 Rb⁺ influx (J_{Rb}) と細胞内 ATP レベル ([ATP]_i) の関係を調べると、J_{Rb} と [ATP]_i² の両逆数プロットが直線関係を示した。J_{Rb} と外液 Rb⁺ 濃度 ([Rb⁺]_o) の両逆数プロットも直線関係を示し、3 種の異なる [ATP]_i をもつ 3 本の回帰直線は縦軸上の一点で交わった。J_{Rb} と [Na⁺]_o の両逆数プロットも同様な直線を示すが、互いに異なる 3 種の [ATP]_i をもつ 3 本の回帰直線は縦軸上の一点で交わらなかった。フロセミドは、細胞の乳酸生成速度や [ATP]_i には直接影響をおよぼさなかった。以上の結果およびすでに報告した結果を総合すると、この培養細胞の 1 価イオン共輸送機構では、Na⁺ と Cl⁻ が先に結合し、次に K⁺ と Cl⁻ および 2 分子の ATP が同時結合した後、これらの 3 種のイオンが 1 Na⁺:1 K⁺:2 Cl⁻ の量比で細胞内に同時輸送される。2 分子の ATP は調節的な役割をするものと推察される。

12. ATP により誘発される子宮平滑筋のカルシウム非依性収縮

丸田啓示, 長 琢朗 (山口大, 医, 第一生理)

ラット子宮縦走筋 (妊娠およびエストロゲン処理) が、4(mM)Mg, 1~20 EGTA および 20 Tris maleate を含む等張 K 溶液中において 4 mM ATP 添加により持続性収縮を発生することを見出した。この持続性収縮は、標本を Ca 欠如溶液に 3~4 時間浸しても依然観察され、その振幅は次第に増大した。外液の Mg を除去し EGTA を EDTA に置換すると、持続性収縮は強く抑制された。

ATP による持続性収縮と正常 Krebs 溶液中で発生する K 拘縮の特性を比較検討した。1 mM dibutyryl cAMP, 0.1 mM papaverine は 40 mM K 拘縮を抑制

したが、ATP 持続性収縮に影響を与えなかった。カルモデュリン拮抗剤 W-7 および TFP の効果を調べた。100 μ M W-7 はK 拘縮、ATP 持続性収縮ともに強く抑制した。200 μ M TFP によってK 拘縮はほぼ完全に抑制されたが、ATP 持続性収縮は部分的にしか抑制されなかった。

以上の結果より、ATP によって誘発される Ca 非依存性収縮の大部分は、外液 Mg の流入に起因すると推測される。また、その収縮発生にはカルモデュリンが関与し、弛緩過程は Ca 性収縮と相違している可能性が示唆される。

13. 高浸透圧、神経反復刺激等の放出増大刺激による微小終板電位振幅の変動

川崎史子, 喜多 弘 (川崎医大, 第一生理)

カエルの坐骨神経一縫工筋試料を高張液 (50, 75, 100 mM 蔗糖付加) に浸すと、微小終板電位 (MEPP) 平均頻度は急激に上昇し、一方 MEPP 平均振幅は一過性に減少した後、漸次増大し、対照値を上まわった状態を維持した。振幅の変動係数は、はじめ対照値よりやや低い値を示す場合もあるが、ACh 放出増大に伴って増加し、対照値を凌駕した。振幅および変動係数の増加開始時期とその程度は、頻度上昇の程度に依存する。等張液にもどして頻度が対照値に回復した時点でも、振幅と変動係数は、多くの場合、高い値のままであった。0.1 mM-La³⁺ 添加により頻度を上昇させた場合も、振幅とその変動係数は高張液の場合と類似の傾向を示した。シナプス小胞への ACh 輸送を抑制する AH 5183 (10 μ M) 存在下で高張状態にすると、その薬物が存在しないときと比較して、同程度の頻度上昇が見られたにもかかわらず振幅の増大は抑えられ、変動係数の増加のみが顕著であった。より強度の放出増大刺激である Ca²⁺ 存在下での神経反復刺激 (50 Hz, 3~10分) の場合、振幅は刺激後対照値より低い値を示したが、振幅の変動係数は増加した。以上の結果は、MEPP が細胞質 ACh の放出によって生ずるのではなく、シナプス小胞の開口放出によって発生するという考えを支持する。

14. 神経筋伝達に対する VB₁ の効果

榎本浩一, 前野 巍 (島根医大, 第二生理)

神経筋伝達に対するビタミン B₁ (VB₁) の効果を調べた。材料はトノサマガエル縫工筋を使用、神経筋接合部の電位固定を行い、神経刺激によって誘発された終

板電流 (EPC) およびアセチルコリン (ACh) 微小投与による ACh ノイズを分析した。データの分析にはミニコン PDP 11/23 を使用した。0.2~2 mM の VB₁ は神経終末からの ACh 放出を増強し、さらに終板の ACh 感受性低下による EPC 振幅の減少、およびイオンチャンネル開口時間の延長による EPC 緩和時間の増大を起こした。ノイズ分析は VB₁ が ACh 作動性イオンチャンネルの開口時間延長とチャンネルコンダクタンスの減少を起こしていることを示した。以上の結果より、VB₁ はアリナミン F と同様に神経終末からの ACh 放出を増強するが、さらに ACh 受容体イオンチャンネル複合体に対し、Open Channel Blocker としての作用をもつと結論した。

15. ラット視床下部ニューロンにおよぼす PGE₂ の効果

渡辺達生, 坂田義行, 森本昭生, 村上 恵 (山口大, 医, 第二生理)

近年、私どもの教室では、ウサギの脳内各部位に PGE₂ を微量投与して、体温の変動を観察した結果、視床前野・前部視床下部 (PO/AH) のみならず、腹側内側視床下部 (VMH) でも大きく体温上昇が起こることがわかった。そこで、ラットでもウサギと同様なことが起こるかどうかをまず調べてみると、同様に PGE₂ の PO/AH および VMH への局所投与で体温上昇が起こることがわかった。この結果より、PO/AH と同じく VMH にも PG 感受性を持ち、かつ、温度受容能のあるニューロンが存在することを想定し、次の実験として、脳薄切標本を用いて *in vitro* の系でニューロン活動を記録した。その結果、1) VMH にも PO/AH と同様に温度受容細胞が存在すること、2) PGE₂ の VMH ニューロンに対する作用は抑制的であるが、PO/AH のニューロンに対しては促進的であり反対方向を示すこと、3) 両部位の温度受容細胞の PGE₂ に対する感受性を比較すると、VMH のほうが高いことがわかった。しかし、以上の結果だけでは VMH に PGE₂ を局所投与することにより、体温上昇が著明に起こることを十分に説明できないので、さらに検討が必要と思われる。

16. 皮膚冷却刺激に対するラット視床下部ニューロンの反応ならびにその部位

坂田義行, 渡辺達生, 森本昭生, 村上 恵 (山口大, 医, 第二生理)

皮膚からの温度情報は外側脊髄視床路を上行し、視床の腹側基底核群 (VB) の中継ニューロンで中継されていると一般にいわれている。また近年、縫線核経由の経路が報告されてきている。しかしながら、ラットの皮膚冷却に反応する視床ニューロンならびにその部位については、いまだ多くの研究がなされていない現状である。そこでラットを用いて、全身皮膚冷却刺激を行い、そのときの視床ニューロンの活動変動を観察した。その結果、視床ニューロンの反応は2群に分類された。1群は switch-like response を示し、ニューロンの活動は皮膚温が 0.5℃ 以内の変動によって急峻に増加した。他方は graded response を呈し、活動は皮膚冷却とともに緩徐に増加した。これらのニューロンの記録部位は VB のみならず、視床の外腹側核、視床後核群にも見出された。また、ニューロンの部位は VB の周辺部に比較的多く分布する傾向を示した。しかし、switch-like response ならびに graded response を示すニューロンの部位的差異はみられなかった。

17. フェロモン作用の神経内分泌機構：電気生理学的アプローチ

李 成樹, 枕 秀人, 斎藤英郎, 瀬戸勝男 (高知医大, 第一生理)

雌マウスを雄の尿中フェロモンに曝すると、春機発動の促進、発情の同期化および妊娠の阻止が誘発される。鋤鼻器官で受容されたフェロモン情報は副嗅球を介して視床下部へ伝達され、プロラクチン分泌抑制因子 (PIF), とりわけドーパミンを下垂体門脈血中へ放出させ、ひいてはプロラクチンの低下を招くという機構でこれらの内分泌効果が発現してくると考えられている。そこで、抱水クロラル麻酔下の卵巢摘出マウスと卵巢摘出エストロゲン処置マウスを用いて、PIF が存在している弓状核から正中隆起へ投射している隆起漏斗 (TI) ニューロンを逆行性活動電位の誘発により同定し、これらのニューロンに対する副嗅球の電気刺激の影響を検討した。

総数51個の弓状核 TI ニューロンが同定され、これらの平均逆行性興奮伝導速度は 0.13 m/s であった。副嗅球の電気刺激 (0.5 mA, 200 μ s, 二相性矩形波) は 37個の弓状核 TI ニューロンのうち7個に興奮性反応を誘発した。反応したニューロンの数は卵巢摘出マウスよりも卵巢摘出エストロゲン処置マウスで有意に増加していた。以上の結果より、フェロモンによって刺激された副嗅球リレーニューロンは一部の弓状核 TI

ニューロンを興奮させ、このシナプス伝達はエストロゲンによって促進されることが示唆される。

18. BSC-1 細胞の生存能力と増殖に対する発癌プロモーターとコラーゲンの影響

柴 芳樹, 菅野義信 (広島大, 歯, 口腔生理)

細胞-基質間相互作用が細胞生存能力と増殖の調節に果たす役割を明らかにするために、発癌プロモーター 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) と各種コラーゲンの細胞伸展、生存能力および増殖への影響を調べた。

EDTA 処理で浮遊させたミドリザル腎臓由来の BSC-1 細胞を無血清条件下で培養皿に付着させた後、仔ウシ血清および TPA を加えた。コラーゲンは培養皿を被覆することにより使用した。

BSC-1 細胞は血清存在下で細胞伸展、生存能力および増殖を維持しえた。無血清条件下で 100 ng/ml TPA は 24 時間後の細胞伸展と生存を亢進した。発癌プロモーター活性の弱い phorbol は亢進作用を示さなかった。各種コラーゲンで被覆した培養皿上では、無血清条件下でも type IV コラーゲンが細胞の伸展と生存を亢進した。血清存在下で TPA は細胞伸展を亢進し増殖を抑制した。Type I コラーゲンのみが血清存在下での細胞伸展と増殖を抑制した。以上の結果より、BSC-1 細胞では生存能力と増殖に対し、細胞-基質間相互作用を介する異なる調節機構が働いていると考えられる。

19. ステロイドにより誘導される抗炎症作用をもつ蛋白質 (リポコルチン) の精製とリン酸化について

徳田雅明, 松井秀樹, 板野俊文, 江藤誠司, *中村光夫, 源佑一郎, 畠瀬 修 (香川医大, 第一生理)

膜リン脂質よりアラキドン酸を生成する酵素・ホスホリパーゼ A₂ (以下 PLA₂) を抑制する蛋白質が、抗炎症性ステロイドにより誘導され、リポコルチンと名づけられている。このリポコルチンには 3 種類の存在様式があり、リポコルチン I (35 K), リポコルチン II (36 K) およびリポコルチン 85 (36 K₂, 10 K₂) である。われわれはウシ肺よりこれら 3 種類のリポコルチンを、DE 52 セルロースカラム, Ultrogel ACA 44 ゲル濾過カラム, Mono S FPLC カラムを使用して同時に効率よく精製した。

こうして分離精製した 3 種のリポコルチンはどれも同様の PLA₂ 抑制活性をもっていた。また、この抑制

活性は、他の Ca_2^+ 結合蛋白質では認められなかった。

3種のリポコルチンはプロテインキナーゼCにより Ca^{2+} およびリン脂質依存性にリン酸化された。いずれも35Kあるいは36Kペプチドがリン酸化を受け、1モルのリポコルチン当り、Iでは1.0モル、IIでは0.7モル、85では0.4モルのリン酸化の取り込みがみられた。

リン酸化を受けていないリポコルチンに比べて、プロテインキナーゼCによりリン酸化を受けたリポコルチンでは、約50% PLA_2 抑制活性が減少していた。

20. 血漿脂質量におよぼす季節と運動の影響

古屋展夫, 原 俊子 橋本道男, 榊村純生 (島根医大, 第一生理)

冬夏期に測定した Wistar 系ラット (雌; 4週齢) の血漿脂質量を非鍛練 (C) 群と鍛練 (T) 群にわけ、季節と運動の影響を検討した。

実験方法: C群は運動を制限した状態で飼育し、T群は running wheel cage によって自発運動を促した。12週間後、24時間絶食させ、断頭採血し、酵素キットを用いて血漿脂質量を測定した。この場合、各ラットについて実験開始前、終了後の体重差 (W) を計測し、総摂取カロリー (Q) に対する割合 (W/Q) を求め、血漿脂質量に対する相関の有無を検索した。

結果と考察: C, T群ではリン脂質 (PL) のみに季節変動がみられ、冬期に12~21%減少した ($p < 0.05$)。冬夏期を通じて総コレステロール (Tc), HDL コレステロール (HDL-C) および中性脂肪 (TG) に運動効果がみられ、T群で13~22%減少した ($p < 0.05$)。冬期における PL の減少は W/Q が季節変動し、冬期に26%増加することによるものであり ($p < 0.05$)、運動による TC, HDL-C および TG の減少はトレーニングによって W/Q が26%減少することによるものであった ($p < 0.05$)。

23. 拍動流中での赤血球変形—ヘマトクリットの影響—

昆 和典, 立石憲彦, 志賀 健 (愛媛大, 医, 第二生理)

流れのなかで、ズリ応力により赤血球が流体抵抗を減ずるように変形することは、微小循環を確保するうえで必要である。循環血中の赤血球にかかるズリ応力は拍動とともに変動しており、この変動ズリ応力に対する変形の追従性は、赤血球変形の規定因子と考えら

れる。われわれはすでに希釈赤血球浮遊液中の赤血球変形の追従性について報告した (Kon et al. *Biorheology in press*)。本研究では、さらにヘマトクリット (Ht) の影響について検討した。

【方法】 DC サーボモーターでピストンを駆動させ、顕微鏡下においた平板流路 (厚さ: 100 μm) 中に赤血球浮遊液 (6% dextran solution, 2.7 CD) を流した。赤血球にかかるズリ応力をサイン波状に変化させるようにモーターの回転を Computer で制御し、サイン波上の任意のタイミングでフラッシュ写真をとった。壁ズリ応力の変動幅は、90~810 dyn/cm^2 であった。

【結果】 Ht, 2%中では、赤血球は不定形に変形した。Ht の増加で、赤血球は流れに対し配向し、楕円板状に変形した。また、ズリ応力のサイン波頂上からの減少過程において、ズリ応力の減少にもかかわらず、赤血球変形の復元が妨げられた。すなわち、Ht の増加は、赤血球変形を促進し、また変形からの復元を遅延させることが明らかになった。

22. 培養心筋細胞の拍動と膜電位に対するノルエピネフリンおよび cAMP の作用

豊田弘子, 松村幹郎, *大北幸生, 佐藤幸弘 (川崎医大, 第一生理)

9~10日, あるいは17~19日ニワトリ胚より培養した自動拍動を続けている心室筋細胞の拍動と膜電位に対するノルエピネフリン (NE) および cAMP の作用を検討した。cAMP を電気泳動的に細胞内注入すると、自発拍動中の細胞膜はわずかに過分極され、活動電位のプラトーの多少の延長が起こる程度で活動電位経過における著明な変化は認められなかった。しかし、17~19日卵より得た細胞でニフェジピンにより前処置したものに cAMP を注入した場合、低下短縮したプラトー電位の回復がみられた。細胞外に NE を加えた場合、拍動数はごく軽度増加するにすぎず、活動電位波形にも変化はみられなかった。特に 10^{-5} M の NE を加えた場合には、拡張期膜電位が浅くなり、また、正の chronotropic 作用が著明であった。これに対してニフェジピン処置したものに 10^{-7} ~ 10^{-6} M NE を加えると、活動電位波形の著しい回復がみられた。9~10日卵からの培養心室筋細胞については、このときの回復がゆっくりと起こり、その状態が長く続いた。一方、17~19日卵からのものでは、NE による回復が速く起こったが持続しなかった。発生段階によるカルシウムチャネルの動員状況の違いが示唆される。

23. 外因性 α -hANP の肝循環におよぼす影響

松下耕太郎, *石田俊彦, 森田啓之, 西田育弘, 行方浩二, 本地川裕之, 鍛本真一郎, 川田光裕, 細見 弘 (香川医大, 第二生理)

心房性ナトリウム利尿ペプチド (ANP) の肝循環におよぼす影響を調べるため, 慢性に測定器具を埋め込んだ意識下雑種イヌを用い, 外因性 α -hANP の投与実験を行った. 動脈血圧は大動脈弓に挿入したカテーテルより, 心拍出量 (CO) は上行大動脈起始部に装着した電磁血流計により測定した. 肝動脈血流量 (HAF) と門脈血流量 (PVF) はそれぞれの血管に装着したパルス・ドップラー血流計により測定した. すべての実験は埋め込み手術後 2 週間以上の回復期間のあとを行った. α -hANP の静脈持続注入 ($0.3 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{分} \times 20\text{分}$) により平均動脈血圧は $95 \pm 4 \text{ mmHg}$ より 11% 減少, 心拍数は $116 \pm 5 \text{ beats}/\text{分}$ より 13% 増加した. PVF は $283 \pm 28 \text{ ml}/\text{分}$ より 10% 減少, HAF は $63 \pm 4 \text{ ml}/\text{分}$ より 16% 減少し, PVF と HAF の和である総肝血流量は $334 \pm 27 \text{ ml}/\text{分}$ より 11% 減少した. しかし, CO も $1,490 \pm 160 \text{ ml}/\text{分}$ より 10% 減少したことより, α -hANP 投与によっても CO に対する総肝血流量の比は一定に保たれた. すなわち, α -hANP 投与により総肝血流量は減少するが, その減少は肝血管床に特異的ではないことが推測される.

24. 高血圧自然発症ラット (SHR) の血中カテコラミン濃度

竹本裕美, 入内島十郎 (広島大, 医, 第二生理)

SHR と正常ウォスターラットの腹部大動脈末端に慢性的に留置したカテーテルを用いて動脈血を無麻酔, 無拘束の状態で採取し, ノルアドレナリン (NA) とアドレナリン (A) を定量した. 定量は Johnson と Peuler の酵素アイソトープ法に従い, 標準品を添加して作成した $0 \sim 100 \text{ pg}/50 \mu\text{l}$ 血漿の検量線の相関係数は NA で 0.99759, A で 0.99780 であった. $10 \text{ pg}/50 \mu\text{l}$ 血漿添加時の放射活性 (cpm) の平均値 \pm 標準偏差 ($n=4$) は, NA で 792 ± 109 , A で 586 ± 10 であった. 安静時の採血量は, NA, A 濃度ともに有意な変化の認められない体重の 0.5% (v/w) 以下とした. ラットが動いたり, 興奮したりしていない安静状態の血漿内 NA 濃度は SHR で $319 \pm 180 \text{ pg}/\text{ml}$ (mean \pm SD, $n=12$, 11~17 week) であり, 正常ラットの値 154 ± 46 ($n=12$, 11~17 w) に比し有意に高かった ($p < 0.01$ by U-test). これは, すでに血流, 血圧測定により推定されてい

る. SHR における交感神経血管収縮線維の緊張の上昇を裏付けると考えられる. 一方, A の値は SHR, 265 ± 131 ($n=12$, 11~17 w), 正常ラット, 124 ± 98 ($n=12$, 11~17 w) であった ($p < 0.005$ by t-test, $p < 0.01$ by u-test で有意). すなわち SHR においては, 安静時の副腎髄質の緊張性分泌も上昇している.

25. 坐骨神経電気刺激の頸動脈洞圧受容器反射性血圧調節系におよぼす影響

行方浩二, 森田啓之, 西田育弘, 本地川裕之, 川田光裕, 鍛本真一郎, 松下耕太郎, 細見 弘 (香川医大, 第二生理)

ペントバルビタール ($30 \text{ mg}/\text{kg}$) で麻酔した雑種イヌを用いて, 左右迷走神経と一側の頸動脈洞神経を切断後, 左あるいは右の坐骨神経を電気刺激しながら頸動脈洞圧受容器反射性血圧調節系の調節力 (G) を測定した. G は急速少量脱血 ($2 \text{ ml}/\text{kg}$) 時の血圧低下と 1~2 分後の血圧のもどりより求めた. 同側の坐骨神経を電気刺激したときの G は, コントロール値に比べ有意な変化を示さなかった. 一方, 対側の坐骨神経を 0.1 mA で電気刺激すると, G は 2.3 ± 0.3 から 1.8 ± 0.3 に低下し, 0.5 mA で電気刺激すると 2.9 ± 0.3 から 1.9 ± 0.3 に低下した ($p < 0.05$). 0.1 mA での G の低下は morphine ($0.5 \text{ mg}/\text{kg}$) 前投与により完全にブロックされた. 以上のことより, 坐骨神経電気刺激は頸動脈洞圧受容器反射性血圧調節系に影響をおよぼし, その影響には左右差があることがわかった. すなわち, 0.1 mA , 0.5 mA で同側の坐骨神経を電気刺激しても G に有意な影響をおよぼさないが, 対側の坐骨神経を電気刺激すると G は有意に低下する. さらに, 0.1 mA での G の有意な低下は morphine の前投与によりブロックされるが, 0.5 mA での G の有意な低下はブロックされないことがわかった.

26. 2 腎性高血圧ラットに対する Captopril の降圧効果の原因

寺西泰弘, 入内島十郎 (広島大, 医, 第二生理)

腎血管性高血圧症の発症に, renin-angiotensin 系が関与することがよく知られている. そこで, angiotensin I 変換酵素阻害剤 Captopril の急性降圧効果の原因を血行動態の観察から考察した. 血圧と局所血流ローブを的に動脈カテーテルを留置し, 電磁流量計は, 慢性埋め込んだ 2 腎性高血圧ラット (2 KIC), 1 腎性高血圧ラット (1 KIC), 正常血圧ラット (NCR)

で測定した。

安静時、局所血管抵抗上昇が最も著しいのは、2 KIC で上腸間膜動脈、1 KIC で腎動脈であった。Captopril 静注10分後、血圧下降は 2 KIC で約20mmHg, 1 KIC と NCR で約 10 mmHg であった。Captopril の血管拡張作用は、2 KIC では腎動脈で最大であったが、1 KIC の腎動脈ではほとんど拡張作用がなかった。また、この血管拡張作用は、上腸間膜動脈では、2 KIC, 1 KIC, NCR でほぼ同じであり、下肢筋血管では、三者ともほとんど拡張しなかった。

これらの結果から、(1) 2 KIC と 1 KIC の間の Captopril の降圧効果の差は、かなりの部分、腎血管の反応性の差に帰結される。(2) Captopril の血管拡張作用は、局所血管抵抗上昇が最も著しい領域(2 KIC-上腸間膜動脈, 1 KIC-腎動脈)で特に優位でなかった。このことは、腎血管性高血圧症の維持期では renin-angiotensin 系があまり重要な役割を演じていないことを示唆する。

27. スナネズミ脳の交連性循環血液量と動物別2-デオキシグルコースの取り込み能の分析

増田晴造, 滝下尚美, 三谷 章*, 片岡喜由*(愛媛大, 医, 実験実習機器センター・第一生理*)

スナネズミ脳の交連性循環血液量をラットと比較して分析するため、両動物の右総頸動脈より、 $^3\text{H}_2\text{O}$ を投与し、左右脳半球の同一領域での ^3H の放射活性を測定した。スナネズミの交連性循環血液量は、ラットより著しく低く、かつその程度は、個体差が大きく、従来より形態学的に認められているウィリス動脈輪部分欠損による交連性循環血液量の少なさを、定量的に推定できる結果が得られた。

さらにスナネズミとラットの脳内ブドウ糖の取り込み能を比較検討するため、両動物の右総頸動脈より、 ^{14}C -2-デオキシグルコース、2 マイクロキュリーを投与した。この際、部位による血液量の差を消去するため、 $^3\text{H}_2\text{O}$ 、2 マイクロキュリーを併用し、脳の各領域での ^{14}C と ^3H の放射活性の比を測定した。その結果、各領域とも両動物間にブドウ糖の取り込み能について大きな差はみられなかったが、両動物とも脚間核のブドウ糖取り込み能は他の領域に比べ、2~3倍ときわだって高いことが明らかになった。

28. 幼若ラットを使った *in vivo* での抗う蝕性の検討

*渡部隆夫, *浜田 駿, 三好美智夫*, 日地康武*(鳥取大, 医, 口腔外科・第一生理*)

インド原産のギムネマシルベスタの葉から抽出されたギムネマ酸は、種々の生理作用をもっている。われわれはう蝕原性連鎖球菌の菌体外酵素によるグルカン合成がギムネマ酸によって阻害されることを見出した。そこで、このギムネマ酸を幼若ラットに用い、う蝕抑制の面から検討した。生下直後のラットに、う蝕誘発食を与え、*S. mutans* を接種しなかったもの、*S. mutans* を接種したもの、*S. mutans* を接種し、さらにギムネマ酸を投与したものの、3群にわけ実験に供した。*S. mutans* を接種しなかった群では、ほとんどう蝕は発生しなかった。一方 *S. mutans* を接種した群では、全例にう蝕が発生したが、ギムネマ酸を投与した群ではう蝕の発生は有意に抑えられた。さらにヒトの抜去歯牙を用いた歯垢形成における実験では、ギムネマ酸を投与した場合は、投与しなかった場合に比して、その歯垢形成量は1/2以下であった。さらにその歯垢の沈着状態は、投与しない場合には強固であったが、投与群では容易に剥離しやすい状態であり、両者に著しい差がみられた。以上のごとくギムネマ酸は、歯垢形成を顕著に抑制することから、う蝕発生の抑制に有用であることが示唆された。

29. カエル舌咽神経の Ca 応答および Mg 応答に対する Ni の増強効果

北田泰之 (岡山大, 歯, 口腔生理)

カエル舌咽神経は舌に与えた Ca 塩および Mg 塩によく応答する。演者はこれまで Ca と Mg は味受容膜上のそれぞれ異なる受容サイトに作用することを明らかにしてきた。今回 Ni は Ca 応答にも Mg 応答にも顕著な増強効果のあることがわかった。しかし一方で Ni は Ca 受容サイトに対しては Ca と競合することで Ca 応答を抑制する。したがって、Ni は Ca 応答に対し応答の増強と抑制の二重の作用のあることがわかった。すなわち、低濃度 (0.1 mM) Ca 応答は 5 mM Ni ではほとんど抑制されるが、高濃度 (50 mM) Ca 応答では約 3 倍も応答が増強された。高濃度 Ca の場合は Ca の受容サイトが Ca でほとんど占有され、Ni による抑制は現われないので増強効果のみ現われたと考える。また Ni による増強効果は、Ca 応答でも Mg 応答でも Ni の濃度が 0.1 mM から現われ始め 1 mM で飽和し

た。このように Ca と Mg の受容サイトは異なるにもかかわらず、Ni の濃度効果は同じであった。以上の結果から、Ni は Ca と Mg の受容サイト以外の両受容サイトに共通な膜構成要素を通じて、各受容サイトに二次的に作用して塩応答を増強させるものと思われる。

30. 後脛骨神経刺激による体性感覚誘発電位の回復曲線

馬野育次, 及川俊彦 (鳥取大, 医, 第二生理)

後脛骨神経を、足首部にて刺激して得られる体性感覚誘発電位 (SEP) の 2 発刺激を用いた回復関数について実験した。おもに皮質起源の最初の成分であると考えられている P38 成分に着目し、Fz' (Cz より 2 cm 前方), Cz, Cz' (Cz より 2 cm 後方) の 3 カ所より記録した。いずれの部位でも、最初の数 10 ミリ秒の区間で相対不応期がみられ、40~50 ミリ秒で回復のピークを示した。そのピークに続く低反応性の度合は、Cz' より Cz, Cz より Fz' と徐々に大きくなる傾向を示した。N37 成分に関しては、C₃ より記録導出した SEP について回復関数を得たが、一定の傾向を認めなかった。

P38 成分の回復関数に関する生理学的機構は、「誘発筋電図における H 波の 2 発刺激による回復関数において、刺激後の不応期から完全回復に達する途中の刺激間隔で回復率の増大がみられ、その増大は、一発目刺激による閾下縁のニューロン群を、二発目刺激が興奮させることによって生ずるものである」という理解と同様に考えられた。

31. 手指刺激による体性感覚誘発電位の回復曲線

井丸隆資, 及川俊彦 (鳥取大, 医, 第二生理)

ヒトの正中神経刺激による体性感覚誘発電位 (SEP) の中潜時成分である N1, P2, N2, P3 各波の回復曲線を調べた。これまで得られた正中神経刺激による SEP の回復曲線は、手首における経皮的刺激によるものであったが、腱紡錘その他からの求心性インパルスの関与も考えられ、純粋に感覚神経のみの刺激であるのが確かな手指刺激による SEP を主対象とした。

右手指 (第 2 指と第 3 指) と右手首それぞれ 3~70 ミリ秒の間の 12 の刺激間隔による 2 発刺激を加え、対側の体知覚領相当頭皮上の C₃' より SEP を得た。手首刺激の平均加算は 100 回、手指刺激では 300 回とした。両刺激部位における各成分とも共通して不応期に続き 25~30 ミリ秒までの過常期、またはそれに準ずる

回復率がみられ、次いで次正常期を経てもとに復する例が多かった。手指刺激によっては、その後二目の過常期、またはそれに準ずる回復率を示す例があるのではないかと思われた。したがって、今のところ両種刺激による SEP の起源がまったく同じであるかどうかは不明である。

32. 舌下神経運動ニューロンにおける抑制性シナプスの可塑的变化

高田 充, 友宗法道 (徳島大, 歯, 口腔生理)

ネコの舌下神経運動ニューロンで、神経縫合により舌ひっこめ筋を支配させた、舌つきだし筋支配運動ニューロン (P-Mn) で、舌神経および下歯槽神経の抑制性シナプスの結合様式にどのような可塑的变化が起こるか調べた。P-Mn で脱分極過電で誘発したスパイクで筋活動が惹起されることにより P-Mn が舌ひっこめ筋に結合したと判断した。また、筋に再結合した P-Mn では f-I 曲線に正常 P-Mn と同様に屈曲点を得られる。舌神経刺激で正常 P-Mn に誘発される IPSPs では、S-IPSP:L-IPSP (S%:L%) 比は 53%:47% で、R-Mn (舌ひっこめ Mn) では 70%:30% であった。なお、S-IPSP は Somatic IPSP で、L-IPSP は Dendritic IPSP である。神経縫合により舌ひっこめ筋を支配させた P-Mn では舌神経 IPSPs の S%:L% が 68%:32% に、下歯槽神経 IPSPs の S%:L% が 57%:43% になった。この比率分布は正常ネコの R-Mn での舌神経、下歯槽神経の抑制性シナプスの比率分布に近いことがわかった。

33. 夜勤時の仮眠と年齢差が交代勤務者の睡眠パターンにおよぼす影響

松本一弥, 森田雄介 (杏林大, 医, 衛生・徳島大, 医, 第二生理*)

3.5 時間の仮眠を伴う一昼夜交代勤務に従事する若年者群 (18~26 歳) と中高年者群 (45~62 歳) それぞれ 8 名を対象として、夜勤時の仮眠効果と年齢差が交代勤務者の睡眠パターンにおよぼす影響を検討した。

その結果、両群とも仮眠に引き続く昼間睡眠では、対照夜に比して全睡眠時間と stage 2, slow wave sleep, REM 睡眠が有意に短縮していた。しかし、仮眠と昼間睡眠を合計した各睡眠段階量は、stage 2 のみ有意に短縮していた。したがって、仮眠は夜勤によって生じる必然的な睡眠不足を一定限度において補償する効果があるといえる。

年齢差についてみると、中高年者群の昼間睡眠では、比較的中途覚醒や睡眠段階移行数が多いことが特徴であった。また、中高年者群では、舌下温の amplitude と mesor が有意に減少し、acrophase は約 1.5 時間の位相前進を示した。朝型・夕型質問紙法による平均スコアは、中高年者群でやや高い（朝型）傾向がみられた。

以上の成績から、加齢に伴って概日リズムの位相の変化が起こるとすれば、中高年者の夜勤後の昼間睡眠を困難なものにしていると推定された。

34. デチゾン は記憶の固定過程を阻害する

村上哲英, 根本哲郎*(香川医大, 生物・保健体育*)
われわれは先にデチゾンをマウスの腹腔内に投与すると、海馬脳波と Timm 反応が一過的に消失することを報告した。今回は、一過的な海馬脳波の消失や Timm 反応の陰性化が学習の成立や記憶の保持にいかに関与しているかを調べた。jump-box による回避学習を行い、回避学習直前にデチゾンを投与し、10 試行、あるいは最初の正反応が示された時点で学習を中止し、一週間後に再学習を行うと、記憶の保持が著しく阻害されていた。これに対し、上と同様の学習直後にデチゾンを投与した場合には、記憶の保持にはなんの影響も認められなかった。このことは記銘の固定過程が阻害されたのではないかと考えられ、記銘の固定過程はデチゾン投与後 Timm 反応が陰性となり、また、海馬脳波が消失し始める時点、すなわち 5 分以内に成立しているのではないかと推察される。

35. フェロモンの記憶：副嗅球へのビキュキュリン注入の影響

梶 秀人, E. B. Keverne*, 斎藤英郎, 瀬戸勝男(高知医大, 第一生理・ケンブリッジ大, 解剖*)

ニオイの学習はもろもろの行動性相互作用に欠くことができない。ニオイの学習でよく研究されてきたものの一つに、交尾時に形成される雌マウスによる雄の尿中フェロモンの記憶がある。元来、雄フェロモンには妊娠を中断させ発情を誘導する作用があるが、このフェロモンが記憶されていると、フェロモンの妊娠中断作用が阻止される。ゆえに、雌にとってこの記憶は妊娠を完全に維持するために必須である。演者らは、このフェロモンの記憶形成に副嗅球が重要な役割をもつことを示してきた。本実験の目的は、副嗅球内 γ -アミノ酪酸 (GABA) 伝達が記憶形成に重要か否かを評価

することであった。記憶形成の臨界期に副嗅球へのビキュキュリンの注入は記憶形成を障害しなかったが、用量依存的に妊娠を阻止した。ビキュキュリンによる妊娠阻止現象は次のように解釈される。鋤鼻器官で受容されたフェロモン情報は二次ニューロンである副嗅球の僧帽細胞へ伝達される。この僧帽細胞は顆粒細胞から放出される GABA によって樹状突起間シナプスを介してフィードバック制御を受けている。この GABA 伝達がビキュキュリンで遮断されると、僧帽細胞は脱抑制状態となり、多数のインパルスを扁桃核、続いて視床下部へ送り、プロラクチンの分泌低下を招いたと推察される。

36. アルミニウム投与ラットの脳内モノアミン類とアセチルコリン含量の変化

楠崎(砂屋敷)幸作, *原 千高*, *阪田研一郎**, *東岡佳勝***, 三谷 章, *小川暢也*, 片岡喜由(愛媛大, 医, 第一生理・薬理学*, 医学部学生**, 整形外科***)

雌雄 Wistar 系ラットを用い、胎仔期間中は母親を通じ、さらに生後 5 週齢まで硫酸カリウムアルミニウム水溶液を経口投与した。15 週齢時に弁別条件回避反応の学習獲得過程をシャトルボックスを用いて調べたところ、雄性ラット群の回避反応率はアルミニウム無投与対照群に比べ有意の低下が認められた。20 週齢時にマイクロウェーブ照射 (5 kw ; 1.1 秒) で屠殺した後、脳の数部位を摘出し、硝酸-アセトン溶液で抽出した後、モノアミン類とアセチルコリン含量を HPLC-ECD システムを用いて分析した。アセチルコリンの検定には、アセチルコリンエステラーゼとコリン酸化酵素とで酵素反応させ、生成した過酸化水素の濃度を分析する方法を用いた。その結果、雄性ラットの前頭葉皮質、中隔のセロトニン含量の有意の低下と中隔、マイネルト基底核などにおけるアセチルコリン含量の上昇が認められた。

37. Dominant focus の形成に用いる直流の強度と運動反応の性質について

堀 泰雄, 服部幸雄, 森脇晃義, 林 泰資, 浅木秀樹 (岡山大, 医, 第一生理)

慢性ウサギの皮質運動領内で表面刺激により咀嚼運動または adversive movement を誘発しうる領野 (premotor area, 堀) に表面陽極性直流を一試行につき 30 分間通じ、これを反復して dominant focus を形

成する場合、電流強度が異なれば指標とした前肢の屈曲運動の性質に差があった。5 μA の陽極性直流を繰り返し通電された群では、前肢の屈曲運動中 *struggle* の形をとるものが多く、一般に屈曲運動の数は少なく、かつ屈曲運動の優勢に出現する前肢の側は一定しなかった。3 μA を3回、あとは0.6 μA を反復した群では一般に屈曲運動の数は多く、その多くは穏やかな、典型的には一側性の反応で、優勢な前肢は常に通電皮質の対側であった。上記の2群とは別の、はじめ数試行は0.4~0.7 μA の陽極性直流の通電を受け、以後は5 μA 、30 μA などの比較的強電流の通電を受けた群では、*struggle* は最も少なかったが、一般に屈曲運動の数は少なかった。また優勢な前肢の側は一定しなかった。したがって、*dominant focus* を形成する場合に3 μA 程度の強度の陽極性直流は重要であること、0.4~0.7 μA の陽極性直流は抑制性効果を有すること、最初の数回の通電試行が実験成績を左右するものであることなどが示唆された。

38. ラット大脳皮質直流電流とサイクリック AMP 応答

森脇晃義, 服部幸雄, 林 泰資, 堀 泰雄(岡山大,

医, 第一生理)

ラット大脳皮質左感覚運動野表面に、頭蓋骨中の慢性電極から、30, 3.0, 0.3 μA のいずれかの陽極性直流電流を通電した。翌日ラットを断頭屠殺し、摘出した大脳皮質を左右前後に四分した。通電部位は左前半部皮質に含まれた。おのおのの皮質部位から得られた切片を、アデノシン添加または無添加のクレブスリンガー緩衝液中でインキュベートした後サイクリック AMP を定量し、皮質部位間で比較検討した。30 μA または 3.0 μA を30分間一回通電した個体においては、アデノシンに応答したサイクリック AMP 量を無添加条件下のそれで除した比の値は、通電皮質でその対側皮質より大きかった。0.3 μA を通電した個体では通電皮質とその対側皮質との間で比の値に相違はみられなかった。比の値に皮質部位間差が生じる原因の一つはアデノシン無添加条件下のサイクリック AMP 量が電流強度によって変動することである。また、30 μA を3時間連続して通電した個体では、30分間通電した個体と異なり、比の値に皮質部位間差が観察されなかった。これは長時間の通電によって、直流電流の影響が大脳皮質の広範囲に広がるのが原因の一つと考えられる。

〔教 育〕

日本生理学会編「生理学実習書」改訂のためのアンケート調査報告書

日本生理学会教育委員会

委員：中野昭一，富田忠雄，広重 力，西山明徳，
本間三郎，村上元彦，神野耕太郎，栗原 敏，
入来正躬，久野 宗，松尾 理，安原基弘，
志賀 健，松村幹郎，榊村純生，小坂光男

日本生理学会編『生理学実習書』（南江堂）（以下実習書という）は、初版を昭和52年に、改訂第2版を昭和58年に出版した。幸い各方面で暖かく迎えられ、初版は1万部、第2版は現在までに約4千部が発行されている。しかし、近年、生理学の進歩にともない、第2版刊後すでに4年を経過した実習書の改訂を望む声も大きく、日本生理学会教育委員会（委員長 中野昭一）では、これらに適應するべく種々検討の結果、前委員会（委員長 中馬一郎）以来の懸案として再度改訂にふみきるべきであるとの結論に達した。

そこで、改訂に当たり、まず、全国の医学部・歯学部部の生理学教室ならびに関連する生理学部門にアンケート調査を行い、これを参考に作業を進めることになり、昭和62年7月22日付けでアンケート（約280通）を配布、同年8月末を目処に回収し、その結果121件（43%）の回答が寄せられた。本報告はその調査報告である。

集計成績

以下設問の順にその集計成績を述べることにする。

1. 『実習書』の使用状況

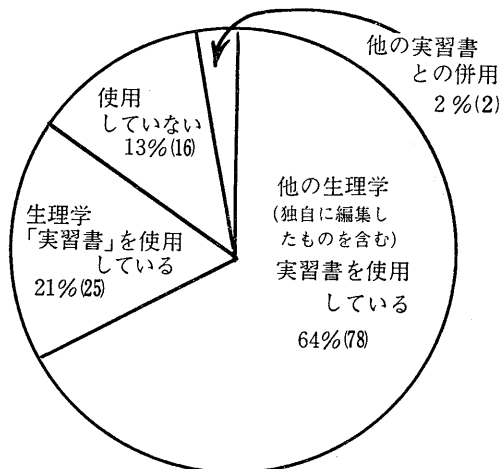


図1
全体121件，()内は件数

図1に見られるように、他の生理学実習書（独自に編集したものを含む）を使用しているものが78件（64%）と最も多く、本実習書の使用は25件（21%）に止まった。しかし、他の実習書を用いているときでも、本実習書を参考にしているケースが多く、図2に示すようにその数は66%にも達している。

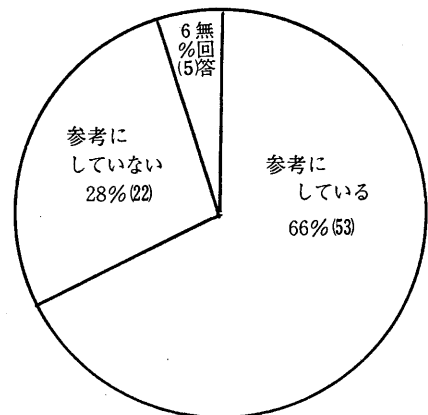


図2
全体80件

2. 『実習書』を使用する場合の内訳

単純集計では 計65件

- | | |
|------------------|------------|
| 1) 正規に指定して使用している | 20件(30.8%) |
| 2) 学生の参考としている | 19件(29.2%) |
| 3) 主に指導者の参考としている | 24件(36.9%) |
| 4) その他 | 2件(3.1%) |

本間は設問の仕方があいまいであったためか、2通りに解釈されたようである。1の設問に連動して回答が要求されていると解釈された場合と、連動せずにフリーの立場からの回答されていると解釈された場合との2通りある。上記の単純集計は後者の立場を反映している。前者の立場、すなわち『実習書』を生理学実習に『使用している』場合の内訳は、図3に示すように、正規に指定しているものが72%にも達している。

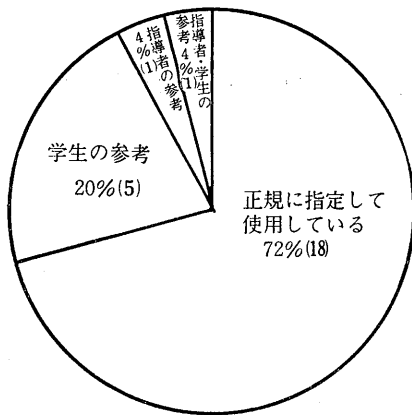


図3
全体25件

3. 『実習書』を使用していない主な理由

回答頻度の多い順に並べると、

- 1) 内容が専門的すぎる。中にはその方面の専門家が担当しなければ実施不可能なものもある。
- 2) 現有する機器への配慮が欠けている。大学の違いや教室ごとに使用機材が異なる現状では、結局、各大学独自の指導書を作らざるを得ない。
- 3) 実際に実習しない項目が多いため、学生にとって不経済であり、これを強制することが難しい。
- 4) 数多くの項目があげられているが、自校にとって必要な項目が欠けている。
- 5) 人体生理学の実習項目が乏しい。

4. 改善すべき点

- 1) 項目の適否
 - a) 学生実習ということから、もう少し平易なテーマを選ぶべきである。
 - b) 項目を少なくし、得られた結果をどう解釈するかに力点を置いた解答がほしい。
 - c) 古典的な、基礎的な実習項目(たとえばスタニウス結紮)を取り入れるべきである。また、赤血球数算定などの項目も復活すべきである。
 - d) 動物愛護の項目を加える必要がある。
 - e) 重複をさけるべきである。(例：P. 87とP. 137の図)
 - f) 実験に必要な統計学、基本的装置の原理や取扱方、コンピュータ処理の項目が必要である。

2) 記述内容の適否

一般に適当とした意見が多かったが、以下のコメントもあった。

- a) 一般的な実習手技の記述内容を充実してほしい。
- b) 血液ガスの測定について、学生が理解できるようにもう少し詳しい説明がほしい。
- c) 一般に記述が簡単すぎて、実際に役立たない。
- d) パソコン、ADコンバータなどについても参考ページで説明してほしい。
- e) 新しくパッチクランプの項を追加してほしい。

3) 設問の適否

一般に厳しいコメントが多く、実習内容から発展して具体的に考えさせる応用問題がよいという提案が多かった。(例えば『条件を……のように変えたらどのような結果が予想されるか。そう考える根拠は?』)

また、一般に講義ではどうしても先端的な内容になることが多いので、実習での古典的実験と、これらの講義との結び付けを意図したものがのぞましい。

4) 図表の使い方など

図表はできるだけ多く取り入れてほしい。特に実験の set-up を図解してほしい。『百聞は一見にしかず』

全体として、欧米の実習書の美点を取り入れる姿勢が必要である。

5. 改訂に臨床医の協力を求めるべきか

図4のように、『必要あり』が54%を占め、『必要なし』(31%)を大きく上回った。しかし、あまりにも臨床検査的になることを警戒する声もあった。

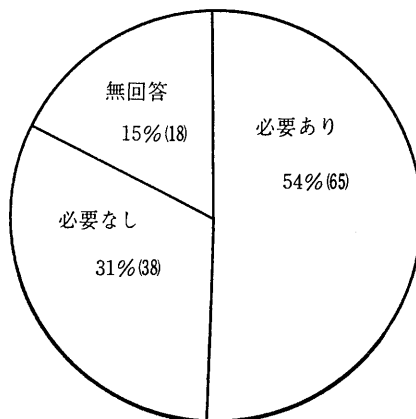


図4
全体121件

『必要あり』とする場合、具体的には図5に示すように『生理学者が書き、臨床医のコメントを求める』が71%を占めた。中には逆に、臨床医に特別項目を書いてもらい、生理学者が手直しすべきである、あるいは臨床医の意見を聞き、それをもとに生理学者が書いては、という意見もあった。

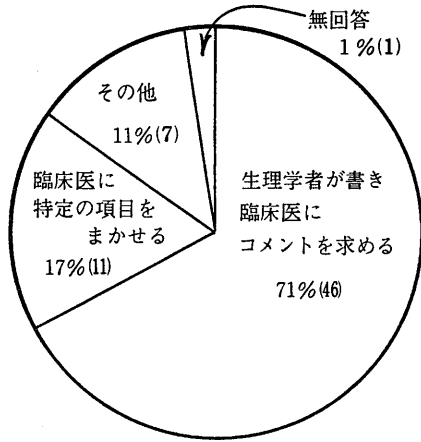


図5 全体65件

6. 内容を拡充して、歯学部やパラメディカル分野での使用

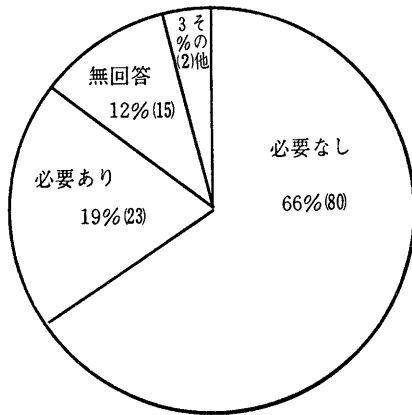


図6 全体121件

66%は必要なしということであった。その主な理由は一層大冊になり、高価になる。実習項目が一層分散してしまうなどである。

7. 改訂にあたり留意すべき点

多数のコメントが寄せられたので、以下順不同で述

べることにする。

- 1) 学生用としては値段が高すぎる。また、読みにくい。
 - 2) 学生が実習の現場で独力で自習できるようになっていない。
 - 3) 項目ごとに必要時間を明示すべきである。カリキュラムのコマ数に適合する配慮が欲しい。
 - 4) 測定機器の作動原理を詳しく述べてほしい。
 - 5) 内容の重複を避け、統一性を持たせること。
 - 6) 実習項目ごとに可能な1~2の病態モデルを加えたらどうか。
 - 7) 機器類の具体的な必要数の明示、動物写真をのせる、平均所要時間の明示、図表(図解)の活用、実施上の留意点(いわゆるコツ)の示唆、種々の動物の扱いかた。
 - 8) 動物実験に関する麻酔方法の項目が欲しい。
 - 9) 『実習書』を総論(実験・研究する姿勢)と各論にわけざるべきである。
 - 10) 基本コースとアドバンスコースとにわけざるべきである。後者は指導者用として充実し、前者は実習内容を精選し、かつ要約・簡明化の上、分冊としてルーズリーフスタイルにしたらどうか。
 - 11) ビデオとの併用を考え、ビデオ教材を用いた実習を想定して改定するべきである。あるいは、個々の実習の目的・原理・操作法などをパソコン用ソフトにして実習書に添付または別売りにしたらどうか。
 - 12) 各種の基準値や数値表を付録にまとめ、data bookとしても使い易いものにしたらどうか。
 - 13) データ処理、プロセッサー、マイコンなどの利用の項目を加えるとよい。
8. 全面的に新版にすること
- 新しくしても、やはり同様な隘路が予想される。したがって大多数の回答(90%)は改定の積み重ねで改善する方向を望んでいた。その中で以下のような具体的な提案があつた。
- 1) 各教室の推薦実習デザインを集め、委員会で検討してはどうか。いくつかの変法なども記載して参考に供すべきではないか。
 - 2) 生体機能を総合的にとらえる実習項目を追加すべきである。たとえば、血液ガス、血液、呼吸、循環を一緒にした実習デザインなど。
- 以上、アンケートにはきざめて誠意に溢れたものが多く、思わず襟を正した。コメントは多岐にわたる

が、おのずから一つの方向を指し示しているように思われた。

(文責 広重 力)

このアンケート結果に基づき、昭和62年10月13日『実習書改訂に関する小委員会』(小委員長 入来正躬)を開き、下記のごとく『実習書』を改訂する方向で作業を開始することとした。

1. 生理学実習書改訂にあたり、教育委員会内に生理学実習書編集委員会を作り、この委員会が改訂作業を行う。
2. 生理学実習書(改訂版)は医学部学生および指導者を対象とする。
3. 生理学実習書は分冊とし、上級編(advanced course 仮称)と基礎編(basic course 仮称)とに分ける。上級編は指導書として、新しい方法を含めたや

や高度な内容のものとする。基礎編は医学部学生を対象とした基礎的内容とする。

4. 実習内容の各項目ごとに世話人を決め、同一世話人が基礎編・上級編それぞれの編集にあたる。
5. 基礎編編集の資料として、各医学部生理学教室等に対し、現在行っている実習項目、およびできれば実習用指針などを送ってもらいように要請する。
6. 現実実習書の中で、脱落あるいは不必要な実習項目を、教育委員会委員に諮問し、実習書改訂の際の資料とする。

なお、これらの事項に関して、昭和62年11月30日に開催された日本生理学会昭和62年第2回教育委員会で再検討を行い、第2回常任幹事会に報告し、昭和63年度教育委員会の活動計画として承認された。

(文責 中野昭一)

[会 報]

昭和62年度第2回日本生理学会教育委員会議事録

日 時：昭和62年11月30日(月) 10:00~12:00

場 所：東京ガーデンパレス(湯島)

出席者：中野昭一(東海大)、富田忠雄(名大)、広重 力(北大)、西山明徳(東北大)、村上元彦(慶大)、神野耕太郎(東医歯大)、本間三郎(千葉大)、入来正躬(山梨医大)、松尾 理(近畿大)、安原基弘(関西医大)、久野 宗(京大)、松村幹郎(川崎医大)、榑村純正(島根医大)、小坂光男(長崎医大)、栗原 敏(慈恵医大)

欠席者：志賀 健(愛媛大)

1. 前回議事録の確認を行った。
2. 下記のごとく教育委員会会計報告が村上委員よりなされた。

日本生理学会教育委員会会計報告
日本生理学会教育委員会の昭和62年11月30日現在の会計に就いて下記の如く報告いたします。

昭和62年11月30日

日本生理学会教育委員会会計係
村上元彦

銀行預金利子	¥ 1,424
計 ¥373,444	
2) 支出の部	
『教育委員会の歩み』別刷印刷費 (鶴岡印刷へ送金, 手数料込み)	¥ 6,000
アンケート郵送料 (広重教授へ送金, 手数料込み)	¥ 15,400
生理学会教育シンポジウム別刷印刷費 (鶴岡印刷へ送金, 手数料込み)	¥ 62,100
同上別刷郵送料 (中野教授へ送金, 手数料込み)	¥ 9,790
計 ¥ 93,290	

< 記 >

- 1) 収入の部
前教育委員会より繰越金 ¥372,020

- 3) 銀行普通預金残高 ¥280,154
(三井銀行四谷支店)

3. 第65回日本生理学会大会(昭和63年4月4～6日, 和歌山県立医大)における教育シンポジウムの演者および演題が確認された。久野委員に積極的な討論参加をお願いした。各委員より生理学教育の現状について意見が出された。

教育シンポジウム

『統合カリキュラムの中での生理学教育を考える』

司会 中野昭一(東海大・医・生理)

富田忠雄(名大・医・生理)

1. はじめに一シンポジウムを企画するにあたって
中野昭一(東海大・医・生理)
2. “アメリカにおける医学生理学の現状と内科医としての意見”
黒川 清(東京大・医・内科)
3. “筑波大学の統合カリキュラムと生理学教育”
熊田 衛(筑波大・医・生理)
(東大・医・生理)
4. “生理学教育における系統講義及び実習の利点とその問題点”
神野耕太郎(東京医歯大・医・生理)
5. “医学教育における生理学教育の位置づけ”
阿部正和(慈恵医大・学長)
6. まとめ
富田忠雄(名大・医・生理)

以上

4. 教育シンポジウムでシンポジストをお願いした阿部, 黒川両先生の旅費を教育委員会予算から出すことが承認された。

5. 生理学実習書(日本生理学会編)改訂に関する件について討議された。広重委員より, 生理学実習書改訂のためのアンケート調査について報告がなされた。この調査は全国の医・歯学部生理学教室ならびに関連する生理学部門を対象に行われたもので, 調査結果は日本生理学雑誌のブルーページに掲載予定であ

る。入来委員より第1回日本生理学会教育委員会実習書改訂に関する小委員会(昭和62年10月13日開催)の報告が行われた。これらの報告を受け, 教育委員会は次の4点を承認した。1. 生理学実習書の改訂を行う。2. 実習書を上級編(advanced course, 仮称)と基礎編(basic course, 仮称)とに分けて編集する。3. ある学習項目について同一担当者が上級編および基礎編を編集する。4. 各生理学関係機関に現在行っている生理学実習項目と実習内容のアンケート調査を行う。

6. 各実習項目の担当者が次のように決められた。

実験動物の扱いと麻酔(入来), 一般生理(富田, 神野), 血液(松尾), 循環(志賀, 榊村, 熊田), 呼吸(本田), 腎・体液(森本), 体温・代謝・発汗(小坂), 消化・呼吸(西山, 中野), 内分泌(広重), 興奮性膜(富田), 骨格筋(松村, 栗原), 感覚(村上), 中枢神経(久野, 本間, 安原), 統合機能(中野), 統計処理(沖野), シミュレーション(山下)。

今後, 担当責任者を中心に, 教育委員会内に実習書改訂編集委員会を設置することとし, 教育委員以外の先生方には, 後日改めて実習書改訂作業を依頼することとした。

本間委員より基礎編の中に新しい方向を打ち出すことも必要であり, 加えて, 実習に必要な器機の有現況を知ると同時に実習器機充実を計る方策を考えていく必要があるとの発言があった。人体を扱う実習では, 事故防止に配慮し医師の監督下に行う必要があるとの発言もあった。

7. 生理学会所有のビデオが産業医大・山下教授のもとに保管されているが, 利用度が低く内容も古くなったので生理学会で引き取ってほしい旨申し入れがあり了承された。なお, ビデオの他に映画も所蔵されているとの発言が本間委員よりあった。

8. 次回の教育委員会は第65回日本生理学会開催時に開かれる予定。

【お知らせ】

第19回(昭和63年度)三菱財団自然科学研究助成応募要領

1. 助成の趣旨

最近の自然科学の進歩はめざましく、各学問分野の研究の深化はもとより、分野間の相互作用により、つぎつぎに新たな研究領域が誕生しつつあります。このような状況のもとで、本事業は、これらの基礎となる独創的、かつ先駆的研究とともに、既成の分野にとらわれず、すぐれた着想で新しい領域を開拓し、やがてその国際的発展に先導的役割を担う萌芽ともなる研究に期待して助成を行うことを趣旨としています。

本年度は、下記分野を重点として助成の対象と致しますが、すぐれて独創的なものはそれ以外の研究でも積極的にとりあげられます。

なお、この助成金は、研究達成のため十分に活用できるよう、その用途をとくに制限致しません。

2. 重点対象分野

- (1) 実験方法の開発・改良に関する研究
- (2) 工学における境界分野の基礎的研究
- (3) 宇宙科学における基礎的研究
- (4) 新しい物質・材料の作成・物性に関する基礎的研究
- (5) 生物活性物質の基礎的研究
- (6) 発生系における細胞の行動と遺伝子発現の制御に関する研究
- (7) 遺伝と環境の両因に主眼をおいた諸種疾患の本

態に関する基礎的研究

- (8) 個体、臓器および組織各レベルにおける機能要因に関する総合的研究

3. 助成の金額と期間

イ. 金額

総額約1億7千万円、1件2千万円以内(本年度は20件程度を目標とします)

ロ. 期間

1年を原則とします。研究計画の都合上継続を必要とする場合は、毎年提出された申込書に基づき選考致します。

4. 応募方法

当財団所定の申込書に必要事項をご記入のうえ、正1通、副5通(コピー)を当財団宛ご送付願います。申込書の右上欄に研究題目のコード番号を記入して下さい。(別添コード表ご参照)申込書用紙はご請求あり次第お送りいたしますが、コピーした用紙をご使用いただいても結構です。なお、申込受付確認のため、返信用葉書(宛先:申請者住所並びに名称)を同封して下さい。財団事務局にて受付日・受付番号を記入の上ご返送致します。

5. 応募締切日

昭和63年4月11日(月)必着(極力早めにお出下さい。)

上原記念生命科学財団国際シンポジウム

UEHARA MEMORIAL FOUNDATION SYMPOSIUM ON MECHANISM OF TRANSMEMBRANE SIGNALLING

- 主催: 財団法人 上原記念生命科学財団
 期日: 昭和63年5月12日(木)~14日(金)
 会場: 京王プラザホテル(〒160 東京都新宿区西新宿2-2-1) ☎ 03-344-0111
 講演者: L. Birnbaumer(USA), V. K. Chandler(USA), E. E. Fesenko(USSR),
 C. B. Kiee(USA), D. Lancet(Israel), E. G. Lapetina(USA),
 S. R. Nahorski(UK), E. T. Neer(USA), J. P. Perkins(USA),
 M. F. Schneider(USA), P. G. Waser(Switzerland),
 浅野(愛知県コロニー研), 遠藤(東京大), 遠藤(山形大), 藤原(京都大),
 芳賀(浜松医大), 早石(早石プロジェクト), 日高(三重大), 井村(京都大),

石橋(広島大), 金子(岡崎国立共同研究機構生理研), 鹿取(北里大),
川合(東京都神経研), 鬼頭(広島大), 倉智(東京大), 栗原(北海道大),
栗原(慈恵医大), 栗山(京都府立医大), 松尾(宮崎医大), 野村(北海道大),
野沢(岐阜大), 大塚(東京医歯大), 大森(岡崎国立共同研究機構生理研),
瀬川(広島大), 高井(神戸大), 竹縄(東京都老人研), 宇井(東京大),
吉田(大阪大), 吉岡(早稲田大), 吉沢(京都大)

組織委員会：名誉委員長 江橋節郎(岡崎国立共同研究機構生理学研究所所長)
委員長 瀬川富朗(広島大学医学部教授)
副委員長 遠藤実(東京大学医学部教授)
宇井理生(東京大学薬学部教授)
委員 栗原堅三(北海道大学薬学部教授)
栗原敏(東京慈恵会医科大学教授)
野村靖幸(北海道大学薬学部教授)

問合せ先：〒171 東京都豊島区高田 3-25-3

財団法人 上原記念生命科学財団 事務局

☎ 03-985-3500, 8400

日本生理学会評議委員 徳島大学名誉教授 田北周平君は、
昭和62年11月29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。

日本生理学会評議委員 順天堂大学理事長 東健彦君は、
昭和62年12月13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〕

日本生理学会雑誌第50巻2号をおとどけします。総説1編、資料1編、学会抄録、「生理学実習書」改訂のためのアンケート調査報告書、教育委員会議事録およびお知らせとなっています。総説「生体内における水構造と¹H-NMR情報」をお寄せ下さいました曾我美・恵良・亘先生に厚くお礼申し上げます。

日本生理学会編「生理学実習書」(南江堂)を改訂する方針が、昭和63年度教育委員会の活動計画として常任幹事会で承認されたとのこと、改訂版の出版を大いに期待します。この実習書には大変お世話になりました。教室独自の実習書を作るときでも、また、学生実習の指導をする場合でも、幾度も読み返して大いに参考にさせていただきました。この本に対してある感慨

と改訂への期待を抱くのは私ばかりでしょうか。アンケート調査報告書は「アンケートにはきわめて誠意に溢れたものが多く、思わず襟を正した。」と述べています。会員皆様の「生理学実習書」に対する愛着と改訂版への期待が伝わってくるようです。

さて、この2号がお手元にとどく頃は、所によっては桜の花も満開となり、新学期がスタートします。教育と研究に多忙を極めるとは思いますが、好季節の折、皆様の御活躍と御発展をお祈りいたします。

本学会評議員・徳島大学名誉教授 田北周平先生は昭和62年11月29日に、本学会評議員・順天堂大学理事長 東 健彦先生は昭和62年12月13日にご逝去されました。先生方の偉大な足跡を偲び、心から御冥福をお祈り申し上げます。

(松井洋一郎)

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)		

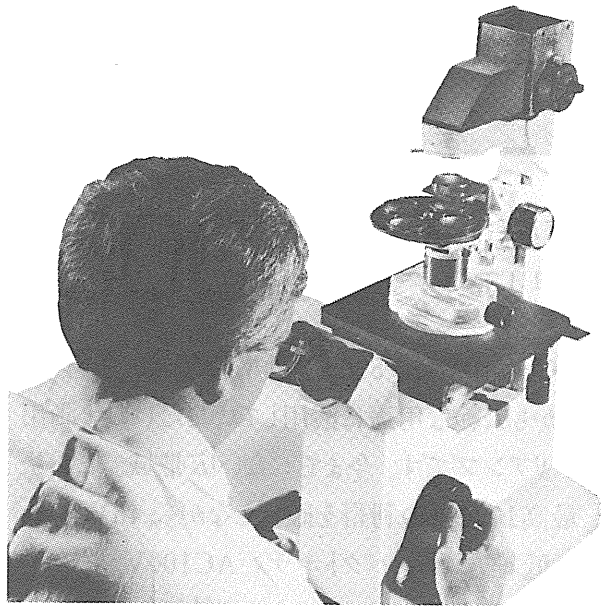
Hoffman Modulation Contrast System[®]



ホフマン変調コントラストシステムはガラス容器ばかりでなく、プラスチック容器でも、鮮明でハイコントラストな三次元的に見える像がえられます。培養用各種プラスチック容器での直接観察が可能で、しかも調整は非常に簡単です。

HMCSは殆どどの顕微鏡（例えばニコン倒立顕微鏡ダイヤフォト，オリンパス倒立顕微鏡1MT-2）に取り付けられます。システムに必要なのは下記の3種類だけです。

1. モジュレーター付対物レンズ
2. コンデンサー(ターレット型又はスライダ型) 顕微鏡名をご指示下さい
3. ポラライザー



販売元

ショーシンEM株式会社

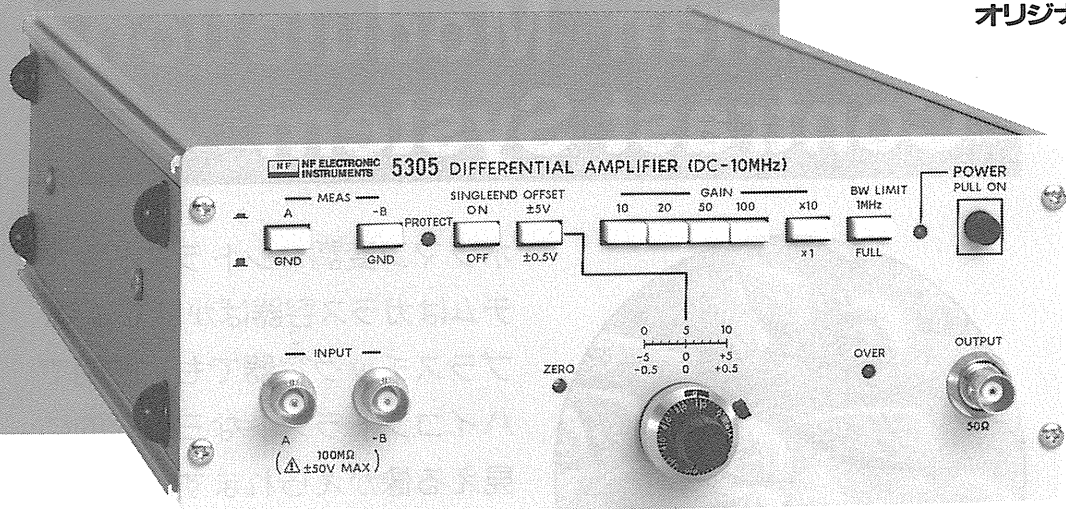
〒444 愛知県岡崎市羽根東町2丁目8番地の5 福樹ビル

TEL (0564) 54-1231 番代表

FAX (0564) 54-3207 番

¥295,000

ユニーク&
オリジナル



満 足 帯 域

DC~10MHz

気軽に使える 5305 差動増幅器 プリアンプ。

DC~10MHz。5305差動増幅器は、手軽で、しかも広範な用途に活用していただける計測用プリアンプです。今までにない広帯域。しかも、最高1000倍の利得を確保しながら、 $4\text{nV}/\sqrt{\text{Hz}}$ の低雑音。コンパクトボディ、AC100V動作、手ごろな価格……さまざまな計測信号の増幅に、最適の一台です。

- 広帯域 DC~10MHz
- 高利得 10~1000倍
- 差動入力 (片線接地も可能)
- 高CMRR 120dB以上
- 高コモンモード電圧 $\pm 10\text{V}$
- 低雑音 $4\text{nV}/\sqrt{\text{Hz}}$ (typ. 1kHz)
- 良好なパルスレスポンス
- 入力プロテクション装備
- DCキャンセル回路内蔵

エヌエフ

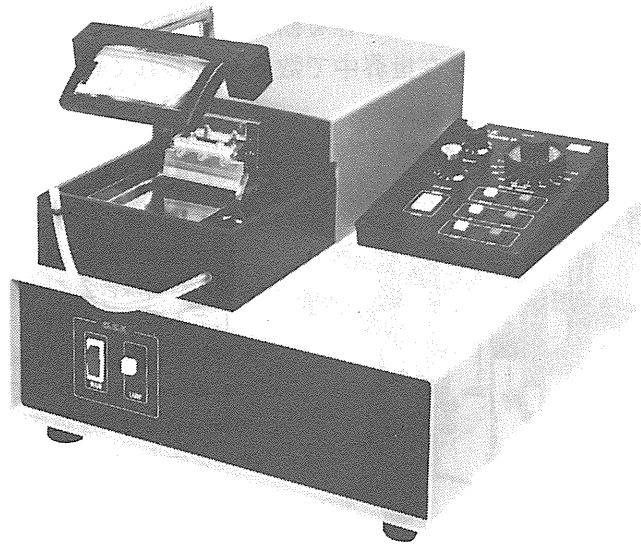
株式会社エヌエフ回路設計ブロック

本社・工場・横浜市港北区綱島東6-3-20 千223 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ミ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

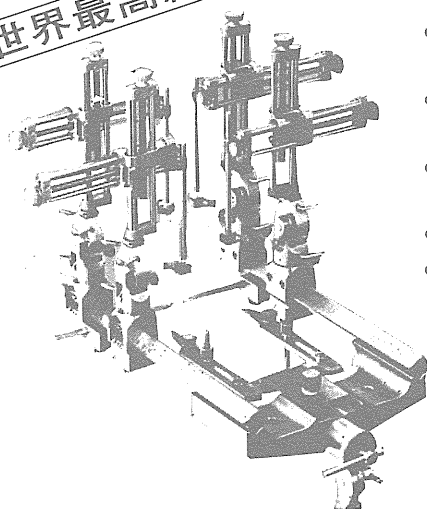
堂阪イーエム

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!!

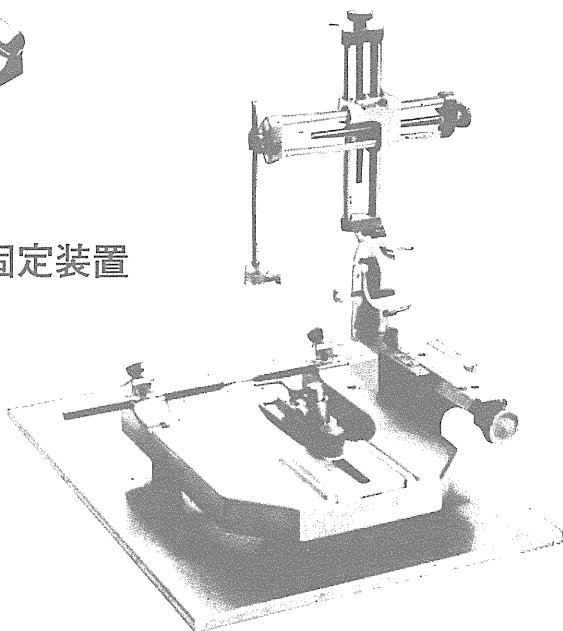


#1504 犬・猿用脳定位固定装置

- 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

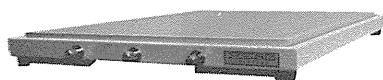
大阪：大阪市住吉区千鉢2-4-25
〒558 TEL 代表 (06) 674-2222番代
東京：東京都新宿区西新宿6-12-4(コイトビル)
〒160 TEL 代表 (03) 344-3901番



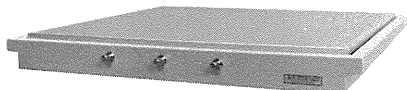
「最先端技術」に直結する 「ヘルツの防振システム」

HERZ「卓上型空気ばね式防振台」「大形空気ばね式防振台」「光学実験台・フラットベンチ」は、国立試験研究機関、大学及び民間各産業における基礎技術開発また、工場における品質管理・検査等、先進産業に大きく貢献しております。

研究室や工場検査室で簡便に使用できる「卓上型空気ばね式防振台」は、過去5年間で3,000台を上回る納入実績を誇っており、また「大形空気ばね式防振台」に使用される「光学ベンチ」は、社内生産をしているため国内外で最大の「10m×2m」までの面積まで製作しております。



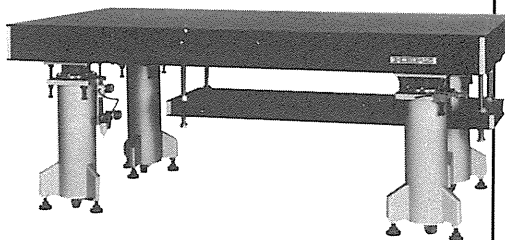
●卓上型空気ばね式防振台 ST-45



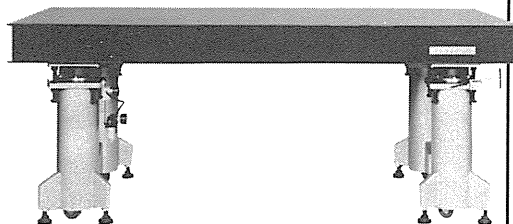
●卓上型空気ばね式防振台 ST-65



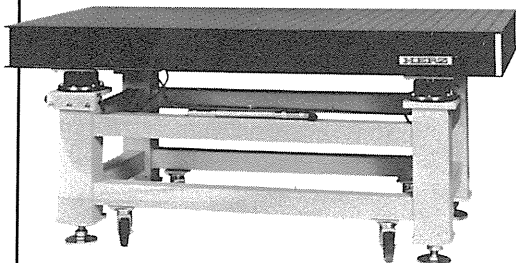
●卓上型空気ばね式防振台 LHA-300



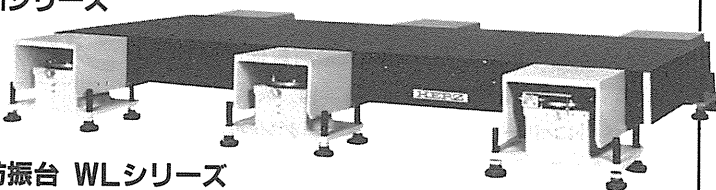
ダンピングフリー（固有振動数コントロール付）
●大形空気ばね式防振台 DFBシリーズ



ダンピングフリー（固有振動数コントロール付）
●大形空気ばね式防振台 DFシリーズ



●大形空気ばね式防振台 LA・LMシリーズ



大重量機器搭載用
●大形空気ばね式防振台 WLシリーズ

「空気ばね式防振台」「フラットベンチ」のカタログご請求、お問い合わせは営業部宛ご連絡下さい。

ヘルツ工業株式会社

営業部 〒252 神奈川県藤沢市遠藤1739-1番地
TEL. 0466(88)1301

FAX. 0466(88)3273

本社 〒252 神奈川県藤沢市遠藤1980番地
工場 TEL. 0466(88)3311

936μS

スピードが、グラフィックが、
生体信号処理をかえた。

+5
+4
+3
+2
+1
0
-1
-2
-3
-4
-5

NCY (-)
STEP MAP:6L



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)

イメージングリサーチ社製

新製品

Muromachi

定量的オートラジオグラフィーシステム MCID型

Image Analysis for Bioscience

本システム(MCID型)は、近年、脳神経科学分野における画像診断の基礎的研究法として、極めて適切な手法となったオートラジオグラフィー法による脳組織代謝・循環の測定、レセプタバインディング等を、定量的に計測するために開発されたシステムです。

本システム(MCID型)は、画像制御用コンピュータユニット、画像処理用イメージングボード、画像表示ユニット、画像入力用CCDカメラ、デスクトップ型イルミネータ、データ・プリンタ、画像カラーハードコピーカメラ等の最新の高性能ハードウェア部と、現在、脳神経科学分野において最も必要とされている解析プログラムを内容とした システム・プログラム(BRS2MS-DOS版) から構成され、まさに脳神経科学者が待望したシステムといえるでしょう。

オートラジオグラフィーによる

- Regional cerebral blood flow
 - Local cerebral glucose utilization
 - Local cerebral protein synthesis
 - Receptor binding
- の定量に!!



カタログ・資料、及び商品デモについては、ご一報下さい。

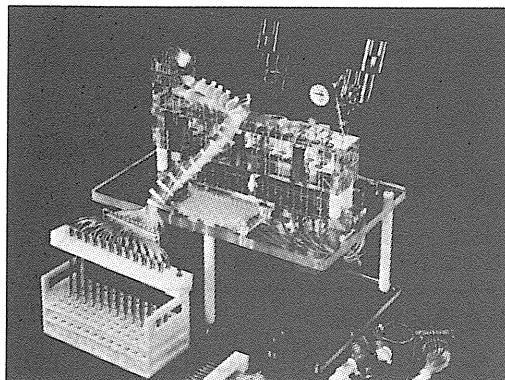
日本総代理店 **室町機械株式会社** 〒103 東京都中央区日本橋室町4-2-1大辻ビル ☎03(241)2444(代)
 〒541 大阪市東区道修町3丁目17 高原ビル ☎06(229)8260(代)

新発売

BRANDEL

あのブランデルがついに日本にやって来た!

レセプタ・バインディング・アッセイ用 セルハーベスタ



本装置は、セル・ハーベスタのトップメーカーである米国ブランデル社が開発したレセプタ・バインディング・アッセイ用のハーベスタであり、世界中で愛用されています。

■主な特長

- 時間と労力を大幅に節約できます。
- 一度に12本(M-12R)、24本(M-24R)又は48本(M-48R)のサンプルを均一にフィルトレーションできます。
- 試験管(10mm-16mm O.D.)で使用できます。
- オプションのHot-Cold Valveを使用することにより、放射性廃棄物を集めることができます。

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

日本総代理店

Muromachi

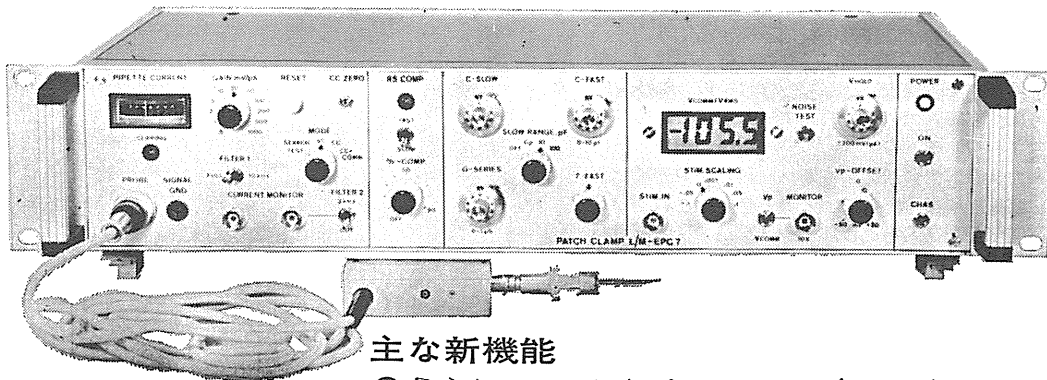
室町機械株式会社

本社 〒103 東京都中央区日本橋室町4丁目2番1号 TEL 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 TEL 06-229-8260

新製品 F.J.Sigworth・E. Neherのオリジナル

西独リスト社

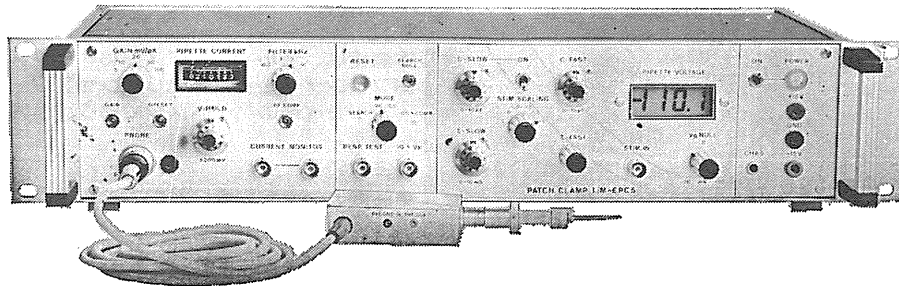
パッチクランプシステム EPC-7



主な新機能

- さらにローノイズ 0.05PA(RMS) 1 KHz
 0.30PA(RMS) 10KHz
- 2レンジ切替 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

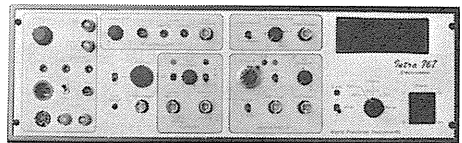
■微小電極用増幅器

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

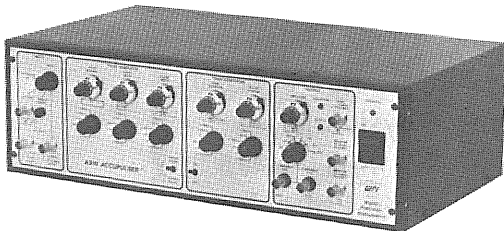
Intra 767



- 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

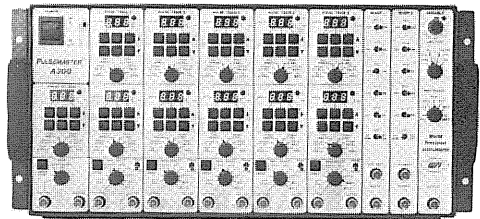
■刺激装置

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

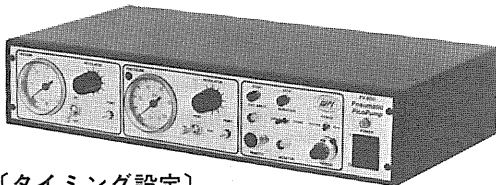
Pulse Master A300



- 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

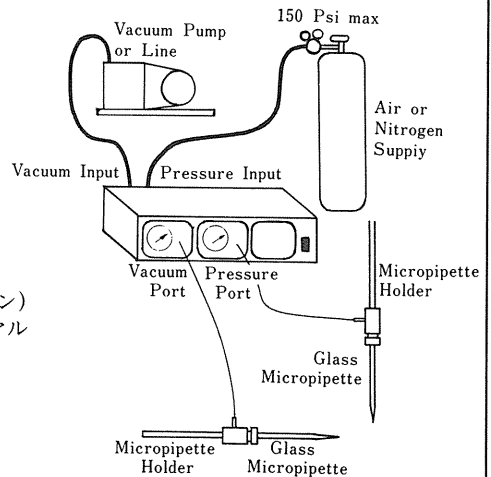
■細胞内/細胞外用マイクロインジェクション 気圧式ピコポンプ

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 大阪府淀川区中島5-7-17 (ビップ第2 新大阪ビル10F) ☎06(308)5732



AMERICAN PHYSIOLOGICAL SOCIETY

アメリカ生理学会学術誌

アメリカ生理学会は、約 100 年の歴史を誇る世界的に権威ある学会であります。

生理学の研究の進歩、発展の中で常に研究業績の最先端を追求し、数多くの由緒ある学術雑誌を発行しております。これらの雑誌も 100 年の節目を迎え新しい飛躍が期待されます。

American Journal of Physiology-Consolidated

月刊 ¥174,900

*AJP-Heart and Circulatory Physiology

月刊 ¥49,500

*AJP-Renal, Fluid and Electrolyte Physiology

月刊 ¥42,900

*AJP-Endocrinology and Metabolism

月刊 ¥35,200

*AJP-Gastrointestinal and Liver Physiology

月刊 ¥36,300

*AJP-Cell Physiology

月刊 ¥33,000

*AJP-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology

月刊 ¥39,500

Journal of Applied Physiology

月刊 ¥86,900

Physiological Reviews

季刊 ¥36,300

Journal of Neurophysiology

月刊 ¥64,900

The Physiologist

隔月刊 ¥7,700

*印は航空貨物（エアカーゴ）で送られます。

■1988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。

■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>

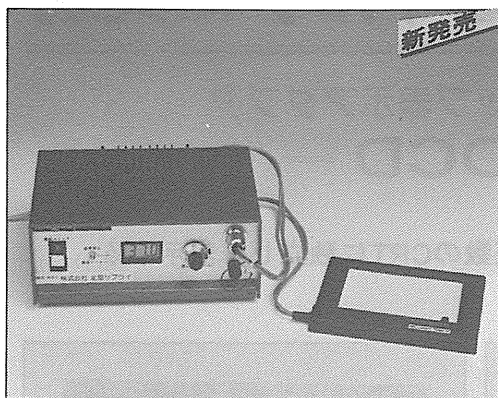
ユサコ株式会社

本社 〒105 東京都港区新橋1丁目13番12号 堤ビル ☎(03)502-6473

営業所：大阪・名古屋・筑波

-USACO®

至適温度で生体組織の顕微鏡観察が容易。



新発売

顕微鏡用透明加温板

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 DC-MP10DM

特許出願中

【特徴】

- フィードバック方式による精密温度コントロール。
- 徹底的なシールドによる電氣的ノイズカット。

【用途】

- 各種細胞の定温培養状態の観察や電位測定。
- 精子の活力検査や受精卵培養状態の至適温度下での観察。
- 生体組織に対する薬理作用の観察。
- 小動物(マウス、ラット)の生体電流測定。

◎保温カバーケース(CO₂混合ガス導入口付):オプション

- 温度設定 室温~50°C(±0.2°C at 37°C)
- 温度表示 デジタル(1/10°C)
- 加温板寸法 DC-MP10DM/84×106mm(厚サ1mm)

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。

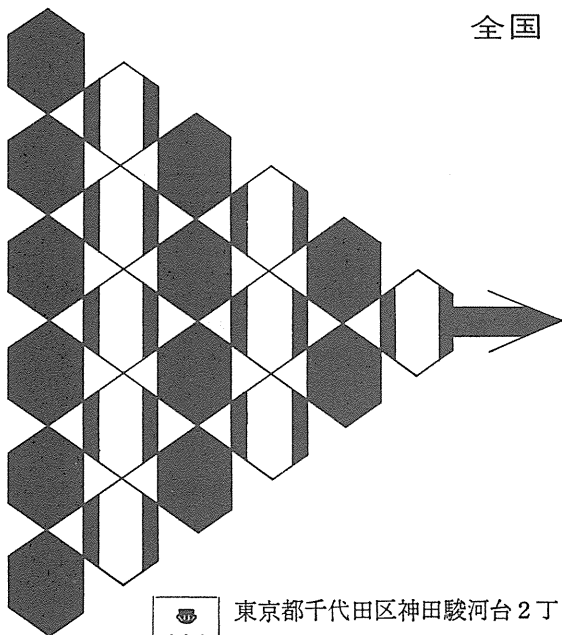
●ご注文は貴研究室のお取引業者を通し、お申込みください。●ご不明な点は本社営業部にお問合せください。
●仕様変更等の試作品のお問い合わせやお申込みは営業部宛にご相談ください。

KITAZATO

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

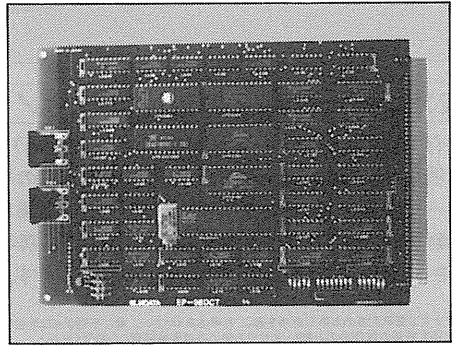
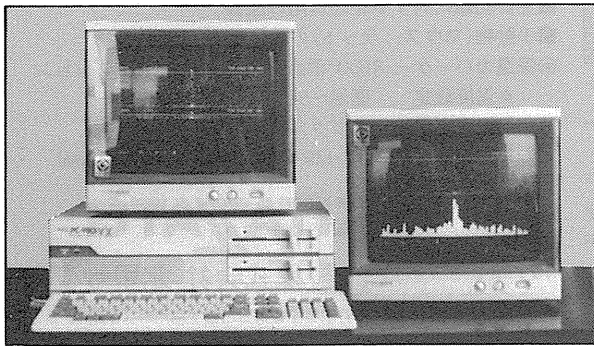
電話 (292) 6961 (代表)

日本医学広告社

独立した画面表示をマルチに実現

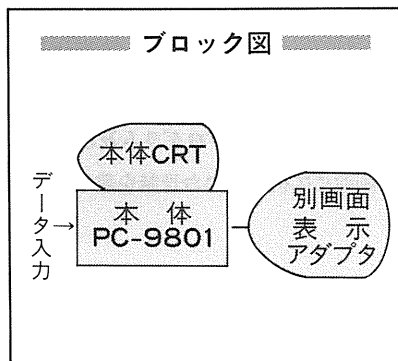
PC-9801用ビットマップ表示アダプタ — EP98-DCD —

筋電図・生体観測等の医用データを複数のCRTに独立して表示することができます。



ビットマップ表示アダプタ (EP98-DCD) は、NECパーソナルコンピュータPC-9801シリーズの拡張スロットに装着して使用するもので、本体画面の他に別のCRTを接続し、複数の画面表示を同時に行なうことができます。

従来、高価な専用機で行っていた医用データの複数同時表示が安価なパソコンで実現。画素数も1,120×750ドットと高分解能。計測データの比較・解析が鮮明な画面上で容易に行えます。計測データの高速取込には、弊社PC-9801シリーズ用の豊富なエクステンションカードの中からお選び下さい。



■ 仕様 ■

① 表示ドット容量	1,120×750ドット
② 適用ディスプレイ	モノクロディスプレイ及びアナログRGB16色表示
③ 表示機能	1ドット毎の表示機能 図形描画機能 塗りつぶし機能 拡大/縮小機能 任意回転機能
④ 記憶画面数	4画面

● ビットマップ表示仕様以外に、テキスト表示仕様のアダプタもございます。(EP-98DCT)

※ソフトウェア・ハードウェアの製作もうけたまわっております。



株式会社 エルム データ

インフォメーションセンター

TEL. (03)706-6860

〒156 東京都世田谷区経堂5丁目23番8号 蔵王MS2F FAX.(03)706-6859

さらに機能充実

メモリオシロスコープ VC-11

■大型7インチCRT

大きくて明るく鮮明な単ガンCRTの採用で見やすさ抜群。

■A/D変換10ビット

分解能の向上により忠実な波形が再現できます。

■専用オプション群でグレードアップ可能

- ・反応加算、ヒストグラム解析装置：アベレージ(4ch)、ヒストグラム(1ch)
- ・ディスクメモリ装置：記憶容量(100画面 3.5インチフロッピー)
- ・データ収録用インターフェイス

■4チャンネルメモリ内蔵

4チャンネル同時に記憶可能。
(2チャンネル時1024ワード、4チャンネル時512ワード)

■4波形セーブ可能(1チャンネル)

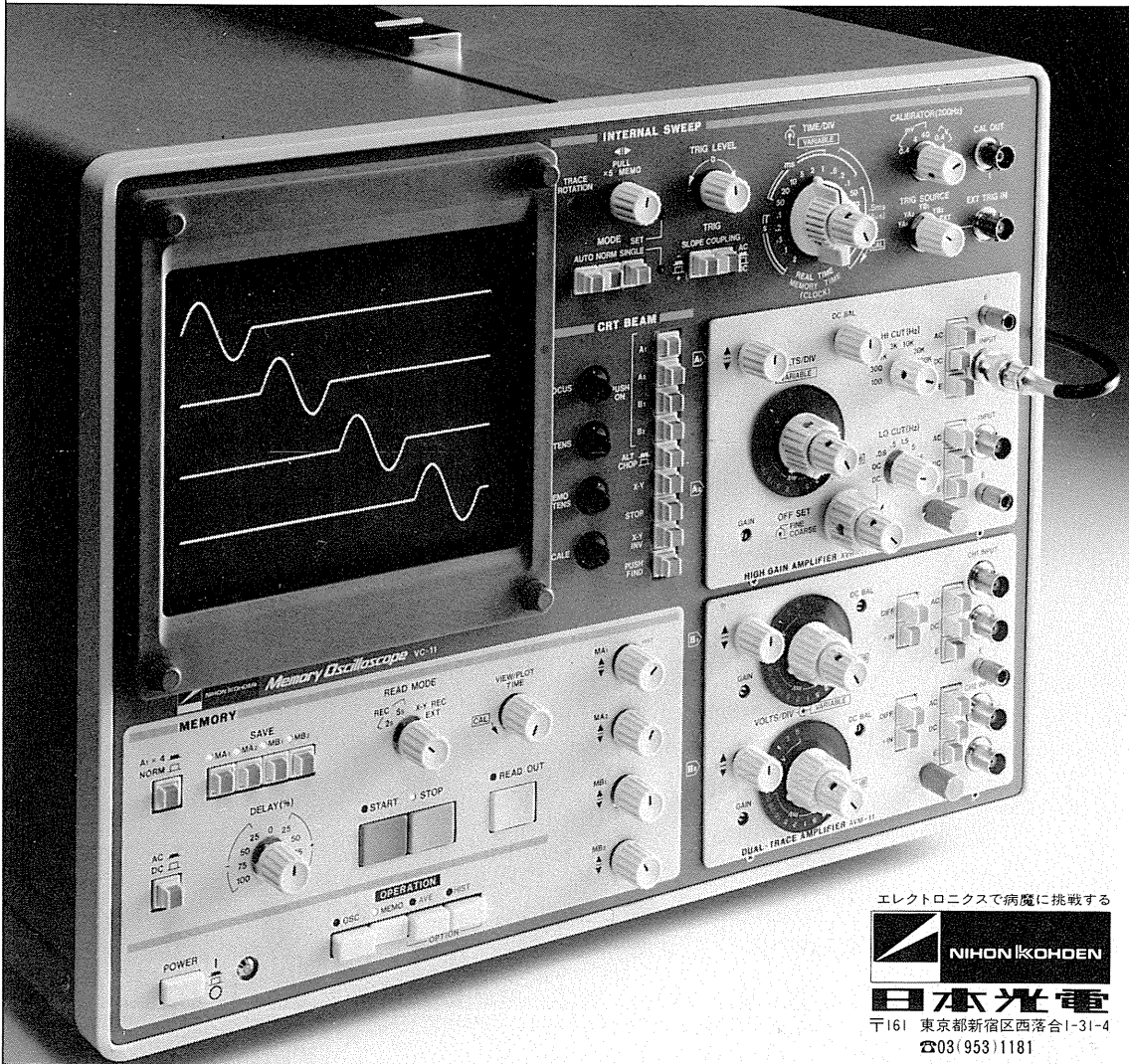
異なる条件下での波形の相互比較が容易にできます。

■メモリ読み出し時のX軸拡大可能(×5)

波形の細部を拡大して観測することができます。

■パソコン用インターフェイス内蔵

パラレルインターフェイスを内蔵。オプションでRS-232Cも用意。



エレクトロニクスで病魔に挑戦する



日本光電

〒161 東京都新宿区西落合1-31-4

☎03(953)1181

J. Physiol. Soc. Japan Vol. 50, No. 2 (1988)

Review

SOGAMI, M., ERA, S. and WATARI, H.: ¹H-NMR Studies on the water
 Structure in Biological System.....53

昭和六十三年一月二十日印刷

編集兼
 発行人

酒井敏夫

東京都文京区本郷三丁目一〇
 布池ビル(四階)
 日本生理学会

印刷者
 印刷所

山形県鶴岡市山王町一四一四
 三浦経夫
 鶴岡印刷株式会社

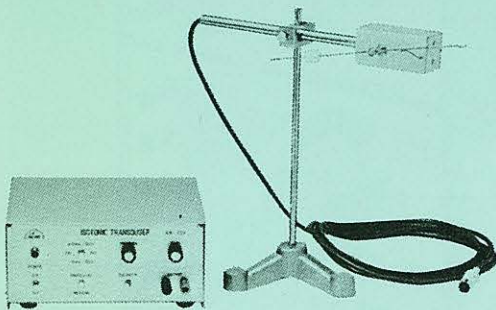
発行所

〒一三
 東京都文京区本郷三丁目一〇
 布池ビル(四階)
 日本生理学会

定振替
 電話
 価東八
 京三一
 七五
 八六一
 百四二
 三〇四
 円

KN-259 生体用変位計 PAT.P

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



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

理化学器械・基礎医学器械・実験動物飼育機械器具・薬学研究器械・医科器械一般

株式会社 夏目製作所

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