

日本

生理学

雑誌

JOURNAL OF THE PHYSIOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

52巻 2号 1990

原 著

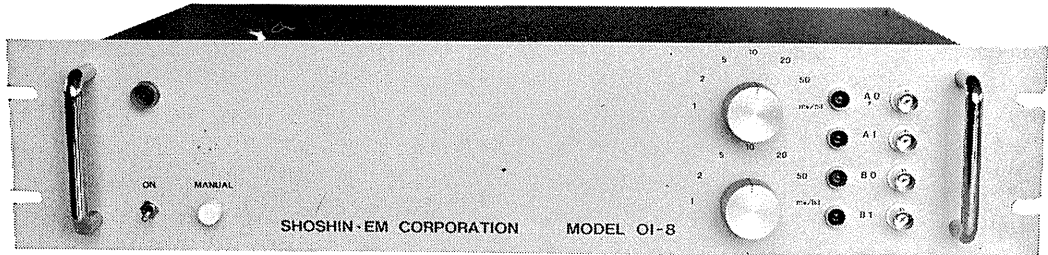
- 立石憲彦：微小血管における赤血球からの酸素放出速度の測定 ——装置の開発とラット腸間膜での測定——.....23
- 鈴木洋司：赤血球の代謝とレオロジーに関する研究 ——有機リン化合物の赤血球変形能に及ぼす影響——.....36
- 鈴木 實，七條喜一郎，竹内 崇：モルモットにおける視覚誘発電位の研究.....47
- 学会抄録 第22回東北生理学談話会.....54
- 会 報 日本生理学会平成元年度第2回常任幹事会議事録.....63
- お知らせ 「第6回初代培養肝細胞研究会」お知らせ64

日本生理誌
J. Physiol. Soc. Japan

日本生理学会

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

〒444-02 岡崎市赤浜町蔵西1-14

TEL. (0564) 54-1231 代表

FAX. (0564) 54-3207

微小血管における赤血球からの酸素放出速度の測定 —装置の開発とラット腸間膜での測定—

立石 憲彦
(愛媛大学医学部第二生理学教室)

Determination of the rate of oxygen release from flowing erythrocytes in a microvessel—Development of an apparatus and the application to microvessels of rat mesentery.—

Norihiko TATEISHI (Department of Physiology, School of Medicine, Ehime University, Ehime 791-02 Japan)

An apparatus for determining the rate of oxygen release from flowing erythrocytes in microvessel was developed by attaching the following units to an inverted microscope.

1) A scanning spectrophotometer, equipped with a grating and a photon counter, was connected with a narrow light-guide, as to obtain the absorption spectrum (wave length range : 450~650 nm) of a focused spot (of 5 μ m diameter), and then to calculate hemoglobin concentration and the oxygen saturation.

2) To measure the velocity of erythrocyte flow by dual-spots cross-correlation method, two photomultipliers (joined to an analog-digital converter and a personal-computer) were connected to the microscope with two light-guides.

3) An image-processor was used to estimate the diameter of vessel from the digitized video-images.

The performance of the apparatus was examined with hemoglobin solution and erythrocyte suspension (by flowing through rectangular capillary tubes). The apparatus was applied for microvessels of rat mesentery to determine the rate of oxygen release from flowing erythrocytes. The rate was maximum in capillaries, and the rate in microvessels of arterial side was greater than that in microvessels of venous side ones.

key words : absorption spectrum, capillary, erythrocyte, hemoglobin, oxygen release

I. はじめに

微小循環領域における物質移動の研究はその方法が確立していないこともあり、研究は遅れている。微小血管を顕微鏡で観察し、その血流や血球の動きを観察することは可能であるが、定量的な測定には難しい面が多い。

酸素に関して考えると、組織酸素圧や血流・血管の状態に応じて、血管から組織への酸素放出の状態がいかに変化しているかをとらえることは、組織における代謝動態を解明する上で重要な意味を持っている。血管内から組織への酸素移動についてはすでに70年前に Krogh¹²⁾により理論的解析がおこなわれ、その後もいくつかの理論的解析がおこなわれているが^{19,32)}、組

織内や血管内の酸素圧の測定が難しいことからこの面での実験的研究は遅れている。

組織酸素圧を測定する手段として、ミオグロビンやチトクロームなどの吸収スペクトル変化から間接的に求める方法^{22,26)}や近赤外線を使う方法^{3,8)}が試みられている。これは血管と組織と間の酸素移動の実験としては有意義ではあるが、組織全体の平均的な現象をとらえているにすぎない。

一方、微小血管内血流から直接酸素飽和度を測定する試みはある。しかし、微小電極を用いる方法^{4,6,11,31)}では組織に対する侵襲がある。3つの波長の吸光度を用いてヘモグロビンの酸素化率を測定する方法^{5,9,13,18,20,25)}もあるが、酸素放出を起こすような微小血管、毛細血管については成功していない。また、2波長で毛細血管を流れる赤血球の酸素化率が測定されている

が⁷⁾、酸素放出量を求めるに到っていない。

組織に対して酸素供給をおこなっている毛細血管内血液の酸素化率の変化を *in vivo* でとらえるために、顕微鏡と高感度の自記分光光度計をライトガイドで直結し顕微鏡下の微小スポット(直径 $5\ \mu\text{m}$)の光吸収スペクトルを記録する装置を開発し^{23,24,27,28)}、これを利用して微小血管内を流れる赤血球内ヘモグロビンの吸収スペクトルを記録することに成功した。また、2本1組のライトガイドと光電子増幅管を顕微鏡に接続することにより2点相互相関法を用いることで、赤血球の流動速度を求めることもできた。

本論文では次の5つについて報告する。(1)生体毛細血管内血流のヘモグロビン量および酸素化率の測定をおこなうために、顕微鏡下の微小スポットの光吸収スペクトルを測定することができる新しいスペクトル解析装置を開発し、(2)この装置を用いて、毛細血管内を流動する赤血球の吸収スペクトルを測定し、(3)また、血管上の微小2点間で得られる光透過量変化の時間的ずれから血流速度を求め、(4)ラットの腸間膜を用いて微小血管から組織への酸素放出速度を測定した。(5)さらに、計算機実験をおこない今回開発した測定・方法の妥当性について検討

した。

II. 実験方法と材料

A. 実験装置

Fig. 1 に、測定装置の構成図を示す。装置は1. 倒立顕微鏡、2. 吸収スペクトル測定装置、3. 血球速度測定装置、および4. 画像記録処理装置で構成されている。

1. 倒立顕微鏡

倒立顕微鏡(IMT-2, オリンパス:東京)の光源には高輝度ハロゲン灯(HALO STAR, 12V, 50W, OSRAM:西ドイツ)を用い、その電源には測定光の変動を少なくするために安定化電源装置(NLO 18-10, 高砂:東京)を用いた。対物レンズには倍率が40倍の超長焦点レンズ(ULWD CDPlan 40 PL, オリンパス:東京)を用い、顕微鏡本体内レンズの中間倍率を1.5倍として観察をおこなった。

2. 吸収スペクトル解析装置

吸収スペクトル解析装置は回折格子・フォトンカウンター(USP-410, ユニソク:大阪)およびパーソナルコンピュータ(PC-9801 VM 2, 日本電気:東京)で構成されている。顕微鏡の片側接眼レンズのかわりに光ファイバー(直径 $400\ \mu\text{m}$)を接続し、試料を透過した光のうち顕

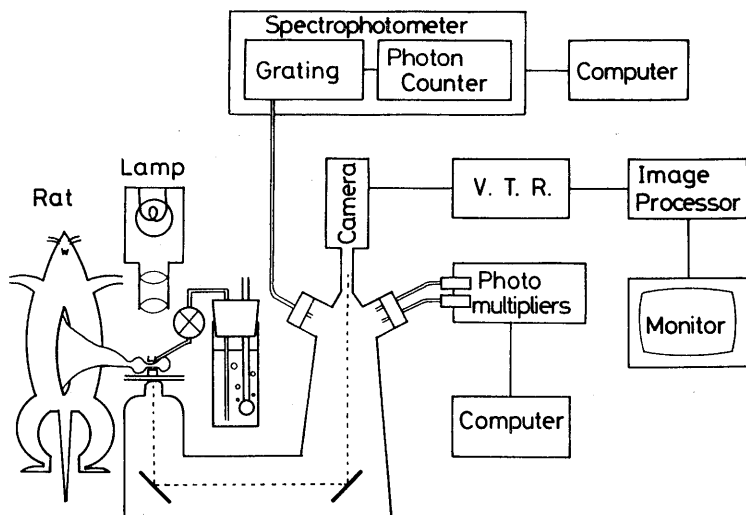


Fig. 1. Schematic diagram of apparatus.

微鏡視野の中心部(直径約 $5\ \mu\text{m}$ の範囲)の光を回折格子へと導く。回折格子の動きはパーソナルコンピュータで制御されており、連続して分光をおこなう。本実験では $500\sim 600\ \text{nm}$ の範囲(本装置での測定可能範囲, $350\sim 750\ \text{nm}$)を250等分して各波長(最小分光単位 $0.4\ \text{nm}$)での入射光子数を計測した。計測には約60秒を要する。分光された単色光の光子数を一定時間ごとにフォトンカウンターで計数し、パーソナルコンピュータで計算・記録・表示をおこなう。回折格子・フォトンカウンターとパーソナルコンピュータはパラレルインターフェース(PIO-16/16 T(98), コンテック:東京)を介して接続されている。

3. 血球速度測定装置

倒立顕微鏡の接眼レンズの他側にライトガイドの束を接続する。ライトガイドの直径は $200\ \mu\text{m}$ で、全長 $5\ \text{mm}$ の間にはほぼ等間隔に10本が配列されている。顕微鏡の三眼目に接続したビデオカメラ(DXC-101, SONY:東京)からのモニター画面を見て10本のうち2本を選択し、顕微鏡の観察野からの光を別々の光電子増幅管に導く。1本のライトガイドは直径約 $3\ \mu\text{m}$ の範囲の光子を採取する。2本のライトガイドの間隔は通常は $5\ \mu\text{m}$ とした。

光電子増幅管の出力は高速 A/D コンバーター(ADM-1198 BPC, マイクロサイエンス:東京; メモリー, $64\ \text{kbytes}$; 変換速度, $10\ \mu\text{秒/データ}$)を介してパーソナルコンピュータ(PC-9801 VM 2, 日本電気:東京)へと送られる。血管上に設けられた2つの微小スポット透過光量の変化の時間的なずれを相互相関法により求め、血流速度を計算した³⁰⁾。

4. 画像記録処理装置

顕微鏡にはビデオカメラ・ビデオテープレコーダ(SL-HF 705, SONY:東京)・イメージプロセッサ(PIP-4000, ADS(株):大阪)を接続し、ビデオモニター(PVM-1371 Q, SONY:東京)で観察画像を表示した。顕微鏡の観察野のモニター画面を見て、測定部位を設定し、また、静止画像を用いて血管内径などの形態学的計測を

おこなった。

5. データの解析

計算機実験にはパーソナルコンピュータ(PC-9801 VM 2, 日本電気:東京)と大型コンピュータ(愛媛大学情報処理センター, FACOM M-360 AP, 富士通:東京)を用いた。

B. 実験材料

1. 赤血球浮遊液とヘモグロビン溶液

健康人の肘静脈から $10\ \text{ml}$ 採血し、約 $50\ \text{mg}$ のヘパリンで凝固を防止した。遠心機(05 PR-22, 日立:東京)で赤血球を沈澱($3,000\ \text{rpm} \cdot 10\ \text{分}$)させ、血漿と白血球層を除いた。等張のリン酸緩衝食塩水($\text{NaCl}\ 99.4\ \text{mM}$, $\text{Na}_2\text{HPO}_4\ 37.8\ \text{mM}$, $\text{NaH}_2\text{PO}_4\ 7.2\ \text{mM}$, $\text{KCl}\ 5.0\ \text{mM}$, $\text{D-glucose}\ 5.5\ \text{mM}$, $\text{pH}\ 7.4$)を赤血球の3倍量加えて攪拌後、遠心($3,000\ \text{rpm} \cdot 10\ \text{分}$)し上清を除いた。この操作を3回繰り返し、赤血球を洗浄した。洗浄赤血球をリン酸緩衝食塩水で希釈して濃度を調整し、赤血球浮遊液として測定に用いた。

また、得られた洗浄赤血球に3倍量の蒸留水を加えて溶血させ、高速遠心機(45-CFS, 佐久間製作所(株):東京)で遠心($15,000\ \text{rpm} \cdot 20\ \text{分}$)して上清のヘモグロビン溶液を得た。

2. ラット腸間膜血管内血流

ラット(Wister系, 雄性, $6\sim 9$ 週令, $180\sim 250\ \text{g}$)腹腔内にペントバルビタール($0.05\ \text{mg/g}$ 体重)を注射し麻酔を施したのち腹部を剃毛し、約 $2\ \text{cm}$ 正中切開した(なお、追加麻酔にはエーテルを用いた)。切開部から腸間膜を体外に露出させた。

ラットの腸間膜を顕微鏡で観察するためにラット固定台を自作し、これを倒立顕微鏡のステージに固定した。ラットをアクリル板2枚を張り合わせた恒温プレート上に置き、プレートの間に温水を循環させて体温を維持した。また、ラットの直腸に熱電対を挿入し、常時体温をモニター(サーモダックII, 江藤電気(株):東京)した。腸間膜を固定台の中央に設けた透明円筒(直径 $10\ \text{mm}$, 高さ $5\ \text{mm}$)上に置き、上部の透明円板との間に挟み込むように固定した。透明

円板と透明円筒の間隙に加温したリン酸緩衝化食塩水を流して腸間膜表面を灌流できるよう工夫した。

固定された腸間膜部分の中の適当な微小血管を選び、その血管内の血流について光吸収スペクトル測定をおこなった。測定に際して、腸間膜表面を灌流するリン酸緩衝化食塩水の酸素濃度を変えることで腸間膜血管周辺組織の酸素分圧を変え、血液からの酸素放出を調べた。

Ⅲ. 結 果

A. 吸収スペクトル装置の実用性

スペクトル測定装置で得られる情報は、試料を透過した各波長毎の単位時間当りの光子数である。波長 λ における対照の透過光子数を I_0 、試料の透過光子数を I_1 とすると、吸光度 OD_λ は次式で定義される。

$$OD_\lambda = \log_{10}(I_0/I_1) \dots\dots\dots ①$$

この波長毎の透過光子数を吸光度に換算し、吸収スペクトルを求めた。ヘモグロビン溶液を矩形毛細ガラス管(マイクロスライド, VITRO DYNAMICS: Rockaway, N. J.; 400 μm 厚)に満たし、顕微鏡下で測定した結果を Fig. 2a に示す。対照試料(リン酸緩衝化食塩水)の透過光子数は波長による差が大きい、これは光源の特性や顕微鏡およびライトガイドの光透過特性によるものである。吸収スペクトル (Fig. 2b) は分光光度計で得られたものと同じであった。

ヘモグロビン溶液の吸収スペクトルを波長 450~650 nm の範囲で測定したとき、ヘモグロビン濃度 [c] (mM) と光路長 [d] (cm) の積がおおよそ 0.001~0.15 $\text{cm}\cdot\text{mM}$ (0.065-10 $\text{mm}\cdot\text{g/dl}$) の範囲内であれば測定が可能であった。この範囲以下ではノイズのため測定が不可能であり、また、この範囲を越えたときは透過光量が測定限界以下となり測定ができなかった。なお、吸収スペクトルには多くのノイズが含まれているので、単純矩形数値フィルター²¹⁾(測定波長の前と後ろの各 n 点、計 2n+1 点の吸光度を平均する; n=3 が最も適当であった) を適用し、ノイズの影響を少なくした。

B. 光散乱の補正

血管内を流れる赤血球、および赤血球浮遊液の吸収スペクトルをとる場合にはヘモグロビンによる光吸収のほか粒子による光散乱が無視できない。したがって、光吸収と光散乱を分離する方法を確立する必要がある。

Pittman and Duling¹⁸⁾ によると波長 λ における吸光度 (OD_λ) はミリモル吸光係数 (ϵ_λ)・試料濃度 (c)・光路長 (d)・光散乱 (B_λ) から次のように表現できる。

$$OD_\lambda = \epsilon_\lambda \cdot [c \cdot d] + B_\lambda \dots\dots\dots ②$$

光散乱 (B_λ) は本来各波長毎に異なっているが、本装置では波長 400~700 nm の測定範囲内で著明な差を認めなかったため、一定 (B) とした。

ヘモグロビンの濃度 (c) と光散乱 (B) を求めるため、酸素化率に影響を受けない酸素化ヘモ

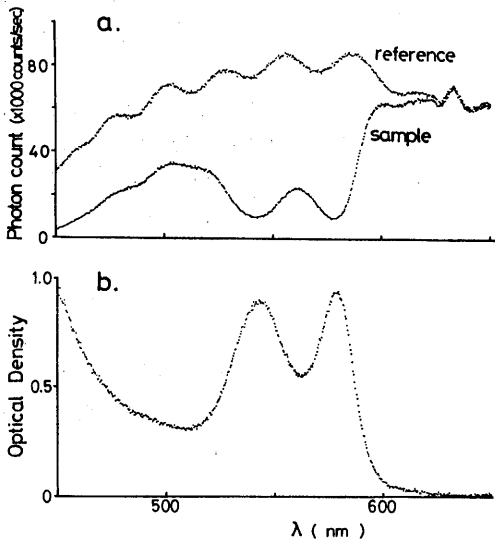


Fig. 2. Spectrum of hemoglobin solution obtained by photon counting.

a) Spectrum obtained by photon counting.

- reference (I_0) : isotonic sodium phosphate-buffered saline,
- sample (I_1) : hemoglobin solution (2.8g/dl),
- light path : 400 μm ,
- gate time : 200 msec.
- minimum grating : 0.4 nm

b) Visible absorption spectrum, obtained by $\log(I_0/I_1)$ from (a).

グロビンと脱酸素化ヘモグロビンの等吸収波長 (450~650 nm の範囲では 506.5 nm, 522 nm, 548 nm, 569 nm, 586 nm)²⁹⁾の吸光度を用いて計算した。すなわち、各波長のミリモル吸光係数 (ϵ_λ) に対して吸光度 (OD_λ) をプロットするとき、式②より勾配は $[c \cdot d]$ を与え、y 軸との切片は光散乱(B)を与える。

種々のヘマトクリットの赤血球浮遊液を光路長の異なる矩形毛細ガラス管 (50・100・200・300・400 μm 厚) に流して測定した。ヘマトクリット (Ht.) と測定値 $[c \cdot d]$ との関係を図 3a, $[c \cdot d]/\text{Ht.}$ と光路長との関係を Fig. 3b に示す。測定値 $[c \cdot d]$ は光の透過した部位(直径約 5 μm の範囲)のヘモグロビン量を示していることが明らかであった。

以上の結果は、今回用いた装置がヘモグロビン溶液のみならず赤血球浮遊液および血管内赤

血球の流れについても光散乱を算出し、差し引くことによって定量的に用いることができることを示している。

C. ヘモグロビンの酸素化率

上記のように求めた光散乱 B と吸収 $[c \cdot d]$ を用いて酸素化率を算出した。

試料の酸素化率を F ($0 \leq F \leq 1$) とすると、ある波長 λ における吸光度 (OD_λ) は酸素化ヘモグロビンのミリモル吸光係数 ($\epsilon_\lambda^{\text{oxy}}$) と脱酸素化ヘモグロビンのミリモル吸光係数 ($\epsilon_\lambda^{\text{deoxy}}$) を用いて²⁹⁾、次のように表される。

$$OD_\lambda = \{\epsilon_\lambda^{\text{oxy}}F + \epsilon_\lambda^{\text{deoxy}}(1-F)\} \cdot [c \cdot d] + B \dots\dots\dots ③$$

これを書き直すと

$$F = \frac{OD_\lambda - B - \epsilon_\lambda^{\text{deoxy}}[c \cdot d]}{(\epsilon_\lambda^{\text{oxy}} - \epsilon_\lambda^{\text{deoxy}})[c \cdot d]} \dots\dots\dots ④$$

精度を高めるため、500~600 nm の間の 6 波

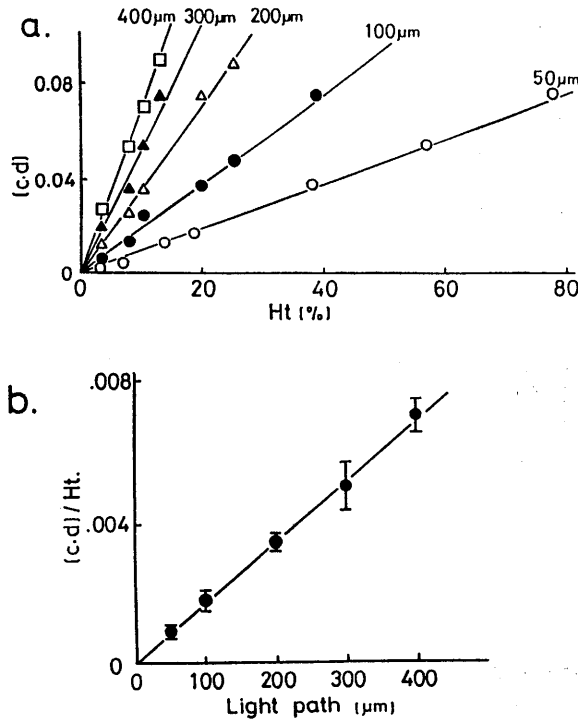


Fig. 3. a) Relation between hematocrit of erythrocyte suspension and $[c \cdot d]$. Measured at the wave length of 450~650 nm. c, hemoglobin concentration (mM); d, length of light path(cm). d was 50 μm (○), 100 μm (●), 200 μm (△), 300 μm (▲)and 400 μm (□). b) Relation between length of light path and $[c \cdot d]/\text{Ht.}$, $[cd]/\text{Ht.}$ (cm \cdot mM/%) is slope in (a).

長 (540, 542, 555, 560, 577, 580 nm) においてそれぞれ酸素化率を求め、その平均を試料の酸素化率 (F) とした。

酸素化率を変えたヘモグロビン溶液を試料として、この測定装置と従来の分光光度計 (100-50形, 日立製作所製: 東京) を用いてヘモグロビンの酸素化率の測定をおこなったが、両者による測定値はよく一致していた (相関係数 $r=0.995$)。

D. 赤血球速度

微小血管内を流れる血液を血流速度測定装置で観察すると、画像の変化にしたがって、透過光強度が Fig. 4 に示すように変化する。上の曲線が上流側の透過光の時間変化、下図が $5 \mu\text{m}$ 下流側の変化である。両者のパターンはよく似ているが、下流側の曲線は上流側の曲線と比較して若干時間的に遅れている。この遅れを τ とし、2本の光ファイバーを設定した微小血管の

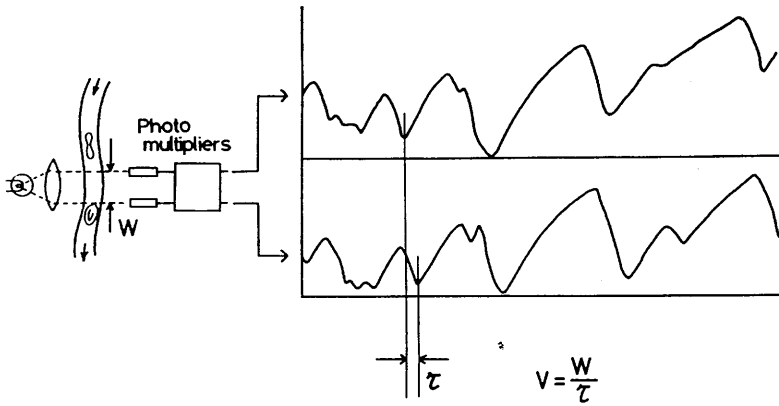


Fig. 4. Measurement of erythrocyte flow velocity.

Light intensity (in ordinate) is monitored at two separate points on a microvessel (with the distance between arrows, w). The change in lower figure (observed at down-stream) is delayed by τ in time from that in upper figure (observed at up-stream).

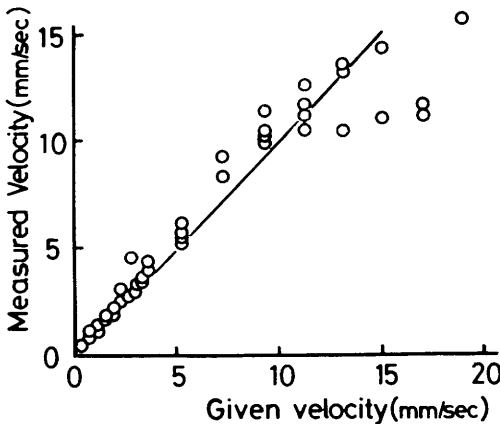


Fig. 5. Reliability of measurement of erythrocyte flow velocity.

Erythrocyte-smear plate was moved at known velocity (in abscissa) and the velocity (in ordinate) was measured as shown in Fig. 4. Solid line is an identity line.

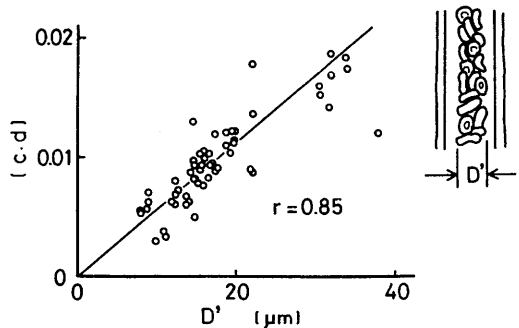


Fig. 6. Relation between the diameter of erythrocyte flow and $[c \cdot d]$.

Obtained at a gate time of 100 msec. Diameter of erythrocytes flow (D' ; μm) was measured for microvessels of rat mesentery.

上流点と下流点の間隔を w とすると速度(v)は

$$v = w / \tau \dots\dots\dots \textcircled{5}$$

となる。

このように速度 v を求めるためには τ を求めることが重要である。上流点と下流点の透過光強度変化について両者がもっとも一致する点を求めるために相互相関の計算をおこない、最

も相関の強くなる時間軸のずれを τ として求めた。

血流のモデルとして血液塗抹標本を顕微鏡ステージ上で一定速度で動かす、この測定装置でどの程度の速度まで測定可能かを調べた結果を Fig. 5 に示す。血流速度が 10 mm/sec 以下では測定値と標本移動の速度とは一致しているが、10 mm/sec を越えると、一致しなかった。 τ の値が小さくなり、誤差が大きくなるためと思われた。

E. ラット腸間膜血管内血流の観察と赤血球からの酸素放出

1. 赤血球径と赤血球量 (ヘモグロビン量) の関係

Fig. 6 はラット腸間膜血管における赤血球流の直径と測定値 $[c \cdot d]$ の関係を示したものである。1匹のラットについて観測血管を変えて測定をおこなった。横軸はこの右図に示すように、血管内の血漿層を除いた赤血球流の直径 D' である。 $[c \cdot d]$ は赤血球流の直径に比例している (相関係数 $r=0.85$)。この直線の傾きはヘモグロビン濃度 c を反映することから、中心赤血球流内の赤血球濃度すなわちヘマトクリット

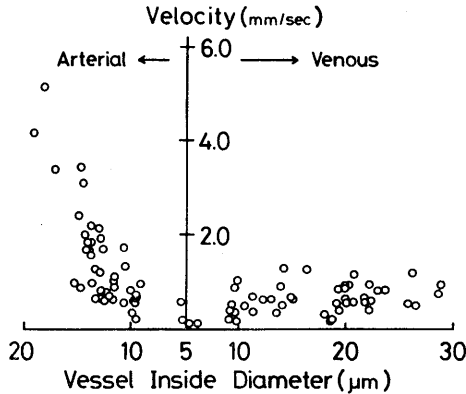


Fig. 7. Relation between the diameter of microvessels and the erythrocyte flow velocity in rat mesentery. Velocity in microvessels of different diameter is shown in arterial side (left) and in venous side (right).

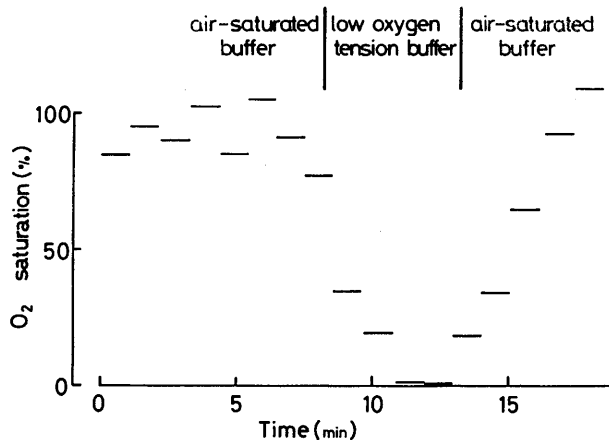


Fig. 8. Time course of deoxygenation and reoxygenation of flowing erythrocytes in a microvessel (diameter 17 μ m) of rat mesentery. Overperfused with air-bubbled isotonic sodium phosphate-buffered saline, and then deoxygenated with N_2 -bubbled isotonic sodium phosphate-buffered saline containing 20 mM Na-dithionite. Reoxygenated with air-bubbled saline. —: averaged value to oxygen saturation of erythrocytes(%) (the length of bar shows the time of obtain a spectrum).

は、ほぼ一定であることがわかる。

2. 血管直径と赤血球速度の関係

ラットの腸間膜の微小血管内血流の赤血球速度と、測定した血管の内径との関係を Fig. 7 に示す。中央の最小値(5 μm)の左側に動脈側、右側に静脈側を示した。動脈側は血管径が大きくなるにつれ赤血球速度も速くなっているが、静脈側では血管径が大きくなっても赤血球速度はあまり増加していないことがよくわかる。また、この測定結果はこれまでの報告^{14,17)}ともよく一致している。

3. 微小血管内赤血球の酸素化率の変化

Fig. 8 は血管周辺の酸素濃度を低下させるためにヒドロサルファイト(約 5mM; 脱酸素化剤)を含む緩衝液で腸間膜表面を灌流した時の、1本の血管(直径約 17 μm の静脈)内赤血球の酸素化率を経時的に観察したものである。灌流開始後約3分で、血管内を流れる血液の酸素化率が低下している。引き続き空気飽和の緩衝液を再灌流すると、酸素化率が元のレベルまで回復することが観察された。ヒドロサルファイトを含む緩衝液の灌流開始後の酸素化率の低下に比べ、再度空気飽和の緩衝液を灌流した時の酸素化の速度は遅くなっている。

ラットの腸間膜血管内を流れる血液の吸収スペクトルの変化をとらえた結果を Fig. 9 に示す。ヒドロサルファイト(約 20mM)を入れた緩衝液を腸間膜表面に灌流させながら、血液が約 1mm 流れる間の流入側と流出側の酸素化率を測定した。流入側の血管径は約 8 μm 、流出側の血管径は約 12 μm であった。血管周辺の酸素分圧を低下させることで、酸素放出が顕著に起こっていることが観察された。表面を脱酸素化剤を含む緩衝液で灌流するとき、この血管では 1mm の流路を流れている間に、酸素化率は 60% から 14% まで変化している。

F. 微小血管中での赤血球からの酸素放出速度

今回の装置により、血流速度 v 、血管直径 D 、血液の酸素飽和度 F が上流点と下流点でそれぞれ求めることができ、それにより、上流の測定点から下流の測定点にいたる間に血液がどの程度酸素を放出したかを計算することができる。対象となる微小血管は、測定点の間に枝分かれがなく他の血管の影響を受けることが少なく極端に太さや流速が変わらない血管を選んだ。上流点(v)と下流点(L)間の距離(L)はおおよそ 0.5~3mm の範囲である。測定結果から、血流量

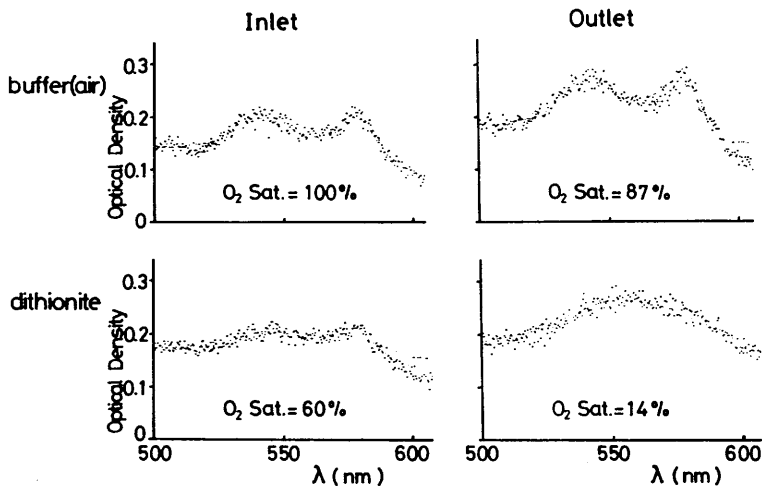


Fig. 9. Deoxygenation of flowing erythrocytes in a microvessel of rat mesentery. Absorption spectra were obtained at two points (1 mm apart from each other) of a vessel, inlet (8 μm in diameter) and outlet (12 μm in diameter). Overperfused with air saturated buffer (upper) and with N_2 -bubbled buffer containing 20 mM Na-dithionite (lower).

(Q)・血液通過時間(T)および酸素化率の変化(ΔF)を次の式に従って求め、酸素放出速度(R)を算出した(但し、血管内に血液の定常的な流れがあり、赤血球流速に比例した赤血球量の増加がみられたこと(Fig. 6)から、血管断面は円と仮定した)。

$$Q = \frac{\pi r_U^2 \times v_U + \pi r_L^2 \times v_L}{2} \quad (r_U = \frac{D_U}{2}, r_L = \frac{D_L}{2}) \dots\dots\dots ⑥$$

$$T = \frac{(\pi r_U^2 + \pi r_L^2) \times L}{Q} \dots\dots\dots ⑦$$

$$[Hb] = [c \cdot d] / D \dots\dots\dots ⑧$$

$$\Delta F = F_U - F_L \dots\dots\dots ⑨$$

$$R = \frac{\Delta F \cdot [Hb]}{T} \cdot \frac{1}{2\pi r_L} \quad (\bar{r} = \frac{r_U + r_L}{2}) \dots\dots\dots ⑩$$

酸素放出速度(R)は血管壁の単位表面積当り、単位時間当りの酸素モル濃度として表現した。

Fig. 10 に種々の血管径の微小血管で測定した酸素放出速度の結果を示す。直径が小さくなるにつれ急速に酸素放出速度が大きくなっているのがわかる。毛細血管は直径が小さいので酸素放出速度は速く、また、動脈側と静脈側を比較すると、直径が同じ程度であっても動脈側の方が放出速度が速い傾向にあった。直径が20 μm 以上の静脈側微小血管では酸素放出速度が10 $\text{mM} \cdot \text{sec}^{-1} \cdot \text{mm}^{-2}$ 未満で、酸素放出はほとん

ど認められなかった。Popel et al.²⁰⁾は直径23.5 μm 程度の細動脈からの酸素放出速度を測定して予想以上に速いと述べているが、私達の結果もそれを支持している。

IV. 考 察

A. 測定装置

血管内から組織への酸素移動について Krogh¹²⁾により理論的解析がおこなわれて以来、多くの研究がおこなわれている。特に、組織内や血管内の酸素圧の測定についてはいろいろな方法が試されてきた。組織単位での酸素消費量の測定には、ミオグロビンやチトクロームやヘモグロビンの吸収スペクトルの変化から組織酸素圧の推定をしたり^{23, 26)}、近赤外線を使って組織酸素圧を測定した報告^{3, 8)}がある。しかし、組織全体の酸素消費は測定できるが、平均的な酸素消費をとらえているにすぎず、微小血管の局部における酸素の移動については測定はできていない。

微小血管レベルでの測定は Whalen et al.³¹⁾が開発した微小酸素電極を使って、酸素消費について測定がおこなわれている^{4, 6, 11)}。しかし、この方法は組織に対して侵襲を与える。Pittman & Duling¹⁸⁾は顕微鏡観察像から3波長での吸光度を測定することで、微小血管内の血液の酸素飽和度の測定をおこなった。また、この測定装置を応用し、微小血管においても酸素放出の測定がおこなわれている^{5, 9, 13, 20, 25)}。しかし、この測定装置は測定する血管の直径が15 μm 以上必要であり、細動脈までは測定できるが毛細血管の酸素放出速度を直接測定することはできない。一方、Ellsworth⁷⁾は2波長で毛細血管を流れる赤血球数、赤血球速度ならびに酸素化率を測定している。しかし、血球が重なって流れるような血管での赤血球数の測定はできないため、酸素放出速度の測定可能な血管の直径は限られる。

今回開発した測定装置は新しい工夫により、1本の毛細血管の酸素放出速度が測定可能になった。測定装置の特徴は 1. 吸収スペクトルが

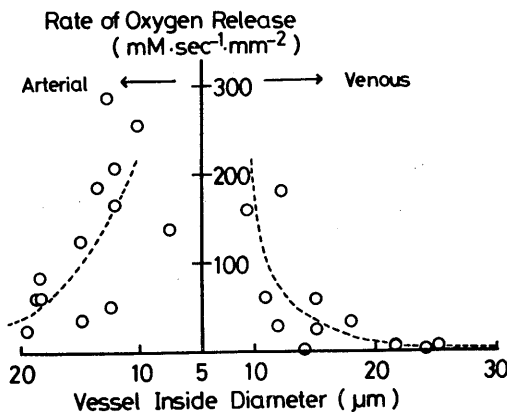


Fig. 10. Rate of oxygen release from flowing erythrocytes in microvessels of rat mesentery.

顕微鏡スポットから容易に得ることができること、2. 多くの波長の吸光度からヘモグロビン濃度と酸素化率の計算をおこなったこと、

3. 微小な範囲での血流速度の測定ができたこと、の3点があげられる。さらに、4. 測定結果と吸収スペクトルについて計算機シミュレーションをおこない、光散乱の波長依存性を無視できることを確認した(後述)。

1. 光フィルターによって目的とする波長の光を得るのではなく、コンピュータにより動きを制御した回折格子によって分光することで、顕微鏡で観察した試料の吸収スペクトルを連続した波長について描くことを可能にした。可視光を用いるため、光源も特殊なものはいりなく顕微鏡側に特別な改造を加えないので、血球速度や血管径の測定にも影響を与えないし、容易に測定部位が設定できる。回折格子で分光された光は非常に微弱なものであるが、高感度のフォトンカウンターを用い光子数を計数することで高精度の測定ができた。

2. 測定対象となる血管が細ければ細いほど測定値に対する誤差は大きくなる。Pittman & Duling¹⁸⁾の測定方法は、2つの酸素化—脱酸素化ヘモグロビンの等吸収波長と他の1つの波長の3波長の吸光度からヘモグロビンの濃度と酸素化率を求めている。そのため毛細血管内の赤血球のヘモグロビン濃度や酸素化率は測定できず、血管の直径が15 μm以上が必要であった⁹⁾。

本論文の測定装置の場合、濃度の測定のために5つの波長における吸光度を用いて計算をおこない、酸素化率の測定には6つの波長における吸光度を利用している。また、1つの波長の吸光度の値についても数値フィルターを適用することで前後計7波長の吸光度から計算しており、測定データを増して平均をとることにより測定誤差をできるだけ除去するように努めている。

これらにより、ヘモグロビン濃度と光路長の積が0.001~0.15 cm·mM (0.065-10 mm·g/dl)の範囲、これをヘマトクリットと光路長の積に換算するとおよそ0.15~4 mm%の範囲まで測

定可能となった。毛細血管では直径が7 μm以上、ヘマトクリットが20%以上であれば確実に測定可能である。

3. 微小血管内での赤血球の流速を求めるためには血管の微小区間での測定ができなければならない^{2,10,16,30)}。しかも、赤血球量も少ないので高感度である必要もある。本装置では2点光電法^{4,30)}を応用し、2点間の相互相関法を使って赤血球速度を求めた。高速のA/Dコンバータと高速で高感度の光電子増幅管を用いることで、微小区間(5 μm)においても10 mm/secまでの赤血球速度の測定が可能になった(Fig. 5)。

4. 吸光度からヘモグロビン濃度を求める際に、本装置では波長500~600 nmの測定範囲内で光散乱は一定とした。そこで、光散乱に波長依存性がないことを確認するために計算機実験を試みた、Loewinger¹⁵⁾によると赤血球の光吸収は次の式のように表わされる。

$$I/I_0 = 10^{-(\gamma_1 DH(1-H) + \gamma_2 DH + q\{1 - 10^{-\gamma_1 DH(1-H)}\} \cdot 10^{-\gamma_2 DH} \dots \textcircled{11})}$$

ただし、D: 光路長, H: ヘマトクリット, q: 散乱係数, γ_1 : 散乱係数, γ_2, γ_2' : Loewingerの係数(吸光係数に対応した波長依存性あり)である。

この式を変形すると、次の関係式が得られる。

$$OD_1 = \gamma_2 DH - \log_{10}\{10^{-\gamma_1 DH(1-H)} + q\{1 - 10^{-\gamma_1 DH(1-H)}\} \cdot 10^{-\gamma_2 DH}\} \dots \textcircled{12}$$

ただし、 $\Delta\gamma_2 = \gamma_2' - \gamma_2$ 。

ϵ_1 と γ_2 の比は一定($K_2 = \gamma_2 / \epsilon_1$)と見なせるので、②式と⑫式から次の連立方程式を導くことができる。

$$\begin{aligned} [c \cdot d] &= K_2 DH \dots \textcircled{13} \\ B_2 &= -\log_{10}\{10^{-\gamma_1 DH(1-H)} + q\{1 - 10^{-\gamma_1 DH(1-H)}\} \cdot 10^{-\gamma_2 DH}\} \dots \textcircled{14} \end{aligned}$$

ここで、光散乱Bに波長依存性がないとすると、⑭式において $\gamma_1, q, \Delta\gamma_2$ は波長にかかわらず一定でなければならない。

そこで、計算機実験によってパラメータを求

めた。

まず、赤血球浮遊液における実験結果 (Fig. 3a) から、光路長とヘマトクリットの関係に⑬式を適用し、最小自乗法を用いて、 K_2 の値を算出し、 $K_2=21.6$ を得た。この値は Fig. 3b の直線の傾きと一致する。次に、この K_2 を用いて他のパラメータを算出した。赤血球浮遊液における実験結果から 8 波長 (510 nm, 520 nm, 548 nm, 560 nm, 577 nm, 580 nm, 586 nm, 600 nm) の吸光度をもとに、⑫式を適用することで係数 γ_1 , q , $\Delta\gamma_2$ を求めた。この波長での酸素化ヘモグロビンのミリモル吸光係数はそれぞれ (4.76, 5.88, 12.46, 8.47, 15.37, 7.23, 13.73, 0.80)²⁰⁾ であり、0.8 から 15.4 まで散らばるように選んだ。計算機実験は⑫式にヘマトクリット (H) と光路長 (D) を代入し吸光度を計算する。計算で求めた吸光度と実測で得られた吸光度との差の自乗の和が、最も小さくなるように係数を決定した。それにより、 $\gamma_1=238$, $q=0.121$, $\Delta\gamma_2=-27$ を得た。

求めた係数に基づき実測した値と計算機実験により求めた値との対応を Fig. 11 に示す。赤血球浮遊液の 520 nm における吸光度とヘマトクリットの関係を示しているが、それぞれの光路長において計算結果が実測によく一致している。他の 7 つの波長においてもこの係数で、計

算結果と実測値はよく一致しており、500~600 nm の範囲においては光散乱に波長依存性がないという仮定を支持する結果を得た。

また、この係数の値は Anderson & Sekelj¹⁾ の報告の値とも近く、この測定装置が従来の分光器と同様に有効であることが確認できた。

B. ラット腸間膜微小血管血流の解析

Lipowsky ら¹⁴⁾ によれば微小血管領域では血管直径が小さくなるにつれ血液のヘマトクリットが低下してくる。しかし、私達の測定では Fig. 6 に示したように、赤血球流の領域のみの測定ではヘマトクリットはほぼ一定であった。これは、血漿層を含まない中心赤血球流のヘマトクリットを計測しているためであろう。また、私達の測定には赤血球密度の低い部位や流速の遅い部位の測定は吸収スペクトル測定上の精度が低くなるため除外している。Lipowsky ら¹⁴⁾ と私達の差はこのような原因によるのかもしれない。

今回用いた装置では、1本の微小血管内の酸素飽和度の変化をとらえることが可能であった (Fig. 8)。このことによって、血管周囲の酸素分圧を強制的に低下させたとき、1本の血管の上流と下流の2点での酸素飽和度を測定することで、その間の酸素放出の状態を測定できた (Fig. 9)。さらに、血球速度・血管直径の測定

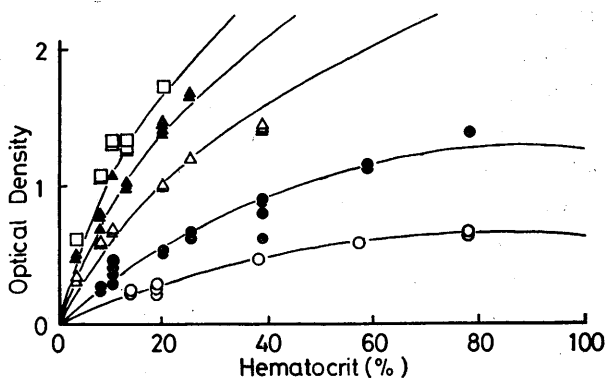


Fig. 11. Relation between optical density of erythrocyte suspension at 520 nm and the hematocrit : compared computer simulated results with observed results. Measured for erythrocyte suspension of various hematocrit in rectangular, capillary flow channel : length of light path were 50 μm (\circ), 100 μm (\bullet), 200 μm (\triangle), 300 μm (\blacktriangle) and 400 μm (\square). Solid curves are computer simulated results.

と組み合わせることにより、微小血管内を流れる赤血球の酸素放出速度を直接測定できた (Fig. 10)。

生体内で血管から組織への酸素移動は毛細血管で最も著しいと信じられている^{6,11)}。しかし、ハムスターの頬袋の筋肉やラットの挙筋では終末動脈での酸素放出が大きいという報告もある^{4,25)}。

今回の本研究では腸間膜を用いてはいるが、腸管全体が空気にさらされているため、上記の実験とは違った条件下での実験となっている。つまり、腸管における血液と空気とのガス交換を無視できず、測定視野にはいる血管内の赤血球のほとんどが酸素化されている。そのため、動脈・静脈に関わらずほぼ同じ酸素化率(約80%)の状態からの酸素化率の低下を見ることができ、酸素放出に関して同じ条件下で血管の違いを比較することができた。その結果、血管径が小さいほど酸素放出速度が速いこと、つまり、毛細血管の方が酸素放出速度が速いことがわかり、また、静脈側よりは動脈側の酸素放出が速いことが確認できた。このことは、Popel et al.²⁰⁾が述べているように、微小循環の動脈側でも予想以上に酸素放出がおこなわれていることを示している。

V. 結 語

顕微鏡スポットの吸収スペクトルを記録できる装置を初めて開発し、毛細血管内を流れる赤血球からの酸素放出速度を測定することができた。今回の装置の性能上の特徴は(1)連続波長における吸収スペクトルが顕微鏡観察野のスポットから容易に得ることができ、(2)多くの波長の吸光度からヘモグロビン濃度と酸素化率の計算をおこなったこと、(3)微小な範囲での血球速度の測定ができたこと、があげられる。今後この測定装置を筋組織など酸素消費の多い組織にも応用し、血管から組織への酸素移動をとらえることで、微小循環領域における酸素移動の解明に役立てることができらるであろう。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導・御校閲を賜った、第二生理学前田信治教授ならびに大阪大学医学部第一生理学志賀 健教授に深謝いたします。また、終始適切な御指導・御助言を頂きました第二生理学教室の皆様にも深謝の意を表します。

なお、本研究の一部には文部省科学研究費ならびに愛媛県保健医療財団のご援助をいただいた。

References

- 1) Anderson, N. M. & Sekelj, P. (1967) Light-absorbing and scattering properties of non-hemolysed blood. *Phys. Med. Biol.*, **12**, 173-184
- 2) Asano, M., Yoshida, K. & Tatai, K. (1964) Blood flow rate in the microcirculation as measured by photoelectric microscopy. 公衆衛生院研究報告, **13**, 201-204
- 3) Deply, D. T., Cope, M. C., Cady, E. B., Wyatt, J. S., Hamilton, P. A., Hope, P. L., Wray, S. & Reynolds, E. O. R. (1987) Cerebral monitoring in newborn infants by magnetic resonance and near infrared spectroscopy. *Scand. J. Clin. lab. Invest.* **47**, 9-17
- 4) Duling, B. R. & Berne, R. M. (1970) Longitudinal gradients in periarteriolar oxygen tension. *Circ. Res.* **27**, 669-678
- 5) Duling, B. R., Damon, D. N., Donaldson, S. R. & Pittman, R. N. (1983) A computerized system for densitometric analysis of the microcirculation. *J. Appl. Physiol.* **55**, 642-651
- 6) Duling, B. R., Kuschinsky, W. & Wahl, M. (1979) Measurements of the perivascular PO₂ in the vicinity of the pial vessels of the cat. *Pflügers Arch.* **383**, 29-34
- 7) Ellsworth, M. L., Pittman, R. N. & Ellis, C. G. (1987) Measurement of hemoglobin oxygen saturation in capillaries. *Am. J. Physiol.* **252**, H 1031-H 1040
- 8) Hampson, N. B. & Piantadosi, C. A. (1988) Near infrared monitoring of human skeletal muscle oxygenation during forearm ischemia. *J. Appl. Physiol.* **64**, 2449-2457
- 9) Hester, R. L. & Duling, B. R. (1988) Red cell velocity during functional hyperemia: Implications for rheology and oxygen transport. *Am. J. Physiol.* **255**, H 236-H 244
- 10) Intaglietta, M., Silverman, N. R. & Tompkins, W. R. (1975) Capillary flow velocity measurements *in vivo* and *in situ* by television methods. *Microvasc. Res.*, **10**, 165-179
- 11) Ivanov, K. P., Derry, A. N., Vovenko, E. P., Samoilov, M. O. & Semionov, D. G. (1982) Direct

- measurements of oxygen tension at the surface of arterioles, capillaries and venules of the cerebral cortex. *Pflügers Arch.* **393**, 118-120
- 12) Krogh, A. (1919) The number and distribution of capillaries in muscles with calculations of the oxygen pressure head necessary for supplying the tissue. *J. Physiol. (London)* **52**, 409-415
 - 13) Kuo, L. & Pittman, R. N. (1988) Effect of hemodilution on oxygen transport in arteriolar networks of hamster striated muscle. *Am. J. Physiol.* **254**, H 331-H 339
 - 14) Lipowsky, H. H., Usami, S. & Chien, S. (1980) *In vivo* measurements of "Apparent viscosity" and microvessel hematocrit in the mesentery of the cat. *Circ. Res.*, **19**, 297-319
 - 15) Loewinger, E., Gordon, A., Weinreb, A. & Gross, J. (1964) Analysis of a micromethod for transmission oximetry of whole blood. *J. Appl. Physiol.*, **19**, 1179-1184
 - 16) 南山 求(1988)微小血管の血流量測定. 日本バイオレオロジー学会誌, **2**, 9-22
 - 17) 岡 小天(1976)レオロジー第2版 第2章 循環. 裳華堂, 東京, 145-146
 - 18) Pittman, R. N. & Duling, B. R. (1975) A new method for the measurement of percent oxygen-hemoglobin. *J. Appl. Physiol.* **38**, 315-320
 - 19) Popel, A. S. & Gross, J. F. (1979) Analysis of oxygen diffusion from arteriolar networks. *Am. J. Physiol.* **237**, H 681-H 689
 - 20) Popel, A. S., Pittman, R. N. & Ellsworth, M. L. (1989) Rate of oxygen loss from arterioles is an order of magnitude higher than expected. *Am. J. Physiol.* **256**, H 921-H 924
 - 21) Savitzky, A. & Golay, M. J. E. (1964) Smoothing and differentiation of data by simplified least squares procedures. *Anal. Chem.* **36**, 1627-1639
 - 22) Seiyama, A., Hazeki, O. & Tamura, M. (1988) Noninvasive quantitative analysis of blood oxygenation in rat skeletal muscle. *J. Biochem.* **103**, 419-424
 - 23) Shiga, T., Maeda, N. & Tateishi, N. (1987) Kinetics of blood cell aggregation by video-image processing. In : Tsuchiya, M., Asano, M., Mishima, Y. & Oda, M., *Microcirculation an update*. Elsevier, Amsterdam, 433-436
 - 24) Shiga, T., Tateishi, N. & Maeda, N. (1990) Visible spectroscopic technique for flowing erythrocytes in capillary. *Biorheology*, in press.
 - 25) Swain, D. P. & Pittman, R. N. (1989) Oxygen exchange in the microcirculation of hamster retractor muscle. *Am. J. Physiol.* **256**, H 247-H 255
 - 26) Tamura, M., Oshino, N., Chance, B. & Silver, I. A. (1978) Optical measurement of intracellular oxygen concentration of rat heart *in vitro*. *Arch. Biochem. Biophys.* **191**, 8-22
 - 27) Tateishi, N., Maeda, N. & Shiga, T. (1988) A new method for spectral analysis of flowing blood in microvessel. In : Tsuchiya, M., Asano, M. & Matsuyama, S. *Microcirculation Annual 1988*, Nihon-igakukan, Tokyo 121-122
 - 28) Tateishi, N., Maeda, N. & Shiga, T. A method for measuring the rate of oxygen release from flowing erythrocytes in microvessels. In : Piiper, J., Goldstick, T. K. & Meyer, M. *Oxygen Transport to Tissue XII*. Plenum Pub. Co. New York, in press.
 - 29) van Assendelft, O. W. (1970) Spectrophotometry of haemoglobin derivatives, Chap. 3 Light absorption spectra of haemoglobin derivatives, Royal VanGorcum. Amsterdam, 47-59
 - 30) Wayland, H. & Johnson, P. C. (1967) Erythrocyte velocity measurement in microvessels by a two-slit photometric method. *J. Appl. Physiol.* **22**, 333-337
 - 31) Whalen, W. J., Riley, J. & Nair, P. (1967) A microelectrode for measuring intracellular P_{O_2} . *J. Appl. Physiol.* **23**, 798-801
 - 32) Yamakawa, T., Nuccio, J., Chang, B. L. & Bing, R. J. (1982) Quantitative analysis of capillary topography and distribution in heart and brain of cats: Intravital microscopic study. *Clin. Hemorheol.* **2**, 21-30

赤血球の代謝とレオロジーに関する研究
——有機リン酸化合物の赤血球変形能に及ぼす影響——

鈴木 洋 司
(愛媛大学医学部第二生理学教室)

Effect of Intracellular Organic Phosphates on Erythrocyte Deformability. Yoji SUZUKI (*2nd Department of Physiology, School of Medicine, Ehime University, Shigenobu, Onsen-gun, Ehime 791-02, Japan*)

Organic phosphates in human erythrocytes were selectively varied by incubating fresh human erythrocytes in phosphate-buffered saline containing inosine, pyruvate, adenine, and/or adenosine in various concentrations. The deformability of erythrocytes was measured at 24°C with a rheoscope under shear stress of 8–82 dyn/cm². (1) With increasing 2, 3-DPG (5~15 mM/l cells), undeformable erythrocytes increased due to the increased mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC). However, these cells became deformable, when the MCHC was reduced by suspending in hypotonic medium. (2) At the same MCHC, the deformability of 2, 3-DPG-enriched erythrocytes was still reduced, compared with that of control erythrocytes, probably due to altered membrane viscoelastic properties. (3) 2, 3-DPG-reduced erythrocytes (2.2 mM/l cells) was not altered in their deformability. (4) Deformability of 2, 3-DPG-enriched erythrocytes was not changed by lowering oxygen tension. (5) Deformability of erythrocytes was not affected by varying intracellular ATP in the range of 0.5~2.2 mM/l cells (ATP in control cells was 1 mM/l cells). (6) Increment of IMP (~0.9 mM/l cells) and ITP (~0.5 mM/l cells) did not alter the deformability of erythrocytes. (7) Interaction of intracellular organic phosphates with membrane proteins was discussed.

key words : erythrocyte deformability, 2, 3-diphosphoglycerate, adenosine 5'-triphosphate, inosine 5'-monophosphate, oxygen tension

I. 緒 言

血液には、肺から組織への酸素運搬という重要な生理機能がある。血液から組織への酸素供給量は、①赤血球とヘモグロビン(Hb)の量、②2, 3-diphosphoglycerate (2, 3-DPG)などのヘモグロビンの機能を調節する因子、③赤血球から組織への酸素拡散、④組織への血流量によってきまる。これらの要因はいずれも病態生理学的観点から赤血球内の代謝状態と密接に関連している。

赤血球は生体内での老化(aging)や保存により、容積の減少や有棘化などの赤血球形態の変化が起こるが、同時にATP量の減少、ADP、AMP量の増加、2, 3-DPG量の減少といった有機リン酸化合物量の変化が認められる^{11, 31)}。こ

のような解糖系を含めたエネルギー代謝の変化により、赤血球の生理機能の低下、例えば、2, 3-DPG減少によるHbと酸素の親和性増加の結果として、組織への酸素供給の低下が起こる。しかし、赤血球の形態維持と代謝との関連はなお不明である。

また、組織への酸素供給には末梢組織での血流、つまり赤血球の組織における微小循環動態が重要になってくる。赤血球は外力により容易に変形する。このような赤血球の受動変形の生理的意義は1) ずり速度の高い血流域では血液の粘度を低下させて流れやすくする、2) 赤血球の径より小さい毛細血管での通過を容易にする、3) 赤血球から組織への酸素拡散を助けること、などである。したがって、赤血球変形能は血液の生理的機能の上からみても極めて重要であり、赤血球内代謝、特にエネルギー代謝との関連性が議論されているが、断片的な研究が

多くメカニズムに関して不明な点が多い。例えば、ATP に関しては、赤血球内濃度が1/10に低下すると赤血球は有棘化し²⁷⁾、さらに赤血球変形能も低下すること³⁷⁾が報告されている。しかし、このようにATPを極端に減少させた条件では、赤血球内カルシウムの増加など^{31,37)}他の要因もありATP単独の作用とは言い切れない。

本研究では赤血球の代謝状態を人工的に変化させ、主要有機リン酸化合物がそれぞれ赤血球の変形にどのような影響をあたえるかを系統的に検討した。すなわち、(1)まず赤血球内のATP, 2, 3-DPGなどの有機リン酸化合物濃度を、赤血球形態を変えることなく自由に、かつ選択的に増減できる方法を開発し、(2)ついて、レオスコープ法を用いて赤血球変形能を測定した。これらの実験結果をふまえ、有機リン酸化合物と赤血球変形能の関連性について考察した。

II. 方 法

A. 赤血球試料調製

血液は健康成人肘静脈より採血し、ヘパリン(10 unit/ml 血液)を添加して凝固を防いだ。4℃で遠心(3,000 rpm, 5 min)後、血漿、白血球層を除去し、等張リン酸緩衝食塩水(PBS: 50 mM Na-phosphate, 90 mM NaCl, 5 mM KCl; pH 7.4; 285 mOsm)で4回洗浄した。

赤血球内有機リン酸化合物の選択的増減: 有機リン酸化合物の内、赤血球の生体内加令、赤血球保存と関連して主に変動する2, 3-DPG, ATP, IMP量をできるだけ単独で増減させるため以下の様な操作をおこなった。なお、実験操作中に赤血球が形態変化をおこさないよう採血後6時間以内に終わるように工夫した。

1. 赤血球内2, 3-DPGはDeutickeら¹²⁾の方法に準じて種々濃度(1~20 mM)のイノシン、10 mM ピルビン酸、5.5 mM ブドウ糖を加えたPBSに赤血球を浮遊させ、インキュベート(90 min, 37℃, Ht 20%)して増加させた。2, 3-DPGの減少した試料はpH 6.5のPBS中でインキュ

ベート(90または180 min, 37℃, Ht 20%)して調製した。

2. 赤血球内ATPはBartlett & Bucolo³⁾の方法を改変し、種々濃度(0.025~2 mM)のアデニン、1 mM イノシン、5.5 mM ブドウ糖を加えたPBSに赤血球を浮遊させ、インキュベート(90 min, 37℃, Ht 20%)して増加させた。ATPを減少させた試料はpH 8またはpH 7.4のPBSでインキュベート(90 min, 37℃, Ht 20%)して調製した。

3. 赤血球内IMPは種々濃度(0.25~5 mM)のイノシン、5.5 mM ブドウ糖を加えたPBSに赤血球を浮遊させ、インキュベート(90 min, 37℃, Ht 20%)して増加させた。

4. 対照赤血球は5.5 mM ブドウ糖を加えたPBSでインキュベート(90 min, 37℃, Ht 20%)した試料を用いた。対照赤血球内の各種有機リン酸化合物含量は新鮮赤血球内のものと同レベルであった。

上記のように処理した赤血球をPBSで2回洗浄後、赤血球変形能の測定に用いた。

B. 赤血球内有機リン酸化合物の定量

赤血球内2, 3-DPGは酵素法²²⁾により測定した。すなわち、調製された赤血球を10 mM グリシル・グリシン-K 緩衝液(pH 7.5)中で溶血後0.1 mM ホスホグリコール酸存在下に、ホスホグリセリン酸ムターゼ(Boehringer Mannheim GmbH, Germany, EC 2. 7. 5. 3)を作用させ、そのホスファターゼ活性により2, 3-DPGから放出される無機リンをモリブデン酸アンモニウムを用いて定量した。

赤血球内プリンスクレオチドは高速液体クロマトグラフ法により測定した。Bartlett²⁾の方法にしたがって、一定量の赤血球からトリクロル酢酸によりスクレオチドを抽出し、液体クロマトグラフ(島津, Model LC-6 A, 京都)により定量した²³⁾。DEAE-2 SW カラム(東ソ, 陰イオン交換カラム, 4.6×25 cm)を用いて10%アセトニトリル存在下で0.1 M から0.3 M KH₂PO₄(pH 3)の直線濃度勾配により0.9 ml/minの流速でスクレオチドの分離・溶出を行った。溶出

液を波長 254 nm でモニターし、スクレオチド含量はクロマトグラム上のピーク面積をもとに標準物質と比較して計算した。アデニル酸のエネルギー荷電 (energy charge), EC (A), は, $EC(A) = (2[ATP] + [ADP]) / (2[ATP] + [ADP] + [AMP])$ として求めた (イノシン酸についても同様にして求めた; EC(I))。

C. 赤血球変形能の測定

赤血球変形能は、透明円錐 (0.8°) 一平板型粘度計 (東京計器, E型) と倒立顕微鏡 (オリンパス光学, IMT型), フラッシュ灯 (菅原製作所, MS-230型), 自動撮影装置より構成されるレオスコプ²⁹⁾ を用いて測定した³²⁾¹⁸⁾ (Fig. 1)。16.5% dextran-PBS 溶液 (Dextran T-40, Pharmacia Fine Chem., Uppsala, Sweden: 9.3 cP; pH 7.4: 24°C) に浮遊させた赤血球を回転円錐一平板間に入れ, 24°C で 8~82 dyn/cm² の範囲でずり応力をかけて, 赤血球を扁平な楕円板に変形させた。このずり応力は生体の血管内壁ずり応力の範囲²¹⁾ に対応している。変形した赤血球を写真撮影し, その長軸径 (L) と短軸径 (S) を計測し, 変形指数: deformation index = $(L-S)/(L+S)$ でもって変形能の指標とした。

赤血球の変形能は赤血球の形態, 内部粘度, 膜の粘弾性によって左右される。ここではこれら3つの要因の変化が変形能に及ぼす影響を区別するため以下の様に工夫した。

1) 赤血球の形態: 赤血球の形態が有棘一金平糖化など, 変化しないように, すなわち, 採

血後6時間以内に実験を終了できるようにインキュベート時間を90分に設定した。

2) 内部粘度: 主に赤血球内ヘモグロビン濃度によっている。赤血球試料の調製条件により赤血球容積が減少 (または増加) し, 内部粘度が増加 (または減少) する。そこで, 変形能測定前に平均赤血球内ヘモグロビン濃度 (MCHC) を測定し, 各赤血球試料間に差がある場合は, 外液浸透圧を変えて赤血球内外間に水の移動をおこさせて MCHC (すなわち赤血球内部粘度) が等しくなるようにした (この操作は形態, 特に表面積/容積比も一致させることになる)。

3) 膜の粘弾性: 内部粘度を一定にした赤血球の変形能を測定することによって膜の粘弾性の変化を検出した。

D. 赤血球性状の測定

ヘマトクリット (Ht) はマイクロヘマトクリット法, ヘモグロビン量は CN-メトヘモグロビン法³⁵⁾ により測定した。赤血球数は自動血球計算装置 (東亜医用電子, CC-110型) を用いて計測した。

平均赤血球容積 (MCV), 平均赤血球内ヘモグロビン濃度 (MCHC); 平均赤血球内ヘモグロビン量 (MCH) は上記各測定値から算出した。なお, packed plasma 量は本実験範囲内においては一定 (2%) であったため, MCV および MCHC 算出にあたって補正しなかった。

赤血球内 pH (pHi) は, 凍結融解法により微小 pH 電極で測定した¹⁵⁾。

E. 統計学的解析

実験結果は Student の t-test により有意差検定をおこなった。

III. 結 果

A. 赤血球内代謝の変化

1. イノシン-ピルビン酸-リン酸系

50mM リン酸, 10mM ピルビン酸中でイノシン濃度を増すと, 赤血球内 2, 3-DPG が増加し, 5mM イノシンで 2, 3-DPG の増加はもはやみられなくなった (Fig. 2(a))。2, 3-DPG 濃度は正常の約3倍 (16mM/l cells) まで増加し

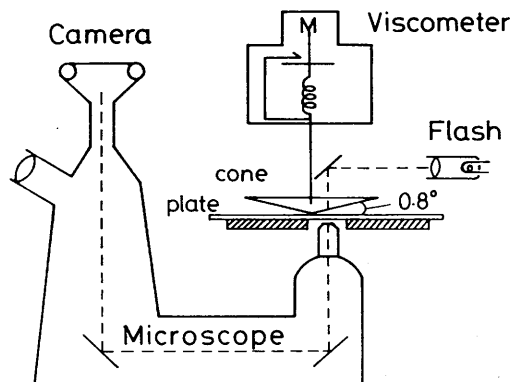


Fig. 1. Schematic diagram of a rheoscope.

たが、ATP などのアデニル酸は、ほとんど変化せず、アデニル酸のエネルギー荷電は 0.9 以上を維持し、ATP 生成の状態にあった (Fig. 2 (b, c)).

イノシン酸については 1 mM イノシンで IMP 濃度は 0.7 mM/l cells とプラトーに達し、ITP 濃度は 0.5 mM/l cells まで増加した。しかし、IDP 濃度は 0.03 mM/l cells 以下であった。イノシン酸のエネルギー荷電は ITP 濃度の増加とともに増加したが、最大 0.4 であり、系は ITP 分解に傾いていた (Fig. 2(b, c)).

2, 3-DPG 濃度の増加とともに、赤血球内 pH_i の低下がみられ、本実験条件下では赤血球内 2, 3-DPG 濃度 ([2, 3-DPG], mM/l cells) との間に $\text{pHi} = -0.014[2, 3\text{-DPG}] + 7.312$ ($r = -0.880$; $7.10 < \text{pHi} < 7.30$) なる関係がみられた。また、赤血球指数に関しては赤血球容積 (MCV) の減少と赤血球内ヘモグロビン濃度 (MCHC) の増加がみられ、[2, 3-DPG] との間に $\text{MCHC} = 0.31[2, 3\text{-DPG}] + 34.9$ ($r = 0.915$) なる関係が得られた。

一方、2, 3-DPG を減少させるために、メジウムの pH を下げてブドウ糖非存在下の PBS 中で赤血球をインキュベートした。2, 3-DPG 濃度はインキュベート 90 min で 0.7 倍、180 min で 0.4 倍に減少した。アデニル酸のエネルギー荷電は 0.8 とやや低くなるが、ATP 濃度は 1.0 mM/l cells に保たれ、ATP 生成状態は維持された。イノシン酸にも変化はみられなかった。なお、pH 低下により赤血球容積は増加した。

2. アデニン-イノシン-リン酸系

50 mM リン酸、1 mM イノシン中でアデニン濃度を増すと、アデニン濃度に依存して赤血球内 ATP 濃度は約 2 倍の 2 mM/l cells まで増加し、全アデニル酸濃度も増加した (Fig. 3)。2, 3-DPG 濃度は変化しなかったが、イノシン酸についてはアデニンがメジウム中になく状態では IMP が 0.6 mM/l cells、ITP が 0.3 mM/l cells と増加していたが (Fig. 4 参照)、アデニン濃度を増すとイノシン酸の増加が抑制され、

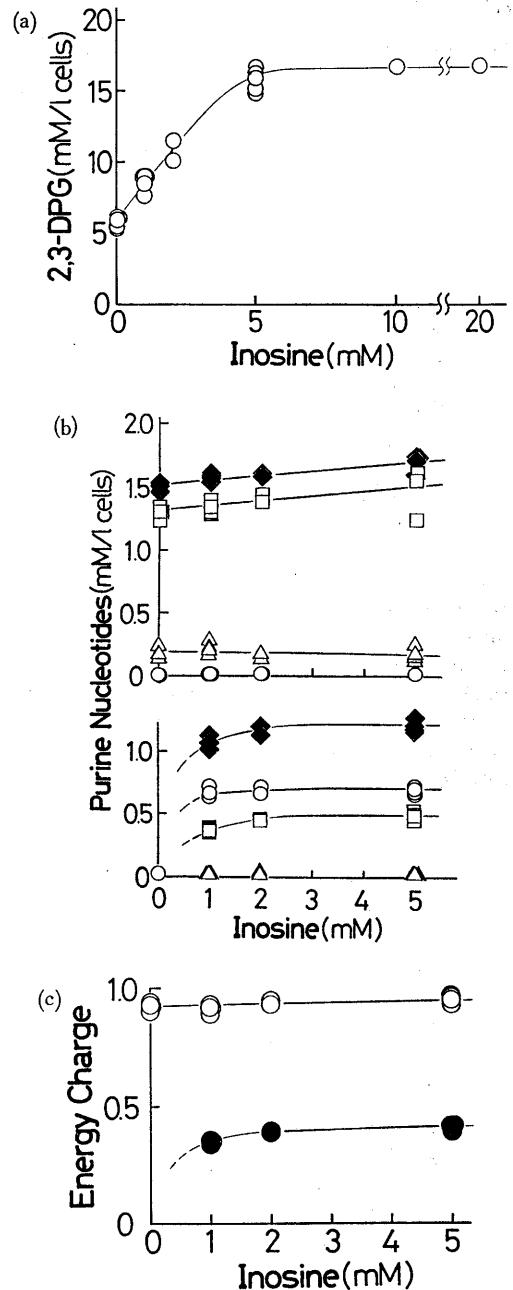


Fig. 2. Changes of organic phosphates in erythrocytes by inosine-pyruvate-phosphate treatment. Fresh human erythrocytes were incubated in PBS containing 0~5 mM inosine, 10 mM pyruvate (Ht 20%, 37°C, 90 min). (a) 2, 3-DPG, (b) purine nucleotides. (Upper) ATP (□), ADP (△), AMP (○), ATP+ADP+AMP (◆), (lower) ITP (□), IDP (△), IMP (○), ITP+IDP+IMP (◆), (c) energy charge of adenine nucleotides (○) and inosine nucleotides (●).

ATP 濃度増加がプラトーとなるときイノシン酸増加抑制もプラトーとなった (Fig. 3). すな

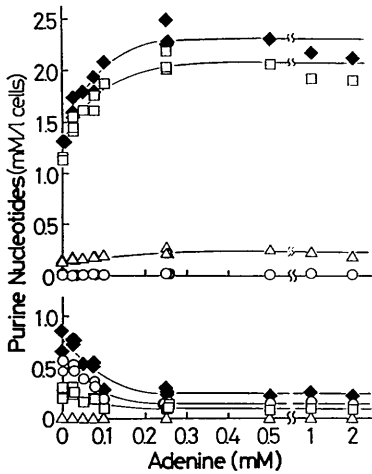


Fig. 3. Changes of purine nucleotides in erythrocytes by adenine-inosine-phosphate treatment. Fresh human erythrocytes were incubated in PBS containing 0~2 mM adenine and 1 mM inosine (Ht 20%, 37°C, 90 min). (Upper) ATP (□), ADP (△), AMP (○), ATP+ADP+AMP (◆), (lower) ITP (□), IDP (△), IMP (○), ITP+IDP+IMP (◆).

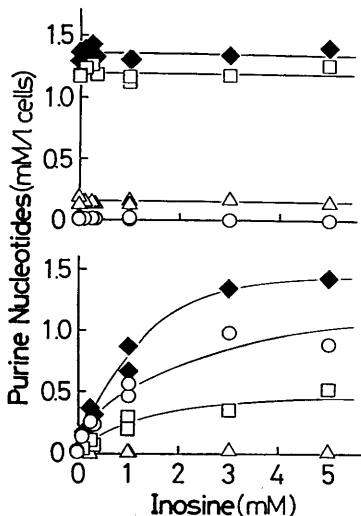


Fig. 4. Changes of purine nucleotides in erythrocytes by inosine-phosphate treatment. Fresh human erythrocytes were incubated in PBS containing 0~5 mM inosine (Ht 20%, 37°C, 90 min). (Upper) ATP (□), ADP (△), AMP (○), ATP+ADP+AMP (◆), (lower) ITP (□), IDP (△), IMP (○), ITP+IDP+IMP (◆).

わち、本実験条件では、全アデニル酸+全イノシン酸=一定、の関係がみられた。

一方、ATP を減少させるために、メジウムの pH を上げてブドウ糖非存在下の PBS 中で赤血球をインキュベートした。2,3-DPG 濃度は 0.8 倍に保たれたが、ATP 濃度は 0.5 mM/l cells までに減少した。なお、イノシン酸に関しては変化はみられなかった。

3. イノシン-リン酸系

50 mM リン酸中でイノシン濃度を増すと、IMP および ITP 濃度は増加し、5 mM イノシンで IMP 濃度は 0.9 mM/l cells となり飽和の傾向を示した。ITP 濃度は IMP 濃度の約 1/2 の濃度を維持し増加した (Fig. 4)。IDP 濃度は 0.014 mM/l cells 以下であった。一方、アデニル酸、2,3-DPG 濃度に変化はなかった。

B. 赤血球変形能に対する有機リン酸化合物の影響

赤血球内の各種有機リン酸化合物濃度を選択的に変化させた赤血球について、これら有機リン酸化合物が赤血球の変形能にどの様に影響を及ぼすかについて検討した。なお、変形能測定時の各赤血球試料には有棘化などの形態変化を認めなかった。

1) 赤血球内 2,3-DPG 濃度を増すと、楕円板状に変形できない赤血球が増加した (Fig. 5)。特に、2,3-DPG を 15 mM/l cells にまで増加させた赤血球では、大きなずり応力を加えてもほとんど変形しなかった (Fig. 6(a))。これは主

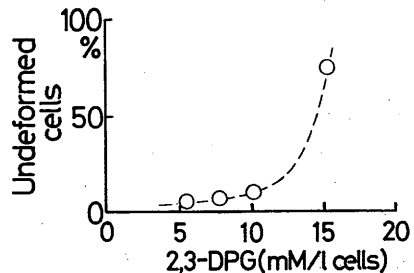


Fig. 5. Undeformed erythrocytes after inosine-pyruvate-phosphate treatment. Deformation of 2,3-DPG-enriched erythrocytes (incubated as in Fig. 2) was examined with a rheoscope at a shear stress of 82 dyn/cm², at 24°C.

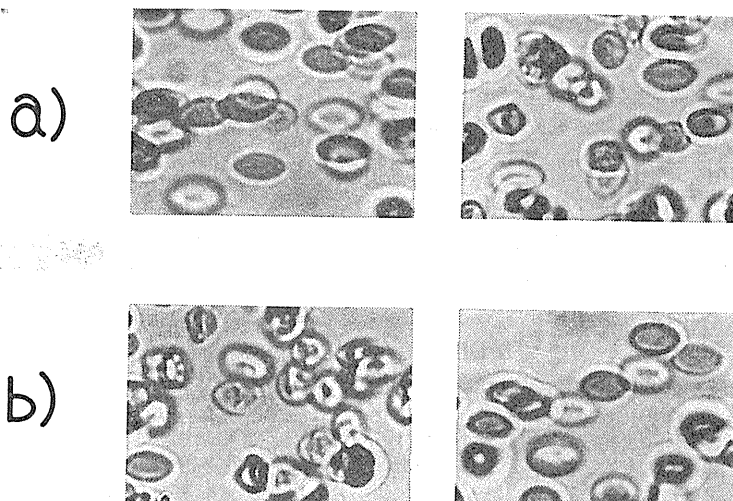


Fig. 6. Flash microphotographs of erythrocyte deformation with a rheoscope. (a) Deformation of control erythrocytes (5.5 mM 2, 3-DPG/l cells : left) and 2, 3-DPG-enriched erythrocytes (15 mM 2, 3-DPG/l cells : right) was observed at a shear stress of 33 dyn/cm² in isotonic 16.5% dextran-PBS (at 24°C, 9.3 cP). (b) Deformation of 2, 3-DPG-enriched erythrocytes (15 mM 2, 3-DPG/l cells) was observed at a shear stress of 21 dyn/cm² under isotonic condition (at 285 mOsm, MCHC=40.2 g/dl : left) and hypotonic condition (at 240 mOsm, MCHC=36.6 g/dl : right).

に 2, 3-DPG 量を増加させるに伴って赤血球容積は減少し, MCHC の増加, つまり赤血球内部粘度が増加していることによると考えられた (表面積/容積比は増加するのでむしろ変形能を良くする). 内部粘度増加の影響を除外するた

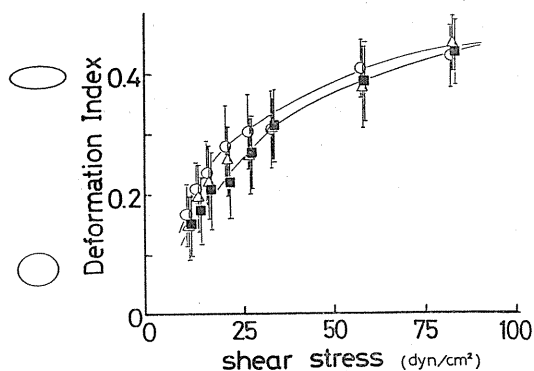


Fig. 7. Effect of 2, 3-DPG on erythrocyte deformability. Deformation index was determined in 16.5% dextran T-40-PBS (at 24°C, 9.3 cP) under various shear stress. Compared at the same MCHC (36.3±0.2 g/dl), 2, 3-DPG concentrations in erythrocytes were 5 mM/l cells (○, control), 10 mM/l cells (△) and 15 mM/l cells (■).

め, 赤血球外液の浸透圧を下げて赤血球内に水を移動させ, MCHC (つまり内部粘度) を対照赤血球と同じように調整してレオスコープで測定した. 赤血球はすべて変形が可能となったが (Fig. 6(b)), 変形の程度を表す変形指数は測定したすべてのずり応力下で, 2, 3-DPG 量を増加させるほど低値を示し (Fig. 7), 2, 3-DPG の増加した赤血球では変形能が低下していることがわかった. 特に変形能の低下はズリ応力が低い領域で著明であった.

2) 赤血球内 2, 3-DPG を減少させた場合も, 増加させた時と同様に MCHC を調整し, 変形指数を測定したが 2.2 mM/l cells にまで減少させても変形能に有意な差はみられなかった. これ以下に 2, 3-DPG を減少させると赤血球は有棘化などの形態変化をおこしやすくなり変形能測定には適していなかった.

3) アデニル酸量を増加させた試料 (ATP : ~2.2 mM/l cells) とイノシン酸量を増加させた試料 (IMP : ~0.9 mM/l cells, ITP : ~0.5 mM/l cells) ではともに対照に対して MCHC の差は

みられず変形能における差も検出されなかった。

このことからイノシン-ピルビン-リン酸系で赤血球に 2,3-DPG を増加させたときにおこる変形能の低下は、同時に増加している IMP や ITP によるものではないと考えられる。

4) ATP を 0.5 mM/l cells まで減少させても変形能には影響はあらわれなかった。

5) 2,3-DPG は酸素分圧が低下すると脱酸素化ヘモグロビンと結合し、遊離 2,3-DPG は減少する。そこで、2,3-DPG の赤血球変形能への影響がヘモグロビンの酸素化-脱酸素化と関連するかどうかを検討した。種々の 2,3-DPG 含量 (2.1~16.9 mM/l cells) の赤血球について 5 mM Na-ヒドロサルファイト添加によりヘモグロビンを脱酸素化する前後で変形能を測定したが、有意差は認められなかった。

6) 2,3-DPG を増加させたときには赤血球内 pH の低下がおこる。そこで、メジウムの pH を変化させて赤血球内 pH (pHi) と変形能との関係を pHi が 6.8~7.6 の範囲で調べた。赤血球内 pH の変化により赤血球容積変化をおこす²⁴⁾。pH が低下すると赤血球容積が増加し赤血球内ヘモグロビン濃度(すなわち内部粘度)が低下して変形能は増加した。しかし、赤血球外液の浸透圧を上昇させ赤血球内ヘモグロビン濃度を対照と一致させると、変形能に差がみられなかった。pH が増加した場合は赤血球容積が減少し変形能は低下するが、同様に内部粘度を一定にすると変形能に差がみられなかった。pH の変形能に対する影響は、pH 変化による赤血球容積変化、したがって内部粘度の変化に起因するものであった。

Ⅳ. 考 察

赤血球内の 2,3-DPG やスクレオチドといった有機リン酸化合物は、赤血球の組織に対する酸素供給能、形態や変形能の維持、赤血球膜を介しての物質輸送など種々の生理機能に重要な役割を演じている。本研究ではこれら有機リン酸、特に 2,3-DPG、アデニル酸、イノシン酸

に着目しこれらを選択的に変化させて赤血球変形能にどの様に関わりをもっているかについて調べた。

A. 有機リン酸と変形能

1. 2,3-DPG と変形能

赤血球の変形能に影響する主因子は、1) 内部粘度、2) 形、3) 膜の粘弾性である。赤血球内 2,3-DPG を増加させた時の変形能の低下した原因についてまとめる。① MCHC が増加し、内部粘度が上昇したため、赤血球変形能が低下したと考えられる。MCHC の増加は、赤血球内で 2,3-DPG を合成するため赤血球内に無機リン酸イオンが入り、赤血球内の塩素イオンと水が脱失したため^{5,14)}と考えられる。②形態に関しては実験操作中に有棘化などの異型化がおこらない範囲に実験条件(採血後の時間、試薬濃度など)を設定した。③ MCHC を調整し内部粘度増加の影響を除外しても(したがって、表面積/容積比も一致する)変形能が低下していることから、2,3-DPG 増加赤血球の変形能低下は、内部粘度の増加だけでなく、膜の粘弾性も変化しているためと考えられる。このような変化は同時に変化した赤血球内 pH や IMP、ITP の影響によるものではなかった。

高濃度の 2,3-DPG を赤血球ゴーストに作用させると、骨格タンパクである spectrin が protein 4.1 と actin との結合から遊離することが知られている³⁰⁾。また、高濃度の 2,3-DPG や ATP は、赤血球膜タンパクの側方流動性を増加させるといわれる²⁸⁾。したがって、2,3-DPG が赤血球膜の粘弾性になんらかの影響をあたえることが期待される。Chasis と Mohandas⁹⁾ は赤血球ゴーストでエクタサイトメーター法を用いて、赤血球膜の安定性の低下と変形能の低下を報告している。しかし、Konra¹⁸⁾ は赤血球ゴーストなど溶血後の赤血球膜の変形能は、無傷の赤血球に比べて著しく低下している、すなわち膜の骨格構造が著しく傷害されていることを示している。Waugh³⁰⁾ はマイクロピペット法とフローチャンネル法で赤血球膜粘弾性を測定したところ影響はないと報告している。この

ように赤血球試料や測定法により、結果はまちまちで一定の結論に達していない。今回は変形能測定にレオスコープ法を用い、ゴーストではなく、無傷の赤血球を用いて、2,3-DPG 増量による赤血球変形能の変化が、2,3-DPG と赤血球膜骨格構造との相互作用によって起こることが示唆された。

La Celle ら¹⁹⁾は低酸素分圧下で赤血球変形能が低下すると報告した。酸素分圧が低下すると2,3-DPG は脱酸素化ヘモグロビンと結合するので遊離2,3-DPG が減少して膜タンパク間相互作用³⁰⁾およびヘモグロビン—膜タンパク間相互作用⁹⁾への影響から膜の物性、したがって、赤血球の変形能の変化が予想されるが、我々の実験では検出されなかった。2,3-DPG 増加による赤血球変形能の低下は赤血球の酸素化—脱酸素化過程と関連した現象ではなさそうである。

2,3-DPG 増加による変形能低下のメカニズムに関しては、(i)2,3-DPG が赤血球膜骨格タンパクの spectrin-protein 4.1-actin 結合に作用し膜粘弾性を増して変形能を低下させる⁸⁾、(ii)膜貫通タンパクであり、また骨格タンパクとも結合している Band 3 タンパクとヘモグロビンとの間の相互作用に影響し変形能を低下させるなどの可能性について考えなければいけない。詳細は今後の研究に待たねばならない。

2,3-DPG を増加させることは赤血球が組織に酸素放出をおこなうにあたっては都合のよいことである。このためにはこのような赤血球の組織への血流が維持されなければならない。しかしながら、2,3-DPG が増加すると赤血球は変形しにくくなるから、微小血管の通過が困難なことが予想され、レオロジー的にみたとときには決して好ましいものではない。

2. アデニル酸、イノシン酸と変形能

赤血球内に種々のアデニル酸、イノシン酸を増加させた場合も無機リン酸が赤血球内に導入される限り2,3-DPG のときと同様に赤血球に脱水が起こると考えられる。しかし、増加した有機リン酸量は2,3-DPG のときと比べるとかなり少なく、内部粘度の増加も変形能の低下も

検出感度以下であったと考えられた。

ATP に関しては、以前から、赤血球の形態や変形能の維持に重要な役割を果たしている^{27, 36)}と考えられているが、そのメカニズムに関しては今だ不明である。ATP も2,3-DPG と同様に、高濃度(～8 mM)で赤血球ゴーストの膜骨格タンパクの構造変化を起こさせることが知られている³⁰⁾。今回おこなった無傷の赤血球を用いた実験では、ATP を0.5～2.2 mM/l cells の範囲で変動させたが形態変化も変形能への影響も観察されなかった。IMP (0～0.9 mM/l cells)およびITP (0～0.4 mM/l cells)についても赤血球の形態や変形能に対する影響がみられなかった。

ATP はCa イオンやMg イオンと相互作用し、変形能の調節に関与していると考えられる²⁰⁾が、ATP が増加すると、ATP と結合するCa イオンも増加し、遊離Ca イオンが減少する。しかし、赤血球内Ca イオン濃度が減少しても変形能に影響がないこと²⁶⁾から、ATP が増加した場合、Ca イオンを介しての変形能への影響は考えられない。

一方、ATP を0.5 mM/l cells まで減少させても、ATP が赤血球の形態や変形能の調節に直接関与するものではないことが今回の実験から示された。Card ら⁷⁾もATP が0.3 mM/l cells にまで減少しても変形能への影響はないと報告している。しかし、さらにATP を減少させると赤血球は有棘化²⁷⁾、同時に赤血球内Ca イオン濃度が上昇すること³⁷⁾が報告されている。赤血球内Ca イオンが増加すると、(i)K イオンチャンネルが活性化されK イオンの細胞外への移動がおこり、同時に水も脱失する。そのため赤血球内部粘度が上昇し変形能が低下する^{10, 17, 26, 31)}、(ii)Ca イオンはcalmodulin と複合体を形成し、膜骨格タンパクの spectrin, protein 4.1 や adducin と結合して骨格タンパク間相互作用を介して膜の粘弾性を変化させる⁴⁾。

一方、ATP は赤血球内の種々の protein kinase により膜タンパク(ankyrin, protein 4.1,

protein 4.9 などのリン酸化をおこなう⁴⁾。膜骨格タンパクのリン酸化は膜タンパク間相互作用を変化させ¹⁾、膜の物性に影響を及ぼすと考えられる。ATP と膜骨格構造の調節、変形能との関連については今後検討されねばならない。

B. 赤血球内有機リン酸化化合物の代謝調節

(1) イノシン、アデニン、ピルビン酸、リン酸、ブドウ糖を組み合わせた系で、赤血球を処理することによって赤血球内の特定の有機リン酸化化合物を選択的に増減させることができた。イノシン、ピルビン酸、リン酸、ブドウ糖存在下で赤血球を処理すると、2,3-DPG とイノシン酸誘導体が増加した。Fig. 8 に示すように、イノシンと無機リン(Pi)から hypoxanthine と ribose 1-phosphate(R-1-P)が生成される。R-1-P から R-5-P を経て 5-phosphoribosyl-1-pyrophosphate (PRPP) が合成され、PRPP と hypoxanthine から IMP が合成される。また、R-5-P は pentose phosphate pathway 経路で glyceraldehyde 3-phosphate(GA-3-P)となる。一方、ピルビン酸は乳酸(lactate)となり、NADH を NAD に変える。この NAD は Pi と GA-3-P からの 1,3-DPG の合成を触媒し、

Rapoport-Luebering 経路で 2,3-DPG が合成される。ピルビン酸は 2,3-DPG 分解経路を抑制するので 2,3-DPG は赤血球内に蓄積する^{6,13)}。

ITP はおそらく IMP のピロリン酸化で合成されるようであるが、アデニル酸に対するエネルギー荷電の概念をイノシン酸に適用すれば、赤血球内ではイノシン酸のエネルギー荷電は 0.8 よりはるかに小さく、この経路は常に ITP 分解の方向に傾いていると考えられた。全アデニル酸量は、赤血球内にはプリン合成系が存在しないため、本実験ではほとんど変化しなかった。Valeri ら³³⁾は、高濃度のイノシン存在下ではアデニル酸の増加がありイノシン酸からアデニル酸への転換を示す結果を得ているが、今回用いたイノシン濃度の範囲で 2,3-DPG の合成、IMP、ITP の生成はすでに飽和状態に到達しており、*de novo* のプリン合成経路は存在しない¹⁶⁾と考えられた。

(2) アデニン、イノシン、リン酸、ブドウ糖の存在下で赤血球を処理すると、ATP など、全アデニル酸量の増加が認められた。イノシン酸も増加したが、アデニン濃度を増すとイノシ

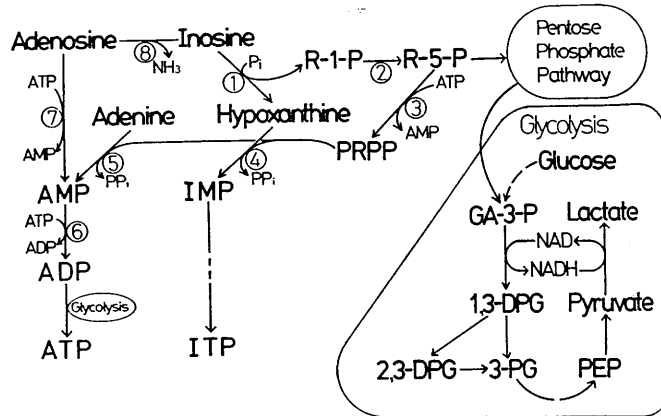


Fig. 8. Metabolism of organic phosphates in human erythrocyte.

R-1-P : ribose 1-phosphate, R-5-P : ribose 5-phosphate, PRPP : 5-phosphoribosyl-1-pyrophosphate, Pi : inorganic phosphate, PPi : pyrophosphate, GA-3-P : glyceraldehyde 3-phosphate, 2,3-DPG : 2,3-diphosphoglycerate, 1,3-DPG : 1,3-diphosphoglycerate, 3-PG : 3-phosphoglycerate, PEP : phosphoenolpyruvate.

① purine nucleoside phosphorylase, ② phospho-ribo mutase, ③ PRPP synthetase, ④ hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase, ⑤ adenine phosphoribosyltransferase, ⑥ adenylate kinase, ⑦ adenosine kinase, ⑧ adenosine deaminase.

ン酸の増加が抑制された。

イノシン一定濃度下ではアデニンが低濃度の時は、イノシンから形成された PRPP は hypoxanthine とから IMP 合成に消費されるが、アデニンが高濃度になると PRPP は AMP 合成に消費され IMP 合成量が少なくなると考えられる。

アデニル酸は $AMP + ATP \rightarrow 2ADP$ という反応によって、AMP から ADP となり、さらに解糖系で ATP へと段階ずつリン酸化されていく。しかし、イノシン、リン酸、ブドウ糖存在下で赤血球を処理したとき、主に IMP が生成され、ITP は IMP の約 1/2 量形成されるが、IDP はほとんど検出されなかった。このことから、イノシン酸ではアデニル酸のように段階的でなく $IMP + ATP \rightarrow ITP + AMP$ のように一気にピロリン酸化している可能性^{34,38)}が高い。しかし、 $IMP \rightarrow IDP \rightarrow ITP$ というように段階的にリン酸化される可能性³⁴⁾も否定できない。

ATP 増加の目的でアデニンの代わりにアデノシンについても検討したが、アデニル酸はほとんど増加せずにイノシン酸が主にできた。これは Fig. 8 のように ATP を消費し、直接リン酸化されて AMP になるよりも、adenosine deaminase によって脱アミノ化されイノシンになったため²⁵⁾と考えられた。

V. おわりに

赤血球内の有機リン酸化合物を選択的に増減させ、赤血球の変形能を測定した。赤血球内 ATP, IMP, ITP を増減させても、また、2,3-DPG を減少させても変形能に影響なかった。赤血球内 2,3-DPG を増加させると内部粘度が増し変形能が低下した。内部粘度増加の影響を調整しても変形能が低下していたことから、2,3-DPG は赤血球膜骨格タンパクに作用し膜の粘弾性が増加したと考えられた。なお、2,3-DPG とヘモグロビンとの関連から酸素分圧を低下させても、変形能に影響しなかった。以上より、2,3-DPG は膜骨格タンパクに直接作用して変形能を低下させる可能性が高いと考えら

れた。

謝辞

研究にあたって、御指導をいただきました志賀健教授(大阪大学医学部第一生理学教室)及び前田信治教授(愛媛大学医学部第二生理学教室)に心から感謝します。また御協力をいただいた昆和典助教授(愛媛県立医療技術短期大学)、中島隆先生、関谷美鈴薬学士に深く感謝いたします。

本稿で発表した研究の一部は、文部省科学研究費ならびに愛媛県保健医療財団の助成を受けた。

参考文献

- 1) Backman, L. (1988) Functional or futile phosphorus? *Nature* **334**, 653-654
- 2) Bartlett, G. R. (1968) Phosphorus compounds in the human erythrocyte. *Biochim. Biophys. Acta* **156**, 221-230
- 3) Bartlett, G. R. & Bucolo, G. (1968) The metabolism of ribonucleoside by the human erythrocyte. *Biochim. Biophys. Acta* **156**, 240-253
- 4) Bennett, V. (1989) The spectrin-actin junction of erythrocyte membrane skeletons. *Biochim. Biophys. Acta* **988**, 107-121
- 5) Bookchin, R. M., Lew, D. J., Balazs, T., Ueda, Y. & Lew, V. L. (1984) Dehydration and delayed proton equilibria of red blood cells suspended in isosmotic phosphate buffers. *J. Lab. Clin. Med.* **104**, 855-866
- 6) Brewer, G. J. (1974) General red cell metabolism. In: Surgenor, D. M., *The Red Blood Cell*, 2nd Ed. vol. 1, Academic Press, New York, 387-434
- 7) Card, R. T., Mohandas, N., Perkins, H. A. & Shohet, S. B. (1982) Deformability of stored red blood cells: Relationship to degree of packing. *Transfusion* **22**, 96-101
- 8) Chasis, J. A. & Mohandas, N. (1986) Erythrocyte membrane deformability and stability: Two distinct membrane properties that are independently regulated by skeletal protein associations. *J. Cell Biol.* **103**, 343-350
- 9) Chérite, C. & Cassoly, R. (1985) Affinity of hemoglobin for the cytoplasmic fragment of human erythrocyte membrane band 3. *J. Mol. Biol.* **185**, 639-644
- 10) Clark, M. R., Mohandas, N., Feo, C., Jacobs, M. & Shohet, S. B. (1981) Separate mechanisms of deformability loss in ATP-depleted and Ca-loaded erythrocytes. *J. Clin. Invest.* **67**, 531-539
- 11) Clark, M. R. (1988) Senescence of red blood

- cells : progress and problems. *Physiol. Rev.* **68**, 503-554
- 12) Deuticke, B., Duhm, J. & Dierkesmann, R. (1971) Maximal elevation of 2, 3-diphosphoglycerate concentrations in human erythrocytes : Influence on glycolytic metabolism and intracellular pH. *Pflügers Arch.* **326**, 15-34
 - 13) Duhm, J. & Gerlach, E. (1974) Metabolism and function of 2, 3-diphosphoglycerate in red blood cells. In : Greenwalt, T. J. & Jamieson, A. G. *The Human Red Cell in vitro*, Grune and Stratton, New York, 111-152
 - 14) Duhm, J. (1975) Glycolysis in human erythrocytes containing elevated concentrations of 2, 3-P₂-glycerate. *Biochim. Biophys. Acta* **385**, 68-80
 - 15) Enoki, Y., Tomita, S., Maeda, N., Kawase M. & Okuda, T. (1972) A simple method for determination of red cell intracellular pH. *J. Physiol. Soc. Japan* **34**, 761-762
 - 16) Fontenelle, L. J. & Henderson, J. F. (1969) An enzymatic basis for the inability of erythrocytes to synthesize purine ribonucleotides de novo. *Biochim. Biophys. Acta* **177**, 175-176
 - 17) Gardos, G. (1958) The function of calcium in the potassium permeability of human erythrocytes. *Biochim. Biophys. Acta* **30**, 653-654
 - 18) Kon, K., Maeda, N. & Shiga, T. (1987) Erythrocyte deformation in shear flow : Influences of internal viscosity, membrane stiffness, and hematocrit. *Blood* **69**, 727-734
 - 19) La Celle, P. L. (1970) Alteration of membrane deformability in hemolytic anemias. *Semin. Hematol.* **7**, 355-371
 - 20) La Celle, P. L., Kirkpatrick, F. H., Udkow, M. P. & Arkin, A. (1973) Membrane fragmentation and Ca²⁺-membrane interaction : potential mechanisms of shape change in the senescent red cell. In : Bessis, M., Weed, R. I. & Leblond, P. F. *Red Cell Shape, Physiology-Pathology-Ultrastructure*, Springer Verlag New York, Heidelberg Berlin, 69-78
 - 21) Lipowsky, H. H., Kovalcheck, S. & Zweifach, B. W. (1978) The distribution of blood rheological parameters in the microvasculature of cat mesentery. *Circ. Res.* **43**, 738-749
 - 22) Maeda, N., Chang, H., Benesch, R. & Benesch, R. E. (1971) A simple enzymatic method for the determination of 2, 3-diphosphoglycerate in small amounts of blood. *N. Engl. J. Med.* **284**, 1239-1242
 - 23) Maeda, N., Kon, K., Sekiya, M. & Shiga, T. (1986) Increase of ATP level in human erythrocytes induced by S-adenosyl-L-methionine. *Biochem. Pharmacol.* **35**, 625-629
 - 24) Maeda, N., Sekiya, M., Suzuki, Y. & Shiga, T. (1988) Effect of pH on the velocity of erythrocyte aggregation. *Biorheology* **25**, 25-30
 - 25) Meyskens F. L. & Williams, H. E. (1971) Adenosine metabolism in human erythrocytes. *Biochim. Biophys. Acta* **240**, 170-179
 - 26) Murakami J. Maeda, N., Kon, K. & Shiga, T. (1986) A contribution of calmodulin to cellular deformability of calcium-loaded human erythrocytes. *Biochim. Biophys. Acta* **863**, 23-32
 - 27) Nakao, M., Nakao, T. & Yamazoe, S. (1960) Adenosine triphosphate and maintenance of shape of the human red cells. *Nature* **187**, 945-946
 - 28) Schindler, M., Koppel, D. E. & Sheetz, M. P. (1980) Modulation of membrane protein lateral mobility by polyphosphates and polyamines. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **77**, 1457-1461
 - 29) Schmid-Schönbein, H. & Wells, R. (1969) Fluid drop-like transition of erythrocytes under shear. *Science* **165**, 288-291
 - 30) Sheetz, M. P. & Casaly, J. (1980) 2, 3-diphosphoglycerate and ATP dissociate erythrocyte membrane skeletons. *J. Biol. Chem.* **255**, 9955-9960
 - 31) Shiga, T., Sekiya, M., Maeda, N., Kon, K. & Okazaki, M. (1985) Cell age-dependent changes in deformability and calcium accumulation of human erythrocytes. *Biochim. Biophys. Acta* **814**, 289-299
 - 32) Suda, T., Maeda, N., Shimizu, D., Kamitsubo, E. & Shiga, T. (1982) Decreased viscosity of human erythrocyte suspension due to drug-induced spherostomatocytosis. *Biorheology* **19**, 555-565
 - 33) Valeri, C. R. & Zaroulis, C. G. (1972) Rejuvenation and freezing of outdated stored human red cells. *N. Engl. J. Med.* **287**, 1307-1313
 - 34) Vanderheiden, B. S. (1979) Inosine di- and triphosphate synthesis in erythrocytes and cell extracts. *J. Cell. Physiol.* **99**, 287-302
 - 35) Van Kampen, E. J. & Zijlstra, W. G. (1961) Standardization of hemoglobinometry II. The hemiglobincyanide method. *Clin. Chim. Acta* **6**, 538-544
 - 36) Waugh, R. E. (1986) Effects of 2, 3-diphosphoglycerate on the mechanical properties of erythrocyte membrane. *Blood* **68**, 231-238
 - 37) Weed, R. I., LaCelle, P. L. & Merrill, E. W. (1969) Metabolic dependence of red cell deformability. *J. Clin. Invest.* **48**, 795-809
 - 38) Zachara, B., Klem, J. & Kopff, M. (1981) Hypoxanthine nucleotides synthesis in fresh and stored human erythrocytes. *Acta Biol. Med. Germ.* **40**, 683-689

モルモットにおける視覚誘発電位の研究

鈴木 實・七條喜一郎・竹内 崇
(鳥取大学農学部家畜生理学教室)

Visual Evoked Potential of Guinea Pigs. Minoru SUZUKI, Kiitiro SITIZYO and Takashi TAKEUCHI (*Department of Veterinary Physiology, Faculty of Agriculture, Tottori University, Koyama-cho, Tottori 680, Japan*)

The present study was designed to establish visual evoked potential (VEP) as one of clinical tests for veterinary medicine. Experiments were carried out on eight adult male guinea pigs weighed 350 to 750 g. We investigated influences of click sound, luminous intensity and habituation on VEP patterns.

The VEP of the guinea pig was composed of primary (P 10, N 20, P 30, N 40) and secondary (P 55, N 75, P 100, N 140) components, followed by a rhythmic after-discharge. Click sound with flash produced some unclear peaks in VEP, while click sound without flash elicited clear six peaks. These different components of the response to stimulation suggested that the acoustically evoked potential induced some peaks in VEP.

With the intensity used in the present study, changes in luminous intensity resulted in unrecognizable difference among the VEPs. Early components of VEP were not clearly influenced by the habituation to stimulation. As the stimulation was repeated, rhythmic after-discharge seemed to be suppressed in the half of experiments.

key words : VEP, guinea pig

I. 緒 言

閃光刺激による脳波の反応が視野欠損患者において左右非対称を示すことは、1950年代に Weil and Nosik²⁰⁾, Pampiglione¹⁶⁾により指摘された。その後、コンピューターを用いた加算平均法の導入により、視覚誘発電位 (Visual Evoked Potential, 以下 VEP と略す) の研究は益々発展してきた。1960年代後半になると Cobb and Morton⁹⁾, Halliday and Michael⁷⁾によりパターン反転刺激という新しい刺激方法が開発された。パターン反転刺激の長所の一つとしては、単眼の半側視野刺激を容易に行えることなどがあげられている¹⁵⁾。一方、閃光刺激を用いた VEP の研究は視覚系障害の検査法としても検討され^{8,9)}、また、江部ら⁵⁾は、閃光刺激による VEP 記録法を検討している。ヒトの VEP に関しては、1984年に発表された臨床検査指針のなかで勧告規準が示されている^{18,19)}が、動物の VEP では明確な基準が定められて

いない。

一方、実験動物の誘発反応測定に際しては、noise の混入を防ぐために慢性埋め込み電極を用いた方法や、麻酔により動物を非動化した状態での報告が多い^{4,6,17)}。動物の VEP に関しては波形に影響を及ぼす種々の要因(刺激強度、慣れ、動物種、年齢、薬物、疾病等)が考えられ、実験動物あるいは愛玩動物臨床に応用するためには設定条件をより明確にする必要がある。

著者らは、動物の臨床に応用するための基礎データを得る目的で、モルモットを用いて VEP 測定を行い、クリック音、刺激強度及び慣れによる影響について検討した。

II. 実験方法

実験には体重 350~750 g のハートレイ系白色モルモット、雄、8 匹を供試した。VEP の記録は、慢性埋め込み電極を装着して行った。電極は、Pentobarbital sodium (Nembutal, 大日本製薬, 25 mg/kg) 麻酔下で、左右視覚野 (Left Optic Area, 以下 LO, Right Optic Area, 以下

RO と略す)の2点に探查電極を装着し、鼻背部に基準電極(Neutral Electrode, 以下Nと略す)を装着した。電極位置は Creel ら⁴⁾の方法に準拠し、頭蓋のラムダ縫合から2mm前方で、正中線から左右に5mm側方の点をそれぞれLO, ROとした。また、冠状縫合と矢状縫合の交点から12mm前方の正中線上の点をNとした。

電極は銀球電極(ユニークメディカル製コロチコ電極 UD type の先端約3mmを残して絶縁塗料で被覆したもの)を用いた。各探查電極は、直径約1mmのハンドドリルで頭蓋冠を貫いて脳硬膜表面に密着させ、頭蓋骨に歯科用セメント(HY-BOND, 松風KK)で接着固定し、基準電極は骨表面に固定した。

電極を装着した後1週間以上飼育し、VEP測定を行った。記録はモルモットを保定箱に入れ、頭部のみを露出させて30分間遮光した状態に置き、シールド室内で測定した。閃光刺激は、ストロボスコープを用い、2秒間隔で5分間、計150回行った。導出は単極2導出(LO-N, RO-N)とした。記録には脳波計(三栄測器, 1A52型)を用い、時定数0.3秒、感度200 μ V/5mmとし、60Hz高周波減衰フィルターを使用し、用紙への記録と同時に磁気テープ(SONY, Instrumentation Magnetic Tape)にも記録した。

VEPの分析は、磁気テープに記録した反応波をシグナルプロセッサ(三栄測器, 7T08)にて140回加算平均処理し、X-Yレコーダ(三栄測器, 8U11)にて記録した。VEP波形は上向きのふれを電氣的陰性とした。

クリック音の影響はモルモット8例のうち3例について検討した。クリック音の除去は、発光面周囲の空隙にパテ及び油粘土を詰め、さらに防音布で覆い、2人以上の実験者の耳に聴きとれない程度にまでクリック音を減衰させた。クリック音のみの影響に関する実験は、モルモットの両眼及び、ストロボスコープの発光面をアルミホイルで遮光し、そのVEPについて検討した。

照度の違いによる影響は刺激強度の変化として、ストロボスコープと眼の距離を20cm,

40cm, 60cmの3段階に変え、モルモット8例のうち5例について検討した。ストロボスコープの照度は、20cmの距離で80lxである。

慣れによる影響を検討するため、同じ5例のモルモットを用いて刺激強度実験の場合と同様に3段階の照度とし、3時間の間隔を置いて、各個体につき9時, 12時, 15時, 18時の計4回測定した。

Ⅲ. 結 果

A. VEP 波形に及ぼすクリック音の影響

Fig. 1(a)は、クリック音のみを与えた場合であるが、潜時200msecまでの間に明らかに陽性及び陰性の計6つのピークが認められる。(b)はクリック音及び閃光刺激を与えた場合であるが、早い成分の波には数カ所に融合した不明瞭なピークが認められる。クリック音も閃光刺激も除去した場合は、(c)に示すように明らかなピークは認められず、単に脳波を加算平均処理したものに近似している。さらに閃光刺激のみを与えた場合は(d)に示したように、正常VEP波形が得られ、150msecまでの間に陽性及び陰性の計8つの明瞭なピークが認められる。以上のように、閃光刺激と共にストロボスコープから発生するクリック音を与えた場合のVEP波形は不明瞭なピークを含み、典型的なVEP波形に比べピーク数が増している。

B. 正常 VEP 波形

眼前20cmの距離から与えた閃光刺激による典型的なVEP波形は、Fig. 1(d)に示すように陽性及び陰性のピークが各4個出現し、合計8個のピークが認められた。各ピークの潜時及びピーク間振幅をTable 1, 2に示した。陽性ピークはP10(5~17msec), P30(16~35msec), P55(50~60msec), P100(81~118msec)の値であり、陰性ピークはN20(16~28msec), N40(37~46msec), N75(63~87msec), N140(116~155msec)の値であった。なお、ここに表示した値は4回の測定のうち初回(9時)の数値を示したものである。

各ピークの出現頻度は、P10及びN40以降

ではいずれも90%以上であるのに対し、N 20 及び P 30 では50~60%と約半数で認められる程度であった。

ピーク間振幅は Table 2 における標準偏差が示すように、個体間にかんがりのばらつきが認められた。P 30-N 40 及び N 40-P 55 において最

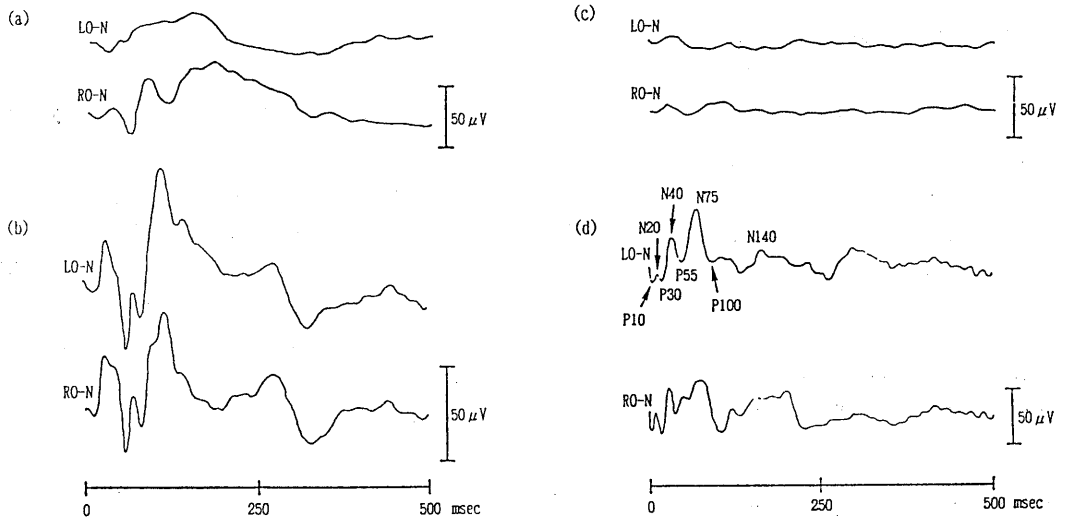


Fig. 1. Evoked Potentials Stimulated by Stroboscope.

(a) Stimulated by click sound, (b) stimulated by flash and click sound, (c) averaged with no flash and no click sound, (d) stimulated by flash.

Table 1. Peak Latency of VEP.

Lead		P 10	N 20	P 30	N 40	P 55	N 75	P 100	N 140
LO-N	n	4	2	3	5	5	5	5	5
	mean	11.0	20.5	25.6	42.0	55.2	75.8	99.8	139.4
	S. D.	6.2	—	9.4	5.9	4.6	9.8	18.3	21.6
RO-N	n	5	3	3	5	4	4	4	4
	mean	15.4	22.6	33.0	42.2	58.7	75.7	99.7	136.2
	S. D.	4.6	5.7	6.3	4.3	4.7	11.9	18.7	19.4

(msec)

Table 2. Peak to Peak Amplitude of VEP.

Lead		P 10-N 20	N 20-P 30	P 30-N 40	N 40-P 55	P 55-N 75	N 75-P 100	P 100-N 140
LO-N	n	4	4	5	5	5	5	4
	mean	18.1	18.9	42.6	37.9	25.4	40.2	27.8
	S. D.	22.1	12.0	35.4	21.4	20.6	21.7	21.5
RO-N	n	4	4	5	5	5	4	4
	mean	35.1	38.6	66.9	68.5	42.8	28.9	41.9
	S. D.	52.9	28.6	42.7	39.5	17.8	8.9	19.7

(µV)

大の振幅が認められた。但し、P 30 及び P 55 が出現しない例では、N 40 の前後の陽性ピークから N 40 までをピーク間振幅とした。各ピーク間振幅についての左右差を検討した結果、

Table 3. Change of Peak Latency by decreased illumination (Peak N 40)

Lead		20	40	60	cm
LO-N	mean	42.8	38.2	38.6	
	S. D.	5.9	2.7	0.8	
RO-N	mean	42.2	38.2	39.6	
	S. D.	4.8	1.9	2.8	

n=5 (msec)

Table 4. Change of Peak to Peak Amplitude by decreased illumination (peak P 30-N 40)

Lead		20	40	60	cm
LO-N	mean	42.6	39.4	56.3	
	S. D.	35.4	16.1	38.3	
RO-N	mean	64.5	53.2	55.5	
	S. D.	41.0	34.4	21.9	

n=5 (μV)

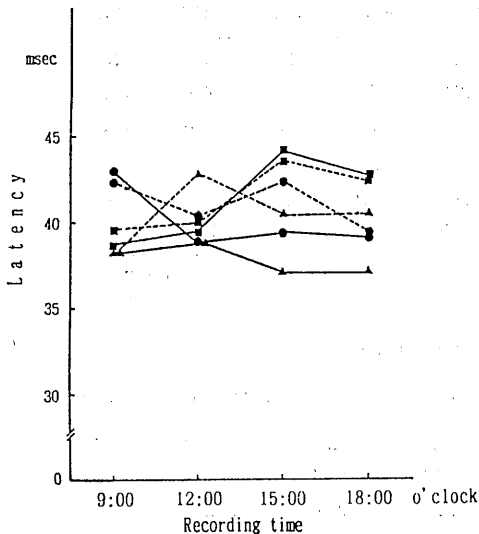
N 75-P 100 では左右差は認められなかったものの、他のピークの振幅比(左/右)は0.5~0.7であり、かなりのばらつきが認められた。

C. 照度減少に伴う VEP 波形の変化

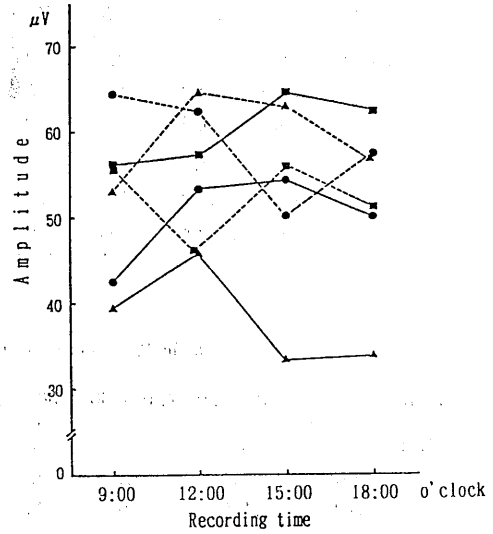
前述の結果において最も安定して出現し、最大のピーク間振幅を示した N 40 について照度の減少に伴う潜時及びピーク間振幅の変動を検討した。今回の実験では、ストロボライトと被験動物の距離を3段階に設定したが、それぞれの照度は80, 20, 8.9 lx となっている。Table 3 に示すように、潜時の変動はあまり認められず、35~48 msec の範囲内であった。ピーク間振幅 P 30-N 40 は Table 4 に示すように個体差が大きく、一定した傾向は認められなかった。

D. 慣れによる影響

各個体について照度を変化させた条件で、それぞれ4回の記録を行い、N 40 について検討した結果を Fig. 2 に示した。潜時は35~49 msec の範囲で比較的安定しており、ほとんど変化が認められなかった。ピーク間振幅は、測定ごとのばらつきが大きく一定した傾向は認められなかった。後発波は、100 msec 前後の持続時間を



(a)



(b)

Fig. 2. Changes in Peak Latency and Peak to Peak Amplitude by Recording Times. (a) peak latency, (b) peak to peak amplitude, ● : stimulated at 20 cm distance, ▲ : stimulated at 40 cm distance, ■ : stimulated at 60 cm distance, - - : LO-N, ... : RO-N.

持ち、明瞭に出現するものと、それが減衰または消失するものがみられた。測定回数を増すごとに、前者から後者へと移行するものが53%にみられたが、逆に後者から前者へと移行するものも6%であり、残りは不変のものであった。

IV. 考 察

VEP が後頭部優位に高い電位を示すことは、モルモットにおいてもすでに確認されている^{2,4)}。ヒトにおいては4~7個のピークが報告されているが^{13,14)}、本実験では8個のピークが認められた。モルモットの VEP パターンはヒトのものに類似しているが、P 10~N 40 までの各ピーク潜時は、ヒトに比べかなり短いことが特徴と考えられる。この成分はヒトでは一次反応(Primary Response)と呼ばれ、視覚特殊系に関連する反応と考えられており、同様に P 55~N 140 の成分は二次反応(Secondary Response)と呼ばれ、感覚野以外の広範な領野でもみられることから非特殊系に関連すると言われている^{10~13)}。このうち一次反応は個体の状態の変化に比較的影響され難く、個体間でも安定した性質をもっていると言われている¹²⁾。しかし、今回の実験では特に振幅における個体間のばらつきがかなり大きかった。

今回得られた VEP 波形は、先に Creel ら⁴⁾の報告したものとほぼ同じ波形であった。しかし、ピーク潜時は5~25 msec の延長がみられ、ピーク間振幅は約 1/2 程度の低値であった。これは測定条件、特に刺激強度の違いによるものと考えられる。振幅の左右差について廣瀬ら⁸⁾は正常なヒトの VEP において、P 1 と N 1 の2つの頂点にはかなりの左右差が認められるが、P 2, N 2, P 3 の頂点間振幅には比較的左右差が少なく述べている。加藤¹³⁾は左右の振幅比が50%以上異なる場合を異常の目安としている。今回得られたピーク間振幅は、N 75-P 100 を除く全てのピークで左右差が認められたが、50%以上の違いが認められた例はなく、異常とは考えられなかった。

Brankatschk and Klingberg¹¹⁾ はラットを用

いて視覚領域におけるクリック音に対する聴覚誘発電位(Audio Evoked Potential, 以下 AEP と略す)について報告し、大脳視覚領域における AEP は P 8-N 14 の短潜時成分を除けば VEP に類似すると述べている。つまり、クリック音が混入している場合は、VEP とそれに混在する AEP は区別が困難である。この点は閃光刺激の短所として指摘される点であり、さらに詳細な検討が必要である。

VEP 測定において、刺激強度は最も重要な条件であり、黒岩¹⁵⁾は、閃光刺激を行う際の注意点として、検査室の照度、閃光の強さ、被検者の瞳孔径の3条件を一定にすることが望ましいと述べている。しかしながら個体差あるいは個体内においても状態の変化によって瞳孔径が変わるため、これらの条件を一定にすることは困難が伴うことが多い。黒岩と梅崎¹⁴⁾は、同じ理由から網膜に与えられる光エネルギーの絶対量を表すことは困難であると指摘している。一方、米国脳波学会では VEP の定量的研究、あるいは網膜電位の測定には散瞳剤の応用を勧めている¹⁸⁾。

本間ら⁹⁾は、網膜受容器への光量の減少は早い成分の潜時の僅かな延長と振幅の低下となって現れると述べている。本実験では一次反応成分である N 40 について潜時とピーク間振幅を検討したが、照度減少に伴う変動はほとんど認められなかった。これは個体差による変動があまりに大きく、僅かな潜時や振幅の変動を指摘できなかったためか、あるいは照度の変化率が小さく、VEP に影響を及ぼすに至らなかったものと思われる。今後は、刺激方法をさらに詳細に検討するつもりである。

パターン刺激では、これらの点に関して有利である。つまりパターン刺激は、光の強さよりも寧ろ境界線を介したコントラストを重視したものであり、大脳視覚領域の刺激としては、より効果的であると言われている¹⁵⁾。しかし、このパターン刺激を動物に应用するには最も重要な要因であるスクリーンの注視という問題を解決しなければならないため、本実験では閃光刺

激を行った。

慣れによって起こる VEP の変動は、律動性後発射に最も著しく現れるといわれ、意識レベルや注意集中の有無によって影響されることが知られている^{11,12)}。本実験では3時間ごとに VEP 測定を合計20回行ったが、100 msec 前後の持続時間を持つ波は、測定回数に伴って約半数で減衰する傾向がみられた。

岩瀬¹⁰⁾は、早い後発射はその周波数が自発脳波と同じであることから自発脳波の増強によって起こり、一方、遅い後発射は麻酔時などで自発脳波の自動性を抑えたときに感覚野に局限してみられると述べている。江部⁵⁾は、VEP 記録方法について検討し、脳波が β パターンの時に刺激を与えると後発射が抑制をうけると報告した。また加藤¹²⁾は、後発射は脳波の優位リズムと態度を同一にすると述べている。今回の実験は、無麻酔の状態で記録したものであるが、上述した先人の報告から考察すると、律動性後発射の出現あるいは消失の起こる原因は意識レベルの違いによる自発脳波の影響であると考えられた。また、慣れによって振幅が低下すると考えるよりも寧ろ測定回数を増すごとに動物が警戒状態を強めるため、自発脳波に速波成分が増したための影響であろうと推察される。

一方、一次反応は慣れによる影響を受け難いといわれるが¹²⁾、本実験においても Fig. 2 に示すように N 40 では、潜時及び振幅とも大きな変化はみられなかった。このことは、視覚特殊系に由来する反応であることが示唆される。今回行った慣れに対する実験では、測定回数の増加に伴う慣れの現象についての検討であるが、今後は、ヒトと同様に動物においても、規則刺激の場合には1回の測定中に慣れの現象が起こるか否かを検討したいと考えている。

V. ま と め

VEP 測定を動物の臨床に応用するための基礎データを得る目的で、モルモット 8 例を用いて閃光刺激を行い正常 VEP 波形を求めると共に、クリック音の影響、ストロボスコープの照

度を減少させた場合の波形の変化、ならびに、繰り返し VEP 測定することによる慣れの影響について検討し、以下の結果を得た。

1. クリック音を除去することにより早い成分の波が明瞭に出現した。

2. 正常 VEP 波形には、合計 8 個のピークが認められ、40 msec の潜時を持つ陰性ピーク (N 40) で最も安定して出現し、最大振幅を示した。

3. ストロボスコープの距離を 20cm, 40cm, 60 cm と変えた場合に、潜時及び振幅の変動はほとんど認められなかった。

4. 早い成分の波については慣れによる潜時の遅延あるいは振幅の低下は認められなかったが、後発射は約半数で減衰が認められた。

文 献

- 1) Brankatschk, J. & Klingberg, F. (1981) Acoustically evoked potentials in the visual cortex and superior colliculus of the freely moving rat and their variability. *Acta. Biol. Med. Germ.* **40**, 1153-1159
- 2) Campos, G. B. & Welker, W. I. (1976) Comparisons between brains of a large and a small hystricomorph rodent: capybara, *hydrochoerus* and guinea pig, *cavia*; Neocortical projection regions and measurements of brain subdivisions. *Brain Behav. Evol.* **13**, 243-266
- 3) Cobb, W. A. & Morton, H. B. (1967) Cerebral potentials evoked by pattern reversal and their suppression in visual rivalry. *Nature* **216**, 1123-1125
- 4) Creel, D. J., Dustman, R. E. & Beck, E. C. (1973) Visually evoked responses in the rat, guinea pig, cat, monkey and man. *Exp. Neuro.* **40**, 351-366
- 5) 江部 充, 遠藤和彦, 石山陽事, 本間伊佐子 (1973) 視覚誘発電位 (VEP) 記録の検討. *臨床検査*, **17**, 422-423
- 6) Gerritsen, B. G. (1971) The effect of anaesthetics on the electroretinogram and the visually evoked response in the rabbit. *Doc. Ophthalmologica* **29**, 289-330
- 7) Halliday, A. M. & Michael W. F. (1970) Changes in pattern-evoked responses in man associated with the vertical and horizontal meridians of the visual field. *J. Physiol.* **208**, 499-513
- 8) 廣瀬憲文, 杉田隆博, 津本忠治 (1974) 視覚系神経障害患者における視覚大脳誘発電位. *臨床脳波*,

- 16, 79-89
- 9) 本間伊佐子, 石山陽事, 江部 充(1972)視覚系障害のERGとVEP. 臨床脳波, **14**, 30-38
 - 10) 岩瀬善彦(1967)誘発電位. 時実利彦編, 生理学大系V. 初版, 第2編, 第1章, 医学書院, 東京, 25-54
 - 11) 岩瀬善彦(1974)脳波の発生機構(Ⅲ). 臨床脳波, **16**, 376-386
 - 12) 加藤元博(1974)臨床神経学と大脳誘発電位(Ⅰ). 臨床脳波, **16**, 442-448
 - 13) 加藤元博(1974)臨床神経学と大脳誘発電位(Ⅱ). 臨床脳波, **16**, 503-512
 - 14) 黒岩義五郎, 梅崎博敏(1966)誘発電位加算法の神経科領域への応用. 藤森聞一, 佐藤時治郎, 寿原健吉, 齊藤正男, 大熊輝雄, 佐藤謙助編, 脳の電気現象の分析法とその応用. 初版, 医学書院, 東京, 290-302
 - 15) 黒岩義之(1986)視覚誘発電位. 中西孝雄編, 脳脊髄誘発電位. 初版, 朝倉書店, 東京, 130-161
 - 16) Pampiglione, G.(1952)Differences between the alpha rhythm and the responses evoked by photic stimuli, with particular reference to patients with visual field defects. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* **4**, 228
 - 17) Rosen, A. D. & Remmes, A. H.(1982)The visual evoked potential during development of focal epilepsy. *J. Neurol. Sci.* **53**, 217-224
 - 18) 下河内稔訳(1988)誘発電位の臨床検査指針〔3〕(米国脳波学会, 1984). 臨床脳波, **30**, 627-633
 - 19) 下河内稔訳(1988)誘発電位の臨床検査指針〔4〕(米国脳波学会, 1984). 臨床脳波, **30**, 703-707
 - 20) Weil, A. A. & Nosik, W. A.(1952)Photic stimulation in hemianopsia. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* **4**, 219-222

第 22 回 東北生理学談話会

日 時：平成元年10月28日(土)，29日(日)

場 所：東北大学医学部基礎第二講座

当番幹事：東北大学医学部第二生理 丹治 順

* は非会員を示す

1. 手指の両側性支配が著明なサル大脳運動野の特殊領域

*相沢 寛，虫明 元，*稲瀬正彦，丹治 順（東北大，医，第二生理）

大脳一次運動野の上肢支配領域において，同側性あるいは両側性に手指の運動と関連する神経細胞が 1. どのように分布し，2. どれ位まとまって存在するか，を調べる目的で2頭のニホンザルを用いて2つの実験を行った。第1の実験では，動物に左また右手によるキー押し運動を課し，運動遂行時の単一神経細胞の活動を記録した。運動遂行に際しての筋活動が左右いずれかの手指屈筋に局限したものになるよう，訓練には特別な注意が払われた。第2の実験では皮質内微小電流刺激法を用いて出力マップを作成し，両側手指の筋活動を連続的に記録した。その結果，非常に局限した特殊な領域の存在が示された。この領域は手指支配領域と顔面支配領域の移行部に存在する。この領域では運動に関連した活動を示す細胞のうち47%が同側ないしは両側の筋活動に先行した活動を示した。一方，手指支配領域全体については，従来の報告と一致して90%以上が反対側の筋活動に先行した活動を示していた。また，同領域での皮質内微小電流刺激法によって，同側手指筋に筋活動を誘発し得た。結語として，両側手指支配を示す特殊な小領域が運動野内に見いだされたことになる。

2. アメフラシ神経節細胞における，ヒスタミンに対する脱分極応答と過分極応答

高島浩一郎，佐々木和彦，高橋純子，工藤敦子，松本光比古，佐藤 誠(岩手医大，医，第一生理)

アメフラシ神経節においてヒスタミン(HA)を細胞外に投与した時に見られる Na^+ -dependent 脱分極応答(薬理的には H1 タイプ receptor)と K^+ -dependent 過分極応答(H2 タイプ receptor)の2種に関して，それぞれの応答の mediator について検討した。HA により脱分極応答が生じる細胞内に cGMP あるいは cAMP を圧注入すると脱分極応答が生じるが，HA に

よる脱分極はこれらと違って，IBMX の同時投与により増強させられることがなかった。また，GDP- β -S あるいは GTP- γ -S の細胞内圧注入は HA 脱分極にたいして影響を及ぼさなかった。一方，HA によって過分極する細胞に IAP(百日咳毒素)を圧注入すると HA 過分極応答は完全に抑制された。従って，HA による過分極応答には IAP に感受性のある G 蛋白が関与しているが，HA による脱分極応答では G 蛋白の関与はなく，Adenylate Cyclase-Protein Kinase A 系や，Guanylate Cyclase-Protein Kinase G 系の関与もないものと推論された。

3. 脳血管平滑筋における Endothelin (ET) の収縮発生機構

*香城孝磨，*土肥 守，*立木 光，*三浦一之，佐藤 誠(岩手医大，医，第一生理)

牛脳血管を用いた等尺性収縮モデルを使い，ET の収縮発生機構について実験的に検討した。

1) ET は 0.3 nM から脳血管を収縮させ，ED 50 はおよそ 3 nM でその収縮は Wash out しても寛解し難く，持続的であった。

2) Ca^{++} 拮抗剤 TA-3090，および Ca^{++} -free によって ET 収縮は control の約 50% に抑制され，ET 収縮における Ca^{++} -influx の関与，および細胞内での Ca^{++} -release の関与が示唆された。phospholipase C 抑制物質の NCDC の投与により ET 収縮は完全に抑制され，PI turn over の関与が強く示唆された。

3) Protein kinase inhibitor の H-7 および H-8 はどちらも ET 収縮を著明に抑制し，ET による収縮が protein kinase C によって強く修飾されていることが示唆された。

4) 1 μM tetrodotoxin は ET 収縮を control の約 60% に抑制し，その抑制効果は Ca^{++} -free においては見られず， Na^+ -free による抑制効果と一致していたことから， Na^+ に対する permeability の増大が voltage-dependent Ca^{++} チャネルを開いて Ca^{++} -influx をきたしている可能性が示唆された。

5) 1 μM ONO-3708, 10 μM indomethacin, 10 μM phenidone および 100 μM caffeic acid の前投与により, ET 収縮は全く抑制されなかった。

4. 尿と精巢の MRS (Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy)

中屋重行, 吉岡芳親, 田中康夫, 吉田雄樹, *花岡秀人, *川村良子, 安田直毅, *青木 光*, *久保 隆* (岩手医大, 医, 第二生理・泌尿器科*)

尿の MRS では, 採取した尿 (0.2 ml) をそのまま前処理なしに短時間 (20分) で測定できる。 $^1\text{H-NMR}$ では, 尿中クレアチニン・乳酸・クエン酸・馬尿酸や各種アミノ酸等の他に, 未同定ピークが認められるが, それはトリメチルアミン化合物のスペクトル位置に相当する。

精巢組織 (ヒト・ラット・イヌ) の $^1\text{H-NMR}$ では, ケミカルシフト 3.2 ppm のピークが最も大きく, コリンのトリメチルアミン基のピークと同定された。

尿でも 3.2 ppm 付近のピークが出現するが, とくに, 精巢機能低下症 (Klinefelter 症候群) のヒト尿ではそのピークは小さかった。このことから, 尿中には精巢由来のコリンが混在すると考えた。

精巢の $^{31}\text{P-NMR}$ では, ホスホモノエステル (ホスホコリン) のピークが高く, レシチンやスフィンゴミエリンのピークは低かった。

尿の $^{31}\text{P-NMR}$ では, 無機リン酸が存在するのみで, 尿中のコリンは free の状態で存在するとみた。

5. 圧痛閾値測定について

奥田和久, *藤澤政紀*, *松田 葉*, *東海林 理*, *高嶋 勉*, *石橋寛二*, 鈴木 隆 (岩手医大, 医, 口腔生理・第二補綴*)

圧痛閾値のより正確な測定を行なう目的で, 加圧速度と閾値との関係を調査した。これを行なうため, 等速度で加圧する方法を考案した。

顎口腔系の正常な成人 5 人の咬筋部を測定部位に選んだ。ストレインゲージ式の荷重変換器 (接触面の径 1 cm) を測定部皮膚表面に垂直に加えた力と, 台形波発生器からの 2 種の信号を同一オシロスコープでモニターした。験者が両スポットを一致させるように変換器を操作することにより, 等速度の加圧を実現した。被験者に, 痛みを感じたときに警告鈴を押すように指示し, その時の加圧値を閾値とした。速度がはやくなるに従い, 平均閾値はほぼ単調に上昇し, 0.125~4

kg/s の範囲で約 2 倍に達した。ばらつきは, 0.5 kg/s の時, 最小であった。これらの原因の一つに, 痛みを感じてから鈴を押すまでの反応時間の関与が考えられる。一方, 2 kg/s の加圧速度で, 0.25 kg/s と 2 kg/s の閾値の途中で加圧を止めると, 被験者が痛みを訴えることはほとんど (約 80%) なかった。従って, 速度を速めたときの閾値上昇に, 反応時間以外のメカニズムの関与が示唆された。正確な圧痛閾値測定を行なう上で, 加圧速度の制御が重要であると考えられる。

6. ネコ上丘浅層における GABA 抑制について

瀧森 徹, 小川哲朗, *飯島浩一* (秋田大, 医, 第一生理・第二解剖*)

ネコ上丘浅層には GABA が高濃度に存在することが知られている。本研究ではネコ上丘浅層における抑制と GABA の関わりを検討するため, クロラロース麻酔したネコの上丘浅層ニューロンから多連ガラス電極で自発発射や視神経刺激により誘発される反応を細胞外に記録し電気泳動的に投与された GABA 及びこの特異的拮抗薬であるビククリンの作用を調べた。また免疫組織学的に上丘浅層の抑制を検討するため, 本学飯島等の作製した GABA 抗体を用い PAP 法により GABA 免疫反応陽性細胞を検出し, その層内分布や密度について調べた。

上丘浅層中部で記録された細胞の 70% において自発発射または視神経の電気刺激により誘発されたスパイク発射が GABA の電気泳動で抑制された。20% のものは GABA の影響を受けなかった。10% のものは不明であった。また GABA によるスパイク発射抑制例は浅層のどの部位にも見られた。視神経の電気刺激で引き起こされる浅層ニューロンの抑制はビククリンで抑えられた。GABA の抑制作用はビククリンで拮抗されたので浅層ニューロンは少なくとも GABA_A レセプターを有すると考えられる。GABA 免疫反応陽性細胞は主に第 2 層に存在した。ニッスル標本と比較したところ第 2 層ニューロンの約 30% が GABA 陽性細胞であった。

7. 暗闇飼育ネコにおける眼球優位の可塑性とノルアドレナリン受容体

城川哲也, *笠松卓爾*, *Ramachandran, V. S.** (秋田大, 医, 第一生理・The Smith-Kettlewell Eye Res. Inst*・UCSD**)

出生直後の仔ネコを完全な暗闇の中で飼育すると,

通常では生後3ヵ月頃には消失してしまう眼球優位性の可塑性が成熟後にも維持されるという事実が知られている。この暗闇飼育ネコにおける可塑性の発現に β 受容体が関与しているか否かを検討するために、一年以上暗闇で飼育されたネコの一侧の眼瞼を縫合すると同時に、皮質内に慢性的に埋めこんだカニューレと浸透圧ミニポンプによって対側の皮質17野を β_1 遮断剤(D, L, -metoprolol, 10 mM)で持続的に灌流した。反対側の皮質ではノルアドレナリン(0.05 mM)が灌流され、遮断剤の効果と比較された。その結果、 β_1 遮断剤で灌流された皮質では眼球優位シフトが起こらなかったのに対して、ノルアドレナリンで灌流された側では顕著なシフトが観察された。同様な方法で投与したD-metoprololは、シフトに対する抑制効果を示さなかった。これらの結果は、暗闇飼育されたネコの視覚皮質で見られる眼球優位の可塑性の発現においても、仔ネコの場合と同様に『ノルアドレナリン- β_1 受容体』系の働きが必要であることを示唆した。

8. CN 及び無酸素による 兎頸動脈小体の細胞内 Ca^{2+} 濃度の増加

佐藤 実, 岩崎 斉, 吉崎克明, 古谷野速雄 (秋田大, 医, 第二生理)

頸動脈小体は、酸素欠乏を受容する器官で、その主な構成細胞である主細胞がケモレセプターであると考えられている。ケモレセプションの機構を調べる目的で、CN(1 mM NaCN)や無酸素刺激に依る主細胞の細胞内 Ca^{2+} 濃度($[Ca^{2+}]_i$)への影響をfura-2蛍光顕微測定法で調べた。材料は新生兎の頸動脈小体の初代培養細胞。無酸素液は亜2チオン酸ナトリウム($Na_2S_2O_4$, 5 mM)添加による酸素吸着と N_2 置換で得た。

主細胞をCN及び無酸素で刺激すると、 $[Ca^{2+}]_i$ が徐々に2~3倍増加した。他方、高 K^+ やベラトリジン(VRT, 100 μ M, 電位依存性 Na^+ チャネルのアゴニスト)で誘起される $[Ca^{2+}]_i$ の増加は、急激に10倍以上に達し、特にVRT誘起 $[Ca^{2+}]_i$ 増加はTTXで抑制される。しかし、CN及び無酸素誘起 $[Ca^{2+}]_i$ 増加はTTXで抑制されなかった。シアンや無酸素液から Ca^{2+} 又は Na^+ を除いて刺激すると、 $[Ca^{2+}]_i$ 増加は消失し、この後正常液に置換すると、 $[Ca^{2+}]_i$ 増加が一過性に現われた。

以上から、CN及び無酸素誘起 $[Ca^{2+}]_i$ 増加は、電位依存性 Ca^{2+} チャネルの開口によるものではなく、主に細胞外の Ca^{2+} とCN及び無酸素で細胞内に増加

したと推測される H^+ が、 Na^+-Ca^{2+} 交換輸送系と Na^+-H^+ 交換輸送系のカップリングした経路で交換した結果であると考えられる。

9. 心機能の過渡的変動

渋谷 泉, 松山清治, 内田勝雄, *田中万博, 宮本嘉巳, 土居勝彦(山形大, 医, 第一生理・工, 情報工学*)

心臓機能は急激に変化する生体の設置環境・状況での種々の要求に対してそれぞれに特異的に即応しながら新しい恒常性を獲得する最適調節機構を有している。本実験ではヒトに種々の強度の温度ならびに運動負荷を与えた直後の一回拍出量(SV), 心拍数(HR), 左心室駆出時間(ET)と心拍出量(\dot{Q})の変化の大きさ, 変化速度を測定することにより, 負荷に対して心機能がどのような方向と様式でもって新たな恒常性を確立するかについて検討した。あわせて, これら過渡応答特性の負荷の種類, その強度による差異についても解析した。極めて速い過渡的応答の測定にはインピーダンスカルディオグラフィが有用で, 理論的には一心拍毎のSVの測定も可能である。35℃暴露での運動負荷(30, 60, 90, 120 W)では, 22℃, 10℃暴露時に比べて, SVの上昇, HRの不変, ETの低下, \dot{Q} の増加がみられた。22℃と10℃とは差がなかった。22℃環境下での運動負荷直後のSV, HRと \dot{Q} の過渡的変動, 応答の大きさ, 速度をみると, 30 Wでは $HR > \dot{Q} > SV$, 120 Wでは $SV > \dot{Q} > HR$ で, 心機能の過渡的応答は温度ならびに運動の強度により, 異なった様式でおきることを示している。

10. 心筋細胞のガス交換

内田勝雄, 加川朋子, 土居勝彦 (山形大, 医, 第一生理)

心筋細胞内のガス拡散過程を定量的に解析するための基礎的研究の一つとして, ラットの単一心筋細胞を用いて, ミオグロビン(Mb)の O_2 解離曲線を測定した。細胞に接触するガスの O_2 分圧を種々に変え, 各分圧に平衡したときのoxy-およびdeoxy-Mbの吸光度の差を測定して O_2 飽和度を求めた。Hillプロットから P_{50} および n を求め, さらにそれらの温度依存性を検討した。24および34.4℃における P_{50} は, それぞれ $2.7 \pm 0.51(3)$, $4.5 \pm 0.09(5)$ Torrであった。 n は共に1.1であった。Mb溶液(9 mM)では, P_{50} が, $3.5 \pm 0.27(10)(31.3^\circ C)$, $5.3 \pm 0.41(11)(36.4^\circ C)$, $8.7 \pm 0.36(11)(42.6^\circ C)$ Torr, n は, それぞれ0.97, 0.96お

および 1.0 であった。P₅₀ の温度依存性を検討するために Mb の酸素化反応の平衡定数 $K(=1/P_{50}^n)$ の対数と絶対温度の逆数の関係 (van't Hoff の式) から、反応熱 (ΔH) を求めた。心筋細胞、Mb 溶液でそれぞれ -9.4, -15 Kcal/mol と ΔH が負の値をとったことは、Mb の酸素化が発熱反応であり、その結果、P₅₀ 温度の依存性、すなわち O₂ 親和性の低下がもたらされたことを示している。心筋細胞内の Mb の P₅₀ が、このように温度と共に増大することは、細胞の代謝亢進に対応してミトコンドリアへの O₂ 供給を促進させる意味で有利な機構と考えられる。

11. 心筋細胞内 pH, [Ca²⁺] の同時測定法の開発

渋谷 泉, 松山清治, *田中万博, 土居勝彦(山形大, 医, 第一生理)

心筋細胞の収縮機能の機序の解明のためには、細胞内 pH(pHi) 及び細胞内 Ca([Ca²⁺]_i) の動態を定量的に解析することが重要である。このため本研究では、単一心筋細胞レベルにおける分光学的手法による同時測定法の開発を行った。酵素処理により分離したラットの単一心筋細胞 (1×10^5 cells/cm²) に、pH 感受性色素の BCECF-AM (1 μ M) と Ca 感受性色素の Fura-2-AM (5 μ M) を同時に取り込ませ (1 h, 35°C), 細胞に励起光を照射することにより得られる蛍光 signal を random access camera (C 3329; 浜松ホトニクス社製) を用いて測定した。pHi 及び [Ca²⁺]_i の絶対値は、それぞれ 2 波長励起 (pHi (500/440 nm), [Ca²⁺]_i (340/380 nm)) により得られる蛍光強度の比により算出した。このために、1) 励起光選択のための 4 種類の band pass filter を取り付けた円盤、及び 2) 蛍光 signal 選択のための 2 種類の filter cassette の 2 つを作製し、これらをそれぞれ 2 台の stepping motor に接続した。pHi 及び [Ca²⁺]_i 測定時の光学条件に合致するようにそれらの動きを stepping motor を介して computer 制御を行った。即ち両者の光学条件を交互に繰り返すことにより、pHi, [Ca²⁺]_i の同時測定が行われる。この system を使用することにより、2 sec/cycle の経時的な同時測定が可能となった。

12. 心筋細胞内の pH, Ca²⁺ の動態

松山清治, 渋谷 泉, *田中万博, 土居勝彦(山形大, 医, 第一生理)

本研究では、分光学的方法を用いて単一心筋細胞内の pH(pHi) と Ca(Cai) についての解析を行った。pH

および Ca の probe として、BCECF および Fura-2 を用いた。これらの色素の in vivo calibration は次のように求められた。1) $\text{pH} = 6.92 + \log((R - 0.65) / (5.20 - R))$, 2) $\text{pCa} = 5.90 + \log((5.50 - R) / (R - 0.43))$ 。式中の R は二つの色素をそれぞれ二波長励起して得られた蛍光強度の比 (BCECF : EM 500/EM 440, Fura-2 : EM 340/EM 380) である。まず始めに pHi の単独測定を行った。各種濃度の CO₂ 混合 gas を負荷して pHo を 8.3 から 6.0 まで段階的に変えたところ、pHi は 7.5 から 6.2 まで pHo に対して 0.62 の傾きをもって変化した。また乳酸 (30 mM) 負荷による pHi 変化から心筋細胞の緩衝能を求めると、33.1 (mM/pH, pHo = 7.4) であった。pHo が 8.0 から 6.5 の範囲において、緩衝能は 21.7 から 51.2 までの範囲で直線的に変化した。乳酸負荷前の pHi が 7.6 から 6.5 の範囲においても、約 20 から 50 の範囲で直線的な変化を示した。次に pHi と Cai の同時測定を行った。はじめに、NH₄Cl 負荷により pHi を変化させると wash out 後の pHi 回復過程に一致して Cai の上昇を認めた。また低 Na 溶液 (30 mM) 負荷により Cai を上昇させたところ、pHi の上昇も認められた。この同時測定の成績より、心筋細胞内の pH および Ca 調節機構は互いに影響し合っていることが示唆された。

13. モルモット海馬長期増強にはアラキドン酸カスケードが関与する

*齊藤一夫, *宇留野勝久, *加藤邦夫, 藤井 聡, 加藤宏司(山形大, 医, 第二生理)

モルモットの海馬薄切標本 CA1 領域で、アラキドン酸カスケードを阻害する薬物を灌流しながら反応を記録して、長期増強の誘導に対する影響を調べた。

アラキドン酸を産生するホスホライペース A₂ を阻害するメバクリン (100 μ M) の投与により長期増強は阻止された。

アラキドン酸の代謝系路の一つであるシクロオキシゲナーゼを阻害するインドメサシン (10 μ M) は長期増強の誘導には影響を与えなかった。

またもう一方の系路であるリポキシゲナーゼを阻害する NDGA (100 μ M) により長期増強は阻止された。

アラキドン酸 (50 μ M, あるいは低マグネシウム (0.1 mM) だけの灌流では、反応の一過性の増大は起るが、長期増強は誘導されなかった。しかし、両者を組み合わせて灌流することにより長期増強が誘導された。

以上のことから、アラキドン酸カスケード特にその

リポキシゲナーゼ系の産物が、細胞内機序として長期増強の誘導に関与していると考えた。

14. 大腸伸展刺激における Cl^- 分泌反応

*板坂 哲, 鈴木裕一(山形大, 医, 第二生理)

大腸粘膜上皮には電解質分泌機構があり, その基盤になっているのは Cl^- イオンの血液側より管腔側方向への能動輸送である。この Cl^- イオン分泌亢進にもなって管腔内の負の方向に経上皮電位の変化が認められる。この方法を使って, 今回, 大腸壁を伸展刺激した時に分泌が亢進することを見いだした。雄ウィスター系ラットの遠位側大腸を用いた。3%寒天塩橋を腸管内腔と漿膜側緩衝液に接続し, カロメル電極で管腔内電位を測定した。マリオットボトルを上昇させ腸管内圧を上昇させ腸管伸展刺激をしたとき, 一過性に内腔負の方向に管腔内電位の増加を認めた。フロセמיד, テトロドトキシンを各々漿膜側に投与して伸展刺激をすると管腔内負電位の増大はほとんど消失した。アトロピンを投与して伸展刺激をすると管腔内負電位の増大は平均22%だけ抑制されたが, ヘキサメトニウムを投与しても影響はなかった。次にノルアドレナリンを投与して伸展刺激をすると管腔内負電位の増大は平均20%有意に抑制された。さらにヨヒンビンを追加投与して伸展刺激をすると電位変化は有意に回復したが, プラゾシンを追加投与しても電位変化が回復することにはなかった。以上ラット遠位大腸 *in vitro* 系で伸展刺激をした時, 壁内神経を介した Cl^- 分泌反応が起こる。これは一部にコリン作動性神経が関与している。またノルアドレナリンは Cl^- 分泌反応を抑制し, $\alpha 2$ レセプターを介している。

15. モルモット幽門洞粘膜 HCO_3^- 分泌における刺激物質間の相互作用

金子健也, 鈴木裕一(山形大, 医, 第二生理)

胃幽門洞の HCO_3^- 分泌は Bethanechol (BCh) によって亢進する。この分泌亢進は Indomethacin 存在下で大部分抑制されるので, Prostaglandin 類 (PG) 合成を介して分泌亢進が起こるとこれまで考えてきた。しかし, この時同時に, PG 合成を介さないシグナル・トランスダクション系も活性化されている可能性がある。今回, BCh 刺激による HCO_3^- 分泌亢進において, PG 合成を介する系と介さない系の相互作用について検討した。実験はモルモット胃幽門洞粘膜を用い, Ussing-type のチャンバーに取り付け, PH スタット

法で HCO_3^- 分泌を測定した。BCh 刺激による PG 合成を介する成分を抑制するために, Indomethacin 存在下で BCh を投与した。この条件で, Prostaglandin E_2 (PGE_2) または 8-Bromo-cyclic AMP (8-Br-cAMP) を液中加入し, BCh との相互作用をみたところ PGE_2 1~10 nM 又は 8-Br-cAMP 100 μM ではそれ自体で, HCO_3^- 分泌亢進は示さなかったが, BCh 100 μM との同時投与では, BCh 単独投与と比較して, 著明な HCO_3^- 分泌亢進がみられた。 PGE_2 や 8-Br-cAMP を高濃度投与した条件では, HCO_3^- 分泌反応が飽和するためか, このような BCh の PG 合成を介さない成分との増強作用はみられなかった。以上の結果は, BCh による HCO_3^- 分泌亢進に際して, 複数の情報伝達系が同時に賦活化され, それらの間で増強作用が起こることを示している。

16. ラットの回腸盲腸切除後にみられる残存大腸の機能・形態および糞便の変化について

星川 匡, 鈴木裕一, 矢島高二** (山形大, 医, 第一外科・第二生理*・ヤクルト中央研**)

大量の腸切除術後に発生する下痢のメカニズムを知るために, ラットに回腸盲腸切除術を施行して下痢を発生させ, 残存する大腸の変化を主に検討した。

【対象と方法】 切除群は, 回腸と盲腸を切除し, 対象群は腸管を切離吻合した。この両群について, 術後28日までの糞便の水分含有率, 有機酸, 腸内菌叢の変化を観察し, 同時に大腸粘膜の水吸収機能を粘膜の反転囊を用いた重量測定法で求め, 乾燥重量も測定した。

【結果】 切除群の糞便は術後28日まで水分含有率が高く, 下痢の状態が続いた。糞中の短鎖脂肪酸がほとんど消失し, 乳酸が高濃度にみられた。この有機酸組成の変化は, 嫌気性菌群の著しい減少にもとづくものであった。大腸粘膜の水吸収機能は, 下痢の特に激しい3日で著しい増加を示し, この変化は, 血清アルドステロンによることが明らかとなった。乾燥重量は, 術後28日で著しく増加していた。

【結語】 ラットの回腸盲腸切除術後28日まで下痢が続いたが, 原因の1つとして糞中有機酸の変動が考えられ, 残存する大腸粘膜の機能と形態も, 経時的に著しく変化していることが明らかとなった。

17. ウシ胎児血清に含まれる keratinocyte growth factor 抽出の試み

葛西四朗, 池嶋一兆*, *岡田泰之*, 秋元久仁章(奥

羽大, 齒, 口腔生理・第一口腔外科*)

1980年 Yuspa S. H. らによって *in vitro* で上皮性 keratinocyte の分化が Ca によって誘導されることが明らかにされてから, この種の培養研究にキレート血清が用いられるようになった。今回, われわれは種々の pH に調整した Chelex 100 resin を用いウシ胎児血清を処理し各血清の keratinocyte の増殖促進効果を検討した。その結果 pH 7.5~11 で処理した血清はウサギ口腔粘膜由来の初代の keratinocyte の増殖を抑制するのに対し pH 4.0 に調整した resin で処理した血清中には keratinocyte growth factor の存在が示唆された。そこで, この血清を硫酸分画して各分画のもつ増殖促進活性を検討した結果, 40%と45%の硫酸分画において高い活性が認められ, その再現性も確かであった。更に分画を試みるため Sephadex G 100 に懸けたところ単峰性を示したので, G 200 で分離を試み, 幾つかの峰に分けることに成功した。その各分画について, keratinocyte の増殖促進効果を検討した結果, 初期流出分画のグロブリンに相当する標品に 0.2 mg/ml を頂点とする増殖促進作用が認められ, かつこの有効成分は従来知られている fetuin とは異なる物質であることが確かめられた。一方, 後期に流出する低い分子量域にも別な keratinocyte growth factor の存在が認められ, この物質は少なくとも 2 mg/ml まで濃度依存性を示した。

18. フローサイトメトリーによる DAF 陽性および陰性赤血球の検討

寺沢 崇, *七島 勉*(奥羽大, 齒, 生理・福島県立医大, 第一内科*)

Decay-accelerating factor (DAF) は分子量約 70 K の糖タンパク質であり, 補体活性化反応系における C_3 , C_5 コンベルターゼの崩壊促進作用を有し, 自己の補体系から細胞を守る働きがあるとされている。一方, 発作性夜間血色素尿症 (PNH) は補体溶血に対する感受性が異常に亢進した赤血球の存在により血管内溶血を来す疾患である。本研究は赤血球膜上に存在する形質発現を解析する目的で正常赤血球および PNH 赤血球における DAF の発現をフローサイトメトリーおよび金コロイドを用いて検討した。補体溶血感受性試験 (CLS テスト) は Rosse & Dacie (1966) によった。また, フローサイトメトリーは被検赤血球に抗 DAF 抗体を, 二次抗体として FITC 標識抗マウス IgG を反応させた後計測した。対照としては 1% BSA-PBS (-)

を反応させたものを供した。フローサイトメトリーの検討では正常赤血球ではすべて DAF 陽性細胞のみ (一峰性) であった。一方, PNH では DAF 陽性, 陰性細胞の (二峰性) 所見が得られた。さらに PNH においては DAF 陰性細胞の割合と CLS テストによる補体感受性赤血球割合は Case 1 (62.5%, 57.4%), Case 2 (85.7%, 77.8%), Case 3 (42.4%, 34.6%) で近似した値を示した。また, 赤血球膜上での DAF の分布は集簇的に膜一様に分布していた。

19. Goldman-Hodgkin-Katz の式の自然対数の定義に基づいた考察——教養課程神経情報学の教育における一つの試み——

高橋弥穂(東北学院大, 教養, 情報科学)

神経細胞の膜電位を記述する Goldman-Hodgkin-Katz の式の意味を理解することは, 生物, 医学系の学生にとってばかりでなく, 情報系の学生にとっても基本的に重要である。この式は本来熱力学に関する微分方程式を組立, それを解くことによって得られるものであるが, 演者は熱力学を十分に学んでいない学生に対する講義の必要上, 従来の考え方とは視点を変えたこの式の理解の仕方について考察した。具体的には, この式が自然対数の形になっていることに着目し, その定義から考察した。先ず物理学では一般的な, Lambert の法則において, 自然対数の底 (e) があらわれてくる背景を考え, 次にその考え方を Boltzmann 分布の式の解釈に応用し, さらにこの式を使って Nernst の式を導びき, これを基礎として目的とする Goldman-Hodgkin-Katz の式を考察した。

この方法による学習によって, 熱力学を正式に学んでいない学生にとっても自然対数があらわれてくる背景を~知ることが出来~、Goldman-Hodgkin-Katz の式の理解も容易になることが期待される。

20. マウス唾液腺房細胞におけるアセチルコリンおよび β -アドレナリン受容体刺激時の Cl 分泌および Na-K ポンプ活性に対する Na・K・Cl 共輸送系の関与

西山明德, 林 曠*, 斎藤禎隆, 高橋英子, 岡田美穂(東北大, 医, 第一生理・医療短大, 看護学*)

表面灌流耳下腺の腺房細胞に微小電極を刺入し, 刺激に対する膜電位反応を解析した。ACh (5×10^{-8} M) の 2 分間刺激は 20 mV 台の持続性過分極性反応をもたらした。この反応は側膜に存在する起電性 Na ポ

ンブおよびKコンダクタンスの賦活による過分極反応と腺腔膜に存在するClコンダクタンス賦活による脱分極の3成分より構成されるものと示唆された。またIsoreterenol(10^{-6} pM)刺激は初め過分極し、続いて脱分極する2相性反応、あるいは単相性の脱分極(16 mV)反応をもたらした。これらの反応はNaポンプの賦活とClコンダクタンスの上昇による2成分からなると示唆された。フロセミドの投与、無NaあるいはCl液の灌流下で両刺激によるNaポンプおよびClコンダクタンス上昇の両成分は著明に抑制された。

上記の成績から、共輸送系によるNaと連結して流入するClの取り込みや、腺腔膜でのCl分泌の化学的駆動力とコンダクタンスの維持に重要であると結論した。

21. ラット中枢神経細胞の GABA_A 受容器

中川尚志, 若森 実, 白崎哲哉, 赤池紀扶(東北大, 医, 病態生体情報)

延髄孤束核は、舌咽神経などからの入力を受け、体性感覚、味覚、呼吸調節、血管運動の中核として知られている。この孤束核にGABAを局所投与すると、高血圧、頻脈がみられ、孤束核における伝達物質としてのGABAの存在が示唆されていたが、その詳細は不明であった。今回我々はラット孤束核より神経細胞を急性単離し、パッチクランプ法、whole-cell recording modeを用い、GABAによって惹起されるイオン電流応答について検討を行った。

GABA, そのアゴニストである muscimol によって濃度依存性に増大するイオン電流が惹起された。その反転電位は E_{Cl} とほぼ一致した。Bicuculline(BIC), strychnine (STR), picrotoxin, penicilline (PCG), Cd^{2+} , Zn^{2+} によってGABA応答は濃度依存性に抑制された。このうちBICとSTRは競合的拮抗を示し、その作用に電位依存性はなかった。またPCGは非競合的拮抗を示し、過分極より脱分極になるに従いその作用は増大する電位依存性を示した。

本実験よりGABAが抑制性伝達物質として、直接孤束核ニューロンに働いていることが示唆される。また孤束核におけるGABA応答は末梢における反応と基本的に類似していた。

22. ラット視交叉上核神経細胞のグリシン応答

伊藤千登世, 赤池紀生(東北大, 医, 病態生体情報学)

視交叉上核(SCN)は、げっ歯類における概日リズムの主要なオンシレーターであり、そのリズム発生および時刻合わせ機構に興味もたれている。しかしSCN細胞が極めて小さいために細胞内記録が困難で単一細胞レベルでの解析は進んでいなかった。そこで今回我々は急性単離下のラットSCNニューロンを用いてパッチクランプ法によるwhole cell recordingを行ない、代表的な抑制性神経伝達物質であるグリシンの応答とその修飾作用について調べた。

グリシンの単独投与は用量依存性に電流を惹起し、この反応の逆転電位からClチャンネルの関与が考えられた。また、閾値下のグリシンをNMDAと同時に投与するとNMDAの作用は著明に増強された。グリシンのみの応答はstrychnineによって用量依存性にブロックされたが、グリシンが増強したNMDAの作用はstrychnineでは影響されず、CNQXにより抑制された。以上から、視神経からSCNへの明暗情報入力の伝達物質と考えられている興奮性アミノ酸の応答をグリシンが修飾している可能性が示唆された。

23. ラット中枢神経細胞の NMDA 応答

白崎哲哉, 赤池紀扶(東北大, 医, 病態生体情報学)

興奮性アミノ酸受容器が脳の可塑性や脳虚血後の遅発性細胞壊死に関与する可能性など興味ある知見が相次いで報告され、その生理学的・薬理学的性質の解明が注目されている。本実験では特にNMDA応答へのグリシンとセロトニンによる修飾作用についてYチューブ法にて検討した。膜電流の測定はwhole-cellとout-side out modeで膜電位固定下に室温にて行った。グリシンはピーク相とこれに続くプラトー相から成る内向き電流を発生した。グリシンはNMDA応答のピークとプラトー両相を等しく増強したがコンダクタンスには影響を与えなかった。この増強効果はストリキニンでは拮抗されず、キヌレイン酸で拮抗された。セロトニンは 10^{-15} から 10^{-10} Mの低濃度で5-HT_{1A}レセプターを介してピーク相をより特異的に抑制した。この抑制作用は 10^{-9} から 10^{-7} Mのグリシンにより拮抗された。さらにフォルスコリンでもセロトニンと同様にNMDA応答の抑制がみられたが、セロトニンによるNMDA応答の抑制にセロトニンの共存が必要であるのに対し、フォルスコリンでは前処置のみでも有効であり、NMDA応答抑制に関して異なる機序の存在が示唆された。

24. *Aplysia* 神経節細胞に於けるグルタミン酸と GABA の相互作用

*小山保夫, 赤池紀生(東北大, 医, 病態生体情報学)

機械的に単離した *Aplysia* 神経節細胞に吸引電極法および外液瞬時交換法を適用し, 以下の結果を得た。

① GABA は 3×10^{-6} M 以上の濃度において用量依存性にグルタミン酸惹起 Cl 応答の回復過程を遅らせた。しかし, グルタミン酸 Cl 応答のピーク値にはほとんど影響はなかった。② この現象は GABA 惹起 Cl 応答の無い細胞でも観察された。③ GABA_A 受容器作働薬の muscimol(10^{-4} M)も GABA 同様にグルタミン酸 Cl 応答の回復過程を遅らせた。しかし, GABA_B 受容器作働薬の baclofen(10^{-3} M)および GABA_A 受容器阻害薬の bicuculline(3×10^{-4} M)はグルタミン酸 Cl 応答のピーク値を抑制したが, その回復過程には影響はなかった。④ GABA は 10^{-4} M 以上の濃度で, 低濃度の GABA で賦活された Cl 電流とは異なる活性化および不活性化過程の遅い Cl 電流を惹起した。この Cl 電流はグルタミン酸(10^{-4} M)の前処置により消滅した。

以上の結果より, *Aplysia* 神経節細胞のグルタミン酸受容器・Cl チャネル複合体には GABA に対する (i) Cl 応答の回復過程に影響を与える高親和性部位と (ii) Cl チャネルを開く低親和性部位が存在する事が考えられた。

25. 歯根膜からの一次求心性神経線維の中枢内終止形態

*戸田孝史, 林 治秀(東北大, 歯, 生理)

歯根膜からの一次求心性神経線維の三叉神経脊髄路核尾側亜核 (Vc) における終止形態についてはよく研究されていない。我々は, HRP (horseradish peroxidase) 軸索内注入法により, 機能的に同定されたラット切歯歯根膜由来の一次求心性線維を染め, 中枢側終止形態を特に Vc に注目して調べた。

口腔領域からの一次求心性線維は Vc 吻側端に再現されるといわれているが, 染色した14本の歯根膜線維のうち5本が Vc に側副枝を出しており, 1本は Vc に達しておらず8本は Vc まで追跡できなかった。Vc の側副枝は主として吻側部の V 層に終止し, 皮膚からの触覚線維のように Vc の III/IV 層に終止する側副枝は2本のみであった。また中間亜核や吻側亜核では背内側部の Vc の V 層の吻側延長部分と考えられる深層に終止するものが多く観察された。

26. 後索切断の運動学習に対する効果

東 正夫(弘前大, 医, 第二生理)

脊髄後索を上行する体性感覚情報が動物の手の巧みな運動に果たす役割を明らかにする目的で実験を行った。ネコを訓練して, 動いている口径 6 cm のコップの中から固形飼料を手で上手につかみ取るようにした。左右何れの手でもこれを出来るようにした。その後, 一側の脊髄後索を第三頸随のレベルで切断し, 一週間以上の回復期間を設け, 動物の日常の運動に異常の無いことを確かめた後, 訓練した運動が出来るかどうか調べた。ネコは切断側の手をコップの方に突き出すことは出来てもその中に命中させられず飼料に触れることも出来なかった。これが三日間続いた後, やがて飼料に触れることが出来るようになった。しかし, つかんだ飼料をしばしば落とした。このことが訓練再開から約20日間続いた。その後, 術前と同様に行うことが出来るようになった。これに対し, 非切断側の手では訓練再開直後から術前と同様に出来た。これらの結果から, 脊髄後索を上行する体性感覚情報は動物が手の巧みな運動を行う上で役立っていると考えられた。

27. 嗅粘膜電気刺激による嗅索誘発電位——嗅神経損傷のモニターとしての利用——

*太田 守, *佐藤正憲*, 香山雪彦(福島県立医大, 第二生理・脳神経外科*)

脳外科手術の際の嗅覚機能の温存をチェックするために, 嗅粘膜電気刺激による嗅覚伝導路の誘発電位の記録を試みた。ペントバルビタール麻酔下の雑種イヌで, 鼻根部にて嗅粘膜を露出しそこに刺激用双極銀ボール電極を固定, また開頭後に嗅索を露出し記録用双極銀ボール電極を固定した。嗅粘膜は 1~2 Hz, 0.1~0.5 ms 幅, 10~50 V の矩形波パルスで刺激した。嗅粘膜電気刺激により嗅索上から約 40 ms の潜時で陰性波が記録され, ふつうその後潜時 55~70 ms くらいの陽性波が続いた。これらは刺激極性の逆転および, 筋弛緩剤投与により影響を受けず, また嗅粘膜以外の鼻腔粘膜の刺激では誘発されなかった。さらに頭蓋内で三叉神経を切断してもこの誘発電位に変化はなかった。この誘発反応は刺激頻度を上げると振幅の減少を認めたことからシナプスを介した反応と考えられる。最後に頭蓋内外で嗅神経を切断すると消失したことから, この誘発電位は嗅神経を介した反応と考えられる。また, 嗅粘膜刺激により側頭部頭皮上からも加算

によって潜時、波形の等しい誘発電位が得られ、これは嗅索の誘発電位を遠隔部より記録したものと考えられる。

28. 脳阻血解除後の循環機能の可逆性と Post-ischemic Hyperemia

永山忠徳, 清水 強 (福島県立医大, 第一生理)

麻酔下ウサギの脳供血を両側の総頸及び椎骨動脈で30秒間遮断すると体血圧の著しい上昇, 反射性徐脈, 呼吸停止等の脳阻血反応が生じ, 血流を再開すると体血圧, 心拍数及び呼吸運動は阻血前の状態にほぼ回復する。この循環, 呼吸機能の可逆性は阻血時間(TI)の延長により保持できなくなる。今回はその不可逆性の条件を検討した。平均血圧が阻血前 50 mmHg 以上で, 阻血中 120 mmHg 以上となり, 徐脈も持続し, かつ正常呼吸が再開しなかった55個体の初回遮断テストのうち, $TI < 100$ sec (16例)では全例回復し, $TI \geq 4$ min (11例)では全例不可逆となった。また, 同一個体で遮断テストをくりかえした動物のうち15個体で両側総頸動脈血流量(CCBF)を電磁血流計で測定した。各個体で回復できた最長阻血時間($TI = 237 \pm 63$ sec)の場合をみると, 血流再開直後の CCBF は, 一過性に阻血前の約3倍に増加した。一方, 不可逆となった遮断テスト($TI = 269 \pm 85$ sec)の場合は Post-ischemic Hyperemia はみられなかった。この原因としては, 不可逆群では血流再開直後の平均血圧が 34 ± 19 mmHg と低下していたので脳への灌流圧低下が最も考えられるが脳血管の反応性の低下も加わっている可能性もある。今後更に血流再開時の灌流圧と CCBF との関係及び内頸動脈と外頸動脈各領域への血流配分などを検討する必要がある。

29. 脳阻血性昇圧時にみられる徐脈と無呼吸は低圧系の循環時間にどう影響するか

菅野隆浩, 清水 強 (福島県立医大, 第一生理)

ウサギの脳血流をほぼ完全に遮断した時の著しい動脈圧の上昇に伴う徐脈と呼吸性呼吸停止とが太い静脈および肺循環系に及ぼす影響を検討した。脳供血時, 脳阻血時および脳阻血中ルームエアーで人工呼吸を行った時の3状態下で両血管系の循環時間を色素希釈法により測定した。脳阻血により両血管系の循環時間は脳供血時に対し延長した。太い静脈での色素注入時の

心拍数(HR)と色素出現時間(APT)および HR と最高濃度到達時間(PT)の逆数との間には脳阻血時, 脳阻血中の人工呼吸併用時共に正の相関があり, HR と 1/APT との相関係数は後者において低かった($n=18$)。同一個体で両血管系共に測定しえた12例と比較すると, 脳阻血時に太い静脈では HR と 1/APT との間のみ正の相関がみられ, 肺循環では HR と 1/APT, HR と 1/PT いずれの間にも相関はなかった。脳阻血中に人工呼吸を加えると静脈では上記の相関が消失し, 肺循環では逆に両関係で正の相関を示した。以上より, 低圧系における脳阻血時の循環時間の延長は基本的に心拍数の減少に依存しているが, 肺循環系では無呼吸による Hypoxia が肺血管床に影響を及ぼし, 脳阻血性昇圧時の循環時間延長の心拍数依存性に影響を与えるものと考えられる。

30. Head-downtilt 早期における循環調節

清水 強, 松本茂二, 菅野隆浩, 永山忠徳, 山崎将生 (福島県立医大, 第一生理)

微小重力下の体液移動に伴う循環調節機構の発動状態を推察するために, ウレタン麻酔下のウサギを傾斜実験台上に背位に固定して毎秒 1° の速度で 10° , 20° , 30° , および 45° に Head-down tilt(HDT)した時の心拍出量(CO), 平均動脈圧(MAP)および心拍数(HR)を呼吸運動と共に継続的に測定し, 180秒間観察した。CO は電磁血流計で上行大動脈流量を自発呼吸のまま測定した。HDTによってCOは急激に増大し最大となった(25~58%増)あと60秒前後からは徐々に回復する傾向を示した。それに伴いMAPも上昇し最大となったが, そのあと2相性の変化を示して, 徐々に一定になるか上昇し続けるかした。計算により求めた全末梢血管抵抗(TPR)はCOの増加に呼応して低下した後, 徐々に回復傾向を示した。但し, COもTPRも傾斜後180秒では傾斜前の値までは戻らなかった。なお, HRは軽度減少し, 1回拍出量は増加した。呼吸運動はやや抑制された。これらの反応はHDT角度が大きくなると強くなったが 45° では 35° のときよりむしろ弱かった。以上の結果より, 微小重力下ではそれに入った直後はCOの増加から圧反射等により血管交感神経活動が抑制されるが, ごく早期からその抑制は徐々にとれていき, そのためCOの回復傾向に比べて末梢抵抗は早く回復することが推定される。

〔会報〕

日本生理学会平成元年度第2回常任幹事会議事録

日時：平成元年12月8日(金) 午後1時～5時

会場：学士会赤門分館

出席者：加藤正道, 広重力, 佐藤誠, 西山明德, 熊田衛, 新島旭, 本田良行, 本間三郎, 伊藤正男, 酒井敏夫, 高橋國太郎, 竹内昭, 塚田裕三, 登坂恒夫, 本郷利憲, 入沢宏, 入来正躬, 金子章道, 富田忠雄, 永坂鉄夫, 久野宗, 中馬一郎, 藤本守, 岡田博匡, 堀泰雄, 石河延貞, 大村裕, 西彰五郎, 中野昭一(教育委員会委員長), 美原恒(次回当番幹事)

欠席者：島津浩

議長：伊藤正男(庶務幹事)

報告

1. 庶務報告(伊藤庶務幹事)：会員について平成元年1月～11月の期間入会246名, 退会129名, 自然消滅56名, 会員総数3,668名(一般会員3,393, 評議員1,169, 準会員241, 特別会員32, 名誉会員2)であることが報告された。本年逝去された名誉会員 Chandler McCuskey Brooks, 元評議員佐川喜一両氏に対する追悼の辞が述べられた。

平成2年度文部省科学研究費審査委員候補者を9月末日日本学術会議に推薦した。第16回日産学術研究助成一般研究(A)に堀哲郎, 宮本孝甫, (B)に久野宗, 奨励研究に村上昇, 多久和典子, 片淵俊彦の各氏を推薦した。1989年度朝日賞に山本長三郎氏を, 井上学術賞に小野田法彦氏を推薦した。

1991年開催される日英生理学会の準備状況について報告された。

日本宇宙生物科学会第3回大会(元年11月), 第4回生体・生理工学シンポジウム(元年11月), 第13回人間熱環境シンポジウム(元年11月)の協賛および第4回「大学と科学」公開シンポジウム(元年12月)の後援要請が報告され了承された。

次年度の常任幹事改選に関連の準備状況について報告された。

2. 会計報告(本郷会計幹事)：平成元年1月～11月の会計中間報告がなされ了承された。

3. 日本生理学雑誌編集報告(酒井編集幹事)：日本生理学雑誌第51巻の編集, 発行状況について述べられ, 論文表題集記載要領および日本生理誌定価の改訂について報告された。本年行ったアンケートにもとずき日本生理誌掲載の総説の編集計画がなされている旨報告され了承された。

4. JJP 編集委員会報告(広重委員長)：JJPの論文の投稿状況について述べられ, 第39巻第2号から毎号掲載している動物実験のガイドラインについて経過報告された。本年度からJJPのサプリメントとして大会の抄録号が発行された。英文抄録の校閲料について検討のうえで見直しをすることが了承された。英語の論文の書き方についてのワークショップが検討されている旨報告された。

5. 教育委員会報告(中野委員長)：第67回日本生理学会大会における教育シンポジウムの計画内容について報告された。日本生理学会編「生理学実習書」の改訂について小委員会の入来委員長からアンケート調査などの経過の説明がなされた。Basic Courseは来春出版の予定である。Advanced CourseについてはBasic Courseの使われ方を見た上で検討する旨報告された。実験法のようなものは日本生理誌にトピックとして掲載できないものであろうかという提案がなされた。

6. 選挙管理委員会報告(竹内委員長)：平成2年度文部省科学研究費審査委員候補者の選挙の結果は次の通りである。第一段審査委員候補者, 生理学一般：菅野富夫, 菅野義信, 富田忠雄, 藤本守, 神経筋肉生理学：加藤正道, 竹内昭, 環境生理学：小川徳雄, 佐藤昭夫, 堀哲郎, 村上恵, 学術会議の推薦依頼から回答迄の期間をもっと余裕のあるよう要望したい旨発言された。三つの審査区分のうち特に一般生理と環境生理の選出委員の間に重複が見られる傾向にあるので考慮の余地がある旨発言された。

7. 動物実験に関する委員会報告(塚田委員長)：「生理学領域における動物実験に関する基本的指針」が制定されたが, 継続して委員会で検討してゆきたい旨述べられた。日英合同生理学会が開催されるにあつ

り両国の実情など塚田幹事より提言がなされ、検討された。

8. 日本生理学教室史編集委員会報告(酒井委員)：日本生理学教室史下巻の購入状況について報告された。

9. 日本学術会議第7部生理科学研究連絡委員会(伊藤研連委員長)：10月19日に開催された研連シンポジウムについて報告された。

10. 国際生理科学連合(伊藤 IUPS 理事)：ヘルシンキ大会には3,000人の参加があった。次回開催地のグラスゴウの次はレニングラードに決定した。次回の国際プログラム委員会委員に金子幹事がなされた旨報告された。なお、役員の一部交代があり第一副会長に伊藤幹事が選出された。第2回アジア大洋州生理学会は1990年11月12日～15日ニューデリーで開催される。

11. 第67回(平成2年)日本生理学会大会の準備状況について(石河延貞, 美原 恒当番幹事)：大会申込者数1,393, 参加機関数404, 演題数866(口演641, ポスター225)の参加申込があった。特別講演および教育シンポジウムの企画について説明された。なお、会員名簿をFDに収納した旨報告され、また今後会員の異動状況を常に把握出来るよう日本生理誌に変更届を綴じ込むよう提案された承された。

12. 第68回(平成3年)日本生理学会大会の準備状況について藤本幹事より報告された。平成3年3月26日～29日に京都国際会議場で開催される。第23回日本

医学会総会が開催されるので、体力医学会との合同シンポジウムを計画している旨説明された。

議 題

1. 前回議事録の承認：前回の議事録が示され承認された。

2. 特別会員について：岩間吉也, 佐藤昌康両氏の推薦書が提出された。中馬, 石河両幹事からそれぞれ両氏の推薦の辞が述べられ、次回の評議員会、総会に提案することになった。

3. 常任幹事の定数について：来春の常任幹事選挙に先立ち、本年秋に行われた評議員の地区登録数による案分比が示された。「各地区最低2名, 合計30人をこえない」との従来の取り決めに従い検討された結果、北海道地区2名, 東北地区2名, 関東地区5名, 東京地区7名, 中部地区5名, 近畿地区4名, 中国・四国地区2名, 九州地区3名の常任幹事を選出することに決定した。

4. J J P 編集委員選出規定について：J J P 編集委員会で作成した選出法規定が提出され、大筋で了承された。更にJ J P 編集委員会において細部の検討の上、再度次回の常任幹事会に諮られることになった。

5. 年号表記について：両方使うことで了承された。

6. 第69回(平成4年)日本生理学会大会開催地について：秋田大学で開催されることに決定した。

【お知らせ】

「第6回初代培養肝細胞研究会」お知らせ

日 時：平成2年6月1日(金), 2日(土)

場 所：ホテル華香園

〒830 福岡県久留米市榊原町87

TEL 0942-35-5351

世話人：久留米大学医学部第二内科

向坂彰太郎

出席、発表の詳細は下記に郵便にてお問い合わせ下さい。

連絡先：初代培養肝細胞研究会事務局

〒770 徳島市蔵本町3丁目18番地の1

徳島大学酵素科学研究センター酵素病理部門

日本生理学会評議員 大阪医大・第二生理学教室元講師 佐竹典子君は、平成2年1月3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。

日本生理学会評議員 東京通信病院健康管理センター医事調査嘱託 室川正彦君は、平成2年1月10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〕

第52巻2号の発刊も順調に行われ、遅滞なく皆様にお届けできることとなりました。今号は原著論文が3編掲載され、豊かな誌面となりました。

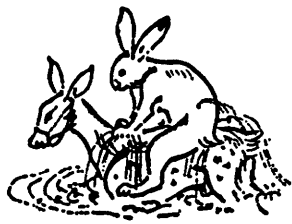
昨年12月初旬、Dahlem Conferenceの折にBerlinに10日間滞在する機会があり、東欧の激動を身近に感じました。ポーランド、ハンガリー、東独、チェコと続いた共産政権の崩壊の中で、西Berlin市民や、

Berlin市内を訪れた東欧圏の人々の表情が印象的でした。壁の崩壊、国境解放、ホーネッカー議長の汚職暴露に続く逮捕劇や東独秘密警察の失墜と連日にわたる大ニュースの中で、東ベルリンのV教授や、学生時代を旧ベルリン市内で過ごしたB教授の感慨に満ちた話ぶりが感動的でした。平和な日本で研究できる幸運を再確認致しました。

(丹治 順)

— 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
藪英世(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)	片岡喜由(中・四国)
有田眞(九州)		



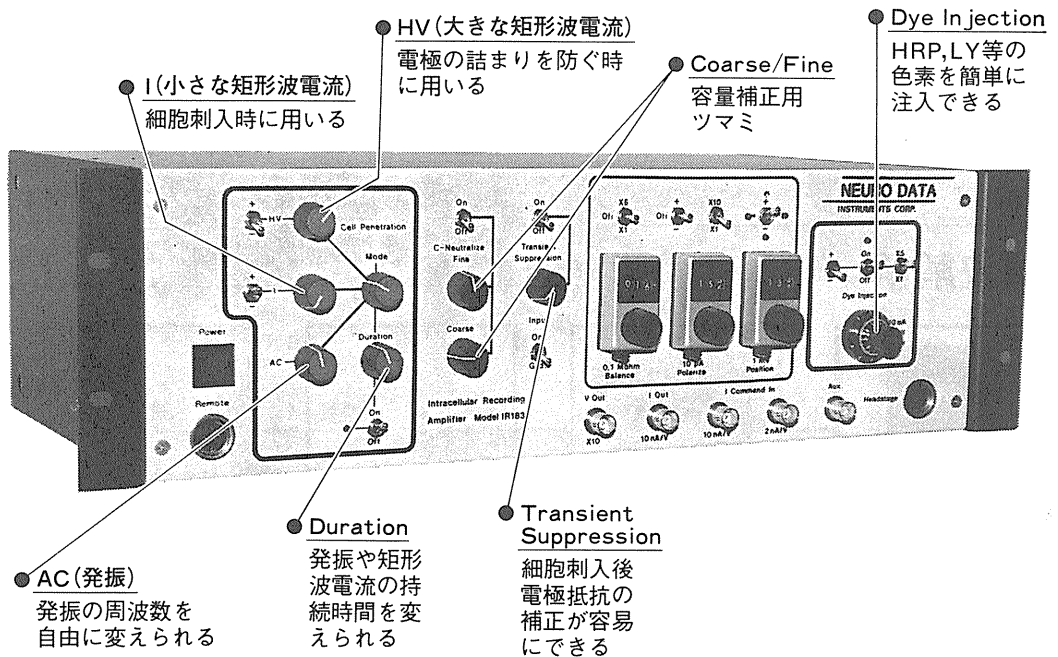
細胞内記録用アンプ

IR-183型(1ch)

米国ニューロデータ社製のアンプの大きな特徴は

- 1.容量補正のツマミにFineがあり、微妙な容量補正が可能である。このことは細胞刺入時に加える発振電流の周波数を上げることができ、電極の切れが良くなり、又、小さな細胞(10 μ m以下)にも刺入でき、安定した記録ができる。
- 2.細胞刺入時の発振電流を、発振の周波数や持続時間を自由に変えながら加えることができるツマミが付いている。
- 3.HRP、LY(ルシファーイエロー)等の色素を簡単に細胞内に注入できる

IR-183型(1ch)の具体的な説明



日本総代理店

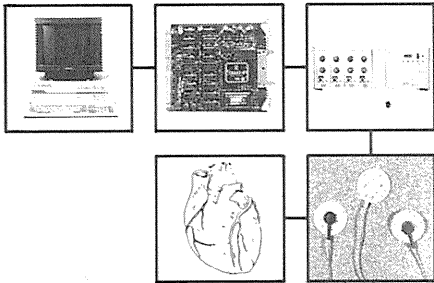
ショーシンEM株式会社

〒444-02 岡崎市赤浜町蔵西1-14
TEL (0564) 54-1231(代表)
FAX (0564) 54-3207

MRE-明邦交易が現在販売している生体信号処理システムの中から、心電図解析、脳波解析を例として示します。心電図に対しては、R-Rヒストグラム、R-RのFFT解析、アベレージングなどの解析、脳波に対しては、16CHまでのモニター、FFT、相関解析、アベレージング、マッピングなどの解析が可能です。本システムは、既にお手持ちの心電計、脳波計、ポリグラフなどに接続して使用することも可能です。

心電図解析 A. システムα

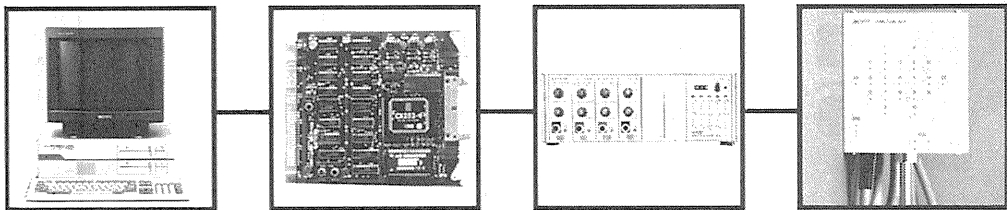
B. システムβ



主な取扱製品

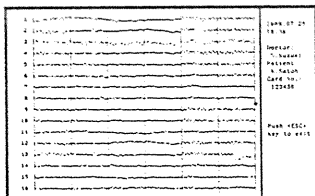
- 生体信号処理システム
- ラット記憶研究用放射状迷路
- ホルター心電図解析ソフト
- 小型直流電源(CH.BEHA社、西独製)
- 小型ソリッドステート負荷装置(◇)
- エレクトロカニューラスリップリング(開発中)
- 薬理学、生理学研究用各種システム

脳波解析

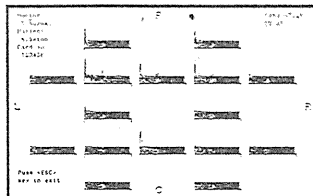


表示画像の一例 (印字装置への出力も可)

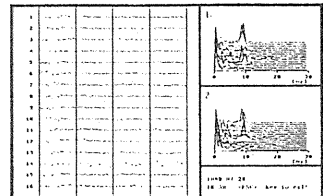
16CHモニター



16CHリアルタイムFFT



16CHモニター+2CHリアルタイムFFT

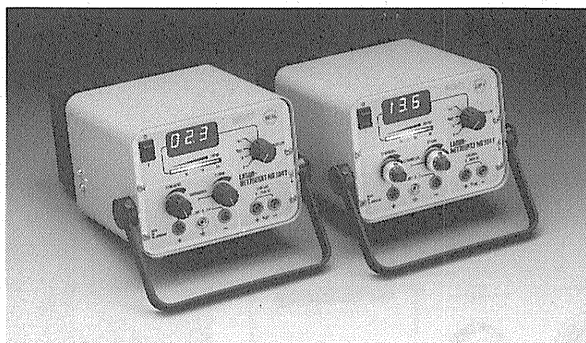


我々は、世界中から先進的な装置を見つけ、明邦交易株式会社を通じて、日本あるいは極東市場に紹介してきました。

西独CH.BEHA社は、優れた回路設計技術に基づき、ケース部分の板金加工に至るまで、社内で一貫生産しております。また、全製品についてエージングを行い、品質管理にも十分な時間をかけて生産しております。

UNIWATT®

von
CH. BEHA GmbH, Deutschland



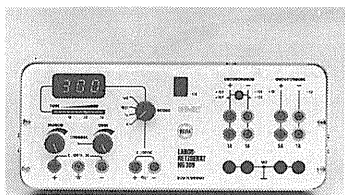
NG304T

NG303とならぶ基本モデルの1つ。電流のトレンドを表示する機能を持つNG304Tモデルもあります。0-30Vの可変定電圧モード、0-3Aの定電流モードを持ち、メーターは外部回路測定に切替えが可能。異なる仕様品の受注も可能。



NG308

±5、±12(15)Vの固定出力を持ち、特に±12Vと±15Vが切替えられることで、マイクロプロセッサ回路、オペアンプ回路に共用出来ます。



NG309

NG304TとNG308を組合せたモデル。0-30V(0-3A)の可変定電圧(定電流)出力を1系統、±5、±12(15)Vの固定出力を備えています。外部回路の測定を行う為に、表示部を切替えることが可能です。

高品質なDC電圧
が、より高度な研
究に安定した条件
を提供致します。

NEWS

行列演算用プログラミング言語 Gauss 輸入開始。
定価 118,000円 只今、支払条件等により特価販売中
です。御問合わせ下さい。

■輸入・発売元

株式会社 メディカルリサーチイクイップメント

■販売元

明邦交易株式会社 メディカル システム部

〒104 東京都中央区銀座6-9-7 TEL. 03-573-3591(代) FAX. 03-592-1705

Whole-Cell Clamp System

MODEL

TM-1000

- 人間工学的なデザイン、簡便で確実な動作。
- 安全性の高い直列抵抗の補償。(Rs:0~20M Ω)
- ダイナミックレンジの大きなオフセット及びホールド電圧設定。



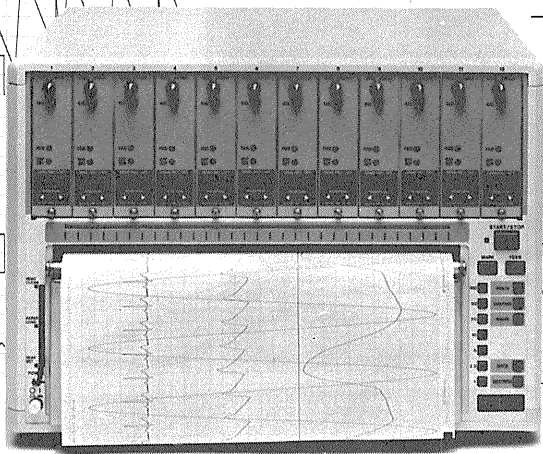
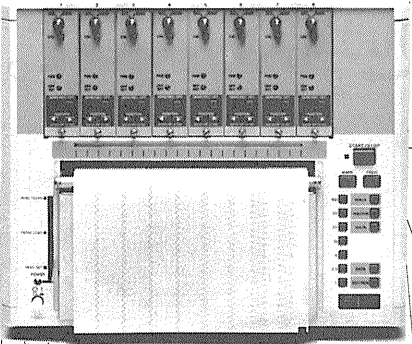
※2点支持タイプ(メカニカルドリフトフリー)の電極ホルダー標準装備。

ACT **ME** LAB.

株式会社 アクトME研究所

〒173 東京都板橋区大谷町北町89-8-202 TEL:03-554-5946

RTA-1200(8ch)



RTA-1300(12ch)

サーマルアレイレコーダ

RTA-1000シリーズ

RTA-1100(4ch)

RTA-1200(8ch)

RTA-1300(12ch)

ポリグラフィックな記録に新時代を拓く。

最大12チャンネル、記録幅は300mm(RTA-1300)。

DC~10KHzの高f特性、ワイドな記録速度1mm/h~200mm/s。

RTA-1100(4ch)

サーマルアレイテクノロジーを極めて、いま新登場。

RTA-1000シリーズは、シグナルコンディショナ(●バッファアンプ ●直流アンプ ●高感度直流アンプ ●交流アンプ)を搭載、各種電気現象などを搭載、鮮明・高忠実度記録。

ダイナミックなオーバーラップ記録も、インパルス等の高速記録も、昼夜にわたる長時間の超低速記録も、自在にこなします。

しかも、アンプと一体化してコンパクト、コストパフォーマンスもグンとアップしました。

ポリグラフィックな記録に新時代をもたらす、魅力のサーマルアレイレコーダです。

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 宣伝課

詳しい資料を用意しております。
お気軽にご請求下さい。

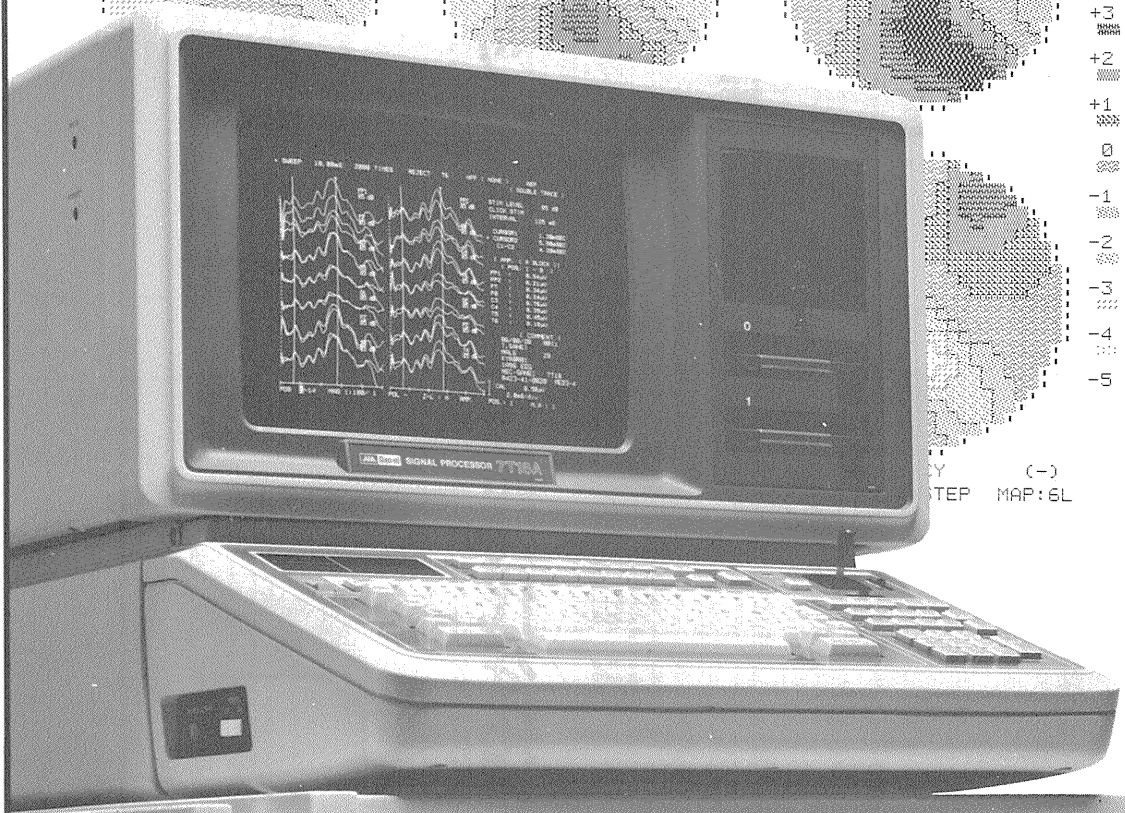
先進技術を医療に

Human-touch Technology

936 μ S

1ms

スピードが、生体信号処理をかえた。
グラフィックが、



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7T18Aです。定評ある処理スピードはさらに向上、実装メモリも4M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。

※三栄レポートNo.38 (Signal-BASICの応用例集) 他、各種資料が用意されております。担当営業員までご請求ください。

多チャンネル高速データ処理装置

シグナルプロセッサ

7T18A 医療用具承認番号60B第1891号



日本電気三栄

医用電子機器販売本部 / 東京都文京区本郷3丁目42番6号
(NKDビル) 千113 電03(5684)1413

新鮮脳スライス装置 生理・薬理学分野向け

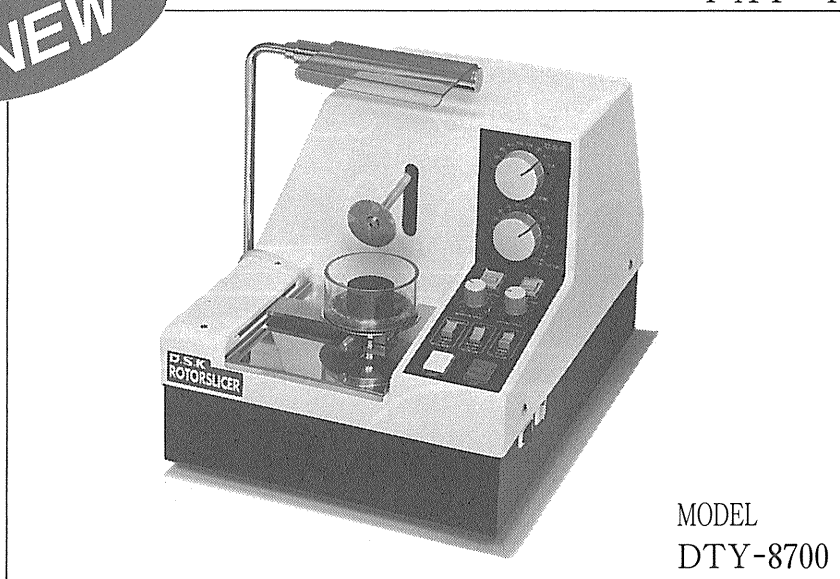
D.S.K.

ロータースライサー[®]

ROTOR SLICER

PAT・P

NEW



『もっと薄く、もっと簡単に』とご希望の先生方に
画期的なロータースライサー新発売。

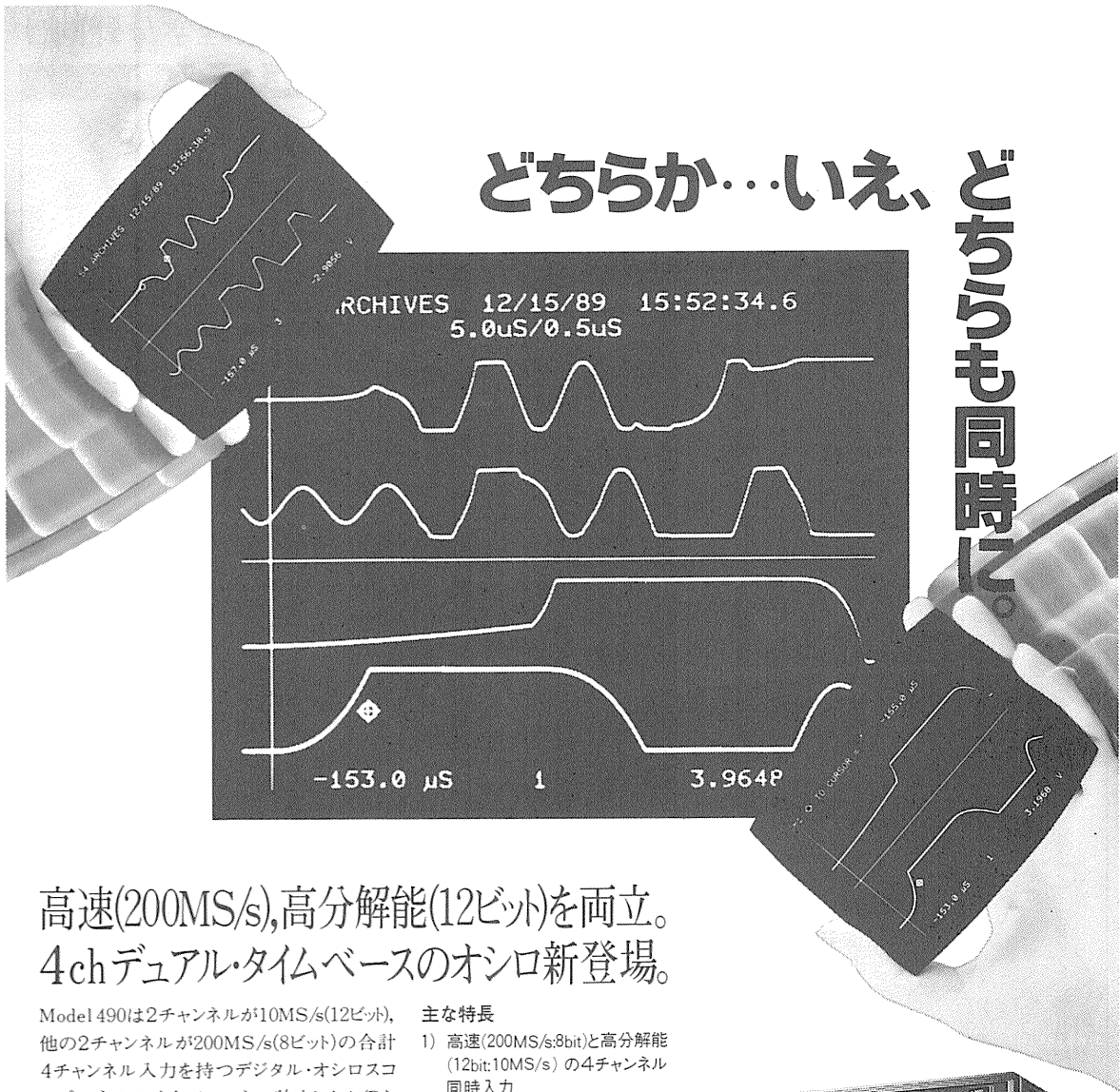
特 長

- 丸刃回転方式 回転する丸刃が下降し、柔らかい組織をはじめ皮膜をもった組織でも押し潰すことを最小限に薄切します。
- ボタン1つの簡単操作 組織の送り幅(切り幅)、刃の回転速度・下降速度を任意に設定、ボタン1つで均一な切片が自動的に作製できます。
- 試料固定の簡略化 試料の固定も簡単で、熟練を要しません。
- 液中切断を用いた連続切片の回収 液中で切断するため標本が空气中にさらされる時間も短縮され、連続切片として順序よく回収できます。

詳しい資料・デモンストレーションは下記へご請求ください。

D.S.K. 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

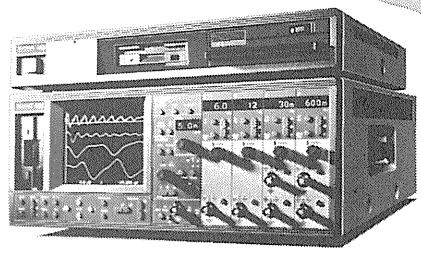


どちらか…いえ、ど
 ちらも同時に。

高速(200MS/s),高分解能(12ビット)を両立。 4chデュアル・タイムベースのオシロ新登場。

Model 490は2チャンネルが10MS/s(12ビット),
 他の2チャンネルが200MS/s(8ビット)の合計
 4チャンネル入力を持つデジタル・オシロスコー
 プです。しかも各チャンネル独立したA/Dと
 メモリを装備し、高分解能で波形全体を捕え
 ながら、同時に特定領域を高速サンプリング
 で細かな変化を捕える(デュアル・タイムベ
 ース)といった測定が可能になります。
 FFTやアベレージ機能も追加されて400シリ
 ーズはさらに強力になりました。

- 主な特長
- 1) 高速(200MS/s:8bit)と高分解能
 (12bit:10MS/s)の4チャンネル
 同時入力
 - 2) 4チャンネル独立したA/DとMax
 256Kワード/chの大容量メモリ
 - 3) 40MBハード・ディスク、44MBベ
 ルヌーイ・ディスクで大量の生波
 形を完全に保存
 - 4) FFTと120回/秒の高速アベレ
 ージを標準装備
 - 5) パネルの操作やデータ解析など
 を自動で行なうラン・モード



400シリーズ仕様比較

モデル	430	440	450	460	490
チャンネル数	2ch	4ch	2ch	4ch	4ch
分解能	12ビット	12ビット	8ビット	8ビット	12ビット+8ビット
サンプリング速度	10MS/s	10MS/s	200MS/s	200MS/s	10MS/s+200MS/s
メモリ容量	64Kワード/ch (256Kワード/ch:オプション)				
定価	¥2,700,000	¥3,800,000	¥2,200,000	¥3,500,000	¥4,200,000

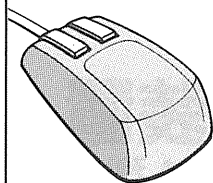
※表示価格は、平成2年1月末現在。

デジタル・オシロスコープ
Model 490

Nicolet

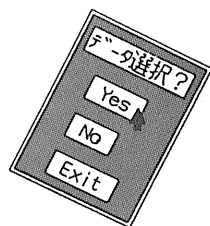
ニコレー・ジャパン株式会社

INSTRUMENTS OF DISCOVERY 〒153 東京都目黒区東山1丁目1番2号 東京 ☎03(715)2551 大阪 ☎06(863)1550・名古屋 ☎052(741)2150

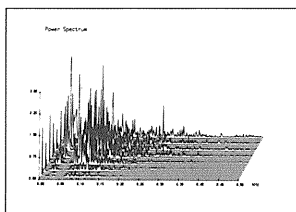
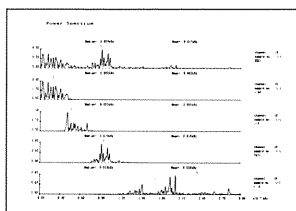
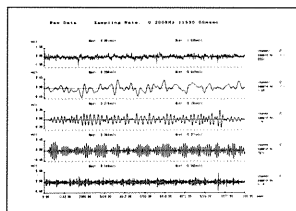


多用途生体情報解析プログラム

BIMUTAS



生体情報のスピーディな解析を支援。



- 生体信号でA/D変換から選択・編集・解析・保存までを一連の作業として、パソコン上で高速かつ容易に行えます。
- ワイドなサンプリング間隔設定、多チャンネル対応により、脳波・筋電から音声に至る広範囲な領域のデータを高精度に収集できます。
- 必要なデータだけをマニュアルまたは自動で取り出し、能率良く、より詳細な解析が行えます。
- 解析結果をファイル化し、さらに高次な処理に利用することができます。
- 高度な解析も分かりやすい対話式の画面と、マウスによるプログラムの選択だけで効率よく処理できます。
- 解析操作手順を登録するカタログ処理(自動実行)で、自由にカスタムメイド手法が可能となり、効率がアップします。
- 編集データの出力は、プロッタやレーザープリンタ等により高品位に得られます。

ソフトウェア構成 NEC PC-9801シリーズ対応

- | | | |
|--------------|---------------|--------------|
| ●チャンネル分割 | ●多次データ作成 | ●数値リスト出力 |
| ●チャンネル併合 | ●環境設定 | ●プロッタ出力 |
| ●ローパスフィルタ | ●カタログ処理(自動実行) | ●レーザープリンタ出力 |
| ●ハイパスフィルタ | ●数値読み取り | ●周波数パワースペクトル |
| ●バンドパスフィルタ | ●ズーム | ●同期加算 |
| ●バンドストップフィルタ | ●マーキング | ●振幅分布 |
| ●正規化 | ●脚注入力 | ●自己相関(FFT) |
| ●キャリブレーション | ●コメント入力 | ●相互相関(FFT) |
| ●オフセット電圧指定 | ●並列表示 | ●積分 |
| ●データマニュアル選択 | ●重ね書き表示 | ●移動平均 |
| ●データトリガ選択 | ●3次元表示 | ●RMS |
| ●データ自動選択 | ●2次元プロット | ●包絡線 |

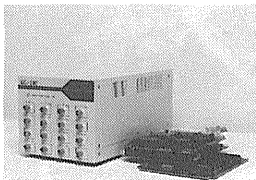
■BIMUTASは、キッセイコムテック株式会社の商標です。

詳しい資料は、今すぐ下記へご請求下さい。

(0263)25-9081(代) キッセイ薬品工業株式会社 関連事業室

広帯域アナログ入力装置 KC-210

16ch完全同時サンプリング
(サンプリングレート最大400KHz)



データ収集用
プログラムから、
必要なハード
ウェアまで、
オールインワン

PC-9801シリーズ対応

発売元



キッセイ薬品工業株式会社

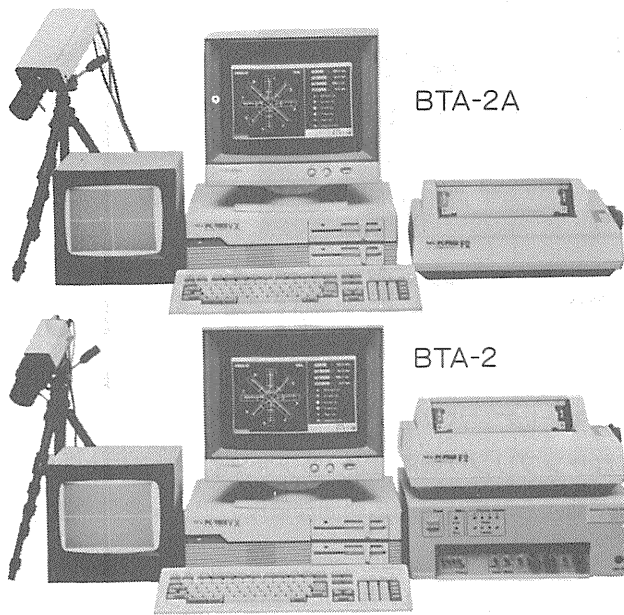
〒399 長野県松本市芳野19番48号

開発元



キッセイコムテック株式会社

〒390 長野県松本市双葉10番22号



実験動物 行動解析装置

BTA-2/BTA-2A型

実験動物行動解析装置BTA-2型、BTA-2A型の両機種は、ビデオカメラからの画像信号をリアルタイムに処理し、小実験動物の行動軌跡、移動速度ほか、各種の定量データを高速に算出します。用意されているソフトウェアは

- 1) 8方向放射状迷路
 - 2) 円型オープンフィールド
 - 3) Morris水迷路
 - 4) マルチプルT型水迷路(Biel型水迷路)
 - 5) 角型オープンフィールド
- の5種類があります。

BTA-2型はオプションが用意されており、必要に応じた構成をとれば、ビデオテープの再生画像の解析処理も可能です。(BTA-2A型は不可)

- サンプルング周期…0.1秒
- 適用コンピュータ…PC-9801(NEC)シリーズ
- 画像信号……………白/黒 画像信号

※詳細はお問い合わせ下さい。

Muromachi

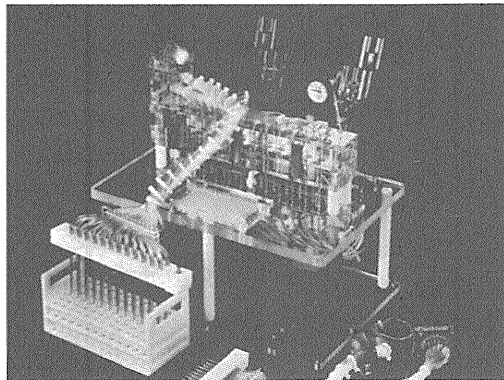
日本総代理店 **室町機械株式会社** 〒103 東京都中央区日本橋室町4-2-1 大辻ビル ☎03(241)2444(代)
〒532 大阪市淀川区西中島5-7-19 第7新大阪ビル ☎06(302)1277(代)

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。

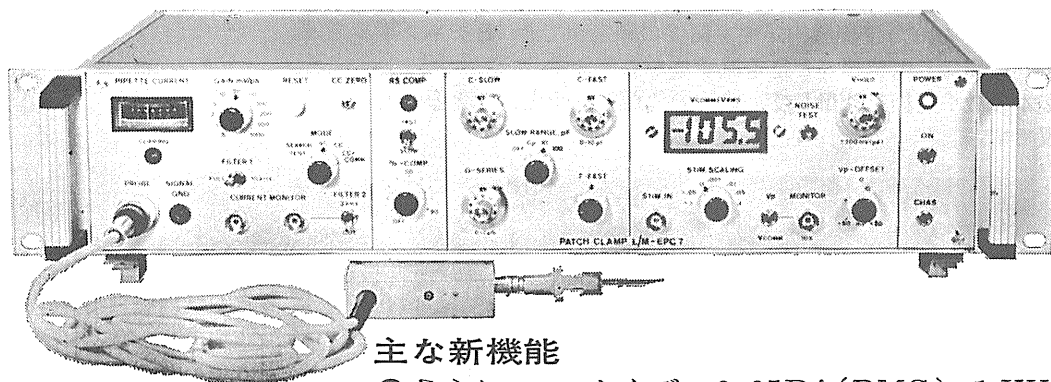
Muromachi

米国ブランデル社 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)
〒532 大阪市淀川区西中島5-7-19 第7新大阪ビル ☎06(302)1277(代)

新製品 F.J.Sigworth・E. Neherのオリジナル

西独リスト社

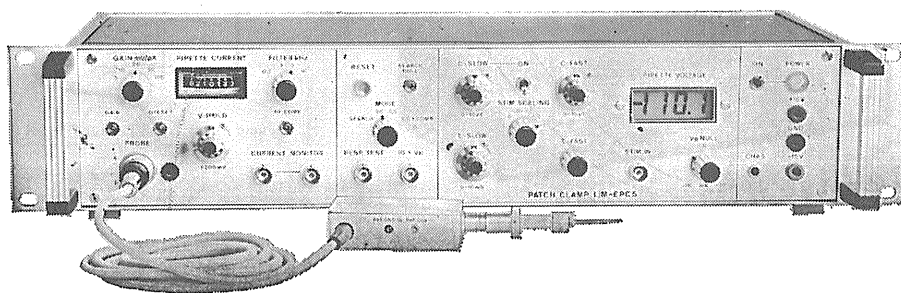
パッチクランプシステム EPC-7



主な新機能

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

姉妹機 EPC-5型



東日本地区発売元

(Physio-Tech)

株式会社 **フィジオテック**

〒101 東京都千代田区内神田3丁目10番3号 コイダビル4F
TEL 03(258)1641(代)

西日本地区発売元

in
INTER MEDICAL

INTER MEDICAL CO.,LTD.

株式会社 **インターメディカル**

本社/〒461 名古屋市東区葵一丁目25番1号
TEL (052)937-7060内 FAX (052)937-5423
TLX 444-3603 WDMC J
東京支社/〒157 東京都世田谷区柏谷三丁目32番16号
営業部 アビタシオン千歳島山1-2号
TEL (03)5384-6387 FAX (03)5384-6487

神経科学研究機器



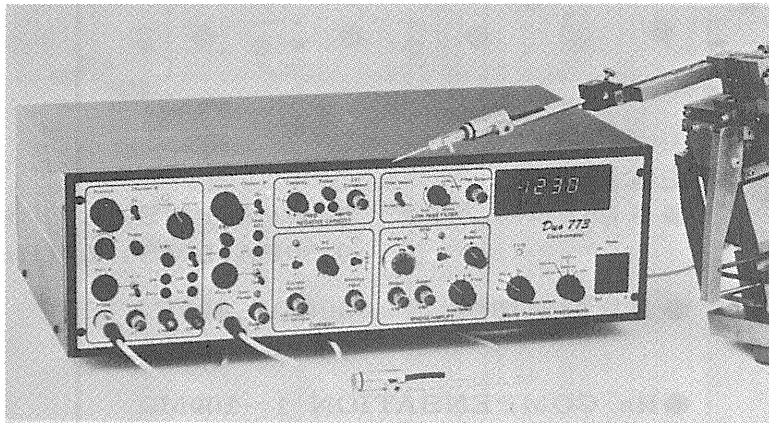
〈新製品シリーズ〉 低価格・高性能で新発売

■微小電極用増幅器

デュアルマイクロプローブシステム Duo 773

デュアルマイクロプローブシステムは、Aチャンネル（高入力カインピーダンス 10^{15} ）で細胞内イオン活性の測定ができ、Bチャンネルでは、単一電極にて電位誘導と定電流通電ができます。

2本の微小電極を使用して、細胞内の様々な研究ができる画期的な装置です。

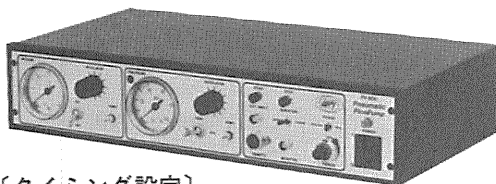


《新機能》

- アンプ内蔵の小型軽量入力プローブ
- キャパシタンス補償
- アクティブフィルター
- 通電機能
- カレントモニター
- ブリッジバランス

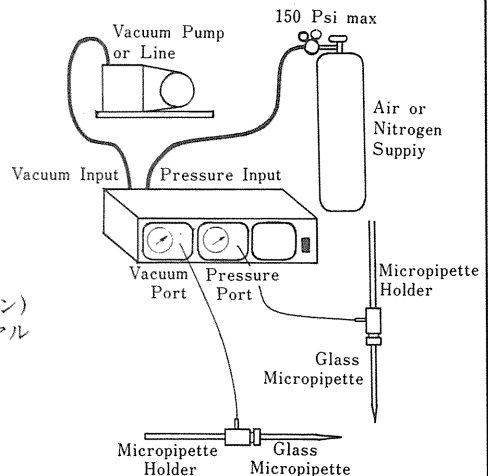
■細胞内／細胞外用マイクロインジェクション 気圧式ピコポンプ

Pneumatic PicoPump PV-820/PV-800



〔タイミング設定〕

- 期間モード GATED (入力シグナルによる)
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)



BRC

バイオリサーチセンター株式会社

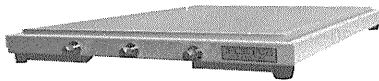
本社 名古屋市東区東桜2-10-21 (錦見ビル2F) ☎052(932)6421 FAX 052(932)6755
東京 東京都江戸川区東葛西5-1-15 (第2 穎長ビル403号) ☎ 03(878)6471



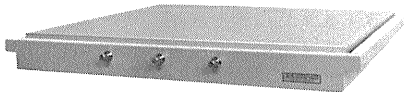
「最先端技術」に直結する 「ヘルツの防振システム」

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、国公立試験研究機関、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。



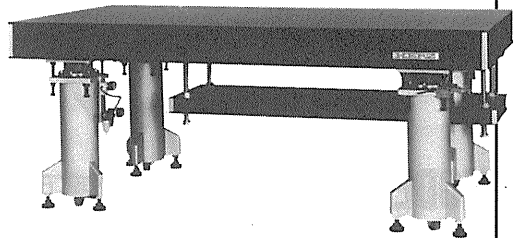
●卓上型空気ばね式防振台 ST-45



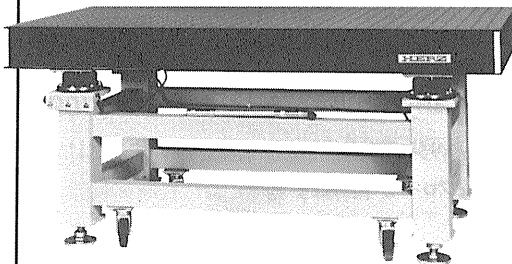
●卓上型空気ばね式防振台 ST-65



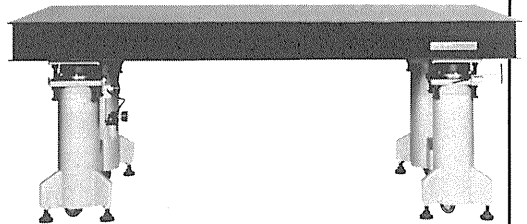
●卓上型空気ばね式防振台 LHA-300



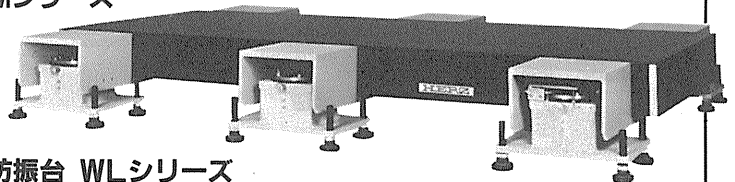
ダンピングフリー(固有振動数コントロール付)
●大形空気ばね式防振台 DFBシリーズ



●大形空気ばね式防振台 LA・LM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

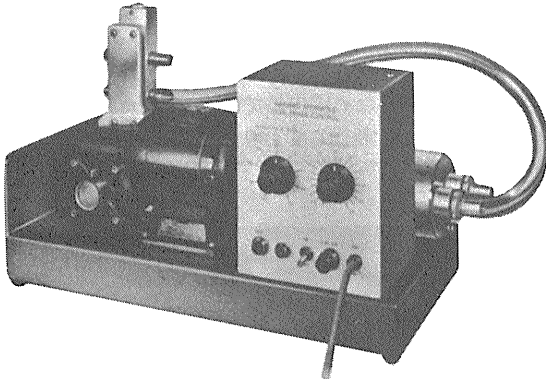
本社 〒252 神奈川県藤沢市遠藤1980番地
工場 TEL. 0466(88)3311

HARVARD レスピレーター

本邦発売 20周年キャンペーン価格!

MODEL 613 犬用比率可変型レスピレーター

希望納入価格 ¥650,000



犬を主体としてブタ等の大動物を対象に設計されています。比率可変型は、呼気と吸気の時間の割合を可変できるので、より呼吸生理に合った状態でオペレートできます。

■仕様

比率可変範囲：35～65%

可変容量範囲：30～750cc/ストローク

呼 吸 数：7～50/min.

寸 法・重 量：L500×W225×H300mm 21kg

電 源：100V 50/60Hz 2A

MODEL 665 中動物用比率可変型レスピレーター

希望納入価格 ¥950,000

MODEL 683 小動物用レスピレーター

希望納入価格 ¥650,000

※上記価格は平成元年10月1日より1年間です。

HARVARD
APPARATUS

ハーバード インフュージョンポンプ MODEL 11

Select any flow rate Use any syringe

使用するシリンジの内径と望む流量を入力するだけで、広範囲なフローが得られます。

■仕様

シリンジサイズ：50cc～10 μ l

最大流量：8.9ml/分

最少流量：0.1 μ l/時

寸 法：L224×W115×H109mm

重 量：1.8kg

電 源：100V 50/60Hz

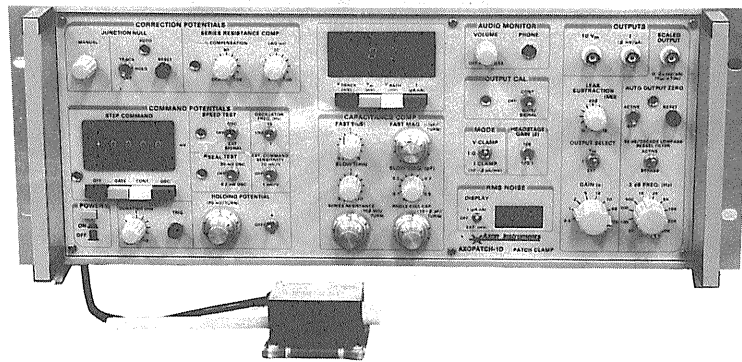
価格：¥280,000

日本総代理店

株式会社 **セントラル** 科学貿易

本 社／東京都台東区三ノ輪2-2-7 ☎03(806)4361 千110
大 阪 支 店／大阪市東淀川区西淡路1-1-36 新大阪ビル ☎06(325)3171-5 千533
福岡営業所／福岡市博多区博多駅南1-2-15 事務機ビル ☎092(482)4000 千812
札幌出張所／札幌市白石区東札幌3条4-6-9 ☎11(832)0054 千003

AXOPATCH-1D PATCH CLAMP



低ノイズ ハイスピード 安定性と信頼性

AXOPATCH-1Dはsingle-channelパッチクランプとwhole-cellクランプするために開発された増幅器です。極めて低いノイズ・レベルと素早い応答力を特徴としています。重要な部分はハイブリッド化により完全シールドされています。

AXOPATCH-1Dはボルテージクランプと同様にカレントクランプ・モードでも作動します。フィードバック抵抗は同じセルからsingle-channel電流とwhole-cell電流を記録するため、リモートコントロールができます。

CV4ヘッドステージは下記の3種類があります。

AXOPATCH-1Dの特徴

- 使いやすい容量補償
- ラグ・コントロールつき直列抵抗補償
- コマンド電位発生器
- 接合電位除去
- RMSノイズモニター
- ZAP (パッチ膜破壊)
- 可変出力ゲイン
- DCオフセット除去
- 可変低域通過ベッセルフィルター
- シールテスト
- オーディオモニター
- 漏れ電流除去

AXOPATCH-1Dのヘッドステージ

CV4 1/100 whole-cellクランプ (20 nAまで) とsingle-channel電流を記録するためのものです。50 GΩと500 MΩのフィードバック抵抗があります。

CV4 0.1/100 大きなセル (200 nA; >> 100 pF) の whole-cellクランプとsingle-channel電流を記録するためのものです。50 GΩと50 MΩのフィードバック抵抗があります。

CV4B 0.1/100 人工膜からsingle-channel電流を記録する為の特別なヘッドステージです。大きなコマンド電圧の間、サチレーションを防ぐために外部から50 GΩと50 MΩのフィードバック抵抗でコントロールできます。(大きなセルのヘッドステージと同型です)

西日本地区発売元



INTER MEDICAL CO., LTD.

株式会社 インターメディカル

本社/〒461 名古屋市中区栄一丁目25番1号
TEL (052) 937-7060 FAX (052) 937-5423
TLX 444-3603 WDMC J
東京支社/〒157 東京都世田谷区柏谷三丁目32番16号
製造営業部 アビタシオン千歳鳥山102号
TEL (03) 5384-6387 FAX (03) 5384-6487

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
コイゲビル4F
TEL (03) 258-1641 (代)



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	¥226,800
89創刊	* AJP-Lung Cellular and Molecular Physiology	_____月 刊	¥22,000
	* AJP-Heart and Circulatory Physiology	_____月 刊	¥60,900
	* AJP-Renal, Fluid and Electrolyte Physiology	_____月 刊	¥51,800
	* AJP-Endocrinology and Metabolism	_____月 刊	¥42,000
	* AJP-Gastrointestinal and Liver Physiology	_____月 刊	¥43,000
	* AJP-Cell Physiology	_____月 刊	¥43,000
	* AJP-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology	_____月 刊	¥47,600
	Journal of Applied Physiology	_____月 刊	¥107,100
	Physiological Reviews	_____季 刊	¥39,900
	Journal of Neurophysiology	_____月 刊	¥75,000
	Advances in Physiology Education	_____年 2回	¥3,600
	The Physiologist	_____隔月刊	¥7,300

*印は航空貨物（エアカーゴ）で送られます。

■表示「円」価格は、消費税抜き価格です。

■詳細は、本社「マーケティング部」までお問い合わせ下さい。

〈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

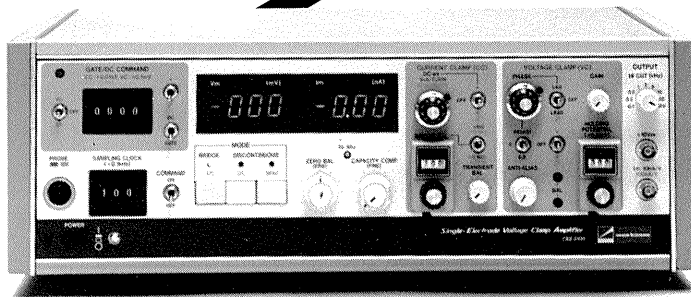
営業所：大阪 ☎(06)344-6624 名古屋 ☎(052)931-2601

筑波 ☎(0298)23-1773

-USACO®-

単電極膜電位固定用増幅器 CEZ-3100

サンプリング法により1本の電極で電圧クランプ、電流クランプができます。従来の2電極法ではできなかった微小細胞に最適です。

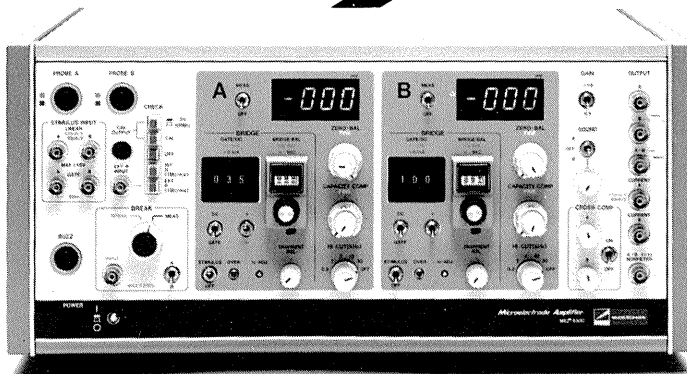


本装置は、単電極ボルテージクランプ SEVCに必要な種々のコントロール機能を使いやすくまとめました。同時にブリッジ法、サンプリング法によるカレントクランプも可能ですので、1台で単電極の誘導から電流クランプ、電圧クランプまでの全てができます。

- 特長**
- 低入力容量、ローノイズの専用小型プローブ
 - サンプリング前の波形モニタ可能
 - SEVCでの正確なホールディングポテンシャルの設定可能
 - 多様な刺激コマンド設定部
 - 電極刺入を容易にするバズ機能(オプション)

微小電極用増幅器 MEZ-8300

一段と使いやすく、高機能化された2チャンネル型の微小電極用増幅器です。



本装置は、完全2チャンネルのマイクロアンプで、プローブの小型化をはじめとして使いやすさを追求したものです。プリアンプ、カレントクランプアンプとして幅広くお使い頂けます。プローブは3種類用意してありますので目的に応じて選べます。

- 特長**
- 2チャンネルとも誘導、通電が可能
 - マニピュレータに直接取付可能な3種類の小型プローブ
 - クロス・コンペンセーション可能
 - 電極チェックが簡単です。
 - 電極の刺入状態が音によりモニタできます。
 - 電極刺入を容易にするバズ機能(オプション)ができます。

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. 52, No. 2 (1990)

Original

TATEISHI, N.: Determination of the rate of oxygen release from flowing erythrocytes in a microvessel. —Development of an apparatus and the application to microvessels of rat mesentery—23

SUZUKI, Y.: Effect of Intracellular Organic Phosphates on Erythrocyte Deformability36

SUZUKI, M., SITIZYO, K. and TAKEUCHI, T.: Visual Evoked Potential of Guinea Pigs.47

編集兼
 発行人

酒井敏夫

東京都文京区本郷三丁目一〇番一〇
 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

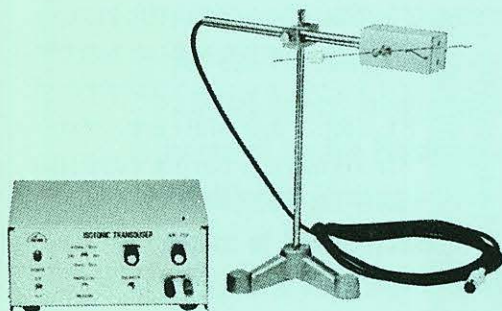
発行所

東京都文京区本郷三丁目一〇番一〇
 日本生理学会

電話
 振替
 東京八二五
 三十一六
 千八六三
 四三〇
 円〇四

KN-259 生体用変位計 PAT.P

トランスジューサーと増幅器からなる、微小変位測定装置です。これまでキモグラフィオン・ヘーベルを用いて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