

日本

生理学

雑誌

JOURNAL OF THE PHYSIOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

52巻

5号

1990

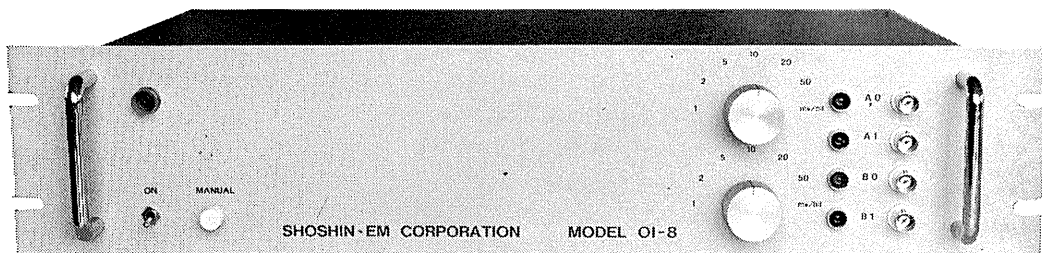
総 説

- 反町 勝, 矢田俊彦: 生理活性物質放出機構—肥満細胞, 脾島B細胞を例として—……………165
- 学会抄録 第78回近畿生理学談話会……………178
- 会 報 平成2年度第1回日本生理学会教育委員会議事録……………187
- お知らせ JJP Supplement について……………188
- “筋生理の集い” 開催される ……………189
- 上原記念生命科学財団シンポジウム—1990—……………190
- 日本生理学会生理学総説集発刊のお知らせ……………191
- 事務局から……………192

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±0.128V (1mV/bit)から±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

生理活性物質放出機構
—肥満細胞, 膵島B細胞を例として—

反町 勝・矢田 俊彦
(鹿児島大学医学部第一生理)

Secretory mechanism of biologically active substances. Masaru
SORIMACHI and Toshihiko YADA (*Department of Physiology, Kagoshima University
Medical School, Kagoshima, Japan*)

I. 肥満細胞におけるヒスタミン放出機構

肥満細胞から放出されるヒスタミン, 好酸球遊走因子, さらには, ロイコトリエン, プロスタグランディンが急性アレルギー, 炎症反応の病態に中心的役割を果すことにより, 治療薬の開発を目的とした研究が, 活発に行われてきた。しかし, この細胞は, 刺激に応じて, 著しい脱顆粒反応(開口放出)を示し, 顕微鏡下で容易に観察されること, ヒスタミン放出量が貯蔵量の数十%に及ぶという特徴をもつ利点があり, 刺激—分泌連関におけるシグナル伝達系研究のモデル細胞として活用されてきた。他の分泌細胞系と同様, 放出が細胞内 Ca^{2+} 濃度 ($[Ca]_i$) に依存することが定説であったが, 近年, 単一細胞における $[Ca]_i$ 測定, パッチクランプ法によるイオン電流, 開口放出測定に基づく結果は, この定説をくつがえすかに見える。本稿では, これ迄集積された膨大なデータを可能な限り整理し, ヒスタミン放出をひきおこす細胞内反応について紹介したが, 筆者の力の及ばない部分は, 適当な総説を参照して補って頂きたい^{33,36)}。

1. $[Ca]_i$ 上昇の必要性

肥満細胞には, 膜電位依存性 Ca^{2+} チャネルは存在しないが, 以下の観察は, 細胞外からの Ca^{2+} 流入, 細胞内 Ca^{2+} 貯蔵部位からの遊離のいずれかに基づく $[Ca]_i$ 上昇と開口放出の密接な関係を示唆している。(1) 抗原や, 多くの分泌刺激剤は, 外液 Ca^{2+} 存在下において, より有効であり, ^{45}Ca のとりこみの増加が, 放出に先立ってみられること^{12,21)}。ただし, ^{45}Ca のとり

こみは, 開口放出後の顆粒膜への結合や, 回収されつつある顆粒膜ベジクルへのとりこみをも反映している可能性がある¹⁷⁾。(2) Ca^{2+} イオノフォア¹³⁾, 微小電極による細胞内 Ca^{2+} 注入²³⁾, Ca^{2+} を封入したリポソームと細胞の融合により放出が生ずること。他方, パッチピペットを介し^{11,32)}, また streptolysin-O, digitonin 下に Ca^{2+} を細胞内に導入した場合には, 生理的な濃度では放出は生じない^{20,41)}。(3) センダイウイルス, ATP⁻⁴⁾, 外液 Ca^{2+} 除去, 高 KCl 液処理により膜の透過性を亢進させた細胞では, 外液 Ca^{2+} 存在下でのみ放出が生じること^{4,10,15,42)}。(4) 外液 Ca^{2+} 非存在下で有効な刺激は, 細胞内結合 Ca^{2+} を枯渇させる処理により効果を失うが, 外液に Ca^{2+} を添加すると回復すること³³⁾。(5) 分泌刺激下で quin 2, fura-2 を用いて測定した $[Ca]_i$ の上昇が, 放出に先立ってみられること⁴⁴⁾。ただし, 肥満細胞ではエステル形で投与すると分泌顆粒内にも負荷されるため, 顕微鏡法では, $[Ca]_i$ 上昇につぎ蛍光の減弱が見られ, 細胞集団では, 外液 Ca^{2+} と反応し, 蛍光が増加するので注意を要する⁵⁾。クローン化した細胞(PT-18, PB-3C), ラット塩基性顆粒白血球細胞(RBL-2H3)では, 顆粒内に入らずこの危険性は少ないといわれる³⁾。ヒト肺肥満細胞では, $[Ca]_i$ 増加と放出量に良い相関がみられている²⁶⁾。(fura-2 の K^+ 塩負荷による結果は後述)。

(a) Ca^{2+} 流入機構

(i) 細胞膜りん脂質メチル化反応に伴った Ca^{2+} 流入

Hirata, Ishizaka らによると, IgE 受容体刺

激時に、脂質二重層の細胞質側に多いホスファチジルエタノールアミンが、メチル基転移酵素 (MTI, MTII) により外側でホスファチジルコリンになる過程で膜の流動性が上昇し、 Ca^{2+} 流入効率が上昇するという^{21,40)}。さらに RBL 細胞の変異細胞を検討した報告では、MTI, II の内、1つを欠損する細胞では、IgE 受容体刺激による Ca^{2+} 流入増加がないが、両者を融合させると、りん脂質メチル化、 Ca^{2+} 流入が回復する⁴⁰⁾。他方、詳細に再検討した報告では、りん脂質メチル化反応が生ぜず、メチル基供与体である S-アデノシルメチオニンの量も全く変化せず²⁹⁾、このくいちがいの原因は不明である。さらに、最近の単一細胞における $[\text{Ca}]_i$ と開口放出量の同時測定の結果は、外液 Ca^{2+} 除去が 1 分程度であれば抗原刺激により、 $[\text{Ca}]_i$ 上昇、放出が生じ、従って Ca^{2+} 流入を必要としないという^{24,31)}。

(ii) サイクリック AMP (cAMP)-イノシトール-3-りん酸 (IP_3) 系活性化による Ca^{2+} 流入

Neher らは、パッチピペットを介して IP_3 を細胞内に注入すると、細胞内 Ca^{2+} 遊離による $[\text{Ca}]_i$ 上昇にひきつづき、過分極パルスに匹敵する $[\text{Ca}]_i$ 上昇が、外液 Ca^{2+} に依存して見られること、 IP_3 と cAMP の同時投与により、Cl 電流による過分極と $[\text{Ca}]_i$ 上昇が生じることを観察し、compound 48/80, サブスタンス P (SP) 刺激の際には、生成した IP_3 が、 Ca^{2+} を遊離すると共に Ca^{2+} チャネルを活性化し、同時に生成する cAMP が Ca^{2+} 流入の駆動力となる過分極をひきおこすと示唆している³⁵⁾。しかし、48/80, SP による $[\text{Ca}]_i$ 上昇、放出は、基本的には、 Ca^{2+} 流入を必要とせず、また放出は非刺激時の $[\text{Ca}]_i$ でもみられるので^{31,36)}、 Ca^{2+} 遊離、流入機構は、最大放出時に機能する様である。彼等は、50 ps のコンダクタンスをもつカチオンチャネルを見出しているが³⁵⁾、 $[\text{Ca}]_i$ 上昇を説明するには、電流量が少なく、その意義は不明である。

(iii) Cromolyn 結合蛋白による Ca^{2+} チャネル形成

抗喘息薬 cromolyn は、細胞膜蛋白に結合し、 Ca^{2+} 流入を阻害すること⁴³⁾、結合部位を欠く RBL 変異細胞では、抗原刺激による Ca^{2+} 流入増加のないこと、この変異細胞に cromolyn 結合蛋白を組み込むと機能が回復することから、この蛋白が Ca^{2+} チャネル蛋白と想定され、イオン選択性、コンダクタンス、膜電位非依存性等の性質が報告されている²⁸⁾。cromoglycate 処理により、りん酸化される 78 KDa 蛋白が、肥満細胞に存在し、48/80, A 23187 によってもりん酸化されるといわれるが³⁹⁾、 Ca^{2+} チャネル蛋白と同一かは、不明である。他方、この薬物は、メリチンのような細胞毒作用によるヒスタミンリークをも抑制することから³³⁾、分泌阻害は、膜安定化作用によるものであり、 Ca^{2+} 流入阻害とは無関係と指摘する報告がある。

(b) 細胞内 Ca^{2+} 動員機序

外液 Ca^{2+} に依存しない放出 (例えば 48/80, ポリミキシン B, ポリリジン刺激) は、細胞内貯蔵部位からの Ca^{2+} 放出によると仮定されている³³⁾。 Ca^{2+} キレート剤による長時間処理後、細胞内に負荷した Ca-chlortetracycline 複合物蛍光が消失し(膜結合 Ca^{2+} 枯渇)ヒスタミン放出が消失する現象は、細胞内に入らぬ La^{3+} 処理でも見られ、 Ca^{2+} 貯蔵部位は、細胞膜内又は膜内側であろうと考えられている³³⁾。他方、数分の Ca^{2+} キレート剤処理下では、放出は増強され、膜内の別の Ca^{2+} 結合部位が、細胞内 Ca^{2+} 動員を調節するという³³⁾。

48/80, 抗原等の刺激で IP_3 が生成され^{3,30)}、パッチピペットを介した IP_3 注入は、 $[\text{Ca}]_i$ 上昇を生じ^{31,36)}、また肥満細胞腫では、ジギトニン下で IP_3 は Ca^{2+} 遊離をひきおこすことより、他細胞におけると同様、 IP_3 には Ca^{2+} 動員作用があると思われるが、抗原刺激による $[\text{Ca}]_i$ 上昇を阻害する Zn^{2+} 下でも IP_3 生成が生じること、RBL 細胞での IP_3 生成は外液 Ca^{2+} に依存すること、48/80 による $[\text{Ca}]_i$ 上昇、放出は、ホルボールエステルで阻害されるにもかかわらず

ず IP_3 生成があることから、 IP_3 の生理的役割は Ca^{2+} 流入の促進にあり、 IP_3 による Ca^{2+} 動員が放出をひきおこす可能性は少ないと思われる。

2. ヒスタミン放出に関与する細胞内反応

(a) アデニレート・シクラーゼ系

cAMP 含量を増加させるテオフィリンやイソプロテノールが、48/80 反応を阻害するという観察を始めとして、多くの報告は、cAMP 系は放出抑制に機能すると結論した時期があるが、矛盾する事実もその後見出され、現在では否定されている¹⁾。他方、IgE 受容体刺激で cAMP が一過性に上昇し、放出のひきがねとなる可能性が指摘されたが、Neher らは、前述のように cAMP は Cl チャネルを活性化し、 Ca^{2+} 流入に有利な条件を作るという³⁵⁾。

(b) Ca^{2+} 、りん脂質依存蛋白りん酸化酵素 (C Kinase) 系

C Kinase 活性化剤ホルボールエステル (PMA) は、ヒスタミン放出をひきおこすが^{6, 18)} ²²⁾、 Ca^{2+} により抑制され、 K^+ 、 Mg^{2+} 除去により増強される。quin 2 による $[Ca]_i$ 測定では、放出は $[Ca]_i$ 上昇を伴わないが⁴⁴⁾。前述のように顆粒内 quin 2 が放出されれば外液 Ca^{2+} -quin 2 蛍光の増加が見られる筈であり、この矛盾は、この放出が開口によらないことで説明できるかもしれない。低濃度の A 23187 や IgE 受容体刺激は、PMA 共存下で著しい放出を生ずることより、 $[Ca]_i$ 上昇と C Kinase 活性化が相乗的に働く、或は、C Kinase は放出の Ca^{2+} 感受性を上昇させる可能性があるが²²⁾、 $[Ca]_i$ 上昇を生ずる他の刺激に対して、PMA は、効果がなく、また A 23187 による放出に対しても外液 Ca^{2+} 濃度や PMA 濃度次第では抑制を示すので^{6, 18)}、この機序は単純ではない。48/80 による $[Ca]_i$ 上昇、放出や、PB-3 C cell line において抗原刺激による $[Ca]_i$ 上昇が、PMA 前処理で抑制され、C Kinase は、負のフィードバック機構にも関与する可能性がある。この点で、抗原刺激に反応しない PB-1 cell line の細胞膜に 72 KDa の C Kinase が余分に存在する

事実は興味深い²⁷⁾。他方、PMA 処理により放出は影響を受けないという報告³⁴⁾もある。C Kinase により、りん酸化される蛋白が、lipocortin、G 蛋白、IgE 受容体¹⁹⁾など知られ、分泌の促進、阻害は、種々の蛋白りん酸化の時間のずれと関係するかもしれない。48/80、抗原刺激で、細胞質から細胞膜への C Kinase 再分布が見られるという報告と、抗原刺激で再分布はなく細胞膜に存在する C Kinase 活性が上昇する⁴⁵⁾という報告がある。

(c) ホスホリパーゼ A_2 系 (アラキドン酸生成)

外液に添加した PLA_2 の、ヒスタミン放出作用を端緒として、生成物であるアラキドン酸代謝物やリゾホスホリピドの膜融合作用の関与が想定されてきた。しかし、頻用される阻害剤である P-Br-フェナシル Br は、SH 基阻害作用をもち、メバクリンには、肥満細胞 PLA_2 阻害作用がほとんどないという。グルココルチコイドの、ヒスタミン、アラキドン酸放出抑制作用は、 PLA_2 阻害蛋白であるリポモジュリン誘導によると考えられたが、この抑制は、抗原刺激に限定され、また精製したリポモジュリンには、放出抑制作用がなく⁹⁾、 PLA_2 を介さない可能性が高い。アラキドン酸生成量は、A 23187 で高く、48/80 では少なく、放出との相関が少なく、代謝酵素であるリポキシングナーゼを阻害する Eicosatetraynoic acid は、多くの刺激による放出を阻害するが、48/80 反応には無効であり、アラキドン酸の積極的関与は、否定的である。

(d) GTP 結合蛋白 (G_E , G_P)

ATP^{-4} により非水解性 GTP アナログを細胞内に封入した細胞が、外液 Ca^{2+} 存在下でのみ放出を示すことにより、G 蛋白の関与が示唆された¹⁴⁾。この放出は、ホスホリパーゼ C (PLC) 阻害剤であるネオマイシンで阻害され⁸⁾、また、 G_i を ADP-リボシル化する百日咳毒素 (PT) で処理すると、48/80 による放出と IP_3 生成が阻害されることから³⁰⁾、受容体と PLC をカップルさせる G_P の関与が想定された¹⁶⁾。しかし、

streptolysin-O 処理細胞において、ネオマイシンが IP_3 生成を阻害するにもかかわらず $GTP\gamma S$ プラス Ca^{2+} による放出に影響しないこと⁷⁾, PT は $[Ca]_i$ 上昇を阻害することなく, 48/80, や $GTP\gamma S$ の細胞内注入による放出を阻害又は遅延させる³⁴⁾ことより, G_P 以外の G 蛋白 (G_E) の関与も想定された¹⁶⁾. しかし, PT は, IgE 受容体刺激や $GTP\gamma S$ による放出に影響しない^{25, 38)}という報告もあり, 意見が一致しているわけではない.

細胞内 $GTP\gamma S$ の効果が導入方法により異なる原因は不明である. パッチピペットによる注入は, Ca^{2+} キレート剤の存在下でも脱顆粒反応をひきおこすが^{11, 32)}, ATP^{-4} を用いた場合は, 外液 Ca^{2+} (mM) を必要とし¹⁴⁾, また, streptolysin-O, digitonin 下に導入した時は, 同時に μM レベルの Ca^{2+} を必要とする^{20, 41)}. センダイウィルス, ATP^{-4} 下における低濃度 (μM) の Ca^{2+} 単独による放出^{4, 15)} や微小電極を介した Ca^{2+} 注入²³⁾ による放出は, 受容体を介さず, 従って G 蛋白の関与はないと考えられるが, 何故 Ca^{2+} 単独が著しい放出を生ずるか, 現状では説明できない.

3. 単一細胞における $[Ca]_i$ と開口放出

Neher らは, パッチピペットを介し細胞内を灌流しつつ, 刺激による脱顆粒反応に伴って一時的に増加する膜面積を膜容量 (C_m) の増加として記録し, 開口放出を定量化した¹¹⁾. (但し, C_m は pinocytotic vesicle 生成や顆粒の細胞内運動によっても変化する²⁾.) 同時に fura-2 (K^+ 塩) による $[Ca]_i$, 膜電位固定下の膜電流の測定を行い, 従来の方法では得られなかった知見を報告している^{32, 34-37)}. 彼等によると, $[Ca]_i$ 上昇を伴わない開口放出が (1) $GTP\gamma S$ の細胞内注入 (2) PMA 処理細胞での 48/80, $GTP\gamma S$ 刺激 (3) Ca -EGTA buffer により $[Ca]_i$ を低く維持した細胞における 48/80, 抗原刺激, の場合見られ, この放出は, $[Ca]_i$ 上昇を介さず直接 G_E を刺激するためという. (ネオマイシンが $GTP\gamma S$ プラス Ca^{2+} による放出を阻害しないことから, はじめその存在が想定されたが,

Penner は, G_E は, ネオマイシンにより阻害される結果, 放出が阻害されると考えている).

逆に, $[Ca]_i$ の一過性上昇が見られるにもかかわらず, 放出が阻害される例として (1) PT 処理下 48/80, $GTP\gamma S$ 刺激 (PT は G_P を ADP-リボシル化するという大方の意見と異なり, G_E を部分的に不活化するという). (2) cAMP の細胞内灌流下での 48/80 刺激 (cAMP は, Cl チャネルに対する作用以外に, 蛋白リン酸化酵素を介して G_E を不活化する). (3) 細胞内灌流液より GTP を除いた時の 48/80 刺激. (4) 低濃度 (0.1 mM) ネオマイシン灌流下での 48/80 刺激 (G_E の選択的阻害). (5) IP_3 の細胞内注入. (6) 外液へのホスファチジルセリンの添加 ($[Ca]_i$ 上昇のみで放出を生ずる時は持続的上昇を必要とする). これらの結果より, 分泌刺激が G_P , G_E , G_S を同時に活性化し, 生成するセカンドメッセンジャーが, 分泌の促進又は抑制に機能するという, 刺激—分泌連関におけるシグナル伝達モデルを提唱している (図 1). このモデルの基本は, G_P 活性化 ($[Ca]_i$ 上昇, C Kinase 活性化) による放出と, $[Ca]_i$ 上昇を必ずしも必要

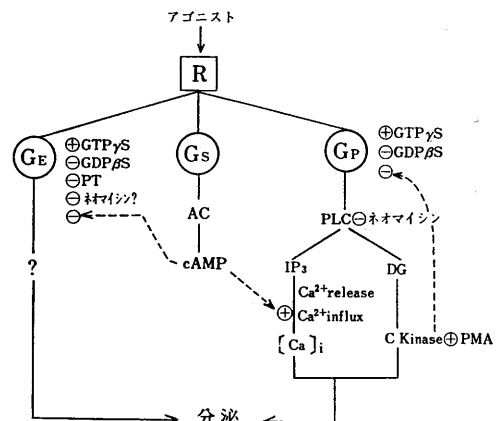


図 1. 肥満細胞の刺激—分泌連関に関与すると想定されるシグナル伝達経路 (Penner による図³⁴⁾を一部改変). 受容体 (R) が刺激されると, 3 種の G 蛋白 (G_P , G_S , G_E) が活性化される結果, ホスホリパーゼ C (PLC), アデニレート・シクラーゼ (AC) が活性化され, セカンドメッセンジャーであるイノシトール-3-りん酸 (IP_3), ジアシルグリセロール (DG), cAMP が生成され, それぞれの作用を発揮する. ⊕ は刺激作用, ⊖ は抑制作用を意味する.

としない、 G_E 活性化による放出が並列していることである。しかし、 Ca^{2+} イオノフォアをはじめ、多くの刺激が、 G_P を介さず、 $[Ca]_i$ 上昇のみを介すると思われること、PT 処理で G_P は不活化されないにもかかわらず、分泌が阻害される等の事実は、このモデルでは説明できず、今後の問題として残されている。

おわりに

肥満細胞は、分泌機構の研究に適したモデル細胞としての特徴をもち、多くの研究者をひきつけ、近年では Neher らによる解析により大幅な進歩が見られた。現時点での収穫は、興奮性分泌細胞と異なり、 $[Ca]_i$ 上昇は、放出に不可欠ではなく、分泌速度のモジュレーターとして機能する可能性のあること、放出は基本的には、何らかのセカンドメッセンジャーによること、の2点であろう。しかし、これ迄提唱されてきた細胞内反応の関与は推定にすぎず、なかでも G_E 活性化にひきつづく反応の実態は全く不明であり、今後の研究の焦点は、この反応の同定に向けられるであろう。

II. 膵島B細胞におけるインスリン分泌機構

膵ランゲルハンス島からのインスリン分泌は、神経性および内分泌性に調節されており、これは多くの内・外分泌腺に共通した性質である。一方、インスリン分泌の調節様式には次に述べるような際だった特徴がある。すなわち、インスリン分泌は他の膵島ホルモンによって局所的な paracrine 制御を受けていると考えられている。さらに、インスリン分泌は栄養素によって調節されており、なかでもグルコースによるインスリン分泌制御は生理的に最も重要なものである。そこで本稿では、はじめにインスリン分泌の栄養素性、神経性、内分泌性および paracrine 様制御について概観する。続いて、インスリン分泌研究の中心的テーマである、“B細胞におけるグルコース刺激—インスリン分泌連関機構”に焦点を絞り、イオンチャネル解析と細胞内遊離 Ca^{2+} 測定最新の知見を交えて解説する。

1. インスリン分泌の栄養素性・神経性・ホルモン性調節

(1) 栄養素性調節

インスリン分泌を刺激する栄養素としては糖とアミノ酸が知られている。糖については、グルコース、マンノース等の膵島B細胞内で代謝されるものに分泌刺激作用があり、代謝の低いフルクトースや非代謝性グルコース誘導体にはその作用はみられない^{72,93)}。中でもグルコースは、生理的に最も重要なインスリン分泌刺激であるばかりでなく、他の分泌刺激物質の作用を規定する重要な働きをもっている。そこで、インスリン分泌刺激物質の作用様式の区分にふれておきたい。単独でインスリン分泌を刺激するのは始動刺激 (Initiator) と呼ばれ、一方、単独には作用をあらわさないが、少量でも始動刺激があるときその作用を増強するものは増強刺激 (Potentiator) と呼ばれ区分されている⁷²⁾。グルコースは代表的な始動刺激である。

次にアミノ酸のうちでインスリン分泌刺激作用をもつものにはアルギニン、ロイシン、リジンがある⁷⁰⁾。そのうち、始動刺激となり得るのはロイシンとその一次代謝産物 2-Ketoisocaproate である。アミノ酸の作用機構は十分に調べられていなかったが、最近の研究により、ロイシンと 2-Ketoisocaproate はミトコンドリアで代謝された後、グルコースと同様に後述する ATP 依存性 K チャネル抑制と活動電位発生をもたらすが、アルギニンにはその作用がないことが明らかにされた⁴⁸⁾。一方、アルギニンと非代謝性アルギニン誘導体は共にインスリン分泌を刺激するので、その分泌刺激作用は代謝に依存しておらず、むしろ、アルギニンが細胞内へ取り込まれる際にそのプラス荷電のために膜の脱分極を起すことが主たる分泌刺激作用機序であると示唆されている⁸¹⁾。リジンの場合には、アルギニン同様のプラス荷電による作用と代謝を介する作用の双方が関与することが示されている⁸¹⁾。このように、栄養素がインスリン分泌刺激物質となり得るためには、その物質がB細胞内で代謝されるか、もしくは、B細胞膜によ

る取り込みに際し十分の脱分極をもたらす性質が重要であると考えられる。

(2) 神経性調節

副交感神経刺激はインスリン放出を刺激し、また、アセチルコリン(ACh)は分離膵島からのインスリン放出を刺激し、それらの効果はアトロピンにより阻害される。従って、副交感神経からの ACh が膵B細胞膜ムスカリン様受容体活性化を介してインスリン分泌を刺激すると考えられている⁴⁶⁾。AChが始動刺激として作用するには高濃度を要するが、グルコースによって始動された分泌を増強するには低濃度 ACh でも有効であるので⁵⁸⁾、生理的には ACh は増強刺激として作用しているものと推定される。ムスカリン様 ACh の作用機序としては一般に、phospholipase C 活性化によりイノシトール3リン酸とジアシルグリセロールが生成され、前者は細胞内貯蔵部からの Ca^{2+} 遊離を、後者は Protein Kinase C (C Kinase) 活性化をもたらす経路が多く細胞系において示されている。筆者らは最近ラット膵B細胞において、ACh 刺激による一過性の細胞内 Ca^{2+} 濃度 ($[Ca^{2+}]_i$) 増加を外液 Ca^{2+} 除去下において見いだしており⁹²⁾、上記の機構のB細胞における作動が示唆される。

一方、交感神経刺激はインスリン放出を抑制すると考えられている⁴⁶⁾。交感神経および副腎髄質からのノルアドレナリン、アドレナリンによるインスリン分泌の抑制はB細胞膜 α 受容体を介するものと考えられている⁴⁶⁾。なお、これらのカテコールアミンは β 受容体に作用してインスリン分泌を刺激する作用をも合わせもち、その作用は Adenylate Cyclase 活性化によることが知られているが、その生理的意義は十分に解明されていない^{46, 88)}。

上記の古典的伝達物質に加え、いくつかのペプチドが膵臓内の神経に認められているが、そのうちグルコースによるインスリン分泌を著明に促進する作用を持つのは、Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) および Cholecystokinin (CCK) である⁴⁶⁾。最近発見された Galanin は膵

島近傍の神経線維に豊富に存在し、インスリン分泌を強分に抑制する⁵⁴⁾。その抑制機序は、インスリン分泌腫瘍細胞株 RINm 5 F を用いて調べられており、細胞膜脱分極と細胞内 Ca^{2+} 増加が部分的に抑制されること、その作用は GTP 結合蛋白を介して現れることが報告されている⁸²⁾。これらのペプチドの生理的伝達物質としての検証はなお今後に残されている。

(3) ホルモン性調節

グルコースの経口投与に伴うインスリン放出は、同一レベルの血糖値上昇をグルコースの静注で与えた場合のインスリン放出に較べて著明に大きい事実は古くから知られている。これは前者において腸管で作られる因子が膵島に作用するためと考えられ、この因子は総称して Incretin と呼ばれている。Incretin の必要条件は食事後に分泌され、in vivo 及び in vitro でグルコースによるインスリン放出を促進することであり、その候補に挙げられているのは、Gastric Inhibitory Peptide (GIP)、Cholecystokinin (CCK) および最近発見された Glucagon Like Peptide 1 (GLP 1) 等の消化管ホルモンである^{55, 56, 63)}。

次に、インスリン分泌がグリカゴンにより刺激されソマトスタチンによって抑制されることはよく知られている⁸⁹⁾。インスリン、グルカゴン、ソマトスタチンが膵島B、A、D細胞から放出されることより、上記の制御が膵島内で paracrine に行われているものと示唆されている⁸⁶⁾。Pipeleers は膵島細胞をB細胞に富んだ集団とA細胞に富んだ集団とに分離し、B細胞集団のグルコースに対するインスリン分泌応答がA細胞集団を加えることにより増強されること、その効果の少なくとも一部はA細胞由来のグルカゴンによることを明らかにした⁷⁶⁾。一方、最近発見されたペプチドである pancreastatin は、膵島細胞で作られて分泌されており、インスリン分泌抑制活性をもつことが示されている⁵⁵⁾。さらに、もっぱら中枢神経伝達物質と考えられてきた GABA が、膵B細胞で合成・分泌されており、グルカゴン分泌を抑制すること

が報告されている⁷⁶⁾。このように、古典的な膵島ホルモンに加えて新しい膵島物質による paracrine 作用も示唆され、インスリンなどの膵島ホルモン分泌のフィードバック制御にあずかっているものと推察される。このような液性相互作用と共に、膵島細胞間にはギャップ結合を介した細胞間連絡が少なくとも B-B, A-A および B-A 細胞間に存在することが知られている⁷⁴⁾。その生理的役割は十分に解明されていないが、細胞の脱分極・興奮が電氣的連絡によって周辺の細胞に伝えられることにより⁶⁹⁾、膵島内における刺激の増幅および興奮の同調にあずかっているものと思われる。

2. B細胞におけるグルコース刺激—インスリン分泌連関機構

(1) 細胞膜脱分極と活動電位

膵島B細胞の電気生理学的研究は1968年 Dean と Matthew によってグルコースがB細胞の活動電位を誘発することが発見されたことに始まる⁵²⁾。その後の盛んな研究の成果を要約すると次の如くである。B細胞は低濃度グルコース下で約 -70mV の静止膜電位を持つが、閾濃度(約 6mM)以上のグルコースの刺激によりゆっくり脱分極し、約 -50mV に達するとこの電位の周りで膜電位振動を発生する。この膜電位振動はプラトー相($-30\sim-40\text{mV}$)と再分極相($-50\sim-60\text{mV}$)との繰り返しから成っており、プラトー相上に活動電位が重ね合わされるため群発性の活動電位が観察される^{50,52)}。この様な周期的な電氣的活動性は種々の神経系、内分泌系および平滑筋細胞においても観察されている現象であり、膵B細胞はこの様なリズム形成機構の研究のモデルとしても興味深い。B細胞の活動電位は膜電位依存性に発生するCa活動電位であるが⁶⁸⁾、近年のパッチクランプ法によりこれがL-type Caチャンネルによることが明らかにされた⁸⁰⁾。

膜電位振動においてプラトー相を取る時間の割合は、活動電位の頻度を決定することによってインスリン放出の速度を制御しているものと考えられる。膜電位振動のイオン機構は末だ十

分に解明されていないが、従来より膜電位およびCa依存性Kチャンネルの関与が示唆されており⁵⁰⁾、その単一チャンネルレベルでの同定、解析がなされている⁵⁷⁾。

一方、グルコース刺激によって誘導される脱分極は上記の一連の電氣的活動をトリIGGERする重要な過程である。この脱分極に伴って Rb^+ フラックスが減少することより K^+ 透過性の減少が示唆されていたが⁶²⁾、具体的な機構は謎に包まれていた。1984年B細胞膜にATPにより抑制される新しいKチャンネルが発見され、その抑制にはリン酸化は関与しないことが明らかにされ⁵¹⁾、これと独立にAshcroftらはグルコースにより不活性化されるKチャンネルをB細胞に発見し⁴⁹⁾、間もなく両者が同一のチャンネルであることが明らかとなった⁷⁹⁾。発見当初、このいわゆるATP依存性Kチャンネルは μM オーダーのATPで不活性化されるのに対し、B細胞内ATPは mM オーダー存在することより、B細胞の静止時にチャンネルはすでに不活性化されているという矛盾が指摘された。その後、チャンネルのATPによる抑制作用がADPによりきつ抗されることが加計らによって発見され、チャンネル開閉の制御がB細胞の生理的なATP, ADP濃度により行われることが明らかにされた⁶⁴⁾。さらには、ATP/ADP比がチャンネル抑制活性の良い指標となり、この値がグルコース刺激によって増加することも示された⁶⁴⁾。さらにこのチャンネルは、Mg非結合型ATP(free-ATP)によって最も有効に制御されることが、また、 Mg^{2+} もチャンネルの抑制をもたらすことが明らかにされた⁴⁷⁾。最近、細胞内pHの減少によるチャンネル抑制と脱分極^{71,83)}、および、RIN m5F細胞株においてはC Kinaseによるチャンネル抑制⁸⁷⁾が報告されており、グルコース代謝からATP依存性Kチャンネル不活性化に至る過程には種々の因子が介在するものと思われる。

(2) 細胞内 Ca^{2+} 動態

細胞内 Ca^{2+} 濃度($[\text{Ca}^{2+}]_i$)上昇がインスリン放出をもたらすことを支持する事実としては、 Ca^{2+} イオノフォアが外液 Ca^{2+} 存在下に膵島

からのインスリン放出を刺激すること⁸⁸⁾, そして, 電氣的ないし化学的に細胞膜透過性の高められた膵島において, 10^{-6}M 以上の Ca^{2+} がインスリン放出をもたらすこと⁸⁴⁾が挙げられる. グルコース刺激によるインスリン分泌の過程においても, 今日, $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 増加が中心的役割を担うものと考えられている^{65, 88)}. その根拠となる事実を列挙すると, (a) グルコース刺激によるインスリン分泌の維持には外液 Ca^{2+} の存在が必要である. (b) 膵島への $^{45}\text{Ca}^{2+}$ 取り込みはグルコースにより刺激される. $^{45}\text{Ca}^{2+}$ 取り込みを刺激するグルコース濃度の閾値はインスリン放出に対するものと良く一致する⁶⁷⁾. (c) グルコース刺激によりB細胞にCa依存性活動電位が誘発される. (d) 予め $^{45}\text{Ca}^{2+}$ を取り込ませた膵島からの $^{45}\text{Ca}^{2+}$ 流出の速度は $[\text{Ca}^{2+}]_i$ に依存することから, $^{45}\text{Ca}^{2+}$ 流出は $[\text{Ca}^{2+}]_i$ を反映する一つの指標であると解釈されてきた. グルコース刺激に対し, $^{45}\text{Ca}^{2+}$ 流出は鋭い増加応答を示し, その時間経過はインスリンの2相性放出パターンに類似する⁶⁶⁾. これらの事実, グルコースによる $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 増加を示唆するものであったが, いずれも間接的証拠であった.

Tien によって開発された Ca^{2+} 指示蛍光色素を用いた $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 測定法の導入はより直接的な細胞内 Ca^{2+} 動態研究の道を拓いた. 1984年, Hellman, Gylfe らは *quin 2* を用い膵島組織量の極めて多い高血糖 *ob/ob* マウス由来の膵島細胞サスペンションにおいて $[\text{Ca}^{2+}]_i$ を測定し, グルコース刺激が外液 Ca^{2+} 存在下において $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇を, 外液 Ca^{2+} 除去下においては $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 減少をもたらすことを報じた⁷⁷⁾. 続いて, *fura-2* を用いた顕微測光法の導入により, 単一のB細胞においてグルコース刺激が $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 減少とそれに続く $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 増加をもたらすことを明らかにした⁵⁹⁾. これに対し, 正常ラットの膵島細胞サスペンションにおいては, グルコース刺激に対する $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 増加が見いだされたが $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 減少は観察されなかった⁵³⁾. その後, $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 減少の評価をめぐる, これらB細胞のグルコースに対する生理的応答であ

るとする解釈と, B細胞の非生理的状态を反映したものであるとの解釈とが対立し, 盛んな議論がなされてきている^{61, 73)}.

そこで, 筆者らは最近, 正常ラットの単一B細胞において $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 測定を行い, 以下の結果を得ている. 正常ラットB細胞の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ は 2.8mM グルコース下の静止時約 80nM であるが, 16.7mM グルコース刺激に伴い $[\text{Ca}^{2+}]_i$ は初めに約 20nM の減少を示したのち急激に増加して約 300nM のピークに達する⁹⁰⁾. ピークの後, $[\text{Ca}^{2+}]_i$ は減少して中間的レベルに維持されるが, このレベルにはしばしば周期的振動が重ね合わされる⁹⁰⁾. この $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 増加と $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 減少が各々全く異なる機構で発生していることは, $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 増加をもたらさない 5mM グルコース刺激により $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 減少が観察されること, 外液 Ca^{2+} 除去により $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 増加は阻害されるが $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 減少は影響を受けないことから明らかである⁸⁹⁾. 従って, グルコース刺激に対する正常B細胞の応答には, 2つの独立した機構が存在しており, 一方はダイナミックな $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 増加を誘起する働きをもち, 他方は $[\text{Ca}^{2+}]_i$ を減少させて新しい定常状態を作る働きをもつものと示唆される. $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 増加と $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 減少が共にグルコース代謝依存性の反応であることはマウスB細胞において示されている⁶⁰⁾. 外液 Ca^{2+} 除去により $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 増加は完全に阻害されるので⁸⁹⁾, $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 増加の発生には Ca^{2+} 流入の過程が不可欠であると考えられる. ただし, $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 増加の全てが Ca^{2+} 流入によっているのか, 流入した Ca^{2+} によって作動する細胞内貯蔵部からの Ca^{2+} 遊離が部分的に寄与しているのかは今後明らかにされるべき問題である. 一方, $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 減少の機序は十分に調べられていない. さて, $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 増加反応とインスリン放出反応は, それらのグルコース濃度依存性や時間経過において類似し, 共に代謝を介して現れ外液 Ca^{2+} の存在に依存していることから, $[\text{Ca}^{2+}]_i$ は開口放出を直接制御する因子であるものと示唆される. しかし, $[\text{Ca}^{2+}]_i$ と開口放出が 1 : 1 対応関係にあるの

かどうかについては、なお、詳細な検討が必要である。

(3) リン酸化酵素の役割

細胞内サイクリック AMP (cAMP) を増加させる forskolin, IBMX 等は単独には膵島からのインスリン放出を起さないが、グルコースによるインスリン放出を顕著に促進する⁸⁸⁾。グルカゴン, GIP, VIP, アドレナリン β 受容体によるグルコース作用の増強にはこの機構が関与するものと考えられている⁸⁸⁾。一方、グルコース刺激による膵島 cAMP の増加は、 $[Ca^{2+}]_i$ 上昇が Adenylate Cyclase を活性化することによる二次的反応であると考えられている⁸⁸⁾。この様に、グルコースのインスリン分泌刺激作用のメッセンジャーとして、 Ca^{2+} 系が主、cAMP-A kinase 系が従の役割を担っている^{85,88)}。

これに対し、C Kinase を活性化する Phorbol Ester が単独に膵島からのインスリン分泌を促すとの報告と無効であるとの報告が相半ばしており、C Kinase が始動刺激か否かの判断はなお慎重を要する。C Kinase の作用機構についてはインスリン分泌腫瘍細胞株 RIN m5F を用いて調べられており、C Kinase が細胞膜脱分極とそれに続く Ca チャネル活性化、 $[Ca^{2+}]_i$ 増加をもたらし、上昇した $[Ca^{2+}]_i$ と C Kinase が強奏的に働いて著明なインスリン分泌をもたらすことが明らかにされている⁸¹⁾。この脱分極の機構に関して、C Kinase による ATP 依存性 K チャネルの抑制が報告されている⁸⁷⁾。さて、グルコースが C Kinase を用いているかどうかについては、グルコースによる phospholipase C 活性化が弱いことより従来否定的に考えられてきたが、最近、膵島においてグルコース代謝によりジアシルグリセロールが作られ直接 C Kinase を活性化する経路の存在が明らかにされた⁷⁵⁾。以上の最新の知見より、グルコース代謝によって C Kinase が活性化され、これが脱分極を介して Ca^{2+} メッセンジャー系を賦活化する図式が描かれ、この仮説においては C Kinase は極めて重要な役割を担うことになる。しかし、腫瘍細胞における実験結果に多くの根

拠をおくこの仮説の検証は今後の注意深い実験によらねばならない。

おわりに

インスリン分泌機構の研究は多岐にわたっており、限られた紙面でその全てを取り上げることは難しく、また、筆者の力を越えたことでもある。そのため、触れることのできなかった重要な問題も少なくない。例えば、アラキドン酸とその誘導体の役割、GTP 結合蛋白の役割、リン酸化酵素の基質蛋白の研究、 $[Ca^{2+}]_i$ 増加から開口放出に至る過程などはその一例である。また、本稿では今日多くの研究者に受け入れられているグルコース代謝説に基づいて議論を進めたが、グルコース受容体説も実験的根拠に支えられた考え方であり⁷²⁾、膵 B 細胞によるグルコース認識機構は、なお注意深く検討されなければならぬ課題であることを申し述べておく。

次にインスリン分泌機構研究の今後の展望についてひと言述べたい。従来、分泌の B 細胞内機構は十分に解明されていなかったが、これは膵島の特殊な事情、すなわち、その限られた収量と多種類の細胞の混成構造のために生化学的アプローチが容易でなかった事情によっていた。近年のパッチクランプ法と顕微測光法の開発は単一細胞レベルでの解析を可能にすることによって上記の困難を解決し、B 細胞内機構の解明に画期的前進をもたらした。今後、求められるのは単一細胞における開口放出の定量である。そして、チャネル電流、 $[Ca^{2+}]_i$ 、インスリン放出等の同時測定が可能となれば B 細胞における刺激一分泌連関の解明が大きく前進するものと期待される。

次に興味深いのは膵島 B, A, D, PP 細胞間相互作用である。従来の膵島ホルモンや最近発見された膵島物質の放出を介する細胞間相互作用は、インスリンをはじめとする膵島ホルモン分泌を精密に調節しているものと思われ、生理的な血糖制御およびその破綻としての糖尿病の理解とも関連して、今後の重要な研究課題であると思われる。A, B 細胞の分離と再構成の方

法も開発されており、これからの発展が期待される。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御校閲をいただき貴重な御助言をいただいた鹿児島大学医学部第一内科、加計正文博士に感謝する。

なお、本稿のうちⅠ. 肥満細胞については反町が、Ⅱ. 臍島B細胞については矢田が担当した。

文 献

- 1) Alm, P. E. & Bloom, G. D. (1982) Cyclic nucleotide involvement in histamine release from mast cells—a reevaluation. *Life Sci.* **30**, 213–218
- 2) Almers, W. & Neher, E. (1987) Gradual and stepwise changes in the membrane capacitance of rat peritoneal mast cells. *J. Physiol. (Lond.)* **386**, 205–217
- 3) Beaven, M. A., Moore, J. P., Smith, G. A., Hesketh, R. & Metcalfe, J. C. (1984) The calcium signal and phosphatidylinositol breakdown in 2H3 cells. *J. Biol. Chem.* **259**, 7137–7142
- 4) Bennett, J. P., Cockcroft, S. & Gomperts, B. D. (1981) Rat mast cells permeabilized with ATP secrete histamine in response to calcium ions buffered in the micromolar range. *Biochem. J.* **317**, 335–345
- 5) Bibb, P. C., Cochrane, D. E. & Morel-Laurens, N. (1986) Loss of quin 2 accompanies degranulation of mast cells. *FEBS Lett.* **209**, 169–174
- 6) Bonner, C., Valle, A., Gies, J.-P. & Landry, Y. (1986) Dual effect of phorbol ester on serosal mast cell exocytosis: interactions between ionic gradients and protein kinase C. *Ann. Inst. Pasteur* **137 D**, 249–261
- 7) Cockcroft, S., Howell, T. W. & Gomperts, B. D. (1987) Two G-proteins act in series to control stimulus-secretion coupling in mast cells: Use of neomycin to distinguish between G-proteins controlling polyphosphoinositide phosphodiesterase and exocytosis. *J. Cell Biol.* **105**, 2745–2750
- 8) Cockcroft, S. & Gomperts, B. (1985) Role of guanine nucleotide binding protein in the activation of polyphosphoinositide phosphodiesterase. *Nature* **314**, 534–536
- 9) Daeron, M., Sterk, A. R., Hirata, F. & Ishizaka, T. (1982) Biochemical analysis of glucocorticoid-induced inhibition of IgE-mediated histamine release from mouse mast cells. *J. Immunol.* **129**, 1212–1218
- 10) Douglas, W. W. & Kagayama, M. (1977) Calcium and stimulus-secretion coupling in the mast cell: Stimulant and inhibitor effects of calcium-rich media on exocytosis. *J. Physiol. (Lond.)* **270**, 691–703
- 11) Fernandez, J. M., Neher, E. & Gomperts, B. D. (1984) Capacitance measurements reveal stepwise fusion events in degranulating mast cells. *Nature* **312**, 453–455
- 12) Foreman, J. C., Hallett, M. B. and Mongar, J. L. (1977) The relationship between histamine secretion and ^{45}Ca calcium uptake by mast cells. *J. Physiol. (Lond.)* **271**, 193–214
- 13) Foreman, J. C., Mongar, J. C. & Gomperts, B. D. (1973) Calcium ionophores and movement of calcium ions following the physiological stimulus to a secretory process. *Nature* **245**, 249–251
- 14) Gomperts, B. D. (1983) Involvement of guanine nucleotide binding protein in the gating of Ca^{2+} by receptors. *Nature* **306**, 64–66
- 15) Gomperts, B. D., Baldwin, J. M. & Micklem, K. J. (1983) Rat mast cells permeabilized with Sendai virus secrete histamine in response to Ca^{2+} buffered in the micromolar range. *Biochem. J.* **210**, 737–745
- 16) Gomperts, B. D., Borrowman, M. M. & Cockcroft, S. (1986) Dual role for guanine nucleotides in stimulus-secretion coupling. *Fed. Proc.* **45**, 2156–2161
- 17) Grosman, N. & Diamant, B. (1978) Binding of ^{45}Ca to isolated rat mast cells in connection with histamine release. *Agents, Actions* **8**, 338–346
- 18) Heiman, A. S. & Crews, F. T. (1985) Characterization of the effects of phorbol esters on rat mast cell secretion. *J. Immunol.* **134**, 548–554
- 19) Hempstead, B. L., Parker, C. W. & Kulczycki, A. (1983) Selective phosphorylation of the IgE receptor in antigen-stimulated rat mast cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **80**, 3050–3053
- 20) Howell, T. W., Cockcroft, S. & Gomperts, B. D. (1987) Essential synergy between Ca^{2+} and guanine nucleotides in exocytotic secretion from permeabilized rat mast cells. *J. Cell Biol.* **105**, 191–197
- 21) Ishizaka, T., Hirata, F., Ishizaka, K. & Axelrod, J. A. (1980) Stimulation of phospholipid methylation, Ca^{2+} influx and histamine release by bridging of IgE receptors on rat mast cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **77**, 1903–1906
- 22) Katakami, Y., Kaibuchi, K., Sawamura, M., Takai, Y. & Nishizuka, Y. (1984) Synergistic action of protein kinase C and calcium for histamine release from rat peritoneal mast cells. *Biochem. biophys. Res. Comm.* **121**, 573–578

- 23) Kanno, T., Cochrane, D. E. & Douglas, W. W. (1973) Exocytosis (secretory granule extrusion) induced by injection of calcium into mast cells. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **51**, 1001-1004
- 24) Lindau, M. & Fernandez, J. M. (1986) IgE-mediated degranulation of mast cells does not require opening of ion channels. *Nature* **319**, 150-153
- 25) Lindau, M. & Nüße, O. (1987) Pertussis toxin does not affect the time course of exocytosis in mast cells stimulated by intracellular application of GTP- γ -s. *FEBS Lett.* **222**, 317-321
- 26) MacGlashan, D. (1989) Single-cell analysis of Ca^{2+} changes in human lung mast cells: graded vs. all-or-nothing elevations after IgE-mediated stimulation. *J. Cell Biol.* **109**, 123-134
- 27) Maruzek, N., Regazzi, R., Borner, C., Wyss, R., Conscience, J-F., Erne, P., Eppenberger, U. & Fabbro, D. (1987) Altered protein kinase C in a mast cell variant defective in exocytosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **84**, 1277-1281
- 28) Maruzek, N., Schindler, H., Schurholz, Th. & Pecht, I. (1984) The cromolyn binding protein constitutes the Ca^{2+} channel of basophils opening upon immunological stimulus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **81**, 6841-6845
- 29) Moore, J. P., Johannsson, A., Hesketh, T. R. & Smith, C. A. and Metcalfe, J. C. (1984) Calcium signals and phospholipid methylation in eukaryotic cells. *Biochem. J.* **221**, 675-684
- 30) Nakamura, T. & Ui, M. (1985) Simultaneous inhibitions of inositol phospholipid breakdown, arachidonic acid release, and histamine secretion in mast cells by islet-activating protein, pertussis toxin. *J. Biol. Chem.* **260**, 3584-3593
- 31) Neher, E. & Almers, W. (1986) Fast calcium transients in rat peritoneal mast cells are not sufficient to trigger exocytosis. *EMBO J.* **5**, 51-53
- 32) Neher, E. (1988) The influence of intracellular calcium concentration on degranulation of dialysed mast cells from rat peritoneum. *J. Physiol. (Lond.)* **395**, 193-214
- 33) Peachell, P. T. & Pearce, F. L. (1985) Calcium regulation of histamine secretion from mast cells. In "Calcium and cell physiology" ed. by D. Marme, Springer-Verlag.
- 34) Penner, R. (1988) Multiple signaling pathways control stimulus-secretion coupling in rat peritoneal mast cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **85**, 9856-9860
- 35) Penner, R., Matthews, G. & Neher, E. (1988) Regulation of calcium influx by second messengers in rat mast cells. *Nature* **334**, 499-504
- 36) Penner, R. & Neher, E. (1988) The role of calcium in stimulus-secretion coupling in excitable and non-excitable cells. *J. exp. Biol.* **139**, 329-345
- 37) Penner, R. & Neher, E. (1988) Secretory responses of rat peritoneal mast cells to high intracellular calcium. *FEBS Lett.* **226**, 307-313
- 38) Saito, H., Okajima, F., Molski, T. F. P., Sha'afi, R. I., Ui, M. & Ishizaka, T. (1987) Effects of ADP-ribosylation of GTP-binding protein by pertussis toxin on immunoglobulin E-dependent and -independent histamine release from mast cells and basophils. *J. Immunol.* **138**, 3927-3934
- 39) Sieghart, W., Theoharides, J. C., Aper, S. L., Douglas, W. W. & Greengard, P. (1978) Calcium-dependent protein phosphorylation during secretion by exocytosis in the mast cell. *Nature* **275**, 329-331
- 40) Siraganian, R. P. (1983) Histamine secretion from mast cells and basophils. *TIPS* 432-437
- 41) Sorimachi, M., Nishimura, S. & Sadano, H. (1987) Role of guanine nucleotide regulatory protein in histamine secretion from digitonin-permeabilized rat mast cells. *Biomed. Res.* **8**, 250-209
- 42) Sorimachi, M., Yamagami, K., Nishimura, S. & Yoshida, A. (1989) Prolonged exposure to a K rich medium makes the rat mast cell membrane permeable to external calcium ions. *Agents, Actions* **28**, 22-33
- 43) Spataro, A. C. & Bosmann, H. B. (1975) Mechanism of action of disodium cromoglycate-mast cell calcium ion flux after a histamine-releasing stimulus. *Biochem. Pharmacol.* **25**, 505-510
- 44) White, J. R., Ishizaka, T., Ishizaka, K. & Sha'afi, R. I. (1984) Direct demonstration of increased intracellular concentration of free calcium as measured by quin-2 in stimulated rat peritoneal mast cell. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **81**, 3978-3982
- 45) White, J. R., Pluznik, D. H., Ishizaka, K. & Ishizaka, T. (1985) Antigen-induced increase in protein kinase C activity in plasma membrane of mast cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **82**, 8193-8197
- 46) Ahren, B., Taborsky, Jr., G. J. & Porte, Jr., D. (1986) Neuropeptidergic versus cholinergic and adrenergic regulation of islet hormone secretion. *Diabetologia.* **29**, 827-836
- 47) Ashcroft, F. M. & Kakei, M. (1989) ATP-sensitive K^+ channels in rat pancreatic β -cells: Modulation by ATP and Mg^{2+} ions. *J. Physiol. (Lond.)* **416**, 349-367
- 48) Ashcroft, F. M., Ashcroft, S. J. H. & Harrison, D. E. (1987) Effects of 2-ketoisocaproate on insulin release and single potassium channel activity in dispersed rat pancreatic β -cells. *J.*

- Physiol.(Lond.)**385**, 517-529
- 49) Ashcroft, F. M., Harrison, D. E. & Ashcroft, S. J. H. (1984) Glucose induces closure of single potassium channels in isolated rat pancreatic β -cells. *Nature* **312**, 446-448
 - 50) Atwater, I., Dawson, C. M., Ribalet, B. & Rojas, E. (1979) Potassium permeability activated by intracellular calcium ion concentration in the pancreatic β -cell. *J. Physiol.(Lond.)***228**, 575-588
 - 51) Cook, D. L. & Hales, C. N. (1984) Intracellular ATP directly blocks K^+ channels in pancreatic B-cells. *Nature* **311**, 271-273
 - 52) Dean, P. M. & Matthews, E. K. (1968) Electrical activity in pancreatic islet cells. *Nature* **219**, 389-390
 - 53) Deleers, M., Mahy, M. & Malaisse W. J. (1985) Glucose increases cytosolic Ca^{2+} activity in pancreatic islet cells. *Biochem. Int.* **10**, 97-103
 - 54) Dunning, B. E., Ahren, B., Veith, R. C., Böttcher, V. G., Sundler, F. & Taborsky, Jr, G. J. (1986) Galanin : a novel pancreatic neuropeptide. *Am. J. Physiol.* **251**, E127-133
 - 55) Dupre, J., Curtis, J. D., Unger, R. H., Waddell, R. W. & Beck, J. C. (1969) Effects of secretin, pancreozymin, or gastrin on the response of the endocrine pancreas to administration of glucose or arginine in man. *J. Clin. Invest.* **48**, 745-757
 - 56) Dupre, J., Ross, S. A., Watson, D. & Brown, J. C. (1973) Stimulation of insulin secretion by gastric inhibitory polypeptide in man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **37**, 826-828
 - 57) Findlay, I., Dunne, M. J. & Petersen, O. H. (1985) High-conductance K^+ channel in pancreatic islet cells can be activated and inactivated by internal calcium. *J. Membrane Biol.* **83**, 169-175
 - 58) Garcia, M.-C., Hermans, M. P. & Henquin, J.-C. (1988) Glucose-, calcium-, and concentration-dependence of acetylcholine stimulation of insulin release and ionic fluxes in mouse islets. *Biochem. J.* **254**, 211-218
 - 59) Grapengiesser, E., Gylfe, E. & Hellman, B. (1988) Dual effect of glucose on cytoplasmic Ca^{2+} in single pancreatic β -cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **150**, 419-425
 - 60) Gylfe, E. (1988) Nutrient secretagogues induce bimodal early changes in cytoplasmic calcium of insulin-releasing ob/ob mouse β -cells. *J. Biol. Chem.* **263**, 13750-13754
 - 61) Gylfe, E. (1989) Glucose-induced buffering of cytoplasmic Ca^{2+} in the pancreatic β -cell- an artifact or a physiological phenomenon? *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **159**, 907-912
 - 62) Henquin, J.-C. (1978) D-glucose inhibits potassium efflux from pancreatic islet cells. *Nature* **271**, 271-273
 - 63) Holst, J. J., Ølskov, C., Nielsen, O. V. & Schwartz, T. W. (1987) Truncated glucagon like peptide-1, an insulin-releasing hormone from the distal gut. *FEBS Lett.* **211**, 169-174
 - 64) Kakei, M., Kelly, R. P., Ashcroft, S. J. H. & Ashcroft, F. M. (1986) The ATP-sensitivity of K^+ channels in rat pancreatic B-cells is modulated by ADP. *FEBS Lett.* **208**, 63-66
 - 65) 菅野富夫(1978) B細胞の刺激—放出連関. *医学のあゆみ*, **104**, 485-486
 - 66) Kikuchi, M., Wollheim, C. B., Cuendet, G. S., Renold, A. E. & Sharp, G. W. G. (1978) Studies on the dual effects of glucose on $^{45}Ca^{2+}$ efflux from isolated rat islets. *Endocrinology* **102**, 1339-1349
 - 67) Malaisse-Lagae, F. & Malaisse, W. J. (1971) Stimulus-secretion coupling of glucose-induced insulin release. III. Uptake of ^{45}Ca by isolated islets of langerhans. *Endocrinology* **88**, 72-80
 - 68) Matthews, E. K. & Sakamoto, Y. (1975) Electrical characteristics of pancreatic islet cells. *J. Physiol. (Lond.)* **246**, 421-437
 - 69) Meissner, H. P. (1976) Electrophysiological evidence for coupling between β cells of pancreatic islets. *Nature* **262**, 502-504
 - 70) Milner, R. D. G. (1969) Stimulation of insulin secretion in vitro by essential aminoacids. *Lancet* **1**, 1075-1076
 - 71) Misler, S., Gillis, K. & Tabcharani, J. (1989) Modulation of gating of a metabolically regulated, ATP-dependent K^+ channel by intracellular pH in B cells of the pancreatic islet. *J. Membrane Biol.* **109**, 135-143
 - 72) 仁木 厚, 仁木初美(1978) B細胞の分泌受容機構. *医学のあゆみ*, **104**, 482-484
 - 73) Nilsson, T., Arkhammar, P. & Berggren, P.-O. (1988) Dual effect of glucose on cytoplasmic Ca^{2+} concentration and insulin release reflects the β -cell being deprived of fuel. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **153**, 984-991
 - 74) Orci, L., Unger, R. H. & Renold, A. E. (1973) Structural coupling between pancreatic islet cells. *Experientia* **29**, 1015-1018
 - 75) Peter-Riesch, B., Fathi, M., Schlegel, W. & Wollheim, C. B. (1988) Glucose and carbachol generate 1,2-diacylglycerols by different mechanisms in pancreatic islets. *J. Clin. Invest.* **81**, 1154-1161
 - 76) Pipeleers, D., Veld, P., Maes, E. & Winkel, M. V. D. (1982) Glucose-induced insulin release depends on functional cooperation between islet cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **79**, 7322-7325

- 77) Rorsman, P., Abrahamsson, H., Gylfe, E. & Hellman, B. (1984) Dual effects of glucose on the cytosolic Ca^{2+} activity of mouse pancreatic β -cells. *FEBS Lett.* **170**, 196-200
- 78) Rorsman, P., Berggren, P.-O., Bokvist, K., Ericson, H., Möhler, H., Östenson, C.-G. & Smith, P. A. (1989) Glucose-inhibition of glucagon secretion involves activation of $GABA_A$ -receptor chloride channels. *Nature* **341**, 233-236
- 79) Rorsman, P. & Trube, G. (1985) Glucose dependent K^+ channels in pancreatic β -cells are regulated by intracellular ATP. *pflügers Archiv* **405**, 305-309
- 80) Porsman, P. & Trube, G. (1986) Calcium and delayed potassium currents in mouse pancreatic β -cells under voltage-clamp conditions. *J. Physiol. (Lond.)* **374**, 531-550
- 81) Sener, A., Blachier, F., Rasschaert, J., Mourtada, A., Malaisse-Lagae, F. & Malaisse W. J. (1989) Stimulus-secretion coupling of arginine-induced insulin release : comparison with lysine-induced insulin secretion. *Endocrinology* **124**, 2558-2567
- 82) Sharp, G. W. G., Marchand-Brustel, Y. L., Yada, T., Russo, L. L., Bliss, C. R., Cormont, M., Monge, L. & Obberghen, E. V. (1989) *J. Biol. Chem.* **264**, 7302-7309
- 83) Sugimoto, Y., Kitasato, H. & Kinoshita, M. (1989) Glucose-induced membrane depolarization in pancreatic B-cell depends on the activity of carbonic anhydrase. *Proc. Int. Union Physiol. Sci.* **17**, 75 p
- 84) Tamagawa, T., Niki, H. & Niki, A. (1985) Insulin release independent of a rise in cytosolic free Ca^{2+} by forskolin and phorbol ester. *FEBS Lett.* **183**, 430-432
- 85) Tatemoto, K., Efendic, S., Mutt, V., Makk, G., Feistner, G. J. & Barchas, J. D. (1986) *Nature* **324**, 476-478
- 86) Unger, R. H. & Orci, L. (1977) possible roles of the pancreatic D-cell in the normal and diabetic states. *Diabetes.* **26**, 241-244
- 87) Wollheim, C. B., Dunne, M. J., Peter-Riesch, B., Bruzzone, R., Pozzan, T. & Petersen, O. H. (1988) Activators of protein kinase C depolarize insulin-secreting cells by closing K^+ channels. *EMBO J.* **7**, 2443-2449
- 88) Wollheim, C. B. & Sharp, G. W. G. (1981) Regulation of insulin release by calcium. *Physiol. Rev.* **61**, 914-973
- 89) Yada, T. (1989) Glucose evokes biphasic change in cytosolic free Ca^{2+} in single pancreatic B-cells. *Cell Struct. Funct.* **14**, 921 p
- 90) Yada, T., Kakei, M., Sorimachi, M. & Tanaka, H. (1989) biphasic change of cytoplasmic Ca^{2+} in response to glucose in single B cells from rats. *Proc. Int. Union Physiol. Sci.* **17**, 75 p
- 91) Yada, T., Russo, L. L. & Sharp, G. W. G. (1989) Phorbol ester-stimulated insulin secretion by RIN m5F insulinoma cells is linked with membrane depolarization and an increase in cytosolic free Ca^{2+} concentration. *J. Biol. Chem.* **264**, 2455-2462
- 92) Yada, T. & Sorimachi, M. (1989) Increase in cytosolic Ca^{2+} in response to acetylcholine in single cells from pancreatic islets and adrenal medulla. *Jap. J. Physiol.* **39**, S31
- 93) Zawulich, W. S., Rognstad, R., Pagliara, A. S. & Matschinsky, F. M. (1977) A comparison of the utilization rates and hormone-releasing actions of glucose, mannose, and fructose in isolated pancreatic islets. *J. Biol. Chem.* **252**, 8519-8523

第 78 回 近 畿 生 理 学 談 話 会

日 時：平成 2 年 2 月 17 日(土)
場 所：国際交流会館(芝蘭会館)(京大医学部北門前)
当 番：京都大学医学部生理学教室・脳神経研究施設
荒木辰之助, 久野 宗, 佐々木和夫

* は非会員を示す

A 1. 細胞容積調節性 Ca 動員における伸展感受性 Ca 透過チャネルの役割

岡田泰伸, 挾間章博, *袁 偉龍 (京大, 医, 生理)
多くの細胞は低張液環境下で細胞膨張を強いられるのちに細胞内より KCl・水を排出して元の体積近くへと復帰する能力 (regulatory volume decrease: RVD) を持っている。培養小腸上皮 Intestine 407 細胞における RVD 過程の KCl 排出は Cl⁻ チャネルと Ca²⁺ 依存性 K⁺ チャネルの並列的開口にもとづく。RVD 過程には細胞内遊離 Ca²⁺ 濃度の二相性増加が伴う。低張負荷時にみられる二相性細胞内 Ca²⁺ 増は、細胞外 Ca²⁺ 濃度をごく少量の EGTA (10 μM) を用いて細胞内と同じレベルにまで減少させただけで完全に消失した。細胞外 50 mM CaCl₂ 液中で、K⁺ チャネル阻害剤を加えて K⁺ 電流を切り、Cl⁻ 平衡電位 (-40 mV) に細胞内電位をクランプすることにより Cl⁻ 電流を排除したうえで、低張負荷を与えると細胞膨張に伴って内向き Ca²⁺ 電流の賦活化がみとめられた。同様の内向き電流活性化は細胞外 Ba²⁺ 液でもみとめられた。この Ba²⁺ 電流活性化は、伸展感受性イオンチャネルの阻害剤として知られる Gd³⁺ (50 μM) の添加により著しく抑制された。Gd³⁺ は低張負荷時の fura-2 蛍光応答をも抑制した。低張下での容積調節は 10 μM EGTA でも 50 μM Gd³⁺ でも抑制された。以上の結果から、細胞膨張による伸展感受性イオンチャネルを介しての Ca²⁺ 流入が RVD 機構に重要な役割を果しているものと結論された。

A 2. ニオイ刺激によって生じる単離嗅細胞内 Ca²⁺ 濃度の増大

廣野順三, 佐藤孝明, 外池光雄*, 武林正峯* (電子技術総合研・大阪ライフェレクトロニクス研究センター*)

最近、嗅細胞の transduction において、ニオイ物質によって開くチャネルが cAMP 感受性チャネルと同一のものであると考えられる結果が報告されている。一方、Ca²⁺ の効果としては、これらのチャネルの

脱感作、リボソームにおけるニオイ感受性の増大効果などが報告され、Ca²⁺ 信号制御に関してはニオイ活性を持つ PIP₂-PDE や Ca²⁺ チャネルなどの報告がある。これらのことは、Ca²⁺ がニオイの transduction に寄与していることを期待させるものである。我々は、蛍光色素 fura-2 を用いて、嗅細胞においてニオイ刺激による細胞内 Ca²⁺ 濃度 [Ca²⁺]_i 変化の測定を行なった。嗅細胞は食用カエル (*Rana catesbeiana*) からパバインによる単離処理によって得た。コラーゲナーゼに比べ形態の良好な単離嗅細胞が得られ易いことが分かった。嗅細胞は色素ロード後もニオイ誘起内向き電流応答を示し、この時に活性化されるチャネルは Mn²⁺ も通すことが示唆された。ニオイ刺激によって [Ca²⁺]_i の増大が数 10 秒続く嗅細胞が見られた。細胞外から Forskolin を与えた場合も [Ca²⁺]_i 上昇が生じた。同一嗅細胞のニオイ応答時の [Ca²⁺]_i と比較すると 2 秒の遅延と [Ca²⁺]_i の上昇が長く継続する点で異なっていたが、別の細胞のニオイ応答とは似たものであった。

A 3. 大脳皮質けいれん波発現時の細胞内貯蔵 Ca の遊離

佐々木貞雄, 中垣育子, *柴原伸久*, 小池 龍**, 小野塚実*** (大阪医大, 第一生理・泌尿器科*・胸部外科**・岐阜大, 医, 解剖***)

温血動物大脳皮質にペンチレンテトラゾール (PTZ) を投与すると、皮質けいれん波に一致して細胞内電位は特有の bursting activity を示す。今回ラット大脳皮質から得たスライス標本を用いて、特に PTZ による小胞体 (ER) からの Ca 遊離を X 線微小分析法 (XMA) を用いて比較検討した。PTZ は皮質スライス標本のニューロンにおいても in vivo で見られたごとく bursting activity を誘発し、細胞内 cAMP レベルを対照例の 3 倍まで上昇し、ER に含有している Ca を著名に遊離した。この遊離は濃度及び時間依存性だった。類似した所見は dibutyl cAMP と IBMX を投与して細胞内 cAMP レベルを上昇したとき、或は脱分極剤 (high K⁺ mediam, veratridine) で膜を脱分極さ

せた時に見られた。また、cAMP 依存性プロテインカイネース阻害剤(H-8)は PTZ と cAMP による ER からの Ca の遊離を抑制した。以上の事から PTZ による ER からの Ca の遊離には蛋白質のリン酸化反応が関与することが示唆された。

A 4. 腓 β 細胞の膜電位依存性イオンチャネル

北里 宏, 杉本喜久, 梅村典靖 (滋賀医大, 第二生理)

11.1 mM グルコースを含む Krebs-Ringer (2.5 mM Ca^{2+}) 液中では、休止期を挟んでスパイク・バーストが発生する。バースト期には持続時間 125~250 msec の緩やかな脱分極の上に持続時間の短い(約 20 msec)のスパイクが発生する。細胞外液から Ca^{2+} を取去ると、バースト・パターンは消失し、スパイク(持続120~150 msec)が連続的に発生するようになる。Ca-free 溶液の Na^+ 濃度を 25 mM に下げると直ちにスパイクの発生は消失した。11.1 mM グルコース Krebs-Ringer 液に dihydropyridine (2 mg/dl) を加えると、 Ca^{2+} を取去った場合と同様に持続時間の長いスパイクが連続的に発生し、細胞外 Na^+ 濃度を 25 mM に下げると、スパイク発生は直ちに停止した。一方、2.5 mM Ca^{2+} 存在下では dihydropyridine を加えない場合でも細胞外 Na^+ 濃度を 25 mM に下げると、連続的にスパイクが発生するようになるが、このスパイクの持続時間は約 20 msec であり、スパイク間隔は不規則であった。

以上のことから、腓 β 細胞には Ca^{2+} チャネルより負の領域で活性化されるが活性化速度の遅い Na^+ チャネルが存在し、ここを通して流れこむ Na^+ 電流による遅い Na^+ スパイクの上に速い経過を持つ Ca^{2+} スパイクが発生すると考えられる。

A 5. 心筋の活性化エネルギーとカルシウムキネティックスのシミュレーション

菅 弘之, 後藤葉一, 二木志保, *夜久 均, *大越祐一, *川口 鎮(国立循環器病センター研, 循環動態機能部)

心筋収縮弛緩に伴うエネルギー消費は基礎代謝の外には主として、筋小胞体(SR)から放出された Ca^{2+} をその濃度勾配に逆らって取り込むため(活性化エネルギーに等価)と、機械的エネルギー生産のために使われる。前者は、一回収縮当り約 0.25 J/100 g の熱であり、SR の ATP-ase の Ca : ATP ストイキオメトリーと ATP のエンタルピーから、約 100 $\mu\text{mol/kg}$ 心筋の

Ca^{2+} が SR から放出され、取り込まれるという計算になる。一方、最近の Ca-transient 研究は、形質内 free Ca^{2+} 濃度がピーク値で 1~10 μM であることを示す。すなわち、free Ca^{2+} は、SR からの放出量の数10分の1程度で、残りの大部分はトロポニンなどに結合するか、SR に取り込まれるものと考えられる。したがって、トロポニンの Ca^{2+} 感受性や SR の Ca^{2+} 取り込み速度の変化によって Ca-transient が変化しても、放出した Ca^{2+} を取り込む活性化エネルギーとは必ずしも比例していないことを予想し、簡単な simulation を行った。SR からの Ca^{2+} 放出量を一定、したがって活性化エネルギーも一定の下で、トロポニンの Ca^{2+} 結合定数($2 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$)を増減すると、Ca-transient はそれに反比例して増減し、予想を裏付けた。

(東京慈恵会医大第二生理 栗原 敏 教授の有益な御助言に深謝する。)

A 6. ^{31}P -NMR による麻酔時のドジョウ筋肉の高エネルギー・リン酸化代謝状態の観察

千葉 惇, 浜口雅光, 小坂正明, 朝井俊治, 徳野達也, 秩父志行(近畿大, 医, 第一生理)

^{31}P -NMR を用いて in vivo におけるシマドジョウ筋肉の麻酔時高エネルギー・リン酸化代謝を調べた。

体長 4~5 cm のシマドジョウを直径 10 mm の NMR 試料管に頭部を下に向けて入れ、管底よりの液深が 5 cm に保たれるように、流速 3 ml/min で管内を灌流した。 ^{31}P -NMR スペクトル測定には、JNM-GX 400(日本電子)を用い、得られた各シグナルの面積より糖リン酸(SP), 無機リン酸(Pi), クレアチンリン酸(PCr), ATP の濃度を算出した。細胞内の pH は、Pi と PCr の化学シフトの差より求めた。測定は、水温 20°C で行なった。用いた 8 種類の麻酔薬によっておこった変化は次のとおりである。① Pi の上昇と PCr の低下(MS 222, 抱水クロラル, エーテル), ② Pi の低下と PCr の上昇(ネンブタール, キナルディン, フェノキシエタノール), ③ pH が酸性にシフトしたもの(MS 222, ウレタン), シグナルに変化がなかったもの(アミノ安息香酸エチル), ⑤ SP の上昇(MS 222, 抱水クロラル, エーテル)。

以上より、好氣的エネルギー状態を保つ麻酔薬にはネンブタール, キナルディン, フェノキシエタノールがあり、MS 222 では嫌氣的エネルギー状態となった。

A 7. 生菜食 (低エネルギー, 低タンパク食) 者の栄養状態と尿素体窒素の再利用について

奥田豊子, 片山 (須川) 洋子, 三好弘子, *西田真知子, *羽間鋭雄, *清水 毅*, 中塘二三生**, *甲田光夫***, 山口雄三**** (大阪市大・武庫川女子大*・大阪府立看護短大**・甲田病院***・大阪府大****)

生菜食とは野菜と玄米粉を主とし動物性食品を一切含まず, 加熱調理をしない食事である。生菜食を長期間摂取している人を対象とし, その栄養状態と尿素体窒素の再利用について検討した。被験者は女69, 67, 26歳と男46歳の4名で1年間生菜食を実践した。実験中5回定期的に, 3日間の食事調査とその間の尿と糞をすべて採取した。水中体重測定から体脂肪, 除脂肪体重を算出した。尿素体窒素の再利用の測定には¹⁵N尿素 (20 mg/kg B. W.) を経口投与し, 血清タンパク質中への¹⁵Nの取り込みを質量分析計で測定した。エネルギーやタンパク質の摂取量は, 各自の所要量の約50%と少なかったが, 1年後の体重は, 初体重の約1割しか減少していなかった。窒素排出は大きく負を示した。経口投与した尿素態¹⁵Nは, 血清タンパク質中へ取り込まれ, 尿素態窒素が体タンパク質の合成素材として利用されていることを確認した。このことは, 低タンパク栄養への1つの適応と考えられるが, しかし, その程度は成人男子が低タンパク食を2週間摂取したときとはほぼ同じレベルであった。

A 8. ラット胸腺におけるロゼット形成性リンパ球の表面性状に関する研究

田路吉朗, 羽藤文彦, 木村修平, 木下喜博 (大阪市大, 医, 第二生理)

【目的】 胸腺内T細胞の分化・成熟過程については, リンパ球表面マーカーに対する種々のモノクローナル抗体を用いて解析されているが, ラット胸腺リンパ球のもう一つの特性であるロゼット形成能と表面マーカー発現の関連についてはほとんど研究されていない。今回, 我々はロゼット形成性リンパ球の高純度分離を行い, 両者の関連性について検討した。

【方法】 1) 7週令ウイスター系雌性ラット胸腺を用い, 胸腺リンパ球浮遊液を調製した。2) 1)の細胞試料を用い, ロゼット形成法と一段階密度勾配遠心分離法の併用により, ロゼット形成性リンパ球分画(RFLF)とロゼット非形成性リンパ球分画(non-RFLF)を分離し, flow cytometer (FCM) によって表面マーカー CD 4, CD 8 を解析した。

【結果・考察】 正常胸腺リンパ球群において, ロゼット形成細胞構成率(RFL%)は $80.5 \pm 1.0\%$ で, ロゼット非形成細胞構成率(non-RFL%)は $19.5 \pm 1.0\%$ だった。ロゼット形成法と一段階密度勾配遠心分離法の併用によってRFLFを分離した結果RFLの分離純度は $95.9 \pm 2.2\%$ だった。低調処理法により結合赤血球を除去したRFLFを試料として, 表面マーカーを解析したところ, CD 4⁺ 8⁺ 細胞の構成率は96.2%だった。以上の事から, ロゼット形成細胞はCD 4⁺ 8⁺ 細胞である可能性が高まった。

A 9. ストップフロー装置の不感時間の測定:L-アスコルビン酸による2,6-dichlorophenolindophenol (DCIP) の還元反応を用いて

松村一仁, 榎 泰義, 上月久治 (奈良医大, 第二生理)

ストップフロー装置の不感時間 (dead time) の測定法としては, 従来いくつかの報告があるが, 簡便性に関して多少の問題がある。今回, L-アスコルビン酸によるDCIPの還元反応を用いた。より簡便な測定法を案出したので報告する。L-アスコルビン酸が大過剰に存在する条件下では, この反応は擬一次反応となり, 実際に観測できる吸光度変化 A_{obs} (524 nm) は見かけの速度定数 k_{app} の関数として表せる。また, k_{app} はL-アスコルビン酸濃度 [A] に依存することから, 結局, A_{obs} は [A] の関数として表され, さらに, $\log A_{obs}$ を [A] に対しプロットして得られる直線の傾斜より不感時間を算出することができる。本法の利点は, L-アスコルビン酸とDCIPの反応が不可逆反応であるため, DCIP濃度を一定に保てば生ずべき全吸光度変化 A_{tot} は [A] に依存することなく一定となり, これを測定する必要がないことである。駆動圧, 観測セル光路長を変えた場合の不感時間を今回の方法により測定し, あわせて他の方法による結果と比較したところ, 満足すべき一致を得た。

A 10. 貧血およびハイポキシアにおけるエリスロポエチン (EPO) 生産

坂田 進, 榎 泰義, 清水 悟 (奈良医大, 第二生理)

貧血時と低圧ハイポキシア暴露時におけるマウス血中EPO動態を調べた。

【方法】 貧血は尾静脈からの瀉血により行った。ハイポキシア暴露は低圧チャンバー内での飼育により行

った。任意時間に尾静脈から約 20 μ l 採血し、Ht・網赤血球・血漿 EPO を測定した。EPO は CFU-E コロニー形成アッセイ法により測定した。

【結果】 造血刺激マウス血漿中に存在する赤血球系コロニー形成刺激因子 (ECSF) の約 90% が、モノクローナル抗 EPO 抗体結合 Affi-Gel 10 カラムに吸着した。従って、ECSF は EPO と同一であると思われる。10 日間のハイポキシア暴露において血漿 EPO は暴露 4 日目に最大となった。さまざまな期間の短期間暴露をとったところ、EPO 生産を刺激するためには少なくとも 36 時間の暴露が必要であった。血漿 EPO は暴露終了後 8 時間で正常レベルに低下した。EPO 総生産量と網赤血球総生産量との間に良い相関があった。一方、10 分間瀉血による貧血時の血漿 EPO は 24 時間後に最大となったが、瀉血時間を延長するにつれて血漿 EPO ピークの出現は遅延した。貧血とハイポキシア間で血漿 EPO ピークの位置に差はなくなったが、明らかに両者における血漿 EPO 生成パターンは異なっていた。

A 11. 振動ずり流れ中における赤血球形状変化の理論的解析

関 真佐子, 昆 和典*, 志賀 健** (国立循環器病センター研・愛媛県立医療短大*・阪大, 医, 第一生理**)

赤血球サスペンションを回転円錐—平板間に置き、流れの強さを正弦的に変動させた場合に赤血球の形状変化を顕微鏡で調べた実験によれば、ずり応力の変動に応じて赤血球は形状変化をおこす。本研究では、赤血球に加わるずり応力に対する赤血球形状の応答特性をフォークトモデルを用いて解析し、実験結果を説明することを試みた。フォークトモデルは、ある系に働く作用に対する応答を記述する力学的モデルの一つで、ばね(弾性体)とダッシュポット(粘性流体)が並列につながれている。ばねの弾性定数は定常的なずり応力下における赤血球変形の測定値から決定し、ダッシュポットの粘度は赤血球内部粘度に比例するものと仮定してこのモデルをずり応力と赤血球変形の関係に適用した。その結果、加齢や媒質の浸透圧変化によって赤血球内部粘度が変化した場合、及び流れの変動周波数が変化した場合に実験で得られている赤血球の変形応答は、(変動の周波数・粘度/弾性定数)をパラメータとして統一的に整理され、粘度あるいは応力変動の周波数が増加すると、変形の程度が減少し、かつ応答の時間遅れが増加することが説明された。

1) Kon, K. et al. (1988) *Biorheology* 25, 49-56

A 12. 運動強度の皮膚血流調節への影響

*Gary, W. Mack, 能勢 博, 鷹股 亮, 森本武利 (京都府立医大, 第一生理)

運動強度の皮膚血流調節への影響を検討する目的で、8名の男性被験者に室温 30℃、相対湿度 30% の人工気候室内で、最大酸素摂取量 ($\dot{V}O_2\text{max}$) の 30% と 60% の運動負荷をエルゴメータで行ない、その間の食道温 (Tes), 皮膚温, 前腕皮膚血流量, 体血圧を連続的に測定した。さらに、Tes と皮膚血管コンダクタンス (FVC) の関係及び皮膚血管拡張閾値 Tes を求め、各運動強度間で比較した。

FVC は、30% 及び 60% $\dot{V}O_2\text{max}$ 運動開始 1~2 分後に安静時と比べ各々 1.04 \pm 0.60, 1.59 \pm 0.25 ml/(min \cdot 100 ml \cdot 100 mmHg) 低下した。また、皮膚血管拡張閾値の Tes は安静時の 37.02 \pm 0.09℃ に対し 30%, 60% $\dot{V}O_2\text{max}$ の運動時には各々 37.24 \pm 0.07, 37.60 \pm 0.08℃ に上昇した。FVC の低下量および皮膚血管拡張閾値の Tes の上昇程度は、血中ノルアドレナリンレベルと有意の相関を示した。一方、Tes と FVC の回帰係数及び皮膚温は、運動強度による差は認められなかった。

以上の結果より、運動強度に応じて体温—皮膚血管コンダクタンスの関係は高温側に移動し、これは交感神経活動の上昇によることが明らかとなった。

A 13. インシュリンによる形質膜および細胞内分画の ouabain-binding capacity の変化

尾松万里子, 北里 宏 (滋賀医大, 第二生理)

カエル骨格筋にインシュリンを与えると、形質膜分画の Na, K-ATPase 活性は増大する。界面活性剤によって leaky な状態にした形質膜での [^3H] ouabain-binding を調べると、インシュリン処理筋では Bmax は約 1.9 倍に増大したが、unlabeled ouabain による阻害の Ki はインシュリン処理筋、無処理筋共に 10 $^{-7}$ M であった。これらのことから、インシュリンによって形質膜分画の Na/K ポンプ数が増加したと思われる。増加したポンプ分子がどこからきたかを探るために膜分画を除去した細胞内分画を調製したところ、DEAE-Sephrose に吸着し、0.12 M-LiCl によって溶出される分画に Na, K-ATPase 活性を見出した。この細胞内分画の [^3H] ouabain-binding を調べると、インシュリン処理筋の Bmax は無処理のもの約 40% しかなかったが、unlabeled ouabain による阻害の

Ki は共に 10^{-7} M であった。ouabain-binding と同様、Na, K-ATPase 活性も、インシュリン処理筋の細胞内分画では減少した。

以上のことから、骨格筋細胞内には Na/K ポンプの pool が存在し、インシュリンによってポンプ分子自身が形質膜へ輸送されると考えられた。

A 14. 唾液腺の体積変化とインピーダンス

吉田秀世, 中張隆司, 今井雄介 (大阪医大, 第一生理)

ラットの唾液腺を動脈よりリンガー液で灌流しながらインピーダンスを測定した。1 μ M のアセチルコリンをリンガー液に加えると電気伝導率と誘電分散の形が共に変化する。この伝導率の変化は細胞あるいは腺房の体積変化を反映していると考えられるが、今回この点を更に確かにするためにリンガー液に蔗糖を加えて様々な浸透圧をもつ蔗糖リンガー液で灌流しインピーダンスの測定を行い水分透過率 L_p を算出した。また唾液腺をコラゲナーゼ処理し、ある程度バラバラにして蔗糖リンガー液を腺房のまわりに流しながら光学顕微鏡下で観察した。この顕微鏡観察による体積変化と伝導率変化についてかなりよい定量的一致がみられた。 L_p の算出は細胞内の浸透圧成分 n_i が一定と仮定すると、 J_v (体積流) と $1/V$ は線形関係となるが測定データはこの条件をよく満足した。このことは水の出入りに際して細胞内の浸透圧成分が正味では出入りがないことを意味していると思われる。しかしながらアセチルコリン刺激における体積変化は非常に早く上で述べたことと同じ機構で水の輸送が行われているかどうか更に検討を要する問題である。

A 15. 胃粘膜障害因子の表層上皮細胞への影響

米原 亨, 長野文昭*, 正木秀博*, 藤本 守*, 小寺邦彦*, 山口 淳*, 佐々木貞雄**, 中垣育子** (大阪医大, 第二内科・第二生理*・第一生理**)

胃粘膜表層細胞に対し、管腔側からの酸、エタノール、漿膜側の血流低下やアシドーシスなどは傷害因子とされている。今回、塩酸・エタノール (EtOH) 負荷時の細胞内 pH (pH_i) と管腔側膜電位 (L_{EM}) の変化と形態変化を電顕的に観察し、さらに呼吸性アシドーシスの影響も調べた。

【方法】 食用カエル摘出胃幽門側粘膜を水平型 Ussing 装置に装着し、管腔側から 10 mM HCl と 10% EtOH を負荷し、電顕でその組織を観察した。また、

漿膜側への通気ガスの CO_2 濃度を 1.5% から 5%, 10% に増加した際の pH_i と L_{EM} の変化を二連型微小 pH 電極を用いて測定した。

【結果】 HCl・EtOH 負荷により pH_i は酸性化し L_{EM} は過分極し、表層上皮細胞は分泌顆粒の変性や細胞間隙の屈曲蛇行と拡大がみられた。漿膜側液の CO_2 濃度を 1.5% から 5%, 10% に増加すると、 pH_i は 7.43 から 7.36, 7.05 と酸性化し、 L_{EM} は 1.5% から 5% で 4 mV 過分極し、1.5% から 10% で 5.4 mV 脱分極した。

【結論】 1. 胃表層上皮細胞は管腔側 pH が低い時、10% アルコールでも pH_i 低下と著明な形態的傷害が生じた。2. 軽度の呼吸性アシドーシス時には、細胞内 HCO_3^- 濃度は増し、 H^+ に対する緩衝能が高まること示唆された。

A 16. カエル腎近位尿細管側基底膜のカリウム輸送に対する血液酸塩基平衡の影響

久保川 学, 窪田隆裕, 萩原暢子, 少作隆子, 森禎章, 藤本 守 (大阪医大, 第二生理)

【目的】 腎近位尿細管細胞の側基底膜における K^+ 輸送が血液酸塩基平衡により受ける影響を検討した。

【方法】 食用カエル二重灌流腎を用い、尿管周囲側を pH の異なるリンゲル液で灌流した時の細胞膜電位 (E_M)、細胞内 K^+ , Na^+ 活量 (K_i , Na_i) および細胞内 pH (pH_i) の変化を二連イオン微小電極で測定した。

【結果】 1) 対照液 (pH=7.7, HCO_3^- =15 mM, CO_2 =1.5%) からアルカリ液 (pH=8.0, HCO_3^- =30 mM, CO_2 =1.5%) に換えると、 pH_i は 0.2 だけ上昇、 E_M は 15 mV 過分極、 Na_i は 4 mEq/l 減少、 K_i は 3 mEq/l 増加した。2) 酸性液 (pH=6.7, HCO_3^- =1.5 mM, CO_2 =1.5%) の灌流により、 pH_i は 0.3 減少、 E_M は 20 mV 脱分極、 Na_i は一過性減少の後、5 mEq/l 増加し、 K_i は軽度減少した。さらに 3) HEPES-低 HCO_3^- 液 (pH=7.7) を灌流すると pH_i は一過性上昇の後低下し、 Na_i は変化しない。

【結論】 1) 尿細管細胞 K_i は細胞内酸性化により低下、アルカリ化により上昇する。2) 側基底膜に存在する K^+ ならびに HCO_3^- 透過性は発電的性質を示す。3) 側基底膜電位は著明な pH_i 依存性を示す。4) HCO_3^- 除去実験時においては、 HCO_3^- 濃度勾配変化に伴う Na_i 変化を認めない。

A 17. 尿中の PAI-1 の存在様式について

田中久夫, *富岡良城, *堀内 篤, 岡田清孝*, 上嶋

繁*, *深尾偉晴*, 田中順也*, 松尾 理*(近畿大, 医, 第三内科・第二生理*)

尿中には urokinase-type plasminogen activator (u-PA) が絶えず分泌されていて, 尿路系内の酵素活性の主体を占めている。最近 plasminogen activator (PA) を阻害する PA inhibitor (PAI) の存在が明らかになり, 線溶系はこの PA と PAI によっても制御されていると考えられている。今回, 尿中 PAI-1 の存在を明らかにし, 尿中での存在様式について検討した。尿中 PAI-1 抗原量の測定は, enzyme immunoassay (EIA) によるサンドイッチ法を用いた。尿中 PAI 活性は, u-PA を用い u-PA の合成基質である Glu-Gly-Arg-p-nitroaniline (S-2444) で測定した。PAI-1 の尿中での存在様式は, immunoblotting 法及び enzymography により検討した。尿中の PAI-1 抗原量は, 0.07 ng/ml あり, ネフローゼ症候群の患者の尿中では 2~80 倍増加していた。しかし尿中蛋白量と尿中 PAI-1 抗原量との間に相関は認めなかった。健常者の尿では PAI-1 活性が認められたが, ネフローゼ症候群の尿ではほとんど認めなかった。Immunoblotting 法では, ネフローゼ症候群で 95K 付近にバンドを認めたが, 健常者では認めなかった。以上より, PAI-1 は u-PA と complex を作っていると思われる。

B 1. 延髄背内側領域におけるモノアミンの動脈圧反射応答に及ぼす影響

山崎登自, 二宮石雄 (国立循環器病センター研, 心臓生理部)

中枢性モノアミンは神経性動脈圧調節ならびに高血圧の発症に関与しているとされているが, その機能的役割については不明な点が多い。特に動脈圧反射応答への影響については, ほとんど検討されていない。そこで今回我々は, モノアミンが延髄背内側領域において, 腎交感神経活動ならびに動脈圧反射応答に対して, いかなる影響を与えるかを検討するため, α ブロッカー (レギチン, 10 μ g), セロトニン (10 μ g) を同領域に微量注入し, 反射応答特性の変化を調べた。結果 ①除神経により動脈圧反射の入力が除去された群では, レギチン微量注入によって動脈圧並びに腎交感神経活動に有意の変化を認めなかった。②動脈圧反射の入力のある群では, レギチン注入 5 分, 10 ± 4 mmHg の昇圧反応がみられ, 腎交感神経活動は 26 ± 9 % 増加した。③セロトニン注入群では動脈圧反射の入力の有無にかかわらず, 腎交感神経活動の低下, 降圧反応が

みられた。④開ループにおける頸動脈洞圧一動脈圧の関係はレギチン微量注入によって動脈圧の下限値の上昇, 動脈圧の変動幅の減少ならびにストロープの減少を認めた。これらの結果は麻酔下ウサギにおいて, レギチンの微量注入が動脈圧反射の応答を低下させることを示唆した。

B 2. モルモット嗅脳切片における高頻度電気刺激とチトクロームのレドックス・ステイトの関係

藤井崇知, *川元達彦*, *伴埜行則* (京都市立看護短大・京都市衛生研*)

ニューロンのエネルギー産生は, 呼吸補酵素のレドックス・ステイトの動態と深く関係している。ここでは, モルモット嗅脳切片の外側嗅索を順方向性に高頻度電気刺激 (12.5~200 Hz) したときの, チトクロームのレドックス・ステイトの動態と誘発電位への効果を検討した。レドックス・ステイトは生体分光光度計を使って測定した。その結果, 次のことが分かった。

1) 刺激の強度が増すにつれて, レドックス・ステイトは還元方向に移動し, あるレベルで飽和する。このとき, 単一刺激で誘発される電位の振幅も飽和していた。

2) 同じ刺激数 (3000 発) であるが, その頻度を変えて刺激した時, 時間の長くなる場合の方がレドックス・ステイトを還元方向に移動させる効果は大きい。

3) 刺激時間が一定 (2 分間) の時, 頻度を 12.5 Hz より高くすると移動したレドックス・ステイトは, 50 Hz の時, あるレベルで飽和する。この時の刺激間隔は, 誘発電位の間隔 (約 15 ms) に近似している。

以上より, 高頻度電気刺激によって誘発されたレドックス・ステイトの還元方向への変化は, 誘発電位の振幅の形成に影響を与えていることが示唆される。

B 3. 扁桃核刺激, 内嗅野記録の誘発電位の発達に関する研究

宮城伸浩*, 平山 謙, 松裏修四 (大阪市立大, 医, 第一生理・小児科*)

扁桃核刺激によって生じる内嗅野の誘発電位が, ラットにおいてどのように変化するかを検討した。生後 8 日目より 25 日目までと, 成熟ラット (生後 2 カ月以上) に対し, 左扁桃核と同側の内嗅野にネプタール麻酔下でそれぞれ刺激電極と記録電極を植え込み, 刺激強度を徐々に増強させ, 誘発電位の振幅の変化を調べたが, 若いラットほど弱い刺激で飽和し, 日令の高

いラットほど振幅は大きかった。扁桃核刺激より最初の陰性波の peak までの潜時は、生後10日目までのラットでは、約 20 msec 以上で、生後12日～20日目までは、10 msec～20 msec であり、成熟ラットでは 10 msec 前後であった。次に 10 Hz 100回の train pulses で、幼若ラットでは15分間隔、成熟ラットでは1時間間隔で刺激を加え、train pulses 中の誘発電位の振幅を調べたところ、生後10日目以下では刺激開始後 2～3回の刺激のうちに peak に達し、15回以内に元の振幅に戻りその後減衰した。生後12日～20日目では生後10日目以前に比べてゆるやかに増大し、ゆるやかに減衰した。生後20日目以上ないし成熟ラットでは更にこの傾向が強まった。

B 4. ラット視覚野のニューロン回路におけるグルタミン酸受容体の機能

錦織綾彦, 津本忠治, 木村文隆 (阪大, 医, バイオメディカルセンター神経生理)

イオンチャネル直結型グルタミン酸受容体は N-メチル-D-アスパラギン酸 (NMDA) 型とキスカル酸/カイニン酸 (非 NMDA) 型に大別される。大脳皮質視覚野ではグルタミン酸が主要な伝達物質であることが知られている。本研究では成熟ラットの視覚野神経回路網ではどの型のグルタミン酸受容体がどこで働いているかを明らかにしようとした。

生後4ヶ月以上の成熟 SD 系ラット視覚野から切片標本を作成し、II/III層ニューロンの白質電気刺激に対する興奮性後シナプス電位 (EPSP) を細胞内記録した。非 NMDA 型受容体を選択的な拮抗薬 6-cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-dione (CNQX) は単シナプス性及び多シナプス性 EPSP を全例で顕著に抑えたが、低振幅で時間経過の遅い成分は残存する場合があった。一方 NMDA 型受容体を選択的な拮抗薬 2-amino-5-phosphonovaleric acid (APV) は多シナプス性 EPSP を13例中11例で抑えたが、単シナプス性 EPSP では9例中8例において無効であった。以上の結果、白質から単シナプス性に入力を受ける細胞では非 NMDA 型受容体が主として働き、多シナプス性のもものでは非 NMDA 型受容体に加えて NMDA 型受容体も働いていることが示唆された。

B 5. 中枢神経活動に及ぼす Ketamine Hydrochloride 投与の影響

増田安民, 内藤博江, 安原基弘 (関西医大, 第二生

理)

Ketamine Hydrochloride の中枢作用機序について検討するため、ウサギを用いて電気生理学的実験を行った。1) 脳幹網様体 (RF) 100 Hz 刺激による覚醒反応の刺激閾値は Ketamine 少量投与下 (0.3～1.0 mg/kg) では軽度の下降を示したが、大量投与下 (3.0～10.0 mg/kg) では軽度の上昇を示した。2) RF, 大脳皮質および海馬の 100 Hz 刺激による前・後肢誘発筋放電の刺激閾値は Ketamine 投与により著明に上昇した。

3) 視床 VA 核 8 Hz 刺激による recruiting response は Ketamine 投与により抑制された。4) M・H 波は Ketamine 投与により軽度の抑制を、侵害反射性筋放電は著明な抑制を示した。5) 坐骨神経刺激による MV は著明に抑制されたが、光刺激による MV は少量投与下で促進された。6) 腸管運動には著変なく、RF 刺激による腸管運動抑制効果は Ketamine 投与により抑制された。7) 血圧、総頸動脈・大腿動脈血流量には軽度の減少が認められた。8) EEG Topography の結果、脳波活動は Ketamine 投与により亢進することが認められた。以上の成績から Ketamine には強力な鎮痛作用があること、筋放電や侵害反射に強い抑制作用を有すること、一方意識に対する抑制は弱くこれには抑制系の抑制が関与すること、脳波活動には促進的に作用すること等が明かとなった。

B 6. 誘発筋電図への針麻酔の影響

上田至宏, 桒葉 均, *堀 浩 (関西鍼灸短大, 生理)

足三里に針麻酔を行い、アキレス腱反射; T波, M波, H波の各潜時とその反射の大きさ (振幅の程度), 反復誘発筋電図 (RE-EMG) のパターン等への針麻酔の影響を検討した。T波及びH波の記録電極は共通にし、腓腹筋筋腹下端より 3 cm 上の正中部に陰極を配置した。右側足三里に 2～3 Hz, 5～10 V (痛みのない程度) 20分間の針通電刺激にて麻酔を行ない、針麻酔効果の判定には前下腿部中央の痛覚閾値を用いた。

【結果】①針麻酔の T波, H波への影響では麻酔直後からの振幅の低下, 麻酔回復期での振幅の増大が系統的に、麻酔部位同側に観察された。またこれらの変化は対側の非麻酔側では逆の傾向を示す例が多い。

②針麻酔直後, T波潜時に約 1 msec の延長が両側性に見られ、麻酔の回復につれもとに戻った。H波, M波では麻酔による潜時の遅延はほとんど見られない。③麻酔側の RE-EMG (5～10 Hz) パターンでは、麻酔

直後からの plateau level が正常より下降し (脳幹の運動機能系の促通低下), その波形動揺も著しく (undulation の増強), 麻酔の深度に相関して観察された。一方非麻酔部対側では波形の動揺はあるが同側程強くなく, level も逆の上昇を示す例が多い。

以上のことから針麻酔は施術同側性の抑制効果が強く, 寡シナプス性結合への関与が示唆される。

B 7. 三叉神経運動核周辺網様体ニューロンの顎運動制御との関連

井上富雄, 増田裕次, 長島 正*, 森本俊文 (阪大, 歯, 口腔生理・第二補綴*)

慢性動物において歯根膜感覚あるいは筋感覚を遮断すると顎運動パターンが著しく変化することから, 顎口腔領域からの感覚入力に顎運動パターンの調節に重要な役割を果していると考えられるが, その中枢神経機構は未だ明らかでない。そこでこれらの感覚入力がいかなる神経機構で顎運動の調節に影響を及ぼすかについて知る目的で, まず大脳皮質や扁桃核などの上位脳からの入力と感覚入力との収束が認められる三叉神経運動核周辺網様体に着目し, 同部のニューロンの性質を調べた。その結果, 大脳皮質咀嚼野の連続電気刺激によって誘発された咀嚼リズムに伴ってリズムカルな活動を示すニューロンが同部に存在し, これらのニューロンのほとんどはなんらかの感覚入力を受けていた。また, 三叉神経運動ニューロンと記録されたニューロンとの連絡を調べるために, 三叉神経運動核の電気刺激に対する逆行性応答を調べ, さらに記録されたニューロンの活動をトリガーにして三叉神経運動核の field potential の加算平均を行なったところ, supratrigeminal area および三叉神経脊髄路核吻側亜核内側の網様体において三叉神経運動ニューロンとシナプス結合するニューロンが存在した。これらのニューロンは咀嚼時の顎運動パターンの調節に関与すると考えられる。

B 8. 心房内ブラジキニン注入に反応する視床後外側腹側核ニューロン

堀江 元, 増田卓也, 田口久夫, 横田敏勝 (滋賀医大, 第一生理)

最近我々は, ネコの視床の腹側基底核群の尾側部被殻領域に皮膚からの痛みの情報を大脳皮質の一次体性感覚野へ中継する侵害受容ニューロンが存在することを見出した。この核群に属する後外側腹側核の尾側部

被殻領域の侵害受容ニューロンの中に心臓からの交感神経性求心性入力を受容するものがある。皮膚の痛みと心臓の痛みが大脳皮質体性感覚野への伝導路を共有することが示唆された。この結論をさらに確かめるため, 心臓痛の媒介物質の一つと考えられているブラジキニン (2 $\mu\text{g}/\text{kg}$) を右心房内に注入し, この刺激に反応する後外側腹側核ニューロンの皮膚刺激に対する反応と分布様式を調べた。

皮膚の機械刺激に反応する後外側腹側核ニューロンは, 低閾値機械受容ニューロン, 特異的侵害受容ニューロン, 広作動域ニューロンの3種類に分けられる。後2者が皮膚の痛みを中継するとみられる侵害受容ニューロンで, その中から下心臓神経の電気刺激に反応するニューロンが検出された。下心臓神経からの入力を受ける2種類の侵害受容ニューロンのすべてが, 10~30秒の潜時でブラジキニンの右心房内注入に反応し, これらのニューロンが心臓痛を中継するという先の結論を支持する成績がえられた。

B 9. ネコの視床 MD 核一大脳皮質前頭葉投射

谷淵育夫 (京大, 医, 脳研, 生理)

ネコの視床 MD 核刺激により, 大脳皮質の g•proreus (PR), g•frontalis (FR), g•rectus (RE), g•cinguli anterior (Clant) に field potential が誘発された。PR 背側外側部 (PRdl) と RE 吻側腹側部 (RErv) では, 表面陽性-深部陰性 (sP-dN) 波優位の波形であり, FR 尾側背側部 (FRcd) と Clant では, 表面陰性-深部陽性 (sN-dP) 波優位の波形であったが, それ以外の領域では, sP-dN 波とそれに続く sN-dP 波が種々の程度に混在していた。また, MD 核吻側腹側外側部 (MDrvl) を刺激したとき, threshold の最も低い sP-dN 波や sN-dP 波が誘発された。

一方, HRP を MD 核内に注入すると, field potential の誘発された領域と同一領域の1層, 3~5層に labeled terminal が観察されたが, PRdl と RErv では, 1層に比べ, 3~5層の density が高く, FRcd と Clant では, 1層の density が幾分か高かった。

以上の結果から, MD 核から前頭葉への投射において, その投射領域は PR, FR, RE, Clant であり, 1層へ投射する系 sN-dP 波を誘発し, 3~5層へ投射する系は sP-dN 波を誘発するものと考えられる。また, MD 核内では, Mdrv1 からの投射が最も強いと考えられる。



〔会 報〕

平成2年度第1回日本生理学会教育委員会議事録

日 時：平成2年4月2日(月)13:30~14:30

場 所：宮崎観光ホテル(宮崎市)

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

欠席者：なし

1. 村上会計委員より会計報告があり承認された。
第67回日本生理学会大会教育シンポジウムに、講演を依頼した、遠山正彌(阪大), 村松正実(東大)両教授に旅費を出すことを承認した。

日本生理学会教育委員会会計報告

日本生理学会教育委員会の会計について下記の如く報告致します。

平成2年4月2日

日本生理学会教育委員会

会計係 村上元彦

<記>

期間：前回報告(平成元年12月8日)より平成2年4月2日まで

1) 収入の部

| | |
|-------------|-----------|
| i) 前回銀行預金残高 | ¥ 347,529 |
| ii) 銀行預金利子 | ¥ 682 |
| 合計 | ¥ 348,211 |

2) 支出の部

生理学会大会『教育シンポジウム』

講演者謝礼(¥50,000×3名)

¥ 150,000

3) 銀行普通預金残高(三井銀行四谷支店)

¥ 198,211

2. 第67回日本生理学会大会(宮崎)における教育シンポジウムの演者と演題を確認した。

3. 生理学実習書の進捗状況について、入来実習書改訂小委員会委員長より説明があった。書名は生理学実習書改訂第3版とし、第1, 2版の著者で第3版の実習書を執筆しなかった著者の名前は、謝辞などのかたちで残す。付録は麻醉法などについて慎重に検討して加える。実習書改訂小委員は10月まで現在の委員が務める。

4. 中野教育委員会委員長の任期が満了するにあたり、次期委員長に富田忠雄委員の就任が決まった。

5. 岡崎国立共同研究機構生理学研究所より、実験法などについての講習会を、日本生理学会教育委員会と共催で行いたい旨の申し出があった(富田委員)。審議の結果、教育委員会との共催が承認された。本間委員より、今後は細胞レベルだけでなく、人体生理に関する方法についての講習会も開催されることを望むとの発言があった。この講習会に関する生理学研究所の責任者は、金子章道教授である。

[お知らせ]

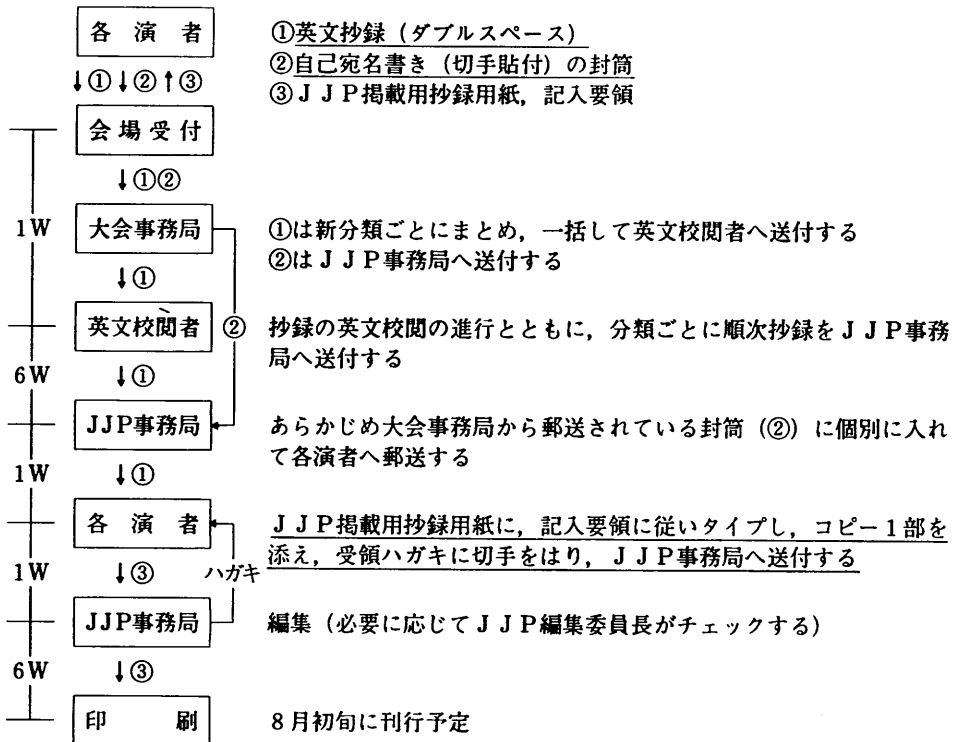
J J P Supplement について

平成元年度から、大会抄録号は J J P Supplement として発行しています。これまでの経験をふまえ、英文抄録作成の手順を下記のように変更しましたので、ご協力のほどお願い申し上げます。

留意事項：

1. 演題 1 題ごとに掲載手数料 1,000 円を徴収する。
2. 大会当日に提出する英文抄録は、校閲しやすいようにダブルスペース（パイカ10ピッチ）にタイプし、連絡用電話番号を記入する。
3. 同上の抄録を大会当日に提出されない方は、J J P Supplement への掲載は取り消されます。また、下記の手順に従い清打ち英文抄録も、締切り期限が過ぎた場合は掲載できません
4. 研究室の主任(責任者)は、提出の英文抄録について責任をもってチェックしてください。

J J P Supplement 作成手順（下線は各演者が責任をもって処理する事項）



日本生理学雑誌編集幹事
酒 井 敏 夫
J J P 編集委員長
広 重 力

“筋生理の集い”開催される

“筋生理の集い”は、昭和32年名取禮二先生(東京慈恵会医科大学理事長)により始められた筋研究の成果を自由に発表し討論する、インフォーマルな学術集会である。この筋生理の集いはその後発展して、文部省科学研究費補助金総合研究(A)が組織され、研究成果を発表する班研究会が、筋生理の集いをおこなうこともあった。しかし、総合研究(A)が採択されなくても、筋生理の集いは開催され、オリジナルな研究の自由な発表の場を提供してきた。

本年も筋生理の集いを開催し、自由な討論をしたいという声が筋研究グループからでて、下記のようなプログラムで行われた。各教室1演題ということで演題を募集したところ、17題の応募があった。演題のうちわけをみると、平滑筋が5題、心筋が2題、骨格筋が10題であった。参加者は61名。

平滑筋では、細胞容積の調節にたいする Cl-HCO_3 交換系の関与(会津)、エンドセリンの血管平滑筋収縮作用機序(伊藤)、オキサダ酸の Ca influx 抑制効果(高井)、平滑筋のスキンドファイバーにたいする caged IP_3 の応用(堀内)、脳卒中易発症性高血圧自然発症ラットの収縮特性(島村)などについての発表があった。

心筋に関しては次の2題の発表があった。アデノシンの Ca 電流抑制機序(大地)、ムスカリン受容体刺激が GTP 結合蛋白、 G_i を介してアデニレートシクラーゼを抑制し、 Ca transient と収縮を抑える(本郷)というものであった。

骨格筋の演題は興奮収縮連関と、収縮機構に関するものに大別できた。K-拘縮が2相性になるメカニズム(高氏)、Ba イオンによる単収縮の増強機序(波多江)、収縮弛緩時の細胞内 Ca イオンの局在の同定(鈴木)、 CO_2 アシドーシスは arsenazo III の信号の減衰相を延長させ、これは小胞体の Ca 取り込みの低下による(松村)、興奮収縮連関におけるT-管膜の分子構造の変化(有馬)、Ag イオンはT-管膜のSH基に作用するらしい(大羽)、リアノジン処理した小胞体の Ca 放出チャネルの性質と、小胞体からの Ca のリークの時間経過の解析(小山田)、骨格筋内のアンセリン、およびカルノシンの役割(田中、吉岡)、速筋と遅筋のクロスブリッジの結合と張力発生までの時間的ずれは、弱い結合状態を考へることにより説明可能である(松原)、張力過渡応答を解析するための Caged ATP の応用(山田)の発表があった。

発表の終わった後に、名取、酒井両先生を囲み、懇親会を開き親交を深めた。

山田 和広(大分医大・生理)
馬 詰 良樹(慈恵医大・生理)
栗 原 敏(慈恵医大・生理)
(文 責)

平成2年“筋生理の集い”プログラム

平成2年2月9日(金)

於 東京慈恵会医科大学

高木会館 5階B会議室

1. 10:00~10:20

単一平滑筋細胞のカリウム拘縮時の容積調節機構

会津 雅子(順天堂大・医・薬理)

小川 靖男()

2. 10:20~10:40

ブタ冠状動脈におけるエンドテリンの収縮作用機序

伊藤 猛雄(九大・医・薬理)

3. 10:40~11:00

プロテインフォスファターゼ阻害剤オキサダ酸の平滑筋張力発生抑制作用について

高井 章(名大・医・第1生理)

中山 晋介()

富田 忠雄()

4. 11:00~11:20

罅入り InsP_3 光分解による平滑筋小胞体 Ca 放出をフルオ3で高速記録

堀内 桂輔(慈恵医大・第1生理)

5. 11:20~11:40

脳卒中易発症性高血圧自然発症ラットの血管平滑筋に対するノルアドレナリンおよびカフェインの作用

島村 佳一(近畿大・高血圧研究所)

6. 11:40~12:00

X線マイクロアナリシスによる筋線維内 Ca イオン分布の動的変化の観察

鈴木 季直(帝京大・医・第2生理)

日野 直樹(順天堂大・医・第2生理)

押味 蓉子(帝京大・医・第2生理)

杉 晴夫()

— 昼 食 —

7. 13:15~13:35
心室筋 Ca 電流のアデノシンによる抑制の機序
大地 陸男(順天堂大・医・第2生理)
加藤 理(順天堂大・医・循環器内科)
8. 13:35~13:55
心室筋の Ca transient と収縮に対する ACh の作用機序
本郷 賢一(慈恵医大・第2生理)
田中悦子(")
須田 憲男(")
栗原 敏(")
9. 13:55~14:15
カエル単一速筋線維の2相性カリウム拘縮とカルシウム
高氏 昌(札幌医大・第1生理)
筒浦 理正(")
10. 14:15~14:35
哺乳類骨格筋 dipeptides の2, 3の知見
吉岡 利忠(聖マリア医大・第2生理)
田中みどり(")
11. 14:35~14:55
Ba²⁺ による骨格筋収縮増強の機序
波多江純真(福岡大・医・第2生理)
河田 溥(")
- Tea time —
12. 15:15~15:35
骨格筋線維の Arsenazo III 信号に及ぼす CO₂ アンダーシスの影響
- 松村 幹郎(川崎医大・第1生理)
13. 15:35~15:55
蛙骨格筋の興奮収縮連関における入力機構の本質
有馬 利昭(防衛医大・第1生理)
藤野 和宏(")
14. 15:55~16:15
T管膜 SH 基と筋収縮
大羽 利治(名市大・医・第1生理)
15. 16:15~16:35
リアノジンで“開口固定”された筋小胞体カルシウムチャネルの性質
小山田英人(東大・医・薬理)
飯野 正光(")
遠藤 寶(")
16. 16:35~16:55
筋収縮初期のクロスブリッジの結合から張力上昇までの遅れの原因
松原 一郎(東北大・医・薬理)
八木 直人(")
17. 16:55~17:15
Caged ATP による骨格筋の張力過度応答の研究
山田 和廣(大分医大・第1生理)
佐古田利文(")
武居 光雄(")
- 懇 親 会 —
5時30分より同窓会館2階で行ないます。

— 上原記念生命科学財団シンポジウム—1990—

Uehara Memorial Foundation Symposium—1990—

主催：財団法人 上原記念生命科学財団
テーマ：筋の発生・維持と収縮：最近の進歩
Frontiers of Muscle Research
日時：平成2年7月17日(火)~19日(木)
会場：京王プラザホテル
〒160 東京都新宿区西新宿2-2-1
☎ 03-344-0111

講演者：
特別講演：江橋(生理研), Gurdon(UK)

セッションA(名取ファイバーと興奮収縮連関)
遠藤(東京大), 丸山(千葉大), Podolsky(USA)
馬詰(慈恵医大)

セッションB(ジストロフィン)
Byera(USA), Campbell(USA), Davies(UK),
小沢(神経研), 杉田(神経研), Worton(Canada),
van Ommen(Netherlands), Yaffe(Israel)

セッションC(筋原線維の形成)
Fischman(USA), Holtrzer(USA),

- 真崎(筑波大), 大日方(千葉大), 嶋田(千葉大)
セッションD(中胚葉と筋細胞の誘導)
Buckingham(France), 鍋島(神経研),
佐藤(京都大), Slack(UK), Smith(UK),
Stockdale(USA), Tapscott(USA),
Thomsen(USA), Wright(USA)
セッションE(筋特異的遺伝子の制御)
Kedes(USA), 三品(新潟大),
Nadal-Ginard(USA), Ordahl(USA)
- 副委員長 真崎知生(教授, 筑波大学基礎医学系)
鍋島陽一(部長, 国立精神・神経センター, 神経研究所)
委員 嶋田裕(教授, 千葉大学医学部)
大日方昂(教授, 千葉大学理学部)
馬詰良樹(教授, 東京慈恵会医科大学)
- 問合せ先: 〒171 東京都豊島区高田3-25-3
財団法人 上原記念生命科学財団事務局
☎ 03-985-3500, 8400
(参加は無料, 申し込み締切り6月10日, 参加申し込み多数の場合は抽選)
- 組織委員会:
名誉委員長 名取禮二(慈恵医科大学理事長)
委員長 小沢鉄二郎(部長, 国立精神・神経センター, 神経研究所)

日本生理学会生理学総説集発刊のお知らせ

昨年, 日本生理学会全国評議員の皆様には過去8年間, 日本生理学雑誌に掲載された総説, 特別講演, 解説講義等を一本に纏める計画に対する賛否をお願いしました. 幸いほとんどの皆様から賛同をいただきました.

これを受けて, 日本生理学雑誌編集委員会は, 生理学総説集, 上・下巻の編集作業に入りました. 上巻は①一般生理②呼吸・循環③代謝・腎④消化⑤内分泌の5章, 下巻は⑥筋⑦神経⑧感覚⑨運動⑩行動及び⑪生理学実習の6章に纏め, 上・下巻ともそれぞれ420頁となりました. 内容はオフセット方式で, 日本生理誌掲載時の原形を残すこととなります.

お願いになりますが, 今回の総説集は上・下に分れており, お買い求めは一括した1組でお願い申し上げます. 廉価を追求し, 且つ売り残りが無いことを勘案して1,000組限定としました. 多くの会員の皆様からの御愛顧を願っています.

尚, 定価6,000円には送料等必要経費が含まれています.

購入方法

日本生理誌第52巻4号(平成2年4月), 及び5号に綴込みの振替用紙を用い, 平成2年5月末日(厳守)までに申込んで下さい.

発刊予定 平成2年6月
定 価 6,000円(上・下巻一括で)

事務局から

この度、全会員の最新のデータをコンピューターに入力することになりました。未だご提出でない方は、第52巻4号及び本号の末尾に綴じ込んである会員カードにご記入の上至急お送り下さいますようお願い申し上げます。(52巻4号163ページ参照)

〔編集後記〕

新緑が美しい季節となりました。超大型連休は如何お過ごしでしたか。さぞかし、心身共にさすがしさを満喫されたことでしょう。

さて、私は宮崎の常任幹事会で4度目の編集幹事に選出されてしまいました。大変光栄なことですが、これから3年間はしんどいことです。改めて、清新の心で事に当る覚悟でいます。

編集幹事は、主として日本生理学雑誌の編集、刊行が第1の役目ですが、学会の情報に関わる人が多いだけに内容的には幅広い活動を自主的に行うよう望まれています。早速、会計幹事との共同で会員カードの整備があり、会員名簿の発行が待ちかまえています。すでに本誌4月号の綴込みカードは全会員漏れなく記載、お送り下さる様お願いを申し上げました。年3回の変更届のカードも準備することが編集委員会の仕事として加わってきました。

すでに、ご案内してきました日本生理学会生理学総説集も実質的な印刷の過程に入りました。掲載されたものを集めて、通し頁をつければ本は出来上るわけで

すが、編集整理から始まって、これでよし!! という迄には気を使うことが多いことを知りました。この度は、予め将来この様な総説集作製という考えがなかったので、自由な執筆をお願いして来ました。そのために一編一編の個性があって出来上りはやや無格好になる公算が高かったことです。これを乗り越えて、満足していただける作品にすべく、編集には努力したつもりです。こんなことで出来上った総説集ですからより多くの会員からのお求めを切に希望しています。1,000部限定版であることにも注意願います。

日本生理誌への総説掲載は、今後も継続されるでしょう。執筆者になられた場合には、出来上りの姿を念頭に少なくとも図、文献を含めて刷上り15頁以内に纏めていただければ有難いと考えています。いずれの総説もセミナーに、講義材料に利用しようとする会員が多いということは、執筆者にとっても貴重な情報と思えますので利用度の高いものに仕上げて下さい。

今年度からより良い学会誌になる様、地区編集委員の積極的参加が実現されるようになりました。何かと問題点があれば、身近かの編集委員と連絡をとり合っ頂ければ幸いです。(酒井敏夫)

編集委員

| | | |
|----------|---------|------------|
| 酒井敏夫(幹事) | 林秀生 | 真野範一 |
| 登坂恒夫 | 松井洋一郎 | 野口鉄也 |
| 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) | | |

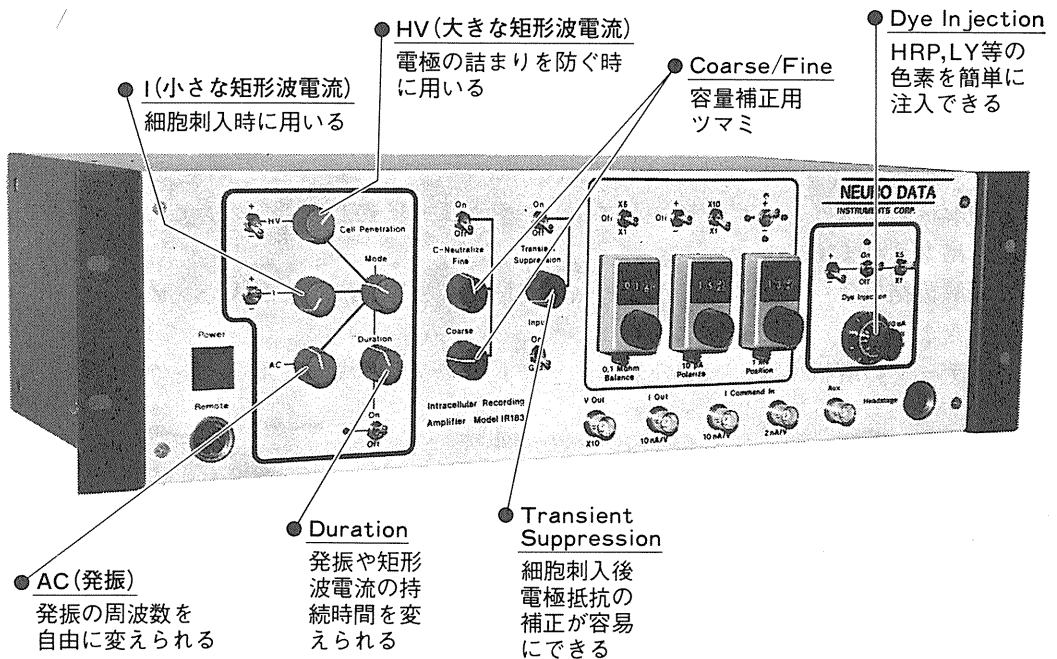
細胞内記録用アンプ

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. 容量補正のつまみに 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つまみが付いている。
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

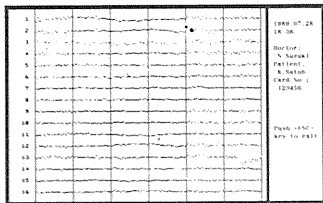
GeniusTM
(ジーナス)

最上位モデル誕生!!

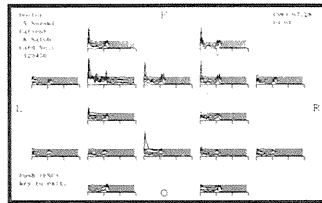
脳波および誘発電位解析システム
多彩な波形解析，トポグラフィック機能を搭載

コンベンショナルな脳波計やポリグラフが最新の研究装置へ生まれ変わります。

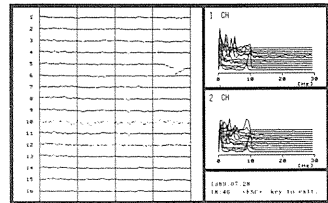
▼16chモニタ



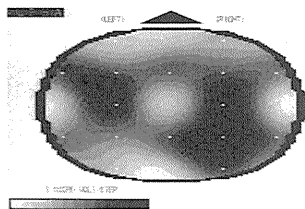
▼16chリアルタイムFFT



▼16chモニタ+2chリアルタイムFFT

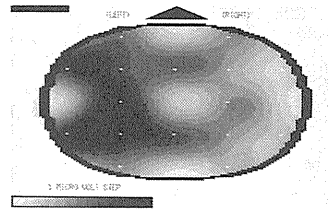


- 最大32チャンネルの脳波及び誘発電位を解析，筋電図や心電図も同時に解析できます。
- 解析画面は，レーザービームプリンタやカラービデオプリンタにより高品位に出力されます。
- 解析結果はバイナリー，アスキー，SYLK，K3等の様々な形式でファイル化できます。
- データの解析には，一般の表集計ソフトやグラフ作成ツールを併用できます。



◀脳波の帯域パワー等電位図

カラートポグラフィックマッピング



▶誘発電位の潜時▶

多彩な機能が研究をアシストします。

目的に合わせた性能を持つ経済版Geniusサブセットもあります。

■開発・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

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®

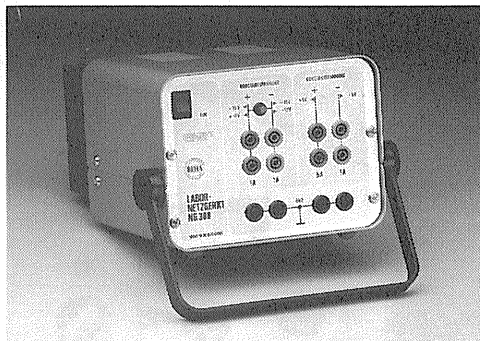
von

CH. BEHA GmbH, Deutschland



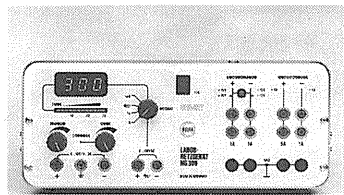
NG304T

NG303とならば基本モデルの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

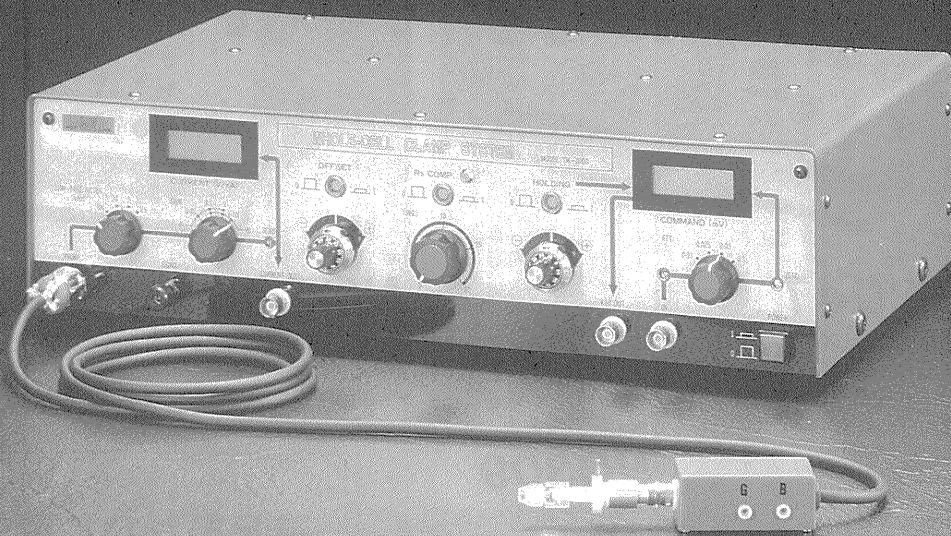
〒104 東京都中央区銀座6-9-7 TEL. 03-573-3591(代) FAX. 03-592-1705

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。



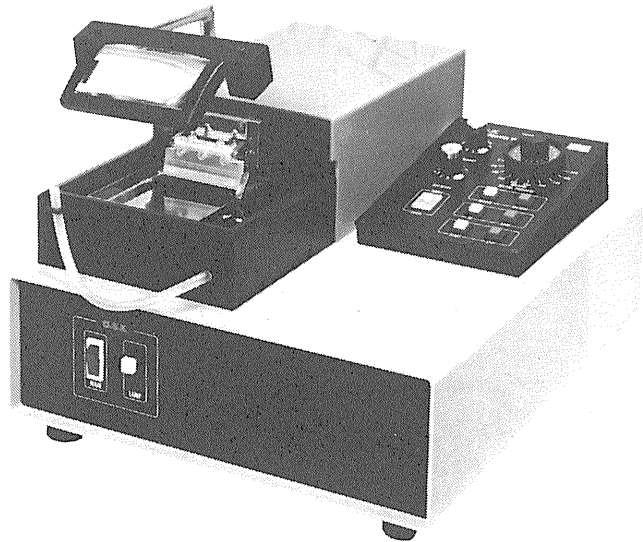
株式会社 アクトME研究所

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

D.S.K

新鮮脳のスライス作製に!

Automatic



未凍結切片作製装置

マイクロスライサー MICROSLICER

DTK-3000W

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

【特長】

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

【姉妹機】

DTK-1000・DTK-2000・DTK-3000

堂阪イーエム

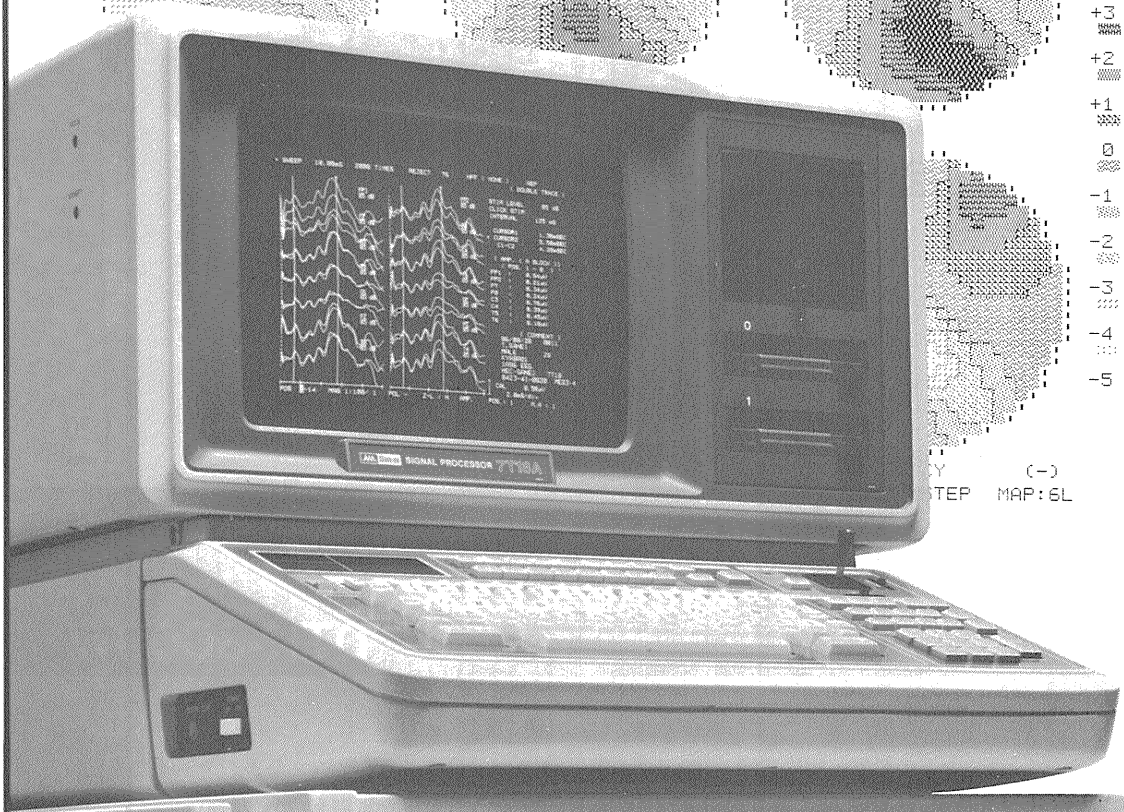
本社・工場/〒601-11 京都市左京区静海市原町1032の3
電話 (075) 741-3069

先進技術を医療に

Human-touch Technology

936.45

スピードが、生体信号処理をかえた。
グラフックが、



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

Y (-)
TEP MAP: 6L

オンラインの多チャンネル生体信号処理を実現した、シグナルプロセッサのベストセラー7T17。その実績と実力のすべてを受け継ぎながら、一段と成長した最新鋭機が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No38 (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

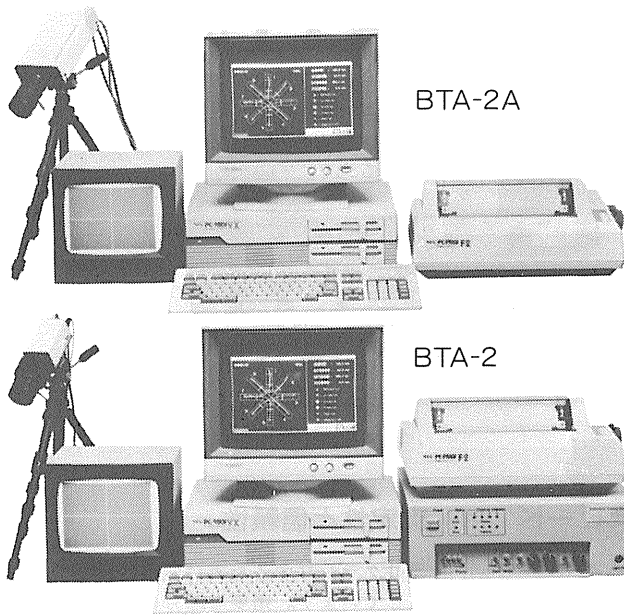
シグナルプロセッサ

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) 〒113 ☎03(5684)1413



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

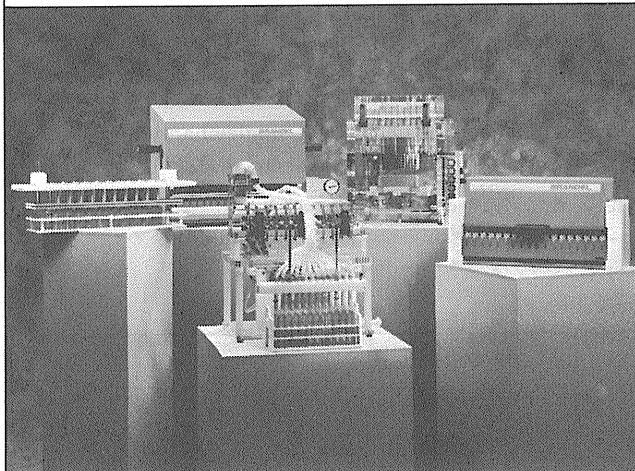
日本総代理店 **室町機械株式会社** 〒103 東京都中央区日本橋室町4-2-1 大辻ビル ☎03(241)2444(代)
〒532 大阪市淀川区西中島5-7-19第7新大阪ビル ☎06(302)1277(代)

Automatic Sample Preparation System

BRANDEL

レセプタ・バインディング専用

セル・ハーベスタ



米国BRANDEL社は、セルハーベスタの専門メーカーとして設立され、米国内では数多くの文献で紹介され、圧倒的なユーザーを有しています。本装置は、近年注目を集めている Receptor Binding Assayの測定を主として開発・設計されたハーベスタです。

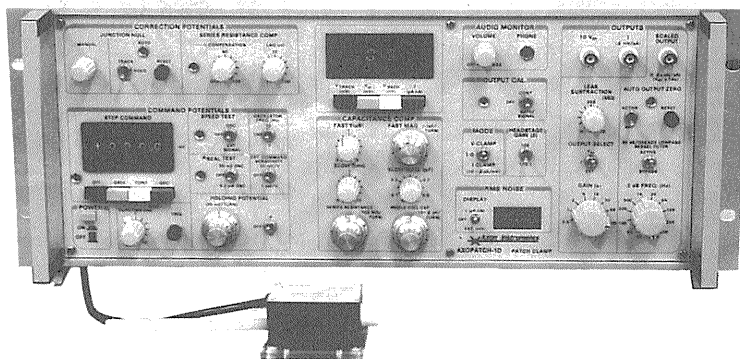
■ 主な特長

- 従来の面倒な手作業をなくし、多数の検体を能率よく処理する事ができます。
- 従来のハーベスタとは違い、ろ過スピードが速く、目詰りする事無く、均一にろ過する事ができます。
- ティスペンサを使用する事により、ハーベスタで処理したフィルタをバイアルに落とし込み、カクテル液を同時に分注する事ができます。
- 様々なアクセサリを付ける事によりグレードアップが出来ます。

※レセプタ・バインディング・アッセイ用以外の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。

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
〒532 大阪市淀川区西中島5-7-19第7新大阪ビル ☎06(302)1277

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。極めて低いノズル・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 名古屋市東区葵一丁目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)

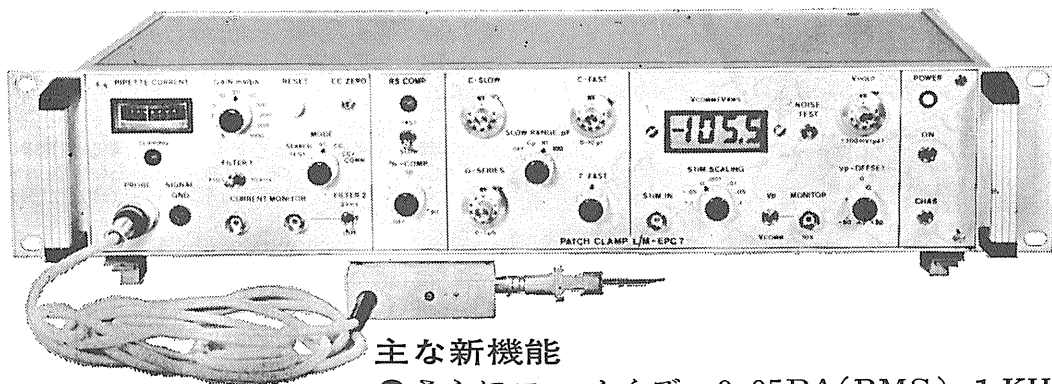
株式会社 フィジオテック

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

新製品 F.J.Sigworth・E. Neherのオリジナル

西独リスト社

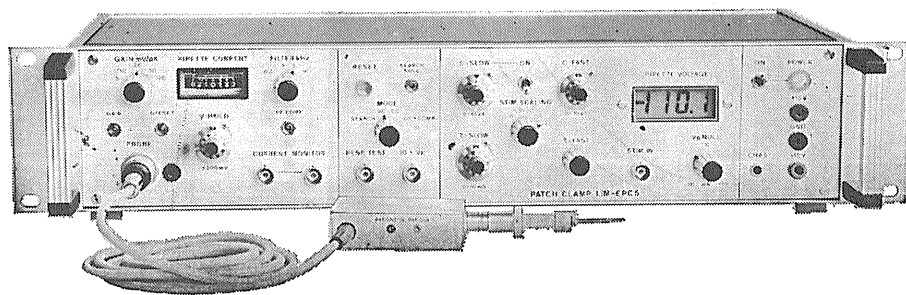
パッチクランプシステム EPC-7



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.

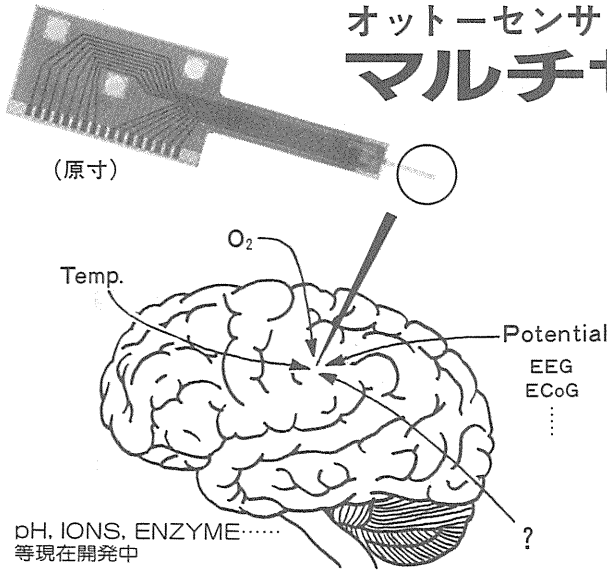
株式会社 **インターメディカル**

本社/〒461 名古屋市中区葵一丁目25番1号
TEL (052)937-7060(代) FAX (052)937-5423
TLX 444-3603 WDMEC J
東京支社/〒157 東京都世田谷区粕谷三丁目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

IN VIVO 組織内 PO₂/Temp./Potential測定用
1本の電極に6~16個のセンサーが装着されています。

OttoSensors
CORPORATION

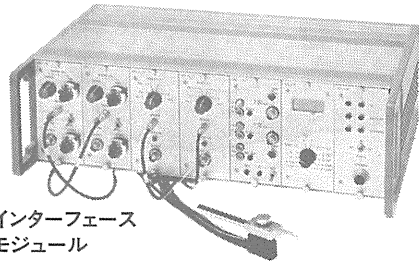
オットーセンサー マルチセンサー電極



オットーセンサーのマルチセンサー電極は生体組織中の代謝活性データをできるだけ多く収集する目的でデザインされています。

1本の電極に6~16個のセンサーが装着されており、表面部位から深部組織の各種生体現象を連続的にマルチ・チャンネル測定します。

オットーセンサーには現在“TOP”センサーと呼ばれる温度/O₂/ポテンシャル 各2センサー装着プローブをはじめ、ポテンシャル(9~16ch)プローブ、温度(6ch)プローブ、O₂(6ch)プローブの4種類を発売しております。また、現在開発中のセンサーとして、pH、各種イオン、Enzymes 各種糖類等があり、幅広いパラメータの測定が研究されております。

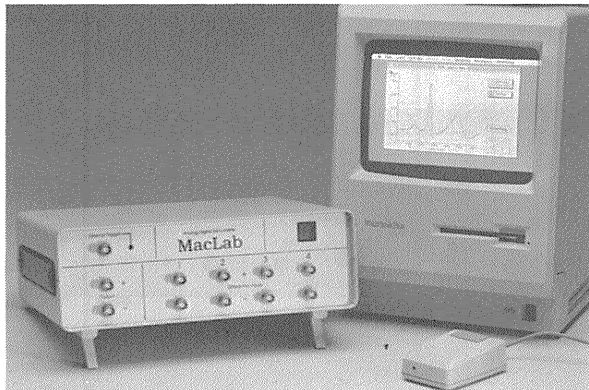


〈応用〉

- Extracellular Measurements
- 脳内深部 EEG/PO₂/Temp.のモニター
- 心筋内のマルチ測定
- 各種組織内の代謝活性の研究

MacLab™ マックラブ システム

コンピューターコントロールによるデータの収集から解析、処理まで…… MacLabは単なるA-Dコンバーターではありません/ A-D, D-Aコンバータ、CPU、RAM、差動アンプを内蔵したインターフェイスです。



アナログデジタル Inst.

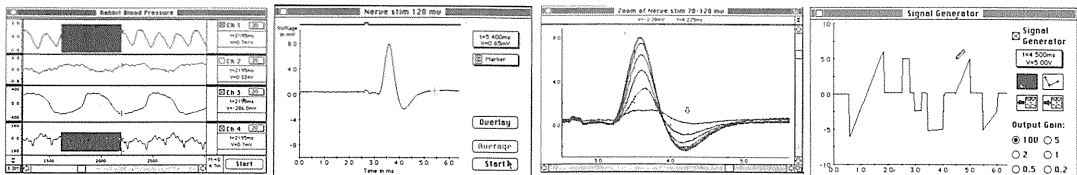
使いやすさで定評のある

マッキントッシュコンピュータシステムとの
連係でデータの収集から処理までOK!

- ストレージスコープ、シンクロスコープ機能
- シグナルジェネレーター、スティムレーター機能
- オーバーレイ、多機能トリガー機能
- 多チャンネルチャートレコーダー
- X-Yレコーダー
- シグナルエディター
- ズーム、積分、積分、その他

現在開発中

- 高速フーリエ変換(FFT)
- FFT & X-Yプロット
- インターバルヒストグラム等ニューロパッケージ



日本総代理店

ORC

バイオリサーチセンター株式会社

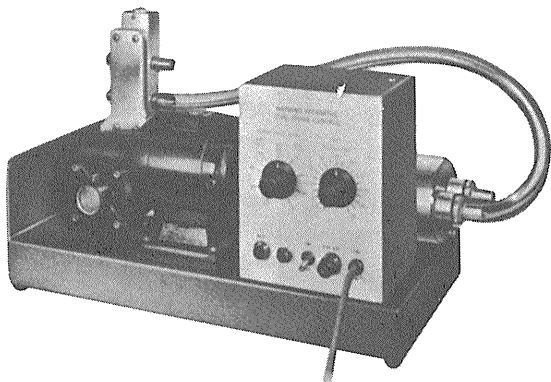
本社 名古屋市東区東桜2-10-21(錦見ビル2F) ☎052(932)6421 FAX 052(932)6755
東京 東京都江戸川区東葛西5-1-15(第2類長ビル403号) ☎ 03(878)6471

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

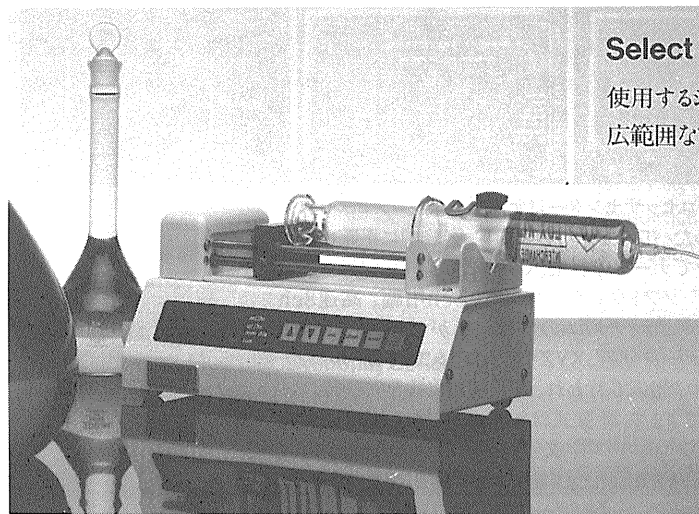
MODEL 683 小動物用レスピレーター

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

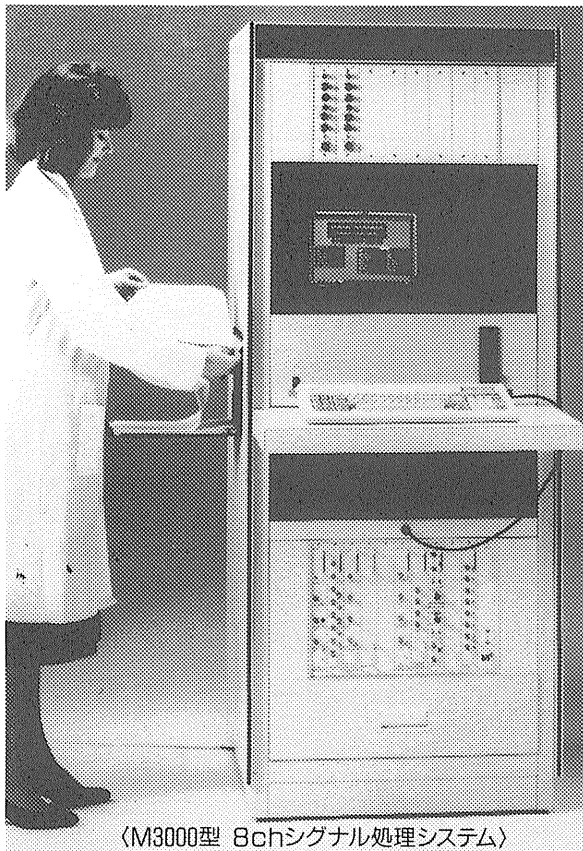
株式会社 **セントラル** 科学貿易

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 ☎011(832)0054 千003



日商メディ・サイエンス

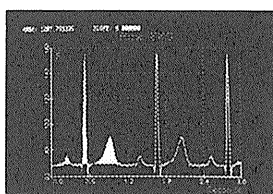
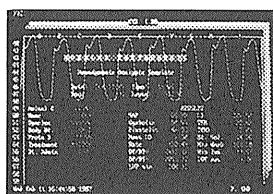
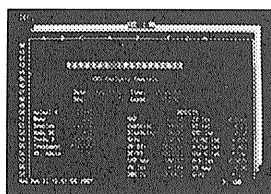
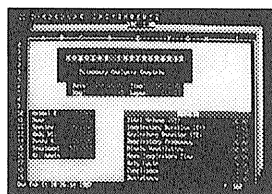
動物実験用生体情報処理装置



〈M3000型 8chシグナル処理システム〉

XYZリアルタイムスプレッドシートソフトウェアにより
簡単に実験プロトコルを作成

プロジェクト開発時間の30〜40%削減を可能にした
モジュラー・インストールメント社のシグナルプロセッサセンター！



M3000シグナルプロセッサセンターはデータ取得とコンピューター分析を一つにまとめたパワフルなシステムです。実験中に正確に且つ効率的にオンラインでデータの収集、処理、表示、そして記録ができます。ハードウェア/ソフトウェアシステムで、8ch増幅、高速8ch A/D変換器を有しネガティブタイムの情報収集ができます。プログラミング無しで、取得データ分析、XYZリアルタイムコントロール等がスプレッドシートプログラムで行われ、研究者は柔軟な実験毎のプロトコル作成ができます。計算式はキーボードから簡単に入力でき、複雑な演算のプロトコル作成をオンラインでメモリーします。

■分析時間の一層の短縮 ■自動化された演算機能 ■情報の容易な解読 ■実験プロトコルの作成が容易 ■データ取得から最終レポート作成までの時間を短縮

その他の機種

- M1000 4ch シグナル処理システム
- M4000 16ch シグナル処理システム (シングルレコーダ付)
- M5000 16ch シグナル処理システム (デュアルレコーダ付)

製造元 **MODULAR INSTRUMENTS INC.**

P.O. Box 447, Southeastern, PA 19399

輸入元 **日商岩井株式会社**

大阪本社 〒541 大阪市中央区今橋2丁目5番8号
東京本社 〒107 東京都港区赤坂2丁目4番5号

総販売元 **日商メディ・サイエンス株式会社**

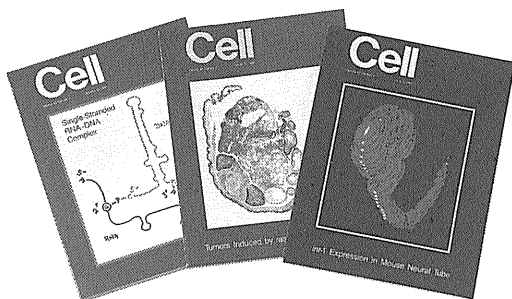
本社 〒107 東京都港区元赤坂1丁目1番7号
TEL 03 (478) 4351 (赤坂モートサイドビル)
営業所 〒541 大阪市中央区博労町4丁目4番1号
TEL 06 (245) 9421 (コニカ販売大阪ビル)

Cell Press, Inc.

最新現代生物学研究誌

Cell

年25回発行 個人 ¥39,200/年 (直販のみ)
法人・図書館 ¥82,000/年
〔各航空貨物扱い〕



本誌は、毎号、生殖に関する最新の学術論文が掲載され、それは免疫学、分子生物学、発達生物学、神経生物学から生体臨床医学、ウイルス学等の現代生物学のすべての領域に及んでおり、研究者にとって不可欠な学術雑誌です。さらに、科学の分野における重要かつ

注目されるトピックスを幅広く扱っている論説、ミニレビューも見逃がすことができません。その他、論評欄、書評欄、製品ニュース、著者及び主題索引等の欄があります。世界のトップレベルの生物学者、例えば1975年度ノーベル賞受賞者 David Baltimore 及び Howard Temin から1985年の Joseph Goldstein 及び Michael S. Brown に至るまで Cell 誌に論文を発表しております。1988年に発表された顕著な研究論文の一部を以下に掲載しました。

収録論文例

- **Minireview**
Antigen Processing and CD4⁺T Cell Depletion in AIDS
- **Letter to the Editor**
More Fingers in Hand
- **Book Review**
The Selfish Cell Lineage
- **Articles**
Duchenne Muscular Dystrophy: Deficiency of Dystrophin at the Muscle Cell Surface
- The scid Defect Affects the Final Step of the Immunoglobulin VDJ Recombinase Mechanism
- Precise Determination of the Molecular Limits of a Polytene Chromosome Band: Regulatory Sequences for the Notch Gene Are in the Interband
- Site-Directed Mutations in the VDJ Junctional Region of a T Cell Receptor β Chain Cause Changes in Antigenic Peptide Recognition

■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-

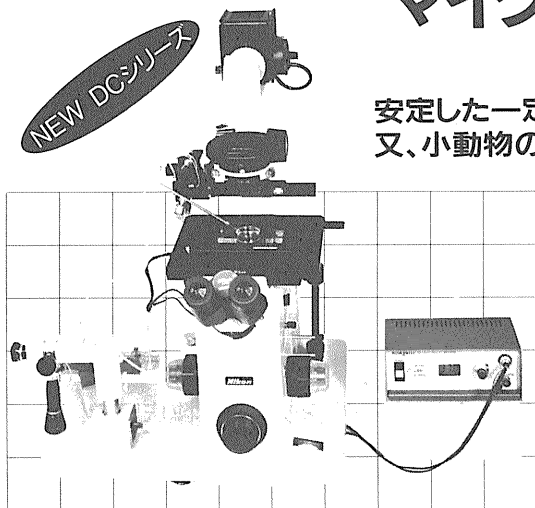
KITAZATO®

顕微鏡用透明加温板

マイクロウォーム・プレート®

Microwarm Plate PAT. P

安定した一定温度のもとでの細胞培養や、細胞電位。
又、小動物の生体電流の精密測定に。



- 安定した一定温度の透明加温板
透明なガラス板の面全体が発熱体で、フィードバック方式によりガラス面の温度を精密にコントロール(±0.2°C)。又、定温状態における歪が改善されました。
- 細胞培養時や微生物の観察・研究に
- 細胞電位や小動物の生体電流の精密測定が可能
プレート、コントローラーともに特殊なシールド加工を行い、電気的なノイズを徹底的にカットしました。それにより、単一チャンネル電流を精度よく測定記録できます。(ノイズレベル: 1kHzフィルター使用時で 0.3pA, 2kHzフィルター使用時で 0.6pA)
※特殊仕様のご要望はご相談下さい。

| NEW DCシリーズ | 加温面の大きさ | ガラスの厚さ |
|------------|-----------|--------|
| DC-MP10DM | 84×106mm | 1.0mm |
| DC-MP100DM | 170×255mm | 1.0mm |
| DC-MP300DM | 170×255mm | 3.6mm |

製造: 株式会社 北里サプライ
発売元: 株式会社 北里サプライ
営業部 ●静岡県富士宮市万野原新田3518-7 〒418
TEL.0544(27)8831 FAX.0544(27)6060
東京出張所 ●東京都北区赤羽2-70-4-201 〒115
TEL.03(903)7410

新発売

Micropositioning Products **burleigh**

ニューロサイエンス用 微小位置決めシステム

電気生理学の記録をとるための微小電極の位置決めには、短い距離を高速で動き振動がなくしかも早い加速と減速の出来る装置が必要です。

バーレイ社ではこの要望に合った清浄な刺入や、安定した細胞記録用インチワームシステムを提供致します。

【特長】

- ★高加速・高スピード
- ★0.5ミクロンまでのステップサイズがプログラム可能
- ★リモートコントロールで連続したラン&ストップまたはステップ操作が簡単に行えます
- ★ぶれのない最小限のバックラッシュ、ドリフト、振動
- ★高い機械的安定性

MARUBUN CORPORATION



丸文株式会社

第4事業本部 営業第2部

本部 〒136 東京都江東区南砂3-3-4 ☎(03)639-9811 FAX.(03)648-9398

大阪支店 ☎(06)301-1811(代表)

神戸支店 ☎(078)331-4266(代表)

名古屋支店 ☎(052)781-1121(代表)

立川支店 ☎(0425)25-1551(代表)

姫路営業所 ☎(0792)85-2541(代表)

筑波営業所 ☎(0298)52-4034(代表)

三島営業所 ☎(0559)72-9135(代表)

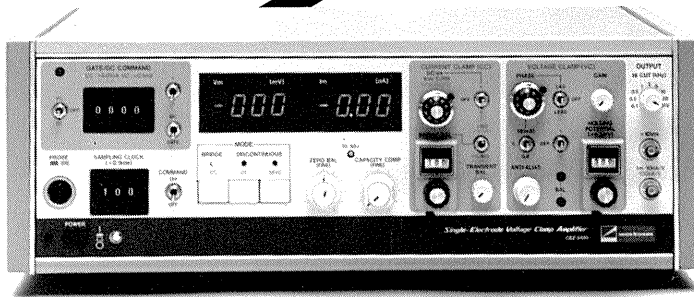
長野営業所 ☎(0262)28-8171(代表)

九州営業所 ☎(092)471-5666(代表)

上田営業所 ☎(0268)25-4171(代表)

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。

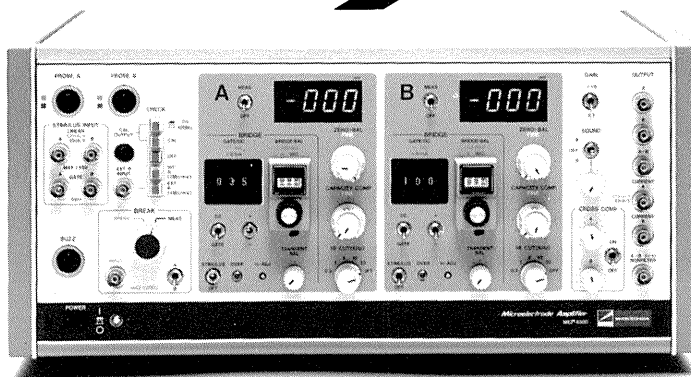


本装置は、単電極ボルテージクランプ SEVCに必要な種々のコントロール機能を使いやすくまとめました。同時にブリッジ法、サンプリング法によるカレントクランプも可能ですので、1台で単電極の誘導から電流クランプ、電圧クランプまでの全てができます。

- 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

☎(953)1181

J. Physiol. Soc. Japan Vol. 52, No. 5 (1990)

Review

SORIMACHI, M. and YADA, T. : Secretary mechanism of biologically active substances.165

編集兼
 発行人

酒井敏夫
 東京都文京区本郷三丁目三〇一〇
 布施ビル(四階)
 日本生理学会

印刷所

三浦経夫
 山形県鶴岡市山王町一四一二四
 鶴岡印刷株式会社

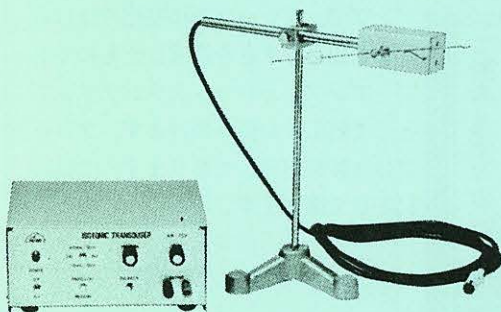
発行所

日本生理学会
 〒一三三
 東京都文京区本郷三丁目三〇一〇
 布施ビル(四階)

振替
 口座
 番号
 〇〇三三
 五八
 一八
 四一
 五二
 一六
 三三
 〇三
 九四

KN-259 生体用変位計 PAT.P

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



| | |
|-----------|----------------------------------|
| 測定範囲 | 0~50mm (±25mm) (中心軸より100mmの時) |
| 分解能 | 無限大 |
| 最大摩擦トルク | 50mg・cm以下 |
| 直線性 | ±3% |
| 出力インピーダンス | 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