

名古屋市立大学看護学部最終講義 (2016年 2月19日)

名市大とともに46年 — Y氏の生理学的半生 —

山本喜通

要 約

Y氏の46年に渡る名古屋市立大学での活動について、学部生時代、大学院生時代、臨床医時代、第一生理学教室助手時代、アメリカ留学時代、帰国後の第一生理学教室時代、看護学部教授時代、看護学部長時代に分けて概説した。研究活動では、パッチクランプ法と内皮由来過分極因子 (EDHF) に関する研究を中心に記述した。Y氏のように一所に腰を据えてじっくり仕事をするタイプの研究者の存在意義は大いにありとされるが、短期間で成果を求める傾向が強まった世の中では十分に評価されないことが危惧される。

1970年4月、1年間の浪人生活の末、19歳のY氏は名古屋市立大学医学部に入学した。それ以来、Y氏と名古屋市立大学との関わりは46年に及び、65年の大学の歴史の70%に何らかの形で関わってきた。Y氏の定年退職(65歳)を機に、その46年間を振り返ってみたい。

1. 学部生時代

以前の医学部進学課程制度の名残で、当時の医学部カリキュラムでは1、2年次は医進課程と呼ばれており、Y氏は山の畑(滝子)キャンパスでの教養科目のみの毎日を過ごした。肥大化した専門教育の圧力によって今やどんどん圧縮されている教養教育に、まだ十分時間を割ける余裕があった時代のことである。Early exposureといった概念もまだ生まれていなかったため、3年次になって川澄(桜山)キャンパスに移り、初めての専門教育として基礎医学(解剖学、生理学、生化学)の授業が始まった。解剖学は解体新書のようにかび臭く、また生化学には生命の存在が余り感じられなかったY氏であったが、生理学には魅力を感じた。第一生理学教室の堀田健教授は当時の日本では数少ない理学部出身の医学部教授で、その電気生理学の講義はY氏には大いに魅力的であった。電気生理学が堀田教授の専門でないことは、その時のY氏は知るよしもなかったが。

生理学の講義がある程度進むと、生理学実習が始まった。それまでのY氏は動物実験に関心があったわけではなかった。しかしその実習で動物実験の面白さを認識したY氏は、級友の百瀬芳隆氏(彼は後に小児外科医の道を選んだ)と誘い合って第一生理学教室の門を叩き、学生研究員(もちろん、正式な身分ではない)となった。Y氏は毎朝大学に来るとまず生理学教室の自分の机に荷

物を置いてから講義室に向かい、夕方講義が終わると実験を始め、帰宅は夜遅く、時には徹夜もするという生活に明け暮れた。これは他の学生にとっての部活動のようなものであった。

元来物理学が好きだったY氏にとって、生体が電気でコントロールされていることは非常に興味深かった。そこで生体の電気現象を研究する電気生理学を学ぼうとしたのであるが、当時の第一生理学教室にはその実験に必要な測定器がなく、購入する予算もなかったため、測定器の製作から始めた。Y氏には以前から半田付けなどの電気工作の趣味があり、先輩の長谷川泰洋先生(神経の電気生理学)指導の下、試行錯誤してようやく測定器を完成させ、微小電極による骨格筋細胞の膜電位測定を開始した。研究に必要な機器を業者に特注して作らせることはよくあることだが、それには時間とお金が必要である。必要なものは工夫して自分の手で作るスキルを学べたことは、Y氏のその後の研究活動に非常に有益であった。

電解質の水溶液には同数のプラスイオン電荷とマイナスイオン電荷が存在するが、細胞膜に張り付いているイオンまで数えると、細胞内はマイナスが過剰、細胞外はプラスが過剰となっており、外に比べて細胞内は負の電位を呈する。これを細胞内電位、あるいは細胞膜に集中して存在することから膜電位と呼ぶ。この膜電位は細胞膜に存在するイオンチャネルが開いてイオンが出入りすることによって変化し、生体はこの現象を情報伝播に使っている。この膜電位を測定するためには小さな細胞の内側に電極を刺入することが必要で、ガラス管を細く引き延ばし、中に電導性の電解液を詰めたガラス微小電極が使われる。堀田教授は電気生理学の研究者ではなかった

名古屋市立大学名誉教授

ので、微小電極を使った実験を行ったのは第一生理学教室ではY氏が最初であった。学部生時代の骨格筋に関する電気生理学的研究は2編の論文にまとめられた^{1),2)}。

2. 大学院生時代

卒業して医師となつてからの進路として、Y氏は臨床なら内科あるいは小児科、基礎なら生理学を考えていた。外科系はY氏の選択肢には入っていなかった。基礎研究の面白さには忘れがたいものがあったが、臨床医となることへの夢も捨てがたく、結局Y氏は当時の第二内科学の大学院に入学した。大学院と言っても、4年の内は最初の2年間は今で言う初期研修で、Y氏は実験室でなく病院で毎日を過ごした。3年目になり、他の研修医がお礼奉公と称して関連病院に赴任してから、Y氏はようやく本来の大学院生としての研究生活に入った。

第二内科学教室でY氏は第一生理学教室と関係が深かった青木久三助教授の研究グループに所属し、青木先生の作った高血圧自然発症ラットの動脈平滑筋細胞に微小電極を適用する実験にまず取りかかった。実験場所は勝手知ったる第一生理学教室であった。しかし動脈平滑筋の実験は以前の骨格筋の実験と比べて非常に難しく、2年間という研究期間の制約もあり、静脈である門脈平滑筋を対象を切り替えてようやく博士論文³⁾を仕上げ、Y氏は医学博士となった。ちなみに、門脈平滑筋は心筋のように自動性を持ち、律動性の興奮収縮を行う血管である。

3. 臨床医時代

1980年の大学院修了後、Y氏は名古屋市立大学病院の臨床研究医として臨床現場で勤務していたが、やはり基礎医学研究者への思いは断ちがたく、第一生理教室に戻る決心をした。ただ、第二内科学教室では、研修を終えた者は一定期間関連病院で勤務することになっていたため、Y氏は名古屋市厚生院に内科医として赴任した。当時の厚生院は瑞穂区密柑山にあって大学に近く、勤務時間にも余裕があったため、Y氏は週の半分くらいは生理学教室で研究を行っていた。こうした生活を13ヶ月間続けた後、30歳になっていたY氏は1981年10月に第一生理学教室の助手となった。研究者としては少し回り道をしたが、内科での5年間の臨床経験は、Y氏のそれ以降の人生に大きな糧となった。後にY氏が看護学部における臨床医学の教育ができたのも、この経験があったればこそである。

4. 第一生理学教室助手時代

生理学教室に戻ってからY氏は、中途半端になっていたラット門脈の研究を本格的に再開し、その結果を論文にまとめて発表した⁴⁾。その後、新しい道を模索してい

たY氏は、当時普及しつつあった電気生理学の実験手法であるパッチクランプ法に挑戦することにした。微小電極法では、膜に存在する何種類かのイオンチャンネルが開いたり閉じたりした結果として表れる膜電位の変化を観察できる。ただ、神経や筋細胞の興奮に関わるイオンチャンネルは電位依存性を持ち、その開閉が膜電位によってコントロールされる。つまり、あるチャンネルが開いて膜電位が変化すると、それによってそのチャンネル自身や他のチャンネルの活動が変化し、さらに膜電位が変わるという具合に、膜電位応答の機序は非常に複雑である。膜電位応答の基本となるイオンチャンネルの活動を解析するためには、複雑な現象をもう少し単純化する必要がある。そこで使われるのが膜電位固定法で、これは人為的に細胞内に電流を流し、膜電位を実験者が想定した電位に強制的に固定した状態でイオンチャンネルを流れる電流の変化を観察する手法で、イカの巨大神経といった大きな細胞や、小さな細胞でも多くの細胞が電氣的に密に結合した多細胞標本では以前から広く行われてきた。パッチクランプ法はこの膜電位固定法の一つで、この方法によって単離した1個の細胞を使つての膜電位固定実験が可能となった。

この方法を適用するためには、まず細胞同士の結合を酵素処理によって分断して単一細胞標本を作る必要があり、動脈平滑筋に興味があったY氏は、単一動脈平滑筋細胞の作成に取りかかった。しかし良い細胞作成に至らず、それまでに多くの報告があったモルモット盲腸紐平滑筋で細胞単離を試み、なんとか生きのよい細胞標本作成に成功した。パッチクランプ法の実験装置は自作が難しいため購入したのであるが、限られた研究費で購入した国産装置の精度は低く、折角よい細胞ができてもなかなかきれいな記録を得るまでには至らなかった。

5. アメリカ留学時代

パッチクランプ法に悪戦苦闘の毎日を送っていたY氏の元にアメリカ留学の話が持ち込まれ、心機一転、Y氏はニューヨークへ旅立った。1985年のこと、Y氏は34歳になっていた。留学先はニューヨーク州立大学ダウンステート・メディカルセンターの薬理学教室で、ニューヨーク市に5つある行政区 (borough) のうちのブルックリン区中央に位置していた。同じブルックリン区海沿い、ニューヨーク市内とは思えないほどのどかな場所に部屋を借り、Y氏と妻、二人の息子の2年間のニューヨーク生活がスタートした。

研究室はY氏を含めて4人だけのこぢんまりしたもので、ボスのカオ (C. Y. Kao) 教授は上海生まれの移民であり、神経の膜電位固定実験によってふぐ毒のナトリウムチャンネル阻害作用などを研究していた。カオ教授は

平滑筋の電気生理学にも手を広げ、そちらはやはり上海から来た女性のフー (S. L. Hu) 博士にパッチクランプ法を使った研究をさせようとしていたが、良い単一細胞標本が採れず、まだ成果が得られていなかった。

日本でパッチクランプ法を試みていたとはいえ、膜電位固定法に精通していなかったY氏に対し、カオ教授は膜電位固定法の基礎を身につけさせるべく、二重蔗糖隔絶法による膜電位固定実験でモルモット盲腸紐の膜電流を記録するように勧めた。この方法にはきわめて微妙な液体の流れの調節が必要で、きれいなカルシウム電流が記録できるまでに半年の時間がかかったが、Y氏には良い経験であった。この実験と並行して、日本で使っていた方法を用いてモルモット盲腸紐平滑筋の単一細胞標本を作成し、満足できる標本が出来るようになった。ちなみにカオ教授も実験装置は自分で作ってしまう人物で、研究室には工作機械や電子部品が揃っていた。

1986年の7月にカナダのバンフで平滑筋関連のシンポジウムがあり、Y氏は家族そろってバンフまで自動車で行くことにした。往路はラッシュモア山やイエローストーン国立公園を訪ねながら11日かけてバンフまで到着し、帰りは少しとぼして8日でN.Y.まで帰りついた。全走行距離は1万キロ弱で、Y氏はアメリカ大陸の大きさを実感した。

バンフから帰って新しい西独製のパッチクランプ装置も手に入り、Y氏はモルモット盲腸紐平滑筋細胞を使っただけのパッチクランプ実験を開始した。もっとも、実験装置はそろってもパッチクランプ法に精通した指導者がいなかったため、またしても試行錯誤の毎日であった。パッチクランプ法で使用するパッチ電極は微小電極に比べて先端が非常に大きく (マイクロメートル単位)、電気抵抗が小さい。これを細胞膜に接触させて電極内を陰圧にすると、ガラスと細胞膜が密着して抵抗の高い、いわゆるギガシールができる。これがcell-attached状態で、電極の先端で囲まれた細胞膜の極小部分をパッチと呼び、そこに含まれる限られた数のイオンチャンネルを流れるピコアンペア単位の電流が記録できる。ここからさらに電極内に陰圧をかけるとパッチが破れ、細胞内と電極内が導通する。この状態がwhole-cell状態で、微小電極法のように膜電位を観察したり、人為的に電流を流すことで膜電位を固定して細胞全体にあるイオンチャンネルを流れる電流を観察できる。Y氏はこのwhole-cellでの実験を試み、内向き電流⁵⁾と外向き電流⁶⁾の性質を調べて論文にした。

6. 帰国後の第一生理学教室時代

帰国後なんとかニューヨークの研究室と同じ実験環境を整えたが、堀田教授の定年退職後に教授不在期間が1

年以上続いたこともあり、この時期Y氏はあまり成果が出せなかった。その後鈴木光教授が着任し、Y氏は再び血管の研究に着手した。動脈壁は外から外膜、中膜、内膜で構成される。内膜は1層の内皮細胞層で、中膜平滑筋との間は内弾性板で境されており、そこに開いた穴を通して、一番内側の平滑筋細胞と内皮細胞は接触している。それまで内皮細胞は単に血管の内張細胞と考えられていたが、ニューヨーク州立大学ダウンステート・メディカルセンターの薬理学教室にいたFurchgottらは、それが刺激されると血管平滑筋を弛緩させる物質、つまり内皮由来弛緩因子 (EDRF) を放出するという新しい概念を打ち出した⁷⁾。その後EDRFの一つが一酸化窒素 (NO) であることがわかった。血管にアセチルコリン (ACh) を作用させると内皮細胞の細胞内カルシウムイオン濃度が増加し、それによってNOが合成されて平滑筋細胞に拡散して作用し、cGMPを介した機序で弛緩が起きるとされる。NOの存在が血管内皮細胞にとどまっていたなら、Furchgottらの発見もその他多くの発見に埋もれていたかも知れないが、NO神経などが次々と発見されて情報伝達におけるNOの重要性が明らかになったため、先駆者のFurchgottはノーベル賞に輝いた。

鈴木教授は、EDRFであるNOと、もう一つの血管弛緩物質であるPGI₂を阻害した状態でもAChは血管を弛緩させ、それに平滑筋細胞の過分極が伴っていたことから、EDFRとは別の物質が内皮細胞から放出され、それが平滑筋細胞を過分極させて弛緩させるという説を提唱し、この未知の物質を内皮由来過分極因子 (EDHF) と名付けた⁸⁾。AChによって内皮細胞内カルシウムイオン濃度が増加するとEDHFが放出されて平滑筋の細胞膜あるいは細胞内に作用し、過分極、つまり細胞内の負電荷が多くなって電位依存性カルシウムチャンネルが閉じ、平滑筋が弛緩するとされた。当時いくつかの研究室でEDHFの正体を見つける研究が行われ、何種類かの物質が候補にあがっていた。ただ、AChは平滑筋だけでなく内皮細胞も過分極させること、平滑筋と内皮細胞は電氣的に連絡しているらしいことから、Y氏は物質としてのEDHFの存在に疑問を持った。つまりY氏には、この現象はAChで起こされた内皮細胞の過分極が電氣的に平滑筋細胞に伝播した現象として説明可能に思われた。そこでY氏はそれを証明するために、内皮細胞と平滑筋細胞が生体内の関係を保ったままの標本 (当然単離細胞でなく多細胞標本となる) を作成し、2種類の細胞の膜電位をパッチクランプ法で同時に観察しながらAChを作用させる実験を計画した。しかしパッチクランプ法を適用するには、標本の表面にきれいな細胞膜が露出している必要があるため、具体的にどのような標本を使うべきか苦慮していた。

そんな中、オーストラリアからの訪問研究者として研究室に来ていたハースト (G. D. S. Hirst) 教授に以前使っていたモルモット腸間膜細動脈標本の摘出法を見せられたY氏は、その標本が実験に使えると直感した。細動脈の直径は数十マイクロメートルで、中膜の平滑筋は多くて2層しかない。外膜は薄くて簡単にはぎ取れそうで、平滑筋細胞を露出できそうであった。内皮細胞の表面は何も処理しなくても平滑なのだが、血管の内側にあるためそのままではパッチ電極が届かない。では、Y氏がモルモット腸間膜細動脈から、どのようにして平滑筋細胞と内皮細胞にパッチ電極を適用できる標本を作ったかを説明しよう (図1)。まず細動脈がT字路のように分岐している部分を見つけて切り出す。細動脈の直径は50 μ m程度なので、実体顕微鏡下での操作が必要となる。平滑筋細胞からの測定には、コラーゲン線維を分解酵素で少しかしてから先の細いピンセットで摘んで薄い外膜を剥いだ外膜除去標本を使用する。内皮細胞からの測定には分解酵素処理は不要で、T字路の道路の無い部分に小さな穴を極小はさみで開け、反対側から断端を直径10マイクロメートルのタングステン線で押し、内外を反転させながら穴から出して作った反転標本を使う。こうして作られた標本は長さが0.1mm程なので、標本を灌流しながら実験を行う灌流槽を非常に小さくすることができる。容積が小さければ、正確な温度制御や素早い薬物投与が可能だという利点がある。Y氏は自分でできるものならなるべく自作することにしていたので、この灌流槽もアクリル板をフライス盤という工作機械を駆使して加工し作製した。

細胞間の信号伝播通路はギャップ結合と呼ばれる。膜貫通型タンパク質であるコネキシンが6個環になって繋がって細胞膜に形成した穴をコネクソンと呼び、隣り合った細胞のコネクソン同士が結合して作るチャンネルがギャップ結合の本体であり、この穴を通して1キロダルトン以

下の物質が細胞間を行き来できる。コネキシンにはたくさん種類が知られ、各々番号を付けて呼ばれる。電子顕微鏡で観察すると内皮細胞同士間にはギャップ結合が集合してクラスターを形成している像が観られ、内皮細胞同士の密接な連関が示唆された⁹⁾。免疫組織化学染色法により、それを構成するコネキシンは主にコネキシン40であることがわかった⁹⁾。また、平滑筋細胞同士の間にもギャップ結合が観られるものの、その密度は内皮細胞同士よりずっと少なかった。内皮細胞と平滑筋細胞の間では、電子顕微鏡により内皮細胞が内弾性板の穴から突起を出し、平滑筋細胞と接触している像が得られたが、接触面に明らかなギャップ結合のクラスターは観察されなかった⁹⁾。クラスターを形成していない少数のギャップ結合は電子顕微鏡では容易に観察できないため、これでは平滑筋-内皮細胞間ギャップ結合があるともないとも言えなかった。一方、電極にニューロピオチンというギャップ結合を自由に通る物質を詰めておくと、平滑筋細胞同士、内皮細胞同士、平滑筋細胞と内皮細胞間でその移行が観られた⁹⁾ことから、各細胞同士が交通していることが明らかになった。

平滑筋細胞と内皮細胞間に交通があることはわかったが、EDHF現象がその交通に依るものであることをより直接的に証明する必要がある。そこでY氏は、可逆的なギャップ結合阻害薬であることが示されている18 β -glycyrrhetic acid¹⁰⁾を作用させてみた。ギャップ結合を阻害するとAChによる平滑筋細胞の過分極反応が非常に小さくなったので、平滑筋細胞の過分極反応にギャップ結合が関与していることが示された¹⁰⁾。更に直接的に仮説を証明するため、Y氏は平滑筋細胞と内皮細胞の膜電位を同時に記録できるユニークな標本を開発した (図2)。これは外膜除去標本の一部を切り取って内皮細胞

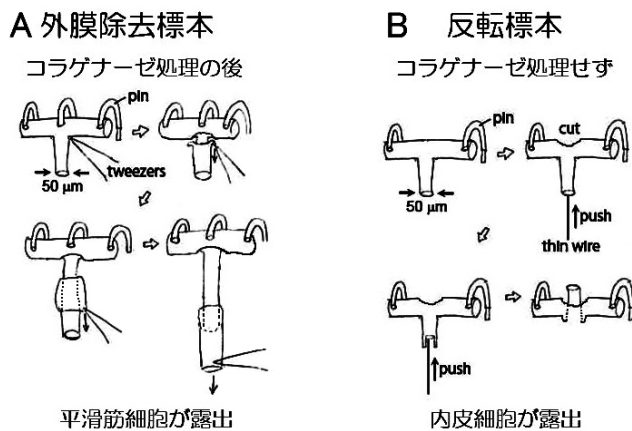


図1 モルモット腸間膜細動脈の外膜除去標本 (A) および反転標本 (B) の作成方法

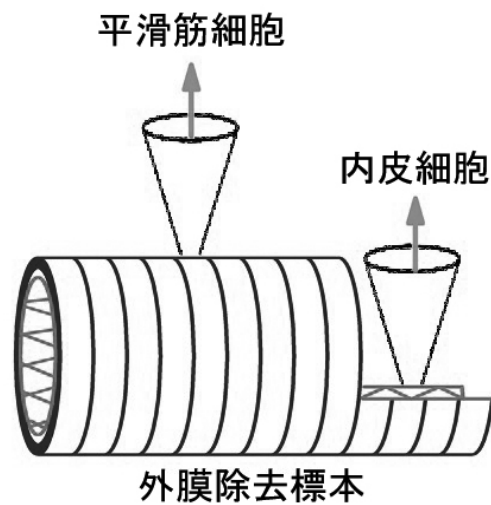


図2 平滑筋細胞と内皮細胞の膜電位を同時に記録する方法

を露出させたもので、これにより生理的關係を保ったままの状態では平滑筋細胞と内皮細胞の膜電位同時記録が可能となった。両者の膜電位を記録しながらAChで内皮細胞を過分極させると、全くの相似形で少し小さな過分極が平滑筋細胞からも記録できた。逆に、バリウムイオンで平滑筋細胞に脱分極とスパイク放電を発生させると、内皮細胞からも全くの相似形でほんの僅かに小さな膜電位応答が記録された⁹⁾。物質としてのEDHFが作用して生じる過分極ではこれほどの相似性は期待できそうにないので、平滑筋の過分極は内皮細胞から直接伝播したものと考えざるを得ず、Y氏の仮説が証明された。

物質としてのEDHFの存在が微妙になったため、多くの研究者はEDHFでなくEDH現象という、ファクターを除いた呼び方を用いるようになった。さらに研究は進み、内皮細胞から平滑筋細胞に向かって伸びた突起に重要な要素が局在していることがわかり、今このvascular myoendothelial microdomain¹⁰⁾が注目されている。

7. 看護学部教授時代

2003年4月、Y氏は縁あって看護学部教授として異動し、そこで定年までの13年間を過ごした。看護学部での仕事の中心は教育で、Y氏は解剖学・生理学・生化学といった基礎医学を多田豊廣教授、後に薊隆文教授と分担し、臨床医学では疾病・病態論、後の疾病・治療論を医学研究科の兼任講師の先生方と分担して担当した。また、看護学研究科では前期課程の生理学実験法と助産基礎特論I(分担)を、後期課程では生理学実験法特講を担当した。これに加えて医学部兼任講師として腎生理学の講義を定年まで続けた。

Y氏は学部入試委員長として入試方法の改革に努めたが、志願者数の低迷には常に悩まされた。また、学生のパソコン環境を改善することや、ホームページを開設して学外に情報を積極的に発信することに中心的な役割を担った。このような学部運営にもかなりの時間を割かれたため、医学部の実験室を借りての研究活動に使える時間は限られてしまったが、Y氏は血管内皮細胞の研究を継続し、新たなギャップ結合阻害薬メフロキンをを使った内皮細胞の研究¹³⁾等を行った。

8. 看護学部長時代

Y氏は2011年から2015年の2期4年間に渡り、看護学部長・看護学研究科長を勤めた。学部長といえども教育活動は減らず、学部運営により多くの時間を取られ、研究活動の時間は更に限られた。論文にできるようなまとまった研究は不可能であったが、年2回の学会には必ず自身の研究を発表した。また、学部長時代にY氏が他のメンバーと協力してなした事業としては、陸前高田市特

別枠として毎年2名の学生を受け入れる事業、田坂学生奨学基金の創設などが挙げられる。

9. おわりに

以上、駆け足で名市大におけるY氏の46年間の軌跡をたどってみた。人を、一所に留まってじっくり仕事を続ける農耕民族型と、よりよいものを目指して次々と居場所を変える狩猟民族型に分けるなら、Y氏は明らかに前者である。じっくり仕事をするのがY氏には合っていた。Y氏は冒険することを好まず、キャンブラーにはなれない人物である。それ故、周りの空気を読んで研究費のとれそうな分野に次々と研究テーマを変えていくようなことは不得手であった。

今、大学を取り巻く環境は大きく変化しつつあり、日本の大学人は荒波にさらされている。短期間で成果を示すことが求められ、研究費が旬のテーマに集中的に配分されるようになった。すべての研究者に狩猟民族型となることを求める風潮が強まっている。これはY氏のようにじっくりと基礎研究に打ち込む研究者にとって、決して棲みやすい環境ではない。科学の発展には両方のタイプの研究者が必要なので、これでは先が思いやられる。ただ、そうした荒波が本格的に到来する前の、嵐の前の静けさといった最も平穏な時期を大学人として過ごし、荒波をかぶる直前にそこを去ることができ、Y氏は幸運だったといえる。

電気生理学の実験は基本的に単独で行うものである。ただ、一人で実験しては進む方向が間違っているかもしれないことがある。そんな時、周りに同僚研究者がいて、常に議論できる環境にあることが非常に大切である。Y氏はここで紹介した人々以外にも常に良き指導者、アドバイザー、共同研究者に恵まれていた。また、定年前の13年間を過ごした看護学部でも、看護に関しては素人であるY氏を暖かく受け入れてくれた同僚に恵まれた。学部長を無事勤められたのも、そんな看護学部教職員の協力に依るところが大きいとY氏は感じている。Y氏は退職後も医学部同窓会の会長として、しばらくは名市大と関わり続けようと考えている。

文 献

- 1) Yamamoto Y., Hasegawa Y., Hotta K.: Depolarization and contraction of skeletal muscle induced by intracellular stimulation — role of T tubules in electrochemical coupling —, *Jpn. J. Physiol.*, 26 (3), 333-343, 1976.
- 2) Yamamoto Y., Suzuki A., Hotta K.: Dissociation of excitation and contraction in skeletal muscle induced by deuterium oxide and

- dantrolene sodium, *Jpn. J. Physiol.*, 27 (1), 95-109, 1977
- 3) Yamamoto Y.: Some properties of spontaneous electrical activities in vascular smooth muscle of rat portal vein, *Nagoya Med. J.*, 25 (1, 2), 7-21, 1980.
 - 4) Hotta K., Yamamoto, Y. (authors' names are in alphabetical order): Ionic mechanisms involved in the strontium induced spike and plateau in the smooth muscle of rat portal vein, *J. Physiol. (Lond.)*, 336, 199-210, 1983.
 - 5) Yamamoto Y., Hu S.L., Kao C.Y.: Inward current in single smooth muscle cells of the guinea pig taenia coli, *J. Gen. Physiol.*, 93 (3), 521-550, 1989.
 - 6) Yamamoto, Y., Hu S.L., Kao C.Y.: Outward current in single smooth muscle cells of the guinea pig taenia coli, *J. Gen. Physiol.*, 93 (3), 551-564, 1989.
 - 7) Furchgott R.F., Zawadzki J.V.: The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine, *Nature*, 288(5789), 373-376, 1980.
 - 8) Chen G., Suzuki H., Weston A.H.: Acetylcholine releases endothelium-derived hyperpolarizing factor and EDRF from rat blood vessels, *Br. J. Pharmacol.*, 95(4), 1165-1174, 1988.
 - 9) Yamamoto Y., Klemm M. F., Edwards F. R., Suzuki H.: Intercellular electrical communication among smooth muscle and endothelial cells in guinea-pig mesenteric arterioles, *J. Physiol. (Lond.)*, 535 (1), 181-195, 2001.
 - 10) Yamamoto Y., Fukuta H., Nakahira Y., Suzuki, H.: Blockade by 18 β -glycyrrhetic acid of intercellular electrical coupling in guinea-pig arterioles, *J. Physiol. (Lond.)*, 511 (2), 501-508, 1998.
 - 11) Yamamoto Y., Imaeda K., Suzuki, H.: Endothelium-dependent hyperpolarization and intercellular electrical coupling in guinea-pig mesenteric arterioles, *J. Physiol. (Lond.)*, 514 (2), 505-513, 1999.
 - 12) Sandow S.L., Haddock R.E., Hill C.E., Chadha P.S., Kerr P.M., Welsh D.G., Plane F.: What's where and why at a vascular myoendothelial microdomain signalling complex, *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 36(1), 67-76, 2009.
 - 13) Yamamoto Y., Suzuki H.: Analysis of acetylcholine-induced membrane responses in vascular endothelial cells of the guinea-pig mesenteric artery using mefloquine as a gap junction blocker, *J. Smooth Muscle Res.* 46(6), 281-291, 2010.