

日本生理誌・第15卷12号・昭和28年12月1日発行(毎月1日発行)
〔昭和27年5月6日第3種郵便物認可〕

日本生理學雜誌

JOURNAL OF THE PHYSIOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

第15卷 第12号

Vol. 15 No. 12

昭和28年12月1日発行

December 1953

原 著

- 角 忠 明：口腔及び咽頭壁からの小腸反射……………601
- 馬 場 三 郎：正常呼吸中枢の化学的刺激的呼吸運動に及ぼす影響……………609
- 阿知波 繁 一：疲労の電気化学的研究(第17報)蛋白質分解過程から観た小川法,
Donaggio-佐藤-吉川法並に阿知波間の相関性に就いて(その3)……………619
- 嶋 越 美 夫：脱水素酵素に対する urethane-抑制(methylene青-法)の疑義……………622
- 塚 田 裕 三：線維素溶解現象に関する研究……………627
- 下 川 末 夫：Donaggio 反応陽性物質について……………636
- 高 岡 涉：唾液の酸塩基平衡に関する研究(第3報)疲労と唾液の酸塩基平衡について……………646
- 渡 辺 千 春：皮膚圧迫によつて脊髄蛙にみられた2,3の現象について……………655

附：会報……………659

第31回日本生理学会総会演題募集

生理学会々費御納入のお願い

International Union of Physiological Sciences の創立について

第Ⅲ回日本生理科学連合全国大会

日 本 生 理 學 會

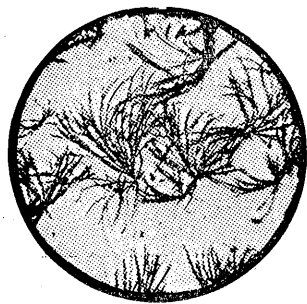
Physiological Society of Japan

新らしい

水溶性ビタミンA剤



アウゲニン注



【アウゲニン結晶】

広い治療分野に應用できるV・A剤

アウゲニンは植物体より発見された、水溶性新物質で、肝油に比し1250倍のビタミンA効力を有してゐます。本剤が従來の油性V・A剤に比し臨床価値の高い理由は

- (1) 吸収が迅速で、体内に於ける生理効果を高める
- (2) 無痛性で、注射後に硬結・腫張等を生じない
- (3) 油剤やコロイド性剤に比し、使用が簡便である
- (4) 効力が安定で、長期保存に耐える
- (5) 皮注・筋注・静注・動注、何れも可能である
- (6) 全身的にも、局所的にも副作用は一切ない

(試供品・文献贈呈)

(包装) 注(2mg1cc10管) ¥300・錠(1mg30錠) ¥200

東京都中央区西八丁堀2丁目17 救心製薬株式会社

【新発売】

女性ホルモン学説を改新す



★製法特許・米英諸外国特許出願中★

女性々機能ホルモン完成

(文献・説明書進呈)

吾社20年の研究によつて妊馬尿中より全く新しいホルモン(Synstroneと仮称)を発見し得た。その効力は1日量1mgにて従來の高単位製剤を遙かに凌ぐ効果を挙げ得る。

エストロパン「モチダ」はEstradiolとの複合体でその間のInter actionを期待し製品化した

- ☆高度月経障害
- ☆乳汁分泌不全
- ☆尋常性痤瘡
- ☆更年期障害

25 Tab ¥200
1cc 10A ¥350

- ☆人工授精強化
- ☆腸癒着防止
- ☆肩肘治療
- ☆子宮体角膜潤滑の新治療
- ☆腫腫水腫の新治療
- ☆癌腫治療

大量皮下輸液の吸収促進
健康保険適用

- ☆局所浸潤・伝達麻酔の迅速・適確
- ☆化学療法後の慢性病巣透過性昂進
- ☆慢性湿疹・固定癬疹の新治療

Hyalur onidase発見者Durn-Reynolds氏と

研究交換!

【文献集送呈】

強力拡散因子ヒアルロニダーゼ

スプラゼ

モチダ

製造発売元・持田製薬株式会社・東京都中央区日本橋室町3-1

口腔及び咽頭壁からの小腸反射 612. 833. 33

Intestinal Reflex from the Wall of Mouth Cavity and Pharynx.

角 忠 明 (Sumi-Tadaaki)*

I. 緒 言

自働能によって営まれている小腸の律動運動が身体の種々な部位に加えられた刺激により反射的に影響される事はこれまで数多くの研究者が観察報告しているところである。しかしその抑制反射が可なり精細に研究¹²⁾されているに較べ亢進反射については Wassilenko¹⁰⁾ le Heux, de Kleyn⁷⁾等による迷路の刺激実験, Andersson およびその協同研究者による上喉頭神経刺激実験, 桜沢及び斎藤⁸⁾の洞神経刺激実験, 船越による減圧神経刺激実験⁹⁾等の報告をわずかに見出すに過ぎない。私は除脳したイヌに於て口腔内に注水するという簡単な操作で小腸運動が顕著な亢進を惹起する事を見出し, さらにその発現機序を明かにしようとして次の如き一連の実験を行った。

II. 実 験 法

動物はすべてイヌを用いた。除脳手術を行うには, まずエーテルで軽く麻酔したのち, すばやく頸部を切開して両側の総頸動脈を露出結紮し同時に気管切開を行いガラス cannula を装着する。このとき迷走神経を傷けないよう特に注意する。ついで動物を腹位に固定し両側椎骨動脈がそれぞれの鎖骨下動脈から分岐する部位を狙って皮膚の上から強く圧迫する。人工呼吸を続けながら頭蓋を開き四丘体の上丘を含みそれより上位の脳全部をすみやかに除き去りあとに綿球をつめて出血を防ぐ。止血したのを確かめてから椎骨動脈の圧迫を取る。頭部の保温に留意しながらしばらく静かに放置したのちつぎの手術に取りかかる。腹部正中線に沿い臍を中心に約5cmの長さになり皮膚, 筋肉, 腹膜を切開

して腹腔に達する。十二指腸下行部の腸壁に小切開口をつくり, コンドームでつくった容量やく10cm³の Balloon を其処より口側に押しこめてこれを細いゴム管を介して水 manometer に連結する。十二指腸壁と腹壁の切開口は何れも縫合してゴム管を固定する。水 manometer の圧力は約20cm H₂Oとしさらにこれを Marey の描記器に連結する。このようにすれば Balloon の容量の増減を十二指腸の弛緩及び収縮の標示として描記することが出来る。頸部に於て食道を周囲組織から分離して二重に結紮切断しその口側端にガラス cannula を挿入する。かくすれば嚥下された水はすべてこれを経て外に排出され胃及び小腸は何等影響を受けない。嚥下運動の標示としては甲状軟骨に糸を結びつけ嚥下に際して起るその挙上運動を Bert さらに Marey の描記器を介して描く。血圧は左側大腿動脈から水銀 manometer へ導き小腸運動及び嚥下運動と同時に描記する。口腔及び咽頭壁を刺激するために注射器に連結したゴム管を後部口腔或は咽頭腔に挿入し10cm³/100sec の速さで注水を行った。注水はこれらの部位に対しての適応刺激であると考えられる。反射経路を確定するために両側の上喉頭神経は舌骨甲状膜を貫く直前で, 舌咽神経は咽頭枝の分岐点で, 舌神経は鼓索の分岐部より末梢で, 大内臓神経は横隔膜を貫いて腹腔に入る所で, 迷走神経は頸部で露出しそれぞれの切断前後の効果を比較した。また上記の求心性神経は頻数感応電撃を与えることによって電氣的に刺激された。

III. 実 験 成 績

A. 注水による小腸運動の変化

上述した法にしたがって口腔内に注水すれば小腸の律動運動は次のように亢進と抑制の2様

* 鳥取大学医学部生理学教室 (米子)

の効果をあらわす。

1. 亢進効果

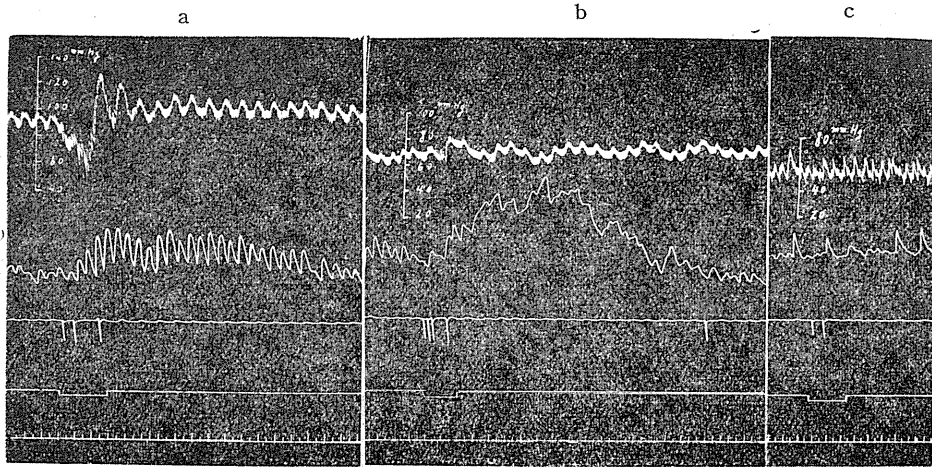
注水開始の直後または数秒の潜伏期を経て、小腸の運動は急激に緊張を増し同時に振幅も大きくなる。この効果は注水を止めてもさらに増大しつづけるがやがて極大に到達したのち漸次緊張振幅ともに減退する。この減退は一旦注水前の状態以下にまで達し次第に復元する (第1

図a, 第4図a, 第5図a)。

亢進効果が顕著に出現するときにはブラシまたはゴム管を口腔或は咽頭の粘膜に触れるだけで第2図の効果を得ることができる。

2. 抑制効果

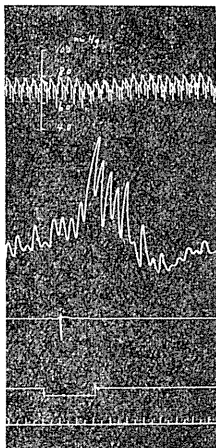
注水によって緊張は減退し振幅も小となり甚しいときには小腸の律動運動は消失する (第3図a)。しかし得られた結果を通覧すれば亢進効



第1図 口腔内注水による小腸運動の変化

1953. 5. 14. 室温 28°C イヌの体重 7kg エーテル麻酔, 除脳, 曲線は上から血圧, 十二指腸運動, 嚥下運動, 注水時期及び時標 (3秒) を示す

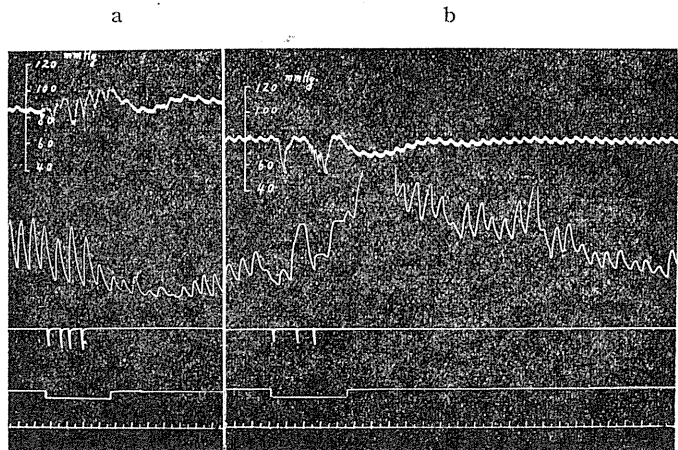
a: 迷走神経及び大内臓神経共に無傷, b: 大内臓神経切断後, c: さらに迷走神経も切断してある



第2図

口腔及び咽頭壁をブラシで刺激したときの小腸運動の変化

1953. 6. 3. 室温28°C イヌの体重 7kg 曲線の説明は第1図と同じ, 神経は全部無傷



第3図 口腔内注水による小腸運動の変化

1953. 3. 12. 室温27°C イヌの体重 5kg

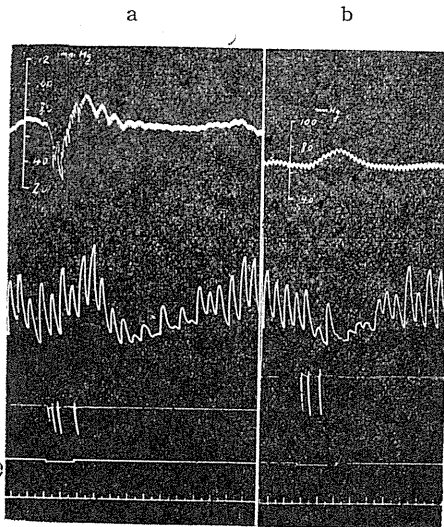
a: 迷走神経及び大内臓神経健存

b: 大内臓神経の切断後に著明な小腸運動の亢進が現われたことを示す

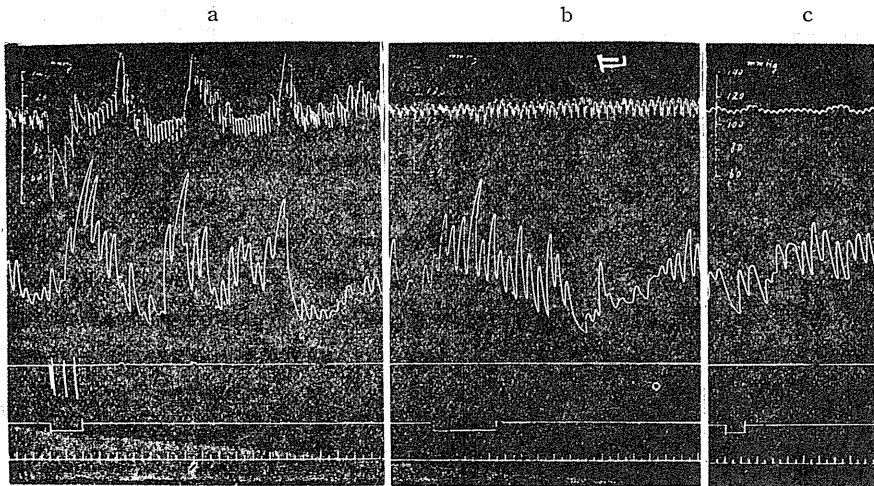
果が圧倒的に多く抑制効果は稀な場合に出現するだけである。

B. 神経切断の注水効果に及ぼす影響

上述の現象は短い潜伏期をもって急速に現れる点からみて恐らく反射であろうと推測される。もし反射であるとするればこれの遠心性神経としては迷走神経及び大内臓神経が考えられ、また求心性神経としては口腔及び咽頭壁に分布



第4図 迷走神経切断の小腸効果に及ぼす影響
1953. 6. 8. 室温26°C イヌの体重 5.5kg
a: 迷走神経及び大内臓神経健存
b: 迷走神経の切断後には亢進効果が消失して抑制効果のみとなることを示す



第5図 求心性神経切断の小腸効果に及ぼす影響
1953. 6. 3. 室温 28°C イヌの体重 7kg 迷走神経, 大内臓神経健存
a: 求心性神経無傷, b: 上喉頭神経切断, c: さらに舌神経, 舌咽神経切断後の小腸効果

している舌神経, 上喉頭神経, 舌咽神経等が疑われる。次にこれらの神経の切断を行ってその役割を検討した。

1. 遠心性神経切断

a. 大内臓神経切断

この神経を切断したのち注水を試みるに、亢進効果は切断前よりも顕著となる。例えば第1図に於て見られるように切断前 a に比べ切断後 b では緊張の亢進が極めて著明で律動運動が不明瞭となる。また復元に要する時間は長引き、腸運動は容易に整一とならない。

切断前に抑制効果が得られた場合には該神経を切断した後は亢進効果が得られる(第3図b)。

b. 迷走神経切断

この神経を切断すれば、注水による亢進効果は全く消失するが抑制効果はかえって著しくなる。なお心搏緩徐は認められなくなり血圧は上昇する(第4図)。

上述の結果から大内臓神経の切断は亢進効果を、また迷走神経の切断は抑制効果の発現を顕著にするということが出来る。

2. 求心性神経切断

a. 上喉頭神経切断

嚥下反射の主要な求心路である上喉頭神経を切断すると小腸の亢進効果は切断前に較べて弱まるが尙依然として出現する。注目すべきは心

搏緩徐が消失し血圧は不変か時によって上昇し、また嚥下運動も極めて稀な場合を除き発現しないことである。これによって小腸の効果と心搏及び嚥下の効果との間に少くとも重大な因果関係は存在し

ないことが想像される (第5図b)。

b. 舌神経及び舌咽神経切断

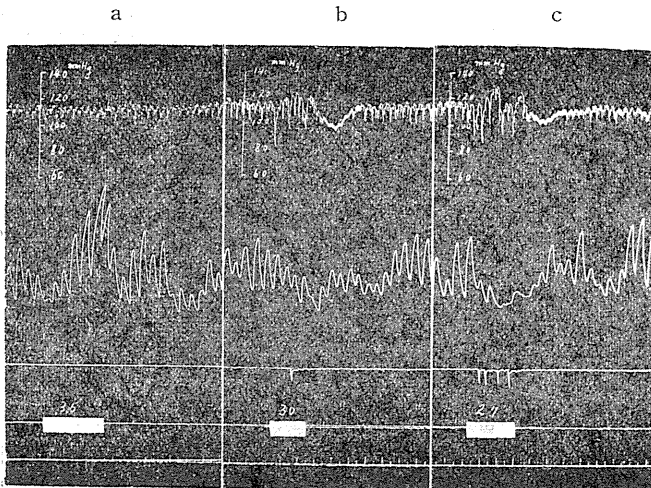
上喉頭神経の健存しているときにこの両神経の切断を行っても効果の発現は大した影響を受けないが、すでに切断してある場合には注水による効果は極めて微かとなる (第5図c)。このことから上記の神経とともに口蓋神経も現象発現の役割を多少とも演じていることが想像される。

C. 求心性神経の電氣的刺激の小腸運動に及ぼす影響

以上の実験から口腔内注水によって惹き起される小腸運動の変化が1つの反射現象であることがほぼ明かになった。次には注水に際して刺激されると思われる求心性神経の切断中枢端を電氣的に刺激し、果して注水のときに見られた効果が現われるか否かを検討しよう。

1. 上喉頭神経刺激

刺激の強さを次第に増して閾値に到ると、まず小腸運動はわずかの潜伏期の後急速に緊張と振幅の大きさを増す。この亢進効果は刺激の後期または中止後に極大となり漸次刺激前の状態に復する。この反応の様相は注水のときと殆ど同じであるが、この刺激強度ではまだ嚥下運動も心搏緩徐も起し得ない (第6図a)。



第6図 上喉頭神経刺激の小腸運動に及ぼす影響

1953. 6. 3. 室温 28°C イヌの体重 7kg 数字はコイル間距離を表わす：刺激強度を高めるにつれて効果は亢進から抑制に変わる

さらに刺激強度を強めると小腸運動が抑制される、即ち緊張は減退し振幅もまた小となる。この時になって漸く嚥下運動と心搏緩徐が現われる (第6図b)。

強度をさらに強くすると小腸は弛緩したままとなり、律動運動は停止する。刺激の中止後に緊張振幅共に刺激前より昂まる時期を経たのち元の状態に戻る。ここに到ると嚥下運動は頻回に発現し心搏緩徐も高度となる (第6図c)。

2. 舌咽神経及び舌神経の刺激

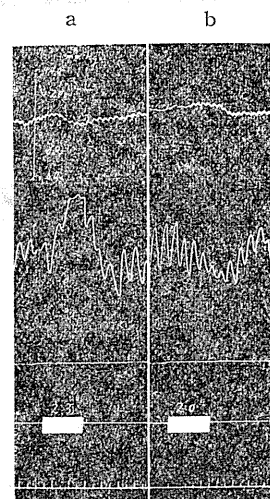
小腸運動に対する効果は前述の上喉頭神経刺激の場合に等しいが、このときには心搏には影響を与えず、嚥下運動も発現しない (第7図及び第8図)。

求心性神経の刺激によって現れる効果は以上の如くその刺激の強さの如何によって異なり、弱いときには亢進、強いときには抑制となる。

つぎにこれ等の効果が迷走神経及び大内臓神経の切断に際して影響を受ける状態は注水の時と同様であり第9図には、上喉頭神経の刺激効果が迷走神経を切断して消失する有様を示す。

D. Atropine による注水効果の変化

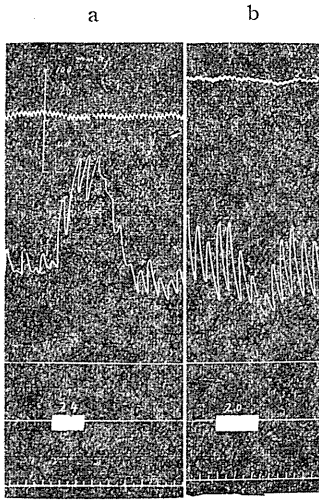
迷走神経の切断によって亢進効果が現れなく



第7図

舌咽神経刺激の小腸運動に及ぼす影響

1953. 6. 2. 室温 27°C イヌの体重 10kg 迷走神経、大内臓神経健存、弱刺激で亢進、強刺激で抑制の2様の効果を表わす



第8図 舌神経刺激の小腸運動に及ぼす影響
1953. 6. 2. 前図と同じ動物で得た曲線

なることは上述した通りであるが、このことから必然的に、迷走神経の末梢を麻痺させる硫酸 atropine の注射が効果発現に影響を及ぼすことが想像される。

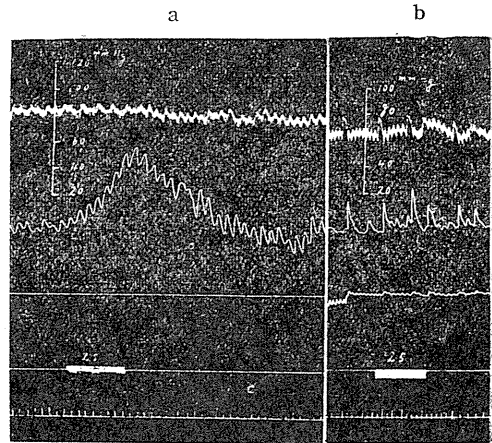
まず注水による充進効果を確認したのち、硫酸 atropine を 0.2mg/kg の割で静脈内に注射し、効果の現われ方を時間を追って観察した結果が第10図である。注射直後では小腸の律動運動は一般に緩徐となっている。このとき注水を行っても充進効果は全くみとめられない。また注射前に認められた心

搏緩徐は消失するが、嚥下運動のみは少しも影響されず頻回に出現する (第10図 b)。

注射後約 1 時間を経て再び注水を試みると第10図 c に示すように充進効果は可なり恢復する。なお完全に復元するには 2 時間以上を要する。

E. 人工呼吸の注水効果に及ぼす影響

嚥下運動によって呼吸運動に変化が現われ



第9図

迷走神経切断の上喉頭神経刺激による充進効果に及ぼす影響

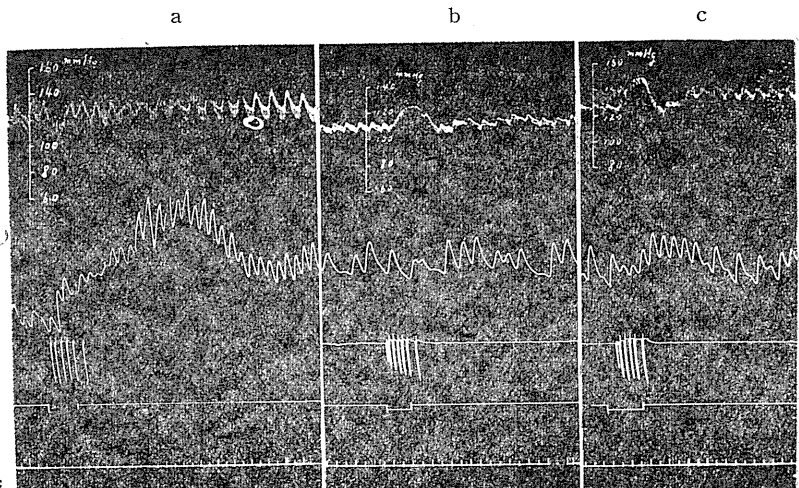
1953. 5. 14. 室温 28°C イヌの体重 7kg

a: すでに大内臓神経は切断してある

b: さらに迷走神経切断後に刺激した場合

ることはすでに確認された事実である。

この変化による二次的な影響が小腸運動に現われるか否かを検討するために人工呼吸を適用した。これによれば人工呼吸を行っても注水による小腸及び嚥下運動には効果の発現に変化が認められない。ただ心搏緩徐は軽微となり、時には全く認められない。従って心搏緩徐による血圧の二次的下降も極めてわずかとなり、却っ

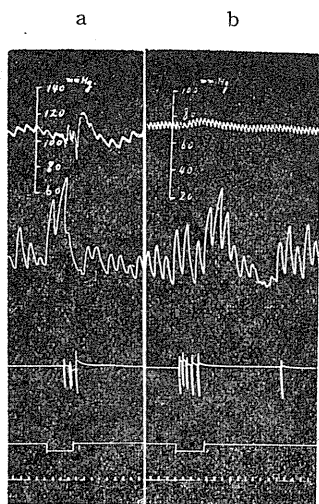


第10図 Atropine の注水効果に及ぼす影響

1953. 5. 12. 室温 26°C イヌの体重 10kg

a: 注射前、充進効果が著明である。 b: 注射 15 分後、効果は抑制的傾向をしめす。

c: 注射 1 時間後、充進効果が再び現われてくる



第11図 人工呼吸の注水効果に及ぼす影響
1953. 6. 2, 室温27°C イヌの体重 10kg
b: 人工呼吸続行中

て上昇を示すことが多い。(第11図).

IV. 論 議

私は上述した実験結果を総合して、口腔内注水による小腸運動の変化はおよそ次のような機序のもとに発現すると考える。

即ち注水によって惹き起された口腔及び咽頭壁からの求心性衝撃はここに分布する上喉頭神経、舌咽神経、舌神経及び口蓋神経などの求心性神経を介して、その一群は小腸運動を支配する迷走神経運動核に、他の一群は交感神経核に達する。前者は迷走神経を介して小腸運動亢進的に、後者は大内臓神経を介して抑制的に働く。しかしてこれら2つの中枢の興奮の程度によって、現われる効果は亢進または抑制となる。

以上のような観点に立って、これまでになされた研究のうちその主なものについて考察を試みよう。

福原、木野勢、榊田^{3) 6)}は腹窓を施した家兎の腸管の運動が摂食と同時に盛になることを観察し、この現象の発現の原因は腸管内容の移動によるものであるとの結論に達した。しかし、氏等自らも摂食によって果然として昂まった十二指腸運動が摂食を中止すると一時減退したのちに本格的な昂進を現わして来るといふ事実の

説明は困難であると述べている。私はこの摂食中に見られる腸運動亢進の原因の1つは、食物の口腔、咽頭壁に及ぼす刺激によって発現する上述の腸管運動亢進反射であると考え。

Comline 及び Titchen¹⁾ は口腔内注水或は上喉頭神経の電氣的刺激によって、除脳した幼弱な牛および山羊の食道溝が収縮する現象を観察し、これが反射によって惹き起されることを明かにしている。なお氏等によれば Andersson, Langren などが chloralose 麻酔を施した猫で上喉頭神経を電氣的に刺激して小腸の運動が亢進するのを見たという。これ等の事実は私が小腸について発見した現象の理解に大いに参考となる。

次に抑制効果の発現について考察してみる。

上喉頭神経、舌咽神経、舌神経等の切斷中枢端を電氣的に刺激すると、刺激強度が強まるに従い小腸の反射効果が亢進から抑制へ逆転する事実はこれまで認められていないものである。この現象は大内臓神経を切斷したのちでも見られ、且つ迷走神経が小腸運動に対して純粋な亢進神経であるという福原等の研究結果⁴⁾ からすれば、上述の抑制効果の発現には、当然その反射中枢の作用が関与していると考えられる。

ここに於てこの問題の理解に際して指針となるのは、われわれの教室における呼吸反射に関する数多くの研究⁵⁾ である。それによれば、肺を機械的に拡大または萎縮し、或は迷走神経、上喉頭神経及びその他の求心性神経を電氣的に刺激するとき、その刺激強度が異ると呼吸運動に及ぼす影響も異り、弱いときは促進、強いときは抑制効果を呈するのである。この現象は末梢からの衝撃が呼吸中枢の自働衝撃と干渉する事によって惹き起されるものと考えられている。

従ってこの考えを小腸反射に適用すれば上述の強刺激による小腸の反射的抑制効果の発現は、腸外神経の無傷な場合には交感神経中枢の興奮を主因とするが、これに迷走神経核の抑制による効果も重加していると考えなければならぬ。注水によって抑制効果が現われ難いのは、このような刺激に際しては一般に交感神経核の

興奮が他方に比して弱いことに起因するものと思われる。

最後に、Wang, Clark, Ranson⁹⁾ は猫の視床下部を電氣的に刺激するとき著しい小腸運動の亢進が起ることを認め、また Watts, Fulton¹¹⁾ などは大脳皮質の一定部位を刺激して、腸運動に亢進、抑制の2様の効果を得ている。私の実験では除脳してあるから求心性神経の刺激に際して、この様な部位の興奮によって起る二次的影響は考慮する必要がない。

V. 結 論

除脳したイヌの口腔及び咽頭壁に注水刺激を与えると、小腸運動に亢進及び抑制の2様の効果がひき起される事を見出し、ついでこの現象を分析しその発現の機序は迷走神経中枢及び交感神経中枢を介する反射であることを明かにした。以下に要約したのがこの研究の結びである。

1. 口腔内に注水すると多くの場合小腸運動は亢進する。即ち注水によって緊張と律動運動の振幅を増す。注水の中止後暫くして極大に達し、ついで注水前以下にまで緊張及び振幅の減退が起ったのち、再び次第に恢復して元に戻る。

稀に注水によって抑制効果、即ち緊張の減退と振幅の減少また時として完全停止が起る。

2. 口腔及び咽頭壁に分布する知覚神経、即ち上喉頭神経、舌咽神経、舌神経の切断中枢端を電氣的に刺激すると、刺激の強度が弱いときには亢進、強いときには抑制の2様の効果が得られる。

3. 上記の求心性神経をすべて両側切断したのちに注水しても小腸効果は現われない。

4. 注水による亢進効果は両側迷走神経の切断或は atropine の静脈内注射により、また抑制効果は両側大内臓神経の切断によって消失する。

5. 小腸効果と呼吸、心搏、血圧、嚥下運動に現われる効果との間に因果的關係を見出すことが出来ない。

6. 以上の実験結果から、口腔及び咽頭壁の刺激によって惹き起される小腸運動の変化は次

のような機序のもとに発現する反射であると考ええる。

口腔及び咽頭壁に発生した求心性衝撃は、ここに分布する知覚神経、すなわち三叉神経第二枝（口蓋神経）、第三枝（舌神経）、上喉頭神経、及び舌咽神経を経て延髄に入り、その一群は小腸を支配する迷走神経運動核に、他の一群は交感神経核に到達する。前者は迷走神経を介して小腸運動亢進的に、後者は大内臓神経を介して抑制的に働く。而してこの両中枢の興奮の程度の如何によって効果は、亢進または抑制となる。注水に際しては、一般に迷走神経核の興奮が他に比して優越して現われるから、亢進効果が圧倒的に多い。

この報告を終るに当つて御指導を賜つた恩師福原先生に、心からの感謝を捧げる。

文 献

- 1) Comline, R. S. and A. Titchen (1951) Reflex contraction of the oesophageal groove in young ruminants. *J. Physiol.* 115, 210
- 2) 船越高浪 (1935) 減圧神経刺激の腸運動に及ぼす影響 京都府立医大誌 15, 1117
- 3) Hukuhara, T., S. Kinose und K. Masuda (1936) Beiträge zur physiologie der Bewegung des Duodenums. *Arch. f. d. ges. Physiol.* 238, 124
- 4) Hukuhara, T. (1932) Die Bewegung und Innervation des Dünndarmes. *Arch. f. d. ges. Physiol.* 229, 311
- 5) Hukuhara, T., S. Nakayama and S. Baba (1952) The mechanism of the nervous regulation of the respiratory movements. *Jap. J. Physiol.* 2, 316
- 6) 福原 武 (1953) 消化管運動の生理 1, 医学書院
- 7) Ie Heux. und de Kleyn (1934) *Pflüger's Arch* 234, 98 福原 武 6) より引用
- 8) 桜沢富士雄・斎藤十六・荒田 宗 (1941) 頸動脈反射と腸管運動 東京医会誌 55, 1084
- 9) Wang, C., G. Clark, L. Dey and W. Ranson (1940) Further study on the gastro-intestinal motility following stimulation of the hypothalamus. *Am. J. Physiol.* 130, 81
- 10) Wassilenko, (1935) *Ber Physiol.* 84, 590 福原 武 6) より引用
- 11) Watts, J. and J. Fulton (1934) The relation of the cerebral cortex to intestinal motility in the monkey. *New England J. Med.* 210, 833
- 12) Youmans, B. (1949) Nervous and neurohumoral regulation of intestinal motility. 49, New York

Summary

Excitatory and inhibitory responses of the intestinal motility are produced by the introduction of water into the mouth cavity and pharynx on the decerebrated dogs. Analysing and synthesizing the effects obtained the author found that the phenomenon appeared by means of reflex mechanism. The results are summarized as follows:

1) Introduction of water into the mouth cavity increases promptly the tone and amplitude of rhythmical movements of the small intestine. Soon after the cessation of introduction of water the motility reaches the maximum of the effect, then gradually falls below the normal level, and lastly returns to the normal.

On rare occasions inhibitory effect, namely the decrease of tone and amplitude or complete cessation of intestinal movements is seen.

2) When the central cut ends of the superior laryngeal, lingual and glossopharyngeal nerves which innervate the wall of the mouth cavity and pharynx are electrically stimulated, the weak stimuli produce the excitatory response and the strong stimuli produce the inhibitory one.

3) After the bilateral section of all the afferent nerves above mentioned, the intestinal effects by the introduction of water totally disappear.

4) Excitatory effect of the intestinal movements is eliminated by bilateral vagotomy and intravenous injection of atropine. On the other hand, the inhibitory effect is abolished by bilateral splanchnicotomy.

5) No causal relation is recognized between the intestinal effects and respiration, heart beat, blood pressure and swallowing movements.

6) From the results above mentioned it can be considered that the intestinal effects are elicited under the following reflex mechanism;

The afferent impulses from the wall of the mouth cavity and pharynx are conducted along the superior laryngeal, the second (Nn. palatini) and the third (Nn. lingualis) branches of the trigeminal and the glossopharyngeal nerves into the medulla oblongata. One group of them arrives at the dorsal motor nucleus of the vagus which innervates the small intestine, and another at the sympathetic center. The former gives excitatory influence upon the intestinal motility through the vagi, and the latter gives inhibitory one through the splanchnic nerves. And the intestinal effect is determined whether the grade of excitation of a center surpasses another or not.

(Department of Physiology, Faculty of Medicine, Tottori University, Yonago)

正常呼吸中枢の化学的刺激の呼吸運動に及ぼす影響 612.284

The Effect of Direct Chemical Stimulation of the Respiratory
Center upon the Respiratory Movements.

馬 場 三 郎 (Baba-Saburo)*

I. 緒 言

われわれ^{1) 2)}は脳幹の切断実験によって正常呼吸中枢が橋脳と延髄の境界部位にあたる聴条の高さにあることを報告したが、福原等^{3) 4)}は電気的凝固破壊実験によって正常呼吸中枢が聴条の高さの外側網様体の神経細胞群に局在することを示した。

Comroe⁵⁾は Pitts, Magoun 及び Ranson⁶⁾の電気的刺激実験によって示された呼吸中枢部位即ちオリブ核の嘴側4/5を蔽う延髄網様体を電気的並びに化学的に刺激し、この部位が他にくらべて最もよく反応をおこすという。

福原等の中枢部位の電気的刺激並びにその活動電流については既に福原等^{7) 8)}によって報告されたが、私はこの部位を諸種の化学物質によって刺激し更に Comroe の化学的刺激実験を追試した。

II. 実験方法

Urethane を体重 1kg につき 1g の割合に皮下に注射して麻酔したネコを、四丘体の真中で脳幹を切断して除脳した

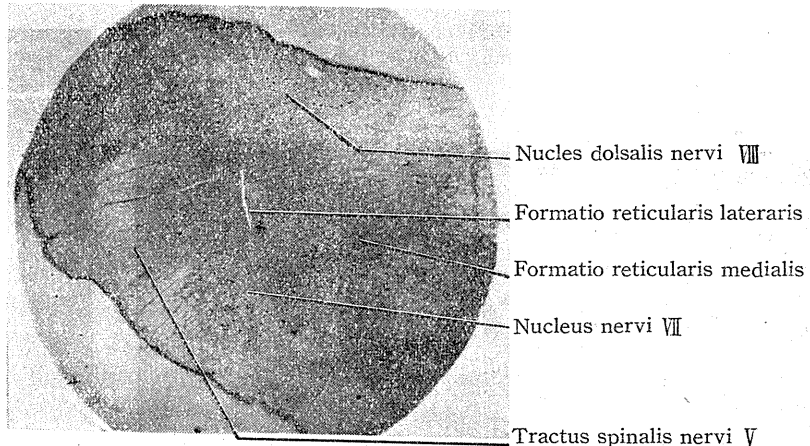
(60例)。除脳手術は先にわれわれ^{1) 2)}が記載した方法による。なおこのさい出血をできるだけ少くするために、両側の椎骨動脈を露出し脳手術中これをクレンメではさむことによって脳の

血流を一時的に阻止した。時には除脳しないネコを用いた (7例)。除脳後、後頭骨の一部を除去し小脳を露出した。ついで硬脳膜をはがし小脳虫部及びその側方に位置する小脳実質をとり去ることによって聴条部位を露出する。露出部位をできるだけ生理的に保つために、あたためられた Ringer 液に浸した綿で蔽い電燈をその附近において冷却を防いだ。

諸種の化学物質を 1/5 の注射針をとりつけた 1 cm³ の注射器に入れ、10~5mm³ の微量を正常呼吸中枢部位及びその他の延髄の諸部位に注入した。

実験に用いた化学物質を大別すれば次の如くである。

1. CO₂ を充分に含ませた溶液



第1図 化学物質注入部位を示す組織像
正常呼吸中枢部位 (左側) に CO₂-NaHCO₃ 溶液を注入し著明な呼吸促進 (第2図 a) が現われた刺入部位 (×印背方の傷) を示す。拡大20倍

2. アルカリ性溶液と酸性溶液
3. 所謂中枢性呼吸興奮剤と麻酔剤
4. 自律神経剤

化学物質の注入部位を確かめるために4例について組織標本を作成した。即ち脳幹を formalin

* 鳥取大学医学部生理学教室 (米子)

で固定し palaffin 包埋を行った後、 30μ の連続切片標本を作成し Nissl 染色を行った(第1図)。他は悉く刺入部位に墨汁を注入し formalin 固定後、肉眼的に部位を確めた。

横隔膜背矢の収縮弛緩を呼吸運動の標示と

し⁹⁾、血圧を頸動脈から水銀圧力計によって描記した。

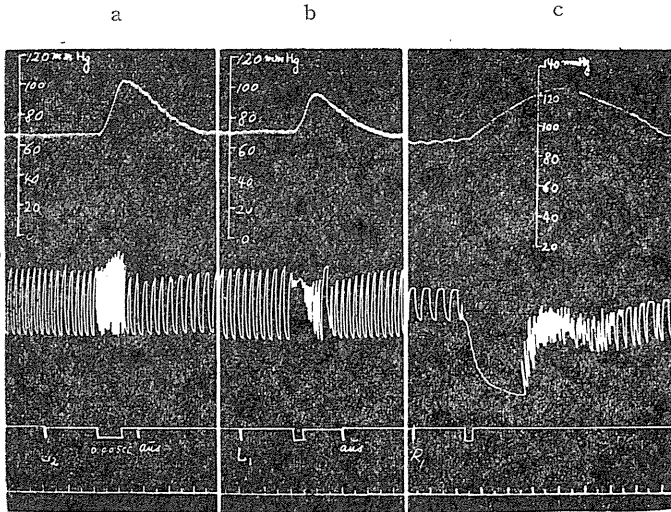
III. 実験結果

A. CO_2 を充分に含ませた溶液による刺激効果

最も顕著な反応を示したものは1.3%の重曹水にpHが約7.4になる程度に CO_2 を含ませた溶液である(第2図)。

これにつづいて顕著な促進効果を示したものは CO_2 を夫々0.123Mの第2磷酸ソーダ溶液、0.2Mの醋酸ソーダ溶液、3.8%の枸橼酸ソーダ溶液或いは1.3%の炭酸ソーダ溶液に充分含ませたもの(pHが約7.2~7.6)である(第3図)。

CO_2 を0.65%の苛性ソーダ溶液或いは0.05Mの硼砂溶液にpHが約7.4になるまでふくませたものでは僅かに促進効果が認められた(第4図)。

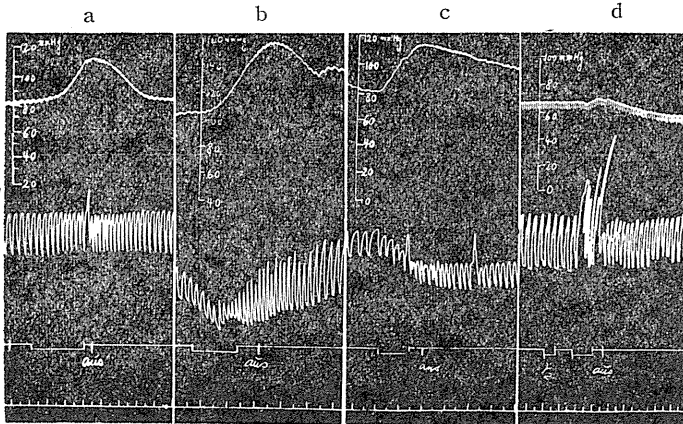


第2図 CO_2 - NaHCO_3 溶液の呼吸中枢刺激効果を示す図

a:極めて徐々に注入した場合の効果. b:徐々に注入したさいの効果. c:急激に注入したさいの効果

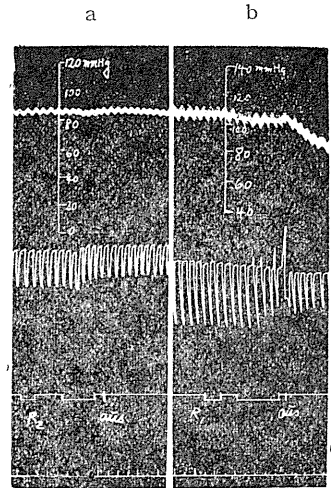
a, bは実験12, 1952.9.24. ネコ体重1.6kg 室温26°C 除脳していない. cは実験10, 1952.9.22. ネコ体重2.5kg 室温24°C 除脳

上の曲線は血圧, 中の曲線は横隔膜の収縮(上向は収縮, 下向は弛緩を示す). 下の曲線は化学物質の注入期間を示し, その前後の印は注射針の挿入と抜去を示す. 時標は3秒



第3図 CO_2 - Na_2HPO_4 溶液等の呼吸中枢刺激効果を示す図

aは CO_2 -0.123M Na_2HPO_4 溶液[実験51]1953.5.14. ネコ2.5kg 室温28°C 除脳. bは CO_2 -0.2M CH_3COONa 溶液[実験67]1953.7.26. ネコ2.0kg 室温27°C 除脳. cは CO_2 -3.8%枸橼酸ソーダ溶液[実験40]1953.4.10. ネコ2.1kg 室温28°C 除脳. dは CO_2 -1.3% Na_2CO_3 溶液[実験38]ネコ1.2kg 室温28°C 除脳. 曲線の説明は第2図と同様



第4図

CO_2 - NaOH 溶液等の呼吸中枢刺激効果を示す図

aは CO_2 -0.65% NaOH 溶液[実験50]1953.5.7. ネコ3.1kg 室温23°C 除脳. bは CO_2 -0.05M $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 溶液[実験53]1953.5.19. ネコ3.0kg 室温25°C 除脳. 曲線の説明は第2図と同様

蒸留水, Ringer液, 0.263M の枸橼酸に0.123M の第2 磷酸ソーダ溶液を加えた血清と等滲透圧の温血動物用緩衝剤¹⁰⁾や Na を含まない血清と等滲透圧のアルカリ溶液に CO₂ を充分に含ませた溶液によっては, 呼吸及び血圧に何等の変化も認められなかった。

最も著明に反応を示したCO₂-1.3%NaHCO₃ 溶液 (pH=7.4) の効果について詳しくのべることにする。

1. 正常呼吸中枢部位の刺激効果

極めて徐々に注入した場合には, 注入と同時に呼吸は著明に頻数をまし注入期間中これがつづく (第2 図 a). 時には注入と同時に一過性に殆んど強直様収縮をおこし, ついで呼吸頻数増加がおこる (第2 図 b). 注入後多くは30~60秒間位頻数増加がつづき, 徐々に注入前のリズムにもどるが第2 図 a のように却って呼吸がのろくなることもある. 呼吸振幅には著しい変化がみられないことが多いが, 振幅が大きくなって頻数増加をおこすこともある。

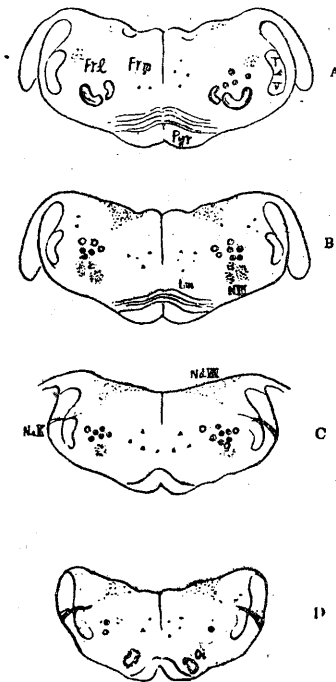
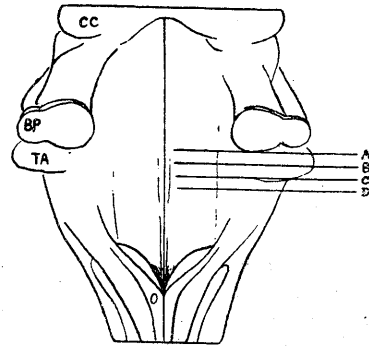
血圧は注入と同時に急激に上昇し (平均20~30mmHg) 徐々にもとにもどるが心搏動に著変はみられない。

急激に溶液を注入すると一過性に呼吸は抑制されて呼吸性停止をおこし, ついで呼吸頻数増加をみる (第2 図 c). この際も勿論血圧の上昇は著明に現われる. 第2 図 c は注入直後呼吸頻数増加と共に嚔下運動及び唾液分泌が暫くの間続いた例である. Greving¹¹⁾ によれば嚔下中枢は灰白翼より嘴側の弧束にそって呼吸中枢に近接してあり, 又 Wang¹²⁾ の電氣的刺激実験によれば唾液分泌中枢は顔面神経核の高さの背側網様体にあるという. これらの事実からわれわれの正常呼吸中枢の近くに嚔下中枢及び唾液分泌中枢が接して存在すると考えられるのである。

次に著明な呼吸促進効果を生じた CO₂-アルカリ溶液を注入した部位並びにその効果を第5 図にまとめて示した。

2. 延髄諸部位の刺激効果

a. Comroe, Pitts 等の延髄網様体の呼吸中枢部位



第5 図

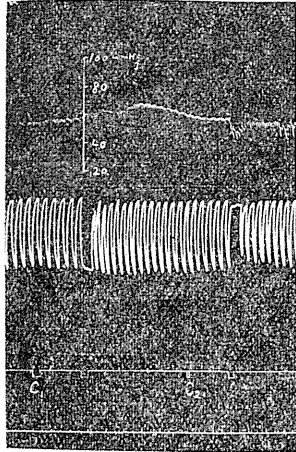
CO₂-NaHCO₃ 溶液等の刺激部位並びにその効果を示す図

最上の図はネコの脳幹背面図で以下の図は横断線 (1mm 間隔) に該当する横断面上に存在する刺激部位とその効果を示す. ●は著明な促進効果. ○は促進効果の認められたもの

- Bp : Brachium pontis
- CC : Colliculus caudalis
- Frl : Formatio reticularis lateralis
- Frm : Formatio reticularia medialis
- NVII : Nucleus nervi VII
- NdV : Nucleus dorsalis nervi VIII
- O : Obex
- Oi : Nucleus Olivae
- Pyr : Pyramis
- TA : Tuberculum acusticae
- TsV : Tractus spinalis nervi V

これらの部位の刺激効果は上にのべたわれわれの中枢部位の効果に比較すれば、いづれも軽度で又一過性のことが多い。血圧の変化も極めて軽微、(第6図)。

Comroe は呼吸中枢を Pitts 等のいう吸息中枢と呼吸中枢の2つに分けて観察をしていない



第6図

Pitts, Comroe のいう呼吸中枢部位の刺激効果を示す図

[実験7] 1952. 9. 15. ネコ体重 1.2kg 室温 25°C 除脳, 曲線の説明は第2図と同様

呼吸曲線の前半部は Pitts 等の呼息中枢部位の刺激効果, 後半部は吸息中枢部位の刺激効果を示す

が、私の実験では彼等のいう吸息中枢部位には一過性の促進効果のみ、呼息中枢部位には促進効果、抑制効果及び促進ついで抑制効果の3様の効果がみられた。

b. 孤東核附近の刺激効果

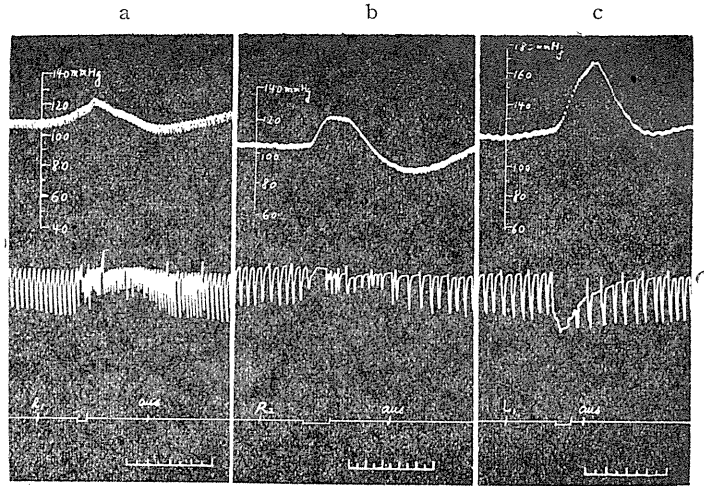
徐々に小量を注入すると著明な呼吸頻数の増加を生じ(第7図a) 量をまして注入すると一過性の強直様収縮をおこし(第7図b), 更に量をまし而も急激に注入すると呼

吸は一過性に抑制される(第7図c). 血圧は量をますにつれて著明に上昇する。

B. アルカリ性溶液と酸性溶液

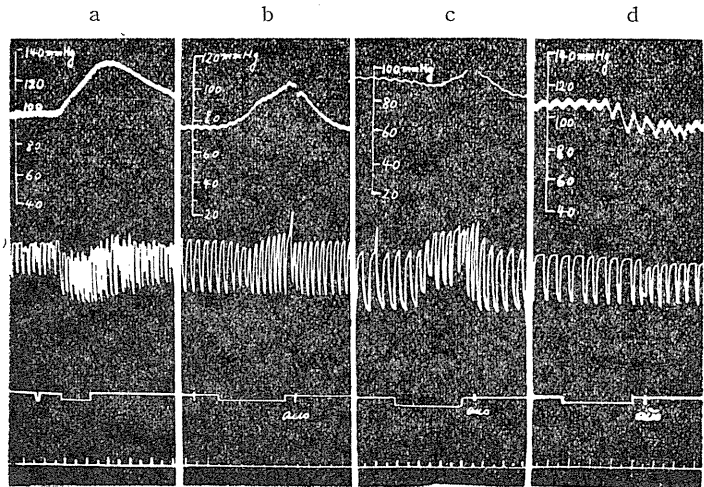
1. アルカリ性溶液による刺激効果

血清と等滲透圧の予備アルカリ溶液即ち 1.4%の重曹水(第8図aと第9図)及び 0.123M



第7図 孤東核附近の CO₂-NaHCO₃ 溶液の刺激効果を示す図

[実験26] 1953. 2. 26. ネコ 3.2kg 室温 28°C 除脳
a は約 5mm³ の CO₂-NaHCO₃ 溶液を徐々に注入した. b は約 8mm³ の CO₂-NaHCO₃ 溶液を注入した. c は急激に約 10mm³ を注入した. 曲線の説明は第2図と同様



第8図 重曹水等の呼吸中枢の刺激効果

a : 1.4%重曹水 [実験21] 1952. 10. 20. ネコ 3.1kg 室温 24°C 除脳. b : 0.123 M第2 磷酸ソーダ溶液 [実験51] 1953. 5. 14. ネコ 2.5kg 室温 28°C 除脳. c : 0.2M醋酸ソーダ溶液 [実験62] 1953. 6. 18. ネコ 2.5kg 室温 25°C 除脳. d : 0.05 M硼砂溶液 [実験54] 1953. 5. 19. ネコ 2.4kg 室温 25°C 除脳. 図の説明第2図と同様

の第2 磷酸ソーダ溶液 (第8 図 b) が著明な呼吸促進を生じ, 0.2Mの醋酸ソーダ溶液 (第8 図 c) がこれらにつづいて著明な作用を示す. 0.05 Mの硼砂溶液では僅かに効果が認められた (第8 図 d). その他の等滲透圧のアルカリ性溶液即ち 1.3% の炭酸ソーダ, 3.8% の枸橼酸ソーダ, 0.65% の苛性ソーダ, 0.9% の苛性カリ等の溶液

溶液による呼吸中枢部位及び弧束核附近の刺激のさいにも, 注入の速度と量を変える事によって上に述べた様な一連の効果をj得ているのである. この様に中枢神経系に直接注入する化学物質の濃度, 量及び速度を変える事によって一連の現象がみられる事は興味ある問題であろう.

なお重曹溶液の呼吸中枢部位の刺激閾値濃度は 0.55~0.65% であつた.

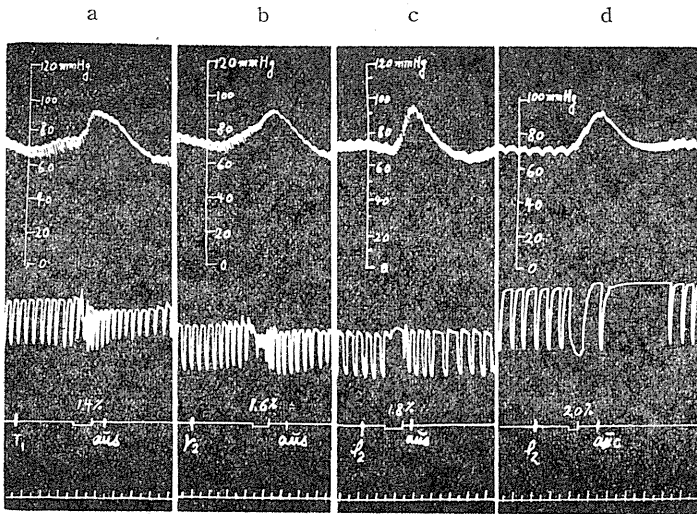
2. 酸性溶液による刺激効果

a. 塩酸及び乳酸

塩酸, 乳酸の N/1000, N/100 の溶液では呼吸, 血圧には全く変化がみられないが, N/10 の溶液を注入すると呼吸運動はのろくなるか或は全く停止し, 遂には gasping 様の呼吸が現われてくる (第11 図 a).

b. 酸性緩衝溶液

M/15 の第1 磷酸カリ及び 0.263M の枸橼酸溶液を注入すると呼吸は僅かにのろくなり, gasping 様呼吸が呼吸曲線に重疊してくる (第11 図 b).



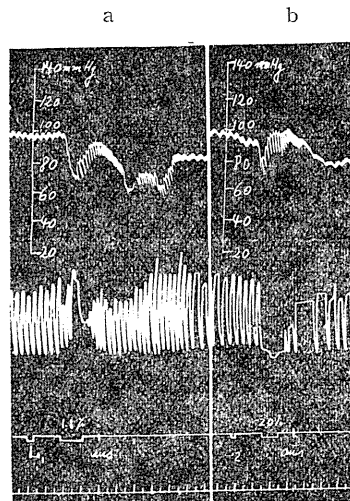
第9 図 種々の濃度の重曹水の呼吸中枢刺激効果 [実験27] 1953. 2. 27. ネコ 1.9kg 室温28°C 除脳. aは1.4%, bは1.6%, cは1.8%, dは2.0%の重曹水による刺激効果を示す. 曲線の説明は第2 図と同様

によつては呼吸及び血圧に何等の変化も認められなかつた. 重曹水の刺激効果について詳しく述べることにする.

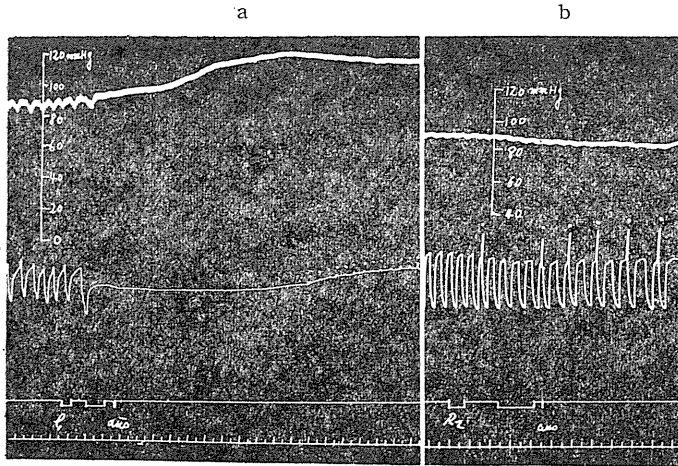
1.4% の重曹水を徐々に注入すると同時に呼吸頻数の増加がocこり (第8 図 a, 第9 図 a) 又血圧が上昇するが (平均20mmHg) CO₂ を重曹に含ませた溶液の効果に比較すれば軽度である. 重曹溶液の濃度が 0.55% から 1.4% 位までは呼吸頻数増加がocこるが (第9 図 a), 濃度をまして行くと強直様収縮即ち吸息性呼吸停止の傾向を示すようになる (第9 図 b 及び c). 更に濃度をますと遂には一過性の呼吸抑制即ち呼息性停止をみる (第9 図 d).

濃度を変えることによってみられたこのような一連の効果は弧束核附近の刺激によつてもみられた (第10 図).

又, 先に述べたように CO₂ を含ませた重曹の



第10 図 種々の濃度の重曹水の孤束核附近の刺激効果 [実験32] 1953. 3. 11. ネコ 2.1kg 室温 27°C. aは1.8%, bは2.0%重曹水の刺激効果. 曲線の説明は前図に準ずる



第11図 酸性溶液の呼吸中枢刺激効果

a はN/10 HCl [実験43] 1953. 4. 18. ネコ 2.7kg 室温 28°C ・印は
b はM/15 KH_2PO_4 [実験56] 1953. 5. 22. ネコ 0.5kg 室温 26°C
曲線の説明は前に準ずる

即ち酸性溶液は呼吸中枢に抑制的に作用すると考えられる。

C. 所謂中枢性呼吸興奮剤と麻酔剤の効果

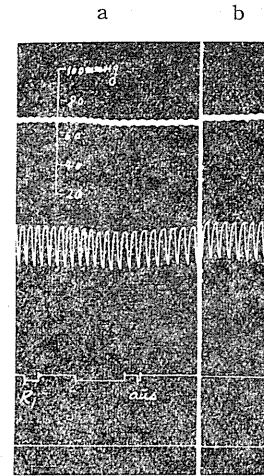
1. 中枢性呼吸興奮剤

Aminocordinum (1%, 5%, 10%, 25%), strychnine (1.0~0.1%), atmulatin (1.0~0.1%), 10%の pentazol, 0.5%の vitacampher を中枢部位に注入したが, 呼吸及び血圧には何等直接的变化はみられなかったが, 0.1%の atmulatin 注入後 1~2 分たつてしばしば一過性の強い hyperpnea が現われた。

2. 麻酔剤

1%の塩酸 morphine (第12図), 25g/dl の urethane, 5%の抱水 chloral, 0.003%の Tubocurarin chlorid Ringer, 10%の phenobar, 9%の cyclopannatrium 等の溶液ではいずれも第12図にみられるように中枢部位に注入するとまもなく呼吸運動はのろくなり次第にこの傾向がよくなるが (第12図 a), 1~2分後には徐々にもとにもどる (第12図 b). 血圧は注入と同時に僅かに下降するが呼吸の恢復とともに正常にかえる。即ち麻酔剤は呼吸中枢の興奮性を低下せしめ呼吸運動をのろくさせる作用をもつものと考えられる。

なお 10% の phenobar 溶液には溶媒として



第12図

塩酸morphineの呼吸中枢注入の効果

[実験51] 1953. 5. 14. ネコ 2.5 kg 室温 26°C 除脳. a は注入効果. b は注入後1分たつて呼吸血圧のもとにもどつたことを示す. 曲線の説明は前に準ずる

propylenglycol

および benzylalcohol が含ま

れているが, これらの呼吸中枢に及ぼす作用は検討していない。

D. 自律神経剤

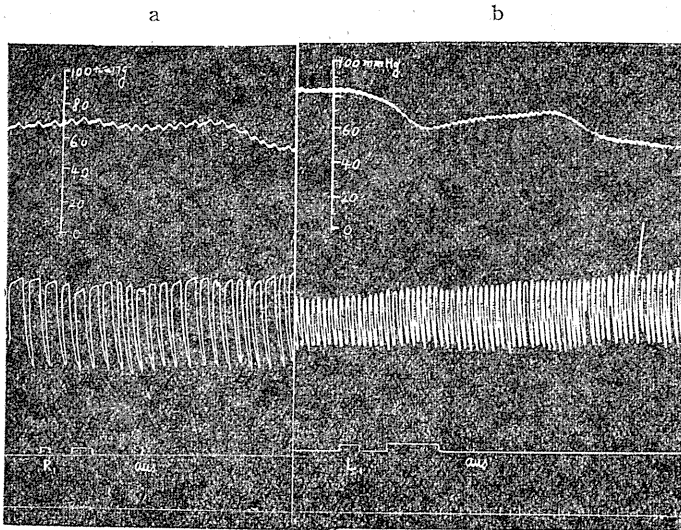
1. Adrenalineと acetylcholin 溶液の刺激効果

1000乃至2000倍の塩化 adrenaline溶液, 1~2%の塩化 acetylcholin 溶液の中枢部位注入によっては呼吸及び血圧に直接的な効果はみられなかったが, 10%の塩化 acetylcholin 溶液を注入するとしばらくして軽度の呼吸頻数増加の傾向を示した (第13図). このさい第13図 a にみるように, 必ずしも Comroe のような著明な血圧下降 (第13図 b) を伴うとは限らない。

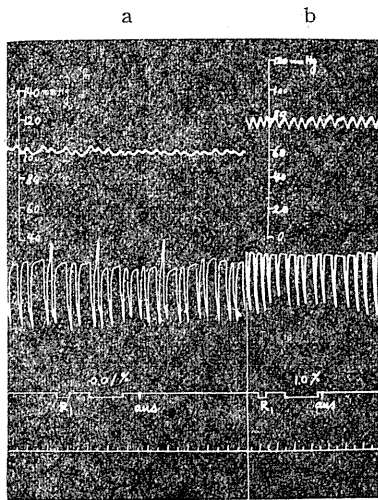
いずれにしても注入直後に軽度の呼吸促進の傾向が認められている点は Comroe の成績と異なるものである。

2. Nicotine 溶液

0.01% の nicotine溶液の注入と同時に呼吸は僅かに頻数をますが (第14図 a), 0.1~1.0% の nicotine 溶液では呼吸はむしろのろくなる (第14図 b). なお nicotine溶液の注入後 1~2 分を経てはげしい痙攣を伴う hyperpneaをみること



第13図 10%の塩化 acetylcholin 溶液の呼吸中枢刺激効果
 [実験25] 1953. 2. 19. ネコ 2.9kg 室温 22°C 除脳. a は血圧に著変なく軽度の呼吸促進の傾向が認められたもの. b は著明な血圧下降を伴つて呼吸促進の認められたもの. 図の説明は前に準ずる



第14図 Nicotine 溶液の呼吸中枢刺激効果
 [実験46] 1953. 4. 23. ネコ 2.1kg 室温28°C 除脳
 a は0.01%溶液の注入により呼吸が軽度に促進したことを示す. b は1.0%溶液の注入により呼吸がのろくなったことを示す. 曲線の説明は前に準ずる

があった。

IV. 論 議

A. 福原等の提唱する正常呼吸中枢部位が上にのべた CO₂ を含む溶液によって最も著明な呼

吸反応をおこすことは第1に注目しなければならない事実である。Comroe は CO₂-NaHCO₃ 溶液の刺激によって Pitts, Magoun および Ranson のいう延髄網様体の呼吸中枢部位が他の部位と比較して最もしばしばと immediate hyperpnea を起すとのべている事実はそうではない。これらの部位の効果は福原等の呼吸中枢部位のそれに比較すれば明かに軽度で而も一過性のことが多いのである。

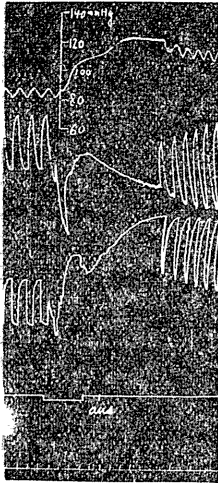
第2に呼吸中枢部位や弧束核附近を、CO₂ を充分含ませた重曹水の注入速度、或は重曹水の注入量及び濃度を変えて刺激することによってみられた一連の

現象は、延髄内の化学的的刺激によって呼吸運動の変化を観察している研究者^{5) 13) 14) 15) 16)}の何人にも発見されなかった新しい事実である。そしてこの一連の効果は先に福原等がこの中枢部位を電気的刺激のつよさを定めることによってみた現象と原理的に軌を一にするものと考えられ興味ある事実である。

しかし中枢部位を直接化学的に刺激するさいには、注入液が注入部位のみならずその周囲の組織に滲透したり、或は注入部の毛細管内に滲透して毛細管の分布領域に運ばれてそれらの部位をも刺激することが考えられる。従って注入部位の刺激効果をもって直ちに呼吸中枢の神経細胞自身の刺激効果ということはできない。これにつながる遠心性線維或は求心性線維の末端及びその融合部が神経細胞と同時に刺激されることも考えなければならないのであって、これはこの種の実験に共通な欠点であろう。

第3に延髄網様体を、CO₂ を充分含ませた重曹水によって刺激してみられた諸効果は私の電気的刺激¹⁷⁾によってみたものと一致している。Pitts 等の吸息中枢部位でみられた促進効果は脊髄の遠心路⁸⁾ にあたる部位即ち脊髄側角の外

側に接する網様体の化学的刺激による効果 (第15図) によく似ている. 従って Pitts 等の吸息中枢部位の効果を細胞自身の刺激によると考えるよりはむしろ呼吸に関する遠心性の神経線維



第15図
CO₂-NaHCO₃溶液の呼吸遠心路刺激効果

〔実験66〕1953. 6. 30. ネコ 2.4kg 室温 26°C 除脳. 上の曲線は血圧; 中の曲線は胸廓の呼吸運動で上向が呼息, 下向が吸息; 下の曲線は横隔膜の収縮 (上向) 弛緩 (下向) を示す. 刺激部位は第2頸髄の高さで左側の側角の外側の網様体附近

CO₂による呼吸促進は血液中の水素イオンの増加が呼吸中枢を興奮せしめるに因るという Campbell, Douglas, Haldan 及び Hobson¹⁸⁾の考えは, 既に Comroe によって批判されているように酸性溶液が全く効果がないかむしろ抑制的に作用する事から否定されるべきであろう.

これに対して Comroe は炭酸イオンをあげているが私の実験では第2磷酸ソーダ溶液及び醋酸ソーダ溶液が著明な促進作用を示すことから炭酸イオンのみでも説明ができない.

Gesell 等¹⁹⁾は呼吸中枢細胞はその環境が至適酸性状態にあるときは acetylcholin により興奮するが, 環境がよりアルカリ性に傾くときには

と考えるのが妥当であろう.

又 Pitts 等の吸息中枢部位でみられた諸効果は私の電氣的刺激の論文でのべたように呼吸に関係する求心路 (たとえば弧束核) 或いは中枢相互間の連絡路の興奮によっておこるものと考えられる.

上述の諸点を総括して化学的刺激の立場からも聴条の高さの外側網様体に正常呼吸中枢が存在すると考えられるのである.

B. このような前提のもとに私の実験成績から呼吸の化学的調節に関する諸説を批判してみよう.

acetylcholin が破壊されてしまうので中枢細胞の興奮性が低下すると酸性状態における acetylcholin の存在を重視している. 所が私の成績では pH が 8.0 以上の血液中の予備アルカリによって著明な呼吸促進をおこしており又, 高濃度の acetylcholin 溶液によっては僅かに促進の傾向が認められるにすぎないことから氏等の仮説は成立しない.

私の成績では Na を含む血液中の予備アルカリ即ち重曹, 第2磷酸ソーダの等浸透圧の溶液が最も著明な呼吸促進作用を示し, 而もこれらの溶液に CO₂を充分に含ませたものはより一層著明な効果を現わしている. そこで私は, 肺泡より血液中にとけこんだ CO₂の一部は重曹となり生体に恒存する重曹の量を増加せしめ, 一部はガス分子の状態のまま重曹, 第2磷酸ソーダ等の血液中の予備アルカリとの共存のもとで呼吸中枢を興奮させるものと考えられる.

C. 所謂中枢性の呼吸興奮剤を正常呼吸中枢部位に注入してもまったく変化が認められないのはその作用部位が末梢の化学的受容器にあるためではなからうか. 私の成績では lobelin や nicotine を中枢部位に与えたさい注入中およびその直後には全く変化はみられないが, 注入後 1~2分経ると屢々 hyperpnea が現われること及び甲斐田¹³⁾の大槽内注入によって現われる呼吸促進は多くは 1~2 分後であること等はいずれも反射によって起る現象であると考えるのが妥当であろう.

これに反して中枢性麻酔剤は正常呼吸中枢の興奮性を低下せしめるものと考えられる.

D. 次に Comroe 等は acetylcholin 及び nicotine の呼吸促進作用を全く反射性のものと考えているが, 私の成績では低濃度の nicotine 溶液及び高濃度の acetylcholin 溶液の中枢部位注入によってわずかに呼吸促進がみとめられたことからすれば, これらの作用機序は単に化学的受容器からの反射のみではない. すでに Heymans 等²⁰⁾によって指摘されているように呼吸中枢もその一部に与るものと考えるのが妥当であろう.

V. 結 論

福原等によって提唱された聴条の高さの外側網様体に位置する呼吸中枢及びその他の延髄諸部位に微量の化学物質を直接注入して呼吸運動及び血圧の変化を観察して次の結果を得た。

1. 正常呼吸中枢部位の刺激効果は延髄諸部位の効果中最も著明である。

2. 呼吸促進効果をおこした化学物質は次の如くである。

a. CO_2 を pH が 7.4 になるまで充分に含ませた 1.3% の重曹溶液が最も著明な効果を示した。

b. CO_2 を夫々 0.123M の第 2 磷酸ソーダ, 0.2M の醋酸ソーダ, 1.3% の炭酸ソーダ及び 3.8% の枸橼酸ソーダの溶液に充分含ませたもの (pH が 7.2~7.6) が a について著明な効果を示した。

c. 血液中の予備アルカリ即ち重曹水及び第 2 磷酸ソーダ溶液 (何れも血清と等滲透圧となしたものが b に次で著明な効果を示した。

d. CO_2 を夫々 0.65% の苛性ソーダ, 0.02M の硼砂の水溶液に含ませたものは僅かに促進効果を示した。

e. 低濃度の nicotine 及び高濃度の acetylcholin の水溶液は僅かに呼吸促進の傾向を示した。

3. 呼吸抑制の傾向を示したものは麻酔剤及び酸性溶液である。

4. 所謂中枢性呼吸興奮剤は呼吸及び血圧になら直接的な反応を示さなかった。

以上の成績から、従来の呼吸の化学的調節に関する諸学説を批判し、血液中の予備アルカリが呼吸の化学的調節に重要な役割をもつことを指摘した。

この研究に御指導を賜った 恩師福原武先生に厚く感謝いたします。

文 献

- 1) 福原 武・中山 沃・馬場三郎・小田中貞 (1951) 脳幹切断の呼吸運動に及ぼす影響 日本生理誌 13, 454
- 2) Hukuhara, T., S. Nakayama, S. Baba and T. Oda-

naka (1951) On the localization of the respiratory center. Jap. J. Physiol. 2, 44

- 3) 福原 武・角 忠明・岡田博匡 (1953) 呼吸中枢の所在 日本生理誌 15, 196
- 4) Hukuhara, T., T. Sumi and H. Okada (1953) Further studies on the localization of the respiratory center. Jap. J. Physiol. 3, 138
- 5) Comroe, J. H. (1943) The effects of direct chemical and electrical stimulation of the respiratory center in the cat. Am. J. Physiol. 139, 490
- 6) Pitts, R. F., H. W. Magown and S. W. Ranson (1939) Localization of the medullary respiratory centers in the cat. Am. J. Physiol. 126, 689
- 7) 福原 武・角 忠明・岡田博匡 (1953) 正常呼吸中枢の電気的刺激的呼吸運動に及ぼす影響 日本生理誌 15, 334
- 8) 福原 武・中山 沃・岡田博匡 (1953) 正常呼吸中枢及びその延髄・脊髄内遠心伝導路の活動電位 生体の科学 5 (掲載予定)
- 9) 福原 武 (1950) 一新呼吸運動描記法 日本生理誌 12, 206
- 10) 吉村寿人 (1948) pH の理論と測定法 東京
- 11) Greving (1920) Die Innervation der Speiserohre. Ztschr. f. angewandte Anat. u. Konstit. 5, 327
- 12) Wang, S. C. (1943) Localization of the salivatory center in the medulla of the cat. J. Neurophysiol. 6, 195 Fulton's Text book of physiology (1950) 16th ed. Philadelphia and London より引用
- 13) 甲斐田 涉 (1950) 薬物の直接応用による呼吸及び血管中枢の薬理学的研究 医学研究 21, 32
- 14) Gurdjian, E. S. (1927) Effect of the mal and chemical application to the exposed medulla of the dog. Am. J. Physiol. 82, 61
- 15) 原口 栄 (1933) 諸種薬物による迷走神経核の直接適用が血圧及び呼吸等に及ぼす影響について 長崎医学誌 11
- 16) Dikshit, B. B. (1934) Action of acetylcholin on the brain and its occurrence therein. J. Physiol. 80, 409
- 17) 馬場三郎 (1953) 延髄刺激の呼吸運動に及ぼす影響 日本生理誌 15, 338
- 18) Campbell, J. M. H., C. J. Douglas, J. S. Haldane and F. G. Hobson (1913) The response of the respiratory center to carbonic acid, oxygen and hydrogen ion concentration. J. Physiol. 46, 301
- 19) Gesell, R., C. R. Brassfield and M. A. Hamilton (1942) An acid-neurohumoral mechanism of nerve cell activation. Am. J. Physiol. 136, 604
- 20) Heymans, C., J. J. Bouckaert, et L. Dantrebande (1931) Sinus carotidien et réflexes respiratoires: sensibilité des sinus carotidiens aux substances chimiques, action stimulante respiratoire réflexes du sulfure de sodium, du cyanure de potassium, de potassium, de la nicotine et de la lobéline. Arch. internat. Pharmacodyn. 40, 54

Summary

The minute amounts of chemicals were injected into the regions of the respiratory centers previously ascertained by Hukuhara et al. and other regions of the medulla oblongata, and their effects upon the respiratory movements and the blood pressure were observed. The results were summarized as follows:

1) The most remarkable effects were obtained in the case of the injection of chemicals into the regions of the respiratory centers.

2) Acceleratory effects were observed by the administration of following chemicals:

a. The most effective one was a 1.3 per cent solution of sodium bicarbonicum buffered to pH 7.4 by CO_2 .

b. Second to this solution was isotonic alkaline solutions which contained sodium (nat. phosphoricum dibasicum, nat. aceticum, nat. citricum or nat. carbonicum) buffered to pH 7.2-7.6 by CO_2 .

c. Slightly remarkable responses than b. were observed by the solutions of the alkali reserves of the blood (nat. bicarbonicum, nat. phosphoricum dibasicum, etc.).

d. Slight acceleratory effects were observed by the solutions of nat. causticum and nat. tetraboricum each buffered to pH 7.2-7.6 by CO_2 .

e. The tendency to a slight acceleratory effect was observed by low concentric solution of nicotin or high concentric solution of acetylcholin.

3) Inhibitory effects were observed by the injection of central narcotics or various acid solutions.

4) No effects were observed by the injection of so-called central irritants.

Owing to the results mentioned above, the general concepts as to chemical control of respiration were criticized and was pointed out that the alkali reserves of the blood played an important rôle concerning chemical control of respiration.

(Department of Physiology, Faculty of Medicine, Tottori University)

疲労の電気化学的研究 (第17報) 612-463 蛋白質分解過程より見た小川膠質法, Donaggio-佐藤-吉川法 並に阿知波法間の相関性に就いて (その3)

Electro-chemical Researches into Fatigue. Report 17. No. 3.
On the Relation between Ogawa's Colloidal, Donaggio-Sato-Yoshikawa's and
Achiwa's Method from point of view of the Hydrolysis of Proteins.

阿知波 繁一 (Achiwa-Shigeichi)*

I. 緒 論

本研究の其の1では蛋白の分解過程を6段階¹⁾として各反応 (D.R, O.R, A.R) の陽性物質を定性的に示した²⁾。

其の2では各反応の最高値を示す附近の分解産物を定量して陽性物質として捕捉しているものの組織を明らかにした³⁾。

O.Rの陽性物質としては凡ての蛋白質及びその分解物に及ぶという報告がある⁴⁾。

A.Rに就いても同様なことが云える。

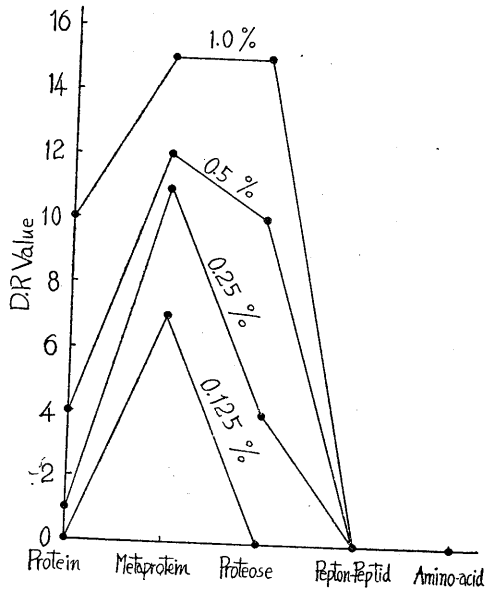
これを要するに各反応値は単一の分解物に対する値を示すものでなく其の作用範囲には相違

はあるが数種の分解生成物の反応陽性値の総合されたものであるということが出来る。然らばこれ等陽性反応物の中で更に何れが最も強陽性を示すかということが問題となる。今回はこの点を明らかにする為次の研究を行った。

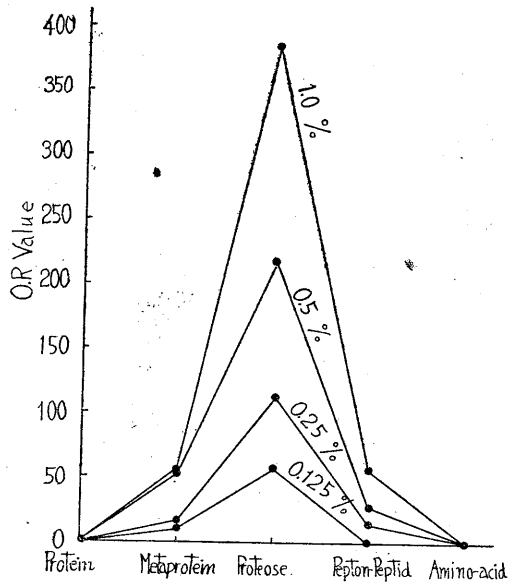
II. 実験の部

試料: 1%卵 Albumin 溶液を 0.2% HCl 酸性となし 100°C にて14時間加熱分解し, その生成物を著者が若干変形した Wasteney-Borsook 分劃法¹⁾にてそれぞれの段階の分解物を単独に分離精製したものをを用いた。

測定法⁵⁾: 以上の操作にて得た試料に就いて

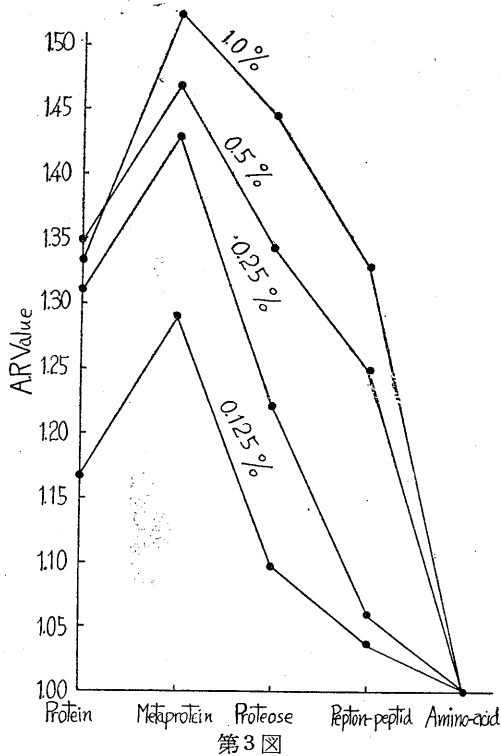


第1図



第2図

* 滋賀県立短期大学



第3図

D.R., O.R., A.R 法にて陽性値を求めた。

Ⅲ. 実験結果並に考察

得た結果を図に示すと第 1~3 図のようになった。

図から明らかな如く、即ち各反応は数種の分解物に陽性を示すが、その内でも D.R は Metaprotein 分割部が最も強く、次が Proteose であり Pepton 以下は陰性であった。これに関し Proteose の方が陽性度が高いだろうという報告⁴⁾もあるが本分割法により卵 Albumin より分解精製した試料に関しては Metaprotein 分割部が最陽性であった。

O.R (数示法) では Proteose が最も陽性を示し、Metaprotein と Pepton, Peptid 分割部は殆んど同一の弱陽性程度であった。

A.R の場合は Metaprotein が最も強く、次が Proteose, Pepton, Peptid の順であった。

Ⅳ. 総 括

今回をもってこの研究を総括するにあたり、そもそも本研究は疲労という複雑な現象を著者の測定法 (A.R) に依って一定の指標を得ようとするが目的であった。

さて疲労時又は疾病時に蛋白代謝に異常を来すことから考えて、この両者間の関係は未だ充分明らかでないにしても蛋白代謝物の様子を追跡することは第一になさるべき問題であろうと思うが、それに先立ち単純蛋白の人為的分解物 (分解段階を仮定して) の挙動をも電気化学的に追求することも又重大な意義があることと思う。従ってこれを以て代謝現象解析の一目安とたく、又他の化学的測定法に著者の法を併用した場合何れの試料にも極めて客観性のある結果を見出すことが出来た^{2) 3) 5) 6)} ので敢て本電気化学的測定法 (A.R) を提案する次第である。

然しながら代謝の如き極めて複雑な現象を完全に解析して疲労の本質を見極めることの重大さは将来に残された問題である。

本研究は 滋賀県大学研究費の 援助によつてなされたもので 茲に感謝の意を表すると同時に 測定に種々援助された本大学の 沢田和馬氏の 労を謝す。

文 献

- 1) Hardolph, Wastaney and Henry, Borsook (1924) A method for fractional analysis of incomplete protein hydrolysate. J. Biol. Chem. 62, 1
- 2) 阿知波繁一 (1952) 疲労の電気化学的研究 第17報 (其の1) 日本生理誌 14, 514
- 3) 阿知波繁一 (1953) 疲労の電気化学的研究 第17報 (其の2) 日本生理誌 15, 257
- 4) 小川 巖 (1949) 小川氏膠質反応に就て 名古屋大学環境医学研究所 22~23年報 85~86頁 学術研究会著; Donaggio-佐藤-吉川法に就て 厚生科学叢書 5, 81
阿知波繁一 (1949) 電圧滴定と其の応用 電気化学 18, 19
- 5) 阿知波繁一 (1953) 疲労の電気化学的研究 (第15報) 日本生理誌 15, 183
- 6) 阿知波繁一 (1952) 疲労の電気化学的研究 (第16報) 日本生理誌 14, 7

Summary

In part I of this research, report has been made on the qualitative results of the

decomposed substances grasped as matters of positive reaction by means of O.R., D.R., and my A.R. method respectively.

In part II, the decomposed substances, which correspond to the maximum of the positive values in each reaction, have been quantified, and their compositions clarified and determined.

To sum up the above two parts, each reactional value is the composite of positive values of several kinds of substances obtained by means of decomposition. In this part, therefore, researches have been made in order to make clear, one by one, what are the substances showing the strongest positivity among those of positive reaction, thus succeeding in ascertaining the following results, that is: —

Metaprotein is of the strongest positivity according to D.R. and A.R. methods, while proteose evidences the strongest according to O.R. method.

(Siga Prefectural Junior College, Hikone)

脱水素酵素に対する Urethane-抑制 (Methylene青-法) の疑義 612.015.11

Question of the Urethane Inhibition of Dehydrogenases.

嶋 越 美 夫 (Shimakoshi-Yoshio) *

I. ま え が き

脱水素酵素に対する urethane の態度に就いての研究は, Thunberg の所謂 methylene blue-法の発見に伴って, 門下生の D. Svensson¹⁾ により1923年初めて報告された。即ち, 馬の筋組織から得られた琥珀酸脱水素酵素の存在下に, urethane類が methylene blue (Mb) の無酸素的還元を著明に遅延させる事実を見出し, これは urethane が酵素活性を抑制することに基因するものと推論した。続いて蛙, 家兎²⁾, 犬³⁾, 羊⁴⁾ などの動物組織のみならず細菌 (B. coli)⁵⁾ 乃至は或種の植物種子⁶⁾ などから得られた各種の脱水素酵素に就いて広般な研究が行われ, 何れも同様の抑制効果が確認された。このようにして urethane は脱水素酵素の阻害剤として一般に理解されるようになったのであるが, その後 urethane に関する報告の見るべきものに接しない。

鎌倉等⁷⁾ は ethylurethane (U) の少量 (0.3~0.5g/kg) 投与が白鼠の超低圧 (145mmHg) 下生存に非常に有効である事実を見出したが, 一見したところ特異に見える U-低圧効果の機序を知る目的から本研究を企図した。差当って白鼠脳の脱水素酵素に対する U の態度を検討したところ, 従来成績とは相当趣の違った結果を得たので報告する。

II. 実 験 方 法

脱水素酵素の活性の測定は Thunberg の方法によった。

1) 酵素 150~220g の健常白鼠をもちいて, 断頭直後全脳を摘出し, 10倍量の冷却した Krebs-Ringer 又は Krebs-Ringer-phosphate

* 奈良医科大学生理学教室

液を加え, Potter-Elvehjem 型 homogenizer で冷却しながら homogenize し, モスリンで濾過したものを酵素原液とした。この原液を色素の種類, 従ってまた還元の難易に応じて適宜に稀釈して用いた。

2) 供与体 電子供与体としては glucose (G), lactate (L), pyruvate (P), succinate (S), glutamate (Gl) の5種を用い, その濃度は酵素活性に就いて飽和のものを選んだ。

3) 酸化還元色素 電子受容体としては通常用いられる methylene blue (Mb) の他に, nile blue (Nb), indigotetrasulphonate (It), thionine (Th), toluylene blue (Tb), indo-2,6-dichlorophenol-1-naphthol-2-sulphonate (I Na) の6種類とした。此ら色素の濃度は一般に $4 \times 10^{-5} M$ (終濃度) であるが, Nb 及び It を指示薬とした場合は還元時間の都合上 $2 \times 10^{-5} M$ に減量した。

4) その他 U の濃度は酸素消費に関する当教室の関連研究の場合と同一にする必要から 0.16M (終濃度) とした。pH はガラス電極で測定した。H型 Thunberg 管の一侧に酵素液及び緩衝液 (終 pH 7.5) を, 他側に色素, 供与体, U液を入れて排気し, 混合直後から褪色までの時間 (分) を求めた。

III. 実 験 成 績

A. Mb を電子受容体とする実験

従来の実験を追試する意味から, 型のように Mb を受容体として G, L, P, S, Gl の各々を供与体とする各脱水素酵素系について, その色素褪色時間に及ぼす U の影響を検査した。その結果は第1表に示された通り, 対照の場合も供与体添加の場合も一様に40乃至50%の範囲で明らかに阻害が認められる。この成績と従来とのそ

第1表 Methylene blue-脱水素酵素系に及ぼす urethane の影響

No.	*酵素液 (ml)	供与体 $10^{-1}M$ (ml)	Mb $10^{-3}M$ (ml)	U 2M (ml)	H ₂ O (ml)	磷酸緩衝液 pH 7.6 (ml)	褪色時間 (min)	**U抑制 (%)
1	0.5	0	0.1	0	0.3	1.6	32.0	}40
2	"	"	"	0.2	0.1	"	53.0	
3	"	gluc. 0.1	"	0	0.2	"	14.5	}43
4	"	"	"	0.2	0	"	25.5	
5	"	lact. 0.1	"	0	0.2	"	16.0	}44
6	"	"	"	0.2	0	"	28.5	
7	"	pyru. 0.1	"	0	0.2	"	15.0	}51
8	"	"	"	0.2	0	"	31.0	
9	"	succ. 0.1	"	0	0.2	"	17.5	}47
10	"	"	"	0.2	0	"	32.0	
11	"	glut. 0.1	"	0	0.2	"	26.5	}44
12	"	"	"	0.2	0	"	47.0	

* 5倍稀釈液を用う ** $V_c - V_U / V_c \times 100$ による。V_c, V_U は夫々U(-), U(+) 時の還元時間の逆数

れとを比較するに、U-濃度が同一であれば S-, 脱水素酵素 (筋^{1) 3) 4), Gl-脱水素酵素 (種子⁶⁾) などのU阻害度とはよく一致する。}

一方、脳(家兎²⁾)を用いた実験であってもUの濃度が違えば阻害度は一致しない。要するにMbを受容体とすればUは濃度に比例して明らかに脱水素酵素活性を抑制するように見える。

然し乍ら上記の成績をよく検討すると、Uを添加しない場合の色素還元速度が $G \approx L \approx P > S > Gl$ 対照のように明らかに相違しているに

拘らず、U-阻害は脱水素酵素の種類に関係なく略々一定であるのに気がつく。又、久保⁸⁾、鎌倉⁹⁾等の研究から、Thunberg法を実施するに当っては受容体としての色素のE₀'以外に所謂塩としての性質が考慮されるべきであるとの示唆を受ける。

B. 1Naを電子受容体とする実験

実験Aに於いて受容体として用いられたMbは塩基性色素であるから、今度は酸性色素である1Naを用いて同一実験を行った。その成績は

第2表 Indo-2,6-dichlorophenol-1-naphtol-2-sulphonate-脱水素酵素系に及ぼす urethane の影響

No.	*酵素液 (ml)	供与体 $10^{-1}M$ (ml)	1Na. $10^{-3}M$ (ml)	U 2M (ml)	H ₂ O (ml)	磷酸緩衝液 pH 7.6 (ml)	褪色時間 (min)	**U抑制 (%)
1	0.5	0	0.1	0	0.3	1.6	59.0	}- 9
2	"	"	"	0.2	0.1	"	54.0	
3	"	gluc. 0.1	"	0	0.2	"	65.0	}- 1
4	"	"	"	0.2	0	"	64.5	
5	"	lact. 0.1	"	0	0.2	"	46.0	}-39
6	"	"	"	0.2	0	"	33.0	
7	"	pyru. 0.1	"	0	0.2	"	51.5	}-27
8	"	"	"	0.2	0	"	40.5	
9	"	succ. 0.1	"	0	0.2	"	53.0	}-41
10	"	"	"	0.2	0	"	37.5	
11	"	glut. 0.1	"	0	0.2	"	46.0	}-33
12	"	"	"	0.2	0	"	34.5	

* 4倍稀釈液 ** -は促進

第2表に示すように、実験Aの場合とは全く対蹠的な結果となった。即ち、各供与体添加の場合には抑制はおろか明らかにUによる促進(G添加実験を除く)を示した。対照実験に於いても同様の傾向を示している。

本実験では一般に色素還元に要する時間が長く(第1, 第2表参照)且つ供与体添加による還元時間の短縮が軽度である点が目につく。例えば実験Aでは供与体添加による反応速度の増加が100%内外(GIの場合のみ28%)であるのに対して、本実験では僅かにその1/5程度(Gの場合は0)に過ぎない。これは酸性色素にしばしばみられる事実であるが、これらのことからU-阻害が現われ難くなることは一応考えられるとしても、30%以上にも達するU-促進の事実は説明困難である。むしろ奇異の感に打たれる。それは兎も角として、色素の種類によってUの態度が違ふ事実は注目されなければならない。

C. Nb, Th, Tb, It を電子受容体とする実験

前記A, Bの実験成績から考えて種類の違う酸化還元色素を出来るだけ多く選んで実験をすることが望ましい。その意味で更にNb, Th, Tb(以上塩基性色素), It(酸性色素)を受容体とする同一の実験を行った。約60分以内で色素が褪色するという条件のもとに、これらの色素と

受容体とした場合はU-阻害陽性であるが、Nbを用いた場合は酸性色素のそのように陰性を示したのである。その他Itの場合1Naの成績に較べて促進が明らかでない点及び塩基性色素の場合のU-阻害がMb>Th>Tbの順位傾向を示す点などが認められた。

IV. 考 察

実験成績が示したように、脱水素酵素に対するU-阻害はMb, Th, Tbの塩基性色素を電子受容体とした場合に認められ、1Na, Itの酸性色素を受容体とすればU-阻害は陰性であるか又は反対に促進が認められた。このことはU-阻害と色素の性質(酸性・塩基性)との間に或る関連が存在することを示している。しかし、塩基性色素ではあるがNbを受容体とすればU-阻害が陰性となる点を考えれば、単に色素の性質だけからUの作用を説明するわけには行かない。

Uの作用は、それが抑制的であると促進的であるとを問わず、供与体乃至は脱水素酵素の種類と無関係であるのみならず供与体添加の有無とも関係がない(第1~3表)。従ってUは、従来考えられているように、脱水素酵素そのものに作用するものではなくて言わば見掛けのものであろうとの想定が浮かぶ。一方、著者¹⁰⁾は同

第3表 各種脱水素酵素系に及ぼすurethaneの影響(%)

donator \ dye (E _{0'} pH 7.0)	Nb (-0.142)	It (-0.046)	Mb (+0.011)	Th (+0.062)	Tb (+0.115)	1 Na (+0.119)
endogen.	3		41	32	16	-11
glucose	2		44	31	20	-12
lactate	-3	7	45	38	41	-32
pyruvate		-12	48	13	15	-27
succinate			44	28	30	-32
glutamate			45	22	17	-25

-は促進

前記5つの供与体とを組合わせた多数の脱水素酵素系について数回実験を行い、U-阻害度の平均値を一括したのが第3表である。結果は予想した通り酸性色素(It)を受容体とした場合はU-阻害が陰性であったが、塩基性色素の場合には単に陽性を示さなかった。即ち、Th, Tbを

一酵素液を用いて測定した酸素消費量にたいしてUがほとんど阻害をしめさない事実を確認している。他方

Quastel¹¹⁾が平圧下青酸添加のもとに発生するCO₂量を測定した実験に於いてchlorotone(chlorobutanol)の脱水素酵素に対する抑制作用を否定した報告が想起される。

Uは脱水素酵素を抑制しないとの仮定のもとにU-阻害が色素(受容体)の性質に関係する

事実を考えるなら、Uは酵素によりひとたび離脱された水素の伝送乃至は運搬の機構に関与するものと推察される。この見地に立てば受容体の酸性塩基性以外に、その E_o' が当然考慮されなければならない。すなわち、Nb (-0.142V), It (-0.046V) のように E_o' の比較的低い色素を受容体とすれば酸性塩基性に拘らず U-阻害は陰性であり、1Na (+0.119V), Tb (+0.115V) のように E_o' の比較的高い色素の場合も U-阻害は陰性であるかまたは軽度に認められるに過ぎない。これに対して、Mb (+0.011V), Th (+0.062V) のように中間の E_o' を持ち且つ塩基性である色素を受容体とするとき所謂 U-阻害が著明に現われると言うことが出来る。

これら成績の意義は今後の研究に待つとして、本実験が示した成績は、単に脱水素酵素に対する U-作用の問題に止まるものではなくて、Thunberg の methylene blue-法それ自身に対する批判の門に立っているものと思われる。

V. 総 括

白鼠の全脳 homogenate を酵素液として、glucose (G), lactate (L), pyruvate (P), succinate (S) 及び glutamate (Gl) を電子供与体とし、nile blue (Nb), indigotetrasulphonate (It), methylene blue (Mb), thionine (Th), toluylene blue (Tb) 及び indo-2,6-dichlorophenol-1-naphthol-2-sulphonate (1Na) の各酸化還元色素を電子受容体とするところの各種の脱水素酵素系に就いて磷酸緩衝液 (pH7.5) のもとにそれぞれの色素褪色時間に及ぼす ethyl urethane (U) の態度を検討した。

1) E_o' の比較的低い Nb (-0.142V, 塩基性色素), It (-0.046V, 酸性色素) を受容体とすれば U-阻害は認められず、後者ではむしろ促進の傾向を示した。

2) E_o' の比較的高い 1Na (+0.119V, 酸性色素) を受容体とすれば平均30%の U-促進が認められた。但し、G添加の場合及び対照供与体なし) に於いては促進の傾向を示したに止まる。

3) 塩基性色素である Mb (+0.011V), Th (+0.062V), Tb (+0.115V) を受容体とすれば U-阻害が明らかにみとめられた。その程度は Mb の場合最高 (平均45%) であり、以下 E_o' の増大と逆比例して減少 (Th: 27%, Tb: 23%) する傾向を示した。

4) 2) の U-促進は、Gの場合を除いて、供与体 (従って又脱水素酵素) の種類とは関係がない。3) の U-阻害も一般に供与体の種類とは無関係である。後者の場合は更に供与体添加の有無とも無関係である (供与体のみ添加した場合の色素還元速度は $G \rightleftharpoons L \rightleftharpoons P > S > Gl >$ 対照の順位)。

5) 以上の成績から脱水素酵素に対する所謂 U-阻害は酵素そのものに対する作用に基因するものではなく (見掛けのもの)、Uは酵素により遊離された水素の伝送乃至は運搬の機構に関与するものと推察した。

終始、懇切な御指導と御校閲を頂いた鎌倉勝夫先生に厚く感謝致します。

尚、本研究は文部省科学研究費 (鎌倉教授) によつた。

文 献

- 1) Svensson, D. (1923) Über die Einwirkung der wichtig Urethane und einiger anderer Stoffe auf die Succinodehydrogenase. Skand. Arch. Physiol. 44, 306
- 2) Johansson, H. (1932) Die Beeinflussung der Oxydationsintensität der Gehirnschubstanz von Kaninchen durch Aethylurethan. Skand. Arch. Physiol. 63, 90
- 3) Behnecke, K. (1931) Ueber die Wirkung einiger Hypnotika auf die Methylenblauentfärbung. Arch. exp. Pathol. Pharmacol. 163, 594
- 4) Sen, K. (1931) The effect of narcotics on some dehydrogenases. Biochem. J. 25, 849
- 5) Cook, R., J. Haldane, and L. Mapson (1931) The relationship between the respiratory catalysts of B. Coli. Biochem. J. 25, 534
- 6) Thunberg, T. (1937) Zur Kenntnis der Urethanempfindlichkeit der Samendehydrogenasen. Skand. Arch. Physiol. 75, 49
- 7) 鎌倉勝夫・中馬一郎・海城 浩 (1951) 低圧 (145 mmHg) 呼吸に及ぼす 2・3 麻酔剤の影響について 日本生理誌 13, 24
- 8) 久保秀雄 (1950) 生理化学 p. 703 永井書店
- 9) 鎌倉勝夫 (1943) 酸化還元可逆性色素の生理化学的研究 大阪医学会誌 42, 1809
- 10) 嶋越美夫 (未発表)
- 11) Michaelis, M. & J. Quastel (1941) The site of action of narcotics in respiratory processes. Biochem. J. 35, 518

Summary

Using Thunberg's method, effects of ethylurethane (0.16 M) on the dehydrogenases of rat brain homogenate were studied. When basic redox dyes, such as methylene blue (Mb), thionine (Th), toluylene blue (Tb), were employed, urethane inhibition occurred with the following order: Mb (45%), Th (27%), Tb (23%). The inhibition was independent on electron donators. However, in the case of Nile blue (basic dye) the inhibition was not seen. On the other hand, by employing acid redox dyes, such as indigotetrasulphonate, indo-2, 6-dichlorophenol-1-naphthol-2-sulphonate (1 Na), the urethane inhibition was not seen, but the stimulation appeared with special reference to 1 Na and it was also independent on donators.

From the above results it can be suggested that the inhibition and the stimulation of dehydrogenases by ethylurethane are simulated owing to the qualities of the redox dye (electron acceptor), consequently urethane don't act on enzyme or enzymes itself, but on the processes of electron transport.

(Department of Physiology, Nara Medical College)

線維素溶解現象に関する研究 612.115.1:612.015.13

Studies on Fibrinolysis.

塚田裕三 (Tsukada-Yasuzo)*

I. 緒 論

血液凝固に際して析出した線維素が一定の条件の下では細菌の汚染なしに再び溶解して消えてしまう現象は、Dastre (1893) によって始めて記載され、この現象は *fibrinolysis* と名づけられた。この際蛋白分解酵素が関与する事が既に指摘せられている。

Nolf (1905) はこの様な現象が *peptone* を静脈注射した犬の血液に見られる事を報じたがその後この現象の研究は長らく顧られなかった。近年になって臨床的に手術後、*shock* 時、火傷、麻酔時及び月経時等には血液の線維素溶解現象が著明に発現する事が認められた。そしてこの現象は血液中に存在する特殊な蛋白分解酵素の活性化による事が明らかになると共に、生物現象と本酵素の活性化との関係が重視せられる様になった。

また本酵素は Christensen, Mac Farlane¹⁾, Ratnoff³⁾, Loomis²⁾, Rommert⁴⁾ 等により血清中より単離せられ、*fibrinolysin* 又は *plasmin* と名づけられた^{1) 2)}。又同時に血清中には本酵素を阻害する物質も存在して居り、これは *anti-fibrinolysin* または *antiplasmin* と名づけられた^{2) 27)}。

以下本酵素を F 酵素、抗酵素を抗 F 酵素と略称する。

従来 β -溶連菌の産出する線維素溶解物質すなわち *fibrinolysin* と呼ばれていたものは、実は F 酵素の強度な活性化物質であり、此れは *Streptokinase* と名づけられたのである。

F 酵素の酵素学的な特性に就いては、著者等⁶⁾ の成績があり、従来知られている蛋白分解酵素とは明らかに性質を異にした新しい系列に

属する酵素である事を明らかにした。

尙 *anaphylactic shock* に際して、蛋白分解酵素が出現する事は古くから知られて居り⁷⁾、近年になっては、Ungar^{8) 9)} により試験管内で抗原抗体反応に伴って F 酵素の一過性の活性化が見られる事が見出された。又蛋白分解酵素による生体内の蛋白質の分解過程に多くの *shock* 物質^{10) 28)}、或いは起炎性物質が出現する事^{11) 12)}、結核病巣^{13) 14) 15)} 及び Arthus 現象、Schwarzman 現象¹⁶⁾ にも蛋白分解酵素が密接に関連している事等、蛋白分解酵素としての F 酵素の生物学的な意義は極めて重要なものとなった。

これ等の事実から、F 酵素の活性化機構の解明が本質的な問題を含んでいる点に着目し、F 酵素能の変動因子の追究を企図した。

本論文に於いて著者は、F 酵素を持続的に活性化する生体内因子と、抗 F 酵素生成に関与する因子とを見出し、F 酵素系の急速な活性度の変化は、これ等の因子により支配せられている F 酵素活性化系と抗 F 酵素生成系の 2 つの系がそれぞれ変動する結果である事を示したのである。

II. F 酵素活性化因子の分析 (F 酵素活性化系)

著者等⁶⁾ が既に報告した、F 酵素を活性化する化学物質 (ヨード、マグネシウム、過酸化水素等)、或いは又 *streptokinase*⁵⁾ は F 酵素を持続的に活性化し、不活性の F 酵素を活性の F 酵素に転化するものであった。

本報に於いては生体内に存在する F 酵素の活性化因子を追究し、臓器抽出液特に脳、筋抽出液中に強力な活性化因子の存在を認め、この物質の分離、同定を企図し、各種の抽出分離操作を行ってその活性化能の検索を行った。

* 慶応義塾大学医学部生理学教室

1) 実験材料及び実験方法

馬又は天竺鼠血清に被験物質を添加し、一定時間 38°C に保ち後、等電点沈澱法を用いて酵素を分離し、線維素溶解時間を標示として、酵素活性を検索した。

a) 酵素の分離^{3) 9)} (等電点沈澱法)

被験血清を冷蒸溜水で20倍に稀釈し、1% 醋酸、又は1/10N塩酸を滴加して、pH 5.2とする (pH の測定には主として pH 試験紙 C.P.R. 及び B.C.G. を用い、その検定には硝子電極、quinhydrone 電極による pH 値測定法を併用した)。

この時生ずる沈澱を低温に於いて速かに遠心分離 (4000r.p.m. 5分) し、上清を除き、沈澱に血清と同量の1/20M磷酸緩衝液 (pH 7.1 等張食塩入り) を加えて溶解し、不溶解性物質を除いた液を用いる。

b) 家兎線維素原の調製 (Hammersten の法)

成熟家兎の蔞酸血漿を採取し、これに5%になる如く食塩を投入溶解した後、血漿と同量の飽和食塩水 (カルシウムを含まない純品) を滴加し、生ずる沈澱を遠心分離し、血漿と同量の等張食塩水を加えて溶解する。更に今一度同様の方法を繰返して精製し、約 0.2% 溶液としたものを用いる。

c) Thrombin 液の調製 (Eagle の法)

人蔞酸血漿又は乾燥血漿を冷蒸溜水で10倍に稀釈し、冷しながら炭酸ガスを15~20分間通ずる。この時生ずる沈澱を遠心分離し、沈澱を血漿と同量の等張食塩水に溶解した後、重曹を添加して、pH 7.6に補正する (B.T.B.)。

これに2%塩化カルシウム溶液の1/10量を添加し、充分攪拌した後、37°Cに温めながら、析出してくる線維素をガラス棒で取除き、一夜氷室に保存した後、遠心分離し、上清をthrombin液として用いる。

d) 0.3% casein 液の調製³⁾

0.3g の casein に 1 N 苛性ソーダ 0.5ml を加え、56°Cで充分溶解した後、蒸溜水を加えて全量 100ml とする。

e) 酵素能の検定

1) 線維素の完全溶解時間測定による方法

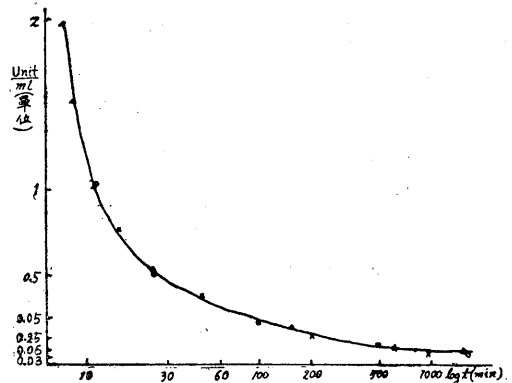
0.2% 線維素原溶液 0.2ml に各種濃度の酵素液 0.2ml を加え、38°C に 30分保温したのち、thrombin 液 0.1ml を加えて、10分以内に凝固しない最終酵素濃度を1単位/ml と規定する⁹⁾。

この酵素液を標準液として、各種濃度の酵素液各々 0.5ml に 0.2% 線維素原 0.1ml, thrombin 0.1ml をくわえて凝固させ (30秒以内に凝固する)、38°C に保温して線維素の完全消失に要する時間を測定した。

酵素能と線維素完全溶解時間との関係は第1表及び第1図に示す如くである。

第1表

線維素溶解時間	酵素単位/ml	記号
30分以内	0.5 以上	≡
180分 "	0.2 "	≡
500分 "	0.1 "	≡
900分 "	0.04 "	+
1200分 "	0.03 以下	±



第1図

2) Casein分解能の測定による方法

酵素液 0.4ml に 0.3% casein 液 0.2ml を加えて 38°C に 2時間保温した後、12.5% 塩酸 1.0ml を加え 5分以内にその濁度を比濁計 (Dubosque) を用いて測定した。

この場合には酵素液に同量の chloroform を加えて 1分間強撻し、25°C に 18時間静置したのち、遠心分離した上清液を用い酵素液それ自身が塩酸により濁濁するのを防いだ¹⁴⁾。

尚酵素活性度は、比濁計の読みの差が10以上のものを≡, 10~5のものを≡, 5~2のものを±

+, 2以下を-と記録した。

2) 実験成績

a) 臓器抽出液の活性化能

まず家兎の脳, 筋, 腎, 肝, 肺を乳鉢で磨碎し, 之を等張食塩水で1夜氷室で抽出し, その抽出液 0.5ml を試験管内に於いて血清 1.0ml に添加した後, 38°Cに30分保温し, 当該血清よりF酵素を分離し¹⁴⁾²²⁾, その酵素能を casein 分解能と, 線維素溶解能により測定し, 脳, 筋, 抽出液が特に強い活性化能を有する事を認めた (第2表)。

第2表

被験物質	基質 酵素資料	casein 分解能 (比濁)			線維素溶解能		
		馬血清	馬血漿	馬血漿	天竺鼠血清	馬血漿	人血漿
		脳等張食塩水抽出物	卅	+	±	卅	卅
腎	〃	-	...	卅	+	卅	
肝	〃	-	...	卅	卅	+	
肺	〃	...	-	+	卅	+	
対照 (等張食塩水)	〃	+	-	-	+	+	
筋	〃	...	+	±	+	卅	

次に脳, 筋中の活性化因子に着目して, この物質を分析的に追究し, 第3表に示す如く, 本物質は耐熱性で, 熱凝固で蛋白質を除いた後にも尙活性であり, 短時間のアルカリ処理によっても活性を失わないものである事を確めた。

第3表

被験物質	実験材料	線維素溶解時間 (分)					
		馬血清	馬血清	天竺鼠血清	天竺鼠血清	天竺鼠血清	
対照 (等張食塩水)		300	600	>	480	180	600
脳抽出液煮沸濾液		180	180	360
脳抽出液アルカリ処理		180	360
筋水抽出液 (煮沸)		240	120	30	300
血小板抽出液 (煮沸)		240	240

b) 臓器活性化因子の抽出分離

次に組織中の核酸分層に注目し, 犬, 猫, 家兎, 天竺鼠の脳より各種の抽出操作により本分層の分離を行い, 酵素活性化能を前記と同様の方法で検索した。

1) 粗抽出液の調製

脳及び筋を低温で手早く分離し, 細碎した後

沸盪した 3~5 倍容の蒸溜水中に投入し, 1/100 量の氷醋酸を加えて10分間煮沸後, 20%苛性ソーダを加えて, 一度アルカリ性とした後, 再び醋酸を加えて pH 6.0 とする. ここで液を急冷し, 蛋白質を充分沈澱させて濾過した上清液を用いる。

2) 精製¹⁷⁾

粗抽出液に飽和醋酸鉛, 或いは20%醋酸水銀液を, もはや沈澱の生じなくなるまで加え, 生ずる沈澱を遠心分離し, 沈澱を蒸溜水に懸濁して, 硫化水素で充分分解, 濾液を中性として用いるか, 更にこれに 5~10倍容の acetone を加え, 氷室に1夜放置し, 生ずる沈澱を蒸溜水或いは等張食塩水に溶解したものをを用いる。

3) 脳核蛋白質よりの調製¹⁷⁾

脳を細碎し, 1M食塩水, 或いは 0.6M 塩化カリ溶液を加えて (5倍量), 1昼夜氷室で抽出する. 抽出液の上清を蒸溜水で10倍に稀釈し, 1N 塩酸を加えて, pH 4.2 (L.P.B.) とする。

生ずる沈澱を遠心分離し, 等張食塩水に溶解する. これに同量の chloroform を加えて攪盪し, 蛋白質を除くか, 尙この液に醋酸を加えて煮沸した後, アルカリを滴加して, 1度アルカリ性とし, 手早く醋酸を加えて pH 6.0 に補正し, 急冷して除蛋白した液を用いる。

尙血清と上記の脳分層との作用時間は38°Cで 15~40分間行った。

これ等の抽出物質の活性化能を各種の活性度を有する 4 群の F 酵素に就いて比較すれば第 4 表の如くで, いずれの群に於ても, 脳及び筋中の核酸分層は, F 酵素を活性化する因子を含む事を示している。

一方酵母核酸, desoxi 核酸 (脾), A.T.P. 及び A.M.P. では活性化作用は認められないか, 極めて微弱であった。

次には活性化因子と血清との作用時間と, 酵素の活性度との関係を検した処, 保温10分後に既に活性化が見られて居り, 40~60分後にも尙充分の酵素活性度が認められた。

第4表

被験物質	実験例	線維素溶解時間 (平均値) 分			
		第1群	第2群	第3群	第4群
対照 (食塩水)	60	120	190	500>	
脳粗抽出液	30	90	45	240	
脳精製分層 (鉛塩)	90	40	140	180	
	35	80	100	...	
脳 acetone 精製	30	30	140	...	
脳核蛋白より	30	60	100	240	
筋粗抽出液	25	40	...	180	
酵母核酸	50	120	120	400>	
デオキシン核酸(脾)	100	...	120	300	
A.T.P. (0.5%)	70	120	...	200	
A.M.P. (0.5%)	50	120	...	180	

第5表

被験物質	作用時間 38°C	線維素溶解時間 (分)						
		0分	10分	15分	20分	30分	40分	60分
対照 (食塩水)		180	120	180	60	180	60	600>
脳抽出物		150	60	60	35	50	30	300

なお血清から、炭酸ガス飽和法で分離した globulin 分層 (F 酵素原), 或いは pH 5.2 で等電沈澱せしめた分層に, 活性化因子を添加した時にも F 酵素の活性化がみとめられたのである (第6表).

第6表

被験物質	酵素分離法	線維素溶解時間 (分)		
		炭酸ガス沈澱法	等電点沈澱法	
対照		500>	50	120
脳粗抽出液		360	30	60
脳鉛塩分層		360
筋粗抽出液		360

以上の諸成績より, 脳, 筋中の核酸分層が持続的に F 酵素を活性化する事を見出し, F 酵素原が, 生体内因子により活性の F 酵素に転化する事を明らかにした.

Ⅲ. 抗 F 酵素系の分析

前項に於いては, F 酵素の持続的な活性化系に就いて検索したのであるが, 抗原抗体反応に伴う F 酵素の活性化は一過性に経過する点が特に強調されたのである. 著者はこの点に関し, 抗原抗体反応に伴う F 酵素の活性化には尚抗 F 酵素系の変動過程が考慮さる

べきであると考え, 抗 F 酵素の分析的な追究を行ったのである.

1) 実験材料及び実験方法

天竺鼠の新鮮血清を等張食塩水で10倍に稀釈したものを用いて実験を行い, 試験管内で各種の化学物質を添加し, 一定時間 38°C に保温した後, 当該血清の抗 trypsin 価と, 抗 F 酵素能の変動を検索した.

a) 抗 trypsin 価の測定¹⁹⁾

Fuld & Gross の方法で, 一定の処理を受けた血清の抗 trypsin 価を決定した.

b) 抗 F 酵素能の測定

馬血漿より等電沈澱法により調製した, 活性の F 酵素または人 F 酵素原に streptokinase を添加して十分に活性化された F 酵素液に, 抗 F 酵素として天竺鼠の新鮮血清の10倍稀釈液の一定量をくわえた時, この溶液が一定量の家兎線維素を完全に溶解する迄の時間を測定して抗 F 酵素能を決定した.

尚 Streptokinase は Tillet & Garner⁵⁾ の方法で分離したもの, 又は Varidase を使用した.

2) 実験成績

a) 抗 trypsin 価の変動

新鮮血清を 38°C に保温すると 15~30 分後に, 僅かではあるが一過性の抗 trypsin 価の上昇が見られる. 然るに血清を 56°C 30分に非活化したもの及び1/50M に弗化ソーダを加えたものではこの一過性の抗 trypsin 価の上昇は見られない. 又血清を氷室に放置した場合も同様である (第7表).

第7表

標本	実験例	作用時間	抗 trypsin 価 (ml)					
			0分	15分	30分	60分	90分	180分
新鮮血清	第1例		40	60	40	40	40	30
	第2例		40	...	50	30		
	第3例		50	60	40	40	40	30
非活化	第4例		40	40	40			
	第5例		50	50	50			
氷室保存	第6例		50	50	...			
	第7例		40	40	40	40	40	30
弗化ソーダ添加	第8例		50	50				
	第9例		30	...	40			

次に10倍稀釈血清 1.0ml に、1% l-ascorbin 酸 0.2ml を添加して 38°C に保温し、時間とともにその抗 trypsin 価の測定を行った。

第8表に示すごとく、ascorbin 酸を添加すれば30分後には著明な抗 trypsin 価の上昇が認められ、弗化ソーダ添加、又は非弗化血清ではこの上昇が阻止せられる。

第8表

標本	作用時間 (分)	投 trypsin 価 (ml)	
		0分	30分
新鮮血清+ascorbin 酸	30	50	70
	50	50	40
非弗化血清+ascorbin 酸	50	50	50
	30	50	50

更に血清を稀釈し炭酸ガスを通じて、albumin 分層と globulin 分層とに分割して ascorbin 酸添加による効果を検討した。

第9表の如く albumin 分層或いは globulin 分層のみでは、ascorbin 酸を添加しても抗 trypsin 価の上昇は見られないけれども、両分層が存在することによりはじめて抗 trypsin 価の上昇が認められる。

第9表

標本	作用時間 (分)	投 trypsin 価 (ml)	
		0分	30分
albumin 分層(50×)+ascorbin 酸	60	10	10
globulin 分層(50×)+ascorbin 酸	20	50	50

抗 trypsin の崩壊は、過酸化水素により急激に起り、硫化水素は影響を与えないことを知った(第10表)。この事は又 ascorbin 酸が単なる還元物質として作用しているのではないことを示唆している。

第10表

標本	実験例	投 trypsin 価 (ml)		
		第1例	第2例	第3例
新鮮血清 (対照)	80	50	60	
新鮮血清+1% 過酸化水素	30	20	50	
非弗化血清+1% 過酸化水素	30	...	40	
新鮮血清+硫化水素(2分)	...	50	60	
非弗化血清+硫化水素	50	

尚弗化ソーダ、ascorbin 酸、過酸化水素、硫化水素は trypsin 自身に対しては全く影響を与えないことも確めた。

b) 抗 F 酵素の変動

前述の抗 trypsin 系で認められた現象を F 酵素を用いて、抗 F 酵素系として実験を行い、同様の成績を得た。

10倍天竺鼠血清に、2% l-ascorbin 酸の 1/5 量、1/10M 弗化ソーダ又は atoxyl の 1/5 量を加え、対照としては等張食塩水をこれらの物質と同量に加えて 38°C に保温し30分後と60分後に一定量を取り出し、倍々稀釈法により抗 F 酵素能を測定した。即ち 0.4ml の F 酵素液に 0.4ml の抗 F 酵素液を加え、この液が一定量の家兎線維素を完全に溶解する時間を測定した。

第11表

標本	作用時間 (分)	線維素完全溶解時間 (分)							
		第1例		第2例		第3例		第4例	
		30分	60分	30分	60分	0分	30分	0分	30分
血清+食塩水 (対照)	35	45	25	25	...	15	...	60	
ascorbin 酸添加	50	60	50	40	15	70	60	120	
ascorbin 酸+弗化ソーダ	15	...	60	
ascorbin 酸+atoxyl	30	35	40	25	

第11表に示す如く、抗 F 酵素能も ascorbin 酸添加により明瞭に増強するのが見られ、弗化ソーダ、atoxyl 添加は抗 F 酵素能の上昇を阻止している。

本表に於いては10倍稀釈血清に於ける抗 F 酵素能を示した。

尚 ascorbin 酸、弗化ソーダ及び atoxyl は、単離された F 酵素に対しては全く影響を与えない事をも確めた。

c) 試験管内抗原抗体反応に伴う F 酵素活性化に対する弗化ソーダ及び atoxyl の影響

豚血清で充分感作された、家兎血清 0.5ml に10倍稀釈非弗化豚血清 0.1ml を添加すれば、一過性の F 酵素活性化が認められる。

この時予め抗豚家兎血清に弗化ソーダまたは atoxyl を添加して置く時には、抗原添加により F 酵素の活性化は起るけれども、これに続く F 酵素活性度の急速な低下は、明らかに阻止せら

れたのである (第12表)。

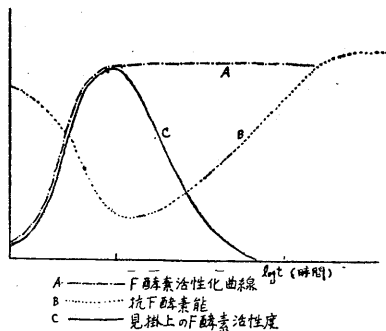
第12表

標 本	投原接 触時間	線維素完全溶 解時間 (分)	
		第1例	第2例
抗豚血清家兎血清 + 10×山羊血清 (対照)	30秒	500>	400>
抗豚血清家兎血清 + 10×豚血清		240	400
同上+弗化ソーダ添加	20分	600>	400>
同上+atoxyl添加	20分	300	300
	20分	300	300

以上の成績から、抗F酵素系にも一定の変動が見られ、抗F酵素の生成は或る酵素系 (恐らく Esterase と推論される) によって支配されて居り、又抗F酵素の崩壊は酸化的過程によるものである事を指摘した。

そして又試験管内での抗原抗体反応に際し、抗F酵素生成系を阻害しておけば、F酵素活性化曲線に変貌を与え得る事を見出し、抗F酵素系の存在を明らかにした。

これ等の事は抗原抗体反応に伴う一過性のF酵素の活性化という現象が、先ずF酵素活性化系により、F酵素原より活性のF酵素が生成せられ、続いて抗F酵素生成系によって、抗F酵素能が上昇する為に、活性化せられたF酵素が中和され、F酵素の活性度が低下するものであると理解出来るのである (第2図)。



第2図

IV. 考按及び総括

線維素溶解現象は、古くから知られて生理現象と関連して追究せられてきた。

近年に至り、本現象がF酵素による事^{1) 2)}が明らかにされ、蛋白質崩壊としての線維素溶解現象は脚光をあびるに至つた。

古く Jobling, Rosenmann^{13) 14)}等は結核病巣と、線維素溶解能との関係を指摘して居り、結核 allergy と病巣融解の問題が、近代的な観点から取り上げられてきている¹⁵⁾。

又炎症の生化学的研究が進められるにしたがい、起炎物質の大部分が蛋白質崩壊にもとづく polypeptide 性の物質である点^{11) 12) 16)}、及び炎症の進展と蛋白分解能、或いは抗蛋白分解能との間の密接な関連性が強調せられ²⁰⁾、F酵素の役割に就いても多くの示唆が与えられているのである²⁶⁾。

他方 anaphylaxis に就いても、古く Jobling, Peterson⁷⁾が蛋白分解酵素の出現を指摘して居り、F酵素の発現によって、蛋白質崩壊に由来する多くの作用物質生成機構が^{10) 11) 23)}、実験的に示される様になった。

即ち pseudoglobulin 分屑のF酵素による分解産物が、acetylcholine 様の作用を持ち¹⁰⁾、また肝、肺を蛋白分解酵素で灌流するときには、histamin が遊離してくる²³⁾等、従来 anaphylaxis 発現に関与する作用物質として、強調せられてきた物質が、F酵素 (蛋白分解) を媒介として多元的に生成される事が示されたのである。又 Schwarzman 現象及び Arthus 現象の発現に際しても、炎症と allergy の橋わたしをする実体として、蛋白分解酵素の役割が重視されるのである。

一方 Ungar^{8) 9)}等は試験管内で、抗原抗体反応に伴って、F酵素が一過性に活性化される事を証明し、此に続いて一度低下した抗 trypsin 価が徐々に回復して行く事を認めている。又F酵素の一過性の活性化は、peptone、寒天、多糖類 (hyalouron 酸) の添加によっても見られる事を報告しているが、この現象は膠質状態の変化によるものであると解される。

此等の事実は shock 症状、特に anaphylactic shock に際してF酵素の活性化により、多くの作用物質が出現し得る可能性を示して居り、著

者等⁶⁾が既に報告している如く F 酵素が, peptidase を含まない, protéinase であるという事実も peptide 性の作用物質生成に意義を持つものと考えられる。

そこで著者は anaphylaxis 発現に際しての多元的な作用物質生成が F 酵素系の強度な, そして急激な活性化による蛋白質崩壊にもとづくものとして, 従来の成績を一応統一的に理解したのである。

本論文に於いて著者は先ず F 酵素系の変動過程を分析的に追究し, F 酵素活性化系と, 抗 F 酵素生成系の 2 つの系の存在を指摘するとともに, 見掛上一過性の F 酵素活性化曲線が両系の相互変動の和として理解される事を示した (第 2 図)。

そして先ず抗 F 酵素系を外から制御する時, 活性化曲線の変貌する事を確めて居り, F 酵素を調節する問題も次の課題として重要である。F 酵素及び抗 F 酵素の純化精製も文献的⁴⁾に困難なようであり, 著者も亦複合系を用いて実験を行った。然しながら著者は生理的な系内に於ける F 酵素系の変動過程を追究したのであり, 現段階では一応満足すべきものであると考える。

F 酵素活性化因子としての核酸分屑に就いても, 抽出操作から推論したものであり, 化学的分析は今後問題である。

核酸の生理的な意義に就いては多くの問題が提出されているけれども, 古くは Zipf²¹⁾が脱線維血の毒性が, adenyl 酸に起因することを報告し, この物質が全身的には shock 症状を起し, 局所的には丘疹を生ずる事等を報告した。また shock 症状の発現と核酸系の崩壊, 放出の問題が, 筋からの A.T.P. 放出の問題と共に近代的な観点から論じられてきている¹³⁾。

また Permin²²⁾, Astrup²³⁾等は著者とは別個に, 生体内より F 酵素の活性化物質を抽出し, fibrinokinase と名づけている。詳細に就いては不明であるけれども, 比較的易熱性である点は著者の成績と異っている。

一方 ascorbin 酸に就いては, この物質が抗

anaphylaxis 作用を有する事が知られて居り²⁴⁾, ACTH 及び cortisone も亦脾の ascorbin 酸誘導体を介して F 酵素の不活性化を促進する事が知られているのである²⁵⁾。

これ等の事も, 著者の抗 F 酵素系の増強という成績から容易に理解しうるのである。

以上の成績から抗原抗体反応より anaphylaxis 発現までの生体内での作用物質生成過程は, F 酵素系を環として展開して居り, 酵素系の一連の反応連鎖を提示している。

そして本報に於いては主として, anaphylaxis の酵素系に就いて考察してきたのであるが, 更に一般的な観点よりすれば, 酵素系の反応連鎖様式および一過性に経過する生物現象の物質的な反応型式に 1 つの典型を与えたものと云えよう。

V. 結 論

1) F 酵素を持続的に活性化する生体内因子として, 脳及び筋中の核酸分屑に含まれる因子が見出された。

此れ等の物質は抗 F 酵素生成には影響を与えない。

2) 抗 F 酵素の生成は血清 globulin 分屑の存在下で, ascorbin 酸添加により, 酵素的に増強せられ, 弗化ソーダ, 及び atoxyl 添加により阻止せられる。

一方血清 albumin 分屑には抗 F 酵素原 (抗 F 酵素前段階物質) が存在する事を始めて指摘した。

抗 F 酵素能は過酸化水素により著明に減弱する。

これ等の新しい事実により, 抗 F 酵素生成系の存在とその特質が明らかにされた。

3) 弗化ソーダ及び atoxyl 添加は抗原抗体反応に伴う急速な F 酵素の活性化には無関係であるが, 活性化された F 酵素の急速な活性度の低下には抑制的に効く。

即ち抗原抗体反応により生起する線維素溶解現象は, F 酵素活性化系と抗 F 酵素生成系の 2 つの系によって支配されている。

抗原抗体反応により F 酵素活性化系は不活性の F 酵素原より活性の F 酵素を生成する。

一方抗 F 酵素生成系は、抗 F 酵素原より酵素的に抗 F 酵素を生成し、既に生成している F 酵素を中和する。かくして現象的に観察される一過性の F 酵素活性化曲線の機制が明確に理解された。

摺筆するにあたり、御鞭撻を賜つた加藤教授並びに御指導、御校閲を賜つた林教授、岡本講師に衷心より感謝の意を表し、種々御便宜を与えられた三菱化成研究所の諸氏に深謝する。

文 献

- 1) Mac Farlane, R. G. and R. Biggs (1948) Fibrinolysis its mechanism and Significance. *Blood* 3, 1167
- 2) Loomis, E. C., C. George. and A. Ryder (1947) Fibrinolysin : nomenclature, units, assay, preparation, and properties. *Arch. Biochem.* 12, 1
- 3) Ratnof, O, D, (1948) Studies on a proteolytic enzyme in human plasma. *J. Exp. Med.* 88, 401
- 4) Rommert, F. and P. Cohen (1949) Partial purification and properties of a proteolytic enzyme of human serum. *J. Biol. Chem.* 181, 431
- 5) Christensen, L. R., (1949) Methode for measuring the activity of components of the streptococcal fibrinolytic system. and streptococcal desoxyribonuclease. *J. Clin. Invest.* 28, 163
- 6) 岡本彰祐・塚田裕三・高雄幸一郎・本田定一 (未発表)
- 7) Jobling, J. W., W. Peterson, and A. A. Eggstein (1915) The mechanism of anaphylactic shock. *J. Exp. Med.* 22, 401
- 8) Unger, G. (1947) Release of proteolytic enzyme in anaphylactic and peptone shock in vitro. *Lancet.* 1, 708
- 9) Unger, G. and S. H. Mist (1949) Observation on the release of serum fibrinolysin by specific antigen, peptone, certain polysaccharides. *J. Exp. Med.* 90, 39
- 10) Beraldo, W. T. (1950) Formation of bradykinin in anaphylactic and peptone shock. *Am. J. Physiol.* 163, 283
- 11) Duthie, E. S. and E. Chain (1939) A polypeptide responsible for some of the phenomena of acute inflammation. *Brit. J. Exp. Path.* 20, 417
- 12) Spector, W. G. (1951) The role of some higher peptides in inflammation. *J. Path & Bact.* LXIII, 93
- 13) Jobling, J. W. and W. Peterson (1914) A study of the ferments and ferment-inhibiting substances in tuberculous caseous material. *J. Exp. Med.* 19, 383
- 14) Rosenmann, M. (1920) Über Fibrinolyse. *Biochem. Zt.* 112, 98
- 15) Weiss, C. and J. Schultz (1949) Enzymic hydrolysis of benzoylarginineamide by normal and tuberculous tissue of rabbits. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 72, 236
- 16) Stetson, C. A. (1951) Studies on the mechanism of the Schwartzman phenomenon. *J. Exp. Med.* 93, 489
- 17) 江上不二夫 (昭和26年) 核酸及び核蛋白質 上巻 (共立社)
- 18) 医学のあゆみ (昭和25年) 10, 210 外力とアデニンヌクレオチド
- 19) 中村 豊 (昭和16年) 細菌学血清学検査法 616 (克誠堂)
- 20) Kay, J. H. and J. S. Zockwood (1947) Experimental Appendical peritonitis : Significance of unbalance circulating fibrinotic and antifibrinolytic factor in warse of disease. *Surgery* 21, 155
- 21) Zipf, K., E. Wagenfeld (1930) Über die pharmakologische Wirkung des frisch defibrierten Blutes. *Arch. f. Exp. Path. u. Pharm.* 150, 97
- 22) Permin, P. M. (1948) *Chem. Abst.* 42, 2295
- 23) Asctrup, T. and P. M. Permin (1948) *Chem. Abst.* 42, 6385
- 24) Solomonica, B. (1936) Vitamine C and Anaphylactic shock in guinea pigs. *J. Immol.* 31, 209
- 25) Ungar, G. (1951) Study on the fibrinolysin-Antifibrinolysin system in serum. *J. Exp. Med.* 93, 59
- 26) 岡本彰祐・高雄幸一郎・塚田裕三・本田定一 (昭和25年) 「疲労の共同実験」電撃負荷に伴う血液フィブリノリシンの活性化に就て (創元社)
- 27) Loomis, E. C., A. Ryder, & C. George (1949) Fibrinolysin and Antifibrinolysin : biochemical concentration of antifibrinolysin. *Arch. Biochem.* 20, 444
- 28) Rocha, E., M. Silva, and A. Grana (1946) The mechanism of the shock induced in dogs. *Arch. Surg.* 52, 713

Summary

- 1) A nucleic acid fraction in brain and muscle activated fibrinolysin continuously from its inactive precursor. And this fraction had no effect against antifibrinolysin system.

2) Antifibrinolytic power was increased by the addition of 1-ascorbic acid, but inhibited in the presence of atoxyl or sodium fluoride.

Then I considered this phenomena as a kind of the reaction of enzyme-systems, probably of esterase.

On the other hand the destruction of antifibrinolysin related to an oxidation process. From these facts the properties of antifibrinolysin-producing-system have been proved.

3) Fibrinolysin was transiently activated in the process of antigen-antibody reaction, in vitro. The addition of sodium fluoride or atoxyl had no effect to the first phase (activation of fibrinolysin) of the antigen-antibody reaction, but inhibited the second phase (inactivation of fibrinolysin) of it.

So the transient activation of fibrinolysin which followed to antigen-antibody reaction is considered as follows:

While fibrinolysin is continuously activated from its precursor, antifibrinolysin also is produced from its one by an enzyme-system, and then active fibrinolysin is neutralised.

(Department of Physiology, Keio-gijuku University School of Medicine, Tokyo)

Donaggio 反応陽性物質について 612.461.26:612.398.146

Studies on the Substances Responsible for Donaggio Reaction.

下川末夫 (Shimokawa-Matsuo)*

I. 緒言

1931年 *Arthuro Donaggio* は或る種のアニリン色素溶液にモリブデン酸アンモニウム溶液をくわえると、その色素が凝集して沈澱するが、その際疲労した人の尿又は脳脊髄液を加えておくと、この沈澱が阻止される事を発表した。その後追試者達はこの *Donaggio* の *Hemmungsphänomen* を *Donaggio* 反応と呼び、爾後この反応は運動疲労、産業疲労、時には臨床的に病状の軽重等の判定に使用され幾多の報告が発表されている。

古くから *Donaggio* 反応 (以下D反応と略す) 陽性物質に関しては、透析及び吸着に関する性状、アルコールによる沈澱性、エーテルへの移行性の有無等の諸性状が問題にされている。即ち透析については *Donaggio*¹⁾, *Torboli*²⁾, *Rendel*³⁾ 等がD反応陽性物質は非透析性であると述べ、*吉川*, *石丸*⁴⁾, *山添*⁵⁾ 等は一部透析性のものであると言っている。最近 *桜井*⁶⁾ は種々の膜電位を有する透析膜を用いて透析実験を行い、標準膜電位差が15mV以下の膜ではD反応陽性物質の一部が透析される結果を報告している。

吸着剤による影響については *Donaggio*¹⁾ はカオリンにより、*Rendel*³⁾ は獣炭末に、*増山*, *細島*⁷⁾ はカオリン、酸性白土、獣炭末に、*本田*⁸⁾ は滑石末等により陽性物質が夫々吸着されることを発表している。*Simonelli*⁹⁾, *斎藤*¹⁰⁾ は何れもアルコールによって陽性物質が沈澱することを報告している。

エーテルに対する態度については *Simonelli*⁹⁾ *山添*⁵⁾, *多賀*¹¹⁾ の成績があり何れもエーテルに移行しないという。しかし *Rendel*³⁾ は尿をエーテルで処理すると *Donaggio* 反応値 (以下D値

と略す) は消失するといひ、又 *吉川*⁴⁾ も酸性尿を同様に処理することによりD値が減少すると述べている。

反応を陽性にする物質としては *Torboli*²⁾ は稀胆汁酸塩、胆汁色素、石鹼液、少量のグリセリン等即ち表面張力を低下させる物質をあげており、*Saccardi* 等¹²⁾ は *Albumose*, *Peptone*, *Histone*, *Protamine* によって反応が陽性になると報告している。又 *荒木*¹³⁾ は *Mucoid* を、*増山*, *細島*⁷⁾ ¹⁴⁾ は蛋白質及びその分解産物或は核酸塩により反応が陽性になるといひ、*山添*¹⁵⁾ は磷酸、乳酸及び不明の物質と3つが関係していると述べている。

しかるに尿に排泄されるD反応陽性物質の本態に関しては、現在に到るも充分研究されていない。それは最近発表されたD反応標準法¹⁶⁾を除いた従来のD反応 (種々の変法が発表されている) では何れも陽性物質の量と測定値との関係が不明確であったこと、及び陽性物質のみを分離することが困難であったこと等が原因している。

尿から直接陽性物質を取り出しその本態を論じているものに *吉川*, *石丸*⁴⁾, *斎藤*¹⁷⁾, *山添*¹⁸⁾ の研究がある。即ち *吉川* 等は尿を透析して、非透析性の陽性物質の多くは *Proteose* 分劃中にあると述べている。*斎藤* はメタノールを用いて尿から分離した陽性物質について定性分析を行っている。*山添* 等は尿を透析して非透析性のものにメタノールを加えて陽性物質を沈澱分離し、定性反応の成績からしてそのものは *Sal-kowski* の尿膠質体窒素 (恐らくアミノ糖) 或は狭義の *Oxyprotein* 酸、又は両者の混合物であろうと結論している。しかしこれらの成績は何れも尿より取り出しているものが陽性物質のみでなく種々の物質の混合物について行ったも

* 金沢大学医学部生理学教室

のである。

最近当教室本田⁸⁾は尿に滑石末を加え、滑石末に吸着した陽性物質をアルカリ性アセトン水で処理することにより、D反応陽性物質を定量的に尿より分離出来ることを発表した。著者はこの方法を用いて陽性物質を尿より抽出し、更にこれにメタノールを加えて陽性物質を沈澱分離し、そのものについて検索を行った。まず日常勤務時の尿について陽性物質を追及し、更に作業時の尿についても若干の検討を試みた。

I. 実験方法、実験成績並びに考按

A. 日常勤務者のD反応陽性物質について

1. D反応術式及び被検材料

D反応術式には種々の変法が発表されているが、陽性物質を定量的に取扱うため、陽性物質の量とD値とが比例関係を有するDonaggio反応標準法¹⁰⁾を用いた。即ち被検液を2,3…倍と倍数稀釈し、その1mlに1万倍メチレンブラウ0.5ml, 4%モリブデン酸安門0.5mlを夫々加え、よく混合して37°Cの孵卵器内に1時間放置し、最後に毎分3000回20分遠心する。遠心後上澄を6万倍メチレンブラウと比色し同一の濃度を示す稀釈倍数の値をもってD値を求めた。しかし最近当教室中山¹⁹⁾が光電比色計を用いてこの標準法を簡便且精密化した方法を発表したものでその方法をも併用した。

2. D反応陽性物質の分離

a) 吸着法によるD反応陽性物質の抽出

本田⁸⁾が発表した抽出法を用いた。即ち尿1lにつき約50gの滑石末を加え充分攪拌しNutzeを用いて吸引濾過し、沈澱物を蒸溜水にて洗滌する。陽性物質を吸着した滑石末を蒸溜水アセトン等量液(原液1lにつき100~200ml)中に移し、飽和苛性ソーダ数滴加えよく攪拌して24~48時間室温に放置する。吸引濾過し濾液のpHを稀塩酸にて7~8に修正する。重盪煎上にて加温アセトンを放出し、pHを再び5.6に修正する。

これらの操作によって得た抽出液は濃度によって異なるが、淡黄乃至濃褐色を呈し非常に泡

立ち易い性状を有する。

抽出液の窒素量とD値との関係を見ると、相当の変動が認められる。これは陽性物質以外の尿成分が試料に移行することによると考えられるので、次のように更にこれにアルコールを加えて陽性物質を分離した。

b) 抽出液にメタノールを加えて陽性物質を分離すること

抽出液から陽性物質を更に分離するため、抽出液にその9~10倍量のメタノールを加え、重盪煎中にて2~3分加温し、しばらく放置してから遠心した。この操作によって殆ど完全に抽出液中の陽性物質が沈澱分離される。エタノールを用いても同様の結果を得るが、この場合には膠質液の着色度が幾分メタノールの場合に比して強く、又D値1点あたりの還元能力をHagedorn-Jensenの方法で測定して比較するとメタノールをもちいた場合より多い結果を得た。

一般にメタノールを用いて分離した膠質液に更に9~10倍量のメタノールを加えても沈澱は認め難い。この場合ごく少量の塩類、例えば食塩を加えることにより沈澱を生ずる。エタノールを用いた場合これに反して何回も沈澱を重ねることが可能であるが、このように何回も沈澱操作を重ねて得た沈澱物は次第に水に溶け難くなり従ってD値は漸次減少する。

3. D反応陽性物質の定性反応

上述の方法で分離した陽性物質について種々の定性反応をこころみた。その主な成績を列挙すれば

a) 呈色反応

陽性反応

Molisch反応, 銀鏡反応(加温), Millon反応, Xanthoprotein反応, PaulyのDiazo反応, Adamkewitz反応, Ninhydrin反応, 坂口氏反応, Tollens-Naphtoresorcinol反応, 塩酸Phloroglucin反応。

Biuret反応は所定の術式に従えば陰性であるが固形の苛性カリ数個加えて強アルカリ性反応の下に行えば赤紫色を呈し陽性となる。これは

陽性物質が比較的低分子の蛋白質誘導体なることを暗示するものである²⁰⁾.

陰性反応

塩酸 Orcin 反応, Fehling 氏液を還元せず, Murexid 反応, 沃度反応, Ehr-Pechmann のデフェニルアミン反応, Ehrlich の Diazo 反応, Kossel 反応, Xanthin 反応, Phenylhydrazin と結晶を作らない.

b) 沈澱反応

膠質液は醋酸鉛, タンニン酸, 塩酸加磷タングステン酸, 次醋酸鉛の各液及び硫酸安門飽和により夫々沈澱を生ずる. ピクリン酸, トリクロール醋酸, ズルフォサルチル酸, 昇汞, 磷タングステン酸の各液では沈澱を生じない.

膠質液の pH が中性附近ではエーテルと振盪しても陽性物質はエーテルに移行しない. しかし pH を塩酸で 3 附近にして行えばエーテルに移行する.

陽性物質の還元能力を Hagedorn-Jensen の方法で測定すると, 略一定の値 (D 値 1 点当り葡萄糖に換算して 0.2mg/dl 前後) を示すが, これを塩酸で加水分解すると著明に還元能力が増加する. Fehling の試薬を還元する.

以上の定性反応の成績から陽性物質は比較的低分子の Polypeptide であり, 且その物質は糖も含んでいるものと考えられる.

前述の山添等¹⁸⁾の成績と比較すると著者の結果とは Molisch 反応, Ninhydrin 反応が陽性な点及びその他幾つかの沈澱反応の成績が一致しているが, Millon 反応, Biuret 反応が陰性, 磷タングステン酸で沈澱するが硫酸安門飽和で殆ど沈澱しない点等が異っている.

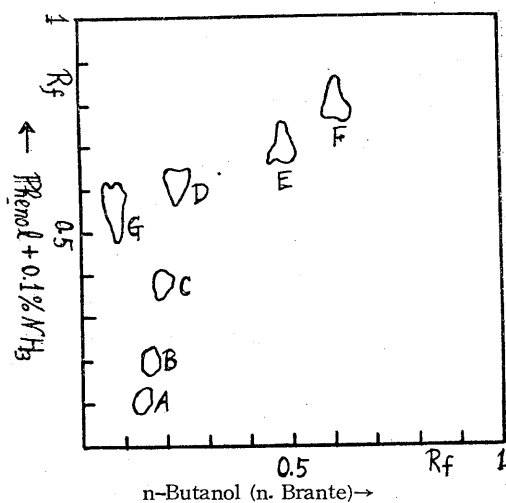
4. D 反応陽性物質の構成アミノ酸

定性反応の結果から陽性物質はチロジン, トリプトファン, アルギニン等のアミノ酸をふくんでいることが解るが, 著者はさらに Paper Chromatography を用いてその構成アミノ酸をしらべた.

陽性物質 1g に対して 25% 硫酸を 10ml の割に加え, 還流冷却器を用いて 20 時間以上加水分解を行った. 分解液中の硫酸を水酸化バリウム

で中和し, 過剰のバリウムは炭酸ガスを通じて除去した. 溶媒として Brante の溶媒²¹⁾すなわち n-Butanol, Ethanol, 水の比が 4:1:1 の割に混合したものと及び 0.1% アンモニア水で飽和した Phenol を用いた. 先づ Brante の溶媒で展開し, 展開後室温で乾燥し次に Phenol で展開した. 何れも上昇法による. 呈色は 0.2% Ninhydrin-Butanol 溶液をスプレー後加温して行った.

成績は第 1 図の如くで通常鮮明に 7 個の斑点



第 1 図

A: アスパラギン酸. B: グルタミン酸. C: グリシン. D: アラニン. E: バリン. F: ロイシン. G: リジン

を認める. 夫々の Rf より 7 個の斑点はアスパラギン酸, グルタミン酸, グリシン, アラニン, バリン, ロイシン, リジンによるものと推定される. その他比較的薄くアルギニン, ゼリン, チロジンの斑点が認められる. 尚加水分解をしない膠質液を展開しても膠質液は原点にとどまり濾紙上に斑点は認められない. 即ち上記のアミノ酸は陽性物質の構成アミノ酸であって, 尿より分離した陽性物質中には尿から由来した遊離のアミノ酸が含有されていないものと考えられる.

5. D 値 1 点を示すに必要な陽性物質質量及び窒素含有量

D 反応陽性物質は黄褐色乃至褐色を呈し, 蒸

溜水にて溶解させる場合、恰もゲラチンのように膨化して溶け、その際非常に泡沫を作りやすい。

D値1点を示す膠質液は完全に無色である。D値1点を示すに必要な膠質液1ml中の陽性物質の量(今後1単位量と呼ぶ)及び陽性物質中の窒素含有量をKjeldahl法により測定し、第1表の如き成績を得た。即ち1単位量として平

第1表

番号	D標準法値 (中山改良法)	1単位量 (μg)	N含有量 (%)	1単位N量 (μg)
1	4.81	51	10.10	5.2
2	5.36	46	10.36	4.8
3	5.16	48	11.06	5.3
4	5.26	47	12.04	5.7
5	5.16	48	12.04	5.8
6	4.81	51	10.92	5.6
7	4.81	51	11.06	5.6
平均	5.05	49	11.08	5.6

D値測定に使用した膠質液濃度 0.025%

均約50 μg の値を得た。言い換えれば溶液100mlに5mgの陽性物質が含まれておればD値1点を示す事になる。尙市販のゲラチン(関東化学)は約6mg/dlの濃度でD値1点を示すから、陽性物質のD反応に対する作用の強さはゲラチンと略同程度のもと言え。又1単位量のN量が略5.5 μg と一様の値を出している点は尿より上記の分離方法で毎回取り出している陽性物質は殆ど同質の物質であり、又殆ど完全に陽性物質のみを分離しているものと解せられる。尙表中の窒素測定は0.5%膠質溶液を使用し、D値測定はその20倍稀釈液(0.025%)を用いて行った。

6. D反応陽性物質の等電点

陽性物質を取扱っている際酸性のある領域に於て膠質液が濁濁乃至沈澱を起すのが認められる。これは陽性物質が両性電解質であり、又その等電点が酸性領域にあることを考えさせるものである。且沈澱量は該物質溶液のpHを4附近に修正するとき最大になることから等電点はpH4附近にあると推定される。それでD反応陽性物質全体としての等電点を平木²²⁾がGlyco-

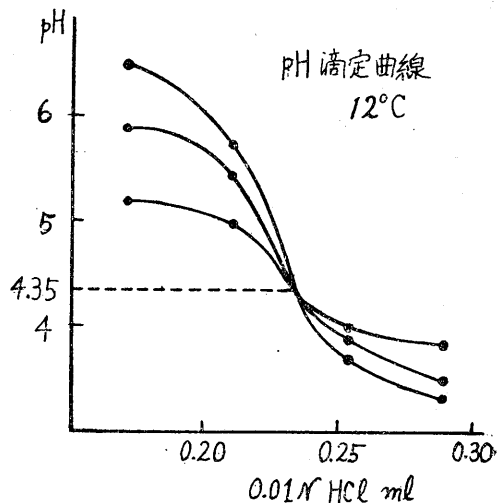
collの等電点測定に用いた方法を採用して測定した。その原理は両性電解質が等電点に於て緩衝能が無くなる性質を利用し、等電点附近の滴定曲線よりこれを求めるものである。

分離した反応陽性物質は溶液が中性であるから弱酸の塩類の形で存在する。その溶液に塩酸を滴加し東洋pH試験紙を用いてpHを4.0~3.8にすると、陽性物質は最も多量に沈澱する。軽く熱して沈澱を完全にして遠心分離し、更に少量の蒸溜水で数回洗う。これを蒸溜水に浮遊混和し、暫く放置して粗な粒子を沈澱させ、これをすてて略等質の微に濁濁した液を作った。この浮遊液およびその2倍、4倍稀釈液各々20mlに0.01N苛性ソーダ2.0ml加えて浮遊粒子を完全に溶解する。各液について2ml宛4本の試験管に取り、これらに0.01N塩酸をそれぞれ0.170, 0.210, 0.252, 0.290mlずつmicroburetteより滴加し、そのもののpHをquinhydrone電極を用いて測定した。

第2表

0.01 N HCl 滴加 ml	pH		
	A	B	C
0.170	5.194	5.859	6.468
0.210	5.079	5.483	5.763
0.252	4.051	3.946	3.717
0.290	3.888	3.526	3.388

濃度 A : B : C = 4 : 2 : 1



第2図

その1例は第2表及び第2図であり、この場合Aの濃度は窒素含有量で910mg/dlである。3本の滴定曲線は1点で交叉し、この交点に対応するpHを求めると4.35である。

異なった資料について同様等電点測定を3回行い、それぞれpH 4.35, 4.25, 4.30 平均 pH 4.31の値を得た。この値は血漿のアルブミンやグロブリン等の等電点より著明に低いものと考えられる。

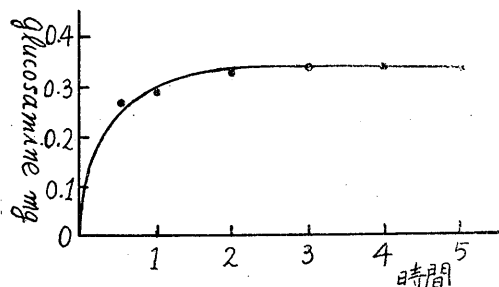
7. D反応陽性物質の Glucosamine 含有量について

上記の陽性物質の等電点が低いこと及び定性反応の成績が含糖 Polypeptide の性状を示している点、或は酸と共に加熱することにより還元能力が増大すること等は、陽性物質が Mucin 物質特に近年 Weimer等²³, Rimington²⁴ 等によって血漿中に証明されている Mucoprotein 或は Seromucoid とよく似た物質であると考えさせる。Mucoid 又は Mucoprotein と称せられるものは Meyer²⁵ の分類によると4%以上の Glucosamine を含有する Polypeptide である。吾々の陽性物質が果して Meyer の所謂 Mucoid に属するか否かを確かめるため Glucosamine の含有量を測定した。

測定には Elson and Morgan²⁶ の比色法を用いた。その方法を略記すれば、被検液 4ml に Elson and Morgan の Acetylacetone 試薬 (0.5 N Na₂CO₃, 50ml に Acetylacetone 1ml 加えたもの) 2ml を加え、沸騰水中に20分浸たす (この際液の蒸発を防ぐため綿栓を行った)。冷却後 5ml のアルコール及び Ehrlich の試薬 (30ml のアルコールに濃塩酸 30ml 加えたものに 0.8g の p-Dimethylaminobenzaldehyde を溶かしたもの) 2ml を加え45分放置する。更に 2ml のアルコールを追加して緑色のフィルターを用いて光電比色計によりその吸光度を読み、予め作製した標準曲線よりその濃度を求める。標準曲線は塩酸 Glucosamine がそれぞれ 1.87, 3.75, 5.00, 6.00, 7.50mg/dl の濃度のものを使用して求めた。

予備実験として Glucosamine の遊離を確実に

するため、陽性物質 100mg を 1N 塩酸 100ml で還流冷却器を用いて加水分解を行い、30分、1, 2, 3, 4, 5 時間目にそれぞれ 2ml 宛取り、苛性ソーダにて中和し最後に水を加えて 4ml にする。このものを上記の測定法によりその濃度を求めた。成績は第3図に示すように加熱後30分



第3図

で約8割が遊離し、2~3時間で一定値となった。この事は Glucosamine の定量に際し加水分解の時間が3時間で十分であることを意味する。

陽性物質 20mg を 1N 塩酸 20ml にて3時間加水分解を行い、Glucosamine の含有量を求めた。5例について 8.71, 9.09, 7.57, 8.11, 9.28% 平均 8.55% の値を得た。この結果から明に陽性物質は Meyer の所謂 Mucoid であり、前述の成績と合わせ考えると Winzler 等の血漿 Mucoprotein と同性状のものとして推定される。

8. D反応陽性物質の Tyrosine 含有量

Winzler 等²⁷ は血漿 Mucoprotein を定量するのに、除蛋白血清に塩酸加燐タングステン酸を加えて沈澱したものの Tyrosine 量を測定している。測定は Folin²⁸ の Phenol 試薬を用いて比色する方法を用いており、正常時の値として約 3.4mg%, 癌では約 8.5mg% の値を報告している。著者はこの Folin の測定法 (Phenol 試薬による呈色は Tyrosine に特有でなく Tryptophane 等によっても呈色する) を用いて陽性物質中の Tyrosine の含有量を求めた。

陽性物質 20mg を 1/5 飽和炭酸ソーダに溶解させて 0.1% 溶液を作り、その 1ml に 1/5 飽和炭酸ソーダ 5.5ml 及び Phenol 試薬 (タングステン酸ソーダ 100g, モリブデン酸ソーダ 25g を

水 700ml に溶解, 更に 85% 磷酸 50ml, 濃塩酸 100ml を加えて還流冷却器を用いて 10 時間緩かに加熱後硫酸リチウム 150g, 水 50ml 及び数滴のプロムを加えて 15 分間加熱し余分のプロムを放出, 冷却後水を加えて 1l にする. 濾過した濾液) 1 ml を加え, 室温に 1 時間放置後光電比色計を用いてその吸光度を求め, 予め Tyrosine の各種濃度 (2, 4, 6, 8, 10, 12mg/dl) のものについて求めた標準曲線からその濃度を求めた. 尚フィルターは赤色を用いた.

9 例について 2.7, 3.2, 3.6, 2.6, 2.7, 2.5, 3.6, 3.0, 3.1% 平均 3.0% の値を得た.

前述の如く陽性物質は 5mg/dl の濃度で D 値 1 点を示すから D 値 1 点当りの Tyrosine 濃度は 0.15mg/dl となる. この値で血漿 Mucoprotein Tyrosine の濃度を割って得られる値は除蛋白血清の D 値を示すものと考えられる. Winzler 等の測定した値を用いると正常の場合は 20 数点となり, 相当高いことが想像される.

9. D 反応陽性物質の Hexose 含有量

定性反応の成績で陽性物質が Molisch 反応陽性であるが塩酸 Orcin 反応等 Pentose の反応が陰性であることから, 陽性物質は一応 Hexose を含んでいるものと考えられる.

陽性物質が前述の Winzler 等の挙げている血漿 Mucoprotein と同様に Galactose および Mannose を等量宛含有しているものとして, Sørensen and Haugaard²⁹⁾ の方法を用いて糖の含有量を求めた. この測定方法は Orcin 反応を利用して比色定量するものである. すなわち被検液 1ml に Orcin 試薬 (14.3N H₂SO₄ 100ml に Orcinol 2g 溶解) 1 ml を加え, さらに 14.3N H₂SO₄ 7 ml を追加し 80°C の湯水中に浸す. 次に氷水中に 10 分放置し光電比色計を用いてその吸光度をよみ, 標準曲線よりその濃度を求めた. 尚フィルターは緑色を使用した. 標準曲線は Galactose, Mannose がそれぞれ等量宛 5, 10, 15, 20mg/dl 含まれているものを使用した.

5 例について 4.0, 4.1, 4.8, 5.5, 5.6% 平均 4.8% の値を得た.

以上の成績から陽性物質の窒素, Hexose,

Glucosamine, Tyrosine (Tryptophane も含む) の含有量及び夫々の D 値 1 点当りの濃度を表示すると第 3 表のごとくなる. 表中血漿 Mucoprotein について示した値は Weimer 等²³⁾ の成

第 3 表

	D 反応陽性物質 (%)	D 値 1 点当り mg/dl	Mucoprotein (%)
窒素	11.1	0.54	10.1
Hexose	4.8	0.24	16.4
Glucosamine	8.6	0.42	11.9
Tyrosine			
Tryptophane	3.6	0.15	3.2

績によった. 陽性物質と血漿 Mucoprotein について, これらの値を比較すると表からも解る様に Hexose を除いては殆ど大差がみとめられない. 又この外に陽性物質と血漿 Mucoprotein と酷似している点が多い. 即ちその主要な点を列挙すると, 1. ズルフオサルチル酸, トリクロール醋酸では沈澱しないが, 硫酸安門飽和により沈澱する. 醋酸酸性で煮沸しても沈澱しない. 2. アルコールにより可逆的に沈澱する. 3. 等電点が比較的低い点等である. これらの事から尿に排泄せられる D 反応陽性物質は血漿 Mucoprotein に由来するものと考えられる. ただ反応陽性物質の糖含有量の少い点が異なっているが, これは分離操作の差異又は陽性物質中に Glucuron 酸が含まれていることから Meyer の分類による Mucoïd 酸の型に或は属するものも一部に含まれていること等に原因すると推定される.

B. 作業時の D 反応陽性物質について

以上の成績は研究室に勤務する健康男子の日常時の尿より分離した陽性物質について行った成績であるが, 果して工場等に於て重労働を行っている労働者或は短時間の強度の作業を行った際に現れる陽性物質が前述のものと同様であるか問題になる. それでこのような条件に於ける尿から陽性物質を取り出し, D 値 1 点当りの窒素, Tyrosine, Glucosamine の量を求め前述の成績と比較を行った. この場合被検尿が少ないため, 陽性物質を乾燥させずに行った. 陽性物質の分離及び各種測定方法は前と同様である.

1. 工場労働者及び長距離徒歩時の尿について

工場労働者については金沢市某織機工場の鑄造工および組立工を選んで行った。鑄造工(10人, 35~55才)は相当の重労働で作業中の平均D値は6.1点, 組立工(10人, 20~40才)は4.8点であった(いずれも当教室桜井³⁰⁾の測定による。尚桜井によれば日常の研究室勤務者及び学生の平均D値は3.4点である。鑄造工について4回, 組立工について2回測定した。

長距離徒歩の例は学生及び教室員(13人)が45分約5kmの速さで約22km歩いた場合の尿を集めてその陽性物質を抽出, 分析したもので, それぞれ第4表に示すような成績を得た。即ちD値1点当りの窒素, Tyrosine Glucosamineの量は日常研究室勤務者の場合と大差がなく, 両者は同一のものと考えられる。

2. 自転車 ergometer を用いて強度短時間作業を行った場合
著者等は別報³¹⁾で報告した如く自転車 ergometer を用いて強度短時間の作業を行った場合D値は作業後15分間の尿に異常に高く30~45分間で殆ど作業前の値に復する結果を得た。従ってこの場合の陽性物質の分離には作業を含めた45分間の尿を使用した。被検者は教室員及び学生で自転車 ergometer を毎秒1回転の速さで踏ませた。被検尿が少いため数人分を集めて使用した。特に点数の低い尿では少くとも400~500mlになるまで冷蔵庫内に保存して用いた。陽性物質を分離する際尿蛋白が陽性の時は, そのまま加熱濾過することによって除蛋白を行った。成績は第5表の如くでD値1点当りの窒素及び Tyrosine の量は前と大差はないが, Glucosa-

第4表

	D値1点当り (mg/dl)		
	N	Tyrosine	Glucosamine
鑄造工	0.67	0.14	0.42
	0.58	0.13	0.43
	0.68	0.16	0.46
	0.56	0.15	測定せず
組立工	0.62	0.13	0.44
	0.59	0.14	0.43
平均	0.62	0.14	0.44

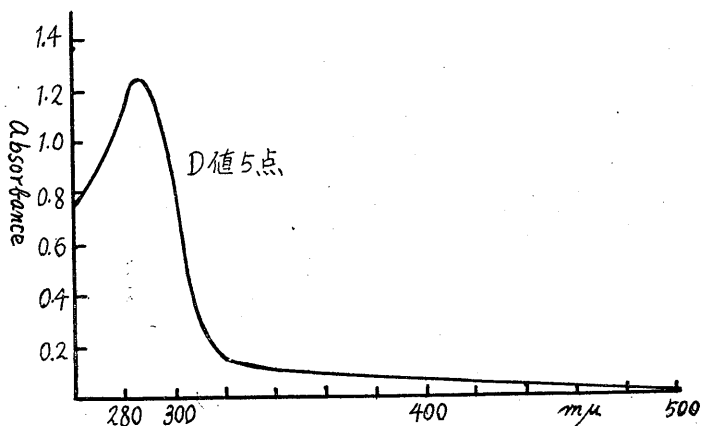
mine が蛋白尿を見る場合には幾分少いように思われる。

3. 分光光度計によるD反応陽性物質の吸収帯の測定

D反応陽性物質について Beckmann分光光度計を使用して265~600m μ の波長の範囲で吸収

第5表

番号	作 業	被 検 者	尿 蛋 白	D 値	D値1点当り (mg/dl)		
					N	Tyrosine	Glucosamine
1	850 kgm/min 4分		A -	4.8	0.64	0.14	0.40
			B -	4.6			
			A -	5.9			
			B -	6.0			
			A -	6.5			
			B -	4.0			
2	850 kgm/min 5分		C +	16.3	0.56	0.15	0.38
			D -	6.4			
			E -	5.6			
			F -	8.4			
3	同 上		G +	25.2	0.50	0.14	0.31
			E +	21.3			
4	1033 kgm/min 5分		F +	32.0	0.58	0.18	0.29
			C +	23.1			
5	850 kgm/min 5分		D +	13.2	0.55	0.14	0.27
			H +	17.6			
			G +	26.3			
6	878 kgm/min 5分		I -	10.2	0.54	0.15	0.33



第4図

スペクトルを測定した。日常研究室勤務者尿より抽出した陽性物質では第4図に示すように極大吸収は波長 286~287 μ に於てみられた。運動性蛋白尿が陽性のものより得た陽性物質では漸次吸光度が増大して極大吸収波長がみとめられなかった。この点およびD値1点あたりの Glucosamine 量がやや少い事は、このような場合に分離されるD反応陽性物質は単一なものではなく、Glucosamine の比較的少いものも含まれていると考えられ、その出現は腎臓の透過性によって左右されるものであろう。

Ⅲ. 総括及び結論

尿よりD反応陽性物質を分離し、その本態を追及した。得られた成績を要約すると次の通りである。

A. 日常研究室勤務者尿より分離した陽性物質

1. D反応陽性物質は本田の抽出方法にメタノール沈澱を併用することにより比較的性状の一定した物質として分離される。

2. D値1点を示すに必要な量は約 5mg/dl であり、酸で加水分解することにより陽性物質としての性質を失う。

3. 蛋白の呈色反応が陽性であるが、ズルフォサルチル酸、トリクロール醋酸等では沈澱しない。しかしアルコール、硫酸安門飽和により沈澱する。熱によって凝固しない。酸と共に加熱すると還元能力が増大する。

4. 構成アミノ酸としてアスパラギン酸、グルタミン酸、グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、リジン、アルギニン、ゼリン、クロジン、トリプトファン等が認められる。

5. 窒素を 11.1%、Tyrosine を 3.0%、Glucosamine を 8.6%、Hexose を 4.8% の程度に含む。従ってD値1点当りの窒素は 0.55mg/dl、Tyrosine は 0.15mg/dl、Glucosamine は 0.43mg/dl 内外となる。

6. 等電点は pH 4.35 附近で他の血清蛋白に比べれば低い。

7. 極大吸収スペクトルの波長は 286~287 μ である。

以上の成績から陽性物質の本態は Mucoïd であり、Weimer等²³⁾、Winzler²⁷⁾ 等が論じている血漿 Mucoprotein の成績と比較すると、D反応陽性物質の Hexose 含有量が少い点を除いては殆ど一致している。このことから尿に排泄されるD反応陽性物質は血漿 Mucoprotein に由来するものと考えられる。

B. 工場労務者

長距離徒歩時の尿より分離した陽性物質はAと同様のものと言える。

C. 強度短時間の作業で蛋白尿を見る場合

D値1点当りの窒素及び Tyrosine の量はAと大差がないが、Glucosamine の量は稍少い。又 265~600 μ 間では凸状の極大吸収スペクトルは認め難い。即ちこの様な条件の尿より分離されたものは単一のものでなく、Glucosamine 含有量の少いものも含まれていると考えられる。

稿を終るに臨み 終始御懇篤なる御指導御鞭撻を賜わり、且御校閲を賜わつた斎藤教授に深甚の謝意を表します。又日常勤務時尿を長期間にわたり提供された細菌学教室各位並びに種々御援助を賜わつた生理学教室各位に深謝します。

文 献

- 1) Donaggio, A. (1936) Das Verhalten meiner Peak-tion im Urine und im Liquor unter physiologischen und pathologischen Verhältnissen. Ber. Physiol. u. exp. Pharmak. 92, 97
- 2) Torboli, A. (1936) Über die Ursache der sogenannten Donaggio-Reaktion im Harn ermü-deter Individuen. Ber. Physiol. u. exp. Pharmak. 92, 14
- 3) Rendel, G. (1939) Untersuchungen über die Donaggio-Reaktion. Arb. Physiol. 10, 521
- 4) 吉川春寿・石丸清子 (1943) 尿 Donaggio 反応生起物質 科学 13, 63
- 5) 山添三郎 (1943) Donaggio 反応に関する研究 (4) 医学と生物学 4, 24
- 6) 桜井昭光 (1953) Donaggio 反応陽性物質の透折実験 十全医学会誌 54 (掲載予定)
- 7) 増山元三郎・細島千代子 (1942) 尿中 MB-MA 瀝紙反応陽性物質の性質 医学と生物学 2, 453
- 8) 本田良行 (1951) 吸着による Donaggio 反応陽性物質の抽出法 体力科学 1, 161
- 9) Simonelli, G. (1934) Über einige Eigenschaften der die Reaktion von Donaggio bedingenden Stoffe des Harn. Ber. Physiol. u. exp. Pharmak.

- 83, 148
- 10) 齋藤幸一郎・東 哲朗・福井美千子 (1943) Donaggio 反応陽性物質の分離 医学と生物学 3, 186
 - 11) 多賀政男 (1944) 産婦人科領域に於ける Donaggio 反応の研究 (1) 長崎医学会誌 22, 776
 - 12) Saccardi, P. and G. Giuliani (1936) Über die Reaktion von Donaggio. Ber. Physiol. u. exp. Pharmak. 91, 239
 - 13) 荒木俊一 (1948) Donaggio 反応陽性物質としての Mucoid について 日本衛生学誌 2, 1
 - 14) 増山元三郎・細島千代子 (1942) Donaggio 反応陽性物質としての核酸塩 医学と生物学 2, 11
 - 15) 山添三郎 (1943) Donaggio 反応の研究 (6) 医学と生物学 4, 254
 - 16) 佐藤徳郎 (1949) Donaggio 反応標準法について 生体の科学 1, 37
 - 17) 齋藤幸一郎 (1943) Donaggio 反応と尿膠質 日本生理誌 8, 501
 - 18) 山添三郎・清水良雄・池田満穂 (1950) Donaggio 反応に関する研究 (17) 医学と生物学 16, 232
 - 19) 中山達夫 (1953) 光電比色計による Donaggio 反応標準法の精密化と簡易化について 総合医学 10, 255
 - 20) Hawk, P., B. Oßser, and W. Summerson (1948) Practical Physiological Chemistry 183
 - 21) 宮木高明・佐竹一夫・林 誠 (1950) 私達のペーパークロマトグラフ 日新医学 37, 256
 - 22) Hiraki, M. (1932) The isoelectric point of glycoll and α -alanine. J. Biochem. 15, 345
 - 23) Weimer, H., J. Mehl, and R. Winzler (1950) Studies on the mucoproteins of humann plasma. J. biol. Chem. 185, 561
 - 24) Rimington, C. (1940) Seromuroid and the bound carbohydrate of the serum proteins. Biochem. J. 34, 931
 - 25) Meyer, K. (1945) Advances in protein chemistry II. 252
 - 26) Elson, L. A. and W. T. J. Morgan (1933) A colorimetric method for the determination of glucosamine and chondrosamine. Biochem. J. 27, 1824
 - 27) Winzler, R., A. Devor, J. Mehl, and I. Smith (1948) Studies on the mucoproteins of human plasma. J. Clin. Invest. 27, 609
 - 28) Folin, O. and V. Ciocalten (1927) On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. J. biol. Chem. 73, 627
 - 29) Sörensen, M. and G. Haugaard (1933) Über die Anwendbarkeit der Orcinreaktion zur Bestimmung der Art und Menge vnn Kohlenhydratgruppen im Eiweissstoffen. Biochem. Z. 260, 247
 - 30) 桜井昭光: Donaggio反応に関する実験的研究 (十全医学会誌に発表の予定)
 - 31) 下川末夫・中山達夫・山崎哲夫・西田悦郎 (1953) 筋作業時に於ける Donaggio 反応値の変動について 体力科学 2, 183

Summary

We extracted the substances responsible for Donaggio reaction from the urine of laboratory members in a usual work by Honda's method followed by the precipitation by methanol and examined its chemical nature. Donaggio reaction used by us is the so-called the standard method devised by Sato in Japan which has an advantages that the values obtained are proportional to the concentration of the Donaggio-positive substance. Following results are obtained:

1) The substance gave all protein colour reactions tested and was precipitated by alcohol and by saturated ammonium sulfate but not by trichloroacetic acid or sulfosalicylic acid. It was heat-stable.

2) By paper-chromatography and some other tests, it proved to contain the following amino acids: aspartic acid, glutamic acid, glycine, alanine, valine, leucine, lysine, arginine, serine, tyrosine, tryptophane etc.

3) The substance had some reducing power which was increased by acid hydrolysis, losing the responsibility for the Donaggio reaction. The concentration of its aqueous solution corresponding to a unit value of Donaggio reaction was about 5 mg/dl.

4) The substance was found to contain 11.1% nitrogen, 3.0% tyrosine, 8.6% glucosamine and 4.8% hexose. The isoelectric point was about pH 4.35. being remarkably lower

than those of plasma proteins. It gave a distinct spectroscopic absorption maximum at the wavelength of 286-287 $m\mu$.

From these results, we may conclude that the substance is a mucoprotein according to the Meyer's classification and bears a close resemblance to the plasmamucoprotein studied by Weimer and Winzler. The substance in the urine can be reasonably surmised to originate from the plasma mucoprotein.

The substance from the urine excreted immediately after an exhausting exercise, however, differed somewhat in chemical natures from the above-mentioned substance. Namely, it contained less glucosamine and had no absorption maximum in the range of wavelength of 200 to 600 $m\mu$. The differences are presumably due to the appearance of abnormal mucoprotein in the urine.

(Department of Physiology, Faculty of Medicine, Kanazawa University)

唾液の酸塩基平衡に関する研究 612.314.1

(第3報) 疲労と唾液の酸塩基平衡について

Studies on the Acid-base Balance of Saliva. Part III: The Interrelation between the Acid-base Balance of Saliva and Physical Fatigue.

高岡 涉 (Takaoka-Wataru)*

I. 緒言

前報^{1) 2)}に於て著者は唾液の酸塩基平衡を決定する主要因子は重炭酸塩濃度によるものであり、その重炭酸塩は分泌速度に平行して変化する。即ち唾液分泌が盛んになると重炭酸塩濃度が増加してpHが上昇し、分泌が低下すると逆に重炭酸塩濃度は減少し、pHが低下する事を報告した。言いかえると唾液の酸塩基平衡はその分泌機能、即ち腺細胞自体の機能と密接な関係にある事を明にしたのである。ここに思合されるのはZambrini-渡辺³⁾反応として知られる1つの疲労反応のある事実であって、それによれば唾液のpHは各種の疲労や身体違和に際して低下すると言う。しかし此の事はすでにStarr⁴⁾以来Henderson and Miller⁵⁾, Baker and Eye⁶⁾, 矢田⁷⁾等の先人によっても確められて居り、その理由については疲労による血液acidosisの結果であると推論しているものが多い⁸⁾。併し著者が第1報¹⁾に於て確めた如く、血液の酸塩基平衡とは直接の結びつきはないのであるから、此の様な考えでは説明出来ない。そこで著者は恐らく唾液腺細胞機能が疲労や身体違和に伴って低下する為に唾液pHが低下するのであると考えた。又事実疲労時には唾液の分泌速度が低下する事は林¹⁰⁾によって明にせられている。そこで著者は疲労によって唾液pHの低下する際には此が分泌機能の低下に基因する事を実験的に証明せんとして本研究を行った。

II. 実験方法

研究は次の3つに分って行った。先づ第1に

* 京都府立医科大学生理学教室(教授吉村寿人)

は実験的に急速に重労働を行って疲労させた場合(所謂急性疲労)第2は長期に渉る労働実験に於ける疲労の場合(所謂慢性疲労)第3は実験室外に於て手術場に依っている看護婦について行った日常勤務時の疲労調査の3つである。何れも一定刺激によって分泌せられる唾液分泌速度とそのpH, CO₂%を同時に測定し、疲労時の唾液腺機能と酸塩基平衡との関係を究明せんとした。夫々の実験乃至は調査方法の細部は次の通りである。

1. 急性疲労実験

被検者は体重50kg前後の健康青年男子であって先づ朝8時頃より安静時の唾液を採集した後40分労働20分休憩の後再び同様の40分労働を行った。かくしてこれを繰返しつつ、午前9時より午後4時迄総エネルギー消費量1500kcalの労働を行わしめた。昼は昼食の為約1時間半休憩とする。此の場合自転車ergometerの荷重は約5kgであって被検者はひどく疲れた状態となった。而して此の場合食事は日常の食質と略同一とし労働に依る過重のエネルギー量は主として砂糖を取ってエネルギーバランスを保たしめた。唾液は労働前に1回、各休憩時毎に夫々1回づつ採集する事とし、早川氏¹⁰⁾唾管によって耳下腺の酸刺激唾液を集めた。ただし酸刺激は1/8モルのクエン酸を用いてこれを2分間1ccの割合にて20分間連続して舌中央にたらしめて刺激した。又これと同時に血液や尿を採集した。此等についてもpH, CO₂%を測定する外尿については滴定酸量、Donaggio-越智¹¹⁾反応をも測定した。

2. 慢性疲労実験

4名の健康青年男子学生について昭和24年春

と夏に於て教室に於て行われた長期の労働実験に際して同時に唾液を採集してその酸塩基平衡をも検査した。実験方法の詳細は既に第1報¹⁾に記載してあるので説明の都合上労働方法のみを記載する。労働期には日々約1000~1100kcal 需要熱量の重労働を負荷して約2週間を1期とし1週間の休憩期をはさんで2~3期の労働を行った。したがってその実験の全期間は1~2ヶ月におよんでいる。労働負荷に際しては自転車 ergometer を用いて6kgの荷重のもとに1分間60回転の速度にて150分間自転車を踏ませ、その外仕事量を780kgm/分となした。かくして同一被検者について日々早朝空腹時の血液と唾液を採集した。血液は肘静脈より、又唾液は混合唾液(冷水にて口をすすぎその後自然に流出する唾液を口内に溜る都度吐出せしめる)乃至は耳下腺唾液(1)と同様の酸刺戟唾液)をとる。そして此等についてpH, CO₂を測定した。又時にピロカルピン刺戟(1%液0.5cc注射)によって唾液を採集した事もある。何れの場合にもその分泌速度を同時に測定し、分泌速度との関連に於て酸塩基平衡を観察した。尿については毎日の24時間尿について測定を行った。尿は冷暗所に貯蔵して可及的に変質を防いで測定に供した。

3. 勤労現場に於ける調査

本大学附属病院外科看護婦健康者5名を選んで朝の就業前と午後の作業終了後に耳下腺唾液を早川氏¹⁰⁾唾管を用いて採集した。採集に当っては舌上にM/8クエン酸を1cc/2分の割合で垂らして反射性分泌を捉がした。又それと同時に採血を行い、そのpHやCO₂Vol%を測定した。そしてこれを同一の被検者について作業の激しい手術場勤務の場合と、比較的楽な包帯交換場勤務との場合について調査し比較して、疲労時の唾液並に血液酸塩基平衡の変化を検討した。

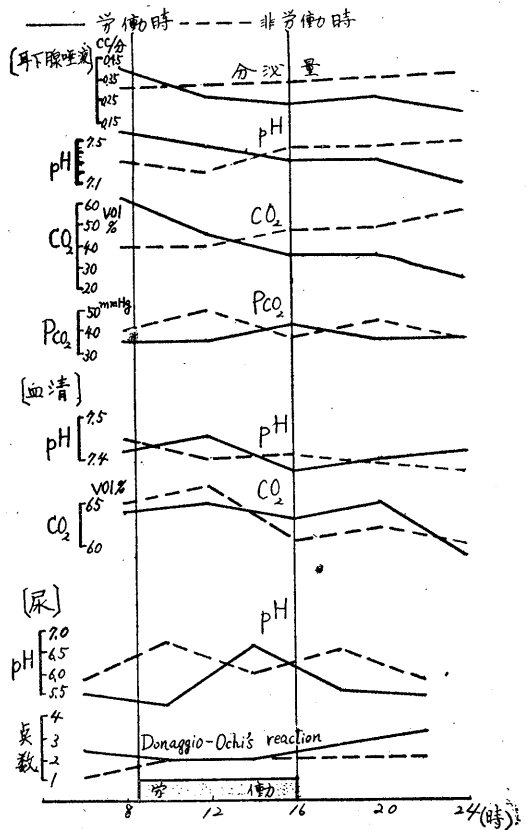
以上の諸実験に於て採集した血液並に唾液は総てこれを流動パラフィン下に貯て測定に供し、そのpHは総て水素瓦斯電極にて測定し、又CO₂はVan Slyke-斎藤法にて(血液の場合は斎藤の方法、唾液の場合は松田の方法等1

報参照)測定した。但し血液の場合は総て血清遠心分離して之について測定を行った。又唾液分泌速度は流出する唾液の量を一定時間集めて、これより単位時間当り分泌量算出して求めた。又尿のpHは水素瓦斯電極の外にquinhydrone電極¹²⁾にて測定した場合もある。滴定酸量を求める場合にはquinhydrone電極にて滴定電気曲線を描き、アルカリ経済 base economy¹³⁾を算出した(アルカリ経済は5ccの尿をN/10のNaOHにて滴定し、かくしてpH7.4に達する迄に要したアルカリ量を1N.NaOHのccに換算して示すこととした)。又尿のCO₂はVan Slyke¹⁴⁾の方法にて求め尿アンモニヤはFolin法にて測定し、acidosis判定の参考に供した。

III. 実験成績

1. 急性疲労実験

第1図は急激な労働を行った場合の1例であ



第1図 労働時の酸塩基平衡 (T.M.例)

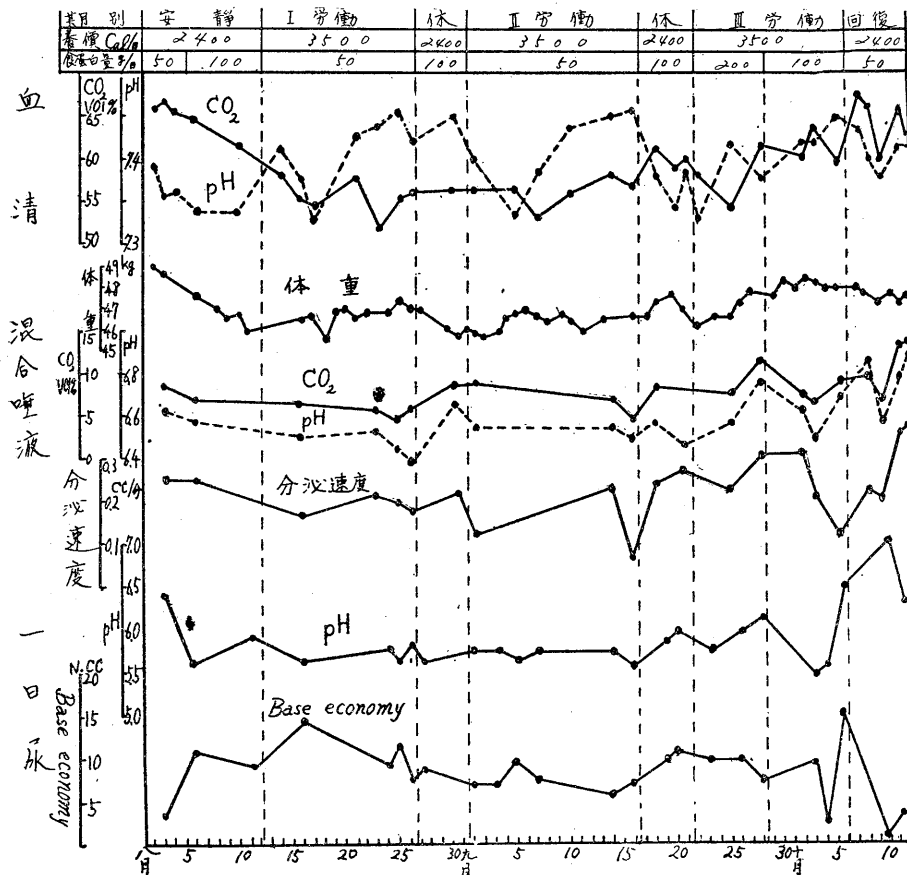
る。実線は労働実験の成績であり、点線はこれと全く同様な唾液採集を安静生活時に行った対照実験の成績である。図示の如く唾液分泌量は対照に比し労働日は労働の進むと共に低下し、且夜間は更に低下している。

然るにこれと殆んど平行して唾液 pH や CO₂ は共に労働日には安静日と違って段々と時間的に低下している。又尿の Donaggio-越智反応については時間の経過と共に尿のメチレン青の沈澱が悪くなって点数が上昇し、労働時に疲労の亢進せる事が示されている。血清の pH や CO₂ も労働後低下の傾向はあるが、併し安静日と大差はなく、特に労働によって強い血液 acidosis が認められた訳ではない。従って疲労によって唾液 pH の低下するのは血液の acidosis の為ではなく唾液腺機能が変化した為には唾液の重碳酸塩

分泌が減少しその pH が低下したものと考えてもよさそうである。この場合尿の pH も疲労時に低下するとの報告が多い¹⁰⁾が、必ずしもそうではない事は図より明である。それは尿の pH は理論的に疲労に依って低下する筈であるが、其の他に食事とか自然満潮とか色々これに影響する要因が多い為であって、この場合にも疲労時の食事満潮が顕著に現れている。

2. 慢性疲労実験

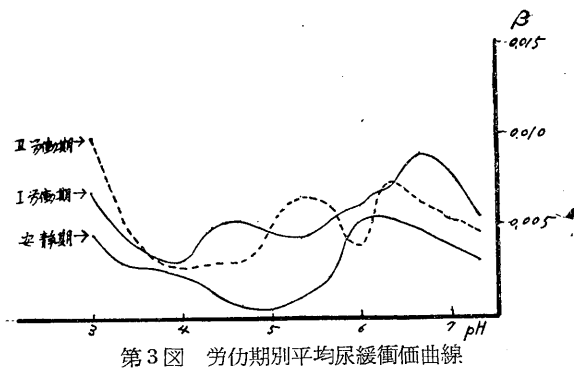
長期に渉る労働訓練時に於ける混合唾液の場合の成績の1例(K. K. 例)を第2図に示す。先づ血清の CO₂% (予備アルカリ) は第1期並に第2期労働期には低下しているが、第3期にはやや回復している。pH については第1~3期の初期に於て屢々低下が見られるが、その後半に反って上昇している。おそらく血液 pH の



第2図 (被検者K. K. 例)

初期の低下は疲労物質蓄積による acidosis であろうか、後半になって適応機転が現れて来る為回復して行ったものであろう。此の場合唾液の分泌速度は血清 CO₂濃度の低下と同様に第1, 2期労働期には時々著明に低下するのが見られ、全体としてやや正常時より低下した感を

与えるが第3 勞働期にはこの低下が少くなり回復している。唾液 pH, CO₂ 濃度は此の様な分泌速度の消長と略平行して消長している。尿の成績は1日尿についての測定であるので早朝空腹時に採集したる血液並に唾液の成績とは多少異なるのは当然であるが、尿についてもその第1期及び、第2期勞働時に於ては pH の低下が見られた。又アルカリ経済は第1期勞働の初期には明かに増加の傾向があり酸根排泄が増している事がうかがわれる。又第3 図に示せる尿の緩



衝曲線はこの各期に於ける代表的な、尿滴定の成績より計算せしものであって、勞働期には第1, 2期共に酸根排泄が増して緩衝価が上昇している事が一層明瞭に示されている。緩衝価計算の詳細は山地¹⁷⁾の論文に記載せられているが、要するに尿 1*l* に対して加えた酸乃至は塩基の Normality (dB) とその時の pH の変化 dpH との比 β (=dpH/dB) (Van Slyke) を算出し、これに1日尿量 (*l*) を乗じて、1日尿に

ついでの β の総量を求めた。

第1表は以上の諸成績を各試験期毎に平均して示したものであって、上記の関係が数字の上にも表わされている。要するに本例に於ては勞働の第1期、第2期殊に夫々の初期には血液や尿に軽度乃至は潜在性の acidosis (血液 pH は正常値の範囲にあつても血液予備アルカリが減少し尿へ酸根排泄の増した状態) が表われ唾液の分泌速度も減少して唾液腺の機能低下の徴を認める。而して唾液の重碳酸濃度 (乃至は CO₂ %) 及び pH はこの分泌速度に全く平行する事は第1報記載の通りである。この様な潜在性 acidosis は恐らく強い勞働を連日強行した結果であり且此の場合に被検者は慢性疲労の状態にあつた事はこの被検者についてその勞働能率を測定した林¹⁸⁾の成績や図示の体重曲線にも現れている。而して勞働第3期に於ては潜在性 acidosis は著しく軽減し体重も増加しているのであるが、これは、この際食質を高蛋白食に切替た為であつて、林が確めた K. K. の被検者の作業能率の亢進の事実と共に慢性疲労の状態より回復した事を物語っている。然も此の場合唾液腺分泌機能も亦亢進し; その CO₂ %, pH も高まっているのである。即ち本例に於ては勞働時の唾液 pH や CO₂ % の変化は血液の酸塩基平衡の変化に伴っているのであるが、併しそれと同時に唾液腺の分泌機能の変化にも伴っていると言える。従つて此の場合にはかかる唾液酸塩基平衡

第1表 (K. K. 例)

期 別	安 静 期	勞 働 期			
		第1期	第2期	第3期	
食 質 { kcal	2400	3500	3500	3500	
{ 蛋白 (g)	50~100	50	50	50	
時期 (測定回数)	2/VIII~12/VIII(2)	14/VIII~26/VIII(4)	1/X~16/X(3)	25/X~5/X(5)	
血 pH	7.36	7.41	7.40	7.42	
清 CO ₂ (Vol%)	65.2	55.6	55.2	60.5	
混合唾液	分泌速度 (cc/10分)	2.53	1.81	1.47	2.11
	pH	6.59	6.48	6.56	6.63
	CO ₂ (Vol%)	7.9	6.2	7.2	8.7
一日尿	pH	5.99	5.70	5.69	5.86
	CO ₂ (Vol%)	5.3	2.2	3.2	9.1
	Base economy (N.cc)	8.6	15.5	12.1	9.4
	NH ₃ (mg/dl)	57.0	48.3	42.5	46.3

の変化は勞働に依る慢性疲労によって唾液腺機能が低下した為と考へる事が出来るし、又疲労時の acidosis が唾液酸塩基平衡に反映したとも考へ得る。然るに本

被検者と同時に高蛋白食を与えて労働能率を落さぬ様にして同様の労働実験を行った T. I. 例に於ては労働に依る acidosis が現れても唾液腺機能の低下を来さなかつたのであるが、此の場合には唾液の酸塩基平衡は血液の acidosis の影響を受けていない事は第1報第1図に見る通りである。この関係は第1報記載の T. I. 例の成績を各期毎に平均した本報第2表の成績にも示

向を示す。併し第2 労働期に到れば pilocarpin 唾液は労働前の安静期より以上に分泌速度が亢進しているのは恐らく労働訓練の結果として被検者が Vagotonie に傾いた為と思われる。此の様にして唾液分泌の亢進せる場合には仮令その時の血液に予備アルカリ低下があつても pH や CO₂% の上昇が表れている。

以上要するに長期労働に依つて疲労を伴う場

第2表 (T. I. 例)

期 別	安 静 期	勞 働 期			安 静 期	
		第1期	第2期	第3期		
食 質	{ kcal 2400 蛋白 (g) 75~125	3500 125	3500 125	3500 75~125	2400 25	
時期 (測定回数)	27/VII~3/VIII(5)	9/VIII~20/VIII(3)	27/VIII~9/IX(4)	23/IX~4/X(5)	6/X~9/X(3)	
血 / pH	7.45	7.42	7.42	7.40	7.39	
清 / CO ₂ (Vol%)	61.8	54.8	56.7	57.4	61.0	
混合 唾液	分泌速度 (cc/10分)	1.81	2.04	1.72	0.96	1.24
	pH	6.56	6.88	6.58	6.44	6.69
	CO ₂ (Vol%)	8.1	14.6	9.3	7.01	13.8
二 日 尿	pH	5.72	5.49	5.47	6.45	6.55
	CO ₂ (Vol%)	3.2	2.2	4.6	4.1	11.8
	Base economy (N.cc)	8.5	18.6	12.8	0.5	3.0
	NH ₃ (mg/dl)	58.7	72.3	47.2	42.0	50.0

されている。表記の如く、労働期特にその第1期には血液予備アルカリの減少、尿 pH の低下等明かに潜在性 acidosis が現れているに拘らず、唾液の pH や CO₂% は一向に低下しないのみならず反つて上昇しているのであつて、これは唾液分泌速度の上昇に伴っている。かくして第3期に到れば唾液 pH や CO₂% が減少しているが、之は低蛋白食によつて労働能力が劣えて疲労が現れた為であつて、唾液の分泌機能も低下しているのである。即ちこの場合には唾液酸塩基平衡は血液 acidosis と直接の関係はなく、全く分泌速度に伴っているのである。これと同様の長期労働実験は外にも2例あり、その結果は大同小異であるが、ただ此等の例においては pilocarpin 刺戟唾液についても観察したのでその成績のみを第3表に示した。即ちここに挙げた成績は pilocarpin 注射後約15~30分に於てその分泌速度が最高となつた時の15分間の唾液について分泌速度、pH、CO₂% を示したものであるが、その分泌速度は第1 労働期には低下し、且それに伴つて唾液 pH、CO₂ 濃度も減少の傾

合には唾液腺分泌機能の低下と共にその pH や CO₂% の減少を来すのであつて、此の場合に血液や pH や予備アルカリも亦減少している場合が多いから一見血液の酸塩基平衡が唾液の酸塩基平衡に影響したかの観を与える。併し疲労の激しくない時乃至は労働訓練の効果がつまれて疲労の回復した場合には血液 pH や予備アルカリの低下はまだ存在していても唾液腺の機能が回復するから、唾液 pH の低下もまたなくなつて回復するのである。従つて疲労によつて唾液 pH の低下する理由は、唾液腺機能が疲労に依つて低下する為であり、血液 pH や予備アルカリの低下はこれと直接の関係はないと考えられる。

3. 勤務現場に於ける調査

第4表は本学附属病院外科看護婦5名について朝の就業前と午後の作業終了後に採集した耳下腺刺戟唾液について求めた1分間の分泌量とその pH、CO₂% の成績である。今この成績について各人の作業前(朝)の分泌量を100%として作業後の夫の比率をとつて見ると、疲労

第3表

期	別	(H. K. 例)		(T. N. 例)	
		安	勞	安	勞
食時	質	2400	3500	2400	3500
	期	75	150	75	50
血	清	10/II	11/III(2)	24/II	30/III
	混合	7.46	7.39	7.45	7.43
ピロリン	測定回数	27/II	21/III	64.0	63.6
	pH	59.2	52.8	0.566	0.607
混合	CO ₂ (Vol%)	0.202	0.613	7.49	7.44
	分泌速度 (cc/分)	7.10	7.42	36.4	36.8
ピロリン	pH	27.0	40.5		
	CO ₂ (Vol%)				

場合として分泌速度, pH, CO₂%の作業後の変

第4表 外科看護婦耳下腺唾液分泌とその酸塩基平衡

	作業前	作業後	差 (変化率)
交換場勤務	1分間の分泌量 (cc)	0.42±0.19 (100%)	0.50±0.20 (128%) +0.08 (+28%)
	pH	6.9±0.12	7.04±0.18 +0.14
	CO ₂ Vol%	26.8±9.9	35.4±11.9 +8.7
手術場勤務	1分間の分泌量 (cc)	0.42±0.09 (100%)	0.30±0.08 (68%) -0.12 (-32%)
	pH	7.04±0.12	6.93±0.13 -0.11
	CO ₂ Vol%	31.1±5.3	26.7±5.9 -4.4
交換場と手術場の差異の吟味	1分間の分泌量の差 (cc)	-0.01 (0%)	-0.21 (-60%)* (60%)*
	pHの差	+0.14	-0.11 0.25*
	CO ₂ Vol%の差	-4.3	+8.8 13.1*

備考 1) 数値は何れも5例の平均値であつて±以下は標準誤差を示す
2) *印は5%の危険率にて有意の差なる事を示す

の激しい手術場勤務の場合では分泌量が平均約32%減少しているに對し、比較的楽な包帯交換場勤務の場合には幾分増加の傾向がある。而して唾液の pH や CO₂%も亦これに對して前者に於ては作業後に減少しているが、後者の場合には若干増加しているのである。そこで實際この様な作業後の変化が勤務の種類と關係するや否やを檢討する為、推計學的に對應する

化量の平均値の有意性を檢討すると5%の危険率¹⁹⁾にて有意なる事が証明せられた。但し此の場合には血液 pH, CO₂に就ては差異は認められなかつた。従つて勤務の激しい手術場作業に於て恐らく交換場作業よりも疲労の影響が強くて、唾液腺機能の低下を來した為分泌速度が減少してその pH や CO₂%の減少を來したものである。而して交換場勤務に於ては反つて唾液分泌の高まつたのは疲労の程度が僅少である上に作業時の精神興奮の影響が残つていて、結果として反つて分泌速度の亢進を見たのであろう。

IV. 考 案

以上述べた疲労時の唾液 pH の低下と唾液腺機能 (端的には水分分泌機能) 並に血液酸塩基平衡との關係は云わば定性的な吟味に過ぎないのであるが、次に之等の各種實驗にて得られた成績について推計學的に相關關係を計算し、その相互關係を檢討して見よう。そこで先づ血液予備アルカリ濃度 (CO₂ Vol%) と唾液 pH との關係であるが、渡辺²⁰⁾は兩者の間には次の如き美しい直線關係

$$C = 12.5 (p - 6.8) + 46.0$$

$$C = \text{血液 CO}_2, \quad p = \text{唾液 pH}$$

が成立すると述べ、著者は前報に於てこれを否定した。併し今回の實驗に於ては或實驗に於ては事實この様な相關が得られる場合もあつた訳である。そこで今此等すべての疲労實驗の成績

第5表 疲労実験に於ける唾液 pH と血液予備アルカリ並に唾液分泌速度との相関係数と標準偏差

被検者	性別	年令	実験種類	年月日	唾液種類 (刺激)	相 関 係 数 (r) 土 標 準 偏 差		
						血液 CO ₂ % と唾液 pH	血液 CO ₂ % と唾液分泌速度	唾液分泌速度 と唾液 pH
T. M.	男	22	急性疲労 仕事 730 kcal	24.2.2 ~ 3.3	耳下腺唾液 (1/8モルクエン酸)	-0.121±0.209	-0.023±0.212	+0.671±0.118 *
T. M.	男	22	急性疲労 仕事 1075 kcal	24.3.24 ~ 3.25	耳下腺唾液 (1/8モルクエン酸)	+0.424±0.138	+0.548±0.118 *	+0.675±0.091 **
K. K.	男	20	慢性疲労	24.8.2 ~ 10.12	混合唾液 (無刺激)	+0.544±0.104 * (r ₁₂₋₃ = +0.240±0.159)	+0.632±0.088 ** (r ₁₂₋₃ = +0.443±0.135)	+0.635±0.087 ** (r ₁₂₋₃ = +0.448±0.134)
T. I.	男	20	慢性疲労	24.7.19 ~ 10.20	混合唾液 (無刺激)	-0.019±0.117	+0.261±0.109	+0.570±0.081 **
Y. N.	男	21	慢性疲労	24.2.21 ~ 5.1	耳下腺唾液 (1/8モルクエン酸)	+0.604±0.108 *	+0.686±0.088 ** (r ₁₂₋₃ = +0.418±0.154)	+0.856±0.045 ** (r ₁₂₋₃ = +0.765±0.076)
H. K.	男	23	慢性疲労	24.2.15 ~ 4.20	耳下腺唾液 (1/8モルクエン酸)	+0.507±0.014	+0.630±0.113 *	+0.707±0.093 **
Y. N.	男	21	慢性疲労	24.2.24 ~ 5.1	混合唾液 (1%ピロカルピン 0.5cc皮下)	+0.351±0.126	+0.487±0.108 *	+0.751±0.064 **
H. K.	男	23	慢性疲労	24.2.19 ~ 4.20	混合唾液 (1%ピロカルピン 0.5cc皮下)	+0.283±0.147	+0.305±0.140	+0.748±0.069 **
外科看護婦 7名	女	19~25	実験室 手術	25.1.27 ~ 2.13	混合唾液 (1/8モルクエン酸)	-0.385±0.152	+0.498±0.135	+0.592±0.114 *
外科看護婦 8名	女	19~25	実験室 交換	25.1.27 ~ 2.13	混合唾液 (1/8モルクエン酸)	+0.244±0.159	+0.305±0.163	+0.533±0.102 *

備考 1) 相関係数欄の括弧内は各々の部分相関(純相関)係数を示す。但し要因1は血液 CO₂%, 要因2は唾液 pH, 要因3は分泌速度である

2) 危険率5%にて有意なものには*, 1%にて有意なものには**を附した

について両者の相関関係を計算して見ると第5表の成績が得られる。ここに見る如く、血液予備アルカリと唾液 pH がまがりなりにも相関関係を示すのは10例中の2例に過ぎず、しかもこの2例は可なり高度の疲労を伴った例であって、其の他の例に於ては相関係数は推計学的に意義がない。然もこの血液予備アルカリ量と唾液 pH の相関を示す例に於ては血液予備アルカリと唾液分泌速度との間には高度の相関があり、又一方唾液分泌速度と唾液 pH との間にも高度の相関があるから、これを介しての相関であるかもしれない。事実本例について血液予備アルカリと唾液 pH との間の相関より分泌速度の影響をのぞいた部分相関係数²⁾を計算して見ると表の括弧内に示す様に極めて小さい無意味な値になってしまうのである。以上によって血液予備アルカリと唾液 pH との間には直接の関係なき事が明である。これに反し唾液 pH と唾液分泌速度との関係は何れの例に於ても有意な順相関を示している。従って推計学的検討の結果に於ても唾液 pH と最も関係の深い要因は唾液の分泌速度であって、血液予備アルカリと唾液 pH との関係は血液予備アルカリ変化と唾液分泌速度の相関関係が成立つ場合に於て始めて成立すると云い得るのであろう。故に疲労時の唾液 pH の低下する原因は疲労によって唾液腺機能の低下する事が最も大きい要因であり、渡辺が唾液 pH と血液予備アルカリとの間に直線関係の成立を見たのは強度の疲労にさいして屢々同時に労働

acidosis が現れて血液予備アルカリが減少するからに外ならぬ。

然らば次に何故に疲労に際して唾液腺機能の低下が起るか、又第2に唾液腺の機能が低下すれば何故に唾液の pH が低下するかが問題である。この第2の問題については既に前報に於て唾液腺細胞の機能的透過性減退によって重碳酸塩の分泌の減少がその pH 低下の最も有力なる原因である事を明にした。よってここでは第1の疲労による腺機能低下の原因について論じたい。一般に疲労に際しては諸種の感覚器の感受性が鈍感となり、又筋其の他の効果器の興奮性の低下する事も知られている。この内筋の興奮性が低下するのは筋自体に乳酸其の他の疲労物質の蓄積する事や運動神経と筋繊維の接合部に疲労物質の高まる事に大きな理由のある事と思われるが、感覚器の感受性の鈍麻はこれで説明がつかないのであって、問題は中枢神経系の興奮性が低下する所にあるものと思われる。この関係は唾液腺の場合も同様であって、筋疲労に際して全身的な acidosis とは無関係に唾液腺機能の低下が起る事は中枢神経系の機能低下によるものとする外はない。殊に今回測定せる唾液は主として反射唾液であってその分泌機能は反射中枢の興奮に関係する所が大きい。又時には自然に流出するものを集めた場合もあるが、その場合にも大脳の中樞の機能の関係せる事は林¹⁰⁾等に明かである。従つて此等の分泌に中枢神経系機能の介在せる事は確かであり、疲労時の唾液の分泌速度の低下を中枢神経機能の低下に基くと考える事は不合理ではない。Starr²²⁾は精神興奮が起る場合には唾液 pH が上昇する事を明かにし、Gilchrist & Furchtgott⁹⁾はこれ等の成績を元として唾液 pH は中枢神経の興奮性に関係するものとして alkalinity-excitability 説を仮定したのであるが、著者等の見た疲労時の唾液 pH の低下は正しくこの考えを支持する事実であると言って良い。

V. 結 論

疲労時に於ける血液酸塩基平衡と唾液酸塩基

平衡の関係を急激なる労働又は長期に渉る連続労働実験によって検討し、又これを実験室外の職場に於ける看護婦についても検討して次の成績を得た。

1) 労働に依る疲労に際しては唾液分泌速度、pH、CO₂ は共に低下するのが見られ疲労の強いもの程この低下が強い。

2) 血液予備アルカリ減少と唾液 pH 低下との関連性は一般的に認め難いが、唯労働によって疲労を来たして血液予備アルカリの減少を来し、これによって血液予備アルカリ量と唾液分泌速度との間に相関を認め得る場合に限り両者の相関が認められる。

3) 唾液 pH は唾液腺分泌機能によって定る事は前報に明であるから、これと以上の事実を総合して疲労に際する唾液 pH の低下する理由を考察するに、これは労作 acidosis の結果によるものではなく、疲労によって唾液腺機能が劣る為であると考えられる。

4) 此の様な疲労に依る唾液腺分泌機能の低下は中枢神経系の興奮性の低下によるものと考え得る根拠のある事を指摘した。

本研究は文部省科学研究費(季節生理班, 吉村教授)によつたものであり、深甚なる感謝をささげると共に吉村教授の御指導御校閲に対し深謝する。

文 献

- 1) 高岡 渉 (1952) 日本生理誌 14, 504
- 2) 吉村寿人・高岡 渉 (1950) 医学と生物学 17, 108; (1951) 19, 102
- 3) 金森虎男・渡辺 巖 (1947) 厚生科学叢刊 5, 31 (創元社)
- 4) Starr, H. E. (1922) Amr. J. Psychol. 33, 394
- 5) Henderson, M. and J. A. P. Millet (1927) J. Biol. Chem. 75, 559
- 6) Baker, K. H. and M. G. Eye (1935) Amr. J. Psychol. 47, 222
- 7) 矢田晴次 (1948) 歯科学誌 4, 259
- 8) 渡辺 巖 (1947) 歯科学誌 4, 29
- 9) Gilchrist, J. C. and Fruchtgott (1951) Psychological Bulletin 48, 193
- 10) 林 謙 (1950) 条件反射学応用論(評論社)
- 11) 越智真逸 (1947) 厚生科学叢刊 5, 88 (創元社)
- 12) 吉村寿人 (1948) pH の理論と測定法 405 (丸善)
- 13) Henderson, J. (1911) J. Biol. Chm 9, 469
- 14) Van Slyke and Neil (1924) J. Biol. Chm. 61, 523

- | | |
|------------------------------------|--|
| 15) 藤井暢三 (1947) 生化学実験法定量篇 41 (南山堂) | 立て方 40 (河出書房) |
| 16) 山添三郎 (1949) 医学と生物学 14, 116 | 20) 渡辺 巖 (1940) 東京医学会誌 54, 886 |
| 17) 山地廉平・藤原 忠 (1951) 栄養と食糧 4, 1 | 21) 古屋芳雄 (1944) 医学統計法の理論と其の応用 120
(金原商店) |
| 18) 林 勝 (1952) 体力科学 1, 197 | 22) Starr, H. E. (1922) J. Biol. Chm. 54, 43 |
| 19) 増山元三郎 (1949) 少数例の纏め方と実験計画の | |

Summary

Measuring the pH of saliva before and after the heavy muscular work, it was found that the pH was lowerd after the work as the secretion rate of saliva decreased, and that the content of alkali reserve in the blood had no constant bearing with the salivary pH. Thus it was concluded that the decrease of salivary pH after the muscular exercise was caused by the decrease of secretory function of salivary gland, presumably owing the decreased excitability of the secretion centre.

(Department of Physiology, Kyoto Prefectual University of Medicine)

皮膚圧迫によつて脊髄蛙にみられた2,3の現象について 612. 829. 33

On Some Phenomena as the Effect of Pressure on the Skin of the Spinal Frog.

渡 辺 千 春 (Watanabe-Chiharu)*

I. 緒 言

脊髄蛙の後肢は完全な伸展位をとらずに、幾分屈曲位をとっている事は既に知られている。これは後肢に相当する脊髄後根を切断した時には消失することから、この筋緊張には筋及び腱の固有受容器からの求心性衝撃が必要であるといわれている。

高木は皮膚に与えられた感覚刺激が自律神経系のみならず錐体外路系にも作用し、筋緊張に変化を及ぼすことを述べている^{1) 2)}。更に高木、磯野等は四肢筋の緊張変化に関して、皮膚刺激は迷路刺激に比肩すべきであるという³⁾。

著者は脊髄蛙に於ても皮膚圧迫の影響を検索したところ、筋緊張の変化と共に更に2,3の知見を得たので報告する。

II. 実験方法

実験動物には脊髄蛙を用い、この下顎部を骨挟みで固定して吊り下げ、実験目的に従って一側後肢のみ、または両側の運動を煤紙に記録した。

刺激には反射を起す目的で、初期の実験では感応コイルによる単一刺激を与えたが、この刺激によると下肢筋の攣縮を起すに止まることが多く、コイル間距離を短縮しても反射運動を常に確実に起すことが困難であったから、後半では thyatron と抵抗及び condenser を組合せて作った刺激発生装置を用いた。この装置に特別に製作した rheotom を連結し、電鍵を押すことによりリレーが作働して刺激用 impulse が常に一定時間 (約1秒) 流れるようにした。

刺激電極は2本の細い金属製のピンを用い踝部の皮膚を一部貫通して固定し、蛙の運動によ

り脱落しないように注意を払った。尚、電極間の距離は 0.3~0.5cm とした。

このようにして皮膚表面に与えられた電気刺激は後肢の屈曲反射を起し、m. piriformis, m. semitendinosus, m. gastrocnemius などの収縮を来す。刺激の強度の弱い場合や毎回の刺激頻度の少ない時には十分な反射を惹き起すことができず、単に下肢筋の攣縮を来すにすぎないことがあるから実験に先立って予め手早く閾値を測定し、完全な反射を起し得ることを確かめてから実験を開始した。

皮膚圧迫には市販の小型のクリップで皮膚を挟む方法をとった。クリップをそのまま挟むと蛙の皮膚は2本の線で挟まれることになり、圧迫刺激が部分的にしか与えられないのでクリップの端に薄い金属板を2枚向い合せにハンダ付けし、この2枚の金属板によって皮膚が一様に圧迫されるようにした。金属板には薄いゴム膜を糊付けしたり、或いはガーゼの小片の上から挟むなどして痛み或いは皮膚に与える障害の影響を努めて除外した。

III. 実験成績

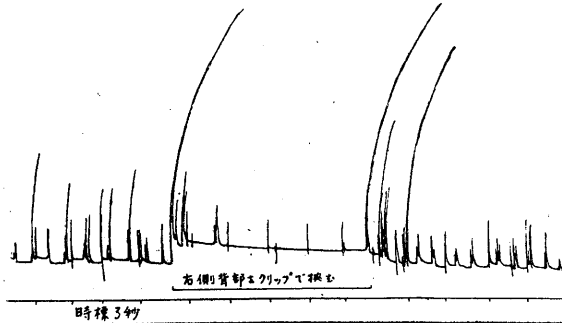
A. 自働運動に及ぼす皮膚圧迫の効果

断頭したための強い刺激による shock の状態から回復した脊髄蛙は多くの場合静かに姿勢を保つが、時に全身的に微細な運動を示すことがある。即ち前肢を上下左右に緩慢に動かす、軀幹を左右交互にねぢる、上腿をもち上げる、膝関節を曲げて下腿を下腹部に近づける、足関節を曲げる、水掻きをびくつかせる等の運動で、これらを一緒に行う。

この時に皮膚の一部をクリップで挟むとこの自働運動の頻度は減少するか若しくは完全に消失した。これはクリップで挟んでいる間だけ有

* 新潟大学医学部生理学教室 (高木教授)

效であって、クリップを取り外すと、即ち圧刺激を除くと再び以前のような微細な自働運動を開始した。



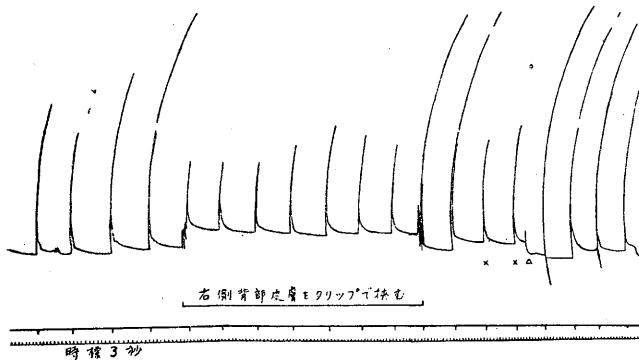
第1図 脊髄蛙の自働運動に対する皮膚圧迫の効果
上より、左後肢の自働運動曲線、感応コイルによる左後肢刺激のシグナル、時標3秒。なお、刺激による攣縮以外は自働運動を示す。クリップの強さは500gr、圧迫面積 $22 \times 9\text{mm}$

第1図に示したものは感応コイルで後肢を刺激しつつ行った実験であるが、自働運動はクリップで挟んでいる間は著明に見られなくなっており、刺激による後肢の攣縮は残存している。この実験により皮膚の圧刺激は自働運動に対して抑制的に作用することがわかる。

尚、クリップで挟んだ時とその前後の状態では曲線のレベルが違っているのが認められるがこれについては後述する。

B. 屈曲反射の大きさの変化について

一側の後肢末端に一定の間隔(約30秒)をおいて一定時間(約1秒)だけ頻数電気刺激を興



第2図 屈曲反射に及ぼす皮膚圧迫の効果
上より、左後肢屈曲反射曲線、刺激時のシグナル、時標3秒。×印で蛙の両後肢接触したので、△印で離す。クリップの強さ1000gr、圧迫面積 $22 \times 9\text{mm}$

え屈曲反射を起させる。この状態で皮膚の一部をクリップで挟んだところ、起ってくる反射の大きさは直ちに小さくなり、クリップを外すともとの大きさに復した(第2図)。

圧迫の効果が著明な場合、後肢に与える刺激の弱い場合、蛙の反射機能の低下している場合などでは、圧刺激は長い間抑制的に作用し、クリップを外しても直ちに反射の大きさが恢復せず、数分後に到って漸く反射を起した例もあった。このような例ではただ反射の大きさが小さくなるというよりも、むしろ全く消失してしまって水掻きをびくびく動かすに過ぎないことが多かった。以上の圧迫による反射の抑制は例外なくみられた。

C. 筋緊張に及ぼす皮膚圧迫の効果

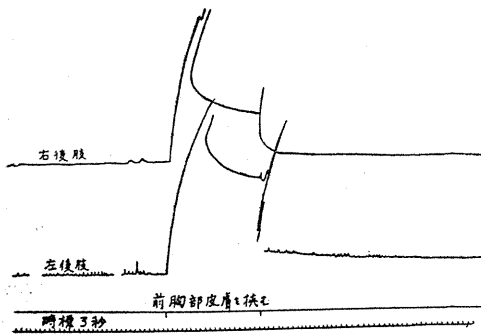
第1図、第2図に於て既にみられたように、皮膚の一部にクリップで圧刺激を与えると後肢を稍屈曲させ、クリップを外すと最初の高さに戻る。第3図はこの場合の後肢の運動を書桿により拡大して煤紙に描かしたものであって、図では曲線のレベルが高くなっている。

第4図は実物を写真撮影したもので、Aのコントロールの状態と比較してクリップで挟んだ場合(B)では股、膝、踝関節を、より多く屈曲させている。

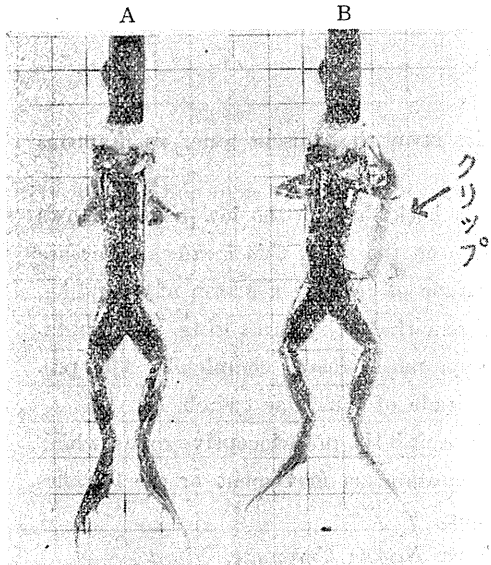
筋緊張の変化には圧迫刺激の強さが関係することがわかった。即ちクリップのバネの力が種々のものを持ちてみたが、刺激がある程度強い場合には屈曲を増し、圧迫する力を弱くすると緊張の増加は著明でなくなる。

圧迫の効果が左右または前後別で、又は上半身と下半身とで異なるかどうかは甚だ興味ある点であったが、左右背部、中央背部、左右大腿部の何れを挟んでも両側共に有効であった。

背皮神経又は坐骨神経、あるいは両者を切断した後で胸腹部の皮膚に圧迫刺激を与えてみたが、後



第3図 皮膚圧迫による筋緊張の変化 —(1)
上より右及び左後肢末端の運動曲線, 皮膚圧迫のシグナル, 時標 3秒. クリップの強さ 1300gr, 圧迫面積 $22 \times 9\text{mm}$



第4図 皮膚圧迫による筋緊張の変化 —(2)
Aは対照の状態, Bはこの状態でクリップを挟んだ場合, クリップの強さ 1000gr, 圧迫面積 $22 \times 9\text{mm}$

肢の筋緊張には上に述べたような変化がみられなかった。

IV. 考 按

正常の蛙は活潑な自発運動を起すが、脊髓蛙に於ても場合によってはなお微細な自発的運動とも称すべき運動を行う。この場合の運動は機械的振動とか、外界温度の変化などの外的刺激や、或は脊髓切断面からの刺激などが作用して反射的に運動を来すのであると考えられるが真

の原因は不明である。しかし何れにせよ皮膚の圧刺激は全身的なこの種の自発運動に対して抑制的に作用したといえよう。

ここで興味あることは、皮膚の圧刺激は一方ではある刺激から逃れようとするような目的を持っているかにみえる屈曲反射を殆ど完全に抑制しているにかかわらず、他方では筋緊張を昂めていることである。脊髓蛙の後肢は完全な弛緩状態ではなく、抗重力筋の緊張性収縮による軽い屈曲状態である。皮膚圧迫により下肢の屈曲を増すことは明らかにこの抗重力筋の筋緊張を昂めたためと思われる。猫、兎、鶏などで高木および共同研究^{2) 4) 5)}者の行った実験によると、これらの動物ではクリップで皮膚或は翼の根元を挟むと一方自発運動が減少すると共に他方筋緊張が昂まっている。ここに云う筋緊張はもちろん一種の反射性筋緊張であり、これらは迷路、頸筋、皮膚その他、筋からの自己受容 (proprioceptive) 反射、所謂姿勢反射に関係したものであり、皮膚圧迫はこれらを強めていると解される。そして私の実験成績は脊髓だけの蛙に於ても反射性筋緊張が皮膚圧迫によって強められることを証した。即ち皮膚圧迫は従来から云われる静的な姿勢反射を強める。しかるに自発的運動とか或は外部受容 (exteroceptive) 反射の一種である屈曲反射は殆ど完全に抑制され起って来ない。この事実から考えて、この2つの反射は受容器が違っている許りでなく、その性質が異っているものと考えざるを得ない。

磯野、佐藤⁶⁾の眼球振盪の実験では圧迫は急速相にあたる眼筋の収縮を抑え、緩徐相のそれには軽微ながら促進的に作用する。彼等はこの事実から振盪の2相は互いに別箇の性質のものとしている。

高木は従来 postural reflex といわれたものを control reflex, そして運動の発現に関係するものを genetic reflex と称えることを提唱し、圧は前者を強めて後者を抑制し、触はその反対であると主張している。この考えに従えば屈曲反射は genetic reflex の範疇に属し、筋緊張反射は control reflex ということができる。

V. 結 論

脊髓蛙の皮膚の一部をクリップで挟んで圧刺激を与えたところ次のような知見を得た。

- 1) ときどき起ってくる自発運動とも称すべき運動は皮膚の圧刺激によりほぼ完全に起らなくなる。
- 2) 頻数電気刺激によって起した後肢の屈曲反射の大きさは皮膚の圧刺激により著明に抑制される。
- 3) 皮膚の圧刺激は両側下肢の抗重力筋の緊張を昂める。
- 4) 筋の直接刺激による攣縮は皮膚の圧刺激によりその大きさは影響されない。

文 献

- 1) 高木健太郎・長谷川 渙・倉島昭示 (1952) 皮膚圧迫の筋緊張に及ぼす影響 第1報 人の上肢筋に及ぼす影響 生体の科学 3, 169-179
- 2) 高木健太郎・長谷川 渙・松本良二・倉島昭示 (1952) 皮膚圧迫の筋緊張に及ぼす影響 第2報 猫の四肢及び頸筋に及ぼす影響 脳と神経 4, 279-282
- 3) 磯野 弘 (1953) 皮膚の触刺激による眼球運動 新潟医学会誌 67, 502
- 4) 高木健太郎 (1952) 皮膚の触・圧刺激が筋活動に及ぼす影響 (その1) 皮膚圧迫と筋緊張及び振盪現象について 医学 X III, 43-48
- 5) 高木健太郎 (1952) 生体に於ける反射性の興奮と抑制 (Divergent 及び Convergent System の提言) 脳と神経 4, 2-8
- 6) 佐藤素一 (未発表)
- 7) 高木健太郎 (1953) 生体に於ける反応の発現とその調節 第84回新潟医学会講演

Summary

The influence of pressure-stimulus of the skin upon the muscle tone, spontaneous movement and the reflex action was observed.

The brain-pithed frog, suspended by means of a hook through the lower jaw, shows a little more flexion of the hind legs by the pressure on the skin; this means an increase of the tonus of the antigravity muscles. The magnitude of the reflex action of a hind leg caused by frequent electric stimulus was decreased remarkably by pressuring. The spontaneous movements which sometimes occur by unknown causes ceased completely. The pressure on the skin does not influence upon the magnitude of muscular twitch.

Above results mean that the pressure on the skin excites the proprioceptive reflex which concerns the postural reflex, while it inhibits the spontaneous movement or the flexion-reflex which should be call as an exteroceptive reflex.

(Department of Physiology, Faculty of Medicine, Niigata University, Niigata)

会 報

第31回日本生理学会総会演題募集

5月22, 23, 24日の3日間にわたり名古屋大学医学部において開催する第31回日本生理学会総会の演題をつぎのとおり募集いたします。

1. 各研究単位の出題数は**3題以内**とする。
2. 演説時間は**1題12分以内**とする、この範囲内で希望時間を記入されたい。
3. 全演題を口演とし、誌上発表は認めない。
4. シンポジウムはつぎの2題とする。

a) 筋電図 b) 網膜の生理

主報告を特定の方に依頼する、一般報告のうち主題に関係あるものは適宜これに加えることがある。

5. 演題締切は**1月30日**とする。
6. 演題申込に際して必ず**800字以内の内容抄録**を提出されたい。
7. 上記の申込期日におくれたものおよび抄録のないものは受理しない。
8. 演題申込先は

名古屋市昭和局区内

名古屋大学医学部生理学教室

9. 演題申込は日本生理学会々員に限る。

本会の規定により共同発表者も会員でなければならないから、未入会の方は演題申込前に入会申込書に(入会には本会評議員1名の紹介がいます)昭和29年度会費700円を添えて下記へ申込まれたい。

入会申込及び会費の払込先

東京都文京区本郷局区内

東京大学医学部生理学教室

日本生理学会

(振替 東京 86430番)

生理学会々費御納入のお願い

昭和29年度生理学会々費(700円)を同封の振替用紙を御利用して御納入下さい。

尙昭和28年度(700円)及び昭和27年度(500円)会費未納の方は之も同時に御納入下さい。

International Union of Physiological Sciences の創立について

9月2日に International Union of Physiological Sciences が創立せられて、その Council の選挙が行われ、つぎの11名が当選しました。

E. D. Adrian	(イギリス)	C. H. Best	(カナダ)
K. M. Bykov	(ソ連)	C. Heymans	(ベルギー)
B. A. Houssay	(アルゼンチン)	Y. Kuno	(日本)
E. Lundgaard	(デンマーク)	A. Mager	(フランス)
A. V. Muralt	(スイス)	M. B. Visscher	(米)
H. H. Weber	(ドイツ)		

この選挙は1国から2名をこえる Council は許さないというだけの条件で9名連記の自由投票でありました。

第Ⅲ回日本生理科学連合全国大会

生理学、生化学、薬理学、衛生学、動物学、遺伝学、植物学及びビタミン学の8学会によって構成されています日本生理科学連合 (Japanese Union of Physiological Sciences) の第Ⅲ回全国大会を次の次第で開催した。

時：昭和28年11月10日(火) 午前9時—午後5時

所：神戸医科大学総合臨床講堂

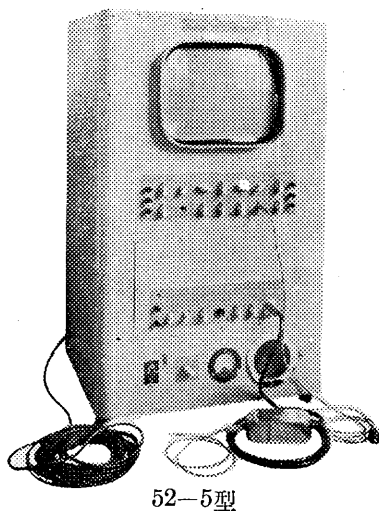
演題：

1. 濃度作用曲線から見た薬物の作用型式
神戸医科大学薬理学教室 松本博 (日本薬理学会推薦)
2. 適応酵素形成の機作とその応用
大阪大学微生物病研究所 須田正巳 (日本生化学会推薦)
3. 細胞分裂の機構
東京都立大学理学部 団勝磨 (日本動物学会推薦)
4. アノイリナーゼの研究
京都府立医科大学生化学教室 藤田秋治 (日本ビタミン学会推薦)
5. 血管への脈管運動神経に関する研究
広島大学医学部生理学教室 西丸和義 (日本生理学会推薦)
6. 原形質流動の生理学
大阪大学理学部生物学教室 神谷宣郎 (日本植物学会推薦)

第Ⅲ回日本生理科学連合全国大会準備委員

神戸医科大学 正路倫之助

筋電計



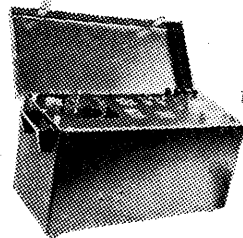
52-5型

- 携帯用 52-1型 ブラウン管径 75mm
- 52-2型 ブラウン管径120mm 単掃引装置付
- 52-3型 ブラウン管径120mm 単, 複掃引装置付
- 据置型 52-5型 ブラウン管径 17吋 単, 複掃引装置付

記録装置

パイプレーター (二個装置) 最大入力 200MA
 周波数 10~1000c/s
 振幅 1000c/s20MAの時 10mm

フロマイドフィルム 35mm×25M
 回轉速度 2 10 20cm/s
 刻 時 1/50 sec



記録装置

*カタログ贈呈
 郵要¥30



筋電計 (マイオグラフ) 発売元
 電気測定器 真空管 電気部品

東京電気精機株式会社

東京都千代田区神田仲町2の11番地
 電話下谷 (83) 6525



局方製品

パンクレアチン
 含糖ペプシン
 アニンナカン
 タンナルビン
 次硝酸ビスマス
 次炭酸ビスマス
 次没食子酸ビスマス
 スルファミン
 アセトスルファミン
 サルチル酸ナトリウム
 ヘキサミン
 薬用石炭末
 カリ石炭

東京都中央区日本橋室町4の5

製造發賣元 ミクニ化学産業株式会社

狭心症、心筋梗塞に

冠動脈硬化による狭心症発作、冠硬化症による冠動脈狭窄を、本剤の強力な冠動脈拡張作用により消退あるいは予防する。

鬱血性心不全の浮腫に

腎血管を拡張し、強力な利尿作用を来し、しかも腎細尿管障害作用はなく、速かに浮腫を消退せしめる。

喘息・呼吸困難に

気管支筋痙縮を緩解する作用により、気管支喘息の発作および心臓性喘息を消退あるいは予防できる。

心痛に

滑平筋弛緩作用により、胆石、腎石などの心痛を緩解し、また末梢血管弛緩作用によつて、動脈硬化症、凝塞、栓塞による血行障害に対して有効である。

特長

- ・プロファイリンは安定な化合物で、胃液によつて変化をうけず、効力は常に一定。
- ・内服による悪心、嘔吐、腹痛等の副作用はなく、習慣性とならぬので長期連用できる。
- ・作用はアミノファイリンより顕著で、しかも毒性は甚だ低く普通使用量では全く安全。

文献送呈 包装 二五瓦入

プロファイリン

塩野義製薬株式会社

大阪市東区道修町三



主要医薬品



- | | |
|--------------------------|-----------------------|
| ペニシリン (各種ペニシリン) | ジューロニン (重曹注) |
| 新発売 オレオスライシン (抗糸状菌性抗生物質) | スチグマール (アンチモン剤チストマ) |
| ストレプトマイシン (結核治療抗生物質) | バンカイン 未注 (局所麻酔剤) |
| ジュンパス (化学療法剤) | ネオE-ラミザール (砒素駆梅剤) |
| バンジット (ジソニコチン酸ヒド) | ミオE-ラミザール () |
| トーン (チピオン TB1) | マアアルザール () |
| コーチザン (米国メルク会社製 注・錠・眼科用) | オスワルサン (内服駆梅剤) |
| ハイドロコチン (クロイマチス性調節炎 局所用) | ネオオスワルサン () |
| アクサー (米国アーマー製 A.C.T.H) | ストマレジン (陰イオン交換樹脂製酸剤) |
| ギトザン (キノフエン製剤 ロイマチス・神経痛) | F C G (注射用 肝油コロイド 粉末) |
| バンチオニン (メチオニン製剤 肝臓障害) | |
| デトキロール (重金属並に一般中毒解毒剤) | |