

# 日本生理學雜誌

JOURNAL OF THE PHYSIOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

第17巻 第8号

Vol. 17 No. 8

昭和30年8月1日発行

August 1955

## 原 著

山 上 松 義：幽門括約部の内臓神経支配	505
小 口 周 男：呼吸筋の筋電図学的研究（第2報）	517
西 本 和 夫：カキ心臓に於ける結紮実験	524
堀内 洽・東田昭二・小笠原今男：電気麻酔中の横隔膜筋電図	528
横山正松・入沢優氏：蛙心臓に対する機械的刺激の影響	535
山 根 彦 二：核酸燐の Turnover に就いて	540
山 根 彦 二：核酸の電気泳動的考察及び核酸と無機燐の結合	544
山 根 彦 二：Nucleicacid と Serum albumine の Interaction	549
山 根 彦 二：Nucleicacid と Ovalbumine の Interaction	555

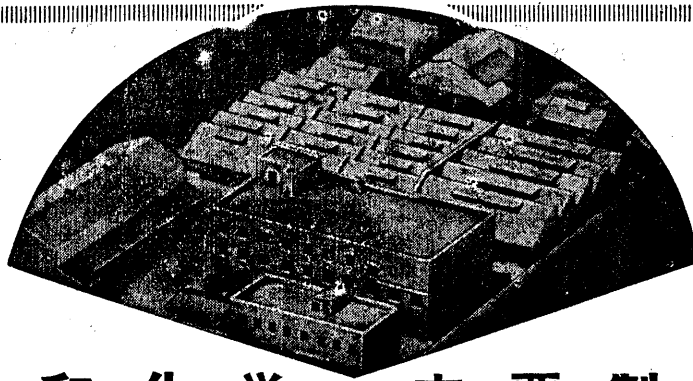
## 地 方 小 学 会 報

第97回生理学会東京談話会	560
第98回生理学会東京談話会	562
編集部からの御願い	565
会計からの御願い	565

附：正誤表	566
-------	-----

日 本 生 理 學 會

Physiological Society of Japan



## 興和化学の主要製品

レスタミンコーワ	注・錠・軟膏 抗ヒスタミン剤	スマルモンコーワ	糖衣錠 注 喘 息 剤
テブロン-Rコーワ	注 自律神経遮断剤	コルゲンコーワ	錠 胃酸胃子分泌抑制剤
複合ルチンコーワ	糖衣錠 散 高血圧治療剤 脳血管予防剤	Q & P KOWA	糖衣錠 ミネラル入高単位 総合ビタミン剤
アドボンコーワ	汁・錠 散 鎮痛鎮痙剤・消 化性瀉腸治療剤	ネオシネジンコーワ	注 血管収縮・血圧上 昇剤
アベランコーワ	錠 強力消化剤	ホスカーコーワ	液・軟膏 水 虫 薬

製造発売元 興和化学（興服産業薬品部）東京・日本橋四ノ六 販売元 興和新薬 東京・名古屋・大阪

新しい……

本邦初製品！

★文獻集試供品送呈★

# 酵素療法！！

〔トリプシン適応〕

臍胸・血胸・滲出性肋膜炎・壊死片  
術後凝血・腔内癒着・挫傷・骨髄炎  
潰瘍・膿瘍・壊疽・瘻孔・気管支炎  
気管支喘息・気管支拡張症・肺結核  
百日咳・火傷・空洞・血腫・切断面

〔スプレーゼ適応〕

大量皮下輸液・輸血等の吸収促進  
局所浸潤麻痺・伝達麻痺の迅速適確  
限局性湿疹・皮膚炎・痲痺症の治療  
結節腫・陰莖水腫・関節水腫の治療  
腎疾患の利尿効果・神経痛の治療



持田製薬

〔健保採用〕

壊死組織溶解剤

結晶トリプシン

## トリプシン モナダ

1万HUM 5A・10万HUM 1VIAL・25万HUM 1VIAL

〔健保採用〕

擴散因子

ヒアルロニダーゼ

## スプレーゼ モナダ

2000V・U・M 5A

5300V・U・M 5A

## 幽門括約部の内臓神経支配 612.898

The Splanchnic Innervation of the Pyloric Sphincter.

山 上 松 義 (YAMAGAMI-Matuyosi)\*

### 緒 言

幽門括約部の内臓神経支配について神経の刺激実験から導かれた多く実験結果<sup>7) 8) 20, 29)</sup>は迷走神経とは逆に胃, 小腸では抑制効果が強く幽門括約部では允進効果が強いとされており, Elliot<sup>8)</sup>, Smith<sup>37)</sup>等の研究によれば adrenalin (又はepinephrin) は幽門括約部に促進的に作用するから, 幽門括約部が交感神経によって促進的に支配されるという解釈は化学的興奮伝導説とも一見矛盾がないように思われる. しかしすべての研究者の実験結果が上述のように一致しているのではなく, Brown, McSwiney, Wadge<sup>3)</sup>等は胸腔内交感神経幹刺激によってネコ, イヌの胃体部が 1/1sec の頻数刺激では収縮し強直刺激では弛緩をひき起すに反しネコの pyloric antrum の運動はすべて抑制され, adrenalin はネコ, イヌの胃体部及び antrum に対し常に抑制的であり交感神経刺激の効果を再現しないと述べている. 又 Openchowski<sup>32)</sup> は四丘体の刺激によって Pylorus 及び Pars pylorica の収縮或は運動抑制が起り, 促進線維は主として迷走神経を通るが一部第10番目胸椎までの脊髄神経根を通り, 内臓神経はウサギでは抑制線維より促進線維が多くイヌでは抑制線維が多いと述べている. 更に Thomas 及び Wheelon<sup>38)</sup>, Carlson 及び Litt<sup>6)</sup> 等は内臓神経刺激によって促進及び抑制の2種の効果を得たため内臓神経には促進及び抑制の2種の線維が存在すると考えている. 従ってもし内臓神経が幽門括約部の純促進線維であると考えれば抑制効果の解釈に困難を感じ, 又純抑制線維であると仮定すれば促進効果を如何に説明するか問題となる. 著者はこの研究においてこれまでの研究の不一致の原因を

解明し, 幽門括約部の内臓神経支配の真相を追求して, 胃, 小腸の内臓神経支配と異なる点を明らかにしたのでその結果を次に報告する.

### 実 験 方 法

実験はすべて除脳・無麻酔イヌを使用し対照実験には urethane (1~1.5g/kg)-morphine (1~3mg/kg) 麻酔・非除脳イヌを使用した. 幽門括約部の運動描記方法及び神経の電氣的刺激方法は先に幽門括約部の迷走神経支配に関する研究<sup>40)</sup>で行った方法を踏襲した. 又内臓神経刺激を横隔膜下で行う場合には背部よりこれを腹膜外に露出し, その切断末梢端を刺激したが露出法は福原の実験書<sup>12)</sup>に詳述してあるから省略する. 内臓神経は胸腔から腹腔に入れば短距離(約1.5cm) 走った後に腹腔神経節及び上腸間膜神経節に連絡し殊に胃幽門部には接近しているから内臓神経の強刺激には電流滑走の影響を考えこれを除かねばならない. この欠点を除くためには人工呼吸の制御のもとに10, 11, 12, 13番目の肋骨を切除し, 横隔膜の腰椎部を背柱から剝離し胸腔内の内臓神経を求めてこれを交感神経幹との分岐点で切断しその末梢端を刺激した. 手術方法の詳細は胸腔内迷走神経露出方法<sup>13)</sup>とほとんど同様であるから省略するが開胸に伴う胸腔内の温度の下降と組織の冷却乾燥を防ぐためにとくに注意した. 背髄神経前根, 後根の刺激にはイヌを腹位に固定して第5胸椎から第13胸椎まで椎弓を切除し, 背髄膜を正中線で縦に切開して前根, 後根と共に走る血管を注意深く剝離し結紮切断し, 蜘蛛膜内外の前根, 後根を完全に分離してできるだけ背髄に接近して切断する. 次いで周囲の脂肪組織を取って背髄神経節まで露出する. 約10kgのイヌでは前根後根の長さは背髄神経節までそれぞれ約1cm

\* 鳥取大学医学部第1生理学教室

あるから神経刺激は比較的容易に行うことができる。この手術にあたっては静脈叢を傷つけぬように特に注意し且局所の冷却乾燥を防いだ。

剔出した幽門括約部の運動描記に際しては幽門括約部を幅約5mmの幽門輪として切り出し、酸素で飽和した38°CのRinger液に吊しその律動収縮を描記したから主として輪走筋の収縮弛緩が描記されたことになる。その実験装置の詳細な点は福原の論文<sup>11)</sup>に譲るがやや異なる点は150cm<sup>3</sup>容積の浴槽を使用して酸素ポンペより酸素を供給したことである。

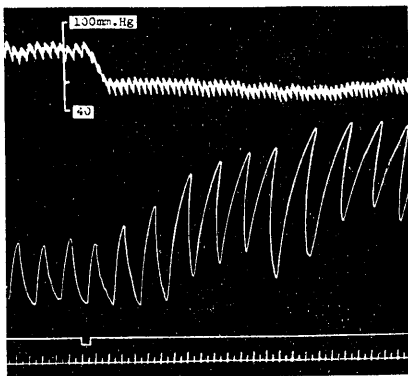
synapseを麻痺する目的には2~5% 酒石酸nicotine (関東製薬), 4~5% tetraethylammonium bromide (TEA) (興和化学), 及び1% hexamethonium bromide (C<sub>6</sub>) (山之内) を使用した。

この実験に使用したイヌは約50頭で、実験成績は全例においてよく一致していた。

## 実験結果

### 1) 内臓神経の緊張

内臓神経が常に緊張性興奮を幽門括約部に送っているかどうかを確かめるために除脳・無麻醉イヌ及び麻醉・非除脳イヌ (urethane 1g/kg, morphine 0.1~0.2mg/kg) の括約部の運動を描記しつつ背部より露出した内臓神経を両側同時



第1図 大内臓神経両側切断の括約部運動に及ぼす影響

イヌ8.5kg 除脳・無麻醉, 曲線は上から下へ頸動脈血圧, 括約部の運動, 神経切断標示, 時標3sec, 両側の迷走神経は intact

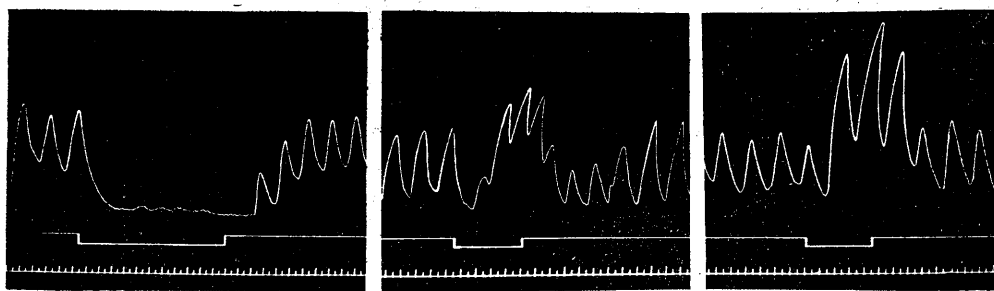
に切断した。内臓神経切断の括約部運動に及ぼす影響は第1図に示すように括約部の運動促進とともに血圧の下降(約30~50mmHg)が顕著である。これは麻醉或は除脳によって影響されることなく幽門括約部が常に内臓神経から抑制的緊張性興奮を受けていることを示すものであって、内臓神経切断によってこれが消失したため結果として括約部の運動が促進したと考えられる。又腹部内臓の血管も除脳・無麻醉イヌ或は麻醉・非除脳イヌを問わず常に内臓神経から緊張性興奮を受け一定の緊張を維持しているから内臓神経切断によってこれが消失すれば腹部内臓の血管は拡張し、血圧は下降すると解釈される。

### 2) 除脳・無麻醉イヌにおける大及び小内臓神経刺激実験

背部より腹膜外に露出した大内臓神経切断末梢端の単一刺激は刺激強度の如何にかかわらず無効であったので頻数刺激を行った。大内臓神経末梢端頻数刺激は個体の実験条件によって多少の差異があるが、一般に刺激頻数の変化ではなく刺激強度の変化によって括約部運動の抑制効果と促進効果及びこの混合効果の3種類がひき起された。

大内臓神経末梢端弱刺激は閾値約3V, 60cycle, 約3secの潜刺激時をもって幽門括約部の律動収縮減弱乃至消失と筋緊張の低下をひき起す(第2図A)。神経の刺激強度を増強するに従って抑制効果はかえって減弱して促進効果が混合し、抑制期間が短縮されて一過性となり、ひき続き緊張の上昇、律動収縮の増大及び週期の短縮が起る(第2図B)。この抑制効果と促進効果の混合する割合は一般に弱刺激程抑制効果が強く刺激が増強するに従って促進効果が勝ってくるが、各実験例によっても異なる状態の不良な例では抑制効果が大である。又小数の実験例では純粹の抑制効果を得ることができず一過性の促進効果が混合していた。

強刺激では第2図Cに示すように一般に顕著な促進効果をひき起し抑制効果は殆ど或は全く消失して緊張の上昇と律動収縮の増大が起り迷

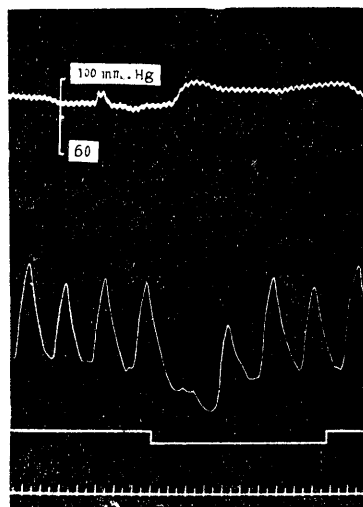


第2図 大内臓神経末梢端刺激の括約部運動に及ぼす影響

イヌ 7kg, 除脳・無麻酔, 曲線は上から下へ括約部の運動, 神経刺激標示, 時標 3sec, Aは弱刺激(約3V, 60cycle) Bは中強度刺激(約6V, 60cycle) Cは強刺激(約24V, 60cycle)

走神経刺激による促進効果と区別できないことが多いが, 少数の実験例では強刺激においても一過性の抑制効果が混合し純粹の促進効果を得ることができなかった。

小内臓神経が幽門括約部を支配しているや否や明らかではないのでその切断末梢端刺激を行い括約部の運動に及ぼす影響を研究した。実験結果は第3図に示す如く大内臓神経に隣接する第1小内臓神経の末梢端刺激では括約部の運動は一過性に抑制され血圧もわずかに上昇し, 神経の刺激強度を増強しても促進効果は得られな



第3図 第1小内臓神経末梢端刺激の括約部運動に及ぼす影響

イヌ 6kg, 除脳・無麻酔, 曲線は上から下へ頸動脈血圧, 括約部の運動, 神経刺激標示, 時標 3sec, 刺激は中強度刺激(4V, C. D. 10cm)

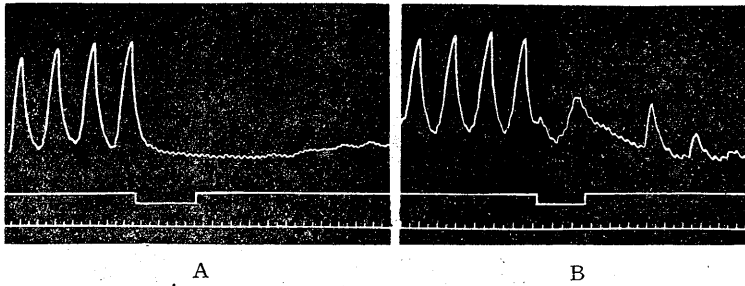
かった。又第2, 第3小内臓神経末梢端刺激は全く無効であった。この結果から第1小内臓神経は幽門括約部の運動を抑制的に支配していると考えられる。

### 3) 麻酔イヌにおける大内臓神経刺激実験

幽門括約部の内臓神経支配に関するこれまでの多くの研究はほとんど麻酔動物について行われているのでこの実験条件の差異が実験結果に如何に影響するか知るために urethane-morphine 麻酔イヌについて再び大内臓神経末梢端刺激を行った。実験結果は第4図に示す如く括約部の運動は弱及び中強度刺激によって顕著に抑制され, 律動収縮は完全に消失するが(第4図A), 強刺激では完全抑制が起らず軽度の緊張上昇或は律動収縮が認められた(第4図B)。又この軽度の緊張上昇及び律動収縮は麻酔程度が深くなるほど弱くなる。この実験結果から麻酔剤の投与は軽度の差異はあるが大内臓神経刺激によってひき起される促進効果を減弱せしめ抑制効果を増大すると考えられる。

### 4) 抑制効果及び促進効果をひき起す原因

内臓神経末梢端刺激によってひき起される幽門括約部の運動の抑制効果と促進効果が如何なる原因によるものか分析するために, まず背部より露出した腹腔神経節及び上腸間膜神経節に 2~5% 酒石酸 nicotine-Ringer 液或は 4~5% TEA-Ringer 液或は 1% C<sub>6</sub>-Ringer 液を塗布して上記神経節に存在する synapse を麻痺せしめ, 大内臓神経刺激の括約部運動に及ぼす影響



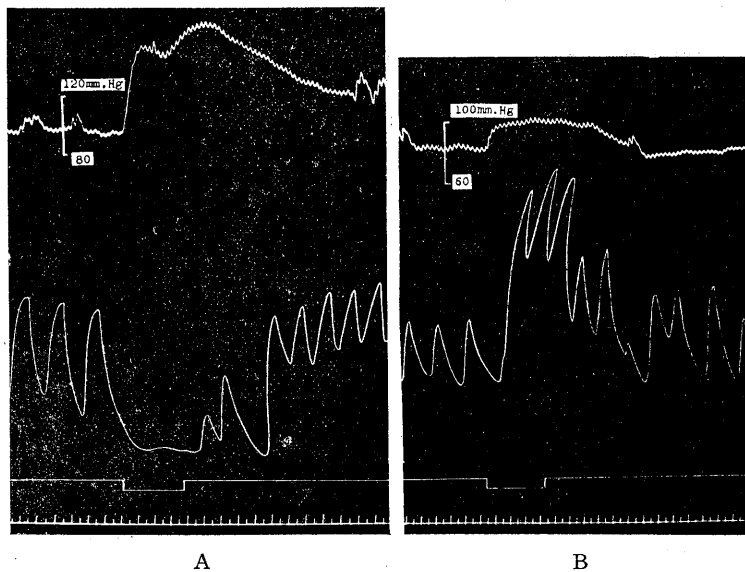
第4図 大内臓神経末梢端刺激の括約部運動に及ぼす影響

イヌ 10kg, urethane (1g/kg)-morphine (0.3mg/kg) 麻酔, 曲線は上から括約部の運動, 神経刺激標示, 時標 3sec; Aは弱刺激 (4.5V, C. D. 15cm), Bは強刺激 (4.5V, C. D. 5cm)

が薬物の神経節塗布前後で如何に変化するかを追求した。

a) 腹腔及び上腸間膜神経節に nicotine を塗布した場合

除脳・無麻酔イヌの括約部の運動を描記し第5図Aに示すように大内臓神経末梢端刺激がある一定の神経刺激強度で明らかに括約部の運動抑制と頸動脈血圧の顕著な上昇をひき起こすことを見た後, 腹腔神経節及び上腸間膜神経節に 2~5% nicotine-Ringer 液を塗布すれば一過性に括約部の運動が抑制され頸動脈血圧が上昇す



第5図 腹腔神経節及び上腸間膜神経節に nicotine を塗布した後は括約部の運動抑制効果が消失し促進効果が顕著になる

イヌ 9kg, 除脳・無麻酔, 線は上から頸動脈血圧, 胸腔内大内臓神経刺激時点, 時標 3sec, Aは nicotine の神経節塗布以前, Bは 2% nicotine の神経節塗布後, 神経刺激はA, Bとも同一刺激強度 (3V, C. D. 7cm)

るが (nicotineのsynapse 刺激作用), 間もなくもとに戻る. そこで再び神経の刺激実験を行って見るに, 最早刺激強度を如何に変えても決して抑制効果をひき起さず約 0.5~3secの潜刺激時をもって筋緊張の上昇と律動収縮の増大及び週期の短縮が起る(第5図B). この促

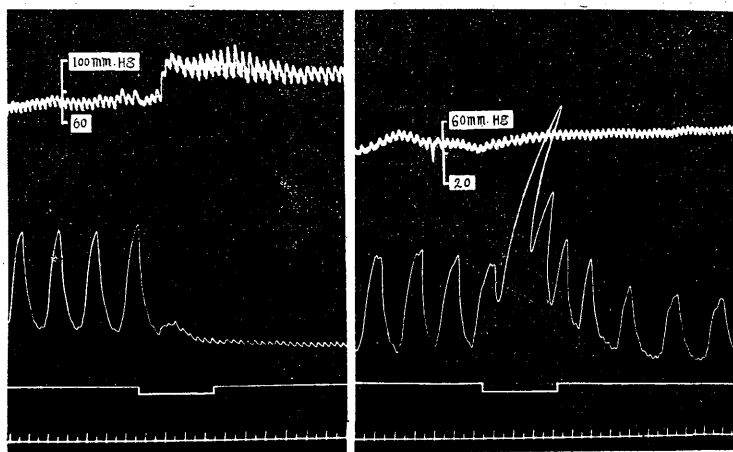
進効果は腹腔動脈及び上腸間膜動脈を止血鉗子で挟み血流を遮断した直後にも大内臓神経刺激によって顕著にひき起されるから血管内腔の変化に伴う血流量の増減による2次的影響とは考えられない. 又上述の現象は腹腔神経節にのみ nicotine を塗布した場合にも起るが上腸間膜神経節にのみ塗布した場合には起らない. この結果から大内臓神経には2種類の神経線維が存在し幽門括約部の運動抑制線維の synapse は主として腹腔神経節にあり, 運動促進線維はこれ等の神経節で neuron を交代することなく通過して幽門括約部を支配していると考えられる. 又大内臓神経刺激によってひき起される括約部の促進効果は atropine の投与によって著明に減弱された.

b) 腹腔及び上腸間膜神経節に TEA 或は  $C_6$  を塗布した場合

nicotine の腹腔神経節塗布後には大内臓神経刺激によって起る括約部の運動抑制は消失して促進効果のみひき起されるが, これと全く同様の結果が TEA 或は  $C_6$  の腹腔神経節塗布後にも得られる. 4~5% TEA-Ringer

液或は1% $C_6$ -Ringer液を腹腔神経節及び上腸間膜神経節に塗布すれば、nicotine塗布の場合と逆に両側大内臓神経切断の場合に似て括約部の運動は顕著に促進し、頸動脈血圧は約40~50 mmHg 下降する。括約部の律動運動が正常に

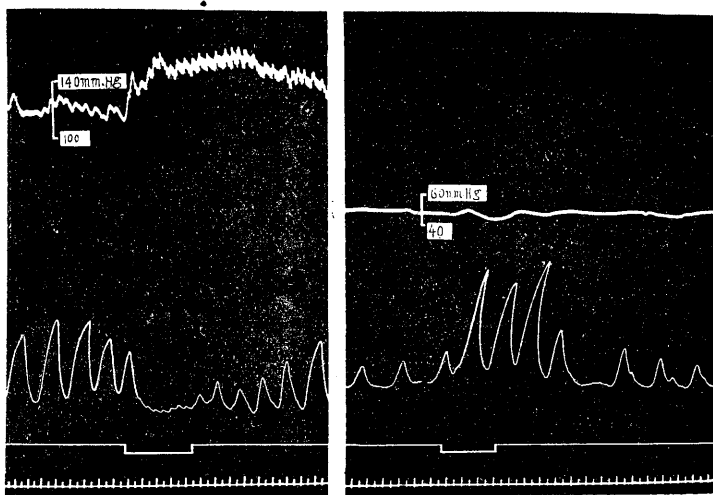
恢復するをまって大内臓神経末梢端を刺激すれば最早如何なる神経刺激強度によっても括約部の運動抑制をひき起すことはできず逆に約3V, 60cycleの刺激閾値をもって常に純促進効果をひき起す(第6, 7図)。この結果から大内臓神経中には幽門括約部の運動抑制線維及び運動促進線維が存在し、TEA及び $C_6$ は抑制線維のsynapseを刺激することなく麻痺すると思われる。



A B

第6図 腹腔神経節及び上腸間膜神経節に5% TEA-Ringer液を塗布した後は括約部の運動抑制効果が消失し促進効果が顕著になる

イヌ 9kg, 除脳・無麻酔, 曲線は上から頸動脈血圧, 括約部の運動, 神経刺激標示, 時標 3sec, AはTEAの神経節塗布以前, Bは塗布後, 神経刺激強度はAは4V, 20cycle, Bは12.5V, 60cycle



A B

第7図 腹腔神経節及び上腸間膜神経節に1%  $C_6$ -Ringer液を塗布した後は括約部の運動抑制効果が消失し促進効果が顕著になる

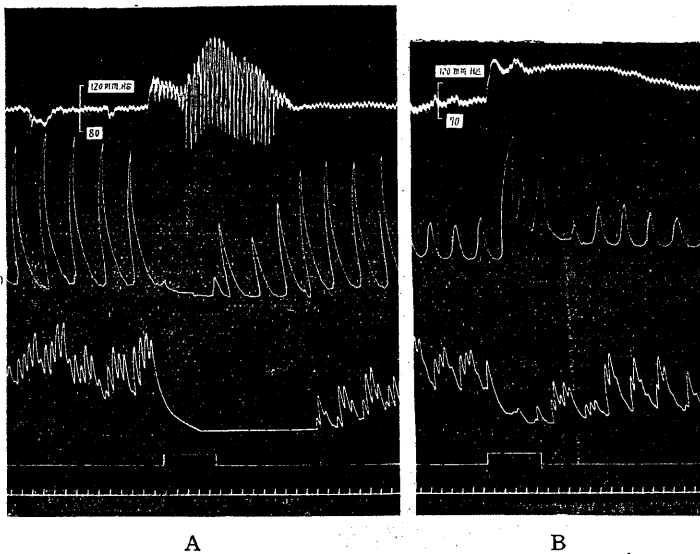
イヌ 8.8kg, 除脳・無麻酔, 曲線は上から頸動脈血圧, 括約部の運動, 神経刺激標示, 時標 3sec, Aは $C_6$ の神経節塗布以前, Bは塗布後, 神経刺激強度はAもBも6V, 60cycle

経中には幽門括約部の運動抑制線維及び運動促進線維が存在し、TEA及び $C_6$ は抑制線維のsynapseを刺激することなく麻痺すると思われる。

### 5) 幽門括約部及び十二指腸起始部における内臓神経支配の差異

上述の実験結果から大内臓神経中に幽門括約部の運動抑制線維及び促進線維の存在することが明らかとなったが、これに関連して著者の興味を引くことは括約部以外の胃幽門部或は隣接する十二指腸起始部が大内臓神経から上述の如き2種類の神経支配を受けているや否やの問題である。そこでこの点を解決するために除脳・無麻酔イヌについて幽門括約部の運動と同時に十二指腸起始部の運動をゴム球法で描記し或は腹腔を開いたまま38°CのRinger液を満した浴槽に沈めて直接観察し、大内臓神経末梢端刺激の胃及び十二指腸運動に及ぼす影響がnicotineの神経塗布前後で如何に変化するかを比較検討した。

実験結果は第8図Aに示すように予め一定強度の大内臓神経刺激が幽門括約部及び十二指腸起始部の運動



第8図 幽門括約部及び十二指腸起始部における大内臓神経支配の差異を示す

イヌ 8kg, 除脳・無麻酔, 曲線は上から下へ頸動脈血圧, 括約部の運動, 十二指腸起始部の運動, 神経刺激時点, 時標 6sec, Aは 2% nicotine-Ringer 液の神経節塗布以前, Bは塗布後, 神経刺激強度はAは 3V, C. D. 8cm, Bは 3V, C. D. 6cm

を顕著に抑制することを確かめたのち 2~5% nicotine-Ringer 液を腹腔神経節及び上腸間膜神経節に塗布して再び神経の刺激実験を行った。括約部の運動に関しては既に述べた如く nicotine の神経節塗布後には大内臓神経刺激は無効であるか或は促進効果をひき起すに反し, 十二指腸起始部の運動は僅かに抑制されて決して促進効果をひき起さなかった (第8図B)。この結果は肉眼的にも観察され大内臓神経刺激によって Incisura angularis 及び胃幽門部一帯に強い蠕動波の促進がひき起されるに反し, 十二指腸起始部及び以下の小腸では決して促進効果を認めなかった。この結果から胃幽門部 (幽門括約部を含む) 及び胃体の尾側部は大内臓神経から促進線維及び抑制線維の支配を受け, 小腸は十二指腸起始部において明瞭に幽門括約部と境されて大内臓神経から抑制線維のみによって支配されると考えられる。大内臓神経の胃蠕動促進線維が幽門括約部を越えて十二指腸を支配していない事実は, イヌの胃及び十二指腸輪走筋相互間が幽門括約部末端において豊富な結合

組織或は血管によって約93%の割合に筋性連絡が遮断されていることと考え合せて非常に興味深いと言わねばならない。

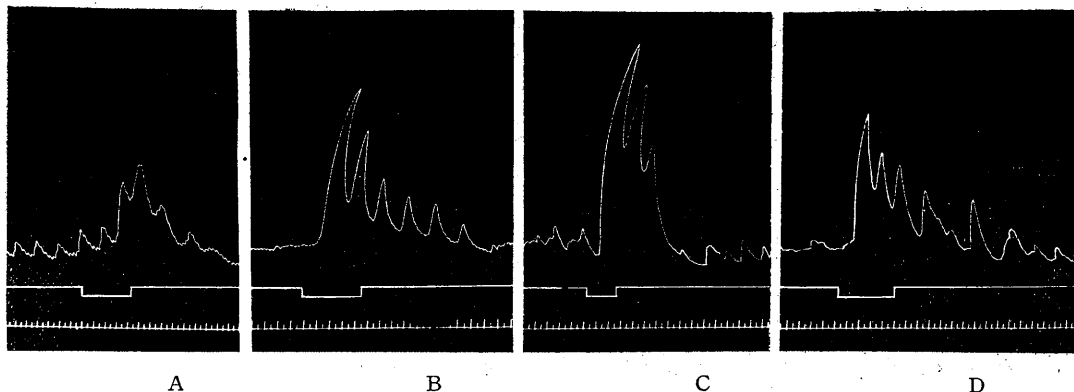
#### 6) 胸神経後根及び前根末梢端刺激の括約部運動に及ぼす影響

大内臓神経に含まれる括約部の運動抑制線維は腹腔神経に synapse が存在し, synapse の中枢端における刺激は nicotine の神経節塗布によって無効となるから明らかに遠心性線維であるが腹腔及び上腸間膜神経節で neuron を交代しない幽門括約部の運動促進線維は遠心性線維であるか求心性線維の逆伝導性刺激によっ

てひき起されたものか区別できないし, 又これ等の線維が如何なる部位の脊髄神経後根から由来するか明らかでない。そこでこの疑問を解決するために第5胸神経から第13胸神経までの前根及び後根末梢端刺激を行い括約部の運動に及ぼす影響を検討した。

#### a) 胸神経後根末梢端刺激の括約部運動に及ぼす影響

実験結果は第9図に示すように第7, 8, 9, 10胸神経後根末梢端刺激は純促進効果をひき起し各個体, 各後根或は刺激強度によってかなりその程度に差異があるが著明な筋緊張の上昇と律動収縮の増大が起る。この促進効果は大内臓神経刺激の場合と異なり刺激強度の変化によって決して逆の抑制効果をひき起すことはなく, 第9胸神経後根刺激において最も顕著であり第5第6胸神経或は第11, 12, 13胸神経後根刺激は無効であった。そこで予め露出してある各後根の背髄神経節に 2% nicotine-Ringer 液或は 4~5% TEA-Ringer 液を塗布し, 薬物の神経節塗布前後においてこの促進効果が如何に変化する



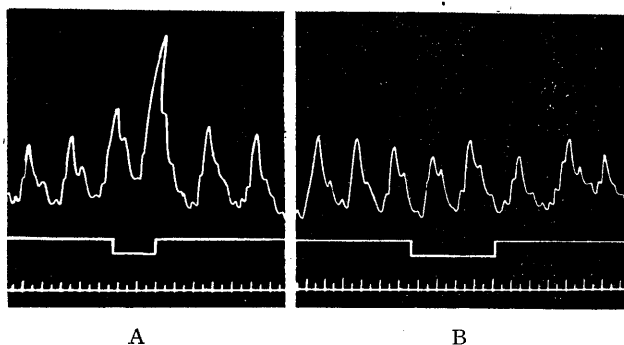
第9図 胸神経後根末梢端刺激の括約部運動に及ぼす影響

イヌ 6kg, 除脳・無麻酔, 曲線は上から下へ括約部の運動, 神経刺激時点, 時標 3sec, 左から右へ第7, 8, 9, 10胸神経後根刺激を示す. 神経刺激強度はすべて4.5V, C. D. 13cm

か検討した. 実験結果は第10図にその1例を示す如く後根末梢端刺激によって引き起される括約部の促進効果は nicotine 或は TEA の背髄神経節塗布後に完全に消失し, これは第7, 8, 9, 10胸神経後根において一致して認められた. この結果から第7, 8, 9, 10胸神経後根に幽門括約部の運動促進線維が存在することは明らかであって, それ等は背髄遠心性であり各該当する背髄神経節にその synapse が存在すると考えられる.

b) 胸神経前後末梢端刺激の括約部運動に及ぼす影響

第6胸神経から第10胸神経までの前根切断末



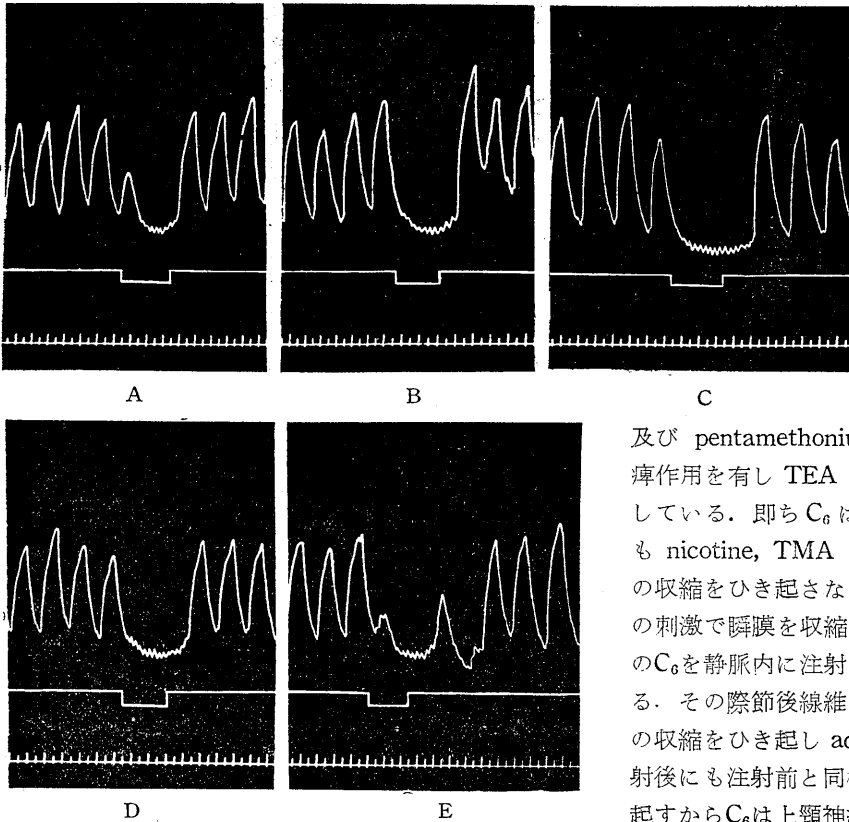
第10図 後根末梢端刺激によって引き起される括約部運動の促進効果は nicotine の背髄神経節塗布によって消失する

イヌ 6kg, 除脳・無麻酔, 曲線は上から下へ括約部の運動, 第9胸神経後根刺激時点, 時標 3sec, Aは2% nicotine-Ringar液の神経節塗布以前, Bは塗布後, 神経刺激強度はA, Bとも4.5V, C. D. 12cm

梢端刺激は常に幽門括約部の純運動抑制をひき起し, 刺激強度の如何にかかわらず決して促進効果を見ない. 即ち第11図に示すように 1~3 sec の潜刺激時ののち緊張の低下と律動収縮の減弱乃至消失が起り, この抑制効果は nicotine の背髄神経節塗布後も認められ, 第5胸神経或は第11, 12, 13胸神経前根末梢端刺激では顕著な抑制効果を認めなかった. 上述の結果から第6, 7, 8, 9, 10胸神経前根には幽門括約部の運動抑制線維が存在し, それ等は腹腔神経節で neuron を交代すると考えられる.

#### 従来の研究の批判実験及び論議

著者は上述の実験で synapse の存在部位を知るために nicotine, TEA 及び  $C_6$  の synapse 麻痺作用を利用した. nicotine の synapse 麻痺作用は Langley<sup>24)</sup>の研究以来多くの研究者によって認められ且 synapse を麻痺する目的に広く使用されており疑う餘地はないと思うが, TEA 或は  $C_6$  の synapse 麻痺作用は最近まで重要視されていなかった. TEA に関しては Burn 及び Dale<sup>4)</sup> はネコの血圧に対する TMA 及び TEA の作用を研究し, TMA が血圧に対して muscarine 様の抑制作用と [nicotine 様神経



第11図 胸神経前根末梢端刺激の括約部運動に及ぼす影響  
イヌ 10kg, 除脳・無麻酔, 曲線は上から下へ括約部の運動, 神経刺激時点, 時標3sec, 左から右へ第6, 7, 8, 9, 10  
胸神経前根刺激を示す. 神経刺激強度はAは4.5V, C. D. 10cm, 他は4.5V, C. D. 12cm

節刺激作用を有するに反し, TEA は TMA の刺激作用を遮断し神経節の麻痺作用が著明であると記載し, その後 Hunt<sup>14)</sup> もネコで TMA は神経節に対し nicotine 様刺激作用を有するが多くの alkyonium compound は nicotine 様神経節麻痺作用があることを報告しているから, かなり古くから注目されていたのである. しかしその synapse 麻痺作用をかなり正確に証明したのは Acheson 及び Pereira<sup>1)</sup> である. 氏等は麻酔ネコの上頸神経節において頸部交感神経(節前線維)刺激によってひき起される瞬膜の収縮は TEA の静脈内注射 (0.3~10mg/kg) によって減弱乃至消失し, その際節後線維の刺激は尚瞬膜の収縮をひき起すから TEA は瞬膜自身或は節後線維には作用せず上頸神経節における

synaptic transmission を遮断するものであると結論した. 又 Patone 及び Zaimis<sup>34)</sup> 等は最近 methonium 塩の synapse 麻痺作用を麻酔ネコの上頸神経節について研究し C<sub>6</sub>

及び pentamethonium は特に顕著な麻痺作用を有し TEA よりも作用が長いとしている. 即ち C<sub>6</sub> は 10mg/kg の大量でも nicotine, TMA と異なって瞬膜自身の収縮をひき起さないが, 予め節前線維の刺激で瞬膜を収縮せしめて 0.23mg/kg の C<sub>6</sub> を静脈内に注射すれば瞬膜は弛緩する. その際節後線維の刺激は尚強い瞬膜の収縮をひき起し adrenaline は C<sub>6</sub> の注射後にも注射前と同様に強い収縮をひき起すから C<sub>6</sub> は上頸神経節における synapse を麻痺すると報告した. 従って上述の研究結果から TEA 及び C<sub>6</sub> が synapse 麻痺作用をもつことは既に明らかであるが, 著者は更に 4~5% TEA-Ringer 液

或は 1% C<sub>6</sub>-Ringer 液によって神経線維が麻痺されるや否やを確かめるために麻酔函を使用してこれに蛙の坐骨神経を渡し 4~5% TEA-Ringer 液或は 1% C<sub>6</sub>-Ringer 液を作用せしめ, 薬物の作用部位より中枢端の最大単一刺激に対する筋攣縮高を薬物の作用前後において比較して約30分乃至1時間後にも尚筋攣縮高が薬物作用前と同一であることを知ったから, 4~5% TEA-Ringer 液及び 1% C<sub>6</sub>-Ringer 液は約30分乃至1時間では神経線維を麻痺しないと考えられ, 従ってこの synapse 麻痺作用を利用して synapse の存在部位を決定できると考える.

背髄神経後根に胃, 小腸の運動促進線維が存在するとはじめて主張したのは呉である. 氏及びその協同研究者<sup>21)</sup> はイヌで第6, 7 腰髄後根

を切断し数十日後にその後根を検索し、切断中枢端においては大径有髄線維はほとんど全部変性消失し小径有髄神経線維のみ存在し、切断末梢端においては小径有髄神経線維は変性消失し大径有髄神経線維のみ健全なることを認め、この小径有髄神経線維は背髄遠心性であるとなし、その後三枝<sup>27)</sup>、冲中<sup>31)</sup>等はイヌの頸髄、胸髄、腰髄及び仙髄の各後根について切断実験を行い、各後根の組織学的検索によって総ての背髄神経後根には $3\mu$ 及び $3\mu$ 以下の小径有髄神経線維である副交感神経線維が存在すると結論し、更に新田・川口<sup>17)</sup>等はこの起始細胞に関する研究を行い背髄灰白質中間層内側の小乃至中等大の神経細胞群がこの栄養細胞に相当することを認め、呉<sup>22)</sup>は頸髄より仙髄に至るまでの総ての背髄後根に背髄遠心性の小径有髄神経線維が存在して頭部副交感神経及び仙部副交感神経系はこの副交感神経系によって完全に連絡され、仙部副交感神経が背髄前根を通じて出るに對し後根を通じて背髄を出るものであって、このように背髄全般にわたって存在するからこれを背髄副交感神経系と命名した。更に生理学的にもこれを立証するため呉<sup>23)</sup>、市古<sup>15)</sup>、石川<sup>16)</sup>等はイヌ及びネコについて腹腔をひらき横隔膜直下で大内臓神経を露出し2% nicotin を内臓交感神経節に塗布した後鉤状電導子を掛けて刺激し胃、小腸の蠕動発生或は増強を観察し、これが背髄副交感神経刺激によって引き起されたものであるとした。

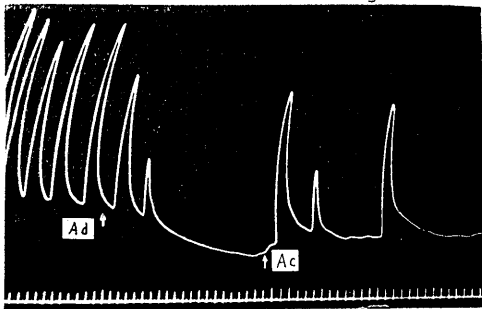
しかしこの問題に関しては組織学的研究或は生理学的研究から多くの反論が提出されており Sherrington<sup>35)36)</sup>、Nevin<sup>30)</sup>、Hinsey<sup>9)</sup>等は背髄神経後根の切断或は背髄神経節切除によって後根の変性実験を行い、後根切断末梢端では有髄線維の変性を見ず、切断中枢端では再生した線維を見た以外有髄線維は殆ど完全に変性しており背髄神経後根には遠心性線維は存在しないと考へている。従って変性法によって得られた実験結果は各研究者によって相反するのでG. Morin<sup>28)</sup>はこの問題は変性法によっては解決できないと言っている。生理学的実験から呉の説を

批判したものに福原<sup>10)</sup>及び川崎<sup>18)</sup>の研究がある。福原は呉等よりもはるかに生理的な研究方法であるゴム球法及び腹窓法によって小腸運動についてこの追試実験を行い、大内臓神経刺激は常に小腸運動に抑制的に作用し、腹腔神経節及び上腸間膜神経節に2% nicotine を塗布した後には大内臓神経刺激は無効となり所謂背髄副交感神経による促進的影響は決して認められないから、小腸に関する限りにおいて生理学的に背髄副交感神経なるものは存在しないとし、更に呉等の実験方法の缺陷として氏等が大内臓神経を切断することなく刺激していること及び氏等は対照実験としてレントゲン法を使用しているが、神経刺激のために造影剤を与え暫時の後腹腔を開いておりレントゲン法の開腹せずに腸運動を観察し得るといふ重要な特質を無視している点を指摘した。又川崎はゴム球法でイヌの十二指腸運動を描記して背髄神経後根の切断末梢端を刺激したが、前根末梢端刺激が十二指腸の運動抑制をひき起すに反し全く無効であるので背髄副交感神経なる仮説は十二指腸運動に関する限り全く事実と矛盾する説であると反駁している。

このように呉の背髄副交感神経説に対してはこれまで多くの反証が挙げられており、著者の実験も十二指腸起始部及び以下の小腸に関しては呉等の実験結果を支持していないので、背髄神経後根全般にわたって副交感神経線維が存在すると言う呉の主張を疑うものであるが、既に述べたごとく第7, 8, 9, 10胸神経後根には明らかに背髄遠心性線維が存在して幽門括約部を促進的に支配しているので、この点に関しては偶然に呉の主張と一致する。しかし大内臓神経に含まれる胃蠕動促進線維は胃幽門部（幽門括約部を含む）及び胃体の一部を支配しているのみであり、これを背髄副交感神経と命名すべきや否やこの研究のみから即答することはできない。

Elliott<sup>8)</sup>はネコの胃運動が adrenalin 及び内臓神経刺激によって著明に抑制されるに反してウサギの pyloric sphincter は adrenalin 及び

内臓神経刺激によって収縮し、それは力強い収縮ではないが軽度の tonic closure でありこの高い緊張状態から一続きの断続的収縮をひき起すのが特徴であるとし、又 Smith<sup>37)</sup>は酸素を通じた一定体温の Tyrode 液に胃の各部より剔出した筋片を吊してその運動を描記して epinephrin の作用を研究し、ウサギ、ネコ、人の pyloric sphincter が常に収縮することから交感神経は pyloric sphincter を促進的に支配していると考え、Klee<sup>20)</sup>もこれと同意見を表明している。しかし幽門括約部の運動をゴム球法で描記した Thomas 及び Wheelon<sup>38)</sup>等は adrenalin は括約部に抑制的に作用するとし、Smith は epinephrin が sphincter のみならずモルモット、ウサギ、イヌの sphincter 以外の胃壁でも収縮をひき起すことを見ており、又 Brown 及び Mc-Swiney<sup>2)</sup>等は胃壁の各部から剔出した筋片を酸素を通じた Tyrode 液 (38°C) に吊して運動を描記して adrenalin は胃体及び胃底では筋の緊張が高いと抑制的に、低いと促進的に作用するが、antrum, sphincter はむしろ抑制されて、時に antrum では僅かな促進効果を観察したと言っている。そこでこれ等の実験結果を生体内及び剔出した幽門括約部について追試した。実験結果はその 1 例を第12図に示すごとく生体内及び剔出した括約部の運動は acetylcholine によって収縮し、adrenalin によって抑制されて律動収縮の消失と軽度の筋緊張低下をひき起す



第12図 剔出した幽門括約部の運動に対する adrenalin 及び acetylcholine の作用

イヌ 4kg, 曲線は上から下へ括約部の運動, 1000倍の adrenalin 3ggt. 及び0.1%の acetylcholine 5ggt. の投与時点, 時標 6sec

が (11例中 8例), 僅か 2例においては adrenalin は括約部の緊張上昇を起した. adrenalin の作用が一定しない原因については結局著者も解決することができなかったが, この問題は単に幽門括約部のみならず, 消化管以外の部位<sup>19)5)</sup>でも注目されており, 更に広い視野からこれを検討すべきであると考ええる。

既に幽門括約部の迷走神経支配に関する研究においても指摘したが, Oser<sup>33)</sup>, Nakanishi<sup>29)</sup>, Watanabe<sup>39)</sup>等は内臓神経刺激或は adrenalin 投与によって胃内容の排出が抑制されれば幽門が閉鎖したとし, 逆に促進すれば幽門が開いたと解釈しており, 幽門括約部が律動運動を行い胃内容の排出は単に幽門の開閉によってのみ行われるのではなく, その原動力が胃蠕動波であることを無視しているため氏等は誤った推論をしておりその結論は信ずることができない。

著者がこの研究において第 7, 8, 9, 10胸神経後根に幽門括約部を促進的に支配する背髄遠心性線維を発見した後, たまたま最近 Malméjac (1951)<sup>25)26)</sup>等がイヌの第 8, 9, 10胸神経後根に背髄遠心性の胃運動促進線維が存在すると主張していることを知った. 氏等は chloralose 麻酔イヌにおいて Morat の方法により胃運動を描記しているから研究対象部位は異なるけれども, イヌの胸神経後根に胃運動の促進線維が存在すると主張する点では一致している。

## 結 論

除脳・無麻酔イヌ或は麻酔イヌにおいて幽門括約部の運動をゴム球法で描記し, 内臓神経両側切断及びその末梢端刺激, 胸神経後根, 前根末梢端刺激及び adrenalin の括約部運動に及ぼす影響を研究し又浴槽法を併用して直接観察法により実験結果を確認した. その結果を綜括すれば次の如くである。

1) 除脳・無麻酔イヌ或は麻酔非除脳イヌで大内臓神経を両側切断すれば幽門括約部の運動は顕著に促進するから, 大内臓神経は常に抑制的緊張性興奮を幽門括約部に送っていると考えられる。

2) 内臓神経には運動抑制線維及び促進線維が存在して幽門括約部を支配し、除脳・無麻酔イヌにおける大内臓神経末梢端刺激は主として刺激強度の変化によって括約部の運動抑制効果、促進効果及びこの混合効果をひき起す。

3) 大内臓神経に含まれる胃運動の促進線維は胃体の一部から幽門括約部末端まで支配しているが、幽門括約部を越えて十二指腸及び以下の小腸を支配していない。

4) 第7, 8, 9, 10胸神経後根末梢端刺激は幽門括約部の運動を顕著に促進せしめ、この促進効果は腹腔神経節及び上腸間膜神経節に2~5% nicotine-Ringer液, 4~5% TEA-Ringer液或は1% C<sub>6</sub>-Ringer液を塗布しても影響されないが、背髄神経節に2% nicotine-Ringer液或は4~5% TEA-Ringer液を塗布した後は全く消失するから、上記の各後根に含まれる括約部の運動促進線維は背髄遠心性であり各後根の所属する背髄神経節にその synapse が存在すると考えられる。

5) 第6, 7, 8, 9, 10胸神経前根末梢端刺激は幽門括約部の運動抑制をひき起し、この抑制効果は腹腔神経節に2~5% nicotine-Ringer液, 4~5% TEA-Ringer液或は1% C<sub>6</sub>-Ringer液を塗布した後は完全に消失するから、上記の各前根に含まれる括約部の運動抑制線維は腹腔神経節で neuron を交代すると考えられる。

6) 上述の実験結果からこれまでの研究者の実験成績について批判した。

終りに臨み終始御指導を賜った恩師福原先生に感謝致します。

#### 文 献

- 1) Acheson, G. H. and S. A. Pereira (1946) The blocking effect of tetraethylammonium ion on the superior cervical ganglion of the cat. *J. Pharm. exp. Therap.* 87, 273
- 2) Brown, G. L. and B. A. McSwiney (1926) Reaction to drugs of strips of the rabbit's gastric musculature. *J. Physiol.* 61, 261
- 3) Brown, G. L., B. A. McSwiney and W. J. Wadge (1930) The sympathetic innervation of the thoracic sympathetic trunk. *J. Physiol.* 70, 253
- 4) Burn, J. H. and H. H. Dale (1915) The action of certain quaternary ammonium bases. *J. Pharmacol. exp. Therap.* 6, 417
- 5) Burn, J. H. and J. Robinson (1951) Reversal of the vascular response to acetylcholine and adrenaline. *Brit. J. Pharmacol.* 6, 110
- 6) Carlson, A. J. and S. Litt (1924) Studies on the visceral nervous system on the reflex control of the pylorus. *Arch. Int. Med.* 33, 281
- 7) Contejean, C. (1893) McSwiney, B. A. (1931) Innervation of the stomach. *Physiol. Reviews* 11, 478 による
- 8) Elliott, T. R. (1905) The action of adrenalin. *J. Physiol.* 32, 401
- 9) Hinsey, J. C. (1934) Are there efferent fibers in the dorsal roots? *J. comp. Neurol.* 59, 117
- 10) Hukuhara, T. (1935) Is the small intestine innervated by the so-called spinal parasympathetic nervous system? *Quart. J. exp. Physiol.* 24, 37 : 日新医学 (1934) 23, 785
- 11) 福原 武 (1948) アトロピンの小腸運動に及ぼす影響 日薬理誌 43, 90
- 12) 福原 武 (1950) 生理学実験法 南山堂
- 13) 福原 武・高木鉄男・山上松義 (1954) 迷走神経刺激の腸管運動に及ぼす影響 日本生理誌 16, 354
- 14) Hunt, R. (1926) Some effects of quaternary ammonium compounds on the autonomic nervous system. *J. Pharmacol. exp. Therap.* 28, 367
- 15) 市古鈞一 (1931) 小腸運動の神経支配に関する実験的研究 東京医会誌 45, 1239
- 16) 石川久三郎 (1932) 胃の神経支配に関する研究 東京医会誌 46, 616
- 17) 川口 建 (1931) 背髄に於ける副交感神経核に関する実験的並に組織学的研究 東京医会誌 45, 1057
- 18) 川崎元一 (1939) 小腸に於ける所謂吳氏背髄副交感神経支配に関する疑義 日本生理誌 4, 18
- 19) Kennard, J. H. (1937) The reversal by progesterin of the responses of the non-pregnant uterus of the cat. *Am. J. Physiol.* 118, 190
- 20) Klee, P. (1913) Der Einfluss der Splanchnicusreizung auf den Ablauf der Verdauungen. *Pflügers Arch.* 154, 552
- 21) 吳 建・新田義雄・辻 守昌・白石謙作・未永敏事 (1927) 腰髄後根に於ける副交感神経の組織的検出に就て 東京医新誌 2540号, 1696
- 22) 吳 建 (1930) 自律神経系, 背髄副交感神経系. *グレンツゲビート* 4, 1127
- 23) Kure, K., K. Ichiko and K. Ishikawa (1931) On the spinal parasympathetic system in relation to the digestive tract. *Quart. J. exp. Physiol.* 21, 1
- 24) Langley, J. N. (1890) On the physiology of the salivary secretion. *J. Physiol.* 11, 123
- 25) Malmjejac, J. et V. Donnet (1940) Sur l'origine et trajet des fibres cholinergiques a destination

- que contenues dans les neufs splanchniques. C. r. Soc. Biol. 133, 482
- 26) Malmejac, J., G. Chardon, P. Plane et P. Aubry (1951) Localisation de synapses sur les voies motrices gastriques d'origine médullaire dorsale. C. r. Soc. Biol. 145, 1282
- 27) 三枝玄一 (1931) 背髄副交感神経線維に就て 東京医会誌 45, 1864
- 28) Morin, G. (1948) Physiologie du système nerveux central. Masson et C<sup>ie</sup>, Paris
- 29) Nakanishi, M. (1924) The innervation of the pyloric sphincter of the rat. J. Physiol. 58, 480
- 30) Nevin, S. (1930) Degeneration changes after unilateral lumbar sympathectomy, with general observations on the nerve-fibre constitution of peripheral nerves and nerve-roots. Quart. J. exp. Physiol. 20, 281
- 31) 沖中重雄 (1934) 頸髄に於ける背髄副交感神経線維に関する研究知見補遺 東京医会誌 48, 1755
- 32) Openchowski, T. (1889) Über die nervösen Vorrichtungen des Magens. Centralbl. f. Physiol. 3, 1 : Arch. f. (Anat. u.) Physiol. (1889) 549
- 33) Oser, L. (1892) Experimentelle Beiträge zur Innervation des Magens. Z. klin. Med. 20, 291
- 34) Paton W. D. M. and E. J. Zaimis (1951) Paralysis of autonomic ganglia by methonium salts. Brit. J. Pharmacol. 6, 155
- 35) Sherrington, C. S. (1894) On the anatomical constitution of nerves of skeletal muscles ; with remarks on recurrent fibres in the ventral spinal nerve-root. J. Physiol. 17, 211
- 36) Sherrington, C. S. (1897) On the question whether any fibres of the mammalian dorsal (afferent) spinal root are of intraspinal origin. J. Physiol. 21, 209
- 37) Smith, M. I. (1918) The action of the autonomic drugs on the surviving stomach. Am. J. Physiol. 46, 232
- 38) Thomas, J. E. and H. Wheelon (1922) The nervous control of the pyloric sphincter. J. Lab. clin. Med. 7, 375
- 39) Watanabe, T. (1924) Zur pathologischen Physiologie der motorischen Funktion des Magens. Einfluss von Lähmung und Reizung einzelner und mehrerer Komponenten des vegetativen Nervensystems auf Tonus und Peristaltik. Virchows Arch. f. path. Anat. 251, 494
- 40) 山上松義 (1955) 幽門括約部の迷走神経支配 日本生理誌 17, 488

### Summary

The splanchnic innervation of the pyloric sphincter were studied on the decerebrated and not anaesthetized dogs. The pyloric movements were recorded by means of the Marey's tambour connected with the small balloon inserted into the region of the pyloric sphincter. The splanchnic nerves and the ventral as well as dorsal roots of the spinal nerves were stimulated with thyatron stimulator.

The results were summarized as follows.

1) The bilateral and retroperitoneal severance of the greater splanchnic nerves produced always an obvious excitatory effects on the pyloric movements.

2) The splanchnic stimulation produced variable effects on the pyloric movements : inhibition, excitation and combination of both responses, according to the intensity of stimulus. The inhibitory effects were completely abolished after application of 2% nicotine tartarate solution, 5% T. E. A. solution or 1% C<sub>6</sub> solution to the caeliac ganglion, while the excitatory effects were intensified.

3) On the duodenum the splanchnic stimulation produced the inhibitory effects only and gave no evidence of the excitatory responses. The inhibitory effects were abolished after application of nicotine to the caeliac ganglion and the superior mesenteric ganglion.

4) The pyloric movements were inhibited by the electrical stimulation of the peripheral end of the ventral roots the spinal nerves from the 6th thoracic to the 10th thoracic inclusive. On the other hand, the excitatory responses were obtained by the electrical stimulation of the peripheral end of the dorsal roots of the spinal nerves from the 7th thoracic to the 10th thoracic inclusive. After external application of 2% nicotine tartarate solution or 5% T. E. A. solution to the spinal ganglions, the excitatory responses were diminished or completely abolished.

5) Electrical stimulation of the lesser splanchnic nerve exerted a transitory inhibition on the pyloric movements.

6) Intravenous injection or external application of adrenalin caused inhibition of the pyloric movements not only in situ but on the isolated strip of the pyloric sphincter, but in rare cases the slight tonic contraction is observed.

7) From the results described above the results of the previous workers were discussed.

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

## 呼吸筋の筋電図学的研究 (第II報) 612.819.912

### Electromyographic Studies on the Respiratory Muscles (II)

小口周男 (OGUCHI-Kaneo)\*

#### I. 前 お き

第I報<sup>1)</sup>では家兎に於ける各筋が如何に呼吸運動に関与しているかを調べて報告した。

そのうち、内・外肋間筋は吸息または呼息に強く関与しており、その竹作も安定しているので、呼吸運動の示標として充分使用し得ることを確めた。

今回はこれ等呼吸筋の活動状態を調べながら、肺を膨張または萎縮させることにより、呼吸運動に対する迷走神経肺枝の反射作用を追求した。

迷走神経肺枝の呼吸運動に対する作用に関しては、Hering及びBreuer<sup>2)</sup>の研究以来数多くの研究がなされて来たが<sup>3)4)5)6)7)8)9)</sup>、まだ不明の点も少なくない。

従来行われて来た研究では、呼吸運動の示標として横隔膜の運動あるいは活動電流、横隔神経の活動電流など、ほとんど横隔膜だけが用いられている。このような吸息筋だけを対象とした研究では、Gesell<sup>10)</sup>もいうように、吸息中枢と呼息中枢とは完全な相互神経支配の関係にあることを前提とすることが必要である。

しかし呼吸運動を調べるためには、吸息運動だけでなく呼息運動も、従って吸息中枢の興奮状態だけでなく、呼息中枢の興奮状態も調べ、その相関関係を調査することが必要である。

そこで私は、呼吸運動の示標として、吸息筋だけでなく呼息筋の活動状態も同時に調査しながら、迷走神経肺枝の反射作用を調べた。

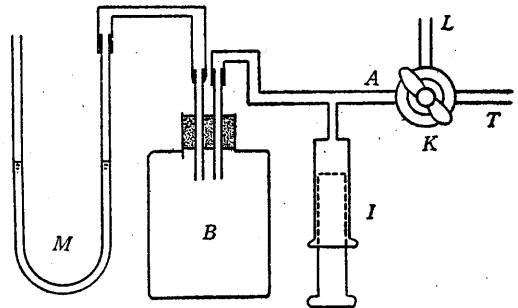
#### II. 実験方法

迷走神経肺枝の反射作用を調べる方法としては、頸部迷走神経幹を切断し、または冷却<sup>11)</sup>或

は陽性電気緊張<sup>12)</sup>を用いて伝導を遮断する方法や、神経の切断中枢端を電気的に刺激する方法<sup>5)8)9)13)</sup>などが多く行われて来たが、これ等の方法による場合迷走神経のうち肺枝だけを分離して用いることは困難のため、これ等の操作が迷走神経幹に加えられるが、この中には肺以外の臓器、特に呼吸と密接な関係のある心臓などからの神経もふくまれており、これ等に対しても同時に影響を及ぼすために、結果も複雑でありその判定もまちまちにならざるを得ない。

そのため今回は肺を他動的に膨張させ、または萎縮させることにより、肺の伸展受容器を刺激し、そこからの求心性衝撃に変化を与える方法をとった。この方法でも心臓、血管などに影響を与えるであろうが、上述の方法によるよりも、より純粋に迷走神経のうち肺枝だけを刺激出来ると考えたからである。

実験動物は主に家兎を使用した。時には犬を用いたこともある。家兎は多くの場合、無麻



第1図 空気送入・吸引装置

M: 水銀マンオメーター, B: 瓶 (1800cc), I: 注射器 (100cc) または二連球, K: 三方活栓, T: 気管カニューレにつなぐ, L: 側管。

通常はKによりAを閉じ、TをLにつないで呼吸させている。IによりBに陽圧または陰圧を加えておき、KによりLを閉じると同時にAをTにつないで肺に空気を送入しまたは肺の空気を吸引する。

\* 新潟大学医学部生理学教室 (高木健太郎教授)

酔で使用したが、時にはウレタンを体重1kg当り0.5~1.0g 犬では2.0~3.0g皮下に注射して麻醉した。

肺の膨脹、萎縮は気管を切開して挿入したカニューレを通して空気を送入し、または吸引した。空気の送入吸引には100ccの注射器を使用したこともあったが、多くの場合第1図に示すような、瓶と三方活栓の組み合わせを用いて予め瓶に陽圧または陰圧を加えておき、カニューレの側管を閉じると同時に肺に空気を送入し、または肺の空気を吸引する方法をとった。

筋電図は時実<sup>14)</sup>の方法によった。即ち1/4~1/5の注射針に、直径約80 $\mu$ のエナメル銅線をセメダインで封入固定した同心型針電極を使用し、電圧3段、電力1段の増巾器により増巾して、横河製電磁オシログラフに導いた。吸息筋としては横隔膜または外肋間筋を、呼息筋としては内肋間筋のうちⅥ~Ⅶ番目の軟骨間部を選んだ。

その他腹部に蛇管を巻き、ゴム管によりタンブールに導き、その運動を吸息筋、呼息筋の筋電図と同時に光楕杆により描記して、呼吸運動

の補助的示標とした。

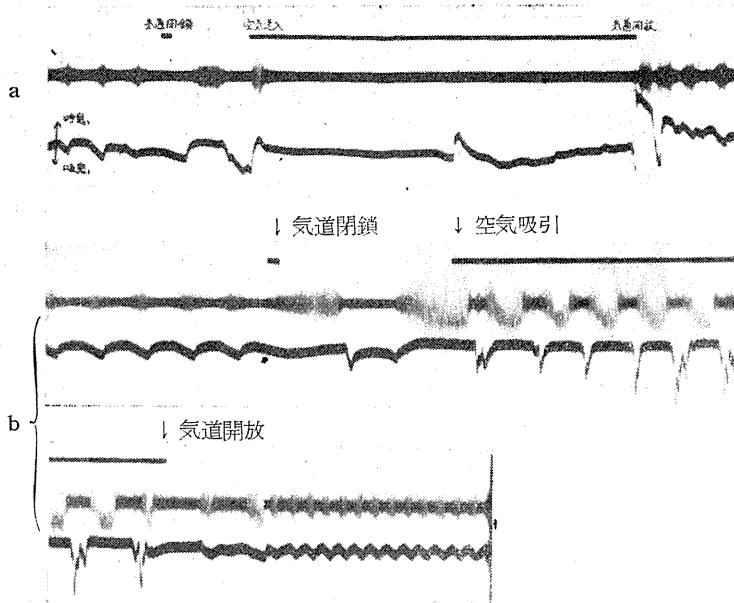
## Ⅱ. 実験結果

横隔膜の筋電図をとりながら、急に肺を膨らすと、第2図aに示すように、放電は気道を閉じている間消失するが、空気を送入すると同時に一時一過性の放電増加が見られる。気道を開くと初めは放電も強く頻数であるが、次第に肺を膨らす前の状態に戻ってゆく。肺を萎縮させると第2図bに見られるように、漸増型の放電は強く、長く現われるが、週期的に放電の消失する所が見られる。

第3図は呼息筋の筋電図を吸息筋のそれと同時に描記したものである。肺に空気を送入すると、第1図aと同様に肺が膨らんでいる間、吸息筋の放電は消失しており、その間呼息筋の放電は持続的に現われている。しかしよく見ると、週期的に放電が短時間増加している。即ち吸息筋に於ては全く呼吸の交代性が失われているが、呼息筋に於ては未だ保たれている。しかし正常呼吸時に較べて呼息筋の放電頻度は全体として稍減少しており(a)、または放電する筋線維の数が減少する場合も見られ(b)、時には全く放電を停止する場合も見られる(c)。

第4図は一定の呼吸相で肺に空気を送入した場合である。送入した空気の量が多い程、即ち強く肺を膨らせた時程放電の減少または消失が長時間継続する。即ちaでは72cc、bでは120ccを入れたがbの方が抑制が強い(図に於て呼息筋の抑制されている間を点線で示した)。

肺の空気を吸引して、肺を萎縮させると、吸息筋では第5図に示すように、吸引と同時に漸増型の週期的



第2図 無麻醉家兎に於ける横隔膜の筋電図

a: 空気40ccを注射器で送入。b: 空気20ccを注射器で吸引。a b共に下は呼吸運動曲線(途中に漏洩があるので稍速度曲線に近い)

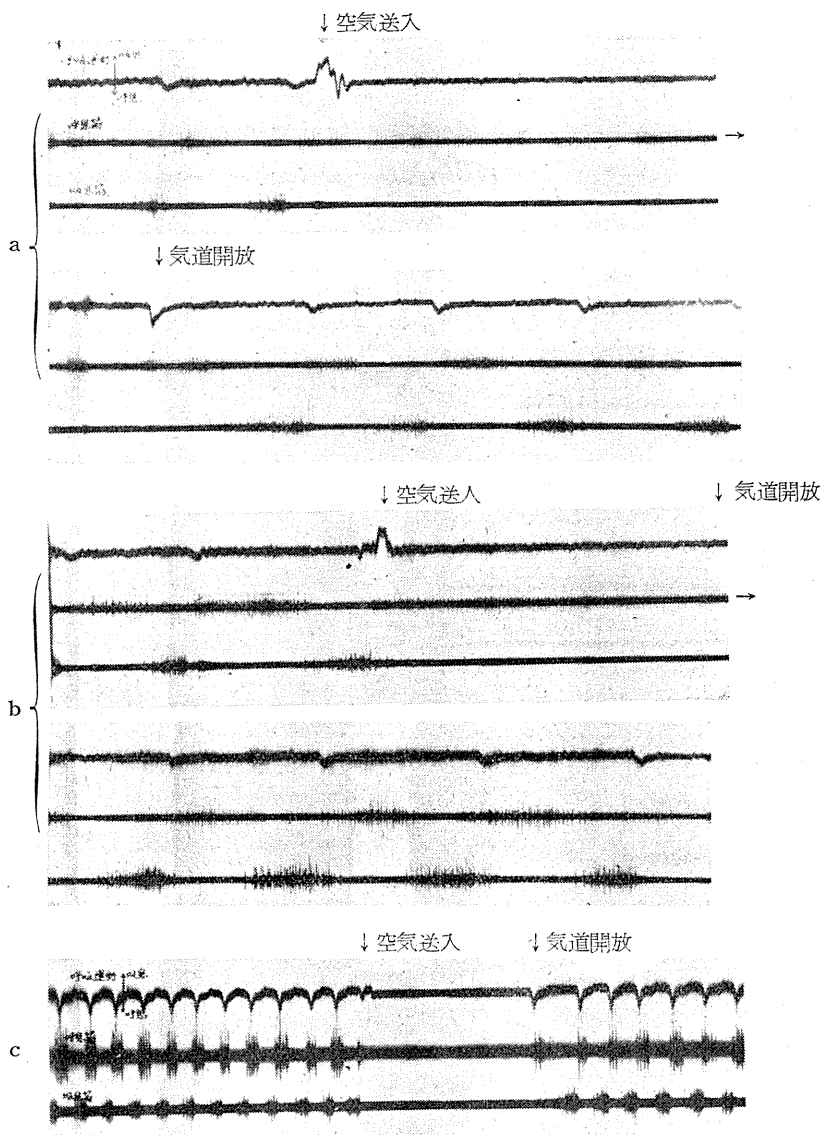
な放電が正常呼吸時よりも強く、長く現われ (第2図bと同様), その放電の止んだときに呼吸筋の放電が現われる. この放電は正常呼吸時に較べて, 経続時間は短い, 放電は遙かに増強している.

肺を膨脹または萎縮させる前に迷走神経を切っておくと, これ等の効果は見られない (第6図).

#### Ⅳ. 考 察

Hering 及び Breuer によれば, 肺が膨脹しまたは肺が萎縮すると, 機械的に迷走神経が刺激される. そして膨脹すれば吸息を抑制し呼息を興奮させ, 萎縮すれば呼息を抑制して吸息を起させようとする. 即ち呼吸運動は迷走神経によって自発的に, 反射的に調節されるという.

これに対して Hess<sup>3)</sup> は, 兎で人工呼吸を行い, 無呼吸にしてから肺を膨らすと, 横隔膜の緊張は低下し, 肺を萎縮させると緊張は増加する. 即ち肺の膨脹または萎縮の程度によって横隔膜に任意の位置をとらせることが出来ることから, これは Hering-Breuer のいう“切り換え反射”ではなく, “緊張反射”であるという. 何れも, 一方が興奮するときはその拮抗筋である他のものは抑制されることを意味している.

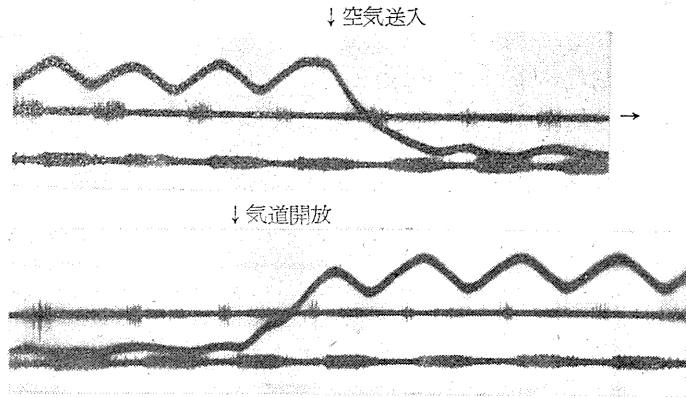


第3図

a, b: ウレタン麻酔の犬 (8.120kg). 上: 呼吸運動曲線, 上向きが吸息 (途中に漏洩あり). 中: 呼吸筋筋電図 (右内助間筋Ⅵ軟骨間部). 下: 吸息筋筋電図 (右外助間筋Ⅳ軟骨間部). 空気100ccを三方活栓により送入

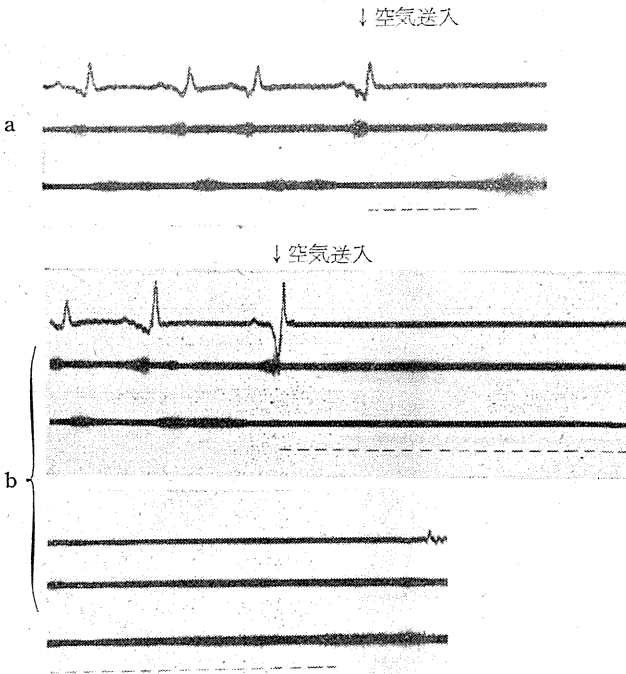
c: ウレタン麻酔の犬 (7.430kg). 上: a, bと同一. 中: 呼吸筋筋電図 (右内助間筋Ⅶ軟骨間部). 下: 吸息筋筋電図 (右外助間筋Ⅱ軟骨間部). 空気96ccを三方活栓により送入

Head<sup>15)</sup> は吸息抑制線維だけを考えている。即ち肺が膨脹すると、吸息を抑制して呼息に移行させることにより、呼吸のリズムを早くしているという。しかし私の結果では肺を萎縮させたとき明らかに吸息は促進されており、また高木<sup>8)</sup> は迷走神経を分離刺激して、吸息性の線維と呼息性の線維とに分けていることなどから、迷走神経肺枝に



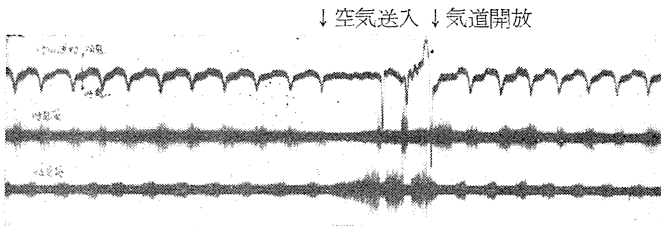
第6図 両側の迷走神経を頸部で切断した無麻酔の家兎

上：呼吸運動曲線 (下向きが吸息)  
 中：呼息筋の筋電図 (右内助間筋VI軟骨間部).  
 下：吸息筋の筋電図 (横隔膜)



第4図 ウレタン麻酔の犬 (6.530kg)

a, b 共に、上：呼吸運動曲線、下向きが吸息 (途中で漏洩あり)。中：吸息筋筋電図 (右外助間筋VI軟骨間部)。下：呼息筋筋電図 (右内助間筋VII軟骨間部)。a : 72cc, b : 120ccの空気を三方活栓により、吸息が大略中等度に行われたとき送入する。a, b 共にこの図の間は気道が開放されていない。



第5図 第3図cと同一の犬 三方活栓により空気48cc吸引

は吸息促進線維も含まれていると考えねばならない。

一方 Gesell<sup>16)17)</sup> は促進の効果だけを考えている。その理由として、吸息相に一致して肺を膨らすと吸息性の電位が増強し、呼息相に空気を送入すれば、呼息性の電位が増強することをあげている。これについて Larrabee<sup>18)</sup> は、肺を膨らすと、横隔膜神経の活動電流は増強するが、それは0.2~0.3秒しかつづかず、その後抑制が来る。しかも肺を正常以上に膨らせたときだけに見られ、少々膨らせたときには常に抑制されて、Gesell のような促進的の効果は正常時には無いと言っている。私の場合もこれと同様の結果を得ているが、吸息相に一致して正常呼吸量以上の空気を送入しても、常に促進的作用が見られるものではなく、直ちに抑制の来る場合も見られている。また呼息相に空気を送入した場合呼息筋の活動が一過性に亢進することもあったが、吸息筋・呼息筋が同様に亢進するよう

な場合は見られなかった。この原因については今後の研究にまたねばならない。

Gesell は更に肺を長い間膨らせたときに、呼吸が停止するのは呼息側の網様体細胞が強く長く興奮し、その興奮に相当する衝撃が相互抑制枝を通じて吸息側細胞に送られることにより、吸息を抑制するという。しかし私の結果では呼息筋も、吸息筋と同様に放電する線維の数が減少し、または放電頻度が低下しており、時には全く放電が停止する場合即ち、呼吸停止と言い得る状態も見られており、吸息筋と同様に明らかに抑制的効果が現われている。即ち肺を膨らすと、呼息筋は持続的には活動しているが、その強さはむしろ弱くなっており、Gesell の言うような強化は見られない。しかし肺膨張の効果は呼息筋よりも吸息筋に対して強く現われている。田崎<sup>19)</sup>は猫で、新島<sup>20)</sup>はガマを用いて、その迷走神経肺枝の中には、肺が膨張しまたは肺が萎縮するとき、その容積の変化だけに応ずる馴れの早い線維と、肺容積そのものに応ずる馴れの遅い線維とに分けている。Gesell の言う促進的効果は、恐らくこの馴れの早い線維によるものであり、肺に空気を入れ終った状態においては、この線維は働いていないと思われる。また私の実験成績によると、肺を萎縮させたときには、吸息中枢だけでなく、呼息中枢に対しても促進的に作用している。吸息及び呼息の中枢に於ける相互抑制支配の關係は従来考えられていたものとは異なるように思われる。この違いについては、従来吸息筋だけを対象としており、呼息中枢の興奮状態を調査せずに、呼息の状態について述べているからであり、推論の誤りのものはここにあると考えられる。

さきに高木<sup>21),22),23),24)</sup>等は皮膚に与えた圧及び触刺激が、四肢筋の緊張に及ぼす影響について報告している。即ち皮膚に対する圧迫の影響は“なれおそ”の線維を興奮させ、静的、抑制的の効果を現わし、触刺激は“なれはや”の線維を興奮させて、動的、促進的の反射作用を起すものであるという。更に高木は皮膚と内臓との間に相似性を考え、肺、胃、膀胱、血管などに

も、皮膚と同様の効果を持つ受容器が存在するのではないかと考えている。

呼吸運動は所謂呼吸筋に限られたものではなく、全身性の運動であるという(時実<sup>25)</sup>、山崎<sup>26)</sup>)。山崎<sup>26)</sup>は人及び動物で四肢筋の緊張は、肺を膨らすと、空気を送入したとき、一過性に増加するが、以後伸筋、屈筋共に緊張は低下することを認めている。肺膨張が筋活動に及ぼす効果は、これとちょうど同様であって、現象的に呼吸筋に対してもこの通則を適應することが出来る。

従来迷走神経肺枝の反射作用は、肺を膨らすと、呼息性呼吸停止を来す。即ち吸息を抑制して呼息を促進させ、肺を萎縮すると吸息性呼吸停止、即ち吸息を促進して呼息を抑制すると言われて来た。私の結果では、肺を膨らせたとき呼息筋の活動亢進は見られず、吸息筋と共に抑制され、呼吸中枢の興奮性を全体として低下させて、時には全く呼吸停止を来す場合も見られる。また肺を萎縮すると、吸息筋だけでなく、呼息筋に対しても促進的に働き、呼吸中枢の興奮性を全体として亢進させる。しかしこれ等の効果は呼息筋に対するよりも吸息筋に対してより著明である点は注意を要する。

結局肺膨張は相互抑制的に一方だけを抑制するものではなく、ちょうど両側体部を圧迫したとき伸、屈筋ともに抑制されると同様に原則的には吸息筋呼息筋、共に抑制される。即ち呼吸中枢が全体として抑制され、肺を萎縮させたときは、これと反対に、吸息筋、呼息筋共に興奮させられると言わねばならない。肺膨満時には呼吸は遅く、大きく、肺萎縮時には、早く、小さいということもこの観点から考え直さねばならない。

拮抗筋の中枢が共に強く興奮するときには、その干渉の結果、早く小さくなり、呼吸の水準はそのうち、強く発達した筋作用位置の方に、即ちここでは吸息性に片寄る。機械曲線の上からは、これは単に吸息中枢の興奮としてうつるが、実は吸息、呼息共に強く興奮した結果であることを考えるべきである。この緊張的作用

結果から正常呼吸運動に於ける迷走神経の作用機序を考えると、吸息が進み、肺が膨れるにつれて、吸息、呼息中枢ともに反射的に抑制されて、その反射が強ければ呼吸は一時全く受動的な力のみで左右されて、所謂安静位に戻ろうとする。即ち呼息を生じる。これが進むにつれて肺が萎縮すれば再び中枢の興奮性は高まって来て、まず肺膨満抑制反射に抵抗の強い呼息が起る。このとき勿論吸息中枢の方はその不応期による興奮低下もあって、通常はまだ活動をはじめない。

更に肺が萎縮して、両中枢の興奮性が増加し、特に吸息中枢の興奮性は、回復増大するので、次の吸息が起る。即ち一言にして言えば、迷走神経反射そのものには従来言われた如く、相互抑制的作用は弱く、呼吸運動に伴って呼吸中枢全体の興奮性を上下させている。いわば両中枢の不応期によって生ずる交代性を助長していると言うことが出来る。

更に呼吸運動がはげしいときには、なれはや線維が刺激されて起りつつある吸息を助長することも、迷走神経呼吸反射として見逃すことは出来なからう。

## V. 結 論

1) 吸息筋、呼息筋の筋電図を呼吸運動の示標として、肺膨縮による迷走神経肺枝の反射作用を調べてみた。

2) 肺に空気を送入すると、多くは一過性に筋活動は亢進するが、その後は吸息筋、呼息筋共に抑制される。即ち呼吸中枢の興奮性は全体として低下しており、呼息筋に対する促進作用は見られない。またその抑制作用は肺が強く膨脹している程長く続く。

3) 肺を萎縮すると吸息筋、呼息筋共に活動は亢進する。即ち呼吸中枢の興奮性は全体として促進する。

4) これ等の促進及び抑制の作用は呼息筋よりも吸息筋に対して著明である。

5) 肺膨縮時の、呼吸中枢に対する迷走神経肺枝の反射作用は、従来考えられていたように

完全なる相互抑制的のものではない。

6) 肺膨脹による反射作用は皮膚に対する圧及び触刺激と同様の現象と考えられる。

## 文 献

- 1) 小口周男 (1954) 呼吸筋の筋電図学的研究 (第Ⅰ報) 日本生理誌 16, 771-776
- 2) Hering, E., J. Breuer (1868) Die Selbststeuerung der Atmung durch den Nervus vagus
- 3) Hess, W. R. (1931) Die Regulierung der Atmung. Leipzig
- 4) Reice, H. V. (1938) Vagal Reflex and Carbon Dioxide Am. J. Physiol. 124, 535-545
- 5) Wyss Oscar, A. M. (1939) Reiz physiologische Analyse des afferenten Lungen vagus. Pflügers Arch. 242, 215-233
- 6) 高木健太郎・池 田 勇 (1942) 迷走神経の呼吸調節作用について (第Ⅰ報) 日本生理誌 7, 303-313
- 7) 高木健太郎 (1942) 迷走神経の呼吸調節作用について (第Ⅱ報告) 迷走神経冷却時の呼吸変化について 日本生理誌 7, 538-549
- 8) 高木健太郎 (1944) 迷走神経の呼吸調節作用の中樞性機序について 日本生理誌 9, 677-689
- 9) 高木健太郎・長谷川 弘・石井公正 (1950) 迷走神経中枢端刺激の呼吸に及ぼす影響について 日本生理誌 12, 216-223
- 10) Gessel, R., A. S. Dantas (1952) Central Inhibition: Reflexly, Reciprocally and Chemically Induced. Am. J. Physiol. 170, 690-701
- 11) Head, H. (1889) On the Regulation of Respiration. J. Physiol. 10, 1-70
- 12) Pflücker, L. (1905) Über reizlose Ausschaltung des Lungen vagus durch Anelektrotonus. Pflügers Arch. 106, 372-385
- 13) 福田邦三・加藤 保・石川 康・高島 巖 (1948) 迷走神経刺激による呼吸停止及びこれに伴う血圧変動に就て 日本生理誌 10, 258-265
- 14) 時実利彦・津山直一 (1952) 筋電図の臨床
- 15) Head, H. (1889) On the Regulation of Respiration. Am. J. Physiol. 10, 279-290
- 16) Gesell, R., E. H. Steffensen, T. M. Brookhart (1937) The interaction of the Rate and Depth Components of Respiratory Control Am. J. Physiol. 120, 105-120
- 17) Gesell, R. (1940) Driving Force of Respiratory Act. Science 91, 229-233  
高木健太郎訳 (1943) 呼吸運動を統御する力 科学 13, 79-101
- 18) Larrabee, M. G., G. C. Knowlton (1941) Excitation and Inhibition of Inspiratory Center by Afferent Impulse from the Lung. Am. J. Physiol. 133, 360
- 19) 田崎一二 (1948-49) 末梢神経内の各種求心性並びに遠心性線維の向き方について 日本生理誌 11, 学 4

- 20) 新島 旭 (1951) ヒキガエルに於ける迷走神経呼吸反射 日本生理誌 13, 187-197
- 21) 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Ⅰ報) 生体の科学 3, 169-171
- 22) 高木健太郎・他 (1952) 皮膚圧迫の筋緊張に及ぼす影響 (第Ⅱ報) 日本生理誌 14, 219
- 23) 長谷川 渙・倉島昭示 (1952) 皮膚圧迫の筋緊張に及ぼす影響 (第Ⅲ報) 日本生理誌 15, 25-29
- 24) 長谷川 渙・山崎恒雄・岡井一雄 (1953) 皮膚圧迫の筋緊張に及ぼす影響 (第Ⅳ報) 日本生理誌 15, 397-401
- 25) Tokizane, T., K. Kawamata and H. Tokizane (1952) Electromyographic Studies on the Human Respiratory Muscles. Jap. J. Physiol. 2, 232-247
- 26) 山崎恒雄 (1955) 圧反射の研究 自動的呼吸運動と他動的呼吸運動の四肢筋緊張及び膝蓋腱反射閾値に対する影響 日本生理誌 17, 32-38

### Summary

The reflex action of the lung vagus upon the inspiratory and expiratory muscles were electromyographically observed by the inflation and deflation of the lungs.

1) The inflation of the lungs inhibits the activity both of the inspiratory and of the expiratory muscles. Thus the activity of the respiratory center is depressed as a whole.

This effect lasts longer as the inflation is more extensive.

2) The deflation of the lungs elevates the activity both of the inspiratory and of the expiratory muscles.

3) The inflation and deflation of the lungs does not show the evidence of the completely reciprocal innervation which was believed up to present.

4) These phenomena may be considered as identical with the effect revealed by the pressure and tactile stimulation on skin.

*(Department of Physiology, Niigata University School of Medicine)*

## カキ心臓に於ける結紮実験 612.171

Responses of Oyster Heart by the Ligation at the Various Parts.

西本和夫 (NISHIMOTO-KAZUO)\*

### I. 緒論

高等動物の心臓に認められる様な刺激発生部位が、無脊椎動物の心臓に存在するか、否かに就いては、未だ充分な研究が行われて居ない。一部の無脊椎動物、就中、甲殻類以下の動物では、心臓の歩調取りが、神経節よりする放電によって行われていると考えている者もいるが、軟体動物心臓では其様な事実はないと云われている。而して高等哺乳動物に於けるKeith-Flackの結節は、下等動物になる程その範囲が広くなり、且、これは両棲類に於ける静脈洞の残遺であろうと云われているが<sup>1)</sup>、この事は軟体動物心臓に於ける刺激発生部位に就いて極めて示唆的である。

Berthe, J. and Petitfrere, c.<sup>2)</sup>は、イガイ mussel の心臓で、歩調取り部は局在して居ないと云うが、一方高槻は、“カキ”心臓心房先端部に、その部が存在すると考えている。又、安藤<sup>3)</sup>は房室隔壁部（以後房室境界部と改める）附近に認められる筋細胞群にその所在を想定しているが、私は先にカキ心臓に於て機械的刺戟実験を行い、房室境界部及び心室の正中線に一致する部分が最も鋭敏に反応すると報告した<sup>4)</sup>。しかし、これらの事から、その部分に歩調取りが存在するとは早急に過ぎるので、今回は各部の興奮伝導を中絶する事により歩調取り部を検索する為に、結紮実験を行った。

### II. 実験方法

1954年の夏（7～8月）広島湾で養殖されている軟体動物、瓣鳃類中のマガキ *Ostrea lapeousei* Schrenk を材料として実験を行った。先ず、カキ殻を破り、囲心腔を取り囲む膜を切除して心

臓を露出し、心臓各部に細小絹糸による結紮を行い、その際生ずる心搏動の変化を秒時計により算定するか、或いは心収縮に伴う電位変動を煤紙電流計に描記させることにより観察した。

### III. 実験成績

#### 1. 心房先端部を結紮した場合

心房先端部を結紮した場合には第1表の如く、結紮部を界として心房の心室に近い側は、結紮と同時に搏動を停止するが、1～2分後、稀には数十分から数時間後に、以前よりは週期の短い搏動を再開する。しかし、搏動数に変化の無い例、結紮後停止する事なく搏動数の上昇を来す例及び収縮性停止を起したまま回復しない例も認められた。

振幅には、始め小となり次いで漸増する傾向が認められたが、旧の大きさに回復するか否かに就いては、一定した結果が得られなかった。更に回復時に於て、搏動の大きさに週期的変化を認める例が多かった。又、結紮部より先端側の心房部分は、多数例に於て一時的収縮性停止を来し、数分後に再び搏動を始める。し

第1表 心房先端部を結紮した場合に、心房及び心室に現われる搏動状態の変化

観察部位	対照/分	搏動数/分
V	23	一旦収縮性停止, 約2分後再開 55
K	23	24 24 24
V	19	一旦収縮性停止, 約2分後再開 65
K	26	27 27 27
V	20	収縮性停止のまま
K	20	20 20 20
V	36	60
K		
V	24	一旦収縮性停止, 約4分後再開 40
K		
V	28	一旦収縮性停止, 約1分後再開 40

\* 広島大学医学部生理学教室

かし、停止状態のままの例もあった。再び搏動を始めた際の搏動数は、一般に増加の傾向を示した。この際、心室には何等の変化も認められない例が多いが、その搏動数及び大きさに相当著明な変化を示す事もあった。即ち、一旦小となり漸増する傾向を示した(第1図 a, b 参照)。

2. 心房を中位高で結紮した場合

心房を中位高で結紮した結果は、第2表に示す通り実験成績 I の場合と全く同様な傾向を示した。

3. 一側房室境界部及びその附近を結紮した場合

房室境界部に就いては、其処より稍々心房内に入った処、境界部及び稍々心室内に入った処の三部に分けて結紮を行ったが、その結果は第3、第4、第5の各表に示す通りで、各実験の間に

第2表 心房を中位高で結紮した場合の心房及び心室の搏動状態の変化

結紮部を界として心房が二分された形となり、別個の週期で搏動するのが観察される

観察部位	対照/分			
V	11	一旦収縮性停止	約30分後結紮部より先端側のみ再開	12
K	20	40		12
V	40	収縮性停止のまま		
K				
V	9	一旦収縮性停止	約5分後再開	22
K	16	16		16
V	24	一旦収縮性停止	約1分後再開	40
K	24	24		24
V	16	一旦収縮性停止	約1分後再開	60
K				
V	16	結紮部より先端側 // 心室側	16 約5分後	16
K	16		18 //	17
V	17	結紮部より先端側 // 心室側	収縮性停止のまま	
K	17		30 約5分後	22
			//	17

第3表 一側房室境界より稍々心房内に入った処を結紮した場合の心房及び心室の搏動状態の変化

観察部位	対照/分			
V	17	一旦収縮性停止	約10分後再開	18
K	20	27		20
V	25	22		
K	36	31		
V	10	一旦収縮性停止	約1分後再開	12
K	5	12		12
V	18	収縮性停止のまま		
K	18	36		

は何等認むべき差が無く、且、上述の2実験の結果と全くの同様な傾向を示して居る。

4. 心室を中位高で結紮した場合

第1図 c の如く、極めて著明な棘電位の頻度増加が認められた。而して、この際直接的観察により、心室に極めて微小な収縮運動の起って居るのが観察された。

第4表 一側房室境界より稍々心室内に入った処を結紮した場合の心房及び心室の搏動状態の変化

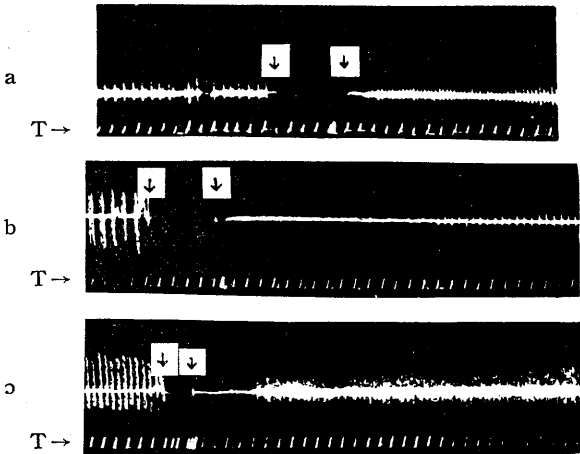
観察部位	対照/分			
V	6	一旦収縮性停止	約4分後再開	7
K	5	19		19
V	18	46		46
K	18	一旦収縮性停止	約30秒後再開	21
V	16	35		
K	19	28		
V	17	収縮性停止のまま		
K	20	40		
V	17	18		
K	20	結紮側心室の停止	他側	18

第5表 房室境界部を結紮した場合の心房及び心室の搏動状態の変化

観察部位	対照/分			
V	5	20		
K	10	45		
V	16	16		
K	16	16		
V	12	収縮性停止のまま		
K	12	33		
V	10	一旦収縮性停止	約1分後再開	12
K	5	12		12
V	17	17		
K	18	18		
V	22	30		
K	22	収縮性停止のまま		

IV. 考 察

カキ心臓の心房先端部に刺激発生部を仮想して、両棲類心臓に於ける Stannius 氏実験の考え方をカキ心臓にも適用して見ると、此の部の結紮により、結紮部を界として心房の先端側部分はそのままの状態を搏動を続け、その反対側部分及び心室は搏動を一旦停止し、漸時の後、以前よりも長い週期で搏動を始めるはずである。しかるに、その結果は実験成績 I に示す通り、予想とは一致しない。この事実はカキ心臓



第1図 a, b: 房室境界部を結紮切断して心房標本を作り、この結紮部より単極誘導を行い、収縮に一致する電流変化を煤紙電流計に描記したものである。即ち、一側心房標本に於て、心房の先端を結紮した場合には、一過性の停止の後、棘電位頻度の増加が起り、次第に旧に復ってゆく。この際、振幅には、始め小となり、後、漸増してゆく傾向がみられる。

c: 全心標本に於て、心室を中位高で結紮した場合、著明な棘電位頻度の増加が認められる(誘導は、心室尖部より単極誘導)。向って左側の矢印は結紮開始、右側の矢印は結紮終了を表わす。その間、誘導は止められている。 T: 時間、毎3秒

の心房先端部に刺激発生部を仮想する事が Stannius 氏結紮実験の考え方からは首肯出来ない事を示すものである。又、この際、結紮部よりも心室側の心房部分及び心室が搏動を停止しなかった例に於ては、反対側心房の先端部からの衝撃が伝播して来たのではないかと考えられるが、この事は反対側心房を結紮乃至は切断した後上述の実験を行っても、成績 I と全く同様な結果の得られる事から、除外していいのではないかと考えられる。

実験成績 II に示すものは、刺激発生部が房室境界部附近にあるのではないかと考え、心房を中位高で結紮して、そこを界とする両部分の搏動状態の変化を観察したものであるが、本実験に於ても実験成績 I と同様な結果が得られ、房室境界部及びその附近に刺激発生部位を仮想することの出来ない事を示した。

又、この際心房が結紮部を界として2分された形となり、両者が各々別個の週期で搏動する

のが観察された例もあるが、その週期の長短に就いては各例に於て結果が一致せず、何れが短とも決定する事は出来なかった。

更に房室境界部附近の結紮に際しても先の2実験と同様な結果が得られ、且、房室が別個の週期で搏動している際にもその何れの搏動が頻なるかに就いては、一定の傾向を得る事が出来なかった。

唯、心室を中位高で結紮した場合には、常に著明な棘電位頻度の増加と、心室の微小な頻度の高い収縮とを観るが、これが如何なる理由によって生ずるのかは未だ不明である。

要するに、上述の実験結果は、両棲類で行われた Stannius 氏結紮実験の考え方ではカキ心臓に於ける刺激発生部位を決定する事は出来ないと云う事、換言すれば、カキ心臓に於ては、この様な部位は存在しないのではないかと云う事を示して居る。

実験成績 1, 2, 3 に示される様に、心房及び房室境界及びその附近の結紮では、結紮部位の何処たるを問わず、その結果が同じである。この事実は、これらの部位の何れにも刺激発生部位と特に推定されうる様な場所の存在しないことを、換言すれば、これらの何れの部位も皆刺激発生部位となりうるものである事を示していると考えられる。

## V. 結 論

1. カキ心臓の各部を結紮する事により次の様な結果を得た。

a) 心房及び房室境界部附近では、結紮部位の如何を問わず、心房或いは心室の搏動が一時的乃至は持続的に収縮性停止を起すが、搏動再開時の搏動数は多数例に於て増加を示し、振幅は漸増の傾向を示した。

b) 心房或いは心室の収縮状態が全く変化しない例、心室の搏動状態が左右で異なる例、停止する事なく結紮後直ちに搏動の増加する例

も認められた。

c) 心室を中位高で結紮した場合には著明な棘電位の増加を認るが、この際、心室は微小な頻度の高い収縮運動をしている。

d) 搏動再開後、振幅の大きさには多くの場合、週期的変化が認められた。

2. 結紮によってカキ心臓に於ける刺激発生部位の局在を証明する事は出来なかった。

#### 文 献

- 1) 福原 武 (1949) 心臓の自働能 米子医学誌 1, 4
- 2) Berthe, J. and Petitfrère, c. (1934) L'Automatisme Cardiaque; Chez. L'anodonte. Arch. Int. Physiol. 39, 98
- 3) 安藤義夫 (1952) かきの心臓に於る一結節に就いて 広島医学 5, 12
- 4) 西本和夫 (1955) 機械的刺激によるカキ心臓収縮数の変化について 日本生理誌 17, 375

#### Summary

1. Stanius' ligation experiment was reexamined on the heart of the oyster.

2. Ligation of the tip of the atria (Table 1.) or at the middle part of the atria (Table 2.) or at the auriculo-ventricular septum (Table 3.), caused a temporary cessation of the heart beats. However, when the heart began to contact again, the frequency of heart beats increased.

3. As shown in Fig. 1, the amplitude of the heart beat become gradually greater. In several instances, the author observed no difference in the frequency and the amplitude of the ventricular beat after the ligation of the atrium.

4. After the ligation of the middle part of the ventricle, a cessation of the regular ventricular rhythm was observed. However, as shown in Fig. 3, irregular heart action potentials were recorded by the smoked-paper-electrometer, which suggests fibrillation.

5. These findings suggest that a difference in pace-maker mechanism exists between the heart of the amphibian and that of the oyster.

(Department of Physiology, Medical School, Hiroshima University)

## 電気麻酔中の横隔膜筋電図 612.743 : 612.813 : 616-089.584

### Electromyographic Study of the Diaphragm During Electronarcosis.

堀内 冷・東田 昭二・小笠原 今男

(HORIUSHI-Kiyoshi・HIGASHIDA-Syoji・OGASAWARA-Imao)\*

#### I. 緒 言

吉井、堀口<sup>1)</sup>は家兎を用い、側頭部頭蓋骨を通して電極を刺入し、硬脳膜上より交流を通じ、無痙攣電気麻酔を誘発することに成功した。

然して服部等<sup>2)</sup>のクロナキシー測定成績よりこの電気麻酔現象が中脳に原因するのであろうと想像される。然もこの低電圧持続通電法で刺戟される系は最も閾値の低い小細胞網様構造をもつノイロン系であると考えられるから、中脳網様体の興奮による大脳機能の抑制であると吉井<sup>3)</sup>は想像した。その後橋野等<sup>4)</sup>は電気麻酔中の脊髄反射が初期には促進され、後期には抑制される事を認め、Magoun等<sup>5)</sup>の成績との一致から電気麻酔の基礎構造を脳幹網様系に求めようとする考えを更に確実にした。

又竹谷<sup>6)</sup>は正常動物及び大脳切断標本について、電気痙攣前後の呼吸筋筋電図を記録することにより大脳皮質、間脳及び中脳等の上位構造の延髄呼吸中枢に対する影響を分析した。

彼の実験に於ては痙攣時の呼吸中枢の活動を理解するのが目的であったから、痙攣誘発用の強電流を刺戟に用いており、電気麻酔用の弱電流を用いて特に網様系ノイロンの活動を呼吸運動の変化から見ようとしていない。そこで本論文では弱電流を用いて、脳幹網様系を刺戟して現れる呼吸を詳細に分析し、竹谷の得たる成績と比較した。

#### II. 実験方法

2kg内外の家兎を用い、当教室にて実施している方法に従い、眼窩外縁と耳殻根部との中間に於て電極を硬脳膜上に刺入し、弱電流を漸増

的に(0→4→7V)通電し、電気麻酔状態に誘導した。

呼吸運動は横隔膜筋電図並びに肺内圧呼吸曲線により記録した。記録電極は尖端数mmのみを露出して他を絶縁したる鍼用針電極又は同針心電極を用いて、横隔膜の剣状突起附着部に刺入した。別に気管カニューレを用いて肺内圧の呼吸性変動をタンブール膜面に附着したる小鏡の運動に変えて筋電図と同時記録した。

大脳切断は両側総頸動脈結紮の下に又は結紮することなしに開頭し、両側皮質切除、前除脳(後頭葉の後部から視神経交叉へ直線的に切断し、視床下部動物とする)、及び除脳(後頭葉後部から入って、古典的除脳硬直法と同じ方向に上下丘間を通る線で除脳する)を行った。

#### III. 実験成績

##### A. 正常動物

正常動物について弱電流の漸増的通電を行えば、電圧が上昇し、通電電流量が増加するに従い、正常呼吸から次の如き経過をとって呼吸が変化する。

1. 呼吸リズムはやや減少し、吸息放電の持続が短縮し、その振幅がやや増大する。間挿放電は減少乃至消失。間挿放電の減少する事と、吸息放電のburstの漸増漸減が急勾配となる事との理由で、吸息放電の振幅が特に大とならない時でも肺内圧呼吸曲線の振幅が大となり、尖鋭化する。特に呼吸リズムが促進された時は呼吸曲線の振幅増大は著明である(第1図)。

2. 呼吸リズムが増加し、時にはアリトミーとなり、吸息放電の持続は短縮し、振幅は増大し、間挿放電が増加する(第2図)。

3. 間挿放電が消失し、吸息放電も亦その振

\* 大阪大学医学部第2生理学教室

幅と持続を減少し、呼吸頻度を減じ、その結果は肺内圧呼吸曲線は小さく、おそくなる(第3図)。

4. この正常呼吸が抑制された時期に更に電圧を高めると間挿放電が増加し、吸息放電の振幅は減少したまま、その放電 burst の持続を延

長する。呼吸リズムはおそい(この呼吸状態は後出の(6)への移行期と考えられる)。

5. 又は間挿放電は消失し、振幅の小さい吸息放電は頻度を減少し、呼息性呼吸停止期が長く現れる(第4図)(この呼吸状態は sighing 型呼吸への移行期と考えられる)。

6. 先きの吸息放電が極めて散発的に現れる時期に続いて放電時間が延長し、振幅も増大し、呼息期が短縮して apneusis 持続性吸息状態となる(第5図)。

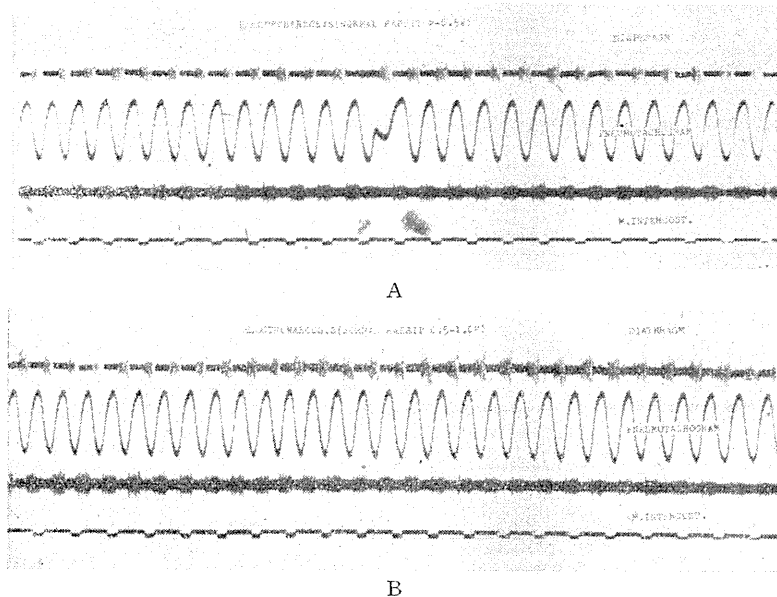
7. この持続性吸息放電の持続時間に消長が現れる。この放電休止期が延長すれば sighing 様呼吸となり、再び短縮すれば apneusis 様となる(第6図)。

以上の呼吸型は持続性吸息の出現以外は竹谷の痙攣直前の呼吸型には記載されていない。即ち竹谷が記載した呼吸型は電気麻酔中の数個の呼吸型を混合した如きものである点を注意すべきである。

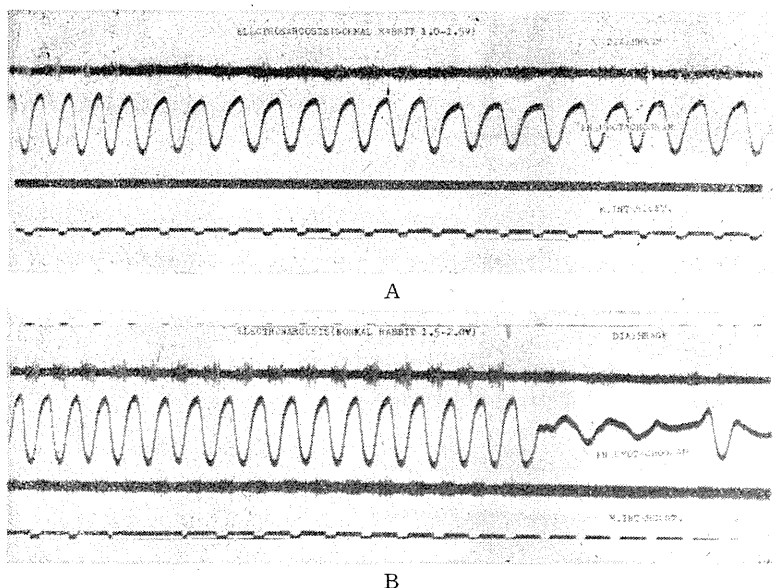
#### B. 両側迷走神経切断動物

両側迷走神経切断後の家兎に於いては電気麻酔中の呼吸型は単純である。即ち

1. 初め呼吸リズムは増加し、吸息放電は持続短縮し、振幅は増大する。間挿放電は増加する(第7図)。この呼吸型は前記のA-(1)、A-(2)の混合型と見做してよからう。



第1図(A, B) 電気麻酔誘導過程中の呼吸変化(実験A-1参照)



第2図(A, B) 電気麻酔中の呼吸変化, 呼吸リズム促進とアリトミーが現われている(実験A-(2)参照)

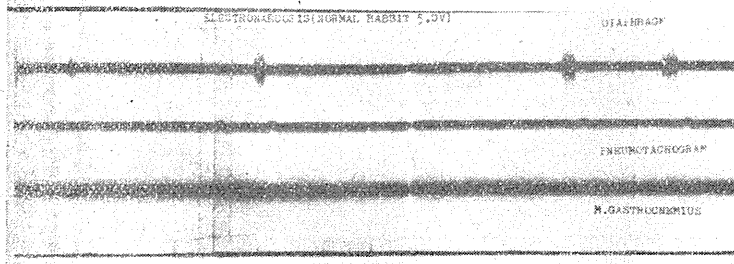
2. 次いで呼吸リズムは減少し、吸息放電は持続延長し、振幅増大する。間挿放電は増加する(第7図)。この呼吸型は前記 A-(2), A-(3), A-(4)の混合型と見做される。

3. 更に呼吸リズムは減少し、吸息放電の持続は延長し、間挿放電亦増大して遂には両放電

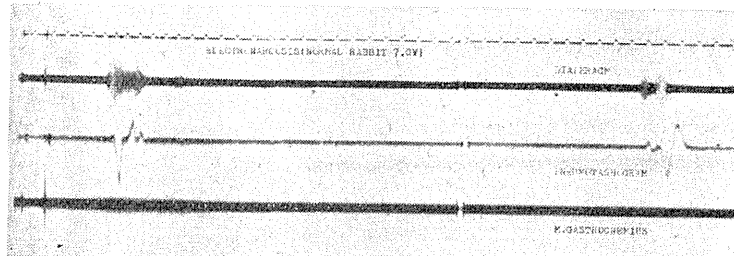
が融合し、持続性吸息に発展する〔前記 A-(6)〕(第8図)。

4. 又間挿放電が減少、消失すると sighing 型の呼吸となる(第9図)〔前記 A-(7)〕。

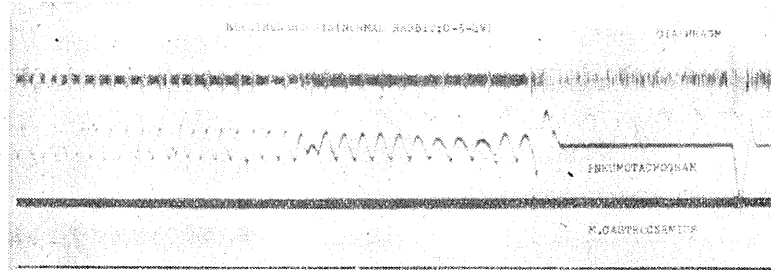
5. 時には呼息期延長して前記 A-(5)に類似する(第9図)。



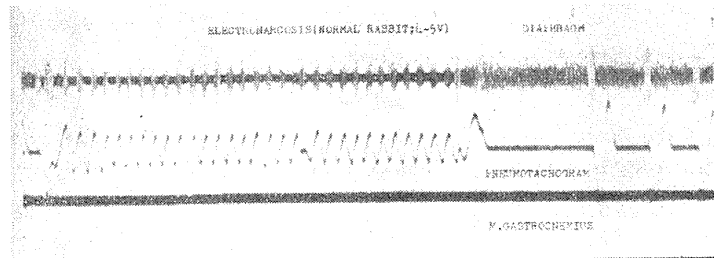
第3図 電気麻酔中の呼吸変化(実験A-(3)参照)



第4図 電気麻酔中の呼吸変化, 呼息性呼吸停止がみられる(実験A-(5)参照)



第5図 電気麻酔中の呼吸変化, apneusis がみられる(実験A-(6)参照)



第6図 電気麻酔中の呼吸変化, apneusis に sighing 型呼吸が重畳して現われている(実験A-(8)参照)

**C. 皮質切除動物**

両側皮質を可及的広汎に切除したる動物につき(A)と同様の実験を行った。この際正常動物と異なる点はA-(1), A-(2)の呼吸型が消失又は不著明になる事である。即ち呼吸リズムの増加と吸息放電の振幅増大が、皮質切除により鈍化したが、その他には正常動物の呼吸型と大体同様である。

**D. 前除脳及び古典的除脳動物**

前除脳及び古典的除脳動物に於いて実験(A)と同様の低電圧漸増通電を行う時は、実験Cよりも更に正常型呼吸の抑制及び sighing 型呼吸への移行が容易となり、呼吸促進は極めて僅かな時期に現れるのみである。

**E. 両側迷走神経切断せる除脳動物**

両側迷走神経を切断したる除脳動物に於いては最も簡単な経過をとる。即ちこの場合と雖も、

1. 呼吸リズムの増加、吸息放電の持続短縮、振幅減少及び間挿放電の減少等A-(2), A-(3)の混合型が現れる。

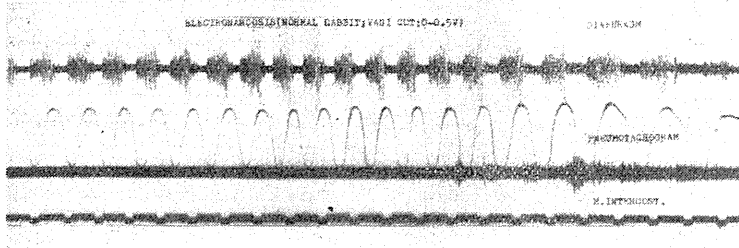
2. 更に電圧を高める時は呼吸リズムの減少, 吸息放電の持続延長, 振幅増大, 間挿放電の増加等, 竹谷の痙攣直前の呼吸型の実験に於いて, 前除脳及び除脳動物に見た如き呼吸型を示す時期もある.

3. 更に電圧を高めるときは増強した間挿放電を伴う sighing 様吸息になり, 又は持続性吸息放電と sighing 放電とが組合された如き型の呼吸となる (第10図).

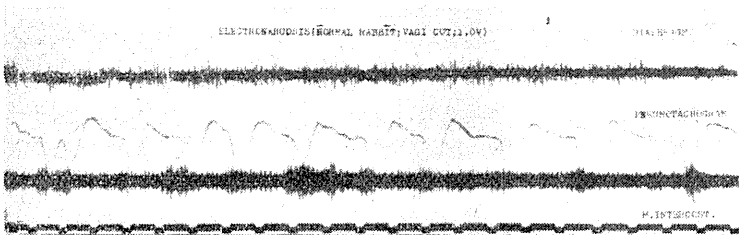
#### IV. 考 察

1. 頭部通電により電気麻酔に入る経過中の呼吸型と痙攣に迄発展する時の呼吸型を横隔膜筋電図から比較考察しよう. 即ち両者はその通電量が異なるのみで, 一方は痙攣にまで発展し, 他方は麻酔状態に入るのであるから, 彼我の対照によって未だ充分明らかにされていない所の延髄呼吸中枢に対する上位の調節機構の構成を解明出来ようと考えからである.

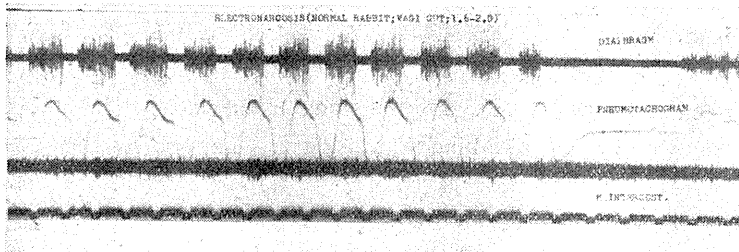
初めに文献的に呼吸中枢の構成を纏めると, Lumsden<sup>7)</sup> の古典的な脳切断実験から出発した pneumotaxic center (橋の前部にあり), apneustic center (橋後部にあり), 及び sighing (gaspungとされているが, sighing と呼ぶ方が適当と考える) center (延髄にあり) に対し, Pitts 等<sup>8)</sup> の inspiratory & expiratory center の解剖学的局在 (延髄網様体にあり) の証明によって, 後者の respiratory center は前者の sighing center に対応すると一応考えられる. 又福原等<sup>10)11)</sup>等の聴条附近に存在する“正常”呼吸中枢は前者の pneumotaxic center に対応す



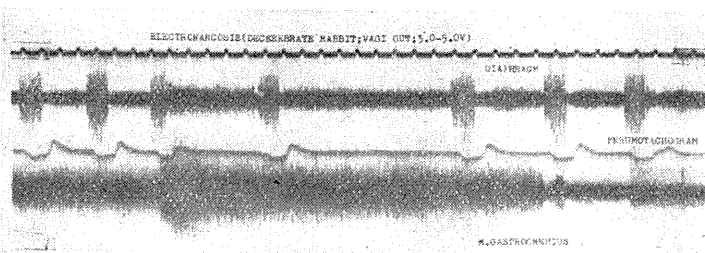
第7図 電気麻酔中の呼吸変化 (実験B-(1), (2)参照)



第8図 電気麻酔中の呼吸変化 apneustic breathing がみられる (実験B-(3)参照)



第9図 電気麻酔中の呼吸変化, sighing 型呼吸に呼吸性呼吸停止が続いている (実験B-(4), (5)参照)



第10図 電気麻酔中の呼吸変化, apneustic と sighing 型呼吸が組合さっている (肢筋にも著明な放電が現われていることに注意). (実験 B-(3)参照)

ると考えられる。然るにHoff<sup>13)14)</sup>等の詳細な研究は (i) 延髄動物に於いて eupnea と sighing とが互に独立に現れ、しかも解剖学的には中枢の局在を証明出来ず、且つ sighing が現れた時は、その後の eupnea は振幅及び頻度が抑制される (post-sigh inhibition)。

vagotomy 後は呼吸が遅く且つ深くなり、eupnea が消失する。(ii) 橋中央切断動物でも eupnea と sighing とが現れるが、この際の sighing は (i) よりも更に rapid である。vagotomy 後は apneusis を生じる (橋上位切断では apneusis の傾向大、下位切断では apneusis から深呼吸に融込む)。(iii) 古典的除脳動物 (四丘体中央切断) では sighing と eupnea とが規則正しく現れ、vagotomy 後は eupnea が消失し、呼吸は頻度を減じ、振幅を増し、時には apneusis の傾向を現わす。(iv) 要するに Hoff 等は eupnea 及び sighing center が延髄に存在し、互に独立に働き得るから、両中枢の機能的局在は認めているが、解剖学的局在は認めていない。(v) Hoff 等の成績は eupnea のリズムを促進して panting を生じる機構についてはふれていないが、sighing 型呼吸を速くする如き中枢 (pneumo-taxic center と考えてよい) は apneustic center よりも吻側及び尾側に拮がって存在すると考えられる。(vi) 迷走神経は sighing center の活動を抑え、pneumotaxic center の働きを促進している。吸息放電を促進して、apneusis を生じる中枢 (apneustic center と考えてよい) に対しては、迷走神経は抑制的に作用すると考えられる。

他方 panting mechanism に関しては Hoff 等の成績から四丘体以上の構造にその原因があると想像されるのであるが、恰もそれを裏書きする如く崑山<sup>15)</sup>等の視床刺戟による panting 発生の証明があり、又迷走神経の刺戟による eupnea の促進も既に知られている。総てこれ等の成績では呼吸曲線が頻回、且つ小振幅の呼吸型を panting と称しているのであるが、横隔膜筋電図を記録したる竹谷の成績はこのような頻回小振幅の呼吸曲線を示す場合は同じく呼吸リズム

が増加しても筋放電状況には次の区別があり、即ち (i) 吸息放電の振幅、持続の減少、且つ間挿放電の減少乃至消失 (痙攣直後に認める)、(ii) 吸息放電の振幅増大、持続減少と共に間挿放電の増大 (痙攣直前に認める) の2つの場合がある。然して本論文で明かになった如く正常動物以外は、即ち除皮質、前除脳及び古典的除脳動物に於いては、この種の呼吸型を純粹明白には認め得なかつたのである。それ故 panting の機構は主として皮質に存在すると考えられる (吉井<sup>17)18)</sup>によれば間脳動物に於いても特に適当な刺戟をした時、例えばアンモニア気管内吸入によって刺戟した時に (ii) の型による小振幅頻回呼吸曲線が得られた)。

然し乍ら筋放電の型式から見れば (i) に見る吸息放電の持続及び振幅の減少と間挿放電の減少乃至消失は本実験 A-(3) に、又 (ii) に見る吸息放電の振幅の増大と持続の減少及び間挿放電の増大は A-(2) に見られ、必ずしも痙攣直前の動物に限らないが、これ等の放電型が panting とよばれる程度に急リズムで現れるためには、電気麻酔は不適當な条件である。云いかえれば電気麻酔は panting が現れないと云う点から見ても皮質活動が抑制された状態と見るべきである。同様に竹谷が痙攣直後の呼吸型としてあげている所の sighing と eupnea との混合、又は sighing と panting との混合は現れないのである。即ち電気麻酔で sighing が現れる時は、eupnea リズム源も panting リズム源も抑制されていると諒解される。

2. 電気麻酔の横隔膜筋電図は電気痙攣直前に現れるものに比べてその経過が緩慢であるから、後者の呼吸型例えば竹谷の A-(1) は本論文の A-(1)、(2) の、又竹谷の A-(2) が本論文の A-(2)、(3)、(4) の混合型である事は容易に諒解される。それ以後に現れる呼吸型は竹谷の場合は頭部通電で呼吸中枢に対して促進的に、本論文の場合では抑制的に働いている事を示すものである。かくして竹谷の場合は促進性の吸息放電及びリズム源の消失した (制止回路の抑制) apneusis へ発展し、私達の場合は呼吸抑制から apneusis

への経過をとる場合でも, apneusis と sighing との交代へ発展したのである。即ち電気麻酔の場合 eupnea のリズム源は抑制されるが sighing のリズム源は抑制されず, それ故 sighing 型呼吸が電気麻酔の究極であると考えられる。これに対して電気痙攣は eupnea のリズム源が促進されて, 促進性大吸息放電(多分努力性過呼吸と呼ばれる型がこれであろう)に発展する事がその究極であると考えられる。

3. 皮質, 前除脳, 除脳動物の電気麻酔時に於ける呼吸の相違に関しては竹谷が得た以上の事は知られなかったが, 迷走神経切断の場合は電気麻酔中の呼吸が単純化される点が明かにされた。即ち電気麻酔中と雖も迷走神経からの呼吸調節作用が呼吸変化をより円滑にしているが, それは呼吸リズム源にも間挿放電にも吸息放電にも関係した機構により, 特にその吸息放電の振幅に, 即ち活動単位の動員に関係している点が強調されねばならない。即ち迷走神経切断後は脳幹網様系の通電による吸息放電の振幅の漸増漸減が現れないから気管内圧呼吸曲線は極めて鋭角的に現れるのである。

4. 特に両迷走神経を切断せる除脳動物の通電中の成績は次の点が注目すべきである。(i) 通電によってリズムが僅かながら増減し得る事。(ii) 吸息放電の持続及び振幅も亦変化し得る事。(iii) 同様に間挿放電も変化し得る事。(iv) 間挿放電が増加し, それのみを見れば apneusis とも見做しうる吸息状態であるが, 本来の吸息放電は sighing 型となり, それ故 apneusis と sighing とが一組に組合せた如き呼吸型となる事。然しこれ等の放電型は電気麻酔量以上の通電を施行している時に現れるものであって, 電気麻酔量の通電にとどめておく時は呼吸抑制, 呼息性呼吸停止及び sighing 呼吸の出現が特徴的である。

以上の成績によって, 両側頭部通電主として中脳網様体の通電によって, 大脳皮質及び間脳にあると吉井等<sup>6)</sup>及び多数の研究者<sup>16)19)20)21)22)23)</sup>が示した所の上位呼吸機構を抑制し, その機能を低下し(機能的除脳), 更に apneustic center

に対しても抑制的に仿いて sighing 型リズムの小吸息放電に, 即ち抑制された呼吸となる事が本実験によって明かにされた。

## V. 要 約

1. 吉井, 堀口の方法に従い頭部漸増通電法を行えば家兎の呼吸は (i) リズム, (ii) 吸息放電の持続及び振幅, (iii) 間挿(呼息期)放電の3者が変化し, 夫々の組合せによって極めて多形的な呼吸運動となる。この変化は竹谷が痙攣前に認めた呼吸型に比べると, それを更に拡張して多くの呼吸型に分裂した如き感がある。

2. 電気麻酔時の呼吸特徴は抑制されたるリズムの小吸息放電であり, それより通電量を増すときは sighing 型の呼吸又はそれと apneusis との交代した型である。これを痙攣直前の呼吸が促進リズムの大吸息放電であり, 次いで強直性痙攣に相当する apneusis が現れる事と比較する時, 前者は上位呼吸機構の抑制, 後者はその促進が基礎的現象と考えられる。

3. 除皮質, 前除脳, 古典的除脳によって電気麻酔中の呼吸型は単純化し, 変化の範囲が縮小する。

4. 両迷走神経切断除脳家兎も電気麻酔でリズム, 吸息放電及び間挿放電が変化する。

## 文 献

- 1) 堀口 隆 (1952) 電気麻酔に関する研究 日本生理誌 14, 458
- 2) 服部鎮男・綾井治一郎・堀口 隆 (1953) クロナキシーより観たる電気麻酔 日本生理誌 15, 81
- 3) 吉井直三郎 (1952) 頭部通電による痙攣及び無反射状態について 癲癇の研究 (内村祐之編) 23頁 医学書院発行
- 4) 堀口 隆・橋野昇一・小笠原今男 (1952) 電気麻酔と脊髄機能 日本生理誌 15, 368
- 5) Magoun, H. W. (1950) Caudal and Cephalic Influences of the Brain Stem Reticular Formation. *Physiol. Rev.* 30, 459
- 6) Yoshii, N. and M. Taketani (1955) Studies on the Respiratory Mechanism. *Med. J. Osaka Univ.* (in press)
- 7) Lumsden, T. (1923) Observations on the Respiratory Centres in the Cat. *J. Physiol.* 57, 153
- 8) Pitts, R. F., H. W. Magoun and S. W. Ranson (1939) Localization of the Medullary Respiratory Centers in the Cat. *Am. J. Physiol.* 126, 673

- 9) Amoroso, E. C., F. R. Bell and H. Rosenberg (1951) The Localization of Respiratory Regions in the Ovine Rhombencephalon. *J. Physiol.* 113, 2P
- 10) Fukuhara, T., S. Baba, S. Nakayama and T. Odanaka (1951) On the Localization of the Respiratory Center. *Jap. J. Physiol.* 2, 44
- 11) Fukuhara, T., T. Sumi and H. Okada (1953) Further Studies on the Localization of the Respiratory Center. *Jap. J. Physiol.* 3, 138
- 12) Tang, P. C. (1953) Localization of the Pneumotaxic Center in Cat. *Am. J. Physiol.* 172, 645
- 13) Hoff, H. E. and C. G. Breckenridge (1949) The Medullary Origin of Respiratory Periodicity. *Am. J. Physiol.* 158, 157
- 14) Breckenridge, C. G. and H. E. Hoff (1950) Pontine and Medullary Regulation of Respiration in the Cat. *Am. J. Physiol.* 160, 385
- 15) 畠山一平・小島徳造・大谷克己・草間敏夫 (1953) 間脳の電気刺激と呼吸運動 脳と神経 5, 285
- 16) Dell, M. B. and J. Calarirach (1954) Respiratory Inhibition by Subcortical Stimulation in Man. *Soc. d'electroencephalographic et des sciences connexes de langue française (Paris, May 5, 1954)*
- 17) 吉井直三郎・堀内 冷・東田昭二・岡本智量；アノモニア気管内吸入による呼吸反射と脳幹網様系 (日本生理誌に発表の予定)
- 18) 吉井直三郎・堀内 冷・東田昭二・斎藤一郎；電気痙攣後の呼吸中枢の興奮準位 (日本生理誌に発表の予定)
- 19) Smith, W. K. (1936) Alternations of Respiratory Movements Induced by Electrical Stimulation of the Dog. *Am. J. Physiol.* 115, 261
- 20) Delgado, J. M. R. and R. B. Livingston (1948) Some Respiratory, Vascular and Thermal Responses to Stimulation of Orbital Surface of Frontal Lobe. *J. Neurophysiol.* 11, 39
- 21) Kaada, B. R. (1951) Somato-motor, Autonomic and Electroencephalographic Responses to Electrical Stimulation of "Rhinocephalic" and Other Structures, in Primates, Cat and Dog. *Acta physiol. Scandinav. Supp.* 83
- 22) Kaada, B. R. and H. Jasper (1952) Respiratory Responses to Stimulation of Temporal pole, Insula, and Hippocampal and Limbic Gyri in Man. *Arch. of Neurol. and Psych.* 68, 609
- 23) Segundo, J. P., E. G. Ausst, Jr., R. A. Iniguez and E. Migliaro (1954) Respiratory, Electroencephalographic and Spinal Responses to Stimulation of Fornix in man. *Sociedade sul-americana de electroencefalografia e neurofisiologia clinica (San Paulo, Brasil, June 7-11, 1954)*

### Summary

Recording both EMG of the diaphragm and pneumotachogram, respirations were studied during electronarcosis which was induced by the method of Yoshii and Horiguchi, in normal, decorticate, anterior (hypothalamic) or classical decerebrate (midbrain) rabbits with non-treated or severed vagi. The respiration was changed in rhythm, duration and amplitude of the inspiratory burst discharges, and also in the expiratory discharges of diaphragm during electronarcosis.

Characteristic of the respiratory changes during electronarcosis is the suppression of inspiratory burst discharges with decreased rhythm, leading to expiratory apnea. And when the electric currents are increased, sighing type of respiration appears. and in some cases sighing type and apneustic type of discharges are induced alternatively. These phenomena are assumed to be caused by inhibition of upper respiratory mechanisms in cortical and diencephalic structures.

Respiratory patterns of anterior decerebrate and classical decerebrate rabbits are changed into simple forms during electronarcosis. And decerebrate rabbits which are bilaterally vagotomized offer little changes of respiratory rhythms, inspiratory burst discharges, and expiratory continuous discharges when narcotic dosis of electric currents are given.

(2nd Department of Physiology Osaka University School of Medicine)

## 蛙心臓に対する機械的刺激の影響 612.178

The influence of the Mechanical Stimulation upon the Heart Beat of the Frog.

横山正松・入沢優氏  
(YOKOYAMA-Syomatu・IRISAWA-yusi)\*

### I. 緒言

Goltz (1863)<sup>1)</sup> の打腹実験は心臓抑制反射の古典的実験として広く一般に知られて居る実験である。人体に於ても打腹によって心搏緩徐化が認められる事は、横山<sup>2)</sup> が報告した成績によっても明らかである。Goltz はこの打腹による心臓運動抑制は、腹部内臓の機械的刺激により、内臓知覚神経の興奮が延髄に達し、延髄の迷走神経核を興奮させ、この興奮が迷走神経を介して心臓運動を抑制すると説明している。

我々は Goltz の言う反射径路を探究中、打腹による心搏緩徐化は反射よりも心臓自身に対する機械的刺激が、より大切な割役を演じて居る事がわかったので、ここにその実験成績を報告する。

### II. 実験方法

実験動物としてはトノサマガエル (*Rana nigromaculata*) 及びアカガエル (*Rana japonica*) を用いた。心臓運動の描記には生体内心臓では Engelmann の懸垂法を用い、剔出心臓では Straub 灌流法を用いた。

心臓に対する機械的刺激としては、蛙の腹部の頻回打腹及び1回打腹、剔出心臓には機械的振動を用いた。

頻回打腹には中等大のピンセットの腹、又は特に考案した打腹ベネを用いた。打腹ベネは長さ10cm、巾0.6cm、厚さ0.03cm、Young 率  $20 \times 10^{-11}$  dyne,  $\text{cm}^{-2}$  の鋼鉄板で、水平位にして一端を固定し、他端に10gの錘をかける時約0.7 cm 下る程度のはがねである。この鋼鉄板の一端を木板に固定し、他端を遊離状態に置き、蛙

の腹部にあて、指先で鋼鉄板の中央部を1秒4～5回の割合で引き且つはずす。これによって蛙の腹部をたたいた。

剔出 Straub 灌流心臓に機械的振動を与えるのに、1秒100回振動の電磁音叉を使用した。電磁音叉の遊離端に直径2mm、長さ10cmの針金を固定し、針金の端部の横腹を心房と静脈洞の境に軽くあてて、心臓に振動を与えた。

蛙の腹部に1回強打を与えるには、直径5mm、長さ20cmの真鍮丸棒を用いた。

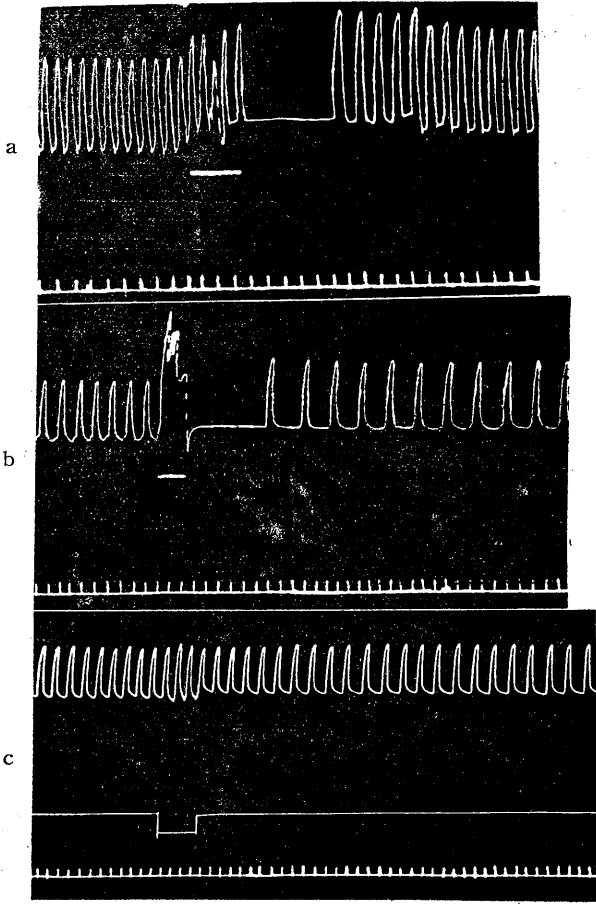
### III. 実験成績

#### A. 頻回機械的刺激

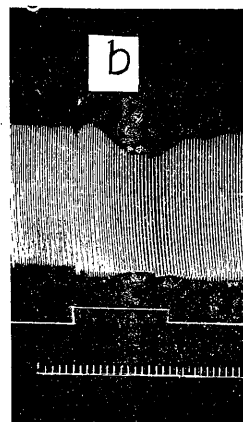
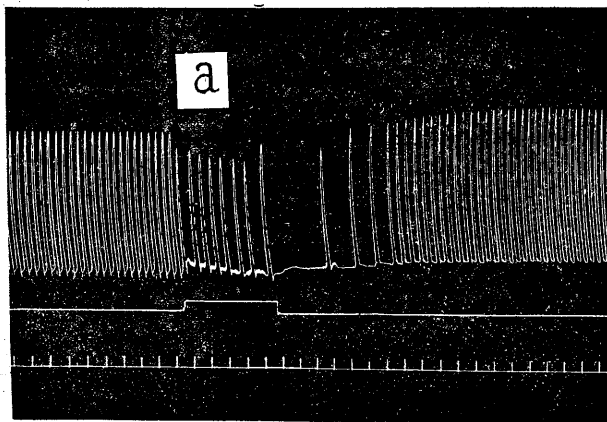
一般に蛙の腹部を軽打した場合の心臓運動抑制は、夏及び厳寒期に現われにくく、他の季節にはよく現われる<sup>3)</sup>。11月試みた実験では第1図aに示す様に、頻回打腹によって著明な心臓運動抑制が見られる。所が驚いた事には迷走交感神経幹を切断した後にも、やはり抑制が見られる(第1図b)。一般に迷走交感神経幹切断後には、同じ強度同じ頻数同じ時間の打腹による心臓運動抑制度は、切断前に比べて弱い。しかし兎に角迷走神経切断後でも頻回打腹によって心臓運動は抑制される。又脊髄から延髄及び其の他の脳にゾンデを通し、中枢神経を完全に破壊しても、打腹によって心臓抑制が現われる。打腹によって心臓運動が停止した場合に、心臓表面に0.1%硫酸 atropine を数滴滴下すると、打腹による心臓停止は起らなくなるが、なお軽度の心搏緩徐は残る(第1図c)。

以上の事実は、頻回打腹による心臓抑制が反射だけでなく、打腹による機械的刺激が、直接に心臓の迷走神経を興奮させ、又直接心筋そのものに働き、それによって起るものであること

\* 福島県立医科大学大学生理学教室



第1図 頻回打腹のトノサマガエル心臓搏動に及ぼす影響。打腹パネ使用，時標以下すべて3秒  
 a : 15回軽打 (1951. 11. 7. 室温17°C). b : 両側迷走交感神経切断後20回軽打 (1951. 11. 7. 室温17°C). c : 0.1%硫酸 Atropine 2滴心臓表面滴下後20回軽打 (1954. 10. 7. 室温18°C)



第2図 Straub 灌流アカガエル心臓に対する機構的振動刺激の心臓搏動に及ぼす影響 (1955. 2. 22. 室温10°C). a : 1秒100回の電磁音叉による振動刺激. b : aの灌流液を他の Straub 蛙心臓 Ringer 液と置換

を疑もなく明示して居る。

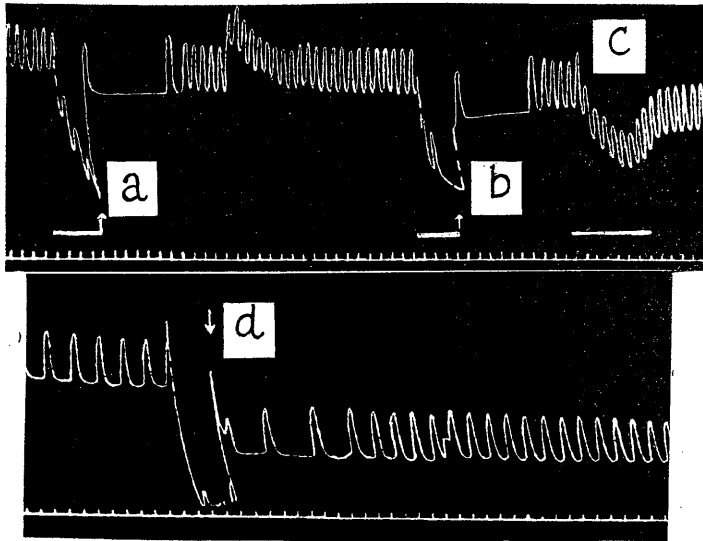
一般に頻回打腹による心臓運動抑制は、打腹部位が心臓に近い程著明に現われる。このことも機構的刺激が直接心臓迷走神経を興奮させて居る事を示している。

打腹によって心臓運動が著明に抑制される蛙の心臓を、Straub 法で灌流し、電磁音叉で1秒100回の振動を直接心房・静脈洞境界部に与える時は、著明な心臓抑制が見られる(第2図a)。抑制時の灌流液を他の Straub 心臓に加えると、やはり抑制が見られる(第2図b)。この液性伝達による心臓抑制は atropin によって消失するから、振動時に心臓灌流液内に Acetylcholine が出て居る事が考えられる。

しかし別出心臓の機構的振動刺激による心臓抑制は、迷走神経興奮即ち Acetylcholine 析出のみによって起るのではない。予め Atropine を加えた別出心臓でも、機構的振動刺激を加える時に、なお抑制が見られる。即ち機構的振動による別出心臓の抑制は、心臓迷走神経の興奮による外に心筋自身の何等かの変化によるものである。

#### B. 1回の機構的刺激

我々は更に蛙の腹部を拵指で圧迫し、急激にその圧迫を除く時にも、心臓運動が抑制される事を見た。第3図はこの実験を示して居る。この場合心臓を露出する際に腹を大きく開かず、



第3図 トノサマガエル腹部に加えた拇指圧迫を急激又は緩慢に排除した時の心臓搏動変化。

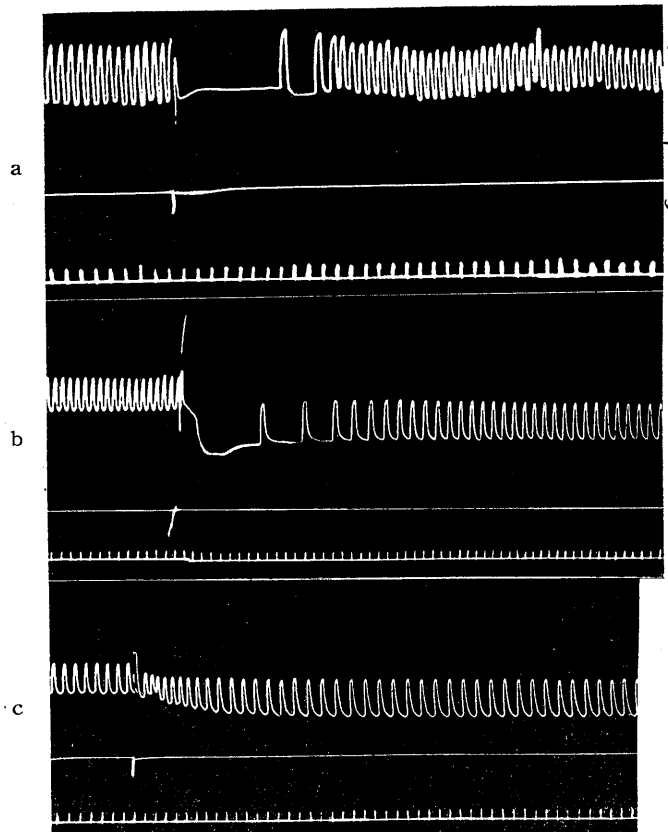
a, b: 急激な排除 (1951. 11. 13. 室温15°C). c: 緩慢な排除 (1951. 11. 13. 室温15°C). d: 中枢神経破壊後, 急激な排除 (1951. 11. 20. 室温10°C)

心臓近接の皮膚, 筋を小さく切り, 腹部の機械的衝撃が直接心臓に及ぶ様に注意した. 第3図 a, b の様に圧迫した拇指を急激に離す時には著明に心臓運動は抑制されるが, 第3図 c の様に徐々に拇指を離す時には抑制は見られぬ. 拇指の腹部圧迫を急激に離すことによる心臓抑制も, 中枢神経を完全に破壊した後にも現われる (第3図 d).

頻回軽度打腹で蛙心臓の抑制が起らぬ様な場合でも, 1回のつよい打撃を腹部に加える時に, 著明な心臓抑制即ち長い停止が起ることが多い. 盛夏及び厳冬の時期にはいかなる強打を加えても心臓抑制は起らぬが, 他の季節には殆んどすべての蛙でこの1回強打により, 心臓停止が起る. 第4図 a はその1例である. この場合1回の

強打による期外収縮の後, 心臓は直ちに停止してしまう. 強打刺激が心臓の不応期に与えられる時は, 強打刺激後1回の搏動もなく心臓は停止する. 1回強打を蛙の腹部に加えた時は, 曲線の上に認め得る潜刺激時なしに, 恰かも迷走神経の電氣的刺激の場合の如くに, 直ちに心臓抑制が起る.

この1回腹部強打による心臓抑制も, 中枢神経を破壊しても存続する (第4図 b). この際つよい抑制作用は,



第4図 アカガエル腹部1回強打の心臓搏動に及ぼす影響. a: 1回強打 (1954. 10. 7. 室温18°C). b: 中枢神経破壊後1回強打 (1954. 10. 5. 室温21°C). c: 中枢神経破壊, 0.1% 硫酸 Atropine 3滴心臓表面滴下後1回強打 (1954. 10. 5. 室温21°C)

0.1%硫酸 atropine の心臓表面滴下によって、大いに減弱するが、抑制作用は完全に消失するわけではない。なお軽度の心搏緩徐が見られる第4図 c)。又 atropine を加えた後、1回腹部強打直後にしばしば心搏促進作用が見られる。

蛙の腹部1回強打による心搏抑制には、上記の成績により反射の関与を認めることは出来ない。その抑制は心臓迷走神経の直接的興奮に多く依存するが、その外に心筋自身の興奮性の変化によるものである。

#### IV. 考 察

既に Budge<sup>4)</sup> は、蛙の心臓が機構的刺激に非常に敏感であり、心臓露出と云う機構的刺激だけで長く心搏緩徐が続き、又猛烈につよく蛙を床に投げつける時には、中枢神経の有無に拘わらず、心臓は直ちに停止すると述べて居る。又 Budge によれば、しばしば蛙の四肢をつまむことや脊髄露出等によって心臓が停止し、しかも之等の組織を電氣的に刺激しても、心臓は停止しないことを述べ、機構的刺激による心臓抑制は反射であると到底考えられぬと云って居る。我々も Budge の意見に賛意を表するものである。

しかし Goltz が膏薬用へらを用いて蛙の腹部を1分140回の頻度で軽く打ち、心臓を停止せしめ得、この停止が迷走神経の切断で完全に消失したと云うこと、しかもつよく頻回打腹しても両側迷走神経を切断すれば、心臓抑制が起らなかったと云う事は、小堀<sup>5)</sup> の追試の如く事実であるならば、我々の実験成績からは説明しにくい所である。Goltz によれば腹部軽打による心臓停止は中等大の Wasserfrosch に成功し、Landfrosch には心搏緩徐のみを見たと云う事実は、打腹による心臓抑制の現われ方が動物の種類により、又個体差により大きな差がある事を考えさせる。

Goltz は *Rana esculenta* を実験動物として用いて居るが、*Rana esculenta* に於ては、薬用へらを使用した打腹による心臓抑制が、中枢を介する反射に依存するものと考えざるを得ない。

我々の経験によれば、既に McWilliam<sup>6)</sup> の記載にある如く、鰻の心臓は心臓より遙かに離れた鰓、腹部内臓器官、腹膜等をピンセットでつまんだだけで長く停止する。しかもこの際、中枢神経破壊によってこの心臓抑制は完全に消失する。これこそは Goltz の云う如く反射的抑制である。福原教授によれば墓の胃に空気を送入すれば、心臓運動は著明に抑制される(未発表)。我々の教室に於ても、犬、兎の胃、小腸、大腸、膀胱の膨満によって、心搏数に変化が起り、時に抑制時に促進を見、又期外収縮等をもしばしば見て居る。又佐藤<sup>7)8)</sup> によれば、トノサマガエルの皮膚の機構的圧迫によって、軽度であるが徐脈や不整脈が見られ、又弱い触刺激によって速脈が見られると云う。

かくの如く心臓搏動は腹部内臓や皮膚の機構的刺激によって、反射的に影響される事が多い。

上記Aの頻回打腹実験に於ても、迷走神経切断後、又は中枢神経破壊後は、前に比べて打腹による心臓抑制効果は減弱するのであるから、打腹による心臓抑制に反射が全く関与して居ないと断言することは出来ない。しかしトノサマガエル *Rana nigromaculata* やアカガエル *Rana japonica* の如き小動物に、打腹と云う機構的刺激を与えた場合、1回強打は無論のこと、頻回軽度打腹でも、機構的刺激が心臓に及び、しかもその刺激が中枢神経を介さずとも、直接心臓迷走神経を興奮させ且つ心筋そのものに変化を起して、心臓運動の抑制を起し得るのであることを強調したいのである。

頻回打腹によって心臓停止が起る場合、この心臓抑制には、心臓迷走神経の機構的刺激による興奮が主役を演じ、反射による迷走神経の興奮と心筋自身の変化が脇役を演じて居るのである。

別出蛙心臓の機構的振動刺激が、心臓を抑制する事は、既に河田<sup>9)</sup> が記載して居る。この事実も中枢神経の介在なしに、心臓が機構的刺激で抑制されることを示すよい例である。我々もこの事実を確認したのである。但し振動刺激によって常に心臓抑制が起るわけではない。しば

しば促進作用が起る。心臓の機械的振動によって迷走神経がより多く興奮するか、交感神経がより多く興奮するかによって、時に抑制時に促進が起るのである。又神経の作用だけでなく、心筋自身から心臓抑制物質又は心臓促進物が遊離することによって抑制又は促進が起るのである。

蛙の腹部を1回強打することによって起る著明な心臓抑制は、温血動物特に人体に於ても起ることが考えられ、法医学上又スポーツ医学上大切な現象としてよい。この心臓抑制は明らかに反射によらず、迷走神経の直接的興奮と心筋自身の変化によるものである。

## V. 結 論

我々はトノサマガエル *Rana nigromaculata* 及びアカガエル *Rana japonica* の心臓に、種々の機械的刺激を加え、引き起された心搏抑制の原因をしらべた。

1. Goltz の頻回打腹によって蛙の心臓搏動は抑制されるが、その際の抑制発現には、機械的刺激による心臓迷走神経の直接的興奮が主役を演じ、反射による迷走神経興奮、心筋自身の機械的刺激による変化が、脇役として関与して

居る。

2. 剔出蛙心臓に機械的振動刺激を与えても心臓搏動は抑制される。この場合の抑制の原因は、迷走神経の興奮と心筋自身の変化である。

3. 蛙の腹部を1回強打することによって心臓搏動は著明に抑制される。この抑制の原因も反射でなく、心臓迷走神経の直接的興奮と心筋自身の変化である。

## 文 献

- 1) Goltz, Fr. (1863) Vagus und Herz. Virchow's Arch. f. path. Anat. u. Physiol. 26, 1
- 2) 横山正松 (1955) 人体に於ける Goltz 打腹実験 日本生理誌 17, 428
- 3) Yokoyama, S. (1955) Jahreszeitliche Schwankungen der Vaguswirkung auf das Kaltblüterherz. Tohoku J. of exp. Med. に発表予定
- 4) Budge, Wagner's Handwörterbuch. III. Bd. 1. Abth. S. 413. Goltz, Fr. (1863) 上記 1) より引用
- 5) 小堀文哉 (1928) 鼓腹試験 (Klopfversuch) に於ける刺戟伝達の径路に就て 岡山医誌 40, 215
- 6) McWilliam, J. A. (1885) On the structure and rhythm of the heart in fishes, with especial reference to the heart of the eel. J. Physiol. 6, 233
- 7) 佐藤謙助 (1954) カエルの呼吸、心臓及び筋活動に対する皮膚圧迫効果に就て 日本生理誌 16, 597
- 8) 佐藤謙助 (1955) カエルの呼吸及び心臓運動に対する皮膚触刺激効果に就て 日本生理誌 17, 46
- 9) 河田 稔 (1936) 機械的振動刺戟の心臓機能に及ぼす影響に就て 日本循環器誌 2, 115

## Summary

We observed the inhibition of the heart beat of the frogs (*Rana nigromaculata* and *Rana japonica*) by the mechanical stimulation of the heart. The cause of this inhibition of the heart was investigated.

1. By the rapid taps on the abdomen (Goltz's Klopf-Versuch), the remarkable inhibition of the heart was observed. Even after the cut of the vagosympathetic nerve or the injury of the central nerve, the standstill of the heart by the rapid taps still occurred, although the degree of the inhibition diminished. After the adding of a few drops of 0.1% atropine sulphate solution, we could not see the standstill of the heart by the rapid taps but we observed the slowing of the heart beat.

2. When the isolated Straub's heart of the frog was stimulated by the mechanical vibration, the heart beat was inhibited. The cause of this inhibition was the direct mechanical stimulation of the vagus nerve in the heart and the change of the excitability of the heart muscle.

3. When the one strong strike was added on the abdomen of the frog by a rod, the heart was brought to a sudden standstill. Even after the cut of the vagus nerve, this cardiac arrest still occurred and lasted usually for a considerable time. This cardiac inhibition was not caused by the reflex but by the direct mechanical stimulation of the vagus nerve in the heart and the change of the heart muscle.

4. It was concluded that the inhibition of the heart of the frog by the Goltz's tap-experiment was mainly caused by the mechanical stimulation of the vagus nerve in the heart.

(Dept. of Physiol. Fukushima Med. College, Fukushima)

## 核 酸 燐 の Turnover に 就 いて 612.398.145

### Turnover of Nucleicacid-P.

(本論文要旨は第7回近畿生理学談話会で報告した)

山 根 彦 二 (YAMANE-Hikozi)\*

#### I. 緒 言

生体系は外界との間に常に物質或いは Energy の交換が行われ、生体内に於ては物質の合成及び分解が行われている。生体内に於ける動的様相を覗知する方法の1つとし放射性同位元素に依る方法がある。

生物への放射性同位元素の応用は、Hevesyが1923年に天然の放射性同位元素を用いて、更に1935年に人工的放射性同位元素を用いて生物の代謝実験を行って以来、従来物理化学的実験では明らかになし得なかつた諸問題に就いて数多の研究が行われ、生体系の Dynamic な面に対する解明は一段と進展するに至つた<sup>1)2)3)4)</sup>。

Tracer 実験を行う際即ち生体内に放射性同位元素が入つた場合、天然に存在する元素と生物学的或いは化学的性質が異なるのみならず、更に放射能に依つて化学反応の機序に変化を与えないで、比較的容易にその放射能から生体内の様々な諸物質の合成分解等の探索に利用する事が出来る。

核酸は生体内に於ては遊離した状態或いは蛋白質と結合した所謂核蛋白質の状態で存在すると云われ、Meischer の実験報告以来多方面にわたる研究が行われて、生物の発生、増殖、成長等とも密接な関係を有するものと考えられてきており、細胞内分布はもとよりDNA或いはRNAの物理化学は相当探究されているが<sup>5)6)7)8)9)</sup>猶ほ今日幾多の疑点を有している。

笹川の生活基本小体<sup>10)</sup>は、数多の内外の電子顕微鏡像からの帰納であるが、その物理化学的説明模型は“Liponucleoprotein+水System”を以て示され、斯る Unitsystem の離合集散に依

り、総べての生体系が構成されるとしている。

斯る複合高分子物質系の核酸燐即ち高分子有機燐も動的様相即ち固定的ではなく、相当の出入りが行われるであろう事は考えられる。

核酸燐の Turnover に就いては Hevesy<sup>1)2)</sup>以来幾多の報告<sup>11)12)13)</sup>があるが、従来行われてきた研究は Hammarsten 法<sup>14)</sup>、Schneider 法<sup>15)</sup>、Schmidt & Thannhauser 法<sup>16)</sup>或いはその Modifications methode で抽出、分析されたものである。然るに1950年 Davidson 等<sup>16)</sup>は核酸分離法と従来即ちSchneider法、Schmidt & Thannhauser 法と比較するとDNA-P或いはRNA-Pの Specific activity (以下S.A) が甚だ大なる事を指摘し、Contamination に依る誤差の少からぬ事を報告した。

従つて比較的 Contamination の少ない Davidson 法に依つて核酸燐の経時的変動及び年令的変動を追求し、生体系の動的様相の一端を覗知せんとして以下の実験を試みたものである。

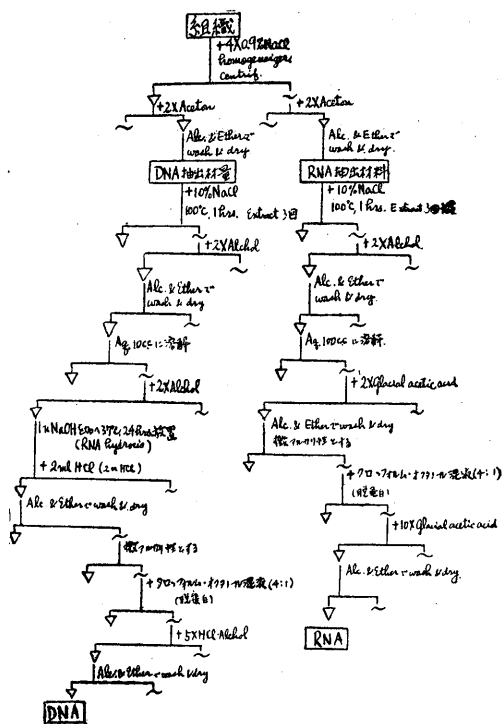
#### II. 実 験 方 法

##### A. 実験方法一般に就いて

- 1) 核酸単離法 (Davidson法)
- 2) 放射能測定法<sup>1)17)18)19)</sup>

試料に Carrier として0.05M  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ を10ml 加え、更に Magnesia mixture 2ml 加える。之に指示薬として Phenol phthalein 溶液を2滴々下した後攪拌しながら濃アンモニアを滴下して Phenol phthalein が微赤色を呈する迄加える。濃アンモニアを加えて適性になると Phosphate は Mag. ammon. phosphate として沈澱する。アンモニアを加えて少くとも30~60分間放置した後、多数の小孔を穿つた Penicillin cap に恰度適合する円形に作つた Filter paper

\* 京都大学医学部生理学教室 (笹川久吾教授)



第1表 核酸単離法 (Davidson)

(東洋濾紙 No. 6) を敷き, 吸引濾過を行い低温で乾燥せしめた後, Filter paper をはずして之を Object glass の中央一定位置に貼り, Endwindow type の Geiger Müller counter で試料から Mica window 迄の高さを一定とし Count した。

3) 磷酸定量法

磷モリブデン酸安門を適当な還元剤で還元してモリブデン青とし, 生ずる青色を標準溶液と比色定量する方法で, 呈色が Labil で又呈色後変動が大で誤差の大きくなる可能性のあるものが多く, 従って Allen 法<sup>20)</sup>に従った。Allen 法は Amidol を還元剤として使用するが安定である。予め標準溶液 (1mg P/cc) で検量曲線を作っておいた。

a) 無機磷の定量

直接試料の一定量をメスフラスコ中にとり, 過塩素酸, Amidol 試薬, モリブデン酸安門の順に加え, 蒸留水を加えて一定量とし混和呈色後 5~30 分以内に光電比色計で定量した。

b) 総酸可溶性磷の定量

試料の一定量をフラスコ中にとり, 過塩素酸を加えて湿式灰化を行った。

B. 核酸磷の経時的変化

生後約70日, 略々同大の Rat に Per g 0.1 $\mu$ c の P<sup>32</sup> を脊部皮下に注射し, 1, 2, 6, 12, 24, 48時間目に夫々断頭し (1例につき3匹づつの Rat liver をとる), 出来るだけ Blood を流出させ, 開腹, 速やかに Liver を氷室中に保存する (凍結しない程度)。その後 Liver に4倍量の0.9% NaCl を加え, Potter Elvehjem の Glasshomogenizer<sup>21)</sup> で homogeneizi 1000, R. P. M. 8 min, 遠沈を行う。以下核酸分離法 (Davidson 法) に従う。

最後に得られたDNA, 或いはRNAを湿式灰化し, 灰化後一部は Pyrophosphate に変化しているから蒸留水を加え, Boiling water 中につけ Orthophosphate とする。半量を磷酸定量, 半量を count の試料とする。

C. 年令に依る核酸磷の Turnover の変化

生後20日, 70日, 120日, 240日の各 Rat に Per g 0.1 $\mu$ c の P<sup>32</sup> を同じく脊部皮下に注射し, この場合は夫々総べて2時間目に断頭した。以下の操作はBと同様に行った。

II. 実験結果及び考按

A. 核酸分離法 (Davidson) に就いての批判

1) Schmidt & Thannhauser 法では酸或いは Alcohol 等を加える為め Contamination が多いが之は沈澱している時 Culombic force の Contribution が大なる為めである。Davidson 法も従って Contamination は当然まぬがれない。

2) Davidson 法では最初に Citrate を加えない。血液内の核酸分解酵素に依って, Citrate を加えないと核酸が分解される事が考えられる。

3) Davidson 法は初めに細胞質 (RNA) と核 (DNA) に2大別する。Schmidt & Thannhauser法は細胞質及び核仁 (RNA) と核 (DNA) に Fractionation する。従って Davidson が RNA に就いて比較した事は誤りである。

4) Allen 法は呈色後 5乃至30分以内に定量

しなければならぬ事になっているが、低温では数時間は殆んど変化が認められない。

5) 標準曲線は大体 0.2mg P/ml 迄は直線をなしている。

6) Count する際に Filter paper を Cap からはずして Count した理由は、一般に行われている Cap の儘では Geometry が正確に行われぬし、又 Cap の側壁の高さが必ずしも一定でないので Scattering に依る誤差が入る可能性があり、更に試料から Geiger Müller Counter 迄の距離を近づける事が出来ない為め能率がよくない等である。

### B. 核酸磷の経時的変化

1) 生後70日の Rat では DNA-P の Specific activity は RNA-P のそれに比べて小さいが、DNA-P は48時間後にも減少せず、猶ほ少し増加の傾向がみられるに反し RNA-P は徐々に減少の傾向を示すものの様である。個々の細胞に含まれる DNA-P と RNA-P の Turnover の速度は決して等しくない事を示すが、この事は従来の方法即ち Davidson に依れば Contamination の甚だ大なる方法に依る結果ともその傾向は一致している (第2表)。

第2表

Time(hrs) \ S.A(cts/min/0.1mg)	DNA-P	RNA-P	DNA-P RNA-P
1	256	1780	6.99
2	347	1933	5.57
6	360	1960	5.44
12	350	2077	5.94
24	427	1745	4.1
48	430	1826	4.23

2) 核酸磷の Turnover の研究に 2~6 時間値がとられているが妥当と思われる。

3) DNA-P と RNA-P の Turnover の Ratio は、2時間値で 5.57 となっているが、Davidson の報告は 8 回平均 8.5 となっている。動物及び個体差に依るものであろう。

4) DNA-P/RNA-P の Specific activity の比率は時間的に低くなる傾向が認められるが、細胞の増殖と核酸との関係から考えても興味ある結果である。

### C. 核酸磷 Turnover の年令的変動

核酸磷の Turnover を年令的に比較する為に、B. で述べた如く 2 時間値をとった。

1) DNA-P も RNA-P も幼弱な程 Turnover が大である。DNA-P が幼若な程大である事は、細胞の増殖時核物質の新しい合成が即ち DNA の合成が起ると云う見解に一致するが、DNA が細胞分裂時外で全く合成されないと云う事は疑問である (第3表)。

第3表

Age(days) \ S.A(cts/min/0.1mg)	DNA-P	RNA-P	DNA-P RNA-P
21	567	2367	4.18
70	347	1933	5.57
120	270	2156	7.59
240	108	1728	6.52

RNA-P も又幼弱なもの程 Turnover が大である。この事は又増殖せる組織に於て Turnover が大であると云う事を示し、過去に於ける報告と一致する。

2) DNA-P/RNA-P の比率が幼弱な程小であり、年令が増す程大なる事は、矢張り細胞増殖に関係する所以のものと考えられる。

## IV. 結 論

核酸磷の Turnover を Contamination の少ない Davidson 法に従って、Rat liver を用い経時的及び年令的変動に就いて検討した所、次の如き結論を得た。

1) Schmidt & Thannhauser 法に較べて Davidson 法は Contamination が少ないが、その方法から考えて完全ではない。又 Davidson 法は核の DNA-P 及び細胞質の RNA-P の Turnover をしらべる事が出来るが核仁の RNA-P の Turnover をしらべる事は出来ない。

2) DNA-P 及び RNA-P は共に (生後70日) 経時的に変動する。この事は生体構成物質が常に固定したものではない事を示す好例である。又経時的に DNA-P と RNA-P の Turnover の速度は等しくない。

3) 年令的に幼弱なもの程 DNA-P 及び RNA-P の Turnover は大である。又 DNA-P/RN

A-Pの比率は幼弱な程小である。2つの事柄は細胞の増殖度換言すれば生活力の程度と関連して興味ある事実である。

4) 従来の方法で行われた結果とは定性的には変化がない様である。従って従来の結果より真実に近い値を示すものと思う。

(1952年 Davidson が Electrophoresis に依り Contamination の除去を行い得ると報告した事を後程知ったので追記する)。

擲筆に当り御懇篤なる御指導と御校閲を賜った恩師笹川久吾教授に深謝致します。

#### 文 献

- 1) Hevesy, G. (1948) Radioactive indicators.
- 2) Hevesy, G. (1948) Adv. Biol. & Med. Phys. 1, 409
- 3) 吉川春寿 (1951) 科学 21, 238
- 4) Kamen, M. D. (1951) Radioactive Traces in Biology.

- 5) Greenstein, J. P. (1940) Adv. Prot. Chem. 1, 299
- 6) Gulland, J. M. (1945) Ann. Rev. Biochem. 14, 175
- 7) Haurowitz, F. (1950) Progress in Biochemistry. 230
- 8) Fordan, D. O. (1951) Prog. in Biophys 2, 51
- 9) Boiv, A. et al. (1947) Cold spring Harh. Symp. Quant. Biol.. 7
- 10) Sasagawa, K. et al. Acta Scholae Medicinalis Universitatis in Kyoto Japonia. 96
- 11) Jeenner, R. et al. (1950b) Arch. Biochem. 26, 54
- 12) Friedkin, M. et al. (1949) J. Biol. Chem. 177, 775
- 13) McCater, J. A. et al (1948) Canad. J. Med. Sci. 26, 333
- 14) Hammarsten, H. E. (1924) Biochem. Z. 144, 383
- 15) Schneider, W. C. (1945) J. Biol. Chem. 161, 293
- 16) Davidson, J. N. et al. (1951) J. Biochem. 49, 311
- 17) 菊池武彦・他 (1951) 最新医学 6, 822
- 18) 吉村寿人・他 (1951) ibid. 6, 850
- 19) 清水 栄 (1949) 近代物理学全書
- 20) Allen, R. J. L. (1940) Biochem. J. 34, 858
- 21) Potter, V. R. et al. (1936) J. Biol. Chem. 114, 495

#### Summary

Some studies were made on the turnover of nucleic acid-P, which was extracted by Davidson's method, and the results were as follows.

1. The contamination of P<sup>32</sup> occurred by Davidson's method as by Schmidt & Thannhauser's method, since the ethylalcohol solution was used by both methods.
2. The turnover of RNA-P was greater than that of DNA-P.
3. The turnover of N. A-P of young rat liver was greater than that of the adult rat liver.

(Department of Physiology, Kyoto University)

## 核酸の電気泳動的考察及び核酸と無機燐の結合 612.398.145

### Electrophoretic Studies in Nucleic Acid and on the Binding of Nucleic acid and Inorganic-P<sup>32</sup>

(本論文要旨は第30回日本生理学総会で口演報告した)

山 根 彦 二 (YAMANE-Hikozi)\*

#### I. 緒 言

核酸(以下N.A)の歴史は甚だ古く、約80年前に遡る。以来その抽出精製に関する実験改良が行われると共に、物理化学の進歩と相俟ってN.Aの物理化学は著明な発展をみせ、現今生物、医学的に極めて重視されるに到っている<sup>1)2)3)4)5)6)</sup>。

N.Aの分子量或いは形状に就いては、一般のProteinと同じく検定される。即ち流動複屈折、粘度、滲透圧、拡散、光の散乱、或いはX線散乱等に依り測定されるが、抽出材料、抽出方法、即ち試料に依って又は測定時条件等に依って異なってくる<sup>7)</sup>。勿論測定法如何に依って、即ちMn, Mw, My等に依り異なるのは当然である。

N.Aは又、Protein 或いは Nucleoprotein と同様、Tiselius 型電気泳動で、光学的に観察する事に依って粒子の電気泳動的均一性を確かめる事が出来る。然し乍らその Mobility も又試料に依り異なるが、燐酸の高含量に依って酸性物質であって、中性溶液中では Protein に比較して大であるとされている。

RNA及びDNAの相互関係に就いて、古くは相互転換説もあったが<sup>8)</sup>それに直接的な説明がなく、最近迄は一般にDNAは遺伝的役割を、RNAはProteinの合成に関与するものと考えられてきたが、その後Gale<sup>9)</sup>はDNAがRNAの合成をControlし、そしてそのRNAがProteinの合成をControlすると報告している(Galeの説は後程知ったので追加する)。

N.AとProteinのInteractionに関する実験に先立ち、Systematicに条件(Buffer)の変

化に依るN.A即ちDNA, RNAの電気泳動的変動を考察し、更に1種の高分子物質としてのDNAとRNAの試験管内に於けるInteractionを覗知すべく、電気泳動法を利用した。

電気泳動<sup>10)11)12)</sup>の基礎理論は普通の電解質溶液論に基礎を置いて出発しているので、電解質溶液論、 $\phi$  potentialのDelivation、 $\phi$  potentialを変化させる要因、又電気泳動に依って測定出来る項目等が、電気泳動を行う際少くとも理解して置かねばならぬ事実である。

上記電気泳動法に較べて、高分子物質と低分子イオンとの結合を覗知する方法としては、透析平衡法がより直接的である。

高分子物質-低分子イオン結合に関する研究は特にProtein-ionに多くみられ(例えばProteinとCa ion)、それ等は生体内に於ても生体外に於ても容易に結合するものとされており、生体外即ちBuffer中に於けるその結合はProteinのイオン性基の静電引力に依るものとされている<sup>13)</sup>。

先に電気泳動的検索を行ったDNA, RNA、或いはDNA-RNA ComplexとIonの結合を透析平衡法を利用して実験を行う所以は、N.AがProteinと共に生体内高分子物質として重視されている事からであり、又Proteinと比較してIonとの結合に関する報告が少いと云う事からである。

#### II. 実験方法

##### A. N.Aの電気泳動的考察

###### 1) Tiselius型電気泳動法を利用せる実験

- a) RNA
- b) DNA

\* 京都大学医学部生理学教室(笹川久吾教授)

## c) RNA. DNA Complex

Acetate buffer 及び Phosphate buffer を使用<sup>14)15)</sup>. 試料 a), 及び b), は各々0.5%溶液とし, c) は各々1%溶液として共に24hrs. セロファン膜で透析した. c) は透析後 RNA/DNA=1:1 で混合.

使用した装置は日立製 Diagonal type. Buffer は透析外液を使用した. a), b), c) 何れも以下の如く条件を変えた. 6~8°C.

- (1) 0.05M Acetate buffer. pH 5.5  $\mu$  0.05
- (2) 0.1M Acetate buffer. pH 5.5  $\mu$  0.1
- (3) 0.2M Acetate buffer. pH 5.5  $\mu$  0.2
- (4) 0.4M Acetate buffer. pH 5.5  $\mu$  0.4
- (5) 0.1M Phosphate buffer. pH 6.1  $\mu$  0.132
- (6) 0.1M Phosphate buffer. pH 6.7  $\mu$  0.188
- (7) 0.1M Phosphate buffer. pH 7.4  $\mu$  0.26

pHを一定にして Ionic strength を変え, 又 pH, 及び Ionic strength を共に変化させた.

2) 濾紙電気泳動法<sup>16)</sup>に依る実験

1) と同様 a), b), c), に就いて夫々透析後行った.

東洋濾紙 No. 131, (幅 1cm, 長40cm)

0.02cc Paper に附着, しばらく静置後通電.

一定時間後室温で乾燥, 紫外線吸収に依って検べた. 装置は Tiselius 型濾紙電気泳動装置(教室製)改良型.

B. 透析平衡法に依る N.A と P<sup>32</sup> の結合実験

## 1) 試料

a) N.A (DNA, RNA, DNA-RNA Complex)

b) 放射性無機磷 (P<sup>32</sup>)

## 2) 方法

a) RNA, DNA 或いは DNA-RNA Complex を 24hrs. 透析

b) 放射性無機磷予め調整 (pH修整)

c) セロファン膜 (No. 300) に一定大の容器を作製. 之を一定のガラス容器中に入れて吊り下げ, 膜内には Buffer 20cc を入れ, 膜外即ちガラス容器中には Buffer 50cc を加え, 内外液面を同高とし, その内或いは外液に P<sup>32</sup> 一定量 (10 $\mu$ c) 加え之を標準 (対照) とする.

d) 対照以外は, 膜内に RNA, DNA の 0.25% 溶液或いは 0.4% 溶液を 20cc 入れる. DNA-RNA Complex の Ratio は 1:1.

e) 一定温度 (16~18°C) に保ち, 一定時間毎に 0.01cc 採取, Object glass 上の濾紙 (予め中央に同円形の東洋濾紙 No. 6 を貼布) に浸し, 乾燥せぬ内に<sup>18)</sup> Geiger Müller counter で, 同条件下で count した<sup>17)</sup>.

猶ほ上記実験に使用した sample は総べて同試料である.

(1) RNA (Schryver法, Flectcher 法の Modifications methode 更にクロロフォルム除蛋白).

Color yellowish white. Solid 90~95%

N. 15.0~15.7% (dry basis)

P. 8.7~9.2% (dry basis)

Biuret-R negative,

M. W. above 3 $\times$ 10<sup>4</sup>

## (2) DNA

Color. pale brown

P. 7.5% (7moist basis)

Biuret-R negative

M. W. unclar

## III. 実験結果及び考按

## A. N.Aの電気泳動的変動

渡辺等<sup>19)</sup>は Hammersten 法に依って白子から抽出精製した DNA が, Phosphate buffer, pH 7.7  $\mu$  0.2 で電気泳動的に均一であると報告している. 更に Goldwasser<sup>20)</sup>が Hammersten 法で抽出した DNA が, 又 Longsworth<sup>21)</sup>が Leven 法で抽出した RNA が pH 5.5 で同じく均一であるとしている.

## 1) RNA 及び DNA

a) pHを一定にして即ち pH 5.5で Ionic strength を 0.05, 0.1, 0.2, 0.4 と変化させたが, 先ず  $\mu$  0.05 では, RNA, DNA 夫々共に上下両行脚に 1 群の Peak が認められ, 上行脚は Sharp 下行脚は低い緩やかな Peak を示している. 時間の経過と共に Peak の高さは低下するが 1 群である事には変化がない.

Ionic strength が高くなると RNA, DNA 共

に上行脚も Sharp となり、下行脚がやや $\mu 0.05$ の場合に較べて低くなる為上下両行脚が全く対照的な Peak となる。Ionic strength が増しても矢張り均一な Peak を示している。

b) Mol 数を一定にし pH (Phosphate buffer の為め Ionic strength も増す) を変えた場合、即ち pH 6.1, 6.7, 7.4 とした時、何れの場合も RNA, DNA 共に均一な Peak を示し、pH がアルカリ側になるにつれて、上行脚が高くなり a) の場合と同様、上下両行脚が対照的となる (この場合 Ionic strength の影響もある)。Mobility は a), b) 何れの場合も DNA > RNA。

然し乍ら RNA も DNA も分子量が異なれば Mobility が変化する。従って一概に DNA > RNA とは云えないだろう。RNA は抽出時、Protein を除く事が甚だ困難である。更に精製した (P, 9.38%) RNA を用いたが、この場合も矢張り均一な Peak が得られた。Yellow mosaic virus の如く電気泳動的に均一であっても、均一な成分からならないものもあり<sup>22)</sup>、電気泳動的に均一な図形を得た事は即ち一成分からなると云う事ではない。

## 2) RNA-DNA Complex

0.05M Acetate buffer pH 5.5  $\mu 0.05$  では Complex は非常に幅の広い 1 群の Peak を画いているが、下行脚の Mobility は RNA, 上行脚の Mobility は DNA, の夫々の Mobility に似ている。更に pH 或いは pH, Ionic strength を変化させた所が RNA, DNA 夫々単独の場合に較べて全く異った図形がみられた (この際正確な Mobility が測定出来なかった為、それ以上の事は触れない)。

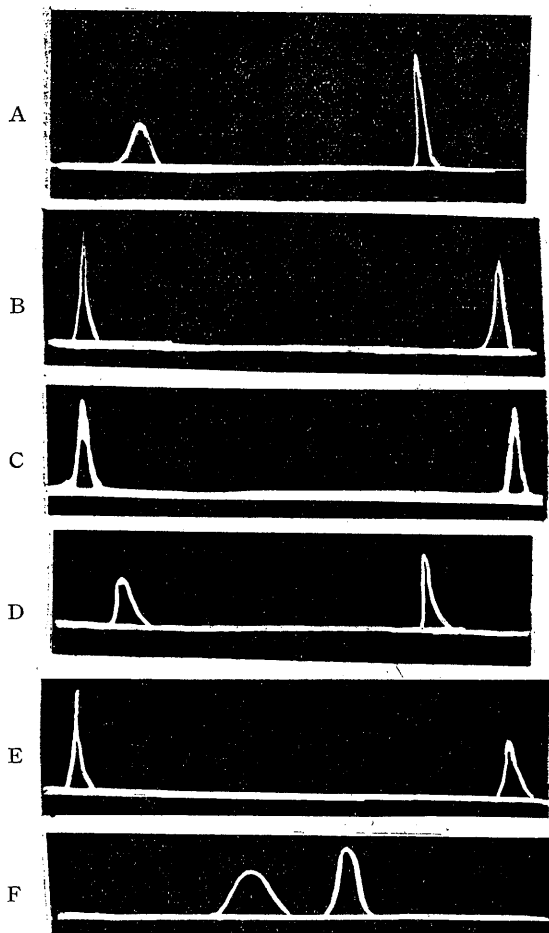
DNA の分子は容易に酸或いはアルカリに依って (Nucleotid 間の Covalent bond), 又酸或いはアルカリ, 熱等に依って (同一の Polynucleotid の chaine 及び隣りの Polynucleotide 間の Hydrogenbond) 影響を受けるとされている<sup>5)</sup>。

Mobility の正確な測定のみならず、他の測定法に依らねば、RNA と DNA 分子間の Interaction の検討は容易でないと思われる (第 1 図)。

## B. N.A. の濾紙電気泳動的考察

実験方法で述べた如く、種々条件を変化させたが、Mobility は DNA > RNA である。

Complex に就いては紫外線の吸収帯が広くて、検討する事が出来ない。



第 1 図 核酸の電気泳動的考察

- A : 0.5% RNA 0.05M Acetate buffer pH5.5  $\mu 0.05$   
 B : 0.5% RNA 0.4M Acet.-buffer pH5.5  $\mu 0.4$   
 C : 0.5% RNA 0.1M Phosphate buffer pH7.4  $\mu 0.26$   
 D : 0.5% DNA 0.05M Acet. buffer pH5.5  $\mu 0.05$   
 E : 0.5% DNA 0.4M Acet. buffer pH5.5  $\mu 0.4$   
 F : 1% RNA-1% DNA Complex (1:1) pH5.5 0.05M Acet. buff pH5.5  $\mu 0.05$   
 G : 0.5% RNA-DNA Complex (1% DNA : 1% RNA = 1:1) 0.1M Phosphate buffer pH 7.4  $\mu 0.26$

### C. 透析平衡法に依るN.AとP<sup>32</sup>の結合

1) 透析平衡法は、高分子物質と Ion の結合実験には電気泳動法と較べ、より直接的ではあるが、透析面積が狭小なる場合は容易に平衡に達しないし、又内外両液面を同高にしなければならぬ等の問題が起る。勿論斯る際膜自体にも問題がある。

2) Acetate buffer は Mol 数と Ionic strength が一致する故、実験に好都合であるが、Phtharate 及び Beronal buffer は Klotz 等に依ると特に Protein の性質に可成りの影響を与える<sup>23)</sup>らしく、従って Acetate buffer を使用した。

3) 対照溶液の、外液或いは内液に P<sup>32</sup> を加えると約 6~8 時間で (16~18°C) 平衡に達したが、膜内の方が常に膜外よりも P<sup>32</sup> が少ない (Donnan 膜平衡が利いているらしい)。

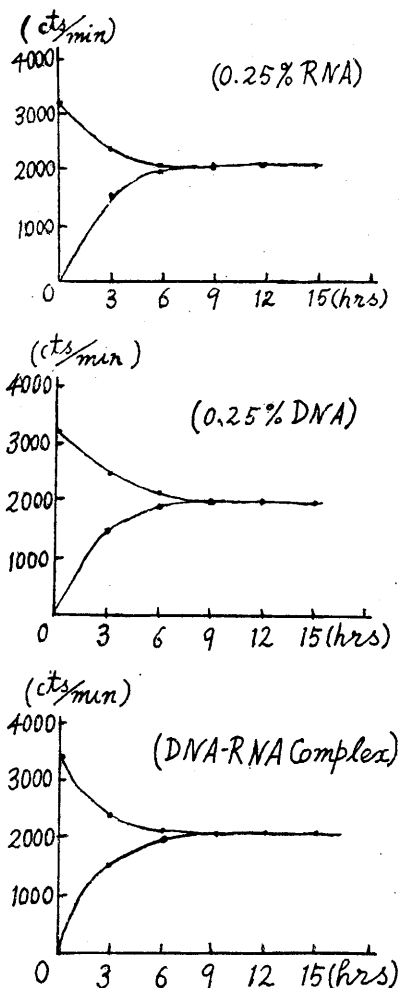
4) 膜内に RNA, DNA, 或いはその Complex 溶液を入れて、外液に P<sup>32</sup> を加えた場合、3hrs. 毎に即ち 0, 3, 6, 9, 12, 18時間目に各々 0.01cc づつ外液より採取したが、時間の経過と共に Count 数は減少し、6~8 時間以降殆んど変化なく、標準液と比較して何れの場合も Count 数に差が認められない (誤差範囲内である) (第2図)。

5) 内部即ちDNA, RNA或いはComplexの溶液にP<sup>32</sup>を加え、一定時間毎に外液0.01ccづつ採取した所、Count数は増大するが6~8時間以降殆んど変化なく、何れの場合も標準液と同傾向を示し、Count数に差が認められない(第2図)。

6) 試料濃度が夫々0.25%の場合も、又0.4%の場合も変化は全く認められない。

7) DNA-RNA complex を、混合する前にP<sup>32</sup>を単独の即ちDNA或いはRNAに加える。又一方混合後P<sup>32</sup>を加えてから透析を行い比較したが全く相違がない。之は電気泳動で得た変化に就いて検討を試みたものである。

8) pH 5.5で Ionic strength を0.05或いは0.2とした時の結果も又、差を認めなかった。この事は Klotz が Serum albumine と Azosu-



第2図

Ifathiazol のを用いた透析平衡実験に於て Ionic strength 0.04から0.1の変化では Coupple に変化がなかった<sup>23)</sup>事と一致する。

9) Sidney は Protein と P<sup>32</sup> を用いて pH 6.05 Ionic strength 0.1の条件下で透析平衡、電気泳動法を利用した研究から、又 Klotz の Serum albumine と Azosulfathiazol を用いて透析平衡法に依る研究から、更に Robert<sup>27)</sup>, Scatchard<sup>28)</sup>, Karush<sup>29)</sup> 等の Protein と Cl の透析平衡及電気泳動の研究から、以上何れの場合も夫々結合している事を報告している<sup>18)23)</sup>。

N.Aに就いても Cavalieri<sup>24)</sup> が RNA 或いは DNA と或種の色素 (陽イオン) の透析平衡法

に依る研究報告がある。

10) 以上の如き結合の問題に関して Sche-llwan<sup>25)</sup> は、高分子、低分子物質間の静電引力的な Interaction は低分子物質間同志の Interaction より大きい事を理論的に説明している。所が Davidson の実験<sup>26)</sup>にみられる如く高分子物質 (Rat liver homogenate) に Contaminate した P<sup>32</sup> も、Ribonucleotide の部分をアルカリで加水分解したものを通電クロマトグラフィーで容易に分離出来る事を示している。

以上の Protein 或いは N.A と Ion の事実から考えて、この結果は、N.A が負の荷電を持つ様な条件下で実験を行ったので P<sup>32</sup> と結合しなかったと云う事が考えられるし、又結合が非常に少く誤差範囲内である事も考え得る。従って Protein が両性荷電を有する点から考えれば多くの Ion と容易に結合するのは当然であろう。

平衡膜自身或いは試料に対する問題は残るが、更に実験条件を変える即ち温度、pH、Dielectric Constant 等の変化に依り、かかる結果に変化を起す事は充分予測し得る。

#### IV. 結 論

Nucleic acid (RNA, DNA 及び RNA-DNA Complex) の電気泳動的変動及び Nucleic acid と Inorganic P<sup>32</sup> との結合に就いて Tiselius 型電気泳動、濾紙電気泳動及び透析平衡法を利用して実験を行った所、以下の如き結論を得た。

1) pH、或いは Ionic strength を変化させたが、RNA 及び DNA 共に常に電気泳動的に均一な Peak を示し、Mobility は DNA > RNA の結果を得た (然し試料に依って異なるかも知れない)。

2) RNA-DNA complex の Interaction に関しては (単独の場合と比べ変化ある図形が得られたが) 更に正確な Mobility の測定及び他

の方法を併用して検討すべき必要がある。

3) Nucleic acid と Inorganic P<sup>32</sup> とは pH 5.5 Ionic strength 0.05 乃至 0.2 の条件下では結合は detectable でない。Donnan effect の為め、及び Same charge の条件で実験を行った為めと考えられる。

欄筆に当り御懇篤なる御指導と御校閲を賜った恩師笹川久吾教授に感謝致します。

猶色々と助言下さった曾我美君又貴重な試料を戴いたキリン科研黒岩博士に感謝します。

#### 文 献

- 1) Greenstein, J. P. (1944) Adv. in Prot. Chem. 1, 209
- 2) Gulland, J. M. (1945) Ann. Rev. Biochem. 14, 175
- 3) Hevesy, G. (1948) Adv. in Biol. & Med. Phys. 1, 409
- 4) Haurowitz, F. (1950) Prog. in Biochemistry 230
- 5) Butler, J. A. V. et al. (1951) Prog. in Biophys. 2, 51
- 6) Watson, J. D. (1953) Nature. 171, 737
- 7) Egami, F. (1951) Nucleic acid & Nucleoprotein. 28
- 8) Brachet, J. (1947) Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 12, 18
- 9) Gale, F. E. (1954) Nature. 173, 1223
- 10) Tiselius, A. (1937) Trans. Farad. Soc. 45, 954
- 11) Longworth, L. G. et al. (1939, Chem. Rev. 24, 271
- 12) 宇井信生 (1953) 科学 23, 233
- 13) Haurowitz, F. (1950) Chemistry & Biology of Proteins. 58
- 14) 正路倫之助 (1944) pH の理論と測定法
- 15) 櫻本克彦 (1947) 化学実験学 12, 107
- 16) 小林茂三郎 (1954) 生物物理化学 2, 3
- 17) Hevesy, G. (1948) Radioactive indicators.
- 18) Sidney, F. V. (1949) J. Phys. & Colloid. Chem. 51, 135
- 19) 渡辺 格・他 (1950) 東大輻射研報告 5, 17
- 20) Goldwasser, E. et al. (1950) J. Phys. & Colloid. Chem. 54, 79
- 21) Longworth, L. G. et al. (1942) J. Gen. Physiol. 25, 507
- 22) Markham, R. (1951) Discus. Farad. Soc. 11, 221
- 23) Klotz, I. M. et al. (1949) J. Phys. & Colloid. Chem. 51, 100
- 24) Cavalieri, L. F. et al. (1950) J. Am. Chem. Soc. 72, 4686; (1951) 73, 2567
- 25) Schellwan, J. A. et al. (1951) J. Phys. Chem. 57, 472
- 26) Davidson, J. N. et al. (1951) Biochem. J. 49, 311; (1952) 52, 599
- 27) Robert, A. et al. (1951) J. Am. Chem. Soc. 73, 3220
- 28) Scatchard, G. (1950) J. Am. Chem. Soc. 72, 534
- 29) Karush, F. (1949) J. Am. Chem. Soc. 71, 1369

#### Summary

1. The RNA & DNA migrated in a single boundary in all electric field of Tiselius app. in buffers at various pH and ionic strength.

2. On the interaction of these N. A and inorganic radioactive P<sup>32</sup> in solution at pH 5.5 in acetate buffere of 0.05 (or 0.2) ionic strength, we studied by equilibrium dialysis method. No significant binding was detected under the aforementioned condition. But the binding of P<sup>32</sup> with N. A may be favored by decreasing pH value and dielectric constant of solution.

(Department of Physiology, Kyoto University)

## Nucleic acidとSerum albumineのInteraction. 612, 398, 145 : 612, 398, 12

### On the Study of the Interaction of Nucleic acid & Serum Albumine.

(本論文要旨は第30回日本生理学会総会で口演報告した)

山 根 彦 二 (YAMANE-Hikozi)\*

#### I. 緒 言

生体系に於ける Nucleoproteinは、複合蛋白質中、色々な意味に於て可成り久しく重視されている物質ではあるが、又一面不明な点の多い物質でもある。

笹川の生活基本小体<sup>1)</sup>は、内外の電子顕微鏡像からの帰納であるが、その物理化学的説明模型は“Liponucleoprotein+水 System”を以て示され、斯る Unit system の離合集散に依り、総べての生体系が構成されるとしている。その化学構成的検証の爲めに、その一端として Nucleoprotein を対象としたものである。

過去に於ける細胞、即ち核及び細胞質の Nucleoprotein の Chemical analysis の結果のみから、直ちに之をもつて生体系に於ける Nucleoprotein を論ずる事に疑義がある。生活基本小体論からも、当然細胞以外のものも即ち細菌、及び Virus 等の Nucleoprotein の Chemical analysis は考慮される所である。

細胞、就中核内には、Nucleoprotein として DNA-Protamine, DNA-Histone 等が存在し、Electrostatic な力で結合していると云われ、然し乍ら両者を同時に含む事はないと云われる<sup>2)</sup>。更に核内には、Histone 等の Basic protein 以外の Proteine が存在する事は、相当古くから論議されていて<sup>4)5)6)7)8)9)10)</sup>、それ等の結果から Non-Histone type の Pretein が存在するものと考えられるが、又抽出過程に於ける Contamination も考慮すべき様<sup>3)10)11)</sup>である。Protamine, Histone 等も決して Simple なものでないと云われている<sup>11)12)</sup>。

核仁及び細胞質に存在す Nucleic acid (以下

\* 京都大学医学部生理学教室 (笹川久吾教授)

N.Aと略す)は、一般にRNAで、抽出法もDNAに較べて未だ確立されておらず、RNA-Proteinは生物界に広く存在しているにもかかわらず、その研究は少い様である。RNA-Proteinの結合は複雑で、Proteinと非常に強く結合し、多分 Covalent bond に依るものとされている。従つて非常に激烈な化学的方法を用いねばならないが、この操作の爲にRNAをDegradeする<sup>13)</sup>。

色々な組織から得た細胞質顆粒の分析結果、或いはRNA-Protein<sup>14)15)</sup>或いはPhospholipid-RNA-Protein<sup>16)</sup>と云う一般構成を持っているとされ、そのProteinは、Non-Histone typeのものである<sup>5)</sup>と云われる。

細菌のNucleoproteinに関する研究も又相当古くから行われている<sup>4)17)</sup>が、そのChemical analysisは容易でないらしい。

細菌に較べるとVirusの研究は相当深く行われている。Knight<sup>18)</sup>に依れば、Tabacco mosaic virus (T.M.V)はNucleoprotein、又Newcastle diseaseはNucleoprotein及びLipid、Influenza virusはNucleoprotein, lipid及びPolysaccharidで、その他多くのVirusに就いても分析が行われている。一般に植物のVirusはNucleoproteinのみであるが、動物のVirusはNucleoprotein以外にLipid、その他が含まれていてより複雑である。所でそれ等のN.AはCohen<sup>19)</sup>に依ると、例えばT.M.V.等の植物Virusは、RNAであり、Rabbit papilloma, Vaccina等のVirusはDNA、又Influenza virusはDNA及びRNAとなっている。之に対してProteinはT.M.V.は酸性のGlobuline-likeのものであり、又Influenza virus等はNon-basic proteinである<sup>18)</sup>。その含有量は非常に多いと

云われているが、猶ほ不明なものが多い。

以上の如く、Nucleoprotein の存在は、如何に重視すべきか充分理解し得る所であるが、之等は又生体系を思考する際、飽く迄も分析された結果である事を認識するならば、生きた儘の即ち動的様相を示す生体系は、より複雑である事は当然思考すべき所であろう。

斯る“Natural nucleoprotein” (Natural と云う語句は妥当でないが) に対して Synthetic nucleoprotein がある。生体外即ち試験管内に於ける N.A と Protein の結合で、之には或る種の条件が必要となる。

最もよく研究されているのは DNA-Prota-mine 等の Basic protein との結合で、それには渡辺<sup>20)</sup>、鈴木等<sup>21)</sup>の報告があり、之等は Protein の等電点より酸性側で行われている。その他 Bungenberg<sup>22)</sup> は N.A と Acidic protein である Gelatin 或いは Basic protein である Clupein 等を用い矢張り等電点より酸性側で行なった所謂 Coacervation の報告がある。

その他 Protein の等電点よりアルカリ側で N.A と Protein の物理化学的研究として、Longsworth の RNA と Ovalbumine<sup>23)</sup>、又 Goldwasser の DNA と Serum albumine の結合<sup>24)</sup>に関する報告がある。

Stacey は Nucleoprotein が pH 7 の近くでは N.A は Basic な Histone 及び Protamin と沈澱を作るが、Acidic protein である Albumine 或いは Globuline では可溶性なものを作る<sup>25)</sup>としている。

以上の如き事柄から焦点は次の様な所に向けられる。即ち

細胞の原形質構成物質の大部分を占むる Protein は Albumine とされ、而も原形質には RNA が存在する。

細胞核の Nucleoprotein には、DNA-Histone のみならず他の Non histone type の Protein が存在するとせる文献が可成り多い。

核仁中の RNA は Free の形で存在するか、或いは Protein と結合して存在するか、全く触れられていないが、RNA-Protein とすれば、

その Protein は如何なる Type のものか。

植物の Virus は N.A-Protein、動物の Virus はそれに Lipid、それ以外に更に他の物質が Chemical analysis の結果認められるが、DNA、RNA 及び Protein の構成をもつ Virus もある。

勿論生体系を考える際には、動的様相、そしてそこには物質間の Competition を念頭に置かねばならない。そこで生物学的観点にたつて N.A (DNA 及び RNA) と 1 種の Acidic protein (Basic protein の研究は多くみられるので触れないが) である Serum albumine (以下 S.A と略す) を用い、Synthetic nucleoprotein の物理化学即ち Interaction に就いて考察し“Lipo-nucleoprotein+水system<sup>1)</sup>”に或る種の理解像を得んとしたものである。

## II. 実 験

A. N.A の等電点よりアルカリ側で、且つ S.A の等電点よりも酸性側の場合を“等電点域”又 N.A の等電点よりアルカリ側で、更に S.A の等電点よりも猶ほアルカリ側での実験を“等電点域外”と呼ぶ事にし等電点域外及び等電点域に於ける一連の実験を行った。

### 1) DNA と S.A の Interaction

- a) 等電点域外実験
- b) 等電点域実験
- c) 等電点域及び域外実験

### 2) RNA と S.A の Interaction

### 3) DNA と RNA 及び S.A の Interaction

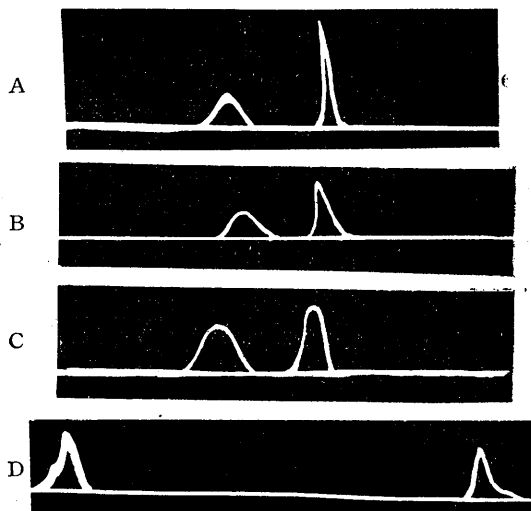
2), 及び 3), も a), b), c), の夫々を行った。

## B.

### 1) 試料

a) RNA. b) DNA. c) Serum albumine  
RNA, DNA の電気泳動的均一性に就いては、先に Acetate 及び Phosphate ( $K_2HPO_4$ ,  $KH_2PO_4$  混液) の各 Buffer で、pH, Ionic strength を変化させた場合に就いて検定した。Crystal S.A は Glucoprotein と Globulin を含んでいて何れで得たものも全く均一と云えない

26). 又数種の Protein の混合物であるが, 単離されても多分散なものである<sup>27)</sup>から電気泳動的に均一でないのかも知れないと云う様な事が云われているので, 一応電気泳動的に a), b) の如く検討した. 猶ほ総べて同試料を用いた (第1図).



第1図 Nucleic acid と S.A の interaction  
A : DNA. B : RNA. C : DNA-RNA Complex.  
D : Serum albumine. 各0.5%溶液, 0.05 M Acetate buffer pH 5.5  $\mu$  0.05

## 2) 方法

a) 等電点域外実験は電気泳動法<sup>28)29)30)31)32)</sup> (Tiselius 型電気泳動装置, 日立製 Diagonal type) を利用した.

Acetate buffer<sup>23)24)33)34)</sup> 使用

DNA, RNA, 及び S.A の各試料は各々 1% 溶液とし, 各混合率は 1:1 とした. 但し DNA-RNA-S.A の混合率は 1:1:2 である.

何れも混合前に, 24時間, 6~8°C セロファン膜で透析を行ったが, 泳動に際しては, この透析外液を使用した.

電気泳動の応用分野の1つとして, 高分子物質間の Interaction に関して知見を覗う事は可能である.

b) 等電点域実験は, DNA, RNA 或いは S.A を 0.1M Acetate buffer に各々 0.1% 溶液となる様にし, (矢張り 24 hrs. 透析後) DNA,

或いは RNA, 又は DNA-RNA Complex (1:1) に S.A 溶液を加え, 混液をデッキグラスに採り, 位相差顕微鏡下で観察した.

c) 濾紙電気泳動装置<sup>35)</sup>は Tiselius 濾紙電気泳動装置改良型 (教室製) で, 等電点域外及び等電点域の一定の pH 値で検討し比較した.

試料は a) と同様,

東洋濾紙 No. 131, (幅1cm, 長40cm)

0.02cc 試料を附着. 濾紙 1枚に付き 0.5mA.

一定時間泳動後 (4 hrs., 7 hrs.) 乾燥.

DNA, 或いは RNA を先に紫外線吸収に依り検定し, 後 S.A は Brom phenol blue<sup>36)</sup> で染色検討した.

## III. 実験結果及び考按

### A. N.A と S.A の電気泳動的研究

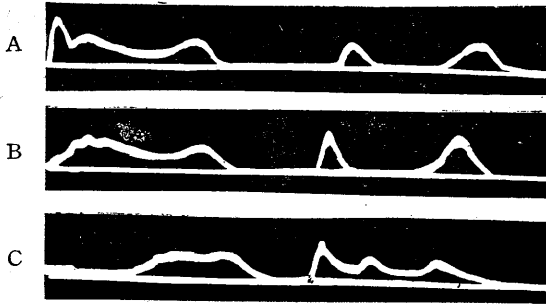
#### 1) DNA と S.A の Interaction

Goldwasser は pH 5.5 に於ては, Pattern の上行脚に Intermediate が現われ, 一方下行脚には明白な 2 つの Pattern が現われるが, 更にアルカリ性になると (pH 6.4 乃至 7.6), 上行脚の Intermediate は Separate する. 又 Ionic strength が高くなると Intermediate は出来なくなる. 更に S.A/DNA の Ratio を変えて夫々の場合の Mobility を算出し pH 或いは Ionic strength の低い所 (但し S.A の等電点よりアルカリ側と云う意味) では, 両者間に Interaction のある事を確かめ, 之等の Interaction には Electrostatic な Force が関与する事を示唆していると報告<sup>24)</sup>している.

宇井, 渡辺等<sup>37)</sup>は pH 7.7 で DNA と S.A の電気泳動を行った結果, 全く両者夫々単独の電気泳動図を重ね合わせた図型が得られ, Mobility も単独の場合と変化なく, Interaction が認められない事を報告しているが, Goldwasser の事実即ち pH が高い故の結果であろう.

著者の実験結果は Goldwasser の事実と一致している. pH 5.5 では下行脚に明らかに Intermediate が認められ, 上行脚は Separate し 2 つの Pattern がみられる (第2図A).

pH 或いは Ionic strength が高くなった場合



第2図 Nucleic acid と S.A の interaction

A : DNA-Serum albumine. B : RNA-Serum albumine. C : DNA-RNA-Serum albumine. 0.05M, Acetate buffer. pH 5.5  $\mu$ 0.05 8°C

に, Intermediate が出来なくなる理由は, 前者は互いに Charge をもってきて Couple なくなる為, 又後者はDNAとかS.Aの表面を Ion が Cover するからだと考え得る. 上行脚に於て Intermediate の認められないのは Concentration が低い為めに解離するのではないかも考えられるが, 然しこの事柄だけでは説明出来ない様である.

Baldwin は Jod にS.Aを加えた場合, Mobility の Standard deviation が大きくなる<sup>38)</sup>としているが, Intermediate は, それとは異なる.

Katchalsky は電解質が全然無い時は高分子同士の Interaction が反ってなく, 或る程度電解質を加えると Interaction が起り更に加えると Interaction は Maximum となり, 猶ほ加えると逆に下ってくる<sup>39)</sup>としている. 従って 0.05M の場合に於ても Interaction の起る事即ち, Intermediate の認められる事は又, 当然である.

Geiduschek は Light scattering method の研究から pH 6.46 乃至 7.47 に於ては Reaktion がなく, pH 5.5 に於てはDNAとS.Aは Couple すると<sup>40)</sup>報告している. 従って電気泳動法のみならずする方法に於てもその条件の一致から充分検討し得るものである (Ionic strength はこの場合 0.1~0.05 で行っている). Geiduschek は又斯の際 DNA は殆んど変化を受けないとしているが, Greenstein<sup>3)</sup>はS.AがDNAのViscosityに変化を与えるとしている. この二者の

Data に就いては夫々濃度 0 に外捜した時の値を比較検討する必要がある.

DNA は又超音波或いはX線照射に依っても Viscosity が減ずる<sup>11)41)42)</sup>.

## 2) RNA と S.A の Interaction

先人の業績がないが, この場合に於ても矢張り pH 5.5 で下行脚に Intermediate が認められる. 上行脚は DNA-S.A と同様 Separate している (第2図 B).

1つの粒子に他の粒子がくっつくか, 或いは1つの粒子を他の粒子が Cover すると, 当然粒子の大きさが変わる. つまり移動速度が変わってくる. 即ち泳動図として Intermediate の形をとる.

S.Aの周りをRNAが Cover するとRNAの性質が出てくる. この事は DNA-S.A の場合に於ても云い得るが, この事柄は  $\phi$  Potential から計算すればわかるであろう.

## 3) DNA, RNA と S.A の Interaction

3つの高分子物質間の Interaction をしらべる即ち Competition をも観知する目的もあって行ったのであって, 他に報告がない.

pH 5.5 では 1) 及び 2) の場合と同様 Intermediate が認められるが, 更に上行脚にも Intermediate が認められる (第2図 C).

以上何れも pH 5.5 では Interaction が認められる. N.A と S.A の Complex を泳動する場合, pH を一定にして Ionic strength を変える事は, それ等の粒子の  $\phi$  Potential の差異を使うのであって, この符号を変えるのは Charge だけで, それ以外の Factor は  $\phi$  Potential の大きさを変えるだけである.

Wyman<sup>43)</sup>は Bacteria の Mobility が, 溶液の Dielectric constant (D.C) を上げると Viscosity が増し Mobility が下ると報告しているが, N.A-S.A Complex に於ても D.C を変えれば, 例えば D.C を下げると勿論  $\phi$  Potential が変わり, Mobility は増すだろう.

## B. N.A と S.A の等電点域実験

Goldwasser は pH 5.2 で DNA と S.A を Complex すると濁濁したと云っているが, 之は

S.A の等電点の近くで行ったためであろう (因に S.A の等電点は pH 4.88<sup>4)</sup>).

- 1) DNA-S.A
- 2) RNA-S.A
- 3) DNA-RNA-S.A

以上何れも 0.05 M 乃至 0.1 M Acetate buffer pH 4.0 の所で溶解した夫々を混合すると白濁し沈澱を起す (第 1 表).

第 1 表

	RNA	DNA	Serum albumine	DNA-S.A RNA-S.A DNA-RNA-S.A
1/10 M Acetate buffer. pH 4.0	溶解. やや黄 灰白色	溶解. やや橙 黄色.	溶解. 透明.	mix すると白濁, 放置すると沈澱. 上清全く透明.
$\mu$ 0.1	位相差顕微鏡では何も見えない.	同	左	左 位相差顕微鏡では塊りがみられる.
1/10 M Acetate buffer. pH 5.5	同	上	同	上
$\mu$ 0.1				mix しても変化なし. 位相差顕微鏡では視野に認められるものはない.

之等の沈澱は N.A に S.A を加える場合, その Ratio が 1:1 以上, つまり S.A の量が増えると強くなる. 粒子の結合比の問題である.

之等の沈澱物は位相差顕微鏡下で観察すると凝集物 (塊りと云うか顆粒状) が認められるが, 之は Coacervate 即ち Bungenberg の見解に一致するものであろう.

pH 5.5 では Complex は透明であるが, 之を酸性側にもってくると, 濁濁, 更に白濁, 沈澱を起してくる. pH 4.0 で沈澱した Complex をアルカリ側にもってくると遂には溶解して濁濁更に透明となる. Bungenberg は Flocculation と Coacervation の可逆性に就いて述べているが, 等電点域と等電点域外の間にも又, 現象の可逆性は認められる (但し分子状態は不明). Coacervation は Bungenberg 以外に Onsager 等の報告もある. Onsager は統計学的な取り扱い下に Coacervate の問題を取り扱い, 実際の Check には即ち T. M. V. を使って集合の様式の変化で Check している.

### C. N.A と S.A の濾紙電気泳動に依る考察

Tiselius 型電気泳動装置は精度が高く値が大きく, 試料を多く必要とする. 濾紙電気泳動装置は, それよりずっと少くてすむと云う利点があり, N.A の分離等に<sup>45)</sup>も応用されている点から等電点域及び域外に就いて考察した.

#### 1) 等電点域外に於ける Complex

0.1 M Acetate buffer, pH 5.5 の場合に, DN A-S.A 或いは RNA-S.A Complex と夫々単独の Mobility と比較すると, 単独の場合も Complex の時と全然異ならない.

斯様に変化がみられぬ事から Interaction の有無を論ずる事は容易でないが, Tiselius 型電気泳動で考えれば恰度上行脚に相当すると云う事, 及び N.A 或いは S.A の検定法に依るものと考えられ, 猶ほ一考を要するが, Interaction がないと断定するのは早計であろう.

#### 2) 等電点域に於ける Complex

pH 4.0 では夫々単独の Mobility は DN A > RNA > S.A であるが, Complex の場合は DNA-S.A, RNA-S.A 等何れも N.A と S.A が共に原点にとどまって動かない (大部分が).

この事は Charge の問題即ちみかけ上の Charge が 0 になると云う事, 及び二相分離例えば不溶性になる事等の為めと考えられる. その他一応は Complex した巨大分子と Paper との Interaction も考慮する必要がある. 何れの事実に依るかは Microcataphoresis を行えば更に明確となる.

生物学的観点から以上の如く A), B), C) 夫々等電点域及び域外にわたる一連の実験を試みた事は N.A と Protein の単に物理化学を追求するにとどまらず, "Liponucleoprotein + 水 system の Nucleoprotein に就いて或る種の理解像を得る事が出来たと考え得る.

## IV. 結 論

Nucleic acid (DNA, RNA 及び DNA-RNA Complex) と Albumine (Serum albumin) を用いて, 両物質間の等電点域及び等電点域外に

於ける一連の Interaction をみる目的で, Tiselius 型電気泳動, 位相差顕微鏡, 或いは濾紙電気泳動法の夫々を利用して実験を行った所, 次の如き結論を得た.

1) DNA-S. A, RNA-S. A, 及び DNA-RN A-S. A の夫々の Complex は等電点域外即ち pH 5.5 に於て電気泳動では Interaction が認められる.

2) 更に各々の等電点域では所謂 Coacervate, Flocculation を作り, しかも等電点域と域外に於て現象の可逆性が認められる.

3) 濾紙電気泳動実験では, 等電点域に於ては夫々 Complex の場合 Interaction を認めるが, 域外に於ては (pH 5.5 でも) 明確でなく一考を要する.

摺筆に当り御懇篤なる御指導と御校閲を賜った恩師笹川久吾教授に深謝します.

猶種々助言下さった曾我美君, 及び貴重な試料を戴いたキリン科研黒岩博士, 武田薬品 K. K 研究室川島氏に感謝します.

#### 文 献

- 1) Sasagawa, K. et al. (1949) Acta Scholae Medicinalis Universitatis in Kyoto, Japonia. 96
- 2) Gulland, J. M. et al. (1945) Ann. Rev. Biochem. 14, 175
- 3) Greenstein, J. P. (1944) Adv. in Prot. Chem. 1, 273
- 4) Belozarskii, A. N. (1947) Cold Spring Harbor Sym. Quant. Biol. 12, 1
- 5) Mirsky, A. E. (1947) *ibid.* 12, 143
- 6) Riss, H. (1947) *ibid.* 12, 158
- 7) Stedman, E. et al. (1947) *ibid.* 12, 224
- 8) Brown, K. D. et al. (1952) J. Biol. Chem. 198, 155
- 9) Bernstein, M. H. et al. (1953) Biochem. Biophys.

- acta. 10, 600
- 10) Butler, J. A. V. et al. (1953) Prog. Biochem. Soc. 21, 54
- 11) Davison, P. F. et al. (1954) Prog. in Biophys. 4, 148
- 12) Rauen, H. M. et al. (1952) Z. Phys. Chem. 275, 291
- 13) Jordan, D. O. (1951) Prog. in Biophys. 2, 51
- 14) Jeenner. R. (1948) Biochem. Biophys. acta. 2, 633
- 15) Chantrenne, H. (1947) *ibid.*
- 16) Claude, A. (1941) Cold Spring Harbor Symp. Quaut. Biol. 1, 437
- 17) Chargaff, E. (1947) *ibid.* 12, 28
- 18) Knight, C. A. (1947) *ibid.* 12, 115
- 19) Cohen, S. S. (1947) *ibid.* 12, 35
- 20) 渡辺 格・他 (1952) 日本化学誌 73, 778
- 21) 鈴木堅之・他 (1952) 日本化学誌 73, 825 ; (1953) 74, 689
- 22) Bungenberg, H. G. (1949) Colloid Science. 2, 372
- 23) Longsworth, L. G. (1942) J. Gen. Phys. 25, 507
- 24) Goldwasser, E. (1950) J. Phys. Colloid. Chem. 54, 79
- 25) Haurowitz, F. W. (1950) Progress in Biochemistry. 230
- 26) Sharp, D. G. et al. (1942) J. Biol. Chem. 144, 139
- 27) Anderson, E. A. (1948) J. Phys. Colloid. Chem. 52, 345
- 28) Tiselius, A. (1937) Trans. Farad. Soc. 45, 954
- 29) Longsworth, L. G. et al. (1939) Chem. Rev. 24, 271
- 30) 渡辺 格・他 (1948) 科学 18, 422
- 31) 深井孝之助 (1950) 化学実験学 1, 409
- 32) 宇井信生 (1953) 科学 23, 233
- 33) 正路倫之助 (1944) pH の理論と測定法 209
- 34) 榎本克彦 (1947) 化学実験学 12, 107
- 35) 小林茂三郎 (1954) 生物物理化学 2, 3
- 36) Henry, G. K. (1951) J. Gen. Phys. 35, 1
- 37) 宇井信生・他 (1951) 生物物理化学 1, 61
- 38) Boldwin, R. L. (1951) J. Phys. Colloid. 55, 111
- 39) Katchalsky, A. (1954) Prog. in Biophys. 4, 1
- 40) Geiduschek, E. P. et al. (1952) Biochem. Biophys. acta. 9, 609
- 41) Errea, M. (1953) Prog. in Biophys. 3, 88
- 42) Smith, D. B. (1951) J. Am. Chem. Soc. 73, 258
- 43) Wyman, J. (1931) J. Am. Chem. Soc. 53, 32, 92
- 44) 赤堀四郎 (1951) アミノ酸及び蛋白質 403
- 45) Biserte, G. (1950) Biochem. Biophys. acta. 4, 416

#### Summary

We studied on the interaction of nucleic acid (DNA, RNA and DNA-RNA mixture) and serum albumine in the inraisolectric and in the extraisoelectric region and the following results were obtained.

1. In the extraisoelectric region, the mixture of nucleic acid and serum albumine was found interacted at pH 5.5 by the Tiselius electrophoretic method.

2. In the inraisolectric region, what is called "coacervate drops" were obtained at a certain pH.

3. When the paper electrophoretic technique was used, the interaction of nucleic acid and serum albumine was observed at in the inraisolectric region, but not in the extraisoelectric region. In all these cases, there was observed a reversible phenomenon.

(Department of Physiology, Kyoto University)

## Nucleic acid と Ovalbumine の Interaction 612. 398. 145 : 612. 398. 12

On the Study of the Interaction of Nucleic acid & Ovalbumine.

(本論文要旨は第30回日本生理学会総会, 及び第10回近畿生理学談話会で口演報告した)

山 根 彦 二 (YAMANE-Hikozi) \*

### I. 緒 言

著者の“Nucleic acid と Serum albumine の Interaction”の報告で, Nucleic acid (以下N.A) と Protein が従来報告されてきた細胞 或いは Virus 等の Chemical analysis から, 又笹川 の生活基本小体論<sup>1)</sup> 即ち“Liponucleoprotein+水 System”から, 共に Nucleoprotein の占める意義に就いて若干の文献を参照し報告した<sup>2)</sup>.

Klotz が種々の Protein 即ち S. A, Ovalb., Globuline, Casein 等と Methylorange の結合の研究から夫々 Afinity の相違がある. それは蛋白の表面の Amino acid 残基の配列の相違からではなからうかとしている<sup>3)</sup> が, 斯くの如き事から N.A と, 同じ Acidic protein である S.A と Ovalb. の Afinity が異なる事, 及び N.A でも DNA, RNA 或いは DNA-RNA, と Ovalb. の場合夫々に依って Afinity が異なる事は考え得る. 斯る意味から Ovalb. を用いて一連の実験を行い S. A と N. A の Complex で得た理解像を更に探究せんとしたものである.

Ovalb. (結晶) の分子量は, 沈降平衡の測定では  $405 \times 10^2$  で, 沈降速度及び拡散の測定では  $440 \times 10^2$  で甚だ小さいが, 之に対して S. A の分子量は前者で  $700 \times 10^2$ , 後者では  $680 \times 10^2$  である. 又 Ovalb. の等電点は pH 4.55, S.A のそれは pH 4.80 とされている<sup>4)</sup> (但し 0.02M Acetate buffer 或いは Phosphate buffer 20°C).

電気泳動では Ovalb. は pH 3.9 で均一な Peak が認められるが, pH 6.8 では 2 成分からなる事が知られ, pH 8.0 では更に分離する<sup>5)</sup> 事が認められているが, S. A は均一若しくは 2 成分から

なるとされている.

又 Ovalb. の濾液中には 15% の Conalbumine が存在し, S.A も 10% の Glucoprotein と Globuline を含んでいる<sup>6)</sup> と云われている. たゞ電気泳動的に均一であっても, 異った成分の存在する<sup>7)</sup> 事があるのは当然であろう.

Kleczkowaki は, Ovalb. が N.A と酸性反応に依って沈澱してくると<sup>8)</sup> 云い, Longsworth も又その Complex が Ovalb. の等電点より酸性側では一部沈澱を起す<sup>9)</sup> と報告しているが, その他等電点よりアルカリ側で RNA と Ovalb. の Interaction に関しては, Longsworth の比較的詳細な報告<sup>10)</sup> がある.

電気泳動的研究から物質の分析或いは純度検定の行い得る事は周知の事実であるが, 更に抗原抗体反応の例にもみられる如く高分子物質間の知見をも得る事が可能である.

### II. 実 験

A. N. A の等電点よりアルカリ側で, 且つ Ovalb. の等電点からは酸性側に於ける条件下の実験を“等電点域”, 又 N. A の等電点よりアルカリ側で, しかも猶ほ Ovalb. の等電点より更にアルカリ側の条件下の実験を“等電点域外”実験と呼ぶ事にし, 等電点域及び等電点域外にわたって実験を行った.

#### 1) RNA と Ovalb. の Interaction

- a) 等電点域外実験
- b) 等電点域実験
- c) 等電点域外及び域実験

#### 2) DNA と Ovalb. の Interaction

#### 3) RNA, DNA と Ovalb. の Interaction

2) 及び 3) も夫々 a), b), c) の実験を行った.

#### B.

\* 京都大学医学部生理学教室 (笹川久吾教授)

## 1) 試料

a) RNA, b) DNA, c) Ovalbumine

a), b), 及び c) の夫々単独は 0.5% 溶液で (Acetate 及び Phosphate buffer<sup>11)12)</sup> pH, Ionic strength を変化させた場合に就いて考察したが, RNA, DNAは共に常に均一であり, Ovalb. は 2 群の Peak を画く. 総べて同試料を使用した (第 1 図 A, B, C).

## 2) 方法

a) 等電点域外実験は電気泳動法<sup>9)10)13)14)15)</sup> (Tiselius 型電気泳動装置. 日立製Diagnal type) を利用した.

Acetate buffer 使用

RNA, DNA 及び Ovalb. の各濃度を夫々 1% とし, RNA-Ovalb. Complex 及び DNA-Ovalb. Complex の Ratio は 1:1 とした. 又 RNA-DNA-Ovalb. Complex の Ratio は 1:1:2 である.

何れも各試料は 24 hrs. セロファン膜で透析後混合したもので, Buffer は透析外液を使用した.

RNA は単独の場合と RNA-Ovalb. Complex の場合, 総べて同一試料を使用 (P. 8.7~9.2%) したが特に再度, Purifei したもの (P. 9.38%) も用いて比較検討した.

b) 等電点域実験は RNA, DNA 或いは Ovalb. の各試料を Acetate buffer (0.1M. pH 5.5 及び 4.0) で 0.1% 溶液とし, RNA, DNA, 及び RNA-DNA Complex に Ovalb. 溶液を加えた.

c) 濾紙電気泳動装置<sup>16)</sup>は, Tiselius 改良型 (教室製) で, 一定の pH 即ち 0.1M Acetate buffer. pH 5.5 及び 0.1M Acetate buffer pH 4.0 (Ionic strength 0.1) 及び 0.1M Phosphate buffer pH 7.4 でのみ行った.

試料は a) と同様, 東洋濾紙 No. 131 (幅 1cm, 長さ 40cm), 1 枚に付き 0.5mA.

0.02cc 附着後, 泳動させ, 乾燥後 RNA, DNA は紫外線吸収に依り, 又 Ovalb. はその後 Brom phenol blue で染色<sup>17)</sup>した.

d) 0.1% 溶液 (但し RNA-Ovalb. Complex) で pH 5.5 及び pH 4.0 に於ける電子顕微鏡的検索を行った. フォルムバニール膜上に極

微量試料を載せ室温乾燥後 Cr. Shodowing<sup>18)</sup>.

島津製 S.M.-C 2 型. 50kV,  $2 \times 10^4$  拡大

## II. 実験結果及び考按

## A. N.A と Ovalb. の電気泳動的な研究

## 1) RNA と Ovalb. の Interaction

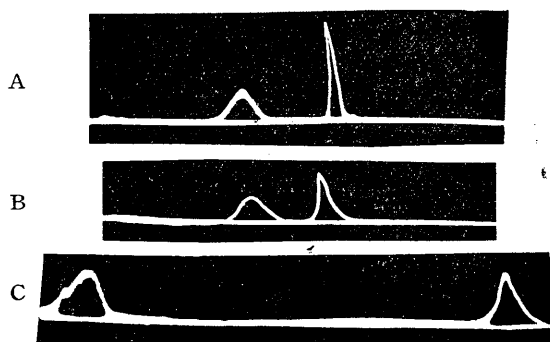
Longworth は RNA-Ovalb. Complex が, Ionic strength を下げた場合, 或いは Ovalb. の等電点に近付けた場合, 更に Concentration ratio を変化させた場合に Pattern の Asymmetry が大となると報告している<sup>10)</sup>.

DNA-S. A Complex に就いて行った Goldwasser<sup>19)</sup> も同様の事実を報告している. Longworth は更に種々条件を変えて, pH 5.3 では上行脚に於て後側の Pattern が, 下行脚に於ては先行の Pattern が RNA と Ovalb. の中間にきている. そして Interaction のないと仮定した時は, Pattern の面積から実験値と計算値を比べると合わない. 所が Interaction のあると仮定した場合は 2~3 % のエラーで合うとしている.

上記の事柄から Acetate buffer pH 5.5 で行った泳動図をみると, RNA-S. A Complex の場合と較べて先ず異なる事は, 下行脚にも上行脚にも Intermediate が認められない事である. 所が RNA, 或いは Ovalb. 夫々単独の泳動図と比較すると, 夫々を重ね合わせた図形ではなく全く異った図型が得られ Mobility も又異なっている.

Abramson等<sup>20)</sup> は水晶及び硝子の粒子が, 或る Protein で全く Cover されていると, 水晶及びガラスの粒子は Native protein と全く同じ様に動く事を示した. そしてかかる性質は特に Ovalb. 及び Gelatin に於て認められるとしている. 従って若し N. A の周りを Ovalb. が Cover したとしても Mobility は Ovalb. のそれと同じ事になる筈である.

電気泳動的に Intermediate のない時は, 実際に完全な Analysis の容易でない事から考えて, Interaction のある事の認定は困難であるが, Longworth<sup>10)</sup>, Smith等<sup>21)</sup> の計算値から



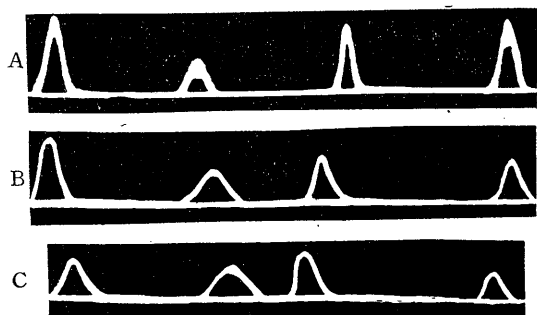
第1図 Nucleic acid と Ovalbumine の Interaction

A : RNA. B : DNA. C : Ovalbumine.  
0.05M Acetate buffer pH 5.5  $\mu$  0.05

考えても、この場合は Interaction のある事は充分考えられる。

現在の抽出方法では純粋な（完全除蛋白の意味）RNAを得る事は全く不可能であって、上記実験に使用したRNAのP.の値は8.7~9.2%であるが、更に高度に除蛋白した（クロロフォルム除蛋白法）P.の値9.38%のRNAを使用して更にRNA-Ovalb. Complexの電気泳動を再検討した。その理由は、除蛋白される程、RNAがOvalb.と結合する量が多くなると考えられるからである。所が結果は全く同様であって、現在の抽出法で抽出する限りは、之以上の追求は望めないであろう（第2図）。

又RNA-Ovalb. Complexの混合率の変化よりも、各々のConcentrationを高めた場合、或いは泳動図としてIntermediateが現われる事



第2図 Nucleic acid と Ovalbumine の Interaction  
A : RNA-Ovalbumine. B : DNA-Ovalb. C : RNA-DNA-Ovalb. 0.05M Acetate buffer pH5.5  $\mu$  0.05

も期待したが（2%溶液とした）、結果は全く同様に、単独の場合と異った図形及びMobilityの変化はみられたが、Intermediateは認められなかった。

斯くの如くOvalb.とS.A.とではN.A.とComplexさせた場合に泳動図としては異った形をとっているが、矢張り同条件即ちpH 5.5 (Ionic strength 0.05~0.1)に於てInteractionがある事は同様である。

### 2) DNA と Ovalb. の Interaction

1)と同条件下では矢張りInteractionがあるが、本実験に使用したDNAでは、RNAに較べてOvalb.とのAfinityは多少小さい様である。

### 3) RNA-DNA-Ovalb. の Interaction

3つの高分子物質間のInteractionを覗知する目的もあって行ったものであるが、DNA-RNA-S.A. Complexの際にみられた如き（但しpH 5.5で）、Intermediateは上下両行脚共に認められない。

1), 2), 3)の何れも等電点域ではpH 5.5でN.A.とOvalb.のInteractionが認められたが、猶ほ夫々の場合、pH及びIonic strengthを変えた時のHeterogeneity Constantを測定すれば、之等の事柄は更に明確になると思われる。

### B. N. A と Ovalb. の等電点域実験

N.A.とS.A.のComplexの実験結果と比較して即ち位相差顕微鏡下で認める変化、及び等電点域並びに域外への移項時の現象は全く異なる（第1表）。

pH 4.0で白濁沈澱したものは顆粒状の塊りでBungenberg<sup>22)</sup>の所謂Coacervateの見解に一致するものであり、CoacervateはDNA-Ovalb., RNA-Ovalb.の何れも区別出来ない。Saltを加えると消失する。

RNA或いはDNAにOvalb.を加える時、後者の量を多くすると白濁沈澱は強くなる。RNA或いはDNA1分子に対してOvalb.の分子が多く結合する為めであろう。

pH 5.5で濁濁していないRNA-Ovalb. Complexを酸性側にもち来ると濁濁し、更

第1表

	RNA	DNA	Ovalb -mine	RNA-Ovalbumine DNA-Ovalbumine DNA-RNA-Ovalb
1/10M Acetate buffer pH 4.0 μ 0.1	溶解. やや黄灰 白色.	溶解. やや橙 黄色.	溶解. 透明.	mix. すると白濁. 更に沈澱. 上清全く透明. 位相差顕微鏡で は塊りがみられ る.
1/10M Acetate buffer pH 5.5 μ 0.1	同上	同上	同上	mix. しても変化 なし. 位相差顕微鏡で は視野に認めら れるものはない.

に白濁沈澱を起す。又 pH 4.0 で沈澱しているのをアルカリ側にもってゆくと逆の現象が起る。即ち等電点域及び域外に於て現象の可逆性が認められる。又 Bungenberg の云う Flocculation と Coacervation の可逆性も認められる。

### C. N. A と Ovalbumin の濾紙電気泳動的 研究

#### 1) 等電点域外

等電点域としては 0.1 M Acetate buffer pH 4.0, 域外としては pH 5.5 及び 0.1 M Phosphate buffer pH 7.4, の所で行った。

pH 5.5 及び pH 7.4, の時の DNA-Ovalb 及び RNA-Ovalb. Complex, と RNA, DNA 及び Ovalb. 夫々単独の場合と比べて Mobility は同じである。即ち重ね合わせた形をとる。RNA-DNA-Ovalb. Complex の場合も同様で、勿論 Mobility は DNA > RNA > Ovalb. の順である。

N. A と S. A Complex に於てみられた結果と一致するが、Tiselius 型電気泳動の上行脚で Complex が Separate する事と対比して考えられるのではなからうか。更に検定法にも一考を要すると考える。この結果は Interaction のない事を示す事にはならない。

#### 2) 等電点域

単独の Mobility は DNA > RNA > Ovalb. であるが、RNA-Ovalb. Complex, 或いは DNA-Ovalb. Complex, 又は DNA-RNA-Ovalb. Complex の何れの場合も、総べて原点にとどまっている。Complex の Ratio を変えた場合に、

N. A 或いは Ovalb. が移動し進行したのがみられるが、之は遊離した形の即ち結合しなかった (余分の) N. A 或いは Ovalb. である。

この事は Charge が 0 になると云う事及び二相分離, 例えば不溶性になる事の為めと考えられ, N. A と S. A の Complex の結果と同じである。勿論斯る実験では常に Paper との Interaction も考慮せねばなるまい。

N. A と S. A 或いは Ovalb. の夫々の Complex の場合, 何れも濾紙電気泳動的に行った等電点域外実験は明確な結果が出ない。

### D. RNA-Ovalb. の電子顕微鏡的考察

DNA 或いは DNA-Protein の Molecular characteristics は, 種々の方法で研究されている<sup>23)</sup>。

DNA, DNA-Protein の電子顕微鏡に依る考察は若干行われている<sup>24)25)26)27)</sup>が, RNA に関しては, 文献をみかけない様である。

Bungenberg は平均の Charge が異なる場合を Complex coacervate, 平均の Charge が同じ場合を Simple coacervate としており, Coacervate drope が一般の光学顕微鏡で認められない Ultramicroscopic coacervation なるものを想定している。然し乍ら検証がなく, 従って等電域外に於て RNA と Ovalb. の Couple する条件下即ち pH 5.5 と, 等電点域に於ける pH 4.0 を選び, 高度に精製せる RNA と Ovalb. を用いて行ったものである。等電点域に於ける 100μ 以上の大小様々な凝集物 (塊り乃至顆粒) は, 位相差顕微鏡下に於て認められた Coacervate から考えて Coacervate なる事は容易に肯定し得るが, それ以下のもの, 及び等電点域外に於ける (この場合は 100μ 以上の顆粒様物質が認められない) 写真から, 共に所謂 Ultra microscopic coacervation の確認は甚だ容易でないと言える。

## IV. 結 論

Nucleic acid (RNA, DNA 及び RNA-DNA

Complex) と Ovalb. を用いて、両高分子物質間の等電点域及び等電点域外にわたり、夫々の Interaction を究明する為め、又同じく Acidic protein である Serum Albumine と N.A の比較を検討する目的で、Tiselius 型電気泳動、位相差顕微鏡、及び濾紙電気泳動法の夫々を利用して一連の実験を試みた所、次の如き結論を得た。

1) RNA-Ovalb., DNA-Ovalb., 及び RNA-DNA-Ovalb. の各 Complex は等電点域外の一定条件下即ち pH 5.5 に於ては Interaction が認められる。

2) 各 Complex は等電点域では所謂 Coacervate (及び Flocculate) を形成し、又等電点域外との間に現象の可逆性が認められる。

3) 濾紙電気泳動実験では等電点域即ち pH 4.0 と等電点域外即ち pH 5.5 及び pH 7.6 で異なった結果を示し、前者に於ける明らかな Interaction のある結果も、後者に於ては明確な判定は困難である。

4) Ovalbumine 及び Serum albumine は、共に一定の条件下で Nucleic acid (DNA 或いは RNA) と Interaction を認める。

摺筆に当り御懇篤なる御指導と御校閲を賜わった恩師笹川久吾教授に深謝致します。

猶お種々助言下さった曾我美君及び貴重なる試料を戴いたキリン科研黒岩博士、武田薬品 K.K 研究室川島氏に感謝します。

## 文 献

- 1) Sasagawa, K. et al. (1949) Acta Scholae Medicinalis Universitatis in Kyoto, Japonia. 96
- 2) 山根彦二 (1955) Nucleic acid と serum albumine の interaction. 日本生理誌 17, 551
- 3) Klotz, I. M. (1949) J. Am. Chem. Soc. 71, 1597
- 4) 赤堀四郎 (1945) アミノ酸及び蛋白質 305
- 5) Mac Pherson, C. F. C. et al. (1944) J. Biol. Chem. 156, 381
- 6) Haurowitz, F. W (1950) Chemistry and Biology of Proteins. 148
- 7) Markham, R. (1951) Disc. Farad. Soc. 11, 221
- 8) Haurowitz, F. W. (1950) Progress in Biochemistry 230
- 9) Tiselius, A. (1937) Trans Farad. Soc. 45, 954
- 10) Longworth, L. G. et al. (1939) Chem. Rev. 24, 271
- 11) 正路倫之助編 (1944) pH の理論と測定法
- 12) 榎本克彦 (1947) 化学実験学
- 13) 渡辺 格・他 (1948) 科学 18, 422
- 14) 深井孝之助 (1950) 化学実験学 1, 409
- 15) 宇井信生 (1953) 科学 23, 233
- 16) 小林茂三郎 (1954) 生物物理化学 2, 3
- 17) Henry, G. K. (1951) J. Gen. Physiol. 35, 1
- 18) 笹川久吾編 (1951) 超電子顕微鏡
- 19) Goldwasser, E. (1950) J. Phys. Colloid. Chem. 54, 79
- 20) Abramson, H. A. (1930) J. Gen. Phys. 13, 657
- 21) Smith, R. et al. (1950) J. Phys. Colloid Chem. 54, 33
- 22) Bungenberg, H. G. (1949) Colloid Science. 2, 51
- 23) Butler, J. A. V. et al. (1951) Prog. in Biophys. 2, 51
- 24) Williams, R. C. (1952) Biochem. Biophys. acta. 9, 237
- 25) Milward, J. L. (1953) ibid 10, 5
- 26) Rowen, J. W. et al. (1953) ibid 10, 89
- 27) Kahler, H. et al. (1953) ibid 10, 535

## Summary

1. In the extra isoelectric region, the mixture of nucleic acid (RNA. DNA and RNA-DNA mixture) and ovalbumine was found interacted at pH 5.5 by the Tiselius electrophoretic method.

The electrophoretic patterns obtained in this case differed from those obtained in the mixture of N. A and serum albumine.

2. In the intrasoelectric region, what is called "coacervate drops" were obtained at a certain pH.

3. When the paper electrophoretic technique was used, the interaction of N. A and ovalbumine was observed at in intrasoelectric region, but not in the extra isoelectric region.

(Department of Physiology, Kyoto University)

## 地方小学会報

## 第97回生理学東京談話会

時 昭和29年8月28日(土)午後2時より

場所と当番 群馬県伊香保町 伊香保会館 群馬大生理 松本政雄

1. 森下敬一・鈴木 敬・山田 豊・飯田精一・  
桑崎 修・富川太郎(東京医大生理)

各種 Chlorophyll 誘導体の循環器呼吸器及び筋  
に対する作用の比較研究

既に著者等は Chlorophyll 誘導体 (Ch.Dと略)の血液組成因子に及ぼす影響に就いて幾つかの報告をした。今回は藁を用い、各 Ch.D の循環器、呼吸器及び筋に対する作用の比較研究を行ったので報告する。

1. E. K. G. に与える影響. 各 Ch.D の一定量を静注し、第Ⅰ誘導に於ける E. K. G. の変化を観察すると是等は何れも R 棘の昂りと、S. T. 間隔の延長を惹起した。尚 P. Q. 及び Q. S 間隔に変動はない。

2. 剔出心臓に与える影響. 著者等の心臓灌流法により各 Ch.D は心搏動を著明に増強させしめたが、心搏緩除は認め得なかつた。以上から Ch.D 投与による心搏緩除は Reitzleitungs system の障碍によるものとは考え難く、心搏増強に伴う二次的附随現象と解される。

3. 心搏出量に与える影響. 各 Ch.D は夫々心搏出量を30乃至60%増加せしめる。

4. 後肢灌流量に与える影響. 此の灌流量も35乃至60%増加しその作用は Co Ch.D > Fe Ch.D > Cu Ch.D > Chlorin の順に弱まる。

5. 筋収縮に与える影響. 各 Ch.D は筋の興奮性を昂め同一強度の連続電流刺激に対して疲労し難くなる。

6. 呼吸に与える影響. 各 Ch.D 投与による呼吸強盛を認め、その作用は Fe 及び Cu Ch.D に於いて著明であった。

7. 健常例に於いて Fe Ch.D は心搏動及び呼吸に対する Nicotin 作用の抑制効果を発現する。

8. 又心搏出量の変動を指標とし、剔出心臓に対する Nicotin 作用と各 Ch.D の該抑制効果を観察した結果、何れも有意の効果を発現しそれは Fe Ch.D > Co Ch.D > Cu Ch.D > Chlorin の順に弱まる様であった。

2. 高木健太郎・屋井ヒデ子・黒岩秀子(新大生理)

## 皮膚知覚について

1) 痛点を刺激しない様な尖端をもつ V. Frey の刺激毛を用いて測定した場合、人の圧覚は3種類に區別出来る。第1種は明らかにグンと圧されているという感じ、第2種は明らかに触ったという感じ、及び第3種は、これよりもかすかで局在性の明確でない、感覚としては漠然としたそれでも触ったという感じである。この中の第1種圧覚は明らかに他の2者とは區別出来る。

2) この圧覚は固定したものではなく、第1種から第2種、第3種へ、又は第2種、第3種から第1種へと移行し、絶えず動揺している。

3) 圧覚を test する部分の近くの皮膚を圧迫すると、第1種圧点数は明らかに減少する。

4) 圧迫しないで圧点を検べる操作を2回づつ組合わせた対照実験系列を繰返すと、第1種圧点数は常に略々一定である。1回目は対照、2回目は圧迫という圧迫実験系列を繰返すと、1回目は減少しないで、2回目だけが著しく減少する。圧迫という刺激を中止して前述の対照実験系列に戻っても、圧迫実験の場合と同様な反応系列が暫時継続する。これは、これまでの条件反射とは稍々趣の違った1種の条件反応と云えるかも知れない。

3. 本間三郎・大倉淳男・渡部士郎(千葉大第1生理)

## 人体神経及び筋の閾値について(續報)

人体を電気刺激して神経、筋の閾値を求める際に、刺激電極から神経、筋まで、皮膚等電氣的に無視できない組織が介在している。最も影響しているものは皮膚であるが、このものの障害を除去せずして、正確な閾値は測定できない。先に皮膚と等回路の network を外部に作って、network の容量部分のみを調整して皮膚を balance して閾値を求めることを提唱した。Balancing network 法

による閾値測定法である。この方法を利用して従来の時値測定の不完全を除き、更に臨床的に応用できる簡便なる時値測定方法を考案した。すべてが最近の真空管技術の進歩を取り入れて、正確にしかも実際的な方法であると考えている。長い利用時の直角脈波刺激でまず基電流を求め、勿論皮膚は balance された状態であるが、切換スイッチによって直ちに基電流の2倍の強度となるようにし、ネオンランプ及びサイクロンによって1個の直角波を与えた。その直角波の時間は0.01~10 m sec まで微細にしかも正しく調整でき基電流の2倍の強度の利用時が求まるようにした。これが時値である。正常人の神経、筋の値及び麻痺神経、筋の値を求めてその結果から利用価値の高いものであることを実証した。

次に治療面と関係して、筋、神経を刺激することなく、どの位の刺激電流を与えることができるかを実験した。直角脈波を漸増せしめ、その勾配を秒の次序にすると最終値は漸増でない場合の殆んど倍の強度であっても神経、筋を興奮せしめない。驚くべき強度の電流を人体に流すことができるのである。

#### 4. 久保秀雄・山辺 茂・中馬 勇 (阪大第1生理)

##### 生体作用物質で見られる弱い結合に就いて

#### 5. 酒匂規夫 (千葉大第2生理)

##### 頸動脈圧迫試験

微量アドレナリンを静注すると、高血圧に関係せず、高年者では減圧遅脈反応 (Vagotonic Reaction) を起す頻度が多いということを先の談話会で報告した。恐らく高年者になれば Vagotonic 傾向が増強するものと考え、Czermak 試験を多数例につき実施した。その陽性出現頻度を検討した。160例を5才別に追究するに、40才迄は認められず、45才になって出現し始め、60才で50%、70才以上では80%と増加した。之について高血圧との関係はみられず、動脈硬化との関係が考えられ大動脈弓レ線検査・眼底検査並びに血清総コレステロール濃度との関係も検討したがいずれも有意な結果を得なかった。その他尿所見・心電図よりみた心・腎機能障害程度とも直接の関係を認めなかった。よって高年者に出現する Czermak 試験陽

性反応は動脈硬化に由来せず恐らく中枢の状態如何によって Vagus Reflex が強く起った結果と考えられる。

#### 6. 山田 豊・河島敏夫 (東京医大生理)

##### 神経系統と後肢灌流量との関連性に就いて

鼠の後肢灌流を行い神経系統との関連性に就いて系統的に検索した所次の如き結果を得た。

脳髓の電氣的及び化学的 (Sodium glutamate) 刺戟及び切除実験により大脳は後肢灌流量に対し減少的に作用し、其程度は対側に強く、同側に弱い。中脳は増加的に作用し其程度は対側に強く、同側に弱い。延髄は増加的と減少的の2種の作用を有して居る。而して増加的作用は対側に減少的作用は同側にある。脊髄には増加的と減少的の2作用が有る様に思われる。次に、縦切断及び前後根切断実験より脳髓の支配径路は大脳より中脳迄は交叉することなく下降し、延髄に於いて交叉し脊髄を交叉することなく下降し、大脳及び中脳よりの線維は前根を通り坐骨神経を経て交感神経節は通らないで後肢血管系に至り、延髄より減少的の線維は同様に前根より、増加的の線維は同側後根より同様に夫々後肢血管系に至るものと思われる。

次に各中枢間の相互関係を検索する目的で大脳又は大脳中脳間を novocaine-Ringer 液で麻醉し脊髄に刺戟を加えると灌流量は増加し大脳延髄間麻醉の場合は減少を示す。脊髄を novocaine-Ringer 液で麻醉し大脳及び中脳に刺戟を加えても灌流量には変化が無いのに反し延髄に刺戟を加えると増加を示す。而してその支配径路は、迷走神経及び迷走交感神経切断及び交感神経節破壊等により、延髄より迷走神経を下り交感神経節に入りそれを下降し坐骨神経を経て後肢血管系に至るものと思われる。又脳髓を刺戟状態とし脊髄を刺戟しても脊髄を刺戟状態とし脳髓を刺戟しても、脊髄を刺戟状態とし脳髓を刺戟しても灌流量には著変は認められなかった。

自律神経毒投与では adrenaline 及び atropine の場合には灌流量は減少的に、acetylcholine, pilocarpine 及び T. E. A. B. では灌流量は増加的に作用する。

#### 7. 森下敏一・鈴木 敬 (東京医大生理)

### 八木式改変灌流器による簡便なる心搏出量測定法に就いて

著者等は、墓剔心臓に於ける心搏出量を測定する目的から、従来の八木式灌流器の静脈カニューレの一部を改変し、容易に其目的を達し得た。此装置に依ると心搏出量と波線描写器塗煤紙上に描記された従来の心搏動曲線から得られた所謂心作業値(単位時間に於ける搏動数×搏動振幅)が、必ずしも比例するものでない事が判った。

従って、従来の心振動曲線から評価した心臓の所謂仕事量は、多くの疑問を有するもので、真の作業値を求めるには、八木式灌流器改変型による搏出量測定が妥当と考えられる。

### 8. 横関珠治(千葉大第2生理)

#### Shock と頸動脈洞反射

火傷後に起る一次的 shock は、火傷時の強烈なる痛みにより血管運動神経中枢が機能不完全状態になり、副腎より分泌されるアドレナリンは、此の血管運動神経中枢麻痺を恢復せしむべく作用するが、遂に力及ばず血管運動神経中枢の機能不全状態を招来し、shock を惹起する。

以上の事実を証明せんとして頸動脈圧迫試験を試みた、頸動脈圧迫時血圧上昇反応は火傷後20分にして既に消失し3時間後頃より恢復の徴を現わす。更に本反応消失時にアドレナリンを投与すると直ちに反応恢復を認める。又予めプロカインで局麻した後に火傷せしむるも本反応は消失しない。

以上の事実から前回に述べた Landis 試験の結果と併せ考え、火傷 shock は強烈なる痛覚による血管運動神経中枢麻痺が原因にして、副腎より

分泌されるアドレナリンは、之が恢復作用をなすものであると考えられる。

### 9. 益子 博(千葉大第2生理)

#### ビタミンCとコーチゾン

ビタミンCはアロキサン家兎又はコーチゾン連続投与家兎に於いて、蛋白質よりの糖質新生に基づく、コーチゾン類似の、著明な血糖上昇及び糖尿増強作用を示すものである。

しかしビタミンCは上記の如きインシュリン機能減弱下と考えられる状態に於いて著しい糖尿作用を呈するが、インシュリン分泌の健全なる家兎では、血糖上昇作用を示さぬ許りでなく、蛋白代謝の亢進も示さない。然らばコーチゾンに於いては果して然るや否やを、正常家兎にコーチゾンを連日投与しその経過中インシュリンを投与して検討したのに、ビタミンC同様、コーチゾンによる血糖上昇並に蛋白代謝亢進はインシュリンにより完全に抑制せられた。これはコーチゾンとビタミンCとの糖尿作用の密接な関連性を示唆するものである。

### 10. 入江紀文(千葉大第2生理)

#### 食塩の排泄に就いて

尿中 Vakato-O 量の排泄は、食塩及び重曹大量摂取、減塩食、正常食何れの場合も尿中Cl量及び尿量に高度の相関を示す。食塩傾用時に於いてもその推移は略々尿Cl量及び尿量に一致するが、水利尿時には尿Cl量とはその増減を一にするが尿量とは必ずしも平行しない。

即ち尿 Vakato-O 量は略々尿Cl量の消長と規を一にすると考えてよいと思う。

### 第98回生理学東京談話会

時 昭和29年9月23日(木)午前10時より

場所と当番 千葉大学医学部生理学教室 鈴木正夫

#### 1. 細田達雄(農林省農業技術研究所畜産部)

##### にわたりの産卵生理(招待講演)

#### 2. 中神義男(千葉大第2生理)

##### 日本人血清総コレステロール濃度について

健康なる日本人の血清コレステロール濃度に関して、未だ統計的に確実な資料がない。私は千葉・秋田・長野県下の住民中、検尿成績等の臨床

所見より腎・肝疾患及び糖尿病患者を除外した健康人男子507名、女子647名計1,154名の血清総コレステロール濃度を測定しえたので、ここにその成績を報告する。測定方法は1953年に Zlatkis 氏らが発表した直接法に拠った。

先ず年令的因子についてみると、男女共40才以前と以後の間に平均値に於いて約10mg/dlの差をみとめた。40代前後の各年代には統計的に有意な

差をみなかった。又同一年代についてみるに、男子と女子に約10~15mg/dlの差が常に認められた

	男子平均	女子平均
25才以下	167.4±2.2	
35~44才	165.6±2.5	176.1±1.6
45~54才	172.0±1.8	184.3±1.5
55~64才	170.8±1.6	187.6±1.7
65~74才	167.6±1.7	188.6±1.7
75~84才	177.6±4.5	183.6±4.0

次に各町村別に同一年代を限り、その平均値を比較するに血清総コレステロール濃度は、同時に施行した国民栄養調査の成績中、とくに動物性蛋白摂取量と密接な関係のあることを知った、即ち千葉県下の純漁業部落にして、魚を常食する地区(動物蛋白平均1日43g)が最も高値であり、以下動物蛋白の摂取量の減る地区程低値を示すことを知った。Keys氏らはすでにMinneapolis(アメリカ)及びNaples(イタリー)の市民について測定を行い、両市民の濃度の差を脂肪の摂取量の差で説明せんとしているが、私の成績と併せまことに興味深い。結局健康人の血清総コレステロール濃度は、動物蛋白即ち之に附随する動物性脂肪摂取量に密接な関係があると考えられる。尚血清総コレステロール濃度と血圧値との間には何の関聯をも認めなかった。男女の差については目下検討中である。

### 3. 林 芳雄・永田清次(和洋女子大生理)・伊藤秀三郎(東京医大生理)

#### 歯牙処置時に於ける脾臓の状態に就いて(予報)

我々は歯牙処置時に於ける生体各種機能に及ぼす影響の中、脾臓に対するものを其容積変化を指標として実験し、現在迄に得られた知見の中、神経支配に関する事項のみに就き此処に報告する。

実験動物には体重3kg前後の家兎を使用し、腹腔外に脾臓を露出し、Oncometerに其れを収容し、タンブールと連結してRinger液を充し容積変化を波線描写器の塗煤紙上に記録せしめた。歯牙処置としては歯質の削除(A)と露出歯髓の器械的刺戟(B)とを各30秒間行うことにした。其外に必要なに応じて電気刺戟も行った。

実験結果の概要を述べると歯牙処置に依り、2分以内に回復する程度の短時間の変化が認められ、脾臓の収縮した例が79%、一過的に拡張した

例が21%で、明らかに脾臓が収縮する傾向が認められた。A処置とB処置との影響の比較では差違が明瞭で無かった。次に脾臓容積変動の原因として其神経支配と血流変動が挙げられるが、此処では其前者に就いて考える。即ち歯牙処置を行っても内臓神経の切断後では脾臓は収縮せず、副腎摘出後は軽度の収縮を見、Adrenalinの使用時には収縮が加重し、又迷走神経の切断では収縮が増し、且つ其の回復が遅れ、Acetylcholine及びT.E.Aの使用では収縮が起らなかった。而して迷走神経切断端の末梢側電気刺戟では脾臓は拡張した。以上により内臓神経は脾臓を収縮させ、迷走神経は其の作用を抑制すると思われる。

次は脾臓に対する神経支配性であるが、同側の両神経は対側のものより強い様に思われた。

次に歯牙処置時の脾臓への伝導路に対する事項であるが、全身麻酔、上頸結節麻酔、下頸神経切断では歯牙処置の影響が無く、此事は衝撃が三叉神経の求心路を通過する事を証明している。又大脳皮質の剔除、間脳及中脳の破壊並びに切断、第2頸髄又は第6胸髄の横切断後では歯牙処置により脾臓は収縮せず、第1腰髄及び第1仙髄横切断後では脾臓は収縮した事によって、歯牙処置時の衝撃伝導路は三叉神経—延髄—中脳—間脳—大脳皮質—間脳—中脳—延髄—頸髄—胸髄—内臓神経—脾臓である事を確認した。

### 4. 岡本彰祐・塚田裕三・横井彌毅男(慶大生理)

#### 線維素融解の阻止物質

### 5. 福山正臣(千葉大第1生理)

魚の全体刺激(学会誌上発表:日本生理誌13,学58) 供覧

### 6. 山崎 武(阪大放射線)

#### 本間氏平衡回路法の検討

本間氏平衡回路法は人体の筋及び神経の閾値測定法に革命を来したのみならず、人体通流時に現われる脈流過渡現象によって人体の示す電氣的性質を追求する1つの新しい方法である所に重要な意義を持つ。吾々はかかる観点から低周波治療器の出力回路を設計する為の基礎資料を得んが為めに氏の方法を追試し次の様な知見を得た。

1) 平衡回路法の適用に際しては電源等価回路

の十分な検討が必要である事。

2) 吾々の低周波に於ける人体アドミッタンスに関する諸種の実験に基き本間氏法の容量に直列に可変抵抗  $r_1$  を挿入すると更に優れたバランスが得られこの場合の充分条件式として

$$C_1 R_1 = C_2 R_2 \quad R_1 / R_2 = r_1 / r_2 \quad \text{が得られた。}$$

3) 人体に並列に  $L$ ,  $r$ , の直列ユニットを挿入すると皮膚の両面にかかる電圧の平衡が得られこの場合バランスする度の充分条件として

$$r = R + r_\infty \quad L = C(eI + r)^2 \quad \text{が得られた。}$$

### 7. 松本政雄・後藤鹿島 (群大生理)

#### オジギ草に就いての刺激生理学的研究 (第1報)

##### 対光反応に就いて

オジギ草には機械的刺激的刺激等に見られる如き速に反応する傾震運動と明暗に対してゆるやかに反応する所謂就眠運動とがある。今回は就眠運動について行った実験を報告する。

実験方法は主としてオジギ草を鉢のまま明所に出したり、暗所に入れたりして主葉柄の運動を Kymographion にインク式描記法で描記し、その他小葉の開閉は肉眼的に観察した。

1) 暗室中の運動 屋外日光下にあったものを暗室に入れて放置すると主葉柄は先ず下り小葉も閉じ約10数時間後に主葉柄は上って来てその後約12時間の周期で大きな上下運動を繰返す。主葉柄が上って居る時には約2時間を周期とする小さな上下運動を常にしている。大きな上下運動は初めの1~2日で著明に小さくなり、小運動もそれと共に消失し、曲線は漸次平坦となる。暗室に入れて主葉柄が下り小葉が閉じているものを日光下に出せば10分位で主葉柄は上り小葉は開く。

2) 電燈の光の下の運動 屋外にあったものを暗室中の60Wの電燈のもとに放置すると初め1日、2日は約10数時間を周期とする主葉柄の大きな上下運動が現われ此の運動は次第に小さくなる。2時間置の小周期の波も初めは現われる。小葉は開閉運動は初期には行われるが末期には半開きの状態で停止する。

3) 1つの主葉柄に属する小葉の全部を暗箱に入れ他の部分は日光下に置くと同暗箱中の小葉は閉じるが他の部分は関係ない。

4) 温度との関係を見るに低温暗室に入れる時の方が高温暗室に入れる時より小葉の開閉時間は長くなる。以上要するにオジギ草は光の有無により反応を起すが一定の光に曝されている場合又は暗室中でも初めは一定周期の運動をするが長く経過すると次第に不明瞭になる。

### 8. 松本政雄・後藤鹿島 (群大生理)

#### オジギ草に就いての刺激生理学的研究 (第2報) 傳導系と運動系間の興奮伝達について

オジギ草が種々の刺激に対して明確な反応を示すので刺激生理学的研究の材料として取り上げられ此等に就いての報告も相当多い。併し従来反応として観察される葉の開閉、葉柄の運動等は興奮伝達に関するものと区別して行った実験は見当らない。

余等はオジギ草に就いて刺激実験を行っている際に運動に関する系と興奮伝達に関する系とは区別して考えるべきものである事を認め此等の間の興奮伝達について実験を行ったので之に就いて報告する。

オジギ草の反応として実際に運動を起す部分は既に衆知の如く茎と葉柄の境にある主葉枕、葉柄と羽片中軸の境にある副葉枕、小葉のつけ根にある小葉枕の3つである。之れに反して小葉、羽片中軸、葉柄、茎、その他の殆んど部分が興奮伝達の能力を持っている。

さて機械的又は熱的的刺激等によって伝導系を刺激すれば刺激の強弱に従って興奮の拡がる範囲は種々であるが、之が運動系に伝達されて小葉枕、副葉枕、主葉枕等に反応が起り刺激が強いときはオジギ草全体に拡がる場合もある。然るに運動系に相当する部分に直接刺激を加えこの刺激が中心部の伝導系に及ばなければその部の運動のみが現われ決して他の部分に伝達される事はない。

例えば小葉の付着点の小葉枕を針で刺激すればその小葉は閉じるが隣接する他の小葉の運動は起らない。

之を要するに伝導系から運動系へは興奮伝達が起るが逆に運動系から伝導系へ興奮は伝達されない。此等の関係は丁度神経線維と骨格筋の間の関係に類似している。

### 編集部からの御願い

1. 日本生理学雑誌への投稿には必ず欧文抄録を一緒につけて下さい。又、別刷の所要部数及び国際十進分類を記入して下さい（国際十進分類は日本生理学雑誌第5巻5, 6号 昭15. (1940年) に登載してあります）。尚本文、文献中の横文字及欧文抄録は必ずタイプライターで印字して下さい。
2. 昭和29年度内（1～12月）に日本生理学雑誌以外の学術雑誌に発表した生理学の論文表題を本誌に掲載する事になりましたから、発表した年月日の順に下記の様式で至急御送り下さい。29年度分は第17巻へ掲載致します。氏名・日時・表題・発表誌名・巻・頁  
（用紙がありますから御希望の方は日本生理学会宛に御一報下さい。お送り致します）。  
各教授並びに研究所主任には夫々用紙を差上げましたが未だ御返事をいただいて居ない方が相当あります。至急御教示お願い申上ます。尚該当するものがない場合も其旨御教示下さい。

### 会計からの御願い

日本生理学会々費の未納の方は至急御払込み下さい。昭和30年度会費は1,000円、昭和29年度会費は700円（振替用紙を第17巻1号に挿入してありますから御利用下さい）。

## 正 誤 表

第16卷			誤	正
頁	欄	行		
700	右側	12	pHによると考えるよりは薬物自体の性質によるものと考えてよいではあるまいか。	高いpHによることが考えられる。
第17卷 学会号目次 7		25	福本正男	福井正男
61	第3図		縦軸に平行な第1と第2線間に“右つまむ”	
	〃		〃 第2と第3線間に“つまみをとる”	
	〃		〃 第3と第4線間に“右つまむ”	
	第4図		〃 第2と第3線間に“右つまむ”	
以上挿入のこと				
第17卷 5号			誤	正
頁	欄	行		
355	左上より	13行目	volatageを分析	voltageを分析
356	左上より	13行目	第14図	此図倒さ
356	左下より	1行目	我々 <sup>11)</sup> は	我々 <sup>11)</sup> は
357	左下より	6行目	は第4領野或いは	は Gyrus sigmoides anterior 或いは
357	右下より	17行目	NMUの数の多少	NMUの数の多少
358	右下より	15行目	藤本順一 (1953)	藤本順三 (1953)
359	左上より	18行目	<sup>11)</sup> 河井洋二郎	<sup>11)</sup> 河村洋二郎
359	右上より	18行目	and S. W. Bronk (1937)	and D. W. Bronk (1937)
359	下より	28行目	analysed	analysed
359	下より	22行目	present in inspination	present in inspiration
359	下より	12行目	the difference of tne method	the difference of the method
359	下より	5行目	was most remarkbly noticed	was most remarkably noticed
第17卷 6号			誤	正
頁	欄	行		
412	右	22	(若し血圧描記に血圧計を……)	(若し血圧描記に等容積性の血圧計を……)
413	左	9	説く様に饋還方式による	説く様に negative feedback による
413	右	1	周期性を励振する	周期性を助長する
416	左	7	hyperpnia	hypercapnia
421	右下	9	言われる <sup>6)9)10)11)</sup>	言われる <sup>5)9)10)11)</sup>
425	左下	7	山崎 <sup>17)</sup> 及び小口 <sup>18)</sup>	山崎 <sup>17)18)</sup>
427	左	30 (文献 <sup>11)</sup> 中)	456	456P
〃	右	3	Die efektorische	Die Reflektorische
〃	右	25 (文献 <sup>22)</sup> 中)	84	84P