

日本生理誌・第20巻5号・昭和33年5月1日発行（毎月1日発行）
〔昭和27年5月6日 第3種郵便物認可〕

日本生理學雜誌

JOURNAL OF THE PHYSIOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

第20巻 第5号

Vol. 20 No. 5

昭和33年5月1日発行

May 1958

原 著

古江生子：グリセロール処理筋のアデノシン三リン酸短縮とアンモニア生成	287
荻野正之：通流電極第3作用と麻醉に就いて	296
丸山俊男：副腎と Insulin 感受性	307
新島旭・松木義雄：内臓の求心性神経の多重支配について	314
菓子井幸則：遠心限外濾過法による血清中の限外濾過性カルシウムの研究	318
菓子井幸則：血清中の限外濾過性カルシウムに対する、pH及び枸橼酸の影響	325
加藤守：線維性収縮に於ける活動単位インプルの分析 (立体視的隔壁内電極法について)	331

地方小学会報

第16回近畿生理学談話会（つづき）	341
第8回西日本生理学会	346

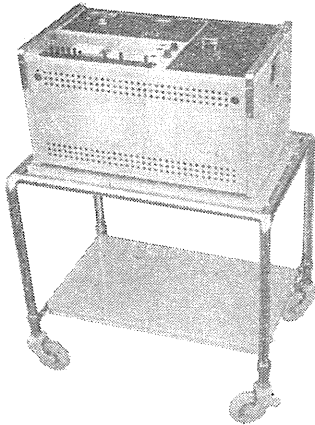
日本生理學會

Physiological Society of Japan

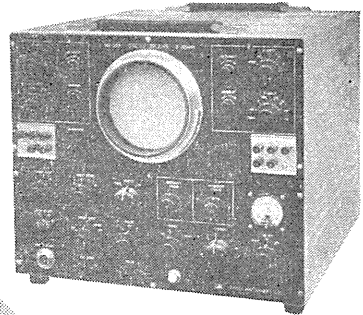
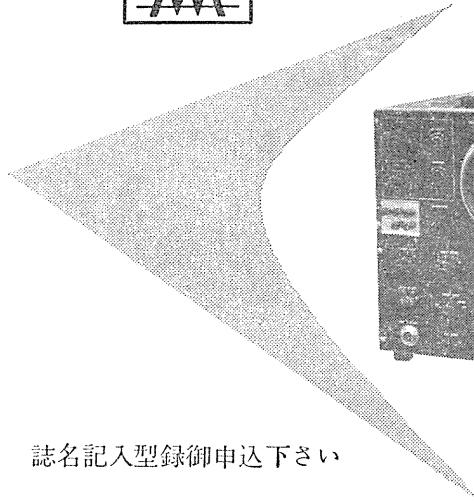
万能記録装置 (MPA-204)



万能ブラウン管オシロスコープ (VB-203)



小型二系統
EKG. EEG. GSR他



新型高安定度
EMG. EEG. EKG他

誌名記入型録御申込下さい

製 作 品 目

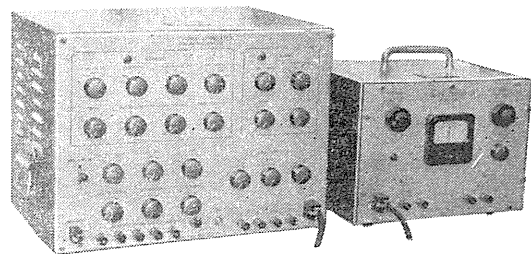
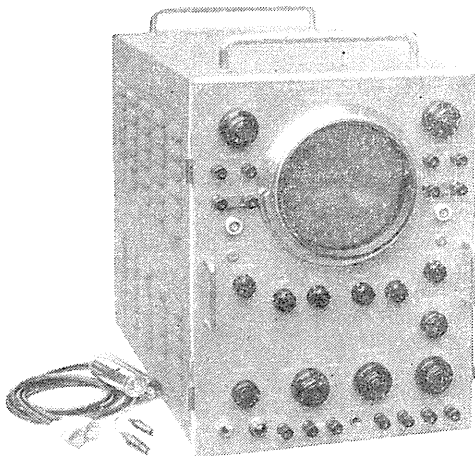
脳 波 計・脳 波 分 析 装 置
二現象オシロスコープ・オシロスコープ用速続撮影装置
アネロケータ・電気刺戟装置
電磁オシログラフ・インク書きオシログラフ

三 栄 測 器 株 式 会 社

本 社 東京都新宿区柏木 1~95
TEL. (37) 8114~8115
工 場 東京都武蔵野市吉祥寺 1635
TEL. 武蔵野 (022) 3265・4941・7825

二現象生体電気現象用
万能観測装置

ニチャンネル刺戟装置



出力電圧：矩形波正及び負 0~100V

矩形波発生回路及び Isolator 各 2 回路

矩形波特性：Puls Width∞, 1000, 100, 10, 0.1msec. 6 段切換及び微調

Duraton ∞, 1000, 100, 10, 1msec. 5 段切換及び微調

Freq 1, 10, 100, 1000 10000c/s

出力電圧：最大 100V (P-P)



東 京 電 気 精 機 株 式 会 社

東京都千代田区神田仲町2の11
電話 神田 (25) 代表 9186~9188

グリセロール処理筋のアデノシン三リン酸

短縮とアンモニア生成 612.741.15-083

Ammonia Formation from Adenosinetriphosphate during Contraction
and Relaxation of the Glycerol Treated Muscle Fibers.

古 江 生 子 (FURUE-Ikuko)*

1. 序 論

1939年のEngelhardt¹⁾によるミオシンATP*分解酵素(ATPaseと略記)の発見,及びこれに続くSzent-Györgyi²⁾のアクトマイオシン・ゲルのATP短縮の実験以来,生筋の収縮の機構をその分子的レベルにおいて,追究するという,劃期的な段階に入った.しかしながら,アクトミオシン系を中心とする分子的事象と,生筋の収縮の様な巨視的事象との間に,少なからざる間隙が存在することは,何人も否定し得ない事実であった.例えば,高等動物の進化した骨格筋では,筋原線維のレベルにおいてすら,筋蛋白は複雑な構造と生化学反応とを持つ.

ここにおいて,高等動物の骨格筋の研究が単なる,アクトミオシン溶液の研究にとどまらず,Szent-Györgyi²⁾以来いわゆるグリセロール処理筋線維,または新鮮筋原線維の研究が化学反応と力学効果の関係を追究するためにおこなわれてきたのであるが,homogenizerによって製作した新鮮筋標本はその1つ1つが短く切断されており,短縮等の力学効果を定量的に測定することが,困難であり,特に生筋の如く負荷のもとに弛緩を観察することは技術的に全く不可能であった.ここで著者は,筋原線維の構造をもち,短縮弛緩を定量的に測定できるだけでなく,その化学反応を追究することの便利なグリセロール処理筋を,抽出操作が長期間を要するにもかかわらず,実験に使用することにした.特に著者は,グリセロール処理筋よりとっ

た筋線維の可なり量を試験管内に浮遊させ,その力学的効果を観察しつつ,同時に化学分析を行うという方法が目的に便利であることを見出し,主としてこの方法で実験をすすめた.

さて現在の段階において,グリセロール処理筋の短縮と弛緩の機作すら,十分に明らかでなく,多くの問題が残されていることが指摘されなければならない.同時に少なくともグリセロール処理筋に関する限り,従来の研究のすべてが磷酸代謝または二価イオンの作用等に集中され,著者が本研究の主題としたような,アンモニア代謝については,ほとんど全く等閑に附せられてきた事実も亦,ここに指摘されなければならない.

一方,アクトミオシンATP反応の発見以前にさかのぼって考慮してみると,Schmidt³⁾は兎等の骨格筋の構造蛋白質が,5-アデニール酸を脱アミノして,イノシン酸を生成することを見出し,かつ,この構造蛋白にふくまれる酵素の活性は,機能的に進化した骨格筋において,特に強いこと,ならびに骨格筋の活動に伴い,この酵素によって,アデノシンが脱アミノされ,生筋内のアンモニアが増量することなどを報告している.しかしながら,主として,生化学的な事実から,このアンモニア生成が生筋の収縮をおこさせる条件ではないと全く否定される運命を辿った.

1947年になって,Kalckar⁴⁾は,兎の骨格筋におけるアデノシン磷酸のアミノ基は可逆的に,かつ急速に脱アミノされることを報告し,1948年には,Ravikovitchその他⁵⁾が,ATPはミオシンにより脱アミノされることも報告した.1952年Engelhardt⁶⁾は,筋におけるアデ

* ATP=アデノシン三リン酸

* 慶応義塾大学医学部生理学教室
(昭和32年12月20日受付)

ニール酸の脱アミノ作用を、TCA サイクルの回転の調節と関係するものと見做す仮説を提出した。

以上の一般的傾向を反映して、グリセロール処理筋における化学反応と力学効果の関係を追究する多数の実験があるにもかかわらず、アデニール酸脱アミノ反応と力学的関係を検討した研究は皆無であることを著者は注目せざるを得なかった。

したがって、著者の実験は、グリセロール処理筋の ATP 反応に際しておきる、脱リン酸及び脱アミノ反応と、グリセロール処理筋の力学効果とを対応させて、脱アミノ反応が筋収縮に如何なる生理学的意義があるかを解明する1つの道を拓こうとしたものであった。

II. 実験方法

A) グリセロール処理筋の製法

グリセロール処理筋は Szent-Györgyi⁷⁾の方法により、ウサギの *M. psoas* から作製した。しかしながら、処理筋の性質は、保存期間、保存温度等に左右されるので、種々の考慮を払った。即ち、主な標本は、2週間あるいはそれ以上 -20°C の deep freezer 内に保存したのちを使用した。

一方、低温保存期間の極めて短い処理筋線維、及び8カ月にわたる長期間低温保存の処理筋線維、或いはそれらの homogenate を Potter 型の glass-homogenizer でつくり、これを使用して、参考とした。

B) 反応条件及び短縮の観察

特別に附記しない限り、グリセロール処理筋線維の多数の小束を含む試験管の中で、反応を進行させた。この実験では、貯蔵線維を 0°C の 160mM KCl 溶液の中に30分間浸すことによって、グリセロールを洗い落した。さらに線維を直径 $0.2\sim 0.5\text{mm}$ 長さ $0.5\sim 1.0\text{cm}$ の線維小束にピンセットで細分した。実験に際しては、それらの小束の一定量を 160mM KCl 溶液に懸濁させた。

この際、試験管内のグリセロール処理筋の短

縮の有無は、肉眼で観察して記録した。又同一条件で筋線維の短縮を、等張性槓杆を用いて、キモグラフィオンの煤紙上に記録した。

また、必要により、グリセロール処理筋の homogenate を用いて、同じように実験を行った。

低温室内に保存しておいた $\text{ATP} \cdot 2\text{Na} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (Crystalline Sigma) 又は 5-アデニール酸 (AMP と略記) (Schwarz Laboratrie) は使用前、苛性ソーダ中性塩の形にして、基質に用いた。自家製 ATP を用いた少数の例ではその旨附記した。実験を通じて、一定の pH (多くは $\text{pH} 6.8$) に反応液を保つために、アデニール酸塩溶液の pH を調節し、その緩衝能を利用した。

反応温度は室温近傍の一定温度、又は 37°C を用いた。反応を終結させるために、一定量の冷 10% 過塩素酸 (NH_3 測定の場合には 10% 三塩素醋酸) を使用し、その最終濃度は 3% 以上とした。

C) 化学的測定法

無機リンは、Bendall⁸⁾ に準じ、Allen⁹⁾ の方法により測定した。 NH_3 の分析には Conway¹⁰⁾ の微量拡散法を用いた。

光学的測定には Beckman 型の分光光度計を用いた。アデニール酸とイノシン酸のモル比の計算は、 A_{240} 、 A_{250} 、 A_{265} の3点に注目し、Kalckar¹¹⁾ の理論に従って之を行った。

III. グリセロール処理筋 ATP 反応によるアンモニアの生成

A) ATP とグリセロール処理筋線維との反応

ATP とグリセロール処理筋線維の反応に際し、脱リン酸の進行することは当然であるが、この際、脱アミノによるアンモニア生成がおこなわれるか、否か或いはどの程度のアンモニア生成が進行するか、という問題について、まず検討した。即ち、ここに示した第1表 (A), (B), (C) はグリセロール処理筋線維に ATP を加え、その結果生ずる無機リンとアンモニアの生成の状態を逐次的にしらべたものである。

(A) の実験条件は、 4mM の MgCl_2 を含む 160mM KCl 溶液の中に、112日間抽出したグ

Table 1. (A)

Glycerol treated muscle fibers: 120mg wet weight of the fibers in 1ml of reaction mixture. (stored for 112 days.)

Produced P or N	4min.	8min.	16min.
P (mM)	1.7	2.4	5.1
N (mM)	0.4	0.7	1.8
P : N ratio	4.3	3.4	2.8

ATP : 5 mM, MgCl₂ : 4 mM, KCl : 160 mM,
Incubation temperature : 23.0°C, Initial pH : 6.8.

Table 1. (B)

Glycerol treated muscle fibers: 100mg wet weight of the fibers in 1ml of reaction mixture. (stored for 120 days.)

Produced P or N	5min.	15min.
P (mM)	3.0	5.8
N (mM)	0.3	1.5
P : N ratio	10.0	3.9

ATP : 5 mM, MgCl₂ : 4 mM, KCl : 160 mM,
Incubation temperature : 23.0°C, Initial pH : 6.8.

Table 1. (C)

Glycerol treated muscle fibers: 150mg wet weight in 1ml of reaction mixture. (stored for 6 days.)

Produced P or N	with CaCl ₂			without CaCl ₂		
	2min.	4min.	8min.	2min.	4min.	8min.
P (mM)	4.2	6.1	7.4	4.6	5.3	8.8
N (mM)	0.7	1.0	1.9	0.5	0.8	2.1
P : N ratio	6.0	6.1	3.9	9.2	6.6	4.2

ATP : 10 mM. (prepared in our laboratory.)
MgCl₂ : 7.5 mM with or without CaCl₂ 3.7 mM,
KCl : 160 mM, Incubation temperature : 22°C,
Initial pH : 6.8.

リセロール処理筋線維を、120mg/mlの割に懸濁させ、これにATPを5mM加えて、4分、8分、16分間におけるそれぞれの無機磷及び、アンモニア生成の比をみた。反応温度は23.0°Cである。その結果は、表に示すように、無機磷は4分間で1.7mM、8分間で2.4mM、16分間で5.1mM、アンモニアは4分間で0.4mM、8分間で0.7mM、16分間で1.8mMの生成をみた。

このようにグリセロール処理筋にATPを加えると無機磷を発生するだけでなく、かなりのモル数に達し得るアンモニアを生成する。生成した無機磷とアンモニアのモル比は表に示されている。

第1表(B)は、別の標本のグリセロール処理筋線維で、(A)と同様な実験を行ったものであるが、その成績は、(A)の成績と同じく、無機磷及びアンモニアの生成を示している。

Table 2. (A)

Glycerol treated muscle emulsion: 15mg wet weight in 1ml of reaction mixture (stored for 9 days.)

Produced P or N	with CaCl ₂			without CaCl ₂		
	1min.	3min.	10min.	1min.	3min.	10min.
P (mM)	1.0	2.3	3.0	0.8	1.9	2.6
N (mM)	0.03	0.8	1.4	0.06	0.8	1.2
P : N ratio	33.3	2.9	2.2	13.3	2.4	2.2

ATP : 4 mM. (prepared in our laboratory.) MgCl₂ : 4 mM with or without CaCl₂ 2 mM, KCl : 160 mM.
Incubation temperature : 37.0°C, Initial pH : 6.8.

第1表(C)は、Caイオンの影響を示したものである。この実験ではCaイオンの有無による大きな差はなかった。

第2表(A)は、グリセロール処理筋のhomogenateを用いて、第1表(C)と略々同様な実験を行ったものであるが、この成績もやはり同じく、無機磷及びアンモニアの生成を示している。尙homogenateを用いた場合は、筋線維をそのまま用いた場合よりも、無機磷及びアンモニアの生成が大きい。

以上の事実から、グリセロール処理筋線維、又はそのhomogenateに、ATPを基質として加えた場合、無機磷と可成りのアンモニアが生成されることを結論できる。この際発生する無機磷とアンモニアとのモル比(P/N比と略記)は、反応の初期には大きく、反応が進むに従って小さくなる傾向を示している。

即ち、以上の実験事実により、グリセロール処理筋は与えられたATPを脱磷酸するとともに、かなり速やかにアンモニアを生成するという事、並びに、この無機磷及びアンモニアの生成は、長期間抽出の筋線維においても、ほとんど同じく急速に進行することが確認された。

B) グリセロール処理筋に対するATP及びAMPの脱アミノ反応の比較

ここにおいて、考えられることは、ATPの脱磷酸によって生ずるADPが、ミオキナーゼの作用を受け、AMPを生成し、それがSchmidt³⁾の酵素によって脱アミノをうけるという経路が主要な反応であるということである。したがって次に、AMPを基質とした場合の脱アミノ反応をATPを基質とした場合のそれと比較する必要がある。

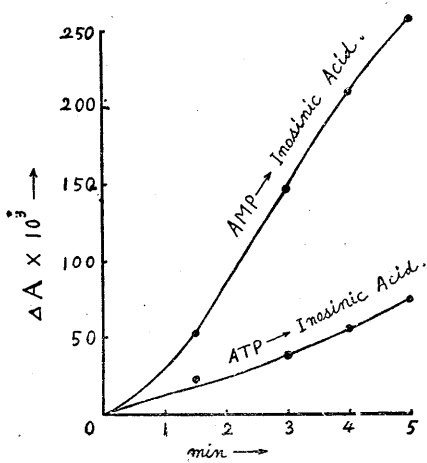


Fig. 1.

Glycerol treated muscle fibers; 100mg wet weight of the fibers in 1ml of reaction mixture. (stored for 30 days.)

ATP: 4mM, AMP: 4mM, MgCl₂: 5mM, KCl: 160mM, Incubation temperature: 22.0°C, Initial pH: 6.3.

第1図はその両者を光学的測定によって比較検討したものである。

即ち、5mMのMgCl₂を含む160mM KCl溶液中に、30日間抽出したグリセロール処理筋線維を100mg/mlの割合に懸濁させ、一方一連の試験管にはATPを、他方一連の試験管にはAMPを、それぞれ4mMずつ加え、1分30秒、3分、4分、5分間における ΔA_{265} の時間変化を調べた。この時の反応温度は22.0°Cであった。その結果は、図に示すように、 $\Delta A_{265} \times 10^3$ の値は、ATPを基質とした場合は1分30秒で23、3分で39、4分で55、5分で75であって、AMPを基質とした場合は1分30秒で52、3分で146、4分で210、5分で247であった。即ち前者より後者の場合が遙かに速やかに脱アミノ反応がみられた。この場合は、ATPにおいても又AMPにおいても、一定時間後にはアデノシンのスペクトルがイノシンのスペクトルに移行するのを、すでに著者¹²⁾らは報告している。

以上の事実にもとづき、グリセロール筋によるAMPの脱アミノ反応は、ATPのそれより、より急速に進行す

るといことが確かめられた。即ち、ATPを基質とした場合、ミオキナーゼによって生成したAMPが筋原線維によって分解されるとみなすことと、上記の成績とは符合するものである。

C) ATPの脱リン酸及び脱アミノに対する温度の影響

次の問題は、ATPによる、グリセロール処理筋の短縮、並びに弛緩に際して、脱リン酸及び脱アミノ反応の進行を定量的に観察することである。かかる実験条件の最も簡単なものとして、温度の影響が注目されよう。即ちVarga¹³⁾は15°Cにおいて、グリセロール処理筋にATPを加えると、短縮を起し、反応温度を0°Cの低温にかえると、短縮したグリセロール処理筋が弛緩をきたすことを発見している。

著者は、ほぼVarga¹³⁾の実験条件における短縮及び弛緩に際して、発生する無機リン酸とアンモニアについて、測定した。

第2図の実験条件は、4mMのMgCl₂を含む160mM KCl溶液の中に、112日間抽出したグリセロール処理筋線維を120mg/mlの割合に懸濁させ、一連の試験管の反応温度を23.0°Cにして、筋線維を短縮させ、他方一連の試験管の反応条件を0°Cにして筋線維に短縮をおこさせない条件、あるいは、負荷があれば弛緩する条件にし、それぞれ4分、8分、16分間における無機リン酸とアンモニアの量を測定した。

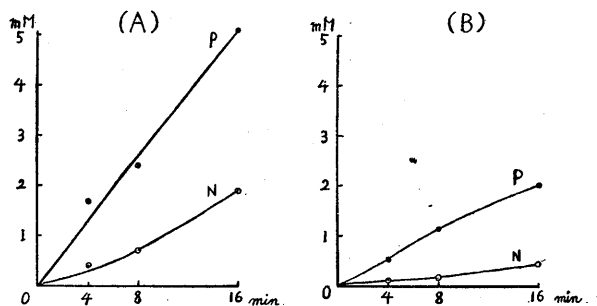


Fig. 2.

Glycerol treated muscle fibers: 120mg wet weight of the fibers in 1ml of reaction mixture. (stored for 112 days.)

ATP: 5mM, MgCl₂: 4mM, KCl: 160mM, pH: 6.8. (A): Incubation temperature 23.0°C (where contraction of the fiber occurs.), (B): Incubation temperature 0.0°C (where relaxation of the fiber occurs.)

結果は第2図にみられるように、短縮条件では、無機磷の生成は、4分で $1.7mM$ 、8分で $2.4mM$ 、16分で $5.1mM$ で、弛緩条件（無短縮条件）では、4分で $0.5mM$ 、8分で $1.1mM$ 、16分で $2.0mM$ であった。またアンモニアの生成は、短縮条件では4分で $0.4mM$ 、8分で $0.7mM$ 、16分で $1.8mM$ であるのに、弛緩条件では4分で $0.05mM$ 、8分で $0.1mM$ 、16分で $0.4mM$ であった。

即ち、無機磷もアンモニアの生成も共に、弛緩時より短縮時において遙かに大きい。然し P/N 比をとれば、短縮時は4分4.2、8分3.4、16分2.8で、弛緩時は、4分10、8分11、16分5で、逆に弛緩時に大きい。

以上の成績は、低温時においても、無機磷発生がみられる限り、アンモニアの発生が観察されたことを示し、かつ P/N 比は室温より低温で大きい。

D) 脱燐酸及び脱アミノに対する EDTA 並びに 2 価イオンの影響

次いで著者は、温度変化につぐ、極めて単純な短縮、弛緩の条件として、Ethylen-diamino-tetra-acetic acid (EDTA と略記) 及び 2 価イオンの影響下におけるグリセロール処理筋の短縮と弛緩の関係を検討した。即ち、Watanabe¹⁴⁾ は、EDTA、 $MgCl_2$ 存在下においてグリセロール処理筋に ATP を加えると、弛緩をきたし、更に $CaCl_2$ を加えると短縮をきたすことを報告している。

著者は、この際の短縮及び弛緩における無機磷とアンモニア発生について、比較検討した。

第3図 (A) は $5mM$ の EDTA 並びに $5mM$ の $MgCl_2$ 、更に $3mM$ の $CaCl_2$ を含む $160mM$ KCl 溶液に、17日間抽出したグリセロール処理筋線維を $120mg/ml$ の割合に懸濁させ、それに $5mM$ の ATP を加えて短縮をおこさせたもので、(B) は $CaCl_2$ を加えず弛緩条件においたものである。

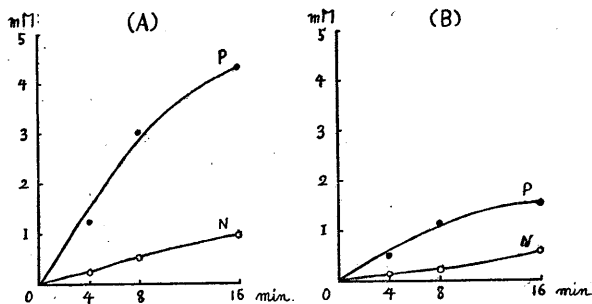


Fig. 3.

Glycerol treated muscle fibers: $120mg$ wet weight of the fibers in $1ml$ of reaction mixture. (stored for 17 days.)
ATP: $5mM$, EDTA: $5mM$, $MgCl_2$: $5mM$, $CaCl_2$: $3mM$,
KCl: $160mM$, Incubation temperature: $23.0^\circ C$, pH: 6.8.
(A): with $CaCl_2$ (where contraction can occur),
(B): without $CaCl_2$ (where relaxation can occur.)

(A) の短縮条件では無機磷の生成は、4分で $1.2mM$ 、8分で $3.0mM$ 、16分で $4.3mM$ で、(B) の弛緩条件では、4分で $0.5mM$ 、8分で $1.1mM$ 、16分で $1.5mM$ であった。又アンモニアの生成は、短縮条件では4分で $0.2mM$ 、8分で $0.5mM$ 、16分で $0.9mM$ であって、弛緩条件では4分で $0.1mM$ 、8分で $0.2mM$ 、16分で $0.6mM$ であった。

即ち、無機磷もアンモニアの生成も共に、短縮時が弛緩時より遙かに大きい。又 P/N 比をとれば、短縮時は4分6.0、8分6.0、16分4.8で、弛緩時は4分5.0、8分5.5、16分3.0で短縮時に大きい。

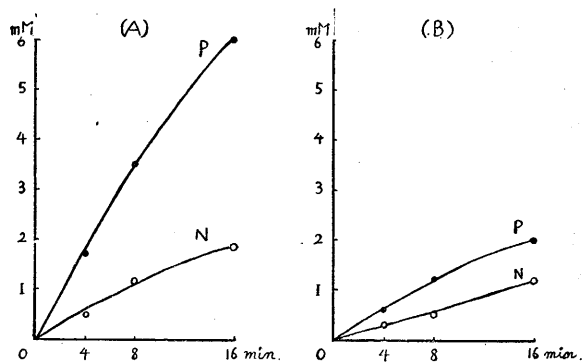


Fig. 4.

Glycerol treated muscle fibers: $120mg$ wet weight of the fibers in $1ml$ of reaction mixture. (stored for 1 days.)
ATP: $5mM$, EDTA: $5mM$, $MgCl_2$: $5mM$, $CaCl_2$: $3mM$,
KCl: $160mM$, Incubation temperature: $23.0^\circ C$, pH: 6.8.
(A): with $CaCl_2$ (where contraction can occur.)
(B): without $CaCl_2$ (where relaxation can occur.)

第4図(A)・及び(B)は、短期間(1日間)抽出のグリセロール処理筋を用いて、第3図と同様な実験を行ったものであるが、やはり同様な結果を得た。

即ち、EDTA, $MgCl_2$, $CaCl_2$ の3者の単純な組合せによって得られるグリセロール処理筋の短縮及び弛緩条件において、いずれも脱磷酸に伴うアンモニア生成をみることに、またこの場合においてはP/N比は短縮条件において大きいことをみた。

E) 小括

すでに述べてきた一連の実験によって、グリセロール処理筋という、特殊な抽出操作を経た筋線維において、ATPを基質としてアンモニアが生成されることが示され、長期間の抽出によっても、この反応が障害されないことが明らかになった。

しかしながら、アンモニアの生成がグリセロール処理筋の伸縮に対応するかどうかは、若干の示唆が上述の実験から示されているとは云え、更に次の実験を必要とするものであろう。

IV. グリセロール処理筋の伸縮とアンモニア生成

ATPaseの活性が大きければ、グリセロール処理筋は短縮し、その活性が阻害されれば、グリセロール処理筋が弛緩することは、すでにVarga¹³⁾, Weber及びPortzehl¹⁵⁾によって殆んど確立されている。しかしATPaseはグリセロール処理筋の伸縮を左右する因子として、第一義的な重要性をもつものではあるが、アンモニア生成系は、グリセロール処理筋の伸縮に対して、全く無関係な存在と切り切る根拠はなから提出されていない。むしろBendall¹⁶⁾がミオキナーゼ一著者の実験におけるアンモニア生成に関係すると思われる酵素一に弛緩作用を見出していることが、この際注目されるのである。

したがって、アンモニア生成反応とグリセロール処理筋の伸縮の関係に関し、ここに解析の第1歩をすすめることとした。

A) 実験条件

この目的のために、ATPaseを修飾する既

知の実験の他に、アンモニア生成反応を修飾する条件をつくり、後者の反応とグリセロール処理筋の伸縮との関係を追求することが、その一手段であらう。

この際、上述の成績からも予想される事は、EDTAの存在下に、 $MgCl_2$ を種々の濃度に加えてゆけば、ミオキナーゼの活性度をかなりに修飾し得るということである。このMgイオンの濃度の変化、並びにCaイオンの有意によりATPaseの活性度も亦修飾し得ることが予想される。

即ち、このような実験においては、1) 無機磷の生成、2) アンモニアの生成、3) グリセロール処理筋の伸縮の3者の関係を詳細に比較しうる条件をつくるのが可能となる。

B) 実験成績

第3表は100mg/mlのグリセロール処理筋、5mMのEDTAの存在下において、 $MgCl_2$ の濃度を種々に変化させた成績を示した。即ち、1) $MgCl_2$ を加えないもの、2) 微量(0.5mM)を加えたもの、3) 大量(5.0mM)を加えたもの、4) 更にこれに2.5mMの $CaCl_2$ を加えたもの、と条件を異にする4種の溶液をつくり、これらにATPを5mMずつ加えて、その伸縮の状況と、無機磷及びアンモニアの生成量を比較検討した。反応温度は23.0°C、反応時間は15分間である。筋線維短縮の状況は、肉眼で観察する一方、より精細を知る為に、同一条件のもとで、等張性楯杆を用いてキモグラフィオンの煤紙上

Table 3.
Glycerol treated muscle fibers: 100mg wet weight in 1ml of reaction mixture.

Me- chanogram	(1)	(2)	(3)	(4)
	No change	Slow relaxation (with load)	Rapid relaxation (with load)	Rapid shortning (with or without load)
Added ions (mM)	EDTA 5.0	EDTA 5.0 $MgCl_2$ 0.5	EDTA 5.0 $MgCl_2$ 5.0	EDTA 5.0 $MgCl_2$ 5.0 $CaCl_2$ 2.5
P produced (mM)	1.9(±0.2)	2.1(±0.2)	1.4(±0.2)	4.0(±0.5)
N produced (mM)	0.4(±0.2)	0.8(±0.2)	1.0(±0.2)	1.4(±0.2)
P : N ratio	4.7	2.6	1.4	2.9

ATP: 5.0mM, KCl: 160mM, Incubation temperature: 23.0°C, Incubation time: 15minutes. Initial pH: 6.8.

も、生起しうることを示している。

すなわち、このグリセロール処理筋には、ATPase、ミオキナーゼ、及びAMP脱アミノ酵素の3種が存在し、それぞれの酵素活性はかなり高く、ATPの前図のような逐次的多分解を触媒しうるに足ることが推論されるのである。著者ら¹²⁾はすでに240日という長期間のグリセロール抽出によっても、紫外部吸収曲線からみて、ATPが結果的に脱アミノされることを確認している。一方、抽出期間の非常に短いグリセロール処理筋においても第4図に示す様に脱アミノ反応は生起する。

従って、筋の化学的な主反応を追求しようとする限り、脱アミノ反応は無視すべきではないことが強調されよう。

第3表に示した成績では、筋線維のイオン環境条件を変えることによって、ATPの逐次的分解の様相がかなりにかわり得ることが示されている。即ち、EDTAの存在下において、MgイオンあるいはCaイオンの有無は、ATPase及びミオキナーゼの作用を大きく変えうる。従って、ATP、ADP、AMP、IMPの相互比がイオン条件によってかわり得るものと思われる。

即ち討論点は、アンモニア生成がグリセロール処理筋の収縮に影響を与えるか否か、ということであろう。

この関係を表示したのが第3表である。即ちその(3)及び(4)に示されるように無機磷生成の非常に強い場合に短縮が、非常に弱い場合に弛緩が生じていることが第一に注目されると共に、(2)及び(3)に示される様に、無機磷生成に比べてアンモニア生成量が比較的多い場合に弛緩が、多かれ少なかれ、発生している。とくに(1)及び(2)の場合においては、ATPaseはむしろ(2)の方が大きく、しかも(2)に弛緩がみられる。この現象はアンモニア生成系が弛緩を促進するものと考えるとよく符合する。

勿論、ここにMgイオンの関与する特種な未知の現象—たとえばMg磷蛋白複合体のような—が関与するという可能性を除去出来ない。

しかしながら、より簡単な理解は、次の様な

考え方であろう。即ち生成されたAMPが脱アミノ反応によって除去されることは、生成されたADPからATPが再合成される反応を促進すると考えられる。特に、すでにATPが高濃度に存在するところの、グリセロール処理筋の実験のような場合は、ATP再合成反応の進行に対して、AMP除去反応は不可欠であろう。

即ち、ATPaseの活性がひくく、アンモニア生成が比較的つよい様な系においては、ATPの濃度は比較的高く保たれ、そのATPの物理的な弛緩効果によって、グリセロール筋の弛緩がよりおきやすくなるのである。従って、アンモニア生成系は、グリセロール処理筋の弛緩を多かれ少なかれ、促進せしめるはたらきをもつことになる。従って、著者の理解は、ATPaseの作用が筋で第一義的であり、AMP、脱アミノ酵素の作用は二次的な、しかし、筋弛緩を促進する重要な作用をもつということである。

即ち筋収縮において、脱アミノ酵素の機械的効果は、間接的であり、脱アミノ反応は、磷酸代謝を介して、mechanochemical couplingに関与するということである。おそらく、進化した骨格筋に脱アミノ系の特につよく発達しているという現象は、将来この立場から生筋において検討すべき課題を提供しているであろう。

VI. 結 論

1) ウサギのM. psoasのグリセロール処理筋が、ATPを加えることによって短縮する場合、急速な無機磷の発生にともない、かなりの量のアンモニアの発生がみられる。

2) この系は、紫外部吸収曲線からみれば、アデノシン核を脱アミノし、イノシンを生成する。AMPの脱アミノ速度はATPよりも大きい。

3) 温度変化並びに各種のイオン条件において、発生する無機磷及びアンモニアを測定すると共に、それぞれの条件におけるグリセロール処理筋の短縮を記録し、両者の関係を検討した。

4) グリセロール処理筋とATPの反応にお

いて、ATPase が極度に活性化場合に短縮が、極度に不活性化場合に弛緩が観察された。アンモニア生成系は二次的な関係を示した。即ち、脱アミノ反応はグリセロール処理筋の弛緩を促進するものと理解された。

5) 本文の討論にもとづき、高濃度 ATP の存在下における脱アミノ反応 (化学変化) は、グリセロール処理筋の弛緩 (機械的変化) を促進する働きをもつものと解される。

攔筆するに当り、加藤教授の絶えざる御鞭撻と林教授の御指導、御校閲に心からの感謝を捧げる。又岡本助教授の御指導、岡本歌子助手の御援助に対し篤き謝意を表す。

文 献

- 1) Engelhardt, V. A. and M. N. Ljubimova (1939) *Nature* **144**, 668
- 2) Szent-Györgyi, A. (1946) *Chemistry of Muscular Contraction*
- 3) Schmidt, G. (1928) *Z. Physiol. Chem.* **179**, 243 (1932) *ibid.* **208**, 185 (1933) *ibid.* **213**, 191
- 4) Kalckar, H. M. and D. Rittenberg (1947) *J. Biol.*

- Chem.* **170**, 455
- 5) Ravikovich, K. H., M. N. Setkina and K. K. Zeonteva (1948) *Doklady Akad. SSSR.* **60**, 989
- 6) Engelhardt, V. A. (1952) *Special lecture, 2nd Internat. Congr. Biochemistry. Paris.*
- 7) Szent-Györgyi, A. (1949) *Biol. Bull.* **96**, 140
- 8) Bendall, J. R. (1953) *J. Physiol.* **121**, 232
- 9) Allen, R. J. L. (1940) *Biochem. J.* **34**, 858
- 10) Conway, E. J. and R. Cooke (1939) *Biochem. J.* **33**, 479
- 11) Kalckar, H. M. (1947) *J. Biol. Chem.* **167**, 445
- 12) 岡本彰祐・岡本歌子・舛沢郁二・古江生子・石田俊雄 (1957) *日本生理誌* **19**, 892
- 13) Varga, L. (1950) *Enzymol.* **14**, 196
- 14) Watanabe, S. (1955) *Arch. Biochem. and Biophysics* **54**, 559
- 15) Weber, H. H. and H. Portzehl (1954) *Progress in Biophysics* **4**, 60
- 16) Bendall, J. B. (1953) *J. Physiol.* **121**, 232
- 17) Hermann, V. Sz. and G. Jasepovits (1949) *Nature* **164**, 845
- 18) Tarver, E. and M. F. Morales (1951) *J. Cell. and Comp. Physiol.* **37**, 235
- 19) Gergely, J. (1951) *Federat. Proc.* **10**, 188
- 20) Webster, H. L. (1953) *Nature* **172**, 453
- 21) Perry, S. V. (1956) *Physiol. Rev.* **36**, 1

Summary

In our preliminary report in 1957, emphasis was placed on the adenylate deamination of the glycerol extracted fibers, which had been neglected in the studies on the extracted fiber-model. The problem in this paper is to explore the possible way of participation of adenylate deamination onto the mechanochemical coupling in the glycerinated fibers.

In the experiments, the chemical changes were measured by the reaction, carried out in the test tube, where the dissected bundles of the glycerinated fibers of rabbits were suspended in a potassium chloride solution of 160mM. The mechanical change of the fibers was observed in the fibers-suspension within the test tube, besides, the exact measurement of mechanical changes of the fibers in a given condition was made with Gohara's isotonic lever.

Results on the shifting of the ultraviolet extinction of ATP or AMP in the fiber-suspension indicated that the deamination of AMP occurred more rapidly than that of ATP. Effects of various ionic conditions as well as effects of temperature changes on the mechano-chemical relationship in the fiber-suspension were examined. These results indicated that ATPase, myokinase and AMP deaminase, in the glycerinated muscle fibers, were active enough to rapidly catalyze the successive breakdowns of ATP. It was noticed that, in the relaxation of the fibers, ATPase is less active, but deamination is rather active, and that, in the contraction of the fibers, ATPase is considerably active, but the deamination is comparatively slow.

It may be reasonable to assume, that the removing of the produced AMP from the system by the deamination favours the synthesis of ATP from the produced ADP, so far as the action of myokinase is concerned. Thus it can be speculated that the relaxing effect of ATP, as it were, may be accentuated, owing to the possible higher concentration of this adenylate, where ATPase is less active, but deamination is rather active.

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

通流電極第3作用と麻酔に就いて 612.816.1

La tria efiko de trafuigaj elektrodoj kaj narkozo

荻野正之 (OGINO-Masayuki)*

I. 緒論

神経及び筋などの興奮性形体に於ける直流電極作用として、従来知られていたのは電気緊張であって、両極附近に起る当該形体の閾値の変化、即ち陰極下のその下降と陽極下のその上昇であった。この電気緊張は細胞限界膜の分極作用自身に因るものであるが、この変化は通流後不変に當まるものではなく、通流が強いか、又は長い時は、鈴木¹⁾²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾のいわゆる通流電極第3作用が効果を及ぼしてくるのである。

通流電極第3作用とは電極下の細胞膜のイオン透過性を変化せしめて、その分極性を変えさせる作用であって、生理学的性質としては通流が長いか、強い時は、陰陽両極下に於いて、閾値が電気緊張下の変化と正反対の方向の変化を示すものである。即ち陰極附近にては閾値上昇(分極性减小)、陽極附近にては下降(分極性増大)を来たすのである。従って長いか又は強い陰極通流に依り、被刺激形体に於いて、興奮伝導は抑制を受け、更に進んでは遂に伝導は遮断せられることが考えられる。実際大倉⁶⁾は陰極通流が興奮伝導の遮断を起すことを実験し、又興奮伝導速度に対しては陰極はこれを减小、陽極は増大せしめることを見た。また佐藤⁷⁾は Pflüger の攣縮法則におけるいわゆる強効果、即ち従来末梢側電極における陽極電気緊張(AET)の成立、又は陰極電気緊張(KET)の消失により、中枢側から伝導され来った興奮が遮断されるとされた効果は、実はそれらの事実に伴って起る block 的現象によることであって、通流陰極第3作用はこの block 的現象を助長し、陽極作用はこれを抑制するとの知見を発表

した。

これらのことを考えると通流電極第3作用は、神経における興奮伝導の速度を減小せしめ遂にはその伝導を遮断するところの、多くの麻酔剤の block 作用に特殊の影響を与えることが考えられる。この麻酔剤の block 作用を最も的確に測定する実験は Verworn, Lucas, Adrian を経て加藤⁸⁾⁹⁾、石川¹⁰⁾等によって用いられた神経の興奮伝導の消滅時間を測定する方法である。私はこの方法によって測った block に対する直流通流第3作用の影響を種々の麻酔剤について観察した。

II. 実験方法

実験材料は、冬眠中のトノサマガエルを16~17°Cの恒温箱中に3~4日間飼育し、その坐骨神経腓腹筋標本を用いた。標本は第1図の如き液体電極箱(詳細は後述)に装置し、室温、水温を可及的16°Cに保ち、実験中の温度の変動は±1°Cとした。標本別出後は約90分の時間を経て、別出操作による神経及び筋の不安定状態の消失したと思われる時から実験を開始した。この神経及び筋の標本別出に当っては、細心の注意を払って神経を引張る事のない様にし、且つ神経上膜に傷をつけぬ様に努め、又分枝せる細小枝は幹より少なくとも5~10mm以上追求して切断し、麻酔剤が傷口より侵入するのを可及的排除すべく努力した。麻酔剤を作用せしめた際に、上膜を損傷したと思われる例にあっては、局部に於ける麻酔剤の急激なる浸入に因ると考えられる類る速かな block を起すのである。実験配線を第1図に示す。図中Aは通流回路、Bは刺激回路、Cは電極箱である。Aなる通流回路の電源E₁は50Vの蓄電池であり、S₁は水銀スイッチを使用し開閉は手動によった。R₁は

* 千葉大学医学部第1生理学教室
〔昭和32年12月21日受付〕

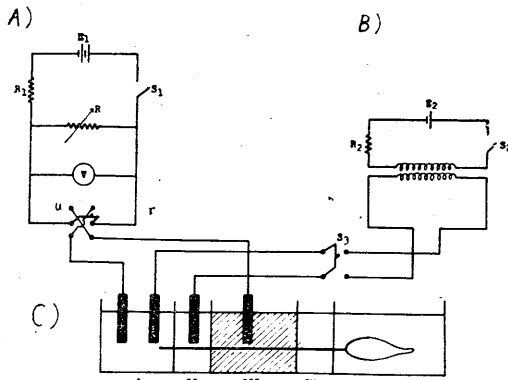


Fig. 1. Eksperimenta cirkvito

100kΩ のラジオ用棒抵抗であり、Rなる可変抵抗器を加変する事により
$$e = \frac{50}{100 \times 10^3 + R} \times R$$
 より 0.05V, 0.1V, 0.2V の直流を流し得る。陽極、陰極の転換の時、及び刺激直前に通流を中断する時は、Uなる切換スイッチを用いた。即ち坂本¹¹⁾の行った刺激直前通流短時中断法によるもので、刺激が終了すれば再び直ちに通流を開始した。通流電極の位置は第1図の如く、第3室の麻醉部と、近心部とに電極を置き、前者を陽極又は陰極として、0.05V, 0.1V, 0.2V の通流を施す。

Bなる刺激装置にては、電源E₂は2Vの蓄電池で、此れより du Bois-Reymond の誘導コイルに連絡し、R₂は10Ωのラジオ用棒抵抗を入れ、S₂を開閉して誘導コイルの単一誘導刺激により、最初閾値を検し、次に eben maximal の刺激を与えて筋の収縮を見た。牧¹²⁾によれば、eben maximal 一丁度極大の刺激においては、電流滑走なくして、即ち刺激電極の陰極から興奮は出発するから実験の正確を期し得るとしている。刺激間隔は30秒とした。通流中はS₃を開放した。

実験開始より、eben maximal の刺激を与えるも筋の収縮を起さなくなる時間を以って興奮伝導の消滅時間とした。消滅時間とは前記諸家⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾によれば、神経の一部分を麻醉等の環境に置き、その進行する途中にて麻醉より近心の点に刺激を与え、その興奮の筋にまで伝って来るか否かを見るに、麻醉期間の始めは少しも

変化しないが、一定の時間後突然筋は攣縮を示さず、その時如何に刺激を大としても無効である。即ち閾値は突然∞となる。この時間を消滅時間という。

Cなる電極箱は隔離により5室に分たれ、セルロイド製で大きさは標本を十分に収容し得る。隔離壁の厚さは約3mmあり、為に第1室と第3室とは10mm以上の距離にある。電極はAg-AgCl 不分解電極を用い、液中の電極の面積は約0.6cm²である。Cなる電極箱は2個を1組とし、同一カエルの左右両側よりの標本を夫々装置し、第3室に麻醉剤を入れ、一側の標本に通流を施し、他方は対照とした。

牧¹³⁾によれば同一ヒキガエル神経の麻醉剤に対する感受性は、個体により多少の差異はあるも、同一生体の左右両側の神経が麻痺するに要する時間、即ち麻醉剤に対する感受性は相等しいと結論している。本実験に於いても基礎実験の第1として数十例の同一カエルの左右両側に就いて同長の神経を麻痺せしめるに要する時間の変動範囲を見たが、0.55~14.6% (%は左右の差が右に対する百分率)の範囲にあり、此の成績はヒキガエルの神経に就いて同様な事実を見た牧¹³⁾の成績(0.60~20.0%)に相似する。

電極箱第3室の麻醉剤に浸した神経の長さは、約15mmである。第3室以外の、第1室(長さ約30mm、突出せる神経の長さは3~5mm)、第2室(長さ約5mm)、第4室(約5mm)、第5室(約45mm)の各室は次の如き組成のRinger液を以て充す。即ちNaCl 0.6%, KCl 0.01%, CaCl₂ 0.01%, NaHCO₃ 0.01%である。

使用せる麻醉剤は、アルカロイドに属するものとしてコカイン、脂肪体に属するものの中からウレタン、抱水クロラル、クロレトンの3種を、イオン除去による麻醉効果の故を以って蒸溜水及び等浸透圧葡萄糖溶液、水素イオンにより神経を麻痺せしめる物質として塩酸をとり上げた。此等の麻醉剤を採用せる所以は、考察の章に於いて詳述する。然して大約30~40分内外にて、対照例の興奮伝導をblockせしめる様な濃度を、各剤の実験至適濃度とした。基礎実

験の第2として算出した実験至適濃度は、コカイン2%、ウレタン2.5%、抱水クロラル3%、クロレトン0.15%、塩酸N/200である。等浸透圧葡萄糖溶液は7.3%の溶液を用い、蒸溜水と共に30~40分の消滅時間という前提条件は無視した。各剤を溶解の基質としては、上述の組成によるRinger液である。

基礎実験の第3として、此れ等麻酔剤によりblockせる実験例の恢復に要する時間も各例に就いて観察した。もとより麻酔作用及び通流作用が可逆的作用であり恢復は可能であるが、blockする時間と恢復時間との間には、統一ある関連性を見出すことは出来なかった。典型的麻酔薬たるコカイン、ウレタン、抱水クロラルは大体相似した恢復の仕方をするが、水素イオン、等浸透圧葡萄糖溶液による麻痺よりの恢復は、blockするに要した時間とは無関係に忽然として恢復する。更に恢復せる後の閾値の追求も、一部の実験に就いて観察してみたが、実験前の閾値迄恢復しない例、或いは実験前よりも低い閾値を示すもの等区々として居り、有意の差は見出し得なかった。然しblock後の此等恢復に関することは、本実験の意図する所ではないので、深くは追求しなかった。

Ⅲ. 実験成績

A. コカインを使用せる実験

前述の如く、麻酔剤中アルカロイド属の代表としてコカイン $C_8H_{13}NO(COC_6H_5) \cdot COOCH_3$ を選んだ。実験至適濃度を予備実験にて求め、2%の値を得た。通流電圧としては、0.05V, 0.1V, 0.2Vの3通りを施した。

1. 陽極(+)通流の影響
成績の1例と全例平均を第

Tab. 1. Anoda efiko sur narkozo per kokaino

Trafluigata potencialo	Maksimuma sojlo ĉe unu kazo	Estingiĝa tempo (ET) ĉe unu kazo	Ŝanĝo de ET ĉe unu kazo	Ŝanĝo de ET Mezvoloro de ĉiuj kazoj
(+) 0.05V	TF 276mm	36m0s	+14.3%	+6.9%
	KF 289	31.30		
0.10V	TF 327	46.30	+52.5	+53.9
	KF 318	30.30		
0.20V	TF 281	46.30	+55.0	+57.8
	KF 276	30.30		

TF: Trafluigata flanko, KF: Kontrola flanko.

1表に示す。基礎実験第1による消滅時間の変動範囲(0.55~14.6%)より見れば、0.05V通流によっては、通流効果は弱いが全実験例に於いて延長の方向にはある。0.1V通流によれば0.05V通流の成績に比較するに、消滅時間の延長の百分率は急速に上昇している。又0.2V通流にては0.1Vよりは少々延長するが、比較的に延びは少ない。

2. 陰極(-)通流の影響

成績の1例と全例平均を第2表に示す。(+)0.05V通流に比して、方向は反対なるも(-)0.05V通流の数値は近似的である。(-)0.1V通流は、(-)0.05V通流に比し短縮の比率は急速に上昇するが、(+)0.1V通流の場合に比すれば少ない。(-)0.2V通流は(-)0.1V通流より見れば一段と効果はあるが、(+)0.2V通流よりも反方向の強さは少々少ない様である。

B. ウレタンを使用せる実験

ウレタン $O=C<\begin{matrix} NH_2 \\ OC_2H_5 \end{matrix}$ はアミノ基 NH_2 を含有する。この麻酔作用に就いては後述する。

Tab. 2. Katoda efiko sur narkozo per kokaino

Trafluigata potencialo	Maksimuma sojlo ĉe unu kazo	Estingiĝa tempo (ET) ĉe unu kazo	Ŝanĝo de ET ĉe unu kazo	Ŝanĝo de ET Mezvoloro de ĉiuj kazoj
(-) 0.05V	TF 255mm	36m0s	-6.3%	-6.9%
	KF 275	39.30		
0.10V	TF 325	23.30	-32.8	-34.8
	KF 326	35.0		
0.20V	TF 287	19.0	-40.6	-43.3
	KF 271	32.0		

Tab. 3. Anoda efiko sur narkozo per uretano

Trafluigata potencialo	Maksimuma sojlo ĉe unu kazo	Estingiga tempo (ET) ĉe unu kazo	Ŝanĝo de ET ĉe unu kazo	Ŝanĝo de ET Mezvoloro de ĉiuj kazoj
(+) 0.05V	TF 301mm	24m30s	+ 6.5%	+ 5.7%
	KF 342	23.0		
0.10V	TF 305	24.30	+22.5	+25.6
	KF 307	20.0		
0.20V	TF 311	27.30	+27.9	+35.4
	KF 302	21.30		

実験至適濃度は2%である。

1. 陽極 (+) 通流の影響

成績の1例と全例平均を第3表に示す。(+) 0.05V 通流にては延長率は僅かではあるが、全例に於いて対照に比較して消滅時間の延長を見る。(+) 0.1V 通流に於いては、コカインの成績に比すれば稍々延長の比率が劣る。然し同種の (+) 0.05V 通流より見れば急速に延びている。(+) 0.2V 通流に就いても同様なことが云える様である。

2. 陰極 (-) 通流の影響

成績の1例と全例平均を第4表に示す。(-) 0.05V 通流の結果は、コカインの (-) 0.05V、及び同種の (+) 0.05V 通流の数値に比して大差はない。通流の効果としては僅微なようである。又 (-) 0.1V 通流に於いては第3表の (+) 0.1V 通流に比し通流効果は

Tab. 4. Katoda efiko sur narkozo per uretano

Trafluigata potencialo	Maksimuma sojlo ĉe unu kazo	Estingiga tempo (ET) ĉe unu kazo	Ŝanĝo de ET ĉe unu kazo	Ŝanĝo de ET Mezvoloro de ĉiuj kazoj
(-) 0.05V	TF 286mm	22m0s	- 8.3%	- 7.8%
	KF 298	24.0		
0.10V	TF 336	28.0	- 25.3	-33.9
	KF 318	37.30		
0.20V	TF 310	14.30	-50.7	-43.8
	KF 318	29.30		

著しいと思える。さらに (-) 0.2V 通流は (+) 通流のそれに比して通流効果は著しいことが明らかである。

C. 抱水クロラールを使用せる実験

抱水クロラール $\begin{matrix} \text{CCl}_3 \\ | \\ \text{H} \end{matrix} > \text{C}$
 $\begin{matrix} \text{OH} \\ | \\ \text{OH} \end{matrix}$ はクロルを含有する。
 クロルの如きハロゲンを含有する脂肪体は、これを含有しないものに比して強大な麻醉作用を有する。メタン系化合物の麻醉作用は全分子の脂質溶解性によるもので、従って麻醉作用は各剤皆同一となるべきものであるが、吸収せられた薬物の一部分は分解されて各剤特殊の元素または元素族を生じて固有の麻醉作用を発揮し、純麻醉作用に一定の変化もしくは色彩を生ずる。このクロルを含有する代表として抱水クロラールを選んだ。実験至適濃度は3%であった。

1. 陽極 (+) 通流の影響

Tab. 5. Anoda efiko sur narkozo per kloralhidrato

Trafluigata potencialo	Maksimuma sojlo ĉe unu kazo	Estingiga tempo (ET) ĉe unu kazo	Ŝanĝo de ET ĉe unu kazo	Ŝanĝo de ET Mezvoloro de ĉiuj kazoj
(+) 0.05V	TF 304mm	38m30s	+ 8.5%	+13.8%
	KF 311	35.30		
0.10V	TF 325	47.0	+32.4	+29.9
	KF 325	35.30		
0.20V	TF 320	50.30	+57.8	+57.5
	KF 338	32.0		

成績の1例と全例平均を第5表に示す。(+) 0.05V 通流の成績はコカイン、ウレタンのそれに比較して延長の比率が稍々大きい。(+) 0.1V 通流に於いてはコカイン程著明ではないが、ウレタンよりは延びている。

(+) 0.2V 通流ではコカインの成績に近似しウレタンよ

Tab. 6. Katoda efiko sur narkozo per kloralhidrato

Trafluigata potencialo	Maksimuma sojlo ĉe unu kazo	Estingiĝa tempo (ET) ĉe unu kazo	Ŝanĝo de ET ĉe unu kazo	Ŝanĝo de ET Mezvoloro de ĉiuj kazoj
(-) 0.05V	TF 314mm	28m0s	-15.1%	-15.4%
	KF 313	33.0		
0.10V	TF 321	22.30	-29.6	-28.4
	KF 323	32.0		
0.20V	TF 327	20.30	-40.5	-38.6
	KF 284	34.30		

りは著明に延長している。

2. 陰極 (-) 通流の影響

実験成績の1例と総例平均を第6表に示す。

(-) 0.05V 通流の成績は前2者の麻醉剤に似た成績である。又 0.1V 通流に於いてはコカイン、ウレタンに比し通流効果が少々劣る様である。

(-) 0.2V 通流の場合も同様な成績である。

D. クロレトンを使用せる実験

クロレトン $\text{CCl}_3 > \text{C} < \frac{\text{OH}}{\text{CH}_3}$ は抱水クロラールと同じくクロルを含有し、脂肪体に属する麻醉剤である。クロレトンには奇現象として知られる麻醉効果がある。即ち此の麻醉に於いては、近心部からの興奮伝導が絶えた後も麻醉部を切断すると筋が収縮を起す興奮を生ずる。本実験に於いては、前3者とは多少異なった成績が出た。前同様に予備実験により、至適濃度は0.15% であ

Tab. 8. Katoda efiko sur narkozo per kloretono

Trafluigata potencialo	Maksimuma sojlo ĉe unu kazo	Estingiĝa tempo (ET) ĉe unu kazo	Ŝanĝo de ET ĉe unu kazo	Ŝanĝo de ET Mezvoloro de ĉiuj kazoj
(-) 0.05V	TF 286mm	32m30s	-21.6%	-22.8
	KF 275	41.30		
0.10V	TF 335	21.30	-30.6	-28.8
	KF 336	31.0		
0.20V	TF 315	25.30	-43.3	-44.4
	KF 335	45.0		

Tab. 7. Anoda efiko sur narkozo per kloretono

Trafluigata potencialo	Maksimuma sojlo ĉe unu kazo	Estingiĝa tempo (ET) ĉe unu kazo	Ŝanĝo de ET ĉe unu kazo	Ŝanĝo de ET Mezvoloro de ĉiuj kazoj
(+) 0.05V	TF 305mm	26m30s	+15.2%	+14.4%
	KF 290	23.0		
0.10V	TF 304	ne estingiĝas dum 120min.	∞	∞
	KF 307	34.30		
0.20V	TF 316	ne estingiĝas dum 120min.	∞	∞
	KF 327	34.30		

った。

1. 陽極 (+) 通流の影響
成績の1例と総例平均を第7表に示す。

(+) 0.05V 通流では前3種の麻醉剤と特に異なる所はない。然し (+) 0.1V 通流によっては実験総数24例中19例は120分の観察中に遂に block せず、5例は 39.5~92.7% の

延長を示して block した。この成績より見るに、0.15% のクロレトンの濃度と 0.1V 通流とは平衡状態に近くなるのではないと思われる。更に (+) 0.2V 通流に於いては、通流を施せる全例が120分間には block せず、対照例が32分30秒から38分の間に block する事実から見るに、陽極通流の下に於ける閾値の下降、細胞膜の透過性減小が麻醉剤の侵襲に打ち勝って、神経の興奮伝導を保つものと考えられる。なお (+) 0.2V 通流で最も長い観察時間は 367 分

あるが遂に block することが無かった1例もある。

2. 陰極 (-) 通流の影響
成績の1例と総例平均を第8表に示す。

前3種の麻醉剤に比較して、通流効果が少々著しいと思われる数値である。しかし (-) 0.1V 及び 0.05V の場合のみで (-) 0.2V 通流の影響

は著明である。

E. 蒸留水を使用せる実験

前述4種の典型的麻醉剤と異なり神経を麻痺せしめる物質として蒸留水を用いた。神経の興奮性及び伝導能を正常に保持するには、必ず一定量のナトリウムイオン (Na⁺) を要する。神経を蒸留水に浸せば、イオンは液中に拡散し神経の興奮性及び伝導能は保ち得ず、刺激に対して応ずる事がなくなる。予備実験によれば蒸留水中に於ける神経は21分より36分の間に block する。勿論此の時間内に室中の蒸留水を新たな蒸留水と交換すれば、頻回に此れを行うほど block を早めることが出来た。然して block した直後に蒸留水を排除し、直ちに Ringer 液と置換すれば再び伝導は可能となる。牧¹²⁾によればヒキガエルの神経に於いては block するのに117分より321分を要するも、Ringer 液置換による伝導回復は同様である。

1. 陽極 (+) 通流の影響

成績の1例と総例平均とを第9表に示す。

(+) 0.05V 通流にては前記4種の麻醉剤と大差はない。
(+) 0.1V 通流にても顕著な変化はないが、0.2V 通流となると、延長率は大きく、(+) 通流の影響が強く現われていると見られる。

Tab. 9. Anoda efiko sur narkozo per distilata akvo

Trafluigata potencialo	Maksimuma sojlo ĉe unu kazo	Estingiĝa tempo (ET) ĉe unu kazo	Ŝanĝo de ET ĉe unu kazo	Ŝanĝo de ET Mezvoloro de ĉiuj kazoj
(+) 0.05V	T F 358mm	40m0s	+11.1%	+11.2%
	K F 345	36.0		
0.10V	T F 319	26.30	+20.4	+20.2
	K F 318	22.0		
0.20V	T F 352	30.0	+66.6	+68.4
	K F 341	18.0		

神経は伝導能を失う。予備実験によれば120分から170分の間に block する。しかして block した直後に空中の葡萄糖溶液を排除し、Ringer 液と置換すれば直ちに伝導能は恢復する。即ち脱イオンによる麻醉である。

1. 陽性 (+) 通流の影響 (第11表)

(+) 0.05V 通流に於いては

Tab. 10. Katoda efiko sur narkozo per distilata akvo

Trafluigata potencialo	Maksimuma sojlo ĉe unu kazo	Estingiĝa tempo (ET) ĉe unu kazo	Ŝanĝo de ET ĉe unu kazo	Ŝanĝo de ET Mezvoloro de ĉiuj kazoj
(-) 0.05V	T F 314mm	24m30s	-12.5%	-13.0%
	K F 292	28.0		
0.10V	T F 304	18.0	-30.8	-34.9
	K F 297	26.0		
0.20V	T F 250	15.30	-36.7	-38.6
	K F 251	24.0		

2. 陰極 (-) 通流の影響

成績の1例と総例平均とを第10表に示す。

(-) 0.05V 通流に於いては、前記4剤と著明な差はない。(+) 0.1V 通流に於いては、(+) 0.1V 通流に比して、通流効果は著明である。然し (-) 0.2V 通流にては前記4剤と相似た成績である。

F. 等浸透圧葡萄糖溶液による実験

カエル神経の等浸透圧葡萄糖溶液は7.3%である。神経の一部を該液に浸せば、神経に吸着している陽イオンは溶液中に拡散し去るために

Tab. 11. Anoda efiko sur narkozo per izotona glukozaj solvaĵoj

Trafluigata potencialo	Maksimuma sojlo ĉe unu kazo	Estingiĝa tempo (ET) ĉe unu kazo	Ŝanĝo de ET ĉe unu kazo	Ŝanĝo de ET Mezvoloro de ĉiuj kazoj
(+) 0.05V	T F 299mm	176m	+16.6%	+11.7%
	K F 304	151		
0.10V	T F 362	210	+40.0	+39.6
	K F 351	150		
0.20V	T F 336	ne estingiĝas dum 240min.	∞	∞
	K F 325	135		

Tab. 12. Katoda efiko sur narkozo per izotona glukoz solvaĵo

Trafluigata potencialo	Maksimuma sojlo ĉe unu kazo	Estingiga tempo (ET) ĉe unu kazo	Ŝanĝo de ET ĉe unu kazo	Ŝanĝo de ET Mezvoloro de ĉiuj kazoj
(-) 0.05V	T F 326mm	97m	-25.4%	-23.3%
	K F 267	130		
0.10V	T F 344	112	-30.0	-39.2
	K F 321	160		
0.20V	T F 324	87	-43.9	-47.6
	K F 316	155		

吸着している陽イオン (例えば Na⁺) を神経から追い出す。故に組織に存在する酵素は陽イオンを失う為組織の機能に必要な化学反応を営む事が出来ず麻痺に陥る。然して水素イオンは極めて強力な麻酔作用を有する。加藤⁹⁾によれば元来水素イオンは細胞膜を容易に透過し得ないものであ

他剤の延長率に比して著明な差はない。然し (+) 0.1V 通流を施すと実験総例24例中3例は240分間 block しなかった。又 block した例に於いても200分前後に於いて block するもあり、消滅時間は相当長い感がある。更に0.2V 通流に於いては24例中4例は平均49.7%の延長を示して

block したが、20例は240分の観察時間中には block せず、これは (+) 0.2V 通流による細胞膜透過性の変化と、拡散によるイオン除去の力とが平衡に近くなると考える。

2. 陰極 (-) 通流の影響 (第12表)

(-) 0.05V 通流に於いては、(+) 0.05V 通流に比し通流効果は強く現われている。

同様に (-) 0.1V 通流に於いても (+) 0.1V 通流とは正反対の方向に著明に通流効果が見られる。(+) 0.2V 通流では block に至る時間が約1/2に短縮せられ、通流効果が極めて顕著と申してもよいと考える。

G. 塩酸を使用せる実験

一般的 (若しくは典型的)

ならざる麻酔剤の1つに水素イオンがある。麻酔学説には多数の説が存し、一説よく麻酔現象を完全に説明し得るものはない。麻酔学説の1つ、吸着説によれば、麻酔剤は先ず組織に吸着して既にこれに

Tab. 13. Anoda efiko sur narkozo per klorida acido

Trafluigata potencialo	Maksimuma sojlo ĉe unu kazo	Estingiga tempo (ET) ĉe unu kazo	Ŝanĝo de ET ĉe unu kazo	Ŝanĝo de ET Mezvoloro de ĉiuj kazoj
(+) 0.05V	T F 327mm	49m30s	+19.3%	+18.6%
	K F 285	41.30		
0.10V	T F 346	51.30	+28.8	+27.0
	K F 337	40.0		
0.20V	T F 319	59.0	+68.5	+61.1
	K F 302	35.0		

るからその神経に作用するに際しても、直ちに興奮要素内に侵入し又は此れに溶解するとは考えられないという。然らば電極第3作用により細胞膜に変化が起れば、水素イオンによる神経麻痺に何等かの変化の起る事が期待し得よう。予備実験による実験至適濃度は $\frac{N}{200}$ である。

1. 陽極 (+) 通流の影響 (第13表)

(+) 0.05V, (+) 0.1V 通流にては、コカイン、ウレタン等に比較して相似た成績であるが、(+) 0.2V 通流にては、(+) 通流の効果は著明である。

Tab. 14. Katoda efiko sur narkozo per klorida acido

Trafluigata potencialo	Maksimuma sojlo ĉe unu kazo	Estingiga tempo (ET) ĉe unu kazo	Ŝanĝo de ET ĉe unu kazo	Ŝanĝo de ET Mezvoloro de ĉiuj kazoj
(-) 0.05V	T F 315mm	27m0s	-14.3%	-15.9%
	K F 298	31.30		
0.10V	T F 347	32.30	-32.2	-31.8
	K F 335	48.0		
0.20V	T F 360	21.30	-52.2	-52.2
	K F 321	45.0		

2. 陰極 (-) 通流の影響

成績の1例と総例平均とを第14表に示す。(+) 通流の場合と、方向は反対なるも、(-) 0.05V の際は稍々弱く、(-) 0.2V では著明な通流効果を見る。

IV. 考 察

本実験は緒論に述べたる如く、通流電極第3作用が麻酔剤等の神経その他における block 作用に対して及ぼす影響を、詳細に検討することを目的としたものである。そもそも通流電極第3作用なるものは、これまた緒論中に概説した如く、神経等に一定の直流電圧を以て通流する際に、その陰陽両電極下の神経部に現われる変化であって、生理学的には電気緊張下と方向全く反対なる閾値変化として現われるものである¹⁾²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾。

すなわち詳しくはそれらの総説³⁾⁴⁾⁵⁾における文献の示す如く、神経その他の生体に直流を永く通電しておくときには、陰陽両極下に見かけの電氣的抵抗の変化が現われ、陰極部にては漸減、陽極部にては漸増を示し、それは前者においては細胞限界膜の弛み、分極性の減小、後者にては膜の固まり、分極性増大によることは Bethe (1920), Ebbecke (1922), Mackhuth (1926) 等により観察され、また一方電気緊張電流の永い時間的経過、また永い別の通流の同電流に及ぼす影響の観察等により、永い通流投与においては神経等の限界膜が陰極下にてはイオン透過性増大して分極性減小し、陽極下にては透過性減小して分極性増大するが如き、物理化学的変化の起ることが、Ebbecke (1931), Hecht (1937), 鈴木 (1933), 三浦 (1947) により、直接電氣的に測定されておった。

神経等の直流通流による電極下の生理学的性質の変化としては、Pflüger (1859) の電気緊張、即ち陰極下の閾値下降、陽極下の閾値上昇が最も有名である。これは両極下における電氣的な分極乃至分極電位自身によって起る現象であるが、これらの閾値変化は通流の時間的経過と共に変化するものである。特に陰極下における

電気緊張としての閾値下降が、通流が永くまた強いときは上昇に移ることは、早くより見られて (Werigo 1883, 1907) 抑圧的陰極作用と名づけられた。しかしそれに対立する陽極下の閾値上昇が下降に移行することは伸々認められ難く、従って抑圧的陰極作用の原因については種々の説がなされたのであった。

然しこの通流が強くまたは永く続くときは、陽極下の閾値も下降するもので Scheminzky¹⁴⁾ (1930) の筋における転極効果、杉 (1936) の筋隔絶実験等にて見られたが、鈴木¹¹⁾の教室にて坂本¹¹⁾、安藤¹⁵⁾等によるいわゆる中断法が確立されて、神経、筋等における通流に際し、最初電気緊張的变化を示した両極下の閾値は後に、両極下ともそれと反方向の変化を示すことが確認された。Scheminzky¹⁴⁾も陰陽両極における興奮性のそれぞれ減小及び増大を、それぞれの極下の筋限界膜透過性の上昇及び低下に帰しているが、鈴木¹¹⁾²⁾はこの閾値変化を上述の物理化学的変化と比較し、同一現象の生理学的現われなることを主張した。そして分極作用、刺激作用を通流電極の現わすそれぞれ第1、第2の作用として、この神経膜の分極性変化、閾値変化を来たす作用を、通流電極の第3作用と名づけ、その教室においては神経、筋、皮膚等の種々の生理学的及び物理学的性質に対する、同作用の影響が検討されたのであった³⁾⁴⁾⁵⁾。上述の如く永い通流において陰極抑圧作用のみ見られて、それに対立する陽極における閾値下降の見られなかったのは、従来の閾値測定が坂本¹¹⁾、安藤¹⁵⁾のいわゆる重合法にて観察されたためであって、重合法では通流の存在の下で刺激が行なわれるため、分極電位が閾値変化を隠蔽するのである。その隠蔽が陰極下にては分極性低下のため漸減乃至消失するが、陽極下にては分極性増大のため隠蔽が持続乃至増大して、閾値上昇が続くが如く見える。即ち従来第3作用に相当する閾値変化が陽極下にて見られなかったのも、第3作用の分極性変化のためであったのであり、中断法にて通流を中断して閾値を測定すれば、明らかに証明し得るのである (宮田¹⁶⁾、

鈴木⁴⁾⁵⁾).

かくの如く通流電極第3作用は、陰極部分の神経限界膜の透過性を高めて分極性を減じ、閾値を上昇せしめ、陽極部分の透過性を低下せしめて分極性を増大せしめ、閾値を下降せしめるものである。従って興奮伝導速度は陰極下で減小し陽極下で増大し、はなはだしくは陰極下で伝導 block の起ることが考えられるが、大倉⁶⁾は全くその通り起ることを見ている。又佐藤⁷⁾は Pflüger の攣縮法則の弱、中、強各段階の電流強度閾に対する通流電極第3作用を検し、その強効果、即ち従来末梢側電極における刺激電流による陽極電気緊張 (AET) の成立、または陰極電気緊張 (KET) の消失により、中枢側電極より伝導し来る興奮を遮断する効果に対する第3作用の影響を見た。それによるとこの遮断は AET の成立、または KET の消失という、一定の陽性分極の成生そのことによるのではなく、この分極現象に伴ってある block 的現象が起り、それが一定程度に達することによることが明かとなり、通流陽極第3作用は透過性低下によりこの block 的現象の進展を抑制し、陰極第3作用は透過性を上昇せしめることにより、その現象進展を助長することが見られた。かくの如く通流電極第3作用が神経興奮伝導の block 現象に影響を及ぼすならば、block を最も端的に示す麻酔剤の作用に対していかなる影響があるかを見んとしてなされたのが本実験である。

そもそも麻酔という概念は定義づけられてはいるが、麻酔を起す機序を説明する学説は十指を屈する程あっても、完全に説明し得て無欠なるものはない。只幾つかの説の長をとって膜説によって説明されている。麻酔剤の分類法も種々であるが、茲には比較的一般に使用せられていられると思われる分類による。

大別して一般的 (又は典型的) 麻酔剤と特殊麻酔剤とした。一般的麻酔剤とは、1) 脂肪体に属するもの……エーテル、クロロホルム、アルコール、ウレタン、抱水クロラル等、2) アルカロイドに属するもの……モルフィン、コカイン等で、此等の外に1系統には統一し得な

いが麻酔作用を有するものとして無水炭酸、酸化マグネシア、アンモニア及び水素イオンがあり、更に生体細胞に対して低浸透圧の蒸溜水も亦神経細胞を麻痺の状態に導くことが出来る。

此等一般麻酔剤に対して特殊麻酔剤としてクラーレがあり、此れは普通の濃度に於いては運動神経終板のみを選択的に麻痺させる。尙広義に解釈すれば、催眠薬や鎮痛薬も一種の麻酔剤といえる。

此等の中から私は従来の実験に比較的多数に使用された典型的麻酔剤として、アルカロイドに属する薬剤の代表としてコカインを、脂肪体に属するものの中からウレタン、抱水クロラル、クロレトンを、一般的ならざる麻酔剤として、イオン除去による麻酔効果のある蒸溜水、等浸透圧葡萄糖溶液を、水素イオンの作用による麻酔効果のある塩酸を採用した。

第1表より第6表に示されるコカイン、ウレタン、抱水クロラル及び第9表より第10表に示される蒸溜水、又第13表より第14表に見られる $\frac{N}{200}$ 塩酸にあっては、程度の差は多少あるが、いずれも陽極通流にては消滅時間は延長し、陰極通流にては消滅時間は短縮するのが見られた。

クロレトンに於いては、陽極通流 0.1V, 0.2V の強電圧の作用により、0.15% の濃度に拮抗して永きは6時間以上に及ぶ観察時間中に block しなかった。同様なことは、いずれも個体差の範囲にて等浸透圧葡萄糖溶液にても見られた。この際対照例は凡て多少の時間のずれはあっても完全に block したことより見れば、陽極通流により麻酔剤の作用侵襲が打ち勝たれ、神経の興奮性、伝導能が保たれるものと考えられる。又何れの場合の各例に於いても、陰極通流例にては、対照例に比して確実に且つ速かに block して全く例外がない。尙 (+) 0.2V の如き強い電圧にて通流を行えば抱水クロラル、クロレトン、蒸溜水、等浸透圧葡萄糖溶液、 $\frac{N}{200}$ 塩酸等の成績の如く (+) 0.1V 以下の弱い通流よりも通流効果は著明に発現する。

これらの成績を通覧すれば、麻酔剤の作用に

対する通流電極第3作用の影響として、一般に陽極通流にてはすべての麻醉剤の消滅時間が延長し、陰極通流にては短縮する事が見られる。殊にクロレトン、等浸透圧葡萄糖溶液にては通流陽極作用が強力に働き、長時間においても消滅を来さずして麻醉が起らなかった。即ち陽極作用はすべての麻醉剤の麻醉作用と拮抗し、陰極作用はこれを助長するのを見るのである。

麻醉剤の麻醉の本態については上に述べた如く種々の説がある。しかしその本態が吸着によるにしても、いわゆる透過性変化によるにしても、神経伝導の麻醉による消滅ということは、神経の各部分がそれに先立つ興奮により刺激されて興奮し、それが次の部位を刺激するという事柄による神経の興奮伝導が中絶することである。また麻醉部位を直接刺激するときは、その閾値は漸次上昇して遂に上述の消滅が起るのである。これらのことを考えれば麻醉の本態がいずれにせよ、神経各部の刺激による興奮が漸次起り難くなり、遂に全く起らざるに至って消滅時間が来るに他ならない。すべての刺激興奮の本原は電気的变化であり、電気刺激の本態は一定の陰性分極の成生にあることは現代生理学の常識であるから、閾値の上昇、興奮の起り難くなる事柄の根元を分極性の減小に求めることは正しいといわねばならない。従って麻醉による神経の伝導 block の原因を、神経限界膜の分極性減小、本論文における透過性即ちイオン透過性の増大に求めることは決して無理ではないのである。本実験に先だつ大倉⁶⁾の神経興奮伝導に対する、また佐藤⁷⁾の攣縮法則強効果に対する通流電極第3作用の実験結果も、かく考察することによって正しく理解されるのである。

かくの如く神経興奮伝導の麻醉による block の原因を、神経膜のイオン透過性増大、分極性減小によると見るとき、通流第3作用の陽極は透過性減小、分極性増大により、麻醉を抑制して消滅時間を延長し、またその陰極は透過性増大、分極性減小により、麻醉を助長して消滅時間を短縮することは、当然な結果といわねばならない。麻醉剤の種類の如何に拘らず、通流第

3作用の陰陽両極ともに、同様の影響を与えることは、各麻醉剤における麻醉の本態が何にせよ、神経伝導 block の直接原因としては膜のイオン透過性、分極性変化が作用していることを物語るものである。又クロレトン、等浸透圧葡萄糖溶液にあっては、この透過性、分極性に対する作用が他の麻醉剤よりも強度小なるため、他の薬剤にては消滅時間を延長するに当まった強さの通流陽極第3作用も、それに対抗して永く伝導保持を可能にしたものであろう。

V. 総 括

1) 神経の興奮伝導に対する、及び攣縮法則における強電流の block 効果に対する通流電極第3作用の影響よりヒントを受けて、麻醉剤の神経伝導 block 作用に対する電極作用の影響を実験した。

2) 麻醉剤としてはコカイン、ウレタン、抱水クロラル、クロレトン、蒸溜水、等浸透圧葡萄糖溶液、塩酸の消滅時間に対して、麻醉部位における 0.05, 0.1 及び 0.2V の陰陽両極通流作用がいかに影響するかを、通流を施さざる対照標本に比較して観察した。

3) すべての麻醉剤の消滅時間に対し、通流第3作用の陽極は延長、陰極は短縮の効果を示し、殊にクロレトン及び等浸透圧葡萄糖溶液に対して、陽極通流は永い時間にわたって消滅を起させない。また通流効果は通流電圧の高いほど著しい。

4) 麻醉剤の神経伝導 block は、神経膜のイオン透過性増大、分極性減小による、麻醉部位神経興奮性低下によって起ることを考察して通流電極第3作用の上述効果を説明した。

稿を終るに臨み、終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜った恩師鈴木正夫教授に深甚の感謝を捧げる。本業績は、鈴木教授に対する文部省科学試験研究費により一部支弁された。

文 献

- 1) 鈴木正夫 (1948) 環境条件と生体興奮態度 日新医学 35, 192
- 2) 鈴木正夫 (1951) 電気の刺激作用 生理学講座 2-1-B

- 3) 鈴木正夫 (1955) 通流電極の作用について 日本生理誌 **17**, 223
- 4) 鈴木正夫 (1956) Action of polarizing electrodes. Modern Electrotherapy. p. 1, Tokyo, Japan Society for Promotion of Science.
- 5) 鈴木正夫 (1956) 電気生理学より見たる電気治療電気治療 p. 1 東京 文光堂
- 6) 大倉淳男 (1957) 興奮伝導に対する通流電極第3作用 第1報及び第2報 日本生理誌 **19**, 383, 388
- 7) 佐藤晴美 (1958) 攣縮法則と通流電極第3作用 日本生理誌 **20**, 105
- 8) Kato, G. (1924) The theory of decrementless conduction in narcotised region of nerve. Nankōdō. Tokyo.
- 9) Kato, G. (1926) The further studies on decrementless conduction. Nankōdō. Tokyo.
- 10) 石川日出鶴丸 (1926) デクレメント学説 (変質学説) と反デクレメント学説 (無変質学説) 日新医学 **16**, 177, 367, 933, 1105
- 11) 坂本健次郎 (1944) 電気刺激強まり要素測定の新法及び夫による直流通流の神経に於ける該要素に対する影響の観察 日本生理誌 **9**, 433
- 12) 牧 亮吉 (1923) 神経麻酔部位に於ける興奮伝導に就いて 慶応医学 **4**, 245
- 13) 牧 亮吉 (1922) 神経麻酔部位に於ける興奮伝導に就いて I, II 慶応医学 **3**, 887, 995
- 14) Scheminzky, F. und F. Schminzky (1930) Permeabilität und Ermüdung, II. Mitt. Pflügers Arch. **225**: 145 (なお同 I. Mitt. ditto **223**: 405-V. Mitt. ditto **225**: 265 参照)
- 15) 安藤 毅 (1952) 神経並びに筋における直流通流電極作用の研究 日本生理誌 **14**, 1
- 16) 宮田 誠 (1956) 神経上膜除去神経における通流電極第3作用 日本生理誌 **18**, 437

Resumo

La tria efiko de trafliugaj elektrodoj (Suzuki, 1948) estas la efiko de iom longa aŭ forta kurento-trafluigado de nervo, kaj elvokas ŝanĝojn de sojlo ĉe stimuliĝo sub ambaŭ elektrodoj tute malajn ol tiuj sub la elektrotonuso. Tiaj fiziologiaj ŝanĝoj devenas de fizikokemiaj ŝanĝoj de nervomembrano sub ambaŭ elektrodoj: malgrandiĝo de ionopermebleco kaj grandiĝo de polarigebleco sub la anodo kaj renverse sub la katodo. Ekzameninte la influon de la tria efiko sur la kontrakada leĝo de Pflüger, Sato (1958) trovis, ke la anodo altigis kaj la katodo malaltigis, per ilia influo sur la ionopermebleco, la sojlon por la efiko de "forta kurento" de la leĝo, la efiko de muskolproksima stimulelektrodo por bloki la tien kondukatan impulson de la nervo. Instigate de la eltrovo de la tria efiko sur la blokada fenomeno, la aŭtoro volis observi la trian efikon sur la blokado de narkozilo.

Anodo aŭ katodo de longa trafliugado estis aplikata al la narkozata parto de nervo, kaj la estingiĝa tempo de la centroflanke elvokita impulso estis komparata kun la kontrolo sub la sama narkozo sen trafliugado. Kiel narkozilo estis elektataj kokaino, uretano, kloralhidrato, kloretono, distilata akvo, izotona glukozaj solvaĵo kaj klorida acido, kaj tia koncentro estis uzata, ke la estingiĝa tempo ĉe la kontrolo estis proksimume 30min.

Ĉe ĉiuj narkoziloj elektitaj estis observate, ke la anodo plilongigis kaj la katodo malplilongigis la estigiĝan tempon. La efiko plifortigis kun la aplikita potencialo. Ĉe kloretono kaj glukozaj solvaĵo la efiko de la anodo estis tiel forta, ke la estingiĝo ne okazis dum la trafliugado. Tial estis konkludate, ke la trafliuga anodo malgrandigas la ionopermeblecon de nervomembrano kaj batalas kontraŭ la narkozo, dum la katodo plifortigas, per ĝia permeblecon grandiganta efiko, la narkozon.

(Unua Sekcio de Fiziologia Instituto, Medicina Fakultato, Tribo Universitato)

副 腎 と Insulin 感 受 性 612.45

Insulin Sensitivity and Adrenal Gland

丸 山 俊 男 (MARUYAMA-Toshio)*

I. 序 言

Insulin 低血糖に対する homeostasis 機序として交感神経-副腎系が重要な役割を演ずることは周知の事実である。Cannon 等 (1924)²⁾ は epinephrine 分泌の意義を重視したが、その後 Swann 等 (1938)³⁾ は副腎摘出動物の Insulin 感受性増加につき、髄質よりも皮質の欠損がより重大であるとの見解を発表するに至った。Arnett 等 (1942)⁴⁾ はこの問題を副腎摘出並びに髄除去白ネズミについて更に検討し、Insulin 投与による低血糖程度は両者でほぼ同様であるが、血糖下降速度は前者に大で、且つ同程度の低血糖でも容易に昏睡・痙攣を来すとした。即ち皮質ホルモンに抗 Insulin 作用のみならず、中枢機能障害抑制効果をも認めるに至った。この見解は今日 Addison 氏病に関する臨牀経験と共に一般に行われるところである。なお Cortisone と Insulin の関係については Cori & Cori (1945) は氏等の hexokinase 説によって直接拮抗と考え、Ingle 等 (1949)⁵⁾ は Cortisone 糖尿は Insulin 抵抗性を有する事を白ネズミ実験に於いて主張し、ここに Insulin 抵抗性は島外性糖尿の特徴の 1 つに挙げられるに至った。

さてその後 Insulin 作用機序に関する Cori 等の hexokinase 説は Ross (1956)⁷⁾ によって批判され、従って Cortisone と Insulin の直接拮抗も理論的根拠を失ったのみならず、ACTH, Cortisone 投与の臨牀例に於いても Insulin 感受性の低下がみられないという報告もみられるに至った (Persky 等, 1955)。ここに於いて著者は副腎と Insulin 感受性の問題を根拠にさかのぼって検討し、Ingle 等の実験が極めて大量

の Cortisone の長期投与によることに留意し、生理的量の Cortisone を用いて Insulin との拮抗関係を追求し、且つ従来の拮抗性実験が痙攣生起を主として目標としたのに対し、血糖変化それ自体を重視した。なお交感神経-副腎系に関連し当教室主任、福田 (1957)⁴⁾ の主張する肝交感神経の血糖低下に対する homeostatic な意義をも明らかにせんと試みた。

II. 実験方法

実験には雄ウサギの体重 2.5kg 前後のものを使用した。飼育にはオカラ 300g/日を与え、Insulin 投与前 16~24 時間は空腹にした。Insulin は清水の Iszilin を用い、血糖定量は Somgyi 滴定法によった。Insulin 投与間隔は痙攣発症をみた場合には 1 週間以上とした。

副腎摘出実験並びに内臓神経切断実験は、すべて術後 10 日以上を経過し、一般状態の回復を待って行った。内臓神経は横隔膜直下で切断した。

血清 K, 無機 PO₄ の定量はそれぞれ炎光光度計並びに Aminonaphthol Sulfonic Acid 法によった。

III. 実験成績

A. 副腎摘出ウサギの insulin 感受性

正常ウサギ並びに副腎摘出ウサギに種々の Insulin 量を皮下投与し、痙攣出現の頻度を比較すれば第 1 図の如くなる。図の各点は 10 匹前後のウサギについて検討したものである。

副腎摘出ウサギに於いては 0.75U/kg ですべて痙攣をみるのに対し、正常ウサギでは 1U/kg で約半数、3U/kg にするも痙攣は 90% にみられるに過ぎない。50% 痙攣発症で比較すれば副腎摘出により Insulin 感受性は約 4 倍高まるといえる。

* 千葉大学医学部第 2 生理学教室 (福田篤郎教授)
〔昭和 32 年 12 月 26 日受付〕

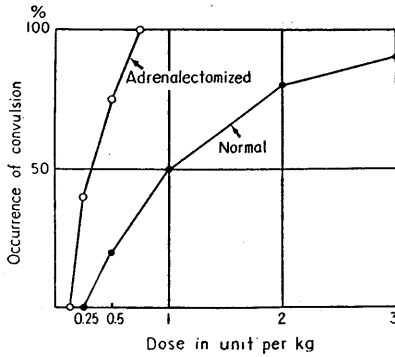


Fig. 1

The Relation of the Dose of Insulin to the Percentage of the Occurrence of Convulsion. (Rabbits).

Insulin 低血糖並びに痙攣発症の状況を正常並びに副腎摘出ウサギで比較するためには、等価 Insulin 量を痙攣発症頻度を規準に求めて行うべきと思われる。従来の実験に於いてはこの様な考慮がはらわれておらない。そこで著者は 50%痙攣発症の Insulin 量として正常ウサギに 1U/kg を、副腎摘出ウサギに 0.3U/kg をそれぞれ皮下投与し、血糖低下度・直腸温下降を痙攣群・非痙攣群に分けて比較した。成績は第 1 表に示す如くである。非痙攣群について正常並びに副腎摘出ウサギを比較するに血糖は両者とも 70~80mg% に下降し大差なく、ただ直腸温下降は副腎摘出ウサギにより顕著にみられた。痙攣発症群に於いては血糖値は何れも 30mg% 前後に低下し、恐らく両者に痙攣発症閾血糖値に大差ない事を物語る。痙攣は血糖値が 40mg%

Table 2 Effect of temperature (Insulin : 1U/kg, mean of 15 cases of normal rabbits)

Insulin doses	Blood sugar mg%		Occurrence of convulsion
	befor	after (minimum)	
0.5 U/kg	108	29	100%
0.25	99	32	100
0.125	107	37	57

(* Convulsive series, ** Non-convulsive series)

を越えて下る場合にみられ、正常並びに副腎摘出で大差のないことは従来の文献と異なるところである。次に痙攣発症時間をみるに摘出ウサギに於いては明らかに短く、従って上記の低血糖もそれが急速に出現することがうかがわれる。以上の成績より等価 Insulin 量を以てすれば正常・副腎摘出の両ウサギに於いて血糖低下の程度には大差はないが、それが副腎摘出状態では急速に現われることを知る。

なお直腸温下降度については副腎存否が関係するのみならず、外界気温が著しくこれを左右する。今気温の関係を調べるに第 2 表の如くであり、直腸温下降は室温 26°C 以上では殆んどみられず、又このような高温環境では痙攣発症頻度もやや低下する。

B. Cortisone 前処置の Insulin 低血糖に及ぼす影響

副腎摘出ウサギの Insulin 感受性増強が随質の欠損によるか、皮質の欠損に支配されるかを検討するにあたっては、先ず皮質ホルモンと Insulin の関係を吟味する必要がある。正常並びに副腎摘出ウサギに予め Cortisone (2mg/kg)

Table 1 Hypoglycemia and hypothermia after administration of equivalent convulsive doses of insulin

A. Non-convulsive group

\ No.	Normal rabbit							Adrenalectomized rabbit				
	1	2	3	4	5	6	Mean	1	2	3	4	Mean
Blood befor sugar mg% min.	125	117	115	94	110	97	110	101	130	125	110	116
Rectal befor temp. C min.	39.0	39.1	38.9	39.4	38.8	39.3	39.0	39.9	38.0	38.5	39.1	38.8

B. Convulsive group

\ No.	Normal rabbit							Adrenalectomized rabbit						
	1	2	3	4	5	6	Mean	1	2	3	4	5	6	Mean
Blood befor sugar mg% min.	118	120	87	102	104	126	109	117	97	108	93	104	100	103
Rectal befor temp. C min.	39.2	39.0	39.0	39.4	39.0	39.0	39.1	39.5	39.5	38.8	39.1	39.4	39.0	39.2
Time to convulsion hour	2.0	2.0	2.0	1.5	1.5	2.0	1.8	1.5	1.0	1.5	1.0	1.0	1.0	1.2

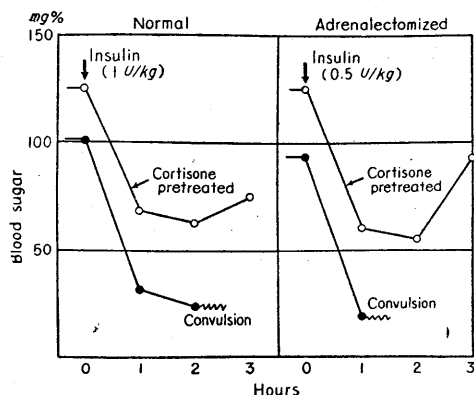


Fig. 2 Effect of Cortisone-pretreatment.
Cortisone : 2mg/kg, before 4 hours.

を皮下投与し、数時間後に Insulin を皮下注射し、低血糖並びに痙攣生起の関係をみるに第2図に示す如くである。何れの場合も痙攣発症は抑制された。痙攣抑制は血糖値が痙攣閾値にまで下降せぬためと考えられ、痙攣閾値それ自体は変化せぬことが痙攣発症例に於いて観察される。ここに注意すべきことは Cortisone 投与は血糖の上昇を来すことであり、Insulin 投与による血糖値下降の絶対値は Insulin 単独の場合と大差ない。要するに血糖曲線が上方にずれ痙攣閾値への到達が防止されたとも考えられる。そして血糖値下降という点からみれば Cortisone と Insulin の間に拮抗的現象がみられない。この事柄は Cortisone 量を増すも血糖

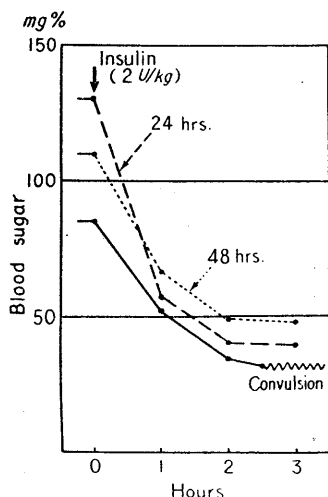


Fig. 3 Effect of Cortisone-pretreatment.
Cortisone : 10mg/kg.

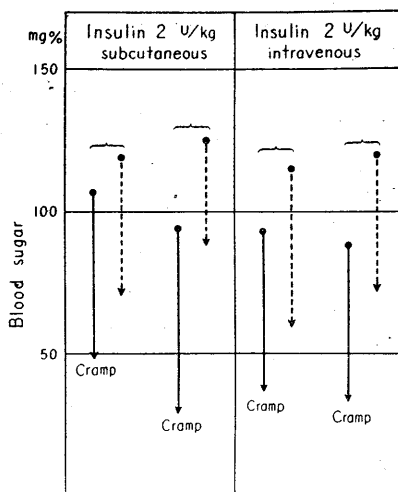


Fig. 4

Effect of Repeated Cortisone Pretreatment upon the Insulin-hypoglycemic Response.
The Arrows indicate the Maximal Hypoglycemic Response. The Dotted Arrow ; Pretreated with Cortisone.
(2mg/kg for 3 days).

低下現象は同様にみられ、その間に量的抑制関係がないことによって更に裏付けられる。第3図は Cortisone の極量ともいえる 10mg/kg 投与後の各時間での検討である。

次に Cortisone を連日投与し、その影響をみるに第4図に示す如く、Insulin 皮下投与に際しては屢々血糖下降の程度それ自体が抑制され、拮抗現象の如きものが観察される事を知った。然しこの際 Insulin を静脈内に投与すれば、そのような拮抗現象はみられず、Cortisone 前処置は予めの血糖値上昇により痙攣抑制を来すに過ぎない。従ってこの際といえども Cortisone と Insulin の間の直接の拮抗は考えられず、血糖下降速度が緩徐な Insulin 皮下投与の場合には肝臓よりの糖供給が充分に行われ得る様になったと解すべきであろう。

以上を要するに従来 Cortisone と Insulin は拮抗的に働くと考えられ来たことは主として痙攣現象を目標としての観察によるのであり、血糖低下それ自体に関しては特殊な条件を除いてはそれがみられないことを知った。従って副腎摘出の影響を直ちに皮質欠損に結びつけて考えることも出来ず、嘗て Cann 等が強調した如

Table 3
Effect of splanchnectomy (mean of 7 cases)

Room temp.	17~20°C	21~25°C	26~29°C
Occurrence of convulsion	54%	54%	39%
Fall in rectal temp.	-0.93°C	-0.38°C	-0.16°C

く髓質よりの epinephrine 分泌こそは直接拮抗的である点で重要な意義を有するものと考えられる。

C. 内臓神経切断の Insulin 低血糖に及ぼす影響

Insulin 低血糖に対する副腎の髓質及び皮質の意義を明らかにすべく、そして Cannon 等²⁾によって軽視された肝臓の直接神経支配の影響をも考慮し内臓神経切断の影響を検討した。成績は第3表に示す如くであり、痙攣は 0.25U/kg で100%に出現し、50%痙攣閾値は 0.125U/kg と正常に比し 1/8 に低下し、既述の副腎別出ウサギのその 1/2 という極めて顕著な Insulin 感受性増強の来されることを知った。この現象は将に意外であり、副腎別出よりも影響の甚大であったことは、内臓神経切除によって惹起された epinephrine 分泌の遮断と肝交感神経の遮断は、Insulin 低血糖招来に関しては副腎摘出による epinephrine 分泌並びに皮質ホルモン分泌の廢絶よりもより重大な意義を有することを教える。即ちここに Cannon 等によって軽視された肝の直接神経支配による血糖動員こそは Insulin による低血糖を防止せんとする homeostatic の機序として最も評価されねばならぬことを知

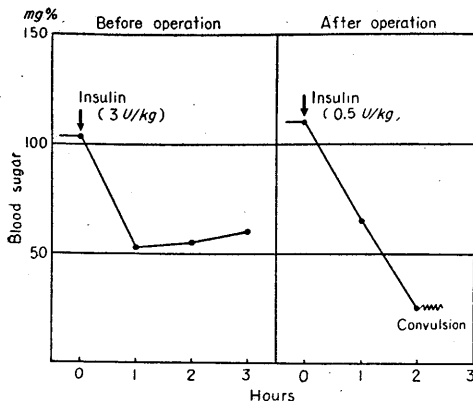


Fig. 5

Effect of Splanchnicotomy in Insulin-tolerant Rabbit.

った。

既述の如く正常ウサギに於いては 100% 痙攣を来す Insulin 量は 50% 痙攣量に比べて遙かに大きく、その意味で所謂 Insulin 抵抗性の強いものが存在するのであるが、副腎摘出、特に内臓神経切断によってすべてが容易に痙攣を起す様になる。このことは Insulin 抵抗性の本態が肝神経支配及び epinephrine 分泌に基づくものであることを教える。第5図はこの様な場合の内臓神経切断の影響を示すものである。

D. Insulin 投与による血清 K 濃度の低下

Insulin 低血糖時の血清 K 濃度の低下は epinephrine 分泌によることが Dury 等 (1952)³⁾ によって副腎の髓除去ネズミの観察で示された。正常並びに副腎摘出ウサギで Insulin 投与による血清 K の低下を比較するに、副腎摘出後は痙攣の有無に関せず殆んど低下をみないが、正常ウサギでは特に痙攣を伴う場合に顕著な低下を示す (第4表)。即ち血清低下は epinephrine 分泌に伴う電解質移動の結果と考えられるが、それは特に痙攣を来す様な血糖下降の招来される場合にみられる。このことは epinephrine 分泌は Insulin 低血糖時に血糖値が或る限界を越えて下る場合に起るといふ Cannon 等の観察を裏書きするかにみえる。そこで血糖低下は痙攣発症を来す程度にみられるが、その速度は痙攣発症の時間の長短により著しく異なる場合の血清 K 及び無機 PO₄ 濃度の消長を比較検討してみた。成績は第6図に示す如くである。痙攣が早期に招来される No. 1 の例では両者の下降が極めて明瞭に現われるが、痙攣が遅れて現われる No. 2 及び No. 3 の例では、下降が著しく軽減することを知った。即ち血清及び PO₄ 濃度の低下で epinephrine の分泌様相を推定するならば、

Table 4
Effect of insulin upon serum K level (meq/l)
(mean of 7 cases)

Convulsion	Unit of insulin	Normal rabbit (1U/kg)			Adrenalectomized rabbit (0.5U/kg)		
		before	after	difference	before	after	difference
無		4.9	4.6	-0.3	5.0	4.9	-0.1
有		5.4	4.2	-1.2	5.0	5.0	0

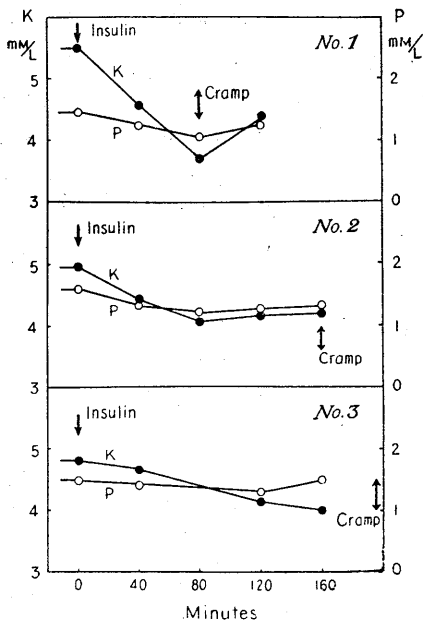


Fig. 6

Changes in Concentration of Serum Potassium (K) and Phosphate (P) after Insulin Administration. (2U/kg, subcutaneous).

epinephrine 分泌は痙攣発症を来す程度の低血糖が、比較的急速に招来される場合にのみ顕著にみられるということになり、低血糖に応じ homeostatic に調節的に働くものではないことを知る。

E. Insulin 痙攣に先行する徐脈について

以上に於いて副腎と Insulin 感受性に関する実験成績の記述を終るが、ここに副腎の存在する場合に於いてのみ Insulin 痙攣の出現に先行して顕著な徐脈をみることを観察し得、内臓神経切断後にもみられないことより、おそらく epinephrine 分泌と関連すると考えられるのでここに記載する。

顕著な徐脈出現例を示せば第7図の如くである。徐脈は痙攣出現の数分前に突如として現われ、痙攣最盛期には抑制をみる。徐脈は上記の如く epinephrine 分泌によって惹き起されると考えられるが、血圧調節神経(頸動脈洞神経及び大動脈神経)切除によっても出現しなくなることより、反射的に招来されるものであることを知る。この際血圧の上昇もないことより、反

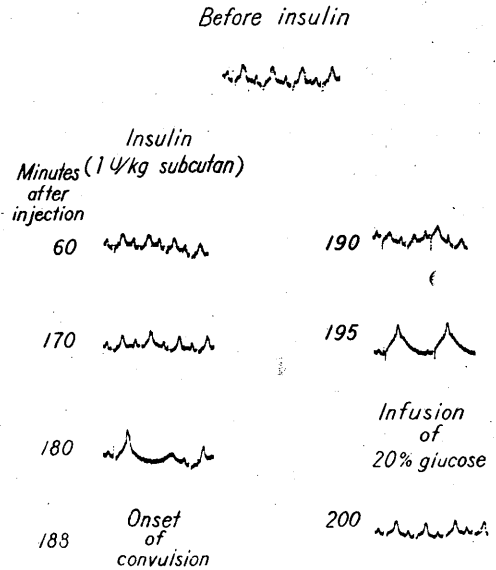


Fig. 7

Appearance of Bradycardia Shortly before the Onset of Convulsion.

射中枢が epinephrine の急速分泌によって興奮性の高まりを来すためと解される。何れにしてもこの現象も epinephrine 分泌が Insulin 低血糖の後期に招来され、当初よりみられるものではないことを示唆する。

IV. 考 察

本研究によって著者は Insulin 感受性と副腎の関係について、現在重視されている皮質の意義を批判し、Cortisone 投与による Insulin 痙攣抑制効果は主として Cortisone 過血糖作用により Insulin 投与時の血糖下降の最低値の上昇を来し、ために痙攣発症の臨界点に達することをまぬかれるものとした。そして特に Cortisone と Insulin の間の特殊拮抗作用は認められないとした。先ずこの結論に対する文献の批判を試みる。それには既述の Ingle 等 (1949) のステロイド糖尿と瘵性糖尿の比較に関する白ネズミの実験成績を検討しなければならない。氏等の白ネズミに1日5mgの17-OH-corticosteroneを20~30日間にわたり、連日投与して糖尿を発症せしめ、それに Protamin-Zn-Insulin を投与し、4Uで糖尿の消失するものもあるが、20U

或いはそれ以上でも糖尿の減少こそみられるが消失しない例もあるとのことより、Insulin 抵抗性の概念を得た。この際の血糖をみるに16時間の饑餓血糖値では Insulin 効果は顕著にみられているが、強制食事条件下ではそれがみられないというに過ぎない。要するに含水炭素負荷試験で糖尿が増減するか否かの問題に帰せられる。しかも氏等の実験例で糖尿の消失しなかったという2例は、何れも corticosterone 投与中に著明な病理的变化(深い幽門部潰瘍)を生じ死亡している。従ってそれは決して単純なステロイド糖尿とはいえない。この様な訳で氏等の成績に立脚する結論は一般妥当性をかくといえる。なお Cortisone と Insulin の間には量的に拮抗関係が認められなかったことについては、Coni & Cori の hexokinase 説の批判される今日、何等の理論的矛盾を来さないといえよう。むしろ既述の Persky 等 (1955)⁶⁾ の臨牀経験こそ実験医学的裏付けを得るものと解せられる。ただここに Cortisone 投与を繰返すと、予めの過血糖による血糖曲線の規準線上昇の他に、血糖下降度の絶対値の減少がみられるということ如何に解するかの問題が残る。この事は臨牀的にも Conn 等の報告にみられる (Persky 等⁶⁾; 参照)。

Cortisone 反復投与による2次的変化を考えねばならないが、この現象が内臓交感神経切除ウサギにもみられることは、直接肝臓よりの血糖動員が容易となることを示唆する。それが cortisone の糖質新生作用によるか、或いはラ氏島抑制の結果かは判らない。しかしこのような Insulin 抵抗性増大を思わせる如き現象が Insulin の皮下投与では比較的容易にみられるが、Insulin の静注ではみられ難いということは、要するに血糖低下速度が問題になることを教える。即ち血糖低下速度の遅い Insulin 皮下投与の場合のみ肝臓よりの血糖動員の容易さが物を言うに至ると考えられる。従ってこの際決して Insulin 独自の血糖低下作用が現れ難くなるというのではない。

以上で皮質ホルモンと Insulin の関係の論議

を終り、髄質よりの epinephrine 分泌の意義と本研究によって明らかにされた肝交感神経の役割の関係について考察する。Cannon 等 (1924)²⁾ は、epinephrine 分泌は血糖値が或る臨界値 (70mg%) に達すると開始されるとした。氏等は神経を遮断した心臓の搏動数増加を以てこれを観察したのである。その際血糖値の下降速度についてはふれていない。著者は血清 K, PO₄ 濃度の下降を以て epinephrine 分泌の状況を推定するに、epinephrine 分泌は血糖下降速度の如何にも左右され、急速下降に際しては容易に epinephrine 分泌が起り、緩徐下降の場合にはかなりの低血糖でも epinephrine 分泌が招来されない事を論じた。Cannon 等の成績を検すると、ほぼ同様な傾向が認められ得る。即ち epinephrine 分泌は血糖低下に対する homeostatic な機序としてよりは、急速な低血糖出現に対する緊急反応 (emergency reaction) として働くと考えられる。血糖の低下度に応じ血糖補給によりそれを調節せんとするのは肝臓自体の働き並びに肝交感神経を介しての肝糖動員と思われる。特に内臓神経切断ウサギに於ける Insulin 感受性増強が副腎摘出ウサギのそれに比べて遙かに顕著であることを思えば、血糖低下に應ずる肝交感神経の働きこそ homeostasis の上で重視されねばならぬと考えられる。

V. 総 括

副腎摘出ウサギは正常ウサギに比し Insulin 感受性が約4倍高まるが、痙攣発症の血糖閾値に相異はない。Cortisone 前処置は或る程度痙攣発症を抑制し得るが、その際血糖低下を防止することはなく、ただ予め過血糖を来すことにより血糖値が痙攣発症閾にまで下降しないためである。連日 Cortisone を投与すれば血糖下降が或る程度抑制される。しかしこれは Insulin 皮下注射の場合にみられ、Insulin 静注ではみられない。肝よりの糖放出が容易になると解せられ Cortisone と Insulin の直接拮抗は認められない。副腎摘出後の Insulin 感受性増強は主として epinephrine 分泌欠損に基づくものと考

えられる。

内臓神経切断は副腎摘出よりも顕著な Insulin 感受性増強を来す。即ち肝交感神経の活動は血糖値維持に対し epinephrine 分泌より重要な役割を演ずる。Epinephrine の分泌の様相を血清 K, PO₄ の低下より推定するに、血糖下降が急速なる場合に顕著である。また epinephrine 分泌の起る場合には痙攣に先行して著明な徐脈をみ、脳波上にも特有な変化をみる。

稿を終るに当り、終始懇切な御指導と御校閲を賜った恩師福田篤郎教授に対し、深甚なる感謝の意を捧げると共に、当教室員諸氏並びに政金君の御協力を深謝致します。

文 献

- 1) Arnett, V., M. Kessler & E. Gellhorn (1942) The role of the adrenal cortex in preventing hypoglycemic convulsion. *Am. J. Physiol.* **137**, 653
- 2) Cannon, W. B., M. A. McIver, & S. W. Bliss (1924) Studies on the conditions of activity in endocrine glands. *XIII. A sympathetic and adrenal mechanism for mobilizing sugar in hypoglycemia.* *Am. J. Physiol.* **69**, 46
- 3) Dury, A. & L. D. Moss (1952) Effect of epinephrine and insulin on tissue electrolytes in normal and demedullated rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.* **80**, 199
- 4) 福田篤郎等 (昭和32年) 過血糖機序について *日本生理誌* **19**, 752
- 5) Ingle, D. J., R. Sheppard, J. S. Evans & M. H. Kuizenga (1945) A comparison of adrenal steroid diabetes and pancreatic diabetes in the rat. *Endocrinol.* **37**, 341
- 6) Persky, M., J. Linsk, M. Isaacs, J. P. Jenkins, M. Rosenbluth, & H. S. Kupperman (1955) Acute effects of intravenous hydrocortisone on glucose and insulin tolerances, and levels of serum and urinary inorganic phosphorus. *J. Clin. Endocrinol. & Metabolism.* **15**, 1247
- 7) Ross, E. J. (1956) The "Permeability" hypothesis of the action of insulin. *Medicine* **35**, 355
- 8) Swann, H. G. & Fitzgerald, J. W. (1938) Insulin shock in relation to the components of the adrenals and the hypophysis. *Endocrinol.* **22**, 687

Summary

It has been demonstrated that there exist no direct antagonism between insulin and cortisone in relation to the blood sugar level. In insulin hypoglycemia the activity of the hepatic sympathetic nervous system plays the more important role than the epinephrine secretion.

(2nd Department of Physiology, Chiba University Medical School)

内臓の求心性神経の多重支配について 612.8.01

Multiple innervation of the visceral afferent fibers.

新 島 旭・松 本 義 雄

(NIJIMA-Akira • MATSUMOTO-Yoshio)*

I. 緒 言

蛙内臓の求心性神経支配は主として迷走、内臓両神経によって行われ、その内、咽喉、食道、胃、肺は主に迷走神経、胃、腸、直腸上部、胆嚢、膵臓、脾臓、腸間膜、等は主として内臓神経¹⁾により求心性支配を受けていることは前回報告した通りであり、Tower²⁾もこのことについて述べている。また各内臓は内臓神経の枝によって overlap して支配されていることもわかったが、1本の神経繊維の支配領域や、又それに属する受容器の性質等については憶測の域を出ない。そこで私共はこの点を明らかにするため、内臓神経の求心繊維を単一線維とし、各種の実験を行い、支配領域、受容器の性質、等について若干の知見を得たのでここに報告する。

II. 実験方法

実験動物には蟪 (*Bufo vulgaris jap.*) を使用した。刺激としては圧刺激を用い第1図のような装置によってこれを行った。即ちポンプPにより Reservoir R 中に空気を圧入しておき、コックCをタンブールTの方向に通じるとR中の空気はTの中に流入してタンブールを膨らす。するとその先についている槓桿が下へ下りその先の4mm²のプラチックの板が下においてある標品を圧迫する。Cを回転して外界に通ずるとタンブールの空気は外に流出してタンブールは縮み、槓桿は上に上り刺激はやむ。刺激時の圧はCとRの間に入っている水銀マンオメーターMによって読むことができる(第1図)。

内臓神経は3本の枝共、なるべく交感神経節

* 新潟大学医学部第1生理学教室(内園耕二教授)
〔昭和33年1月6日受付〕

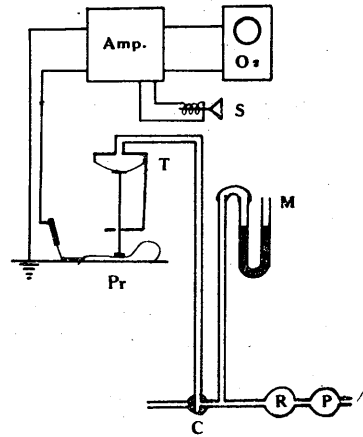


Fig. 1.

Diagrammatic representation of apparatus used for mechanical stimulation of toad's viscera.

P: Pump. R: Reservoir of the compressed air. C: 3-way cock connected to Reservoir and Tambour. T: Tambour and rod with small disc at its end. Pr: Viscera with single nerve fiber attached to it. M: Manometer. S: loud-speaker.

の近くで結紮切断した。蟪では3本の枝は非常に変化が多く、多くの場合は癒合して2本になっており、時には1本のこともあった。次いで内臓神経をつけたままほとんど全内臓をそのまま切り出して Ringer 液中に浸した。

暫時してからこれをガラス板上にのせ、田崎³⁾の記載した方法によって単一神経線維とし、次いで、その太さを計測し、次に電極をあててガラス棒で内臓を刺激し、求心性衝撃の起ることを確かめてから実験を行った(第2図)。

増幅器は通常の R・C 結合のものを使用し、二現象オッシロスコープにより求心性衝撃と時間、或いは刺激指標との同時描記を行った。

III. 成 績

1) 支配領域

内臓神経内の単一の有髓知覚線維の支配領域

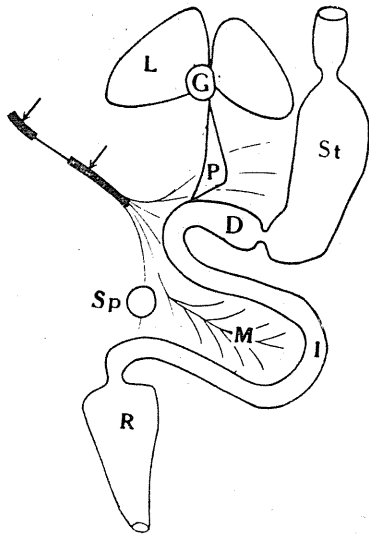


Fig. 2.

Schematic diagram of toad's viscera with single dissected splanchnic nerve fiber (between arrows). L: Liver, G: Gallbladder, P: Pancreas, St: Stomach, D: Duodenum, I: Intestine, M: Mesentery, Sp: Spleen, R: Rectum.

は意外に広く、少なくとも2つの器官にわたることが多く、数種類の器官を支配していることもしばしば見られた。いま例を挙げて説明して見ると、

第1例：太さ 6μ ，脾臓又は直腸上部を圧迫する求心性衝撃を発する。他の部分の器械的刺戟は無効である。

第2例： 5μ ，脾臓下半分，十二指腸，腸間膜に感受性がある(第3図)。

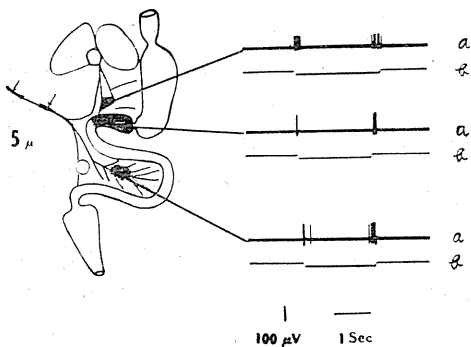


Fig. 3.

Impulses in a single splanchnic afferent fiber during sustained pressure on pancreas, duodenum and mesentery. Shaded areas show the sensitive parts to pressure stimulus.

第3例： 7μ ，胆嚢，脾臓に感受性がある。

第4例： 5μ ，胃，脾臓，腸間膜，腸下部，直腸上部を圧迫したとき衝撃を発する。

第5例： 4μ ，腸の上，中，下部及び腸間膜に感受性がある。

第6例： 4μ ，胃及び脾臓下半分を支配する。

第7例： 3μ ，脾臓のみを支配している。

第8例： 4μ ，脾臓及びその附近の腸間膜を圧迫すると求心性衝撃を生ずる。

この例では単一繊維に分離する際、細い糸のようなものがある繊維の周りからんでいるのを認めたが、電極をあてると有髓のものからのとは異った、経過の長い自発性放電を認めた。内臓に圧刺激を与えると、この自発性放電には変化を認めず別に明らかに有髓のものからと思われる経過の速い求心性衝撃を見た。単一にした部分を乾燥させると、自発性放電は消失したが、圧刺激による求心性衝撃は認められた。Ringer液でぬらしてやると、自発性放電はもとへ返った。以上の顕微鏡の所見、乾燥に抵抗の弱い点等から考えて、自発性放電は無髓繊維から生ずるものと考えられる。そして糸のように見えたものは無髓繊維に他ならないものと思われる(第4図)。

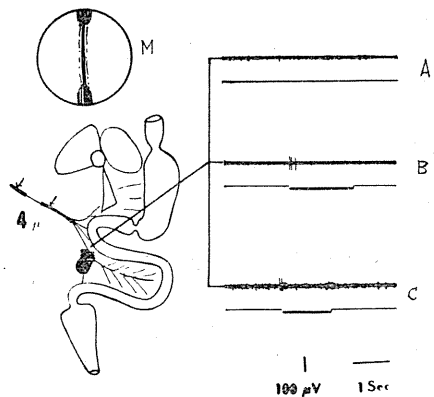


Fig. 4.

A: Spontaneous discharges in nonmyelinated fibers. B: Afferent impulses in a single myelinated fiber by pressure stimulus of spleen in dessicated condition. Spontaneous discharge disappeared. C: Afferent impulses by pressing of spleen after soaking in Ringer's solution. Spontaneous discharge appeared again. M: Single fine myelinated fiber and several nonmyelinated fiber were found by microscopic examination.

以上数例を挙げて記載して見たが、他の例も大体同様である。しかし中には自発性に求心性衝撃を発生しながら、如何なる内臓の機械的刺激にも応じない有髓繊維も見られた。

また、相当太い有髓繊維で損傷を与えてはいると思われののに内臓の機械的刺激に応じないものも時々見られたが、これは他の刺激に応ずる性質のものか、又は遠心性の神経繊維であるのかも知れない。

2) 神経繊維の太さ

求心性衝撃の誘導記録に成功した有髓繊維の太さは約 3μ より 8μ までであった。その内でも $5\sim 7\mu$ の中等大のものももっとも多く認められた。

3) 順応性

圧刺激に対する内臓の受容器の順応性を調べて見ると、少なくとも次の2種類があることがわかった。例を挙げて説明して見ると、

第1例 太さ 6μ 、膵臓及び直腸上部を支配
まず膵臓の部分に $10\text{mmHg}/2\text{mm}^2$ で圧迫すると、圧を加えた瞬間に一過性に3回の求心性衝撃を発生すがそれ以後は圧を加えたままでいても求心性衝撃を見ない。刺激をやめた時にも一過性に衝撃をみる。

次に圧を強くして $30\text{mmHg}/2\text{mm}^2$ で刺激すると、圧を加えた瞬間、 $1/2$ 秒間に6回の求心性衝撃を発生すが、この求心性衝撃はすぐになくなってはしまわず圧を加えたままでいると徐

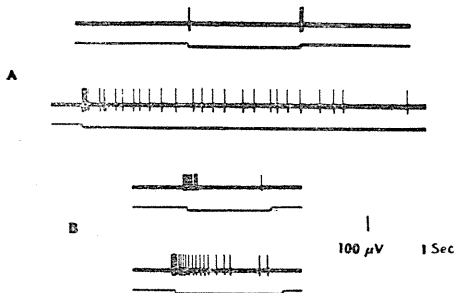


Fig. 5.

Impulses in a splanchnic afferent fiber. Discharge of impulses during the pressure stimulation of pancreas in A and pressing of upper part of Rectum in B.

Intensity of pressure $10\text{mmHg}/4\text{mm}^2$ (above)
 $30\text{mmHg}/4\text{mm}^2$ (below)

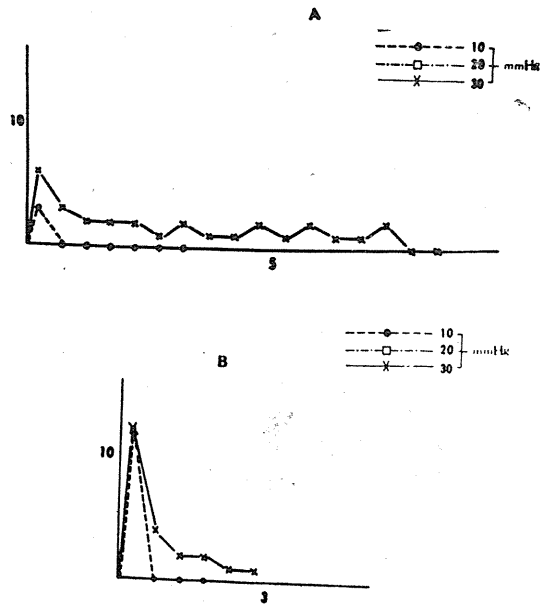


Fig. 6.

Diagrams showing the relationship between continuous pressure stimulus and number of impulses per 0.5 sec. abscissae : time in second, ordinate impulse/0.5 sec.

々に減少し、約 7.5 秒後には遂に認められなくなる。直腸上部を圧迫した場合も略同様の経過をとる (第5, 6 図)。

即ちこの受容器は弱い刺激にはすぐ順応するが、刺激が強いと順応するのに若干の時間を要する。皮膚の圧受容器等に比べて中等度の順応性をもっているといえよう。

第2例 太さ 5μ 、膵臓、十二指腸、腸間膜を支配、まず十二指腸の部分に 20mmHg の圧で刺激を加えて見ると、その瞬間、一過性に求心性衝撃をみるが、そのまま圧を加え続けても、もはや衝撃をみない。刺激をやめるとやはり一過性に衝撃を発生する。圧を 30mmHg にしてもやはり同様の経過をとる。又、膵臓、腸間膜を刺激した場合も同様である。即ちこの受容器は刺激の強さ如何にかかわらず、刺激を加えたとき、やめた時にしか衝撃を発生しない、皮膚の触受容器に相当する、順応の非常に速い受容器と言えよう (第7, 8 図)。

内臓の機械的受容器の順応性は以上の2種類のうちに大部分含まれると思われるが、更に順応の遅い受容器の存在については、簡単に否定

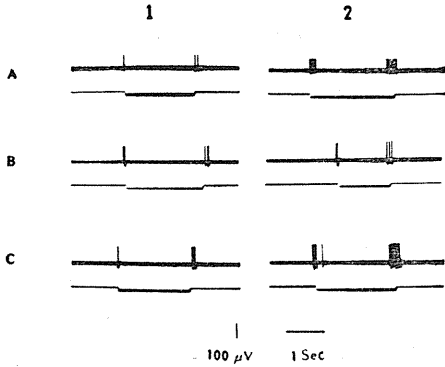


Fig. 7.

Discharges of afferent impulses in a splanchnic nerve fiber during pressure stimulation duodenum in A, pancreas in B and mesentery in C. Intensity of pressure 20mmHg/4mm² in part 1. 30mmHg/4mm² in part 2.

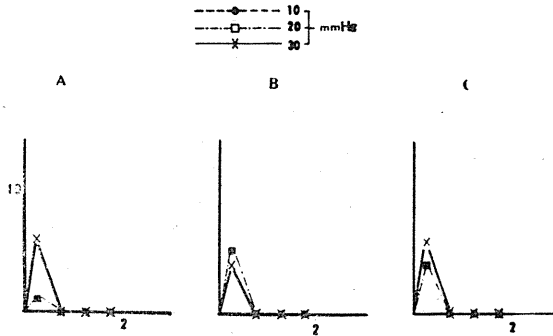


Fig. 8.

Diagrams showing the relationship between continuous pressure stimulus and number of impulses per 0.5 sec. abscissa: time in second, ordinate impulse/0.5 sec.

することはできず、更に今後の検討を要するものと思われる。

IV. 考 察

以上の結果よりみて、非常に特異に思われることは、単一有髄求心線維の内臓支配が、非常

に広い範囲にわたることであり、2種類の器官を支配するのは通常みられることであり、時には3種類、4種類の器官にわたることもある。この際、圧迫によって各器官にいく神経線維を直接刺激するために、このように多器官を支配する如くみえるのではないかと、の疑いがあるが、神経の通路にあたる腸間膜を圧迫しても反応がなく、末梢にあたる直腸上部を圧迫すると求心性衝撃をみる例のあること、又ナイロンの毛等で軽くこすり、神経には刺激となっていないと思われる場合にも求心性衝撃をみること、等からこの疑いは除くことができる。そこでこのように多器官を単一線維が支配することが事実であり、又もしこのような傾向が温血動物にもあるとすれば、内臓痛覚の定位の悪さや、関連痛の説明等に役立つかもしれない。

V. 結 論

- 1) 蟾の内臓神経を単一線維にして機械的刺戟に対する内臓の求心性神経支配を調べた。
- 2) 単一有髄線維の求心性支配領域は2種以上、時には多数の器官にわたる事があった。
- 3) 求心性支配を行う有髄神経線維の太さは約3~8μであった。
- 4) 内臓の機械的刺戟に対する受容器の順応性は、非常に速いものと、中等度のものと2種類が見られた。

文 献

- 1) 新島 旭・松本義雄；内臓の求心性神経支配について (医学と生物学に発表の予定)
- 2) Tower, S. (1933) Action potential in sympathetic nerves, elicited by stimulation of frog's viscera. *J. Physiol.* **78**, 225
- 3) 田崎一二 (1944) 神経線維の生理学 東京 河合書店

Summary

The afferent impulses from the single splanchnic nerve fiber during mechanical stimulation of toad's viscera have been studied by means of oscillographic recording.

The results are summarized as follows:

- 1) In general it was recognized that a single myelinated afferent fiber innervated two or more different organs.
- 2) The range of diameter of the myelinated afferent fibers was from 3 to 8 micro including myelinsheath.
- 3) In the viscera of toads two types of mechanoreceptors were found. The one was rapid-adapting and the other slow-adapting.
- 4) The area which was innervated by a single fiber was relatively large as compared to the skin nerve fiber.

(1st Department of Physiology, Niigata University Medical School)

遠心限外濾過法による血清中の限外濾過性カルシウムの研究 612.126.41

Studies on the Ultrafiltrable Calcium of Serum by Centrifugal Ultrafiltration.

菓子井 幸 則 (KASHI-Yukinori)*

血漿或いは血清中の限外濾過性成分を測定する目的で、従来各種の限外濾過装置が考案されているが、その多くは水銀圧を利用¹⁾²⁾するか、或いはガス吸引による陰圧³⁾⁴⁾、又は加圧⁵⁾⁶⁾⁷⁾によって行われる。故に、一般に大量の試料を要し、濾過に長時間を必要とするので、その利用範囲は自ら限定されている。著者は、血漿又は血清の濾過に適した、遠心力を利用した微量用迅速限外濾過装置を考案し、これを用いて正常血清中の限外濾過性 Ca の定量を試みた。限外濾過性 Ca の測定は透折法を用いて、行うことも出来るので、これによる研究も亦、数多く報告されている。

I. 実験装置並に実験方法

A. 濾過装置

普通の遠心機の沈澱管に入る金属製円筒で3

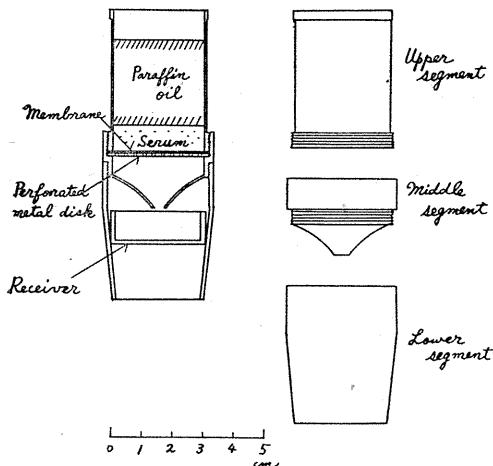


Fig. 1.

Schema of the centrifugal ultrafiltration apparatus.

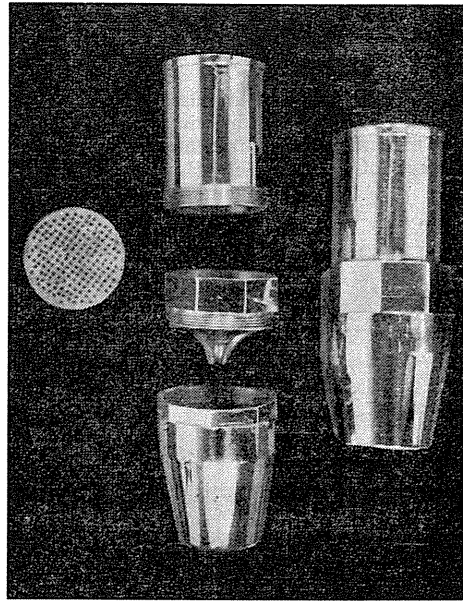


Fig. 2. Centrifugal ultrafiltration apparatus.

つの分節に分たれる (Figs. 1 and 2). 上節の高さ 4.5cm, 中節 2.5cm, 下節 4.5cm で、組立てた時の高さは、夫々重なり合う所があって短くなるので、10cm 位になる。上節と中節の間に金属製目皿と濾過膜を固定し、下節には濾液を受ける硝子製容器を入れる。上節に被濾液を入れるが、内径は 3cm で、30ml 位の容量を入れ得る。しかし、通常は 5~10ml の被濾液を用いる。血清等を嫌氣的に操作する際には、被濾液の上に流動パラフィンを重ねる。3000 R.P.M. 程度で 30 分から 60 分の遠心で、所要の濾液が得られる。

B. 濾過膜

従來の限外濾過法に於いても、大きな苦心が払われている所であるが、これら先人⁸⁾⁹⁾の限外濾過膜を参考としながら、血漿 (清) を被濾液

* 金沢大学医学部第 1 生理学教室
〔昭和 33 年 1 月 20 日 受付〕

とし、無蛋白濾液をなるべく多く得られる膜を目標として、検索した。一般に透折に用いるフィッシュスキン、膀胱膜等は、本装置に用いても濾液が余りに少なく、使用出来難い。

セロファンは蛋白質を通さず一応本装置に用いることが出来る。しかし濾液の量はやはり少なく、3000 R. P. M., 30分遠心で、0.3ml 前後を得るに過ぎない。セロファンの透過性を増大させる目的で、塩化亜鉛、Schweitzerの試薬、硫酸、苛性ソーダ等で、処理してみたが、今迄の所満足すべき結果は得られていない。然し、セロファン膜は、簡単に均質なものが得られ、水分含有量も少ない所は濾膜としての利点であるから、更に工夫したい所である。

次にコロデオ膜であるが、始め市販コロデオ液を基礎として、アルコール・エーテル混液での稀釈、乾燥時間、或いは稀釈液の種類を先人の成績を参考にして、色々に変えて作ってみた。稀釈については、市販コロデオ液 25g に、アルコール・エーテル (1:9) 混液を 25, 20, 15, 10, 8, 5, 3, 2, 0ml の割で混合し、乾燥時間は、2, 3, 5, 10, 15, 20, 30, 60分として膜を作成し、これらについて、得られる無蛋白濾液の量を調べた。濾液についての蛋白の有無は20%ズルフォサルチル酸法による。稀釈液の種類としては、アルコール・エーテル混液以外に、アセトン、氷醋酸、アミルアルコール、グリセリン等を色々な割合で加えてみたが、良い結果は得られなかった。膜は硝子板にはって作るのであるが、この硝子板には、なるべく平滑な面を得るため、写真乾板を用い、これをコロデオ液にひたし、すばやくとり出して、予め水準器で水平にした台上に置いて乾燥した。かくして得た膜の性状は、稀釈により余り左右せず、乾燥時間は10分程度のものがよく、濾過量は0.6から0.8ml位を得た。コロデオ膜では、薄い方が濾過量は多くなるが、一面破れ易くなる。そこで、硫酸紙、濾紙、和紙等をコロデオ液にひたし、これをとり出して乾燥を行い、濾過膜を作ってみた。同様にひたすコロデオ液の稀釈や、乾燥を加減して検討

を行い、現在の所、良質の薄い和紙を、アルコール・エーテル混液 10ml をコロデオ液 25g に対し加えたものにひたし、水平に保持しながら室内空気で約10分間乾したものが、無蛋白濾液の収量最も多く、5ml の血清を遠心濾過して、約60分で濾過量 1.0~1.5ml 程度を得ている。

なおこの和紙コロデオ膜について、回転数、遠心時間及び被濾液量と濾過量の関係を見ると、濾過量は回転数、遠心時間とは大体直線関係を示すが、被濾液量との関係は、はっきりしない。

C. 犬及び人血清遠心限外濾過と諸成分の定量方法

血清中の限外濾過性並びに非限外濾過性 Ca の測定に本法を応用してみた。Ca の定量は Roe and Kahn¹⁰⁾¹¹⁾ の方法を修正して施行した。即ち遠心管に血清又は濾液 1ml をとり 5% トリクロール醋酸 9ml を振盪しながら混和、5分放置後血清の場合東洋濾紙 No. 5. c, で濾過、上清 3ml を 15ml 容遠心管にとる。濾液の場合はそのまま遠心管にとる。盲験には 5% トリクロール醋酸 3ml をとる。25% の Ca のない苛性ソーダ 0.3ml 宛を遠心管をふり乍ら加え混合。5分放置後 5% 第3磷酸ソーダ 0.3ml をやはり振盪し乍ら加えよくまぜる。この後、1時間放置するが、寒い期間には、25°C 程度の恒温槽につけて、1時間置くとよい。我が国の研究室は、冬季極端に寒くなるので特に注意を要する。後は原法と殆んど同様で、2000 R. P. M. で 5分間遠心し、上澄をすて、濾紙上に斜倒して水分を切る。きれいなガーゼで管口をふき、アルコール洗液 2ml を加え、攪拌棒で沈澱を攪拌、攪拌棒をアルコール洗液で洗い乍らとり、遠心 3分間上澄すてる。もう一度同様に洗い、濾紙上に斜倒してアルコールを流出させる。トリクロール醋酸 3ml 加え、沈澱をとく。モリブデン試薬 0.5ml 宛加え混和、アミノナフトールスルホン酸液 0.5ml 加え混和。4ml の水を加え、栓をしてよくふる。10分間暗所に放置後、Filter Red で比色する。1個の試料を 2回に測定した。

同時に無機磷、Cl も測定することとし、無機磷は Fiske and Subbarow¹¹⁾¹²⁾ の法、Cl は

Van Slyke and Hiller の法の変法¹¹⁾¹³⁾によって定量した。又血清の蛋白濃度も Biuret¹¹⁾法を用いて測定し、硝子電極で pH も測定した。なお濾過膜として、初め和紙コロデオン膜を用いたが、次の実験成績で述べる理由により、コロデオンだけの膜を用いることとした。当然血中限外濾過成分の定量を妨害する物質が、濾過膜より出ないことも確かめた。

被濾液としては、嫌氣的に採血し、炭酸ガスの脱出を防ぎつつこれより調製した血清 5ml を用い、流動パラフィンを重ねて、嫌氣的に限外濾過を行った。血清以外の塩溶液等を限外濾過する時は、パラフィンを重ねる必要はないが、遠心濾過操作中被濾液が蒸発するのを防ぐために、上節の上にビニール膜で覆いをして遠心した。又 37°C で遠心限外濾過を行う時は、普通の遠心機を恒温装置をほどこした箱の中に入れ、遠心機の蓋はあけたままで遠心した。

得られた実験結果の濃度については、膜の水分含有量と、血清の水分量の補正とを行った。膜の水分含有量については、使用した和紙コロデオン膜及びコロデオンのみの膜を水からとり出して、速かに附着している水分のみをぬぐい去って秤量し、デシケーター中で充分乾燥して秤量を行い、その差を平均すると、何れの膜でも 0.03g となった。即ち限外濾液には、膜に含まれていた 0.03g の水が加わり、これだけの稀釈が起っているとみなし、補正を行った。

限外濾過実験に於いて、被濾液と濾液について濾過性成分の濃度を比較する場合には、単位水分量当りの溶質量、即ち g/100gH₂O または g/kgH₂O 等を以って濃度を表さなければならない。一般の定量法では濃度が g/dl 被検液 で求められるから、これより上述の濃度を求めるには、被検液の水分含有量を知ら

なければならぬ。著者は血清の水分含有量を Mc Lean and Hastings¹⁵⁾に倣い、次の Svedberg and Sjögren の式を用いて、蛋白質含有量より算出することとした。

$$W = 99.0 - 0.75 \times p$$

P と W は夫々、血清 100ml 中の蛋白質質量 (g) 及び水分量 (g) である。濾液は上式の p=0 とおき W=99 とした。いまある溶質の溶液中の濃度を a g/dl、溶液の水分含有量を b g/dl とすれば、求めんとする濃度は $\frac{100 \times a}{b}$ g/100gH₂O で表わされる。

II. 実験成績

和紙コロデオン膜を用いて、正常犬血清を限外濾過し、その諸成分の濃度を測定した成績は

Table 1.
Concentrations of Ca, P and Cl of canine sera as well as of their ultrafiltrates.

Membrane	Rate of Centrifugation (g/min)	Duration of filtration (min.)	Volume of filtrate (ml.)	Ca		P		Cl		Serum pH	Serum protein (%)
				Serum (mg/100g)	Ultrafiltrate (mg/100g)	Serum (mg/100g)	Ultrafiltrate (mg/100g)	Serum (mEq/100g)	Ultrafiltrate (mEq/100g)		
1) Japanese paper membrane dried for ten minutes	4000	45	1.7	11.3	5.5			108	112	7.66	6.0
	2000	60	1.4	13.8	6.6	6.4	4.1	103	117	7.35	6.4
	2000	60	1.2	13.8	4.4	6.4	3.6	103	123	7.35	6.4
	6000	45	1.7	11.7	3.4	6.5	3.8	72	71	7.30	6.0
	4500	60	2.1	12.9	4.5	6.8	5.2	71	73	7.47	5.8
2) Cellophane No. 270	4000	60	1.6	12.1	4.6	7.6	5.7	111	117	7.33	5.3
	4000	60	1.7	12.1	3.7	7.6	5.5	111	120	7.33	5.3
3) Cellophane No. 270	4000	75	0.4	11.7	2.1	6.5	3.3			7.30	6.0
	4000	75	0.7	12.4	2.9	7.1	4.3			7.47	5.8
4) Cellophane No. 300	4000	75	0.9	12.4	3.3	7.1	4.7			7.47	5.8
	4000	60	1.0	12.2	4.8			7.8	112	7.33	5.3
5) Celloph. No. 460	4000	60	0.9	12.2	4.4	7.5	5.2	7.8	108	7.33	5.3
	4200	60	0.9	12.9	2.7					7.35	6.4

Table 2.
Comparison of concentration of each KH₂PO₄, CaCl₂ and NaCl solution and its ultrafiltrate.

		KH ₂ PO ₄ solution (P)	CaCl ₂ solution (Ca)	NaCl solution (Cl)
Initial solution	Concentration in the initial solution	4.5mg%	15.4mg%	66mEq/L
	Concentration in the filtration residue	5.3mg%	16.0mg%	66mEq/L
	Concentration in the ultrafiltrate	4.0mg%	15.6mg%	70mEq/L
Initial solution	Concentration in the filtration residue	5.5mg%	16.8mg%	63mEq/L
	Concentration in the ultrafiltrate	4.2mg%	15.5mg%	63mEq/L

Table 1 の如くである。このうち Ca と Cl については従来の諸成績と略々一致しているが、無機磷では血清と濾液の濃度に相当の開きがあり、諸家の結果と一致していない。

この点を簡単に調べる為、血清濃度と略々同濃度の磷酸塩溶液、塩化カルシウム溶液並びに食塩溶液について夫々本装置で、和紙コロゲオン濾膜を用いて濾過を行った。結果は Table 2 で、Ca, Cl は原溶液と限外濾液の濃度が、大体一致するが、磷では丁度血清に見られる様な開きが見られる。

この磷の被濾原液と限外濾液の間の濃度差をなくすることを旨として、遠心力の大きさを変えたり、濾膜を変えたりした。その結果を Table 3, 及び Table 4 に示す。濾膜として和紙コロゲオン膜を用いた場合、遠心力が小さくなるに従って、濾液と被濾原液の磷の濃度差は小さくなるが、零にはならない。濾膜をコロゲオンだけで作った膜、それも乾燥時間の短いものにする、この所謂磷の濾し残り現象が少なく、被濾原液と殆んど濃度差のない濾液の得られることが分った。和紙コロゲオン膜は濾液を多く得ることは出来ても、磷の濾し残り現象ということから、磷に関しては不適當であり、コロゲオンだけの膜の方がよりすぐれていると考えられる。

Table 5 は、このコロゲオン膜を用いて行った犬血清限外濾過実験の成績である。

Table 4. Comparison of concentrations of phosphorus and calcium of the ultrafiltrate, filtration residue and initial solution, when a variety of filter membranes were used.

Membrane	Phosphorus (pH 6.8 Phosphate buffer)						Calcium (CaCl ₂ solution)					
	Volume of solution (ml.)	Duration of drying (min.)	Concentration in the initial solution (mg %)	Concentration in the filtration residue (mg %)	Concentration in the ultrafiltrate (mg %)	Volume of filtrate (ml.)	Centrifugal force (xG)	Concentration in the initial solution (mg %)	Concentration in the filtration residue (mg %)	Concentration in the ultrafiltrate (mg %)	Volume of filtrate (ml.)	Centrifugal force (xG)
Collodion membrane	2.0	10	4.9	5.2	4.7	5.0	14.90					
	2.0	30	4.8	5.4	4.9	5.2	20.70					
	1.0	5	4.9	5.2	4.8	6.0	14.50					
	1.0	30	4.9	5.0	4.8	6.0	14.50					
	1.0	5	4.9	4.9	4.7	3.7	17.60					
	1.0	10	4.8	5.0	4.8	3.0	17.60					
	1.0	10	4.8	5.3	4.7	7.0	18.50	10.0	10.0	10.0	4.6	2.10
	5	10	4.8	5.5	4.2	4.7	18.50	10.1	10.0	9.6	2.4	2.10
	0	5	4.8	4.9	4.6	3.8	17.60	10.2	10.1	10.2	3.1	1.60
	0	10	4.8	5.2	4.4	4.7	19.60	10.1	10.3	9.7	2.8	2.10
Japanese-paper membrane	2.0	5	4.8	5.6	4.5	6.1	17.60	10.0	10.2	10.1	5.2	2.10
	2.0	10	4.8	5.6	4.1	5.7	17.60	10.4	10.3	10.0	3.2	2.10
	1.0	5	4.8	5.5	4.3	5.4	17.60	10.4	10.5	10.2	4.4	2.10
	1.0	10	4.8	5.3	4.4	4.5	17.60	10.5	10.6	10.4	3.3	2.10
	5	5	4.7	5.6	4.1	4.3	20.70	10.5	10.5	10.1	3.6	2.10
	5	10	4.7	5.4	4.1	3.6	20.70	10.0	10.1	10.2	3.2	1.60
	0	5	4.7	5.1	4.3	2.5	20.70	10.0	10.1	9.7	2.8	1.60
	0	10	4.7	5.1	4.0	2.4	20.70	10.0	10.6	9.5	2.3	1.60
	Cellophane No. 300	4.8	4.7	2.8	0.5	17.60	10.3	10.2	9.7	0.2	24.30	

* These figures represent the volume of alcohol-ether (1:9) mixture added to 25g. of 4% collodion solution. Diluted collodion solutions thus obtained were used for preparing membranes.

室温及び 37°C で限外濾過し濾液の Ca, P, Cl を測定し、原血清中濃度と比較した。その結果、之等諸成分の限外濾過性部分の%の平均

Table 5. Concentrations of Ca, P and Cl of canine sera and their ultrafiltrates obtained by collodion membrane.

pH	Temperature during centrifuging (37°C)	Serum protein (%)	Ca			P			Cl		
			Initial residue	Ultrafiltrate	% of ultrafiltrate	Serum	Ultrafiltrate	% of ultrafiltrate	Serum	Ultrafiltrate	% of ultrafiltrate
7.40	Room t.	5.5 → 6.7	11.4	6.8	6.0	4.7	4.7	100	100	97	97
7.40	-	5.5 → 6.6	11.4	7.0	6.1	4.7	4.7	100	100	97	97
7.42	-	5.7 → 6.8	13.2	2.3	5.5	8.4	7.7	100	100	99	99
7.43	-	5.7 → 7.4	13.2	2.5	5.7	8.4	3.1	76	100	106	106
7.43	-	5.5 → 7.1	12.5	7.0	5.6	3.8	3.3	94	105	110	105
7.44	-	6.6 → 8.4	13.6	2.7	5.7	5.3	5.0	74			
7.42	-	5.5 → 7.7	12.6	6.0	4.8	6.7	5.7	85			
					4.5			94			94
7.35	37°C	4.7 → 7.5	11.3	6.1	5.4	6.2	4.6	74			
7.37	-	5.6 → 7.1	13.2	7.1	5.4	10.1	7.6	75			
7.44	-	4.6 → 3.8	15.3	5.4	4.2	6.5	3.7	32			
7.47	-	5.2 → 8.4	11.3	6.0	5.1	5.5	4.2	76			
7.49	-	5.3 → 8.0	10.3	6.0	5.8	4.2	3.1	74			
7.47	-	5.3 → 7.0	10.3	6.1	5.7	4.2	3.4	31			
7.44	-	6.0 → 7.6	13.4	6.2	4.6	7.3	5.3	73			
					5.2			76			76

Table 3.

Relation of the centrifugal force to the difference between the concentrations of phosphorus of the filtrate and the filtration residue, when the phosphate buffer was filtered.

Membrane	Centrifugal force (xG)	Volume of filtrate (ml.)	Concentration in the initial solution (mg%)	Concentration in the filtration residue (mg%)	Concentration in the Ultrafiltrate (mg%)
Japanesepaper collodion membrane	4530	10.0	4.5	5.0	3.7
	3290	7.7	4.5	5.3	4.0
	2700	10.5	4.5	5.1	3.8
	1000	3.6	4.5	5.3	4.0
	900	2.2	4.5	5.3	4.0
	520	2.0	4.5	5.5	4.2
Cellophane No. 270	4800	0.7	4.6	4.8	2.4
	3500	0.6	4.6	4.9	2.3
	1870	0.4	4.6	5.2	3.4

Table 6.

Concentrations of Ca, P and Cl of normal human sera and their ultrafiltrates obtained by collodion membrane.

Subjects	pH (37°C)	Temperature during centrifuging	Serum protein (%) Initial → Final residue	Ca		% of ultra- filtrable Ca	P		% of ultra- filtrable P
				Serum (mg/100gH ₂ O)	Ultrafiltrate (mg/100gH ₂ O)		Serum (mg/100gH ₂ O)	Ultrafiltrate (mg/100gH ₂ O)	
1 K.R.	7.29	37°C	7.7→10.0	12.2	5.3	43	4.2	3.2	76
2	7.37	37°C	7.6→11.1	11.7	4.9	42	3.9	2.8	72
3 Y.H.	7.37	37°C	7.6→10.7	11.7	5.0	43	3.9	3.2	82
4	7.33	37°C	7.7→10.8	12.3	5.0	41	4.5	3.8	84
5 Y.K.	7.33	37°C	7.7→9.5	12.3	5.2	42	4.5	4.0	89
						AV. 42			AV. 81

値は、室温のものでは、pH 7.4~7.6 の間で、Ca は 56%、P は 94%、Cl は 101% であり、37°C では、pH 7.3~7.5 の間で、Ca 52%、P は 76% である。

尙 Table 6 は正常人血清を 37°C で、限外濾過した諸成分の濃度を示すが、pH 7.3 附近で原血清濃度に対する濾過性部分%の平均値は、夫々 Ca 42%、P 81% となり、限外濾過性 Ca は犬血清のそれよりやや低い値を示している。

以上から、血清限外濾過実験が、本装置を用い、従来より微量で迅速に、充分行い得る確信を得た。

Ⅲ. 考 按

血液中 Ca の一部は蛋白と可逆的に結合して存在し、これは非限外濾過性であり、他の大部分は Ca イオンとして存在し、これが限外濾過性なることは、現今では一般に認められるところである。このイオン化した Ca こそ、生理学的にも意義のあるものだから、この割合を測定せんとする努力は古くから行われ、透析法や、限外濾過法を手段とした多くの研究が報告されている。

Mc Lean and Hastings¹⁴⁾¹⁵⁾ は蛙の摘出心臓を用いる巧妙な方法によって、この問題を可成り明らかにした。そして血清中の蛋白と Ca とは可逆的に結合し、簡単な質量法則が成立することを提唱し、Ca-Proteinate の解離指数、pK_{CaProt} 値を算出している。

他方、これと前後して Lavietes¹⁾²⁾ 等は水銀柱で一定に維持された陽圧を利用して限外濾過を

行う装置を考案し、Spiegler³⁾⁴⁾ 等は、吸引ポンプによる陰圧で濾過を行い、Nicholas 等⁵⁾⁶⁾⁷⁾ は、ガスによって加圧して、限外濾過を行う方法を報告している。之等は大概 100~200mmHg 程度の圧で濾過を行っているが、もっと大きい圧を用いるのものもある。然し、これらの方法は、一般に複雑な設備や操作を必要とし、その上長時間を要し、嫌気的条件を維持するのも容易ではない。陰圧をかけるものでは、蒸発による濾液の損失も大きく、Kirk and King⁶⁾ もその為に加圧の方法を採用したと述べ、又 Greenberg and Gunther¹⁶⁾ は、水銀を吸引ポンプで引いて、陰圧を作り、この水銀の陰圧で限外濾過を行ったりしている。しかし、かくして得られた血清中限外濾過性 Ca の%の値は、例外を除いて、pH や温度による影響が無視されているので、これら先人の測定成績では分散が大きい。

最近 Rehberg¹⁷⁾、Latner and Slack¹⁸⁾ 及び Metzner¹⁹⁾ 等は、著者と同様に遠心力を利用した限外濾過法を考案し、その装置も報告しているが、その生物学的応用、特に血漿や血清の限外濾過に適當かどうかについて、何れも説明が乏しく、濾過膜の検討も全く不十分のようである。著者の考案した装置及び方法は、血清やその他生体体液を試料とするにふさわしいように注意し、操作も出来るだけ容易であるように工夫した。

この実験では濾過膜として、取扱いの容易なセロファンを捨て去り難く、出来るだけ工夫してみた。しかし実験方法の項で述べた様に、濾過量が明らかに少ないことと、無機磷の濾し残

し現象の大なること等の理由で、割愛せざるを得なかった。又和紙コロヂオン膜も既に述べた様に、濾過量は多いが、燐の濾し残し現象の為に同様に割愛した。

この燐の濾し残し現象については、Hopkins et al.²⁰⁾はCa量が20mg%以上になると、濾液中無機燐濃度は著しく低下し、この時その限外濾液中Ca濃度も減じ、これは恐らく、この様な濃度になると、蛋白と結合したCa-燐錯化合物を作るのだらうと報告している。彼等は水銀柱圧によるLavietes²⁾の方法を用いて居り、濾過膜もセロファンを用いて居る。彼等は、この研究で、人血清限外濾過性Caは総血清Caの、65~75%を占めるといふ。

またRehberg¹⁷⁾の限外濾過装置を用いたGrandjean²¹⁾は、濾過膜としてセロファンを用いているが、正常血清の実験に於いて、Na, Kは完全に限外濾過性だが、無機燐は約30%、Caは約50%が保留されたと述べている。

著者の同僚²²⁾は、血液中葡萄糖の限外濾過性について実験中だが、燐の濾し残し現象の著しい和紙コロヂオン膜を用いて、葡萄糖溶液を限外濾過すると、完全に濾過され、濾し残しは起らない。このことから燐の濾し残し現象は分子の大きさと云った簡単な事情に基づくものではないと予想される。

極く最近になって、Prasad and Flink²³⁾及びToribara et al.²⁴⁾はセロファン膜を用いて、遠心限外濾過を行い、血清中Caの研究を行い、pHや遠心時温度の影響をも追究している。限外濾過装置は著者のものと異なっているが、遠心力を利用する点では同様である。Prasad and Flink²³⁾の方は、正常人血清を3つのグループに分け、第1は血清を嫌氣的に処理したもの、第2はpHを調節しなかったもの、第3のグループは、限外濾過前に5% CO₂+95% O₂の混合ガスで平衡させた血清を用いて実験を行っている。夫々の限外濾過性Caの総Caに対するの平均値は、第1のグループは53.3%、第2は52%、第3のグループでは65.3%と少し高い値を示している。又Toribara et al.²⁴⁾は、正常人

限外濾過性Caの%の平均値は36°Cで65.9%、10°Cで75.2%を示しているが、この値はすべて濾過前に5% CO₂+95% O₂の混合ガスで血清を平衡させたものである。

著者の犬血清の限外濾過性Caの%の平均値は、37°Cで52%、室温で56%で、Prasad and Flink²³⁾の方の第1及び第2のグループの値と似ている。著者の人血清限外濾過性Caの%が、42%で、彼等の値に比べて可成り低い。この点については、著者の方法では、1)血清のpHが、嫌氣的に処理されたのみで、CO₂ガスなど通じない。それで彼等の用いた血清pHより幾分高い。2)限外濾過の温度が、37°Cで行われたから、室温よりも、%は低くなる。3)用いた濾過膜が、彼等はセロファンを用い、著者はコロヂオン膜を用いた。この為であるかも知れない。しかし、これを云うには、著者の人血清についての実験の例数が、少ないので確信はない。今後の検討が必要である。

略々時を同じくして、遠心力を利用する限外濾過法が、Prasad and Flink²³⁾、Toribara et al.²⁴⁾及び著者等によって考案されたわけであるが、前2者は共に濾過膜としてCellophane tubeを用いて居り、この点は、利点もあるが、嫌氣的に血清を操作することが容易ではない。これに反して著者の方法は嫌氣的条件を成立せしむる上に、有利である。彼等は、血清の炭酸張力を一定にする為に、5% CO₂+95% O₂ガス混合物で血清を平衡させ、装置内もこれを以って充満させているが、もしこの通気平衡を室温で行って後、37°Cに高めるならば、血清のpCO₂は異常に高まり、pHは著しく低下する筈である。そうすれば、血清のpHは、濾過操作中一定に維持されたとは考え難いと思われる。以上の事より、本装置は、温度調節、pH調節について、他の限外濾過法より完全に行い得る特徴を有するものと考えられる。

Ⅳ. 要 約

1) 血漿又は血清の濾過に適した、遠心力を利用した微量用迅速限外濾過装置を考案した。

2) 血漿や血清の濾過に適した限外濾膜を検索し、無蛋白濾液の多いことを目標にするならば、和紙をコロデオン液にひたして作ったものが、最良である事が分った。然しこの和紙コロデオン濾膜は、実際に血清を限外濾過すると、無機磷の濾し残しを起す。即ち、血清と濾液の間に相当の濃度差を生ずる。この点を検討して、コロデオンだけで作った膜、それも乾燥時間の割合短いものが、適當であることが判明した。

3) 本装置と濾膜を用い、正常犬血清について室温及び 37°C で限外濾過実験を行い、その血清中諸成分の限外濾過性部分の総血清濃度に対する%の平均値は、室温で、Ca が約56%、Pが94%、Cl が101%であり、37°C では、Ca が52%、P が75%であった。

又正常人血清について、37°C で限外濾過した結果では、Ca が42%、P は81%であった。

稿を終るにのぞみ、終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜った恩師齋藤幸一郎教授に、心からなる御礼を申し上げます。

文 献

1) Neuhausen, B. S. and J. B. Pincus (1923) J. Biol.

- Chem. **57**, 99
 2) Lavietes, P. H. (1937) J. Biol. Chem. **120**, 267
 3) Moritz, A. R. (1925) J. Biol. Chem. **64**, 81
 4) Spiegler, R. (1930) Biochem. Z. **230**, 253
 5) Cushney, A. R. (1920) J. Physiol. **53**, 391
 6) Kirk, P. L. and C. G. King (1926) J. Lab. and Clin. Med. **11**, 928
 7) Nicholas, H. O. (1932) J. Biol. Chem. **97**, 457
 8) Elford, W. J. (1931) J. Path. Bact. **34**, 505
 9) Bechhold, H. and V. Szidom (1925) Z. Zsigmondy-Festschrift **63**, 259
 10) Roe, J. H. and B. S. Kahn (1929) J. Biol. Chem. **81**, 1
 11) 齋藤正行 (1954) 光電比色計による臨床化学検査
 12) Fiske, C. H. and Y. Subbarow (1925) J. Biol. Chem. **66**, 375
 13) Hawk, Oser and Summerson (1953) Practical Physiological Chemistry 12th. Ed.
 14) Mc Lean, F. C. and A. B. Hastings (1934) J. Biol. Chem. **107**, 337
 15) Mc Lean, F. C. and A. B. Hastings (1935) J. Biol. Chem. **108**, 285
 16) Greenberg, D. M. and L. Gunther (1930) J. Biol. Chem. **85**, 491
 17) Rehberg, P. B. (1943) Acta Physiol. Scand. **5**, 305
 18) Latner, A. L. and E. B. Slack (1953) Nature **165**, 530
 19) Metzner, H. (1953) Naturwissenschaften **40**, 383
 20) Hopkins, T., J. E. Howard, J. E. and H. Eisenberg (1952) Bull. Johns Hopkins Hosp. **91**, 1
 21) Grandjean, L. C. (1951) Acta Physiol. Scand. **24**, 192
 22) 柴満一夫; (未発表)
 23) Prasad, A. S. and E. B. Flink (1956) J. Appl. Physiol. **10**, 103
 24) Toribara, T. Y., A. R. Terepka and P. A. Dewey (1957) J. Clin. Invest. **36**, 738

Summary

An attempt was made to devise a new type of metallic ultrafiltration apparatus suitable for biological materials, which made use of centrifugal force as filtration pressure (Fig. 1 and 2). A filter membrane was fixed with a perforated metallic disk between the upper and middle segments of the apparatus. About 5 or less ml of the sample to be anaerobically filtered was put in the upper segment under a thick layer of liquid paraffin.

Filtration pressure could be controlled by changing the rate of rotation of the centrifuge and the depth of the liquid column in the upper segment.

Using canine serum as a sample to be filtered, a variety of semipermeable membranes were tested as filter membranes. Concerning the amount of the protein free filtrate obtained, the Japanese paper-collodion membrane was found to be the most efficient one, as far as we examined, the yield of the filtrate amounting 1.0 to 1.5 ml at 3000 R.P.M. for 60 minutes. This membrane was prepared as follows: a piece of thin Japanese paper soaked in a 3 per cent collodion solution was dried in the room air for about 10 minutes before putting into water. This membrane, however, was found to have a disadvantage in retaining in some measure phosphate ion selectively even in the filtration of inorganic phosphate solution (Tables 1 and 2). This inconvenience could be completely avoided by using collodion membrane prepared on a plane glass surface, though in this case the yield of the filtrate suffered a slight decrease (Table 4).

By using this apparatus with the collodion membrane, the percentage of the ultrafiltrable part to the total amount of each Ca, P and Cl in canine and human sera was measured and the following average values were obtained. Canine serum: Ca 56%, P 94% and Cl 101% at room temperature and Ca 52% and P 76% at 37°C. Human serum: Ca 42% and P 81% at 37°C (Tables 5 and 6).

(The 1st Department of Physiology, School of Medicine, Kanazawa University)

血清中の限外濾過性カルシウムに対する, pH

及び枸橼酸の影響 612.126.41:(612.014.462.6+612.014.463)

Effects of pH and Sodium Citrate on the
Ultrafiltrable Calcium in Serum.

菓子井 幸 則 (KASHII-Yukinori)*

遠心力を利用した、微量用限外濾過装置の考案並びにこれを応用した、正常血清中の限外濾過性 Ca の研究については、既に報告¹⁾した。

本論文はこの装置を用いて、犬血清の pH を変えた場合、及び枸橼酸塩を犬血清に加えて遠心限外濾過を行い、その限外濾液中 Ca 量の変化についての研究成績を報告する。

pH の影響については、Hopkins et al.²⁾, Prasad and Flink³⁾, 及び Toribara et al.⁴⁾ 等が、限外濾過操作中 pH を一定に保持し得る装置を用いているので、当然その影響は考慮されている。彼等は主に 5% CO₂ ガスの通気によって pH を変化させているが、Hopkins et al.²⁾ は、酸及びアルカリを加えて pH を変えることも行っている。これ以前の実験者は一般に被濾液の pH を一定に維持し難い様な濾過装置を用い、pH の影響を無視しているものが多い。又これを論じていても信頼がおけない。

枸橼酸塩を加えて、その限外濾過性 Ca に対する影響を見た研究は、次のような目的で行われた。即ち、枸橼酸は Ca と錯化合物を作り、これは濾過性である。故に枸橼酸塩を血清に加えると、蛋白質に結合していた Ca も解離して枸橼酸 Ca 錯化合物に移行し、濾過性 Ca の総血清 Ca に対する%は増大するものと予想される。これを実証せんとする目的で行われた。Stewart and Percival⁵⁾, Hastings et al.⁶⁾, 及び Duckworth and Godden⁷⁾ 等も血清に枸橼酸塩を加えて、その影響を追究している。

1. 実験方法

A. 血清中限外濾過性 Ca に対する pH の影響

* 金沢大学医学部第 1 生理学教室

[昭和33年 1月20日受付]

犬の股動脈から太い採血針をつけた注射器で 150ml 位の血液を採取し、流動パラフィン下において凝固させ血清を得た。この血清 10ml に対し、1) 0.1 規定塩酸 2.0ml, 2) 0.1 規定塩酸 1.0ml+水 1.0ml, 3) 水 2.0ml, 4) 0.1 規定炭酸ソーダ液 1.0ml+水 1.0ml, 5) 0.1 規定炭酸ソーダ液 2.0ml の 5 通りに加えて、階段的に pH の異なった血清を調製した。この pH を変化させるために用いる塩酸及び炭酸ソーダの採扱は、正常血清中に存在していて、これらの添加によって特別な影響を考慮する必要がないことによる。この操作で pH は、凡そ 6.0 から 9.0 近く迄変化した。pH は硝子電極で測定した。濾過膜は以前に報告¹⁾した様に、無機磷についての濾し残しの少ないコロジオンのみから作られたものを使用し、限外濾過は室温及び遠心機を恒温装置をほどこした箱の中に入れて 37°C で行われた。被濾液として上述の血清 5ml を濾過装置の上節に入れ、約 3cm の厚さに流動パラフィンをおいて、嫌氣的に限外濾過を行う様にした。Ca 及び無機磷濃度の測定法、並びにその濃度に対する血清の水分量の補正、膜の水分含有量の補正等は、以前に報告¹⁾したと同様である。

B. 血清中限外濾過性 Ca に対する枸橼酸ソーダの影響

A の場合と同様な処理によって得た犬の血清 10ml の一列に対し、夫々濃度を異にした枸橼酸ソーダ液 1.0ml を加え、限外濾過を行った。濾過膜、室温及び 37°C で限外濾過が行われたこと、又流動パラフィン重畳によって嫌氣的に操作が行われたこと等は、A の場合と同様である。Ca や無機磷の測定、濃度補正も等し

く行われた。pHも硝子電極で測定されたが、一列の個々の試料の間に大きな差はなかった。

本装置に、濾過膜を目皿と共に固定する場合、ゴムパッキングを用いた。枸橼酸塩を使用する実験の際には、このゴムパッキングの存在によって、恐らく何らかの化学変化を起し、恰もCa量の増大する方向に、当該Ca定量法を妨害する事実が認められた。故にこの実験ではゴムパッキングは用いられない。厚いビニール板を輪形に切りとり、ゴムパッキングの代用に使った。これは操作の際、多少不便であるが、定量法を妨害する危険はない。もし他のCa定量法を用うれば、この妨害は起らないかも知れないが、著者の経験がないので、不明である。

II. 実験成績

A. pHの影響

8例の実験が室温及び37°Cで行われた。その中37°Cで限外濾過が行われた5例の実験成績をTable 1に示す。pHが酸性側にあると、

Table 1.

Compositions of the ultrafiltrates obtained by the centrifugal ultrafiltration of dog serum of various pHs at 37°C.

pH (37°C)	Serum protein (g)		Ca		P	* Ratio of ultrafiltrate to serum		
	Initial	Final residue	Serum (mg/100ml)	Ultrafiltrate (mg/100ml)				
1	5.9	47	11.0	2.6	7.6	7.1	2.14	
	4.7	47	11.0	4.5	7.7	7.3	2.26	
	2.5	47	11.0	4.9	4.7	7.4	7.3	2.27
	2.1	47	11.0	3.0	3.1	7.4	7.2	2.27
	2.6	47	11.0	2.7	2.5	7.4	7.2	2.27
2	5.4	5.6	22	11.0	2.0	7.0	6.1	2.20
	4.1	5.6	22	11.0	6.4	7.0	5.7	2.21
	2.7	5.6	22	11.0	4.7	7.0	5.9	2.18
	2.6	5.6	22	11.0	2.6	7.0	5.3	2.16
3	5.3	5.6	22	10.4	2.7	3.0	3.1	2.10
	4.0	5.6	22	10.4	4.7	3.7	3.1	2.02
	2.5	5.6	22	10.4	5.5	3.7	3.2	2.03
	2.2	5.6	22	10.4	3.2	3.7	3.1	2.03
	2.7	5.6	22	10.4	3.2	3.7	3.1	2.03
4	5.7	5.1	4.3	11.3	2.6	5.6	4.3	2.31
	4.7	5.1	4.6	11.3	7.1	5.6	4.1	2.22
	2.7	5.1	4.7	11.3	5.7	5.6	4.6	2.11
	2.7	5.1	4.7	11.3	2.6	5.6	4.5	2.32
5	4.9	5.0	4.6	11.1	2.7	7.2	4.3	2.01
	4.7	5.0	4.6	11.1	4.7	6.0	4.2	2.22
	2.6	5.0	4.3	11.1	5.3	6.0	4.3	2.22
	2.2	5.0	4.2	11.1	4.1	6.0	4.2	2.32
	2.7	5.0	4.6	11.1	3.3	6.0	4.2	2.32

* Combined factor was calculated from the equation represented by Van Slyke et al.

Membranes used: collodion membranes. Rate of centrifuging: 2500~3000 R.P.M. Duration of centrifuging: 60~90 minutes.

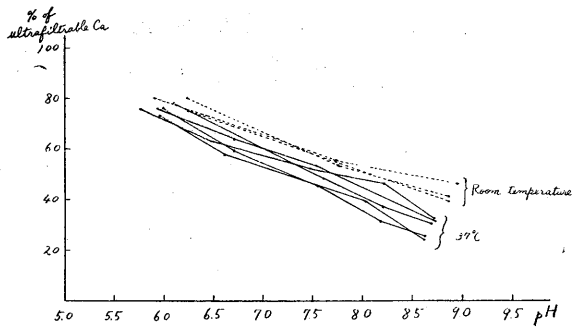


Fig. 1. Effect of pH on ultrafiltrable Ca in serum.

限外濾過性Caの量は多く、pHが上昇すると、限外濾過性Caも低下することを表している。pHが凡そ6.0から9.0まで変化すると、限外濾過性Caの総血清Caに対する%は30%前後から80%近くに逆変化する。

無機磷の限外濾過性%は、前の論文¹⁾で記載した37°Cでの正常値の平均80%程度に等しい値を示している。

Mc Lean and Hastings²⁾がpK_{CaProt}値を算出した方法に倣って、同様に著者の得た実験成績からpK_{CaProt}を算出してみた。この値をTable 1の最後の行に記載した。その生理学的pH範囲での平均値は約2.2であった。pK_{CaProt}の算出法の詳細は考按に於いて述べる。

pHと限外濾過性Caの総血清Caに対する%の関係を図に表わすと、Fig. 1の如くなる。この図には、室温と37°Cに於ける限外濾過実験の成績を示しているが、このpH領域では室温より37°Cの方が限外濾過性Caは少なくなっている。しかし共に直線関係を示す。これより、pH 1の増加について、総Caに対する限外濾過性Caの%の変化する割合を、最小二乗法で計算すると、室温では平均約-13%、37°Cでは約-17%となる。

B. 枸橼酸の影響

8例の実験が、室温及び37°Cで行われた。Table 2は、その中の37°Cで限外濾過された5例の成績である。犬血清に対する枸橼酸塩の6通りの加え方につき、その混合液全対に対する枸橼酸の濃度が、mM/Lで表わされている。pHについては、同一系列の血清では殆んど等

Table 2.
Compositions of the ultrafiltrates obtained by the centrifugal ultrafiltration of dog serum added sodium citrate at 37°C.

	Sodium citrate concentration (mM/L)	pH (37°C)	Ca		P		%
			Serum (mg/100ml)	Ultra-filtrate (mg/100ml)	Serum (mg/100ml)	Ultra-filtrate (mg/100ml)	
1	0	7.63	12.0	5.7	3.7	4.2	27
	0.21	7.62	13.0	6.5	5.0	4.2	25
	1.55	7.64	12.0	7.2	6.0	4.2	7.0
	3.10	7.67	12.0	7.6	7.2	4.2	10.4
	4.65	7.62	12.0	7.8	7.5	4.2	10.0
	15.50	7.57	12.0	11.2	9.6	4.2	5.0
2	0	7.67	12.6	6.3	5.0	4.7	25
	0.21	7.71	12.6	6.5	5.2	4.7	22
	1.55	7.70	12.4	7.1	7.2	4.7	26
	3.10	7.70	12.4	7.5	7.5	4.7	27
	4.65	7.71	12.6	10.0	7.7	4.7	26
	15.50	7.74	12.6	11.2	9.7	4.7	26
3	0	7.56	11.7	5.0	4.3	4.2	27
	0.21	7.59	11.7	5.7	4.7	4.5	26
	1.55	7.52	11.9	7.3	6.2	5.3	22
	3.10	7.55	11.7	7.6	7.2	5.3	26
	4.65	7.51	11.7	9.2	8.4	5.5	10.0
	15.50	7.57	11.7	9.7	9.3	5.5	10.2
4	0	7.57	12.3	6.4	5.2	3.2	27
	0.21	7.61	12.3	7.2	5.7	3.2	27
	1.55	7.64	12.3	8.4	6.9	3.2	27
	4.65	7.77	12.3	11.0	8.9	3.2	10.3
	7.95	7.65	12.3	11.0	8.9	3.2	10.3
	15.50	7.69	12.3	11.0	8.9	3.2	10.3
5	0	7.67	11.2	4.2	3.2	2.2	22
	0.21	7.67	11.2	4.2	3.2	2.4	17
	1.55	7.50	11.2	4.0	3.1	2.7	24
	4.65	7.56	11.2	4.3	3.7	3.3	25
	7.95	7.51	11.2	10.2	3.7	3.3	25
	15.50	7.57	11.2	10.2	3.7	3.6	25

Membranes used: Colloidon membranes. Rate of centrifuging: 2900~3400 R. P. M. Duration of centrifuging: 60 minutes.

しい値を示すが、枸橼酸ソーダの濃度の最も濃い液の pH 値は各系列を通じて、幾分他より大きい値をとっている。

枸橼酸の濃度が上昇するにつれて、限外濾過性 Ca の量は増加し、37°C に保たれた血清では、枸橼酸の濃度が 7mM/L 位になると、その限外濾過性 Ca の量は一定値に達する様に見える。このことをもっと明らかにする為に枸橼酸濃度と限外濾過性 Ca の総 Ca に対する%との関係を図にしたものが、Fig. 2 である。この

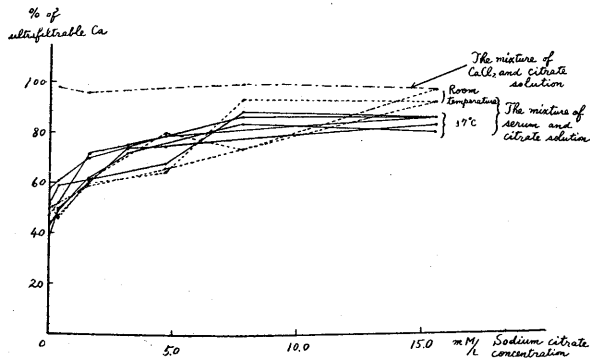


Fig. 2. Effect of addition of citrate on ultrafiltrable Ca in serum.

図の中で、鎖線で表わしたものは、蛋白のない Ca 液 (CaCl₂ 液) に枸橼酸塩を加え、生じた枸橼酸 Ca 錯化合物が、限外濾過性であることを示す予備実験の成績である。この図から、血清中の枸橼酸濃度が 7mM/L 程度以上では、Ca は大部分枸橼酸 Ca 錯化合物、即ち限外濾過性 Ca として存在することが明白である。然し、尚 37°C に於いては総 Ca の約15%は非限外濾過性である。Fig. 2 の点線で描いた曲線は上と同様の限外濾過実験を、室温で行って得た成績である。過量の枸橼酸塩の存在の下では、37°C の場合より限外濾過性 Ca の多くなることが分る。

Table 2 に於いて、無機塩の限外濾過性を示す為に、その総血清濃度に対する%を計算して表示したが、枸橼酸の量が増大すると、この%も上昇し、ついには 100% 位になっている。室温の実験では、この磷の限外濾過性%は、37°C のものより増大の程度が一層著しい。このことについては、考按の所で再び論じたい。

III. 考 按

A. pH の影響

従来多くの研究者が正常血清中の限外濾過性 Ca について研究しているが、多くは pH を一定に保持し難い装置を用いている。彼等の得た成績に大きな分散を認めるのは、pH の規正の不完全に起因する処が少なくないと考えられる。

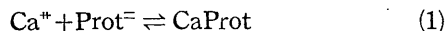
血清の pH と、総 Ca に対する限外濾過性 Ca の%との関係について、著者が犬の血清を用いて測定した処によれば、pH 1 の増加

に対し室温では13%減、37°C では17%減少する。Toribara et al.⁴⁾ は、人血清について pH 0.1 の増加に対し、1.5~2.5% の減少を認めている。Mc Lean and Hastings⁸⁾ は人血清の Ca⁺⁺ について dCa/dpH = -0.36mM を得ているが、これを上述の様な百分率に換算すれば、pH 1 の増加毎に約12%の減少となる。Poulos⁹⁾ も透折法により、犬血清について透折性 Ca は pH の 1 の

増加に対し $0.36mM$ の減少を認めている。

B. pK_{CaProt} の値

Mc Lean and Hastings⁸⁾ は人血清中の Ca と蛋白質の間に、



なる可逆平衡が成立するかどうかを検討する目的で、上式に質量作用の法則を当てはめ、

$$\frac{[Ca^{*}] \times [Prot^{-}]}{[CaProt]} = K_{CaProt} \quad (2)$$

より求められる解離指数 pK_{CaProt} を蛙心臓法の測定値より算出し、pH 7.35, 25°C で 2.22 なる略々一定の値が得られることを確認した。これより上式で表わされる可逆平衡の成立することを結論している。この計算に当って、血清蛋白質の g/dl で表わされた濃度を mEq/L に換算する際、Van Slyke et al.¹⁰⁾ の求めた 0.243 なる係数 (Combined factor) を乗じている。この係数は蛋白係数 (A/G) を 1.8, pH を 7.35 とした時の係数であるが、著者の行った測定は比較的広い pH 領域にわたるため、次の方法で夫々の被検液の pH に相応した Combined factor を算出して計算に用いることとした。

即ち Van Slyke et al.¹⁰⁾ によれば、血清の Albumin と Globulin の N と pH と、血清蛋白質に対応する塩基 (Bp) の間に次の様な関係のあることを実験的に認めている。

$$Bp (mEq/L) = 0.78 (Albumin N) (pH - 5.16) + 0.48 (Globulin N) (pH - 4.89) \quad (3)$$

茲に、

$$Protein N (g) \times 6.25 = Protein (g) \quad (4)$$

$$Albumin/Globulin = 1.8 \quad (5)$$

と仮定すれば、(3) 式は、

$$Bp (mEq/L) = (Protein) (0.1079 pH - 0.549) \quad (6)$$

となる。(Protein) は g/L で表わされた血漿蛋白質の濃度であり、(0.1079 pH - 0.549) が Combined factor である。Bp は荷電を有する蛋白質の濃度である。(1) 式で示されたように蛋白質が 2 価の陰イオンとして振舞うものとすれば上の Bp の 1/2 が mM 濃度となる。

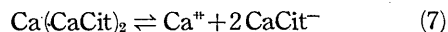
斯くして得た Combined factor を用い算出した pK_{CaProt} の値は、Table 1 の最後の行に記載した。この計算には幾つかの仮定がある。

先ず上述の A/G=1.8 としたこと、限外濾過性 Ca を全て Ca^{*} と見做したこと、上述の Van Slyke et al.¹⁰⁾ の提示した実験式は pH 6.8~7.8 の範囲で成立するというが、その適用の範囲を若干拡張したこと等である。Mc Lean and Hastings⁸⁾ は透折法や限外濾過法で得られた諸家の成績について pK_{CaProt} を算出し、その値が彼等の成績よりやや低いことに注目し、限外濾過性 Ca の全てが Ca^{*} でないことに原因するものと推測している。

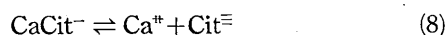
しかし著者の犬血清について、37°C で得た pK_{CaProt} の値は生理的 pH 領域では平均 2.2 となり、Mc Lean and Hastings⁸⁾ の人血清 (pH 7.35, 25°C) で得た値と酷似している。これは濾過性 Ca の殆んど全部が Ca^{*} と見做し得ることを証明する事実かも知れない。又著者の得た pK_{CaProt} 値は、生理的 pH を中心とした可成り広い pH 領域に互って略々一定している。

C. 枸橼酸の影響

Hastings et al.⁶⁾ は、枸橼酸を血清に加えて、例の蛙心臓法を用い、その血清中 Ca に対する影響を研究し、枸橼酸 Ca 錯化合物は、 $Ca(CaCit)_2$ として存在し、第一段の解離は、



となり、これは強電解質理論に従って完全に解離し、第二段の解離は、



となり、これは弱電解質理論に従って解離すると云う。

本実験の様な濾過法では、 Ca^{*} と $CaCit^{-}$ は、共に濾過性であるから、同時に限外濾過性 Ca として測定され、両者の区別は出来ない。著者の成績で、血清の総 Ca の平均は、 $3.08mM/L$ でこれを全部 Ca_3Cit_2 とするに要する枸橼酸ソーダ濃度は、 $2.05mM/L$ と推定される。しかし、本実験では、これ位の枸橼酸塩を加えた場合、なお総 Ca の 30% 程の Ca が非限外濾過性であり、即ち Ca_3Cit_2 にはならない Ca が残っていると考えられる。37°C に於いて、枸橼酸塩を過量に加えた場合、即ち $7mM/L$ 以上に加えると限外濾過性 Ca の総血清 Ca に対する%

は一定値に達してそれ以上変化しない。しかしこの時、なお15%程度の非限外濾過性Caが残存する。室温の実験では、この一定値が少し上昇するが、やはりなお非限外濾過性Caは存在する。このCaは、不可逆的にColloid状態になったもので、蛋白とは結合していないものらしい。

Duckworth and Godden⁷⁾は、枸橼酸ソーダを動物に注入したり、in vitroで血清に加えて、その影響を観察し、著者とよく似た成績を示しているが、そのCa fractionの定量法が、Barium sulphateを用いた吸着法によっているから、直接的に比較出来ない。Stewart and Percival⁵⁾もその凝血時間の研究に関連して、枸橼酸の影響を調べている。

D. 無機磷について

無機磷の限外濾過性については、著者の先の論文¹⁾でも、その和紙コロデオン膜による濾し残し現象について述べた。この濾し残し現象をさける為に、和紙コロデオン膜に比べて操作の多少不便な、コロデオンだけの膜を用いることとなった。しかし限外濾過が37°Cで行われると、このコロデオンだけの膜でも、濾し残し部分が增大することも既に報告した。Hopkins et al.²⁾も血清中無機磷の少量が、限外濾過性でないことを想わせると述べ、多分蛋白と錯化合物を作る為だと考えている。又血清中Caの量が多くなると、限外濾過性の無機磷の量が著しく低下し、この時の限外濾過性Caの総Caに対する%も同様に低下すると報告している。これと同様な所見を、Grollman¹¹⁾、Laskowski¹²⁾等が報告している。

一方著者の、血清に枸橼酸塩を加えた実験では、限外濾過性の無機磷は、枸橼酸塩濃度が高まるに従って増加し、遂には無機磷の100%が限外濾過性となる。この現象は血清中のCaと、無機磷が相平行してその膠質状態を変化するものと考えられる。その機序に関してはCa-Proteinateに無機磷が結合するものか、或いは血清中に過飽和状態に在る磷酸カルシウムの微粒子が血清蛋白の保護作用により凝集を阻止さ

れているものか、何れとも考え得る。しかし血清蛋白とCa⁺の間に(1)式の様な可逆平衡が成立する点より考えると、前者の考え方がより妥当であろう。斯る膠質状態に在るCaが枸橼酸と限外濾過性の錯化合物を作るに従って、これと結合して膠質状態を保っていた無機磷も遊離され限外濾過性となるものであろう。この推論は血清の温度が上昇すると、限外濾過性のCaと無機磷が共に減少する実験所見によって支持される。血清のpHを変化する実験では、血清pHの変化に応じて限外濾過性Caの量は変動するが、限外濾過性の無機磷の量には明確な変化を認めることが出来なかった。この場合には血清pHの変化に伴い、無機磷酸イオンの荷電が変化するから、事情は一層複雑であろう。以上の考察の正否は、将来の研究の進展によって判然とするであろう。

IV. 要 約

1) 犬血清に酸及びアルカリを加えて、pHを変化させ、室温及び37°Cで濾過して、その限外濾過性Caの増減について研究した。その結果pH1増す毎に、限外濾過性Caは室温では13%、37°Cでは17%減少することを明らかにした。

又この実験成績より、Mc Lean and Hastingsの算出法に倣って、pKCaProtを計算し、pHの生理的範囲では、37°Cに於いて約2.2であった。

2) 犬血清に枸橼酸ソーダを加えると、血清Caは枸橼酸Ca錯化合物に移行し、これが濾過性であるから、限外濾過性Caは増加すると云うことを予想し、これを実証し得た。

この実験では枸橼酸の加えた量に従って、無機磷の濾過性部分も増大すると云う所見を得たので、従来の研究成績とあわせて、血清中無機磷について考按を行った。

稿を終るにのぞみ、終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜った恩師斎藤幸一郎教授に、心からなる御礼を申し上げます。

文 献

- 1) 葉子井幸則 (1958) 日本生理誌 **20**, 318
- 2) Hopkins, T., J. E. Howard and H. Eisenberg (1952) Bull. Johns Hopkins Hosp. **91**, 1
- 3) Prasad, A. S. and E. B. Flink (1956) J. Appl. Physiol. **10**, 103
- 4) Toribara, T. Y., A. R. Terepka and P. A. Dewey (1957) J. Clin. Invest. **36**, 738
- 5) Stewart, C. P. and G. H. Percival (1928) Biochem. J. **22**, 548
- 6) Hastings, A. B., F. C. Mc Lean, L. Eichelberger and J. L. Hall (1934) J. Biol. Chem. **107**, 351
- 7) Duckworth, J. and W. Godden (1936) Biochem. J. **30**, 1560
- 8) Mc Lean, F. C. and A. B. Hastings (1935) J. Biol. Chem. **108**, 285
- 9) Poulos, P. P. (1957) J. Lab. and Clin. Med. **49**, 292
- 10) Van Slyke, D. D., A. B. Hastings, A. Hiller and J. Jr. Sendroy (1928) J. Biol. Chem. **79**, 769
- 11) Grollman, A. (1927) J. Biol. Chem. **72**, 565
- 12) Laskowski, M. (1933) Biochem. Z. **265**, 401

Summary

The effects of pH and sodium citrate on the percentage of ultrafiltrable calcium (uf. Ca) to the total calcium in canine serum were studied by using the centrifugal ultrafiltration apparatus reported in the previous paper. The results obtained were summarized as follows:

1) The relations between the percentage of uf. Ca and the serum pH were presented in Table 1 and Fig. 1, the serum pH being varied in the range of 6.0 to 9.0 by adding 0.1 N HCl or 0.1 N Na₂CO₃.

From these results, the decrease in the percentage of uf. Ca per unit increase in pH of serum was found to be 13 per cent at the room temperature and 17 per cent at 37°C.

The dissociation index of calcium proteinate, pK_{CaProt} , was calculated from the data shown in Table 1 following the formula given by Mc Lean and Hastings, and was estimated at, on the average, 2.2 in the physiological range of serum pH (Table 1). This figure agreed well with that obtained by Mc Lean and Hastings on human serum at 25°C.

2) The fact that the addition of sodium citrate to serum caused an increase in percentage of uf. Ca in serum, suggested the transformation of Ca from colloidal protein combined Ca to ultrafiltrable calcium citrate complex. As seen in Fig. 2, however, in spite of the excessive addition of sodium citrate, about 15 per cent of the total calcium of serum at 37°C remained non-ultrafiltrable. This fact may indicate that this non-ultrafiltrable Ca seems to have been in a stable colloidal state having no combination with calcium proteinate.

Calcium and phosphate in serum, both being partly non-ultrafiltrable in normal serum, increased their ultrafiltrabilities by the addition of sodium citrate. This finding suggests that phosphate in normal serum is partly in reversible combination with calcium proteinate or calcium phosphate formed by supersaturation in serum is protected by protein from precipitation.

(The 1st Department of Physiology, School of Medicine, Kanazawa University)

線維性収縮に於ける活動単位インプルの分析

(立体視的隔壁内電極法) について 612.743-08

On an analysis of the unit activity in the fibrillary twitching (Stereoscopic intraseptal method).

加 藤 守 (KATO-Mamoru)*

1. 緒 言

従来当教室に於いては、伊藤教授及びその協同研究者等は Biedermann 氏液による線維性収縮 (BFT) について電気生理学的に検討し、そのインプルの発生点、活動単位及びインプルの伝導速度に関して興味ある結果を報告している¹⁾²⁾。

この問題は、彼等も述べている如く、林³⁾が主として化学的に研究している塩縮と何等相違しない事は勿論、司配神経切除後に起る筋の除神経顫動とも密接な関係のある事についても桑原の研究⁴⁾⁵⁾がある。即ち此等の線維性収縮は全て骨筋自体の自動性興奮として統一して観察出来るものと考えられる。

然して此等の自動性興奮の1つとして従来そのリズムの不規則な点が挙げられて来た⁶⁾⁷⁾⁸⁾⁹⁾。そして臨床に於ける筋電図では、低電位と、リズムの不規則性があたかも除神経顫動の特徴であるかの様に取り扱われて来た¹⁰⁾¹¹⁾。然し一般に神経系統や感覚器官はその単一な場合には非常に規則正しくインプルスを発している事は充分知られている事であり¹²⁾¹³⁾、心筋や平滑筋の自動能もまた律動的である¹⁴⁾。そこでひとり骨筋の自動能のみが不規則であるとは考え難く、従って線維性収縮の1活動単位のみを頻度を分析出来れば律動的であるのではないかと考えた。この点伊藤等¹⁾の活動単位についての報告は参考になるが、彼等も述べている様に筋を筋線維束に分離して Biedermann 氏液に浸すと数回のインプルの発射で興奮性を失い、長

期間の観察に不便であった。

そこで著者は、線維性収縮に適した活動単位分離誘導法を考案し、同一活動単位の時間的観察が出来たので、その誘導法の検討及び記録されたインプルス頻度についてその結果を報告する。

尙杉氏隔絶誘導法と、針電極誘導とを同時に使用して両者の記録頻度を比較する事により、針電極が如何なる範囲のインプルスを誘導するかと言う問題についても新しい見解を得る事が出来た。

II. 実験方法

実験は主として秋臺の縫工筋について行われた。伊藤等¹⁾²⁾の経験によれば、此の時期の臺の筋は活動力が旺盛で、且つ線維性収縮のインプルス発生点も筋の1部分に大体安定しているが為に、特に実験には都合が良かった。剔り出された筋は杉氏隔絶箱¹⁵⁾に入れ、最初 Ringer 氏液を充分満しておく、次いで Biedermann 氏液¹⁶⁾は畔柳¹⁷⁾の製法に準じて、0.62%の NaCl 水溶液、2.0% Na₂HPO₄ 水溶液、0.4% Na₂CO₃ 水溶液、を夫々別個に作っておき、実験に際してこれを 8:1:1 の割に混和した。斯様に調製された Biedermann 氏液で、隔絶箱内の Ringer 氏液を全量、または非常に筋の活動が旺盛な場合はその半量を置換した。置換せられると同時に、筋は線維性収縮を始めるが、条件が良い場合には林³⁾の観察の如く1時間以上顫動を続けている。此の顫動が隔絶箱内の液温により大きく影響される事は既に伊藤等²⁾が認めているため、本実験では常に液温を 18~20°C に保つ様に留意した。

* 名古屋大学医学部第2生理教室 (伊藤 龍教授)
〔昭和33年1月20日受付〕

筋の動作電位は、主として隔絶箱内に於ける1枚乃至2枚の隔壁で筋を2部又は3部分に分割固定し、その両側の水槽の中に白金～白金黒メッキの不分極電極を挿入して、これより誘導した。誘導された電位は充分時定数の長い4段の抵抗容量結合増巾器を通して増巾し、陰極線オシログラフの Braun 管スクリーン上の動作電位の波形を観察した。

また必要に応じて、電磁オシログラフに記録し、顫動インプルの頻度を記録紙から算えた。伊藤等¹⁸⁾も述べている如く、この誘導法は隔壁の下を通る筋インプルス及びその近隣で発生する局所電位変動迄、全て誘導する事が明らかになっている。然しこれでは彼等が従来観察した様な不規則な筋全体の顫動インプルスを見ているに過ぎない。

そこで私は先ず針電極による誘導法を並用した。針は1/4針(外径0.5mm)、1/2針(外径0.7mm)、1/1針(0.9mm)、輸血針(1.3mm)を使用し、封入線は全て直径80 μ のエナメル絶縁をほどこした銅線を用いた。此等の針先はかなりの頻度で攣縮している筋を損傷させない様に、針の軸に対して直角に滑ぎ、筋の表面に軽く接触する様にした。

またこの針の本には直径約0.5mmの銅線をハンダ付けし、弾力性を持たせたホルダーとした。尙此等電極の先端は銀～塩化銀メッキを施して、不分極電極として使用した。

一方伊藤等¹⁸⁾が用いた隔壁内電極法も用いた。これは隔壁の中に1枚の銀板をサンドイッチ状に封入し、隔壁の筋に接する部分にその銀板電極の先端が露出するように出来ている。特にこの実験では、この銀板の筋接触部の巾を0.08mmから6mmの長さまで、7段階の種類隔壁を作って実験した。この場合の偽作電位の誘導は、この隔壁内電極をグリッド側に、他の電極を無差別電極として適当な水槽中に銀板を入れて誘導した。

この他、隔壁内電極を第2図Bに示す様に、3枚又は数枚に分割してその各々の電極の巾及び各電極間隔を色々変えて装置し、その内の1

本をグリッド側に、他の電極を無差別電極と結んでアース側に誘導した。此等の隔壁内電極に用いた銀板は厚さ100 μ であり、筋に接する部分のみ塩化銀メッキが施されている。

以上の特殊誘導法と普通の隔絶誘導法とを並用する場合には、時定数も増巾器も極力同じ程度に調整せられた増巾度を用い、且つ両者間の容量結合の度合が誘導された偽作電位の波形上無視し得るに充分であることも試験せられて

Ⅲ. 実験結果

A. 各種電極によるBFT誘導法の比較

1) 同心型針電極のBFTインプルス誘導算定率

実験は第1図に示す如く、筋を隔絶箱に入れ、その中央で1枚の隔壁で固定する。一方又針電極を隔壁から約1mm離れて、筋の中央に垂直に接しせしめる。この場合、針電極の外側外套針を増巾器のアースに、封入線をグリッドに接続する。然して隔絶誘導法に於いては針電極が入っている側の水槽に入っている電極をB増巾器のアースに、他側の電極をグリッドに接続した。

先ず隔絶法で誘導された偽作電位は殆んど全て伊藤等の報告¹⁾の如く、peak to peakが100～200 μ Vの2相性偽作電位で、その全持続時間は約7msecであった。これは後述の全ての実験

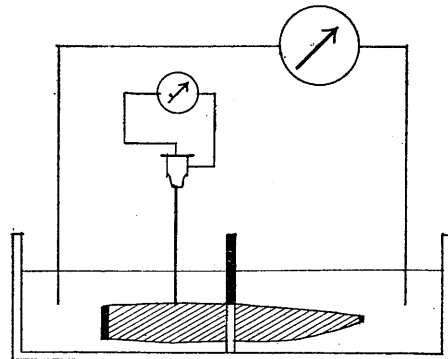


Fig. 1.

Simultaneous leading by concentric needle electrode and septal method.

に於いても同じである。然るに針電極で誘導された偽作電位は単相性、2相性時に3相性の電位がまちまちで、且つその棘高も約 $50\mu V$ から時には $500\mu V$ に達する電位迄、非常に多種多様な偽作電位が観察せられた。

さて此等両者の誘導法によって記録されたインプルス頻度を測定する場合、私は隔絶法で誘導された偽作電位の頻度は、隔壁部を通過するインプルの総和を示すと言ふ伊藤等¹⁸⁾の実験的証明に基礎づけられている。従つて隔絶法で誘導された頻度と、針電極で誘導された頻度を比較すれば、針電極によってどの程度の範囲の筋活動を眺めているものか推定することが出来る。両誘導法により同時記録せられた場合、隔絶法で誘導した時の頻度は全く不規則であるが、針電極の場合にはやや頻度が少なく、その中には律動的な放電と思われる様な規則正しい動作電位も見当る。

唯々個々の筋及び個々の例で、顫動の頻度は非常にまちまちであったが、好条件の場合隔絶法で約50 Cycleであった。

第1表は種々の外径の針電極について、隔絶法と比較しつつ誘導して、前者によって誘導されたインプルス頻度が、後者のその何パーセントに当るか計算したものである。

其れ等の各数値は5~8回の実験結果を平均して得た値である。即ち1/4針では27%、1/2及び1/1針では30%、外径1.3mmの輸血針で35%であり、此れ等針電極の誘導率の間に大差ない事も明らかになった。これを要するに針電極では線維性収縮の全活動インプルの約1/3を選択的に誘導するが、単一活動単位のみ分離には猶不適當である。

Table 1.
Comparison of rates of led B. F. T. frequencies by coaxial electrode and septal method

diameter of outer electrode	diameter of center electrode	coaxial electrode / septal method
1.3mm	0.08mm	0.345
0.9	0.08	0.313
0.7	0.08	0.294
0.5	0.08	0.270

3rd column indicates ratios of frequency recorded by coaxial electrode and the septal method.

2) 隔壁内電極の BFT インプルス誘導算定率

前述の如く隔壁内誘導とは、 100μ の厚さの銀板をサンドイッチ状に隔壁内に封入して、その筋との接触点と一方の水槽に入れられた無差別電極との間の電位差を観察するが為、伊藤¹⁸⁾も述べている様に筋についての単極誘導の1つとも考えられる。然して隔壁内誘導をA増巾器のグリッドに接続し、無差別電極はどちらか一方の水槽に挿入して、これは隔絶誘導のアース側電極としても共用する。然して他側の水槽の電極からB増巾器のグリッドに接続し、隔壁内誘導用の隔壁を隔絶誘導にも共用する。

隔壁内誘導された偽作電位の波形は、伊藤等¹⁸⁾も詳細に述べている様に、普通3相性でその棘高も高いもので約 $250\mu V$ 程度のものである。しかし1個の偽作電位の全持続時間は、約7msecで、隔絶法で誘導された2相性偽作電位と大差はない。然してその頻度も隔絶法に比して幾分少ない程度で、Braun管の像上では殆んど区別出来ない。そして亦オッシロペーパーに記録された偽作電位に於いても、時に約 $300\mu V$ に達する様な高い電位に於いて屢々律動的な発射が認められる程度であった。

これを色々な巾の電極について実験した結果が第2表に示されている。この実験も前項と同様に、隔絶法で誘導された偽作電位の頻度を1とした場合、隔壁内誘導で記録される頻度の比較を求めたものである。然して第2表の値は各

Table 2.
Comparison of rates of led B. F. T. frequencies by intraseptal and septal method

breadth of electrode	intraseptal/septal method/method	method shown/septal in Fig. 2, B/method
0.08mm	0.57	0.22
0.25	0.61	0.33
0.50	0.62	0.43
1.00	0.81	0.51
2.00	0.89	0.74
3.00	0.94	0.77
6.00	0.95

2nd column indicates ratios of frequency recorded by intraseptal method and the septal one.
3rd column indicates ratios of frequency recorded by the septum shown in Fig. 2, B. and the common septal method.

種隔壁につき夫々 5~7 例実験した結果の平均値である。即ち電極の中が 0.08mm の隔壁内誘導では全体の約 57% を誘導しているが、1mm の中の電極では 81%、6mm の中の電極では 95% と殆んど全部の偽作電位を誘導することになる。

3) 両側接地隔壁内電極による BFT インプルス誘導算定率

前項の実験では単極誘導に近い方法で BFT を記録した結果、その電極の先端が極端に小さくない限り、殆んど全ての偽作電位を誘導している事を認め得た。従って単一活動単位の興奮の頻度を観察する為には不適當である。そこで前記隔壁内電極の両側に、第 2 図 B の如く 2 個の電極を設けて、これをアースして見た。即ち隔壁が筋に接する部分の中央に、0.08~3mm 迄の中の 6 段階の銀板電極を設置し、其れ等の外縁より両側共 0.5mm 隔てて 2 枚の銀板を装置する。筋を固定する隔壁の全巾が 6mm に撰ばれているため、1.0mm の中心電極の場合には両側のアース電極は夫々 2mm の中であることになる。しかして中心電極は A 増巾器のグリッドに、そしてそのアースには、両側の 2 個の電極及びどちらか一方側の水槽中の電極を全て接続する。また他側の水槽中の電極と此れ等接地との電位差を前項の実験と同様に隔絶誘導と

して使用した。

誘導された偽作電位は前項に述べた隔壁内誘導による電位と殆んど差異はないが、隔絶法で誘導された偽作電位より一般に頻度が少なく、且つ大きな電位と小さな電位の差が隔壁内誘導の場合より一層明白になっている。従って第 2 図 A に見られる如く非常に律動的な周期を持つ 2, 3 種のインプルのシリーズを見分けるに困難でない場合が多い。然して両側接地隔壁内電極で記録された偽作電位も、その電位や全持続時間に於いて隔壁内誘導で得られたものと何ら変わる所は認め得られなかった。

実験結果は第 2 表にも示す如く、隔壁内の中心電極が 0.08mm の場合には、隔絶法で誘導した偽作電位の頻度の約 22% を観察しているに過ぎない事が判った。更に中心電極の中が広がっても 1mm で 51%、3mm で 77% の偽作電位を誘導している事になる。即ち前項の隔壁内電極による頻度に比べると、約 30% も少なくして限局性の誘導が出来ているわけである。

4) 立体視隔壁内電極法

以上述べた様な方法で、骨格筋の BFT を極く限局した単位について観察した場合に、律動的な偽作電位が記録出来る所から、此れ等の非常に不規則な顫動をしている BFT も、各単位に於ける放電では大体規則正しいものであろう

事が推定せられ得た。然し此れ等の律動的な偽作電位の発生が直ちに単一の活動単位からの発射と考えると多少飛躍がある。即ち此れ等の律動的なインプルのシリーズ中に於いて、時に何らかの方法で活動単位の変換が行われているかもしれない。特に後述する此れ等インプルの群化が起っている場合には、この可能性が充分考えられる。そこで著者は此れ等の問題のきめ手としてこれを立体視的に眺める方法を考えた。即ち隔壁の中に 2 つの電極 G_1 , G_2 を夫々 2mm 離して設置しておき、これ

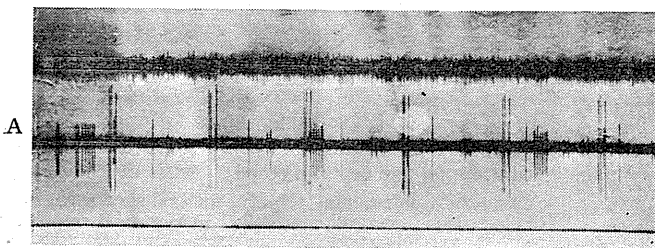
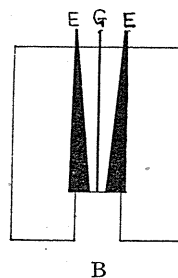


Fig. 2.

- A. Simultaneous recording of BFT impulses by the septal method (upper) and by the intraseptal both the different and earth electrode within (lower), in the lower a few unit impulse series are observable.
- B. Septum for the above applied intraseptal leading.



を夫々別の増巾器のグリッドに結んで水槽の1側に入れた共通のアース電極との間の電位を観察した。

夫々の電極から誘導された偽作電位は前の隔壁内電極の項で述べた偽作電位と殆んど異ならず、頻度も至って高い。即ち隔壁内電極の中が1.0mmの場合には、各電極でBFTの総インプルの約80%を誘導している。然してその記録オシロペーパーを見ると、夫々の電極から誘導された偽作電位は殆んど時間的に一致している事がうかがえる。即ちA増巾器で活動単位の発射と考えられる律動的なインプルスが追跡出来る場合に、B増巾器でもその偽作電位の振巾は多少異なるが全く時間的に一致し反復放電している事が明瞭である。そして此れ等両方の律動的なインプルのシリーズの放電の振巾を比較する事により活動している単位が大体筋の何処に位置しているか推定する事が出来る。例えばAシリーズの電位の振巾が最大であり、一方Bシリーズのそれが最大値の約1/3であれば活動している単位はA電極に極く近い点にあり、特に筋の上面に近い事が想像される。

然し若しAシリーズの電位も、Bシリーズの振巾も共に最大電位の1/3~1/4であれば、活動している部分は筋の約中央で且つ隔壁の底面に近い筋部分にある事が推測される。

然し前にも述べた様に、此れ等各電極は共に単極誘導に近い為誘導する偽作電位の頻度は非常に多く、活動単位を分離して研究する事は困難な場合が多い。

5) 両側接地立体視隔壁内電極法

前法は参加活動単位数が少ない場合には通用する事も出来るが、多くなると放電が加疊して分離分析がむずかしくなる。そこで前述の両側接地隔壁内電極と、前項の立体視隔壁内電極とを併用して、誘導される偽作電位の頻度を減ずると共に、単一活動単位の誘出を便にした。即ち前項の立体視隔壁内電極の2つの電極(巾0.08mmの銀板が夫々2mm離れて設置されている)の

中間及び両者の外側に夫々0.5mmずつ離れて合計3枚の電極を置き、此れ等3枚の電極は全て接地した(第3図B参照)。

斯様にして誘導された偽作電位は前述の隔壁内電極の場合の電位と殆んど異なる所はなかったが、唯だ大きな電位と小さな電位との差が一層明らかになり、従って今までに観察せられた以上に単一活動単位を分離することは容易になった。しかして此れ等両電極が夫々誘導する頻度は全体の20%であって、この値は1枚だけの両側接地隔壁内電極の中心電極が極めて小さい場合の値に近いものであった。従って記録せられた偽作電位は第3図Aに示す如く非常に律動的な場合が多く、其れ等のPatternが3~4個重複している程度である。そしてそれ等の偽作電位も非常に振巾の大きなものから非常に小さいものまであり、且つ2シリーズの記録上時間的に一致するものを見出す事は更に容易である。また前項の立体視隔壁内電極では記録された両シリーズの殆んど全ての偽作電位について時間的一致を見たが、この項の誘導法では限られた1・2の律動的放電系列のみが時間的に一致して

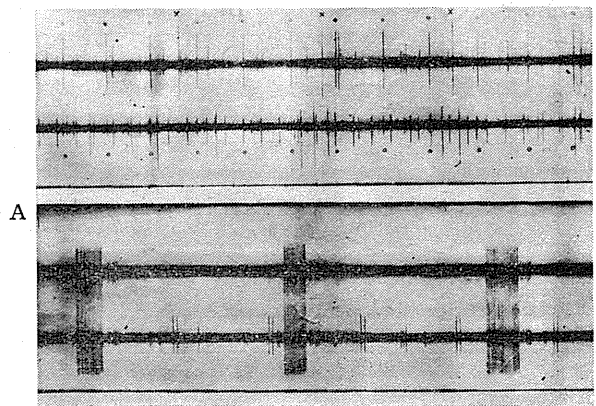
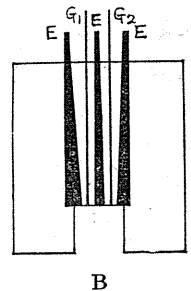


Fig. 3.

- A. Recording by stereoscopic intraseptal method.
 B. This schema illustrates the septum for the stereoscopic leading.



いるのみで、他のインプルスは別個の Pattern を持っている事が多い。

上に述べた電極の配置に於いて、不規則に活動していると思われた BFT の偽作電位の中から特定の活動単位のみを選択的に観察し得る事が判った。然し此等両者有効電極の間に設置してある電極を接地しない場合には、前項に述べた立体視隔壁内電極と殆んど変る事なく、両シリーズの全ての偽作電位について時間的一致を見た。従って上記の如き極く限られた活動単位のみを観察する為には有効電極間に置いた接地電極が大きな役割をしている事が判る。

そこで此れ等2個の有効電極と、その外側に設置された2個の接地電極はそのまま、中央の接地電極の中を0.5mmの銀板で置き換えた。従ってこの接地電極と両側の有効電極の間隔は0.75mmである。この場合は、BFTの活動単位数が少ない時には単一活動単位の誘出も出来るが、単位数が多くなると、両有効電極で同時に誘導される偽作電位が多くなり見分け難くなる。然るにこの中央接地電極の中を1.5mmにすると、2つの電極に同時に誘導される単位は殆んどなく、各電極は別個のBFT活動を眺めている事になる(第4図参照)。

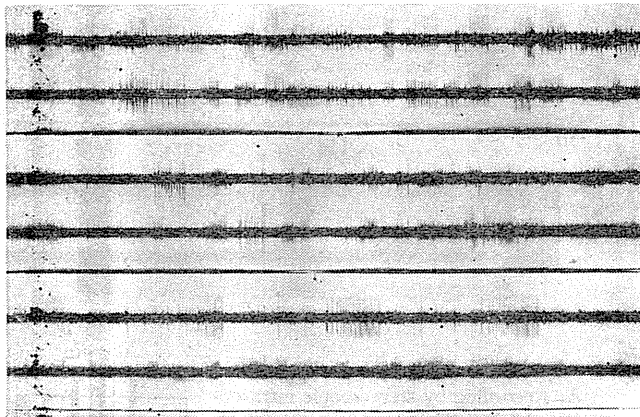


Fig. 4.

The records by changing in breadth of the central earth electrode in stereoscopic leading intraseptal method.

Upper: central earth electrode 0.5mm; many action units are led in both leadings simultaneously.

Middle: central earth electrode 1mm; there are seen action units which are recorded simultaneously or not.

Lower: central earth electrode 1.5mm; there are few action units registered simultaneously.

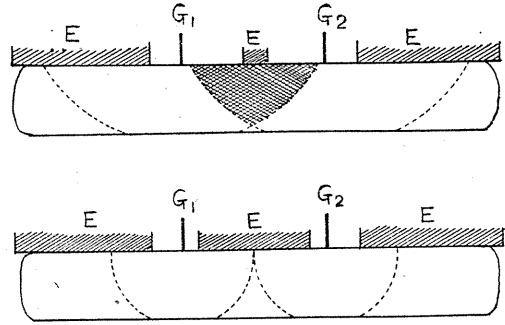


Fig. 5.

The effect of a central earth electrode in stereoscopic leading intraseptal method. Hatched area shows the portion can be led simultaneously by 2 electrodes.

換言すれば筋を負傷することなく、筋の活動状態を2分割して観察することも出来るわけである。

要するに第5図の模図にも示す如く、有効電極が扇形の誘導範囲を持つことを想像すると都合が良い。そして両側特に中央の接地電極の影響力が大きければ大きい程、この扇形の誘導範囲は狭められる結果となる。従って中央接地電極が0.5mmの場合には両扇形の誘導範囲が広く、そのために此れ等の扇形の重複する部分も大きくなる。

しかして中央電極の中が1.5mmになると扇形の誘導範囲を狭める結果、両扇形の重複箇所が殆んどなくなるものと考えられる。結局1.0mmの中の中央接地電極の場合に、丁度単一活動単位が屢々誘出される範囲のみ両扇形が重複するものと考えられる。

B. BFT 活動単位の週期

前述のような両側接地立体視隔壁内電極法により検討せられた結果、BFTの活動単位の放電と見做される一連の系列のみ取り出す事に成功した。そこでここではその活動単位の放電の様子について観察した。

室温20°Cで水温も20°CのBiedermann氏液中に縫工筋を入れる

と、直ちに筋は線維性収縮を始める。この場合唯一個の活動単位についてのみ観察していると、大体 3~4 c. p. s の律動的な放電を繰返している。そしてこの場合筋全体のインプルス頻度が約 12 c. p. s である為、約 3~4 個の活動単位が夫々全く無関係に週期性放電をしている事が推測し得る。

筋が非常に元気な場合には、時間が経つにつれて筋全体のインプルス頻度は高くなり、約10分後には最高の場合で約 55 c. p. s に到る。然しこの時の活動単位の放電は殆んど前と同じ 3~4 c. p. s であり、従って活動単位の数が約15~20個位に増加していることが推察せられ得る。これは脱 Ca 作用が時間と共に筋肉の内部迄浸透して、興奮性を高められた筋線維の数が多くなる結果であると考えられる。然して1個の活動単位について脱 Ca 作用が更に強く働いても、単位放電頻度には影響のないことも認められてよい。

此の様な状態に於いて筋は1時間以上線維性収縮を続ける。そしてこの間活動単位の活動を立体視誘導法で観察していると、或る1個の活動単位はそれが活動を始めてから約20分反復放電した後、多少放電頻度が低下し且つ不規則になって停止する。この持続時間は長いもので約30分であった。従って早くから興奮したものは早く停止し、後から活動し始めた単位程、遅くまで興奮している。しかし斯様な一見交代現象も、互いに無関係で且つ一貫した規則のないことも前述の通りである。従って最盛期に15~20個の単位が活動していたものが、その後活動単位数は次第に減少して行くのである。

以上は室温 20°C、水温 20°C の標準状態に於ける筋活動についてであるが、この線維性収縮は筋の置かれている環境により著しく左右される事は他の興奮活動と異なる所でない。

即ち水温を 10°C に低下せしめると、筋全体のインプルス頻度は非常に低下する。そしてこの場合の単一活動単位の平均頻度も 0.5~1.0 c. p. s 程度になる。一方又水温を 25~30°C に高めても筋全体の頻度は低下する。しかしこ

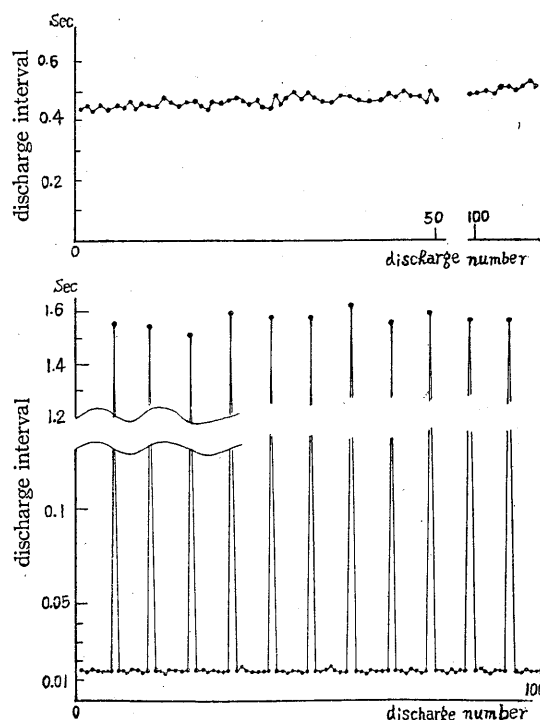


Table 3. Interval diagram of BFT action unit.

の場合の活動単位の放電態度は非常に特徴があり、非常に高頻度の Rhythmical な放電が数個群化して発射した後、暫らく休止期に入り再び同じ Pattern の放電群を繰返す様になる。この点に関する詳細は次報にゆずるが、これが更に高温になって、約 35°C になると筋全体がこの高頻度の群化放電を示し、熱硬直に移行して行く事が観察せられた。

第3表は反復放電をしている単一活動単位の Interval diagram と 8 個ずつの放電群を繰返す場合のそれを、比較して示してある。

IV. 考 察

1) 同心型針電極誘導に関する考察

従来線維性収縮の電気生理学的研究に際して、その動作電位は殆んどの場合、同心型電極または単極誘導を使用して行われて来た。この同心型針電極は Adrian 及び Bronk¹⁹⁾ により最初に筋の単一運動単位の研究に使われて以来、Brown⁶⁾ はその単位の活動時に於ける週期を観察して1秒に 2~7 回の放電を繰返すもので

あることを記載している。しかしながら筋に発生している全インプルの内、どの程度を誘導されているかを検討することは困難でもあり、また余り考慮されずに用いられて来ている。最近 Landou²⁰⁾は単一神経線維刺戟時に筋に誘起される偽作電位を各種電極を以って比較し、波形、持続時間、振巾等の差異について詳細な報告をしておるが、誘導範囲については触れていない。一方時実¹¹⁾も単一運動単位の誘導を分析して、最も大きく誘導される処より 5mm 位迄離れた処までは充分誘導出来ると云っている。

本実験に於いて、線維性収縮の活動単位を分離誘導せんとして、色々な誘導法を検討した。然してその基本になる誘導は隔絶誘導であり、これは伊藤等¹⁸⁾が詳細に報告しているように隔壁の下を通過するインプルの頻度と、他の種々な方法によるそれとを比較検査すれば、如何なる範囲を誘導しているかを決定出来るものと考へた。

例えば同心型針電極の場合には全インプルス頻度の約 1/3 を誘導している。個々のインプルスが筋の色々な部位に於いて at random に発生していることが判っている故、同心型針電極に近い所にある全筋線維の内約 1/3 の線維群中の活動を誘導しているものと考えられる。この場合発生している個々の偽作電位は隔絶法で記録したもので約 150 μ V であったが、志賀²¹⁾等の観察した単一運動単位の偽作電位は全く同じ隔絶法誘導で約 3mV であった。従って運動単位の場合は同心型針電極によって更に多くの範囲から、殊によるとこの筋の如何なる部分で発生した単一運動単位をも、誘導するのではなからうか。要するに筋の一部に発生した偽作電位がその周囲に電場の拡がりを作る。この電場は Rogers²²⁾の説明でも明らかなように指数函数的な拡がりであることは云うまでもない。そしてまたこの電場が縫工筋に於いて如何なる length constant を持っているかについては、桑原等²³⁾の報告がある。即ち隔絶法で測定した結果、彼等は縫工筋の縦軸の length constant は約 3.5mm であると述べている。この場合は縦軸

と横軸の constant は等しいとは云えないが、それが判れば同心型電極の誘導範囲を論ずるに可成容易になる。数本の筋線維が興奮した時個々の細胞膜の両側には約 120mV の電位が発生するが、外部誘導ではその発生電位が外部溶液で短絡せられて 150 μ V に減少したとする。従ってこの場合、興奮した筋線維から横軸 constant 離れた部位に於ける電位は $\frac{1}{e}$ で約 50 μ V である事になる。私の使用せる増巾器の最低識別電位が約 50 μ V である為、若し上記の仮定が正しければ、線維性収縮について同心型針電極では約横軸 constant の半径を持つ範囲を誘導している事になるが、それは約 1mm 位になれば良いわけである。

2) 単一活動単位分離誘導法に関する考察

線維性収縮の活動単位分離誘導等について、個々の活動している筋線維に微小電極を刺す事は最近試みられているが非常に困難である。そこで伊藤¹⁸⁾等の使用した隔壁内誘導を更に改変して、極く限られた筋の一部分のみから電位を誘導出来る様にした。即ち非常に細い中心誘導電極の周囲をアース側電極で囲んで、極く一部の筋の活動以外はショートして電極に誘導されない様にした。

斯くして誘導された電位が単一活動単位からの発射であるか否かについては、更に実験的証拠を固めねばならない。この目的の為には電位も 1 つの目標になる。即ち非常に誘導範囲の狭い所から一定の高さの電位が現われれば、単一活動単位の発射と考える事も困難ではない。然し電極から等距離の円周上に 2 個以上の活動単位があった場合にはこれを区別することは出来ない。

そこで実験 A の (5) に於いて行ったように、隔壁内に非常に細い 2 本の電極を入れてこの両方から同時誘導した。第 5 図に示す様に各電極共、夫々一定の誘導範囲を持って居り、且つ両電極間距離が適当であれば、両誘導範囲が一部分重なる部分が出来た。然してその重複範囲内での 1 個の活動は、両電極に同時に誘導されると共に、各誘導電位の高さにより特徴づけられ

る。これ等は勿論前項で説明された電場の拡がりに起因しているものである。従って、両誘導電位を記録紙に同時記録した後、両者の偽作電位が時間的に一致しており、且つ夫々の電位の高さ及び両者の比率が同じである偽作電位を数えあげれば単一活動単位の発射を観察し得る事になる。

3) 線維性収縮 (BFT) 活動単位の放電

上述の方法で単一活動単位の放電を観察すると第3図にも示す様に非常に律動的な放電を繰り返している事が判った。又その頻度は20°Cに於いて2~8 c. p. sである事が測定されている。筋をBiedermann氏液に入れた最初の数分間は一般に2~3 c. p. sであり、その後次第に頻度を増して約15分後には8 c. p. sに達した。

斯様に律動的な放電は、神経又は感覚器官からの単位活動に於いて従来屢々観察せられていた。そして筋偽作電位では運動単位の放電も律動的とされている。然し線維性収縮については特に不規則な放電を特徴として、他の活動から区別されて来た。唯最近になってEccles²⁴⁾は線維性収縮をしている単一筋線維の放電を繰り返していると報告している。

Bülbring等²⁵⁾も亦微小電極法で蛙筋の脱Ca⁺顫動している個々の筋線維の1~20 c. p. sの律動性の発射をしている事を認めている。

斯様に線維性収縮に於いて個々の活動単位は非常に律動的に活動しているが、多数の単位が夫々無関係に放電している為に、筋全体から誘導される偽作電位は不規則になるのである。そして斯様な不規則な線維性収縮の頻度に関しては、報告も多くLangley and Kato²⁶⁾、Tower²⁷⁾およびDenny-Brown and Pennybacker⁷⁾等は2~10 c. p. sの頻度を測定している。

なお単一活動単位の頻度と筋全体の頻度とから、普通活動している単位数を推定し、季節其の他の条件により異なるが平均5個(秋蟄)である事を算出した。そして此れ等の単位は一度興奮し始めると約15分間反復性放電をした後活動を停止した。そして群化現象(単位数の群化でなくして頻度上の群化である)を除けば、そ

の後再び興奮する事はない様に認めた。

所で実験中屢々活動単位の放電が群化して現われる場合を認めた。即ち第3図にも示すように、数個のインプルスが高頻度で放電した後暫らく休止期をおき再び同じPatternの放電を繰返した。斯様な放電の群化は多くの場合水温を高めると著明になるが、その規則性については次報に詳しく述べようと思う。

V. 要 約

線維性収縮における活動単位の頻度を測定する為には何かこれに適した分離誘導法が要求される。著者はBiedermann氏液により線維性収縮を起し、杉氏隔壁箱を改良して「立体視隔壁内電極法」を考案して検討を試みた。又広く用いられておる同心型針電極法は線維性収縮の場合どの程度の範囲のインプスを誘導するかについても調べた。

本論文には誘導法改良の過程と共にBFT活動単位のリズムについても報告した。

実験には主として秋蟄の縫工筋を使用した。

1) 同心型針電極のBFT誘導率は筋全体のインプス誘導率の1/3であった。

2) 隔壁内電極法

前法よりも筋の固定が容易であるが、誘導率は80~90%であり、単位の分析には不十分である。

3) 隔壁内両側接地電極法

電極巾0.08mmの有効電極を隔壁の中央に置きその両側に0.5mmずつ離れて2枚の接地電極を挿入した場合、誘導率は20%台になり単一活動単位の追跡が出来易くなった。

4) 立体視隔壁内電極法

本法は前法を複式にしたもので、隔壁は次の如く、接地電極、第1有効電極、接地電極、第2有効電極、接地電極、と5枚の電極を包含している。本法によれば2つの記録を比較照合する事により、各単一活動単位のインプスシリーズの分離追跡が精確に出来る。

本法の中央接地電極の中を変える事により、参加活動単位の数に応じて誘導範囲を加減する

事が出来る。

5) BFT における単一活動単位の活動は全く律動的であり、その頻度は2~8c.p.sであった。然し筋全体について見る時は、活動している全単位が加算されて、不規則でat randomの様に見えるものと思われる。

稿を終るに臨み、本研究に終始御懇篤なる御指導及び御校閲を賜りました伊藤竜教授に、衷心より感謝の意を表すると共に、常に熱心な御協力を頂いた伊藤文雄助手並びに教室員諸兄に厚く謝意を表します。

文 献

- 1) Ito, R., F. Ito and Y. Ito (1954) Jap. J. Physiol. **4**, 324
- 2) Ito, F. (1955) Jap. J. Physiol. **5**, 58
- 3) Hayashi, T. (1956) Chemical Physiology of Excitation in Muscle and Nerve. Nakayama, S.
- 4) 桑原昌也 (1956) 名古屋医学 **72**, (4) 1
- 5) 桑原昌也 (1957) 日本生理誌 **19**, (10) 1062
- 6) Brown, G. L. (1937) J. Physiol. **89**, 438
- 7) Denny-Brown, D. and J. B. Pennybacker (1938) Brain. **61**, 311
- 8) Luco, J. V. and C. Eyzaguirre (1955) J. Neurophysiol. **18**, (1) 65
- 9) Cannon, W. B. and H. Rosenblueth (1949) The supersensitivity of denervated structures. New York, Mackmillan.
- 10) Alberto, A. and Marinacci (1955) Clinical Electromyography. Los Angeles, San Lucas.
- 11) 時実利彦 (1952) 筋電図の臨床 協同医書
- 12) Adrian, E. D. (1928) The basis of sensation. London, Chrestrophers.
- 13) Ito, F. (1957) Jap. J. Physiol. **7**, 86
- 14) Stannüs (1852) Mülers Arch. 85
- 15) Sugi, Y. (1934) Jap. J. Med. Soc. Biophysics **3**
- 16) Biedermann, W. (1896) Electrophysiologie. **89**, 104
- 17) Kuroyanagi, M. (1952) Nagoya J. Med. Sci. **15**, 103
- 18) 伊藤 龍・伊藤文雄 (1955) 日本生理誌 **17**, (3), 149
- 19) Adrian, E. D., and D. W. Bronk (1929) J. Physiol. **67**, 119
- 20) Landou, W. M. (1951) EEG Clin. Neuro Physiol. **3**, 163
- 21) 志賀 博 (1956) 日本生理誌 **18**, (10) 787
- 22) Rogers, W. E. (1954) Introduction to Electric Fields. Mc Graw-Hill.
- 23) Kuwahara, M.; (Unpublish.)
- 24) Eccles, J. C. (1941) Med. J. Australia. **1**, 573
- 25) Büllbring, E. & M. Holman & H. Lüllmann, (1956) J. Physiol. **133**, 101
- 26) Langley, J. N. and T. Kato (1915) J. Physiol. **49**, 410
- 27) Tower, S. S. (1939) Physiol. Review **19**, 1

Summary

In order to measure the frequency of an action unit in the whole muscle induced in fibrillary twitching by any procedure, for example by Biedermann solution, there has been demanded a suitable method. Under suggestion of prof. Ito, the author has been engaged in this device and finally devised a new method named stereoscopic intraseptal by Ito, by improving on an intraseptal method, after several trials. Together with description of the course of improvement, data of the measurement of the frequency of BFT in respect with the action unit in the whole muscle have been reported in this paper.

Material: The sartorius muscle of the toad.

Sugi's septal method was used as the standard, by which, every impulse could be lead and counted or registered on passing the septum.

1. With concentric needle electrodes in the routine work, leading rate (the rate of led impulses to the whole leading) was 1/3, but still too many to separate the impulses in respect with the single FT unit.

2. With various intraseptal electrodes, the leading rate was 80~90 percent, but fixation of muscle was easier than by method I.

3. Intraseptal both different and earth electrodes within. In case of a different electrode 0.08mm. at the middle of the septum and 2 earth terminals apart from the different by 0.5mm., leading rate was 20 percent, becoming somewhat easier to trace activities of the action unit.

4. Steroscopic intraseptal method.

This is a doubled system of the former, the septum including 5 electrodes in the following order, earth, 1st different, earth, 2nd different, and earth. By this method each impulse series of each single unit could be traced by corresponding two records. By changing breadth of the central earth it is able to adjust in accordance with numbers of units activated.

5. The activity of the action unit driven in BFT was fairly rhythmic and its frequency was 2 to 8 c.p.s. but in the whole muscle it seemed irregular and at random, for it was summed up in respect with the whole units activated.

(2nd Department of Physiology, School of Medicine, Nagoya University)

地方小学会報

第16回近畿生理学談話会(つづき)

時 昭和32年10月13日(日)9~17時

所と当番 関西医科大学第1講堂 幸塚嘉一

13. 高木健太郎・中山昭雄(名大第1生理)

GSRの波形について

皮膚電位記録によるGSRはいろいろな波形を示すが、その変化は或る種の規則性があることを知った。すなわち(1)刺戟を強くするかまたは刺戟間隔を短くすると、先ず陰性の振れ(手掌面の陰性の増加)が大きくなるが次第に陽性の振れがそれに重畳して現われ遂には陽性の振れのみとなる。この時の潜時は単相陰性波のそれと同じである。(2)通常左右の手掌からは同じ波形が記録される。片側圧迫により同側の陽性の振れが先ず消失し、次いで陰性の振れも抑制される。反対側では促進が見られる。この効果は圧を加えると直ちに現われる。(3)局所を貧血に陥れると陽性の振れが現われ難い。(4)局所を冷却すると潜時が延長し陽性の振れが消失する。加温すると逆に陽性の振れが著明になる。

これらの結果からGSRの波形は少なくとも2つの過程、すなわち陰性及び陽性の要素電圧から成立っており、それがいろいろな割合で出現してGSR波形の変化を来すものと考ええる。

14. 高木良雄(名大第1生理)

蛙の皮内における求心性伝導

蛙の皮膚・神経標本を用いて、皮膚に機械的刺戟を与えた時の皮内に於ける伝導速度を測定した。遊離した皮膚神経束から活動電位を記録しながら1/3注射針のマンドリン(先端の直径約40 μ)でコルク板上に内面を上にして固定した皮膚に機械的刺戟(8g/cm²(40/2 μ)²)を加えた。刺戟用マンドリンは微動装置により1mm間隔で移動し得る様にした。

1) 皮膚背皮神経標本

皮膚固定後30~120分経て、自発性放電の消失後、刺戟点を1mm間隔で神経の皮膚侵入部から遠ざけていくと、潜時は次第に長くなる。潜時は①皮膚の mechanoreceptor, ②皮内の神経線維, ③皮外の神経線維に於ける経過時間の総和であ

る。刺戟点を移動させる時、①③が刺戟部位によって差異がないとすれば、各潜時の差は皮内の神経線維の伝導時間の差を示す。潜時と刺戟点移動距離とは略々比例している。これから皮内伝導速度として1.2m/secを得る。しかし、神経の皮内侵入部位から5~6mm以上離れると急に潜時が長く伸びる場合が約半数に於いて見られる。この場合の速度は0.3m/secである。8例の平均値は1.47m/secである。

2) 腹部皮膚標本

R. cut. abdom. の支配領域に於ける5例の平均値は0.86m/secである。

3) 下腿皮膚標本

R. cut. crur. の皮内走行を肉眼で識別し得る太い神経枝に沿っては、速度は早くて(10m/sec)潜時が短く、それより遠ざかるに従って一般に速度は次第に遅くなる。

肉眼で見得る 太い神経枝か らの距離	1~ 2mm	2~ 3mm	3~ 4mm	4~ 5mm	5~ 6mm
皮内伝導速度 (平均) m/sec	1.32	0.71	0.59	0.53	0.36

従来受容器で消費されると考えられた潜時には上述の細い皮内神経の遅い伝導速度に原因する時間を考慮する必要がある。

15. 岡本智量(阪大第2生理)

緊縛家兎の呼吸に関する研究(体温変化過程に於ける各種刺戟による呼吸変化)

比較的高い自然環境温の下、特に夏季、家兎を緊縛固定すれば多呼吸が出現するが、冬季に於いてはその様な現象は見られない。その原因と考えられるものは多いが、そのうち情緒的な興奮によるもの及び体温の相違によるものを採り上げ、その特徴を明らかにしようとした。ここでは前者に関して報告する。家兎は背位に固定、筋電図は横隔膜、胸横筋、外斜腹筋より同時記録、呼吸曲線は気管切開を行ないカニューレを挿入、タンブールに導いて記録した。家兎は保温箱の中に入れ、その箱を加温或いは冷却した。

1. 実験の高環境温の下では、緊縛家兎の体温は漸次上昇し、遂に過呼吸状態に達するが、その間次の刺戟を与えた時の呼吸変化は a) 前肢皮膚の電気刺戟 (6 Volt, 3.5秒) により呼吸数増加、吸息筋の吸息放電、間挿放電及び呼息筋の呼息放電の増大を認めた。b) 眼球圧迫により呼吸数減少、吸息筋の吸息放電、間挿放電、呼息筋の呼息放電の減少を認めた。c) 音の刺戟及び後肢の疼痛刺戟によっては刺戟初期に一過性の1回だけの大放電を見ることがあるが、一般に刺戟中呼吸抑制、刺戟終了後の促進を認めた。然しこの刺戟によって起る呼吸反応は小さい。

2. 実験的低環境温の下では、体温は漸次下降し、その間に以上の刺戟を与えた時の呼吸変化は上記と同様であった。以上の刺戟によって生ずる呼吸変化の直腸温範囲は電気刺戟が最も広く40.0~18.0°C、他の刺戟は37.0~22.0°Cであった。之等の刺戟によって誘発された呼吸変化は呼吸促進、抑制共に呼息筋放電(胸横筋が最も鋭敏であり、外斜腹筋はそれに次ぐ)に於いて高度で、吸息筋(横隔膜)放電ではそれ程敏感ではない。然も呼息筋、吸息筋の放電は共に同方向に影響をうける。

16. 上田幸一郎・村尾 哲・岡田芳雄 (阪大第2生理)

呼吸型と筋電図 (其の3) 特に迷走神経反射との関係

肺胞の拡張収縮が呼吸に及ぼす影響に就いては一般に Hering-Breuer's reflex が知られているが、小口・福原・Gesell 等の成績と必ずしも一致していない。著者はこの点を明らかにする為、次の実験を行った。

実験方法：前報告同様家兎の吸息筋と呼息筋の中、三筋の EMG を呼吸曲線と同時に記録し単一運動単位をみた。約 70l のデシケーターを気管カニューレを通し肺に連絡、100cc 注射器でこの内圧を変化させ胸腔内圧を変化させるには、左右一対の気胸針に 20cc 注射器と水マンメーターを用いた。肺内圧は最大±60mmH₂Oの増減であり、胸腔内圧変化は最大±20mmH₂O以内とした。

実験成績：

1. 肺内圧変化持続時の影響

i) 肺内圧上昇時は、呼吸遅く、吸息筋放電は稍減弱し、呼息筋放電は増強す。

ii) 肺内圧下降時は、呼吸速く、吸息筋放電は稍増強、呼息筋放電は減弱す。

2. 肺内圧変化初期の呼吸変化

加圧直後に現われる呼息筋放電の増強は、呼息期に加圧が行われる時程著明。同様減圧直後の影響も吸息期に行なわれる時程著明。

3. 夏期家兎に於ける変化

呼吸数と吸息筋の放電時間の変化で反応。

4. 麻酔薬の効果

3 同様の变化をもって反応する。

5. 胸腔内圧変化との関係

圧上昇で呼吸数増加、呼息筋放電減弱、圧下降で呼吸数減少、呼息筋放電増強。

又一過性に初期に呼吸数、吸、呼息筋共の増強をみる事が多い。

6. 迷走神経切断による変化

切断により上記の呼吸反応は消失、更に麻酔で呼息筋放電消失。

7. 皮膚電気刺戟の効果

肺内圧変化の上に電気刺戟を重複すると、吸、呼息筋共に反応するが、加圧状態では呼息筋の後期の放電が増強する。

17. 丹生治夫 (京大教養部)・中島 晃 (京都市児童院)

活動電流よりみた人子宮各部の収縮性について
人子宮の活動電流を子宮下部、子宮体部より誘導し、両者を比較検討した。

誘導電極は画鋲型の針電極で、先端露出部の直径0.5mm、銀塩化銀極とした。15例の人子宮について実験、内11例は正常産褥 2~6 日、分娩時陣痛に関しては、妊娠 10, 7, 6, 5 カ月のもの各 1 例である。

子宮頸部より誘導した場合には、自然放電はなく、硫酸スパルテインにより収縮を起させても何等の放電も認められない。子宮下部では、種々の程度の棘波が連続的に発生する。又、放電を認めない場合もあるが、全体として80%に放電を発生した。これは解剖学的に子宮頸部では筋線維が殆んどなく、子宮下部では筋性であるが、可成上方迄結合織が混入しているためであろう。

妊娠 6 カ月の同一例で、妊娠、分娩、産褥の各期について放電の変化を見た。誘導部位は子宮下部で、出来るだけ同一箇所より誘導した。妊娠時

では自然放電を認め難く、硫酸スパルテインに対する反応も弱い。分娩が進行するにつれ放電は強力となり、1回の陣痛に対して棘波放電群が頻繁に発生する。この際子宮頸部に近い処より誘導すると、放電は殆んど認められない。産褥期に入ると放電は速かに減弱する。そして上部と下部を比較すると、下部に於ける放電が早く消失する。

以上要するに、人子宮下部の活動電流は子宮体部と同様な放電様式を示す。即ち収縮の開始に多少先行して棘波放電群が間歇的に現われる。群の発生頻度は収縮開始時に密で、次第に疎となり消失する。これが1回の収縮に相当する。個々の棘波群は棘波が不規則に重積した形を呈する。これは接触面積の大きい電極を使用するために、動物子宮に見られる分離棘波が (Bozler, 丹生) 人子宮に於いては、時間的、空間的に融合、加算された結果であると思われる。

18. 古河太郎 (大阪市立大第1生理)

Procaine End-plate Potentialの性質について

Procaineが神経筋接合部の遮断作用を有することはよく知られているが、Procaineの作用につき特に興味を引く点はその際観察せられる終板電位 (e.p.p) の波形が、普通のクワレ作用下にみられるものとは異なり、早期の峰とそれに引続き起る第2の隆起或いは hump の存する事である。このような双峰性の e. p. p については Coppée (1943) が数種の薬物作用下に於いて観察しうる事を報告しているものであり、この点からすると Procaine e. p. p の性質を明らかにする事は或る程度一般的な興味のある問題と云える。用いた材料は蛙の神経縫工筋標本で、浸漬液の中へ Procaine を混合してそれを作用させた。実験の項目は次の通りである。

1. Procaine e.p.p の空間的減衰

2. 筋線維の膜電位を変化させる場合にみられる影響

3. Procaine e.p.p の大きさと hump の大きさとの関係

(2) の実験に於いて、Procaine e. p. p の初期の峰の振幅は膜電位の大きさと正比例の関係を有するが、hump のそれについてはむしろ逆の関係がみられることが分り、その結果初期の峰は通常の e. p. p と同じ性質のものであるに反し、hump の方はそれとやや性質をことにするものである事が

明らかになった。この実験事実及び (3) の内のあるものは hump が筋線維の local response に由来することを思わせるが、これのみでは説明困難な点も存在するので、今後も引続いて検討する必要があると考えられる。又 Procaine 作用下に於いて僅小の脱分極に反応して local response が生じられ易いという事であれば、問題は更に一般的な興味を引く事になる。

19. 田中守也・佐々木和夫・深見 安 (京大第1生理)・千葉康則 (山口医大第1生理)

聴覚領野の strychnine neuronography による研究

誘発電位法によって Tunturi が報告した犬の聴覚図を参考にし、各分野間に於ける直接的な繊維結合を strychnine neuronography によって検索する目的で Middle ecto-sylvian (MES), Posterior ecto-sylvian (PES), Anterior ecto-sylvian (AES) gyrus に strychnine を局所的に適用し、その結果現われる “strychnine spike” から、これらの相互間、更に Third area その他に対する繊維結合の存在とその強さを検討した。

strychnine neuronography の結果は種々の実験条件によって変動し “strychnine spike” の欠除は直ちに直接的な繊維結合の欠除を意味するものではないが、“strychnine spike” を認めた場合には直接的結合の存在を認めてよいと仮定して実験成績を判定した。即ち：

1) MES からは同側 PES の下半部及び同側 AES に対する結合を認めた。AES に対しては MES の後方に至る程強い結合を示したが、この事実は AES が Low frequency にのみ反応するという報告と合致する。

2) PES の上半部からは PES 下半部に向う結合を認めたのみであったが、下半部からは PES 上半部 MES 各部に対して強い結合を有しており、又 AES に対しても認め得た。即ち之の結果は第一次聴覚領野 (MES) と第二次聴覚領野 (PES) とは両方向性に密接に結合する事を暗示するが、この結合は PES の下半部のみ強い傾向を有す。

3) AES からは MES 各部と Third area に対する結合を認め得た。

4) 両半球の聴覚領野間の結合については夫々の対称部のみに陽性の結果を得たが、機能的に極

めて密接な関係を有する分野間に於いては homotopic な関係と共に heterotopic な関係をもつ可能性が多分に考えられ、この点は今後の追求に待つべきである。

20. 鷲津好昭 (京大第1生理)

脊髄運動ノイロンに及ぼす温度の影響

ヒキガエル脊髄を別出し Ringer 液を入れた小容器中に置き、5%CO₂+95%O₂の通気下に第9及び第10脊髄根の間に在る前角運動ノイロン内にKCl-ガラス微小電極を刺入し、直流増巾器を用いて細胞内電位を記録し、脊髄の温度を変えた時現われる変化を追求した。尚温度を変えた範囲は6~30°Cである。

1) 静止電位・スパイク電位：室温(17~18°C)から温度を下げると膜電位が減少し、前根・後根刺戟によるスパイク電位の高さも減少するがスパイク幅は増加してくる。刺戟後スパイク電位発生迄の潜時も増大する。IS→SD スパイクへの伝達も遅延しここで block が起る場合もある。そこで逆に温度を上げると急速に回復に向うが、20°C前後になると再びIS→SD スパイクへの伝達が遅延し block が起る様になる。この際前根刺戟によるものの方が後根刺戟によるものよりも先に block し易い。更に温度が上昇すると前者によるものは完全に block し、後者によるものはシナプス電位を示すのみとなる。然し間接刺戟ではスパイク電位の発生が起らなくなった場合でも直接刺戟には応ずる。膜電位・スパイク電位は通常19°C前後の時最大の値を示す。尚温度係数の値は各運動ノイロンによってかなりの個体差があるが一般にスパイク電位の高さよりも幅の方が著しい変化を受ける。

2) 直接刺戟による所見：運動ノイロン自身の興奮性の変化を知る目的で、Bridge回路を用い微小電極を通して矩形流の外向き通電を行った時生ずる細胞膜の脱分極・スパイク放電を同時に該電極により記録した。その結果によれば運動ノイロンには最大の興奮性を示す様な温度が存在する事が判る。

3) 反復性放電：温度低下と共に極大単一後根刺戟に対して反復性のスパイク放電を以て応ずる場合がある。この際同時に記録した直接刺戟による所見と比較すると、介在ノイロンを介して運動

ノイロンに到達するイムパルス of 反復持続性の増加も大きな因子を占めるものと考えられる。

21. 平岡 馨・勝田 穰 (三重大生理)

神経組織の興奮性に対する鍼刺激の影響

直接測定法による血圧の動きを指標に家兎の頸部迷走神経の興奮性に及ぼす鍼刺激の影響を検したが、施鍼は血圧上昇反応を惹起する傾向が強い成績を得た。此の昇圧効果は機械的に招来された神経形質膜の部に於けるイオン透過性の変化に基づく発生々体電流のVtが丁度昇圧神経線維に対する有効刺激強度に止まること(降圧線維に対しては充分に有効な刺激強度迄に達しない)に主な起因が考えられる。

demarcation potential と critical excitability levelとの相関のもとに1回宛の刺激強度とは別に同一点を目指しての反復鍼刺に際しては、鍼は太いものの方が細いもの(限度はあるが)よりも有効刺激頻度が少なくなる確率が高い。細い鍼の場合特にその質が柔軟なときは穿刺に際する組織抵抗に基く鍼尖の進行方向転換と相俟ってしからざる場合より有効な刺激を頻回与えうる可能性が強い。従って血圧としては此の場合昇圧方向に影響される傾きを強く出しうると考えられる。刺戟の神経興奮性に及ぼすその他の関係因子としては刺傷による膜の特異的な透過性の破綻部よりのイオンの移動に基く電位勾配が竝走する線維に対する影響及び細胞外へ拡散浸出したカリウムのこれ等の線維に対する影響等が考えうるのではないかと想う。遠心性刺戟刺激のもとに他種刺激の遠心性適用のもとに仲々招来し難い昇圧反応を、さして容易ではないにしても惹起し得たのであるが、このことに就いては神経線維なる興奮性形態側に於ける被刺激性・興奮性等と呼ばれるものの差異に基いた異種神経線維間に於ける興奮性起状態の差異の他に、刺激として用いるものの特異な作用形式、即ち多数の混走する神経線維中の極く少数な数量的に限られた線維のみに刺激的に働きうる点にも考慮の余地がある様におもう。

22. 奥野正良・勝田 穰 (三重大生理)

迷走・交感両神経線維の性状の差異 (第1報)

Action potential oscillograms を指標に墓の別出神経標本に対するRingers Solution中のNaCl濃

度の影響を検した結果、(1)迷走神経性 A.P は Na 濃度の増大について漸進的に弱体化消失を来し、その濃度の減少に際しては著しく強大な A.P を発現するようになるが、交感神経性の A.P は迷走神経性 A.P とは逆に高濃度 Na には抵抗が強く、低濃度 Na には抵抗が弱い。(此の場合滲透圧の如何よりも NaCl の濃度そのものの方により敏感に影響される様である)。此のことは交感・副交感両神経系の緊張の Balance に対する神経線維を介する一次的な Na の影響として注目される。(2)迷走・交感両種の個々の神経線維に就いては高濃度 Na の場合は勿論の事、高度の低濃度 Na の場合に於いても迷走神経性のものの方が交感神経性のものよりもより速かに A.P 発現不能に陥る様である。此の成績は同一神経幹中を混走する兩種線維間に就いて比較した場合の成績であるが、直径の異った神経線維束中を夫々走る兩種線維間で比較した場合には線維束外液の束内への拡散滲透速度が関係するためと考えられるが液条件が極端な場合程特にその成績は必ずしも一致しない様になった。迷走・交感兩種神経線維間に観察された(2)の前半の成績は他の実験成績と共に色んな環境条件中の多くの条件に対して一般的に兩種神経線維の興奮性消長の時間的遅速や変動の大きさが相違しているのではないかを疑わせるものの一つである。一般に交感・副交感両神経系の seesaw 調節に就いて Cannon の説いた全身性と局所性との支配様式の差異を考える他は兩系を等価的に考察している点に疑問を抱かしめるものがある。

23. 杉本敏一 (大阪医大生理)

末梢神経中の自律神経線維の組織学的検証 (横断切片による)

之は予報の程度に留るものである。前に34回日本生理学会総会に於いて、末梢神経をオスミウム酸に短時間作用させた後之をほぐして見た標本で太さ、着色度、表面の状況の3つの点で体制神経線維と自律神経線維が明らかに区別出来る事を報告した。今回は之に続いてパラフィン包埋による横断切片の標本に就いても、之等兩種神経線維が果して区別出来るかどうかを調べてみた。もし之が可能であれば之によって種々の末梢神経中の自律神経線維の混合する割合を明らかにし得ると考えたのである。

材料としては蛙、猫、家兎を用いた。染色法は

前回と全く同様に行った。所でパラフィン包埋を行うにはアルコールで脱水する必要があるが、アルコールを作用させる時間が長い程自律神経線維の褐色調が黒みがかって区別が次第に困難となる事が分った。所がアルコールによる脱水を短時間に止めると包埋が不完全で薄切が困難となるであろうと云った矛盾に相遇する事が予想されるのである。とにかく今回はこの脱水時間を6乃至18時間にして次の神経に就いて標本を作製した。1. 蛙坐骨神経幹 2. 猫頸部迷走及び交感神経 3. 家兎第Ⅷ胸神経前根。之で見ると兩種線維共区別が出来ぬ程ではないが染色後直ちに線維をほぐした標本に比べると黒みが増している所以で識別はそれ程明瞭でないという結果になった。

今回はアルコール脱水時間をもっと短縮してしかもうまく薄切する方法を工夫し、或いは全く脱水を行わない包埋法をも試みたいと思っている。

24. 田中茂夫 (大阪市立大第1生理)

網膜色素移動に対するアスパラギン酸の作用について

蛙及び蟻の暗順応眼に杆体外節の代謝に重要と考えられるグルタミン酸、及びその代謝産物、並びに化学的に構造の類似せる物質並びに従来より色素移動に関係あると云われた無機塩類を各 10^{-1} M 0.04 ml 眼球内 (硝子体内) 注射して、網膜色素の移動に対する影響を、一方では組織学的に検索し、他方では色素の移動と密接な関係あると云われている視紅との関係を検索する為に、重層遠心分離法を用いて同一個体から得た網膜色素と視紅との濃度を光学的に測定した結果、アスパラギン酸のみが特異的に然も視紅濃度に関係なく網膜色素の明位移動を起す事が明かになった。尚、グルタミン酸及びオキサロ酢酸は視紅の濃度に関係なく色素の部分的明位移動を起した。之は、網膜内でアミノ基転位酵素により、少量のアスパラギン酸が生成された為に起るのであろう。他の物質は色素移動に対して影響はなかった。然し、 NH_4Cl 、 α -アラニンに予め眼球内に注射した暗順応眼は、これを明順応しても色素の明位移動を起さなかった。之は NH_4 イオン或は α -アラニンによって、杆体外節内におけるアスパラギン酸の生成は網膜色素移動が阻害される為であろうと考えられる。

以上の実験は、組織学的所見と色素の定量的実験の間で全く一致した成績を示した。

第8回西日本生理学会

時 昭和32年11月2日午前9時15分～17時15分迄

所と当番 九州大学医学部生理学教室講堂 問田直幹

1. 中島方衛・宮原善彦 (九大第1生理)

輻射法による痛覚の測定 (第2報)

痛覚に関する一連の実験として Hardy 型熱線輻射痛覚計を用いて3人の健康成年男子を被験者とし、照射面積、皮膚表面の湿潤、輻射熱の反復刺激、他部位の同時刺激、2, 3の鎮痛薬剤等について、手背に於ける痛覚の閾に及ぼす影響を観察した。尚、痛覚の閾は皮膚温度によって差異を生じてくるので、この実験では銅・コンスタンタン熱電対及び低電圧用電位差計を用いて皮膚温度を必ず測定し、その温度に於ける対照の閾と比較する様にした。

I) 照射面積の影響；対照は 1.54cm^2 とし、 0.38cm^2 , 3.46cm^2 , 4.90cm^2 の3種について測定してみたが、この範囲内の照射面積の変動では閾に及ぼす影響は殆んどなかった。

II) 湿りの影響；毛筆にふくませた 19°C の水で皮膚表面を湿した直後、閾を測定した場合、その上昇率は平均7%であった。

III) 反復刺激の効果；刺激熱量 220mcal/sec/cm^2 の輻射熱を繰り返し10回照射した場合、刺激間隔15秒では閾の上昇率は14%、30秒では10%、180秒では略々対照の閾と同じ値を示した。

IV) 他部位の同時刺激の影響；

(1) 左手を 50°C の熱湯に浸した時の右手背に於ける閾の上昇率は約7%であった。

(2) 280mcal/sec/cm^2 の輻射熱刺激を5秒間、左手背に与えた時の右手背に於ける閾の上昇率は5.4%であった。又、 534mcal/sec/cm^2 の刺激を秒間与えた場合は、7.8%の上昇を示した。

(3) 上腕に水銀柱血圧計の manschett を巻き、10分間、 200mmHg の圧迫を加えた時の同側手背に於ける閾は10%の上昇を示した。

IV) 2, 3の鎮痛薬剤の効果；Compral, 塩酸モルヒネ, Noblon (注) A の常用量では、手背に於ける閾は、さして著明な上昇を示さなかった。これは、皮膚の表面痛と深部痛との発生機序に相違がある為と思われる。

2. 梶原治雄 (久留米大生理)

皮膚神経活動電流による皮膚温度覚の研究 (第

3報)

先に報告した実験方法を以下の如く今回は変えた。

a) 標本；背皮神経・皮膚標本を用いた。

b) 装置；温度特性に改良を加えた新たな装置を使用した。更に前回迄の Ringer と流動パラフィンとの重畳を湿潤室にした。

以上の方法による興味ある結果を要約すると、

1) 同一標本で室温を標準として高温及び低温刺激を与えると、これに応ずるインパルスの大きさは明らかに異なる。

2) このインパルスは高温では小さく、低温では大きい。

3) 温度刺激の上昇或いは下降過程に於いて爆発的なインパルスの出現がみられる。

4) 温度刺激に応ずる1本の背皮神経束の分布範囲は、神経の出口を中心として約10mm以内であり、正中線を越える事はない。

3. 後藤昌義・桑木野 明・鳥越資夫 (鹿児島大第2生理)

皮膚抵抗に関する2, 3の研究

X線照射による皮膚障害の他覚的測定法として Impedance, 静止電位, 及び皮膚抵抗等の測定が行われているが、未だ充分に実用の域には達していない。そこで私達は比較的容易に測定出来る皮膚抵抗, 静止電位, 及び皮膚温の変化を手がかりに此の問題について検討したところ、みるべき結果が得られたので報告する。

実験には約2kgの成熟家兎を用い皮膚抵抗測定には電橋式直流抵抗測定器を、静止電位は直結2段増巾器を用いて測定した。なお皮膚温測定には Thermojunction による方法によった。

X線照射条件は管電圧150KVp, 電流3mA, 濾過板 $0.5\text{Cu}+0.5\text{Al}$, 焦点距離30cm, 半価層 0.74Cu 照射野を3cm円形とし線量を夫々500r, 1,000r, 1,500r, 3,000rとした。なお照射方法は1回大量照射方法によった。

得られた結果を要約すると次の様になる。

i) 皮膚抵抗は500rでは紅班期に減少し1,000r以上の線量を照射すると反対に増加する。

ii) 静止電位は紅班期に著しく減少し時として負の電位を示す場合もあるが、然しながら線量との関係については充分な相関関係を見出す事は出来なかつた。

iii) 皮膚温と抵抗との関係は正常の相関関係とことなり皮膚温の上昇と共に抵抗値も増加した。この様な変化は大量照射による場合、全身症状の影響が此の相関関係に大きな役割を占めているものと考えられる。

iv) 皮膚温と静止電位との間には特有な関係は見出されなかつた。

v) 白血球及び血液像の変化のうち特に白血球の変化が著しく、線量の大きさによりその減少の度合も著明であつたが、仮性好酸球の変化は相対的に増加し、この増加は線量の増加と比例した。なお赤血球の変化は著しくはなかつた。

4. 児玉正芳 (久留米大生理)

γの脊髄波と Sodium fluoride

中枢神経系の自発的電気現象の出現の、メカニズムを知るために3~10mMのNaFを作用せしめて得た結果に就いて報告する。

この自発的電気現象とは、γの剔出した脊髄の脳波的表现即ち、脊髄波である。

フルオリドに対する脊髄波の応答は、初発性亢奮像とそれに続く減退像とよりなる。前者は、約60秒であり、後者は、ずっと、いつまでも持続する。そして、各種の傍証実験の結果より、このフルオリドの作用は、glycolysisの阻止にあるといえる。

又、NaFの作用により、自発性電気現象には、自発性と応答性という2つの性質を分離して観察し得る。

然も、この自発性は、細胞内 glycolysis の際の遊離エネルギーによって維持されるに反し、応答性は glycolysis とは、直接に関係のないことが実験的に分つた。

更に、自発性電気活動とは、この glycolysis と関係を持たない応答性が、glycolysis のエネルギーによって駆動される現象ではないかと考える。

5. 井上 章・千葉康則・辻岡俊明 (山口医大生理)

γ-amino butyric acid の脊髄反射に対する効果について

Angelucci¹⁾の脊髄灌流下に蛙の屈筋反射を描記

する方法及び Eccles 等²⁾の close arterial injection による猫脊髄反射に対する薬物効果を調べる方法を若干変形して用い、γ-amino butyric acid (GABA) の効果を調べて見た。その結果

1) 蛙に於いては時に 10^{-4} の濃度で有効な個体もあるが、 10^{-3} 以上で GABA は反射を抑制し、Ringer液の灌流によって回復する。この場合抑制効果が最大になるには10分程度の時間を要する。0.1~0.5ml を灌流液中に徐々に注射する時には、 10^{-3} ~ 10^{-2} にて一時的に急速な抑制が起り、速かに回復する。

2) この GABA によって抑制せられた反射の回復は Metrazol (10^{-4} ~ 10^{-3}) 加 Ringer 液にて特に促進されず、又 Metrazol-Ringer 液灌流下の GABA (10^{-2} , 0.5ml) 注射による抑制は対照時と変りは見られない。

3) Strychnine (10^{-5}) 加 Ringer 液灌流による Sub-tetanic state においても GABA の抑制効果は認められ、又 GABA による反射抑制からの回復は Strychnine により促進される。

4) 猫に就いての予備的な実験の結果では、Ach (200μg), Nicotine (50μg) の効果に就いては Eccles 等²⁾の結果をほぼ確認し得た。同じ方法で GABA は 1mg 以下では判然とした効果を示さず、これ以上の大量で mono- 及び poly-synaptic reflex は数秒後若干増大し、30~50sec 後には抑制せられて来る。

5) γ-amino β oxy butyric acid は GABA と殆んど同じ効果を有するが、後者に比して有効量は 1/100 程度である。

以上の様な結果から、GABAは有効濃度が大きい事、抑制効果の発現が猫に於いて時間を要する事、(血圧下降によるものである可能性が考えられる)等から Florey 等³⁾のいう如く Transmitter とは考え難く、また Grundfest 等⁴⁾の猫の大脳皮質に於いて見たような Metrazol と GABA との拮抗的な関係は脊髄に於いては認め難いように思われる。

- 1) Angelucci, L. (1956) Brit. J. Pharmacol. **11**, 171
- 2) Curtis, D. R., J. C. Eccles & R. M. Eccles. (1957) J. Physiol. **136**, 420
- 3) Florey, E., Bazemore, A. & Elliott, K. A. C. (1956) Nature, **179** (4541), 1052
- 4) Grundfest, H., Girsdo, M. & Purpurs, D. P. (1957) Science, **125** (3259), 1200

6. 小財新一郎 (熊大実質研生理衛生)

脳波と波動呼吸を示標としたシアニン系感光色素の作用機序について

一定の週期を以て胸廓を張り上げた状態と然らざる状態を繰返すが、個々の呼吸の深さは常に一定であることを特徴とする所謂周期性波動呼吸をシアニン系感光色素を投与することによって起させ、各時期に於ける脳中枢の電気的変動を観察することによってその発現機序を検討した。

本剤 1r を家兎に注射すると、自律中枢副交感帯脳波に周波数増加をみると共に正弦状波動呼吸が出現する。かかる時機には自律中枢交感帯並びに皮質の脳波には周波数増加はみられない。本剤 50r の大量投与時には副交感帯・交感帯並びに皮質の脳波には周波数増加がみられ、呼吸の波動は順次痙攣性を帯びてくる。このような現象を通じて波動呼吸には自律神経中枢の関与は確かであり、また本種呼吸運動に及ぼす副交感神経系と交感神経系の役割も大略推知しうるものように考える。

7. 永野幸雄 (三井産研)

「音ときこえ」の研究に使用する装置の試作と比較

Psycho-acoustics の実験に使用するための電気音響装置として次のものを試作し (1) について述べた。

- (1) オージオメータ
- (2) コンデンサーマイクによる音圧測定装置
- (3) 語音検査及び記録のための磁気録音機
- (4) 白色雑音発生装置

オージオメータは JIS T 1201 (1956) を満足するように設計したもので、発振回路にはサーミスターでフィードバック制御したウィーンブリッジ型を採用した。周波数の較正は標準電波 (JJY) の変調周波数及び横河製測音 1 号 CR 発振器 (1c/s ステップ) を周波数標準としてリサージュ図法で行い、出力音圧の較正には標準コンデンサーマイク ロホン MR-103 と規定のオージョカップラーと

を用いている。

8. 草野 皓・佐藤昌康 (熊大第 2 生理)

味受容器に対する陰イオンの影響

正常 Ringer 氏液中の NaCl を NaBr, NaNO₃, NaI, NaSCN に置換した Br-Ringer, NO₃-Ringer, I-Ringer, SCN-Ringer 液を作り、之等の Ringer 氏液に蛙の舌を浸して味受容器に対する陰イオンの影響をしらべた。蛙の舌-舌咽神経標本を Cl-Ringer 液に浸し、舌咽神経の部をワセリンで隔絶して、求心性の活動電流を誘導し、刺戟は小ピペットで試験液を舌の表面に一定量をそそいだ。舌が浸されている末梢側プールの Cl-Ringer 液を Br, NO₃, I, SCN-Ringer 液に置換して後、30 分後、1 時間後、2 時間後という風に試験液を舌にそそいで、舌咽神経の反応を目標にして、味受容器の閾値の変化及び求心性放電のパターンの変化をみた。

実験結果を要約すると、Br 以下の陰イオン液に置換して後、30 分後位までは味受容器の閾値、反応の大きさは殆んど変化ないが、1 時間以上経過すると漸次、蒸溜水に対する舌の反応を抑制するに必要な塩類濃度上昇すると共に、塩類自身の刺戟濃度も上昇する。即ち両者共に閾値が漸次高くなることがみられる。塩酸キニーネ、蔗糖、塩酸などに対する反応も塩類程著しくはないが、閾値高く、反応小さくなる傾向にある。これらの作用を及ぼす陰イオンの効果に系列をつけることは厳密には難しいが、Br が一番弱く、SCN が一番強い。

此等の陰イオン液に置換して 30 分後位は殆んど味受容器の反応に変化がないことは、置換後 30 分位までは単に細胞間隙の Cl が Br などのイオンに置換されていることを意味して、陰イオンが味受容器に対し刺戟作用を有しないことを意味する。また 1 時間後以後に味受容器の反応が変化することは、長時間作用すると陰イオンが味受容器膜の性質を変化せしめることを意味する。

(以下次号に掲載の予定)