

日本生理學雜誌

JOURNAL OF THE PHYSIOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

第21巻 第5号

Vol. 21 No. 5

昭和34年5月1日発行

May 1959

原 著

- 中馬一郎・松田政博・志野 禎：差ベクトル法による電子運搬系の解析について487
- 松田政博：肝ミトコンドリアのコハク酸酸化酵素系に対する ethylurethane 及び2,3阻害剤による阻害型式について496
- 大桶礼一郎：超音波刺激の酵母菌体並びに其の破砕片に及ぼす影響（第Ⅰ編）超音波刺激の酵母菌体破壊度と其の顕微鏡的検索506
- 大桶礼一郎：超音波刺激の酵母菌体並びに其の破砕片に及ぼす影響（第Ⅱ編）酸化抑制超音波の酵母菌体破壊度とその破砕片の特徴に就いて517
- 大桶礼一郎：超音波刺激の酵母菌体並びに其の破砕片に及ぼす影響（第Ⅲ編）超音波曝振酵母の培養並びに濾過培養実験と其の顕微鏡的検索525
- 中 沢 隆 一：チフスワクチン耐性と副腎皮質との関係533
- 吉田泰次郎：成人女子クレアチン尿と月経周期540
- 吉田泰次郎：Progesterone クレアチン尿について545
- 別府芳雄：Electroshock の生理的機構について（第2報）家兎尿中 17-Ketosteroids (KS) 排泄に及ぼす影響551
- 湯浅亮一・井上恭一郎・尾崎滋敏・松井 稔：扁桃核電気刺激が視床下部脳波に及ぼす影響について556
- 西川和夫：唾液腺の無機塩分泌機転に関する研究（第1報）無機塩注入時の唾液塩分泌の変化について565
- 西川和夫：唾液腺の無機塩分泌機転に関する研究（第2報）血清の無機塩濃度と唾液の無機塩組成特に塩分欠乏時の関係について582

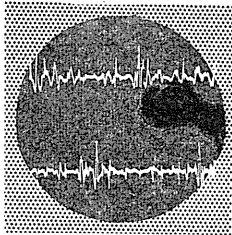
地方小学会報

- 第4回中部地区生理学会（つづき）594
- 第117回生理学東京談話会602
- 第11回生理学会北海道地方会（第12回）東北・北海道医師会連合学術大会と合同604

日 本 生 理 学 会

Physiological Society of Japan

新製品



筋電計

テープレコーダー付

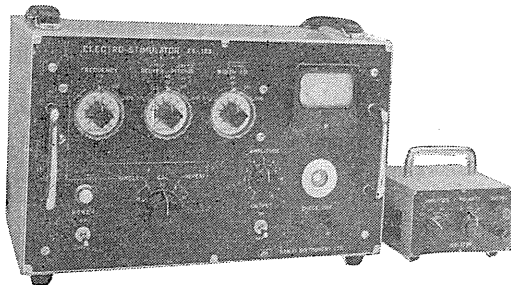
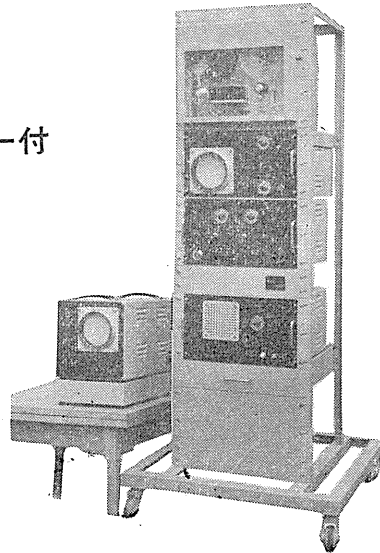
筋電図のほか脳波、心電図などの生体電気現象を2組同時に観測と写真撮影ができる——

筋電図の2現象を同時にテープレコーダーで録音できる——

スタートストップ方式のトリガー掃引回路を使用しているので

- ・刺激装置などの外部同期信号と掃引のスタート時間の遅れがない
- ・単掃引撮影のときフィルム面かぶらず鮮明に写真がとれる

掃引速度は0.1ms/cm～1sec/cmの直読目盛方式



新製品

電気刺激装置

ES-103型

—— 生理実験に 誘発筋電図等による臨床検査に ——

- ・単・複パルスと単発・反覆はツマミ一つで切換えられる
- ・マジックアイを併用して出力を監視できる
- ・波形は正確・安定
- ・アイソレーターを採用してアーチファクトの防止と取扱容易を考慮
- ・周波数の混乱防止機構を備えている

主要製品

脳波計・脳波分析装置
 万能記録装置・筋電計
 ブラウン管連続撮影装置
 麻酔監視装置・電気刺激装置
 電気衝撃治療器・光刺激装置
 ・インク書きオシログラフ・電磁オシログラフ
 ・直流増巾器

三栄測器株式会社

本社 東京都新宿区柏木 1-95 TEL (37) 7117-8 8114-5
 工場 武蔵野市吉祥寺 1635 TEL (022) 4941・7825

“差スペクトル”法による電子運搬系の解析について 612.015.1

Analysis of the Electron Transfer System by “Difference Spectrum” Method.

中馬一郎・松田政博・志野禎
(TYUMA-Itiro • MATSUDA-Masahiro • SHINO-Tadashi)*

I. ま え が き

化学的操作を可及的避けて、細胞内電子運搬系の諸性質をあるがままの状態の研究することはその系の生理的意義を解明する上に極めて重要なことである。これに接近する試みとして、古くから分光学的方法が最有力な手段として用いられてきたが¹⁾、対象とする試料が何れも高度に混濁した細胞浮游液であるため低分散の直視分光器による定性的観察に止まり、定量的知見が得られないという致命的欠点があった。

一方、最近の電子増倍管及び電子管の急速な進歩に伴い、混濁の強い細胞浮游液について短時間内に起る吸光度の微小変化を忠実に追跡するに十分な感度と安定度をもつ自記分光器の製作が可能となった。これらの中でも Chance²⁾と Lundegårdh³⁾のものが優れており、特に前者の装置は超性能ともいうべきで、彼の専門がこの分光器を用いて得た知見は夥しい数に及んでいる⁴⁾。しかし、これらの特殊分光器の製作には多額の経費と高度の技術を要し、簡単に備えられないうらみがあった。最近、Holton⁵⁾は市販の分光器でも綿密に調整すれば或程度まで上記の目的に役立つことを報告した。即ち、各 cytochrome 成分の含有量がとくにおおい心筋 sarcosomes を対象に選び、Beckman DU および Hilger “Uvispek” 分光器を用いて、差スペクトルを得ることに成功し、このスペクトルが Chance の装置でえられたものと定性的に一致することを示した。しかし、cytochrome 成分の含有量の少い他の試料についても用いるかどうか、また得られたスペクトルの定量的信頼

性はどの程度か等の問題があり、更に、この方法では単に還元状態と酸化状態の差スペクトルが得られるだけであって阻害剤の作用点の決定等には用いられない欠点がある。

上述の理由から、本篇では cytochrome 各成分の含有量の比較的少い肝 mitochondria とパン酵母を対象とし、Holton 法 (H-法) の定性・定量的信頼限界を検討すると共に、同法の欠点を除いたより一般的な方法を述べ、両方で得られた成績を比較し、さらに後者の方法によって antimycin A (AA) 及び ethylurethane (U) の作用点を検索した成績について報告する。

II. 実験方法

1. 実験材料

試料としては、白鼠肝の 0.25M 蔗糖均等液から Hogeboom⁶⁾ の方法で分離した mitochondria の 0.25M 蔗糖浮游液及び洗滌パン酵母の水浮游液を一昼液通気し、所謂 starved state にしたものをを用いた。

基質としては、mitochondria にたいしては M/10 コハク酸 (pH 7.4) を、酵母に対しては 10% ethylalcohol を用い、夫々浮游液 3.0ml 当り 0.03ml 宛添加した。阻害剤としては、AA は 99% ethylalcohol に 44 γ /ml の濃度に溶液を用いた。なお、阻害剤を添加する場合以外は、資料の膨化 (swelling) をできるだけ防止するため他の塩類・緩衝液等を全く加えることなく、反応系の組成は試料と基質のみとした。

2. 実験装置の調節

島津製 GB-50 型分光光度計を用い、測定は室温 (10-15°C) で行った。本実験では 0.01 程度の吸光度の変化を問題にするため、零点の安定度が測定値の再現性に最も大きな影響をあたえ

* 奈良県立医科大学生理学教室
(昭和34年1月6日受付)

る。本器では光源用蓄電池及び器内の乾燥状態の保持を厳密にし、幹線電源電圧の変動の大きい時刻を避けて使用することにより、5分間の零点移動を吸光度にして ± 0.002 以下に止めることができた。

また、cytochrome 各成分の吸収帯は非常に急峻であるから、定量的に信頼できる測定値を得るためにはスリット巾を相当小さくしなければならないが、用いた試料については電子増倍管供給電圧を 850-900V に上昇することによって、410-630 $m\mu$ の範囲で有効波長巾を 4 $m\mu$ 以下に保つことができた。なお、測定用セルは光路長 10.0mm のガラス製のものを使用した。

3. 実験手続

A. Holton 法⁵⁾: 試料をセルに入れ、基質を加えてガラス蓋をした後、セルを数回転倒して十分に通気し (aeration), 所定の波長 (λ) にあわせた光度計に入れる (この時を 0 分とする)。零点及び暗電流を調節した後、切換ノツブを 1 の位置におき、シャッターを開き、吸光度目盛を適当な位置 (例えば +0.050) におき、スリット巾と感度ノツブで平衡をとる (このときスリ

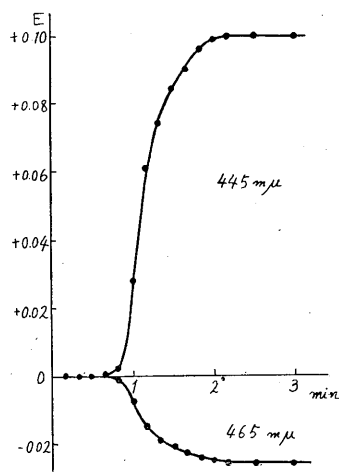


Fig. 1.

Extinction changes observed in an aerated suspension of liver mitochondria in isotonic sucrose medium in the presence of succinate.

Band-widths: 2.3 $m\mu$ at 445 $m\mu$, 2.0 $m\mu$ at 465 $m\mu$. Suspension aerated by stirring at time 0 min. Mitochondria equivalent to 250mg. wet weight of original tissue/ml.

ット巾が後述の制限値をこえるときは電子増倍管供給電圧を上げる)。以後、10-30 秒おきに相対吸光度を測定する。cytochrome 系の還元が終了すれば吸光度は一定値を示すから (Fig. 1), この値からさきにセットした際の値を差引いたものを、その波長における差吸光度 ($\Delta E\lambda$) とする。この測定を各波長について行えば、いわゆる差スペクトル (difference spectrum) が得られる。

なお、各試料の濃度は ΔE_{445} が 0.1 付近になるように調整すると誤差の少ない結果が得られるが、この濃度は同波長で水を対照としたときの吸光度にして約 2.5 である。

B. 通常法: 通常の吸収スペクトル測定と同様に行うが、対照セルには十分通気した試料のみを、被検セルには試料に基質 (及び阻害剤) を加えたものを入れ、被検試料の還元の完了を H-法で確認した後測定を開始する。なお、スリット巾と試料濃度は H-法の場合と同一にした。

C. Cytochrome 各成分の定量: Chance⁷⁾ に従って下記の特定の二波長における還元一酸化差吸光度 ($\Delta E\lambda$) の差 $\Delta E (\lambda_1 - \lambda_2)$ から cytochrome 各成分の濃度を算出した。用いた波長 ($m\mu$) と吸光係数 (cm^{-1} , mM^{-1}) の値は次のようである。

$$a: \Delta E(605 \sim 630) = 16, \quad a_3: \Delta E(445 \sim 465) = 91. \\ c + c_1: \Delta E(550 \sim 540) = 19.1$$

$$b: \Delta E(562 \sim 575) = 22, \quad fp: \Delta E(510 \sim 465) = 11$$

尚、記載の簡便のため本論文では cytochrome 各成分の吸収帯を Keilin & Hartree¹⁾ の略号で示す。即ち、 $a_3'''a$ は還元型 cytochrome a_3 の a 吸収帯を、 $c'''r$ は酸化型 cytochrome c の r 吸収帯を意味し、また flavoprotein は fp で表わすことにする。

III. 実験成績

1. Holton 法による差スペクトル

A. 吸光度の時間的変化: mitochondria 及び酵母浮游液の吸光度は基質を加えない場合には一定の定常値を示すが、基質を加えると急速

に変化する。Fig. 1 は 0 分において mitochondria 浮游液にコハク酸を加えた 1 例であって、約 40 秒のずれの後に吸光度は急激に変化し始め、約 2 分後に再び定常値に達する。吸光度の変化度 ΔE_λ は波長によって相違し、445m μ では正であるが 465m μ では負である。従って、この吸光度の変化は基質添加により脱水素反応が進行し、溶液に溶解していた酸素が消費されつくし（この時間がずれに相当する）cytochrome a₃ が還元されることに基づくものと説明できる。即ち、H-法によって求められる ΔE_λ は各電子運搬系の還元状態と好氣的定常状態 (aerobic

steady state) との吸光度の差であるから、還元型の吸光度の方が大きい波長では ΔE_λ は正に、酸化型の吸光度の方が大きい波長では ΔE_λ は負になる。この反応は同一試料については良好な再現性 (誤差は $E = \pm 0.002$ 以下) をもって何回でも繰り返えし行うことができる。

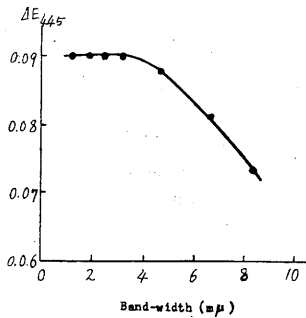


Fig. 2.

Influence of band-width on measured value of ΔE_{445} .

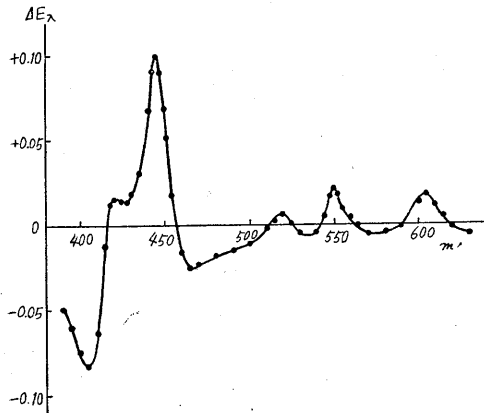


Fig. 3.

Difference spectrum (reduced minus aerobic steady state) of a suspension of liver mitochondria reduced by succinate (Holton's method).

Band-widths: 5.4m μ at 395m μ , 2.6m μ at 450m μ , 1.5m μ at 500m μ , 1.5m μ at 565m μ , 3.3m μ at 620m μ . Mitochondria equivalent to 250mg. wet weight of original tissue/ml.

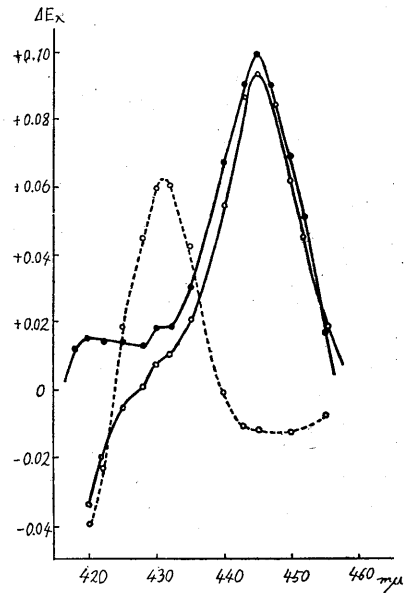


Fig. 4.

Detailed difference spectrum of mitochondria around 420-455m μ .

Solid circle: Holton's method. Open circle: Conventional method. Solid line: reduced minus aerobic steady state. Broken line: Antimycin A treated minus aerobic steady state.

Other conditions as for Fig. 3.

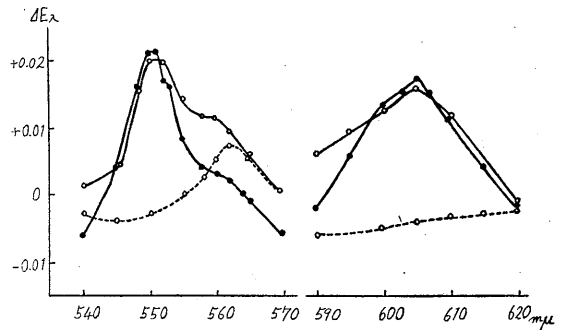


Fig. 5.

Detailed difference spectrum of mitochondria around 540-570m μ and 590-620m μ .

Conditions as for Fig. 4.

B. 有効波長中と吸光度との関係：用いた資料は共に混濁が強く、高感度で測定しようとするればスリット巾を相当広くとらねばならない一方、cytochrome 各成分の吸収帯は急峻なものが近接して存在しているので、これらを分離して測定するためにはできるだけスリット巾を狭くすることが要求される。Fig. 2 はスリット巾 (band-width) と ΔE_{445} の関係を示したものであるが、これから明らかなように band-width $4m\mu$ 以下では ΔE_{λ} の値はスリット巾と無関係に一定値を示した。従って、以後の実験はすべてこの制限下のスリット巾で行った。

C. mitochondria の差スペクトル：mito-

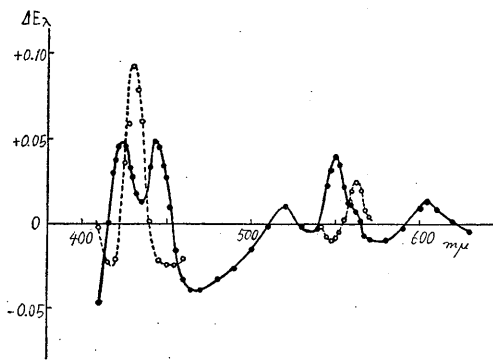


Fig. 6.

Difference spectrum of a suspension of baker's yeast reduced by ethylalcohol.

Solid line: reduced minus aerobic steady state (Holton's method), Broken line: Antimycin A treated minus aerobic steady state (conventional method).

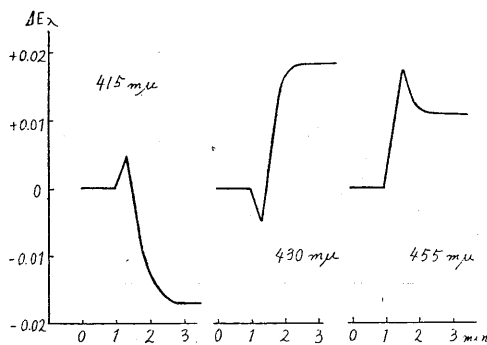


Fig. 7.

Abnormal kinetics of ΔE_{λ} in mitochondria suspension. Conditions as for Fig. 3.

chondria について各波長における ΔE_{λ} の値をプロットすると Fig. 3. の差スペクトルが得られるが、これは同じ標本について Chance⁷⁾ が得た曲線及び心筋 sarcosomes について Holton⁵⁾ が得たものとよく一致する。これらの吸収帯の意味は彼らに従ってつぎのように説明される。(a) $405m\mu$ の深い谷は各 cytochrome の還元型 γ 帯の総和 (負の寄与) によるもの、(b) $445m\mu$ の鋭い山は前述のように主として $as''\gamma$ によるもの、(c) $480m\mu$ 付近の広い谷は fp と酸化型各 cytochrome の γ 帯の総合寄与によるもの、(d) $520, 550, 605m\mu$ の小さい山は夫々 $(b+c)''\beta, c''a,$ 及び $a''a$ に基づくものである。更に各吸収帯の近傍の波長について詳細に測定すると、 $b''\gamma$ と $c''\gamma$ が夫々 430 と $420m\mu$ に「肩」として認められ (Fig. 4), また $b''a$ は $560m\mu$ 付近に肩として現われている (Fig. 5).

D. 酵母の差スペクトル：同様にして酵母の差スペクトルを求めると、 $450m\mu$ 以上の波長では mitochondria の場合とほぼ同様の曲線を示すが、Soret 帯は 2 つに分離し、 $443m\mu$ に $as''\gamma$ が、 $423m\mu$ に $(b+c)''\gamma$ が夫々独立の山として認められる (Fig. 6).

E. Abnormal kinetics: 基質添加後の吸光度の時間的変化は大抵の波長では Fig. 1 のような単相性の経過をとるが、mitochondria では次の波長領域において特異な二相性の変化を示した。代表例を Fig. 7 にあげたが、(a) $415m\mu$ 付近では反応初期に ΔE_{λ} は一度増加してから減少し、還元状態では負の値をとる。(b) $425 \sim 432m\mu$ の範囲では逆に初期の小さい負の変化の後正の変化がつづく。(c) $452 \sim 455m\mu$ の範囲では一度増加した ΔE_{λ} が再び軽度減少する。

これらの異常変化は何れも絶対値が小さく、経過速度が極めて速いので、定量的な値を確実に把握することは困難であるが、用いた総ての mitochondria 標本について認められた。この abnormal kinetics は各 cytochrome 成分の還元が同時には進行しないためと思われるが、詳細は後に論議する。

2. 通常法による差スペクトル

既述の H-法ではただ 1 個のセルを用い、同一試料についてその還元状態と酸化状態の吸光度の差を測定するのであるから、セル定数の補正や試料の膨化について考慮する必要がなく、従って実験誤差が小さいという長所がある。しかし、阻害剤を用いた場合のように完全にある成分を阻害してしまえば測定不能であるのみならず阻害が不完全であれば対照と殆んど同一の差スペクトルを得る (kinetics は異なってくるが定量化することは困難である) という欠点があるし、1 つの波長で測定する毎にセルを転倒して通気しなければならないという繁雑さが伴う。そこで次に通常法によって同じ標本の差スペクトルを検索した。

基質を添加しない場合は試料は好氣的定常状態、添加した際は還元状態にあるから、前者を対照として後者の吸光度を測定すれば前と同じ $\Delta E\lambda$ が得られる筈である。但し、この場合は基質添加によって mitochondria に膨化が起り、これが見掛上の $\Delta E\lambda$ として測定されることが予想されるので最初にこの点を検討した。

A. 膨化 (swelling) の影響: 基質を添加すると還元状態になってしまうから、水及び U で膨化させた mitochondria (好氣的定常状態) と対照との $\Delta E\lambda$ を各波長について測定した。結果は Fig. 8 に示すように、膨化によって $\Delta E\lambda$ は $500m\mu$ までは波長の減少と共に徐々に、それ以下では急激に減少する。また、 $\Delta E\lambda$ の減少度は時間と共に増大する傾向を示した。この結果は基質を用いた成績ではないから実際の差スペクトルの補正としては用いえないとしても、通常法で得た差スペクトルを判読するときの参考にすることができる。

B. Mitochondria の差スペクトル: 通常法で得た mitochondria の差スペクトル (Fig. 9) では、各吸収帯の位置は H-法による成績 (Fig. 3) と一致しているが、各波長における $\Delta E\lambda$ の値は該法によるより負に傾き、この傾向は短波長側になるほど著明である。即ち、膨化の影響が明らかに認められる。更に、膨化の影響は時間と共に増大するので $\Delta E\lambda$ の絶対値の再現性は

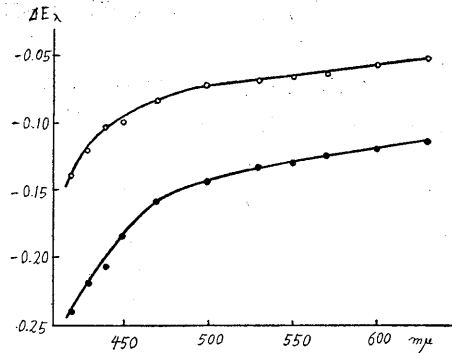


Fig. 8.

Effect of swelling on the absorption spectrum of mitochondria. Open circle: 1ml. H_2O was added to 2ml. isotonic mitochondria suspension. Solid circle: 1ml. 3M ethylurethane was added to 2ml. isotonic mitochondria suspension. $\Delta E\lambda$ was measured against the control which was received 1ml. 0.25M sucrose instead of the above reagents. Mitochondria equivalent to 500mg. wet weight of original tissue/ml.

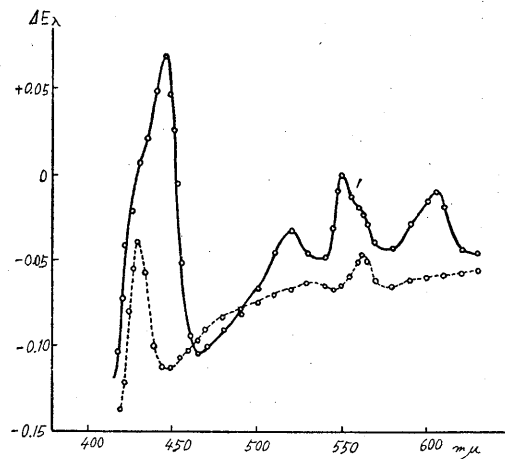


Fig. 9.

Difference spectrum of liver mitochondria reduced by succinate (conventional method).

Band-widths: $4.5m\mu$ at $420m\mu$, $2.3m\mu$ at $450m\mu$, $1.4m\mu$ at $500m\mu$, $1.5m\mu$ at $550m\mu$, $3.2m\mu$ at $620m\mu$. Solid line: reduced minus aerobic steady state. Broken line: antimycin A treated minus aerobic steady state. Mitochondria equivalent to 250mg. wet weight of original tissue/ml.

よくないが、極大吸収帯の位置及びその相対吸光度は基質添加後の経過時間に関係なく一定であった。膨化の影響を一応無視して、極大吸収の位置で重ね合わせて H-法の成績と比較すると、Fig. 4, 5 のようになり、特に膨化の影響

の強い $430\text{m}\mu$ 以下を除けば大体一致した結果が得られる。

C. Antimycin A による差スペクトル：次に, cytochrome b と c との間を特異的に阻害する AA⁸⁾ を用いて差スペクトルに及ぼす影響を検討した。AA ($1.3\mu\text{g}$) 添加によって mitochondria の膨化は更に増加するが, $445\text{m}\mu$ の $a_3''r$, $550\text{m}\mu$ の $c''a$, 及び $605\text{m}\mu$ の $a''a$ は完全に消失し, 430 , 530 及び $562\text{m}\mu$ に夫々 b'' の r, β , 及び a が著明に現われてくる (Fig. 9). b'' の各吸収帯の詳細は Chance⁷⁾ が同じ標本について得た結果と何れも一致している (Fig. 4, 5).

酵母についても同様に, AA を用いて b'' の吸収帯のみを出現させることができる (Fig. 6). 但し, 上述のスペクトル変化は mitochondria に

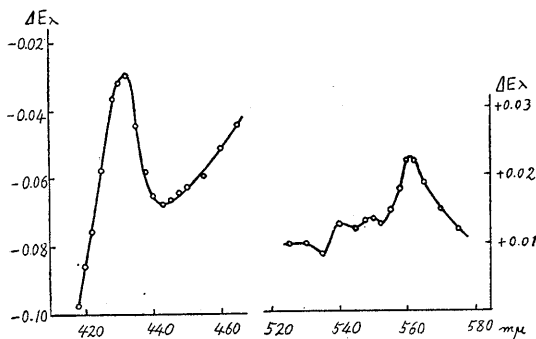


Fig. 10.

Effect of ethylurethane on the difference spectrum of mitochondria reduced by succinate.

$\Delta E\lambda$: Ethylurethane ($1M$) treated minus aerobic steady state. Other conditions as for Fig. 9.

Table 1.

Concentrations of the components of the electron transfer system in rat liver mitochondria.

Values obtained by averaging the determinations on 5 rats.

A: concentrations ($mM \times 10^{-3}$) in the mitochondria suspension equivalent to 330mg. wet weight of original tissue/ ml . B: Concentrations relative to cytochrome a.

component	a	a_3	$c+c_1$	b	fp
Holton's method					
A	1.35	1.39	1.10	0.33	2.74
B	1.0	1.0	0.8	0.24	2.0
Conventional method					
A	1.97	1.70	1.85	1.00	5.61
B	1.0	0.9	0.9	0.5	2.9
Chance's data					
B	1.0	1.2	1.1	0.42	2.2

については AA 添加後直ちに現われるが, 酵母の場合は AA の細胞膜透過性が低いため添加後 10 時間以上経過しないと完全なスペクトルは得られない。

D. Ethylurethane の作用点: Keilin & Hartree¹⁾ は心筋標本をコハク酸で還元したものに U を加え強く通気すると, cytochrome a_3 と c は酸化されるが, d 成分のみは還元状態に止まることを直視分光器で観察し, U の作用は b 成分の再酸化を阻害する事にあるとした。最近, コハク酸及びリンゴ酸酸化酵素系における U の作用点は cytochrome b 及び Slater factor にあると相次いで当教室から発表⁹⁾¹⁰⁾ された。それで, 差スペクトルに及ぼす U の影響を検討したが, U による膨化は特に強いので (Fig. 8), 対照セルにも同濃度 U のを添加して行なった。通常酵素阻害を示す $0.2M$ 程度の U-濃度では差スペクトルに殆んど影響を認めず, $0.5M$ 以上の濃度でやや変化が現われ始める。Fig. 10 は $1M$ の濃度についての成績で $b''r$ と $b''a$ のみが残存して著明に認められ, U の作用点が AA に近いことが想像されるが, $c''a$ も僅かではあるが $550\text{m}\mu$ に肩として残存し, U の作用が AA ほど完全且つ特異なものではないことを物語っている。

3. Cytochrome 各成分の定量

上述の二方法の定量的信頼性を検討するために, 得られた差吸光度の値から mitochondria 標本中の各 cytochrome 成分の濃度を算出した。

5例の標本について得た値の平均値を Table 1 に示したが, このような混濁試料については Beer の法則が成立しない⁵⁾ ので, 表の絶対値 (A) は厳密には正確なものでない。そこで各成分の相対濃度を比較するために, cytochrome a の濃度を 1 としたときの相対値を Chance⁴⁾ の成績と共に記載した。なお, 通常法で得た $\Delta E\lambda$ の値から各成分の濃度を計算する場合には膨化の影響を当然補正しなければならないが, 定量に用いた 2 つの波長はほぼ近接しているためここでは補正しなかった。

両法で得られた値を比較すると, 一般に通常

法による方が大きい数値が得られ、特に b 成分と fp についてこの傾向が著明である。しかし、相対濃度については何の方法によっても Chance の値と大体一致し、全実験操作を通じての誤差を考えると、むしろ良好な一致と言えよう。

IV. 考 察

Fig. 1-6 の成績は Chance⁷⁾ 及び Holton⁵⁾ のものとよく一致し、H-法が cytochrome 各成分の濃度の低い肝 mitochondria や酵母についても十分適用できることを示している。なお、Holton の使用した band-width は 5~10m μ であって、彼は $\Delta E\lambda$ の値は band-width の増加と共に減少すると述べているが、著者の用いた装置では全波長領域において band-width を 4m μ 以下に抑え、 $\Delta E\lambda$ を band-width に無関係にすることができた。従って、測定値の定量的信頼性は著者の場合の方が優れていると考えられる。

abnormal kinetics については Holton⁵⁾ が最初に報告した。即ち、彼は心筋 sarcosomes と Keilin-Hartree の心筋標本について、430~434m μ の範囲で -0.02 に及ぶ $\Delta E\lambda$ の著明な初期減少を認めた。この異常現象は cytochrome c の isosbestic point (433m μ) では著明に認められるが、a₃ 成分のそれ (435m μ) では完全に消失すること、及び Fig. 11 に示したように前記波長範囲で還元により $\Delta E\lambda$ の正変化を与えるものは b 成分、負変化を与えるものは a₃ 成分であることから、初期減少は a₃'''r の、後の増加は b'''r の還元に基づくものであるといえる。従って、430~434m μ 間の abnormal kinetics は b 成分の還元が a₃ 成分のそれより遅れて進行するため現われる現象であると説明できる (Fig. 11 の各 cytochrome 成分の吸収スペクトルは Stotz et al.¹¹⁾, Theorell¹²⁾, 及び Bernstein & Wainio¹³⁾ による)。著者のえた結果も絶対値は小さいが、Holton のものと同じ経過を示した。

同様に 415 と 455m μ における abnormal kinetics は次のように解釈される。即ち、415m μ

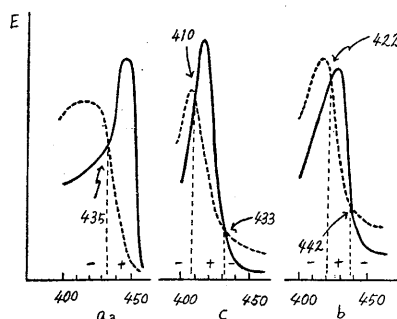


Fig. 11.

Absorption spectrum of cytochromes a₃, c, and b around 400-450m μ .

The unit of the ordinate is taken arbitrarily and the arrows indicate the position of isosbestic point. Broken line: oxidized state, Solid line: reduced state. At the wave length regions denoted by +, $\Delta E\lambda$ (reduced minus oxidized) is positive and it is negative at the regions denoted by -.

で正の $\Delta E\lambda$ 変化を与えるのは c 成分のみであるからこの波長における $\Delta E\lambda$ の初期増加は c'''r の還元、後の減少は b'''r の還元によるものとされ、c 成分の還元が b のそれに先行すると考えることによって説明できるし、445m μ では正の $\Delta E\lambda$ 変化を与えるのは a₃ 成分のみであるからこの還元が先行して増加した $\Delta E\lambda$ が、後に続く b'''r 及び c'''r の還元のために軽度減少すると考えられる。このように abnormal kinetics は各成分の吸収スペクトルを考慮することによって説明できるが、前に報告した巨視的還元は酸化還元電位の高いものから始まるという事実¹⁴⁾ が生理的な電子運搬系においても認められたことは当然の事とはいえ、極めて興味深い。

H-法には阻害剤の作用を検討できない等の欠点があるため通常法を試みたのであるが、Fig. 4, 5, 9 に示したように、膨化の影響を無視しても H-法による成績と大体一致し、AA をもちいた結果も Chance⁷⁾ のものとよく一致してこの方法の妥当性を示している。同様に、cytochrome 各成分の定量値 (Table 1) も H-法に準じた値がえられ、更に Chance の成績との比較から各成分の相対濃度を問題にする限り両法とも信頼性ある結果が得られることは明らかである。

Uについての成績は、高濃度でない完全阻害をおこさない為に典型的な結果がえられず、従来からのU-阻害の諸成績を直ちに説明するには至らなかったが、Keilin & Hartree¹⁾の古典的観察を確認すると共に、Uの作用点の少くとも1つはSlater factor及びcytochrome bにあるとする当教室の見解⁹⁾に支持を与えるものである。

V. 総括

白鼠肝 mitochondria 及びパン酵母の電子運搬系を差スペクトル法で解析し、次の成績を得た。

1. Holtonの方法(H-法)は各cytochrome成分の含有量の少ない上記資料についても十分適用できる。

2. H-法の欠点を除いた通常法を考察し、H-法によって得た成績との比較並びに antimycin Aによる阻害実験から、この方法も上記資料について信頼性ある結果を与えるものであることを確認した。

3. 両法によって算出した各cytochrome成分の濃度を先人の値と比較し、相対濃度に関する限り両法とも正しい定量値を与えるものであることを明らかにした。

4. H-法によると、415, 425~432, 及び452~455m μ において abnormal kinetics が認められるが、これは各cytochrome成分の還元が酸化還元電位の高いものから順次に行われることに基づく現象である。

5. 高濃度(0.5M以上)の ethylurethane が共存すると、antimycin A 添加時と同様に、cytochrome b の再酸化が著明に阻害されることを認めた。

6. 上述の成績について考察し、H-法と通常法の得失について論議した。

文 献

- 1) Keilin, D. & E. F. Hartree (1939) Cytochrome and cytochrome oxidase. Proc. Roy. Soc. **B127**, 167
- 2) Chance, B. (1952) The kinetics and inhibition of cytochrome components of the succinic oxidase system. I. Activity determinations and purity criteria. J. biol. Chem. **197**, 557
- 3) Lundegårdh, H. (1953) Reaction kinetics of the cytochrome system. Nature **171**, 521
- 4) Chance, B. & G. R. Williams (1956) The respiratory chain and oxidative phosphorylation. Adv. Enzymol. **17**, 65
- 5) Holton, F. A. (1955) Spectrophotometric studies of the cytochrome system of heart muscle. Biochem. J. **61**, 46
- 6) Hogeboom, G. H. (1955) Fractionation of cell components of animal tissues. Methods in Enzymology. ed. Colowick, S. P. & N. O. Kaplan. Vol. I. Academic Press, New York, 16
- 7) Chance, B. (1957) Technique for the assay of the respiratory enzymes. Ibid. Vol. IV. 273
- 8) Potter, V. R. & A. E. Reif (1952) Inhibition of an electron transport component by antimycin A. J. biol. Chem. **194**, 287
- 9) Tyuma, I., Y. Hara & K. Kamakura (1958) The site of electron transfer to various acceptors in succinoxidase system, with special reference to that of ethylurethane. Jap. J. Physiol. **8**, 347
- 10) 川嶋昭司(1958) リンゴ酸脱水素酵素並びに接続電子運搬系に対するエチールウレタンの作用、特にその作用部位について 奈良医学誌 **9**, 155
- 11) Stotz, E. H., M. Morrison & G. Marinetti (1956) Components of the cytochrome system. Enzymes: Units of biological structure and function. ed. Gaebler, O. H. Academic Press, New York, 401
- 12) Theorell, H. (1936) Reines Cytochrome C. II. Mitteilung: Darstellung, Eigenschaften, Ionenbeweglichkeit, Diffusion und Absorptionsspektrum der Cytochromes C. Biochem. Z. **285**, 207
- 13) Bernstein, E. H. & W. W. Waino (1958) A further purification and characterization of cytochrome b. J. biol. Chem. **233**, 361
- 14) 中馬一郎・辻井主・川嶋昭司(1958) 肝mitochondriaのヨハク酸脱水素酵素に関する研究. III. 電子受容体間の相互作用(リレー効果)について 日本生理誌 **20**, 14

Summary

The electron transfer system in rat liver mitochondria and baker's yeast was investigated by the two spectrophotometric methods described below. The results obtained are as follows.

1. The method presented by Holton can be safely applied to the above samples containing less cytochromes than heart sarcosomes.

2. Another technique for studying cytochromes in turbid suspensions by the conventional procedures is described. The technique is suitable for inhibitor studies.

3. Difference spectrum (reduced minus aerobic steady-state) of liver mitochondria have been determined in the presence of succinate as reducing substrate. The spectra and relative concentrations of cytochromes obtained by the two methods are closely similar.

4. The abnormal kinetics of extinction changes at 415, 425-32, and 452-5m μ in mitochondria suspension have been described. It is suggested that this abnormality is attributed to the successive, but not simultaneous, reduction of each cytochrome components.

5. Difference spectrum of liver mitochondria in the presence of antimycin A and ethylurethane was investigated by the conventional method. It is confirmed that high concentration (above 0.5M) of ethylurethane inhibit the reoxidation of reduced cytochrome b.

6. The results presented are compared and contrasted with similar observations obtained by other workers.

(Department of Physiology, Nara Medical College)

肝ミトコンドリアのコハク酸酸化酵素系に対する ethylurethane

及び 2, 3 阻害剤による阻害型式について 612.015.1

The Inhibitory Mechanism of Ethylurethane and Other Inhibitors
Toward Succinic Oxidase System of Rat Liver Mitochondria.

松 田 政 博 (MATSUDA-Masahiro)*

I. ま え が き

当教室の中馬¹⁾等は白鼠肝ミトコンドリアの複合コハク酸酸化酵素系 (SOS) に対する ethylurethane (U) の阻害作用を検討したところ、U の阻害は 0.5M の濃度範囲で可逆的であり、pH の変化に影響されないことを知ると共に、anti-mycin A 及び 2,3-dimercapto-1-propanol を併用した実験成績から、SOS に於ける U の作用点は cytochrome b 及び Slater factor にあると結論した。これに続いて、同じく川嶋²⁾も白鼠心筋均等液を用いてリンゴ酸酸化酵素系に対する U の態度を検討し、U は前記の電子運搬部位を同様に阻害することを証明した。

次に問題となるのは、これら U による阻害型式がどのようなものであるかという事である。これに関連して、SOS の阻害剤としてはマロン酸 (ML) が従来からよく研究されており³⁾、反応速度論的研究の結果このものは基質コハク酸 (S) について拮抗的阻害を行うものであることが立証されている⁴⁾。しかし、U については Ogura⁵⁾が *Aspergillus oryzae* の葡萄糖脱水素酵素を用いて U-阻害作用を検討した成績はあるが、定性的研究の範囲を出ないものであるし、SOS に対する阻害型式については未だ報告されていない。それで、本篇では白鼠肝ミトコンドリアの SOS を用いてこれに対する U の阻害型式を解析し、前述の ML のほか、同様に基質に対する拮抗阻害剤といわれているオキザロ酢酸⁶⁾ (OAA)、更にコハク酸脱水素酵素 (SD) の SH 基と特異的に結合することが知られている

p-chloromercuric benzoate⁷⁾ (PCMB) による阻害と比較検討した。その結果、U-阻害は拮抗的阻害と非拮抗的その中間の型式をとることが明瞭になったのでこれについて報告する。

II. 理論的考察

酵素反応の阻害理論には従来から多くの説があるが、その大部分は基質又は作用簇に対して拮抗的に阻害するか、そうでなければ非拮抗的に阻害するかの何れか 2 種の型式に単純に分類され、それについて論議する種類のものであった。しかし、これらの何れにも属さない阻害型式があることも報告されおり、これを説明するために、Friedenwald & Maengwyn-Davies⁸⁾によって一般的阻害理論式が提出された。これによると、ある酵素の全濃度 (Et) のもとで測定される反応速度 (V) と基質濃度 (S) との間にはよく知られた Lineweaver & Burk⁹⁾ の式が

$$\frac{V_m}{V} = \frac{(Et)}{(ES)} = 1 + \frac{K_m}{(S)} \dots\dots\dots(1)$$

成立する。但し、 V_m は Et のもとで得られる最高速度、(ES) は酵素-基質複合体の濃度、 K_m は Michaelis 定数で、(E) を基質と結合していない酵素の濃度とすると $K_m = \frac{(E) \cdot (S)}{(ES)}$ で表わ

される。いま阻害剤 (I) を加えた場合には、一般に (I) は (E) と (ES) の両者に結合すると考えると、

$$(Et) = (E) + (ES) + (EI) + (EIS) \dots\dots\dots(2)$$

(EI) : 酵素-阻害剤複合体の濃度

(EIS) : 酵素-阻害剤-基質複合体の濃度

が得られる。各平衡に質量作用の法則を適用して、

* 奈良県立医科大学生理学教室
〔昭和34年1月6日受付〕

$$\frac{(E) \cdot (S)}{(ES)} = K_m, \quad (E) = (ES) \frac{K_m}{(S)},$$

$$\frac{(E) \cdot (I)}{(EI)} = K_I, \quad (EI) = (E) \frac{I}{K_I} = (ES) \frac{(IK_m)}{(S)K_I},$$

$$\frac{(EI) \cdot (S)}{(EIS)} = \alpha K_m, \quad (EIS) = (EI) \frac{(S)}{\alpha K_m} = (ES) \frac{(I)}{\alpha K_I},$$

$$\frac{(ES) \cdot (I)}{(EIS)} = \beta K_I, \quad (EIS) = (ES) \frac{(I)}{\beta K_I}$$

$$\therefore \alpha = \beta$$

(2) 式の右側に上式の各項の値を代入すると

$$\frac{V_m}{V} = \frac{(Et)}{(ES)} = 1 + \frac{K_m}{(S)} + \frac{(I)(K_m)}{(S)K_I} + \frac{(I)}{\alpha K_I}$$

$$= \left(1 + \frac{(I)}{\alpha K_I}\right) \left(1 + \frac{\alpha K_m}{(S)} \cdot \frac{(I) + K_I}{(I) + \alpha K_I}\right)$$

$$= \left(1 + \frac{K_m}{(S)}\right) \left(1 + \frac{(I)}{\alpha K_I} \cdot \frac{(S) + \alpha K_m}{(S) + K_m}\right)$$

を得る. ここで $(I)=0$ ならば勿論この式は Lineweaver & Burk の式 (1) に一致する. (I) = 常数の時は $1/V$ と $1/(S)$ を両軸にとると直線となるが, いま任意の阻害剤の濃度 $(I_1), (I_2)$ を上式に代入し, この式の右半分を互いに等しいとおき, これを (S) について解くと両直線の交点に相応した (S) の値が得られる.

$$1 + \frac{K_m}{(S)} + \frac{(I_1)K_m}{(S)K_I} + \frac{(I_1)}{\alpha K_I}$$

$$= 1 + \frac{K_m}{(S)} + \frac{(I_2)K_m}{(S)K_I} + \frac{(I_2)}{\alpha K_I}$$

$$\frac{(I_1)}{K_I} \left\{ \frac{K_m}{(S)} + \frac{1}{\alpha} \right\} = \frac{(I_2)}{K_I} \left\{ \frac{K_m}{(S)} + \frac{1}{\alpha} \right\}$$

(I_1) と (I_2) は任意に選んだ値であり, K_I は無限ではないから, $\frac{K_m}{(S)} + \frac{1}{\alpha} = 0$ とおくことができる. 従って交点では

$$\frac{1}{(S)} = -\frac{1}{\alpha K_m}, \quad \frac{1}{V} = \frac{1}{V_m} \left(1 - \frac{1}{\alpha}\right)$$

となり, 交点の位置は (I) に無関係である (Fig. 1). 同様に $1/V$ と (I) を両軸にとった場合も (S) の種々の濃度に対応する数種の直線は一点に集まり, この点では $(I) = -K_I, \frac{1}{V} = \frac{1}{V_m} \left(1 - \frac{1}{\alpha}\right)$ が成立する (Fig. 2).

以上のようにして Lineweaver & Burk の両

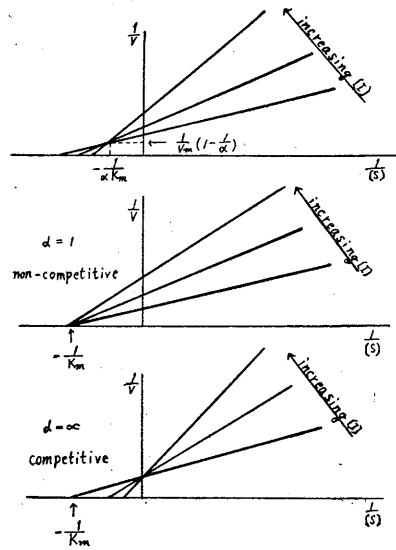


Fig. 1.

Friedenwald & Maengwyn-Davies theory I.
 $1/V$ vs $1/(S)$ at various inhibitor concentrations.

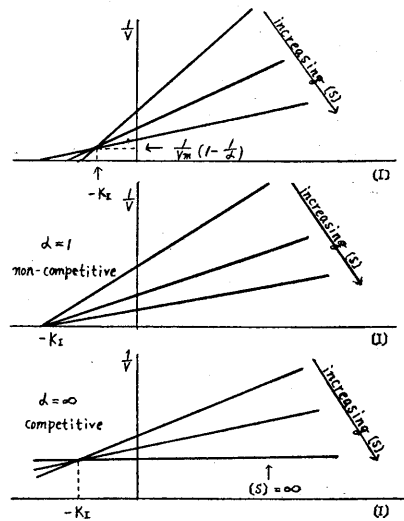


Fig. 2.

Friedenwald & Maengwyn-Davies theory II.
 $1/V$ vs (I) at various substrate concentrations.

軸逆数法により K_m, V_m, K_I, α の4つの定数を測定することができる. 上述のように考えると, 従来いわれていた拮抗及び非拮抗阻害は夫々 $\alpha = \infty$ 及び $\alpha = 1$ の特別の場合と考えられ, このとき $1/V$ 対 $1/(S)$ 直線群は夫々 $1/V$ 軸及び $1/(S)$ 軸上で交わる (Fig. 1). また, 上述の理

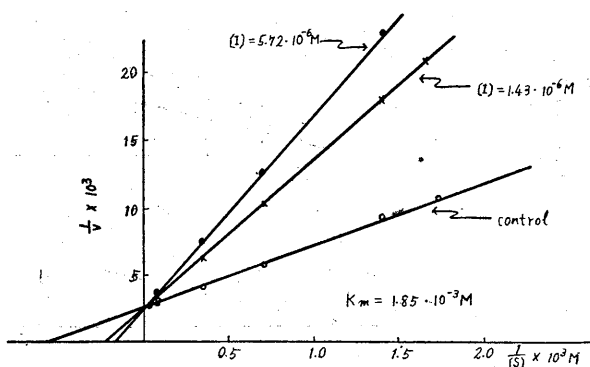


Fig. 3.

Inhibition of succinic oxidase system by oxalacetate. $1/V$ vs $1/[S]$ at various oxalacetate concentrations. Acceptor: 2,6-dichlorophenol-indophenol.

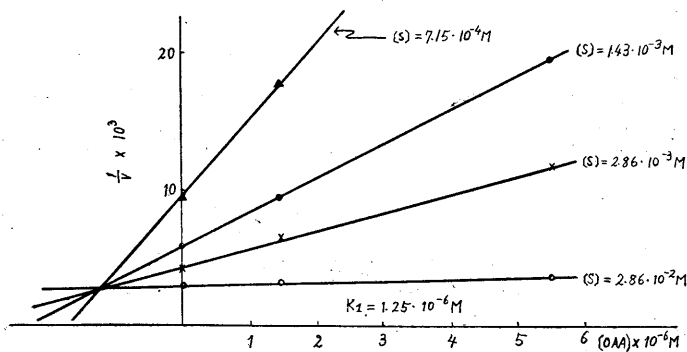


Fig. 4.

Inhibition of succinic oxidase system by oxalacetate. $1/V$ vs $[I]$ at various succinate concentrations. Acceptor: 2,6-dichlorophenol-indophenol.

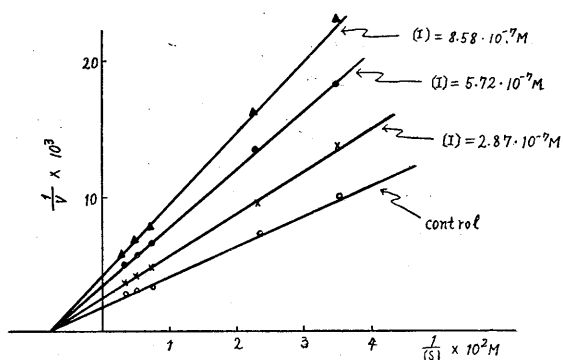


Fig. 5.

Inhibition of succinic oxidase system by *p*-chloromercuribenzoate. $1/V$ vs $1/[S]$ at various *p*-chloromercuribenzoate concentrations. Acceptor: 2,6-dichlorophenol-indophenol.

論から明らかなように α は酵素-基質複合体の解離定数に及ぼす阻害剤の影響の程度を示す数値である。言換えれば、 α は阻害の拮抗性を示す1つの尺度と考えられる量であり、 α が大きいほど拮抗性が大きいことになる。

上の理論は基質についての拮抗性のみを考慮したものであるが、全く同じ論法を受容体に対する阻害型式の判定に用いることもできる。即ち、上の各式で基質Sの代りに受容体Aを考えるなら、全く同じ型式の理論式が成立し、種々の濃度の阻害剤の存在下で $1/V$ に対し $1/[A]$ をプロットすると直線がえられ、それから求めた α の値から受容体に対する阻害の拮抗性を知ることができる。

III. 実験方法

実験方法は、特に断わらない限り中馬等¹⁰⁾の方法に準じたから、要点のみを記載する。実験材料は白鼠の肝 0.25M 蔗糖均等液から Hogeboom の方法¹¹⁾に従って分離したミトコンドリアを酵素標本とした。

SOS の測定にあたっては ferricyanide (FECY), 2,6-dichlorophenol-indophenol (DCPI) 及び cytochrome c (Cyt. c) を受容体とし、前2者にあつては夫々 420 および 610m μ における吸光度の減少を、後者にあつて 550m μ における吸光度の増加を時間的に追跡し、 ΔE が時間的に一定である範囲の $\Delta E/\text{min}$ をもって反応速度を表わした。

なお、基質及び受容体の濃度は夫々
図示したように適宜変化させた。反
応系の全量は 3.5ml, pH は 7.4 に
一定したが、緩衝剤の磷酸塩濃度は
何れも各受容体に対する至適濃度⁽¹⁾
を選んだ。また、吸光度の測定は島
津製 QB-50 型分光光度計に恒温隔
板を装置し 25~27°C に保って行っ
た。

S, OAA, ML 及び PCMB は何
れも Na 塩溶液とし, pH 7.4 に調
節して用いた。

IV. 実験成績

A. 基質に関する阻害型式

1. オキサロ酢酸：阻害剤とし
て OAA を用い, 基質 S の濃度を
 $2.86 \times 10^{-2} \sim 2.86 \times 10^{-4} M$ の範囲で
変え, 受容体として DCPI を用いた
場合の SOS 活性を測定し, 両軸逆
数法にしたがってプロットすると,
Fig. 3, 4 のようになる。Fig. 3 から
明らかなように, 各直線群は 1/V
軸上の一点で交わり ($\alpha = \infty$), OAA
による阻害が S に対して完全な拮抗
的阻害であることを示し, 従来から
の報告とよく一致している。なお,
1/V vs [I] から求めた K_I は $1.25 \times$
 $10^{-6} M$ であった。

2. *p*-chloromercuribenzoate:
次に, 同じく DCPI を受容体として
阻害剤 PCMB についてえた成績を
Fig. 5 及び 6 に示した。この場合,
1/V vs 1/[S] 直線はすべて 1/[S] 軸
上で, 1/V vs [I] 直線は [I] 軸上
で交わり, S に対し完全な非拮抗的
阻害 ($\alpha = 1$) であることを示してい
る。また Fig. 6 から求めた K_I は
 $8.0 \times 10^{-7} M$ で PCMB の酵素に対する親和性が
非常に強いことを示している。

3. Ethylurethane: 同様に DCPI を受容

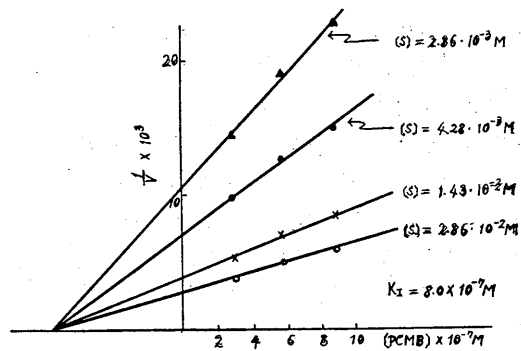


Fig. 6.

Inhibition of succinic oxidase system by *p*-chloromercuribenzoate. 1/V vs [I] at various succinate concentrations. Acceptor: 2,6-dichlorophenol-indophenol.

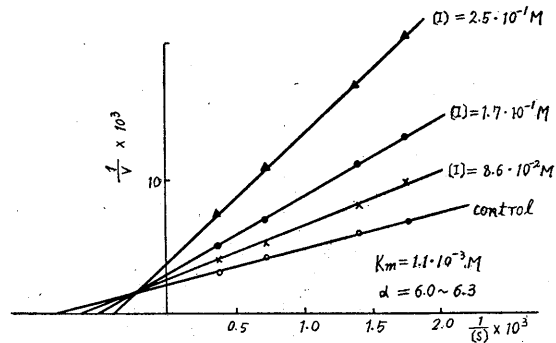


Fig. 7.

Inhibition of succinic oxidase system by ethylurethane. 1/V vs 1/[S] at various ethylurethane concentrations. Acceptor: 2,6-dichlorophenol-indophenol.

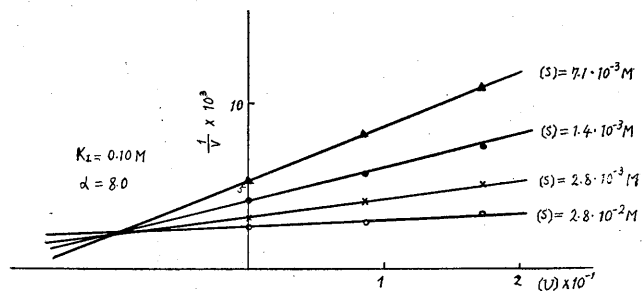


Fig. 8.

Inhibition of succinic oxidase system by ethylurethane. 1/V vs [I] at various succinate concentrations. Acceptor: 2,6-dichlorophenol-indophenol.

体とし, U を阻害剤として用いた場合の成績は
Fig. 7 および 8 に示される。即ち, S に対して
拮抗的阻害と非拮抗的阻害との中間の型式とな

り、 $1/V$ vs $1/[S]$ 直線群から求めた α は 6.0, $1/V$ vs $[I]$ 直線群から求めた値は 8.0 であった。これが DCPI を受容体としたときのみあらわれる現象であるかどうかを検討するために、次に FECY, Cyt. c を受容体として同様の実験を試みた。結果は、Fig. 9 及び 10 にしめすように、程度の差こそあれ、両者共に拮抗阻害と非拮抗阻害の中間の阻害型式を示した。上記 3 受容体について得られた K_m, α, K_I の値 (5 例の平均値) をまとめると Table 1 のようになる。

α の値は直線の引き方に多分に任意性が伴うため ± 1.0 程度の誤差は避けることができないので、それを考慮して表示してある。Table 1 から明らかなように、 α の値は生理的受容体である Cyt. c を用いたときに最小で、FECY, DCPI については略々同じ大きさであった。なお、 K_m, K_I の値は各受容体によって違うが K_m/K_I をとれば略々一定した値が得られた。

4. マロン酸: ML については他の阻害剤と違って、Fig. 11 に示すように、ML 濃度の

Table 1.

Summary of the kinetic data.

Value of K_m, α, K_I and K_m/K_I for succinic oxidase system with various acceptors in the presence of ethylurethane.	$K_m \times 10^{-4} M$	α	$K_I M$	$K_m/K_I \times 10^{-3} M$
FECY	12.0	6-8	0.18	6.6
DCPI	8.4	5-7	0.12	7.0
CYT. c	9.7	2-3	0.15	6.4

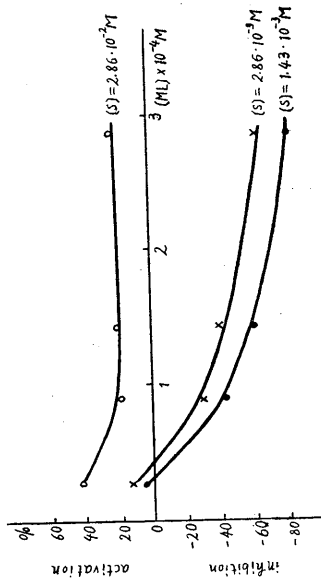


Fig. 11. Effect of varying concentration of malonate on succinic oxidase activity with various succinate concentrations.

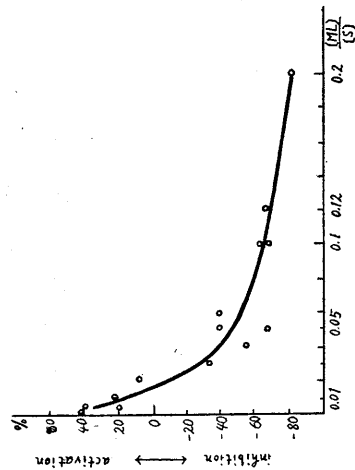


Fig. 12. Relation between the concentration ratio of malonate vs succinate and the action of malonate on the succinoxidase system.

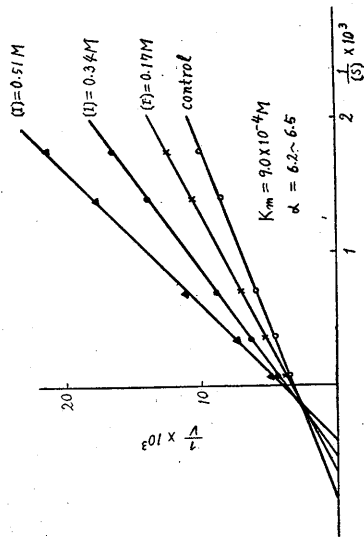


Fig. 9. Inhibition of succinic oxidase system by ethylurethane. $1/V$ vs $1/[S]$ at various ethylurethane concentrations. Acceptor: ferricyanide.

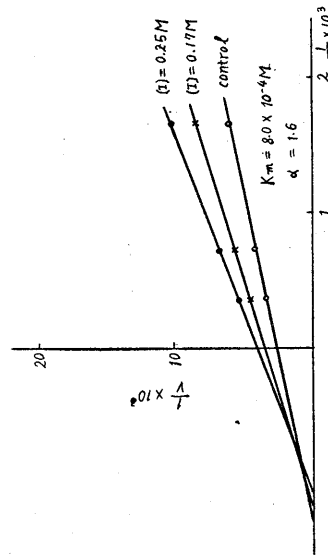


Fig. 10. Inhibition of succinic oxidase system by ethylurethane. $1/V$ vs $1/[S]$ at various ethylurethane concentrations. Acceptor: cytochrome c.

小さい時及び S 濃度の大きい場合には逆に促進現象が認められる。これは既に Kearney¹²⁾によって報告されていることであるが、いま種々の ML 及び S の濃度について促進及び阻害度を縦軸に、[ML]/[S] を横軸にとると Fig. 12 のようになり、この値が 0.02 以上では抑制が、それ以下では常に促進が認められた。従って、両軸逆数法による場合さきの理論式と完全には一致し

ないが、上の促進現象のみられる濃度範囲を除外すれば拮抗阻害の型式に略々完全に一致し、 K_i の値として $3.1 \times 10^{-5} M$ を得た (Fig. 13, 14).

B. 受容体に対する阻害型式

上の実験から U の阻害は基質に対し拮抗と非拮抗の中間の型式を示すことが明らかとなったが、一方受容体に対してはどのような型式の阻害を示すものであろうか。次にこの点を検討し

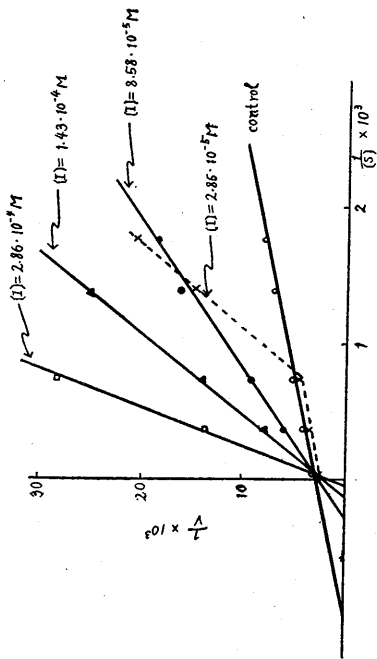


Fig. 13.
Inhibition of succinic oxidase system by malonate. $1/V$ vs $1/S$ at various malonate concentrations. Acceptor: 2,6-dichlorophenol-indophenol.

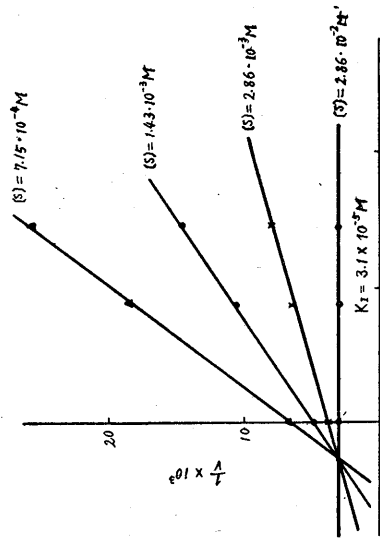


Fig. 14.
Inhibition of succinic oxidase system by malonate. $1/V$ vs $1/I$ at various succinate concentrations. Acceptor: 2,6-dichlorophenol-indophenol.

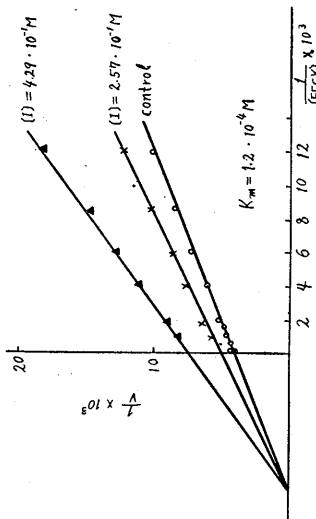


Fig. 15.
Inhibition of succinic oxidase system by ethylurethane. $1/V$ vs $1/A$ at various ethylurethane concentrations in the presence of a constant amount of succinate. Acceptor: ferricyanide.

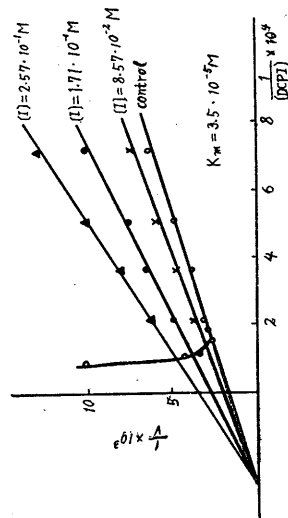


Fig. 16.
Inhibition of succinic oxidase system by ethylurethane. $1/V$ vs $1/[A]$ at various ethylurethane concentrations in the presence of a constant amount of succinate. Acceptor: 2,6-dichlorophenol-indophenol.

た。

1. 予備実験：まず始めに、各受容体の濃度変化が反応速度に及ぼす影響を対照について検索した。FECYについては $1/V$ vs $1/FECY$ は用いた濃度範囲で直線となったが (Fig. 15), DCPI の場合は $7.1 \times 10^{-5} M$ 以上 (Fig. 16), Cyt. c を用いた際には $4.8 \times 10^{-5} M$ 以上の濃度になると反応の抑制が認められた (Fig. 17). 従って、以下の実験では $1/V$ vs $1/(\text{受容体})$ 間

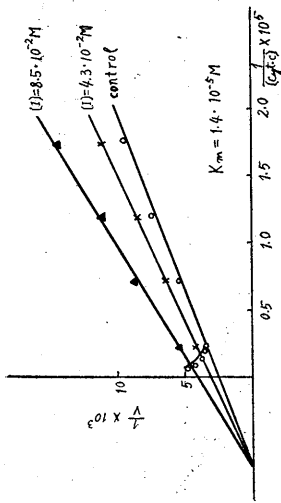


Fig. 17. Inhibition of succinic oxidase system by ethylurethane. $1/V$ vs $1/(A)$ at various ethylurethane concentrations in the presence of a constant amount of succinate. Acceptor: cytochrome c.

Table 2. Value of K_a of succinic oxidase system for various acceptors.

acceptor concentration	K_m, M
FECY	$1.7 \cdot 10^{-4}$
DCPI	$2.9 \cdot 10^{-5}$
Cyt. c	$1.9 \cdot 10^{-5}$

に直線関係が成立する濃度範囲のみを用いることにした。いまこの関係を用いて、受容体と SOS との平衡定数 K_a を求めてみると Table 2 のような値が得られた。即ち、SOS に対する親和性は $\text{Cyt. c} > \text{DCPI} > \text{FECY}$ の順序となる。

2. オキサロ酢酸：次に、基質に対する拮抗的阻害剤である OAA を用い、一定の基質濃度のもとで各種受容体に対する阻害態度を検索した。Cyt. c についての 1 例を Fig. 18 に示したが、他の受容体に対しても完全な非拮抗的阻害型式を示した。

3. *p*-chloromercuribenzoate：続いて、PCMB について各種受容体に対する阻害を検討した。Fig. 19 に DCPI を用いた場合の成績をあげたが、OAA と同様に受容体 DCPI に対して PCMB は完全な非拮抗的阻害を示し、このことは他の 2 受容体の場合も全く同様であった。結局、PCMB は基質及び受容体の両者に対し非拮抗的阻害を示すことになる。

4. Ethylurethane: U も上記 2 者と同様に何れの受容体を用いても

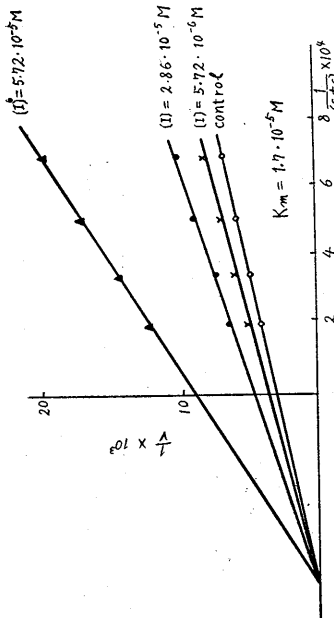


Fig. 18. Inhibition of succinic oxidase system by oxalacetate. $1/V$ vs $1/(A)$ at various oxalacetate concentrations in the presence of a constant amount of succinate. Acceptor: cytochrome c.

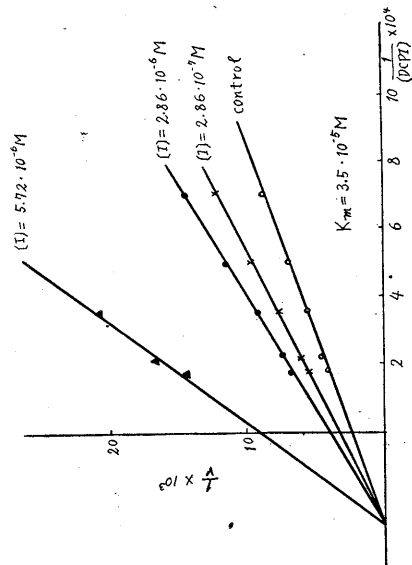


Fig. 19. Inhibition of succinic oxidase system by *p*-chloromercuribenzoate. $1/V$ vs $1/(A)$ at various PCMB concentrations in the presence of a constant amount of succinate. Acceptor: 2,6-dichlorophenol-indophenol.

典型的な非拮抗的阻害の作用型式を呈した (Fig. 15, 16, 17).

V. 考 察

既に述べたように, FECY, DCPI 及び Cyt. c の各受容体を用いて得られた肝ミトコンドリア SOS についての K_m 値は $8.4 \times 10^{-4} \sim 1.2 \times 10^{-3} M$ の範囲にある (Table 1). これは Singer et al.¹³⁾ が精製 SD 標本について phenazine methosulfate を受容体として得た値 ($5.2 \times 10^{-4} M$) 及び Slater & Bonner¹⁴⁾ が心筋標本について FECY を受容体として得た値 ($4.8 \times 10^{-4} M$) に比べて約 2 倍大きい. この差異は, 前二者では酵素資料が精製 SD 又はこれに近い標本であるに対して, 本実験では SOS (SD+電子運搬系) であって且つ用いたどの受容体も SD とは直接反応しないことに因るものと解釈される. 一方, 受容体についての K_a 値 (Table 2) は Green et al.¹⁵⁾ の純化酵素系についての成績 (FECY : $7.8 \times 10^{-3} M$, Cyt. c : $2.8 \times 10^{-5} M$, DCPI : $2.5 \times 10^{-5} M$) と略々一致する.

OAA についての成績は白鼠肝均等液を用いて酸素を受容体とした Potter & Pardee⁶⁾ の成績とよく一致し, 基質に対して典型的な拮抗阻害を示した. 著者の得た K_I の値 $1.3 \times 10^{-6} M$ も彼等の値 $1.5 \times 10^{-6} M$ とよく一致している.

PCMB の阻害作用は SD の essential group である SH 基と結合することによると言われ, この阻害は非可逆的 (透析しても恢復しない) であると報告されている¹⁴⁾. 従って, PCMB の阻害型式は当然非拮抗的と考えられるが, Fig. 5, 6 及び 19 の成績からも基質, 受容体の両者に対して完全な非拮抗阻害を示すことは明らかである. なお, K_I は用いた実験条件下で $8.0 \times 10^{-7} M$ と算出されたが非可逆的阻害であるためミトコンドリアの濃度を増せばこの数値は増大する.

ML の SOS にたいする作用のうち, 促進は Kearney¹²⁾ が指摘したものであるが, この作用は ML と S の濃度比によって左右され, 本実験では $[ML]/[S]$ 比が 0.02 以下であれば常に認められた. この範囲を除外すると ML は基質に対

し完全な拮抗阻害を示し (Fig. 13), 求めた K_I 値 $3.1 \times 10^{-5} M$ は Kearney¹²⁾ の精製 SD 標本についてえた $2.5 \times 10^{-5} M$ と一致する. また, K_m/K_I をとると約 27 となり, これは Thorn⁴⁾ が六種の SOS 標本について得た値 (4.7~6.0) の範囲内にある.

U の SOS に対する阻害型式を検討した成績は未だ報告されていないが, Ogura⁵⁾ は *Aspergillus oryzae* からの葡萄糖脱水素酵素に対する U の作用を解析し, 定性的ではあるが U の阻害作用は水素受容体及び基質の両者にたいして非拮抗的であると述べている. 本実験においては, 受容体にたいする U の阻害成績については Ogura のそれと一致し, U が用いた水素受容体と相互作用を持つ可能性は否定できる. しかし, 基質に対する U の阻害型式は用いた 3 種の受容体の総てについて拮抗と非拮抗の中間の態度をとることを明瞭に示した. 一方, 既に報告したように U は SD と直接反応しないことが証明されているから, U が基質に対して幾らかでも拮抗的な阻害を示すことは一見矛盾すると思われる. このことは如何に説明されるべきであろうか. 本実験で用いた受容体は何れも SD と直接反応し得ないものであって, この事はこれら受容体を用いて得た K_m 値が上述の Singer 等のそれより約 2 倍大きい事実と合致する. 即ち, S と受容体との間に種々の電子運搬体が介在するという事実と, 更に U はその介在電子運搬系に作用するということが本実験の成績に密接に関係するものと思われる. 前報¹⁾ で明らかにしたように, U の作用部位は SD ではなくて, これに接続する電子運搬系中の cytochrome b-Slater factor であるから, U がこれらの運搬体について拮抗的な阻害作用を示すことは恐らく確実であると思われる. 一方, 運搬体の還元型の濃度は基質濃度 (飽和濃度を用いない限り) の函数となるから, 間接に基質濃度について U が拮抗性を示すであろう事が容易に推定される. また, 用いた受容体の種類によって α 値が異なるという事実もこの見解を支持するものと考えられる. その理由は, 用いた他の阻害剤の成績

から明らかのように、直接 SD に作用するものであれば、その α 値は受容体の種類に関係なく一定となる筈である (U は受容体に対してはすべて非拮抗的阻害を示す)。また、U が途中の過程に作用する一方、各受容体はその種類によって SOS と連絡する部位が異なるから¹⁶⁾、 α の値が受容体の種類と共に異なることはむしろ当然であろう。従って、上記の成績は U が SD に直接作用するものではなく、用いた受容体に至る迄の途中の電子運搬系に作用すると考えることにより合理的に説明することができる。

VI. 総 括

白鼠肝ミトコンドリアコハク酸酸化酵素系 (SOS) に対する ethylurethane (U) 及びその他 2, 3 の阻害剤による阻害型式を Friedenwald & Maengwyn-Davies の理論に従って解析し、次の成績を得た。

1. ferricyanide (FECY), 2,6-dichlorophenol-indophenol (DCPI), cytochrome c (Cyt. c) を受容体とした場合の Michaelis 定数 K_m 及びこれら受容体の SOS との平衡定数 K_a を測定し Table 1, 2 のような値をえた。

2. オキザロ酢酸は基質にたいしては拮抗阻害、受容体に対しては非拮抗阻害を示した。

3. *p*-chloromercuribenzoate の阻害型式は基質、受容体の両者に関し非拮抗的であった。

4. マロン酸は、その濃度が基質濃度の 2/100 以下では促進を示し、それ以上の濃度では基質に対し完全な拮抗阻害を示した。

5. U は受容体に対しては完全な非拮抗阻害の型式を示し、基質にたいしては拮抗と非拮抗の中間の阻害型式を示した。この場合、 α の値は用いた受容体の種類によって相違し、即ち、FECY : 6-8, DCPI : 5-7, Cyt. c : 2-3 であった。

以上の成績について考察を行い、U の上記阻害型式について論議した。

文 献

1) 中馬一郎・原 芳子・松田政博 (1959) 肝ミトコンドリアコハク酸酸化酵素系に及ぼす ethylurethane の影響、特に電子運搬系に対する作用に就

- いて 日本生理誌 **21**, 459
- 2) 川嶋昭司 (1958) リンゴ酸脱水素酵素並びに接続電子運搬系に対するエチールウレタンの作用、特にその作用部位について 奈良医誌 **9**, 155
- 3) Potter, V. R. & K. P. Dubois (1943) Mechanism of hydrogen transport in animal tissues. VI. Inhibition of succinic dehydrogenase. J. gen. Physiol. **26**, 391
- 4) Thorn, M. B. (1953) Inhibition by malonate of succinic dehydrogenase in heart-muscle preparations. Biochem. J. **54**, 540
- 5) Ogura, Y. (1954) Kinetic studies on the action of glucose dehydrogenase. IV. Quantitative analysis of the inhibitory action of urethane. J. Biochem. Japan. **41**, 351
- 6) Pardee, A. B. & V. R. Potter (1948) Inhibition of succinic dehydrogenase by oxalacetate. J. biol. Chem. **176**, 1058
- 7) Slater, E. C. (1949) Effect of sulfhydryl-combining components on the activity of the succinic oxidase system. Biochem. J. **45**, 130
- 8) Friedenwald, J. S. & G. D. Maengwyn-Davies (1954) Elementary kinetic theory of enzymatic activity. First order theory. A symposium on the mechanism of enzyme action. ed. William, D. M. & G. Bentley, p. 154
- 9) Lineweaver, H. & D. Burk (1934) The determination of enzyme dissociation constants. J. Am. Chem. Soc. **56**, 658
- 10) 中馬一郎・原 芳子・川嶋昭司・辻井 主 (1958) 肝 mitochondria のコハク酸脱水素酵素系に関する研究 I. 電子受容体の種類と酵素活性について 日本生理誌 **20**, 1
- 11) Hogeboom, G. (1955) Fractionation of cell components of animal tissues. Methods in enzymology. ed. Colowick, S. P. & N. O. Kaplan, Vol. 1. Academic press, New York, 16
- 12) Kearney, E. B. (1957) Studies on succinic dehydrogenase. IV. Activation of the beef heart enzyme. J. biol. Chem. **229**, 363
- 13) Singer, T. P., E. B. Kearney & P. Bernath (1956) Studies on succinic dehydrogenase. II. Isolation and properties of the dehydrogenase from beef heart. J. biol. Chem. **223**, 599
- 14) Slater, E. C. & W. D. Bonner (1952) The effect of fluoride on the succinic oxidase system. Biochem. J. **52**, 185
- 15) Green, D. E., S. Mii & P. M. Kohout (1955) Studies on the terminal electron transport system. I. Succinic dehydrogenase. *ibid.* **217**, 551
- 16) 中馬一郎・原 芳子 (1958) 肝 mitochondria のコハク酸脱水素酵素系に関する研究 II. 各種受容体の電子運搬系における連絡部位について 日本生理誌 **20**, 8

Summary

The mechanism of inhibition of ethylurethane (U), oxalacetate (OAA), *P*-chloromercuric benzoate (PCMB), and malonate (ML) toward succinic oxidase system of rat liver mitochondria was investigated by using several electron acceptors, and the results were analysed according to the theory of Friedenwald & Maengwyn-Davies. The results obtained are as follows.

1. Michaelis constant and the dissociation constant of acceptor and enzyme were estimated by the double reciprocal method. The values for ferricyanide, 2,6-dichlorophenol-indophenol, and cytochrome c as the acceptor are summarized in Table 1 and 2.

2. OAA showed a competitive inhibition with respect to the substrate and a non-competitive one for the acceptors.

3. On the other hand, the mode of inhibition of PCMB was non-competitive with respect to both the substrate and acceptors.

4. ML activated the system when the concentration ratio of ML/succinate was less than 2/100, but it inhibited the system competitively with respect to the substrate if the concentration ratio was larger than the value.

5. U showed a complete non-competitive inhibition with respect to the acceptors, while the mode of inhibition of U toward the substrate was the intermediate between competitive and non-competitive inhibition. Values of α obtained for different acceptors are as follows: FECY 6-8, DCPI 5-7, Cyt. c 2-3.

These results were discussed by comparing with those of previous authors.

(*Department of Physiology, Nara Medical College*)

超音波刺激の酵母菌体並びに其の破砕片に及ぼす影響 612.014

(第I篇) 超音波刺激の酵母菌体破壊度と其の顕微鏡的検索

The Effects on Yeast and its Fragment of Ultrasonic Vibration.

Part. I. The Destructive Degree of Ultrasonic Vibration upon Yeast and its Microscopy.

大 桶 礼 一 郎 (Ooke-Reiichiro)*

I. 緒 言

Virchow (1858) の細胞病理学説の足場を成した細胞学説では生体の構成元基を細胞としている。

晩近生機学の研究方法の飛躍的な進歩に伴い Submicro の世界の探究が進み、多くの内外の研究結果は生機成立の元基を細胞以下の Subunit に求める様になった。笹川⁶⁾, Oparin¹⁾, Bungenberg, Lepeschuskaia 等の生機学者の近業も亦この事実を端的に示唆している。その中笹川⁶⁾ は1949年生機発現の場に関する独特の構想として生活基本小体論を提起した。その生活基本小体論の骨子は、電子顕微鏡による形態認識の事実から帰納して生体生機発現の基本的構成元基を細胞以下の Submicro 10-30m μ 大の電顕認識を与える Unit-system に求め、更に演繹的に此の単位体なる顆粒状認識体は脂質、蛋白、核酸を主材的構成要素とする Liponucleo-protein-System であって、それが種々の Ion を様々にとり入れて2次結合が旺んになり、親水基を外部にむけた複合体と水との結合によって成る高低両分子の多分散相を成し、分子同志が単位的生体となり、生機茲に創めて生成する、換言すれば生機成立の元基は此の Colloid の Dimension に於ける単位体だとするものである。そして此の高分子複合体と低分子水との結合が増すにつれて、結合水から次第に自由水をもつことになり、之れが次第に Coacervate して漸次活性を増し、生体生機の強さと複雑さとを増大するものと想定するのであるが、かかる

単位はこれ等高分子の数分子同志の結合によって成るから、生体の種類によりその単位体の大きさは多少異なり、下等の生体では加藤、井上、中島 (1956)⁵⁾ らの超音波破壊による大腸菌 Fragment の増殖能に関する実験成績や笠原、雄山、管田⁴⁾ 諸博士らの結果 (約80m μ) で知られる如く、従来筋神経超原線維で知られているそれと多少異って居る。故に細菌ならば 80m μ 大の菌体内微細顆粒体以上の大きさの破砕片から細菌体までの大きさのものが増殖する能力をもっていると、生活基本小体論から云えることになるのである。このことは取りもなおさず細胞内に細胞以下の大きさの Submicro の生体生機がある事を物語るもので、此等の事実は生活基本小体論を支持する有力な証左と看做し得る事柄でもある。生理学原論では Schnitt-versuch 以来細胞内に増殖能をもった微小生機の存すべきことは既知の事であるから、笠原、雄山、管田実験の示す事実は細胞学説動搖の新業績というよりは寧ろ笹川的生活基本小体論が随喜してその所論の証左とする処のものと云ってよからう。

われわれはこれ等の事実に鑑み、大腸菌以外の生体にも同様の証左が得られないかというような普遍妥当論的な意図からそれよりも高等な単細胞系の酵母 (Saccharomyces cerevisiae) に就いて之を検討してみたところ、これに於いても、超音波の機械作用を以て破壊された微細の Fragment から、元の酵母成菌の生育増殖をみることの立証が出来たので、以下篇を追うて之を報告せんとするものである。併せて笠原、雄山、管田実験追試の批判にも及び度い。

実験方法論的という、G. Veltman (1951)²⁾

* 京都大学医学部生理学教室 (笹川久吾教授)

(昭和34年1月14日受付)

の各種細菌体に及ぼす超音波の量的研究, W. W. Lepeschkin, D. E. Goldman³⁾の細胞構造に及ぼす超音波の影響に就いての研究, 笠原, 雄山, 管田等の「細菌体内微小生活体に就いての研究」又加藤(1951)²⁾の「超音波刺激の突然変異惹起性に関する研究」, 加藤, 井上, 東野, 中島氏等⁵⁾の実験結果等を参考として考えれば超音波刺激の生活体破壊作用は, 其の破壊機転に介入する度合から云うと, 機械的振動作用, 空胞形成(Cavitation)等の物理的作用が破壊刺激としての主役を演じて居ると当然解される所である。又破壊の対象となる生活体の種類, 或いは一定度破壊して生じた Fragment の order 換言すれば大きさの如何が, 破壊機転に介入する作用因子の有効性を左右するものであることも思考される所である。斯る要因の他に超音波作用の包含する酸化作用が寧ろ此種の極微小生体に及ぼす超音波作用に就いては重大な事柄なのである。その好例として次のことがあげられる。即ち笠原, 雄山, 管田実験⁴⁾なるものに対する細菌学的方面の追試ではその培養成績が陰性だという事柄である。これは追試の医学方面では超音波の酸化作用と機械作用とを充分に分離し得なかつた為と看做し得られる節がある。即ち原形質を超音波で数10 μ mまでのFragmentに壊すと, その酸化作用を充分抑制せぬ場合には O₂-bond の仿が大腸菌の細片生体組織の構成に大きく利くこととなり, 原形質細片の微細構造の Liponucleoprotein-System なる複合体乃至その水和体の破壊乃至構造の歪みを来し, Fragment の生活力を阻害するために培養成績が陰性となることは生活基本小体論の理から当然考えられる処である。故に酸化抑制が完全ならば再生細菌はかなり微小破壊 Fragment からも発生して来る可き理を小体論から考え得るのである。即ち斯かる極微体にも生機が存在することが此種の酸化抑制を厳にした実験から窺知される理である。だからかかるミクロの世界の実験では超音波酸化作用の抑制乃至は分離の絶対な必要性が生じて来る訳である。此の理由で, 笹川の生活基本小体論に関する研究の一環

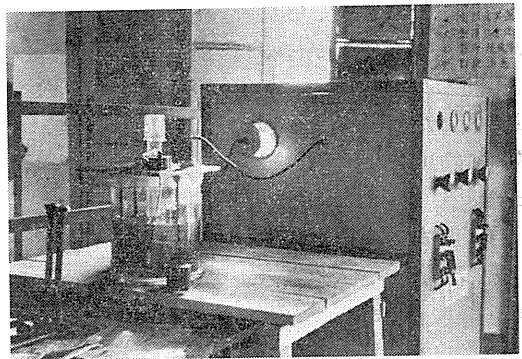


Fig. 1. Apparatus for ultrasonic generation.

として, 中島, 加藤(幹夫)等と共に著者はさきに超音波刺激による大腸菌の破壊及び其の電子顕微鏡的検索並びに増殖能等に関する実験的研究¹⁵⁾を行って超音波の酸化抑制を十分に行えば笠原, 雄山実験の追試は陽性となることを確かめたが, 其の後更に上述の意図をもって供試資料を酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)にとり, 特に曝振条件の異った超音波刺激を累加的に作用せしめ, 其の細胞破壊に至るまでの形態的変遷を酸化抑制と非抑制とを対比する目的でまず非抑制即ち酸化作用の生体微細破砕片に及ぼす影響を主として検索目標としつつ逐次光学顕微鏡並びに電子顕微鏡で追究した次第である。蓋し非抑制の(所謂ナマの)超音波による酵母菌体破壊の詳細を探求し, 以て酸化抑制の即ち純粹の機械的破壊作用検索の資を得んとしたものである。

本編は斯る検討に決定的証左を精確にせんとする為の準備的追及でもある。

II. 実験方法

A. 超音波曝振方法

超音波発生装置の周波数並びに入力電圧は, (450kc, 1,500V, 0.1A) (560kc, 1,500V, 0.2A) 及び (560kc, 1,800V, 0.25A) の3種類を用いた (Fig. 1)。試料は総べて完全滅菌を行った径約3cmの底面厚さ0.3mmの特殊硬質ガラス製曝振管に収め, 超音波発生装置から発振する超音波の噴油上に垂直に固定して曝振した。曝振方法は何れも間歇的累加曝振法を採り, 其の

曝振時間は自10分至120分迄の連続10分間宛の累加曝振のもの、及び、自5分至60分迄の連続5分間宛の累加曝振のもの2様式とした。又各曝振操作間には超音波の熱作用を考慮して、総べて約10分間宛の熱冷却期間を置くことにした。

B. 供試資料

超音波曝振試料としては粟粒大 Dry-yeast (*Saccharomyces Cerevisiae*) 2粒を10ccの滅菌蒸溜水か又は滅菌5%ブドウ糖液に溶解浮遊せしめたものを用いた。前記溶媒浮遊直後のものと、浮遊後室温(16°C)並びに恒温槽(37°C)中に2週間放置又は培養を行ったものとの2系列に就き比較検索を行った。而して之等酵母菌浮遊液10ccを滅菌蒸溜水20ccに振盪混和したものを曝振試料とした。超音波曝振1回の量は前記試料の20ccを曝振管に収めたものと、其の5ccを曝振管に収めたものとの2群に就いて行った。

C. 観察方法

1) 光学顕微鏡標本は殆んど総べて無染色標本をもって鏡検並びに撮影を行った。倍率は×600~×1,500である。又油滴の検出には主として Sudan III 染色法を用いた。

2) 電子顕微鏡標本は総べて京大生理電顕鏡査術式のオーソドックスに則り、乾燥フォルムパール膜上に試料を滴下、オスミウム酸蒸気で固定後自然乾燥を行い、Cr. Shadowing を施したものである。その倍率は×5,000~×25,000

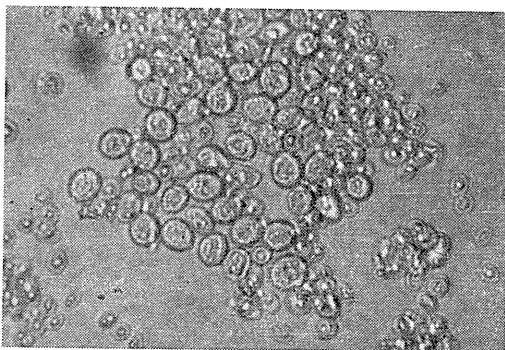


Fig. 2.

Microphoto. × 1,200. Yeast after 5-min. vibration with ultrasonics (450-kc, 1,500-V, 0.1-A.).

である¹⁷⁾。

III. 実験結果

A) 超音波曝振酵母の光学顕微鏡像に就いて

1) 超音波:(450-kc, 1500-V, 0.1-A)曝振

試料:2日間蒸溜水培養酵母の蒸溜水浮遊液 20cc の場合

a) 曝振5分では酵母菌の形状は少々不正円形となる。菌体内容、特に孢子嚢細胞中の Ascosporen の存在は不明瞭となり、全体として正常像に比して透明度を感じ、homogen な混濁した像が観察されるところもある。巨大細胞の菌膜2重構造も鮮明度を欠き、周辺部濃黄帯は消失し、細胞全体が平均に黄染して見える。各細胞は多くは連鎖状或いは環状の配列をとり一般に凝集する傾向が認められる (Fig. 2).

b) 曝振10分では形状少々不正となり、菌膜の2重構造は幾分鮮明となる。細胞全体としては略々均等に黄染して居る。又一般に菌形は正常像に比して少々膨大している様である。

c) 曝振20分では一部細胞に破壊が認められる。菌端部に於いて細胞膜の破裂したものが多く、僅に中央部に於いて切断したものを認める。又僅かではあるが原形を止めぬまでに破碎分散し断裂した細胞膜断裂の飛散して居る像も認められた。黄色微細顆粒体が分散し、其の多くは Sporen と考えられる。

d) 曝振30分では菌形の膨大したものが更に増加し、一般に形状不統一の像を呈する。即ち、凸凹形の巨大細胞、或いは長橢円形細胞等が見られる。又内容黄色顆粒体は著しく減少し、全体として光線屈折度の低い暗青色を呈するものが多数出現する様な傾向が認められて来るが、之はおそらく死滅細胞体と考えられる。細胞破壊度は前例に比して更に高度となるが、総体的に見てなお菌形を保つものが多い。破碎分散した細胞内容は 0.3~0.7 μ 大の黄色微細顆粒体で、其の大形のものを試みに位相差顕微鏡で検鏡してみると分散溶媒中で活潑な游走運動を行って居るのがみられる。

e) 曝振40分では細胞破壊度は曝振時間

の増加に比例して高度となることが認められるが、なお多数の原菌形を保つものが残存して居る。

f) 曝振50分では破壊度が更に増進して居ることが認識される。

g) 曝振60分では其の破壊像は略々前例と同様である。尙分散黄色微細顆粒体の游走運動するものを若干散見する (Fig. 3).

h) 曝振120分では細胞の大半が破砕分散して居るが、なお菌形を保つものも僅かに残存する。甚しいものは Fig. 4. B の如く、4 A に比較しその一端を覗い得よう (Fig. 4).

2. 超音波: (450-kc, 1500-V, 0.1-A) 曝振

試料: 18日間蒸溜水培養酵母の蒸溜水浮游液 20cc の場合

a) 曝振5分では未だ細胞の破壊は認められない。

b) 曝振10分では既に細胞内微細顆粒の分散像が認められるが、破壊細胞像は極めて僅かである。

c) 曝振20分では細胞破壊度は前例に比して稍々高度の様であり、破裂した細胞膜の残部が各所に散見される。

d) 曝振30分では細胞破壊度は更に増進して居るが、なお原形を保つ細胞が多数認められる。

e) 曝振40分では細胞破壊度は更に増進して居る。又残存細胞の形状の不統一性が顕著となり、凸凹形細胞が多数認められる。

f) 曝振50分では細胞破壊度はかなり著明で、原形を保つ細胞はかなり減少して居る。殆んど絵での細胞が或る程度の機械的傷害を受けたかの様相を呈し、或いは細胞膜が完全に破裂して大形の扁平な1枚の Membran として残

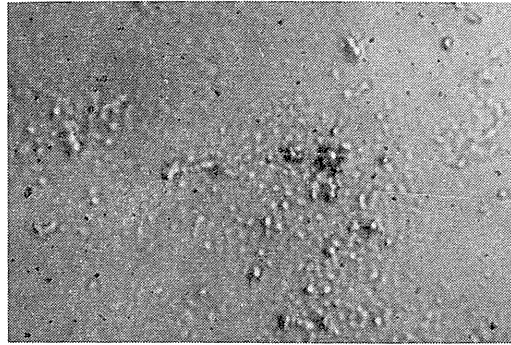


Fig. 3.

Microphoto. $\times 1,200$. Yeast after 60-min. vibration with ultrasonics (450-kc, 1,500-V, 0.1-A.).

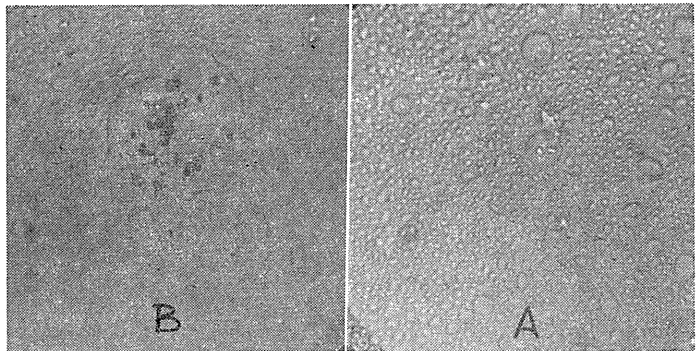


Fig. 4.

Microphoto. $\times 600$. Yeast after 120-min. vibration with ultrasonics (450-kc, 1,500-V, 0.1-A.).

存するもの、或いは一部断裂して長く伸展したもの等、種々なる形状の断片が入り乱れて分散して居る状態となる。顆粒体は一般に小形になり、Sporen の超音波作用による2次的破壊が想像される。

g) 曝振60分では残存細胞は一般に減少の傾向を見せ、Ascosporen は中心部にかたまり、Cytoplasm も減少する。分散微細顆粒は大小不同となりその微小なものは光学顕微鏡解像能の限界を越えるものと予想される (電顕像参照)。

h) 曝振120分では細胞の大半が完全に破壊される。又分散微細顆粒は更に破壊作用を受け、其の大形のは殆んど消失して居る。視野の一部には油滴が見られ、分散顆粒体乃至は残存細胞の多くは此の油滴中に集合して居

る。此事實は注目すべき現象であって、之に就いては更に考按で述べることにする。

3) 超音波:(450-kc, 1,500-V, 0.1-A) 曝振

試料:18日間5%ブドウ糖液培養酵母の蒸溜水浮游液 20cc の場合

a) 曝振5分では此の場合既に僅か乍ら破壊した細胞が認められる。

b) 曝振10分では残存細胞の内容は鮮明度を欠き、Ascosporenは細胞の中心部に、Cytoplasm は細胞の周辺部に偏在した像が認められる。

c) 曝振20分では細胞破壊度に就いてはあまり著明な変化は認められない。細胞内容の混濁度が前群に比して更に高度となり、Ascosporenは光線屈折度を減じ、細胞全体として輝きを失って来る。又一部に内容脱出細胞の細胞膜のみが多数集合して居るのが認められる。

d) 曝振25分——曝振120分。曝振経過に伴う各細胞の内容、形態の変遷は略々前記2群と大差ない様である。又細胞破壊度は曝振時間に比例して上昇するが、曝振120分に至るも尙原菌形を保つものが僅かに残存するのが認められる。

4) 超音波:(560-kc, 1500-V, 0.2-A) 曝振

試料:18日間蒸溜水培養酵母の蒸溜水浮游液 5cc の場合

a) 曝振5分では、既に其の一部菌体破

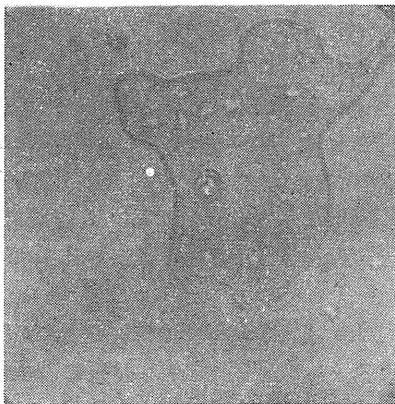


Fig. 5.

Microphoto. $\times 600$. Yeast after 40-min. vibration with ultrasonics (560-kc, 1,500-V, 0.2-A).

壊の徴が認められる。

b) 曝振10分では、破壊度は前者よりも稍々進み、油滴の出現を見るが、細胞内容の破砕はなお不完全で、分散顆粒体は油滴中にはなく、残存細胞を含めて総べて水滴側に集合して居る (Fig. 5).

c) 曝振20分では、菌体破壊度にはあまり著明な変化は認められぬが、油滴量の増加が見られる。残存細胞を含めての分散顆粒体は前例と同様総べて水滴側に集合して居る。

d) 曝振30分では、細胞破壊度並びに分散顆粒体の模様には前例とほぼ同様著明な変化は認められない。

e) 曝振40分では、細胞破壊度は稍々高度となり、一部の破壊細胞膜の残像を認める。分散顆粒体は既に水滴中にはなく、総べて油滴中に集り、一部の残存細胞のみが水滴中を僅かに移動する。

f) 曝振50分では、細胞破壊度は更に上昇し分散顆粒体は極微の顆粒にまで破砕する。

g) 曝振55分, 60分, 及び120分。分散微細顆粒体の大部は極微の粒子にまで破砕分散するが、なお僅かに菌形を保つものや、一部破壊された細胞等が少数残存する。

5) 超音波:(560-kc, 1,800-V, 0.25-A) 曝振

試料:18日間5%ブドウ糖液培養酵母の蒸溜水浮游液 5cc の場合

a) 曝振5分で既に細胞破壊の徴が認められる。

b) 曝振10分では、破壊度の稍々進んで居るのが認められる。

c) 曝振20分では、細胞破壊度前例より大。視野の各所に大小十字形結晶体の析出を認める。

d) 曝振30分では、油滴の出現を見るが、残存細胞は総べて水滴側にある。

e) 曝振40分では、油滴の量が増し、分散顆粒体及び残存細胞は総べて油滴側に集合して居る。細胞破壊度はかなり顯著である。

f) 曝振50分では、破壊度一層高度となり、大半が Sporen 以下の微細顆粒体となって

分散し、総て油滴中に集合して居る。

g) 曝振55分, 60分及び120分. 分散した Sporen 及び其の極微小体にまで破砕されたもの, 又多量の油滴が全視野に見られるが, 尙僅かに原菌形を保つものも散見される。

6) 超音波:(560-kc, 1,800-V, 0.25-A) 曝振

試料:18日間蒸溜水培養酵母の蒸溜水浮游液 5cc の場合

a) 曝振5分で一部に破壊細胞が認められる。

b) 曝振10分で大半が破壊する。又分散顆粒体を含む少々肉厚の十字形結晶の析出が多数認められる。

c) 曝振20分では, 破壊はかなり顕著で, Sporen の分散が目立って居る。又細胞膜断片等種々破壊程度の異った破壊像が同視野中に見られる。

d) 曝振30分では, 分散顆粒体を含むかなり肉厚の十字形結晶の析出が多数認められ, 破壊度は総体的にかなり進んで居る (Fig. 6)。

e) 曝振40分では, Sporen 以下の極微破砕分散相として認識される。

f) 曝振45分, 50分, 60分, および120分. 大量の油滴が認められ, 破壊分散顆粒の総ては油滴中に集合する。

7) 超音波:(560-kc, 1,500-V, 0.2-A) 曝振

試料:18日間5%ブドウ糖液培養酵母の蒸溜水浮游液 5cc の場合

a) 曝振5分で既に僅か乍ら細胞破壊が認められる。

b) 曝振10分では, 破壊度は更に増進する。

c) 曝振20分では, 分散顆粒体はSporen 以下の極微顆粒体にまで及ぶ。

d) 曝振30分では, 分散 Sporen の更に極微に破砕された形跡を想わしむる Bild である。

e) 曝振40分では, 更に破壊度が進み, 視野の各所に正八面体結晶の析出を見る場合が極めて多いが, 之は生物的意義を考う可からざるものの様である (Fig. 7)。

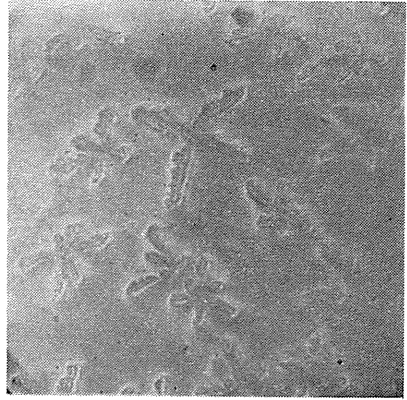


Fig. 6.

Microphoto. $\times 600$. Yeast after 30-min. vibration with ultrasonics (560-kc, 1,800-V, 0.25-A.).

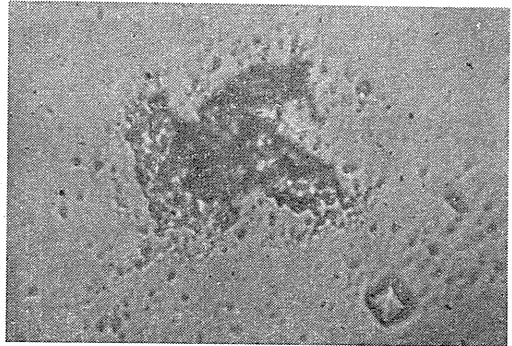


Fig. 7.

Microphoto. $\times 1,200$. Yeast after 40-min. vibration with ultrasonics (560-kc, 1,500-V, 0.2-A.).

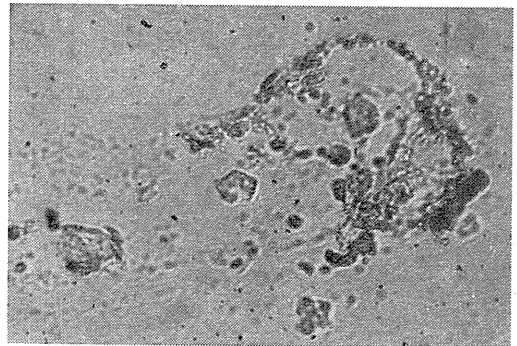


Fig. 8.

Microphoto. $\times 1,200$. Yeast after 20-min. vibration with ultrasonics (560-kc, 1,800-V, 0.25-A.).

f) 曝振45分, 50分, 60分, および120分. 曝振50分例に於いて大量の油滴を認める。曝振60分例に於いても略同様であるが, 正八面体結晶及び十字形結晶の析出が多く認められる

のは前同断。

8) 超音波:(560-kc, 1,800-V, 0.25-A) 曝振

試料:18日間5%ブドウ糖液培養酵母の蒸溜水浮游液 20cc の場合

- a) 曝振5分で既に細胞破壊像が見られる。但し、破壊度は前例に稍々劣る様である。
- b) 曝振10分で既に油滴を認める。

c) 曝振20分では、分散顆粒体は油滴中に、残存細胞は水滴中に見られる。細胞破壊度はかなり増進する (Fig. 8)。

d) 曝振30分では、分散顆粒体は総て油滴中に集り、残存細胞は水滴中を游走する。

e) 曝振35分, 40分, 45分, 50分, 55分, 60分, 120分。

油滴の量は増加し、水滴中に残存する細胞数は曝振時間の増加に伴い漸次減少して来る。以上超音波曝振酵母の光学顕微鏡の検索の結果を総括すると図表の様になる。結晶体の出現には生物的意義を考えなくともよい様であるが、油滴出現は注目すべき現象として取扱った。

Table 1.
The effect upon yeast of ultrasonic vibration.

Dosis of Ultra-sonic Vibration	Culture Condition of Materials		Quantity of Material	Ultra-Sonic Vibration Time (min)													
	kc	V.		Days	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	120
450	1500	0.1	Distilled Water	18"	20 ^{cc}	-	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
						±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
560	1500	0.25	5% Glucose Solution	18"	5 ^{cc}	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
						±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
560	1500	0.25	5% Glucose Solution	18"	20 ^{cc}	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
						±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±

(- ± ± ±) → Destructive Degree
 ○ → Oil Drop
 △ → Crossed Crystal
 ▲ → Octahedron Crystal

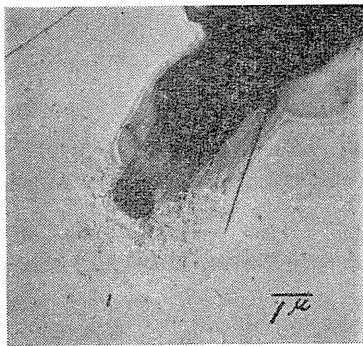


Fig. 9.
Electron microphoto. × 5,000. Yeast after 60-min. vibration with ultrasonics.

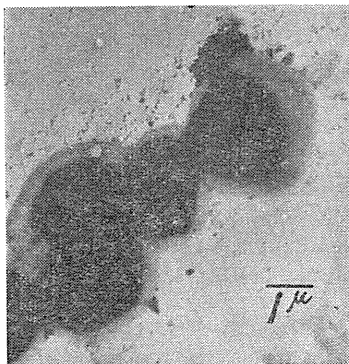


Fig. 10.
Electron microphoto. × 5,000. Yeast after 120-min. vibration with ultrasonics.

B) 超音波曝振酵母の電子顕微鏡像に就いて

超音波:(560-kc, 1,500-V, 0.1-A) 曝振

試料:28日間蒸溜水培養酵母の蒸溜水浮游液

5cc

1) 超音波曝振60分例に就いて見ると、細胞膜は総て菌端部に於いて破裂し、其処から内容 (Ascosporen 及び Cytoplasma) が放出分散して居る像が見られる。細胞膜破裂部の細胞膜は濃淡陰影に富む Falteubild を呈し、その肥厚、強靱なることを想わしめるに十分なものが窺える。脱出顆粒体は何れも電子線密度の高い濃影体として認識され、少数の大顆粒 (0.5μ前後のもの) 級の群と無数の小顆粒級の群 (0.1μ前後のもの) とが区別される。前者は Sporen, 後者は Cytoplasma 構成要素に由来するものと看做され得る像である (Fig. 9)。

2) 超音波曝振120分例では、何の視野にも破壊細胞は既に全く其の原形を止めず、不規則に断裂した細胞膜断片並びに網状構造体として分散して居る像が認識される。顆粒体として認められるものには前記大小2種の顆粒の他、Sporen の更に破砕分散したものと考えられるところの 0.2μ 前後の中等大濃影顆粒体群が新たに認められる (Fig. 10)。

IV. 考 察

超音波刺激が細胞体に及ぼす機械的作用に関しては既に種々なる考察が加えられて来た。即

ち、W, Kikuth⁷⁾ は其の致死的原因を細胞膜の *Zerrei Ben* (破裂) 並びに *Punkt-formige Wärme* (熱作用) 等をあげて居り、笠原、雄山、管田等⁴⁾ は機械的破壊作用と酸化作用との両因子にこれを求めて居る。又 Lord Rayleigh (1917)⁸⁾ は超音波の細胞破壊作用として *Cavitation* (空洞形成) をあげて居り、其の作用機転は無数に発生した微細な空洞の周辺に誘起される異常な強圧が細胞膜を押し破るためだと解釈して居る。又今村⁹⁾ は細胞内容の動揺 (*Stirring*) と、細胞外に伝く速度と圧力の急激な変化が細胞破壊を起す主たる因子であると考えて居る。加藤幹夫は発振周波数別による超音波の生物学的作用効果の差異について、笹川の腹節仮説の妥当性を説明強調して居る。又著者の超音波曝振の生体に及ぼす影響に関する実験から判断して、細胞が超音波刺激を受けた場合、与えられた超音波の機械的作用は既に其の初期に於いて細胞膜を十分に通過し、*Cytoplasma* に及び其の内部構造を著しく攪乱することが窺知される。音響の本質として、物質に与えられた疎密波の分子振動の波は媒質の断熱圧縮率、弾性、分子間距離等により種々なる *Energie* 変転の様相を呈するわけで、即ち Rama Ras¹¹⁾ の報告によると振動分子のエネルギー E は 2 コの分子中心距離 δ の 10 乗に逆比例するとしている。随って $E \propto \frac{1}{\delta^{10}}$ の関係が成立すると云う事になる。

又之より導いて Wheeler¹²⁾ は $\frac{E}{V} = K$ 即ち振動分子のエネルギーが其の振動数に比例することを報告して居る。更に Stokes は液体中の音の吸収が媒質の密度と粘性に大いに関係して居る事を示唆している。即ち、超音波刺激が細胞体に与えられた場合其の細胞の形態、大きさ、又内容構成要素間の *Spezifischgewicht*, *Viskosität*, *Elektrische Spannung* 等諸条件の種々なる “Physical balance” に於いて細胞体の受ける *Stimulation* は全 *Cytoplasma* のはげしい *Vibration* 若しくは *Rotation* を惹起することが当然思考されるのである。之は要するに超音

波刺激の細胞破壊作用の力学的 *Mechanism* の第 1 として *Cytoplasma* の膠質的因子が先ず考えられる所以でもあり、また、此処に初めて *Cavitation*, 酸化作用, 熱作用等の超音波刺激の特異性と云うことが問題になって来る訳である。

斯かる物性論的にみて複雑多岐な影響を与えるべく考えられる超音波の所謂ナマの即ちその全因子包含の曝振をうけた酵母の破壊分散体に就いての知見は酸化を抑制した純粋な機械的作用効果と比較検討の資となるので、詳細にその光学顕微鏡的認識を検討してみた。其の結果大體次の如き認識が得られる。即ち

A) 黄色顆粒: 之は孢子囊細胞中の *Ascosporen* (子囊芽胞) の脱出したものとせねばならぬもので、細胞内ではかなり速い廻転運動をしているものが見られ、又細胞外に脱出したものでは水中で極めて敏速な游走運動を呈するものもみられる。大きさは $0.4-0.7\mu$ 大で其の化学的組成は P.N.A.¹⁸⁾ を主体とするものと解される。これによると超音波の包含する酸化作用は、此の級の生物微小体にはその生機を失わせる程の影響をもっていないのではないかと解される。又此のものは *Medium* に対しても強い極性を示して居る様である。

B) 油滴: 之は特にブドウ糖液培養酵母に於いて著明にあらわれるもので、正常細胞内に於ける配置は、Sudan III 染色によると、主として細胞膜に近い細胞周辺部に *Dicht* である。此処に興味あることは超音波曝振の初期に於いては、分散顆粒体は総て水滴中に集合して居るが、曝振時間が進むにつれてそれが油滴中に集合して認められることであり、此の事実は油の存在が生機成立の一重要素なるを考えると、その状態が原形質の破壊乃至復元に何らかの関係を有することを示唆するものでないかを想わしめられる処である。

C) 十字形結晶: 之は超音波曝振 10 分, 30 分間に於いて多く析出されるもので、其の中に分散黄色顆粒体の数コが連なって集合して居る状況より推測して、*Sporen* 構成要素中の物質特

に有機塩が結晶したもののようであり、或は特に生機と無関係の無機化合物の結晶とも考え得る。尙本結晶体は後篇に於ける研究実験で酸化作用抑制例に於いても夥しく析出されて居るので特に「酸化作用の影響」ということに就いては一応除外して考察されて然るべきものと解し度い。

D) 正八面体結晶：之は超音波曝振40分、60分の間に於いて析出されるもので、前結晶同様 Sporen 構成要素に関係あるものと考えられるが、其の本体並びに成因に就いては不明である。但し、前者より更に無機物質系の認識物たる性格を強く考えしめるものである。

E) 混濁細胞：之は超音波作用による細胞内容の Stirring によるものと解される。

F) 異形細胞及び G) 細胞膜断裂片：之等は何れも主として超音波の機械的作用に起因するものと解される。

又電子顕微鏡の認識では、

A) 大顆粒：之は電顕計測 0.4μ 、 0.7μ 大の Electron density の高い顆粒で、脱出した Sporen 其のものか、その破壊物の様である。生活基本小体論からみるならば其の組成は P.N.A. を主体とする脂質、核酸、蛋白の複合体と考えられよう。

B) 中顆粒：之は電顕計測 0.2μ 前後の顆粒で、Sporen の更に破砕分散したものとみねばならぬ。即ち、電顕像に於いて大顆粒が中顆粒に分散しつつある状況のものが認識されるものである。随って其の化学的組成も略々前顆粒と同様なものと考え得るであろう。

C) 小顆粒：之は電顕計測 0.1μ 以下の超微細顆粒で、前記2種の顆粒の更に細分されたものである。其の生物的意義は前二者とは全く異にして居るものか否かは本検討では不明である。或は曝振初期の破壊像に於いてもすでに無数に認識されるものであることから、恐らく Microsome に相当するものとも考えられる。然りとすもやはり其の化学的組成は脂質、核酸、蛋白の複合体と考えられるが¹⁸⁾、その生物学的に有意義の存在か否かは後篇の研究によって知

るより他ないであろう。

D) 細胞膜断裂片、並びに、E) 網状体断裂片。之等のものは何れも強度の超音波曝振を長時間作用してもなおかなり大形の Fragment として残存し、其の構成の強靱なことを窺わしめられ、その組成の主体は Hemicellulose と考えられる。謂わば細胞外部の根幹を為すものである²⁰⁾。

以上の精探で著者は機械作用と酸化作用との混在する超音波刺激を用いて行わんとする酵母菌体からの極微生体並びにそれに宿る生機の取扱いに関し基盤的知見を詳かにすることが出来超音波の純機械的作用を以て此種の生体破壊実験を行う時の重要な対照的知見を明かにし得たと信ずる。

V. 結 論

超音波刺激の酵母に及ぼす影響に就いて、其の光学乃至電子顕微鏡の検索を行った結果次の事がわかった。

A) 酸化作用の抑制を行わない超音波刺激の酵母破壊度に就いては、周波数 450kc は 560kc に較べて稍々生体組織に対する破壊力が優れて居る様である。又入力電圧は 1,800V が 1,500V に較べて同様破壊力が優れて居る様である。又長時間液体中に浮游培養された酵母の方が浮游直後のものに較べて破壊され易い。

B) 上記の超音波刺激による酵母破壊破砕片の検鏡的所見に就いては、

1) 光学顕微鏡の検索から、超音波作用の強度により次の様なものが観察され、随って斯る所見より酵母が「ナマの超音波」によって如何なる程度に作用されるかの判断資料となし得る。即ち黄色顆粒 (Sporen 及び Vakuole)、油滴、十字形結晶、正八面体結晶、混濁細胞、異形細胞、細胞膜断裂片等である。

2) 電子顕微鏡の検索では、 0.5μ 大の顆粒 (Sporen) 群、 0.2μ 大の顆粒 (Sporen の破砕顆粒) 群、及び 0.1μ 大の顆粒 (Cytoplasma に由来する物) 群の他、細胞膜断裂片、網状構造断裂片、油滴等が認識される。

以上から酵母菌体内にも亦生活基本小体論⁶⁾によって示唆される Elementary unit of living System の存在の可能を十分想定し得る実体を認識し得たが、それが斯る酸化力非抑制下の産物として果して生活力を有するか否かに就いては、本研究だけでは不明である。脂質の析出もそれが生活基本小体の破壊によるものか否かまた不明とせねばならず、向後機能的検索に際しての形態認識資料たる記載に止めねばなるまい。

摺筆するに当り、直接研究の指導並びに御校閲を賜った恩師笹川久吾教授に満腔の謝意を表し、併せて、加藤幹夫博士の研究援助に謝意を表す。

文 献

- 1) Oparin, A. (1937) Origin of the life.
- 2) Veltman, G. (1951) Quantitative Untersuchungen mit Ultraschall an Mikroorganismen. Zeitschrift für die gesamte experimentelle Medizin. **118**, 55
- 3) Lepeschkin, W. W., D. E. Goldman (1952) Effect of Ultrasound on Cellstructure. J. Cellul. u. Comp. Physiol. **40**, 383
- 4) 笠原道夫・雄山平三郎・管田栄治(1943)細菌体内の微小生活体に就いて 大阪医学誌 **42**, (9号)
- 5) 加藤幹夫・井上康夫・中島 大(1956)超音波による大腸菌の破壊と其の増殖能 昭和31年電気関係学会関西連合大会予稿 49
- 6) 笹川久吾(1950)第27回日本生理学会総会口演要旨 日本生理誌 **12**, (1951) 第28回日本生理学会総会口演要旨 日本生理誌 **13**, (1952) 第29回日本生理学会総会口演要旨 日本生理誌 **14**, (1953) 第30回日本生理学会総会口演要旨 日本生理誌 **15**
- 7) Kikuth, W. (1954) Deutsche Med. Wochenschrift. 341
- 8) Lord Rayleigh (1917) Phil. Mag. (6) **34**, 94
- 9) 今村純夫; 健民医学 **1**, (7号) 217
- 10) Butterworth (1951) Ultrasonics. American Institute of Chemical Engineers, New York, 69
- 11) Rama Rao, M. (1940) Indian J. of Physics, **14**, 109
- 12) Wheeler, (1938) Trans. Natr. Inst. Sci. of India, **1**, 333
- 13) Wood and Loomis (1927)-Phys. Rev. (2), **29**, 273, Phil. Mag. (7), **4** (1927), 417
- 14) Henglein (1953) Z. Naturforschung, **8**, 277
- 15) 加藤幹夫・大桶修蔵(1956)大腸菌破壊培養実験に及ぼす超音波酸化作用の影響について 昭和31年電気関係学会関西支部連合大会予稿 48
- 16) 橋谷義孝(1949)酵母学 71, 岩波書店
- 17) 笹川久吾; 電子顕微鏡 本田書店
- 18) 江上不二夫・柴谷篤弘; 核酸 共立出版
- 19) 左右田徳郎・原 一郎・草間慶一(1955)「リボ蛋白質」蛋白質化学 **3**, 175 共立出版株式会社
- 20) 山本・長崎・岩原(1956)酵母細胞膜の酵素的分解に就いて 電子顕微鏡学会第12回学術講演会予稿 13
- 21) 加藤幹夫(1951)超音波刺激による突然変異惹起に関する研究 京大医学部紀要 **33**, (第3号)
- 22) 加藤幹夫(1954)超音波刺激による笹川——腹節仮説の妥当性 耳鼻臨床 **48**, 385

Summary

In consequence of the optical or electronic microscopy of the effects on Yeast of ultrasonic vibration, the following discoveries were gained:

1) As regards the destructive degree upon Yeast of ultrasonics vibration under the condition that oxidation is not controlled it seems that in case of frequency 450 k. c. it has a little stronger effect upon the living unit than in case of 560 k. c., and that in case of in-put electric pressure 1800 v. the same is true, as compared with 1500 v. Also, it is that the Yeast suspended and cultured in liquid for a given time is more subject to destruction than the one so done in the same for less time.

2) The outcome of the microscopy of the fragment of the Yeast vibrated by means of ultrasonics as mentioned above is as follows:

a) The optical microscopy resulted in that observation of the following elements, in compliance with the strength of ultrasonic operation, which furnishes itself as the material whereby one can see how Yeast is influenced by ultrasonics "in case of the uncontrolled oxidation". The elements observed are: Yellow Granules (Sporen and Vakuole),

Oil Drops, Crossed Crystals, Octahedron Crystals, Turbid Cells, Hyper-metamorphic Cells, Cell-wall Fragments, etc.

b) Observed by the electron microscope are Cell-wall Fragments, Rete Fragments, Oil Drops, etc. as well as swarms of 0.5μ -long Granules, 0.2μ -long ones (fragments of Sporen) and 0.1μ -long ones (observed existing in Cytoplasm).

From the above facts obtained, it is to be concluded that the existence of Elementary unit of living system in the structure of Yeast as suggested by the theory of Elementary unit of living system is supposable enough. This result of research, however, is not sufficient to make it clear whether or not it has vital power as living unit born under the condition of uncontrolled oxidation. It is also uncertain whether the sebaceous substance observed was caused by destruction of Elementary unit of living system. But it is without doubt that the above-mentioned discovery will serve in making researches into whether the fragment of Yeast is functional.

(Department of Physiology, Faculty of Medicine, Kyoto Univ.)

超音波刺激の酵母菌体並びに其の破砕片に及ぼす影響 612.014

(第Ⅱ編) 酸化抑制超音波の酵母菌体破壊度とその破壊碎片の特徴に就いて

The Effects on Yeast and its Fragment of Ultrasonic Vibration.
Part. II. The Destructive Degree of Ultrasonic Vibration on Yeast under
Oxidation Controlling and the Characteristics of its Fragment.

大 桶 礼 一 郎 (Ooke-Reiichiro)*

I. 緒 言

超音波曝振に伴う酸化作用は其の機械的作用と相俟って超音波刺激の重要な因子の1つであり、特に超音波の生体生機に及ぼす影響に関してその酸化作用は重要である。酸素の発生機転に就いては現在の所超音波刺激が液体に洩播した場合、其処に惹起される機械的振動作用のため、水の分子間隙に無数の微細な空洞 (Cavitation) を生じそれが示す陰圧に起因するものとされて居る。即ち Cavitation の示す瞬間的にして急激なる陰圧の上昇により液体の Oxygen-bond が遊離され、其処に発生機の酸素が生ずるためだと解されて居る。茲に超音波応用による生物学的実験の進展するにつれて該作用因子の生体に及ぼす影響が厳しく比判されるに至ったことは、生機学的の立場から観て重大な事柄である。殊に前篇に縷述した様に生体生機の元基はもはや細胞内極微体に求めねばならぬ様になって来たので、斯かる極微生体への振動影響は、単なる機械的のそれと、破壊される原形質構成々分の組成転換乃至解体殺戮力との両者が劃然と区別して取扱われねばならぬ時代になって来て居る。例えば電顕像で 10-30 μ 大の認識を与える Subunit の生命顆粒体乃至それに現われる生機への影響などはやや、斯る Order の物理作用の区別を必要とする様になった訳である。

超音波の様な異常波長の振動機械作用によって原形質の如き組成成分が細分されると、その

微小細片が Oxygen 乃至 Hydrogen bond によって影響され方が劇甚になり、生活力を左右する場合は甚だ多いことは注目に値する事柄である。

斯る場合の実験には酸化作用の寸豪をも機械作用に混入することを許されない場合がある。笹川生活基本小体論¹⁾の核心生活基本小体即ち生機発現の場としての 10-30 μ 大の Subunit たる Diponucleoprotein-system 複合体なども上記の超音波酸化作用の化学的影響を豪り易い、微小生活体であるだけに、特に此の点に充分なる考慮が払われなければならないわけで、此の場合酸化作用の影響と云うことは決して度外視することの許されぬ重要な因子となるものである。翻って斯る見地よりして過去に於ける此種の業績を顧ると、笠原、雄山、管田²⁾等はその「細菌体内の微小生活体に就いて」の実験 (1943) で、超音波の機械的作用と酸化作用とを分離することによって供試大腸菌の増殖能に著しい差異を認めることを報告し、酸化作用の除去を等閑に附した医学界の追試では数十ミリミクロン級の微小生体の酸化死滅を物語る成績を得て居る。笹川研究室ではさきに加藤、井上、東野、大桶、松本、中島等^{3,4,5,6)}が何れも酸化作用の微小生活体に及ぼす影響の顕著なる事を実証し、その妨きは生体生機にたいし殺戮的だとして居る。笹川はこれ等の諸成績に鑑み総合見解として、発生機の酸素が彼の提唱になる Elementary unit of living system の構成を歪ましめるに由るとしている。以上の諸実験は総て試料に大腸菌を用いて居るものであるが、其の構成要素に於いて大腸菌体とはかなりの類似性を持ったと

* 京都大学医学部生理学教室 (笹川久吾教授)
〔昭和34年1月13日受付〕

ころの子囊菌植物に属する酵母の1種 (*Saccharomyces cerevisiae* |. Hansen) を供試資料として酸化抑制超音波曝振実験を行ってみた。それは、被検生体が大腸菌以外にとっても斯かる検証即ち笹川の生活基本小体論に対する生物的検証たり得べき成績が得られるか否かの問題を取扱うための基礎検討の一環としてである。換言すれば生活基本小体論検証の普遍妥当性を増す為めの Arbeit である。

Ⅱ. 実験方法

超音波発振周波数並びに入力電圧は (560kc, 1,500V, 0.2A) を用いた。

超音波の酸化作用抑制法としては、加藤、松本法を用い、彼等の研究により既に著明な酸化抑制能ありとみとめられたところの Gelatin, Methylalcohol, Cystein 等による酸化抑制方法を試みた。即ち曝振試料に 7% Gelatin を添加したもの。曝振試料 10cc に対し Ethylether 4 滴添加したもの。曝振試料に 0.1% Cystein を添加したもの等に就いて超音波曝振実験を試みた。

供試資料としては、粟粒大 Dry-yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) 2 粒を 10cc の滅菌 5% ブドウ糖液に溶解浮遊せしめ約 2 週間室温に放置、供試直前に 20cc の滅菌蒸溜水を加えて稀釈したものを用いた。試料は総て完全滅菌を施した径約 3cm 底面 0.3mm の特殊硬質ガラス



Fig. 1.

Microphoto. $\times 1,200$. Yeast after 30-min. vibration with ultrasonics under oxidation controlling (adding 0.1% Cystein).

製曝振管に収め、超音波発振の噴油上に垂直固定して曝振した。

曝振方法は何れも間歇的累加曝振法を採り、其の曝振時間は 5 分, 10 分, 15 分, 20 分, 25 分, 30 分と連続 5 分宛の累加曝振とし、各曝振操作の間には超音波の熱作用を考慮し約 10 分間宛の冷却期間を挿入した。1 回曝振に供する試料の量は 5cc とし、之に前記各種の酸化抑制剤を添加して超音波の酸化作用を抑制した。その抑制度の測定は加藤、松本法によった。

光学顕微鏡標本は殆んど総て無染色標本で鏡検並びに撮影を行った。其の倍率は $\times 600$ - $\times 1,500$ である。又油滴検出は主として Sudan III 染色に依った。

電子顕微鏡標本は総て乾燥フォルムバル膜上に試料を滴下、Os. Vapour にて固定後、自然乾燥を待ち、Cr, Shadowing を施して後、観察、撮影に供した。其の倍率は $\times 5,000$ - $\times 25,000$ である。

Ⅲ. 実験結果

A) 光学顕微鏡像の観察

以下超音波酸化抑制方法として次の様な酸化抑制剤を用いたものに就いて報告する。

1) 0.1% Cystein 添加

a) 超音波曝振 5 分では未だ細胞破壊は認められない。

b) 超音波曝振 10 分から酸化抑制が認められ、一部に破壊細胞を認め油滴が出現する。細胞及び分散顆粒体は総て水滴側にある。

c) 超音波曝振 15 分及び 20 分では細胞破壊度は前例よりもかなり進んで居り、残存細胞及び分散顆粒体は未だ水滴中にある。

d) 超音波曝振 25 分及び 30 分では破壊度は更に強く、Sporen 以下の極微の顆粒に至るまでの破砕像が認められる。分散顆粒体並びに残存細胞は総て油滴中に集る (Fig. 1).

2) 7% Gelatin 添加

a) 超音波曝振 5 分では全く破壊は認められない。

b) 超音波曝振 10 分から著明な酸化抑制

が始まり、細胞破壊度は高度で、其の大半が破壊されて居る。

c) 超音波曝振15分及び20分では破壊度一段と進み、細胞内容は極微顆粒体にまで破砕分散する。油滴は曝振15分から見られる。

d) 超音波曝振25分及び30分では、破壊された Fragment の顆粒体を含み、又顆しい数の十字形結晶体の析出が見られる。又、其の周辺に Sporen 以下の極微顆粒体が分散して居る (Fig. 2).

3) Ethylether 2 滴添加

細胞破壊度は略々 0.1% Cystein 添加例に匹敵する程の酸化抑制が行われた。

a) 超音波曝振5分では未だ充分な細胞破壊は認められない。

b) 超音波曝振10分では一部に破壊細胞を認める。

c) 超音波曝振15分及び20分では大形顆粒体 (Sporen) の分散を認め、油滴は曝振20分から見られる。

d) 超音波曝振25分及び30分では破壊度更に強く、Sporen 以下の極微の顆粒に至るまでの破壊像が認められる (Fig. 3).

4) 10% Methyl alcohol 添加

細胞破壊作用は全例中最も弱く、分散顆粒体、油滴等は充分認識されなかった。

a) 超音波曝振5分では未だ破壊像は認められない。

b) 超音波曝振10分では不完全な破壊細胞を僅かに認めるのみである。

c) 超音波曝振15分及び20分では少数の破壊細胞をみとめ、残存細胞に形態的变化 (膨大, 歪) が認められる (Fig. 4).

d) 超音波曝振25分及び30分では細胞破壊度は幾分増加して居るが尙多数の残存細胞が認められる。

以上の結果を総括すると下の (図表) の如くなる。

B) 電子顕微鏡像的観察

全例を通じて油滴が多量に析出しているのが目立つ。電子線の熱作用を受け標本全面に互っ



Fig. 2.

Microphoto. $\times 1,200$. Yeast after 30-min. vibration with ultrasonics under oxidation controlling (adding 7% Gelatin).



Fig. 3.

Microphoto. $\times 1,200$. Yeast after 30-min. vibration with ultrasonics under oxidation controlling (adding 2 drops Ethylether).

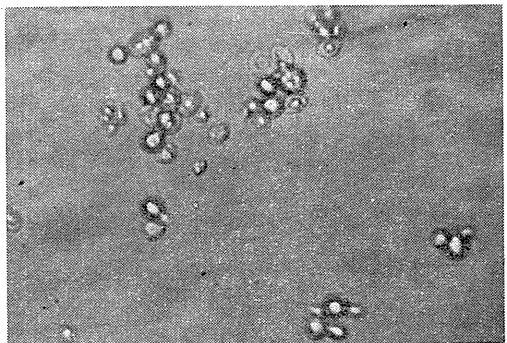


Fig. 4.

Microphoto. $\times 1,200$. Yeast after 20-min. vibration with ultrasonics under oxidation controlling (adding 10% Methyl alcohol).

て気泡の発生を見た。又 Gelatin 添加例では電子線の通過が極度に阻害されるため明瞭な電顕像を得ることが困難であった。

1) Ethylether 2滴添加酸化抑制例

a) 超音波曝振10分では小顆粒 (0.1μ) 多数を認め、中顆粒 (0.2μ) は極めて少数である。

b) 超音波曝振20分では殆んど総てが小顆粒 (0.1μ) である。

2) 0.1% Cystein 添加酸化抑制例

a) 超音波曝振10分では大顆粒 (0.5μ) と中顆粒 (0.2μ) が多く、小顆粒 (0.1μ) は少数である。

b) 超音波曝振20分では小顆粒 (0.1μ) が多く、中顆粒 (0.2μ) 大顆粒 (0.5μ) が之に次ぐ (Fig. 5).

以上認識し得た酵母の超音波破壊破砕片から、大顆粒 (0.5μ)、中顆粒 (0.2μ)、小顆粒 (0.1μ 以下)、油滴、十字形結晶像、膜様断片、等が酸化抑制超音波の種々なるゆかせ方に順じて電顕的に認識された。

Table 1.

The effect upon yeast of ultrasonic vibration under oxidation controlling.

Oxidation controlling method	Ultrasonic vibration time (min)					
	5	10	15	20	25	30
Adding 0.1% cystein	—	± ^o	±	±	±	±
" 70% gelatin	±	±	± ^o	+	+	+
" 4 drops ethylether	—	±	±	± ^o	+	+
" 10% methylalcohol	—	±	±	±	±	±

(— ± + ++) → Destructive degree
 o → Oil drop
 Δ → Crossed crystal

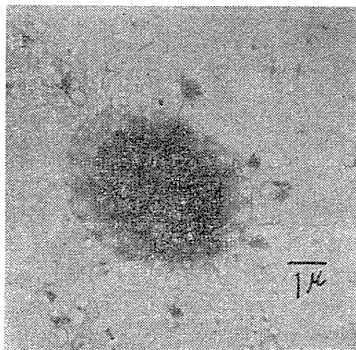


Fig. 5.

Electron microphoto. $\times 5,000$. Yeast after 20-min. vibration with ultrasonics under oxidation controlling (adding 0.1% Cystein).

IV. 考 察

超音波の酸化を抑制して純粋な機械的作用だけで酵母細胞を完全に破壊するまでの超音波曝振時間を見ると加藤、松本法⁴⁾⁷⁾による7% Gelatin 添加例が最も短かくて15分、次で Ethylether 2滴添加例では曝振30分でもなお多数の残存細胞が認識された。此の事実は、粘性の大なる Gelatin 添加は超音波 Energie 吸収率の増大のため細胞破壊率が増大することを物語っている。又、空胞形成 (Cavitation) はそれに次ぐ破壊因子となることをしめして居る。更に10% Alcohol 添加曝振時に見られるような空胞形成 (Cavitation) は、かえって細胞破壊作用を減殺するものと解される。故に超音波の細胞破壊作用が主として機械的な振動作用に依存して居ることを端的に表現するものである。これはまた Cavitation をもって主な細胞破壊因子とするところの Lord Ray Leigh (1917)⁸⁾ の主張と略々一致するものである。

此処に超音波刺激の細胞破壊作用の Mechanism に就いて更に考察を進めるならば、先ず与えられた超音波振動作用は Medium を介して細胞膜を通過し、Cytoplasmaに及んで其の内部構造を著しく攪乱する事が第1に考えられよう。而してそれは膠質系としての Cytoplasma の密度、粘性等の示す種々なる Physical balance に於いて超音波の刺激効果を媒質に与える結果となる。これを流体力学的に観るときは媒質の Vibration 或いは Rotation が考えられ、又音響学的に観る時は振動 Energie の伝播吸収、分散及び媒質の粗密波的振動 Energie に依る圧縮効果の影響、媒質の密度変動による散乱に基づくところの超音波 Energie の吸収等が考えられる。更に超音波の特異作用に依り媒質構成要素と之等物理的諸因子との間に醸し出される熱力学的変化並びに電気乃至はイオン活性等の消長が二次的に加わり此処に Cytoplasma の複雑多彩なる物理化学的变化が予想されよう。

之を試料の溶媒に就いて考察すると、それは結局各種液体中に於ける超音波、即ち超高周波

粗密波的分子振動 Energie の吸収並びに散乱の消長を総合的に検討することによって始めて理解せらるべき問題に帰せられる。Rama Rao¹⁰⁾の経験に依れば、振動する分子の Energy E は 2 コの分子中心距離 δ の 10 乗に逆比例すると云う結論を導いて居る。 $E \propto \frac{1}{\delta^{10}}$ 又 Wheeler¹¹⁾ は振動分子の Energy E は、その振動数 γ に比例すると云う結果を得て居る。

$$\frac{E}{\gamma} = K$$

更に Freyer, Hubbard, Andrews¹²⁾, Swauson¹³⁾, Biquard¹⁴⁾ 等の経験によるとベンゾール (C₆H₆, 融点 6°C) 中の音速度は其の融点附近に於いて著明な変化をしめすことを認めて居り、之は凝固に先立って既に液体内で分子配列が開始することを示唆するものであると云って居る。又有機化合物中の音速度に関する経験的事実としては Parthasarathy¹⁵⁾の報告があるが、一般炭化水素では炭素原子の数と共に音速度 V は増加し、断熱圧縮率は C の増加に伴い減少すると称して居る。又飽和 1 価アルコールに於いても C の増加と共に音速度は増加し、断熱圧縮率は減少することを認めて居る。他方液体中の音の吸収は殆んど粘性によって生ずるものとされて居り、密度 ρ , 粘性係数 η の膠質液に振動数 γ の音波が与えられた時の吸収係数 α は Stokes の式 $\alpha = \frac{2}{3} \cdot \frac{\eta}{\rho} \cdot \frac{w^2}{V}$ (V: 音速度, $w: 2\pi \times \gamma$)

で与えられるもので、即ち超音波 Energy の吸収は媒質の密度並びに粘性によって著しく左右されることを知るのである。此の場合直接破壊作用にあづかる因子としては、やはり共鳴振動の最も烈しい部分にあらわれる所の強力な断熱圧縮膨張作用並びに Cavitation に伴う圧力勾配の変動等が考えられる。

之を要するに超音波の酸化作用抑制剤添加酵母菌液曝振の諸成績を音響学的見地より観る時、細胞破壊に至るまでの超音波刺激の細胞に及ぼす影響に酸化作用抑制剤を添加した場合に

おこる Medium の物理的諸条件の変化に負う所が多々ある様である。G. Veltman¹⁶⁾が「細菌の超音波曝振に際して、菌体の完全破壊に達するまでの時間は、極端に試料の溶媒如何に関係する」と云って居るのも此の事実を指して居るものであろう。而して、細胞破壊後の分散微細顆粒体乃至は液体成分にたいする影響に至っては、此の限りではなく、多分に Chemical な Factor 即ち、酸化作用等の影響がかなり強くあらわれて来るものと考えられることは極微破砕生体片に対する O₂-bond の作用に就いての笹川の説明でも首肯し得る処である。

超音波酸化抑制時に於ける酵母の破壊碎片の特性に就いては、光学顕微鏡の認識による碎片として Gelatin 添加例では曝振 5 分以後、其の他のものでは曝振 10 分以後に認められる黄色顆粒は Sporen 及び Vakuole の細胞外に脱出したものである。即ち此の程度の曝振段階に於いて既に一部の酵母細胞が破壊されて居ることを示すものである。此の Sporen 中には溶媒中で極めて敏速な振動的游走運動を行って居るものが認められる。斯かるものは勿論生活力を維持して居るものとも考えられるが、また斯る現象は Medium に対する溶解度や電氣的活性度の消長に起因する物理的現象とも解される。而して其の組成は脂質、核蛋白を主体とする高分子複合系で Medium 及び母細胞に対し強い極性を示して居ることが窺われる。油滴は Cystein 添加例では曝振 10 分以降、Gelatin 添加例では曝振 15 分以降、Ethylether 添加例では 20 分以降に見られたもので、加藤 (1956) の超音波酸化抑制法による酵母の脂質分析でわかるように、主として中性脂肪及び遊離脂肪酸に Lecithin, Ergosterin 等の類脂体加わったものと見られる。又此の油滴はビドー糖液中に長く放置したものでは特に多量にあらわれる様であるが、その本質に関する解釈は現今の処困難である。十字形結晶像は特に Gelatin 添加例曝振 25 分, 30 分等に夥しく多数認められるもので、何れも前記黄色顆粒体の濃密な視野中に限って多くあらわれて来る。これは結晶学的に観ると立方晶系

の立方体心を中心として伸びたものと解されるが、その主体となる構成要素に就いては不明である。或いは *Saccharomyces cerevisiae* 中に既に確定的な存在がみつめられて居るところの Lipoprotein の 1 種とも考えられるが、他方 Astbury¹⁷⁾等が X 線回析の研究の結果 D.N.A. 分子の形を棒状、繊維状と想定し、此の繊維軸に直角に 3.34\AA の間隔を置いてヌクレオシドが互に平行に配列して居ると考えた分子構造よりすれば或いは D.N.A. 又は R.N.A. の基本形とも考えられる顕微鏡下では、此の結晶軸に沿って前記黄色顆粒が色々の程度に於いて集合配列して居るのが観察されるもので、少くとも本物質と Sporen, Vakuole との間には相当強い親和性のあることが窺われる。2 分散顆粒体と油滴との関係に就いては、全例を通じて、超音波曝振初期(曝振15分まで)に於いては分散顆粒体は総て水滴側に浮遊し、油滴中には何らの個形成分をも認識出来ないが、曝振が進むにつれて(曝振20分以降)顆粒体は油滴中に集合して来る。之は超音波の機械的拡散作用による構造粘性の変化に基く結果とも考えられるが、又他方、水、油、核蛋白間の帯電関係の変化と云うことも思考される所である。兎に角脂質を重要視する笹川的生活基本小体論の見解にとっては重要視すべき事柄であり、植物ウイルスの分析結果を核蛋白とし、之れに生命を考えようとする核蛋白生命論系思想にとっては重大な警告と云ってよからう。

電子顕微鏡的検索の結果に就いて見ると、一般に分散顆粒体は曝振時間の進むにしたがって小形の顆粒体の認識が増加して来る傾向が見られる。之を大別すると、大略 0.5μ 前後の大顆粒、 0.2 前後の中顆粒、 0.1μ 前後の小顆粒の3様であって電子線に対する Electron density は大形のもの程大である。大顆粒は Sporen そのものと看做さねばならぬもので、脂質、核酸、蛋白の複合体の Coacervat と看做されよう。中顆粒は Sporen の更に破壊分散したものと考えられ、その化学的組成は随って、前顆粒と略々同様なものと考えてよからう。小顆粒は Cyto-

plasma 中の顆粒成分、即ち Mikrosom に該当するものではあるまいか。電顕認識上の大きさや形態からすれば正に笹川の生活基本小体とよく一致するものである。

酸化抑制超音波曝振酵母の電子顕微鏡像には上記顆粒体の他に細胞膜断裂片と見做される膜様断片が散見する。元来酵母の細胞膜は二重構造をもって居て、其の成分は Hemicellulose である。その強靱性は細菌細胞膜の比ではなく、超音波による破壊実験の成績からしても此の点は充分認められるところである。又酵母菌膜は化学作用乃至は酵素作用に対しても強い抵抗性を示すものであり、随って之は超音波による酸化作用の影響を最も受け難い細胞構造の1つである。

V. 結 論

笹川——生活基本小体論の立場から、超音波破壊による細胞、特に破壊細菌の活性を検索する研究の前提として、超音波酸化抑制時中就中殆んど純粹の機械作用による酵母の破壊度を検するに、

A) 超音波曝振酵母菌体の破壊作用に関しては、各種酸化抑制剤添加の場合、7% Gelotn 添加例では超音波曝振による酵母細胞の破壊度は著しく優れて居り、10% Methylalcohol 添加例ではその破壊度は著しく劣って居ることが実証された。

B) 超音波酸化抑制時に於ける酵母の破壊破片に就いては、

1) 脱出 Sporen 及び Vakuole と看做される黄色顆粒を認めた。之は電子顕微鏡像に於いては 0.5μ 前後の大顆粒として認識される。

2) 中性脂肪、遊離脂肪酸及類脂体と看做される油滴を認め得た。之は電子顕微鏡像に於いては電子線による加熱の結果多数の気泡として認識されるのが多い。

3) 核蛋白を原基とする結晶体と考えられる十字形結晶像を多数認識し得た。

4) 電子顕微鏡で Sporen 内容の構成顆粒体と看做される 0.2μ 前後の中顆粒 Cytoplasma

内の顆粒成分と看做され Mikrosom に該当するものとして 0.1μ 以下の小顆粒を認識した。又細胞膜断裂片をも数多認識した。

5) 超音波曝振作用の経過に伴い、生体組織の組成々分に脂質を重要視する笹川——生活基体小体論の妥当性を思わしめる如くに、分散顆粒体が漸次水層より油層へ集合する事実を認めた。

以上形態的な種々の所見は酸化抑制を行わない超音波の酵母菌体破壊のそれに概して似ているが、機能的な相違の有無は不明であって、之は別の検索法に俟たねばならない。

撰筆するに当り直接研究の指導並びに校閲を賜った恩師笹川久吾教授に満腔の謝意を表し、併せて加藤幹夫博士の研究援助に謝意を表する。

文 献

- 1) 笹川久吾 (1950) 第27回日本生理学会総会口演要旨 日本生理誌 **12**, (1951) 第28回日本生理学会総会口演要旨 日本生理誌 **13**, (1952) 第29回日本生理学会総会口演要旨 日本生理誌 **14**, (1953) 第30回日本生理学会総会口演要旨 日本生理誌 **15**
- 2) 笠原道夫・雄山平三郎・管田栄治 (1943) 細菌体内の微小生活体について 大阪医学誌 **42**, (9号別冊)
- 3) 井上康夫・東野幹雄 (1955) 超音波による微生物の破壊と其増殖能 (第1報) 日本生理誌 **17**, 129
- 4) 加藤幹夫・松本修一 (1956) 超音波酸化作用の抑制に関する実験的研究 昭和31年電気関係学会関西連合大会予稿 46
- 5) 加藤幹夫・井上康夫・中島 大 (1956) 超音波による大腸菌の破壊と其の増殖能 昭和31年電気関係学会関西連合大会予稿 49
- 6) 加藤幹夫・大桶修義 (1956) 大腸菌破壊培養実験に及ぼす超音波酸化作用の影響について 昭和31年電気関係学会関西連合大会予稿 48
- 7) 加藤幹夫・井上康夫・大桶修義・松本修一・中島大 (1957) 生活基本小体論よりみたる超音波酸化の促進と抑制 昭和32年近畿生理学会口演要旨
- 8) Lord Rayleigh (1917) Phil. Mag. (6) **34**, 94
- 9) Butterworth (1951) Ultrasonics. American Institute of Chemical Engineers, New York, 69
- 10) Rama Rao, M. (1940) Indian J. of Physics, **14**, 109
- 11) Wheeler (1938) Trans. Natr. Inst. Sci. of India, **1**, 333
- 12) Freyer, E. B. with Hubbard, J. C. and Andrews, D. H. (1929) J. American Chem. Soc. **51**, 759
- 13) Swanson, J. Ch. (1933) Rev. Sci. Instr. **4**, 603
- 14) Biquard, P. (1938) C. R., **206**, 897; Revued' Acous., **8**, 130
- 15) Parthasarathy, S. (1935) Proc. Indian Acad. Sci. (A). **2**, 497. **3**, (1936) 285. 482. **4**, 213
- 16) Veltman, G. (1951) Quantitative Untersuchungen mit Ultraschall an Mikroorganismen. Zeitschrift für die gesamte experimentelle Medizin. **118**, 55
- 17) 江上不二夫・柴谷篤弘 (1955) 核酸 81, 共立出版社
- 18) 宮路憲二 (1941) 応用細菌学 岩波書店

Summary

The underwritten facts were obtained as a result of having made microscopy of the degree of the destruction of Yeast caused almost purely by the mechanical operation. This microscopy was made as premiss on which to pursue the research to clarify if the cell, particularly, the destructive bactrium destructed by ultrasonic vibration still had vitality, on the basis of the viewpoint of the theory of Elementary unit of living system by Dr. Sasakawa :

1) With reference to the destructive degree of ultrasonic vibration upon Yeast, with various kinds of oxidation-controlling chemicals given, the degree of destruction of the cells of Yeast by ultrasonic vibration is very high in case that 7-% Gelatin is added, but very low in case Methyl alcohol added.

2) As a result of the microscopy of a Fragment of the Yeast vibrated by ultrasonics under oxidation controlling.

a) Yellow Granules which seemed to have been born of Sporen and Vakuole were obserbed, and these were found to be about 0.5μ -long Granules by the electronic microscopy.

b) Oil Drops which were considered to be Neutral Fat, Isolated Fatty Acid and Lipoid could be discovered. By the electronic microscopy, most of these are observed as bubbles, in consequence of the heating of the electron-ray.

c) Many Crossed Crystals, considered to be crystals having Nuclear Protein as the rudiments, were found.

d) By the electronic microscopy, approximately 0.2μ -long Granules thought to compose the substance of Sporen, less than 0.1μ Granules which were considered to exist in and be an ingredient of Cytoplasma, corresponding to Mikrosome, and, besides, many Cell-wall fragments were observed.

e) In process of the ultrasonic vibration, the fact that Granules existing scattered gradually gathered from the layer of water to that of oil was found, which reminded me of the soundness of Dr. Sasakawa's theory of Elementary unit of living system which stressed on the indispensability of Oil as ingredient of the living unit.

Generally speaking, the results described above considerably resemble those obtained of a Fragment of the Yeast destructed by ultrasonic vibration, but it is uncertain whether there is a difference between both of them as to its function, and another way of research must be resorted to so as to make the matter clear.

(Department of Physiology, Faculty of Medicine, Kyoto Univ.)

超音波刺激の酵母菌体並びに其の破砕片に及ぼす影響 612.014

(第Ⅲ編) 超音波曝振酵母の培養並びに濾過培養実験と其の顕微鏡的検索

The Effects on Yeast and its Fragment of Ultrasonic Vibration.
Part. Ⅲ. The Culture and filtered Culture of the Yeast
vibrated by means of Ultrasonics and its Microscopy.

大 桶 礼 一 郎 (Ooke-Reiichiro)*

Ⅰ. 緒 言

笹川研究室に於いては昭和9年以來、実に早くから超音波の生体に及ぼす影響なる研究題目の下に超音波の生物学的応用実験を実施して来た²⁴⁾。即ち、勝田²⁾の蘭鯖仔魚に就いての研究業績³⁾、鈴木⁶⁾の筋神経組織に就いての研究業績、加藤⁴⁾の猩々蠅人工突然変異誘発に就いての研究業績等を初めとする幾多の超音波の生体生機研究への応用実験の業績が見られる²⁾⁻¹²⁾。笹川教授は之等諸業績の総合結果よりして「超音波は其の作用の量と方法とによっては生体組織に対し有害にもまた有効にも作用するものである」とし、且つその刺戟効果のあらわれ方に関しては腹筋仮説(笹川)¹⁷⁾¹⁸⁾なる普遍妥当律を提唱するに至った。蓋し後者は超音波刺戟の生体におよぼす作用の特異性に関する一端を窺わせるに足るものであるが、前者の命題は寧ろ生理学原論的真理の表現性をもった命題と云えよう。

然し上記の諸業績は何れも超音波の酸化作用と機械作用とを分割せず之を生体の刺激として行った研究成果であるが、著者はさきに笹川——生活基本小体論に立脚して、超音波の機械的作用のみを以て破壊された生活体(例えば大腸菌)に於いてその破壊したFragmentが増殖能を示す事実を明らかにし得た。この事実が他の種類の生体細胞、例えば酵母(Saccharomyces cerevisial |, Hansen)にとっても同様でないかを検するために供試資料を表題の如く

とり、上記諸業績の伝統によって得られた実験上の注意を正確に守って一連の超音波曝振実験を試みた。その結果はさきに第Ⅰ編及び第Ⅱ編の研究に予想された様に、超音波酸化抑制下の酵母破壊Fragmentは同時に滲出した酵母油脂の存在によって確かに再び増殖能を示し如める事を明らかにし得た。そして破壊Fragmentの濾過後の培養によって確実に増殖能を得る事実は、笹川——生活基本小体論が云うLiponucleo protein-systemなる複合体を主材に生機が菌破砕小片に於いて成立するという理の証左たるを確認し得たことになるので、その結果を茲に報告する。

Ⅱ. 実 験 方 法

A) 超音波発振周波数ならびに入力電圧は560kc, 1800V, 0.25Aに規定した。

B) 試料は粟粒大Dry-yeast(Saccharomyces cerevisial |, Hansen) 2粒を滅菌5%ブドウ糖液 10cc に溶解浮遊せしめ、秋冬の候約2週間室温に放置増殖せしめた供試群を用いた。

C) 超音波曝振試料は、前記試料を滅菌蒸溜水で更に3倍に稀釈し、その5ccを径約4cmの底面厚さ0.3mmの特殊硬質ガラス曝振管に収め曝振に供した。

D) 超音波曝振方式は間歇的累加曝振法とし、其の曝振時間は10分, 20分, 30分, 40分, 50分, 60分と10分宛の累加曝振とした。各曝振操作の間には超音波の熱作用を考慮して約10分間宛の冷却期間を置いた。

E) 酸化作用抑制法としては Ethylether 4滴添加法を応用した。

* 京都大学医学部生理学教室(笹川久吾教授)

[昭和34年1月13日受付]

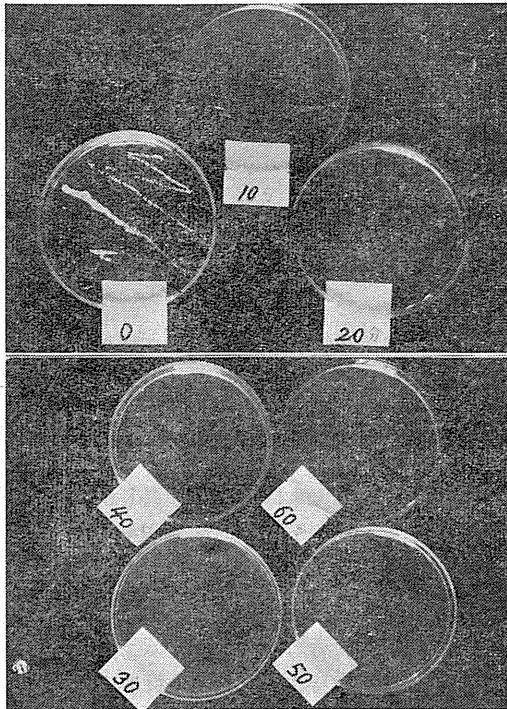


Fig. 1. 20-hour culture of vibrated yeast.

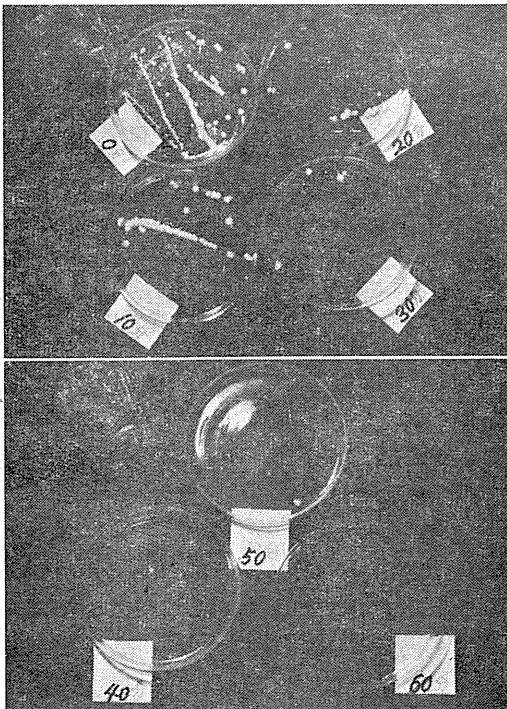


Fig. 2. 40-hour culture of vibrated yeast.

F) 細菌濾過器はChamberland型濾過器 (松風) L₂ を用い、水銀柱 20-30mm の陰圧で吸引濾過を行った。

G) 超音波曝振酵母並びに其の濾液の培養には麩汁液体培地及び麩汁寒天培地を用い、37°C の孵卵器中で20時間、40時間及び1週間培養後のものに就いて Makro 並びに Mikro の観察を行った。

H) 光学顕微鏡的検索には無染色標本を用い、主として倍率×600で行った。

I) 電子顕微鏡的検索は超音波曝振酵母の濾液に就いてのみ行い、其の試料にはCr. shadowing を施し、倍率は略ぼ×50,000の検鏡である。

Ⅲ. 実験結果

A) 超音波による破壊酵母破砕片の培養実験成績

1) 20時間培養成績

a) 液体培養成績：超音波曝振10分、20分と曝振時間に伴う濁度の漸減を認め、曝振30分以降では殆んど濁度に変化が見られず、著明な菌体増殖能の減弱を窺わしめた。

b) 平板培養成績：同じく超音波曝振10分、20分と曝振時間に伴うコロニー数の漸減を認め、曝振20分以降では殆んど変化が認められず、之又著明な菌体増殖能の減度を想わしめる結果を示して居る (Fig. 1)。

2) 40時間培養成績

a) 液体培養成績：超音波曝振10分、20分、30分と曝振時間に伴う濁度の漸減を認め、曝振40分以降では殆んど変化が見られず著明な菌体増殖能の減弱を窺わしめる。

b) 平板培養成績：同じく超音波曝振10分、20分、30分と曝振時間に伴うコロニー数の漸減を認め、曝振40分以降では殆んど変化を示さず、著明な菌体増殖能の減弱が認められる。又酸化作用抑制を行った実験に於いても略々之と同様な成績が得られた (Fig. 2), (Table 1)。

B) 培養コロニーの観察結果

超音波曝振酵母の培養により発生した各コロ

ニ一に就いて顕微鏡的検索を行った結果は、Fig. 3-Fig. 5 例示に見られる通りである。其の特異とするところは超音波曝振に伴うところの菌型の変異菌体内部構造の変異等で、超音波刺激を長時間受けたものでは総じて芽胞の増殖のみが著明で、辛じて細胞の形態を維持するものでも内容の Gerinnungs-erscheinung を呈し

た小円形の細胞として認識される事である。之を40時間固形培養例に就いて見ると Cerevisiae Form (卵形) と Pastorianische Form (胡瓜形) との細胞数の比は曝振0分(対照)では 100:15, 曝振10分では 100:28, 曝振20分では 100:31, 曝振30分では 100:39となる。超音波曝振時間の増加に伴い、異常に肥大した細胞の増殖が目立って来る。之は対照とした非曝振細胞よりの増殖細胞に比して一般に其の内部構造

Table 1.

The effect upon the yeast of ultrasonics vibration.

Culture Condition of Materials		Ultrasonics Vibration Time (min)							
		0	10	20	30	40	50	60	
Solid Culture	Colonies	20-hour	600	300	3	2	1	1	0
Fluid Culture	Turbidity	Culture	+++	++	+	±	±	±	±
Solid Culture	Colonies	40-hour	1000	850	200	100	5	5	2
Fluid Culture	Turbidity	Culture	+++	++	++	++	±	±	±
Comparison of relative Growth Rates of short time and long time Culture		Number of Colonies at time of 40-hour Culture	2	3	66	50	5	5	2
		Number of Colonies at time of 20-hour Culture							

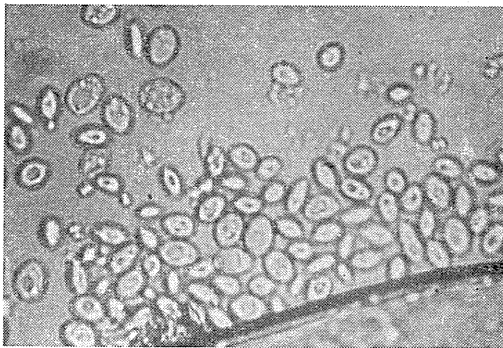


Fig. 3.

Microphoto. × 1,200, 40-hour culture of 10-min. vibrated yeast.

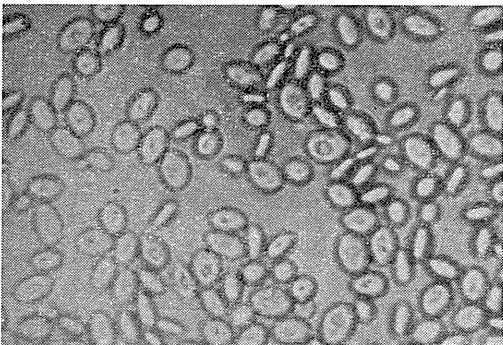


Fig. 4.

Microphoto. × 1,200, 40-hour culture of 30-min. vibrated yeast.

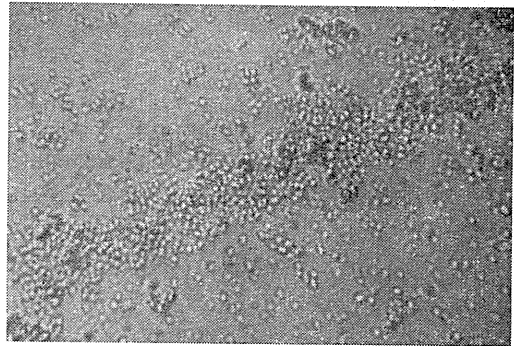


Fig. 5.

Microphoto. × 1,200, 40-hour culture of 50-min. vibrated yeast.

Table 2.

Comparison of the cells which grew in consequence of the culture of ultrasonics-vibrated yeast.

Forms of cultivated Cells	Ultrasonic Vibration Time (min)			
	0'	10'	20'	30'
Cerevisiae Form	100	100	100	100
Pastorianische Form	15	28	31	39

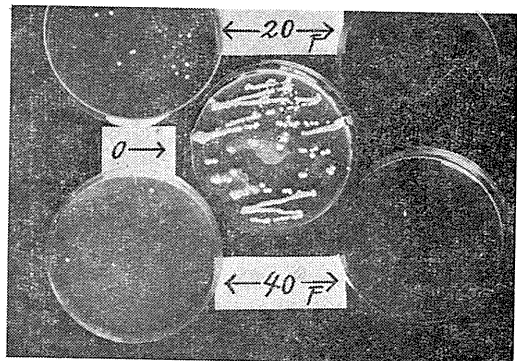


Fig. 6.

40-hour culture of filtrated (right) and, nonfiltrated yeast vibrated by means of ultrasonics.

が単純化されて居り Ascosporen, Körnchen, Vakuole, Zellkern 等の示す複雑な鏡検所見が殆んど認識され得ぬまでに消失して居る (Fig. 2).

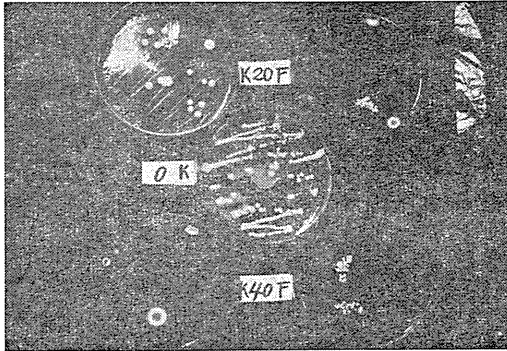


Fig. 7.

1-week culture of filtrated (right) and nonfiltrated (left) yeast vibrated by means of ultrasonics.

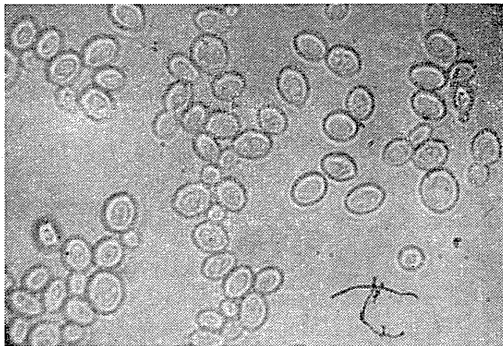


Fig. 8.

Microphoto. $\times 1,200$, 40-hour culture of 20-min. vibrated yeast (nonfiltrated).

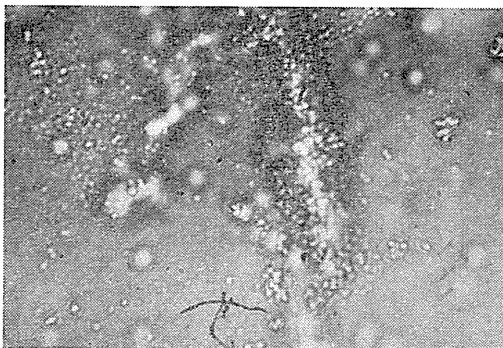


Fig. 9.

Microphoto. $\times 1,200$, 40-hour culture of 20-min. vibrated yeast (filtrated).

C) 超音波曝振酵母の濾過培養実験成績

1) 40時間培養成績に就いて見ると Fig. 6 例示の如く, 超音波曝振時間の増加に伴い発生

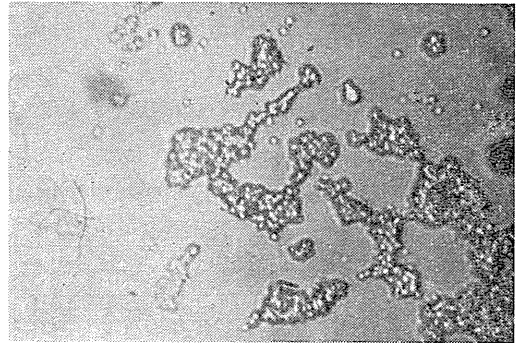


Fig. 10.

Microphoto. $\times 1,200$, 40-hour culture of 40-min. vibrated yeast (filtrated).

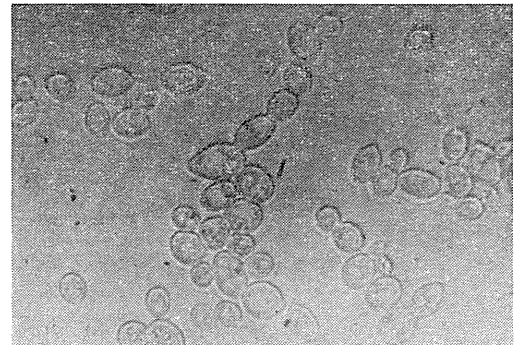


Fig. 11.

Microphoto. $\times 1,200$, 1-week culture of 20-min. vibrated yeast (filtrated).

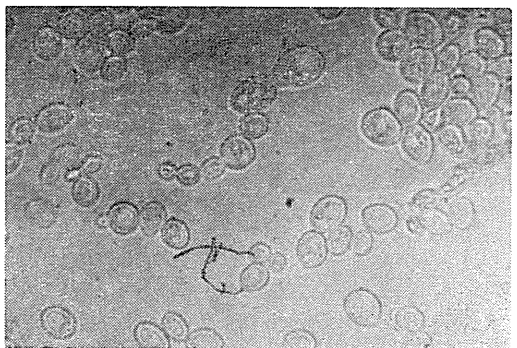


Fig. 12.

Microphoto. $\times 1,200$, 1-week culture of 40-min. vibrated yeast (filtrated).

コロニー数の減少を認め、対照による濾過前の培養成績に比して其の発生率は 1/20 以下である。

2) 1週間培養成績について見ると Fig. 7 例示の如く超音波曝振時間の増加に伴う発生コロニー数はむしろ漸増的で、対照たる濾過前の培養成績に比して曝振20分例では約 1/5 の発生率を見るのに対し、曝振40分例では約其の3倍の発生率を示して居る。

又酸化作用抑制を行った実験に於いても此の関係は略々同様である。

D) 濾過後培養によるコロニーの顕微鏡的検索

1) 40時間培養

a) 超音波曝振20分のもは総てSporenのみの集落である (Fig. 8: 濾過前, Fig. 9: 濾過後)。

b) 超音波曝振40分のもも前例同様Sporenのみである (Fig. 10)。

2) 1週間培養

a) 超音波曝振20分のもは Pastorianische Form (胡瓜形) の増殖が著明で、肥大細胞が之に次ぐ (Fig. 11)。

b) 超音波曝振40分のもでは Pastorianische Form と肥大細胞とが略々同数入り交って居る (Fig. 12)。

3) 酸化抑制超音波曝振酵母の濾過培養により発生した各コロニーに就いて顕微鏡的検索を行った結果40時間培養のものでは、

a) 超音波曝振20分では濾過前のもは Cerevisiae Form と Pastorianische Form とが相半ばして増殖して居るが (Fig. 13), 濾過後のものは殆んど総て Sporen のみの集落を示す (Fig. 14)。

b) 超音波曝振40分のもも亦殆んどが Sporen のみの増殖であり、中に少数の Pastorianische Form が増殖して居る。

E) 超音波曝振酵母濾液の電子顕微鏡的検索

一般に大小種々の Electron density の高い微細顆粒の分散像が認識される。之を其の大きさから分類すると、 0.5μ 前後の大形顆粒、 0.2μ 前

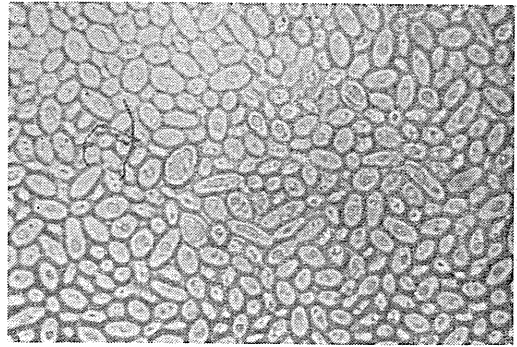


Fig. 13.

Microphoto. $\times 1,200$, 40-hour culture of 20-min. vibrated yeast (under oxidation controlling : nonfiltrated).

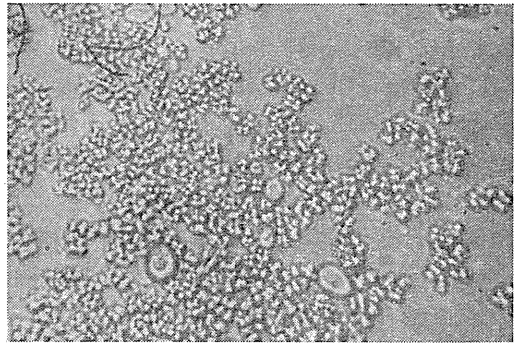


Fig. 14.

Microphoto. $\times 1,200$, 40-hour culture of 20-min. vibrated yeast (under oxidation controlling : filtrated).

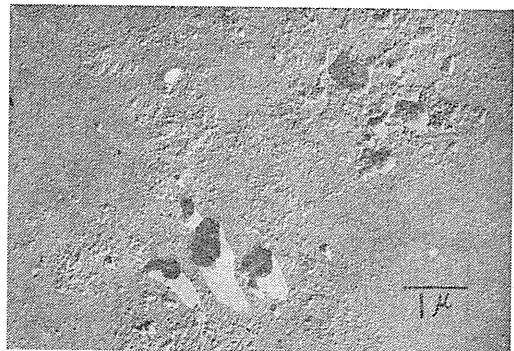


Fig. 15.

Electron microphoto. $\times 10,000$, filtrate of 20-min. vibrated yeast.

後の中形顆粒、 $0.1-0.02\mu$ 大の小形超微細顆粒に分けられる。その単位視野中に認識される数

の平均値の割合は大形顆粒11, 中形顆粒10, 小形顆粒中 0.1μ 前後のもの33, それ以下の超微細顆粒は無数である. 此の中大形顆粒は最も Electron density が高く, 之を仔細に観察するとそれは $0.2-0.1\mu$ 大の顆粒の集合より構成されて居ることが認められる. 又 0.1μ 大以下の超微細顆粒は繪ての標本に於いて無数にみとめられる (Fig. 15). 之等顆粒体の中, 大形顆粒は Sporen そのものであり, それ以下のものは Sporen の更に破砕分散したものならびに Cytoplasma に由来したものと解される.

Ⅳ. 考 察

A) 超音波曝振酵母の培養成績に就いて

其の増殖能は超音波曝振時間の増大につれて減弱する. これは超音波刺激の酵母菌体におよぼす生機抑制的作用の存在を物語るものと解し得べく, その主なる要因として超音波の包含する酸化作用を考えてみたい. これに就いては Anderson²¹⁾ もその酵母に対する超音波照射の影響に関する研究報告中に「曝振酵母の醗酵度は目立って抑制され, 曝振細胞よりの遅延した培養相は長びき, 比較的増殖率は抑圧された. エオジン染色による死滅細胞の計数は醗酵度の抑制が生存菌の減少に基因するのではないかと云うことを示唆した」と述べて居る. 更に又「増殖能の減弱は亜致死的 (sublethal) の傷害が直接残存細胞に及ぼすためか, 或いは曝振の間に溶媒中に発生した毒性物質の作用によるものとも考えられる」と結論し, 暗に酸化作用等の2次的作用因子の細胞に及ぼす影響を予想して居る様であるが, 生活基本小体論の理から考えられるところの O_2 -Bond の極微生体構成への本質的影響に及ばなかったのは遺憾であった.

40時間培養成績に於いて, 各曝振酵母の培養成績が20時間培養のものに比して, 總体的に増加を示して居ることは, 明かに遅延した培養相の潜在して居ることを意味するものである. そこで超音波刺激と此の遅延培養相との相関性を検討する意味で, 両培養例に認められたコロニー数の比率を求めて見ると曝振0分即ちコント

ロールでは2, 曝振10分では3, 曝振20分では60, 曝振30分では50, 曝振40分では5, 曝振50分では5, 曝振60分では2と云う数字が得られた. 即ち此の程度の超音波曝振条件に於いては, 20分曝振までは遅延増殖細胞の増加傾向が窺はれ, 30分曝振以上に於いては増殖能の完全なる停止乃至は死滅の経過をとる細胞の増加が予想されるのである. 此処にも笹川の腹節仮説¹⁷⁾¹⁸⁾の妥当性の一端を窺知するとともに, 超音波刺激の生活体に及ぼす影響の複雑なることを知るものである.

B) 超音波曝振酵母の濾過培養実験成績に就いて

40時間培養のものと1週間培養のものととの発生コロニー数を比較して見るに, 20分曝振では1:18, 40分曝振では0:40となる. 之に対し, 対照たる濾過前の培養成績では0分曝振(対照)では1,000:1,000, 20分曝振では20:80, 40分曝振では2:16となる. 其処で前回と同様な意味に於いて両例に認められたコロニー数の比率を求めて見ると, 濾過前のもものでは(曝振0分)1. 曝振20分では4, 曝振40分では8となり, 濾過後のものでは曝振20分では18, 曝振40分では40となる. 之をもって観ると, 正常培養相と遅延培養相との比率に関する数字は濾過後のものは濾過前のものに比して曝振20分では約4倍, 曝振40分では約5倍となることが知られ, 即ち, 濾液中に現われるところの培養可能なる生活体には遅延増殖を営むものが多いことを認めるものであり, 超音波包含の酸素によって何等か生機の衰退を想わしめられるものと考えさせられるが, 然し兎に角生機の尙残存することがわかる. Anderson, J. M.²¹⁾の所謂超音波曝振細胞の長びいた遅延培養相を形成するものも, 斯うした意味の極微生活体を想わしめられるものと解し得る. 要之, 超音波に曝振された極微生体の生活力が衰退せしめられることだけはたしかに考えられよう. 他方, 之を超音波刺激の特異性と云う点から観る時は, 微細なもの程其の影響を受け易いのではないかと云うことが一応推定される所である. 即ち O_2 -bond の構成破壊力

をうけるものは小体積の生体程著しい故である。酸化抑制を笠原、雄山、管田実験ほど厳にし得なかった医学領域の同実験追試成績が陰性を示したのも、這般の理を考うべきであろう。

C. 超音波曝振酵母の培養発生コロニーの顕微鏡的検索成績に就いて

第1に気附かれる事は曝振時間に伴う菌形の変異である。即ち Grund formen (基本型)たる *Cerevisiae Form* (卵形) に対する *Pastorianische Form* (胡瓜形) および肥大型の出現で之等は何れも酵母学上衰類型と看做されて居るものであり、随って或いは超音波刺激の亜致死的作用因子に基づくところの *Involutionformen* (退行型)とも考えられる。Anderson, J. M.²¹⁾ は其の超音波曝振酵母に関する研究報告中に「曝振酵母の培養に際しての減衰は永びいた遅延培養相を証明したが、之は抑圧された増殖を意味するものではない」と述べて居り、暗に退行型の存在を否定して居る。更に濾過培養成績の示す超音波曝振時間の増加に伴う遅延培養相の増加傾向は該相の退行的性格を一応否定して居るものとも解されよう。

D) 超音波曝振酵母濾液の培養発生コロニーの顕微鏡的検索成績に就いて

曝振20分、40分ともに Sporen のみの集落が認められるが、之は生活系の衰頹を意味するものと解し得よう。即ち此の程度の培養条件では濾液中に存在する Sporen をふくめたところの顆粒は未だ完全な細胞の形態にまで発育し得ぬことを意味するものである。1週間培養では *Pastorianische Form* (胡瓜型) 或いは肥大型の増殖が著明であるが之は、遅延培養相であり、前記 Sporen の集落より増殖したものと解され、随つて又超音波曝振酵母濾液の電子顕微鏡像に於いて認識された微細顆粒にも亦増殖能の存することを知らるものである。

V. 結 論

厳正に酸化抑制をした超音波曝振酵母の培養成績並びに其の発生コロニーの顕微鏡的検索の結果は短時間培養では Sporen 乃至は顆粒体の

集落を認め、長時間培養では之等が変異型細胞を含んだ酵母細胞に増殖することを認めた。又濾過培養成績並びに破壊破砕片の電子顕微鏡的検索成績等よりして、80 μ 大の分散顆粒体なれば略再生能がある。超音波の酸化作用を抑制しないと此の培養成績は陰性になる。故に 80 μ 大分散顆粒の培養成績の成否を左右する要因の1つは、菌体破壊の刺激として用いる超音波の酸化抑制の厳否に在る。之は著者がさきに大腸菌を用いて行った実験に於いて、笹川的生活基本小体論の核心 *Diponucleo protein system* が 80 μ 大の Fragment から再度もとの個体になった事を認め得た事実と合致するものである。これ等一連の実験で酵母菌体内電顕認識でも 80 μ 大と測定される大きさの原形質には尙生命があることを確認し、生活基本小体論の生物検証の一端を示したものと信ずる。

欄筆するに当り直接研究の指導並びに校閲を賜った恩師笹川久吾教授に万腔の謝意を表し、併せて加藤幹夫博士の研究援助に謝意を表する。

文 献

- 1) Langevin, M. P. (1928) Les ondes ultrasonores. *Revue gluerale Electricite*, **23**, 126
- 2) 勝田 稔(1939) 超音波の蘭鱒仔魚鱗長並びに体形に及ぼす影響 *国民医学* **16** (1) 67, 75
- 3) 笹川久吾・鈴木充夫(1939) 超音波の筋神経組織刺激性を論じ其の興奮生起に対する器械的刺激的の可能性並びに其の刺激部位に於ける生起興奮の誘導法に及ぶ *国民医学* **16** (1) 60, 65
- 4) Kato, Mikio (1956) *Biochemical Studies on the Mechanism of Inducing Mutation by means of Ultrasonics Vibration*. Reprinted from *Acta Scholae Medicinalis Universitatis in Kioto, Japonia*. Vol. XXXIII, Fasc. 3, p. 184-214
- 5) 笹川 拡・鈴木充夫(1936) 第16回大日本生理学会報告要旨 *日本生理誌* **2**
- 6) 鈴木充夫 (1938) 第17回大日本生理学会報告要旨 *日本生理誌* **3**, 及び *国民医学* **16**, 62
- 7) 笹川久吾・笹川 拡; *国民医学* **15**, 12
- 8) 川村(1952) 遺伝の総合研究 **107**, 110
- 9) 林 (1936) 超音波の白鼠肉腫細胞におよぼす影響 (第15回日本生理学会) *日本生理誌* **1**
- 10) 林(1936) 超音波の生体に発生する白鼠肉腫におよぼす影響 (第16回日本生理学会) *日本生理誌* **2**
- 11) 笹川久吾・広橋鋼一(1936) 超音波の白鼠癌細胞におよぼす影響 (第15回日本生理学会) *日本生理誌* **1**

- 12) 広橋鋼一(1937)超音波の生体に発生せる白鼠癌腫におよぼす影響(第16回日本生理学会)日本生理誌 **2**
- 13) Veltman, G. (1951) Quantitative Untersuchungen mit Ultra Schall an Mikroorganismen. Zeitschrift für die gesamte experimentelle Medizin. **118**, 55-70
- 14) Lepeschkin, W. W. Goldman, D. E. (1952) Effect of ultrasound on Cell structure. J. Cellul. u. Comp. Physiol. **40**, 383-397
- 15) Gregg (1950) Ultrasonics, Biological Effects. Medical Physics, Vol. **I**, ed.
- 16) Kikuth, W. (1954) Deutsche Medizinischer Wochenschrift. 341
- 17) 笹川久吾(1950)第27回日本生理学会総会口演要旨 日本生理誌 **12**, (1951) 第28回日本生理学会総会口演要旨 日本生理誌 **13**, (1952) 第29回日本生理学会総会口演要旨 日本生理誌 **14**, (1953) 第30回日本生理学会総会口演要旨 日本生理誌 **15**
- 18) 加藤幹夫(1954)超音波刺戟にたる笹川——腹節仮説の妥当性 耳鼻臨床 **48**, 385
- 19) 加藤幹夫・松本修一(1956)超音波酸化作用の抑制に関する実験的研究 昭和31年電気関係学会関西連合大会口演要旨 49
- 20) Anderson, J. M. (1953) Effects of ultrasonic radiation on growth and fermentation in the yeast *saccharomyces cerevisiae*. Biochem. et Biophysica Acta. **11**, 122-137
- 21) Nadson und Rochlin (1933) Arc. f. Mikrob., **4**, 189
- 22) 宮路憲二(1941)応用微生物学 岩波書店
- 23) 大阪高等医学専門学校生理学教室 論文集第2巻 (1958)

Summary

According to the results of the culture of the Yeast vibrated by ultrasonics under strict oxidation controlling and those of the microscopy of a colony born thereof, Spore or a swarm of Granules were observed in it, when cultured for a short given time, and then it was made clear, at a later time, that they augmented into the cells of Yeast including variable cells. Also, the outcome of the filtered culture of the Yeast and the electronic microscopy of its Fragment made it known that 80-m μ -long Granules scattered barely power to revive. Provided the oxidation to be caused by ultrasonics is not controlled, the result of this culture turns out negative. Therefore, in order to make the success in the culturing of 80-m μ -long scattered Granules possible, the oxidation which would be caused by the ultrasonics to be used as means of destructing the bacterium by vibration must strictly be controlled. This complies with what the author discovered in an experiment made with *Bacillus coli communis*, that is, Liponucleo protein system which was the core of Dr. Sasakawa's theory of Elementary unit of living system was restored from a 80-m μ -long Fragment to the form of a solid as it had been.

Through a series of these experiments, it was confirmed that electronic protoplasm measured 80-m μ -long in making the electronic microscopy of Yeast still had vital power. It is hoped that these researches have biologically proved an aspect of the theory of Elementary unit of living system.

(Department of Physiology, Faculty of Medicine, Kyoto Univ.)

チフスワクチン耐性と副腎皮質との関係 612.017.4 : 612.453

Tolerance to Typhoid-Paratyphoid Vaccine in Relation to Adrenal Cortex

中 沢 隆 一 (NAKAZAWA-Riyuichi)*

I. 序 言

発熱物質連日投与による耐性獲得現象はBeeson¹⁾によって始めて系統的に検討され、その非特異性も指摘された。Beesonは耐性状態が受動的輸血清により正常他動物に移し得ない事をみ、細網内皮系が耐性出現に關与する事を示唆するに至った。即ち氏は耐性状態に於いては投与発熱物質が速やかに血中より消失し、又細網内皮系の填塞が発熱性を恢復せしめる事より耐性出現は同系の機能亢進によるものと推定した²⁾。最近 Atkins及び Wood³⁾等は発熱物質投与による発熱は、体内性発熱物質の二次的発生による温中枢刺激に基くことを受動的輸血清実験により確認するに至った。耐性状態に於いてはこの体内性発熱物質の発生がみられない。

著者は Cortisone の発熱物質による発熱抑制に關する諸文献⁴⁾⁻⁶⁾の成績が極めてまちまちであり、Cortisone の大量を用いて始めて顕著な抑制効果がみられる事より、その生理的意義並びにその機序を検討中、たまたま副腎摘除ウサギでは上記の耐性現象がみられ難い事を知った。よってここに Cortisone の抗発熱作用と発熱物質に対する耐性獲得出現経過に於ける副腎皮質の役割を検討したので報告する。

II. 実験方法

実験には体重 2.5kg 前後のウサギを用いた。発熱物質は腸チフス、パラチフス混合ワクチン(千葉県血清研究所製: 1cc 中腸チフス菌10億、パラチフスA菌 2.5億、パラチフスB菌 2.5億)を用いた。発熱実験に於ける基礎条件については実験の第1節に詳細に述べる。体温は水銀体

* 千葉大学医学部第2生理学教室(福田篤郎教授) [昭和34年1月13日受付]

温計を直腸内6cm入れて30分毎に測定した。血清蛋白分層は濾紙電気泳動法(Vernal緩衝液)により、 γ -グロブリンは Cohn⁹⁾の方法によって測定した。細網内皮系の填塞は墨汁によった(山形)¹⁰⁾。

III. 実験成績

A. 発熱物質による発熱の基礎条件

チフスワクチン投与量並びに投与前の直腸温と発熱の關係については、従来充分な検討がなされていないのでまずこれを行った。得られた成績は表1に示す如くである。本邦諸家のチフ

Table 1. Effect of Doses upon Fever Response (Initial Rectal Temperature 38.7~39.3°C) (Mean of 7 Individuals)

Typhoid-paratyphoid vaccine cc/kg	Reise in rectal temp. °C	S. D.
0.0001	0.35 ± 0.06	
0.001	0.89 ± 0.79	
0.01	1.01 ± 0.69	
0.1	1.16 ± 0.30	
0.2	1.27 ± 0.30	

スワクチン投与量は 0.2~0.5cc/kg であるが、発熱は既にその 1/1,000 の少量でも観察され得る。発熱は投与量に比例して増強せず、大量投与は一般状態に影響するものの如く、ここに著者は充分な発熱と副作用皆無という点を考慮して、以下の実験には主として0.1cc/kg静注を用いる事とした。尚静脈内注入時間は数秒~30分とするも殆んど発熱度に差をみなかったので、以下20秒前後で注入する事とした。チフスワクチン発熱と投与前の直腸温の關係をみるに図1の如く予め高体温を示す群に於いては発熱度の低い事を知った。ウサギの安静時直腸温は条件によりかなりの変動をみるので発熱度の観点よりして 39.0~39.3°C の範囲のものを選ぶことと

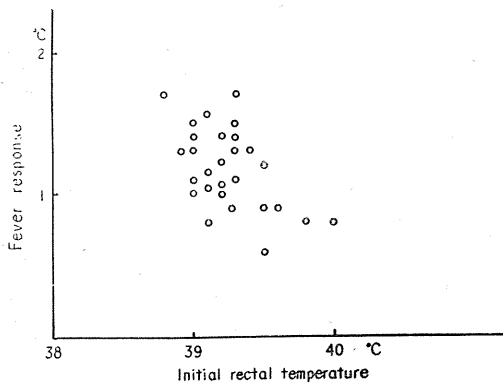


Fig. 1. Fever Reaction in Relation of Initial Rectal Temperature

(Typhoid-Paratyphoid Vaccine ; 0.1cc/kg, i. v.)

した。

B. 正常並びに副腎摘除ウサギに於ける発熱物質耐性

正常並びに副腎摘除ウサギにチフスワクチン(0.1cc/kg)を連日静脈内投与し、発熱曲線の変化を追究するに図2に示す如き成績が得られた。正常ウサギに於いては Beeson の指摘するが如

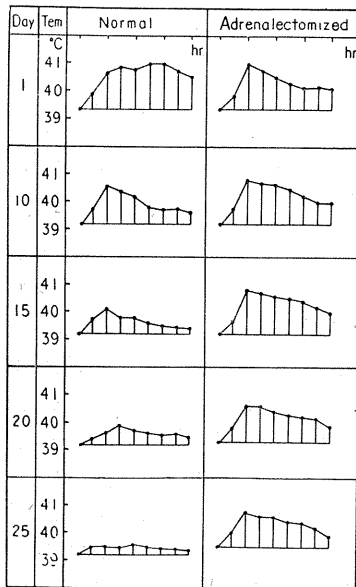


Fig. 2

Effect of Repeated Administration (Typhoid-Paratyphoid vaccine : 0.1cc/kg every day)

く約2週間後に於いて発熱度著しく減少し又其の持続も短縮される事を知った。これに対し副腎摘除ウサギでは、同図に示す如く25日の連日投与に於いても尙明かな発熱の減弱がみられず更に長期連日投与を重ねるも容易に発熱の減弱はみられない。即ち Beeson の云う発熱物質耐性が得られ難いのである。何れの場合にも此の様な長期チフスワクチン連日投与は一般状態に何らの影響を及ぼさなかった。ここに著者は発熱物質耐性獲得経過に於いて副腎が重要な役割を演ずる事を知った。尙正常ウサギに於ける耐性獲得経過に於いて、副腎重量が平均約2倍に増大する事を見た(表2)。副腎肥大程度にはかなりの個体差がみられる事はその平均誤差よりうかがい知られる。組織像所見に於いては主として束状層細胞の肥大増殖及びリポイド含量増加をみる(図3B)。

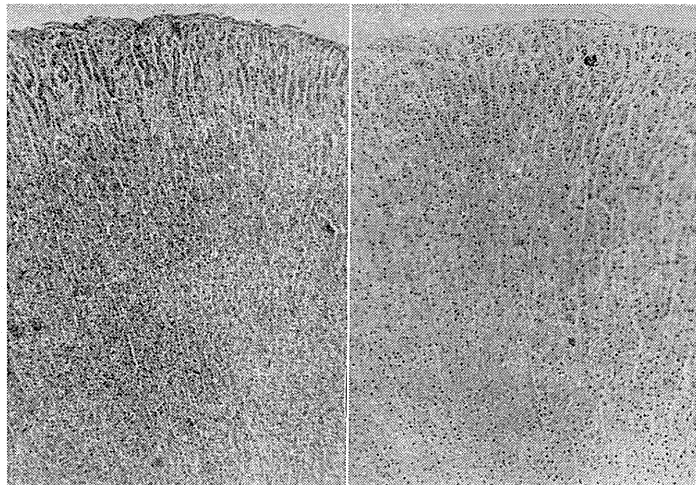
Table 2. Weight of Adrenal Glands

(Body Weight : 2~2.5kg)

(Control : 14, tolerant 7 individuals)

Control rabbits M. E. 244 ± 25.5mg

Tolerant rabbits M. E. 589 ± 82.2mg



A

B

Fig. 3.

Adrenal gland of normal rabbit. × 70

Adrenal gland of tolerant rabbit. × 70

Table 3. Effect of Daily Administration of Typhoid-Paratyphoid Vaccine upon Serum Protein Pattern (g/dl ; S. D.) (Mean of 6 Individuals)

		A	α -G	β -G	γ -G	Total protein
Normal rabbits	Before	3.9±0.15	0.9±0.11	0.8±0.08	0.7±0.07	6.4±0.35
	20th day	3.6±0.21	0.8±0.10	0.8±0.14	1.3±0.17	6.4±0.32
Adrenalectomized rabbits	Before	3.9±0.25	1.0±0.17	0.9±0.10	0.7±0.05	6.4±0.37
	20th day	3.6±0.05	0.9±0.02	0.8±0.15	0.9±0.05	6.3±0.34
	30th day	3.6±0.12	0.9±0.11	0.8±0.08	0.8±0.07	6.3±0.10

C. 耐性獲得経過に於ける血清蛋白分層の変動

チフスワクチン連日投与経過に於ける血清蛋白分層の消長を、正常並びに副腎摘除ウサギについて検討するに表3の如くである。正常ウサギについてはチフスワクチン連日投与20日間、即ち顕著な耐性の獲得せられた時期に於いては総蛋白濃度に変りはないが、アルブミンやや減少し、 γ -グロブリンが顕著に減少する。 α グロブリン、 β グロブリンには殆んど変動をみない。これに対し耐性の得られない副腎摘除ウサギに於いては、アルブミンの軽度の増量がみられるが γ -グロブリンの増量は殆んど見られず、更に長期投与を続けるもそれが観察され得ない事を知った。即ちここに耐性獲得現象と血清 γ -グロブリンの増量との間には、何らかの関連がある

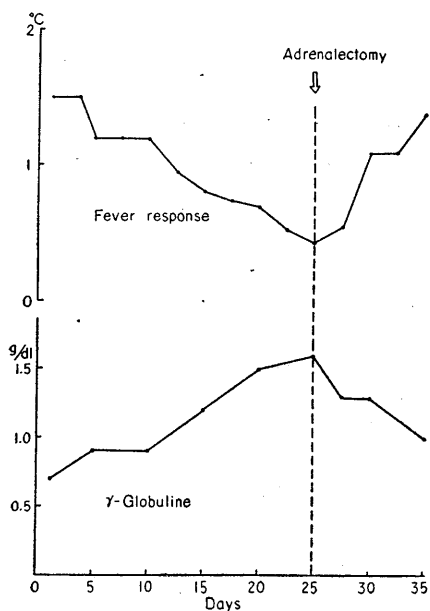


Fig. 4. Effect of Adrenalectomy upon Typhoid-Paratyphoid Vaccine Tolerance (Vaccine : 0.1 cc/kg, every day)

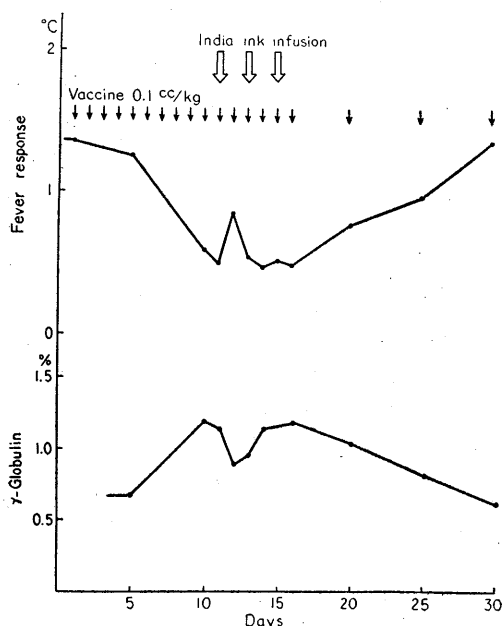


Fig. 5. Effect of RES-Block upon Typhoid-Paratyphoid Vaccine Tolerance

事が推定され得るのである。両者の密な関連は正常ウサギ耐性獲得過程に於いて、両側副腎摘除を試みた例に於いても明かにみられるのである。即ち図4はチフスワクチン連日投与により発熱高の漸減する経過は血清グロブリンの増量と平行し、両側副腎摘除後発熱高の急速なる増加をみる際には γ -グロブリンも減少し、両者の経過曲線は鏡像的である。

さて耐性獲得と血清 γ -グロブリンの増量は直接の関連を有するか、即ち血清 γ -グロブリンに抗発熱性を認めるか否かを検すべく、耐性獲得ウサギの血清を受動的に正常ウサギに輸血清するに、輸血清10ccでは発熱に殆んど影響のない事を知った。この事は既に Beeson も指摘しておる事であり、著者も又同様の成績を得たのである。

Beeson は耐性現象を細網内皮系の機能亢進によるものと考え、耐性時に所謂細網内皮系の填塞を試み、填塞後再び発熱が増強される事を報告したのである。よって著者も Beeson にならぬこれを追試検討した。結果は図5に示す如くであり、耐性のかなり獲得された時期に墨汁 5cc/kg 注入を行うに、翌日には発熱が増強される事は Beeson と同様であるが、翌々日には再び発熱高が減少し耐性状態にもどる事を知った。更に細網内皮系填塞を完全ならしめる意味に於いて、再び墨汁 5cc/kg 注入を試みるに、早その様な発熱の増強はみられない。この際血清 γ -グロブリンの動きをみるに初回墨汁注入後の一過性発熱増強時には γ -グロブリンも同様一過性の低下を示す。再度の墨汁注入時にはも早 γ -グロブリンの動きはみられない。即ちここに於いても γ -グロブリンの消長は発熱度の変化と密に関連する。以上より Beeson の云う所謂細網内皮系填塞による発熱性回復の現象は一過性のものであり、填塞による細網内皮系機能の低下によるものではなく、むしろ填塞剤初回投与時の一過性の刺戟状態によると考えられる。チフスワクチン投与を中止し耐性の消退をみるに発熱回復と γ -グロブリンの減少の経過の一致をみる。

D. Cortisoneの解熱作用

上記の如く著者はチフスワクチン発熱耐性獲得が副腎の存在を前提として行われ、且耐性現象が血清 γ -グロブリンと密なる関連がある事を知ったので、ここに皮質ホルモンとチフスワクチン発熱の関係を同様な観点より検討する事とした。序言にも述べた如く、副腎皮質ホルモンの抗発熱作用に関しては成績が極めてまちまちであり、これを通覧するに少量の生理的の投与に於いては全くその効果をみず、極めて大量の、しかも2,3日にわたる投与が必要である事がわかる。そこで Cortisone 投与を1回と連日投与との2群に分ちこの関係を検討した。

Cortisone 1回投与のチフスワクチン発熱曲線に対する影響をみるに図6の如くである。図示の Cortisone 量をチフスワクチン投与5時間

前に与えたのであり、極めて大量の 15mg/kg の投与によってようやく発熱度の減少が観察され得た。かかる大量投与はウサギの一般状態に影響し、過血糖をみる他、食欲不振、下痢等を

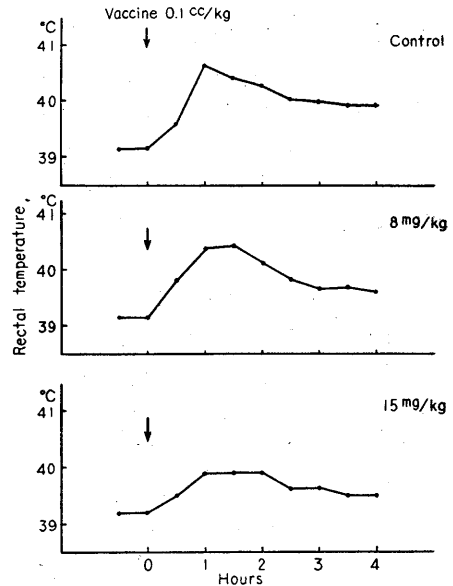


Fig. 6. Effect of Cortisone Pretreatment (5 Hours Previously)

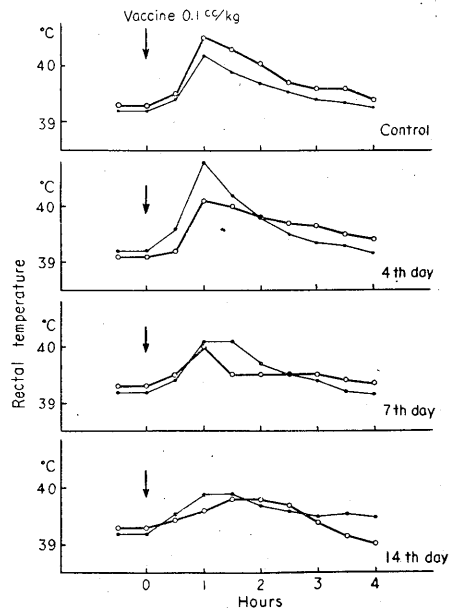


Fig. 7. Effect of Repeated Cortisone Administration (Cortisone: 2 mg/kg, every day)

Table 4. Effect of Daily Administration of Cortisone upon Serum Protein Pattern
(Cortisone : 2mg/kg, every day)
(Mean of 4 Individuals)

	A	α -G	β -G	γ -G	(g/dl S. D.) Total Protein
Before	3.5 \pm 0.05	0.9 \pm 0.05	0.8 \pm 0.07	0.7 \pm 0.07	6.3 \pm 0.27
7th day	3.4 \pm 0.10	0.8 \pm 0.16	0.6 \pm 0.08	0.8 \pm 0.05	6.3 \pm 0.32
14th day	3.7 \pm 0.07	0.7 \pm 0.05	0.6 \pm 0.05	1.0 \pm 0.08	6.1 \pm 0.10

来す。次に生理的限界のCortisone量 (2mg/kg) を連日投与しチフスワクテン発熱に対する影響をみるに図7の如くである。かかる少量の連日投与は殆んど一般状態に影響なく、1週間以上の連日投与により、チフスワクテン連日投与とはほぼ同様な発熱度抑制が招来される事を知った。以上の実験から Cortisone のチフスワクテン発熱に対する抑制効果は大量1回投与では観察され難く、少量連日長期投与によって始めて達せられるものであり、Cortisone それ自体の直接作用によるものでなく、何らかの二次的变化に基くものと考えられる。

Cortisone 連日投与の経過が上記チフスワクテン連日投与の影響と類似する事より、其の際に於ける血清蛋白分層をみるに表4の如くである。 γ -グロブリンの増量をみるが、それはチフスワクテン連日投与時に比して軽微であり、発熱抑制度についても同様である。Cortisone 投与時にはアルブミン減少なく、むしろ多少増加をみ血清蛋白分層にみる変化は、チフスワクテン投与時と全く同一であるとは云えない。これ等に関しては考察の項で論ずる。

IV. 考 察

本研究によって発熱物質による発熱耐性獲得には副腎皮質の存在を前提とし、且つ耐性獲得経過は血清 γ -グロブリン増加と密な相関を示す事を知った。ただし耐性は輸血清によって他に移し得ず、従って体内変調に基くものであり、Atkins 及び Wood³⁾ によれば体内性発熱物質の形成がみられない状態と解され、 γ -グロブリンの増加をその様な状態の特性の1つと考えたのである。以下この様な耐性獲得機序に於ける副腎皮質の役割を考察する。

Cortisone もそれを連日投与すれば γ -グロブ

リンの増加を示すに至り、それに伴って発熱性減弱をみるが、その程度はチフスワクテン連日投与に比れば軽微である。のみならず Cortisone 連日投与時には軽度の過血糖をみ、一般状態もおかされ食欲減退体重減少をみるが、チフスワクテンの場合はそれを長期間続けるも、本実験の投与量 (0.1cc/kg/day) では一般状態いささかもおかされず、食欲は充進し体重も増す。従ってチフスワクテン投与による耐性獲得は、すべて副腎皮質分泌充進を介しての現象とは考えられない。チフスワクテンそれ自体の作用により体内性発熱物質形成が抑制される過程が、皮質ステロイドの許容作用 (Permissive action) の下で行われるとも考えられる。然し皮質の肥大のみられる事は何等か皮質に負荷のかかる事を教うるのであり、皮質ステロイド消費増加の如きが推測される。細菌性発熱物質投与時には脳下垂体前葉—副腎皮質系の活動が招来され、発熱物質にACTH様効果を期待し得るとの報告がある (武田¹¹⁾。氏等の *Pseudomonas fluorescens* 菌体毒素の投与量はウサギに過血糖を来すのであり、この点本実験に用いたチフスワクテン量或いはその5倍量もいささかも血糖上昇を来さず、又皮質活動の1つの指標ともなるべきクレアチン尿の出現をみない。従って発熱物質には一般 stress と同様脳下垂体前葉—副腎皮質系の活動を招来し得る可能性はあっても耐性獲得にはその様な極度の stress 効果を要しないと考える。然し耐性獲得時に副腎摘除を行うと再び発熱性の回復をみる事に関しては、その様な状態維持には皮質ステロイドを要するものと考えられる。

耐性現象は結局体内発熱物質形成不全と解され得、血清 γ -グロブリンの増加はかかる状態の随伴現象とみなされ得ないのであろうか。 γ -グ

ロブリン増加に関しては、その細網内皮系その他での生産過剰、或いは肝での破壊の減少と一般に云われる。耐性時の γ -グロブリンの濃度が墨汁静注により、初回は減少を示すも反復すれば再び増加を示す事よりみれば、 γ -グロブリン処理能の減弱と解するのが妥当の如く思われる。墨汁静注自体もこれを連日行えば γ -グロブリンの増加をみ、又発熱性の減弱を来す。従って耐性時には γ -グロブリンの処理能減退と細菌性発熱物質を処理して、体内性発熱物質を形成する能力の減退とが平行してみられるのではないかと考えられる。その場所としては Braude 及び Carey¹²⁾等の研究により、投与放射性発熱物質が急速に肝に抑留される事よりして、肝が主体ではないかと考えられる。Atkins 及び Wood が発熱に先行する白血球崩壊に基く体内性発熱物質発生を強調するも未だ確証はない。

耐性機序に関する上記の見解は Beeson と全く相反するのである。Beeson の観察は初回填塞剤投与によるむしろ細網内皮系刺激効果と解さるべきであり、十分な填塞では逆に発熱の減少をみる事は成績に述べた如くである。本邦に於いても Beeson の実験をそのまま追試した田坂¹³⁾は、Beeson 同様その説を支持するも、北川¹⁴⁾は耐性は別として Trypan blue 1 回投与で発熱性の低下をみている。反復発熱物質投与で機能低下状態による細網内皮系では、填塞剤初回投与により機能の一過性亢進がよく現われるものと思われる。耐性状態に於ける細網内皮系の機能検査は未だ報告されておらず、著者は完全な方法とはいえないが Congo red 法によりこれを検し、2 例に於いて係数が 26~25%、28~35% と上昇するのを見、その機能低下を推定した。

最後に Cortisone の抗発熱性について著者はそれが Cortisone の連日投与による二次的作用で、耐性時と同様 γ -グロブリンの上昇をみる状態に基くことを述べた。上記に従えば、細網内皮系の機能低下とも考えられる。これに関し、Heller¹⁵⁾ はマウス及びラットに Cortisone (2.5 mg/kg 以上) を 3 日投与すれば細網内皮系の機

能が低下する事を、投与放射性膠質物質の血中よりの消失速度から推定しており、極めて関連深い事と思われる。尙ここにみられた Cortisone 投与と γ -グロブリン上昇の関係は従来の報告にはみられず、むしろ治療上 Cortisone の連日投与を行えば、上昇せる γ -グロブリンの減少する事がしばしば報告されている¹⁶⁾¹⁷⁾。これ等の場合は何れもリウマチ、結核等で予め γ -グロブリンが上昇しておる事が特異な条件である。尙正常ウサギに Cortisone を 1 回投与したのでは何等の影響もないが、四塩化炭素による肝傷害ウサギでは顕著な γ -グロブリンの上昇を来す事を教室の白井¹⁸⁾は報告しており、ここに於いても Cortisone と γ -グロブリンの関係は条件により異なる事がわかる。

V. 結 論

チフスワクチンに対する発熱耐性獲得現象をウサギに於いて検討し以下の如き成績を得た。

- 1) 耐性出現は副腎皮質の存在を前提とし、副腎摘除ウサギではこれがみられない。
- 2) 耐性時に於ける墨汁静脈内注入は、初回には発熱増強を来すが、2 回以後は発熱を更に減弱せしめる。従って Beeson の云う細網内皮系機能亢進による発熱物質破壊とは考えられない。
- 3) 耐性出現は又血清 γ -グロブリンの増加と密な関連を示す。
- 4) 耐性は皮質ステロイド存在の下にチフスワクチン作用反復によって得られるものであり γ -グロブリン処理能力減退状態と解せられる。
- 5) Cortisone も反復投与を行えば上記耐性の類同な状態が招来されるも、一般状態がおかされるのが異なる。

稿を終るに当り、終始御懇篤な御指導と御校閲を賜った恩師福田篤郎教授に深く感謝致します。尚併せて教室員諸氏の御援助に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Beeson, P. B. (1947) Tolerance to bacterial pyrogens. I. Factors influencing its development. J.

- Exp. Med. **86**, 29
- 2) Beeson, P. B. (1947) Tolerance to bacterial pyrogens. II. Role of the reticulo-endothelial system. J. Exp. Med. **86**, 39
 - 3) Atkins, E., W. B. Wood (1955) Studies on the pathogenesis of fever. II. Identification of an endogenous pyrogen in the blood stream following the injection of typhoid vaccine. J. Exp. Med. **102**, 499
 - 4) Kass, W. H. (1950) Effect of acute on induced fever. New England J. Med. **243**, 695
 - 5) Recant, L., W. H. Ott and E. F. Fischel (1950) The antipyretic effect of Cortisone. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. **75**, 264
 - 6) Duff, B. J., H. R. Morgan (1951) ACTH and cortisone aggravation or suppression of the febrile response of rabbit to bacterial endotoxin. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. **78**, 687
 - 7) Jackson, E. B., J. E. Smadel (1951) The effect of Cortisone and ACTH on toxin of rickettsiae and salmonella typhosa. J. Immunol. **66**, 621
 - 8) Atkins, E., F. Allison, M. R. Smith and W. B. Wood (1955) Studies on the antipyretic action of cortisone in pyrogen-induced fever. J. Exp. Med. **101**, 353
 - 9) Wolfson, W. Q., C. Chon (1948) Studies in Serum proteins, V. A Rapid procedure for the Estimation of Total protein, True Albumin, Total Globulin, Alpha Globulin, Beta Globulin & Gamma Globulin in 1 cc of Serum. Am. J. Clin. Path. **18**, 723
 - 10) 山形敏一 (1954) 細網内皮系と肝機能 医学叢書 **162**, 12 (医学書院)
 - 11) Takeda, Y. et al. (1951) Relationship between the action of a bacterial substance and the hypophysis adrenocortical system. Jap. J. Exp. Med. **21**, 337
 - 12) Braude, A. I., F. J. Carey and M. Zalesky (1955) Studies with radioactive endotoxin. 11. Correlation of physiologic effects with distribution of radioactivity injected with lethal doses E. Cole endotoxin labelled with radioactive sodium chromate. J. Chin. Invest. **34**, 858
 - 13) 田坂定孝 (1953) 発熱の臨床 日本内科学誌 **42**, (8), 1
 - 14) 北川純男 (1957) 発熱物質に関する研究 (3) 耐性家兎の発熱性回復現象 日本薬理誌 **53**, (2), 291
 - 15) Heller, J. H. (1955) Cortisone and phagocytosis. Endocrinol. **56**, 80
 - 16) Smith, L. C., E. J. Autels and G. J. Downey (1954) Effect of ACTH on distribution of plasma protein of patients with pulmonary tuberculosis. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. **85**, 643
 - 17) Vaughan, J. H., T. B. Bayles and C. B. Favour (1951) Effect of 17-Hydroxy-11-Dehydrocorticosteron and adrenocorticolropic hormon upon plasma gamma globulin, fibrinogen and erythrocyte sedimentation rate. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. **76**, 274
 - 18) 白井忠臣 (1956) 実験的肝障害時の血清蛋白分層と Cortisone 投与の影響 日本生理誌 **18**, 74

Summary

The tolerance in febrile response to pyrogen was found to be observed only in the presence of adrenal cortex. There was a close correlation between the state of tolerance and the increase in serum gamma globulin. Detailed english report will be found in Jap. J. Physiol.

(2nd. Department of Physiology, Chiba University School of Medicine)

成人女子クレアチン尿と月経周期 612.461 : 612.662

Creatinuria in Relation to Menstrual Cycle.

吉田 泰次郎 (YOSHIDA-Taizirō)*

Ⅰ. 序 言

成熟期に至る迄は男女共にクレアチン尿をみるが(生理的クレアチン尿), 成熟期に達すると男子にはそれが消失をみるも, 女子にはその約半数に存続する¹⁾. この様なクレアチン代謝に関する男女の差は古くより注目され, 性ホルモンとの関係も論ぜられたが, 成人女子クレアチン尿(以下女性ク尿と称する)の出現機序に関しては今日尙十分に明らかにされてない²⁾. 女性ク尿と月経周期との関連については, 既に Krause (1911)³⁾ がクレアチン尿は月経直後に増量し, 月経間期に於いては必ずしもみられないと報告しており, 次で Smith (1942)⁴⁾ はクレアチン尿は月経期及び月経前期に於いて増強され, その際クレアチンの排泄減少を伴うことを報告した. 然しながら Maw (1946)⁵⁾ は4名の女性の連続観察からして, 必ずしもSmithの如き月経期に於ける増強を認め得ないとした. かくの如く女性ク尿と月経周期との関係に於いても今日尙決着をみない. ここに於いて著者は女性ク尿出現機序を明らかに

する目的を以て, 之が月経周期並びに排卵との関係を追究し従来の研究者が月経に重きをおいて観察したのに対し, 基礎体温観察より判定する排卵を目標に, ホルモン消長との関連に於いて検討することとした.

Ⅱ. 実験方法

被験者は健康成人を選び, 厳重な監督と注意

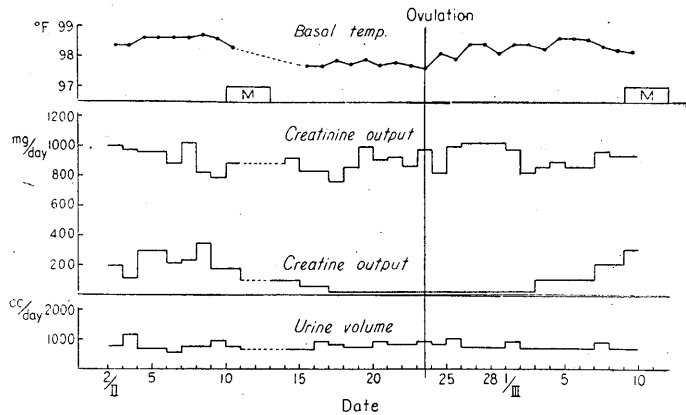


Fig. 1. A. Creatinuria in Relation to Menstrual Cycle
A : Female, 25 yrs.

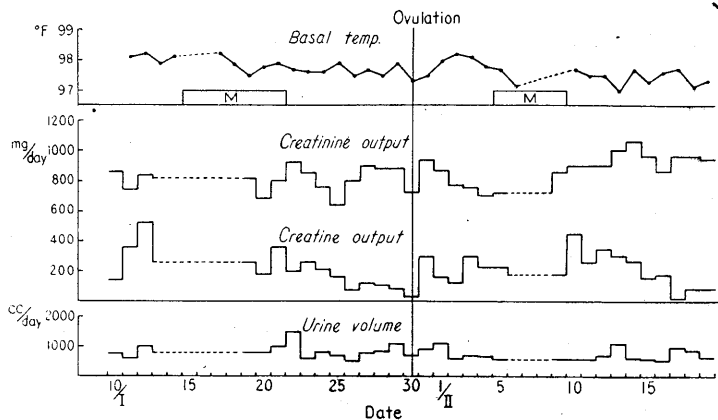


Fig. 1. B. Creatinuria in Relation to Menstrual Cycle
B : Female, 25 yrs.

* 千葉大学医学部第2生理学教室 (福田篤郎教授)
〔昭和34年1月22日受付〕

の下に24時間尿を採集して実験に供した。之等被験尿は糖及び蛋白の陰性を確かめ、予めトルオール、氷醋酸等を添加して細菌によるクレアチン体の分解を避けた。

尿中及び血中クレアチン体定量は佐藤及び福山⁶⁾⁷⁾の測定法に従い、光電比色計を用いて行った。

Progesterone は oohormin luteum (帝国臓器) を、estrogen は ovahormon benzoate (帝国臓器) を使用し、投与は筋肉内注射にて行った。

Ⅲ. 実験成績

A. 女性ク尿と月経周期との関係

5名の成人女子について、女性ク尿と月経周期との関係を連日蓄尿により観察し、その代表的例を示せば第1図A及びBの如くである。Aに於いては月経間期にクレアチン尿が消失する例であり、12名の被験対象中4名に之をみた。かかる例に於いては所謂月経前期のクレアチン尿として、基礎体温より推定される排卵後数日の経過を経てクレアチン尿が出現し始め、月経期に至る迄漸増し、次で月経開始と共に急速に減少し、月経終了後に間もなく消失する。同図Bは月経間期にも尙クレアチン尿をみるものであり、かかる例に於いてはクレアチン尿は月経後期にも漸減しつつも存続し、排卵後再び増量し、月経期に至る迄漸増する。この様な場合、クレアチン尿の消長は排卵と密接な関係があることがうかがい知られる。尙クレアチニンの排泄は日によりかなりの変動を示すも、何れの場合も既にSmithも記載した如く、月経前期に於いて多少減少の傾向を示す様に思われる。著者はSmithの観察の如く月経前期に於けるクレアチン尿の排泄増加を認めたのであるが、ここに基礎体温の観察よりして、かかるクレアチン尿排泄増加は排卵を契機として招来され、所謂排卵後期現象ともみなさるべきであることを強調するのである。特に月経周期に於けるホルモンの消長との関連を追究するには、月経との関連よりもむしろこの様な排卵との関連に着目するこ

とが重要と考えられる。排卵後期に於けるクレアチン排泄量は1日200~300mgであり、クレアチニン排泄量、1日800~1,000mgの約25%に該当する。

さて排卵前期に於いてクレアチン尿を全くみない例とその期に於いても尙多少のクレアチン尿をみる例の存することについて、血中クレアチン濃度との関連を検討した。何れの場合に於いても、排卵前期のクレアチン尿消失乃至は排泄減少期に於ては、血中クレアチン値は0.5mg%前後であり、排卵後期に於いてはその値上昇し0.7mg%前後に達する。従ってクレアチン尿の消長は血中クレアチン濃度に支配されて出現するとみなされ、クレアチン排泄の血中閾値濃度は0.58mg%であることを考慮すれば⁸⁾、排卵前期にクレアチン尿の消失するか否かは主として個体の腎排泄閾値に左右されるものと考えられ、本質的差違はないものとみなされ得る。

B. 女性ク尿と progesterone 及び estrogen との関係

上記の観察に於いて、女性ク尿は排卵から月経に至る迄の期間に排泄が増強されることを知ったので、この期に於けるホルモンの消長との関連を追究した。この期に於いては estrogen の分泌が著しく増加するのみならず、新に Progesterone の分泌が開始せられる⁹⁾。そこで先ず progesterone 分泌のない排卵前期に progesterone (5mg/day) 投与を試みるに、第2図に示す如く、基礎体温の軽度上昇と共に尿中にクレアチン排泄をみることを知った。この際血中クレアチン濃度は2例に於いて投与前0.54mg%、0.52mg%であったのが投与後夫々0.74mg%、0.69mg%と増量した。クレアチン尿は progesterone 投与当日より出現し、投与停止後1両日に互って漸減し消失する。

次に estrogen (20,000 I.E./day, 30,000 I.E./day) を排卵前期のクレアチン排泄減少期並びに排卵後期のクレアチン排泄増量期に、別箇に投与しその影響をみるに、第3図にみる如くである。何れの場合に於いても estrogen 投与はクレアチン排泄に対し殆んど影響を及ぼさない。

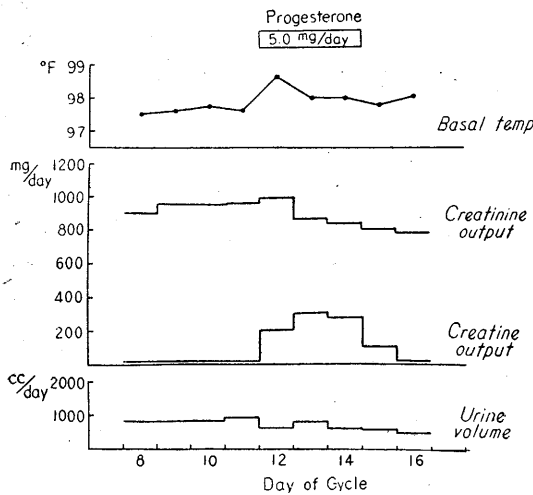


Fig. 2. Effect of Progesterone on Creatine Output (Preovulatory phase, 19 yrs.)

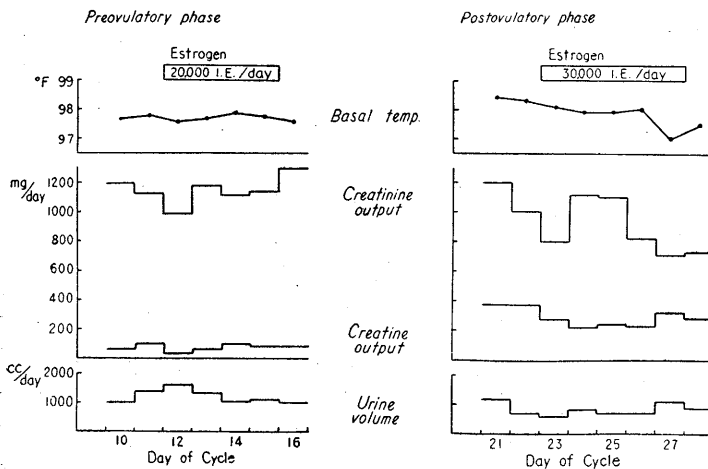


Fig. 3. Effect of Estrogen on Creatine Output (Female, 18 yrs.)

以上の成績よりして、排卵後期に於けるクレアチン尿排泄増強は卵巣ホルモンの関連に於いては、主として progesterone 分泌に由来するものと考えられる。尙排卵後期に於けるホルモンの消長に関しては他の内分泌腺の影響も考慮せねばならない。この事については考察の項に於いて論ずる。

C. 閉経期及び妊娠時に於けるクレアチン尿の消長

卵巣ホルモンの分泌周期の廃絶した閉経期に於けるクレアチン尿排泄状況をみるに、第1表に

Table 1. Creatine Metabolism in Menopause

Case	Age	Creatinine output mg/day	Creatine output mg/day	Urine volume cc/day	Climacterium ages
1	51	810	30	450	51
2	57	606	246	1970	52
3	58	796	143	2160	53
4	59	800	0	2600	49
5	60	720	260	1800	53
6	66	641	0	1200	52
7	67	710	160	1600	53
8	80	602	310	1100	50

示す如く8名の被験対象例中3名はクレアチン尿消失するか又は極めて微量に之をみるに過ぎないが、他の5名に於いては顕著なクレアチン尿排泄をみる。然しながらこの様なクレアチン尿排泄をみる者についてその連日観察を行うに第4図にみる如くクレアチン尿排泄は恒常的であり、卵巣ホルモンの周期的消長は全くみられない。閉経期に於けるクレアチン尿出現の機序に関しては幾多の可能性が考えられるが、これについては考察に於いて述べることにして、ここに於いてはただその排泄に周期性の消失する事をあげるにとどめる。

尙卵巣ホルモンの周期的みられなくなる妊娠時に於いて

ても、クレアチン尿排泄は第5図に示す如く、恒常的でその周期性は消失する。この際のクレアチン排泄量は1日400mgという大量に達し、主として妊娠時の progesterone 分泌増加に基づくものと考えられる。

IV. 考 察

女性ク尿と月経周期との関係に関する従来の研究は、主として月経期に重点がおかれ、これとの関連が論議されてきた。即ち既述の如く Krause は月経直後にクレアチン尿が増強する



Fig. 4. Creatine Output in Menopause (57 yrs.)

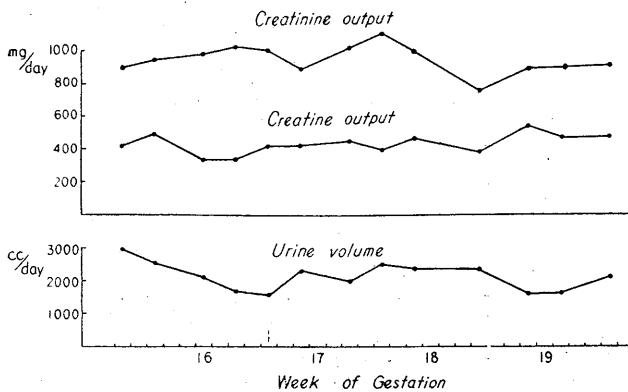


Fig. 5. Creatine Output in Pregnancy (28 yrs.)

と云い、Smith は月経期並びに月経前期に於いても増強すると述べている。之に対し Maw は必ずしも月経期に於いて増強は認められないと述べている。かくして女性ク尿と月経周期との関係については充分なる決着をみていない現状である。著者は月経周期よりもむしろ基礎体温観察による排卵を中心に、卵巢ホルモン周期とクレアチン尿との関係を吟味し、ここに排卵後期に於ける progesterone 分泌がクレアチン尿出現乃至は増量と密接なる関係があることを指摘した次第である。ここに於いて考察されるべきことは、排卵後期に於けるホルモン消長のうち卵巢に由来するものとしてただ progesterone のみに着目したことである。

排卵後期の高体温期には甲状腺機能の亢進がみられ、之が大量 estrogen 分泌に由来すると考えられている¹⁰⁾。甲状腺機能亢進はもとより

クレアチン尿 (thyroxin creatinuria)¹¹⁾¹²⁾¹³⁾ を来すものであるが、もしそれが大量 estrogen の分泌に由来するとするならば、本実験に於いて排卵前期及び後期に於ける estrogen 投与によっても当然クレアチン尿の排泄増加が観察されるべきであるに、既述の如くそれは全く影響がない。この事より、排卵後期に於ける甲状腺機能亢進の程度は必ずしもそれがクレアチン尿増強を来すものとは考えられ難いと思われる。

次に注目すべきは副腎皮質機能の如何であるが、排卵後期に於ける副腎皮質機能に関しては、Sandberg (1953)¹⁴⁾ は 1 例の観察例に於いて排卵期に尿中 17 OH-CS 排泄の増加を報告し、Staemmler (1953)¹⁵⁾ は黄体ホルモン期には尿中 17 OH-CS 排泄の増加をみると述べている。又 Davis 等 (1949)¹⁶⁾ は排卵と共に

eosin 好球の顕著なる減少をみ、黄体ホルモン期間中比較的低値を示すことを観察している。即ち黄体ホルモン期に於いては副腎皮質機能の亢進を推定させるが如き報告をみる。然し一方 Mannherz 等 (1955)¹⁷⁾ は 11 例の尿中 17 OH-CS 排泄の長期観察より、副腎皮質機能と卵巢周期との関係を否定している。Cortisone 投与がクレアチン尿出現を来す事は既知の事実であるが¹⁸⁾¹⁹⁾、排卵後期に於ける副腎皮質機能の亢進が充分確定されず、果してそれがクレアチン尿排泄増強に対し充分であるか否かが明らかでない今日に於いては、むしろ同期にみる著明な progesterone 分泌増加こそクレアチン尿排泄増強の原因とみなさるべきであろう。尙ここに始めて観察された progesterone 投与によるクレアチン尿出現、即ち progesterone クレアチン尿とも称さるべきものと cortisone クレアチ

ン尿とは極めて密接な因果関係にあり, progesterone クレアチン尿出現が副腎皮質の存在を前提とし副腎皮質の存在がなければ如何に大量の progesterone 投与を行うも, クレアチン尿出現はみられないことを著者は動物実験に於いて観察した²⁰⁾.

閉経期に於けるクレアチン尿存続の機序については, 同期に於ける progesterone 分泌に関する報告は見当らず, 同期に於ける gonadotropin の分泌増加は主として卵胞刺激ホルモンである事を考慮すれば, progesterone 分泌増加は推定され難い. 従って之を progesterone クレアチン尿とみなす事は難く, クレアチン尿の排泄をみない者も存する事を思えば, 或いは腎クレアチン排泄閾値の低下に伴う持続的クレアチン尿出現とも解され, 之等の点については尙検討を要するものとする。

V. 結 論

成人女子に於けるクレアチン尿排泄を月経周期並びに排卵との関連に於いて追究するに, 排卵前期にはクレアチン尿排泄減少し, 排卵後期に増量する事を知った。

クレアチン尿排泄周期は主として黄体ホルモンの支配されるものの如く, 排卵前期に progesterone 投与を行えば顕著なクレアチン尿排泄増加をみる。

稿を終るに当り, 終始御懇篤な御指導御校閲を賜った恩師福田篤郎教授に衷心より感謝の意を表します。尚御協力を頂いた教職員各位並びに千葉鉄道病院職員各位に感謝いたします。

文 献

- 1) 古山 誠 (1951) 生理的クレアチン尿の出現頻度並びにそれが意義 日本生理誌 **13**, 367
- 2) Peters, J. P. and Van Slyke (1946) Quantitative Clinical Chemistry **1**, 925
- 3) Krause, R. A. (1911) On the urine of women under normal conditions, with special reference to the presence of creatine. Quart. J. Exp. Physiol. **4**, 293
- 4) Smith, O. W. (1942) Creatinine excretion in women: data collected in the course of urinalysis for female hormones. J. Clin. Endocrinol. & Metab. **2**, 1
- 5) Maw, G. A. (1946) The menstrual cycle and creatine and creatinine excretion. Biochem. J. **40**, XXXVII
- 6) 佐藤徳郎・福山富太郎 (1956) 尿クレアチニン及びクレアチンの精密測定法 臨床病理 **4**, 235
- 7) 福山富太郎・佐藤徳郎・山田美恵子 (1958) 血清中のクレアチン及びクレアチニンの定量法について 公衆衛生院研究報告 **7**, 47
- 8) Tierney, N. A. and J. P. Peters (1943) The mode of excretion of creatinine and creatine metabolism in thyroid disease. J. Clin. Invest. **22**, 595
- 9) Forbes, T. R. (1950) Systemic plasma progesterone levels during the human menstrual cycle. Am. J. Obst. & Gynec. **60**, 180
- 10) Engstrom, W. W. and B. Markardt (1954) Influence of estrogen on thyroid function. J. Clin. Endocrinol. & Metab. **14**, 215
- 11) Sodeman, W. A. (1950) Pathologic Physiology, 521
- 12) Schittenhelm, A. und F. Bühler (1935) Die Beeinflussbarkeit der Spontankreatinurie innersekretorischer Störungendurch Hormone des Hypophysenvorder- und hinterlappens, der Schilddrüse und die Nebenniere. Z. ges. Exp. Med. **95**, 206
- 13) 奈良輝樹 (1957) 甲状腺機能と副腎皮質 日本生理誌 **19**, 621
- 14) Sandberg, A. A., et al. (1953) 17-Hydroxycorticosteroids and 17-Ketosteroids in urine of human subjects: Clinical application of a method employing B-glucuronidase hydrolysis. J. Clin. Endocrinol. & Metab. **13**, 1445
- 15) Staemmler, H. J. (1953) Die Corticoidausscheidung gesunder Frauen. Arch. f. Gynäk. **182**, 506
- 16) Davis, M. E. and B. E. Hulit (1949) Changes in circulating eosinophils in women during the menstrual cycle and reproduction. J. Clin. Endocrinol. & Metab. **9**, 714
- 17) Mannherz, H. H., K. H. Juchem und R. Paul (1955) Die ausscheidungen cortisonähnlicher Substanzen während Cyclus, Geburt und Wochenbett. Arch. f. Gynäk. **185**, 441
- 18) Ingle, D. J., et al. (1946) A comparison of the acute effects of corticosterone and 17-hydroxycorticosterone on body weight and urinary excretion sodium, chloride, potassium, nitrogen and glucose in normal rat. Endocrinol. **39**, 52
- 19) 藤田 猛 (1959) Cortisone 投与によるクレアチン尿の出現機序 日本生理誌 **21**, 113
- 20) 吉田泰次郎 (1957) クレアチン尿出現機序について 日本生理誌 **19**, 758

Summary

The creatinuria in adult female which increases during luteal phase was found to be due to progesterone secretion. Detailed english report will be found in Jap. J. Physiol..

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

Progesterone クレアチン尿について 612.461 : 612.018.2

On the Mechanism of Progesterone Creatinuria

吉田 泰次郎 (YOSHIDA-Taizirō)*

I. 序 言

Thyroxin¹⁾²⁾³⁾, Cortisone⁴⁾⁵⁾の如き catabolic hormone の投与は、動物並びに人体に於いてクレアチン尿を招来することは衆知の事である。なおクレアチン代謝に関する顕著な性差より、性ホルモンとクレアチン尿の関係も古くより着目され来た。即ち androgen がクレアチン尿を抑制することは略一般に認められるところであるが⁶⁾⁷⁾⁸⁾, estrogen がクレアチン尿排泄を増強するか否かに関しては必ずしも一致をみない⁶⁾⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾. Progesterone に関してはクレアチン尿との関連が全く検討されていない。著者は成人女子クレアチン尿排泄と月経周期並びに排卵との関連を追究し、排卵後期に於けるクレアチン尿増加は主としてこの期に於ける progesterone 分泌に由来することを推定し、排卵前期のクレアチン尿消失或いは減少期に progesterone 投与を行えば、著明なクレアチン尿の出現をみることを知った。Progesterone とクレアチン尿排泄との関係が始めて指摘されたのである。ここに著者は progesterone 投与によるクレアチン尿出現機序を明らかにせんとして、主としてウサギを用いて実験を試みるに至った次第である。

II. 実験方法

実験には 2.5kg 前後の成熟ウサギを用い、使用前必ず寄生虫卵 (コクチデウム) の有無を検し、虫卵陰性なることを確めた後使用した。食餌はおから 1日 300g に一定し、尿量が 1日 200cc 前後になるようにした。蓄尿は24時間とし遺残尿はカテーテルにて導尿して実験に供した。之等被験尿は糖及び蛋白の陰性を確め、予

めトルオール、氷醋酸等を添加して細菌によるクレアチン体の分解を避けた。

尿中及び血中クレアチン体定量は佐藤及び福田¹³⁾¹⁴⁾の測定法に従い、光電比色計を用いて行った。

Progesterone は oohormin luteum (帝国臓器) を、estrogen は ovahormon benzoate (帝国臓器) を、androgen は enarmon (帝国臓器) を、Cortisone は Merck 社製を夫々使用し、投与は筋肉内注射にて行った。

III. 実験成績

A. ウサギ及び人に於ける progesterone 投与によるクレアチン尿について

ウサギに対する progesterone 投与によるクレアチン尿出現に対しては著しい性差が存するので、最も容易にクレアチン尿出現をみる雌性ウサギについての成績を示せば第1図の如くである。即ち progesterone (2.5mg/day) 投与を3日に亘って行うに投与当日よりクレアチン尿

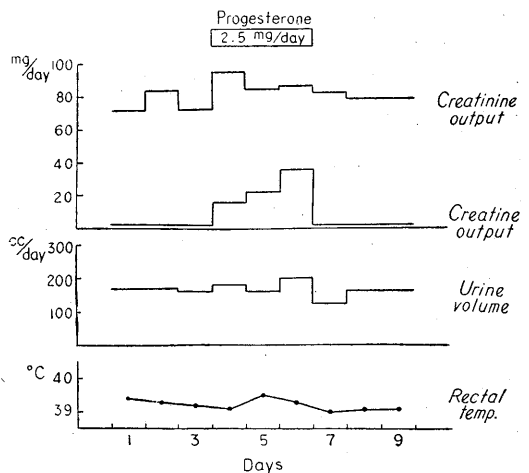


Fig. 1. Effect of Progesterone on Creatine Output (Female rabbit)

* 千葉大学医学部第2生理学教室 (福田篤郎教授) [昭和34年1月22日受付]

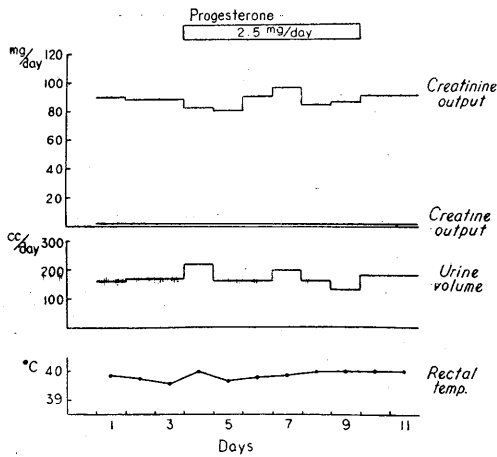


Fig. 2, A. Effect of Progesterone on Creatine Output (Male rabbit)

A : Normal

の出現をみ、全投与期間中それが増量し、投与停止翌日には消失がみられた。その際クレアチン排泄量には殆んど変化なく、直腸温に軽度の上昇がみられた。クレアチン排泄期には、血中クレアチン濃度は2例に於いて投与1.62mg%, 1.54mg%であったのが投与後夫々2.82mg%, 2.9mg%と増量し、血中クレアチン濃度は不変であった。

之に反し雄性ウサギに同量の progesterone 投与するも、第2図Aにみる如くクレアチン尿出現は認められない。クレアチン尿の出現には更に大量の progesterone を要するのであり、之に対し去勢雄性ウサギに於いては同図Bにみる如くその出現をみる。ただしこの際に於いても正常雌性ウサギに対し直ちにクレアチン尿の出現を来す progesterone 量を以てしても、連日投与開始後5日にして始めてそれをみる。

雄性ウサギに於いて progesterone クレアチン尿の出現が容易でないことは主として androgen 分泌に基くものと考えられるが、雌性ウサギに於ける progesterone クレアチン尿出現の容易さに関しては estrogen の存在も考慮されねばならない。この事に対しては後に検討する。尙 androgen が重要な役割をなす事に関しては progesterone 投与雌性ウサギにみる progesterone クレアチン尿が androgen 投与によ

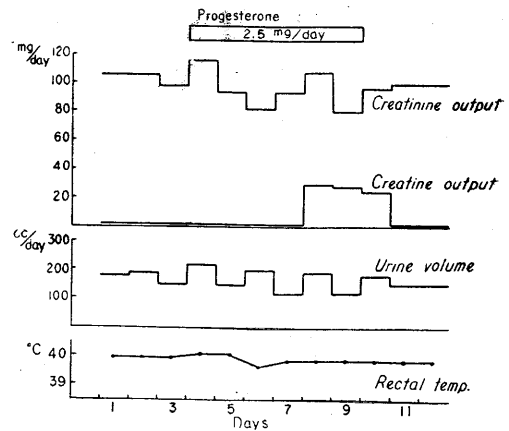


Fig. 2, B. Effect of Progesterone on Creatine Output (Male rabbit)

B : Castrated

て完全に抑制され得ることからして裏書される。即ち第2図Cにみる如く、progesterone (2.5 mg/day) 投与時に androgen (0.5mg/day) 投与を併せ行えばクレアチン尿出現は完全に抑制される。

Progesterone クレアチン尿と androgen との関係については人体観察に於いても之がみられる。即ち既報の如く女子に於いて排卵前期に progesterone 投与を行えば極めて容易にクレアチン尿の出現乃至はその増量をみるのであるが、同量の progesterone を成人男子に投与す

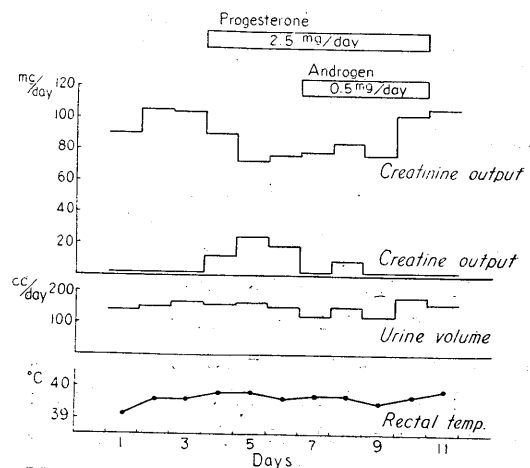


Fig. 2, C. Antagonism between Progesterone and Androgen (Female rabbit)

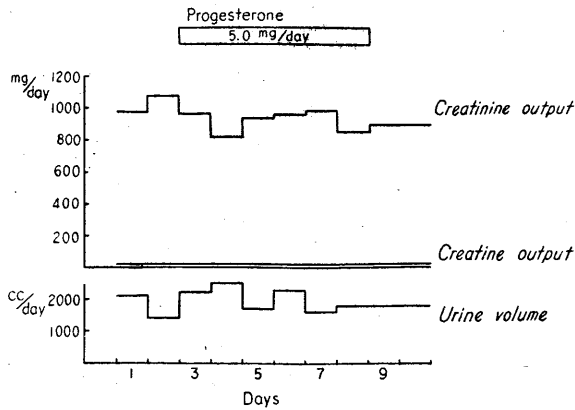


Fig. 3. A. Effect of Progesterone on Adult Male

るも第3図Aにみる如くクレアチン尿の出現は認められない。又排卵後期にみる女性クレアチン尿は、既報の如く同期に於ける progesterone 分泌に由来するものと考えられ、この期に androgen (10mg/day) 投与を試みるに、第3図Bにみる如く抑制効果がみられる。

従って progesterone クレアチン尿の出現が両性に於いて異なるのは主として androgen 分泌の多寡に由るものと考えられ、上記ウサギに於ける実験と同様であることを知る。

B. Progesterone クレアチン尿と副腎皮質及び甲状腺との関係

前記の如く progesterone クレアチン尿はウサギ並びに人体に於いて androgen により著しく左右されることを知ったのであるが、androgen 分泌の乏しい雌性ウサギに於いて progesterone がクレアチン尿を出現せしめる機序につきクレアチン尿を招来せしめ得る他のホルモンとの関連について検討した。既に当教室奈良³⁾は thyroxin クレアチン尿が副腎皮質の存在を前提として始めて出現し、それは cortisone 作用に基くものであり、thyroxin により cortisone クレアチン尿を増強されるに過ぎないと結論した。よって著者は progesterone クレアチン尿についてもそれ

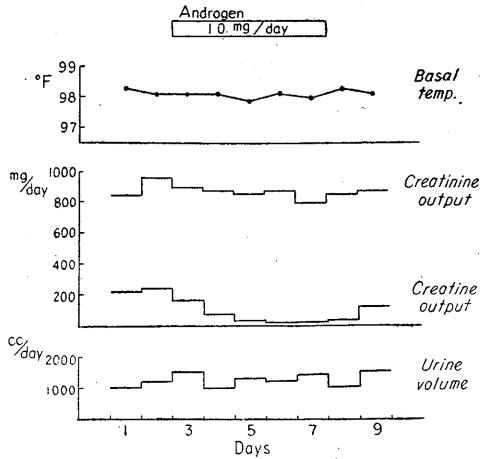


Fig. 3. B. Effect of Androgen on Creatine Output (Postovulatory phase, 21 yrs.)

が副腎皮質との関連に於いて発来されるものか否かを検討した。

雌性ウサギに両側副腎切除後一般状態の完全に恢復した時期に、progesterone 投与を試みるに第4図にみる如く前記の投与量では全くクレアチン尿出現をみず、投与量を 10~20mg/day とするも全くクレアチン尿出現をみない。この際それ自体クレアチン尿を招来し得ない少量の cortisone、即ち 0.1mg/kg/day を併用するに、正常雌性ウサギに於いてクレアチン尿を招来せしめ得る最少量の progesterone 量に於いても正常雌性ウサギと全く同様のクレアチン尿出現

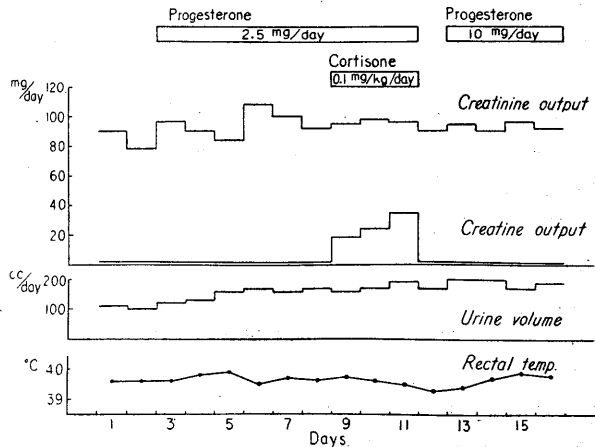


Fig. 4. Progesterone Creatinuria in Relation to Adrenal Cortex (Adrenalectomized female rabbit)

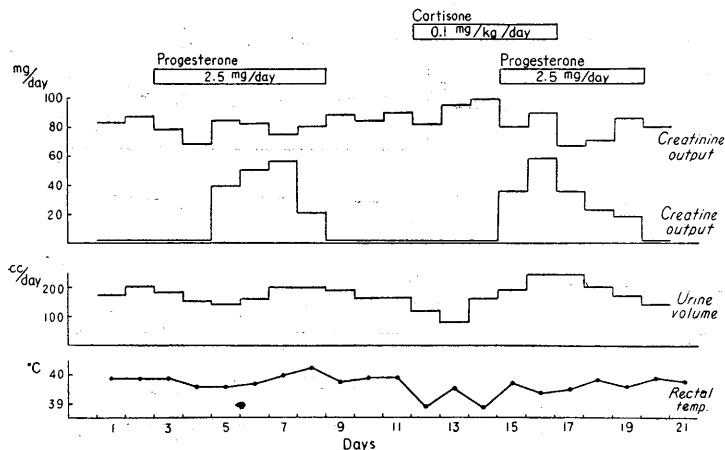


Fig. 5. Progesterone Creatinuria in Thyroidectomized Female Rabbit

をみるに至る。即ち progesterone クレアチン尿は少量の cortisone の存在を前提として始めて招来されることを知った。又 progesterone 投与が特に皮質 steroid の分泌増強を来すと考える必要もない。

更に progesterone クレアチン尿と甲状腺との関係を検討するに、第5図の如くである。即ち甲状腺切除雌性ウサギに、正常雌性ウサギと同量の progesterone を連日投与しクレアチン尿の出現状況をみるに、正常雌性ウサギに比しその出現が2~3日遅れることを知る。即ち甲状腺の欠損は progesterone クレアチン尿の出現を遅延せしめるが、その出現を抑制することはない。上述の奈良の成績にかんがみ、その際それ自体クレアチン尿を呈しない少量の cortisone を予め投与すれば同図にみる如く正常雌性ウサギと全く同様迅速にクレアチン尿出現をみる。即ち甲状腺欠損の影響は主としてそれが副腎皮質との関係に由来するものと考えられ、cortisone 作用はおそらく thyroxin により増強されるものと推定される。

C. Androgen による progesterone クレアチン尿抑制機序

前述の如く progesterone クレアチン尿出現の性差に対し、androgen が主役を演じ、それが progesterone クレアチン尿を

抑制することを知ったのであるが、androgen による progesterone クレアチン尿抑制現象も、それが母体である cortisone クレアチン尿抑制に求められ得るかを検討した。

第6図に示す如く雌性ウサギに cortisone (0.5/kg/day) 投与により顕著なクレアチン尿をみる時期に、androgen (1.0mg/day) の投与を併用するにクレアチン尿出現が著しく抑制され

得る事を知った。即ち androgen による progesterone クレアチン尿抑制は、cortisone 作用に対する抑制として解され得る事を知ったのである。

D. progesterone クレアチン尿に対する estrogen の影響

Progesterone クレアチン尿出現の性差については上記の androgen の外当然 estrogen の影響も考慮せられねばならない。よって estrogen の progesterone クレアチン尿に対する影響を検討した。

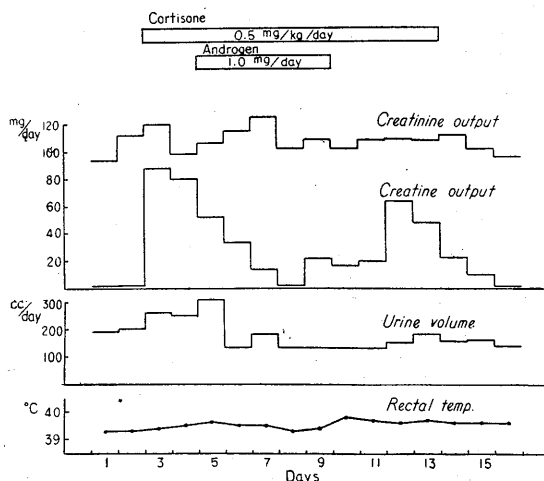


Fig. 6. Inhibition of Cortisone Creatinuria by Androgen (Female rabbit)

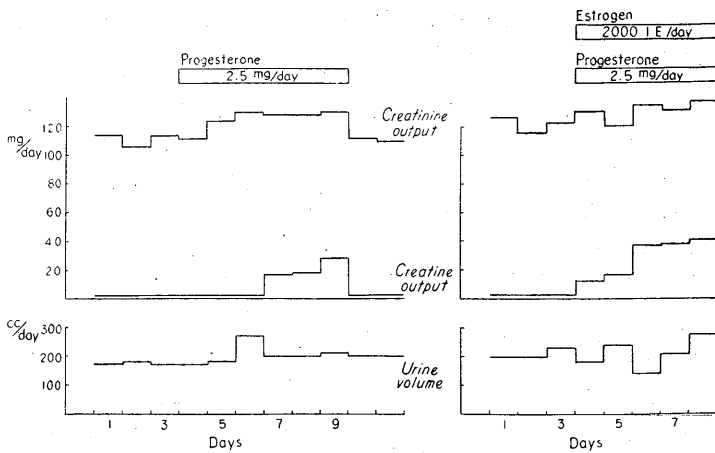


Fig. 7. Progesterone Creatinuria in Castrated Female Rabbit

第7図に示す如く雌性ウサギも去勢後は progesterone クレアチン尿の出現が正常に比し著しく遅延し、その場合は去勢雄性ウサギに於けると略同様である。この際 estrogen (2,000 I·E./day) を progesterone 投与と併用すれば、同図にみる如く progesterone クレアチン尿は正常雌性ウサギに於けると同様迅速に発来することを知る。

即ち estrogen の存在は progesterone クレアチン尿の出現を容易ならしめると考えられる。尙 estrogen 単独投与に於いては、それが極めて大量、即ち3,000 I·E./day の連日投与によらねばクリアチン尿を招来しない(第8図)。かかる際のクリアチン尿が如何にして招来されるか、

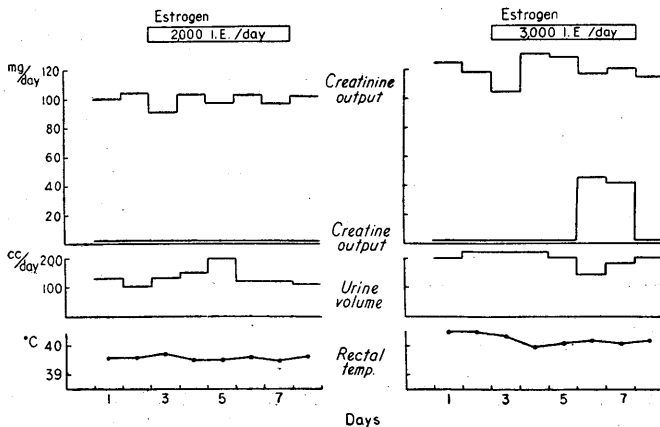


Fig. 8. Effect of Estrogen on Creatine Output (Female rabbit)

即ちそれが甲状腺を介してか、或いは副腎皮質を介して発来されるかは検討を行わなかったが、何れにしても副腎皮質が母体として発来されるであろうことは上記諸実験から推定に難くない。

IV. 考 察

本実験に於いて、著者は progesterone 投与により招来されるクリアチン尿の出現機序を検討し、それが副

腎皮質の存在を前提として招来される事を明らかにした。即ち progesterone クレアチン尿は cortisone クレアチン尿を母体として、その出現を容易ならしめる事によって発来される事、あたかも教室奈良が thyroxin クレアチン尿について帰納し得たと全く同様の関係がみられた。

Progesterone クレアチン尿出現の性差に関しては、主としてそれが androgen 分泌の多寡に支配され、androgen 投与により抑制される事を見、且つそれが progesterone クレアチン尿の母体である cortisone クレアチン尿機序に作用点を有する事を明らかにし得た。

Androgen がかかる機序によりクリアチン尿出現を抑制するのに対し、estrogen は逆に促進的に働くのであるが、その影響は androgen に比し軽度であると云わねばならない。

従って progesterone クレアチン尿の出現機序を解明する事は、結局 cortisone クレアチン尿の出現機序を解明する事に外ならない。

この点に関しては、既に当教室藤田⁵⁾の業績がみられるので、ここに之を紹介し主題の progesterone クレ

アチン尿出現機序の考察とする。氏は cortisone 投与による過血糖並びに糖尿出現機序を検討し、それが碎ラ氏島機能抑制に由来するとし、androgen はかかる cortisone 糖尿作用に対し顕著な拮抗性を示すのみならず、alloxan 糖尿に対しても極めて顕著な抑制作用を呈する事を見出した。かかる観点からすれば cortisone 投与によるクレアチン尿は cortisone 過血糖乃至は糖尿と並行するものの如く、cortisone クレアチン尿は insulin 不足に由来して招来されるものであると考える事が出来る。既に藤田も cortisone 糖尿の insulin による抑制実験に於いて、クレアチン尿が同時に消失し、その際 cortisone 投与による血中クレアチン値の上昇も insulin 投与によって低下する事をも観察している。ここに cortisone クレアチン尿並びに progesterone クレアチン尿が insulin 不足を介し、phosphagen 保有能力の減退に基く過クレアチン血によって招来されるであろう事が一応推則される次第である。

V. 結 論

Progesterone 投与によるクレアチン尿出現機序に関し、ウサギ及び人体に於いて実験を行つた下の如き成績を得た。

Progesterone 投与はウサギ並びに人体に於いて著明なクレアチン尿出現を来すも、その出現には性差があり、雌性に於いては容易に出現するも雄性に於いては出現が著しく抑制される。雌性に於ける抑制は主として androgen の存在に由来するものと考えられる。

Progesterone クレアチン尿は副腎皮質の存在を前提として出現する事をウサギに於いて確認し、progesterone クレアチン尿は cortisone クレアチン尿を母体としてそれが増強により発来されるものである事を知った。

Androgen の progesterone クレアチン尿抑

制機序は androgen の抗-cortisone 作用に基づくものである。

稿を終るに当り、終始御懇篤な御指導御校閲を賜つた恩師福田篤郎教授に衷心より感謝の意を表します。御協力を頂いた教室員各位並びに千葉鉄道病院職員各位に感謝いたします。

文 献

- 1) Sodeman, W. A. (1950) Pathologic Physiology. 521
- 2) Schittenhelm, A. und F. Bühler (1935) Die Beeinflussbarkeit der Spontankreatinurie innersekretorischer Störungen durch Hormone des Hypophysenvorder- und hinterlappens, der Schilddrüse und die Nebenniere. Z. ges. Exp. Med. **95**, 206
- 3) 奈良輝樹 (1957) 甲状腺機能と副腎皮質 日本生理誌 **19**, 621
- 4) Ingle, D. J., et al. (1946) A Comparison of the acute effects of corticosterone and 17-hydroxycorticosterone on body weight and urinary excretion of sodium, chloride, potassium, nitrogen and glucose in normal rat. Endocrinol. **39**, 52
- 5) 藤田 猛 (1959) Cortisone 投与によるクレアチン尿の出現機序 日本生理誌 **21**, 113
- 6) Kun, H. und O. Peczenik (1935) Geschlechtspezifische Wirkung der Sexualhormone auf den Kreatinstoffwechsel. Pflügers Arch. Ges. Physiol. **236**, 471
- 7) Jailer, J. W. (1940) The effect of castration and androgen therapy on creatine and creatinine excretion in monkeys. Am. J. Physiol. **130**, 503
- 8) Kinsell, L. W., S. Herz and E. C. Reifenschein (1944) Effect of testosterone compounds upon nitrogen balance and creatine excretion in patients with thyrotoxicosis. J. Clin. Invest. **23**, 880
- 9) Allison, J. B. and S. L. Leonard (1941) The effect of estrogen and thyroidectomy in female rats on the excretion of creatine and creatinine. Am. J. Physiol. **132**, 185
- 10) Remen, L. (1932) Über den abbau parenteral Zugeführten Kreatins bei Erwachsenen mit erloschener Geschlechtsfunktion. Z. ges. Exp. Med. **80**, 238
- 11) Remen, L. (1932) Kreatinurie und Ovarialfunktion. Z. ges. Exp. Med. **81**, 223
- 12) Bühler, F. (1935) Tierexperimentelle Untersuchungen Über den Einfluss von verschiedenen Hormonen auf die Ausscheidung von Kreatin und Kreatinin im Urin. Z. ges. Exp. Med. **96**, 821
- 13) 佐藤徳郎・福山富太郎 (1956) 尿クレアチニン及びクレアチンの精密測定法 臨床病理 **4**, 235
- 14) 福山富太郎・佐藤徳郎・山田美恵子 (1958) 血清中のクレアチン及びクレアチニンの定量法について 公衆衛生院研究報告 **7**, 47

Summary

Progesterone was found to induce pronounced creatinuria in rabbit. Androgen exerted an inhibitory effect upon it. Detailed english report will be found in Jap. J. Physiol..

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

Electroshock の生理学的機構に就いて 612.822:612.014.424:612.461

(第2報) 家兎尿中 17-Ketosteroids (KS) 排泄に及ぼす影響

The Physiological Mechanism of the Electroshock (E. S).
The 2nd Report; Effects upon the Excretion of 17-KS in Urine of Rabbits.

別 府 芳 雄 (BEPPU-Yoshio)*

I. 緒 言

Electroshock (以下 E. S と称す) は既に報告したように¹⁾ 自律神経系諸機能に特有の作用を示す事が明らかにされた。凡そ生活現象にあずかる生理作用に対し自律神経系統と内分泌系統は共に重要な役割を成しているものであって、生体が外部環境の変化にたいして内部環境を定常に保つため常に順応していることは Claude Bernard²⁾ の “Milieu intérieur” の考え方に始まり、1932年、W. B. Cannon³⁾ の homeostasis を経て漸次明らかにされつつある。一方外界に対する防衛機構として Cannon は交感神経—adrenaline 系に注目し、adrenaline が一過性に分泌されて一種の適応反応と成るものを emergency function と名附けた。その後、H. Selye⁴⁾ は下垂体副腎系の反応を強調し、内分泌系を通じて、純体液性に外部環境に対応が行われると述べている。

依って今回の実験に於いては、自律中枢である間脳と密接なる関係を有し、一連の反応機構を有すると見做されている下垂体副腎皮質機能に対する E. S の影響を検索することを始めの目的とした。是の系統の機能状態を判定する上に、17-K. S の排泄量を以て表現する事は—Houssay, B. A. 等によって批判されながらも Thorn⁵⁾ 以来広く行われるに至った。即ち Thorn は androgenic hormone を分泌する Zona reticularis の機能を尿中 17-KS 量から間接的に知り得るとし、副腎皮質全体の潜勢力を推察する一指標に成り得ると言う。副腎皮質より血中に分泌された hormone は、一部体内に於い

て或る程度破壊され、Cortin action を失い尿中に排泄されるが大部分は Cortin action を持ったまま排泄され、尿中 17-KS の約 60~70% は副腎皮質に由来する⁶⁾。現在正常及び病的尿エキスから得られた 17-KS には androsterone を含む 18種が知られており、これら 17-KS の中には男性 hormone 作用を有し、従ってその活性を測定できるものもある。筆者もこの物質の排泄状況並びにそれに附帯する現象を通じて、E. S の影響を追求することとした。

II. 実験方法

動物は成熟雄性家兎(体重約 2~3kg) を用いた。採尿は個室別にして床下に採尿箱を取り付け、1日の全量を集めて測定した。17-KS の測定法は Drecker et al. 法⁷⁾ を用い、日立-E.P.U-II 型光電分光光度計に依り比色定量した。

両側頭部に通電用銀板電極を置き、交流 100V, 1~2秒の通電を行った。E. S 1回処置、5回処置も行ったが、連続処置の場合は先行痙攣の間代性運動の消失後数分以上間を置いて後続処置を適用した。

III. 実験結果

1. 尿中 17-KS 排泄量の変化

E. S 1回施行及び、E. S 反復施行(5回重複)後の 17-KS の逐目的変化を求めると、正常 control を若干例測定した結果は 0.32-0.45 mg/day の範囲に在り、1回 Schock のものを約 1週間にわたって測定するとその値は 0.14~0.45mg/day の範囲に在り、5回 Schock のものでは、0.09~0.58mg/day の範囲内にある。

処置前期の control 状態に於いて、正常家兎の 24時間尿中 17-KS の排泄量を見ると、0.32~

* 日本医科大学生理学教室
(昭和34年1月25日受付)

0.55mg/day と成り, 平均 0.41mg/day の値が求められた. 是は齊藤⁸⁾の得た値より稍々低いが, 森永⁹⁾は尿中 17-KS の季節的変動を報告しているから是の値は概ね一致している. この data を基にし, 連続施行群の平均を点線 C, 1 回施行群を点線 B にて示すと, Fig. 1 のような経過が求められた. Normal control は実線 A にて示した.

本例に示したように, 17-KS の排泄量は E. S 施行直後に急激に減少し, 次第に増加して正常水準を上廻る増加へと進み, 再び正常水準へと復歸している. 1 回処置動物の復元は他の場合に比べて遅く, 全体的には正常水準より低下を示していた.

2. 尿量及び食餌量の変動

17-KS の変動は全尿量の変動に可なり左右されるものである. 即ち 17-KS の減少と見做される現象は副腎皮質機能の低下に依らなくとも, 全尿量が減少することに依っても生起する筈である. 従って, 筆者は E. S 施行前後に尿量が如何なる変動を示すかを約 3 カ月間にわたって検討してみた. 尙当然のことではあるが, 尿量が増加するのは抗利尿ホルモン等の影響を考慮する迄もなく, 食餌量の変動に左右され, 食餌 (含水量一定と見做す) 量が著明に減少すれば, 尿量も減じ, 逆に食餌量が増加すれば尿量も増

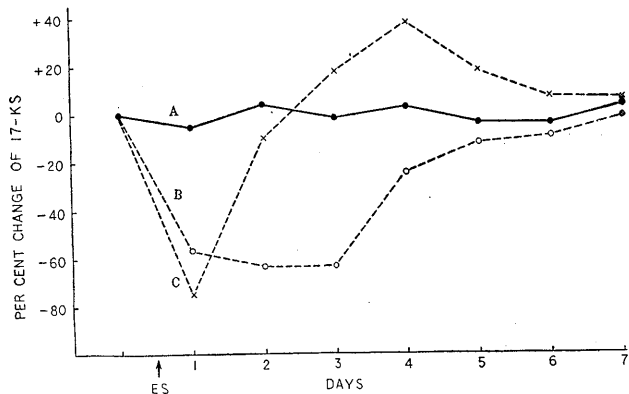


Fig. 1.

Percentile change of 17-KS before and after the electroshock application.

A: The normal control. B: Results of the single E. S. C: Results of the repeated E. S.

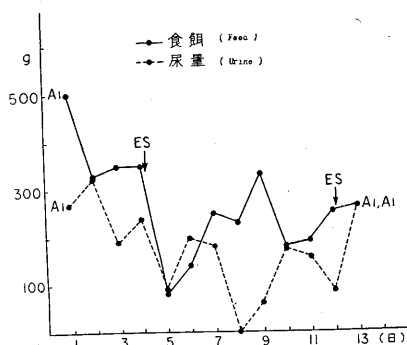


Fig. 2.

The daily fluctuations of the feed intake and urinary excretion of rabbits seen before and after the electroshock.

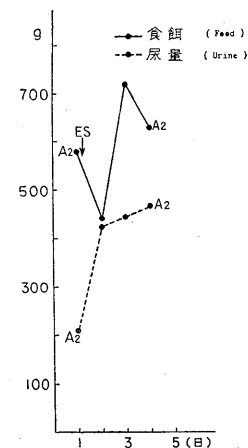


Fig. 3. Abscissa, days. Ordinate, weight in gramms.

加することは, 当然予想される. 従って両者を同時に描記図示する事とした. 食餌は豆腐粕, 根菜類, 穀類, 緑菜類等の如く一定の種類のもを与えることにした. 且つ不足のないよう十分与えて, 給与重量から残余重量を差引いて摂取量と見做した. 尿量は比重略々 1 と見做し, 容積を測定してグラムに換算して値を求めた.

是等の図から明らかに成ったように, 尿量の変動は正常対照時に於いても極めて複雑であり, その増減の度合も全く種々様々である. E. S 前後の変動は, たまたま E. S 後に減

少するような例もあるが、増加する例もあり一見したところでは一定の結論を得ない。Fig. 1 に示した 17-KS 減少の例は尿量の減少した例に就いて測定されたものであり、一般の場合にはどのように成るかは一定ではない。福田¹⁰⁾に依れば、17-KS は尿量に比例するのであるから、尿量の増加する例等も当然考えられよう。ラッテに於いては、E. S 直後に減少し、その後漸進的に増加すると言う報告も見られる¹¹⁾。

筆者の例では E. S と尿量との間には一定の関係を見出し得なかったが、尿量と食餌量との間の関係もそれ程単純なものではなく、食餌量が増加しているにも拘らず、尿量が減少したり、逆に食餌が減少しているにも拘らず尿量が増加する例が認められた。然し是等の関係を詳細に検討してみると、第1表、第2表の如くなる事が解った。

是等から解るように、食餌量は control に比し、E. S 直後には減少し、それに応じて尿量も減少している場合が多いことが解った。

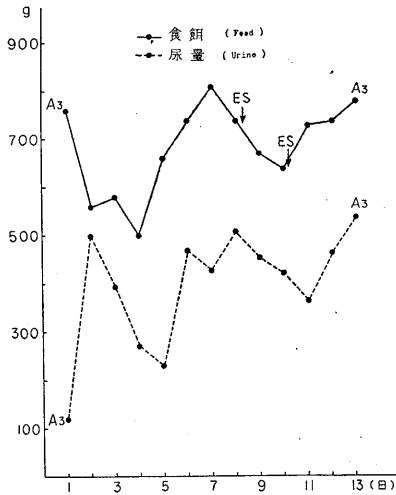


Fig. 4. Abscissa; days. Ordinate; weight in gramms.

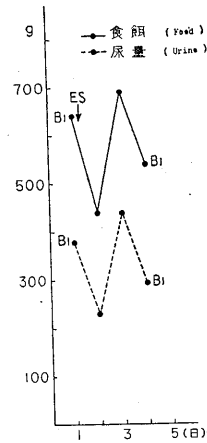


Fig. 6. Abscissa; days. Ordinate; weight in gramms.

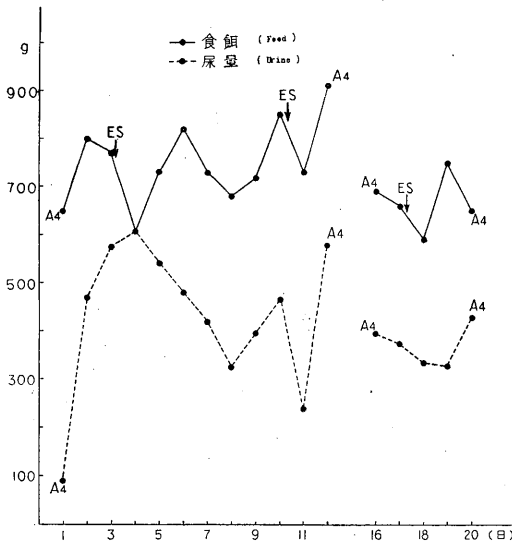


Fig. 5. Abscissa; days. Ordinate; weight in gramms.

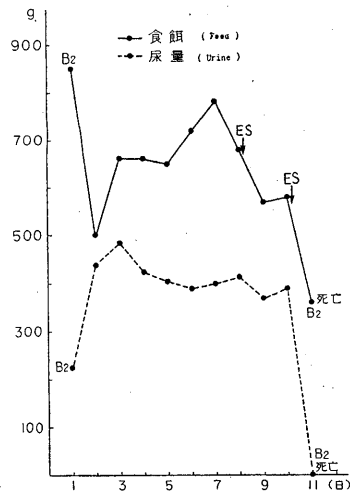


Fig. 7. Abscissa; days. Ordinate; weight in gramms.

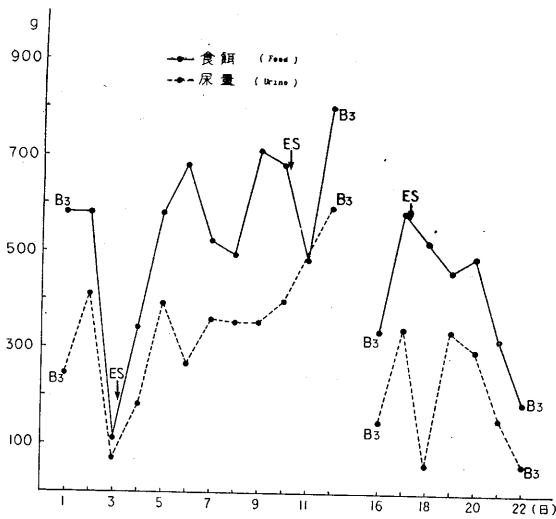


Fig. 8. Abscissa; days. Ordinate; weight in gramms.

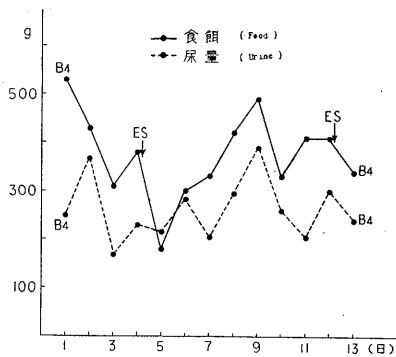


Fig. 9. Abscissa; days. Ordinate; weight in gramms.

Table 1. Effects of electroshock.

Food		Urine	
Increased cases	3	Increased cases	2
		Decreased cases	1
Decreased cases	13	Increased cases	3
		Decreased cases	10

Table 2. The normal control.

Food		Urine	
Increased cases	18	Increased cases	13
		Decreased cases	5
Decreased cases	21	Increased cases	10
		Decreased cases	11

IV. 考 察

Electroshock の後に、副腎皮質機能の亢進を招くことは、Rosvold¹²⁾等に依って述べられてい

る。人間に於いても婦人に E.S を施行すると施行期間中及び施行後一時的な amenorrhoe が起ることは筆者等のよく経験する処であるが、是に対して、E. M. Jacobsen & E. B. Tiez¹³⁾は Estrogen の産出で説明し、E.S に依って hypothalamic pituitary neurohumoral path way が影響されたと述べている。筆者は 17-KS の測定に依り、副腎皮質機能の状態をうかがおうとしたのであるが E.S 直後には、その著明な減少、その後漸次に正常水準以上に恢復することを見出した。然し同時に行った尿量及び食餌量の処見から併せ考えてみると、17-KS の変動は尿量の変動に左右されており、また尿量の変動は食餌摂取量の変動に左右されているらしいことが解った。

従って、17-KS の変動を取って下垂体副腎皮質機能に結びつける迄もなく、その変動の理由の 1 つは食餌摂取量の減少に基く体内代謝機能の一時的低下に依るものと見做され得ると推定された。従って当然、E.S 重複施行 (重積法) で強度の影響を与えれば、食餌摂取量は低下し、17-KS に対しても、それだけ影響は大きい事は容易に考えられる。但し、食餌量及び排尿に関しては、E.S 後 2~3 日しか見ていないので、それ以上経過してから、17-KS 量が正常時より増加する場合の説明にまで適用することは少々困難である。

V. 要 約

1. 家兎尿中 17-KS は E.S 直後に減少し数日後に逆に増加して元に還る。
2. かかる尿中 17-KS の増減は尿分泌量に比例し、E.S 直後には尿量が減少している。
3. E.S 後尿量の減少する例では、食餌摂取量も減少している場合が多い。
4. E.S は下垂体副腎皮質に影響すると言う考えの他に食餌摂取量に変化を起させて間接的に 17-KS の排泄量にも変動を与えると言う解釈が可能である。

筆を擱くに当り、終始御懇篤なる御指導並びに御校閲を賜った恩師戸塚武彦教授に衷心より御礼申し上げます。

げます。教室の佐々木祐治先生から寄せられました御協力に深謝します。

17-KS の測定に際しまして御尽力を賜りました東大生理学教室助手, 上田五雨, 同大学生化学教室寺田新一, 東京教育大学心理学教室関口茂久の諸兄に感謝します。

文 献

- 1) 別府芳雄 (1959) Electroshock の生理学的機構について (第1報) 日本生理誌 **21**, 409
- 2) Bernard, C. L. (三浦岱栄訳) (1952) 改訳実験医学序説 創元文庫
- 3) Cannon, W. B. (1947) The Wisdom of the Body. Kegan Paul, Trench, Trubner & Co., London.
- 4) Selye, H. (田多井吉之介訳) (1953) 適応症候群 医歯薬出版
- 5) Thorn, G. W. (1948) A Test for Adrenal Cortical Insufficiency. J. A. M. A. **12**, (137) 1005~1009
- 6) 中尾 健 (1951) 生理学講座, 内分泌の生理 **11**, III 1-3 生理学講座刊行会 p. 80
- 7) 伊藤四十二・他 (1956) ホルモンの検査法 協同医書出版 p. 476
- 8) 齊藤貞男 (1957) 騒音の生体に及ぼす影響 日本生理誌 **19**, 1069
- 9) 森永武志 (1957) 副腎皮質機能の気象医学的研究 **65**, 25
- 10) 福田篤郎・小山武一 (1957) 家兔の尿中 17-KS 排泄について 日本生理誌 **19**, 1179 (第118回生理学東京談話会)
- 11) 関口茂久 (1958) 電気痙攣後の食餌活動と尿中 17-KS 排泄の変化 実験動物 **7**, 108
- 12) Rosvold, H. E. et al. (1952) Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **80**, 60
- 13) Jacobsen, E. M. and Tiez, E. B. (1953) Endometrial Transplants. Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. **83**, 78-82 (脳神経領域 **7**, 110 より再引用)

Summary

1. 17-KS decreases in the urine of rabbits immediately after the application of E. S. It increases to a higher level than the normal after a few days, and gradually returns to the normal value.

2. Urinary excretion decreases immediately after E. S. The decrease of 17-KS is considered to be proportional to the urinary excretion.

3. Most cases with decreased urinary excretion were accompanied with decreased uptake of food.

4. It may be assumed that the change in urinary excretion of 17-KS caused by the application of E. S. is due not only to the direct effect on the hypophysio-adrenocortical system, but also to the indirect effect followed after the decreased urinary excretion as well as the reduced food intake.

(Department of Physiology, Nippon Medical School)

扁桃核電気刺激が視床下部脳波に及ぼす
影響について 612. 822. 3:612. 826. 4:612. 014. 424

The Effect of Electrical Stimulation of the Amygdaloid Nuclei
on the EEG of Hypothalamus in Rabbits.

湯浅亮一・井上恭一郎・尾崎滋敏・松井稔
(YUASA-Ryoichi・INOUE-Kyoichiro・OZAKI-Shigetoshi・MATSUI-Minoru)*

I. 緒言

扁桃核の線維連絡をしらべた大向¹⁾は、内側核、皮質核、内側主核からの変性線維が分界条(stria terminalis)の交連上位部(supracommissural component)を介して視床下部の腹内側核と連絡し、また中間主核および扁桃核周辺皮質からは視床前野部(preoptic component)が出て外側視床前野に終ることを証明した。また塚等²⁾は外側視床前野を電気刺激して副交感性反応を得、この部が視床下部の外側核内を下行する内側前脳束と密接な関係があるためであるとした。一方、扁桃核の自律作用をくわしくしらべた小池上等^{3,4)}は扁桃核の刺激によって起る自律反応は視床下部を介しておこるものであることを証明している。そこで我々は扁桃核を電気刺激して視床下部の脳波がどのように変わるかをみて、扁桃核と視床下部との機能的な連絡を追求した。

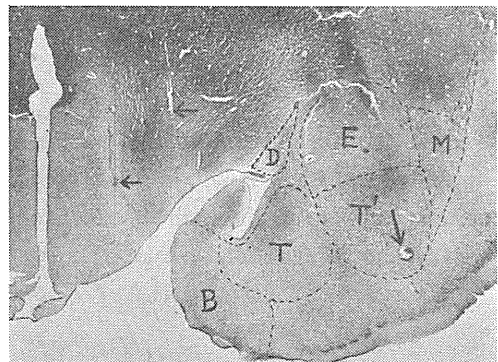
II. 実験方法

体重 2.5-3.0kg の雄性家兎27匹を無麻酔で実験に用いた。扁桃核および視床下部へ電極を刺入する方法は黒津の方法によった。すなわち2個の電極を別々に保持出来るよう改良した黒津-清水の電極保持装置を bregma がその中心になるよう頭蓋に固定する。まず腹内側視床下核とその高さにおける同側の外側視床下核と同時に刺入出来るよう2組の双極針(1つの双

Distance from the sagittal suture		4.0-5.0mm	6.0-6.5mm	6.5-7.0mm
Distance from the coronal suture	rostral 1mm			M 17.0mm
	0mm	T 17.5-18.0 mm	T' 17.0-17.5 mm	M 17.0-17.5 mm
	caudal 1mm	T 17.5-18.0 mm	T' 17.5mm	M 17.0-18.0 mm

Fig. 1.

shows a measurement for an insertion into the amygdaloid nuclei. Under each abbreviation of the amygdaloid nuclei is indicated the perpendicular depth from the surface of cranium.



Phot. 1.

Shows a frontal section through the ventromedial hypothalamic nucleus of rabbit brain stained with carbol-thionin. Arrows show tips of electrodes.

D: medial amygdaloid nucleus.

B: cortical amygdaloid nucleus.

E: central amygdaloid nucleus.

T: small-celled medial part of the basal amygdaloid nucleus.

T': large-celled lateral part of the basal amygdaloid nucleus.

M: lateral amygdaloid nucleus.

* 大阪大学医学部解剖学教室第3講座(黒津敏行教授)

[昭和34年1月29日受付]

極針は直径0.15mmの不銹鋼を絶縁し、その先端を0.3mm露出したもの2本を上下に0.5mmずらして作った)を互に1.5mmの間隔で平行

に並べて固定し、それを一方の電極保持装置により視床下部に刺入する。次に扁桃核の目的の核には他方の電極保持装置により双極針(尖端

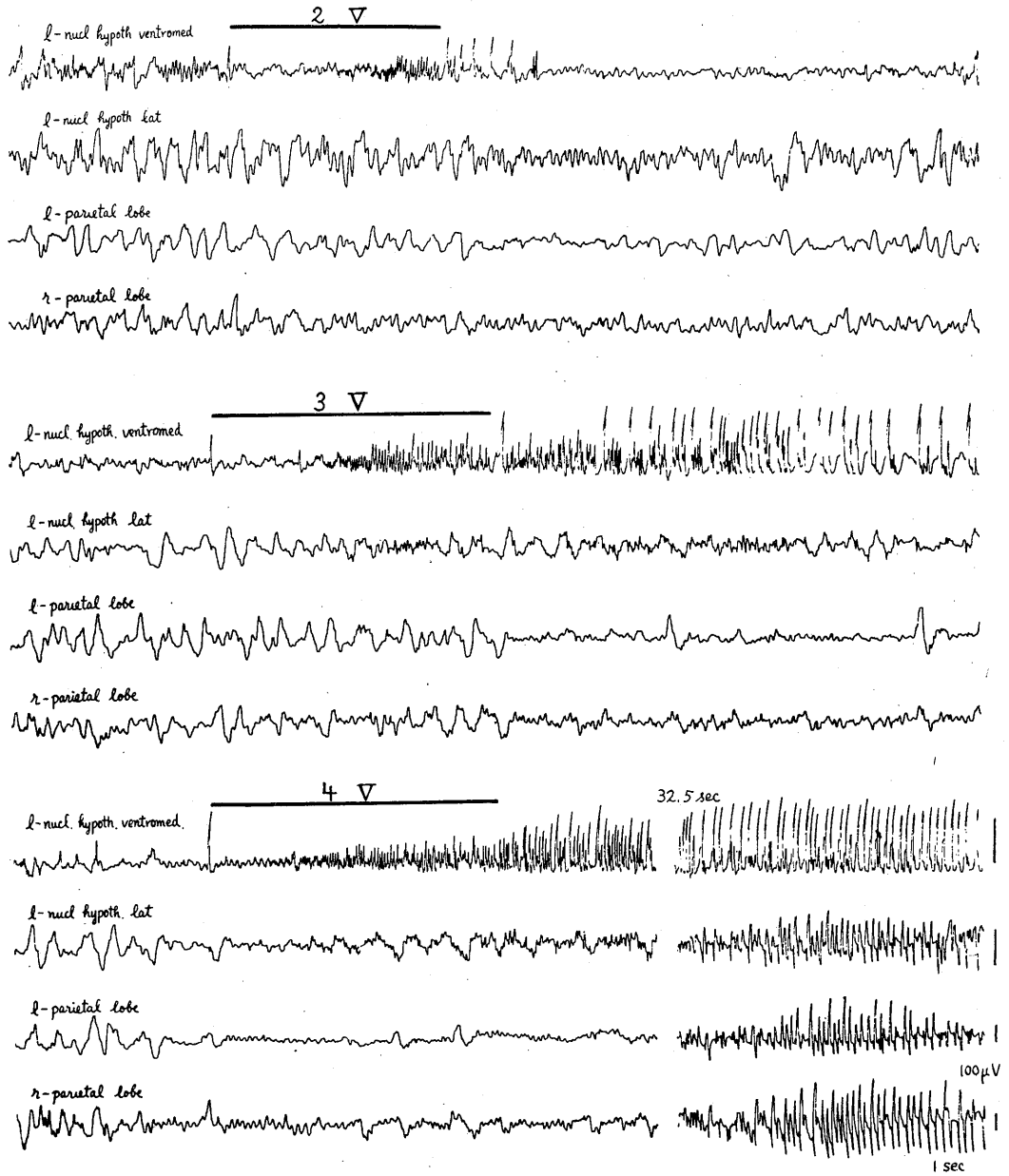


Fig. 2.

In case the small-celled medial part of the basal nucleus of left amygdaloid nuclei was stimulated (1 msec, 100 c/sec, 2 V), the activation response and the seizure discharge were limited to the ventromedial hypothalamic nucleus (according to a bipolar recording), Eyes opened, pupils dilated and respiratory movements accelerated, but chewing or licking movements did not occur.

2極間の露出間距離0.2mm)を刺入した。そしてこれはすべて刺入した視床下部と同側で行った。扁桃核刺入の際の計測値を図1に示す。視床下部の両核よりの脳波はそれぞれ双極誘導または単極誘導したが、後者の場合の不関電極は耳介においた。また左右の頭頂骨に、短く切った注射針を刺入し、それらより左右の大脳皮質の脳波を、耳介を不関電極として単極誘導し同時に記録した。動物は薄暗い静かな遮蔽室におかれ、電極の刺入後2-4時間を経て実験が開始された。扁桃核の刺激は電子管刺激装置により、1msec, 100c/secの矩形波で行った。実験後はすべて脳髄の連続切片(15 μ)を作り、視床下部および扁桃核の刺入部位を調べた(写真1参照)。扁桃核の亜核の分類と符号は Völsch, Rose,

小池上に従った。すなわち本論文に用いられたものを示すと、D:内側核, B:皮質核, E:中心核, T:内側主核, T':中間主核, M:外側主核, Pam:扁桃核周辺皮質である。

III. 実験成績

刺激された扁桃核の亜核別の例数は次の通りである。すなわち、T核:6例, E核:1例, E核と分界条:1例, 分界条の交連上位部:3例, M核:4例, T'核:5例, T'核とM核:1例, T'核と Pam₂:2例である。

T核, E核あるいは分界条の交連上位部の刺激による動物の外観上の変化はいずれも同じであった。すなわち1msec, 100c/sec, 2-3Vで刺激すると眼裂は少し開き、瞳孔は軽度散大す

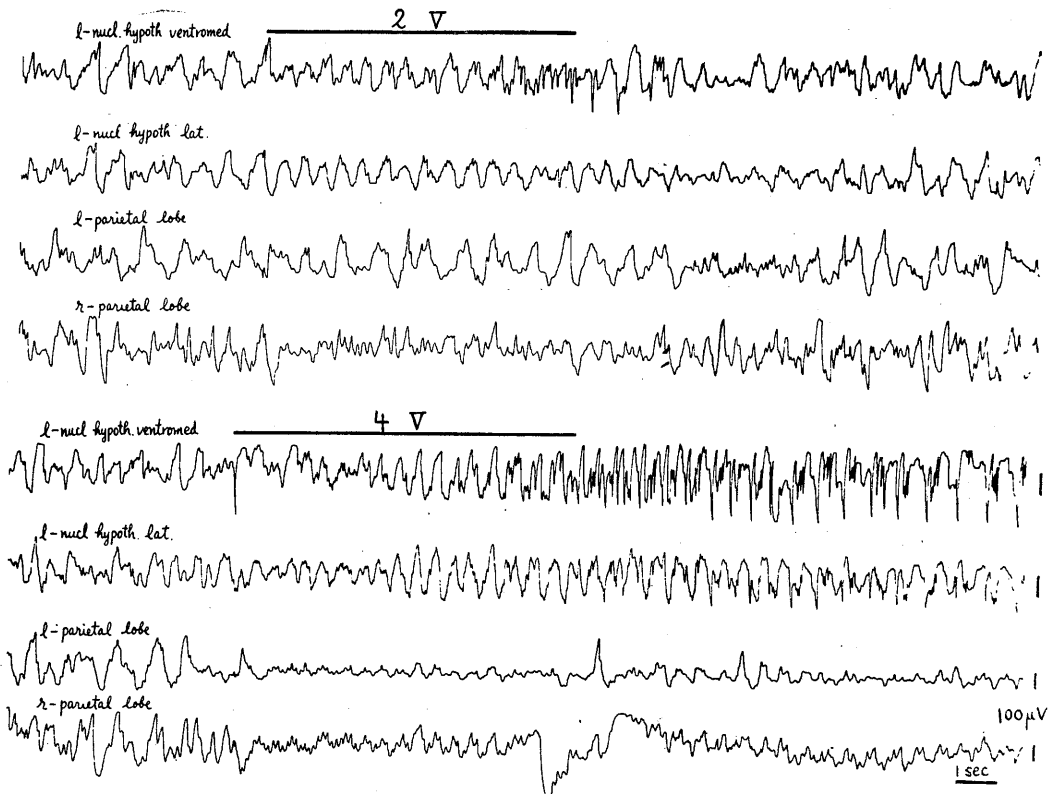


Fig. 3.

In case the supra commissural component of the stria terminalis was stimulated (1 msec, 100 c/sec, 2 V), the activation response and the seizure discharge were obtained from the ventromedial hypothalamic nucleus (according to a monopolar recording). Eyes opened, pupils dilated and respiratory movements accelerated, but chewing or licking movements did not occur.

るか、あるいは殆んど変化しない。4-6V で刺激すると眼球は突出し、瞳孔は著しく散大、呼吸の速迫もみられ、また動物があばれる場合もある。一方、M核あるいはT'核を2-3V で刺激すると上唇を2・3回わずかに動かす以外には眼裂も開かず、また瞳孔の変化もない。4-6V で刺激すると咀嚼運動が明瞭になり、また舌なめずりがみられる。呼吸は深く大きくなるが瞳孔は変化しない。しかしT'核刺激例には強い刺激で時に軽度の散瞳がみられる例(2例)があり、また反対に縮瞳がみられる例(1例)もあった。

a) T核の刺激が視床下部脳波に及ぼす影響
各例とも同じ傾向が得られたので1例を図2に示して説明する。図中脳波曲線の上に引かれた太い横線は電気刺激の行われた期間を示す。

左扁桃核の内側主核を1msec, 100c/sec, 1V で刺激した場合は視床下部および大脳皮質の脳波に変化がみられず、また動物の外観上にも全然変化がみられない。2V の刺激電圧では外側視床下核および皮質には全く変化が現われていないにも拘らず、腹内側視床下核の脳波は刺激により直ちに低電位速波にかわり、2.8秒後より速波成分は著明となり、4.0秒後では20-15Hzの規則正しい波となる。刺激後この速波は0.3-0.5秒の間隔で高電位の棘波の発射を伴っている。以上の経過を通じて動物の外観上の変化は何も認められなかった。3V の刺激電圧では腹内側視床下核の脳波の変化は前の場合より更に著明となる。そして20-15Hzの速波の持続時間も長くなり、また高電位棘波の出現時間も長くなる。この際の外側視床下核の脳波は刺激開

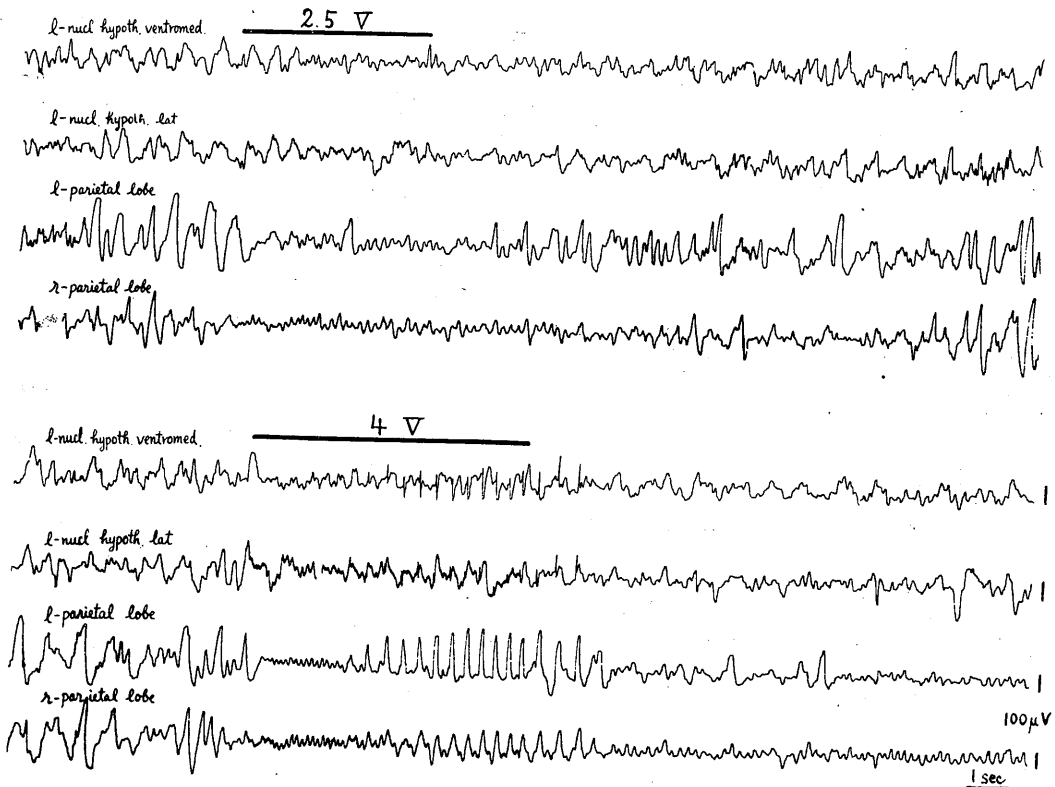


Fig. 4.

Both sides of the cortex were activated by stimulation (1 msec, 100c/sec, 2.5V) of the lateral amygdaloid nucleus, but ventromedial and lateral hypothalamic nuclei were not activated during about 2 seconds from the beginning of stimulation (according to a monopolar recording). Chewing movements were produced by stimulation, but pupils were not changed.

始後4秒までは変化しないが、その後は13-17Hzの波が出現してくる。一方、皮質脳波は両側とも変化しない。刺激による動物の変化は、刺激とともに眼裂を僅かに開け、またごく軽度の散

瞳を認めるのみで刺激終了とともにこれらは元に復し、その後は何の変化もみられなかった。4Vの刺激電圧では刺激により直ちに視床下部脳波も皮質脳波もすべて7-6Hzの規則正しい低

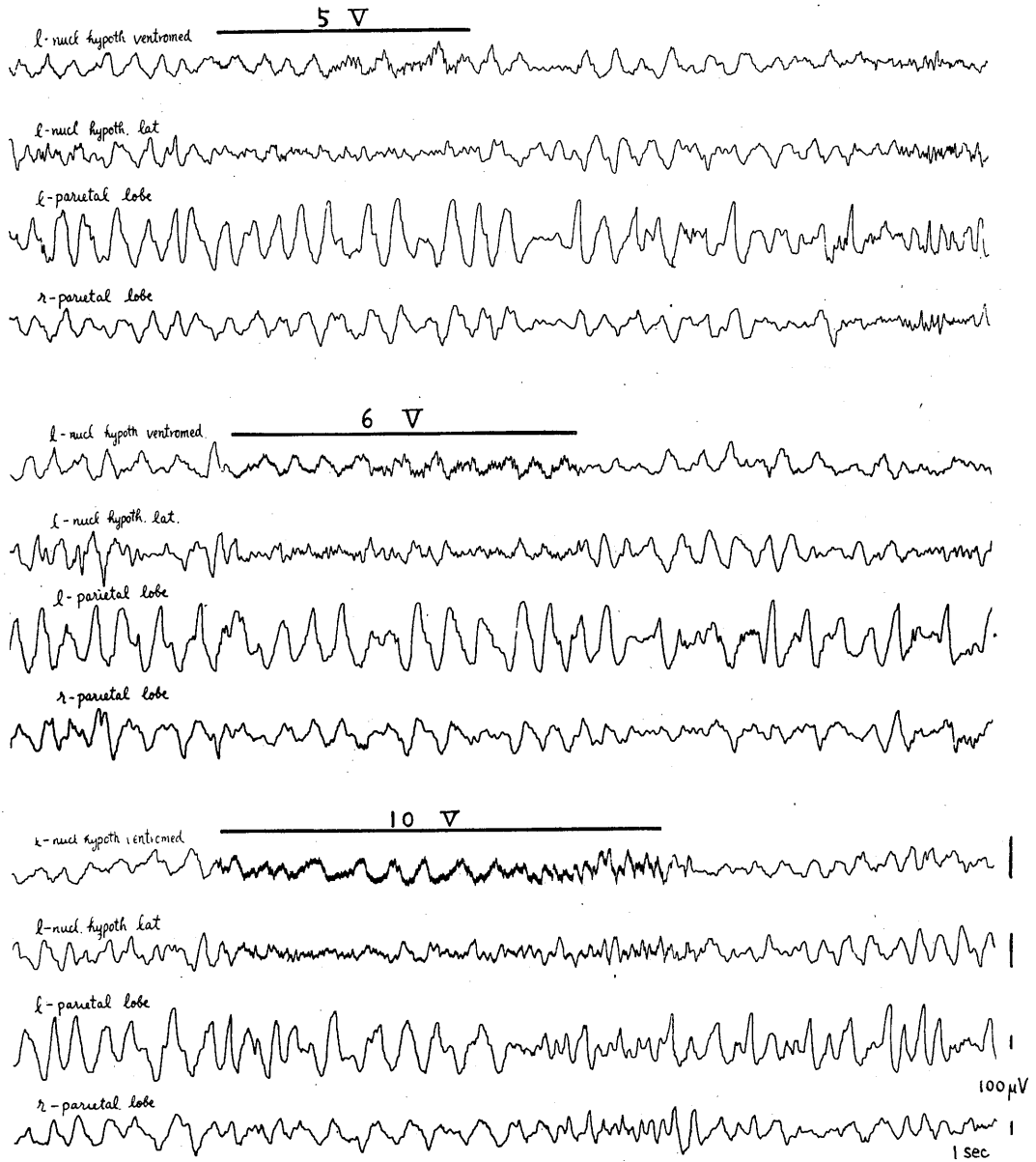


Fig. 5.

Shows a case that the activation response was limited to the lateral hypothalamic nucleus by stimulation (1 msec, 100c/sec, 5V) of the large-celled lateral part of the basal amygdaloid nucleus (according to a bipolar recording). Chewing movements were produced by stimulation, but pupils were not changed.

電位の波となる。しかし 20-15Hz の波の出現は腹内側視床下核に限局しており、また 1 秒間に 2-5 回の高電位棘波の発射に変じた後もこの部位に限局して出現している。しかし刺激開始後 33 秒でこれは外側視床下核および両側の皮質に拡がり同期して出現した。動物の外観上の変化は、刺激により直ちに眼球突出、散瞳が著明にみられ、呼吸の速迫も認められたが、刺激終了とともに元に復しその後は何も変化がみられず極めて平静であった。

b) 分界条の交連上位部の刺激の場合

T 核の背部で分界条が刺激された場合で、この位置では T' 核よりおこる視床前野部は分界条に加っていないから交連上位部のみ刺激されたと考えられる。図 3 にみられるように、1msec, 100c/sec, 2V の刺激では外側視床下核、同側の皮質には殆んど変化がないが、腹内側視床下核の脳波は刺激により直ちに低電位となる。この変化は 1.5 秒後には余り明瞭ではなくなっているが、5.5 秒より 9-10Hz の波が規則正しく出現し、刺激終了直後に 0.5-0.8 秒の間隔で高電位の棘波が 4 回発射されている。動物は刺激とともに眼裂を少し開けたのみであった。4V の刺激電圧では刺激開始後直ちに腹内側および外側視床下核の脳波はともに速波が多くなるが、前者の方が徐波成分が少ない。刺激終了後にみられる高電位棘波は腹内側視床下核に限局しており、それは 5.5 秒おきて外側視床下核にも出現している。両側の皮質脳波は刺激により直ちに 8-9Hz の波に変わっている。外観上の変化は刺激とともに眼球の突出、著明な散瞳ならびに呼吸の速迫がみられたが刺激が終るとともにすぐ元に復した。以上の変化は T 核刺激の際にみた視床下部脳波の変化とほとんどおなじである。

c) M 核刺激の場合

図 4 の例では 1msec, 100c/sec, 1V は閾下刺激である。2V の刺激電圧では上唇を 2 回わずかに動かしたが視床下部および皮質の脳波には変化を認めなかった。2.5V では皮質脳波は両側とも 7Hz の波に変わっているが、腹内側およ

び外側視床下核の脳波はともに刺激開始後 1.5 秒で 4V のせず、その後は 7Hz の波になってい秒まで変化刺激電圧では刺激とともに視床下部および両側の皮質脳波はすべて 8Hz の波に変わり 2.8 秒後より視床下部には 0.4 秒の間隔で棘波が出現する。このとき皮質脳波はこの棘波と同頻度の 150-300 μ V の徐波が出現している。外観上の変化は、刺激により咀嚼運動がみられたが瞳孔の変化はなかった。

d) T' 核刺激の場合

M 核刺激の場合と同じ結果を得た例が多かった (4 例)。しかし 1msec, 100c/sec, 8-10V の刺激で軽度の縮瞳をみた例では図 5 のように視床下部脳波におよぼす影響は特異であった。すなわちこの例では 4V までは閾下刺激であったが、5V では瞳孔の変化はないが上唇を 3 回動かす程度の反応を得た。この際、外側視床下核の脳波は刺激により直ちに低電位速波に変わっているが腹内側視床下核の脳波は変化せず、3.0 秒後より 7-8Hz の波になる。皮質脳波は両側とも変化しない。6V の刺激電圧でも結果は同じである。10V では咀嚼運動がおこった外に軽度の縮瞳がみられたが、脳波の変化は刺激により外側視床下核脳波のみ直ちに低電位速波となるが、腹内側視床下核および皮質脳波は変化せず 7.5 秒後より 8Hz の波に変わっている。

IV. 総括と考案

脳波の徐波成分が減少して速波が増す反応は arousal reaction または activation response と呼ばれ興奮準位の高くなった変化であると考えられており、またそれには動物の種類や状態によって各種の型のあることが知られている (Moruzzi Kaada⁶⁾, 本川⁷⁾)。そこで activation response を目標にして以上の実験成績を総括すると次の如くなる。扁桃核の T 核、または分界条の交連上位部を閾刺激すると、腹内側視床下核のみが直ちに興奮し外側視床下核や皮質の脳波は変化しない。M 核の刺激では皮質は興奮する機会が多いが視床下部脳波はどちらも変化せず、1.5-2.5 秒後に興奮波に変わる。T' 核の刺激

ではM核刺激の場合と同じ結果の例が多いが、また外側視床下核のみが直ちに興奮し腹内側視床下核脳波は変化なく3秒位後に興奮波に変る例もある。

扁桃核刺激により直ちに activation response が視床下部にみられる場合 (図2の2V, 3V; 図5の5V, 6V) それは刺激部位と誘導部位とが非常に密接に連絡しているためであると考えられる。しかしM核刺激の場合のように刺激して1.5-2.5秒後に興奮する場合 (図4の2.5V) は刺激効果が始め他の場所に及び、遠回りして視床下部に達したものと考えられる。特にこのとき多くの例で、刺激すると直ちに同側または対側、あるいは両側の皮質脳波が興奮しているのでこの可能性が大である。一方、T'核刺激の場合 (図5の5V, 6V) に腹内側視床下核の脳波が3秒位おくらせて興奮し始め、またT核刺激の場合 (図2の3V) でも外側視床下核脳波が約4秒後に興奮し始めるが、これは扁桃核の刺激部位より遠回りの連絡があって、それによって誘導部位に刺激効果が遅れて到達したためなのか、あるいは外側視床下核の興奮が隣接して存在する腹内側視床下核を直接に興奮させ、またその反対のことが行われたためであると解すべきなのかは決定出来ない。しかし、少なくとも以上の現象は皮質波の興奮なしでも、起っていることから、たとえ前者の考えを妥当とする連絡路があるとしても、それは大脳皮質を介するものではないと断定出来る。

図2では2V刺激の開始後4秒位して腹内側視床下核脳波に20-15Hz波が著明となり刺激後は1秒間に3-2回の高電位棘波の発射を伴っている。3V刺激ではこの持続時間が更に長くなり、4Vでは刺激開始後33秒でそれが外側視床下核と両側の皮質にも波及してみられる。その後この高電位棘波は全誘導の脳波で同時に消失する場合もあるが、また皮質のものがまず消失し続いて視床下部のが消失する場合もある。またこのとき刺激された扁桃核より脳波を誘導してみると、同期した棘波を含む同じ型の脳波が得られ、視床下部では消失した後もお

扁桃核では5-6秒間棘波の発射が続いている例が得られた。以上のことから、これは刺激によって生じた扁桃核の seizure discharge が視床下部や大脳皮質に波及されたものと解される。扁桃核や梨状葉や海馬などは刺激により容易に seizure discharge を発射することは Kaada⁶⁾, Liberson and Akert⁸⁾, 時実⁹⁾ が述べている通りであるが、この seizure discharge の波及という点よりみても、扁桃核のT核は視床下部の腹内側核に特に密接な関係があることが断定出来る。なおM核刺激の場合、図4の4Vの刺激開始後約3秒より皮質脳波に高電位の徐波が出ている。これは Kaada⁶⁾ が海馬刺激の際に、先に示した型の seizure discharge の外にしばしば1-3Hzの高電位徐波の型の after-discharge が得られると述べているものと同じものである。私共の実験においてはM核あるいはT'核刺激の際にしばしばこのような型の after-discharge が視床下部および皮質にみられたが、また図2のと同じような seizure discharge も得られた。しかしT核刺激の際には3Hz前後の徐波の型の after-discharge が視床下部や皮質にみられる例は経験しなかった。

扁桃核の刺激による自律系および運動系の変化については小池上教授等^{3,4)}の詳細な研究がある。すなわちT核、E核、D核の刺激は交感性の反応を示すが、M核、T'核は多くは自律系の反応なく、むしろ運動系に関係が深い、ただT'核は一部副交感性であると云う。瞳孔反応に関してはT核刺激で眼球突出と著明な散瞳がみられ、M核刺激では多くは効果なく、T'核では散瞳を来すことがあるが吻側部に縮瞳を来す部もあると述べている (吉田¹⁰⁾)。私共も瞳孔の変化をしらべたが同じ結果を得た。また顔面の運動を注意して観察したがM核、T'核、Pam₂の刺激で咀嚼運動や舌なめずりが認められた。一方、T核、E核の刺激ではこのような反応は起らなかった。Kaada⁶⁾は扁桃核あるいはその周辺皮質部の刺激で咀嚼運動を認め、Feindel and Gloor¹¹⁾も承認している。高橋¹²⁾もPam₂の刺激で咀嚼運動の起ることを報告している。

MacLean¹³⁾ の模型図によると、M核、T'核、Pam₂ の刺激で咀嚼運動や舌なめずりを、またT核、E核で嚥下運動の起ることが記されている。しかし彼は自律反応としては扁桃核部を副交感性とし海馬を交感性と考えている。

扁桃核の線維連絡を Marchi 法で研究した大向¹⁾ によると、D,B,T核よりの下行路は分界条の交連上位部を構成して分界条の bed nucleus, 前交連核、中隔領域および視床下部の腹内側核に終ることを窺てみとめた。また Adey and Meyer¹⁴⁾ は扁桃核より分界条をへて腹内側視床下核にいたる線維の存在を猿でみとめている。Gloor¹⁵⁾ は扁桃核刺激による誘発電位を記録してその線維連絡を調べたが cortico-medial 群 (B,D,E核) の刺激により視床下部の腹内側核に著明な反応が得られたと述べている。しかし彼は Johnston に従い T核を baso-lateral 群に入れて考えており、後者の刺激でも腹内側視床下核に反応が得られ、誘発電位の得られる部位に両群で有意の差がないと云う。彼はまた cortico-medial 群の刺激では分界条に短い潜時の反応が得られるが baso-lateral 群の刺激ではそのようなものは得られないと述べている。

このように組織学的にもまた誘発電位法によっても扁桃核の B,D,T核は分界条を介して視床下部の腹内側核に密接な線維連絡を持っていることは明らかである。そして私共は脳波を用いて更に明瞭にこのことを確かめ得た。

又 T'核刺激の場合に外側視床下核を興奮させ腹内側視床下核には影響を与えない例があった。大向¹⁾ は T'核および Pam₂ からは分界条の視束前野部を構成する線維を出して外側視束前野附近に終る事を認めており、堺等²⁾ の外側視束前野の刺激で副交感性反応が得られた実験を考え合すと、この系路を通して外側視床下核に影響を与えるのではないかの考えが成立つ。又M核は分界条の構成に関与しないとの大向の報告は私共の脳波上の研究からも承認される。

V. 結 論

無麻酔家兎の扁桃核を亜核別に電気刺激し視

床下部の腹内側核とその高さにおける外側核の脳波に与える影響を、刺激側と同側で同時記録して研究した。結果は次の通りである。

1) 扁桃核の内側主核 (T) あるいは分界条の交連上位部を刺激すると、腹内側視床下核脳波に直ちに activation response がみられ、また seizure discharge もこの部位に局限して現われるが、外側視床下核脳波は変化しない。

2) 外側主核 (M) の刺激の場合は視床下部脳波は両者とも変化しないか、あるいは2秒前後経過した後 7-8Hz の波に変わる。

3) 中間主核 (T') の刺激の場合はM核刺激の場合と同結果の例が多いが、また外側視床下核脳波にのみ直ちに activation response がみられ、腹内側視床下核脳波は変化せず約3秒経過した後 7-8Hz の波になる例がある。

終りに臨み御指導と御校閲を下さいました黒津教授、伴助教授に深く感謝しますと共に、協力して下さいました大向先生に御礼申します。

文 献

- 1) 大向文子 (1958) 扁桃核群の線維連絡について 解剖誌 **33** (6), 499-522
- 2) 堺・女川・篠田・谷村・清水・伴 (1958) 視束前野と中隔部の自律反応について 日本臨床 **16** (6), 66-84
- 3) 小池上春芳 (1957) Limbic System に関する研究 最新医学 **12** (12), 240-250
- 4) 小池上春芳 (1958) 辺縁系統に関する 2, 3 の問題 日本臨床 **16** (6), 1-16
- 5) Moruzzi, G. and H. W. Magoun (1949) Brain stem reticular formation and activation of the EEG. EEG Clin. Neurophysiol. **1**, 455-473
- 6) Kaada, B. R. (1951) Somato-motor, autonomic and electrocorticographic responses to electrical stimulation of 'rhinecephalic' and other structures in primates, cat and dog. Acta Physiol. Scand. **24** suppl. **83**
- 7) 本川弘一 (1957) 脳波について 医学の動向 第10集 金原出版社 1-20
- 8) Liberson, W. T. and K. Akert (1955) Hippocampal seizure states in guinea pig. EEG Clin. Neurophysiol. **7**, 211-222
- 9) 時実利彦 (1958) 大脳辺縁系の生理 最新医学 **13** (8), 27-50
- 10) 吉田公男 (1953) 扁桃核刺激による散瞳について 新潟医学会誌 **67**, 1036-1053

- 11) Feindel, W. and P. Gloor (1954) Comparison of electrographic effects of stimulation of the amygdala and brainstem reticular formation in cats. *EEG Clin. Neurophysiol.* **6**, 389-402
- 12) 高橋 清 (1952) 扁桃核周辺皮質部に関する実験的研究 *新潟医学会誌* **66**, 660-670
- 13) MacLean, P. D. (1952) Some psychiatric implications of physiological studies on frontotemporal portion of limbic system. *EEG Clin. Neurophysiol.* **4**, 407-418
- 14) Adey, W. R. and M. Meyer (1952) Hippocampal and hypothalamic connections of the temporal lobe in the monkey. *Brain* **75**, 358-384
- 15) Gloor, P. (1955) Electrophysiological studies on the connections of the amygdaloid nucleus in the cat. Part I. *EEG Clin. Neurophysiol.* **7**, 223-242

Summary

The effects on the electrical activities of the ventromedial and lateral hypothalamic nuclei induced by the electrical stimulation of the amygdaloid nuclei were studied in unanesthetized rabbits.

1) In case the small-celled medial part of the basal amygdaloid nucleus was stimulated, the activation response consisting of a low voltage, fast, asynchronous activity was limited to the ventromedial hypothalamic nucleus, and the seizure discharges could be obtained from this nucleus. But the electrical activity of the lateral hypothalamic nucleus was unaffected.

2) In case the supracommissural component of the stria terminalis was stimulated, the results were similar to those of stimulation of the small-celled medial part of the basal amygdaloid nucleus.

3) In case the lateral amygdaloid nucleus was stimulated, both the electrical activities of the ventromedial and lateral hypothalamic nuclei were unaffected or activated after about 2 seconds from the beginning of stimulation.

4) In case the large-celled lateral part of the basal amygdaloid nucleus was stimulated, the results were similar to those of stimulation of the lateral amygdaloid nucleus, or the activation response was limited to the lateral hypothalamic nucleus, and the ventromedial hypothalamic nucleus was not affected during about 3 seconds from the beginning of stimulation.

(Department of Anatomy, Osaka University School of Medicine)

唾液腺の無機塩分泌機転に関する研究 612.313.5

(第1報) 無機塩注入時の唾液塩分分泌の変化について

Studies on Excretory Mechanism of Inorganic Ions from Salivary Gland.

Report I. Effects of Inorganic Salts Infusion on Ionic Excretion from Salivary Gland.

西川和夫 (NISHIKAWA-Kazuo)*

I. 緒言

唾液の分泌機転に関しては Heidenhain¹⁾ 並に Babkin¹⁾ の教室に於いて、多くの学者により広範な研究が行なわれたが、此等の研究の結果液唾腺の分泌機転としては、細胞内にてつくり貯えられたものを放出する作用 (ecbolic effect) と組織液成分を透過せしめて分泌する作用 (hydrelatic effect) の2つある事が明らかになった。

而して本研究の主題である無機塩の分泌は一般に此の内の透過流出作用に属すると考えられている。Gregersen and Ingalls²⁾ や Langstroth, Mc. Rae and Stavrakys³⁾ 等は Na^+ , Cl^- 等の無機塩濃度が唾液の流出速度に比例して高まる事を見たが、高岡⁴⁾⁵⁾⁶⁾ は更にその実験を拡大し、 Na^+ , Cl^- , HCO_3^- , Ca^{++} , 残余窒素等の細胞外液に常在する成分は、唾液流出速度が高まる程濃度が上昇して、血清値に近づく事、併し又 HCO_3^- を除き他の成分は決して血清濃度より以上には達する事はないから、腺細胞の興奮による透過性増大によって組織液より流出したものと考うべきであるとの見解を明らかにした。而して HCO_3^- 濃度のみは分泌興奮の亢進せる場合には血清値より以上に達するから、これは腺細胞内で作られたものが加入する結果であると言う。而して腺興奮時の細胞透過性の亢進は単一な拡散性の増加ではなく、物質の種類によって透過性亢進の程度が異なり、且つ腺細胞のエネルギー消費を伴うものであるから、腺細胞の能効輸送現象によるものである事は井

上⁷⁾ の研究に明らかである。従つてかかる透過現象は色々複雑な過程が含まれているものと推察せられる。例えば耳下、顎下両腺に於いて唾液は常に低張性の状態にて分泌せられるが、これに関して White⁸⁾ や Thaysen⁹⁾¹⁰⁾ 等は Merkel の唾液腺、涙腺等の分泌腺の排泄管の rodDED epitherium の存在と其の分泌液の無機塩濃度の成績を考察し、この細胞に於いて逆吸収が行なわれる為であると論議し、又岩崎¹¹⁾ も腺底部に於いて等張性に近い状態にして分泌された唾液が糸紋部に於いて NaCl , NaHCO_3 の逆吸収を受けて低張性にされると述べている。

この様に唾液無機塩の分泌機転に関して、多くの学者が種々究明せんと努力せるにもかかわらず能効輸送の本能が不明なる為未だ解明の域に達せず多くの憶説によって説明せられている現状である。著者はこの点にかんがみて唾液腺の無機塩分泌機構を解明するには先ず唾液腺の能効輸送現象の特徴を実験的に明確にする事が先決であると考えた。而して無機塩の能効輸送は要するに前記の如く組織液成分が細胞興奮によって透過せられて行く現象であるからこの透過の状況が組織成分の変化によって如何に変わるかを調べる事は能効輸送の本態の究明の最も有力な手掛りと言えるに違いないと考えた。

文献をひもどくに、血液の性状従つて組織液の無機塩の性状と唾液の無機塩分泌との関係を論じたものは余り多くは見られない。今、その2~3の重要なものを引用するに、Hug and Marenzi¹²⁾ (1928) は犬に HCl , H_2SO_4 を静注し実験的に Acidosis を起さしめ Chorda Tympani を刺戟して顎下腺唾液をあつめて分析した結果、却つて唾液 pH は上昇したと報告してい

* 京都府立医科大学第1生理学教室 (吉村寿人教授)
〔昭和34年2月2日受付〕

る。これに対して Benetato and Oprisin¹³⁾ (1932) も亦犬について NaHCO_3 及び NH_4Cl を静注し Alkalosis 並に Acidosis を生ぜしめて唾液pH並に HCO_3^- 濃度の関係を観察したが前者とは反対に Acidosis に際しては唾液pHは低下して HCO_3^- 濃度も減少し Alkalosis の際には pH, HCO_3^- 濃度の上昇を來たすと述べている。我国の渡辺¹⁴⁾ (1940) も血液予備アルカリ量が減じた場合には唾液 pH の低下する事を論じている。又 Beer and Wilson¹⁵⁾ (1932) も種々の塩を静注しこの血液無機塩の組成の変化が唾液に及ぼす影響を観察したが、 NaCl , KCl , KCO_3 注入時には唾液には何等の影響が現われず、 CaCl_2 , NaCO_3 注入時に此等塩分の唾液濃度の上昇を來たしたと言う。この様に血液中の塩分濃度と唾液の塩分分泌との関係は諸家によって意見は色々であって、一定の成績が得られていない。而して此等の成績を見るに残念な事に総て唾液流出速度の無機塩濃度に及ぼす影響を考慮していない。ただ近時 Burgen¹⁶⁾ (1956) が彼の言う Steady state に於ける唾液 K^+ 濃度が血液の濃度に順相関をなす事を観察した成績があるが、これは唾液流出速度の影響を十分に考慮した実験であって、殆んど此れが唯一の正確な実験と言ってもよい。即ち無機塩濃度が唾液流出速度の著明な影響を受くる事実は今迄度々指摘した通りであるから、唾液の無機塩分泌の研究には必らず其の影響を除いて血液組成との関係を論じなければならないのである。

この様な観点よりすれば、従来の研究は殆んどかえり見る必要が無いと言っても過言ではない。これが著者が本研究を企てた所以であって従来の研究に拘らず再び種々の塩を血管内に注入し其の濃度の変化を生ぜしめ、それに伴う唾液組成の変化を比較観察し、唾液分泌機転に考察を加えんとした。

II. 実験方法

実験動物としては4匹の成犬(体重6.1kg~10.4kg)を用い、先ずこれに後記の手術方法によって一側の耳下腺及び顎下腺の永久瘻をつく

って採唾可能となし、その手術創が十分に治癒した後に実験に供した。

実験に際しては、犬をチクロパン曹達(0.075g/kg)の注射によって麻酔して行ない、唾液の分泌には総て1%塩酸ピロカルピン溶液の注射(0.05cc/kg)を用いた。そして最初各犬について普通の食餌の下に何等の塩類注射を加える事なくして対照実験を行ない、その血液性状及び唾液流出速度を測定した。かくして約1週間犬を休ませてから再びこの犬に諸種塩類溶液の静脈内持続注入を行ない、その時のピロカルピン唾液について同様の観察を行なったのである。ここに得たる実験成績について総て唾液の流出速度と唾液中の塩分濃度又は塩分排泄量との関係を求め、これを対照実験と塩分注入実験とについて相比較した。そして唾液の流出速度を等しくする場合に於いて果して血液の塩分濃度が唾液中の塩分分泌に影響するや否やを検討したのである。以上が実験のやり方の大要であって以下その細部につき項目別に説明する。

1. 唾液の採集法

唾液永久瘻管のつくり方については既に森¹⁷⁾が記載しているから、ここには繰返さない。ただ顎下腺の永久瘻をつくるに当っては、顎下腺と舌下腺の排泄管が末梢で同一導管となり開口する為に、瘻孔作成後：舌下腺導管のみは再手術により結索切断し、顎下腺のみの永久瘻となす必要がある。唾液採集の為には、森が述べた様に耳下腺及び顎下腺の導管の開口部に硝子製の採集管を接着せしめる。そしてこれに約10cmの細いビニール管を接続して流動パラフィン1cm以上を満せる目盛附試験管(採唾管)の中に導き、出来る限り空気に触れる事なく唾液を採集した。

唾液は何等刺激を加える事なくして僅かずつ分泌されてはいるが、到底流出速度とイオン組成の関係を見る程度には分泌量が余りにも少ない。故に本実験にては常にピロカルピンを注射した後に採唾する事にした。唾液は注射後3~5分にして急激な分泌を始める故に4~10分毎に耳下腺並に顎下腺唾液を夫々同時に採集し通

常約90分間連続採集した。しかし分泌量が少なく測定に不充分なる場合には20分に渡り採集せる場合もあった。

2. 塩溶液の血管注入法

注入に用いた塩溶液は、10%NaCl, 4%KCl, 5%NaHCO₃の3種であって、夫々同一の犬に対し日を別にして各塩溶液の注入実験を行なった。注入に当っては我が教室で考案せる持続注入器を使用して大伏在静脈より、唾液採集を開始する1時間前より注入を始めた。注入速度は10%NaClでは0.14cc/kg/分、4%KClでは0.07cc/kg分、5%NaHCO₃では0.12cc/kg/分である。かくして此等塩類の血中濃度が十分に上昇せる時期(約1時間注入後)に於いてピロカルピンを注射して、唾液採集を開始した。そして採唾中はその血中濃度が出来る限り一定に保たれる様に注入速度を減じて、10%NaClでは0.07cc/kg分、4%KClでは0.4cc/kg分、5%NaHCO₃では0.07cc/kg/分として常に注入を持続した。

3. 血液の採集法と血液及び唾液性状の測定法

唾液採集実験に当っては先ず麻酔せる犬の頸静脈より血液を採集した後に、これに塩溶液注入を行なうか、又は塩溶液注入を行なわない時にはそのままピロカルピン注射に移った。かくしてピロカルピンを注射して後20~30分毎に血液を採集し、約90分の唾液採集が終る迄続ける。唾液の採集方法については既に述べた。

この様にして採集せる唾液については、採唾管中の唾液量を読んで、その流出速度を算出し又唾液pH総炭酸濃度、更にNa⁺, K⁺, Cl⁻の如き無機塩濃度を測定した。けだし高岡⁵⁾⁶⁾によれば唾液無機塩の主要部分はこの4つの成分よりなるものであるから、これによって唾液の無機塩組成の大要をつくす事が出来る。一方血液は採血後直ちに流動パラフィンを入れた遠沈管にて遠心沈澱し、その血清を分離し、これについて、pH, 総炭酸濃度, Na⁺, K⁺, Cl⁻等を測定した。

此等諸項目の測定方法としては、pHは吉村

式微量硝子電極¹⁸⁾を使用し、総炭酸濃度は斎藤式微量瓦斯分析器¹⁹⁾を使用し、この際唾液については松田²⁰⁾の試薬を用いた。又ここに測定したpHより Henderson-Hasselbalch 式を用い、血清についてはPK'=6.10 (37°C), 唾液については、PK'=6.22²⁰⁾ (37°C)を用いて、炭酸瓦斯分圧Pco₂を算定した。Bunsenの吸収率は血清については、 $\alpha=0.550$, 唾液については、 $\alpha=0.545$ とした。

Na⁺, K⁺の測定は Lange の Flame photometer²¹⁾を使用して測定し、Cl⁻は Schales and Schales の変法²²⁾にて測定した。

III. 実験成績

実験は4匹の犬についてNaCl, KCl, NaHCO₃の3種の塩溶液の血管内注入の効果を見たものであるから、これを注入せる塩溶液の種類に従って分けて述べる。又実験は主として顎下腺について行ない、耳下腺については要点のみを実験したに過ぎないから、実験成績は、最初に顎下腺について説明し、最後に耳下腺についてまとめて述べる事にする。

1. NaCl 注入実験

a) 顎下腺唾液

第1図は1%塩酸ピロカルピンを0.05cc/kgの割合にて皮下注射し、犬唾液腺の分泌を亢進せしめた時の顎下腺唾液の流出速度、pH, 総炭酸濃度、Na⁺, K⁺, Cl⁻濃度、並にその場合の血清の性状を注射後の時間の順に経過を追って曲線となせしものである。而して図の中実の丸で示せるものは食塩水の静注を行なう事なくして行なった対照実験の成績であり、中空の丸を破線にてつないだものは同一犬に10%NaClをピロカルピン注射約1時間前より血管内に持続注入して血液Na⁺及びCl⁻濃度の上昇を計った場合の成績である。この実験に於いては注入速度は最初は0.14cc/kg/分とし、ピロカルピン注射後は0.07cc/kg/分として出来る限り血清中のNaCl濃度を一定に保たしめんと試みた。図示の如く、血清NaCl濃度はピロカルピン注射前より可なりに上昇し注射後は略一定に保たれて

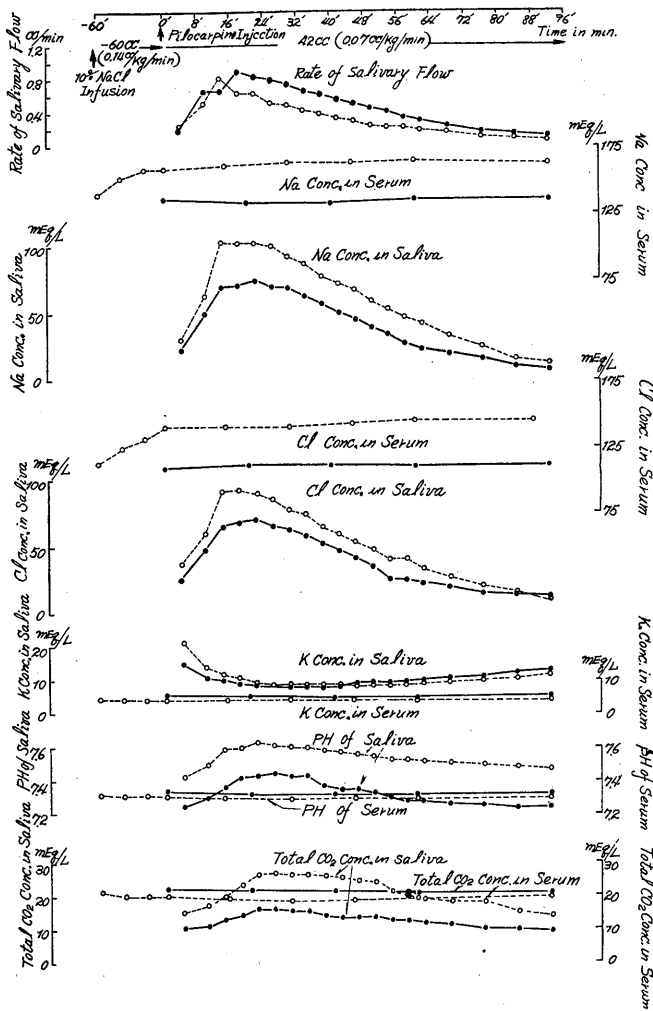


Fig. 1. Rate of Salivary Flow and Ionic Concentration in Submaxillary Saliva after pilocarpine Injection and Ionic Concentration in Serum
 —●— Control Exp. ○····○ Exp. of 10% NaCl Infusion

いて対照に比較すると約30mM程高くなっている。但しpHやK⁺濃度には NaCl 注射の影響は現れず、ただ僅かに総炭酸濃度が NaCl 溶液の注入によって低下している。これは恐らく稀釈の影響であろう。一方唾液の流出速度を見るに対照例、NaCl 注入例共にピロカルピン注射後10~20分にて急速に最高値に達し、その後次第に減少する。而して注入例と対照例を比較するに大差を見ない。むしろ NaCl 注入例に於いてやや流出速度減少の傾向を認める。しかるに

NaCl 濃度について見るに、これは唾液流出速度に伴って変化しているが、対照例に比して NaCl 注入例の方が明らかに上昇し、特に流出速度の高い部分に於いて顕著であった。K⁺濃度は唾液分泌の最初はやや高いのであるが唾液流出速度が増すにつれて漸次減少し、流出速度の高い部分では最低値にて恒定する。而して NaCl 注入によって殆んど影響せられる所がない。唾液pH、総炭酸濃度は NaCl と同様に唾液流出速度に従って変化する傾向を示し、且つ NaCl 注入例の方が対照例よりも高くなっている。

以上の如く唾液の組成は可成り強く唾液流出速度の影響を受けるものであるから、次に此等の唾液性状を唾液流出速度に対して図示したものが第2図である。前と同様に中実の丸で示せるものは、対照実験の成績であり、中空の丸を破線にて結んだものが NaCl 注入実験の成績である。図示の如く Na⁺、Cl⁻、総炭酸濃度、pH等は何れも高岡⁴⁾⁵⁾⁶⁾、岩崎等¹¹⁾¹⁷⁾の指摘した如くに唾液流出速度に平行して変化し、或る点に於いて略最大

値に到達しているのである。逆に K⁺ は流出速度の低い範囲にて高い値を示し、流出速度が一定度以上大となれば、最低の一定値に止まる事となる。PCO₂ は高岡⁴⁾⁵⁾⁶⁾の指摘した如く流出速度に殆んど関係しない。此等の唾液組成の図の右側にヒストグラムにて示した血清組成(対照実験及び NaCl 注入実験に於ける血清イオン濃度の恒定値の平均値)との関係を見るに、Na⁺、Cl⁻は何れも血清濃度より唾液濃度の方が格段に低い、総炭酸濃度の最大値や、PCO₂

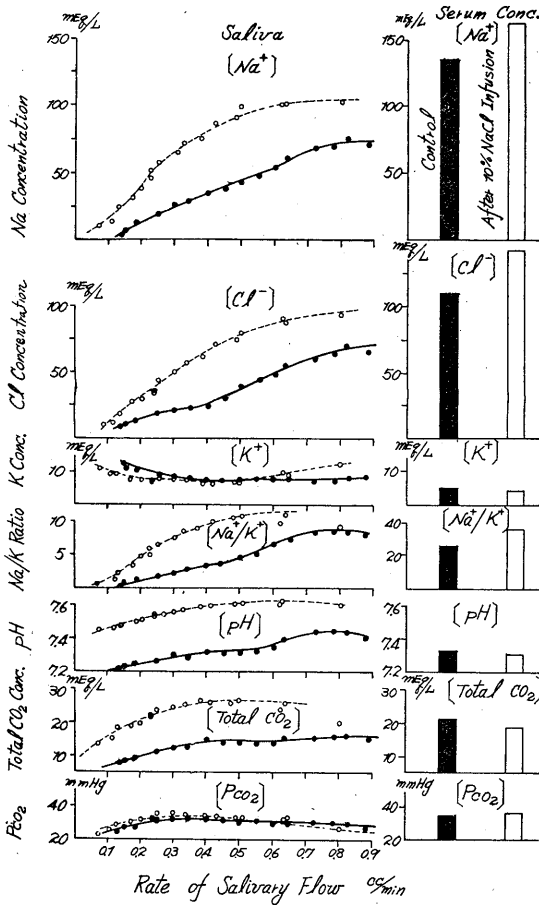


Fig. 2. Effect of 10% NaCl Infusion on Salivary Excretion (Pilocarpine Saliva from Submaxillary Gland)

●—● Control Exp.
○—○ Exp. of 10% NaCl Infusion.

は血清の夫に近づいている。併し唾液 pH の最大値は血液の夫を遙かに凌駕し、又 K^+ 濃度も血清の夫を越えている。此等の成績は先に岩崎¹¹⁾が報告したものと同様である。

次に NaCl 注入時の成績を見るに唾液流出速度と唾液組成との関係は対照と同様である。併しその濃度の値は対照例と相当に異なり、 Na^+ 、 Cl^- はその最高値に於いて23~28mMの上昇を示し、その他総炭酸濃度や pH もその最高値に於いて対照を凌駕している。ただ K^+ 濃度は注入例と対照とは大差なく、従って Na^+/K^+ 比は流出速度の全範囲に渉って対照値より増加している。又 P_{CO_2} は本例では

対照と殆んど変りないが、他の例では上昇したり低下したりして、一定の傾向を示さない。一方血清濃度は、NaCl 注入によって Na^+ 及び Cl^- は約30mMの上昇を来たし、唾液中の Na^+ 濃度の上昇と略等しい事は興味深い。又

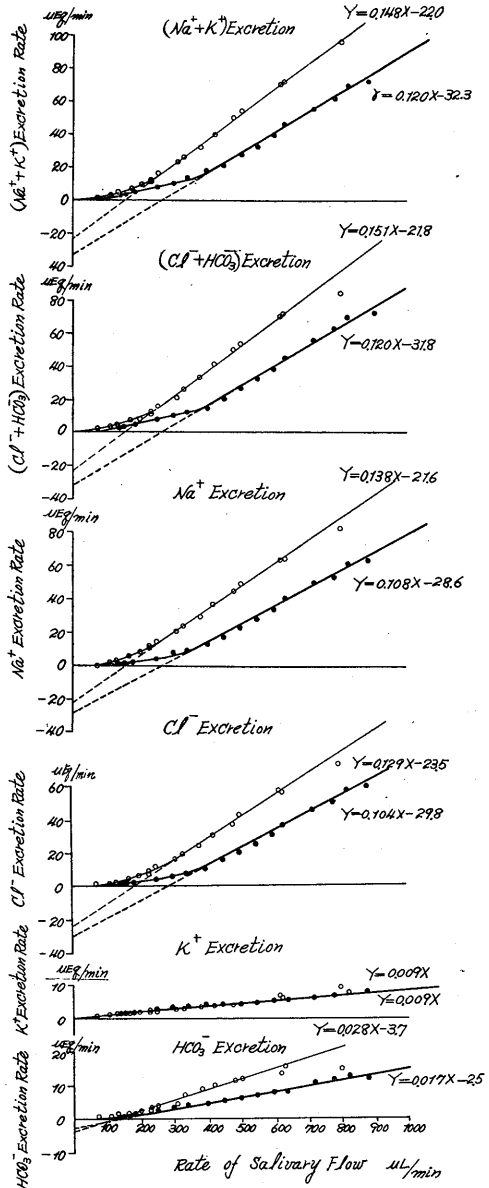


Fig. 3. Rate of Salivary Flow and of Ionic Excretion from Submaxillary Gland

●—● Control Exp.
○—○ Exp. of 10% NaCl Infusion

血清K⁺濃度やpHには著変なく、総炭酸濃度は反って稀釈によって低下する事は前記の如くである。血清Na⁺/K⁺比はNaCl注入によって明かに上昇している。又Pco₂は唾液と同様上昇したり低下したりして一定の成績を示さず、唾液のPco₂はこの血清Pco₂の変化に従ったものである。

要するにNaClの血管内注入によって唾液のNaCl濃度は直ちにこれに反応して、血清濃度上昇に近い値に迄著明な上昇を示し、pHや総炭酸濃度、従ってHCO₃⁻濃度もこれに伴って若干上昇しているのである。

Thaysen⁹⁾¹⁰⁾や岩崎¹¹⁾はこの様な唾液流出速度とイオン分泌速度との関係を解析する為に、唾液流出速度とNa⁺, Cl⁻, HCO₃⁻, K⁺の分泌速度の関係を画いているから、著者もそれにならって、上記の成績をイオン分泌速度の図に直して見た。それが第3図であって、イオン分泌速度とは1分間当りの唾液分泌量に其のイオン濃度を乗じて算出せるものである。図示の如く唾液流出速度とイオン分泌速度は明かに順相関を示し、且つ唾液流出速度の高い範囲では両者は略直線関係を示している。而して岩崎¹¹⁾によればこの直線部分の回帰係数は唾液腺の底部より分泌せられる原唾液のイオン濃度であって、これが導管を通る途中に条紋部に於いてイオンの逆吸収を受ける為に直線は流出速度の低い範囲にて曲って来る。而して図の原点を通る回帰直線に平行な直線を描く時は、この線と実験せる分泌速度の回帰線との差は導管にて逆吸収を受けたイオン量に相当すると言う。従って逆吸収量はイオン分泌速度に

比例するが、或る一定値に於いて最大値に達して一定する。この値は回帰線がY軸を切る座標に相当し、回帰線の式の右辺第2項の負の恒数(これを第2恒数と仮称する)に当たっている。但しK⁺の場合にはこの恒数はむしろ正となるのであるが、これは前記の如く唾液分泌の当初に於いて細胞内K⁺が多量に分泌して来る為である。従って組織液を材料とするK⁺の分泌はむしろその濃度が恒定した所に相当しているから回帰線を求めるに当ってはこの最低部の濃度(第2図参照)をとる事にした。

先ず本図についてNaClを注入しない対照実験に於ける顎下腺唾液の陽イオン総量(Na⁺+K⁺)と陰イオン総量(Cl⁻+HCO₃⁻)についてその分泌速度と流出速度との関係を見るに、図示の如く、これは流出速度の高い部分に於いて直線関係を示し、その直線部の回帰係数は陽イオン、陰イオン共に0.12である。この事は、岩崎¹¹⁾等の所論に従えば、唾液の総イオン濃度は唾液流出速度の激しい範囲にあっては血漿の総イオン濃度(0.30 Osmol)に近いが、併し若

Table 1. Regression Lines of Ionic Excretion Rate (Y) from Submaxillary Gland related with Rate of Salivary Flow (X)

		Na ⁺	K ⁺	Cl ⁻	HCO ₃ ⁻	Na ⁺ +K ⁺	Cl ⁻ +HCO ₃ ⁻
Dog	Control Exp	$Y=0.108X-286^*$	$=0.009X$	$=0.104X-298$	$=0.017X-25$	$=0.120X-323$	$=0.120X-318$
	10% NaCl Infu. (0.1cc/kg/min)	$=0.138X-216$	$=0.009X$	$=0.129X-235$	$=0.028X-37$	$=0.148X-220$	$=0.151X-228$
I	10% NaCl Infu. (0.18 cc/kg/min)	$=0.151X-190$	$=0.010X$	$=0.136X-194$	$=0.028X-22$	$=0.160X-185$	$=0.160X-196$
	Control Exp	$=0.100X-198$	$=0.007X$	$=0.096X-197$	$=0.016X-06$	$=0.107X-192$	$=0.116X-220$
Dog	10% NaCl Infu. (0.16cc/kg/min)	$=0.137X-198$	$=0.006X$	$=0.129X-187$	$=0.024X-05$	$=0.148X-183$	$=0.152X-194$
	Control Exp	$=0.131X-153$	$=0.007X$	$=0.115X-165$	$=0.018X-04$	$=0.141X-163$	$=0.142X-157$
Dog	10% NaCl Infu. (0.14 cc/kg/min)	$=0.140X-160$	$=0.005X$	$=0.131X-158$	$=0.021X-23$	$=0.155X-182$	$=0.152X-179$
	Control Exp	$=0.107X-218$	$=0.007X$	$=0.096X-191$	$=0.033X-23$	$=0.116X-221$	$=0.128X-255$
Dog	10% NaCl Infu. (0.14 cc/kg/min)	$=0.120X-174$	$=0.008X$	$=0.110X-172$	$=0.042X-06$	$=0.127X-188$	$=0.138X-198$
	Control Exp	$=0.104X-213$	$=0.006X$	$=0.089X-190$	$=0.027X-11$	$=0.110X-208$	$=0.101X-205$
Dog	10% NaCl Infu. (0.09 cc/kg/min)	$=0.109X-196$	$=0.008X$	$=0.093X-172$	$=0.024X-12$	$=0.120X-209$	$=0.119X-187$
	10% NaCl Infu. (0.18 cc/kg/min)	$=0.179X-217$	$=0.007X$	$=0.102X-176$	$=0.026X-14$	$=0.134X-234$	$=0.124X-172$
	10% NaCl Infu. (0.3 cc/kg/min)	$=0.127X-143$	$=0.008X$	$=0.105X-178$	$=0.028X-12$	$=0.140X-135$	$=0.132X-178$
Mean	Control Exp	$=0.110X-214$	$=0.007X$	$=0.100X-208$	$=0.021X-14$	$=0.119X-222$	$=0.122X-231$
	10% NaCl Infu. (0.14 cc/kg/min)	$=0.134X-182$	$=0.007X$	$=0.125X-186$	$=0.029X-15$	$=0.145X-193$	$=0.148X-200$
Iwasaki's data		$=0.117X-232$	$=0.008X$	$=0.096X-192$	$=0.046X-108$	$=0.124X-224$	$=0.136X-264$

* means that the difference from the Control value is statistically significant at 5% level.

干低い事を物語る。この事は既に岩崎も指摘した所である。又回帰線の第2恒数も岩崎の成績と略一致する。併し Na^+ , K^+ , Cl^- , HCO_3^- 等の個々のイオン分泌速度と唾液流出速度との関係は岩崎の成績に一致したものもあり、せぬものもある。この直線部分の回帰線の回帰係数と第2恒数は第1表に示した。岩崎の原著に於いては、顎下腺 1g 当りの唾液分泌量について計算せられているが、著者の場合には全顎下腺についての成績であるから、これを一致せしめる為に岩崎の成績を顎下腺の平均重量 4g の値に換算して表に示した。表記の如く Na^+ , K^+ , Cl^- 等のイオン分泌速度の回帰係数は岩崎の成績と略一致し、これより原唾液中の濃度を推定すると、 Na^+ , Cl^- の濃度は血清中の濃度よりも若干低いが K^+ は逆に血清よりも高い。併し HCO_3^- の分泌速度は岩崎の成績よりもやや低目の傾向があり、回帰係数より推定せられる原唾液中の濃度は血清濃度に略近い。

回帰線の第2恒数についても、 Na^+ , Cl^- 、及び陽イオン総量や陰イオン総量の回帰線については岩崎の成績と略一致するが HCO_3^- については、可なりに差があり、著者の成績の方が遙かに少ない値を示す。これは岩崎の用いた犬はピロカルピン注射実験の直前に唾液瘻を作ったものであるのに対し、著者の犬は永久瘻を作ったものであるから、その為に唾液腺に何等かの変化が起って、かかる差を生じたのかも知れぬ。

次に NaCl 注入実験 (0.14cc/kg/分) の成績を見るに、第3図に示した如く、陽イオン総量 ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$) の分泌に於いても、陰イオン総量 ($\text{Cl}^- + \text{HCO}_3^-$) に於いても共にその分泌速度が対照より増大し、且つその直線部分の回帰線の回帰係数は0.15となって増加している。併し第2

恒数の値は対照値より反って減少の傾向にある。この様なイオン分泌の増加は主として Na^+ と Cl^- の分泌の増加によるものであり、 HCO_3^- の分泌も亦若干増加している。併し K^+ の分泌は変化していない。此等イオン分泌の回帰線の式は、第1表の各犬の対照実験値の下に附記したが、上記の関係が回帰線の式にもよく現われている。即ち Na^+ , Cl^- , HCO_3^- 等は何れも NaCl 注入例ではその回帰係数が増加している。しかして此等変化のあるものについての平均値を推計学的²³⁾に対照値と比較するに、 HCO_3^- を除いては何れも5%以下の危険率で有意であった。第2恒数は Na^+ , Cl^- 共にやや低下の傾向がある外は、 HCO_3^- については大差なく、何れも平均値に於いて推計学的な差はみられなかった。

NaCl 注入実験の平均値は0.14cc/kg/分の注入実験の成績についての平均であるが、今1例の犬について、 NaCl 注入速度を0.09cc/kg/分、0.18cc/kg/分、0.30cc/kg/分の3段に惹起せしめて同様の実験を行なって見た。表の Dog V の

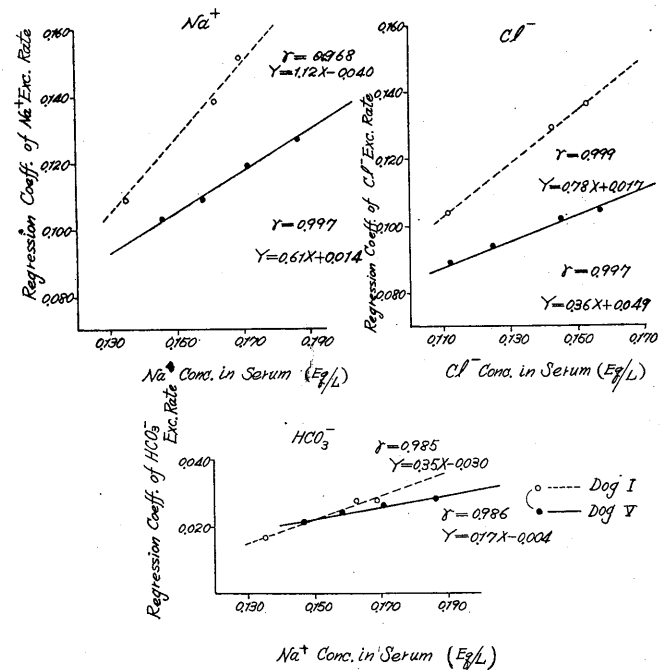


Fig. 4. Regression Coefficient of Ionic Excretion Rate from Submaxillary Gland and Ionic Concentration in Serum.

成績がこれであって、唾液 Na^+ , Cl^- , HCO_3^- 及び $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)$, $(\text{Cl}^- + \text{HCO}_3^-)$ の何れに於いても NaCl の血中注入速度の増す程回帰線の傾斜が増大している。但し K^+ の分泌には影響のない事は前記の通りである。又第2恒数も、 Na^+ , Cl^- 等については低下の傾向は認めるがそれ程規則正しいものではない。 HCO_3^- の第2恒数には大差は見られなかった。

以上の如くに唾液の分泌せられるイオン量が NaCl 注入速度の増加に伴って増加する事は、血清中の Na^+ , Cl^- 等のイオン濃度が唾液のイオン分泌速度に影響する事を物語っている。そこで、血清の Na^+ , Cl^- , HCO_3^- 等の濃度と此等のイオン唾液中への分泌の回帰係数との関係を図示して見た。これが第4図の成績であって Na^+ 及び Cl^- の回帰係数は、血清 Na^+ 及び Cl^- 濃度の増加に平行して上昇し、両者の関係は非常によい相関を示す。併しその傾斜は犬により異なり、かならずしも此等の血清イオン濃度が唾液のイオン分泌に及ぼす影響は、すべての犬について同じものではない事が知れる。併しその値が $0.61 \sim 1.12$ であって、何れも1に近いものであると言えるであろう。岩崎等によれば唾液のイオン分泌速度との相関関係の回帰係数は腺底部より分泌せられたままの原唾液のイオン濃度に相当すると言うが、この考えに従えば、この原唾液の Na^+ 濃度は血清 Na^+ 濃度に正比例していると言えるであろう。同様の事は Cl^- についても言えるが、併しその回帰線の傾斜は図示の如く $0.36 \sim 0.78$ であって Na^+ 程には高くない。興味深い事は HCO_3^- の分泌速度の回帰係数と血清 Na^+ 濃度の関係も Na^+ 及び Cl^- と同様に相関を示し、血清 Na^+ 濃度の増加と共に回帰係数は上昇する。併しこの場合の傾斜は図示の如く $0.17 \sim 0.35$ であって甚だ低い。この事は血清 Na^+ 濃度の変化による原唾液中の HCO_3^- 分泌濃度の変化がそれ程大きいものではない事を示す。

b) 耳下腺唾液

今迄顎下腺唾液の成績について述べて来た

が、次に耳下腺の成績について説明する。耳下腺に於いても顎下腺の場合と同様に Na^+ , Cl^- , HCO_3^- , pH 等の濃度は唾液流出速度と関係が深く、流出速度が高い程イオンの分泌も高くなり、又 K^+ は流出速度とは殆んど無関係(最初はやや減少)に一定している。又 NaCl の血管内注入を行なって見ると Na^+ 及び Cl^- 濃度、並びに Na^+/K^+ 比は著明に増加し、総炭酸濃度並びに pH も明らかに対照より上昇する事も顎下腺唾液とよく似ている。

第5図はこの耳下腺唾液の成績の1例を示したものであって、第3図と同じ様に、その横軸は唾液流出速度であり、縦軸はイオン分泌速度である。先ず NaCl を注入しない対照の実験成績(中実の丸)を見るに、陽イオン総量 (Na^+

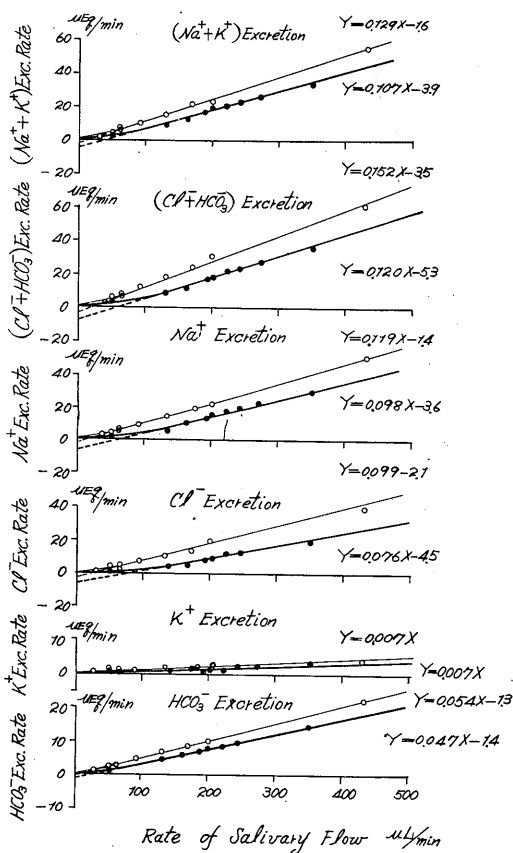


Fig. 5. Rate of Salivary Flow and of Ionic Excretion from Parotid Gland.

●—● Control Exp.
○····○ Exp. of 10% NaCl Infusion

Table 2. Regression Lines of Ionic Excretion Rate (Y) from Parotid Gland related with Rate of Salivary Flow (X)

		Na ⁺	K ⁺	Cl ⁻	HCO ₃ ⁻	Na ⁺ +K ⁺	Cl ⁻ +HCO ₃ ⁻
Dog I	Control Exp	Y=0.080X-24	= 0.010X	=0.063X-24	=0.033X-1.1	=0.087X-23	=0.097X-2.7
	10% NaCl Infu. (0.14cc/kg/min)	=0.097X-28	= 0.010X	=0.077X-24	=0.048X-1.4	=0.114X-26	=0.125X-2.6
Dog II	Control Exp	=0.087X-3.7	= 0.009X	=0.073X-2.3	=0.035X-1.6	=0.075X-3.0	=0.110X-3.0
	10% NaCl Infu. (0.14cc/kg/min)	=0.114X-2.7	= 0.007X	=0.090X-2.2	=0.046X-1.4	=0.128X-2.4	=0.142X-3.0
Dog III	Control Exp	=0.098X-3.6	= 0.007X	=0.076X-4.5	=0.047X-1.4	=0.107X-3.9	=0.120X-5.3
	10% NaCl Infu. (0.14cc/kg/min)	=0.119X-1.4	= 0.007X	=0.099X-2.1	=0.054X-1.3	=0.129X-1.6	=0.152X-3.5
Mean	Control Exp	=0.088X-3.0	= 0.009X	=0.071X-3.1	=0.038X-1.4	=0.096X-3.1	=0.109X-3.7
	10% NaCl Infu. (0.14cc/kg/min)	=0.111X-2.3	= 0.008X	=0.089X-2.2	=0.049X-1.4	=0.124X-2.2	=0.140X-3.0
Iwasaki's Data		=0.113X-1.6	= 0.007X	=0.065X-6.7	=0.062X-5.3	=0.114X-10.2	=0.124X-11.2

* means that the difference from Control value is statistically significant at 5% level, while the value with ** is significant at 1% level.

+K⁺) 並びに陰イオン総量 (Cl⁻+HCO₃⁻) は唾液流出速度の高い範囲に於いては、イオン分泌速度と唾液流出速度の関係は直線的であり、両者の回帰係数は殆んど差が無い。併し犬によって可なり差があり 0.09 より 0.12 (第2表の対照実験の成績を見よ) である。この値は岩崎の成績に比しやや低く、血清に比しても若干低張性である。又回帰線式の第2恒数も岩崎のそれに比して低い。而して陽イオンの分泌は主として顎下腺と同様に Na⁺ の分泌によるものであるが、陰イオンの場合では顎下腺唾液に比して HCO₃⁻ の分泌が多く、その値は Cl⁻ の分泌速度と殆んど差がなかった。従って耳下腺の原唾液の NaCl 濃度は血清よりも可なり低いが、HCO₃⁻ 濃度は逆に高いと言えよう。但しこの場合にも Na⁺ 及び HCO₃⁻ の回帰係数は岩崎の成績よりも可なり低く、第2恒数も亦可なり低かった。これは前述せる様に著者の実験が永久瘻による為に、耳下腺に何らかの変化が起った為であるかも知れない。

次に NaCl 溶液の血管内注入の成績は図の中空の丸にて示されているが、耳下腺に於いても顎下腺の場合と同様に陽イオン総量 (Na⁺+K⁺) 並びに陰イオン総量 (Cl⁻+HCO₃⁻) の回帰係数は対照に比して著明に増加した。これは第2表の成績に於いても見られる。イオン分泌の増加は顎下腺の場合と同様に、主として Na⁺ 及び

Cl⁻ の分泌の増加によるものである。而して HCO₃⁻ の分泌も亦増加するが僅かであり、又 K⁺ の分泌には NaCl 注入により変化は見られなかった。又一方第2恒数も Na⁺ 及び Cl⁻ 共にやや低下の傾向が見られたが、HCO₃⁻ には変化は無かった。

この様な NaCl 注入の影響は顎下腺の成績と同じであり、耳下腺に於いても分泌されるイオン量が血清の Na⁺ 及び Cl⁻ 等のイオン濃度に明らかに影響されている事を知る。

このイオン分泌速度と唾液流出速度との相関関係の回帰係数と血清イオン濃度との関係は例数が少ない為に正確に判らないが、対照値と 10% NaCl 注入例の2例の測定値より求めた所では、その関係線の傾斜は Na⁺ では 0.41~1.35, Cl⁻ では 0.56~0.87 であって、顎下腺唾液と大差がない。

2. KCl 注入実験

a) 顎下腺唾液

KCl 溶液の血管内注入の唾液イオン分泌に及ぼす影響については Burgen¹⁶⁾ が詳細な報告を行なっているが、これを確かめる意味にて著者も同様の実験を行なってみた。即ち前記の如く顎下腺瘻管をつくった犬をチクロパンにて麻酔し、これに 4% KCl 溶液を 0.07cc/kg/分の速度にて注入して、血清 K⁺ 濃度を上昇する。約1時間注入して血清 K⁺ 濃度が上昇した頃よりピロカルピンを皮下注射して唾液を分泌せしめ、それ以後は注入速度を 0.04cc/kg/分におとす。かくする事により血清 K⁺ 濃度を略一定程度上昇した状態におく事が出来る。かくしてピロカルピン射後は 5~10 分毎に唾液を採集し、その流出速度と共に Na⁺, K⁺, Cl⁻ 濃度並びに pH, 総炭注酸濃度を測定した。この成績を整理して唾液流出速度と唾液組成との関係の1例を示したのが

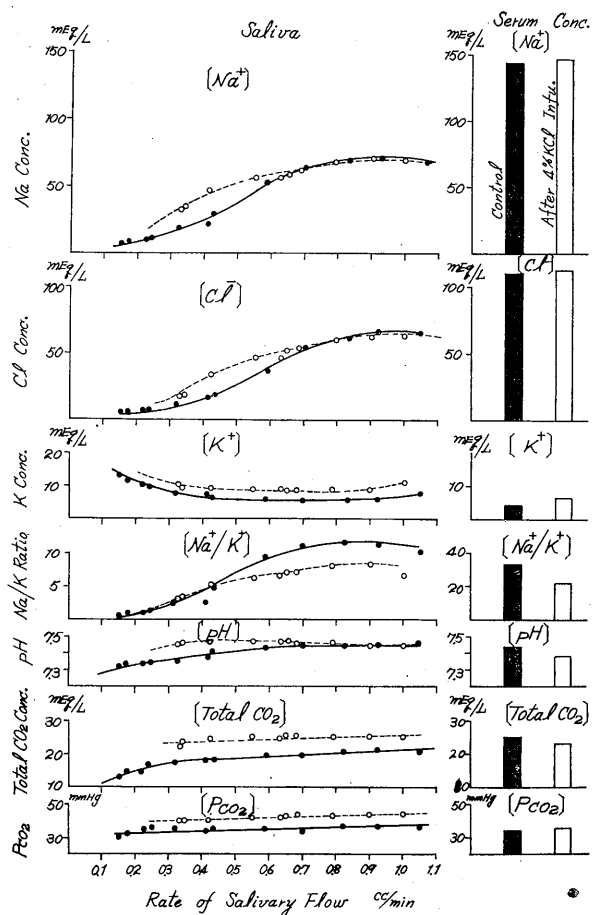


Fig. 6. Effect of 4% KCl Infusion on Salivary Excretion.
(Pilocarpine Saliva from Submaxillary Gland)

●—● Control Exp. ○····○ Exp. of 4% KCl Infusion

第6図である。但し図中の中実の丸はKClを注入せずしてピロカルピン注射のみによる唾液の性状であって、対照値である。同じ犬についてのKCl注入実験の成績は中空の丸にて示される。又図の右側に示したのは血清中のイオン濃度であって、黒く塗った棒図はKClを注入しない対照実験に於ける血清濃度の平均値である。図示の如く、血清の Na^+ 濃度はKCl注入によって変化なく K^+ 及び Cl^- 濃度は夫々 2mM 及び 4mM の上昇を示す。これは対照の濃度に比較すると夫々50%及び4%に当たっている。 Na^+/K^+ 比は著明に低下しているが、これは K^+ 濃度の上昇によるものである。又ここに面白い事

は、血清のpH及び総炭酸濃度が減少する事である。これは注入せる K^+ の一部が組織細胞内に侵入し、その代りに細胞内Hが組織外に出てAcidosisを生じ予備アルカリを中和した為であろう。所でこの場合の唾液の組成を見るに対照実験に於ける唾液組成と唾液流出速度との関係は、先の NaCl 注入実験の場合と同様である。而してKCl注入の成績を対照値に比較するに、先ず唾液の Na^+ 及び Cl^- 濃度は唾液流出速度の低い範囲に於いては若干対照を上廻る傾向はあるが、併し一過性のものであるから一応論議の対象よりはぶく。そこで唾液流出速度の高い範囲に到ると常に対照値と殆んど差が無くなってしまふ。これに対し K^+ 濃度は何れの流出速度の範囲に於いても常にKCl注入例の方が高い。然もその高まりは血清中の夫と大差がなく約 2mM である。併し K^+ 濃度そのものは血清中の濃度より高い。 Na^+/K^+ 比は流出速度の高い範囲に於いては対照値より明らかに低下している。又唾液のpH及び総炭酸濃度はKCl注入例の方が若干高い傾向にあるのは HCO_3^- の分泌がKCl注入時に高まっている為であろう。他の犬でもこれと同様の傾向は認

めるが本例程著明ではない。又 Pco_2 も本例ではKCl注入例が高くなっているが、これは血清 Pco_2 が高まっている為であって、他の犬では反対に Pco_2 の低いものもあり、一概には言えぬ。

第7図は、イオン分泌速度と唾液流出速度との関係をThaysen⁹⁾¹⁰⁾、岩崎¹¹⁾に従って画いたものである。図の中実の丸は対照実験の成績である。中空の丸がKCl注入実験の成績である事は前記の通りである

先ず陽イオン総量($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)及び陰イオン総量($\text{Cl}^- + \text{HCO}_3^-$)の分泌を見るに、KCl注入によってその直線部分の回帰線の回帰係数に大

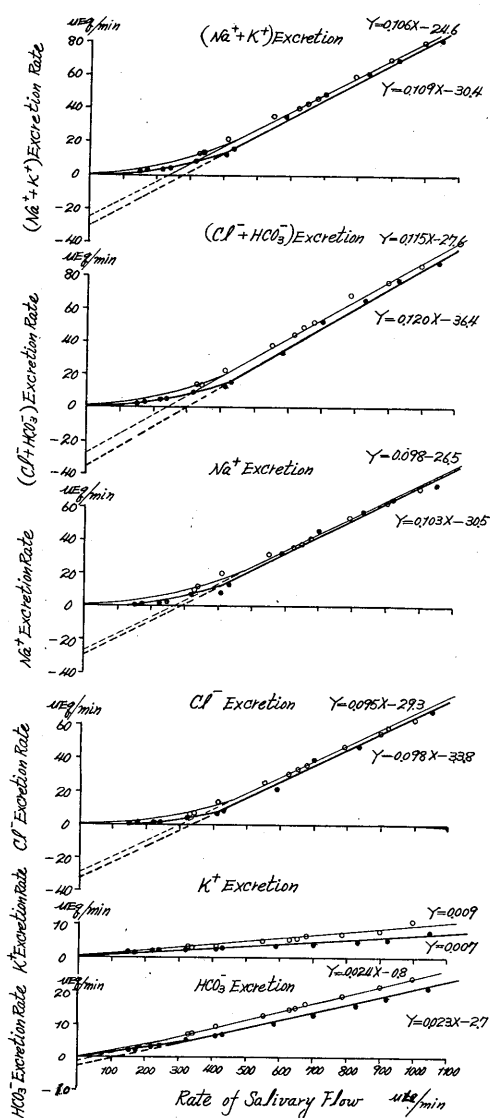


Fig. 7. Rate of Salivary Flow and of Ionic Excretion from Submaxillary Gland.

●—● Control Exp.
○·····○ Exp. of 4% KCl Infusion

きい変化は認めなかった。併しその第2恒数は負位で与えられているが、KCl注入例の方が若干絶対数値としては小さくなっているが、併し分泌速度に大きい影響を与える程ではない。又 Na⁺, Cl⁻, HCO₃⁻ の何れもが略同様の傾向にあるが、併しこの差は大したものでは無く、3例の平均に於いて推計学的な差は見出されない(第3表参照)。ただ K⁺ の分泌の場合には、

回帰係数は、全般に於いてKCl注入例の方が上昇するのを認めた(第3表参照)。KClの注入実験であるから、K⁺の分泌に影響が現われてCl⁻には影響の無い事は一見矛盾する様に見える。併し血清Cl⁻濃度は可なり高いものである為にKCl注入によってその約4%上昇を来たしたに過ぎず、K⁺濃度の上昇率50%に比し格段に少なくして唾液濃度に影響し得なかった為であろう。

以上要するにKCl注入によって血清K⁺濃度を上昇せしめると唾液中へのK⁺の分泌が上昇するが、他のイオンについての効果はそれ程著明ではなく、ただHCO₃⁻の分泌のみはやや亢進の傾向が見られた。

此等のイオン分泌速度の回帰係数とその血清イオン濃度の関係は、例数が少ない為に正確に判らないがBurgen¹⁶⁾によってK⁺の分泌が血清K⁺上昇の度に比例する事が知られている。

b) 耳下腺唾液

KCl注入実験に際して顎下腺と同様にして耳下腺の唾液流出速度と唾液組成との関係を見たものが第8図である。対照実験の成績を中空の丸で示し、同一の犬についてのKCl注入実験の成績は中空の丸で示した。図示の如く、耳下腺唾液に於いてもKCl溶液の血管内注入によって唾液流出速度の全範囲に於いてK⁺分泌は増大し、Na⁺/K⁺比は流出速度の高い範囲に於いて対照値より低下するのを認めた。併しNa⁺及びCl⁻濃度には明らかな変化を認めなかった。一方pH、総炭酸濃度にはKCl注入例に若干増加の傾向が見られた。Pco₂には明らかな変化はなかった。従ってこのpHの上昇はHCO₃⁻分泌の上昇の結果と思われる。此等の成績は顎下腺の場合と大体として一致したものと云えよう。

3. NaHCO₃注入実験

a) 顎下腺唾液

重曹液の注入は先に述べたKCl注入の場合と同様に顎下腺瘻を作製した犬をチクロパンにて麻醉し、これに5% NaHCO₃溶液を血管内に0.12cc/kg/分のやや早い速度にて注入し、血清NaHCO₃濃度の上昇を計る。そして十分に血清

Table 3. Regression Lines of Ionic Excretion Rate (Y) from Submaxillary Gland related with Rate of Salivary Flow (X)

		Na^+	K^+	Cl^-	HCO_3^-	$Na^+ + K^+$	$Cl^- + HCO_3^-$
Dog	Control Exp	$Y = 0.94X - 58$	$= 0.007X$	$= 0.087X - 17.0$	$= 0.21X - 0.6$	$= 0.102X - 16.1$	$= 0.105X - 15.7$
III	4% KCl Infu. (0.07 cc/kg/min)	$= 0.95X - 15.4$	$= 0.010X$	$= 0.087X - 16.0$	$= 0.22X - 0.5$	$= 0.106X - 15.7$	$= 0.108X - 16.1$
Dog	Control Exp	$= 0.103X - 30.5$	$= 0.006X$	$= 0.098X - 33.8$	$= 0.23X - 2.7$	$= 0.107X - 30.4$	$= 0.120X - 36.4$
IV	4% KCl Infu. (0.07 cc/kg/min)	$= 0.098X - 26.5$	$= 0.009X$	$= 0.095X - 27.3$	$= 0.24X - 0.8$	$= 0.106X - 24.6$	$= 0.115X - 27.6$
Dog	Control Exp	$= 0.126X - 32.8$	$= 0.007X$	$= 0.128X - 37.1$	$= 0.23X - 2.3$	$= 0.134X - 33.2$	$= 0.152X - 42.3$
V	4% KCl Infu. (0.07 cc/kg/min)	$= 0.121X - 28.4$	$= 0.009X$	$= 0.124X - 31.6$	$= 0.23X - 2.6$	$= 0.130X - 28.6$	$= 0.148X - 35.0$
Mean	Control Exp	$= 0.108X - 26.4$	$= 0.007X$	$= 0.104X - 30.0$	$= 0.22X - 1.9$	$= 0.115X - 26.6$	$= 0.126X - 31.5$
	4% KCl Infu. (0.07 cc/kg/min)	$= 0.105X - 23.4$	$= 0.009X$	$= 0.102X - 25.6$	$= 0.23X - 1.3$	$= 0.114X - 23.0$	$= 0.124X - 26.2$

* means that the difference from the control value is statistically significant at 5% level.

濃度が上昇したと思われる約1時間後にピロカルピンを注射して唾液を分泌せしめると共に、注入速度を0.07cc/kg/分として血清 $NaHCO_3$ 濃度を出来る限り一定に保たしめた。唾液は5~10分毎に採集し、この唾液について、流出速度、 Na^+ 、 KCl 濃度及び pH、総炭酸濃度を測定した。

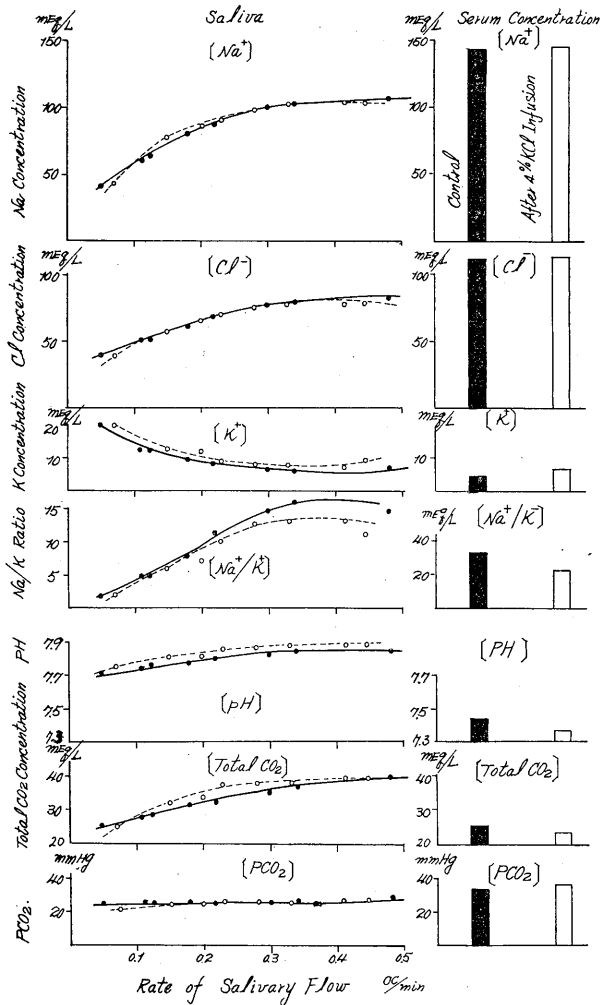


Fig. 8. Effect of 4% KCl Infusion on Salivary Excretion (Pilocarpine Saliva from Parotid Gland)
 ●..... Control Exp. ○..... Exp. of 4% KCl Infusion

この成績について唾液流出速度と唾液組成との関係の1例を図示したものが第9図である。図中の中実の丸は $NaHCO_3$ を注入せずしてピロカルピン注射のみで唾液を採集した対照実験の成績であり、中空の丸は同じ犬について $NaHCO_3$ を注入せる実験の成績である。この成績についても図の右側に対照実験と $NaHCO_3$ 注入実験 (注入開始1時間以後の値) の夫々の平均の血清イオン濃度を図示した。

先ず血清の成績を見るに $NaHCO_3$ 注入の結果 Na^+ 濃度は約 $15mM$ 上昇し、又総炭酸濃度も約 $12mM$ 上昇している。併し Cl^- 濃度は約 $4mM$ 程低下した。従ってこの Na^+ 濃度の上昇は注入せる $NaHCO_3$ に基くものであり、又 Cl^- 濃度の低下は注入による稀釈の影響であろう。一方 K^+ 濃度には明らかな変化は見られなかったから、 $(Na^+ + K^+)$ 濃度の上昇と $(Cl^- + HCO_3^-)$ 濃度の変化量とを比較すると、陰イオンの変化量の方が少ない事になる。これはこの場合の血清中の HPO_4^{--} イオンの増加と Ca^{++} 濃度の減少により代償されていると思われる。 Na^+/K^+ 比は $NaHCO_3$ 注入によって対照値より上昇している。一方 PCO_2 も亦対照例より増加しているが、それでも pH は注入によ

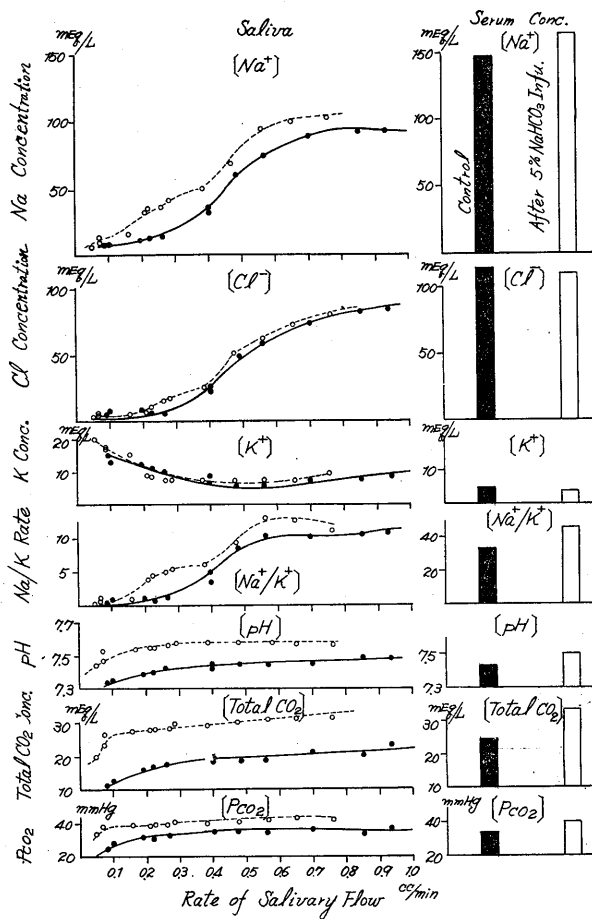


Fig. 9. Effect of 5% NaHCO₃ Infusion on Salivary Excretion (pilocarpine Saliva from Submaxillary Gland)
 — Control Exp. ○····○ Exp. of 5% NaHCO₃ Infusion

Table 4. Regression Lines of Ionic Excretion Rate (Y) from Submaxillary Gland related with Rate of Salivary Flow (X)

	Na ⁺	K ⁺	Cl ⁻	HCO ₃ ⁻	Na ⁺ +K ⁺	Cl ⁻ +HCO ₃ ⁻
Dog III	Control Exp. $Y=0.092X-145$	$=0.008X$	$=0.084X-165$	$=0.023X-06$	$=0.100X-14.8$	$=0.106X-15.2$
	5% NaHCO ₃ Infu. (0.12cc/kg/min)	$=0.106X-13.7$	$=0.010X$	$=0.082X-10.2$	$=0.030X-15$	$=0.114X-13.1$
Dog IV	Control Exp.	$=0.102X-300$	$=0.007X$	$=0.097X-34.1$	$=0.023X-26$	$=0.108X-29.5$
	5% NaHCO ₃ Infu. (0.12cc/kg/min)	$=0.118X-33.7$	$=0.007X$	$=0.097X-34.5$	$=0.031X-15$	$=0.127X-36.1$
Dog V	Control Exp.	$=0.126X-32.8$	$=0.007X$	$=0.128X-39.1$	$=0.023X-23$	$=0.134X-33.2$
	5% NaHCO ₃ Infu. (0.12cc/kg/min)	$=0.153X-36.1$	$=0.008X$	$=0.131X-38.1$	$=0.031X-0.9$	$=0.166X-38.9$
Mean	Control Exp.	$=0.107X-25.8$	$=0.007X$	$=0.103X-29.9$	$=0.023X-7.8$	$=0.114X-25.8$
	5% NaHCO ₃ Infu. (0.12cc/kg/min)	$=0.126X-27.8$	$=0.008X$	$=0.103X-27.6$	$=0.031X-1.3$	$=0.136X-28.9$

* means that the difference from control value is statistically significant at 5% level, while the value with ** is significant at 1% level.

て約0.07上昇している。従って重曹注入によって血液 pH の上昇を来し、これが為呼吸機能が低下して Pco₂ の上昇を来したものである。

一方唾液の成績を見るに、唾液 Na⁺ 濃度は唾液流出速度の低い部分よりすでに対照より高く、その最大値に於いて約 20mM も上昇した。Cl⁻ 濃度は低い唾液流出速度の範囲に於いて注入例の方が対照を稍々上廻る傾向が見られた。併し最高濃度は対照と大差はない。K⁺ 濃度は全流出速度に涉り対照の成績とは大差なく、従って Na⁺/K⁺ 比は対照値より増加している。而して pH、総炭酸濃度は注入例が唾液流出速度の全範囲に於いて著明に増加し、その最大値に於いて pH は約 0.1、総炭酸濃度は約 10mM の上昇が見られた。Pco₂ は注入例の方が対照よりも高く、血清 Pco₂ の変動に伴っている。

この成績について、イオン分泌速度と唾液流出速度の関係を見たものが第 4 表である。先ず陽イオン総量 (Na⁺+K⁺) 並びに陰イオン総量 (Cl⁻+HCO₃⁻) の分泌速度と唾液流出速度の回帰線の回帰係数は NaHCO₃ 注入例に於いて著明に上昇している。第 2 恒数は対照例注入例の間に一定の差を見ない。

個々のイオン分泌速度を見るに Na⁺、HCO₃⁻ の分泌速度の回帰係数は明らかに対照よりも増加し、その分泌の亢進を示しているが、K⁺ 及び Cl⁻ の分泌速度は対照と余り変化がないのである。この様に NaHCO₃ の注入によってイオン分泌の回帰係数の変化あるものについて 3 例の平均値をとって推計学的に対照値と比

較して見ると、何れも 1~5 % 以下の危険率で有意である。

以上要するに血清NaHCO₃濃度を上昇せしめるとこれに反映して唾液中への NaHCO₃ の分泌も亦増加し、その pH が上昇する事を認められる。

此等のイオン分泌速度の回帰係数の変化と血清NaHCO₃濃度の変化との関係は例数が少ない為に正確には判らないが、対照値と注入実験値の2点よりその比率を計算して見るに唾液 Na⁺ と血清 Na⁺ 濃度の変化の比率は 0.76~1.76 であり、唾液 HCO₃⁻ の夫と血清 HCO₃⁻ 濃度との関係は 0.62~0.92 である。此等の唾液のイオン分泌の回帰係数は、前記の如く腺底部に於ける原唾液のイオン濃度と見做し得るが、これは血清NaHCO₃濃度に比例したものである事は興味深い。

b) 耳下腺唾液

第10図はさきの第9図と同一の犬について耳下腺唾液のイオン組成と唾液流出速度との関係を見たものである。図示の如く、耳下腺唾液に於いても NaHCO₃ の血管内注入により Na⁺ 濃度や総炭酸濃度従って HCO₃⁻ 濃度の増加を来たして、pH の上昇を示し、又 Na⁺/K⁺ 比の増加する事は顎下腺の場合と同様である。又 K⁺、Cl⁻ 濃度は対照と大差無く、Pco₂ もこの場合には対照と余り変化無かった。この成績をまとめて、イオン分泌速度と唾液流出速度の関係を見たものが第5表の成績である。この場合に於いても、顎下腺唾液と同様に陽イオン総量 (Na⁺+K⁺) 並びに陰イオン総量 (Cl⁻+HCO₃⁻) の分泌速度は NaHCO₃ 注入例に於いて明らかに上昇する。このイオン分泌速度の増加は顎下腺の場合と同様に主として Na⁺ 及び HCO₃⁻ の分泌の増加によるものであり、夫々の回帰係数は NaHCO₃ 注入実験に於いて上昇している。然かも3匹の犬についての回帰係数の平均値を注入

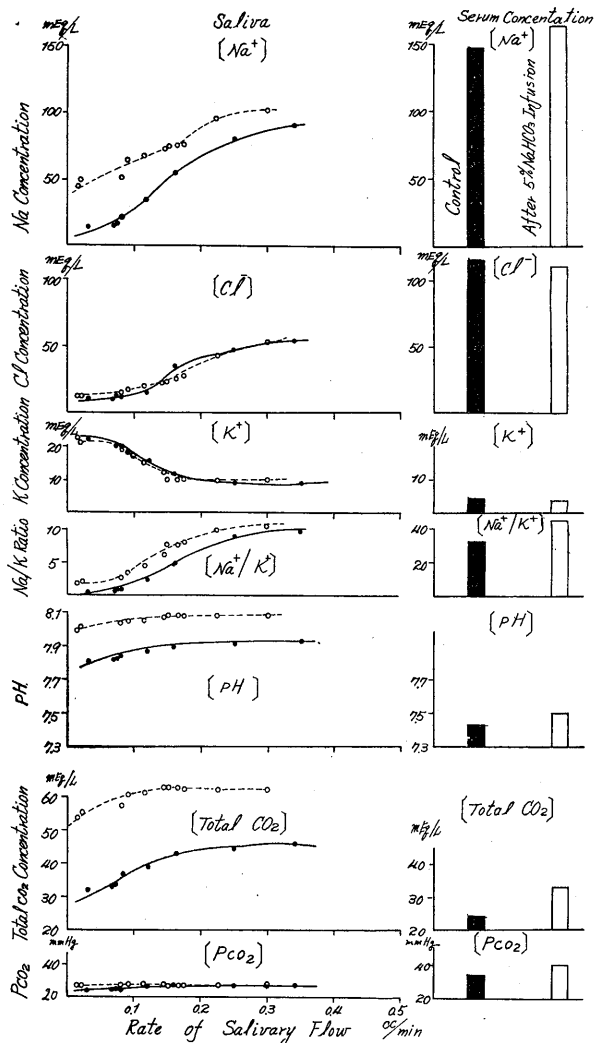


Fig. 10. Effect of 5% NaHCO₃ Infusion on Salivary Excretion (Pilocarpine Saliva from Parotid Gland)

—•— Control Exp. - - - - - ○ Exp. of 5% NaHCO₃ Infusion

実験と対照実験につき比較して見ると、何れも 5% 以下の危険率にて有意である。又第2恒数の変化は NaHCO₃ によって増加するものや減少するものもあり一定の傾向が得られず、対照値と NaHCO₃ 注入値との平均値の差は有意ではない。

又唾液 Na⁺ 及び HCO₃⁻ の分泌速度の回帰係数の変化と血清 Na⁺ 及び HCO₃⁻ 濃度の関係を夫々求めて見ると、Na⁺ についての回帰係数の変化と血清濃度変化の比率は大体として 0.82~1.24

Table 5. Regression Lines of Ionic Excretion Rate (Y) from Parotid Gland related with Rate of Salivary Flow (X)

		Na ⁺	K ⁺	Cl ⁻	HCO ₃ ⁻	Na ⁺ +K ⁺	Cl ⁻ +HCO ₃ ⁻
Dog	Control Exp	Y=0.115X-1.19	= 0.007X	=0.068X-8.4	=0.043X-0.9	=0.120X-1.13	=0.109X-8.7
III	5% NaHCO ₃ Infu. (0.12cc/kg/min)	=0.132X-7.5	= 0.008X	=0.071X-9.2	=0.059X-1.4	=0.139X-7.1	=0.125X-9.5
Dog	Control Exp	=0.122X-7.1	= 0.007X	=0.099X-6.1	=0.044X-2.7	=0.128X-6.7	=0.141X-8.8
IV	5% NaHCO ₃ Infu. (0.12cc/kg/min)	=0.136X-6.1	= 0.006X	=0.099X-7.0	=0.053X-1.4	=0.141X-5.4	=0.157X-8.1
Dog	Control Exp	=0.120X-10.2	= 0.009X	=0.073X-6.5	=0.048X-1.0	=0.126X-9.3	=0.121X-7.6
V	5% NaHCO ₃ Infu. (0.12cc/kg/min)	=0.139X-8.2	= 0.011X	=0.080X-15.3	=0.062X-0.3	=0.151X-7.0	=0.138X-8.8
Monkey	Control Exp	=0.119X-9.7	= 0.008X	=0.079X-7.0	=0.045X-1.5	=0.125X-9.1	=0.124X-8.4
	5% NaHCO ₃ Infu. (0.12cc/kg/min)	=0.136X-8.9	= 0.008X	=0.083X-10.5	=0.058X-1.1	=0.144X-9.8	=0.138X-8.8

* means that the difference from control value is statistically significant at 5% level, while the value with ** is significant at 1% level.

の間にあり、又HCO₃⁻では0.80~1.62である。

要するに耳下腺唾液のイオン分泌に対するNaHCO₃注入の影響は顎下腺唾液の場合と大体として一致する。

IV. 考 按

以上行なった種々の無機塩の血管内注入が唾液組成に及ぼす影響について其の成績を要約するに、顎下腺に於いても耳下腺に於いても、NaCl, KCl, NaHCO₃等の血管内注入によって唾液中に流入せるイオン濃度の上昇を来たし、特にNaClの注入例に於いて、実験成績に示す如く、血清NaCl濃度の増加に伴なう唾液のNaCl濃度の変化はその比率が1に近く、明らかに分泌せられる唾液のイオン量は血清のNa⁺及びCl⁻等のイオン濃度に影響されるものである事を知り得る。

この様な血清イオン濃度の変化が唾液のイオン分泌に及ぼす機転を考えるに、これは唾液腺分泌細胞のイオン透過性の問題に帰すべきであろう。併し腺細胞のイオン透過とは所謂機能的透過性の意であって、異なる拡散現象によって説明する事が出来ない事は、高岡⁴⁾⁵⁾⁶⁾等が明らかにした所である。

この様な唾液腺のイオン分泌機転に関してはThaysen⁹⁾¹⁰⁾ 岩崎¹¹⁾等が種々観察を行ない、その結果腺底部に於いては略等張に近は状態にて原唾液が分泌せられこれが条紋部に於いて一部

逆吸収されると称えている。この様に腺底部に於いて略等張に近い状態にて無機イオンが分泌せられる事は、著者の成績についても言える事である。しかもこの原唾液はNaCl, KCl, NaHCO₃等の塩類の血管内注入によって血清濃度をかえるとそれに反映して唾液中の濃度をかえるのである。

殊にNaCl注入に際しては、唾液濃度の上昇の程度が略1に近いのであって、この事は唾液濃度の上昇が血清濃度の上昇と略同一の程度に現われる事を意味する。そこで此等のイオンが唾液中に分泌せられる機転としては血清中のイオンをその濃度の変化に応じて唾液中に反映させるものでなくてはならないのである。

所で此等のイオンは、勿論血清乃至組織液を材料としてつくられるものであるが、岩崎¹¹⁾等の所謂原唾液は血清とは若干イオン組成を異にし、イオンの総濃度に於いても略等張性に近いが実際は若干低張性である。この事は腺底部にて組織液より唾液がつけられる時にそのイオンの一部が選擇的に取除かれて原唾液を生成すると考えられる。而して著者の成績に明らかな如く唾液流出速度が或程度以上に大となる時は各イオンの分泌速度はこれと直線関係を示し、分泌濃度が略一定である事を物語っている。この事はこの原唾液生成速度が増しても常に一定組成のものが分泌せられる事を意味する。然もこの組成が血清組成従って組織液の組成に影響せられてそれと比例的に変化するものであるから、この様なイオンの透過機転としては組織液組成が直接分泌物の組成に影響する様な機転を考える可きであろう。この様な現象を説明するものとしては、唾液腺細胞に於けるpinocytosisに類似した現象が暗示せられる。pinocytosisとは細胞が組織液を取込んで行く現象であって、

Lewis²⁴⁾はこれを腫瘍細胞について証明したのである。今もし唾液腺細胞に於いて組織液が取込まれてこれによって分泌空泡が形成せられるとすれば、腺細胞より分泌せられた原唾液が組織液の組成の変化を敏感に反映する事実はよく理解出来る。ただ原唾液は組織液よりもやや低張性であり、且つその組成も多少異なるが、これは組織液が細胞膜乃至は細胞体を通過する間に何等かの機構によって一部のイオンが除かれて組織液中に取残される事になるのであろう。

以上に対し文献に於いてはこの血清濃度の唾液組成への影響はむしろ間接的なものであって直接的な影響でないとの意見が多い。即ち、近時Frawley²⁵⁾等は唾液の Na^+ 、 K^+ イオン濃度が副腎皮質ホルモンの影響によって変化する事を報告し、Thaysen²⁶⁾等が Na^+ 欠乏時の唾液の Na^+ 濃度の減少を副腎皮質ホルモンの作用によると説明している。更にDenton²⁷⁾²⁸⁾等は Na^+ 欠乏状態にある綿羊の耳下腺唾液の Na^+/K^+ 比が NaCl 120mM以上の多量の血管内注入によって直ちに影響せられる事なく、約1~2時間遅れて上昇する事を見た。又この綿羊より副腎を摘出せる場合、摘出後1~2時間程して唾液の Na^+/K^+ 比が上昇する事を観察した。そしてかかる唾液の Na^+/K^+ 比の変化が NaCl の注入によって直接影響せられないのは唾液の Na^+ 、 K^+ の分泌が副腎皮質ホルモンにより支配せられる為であろうと推定している。

従って唾液腺のイオン分泌機転を考える上には、この様な副腎皮質ホルモン等による間接的な影響をも考慮に入れなくてはならない。事実著者の成績に於いても唾液 Na^+/K^+ 比は NaCl 、 NaHCO_3 の注入に際しては上昇し、又 KCl 注入に際しては低下している。併しかかる Na^+/K^+ 比の変化のみによって副腎皮質ホルモンの関係を肯定する事は出来ない。血清イオン濃度の直接影響によっても説明は可能である。従って著者の今迄に得た実験成績に於いてはかかる間接的な影響を肯定する材料も否定する確証もないと云うべきであらう。ただ唾液の Na^+ 、 Cl^- の分泌が単なる間接的影響のみによって支配され

ると考えるには上記の著者の成績は余りにも規則正しく血清濃度に反映し、然もそれは Na^+ 、 Cl^- のみならず K^+ や HCO_3^- 等についても同様である。従って著者はここにむしろ唾液組成に対する血清濃度の直接的影響を考える必要のある事を大いに強調したい。

ただここに一見不可解な事実は、前記の成績に見る様に NaCl 並びに KCl 注入実験に際し、血清 HCO_3^- 濃度がむしろ低下するにもかかわらず唾液 HCO_3^- 濃度の増加する事である。これについては、森¹⁷⁾の言う如く、細胞内に発生せる CO_2 に由来する H_2CO_3 の HCO_3^- と原唾液中の Cl^- とが陰イオン交換を行なう事によって唾液 HCO_3^- が生成せられるとすれば一応の説明が成立つ。即ち原唾液の NaCl や KCl の濃度が上昇すればこの HCO_3^- の生成も亦増加するわけである。併しそれが腺底部の細胞にて起るものか、条紋部にて起るかは議論のある所であり、ここにはこれを決定する材料はない。

V. 総括

予め顎下腺並びに耳下腺に永久瘻を作製した犬に種々の塩類を血管内に注入して血清塩分濃度を上昇せしめ、そのピロカルピン唾液を採集し、塩類を注入しない前に行なった対照実験の成績とを比較検討して次の成績を得た。

1) 10% NaCl 溶液の注入による血清 Na^+ 、 Cl^- 濃度の上昇に併って顎下腺唾液に於いても亦耳下腺唾液に於いても Na^+ 及び Cl^- 濃度の著明な増加を認め、又 HCO_3^- 濃度も若干増加した。従って唾液の総イオン濃度も上昇する。而して血清 NaCl 濃度の上昇に伴なう唾液 NaCl 濃度の増加度は血清濃度の上昇度に正比例している。

2) 4% KCl 溶液の血管内注入によって血清 K^+ 濃度を上昇せしめると顎下、耳下両腺共唾液の K^+ 濃度は上昇し、 HCO_3^- の分泌も若干増加の傾向が見られた。但し唾液 Cl^- 濃度は血清 Cl^- 濃度の上昇が僅かである為に影響はなかった。

3) 5% NaHCO_3 溶液の血管内注入によって

顎下, 耳下両腺共血清 NaHCO_3 濃度の上昇に伴ない唾液 NaHCO_3 濃度の増加するのを認めた。

4) 以上の結果は唾液イオン濃度が明らかに血清イオン濃度に直接影響される事を示唆している。此等の実験成績を理解する為に唾液腺の分泌機転について論じた。

稿を終るに臨み, 終始御懇篤なる御指導御鞭撻を賜わり, 且つ御校閲を賜わった恩師吉村寿人教授に厚く感謝致します。

文 献

- 1) Babkin, B. P. (1950) *Secretory Mechanism of the Digestive Glands*.
- 2) Gregerson, M. I. & Ingalls, E. N. (1931) *Am. J. Physiol.* **98**, 441
- 3) Langstroth, G. O., Mc. Rae, D. R. & Stavrazy, G. W. (1938) *Proc. Roy. Soc. B* **125**, 335
- 4) 高岡 涉 (1952) *日本生理誌* **14**, 504
- 5) 高岡 涉 (1953) *日本生理誌* **15**, 371
- 6) 高岡 涉 (1953) *日本生理誌* **15**, 646
- 7) 井上太郎 (1958) *日本生理誌* **20**, No.7
- 8) White, A. G. et al. (1955) *J. Clin. Invest.* **34**, 246
- 9) Thaysen, J. H. et al. (1954) *Am. J. Physiol.* **178**, 155
- 10) Thaysen, J. H. et al. (1956) *Acta Physiol. Scand.* **37**, 97
- 11) 岩崎準太 (1957) *日本生理誌* **19**, 1239
- 12) Hug, E. & Marenzi, A. D. (1928) *Compt. Rend. Soc. de Biol.* **99**, 240
- 13) Benetato, G. & Oprisin, C. (1938) *Compt. Rend. Soc. de Biol.* **128**, 113
- 14) 渡辺 巖 (1940) *東京医師会誌* **54**, 886
- 15) De, Beer, E. J. & Wilson, D. W. (1932) *J. Biol. Chem.* **95**, 671
- 16) Burgen, A. S. V. (1956) *J. Physiol.* **132**, 20
- 17) 森 隆之助 (1957) *日本生理誌* **19**, 1
- 18) 吉村寿人 (1954) *pHの理論と測定法* (丸善)
- 19) 齋藤幸一郎 (1937) *日本生理誌* **2**, 213
- 20) 加藤政孝・松田幸次郎・沼尻幸吉 (1948) *医学と生物学* **13**, 303
- 21) 吉村寿人・井上太郎 ; (未刊)
- 22) Brun, C. *Principles of Renal Physiology* (Smith, H. W.) (1956) P. 214
- 23) 高橋暁正・土肥一郎 (1956) *推計学入門*
- 24) Lewis, W. H. (1937) *Am. J. Cancer* **29**, 666
- 25) Frawly, T. F. et al. (1951) *J. Clin. Endocri.* **11**, 772
- 26) Thaysen, J. H. et al. (1956) *Appl. Physiol.* **9**, 407
- 27) Deton, D. A. & Mc Donald, I. R. (1957) *J. Physiol.* **138**, 44
- 28) Goding, J. R. & Denton, D. A. (1956) *Science* **123**, 698

Summary

By injecting NaCl and KCl solutions intravenously, changes in compositions of saliva from parotid as well as submaxillary glands of dog were investigated. It was verified that salivary Na^+ , K^+ and Cl^- concentrations were increased in proportion to increases of these ions in serum, when NaCl as well as KCl solution were injected, HCO^- concentration and also pH of saliva were also increased slightly in these cases.

Injection of NaHCO_3 in the blood provokes similar increase of Na^+ and HCO^- in saliva. These facts suggest that changes of serum electrolytes concentration may directly influence upon salivary composition.

(1st Department of Physiology, Kyoto Prefectural University of Medicine)

唾液腺の無機塩分泌機転に関する研究 612.313.5

(第2報) 血清の無機塩濃度と唾液の無機塩組成特に塩分欠乏時の関係について

Studies on Excretory Mechanism of Inorganic Ions from Salivary Gland.
Report II. Salts Compositions of Saliva related with Serum Concentration,
with special Reference to Effects of Salt Depletion

西川和夫 (NISHIKAWA-KAZUO)*

I. 緒言

著者は前報に於いて唾液腺の無機塩分泌機転の本態を明らかにする為に、種々の塩を血管内に注入して血清の Na^+ , Cl^- , K^+ , HCO_3^- 等のイオン濃度を上昇せしめ、これが唾液組成に及ぼす影響を観察した。この結果唾液腺のイオン分泌は血清イオン濃度の増加に比例して高まることを知った。そこでこの事実を根拠として Denton²⁾³⁾ 等が説うる副腎皮質ホルモンを介する唾液イオンの間接的支配説には一考を要する事を述べ、且つこの唾液のイオン分泌に対しては、血清イオンが直接的影響を与える機転をも考慮すべき事を強調した。

今もし唾液のイオン分泌がこの様な直接的影響によるものであるならば、単に血清イオン濃度を上昇せしめた時のみならず、逆に血清イオン濃度を低下せしめた場合に於いてもその唾液のイオン濃度は血清イオン濃度に比例して変化すべきものであらう。

この様な塩分の欠乏が唾液イオン組成に及ぼす影響を観察した文献を見るに、Mc. Cance⁴⁾ (1938) は人体について食餌の NaCl を制限し且つ発汗を促進して塩分欠乏を起させた場合にその自然唾液中の Na^+ 濃度が低下し、 K^+ 濃度の上昇せる事を報告している。併しこの実験は血清 Na^+ 及び K^+ 濃度との関係は観察されていないし又唾液の分泌機転についても論ぜられていない。White⁵⁾⁶⁾ (1955) 等も正常人に塩分の摂取を制限せしめると、パラフィン刺戟唾液の

Na^+ 及び Cl^- 濃度の低下するのを見たが、これも唾液流出速度の影響や血清イオン濃度との関係を考慮していない。

近時 Thaysen⁷⁾ (1956) 等は Na^+ 欠乏時に人間の耳下腺唾液の Na^+ 濃度が低下し、 K^+ 濃度の増加する事を観察し、Denton²⁾³⁾⁸⁾⁹⁾ (1956) 等も Na^+ 欠乏時の綿羊の耳下腺唾液について、 Na^+/K^+ 比の低下を観察している。そして此等の研究者の意見によればこのような Na^+ 欠乏時に於ける唾液イオン濃度の変化は、副腎皮質ホルモンの影響によって惹起せられたものであると述べている (Denton²⁾³⁾, Thaysen⁷⁾, White⁶⁾)。そこで本報に於いては、犬に DCA を投与して、これが唾液のイオン分泌に影響を及ぼすや否やを検討すると共に塩分の欠乏を犬に生ぜしめた場合に果して諸家の説く如く Na^+/K^+ 比が減少するものであるか、或いは唾液のイオン濃度の変化は血清イオン濃度の変化を直接反映したものと理解すべきであるか否か等について検討を行ないたいと考えた。そしてこれによって唾液の無機塩分泌機転を更に深く追求せんとしたのである。

II. 実験方法

実験には前報¹⁾ に報告せる方法により予め耳下腺並びに顎下腺に永久瘻を作製した3匹の成犬 (7.0kg~10.4kg) を用いた。此等について先ず正常の状態に於いて対象実験としてピロカルピン注射による唾液分泌試験を行なう。次にこの犬に DCA を注射しそれが有効に仿いた事を尿性状の観察によって確かめた後に同様のピロカルピンによる唾液分泌試験を行なう。そして

* 京都府立医科大学第1生理学教室 (吉村寿人教授)
〔昭和34年2月2日受付〕

対照実験と DCA 注射実験とについて唾液のイオン分泌を比較して、果してこれが副腎皮質によって支配せられているや否やを検討した。かくして最後にこの犬について NaCl 欠乏食を約 1 週間与えて養い更に 50% 糖液注入によって尿への NaCl 排泄を高めてその体液 NaCl 欠乏を起させる。そして後再びピロカルピン注射による唾液分泌試験を行なうのである。かくしてこの場合の唾液のイオン分泌と血清イオン濃度とを比較してその両者の関係を検討したのである。以下此等の実験に於いて行なった各手技の細部について項目に分って述べる。

1) 唾液分泌試験

唾液の分泌試験に際しては先ずチクロパン曹達 (0.075g/kg) の注射によって犬を麻酔し、これに 1% 塩酸ピロカルピン溶液 (0.05cc/kg) の注射を行ない唾液を分泌せしめる。かくして顎下並びに耳下腺唾液を 5~10 分毎に連続して同時に流動パラフィン下に採集した。又同時に血液をピロカルピン注射直前及び注射後は 20~30 分毎に採集した。唾液及び血液の採集はピロカルピン注射後 90 分迄続けた。これ等の採集に当っては出来る限り空気に触れぬように留意した(唾液瘻管の作製法、血液及び唾液の採集法については第 1 報¹⁾を参照せよ)。

2) DCA 注射実験

対照実験施行後普通食にて飼育した犬について、DCA を 1.1mg/kg/日 当り連日筋肉内に注射し、約 1 週間後に対照実験と同様に麻酔下にピロカルピン唾液を採集した。その間、血液は 2~3 日毎に、尿は連日採集し、夫々について、pH、総炭酸濃度並びに塩分濃度を測定し、又尿については尿量も測定した。ここに測定した尿性状は、DCA の効果を判定する資料となし、DCA の効果が現われた事を確かめた後に唾液分泌試験を行なったのである。

以上の如く麻酔下に於いて行なった実験は、DCA の効果を正確に反映しない事を恐れて無麻酔にて唾液分泌試験を行なったものもある。即ち先ず無麻酔の犬に前回同様に 1% ピロカルピン 0.05cc/kg を皮下注射して耳下腺及び顎下

腺唾液を採集した後に、一定の中性食(岩波の論文¹⁰⁾を参照せよ)にて犬を飼育し、これに 1.1mg/kg/日 当り DCA を連日筋肉内に注射した。かくして注射連続約 1 週間後に何ら麻酔を行なう事なく再びピロカルピン唾液を採集し両者の成績を比較検討したのである。

その他、DCA の唾液イオン分泌に対する影響を更に確かめる意味に於いて、唾液分泌試験を施行する前日の午後 7 時に DCA 20mg を予め注射しておき、この犬に実験の当日 DCA 10mg をピロカルピン注射施行前約 3 時間に再び注射して、ピロカルピン唾液の採集を行なった実験もある。

3) 塩分欠乏実験

体内塩分を脱出せしむる為、対照実験施行後約 1 週間無塩食(体重 kg 当り 1 日に碎麦 20g カゼイン 1g、豚脂 1g とし、総合ビタミン 1g を別に与えた)にて犬を飼育した。無塩食を開始すると既に 2 日後には尿中への塩排泄量は最低値に達するのであるが、併し血中塩分濃度は正常値に保たれている。次にこの犬について、チクロパン曹達麻酔の下に Keith¹¹⁾ に従って 50% グルコースを 4.5g/kg/時 当り静脈内に持続注入し滲透圧利尿を起さしめる。尿は糖液の注入開始後 10 分にして既に増加を始めるからこの尿として排泄せられただけの水を胃ゾンデにて経口的に投与して益々利尿を高める様に工夫した。これを約 2 時間持続すれば約 500cc の排尿と飲水を行なった事になる。かくして犬をその翌日迄水のみを自由に与えて絶食せしめ、その後唾液分泌試験に移った。この場合の血中イオン濃度を測定すると血清塩分濃度は対照値に比して確かに低下し、Na⁺ 及び Cl⁻ 濃度は 10~20mM、K⁺ 濃度は 0.5mM だけ対照実験より低下していた。

4) 唾液、血液及び尿の測定項目とその測定法

採集せる唾液については、その流出速度を採唾管中に唾液量より算出し、又 pH、総炭酸濃度並びに Na⁺、K⁺、Cl⁻等を測定し、Na⁺、K⁺濃度より Na⁺/K⁺比を算出した。此等 Na⁺、

K^+ , Cl^- , HCO_3^- は唾液無機塩の重要なものであるから、これにより唾液無機塩組成の大要を観察し得ることは高岡¹²⁾¹³⁾の研究により明らかである。

血液は採集後直ちに流動パラフィン下に遠沈してその血清をみつめこれについて pH, 総炭酸濃度, 及び Na^+ , K^+ , Cl^- 等の測定を行なった。尿は1日の全尿を集め, その尿量と共に上記と同様に pH, 総炭酸濃度, Na^+ , K^+ , Cl^- , 等の濃度を測定し又これにより Na^+/K^+ 比を算出した。

これら諸項目の測定方法はどれも前報と同様であるが pH は吉村式微量硝子電極¹⁴⁾(37°C), 総炭酸濃度は斎藤式微量瓦斯分析器¹⁵⁾を使用して測定した。かくしてこの pH 値より Henderson-Hasselbalch 式を用いて PCO_2 を算出した。この場合 PK' は血清は 6.10 (37°C), 唾液は 6.22¹⁶⁾(37°C) を使用した。又 Bunsen の吸収率は, 血清は 0.550 唾液では 0.545 とした。塩分測定法としては, Na^+ 及び K^+ は Lenge の Flame-photometer¹⁷⁾ を用い, Cl^- は Schales and Schales 法の変法¹⁸⁾を用いて求めた。

Ⅲ. 実験成績及び考按

実験は主として犬の顎下腺唾液について行なったもので, 耳下腺唾液については要点のみを観察したに過ぎないから, 成績は主に顎下腺唾液について説明し, 後に耳下腺唾液について述べる事にする。

1) DCA 注射実験

第1図は普通食にて飼育せる犬について, DCA を 1.1mg/kg/日 ずつ毎日筋肉内に注射し, これを1週間持続した時の血清並びに尿の性状を図示したものである。図中の中実の丸を実線にて結んだものは血清の成績であり, 中空の丸を破線にて結んだものは尿の成績である。又1日の尿量及び Na^+ , K^+ の排泄量はヒストグラムにて示した。

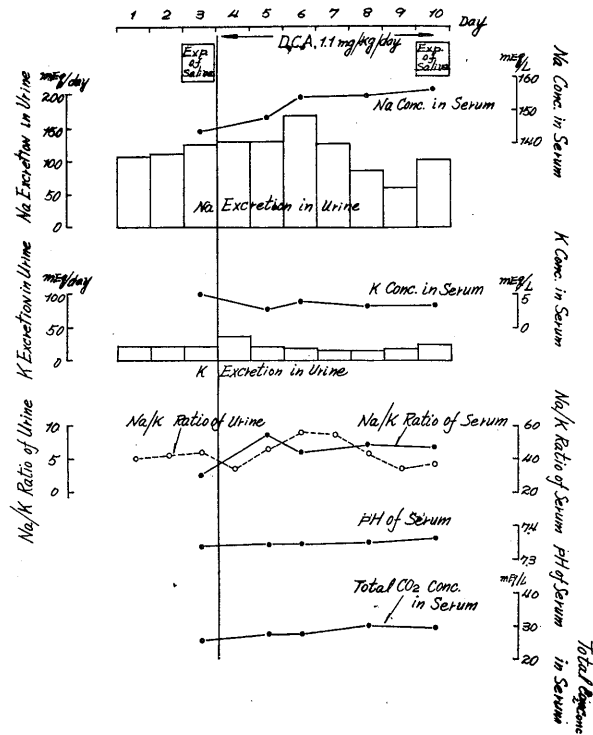


Fig. 1.

Changes of Acid-Base Balance of Serum and Urine before and after DCA Administration.

尿の成績を見るに Na^+ の排泄量や K^+ の排泄量は DCA 注射開始後多少の変動はするが, この場合には食物としてとる Na^+ , K^+ 量を一定としなかったから, この成績より DCA の効果を論ずる事は困難である。尿排泄 Na^+/K^+ 比を調べて見ても注射翌日にはやや低下するが其の後上昇したり下降したりして一定の傾向を示さない。併し血清の Na^+ , K^+ 濃度には DCA 注射の効果が明瞭に現われている。即ち Na^+ 濃度は DCA 注射により明らかに増加し殊に3日目の血清に於いては約 $10mM$ も増加している。それ以後は大差なく一定値を保つ。 K^+ 濃度は注射2日目で約 $2mM$ 減少してその後の血清でも常に低値を維持する。従って血清 Na^+/K^+ 比は犬では正常値は約30であるが注射2日目の血清では約50に逆上昇し, その後も明らかに対照値より高かまっている。DCA は体内 Na^+ 保有量を増し K^+ 保有量を減ずる事は従来よりよく

知られた事であるから、この様な血清の Na^+ 、 K^+ 濃度の変化は DCA 注射の影響と考えられる。この様に血清内にアルカリ量の増加する結果として血清重碳酸塩濃度従って総炭酸濃度が上昇して pH も上昇し Alkalosis を呈する。

さてこの犬について DCA 注射開始の前日(対照実験)と注射開始後 7 日目(DCA 注射実験)にチクロパン麻酔の下に唾液分泌試験を行なってその唾液流出速度と共に Na^+ 、 K^+ 、 Cl^- 濃度並びに pH、総炭酸濃度を測定した。此等の成績を整理して唾液流出速度と唾液組成との関係を見たのが第 2 図の顎下腺唾液の成績である。図中の中実の丸で示せるものは対照実験の成績であり、中空の丸で示せるものは DCA 1 週間

注射後に採集せる唾液の成績である。この図の右側に示せるものは血清の成績であって黒く塗った棒図は対照実験、中空の棒図は DCA 注射実験の血清濃度の平均値を示したものである。この顎下腺のピロカルピン刺戟唾液の性状については第 1 報に詳しく述べたので此処には繰返さないが、その特徴は Na^+ 、 Cl^- 濃度、pH、総炭酸濃度は唾液流出速度と平行して変化し、或る点に於いて最大値に達するも、 K^+ 濃度は流出速度の高い範囲では略最低値に恒定する。 Pco_2 も亦流出速度に無関係に一定である。又 Na^+ 、 Cl^- 濃度は血清濃度より格段に低いが、総炭酸濃度の最大値や Pco_2 は血清のそれと略等しく、pH の最大値並びに K^+ 濃度は血清のそれより大である。

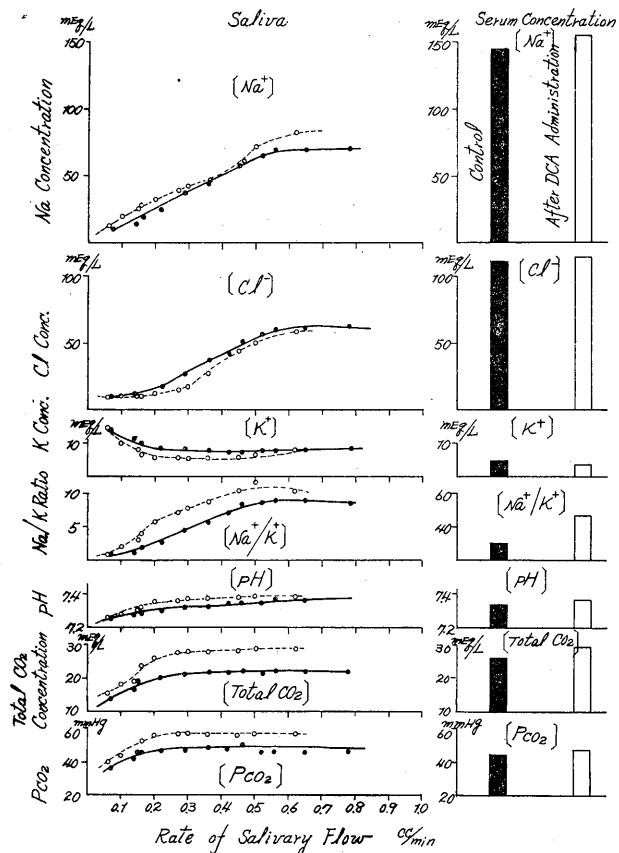


Fig. 2.

Effect of DCA Administration on Salivary Excretion. (Pilocarpine Saliva from Submaxillary Gland).

●—● Control Exp. ○—○ Exp. of DCA Administration.

この様な唾液組成に対する DCA 注射の成績を見るに Na^+ 濃度は一般に対照値を上廻る傾向が見られ最大値に於いては約 8mM 程対照値よりも増加している。併し Cl^- 濃度はむしろ全範囲に涉って対照の成績よりも低く約 4mM 程減少している。 K^+ 濃度も同様に流出速度の低い範囲より全範囲に涉って低くその最低値は対照値よりも約 1mM 程低下している。従って Na^+/K^+ 比は全流出速度の範囲に涉って対照値よりも高くなっている。この様な唾液 Na^+ 及び K^+ 濃度の影響は血清の Na^+ と K^+ 濃度の変化によるものと考えればよく説明することが出来る。それは血清のアルカリイオン濃度が増加すればそれが容易に唾液中のそれに反映することは前報にて述べた所である。Denton²⁾³⁾等は唾液中の Na^+ 、 K^+ の分泌は血清濃度により直接的に影響せられず、間接的に多分副腎皮質を介して影響すると考えている。併しもしそうすれば DCA 注射によって唾液の Na^+/K^+ 比が減少する筈であるが、それが反って上昇している事はこの影響が副腎皮質ホルモンの作用によるもの

でないなよりの証拠である。

次に唾液 pH 及び総炭酸濃度も対照値より増加し、その最大値に於いて pH は約 0.04 総炭酸濃度は 6mM 程の増加が見られた。これは血清の重炭酸塩濃度の上昇に影響せられて HCO_3^- の分泌が増加せる為であろう。併し前記の如くこの場合唾液 Cl^- 濃度も若干減少しているから、かかる HCO_3^- 分泌の増加は前報に述べた Cl^- とのイオン交換による HCO_3^- 分泌の増加に基因するものもあるものであろう。唾液 PCO_2 も亦対照値より高くなっているが、これも血清 PCO_2 の変動に伴ったものと思われる。

今迄は顎下腺唾液の成績について述べて来たが、次に耳下腺唾液について説明する。第3図は第2図と同一の犬について耳下腺唾液の組成と唾液流出速度との関係を見たものである。対照実験の成績は中実の丸で示し、同一の犬について DCA 注射実験の成績は中空の丸で示したことも前回と同様である。図示の如く耳下腺唾液に於いても Na^+ 濃度は DCA の注射により唾液流出速度の全範囲に涉って増加し、 K^+ 濃度は明らかに減少した。従って Na^+/K^+ 比は全流出速度の範囲に於いて遙かに対照を凌駕している。 Cl^- 濃度は流出速度の高い範囲では減少している。pH、総炭酸濃度も対照より増加したが PCO_2 には明らかな変化は見られなかった。この成績は顎下腺唾液の場合と大体として一致したものと言える。従って耳下腺に於いても DCA 注射による唾液イオン濃度の変化は、DCA 注射によって生じた血清イオン濃度の変化に反映せるものと思われる。

この唾液分泌試験の成績は麻酔下で行なったものであり、この麻酔の影響によって或いは DCA の効果を正確に反映しなかったのではないかと考えて、無麻酔下で唾液分泌試験を行な

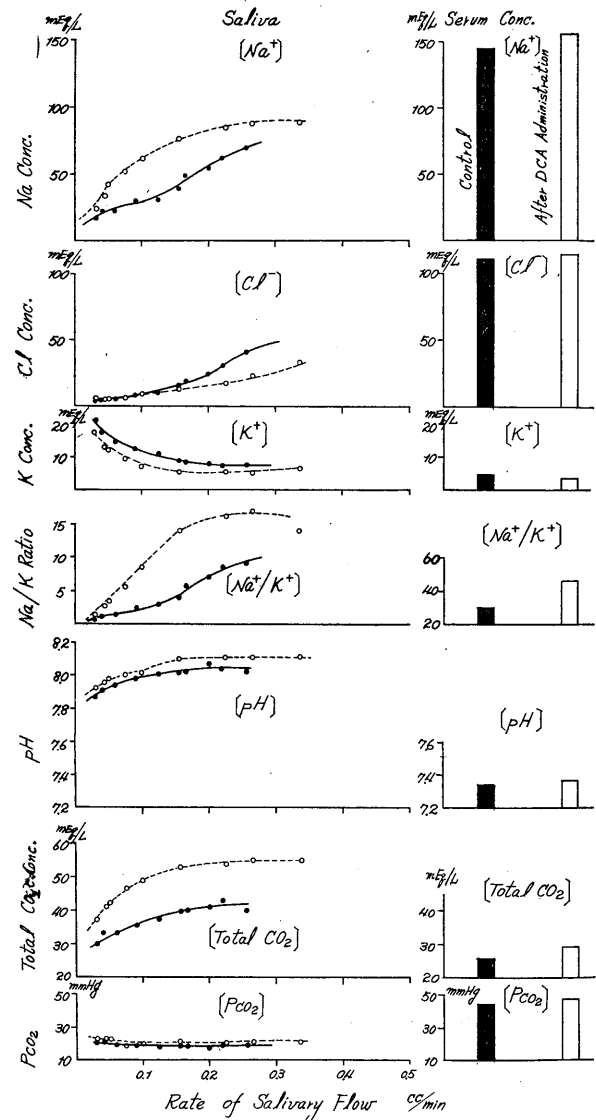


Fig. 3. Effect of DCA Administration on Salivary Excretion. (Pilocarpine Saliva from Parotid Gland).
 ●—● Control Exp. ○—○ Exp. of DCA Administration.

った。併しこの場合には DCA 注射 1 週間目の血清中の Na^+ 濃度の上昇が比較的僅か(約 2mM)であった為か唾液中の Na^+ 濃度の上昇も極めて軽微であり、ただ K^+ 濃度だけは血清濃度の低下を反映して多少減少したに過ぎない。

唾液分泌試験を施行する前日の午後 7 時に DCA 20mg を注射しておき、翌日ピロカルピン注射施行約 3 時間前に再び DCA 10mg を注

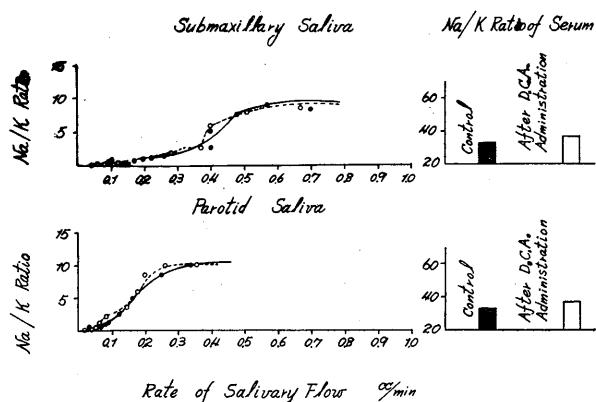


Fig. 4.

Effect of DCA Administration on $\text{Na}^+ : \text{K}^+$ Ratio of Saliva and Serum.

●—● Control Exp. ○—○ Exp. of DCA Administration.

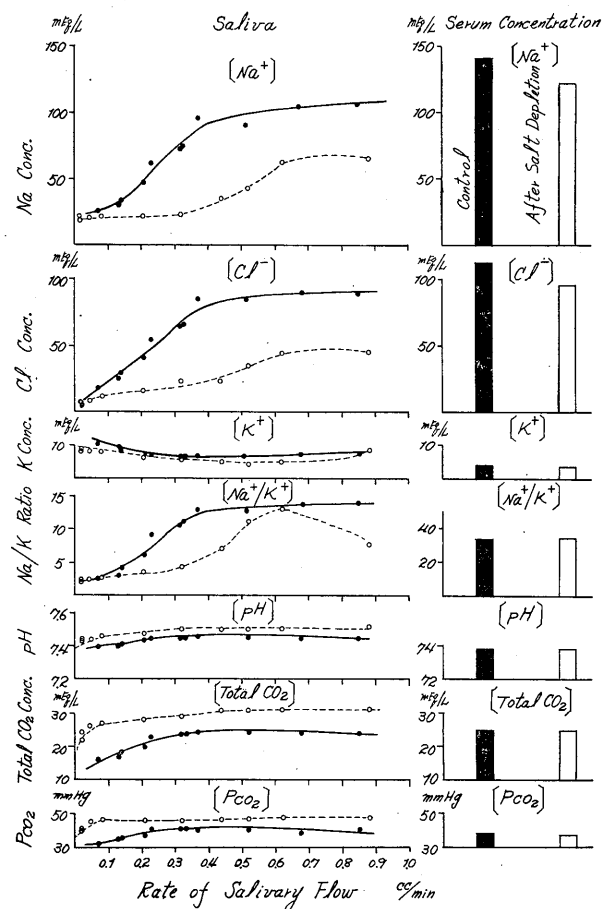


Fig. 5.

Effect of Salt Depletion on Salivary Excretion. (Pilocarpine Saliva from Submaxillary Gland).

●—● Control Exp. ○—○ Exp. of Salt Depletion.

射して唾液分泌試験を行なった場合にも、余り著明な影響は現われていなかった。第4図はその成績であってこの場合にも血清 Na^+/K^+ 比には余り著明な影響が現われていないから唾液 Na^+/K^+ 比にも影響は殆んど認められなかった。

以上要するに犬に DCA を連日7日間投与すると血清 Na^+ 濃度の上昇と K^+ 濃度の低下を来たしてこれが唾液中の Na^+ , K^+ 濃度に反映して Na^+/K^+ 比を上昇せしめる。従って Denton²⁾³⁾等の言う様に Mineral Corticoid による唾液の Na^+ 分泌の低下と K^+ 分泌の増加の事実はこの実験に於いて認める事は出来ない。

2) 塩分欠乏実験

実験方法の部にて述べた方法にて塩分欠乏を起させた犬についてピロカルピン注射によって唾液を分泌せしめ、その組成と唾液流出速度との関係を見たものが第5図及び第6図である。第5図は顎下腺唾液の成績であり、第6図は耳下腺唾液の成績である。何れの図に於いても被検犬について塩分欠乏を起させる前に行なった対照実験の成績をも並記し、これは中実の丸にて示した。又中空の丸は塩分欠乏を生ぜしめた時の唾液の成績である。図の右側に画いた棒図は対照実験と塩分欠乏実験の夫々の場合に於いて行なった血清分析の成績である。

先ず第5図の顎下腺唾液の成績を見るに塩分脱出によって血清 Na^+ 及び Cl^- 濃度は夫々約 17mM 程低下し又血清 K^+ 濃度も 0.5mM 程低下している。併し Na^+/K^+ 比は対照値と殆んど差が認められなかった。又血清 pH, 血清総炭酸濃度にも余り変化なく、その PCO_2 もほぼ対照値に等しかった。所でこの場合の唾液の成績を見るに、 Na^+

及び Cl^- 濃度は流出速度の全範囲に涉って対照値より低下しその差は唾液中の濃度が高まる程著明となる。そしてその最大値に於いて Na^+ 濃度は約 40mM , Cl^- 濃度は約 50mM 程対照値より低くなっている。 K^+ 濃度も流出速度の低い部分より全範囲に涉って対照の成績より低く、その最低値は対照値より約 1mM 程低下している。此等唾液の Na^+ , Cl^- 濃度の低下の程度は血清の夫よりも遙かに大きいものである。次に Na^+/K^+ 比は流出速度の低い範囲では対照値と

大差はないが流出速度が高まると対照値よりも低下して来る。Denton⁸⁾⁹⁾ 等によれば Na^+ 欠乏時には唾液の K^+ 濃度は増加し、 Na^+/K^+ 比の低下が著明に出現すると言うのであるが、この実験では唾液の K^+ 濃度は血清 K^+ 濃度の低下に伴って低下するものであり、従って流出速度の高い範囲に於ける Na^+/K^+ 比の低下は主として唾液 Na^+ 濃度の低下が激しい為である。

次に pH, 総炭酸濃度も対照の成績より増加し、その最大値に於いて pH では 0.05, 総炭酸濃度は約 6mM 増加した。又 PCO_2 は対照値より増加するのが認められた。

次に第6図は第5図と同一の犬についての耳下腺唾液のイオン組成と唾液流出速度との関係を見たものである。図の書き方は前と同様である。この場合にも顎下腺唾液の場合と同様に塩分欠乏時には対照実験の成績に比較して唾液の Na^+ 及び Cl^- 濃度は減少し、 K^+ 濃度も若干減少する傾向が見られる。又 Na^+/K^+ 比も流出速度の高い範囲に於いて減少している。唾液 pH, 総炭酸濃度も塩分欠乏時に増加し、ただ PCO_2 には変化は見られず対照値とほぼ同じである。これらの成績は大体として顎下腺唾液の成績に一致したものと云えよう。

以上の唾液腺のイオン分泌過程を更に詳しく分析する為に第1報¹⁾に於いて述べたと同じ方法により唾液イオン分泌速度と唾液流出速度との関係を求めて見た。その成績が第7図(顎下腺唾液)及び第8図(耳下腺唾液)である。この図は何れもさきの第5図及び第6図の成績より求めたものである。この場合にも対照実験の成績は中空の丸で示した。図示の如く、各イオンの分泌速度は唾液流出速度の高い範囲では互に略直線関係を示すものである。この直線部分の回帰式の回帰係数は岩崎¹⁹⁾

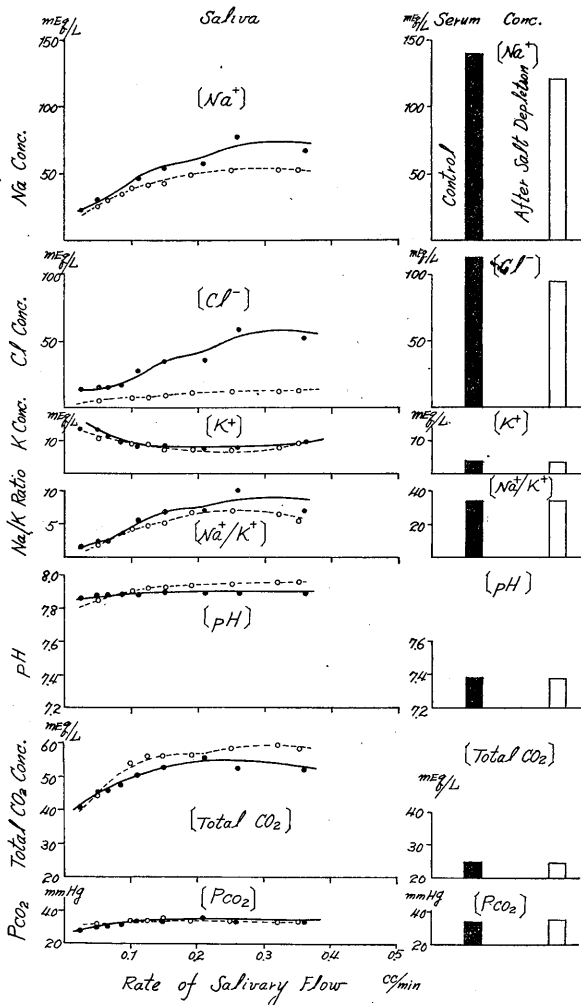


Fig. 6. Effect of Salt Depletion on Salivary Excretion. (Pilocarpine Saliva from Parotid Gland).

●—● Control Exp. ○—○ Exp. of Salt Depletion.

によれば腺底部の原唾液のイオン濃度を示し、又右辺第2項の負の恒数(第2恒数)は条紋部に於ける逆吸収量をしめすものである。先ず陽イオン総量($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)および陰イオン総量($\text{Cl}^- + \text{HCO}_3^-$)について見るに、両者共にその

傾斜は対照に比し低下している。併し第2恒数は陽イオン総量も陰イオン総量に於いても対照とは大差はない。次に個々のイオン分泌速度を見るに、 Na^+ 及び Cl^- のイオン分泌速度の回帰線の傾斜は対照よりも低下し、その分泌の低下せる事を示している。 K^+ の分泌速度(第1報に述べた様に第2恒数は零とする)も若干対照より低下しているが、 HCO_3^- の分泌速度は逆に増加している。従って唾液イオン総量の分泌の低下は Na^+ 、 Cl^- の分泌低下によるものである。第1表(顎下腺唾液)及び第2表(耳下腺唾液)は3匹の犬について同様の塩分欠乏実験を行なって求めた唾液イオンの分泌速度と流出速度の間の回帰線である。これについて各回帰線の回帰係数の平均値を求めて、対照実験と塩分欠乏実験とで平均値の差の検定²³⁾を行な

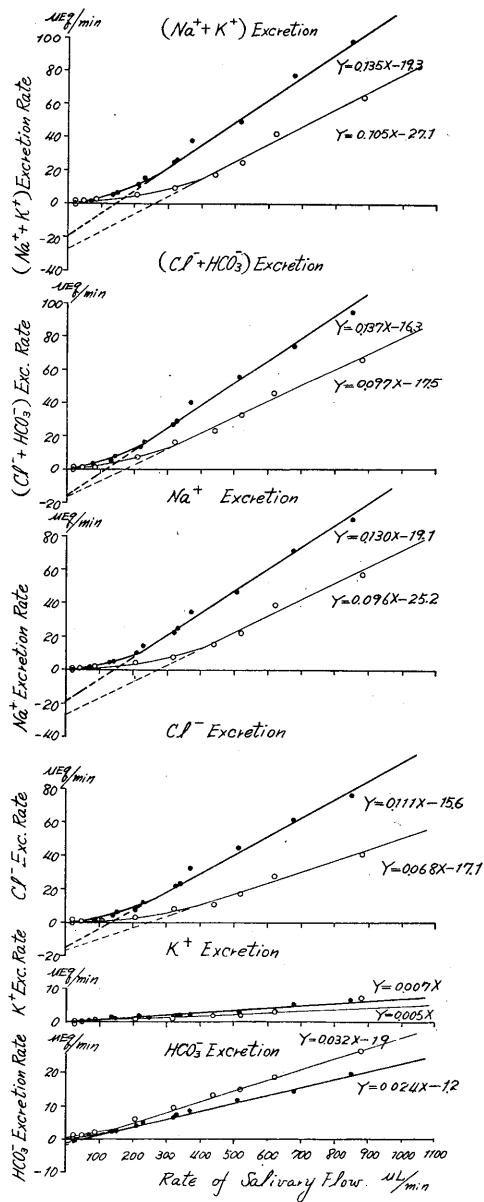


Fig. 7.

Rate of Salivary Flow and of Ionic Excretion from Submaxillary Gland.

●—● Control Exp. ○—○ Exp. of Salt Depletion.

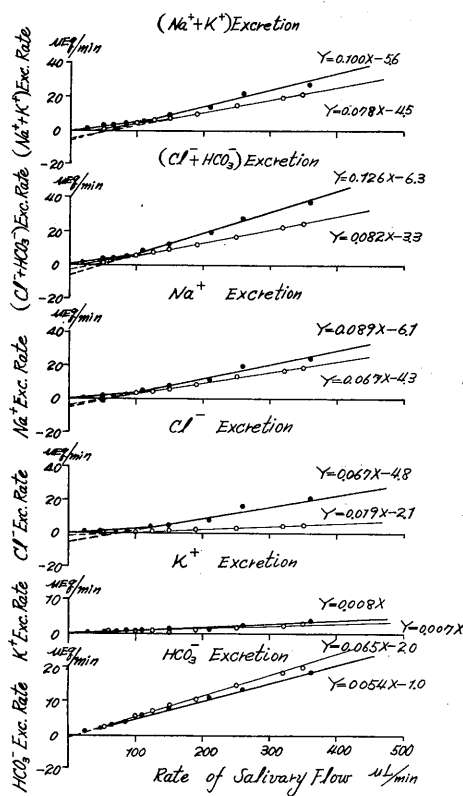


Fig. 8.

Effect of Salivary Flow and of Ionic Excretion from Parotid Gland.

●—● Control Exp. ○—○ Exp. of Salt Depletion.

って見るにいずれも5%以下の危険率で有意義であった。併し K^+ では有意義な値は得られな

かった。これは血清 K^+ 濃度の低下そのものが軽微なる為である。又いずれのイオン分泌に於

Table 1. Regression Lines of Ionic Excretion Rate (Y) from Submaxillary gland related with Rate of Salivary Flow (X).

	Na^+	K^+	Cl^-	HCO_3^-	$Cl^-+HCO_3^-$
Dog					
Control Exp.	$Y=0.950X-79.7$	$=0.007X$	$=0.111X-15.6$	$=0.024X-1.2$	$=0.135X-19.3$
Exp. of Salt Depletion	$=0.094X-23.2$	$=0.005X$	$=0.088X-17.7$	$=0.032X-1.9$	$=0.105X-21.7$
Exp. of Salt Depletion	$=0.076X-23.1$	$=0.006X$	$=0.084X-20.9$	$=0.034X-1.4$	$=0.103X-22.3$
Dog III					
Control Exp.	$=0.102X-79.5$	$=0.006X$	$=0.102X-36.2$	$=0.024X-3.5$	$=0.107X-79.8$
Exp. of Salt Depletion	$=0.088X-28.5$	$=0.005X$	$=0.072X-31.3$	$=0.034X-4.3$	$=0.098X-30.8$
Dog IV					
Control Exp.	$=0.104X-21.5$	$=0.007X$	$=0.075X-18.5$	$=0.026X-3.0$	$=0.106X-19.0$
Exp. of Salt Depletion	$=0.062X-17.3$	$=0.006X$	$=0.053X-17.8$	$=0.036X-3.7$	$=0.071X-11.8$
Dog V					
Control Exp.	$=0.112X-24.4$	$=0.007X$	$=0.103X-23.4$	$=0.023X-2.6$	$=0.117X-22.7$
Exp. of Salt Depletion	$=0.085X-22.0$	$=0.006X$	$=0.070X-20.3$	$=0.032X-2.7$	$=0.099X-21.6$
Mean					
Control Exp.					
Exp. of Salt Depletion					

* means that the difference from the control value is statistically significant at 5% level, while the value with ** is significant at 1% level.

Table 2.

Regression Lines of Ionic Excretion Rate (Y) from Parotid Gland related with Rate of Salivary Flow (X).

	Na^+	K^+	Cl^-	HCO_3^-	$Cl^-+HCO_3^-$
Dog					
Control Exp.	$Y=0.087X-6.7$	$=0.008X$	$=0.087X-4.8$	$=0.054X-1.0$	$=0.126X-6.3$
Exp. of Salt Depletion	$=0.057X-4.3$	$=0.007X$	$=0.079X-2.7$	$=0.045X-2.0$	$=0.078X-4.5$
Exp. of Salt Depletion	$=0.064X-2.2$	$=0.008X$	$=0.087X-0.7$	$=0.043X-0.8$	$=0.073X-2.9$
Dog III					
Control Exp.	$=0.122X-7.9$	$=0.007X$	$=0.101X-7.5$	$=0.044X-2.7$	$=0.131X-7.3$
Exp. of Salt Depletion	$=0.104X-8.5$	$=0.006X$	$=0.057X-8.3$	$=0.052X-2.6$	$=0.108X-8.2$
Dog IV					
Control Exp.	$=0.087X-4.0$	$=0.009X$	$=0.076X-3.2$	$=0.045X-2.5$	$=0.100X-4.0$
Exp. of Salt Depletion	$=0.068X-1.8$	$=0.009X$	$=0.044X-3.4$	$=0.050X-1.3$	$=0.083X-2.9$
Dog V					
Control Exp.	$=0.104X-5.8$	$=0.008X$	$=0.081X-5.2$	$=0.048X-2.7$	$=0.110X-5.6$
Exp. of Salt Depletion	$=0.076X-4.2$	$=0.007X$	$=0.053X-3.5$	$=0.057X-1.7$	$=0.086X-4.6$
Mean					
Control Exp.					
Exp. of Salt Depletion					

* means that the difference from the Control value is statistically significant at 5% level, while the value with ** is significant at 1% level.

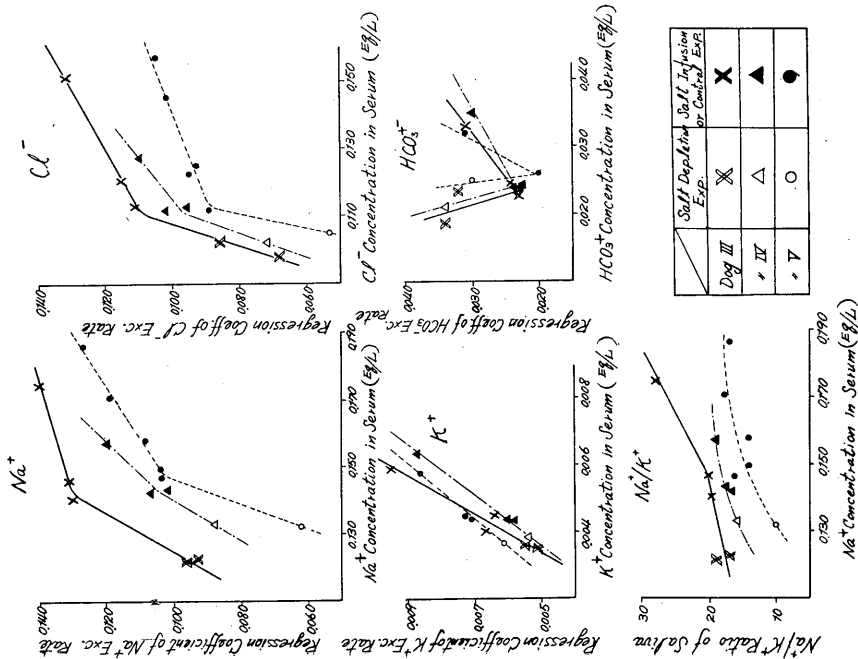


Fig. 9. Regression Coefficient of Ionic Excretion Rate from Submaxillary Gland and Ionic Concentration in Serum.

いてもその第2恒数は各イオン共増加したり減少したりして一定の傾向は見られず推計学的に意義はなかった。つまりこの事は血清中のイオン濃度によって唾液組成の変化の起るのは岩崎等の言う腺底部の原唾液の組成である。

そこで次にこの血清イオン濃度と所謂原唾液組成との関係を詳しく追求するために血清の Na^+ , K^+ , Cl^- , HCO_3^- 等のイオン濃度とその唾液への分泌速度の回帰係数との関係を図示してみた。これが第9図の成績であって、ここには顎下腺唾液の成績のみについて示したが、耳下腺唾液についても同様である。図中の中空の点で示せるものは塩分脱出によって血清 NaCl 濃度を低下せしめた時の成績であり、中実の点はこの実験に先立って行なえる対照実験の成績並びに第1報に述べた NaCl , KCl , NaHCO_3 等の注入実験の成績である。○, △, ×等の印は試験動物を示したものであって夫々同一の犬の実験成績である事を示す。塩分注入実験と塩分欠乏実験を施行した期日には若干の時日の隔りはあるが、いずれの場合にも対照実験を行っており、その対照実験の成績は両者の間に大差は見られない。従って同一の犬についてこの両実験の成績をつなぎ合わせて血清イオン濃度と唾液腺イオン分泌の回帰係数の関係を1つの近似線にて示したのが図の曲線である。図示の如く塩分注入実験の場合には、 Na^+ や Cl^- の分泌曲線は1つの直線をなすのであるが、塩分欠乏時の値はこの線上には乗らずして回帰係数はそれよりも遙かに低下した値を示す。

第1報に於いて著者は血清 Na^+ , K^+ , Cl^- , HCO_3^- 等のイオン濃度と此等イオンの唾液への分泌速度との関係を論じ、血清濃度が直接に原唾液中の此等イオン濃度に反映したと考うるが妥当である事を強調した。併し本実験に明らかな如く、塩分欠乏時の Na^+ , Cl^- 等のイオン分泌は塩分注入実験にて得られた血清イオン濃度との関係にては解する事が出来ない程に減少しているのである。従ってかかる塩分欠乏時の唾液イオン濃度の減少が果して血清イオン濃度の減少と見做し得るや否やは大いに疑問であ

る。むしろこの場合には Denton²³⁾ 等が主張するごとく副腎皮質ホルモンの影響によって特に Na^+ の逆吸収が強化せられ、 Cl^- がこれに伴なって吸収されたと考えた方が良く思われる。試みに Na^+/K^+ 比を血清 Na^+ 濃度に対して図示して見ると、第9図に見る如く、塩分欠乏時には何れの犬に於いても Na^+/K^+ 比が減少しているのであって、かかる予想が正しい事が裏附けられる。ただ K^+ 分泌の場合にはその回帰係数は塩分注入実験も塩分欠乏実験も共に一律に1つの直線に乗っているから、これは主として血清濃度の直接影響として論じて良いかも知れない。但し前記の如く、著者の実験に於いては DCA 注射によって唾液 Na^+ の減少乃至 Na^+/K^+ 比の減少が証明せられていないのであるから、塩分欠乏時に於いてもこの Na^+/K^+ 比の減少が果して副腎皮質ホルモンの作用によるかどうかは問題である。又仮りにその影響によって Na^+/K^+ 比の減少が起るとしてもこれは副腎皮質ホルモン作用の外に何等か他の要因が加わってかかる Na^+ の減少が起ったものと考えた方が良さそうである。

次に HCO_3^- の分泌について見るに、塩分欠乏実験の唾液 HCO_3^- 分泌の回帰係数は、 NaHCO_3 注入実験の成績(中実の丸)とは同一の線上には乗らない。即ち NaHCO_3 注入実験時に唾液の HCO_3^- 濃度が上昇するのは血清 HCO_3^- 濃度の上昇が著明である為にそれに影響せられて唾液への HCO_3^- の分泌が増加したのであろうが、塩分欠乏実験時に於いては血清 HCO_3^- 濃度には殆んど変化がないにもかかわらず唾液 HCO_3^- の濃度が上昇しているのである。従ってこれは血清 HCO_3^- の影響によるものとは考えられない。ただこの場合の唾液 HCO_3^- 分泌上昇の機転として考えられる事は Cl^- 濃度の減少が著明に起っているから、森²⁰⁾ が述べた様に Cl^- と HCO_3^- との交換が強化せられて HCO_3^- の分泌が増したとなす事である。以上要するに塩分欠乏時に於ける唾液のイオン組成は血清中のイオン濃度が直接これに反映する事是否定は出来ないが、併しこれのみにて説明し

得ず、何等かの機転によって Na^+ , Cl^- の逆吸収が強化せられていると考うるが妥当である。唾液腺のイオン分泌機転に関して Thaysen²¹⁾²²⁾, 岩崎¹⁹⁾等は腺底部にて略等張に近い状態にて分泌された原唾液は条紋部に於いて一部逆吸収を受けて低張性となると説いている。塩分欠乏時の Na^+ , Cl^- の回帰係数は対照実験時の夫に比して遙かに低く、然もその第2項数には著変はないのであるから、Thaysen等の学説に従えば塩分欠乏時には条紋部逆吸収能には変化が見られず、腺底部に於いて唾液が生成される時にすでに NaCl の逆吸収が増加して、その原唾液の濃度が減少していると考えられる。併し果して原唾液が腺底部に於いて生成せられ、条紋部に於いて逆吸収が行なわれるものか、又唾液中の Cl^- と細胞内 HCO_3^- との陰イオン交換が如何なる部位にて行なわれるかは現在なお不明であるから、以上は単なる仮説に過ぎない。ただここで強調したい事は唾液腺の分泌機転を考える場合には以上のような NaCl の逆吸収が塩分欠乏時に強化せられる様な事実を説明するものでなければならない事である。

IV. 総 括

1) DCA を犬に連日1週間投与(1.1mg/kg/日)して血清の Na^+ 濃度の上昇並びに K^+ 濃度の低下が著明となる時には、此等血清濃度の変化に影響せられて唾液(耳下腺及び顎下腺)の Na^+ 濃度は上昇し、 K^+ 濃度は低下した。従って唾液 Na^+/K^+ 比は対照値より増加した。又血清重碳酸塩の濃度上昇に影響せられて唾液 pH, 総炭酸濃度の上昇が見られた。併し文献に見られるが如く、DCA 注射によって唾液 Na^+/K^+ 比の減少する様な事実は何1つ証明する事が出来なかった。

2) 塩分摂取量を節減し且つ糖尿利尿によって

体液塩分の欠乏を生ぜしめると、唾液(耳下腺、顎下腺)への NaCl の分泌は著明に低下し、 K^+ の分泌も亦低下し、唾液 Na^+/K^+ 比は対照値より減少した。唾液 pH, 総炭酸濃度は上昇した。

3) この場合血清 NaCl 濃度の低下に比して唾液 NaCl 濃度の低下は著明であって、塩分欠乏時には血清濃度減少が唾液組成に直接影響する事の他に唾液の NaCl の回収を増加せしめる何等か別の機転が働く事が示唆せられる。

稿を終るに臨み、終始御懇篤なる御指導御鞭撻を賜わり、且御校閲を賜った恩師吉村寿人教授に厚く感謝致します。

文 献

- 1) 西川和夫(1959)日本生理誌 **21**, 565
- 2) Denton, D. A. & Mc Donald, I. R. (1957) J. Physiol. **138**, 44
- 3) Goding, J. R. & Denton, D. A. (1956) Sciens. **123**, 986
- 4) Mc. Cance, R. A. (1938) J. Physiol. **92**, 208
- 5) White, A. G. et al. (1955) J. Clin. Invest. **34**, 246
- 6) White, A. G. et al. (1950) J. Clin. Invest. **29**, 1445
- 7) Thaysen, J. H. et al. (1956) Appl. Physiol. **9**, 477
- 8) Denton, D. A. (1956) J. Physiol. **131**, 516
- 9) Denton, D. A. (1957) J. Physiol. **135**, 227
- 10) 岩波真佐男(1956)日本臨床 **14**, 1846
- 11) Keith, N. M. (1924) Am. J. Physiol. **68**, 81
- 12) 高岡 渉(1952)日本生理誌 **14**, 504
- 13) 高岡 渉(1953)日本生理誌 **15**, 371
- 14) 吉村寿人(1954) pH の理論と測定法(丸善)
- 15) 斎藤幸一郎(1935)日本生理誌 **2**, 213
- 16) 加藤政孝・松田幸次郎・沼尻幸吉(1948)医学と生物学 **13**, 303
- 17) 吉村寿人・井上太郎;(未刊)
- 18) Brun, C. Principles of Renal Physiology (Smith, H. W). (1956) P. 214
- 19) 岩崎準太(1957)日本生理誌 **19**, 1239
- 20) 森隆之助(1957)日本生理誌 **19**, 1
- 21) Thaysen, J. H. et al. (1954) Am. J. Physiol. **178**, 155
- 22) Thaysen, J. H. et al. (1956) Acta Physiol. Scand. **37**, 97
- 23) 高橋暁正・土肥一郎(1951)推計学入門(医学書院)

Summary

1) After administration of DCA to dogs for a week, Na^+ concentration increases while K^+ concentration decreases in parotid as well as in submaxillary saliva. These changes in Na^+ and K^+ excretion in saliva mainly owe changes in serum concentration. It cannot be verified that DCA may provoke a decrease of Na^+ excretion from salivary gland and thus may effect a decrease of Na^+/K^+ ratio.

2) Salt depleted dog excretes saliva (both parotid and submaxillary) of which Na^+ and K^+ concentrations are decrease and Na^+/K^+ ratio is reduced, while its pH and total CO_2 content increase.

These changes may be explained partly by decreases of Na^+ and K^+ concentration in serum. An extremely low concentration of Na^+ in saliva suggests another cause which influences to gland to reduce Na^+ concentration.

(1st Department of Physiology, Kyoto Prefectural University of Medicine)

地方小学会報

第4回中部地区生理学会 (つづき)

時日 昭和33年8月21~22日

場所と当番 岐阜医科大学生理学教室 竹中繁雄

11. 竹中繁雄 (岐阜医大生理)

閾下刺激と反復興奮

1. 刺激がなくても興奮が起り得るかの問題は閾下刺激と閾値の周期的動揺の概念を生ずるに至った。演者はまず閾下交流を持続的に通電した時に実験される交流周波数と交流干渉閾値及び交流刺激閾値の実測値の例をあげてから、干渉効果の至適周波数におよぼす温度の影響を検した。次に A. M. Monnier の興奮に関する微分方程式を振動の方程式としては限られた一部分の振動を示すだけであることを述べた。

2. F. Schwarz (1955) は比較的大きい周波数の交流で刺激した場合に「時間的に閾下である刺激」という言葉を使用している。氏は 750 cps 以下では Gildemeister 効果はないと推定した。それらの成績と演者の交流干渉閾値の成績とを比較した。

3. エネルギーの考えから交流干渉閾値を考察すると、見掛け上は $E = v^2 t$ 曲線は 120 cps にて極小である。

4. 形質膜において刺激は有効であるが、形質膜の内部においても興奮は起る。形質の内部において相の間の相界面にて刺激が有効であり得る。しかしここに演者は興奮を 1) 鎖状興奮伝導経路における興奮と 2) 環状伝導経路におけるそれとに分ける。両者とも興奮の発生したり、或は減衰する物理化学的の基本過程には大差がないか否かは実験に依らねばいけないが、前者では高次の現象をすべて一点に集積して考えるのに反し、後者ではかかる特異点を考えないやり方である。

5. 刺激生理学の立場から自主性あるいは自働能をどう考えるか。物理学的には今日のところ無機現象と生活現象、或いは生活現象と自主性の現象との間に区別はない。然し自主性の程度 (order) を考得る。代数学においては、ある環の代数的性質をそのまま保持させて、これを部分環とする拡大した環を考える。拡大には限度がある。これが現象の order に対応するとすれば、これを取扱

う物理的であってしかも新しい研究法を生理学が工夫する必要がある。

12. 高木貞敬・渋谷達明 (群馬大第2生理)

蛙嗅脳脳波について

蛙嗅脳が規則的な 6/sec の脳波を有することは Gerard & Young (1937) の研究以来知られている。またたとえ剔出時の傷害などにより不規則な波形を示す場合でもニコチン (0.1~0.5%) によりその規則性を取戻す (Liket & Gerard, 1938)。他の薬品たとえば Caffein, d-tubocurarine, また Azide Dinitrophenol, NaCN などの抑制剤, Succinate, Fumarate, Glutamate, ATP などの促進剤による特有な脳波については別に発表した (Am. J. Physiol in press)。これらいずれの場合にも記録されたものは遅電位であった。

嗅脳の固有脳波 (遅電位) がウレタンにより消失した後も嗅刺激により経過の短かい放電が見られること (後者は組織学的に Mitral cell の活動に帰せられる) から、嗅脳波は Granule cell の活動によると推論されている。

γ -amino- β -oxybutyric acid (GABOB) は脳細胞に特異な作用を有するので蛙嗅脳に滴下 (0.5%) した所次の所見が得られた:

1. 経過の短かい電位波 (有髄神経のスパイク電位に匹敵する) が突発的且不規則的に大小の群をなして出現した。

2. GABOB 効果は上記の他の薬品と異りニコチンと拮抗的でなく協力的である。即ち GABOB を与えてその効果の消失した後にニコチンを与えると規則的な脳波の出現に先んじて GABOB による速波が再び現われる。

3. ニコチンによる脳波 (遅電位) と GABOB による速波とが共存して出現する。これら両者の間に何らの規則的な関係の認められないことはこれら2種の薬品の作用する細胞の異なることを示唆し、ニコチン並びに上記の他の薬品類は Granule cell に、GABOB のみは Mitral cell に作用すると

考えられる。

嗅脳々波の発生機序を研究する際、これら2種の細胞の活動を分離することが重要な第1歩であるので、GABOBは今後の研究に寄与する所大であると考え。

13. 松本政雄・秋山 勳・善如寺秀・森川襄治 (群馬大第1生理)

交流の刺激作用の本質に就いて

交流の刺激作用に就いては種々の報告があるが未だ充分明かでない。刺激方向に流れる半波だけで十分な刺激作用が現れる場合はあまり問題はないであろうが、比較的頻度の高い場合の刺激作用に就いては多くの学者は限界膜の整流作用によるものであろうと考えている様であるが将してそうであるか否か、余等は此の問題を明にするため先ず交流によって生ずる分極の状態を研究した。

炭素、paraffin と graphite の等量を混じり熔融して固めたもの (P-G電極) 及び純銀板等の電極を酸、中性塩及びアルカリ等の溶液中に浸し交流を通じそれによって起る分極に就いて観察した。その際(1)交流通電を行った後両電極間の電位を観察する方法、(2)交流通電に用いた電極の1つと、これと同種の(交流通電に使用しない)第3の電極との間の電位差を観察する方法及び(3)交流通電によって両電極間に生じた方向反対で大きさの等しい電位差が消去され両電極間の同方向の電位差のみが観察される様にした方法等を用い、交流によって生ずる分極電圧は2種類に区別することが出来ることを明にし得た。その第1は交流の位相毎に交代するものでその状況は交流の通電期間には関係しないが交流を開放するときの位相によって分極電圧の大きさ方向等が異なるもので第2は交流を通電した両電極に同方向に生成され通電期間と共に増大するが、交流開放時の位相には殆んど無関係であり、電極の構成物質、浸液中のion等に依存してその方向及び大きさが定まるものである。従来交流による分極電圧に就いて此の種のもは殆んど知られていない様であるが、交流の刺激作用と本質的な関係を持つものは上述第2の分極であると見做すことが出来るであろう。

14. 松本政雄 (群馬大学第1生理)

週期性興奮の起る機序 (興奮模型の実験から)

週期性興奮のよって現れる機序には(1)持続性刺激作用によるもの、(2)刺激作用の週期的変動によるもの、(3)循環興奮伝導の結果として現れるもの、等が考えられるが持続性刺激作用によって現れるものを本来の週期性興奮と見做すべきであろう。この場合には外来の持続性刺激によるものと刺激源を自蔵するものとの2種類あり前者は受容器の細胞によって代表され後者は心臓がその代表的のものであろう。併し週期性興奮の起る機序そのものは何れも同様であると考えられる。一定の強さの刺激作用の持続によって週期性興奮が起る条件は被刺激部位の刺激閾の週期的変動に基くわけである。即ち興奮後は刺激閾が高く(不応期の状態)その後閾が低下して刺激作用が有効になって興奮が現れるわけで斯様な刺激閾の変動を生ずる要因としては興奮と云う一連の過程を通して過剰の回復力の発生、興奮性膜が強固に形成された状態その他のものが考えられる。これらの要因のうち刺激閾の変動に最も強く働くものは回復力であってこの発生及び消失の経過の如何により持続性刺激に対し、(A)1回も興奮が起らない場合、(B)週期性興奮が起る場合、(C)持続興奮となる場合、等が起る。閾下の刺激作用の持続に対しては回復力の発生が少なく従って Accomodation が弱く、興奮期に於いて回復力が非常に強く現れ興奮から回復して静止状態になると比較的速かに消退し刺激閾が低下すれば再び興奮が起り此処に週期性興奮が現れることになる。此の結論は電気化学的週期性興奮模型の実験から得た結果であるが、一般に生体に於ける週期性興奮の場合にも適用され得るであろう。生体の場合に於いて持続性刺激によって興奮が起り又回復するものは刺激作用の強さ、温度其他浸液の状態等の適當の条件下には必ず週期性興奮が現れるであろうことが結論される。

15. 斎藤幸一郎・本田良行 (金沢大第1生理)

呼吸の化学的調節

CO₂加空気呼吸時に於ける換気の増大は動脈血のpCO₂とH⁺濃度の増大によるが、これら2つの化学刺激の換気促進効果を分離して測定した。

麻醉家兎に循環動脈血pH測定装置を装着し、先づ1~6% CO₂加空気を呼吸せしめ、平衡状態に達したところで換気量、動脈血pHと血漿の総炭酸を測定し、次でCO₂加空気呼吸を継続しつつ

重曹溶液を下空静脈内に持続注入し、動脈血 pH を正常値に平衡せしめつつ上と同様の測定を行った。

第 1 回の測定でみられた換気量の増加は両化学刺激の増加に対応するものであり、第 2 回に測定された換気量の増加は $p\text{CO}_2$ の増加だけでおこったものである。

本実験は目下続行中のものであるが、今日までに得られた処より次の所見が得られた。

1. CO_2 加空気呼吸時の換気量の増大はその約 2/3 が $p\text{CO}_2$ の増加により、1/3 が H^+ 濃度の増加によつておこる。

2. Gray にならって換気率 (VR) と動脈血の $p\text{CO}_2$ 及び H^+ 濃度 (H) の関係を求めると

$$\text{VR} = 0.04\text{H} + 0.109p\text{CO}_2 + \text{A}$$

VR は換気量を正常時換気量の倍数で表した数値 (Gray の場合は肺泡換気量について VR を出している)、H は (動脈血 H^+ 濃度) $\times 10^9$ 、A は常数である。

この式より分る通り $p\text{CO}_2$ の単位変動でおこる換気量の変化は H の夫れの 2.7 倍に当る。又 Gray の式に比較すると $p\text{CO}_2$ 、H の換気促進効果は何れも著しく低い。これは Gray が人体の肺泡換気量について測定したのに対し、吾々は麻酔家兎の換気量について測定したためであろう。

16. 福原 武 (岡山大第 2 生理)

腸管の自働能

腸管の自働能については、まず小腸の正常運動を論ずる必要がある。それは正常運動の型式についての概念が人によって非常にちがっているのみならず、各運動型の根源が心臓のように一元的であるか否かということが問題であるからである。

1. さきに私は腹窓法によって小腸の正常運動を映画に撮影し運動を分析した結果、小腸運動は外観上は多種多様の様相を呈するが、本質的にはただ一種の収縮波であるという結論に到達した (映画供覧)。上述の帰結は Bayliss 及び Starling や Trendelenburg の説と著しくちがっている。殊に氏等は蠕動が他の運動型とは異なり Auerbach 神経叢を介して起る反射であるという。(a) 私どもはさきに Bayliss 等の実験を追試し氏等の仮説の事実的根拠のなお薄弱なことを示したが、最近再びこの問題を検討した。これによって小腸には粘

膜並びに筋からひき起される 2 種類の内反射があり、それぞれ全く別個の性質のものであることを示し、これまで諸家の実験成績の不一致の原因は腸管刺激方法の不備のため前述の 2 反射の効果が相混合して現われる点に求むべきであると論じた。なおこの結果から上述の内反射は運動を発生するものではなく、既に小腸に発生している収縮波の強さ及び方向性を調節するものであるということが出来る。(b) Trendelenburg 説については私どもは、追試によって氏がその説のよりどころとする蠕動発生の限界圧を承認することができないことを示した。

3. 上述によって小腸運動は本質的には一種の収縮波であることの考えを確めた後、この運動が神経原性であるか筋原性であるかを論ずる。小腸壁の神経叢の全く除かれた小腸筋片が律動収縮を行うから Auerbach 神経叢はこの収縮波の根源ではない。したがって今日では小腸自働は筋原性であるという考えが有力である。しかし組織学的には筋内に神経細胞類似の細胞が存在するという人があり、それでこの細胞が自働に関与するか否かという問題が残されている。

4. つぎに自働問題の他の側面として小腸自働を起す化学物質の問題に言及する。

17. 戸塚武彦・加藤 漸 (日本医大生理)

pace-maker potential に就いて

細胞内電極で活動電位を記録すると、Purkinje 線維又は pace-maker のそれは一種特徴のある様相を示す。即ち活動に伴う depolarisation の後に hyperpolarisation の相に続いて上昇するゆるやかな depolarisation があり、その頂点に次の活動電位が乗る。

この様な関係が、元来は自働性を持っていない骨格筋に於いて、例えば塩縮の如き自働性発現に際して如何様な態度を現すであろうかと試みた。すると、正に Purkinje 線維と全く同様な貌を現す。

この場合遅い波状を為した“遅電位”が現れ、その頂点に spike が乗る。つまり遅電位の depolarisation の発展が、spike を促がすと一応は考えて良い様である。そして遅電位は伝導しない局部電位変化であり、spike は伝導する興奮である。

時にはこの遅電位がゆっくりとした山であり、

その山の上に連続反復性の興奮が現れる場合もある。

自働性連続反復興奮でなく刺激を与えた時だけに一過性の反復興奮を起こす様な場合にも、刺激に伴って一過性の遅電位が起り、その起って居る間だけ反復興奮が起るのである。

問題はこの遅電位である。之を調べて行き度い。

18. 内山孝一 (日大内山生理)

両棲類心臓の自動性についての諸問題

両棲類心臓の正常伝導は洞の Pacemaker → 洞の他部 → 第一次伝導系 (洞房漏斗) → 房壁筋と房中隔筋 → 第二次伝導系 (房室漏斗) → 心室全体 → 第三次伝導系 (心臓球の心室に近い部) → 心臓球並びに動脈球の順序である。特別な条件では第二次伝導系 → 心房 → 第一次伝導系 → 洞のような逆向き伝導が起る。同様に Pincette 型条片で洞の Pacemaker → 同側第一次伝導系 → 同側房壁筋 → 第二次伝導系 → 対側房壁筋 → 対側第一次伝導系 → 対側洞に伝導するような正常伝導と逆向き伝導により一種の循環伝導が現われる。この循環伝導の方向は対側洞を加温して洞の Pacemaker の Pace より多くなると、または Pacemaker を切除すれば逆方向となる。

然らば心臓各部を形成する筋はすべて自動性を有するかというにそうではない。自動性の高い順序に並べると、洞の Pacemaker, 洞の他部, 第一次, 第二次, 第三次伝導系である。すなわち正常 Ringer 氏液をあてた場合、心房、心室、心臓球などは伝導系の連絡がなければ自動性を示さない。しかし特別な条件では房・室・球部等も骨格筋の場合と同様に自動性を示すようになる。

以上に述べたことの実験成績について述べる。例えば、1) 両棲類心臓の心電図は洞房室球の4波の順序で現われること。2) 心各部の筋の活動電位 (細胞内並びに細胞外の方法による)。3) 正常と逆向き伝導の組み合わせで現われる循環伝導。4) 第一次第二次伝導系の組織像。5) 洞を麻酔、または K 麻痺によりその自動性を消失した後における洞の被刺激性、興奮性、伝導性、収縮性のあることを明らかにすると共に正常房部の刺激による興奮が、自動性を失った洞に伝導してくることなどについて述べる。しかし Pacemaker Potential の現われる機序をはじめ、まだ判然としない現象も多くあ

るので、それらのことについても述べて見たいと思う。

19. 竹林 弘・岡田浪速 (和歌山医大第1外科) 人為 pace maker について (特に Transpericardial stimulation 及び洞結節心室異相刺戟)

臨床領域において心律動異常を如何にして正常律動に戻すかは屢々問題となる処である。

従来の人為心搏調整法はどれも満足すべきものに非ず、ここに我々は独自の立場より、人為的 Pacemaker の研究を開始した。心電図、股動脈波 Kymography, 心房心室筋誘発電位、特殊心筋組織化学的検索等、各種の方法を用い多角的に検討した結果、Hopps, Shafiroff 等の方法に比し我々の創案せる transpericardial stimulation は遙かに卓越せる事が判明した。本法では電極は心膜に固定され、長時間に亘って一定の効果が得られるのみならず、開胸時及び閉胸時は勿論、非開胸例においても胸腔鏡の使用により心搏調整が可能となった。電極には単電極より双電極が有利であり、刺戟波については棘波と矩形波の間に優劣の差は認められない。刺戟部位としては洞結節部が最も優秀であるが、左心房基部刺戟も可成りの効果を發揮し得る。刺戟至適範囲は Voltage 1~4 Volt, frequency は心搏数の 110~150%, duration 2~3 msec である。

洞結節部刺戟は人為低体温下の心臓に対しても有効であり、又反射性 standstill, 機能的 block に対しても之を容易に回復せしめ得る。但し anoxia に基く回復困難な arrest に対しては冠灌流、countershock 等の併用が必要である。又器質的 block に対しては上記刺戟法は全く無効であり、為に洞結節・心室異相刺戟に着想之に吟味検討を加えた。洞結節 (第1), 心室 (第2) 刺戟の至適時間間隔は心室 (第2) 刺戟の部位により異なるが、概ね 50msec 前後である。第2刺戟の部位としては右心室前壁中央或いは心尖部が適当である。直視下に His 氏 bundle を切断、完全 block を作製した後、異相刺戟を行うに、本法は驚異的效果を發揮し、block は直ちに消退した。我々の方法の長所は Lellihei 等の心房、心室筋内金線挿入法に見る如き器質的損傷の危惧なく、而も確実な効果を期待し得る点にあると云えよう。

20. 永坂鉄夫・熊沢考朗・鈴木正康 (名大第1生理)

人体全身皮膚血管の自然動揺に関する研究 (第1報)

直結式反射光電 plethysmograph を用い、人体皮膚血管の自然動揺及び刺戟時の反応等を観察するに、手掌、足蹠のそれはほぼ常に収縮的に、顔面のそれは拡張的にはたらく (高木・沢田)。我々は、更に顔面のみでなく手掌、足蹠以外の全身皮膚血管の反応を追求し、2, 3 の知見を得た。受光器には、PT₁₇.G の photo-tube を用い、記録はすべて三栄測器ペン書きオシロによった。刺戟には約 40Volt 100msec の電気刺戟を脛骨側皮膚面に、その他種々の音、mental effort 等を使用した。

1. 手掌、足蹠部 (A 部) では刺戟時、ほぼ常に下向きの波が出現する。之に反し、手掌、足蹠以外 (B 部) では、ほぼ上向きの波が出現した。自然動揺に於いても、上向きの成分が優勢であった。

2. 刺戟時、(A 部) の波と (B 部) の波にはほぼ逆の相関係のあることが知られた。

3. (A 部) 以外の異なる 2 点では自然動揺及び刺戟時の波に可成りの相関があった。

4. 両側の対応する部位の間には、刺戟に対して強い相関を示したが、自然動揺は分離しやすかった。片側圧迫、側臥位によっては、必ずしも分離しなかった。

5. (A 部) と (B 部) の移行部、すなわち前腕、下腿等では、時により下向きのみ、或いは上向き下向き二相性の波になることもあった。更に (A 部) に於いても、之をみるがあった。

以上の結果、全身皮膚血管の反応は、収縮と拡張との 2 つの過程からなっており、手掌及び足蹠ではこのうちの収縮的な成分が、その他の部位では拡張的な成分が強く反応するのではないかと思われる。又、時により種々な波形を示すのは、それら 2 成分がいろいろな割合で出現する結果と考える。

21. 伊藤 電 (名大第2生理)

骨格筋の自働性と線維性収縮

運動単位が分裂が起る狭義の線維性収縮に於いても尚種々の型がある。この内特に Fibrillation と

云われて居るものについて追及して来た結果を報告したい。今まで実験的に F を起す方法は多数報告され、薬物によるもの、除神経に依るもの等であるが、我々は主として塩縮 (特に BFT) と除神経顫動について研究を進めて来た。

除神経顫動は温血動物では起るが、Langley 以来冷血動物では起らぬとされて来た、除神経筋の BFT の研究から藁でも除神経顫動を起し得る様になった。我々の研究の発端は BFT の発生点の問題であった、縫工筋には旋回路が無いから、発生点が見付かるであろうと考えて、インプルス方向分析器を試作して、BFT では端板部よりは恥骨端近くである事を見付けて、今までの端板部であろうとの予測を訂正した。BFT への助長性、抑制性のイオンの研究から脛骨端近くに第 2 の発生的を見付け、第 1, 第 2 の pace-maker 競争についても実験した。

名称から単一筋線維の個々の活動であろうとの考えは実際的でない。棘高の研究から BFT でも除神経 F でも、数本の線維が同期して活動して居りよって同期の機作について考察を試み、recruitment の実験から筋の絶縁性伝導の例外を得、その条件を探索した。

全筋については F 活動単位は多いので、単位放電リズムは針電極でも困難である。そこで隔絶板内に種々と記録、接地電極を挿入した結果、ステレオ式誘導法を創作して、全筋中の多数の単位の放電から単一単位の放電リズムを分析した。その結果季節馴化と実験温度の影響の差が明かとなり馴化温より実験温が少し高い温度では時群化が現われる事を知った。この群内頻度は季節によらず実際温度に左右されると云う結果を得た。細胞内電極法によって発生点の膜電位の動揺と前電位、塩化アンモン、アコニチンによる F 等の最近の結果についても時間のある限り触れたい。

22. 若林 勳・岩崎静子・池田和夫 (東大生理)

意義不明な週期的発電

蟬の発音筋に針電極を刺して活動時の電位をしらべていて、非活動時に微小な不規則な時に規則立った発音が検出されることに気付いた (1946)。其後種々の昆虫筋に就いて検したが、種類によってこの種の微小発電の検出されるものとされないうものがあり、昆虫筋の宗族発生との間に相関

が見られた。蟬の微小電位は数百マイクロボルトの程度で発音時の活動電位の約10分の1である。更にこの微小発電を追跡してみるとその形式に緩やかな変動があり、屢唸りの如き様相を呈した。この週期というようなものは40乃至80p. secであった。これらは虫体から遊離した筋で見られる。

昆虫筋との比較に於いて甲殻類の鋏筋を調べた処屢規則正しい週期的な発電を見出した(1946)。その大きさは数十マイクロボルトの程度で、随意運動時の筋活動電位の数百分の一にあたる。これらは体から遊離した鋏標本で検出された。その週期らしいものは1乃至50p. secである。

その後蛔虫の虫体から発電を調べる機会(1951)があった。仕切電極に虫体の頭に近い一定部位を入れる時、時によって規則だった週期的な発電を記録することができた。その週期らしいものは2乃至5p. secほどであった。

Fatt及びKatzの見出した微小終板電位(1950)に関連のあるものかどうか不明である。

23. 勝本保次(東京医歯大生理)

聴覚の神経機構

1862年Helmholtzが聴覚機構について蝸牛に於ける音の分析に関する仮説をのべて以来、つい最近迄多くの説が現れているが、何れも蝸牛内に於ける音の完全分析を仮定し、神経機構は分析された音による信号を大脳皮質に送るとのみ考えられてきた。而し乍ら最近に至って、Békésyと田崎は全く異なる方法により、蝸牛内の分析が不完全なものである事を実証した。この結果神経機構に新たな問題が加えられるに至ったが、脳内上位聴中枢に関する研究は従来基だ不完全なものに過ぎなかった。

我々は超微小電極法を用いて聴覚系路に沿う脳内の種々の場所から、単一ニューロンの音刺激に対する応答を記録した結果次の様な結果を得た。

1. 下位のニューロンでは著しい自発性放電が見られた。
2. 放電の様式は下位と大脳皮質では著しく異り、刺激の強さに対する放電数の増加は間脳位までは見られるが、大脳皮質ではこの関係は見られない。
3. 各ニューロンの応答野は末梢で著しく広いが上位に至るに従い狭くなり、間脳位で最も狭

く、大脳皮質では却って広くなった。

4. 応答野が狭くなる機構は、同時二音刺激法によって、一音に対する応答野が、他音によってそのニューロンの特徴振動数をはさむ両側から、抑制的な作用を受ける事がわかった。

5. 大脳皮質では、二音刺激により特定の振動数の間に互いに促進的な作用が見られた。

以上の実験結果から、音の調子及び強さに関する分析は、間脳に於ける内側膝状体位にて完成され、大脳皮質では分析された各音の総合が行われると結論された。皮質に於ける綜合作用から、従来全く未知の音の心理学的現象の機構解明の手掛りが得られる様に思われる。

24. 吉井直三郎(阪大第2生理)

意識の段階性について。

25. 伊藤秀三郎・斎藤義夫・岡村一夫(東京歯大生理)

運動条件反射実験過程に見られた不安及び興奮状態について

健康人を被検者とし左右両肢の回避運動条件反射を形成し、Pavlovの手法に準じ分化条件刺激を徐々に接近せしめて所謂実験神経症の状況下に曝露した所、大略次の如き結果を得た。

被検者に最初から複雑な分化強化法をとった場合は全実験例において失神、異常発汗及び実験拒否等の事態に立寄り強化続行不能に陥った。左右両肢の陽性及び陰性の分化を順を追って形成し左右の分化刺激を徐々に接近した所、内省及び行動面には深刻な疲労困憊、情動的興奮、不安状態、頭部運動、舌打及び知覚の鈍麻等が見られ、EMGには両肢挙揚及び刺激時以外の挙揚が現われ、GSRには呼吸運動の乱調、目発性GSRが現われ、心搏数には著しい増加が認められたが、外面的には分化の崩壊も実験拒否も行動の乱調もなく動物の実験神経症的行動とは著しく異なっていた。

尚実験過程における体液性の変動も見したが、ドナジコ法によって疲労の深刻な事を認め血糖は著しく上昇し実験終了後かえって高まっていた。

以上をまとめると、内面的徴候は動物の実験神経症の状態と健康成人のそれとは同一或いは近似的であるが、外面的徴候は大いに異なる。それは健康成人の此場合はこれら disorders を抑制して

表面化しなかったためと考えられる。

26. 幸塚嘉一・内藤博江・浅井茂次 (関西医大生理)

交感神経の生理学原論的研究

I. “脊髄後根交感神経”(efferent)の瞳孔縮小作用について

II. 所謂 Langley 氏遠心性二重支配法則批判
さきに私たちは、“脊髄後根交感神経”(efferent)がその機能として血管拡張作用並びに心臓抑制作用を有することを明らかにし得た。本研究においては、“脊髄後根交感神経”が更に瞳孔縮小作用をも有することを実証し得たので此の問題について報告する。

実験方法；大脳、中脳を切除せるカエルおよび食用ガエルを用いた。刺激方法としては“グリセリン点塗法”(glycerine spot method, 1952, 幸塚)および Langley & Dickinson のニコチン法を使用した。瞳孔の観察は常に一定強度の人工照射の下でおこない、瞳孔直径の変化を拡大鏡(6×)の下にてノギス(精密度1/20mm)を用いて測定した。又連続写真撮影によって瞳孔直径の変化を検討した。

実験成績及び考察；予め両側の post. root (II)を切断し、一定時間静置した後、一側のpost. root (II)の末梢切断端を“グリセリン点塗法”により刺激すると、刺激側の瞳孔は刺激前に比して明らかに縮小を示し、瞳孔直径の減少を来した。しかし一定時間の後、刺激前の瞳孔直径に回復した。この成績は、“脊髄後根交感神経”(efferent)の刺激により瞳孔散大筋の弛緩が起った結果であると考えられる。尚此の際予め大脳、中脳を除去してあるから、動眼神経による縮瞳については考慮の必要はないわけである。次いで同側のsymp. ggl. II, IIIに nicotine Ringer 液を塗布すると、塗布側の瞳孔は明らかに散瞳を示した。之は当然Langley 氏交感神経が刺激された結果である。従って瞳孔は、前記“脊髄後根交感神経”による縮瞳と、交感神経(Langley)による散瞳との、交感神経性の二重支配を受けていることが明らかである。次に予め一側の symp. chainを切断した後、先の場合と同様に同側の post. root (II)を“グリセリン点塗法”により刺激したが瞳孔縮小は起らなかった。従って此の後根を通る縮瞳神経線維は symp.

chain 中を走って瞳孔に達しているものと考えられる。

結論；1)カエル、食用ガエルの post. root (II)の末梢切断刺激により、明らかに縮瞳が起った。即ち“脊髄後根交感神経”は瞳孔縮小作用を有することを実証し得た。従って瞳孔はLangley's symp. による散瞳作用と、“脊髄後根交感神経”による縮瞳作用との“交感神経性二重支配”を受けている事が明らかとなった。2) 1)の結果は所謂 Langley 氏遠心性二重支配法則のよって立つ根拠をゆるがすものである。

27. 勝野 直 (日本医大生理)

誘導軸を平行に移動させた場合のベクトルの変化

種々変化を与えて得られたベクトル図の特徴がどの程度迄完全にグリツシュマン誘導法に依って得られた F. H. S. の3つのベクトル図に現わされているか、此の点の究明の為グリツシュマン誘導法を基礎として誘導軸を平行に移動させた場合のベクトル図を求めた。

誘導軸を平行に移動させる方法の F. ベクトル図の場合はグリツシュマン誘導法の①—④を③—④として之を固定し①—②を右前腋窩及び左前腋窩の線にそって腹部より前面を漸次上方に平行に移動し脊部に及んだ場合のベクトル図とする。S. H. のベクトル図の場合は省略す。

被験者(A)の F. ベクトル図の場合に於いては変化を与えて得られたベクトル図の特徴がグリツシュマン誘導法にも表現されているが、F. S. の左背部の部分より誘導した場合に特に QRS ループが小となっているのが目立つ。又 QRS ループの方向が或る場所を境として急に返転している。被験者(B)の F. ベクトル図に於いても(A)と同じく特徴が現われて居り、又QRSループは第3~6肋間の間に於いて急に返転している。

F. ベクトル図をさらに詳細に検討するため F. の場合の①—②を左、右乳腺、左、右胸骨縁線等にそって平行に移動した場合のベクトル図を求めた。此の場合QRSループは基点を境として第4肋間にて返転している。

H. ベクトル図をさらに詳細に検討する為、ウィルソンの単極誘導法を用い平行に移動した場合のベクトル図を求めた。

結論.

1. 誘導軸を平行に移動させた場合のベクトル変化を求めた.
2. 或る1つの誘導法にて固体の心臓の起電力の変化の特徴を全部表現するのは困難と思われる.
3. 或る点又は或る面を境としてQRSループの方向が急に返転している. 之が0点に相当するか否かは今後の検討に待たねばならない.

28. 奥野正良 (三重大生理)

交感迷走兩種神経線維の性状の差異 (第3報)

藁の迷走交感神経別出標本を資料に action potential oscillogram を指標として,

1. 塩化コリンを用い浸透圧を高張とした場合低 Na-Ringer液のもとで交感神経には parabiose の過程に於ける代償機転を営みを想わせる様な興奮伝導速度の遅延を伴う action potential を誘発可能な時間の持続性が認められたが, 迷走神経には AP. の消失に先駆する伝導速度の遅延化を明には認め得なかった. 此の成績は低Na-低滲圧 Ringer液中に於ける交感迷走神経各々に認められる現象の夫々逆である.

2. 塩化コリンにて浸透圧を補償する場合は低 Na 環境に於いても交感神経性 AP. の方が迷走神経性 AP. よりも長時間に亘って誘発可能である. 蔗糖にて浸透圧補償の場合は両者の此の様な感受性の差異は塩化コリンの場合の様に明確でない.

3. 酸素に対しては交感神経性のものよりも迷走神経性 AP. の方が影響変化を受け易い. 稀薄濃度であれば弱勢なものは強勢化される.

4. glucose は新鮮にて強勢活潑な神経標本にはさした影響を認めなかったが, 陳旧な劣勢化した標本では之を強勢化する場合があった. 強勢化された迷走神経性 AP. はその状態を可なり持続する.

等の諸項を観察した.

29. 笹川久吾・青山辰夫・上野孝四郎 (京大第2生理)

コロイドのデイメンジヨンに於ける生機成立の物性論的検討

Liponucleoprotein system なる高分子複合体が,

reines wasser を取入れた時に, Ion 活性, 従って生物学的電気活性が旺盛となり, 勢力代謝が増大し, 生機が成立すると云う笹川の Elementary unit of living System の構成を, Picofaradmetrie で検証する. すなわち Liponucleoprotein が Colloid の Dimension に於いて, その数分子宛の相互関係で単位的に生機の生ずべき理を示すために, 分子間の結合によって生起する電気活性を, 生物学的極微電気活性度測定法を以て, in vitro で追求した成績を報告する.

30. 笹川久吾・上野孝四郎・青山辰夫・稲葉長七 (京大第2生理)

生機成立の主材としての Liponucleoprotein System の電気活性増大条件

高分子複合系たる Liponucleoprotein System の生物学的電気活性度は, 蛋白, 脂質, 及び核酸各要素結合の成分比, 及び結合方法, 乃至 Ion 及び酵素, Glucose 等の結合介在等に依り異なること, 又それ等の結合様相に就いては, 斯かる系の最も好適な条件 (pH. 7.2, 温度35°C附近, 成分比 P₍₃₎, L₍₃₎, N₍₂₎, Liponucleoprotein の濃度8%) を具備した時に最も生物学的電気活性の増大を招来する. 即ち生機の成立が著明になる事を in vitro, Picofaradmetrie で示す.

更に Ringer Locke's solution の如く種々の Salz を含むものは, Salz に依り電気活性を増大せしめるもの (例えば NaCl の如く) と低下せしめるもの (例えば CaCl₂ の如く) とが含まれているが Salz 全体としては, 相関連して Liponucleoprotein 複合体の生物学的電気活性を増大している.

又 Liponucleoprotein 系と Glucose 及び Enzym との相関による生物学的電気活性の変化をみると混合直後は余り電気活性は増大していないが時間の経過と共に増大する. これは Glucose が Enzym に依り分解されるに従って Energie を放出することを示すものであって, Glucose は生活基本単位には必須ではないが, 一般に生体が生活力を示すために大いに役立っている事の証左の1つと思われる.

31. 西丸和義・西田芳郎・佐々木弘純 (広島大生理)

体液循環の概念に就いて

体液循環について、ここでは主として血液循環を中心にして追求した結果を報告する。

全循環系内での循環状態を知るには、先ずその各部分での流動状態を知ることが肝要であり、種々の部位での代表的な流動型を取上げることになり、それらが広く生物界での如何なる循環系の

如何なる部位に存在分布し、それらが如何に構成されているかを追求することにより、体液の循環とは如何なる状態のものであるかを明かとして、又それらがその系の構造や機能によって、如何に影響されるものであるかを示したものである。

第127回生理学東京談話会

時 昭和33年9月20日(土)午後1~6時

所と当番 東京女子医科大学病院臨床講堂 饗島 高・菊地録二

1. 幸塚嘉一・内藤博江・浅井茂次(関西医大生理)

交感神経の生理学原論的研究

Ⅰ. “脊髄後根交感神経”の瞳孔縮小作用(その2)

Ⅲ. 所謂 Langley 氏遠心性二重支配法則批判
さきに私たちは、“脊髄後根交感神経”(efferent)が血管拡張作用、心臓抑制作用に次いで瞳孔縮小作用を有することを明らかにし得た。即ち前報においては、カエルおよび食用ガエルの後根(Ⅱ)の末梢切断端を“グリセリン点塗法”にて刺激すると瞳孔縮小を来す事を観察し、之によって“脊髄後根交感神経”(efferent)は“sympathetic pupilloconstricting fibre”(仮称)であることを実証し得た。本報においては、この“sympathetic pupilloconstricting fibre”の cell station の位置並びに anatomical course を生理学的実験により検討した。

実験方法の概略は前報と同様である。cell station の決定に当っては、ニコチン法(Langley & Dickinson)及び“グリセリン点塗法”(1952 幸塚)を用いた。

実験成績及び考察; 予め大脳、中脳を切除し、両側の post. root を切断せる食用ガエル(或いはカエル)について、先ず一側の spinal ggl. Ⅱに0.5%の nicotine Ringer 液を塗布すると、塗布側の瞳孔は塗布以前に比して明らかに縮小を来し、瞳孔直径の減少を示した。しかして一定時間の後元の瞳孔直径に回復した。之は post. root Ⅱを通過するところの“sympathetic pupilloconstricting fibre”に属する介在神経細胞が spinal ggl. Ⅱ中に存在し、之がニコチンにより最初刺激され、次いで麻痺された結果と考えられる。何となれば次に spinal ggl. Ⅱより中枢部に当る post. root. Ⅱを前報

と同じく“グリセリン点塗法”にて刺激したが瞳孔はもはや縮小を示さなかったことにより明らかである。又予め一側の R. ophthalmicus を切断しておき、同側の post. root Ⅱを前報と同じく“グリセリン点塗法”にて刺激した場合には瞳孔縮小はおこらなかった。従って“sympathetic pupilloconstricting fibre”は R. ophthalmicus 中を通過して瞳孔に達していると考えられる。

以上の成績は所謂 Langley 氏遠心性二重支配にては説明困難である。

結論; 1) post. root (Ⅱ)を通過するところの efferent の瞳孔縮小神経線維、即ち“sympathetic pupilloconstricting fibre”は spinal ggl. (Ⅱ)にて cell station をなす。2) “sympathetic pupilloconstricting fibre”は R. ophthalmicus 中を通過して瞳孔に達すると考えられる。3) 1), 2)の成績は、所謂 Langley 氏遠心性二重支配法則の不当性を示す根拠となり得るものである。

2. 島本多喜雄・藤田 勉・志村弘道(東京医歯大臨床生理)・矢島権八(東京医歯大病理)

動脈硬化及び心筋硬塞の一新成因と実験的根拠

赤痢菌(Shigella flexneri 26)より抽出した細菌性多糖類 50 γ /kg を家兔に静注投与し電子顕微鏡的に毛細血管の動態を追及すると、3時間後に内被細胞の浮腫状膨化が、8時間後に血管腔内の陰影増加と赤血球、白血球及び血小板凝集物質様のものが停滞(stasis)を来し末梢循環障害を惹起しているのが見られた。特に30分後アドレナリンを静注付加すると、この変化は増悪された、又別に同物質投与による末梢血液内白血球及び血小板数の変動を見ると、白血球数は減少後増加、血小板数は減少後回復の経過を取り、之と平行して serotonin の酸化物である 5H. I. A. A. (5-Hydroxy Indol-

Acetic Acid) の尿中排泄の増加が Paperchromatography により証明された。かかる変化は上記細菌性多糖類に限らず、Dextran, Glycogen, Kaolin 等の高分子物質に共通に見られるものである事が分った。

之等の知見に基き、我々は高分子物質による実験的動脈硬化及び心筋梗塞作成に対する一新法を確立した。

実験方法

1. 動物、白色雄性家兎 (2.0~2.5kg)
2. 薬剤及び量 1) 高分子物質 細菌性多糖類 (50 γ /kg), Dextran(15mg/kg), Glycogen(15mg/kg), Kaolin(5mg/kg), 2) Adrenaline (1~10 γ /kg, 1 γ で充分である)。
3. 投与方法及び期間 高分子物質静注投与単独でも良いが短期高度の変化を得るには高分子投与後30分でadrenalineを静注投与する。之を隔日に1週3日4週間経続する。
4. 第5週目に空気栓塞致死剖検。

上記方法により実験動物全例に心室中隔、左心室壁心筋等に乳頭筋及び心尖部に肉眼的に灰白色の散在性乃至限局性病変を、組織学的に該部に貧血像各種変性像及び壊死、間質組織増殖等の断血性病変が見られ、又、該部を灌流する冠動脈に内膜のelastofibrosisを主とした冠動脈硬化及び大動脈にも軽度の同様変化を見た。中には閉鎖冠動脈とその灌流下心筋障碍との関係が立証せられた。高分子物質単独群はadrenaline併用群よりは軽度である。但しadrenaline単独の投与では間質増殖型の変化のみしか見られなかった。現在我々は此の方法を用いて心筋障碍予防法を研究中であるが第一着手としてBandu族食餌を検討し塩化マグネシウムを1日に1.5g 2回計1日3gを連日莖口投与する事により可成の予防効果を認めている。

3. 福田篤郎・中沢隆一 (千葉大第2生理)

発熱物質耐性と副腎皮質

発熱物質耐性出現機序に関しBeeson (1947) は、細網内皮系の機能亢進による発熱物質の血中よりの消失を唱えたが、Farr (1954) は、発熱物質促進因子に対する抑制因子の増量を主張している。この抑制因子は γ -Globulinに含まれるとされ、耐性動物の血清による受動的耐性移行が可能という。

耐性出現に関する副腎皮質の役割は明かにされていないので、著者等はこれを検討した。Typhoid-Paratyphoid Vaccine 0.1cc/kgを静脈内に連続投与すれば、正常ウサギでは2~3週間後には発熱著しく減少し容易に耐性を生ずるが、副腎摘出ウサギでは1カ月後でも発熱し耐性獲得がみられない。この際正常ウサギの血清蛋白分層で γ -Globulinの著明の増加がみられたが、副腎摘出ウサギではみられなかった。即ち γ -Globulinとの間にはFarrのいう如く、何らかの関連がある事を知った。又正常ウサギの耐性獲得した時に副腎を摘出すれば、 γ -Globulinは減少し同時に発熱も増大する。又耐性獲得したウサギ血清5ccをTyphoid-Paratyphoid Vaccine投与直前に、正常ウサギに静注すれば発熱を著しく抑制する。

Cortisone 2mg/kg連続投与すれば γ -Globulinの増加を来たし、それと共にTyphoid-Paratyphoid Vaccineに対する発熱も減少した。この様なウサギの血清をTyphoid-Paratyphoid Vaccine投与直前に正常ウサギに静注すると発熱を抑制する。

以上の実験によりTyphoid-Paratyphoid Vaccine反復投与によって生ずる耐性は、副腎皮質の賦活を介する γ -Globulinの増加により、液体性に発熱物質と拮抗すると考えられる。耐性ウサギの副腎重量は、正常ウサギの2倍に増加している。

本研究に対する詳細は、近く日本生理学雑誌に発表する。

4. 時実利彦・川村 浩・本郷利憲・久保田 競・今村護郎 (東大脳研)

網様体賦活系の機能分化

Magoun等の確立した網様体賦活系には、thalamic routeとextrathalamic routeがある。前者はJasperの確立したdiffuse thalamic projection systemに機能的につながると考えられており、後者はpost. hypothalamus, subthalamusを経て内包を通っていることが分っている。著者等は、クラーレ猫を用いてこれらの関係を電気生理学的方法によって調べた。thalamic routeはdiffuse thalamic projection systemを経て新皮質を賦活しており、extrathalamic routeは旧皮質、古皮質(扁桃核、海馬など)を第1次的に賦活し、新皮質に対する賦活は、第2次的と考えられる。大脳皮質

に対する賦活の様式は, thalamic routeは phasicであり, extrathalamic routeは tonicである. 脳の活動に対する excitant や depressant もその種類によって夫々異なる route に作用すると考えられる. 例えば, パルビツール酸誘導体による麻酔の初期には thalamic route の機能を低下させるが, アトロピンは extrathalamic route の機能を低下させる. この2つの route の起点の網様体における分布についても相違があると考えられ, 現在これを追求中である.

5. 森下敬一 (東京歯大生理)

〔映画〕白血球はどこからどのようにして生れるか?—その赤血球からの生いたちをさぐる.

私が数年来主張してきた見解すなわち“白血球は赤血球から生れる”現象を映画として供覧した.

この映画では, 赤血球から放出された細胞質顆粒が集合し, 或る秩序を以て配列融合した後白血球化する過程や, 赤血球の細胞質からリンパ球が自然発生的に生れてくる状況を主として収録し

た.

この映画のもつ意義は,

1. まったお独自の力で製作されたこと.
 2. 赤血球や白血球の起源と, その生理学的意義について, まったく独創的な概念が提出されたこと.
 3. “白血球の起源が赤血球である”ということだけではなく, 千島-森下の新造血概念の信ぴょう性が見直されるであろうということ.
 4. フィルヒョウの細胞分裂概念に対するレベシンスカヤ及び千島の細胞新生概念の正当性が少くともこの造血の問題に関する限り立証されたこと.
 5. 白血病その他の血液疾患の成因, 対策の解明に重大な示唆を与えていること.
- などであろう.

特別講演

6. 真島英信 (順天堂大生理)

アメリカの筋生理学

第11回日本生理学会北海道地方会 (第12回東北・北海道医師会連合学術大会と合同)

時 昭和33年10月5日

所と当番 北海道大学医学部生理学教室 藤森開一

特別講演

1. 伊藤真次 (北大第1生理)

下垂体機能の神経性調節

視床下部と下垂体前葉との間に神経連絡がなく, そのかわり特殊な血管系すなわち下垂体門脈系がある. これより視床下部の前葉機能に対する調節は液性に営まれるものと信じられている. しかしその neurohumor の本体は明らかでない.

視床下部における神経分泌物として, いわゆる後葉ホルモンがある. Vasopressin は単に抗利尿ホルモンとして作用するのみならず, ACTH の放出をうながす neurohumor (CRF) の産生に関係するとみなすべき幾多の事実があげられる.

視床下部組織に Pitressin と共に ATP 又は epinephrine を加えるとき, in vitro で CRF 様物質が産生せられる. 至適 pH は 7.2 で, incubation time 30分で最大効果が得られる. incubation medium に hydrocortisone を加えても, 有効物質の生成に変わりなく, 副腎抽出ネズミ, cortisone 処

置ネズミの視床下部も正常対照動物のそれと同様有効物質を産生する. 正常ネズミの視床下部組織を用いたとき pyridoxal の添加は何等特別な影響を示さないが, B₆拮抗物質である hydroxymethyl-pyrimidine 処置動物の視床下部組織では有効物質の産生が明らかに低下しており, in vitro でこれを pyridoxal を加えるとその生成が対照のレベルまで大となる.

有効物質の生成に際して Vasopressin の抗利尿作用が失われる. 脳組織による ADH の不活化は B₆, glutathione, cystein 等の存在下においてもまた見られる. その反応は可逆的で, 不活性化後, 酸加熱抽出によつて再び利尿抑制効果が現われる.

Vasopressin が CRF の precursor になる可能性について論じ, また Vasopressin が TSH の分泌を抑制するとみなすべき実験結果を述べ, stress に際して ACTH の放出と共に TSH の分泌が抑制せられる事実と照らし合わせて, Vasopressin の neurohumor としての意義を考察した.

一般口演

2. 内田 孝・石谷邦介・岩瀬善彦 (北大応用電研生理)

大脳皮質の dendritic potential について

演者等はこれまで、大脳皮質直接刺激に対する反応 (いわゆる dendritic potential, 以下 d. p. と略) の性質を研究して来たが、今回はこの反応に対する strychnine と d-tubocurarine の影響について述べる。従来 Chang '51, '53 はこの両方、Clare & Bishop '57 は前者のみ、Grundfest & Purpura '56 は後者のみについて夫々報告しているが、その効果は驚く程異つた結果に導いている。この paradoxical な諸結果の原因を探るのが今回の実験の直接の目的である。この両物質は topical application の場合、非常に良く似た作用を示し、如何なる濃度でも先ず一旦 d. p. の抑制、時には消失 (高濃度では強く、また長びくが、低濃度では数分) が起り、次いで回復と同時に D_2 成分 (既発表論文参照) の増大が見られ、この為、反応の振幅と duration が大きくなる。高濃度ではこの後、夫々良く似た strychnine spike と curarine spike が、この反応によつて誘発されるが、その latency は刺激の強さによつて変るのは Chang が strychnine で見出したのと同様である。本実験では strychnine 0.5% 以上、curarine 0.1% 以上の場合は数秒の投与にとどめ spontaneous spike の生じない状態で行つたが、この時 d. p. は未だ相当の抑制を受けている。以上の事実からこれまでの相矛盾した結果は次のように説明出来ると思う。Chang の d. p. が少し抑制されるか、または全然変らないと云うのは、相当高濃度のものを用い、充分時間が経つてからの実験である為であり、Clare & Bishop の場合は種々の濃度を使つてはいるが、投与後、抑制期を過ぎ、増大した反応を与える時になってからの実験を示し、Grundfest & Purpura は intravenous injection ではあるが、実効的には比較的低濃度 (0.01% 程度) のものを topical に与えた時と類似して居り、時間的には直後の抑制から回復まで追跡している。つまり結論として濃度と投与後の時間の相違が、かくも異つた結果に到達した理由であつたと言える。

3. 隅田賀周 (北大応用電研生理)

大脳皮質の dendrite の興奮性周期について

モルモット前頭葉皮質表面の twin shock method によつて dendrite の興奮性周期をしらべて次の結果を得た。

1. Dendritic potential の excitability は使用した麻酔薬の量により相違がある。即ち抑制期は麻酔量が少い程短く、supernormal phase も大きい。無麻酔に於いては更に著明である。

2. 麻酔の深さや刺戟の強さ等を考慮すれば脳の excitability に於いても supernormal phase が見られる。尚閾値刺戟では Chang の二次的抑制は殆んど見られない。

3. 皮質下切断を行うと apical dendrite の excitability は低下する。即ち視床よりの impulse に基いて皮質が常に賦活されていると云えよう。

4. Strychnine (0.25%) は apical dendrite の興奮性を増強する。

4. 岩瀬善彦・塚越芳美 (北大応用電研生理)

Veratrine による dendritic activity について

モルモットの脳皮質表面を直接微小金属電極に依り、反復刺激 (5, 10, 20c/s, puls dur. 0.3ms) を行うと、その刺激の1つ1つに対応する反応、即ち dendritic potential (DP) が得られる。此の場合皮質表面刺激局所へ Veratrine を作用させ、刺激の周波数と電圧を変えて、直流増巾器に依り DP を観察し、Veratrine の dendrite 活動に対する作用の一端を知るために実験を行い次の結果を得た。

1. 薄い濃度の Veratrine では DP は多少抑制され振幅が小さくなる。

2. 中等度の濃度の Veratrine では何れの周波数でも DP は消失し、陽性波のみとなる。又そのとき 5c/s では刺激電圧を大きくすると DP が多少表われて、slow recruitment を示し、猶その際 DP の後に slow nega. pot. が現われる。

3. 濃度の高い Veratrine を使用すると 5c/s に於いて刺激を強くしても DP は抑制されているが slow nega. pot. は初めの中は著明に表われるが、結局は DP 及び slow nega. pot. 共に消失する。そして Ringer 氏液にて洗滌すると DP は再び回復する。

以上の事より Veratrine は dendrite の活動を可逆的に消失させるが、之は末梢に於けると同様

細胞膜のイオンの透過性を変えることに依るものらしい。

猶 DP に続く slow nega. pot. を皮質深部のものの potential と考えるならば Veratrine は之に対して興奮性を高める様な過程を経て抑制的に作用するらしいという結果を得た。

5. 草地良作・松本英人・三嶋茂雄 (北大獣医生理)

呼吸及び心搏の規則性と不規則性に就いて

呼吸及び心搏の間隔を連続測定すると、測定精度により勿論異なるが、平均偏差が認められるものが普通である。極めて素朴的に考えると、此の偏差のある事自身不規則な事と云える。

かかる意味で吾々は偏差のある事及びない事を夫々第1種不規則性、第1種規則性と呼んでいる。通常使用されている呼吸心搏の規則性とは、此の偏差の許容限界を任意に設定した上での第1種規則性の意味である。此処で問題になるのは第1種不規則性とは全く不規則なものであるかと云う事である。之を自己相関を求める事によって検討すると、第1種不規則性の中に規則性が含まれているものと、ないものがある。吾々は前者を第2種規則性、後者を第2種不規則性と呼んで、規則性の内容を規定分類するのが妥当であると考えた。

第2種規則性の諸性質について吾々は報告して来たが、検出方法そのものに幾多の問題が残されている。吾々は従来原系列を定常と見做して、直接系列相関を求めていたが、かかる方法では一般に規則性の内容が単一でない為に拾い落される規則性が生ずる危険がある。之を避ける方法として、筋電図学に於ける放電間隔の問題でなされている様に、適当な移動平均による系列分解の方法がある。此の方法は系列の Power spectrum が充分に分離した峯から形成されている時は有力な方法と云える。併しながら次の場合は任意の周期を人工的に作り出す加能性が生ずる。即ち Power spectrum が不完全に分離した峯からなる時及び拡

た峯からなる時とである。かかる実例及びかかる危険性は Power spectrum より判定する事により避けられる事について述べた。更に第2種規則性の発生機構についても考察を加えた。

6. 渡辺由雄 (北大理学動物)

ザリガニ腹部神経節の繰返し刺激に対する反応

ザリガニの腹部神経節の節前繊維に種々の頻度で繰返し刺激を与えて、神経節を通しての impulse の伝播の仕方を観察した。

1. 種々の時間間隔で2つの刺激を加えた時、5乃至20msec の刺激間隔の場合に、節後神経に伝達されて来る impulse 数の増加が見られた。この時細胞内電極で記録すると synaptic potential の temporal summation が見られ、節後神経の impulse の数は、synaptic potential の大きさと共に増加する傾向があった。

2. 一連の繰返し刺激に対しては、毎秒50回以上の頻度の場合、synaptic potential は temporal summation によって前後のものが互に fuse し合い、節後繊維の impulse の間隔或は頻度は節前繊維のものと直接には夫々対応してはいなかった。しかしこの場合も節前繊維の impulse 頻度の高い程 synaptic potential は大きく、且節後繊維の impulse 頻度も高かった。また連続刺激によって adaptation が見られる際にも、synaptic potential が減少しそれと並行して impulse 頻度も減少していた。神経節細胞に発生して節後神経に伝わって現われる impulse の間隔は、synaptic potential と節後 impulse の after potential との拮抗作用によって決定されるものと思われる。

3. 一連の繰返し刺激の間に、刺激頻度を種々の早さで変化させて、節後 impulse の頻度の変化を観察した。2. で用いた方法で刺激した場合に after burst のある経路と無い経路が識別出来たが、この両者は impulse 頻度の変化の遅速にも違いが見られた。

(以下次号に掲載の予定)