

日本生理學雜誌

JOURNAL OF THE PHYSIOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

原 著

- 大槻 秧 司：酸負荷時の細胞内液緩衝作用に関する研究（第Ⅰ報）白血球浮遊液への酸添加による研究……………169
- 大槻 秧 司：酸負荷時の細胞内液緩衝作用に関する研究（第Ⅱ報）成犬への酸注入による研究……………176
- 堀 泰雄・林 泰正・竹口尚実：低脳温下の視床内側核単位活動……………185
- 秋 山 治 子：Co chlorophyllin と Na および K 代謝……………193

地 方 小 学 会 報

- 第13回西日本生理学会・第14回日本生理学会中国・四国地方会（つづき）……………212

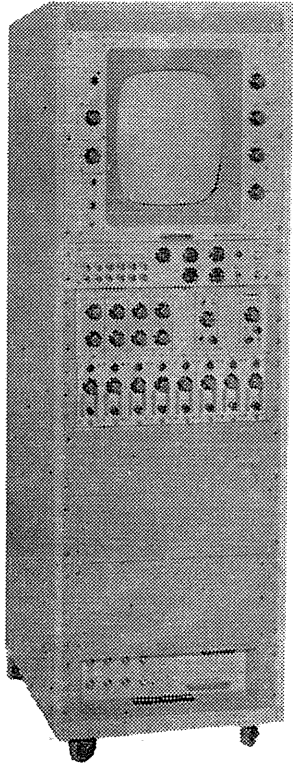
Originals

- ÔTSUKI-Yôji : Studies on buffer action of intracellular fluid after acid load. Part 1.
Studies on buffer action of intracellular fluid using leucocyte suspension
after the acid addition ……………169
- ÔTSUKI-Yôji : Studies on buffer action of intracellular fluid after acid load. Part 2.
Studies on buffer action of intracellular fluid using adult dogs infused
acid ……………176
- HORI-Yasuo • HAYASHI-Yasumasa • TAKEGUCHI-Hisami : Unit activities of medial
thalamic nuclei under hypothermia……………185
- AKIYAMA-Haruko : Effect of cobalt chlorophyllin on the sodium and potassium metabolism……………193

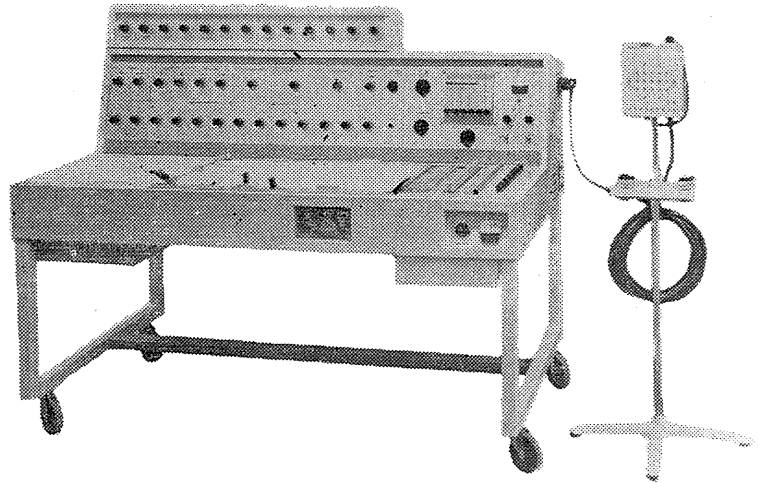
日 本 生 理 学 会

Physiological Society of Japan

〈三栄測器〉の 医用電子装置



PG-801型



脳波計

(据置)専用・万能型

EG-130型 (13エレメント)

EG-900型 (9エレメント)

- トランジスタ化されたメインアンプ
- 好みのパターンを自由に選べる
- JIS規格をはるかにこえる性能
- 人間工学的に十分考慮されたデザイン
- 大巾に少なくなった消費電力
- 使いやすい電極接続函

ポリグラフ

血圧、心音、EEG、EKG、EMG、単位細胞電位のほか脈波、吸呼曲線、体温、酸素飽和度等多現象 (8エレメントまで) の記録、観察ができる測定装置です。

主要製造品目

脳波計	筋電計	光・電気・音刺激装置
脳波分析装置	ハートスコープ	インク書きオシログラフ・X-Yレコーダー
ポリグラフ	直流増幅器	電磁オシログラフ・六現象オシロスコープ
ニスタモグラフ	電気生理測定装置	オシロスコープ撮影装置



販売 三栄測器商行株式会社

東京都新宿区柏木1-95 TEL (371) 7117-8・8114-5

製造 三栄測器株式会社

三栄レコーダー製造株式会社

酸負荷時の細胞内液緩衝作用に関する研究 612.014.462.6:612.014.3

(第1報) 白血球浮遊液への酸添加による研究

Studies on buffer action of intracellular fluid after acid load
Part 1. Studies on buffer action of intracellular fluid using
leucocyte suspension after the acid addition

大槻 稔 司 (Ōtsuki-Yōji)*

In order to clarify the mechanism of the intracellular buffer action, the author has experimented with the leucocyte suspension collected from the peritoneal cavity of puppy. The measurement was made on the ion content of intracellular as well as that of extracellular fluid, together with the pH change after addition of isotonic HCl solution to the suspension fluid (3.0-4.8 mM/L).

An outline of the results:

1) Extracellular pH which fell sharply after acid load was restored gradually towards the original level about 20 min. The restoration is presumed to be a reflection of intracellular buffering which amounts to about 18% of total buffer capacity of suspension solution.

2) By measuring the content of Na, K and Cl in intracellular fluid, it was confirmed that neutralization by intracellular buffer is mainly effected by an alkali-shift from the cells in exchange with H^+ from the extracellular fluid. A part of neutralization seems to be due to the penetration of HCl itself in to the cells.

1. 緒 言

生体液の酸塩基平衡が乱れたとき、体液殊に血液内の緩衝物質が作用して体液 pH を正常に保つ働きすることは既に今世紀の始め Hender-son¹⁾, Hasselbalch²⁾ 及び Van Slyke³⁾ 等によって明らかにされており、その他呼吸中枢の働きによって呼吸の変化が起り、また腎機能が働いて過剰の酸根或いは塩基根の排泄に努める事実も良く知られている。

ところが近時 Swan & Pitts⁴⁾, Schwarts⁵⁾, Elkinton⁶⁾ 等は従来考えられた上記の機能のみでは酸塩基平衡調節作用を十分に説明出来ぬ点より生体に与えられた可成りの酸が細胞内の緩衝作用によって中和される事実を指摘した。1953年, Darrow その他⁷⁾ はアチドージスを起さしめた鼠を用いて細胞内緩衝作用について研究し、 H^+ 濃度が高まると細胞内の陽イオンと

交換して、 H^+ が細胞内に入り、これが細胞内にて中和せられることを明らかにしたが、このことはその後 Tobin⁸⁾ によって腎摘した猫を用いて確かめられている。又吾が教室の奥村⁹⁾, 更に続いて、吉村その他¹⁰⁾ は酸を注入した犬を用いて、酸塩基平衡調節作用を研究し、その各調節作用相互間の役割の量的な比較と時間的な順序について分析を行い、三段階調節学説を提唱して学界の注目を浴びた。それによれば、酸注入直後に於いても負荷された酸の約40%は細胞内液緩衝作用により中和せられ、24時間後に於いては大部分の酸が細胞内液緩衝作用により中和せらるるに到するという。又その機転についても、酸注入後早い時期に於いては細胞内液の Na^+ , K^+ と細胞外液の H^+ とが交換することにより中和が行われるが、24時間後になると、HCl 自体として細胞内に侵入して、細胞内の蛋白その他の緩衝剤によって中和されるものであらうと推論している。

著者がここに行わんとする研究はこの推論が正しいかどうかを確めんとするものであって、

* 京都府立医科大学第1生理学教室
1st Dept. of Physiol., Kyoto Prefectural School of Med.
〔昭和38年1月5日受付〕

それが為に先ず白血球浮遊液を用いて試験管内実験を試みた。即ち従来の実験に於いては、細胞内のイオン濃度を測定せずに、細胞外液のイオン分布より、細胞内外のイオンの動きを推算したものが殆んどであった。そこで著者は幼犬腹水中より採取した白血球浮遊液を用い *in vitro* で酸添加実験を行い、白血球内のイオン濃度を測定することにより、より確実に細胞内緩衝作用の機転を明らかにせんとした。

II. 実験方法

A. 実験の概要

浦上¹¹⁾の方法によって白血球を集めた。即ち生後4-8ヶ月の幼犬腹腔内に生理的食塩水200-300 mlを注射器にて注入したのち、5-6時間後にこの腹水を採集し、その白血球のヘマトクリットが、1-3%になる様に調製したものを使用

した(尚、ここに得た細胞は大部分多核白血球であって、赤血球は殆んど混入していない。又採集液のNa濃度は130-150 mEq/L, K濃度は4.0-5.0 mEq/Lである)。ここに得た白血球浮遊液を2分し一方は酸添加のため他は対照実験のためとし、それぞれをこの実験のために特に調製した容器(Fig. 1)に入れ、(Fig. 2)の如く37°Cの恒温槽中で空気60%, 酸素40%の混合気を送りつつ、白血球の沈澱を防ぐ為に容器を規則正しく振盪し乍ら等張性HClを添加し{3.0/4.8 mM/L(浮遊液)}, 時間的にそのpHの変化を約3時間にわたって測定した。そして同様の実験によって同量の生理的食塩水を加えた場合の対照実験の成績と比較した。尚この場合に白血球浮遊液にビタミンB₁を添加し、酸素による乳酸酸化を促進する様努めた。

pHの測定は吉村式注射器型硝子電極¹²⁾を用

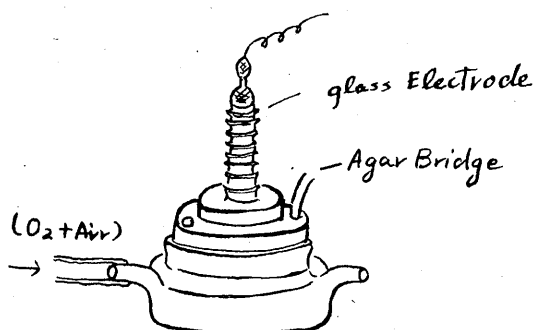


Fig. 1. Special vessel for the acid addition experiment.

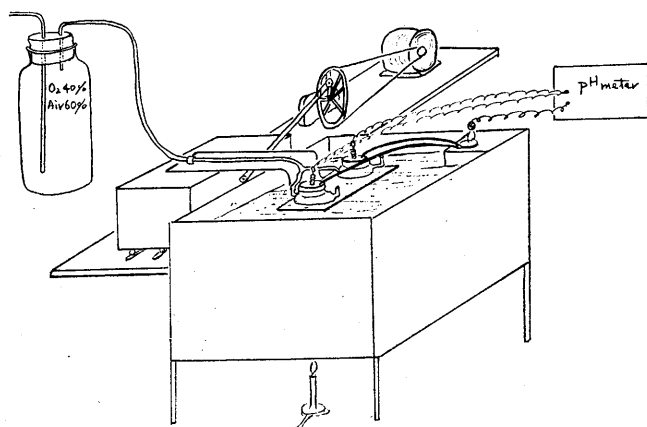


Fig. 2. Apparatus for the acid addition experiment.

い連続的に行ったが、細胞内外液のイオン濃度測定のための被検液採取は酸(又は食塩水)添加前、添加後20-30分(酸添加後急落したpHが概ね安定に達した点)、実験終了時の3点に於いて行い、測定は細胞内外液共に、Na, KはFlame Photometerにより、またClはSchales & Schales法¹³⁾により、又CO₂, 乳酸は細胞外液(上清)のみについて、total CO₂は斎藤式微量ガス分析法¹⁴⁾, 乳酸はHydroxydiphenyl法¹⁵⁾をもって測定した。ここに測定せるpHおよび総CO₂濃度から、Henderson-Hasselbalchの式を用い、Bunsenの吸収率 $\alpha=0.550$, $pK'=6.10$ を用いて上清Pco₂を算出した。尚、被検液採取時には、浦上のメランジュール型ヘマトクリット管¹¹⁾に入れ広田式遠沈法¹⁶⁾によりヘマトクリットを求めこれを白血球量とした。

B. 測定方法

1. 白血球内 Na, K 測定法

浦上¹¹⁾の方法を用いた。その概略を述べると、まず被検白血球液の細胞量は 1-3% であり、これではヘマトクリット管内に残る上清が非常に多くなり誤差が大きくなるので、これを目盛り付き遠沈管で先ず予め軽く遠沈し上清を適当量捨てて、ヘマトクリットが 5-8% になる様にし、それをメランジュール型ヘマトクリット管に入れ、広田式遠沈法を行うことにより trapped plasma のないヘマトクリット値 (V_{∞}) を求めた後、このヘマトクリット管に残っている上清を完全に分離して、これを別の試験管にうつし更にヘマトクリット管の細管部硝子壁及び沈澱白血球上面に残存している上清を細い濾紙にて吸い取る。この様にして上清を取り除いたヘマトクリット管の球部に蒸留水を注入して洗滌し(この水はヘマトクリット細管内には侵入しない)、その後濃硝酸 1、蒸留水 4 の割合に混じた稀硝酸溶液を細いピペットにてヘマトクリット細管中に注入して白血球を 10 ml の酸化コルベン中に洗い出す、それを湿性灰化し、内容が透明となればこれを放冷する。放冷後蒸留水で内容を 10 ml のメスシリンダー中に洗い出し全量を W ml (普通 7 ml) にする。この灰化物の稀釈液並びに別の試験管に入れておいた上清の Na 及び K 濃度を Lange's Flame Photometer で測定すれば見掛けの白血球内 Na 及び K 濃度 ($[Na]_c$, $[K]_c$) は次の式より求められる。

$$[Na]_c = ([Na]_{mix} \times W - [Na]_{pl} \times Tpl) / V_{\infty}$$

$$[K]_c = ([K]_{mix} \times W - [K]_{pl} \times Tpl) / V_{\infty}$$

この $[Na]_{mix}$, $[K]_{mix}$ は灰化稀釈液中の Na, K 濃度であり、細胞内イオンに若干 trapped plasma の混じたものと見られる。 $[Na]_{pl}$, $[K]_{pl}$ は上清のそれである。Tpl は trapped plasma 量でありこれは浦上¹¹⁾が inulin を用いて測定した V_{∞} の 24% を用いた。 V_{∞} とは広田氏遠沈法により得られた trapped plasma の無い cell volume である。又浦上¹¹⁾が黒田氏微量定量法¹⁷⁾によって測定した白血球水分量 $77.2 \pm 0.8\%$ を使用して $[Na]_c$, $[K]_c$ を次の式によって細胞内水分に

対するイオン濃度 ($[Na]_{cw}$, $[K]_{cw}$) に換算した。

$$[Na]_{cw} = [Na]_c \times 1.30$$

$$[K]_{cw} = [K]_c \times 1.30$$

尚本論文中では、この値を白血球内 Na, K 濃度とした。本実験に於いて測定した正常白血球内 Na 濃度は $33.1 \text{ mM/L} \pm 9.8$, K 濃度は 128.7 ± 8.7 であった。

2. 白血球内 Cl 測定法

採取した被検白血球浮遊液を 1. と同様に 5-8% の割合になる様に上清を捨てた後、これを上記のメランジュール型ヘマトクリット管に採って広田氏遠沈法により白血球容積 (V_{∞}) を測定する。その後蒸留水をもって白血球を硬質ガラス製の homogeneizer 容器に残らず洗い出す(約 2 ml の水を使用)。これを微量液用のカッター (1 ml 以上使用可能) を取りつけた日立式 homogeneizer で氷冷しつつ、20分 (5分間毎 4回) homogenating し、この homogenate を蒸留水で洗ってメスシリンダーに洗い出し全量を W ml (普通 8 ml) にし、これを Schales & Schales 法にて滴定した。尚この際、被検液が混濁しているため、着色点の判定には熟練を要した。

計算は Na, K と同じく

$$[Cl]_c = ([Cl]_{mix} \times W - [Cl]_{pl} \times Tpl) / V_{\infty}$$

$$[Cl]_{cw} = [Cl]_c \times 1.30$$

の式を使用した。

尚、この方法によって本実験で得た正常 Cl 濃度は 49.5 ± 14.4 である。

III. 実験成績及び考案

前述の如く同時に採取した白血球浮遊液 (30-50 ml) を 2 分し、対照と酸添加したものを作り、時間的に pH を測定し、その代表的な経過を示したのが Fig. 3 である (▲で示したのが酸添加であり、●が対照である)。図の如く pH 測定開始後約 40 分で一応安定に達するから、ここで酸添加用白血球液に 0.16 N HCl (0.1-0.2 ml) を添加すると、a 点迄 pH が低下する (8 例の平均低下 0.464) が約 20 分すると又 pH は上昇の傾向を見せ、b 点迄達し、その後 pH はやや一定に保たれる。元来、細胞外液の緩衝作

用はイオン反応によるものであるから酸添加と同時に完了する筈であり、最も時間を要する NaHCO_3 による中和も血球の Carbonic anhydrase があるから10分もかかる筈はない。従つて10分後の a 点の pH は細胞外液中で中和された後のものであると考えられる。又酸添加、対照実験共に、実験開始後約30分間はその pH が急激に減少する傾向を持ち、且その pH は、その後も時間と共に下降の傾向を示すがこれは乳酸の発生によるものであり、事実 Table 1 に示す如く両者共に乳酸の増加が認められる。

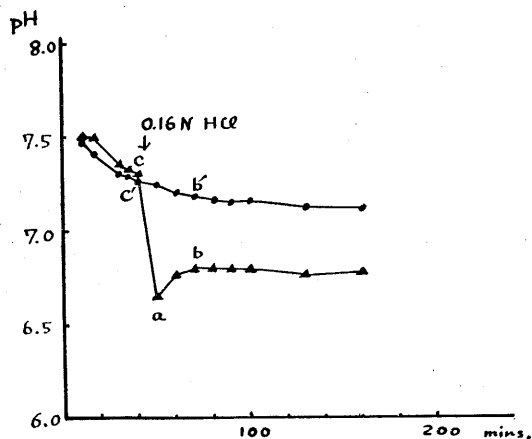


Fig. 3.

The influence of acid addition upon pH of the leucocyte suspension.

その値は対照群と酸添加群について著明な差は認められない(対照群 +2.21 mg/%, 酸添加群 +1.90 mg/%). 前述の如く V-B を与え、 O_2 -gas を通じて発生する乳酸を極力除去する様に努めたのであるがなおこれだけの増加をみたのである。

細胞外液イオン濃度については Table 1 に示した(以後 Table 中の“After addition”とは b 点迄上昇した pH が安定に達した点の濃度である)。ここで大きな変化を見せるのは HCO_3^- であるが、対照群に於いては 8 例の平均濃度低下は 2.41 mM/L であるに対し、酸添加群は 4.37 mM/L の減少となり、後者に於いてその低下の度が著明である。故にこれは添加された酸の中和のために減少したものと考えられる。その他のイオンについては添加がなされた Cl に於いて僅かに上昇が見られるのみで Na, K には変化が認められない。後述するが細胞内イオン濃度に変化があるにも拘らずここで変化がみとめられないのは、細胞に比し上清が非常に大量(細胞は約 2%)なので細胞内液との間にイオン交流があっても外液の濃度には測定可能な程の大きな影響を与えなかつたためと考えられる。

次に Fig. 3 について一旦 a 点迄下降した pH が b 点迄上昇する理由について考えるに

Table 1. Extracellular ion and lactic acid concentration before and after acid or NaCl addition.

	Na (mM/L)		K (mM/L)		Cl (mM/L)		HCO_3^- (mM/L)		Lactic Acid (%)		
	Before addition	After addition	Before addition	After addition	Before addition	After addition	Before addition	After addition	Before addition	After addition	
NaCl Addition	1	145.96	142.81	4.42	4.30	113.23	117.02	15.38	16.04	3.14	5.17
	2	137.01	141.02	3.65	3.66	111.52	111.08	17.38	17.38	3.82	5.99
	3	146.39	143.98	4.82	4.80	127.52	128.61	18.21	17.80	4.95	5.72
	4	152.07	146.26	4.48	4.45	118.33	127.32	16.71	12.65	4.08	6.96
	5	132.50	132.50	4.93	4.79	110.82	111.62	18.96	11.80	—	—
	6	135.82	134.23	4.82	4.85	121.63	122.03	18.63	14.79	—	—
	7	136.21	140.51	4.32	4.53	115.33	115.25	18.24	17.24	—	—
	8	159.88	160.99	3.99	4.12	119.63	120.09	19.70	16.23	—	—
	M.	143.22	142.96	4.43	4.44	117.25	119.12	17.70	15.49	3.75	5.96
HCl Addition	1	145.92	145.81	4.40	4.29	113.21	119.15	15.38	12.87	3.14	6.36
	2	137.09	143.01	3.63	3.68	111.08	112.92	19.29	16.63	5.12	5.85
	3	146.38	145.09	4.88	4.90	126.19	128.53	18.12	14.77	3.20	5.68
	4	149.91	147.93	4.76	4.38	122.15	123.05	15.51	13.82	3.99	5.15
	5	132.36	130.31	4.96	4.82	110.92	111.08	16.48	7.36	—	—
	6	135.83	134.67	4.84	4.84	119.30	119.78	18.58	12.30	—	—
	7	136.20	138.21	4.55	4.62	118.51	127.63	17.98	13.50	—	—
	8	159.88	160.92	3.87	3.79	118.27	119.57	18.88	14.00	—	—
	M.	142.94	143.22	4.49	4.44	117.45	120.23	17.53	13.16	3.86	5.76

酸添加後時間の経過と共に白血球の、いわゆる細胞内液緩衝作用が働いた為と考えることが出来る。この様な比較に当って問題になるのは対照浮遊液にあっても pH が時間的に変化することである。そこでこれに対する補正を考える為酸添加前の pH を c (対照と酸添加群は略等し

い) とし、酸添加後の夫を a、添加後約20分に於いて安定した値を b とし、又対照群に於けるこの20分後の値を b' とする。酸添加後、細胞外液及び細胞内液の緩衝作用が働いて結局落ちついて浮遊液の pH は酸添加によって b'-b の変化をした事になる訳である。但しこの場合に、酸添加前の添加群対照の pH(c) と無添加無添加群対照の pH(c') には差がないと考えているが、もし両者に差がある場合には (b'-b)+d が酸添加に対する変化量になる {但し d=(c-c')}。この様にして計算したのが Table 3 の column 2 の酸添加後の pH 変化の値である。又酸添加後10分時に測定した a の値と添加前の対照値 c の値の差 (c-a) に同様の時間的ズレに対する補正 d' を加えたものが column 1 の値である。表に見る如く column 1 と column 2 とでは、何れも column 2 の方の値が少くなっている。そこでこの pH 降下度の差が細胞内緩衝作用によるものとして、添加された酸の何%がそれによって中和せられているかを知る目的で、次の様な計算を行った。先ず酸添加前の HCO₃ 量と添加後の pH が b 点に達して安定した後の HCO₃ を比較し、その酸添加による減少量を求め (HCO₃ の濃度差に外液量を乗ずるこの時酸無添加群に見られる HCO₃ 濃度の時間的変化によって補正を行うことは pH の場合と同じ)、今これを細胞外液による酸中和量と考えて、こ

Table 2.

Intracellular ion concentration before and after acid or NaCl addition.

	Na (mM/L)		K (mM/L)		Cl (mM/L)		
	Before Addition	After Addition	Before Addition	After Addition	Before Addition	After Addition	
NaCl Addition	1	24.1	12.8	112.1	110.3	50.4	48.2
	2	36.7	33.5	116.1	117.0	48.1	48.0
	3	21.6	23.6	133.1	138.8	46.0	43.5
	4	42.9	34.2	132.6	124.0	43.0	47.7
	5	40.7	29.0	130.8	94.7	68.8	54.7
	6	25.1	18.5	145.9	117.9	76.2	47.0
	7	49.1	35.0	122.4	117.7	42.6	38.8
	8	25.3	26.2	136.8	139.0	20.5	13.5
HCl Addition	1	33.1 ±9.9	26.6 ±7.3	128.7 ±8.7	117.4 ±11.9	49.5 ±14.4	46.2 ±16.0
	2	26.4	22.9	131.0	118.3	47.7	47.7
	3	30.4	30.1	123.1	104.8	43.8	59.0
	4	18.1	19.6	125.5	118.1	40.2	43.3
	5	42.9	26.9	133.4	98.5	43.0	47.2
	6	40.7	20.5	130.8	75.5	68.8	60.2
	7	22.8	11.5	151.6	114.8	74.7	47.2
	8	59.2	34.6	130.6	107.5	47.5	44.3
Mean	25.3	20.4	142.5	133.2	11.6	11.1	
	33.2 ±12.6	23.3 ±6.8	133.6 ±8.8	111.2 ±16.2	47.2 ±15.9	48.8 ±17.0	

Table 3. Changes of pH and ion distribution by acid addition (after addition).

Cal. Exp.	Changes of pH in E.C.F. (c-a)+Δ	Changes of pH in S.C.F. Buffer (b'-b)+Δ	Neutralization of Acid				Acid Load μM	ΔNa mM/L (I.C.B)	ΔK mM/L (I.C.B)	ΔCl mM/L (I.C.F)	Acid Load mM/L (I.C.F)	Neutralization of Acid		ΔNa +ΔK	ΔNa + ΔK + ΔCl
			E. C. F. μM	I. C. F. %	E. C. F. μM	I. C. F. %						10	11		
I	0.636	0.139	82.4	95	4.0	5	86.4	-2.4	-10.9	+2.2	221.5	210.4	11.1	-13.3	15.5
II	0.488	0.224	69.1	79	17.3	21	86.4	+2.9	-19.2	+15.3	221.5	175.0	46.5	-16.3	31.6
III	0.505	0.336	79.5	95	3.7	5	83.2	-0.6	-13.1	+5.6	237.7	225.8	11.9	-13.7	19.3
IV	0.368	0.342	54.9	68	25.1	32	80.0	-7.3	-26.2	-1.6	119.0	80.9	25.9	-33.5	31.9
V	0.570	0.310	38.7	81	9.3	19	48.0	-8.2	-16.7	+5.6	117.7	144.0	33.7	-24.9	30.5
VI	0.460	0.290	36.6	76	11.4	24	48.0	-4.7	-8.8	+1.8	62.9	55.7	16.0	-13.5	15.5
VII	0.400	0.090	34.6	75	13.4	25	48.0	-10.5	-18.4	+0.6	171.4	128.6	42.8	-28.9	30.7
VIII	0.310	0.110	28.2	87	3.8	13	32.0	-6.0	-11.0	+6.5	113.1	96.7	14.5	-17.0	23.5
M.	0.464	0.231	49.5	82	11.0	18	59.8	-4.6	-15.5	+4.5	165.4	141.1	25.3	-20.1	24.8

れを添加した酸量から減じると、その残りが細胞内液により緩衝された酸量となる。即ち酸添加量L, 酸添加(又は食塩)前後の HCO_3^- 濃度を酸無添加実験では $[\text{HCO}_3^-]_c$, $[\text{HCO}_3^-]_{c'}$ とし、酸添加群では $[\text{HCO}_3^-]_s$, $[\text{HCO}_3^-]_{s'}$ とし、細胞外液量V, HCO_3^- 減少量(細胞外液による酸中和量)をA, 細胞内液による緩衝量をBとすれば、

$$A = V\{([\text{HCO}_3^-]_s - [\text{HCO}_3^-]_{s'}) - ([\text{HCO}_3^-]_c - [\text{HCO}_3^-]_{c'})\}$$

$$B = L - A$$

Table 3 の column 3a が細胞外液緩衝量(A)であり、4a が細胞内緩衝量(B)である。又酸添加量(L)を column 5 に記載したが更にA, B がそれぞれLの何%に当るかを計算して3b, 4b に示した、これによると、添加された酸の82%が細胞外液によって中和せられ、残りの5-32%(平均18%)が細胞内液により緩衝せられたことになる。

細胞内液イオン濃度の変化は Table 2 に示す。即ち Na, K に於いては酸添加群, 対照群共に低下しているが特に前者に於いてその傾向が著明である。Cl については僅かであるが対照群では低下し、酸添加群ではむしろ上昇の傾向がある。即ち酸添加により Na, K は細胞内で減少し、Cl は反対に増加するのでは無からうかという事が想像されるが、細胞内イオン濃度の個々の数値のばらつきが大きく充分信ずるに値しないため、これを確かめると共に、酸添加によって起る細胞内イオン総量の変化を知らんとして次の計算を行った。酸添加(又は食塩)前後の、イオン濃度をそれぞれ対照実験では $[I]_c$, $[I]_{c'}$ 、酸添加実験では $[I]_s$, $[I]_{s'}$ とし、細胞内液量を Hw (細胞量の77%と考えて haematocrit より計算した) とすれば酸添加によるイオン変化総量Tは、

$$T = Hw\{([I]_s - [I]_{s'}) - ([I]_c - [I]_{c'})\}$$

となる。この場合各サンプルのヘマトクリットは試料によって差があるから、比較の便宜の為にTを細胞内液1l当りに換算して Table 3 の column 6, 7, 8 に示した(+は細胞内液に於

ける増加、-は細胞内での減少)。

即ち8例の平均に於いて Na は約4.6 mM, K は約 15.5 mM 程細胞外に遊出し、Cl は逆に 4.5 mM 細胞内に入り込んでいる。この事実より、細胞内緩衝作用の機転としては Dallow⁷⁾等が指摘した如くに、酸添加後細胞内の Na^+ , K^+ イオンが細胞外液中の H^+ と交換することにより、 H^+ を中和することが先ず考えられる。而して一方 Cl は細胞内に増加するが、その値は Na, K の減少よりも少い事より、細胞内液の緩衝作用は一部分 HCl が直接細胞内に入る為ではなからうかとの推論が得られる。そこで遊出した Na^+ , K^+ と入った Cl^- の絶対値を加えて、Table 3 の column 13 にしめしたがその8例の平均として 24.8 mM が得られる。これが細胞内液による緩衝総量に相当する訳である。

一方先に酸添加量と $[\text{HCO}_3^-]$ の減少量とより、細胞内液によって緩衝される可き酸量の推算を行ったが今この値を上記の細胞内液中のイオン量の移動より求めた細胞内液緩衝量と比較する為にさきの Table 3 の 4b に示した細胞内液による緩衝量の百分率より細胞内液 1l 当りの細胞内液による緩衝量を計算すると Table 3 column 11 にしめす通りとなる。即ち8例平均 25.3 mM となり、細胞内イオン変化より計算した平均値と略一致する。尚 column 11, 13 共相当数値にばらつきがあるが、これは実験方法上各例の細胞に対する酸量が一定しない事、又細胞の状態等が一定でないこと等が考えられるが併し個々の例について比較しても大体の一致を見せているから略正鵠を得るものと見られる。

IV. 総 括

幼犬腹腔内に生理的食塩水を注射して、その腹水中より白血球を採集して浮遊液をつくり、これを酸添加群と酸無添加群とに分け、前者には 0.16 N HCl (等張性) を 3.0-4.8 mM/L (白血球浮遊液) の割合に加え、後者には同量の生理的食塩水を添加して、pH の経過を時間的に測定すると共に、酸または食塩添加前後に於いて

HCO₃, Na, K, Clを測定し、又細胞内液ではNa, K, Clを測定しこれを比較して検討を行った。その概要は次の通りである。

1) 細胞外液 pH は酸添加により急激に下降するが、約20分すると再び上昇する。これは細胞内液によって酸中和が行われたためと考えられる。

2) 細胞外液 HCO₃ 減少量より計算すると酸中和は、細胞外液で約82%、残りの約18%は細胞内液により中和されている。

3) 細胞内イオン濃度及びこれに細胞容積を乗じて、細胞内イオン総量を計算するに細胞内にはNa, K量が減少して細胞外に遊出しClはむしろ上昇して細胞内に入り込んでいる。即ち細胞内のNa⁺, K⁺と細胞外に負荷したH⁺とが交換することにより、又一部はHCl自身が、細胞内に入り込むことにより酸中和が行われたものと考えられる。

文 献

- 1) Henderson, L. J. (1908) Am. J. Physiol. **21**, 427
- 2) Hasselbalch, K. A. (1910) Biochem. J. **30**, 317
- 3) Van Slyke, D. D. & Cullen, G. E. (1917) J. Biol. Chem. **30**, 289
- 4) Swan, R. C. & Pitts, R. F. (1955) J. Clin. Invest. **33**, 205
- 5) Schartz, W. B. et al. (1954) J. Clin. Invest. **33**, 587
- 6) Elkinton, J. R. (1955) Body Fluid, Baltimore, U. S. A.
- 7) Darrow, D. C. et al. (1953) Am. J. Physiol. **172**, 55
- 8) Tobin, R. B. (1956) Am. J. Physiol. **186**, 131
- 9) 奥村 修 (1958) 日本生理誌 **20**, 966
- 10) Yoshimura, H. et al. (1961) Jap. J. Physiol. **11**, No. 2, 109
- 11) 浦上芳達 (1958) 生体の科学 **27**, 522
- 12) 吉村寿人 (1948) pH の理論及び測定法
- 13) Schales & Schales (1941) J. Biol. Chem. **140**, 879
- 14) 斎藤幸一郎 (1937) 日本生理誌 **2**, 213
- 15) 斎藤正行 (1952) 光電比色計による臨床化学検査 166
- 16) Hirota, K. (1926) J. Biophysics, **1**, 233
Hirota, K. (1927) J. Biophysics, **2**, 283
- 17) 黒田嘉一郎 (1955) 生化学 **27**, 522

酸負荷時の細胞内液緩衝作用に関する研究 612.014.462.6:612.014.3

(第Ⅱ報) 成犬への酸注入による研究

Studies on buffer action of intracellular fluid after acid load

Part 2. Studies on buffer action of intracellular fluid using adult dogs infused acid

大槻 秧 司 (ŌTSUKI-Yōji)*

In order to clarify one mechanism of intracellular buffering, five adult dogs were infused with isotonic HCl solution containing ^{36}Cl (2 c/kg), and the changes of acid-base balance in blood as well as an excretion of excessive acid in the urine were measured and it was examined whether or not some Cl-shift into intracellular fluid may appear either at the end of the infusion or 24 hours after the infusion. Results obtained are outlined as follows: -

1) About 40% of the acid infused was neutralized by the intracellular buffer at the end of the infusion. After 24 hours, however, almost all part of acid was buffered by the intracellular fluid, except some was excreted in urine form of NH_4Cl .

2) By measuring the distribution of ions in the extracellular fluid, it was inferred that neutralizations through intracellular buffer was mainly effected by an alkali shift from the cell at the end of the infusion and by the penetration of the acid radical (Cl) into the cells 24 hours after the acid was infused. The Cl-space estimated with radio active Cl was clearly increased by acid infusion. It follows that the penetration of Cl after acid infusion was remarkable as compared with that of Cl after saline infusion.

By calculating the shift of the Cl ion into the cell from this increased volume of Cl-space, it was concluded that almost all of HCl infused had penetrated 24 hours after the acid infusion, and been neutralized by the intracellular fluid.

I. 緒 言

著者は第Ⅰ報に於いて白血球浮遊液を用いて酸添加時の細胞内緩衝作用の意義を明らかにしたが、生体を用いた実験に於いて奥村¹⁾、吉村等²⁾は酸注入直後に於いては、Na, K, Cl 等が細胞外に遊出し、又24時間後に於いては大部分 HCl の形で、細胞に入ると云っている。そこで著者は上記著者に従って等張塩酸を成犬に注入する際に同時に ^{36}Cl を注入して Cl-Space を測定し、これと Inulin Space との比較により Cl イオンの細胞内への動きを確かめ、更にこれより細胞内緩衝作用の生体内での機転を知らんとした。

II. 実験方法

A. 実験の概要

実験は 9-12 kg の雑種雄成犬 5 匹を用い、その体液の酸塩基平衡が一定の正常値に恒常しあるを確かめた後に、その血管内に約 5 mM/kg の酸を注入し、注入直後並びに24時間後の酸塩基平衡の変動を測定すると共にこの場合の Cl-Space の変化を ^{36}Cl を用いて測定し、これを Inulin Space と比較して Cl の細胞内侵入の有無並びにその程度を明らかにせんとした。

実験動物は教室の岩波³⁾の実測した酸価、アルカリ価を用いて、犬の飼育に適した中性食をつくり、それをもって1週間以上飼育し、体重の変動、下痢等の異常の起らぬことを確かめた後、尿採集用の飼育箱に入れ更に1週間以上同じ食事で飼育し(教室の奥村によれば4-9日で

* 京都府立医科大学第1生理学教室
1st. Dept. of Physiol., Kyoto Prefectural School of Med.
[昭和38年1月5日受付]

酸塩基根排泄が一定になる。又この間適当な時期にインスリン持続注入法により正常時の細胞外液量を測定しておく)次にその状態に於いて3日間連続して1日尿を集めてControlとなし、その組成を分析して酸塩基根の一定になっている事を確かめた後始めて酸注入実験を行った。注入終了後再び飼育箱に入れ24時間尿を採集し、組成を分析すると共に、インスリン持続注入法により、24時間後のInulin Spaceを測定した。

B. 尿採集法

1日尿の採集に当っては、底に金網を張りその下部に漏斗をつけた飼育箱を使用し、この漏斗の下に流動パラフィンを重ねた採尿瓶を置き、尿をその中に集め、又尿素分解によるアンモニアの生成を防ぐ目的で、少量のキノン粉末を採尿瓶に入れ更に瓶をアイスボックスに納めて尿の腐敗を防止した、又酸及びインスリン注入中も膀胱にネラトンカテーテルを挿入し、その一端を流動パラフィンの入った瓶中に導いたビニール管をつないで採尿を行った。かくしてCO₂脱出を完全に防ぎつつ採尿を行ったのである。

C. 酸注入実験法

酸注入に際しては先ず犬を50 mg/kgのラボナルAの静脈内注射によって麻酔した後、ネラトンカテーテルにより採尿を行い膀胱を空にする。そして直ちに³⁶Clを注射(詳細後記)し、約2時間採血採尿を行い、正常時のCl-Spaceの測定を行った。かくして採血採尿が終了後直ちに0.16 N-HCl(等張性)を約2時間に渉り5 mM/kgの割合にて注入した。酸注入に際して教室で設計製作した持続注入器を用い、その注入速度は予め犬の体重に応じて調節する事とした。かくして注入終了直後並びに注入後24時間目に再び頸静脈より流動パラフィン下に採血その³⁶Clを測定して、酸注入後及び24時間に於けるCl-Spaceを計算した。又一方酸注入直後及び24時間後に再びInulin Spaceを測定しその値をCl-Spaceと比較した。

D. インスリン間隙の測定

Inulin Spaceは酸注入実験に先立つこと約1週間前と酸注入直後及び24時間後の3回に渉り同一犬について測定した。何れの測定に当てもまず初回注射として4%のインスリン溶液を100 mg/kgの割合(約20 ml)で注入し、そのあとつづいて1 mg/min/kgのインスリン液を2時間に渉り持続注入し、その後1時間40分、1時間50分、2時間と3回に渉り採血を行い、又採尿はInulin溶液注入終了後膀胱を圧迫して出来るだけ厳密に行い、更に蒸留水で2-3度洗滌し(洗滌により稀釈された尿は別にしておく)ここに得た血液、尿、稀釈尿のインスリンをSchleiner⁴⁾の方法を用いて波長420 mμにて比色定量した。血清のインスリン濃度は血清水分量の測定値よりこれを血清水分中の濃度に換算してInulin Spaceの計算を行った。それには先ずInulin注射量より尿量と尿濃度から得た排泄量を差引いて体内に残存するInulin量を求め、これを血清水分中のInulin濃度にて除してInulin Spaceを計算するのである。尚酸注入直後のInulin Spaceの測定に当っては注入する0.16 NのHCl溶液にインスリンを溶解し酸注入と同時にInulinを注入したがその他のInulin測定に当っては、Inulin溶液そのものを用いて行った。

E. Cl-Space 測定法

³⁶Clを使用したCl-Spaceの測定法は血液中の³⁶Clの放射能減衰曲線より求めるBurch⁵⁾、小森⁶⁾の方法があるが、それ等は著者の如く外液量の変化を追跡するには、不適當なので著者は³⁶Clを注射し、その排泄量より体内の残存量を出し、一方³⁶Clの血清水分中稀釈度を求

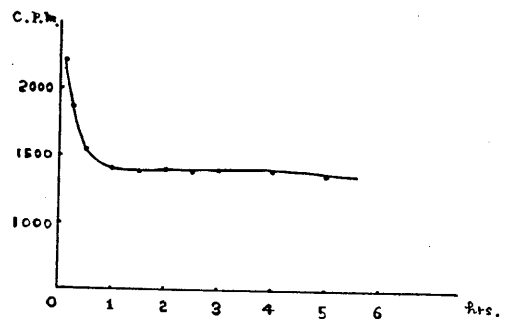


Fig. 1. Time course of serum ³⁶Cl activity.

めてこれより Cl-Space を求める次の様な方法をとった。先ず予備実験として ^{36}Cl を正常犬静脈内に注射しその血液中の ^{36}Cl による Count を調べたところ Fig. 1 に示す如く、約 1-1.5 時間で平衡に達することを知った。そこで酸注入の 2 時間前に、 ^{36}Cl (同位元素協会より配分されたものは HCl の形なので NaOH にて中和し Na^{36}Cl の形に直し、更に蒸留水を加えて $2.5\mu\text{c}/\text{ml}$ にしたものを使用) を正確に 2ml ($5\mu\text{c}$) とり、酸注入用に静脈に挿入したビニール管より血管内へ注射し、その後 30 分、2 時間 (酸注入開始直前)、酸注入終了時、酸注入後 24 時間に採血を行い、又採尿も、酸注入直前、注入直後、24 時間後に行い、血清、尿共にその 1ml の放射能を Alka 社製 Windless Gas Flow Counter により測定した。尚試料血は神戸工業製のステンレス皿を使用したか、その際底に漏紙を敷き、又周囲への遣い上りのための誤差を少くするため、 1cc の血清を乾燥する為には、初めその内の 0.4ml の血清を皿に入れこれを赤外線ランプで乾燥させた後にその上に更に 0.3ml を加え、これが乾燥すれば更に残りの 0.3ml を加えて全 1ml の乾燥試料を調製することにした。又注射した ^{36}Cl 液の放射能を知るために、注入用 ^{36}Cl 溶液を蒸留水にて 1,000 倍に稀釈し、それを 1ml だけ皿にとり、そこへ血清 1ml を更に追加して全試料を 2ml として乾燥して Count を測定したがこの血清を追加したのは、対照として用うべき ^{36}Cl の試料にも、被検試料と同様に血清蛋白による自己吸収の影響を与えて、被検試料との比較に際しての誤差を除かんとした為である。かくして得たる稀釈試料の Count を用いて、注入せる ^{36}Cl の血清中に於ける全 Count を算出し、これを注入後の採血によって得た血清水分 1ml 中の Count にて除して、 ^{36}Cl の稀釈率を算出し、これより ^{36}Cl -Space を算出した。この際、尿中への ^{36}Cl 排泄を考慮に入れるのは当然である。

一方この ^{36}Cl -Space の測定は酸注入による影響を見るのが目的であるから対照実験として 0.16N-HCl の代りに全く同様の操作によって

5 例の犬について等張 NaCl 液を $5\text{mM}/\text{kg}$ 注入してその時の Cl-Space の変化を見て、これを HCl 注入時の変化と比較して酸注入の効果の判定を行った。

F. 血液及び尿組成

既に述べた様に血液及び尿試料はすべて流動パラフィン下に採集保有し、血液および尿中の CO_2 の放散を防いだ。而して血液は採取後速かに遠沈してその血清について諸測定を行った。測定した項目は血清については血清比重、pH、総 CO_2 濃度、 Na^+ 、 K^+ 、 Cl^- 等であるが尿についてはその他に滴定酸度、アンモニア濃度の測定を行った。

血清および尿の pH は吉村式注射器型硝子電極⁷⁾ により測定し、総 CO_2 濃度は斎藤式微量ガス分析法⁸⁾ によって定量した、そしてその pH 及び総 CO_2 濃度から Henderson-Hasselbalch の式を用いて血清及び尿の Pco_2 、 HCO_3^- 濃度を計算した。但しこの場合 Bunsen の吸収率を血清では $\alpha=0.550$ とし、尿は $\alpha=0.565$ とした。又 pK' は血清では 6.10、尿については $\text{pK}'=6.33-0.5\sqrt{\mu}$ より計算した、この場合の μ は尿のイオン強度であって $\mu=\frac{1}{2}\{[\text{Na}]+[\text{K}]+[\text{NH}_3]\}$ より算出した。

次に血清及び尿の Na、K の測定は Lange の Flame Photometer により、Cl は Schales & Schales 法の Brun 氏変法⁹⁾ を用いた。

又血清比重は硫酸銅法により測定し、これより次の福山・佐藤の式¹⁰⁾ を用いて血清水分量を求めた。

$$\text{血清水分量} = 100 - \frac{386(\text{血清比重} - 1.000) - 1.39}{\text{血清比重}}$$

かくして先に測定した血清中の Na^+ 、 K^+ 、 HCO_3^- 、 Cl^- 濃度より細胞外液中のイオンの全保有量を求めんとする場合にはそれぞれのイオン濃度と細胞外液量 (E. C. F) 及び陰、陽イオンの Donnan Factor から次式に従って細胞外液中の各イオン総量を求めた。

陽イオン

$$\frac{\text{血清中陽イオン濃度}}{\text{血清水分量}\%} \times 0.95 \times (\text{E. C. F})$$

陰イオン

$$\frac{\text{血清陰イオン濃度}}{\text{血清水分量\%}} \times 1.05 \times (\text{E. C. F.})$$

又尿中のアンモニア濃度は Conway の微量拡散法¹¹⁾を用いて測定し、尿滴定酸度は吉村式滴定用硝子電極¹²⁾を使用して定量した。

Ⅲ. 実験成績と考案

本実験は犬の酸塩基根代謝が一定になった後に約 5 mM/kg の等張塩酸を注入して、その後、24時間後の体液酸塩基平衡について検討を加えたものである。そこで本実験による成績を A. 血液及び尿の変化, B. 体液イオン濃度とイオン分布の変化, C. Cl⁻ イオンの動き, の三項目にわたって述べる。

A. 血液及び尿の変化

酸注入による血液酸塩基平衡の変化は、Fig. 2 にその代表的な例を示した。即ち酸注入によって血液 pH 及び総 CO₂ 濃度は共に一時著明に低下するが、これは奥村¹⁾が指摘した様に、漸次に回復し、酸注入後24時間に於いては、pH,

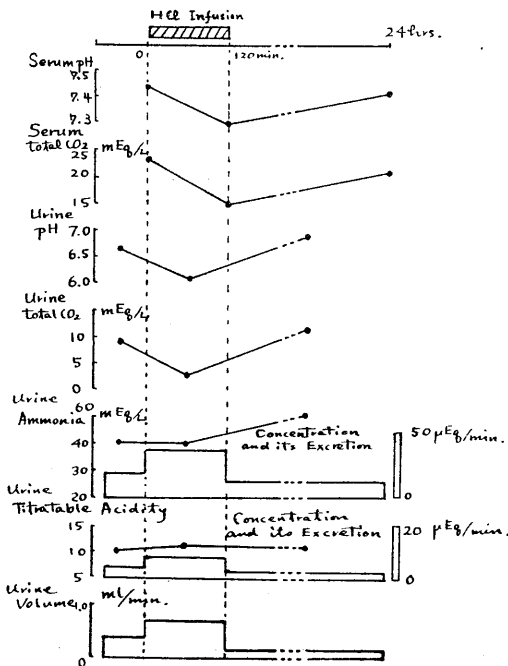


Fig. 2.

Changes of acid-base balance in body fluid after acid infusion.

総 CO₂ 共に正常時の値近く迄回復している。又尿は血液 pH の変化を反映してその pH 及び総 CO₂ 濃度が減少し、NH₃ 及び滴定酸度の排泄が増加する。図のヒストグラムはその1分当りの排泄量を示したものであって、酸注入前の正常時の排泄量としては個々の被検犬の正常時3日間の尿アンモニア、滴定酸度排泄量の平均値を求めこれより単位時間当りの排泄量を計算したものをを用いた。ここに見る如く酸注入時に現れたアンモニア排泄量や滴定酸度の増加は24時間後に於いては消失し、尿 pH, 総 CO₂ 濃度も共に、正常時或いはそれ以上に迄回復している。

上述の如く、尿の pH も酸注入によって低下し、尿アンモニア及び滴定酸度の増加がみられるのであるが、このアルカリ経済(アンモニアの排泄量+滴定酸の排泄量)を計算して、正常時に対する過剰酸根の排泄の増加量を求めて見るとその値は酸注入終了時迄に出た量は注入量に比較して極めて少量にすぎない(5例の平均注入量 51.04 mM にたいし、過剰酸平均排泄量は 1.82 mM であった)。24時間後に於いては既にこの過剰酸根排泄が始まっているが、酸注入後24時間尿について通算しても平均排泄量は 4.11 mM に過ぎない。従って酸注入直後は勿論のこと24時間後に於いても相当量の酸が体液中に止まって、体液成分によって緩衝せられていると考えねばならない。

B. 体液イオン濃度とイオン分布の変化

奥村等は酸処理に関し、1) 細胞外液による緩衝作用、2) 細胞内液による緩衝作用、3) 腎臓による酸排泄作用、の三段階に分れて行われるとの説を提唱しているが、著者の実験成績に於いてはこの腎による酸排泄作用は前述の如く、酸注入時、24時間迄の範囲に於いては余り重要視することが出来ず、この間相当量の酸が体内に止まっていると考えられる。然も酸注入後24時間に於ける血液 pH や重碳酸塩濃度は既に正常値に近く回復しているのであるから、この体液中に止まった酸が何処に分布しているか、乃至は何によって中和せられているかは甚

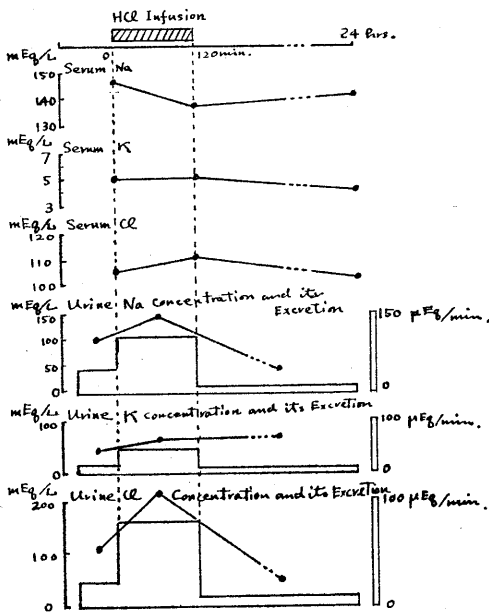


Fig. 3.

Changes of ion distribution in body fluid after acid infusion.

だ興味ある問題である。これを明らかにするには体液に於けるイオン分布の変化を観察する必要がある。

そこで先ず、酸注入直後及び24時間後の血液の Na, K, Cl イオン濃度並びに尿排泄塩分量の変化を調べてみた。Fig. 3 は Fig. 2 の犬の例について此等を調べた成績である。図の如く血清 Na 濃度は酸注入によって低下し、血清K 濃度及び Cl 濃度は若干上昇している。又尿について見ると、酸注入直後に於いて、Na, K, Cl 等の排泄増加がみられるのであるが、これは NaCl 並びに KCl として可成りの塩分が出されている事を示す。その原因は、注入した酸(HCl) が細胞外液の緩衝物質特にその予備アルカリ(炭酸塩)によって中和せられて、NaCl 又は KCl を生じて尿に排泄せられた為と考えるべきであろう。酸注入24時間後に於いては血清中の各イオン濃度は正常に近く迄恢復してい

Table 1. Changes of ion distribution in body fluid of dogs.

Dogs		At the End of Acid Infusion						24 Hrs. after Acid Infusion					
		Dog 1	Dog 2	Dog 3	Dog 4	Dog 5	Means	Dog 1	Dog 2	Dog 3	Dog 4	Dog 5	Means
Total Acid Load (mEq/kg)(A)		4.98	4.67	4.85	4.88	5.00	4.88	4.98	4.67	4.85	4.88	5.00	4.88
E.C.F. before Acid Infusion (L)		1.33	2.32	2.34	2.56	2.18		1.33	2.32	2.34	2.56	2.18	
Changes in E.C.F. (I)	Increase of E.C.F. (L)	0.28	0.29	0.28	0.27	0.26	0.28	0.30	0.27	0.30	0.14	0.16	0.23
	Increase of Na (mEq/kg)	4.32	2.51	2.26	2.09	3.84	3.04	2.70	2.98	2.73	2.46	-0.65	2.54
	Increase of K (mEq/kg)	0.18	0.23	0.10	0.21	0.15	0.18	0.17	0	-0.06	-0.13	0.08	0.03
	Increase of Cl (mEq/kg)	7.77	5.99	4.21	6.25	3.07	5.46	5.34	0.84	3.21	2.03	-0.84	2.56
	Increase of HCl (mEq/kg)	-2.48	-1.32	-2.51	-2.97	-3.53	-2.66	0.25	-0.09	-0.03	-0.02	-0.02	-0.02
Changes of Excretion (II)	Increase of Na (mEq/kg)	0.18	0.01	0.65	-0.13	0.81	0.30	-3.16	-3.05	-5.08	-5.19	-1.38	-3.57
	Increase of K (mEq/kg)	0.10	0.03	0.31	0.10	0.26	0.16	-0.47	-0.03	-0.47	-0.71	-0.16	-0.37
	Increase of Cl (mEq/kg)	-0.48	0.08	1.22	0.12	0.13	0.21	-5.77	-0.75	-5.36	-5.82	-1.09	-3.60
	Increase of HCl (mEq/kg)	-0.02	-0.01	-0.02	-0.03	-0.01	-0.16	-0.17	0.04	-0.01	-0.09	-0.02	-0.06
Sum of in E.C.F. and Excretion (III)	Increase of Na (mEq/kg) (B ₁)	4.50	2.52	2.91	1.96	4.65	3.34	-0.46	-0.07	-2.35	-2.73	-2.03	-1.03
	Increase of K (mEq/kg) (B ₂)	0.28	0.26	0.41	0.31	0.41	0.34	-0.30	-0.03	-0.53	-0.84	-0.24	-0.34
	Increase of Cl (mEq/kg) (C)	2.31	1.40	0.58	1.49	1.80	1.36	-5.41	-4.58	-7.00	-8.67	-6.93	-5.92
	Increase of HCl (mEq/kg) (D)	-3.00	-1.33	-2.53	-3.00	-3.54	-2.78	0.08	-0.05	-0.04	-0.11	-0.04	-0.03
ACL-Space (L) (E)		-0.05	-0.091	-0.155	-0.216	-0.131		0.472	0.529	0.270	0.725	0.528	
Cl-Shift from I.C.F. (calculated with ACL-space) (G)		0.79	1.12	1.66	2.08	1.92	1.51	-6.51	-7.85	-2.65	-6.75	-6.40	-6.03
Excess Alkali Shift (Na+K-Cl) = (F)		2.47	1.45	2.74	0.78	3.18	2.32	-4.65	-4.48	-4.12	-5.08	-4.66	-4.55
% Neutralization with I.C.F. (F)/(A) = (H)		49.6	31.1	56.5	16.0	63.8	47.8	93.3	96.1	87.2	104.0	92.0	94.5
% Neutralization with E.C.F. (D)/(A) = (I)		60.2	51.7	52.2	61.5	70.6	57.0	(-1.6)	1.1	0.9	2.5	0.8	0.8
% Neutralization with I.C.F. 100-(L) = (J)		39.8	48.3	47.8	38.5	29.4	43.0	101.6	98.9	99.1	97.5	99.2	99.2

るし、又尿中への酸排泄量は24時間後にはむしろ正常時よりも減少の傾向にある。

ここで酸塩基根の出納を明らかにせんために奥村に従って次の計算を行った。Table 1 は酸注入直後と、注入24時間後に於ける細胞外液 (E.C.F) の各イオン総量の変化である。表中 (I) は細胞外液中の主なるイオン Na^+ , K^+ , Cl^- , HCO_3^- (pH と総 CO_2 より計算) の総量 (濃度に Inulin Space を乗ずる) を酸注入の前後について比較してその増減を示したもの (+は増加, -は減少) である。ここに見る如く, HCO_3^- は全例について減少し, Cl^- は全例増加しているが, これは HCO_3^- が HCl 中和に用いられ, CO_2 となって呼出せられた為である。又 Cl^- の増加は HCl 注入によるものである。それに対し Na^+ , K^+ イオンの増加は細胞内液乃至は其他の depot (以後細胞内液に含めて考える) より遊出によると考える外はない。併し此等の値を定量的に処理する為には単に細胞外液中に於ける増減のみならず尿に排泄せられるイオン量の増減を勘考して定めなければならない。酸注入前3日間の平均の尿排泄量を元とし, それに比較して酸注入時間 (2時間) 乃至は酸注入後24時間には排泄せられた各イオンの過剰排泄量を (II) に示した, Na , K 等のアルカリイオンや Cl の排泄の増加しているのは注入せられた HCl 中和の結果である事は前記の通りである。 HCO_3^- 排泄減少は予備アルカリ減少後の生理的調節の結果である。此等のイオンは結局は細胞外液を通じて腎臓より排泄せられたものであるから, 細胞外液中のイオンの増減量に排泄イオン増減量を代数和するならば, 細胞外液と細胞内液とのイオンの出入を推定する事が出来る。斯様にして細胞外液中に細胞内液其他の depot より遊出して増加したイオン量を正值で表し, 外液中より他へ消去したものを負値で示したものが (III) に示した成績である。但しこの場合 Cl については酸注入により当然増加しているから, 細胞外液と内液との交流を考える時にはこの酸注入による Cl 量を差引かねばならない事は云うまでもない。この (III) の

欄に示す様に, 酸注入直後に於いては, Na , K , Cl は共に細胞外液中に内液より多量に遊出して増加している。これは細胞外液中に HCl が注入せられた為に, その酸中和機転が働いて細胞内液よりアルカリが遊出した事, 又細胞内外イオン分布の変化による Donnan 平衡の維持機転によるイオンの動き等, 種々の原因はあろうが, アルカリイオンは一部分 NaCl 又は KCl の形で遊出したものと思われる。従って Na^+ , K^+ の遊出量の和より Cl 遊出量を差引いて残りアルカリイオン ($\text{Na}^+ + \text{K}^+ - \text{Cl}^-$) は何等かの弱酸塩の形で細胞内より遊出し細胞外にて酸中和に当たったと考えるか, 又は奥村が考えた様に簡単に細胞膜を介して H^+ と交換して細胞外に出て, H^+ の細胞内液による中和に寄与したのかも知れない。その詳細はここで明言することは出来ないが何れにしてもこの $\text{Na}^+ + \text{K}^+ - \text{Cl}^-$ は細胞内液による中和量を示すものと考えて差支えない。そこでこの値を計算したのが表の下に示した F の項である。この F の値を注入せる酸量 A に対する % にて示したものが H 項であって, 細胞内液による酸中和の比率を示す。一方 III 欄の HCO_3^- の減少量は細胞外液の予備アルカリによる中和量に該当すると考え, 細胞外液の緩衝作用はこの予備アルカリによる中和量に代表せられると考えると, その比率 I は細胞外液による酸中和の比率である。よって $J = (100 - I)$ として求めた J の値は細胞外液中の HCO_3^- 減少量より求めた細胞内液による中和比率に相当する。表に示した様に H と J の値は完全には一致していないが併し各例を平均すると酸注入時については10%位の差になっていて大体一致した成績と見てよいであろう。又酸注入24時間の値については平均値に於いて, アルカリイオン遊出より求めた場合 (H) には平均 94.5%, HCO_3^- 減少量より求めたもの (J) は 99.2% であって, 種々の測定値の誤差が総合せられている事を考えるならば, よく一致すると云っても過言ではあるまい。

さてこの酸注入後24時間に於ける細胞内液による酸中和量の計算については若干説明しなけ

ればならない。即ちこの場合には(Ⅲ)欄に示した様にアルカリは細胞内液より遊出していないで、むしろ細胞内に入っているし、又 Cl⁻ も相当細胞内に入っている。従って Na⁺+K⁺-Cl⁻ として計算した値は正となるが併し現実には Cl が減少しているのであるから表の F には負号を附して示した。そしてここに考えられた Cl 量は、Na⁺, K⁺ 等と一緒に細胞内に入った Cl⁻ を差引いて、奥村等が考えたように多分 H⁺ を伴って細胞内に入った Cl⁻ 量を示す。つまり酸注入後24時間になれば HCl が細胞内に入ってそこで中和せられる事になるのである。ここ迄は今迄の本教室の仕事と同じであるが今回の研究ではこの推定事実が真実であるかどうかを調べる為に特に ³⁶Cl による Cl-Space の測定を行った次第である。そこで次に酸注入時の Cl イオンの動きについて ³⁶Cl を用いて行った実験の成績について述べる。

C. Cl⁻ イオンの動き

1. ³⁶Cl-Space と Inulin Space

実験方法の項に於いて述べた方法を以って測定した ³⁶Cl-Space と Inulin Space の値は Table 2 に示されている。

Table 2. Inulin space and ³⁶Cl-space.

Exp.	Before Acid Infusion				After Acid Infusion				24hrs. After Acid Infusion			
	Inulin Space		³⁶ Cl-Space		Inulin Space		³⁶ Cl-Space		Inulin Space		³⁶ Cl-Space	
	L.	%	L.	%	L.	%	L.	%	L.	%	L.	%
I	1.334	14.8	1.714	19.0	1.609	17.9	1.818	20.2	1.638	18.2	2.485	27.6
II	2.315	19.3	2.183	18.2	2.606	21.7	2.301	19.2	2.585	21.5	3.091	25.8
III	2.236	21.3	1.944	18.5	2.516	23.0	1.972	18.8	2.540	24.2	2.547	24.3
IV	2.560	21.3	3.012	25.1	2.825	23.5	3.007	25.1	2.695	22.5	4.127	34.3
V	2.178	24.2	2.109	23.4	2.435	22.1	2.161	24.0	2.333	25.9	2.887	32.1
M.		20.2		20.8		22.6		21.5		22.5		28.8

Table 3. ³⁶Cl-space (0.16 N NaCl infused).

	B. W. Kg	Before Salt Infusion		After Salt Infusion		24hrs. After Salt Infusion	
		L.	%	L.	%	L.	%
I	9.0	1.850	20.55	2.051	22.80	2.151	23.90
II	9.0	1.779	19.76	1.937	21.52	2.163	24.03
III	10.0	2.049	20.41	2.190	21.90	2.264	22.64
IV	10.5	2.474	23.56	2.459	23.32	2.634	25.08
V	11.5	2.650	23.04	3.013	26.20	3.174	27.60
M.			21.46 ±1.92		23.22 ±1.65		24.65 ±1.66

表に示した如く、酸注入前に測定した Inulin Space の平均値は、体重の 20.2%、Cl-Space は 20.8% であって、両者は大体一致するが、酸注入直後に於いては、前者が 22.6% であるに対し、後者が 21.5% となり、両者の間の差は僅少であるが併し両者共に僅かに酸注入前に比して増加している。これは酸注入による E.C.F の増加に基くものと考えられる。然るに酸注入24時間後に於いて測定した E.C.F の量は Inulin 注入によって得たものと ³⁶Cl 濃度より求めたものとは非常に大きな差があり、前者が 22.5% であって、酸注入直後の値に近いのに対し後者は 28.8% であって注入直後の値の 38.8% 増となっている。この差の原因につき考えるに、この場合の Cl-Space の計算に当っては、酸注入前に注入した ³⁶Cl の血清水分中の濃度を酸注入24時間にして再測定し、又注入した ³⁶Cl の量より尿に排泄せられたものを差引いて体内残存量を求め、この両者より計算したものである。従って24時間に排泄せられた ³⁶Cl の量の測定に誤差が介入した場合にはこれが Cl-Space の算定値に影響することとなる。又 Cl は皮膚の膠原線維の中に侵入するといわれ、その侵入に

は相当時間を要するため、その結果24時間後の血清中の濃度の減少を来したと思われる。又酸注入に際しては前記の如くこの酸が細胞内に侵入して中和せられる事が予想せられ、これが24時間後の Cl-Space 拡大の最も大きい原因と考えられるのであるけれど、以上の様に、この外にも種々の原因によって Cl-Space の増大する事が考えられるから、此等の原因になる Cl-Space 拡大量を実験的に求めて、補正しなければ、酸中和の為の

HCl 侵入量を求める訳にはいかない。そこで次に HCl の代りに HCl と同量の 5 mM/kg の NaCl を 0.16 N とし、犬に注入し、その後の Cl の分布を ^{36}Cl を用いて追跡した。

体重 10 kg の犬の一側下肢の V. saphena に $5\text{ }\mu\text{c}$ の ^{36}Cl を注入し、その後これが体液中に分布して平衡に達する迄約 2 時間待って頸静脈より採血し、その血清中の ^{36}Cl の Activity より Cl-Space を計算したものは Table 3 の Before salt infusion の Cl-Space とし示されている。その値は 5 例の平均にて 21.5% であり、Table 2 の正常時の成績に略等しい。次に 0.16 N NaCl を HCl 注入時と全く同じ操作にて注入し、その注入直後及び 24 時間後の血清 ^{36}Cl の Activity より求めた Cl-Space は同表に示した如く NaCl 注入前の値より略若干増加を示している。この増加の原因については既に述べた如くであって、酸注入に際する細胞内の酸中和と無関係なものである。そこで酸注入に際して、特に細胞内に ^{36}Cl が侵入する事によって増加して Cl-Space の値を求める為には先ず Table 3 の成績を用いて、NaCl 注入直後及び 24 時間後に於ける Cl-Space の増加量を求めておいて、この値を Table 2 の成績について求められる酸注入後の Cl-Space の増加量より差引いて始めて Acidosis による Cl の細胞内侵入の程度を知ることが出来る。そこで今 NaCl 注入に際する Cl-Space の変化を見るに酸注入前の値に比して平均 1.76% 増加となり、24 時間後は平均 3.19% 増加となっている。この増加量は前記の如く Acidosis と関係の無い Cl-Space の増加量であるから、これを酸注入時の Cl-Space の増加より補正する事になるのである。正確に云うならば各犬について夫々この様な補正值を求めて HCl 注入時の Cl-Space を補正す可きであるが、それは不可能であるから上記の平均値が各犬にも当はまると考えて補正を行うこととする。斯様にして、各犬の酸注入直後および注入 24 時間後の Cl-Space の増加を補正した値 ($\Delta\text{Cl-Space}$) を Table 1, E に示した。そこでこの Cl-Space の増加量は HCl 注入によって

細胞外液中の Cl がそのまま細胞内に侵入する為、に現れたものと考え、これに細胞外液中の Cl 濃度を乗じて細胞内に侵入した Cl 量/kg を求めて第 1 表の G に示した。

ここに見る如く、酸注入直後にはその Cl-Space の増加は NaCl 注入直後より反って少く従って $\Delta\text{Cl-Space}$ は負値をとっている。この事は HCl 注入直後には細胞内より Cl が一時遊出するという前項の成績に一致している。

以上の様な計算が正しいものとし、且前項で述べた細胞外液中のイオン分布量の変化や尿排泄量の変化より算出した細胞内侵入 Cl イオン量 (C) の計算が正しいものとすれば Table 1 の C 項と、G 項の成績は一致しなければならない筈である。但しこの場合に $\Delta\text{Cl-Space}$ の符号のとり方は C の計算の場合と反対であるから G 項の成績を求めるときにはその符号を反対にしておいた。

さて第 1 表に見る如く C の値と G の値は各個の犬についてはそれ程一致が良くないがこれは $\Delta\text{Cl-Space}$ の補正值として平均値を用いたことによるもので止むを得ない事であるが、その細胞内侵入 Cl 量の平均値を求めると酸注入直後に於いては C の平均 1.36 mM/kg に対し (G) の平均値 1.51 mM/kg と可なり良い一致を見せ、又注入 24 時間後に於いても、C の平均 -5.92 mM/kg に対して G の平均 -6.03 mM/kg とよく一致している (この場合負の符号は細胞外液よりの減少量即ち細胞内への侵入量を表す)。注入した HCl の量は 5 mM/kg であるから、24 時間後には殆んど全部の酸が細胞内に侵入したと考えても良いと云う結果になる。即ち酸注入後 24 時間にして HCl が細胞内に、直接侵入して中和せられる事実が ^{36}Cl の分布実験によって実証せられたと云う可きであろう。

Ⅳ. 総 括

成犬に 5 mM/kg の等張性の塩酸を約 2 時間で静脈内に注入すると共に、 $2\text{ }\mu\text{c/kg}$ の ^{36}Cl を注入し、酸注入直後、酸注入後 24 時間の酸塩基

平衡の変化を調べ特に細胞内液緩衝作用について考察を加えた結果次の成績を得た。

1) 酸注入後の体液各区間の緩衝作用を計算した結果、酸注入直後に於いては約40%の酸が細胞内液で中和せられている。

2) 体液イオン分布より推算すると、酸注入終了直後に於いては、Na, K が細胞外に遊出しこれが酸の中和に当たったものと考えられる。この様な細胞内液のアルカリ遊出による酸中和の機構については将来の研究にまつ外はない。

3) 酸注入24時間後の細胞外液の酸塩基平衡の測定成績よりすれば注入せる酸の殆んど全部が細胞内液によって中和せられたことになるが、この場合の細胞外液中のイオン分布並びに尿へのイオン排泄量の変化量等より推算すればこの細胞内液による酸の中和は注入せる HCl が細胞内に侵入して中和せられた結果である。

4) 上記の細胞内液緩衝作用の本態を確めるために、 ^{36}Cl を注入して、その分布を酸注入時、塩注入時について比較するに酸注入に際しては ^{36}Cl の細胞内侵入が顕著であって、Cl-Space が増大する。よってこの増大せる Cl-Space の値より Cl^- イオンの動きを計算すると、酸注入

24時間後に於いては注入せる HCl の Cl が殆んど全部細胞内に侵入した事になる。即ちこれより 3) に於いて推論した塩酸の細胞内侵入による中和が確かな事実として、立証せられた訳である。

稿を終るに臨み、終始御懇篤なる御指導と校閲の労を賜った恩師吉村寿人教授に対し深く感謝の意を表します。又種々の御援助を頂いた教室員諸氏に謝意を表します。

文 献

- 1) 奥村 修(1958)日本生理誌 **20**, 966
- 2) Yoshimura, H. et al. (1961) Jap. J. Physiol. **11** (No. 2), 109
- 3) 岩波真佐夫(1955)生化学 **27**, 522
- 4) Schreiner, G. E., Smith, H. W. ; Principles of Renal Physiology, New York, Oxford 209
- 5) Burch, G. E., Threefoot, S. A. & Ray, C. T. (1950) J. Laborat. Clin. Med., St. Louis **35**, 331
- 6) 小森敏夫(1960) **67** (No. 3), 723
- 7) 吉村寿人(1948) pH の理論及び測定法 (丸善版)
- 8) 斎藤幸一郎(1937)日本生理誌 **2**, 213
- 9) Brun, C., Smith, H. W. ; Principles of Renal Physiology, New York 214
- 10) 福山富太郎・佐藤徳郎(1949)医学と生物学 **11**, 400
- 11) Conway, E. J. ; Micro-diffusion Analysis and Volumetric Error
- 12) 浅田照夫(1956)日新医学 **43**, 513

低体温下の視床内側核単位活動 612. 826. 1 : 612. 813 : 612. 014. 43

Unit activities of medial thalamic nuclei under hypothermia

堀 泰 雄・林 泰 正・竹 口 尚 実
(HORI-Yasuo・HAYASHI-Yasumasa・TAKEGUCHI-Hisami)*

1. In normal temperature, unit discharges recorded in thalamic medial nuclei are classified into three groups, i. e. continuously, sporadically, and discharging at definite phase of thalamic synchronizing waves. The former two increased their own numbers by high frequency stimulation of MBRF (mid-brain reticular formation), the latter one, on the contrary, mainly decrease their own numbers and lose their specific pattern.

2. In hypothermia, unit discharges recorded from medial thalamic nuclei are subjected to the following changes.

a) Their numbers of discharges decreased nearly parallel with the reduction of the temperature and were scarcely found below 25°C.

b) Various discharging patterns observed in normal temperature were kept through the period of hypothermia, as a rule.

c) The thresholds of the stimulus both applying to MBRF and medial thalamic nuclei in contralateral side to produce the changes in discharging pattern of medial thalamic neurons, rose that values in hypothermia nearly parallel to the reduction of the temperature.

中枢神経系に於ける低温作用は低体温時の生体機能を探究する為に、あるいは中枢神経機序解析の手段として行われて来た。岡崎¹⁾は、低体温時の皮質背景脳波の周波数増減は殆んど体温と平行し、汎性視床投射系の単一刺激に続発する反復性後発放電は直腸温 20°C に到るまで現れているが、復温開始の頃より消失して復温中は現れず、30°C (直腸温) に到って再現すること、また視床知覚中継核刺激による皮質誘発電位は多少波型を変じつつも低体温のあらゆる時期に認められることを報告した。鈴木²⁾は脳温 30°C 前後で視床網様体機能が開放される結果、皮質漸増反応が大きくなることを報告している。又、吉井ら³⁾は低体温にすることによって脳幹網様体刺激による上行性作用と下行性作用を分離しようと試みた。

本実験の目的は汎性視床投射系に属する視床内側核の単位活動が低体温により如何に影響されるかを明らかにすることである。

1. 方 法

1. 手術操作

32匹の猫を用いた。動物はエーテル麻酔の後、脳定位固定装置に固定し、ついで気管切開を行い気管カニューレを挿入し、又一側の股静脈に股静脈カニューレを挿入後、Flaxedil の静注、動物を不動化して人工呼吸下に以下の手術操作を行った。即ち両側頸動脈を遊離し、必要に応じて引出せるようにし、次に頭皮を切開し、両側視床内側核直上の頭蓋骨を広く除去した。中脳網様体へ刺激電極を挿入するため穴も左右一対づつあけた。最後に *encéphale isolé preparation* を行った。

2. 電 極

深部構造の刺激電極には直径 200 μ の絶縁被覆したステンレス線の先端のみ絶縁を剥したものを 2 本接着して使用する。皮質表面脳波の記録には、頭骨に打ちこんだ鋼針を用いて単極誘導法を行った。不関電極は鼻骨上に、記録電極は前頭領上に置いた。視床内側核の単位放電の記録には 3 M KCl を満したガラス微小電極を、

* 大阪大学医学部第 2 生理学教室
2nd Dept. of Physiol., Osaka Univ. School of Med.
〔昭和 38 年 1 月 10 日受付〕

あるいは直径 300μ のタングステン線の先端を電解研磨し絶縁被覆して使用した。これらの微小電極は何れも先端直径 2μ 以下であった。不関電極は鼻骨上に置いた。

3. 記録装置

単位放電の記録には日本光電製の微小電極用増巾器 M2-3A 型及び同社製オッシロスコプ VC-6 型が用いられた。皮質表面脳波の記録には VC-6 内蔵の増巾器を用いた。ブラウン管上の単位放電及び脳波は三栄測器製の長時間連続記録装置によりオッシロペーパーに撮影した。ペーパー速度は毎秒 5 cm, 10 cm および 20 cm であった。

4. 脳温測定

これはサーミスターを用いて、10分間隔で測定した。脳温と同時に直腸温もサーミスターにより測定した。

その他、動物の保温には蓄熱式電気コタツに

より、また適当に Flaxedil, 生理的食塩水, ブドー糖液の注射を行った。

刺激, 記録電極の位置は実験終了後, 組織学的に検索した。

II. 結 果

1. 常温下の視床内側核で記録される単位放電の分類

a) 視床内側核で得られる単位放電は, i) 連続的な放電, ii) 散発的な放電及び, iii) 視床脳波 (誘発性あるいは自発性) の一定位相上に規則的に出現するものに分類される (図 1 及び図 2)。

b) 連続的な放電をするものは中脳網様体の頻回刺激により放電数を増加した (図 3)。これに対して視床同期波 (自発性紡錘波及び視床漸増反応) の一定位相上に出現する単位放電は中脳網様体の頻回刺激により視床同期波が抑制

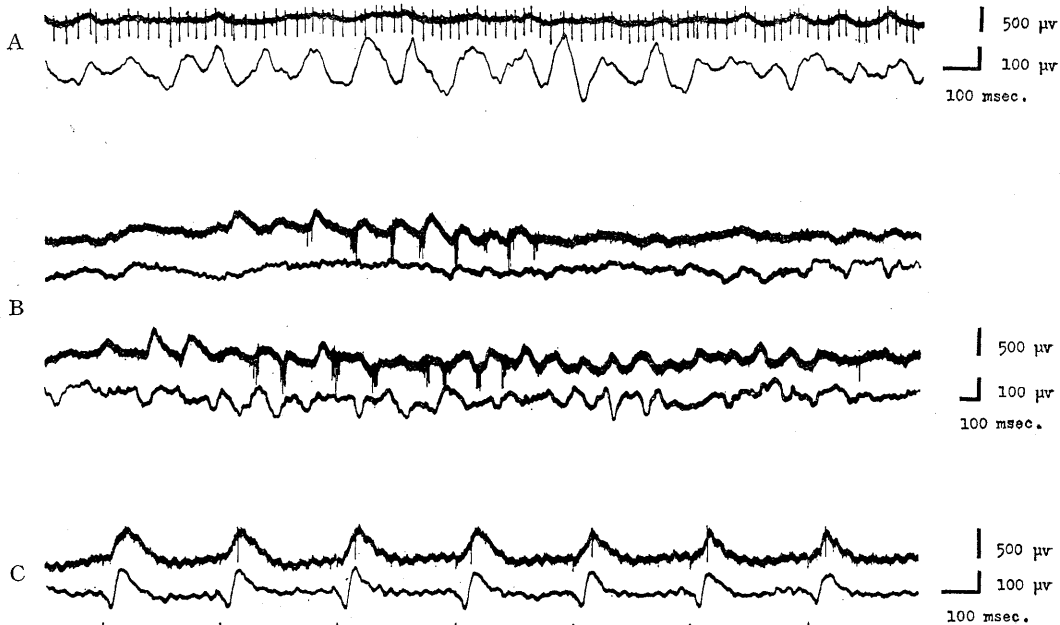


Fig. 1.

Three types of unit discharge patterns recorded in the medial thalamic nuclei. In each pair of records, upper trace is the record of unit discharges, and lower one, electrocorticogram. A: Continuously discharging single unit recorded in N. centrum medianum. B: Multiple units appearing dominantly in the negative phase of the spontaneous thalamic waves recorded in N. ventralis anterior. C: Single unit discharges appearing on the thalamic recruiting responses, recorded in N. ventralis anterior.

されるとともに放電数を減ずる場合が多く、その burst 放電は散發放電に変化した (図5).

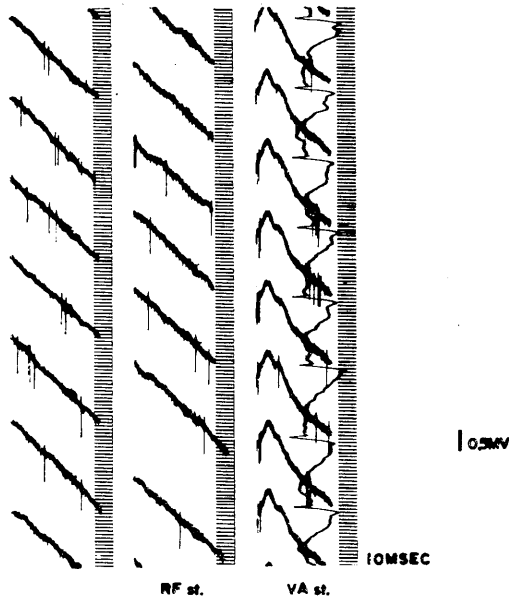


Fig. 2.

Spontaneous single unit discharges that fired sporadically, recorded in N. ventralis anterior. Left column : Spontaneous discharges. Middle : Discharges during MBRF (mid-brain reticular formation) stimulation. Right : Discharges during contralateral VA (N. ventralis anterior) stimulation. It is observed that by MBRF stimulation unit discharges are depressed and by VA stimulation, it accelerated and became burst discharge appeared at definite phase on the waves.

発的な放電をするものについては、中脳網様体刺激により放電をますものと、減ずるものがある (図4, 2).

c) 連続的な殆んど等間隔の放電をする単位に対しては対側視床内側核の低頻度刺激は影響を与えないが、散發的な単位放電のみられる時に同じ刺激を行うと視床漸増反応を生ずると共に単位放電数が増加し、且つ burst 放電の傾向が強められた (図2). 又背景に単位放電がみられない時、対側視床内側核の低頻度刺激を行うと、刺激中だけ burst 放電を生ずることが屢々認められた.

d) burst 放電は視床漸増反応電位が陰性ピークから陽性ピークへ移行する相上に出現することが多いが、逆に陰性相から陽性相への移行部に出現することもあった (図1, 2). 自発性の視床紡錘波についても同様の事実が認められた (図5).

2. 低体温時の視床内側核単位放電

視床内側核単位放電に及ぼす低体温の影響を次の四項目、即ち放電数、放電パターン、網様体の閾値、視床内側核の閾値に分けて観察した.

a) 放電数 脳温 35°C 以上より出発して脳温を次第に下降させると、視床内側核の単位放電は次第に減少した (図10). 脳温 25°C 以下では放電数は殆んど零に近い. 25°C 以上では、ほぼ脳温低下に平行してスパイク数が減少し

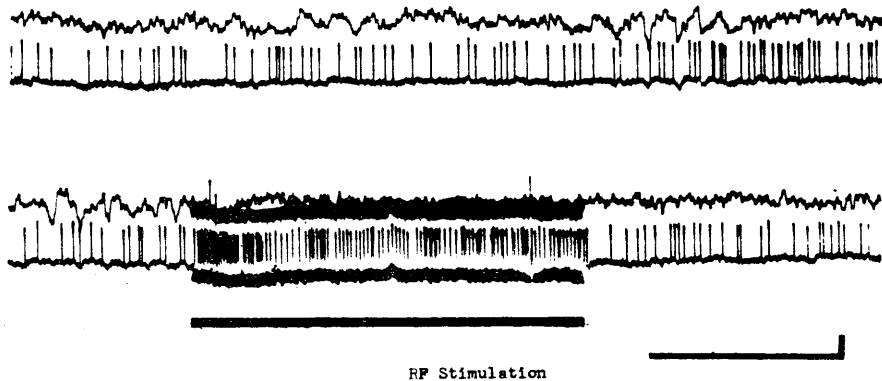


Fig. 3.

Single unit discharges of continuously discharging pattern. By stimulation to MBRF, it increased their numbers. Record in N. centrum medianum. Time scale : 1 sec. Calibration : 500 μ V.



Fig. 4.

Single unit discharges, fired sporadically (large spike). After MBRF stimulation, spike numbers increased, comparing before stimulation. Time scale : 1 sec. Calibration : 500 μ V). A : Record just before MBRF stimulation. B : Record just after the stimulation. \downarrow : Onset of MBRF stimulation. \uparrow : The end of MBRF stimulation.

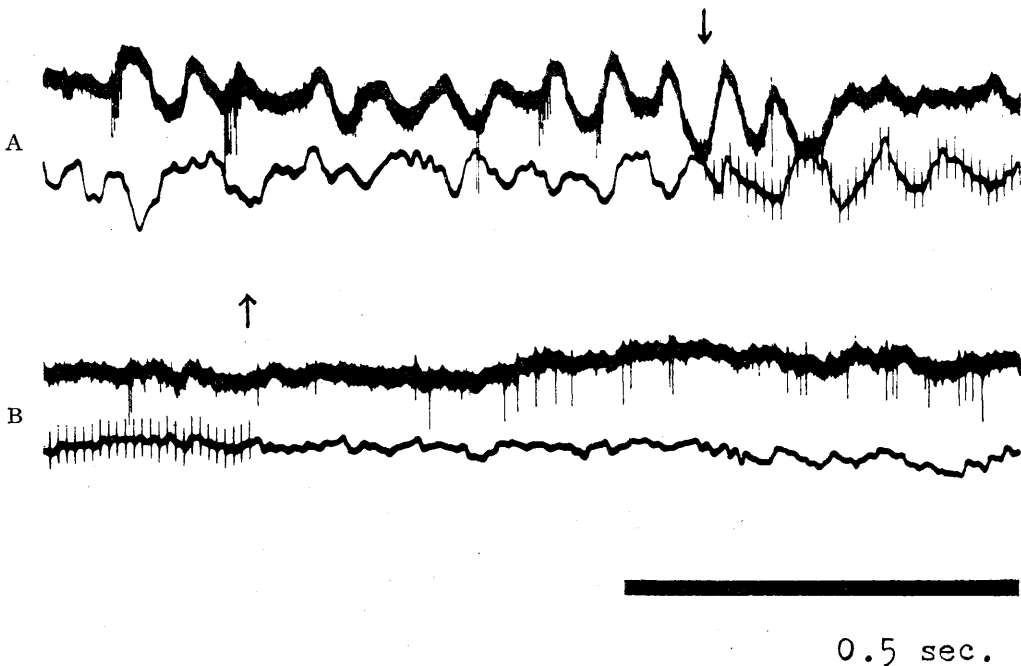


Fig. 5.

Single unit discharges appearing on definite phase of spontaneous thalamic waves. By MBRF stimulation, unit discharges were changed in their pattern and fired sporadically, as well as thalamic waves were suppressed. A : Record just before MBRF stimulation. B : Record just after the stimulation. \downarrow : Onset of MBRF stimulation. \uparrow : The end of MBRF stimulation.

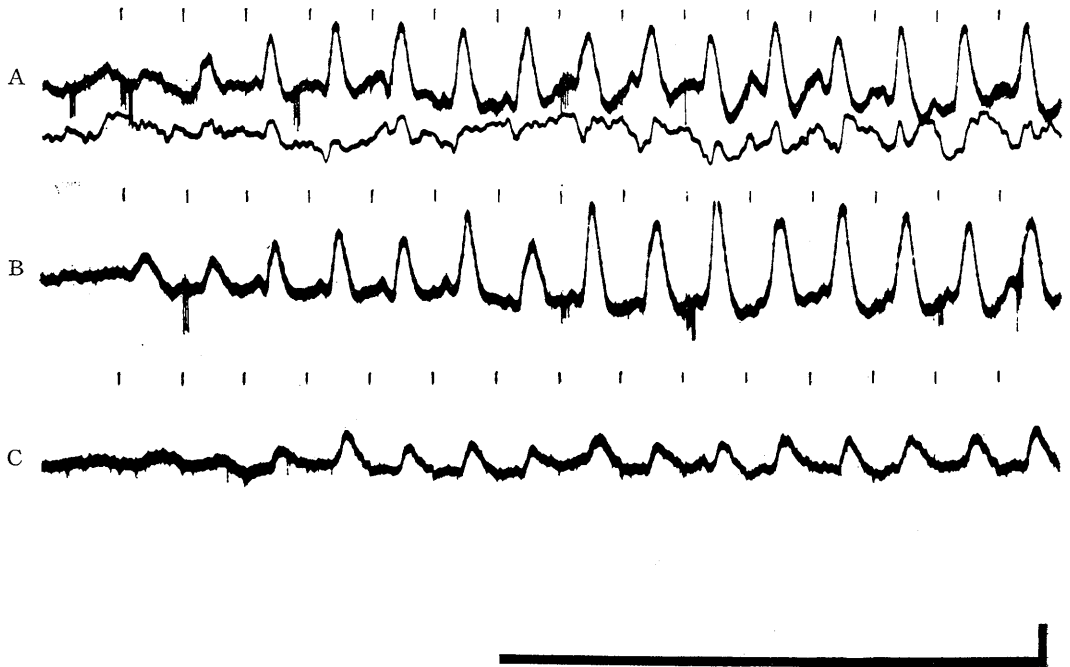


Fig. 6.

Thalamic recruiting responses under various stages of hypothermia. Each upper traces in A and B, thalamic waves combined with unit discharges. A: Record at 32°C. B: At 30.5°C. C: At 26°C. Thalamic waves in B is the largest in the amplitude rather than those in A. Time 1 sec. Caribration 500 μ V.

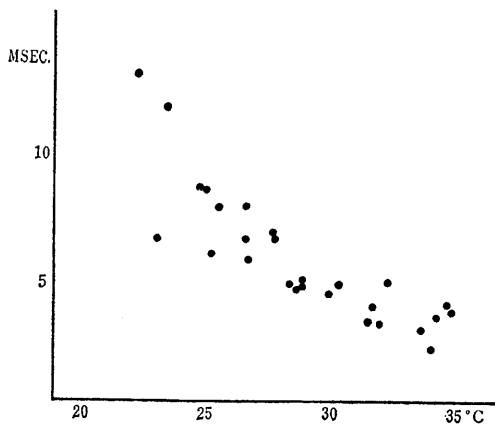


Fig. 7.

A graph showing the relation between spike interval and brain temperature. Prolongation of spike interval is almost linearly along the reduction of brain temperature.

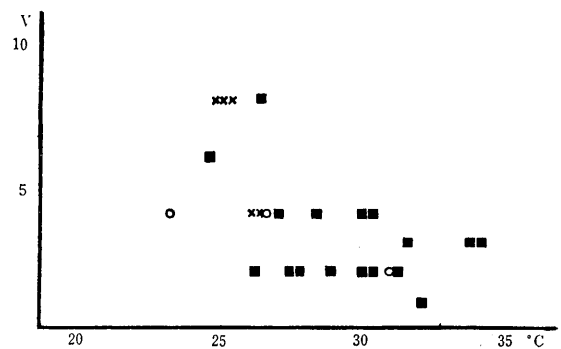


Fig. 8.

A graph indicates the relation between brain temperature and effect of MBRF stimulation on unit discharges firing in burst. Filled square indicates a threshold to increase spike numbers. Open circle: a threshold to decrease spike numbers. Cross: stimulus voltage having no effect.

た。脳温を 25°C 以下に低下させ、放電が消失した後復温して 25°C 以上になれば再び放電は

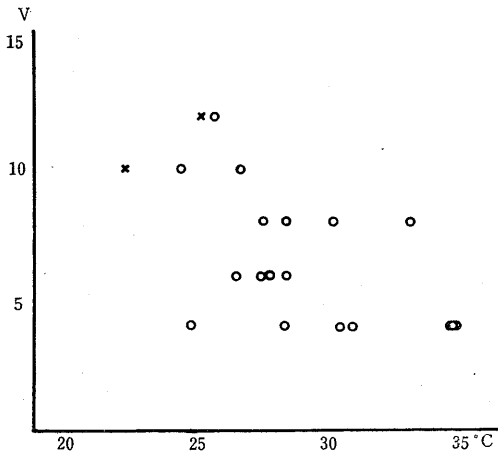


Fig. 9.

Threshold of stimulus to evoke thalamic recruiting response and unit discharge in burst pattern on that waves, applied to contralateral thalamic nuclei belonging diffuse thalamic projection system. Open circle indicates a threshold to evoke above described change. Cross : stimulus voltage of no effects.

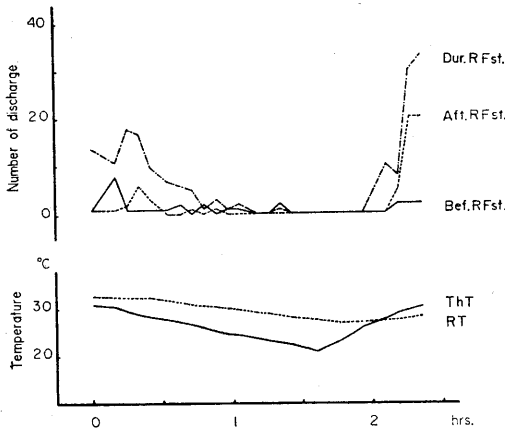


Fig. 10.

A graph showing the relation between brain temperature and spike numbers of single unit which recorded in N. centrum medianum, discharged in burst appearing on the certain phase of the thalamic wave. Parallel to the reduction of brain temperature, spike numbers gradually decreased and below 25°C almost completely abolished, but rewarming to over 25°C unit discharges reappeared.

恢復した。このように放電数は脳温低下にほぼ比例して低下するが、同時に記録された視床漸増反応の振幅はむしろ低脳温のある時期 (28-32°C) に増大した。冷却して 18-20°C に到れば脳波は平坦となった (図 6)。

b) 低体温時の放電パターン

低脳温時には上述の如く放電数は減少するが、その放電パターンには上記の何れの放電型式のものも大きな影響をうけなかった。例えば同期波の一定位相に出現する burst 放電は 25°C 以下ではスパイク間隔が極端に延長したけれども、その放電パターンを保持していた。burst 放電を示した個々の単位放電のスパイク間隔と脳温との関係をグラフに示すと図 7 のようになる。即ちスパイク間隔はほぼ脳温低下に比例して延長した。

c) 中脳網様体刺激閾値の温度変化

常温において視床内側核の単位放電に対する中脳網様体の刺激効果は上記の如くであるが、そのような効果を生ずる刺激閾値は脳温低下にほぼ比例して上昇した。但し視床同期波に関係深い単位放電に対しては、低温による閾値上昇は明瞭であるが (図 8)、連続的又は散発的な単位放電においては著明でなく、常温における刺激閾値が低体温時も維持される場合もあった。

d) 視床内側核閾値の温度変化

視床内側核の低頻度刺激は対側又は同側の視床内側核で記録される単位放電に対し、1 で述べた効果を与えるが、その刺激閾値は、ほぼ温度低下に比例して上昇した。そして c) における中脳網様体の刺激閾値と同様、低体温の一時期中において刺激閾値が反って低下する場合は認められなかった (図 9)。

Ⅲ. 考 察

ten Cate, Horsten and Koopman⁴⁾ は低体温時における、ねずみの皮質脳波の変化を研究したが、彼等によれば直腸温 37.5-32°C の間は皮質脳波に著明な変化はないが、直腸温が 30-29°C では、その脳波は常温のそれに比べて著変が認められた。即ち、徐波の比率が減じて、より頻

度の高い速波の振巾が増加するが、更に 28-27°C では徐波が完全になくなった。それより低い直腸温では脳波の振巾は次第に平坦になり、20-18°C で完全に波は消失した。これを我々及び鈴木²⁾の成績と比較すると、最初の変化の起る温度 (32°C) と脳波の平坦となる温度 (20°C) は一致するが、30-27°C で速波が非常に優勢になるということは認められず、反対にこの温度では徐波が優勢であった。

Woodhall & Reynolds⁵⁾ は頸動脈と頸静脈を使って体外循環を行い、脳を局部的に冷却して、その脳波変化を記録し、全身冷却による低体温時の脳波変化と比較して根本的な差異を認めなかった。我々の方法は、このような完全な脳の局部冷却と全身冷却との中間的な方法であり、比較的、撰択的な冷脳温を得たのであるが、他の実験者によって報告されたのと同様な成績を得た。Woodhall らは ten Cate らと異なり 32°C まで冷すと徐波が明らかになると報告しているが、これは我々の成績と一致している。

Suda Koizumi and Brooks⁶⁾ は低体温時の大脳及び脊髄の機能について詳細な研究を行ったが、その報告では低体温の一時期における中枢神経系の過興奮性について述べている。そのような状態においては、Mass response である脊髄の前根電位、あるいは皮質誘発電位の振巾は増大しているが、これと同時に記録された細胞内電位は殆んど振巾に変化がないことなどより、過興奮性の本態をニューロン活動の同期化及び参加ニューロン数の増加によって説明した。

著者らの実験においても、低体温の一時期には Mass response であるところの皮質及び視床脳波の同期化傾向が明らかになり、同時に皮質及び視床増強反応の振巾増大を認めた。しかるに、同時に微小電極により記録した単位放電はその際に数を増したり、あるいは同期化が顕著となる結果、スパイク間隔の短縮が起きるようなことはなかった。又興奮性の増大の表現である刺激閾値の低下ということもなかった。しかしながら須田らが示した同期化メカニズムは視

床同期波の低体温における増大に大きな影響をもっているだろう。

Karpovitch⁷⁾ は低体温における防禦条件反射の変化について興味ある実験を行った。即ち予め防禦条件反射を形成しておいた4頭の神経型のそれぞれ異った犬を机上に横臥させ、条件反射を起すに必要な肢だけを残し、あとの肢は机に緊ばくして、外制止が除かれた後に冷却を始めた。体温 35-33°C で動物は最も不隠で暴れるが、35°C では条件反射はかえって強く出現した。しかし 30-29°C 以下になると条件反射は完全に消失し、条件反射出現の最低温は 30-29°C であることを示した。しかし探究反応はこの温度においても残っていた。また脊髄反射である無条件反射は残っていた。ある実験では条件反射として冷体温時に肢の屈曲でなく、伸展が現われた。以上の Karpovitch の実験より推論すれば、体温 30-28°C は条件反射活動にとって1つの critical point となると考えられるが、著者らの行った視床内側核の単位放電に及ぼす低体温の影響の実験では、何れのパラメーターについても、30-28°C で非連続的变化を示したものはなかった。岡崎¹⁾ は復温 30°C で視床単発刺激後の反復後反応が再現することを認め、鈴木²⁾ は皮質漸増反応の伝導速度が脳温 31°C を境にして、それより低温では急速に延長することを報告した。

吉井ら³⁾ は脳幹網様体中に上行性脱同期作用を現わす部位と上行性同期作用を現わす部位とを区別し、且つ、この2つの系の機能は 25-23°C の間で消失することを認めた。網様体の下行性作用では、単シナプス反射の促進及び抑制作用の臨界温度はさらに低く、かつ両作用の消失温度に相違を認めることが出来た。

これらの成績を本実験で得られた単位放電の成績から理解するには未だ大きな間隔が存在することが痛感される。

IV. 結 論

1) 正常体温において視床内側核より記録された単位放電は連続的なもの、散発的なもの、

視床同期波の一定位相に出現するものの三種類に大別された。前二者は中脳網様体の頻回刺激により放電数を増加し、最後者は反対に、その数を減じ、且つ特有のパターンが失われた。

2) 脳温低下により視床内側核単位放電は以下のような諸変化をうける。

a) 放電数は略、脳温低下に比例して減少し、25°C 以下では極めて少なくなった。

b) 正常体温における種々の放電様式は低体温時も原則として保持されていた。

c) 視床内側核の単位放電に変化を起すような中脳網様体及び対側視床内側核の刺激閾値は略、温度低下に比例して上昇した。

文 献

- 1) 岡崎敬一 (1959) 低体温時の大脳電気活動について 阪大医誌 **11**, 1189-1197
- 2) 鈴木重隆 (1960) 低体温時の脳波 (Ⅱ) 動員反応 Recruiting Response について 阪大医誌 **12**, 1475-1478
- 3) Yoshii, N., Y. Okada, M. Itô and K. Okada (1962) Critical temperature of the ascending and descending functions on pontine and medullar reticular formation in hypothermia. Med. J. Osaka Univ. **13**
- 4) ten Cate, J., G. P. Horsten and L. J. Koopman (1949) The influence of the body temperature on the electrocorticogram of the rat. EEG Clin. Neurophysiol. **1**, 231-235
- 5) Woodhall, B. and D. H. Reynolds (1958) Localized cerebral hypothermia. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **97**, 194-196
- 6) Suda, S., K. Koizumi and C. McC. Brooks (1960) Analysis of effects of hypothermia on central nervous system response. Am. J. Physiol. **189**, 373-380
- 7) Karpovitch, O. A. (1960) The problems of acute hypothermia, Pergamon Press, (London), 32-43

Co chlorophyllin と Na および K 代謝 612.015.3

Effect of cobalt chlorophyllin on the sodium and potassium metabolism

秋 山 治 子 (AKIYAMA-Haruko)*

Effects of cobalt chlorophyllin on the sodium and potassium metabolism were studied in the blood serum of human and rabbits, and in the circulating saline in heart apparatus from toad. The results were as follows;

1) A constant relationship was observed between the labor of heart and quantity of sodium and potassium ion in the circulating fluid which was flown within the catheterized and separated heart in open type from the toad, and especially, a reverse relationship was remarkable between the labor of heart and sodium ion.

2) Cobalt chlorophyllin inhibited the labor of heart so long as the potassium ion was required by the heart in early stage, and the cobalt chlorophyllin accelerated the labor in the fatigue stage which was appeared in extraordinary infusion of sodium ion.

3) Potassium and sodium ion were decreased in the circulating fluid as long as the cobalt chlorophyllin act to promote the labor of heart, and were increased when the cobalt chlorophyllin act to inhibit that. These findings were agreed to the result using adrenalin and nicotine, in which have had similar effects upon the potassium and sodium metabolism.

4) Sodium ion was increased in rabbit serum by the injection of cobalt chlorophyllin, and potassium ion was first increased by the same manner, however, in the middle to last stages the potassium was decreased. These tendencies have not observed in the brain stem cauterization or adrenalectomy of rabbits.

5) Cobalt chlorophyllin could increase the amount of urine and potassium excretion from men.

6) Then it was thought to be true that cobalt chlorophyllin stimulates directly exfusion of potassium and sodium ion from inter or intracellular fluids into the blood, second, cobalt ion in the cobalt chlorophyllin stimulates indirectly the excretion of hormones in adrenal cortex through the hypophyseal hormonal system, third, the adrenal cortex hormon may act to increase sodium ion, and to decrease or slightly increase potassium ion in the blood.

緒 言

葉緑素の化学構造は Willstaetter¹⁰⁾ によって追究され、それは血色素や胆汁色素と酷似するところのヂカルボン酸のメチール・フィチール・エステルであることが闡明された (第1図). 植物の“緑の色素”とわれわれの“赤い呼吸色素”とが相同であるという事実は、われわれの先人に大きな驚きをもたらした。したがって最初この葉緑素が造血強壯剤として斯界の注目を浴びたということには、それなりの理由があったわけである。

葉緑素製剤すなわちクロロフィリンの薬理学

的な研究は、1925年頃より Bürgi およびその一門によってなされ始めた。Goldonoff⁴⁾ によると、本剤は神経筋標本の刺激伝導性を著しく昂進せしめ、心臓収縮を強盛ならしめ、腸管の蠕動を促し、子宮の緊張を昂め、呼吸量を増加せしめ、さらに基礎代謝を昂進せしめるという。要するにクロロフィリンはすべての臓器組織に対して、刺激のかつ賦活的に作用する、というのが Bürgi 一門の広汎な研究業績から得られた結論であった。

最初、葉緑素剤はクロロフィリンという形ではなく、その中心 Mg 原子を他の金属原子たとえば Fe, Cu および Co などで置換したいわゆるメタロ・クロロフィリンというより安定な形で用いられるようになり、その臨床的適応の開拓が試みられている。このメタロ・クロロフィ

* 東京歯科大学生理学教室

Dept. of Physiol., Tokyo Dental College

[昭和37年12月24日受付]

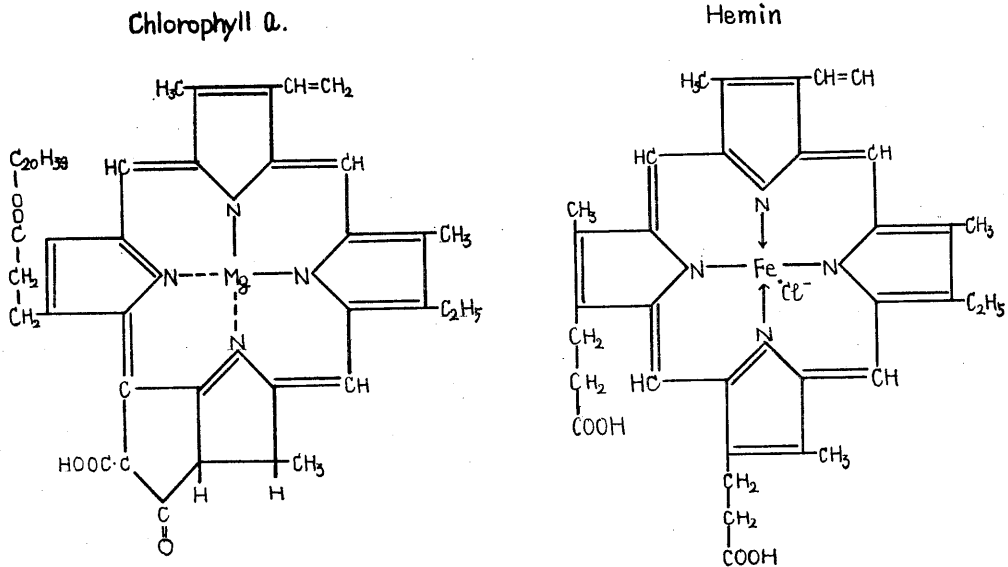


Fig. 1. Molecular structures of chlorophyll and hemin.

リンの中で、近時とくに注目されているのがコバルト・クロロフィリンである。

コバルト・クロロフィリンの臨床的な効果は、再生不良性貧血(小宮¹⁷⁾、その他の貧血(加藤¹⁵⁾、本山³⁰⁾)などで或る程度みとめられており、また放射線照射や抗癌剤投与時の副作用防止(春名²⁸⁾、高橋²²⁾²³⁾²⁴⁾、一宮¹²⁾、石井¹¹⁾、久保田¹⁶⁾、高橋²¹⁾・三浦³¹⁾、徳山²⁶⁾)に有効であったと報告されている。しかしその作用機序に関してはほとんど検討がなされていない。

Bürgi およびその一門によってなされたクロロフィリンの薬理学的効果が、このコバルト・クロロフィリンにもそのまま通用するのかどうか問題であるし、何よりもまずこのコバルト・クロロフィリンの生理学的な作用機序を考究したいと考えた。

そこで著者はコバルト・クロロフィリンの電解質とくに Na および K に及ぼす影響から、その作用機序の一端を伺うべく若干の実験を試みた次第である。

実 験 項 目

1. ヒキガエルの離体心臓標本を用いての実験

A) 離体心臓の開放性灌流標本における灌流量量, Na および K 量の消長

B) Co chlorophyllin の灌流量量, Na および K 量に及ぼす影響

- 1) 標本作製後 2 時間以内の場合
- 2) 標本作製後 6 時間目の場合
- 3) 標本作製後 24 時間目の場合

C) Adrenalin および Nicotine の灌流量量, Na および K 量に及ぼす影響

- 1) Adrenalin の場合
- 2) Nicotine の場合

2. カイウサギの血液を対象とする実験

D) Co chlorophyllin の血清 Na および K 量に及ぼす影響

- 1) 健常例の場合
- 2) 脳幹焼灼例の場合
- 3) 下垂体摘出例の場合
- 4) 副腎剝出例の場合

3. 人尿を対象とする実験

E) Co chlorophyllin の人尿とくにその排泄量, 比重, Na および K 量に及ぼす影響

- 1) 尿量および尿比重の変化
- 2) 尿 Na および K 量の変化

実験方法

1) 離体心臓灌流標本の作製

健全なヒキガエルを用いて、可及的速かに心臓の剔出(福原²⁹⁾)をおこなった。この際、八木式灌流器を改変した灌流器³⁵⁾(第2図)を使用して、新鮮な Ringer 液を恒常的に灌流せしめるいわゆる開放性心臓灌流をなした。

2) 電解質定量法

Na は Uranium Zinc acetate 法³²⁾を、また K は Kramer Tiodall 法³²⁾を用いた。

3) 脳幹焼灼および下垂体摘出法

これらは当教室で慣用されている方法によった。すなわち脳幹焼灼は超短波電気治療器を改造した高周波電気凝固装置(斎藤¹⁸⁾)を用い、黒津-清水式電極保持器にて、視床下部 B 交感帯に 30 mA, 10 sec の侵襲を加えその焼灼をおこなった。また下垂体摘出も黒津の摘出用器具を使用し、鼻腔よりその摘出をおこなった。いずれの場合も手術後 5 ないし 7 日を経過したものをそれぞれ脳幹焼灼例および下垂体摘出例として実験に供した。なお実験終了後、視床下部の侵襲部位および下垂体摘出の適否を検討した。

4) 副腎剔出方法

副腎の剔出は福田法³⁾により、両側の副腎を一次的に剔出した。この場合も手術後 7 日目のものを副腎剔出例として実験に供した。

5) Co chlorophyllin

これは南方薬品製のコバルト・グリーンポールを使用した。

実験結果

1. 離体心臓標本を用いての実験

Co chlorophyllin (以下 Co ch と略す)によって血清電解質とくに Na や K に特異な変化がもたらされると仮定しよう。この場合の Na や K の変動は、Co ch が自律神経系の機能的変調を招いたためか、或るいは電解質平衡を調節するホルモンの中のどれかが特異的に分泌された結果であると一応は考えられよう。しかしこれ

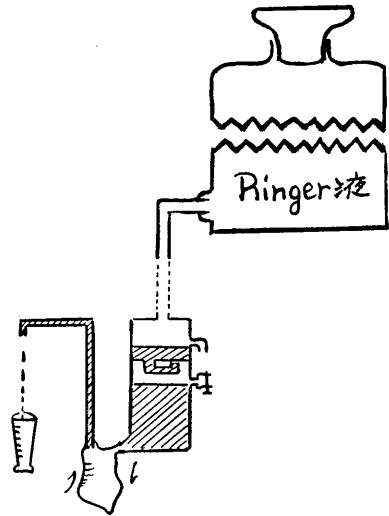


Fig. 2.

An arrangement of heart circulation in open type.

らの自律神経およびホルモンとは全く無関係にそれは発現したものなのかも知れず、実際の機序によるものか血清 Na や K の変化だけでは容易に判断できない。

要するに、Co ch は細胞内および外相の Na や K に対して、直接的にどんな作用を及ぼすか、という問題をまず解明して置くべきであろうと考えられた。そこで著者はヒキガエルの離体心臓標本を用い、いわゆる開放性灌流の条件下で、その灌流液中の Na や K に対する Co ch の作用をまず検討することにした。

A. 離体心臓の開放性灌流標本における灌流量、Na および K 量の消長

薬物による離体心臓の搏動異常は、従来の八木式灌流器で簡単に描記される。しかしこの実験では、若干目的が異なるので、新しく試作された開放性灌流器(森下³⁵⁾)を用いた。

この開放性灌流器を用いた離体心臓標本では、作用された化学物質の心筋活動に及ぼす影響が心搏出量(灌流量)の大小によって明かにされるほか、この作用化学物質は速かに排出されて該化学物質による測定因子障害が避けられる、などの利点があった。なおこの灌流器は心臓機能の興奮状態の如何に拘らず、心臓に対する灌流液圧は常に一定であるようにしくまれ

ている。

さて、常時新鮮な Ringer 液で灌流されるこの離体心臓の開放性灌流標本を用いて、その灌流流量、灌流 Na 量および K 量を48時間にわたって測定した結果、第1表、第3図のような結果を得た。

まず、搏出量つまり灌流流量の絶対値は、標

本による個体差が大きいので百分率として表または図示した。その搏出量はもちろん心筋の活動状態を忠実に示すもので、6時間後大約2倍に昂進し、12時間後ではそれより衰え、18時間後には明かに前値よりも減少した。18時間目以後は該搏出量は漸次減少し、48時間ないし60時間の間において、多くは心搏停止を来した。こ

のように、開放性離体心臓灌流標本は、標本作製直後よりもむしろ6ないし12時間経過後において心搏の強旺がみられ、その後は時間的経過と共に減弱の一途を辿ることになる。

この場合の灌流液 Na 量の推移をみると、18ないし24時間後までそれは漸減し続けるが、24ないし30時間後より急激な増加に転ずる。この灌流液 Na の減少は、いうまでもなく心筋細胞内への透入によるもので、その激増は心筋細胞内の Na が灌流液中に排出されることを意味する。

また灌流液 K 量の消長は、明かに搏出量のそれと逆相関性である。すなわち、6時間後の K 量は激減して平均 0.2 mEq/l 前後を示し、以後復元そして逆に増加の傾向すら呈示するに至る。このような現象は、心筋の興奮性を保持し、さらにそれを強旺化する上において、灌流液 K が心筋

Table 1.
Changes of sodium and potassium ion in the circulating fluid within the separated heart apparatus.

		hrs.									
		No.	0	6	12	18	24	30	36	42	48
saline volume (%)	No. 7	100.0	219.5	124.3	78.6	79.2	57.8	81.5	35.9	21.4	
	No. 8	100.0	202.4	133.6	42.4	39.5	35.4	42.4	31.8	13.5	
	No. 9	100.0	183.6	167.5	88.7	40.3	41.8	46.9	22.7	10.3	
	M. V.	100.0	201.8	141.8	69.9	53.0	45.0	56.9	30.1	14.7	
Na in circulating fluid (mEq/l)	No. 7	127.3	102.2	84.6	70.3	54.0	131.4	178.2	131.5	159.2	
	No. 8	141.2	138.0	102.4	68.0	51.5	75.8	145.2	166.3	182.1	
	No. 9	135.6	91.5	77.9	49.4	62.3	110.5	123.6	154.7	163.5	
	M. V.	134.7	110.6	88.3	62.6	55.9	105.9	149.0	150.8	168.3	
K in circulating fluid (mEq/l)	No. 7	1.27	0.22	0.72	0.67	0.86	0.90	1.27	1.10	1.08	
	No. 8	1.06	0.12	0.64	0.89	1.19	1.02	0.65	0.82	0.47	
	No. 9	11.11	0.06	0.45	0.61	0.78	0.64	1.04	1.01	0.77	
	M. V.	1.15	0.13	0.60	0.72	0.94	0.85	0.99	0.98	0.77	

M. V. : Mean value.

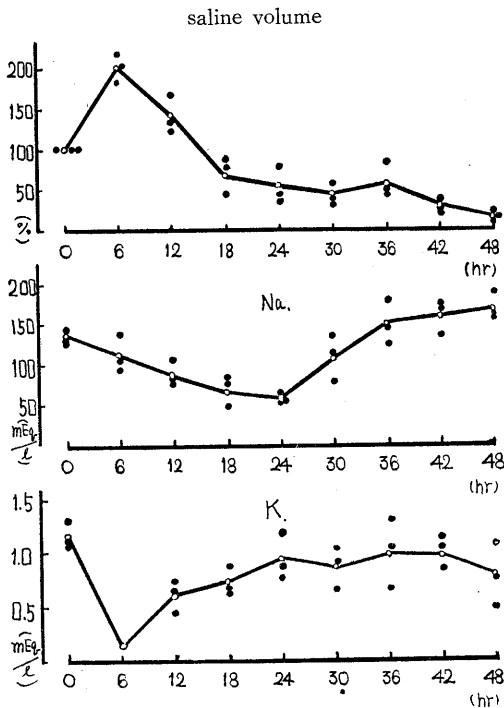


Fig. 3. Changes of sodium and potassium ion in the circulating fluid.

内で積極的に需要されていることを物語っている。

ここで考慮すべき問題は、神経興奮に関する Hodgkin⁵⁾の Na 仮説である。それによると神経の興奮は、外液中の高濃度の Na⁺が低濃度の細胞内に移行するために必要な「膜の選択的透過性の上昇」によるもの、というのである。もし、この見解を著者がおこなった離体心臓灌流標本に適用することが許されるならば、該灌流液 Na の漸減はとりも直さず心筋活動の昂進を意味することになる。この灌流液 Na の減少は標本作製後24時間にわたって認められたが、心臓の搏出量はすでに18時間後において明瞭に前値よりも低下した。18および24時間以後の

搏出灌流量は前値の大約 1/2 程度にまで減少しているが、この Hodgkin の Na 仮説が適用される限りにおいて、この状態でも心筋の興奮性は保持され続けていると解釈すべきであろう。

前述の如く、灌流液の K の消長と心臓搏出量とはほぼ完全な逆相関性をみせることから、心筋代謝における K の意義を重要視したばかりであるが、それはともかく心臓搏出量から評価される実質的な心臓の作業能と灌流液 Na の消長から判断される心筋の興奮性との間には、時間的に若干の隔りが存在することを知り得る。

B. Co chlorophyllin の灌流量, Na および K 量に及ぼす影響

Table 2. Effects of cobalt chlorophyllin on the changes of ion in the circulating fluid after two hours.

		min.	0	5	10	15	20	25	30
		No.							
saline volume (%)	No. 10	100.0	92.5	99.0	85.2	103.4	102.8	101.0	
	No. 11	100.0	95.1	102.3	100.6	100.6	96.7	95.1	
	No. 12	100.0	96.8	98.7	95.4	97.3	97.3	98.2	
	M. V.	100.0	94.8	100.0	93.7	100.4	98.9	98.1	
Na in circulating fluid (mEq/l)	No. 10	114.6	159.3	142.4	118.5	133.7	151.8	124.9	
	No. 11	93.5	171.2	122.3	125.0	146.8	125.0	97.5	
	No. 12	117.5	130.6	130.6	131.2	140.4	106.6	103.2	
	M. V.	108.5	153.7	131.8	124.9	140.3	127.8	108.5	
K in circulating fluid (mEq/l)	No. 10	1.28	1.56	1.03	1.17	2.06	1.45	1.21	
	No. 11	1.40	2.21	1.86	2.15	2.30	1.86	1.57	
	No. 12	1.33	1.19	1.15	1.27	1.42	1.15	1.15	
	M. V.	1.34	1.65	1.35	1.53	1.93	1.49	1.31	

M. V. : mean value.

Extruded saline vol.

Na

K

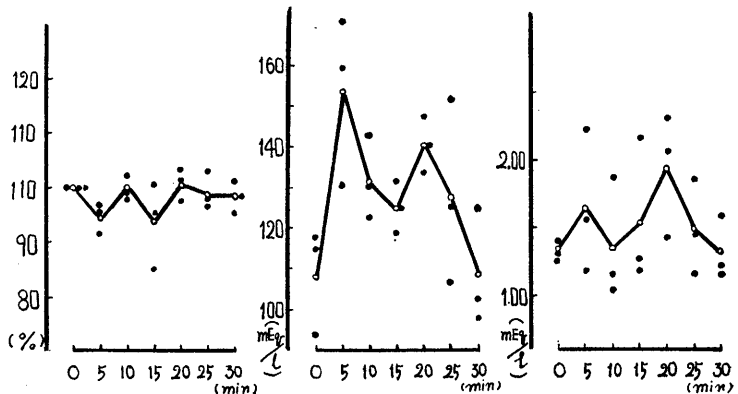


Fig. 4.

Effects of cobalt chlorophyllin on the changes of ion in the circulating fluid after two hours.

前実験において、開放性離体心臓標本はその標本作製後の経過時間が経つにつれて心搏昂進期より心搏減退期に移行すること、またそれに伴い灌流液中の Na や K はそれぞれ特異な消長を示すことについて述べた。そこで、Co ch による反応も標本作製後の経過時間を考慮した上で判断すべきものと考えられた。すなわち標本作製直後（2時間以内）の離体心臓を対象とする場合、標本作製後6時間を経過した場合つまり心臓作業能が最も昂進し灌流液 K が極度に減少する時期、及び標本作製後24時間つまり離体心臓機能が漸く疲労しはじめ灌流液 Na が減少より増加に転ずる時期、の3期に分けて、Co ch

の作用を比較検討する事にした。開放性離体心臓標本の静脈カニューレに滴下する Co chlorophyllin の投与量は一律に 10 mg とした。またこの開放性離体心臓標本に作用させた化学物質は、その種類の如何を問わず大体 3 分以内に排出されそれによって惹起された心筋活動の異常はおおよそ 30 分内外で正常に復元するため、心搏出量、Na および K などの測定因子は、作用物質負与前、5、10、15、20、25 および 30 分後に分けて測定した。なおそれらはそれぞれの測定時間における 1 分間の搏出灌流液を対象として、計量ならびに定量をなした。

1) 標本作製後 2 時間以内の場合

開放性離体心臓標本を作製した直後、もしくは可及的早期のそれを対象として Co ch を作用せしめ、まず各測定時間における 1 分間の搏出灌流量を計量した。その後これら被検灌流液中の Na および K 量の定量をおこない、第 2 表、第 4 図に示す結果を得た、なお搏出灌流量は作用前値 100 に対する百分率として示した。

まず搏出灌流量の変化をみると、ほとんど著しい変化が示れておらず、一般に平均数%内外の減少傾向が伺われる。またこの搏出灌流液中の Na は明瞭に増加し、5 分後に 40% 以上の上昇値が認められる。一方搏出灌流液中の K も Na の場合ほど急激ではないが増加の傾向を呈し、20 分後に 40% を越える上昇値を示す。

このように、標本作製直後の新鮮な離体心臓では、Co ch はその搏出量から評価される心臓機能を僅かに抑制し、該灌流液中の Na および K 量を増加せしめるのである。

2) 標本作製後 6 時間

間目の Co chlorophyllin 作用

開放性離体心臓標本の活動は、標本作製後数時間を経過した時期が最も活発である。そこでこの時期に Co ch を作用せしめて、第 3 表、第 5 図のような結果を得た。

まず搏出灌流量の変化をみると、この場合もそれほど目立ったものはない。Co ch の

Table 3. Effects of cobalt chlorophyllin on the changes of ion in the circulating fluid after six hours.

		min.	0	5	10	15	20	25	30
		No.							
saline volume (%)	No. 13	100.0	100.4	101.5	98.3	98.0	97.5	97.5	97.5
	No. 14	100.0	91.3	97.6	101.5	100.0	100.7	100.7	98.3
	No. 15	100.0	106.6	102.4	95.8	94.3	97.5	97.5	92.1
	M. V.	100.0	99.4	100.5	98.5	97.4	98.6	98.6	96.0
Na in circulating fluid (mEq/l)	No. 13	135.2	140.8	131.8	152.5	146.4	131.8	139.5	139.5
	No. 14	91.6	157.4	167.7	143.5	122.3	129.5	106.7	106.7
	No. 15	102.8	94.5	96.3	105.4	117.8	126.3	115.4	115.4
	M. V.	109.9	130.9	131.9	133.8	128.8	129.2	129.2	120.5
K in circulating fluid (mEq/l)	No. 13	0.11	0.26	0.35	0.41	0.35	0.18	0.24	0.24
	No. 14	0.08	0.08	0.08	0.12	0.69	0.50	0.31	0.31
	No. 15	0.17	0.46	0.46	0.73	0.92	1.43	1.02	1.02
	M. V.	0.12	0.27	0.30	0.42	0.65	0.70	0.52	0.52

M. V. : mean value.

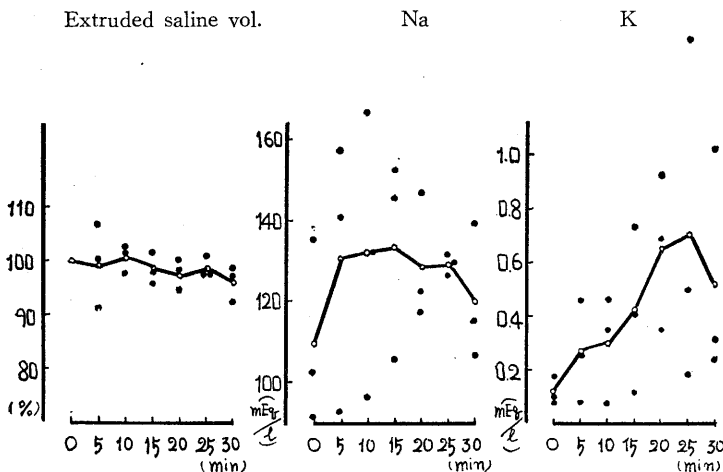


Fig. 5.

Effects of cobalt chlorophyllin on the changes of ion in the circulating fluid after six hours.

作用5分後に, No. 14 は減少を示し, No. 15 では僅かに増加をみせるといった状態である. 全般的にはここでも, 僅少ながら搏出量減少の様相が認められる. この場合の灌流液 Na は明かに増加し, 15ないし20分後に大約30%の増加値が示される. また灌流液Kにおいては, 既に作用前値の著明な減少を招いているが, Co ch を作用せしめることによりかなり顕著な増加反応を起す. すなわち20ないし25分後に平均50%を起せる増加がみだされるのである.

このように, 標本作製後6時間目の離体心臓においても, Co ch は必ずしも心臓作業能を昂進せしめるとは限らず, むしろ僅微ながらこれを抑制せしめた. そして該灌流液中の Na およびKは明瞭な増加反応を呈した.

3) 標本作製後24時間目の Co chlorophyllin 作用

開放性離体心臓標本は24時を経過すると, かなり疲労を示し, その搏出灌流液量は大約半減するという事実(実験A)で述べた. この時期の離体心臓標本に Co ch を作用せしめた場合の反応は, 第4表, 第6図のようであった.

この場合, 心臓搏出(灌流)量は著しい増加をみせ, 5分後の数値は平均250%に達した. また灌流液 Na は作用前においても比較的高い作用前値を示したが, Co ch の作用によってそ

Table 4.

Effects of cobalt chlorophyllin on the changes of ion in the circulating fluid after 24 hours.

	min. No.	0	5	10	15	20	25	30
		saline volume (%)	No. 16	100.0	183.6	172.4	121.5	100.0
	No. 17	100.0	254.3	195.2	138.6	170.5	151.2	110.2
	No. 18	100.0	307.2	228.0	172.5	195.0	127.8	127.8
	M. V.	100.0	248.4	198.5	144.5	155.2	127.8	113.4
Na in circulating fluid (mEq/l)	No. 16	59.4	52.0	48.2	46.5	42.3	54.6	57.5
	No. 17	86.2	67.3	61.7	82.5	73.4	78.2	80.2
	No. 18	95.5	41.2	41.2	48.3	62.1	58.6	74.4
	M. V.	80.4	53.5	50.4	59.1	59.3	63.8	70.7
K in circulating fluid (mEq/l)	No. 16	1.57	1.62	1.03	0.84	1.15	0.75	0.98
	No. 17	2.12	1.75	1.86	1.65	1.65	2.04	1.86
	No. 18	1.80	1.54	1.95	1.65	1.51	1.70	1.81
	M. V.	1.83	1.64	1.61	1.38	1.44	1.50	1.55

M. V. : mean value.

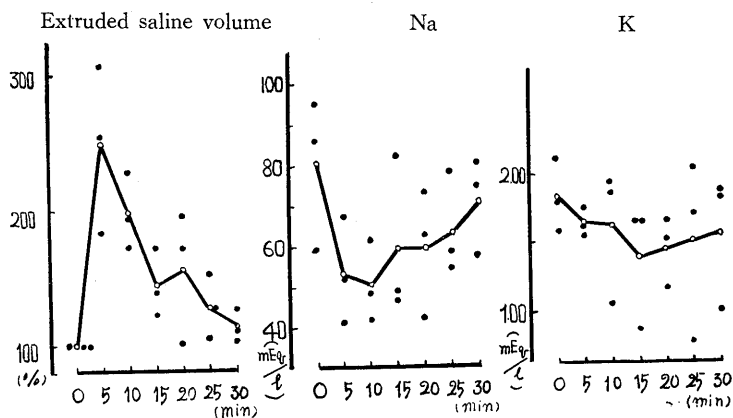


Fig. 6.

Effects of cobalt chlorophyllin on the changes of ion in the circulating fluid after 24 hours.

れは減少の傾向をみせた. この場合も平均40%以上の減少が15分後に認められた.

このように標本作製後24時間目の離体心臓に対しては, Co ch は確実な搏出灌流液量増加をもたらした. そしてこの場合, 灌流液中の Na およびKは減少をみせた.

以上の如く, Co ch は離体心臓灌流標本(とくに開放性灌流をおこなった場合)の心筋活動を常に昂進せしめるとは限らない. 標本作製直後より6時間までのごく新鮮な離体心臓に対しては, むしろこれを抑制する傾向すら認められる. Co ch が確実にその機能を昂めるのは, 標本作製後24時間を経過した疲労心臓に対してで

ある。またこれらの場合の灌流液中の Na および K の消長をみると、新鮮標本での機能抑制時には両因子の増加つまり心筋内に透入した Na および K の灌流液への排出が認められる。しかし疲労心臓の機能が Co ch によって昂進する場合には、両因子の減少つまり心筋内への透入が営まれるのである。

C. Adrenalin および nicotine の灌流液量, Na および K 量に及ぼす影響

Co ch は開放性離体心臓灌流標本に対して、常に一樣な影響をもたらすものではなかった。心臓標本が新鮮である場合、搏出灌流液量からみた心臓機能は抑制され気味であったが、疲労心臓に対しては確実な昂進が認められた。そして心臓機能抑制時には灌流液中の Na および K

は増加し、また機能昂進時には両因子の減少がもたらされた。そこで、離体心臓機能を常にそして確実に昂進もしくは抑制せしめる代表的な化学物質すなわち adrenalin と nicotine とを用い、これらの作用時における搏出灌流液量と灌流液 Na および K との相関性について実験を試みることにした。それによって心臓機能昂進および抑制時における灌流液中の Na および K の態度を窺知し得るものと考えられたからである。なおこの実験では作製後数時間以内の新鮮な開放性離体心臓標本を用いた。

1) Adrenalin の場合

Adrenalin (10^{-4} , 0.2 cc) を作用させた場合、第 5 表、第 7 図のような結果が得られた。すなわち、搏出灌流液量は 5 分後に平均 20% の増加を招き、灌流液中の Na は 15 分後に 1/2 以下に減少した。また灌流液 K は、搏出量が昂進する 5 分後に最低値を示す場合が多く、その減少率は平均 40% にも達した。

このように adrenalin によって離体心臓機能が昂進する場合、その実質的な作業能と灌流液 K の消長との間には逆相関性がみいだされた。この際、灌流液 Na の顕著な減少もまた認められたが、それは離体心臓の作業能昂進現象とは直接的な関係を有せず、それには離体心臓の実質的な作業能とは別な生理学的意義があるように解された。

2) Nicotine の場合

Nicotine (2×10^{-3} ,

Table 5. Effects of adrenalin on the changes of ion in circulating fluid.

	min. No.	0	5	10	15	20	25	30
		saline volume (%)	No. 19 100.0 No. 20 100.0 No. 21 100.0 M. V. 100.0	123.5 122.0 119.7 121.7	81.0 72.3 106.8 86.7	86.5 107.7 105.0 99.7	91.3 117.5 105.0 104.6	103.2 108.0 100.0 103.7
Na in circulating fluid (mEq/l)	No. 19 110.6 No. 20 101.3 No. 21 83.4 M. V. 98.4	69.4 52.5 36.7 52.9	108.2 44.4 61.8 71.5	71.2 26.0 31.9 43.0	84.3 41.2 38.7 54.7	65.2 85.3 67.5 72.7	70.5 46.1 101.2 72.6	
K in circulating fluid (mEq/l)	No. 19 1.22 No. 20 1.20 No. 21 0.87 M. V. 1.10	0.35 0.84 0.72 0.64	0.47 0.78 1.03 0.76	0.52 0.78 1.06 0.79	0.46 0.65 0.94 0.68	0.47 0.82 1.10 0.80	0.62 1.45 0.89 0.99	

M. V. : mean value.

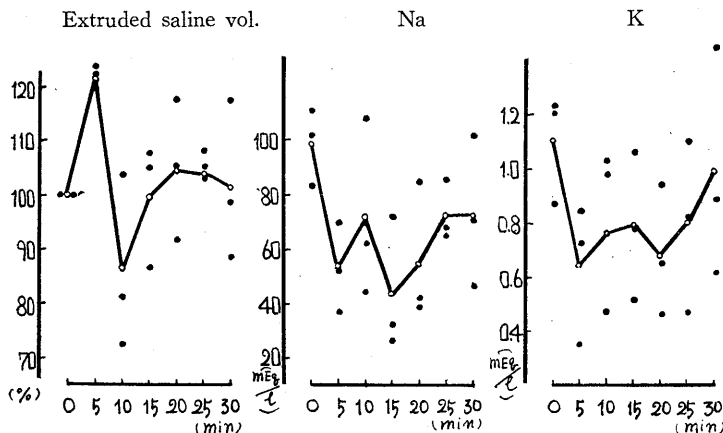


Fig. 7. Effects of adrenalin on the changes of ion in circulating fluid.

0.2 cc) を作用させた場合には、第 6 表、第 8 図のような結果が得られた。この nicotine の作用によって、離体心臓標本は心搏停止寸前の状態にまで追い込まれ、その搏出灌流液量は極度に減少した。この場合、灌流液 Na は作用直後より明瞭に増加し、15分後には平均 200% を越える数値が得られた。一方、灌流液 K も一般に増加の傾向をみせるが、たとえば No. 22 の 15 分値 (10.22 mEq/l) や No. 24 の 20 分値 (2.46 mEq/l) のように、極度に心臓搏動が抑制された後にその激増を認める場合が多かった。これは nicotine によって心臓搏動が阻止され、そのためにこの化学物質が長時間にわたって心筋細胞に障害作用を及ぼ

Table 6.
Effects of nicotine on the changes of ion in circulating fluid.

		min. No.	0	5	10	15	20	25	30
			saline volume (%)	No. 22	100.0	1.2	16.5	95.2	87.3
	No. 23		100.0	22.6	20.2	9.1	8.6	3.0	3.8
		No. 24	100.0	12.4	7.3	8.0	82.7	97.7	92.0
		M. V.	100.0	12.1	14.7	37.4	59.5	60.7	54.3
		Na in circulating fluid (mEq/l)	No. 22	117.5	166.2	141.8	188.4	131.7	125.5
	No. 23		82.3	170.4	275.6	212.2	256.3	150.8	150.8
		No. 24	74.0	131.5	77.9	206.3	95.4	103.7	132.5
		M. V.	91.3	156.0	165.1	202.3	161.1	126.7	135.0
		K in circulating fluid (mEq/l)	No. 22	1.32	1.04	1.94	10.22	1.51	1.23
	No. 23		0.74	0.75	0.72	0.91	1.07	0.85	0.75
		No. 24	1.21	0.90	0.72	0.85	2.46	1.75	1.62
		M. V.	1.09	0.89	1.13	3.99	1.68	1.28	1.17

M. V. : mean value.

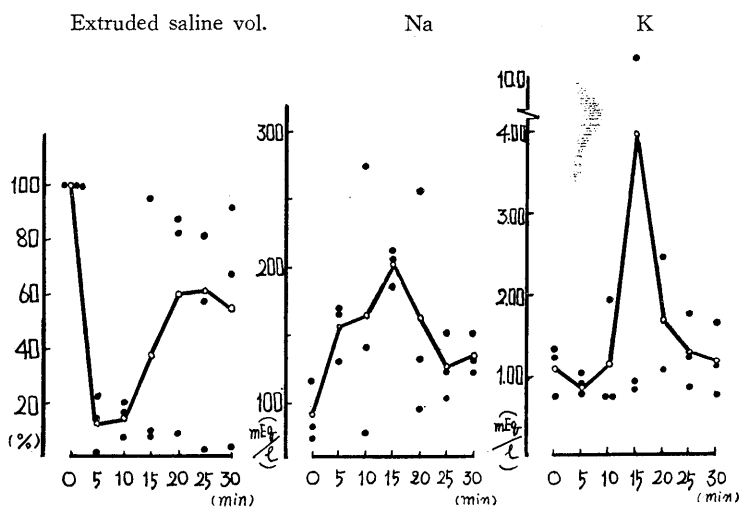


Fig. 8. Effects of nicotine on the changes of ion in circulating fluid.

し、細胞内 K を灌流液中に排出せしめたことによるのであろうと理解された。いかえれば、この場合の灌流電解質の消長は、心臓機能抑制時にみられる特異的な電解質出納ではなく、むしろ nicotine による心筋細胞障害作用の結果なのであろうと思惟された。

要するに adrenalin による心機能昂進時には、灌流液中の Na と K との減少反応が認められ、Na よりむしろ K の心筋内透入が離体心臓の作業能を昂進させる上において積極的な意義を有するものの如く理解された。また nicotine による心臓機能抑制時には、灌流液中における両因子の増加がみとめられたのであるが、それは

nicotine による心臓搏動阻止作用と相俟って、nicotine が長時間心筋細胞に阻害作用を与えた結果であることも解された。

少 括

Co ch は心臓標本とくに開放性離体心臓標本において、2つの相反する作用を呈示した。1つは標本作製直後より数時間以内の新鮮な離体心臓に対するもので、この場合の Co ch は搏出灌流液量から判断されるいわゆる心臓作業能を抑制せしめた。それに対して標本作製後24時間を経過した疲労心臓に対しては、これを確実に昂進せしめた。つまり新鮮な活動心臓に対し

ては抑制的に、疲労心臓に対しては昂進的に作用するのである。

新鮮で活動状態にある離体心臓は灌流液中の K を需要する。また疲労心臓ではこの K 需要が減少し、代りに Na の心筋内透入を認めるが、さらに疲労が進めば Na の透入も次第に抑制されるようになる。

Co ch を作用せしめたのは、心筋組織が K を需要する最盛期とその K 需要が抑制され代りに Na が顕著に透入した疲労期であった。そこで K 出納の立場から Co ch の作用をみると次のように理解される。すなわち前者では心筋の K 需要が抑制されてその作業能は抑制される。また後者では灌流液 K の心筋内透入が起り、心臓作業は昂められたのであると。そして同様に、これを Na 出納の観点から考えてみよう。灌流

液 Na の心筋内透入がさほど顕著でない新鮮な離体心臓に対して、Co ch は心筋内に透入しているかも知れない Na を灌流液中に排出せしめるので心臓作業は抑制される。また心筋への Na 透入が十分である心臓に対しては、さらに灌流液 Na を透入せしめて、その作業昂進を強制せしめると理解することもできよう。

いま述べた両解釈法のいずれが正当であるのか、よく判らない。とにかく Co ch が離体心臓機能に著変を与えないか或いはこれを抑制するとき、灌流液 Na および K は増加し、離体心臓機能を昂進せしめるとき灌流液中の両測定因子は減少する。この関係は adrenalin や nicotine によって離体心臓機能が昂進もしくは阻害された場合の Na および K の消長とも一致するものであった。

2. カイウサギの血液を対象とする実験

前実験ではヒキガエルの離体心臓標本を用い、Co ch がその灌流液中の Na および K にどんな影響を与えるかについて、またその場合の作業能との関係について、実験を進めた。その結果、2つの解答が得られた。すなわち1つは、離体心臓の作業を抑制する場合(新鮮標本)灌流液中の Na 及び K は増加し、またその作業能を昂進せしめる場合(疲労標本)には両測定因子の減少が招来された。

ここではカイウサギの血液を対象に、主として脳幹焼灼、下垂体摘出および副腎剔出などの手術的条件負与例で、Co ch が血清 Na および K にどのような作用を及ぼすかを実験した。

D) Co chlorophyllin の血清 Na および K 量に及ぼす影響

1) 健常例の場合

Table 7.
Effects of cobalt chlorophyllin on the amount of Na ion in rabbit serum.

		hrs.	0	1	2	3	4	5
		No.						
Cont. (mEq/l)	No. 52	126.4	120.2	135.4	131.6	131.6	124.2	
	No. 53	115.2	96.7	111.8	109.5	107.0	108.5	
	No. 54	137.1	118.4	152.5	130.6	122.3	120.5	
	M. V.	126.2	111.8	133.2	123.9	120.3	117.7	
Co Ch. (mEq/l)	No. 55	118.2	126.5	152.1	164.3	108.6	132.3	
	No. 56	122.4	140.7	136.2	142.5	201.2	116.4	
	No. 57	104.5	96.2	125.7	154.3	136.5	128.9	
	No. 58	126.1	130.8	131.2	138.6	151.3	140.5	
	No. 59	122.8	129.5	117.4	160.8	108.7	101.0	
	M. V.	118.8	124.7	132.5	152.1	141.3	123.4	

M. V. : mean value.

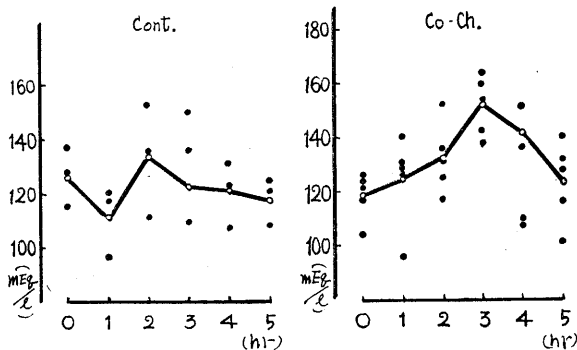


Fig. 9.

Effects of cobalt chlorophyllin on the amount of Na ion in rabbit serum.

Co ch は血清 Na に対して第7表, 第9図のような影響を及ぼした。まず対象として, とくに Co ch を注射することなく, 採血のみをおこなった場合の結果をみると1時間目やや減少, 2時間目僅かに増加そして3時間目よりごく軽度の減少という反応であった。またこの場合の増減率は最大限度10%程度で, 余り著しい変化ではなかった。それに対して Co ch 10 mg/kg 注射時の血清 Na は明瞭な増加を示した。すなわち, 実験例5例の中, 3時間目にその増加反応のピークを示すもの3例, 4時間目にそれをしめすもの2例で, いずれも 150 mEq/l を凌駕する数値であった。また5例平均値のピークは3時間目にみられ, それは 150 mEq/l を越えるほどであった。

次にこの場合の血清Kの変動は第8表, 第10図に示す如くであった。まず採血のみの血清K量の消長を検索したが, この場合の変化は血清 Na ほどではなく比較的僅かな数%程度の減少反応であった。そこで Co ch による血清K反応を5例について実験したところ, その中4例が《まず増加次いで明かな減少そして復元》という増減反応をしめした。最初の増加は1時間目にみられ, 2時間目減少に転ずる。1時間目の増加率は5例平均11%内外であり, また2時間目の減少率は25%に達した。以後血清K量は漸次増加しはじめ, 5時間後にはほぼ復元した。

Table 8.

Effects of cobalt chlorophyllin on the amount of K ion in rabbit serum.

		hrs.	0	1	2	3	4	5
		No.						
Cont.	(mEq/l)	No. 52	4.42	4.21	3.96	3.82	4.02	3.87
		No. 53	5.10	5.02	5.14	4.93	4.63	4.73
		No. 54	3.76	3.65	3.46	3.75	3.98	4.02
		M. V.	4.43	4.29	4.19	4.17	4.21	4.21
Co Ch.	(mEq/l)	No. 55	5.32	5.77	3.35	3.41	4.82	5.48
		No. 56	4.26	4.51	3.84	4.05	4.01	4.53
		No. 57	4.52	5.02	4.12	4.26	3.64	4.16
		No. 58	5.65	6.16	2.95	3.04	4.57	4.92
		No. 59	5.40	5.23	5.05	5.17	5.52	5.30
		M. V.	5.03	5.34	3.86	3.99	4.51	4.88

M. V. : mean value.

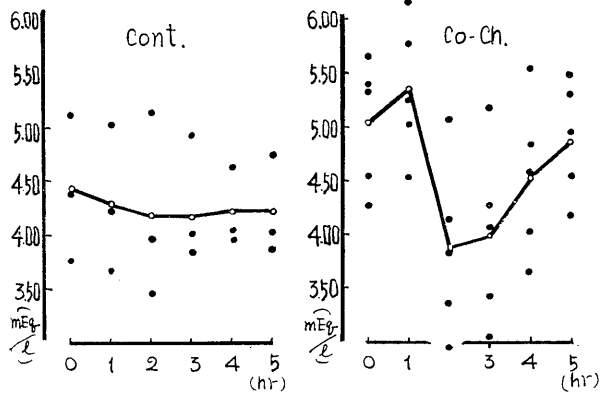


Fig. 10.

Effects of cobalt chlorophyllin on the amount of K ion in rabbit serum.

Table 9.

Effects of cobalt chlorophyllin on the amount of Na ion in brain stem cauterized, hypophysectomized and adrenalectomized rabbit serum.

		hrs.	0	1	3	5
		No.				
Na (mEq/l)	Brain stem cauterization	No. 61	97.6	92.8	103.2	113.7
		No. 62	84.7	73.5	108.4	66.5
		No. 65	109.2	106.4	90.4	94.2
		M. V.	97.2	90.9	100.7	91.5
	Co Ch.	%	100.0	93.5	103.6	94.1
		Hypophysectomy	No. 67	135.2	113.2	208.7
	No. 68		204.4	162.8	141.3	156.7
	No. 70		176.5	151.2	103.5	130.4
	M. V.		172.0	142.4	151.2	126.4
	Co Ch.	%	100.0	82.8	87.9	73.5
Adrenalectomy		No. 73	142.4	153.8	120.7	145.0
	No. 74	129.2	161.1	108.3	114.8	
	No. 75	157.5	169.4	151.2	147.6	
	M. V.	143.0	161.4	126.7	135.8	
Co Ch.	%	100.0	112.9	88.6	95.0	

M. V. : mean value.

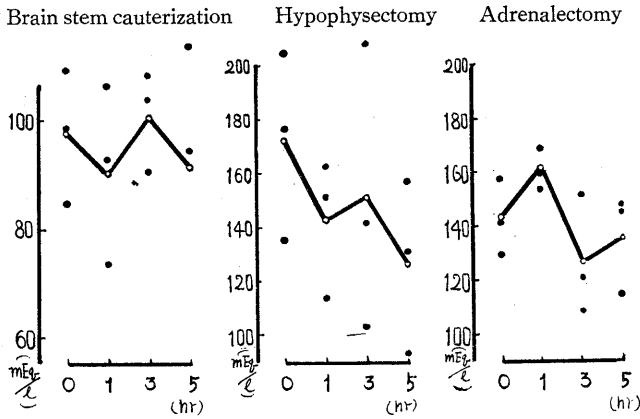


Fig. 11.

Effects of cobalt chlorophyllin on the amount of Na ion in brain stem cauterized, hypophysectomized and adrenalectomized rabbit serum.

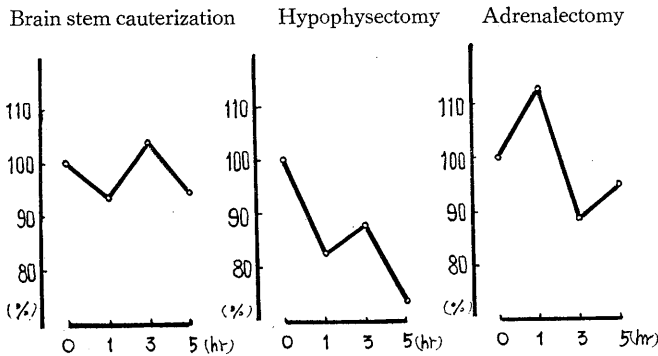


Fig. 12.

Rates of change in the Na ion after the treatment of cobalt chlorophyllin to rabbits with some pretreatments.

Table 10.

Effects of cobalt chlorophyllin on the amount of K ion in rabbits with pretreatment.

	hrs.	No.	0	1	3	5	
K (mEq/l)	Brain stem cauterization	No. 61	5.65	6.32	6.30	5.82	
		No. 62	6.90	6.71	7.24	5.19	
		No. 65	5.24	5.95	5.58	5.67	
		M. V.	5.93	6.33	6.37	5.56	
	Co Ch.	%	100.0	106.7	107.4	93.8	
		Hypophysectomy	No. 67	5.13	4.18	5.35	5.48
			No. 68	7.02	5.22	4.86	6.23
			No. 70	8.17	6.04	7.12	8.27
	M. V.		6.77	5.15	5.78	6.66	
	Co Ch.	%	100.0	76.1	85.4	98.4	
		Adrenalectomy	No. 73	6.24	6.03	7.22	7.91
			No. 74	7.56	8.02	9.34	8.40
No. 75			6.95	7.14	8.30	8.15	
M. V.	6.92		7.06	8.29	8.15		
Co Ch.	%	100.0	102.0	119.8	117.8		

M. V. : mean value.

このように Co ch 注射によって、血清 Na は3時間目をピークとする増加反応を、また血清 K は1時間目増加、2時間目減少そして緩徐に復元という増減反応を招いた。前実験すなわち実験1で知られたように、Co ch は新鮮な離体心臓標本の灌流液 Na および K をいずれも増加せしめた。この実験でも Co ch は血清 Na を明瞭に増加せしめたが、血清 K は増減反応であった。この血清 K の増減反応とくにその減少相には、おそらく腎臓からの排出機転が背景をなしているものと想像される。つまり Co ch は細胞内 K を細胞外に誘導するものであるが、それは腎臓を介する排泄機転によって修飾され、増加反応が増減反応に変じたものと考えられた。

そこで、これらの血清 Na 増加反応および血清 K 増減反応を規制する生体内の諸機構の一端を伺う目的で脳幹焼灼、脳下垂体摘出および副腎剝出例を対象とする実験をおこなった。

2) 脳幹焼灼例の場合

Co ch による正常な血清 Na 反応は、変動率30%を確実に越える増加反応で、そのピークは3時間目にみられた。そこで脳幹の焼灼をおこさない、その機能的失調を期待した動物における反応との比較検討を試みた。

この場合の血清 Na 反応は第9表、第12図のようで、その増加反応はほぼ確実に阻止された。すなわち、1時間値、3時間値および5時間値を前値に対

する百分率として示すと、1時間値(95.3%), 3時間値(103.6%) および5時間値(94.1%)で、ほとんど変動らしきものが認められない。

一方この場合の血清K反応は第10表、第14図にしめすように、各測定値の百分率は1時間(106.7), 3時間(107.4%) および5時間(93.8%)であった。この反応を正常な場合と比較すると、3時間目を中心とするかなり著明な減少相が失われていることに気付く。前述のように正常な血清K増減反応の減少相が腎機能を介する排泄作用によるものとするれば、脳幹焼灼時にはこの機能が失われてしまうものと考えられる。逆にいえば、正常な血清K減少相は脳幹機能の健全なることを前提として、はじめて発現するものなのである。

3) 下垂体摘出例の場合

下垂体摘出例を対象とする Co ch の血清 Na に及ぼす影響は第9表、第12図に示すようであった。この場合の Co ch 作用前値は著明に高く、各測定時間における測定実数値は減少した。それを百分率で示すと、1時間値(82.8%), 3時間値(87.9%) および5時間値(73.5%)で、明かに減少するようであった。

また下垂体摘出例での Co ch の血清K反応は第10表、第14図にみられる。この場合も上述の Na と同様に Co ch 作用前値はかなり高く、Co ch 注射によって1時間目の減少とその後の復元傾向が認められた。これを百分率で示すと、1時間値(76.1%), 3時間値(85.4%) および5時間値(98.4%)であった。

このように下垂体摘出動物では Co ch の正

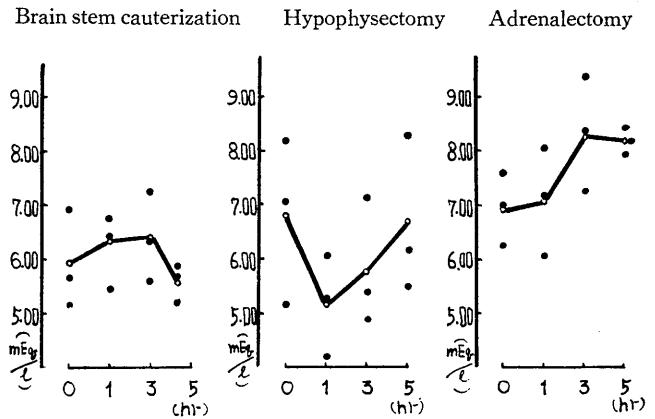


Fig. 13.

Effects of cobalt chlorophyllin on the amount of K ion in rabbits with pretreatment.

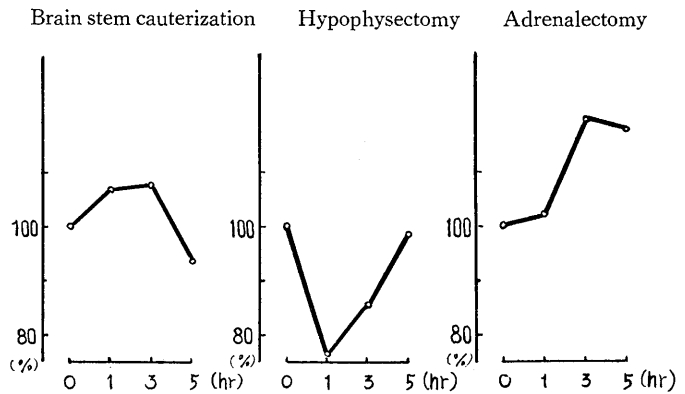


Fig. 14.

Rates of change in the K ion after the injection of cobalt chlorophyllin to rabbits with some pretreatments.

常な Na および K 反応は全く発現せず、両測定因子のごく初期から減少反応がもたらされた。下垂体摘出例で Co ch が血液中の Na 及び K の減少を来さしめるのは、それらが腎臓を介して急速に排泄されるからではないかと一応は想像させる。しかし、ここで実験1の離体心臓灌流標本を用いての実験を想起する必要があると思われる。Co ch が灌流液中の Na 及び K を増加せしめる場合は、標本作製後数時間以内の新鮮な心臓標本に対してであった。そして標本作製後24時間を経過した疲労心臓では、Co ch は灌流液中の Na および K を減少せしめたのである。むろんヒキガエルの24時間経過した離体心

臓と下垂体摘出ウサギとを同一視することは無理であろうが、いずれも相当に疲労した組織細胞であるという意味で、Co ch は同様な作用機序を踏襲せしめているのかも知れない。とすれば、下垂体摘出時にみられる Co ch-血清 Na および減少反応は、腎臓からの排泄によってもたらされるものではなく、両因子の組織細胞への透入によるものと解釈すべきであろうか？。

4) 副腎剝出例の場合

副腎剝出例を対象とする Co ch の血清 Na 反応は第9表、第12図のようで、軽度の増減反応が認められた。その測定値を百分率として示すと、1時間値 (112.9%)、3時間値 (88.6%) および5時間値 (95.0%) で、1ないし3時間目に12ないし13%の増減率がみられた。それはともかく、この副腎剝出例でも正常な血清 Na

増加反応は出現せず、この正常な血清 Na 増加反応には、下垂体副腎系の機能的関与がその背景にあることを伺わせる。

またこの場合の血清 K は第10表、第14図のような変動を示した。その測定値を百分率で示すと、1時間値 (102.0%)、3時間値 (119.8%) および5時間値 (117.8%) で、いわゆる漸増反応であった。正常な血清 K 増減反応は腎臓を介する K 排泄機能の昂進による、という理解の仕方が正しければ、副腎剝出時にはこの K 排泄機能が、前述の脳幹焼灼時よりも一層適確に阻止されることを意味しよう。

このように、副腎剝出時には Co ch による正常な Na 増加及び K 増減反応が阻止された。とくに後者においては「K 排泄機能のみが阻止された場合の正常な Co ch-血清 K 増加反応」を思わせる反応曲線が得られた。

少 括

カイウサギの血清 Na および K にたいして、Co ch はそれぞれ増加および増減反応をもたらした。前実験から、Co ch は比較的健康的な組織細胞に直接作用して、細胞内 Na および K を細胞外に誘導せしめることが判明したので、K 反応の減少相は腎の K 排泄能の昂進によると考えられた。

脳幹焼灼時における Co ch の血清 Na および K 反応はほとんど著明な変化を示さず、正常な両反応は阻止された。これは正常な Na 増加および K 増減反応が発現する上において、脳幹機能が直接もしくは間接的に関与していることを意味している。

下垂体摘出時の Co ch 作用は、血清 Na および K の減少反応として発現した。正常な血清 Na 増加反応が下垂体摘出によって減少反応に変ずるのは、その正常反応に下垂体機能が直接もしくは間接的に関与していることを物語っている。またこの場合の K 減少反応は、Co ch が疲労心臓組織に灌流液 K を透入せしめるように、生体内各組織に血清 K が透入してもたらされる現象であろうとも解された。

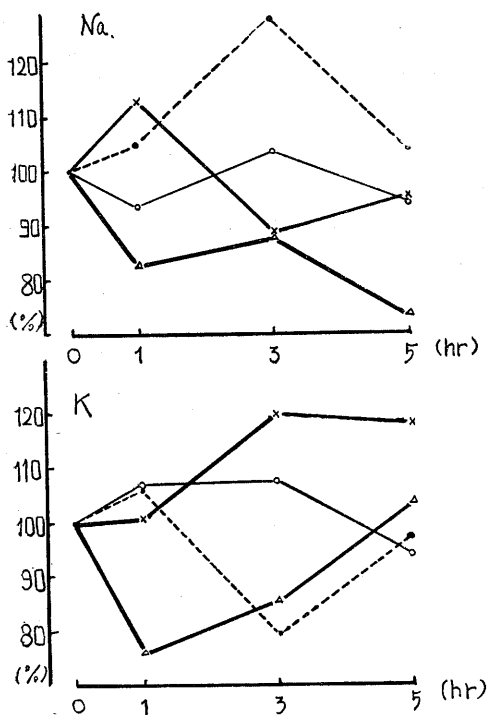


Fig. 15.

Effects of cobalt chlorophyllin on the Na and K ion in some pretreated rabbits.

- Control.
- Brain stem cauterization.
- △— Hypophysectomy.
- ×— Adrenalectomy.

副腎剔出時に Co ch を投与すると、血清 Na の軽度の増減反応および血清 K の漸増反応が発現した。いずれの場合にも正常な両反応は認められず、この正常な両反応が発現するためにはいわゆる副腎機能が関与していると考えられた。

以上のように、正常な Co ch-血清 Na 増加反応は大なり小なり、脳幹、下垂体そして副腎系の機能的関与を受けて発現するものであり、また正常な Co ch-血清 K 増減反応には脳幹、副腎系との機能的連繋がより密接に存在するものと考えられた。

3. 人尿を対象とする実験

Co ch はいわゆる保生組織内の Na および K に対して、直接的にこれらを細胞外に誘導する作用を発揮する。また Co ch を生体内に投与した場合、この直接的な作用の他に中枢、下垂体および副腎系機能が直接もしくは間接的に関与して、血清 Na 増加反応および血清 K 増減反応が招来されることを知った。とくにこの血清 K 増減反応の減少相は、腎の K 排泄が昂進したためとも想定されたので、尿における両因子の消長を明かにする必要を感じた。

最初、カイウサギの尿を対象に実験をおこなったが、被検尿が量的に十分採取できなかつたり、或るいはそのため動物を背位に固定する必要が生じたりして満足な結果が得られなかつたので、この実験は人体でおこなうことにした。すなわち健康な成人の男性 4 人を対象にして、

Table 11.

Effects of cobalt chlorophyllin on the amount, density, Na and K ion in human urine.

	Name	hrs.					
		0	1	2	3	4	5
Amount of urine (cc)	Y. K.	56.5	49.0	47.5	92.5	75.0	76.0
	J. K.	51.0	56.0	31.0	74.5	70.5	64.5
	R. N.	46.5	44.5	27.5	69.0	63.5	67.0
	T. F.	43.0	35.5	38.0	58.5	72.0	71.5
	Mean V.	49.3	46.3	36.0	73.6	70.3	69.8
Density of urine	Y. K.	1.0235	1.0190	1.0185	1.0185	1.0185	1.0190
	J. K.	1.0230	1.0210	1.0195	1.0205	1.0200	1.0210
	R. N.	1.0210	1.0180	1.0190	1.0195	1.0190	1.0185
	T. F.	1.0250	1.0200	1.0200	1.0195	1.0210	1.0215
	Mean V.	1.0231	1.0195	1.0193	1.0195	1.0196	1.0200
Na in urine (mEq/l)	Y. K.	292.4	138.5	154.6	144.8	156.2	220.3
	J. K.	375.6	325.4	248.3	231.5	263.5	287.6
	R. N.	345.2	178.6	174.2	246.4	197.5	349.0
	T. F.	415.6	182.3	217.7	327.3	375.8	241.4
	Mean V.	357.2	206.2	198.7	237.5	248.3	274.6
K in urine (mEq/l)	Y. K.	26.5	22.0	23.4	20.6	19.7	21.2
	J. K.	18.6	18.2	17.8	18.5	18.1	17.8
	R. N.	19.5	19.9	19.2	19.0	18.8	19.2
	T. F.	19.7	20.6	20.4	20.8	18.6	18.1
	Mean V.	20.8	20.2	20.2	19.7	18.8	19.1

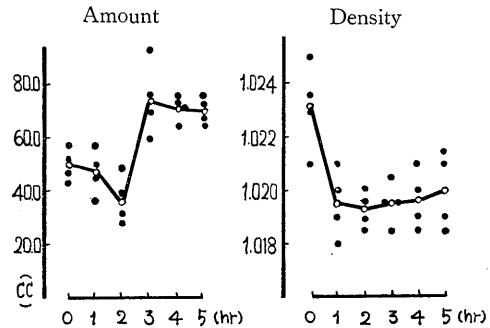


Fig. 16.

Effects of cobalt chlorophyllin on the amount and density of human urine.

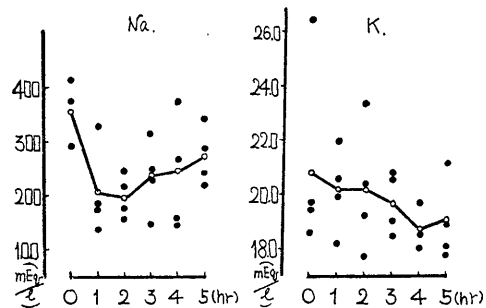


Fig. 17.

Effects of cobalt chlorophyllin on the changes of Na and K ions in human urine.

実験 2 日前より同一の生活環境に起居せしめ、また一定の食事をとらしめた上、20 mg の Co ch を注射した。なお実験前夜食は欠食とし、翌日午前10時に実験を開始した。

E) Co chlorophyllin の人尿とくにその排泄量、比重、Na およびK量に及ぼす影響

1) 尿量および尿比重の変化

まず Co ch 注射時の尿量および尿比重を調べた結果、第11表、第16図のようであった。すなわち尿量は注射後2時間にわたって減少するが、3時間目より急激に増量し、その増加率は60%近くに達した。そしてこの増加現象は5時間後においても、なお保持されるのを認めた。それに対して尿比重は平均 1.023 より 1.019 というように注射後1時間目よりかなり急激に低下し、5時間後においても平均 1.020 以上には復元しなかった。

このように、Co ch はその注射によって直ちに尿比重を低下させ、それを稀薄尿にするが、実際に尿量増加をもたらすのはそれより遅れ、3時間を経過してはじめてそれが認められる。

このように、尿比重の低下がまず起り、次いで尿量の増加機転が発動することを、この実験

成績は示している。

2) 尿 Na およびK量の変化

Co ch 投与前の尿 Na は第11表、第17図のように4例を平均すると、357 mEq/l であった。Co ch 投与によってこの Na も急激に低下し、1ないし2時間目の測定値は大体45%減少を示した。その後3ないし4時間目の Na は平均15から20%減少値にまで回復し、5時間後には前値を凌駕する程度にまで復元した。この尿中 Na 濃度と前述の尿量との関係から、実際に排泄された Na の絶対値を算出してみると、第18図のようで、尿中への Na 排泄量は1ないし2時間目に極度に減少し、3時間目より増加して行くことが判る。

一方、尿中Kは全測定時間を通じてほとんど変化していない。4例平均の前値 20.8 mEq/l が4ないし5時間後に 19 mEq/l 前後に低下するだけである。したがって尿中へのK排泄量は、尿量によって左右されるわけで、3時間以後の顕著な増加は注目し値しよう。

考 察

新鮮な Ringer 液によって常時灌漑され続けるいわゆる開放性離体心臓標本においては、標本作製後の数時間目にその心臓作業能は最も活潑となる。この時期の灌流液の組成を調べると特異的にKが減少している。それは心筋組織内に姿を消したため、この新鮮な心筋組織は灌流液中のKを需要することによってその活動性を保持しているかにみえる。

それに対して、標本作製後24時間を経過した離体心臓では、その作業能は大約 1/2 に減少し、この時期の灌流液からは Na が顕著に失われている。もちろんそれは Na の心筋内透入によるものであって、もし Hodgkin⁵⁾ の神経興奮に関する Na 仮説がここでも適用されるならば、一応この時期までは型通りの方法で心筋の興奮性が保持されることを想像せしめる。このように開放性の離体心臓は、最初灌流液中のKを需要し、その作業能の昂進を強制されるが、その後心筋内透入のKは漸次 Na に置きかえら

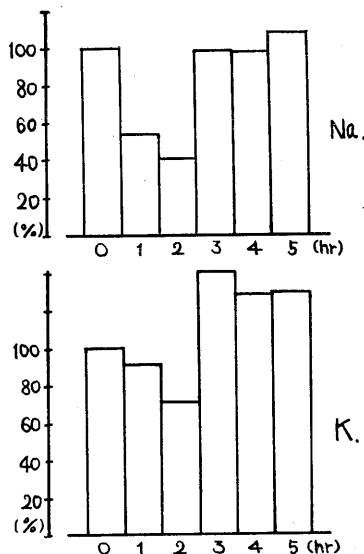


Fig. 18.

Total volumes of Na and K ions in human urine treated with cobalt chlorophyllin.

れてゆくのである。

さて Co ch は《Kを需要する新鮮で活動的な離体心臓》の機能を抑制せしめ、《Kの代りに Na が透入するようになった疲労心臓》の作業能を昂進せしめた。そして前者においては灌流液中の Na および K の増加を、また後者では両因子の減少を常に招いた。

Co ch を含めていわゆる葉緑素製剤の作用機序はまだよく判っていない。この点に関して実験的に或いは臨床上とくに興味を持たれているのは、この化学物質がしばしば相反する2つの作用を示すことである。たとえば Co ch は通常白血球増加反応をもたらすのであるが、同時に白血球増加症に対してはこれを正常値附近にまで急激に減少せしめる(森下ら³⁴・高橋ら²²)という。また血糖反応においても、低および正常血糖を昂め、高血糖を低下せしめる現象が認められている(森下ら³⁸)。いま述べた Na および K についての相反する反応様式つまり新鮮および疲労標本ではそれぞれ nicotine および adrenalin 作用時と類似の反応が認められるということは、この白血球や血糖の場合と同様、Co ch 作用を特徴づけるものといえよう。

これで、組織細胞が健全である場合の、そしてその単位を背景とした Na および K 出納に対する Co ch の基本的な作用が一応明かとなったわけである。ところで健康ウサギの血清 Na 及び K に対して、その根底には《組織間液 Na および細胞内 K の循環血液中への誘導》という機作が横たわっているものと解釈される。この点に関して森下ら³⁶)は Co ch は *in vitro* の白血球内漿とくに Cl および K を細胞外に排出せしめ、また細胞外相中の Na が白血球内に透入するものを抑制せしめると述べているが、それは著者の離体心臓を用いての実験結果からも容易に首肯されるところである。つまり、Co ch 注射時においても、血清 Na および K は基本的には増加反応を示すべきであると思惟される。確かに血清 Na は期待通りの増加反応をみせたが、血清 K は増加次いでかなり著明な減少を来した。この血清 K 反応の減少相が腎の K 排泄能

昂進によることはほぼ確定的であるといえよう。既に押部ら¹⁴)はいわゆる腎クリアランス法を用いて実験をおこない、クロロフィリンによる腎機能の昂進を確認している。問題は、クロロフィリンが如何なる機序を介して腎機能に影響を及ぼすかである。

この問題点の一端を明かにするため、脳幹焼灼、下垂体摘出および副腎剔出の各例について Co ch 作用を追究したところ、正常な Co ch-血清 Na 増加反応と血清 K 増減反応(下垂体摘出時を除いて)はいずれの場合においても、ほぼ完全に阻止されるのを見た。この事は、Co ch による正常な Na および K 反応が発現するためには、脳幹-下垂体-副腎系機能の健全なることが必須の前提条件であることを意味している。いいかえれば、健康体では Co ch が脳幹-下垂体-副腎系の機能的励起を促し、血清 Na 増加反応と血清 K 増減反応とを導くのである。

Co ch がどうして脳幹-下垂体-副腎系を賦活せしめるのか、という問題は後述することにして、確かにこの機能的系統が刺激されると解すべき証拠は文献の上でも存在している。伊崎¹³)は Co ch 注射後1時間目より、副腎皮質の糖質代謝ホルモン glucocorticoids が発揮するという抗拡散因子作用(中尾²⁷)を認め、また好酸球変動率は3時間後30%以上も減少するという。その他杉田¹⁹²⁰)は生体内水分代謝の変化から、Co ch は極めて短時間に副腎皮質ホルモンを分泌せしめるものと述べ、また森下ら³⁷)は Co ch 注射3時間後に血中還元ステロイドが増加することを指摘している。このように Co ch が下垂体-副腎皮質系機能を賦活し、速かに副腎ホルモンを分泌せしめることは明かである。

さて人尿を対象とした実験では、Co ch による尿量増加以前より尿比重のかなり明瞭な低下が認められる。これは森下³⁶)および杉田¹⁹²⁰)らが指摘した血清水分量の増加が重要な理由をなすものと考えられる。また Co ch 注射後のごく初期には30%ばかりの尿量減少が認められ、その後急激な増加に転じた。この初期の水利尿抑制は Chalmers et al.²) や Rydin & Verney⁹)

らが述べている様に、ストレス時に非特異的に分泌される下垂体後葉からの ADH (antidiuretic hormone) によるものであろう。しかし交感神経系はこの ADH と拮抗性を有し (Rydin & Verney⁹⁾), クロロフィリンは交感神経系機能を緊張せしめる (Bürigi¹⁾, 寺田²⁵⁾, 森下³³⁾) から、ADH の抗利尿作用もさほど強調されるには至らないものと思われる。そしてこの時期に引続いて下垂体-副腎皮質系が刺激され、副腎皮質ホルモンが主役を演ずる段階に至るわけである。

副腎皮質ホルモンの電解質代謝に対する作用に関しては、幾多の研究業績が残されているが、この問題についてはまだ統一された見解が得られるには至っていない。副腎皮質ホルモンの投与量が被験動物による反応の差異などがその障壁となっているのである。しかし、一般的には Kendall⁶⁾ や Leaf ら⁷⁾ の見解に従い、副腎皮質ホルモンは腎の細尿管末部に作用して Na 再吸収を促すほか、該ホルモンが直接細尿管に働くか、或るいは Na 排泄減少の間接的な結果として、K 排泄が促されるものと理解されている。確かに、下垂体-副腎皮質ホルモンが腎細尿管の Na 再吸収を促していわゆる Na 停滞が招来された場合、大なり小なり K が尿中に喪失していくことについては、文献的にも全く異論のないところである。かくして Co ch 注射 3 時間後に、血清 Na が増加することやこの時期に血清 K の減少が発現することも一応説明づけられるわけである。

最後に、Co ch がいかにして下垂体-副腎皮質系を刺激するに至るか、という問題に触れておこう。一つは Co ch が直接下垂体もしくは副腎皮質を刺激することによって、それらのホルモンを分泌せしめるのかも知れないということである。そしてもう一つは Co ch の中心 Co 原子が生体内で遊離し、これが組織呼吸に関与する Carbonyl 基もしくは SH 基に作用して H⁺ の運搬を中絶せしめ、いわゆる「無還元 aredoxie」を起さしめることが考えられる。このような「組織呼吸の一過性中断」が適度なス

トレスとして、二次的に下垂体-副腎皮質系の機能的励起が促される可能性は十分あり得ることと思われる。またこの考え方は、Co ch が新鮮で活動的な離体心臓機能を、あたかも nicotine と同様に抑制したという事実を説明する材料のひとつとなるようにも思われる。

結 論

著者はヒキガエル、カイウサギおよびヒトを対象にして Co chlorophyllin の投与をおこない、体液とくに血液中の Na および K がいかに消長するかという問題を検討して、次の結果を得た。

1) ヒキガエルの開放性離体心臓標本においては、その作業能の変化と灌流液中の Na および K 消長との間に、一定の関係がみられた。とりわけ、その作業能と灌流液 K 濃度との逆相関性が注目された。

2) Co chlorophyllin はこの離体心臓が K を需要するごく初期の作業能を抑制し、また Na 透入の顕著な疲労期の心臓作業能を昂進せしめた。

3) Co chlorophyllin が心臓作業を昂進せしめるときにはその灌流液中の Na および K は減少し、またそれを抑制せしめる場合の両測定因子は増加した。この現象は adrenalin および nicotine 作用時の Na および K 出納と一致するものであった。

4) Co chlorophyllin はウサギの血清 Na を増加せしめ、また血清 K をまず軽度に増加次いで減少せしめた。そしてこれらの反応は脳幹焼灼、下垂体摘出および副腎剔除時において阻害された。

5) Co chlorophyllin は人尿量を増加せしめ、K 排出を昂めた。

6) 以上の如き事実から、Co chlorophyllin の血清 Na および K に及ぼす影響を次の如く理解することができた。すなわち、

① まず Co chlorophyllin は末梢組織細胞に対して、直接的に組織間液 Na や細胞内 K を循環血中に誘導せしめる。

②次いで、Co chlorophyllin の Co は下垂体-副腎皮質系機能を介して副腎皮質ホルモンを分泌せしめ、それが腎機能を規制することによって血清 Na の増加および血清の増減反応が招かれる。

文 献

- 1) Bürgi, E. & C. F. Traczewski (1919) *Bioch. Zschr.*, **98**, 256
- 2) Chalmers, Lewis & Pawan (1951) *J. Physiol.* **112**, 238
- 3) Fukuda, T. (1957) *Jap. J. Physiol.*, **2**, 208
- 4) Goldonoff, T. (1927) *Zschr. f. Ges. Exp. Med.* **54**, 294
- 5) Hodgkin, A. L. & R. D. Keynes (1954) *Symp. Soc. exp. Biol.* **8**, 423
- 6) Kendall, E. C. (1948) *Vitamins and Hormones* **6**, 277
- 7) Leaf, A., Couter, W. I. & L. H. Newburgh (1949) *J. Clin. Inv.*, **28**, 1067
- 8) Pickfors (1939) *J. Physiol.*, **95**, 226
- 9) Rydin & Verney (1938) *Quart. J. Exp. Physiol.*, **27**, 343
- 10) Willstaetter, R. & A. Stoll (1936) *Investigation on chlorophyll*. Science Press, Lancaster, pa.
- 11) 石井次男 (1956) *産婦人科の実際* **5**, 461
- 12) 一宮勝也 (1957) *臨床婦人科産科* **11**, 249
- 13) 伊崎輝雄 (1958) *歯科学報* **58**, (11)-附録号
- 14) 押部信男 (1955) *内科の領域* **3**, (9)
- 15) 加藤伝三郎 (1956) *治療* **38**, 759
- 16) 久保田春男 (1960) *昭和医学誌* **20**, 118
- 17) 小宮悦造 (1956) *日本臨床* **14**, 860
- 18) 斎藤貞男 (1957) *日本生理誌* **19**, 1091
- 19) 杉田長男 (1957) *歯科学報* **57**, 324
- 20) 杉田長男 (1957) *歯科学報* **57**, 273
- 21) 高橋 弘 (1958) *日本化学療法学会誌* **6**, 145
- 22) 高橋良吉 (1955) *診断と治療* **43**, 907
- 23) 高橋良吉 (1956) *診断と治療* **44**, 658
- 24) 高橋良吉 (1956) *診療室* **8**, 106
- 25) 寺田文次郎 (1953) *生体の科学* **4**, 212
- 26) 徳山英太郎 (1958) *治療* **40**, 1044
- 27) 中尾 健 (1952) *副腎皮質ホルモン* 医学書院
- 28) 春名英之 (1956) *治療* **38**, 541
- 29) 福原 武 (1950) *生理学実験法* 南山堂
- 30) 本山泰正 (1959) *新薬と臨床* **8**, 512
- 31) 三浦光恵 (1958) *新薬と臨床* **6**, 649
- 32) 柳沢文正 (1955) *光電比色計の実際* 共同出版
- 33) 森下敬一 (1954) *東京医事新誌* **71**, 93
- 34) 森下敬一 (1955) *コバルト・クロロフィリン文献* 第1輯 南方薬品
- 35) 森下敬一 (1956) *東京医事新誌* **73**, 90
- 36) 森下敬一 (1956) *新薬と臨床* **5**, 317
- 37) 森下敬一 (1957) *総合臨床* **6**, 1959
- 38) 森下敬一; *新薬と臨床* (投稿中)

地方小学会報

第13回西日本生理学会

第14回日本生理学会中国・四国地方会(つづき)

時 昭和37年9月28日

所と当番 山口市巖島 山口県自治会館 川端五郎

13. 桑原万寿太郎・江口英輔(九大理・生物)

洞穴性節足動物の複眼の構造と機能

節足動物の複眼を構成する各 ommatidium (個眼) には rhabdom (感桿) といわれる構造がみられる。これは個眼の各 retinula cell から作られる。光の方向と直角に走る microvilli といわれる小管状構造の集まりであり、脊椎動物の桿体、錐体の外節にあたる機能をもっていると考えられる。秋芳洞の洞内にも洞外にもみられるミナミヌカエビ (*Neocaridina denticulata*) の洞外で採集された個体を3ヶ月間暗所(コウモリ穴)に保ち電顕像をとってみると、microvilli の配列が甚だしく乱れ、microvilli 相互の間に空所が現われている。microvilli の膜の厚さはいく分増大しているように思われる。

京大森一教授がショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*, Oregon RS 系統) を200代も暗所で飼育すると走光性に变化を生ずるのを観察した(1959)。森氏が208代暗所で飼育した *Drosophila* の個体について、同様電顕像を調べた結果、*Neocaridina* においてみられたのと軌を1つにする変化が rhabdom に生じていることがみられた。更に105代暗所に飼育し、明所に移して82代飼育したものを検すると、未だ、暗所飼育による変化が一部残存するのがみられた。

1ヶ月暗所に飼育した *Neocaridina* の ERG をとってみると、明所で得られる control 個体に比し、光に対する感度は低く、明順応の速さははるかに速いことが判った。暗順応の速さについてはあまり差がみとめられなかった。

14. 山下 智(熊本大第2生理)

カエル味受容器に対する各種イオンの刺激効果並びに刺激液の温度効果

1) 塩溶液の刺激による味受容器の反応が陽イオンの積極的作用と陰イオンの補足的作用によるということは、これまでに2, 3の哺乳動物について明らかにされている。

蛙の舌咽神経束からの味受容器反応を積分回路を通して記録測定し陽及び陰イオンの刺激効果を見た結果では、一価の塩にあっては陽イオンを異にする溶液による反応の差異は陰イオンのそれに比べて著しく、陰イオンによる反応の差異は殆んど認められなかった。二価の塩では陽イオンについてのみ行ったが、大体同様な傾向が推論された。

2) 味覚感受性と味刺激液の温度との関係についてこれまでに明らかにされた実験的所見は数少く、しかも共通する実験事実を欠く傾向にある。

さきに、猫の味受容器では味刺激液の液温と舌の表面温度とがほぼ同温度の時に感受性が最大になることを報告したが、蛙の舌咽神経束から記録される味受容器反応でも殆んど同じような結果が得られる。ただ、猫の場合では、Warm response と Cold response とを区別できたが蛙では、Warm response のみが存在すると考えられる点で異なるだけである。

15. T. H. Bullock (カリフォルニア大学動物)・石河延貞(熊本大第2生理)

ゴキブリ肢に於ける伸張、屈曲反射の解析

ゴキブリ肢を支配する運動、知覚神経は各肢が附属する胸部神経節を出入するが、脛節伸筋群及び屈筋群の運動神経は夫々 3 Br 11 及び 5 r 10-24 であることが知られている。本実験は一方の肢の知覚神経たる 5 r₈ 又は 5 r₁₁ を電気刺激し、他側の両筋群を支配する神経束の分枝より夫々の神経インパルスと同時に外部誘導することによって、単位の伸、屈筋について静止時と活動時の状態を観察したものである。記録された活動電位はその大きさと表れ方によって、伸筋神経で ES, EM, EL の3種類に、屈筋側では FSa, FSb, FSc, FMa, FMb 及び FL の6種に分けた。この中最大の電位をもち相性活動を示す EL, FL は速神経線維と考えられる。静止時自然放電を示す要素は屈筋神経では FSa, FSc 及び FMa であ

り、伸筋側へは FMa と同期して表われる ES スパイクがある。これら自然放電の頻度は約 20/sec である。知覚神経刺激によって始め屈筋反射が表われ、これに引き続いて伸筋の活動が見られるが、その機序は屈筋興奮時の FMa スパイクと同じ頻度で ES スパイクが伸筋側に表れ、これが EM, 更に EL 神経線維の興奮を引き起すわけである。この伸筋活動時には屈筋へのインパルスは一般的には抑制されているが EM, EL の放電頻度に応じて屈筋側では速神経を除く 5 種の遅線維のインパルスが抑制されたり或は協同的に一定の関係をもって放電している。つまり屈、伸筋活動時に何れの相に於ても常に一方の興奮状態がその強さに応じて拮抗側へ一部還元されて両反射の協同動作が一定の範囲内にある様に調節されていることが分った。

上部食道神経節と神経索との連絡を断って同様実験を試みたが、上述の如き反射活動に関与する神経間の関係には変化がなく、ただ屈筋神経の興奮性が低下し伸筋活動性が著しく増加しているのが見られた。屈筋への静止時放電頻度も著しく低下する。

16. 得本博允 (岡山大第 1 生理)

縮腫物質 Cornin の生体内分布について

西田等により角膜から抽出された縮腫物質, Cornin は角膜以外の生体組織においても存在すると思われたので、生物学的特性である縮腫作用を目印として生体組織内の Cornin の分布について実験を行った。その成績は次の通りである。

1) Cornin は消化管の全ての部位に存在する。食道には少いが胃には比較的多く、小腸に最も多く含まれ、大腸にゆくにしたがって漸次減少する。

2) Cornin は広く中枢神経系にも存在する。視床下部に多く、次いで四丘体、視床部に多く存在するが、一方終脳には比較的少い。

3) 筋肉や、子宮、膀胱などのような臓器には僅かではあるが存在し、他の内部臓器には殆んど存在しない。

17. 日野道夫 (岡山大第 1 生理)

“Cornin” の細胞分裂に及ぼす影響

牛の角膜から抽出した biological active peptides

“Cornin” について、その抽出精製方法、化学的性質、paper-chromatogram, paper-electrogram, spectrogram, dialysis 等を検し、更に生物学的作用の 1 つとして、サンショウウニの卵について細胞分裂に及ぼす影響を調べ、併せて牛の角膜の加水分解物, gelatin, 卵白 albumin 及び substance P と比較検討した結果、Cornin が強力な antimitotic agent としての作用を有する事が判明したので報告する。

1) Cornin は、215 及び 255-265 μM に吸収の極大を有し、240 μM に吸収の極小を有す。

2) Cornin は、 10^{-5} の濃度までは強力な分裂阻止物質としての作用がある。その作用は 10^{-8} の濃度でも分裂遅延効果をもっている。

3) Cornin は受精膜を通り難い。

4) 牛の角膜の酸およびアルカリ加水分解物では、分裂阻害効果が 10^{-5} の濃度ではなくなる。

5) gelatin 及び卵白 albumin には分裂阻害効果が認められない。

6) substance P は、 10^{-8} の濃度では分裂遅延効果を有するが、 10^{-4} ではなくなり、 10^{-5} では却って分裂促進効果を有する。

7) Cornin は、Heilbrunn 等の抽出した antimitotic substance 等とは化学的性質を異にする。

18. 河田真雄 (鹿児島大第 1 生理)

胸腺の機能

胸腺の機能については、古来多くの説があるが、未だ一定していない。

その中で比較的多くの人の支持しているのは、

1) 生長に関係し、之を促進する。

これは、生長の盛んな時期に、相対重量が最大であるとの成績から支持されるが、家兎、ラット等では胸腺物質投与によっても生長に変化なしとする者も多く、自験例でもそうである。しかしオタマジャクシでは幾分異なり、動物による差が成績の不定に関係しよう。

2) リンパ系に属して、生体防衛に関係する。stress に際しての退縮も防衛反応のひとつで、胸腺体質、妊娠時退縮も同様に考えられる。自験例でも、胸腺抽出物投与が家兎の抵抗性を減弱させる様な傾向を示し、他方、胸腺の重量及び酸素消費が個体により非常に大きく動揺し一定傾向の見られぬ事等胸腺の被影響性を示すもの様であ

る。

3) 内分泌協調の一員として作用。

臨床的に、他内分泌臓器変化と相伴なう事が多いが、投与実験で甲状腺に拮抗、副腎、性腺ホルモンは退縮を促すが、酸素消費は *in vitro* で幾分増加させる。下垂体と関係するともいわれるが、組織像では余り著明でない。

以上の各作用は各々別個に出されているが、綜合して、以下の様に考える事も可能である。

1) 胸腺からは必要に応じて Ach 類似の物質 (adrenaline と noradrenaline の様な) が出され、副交感神経系緊張を変化させる。幼時の Vagotony, myasthenia gravis との関係も考慮される。

2) 1) と同一と考えてよいか不明であるが、thyroxine と拮抗し、酸化的燐酸化-ATP 貯積の傾向をすすめ、結局同化作用-生長を促進させる。しかし刺激には余り反応せず、抵抗力を減ずる様な傾向を示す。生長後は副腎皮質又は性腺ホルモンにその機能を移行させると考えられる。

19. 山下一邦 (長崎大第1生理)

副腎皮質ホルモンの生合成阻害と子宮内炭酸脱水酵素との関係

副腎の steroidogenesis を阻害するといわれている 4, 4'-methylendianiline の子宮内膜炭酸脱水酵素量に及ぼす影響に就いて、未熟雌家兎を用いて実験した。Clauberg 法により estrogen の前処置を行った後、種々の量の methylendianiline を皮下に与えたが、この際その投与量に比例して子宮炭酸脱水酵素量が増加する事を知った。これらの関係を統計的に処理すると用量の対数と反応の関係を表わす直線で示す事が出来る。methylendianiline に依る子宮酵素量増加の機序に就いて、その作用が子宮に直接働くものか、又は内分泌腺によって誘発された二次的のものかを調べるため、卵巣及び副腎の摘出を行った。卵巣のみの摘出では methylendianiline の作用に全く影響がなく、卵巣・副腎共に摘出した場合は methylendianiline の子宮酵素に対する効果が全く消失することがわかった。此処で副腎がこの機序に関与していることは明らかである。次いで正常家兎に methylendianiline と共に cortisone を与えたが、methylendianiline の子宮炭酸脱水酵素に対する増加作用が cortisone の処理で著明に抑制される事を知った。

これらの成績と methylendianiline の薬理的性質から判断すると、その機序として、先づ methylendianiline により副腎の steroidogenesis が阻害され、末梢血中の副腎皮質ホルモンの減少が起り、その結果下垂体前葉からの ACTH 分泌を促し、副腎の progestogen の産生・分泌が増進するためではないかと考えられる。

20. 橋本澄子・安芸謙嗣・三宅可浩 (徳島大第2生理)

D-アミノ酸酸化酵素アポ酵素の精製とその配合群との相互作用について

われわれは D-アミノ酸酸化酵素 (DAO) の配合群 FAD とアポ酵素 (Apo-DAO) の相互作用の結果生ずる Apo-DAO の変化について研究してきた。

今回は Apo-DAO を更に純化し、その標品を用いて、上記 Apo-DAO の変化について詳細な検討を試みた。

Apo-DAO は久保、山野らおよび De Luca の方法をやや変更し、それに hydroxyl-apatite への吸着を利用して精製した。得られた標品の比活性は $168 \mu\text{O}_2/\text{min}/\text{mg. P}$ で純度約 200 倍であり、収量は約 7% であった。又このものは凍結状態では少なくとも 3 週間は安定であった。次にこの標品を用いて、FAD の有無による Apo-DAO の hydroxyl-apatite への吸着性、proteinase による水解、尿素による変性、-SH 試薬に対する態度等について検討を加えた。

hydroxyl-apatite-cellulose column に対して、Apo-DAO は完全に吸着されるが一方 DAO は吸着されなかった。proteinase による水解では、Apo-DAO は容易に水解され、60 分の消化では RI, RD 共に 80% を示したが DAO ではそのような変化はほとんどみられなかった。尿素による変性は Apo-DAO に比し DAO が抵抗性を示し、3M 尿素で 30°C、60 分の作用での残存活性は Apo-DAO 50%、DAO 84% であった。以上のことから FAD 結合の有無により明らかに Apo-DAO に変化の存在することをしめすものである。又 PeMB を加えた場合、Apo-DAO は一定時間後急激な変性を起すが、FAD の添加では変性は全くみられなかった。しかし Boyer による分光学的方法による -SH の定量では、反応性とむ -SH

基は 1-2 moles/mole DAO であり一方強力なトリプシン水解により 5-6 moles/mole DAO の -SH 基がろ出する。これらは FAD の有無により著しい差がないことから、FAD 有無によって生ずる Apo-DAO の変化は表面的な、ごくわずかな変化であることが推論された。

21. 岡 芳包・宮本博司・大村哲昭・曾根 弘・佐藤清記 (徳島大第 1 生理)

コハク酸酸化酵素の細胞内活性度測定に関する研究 (第 2 報)

前報において我々は Tetrazolium 塩を用いて、顕微分光測光法を応用することにより細胞内のコハク酸酸化酵素活性度を測定するための基礎実験成績並びにその定量法について報告した。今回は次の成績を追加した。鶏胚腎組織から単離細胞を得るために Trypsin 消化法を使用しているが、この Trypsin 消化が酵素活性に及ぼす影響を知るために粗製 Trypsin (2% 液が 380 [PU]_{tyr}^{cas 275}に相当する) を用いて種々の条件のもとで処理し、Neotetrazolium 染色反応を施し、その染色度を比較検討して次の成績を得た。温度 37°C に於て 1% 及び 2% の Trypsin 濃度で 30 分処理すると、染色度は最大となり、その後は処理時間と共に低下する。その低下度は 1% ではわずかであるが、2% では 60 分処理で約 50% 低下する。4% では処理時間と共に低下し、60 分処理では染色度は非常に低下する。2% Trypsin を用いて処理温度を変えると、37°C 迄は染色度は上昇して 37°C で最高に達し、更にそれ以上の温度では急激に低下して、細胞の形態も種々の破壊像を呈するに至る。2% 溶液で 37°C 30 分処理後、更にそれ以上処理すると時間と共に染色度は低下する。この場合 Trypsin 作用を除き Gey 氏液で同温度に浸漬した対照群も略々同様に低下する。然し染色反応液に細胞を浮遊させた場合には、37°C 40 分浸漬しても対照群に比して染色度は低下しない。尚 2% 溶液 37°C で処理の場合には、基質としてコハク酸ソーダを添加してもその影響を認めない。単離正常細胞数は 25 分処理では 37°C で最も多く、それ以上の温度では著しく減少する。又 2% 37°C で処理すると時間と共に増加し、50 分以後は定常値に近づく。以上の結果から 2% Trypsin で 30 分以上処理すると酵素活性の低下が明らかに認められ、これは主

として温度の作用に基くものと推定されるが、基質及び Phosphate の存在下ではこの低下が防がれるものと考えられる。

22. 久保秀雄・魚住光郎 (阪大第 1 生理)

第 39 回日本生理学会での報告 6, 13 の敷衍

6. キサンチン酸化酵素の分子論的研究

13. 酵素の電動能と電荷移動複合体

A. 遊離基および金属イオンの不対電子は電子スピン共鳴吸収の対象となる。D-アミノ酸酸化酵素およびキサンチン酸化酵素の FAD は反応にあたって中間体を經由する。この中間体は電子スピン共鳴吸収を示す。故に遊離基と見るべきである。

キサンチン酸化酵素の ESR 吸収はその還元型において Fe^{2+} , $FADH$, Mo^{5+} (Mo^{3+}) の 3 つからなる。

$FADH$ と Mo^{5+} の吸収を同時に測ると前者は反応の経過とともに上昇するも極大を経て一路下降する。後者のそれは一たび上昇すれば長くその高さを保つ、あたかも $A \rightarrow B \rightarrow C$ なる継起反応における B, C に類する。従ってこの酵素系における電子移動は、基質 (A) \rightarrow $FAD(B) \rightarrow Mo(C)$ と推測される。

B. D-アミノ酸酸化酵素の蛋白と FAD は電荷移動複合体を形成する¹⁾。蛋白のエネルギー単位は基質の最高被占準位と FAD の最底空準位の中間にある²⁾。この蛋白の単位は FAD の最高被占準位より 10 kcal 上にある。他方、酵素の E_0 は FAD そのものの E_0 より 10 kcal 上位にあることは熱力学的に山野俊雄の証明したところである。従ってこの上昇は電荷移動複合体形成にもとづく推論できる。

文 献

- 1) H. Kubo et T. Shiga: Bull. Soc. Chim. Biol., (sous pres)
- 2) H. Kubo: Osaka Med. J.

23. 大村 裕・前野 巍 (鹿児島大第 2 生理)

巨大ネウロンの電氣的特性

興奮時の生体膜の物理的的特性を測定する方法としてボルテージクランプ法やインピーダンス測定法等があげられる。イソアワモチの巨大神経細胞の興奮性と膜特性との関係をしらべるためにボル

テージクランプ法を応用し、細胞体の興奮性が軸索等の部分に比してかなり低いことを見出した。この細胞は種々の Na イオン欠除海中でも活動電位を発生し得るが、細胞体の興奮性が低いことから考えるとこの記録された活動電位が細胞体自身の興奮によるものかどうかうたがわしい。この点をたしかめるためにインピーダンス計測を行い細胞体が興奮することを明らかにした。微小電極を使用してインピーダンスを測定する場合相当な技術的困難をとまらう。このインピーダンス測定法の理論上技術上の問題点についてのべる。

24. 副田博之・西 彰五郎 (久留米大生理)

神経細胞膜のイオン透過性に及ぼす Ba の作用
摘出した藁の後根神経節を濃度及び組成の異なる Ba 溶液で灌流し、神経細胞膜のイオン透過性の変化を、静電位及び膜抵抗の変化等から追及し、次の結果を得た。

1. P_K は Ba 濃度が大になるにつれて、対数的に減少し、等張 Ba 溶液中では P_{Cl} の約 1/50 になる。

2. P_{Na} は Ba 濃度が 15-20 mM に達すると急激に減少し始め、等張 Ba 溶液中では殆んど無視出来る値になる。

3. P_{Cl} は、一応不変と仮定したが、高濃度の Ba 溶液中では増大の傾向を示す。

4. NO_3^- や CH_3COO^- イオンに対する膜の透過性は Ba によって増大する。

5. 以上の分析結果から、Ba は膜に作用して、陽イオンに対する膜の透過性を著明に減少し、陰イオン透過性を充めるものと考えられる。

25. 細美照明 (九大第 1 生理)

筋静止電位についての 2, 3 の観察

筋静止電位に対するプロカインの作用を、トノサマ蛙の縫工筋を使い、細胞内微小電極法によって調べた。その実験結果は次の通りである。1) 正常 Ringer 液中では、静止電位を或程度減少させる。2) 等張 KCl 液中では、KCl による脱分極を或程度抑制する。3) 等張 NaCl 液中では、NaCl による過分極を抑制し、同時に NaCl による筋収縮を消失させる。4) Hodgkin, Adrian 等の云う Cl 電位に対しては、その電位を減少させると同時に Cl 電位をより長く安定化させる様に作用する。

以上何れの結果についても、それに必要なプロカインの濃度は 0.1% 以上であったが、NaCl による筋収縮だけは 0.01% でも消失した。

以上の結果について、簡単な考察を試みる。1) の場合には P_K , P_{Cl} の減少が起っていると考えられる。併し、両方の減少の間に差があるかどうかを決定することは出来なかった。2) の場合には、 P_K の減少と P_{Cl} の増大が考えられるが、 P_{Cl} の増大は 4) の場合の結果からして肯定し難い。従ってこの場合には P_K の減少が P_{Cl} の減少よりはるかに大きい様に思われる。3) の場合には、 P_{Na} の増大、 P_K の減少、 P_{Cl} の減少が考えられる。併し、 P_{Na} については、Taylor, Weidman 等の報告によって減少を考えるのが適当のように思われる。従ってこの場合には、 P_{Na} の減少に比較してはるかに大きな減少が P_K , P_{Cl} に起っていると考へたい。4) の場合には、 P_{Cl} の減少及び P_K の減少を可成りはっきりと結論する事が出来る。

この実験結果に対する結論として、プロカインは骨格筋の P_K 及び P_{Cl} を減少させる様に働くと云う事である。

(以下次号に掲載の予定)

肝・副腎障害・結核薬の副作用防止

V. B 群を大量添加して
効果の確実化を期した

パントテン酸製剤

パンカルG

☆組成(1g中)	パントテン酸カルシウム	100mg
	ビタミン B ₂	3mg
	ビタミン B ₆	30mg
	ニコチン酸アミド	15mg

☆薬価基準 1g 15円70

(包装) 顆粒 25g 100g 500g 1Kg

(外にパンカル散・注あり)

—文献進呈—



第一製薬
東京・日本橋

各科領域における

耐性

ブドウ球菌感染症に

健保適用

37.10.1より



医薬は萬有

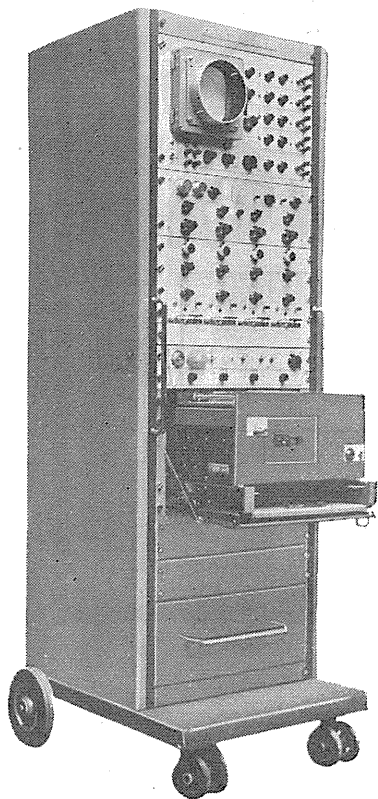
内服用・注射用・新合成ペニシリン

スタフシリン-V

STAPHICILLIN-V (メチルフェニルイソキサゾリルペニシリンナトリウム)

内服用(錠剤・カプセル)・筋注用

製造発売元 萬有製薬株式会社 東京都中央区日本橋本町 2-7



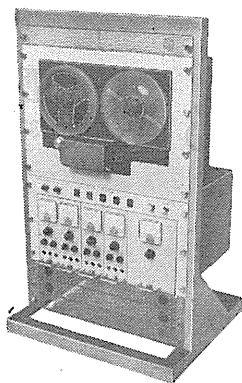
多用途監視記録装置 RM-150

各種生体现象の4-8素子監視記録装置であり、4現象ブラウン管オシロにより波形を観測し直記式オシロによりDC-150 c/s の記録ができます。
 また前置増幅器はプラグイン式で各種選択組み合わせができますから、1台で多用途に応用できる万能型装置です。
 ・プラグイン式前置増幅器の種類・生体電気用、ひずみ・力計用、1素子心電図用、心音増幅用、高感度直流増幅用、積分用等、直流増幅用。

磁気記録再生装置

SDR-41 (ラックタイプ)
 SVR-21 (ラックタイプ)
 SPR-30 A (可搬型)

1/4"テープ使用、各ユニットの差し換えにより多用途に応用できます。記録波形の再現、波形の解析に最適です。



品名	SDR-41	SVR-21	SPR-30A
形状	ラックタイプ		可搬型
トラクタ数	4	2	3
テープ速度	19.5cm/S	9.5, 19.5, 38.5cm/S	19.5cm/S
ヘッド	PW-1 FD-2 FM-1 AR-1		
特性	DC-100%, DC-60%	DC-100%, DC-50%	DC-100%
S/N	40dB	35dB	35dB
歪率	1%	1%	1%

世界に躍進する



日本光電工業

編集兼
 発行人

東京都文京区湯土町

戸塚 武彦

印刷所

山形県鶴岡市馬場町甲三

中村 作右衛門
 鶴岡印刷株式会社

発行者

東京都文京区本富士町

日本生理学会

脳波分析装置・電気脳内(眼底)計・心電計・呼吸計・流量計・磁気記録再生装置
 音刺激装置・電気血圧計・電子管刺激装置・万能ブラウン管オシロスコープ
 電磁流計・多用途監視記録装置・即像式電磁オシログラフ

日本光電工業株式会社

東京都新宿区角筈2丁目84番地 スタンダードビル TEL (324) 8 2 4 1~5, 4 8 6 4
 仙台営業所 仙台市東三番丁70 山一會館内 弘前出張所 弘前市豊原1~5 6
 名古屋出張所 名古屋市千種区覚王山通り7~1 田代ビル 広島出張所 広島市荒神町1 8 9
 大阪営業所 大阪市北区南森町11 第一ビル内 札幌代理店 石村器械製作所札幌市北6条西4丁目
 福岡営業所 福岡市浜小路26 浜小路ビル

振替東京
 定価 百五拾
 六四三〇
 円