

日本

生理学

雑誌

JOURNAL OF THE PHYSIOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

27巻 6号 1965

原 著

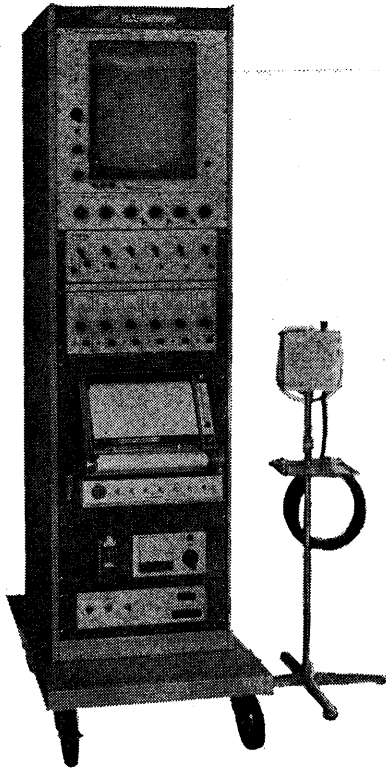
- 高坂 廣子：心筋ミトコンドリアのユハク酸呼吸に及ぼす Mg イオンの影響について………291
今井 雄介：犬顎下腺分泌に関する研究 第1報 顎下腺分泌とその電気生理………304
今井 雄介：犬顎下腺分泌に関する研究 第2報 唾液分泌及び分泌電位に及ぼす灌流
液イオン交換の影響と分泌時の腺組織のイオン出納について………313
蜂須賀 弘久：運動時の呼吸促進の機転に関する研究………325

短 報

- 〔見聞記〕 吉井直三郎：ハバナシンポジウムに出席して………335
〔会報〕 日本学術会議長期計画調査委員会が将来計画に関する第三次報告として発表した
第一次5カ年計画について………338
〔シンポジウム予報〕 Excitation-Contraction Coupling に関するシンポジウム………340
肺水腫・肺循環に関するシンポジウム………340
編集後記………340

日本生理誌
J. Physiol. Soc. Japan

日本生理学会



基礎医学の研究に

最高水準のエレクトロニクスを!

ポリグラフ PG-602形

脳	心電	筋電	血	呼吸	呼吸	気管	精神	呼吸	指尖	単位	心	酸	体	波	図	図	圧	流	速	量	内	象	線	波	位	音	度	温
---	----	----	---	----	----	----	----	----	----	----	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

主要製品

脳波計 脳波分析装置 筋電計 ポリグラフ ベッドモニター ハート
 スコープ フィジオグラフ 医用テレメータ オシログラフ各種



三栄測器株式会社

東京都新宿区柏木1-95 Tel (363) 8251代

LABORATORY



ANIMALS

実験動物

マウス, ラット

ウサギ, モルモット

ハムスター, その他

CLEA 固型飼料

CA-1 マウス, ラット繁殖用

CE-2 マウス, ラット飼育用

CR-1 ウサギ, モルモット飼育用

犬用 (ビタワン)

ケージ其他器具の御用命に応じます。

北山商店

京都市南区吉祥院西ノ庄向田町43

電話 京都 (37) 6 9 5 3

心筋ミトコンドリアのコハク酸呼吸に及ぼす Mg イオンの影響について 611.127:576.311:612.26

高坂 廣子*

The effect of magnesium ions on the succinic respiration by rat heart mitochondria

TAKASAKA-Hiroko*

The effect of magnesium ions on the succinic respiration by rat heart mitochondria has been studied using polarographic and fluorometric procedures.

In the absence of magnesium ions, on addition of small amount of ADP to the sucrose-tris-phosphate reaction media, containing 5 mM succinate as substrate, heart mitochondria gave cyclic responses of state 4-3-4 transition repeatedly, indicating the ADP respiratory control or the acceptor control, both in polarographic and fluorometric traces. But in the presence of increasing amount of magnesium ions, the acceptor control was gradually lower and finally at the concentration of 0.5 mM $MgCl_2$ disappeared the transition from state 3 to state 4 in polarographic trace. That the restitution of state 4 ensuing the state 3 is not complete in the presence of magnesium ions is demonstrated by a shift of PN oxidation reduction level of state 4 to a more oxidized level, close to state 3. Combined addition of ATP or AMP with Mg ions also induced an oxidative shift of PN fluorometric level and acceleration of state 4 respiration, but their separate addition did not.

From above results, it may be concluded that AN, irrespective of its sort, internally generated or externally supplied, give rise to a definite amount of the phosphate acceptor ADP in the presence of magnesium ions by way of phosphate turnover mechanism, and a newly established steady level of ADP accelerates the respiration rate and shifts the PN oxidation reduction level in state 4, and results the loss of respiratory control.

In the case of oligomycin (11 $\mu g/ml$) inhibited mitochondria, addition of ADP and/or Mg ions did not lead to any significant change in state 4 fluorescence trace, but on addition of small amount of Ca ions (20 μM), cyclic responses of state 4-3-4 transition were observed repeatedly.

These findings indicate that the site of action of magnesium ions may be localized in terminal phosphorylation step and phosphate turnover mechanism, whereas that of calcium ions in the energy transfer step of oxidative phosphorylation system.

〔J. Physiol. Soc. Japan (1965) 27, 291-303〕

I. 序 論

得津¹⁾及び著者等²⁾は白鼠肝ミトコンドリアのコハク酸呼吸の state 3 速度の state 4 速度に対する比, 即ち呼吸調節率 (Respiratory Control Ratio, RCR) が Mg イオンの添加によって増大するのを報告した. 川口³⁾はこれが酸化の磷酸化系に並立する Adenylate Kinase の Mg イオンによる賦活に基くものであることを明らかにした. 更に上西⁴⁾は非共役状態における急速な呼吸 state 3 u⁵⁾ がミトコンドリアの高エネルギー化合物 (ATP, Intermediate を含む) に

よって規制されるものと示唆した. 著者は白鼠心筋ミトコンドリアを用いた場合, 上述と異なり, Mg イオンによって RCR が低下し, 一方 DNP 非共役時の state 3u 呼吸が肝標本に比し著しく短い持続を示すのを観察した.

本報は, 心筋ミトコンドリア標本でのこのようなイオン作用を, 酸化的磷酸化系終末磷酸化段階以後の磷酸 turnover 機構 (又は ATP 利用機構) に関連せしめる実験的根拠を示すと共に, 心筋ミトコンドリアの特長を考察したものである.

II. 実験方法並びに材料

A. 心筋ミトコンドリア標本の調製

はじめの頃 Cleland and Slater (1952)⁶⁾の方

* 和歌山県立医科大学第1生理学教室

Ist Dept. of Physiol., Wakayama Med. School
〔昭和40年3月1日受付〕

法により心筋を砂で磨碎して採って見たが、ミトコンドリアの収量少く、且つミトコンドリアを損傷するおそれがあるので、proteinase を用いる方法⁷⁾を知り、萩原氏法⁸⁾⁹⁾を少しく変じて次の如く採取した。萩原氏法との主な相違点は Tris-phosphate buffer のかわりに Tris-acetate buffer を用いたことにある。

1. ミトコンドリア採取に用いる浮游液

a. 第1液

0.21 M	Sucrose
0.02 M	Tris-acetate buffer
0.1 mM	EDTA

b. 第2液

0.23 M	Sucrose
(0.01 M)	Tris-acetate buffer)
0.1 mM	EDTA

第1及び第2液共使用直前に pH 7.55-7.60 に補正する。但し () を除く場合もあるが、この際にも使用直前に Tris にて pH を補正する必要あり。

c. 第3液 (ミトコンドリア保存用浮游液)

0.07 M	Sucrose
--------	---------

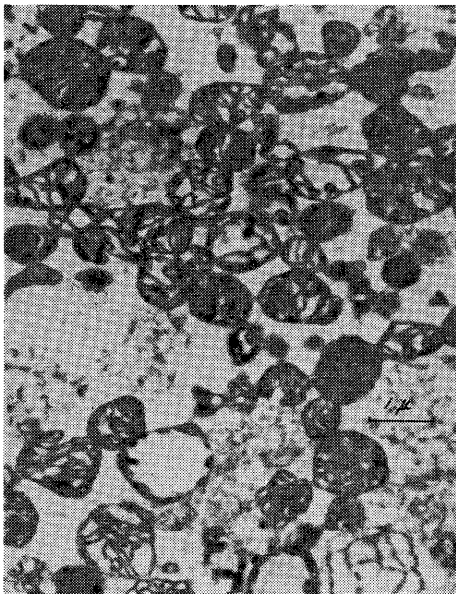


Fig. 1.

Electron Microscopic Photograph of Rat Heart Mitochondria, Prepared by the Method Discrbed in the Text,

0.23 M Mannit

0.03 M Tris-acetate buffer

使用前に pH 7.40-7.50 に補正する。

2. ミトコンドリアの遠心分離

白鼠の頭部を打撲直ちに断頭し胸廓を開き心臓を剔出し、濾紙で血液を拭い取り、氷冷第1液 9 ml/g of tissue 中にて缺で心筋を切刻む。以下分離操作はすべて氷冷下にて行う。

この中に Proteinase 溶液 (長瀬産業) (10⁴ PUN を 1 ml の第2液に溶解したもの) 0.4 ml/g of tissue を加えて 20 min そのまま保つ。1 min loose に homogenize し、更に 20 min 静置した後、1 min 宛2回強く homogenize する。これに第2液の等容量を加えて稀釈した homogenate を以下の遠心分離操作に導く。

a. 第1遠心分離 (500×G 10 min)

その上清を次に導く

b. 第2遠心分離 (12,000×G 10 min)

その沈渣を第2液に再浮游して次に導く

c. 第3遠心分離 (8,000×G 10 min)

その沈渣を第3液に浮游し、ミトコンドリア標本として供試する。

(電顕写真は電顕研究室木村通郎助手及び精神々経医学教室浅尾博一助教授の好意による)

B. 呼吸測定

浮游液酸素濃度の変化を酸素電極法によって測定した。共同研究者川口²⁾の考案した閉鎖回転電極セルに 100 μ 白金電極を適用、飽和甘汞電極として電解電圧 -0.6-0.7 volt にて流れる酸素電解電流を、前田次郎講師の考案した差動型直流増巾器を経て平衡型記録計に導いて自動記録した。増巾器は増巾と impedance matching の為であり、記録計は日本電気機械 KK 製 Varicorder VR-200-50 mV である。

C. ミトコンドリア内在 Pyridine Nucleotide の酸化還元状態遷移の測定

Chance and Williams¹⁰⁾並びに Chance and Hollunger¹¹⁾に従い反応液 (後述) に浮游したミトコンドリア内在 (in situ) の Pyridine nucleotides (以下 PN と略す) の酸化還元定常状態の代謝状態による変化を励起波長 340 mμ, 螢

光放射波長 $450\text{ m}\mu$ で測定した。第1次および第2次分光器は島津製作所製格子型分光器で、共同研究者川口がこれに適応するよう作成した受光装置を付し、Gilford converter を経て Honeywell 平衡型記録計に導いて、螢光光電流を自動記録した。反応は通常の分光吸収用石英セル(光路 10 mm) 中に行わせ、これを第1次及び第2次分光器間の光路において螢光変化量として、反応経過中のミトコンドリア内在の還元系 PN の増減を追跡した。

呼吸測定用セルは大気に対して閉鎖型であり、螢光測定用セルは開放型であり、一見甚だ異なるが、螢光用セルは開放型ではあるが、液面下数 mm に攪拌或いは対流等の攪乱がない限り、液面より液中への酸素の拡散による侵入は極めて僅微であると考えられ、液面下 10 mm の深さでは殆んど閉鎖型セルに匹敵する条件にあるものと認められている。

試料の添加に液面の攪乱を最小にして添加試料の混合を迅速に行う mixer を川口が考案してくれたので、これを利用した。

但し酸素電極法による呼吸測定と、PN 螢光によるミトコンドリア内在 PN の酸化還元状態遷移の記録を同時に行い得ぬ環境上の制限を克服出来ないのは遺憾である。

D. その他

1. 反応液の組織

0.25 M	Sucrose
0.02 M	Tris-acetate buffer
5.5 mM	K-phosphate buffer

使用前に pH 7.40-7.45 に補正する。ただし Pi (-) の時は phosphate buffer を除く。

この反応液 1.8 ml に 0.1 ml のミトコンドリア標本を添加するとき、ミトコンドリア濃度が 50 mgEq/ml 前後になるように、添加量を減ずる。

基質は 100 mM コハク酸 0.1 ml (最終 5 mM) を用いた。

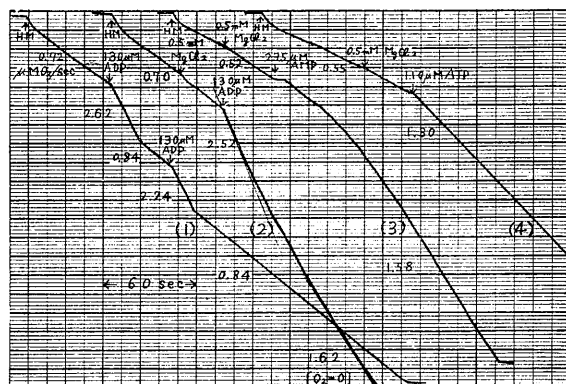


Fig. 2.

Traces show the succinic respiration by rat heart mitochondria under influence of various additions of adenine nucleotides and of magnesium ions. Rat heart mitochondria (H. M.) and other various additions were introduced to the reaction media at the time indicated by arrows. Numbers adjacent to the traces are respiration rates in $\mu\text{M O}_2$ per second.

Reactoin medium; pH 7.4, 0.25 M sucrose, 0.02 M Tris-acetate, 5.5 mM phosphate. Substrate; 5 mM succinate. Mitochondria; 100 mg equiv. per vessel. Temperature; 30°C .

2. Adenine Nucleotides その他

ATP は興和新薬製アデホス, ADP および AMP は Sigma Co 製品, その他試薬は市販の可及的純品を選んで用いた。

試薬調製用の水は脱イオン水をガラス再蒸溜し, 糖類溶液はその貯蔵液 (1.0 M) をイオン交換樹脂にて脱イオンしたのから調製した。

oligomycin は Wisconsin 大学 H. A. Lardy 教授から恵与されたものである。

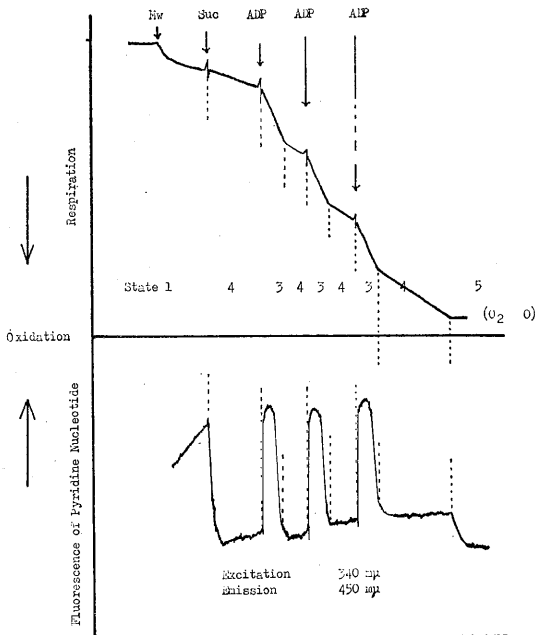
III. 実験成績

A. 心筋ミトコンドリアの呼吸調節及びミトコンドリア内在 Pyridine Nucleotide の酸化還元水準に及ぼす ADP 及び Mg イオンの影響

1. Mg イオンを添加しない場合

基質量のコハク酸を含む反応液に, 反復 ADP を添加した場合の呼吸の模様を Fig. 2(1) に示した。ミトコンドリアを state 4 にもたらした所で $130\text{ }\mu\text{M}$ ADP を添加すると, 突然 state 3 呼吸に移行し ($0.72 \rightarrow 2.62\text{ }\mu\text{M O}_2/\text{sec}$) ADP + Pi \rightarrow ATP によって ADP が消費されると, 呼

吸は state 4 速度に戻る ($0.84 \mu\text{M O}_2/\text{sec}$). 再び ADP を添加すると同様な state 4-3-4 遷移を繰り返す. この経過を PN の酸化還元水準に投影したのが Fig. 3 の下図で, 上図は相等な呼吸曲線を模式化して示した. 蛍光軌跡とした見た PN の酸化還元水準の変位は, 基質のない状態では緩やかに酸化側に移行するが, コハク酸を加えると急激に還元側に遷移する (state 1-4 遷移). state 4 に到った所に ADP を添加すると, PN 蛍光軌跡は酸化側に急激に移動すると共に呼吸が増大する (state 4-3 遷移). peak を経過した後再び呼吸速度も蛍光軌跡も state 4 水準に復帰した (state 3-4 遷移). このような輪



Composite Representation of Polarographic and Fluorometric Traces of the Succinic Respiration of Rat Heart Mitochondria

Fig. 3.

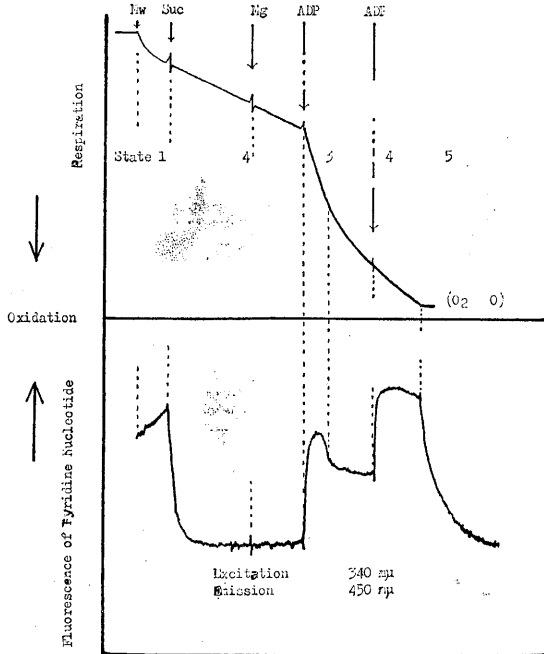
Composite Representation of Polarographic and Fluorometric Traces of the Succinic Respiration by Rat Heart Mitochondria.

Lower figure shows the actual fluorometric changes in oxidation-reduction state of pyridine nucleotides of mitochondria in situ. Upper figure shows polarographic trace, slightly modified for representing the corresponding respiration. Experimental conditions are essentially same as Fig. 2.

回経過 (cyclic process) を ADP の添加によって反復観察することが出来た.

2. Mg イオンを添加した場合

基質量のコハク酸の存在する所にミトコンドリアを加えて state 4 にもたらし, この所に 0.5 mM MgCl_2 を加えても, 呼吸速度及び蛍光軌跡には何等の変動をも示さなかった (Fig. 2 (2) 及び Fig. 4). ここに更に $130 \mu\text{M ADP}$ を添加すると, 急速な state 3 呼吸 ($0.70\text{--}2.52 \mu\text{M O}_2/\text{sec}$) がはじまるが, 添加 ADP が消費されても, この場合は直ちに state 4 呼吸の状態に復帰せず, state 3 及び state 4 の中間速度 ($1.62 \mu\text{M O}_2/\text{sec}$) に減衰し, そのまま無酸素状態



Composite Representation of Polarographic and Fluorometric Traces of the Succinic Respiration of Rat Heart Mitochondria

Fig. 4.

Composite Representation of Polarographic and Fluorometric Traces of the Succinic Respiration in the Presence of Magnesium Ions by Rat Heart Mitochondria.

Lower figure; actual fluorometric trace. Upper figure; polarographic trace, slightly modified as in Fig. 3. Experimental conditions were essentially same as in Fig. 3, but in the presence of 0.5 mM MgCl_2 .

(state 5) に移行した。又 PN 蛍光軌跡は ADP の添加によつて state 4 水準から酸化側に遷移するが peak を経過した後そのまま state 4 水準に復帰せず、より酸化側に偏した新たな水準にて定常状態を形成した。この状態は Mg イオンの存在下、外因性の ADP を添加すると、呼吸速度も PN 蛍光軌跡も state 4-3 遷移をおこすが、state 3-4 遷移を十分に進行させ得ず、state 3 に偏した新たな定常状態に留まることを示している。Mg イオンの存在せぬ時の state 4-3-4 遷移は ADP の導入によって開始する $\text{ADP} + \text{Pi} \rightarrow \text{ATP}$ の反応完了までの全経過を示すものである。Mg イオンがこの磷酸化反応を抑制することは考え難い。むしろ生成される ATP が再び ADP に turnover される経路が Mg イオンによって賦活されると理解される。

更に ADP を添加すると、更に蛍光軌跡は酸化側に偏した定常状態に移行したが、呼吸速度には著しい変化を認め得なかつた。

3. Mg イオンの量的差による変化

Fig. 5 (1), (2) に示す如く 123 μM ADP を添加して state 4-3-4 遷移を完了し、PN 蛍光水準が state 4 に復帰した後、 MgCl_2 を添加すると酸化側への水準移動をおこす。水準移動の程度は 0.5 $m\text{M}$ MgCl_2 の場合が 0.05 $m\text{M}$ MgCl_2 の場合よりも大きい。

0.5 $m\text{M}$ MgCl_2 の場合は Mg イオン添加の後 ADP を再添加すると蛍光水準の酸化側への変位が認められるが、0.05 $m\text{M}$ MgCl_2 の場合には PN 蛍光水準は ADP の再添加では変位せず、ADP による state 4-3-4 の輪回的経過が認められた。

B. ADP 以外の Adenine Nucleotide による呼吸調節並びに Pyridine Nucleotide 酸化還元水準の変化、及びこれに及ぼすイオンの影響

1. ATP による変化

state 4 にもたらされたミトコンドリアに ATP を添加すると、極く僅かに呼吸が促進される(例えば 0.5→0.8 μM O_2/sec) が、その遅い速度のまま無酸素状態にまで達する。蛍光軌跡

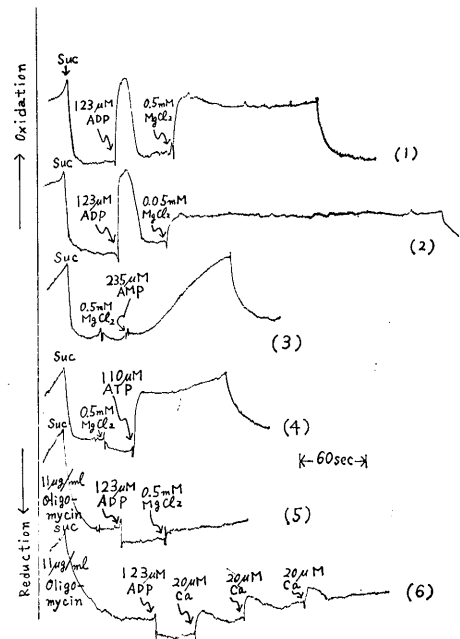


Fig. 5.

Effect of Magnesium Ions upon Oxidation-Reduction States of Pyridine Nucleotide of Rat Heart Mitochondria under Various Metabolic Conditions. Except for fluorometric recording, experimental conditions were essentially same as in Fig. 2. Substance, concentration and time of each addition is specified by arrow. Traces (1) and (2) illustrate the effect of concentration of Mg ions upon shifting steady state level of PN in state 4 toward oxidation. Gradual formation of ADP from AMP (trace (3)) and its rapid formation from ATP (trace (4)) are indicated in the presence of Mg ions. Traces (5) and (6) show the inhibiting effect of oligomycin upon PN oxidation by ADP in state 3. Cyclic oxidation reduction responses of PN are obtained by additions of 20 μM Ca ions in trace (6), while no significant effect by addition of 0.5 $m\text{M}$ Mg ions in trace (5). Fluorescence excitation at 340 $m\mu$ and emission at 450 $m\mu$.

については ATP を加えても殆んど水準の変化を示さなかつた。一方 state 4 にもたらした後、予め 0.5 $m\text{M}$ MgCl_2 を加えておくと、Fig. 2(4) の如く 110 μM ATP の添加によって呼吸は促進され (0.55→1.30 μM O_2/sec)、そのまま急速に無酸素状態まで達した。この速度も又 state 3 および state 4 の中間速度である。蛍光軌跡は Fig. 5 (4) の如く、peak を形成しないが、水準

が酸化側に移動するのを認めた。

2. AMP による変化

state 4 にもたらされたミトコンドリアにAMPを添加しても、呼吸及びPN 蛍光水準には何等有意な変化を認めなかった。予め0.5 mM MgCl₂を添加した後、235 μM AMPを添加するとFig. 2(3)及びFig. 5(3)に見る如く、呼吸は次第に促進されて急速な定常速度に達した(0.52→1.58 μM O₂/sec)後、そのまま無酸素状態に達した。一方蛍光軌跡は state 4 水準より徐々に酸化側に偏して行くが、無酸素状態に達すると、再び急速に還元側にかたよって state 4 水準に復帰した。

C. Mg イオンと Ca イオン作用の弁別

酸化的磷酸化反応の逆行と考えられる ATPase 活性に対して Mg イオンも Ca イオンも共に促進を与えることが知られているが¹²⁾、少量の Ca イオンのミトコンドリアにおける作用は ADP の如くエネルギー転位系に蓄積された高エネルギー中間代謝物を輪回的経過にて消費す

る (Fig. 5 (6))。

Mg イオンがエネルギー転位系乃至は呼吸系に蓄積されたエネルギーの移動に直接関与するのであれば、終末磷酸化段階 (Terminal phosphorylating step) を抑制する oligomycin の存在下にて PN 蛍光水準に影響を与えるはずである。11 μM/ml oligomycin の存在下 state 4 条件にもたらし、ミトコンドリアに ADP を添加してもはや state 4-3-4 遷移を認められない。又 0.5 mM MgCl₂ を添加しても変位は有意には認められない (Fig. 5 (5))。

併しこのようなミトコンドリアに少量 (20 μM) の CaCl₂ を反復加える時には state 4-3-4 の輪回的遷移を反復認められた (Fig. 5 (6))。これは oligomycin 感受性をもつ終末磷酸化段階以前の high energy pool のエネルギーを利用してミトコンドリアが Ca イオンを摂取又は蓄積するものと解される。これに反して Mg イオンは oligomycin 感受性な磷酸化段階以後に作用するものであることを物語っている。

D. DNP 非共役化による呼吸の促進及び抑制

1955年 Chance and Williams によって state 4 の肝ミトコンドリアに非共役を行う時は呼吸が state 3 に近い速度に促進され (state 3 u) 無酸素状態に達することが報告された¹³⁾、同僚得津¹⁾もこの現象を報告した。その後 Azzone¹⁴⁾ および上西⁴⁾ は arsenate の存在においてはコハク酸を基質とした state 3 u 呼吸が抑制されその持続が短縮することを観察した。著者は心筋ミトコンドリアでは何等前処置を行わぬ場合にもコハク酸を基質とした state 3 u 呼吸の持続が短いことを観察した。このことはこのような標本が internal high energy compounds (ATP その他 intermediate) の容量が呼吸

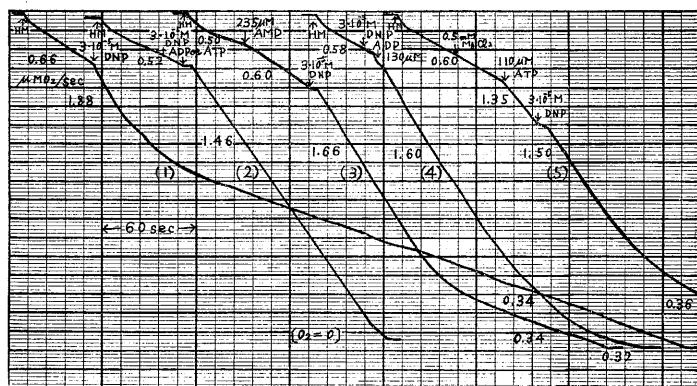


Fig. 6.

Effect of Pretreatment of Rat Heart Mitochondria with Adenine Nucleotide and Magnesium Ions on the State 3u Respiration.

Experimental conditions were essentially same as in Fig. 2. Experiments were started with adding mitochondria to the succinate containing reaction media. Further additions were performed as indicated by arrows. Trace (1) is control. State 3u respiration released by DNP is rapid in rate, but it soon decelerates to the final inhibited rate.

Additions of various sorts of AN or Mg ions prior to DNP altered the duration of the accelerated state 3u respiration variously, as seen in traces (2) to (5). The reaction media used in this series of experiments contained the phosphate buffer as in text.

系の活性に比して小さい事を示すものと考え、従って代謝条件の検討に肝ミトコンドリアよりも便利であると考えた。前述の AN の turnover に及ぼす Mg イオンの影響が DNP 非共役によってどのように変化するかを観察した。

磷酸を含む反応液に基質としてコハク酸を与え、これにミトコンドリアを浮遊して state 4 にもたらした後、AN 及び Mg イオンの添加により代謝条件を与え、その後 DNP で非共役化した時の呼吸変化の軌跡を Fig. 6 に示した。

Fig. 6 (1) は対照で、コハク酸を含む反応液にミトコンドリアを投入して state 4 にもたらし、これに $3 \cdot 10^{-5} M$ DNP を添加した (state 4-3 遷移)。DNP の添加により呼吸は直ちに促進されるが、小時の後次第に抑制され state 4 よりも遙かに遅い終末速度に低下する (0.66 (state 4) $\rightarrow 1.88$ (state 3u) $\rightarrow 0.34$ (final or inhibited state) $\mu M O_2/sec$)。

Fig. 6 (2): DNP の添加前又は DNP と同時に ATP ($110 \mu M$) を添加すると state 3u は延長して、そのまま無酸素状態に達した (scale out のため酸素摂取量及び終末速度は測定出来なかった)。

ATP の代りに ADP ($130 \mu M$) を加えた場合も同様であった。DNP 添加後 5 秒間は ATP も ADP も無酸素状態まで達する state 3u の延長効果を示したが、その後は効果を減退した (Fig. 6 (4))。

Fig. 6 (5): $MgCl_2$ ($0.5 mM$) の共存は ATP の state 3u 呼吸の延長効果を著明に低下して、はやく抑制された終末呼吸の状態になった。 (0.60 (state 4) $\rightarrow 1.35$ (Mg-ATP rate) $\rightarrow 1.50$ (state 3u) $\rightarrow 0.36$ (final rate) $\mu M O_2/sec$.)

Fig. 6 (3): AMP ($235 \mu M$) の添加は漸進的な呼吸の促進を示さないが、DNP 非共役と共に state 3u の延長効果を示し、その後終末速度に低下した ($0.60 \rightarrow 1.66 \rightarrow 0.34 \mu M O_2/sec$)。

磷酸を除いた反応液中で上述と同様な代謝条件を与えた後、DNP 非共役を行った例を Fig. 7 に示した。このような系では ATP を賦与した場合にのみ、DNP 非共役の後に有意な呼吸速

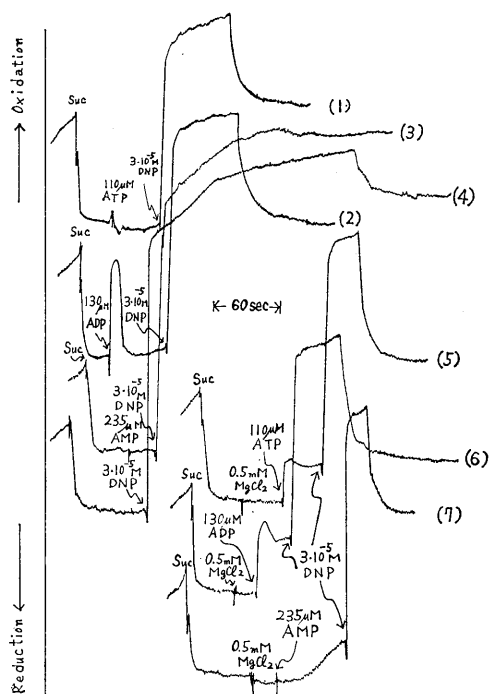


Fig. 7.

Effect of Pretreatment of Rat Heart Mitochondria with Adenine Nucleotide and Magnesium Ions on the Uncoupled State Respiration in the Phosphate Free Reaction Media.

Experimental conditions were essentially same as in Fig. 2 and 6, except for phosphate free reaction media. Accelerated respiration of uncoupled state was observed only in the case, in which ATP was added to the reaction media. Effectiveness of ATP was diminished in the presence of Mg ions.

進相が認められた。Fig. 7 (1) に比して Fig. 7 (1) には 2 倍量の ATP を賦与したが、state 3u 呼吸には大差を認めなかった。 $MgCl_2$ と ATP を共存させた時はむしろ state 3u 呼吸を減少した。

以上 Fig. 6, Fig. 7 の諸成績を通覧すると Table 1 に示すようであった。

磷酸を含む反応系では state 4, state 3u 及び最終の呼吸速度は夫々 $0.5-0.6$, $1.5-1.9$ および $0.3-0.4 \mu M O_2/sec$ であり、又これに相当する磷酸を含まぬ系での呼吸速度は夫々 $0.3-0.4$, $1.0-1.2$ 及び $0.3-0.4 \mu M O_2/sec$ であった。

Fig. 8 は Fig. 5, Fig. 6 と同様に磷酸を含

む反応液にミトコンドリアを浮遊し、コハク酸添加によって state 4 にもたらした後、MgCl₂ の存又は不存下で各種 AN によって代謝条件を与え、これを 3·10⁻⁵ M DNP の投入によって非共役化した場合の PN 酸化還元水準の変化を示

した蛍光軌跡である。図はコハク酸による state 4 での PN 蛍光強度を標準として対数スケールの記録を行ったものである。DNP の添加によって PN 蛍光軌跡は飛躍的に酸化側に遷移する(蛍光強度の減弱)。DNP の紫外外部吸収は蛍光励

Table 1.
Uncoupled State Respiration and Metabolic Conditioning Prior to Uncoupling.
Experimental details are shown in Figs. 2, 6 and 7.

Initial respiration rate(State 4)	Conditioning Additions	State 3 u respiration		Final respiration rate
		Rate	O ₂ intake	
μM O ₂ /sec.		μM O ₂ /sec.	μM O ₂	μM O ₂ /sec.
a. In the presence of phosphate				
0.66	DNP	1.88	60	0.34
0.52	ATP, DNP	1.46	scale out	
0.60	ADP, DNP	1.71	scale out	
0.52	DNP, ADP	1.60	168	
0.50	AMP, DNP	1.66	135	0.34
0.60	MgCl ₂ , ATP, DNP	1.50	95	0.36
0.55	MgCl ₂ , AMP, DNP	1.58	73	0.42
b. In the absence of phosphate				
0.37	ATP, DNP	1.15	130	0.31
0.38	ATP*, DNP	1.16	128	0.42
0.37	ADP, DNP	Insignificant		0.31
0.37	MgCl ₂ , ATP, DNP	0.98	64	0.37
0.36	MgCl ₂ , AMP, DNP	Insignificant		0.31

ATP, ADP, ATP*, AMP, MgCl₂ and DNP were used 110, 123, 220, 235 μM , 0.5 mM and 3·10⁻⁵ M in concentration respectively.

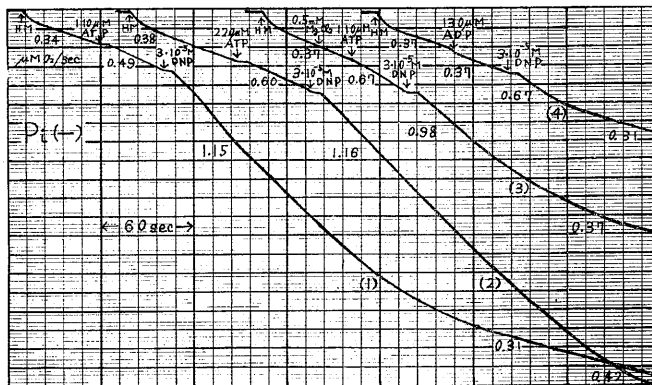


Fig. 8.

Effect of Various Metabolic Conditions on the Fluorometric Changes of Intramitochondrial Pyridine Nucleotide Induced by DNP Uncoupling.

Experimental conditions were essentially same as in Fig. 5. An abrupt large upward deflexion (jump of fluorescence trace), which occurs with addition of 3·10⁻⁵ M DNP in every case, indicates a profound oxidation of PN in mitochondria, induced by uncoupling. Focus attention to the large jump of fluorescence trace includes the absorption of UV exciting light due to DNP, but the rests are variable and reflecting the oxidation reduction state of PN.

起光を吸収するから、この蛍光軌跡の飛躍には、PNの酸化による蛍光強度の減弱と共に、DNPの励起光吸収による寄与も包含されている。この寄与を一定のDNP投与量については一定であると見做すときには、測定される蛍光軌跡の飛躍の大きさは、酸化されたPN量のparameterとなり得ると考えられる。対数スケール記録上の飛躍の大きさと、state 3uにおける酸素摂取量の対数との間にはFig. 9のような関係が得られた。

Fig. 9はstate 3u呼吸の酸素摂取量がミトコンドリアPNの酸化還元と定量的な関係を有することを示すとともに、ミトコンドリアの代謝条件と定性的な関係を有すことをも示している。

Fig. 6の実験が示す様に、燐酸を含む反応系では、燐酸化反応又は燐酸 turnover 機構によってAMPやADPから直接又は間接ATPを生成し得る。この様な系でのDNP非共役化においてはstate 3uの延長即ち酸素摂取の増加が見られるが、Fig. 7の実験が示すように、燐酸を含まぬ反応系ではATPを生成し得ないので、ATPそのものを賦与した場合のみstate 3u呼吸の延長または酸素摂取の増大が見られた。換言すればATPそのもの、或いはATP生成が可能な代謝条件がstate 3u呼吸の延長をもたらすものと考えられる。

イオンはそのような諸代謝条件下で燐酸 turnover 機構にATP potentialを低下しADP potentialを高めることによってstate 3u呼吸の延長を制限するものと結論される。

IV. 考 案

ミトコンドリアにおけるADP呼吸調節は細胞のエネルギー需要反応、即ちADP生成の増大に伴って、力源である基質の酸化と、これによって放出される化学的エネルギーを生理的なATPの燐酸結合高エネルギーに再生産する燐酸化反応の促進をおこすもので、基本的な調節機構である¹⁵⁾。ミトコンドリアでは、エネルギー発生機構である呼吸系と終末燐酸化系の間を

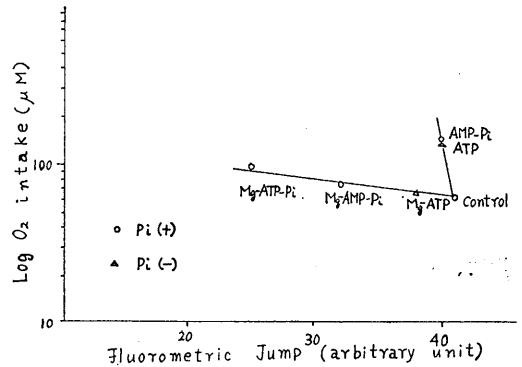


Fig. 9.

Relation between State 3u Oxygen Intake and Jump of Fluorometric Trace.

Circle: In the phosphate containing reaction media.

Triangle: In the phosphate omitted reaction media.

共役するエネルギー転位系 (Energy transfer step) (carrier-I, X-I, X-P 等末同定の高エネルギー中間物を含む) を内包している (Chance¹⁶⁾, Slater¹⁷⁾). エネルギー転位系については今日なお充分明らかでない。

Chance 及び Williams¹⁸⁾ は彼等によって開発された2波長分光光度測定法及び酸素電極法によって代謝条件に伴う呼吸系各 carrier の酸化還元状態の動的平衡即ち所謂 state 1-5 の定常状態の遷移を理解することによって酸化的燐酸化系の鮮明に多大の寄与をなした。

aerobic に分離されたミトコンドリアは内因性呼吸によって、その integrity の維持を行うが、この状態は永続せず、次第に老化的非共役状態に導かれるようになる。この状態では呼吸速度 (即ち電子流) は遅く、呼吸系各 carrier の酸化還元状態は次第に酸化に傾き、ミトコンドリア内在の高エネルギー化合物は次第に減少する (state 1)。

適当な基質を充分に付加すると、基質よりの電子流圧が増大し呼吸系各 carrier の酸化還元状態は還元に傾き、且つ phosphorylation site を経由してエネルギー転位系はエネルギー的に charge された定常状態に遷移する (state 4)。

この状態では呼吸速度 (電子流) は state 1 とあまり変わらないが、それは呼吸促進因子又は共

役因子 I, X 等が carrier-I, I-X 又は X-P 等の high energy intermediate form として trigger されている為と考えられている。

この状態に磷酸受容体 ADP が導入されると終末磷酸化反応 $X-P + ADP \rightleftharpoons ATP + X$ によって、エネルギー転位系に charge されたエネルギーは ADP に与えられ ATP を生成すると共に、-X の trigger を脱した X は更に carrier-I の trigger を脱し、共役呼吸系の電子流を酸素に向け放流せしめる。従って酸素への電子流(呼吸速度)は終末磷酸化の反応速度によって規制されると共に、呼吸系各 carrier の酸化還元状態はこの間酸化に偏する。この ADP によって促進される呼吸及び磷酸化を示す定常状態が state 3 である。

ADP の磷酸化終了と共に定常状態は再び state 4 に帰り、呼吸速度は低下する (state 4-3-4 遷移)。

KCN の存在下又は無酸素状態では、電子流が酸素側にて閉塞されるので各 carrier の酸化還元状態は夫々還元大きく傾いた定常状態を形成する (state 5)。

Mg イオンの補充を行わない系におけるコハク酸を基質とした心筋ミトコンドリアの呼吸軌跡及び PN の蛍光軌跡は上述の諸状態の基本的性質を矛盾なく示している。但しコハク酸脱水素酵素は FAD 酵素であるが、コハク酸添加によって FAD よりより低い酸化還元電位を有する PN の還元が見られる (succinate-linked PN reduction) のは state 1-4 遷移においてミトコンドリアに内在する高エネルギー化合物によって charge されたエネルギー転位系を介して逆行的に NAD 諸酵素の還元が導かれるためである¹⁹⁾。

著者の白鼠心筋ミトコンドリア標本は tight に共役した状態にあることは Fig. 2 の軌跡¹⁾に明らかに見られる。Mg イオンそのもの、又は ATP そのものは state 4 呼吸速度にも PN の酸化還元水準にも何等影響しなかった。ADP そのものは反復 state 4-3-4 を与えるのみにて state 4 の呼吸及び PN 蛍光水準に基本的変動を

与えなかった。然るに ATP と Mg イオンを付与した場合及び ADP によってひと度 state 4-3-4 遷移を経過した後に Mg イオンを与えた場合等、充分量の ATP と Mg イオンの共存する場合には state 4 呼吸速度の定常的促進と PN 酸化還元水準の酸化側への定常的偏位が認められた。Mg イオンと AMP の付加は lag phase を示す漸進的変化の後このような状態に移行した。

PN 酸化還元水準の酸化側への移行は、エネルギー転位系に charge されたエネルギーの減少の指標と考えられるから、この理由を基質側よりのエネルギー流入の減少に、或いは ATP 側へのエネルギー流出の増大に求めねばならない。しかもこの場合の呼吸速度は state 4 にありながら state 3 速度に近い程度に促進されているから、理由は前者ではなく、後者と考えられる。Mg イオンを補充していない系では ATP によつては state 4 の呼吸及び PN 蛍光水準に変化を認めていないから、Mg イオンの存在下では $ADP + P \rightarrow ATP \rightarrow ADP$ の turnover が増大し、磷酸受容体 ADP が定常的に再生産される状態もたらされるものと理解される。

上述の turnover は(1)磷酸化反応と ATPase 活性、又は(2)磷酸化反応と adenylate kinase 活性の combination によってうみだされると推論される。

肝ミトコンドリアにおいて川口³⁾は Mg イオンが adenylate kinase 活性との combination によって、呼吸調節率 RCR を高めることを明瞭にした。この標本における Mg イオン作用は全く逆であることから考えると、上記 2 種の combination の中前者が妥当と推定されるが、Siekevitz 及び Potter²⁰⁾は肝ミトコンドリアにて double adenylate kinase を提示している点より見て、なお精査を要する。

ADP の投与に見られる PN 蛍光の state 4-3-4 の cyclic response は基質からエネルギー転位系に charge されたエネルギーが磷酸化エネルギーとして $ADP + P \rightarrow ATP$ に利用される変化を示している。oligomycin は磷酸化段階

を抑制するから、その存在下においては ADP を投与しても PN 蛍光の state 4-3-4 の cyclic response を示さない。然るに少量の Ca イオンの投与は Fig. 5 (6) に示すように PN 蛍光の cyclic response を反復与えるから、ミトコンドリアは Ca イオンのとり込みに ADP の如くエネルギー転位系のエネルギーを利用しているのがわかる。しかも oligomycin 存在下においてさえ、この cyclic response が認められるのは燐酸化により生成された ATP のエネルギーを利用しているのではないと結論できる。これに反して、Mg イオンを oligomycin の存在下で添加しても、有意な酸化還元水準の変化を与えないから、Mg イオンの作用点は oligomycin 感受性な燐酸化段階以後にあるものと結論される。Klingenberg²¹⁾ は肝ミトコンドリア標本において ADP による state 4-3-4 遷移の後 Mg イオンを添加すると、更にも一度 state 4-3-4 遷移を繰返すのを見て、これをエネルギー需要性の Mg イオンのとり込みと解釈しているが、同僚川口等³⁾ は AMP を動員する adenylate kinase を Mg イオンが賦活する現象であることを既に明らかにした。oligomycin 存在下での Mg イオン投与によっては cyclic response が認められないから、この知見は更に確かめられた。

Das (1937)²²⁾ はオキサロ醋酸がコハク酸脱水素酵素の強力な阻害剤であること、及び Pardee 及び Potter (1948)²³⁾ は ATP がこの阻害を除去することを明らかにした。Chance および Hagihara (1962)⁸⁾ はミトコンドリア PN 中にその約 2/3 はコハク酸脱水素酵素の属する compartment に、他の 1/3 はリンゴ酸脱水素酵素の属する compartment に存在すると報告している。更に、tight に共役したミトコンドリアのコハク酸呼吸では、ADP による state 4-3-4 遷移に見られる PN 酸化還元は前者に属する PN に見られ、共役が loose になったり或いは非共役化状態になると、酸化が後者に属する PN に及び、且つ state 3 呼吸の ADP+Pi に対する依存性が次第に或いは全く失われると考えている。このような共役性の低下は、コハク酸→ブ

マール酸→リンゴ酸の TCA 代謝で生成するリンゴ酸の脱水素が酸化した PN によって進行し、オキサロ醋酸の生成を促すこととなる。その結果、生成されるオキサロ醋酸がコハク醋酸化に対して負帰還の抑制を与え、終末速度の程度にまで呼吸低下をきたすと説明されている。このような説明は、グルタミン酸を導入する時 glutamic-oxaloacetic transaminase, ATP を添加する時 oxaloacetic-pyruvic kinase, 或いは cysteinsulfinate を投与するとき oxaloacetic-pyruvic-aspartic oxidation²⁴⁾²⁵⁾²⁶⁾ により、呼吸の抑制が解除されると云う間接的根拠によって支えられているが、ミトコンドリア標本で、抑制されたコハク酸呼吸の stage でのオキサロ醋酸の蓄積を直接証明した実験的証明はまだ与えられていない。

Chance, Williams 及び Hollunger²⁷⁾ はミトコンドリア非共役化の過程での DPN 酸化について詳細な観察を行なっている。少量宛非共役化剤 DBP (dibromo-phenol) の滴定により DPN は次第に酸化されるが、これと平行して state 3u 呼吸の抑制が漸増すると説明している。DPN の酸化の程度は、共役下の state 3 に見られるような ADP 投与による PN 酸化よりも、非共役化に際しては遙かに高度であった。

著者の実験は、少量宛でなく充分量の DNP を添加して一挙に非共役にもたらし、その PN 酸化と呼吸速度の変化を観察したものである。その蛍光変化には、既述のように DNP による妨害が含まれているが、state 3u 呼吸の開始と蛍光水準の酸化的飛躍は同時的であるが、その後の呼吸及び蛍光変化の推移は同時的とは認められない。その kinetics の精査は今後にゆずるが、state 3u 呼吸の大きさは DNP 添加時にミトコンドリアがおかれているエネルギー転移系及び AN turnover 系のエネルギー状態に依存していることが Fig. 9 に示されているものとする。

V. 要 約

白鼠心筋ミトコンドリアのコハク酸呼吸に及

ぼす Mg イオンの影響を、酸素電極法による呼吸軌跡並びにミトコンドリア内 PN の酸化還元状態を示す蛍光軌跡から解析し考察した。

A. Mg イオンの不在下で、基質コハク酸の 5 mM を含む sucrose-tris-燐酸反応液に少量の ADP を添加するとき、両軌跡に、ミトコンドリアは state 4-3-4 遷移を反復示し呼吸調節を現わした。

B. Mg イオンの存在下では、その増量に伴い呼吸調節は低下し、0.5 mM MgCl₂ の濃度では呼吸軌跡上 state 4-3-4 遷移が消失した。蛍光軌跡上では、state 3 に持続する state 4 の回復が抑制されるのを、state 4 水準の酸化側への偏位で示した。

C. ATP, AMP 又は Mg イオンは夫々単独で反応系に導入しても両軌跡に殊ど影響しないが、Mg イオンと ATP 又は AMP の組合せで導入するときには state 4 の蛍光軌跡は酸化側に偏位し、呼吸速度はそれに相当して促進した。

D. 以上の成績より、Mg イオン存在下では、ATP, ADP, AMP 等 AN の種類、及び内因性、外因性に関らず、燐酸 turnover 機構は ADP を定常的に生成し、その ADP の定常的水準が state 4 の呼吸を促進し PN が酸化還元水準を酸化側に偏位し、その結果 state 3 及び 4 呼吸の差異を減小し、呼吸調節を低下するものと結論した。

E. oligomycin (11 µg/ml) で抑制されたミトコンドリア反応系では、ADP 又は Mg 或いは両者を添加しても、state 4 蛍光水準は有意な変化を示さないが、反之、少量の Ca イオン (20 µM) の添加は state 4-3-4 の輪回的応答を反復示した。Ca イオンはミトコンドリアとエネルギー転位系のエネルギーを介して反応し、Mg イオンは終末燐酸化段階以後の燐酸 turnover 機構に作用点を有するものと結論される。

文 献

- 1) 得津太郎 (1962) 肝-Mitochondria の呼吸調節における Mg Ion の意義, 和歌山医学 **12**, 1387-1396
- 2) Nagai, O., M. Kawaguchi, T. Tokutsu, T. Tsujimoto, Y. Ishikawa, M. Uenisi, H. Takasaka and S. Iwamoto (1962) Magnesium-Adenine Nucleotide Complex Control on Succinic Respiration by Rat Liver Mitochondria (Short Communication), Wakayama Medical Reports **7**, 53-56
- 3) 長井音次・川口 茂・石川由紀子・上西正章・高坂廣子・丸山茂樹・辻本 毅 (1963) 肝ミトコンドリアのコハク酸酸化における呼吸調節とアデニレートキナーゼ (抄), 日本生理誌 **25**, 94-95
- 4) 上西正章 (1964) 琥珀酸呼吸と Adenylate Kinase 和歌山医学 **15**, 93-106
- 5) Chance, B. and G. Hollunger (1963) Inhibition of Electron and Energy Transfer in Mitochondria, I. Effects of Amytal, Thiopental, Rotenone, Progesteron, and Methylene Glycol. J. Biol. Chem. **278**, 418-431
- 6) Cleland, K. W. and E. C. Slater (1953) Respiratory Granules of Heart Muscle. Biochemical J. **53**, 547-556
- 7) 小林茂保・萩原文二・増住正明・奥貫一男 (1961) Hela 細胞からのミトコンドリアの調節と性質, 酵素化学シンポジウム第13回予稿集, 82
- 8) Chance, B. and B. Hagihara (1962) Activation and Inhibition of Succinate Oxidation following Adenosine Diphosphate Supplements to Pigeon Heart Mitochondria. J. Biol. Chem. **273**, 3540
- 9) 萩原文二; 大阪大学医学部第2生化学 Private Communication
- 10) Chance, B. and G. R. Williams (1955) Respiratory Enzymes in Oxidative Phosphorylation, II. Difference Spectra. J. Biol. Chem. **217**, 395-407
- 11) Chance, B. and G. Hollunger (1960) Energy-linked Reduction of Mitochondrial Pyridine Nucleotide. Nature **185**, 666-672
- 12) Potter, Van R., P. Siekevitz, and H. C. Simonson (1953) Latent Adenosine Triphosphatase Activity in Resting Rat Liver Mitochondria. J. Biol. Chem. **205**, 893
- 13) Chance, B. and G. R. Williams (1956) The Respiratory Chain and Oxidative Phosphorylation. Advance in Enzymology **17**, 65-134
- 14) Azzone, G. F. (1961) The Functional Link of Succinic Dehydrogenase with the Terminal Respiratory Control, Biological Structure and Function Edited by T. W. Goodwin and O. Lindberg Vol. II. p. 193 Academic Press. London New York
- 15) Lardy, H. A. and H. Wellman (1952) Oxidative

- Phosphorylations : Role of Inorganic Phosphate and Acceptor Systems in Control of Metabolic Rates. *J. Biol. Chem.* **195**, 215-224
- 16) Chance, B., G. R. Williams, W. F. Holmes and J. Higgins (1955) Respiratory Enzymes in Oxidative phosphorylation V. A Mechanism for Oxidative Phosphorylation. *J. Biol. Chem.* **217**, 439-451
- 17) Slater, E. C. (1955) Proc III. int Congr. Biochem., p. 264 New York ; Academic Press, and Slater, E. C. (1958) *Aust. J. exp. Biol. med. Sci.* **36**, Special Suppl., Sited from Ciba Foundation Symposium on the Regulation of Cell Metabolism J. & A. Churchill LTD. (1959) London p. 61-62
- 18) Chance, B. and G. R. Williams (1955) Respiratory Enzymes in Oxidative Phosphorylation, III. The Steady State, *J. Biol. Chem.* **217**, 409-427
- 19) Chance, B. and G. Hollunger (1961) The Interaction of Energy and Electron Transfer Reactions in Mitochondria, I. General Properties and Nature of the Products of Succinate Linked Reduction of Pyridine Nucleotide. *J. Biol. Chem.* **236**, 1534-1543
- 20) Siekevitz, P. and Van R. Potter (1955) Biochemical Structure of Mitochondria, II. Radioactive Labeling of Intramitochondrial Nucleotides during Oxidative Phosphorylation. *J. Biol. Chem.* **215**, 237-255
- 21) Klingenberg (1963) Energy-linked Functions of Mitochondria Edited by B. Chance p. 247
- 22) Das, N. B. (1937) *Biochem. J.* **31**, 1124, Sited from The Enzymes Chemistry and Mechanism of Action Edited by James B. Sumner Vol. II, Chapter 53, Succinic Dehydrogenase By F. Schlenk p. 325
- 23) Pardee, A. B. and V. R. Potter (1948) *J. Biol. Chem.* **176**, 1085, Sited from The Enzymes Chemistry and Mechanism of Action Edited by James B. Sumner Vol. II, Chapter 53, Succinic Dehydrogenase By F. Schlenk p. 325
- 24) Kearney, E. B. and Thomas P. Singer (1954) The Coupled Oxidation of Succinate and L-Cysteinsulfinate by Soluble Enzymes. *Biochim. et Bioph. Acta* **14**, 572-573
- 25) Singer, T. P. and E. B. Kearney (1954) Pathways of L-Cysteinsulfinate Metabolism in Animal Tissues. *Biochim. et Bioph. Acta* **14**, 570-571
- 26) Singer, T. P. and E. B. Kearney (1955) Enzymatic Pathways in the Degradation of Sulfur-Containing Amino Acids, *Amino Acid Metabolism* Edited by William D. McElroy and Bentley Glass p. 558-590
- 27) Chance, B., G. R. Williams and G. Hollunger (1963) Inhibition of Electron and Energy Transfer in Mitochondria, III. Spectroscopic and Respiratory Effects of Uncoupling Agents. *J. Biol. Chem.* **238**, 439-444

犬顎下腺分泌に関する研究 612. 313. 3: 612. 014. 423: 599. 742. 1

第1報 顎下腺分泌とその電気生理

今井雄介*

Studies on the secretory mechanism of the submaxillary gland of dog

Part 1. Electrophysiological studies with microelectrode

IMAI-Yusuke *

Experiments presented in the present paper have been attempted to reconfirm Lundberg's works²⁾, with the submaxillary gland of dog. Results obtained are as follows;

1) Puncturing the superficial layer of the gland with microglass-electrode of about $20 M\Omega$, a deep intracellular resting potential, cf. -42 ± 7 mV (internal negativity) on an average, was determined. It was confirmed with the Turnble blue method⁵⁾ that the site of potential generation was the basal cell membrane of acinal cell. The resting transcellular potential was near zero.

2) Stimulating the chorda tympani with tetanic current (20 cps, 2 V, Puls duration of 5 msec), the intracellular potential deepened down to -57 ± 10 mV on an average. This hyperpolarized potential continued, fluctuating during the stimulation and disappeared immediately after the end of stimulation. The latency of hyperpolarization was 0.4 sec., and the rate of its rise 13-25 mV/sec. Thus its characteristics correspond approximately to the 1st type of secretion potential described by Lundberg with cat's submaxillary gland²⁾. The hyperpolarization of transcellular potential was about -10 mV. Similar potential changes were recorded after stimulation with acetylcholine injection (inter artery).

3) As the voltage of stimulation was raised, the hyperpolarization was increased at first to a certain maximum limit, and then it was maintained constant. The secretion of saliva was initiated also by the stimulation and its rate took a similar course to that of the hyperpolarization by changing the stimulation voltage.

4) The resistance between the cell interior and the external medium was measured with Araki's bridgemethod⁶⁾, and was found to be $18 \pm 12 M\Omega$ on an average of 80 measurements in the resting state. During the stimulation, this resistance decreased at first to $14 \pm 11 M\Omega$ after a couple of seconds and later it increased to $26 \pm 13 M\Omega$ on an average after 5 seconds.

5) The cause of changes in membrane resistance during stimulation was discussed from the view point of electronmicroscopic findings⁹⁾ and records of secretion pressure of saliva¹⁰⁾.

[J. Physiol. Soc. Japan (1965) 27, 304-312]

1. 緒 論

腺分泌に関連して唾液腺の電気生理学的研究は外部誘導法による分泌時の電位変化, 即ち Salivogram については, Bayliss & Bradford (1885)¹⁾ 以来多くの研究がある。最近に至り Lundberg²⁾ は猫舌下腺及び顎下腺につき微小電極法を適用し, 分泌刺激時に細胞内電位が過分極を起すことを見, これを分泌電位と称し, 外

部誘導によって得られた電位の根元である事を明らかにした。更に通電によって細胞膜電位を $0 \sim -100$ mV まで変化させてその電位を固定したときにも分泌電位が過分極方向に現れること, 及び灌流液中の Cl^- を NO_3^- にて置換した場合には舌下腺の唾液分泌量が著減すると共に分泌電位が減少することにより, 腺細胞組織側の膜に Anion 殊に Cl^- の activetransport を想定し, これが分泌電位の成因となると共に腺の水分塩分の分泌を起す重要な原因であるとした。そして顎下腺の電極穿刺部位の如何によって分泌電位に3種の型が現れることを提唱し, その意味づけについて論議している。

* 京都府立医科大学第1生理学教室 (吉村寿人教授)

1st Dept. of Physiol., Kyoto Prefectural Univ. of Med.

[昭和40年3月11日受付]

ここに報告せんとする著者の実験は犬顎下腺を用い、微小電極法による分泌電位の測定及び細胞膜抵抗測定を行って、この Lundberg の実験を追試すると共に、Lundberg の実験で確認していない電位測定部位の証明を Turnble blue 法にて行い、彼の仮説の妥当性を検討し、分泌電位と膜抵抗の関係につき考察を加えんとしたものである。

II. 実験方法

実験動物としては犬を用い、ラボナル(0.04 g/kg bodg weight) の静脈内注射によって麻醉して、顎下腺をその周囲の血管及び神経を傷害しないように注意深く分離し、また一方微小電極の穿刺を容易にする為に腺を生体より浮かしてワックスを塗ったスプーンで受け、さらにプラスチックのリングで腺を軽く押えて(第1図)生体の動きの影響が加らないようにする一方動物の気管には気管カニューレを挿入し、クラレで動物を不動化して人工呼吸下に実験を行なった。もつとも動きの少い動物ではクラレを必要としない場合もあった。分泌刺激としては chorda tympani の中枢端を結紮切断して(Sherrington 1919)³⁾ その末端部にて神経が丁度腺に入る部分で電気刺激(Burgen⁴⁾に従って、tetanic stimulation 20 cps, 2 V, duration 5 m sec を用いた)をして分泌を誘発せしめた。用いた電極は一般に用いられている様な先端 1 μ 以下のガラス微小毛細管に 3 M KCl を充したものであって、先端を 500 倍の顕微鏡で確めた上更に電極抵抗を測定して 10-30 M Ω のものを用いることとした。又このガラス毛細管中には銀-塩化銀の不分極を挿入して電位差を導くと共に、対極として板状の銀-塩化銀電極を用いて腺の表面にあてて電位差測定を行った。銀塩化銀電極のつくり方は常法により銀線又は銀板に Cl を電気鍍銀して AgCl の層をつくりこれに AgCl の粉末をつけてパーナーにて溶着したものである。これにより安定度を高めた。

微小電極先端位置⁵⁾を決定せんとする場合には用いんとする微小電極用のガラス毛細管に

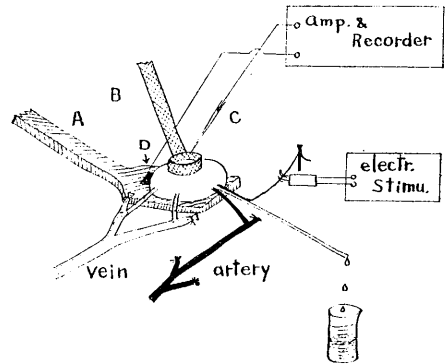


Fig. 1.

Schematic representation of experimental apparatus.

- A, B : Spoon and ring for fixing gland
- C : Glass microelectrode
- D : Reference electrode (Ag-AgCl)

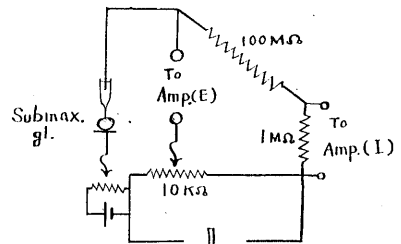


Fig. 2.

Apparatus for measurement of membrane resistance (Araki's method).

2.5 M の KCl と 0.5 M の $K_3Fe(CN)_6$ の液を充しこの電極にて分泌電位を記録した直後に電極より 10^{-6} A 程の電流(電極側を負とする)を 30 秒間通じて電極先端より Ferricyan ion を游出せしめる。そしてたちだに腺動脈より 0.1 M の $FeCl_2$ を速やかに注入して電極先端部に Turnble blue の沈澱を起させた。 $FeCl_2$ の注入により腺は不活性化するから mark できるのは一度だけである。かくてその腺を切出して型の如く 95% アルコールで固定し、パラフィン包理を行って連続切片に切り Turnble blue の生じた部位を顕鏡下に探し出し、これを以って電極先端位置とした。Turnble blue spot の大きさは 50 μ 以上の直径にもなり、2, 3 個の細胞にわたることもあるが、同一種の細胞である場合、上記の記録はその細胞からのものと考えた。多くの場合この方法によって確認せられたものは

腺底部の細胞の分泌電位であった。

細胞膜抵抗測定には荒木⁶⁾の考案した方法を用い微小電極-細胞-対極を被検抵抗とした Wheatston's bridge 回路装置を作り (第2図), 回路に矩形波直流 (8 cps, $Ca 10^{-8}$ A, duration 50 msec) の強直波を流した。そしてこの通電による膜電位の変化より細胞膜抵抗を算出した。記録装置は日本光電製の preamp MZ-3 A, main-amp ADH-2 及び penmotor W1 を用い, 抵抗測定時の電流量, 膜電位の観察には日本光電製 double beam Braun tube oscilloscope VC-7 を用いた, なお電極穿刺時には Zeis の Otoposcop ($\times 6-\times 40$) を用い, 動物は 8 mm のゴム板にて大地と電氣的に絶縁した状態で実験を行った。

Ⅲ. 実験成績及び考察

A. 顎下腺腺底細胞の静止電位と分泌電位

静止時の犬顎下腺の腺底部細胞内電位は穿刺回数 150 例 (犬約 10 頭) 平均にて -42 ± 7 mV を示し, 一般細胞神経, 筋に見られるよりも電位は低い, このように静止電位を測りつつある犬の chorda tympani に電気刺激を与えると唾液分泌と同時に細胞内電位は過分極し平均 -57

± 10 mV になる。これを分泌電位と呼ぶが, 猫顎下腺に見た様な 3 つの型の区別は困難であった。多くはその第一型に類するものであった。即ち第 3 図 (A) に見る如く chorda tympani の tetanic stimulation にて Lundberg が報告した様に約 0.4 秒の潜時の後 13-25 mV/秒の遅い傾斜を保ちつつ過分極し, 1-2 秒にて極大値に達する。従って静止電位よりも平均 15 mV の過分極を示すこととなる。かくしてこの過分極電位はややその値を減じて, 動揺しながら過分極を保ち刺激終了と共に刺激前の静止時のレベルにもどる。併し時として電位が極大値に達した後に刺激を続けているにもかかわらず殆んど静止時のレベルまでもどる例 (図 B) も見られた。かくて細胞内電位を記録した後僅かに微小電極の穿刺を深く進めると電位は急に零に近くはねかえる。併しこの値は完全に零ではなく 2-3 mV の陰電位をなしている。しかもこの際に chorda tympani を刺激すると約 10 mV 前後の過分極が現われて来る。その過分極の性質はさきに見た細胞内電位の過分極のそれと同様である。従ってここに見た電位は恐らくは腺腔内電位であったと思われる。それはこの腺腔内電位は腺腔が狭い関係上比較的得にくいものであるが, しかし導管を clump して刺激を加え腺腔を拡げると容易にとることができるからである。又後述の抵抗測定法によっても, この部分の抵抗は測定できぬ程に低く ($0.5 M\Omega$ 以下), おそらく腺腔に電極先端があるものと考えられる。

Lundberg の猫舌下腺における研究によれば, chorda tympani の刺激では腺腔電位の過分極は 2 秒後には -22 mV におよび, 持続刺激により 4 秒後は -10 mV 程になる。そこで Lundberg はこれは先ず腺細胞の組織側膜で激しい過分極が起るが, その時には腺腔側膜でほとんど起っておらぬ。しかし刺激が持続すると腺腔側膜にも過分極が起り, 同時に組織側膜の過分極も僅かに減じて, その結果として腺腔内電位が小さくなるのであると解釈した。そして更にこれが外部誘導による刺激時の腺の電位変

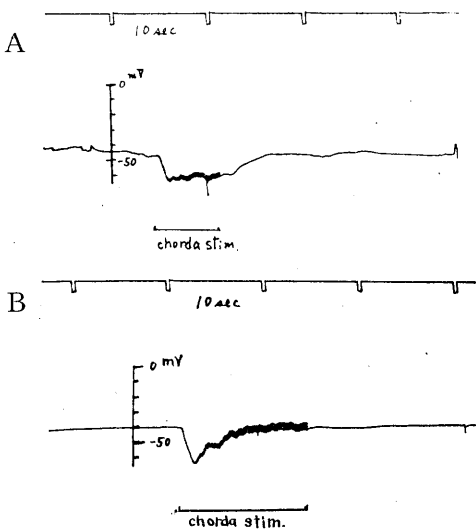


Fig. 3.

Intracellular records from acinar cell of submaxillary gland, presenting secretory potential caused by tetanic stimulation of the chorda (A, B).

化の成因であるとした。即ち腺細胞膜の外側と内側での過分極の程度の差、及び時間経過の差より腺腔内分過分極が現われるとなすのである。しかし著者が唾液腺細胞内電位を測定した際に、その対極を腺表面においた場合と導管内に置いた場合につきその静止電位と分泌電位について調べた所、腺表面に対極を置いた場合は上記の通り細胞内電位は平均値として静止時 -42 mV 、刺激時 -57 mV (150回測定)である。導管に対極を置いた場合には静止時の平均値は -40 mV 、刺激時にはやはり過分極を示し -54 mV (20例平均)になる。しかしこの場合は導管-腺表面間の抵抗は細胞膜の抵抗に比して格段に低いことから、かならずしもこの場合に測られた電位差が腺腔側の細胞膜電位のみを相当していることにはならないが、しかし定性的に見て腺腔側の膜にも過分極が現われていると見てよいであろう。然もその時間経過は、腺表面に対極を置いた場合とほとんど同じである。即ち過分極の潜刺激時は 0.4 秒で過分極の傾斜は $13\text{--}25\text{ mV/sec}$ であった。故に腺腔内電位の過分極の成因としては、細胞の外側膜と内側膜の電位変化の時間経過は考える必要はなく、単に過分極電位の程度の差のみによると考えられる。今仮りに導管内に対極をおいて細胞内に入れた毛細管電極との間に生じた電位差を腺腔側細胞膜の電位であると、仮定すると静止時に腺表面側の細胞膜電位は -42 mV であり、腺腔側細胞膜電位は -40 mV (何れも細胞内が陰性)であって、腺腔内と腺表面の間の静止電位は腺表面側を基準にとって腺腔内電位を表すとすると -2 mV となる。この値は実測せる組織液と腺底部腔間の間の電位差と略一致する。Lundbergは猫の舌下腺について腺表面の細胞膜電位は -31 mV 、腺腔側細胞膜電位は -33 mV であって腺表面と腔内との電位は $+2\text{ mV}$ になると言う。この点著者の成績とやや異っているが、動物および腺の種類の違いであるかも知れぬ。次に chorda tympani を刺激した時の電位変化を見るに著者の成績は腺表面側の細胞膜電位は

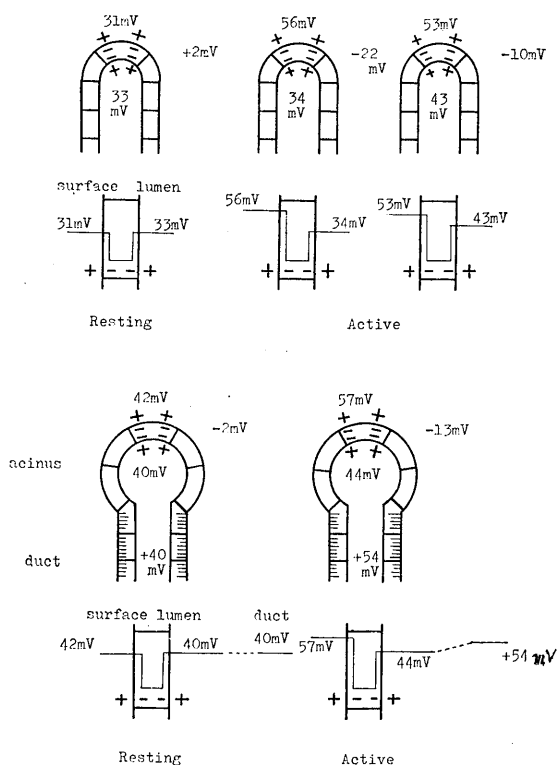


Fig. 4.

Schematic representation of membrane potential of salivary gland.

Upper : Cat sublingual gland (by Lundberg)

Lower : Dog submaxillary gland (by author)

腺表面においた対極に対して -57 mV となり -15 mV の過分極を示す。これに対して細胞内に入れた毛細管電極と導管に入れた対極との間の電位は -54 mV となり約 -14 mV の過分極となる。従って腺腔内と腺表面間の過分極は腺腔側が -1 mV になる程度であると言える (第4図参照)。しかし腺腔内に入れた毛細管電極と腺表面においた電極との電位は前記の如く静止時 $-2\text{--}3\text{ mV}$ (腺腔側を負とする)であったものが chorda tympani の刺激で最初約 -12 mV 程度に腺腔側が負となり、その後やや回復して -9 mV 程度になって来る。従ってさきの計算で得た -1 mV の過分極とはかなりの差が生じて来る。こうした事より考えると上記の如く導管内においた対極との間の電位をそのままの腺腔側の膜電位と考える事が正し

いかどうかに疑問がもたれて来る。それは嘗って吉村等⁷⁾の研究した所によれば腺腔側においた電極と腺表面においた電極の間に外部誘導電位を求めると腺底部に発生する陰性波と条紋部に生ずる陽性波が組合さって二相性の電位変化が刺激時に現れると言う。もしこれが正しいとすれば条紋部の導管腔側が陽電位となり、導管内に入れた電極より当然腺腔側に向って電流が流れてここに一定の電位変化が現れる筈である。従って導管内に入れた対極と細胞内に入れた毛細管電極との間で測られた電位差には当然この電位変化が含まれて来る訳である。この値がどれ程になるかは全く手がかりがないが、仮にこれが 10 mV 程度のものであるとすれば、腺腔側の細胞膜電位は刺激時に -44 mV 程度に過ぎないことになり、 -4 mV の過分極に過ぎないことになり、したがって腺表面と腺腔側との間の電位は -13 mV となり、静止時の値に比較して約 10 mV の過分極となって実測値に一致することとなる。この値が時間と共に減少するのも後報で明かにする所の分泌電位発生

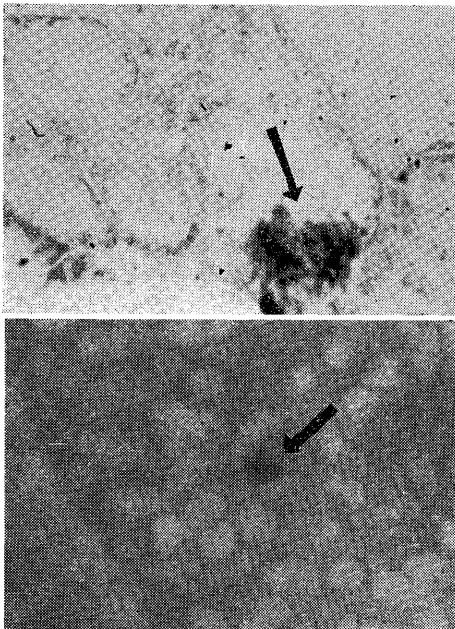


Fig. 5.

Localisation of electrode tip revealed by Turnbull blue precipitation at acinar cell of submaxillary gland.

の機序に関する細胞内外のイオン組成の変化が最も大きな原因となるのであろう。

さてこうした細胞内電位を測った場合に微小ガラス電極の先端位置が何処であるかを明かにすることが最も大切な問題である。そこで上記のごとき典型的な細胞内電位の分泌時の変化を測った後に、これがどの細胞からの電気現象であるかを確認して見た。その確認は毎常行つた訳ではないが、数回の実験に於いて確認した。確認方法は前記のごとく富田⁵⁾等にしたいがい Turnbull blue 法を用いた。即ち電位測定直後、電極より通電により游出させた $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ に結合すべき FeCl_2 を動脈より等張性の形で注入し、電極先端部に Turnbull blue, $\text{Fe}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2$ の沈澱を起さしめた。この組織は固定包埋して連続切片の組織標本とし顕鏡して丹念に探した。成功した数例において上記の刺激により過分極方向に分泌電位を発生する細胞は腺底部の腺細胞であることを確認した(第5図)。Lundberg の指摘した第Ⅱ型乃至は第Ⅲ型の分泌電位を求めんとして色々の深さに微小電極を刺入して分泌電位をとって見たが数百回の穿刺に於て 5-6 例に第6図の如き異型の分泌電位が得られたに過ぎなかった。この場合静止電位は第3図の型のものよりもやや大きく平均 -75 mV であり chorda tympani 刺激によりこれが脱分極して約 -40 mV に減ずる。従って $+35$ mV 前後の脱分極に相当する。これは刺激を中止すると元の静止電位に復帰せんとするが容易に復帰せず、徐々に電位が深くなる。従って Lundberg の言う第Ⅲ型に相当する。しかし何分こうした電位にめぐり合う例数は極めてまれであり、その部位の確認を行うことができなかった。Lundberg はこれが条紋部細胞の電位であろうと述べているが、比較的深い所にあることは確実であるが確認はできぬ。そこで今回はこの腺底部細胞のみにつき、粘液性、漿液性の細胞の区別をつけずにその電気現象及び分泌機転についての考察を進めることにした。

腺底部細胞からの分泌電位は chorda tympani の電気刺激の電圧を高めると分泌量と共に増加

し一定値にて一定となる(第7図)。図は一つの腺底部細胞に電極を刺入したまま1-10V迄の電圧にて20 cpsの刺激を2-3秒ずつ与えた時の分泌電位を記録したものである。図示の如く刺激電圧が4Vに達する迄は分泌電位の高さは漸次に高くなって行く。しかし4V以上に電圧をあげても分泌電位はそれ以上に増すことはない。従ってこの関係はあたかも神経筋標本に於ける神経刺激電圧と収縮度の関係に似ている。しかし神経筋標本の場合には各種の筋線維の集りに関する観察であり、この場合には1個の細胞内電位の過分極に関することであることから自ら問題は別であって、分泌電位発生の機構が悉無律に従わないと考える外はない。又この過分極の最大刺激電位が何 Volt であるかは細胞によって差があることは勿論である。むしろ2Vが最大刺激である場合が多い。次に第7図の実験に際し用いた顎下腺についてこの場合の唾液分泌量を測定して見ると、図の下部に示した様に1分間当り分泌量もまた刺激電圧の高さに応じて増加し4V以上では略恒定している。もっともこの場合には全顎下腺について測った分泌速度であって、さきの1個の細胞内分泌電圧と同じ次元で論ず可きものではないが、もしもこの場合の各腺細胞の最大刺激電圧が略等しいとすれば、この細胞内分泌電圧と腺の唾液分泌機転とは並行すると云えることになる。

さて次にこの腺細胞に対する刺激の種類をかえた場合の興奮状態について研究した成績を述べる。唾液腺に対する分泌神経はchemical transmitterによって分泌刺激を腺細胞に伝達することはよく知られた事実である。電気刺激時に比較的長い潜時(0.4 sec)を有する事もこの事実を示すものと思われる。今試みに腺動脈枝より acetylcholin (0.2 μ g) を注入して見ると chorda tympani 刺激時と全く同様の分泌電位を発生する(第8図)。勿論唾液も分泌する。しかし adrenalin (1 μ g) の注入及び頸部の Sympathetic trunk の刺激では著明な電位変化は認められな

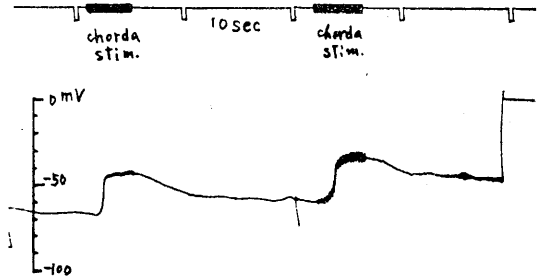


Fig. 6.

Intracellular records from deep location of submaxillary gland, suggesting that the chorda stimulation might cause a depolarization of membrane potential in the cell of striated part.

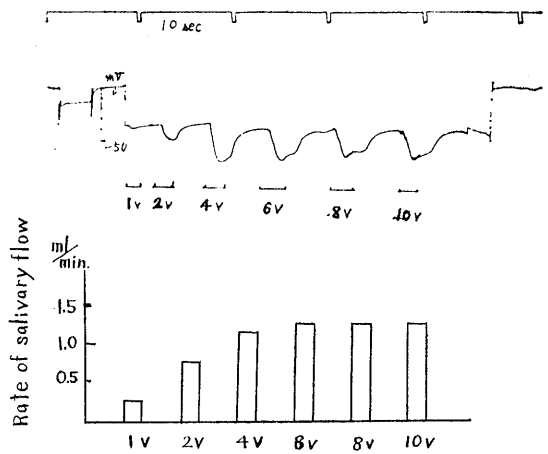


Fig. 7.

Upper : Effect of increasing voltage of chorda stimulation on the secretory potential

Lower : Effect of increasing voltage of chorda stimulation on the flow rate of saliva in the same submaxillary gland.

かった。

B. 細胞膜抵抗

大顎下腺腺底部細胞の細胞膜抵抗の測定は微小電極及び腺組織に矩形波の微小電流(約 10^{-8} A)を流して、それによる膜電位の変化により抵抗を読み取った。方法としては単一の微小電極で膜電位と電流量を同時に観測できる荒木の方法による bridge 回路を組み、電極抵抗及び

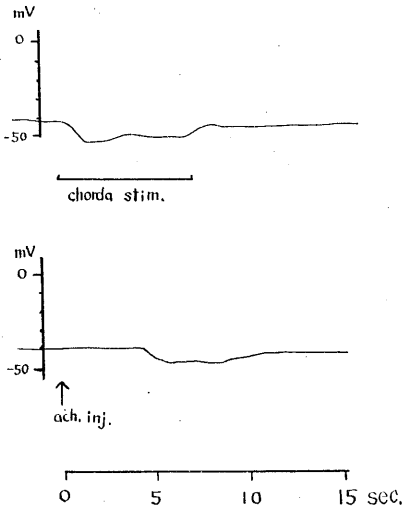


Fig. 8.

Secretory potential obtained by electrical stimulation on chorda (upper), and injection of acetylcholine (0.2 μ g) into a branch of the external carotide artery (lower).

細胞内電位による影響はそれぞれに補償した上でこの膜抵抗測定を試みた. なおこの場合に流す電流及び膜電位の観測には二現象 Braun 管 oscilloscope を使用し, さらに膜電位の変化は penmotor にて記録した.

測定は静止時, 刺激時に夫々行った. その結果細胞1個あたりにつき静止時の膜抵抗は平均 $18 \pm 12 M\Omega$ (80例)であった. 分泌時即ち chorda tympani の電気刺激により1-2秒後には抵抗は著明に低くなり $14 \pm 11 M\Omega$ となる. 刺激が持続すると抵抗は増大して $26 \pm 13 M\Omega$ (5秒後平均)にまでなる (第9, 10図). しかし全測定の1割程の例では刺激により膜抵抗の変化のない例, 始めから増大する例, 及び減少したままに止どまる例が見られた. 電気抵抗が刺激時に一旦減少して後増大することは分泌電位測定時に屢々混入するノイズの大きさの変化よりも推定せられることである (第3図参照). 又 acetylcholin

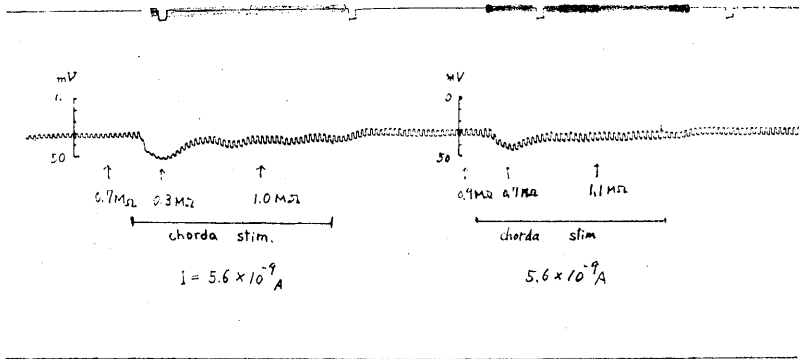


Fig. 9.

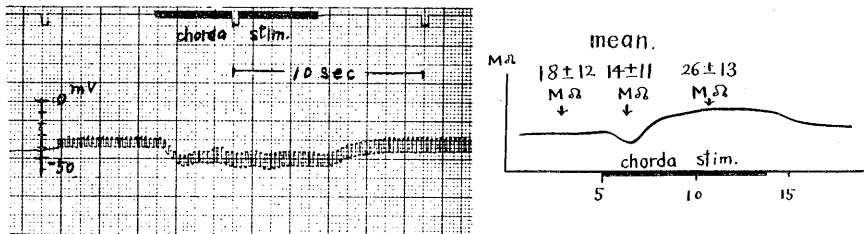


Fig. 10.

Fig. 9, Fig. 10.

The membrane resistance was demonstrated by potential changes due to pulses of current passed between the cell interior and external medium. During the stimulation, this resistance decreased at first and increased later.

の注入時にも同様の腺底部細胞膜の抵抗変化が見られた。

腺底部細胞を直径 30μ の球として、表面積あたりの膜抵抗を計算すると、静止時 1 cm^2 当り $50\text{--}1100 \Omega$, 平均 540Ω であり、分泌時の抵抗減少時には 1 cm^2 当り $20\text{--}840 \Omega$, 平均 390Ω となり、分泌時の抵抗増大時には $110\text{--}1200 \Omega$ となり、平均 680Ω となる。Lundberg は猫舌下腺腺細胞について静止時 $58 \Omega \text{ cm}^2$, 分泌時 $23 \Omega \text{ cm}^2$ の値を出している。いずれにしてもこれは蛙筋細胞膜の $1500\text{--}4000 \Omega \text{ cm}^2$ (Katz 1948)⁸⁾ 及びイカ巨大神経線維の $700 \Omega \text{ cm}^2$ に比べて小さい。この場合、腺細胞膜の抵抗が低いと考えるよりもむしろ電顕像に見られる (藤田, 他 1964)⁹⁾ 腺細胞膜の Basal infolding 及び intracellular digitation による膜表面積が見かけより大きい故と思われる。又観測値の大きな偏差の原因も腺細胞表面積に差があるのではないかと思われる。

分泌時に抵抗が減少する変化は Lundberg も記述していて、分泌時に膜透過性が増大したためとしている。これに対し分泌時には Infolding 等の為に細胞の表面積の変化する可能性もあるが、抵抗変化が相当に激しいことよりやはり透過性が変化したと考えるのが妥当と思われる。しかしその後漸時に抵抗の増大する事は透過性の減少によるものか又は電顕像や分泌圧描記実験で認めた様に (吉村等)¹⁰⁾ 分泌時の筋上皮細胞の収縮によって細胞が圧縮せられそのために表面積を減じ又 Infolding が増してもこれが密に細胞内に押し込められたり Infolding の先端が pinocytotic vesicle として細胞内に入つて表面積増加による抵抗減弱の効を表わさない為ではないかと思われる。分泌時その過分極電位の極大時に膜抵抗が減少しており、電位の静止時のレベルに近づく時と膜抵抗の増大の時とが時間的に一致していることより、分泌時の膜抵抗の二相性の変化はこうした透過性の変化と細胞の圧縮とが時間的に一致しない為と考えられる。一方分泌電位の成因については Lundberg が膜に Cl-pump を想定し、これが activate される

ことにより過分極電位が発生するとしている。しかし腺細胞膜が分泌時にその透過性を変化させている事実と細胞内電位の過分極だけの事実を以て直ちに Cl-pump を想定することは早計に過ぎる。それは透過性が変化すれば当然平衡電位の変化も起り得る筈である。従つてこの平衡電位と分泌電位の関係を先ず吟味す可きであるがこのことについては第2報にて詳しく論ずることとする。

IV. 総 括

犬を用い chorda tympani 刺激時と非刺激時の顎下腺につき、その腺底部細胞の電気生理学的性質について調べて次の成績を得た。

1. 細胞内静止電位は腺基底膜側の細胞膜について平均 $-42 \pm 7 \text{ mV}$ である。併し腺腔と組織液間の電位差 (細胞両面間電位) は殆んど零に近い。chorda tympani の刺激で細胞内電位は 1-2 秒後に平均 $-57 \pm 10 \text{ mV}$ となる (細胞内負)。細胞両面間電位は約 -2 mV であった。その後その値は減じて静止電位に近づく。この刺激時の細胞内電位の過分極は Lundberg の記録した猫顎下腺の分泌電位の第一型に略近いものである。

2. Turnble blue 法により、この種類の分泌電位を発生するのは腺底部の細胞であることを確認した。

3. 分泌電位は chorda tympani の刺激電圧を漸次が高めると或電圧迄は分泌電位が増大するが、それ以後は刺激電圧を高めても一定値となる。この関係は分泌速度についても言えることであつて、分泌電位の変化と分泌速度の変化は略並行する。

4. acetylcholin の動脈からの注入でも神経の電気刺激の時と全く同様の分泌電位を記録することができた。勿論唾液分泌も認めた。

5. 腺底部細胞の膜抵抗は細胞 1 個につき静止時の平均値 $18 \pm 12 \text{ M}\Omega$ であり、刺激時一旦減少して 1-2 秒後に $14 \pm 11 \text{ M}\Omega$ となるが、後漸次増大して $26 \pm 13 \text{ M}\Omega$ となる。

6. こうした分泌時の電気抵抗の変化の原因

について分泌時の腺細胞の電子顕微鏡像の変化を考慮に入れて論及した。

稿を終るに臨み、終始御懇切な御指導並びに御校閲を頂いた恩師吉村寿人教授に厚く感謝すると同時に微小電極法について御指導を頂いた東京医科歯科大学の勝木保次教授ならびに同教室員の方々の御親切を感謝致します。又この研究は文部省科学研究費(吉村寿人教授)によったものであることを附記し感謝致します。

文 献

- 1) Bayliss & Bradford (1885) *J. Physiol.*, **6**, 13
- 2) Lundberg, A. (1955) The electrophysiology of the submaxillary gland of the cat, *Acta Physiol. Scand.*, **35**, 1
- Lundberg, A. (1957) Secretory potential in the sublingual gland of the cat, *Acta Physiol. Scand.*, **40**, 21
- Lundberg, A. (1957) The mechanism of establishment of secretory potential in sublingual gland cells., *Acta Physiol. Scand.*, **40**, 35
- Lundberg, A. (1957) Anionic dependence of secretion and secretory potential in the perfused sublingual gland. *Acta Physiol. Scand.*, **40**
- Lundberg, A. (1958) Electrophysiology of salivary gland., *Physiological Reviews*, **38**, 21
- 3) Sherrington, C. S. (1919) *Mammalian Physiology* Oxford University, London.
- 4) Burgen, A. S. V. (1956) The secretion of potassium in saliva., *J. Physiol.*, **132**, 20
- 5) Hashimoto, Y., M. Murata and T. Tomita (1961) Localization of ERG by aid of histological method., *Jap. J. Physiol.*, **11**, 62
- 6) 荒木辰之助 (1957) 微小電極法の手引き, P 157 金芳堂
- Araki, T. & Otani, T. (1955) *J. Neurophysiol.*, **18**, 472
- 7) 吉村寿人・井上太郎・藤本富次郎 (1962) 日本生理誌 **24**, 106
- 8) Davison; *Textbook of general physiol.* より
- 9) 藤田尚男・町野満夫・中神和義・今井雄介・山本豊 (1963) 犬顎下腺の電子顕微鏡的研究 (1) 解剖学誌 **39**, 296
- 10) Yoshimura, H., Inoue, T., Imai, Y. & Yoshimura, F. (1962) *Jap. J. Physiol.*, **12**, 1

犬顎下腺分泌に関する研究 612. 313. 3: 612. 014. 423: 599. 742
第2報 唾液分泌及び分泌電位に及ぼす灌流液イオン交換の
影響と分泌時の腺組織のイオン出納について

今井雄介*

Study of the secretion mechanism of the submaxillary gland of dog
part 2. Effects of exchanging ions in the perfusate on salivary
secretion and secretory potential, with special reference to
the ionic distribution in the gland tissue

IMAI-Yusuke *

In attempt to clarify the nature of the secretory potential and the mechanism of salivary secretion, the perfusion experiments were made with dog's submaxillary gland. Results obtained are as follows :

1) Even when Na^+ and Cl^- in the perfusate being replaced partially with Li^+ and NO_3^- respectively, the secretory potential, i. e. hyperpolarization of intracellular potential initiated by chorda stimulation, and the salivary flow remained practically normal, while they were abolished, when the replacement was complete.

2) Cl^- in the perfusate being replaced completely with sulfate, the secretory potential remained normal, while the rate of salivary flow was decreased but not disappeared.

3) When K^+ in the perfusate was raised over 13 mM/L, the secretory potential was completely abolished, while the secretion of saliva remained, though its rate was reduced.

4) K^+ was lost from gland tissue into venous blood and saliva during the chorda stimulation, but it was restored in the gland after cessation of secretion. During the chorda stimulation, the pretty amount of Na^+ and Cl^- were retained in the gland tissue en route from blood to saliva, while they were driven out into the venous blood during the restoration.

5) The inorganic phosphate was also lost into the venous blood from the gland tissue during the secretion, while restored from the blood after the cessation of secretion. Thus it is suggested that high energy phosphate bond was utilized for salivary secretion.

6) The ionic concentrations in the cell interior of the gland being analysed, K^+ was found to be reduced, which Na^+ increased during the salivary secretion.

7) The nature of secretory potential was discussed in relation to the K^+ permeability of the gland cell membrane during the salivary secretion, and it was concluded that the secretory potential initiated by chorda stimulation does not originate to the activation of chloride pump as postulated by Lundberg, but to the increase of K^+ permeability of gland cell membrane, which makes the membrane potential approach the K^+ equilibrium potential of the gland cell. Thus the secretory potential is not the causal factor of salivary secretion, but is a phenomenon which often appears concomitant with the secretion.

〔J. Physiol. Soc. Japan (1965) 27, 313-324〕

I. 緒 論

膜の物質輸送に関連して、腺分泌の機構殊に唾液腺の研究は多くあり、電気生理学的な研究

* 京都府立医科大学第1生理学教室 (吉村寿人教授)
1st Dept. of Physiol., Kyoto Prefectural Univ. of Med.

〔昭和40年3月20日受付〕

では Lundberg のすぐれた論文がある¹⁾。しかし彼の唾液腺に於ける塩分水分の分泌機転及び分泌電位の成因についての Cl^- -pump 説は分泌電位の成因として、これのみとするには疑義があることは前報でのべた。一方 Burgen²⁾ は顎下腺の動脈血、静脈血及び腺組織のイオン組成について静止時と分泌時に於いて分析を行い、分泌初期には K^+ が組織液及び唾液に大量に脱

出し、代りに組織内には Na^+ が蓄積することを見出した。この K^+ 脱出を「the potassium transient」と呼び唾液分泌機構との関連を重要視している。事実これは前報³⁾に述べた分泌時の腺細胞膜の透過性の増加と関連して考うべきことであり、分泌電位の発生もこの様な膜の透過性の変化することを考えに入れて研究すべきである。しかしこの膜の透過性の増加は総てのイオンに対して一様に現れるものであるかどうかは問題であるので今回の実験に於ては、我教室に於いて従来より行なっている唾液腺灌流法(井上⁴⁾)を用い、灌流液のイオン組成を色々にかえて、各種のイオンの分泌電位や静止電位に及ぼす影響を観察し、これと唾液分泌との関係を明かにすることによって分泌電位の本態や意義を究明せんとした。又この様な灌流液イオン組成の影響を見る場合に此等イオンの腺細胞膜透過性の変化を追求する必要があるから、唾液分泌時の腺の動静脈のイオン分析及び腺組織のイオン濃度の静止時と分泌時の変化より、腺組織のイオン出納を計算し、これによって如何なるイオンが分泌時に腺細胞より脱出するか又これが分泌電位と如何なる関係にあるか等につい

て考究した。

II. 実験方法

A. 実験は前報に引き続き犬顎下腺を用いた顎下腺の灌流は井上⁴⁾に従った。即ちラボナル麻醉下に顎下腺を分離し、腺に入る動脈枝のみを残し他の顎動脈枝は結紮切断する。次に静脈の分離を行い腺より出る静脈(1-2本、時に3-4本)以外は結紮する。血液凝固を防ぐためにヘパリンを全身血に加え顎静脈にシリコンラバーチューブを挿して腺からの静脈血を採取できるようにした。これらの操作には神経及び血管を傷害せぬ様な細心の注意が必要である。次に通常舌下神経と一所に走る顎動脈枝の1本を動脈クレンメで止め、これに灌流用カニューレを挿入する。この際絶対に気泡が入らぬことが必要である。灌流装置は第1図に示す如く、100-120 cmH_2O の静水圧を加え、灌流液の保温は蒸溜器の冷却装置を利用し、その外套に恒温槽から 38°C の温水を流して、この外套中に灌流液を通じて保温した。灌流液については井上⁴⁾らは自家血液を用いているが、今回の実験では液中のイオン組成を変化させる必要がある

所より、第1表の様な等張性塩溶液にその犬の自家血よりとった血球を35 Vol%の割合に浮遊せしめたものを用いた。但しこのような等張性塩溶液には膠質滲透圧が無いためか、屢々灌流中に腺組織の膨化を来してついには灌流不能となる。正常の範囲の灌流液の流速は120 cmH_2O の圧の下にて静止時の腺で約0.2 $\text{cc}/\text{分}/\text{g gland}$ であり、chorda 刺激による分泌時には約0.5-2.0 $\text{cc}/\text{分}/\text{g gland}$ まで増加する。この流速は井上⁴⁾が求めた正常の唾液腺の血流速度に略一致する。しかし腺の膨化が起るとこの流速も著しく減少する。しかしこの溶液に2.5%のPVP (Polyvinyl pyrrolidone m. w. 25,000)をとくして約20 mmHg の膠質滲透圧を与えてやると、灌流によってかかる腺の膨化もなく正常の流速で灌流する事ができた。又この灌流塩溶液のままではこれに酸素を飽和せしめても hypoxia

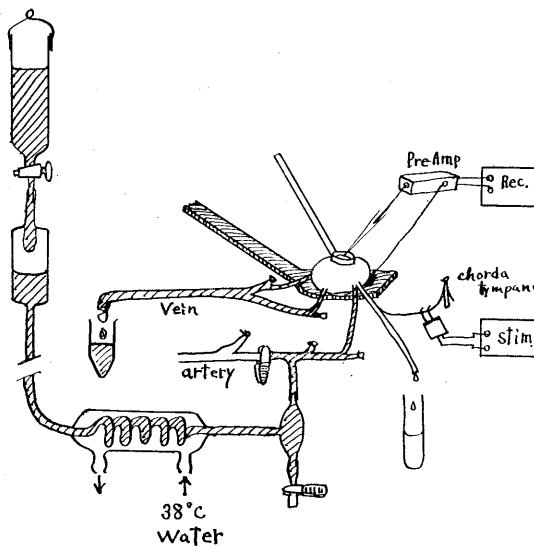


Fig. 1.

Schematic representation of perfusion experiment with dog's submaxillary gland.

のためか数分にて分泌不能の状態になるから、自家動脈血球を 35 Vol % の割合で浮遊させ然もこれを酸素で飽和せしめることによりほぼ正常の分泌機能を保つことができた。その事は第2図の左端に示した chorda 刺激時の分泌電位の位置よりも明かであり、また唾液分泌も 0.8 cc/分 であって、正常血流循環時の値と大差はない。

細胞内電位測定は前報の通りガラス微小電極法によったものであり³⁾、又分泌電位の記録はすべて腺底部細胞から得られたものである。即ち電極を腺の表層 (2 mm までの深さ) に穿刺して得られた電位差であって、腺条部電位を求めんとして更に深く刺入したものもあるが普通は余り変わった電位を求めることが出来ず、稀に条紋部のものと思われるものに出会うだけであった。よって今回は一応腺底部の細胞内電位のみについてその灌流液のイオン組成の影響をさぐらんとした。細胞内電位差測定に用いた装置は日本光電製の preamp. MZ-3 A, mainamp. ADH-2, penmotor WI であり、分泌刺激は第1報と同様に chorda tympani の電気刺激 (2V, 20 cps, pulsduration 5 msec) を用い刺激装置には MSE-3 を用いた。

B. 腺組織のイオン出納とイオン組成の測定

1. 腺の動脈及び静脈血の分析は Burgen²⁾ に従い腺からの静脈血を30秒-1分毎に分割採取しそのイオン濃度と流量を求めた。それが為にはまず全身血にヘパリンを注入し血液凝固を防ぎ、腺からの静脈血を腺静止時, chorda tympani の電気刺激 (2 V, 20 cps) 1 分間、及び回復期として刺激直後より15分間に涉って採取した。そして腺の血流量、各々の分割のイオン濃度について、Na, K については flame photometer, Cl については Scharles & Scharles 法および無機リンについては Fische-Subba-Row 氏法によった。又動脈血の流量については唾液流量と静脈血流量の和に相当すると考えて求め、又そのイオン組成は腺刺激前、刺激中、刺激後の3回に涉って求めたが、いずれも大差はなかったのでこれを平均したものを動脈血のイオン組成とし

Table 1.

Composition of the perfusate

Normal-Ringer		NO ₃ -Ringer	
NaCl	140.0 (mM)	NaNO ₃	14.0 (mM)
KCl	4.0	KNO ₃	4.0
NaHCO ₃	10.0	NaHCO ₃	10.0
CaCl ₂	2.0	Ca (NO ₃) ₂	2.0
MgSO ₄	1.3	MgSO ₄	1.3
Li-Ringer		SO ₄ -Ringer	
LiCl	140.0 (mM)	Na ₂ SO ₄	90.0 (mM)
KCl	4.0	K ₂ SO ₄	2.0
CaCl ₂	2.0	NaHCO ₃	10.0
MgSO ₄	1.3	Ca (NO ₃) ₂	1.3
		MgSO ₄	2.0
Cholin-Ringer		K-free-Ringer	
Cholin-Cl	140.0 (mM)	NaCl	144.0 (mM)
KCl	4.0	NaHCO ₃	10.0
CaCl ₂	2.0	CaCl ₂	2.0
MgSO ₄	1.3	MgSO ₄	1.3
K-isotonic Solution			
KCl	150.0 (mM)		

Each solutions are added 25 g of PVP per litter, and are buffernized at pH 7.4 with few ml of 1/15-N phosphate buffer solution.

た。そして出納 B の計算は動脈側での流量 Va, その濃度 Ca, 静脈側の流量 Vv, 濃度 Cv より, $B = Vv \cdot Cv - Va \cdot Ca$ として求めた。但しここに V は血球成分を除いた単位時間当りの血漿流量である。

2. 腺を流れる血液についてのイオンの出納の変化に伴って腺組織のイオン量にも変化が見れる筈であるから、犬顎下腺を静止時および chorda tympani 刺激時 (2 V, 20 cps, 5分間) に摘出し、水分量, Na 量, K 量, Cl 量の測定を行った。腺組織中の Na, K 量については腺組織の一定量を 1 N, HNO₃ による湿性灰化 (Schneyer 等による)⁶⁾ の後これを希釈して、その液を flame photometer にてもとめ、Cl については組織の homogenate を20倍以上に希釈したものを Scharles & Scharles 法によりもとめた。又イヌリン間隙からの細胞外液量の測定は、Schneyer & Schneyer⁶⁾ に従い、犬の両側の腎動静脈を結紮して機能的腎摘出を行いイヌリン 3g を静脈より注入して、血中イヌリン量が30分後より3時間に渡り一定なることを確め得たので、この状態での顎下腺のイヌリン

量を測定し、これを血漿水分中のイヌリン濃度にて除して細胞外液量を求めた。血漿水分は血漿比重より求めた。唾液腺にはイヌリン様物質が少量ながら存在するので対照としてイヌリンを注入しない腺につきイヌリン測定を行い、これを引去って補正を行なったことは言う迄もない。

Ⅲ. 実験成績及び考察

A. 灌流実験

1. Na^+ 濃度を変化させた灌流実験

大顎下腺の灌流液中の NaCl をほぼ完全に LiCl にて置換した実験では灌流開始1-2分にて chorda tympani の電気刺激による唾液分泌及び腺底部細胞の分泌電位は消失した(3例)。又 NaCl を choline Cl にて置換してその Na^+ 濃度を $20-80 \text{ mM}$ にした灌流液では choline の作用のため常時僅少の唾液分泌(約 $0.002 \text{ cc/分/g gland}$) を認めたが chorda の刺激では分泌電位は全く認められず、唾液分泌速度にも刺激により増すことはなかった(3例)。以上のことより唾液腺腺底部細胞の分泌興奮には Na^+ が不可欠のイオンであると思われる。そこで次に Na^+ を Li^+ にて約50%置換し Na^+ 濃度を $70-80 \text{ mM}$ にした灌流実験3例では、chorda の刺激で第2図に示すようにほぼ正常の細胞内電位(静止時平均 -38 mV 、分泌時平均 -50 mV 、いずれも細胞内負)を認め、唾液分泌 (0.03 cc/分/

g gland) は Ringer 氏液灌流時よりもやや減退した。この場合の唾液組成を見ると、その Cl^- 濃度はほぼ対照の Ringer 氏液灌流時の唾液濃度と等しいが、 Na^+ 濃度は明らかに低く(約 50 mM)、然も唾液中にかなりの Li^+ (約 40 mM) を認めた。

以上のことは、1) 唾液分泌には Na^+ は不可欠ではあるが、その濃度が正常値以下でも分泌は可能であること、しかし、2) 分泌電位には Na^+ が若干存在すれば正常時と差がないが、唾液分泌速度にはたとえ Cl^- 濃度が正常でも若干の影響はある。3) 唾液は細胞外液の組成を反映して Li^+ が多くなればそれを唾液中に分泌することが可能であることが立証せられた訳である。

2. Cl^- 濃度を変化させた灌流実験

灌流液中の Cl^- を完全に NO_3^- にて置換すると唾液分泌及び分泌電位は1-2分で消失することが4例の実験にて認められた。 Cl^- と NO_3^- の置換を一部に止め灌流液中の Cl^- 濃度を $40-70 \text{ mM}$ にした実験(7例)では分泌電位および唾液分泌はほぼ正常に保たれた(第2図)。即ち腺底部細胞内静止電位は平均 -40 mV 、chorda tympani の刺激で平均 -54 mV まで過分極を示した。唾液分泌速度は約 $0.03 \text{ cc/分/g gland}$ であった。この実験は Lundberg の成績と略一致するものである。

次に Cl^- を完全に SO_4^{--} にて置換した灌流実験を行った所、灌流15分後にも唾液分泌 ($0.01 \text{ cc/分/g gland}$) と分泌電位(静止時平均 -40 mV 、分泌時 -50 mV) を認めた(第3図)。この細胞内電位は正常 Ringer 氏液灌流時と大差ないものである。この事は Lundberg の唾液分泌に対する Cl^- -pump 説に有力な否定的根拠となるものであって、 Cl^- が細胞外液中になくても分泌電位は発生するし、分泌も若干起るのであ

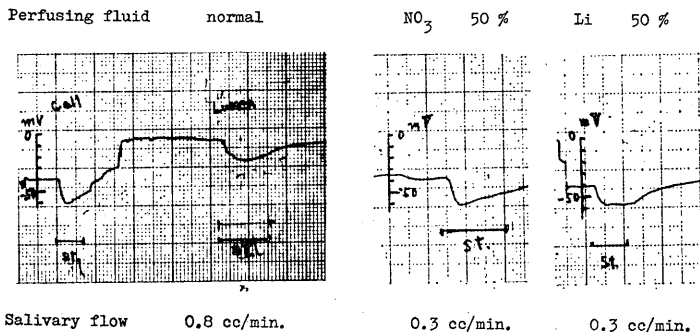


Fig. 2.

Secretory potential on perfused gland. When Na^+ and Cl^- in the perfusate were replaced partially with Li^+ and NO_3^- respectively, the secretory potential remained practically normal.

る。したがって此等の分泌電位や唾液分泌は Lundberg の Cl-pupm 説を離れて考え直す必要がある。

3. K^+ 濃度を变化させた灌流実験

K^+ -free の灌流液 (KCl の代りに NaCl を加える) による灌流顎下腺は、その腺底部細胞の分泌電位は灌流開始後約10分間は正常状態を保ったが、その後次第に減少して15分後には分泌電位は消失する。それに対し唾液分泌は灌流後既に5分頃より減少を始め、分泌電位の消失する15分後には分泌も完全に消失してしまった(第4図)。以上の事より腺底部細胞の分泌電位発生には、かならずしも灌流液中に K^+ を必要としない様である。しかしこの場合灌流液中には赤血球が浮遊し、然も血球中には K が多量に存在するし、後記の如く細胞興奮に伴って、分泌細胞より血液中に K^+ の遊出が起ることが立証せられているから、かならずしも完全な K -free 溶液にはなっていないと考えられる。しかし細胞外液中に K^+ が若干存することは細胞の

分泌興奮性を保つ為に必要であると思われる。

次に灌流液中の K^+ 濃度を上げる為に自家動脈血 (ヘパリン加) に等張の KCl 液を適量加えることにより K^+ 濃度種々なる灌流液を作製した。かくして K^+ 濃度が 11 mM, 13 mM, 43 mM の灌流液を作成し、これを以って顎下腺を灌流した。そして chorda 刺激前後の細胞内電位と唾液分泌を見た。正常時の外液 K^+ 濃度は 4 mM であり、腺底部の細胞内静止電位は -42 mV であるが、 K^+ 濃度上昇により静止電位は各々平均 -35 mV, -34 mV, -25 mV になる。そこで今細胞内静止電位と灌流液の K^+ 濃度との関係をプロットすると、第5図に示した様な直線関係が得られた。このことは静止電位の成因に外液 K^+ 濃度が大きく関与することを示すものと考えられる。この場合に濃度電位勾配の緩いことは KCl 溶液の混入によって他の

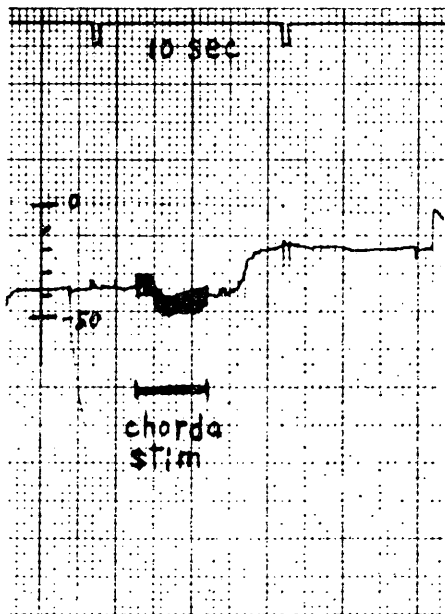


Fig. 3.

Even when Cl^- in the perfusate was replaced completely with SO_4^{2-} , the secretory potential remained normal 15 min. after perfusion.

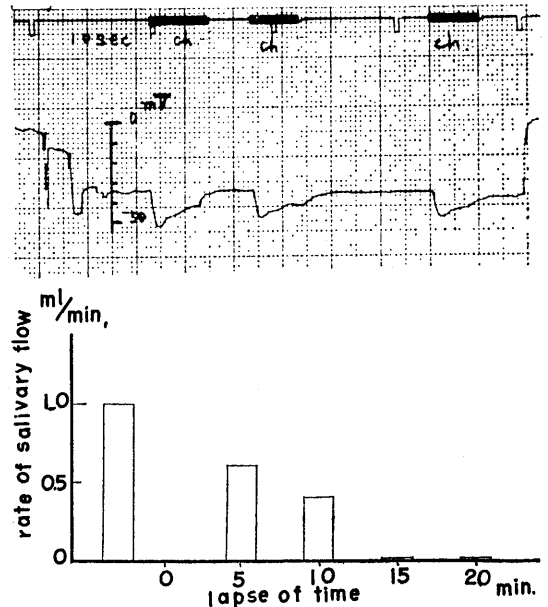


Fig. 4.

Effect of K -free solution on perfusion of the gland with the secretory potential as well as the rate of salivary flow. The rate of salivary flow decreased gradually with the lapse of time while the secretory potential still remained almost normal for 10 min. Fifteen minutes after perfusion, however the secretion potential and the salivary flow disappeared completely.

イオン濃度にも変化が起る. 例えば Na^+ 濃度は K^+ 濃度上昇と共に平行して減少することになっている. 従って此等の K^+ 以外のイオンの影響が K^+ の直接影響に干渉してその効果を減殺している為かも知れない.

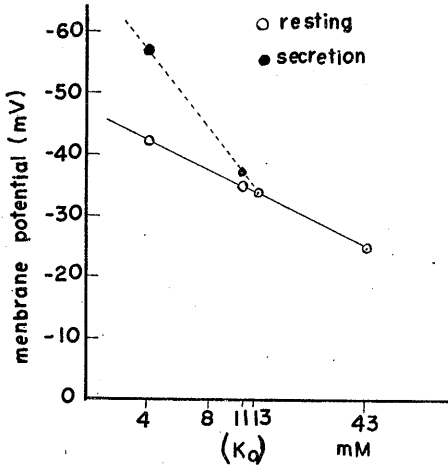


Fig. 5.

The resting intracellular potential (○) and the secretory potential (●) of the acinal cell in relation to the K^+ -conc. in the perfusate.

次に正常血液灌流 (K^+ 濃度 4 mM) 時に, chorda の刺激を行うと腺底部細胞内電位を約 15 mV の過分極を示し, 謂ゆる分泌電位を発現する. その細胞内電位は -57 mV (平均) に達する. しかし上記の通り灌流液の K^+ 濃度を上げると, 分泌電位は急激に減少して, K^+ 濃度が 13 mM 以上に達すると完全に消失した (第6図). ただしこの分泌電位の消失は正常血液の灌流に切り換えることにより, すぐに完全に回復するから可逆的な process であると考えられる. 所で一方唾液分泌量を見ると正常値 ($0.05\text{--}0.2 \text{ cc/分/g gland}$) に対し, K^+ 濃度の高い灌流液で灌流し, chorda 刺激を行うと, 灌流液の K^+ 濃度が上昇するにつれて分泌速度は減少する. しかし K^+ 濃度が 96 mM になっても完全には消失せず $0.005 \text{ cc/分/g gland}$ 程度の分泌が現れている. 又この灌流液を正常血液に切りかえると灌流液 K^+ 濃度が 43 mM 以下の実験では直ちに分泌速度も正常値にかえる. 故に K^+ 濃度上昇が或る限度に達するまでは, これと分泌速度の減退は可逆的な process によるも

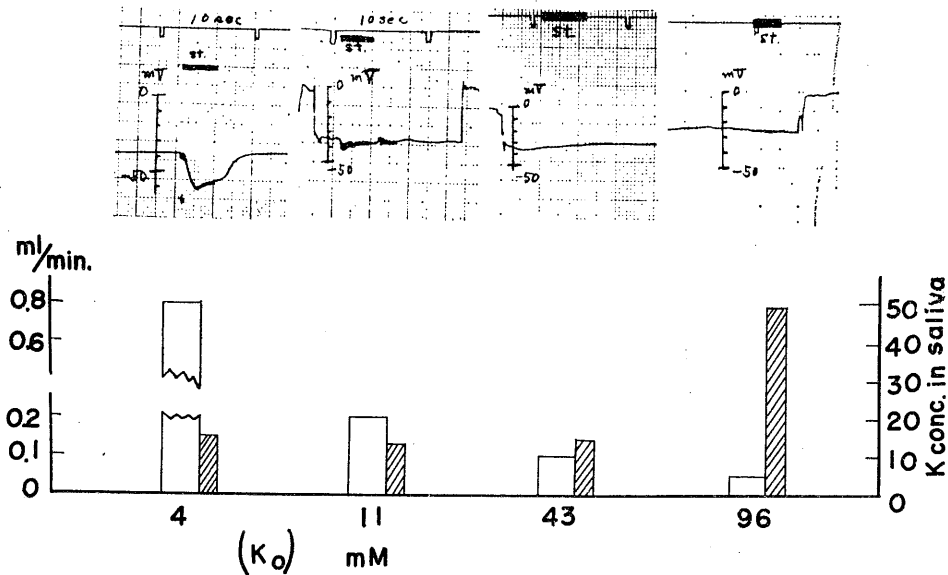


Fig. 6.

Effect of K^+ concentration in the perfusate on secretory potential and salivary flow. K^+ in the perfusate being raised over 13 mM/L , the secretory potential was completely abolished, while the secretion of saliva remained, though its rate was reduced.

のと考えられる。又この場合の唾液中の K^+ 濃度を測定すると灌流液の K^+ 濃度が 43 mM 以下では余り大きな変化はなく、外液の K^+ 濃度は余り唾液の K^+ 濃度に影響しないことを意味する。しかし K^+ 濃度がそれ以上に達して 93 mM になつた場合には唾液 K^+ 濃度も著明に上昇し、灌流液中の K^+ 濃度の影響が現われたと考えられる。然もこの場合は灌流液を血液に切換えても唾液分泌は元に回復しない。従つて灌流液の K^+ 濃度が余りに高くなり過ぎると非可逆的な変化が現れ、これが為唾液中の K^+ 濃度も異常に上昇したのであらうと思われる。

B. 1. 腺のイオン出納

腺組織のイオンの出納とは唾液に分泌せられるものと血液より入るものの差引をさすものであるが、後者は動脈及び静脈血のイオン濃度と血漿量の積の差より求め得るし、前者は唾液量とそのイオン濃度の積より求めることが出来る。又唾液及び血液の採取を30秒毎に行つたが、ここに求めんとするものが腺組織のイオン分布の変化であることより、この各時間毎の出納値を精算してこれを分泌開始以後の組織内イオンの消長を明らかにするように図示した。それが第7図である。第7図に於いて1分間の chorda 刺激によって腺より出て行くイオンの脱出速度 ($\mu\text{Eq}/\text{分}/\text{g gland}$) を基線より下にとり、腺の中に採り込まれるものを基線より上にとり示したものである。図の斜線を附した所は唾液への脱出量を示し、白い区劃は血液への出入を示す。曲線はこの唾液及び血液からの腺への出入を積算した、腺に於けるイオンの出納である。図に見る如く静止時の K^+ の出納はほぼ零又は僅かに腺への取り込みが見られるが、chorda の刺激により K^+ は腺から脱出し、血液側へ最高 $6.0\ \mu\text{Eq}/\text{分}/\text{g gland}$ になり、唾液中へもほぼ同量脱出する。これに反し刺激直後よりは腺への激しい取り込みが見られる為血液中の K^+ 濃度は減少し、これに流量を乗じて腺への K^+ の取り込みを計算するとこれは最高 $3.7\ \mu\text{Eq}/\text{分}/\text{g gland}$ にまでなっている。この実験に用いた犬顎下腺の重量は約 10 g で

血流量は静止時 $2.0\text{ cc}/\text{分}$ であり、分泌時には $20\text{ cc}/\text{分}$ にまで上昇した。刺激後血流量はしだいに減少する。所で動脈血の K^+ 濃度は 4 mM でほぼ一定であるに対し、腺静脈血の K^+ 濃度は分泌時に最高 9.3 mM まで上昇し、以後やや減少するが、刺激をやめると急速に減じ、最低 1.2 mM にまで減少している。この時の唾液分泌量は1分間に 2.5 cc であり、その K^+ 濃度は 30 mM であった。従つて顎下腺での K^+ の出納を考察すると、この1分間の刺激中の K^+ の腺から脱出は、血液中および唾液中をあわせ約 $139\ \mu\text{Eq}$ である。後に述べるように顎下腺中の K^+ の細胞内濃度は 117 mM であり、その総量を計算すると $650\ \mu\text{Eq}$ である。従つて1分間の唾液分泌によってその約20%の喪失を来すわけである。唾液分泌の後でも腺細胞中の K^+ 濃度は 95 mM 附近であつて、動脈血中の濃度の20倍以上も高い事になる。従つて分泌がやんで後の K^+ の腺中への取り込みは active transport によるものと理解される。曾つて井上⁴⁾ が犬唾液腺の O_2 消費量を測り、これが分泌停止後に上昇する事を見たがこれはこうした回復過程にエネルギーが消費される為である。刺激直後の血液からの腺への K^+ の取り込みを積算すると刺激停止後約15分にして約 $137\ \mu\text{Eq}$ になり、さきに計算した $139\ \mu\text{Eq}$ の脱出をほぼカバーするに至る。即ち約15分にして K^+ 出納の面では顎下腺の K^+ 含量が略完全に回復するのである。

刺激直後には腺組織の激しい K^+ の取り込みが見られるが、しかし刺激が長時間におよぶ唾液分泌の場合にはこの K^+ の active transport による腺への取り込みは既に分泌中に於いても起つていたのかも知れない。それはここで示した K^+ の腺よりの脱出、取り込み又は血中 K^+ 濃度の上昇や下降は、単にその Netflux のみしか見ていないから、これは Outflux と Influx の代数和であり、Influx が既に分泌中にも若干現れていたものとすれば刺激中止によって Outflux が止んだ時に急激な Netflux の増加の現れるのはよく理解できる。又唾液分泌が余りに長くなると唾液分泌が段々と減少して来て疲労現象が

9 $\mu\text{Eq/g}$ の陰イオンの過剰と考えたのはこの HCO_3^- の脱出を計算に入れていなかった為と考えるとよく説明がつく。しかしその代りに細胞内には分泌時に細胞内 pH の増加を来している筈であるが、吉村⁷⁾等の研究によれば分泌時の唾液腺より流出する静脈血 pH は低下すると言うから、これもよく理解し得ることである。これと同様に15分間の回復期に細胞内に取り込まれた陽イオンと陰イオンを計算すると、陽イオン総計 2.75 $\mu\text{Eq/g}$ の蓄積に対し陰イオンは Cl^- が 7.5 $\mu\text{Eq/g}$ の損失となり、結局約10 $\mu\text{Eq/g}$ の陰イオン不足となって来る。これもおそらくは HCO_3^- が細胞内に産生せられて回復すると考えて説明すべきものと思われる。

次に無機リン酸の動きは第7図下段に示した様に、上記の K^+ の経過と似ているが、時間的な遅れを示していることより、単に透過性の変化により動くと考えるよりも、分泌時に血中に脱出する無機リン酸は腺の有機リン酸の異化作用により生じたものが、血中に移動すると思うべきであり、又回復期の取り込みはこの有機リン酸の同化による回復過程に利用せられる結果と考えるのが妥当であろう。

2. 腺組織のイオン分析

上記に計算した腺組織からのイオン出納の成績を確かめる意味で、犬顎下腺組織の各種イオン含量を5例の犬について静止時及び chorda 刺激5分の分泌時について測定した。1匹の犬について一側の顎下腺を静止時の対照に用いた場合には他側のそれは刺激時の腺組織分析に用いた。分析に際しては予め犬について実験方法の所で述べた方法によって唾液腺摘出前30分にイヌリンを注射しておき、摘出後そのイオン濃度を測定すると共に、腺組織のイヌリン間隙の測

定も同時に行い、これより細胞外液量を求め、血清水中のイオン濃度を乗じて、細胞外液中のイオン量を算出し、これを組織イオン量より差引いて腺細胞内のイオン濃度を計算した。第2表はその結果である。既述の血液や唾液のイオン分析の結果より求めたイオン出納値から予想されるように5分間の唾液分泌直後には細胞内の K^+ は減少している。腺細胞一様に K^+ が分布していると仮定すると細胞内液の K^+ 濃度は静止時 117 mM であり、分泌時には減少して 89 mM になる。但しここに求めた成績は5分刺激後の腺組織の分析値であって、上記の出納計算は1分刺激の場合であるから、定量的には一致しないのは当然であるが、定性的にはよく一致する。又 Na^+ は静止時の細胞内にはほとんどなく、僅かに 3 mM であるが、分泌直後には増加して 34 mM になっている。これも上記の出納計算の成績と定性的に一致する。 Cl^- については殆んど変化が見られず、むしろ平均値において減少している。これは上記の出納計算の成績と定性的にも一致しない。Schneyer 等⁶⁾は20分間 Pilocarpine 刺激直後の成績として Cl^- の増加を報じている。従って測定上の誤差がこの場合に大きくこの様な平均値が得られたものと思われる。

分泌時の顎下腺組織の K^+ の減少は唾液への分泌及び血液中への脱出によるが、 Na^+ の増加は K^+ の替りに細胞内に入ったとするよりも、唾液生成の材料として細胞内に取り込まれたものと思うべきものである。静止時の腺細胞の Na^+ 濃度が低いことは刺激後の回復期に Na^+ を扱み出して、 K^+ を取り込んでいることを示すものである。

C. 考 察

Table 2.
Ionic concentration of submaxillary gland tissue and cells at rest as well as during secretion

	Water content	Sodium mEq/kg		Potassium mEq/kg		chloride mEq/kg		Inulin space
		Tissue	Cell water	Tissue	Cell water	Tissue	Cell water	
non stim.	78.1±1.4	34.9±2.8	3	65.4±1.7	117	60.8±3.6	62	0.23
chorda stim. 5 min.	76.8±0.2	51.6±4.5	34	48.3±8.7	89	58.6±4.5	60	0.23

Lundberg は分泌電位の成因として腺底部細胞膜に anion の active transport を想定し、分泌刺激によりこれが活性化して細胞内電位の過分極が現れ、それが又唾液分泌の原動力であって、唾液分泌は Cl の active transport に伴うとした。しかしこの Cl-pump 説は今回の実験に於ける腺灌流液中の Cl⁻ を SO₄²⁻ にて完全に置換しても分泌電位の発生する事実及び灌流液中の K⁺ 濃度を僅か 13mM にまで上げるだけで、唾液分泌があるにもかかわらず分泌電位が完全に消失する事実より、その根拠は薄弱となり腺細胞刺激時の分泌電位の成因を再考察する必要がある。前報で報告した如く、犬顎下腺腺底部の静止電位は -42mV (細胞内負) であり、筋及び神経細胞の静止電位と比較して低く、腺細胞内外の K⁺ 濃度差から計算される K⁺ 平衡電位:

$$E_K = \frac{RT}{F} \ln \frac{[K_o]}{[K_i]}$$

$$\therefore 61 \log \frac{4}{117} = -89 \text{ mV} \dots (1)$$

と比較しても低い。故に静止電位がイオンの平衡電位によるものとするならば、これは K⁺, Na⁺, Cl⁻ 等の平衡電位の組合せとしての Goldman の式を用いて説明するのが適当であろう。

$$E = \frac{RT}{F} \ln \frac{p[K_o] + q[Na_o] + r[Cl_i]}{p[K_i] + q[Na_i] + r[Cl_o]} \dots (2)$$

ここで p, q, r, は夫々 K⁺, Na⁺, Cl⁻ の透過度である。p=1 としてそれぞれの値に実測値を代入すると、

$$-42 = 61 \log \frac{4 + 145q + 62r}{117 + 3q + 115r}$$

となり、K⁺ に対する Na⁺, Cl⁻ の透過度 p の比率 q (P_{Na}/P_K) 及び r (P_{Cl}/P_K) の関係は、
0.615 = 3.7q + r

となる。そこで灌流液中の [K⁺] を 4-13 mM の間に変化させて実験した数例の実験成績について同様の式を導き、且この式を一般に y=qx+r であるとして、各実験について計算した y と x の関係を図示すると第 8 図の如き直線が得られ

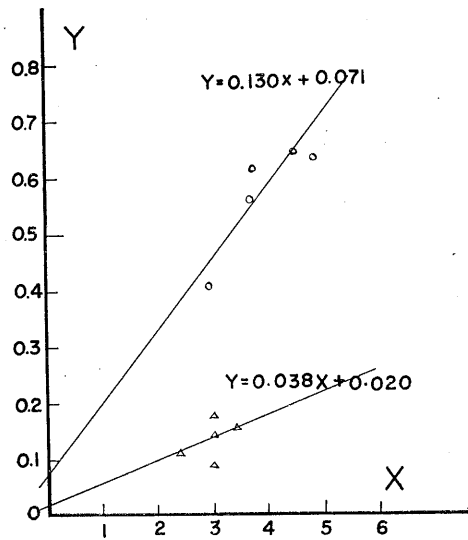


Fig. 8.

Graphical calculation of P_{Na}/P_K and P_{Cl}/P_K in the resting state as well as during the secretion of the salivary gland.

○ : resting △ : secretion

る。そこでこの直線の常数, q, r を最小自乗法にて求めた所

$$q = 0.130, \quad r = 0.071$$

を得た。

又分泌時の腺底部細胞は -57 mV にまで過分極するが、この場合についても同様の計算により最小自乗法にて q, r を求めると

$$q = 0.038, \quad r = 0.020$$

となり、Na, Cl に対する K の透過度の比率が分泌時に数倍に増大する事を示している。即ち上記の実験成績に見るように分泌時には各種のイオンの透過性が増大しているが、殊に K⁺ に対する透過性が Na⁺, Cl⁻ に比較して著明に増加することを示す。要するにこの分泌電位は細胞膜の K⁺ 透過性の増大によって静止電位が K⁺ の平衡電位に近づくと考えると容易に説明される。しかも分泌時に K⁺ の透過性が増大しているという仮定は、K⁺ が刺激時に多量に細胞外へ脱出することより見て不自然ではない。而してさきの実験成績に明らかなように、Cl を SO₄ にて置換した場合の如く刺激によって分泌電位が現れても分泌が非常に少いこともあり、

又外液 K 濃度が 13 mM 以上では分泌電位は現れないが唾液分泌は若干現れる。従って唾液分泌の機構は、この分泌電位の成因とは別箇に考えるべきものであって、第1報に述べたように腺細胞の興奮によって pinocytosis 等の分泌の為の機構が存するのであろう。ただ今回の実験より、この唾液分泌機構について考察されたことを拾って見ると、(1) K-free の灌流実験に於いて漸次に分泌が減少し十数分にて分泌が止ること、及び灌流液 K⁺ 濃度が高くて分泌が低下した時にはこれを正常血にて灌流するとその分泌量の回復は可なり早いことより、K⁺ の細胞内外の濃度差、殊に細胞内濃度の高いことが分泌の必要条件であることが推察される。(2)分泌時には腺より無機リン酸が脱出し、刺激後取り込みがみられたことより、分泌とその後の回復に際しては同時に高エネルギーリン化合物の分解と合成過程が起り、おそらくこの分解によって発生するエネルギーが使用されて分泌が起り、刺激後に合成が起るものと思わたる。このような高エネルギーリン化合物の酵素反応には K⁺ がその刺激的役割を果していることはよく知られたことである。従って唾液腺の分泌時には上記(1)の事実より細胞内外の K⁺ の大きな濃度差が必要であると思うべきであらう。而してここに利用せられたリン酸根の高エネルギーはおそらく pinocytosis の様な分泌の為の過程に利用されるのであって、このエネルギーの遊離と膜の K⁺ 透過性の増加が刺激によってしばしば同時に起る為に一見して分泌電圧と分泌機構が不可分の関係にあるかに見えただけのことであって、実際はこの両者は容易に分離して現れ得ることは上記の諸実験の成績に明らかである。

IV. 総 括

唾液分泌に関して、犬顎下腺の灌流を行い電気生理学的にそのイオン組成の影響を検討し、さらに腺組織のイオン出納についても調べ、殊に K⁺ の出納と分泌電位の関係につき考究し次の成績を得た、

1. 灌流液中の Na⁺ 又は Cl⁻ を、Li⁺ 又は NO₃⁻ にて完全に置換すると、分泌電位および唾液分泌は消失するが、置換を一部に止めるときは、分泌電位も唾液分泌も認められた。しかし Cl⁻ を SO₄²⁻ にて完全に置換すると分泌電位は十数分後にも認められたが、唾液分泌は僅少になった。

2. 灌流液中の K⁺ 濃度を高めると腺細胞内静止電位は減少する。しかし唾液分泌は少量ながらも認められる。分泌電位は K⁺ 濃度 13 mM 以上では完全に消失した。この場合の灌流を正常血液にもどすと、分泌電位及び分泌量の正常値までの回復は容易であった。又 K⁺-free の灌流液では分泌電位は在るが、唾液分泌は漸次減少して十数分後には分泌電位も唾液分泌も消失した。この場合に灌流液を正常血液にかえても分泌の回復は容易におこって来なかった。

3. 以上より分泌電位は唾液分泌に多くは相伴って消長するが、両者は必ずしも同時に現れるとは限らない。従って Lundberg の考えた様に分泌電位発現の原因が分泌を生起するとの学説は賛成できぬ。又唾液の発生には唾液腺細胞内の K 濃度が或程度高くても然も細胞内外に一定の濃度勾配を有することが必要であると思われる。

4. 唾液分泌時の腺組織の各種イオンについて出納を計算すると、K⁺ は分泌時に唾液側及び血液側に多量に脱出し、腺組織の K⁺ 濃度は減少するが、刺激後血液からの激しい K⁺ の取り込みが見られ、約15分後には回復して出納は零になった、Na⁺ は唾液分泌時に多量に唾液中に脱出するが、しかし血液側よりはこれ以上に多量の Na⁺ が取り込まれて腺組織に蓄積する。しかしこの細胞内に蓄積せる Na⁺ は分泌がやんだ後には active transport によって血液中に扱み出され、K⁺ が逆に血液より取り込まれて約15分後にはほぼ正常にかえる。

5. 無機リン酸は K⁺ の出納と似た経過をとるが、その変化は一定の時間的な遅れを持っている。即ち神経刺激により唾液腺より無機リン酸の血液への脱出が起るが、これは刺激後約30

秒持続し、続いて腺への取り込みが見られ、約15分にて出納は零になって回復する。

6. 組織のイオン分析値より計算すると、腺細胞は分泌時に $[K^+]$ が減少し、 $[Na^+]$ が増加していることが明らかになり、さきのイオン出納計算がほぼ正しいことを確認した。

7. この場合同時にイヌリン間隙を求めて細胞外液量を求め、これより細胞内の各種イオン濃度を算出し、仮に測定した静止時並に分泌時の電位が Goldman の平衡式にあてはまると仮定して、各種イオンの膜透過度 P を算出すると、これは静止時に較べて分泌時には変化し、 P_{Na^+}/P_{K^+} 及び P_{Cl^-}/P_{K^+} は分泌時には静止時の数分の一となった。このことは分泌時に現れる分泌電圧は分泌刺激により K^+ の膜透過度が上昇すると考えれば、Goldman 式にて求められる平衡電位として理解出来ることを示す。又事実上記 (4) に述べた様に分泌興奮に際しては分泌細胞膜の K^+ 透過性の増加が認められている。故に腺底部細胞の分泌時の過分極の成因は細胞膜の K^+ 透過性増大による K^+ -平衡電位への近づきであると推論せられ、唾液分泌機構とは直接の関係はなく、ただ腺細胞の興奮による分泌機転の発現としばしば同時に現れる現象であると結論せられる。

稿終るをに臨み、終始御懇切なる御指導並びに御校閲を頂いた恩師吉村寿人教授に厚く感謝致します。同時に犬顎下腺灌流法を手を取って御教授頂いた井上太郎助教授及び技術的な援助を頂いた山本豊学兄に感謝致します。

又この研究は文部省科学研究費 (吉村寿人教授) によるものであることを附記し感謝致します。

文 献

- 1) Lundberg, A. (1958) *Physiological Review* **38**, 21
Lundberg, A. (1955) *Acta Physiol. Scandinav.* **35**, 1
Lundberg, A. (1957) *Acta Physiol. Scandinav.* **40**, 21
Lundberg, A. (1957) *Acta Physiol. Scandinav.* **40**, 35
Lundberg, A. (1957) *Acta Physiol. Scandinav.* **40**, 101
- 2) Burgen, A. S. V. (1956) *J. Physiol.* **132**, 20
- 3) 今井雄介 (1965) 犬顎下腺分泌に関する研究 第1報 *日本生理誌* **27**, 304
- 4) 井上太郎 (1958) 唾液腺灌流法による唾液分泌機転に関する研究 (第1報) *日本生理誌* **20**, 430
井上太郎 (1958) 唾液腺灌流法による唾液分泌機転に関する研究 (第2報) *日本生理誌* **20**, 443
井上太郎 (1958) 唾液腺灌流法による唾液分泌機転に関する研究 (第3報) *日本生理誌* **20**, 734
- 5) 吉村寿人・井上太郎・藤本富次郎・松本 敏 (1962) 犬唾液腺灌流法の改良 *日本生理誌* **24**, 111
- 6) Schneyer, L. H. and C. A. Schneyer (1960) *Am. J. Physiol.* **199**, 649
Schneyer, L. H. and C. A. Schneyer (1962) *Am. J. Physiol.* **203**, 567
Schneyer, L. H. and C. A. Schneyer (1963) *Am. J. Physiol.* **205**, 1058
- 7) 岩崎隼太 (1957) 唾液腺のアルカリ分泌に対する炭酸脱水酵素の意義 第1報 *日本生理誌* **19**, 143
岩崎隼太 (1957) 唾液腺のアルカリ分泌に対する炭酸脱水酵素の意義 第2報 *日本生理誌* **19**, 1239
Yoshimura, H., H. Iwasaki, T. Nisikawa and S. Matsumoto (1959) Role of carbonic anhydrase in the bicarbonate excretion from salivary glands and mechanism of ionic excretion. *Jap. J. Physiol.* **9**, 106

運動時の呼吸促進の機転に関する研究 612. 2-063 : 612. 766/7

蜂須加 弘 久 *

Studies on the mechanism of hyperventilation in muscular exercise

HACHISUKA-Hirohisa *

By a continuous recording of dog's blood pH change at the carotid artery with Morimoto-Yoshimura's glass electrode, it was found that the arterial blood pH tends to increase immediately after initiation of muscular exercise, probably due to the acceleration of respiration.

Analysing the factors which cause the respiratory acceleration in muscular exercise, it was experimentally demonstrated that there are two factors, i. e. neural and humoral. The humoral factor seems to be due to the accumulation of acid products in muscular exercise.

As to the mechanism how the humoral factor accelerates respiration, some mechanism of respiratory acceleration which displays before the carotid sinus should exist, since the glass electrode inserted in the common carotid artery showed an increase of blood pH immediately after the start of muscular exercise in the author's experiment.

In an attempt to clarify which chemoreceptor may response to the acid product to accelerate the respiration, pH glass electrode was inserted in one of the following three places, i. e. the pulmonal artery, pulmonal vein and carotid artery, and HCl solution was infused in the right caval vein. By comparing the time of respiratory acceleration due to chemoreflex and that of the pH decrease presented by the glass electrode, the site of chemoreception which accelerate the respiration was estimated. In some case, CO₂ inhalation was used in place of HCl infusion.

Experimental results reveal that the respiratory acceleration appeared a few seconds after the decrease of pH detected by the electrode of the pulmonal artery, while a little earlier or almost at the same time with the pH decrease at the pulmonal vein. The pH decrease at the common carotid artery appeared far later than the initiation of respiratory acceleration. Consequently, it is presumed that the chemoreceptor which initiates the acceleration of respiration in muscular exercise is located in the region extending through the pulmonal capillary and the pulmonal vein. On the other hand, the respiratory acceleration appeared rather later than the pH decrease at the common carotid artery, in case of the vagotomied dog. Thus, it was verified that the vagal nerve mediates the chemoreflex from the pulmonal circulation.

(J. Physiol. Soc. Japan (1965) 27, 325-334)

I. 緒 論

近時、吉村教授ら¹⁾の研究によつて循環血液用 pH ガラス電極の実用化が進められているが、更に最近別報²⁾の如き小型の埋込式 pH ガラス電極が考案され、運動時の循環血液 pH, Pco₂ の連続的な測定が可能となった。

運動時の呼吸調節の mechanism については、従来から色々論議されているところでは

あるが、未だに充分な結論を得るには至っていない。現在では一般的に運動時の呼吸促進の mechanism については二つの因子が考えられている。その一つは神経性の要因であり、他の一つは体液性の要因である³⁾。特に体液性の要因によって起る運動時の過呼吸の調節機構については充分な説明がなされていない⁴⁾。即ち Armstrong⁵⁾ や Riley ら⁶⁾ は静脈血循環領域に chemoreceptor の存在していることを推定しているに対して、他の研究者達³⁾⁷⁾はこの説に対して否定的な意見を述べている。

しかしながら、これらの論拠のいずれもは、その実験成績を spot sampling technique によ

* 京都府立医科大学第1生理学教室(吉村寿人教授)
1st Dept. of Physiol., Kyoto Prefectural Univ.
of Med.

〔昭和40年3月11日受付〕

って導いたものであり、循環している血液そのものの成績によって得たものではない。そこで著者は前述した埋込式 pH ガラス電極を用いて循環している血液の pH を連続的に実測して、体液性の呼吸調節機構について明らかにしようとした。そのためにまず第 1 に運動している犬の頸動脈に pH ガラス電極を埋め込み、頸動脈血 pH の連続的な記録をとろうとした。第 2 には、ここに得られた運動時の呼吸の変化が神経性的のものであるか、又は体液性的のものであるかを明らかにする為に、犬の坐骨神経を切断して神経性の反射を除き、その神経末梢端を電気的に刺激して足の運動を行わせ、その場合に運動する足の筋よりかえってきた静脈血性状の変化によって、果して呼吸の変化が起るかどうかに

ついて検討した。次に第 3 として、このような体液性的の変化がいずこの chemoreceptor を介して呼吸の変化を起すかを明らかにするために、pH ガラス電極を肺循環領域の各部位や頸動脈に挿入して、更に呼吸変化の記録をも同時記録できるように工夫し、その体液性変化に対する呼吸変化の時間的關係を追求しようとした。第 4 には、上述の実験成績を更に確めるために炭酸ガスを犬に吸入せしめて、血液の pH 変化と呼吸変化の關係を追求した。

II. 実験方法

実験は、いずれも 8-15 kg の成熟せる雑犬を用いた。以下実験に用いたガラス電極、呼吸促進の検出方法、ガス代謝測定法等の実験手技について述べ、上記 4 つの実験の仕方については各実験成績を述べる所で記述することにする。

a) ガラス電極

使用した pH ガラス電極 (Fig. 1) は外径約 8 mm で、長さ 30 mm の大きさのもので、比較電極 (Ag-AgCl 電極) は pH ガラス電極の外壁にしっかりと固定されており、またその電極の部分は silicon-rubber ring で被いその内部を 3 M の KCl で満たして血液サンプルと接触するようにした。この電極を頸動脈等に挿入する場合には、T 字型の cannula の中央の部分より挿し込んで固定させ、cannula の左右の両端は動脈に挿入して結紮して連結した。また肺循環系の血管に挿入する場合には、cannula より取りはずした棒状の電極のままを肺上葉に分布する血管枝を切断してここから挿入して、その電極の先端部が血流に接するようにした。この場合に cannula を使用しなかったのは、これを肺循環領域に挿入するには技術的に可成りの困難が伴うのと、これによって循環している血液のスピードが阻害されることを恐れたからである。pH ガラス電極の calibration は電極を体内に挿入する直前と、実験の終了した直後に行なった。その他の pH ガラス電極の特性について

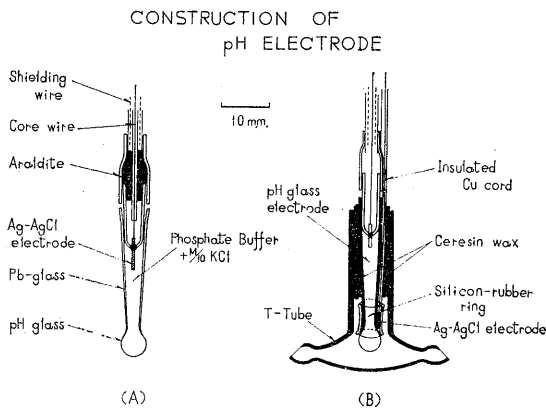


Fig. 1.

The construction of an implantable pH glass electrode.

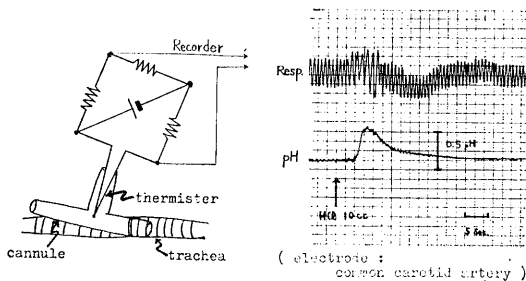


Fig. 2.

The change of respiration was recorded by a thermister which was inserted into the trachea. Both respiration and blood pH were continuously recorded with a polygraph (GME) as shown at the right hand side of the figure.

は、別に教室の森本の報告²⁾に示されているので省略する。

b) 呼吸促進の検出方法

呼吸変化の記録に対しては、Fig. 2 に示すように thermister を気管 cannula の側枝より挿入し、cannula 先端を気管に挿入した場合に吸息時には他端より新鮮な空気が吸入されて thermister が冷却せられ呼息時には肺胞気が呼出されて thermister 温が上昇する。従ってこの温度の上下を thermister の電流の変化にかえて、これを記録する事により呼吸の頻度乃至は深さの定性的な変化を知る示標とした。血液 pH の変化と呼吸の変化の記録は polygraph (GME) によつて同時に記録した。

c) ガス代謝測定法

犬のガス代謝の測定はまず気管切開を行つて、ここに気管 cannula を挿入し、その先端に呼吸弁を取り付けその呼気を小型のダグラスバッグ (10-20 l) に集め、労研式分析器によつて常法によつて酸素消費量を算出した。また呼吸数を上記の thermister 法にて測定し、これより 1 分間換気量や 1 回の呼吸量をも計算した。

Ⅲ. 結果並びに考按

1) 運動時の血液 pH の変化

運動時の動脈血 pH の変化は、pH ガラス電極を総頸動脈に挿入して測定した。実験の最初、ガラス電極を動物の頸動脈に挿入するためには、ごく少量の Thiopental sodium を注射して軽く全身麻酔し、更に挿入部位には Xylocain による局所麻酔をして手術を開始した。電極を挿入すると電極血液の接触面に fibrin が附着したり、或いは血液の凝固を起す心配があるので、電極を挿入する前に頸部手術による出血部

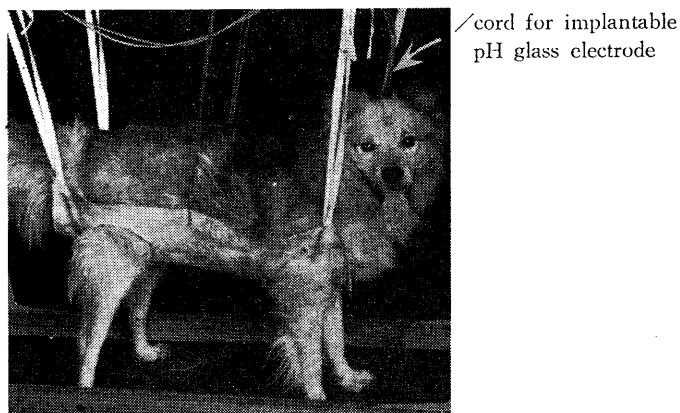


Fig. 3.

A demonstration of a exercising dog. The recording of pH was performed with the glass electrode implanted in the common carotid artery and the set of a pH meter and recorder.

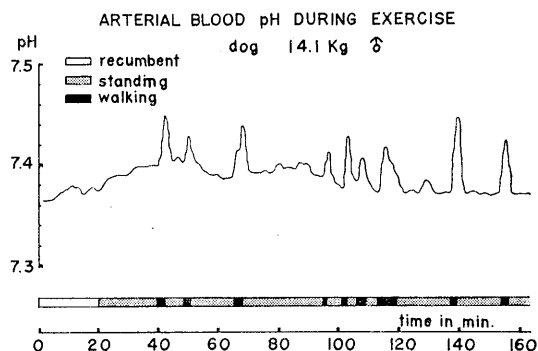


Fig. 4.

The arterial blood pH continuously recorded with exercising dog by means of a glass electrode implanted in a common carotid artery.

位の結紮が終ると直ちに heparin を体重当り 1000-1500 U 注射して、而るのちに埋込型のガラス電極を総頸動脈に挿し込みその両端を血管に連結した。電極はその後、筋肉や表皮と縫合糸でもってしっかりとくりつけ、運動によつて外れたり、損傷しないように留意した。かくて犬は 15-30 分で麻酔より覚醒するから、これを Fig. 3 の如き立体固定台に軽く固定し、この固定台の四方に車をつけて犬を固定台と共に歩かせた。pH meter はこの固定台の後部に設置しここに犬の頸動脈より導いた導線を連結した。そしてこの固定台を犬につけたままで動かして犬を歩かせたり、走らせたり、静止せしめ

たりした。この実験は3例の犬について行なった。

以上の方法によって犬を運動させた時の動脈血 pH の変化を連続的に記録した結果は Fig. 4 に示す如くである。作業負荷は軽、中労作と思われる歩行乃至疾走で30秒から5分間続けた。図に示している様に動脈血 pH は運動開始と共に 0.02-0.05 pH アルカリ性に傾いている。この事実は、運動時の過呼吸が運動開始と共に動脈血 pH を直ちに低下せしめることなく、アル

カリ性にさせている事を示している。ということは動脈血の pH は筋肉運動をすることによって単純に下るのではなく、運動をすることによってまず過呼吸が現われ、これによって pH がアルカリ性になるものと考えられる。そこで、この運動開始と殆ど同時にあらわれる呼吸刺激とはいかなるものであるかということが疑問になってくる。これについては前述したように神経性の要因と体液性の要因が考えられる。この点を明らかにせんとして行なったのが次の実験

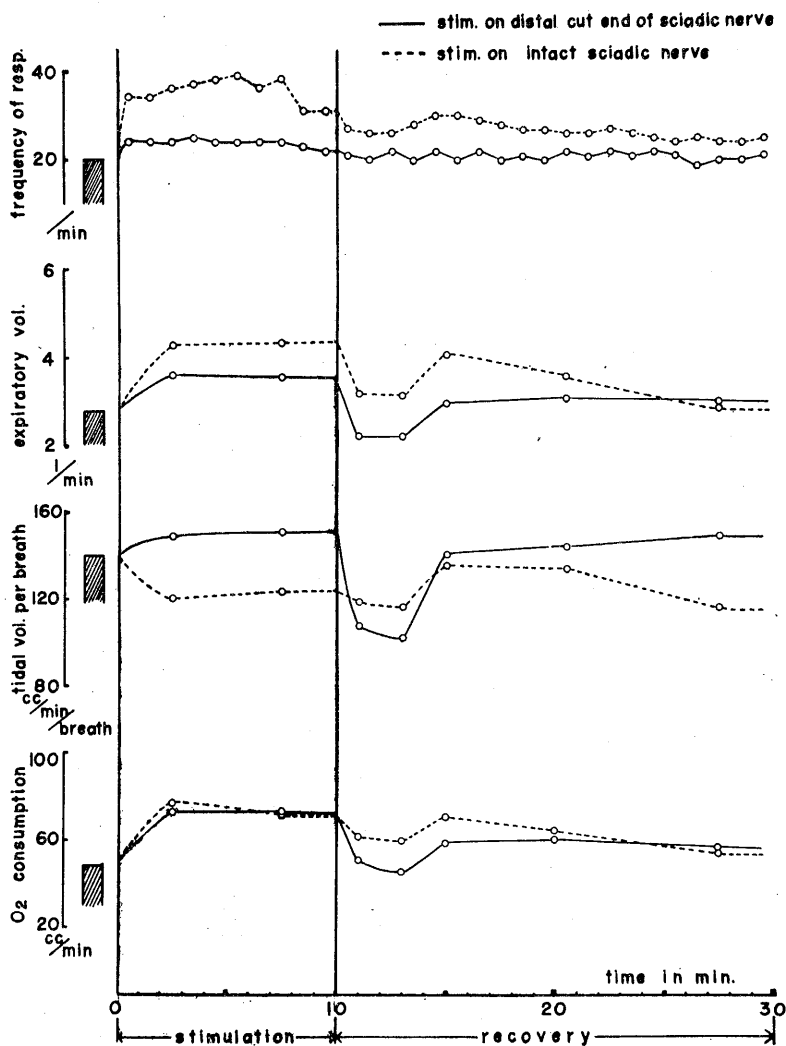


Fig. 5.

Analysis of humoral factor and nerve factor which initiate the respiratory acceleration in muscular exercise.

である。

2) 運動性過呼吸に対する神経性要因と体液性要因の分析

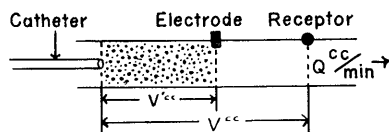
運動時の呼吸の刺激動機を探るために、神経性の要因と体液性の要因が実際問題として呼吸にどのような影響を及ぼしているかを確かめるために、犬の両脚の坐骨神経を露出して3 voltの電気刺激(Frequency 10-30 cps, Duration 1.0 msec)を10分間加え、その神経がintactの場合(神経性)と、その神経を切断してその末梢端を刺激して筋肉運動を行なわせ、筋収縮による代謝産物を血液にのせて循環せしめた場合(体液性)の両者の呼吸数、呼吸量、酸素消費量等を測定し、刺激後のこれからの反応を比較して、この二つの要因がいかなる程度に運動性の呼吸促進に影響するかを明らかにせんとした。

その結果は Fig. 5 に示す如くである。図の点線は、坐骨神経を切断しないでこれを刺激した場合の成績であり、実線は神経を切断してその末梢端を刺激した場合の成績である。この場合には中枢神経への末梢よりの反射経路が切断せられているから、単に体液性の影響しか現われない筈であり、神経が切断されていない時には、神経性の影響と体液性の影響が加って現われているから、この両者の差は神経反射の影響の現われと見ることが出来る。図でわかるように坐骨神経を切断せずに電気刺激した場合(神経性)は、刺激開始と殆ど同時に呼吸数、呼吸量共に急激な上昇を示しているが、坐骨神経を切断してその末梢端を刺激した場合(体液性)には呼吸数の変化は殆ど見られない。又呼吸量については程度は低いけれども確かに増加の傾向を示している。これを更に一呼吸当りの呼吸量について検討してみると、体液性の場合には呼吸の深さの増大が著明であるが、神経性の場合には求心刺激による呼吸刺激により呼吸数の増加が著明で、その為に呼吸量は却って減少している。このことは要するに運動時には筋の知覚神経から来る神経反射がなくても、体液性に筋運動による代謝産物等の影響によって、呼吸促進の機転の働くことを立証したのと言える、しかも

神経反射による呼吸の促進は主として呼吸数の増加を来たすのに反し、体液性の呼吸促進は呼吸の深さを増す方向に働いている。従来の学説では筋運動による代謝産物は、carotid body なり aortic body を刺激することにより呼吸中枢に働き呼吸促進が現われるといわれていたのであるが、しかし Fig. 4 でもわかるように運動時の頸動脈 pH は運動開始と共に上昇し、呼吸の変化が非常に早く現われているのであるから、運動による代謝産物が carotid body に働くより以前に血液性状の変化を感受する receptor があると考えざるを得ないのである。この点に関し Armstrong⁵⁾ や Riley⁶⁾ は静脈系に呼吸促進のための receptor が存在していると述べている。そこでこの点を追求するために、次の一連の実験を行なった。即ち、この運動時の呼吸促進の体液性の刺激動機は、血液 pH の低下又は血液 Pco₂ の上昇にあると考えられるから、この血液 pH の変化に対してまず最初に働くところの chemoreceptor を探ろうとしたのである。

3) 体液性の呼吸刺激に関する実験

この実験の場合には、pH ガラス電極をそれ



- V cc: Volume between catheter and receptor
- V' cc: Volume between catheter and electrode
- $Q \frac{cc}{min}$: Flow rate of blood
- r min: Response time
- X min: Time until the onset of pH change after acid infusion
- Y min: Time until the onset of hyper-ventilation after acid infusion

$$\begin{aligned}
 X &= \frac{V'}{Q} \dots (1) \\
 Y &= \frac{V}{Q} + r \dots (2) \\
 \therefore Y &= \frac{V}{V'} X + r
 \end{aligned}
 \quad \left. \begin{array}{l} \text{from Eq. (2)} \\ Y = \frac{V}{V'} X + r \end{array} \right\}$$

Fig. 6.

Schematic presentation of experimental method for detecting the chemoreceptor for respiratory acceleration.

ぞれ頸動脈, 肺動脈, 肺静脈に挿入した. 肺動脈への電極挿入は右第3, 第4肋間を切開して, 電極挿入が終るまでは人工呼吸を施した. 肺動脈, 肺静脈への電極の挿入は前述した棒状の電極を右肺上葉へ来ている血管枝を切断して行ない, 電極挿入後は細心の注意にて縫合し, その後犬が自然的に呼吸するまで待った. また一方大腿静脈を露出して catheter を股間部より挿し込み, その先端が丁度右心房直前にくるようにして呼吸刺激として $\frac{N}{10}$ HCl を 2-3秒以

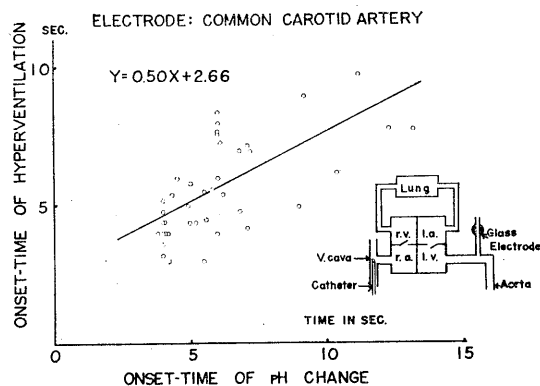


Fig. 7.

The relation between the onset-time of pH change and that of hyperventilation after infusion of 0.1N HCl through a catheter at right caval vein. (I)
The glass electrode was inserted at the common carotid artery.

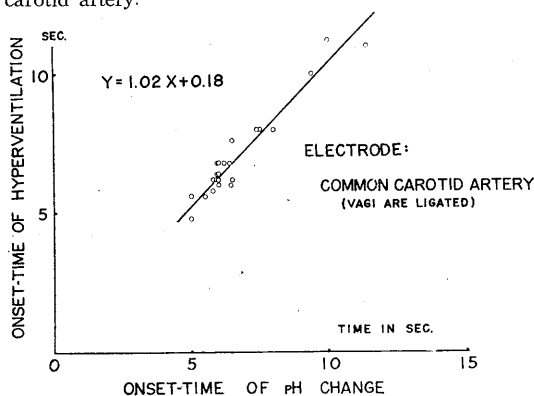


Fig. 8.

The relation between the onset-time of pH change and that of hyperventilation after infusion of 0.1N HCl through a catheter at right caval vein. (II)
The vagal nerves had been cut prior to the experiment.

内に注入した. また酸注入を行なうに先立って食塩水 10 cc を同じスピードで注入し, その注入によって過呼吸を起さないということを確認しておいた後に実験を開始した.

なお, 実験成績に入る前にこの実験方法の計画を立てるに到った考え方を説明しておく. 今 Fig. 6 に示すように仮りに右心房直前から血管内に埋め込んだ電極までの血管床を tube のようにあらわし, catheter の先端から receptor までの血液量を V cc, catheter の先端から電極までの血液量を V' cc とし, V と V' は一般的には等しからざるものとする. 今仮りに 1 分間の血流量を Q cc/min とすると catheter から注入せられた酸が電極に達するまでの時間 X は V'/Q (第 1 式), Y は receptor に達するまでの時間 V/Q に, receptor に酸が到達し呼吸変化が発現するまでの反応に要する時間 (r) を加えたものになる (第 2 式). 今変数である血流量を消去するために第 2 式を変形して $Y = \frac{V}{V'} \times \frac{V'}{Q} + r$ とし, これに第 1 式であ

る $X = \frac{V'}{Q}$ を代入すると $Y = \frac{V}{V'} X + r$ なる関係が得られる. 従って酸注入後 pH 変化発現までの時間 X 及び酸注入後呼吸変化発現までの時間 Y を求めれば, ガラス電極と receptor の位置の相対的な関係が理論的に求められることになる. 即ち receptor が埋め込んだ電極の附近にあれば $\frac{V}{V'} = 1$ となり, 実際に測定した場合には pH 変化と呼吸変化は略同時にあらわれる筈である. $\frac{V}{V'}$ が 1 より小さい場合には receptor が電極の埋込みの部位より上流に, 1 より大きい時には電極の埋込み部位より下流に receptor があると考えられるのである. 以上のような理論的な仮説のもとに電極を頸動脈或いは肺動脈に埋込んだ訳である. この実験は 11-59 例程繰返した.

さて実験結果の概要は Fig. 7 に示されてい

る。図に示したものは pH ガラス電極を犬の総頸動脈に挿入した場合であって、横軸はHCl注入後に pH 電極に現われた pH 低下の反応発現までの時間であり、縦軸は酸注入後呼吸促進の反応が現われるに至るまでの時間である。この測定値についての回帰直線を求めてみると、 $Y=0.50 X+2.66$ となる。この回帰方程式からみると回帰係数が 0.50 であるから chemoreceptor は明らかに電極埋込部位と catheter 先端部との領域の中間部にあるものと思われる。更に電極を同じ総頸動脈の位置に固定しておいて、両側の迷走神経を結紮して同様の実験を繰返してみると、Fig. 8 のような結果が得られた。即ちその回帰方程式は $Y=1.02 X+0.18$ となり、その係数は 1 よりも僅かではあるが大となるのである。この事は両側の迷走神経を結紮してしまうと aortic body 乃至それ以前の chemoreflex は消失して、酸が carotid body 或いはそれより下流部分に至って初めて過呼吸を起すことを示している。つまりこの体液性の呼吸反射は迷走神経を介する反射と考えられる。Fig. 9 では pH ガラス電極を肺静脈に挿入した場合の成績である。測定した成績より回帰方程式を求めてみると $Y=0.81 X+0.57$ となり、この方程式からみるとまず最初の chemoreflex は電極を埋込

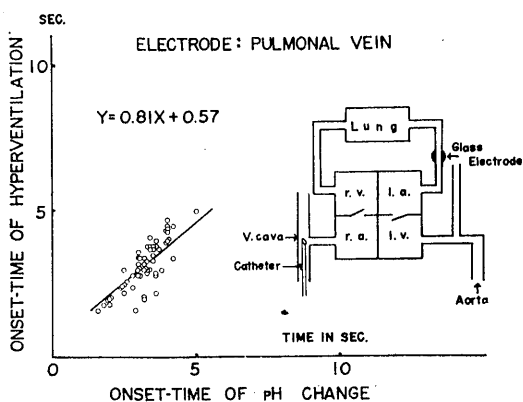


Fig. 9.

The relation between the onset-time of pH change and that of hyperventilation after infusion of 0.1 N HCl through a catheter at right caval vein. (III) The glass electrode was inserted at the pulmonal vein.

んだ部分のごく近くの上流域に存在していることを推定せしめる。

以上の結果を更に明瞭にするために、電極を前述した各部位の外に肺動脈にも挿入して、呼吸変化の発現と pH 変化発現の時間差をとってそれぞれの測定値をプロットしてみた (Fig. 10)。図の縦軸は呼吸変化の発現の時間と pH 変化の発現時間との差をあらわし、時間差 0 というのは呼吸変化と pH 変化が同時に起った場合で、軸の上の方の部分即ちプラスの方向は呼吸変化が pH 変化より遅い場合、マイナスの方向は呼吸変化が pH 変化より早い場合を示している。図に示しているように pH ガラス電極を肺動脈に挿入した時は、その呼吸と pH の変化発現の時間差の平均はプラスの方向即ち pH 変化より

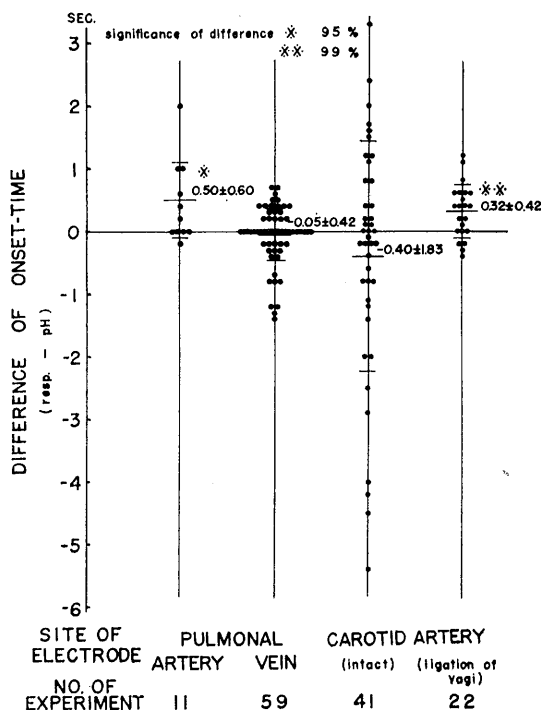


Fig. 10.

The difference of onset-time after acid infusion between pH change and respiratory acceleration. The site of pH glass electrode is indicated along four vertical lines in the figure.

The positive sign indicates that the respiratory acceleration appears after the initiation of pH decrease at the electrode. The data on the fourth line are those of experiments with vagotomied dog.

も呼吸変化の方が遅れて起っているのである。マイナス即ち呼吸変化の方が pH 変化よりも先に起っている場合は、両側の迷走神経はそのままで電極を肺静脈或いは総頸動脈に挿入した場合である。しかもこの場合、肺静脈に埋込んだ例ではその時間差は、 $-0.05 \pm 0.42 \text{ sec}$ であって誤差範囲内にて 0 に近いと言える。故に chemoreceptor はこの肺動脈域か又はそれより少し前の所にあると思われる。恐らく小循環の毛細管流域より肺静脈にかけて存在すると考ええるべきではあるまいか。これに対し両側の迷走神経を結紮又は切断して電極を総頸動脈に埋

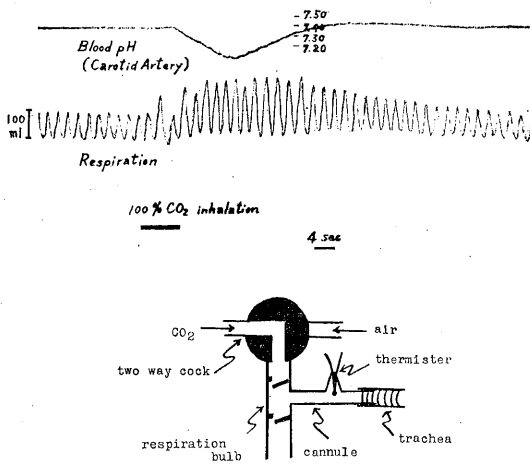


Fig. 11.

Experiment on the effect of CO₂ inhalation upon blood pH and respiration.

In this case the pH glass electrode was implanted in common carotid artery.

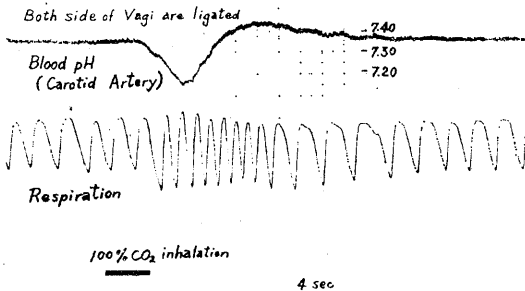


Fig. 12.

Experiment on the effect of CO₂ inhalation after cutting the vagal nerves at the both side. In this case the pH glass electrode was implanted in the common carotid artery.

め込んだ場合には、呼吸変化は pH 変化より遅れて起っているのであって、総頸動脈の電極埋込部位乃至はその下流にある receptor が働いているものと考えられる。つまりこの場合には、carotid body と呼吸中枢がその chemoreceptor であることを示唆しているのである。この所見を更に確めるために次の第 4 の実験を行った。

4) 炭酸ガス吸入実験

これまでの実験では、犬の総頸動脈や肺動静脈に pH ガラス電極を埋込んで体液性の呼吸促進の動機を探るために、 $\frac{N}{10}$ HCl を用いてその

酸注入によって起る pH 変化と呼吸変化の発現の時間的な関係から、chemoreceptor の位置に関して論じてきた。しかし呼吸促進反射の刺激は血液 pH よりも Pco₂ 上昇の方が生理的には激しい反応を起すことが知られているので、その刺激因子として Pco₂ の上昇を用いて HCl 注入による実験成績を確めんと試みた。

さてこの実験におけるガラス電極の埋込み方法は実験 3 と全く同様である。また炭酸ガスの吸入法としては、実験を始める前に予め気管切開を行なって気管 cannula を挿入し、Fig. 11 に示したようにその側枝から thermister を挿入して呼吸変化が記録できるようにし、又一方気管 cannula の先端部には呼吸弁を取り付け、更にその吸気弁のところに二方活栓をつけ、コックを切替えることによつて新鮮な空気でも炭酸ガスでも自由に吸入できるように工夫した。また炭酸ガスの濃度は過呼吸を起す時間と、ガラス電極を埋込んだ部位における pH 変化発現の時間的關係をみるのが目的であったので 100% のものを使用した。測定例数は 20-40 例である。

以上の方法によつて pH ガラス電極を総頸動脈に埋込んで、pH 変化と呼吸変化を描記せしめたのが Fig. 11 である。図の上段に示されているのが血液 pH の変化で、下段が呼吸の変化である。この成績で明瞭なことは、炭酸ガス吸入後 2 呼吸目あたり (約 3.5 秒) で呼吸促進が起っており、総頸動脈での血液 pH 変化は切替え後 6 秒あたりで起っている事である。即ち呼吸

変化の方が pH 変化よりも明らかに早いのである。また両側の迷走神経を結紮 (又は切断) しておいて電極を総頸動脈に挿入し、同様の実験を行なった場合には Fig. 12 に示す如くである。即ち呼吸の変化は血液 pH の変化に続いてすぐに起っていることが判る。即ち carotid body 以前の chemoreflex は両側の迷走神経を結紮することによって消失し、電極を埋込んだ部位乃至はそれより下流で体液性の呼吸反射が行なわれているものと考えられる。Fig. 13 に示しているのは pH ガラス電極を肺静脈に挿入した場合である。この成績では pH 変化と呼吸変化とは炭酸ガスを吸入してから後、殆ど同時期乃至若干呼吸の方が早く変化していることがわかる。

以上要するに炭酸ガス吸入実験においても、実験 3 において得た成績と全く同様で肺静脈域及びそれに至るまでの領域に chemoreceptor があって、N. Vagus を介して P_{CO_2} の変化に応じて呼吸促進の反射をきたすことを確かめたのである。

IV. 総 括

吉村・森本考案の小型埋込式 pH ガラス電極を用いて、運動時の犬の頸動脈血 pH の変化を連続的に記録することに成功し、更に運動時起る体液性の呼吸の刺激動機を追求するために、一連の実験を行ない次の如き結果を得た。

1) 犬の運動時の頸動脈血 pH は、運動開始と共に単純に酸性化するのではなく、むしろアルカリ性に傾くことを発見した。これは運動による呼吸促進の影響と思われる。

2) 呼吸促進の刺激動機として考えられる体液性の因子と神経の因子にわけて、運動時の呼吸促進に対する影響を解析したところ、運動する筋よりの神経性因子は主として呼吸数の促進をきたすに対し、運動時の代謝産物による体液性の因子は主として呼吸の深さに影響することを知った。

3) この運動時の呼吸促進の体液性因子は、主として血液 pH の低下であると考えられるの

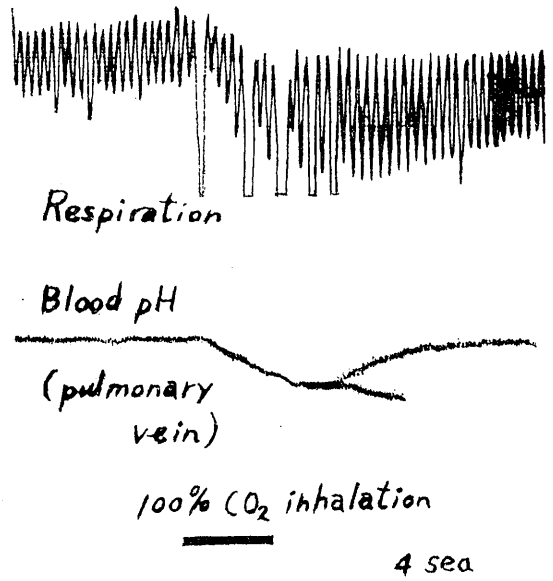


Fig. 13.

Experiment on the effect of CO_2 inhalation upon blood pH and respiration.

In this case the pH glass electrode was implanted in the pulmonal vein.

で、その pH 変化を感受して呼吸反射をきたす chemoreceptor の位置をさぐる為に pH ガラス電極を総頸動脈又は肺動脈、肺静脈に挿入し、一方股静脈より右心房直前まで挿入した catheter より $\frac{N}{10}$ -HCl を注入して、この酸注入後より電極埋込部位における pH 変化発現までの時間と呼吸変化発現の時間の差を見た所、電極総頸動脈に埋込んだ場合には呼吸変化が pH 変化より明らかに早くあらわれたが、肺静脈に pH 電極を挿入した時には、呼吸変化のあらわれる時間と pH 変化のあらわれる時間は略同時か乃至は少し呼吸の変化が早くあらわれた。これに対し肺動脈に電極をおいた時には、呼吸変化は pH 変化より遅れていた。従って血液 pH 低下による chemoreflex の発現は、肺動脈より下流で肺静脈にまたがる領域に存するものと判断せられる。

4) 両側の迷走神経を総頸動脈のレベルで結紮または切断してみると、carotid body 以前の chemoreflex はすべて消失して、過呼吸は総頸

動脈に埋込んだ電極における pH 変化より遅れて起った。つまりこの場合には carotid body 又は呼吸中枢がその chemoreceptor として働いていると思われる。

5) 呼吸刺激剤としての HCl のかわりに、炭酸ガスの吸入をせしめた時も, 3), 4) で述べた成績と全く合致した。

6) 以上の成績から筋運動時の体液性の呼吸促進をきたす chemoreflex が運動による代謝産物蓄積の為の血液 pH の低下を感じて起るものとすれば, その receptor は従来から言われている carotid body 或いは aortic body の他に肺循環流域, 特にそれは肺毛細管系乃至細静脈附近にあり, N. Vagus を介して反謝をきたすものと推定され, Armstrong らの言っているように肺動脈領域にその receptor があることを支持する成績は得られなかった。

最後に稿を終るに臨み, 絶えず御懇切なる御指導と御校閲を賜った恩師吉村寿人教授に深く感謝の意を捧げます。また本実験を行なうに当って種々の御指導と御援助を戴いた森本武利氏並びに教員室諸氏に深く謝意をあらわします。なお, 本実験のため測定器具等について色々とお便をおはからい戴いた島津製作所, 堀場製作所に厚く御礼申し上げます。

尚, 本研究の費用の一部は, 文部省試験研究費(吉村寿人教授)により支払われたことを附記し, 謝意を表します。

文 献

- 1) 吉村寿人・藤本 守(1959)循環血液用ガラス電極による pH 測定とその応用 日新医学 **46**, 33
- 2) 森本武利(1965)循環血 pH 及び Pco₂ の連続測定及び循環血 pH のテレメタリング 日本生理誌 **27**, 27
- 3) Dejours, P. (1964) Control of respiration in muscular exercise. In : Handbook of Physiology. III. Respiration | 631, edited by Wallace O. Fenn and Hermann Rahn. American Physiological Society.
- 4) Dejours, P. (1962) Chemoreflexes in breathing. Physiological Review. **42**, 335
- 5) Armstrong, B. W., H. H. Hurt, R. W. Blide and J. M. Workman (1960) The humoral regulation of breathing. Science **133**, 1897
- 6) Riley, R. L. (1963) The hyperpnoea of exercise. In : The Regulation of Human Respiration, edited by D. J. C. Cunningham and B. B. Lloyd. Oxford : Blackwell. 525
- 7) Cropp, G. J. A., and J. H. Comroe (1961) Role of mixed venous blood Pco₂ in respiratory control. J. Appl. Physiol. **16**, 1029

短 報

【見聞記】

ハバナシンポジウムに出席して

吉井直三郎 (阪大第1生理)

1965年2月22日より28日の間にハバナ市(キューバ)で開かれた国際シンポジウム Cortico-Subcortical Relationship in Sensory Regulation に出席したことについて、報告するよう本誌編集部から依頼されましたが、ここで発表された研究内容(表参照)や討論については近く印刷される筈です(抄録集は配布されましたが、殆んど発表内容にふれていませんので省略します)。それで帰国後、私が友人から受けた質問を思い出しながら、私の見聞記を誌すことで責をふさぎたいと思います。私はキューバの国情や研究者についても殆んど知らず、ただ前もって送られて来た予定参加者名簿から、このシンポジウムが大変有益なものであろうと想像されましたので、招待されるままに参加しましたので、本誌の会員が期待されている点について触れることが出来ないだろうことを残念に思います。それに私の滞在日数は僅か8日間でした。主催者側からは更に滞在して革命の発祥地オリエンテ地方へ、参加者と一緒に旅行するようにと奨められました。吾が国では年度末で何かと多忙な時期でしたから、急いで帰国しましたので。

御承知のように、キューバは共産国と呼ばれていますから、自由国からの入国は困難で、私の場合はキューバ(キューバ国営)機でメキシコ市からハバナ市へ直航しましたが、シンポジウムに参加した人の話では、他にリスボン市とハバナ市との間にもキューバ機が飛んでおり、これは週1回、しかも英仏の学者はこの便で来る予定のところ、機の都合で逐に来れませんでしたことから察すると、かなり不確実なようです。確実なのはブラグからジャノン(アイルランド)、ガンダー(カナダ)を経由して入る道で、私の場合にもこのルートを採用するようにキューバ大使館から云って来ましたが、既にメキシコ経由の予約をとってあったので、その由電話で話しまして、変更の許可を得ました。共産圏からの参加者はソ連機で、18時間ノンストップで来たということです。

キューバには日本の商社は現在1社しか駐在していませんが、これはアメリカから、キューバで取引すればアメリカでは貿易が出来ないことを通告されているからです。いま残っている商社は主として東南アジアの諸国と取引しており、アメリカとは関係もっていないのです。日本人は明治時代から移民しており、殊に南方にあるイスラピーノと呼ばれる離島に多く住んで、優秀な農産物を作っているのが有名です。全人口700万のうち、日本人は約500人いるとのことで、二世、三世の時代になっていることは、ハワイやアメリカ移民と同様です。最近では120人の漁業指導者が入って、近海漁業に従事しています。

街は嘗てはアメリカ資本が入ったところですから美しく、革命前はアメリカ人が本国で出来ないあらゆる悪行を、マイアミから1時間で来られるハバナの街でやっていたということです。しかも現在のカストロ政権になってホテルもキャパレーもアパートも、すべてが国有になり、不道德な催しはすっかり粛正されましたが、貿易がしめ出され、外貨が少ないので、輸入品が買えず、街を走っている自動車も、他の都会では見られないほどのボロボロばかりです。それに物資は必ずしも豊富ではないらしく、街のあちこちに行列が見られ、終戦直後の吾が国を想出させます。高級ホテルにあるレストランは勿論一般市民が入れますが、極めて高価で(簡単な夕食でも15ドル以上になります)、食料事情も相当苦しいのではないかと推察されます。しかしぜひたくをいわなければ、配給食料や衣料でやってゆけるし、郊外には通風を充分考えた明るいアパートが続々と建っています。中南米随一の陸軍をもち、海岸には反革命軍の上陸に備えた設備が隠見されますが、街で遊んでいる子供達の服装は清潔で、政情は落付いているものと想像されました。

参加者は全部国家の客として招待されているので、ホテルも、食事も、交通も快適でした。食事は切符制で、日付も三食の別も書いてあり、印刷通りしか通用しないので、残ってもあとでは使用することは出来ません(これは私達の食糧切符に限らず、国民のすべての切符に当てはまることで、例えば2月の衣料切符はそのとき買わなけれ

は無効ですし、配給品が不足で、各自に入手出来なくても、あとで得るといことがないので、街のあちこちで見受ける行列にも、真剣な様子が感ぜられるのです。

他の社会主義国と同様に、キューバ政府も教育には大変熱心です。カストロ首相は若い世代に希望をかけて、彼らを激励するため、時々大学に来て演説しますが、いつも夜10時頃か、時にはそれ以後になり、しかも校庭の小高いところに立つて話すそうです。大学は8時間ずつ3部交代制ですから、夜でも講義、実習があります。首相の演説は草稿なしで、数時間つづくそうで、周囲の人が引きとめるまでやるそうですが、その精力には驚くべきものがあり、学生達はフェデルと呼んで、親しみと尊敬をもって彼を迎えるとのこと。老人達は昔の自由な空気を知っているの、必ずしも協力的だとはいえないそうですが、若い層には絶大の支持があります。

政府協力といえど官吏は勿論、一般市民も学生も、日曜日や休暇を返上して、郊外にある甘蔗畑へ取入れを手伝いにゆくとの事。これは勤労奉仕ですが、甘蔗が重要な外貨獲得の資源ですから、政府は重要視しております。今の市価はかつての好景気時代の約1/6に下がっているの、政府は困っているのですが、ソ連は市価の3倍の値で買上げているとのこと。キューバに入ってくる外国品といえば、ソ連製とか、チェッコ製が多く眼につくのは当然です。日本からは玩具とか電気製品が入っています。日本のラジオはよいが高いということでしたが、よく訊くと、ここでは日本で市販されている値の3倍にもなっています。外国品は政府が買上げて、適当な価格で街の商店で売らせているのです。

大学の教育が3部制で行われていることは、医学部にとってみても、1学年600人以上の学生を入れているからです。学生実習はどうしているのかと訊きますと、上級生が下級生の実習指導をしているという事で、日本では大学院学生が学部学生の実習を指導しているのと同じです。面白いのは、ハバナの街に基礎医学の私塾があって、試験にパス出来ない学生を個人教育していることです。基礎医学の教授のアルバイトということですが、

基礎医学は試験がむつかしいので、充分はやっているといい、街を歩いていても、個人教育の看板が眼につくそうです。医学部を卒業すると、インターンになって、2年間は政府が指定する地方病院で勤務するのですが、そのあとは自由。しかしすぐにハバナへ帰るようでは反革命というレッテルをはられるので、なお何年かは引続きその地方の、無医村で働き、これが政府協力ということになります。

研究機関としては、現在 Centro Nacional de Investigaciones Cientificas がハバナ市郊外に建築中で、高次神経活動研究所もハバナ大学の主建築物とはだいぶ離れて建てられています。後者は建物が現在一部出来ており、神経生理部門が入っております。今回のシンポジウムはこの学者が計画したのです。この大学研究所には各国の学者が教授として働いており、彼らは大臣の2倍の月給を支給されています。大臣といっても、カストロ首相が37歳ですから、皆若く、次官級は30歳前後で、上述の国立科学研究センターの所長 Kouri 博士は28歳です。この方はハーバード大学で学んだ内分泌学者だそうですが、カストロ首相と同様のホホ鬚をのばした白面の好青年学者で、いんぎんな態度で、静かに話されますし、その風貌のどこにも革命の勇者という感じは受けません。

現在のキューバは若い人との希望と努力によって、多くの苦難を乗り越えて、ようやく一本立ちが出来るところまで来たのだと思います。今回のシンポジウムは単なる宣伝のためではなく、人口僅か700万の国が40名以上の外国学者を招待して(参加出来た学者は夫人を入れて30数名でしたが)国際シンポジウムを開くという熱意を示したことを素直に受取りたいと思うのです。私は各国の研究者に会う機会を与えられたことを感謝すると共に外貨が僅かなため特に外国の学術雑誌の購入に困難を感じている。キューバの学者の心情は、20年昔の私達と同じであろうと思ひ、心から同情するのです。私は吾が国のあらゆる研究領域の研究者がそれぞれの論文をぜひキューバの研究者に御恵送下さるようお願いしたく、私が見聞したままを誌した次第です。

PROGRAM

WEDNESDAY, Feb. 24

1st. SESSION : CORTICO-SUBCORTICAL INTERRELATIONS, GENERAL ASPECTS. President :
S. P. NARIKASHVILI

J. Bures (Czecho) : Reversible Defferentation of Cerebral Cortex by Thalamic Spreading Depressioit
in Rats.

D. P. Purpura (USA) : Intercellular Synaptic Events in Non-Specific Internuclear Interactions.

A. B. Kogan (USSR) : Activity of the Analysers During Certain Experimental Alterations in the
Cortico-Subcortical Relationship.

E. S. Atsev (Bulgaria) : Relations Between Neuronal Discharge in Somatosensory Cortex and Secondary
Forbes Response in Cats.

(Coffee Break : 11 : 30. A. M.)

O. Buresova (Czecho) : Some Factors Controlling Reactions of Subcortical Neurons to Sensory Stimuli.

A. Kreindler (Rumania) : The Role of the Pulvinar-Lateralis Fosterior Complex in the Regulation of
Neocortical Excitability.

2nd. SESSION : 3 : 00 P. M. CORTICO-SUBCORTICAL INTERRELATIONS, GENERAL ASPE-
CTS. President : A. Kreindler.

A. I. Roitbak (USSR) : Influence of the Respiratory Center on the Cerebral Cortex.

S. P. Narikashvili (USSR) : Some Date on the Synchronizing Mechanism of the Lower Brain stem.

S. Tyc-Dumont (France) : Reticular and Cortical Control of a Vestibulo-Ocular Reflex.

L. Vyklicky (Czecho) : Reflex Action to Adequate Stimulation of Skin Receptors and Their Supraspinal
Control in the cat.

(Coffee Break : 5 : 00 P. M.)

Z. Servit (Czecho) : The Paroxysmal Electroencephalogram of Lower Vertebrates. A Comparative Study
of Synchronization Mechanisms.

L. Chocholova (Czecho) : The Role of the Cerebral Cortex and Certain Subcortical Structures of the
Acoustic Pathway in the Pathogenesis and Inhibition of Audiogenic Seizures in the Rat.

THURSDAY, Feb 25.

3rd SESSION : 9 : 30 A. M. CORTICO-SUBCOORTICAL INTERRALATIONS, GENERAL AS-
PECTS. President : N. Yoshii

W. Grey Walter (UK) Slow Potential Waves in the Human Brain Associated with Expectancy, Attention
and Decision. (Read and discussed by Dr. R. John)

J. Aquino-Cias (Cuba) : Correlation of the Central and Peripheral Responses of the Visual Pathway.

A. Fernandez Guardiola (Cuba) : Dynamic Aspects of the Regulation of Visual Information.

(Coffee Break : 10 : 30 A. M.)

E. N. Sokolov (USSR) : Specific and Non-Specific Modifications of the Single Unit Discharges in the
Rabbits' Lateral Geniculate Body.

W. Lifschitz (Chile) : Types Responses of Medial Geniculate Body Cells and the Thalamo-Cortical
Organization of Auditory Affrences.

H. T. Chang (People's Republ China) : Interaction of Auditory Impulses at Cortical and Subcortical
Levels and its Possible Significance in Binaural Hearing.

4th SESSION : 3 : 00 P. M. NEUROPHYSIOLOGY OF THE STATES OF CONSCIOUSNESS.
President : E. ROY JOHN

M. Mancina (Italy) : Spinal Inhibition During Sleep.

N. I. Graschenkov (USSR) : Clinical-Physiological Analysis of the Sleep Mecanism of the Hypersomnia.

M. Palestini (Chile) : Association Thalamic Nuclei in the Regulating Mechanisms of Sleep and akefulness.

(Coffee Breack : 4 : 30 P. M.)

B. Holmgren (Cuba) : Drug Dependent Conditioned Reflexes.

D. Gonzalez-Martin (Cuba) : Effects of Chlorpromazine on the Afferent Synthesis of the Instrumental
Reflex in Dogs.

Friday, Feb. 26. Morning : 10 : 00 A. M. Visiting the President of Cuba, Dr. Dorticos

5th SESSION : 3 : 00 P. M. President : E. A. ASRATYAN.

J. Szentagothai (Hungary) : Some General Structural Principles of Thalano-Cortical and Meta-Thalamo
Cortical Connections.

K. Lissak (Hungary) : The Nature of the Orientation Reaction Viewed From the Aspect of Motivation.

(Coffee Break : 4 : 00 P. M.)

E. Grastyan (Hungary) : The Possible Mechanism of Subcortical Motivational Processes in Conditioning.

J. Wada (Canada) : Correlative Analysis of Behavior and Cerebral Visual Response.
ATURDAY, Feb 27.

6th SESSION : 9 : 30 A. M. President : H. T. CHANG

E. A. Asratyan (USSR) : Stableelectrophysiological Phenomina of Conditioned Reflex.

E. Roy John (USR) : Average Computing of Evoked Response During Avoedance Conditioning.
(Coffee Break : 10 : 30 A. M.)

N. Yoshii (Japan) : Changes of Cortical and Subcortical Respoñses preceeding Behavior Performance.

V. M. Okujava (USSR) : Some Problems of Habituation of Evoked Response in Visual System.

2 : 00 P. M. Conclusive Summary (Purpura, Chang, Asratyan)

論文は下記のところへお送り下されれば、たとえ自分の研究領域外であってもそれぞれの専門学者に領けてくれるでしょう。

Fernández-Guardiola 教授は今回のシンポジアムのセレクトリを引受けた人であり、親切に世話をしてくれる人ですから。

をしてくれる人ですから。

Dr. A. Fernández-Guardiola : Department of Neurophysiology, Institute for Research in Higher Nervous Activity, University of Havana, Havana, Cuba.

〔会報〕

日本学術会議長期研究計画調査委員会が将来計画に関する第三次報告として発表した第一次5カ年計画について

長期研究計画調査委員会（以下長期委員会と略す）は昭和29年に設立されて以来学会の自主性において作成された基礎科学研究の長期計画の検討をつづけてきた。この間、各研究組織、研究連絡委員会、学会などから提出された将来計画の資料を調査し、かつこれらを第一次および第二次中間報告として収録、刊行してきたが、昭和40年4月22日の学術会議総会においてこれらの資料を基礎とし、長期委員会の組立てた我国科学研究の将来計画に対する考えを、第一次5カ年計画案として発表し、会員の批評をあおいだ。

この第三次中間報告は5章19節89頁のかなり大部のプリントであるが、その概要を紹介し、且つ会員との質疑応答の重点を記載する。

第1章では従来の経過、長期計画の必要性と必然性について述べた。

第2章では従来における3つの範疇について考えた。その第一は研究基盤の強化である。学術研究と人材養成の中核である大学における研究基盤の強化がまず第一に考えられ、次いで国立研究機関についての考え方が述べられた。大学における講座数は、現在のマンパワーなどから見て5年後に20%増とみ、1講座の構成は教授1、助教授1、助手2とした。5年後の講座研究費は年間450万円、大学附置研究所はその1.3倍とする。学生経

費は理科系で学部学生6万円、大学院学生30万円、講座新設費2,000万円、建物300坪、7年毎に約1,400万円の設備更新費をつける。旅費は昭和40年度の約5倍。学科目制大学の経費は現在講座制大学の1/3であるが、5年後にこれを2/3とし、10年後には格差をなくする。私立大学助成は5年後年間60億円とする。国立研究機関の強化も大学に準ずるが、まだ充分検討されていない、5年後これらの費用の総計は1,000億円と算出された。

第二の範疇は計画研究である。急速な科学の発展に伴って緊急に、一定の目標をもったある研究を推進しようとする、計画研究が重要な課題となる。これらの研究は第一の大学その他における恒常研究の中から、国や社会の要請から、さらに国際協力の中から生れ、新しい研究組織や研究所を必要とするものが多い。5年後にその費用は年間400億円と推定され研究所の新設などこの費用の中に入る。

第三は流動的な研究費である。第一、第二の研究の他に全く計画されない研究課題が研究の中から生ずるのは当然である。これに要する研究経費は弾力的な制度によって支出されることが必要である。長期委員会はこのために科学研究基金（仮称）を考えた。ただしこのような経費の用途については、科学者以外に判定できないので、その運営に科学者が大きな責任を負わなければならない。大体年間300億円を予定する。

以上3つの範疇は必ずしも明かに区別されるものではない。またこれらの経費は自然科学と人文社会科学の調和のとれた発達が得られるように使

われなければならない。

第3章には共通基盤、例えば大型電子計算機、図書館、資料センター、博物館などの強化について述べた。その経費は5年後年間100億円と考える。

第4章は研究の組織および機構について述べている。第3章までに述べたような研究を効果的に進めてゆくために、それぞれの分野において、総合的に計画を検討し、その実施を見守り、時に一部の実施を担当する“研究会議”のようなものの必要性が各研究分野で強調されている。この組織は研究者によって自主的に作られることが肝要である。しかしこのためには現在の行政機構に重大な変革を必要とする場合もあるので、とりあえず昭和41年度に学術会議で約15の研究会議を招集する予算措置を講ずる。

第5章では以上のような5カ年計画案によって個別計画の総合化を進行させる場合の利点、欠点につき会員および一般科学者の検討を受けるべき色々の問題点を提起した。

なお問題を具体的にすする為、今後5カ年（昭和41年から45年）を目途として、計画通り年次計画が進行した場合、昭和45年度の国家予算に属する年間経費を試算すると個々の項ですでに述べた通り、第1表のようになる。

第1次5カ年計画案につき日本学術会議総会における質疑応答

質問—この計画に基き研究者が自主的にやれると思うか。答—それを第一理念としている。

質問—人文科学と自然科学との格差がますます大きくなるおそれはないか。答—自然科学と人文科学とが調和のとれた発展をして行くようにするこ

とが、学術会議の根本理念であり、それに従って計画している。

質問—科学と技術との関係をどうとり扱うか。応用科学は当然社会科学の問題であり、研究費の投資とその成果には社会科学が深い関係もっている。答—その点は十分に考慮している。基礎研究への投資資金が巨大化しているの、研究の効率は特に重要視されねばならない。人文社会科学系の研究者もこの計画が基礎自然科学の振興にすぎないとして無関心になることなく、大いに協力して研究してほしい。科学研究将来計画は科学者全体の問題である。

質問—従来民間の研究費は政府研究費の約2倍であったが、今後その率は減少する傾向にある。民間研究費、特に私立大学の研究費をもっと考慮すべきだ。答—大学の強化には私立大学の助成金も含んでいる。また計画研究、科学研究基金は民官の区別をしていない。

質問—研究連絡委員会と“研究会議”との関係はどうか。答—従来研連の仕事の一部が“研究会議”で拡大して行なわれる。

意見—この第三次報告書を外部に出す場合には、以上種々の意見、質問が出たことを附記せよ。

大体以上の論議を終り、この案に従って各所の意見をききながら、長期委員会が個別計画の総合化をすすめ、昭和40年10月の学術会議の総会に計って政府に勧告を行うこと、“研究会議”あるいはこれに類する機構を学術会議が41年度に招集し得るよう予算措置することの2点が総会において認められた。

(二国二郎)

第1表 昭和45年度年間政府科学研究費

項	目	45年度経費	備 考	40年度推定経費
經常的研究費	A. 大学	1,200億円	{人件費を含まず、 {私立大学補助金含む 人件費を含まず	400-500億円
經常的研究費	B. 国立研究機関	400億円		200億円
計画研究費		400億円	一部人件費を含む	200億円
科学研究基金 (仮称)		300億円	人件費を支出し得る	{100-150億円 {(科学助成金として)
共通基盤経費		100億円	一部人件費を含む	不明
計		2,400億円		約 1,100億円

注 平均20%, ものにより50%, 又そのままのものもある。

〔シンポジウム予報〕

Excitation-Contraction Coupling に関するシンポジウム

国際生理科学会議後、下記の要領でExcitation-Contraction Couplingに関するシンポジウムを計画しておりますので、関係者多数の御参加をお願いいたします。

日時 昭和40年9月18日(土)午前9時-午後5時

場所 箱根、箱根観光ホテル

Chairman: Dr. Alexander Sandow

Co-chairman: Dr. Annemarie Weber

次の外国人学者を招待する予定です。

R. H. Adrian, E. Bozler, C. Edwards,

J. Gergley, A. V. Hill, G. Hoyle,

A. F. Huxley, W. F. H. M. Mommaerts,

L. Peachey, R. J. Podolsky,

J. W. S. Pringle, F. S. Sjöstrand,

G. Ulbrecht, E. H. Sonnenblick,

S. Winegrad

詳細は追って決定次第御通知いたします。

世話人 名取礼二・江橋節郎

真島英信・酒井敏夫

「肺水腫」・「肺循環」に関するシンポジウム

日時: 昭和40年9月2日(木) 8.00a.m-3.00p.m

場所: 東京新宿駅前 朝日生命ホール

I. シンポジウム「肺水腫」8.00a.m-11.30a.m

司会 笹本 浩

参加者 M. Visscher, C. Heymans

F. C. Courtice, L. D. Seager

A. A. Luisada, D. M. Aviado・ほか

II. シンポジウム「肺循環」12.00a.m-3.00p.m

司会 上田英雄

参加者 A. B. DuBois, S. Rodbard

N. C. Staub, J. B. West・ほか

○ 国際生理学会開催にあたり、欧米の肺循環研究者多数が来日される機会に、日本胸部疾患学会後援のもとに、上記のシンポジウムを行ないます。

○ 両シンポジウムとも日本および外国より招待発言者が多数参加するほか一般出席者も討論に参加できます。

○ シンポジウム討論にそなえて、あらかじめ講演ならびに予定発言内容の全文をプリントして参加希望者に用意いたします。

約500人まで参加を予定しておりますので、至急お申込み下さい。

申込締切 6月30日

会費 1,000円(プリント代400円, 昼食代300円, 会場費300円) 振替または現金封筒にて送付のこと

申込先 東京都新宿区信濃町

慶応大学薬理学教室内

「肺水腫」「肺循環」シンポジウム準備会

振替: 東京72142 慶応大学薬理学教室 白桃会

幹事 慶応大学薬理学教室 齋藤章二

東京大学上田内科教室 村尾 誠

〔編集後記〕

原著4編の外に、阪大の吉井教授からキューバの様子を書かれた短報を頂きました。容易には入れない同国の様子、諸氏も面白く読まれた事と存じます。

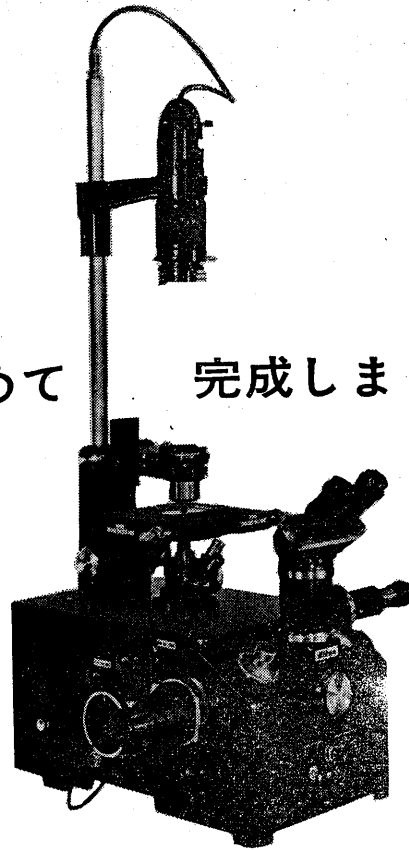
4号から紙の質が僅か良くなったことに気が付かれたと思います。もっともっと良くしたいのですが財政上それができません。残念です。今年一杯はまあこれがまんして頂こうということになりました。それよりだいぶミスがあって申しわけありません。発行の遅れを取り戻そうとあせるからでもあります。今後気をつけます。写真が大きすぎたり、表の組み方が不細工だったりして見

苦しい所もあります。各位のご協力を得やすくするため近日中に、今迄よりもっと詳細な投稿規定を作りますからよろしく。

会の方からのおしらせは順調に頁を埋めておりますが、会員諸氏からの提案や、会員同志の話し合いの広場は依然として空いております。どしどし建設的なご意見をお寄せください。勿論、論文もですが、また教室のnewsもおしらせ下さい。出張された方の消息などでも。

J. J. P. に出る論文の日本語抄録も近い内に本誌に掲載します。本誌を見れば日本の生理学の動向が分るようにしたい気持ちの一端なのですが。

国際学会も近づきました。会員一同のご健康をお祈りします。(市河三太)



世界ではじめて

完成しました!

Nikon

倒立顕微鏡MD型

ニコン倒立顕微鏡MD型は、わが国をはじめ各国における関係各界からのご要望にこたえて当社が世界ではじめて完成した本格的な倒立型顕微鏡で《広範囲の研究用顕微鏡》としてご満足いただけるものと確信いたします。独創的設計による高度の性能・多能性・耐久性は、従来の倒立型顕微鏡の概念を根底からくつがえす画期的なものであります。

適用分野は医学・生物学全般にわたり、とくに組織培養に適し、また、データー写し込み装置・長焦点位相差装置・干渉位相差装置等の付属品を備え、さらにニコン顕微鏡S型用の双眼鏡筒・三眼鏡筒・プロジェクションスクリーン・マクロ写真装置等もそのまま使用できるなど、広範囲の付属品の完備によって驚異的な機能を発揮いたします。

販売代理店

(株)いわしや 森田器械店
株式会社 三 啓
株式会社 小沢製作所
大阪光学機械株式会社
猪原商会
大熊商会

札幌市北八条西5の1 TEL (71) 3231-2-4649
東京都文京区本郷2の17-7 TEL (813) 5501-5
名古屋市中区東袋町2の2 TEL (95) 5331
大阪市北区梅田7の3(梅田ビル5階) TEL (312) 6031
広島市国泰寺町65の1 TEL (41) 2703-7737
福岡市馬出大学前1の1108 TEL (65) 4831(代)

生物物理学講座

全10巻

★ 第1回配本 ★ 5月15日発売

● 日本生物物理学会 編集

生体高分子 I

—内容—

生体高分子の内部秩序とその無秩序……………和田 昭允
 ポリペプチドのヘリックスコイル転移の理論…齊藤 信彦
 ポリペプチドの変性、変形の熱力学……………中島 章夫
 変性蛋白質の再性……………伊勢村寿三
 生体高分子の構造と環境……………浜口 浩三
 Ribonuclease Case History ……………大井 龍夫
 流動複屈折……………野田 春彦/船越 浩海
 電場による異方性……………吉岡甲子郎

◀378頁・定価 1,800円▶

—全巻内容—

- | | |
|-----------------------|---------|
| 1. 遺 伝 情 報 I | 第2回配本 |
| 2. " II | 第5回配本 |
| 3. " III | 第8回配本 |
| 4. 生 体 高 分 子 I | 定価1800円 |
| 5. " II | 第7回配本 |
| 6. 生 体 機 能 の 分 子 論 | 第4回配本 |
| 7. 量 子 生 物 学 I | 第3回配本 |
| 8. " II | 第6回配本 |
| 9. 膜 の 生 物 物 理 | 第9回配本 |
| 10. 神 經 の 生 物 物 理 | 第10回配本 |

◀A5判/特製クロス・ケース入▶
 ◀各巻 300~450頁/¥1,500~2,000▶

発売元 東京丸善

京都市左京区田中門前町
 報警京都 4624

株式会社 吉岡書店

胃管なしに

★ 健保適用

胃液酸度の測定ができる

薬価基準統一名称
 アズレジン

キレックス

従来のゾンデ法に代ってキレックスの内服による
 新測定法をお試みください。

- (特徴) 1 操作が簡単で患者の苦痛が除かれます。
 2 外来診断、往診時検査、集団検診が可能です。
 3 検査成績の判定が容易です。

(包装) キレックス

5回分 50回分

▶ 文献進呈



発売元
 第一製薬株式会社
 東京・日本橋



製造元
 第一化学薬品株式会社
 東京・日本橋

各科領域における

健保適用

37.10.1より



医薬は萬有

耐性

ブドウ球菌感染症に

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

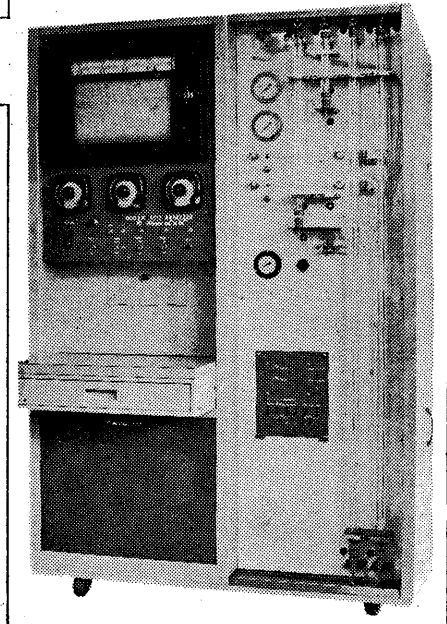
■核酸の迅速分析に威力を発揮する

柳本核酸自動分析装置

LC-11型

- 本装置は、イオン交換クロマトグラフ法の原理に基づいて核酸を分離し、その溶離液について紫外外部吸収の連続測定を行なうもので、比色計には複光速光学零位法を使用した紫外外部連続比色計を用いているのできわめて高安定であります。
- ダブルカラム(溶離用および塩濃度補正用)複光速光学零位法に基づく比色計を用いているので、塩濃度変化によるベースラインの変動を補正することができます。
- 複光速光学零位法を用いているので、電源電圧の変動大きい場所でも安定して測定できる。
- フラクションコレクター(特別付属品)を内蔵することにより展開溶出液を分取することができます。

■詳細資料進呈■



LC-11型



株式会社 柳本製作所 柳本商事株式会社 本社 支店 本社 支店 京都市中京区木屋町通三条下ル 東京・大阪・名古屋・福岡・広島・藤沢・札幌

J. Physiol. Soc. Japan. Vo. 27, No. 6 (1965)

Originals

TAKASAKA-Hiroko : The effect of magnesium ions on the succinic respiration by rat heart mitochondria291

IMAI-Yusuke : Studies on the secretory mechanism of the submaxillary gland of dog.
 Part 1. Electrophysiological studies with microelectrode304

IMAI-Yusuke : Studies on the secretory mechanism of the submaxillary gland of dog.
 Part 2. Effects of exchanging ions in the perfusate on salivary secretion and secretory potential, with special reference to the ionic distribution in the gland tissue313

HACHISUGA-Hirohisa : Studies on the mechanism of hyperventilation in muscular exercise325

編集兼
 発行人

戸塚武彦
東京都文京区本郷七丁目三ノ一
 東京大学医学部生理学教室内

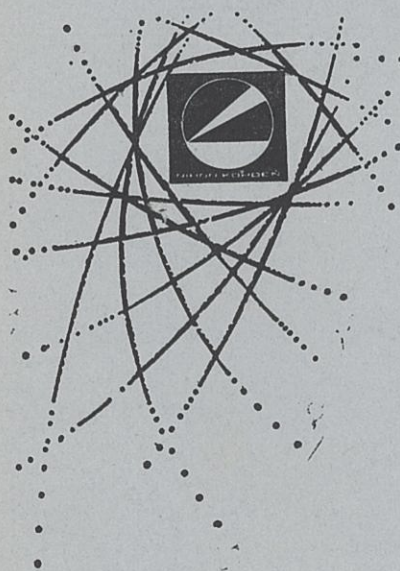
印刷者

中村作右衛門
 鶴岡印刷株式会社
山形県鶴岡市馬場町甲三

発行所

日本生理学会
東京都文京区本郷七丁目三ノ一
 東京大学医学部生理学教室内

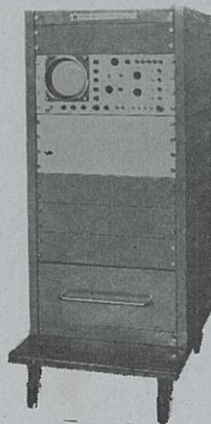
振替東京六四三〇
 価百五拾円



専門メーカーが誇る 医用電子装置

デジタル型 ON-LINE 方式の
 データ処理用電子計算機

- 入力信号は直ちに演算されブラウン管上で結果が直続できる。
- 誘発反応の加算の他、外部トガリによる加算も容易。
- 4つの現象の同時解析が可能。
- アナログ及びデジタル出力が取り出せる。
- 関連する各種付属装置の組合わせにより用途が広範。



日本光電工業株式会社

東京営業所 東京都新宿区角筈2-84 スタンダードビル TEL (342) 0231~8, 3674 仙台営業所 仙台市東3番丁70 山一会館 TEL (25) 1395
 大阪営業所 大阪市北区南森町11 第一ビル TEL (351) 2531~7 福岡営業所 福岡市浜小路 浜小路ビル TEL (29) 7931~4
 名古屋営業所 名古屋市千種区覚王山通り7-1 田代ビル TEL (75) 7068 札幌営業所 札幌市豊平三条3-12 美好ビル TEL (81) 5706