

日本

生理学

雑誌

JOURNAL OF THE PHYSIOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

30巻 6号 1968

原 著

- 木下 亀雄：キサンチン酸化酵素の分光および蛍光測光法による反応機作の研究……………369
森本 俊文：舌下神経核細胞活動の調整に関する反射機構……………376
森 巍：膈伸展の呼吸活動におよぼす影響について……………387
小倉 一格：肥満高血糖マウスにおけるミトコンドリアの酸化的磷酸化……………393
白石 武昌・渡辺 鏡： γ -Aminobutyric acid (GABA) の脳機能に対する生理学的意義に関する研究 Ⅲ. α -Chloro- γ -aminobutyric acid (α -Cl-GABA) の薬理学的特徴づけに関する検討……………399

速 報

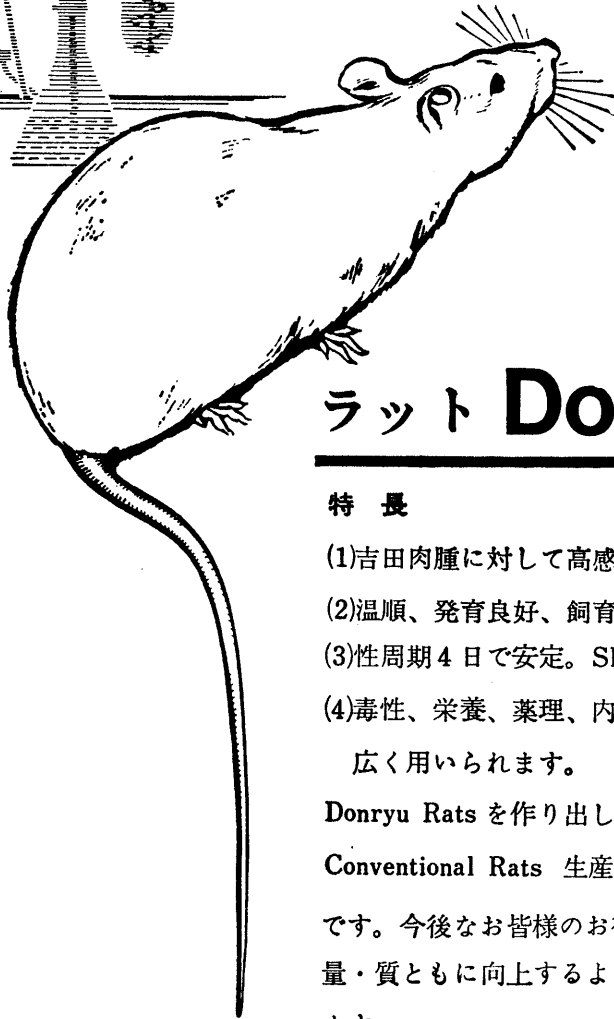
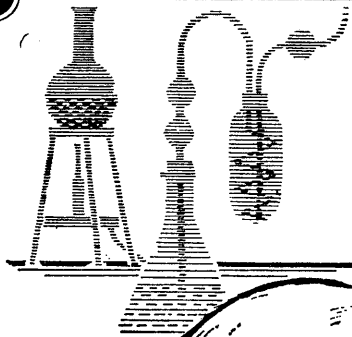
- Fumio Ito: Abortive spike of leaf-like receptor in the frog muscle……………411
Hidenobu Mashima: The active state of frog skeletal muscle determined by the isotonic quick release method under no load……………413
Shoichi Nakano・Tsunehisa Sato and Kazuaki Fujii: In-vitro method for the studies on penetration phenomena through intestinal membrane……………415

短 報

- 〔会報〕 人体基礎生理学研究所情報……………417
人体基礎生理学研究所（仮称）設立準備委員会委員一覧……………417
特別会員 笹川久吾君、山極一三君逝去のお知らせ……………418
〔編集後記〕……………418
正誤表……………418

日本生理誌
J. Physiol. Soc. Japan

日本生理学会



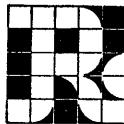
ラット Donryu

特長

- (1)吉田肉腫に対して高感受性を有す。
- (2)温順、発育良好、飼育容易。
- (3)性周期4日で安定。Skin Grafto 高率。
- (4)毒性、栄養、薬理、内分泌その他、
広く用いられます。

Donryu Rats を作り出した日本最大の
Conventional Rats 生産専門メーカー
です。今後なお皆様のお役にたつため
量・質ともに向上するよう努力いたし
ます。

飼育系統——〈Donryu〉〈Wistar〉〈Buffalow〉



日本ラット(株)

埼玉県浦和市根岸608-3
TEL (0488) 61-6850

〔原著〕 キサンチン酸化酵素の分光および蛍光測光法による
反応機作の研究 577.158

木 下 亀 雄 *

**Studies on mechanism of xanthine oxidase action by spectro-
and fluorophotometric methods**

Kameo Kinoshita (*Department of Physico-chemical Physiology, Medical School, Osaka University*)

Mechanism of action of xanthine oxidase from cow's milk was studied spectro- and fluorophotometrically and the effects of several chelating agents on the enzyme action were investigated.

1. After the addition of the substrate, hypoxanthine, the absorbance of the enzyme at 450 m μ decreased diphasically, while the flavin fluorescence intensity due to flavin contained in the enzyme was decreased monotonously. The discrepancy in the spectrophotometric changes was observed in both aerobic and anaerobic conditions.

2. In aerobic condition, difference spectra were constructed from the absorption spectrum of the enzyme at various reaction stage. None of the spectra agreed with absorption spectrum of FAD, although they show a maximum at 450 m μ .

3. Subtraction of the absorption spectrum of FAD contained in the enzyme from that of enzyme yielded a difference spectrum with peaks at 420 and 470 m μ .

4. Some chelating agents, o-phenanthroline, $\alpha\alpha'$ -dipyridyl and EDTA, inhibited the oxygen consumption and methylene blue reduction by the enzyme.

5. From these results, it is conceivable that a chromophore giving an absorption spectrum similar to the difference spectrum mentioned in 3, probably non-heme iron, is involved in the enzyme reaction. The chromophore may be a component of an electron transfer system of the enzyme. (J. Physiol. Soc. Japan (1968) 30, 369-375)

I. ま え お き

キサンチン酸化酵素 (1. 2. 3. 2. xanthine : O₂ oxidoreductase) は牛乳から抽出精製され, xanthine, hypoxanthine, aldehyde, adenine および reduced nicotinamide-adenine dinucleotide (NADH₂) の酸化を触媒することが知られている (Dison¹⁾, Corran et al.²⁾ その際, 分子状酸素のほか, チトクロームC, 亜硝酸塩およびメチレン青その他の酸化還元色素など多くの物質が電子受容体となりうるということが明らかにされている (Corran et al.²⁾, Horecker and Heppel³⁾).

本酵素には1分子あたり flavinadenine dinucleotide (FAD) 2分子, モリブデン2原子, および鉄8原子が補欠分子族として含まれている

(Avis et al.⁴⁾). 本酵素反応におけるこれらの補欠分子族の役割については, はなはだ重要な問題であるにもかかわらず, Morell⁵⁾ らによって FAD 分子の水素運搬体としての意義が明らかにされたのみであってモリブデンならびに鉄の役割については今日なお議論のあるところである (Greenlee et al.⁶⁾, Bray et al.⁷⁾, Handler et al.⁸⁾, Bray et al.⁹⁾).

そこで, 著者は本酵素反応を分光蛍光測光法ならびに反応速度に対するキレート剤の影響から解析し, 補欠分子族の一つである鉄原子も FAD 分子と同様に重要な役割をもっていることを明らかにしたのでその成績を報告する.

II. 実験材料と方法

キサンチン酸化酵素は牛乳生クリームから久保ら¹⁰⁾の方法で抽出精製した. 実験に使用した酵素標品は蛋白フラビン比 (E_{280m μ} /E_{450m μ}) 約

* 大阪大学医学部第1生理学教室
〔昭和42年12月16日受付〕

6, Avis ら¹¹⁾による比活性, APR は 5~9 であった。酵素濃度は 450 m μ の吸光度からモル吸光係数 $\epsilon_{450m\mu} = 70,000$ (Bray et al.¹²⁾) を用いて算出した。

反応は特にことわらないかぎり 0.1 M Pyrophosphate buffer pH 8.3 の存在下で行なった。

基質としては hypoxanthine (石津製薬), キレート剤としては o-phenanthroline, $\alpha\alpha'$ -dipyridyl (石津製薬), ethylene-diamine-tetraacetate (ED-TA) (同仁薬化学) を用いた。

分光分析には島津 IV-50 型および Beckman DK-2 型自記分光光度計を用いた。また、反応時の吸収スペクトルの変化を日立 RSP-2 型ラピッド・スキャン分光光度計で追跡した。蛍光測定には日立 MPF-2 型蛍光光度計を用い、FAD の極大吸収波長 450 m μ の励起光による 530 m μ の蛍光強度を測定した。酵素消費量は Clark 型酸素電極により、メチレン青の還元は 665 m μ の吸光度の減少からそれぞれ追跡した。嫌気条件での実験は光路長 1.0 cm の Thunberg 型キュベットを用い、完全に排気したのち、副室より基質を添加混合することにより反応を開始させた。

III. 実験結果

1. 基質による酵素還元時の 450 m μ の吸光度とフラビン蛍光強度の変化

好気条件において酵素溶液に基質 hypoxanthine を添加すると酵素は還元されて 450 m μ における吸光度が減少する。Fig. 1, A に示すように 450 m μ の吸光度 ($E_{450m\mu}$) は基質添加直後、急激に減少し、ついで一定時間、一定値を保った後さらに減少する。450 m μ の吸光度の変化が 100% 本酵素中のフラビン分子の還元に基づくものとするれば、それに対応して、フラビン蛍光強度が減少するはずである。しかしながら Fig. 1, B にみられるようにフラビンの蛍光強度は全反応経過を通じてわずかに減少するのみである。これに対し、嫌気条件では Fig. 2, A のように基質 hypoxanthine を添加すると 450 m μ の吸光度は好気反応の場合の最終状態、す

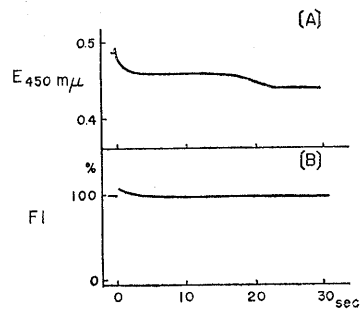


Fig. 1. Aerobic reduction of xanthine oxidase. To 3.0 ml of xanthine oxidase solution ($E_{450m\mu} = 0.478$), 0.05 ml of 10^{-2} M hypoxanthine was added in 0.1 M pyrophosphate buffer pH 8.3 at 12.0°C. Enzyme final concentration was 6.82×10^{-6} M, hypoxanthine 1.64×10^{-4} M. (A): the change of absorbance at 450 m μ (B): flavin fluorescence intensity.

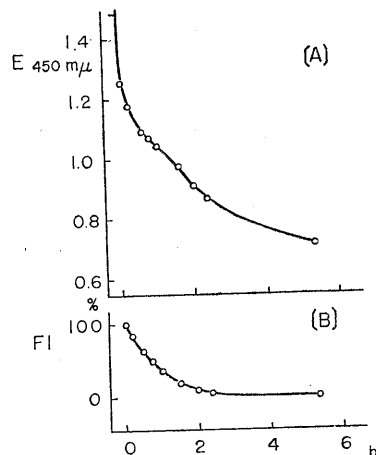


Fig. 2. Anaerobic reduction of xanthine oxidase. To 3.5 ml of the enzyme solution ($E_{450m\mu} = 1.480$), 0.5 ml of 10^{-3} M hypoxanthine was added in 0.1 M pyrophosphate buffer pH 8.3 at 23.0°C. Enzyme final concentration was 2.11×10^{-5} M, hypoxanthine 8.75×10^{-4} M. The reaction was carried out in a Thunberg type cuvette. (A) and (B) are as for Fig. 1.

なわち、反応前の約 2/3 の値まで 10 sec 以内に一挙に減少し、ついで、非常に徐々に減少するという 2 相性変化を示す。一方、蛍光強度は Fig. 2, B に示すように単調に減少し、450 m μ の吸光度の変化が終了する以前にほぼ完全に零

となり、フラビンが完全に還元されたことを示している。

これらの結果から、450 m μ の吸光度の変化はフラビン分子の還元と平行するものではなく

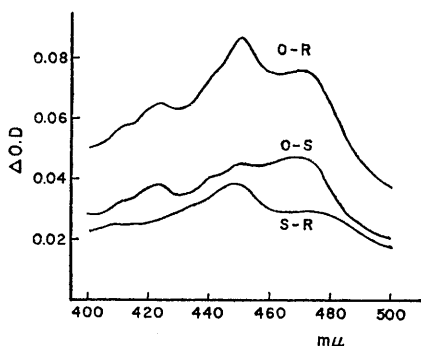


Fig. 3. Difference spectra of the xanthine oxidase during the aerobic reaction. The reaction was started by addition of 0.05 ml of 10^{-2} M hypoxanthine to 2.45 ml of the enzyme solution ($E_{450m\mu} = 0.186$). Enzyme final concentration was 2.66×10^{-6} M, hypoxanthine 1.67×10^{-4} M. O-R: initial minus final state, O-S: initial minus intermediate state, S-R: intermediate minus final state. Initial state refers to the absorbance before substrate addition and intermediate, and final state correspond to the absorbance at 5 sec. and 20 min. after substrate addition respectively.

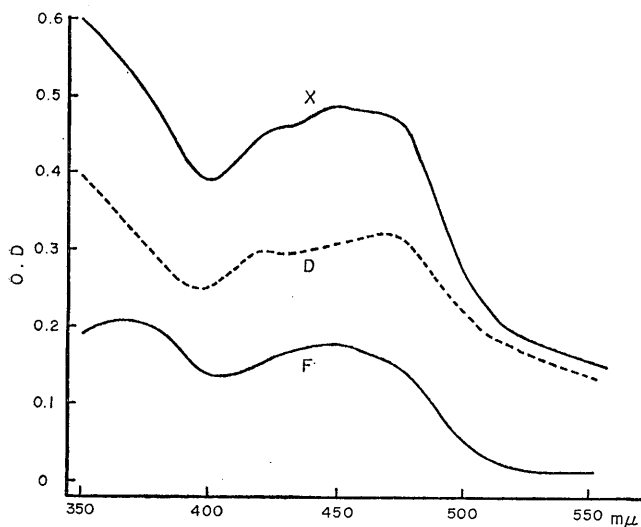


Fig. 4. Absorption spectrum of xanthine oxidase. X: Absorption spectrum of xanthine oxidase (6.96×10^{-6} M) in 0.1M pyrophosphate buffer pH 8.3 F: Spectrum of supernatant obtained from the enzyme solution boiled for 5 minutes by centrifugation. D: Difference spectrum; X minus F.

他の発色団の還元をも含むものであると推測される。

2. 吸収スペクトルの変化

好気条件において、450 m μ の吸光度の2相性変化を与える補欠分子族の性質をさらに追求するため可視部吸収スペクトルの変化をラピッド・スキャンニング法で測定し、差スペクトルを求めた。各反応段階における差スペクトルは Fig. 3 にあげたように、それぞれ 450 m μ に極大を示すが、いずれも FAD の吸収スペクトルとは一致しない。

この事実も本酵素反応の際の 450 m μ の吸光度変化がフラビンのみに帰属されるものでないことを示唆するものである。

次に、本酵素と熱変性により酵素から遊離させた FAD との差スペクトルを求めたところ Fig. 4 に示すように 420 と 470 m μ に極大をもつ差スペクトルがえられた。そこで本酵素の可視部吸収スペクトルを与える発色団としてフラビン以外にこの差スペクトルと等しい吸収スペクトルをもつ発色団が存在すると思われる。

3. キレート剤効果

本酵素反応系に二、三のキレート剤 (o-phenanthroline, $\alpha\alpha'$ -dipyridyl および EDTA) を添加し酸素消費およびメチレン青還元におよぼす影響を検討したのが Fig. 5 および 6 の成績である。

これから明らかなように EDTA のメチレン青還元に対する効果がみられない点を除きすべてのキレート剤は酸素消

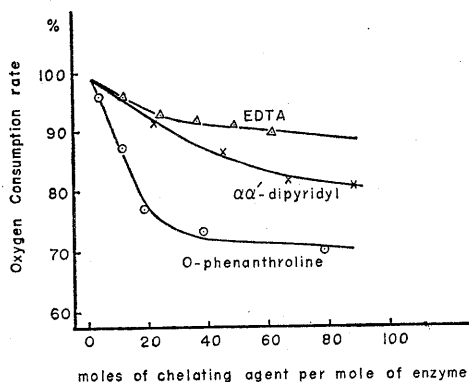


Fig. 5. Effect of chelating agents on the oxygen consumption by xanthine oxidase. Oxygen consumption rates expressed as percentages of the rate with chelating agents to the agents are plotted against the moles of the chelating agent added per mole of enzyme. Enzyme final concentration was 5.1×10^{-6} M, hypoxanthine 1.74×10^{-4} M, 0.1 M pyrophosphate buffer pH 8.3 30.0°C .

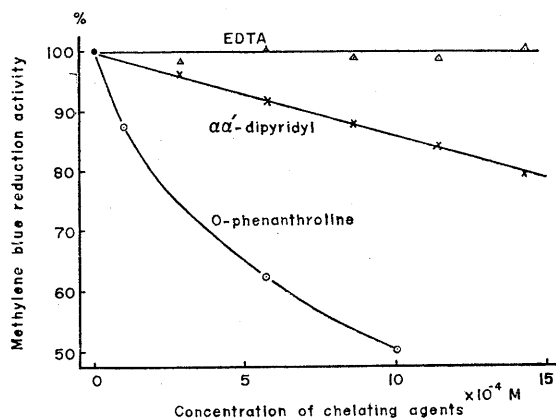


Fig. 6. Effect of chelating agents on the reduction of methylene blue by xanthine oxidase. Ordinate: percentage of a methylene blue reduction velocity with chelating agent to the rate without agents. Abscissa: concentration of chelating agent added. The reaction was carried out in a Thumberg type cuvette and started by the addition of hypoxanthine from side arm. Enzyme final concentration was 2.85×10^{-7} M, methylene blue 1.43×10^{-5} M, hypoxanthine 1.43×10^{-5} M.

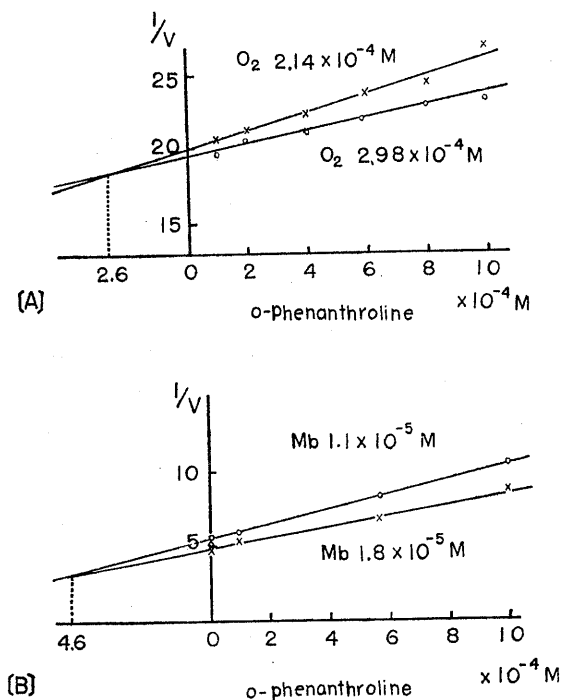


Fig. 7. Effect of *o*-phenanthroline on the oxygen consumption and methylene blue reduction by xanthine oxidase. The reciprocals of the oxygen consumption rate (A) or of the methylene blue reduction rate (B) were plotted against the concentration of *o*-phenanthroline at two different concentrations of oxygen (A) or of methylene blue (B). Enzyme final concentration was 5.10×10^{-6} M (A), and 1.53×10^{-7} M (B), hypoxanthine 2.00×10^{-4} M (A), 1.43×10^{-5} M (B), molecular oxygen 2.14 or 2.98×10^{-4} M (A), methylene blue 1.10 or 1.80×10^{-5} M (B).

費, メチレン青還元 の両者 に対して 阻害作用 を 示した. そこで Dixon¹³⁾ にしたがって 各キレート剤 の 阻害型式 を 追求 した. *o*-phenanthroline の 阻害作用 は Fig. 7, A, B に 示す と おり 受容体 である 酸素 ならび に メチレン青 に対して 拮抗

的 である ことが わかる. これから 阻害剤 定数 を 算出 すると 受容体 が 酸素 および メチレン青 である 場合 について, それぞれ 2.6 および 4.6×10^{-4} M という 値 が えられる.

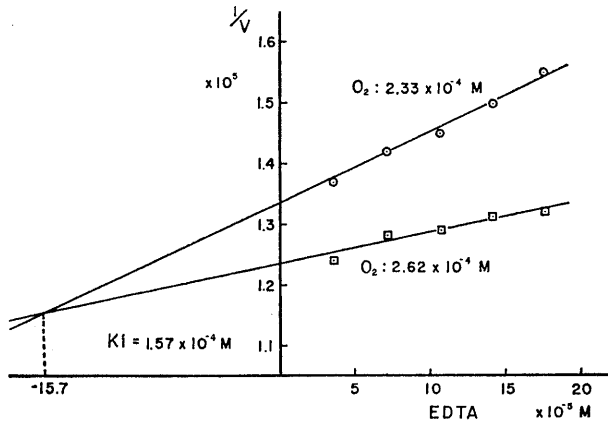


Fig. 8. Effect of EDTA on the oxygen consumption by xanthine oxidase. The reciprocals of the oxygen consumption rate were plotted against the concentration of *o*-phenanthroline at two different concentrations of oxygen. Enzyme final concentration was 2.86×10^{-6} M, hypoxanthine 1.78×10^{-6} M, molecular oxygen 2.33 or 2.62×10^{-4} M.

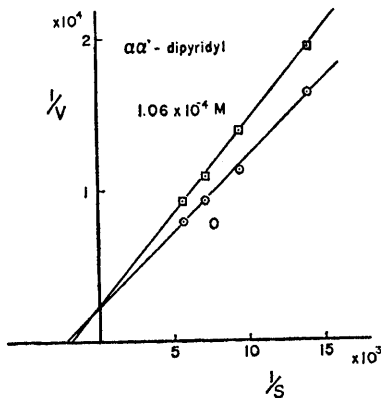


Fig. 9. Lineweaver-Burk's plot of xanthine oxidase activity in the presence and in the absence of $\alpha\alpha'$ -dipyridyl. The oxygen consumption rate (V) was measured at 30.0°C . Enzyme final concentration was 7.90×10^{-7} M, hypoxanthine 3.58×10^{-5} M to 1.78×10^{-4} M, molecular oxygen 2.32×10^{-4} M, $\alpha\alpha'$ -dipyridyl 0 or 1.06×10^{-4} M.

Fig. 8 に 示す よう に EDTA も 酸素 に対する 拮抗的 阻害 であって, 阻害剤 定数 は 1.5×10^{-4} M と 算出 される.

一方, $\alpha\alpha'$ -dipyridyl の 阻害作用 は Fig. 9 に 示す よう に 基質 hypoxanthine に対して 拮抗的 であり, 阻害剤 定数 は 1.3×10^{-3} M であつた.

なお, 基質 定数 を 計算 すると 1.8×10^{-5} M という 値 が えられる.

これらのキレート剤はいずれも主として, 鉄をキレートするものであるからその添加による本酵素反応の阻害は酵素中の鉄原子の作用をブロックすることに帰因すると考えられ, したがって鉄原子が基質との結合または電子伝達の過程に関与する可能性が推測される.

IV. 考 察

キサンチン酸化酵素は FAD 2 分子, モリブデン 2 原子および鉄 8 原子を補欠分子族として含んでいる. これら補欠分子族の作用機序について Gutfreund ら¹⁴⁾ は好気条件で基質 xanthine の添加によって, 酵素の $450 \text{ m}\mu$ の吸光度が 2 相性に変化することを観察し, 酵素反応の際に FAD 分子が実際に還元されるものであると述べている. 魚住¹⁵⁾ もまた吸光度の 2 相性変化を認めたと, 彼は第 1 相は FAD 分子の還元で第 2 相の変化は他の発色団, おそらくモリブデンの還元に対応するものではないかと推測している. さらに Morell⁵⁾ は嫌気条件でも吸光度変化は遅速 2 相よりなり, 速反応は活性酵素の遅反応は不活性酵素のそれぞれ FAD 分子の還元によるものであ

ると述べている。亘ら¹⁶⁾は 450 $m\mu$ の吸光度変化は嫌気条件においても好気条件での変化と同様の 2 相性変化をなすことを認め、これは 2 分子存在するフラビン 1 分子ずつ段階的に還元されるためであるとしている。

これに対し Gilbert¹⁷⁾ は嫌気条件での 2 相性変化はフラビンのみならず金属の関与する可能性も考慮しなければならないことを指摘した。

ところで、実験結果から明らかなように 450 $m\mu$ の吸光度の変化はフラビンの蛍光強度の変化とは一致せず (Fig. 1, 2), したがって、450 $m\mu$ における吸光度の変化に関与する発色団は単に FAD 分子だけでなく他の発色団も関与していることが確実である。さらに各反応段階の差スペクトルは 450 $m\mu$ に極大を示すけれども FAD の吸収スペクトルは一致しないこと (Fig. 3) から 450 $m\mu$ の吸光度の 2 相性変化の各相にそれぞれ対応して、例えば第 1 相ではフラビンが、第 2 相では鉄またはモリブデンを含む発色団が反応するというような段階的な反応機作は考えられない。本酵素にフラビン以外の発色団が存在することについて Handler ら⁸⁾ は本酵素の吸収スペクトルから酵素蛋白質より算出した当量のフラビンの吸収スペクトルを差引いた差スペクトルが 420 および 470 $m\mu$ に極大を示し、非ヘム鉄蛋白質の吸収スペクトルによく類似することを認め、これから非ヘム鉄の関与を提唱している。著者はこの点をさらに確実にするため熱変性によって本酵素から FAD を完全に遊離せしめその吸収スペクトルを測定しこれを同濃度の未変性酵素の吸収スペクトルから差引いたところ Handler ら⁸⁾ のえた差スペクトルとほとんど完全に一致する差スペクトルがえられた (Fig. 4)。これらの実験結果は 450 $m\mu$ の吸光度変化に対する FAD 以外の発色団の寄与をさらに確証するものである。

Richert ら¹⁸⁾ は基質の減少速度から測定される本酵素活性は鉄キレート剤 (*aa'*-dipyridyl, disodium versenate, および ferric specific Versen) によって変化しないと報告しているが酸素消費およびメチレン青還元速度から測定した著

者の成績では酵素活性がキレート剤によって著明に阻害されることが認められた (Fig. 5, 6)。

紫外部に著明な吸収を示すキレート剤の存在下で同じく紫外部の吸光度の変化から基質 xanthine の減少量を求めることは実験的に困難であり、また酵素との結合によってキレート剤の吸収スペクトルが変化する可能性があるため Richert らの成績は再検討を要するものと考えられる。

最近、Bayer ら¹⁹⁾ および Uozumi ら²⁰⁾ はそれぞれ独立に、活性を失うことなしに本酵素より鉄原子を除去できることを報告している。

しかしながら、Bray ら²¹⁾ はこの事実を確認することはできなかったと述べ、著者もまた、両報告を追試したが不成功であった (木下²²⁾)。

以上の事実から、本酵素中の鉄原子は酵素反応の遂行上、必須のものであって本酵素反応過程中に酸化還元を受け、酵素系における電子伝達経路の一端をになっているものと考えられる。

V. ま と め

Hypoxanthine を基質としたときのキサンチン酸化酵素の反応機作を分光、蛍光測光法およびキレート剤の作用から検討し次の成績をえた。

1. 好気、嫌気両条件において基質添加による本酵素の 450 $m\mu$ における吸光度の変化は 2 相性を示したが、フラビン蛍光強度は単調に減少し、両変化の時間経過は一致しなかった。

2. 好気条件で上記各相の吸収スペクトルから求めた差スペクトルはいずれも 450 $m\mu$ に極大を示したが FAD の吸収スペクトルに一致するものはなかった。

3. 本酵素の可視部吸収スペクトルから本酵素に含まれる FAD の吸収スペクトルを差引くと 420 および 470 $m\mu$ に極大をもつ差スペクトルがえられた。

4. キレート剤を添加すると、本酵素反応による酸素消費およびメチレン青の還元が抑制される。

5. 以上の結果から本酵素反応には3で述べた差スペクトルと同様の吸収スペクトルを示す発色団、おそらく非ヘム鉄、が関与しこれが本酵素系の電子伝達経路の一員となっているであろうと推論した。

稿を終えるに臨み、御指導、後校閲を賜りました久保秀雄名誉教授ならびに中馬一郎教授に心より感謝の意を表します。また実験に際して御指導御援助いただきました百 弘助教授ならびに教室員各位に感謝いたします。

文 献

- 1) Dison, M. (1926) Studies on xanthine oxidase. VII. The specificity of the system. *Biochem. J.* **20**, 703-718
- 2) Corran, H. S., Dewan, J. G., Gordon, A. H. and Green, D. E. (1939) Xanthine oxidase and milk flavoprotein. *Biochem. J.* **33**, 1694-1706
- 3) Horecker, B. L. and Heppel, L. A. (1949) The reduction of cytochrome c by xanthine oxidase. *J. Biol. Chem.* **178**, 683-690
- 4) Avis, P. G., Bergel, F., Bray, R. C., James, D. W. F. and Shooter, K. V. (1956) Cellular constituents. The chemistry of xanthine oxidase. Part. II. The homogeneity of crystalline metalloflavoprotein fraction. *J. Chem. Soc.* 1213-1219
- 5) Morell, D. B. (1952) The nature and catalytic activities of milk xanthine oxidase. *Biochem. J.* **51**, 657-666
- 6) Greenlee, L., Fridorich, I. and Handler, P. (1962) Chemiluminescence induced by operation of iron-flavoproteins. *Biochemistry* **1**, 779-783
- 7) Bray, R. C., Palmer, G. and Beinert, H. (1964) Direct studies on the electron transfer sequence in xanthine oxidase by electron paramagnetic resonance spectroscopy. II. Kinetic studies employing rapid freezing. *J. Biol. Chem.* **239**, 2667-2676
- 8) Handler, P., Rajagopalan, K. V. and Aleman, V. (1964) Structure and function of iron-flavoproteins. *Fed. Proc.* **23**, 30-38
- 9) Bray, R. C., Chisholm, A. J. and Hart, L. I. (1966) Studies on the composition and mechanism of action of milk xanthine oxidase. *Flavin and Flavoprotein*. 117-132 Elsevier Publishing Company, Amsterdam.
- 10) 久保秀雄・志賀 健・磯本昭夫・魚住光郎・門田健・近藤義郎(1962) キサンチン酸化酵素の分子論的研究 酵素化学シンポジウム **14**, 37-39
- 11) Avis, P. G., Bergel, F. and Bray, R. C. (1955) Cellular constituents. The chemistry of xanthine oxidase. Part. I. The preparation of a crystalline xanthine oxidase from cow's milk. *J. Chem. Soc.* 1100-1105
- 12) Bray, R. C., Malmström, B. G. and Vännegård, T. (1959) The chemistry of xanthine oxidase. 8. Electron-spin resonance of xanthine oxidase solution. *Biochem. J.* **73**, 193-197
- 13) Dixon, M. (1953) The determination of enzyme inhibitor constants. *Biochem. J.* **55**, 170-171
- 14) Gutfreund, H. and Sturtevant, J. M. (1959) Steps in oxidation of xanthine to uric acid catalysed by xanthine oxidase. *Biochem. J.* **73**, 1-6
- 15) 魚住光郎(1965) キサンチン酸化酵素の分光分析および電子スピン共鳴による研究 日本生理誌 **27**, 243-269
- 16) 百 弘・魚住光郎・折田義正・木佐貫章(1958) キサンチン酸化酵素 FAD の段階的還元 酵素化学シンポジウム **10**, 57-63
- 17) Gilbert, D. A. (1963) Anaerobic reduction of bovin milk xanthine oxidase. *Nature* **198**, 1175-1177
- 18) Richert, D. A. and Westerfeld, W. W. (1954) The relationship of iron to xanthine oxidase. *J. Biol. Chem.* **209**, 179-189
- 19) Bayer, E. and Voelter, W. (1966) Preparation of iron-free active xanthine oxidase. *Biochim. Biophys. Acta* **113**, 632-634
- 20) Uozumi, M., Hayashikawa, R. and Piette, L. H. (1967) ESR and crystallization studies of iron free xanthine oxidase. *Arch. Biochem. Biophys.* **119**, 288-292
- 21) Johnson, C. E., Knowles, P. F. and Bray, R. C. (1967) Mössbauer evidence on the form of iron in xanthine oxidase. *Biochem. J.* **103**, 10c-12c
- 22) 木下亀雄:(未発表)

〔原著〕

舌下神経核細胞活動の調整に關与する

反射機構 612.819.93 : 612.312.3 : 612.811.4

森 本 俊 文*

A study on reflex mechanism controlling hypoglossal motoneuron activity

Toshifumi Morimoto (*Department of Oral Physiology, Dental School, Osaka University*)

The effect of the lingual nerve volley upon the excitability of hypoglossal motoneurons was analysed in decerebrated and decerebellated cats.

1. The hypoglossal nerve can be broadly divided into two subdivisions: one is the nerve trunk which innervates the tongue protrusive muscle and the other is for the tongue retractive muscles. An evoked potential was recorded from the medial and ventrolateral part of the hypoglossal nucleus when antidromic stimulation was applied to the tongue protrusive nerve. However, the dorsolateral part of the nucleus responded by antidromic stimulation of the tongue retractive nerve.

2. The antidromic response of the tongue protrusive neurons in the hypoglossal nucleus was inhibited by electrical stimulation of the lingual nerve, but that of the tongue retractive neurons was initially facilitated and later inhibited. Furthermore, lingual nerve stimulation evoked the IPSP in the tongue protrusive neuron, but in the tongue retractive neuron the EPSP-IPSP or the EPSP was evoked.

3. The impulses through the lingual nerve are estimated to transmit to the hypoglossal neuron via 3 synapses in the shortest reflex arc of the linguo-hypoglossal reflex system.

[*J. Physiol. Soc. Japan* (1968) 30, 376-386]

1. 緒 言

舌の筋は内舌筋および外舌筋より構成され、その形態を複雑に変化させる事ができるのみならず、その目的に適合した巧妙な運動を行なう事ができる。このような舌筋活動に対して延髄舌下神経核細胞は final common path の起始細胞として重要な働きを行なっている。ゆえに、前記舌筋活動の生理学的機序を解明するためには、舌および口顎よりの求心性信号により舌下神経核細胞の活動が、如何に反射的に調整されるかを明らかにする事が必要である。しかし、今日舌運動の反射機構については不明の点が多く、特に三叉神経知覚枝を介する口腔組織よりの一般知覚性信号が舌下神経核細胞に如何に作用するかについては意見の一致を見ていない¹⁾²⁾³⁾。

そもそも延髄舌下神経核は組織学的ならびに

神経生理学的に各種舌筋を支配する数個の小区画に分けられているが⁴⁾⁵⁾⁶⁾⁷⁾⁸⁾⁹⁾、大別すると舌のつき出しに働く筋を支配する細胞群と舌のひっこめに働く筋を支配する細胞群の2つになる。ゆえに、三叉神経知覚枝刺激の舌下神経核細胞に対する影響を分析する際には、舌つき出し細胞に対する影響と舌ひっこめ細胞に対する影響とをそれぞれ検討する必要がある。

本実験は舌の前2/3の一般知覚を伝える舌神経を介する信号が、舌下神経核の前記2群の運動神経細胞に対して、それぞれ如何に影響するかを検討したものである。

II. 実験方法

実験には体重 2.5~4.0 kg のネコ37匹を用い Nembutal (40 mg/kg) を腹腔内に投与して麻酔を行なった。ネコの顎下部皮膚および顎舌骨筋を縦に切開し舌下神経を露出させ、口腔底中央部で切断し、その中枢端に刺激電極を装着した。また、舌神経刺激のためには舌神経が舌

* 大阪大学歯学部口腔生理学教室

〔昭和42年12月26日受付〕

に入る直前で切断し、その中枢端に刺激電極を装着した。一對の輪状銀線電極を内径 1.5 mm のポリエチレンチューブ内面に装置し、神経を断端よりこのチューブ内に挿入し保定した。これら刺激電極はすべて他組織との絶縁のためワセリンに浸した綿でこれを覆った。刺激には持続 0.1 msec の単一矩形波刺激を用いた。

動物は頭部を脳定位固定装置に固定後、四丘

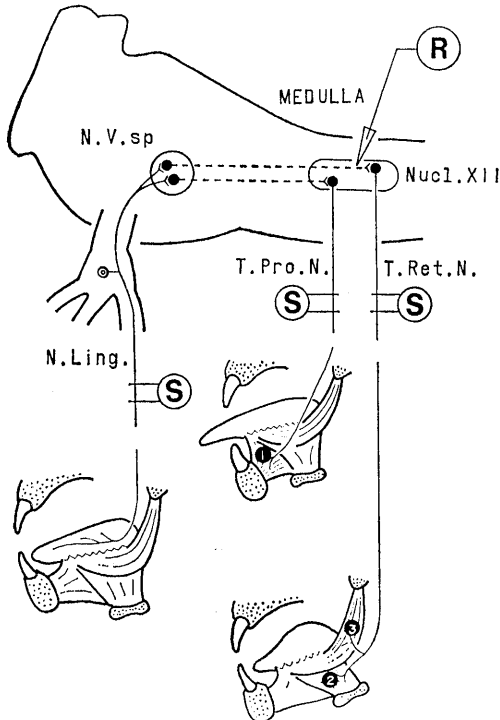


Fig. 1. Schematic diagram of experimental procedures for analysis of the effect of lingual nerve volley upon the excitability of the hypoglossal motoneurons. Conditioning stimulus was applied to the lingual nerve, followed by a test stimulus to the hypoglossal nerve. Response was recorded in the hypoglossal nucleus. Temporal sequence of lingual nerve effects was analysed by varying time intervals between conditioning stimulus and test stimulus. Abbreviations: N. Ling.; lingual nerve, N. V. sp; spinal trigeminal nucleus, Nucl. XII; hypoglossal nucleus, R; recording electrode, S; stimulating electrodes, T. Pro. N.; the nerve innervating tongue protrusive muscle, T. Ret. N.; the nerve innervating tongue retractive muscle. 1; genioglossal muscle, 2; hyoglossal muscle, 3; styloglossal muscle.

体上丘前端レベルで除脳し、小脳をも吸引除去して延髄を露出した。露出延髄表面は乾燥を防ぐため 37~39°C の流動パラフィンで覆った。

舌下神経核細胞の活動を記録するには 3 M-KCl または 2 M-K citrate 封入ガラス微小電極 (先端抵抗 20~40 MΩ) を用い、マイクロマニプレーターにより stereo-taxic に延髄舌下神経核に挿入した。

舌神経刺激が舌下神経核細胞の活動に如何に影響するかを調べるためには、条件刺激を舌神経に与え、次いで時間々隔を次第に変化させながら試験刺激を舌下神経に与えた。この操作により舌下神経核の逆向性誘発電位が、条件刺激を与えなかった場合に比べて如何に変化するかを細胞外記録法により観察、記録した。

なお、舌下細胞線維は大きく 2 つに分けられ、一方は舌のつき出しに働く頤舌筋および内舌筋へ、他方は舌のひっこめに働く茎突舌筋および舌骨舌筋へ分布している (以下これら神経線維の各々を舌つき出し線維、舌ひっこめ線維と名付けた)。ゆえに、舌下神経の逆向性刺激はこれら両線維の各中枢端にそれぞれ与えた。

また、舌神経に刺激を与え、誘発される舌下神経細胞の後シナプス電位を細胞内記録した。この際、微小電極が舌下神経細胞内に挿入されているか否かは舌下神経の逆向性スパイク電位によって確認した。

細胞外電位記録には微小電極用増幅器、CR 結合 5 段増幅器を用い、また細胞内記録には DC 2 段増幅器を用い、陰極線オシロスコープ、連続記録装置により記録、撮影した。

III. 実験結果

A. 舌下神経核の逆向性誘発電位

舌下神経を刺激することにより延髄舌下神経核から逆向性誘発電位が記録できた。電極が延髄表面下に入ると通常小さな positive-negative の電位が観察されたが、電極をさらに深く挿入すると、ある点からこの誘発電位の negative の成分は急に大きくなり、表層より約 1.5 mm に達する間に、多くの場合この negative の電

位は最大となった。また、時に細胞体の電位と思われる大きな positive-negative の電位が記録できた。これら誘発電位の潜時は 1~1.5 msec で、逆向性誘発電位を生じる場所は舌ひっこめ線維を刺激した場合と舌つき出し線維を刺激した場合とで異っていた。すなわち、舌ひっこめ線維が刺激された時は主として舌下神経核の外背側部に、舌つき出し線維が刺激された時は核の内側部および外腹側部で誘発電位が記録された。また、逆向性誘発電位の大きさは与える刺激の強さによって変化した。

B. 舌神経刺激の影響

舌下神経に与える逆向性刺激の強さとして

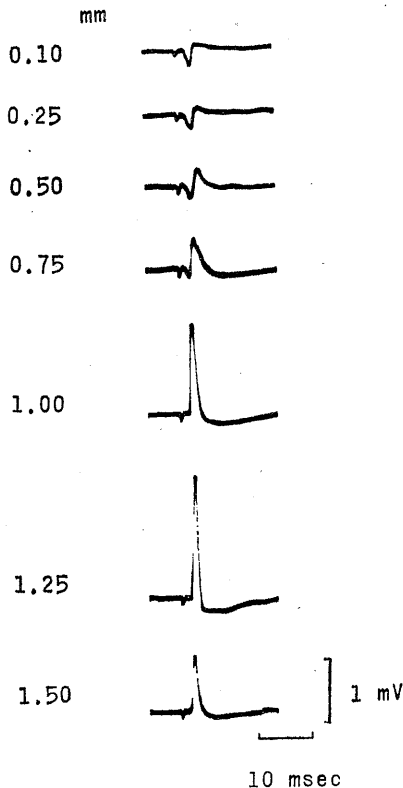


Fig. 2. Potentials evoked by antidromic stimulation of the hypoglossal nerve. Arabic numerals in the figure indicate depth from the bulbar surface of the medulla. Maximum response was usually recorded in the hypoglossal nucleus at the depth of about 1.00 mm and 1.25 mm from the bulbar surface. Negativity is upwards in this figure.

は、誘発電位の大きさが刺激に対して直線的に変化する範囲の電圧を選んだ。

舌下神経刺激による舌下神経核の逆向性誘発電位は、舌神経に条件刺激を与えることによって影響を受けた。この影響は舌つき出し細胞群と舌ひっこめ細胞群とでそれぞれ相違した。Fig. 3-1 は舌つき出し細胞に対する舌神経刺激の影響を示したものである。舌神経刺激により

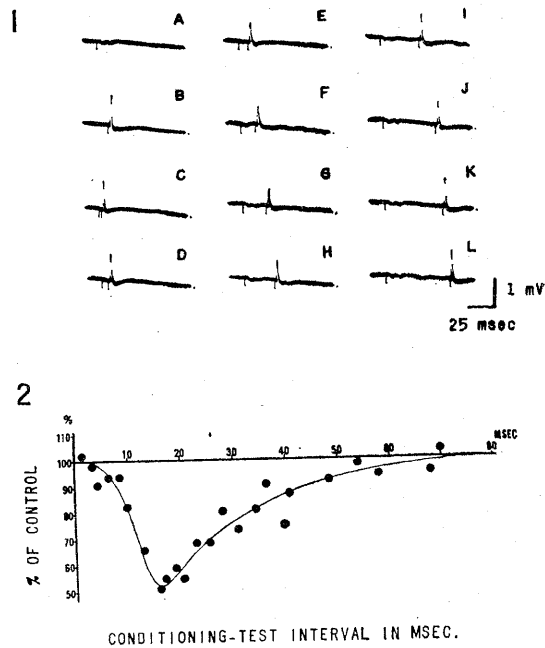


Fig. 3. Influence of lingual nerve volley upon the antidromic potential of tongue protrusive motoneurons in the hypoglossal nucleus. 1. A: Orthodromic response evoked by conditioning lingual nerve stimulation. B: Antidromic response evoked by test stimulus to tongue protrusive nerve. C-L: Response pattern when the time interval between conditioning stimulus and test stimulus was changed. 2. The graph indicates relation between potential height of tongue protrusive motoneurons and intervals of the conditioning test stimulus. Ordinate represents the height of the conditioned antidromic evoked potential of tongue protrusive motoneurons as a percent of the unconditioned test response which was given a value of 100%. Abscissa represents intervals between conditioning lingual nerve stimulus and subsequent stimulus to the hypoglossal nerve.

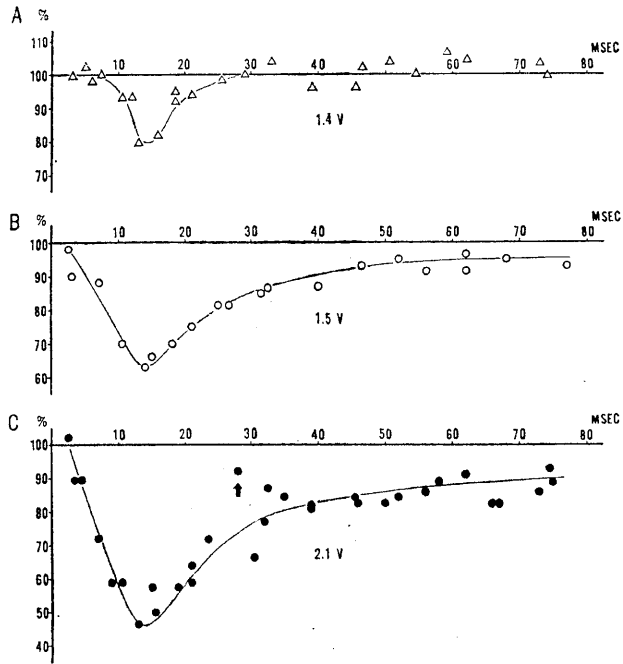


Fig. 4. Effect of three different intensities of conditioning lingual nerve stimulation on antidromic response of tongue protrusive motoneurons. A: 1.4 volt stimulus, B: 1.5 volt stimulus, C: 2.1 volt stimulus. Strong lingual nerve stimulation often causes temporal reduction of the conditioning effect as indicated by an arrow in C.

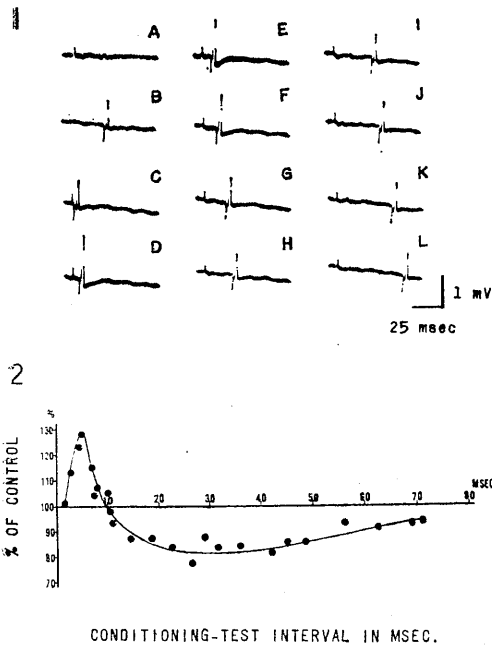


Fig. 5. Influence of lingual nerve volley upon antidromic potential of tongue retractive motoneurons. 1. A: Orthodromic response evoked by conditioning lingual nerve stimulation. B: Antidromic response evoked by test stimulus to tongue retractive nerve. C-L: Response pattern when time interval between conditioning stimulus and test stimulus was changed. 2: The graph indicates relation between potential height of tongue retractive motoneurons and intervals of the conditioning test stimulus. Ordinate represents amplitude of the conditioned antidromic evoked potential of tongue retractive motoneurons as a percent of the unconditioned test response which was given a value of 100%. Abscissa represents interval between a conditioning lingual nerve stimulus and subsequent stimulus to the hypoglossal nerve.

舌下神経核より Fig. 3-1A に示した如き持続の長い小さな positive の電位が記録された。Fig. 3-1B は条件刺激を与えなかった場合の舌下神経核の逆向性誘発電位であり、Fig. 3-1C~L は条件刺激と試験刺激の間隔を次第に変化させた時の舌下神経核の逆向性誘発電位の変化である。舌つき出し細胞群の逆向性誘発電位は舌神経刺激により常に小さくなる傾向を示した。このような舌つき出し細胞の反応の 1 例を Fig. 3-2 に示した。図において縦軸は条件刺激を与えない場合の逆向性誘発電位の大きさを 100 とし、これに対する条件刺激を与えた場合の電位の大きさをパーセントで表わした。横軸には条件刺激と試験刺激の間隔を示した。条件刺激の効果が出現し始める時の両刺激の間隔は、短い場合で約 2.5 msec、長い場合で約 7 msec であった。また、効果が最高になるのは両刺激の間隔が 12~15 msec の時であった。条件刺激効果の持続時間は誘発電位によって多少異り、条件刺激と試験刺激との間隔が 40~90 msec になると条件刺激は無効となった。舌下神経核での記録部位が相違しても、これら反応パターンには特記すべき相違を認めなかった。

次に条件刺激の強さの変化が舌下神経核誘発電位に如何に影響するかを検討した。3 段階の強さで舌神経に条件刺激を与えた場合、それぞれの刺激に対する効果を Fig. 4 に示した。図において各曲線上の数字は刺激の強さを表わしている。舌神経への刺激が強い程、逆向性誘発電位は小さくなると共に、その効果の持続が延長した。また、強い条件刺激を与えた場合、両刺激間隔が 20~40 msec の間で、一時電位減少効果の弱まるのが認められることがあった。

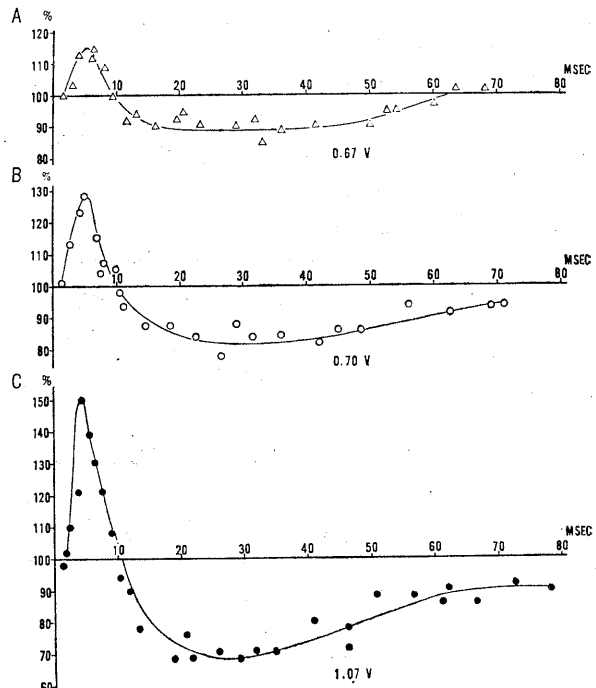


Fig. 6. Effect of three different intensities of conditioning lingual nerve stimulation on antidromic response of tongue retractive motoneurons. A : 0.67 volt stimulus, B : 0.70 volt stimulus, C : 1.07 volt stimulus.

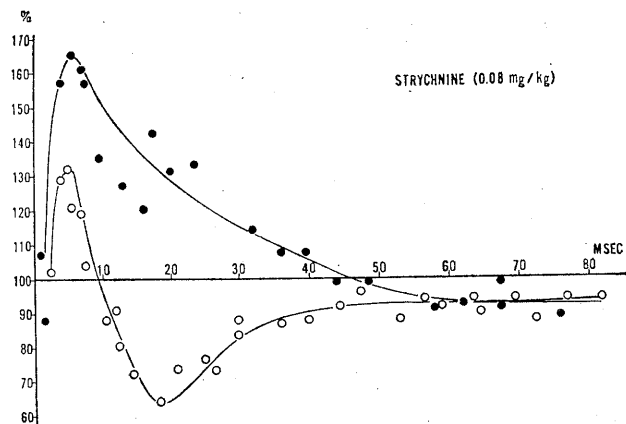


Fig. 7. Effect of strychnine injection on activity of tongue retractive motoneurons. Initial increasing effect of the conditioning stimulus on antidromic response of tongue retractive motoneuron became prominent, and subsequent decreasing effect was suppressed after strychnine injection. Open circle : Before strychnine injection. Solid circle : 5 minutes after strychnine injection.

舌ひっこめ細胞の誘発電位に対する舌神経刺激の影響を Fig. 5-1 に示した. 図においてAは舌神経刺激により誘発された舌下神経核での誘発電位で, 刺激が強い場合には時としてスパイクが認められた. Bは舌下神経刺激による舌

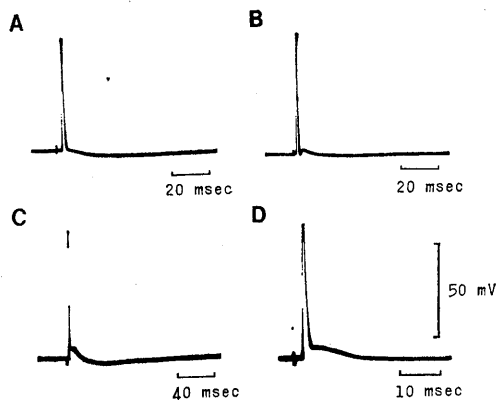


Fig. 8. Intracellularly recorded antidromic spike potentials of hypoglossal motoneurons. A: Spike potential with an after hyperpolarization and without any interposed dip. B: Spike potential with a positive dip on the falling phase. C: Spike potential with delayed depolarization. D: Faster sweep record of C.

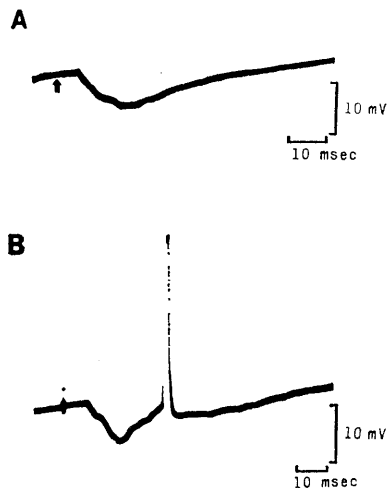


Fig. 9. Synaptic potentials of tongue protrusive motoneurons evoked by lingual nerve stimulation. A: Hyperpolarization by moderate lingual nerve stimulation. B: Strong lingual nerve stimulation sometimes produced spike potential in the course of hyperpolarization.

下神経核逆向性誘発電位, C~Lは条件刺激と試験刺激の間隔を変化させた時の舌下神経核の逆向性誘発電位の大きさの変化を示したものである. 舌つき出し細胞の場合とは異り, 両刺激の間隔が短い間は逆向性誘発電位の増大が認められ, 間隔が長くなると逆に電位の小さくなるのが認められた. このような舌ひっこめ細胞の反応の1例を Fig. 5-2 に示した. 条件刺激の効果が出現し始める時の両刺激の間隔は比較的短く約 2.5 msec を越えると電位の増大が始まり, 5~7 msec で増大は最高となった. 続いて通常は両刺激間隔が 10~16 msec に達すると一旦電位は元のレベルにもどった. しかし, それ以上両刺激間隔が増大すると電位は小さくなり, 条件刺激の効果が無くなるには試験刺激との間隔が 60 msec 以上にもなる必要があった. 少数例では条件刺激と試験刺激の間隔が一定時間以上になっても電位は小さくならず, 両刺激間隔が約 40 msec まで電位の増大効果が認められ, それ以上両刺激間隔が大きくなった場合条件刺激は無効となり, 前記の如き電位減少効果は全く認められないものがあった.

Fig. 6 は強弱3段階の強度で舌神経に条件刺激を与えた場合, それぞれの強さに対する舌ひっこめ細胞の逆向性誘発電位の変化を示したものである. 舌神経への刺激が強い程, 両刺激間隔が短い場合に認められる電位増大効果は大となり, また両刺激間隔が延長した場合の電位減少効果も著明になった.

次に, このような舌ひっこめ細胞に対する舌神経よりの影響のうち, 両刺激間隔がある一定時間以上になった時認められる舌下神経逆向性誘発電位減少機序に IPSP が関与するか否かを検討した. 一般に IPSP 抑制効果をもつ strychnine (0.08 mg/kg) を静脈注射し, 前記舌ひっこめ細胞の反応を記録した. Fig. 7 に示した如く strychnine 投与約 5 分後には舌下神経逆向性誘発電位に対する条件刺激の増大効果は著明に大きくなり, 両刺激間隔が延長した場合生じる誘発電位の減少効果は明らかに抑制された. この事実から条件刺激が舌下神経核逆向性

誘発電位を抑制する機序の一つに IPSP が関与していることが推察できる。

C. 舌下神経核細胞の後シナプス電位

次に細胞内記録によって上記現象を分析した。舌下神経核細胞内で観察される逆向性電位は Fig. 8 A に示す如きスパイク電位,あるいは Fig. 8 B に示す如き後電位に移行する前に dip を持つスパイク電位, また Fig. 8 C および D に示す如く下行期に delayed depolarization を示すスパイク電位が認められた。ただし, 上記3種のスパイク電位の中で Fig. 8 C に示したタイプのものが最も多かった。このようなスパイク電位の形の相違は舌ひっこめ細胞, 舌つき出し細胞の区別なく観察された。逆向性スパイク電位により舌下神経核細胞内より記録している事を確認した後, 舌神経刺激による舌下神経核細胞の後シナプス電位を記録した。舌神経刺激により舌つき出し細胞では Fig. 9 A に示した如き過分極性の電位が記録された。この電位の潜時は短いもので 6 msec, 電位の大きさは舌神経に与える刺激の大きさによって異った。この電位は KCl 封入微小電極を用いて記録した場合, 次第に過分極から脱分極に変化する事か

ら IPSP であると思われる。すでに Porter²⁾¹⁵⁾ が指摘する如く, この過分極電位はその下行相に step が認められた。また, 舌つき出し細胞では舌神経に与える刺激が強くなると Fig. 9 B に示した如く刺激後 20~40 msec の潜時においてスパイクを生じる場合が少数ながら認められた。

一方, 舌神経刺激により舌ひっこめ細胞では Fig. 10 A に示した如く, 小さな脱分極とこれに続く過分極電位が記録できた。初めの脱分極電位の潜時は短いもので 4 msec であった。舌神経刺激が強い場合には, この脱分極電位か

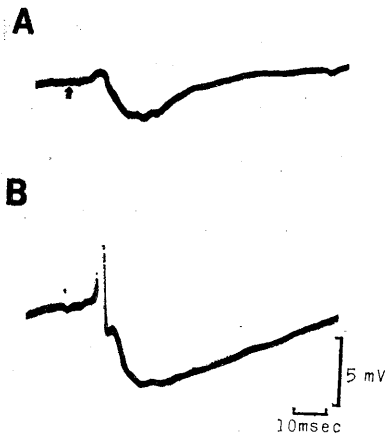


Fig. 10. Synaptic potentials of tongue retractive motoneuron evoked by lingual nerve stimulation. A: Small depolarization and subsequent hyperpolarization by moderate lingual nerve stimulation. B: Depolarization developed into spike potential by strong lingual nerve stimulation.

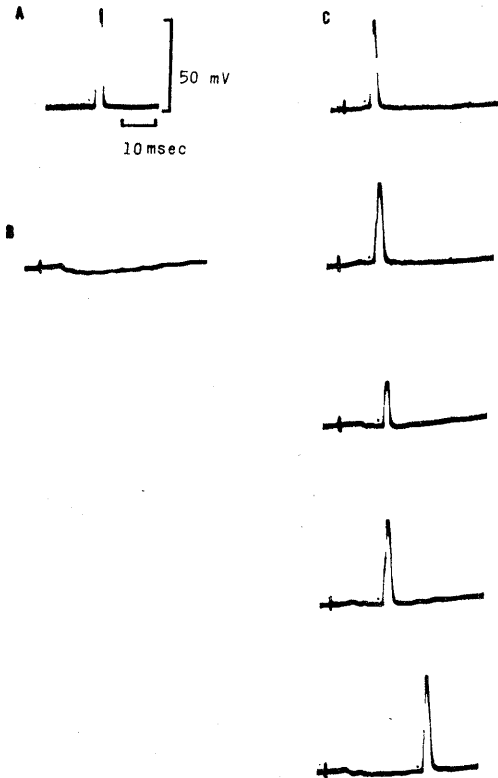


Fig. 11. Effect of IPSP on antidromic spike potentials of tongue protrusive motoneuron. A: Antidromic spike potential of the tongue protrusive motoneuron. B: The IPSP evoked by lingual nerve stimulation. C: A series of records illustrating the change of antidromic spike potential height at various intervals of lingual nerve stimulation and hypoglossal nerve stimulation.

らスパイクを生じる事から EPSP である事が分った。なお、少数例においては脱分極に続く過分極電位がなく脱分極電位のみが記録された。

舌下神経に与えた逆向性刺激により舌つき出し細胞にスパイクが生じている時、これに先行して舌神経に刺激を与えると、それによって生じた IPSP の為に逆向性スパイクの大きさが変化した (Fig. 11)。図中 A は舌つき出し細胞の逆向性スパイク。B は舌神経刺激による IPSP。C は舌神経刺激後、時間々隔を次第に変えながら舌下神経に刺激を与えた場合の逆向性スパイクの変化を示している。両刺激間隔が 10.5 msec の時、逆向性スパイクはやや小さくなったが、さらに 13.5 msec の時、逆向性スパイクは SD スパイクが消えて IS スパイクのみとなった。しかし両刺激間隔が 17 msec になると再び SD スパイクは生じ、32.5 msec になると、ほぼ対照の逆向性スパイクと同じ大きさに戻った。

IV. 考 察

舌運動の反射的調節には舌神経からの求心性信号、ことに舌の一般知覚性信号が極めて重要な役割を果している。すなわち、舌の前 2/3 の一般知覚を伝える舌神経を切断するとラットは咀嚼に際して舌を噛んでしまう。Carleton¹⁰⁾ は cocaine を用いてヒトの口腔および舌粘膜を麻酔すれば、舌の位置感覚が失われる事を報告した。一方、Schoen¹¹⁾、Schoen & Koeppen¹²⁾ は視床ネコで舌の触あるいは痛刺激が反射的舌運動を惹起することを認め、また Tarkhan¹³⁾ はイスおよびネコの舌神経を電気刺激すると舌運動が起る事を観察した。Blom³⁾¹⁴⁾ はこのような舌神経刺激により舌下神経に誘発される反射を舌神経・舌下神経反射と呼んだ。さらに Porter²⁾¹⁵⁾ および Green et al.¹⁾¹⁶⁾ は三叉神経刺激により舌下神経核細胞で後シナプス電位を記録した。しかし、上記の舌神経・舌下神経反射において舌神経を介する信号が舌下神経核細胞に如何に作用するかの詳細は今日なお十分明らかにされていない。

本実験は舌下神経核細胞をその機能にしたがって舌つき出し筋支配の細胞と舌ひっこめ筋支配の細胞に分けて考え、舌神経からの信号がこれら 2 つの細胞群に対してそれぞれ如何に作用するかを明らかにした。すなわち、舌骨舌筋、茎突舌筋等の舌ひっこめに働く筋を支配する舌下神経核細胞の活動は、舌神経刺激により主として先ず促進され続いて抑制された。なお少数のものにおいては促進反応のみを示したものも存在した。これとは逆に顔舌筋等の舌つき出しに働く筋を支配する細胞の活動は同一刺激条件で抑制された。

Blom³⁾ は連続する 2 発の刺激を時間々隔を次第に変化させながら舌神経に与えると舌下神経で記録される電位は、2 つの刺激間隔が短い間 (約 10 msec) は第 2 の刺激による電位が対照 (第 1 の刺激による電位) に比して大きくなり、それ以上刺激間隔が開くと逆に小さくなる事を報告している。また、Green et al.¹⁾ は三叉神経刺激によって舌下神経核細胞にスパイクが生じると、それに続く数 10 msec の間舌下神経刺激により誘発されるこの細胞の逆向性電位が抑制されることを観察した。これらの結果はいずれも本実験における舌ひっこめ細胞の態度と極めて良く一致している。さらに Porter²⁾ は舌神経刺激により舌下神経核細胞では脱分極性、脱分極-過分極性、過分極性および複雑な型の 4 種の後シナプス電位が生ずることを示した。本実験の細胞内記録の結果から考えて、これら 4 種のシナプス電位の内、前 2 者は舌ひっこめ細胞からのものであり、過分極性のは舌つき出し細胞からのものであるといえる。

本実験では舌下神経を刺激し、逆向性に誘発させた舌下神経核細胞群の電位を舌下神経核細胞の興奮性の指標として用いた。脊髄では後根刺激により誘発される前根、または末梢筋枝神経の単シナプス性反射放電の大小を指標として運動神経細胞の興奮性を検討することができる¹⁷⁾¹⁸⁾¹⁹⁾ のに対して、舌下神経核細胞では、脊髄運動神経細胞における如き単シナプス性反射回路は未だ見出されていないためである。逆向

性誘発電位を細胞の興奮性の指標として用いる方法はすでに脊髄運動神経細胞の場合にも用いられている²⁰⁾²¹⁾²²⁾。また、この方法は舌下神経核中の舌ひっこめ細胞群と舌つき出し細胞群を別々に興奮させるのにも都合が良い。

舌下神経刺激により逆向性に誘発させた舌下神経核細胞群の誘発電位が、先に舌神経に条件刺激を与えることにより増大するか減少するかは、細胞内記録実験の結果と合せ考えると舌下神経核細胞中に興奮性シナプス後電位 (EPSP) が生じるか、あるいは抑制性シナプス後電位 (IPSP) が生じるかによると思われる。すなわち、舌神経刺激によって舌ひっこめ細胞群の誘発電位が増大したことは、これら細胞群に興奮性インパルスによる閾値低下がおり、逆向性衝撃によって細胞体が発火しやすくなると共に、舌神経刺激が強い場合には EPSP からスパイクが生じて来るためと思われる。次に、条件刺激を与えることにより舌つき出し細胞群および舌ひっこめ細胞群で認められた逆向性誘発電位の減少は、舌神経刺激によって生じた IPSP のため逆向性衝撃が軸索起始部 (IS) から細胞体および樹状突起の太い幹の部分 (SD) へ伝播する時に中断される事が原因となる可能性が考えられる。さらにこの他、IPSP のため逆向性衝撃が軸索の有髓部 (M) から無髓の IS 部へ伝播しなかったり、あるいは IPSP のため細胞体のスパイク電位が僅かながら小さくなる可能性をも考慮しなければならないであろう²³⁾。事実、細胞内記録では舌神経刺激により舌ひっこめ細胞に脱分極-過分極電位を示す細胞と脱分極のみを示す細胞が認められた。また舌つき出し細胞では総て過分極電位がえられた。

さらに、舌ひっこめ細胞において逆向性誘発電位の増大後に見られる電位減少効果は、上記の如き後シナプス電位による原因の他、舌神経刺激によって生じた正向性スパイクが舌下神経軸索を下降する途中、逆向性スパイクと衝突し、互に相殺し合うことも原因の一つになっているものと思われる。なお、cranial motor axon は殆ど側枝を有しないので²⁴⁾²⁵⁾、Renshaw 型

細胞による反回性抑制は殆ど無視できる。

舌神経刺激により舌下神経核細胞内より記録した後シナプス電位の最短潜時は 4 msec であった。一方、舌神経刺激による三叉神経知覚核細胞の反応潜時は 1.8~2.4 msec (平均 2.0 msec) であったので、三叉神経知覚核での 2 次ニューロンから舌下神経核細胞にインパルスが達する為には、平均 2.0 msec かかることになる。これら 2 細胞間に介在細胞が一つ存在すると仮定すれば伝導時間は実測値に一致する。すなわち trisynaptic pathway であることが推察される。しかし、最近 Porter¹⁵⁾ はさらに潜時の短いシナプス電位を記録し、最短の反射回路が disynaptic pathway である事を推察している。Woodburne²⁶⁾、Stewart & King²⁷⁾ は組織学的研究により三叉神経脊髄路核から直接舌下神経核へ投射する神経線維が存在する事を確認しているが、このような神経線維が上記の如きシナプスの少い反射回路を構成するのに関与しているのであろう。

舌ひっこめ細胞の逆向性誘発電位は舌神経への条件刺激により主として初め促進され、次いで抑制されたが、舌神経の刺激の強さを如何に調節してもこれら両効果の内、一方のみをうる事はできなかった。この事実から、舌神経に接続する三叉神経脊髄路核の細胞は、一方ではシナプスの少い回路を介して舌ひっこめ細胞に促進的に作用すると共に、他方ではその側枝を介して、よりシナプスの多い回路を形成し、同一の舌ひっこめ細胞に抑制効果をおよぼしている可能性が考えられる。

V. 総 括

除脳・除小脳ネコを用い舌神経の興奮が舌下神経核細胞に対し如何に影響をおよぼすかを検討した。

記録電極 (3 M-KCl または 2 M-K citrate 封入微小ガラス電極) を延髄舌下神経核に挿入し、舌下神経に試験刺激を与えて逆向性誘発電位を記録した。先行する条件刺激を舌神経に与えて、舌下神経核中の逆向性誘発電位が条件刺

激を与えなかった時に比べていかに変化するかを観察し分析した。また、舌神経刺激による舌下神経核細胞の後シナプス電位を細胞内より記録した。えた結果は概略次のとおりである。

1. 舌下神経核の細胞は舌つき出し筋を支配する細胞と舌ひっこめ筋を支配する細胞の2つに大別される。舌つき出し筋を支配する細胞の逆向性誘発電位は主として舌下神経核の内側部および外腹側部から、舌ひっこめ細胞の誘発電位は核の外背側部で記録できた。

2. 舌つき出し細胞の逆向性誘発電位は舌神経に条件刺激を与える事によって抑制された。舌ひっこめ細胞の逆向性誘発電位は条件刺激と試験刺激の両刺激間隔が短い間は増大し、両刺激間隔がある程度をこえると逆に減少した。

3. 細胞内記録により、舌神経刺激によって舌下神経核中の舌つき出し細胞には IPSP が、舌ひっこめ細胞には EPSP-IPSP もしくは EPSP のみが誘発されることを確認した。

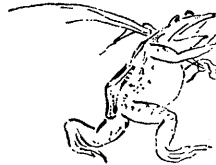
4. これら後シナプス電位の潜時から舌神経・舌下神経反射の回路は少くとも3個のシナプスを介するものと推察される。

稿を終るに臨み、終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜った河村洋二郎教授に対し衷心より謝意を表し、併せて本実験を行なうに当り種々御協力を戴いた高田充講師および口腔生理学教室員諸兄に厚く感謝します【本論文の一部は第43回日本生理学会総会（昭和41年、松本）で発表した】。

文 献

- 1) Green, J. D. and Negishi, K. (1963) Membrane potentials in hypoglossal motoneurons. *J. Neurophysiol.* **26**, 835-856
- 2) Porter, R. (1965) Synaptic potentials in hypoglossal motoneurons. *J. Physiol.* **180**, 209-224
- 3) Blom, S. (1960) Afferent influences on tongue muscle activity; A morphological and physiological study in the cat. *Acta Physiol. Scand. Suppl.* **170**, 1-97
- 4) Barnard, J. W. (1940) The hypoglossal complex of vertebrates. *J. Comp. Neurol.* **72**, 489-524
- 5) Goldin, L. (1934) Zur Frage d. Zusammensetzung d. Hypoglossus Kernes und über die Zellengruppen, die mit seinen Wurzeln topographisch Zusammenhängen. *Anat. Anz.* **78**, 81-89
- 6) 林本 勇 (1960) 食肉類舌下神経核の比較解剖学的研究 *神医大紀* **20**, 394-408
- 7) Kosaka, K. and Yagita, K. (1903) Experimentelle Untersuchungen über die Ursprung des Nervus Hypoglossus und seines absteigendes Astes. *Jahrb. f. Psychiat. und Neur.* **24**, 150-189
- 8) Stuurman, F. J. (1916) Die Lokalisation der Zungen Muskeln im Nucleus hypoglossi. *Anat. Anz.* **48**, 593-610
- 9) Morimoto, T., Kato, I. and Kawamura, Y. (1966) Studies on functional organization of the hypoglossal nucleus. *J. Osaka Univ. Dent. Sch.* **6**, 75-78
- 10) Carleton, A. (1937) Observations on the problem of the proprioceptive innervation of the tongue. *J. Anat. Lond.* **72**, 502-507
- 11) Schoen, R. (1931) Untersuchungen über Zungen- und Kieferreflexe. I. Mitteilung: Der Kieferzungenreflex und andere propriozeptive Reflexe der Zunge und der Kiefermuskulatur. *Arch. exp. Path. Pharm.* **160**, 29-48
- 12) Schoen, R. und Koeppen, S. (1931) Untersuchungen über Zungen- und Kieferreflexe. II. Mitteilung: Exterozeptive Reflexe und ihre wechselnde Schaltung. *Arch. exp. Path. Pharm.* **160**, 343-368
- 13) Tarkhan, A. A. (1936) Über das Vorhandensein afferenter Fasern im Nervus hypoglossus. *Arch. Psychiat. Berlin*, **105**, 475-483
- 14) Blom, S. and Skoglund, S. (1959) Some observations of the control of the tongue muscles. *Experientia* **15**, 12-13
- 15) Porter, R. (1967) The synaptic basis of a bilateral lingual-hypoglossal reflex in cats. *J. Physiol.* **190**, 611-627
- 16) Green, J. D., Groot, J. and Sutin, J. (1957) Trigemino-bulbar reflex pathway. *Am. J. Physiol.* **189**, 384-388
- 17) Lloyd, D. P. C. (1946 a) Facilitation and inhibition of spinal motoneurons. *J. Neurophysiol.* **9**, 421-438
- 18) Lloyd, D. P. C. (1946 b) Integrative pattern of excitation and inhibition in two-neuron reflex arcs. *J. Neurophysiol.* **9**, 439-444
- 19) Hagbarth, K. E. (1952) Excitatory and inhibitory skin area for flexor and extensor motoneurons. *Acta Physiol. Scand.* **26**, Suppl. 94, 1-58
- 20) Renshaw, B. (1942) Effects of presynaptic volleys on spread of impulses over the soma of the motoneurone. *J. Neurophysiol.* **5**, 235-243
- 21) Renshaw, B. (1946) Observation on interaction of nerve impulses in the gray matter and on the nature of central inhibition. *Am. J. Physiol.* **146**, 443-448

- 22) Brooks, C. M. and J. C. Eccles (1948) Inhibition of antidromic responses of motoneurons. *J. Neurophysiol.* **11**, 431-444
- 23) Coombs, J. S., Eccles, J. C. and Fatt, P. (1955) The inhibitory suppression of reflex discharges from motoneurons. *J. Physiol.* **130**, 396-413
- 24) Cajal, S. R. (1909) *Histologie du système nerveux de l'homme et des vertébrés*. Quoted from Lorente de Nó, R. (25)
- 25) Lorente de Nó, R. (1947) Action potential of the motoneurons of the hypoglossal nucleus. *J. cell. comp. Physiol.*, **29**, 207-288
- 26) Woodburne, R. T. (1936) A phylogenetic consideration of the primary and secondary centers and connections of the trigeminal complex in a series of vertebrates. *J. Comp. Neur.*, **65**, 404-501
- 27) Stewart, W. A. and King, R. B. (1963) Fiber projection from the nucleus caudalis of the spinal trigeminal nucleus. *J. Comp. Neur.* **121**, 271-286



〔原著〕 膣伸展の呼吸活動におよぼす影響
について 612.627 : 612.014.47 : 612.21

森 巍*

Effects of vaginal distension upon the respiratory activities

Takashi Mori (Second Department of Physiology, Okayama University Medical School)

The effects of vaginal distension upon the respiratory activities were electromyographically studied in dogs anesthetized with chloralose. The results are summarized as follows.

1. Vaginal distension produces the three different kinds of effects upon the respiratory activities, namely with weak distension (30~50 mmHg) the acceleration of breathings as well as continuous contractions of the abdominal muscles and with the strong one (60~140 mmHg) simultaneous contractions of the diaphragm and the abdominal muscles, the period of which is independent from that of breathings, resulting in the increase of intra-abdominal pressure.

2. The afferent impulses elicited in the vagina which produces the former two effects enter the spinal cord through the pelvic, hypogastric and pudendal nerves, whereas the afferent impulses which produces the latter one pass solely through the pelvic nerves.

3. The decerebration has no essential influence upon the effects described above. In animals whose spinal cord has been transected at the level of the 3rd cervical through the 5th thoracic segment, the acceleration of breathings and simultaneous contractions of the diaphragm and abdominal muscles are completely abolished, whereas continuous contractions of abdominal muscles can still be elicited. [J. Physiol. Soc. Japan (1968) 30, 387-392]

緒 言

分娩第Ⅱ期すなわち胎児が膣腔を通過する時期には不随意的に“いきみ様運動”が生じ、これが腹圧を上昇させることによって胎児の娩出に貢献していることはよく知られている²⁾¹³⁾。その際腹筋の収縮が欠くことのできないものであることも確められている。すなわち Cross (1958)⁴⁾、Konzett (1959)¹⁰⁾ はウサギで分娩第Ⅱ期に膣壁が児頭により強く伸展される毎に反射的に腹筋が収縮することを観察記録し、Hosomi (1958)⁷⁾ はヒトで陣痛発作時に腹筋が強く放電することを報告している。ついで Ferguson (1941)⁵⁾、Cross (1958)³⁾、Fuchs (1956)⁶⁾ はウサギの膣を Allis の鉗子あるいはゴム球で伸展することにより、そして Konzett⁹⁾ はウサギの膣壁筋の強い収縮によって反射的に腹筋が収縮し、腹圧(胃内圧)の上昇することを観察した。Cross⁴⁾ はさらにこの現象が除脳動物では顕著であり、脊

髄の腰仙部の硬膜外麻酔によって消失することを認めている。

他方、意識的に“いきみ”を行なって腹圧を上昇させるさいは、まず深く吸息を行なったのち、声門を閉じ横隔膜を押し下げておいて腹筋および他の呼吸筋を収縮させる¹³⁾。すなわち横隔膜も大きな役割を果たしている。したがって分娩時のあるいは膣伸展によって反射的に起るいきみ様運動の際にも横隔膜が協力的に働いているものと推測されるが、どのような態度をとっているか、またその反射経路についての実験的研究はない¹⁾¹²⁾。そこで著者はイヌを用い、膣伸展の横隔膜(吸息筋)および腹筋(呼息筋)におよぼす効果を筋電図学的に観察研究し、あわせて胸廓の運動、腹圧変化を同時に記録し、その効果の発現機序を検討したので報告する。

実験方法

非妊および妊娠イヌ(9~12 kg)に chloralose (80 mg/kg) を静脈注射して麻酔し、実験途中で必要に応じて chloralose を追加した。膣には通

* 岡山大学医学部第2生理学教室(福原武教授)
大学院医学研究科学生(産婦人科学専攻)
〔昭和43年1月8日受付〕

常、長さ約 5 cm の薄いゴム球を挿入し、時には特に膈上・中部のみを加圧する目的で長さ約 2.5 cm の小さいゴム球を膈腔深く挿入し、膈入口を縫合してゴム球が膈外に脱出しないように

した。このゴム球に温水を注入することによって膈を伸展したが、その方法の詳細は前報¹⁾と同様である。

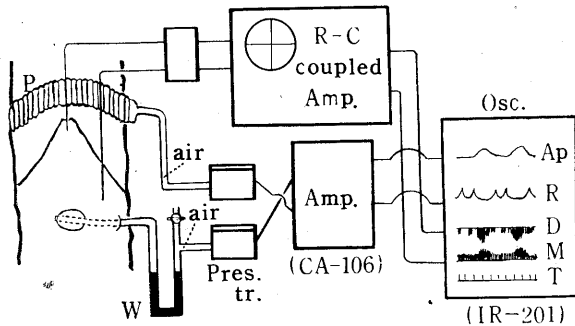


Fig. 1. Experimental arrangements for recording electromyograms of the diaphragm (D) as well as of abdominal muscles (M), thoracic movements (R) and abdominal pressure (Ap). Amp; Strain-amplifier, P; Pneumograph, Pres. tr.; Strain gauge pressure transducers, Osc; Ink writing oscillograph, W; Water manometer.

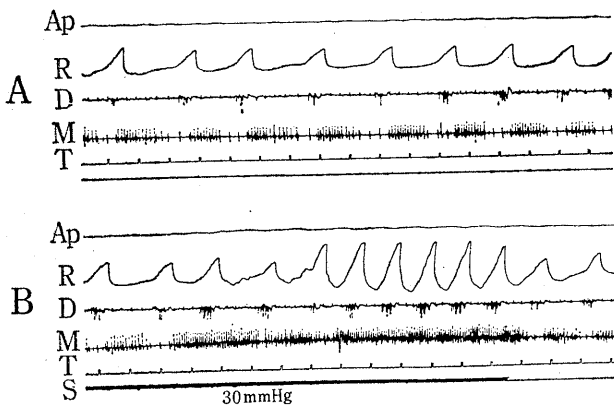


Fig. 2. Effects of vaginal distension upon the respiratory movements and the intra-abdominal pressure. Tracings from above downwards indicate intra-abdominal pressure change (Ap), movements of the thorax (R) (inspiration upwards), spike discharges of the diaphragm (D) as well as m. obliq. ext. abdom. (M), time (T) in sec. and signal showing the duration of vaginal distension. A; normal breathings (before vaginal distension) B; Vaginal distension at the pressure of 30 mmHg increases the frequency and depth of breathings and makes the abdominal muscles discharge not only during the expiratory phase but also during the inspiratory one.

横隔膜ならびに腹筋の筋電図は、横隔膜の胸骨部および腹直筋あるいは外腹斜筋に套管双極針電極を軽く刺入し、これをR-C結合型増幅器を介してインク書きオシログラフ(三栄 IR-201)に接続することによって記録し、他方陰極線オシログラフで観察した。これと同時に胸廓の運動ならびに腹圧の変動を記録するため胸廓下部にアコーディオン型の呼吸描記器を装置し、これをstrain gauge 圧変換器に接続し、そして腹腔には水を満たしたゴム球を挿入しこれを水圧力計, strain gauge 圧変換器に接続し、ついでそれぞれを万能歪増幅器(三栄 CA-106), インク書きオシログラフに接続した (Fig. 1).

求心路探求のさいには膈に分布する神経を腹膜外で切断し、また反射中枢の所在を探求するための脊髄の横断あるいは除脳は大部分は chloralose 麻酔下に、一部では頭部交流電後の昏迷状態を利用して無麻酔下で行なった。なお室温は常に 28°C 前後に保った。

実験結果

I. 膈伸展の呼吸活動におよぼす影響

膈を順次圧を高めながら伸展すると呼吸活動には3種の変化が認められる。すなわち伸展が比較的弱い場合には呼吸の亢進、腹筋の持続的放電(緊張)が認められ、伸展が強い場合にはさらに腹筋と横隔膜の同時性放電が認められる。

1. 呼吸の亢進効果

膈壁を伸展すると 30 mmHg の加圧から呼吸が亢進する。Fig. 2 R に示す如く伸展前には1分間27回であった呼

吸の頻数が2~10数秒の潜状期を経て、次第に増加しついには51回となり同時に呼吸が深くなる。この時、ほとんどの例において横隔膜の放電群 (Fig. 2 D) には振幅の増大あるいはスパイク放電数の増加が認められる。

2. 腹筋の持続的放電

膈壁を30 mmHgより高い圧で伸展すると、外腹斜筋 (Fig. 2 B, M) および腹直筋では呼息相における群放電のスパイク放電数がまずのみでなく吸息相にも散発的に放電し、したがって疎密はあるが持続的に放電するようになる。なおこの持続的放電は伸展圧が高い程顕著となる。

3. 腹筋および横隔膜の同時性放電

膈壁を強度に伸展 (個体により変化はあるが50 mmHg位から) すると、Fig. 3 Aで示すように、正常呼吸のリズム (約1秒) とはちがった周期 (約5.5秒) をもつ腹筋と横隔膜の同時性放電が律動的に出現する。この放電をみるに、横隔膜のものの振幅は特に大きく、持続時間も長く正常呼吸の位相と特別な関連はない。注目すべきはこの放電の出現する度毎に腹圧が顕著に上昇することである。Fig. 3 Bはこの同時性放電がはじめ (矢印1, 2) 吸息放電とほぼ一致してあらわれ、ついで次第にづれて (矢印3), さらに呼息相に一致して現われる (矢印4, 5) 経過を示す。この時呼吸曲線は多くの例では呼息位の状態になっている。

呼吸活動に生じるこれら3種の変化が反射によるものであることは次の実験で明らかにされた。

II. 求心路について

膈には下腹神経、骨盤神経および陰部神経が分布している。これらの神経を順次切断し膈伸展効果の推移を観察することによって上述の反射の求心路を探求した。

膈全体を伸展し反射効果を確めたのち、腹膜

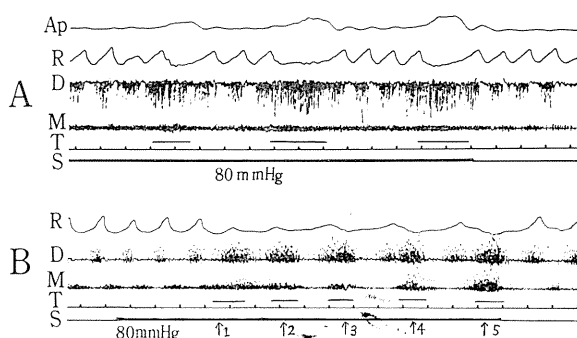


Fig. 3. Effects of vaginal distension upon respiratory movements and intra-abdominal pressure. Vaginal distension at the pressure of 80 mmHg produces the rhythmic, simultaneous discharges of diaphragm and abdominal muscle, which begins at the various points of the inspiratory phase (B) and results in the increase of intra-abdominal pressure (A). Horizontal bars indicate the duration of simultaneous discharges.

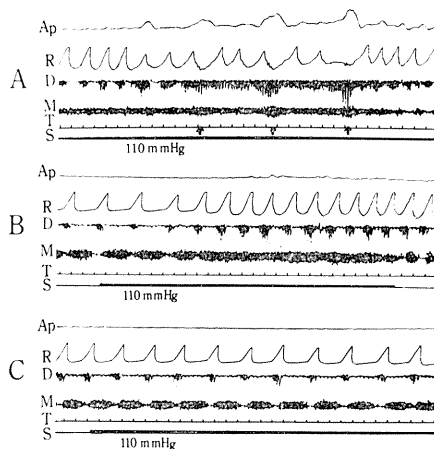


Fig. 4. Experiments for ascertaining the pathways of afferent impulses elicited in the vagina. The severance of hypogastric nerves has no effect upon the simultaneous discharges of diaphragm and m. obliq. ext. abd. elicited by vaginal distension (A). These discharges are then abolished after the subsequent severance of bilateral pelvic nerves, quickening of breathings and continuous discharges of m. obliq. ext. abd. being left as before (B). Lastly the severance of bilateral pudendal nerves completely abolishes the phenomena described above (C).

外で両側下腹神経を切断したが、Iで述べた全ての効果がえられる (Fig. 4 A). しかし引続き両側骨盤神経を切断すると、呼吸の亢進と腹筋の持続的放電は生じるが、吸呼息筋の同時性放

電現象はえられなくなる (Fig. 4 B). 最後に両側の陰部神経を切断すると残りの反射効果が消失する (Fig. 4 C).

神経切断順序を入れかえて、もし最初に両側骨盤神経を切断するならば、呼吸の亢進および腹筋の持続的放電は認められるが吸呼吸筋の同時性放電は消失する。前二者は両側の陰部神経を切断しただけでは消失せず、さらに両側の下腹神経を切断すると完全に消失する。また両側の下腹神経陰部神経の切断後にも前述の3種の陰伸展効果は認められ、これ等は骨盤神経の切断で全て消失する。

上述の結果は、陰-呼吸反射において陰伸展によって発生する衝撃は骨盤神経、下腹神経、陰部神経の3神経を介していずれも呼吸の亢進、腹筋の持続的放電効果をひきおこし、骨盤神経を経由する衝撃のあるものはさらに腹筋と横隔膜の同時性放電を生じることを示すものである。

陰部神経に含まれている求心性神経線維は会陰および陰下部に分布しているといわれている。その証拠がこの度の反射実験でえられた。すなわち小さいゴム球を挿入して陰上・中部に局限して伸展を試みるにその効果は下腹神経、骨盤神経の切断で完全に消失し、陰部神経の切断を必要としない。

III. 反射中枢について

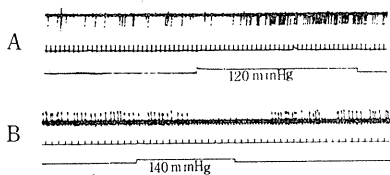


Fig. 5. Effects of vaginal distension on spike discharge of external oblique abdominal muscle after the spinal transection. Dog with the spinal cord transected at the level of C3. The spike discharged from the muscle are increased in their frequency, when the upper and middle part of the vagina are distended (A), whereas they are inhibited by the vaginal distension including the lower part of the vagina which is innervated by the pudendal nerves (B).

次に反射中枢の所在を追求するため除脳および脊髓の横断実験を行なった。

A. 上丘と下丘との間で四丘体を横断しその吻側に位置する脳を除去すると除脳前に比べて最小有効伸展圧は上昇するが反射効果の様相はよく似ている。すなわち 50 mmHg の加圧伸展から呼吸は亢進し、腹筋は持続的放電を行ない、160 mmHg 以上の圧で吸呼吸筋の同時性放電および収縮をひき起した。したがって四丘体上丘より上位の脳は全ての反射効果に本質的影響を与えるものではない。

B. 第3頸節から第5胸節の高さで脊髓を横断すると、腹筋の持続的放電効果は認められるが、呼吸の亢進および腹筋と横隔膜の同時性放電効果は消失する。したがって呼吸亢進および同時性放電効果は横断部位よりも上位脳おそらくは脳幹にある呼吸中枢に関係するものと考えられる。脊髓横断後にも残る効果(腹筋の持続的放電効果)は脊髓中にある呼吸筋の運動核の興奮によるものであろう。

なお脊髓横断後の陰伸展効果は複雑であり次のようであった。脊髓を横断した後に、小さい balloon により陰をその上・中部に局限して伸展すると常に腹筋(腹直筋あるいは外腹斜筋)のスパイク放電の頻数が増加する (Fig. 5 A). もし大きい balloon を用いて陰下部の陰部神経分布領域までも伸展すると、前とは逆に腹筋のスパイク放電はその頻数が顕著に少なくなるかあるいは全く消失する (Fig. 5 B). この抑制効果は陰核近くの陰唇をピンセットで挟んでも同様にえられる。陰部神経を両側切断しておけば、前述の抑制効果は見られないのみならず放電頻数が増加する。この事実は抑制効果が陰部神経を介して起ることを示す。脊髓横断後に陰伸展効果が逆転する理由は不明である。

一方、第3頸節で脊髓横断後、横隔膜から自発性放電をうることは稀であるが、自発性放電のえられる場合にも抑制効果が認められる時と、何等効果の認められない時とがある。

考 察

上述した実験結果から膈伸展によってひきおこされる呼吸活動・変化は反射的のものであることは明らかであり、次のような発現機序によって発生するものと考えられる (Fig. 6).

膈伸展によって発生した求心性衝撃は骨盤神経、下腹神経、陰部神経を通して脊髄に入る。脊髄に入った衝撃は途中で前角細胞に枝を出しながら脳幹に入る。そして衝撃数が少ないならば (弱伸展) 呼吸中枢が興奮し呼吸の頻数と深さが増す。衝撃数が多いならば (強伸展), 骨盤神経を経由する衝撃のあるものは嘔吐中枢に類似した機構に達し横隔膜吸息筋と腹筋 (呼息筋) の同時性収縮をひきおこす。そしてこの吸、呼息筋の同時収縮によって著明に腹圧が上昇する。この同時収縮は律動性に起るものでそのリズムは正常の呼吸中枢のそれとは無関係である。このことは嘔吐の際の嘔吐中枢の興奮状態 (Hukuhara et al.⁷⁾) を想起させる。この度の実験から腹筋と横隔膜の同時性収縮をひきおこす機構が脳幹に存在することが確かめられた。山本¹⁴⁾は上述の膈-呼吸反射の求心路の一つ、骨盤神経を電気刺激して腹筋と横隔膜の同時収縮をみている。著者のみそのような律動的収縮ではないが同じ性質のものと考えられよう。山本, Hukuhara et al., 著者の認めた現象はすべて同じような中枢機構によって生ずることが想像される。そしてその中枢機構は Borrison & Wang¹⁵⁾の嘔吐中枢機構そのものであるかも知れない。

分娩第Ⅱ期には陣痛の度毎にまず呼吸が促進しやがて不随意的に“いきみ様運動”が生じ腹圧の上昇することが知られている¹³⁾。そしてこの腹圧上昇は腹筋と横隔膜が協力的に収縮するためと推測されているがそのことを実際に証拠づける報告はみあたらず¹⁾、またその発現機序も不明であった¹²⁾。著者はこの度の実験結果から分娩第Ⅱ期の呼吸の変化は子宮の収縮により胎児が押し下げられ膈が伸展されることにより生じ、その際刺激が軽度の時は呼吸運動が亢

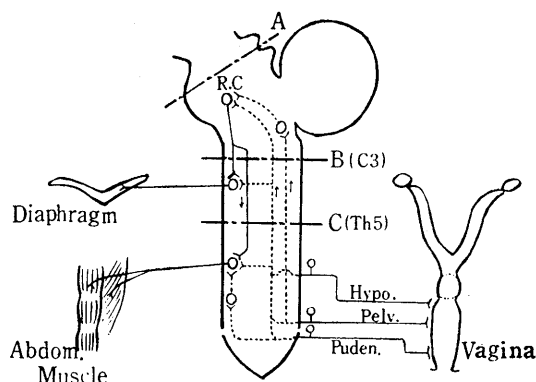


Fig. 6. Diagram showing the mechanism underlying the effect of vaginal distension upon the respiratory activities. R. C : Respiratory center A~C ; Transection of mid-colliculus and spinal cord at levels indicated in parentheses.

進し、刺激が強い時はやがて吸・呼息筋あるいは補助呼吸筋の同時的収縮 (いきみ様運動) が生じ腹圧が上昇すると考える。

要 約

Chloralose 麻酔を施したイヌの膈壁の加圧伸展によってひき起される呼吸活動の変化を筋電図学的に研究した。その結果を要約すると次のとおりである。

1. 膈壁を伸展すると呼吸活動には3種の変化が認められる。すなわち伸展圧が低い時は、(イ)呼吸の亢進、(ロ)腹筋の持続的放電が認められ、高い時はさらに、(ハ)腹筋と横隔膜の同時性放電が正常呼吸とは無関係のリズムで周期的に発現し、この時腹圧が著明に上昇する。

2. 呼吸の亢進効果、腹筋の持続的放電を生じる衝撃の求心路は骨盤神経、下腹神経および陰部神経であり、同時性放電を生じるものの求心路は骨盤神経のみである。

3. 腹筋の持続的放電効果は脊髄を反射中枢とし、呼吸の亢進および腹筋と横隔膜の同時性放電効果は脳幹にある呼吸中枢に関係ある機構を反射中枢とすると考えられる。

終りに臨み、終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜わった恩師福原武教授に衷心より謝意を表します。

あわせて、中山沃助教授の御援助に深謝いたします。

文 献

- 1) Agostoni, E. and Rahn, H. (1960) Abdominal and thoracic pressures at different lung volumes. *J. Appl. Physiol.* **15**, 1092
- 2) Caldeyro-Barcia, R. and Poseiro, J. J. (1965) The powers and the mechanism of labor. *Obstetrics. Saunders. Philadelphia* p 298
- 3) Cross, B. A. (1958) The motility and reactivity of the estrogenized rabbit uterus in vivo, with comparative observations on milk ejection. *J. Endocrinol.* **16**, 237-260
- 4) Cross, B. A. (1958) On the mechanism of labour in the rabbit. *J. Endocrinol.* **16**, 261-276
- 5) Ferguson, J. K. W. (1941) A study of the motility of the intact uterus at term. *Surg. Gynec. Obstet.* **73**, 359-366
- 6) Fuchs, A. R., Olsen, P. and Peterson, K. (1965) Effect of distension of uterus and vagina on uterine motility and oxytocic release in puerperal rabbits. *Acta endocrinol.* **50**, 239-248
- 7) Hosomi, S. (1958) Activities of abdominal and vulvar muscles in parturition. *Kobe Journal of Medical Sciences.* **3**, 241-257
- 8) Hukuhara, T., Okada, H. and Yamagami, M. (1957) On the behavior of the respiratory movements during vomiting. *Acta medicinae Okayama* **11**, 117-125
- 9) Konzett, H. (1959) Über das reflektorische Einsetzen d. Bauchpresse bei Kontraktion der gedehnten Vaginal-Muskulatur am Kaninchen. *Gynaecologia* **147**, 189-209
- 10) Konzett, H. (1959) Über die Auslösung Bedeutung der Bauchpresse während der Geburt bei Kaninchen. *Gynaecologia* **147**, 210-216
- 11) Mori, T. (1967) 膈-胃・小腸反射について *日本生理誌* **29**, 315-319
- 12) Reynolds, S. R. M. (1965) *Physiology of the uterus* 2nd ed. p 478
- 13) Seitz-Amreich (1952) *Biologie und Pathologie des Weibes* Bd. p 600-602
- 14) Yamamoto, S. (1963) Effects of visceral and somatic afferent nerve stimulation on intra-abdominal pressure reflex of pelvic nerve origin. *Exper. Neurol.* **9**, 114-126
- 15) Wang, S. C. and Borison, H. L. (1950) The vomiting center. *Arch. Neurol. and Psychiat.* **63**, 928-941



〔原著〕 肥満高血糖マウスにおける肝ミトコンドリアの酸化的
 磷酸化について 612. 014. 21-008. 83 : 599. 323

小 倉 一 格 *

**The oxidative phosphorylation of liver mitochondria from the
 obese-hyperglycemic mice**

Kazunori Ogura (*Department of Physiology, Wakayama Medical College*)

1. P : O ratios for three substrates, i. e. succinate, α -ketoglutarate and glutamate, were measured polarographically in mitochondria isolated from livers of normal and four hereditary diabetic mouse stocks ; AO, NZO, KK and yellow mouse. No defect was observed in the efficiency of oxidative phosphorylation.

2. The mitochondria from the livers of alloxan treated diabetic mice and goldthioglucose-induced obese mice compared to normal also showed no metabolic defect in the efficiency of oxidative phosphorylation. [J. Physiol. Soc. Japan (1968) 30, 393-398]

I. 前 書

1950年, Ingalls et al.¹⁾ によって発見された肥満高血糖マウス (AO) はその後, 多くの研究者によってその病態生理学的研究が行なわれてきた. いまだ, その糖尿病状態の本質的な発病機構は解明されていないが, この変異体の遺伝様式は劣性且, 常染色体性であり, 高コレステロール血症, 膵ラ氏島の肥大, 血清インスリン様活性および膵インスリン量の増加, 基礎代謝の低下等の成績が報告された (Mayer et al.²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾.

遺伝的に肥満・高血糖を発現するマウスにはこの他, NZO, KK および, yellow マウス等がある.

NZO マウスは AO マウスと同様に, インスリンに対する感受性の低下, 膵ラ氏島の肥大, 血清インスリン様活性および, 膵インスリン量の増加等を示すが肥満高血糖および尿糖は軽度である. 基礎代謝は AO マウスでは正常マウスより低下しているが, NZO では逆に, 高いことが報じられている (Sneyd⁶⁾).

KK マウスは中等度の肥満・高血糖を示し, 膵インスリン量および, 血清インスリン様活性

の増大, 膵ラ氏島の肥大等, AO マウスと類似した所見を呈する (Nakamura⁷⁾, 土田⁸⁾).

Yellow マウスについては古くから, 多くの研究者により研究されてきた. Yellow gene は優性遺伝を示し, homozygote ($A^y A^y$) は lethal であるが, heterozygote ($A^y a$) では毛は黄色となり肥満・高血糖を示す (Carpenter and Mayer⁹⁾).

他方, 糖尿病の成因の一つとして, 末梢組織の糖の利用不完全が考えられ, これにつき, 多くの研究者が糖尿病動物の肝臓について, その呼吸あるいは酸化的磷酸化機能を観察した (Parks et al.¹⁰⁾, Vester and Stadie¹¹⁾, Hall et al.¹²⁾, Beyer and Chamoian¹³⁾, Beyer et al.¹⁴⁾).

しかし, それらの成績は相互に相異なり, 果して, 末梢組織にエネルギー代謝の変化殊にその低下が存在するか否か, そしてそれが糖尿病の本質的な成因であるか否か, その結論がまだえられていない.

そこで, 著者は上述の肥満・高血糖を遺伝的に自然発現する AO, NZO, KK および yellow マウスの肝ミトコンドリアの酸化的磷酸化について検討を試みた. そしてまた, alloxan 負荷による高血糖マウスおよび, goldthioglucose 負荷による肥満マウスについても同様の検索を行ったので, 併せて報告する.

* 和歌山県立医科大学第2生理学教室
〔昭和43年1月20受付〕

II. 実験材料および方法

A. 実験動物

実験に使用した肥満・高血糖マウスのうち、AO マウス (C 57 BL/6 J-ob) は The Jackson laboratory (U. S. A.) より輸入し、NZO マウスは Otago 大学 (ニュージーランド) より輸入した。KK マウスおよび、yellow マウスは名古屋大学農学部より譲りうけた。

飼料は KK マウス、yellow マウスには OA-2 クレア固型飼料と三菱成鶏用 1 号飼料を併せ用い、その他に対してはオリエンタル NMF 固型飼料を用いた。

Alloxan 糖尿病 マウスは生後約 4 カ月の

Swiss albino マウスに 5% alloxan 溶液を 170 mg/kg 相当量を皮下注射し、5~7 日目に高血糖、体重を検し、実験に供した。

Goldthioglucose 負荷の肥満マウスは生後 4 カ月の ddO マウスに Solganol B oleosum (シェリング社 (西独)) 1.0 mg/g 相当量を筋肉注射し、約 1 カ月後、肥満、高血糖を検し、肥満の著しいものを実験に供した。

実験にはすべて、4~5 カ月の月令マウスを用い、対照として、AO マウスおよび yellow マウスには同腹正常マウスを、KK マウスおよび NZO マウスには同月令の ddO マウスを用いた。

表 1 は実験に使用したマウスの体重と血糖値

Tabel 1. Body weight and blood sugar of normal, diabetic and obese mice

			Body weight (g)	Blood sugar (mg/dl)
AO	obese	(7)	51.6	286
	lean	(7)	23.2	138
NZO		(9)	41.0	163
KK		(5)	36.5	197
ddO		(6)	30.0	136
Yellow	mouse	(3)	37.0	220
Black	mouse	(3)	26.0	140
Swiss	alloxan treatment	(6)	30.0	188
	no treatment	(5)	24.0	145
ddO	goldthioglucose treat.	(6)	35.0	143
	no treatment	(6)	30.0	136

Numbers in parentheses indicate the numbers of employed mice.

Table 2. Preparation of liver mitochondria

liver + cold 0.25 M. sucrose		
homogeniza (10% homogenate)	1,000 r. p. m.	30 sec
centrifuge	600 g	10 min
centrifuge	3,700 g	10 min
centrifuge	15,000 g	10 min
wash		3 times
suspended with cold suspension medium (liver 1 g/ml)		

を示す。

B. ミトコンドリアの分離

マウスを一夜絶食し、断頭後速かに肝を採取し、氷冷した 0.25 M sucrose 中で冷却し、洗浄の後、teflon homogenizer にて 10% homogenate とし、Hogeboom-Schneider 法¹⁵⁾に準じ、ミトコンドリアの分離を行なった (表 2)。

C. 酸素圧の測定

これまで報告された実験ではすべて Warburg 検圧法が用いられた。しかし、この方法では数分にして老化現象を起すミトコンドリアによる短時間の呼吸の変動を測定することが不可能である。そこで、ここでは酸素電極法を採用し

た。著者は川口¹⁶⁾の考案した偏心回転白金電極ならびに、電解槽として萩原¹⁷⁾の考案を偏心回転電極用に改作したものを用いた。

基質として、7 mM succinate, 3 mM α -ketoglutarate, 7 mM glutamate を用い、浮遊液は 0.25 M sucrose 中に 0.01 mM EDTA を混じ、反応混液として、0.25 M sucrose-1 mM EDTA-5 mM K-phosphate buffer-0.1 M KCl を用いた。ミトコンドリア量は 150 mg Eq 量を 2 ml の反応液に含ませるようにした。試薬はすべて pH 7.4 に調整し、水はイオン交換純水をさらに硝子蒸留水にて再蒸留したものを用い、sucrose 溶液は脱イオン化した。

Table 3. Oxygen consumption ($\mu\text{MO}_2/\text{mg N of mitochondria}/\text{min}$) of normal, diabetic and obese mice

		Succinate	α -Ketoglutarate	Glutamate
AO	obese	280.4	83.9	89.3
	lean	196.6	71.9	71.4
NZO		273.0	76.8	76.3
KK		152.5	66.5	68.7
ddO		186.5	100.2	92.5
Yellow	mouse	179.1	102.3	125.2
Black	mouse	224.5	120.0	130.7
Swiss	alloxan treatment	163.9	141.0	128.7
	no treatment	140.1	—	77.9
ddO	goldthioglucose treat.	185.5	101.8	76.6
	no treatment	186.5	100.2	92.5

Table 4. P : O ratios of normal, diabetic and obese mice

		Succinate	α -Ketoglutarate	Glutamate
AO	obese	2.04	3.03	3.05
	lean	2.01	3.03	3.05
NZO		2.01	2.99	3.01
KK		2.09	2.94	3.08
ddO		1.91	2.87	2.90
Yellow	mouse	2.16	3.18	3.12
Black	mouse	2.24	3.23	3.23
Swiss	alloxan treatment	2.22	3.23	3.25
	no treatment	2.14	—	3.05
ddO	goldthioglucose treat	1.89	2.82	2.78
	no treatment	1.91	2.87	2.90

D. 血糖値の測定

百瀬法¹⁸⁾により測定した。

E. 窒素の測定

Micro-Kjeldahl 法¹⁹⁾を用いた。

III. 実験結果

表3, 表4, はミトコンドリア mgN 当り単位時間内の酸素消費および, P:O を表わす。

A. AO マウス

実験直前に測定した体重および, 血糖値は対照マウスでは平均 23.2 g, 138 mg/dl; AO マウスではそれぞれ 51.6 g, 286 mg/dl であった。実験の結果, P:O 比は各基質とも等しい値を示した。すなわち, 基質 succinate では AO マウス 2.04, 対照マウス 2.01; α -ketoglutarate では 3.03, 3.03; glutamate ではそれぞれ 3.05, 3.05 であった。酸素消費はミトコンドリア mgN 当り単位時間内で, 対照マウスに比し, AO マウスでやや増加が見られた。

B. NZO および, KK マウス

酸素消費は NZO マウスで基質を succinate とした場合を除いて, NZO, KK とも対照とした同月令の ddO マウスより低値を示した。

P:O 比は大体同値であった。すなわち基質 succinate では NZO 2.01, KK 2.09, ddO 1.91; α -ketoglutarate ではそれぞれ, 2.99, 2.94, 2.87; glutamate では 3.01, 3.08, 2.90 であった。

C. Yellow マウス

使用した yellow マウス (A⁺) は体重平均 37 g, 血糖値 220 mg/dl, 対照とした同腹 black マウス (++) は 26 g, 140 mg/dl であった。

酸素消費はすべての基質で対照マウスより低値を示し, P:O 比はともに大体同値を示した。

D. Alloxan 糖尿病 Swiss マウス

対照とした Swiss マウスは体重 24 g, 血糖値 145 mg/dl, alloxan 投与 5~7 日後のマウスの体重は, 30 g, 血糖値は 188 mg/dl であった。

実験により, 酸素消費は alloxan 投与マウスでやや高値を示したが, P:O 比は大体同値で

あった。

E. Goldthioglucose 投与肥満 ddO マウス

対照マウスは体重平均 30 g, 血糖値 136 mg/dl, goldthioglucose 投与により, 体重 35 g, 血糖値 143 mg/dl となった。P:O 比, 酸素消費とも変化が見られなかった。

IV. 考察

先に述べた如く, 糖尿病の成因の一つとして, 末梢組織における糖の利用不全および, 呼吸エネルギー代謝の変化があげられる。

1944年, Kaplan and Greenberg²⁰⁾はインスリンが高エネルギー磷酸結合の生成に関連していることを述べ, 1954年 Lee および Williams²¹⁾はインスリンがミトコンドリアに結合して, ミトコンドリアの機能を調節している可能性を示唆した。しかし, その後糖尿病動物の肝臓の呼吸および, 酸化的磷酸化およびこれらに対するインスリンの影響に関して多くの研究が報告せられた。すなわち, 糖尿病動物の肝ミトコンドリアにおける酸化的磷酸化におよぼすインスリンの影響に関する Parks et al.¹⁰⁾ の *in vitro* の実験ではインスリンは酸化的磷酸化に何ら効果を認めることができなかった。

Vester and Stadie et al.¹¹⁾, Beyer et al.¹⁴⁾ も Parks et al. と同様の結果をえている。

それに対し, Hall et al.¹²⁾ はインスリンの *in vitro* 添加で酸化的磷酸化の効率が軽度増加することを報告している。著者は本実験に先立ち, AO マウスの肝ミトコンドリアを用い, *in vitro* でインスリンを添加して, Parks et al. と同様の結果を確かめている。

一方インスリン欠乏状態における酸化的磷酸化については, Parks et al.¹⁰⁾ は alloxan 糖尿病マウスの肝ミトコンドリアにおいて, P:O 比は不変だと主張し, 次いで1957年 Veste and Stadie¹¹⁾ は隣摘した猫を用い, P:O 比の低下することを示した。

さらに, Hall et al.¹²⁾ も alloxan 糖尿病ラットおよび隣摘した猫の双方に肝ミトコンドリアの P:O 比が低下することを明らかにした。

Beyer and Shamoian¹³⁾¹⁴⁾ は1961年、臍摘した犬を用いて、P:O 比が上昇する結果をえたが、さらに研究を進め、翌年には臍摘した猫を用いて、P:O 比の不変である事を発表した。

著者は今回、alloxan 糖尿病マウスのみならず、遺伝的に糖尿病を自然発現する AO, NZO, KK および yellow マウスの肝ミトコンドリアの酸化的磷酸化能を酸素電極法によって測定した。また、同様の実験を goldthioglucose 投与による肥満 ddO マウスについても行なった。しかし、その全例において酸化的磷酸化が全く正常で、異常が認められなかった。すなわち、著者のえた成績によれば、肝ミトコンドリアの酸化的磷酸化はインスリン添加の影響を受けず、また alloxan 投与動物におけるインスリン欠乏糖尿においても同じく肝ミトコンドリアの呼吸および P:O 比に変化をみなかった。

そして、さらに遺伝性肥満高血糖マウスおよび goldthioglucose 投与肥満マウスの測定結果も対照のそれと殆んど相違を認める事ができなかった。したがって、従来議論されてきたミトコンドリアのエネルギー代謝機能と糖尿病との関連性は一応否定されなければならないと考える。尚、従来の測定のすべては Warburg 検圧法によったものであるが、著者のそれは酸素電極法によるものであった。

V. 結 論

遺伝的に肥満・高血糖を自然発現する AO, NZO, KK および yellow マウスを用い、肝ミトコンドリアの酸化的磷酸化を酸素電極により測定し、全例において酸化的磷酸化が正常であるとの結果をえた。

さらに、alloxan 糖尿病マウスおよび goldthioglucose 投与による肥満マウスにも同じく、対照との間に変化を認めなかった。

稿を終るに臨み、終始ご鞭撻、ご指導ならびに、ご校閲を賜った松下宏教授に謝意を表するとともに、本研究に種々ご援助ご指導いただいた長井晋次教授、名古屋大学農学部近藤恭司教授、河端啓子氏

および、教室員各位に感謝します。

文 献

- 1) Ingalls, A. M., Dickie, M. M. and Snell, G. D. (1950) Obese, a new mutation in the house mouse. *J. Hered.* **41**, 317-318
- 2) Mayer, J. and Jones, A. K. (1953) Hypercholesteremia in the hereditary obese-hyperglycemic syndrome of mice. *Am. J. Physiol.* **175**, 339-342
- 3) Bleisch, V. R., Mayer, J. and Dickie, M. M. (1952) Familial diabetes mellitus in mice, associated with insulin resistance, obesity, and hyperplasia of the islands of Langerhans. *Am. J. Path.* **28**, 369-380
- 4) Wrenshall, G. A., Andrus, S. B. and Mayer, J. (1955) High levels of pancreatic insulin coexistent with hyperplasia and degranulation of beta cells in mice with the hereditary obese-hyperglycemic syndrome. *Endocrinol.* **56**, 335-340
- 5) Mayer, J., Russell, R. E., Bates, M. W. and Dickie, M. M. (1952) Basal oxygen consumption of hereditarily obese and diabetic mice. *Endocrinol.* **50**, 318-323
- 6) Sneyd, J. G. T. (1964) Pancreatic and serum insulin in the New Zealand strain of obese mice. *J. Endocrinol.* **28**, 163-172
- 7) Nakamura, M. (1965) Cytological and histological studies on the pancreatic islets of a diabetic strain of the mouse. *Zeitschr. Zellforsch.* **65**, 340-349
- 8) 土田 勇 (1966) KK マウスにおける高血糖および肥満の発生機序に関する研究 *糖尿病* **9**, 67-84
- 9) Carpenter, K. J. and Mayer, J. (1958) Physiologic observations on yellow obesity in the mouse. *Am. J. Physiol.* **193**, 499-504
- 10) Parks, R. E., Adler, J. and Copenhaver, J. H. (1955) The efficiency of oxidative phosphorylation in mitochondria from diabetic rats. *J. Biol. Chem.* **214**, 693-698
- 11) Vester, J. W. and Stadie, W. C. (1957) Studies of oxidative phosphorylation by hepatic mitochondria from the diabetic cat. *J. Biol. Chem.* **227**, 669-676
- 12) Hall, J. C., Sordahl, L. A. and Stefko, P. L. (1960) The effect of insulin on oxidative phosphorylation in normal and diabetic mitochondria. *J. Biol. Chem.* **235**, 1536-1539
- 13) Beyer, R. E. and Shamoian, C. A. (1961) Oxidative phosphorylation and related reactions in liver mitochondria from diabetic dogs. *Am. J. Physiol.* **200**, 838-840
- 14) Beyer, R. E., Shamoian, C. A. and Abend, M. N. (1962) Effect of the diabetic state on selected mitochondrial reactions. *Metabolism* **11**, 394-403

- 15) Hogeboom, G. H. and Schneider, W. C. (1955) *Nucleic Acid* **2**, 199-246
- 16) 得津太郎 (1961) 肝 Mitochondria の呼吸調節における Mg^{++} ion の意義 *和歌山医学* **12**, 1387-1396
- 17) Hagihara, B. (1961) Respiratory control of mitochondria. *Symposia on Enzyme Chemistry* **15**, 312-321
- 18) Momose, T. et al. (1960) Determination of blood sugar and urine sugar with 3, 6-dinitrophthalic acid. *Talanta* **4**, 33-37
- 19) 鳥居敏雄・他 (1959) 臨床検査の実際 674-675
- 20) Kaplan, N. O. and Greenberg, D. M. (1944) The action of insulin on the phosphate cycle. *J. Biol. Chem.* **156**, 553-558
- 21) Lee, N. D. and Williams, R. H. (1954) The intracellular localization of labeled thyroxine and labeled insulin in mammalian liver. *Endocrinol.* **54**, 5-19



〔原著〕 γ -Aminobutyric acid (GABA) の脳機能に対する生理学的
意義に関する研究 612.82 : 612.014.969

III. α -Chloro- γ -aminobutyric acid (α -Cl-GABA) の薬理的
特徴づけに関する検討

白 石 武 昌・渡 辺 競*

**The physiological significance of γ -aminobutyric acid (GABA) in
the brain function. III. Pharmacological characterization of α -
chloro- γ -aminobutyric acid (α -Cl-GABA)**

Takemasa Shiraiishi and Kisoi Watanabe (*Department of Physiology, Tokyo Medical
College, Japanese Central Laboratory of Pharmacy and Pharmacology*)

Using mice, rats, rabbits and cats as experimental animals, the authors investigated antagonistic or synergistic actions between α -Cl-GABA and some convulsants, morphine, mescaline, philopon, barbiturate or tranquillizers. In addition, we studied the influences of α -Cl-GABA on the spontaneous activity, decerebrate rigidity and maximal electroshock seizure pattern. From the experimental results, we have come to the conclusion that α -Cl-GABA is a regulator or homeostatic substance which shows only a slight influence on the brain function under the normal conditions, but can normalize it under various neuropharmacologically deviated conditions. [J. Physiol. Soc. Japan (1968) 30, 399-410]

Extrinsic GABA の薬理学的作用については、GABA が blood-brain barrier を通過し難いため、その中枢作用については不明の点が多い。本論文においては、GABA の薬理学的代行者と考えうる α -Cl-GABA の向神経薬物としての性格を明確にし、GABA との作用の異同について検討した。

実 験 方 法

実験動物としては、主として雄マウスを使用したが、一部ラット、家兎、猫をも使用した。

1. 抗痙攣作用

a. 痙攣誘発物質としては、metrazol, nicotine, strychnine を使用した。

Metrazol はマウスの場合は 85 mg/kg を皮下注射するか、0.5%溶液を 0.1 ml/10 g 体重尾静脈内に注射した。家兎の場合にはすべて静脈注射によって投与した。Nicotine は 2%溶液を 0.1 ml/10 g B. W. マウスの尾静脈内に注射し

た。Strychnine は 0.56 mg/kg, 1.25 mg/kg をマウスに皮下注射した。

b. 電撃による痙攣の惹起には、自製の定電流刺激装置を用いた。Spiegel¹⁾ の corneal electrodes を眼球に置いて、50 mA の電流を 0.2秒間通じて、マウスに maximal electroshock seizure pattern を誘起した²⁾³⁾。

2. Morphine antagonism には morphine の筋肉内注射によって生ずるマウスの Straub-Herrman tail reaction に対する α -Cl-GABA (i. p.) の影響を検討した。尾の反応は morphine 注射後 5 分間隔で 50 分間 (10回) 測定した。挙尾の評価には Juul⁴⁾ の採点法を用いた。すなわち、水平面と尾の角度により、1 = 45°, 1.5 = 45~90°, 2 = 90°, 2.5 = 90~180°, 3 = 180°, とした。

3. Mescaline antagonism には, mescaline の筋肉内注射によって生ずる後肢の間歇的搔運動の回数 (注射後 30 分して 15 分間の回数) を index とした。

4. マウスの spontaneous activity または exploratory activity の測定には、高橋等の考案

* 東京医科大学生理学教室, 薬理学中央研究所
〔昭和42年12月22日受付〕

した Actometer を用いた。Actometer は感度の調節により、粗大な主として歩行運動のみの測定から、呼吸、脈搏以外のあらゆる運動まで測定可能なものである。

Actometer については別報で詳細を記載する予定である。

5. 除脳硬直は猫または家兎を用い、エーテル麻酔下で露出した脳を上丘と下丘間で脳幹に垂直に切断して惹起させた。切断には鈍縁の金属ヘラを用い、血管、特に脳底の血管の損傷をできるだけ少くするように注意した。手術した動物中確実に強度の除脳硬直の生じたもののみを実験に供した。硬直の観察は肢の受動的関節運動に対する抵抗によった。

6. Reserpine による ptosis の評価には Rubin et al.⁵⁾ の採点法を用いた。すなわち、眼瞼の開裂の程度により、 \equiv = 完全な閉鎖、 $\equiv\equiv$ = 3/4、 $\equiv\equiv$ = 1/2、 \equiv = 1/4、正常な開裂とし、10匹のマウスで20回読みをとり、その平均を求めた。

実験成績

1. 急性毒性について

α -Cl-GABA の作用量と中毒量を比較するため、マウスとラットに対する α -Cl-GABA の急性毒性を検討した。雌雄各5~10匹よりなる数群のマウス、ラットに α -Cl-GABA を胃ゾンデによる経口投与、腹腔内投与、皮下注射、静脈内注射で投与し、Litchfield と Wilcoxon⁶⁾

Table 1. LD₅₀ of α -chlor-GABA in rats, mice and rabbits

Animal species	Route of administration	LD ₅₀ (g/kg)
Rat	Peroral	11.7 (13.8~9.9)
	Intraperitoneal	7.1 (8.1~6.2)
	Intravenous	>2.0
Mouse	Peroral	7.1 (8.2~6.1)
	Intraperitoneal	7.2 (8.3~6.3)
	Subcutaneous	6.3 (7.1~5.5)
Rabbit	Intravenous	>1.0

の方法により72時間後の LD₅₀ を算定した (表1)。

α -Cl-GABA の急性毒性は投与経路の如何を問わずほぼ等しく、しかも LD₅₀ は極めて大であった。

ラットにおける静脈内注射では 1 g/kg および 2 g/kg の投与によっても雌雄各10匹群中1例の死亡は勿論、中毒症状も認められなかった。なおこの静脈注射の場合には 2 g/kg 投与で注射量が 1.6 ml/200 g になるのでそれ以上の用量については試みることを放棄した。

また、投与方法の如何を問わず、大量の α -Cl-GABA を投与した場合、まず sedation が生じ、姿勢の変化、体軀、頭部の左右交互のゆっくりした動揺が生じ、やがて特有な痙攣が発生した。この痙攣は左右対称に四肢の tonic convulsion が交互に生じ、やがてこれに左右対称の clonic convulsion が加わる。以上の症状については、図1に示した。そして、この痙攣の発生に前後して、righting reflex が消失し、痙攣が繰り返して生じた後、長い時間経過の後死亡した。

一方、比較のため大量の GABA を投与し、毒性を観察した。10 g/kg、13 g/kg のマウス腹腔内注射では、明瞭でなかったが、15 g/kg の腹腔内注射ではまず sedation が生じ、ついで交互の左右対称の四肢の tonic convulsion および clonic convulsion が生じたが、 α -Cl-GABA 程は著明でなかった。

以上の α -Cl-GABA の毒性は中枢神経系の症状で、投与経路の如何を問わず、しかもほぼ同量で発生することは、 α -Cl-GABA の吸収がかなり良く、唯、blood-brain barrier が neck であることを示している。

尚、体重 2 kg の家兎5匹に α -Cl-GABA 1 g/kg の静脈内注射は何等の中毒症状も示さず、勿論死亡例も生じなかった。

2. Anti-metrazol 作用

α -Cl-GABA の経口投与後2時間、腹腔内投与後1時間して、metrazol 85 mg/kg をマウスの皮下に注射して、anti-metrazol 作用を検討

した。成績は表2に記載した。

すなわち、軽度ながら経口投与、腹腔注射の場合に、 α -Cl-GABA の anti-metrazol 作用を認めた。

次に6群のマウスを使用し、 α -Cl-GABA の anti-metrazol 作用の経時消長を追究した。マウス数は1群10匹を原則としたが、2時間群は15匹、4時間群は20匹であった。その成績は図

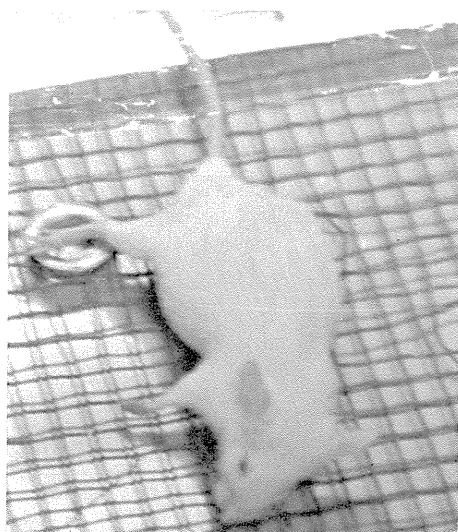
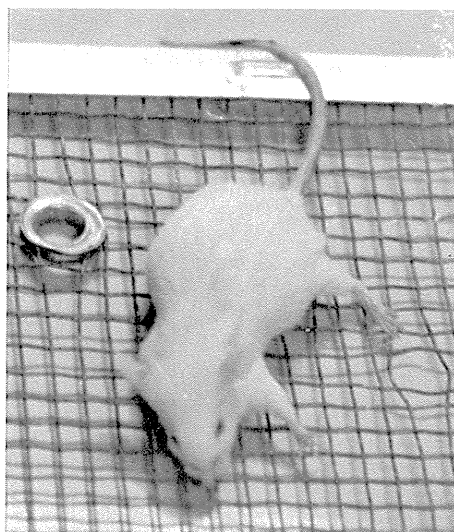


Fig. 1. Neurotoxicity of α -Cl-GABA in a mouse (20 g, male, 10 g/kg I. P.). Atypical convulsion which consisted of alternative tonic clamps of the ipsilateral limbs.

2に示した。横軸は α -Cl-GABA 2 g/kg の経口投与後の経過時間、縦軸は metrazol 痙攣の抑制率 (左側) および死亡率 (右側) である。すなわち、経口投与の場合には anti-metrazol 作用は2時間後に最大値に達する。

マウスに metrazol を瞬間的に静脈注射した場合には α -Cl-GABA 600 mg/kg の30分前腹腔内注射によっては影響をうけなかった。

家兎における α -Cl-GABA の anti-metrazol 作用を研究する前に、まず metrazol の耳静脈注射による痙攣量を検討した。Metrazol は1~3 sec の速度で注射した。その成績は表3に示した。

次いで ED expected 97.5 である 14 mg/kg を用いて、 α -Cl-GABA の anti-metrazol 作用を追究した。 α -Cl-GABA を静脈注射し15分後に metrazol を静注した場合の実験成績は表4に総括した。その成績より Litchfield and Wilcoxon

Table 2. Anti-metrazol action of α -chlor-GABA in mice (Metrazol 85 mg/kg S. C.)

Route	Dose (mg/kg)	No. Seizures / No. Tested	Mortality (%)
—	Control	10/10	100
P. O. {	1000	8/10	20
	2000	10/15	0
I. P. {	200	8/10	30
	400	7/10	30

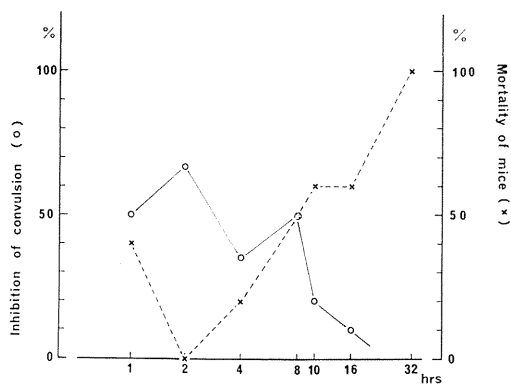


Fig. 2. Anti-metrazol action of α -chlor-GABA

の方法で ED_{50} を計算すると 17.4 (22.1~13.7) mg/kg である。

同様に、trimethadione の anti-metrazol 作用を比較すると、trimethadione 20 mg/kg の静注では家兎15例中痙攣の生じたものは5例にすぎなかった。したがって、 α -Cl-GABA とほぼ同程度の anti-metrazol 作用を示すものと考えうる。

3. Anti-nicotine 作用

600 mg/kg (i. p.) の α -Cl-GABA では nicotine の静注によって生ずる痙攣に影響を認めなかつ

Table 3. Convulsive dose of metrazol (i. v) in rabbits

Dose (mg/kg)	No. Seizures	Effective percentage
	No. Tested	
12	0/5	0
13	4/5	80
14	9/10	90
15	5/5	100

Table 6. The influence of α -chlor-GABA on Straub-Herrman mouse tail reaction to morphine (Morphine HCl, 20 mg/kg)

Dose (mg/kg) I. P.	Time of injection before morphine (min)	Number of mice	Tail reaction		
			Mean \pm S. D.	Diff. (from control)	"p"
Control	—	20	1.82 \pm 0.55		
30	15	10	1.86 \pm 0.35	+ 0.04	
60	15	19	1.53 \pm 0.23	- 0.29	<0.05
120	15	20	1.34 \pm 0.63	- 0.48	<0.02

Table 7. The influence of α -chlor-GABA on mescaline-induced scratches in mice. (Mescaline 50 mg/kg I. M.)

Dose (mg/kg) I. P.	Time of injection after mescaline (min)	Number of mice	Scratches		
			Mean \pm S. D.	Diff.	"p"
Control	—	8	48.9 \pm 41.9		
6.25	15	8	39.1 \pm 40.1	9.8	<0.05
12.5	15	8	14.5 \pm 17.9	34.4	<0.05
25.0	15	8	5.1 \pm 5.5	43.8	<0.02
50.0	15	8	2.1 \pm 2.5	46.8	<0.01

Table 4. Anti-metrazol action of α -chlor-GABA (i. v.) in rabbits. Metrazol 14 mg/kg (i. v.)

Dose (mg/kg)	No. Seizures	Inhibition %
	No. Tested	
15	3/5	40
20	5/14	64
25	1/5	80
30	3/10	70
40	0/5	100
50	0/5	100

ED_{50} = 17.4 (22.1~13.7) mg/kg.

Table 5. Anti-strychnine action of α -chlor-GABA in mice. Strychnine nitrate 0.56 mg/kg (s. c.)

Dose (mg/kg)	Latency of convulsion (min)	Survival time (min)
Control	1.8	2.0
600	2.5	3.9
1200	3.4	5.0

た。

4. Anti-strychnine 作用

1 群 5 例のマウスを使用して、 α -Cl-GABA の anti-strychnine 作用を検討した。

Strychnine nitrate 1.25 mg/kg (s. c.) による痙攣および死亡に対して、 α -Cl-GABA 600 mg/kg (i. p.) は何等の影響も与えなかった。併し、strychnine nitrate 0.56 mg/kg (s. c.) による痙攣に対しては、 α -Cl-GABA (i. p.) は痙攣発現の潜時を延長し、死亡までの時間を延長した。すなわち、strychnine nitrate 0.56 mg/kg 投与の対照群では死亡時間平均 2 分のものが、 α -Cl-GABA 600 mg/kg および 1200 mg/kg 投与後 2 時間では、それぞれ 4 分および 5 分に延長した (表 5)。

5. Anti-electroshock

Maximal electroshock seizure に対して、後肢の tonic convulsion の消失を示標として判定すると、2 g/kg (p. o.) の α -Cl-GABA は抑制効果を示さなかった。

6. Anti-morphine 作用

α -Cl-GABA を 15 分間前に腹腔内注射し、morphine 20 mg/kg の筋注によって生ずる Straub-Herrman 現象を index として、anti-morphine 作用を検討した。その実験成績は表 6 に総括した。

α -Cl-GABA 60 mg/kg で明らかに anti-morphine 作用を示した。

7. Anti-mescaline 作用

α -Cl-GABA を 15 分後に腹腔内注射し、mescaline 50 mg/kg の筋注によって生ずる scratch を index として、anti-mescaline 作用を検討した成績は表 7 に総括した。 α -Cl-GABA は 6

mg/kg のかなりの少量で anti-mescaline 作用を示した。

8. Exploratory activity に対する影響

実験には 1 群 5 匹の雄マウスを 12 群使用した。すなわち、 α -Cl-GABA 25 mg/kg, 50 mg/kg, 100 mg/kg の腹腔内注射後 1 時間して 15 分間の exploratory activity を、Actometer の感度を微細運動も測定できるように調節して測定し、Ringer 投与の対照群と比較した (表 8)。 α -Cl-GABA の exploratory activity に対する影響は少なくともこの用量では認められなかった。

9. Philopon antagonism

Actometer の感度を主として粗大運動および歩行運動を測定する様に調整し、1 群 5 匹のマウスの自発運動を 1 時間測定した。

Rniger 腹腔内投与の対照群では運動回数は最初の 15 分間に最大で、それにつぐ各 15 分間の運動回数は激減する傾向を示した。

一方、philopon 投与群では各 15 分間の運動回数はほぼ一定で平均していた。Philopon 2 mg/kg の筋肉内投与後 1 時間の運動回数は対照群の 2 倍以上に達した。

次いで、 α -Cl-GABA 50 mg/kg および 100

Table 8. The influence of α -chlor-GABA on the exploratory activity of mice

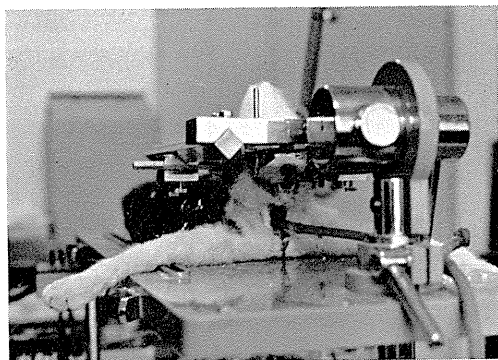
Dose (mg/kg)	No. groups	The exploratory activity (average for 5 mice \pm S. D.)
Control	7	5446.1 \pm 1250.8
25	3	5675.7 \pm 1181.0
50	3	5484.3 \pm 1638.7
100	3	6856.7 \pm 982.7

Table 9. The influence of α -chlor-GABA on philopon-induced activity of mice (Philopon 2 mg/kg I. M.)

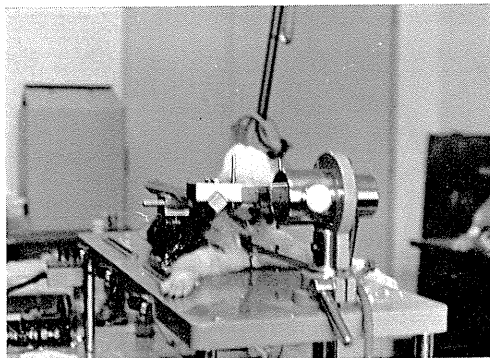
Treatment	Dose of α -Cl-GABA (mg/kg)	No. groups	Activity score	% Diff. in activity	% Inhibition on philopon	"p"
Control	0	3	9496.0 \pm 1679.3			
Philopon	0	4	21413.0 \pm 1852.9	+125.0		
Philopon+	50	3	14395.7 \pm 2525.0	+ 51.6	51.1	<0.01
α -Cl-GABA	100	3	9078.0 \pm 2209.7	0	100	<0.001

Table 10. The influence of α -chlor-GABA on the decerebrate rigidity

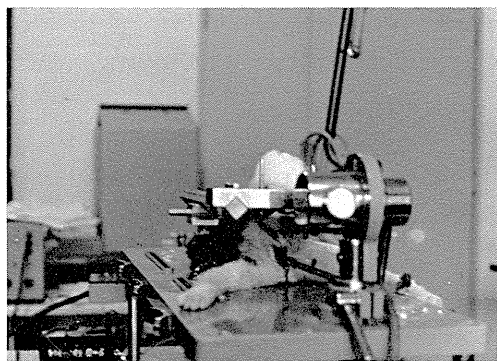
Animal	Body weight (kg)	Dose (mg/kg)	Effect	Duration
Cat	2.6	20	+++ Complete inhibition	4 hrs. obs.
Cat	2.4	{ 5 10 20	{ ± + +++ Complete inhibition	{ 10 min. obs. 4 hrs. obs.
Cat	2.5	5	+	1 hr. obs.
Rabbit	4.4	{ 1 5 10	{ + ++ +++ Complete inhibition	{ 10 min. obs. 30 min. obs. 2 hrs. obs.



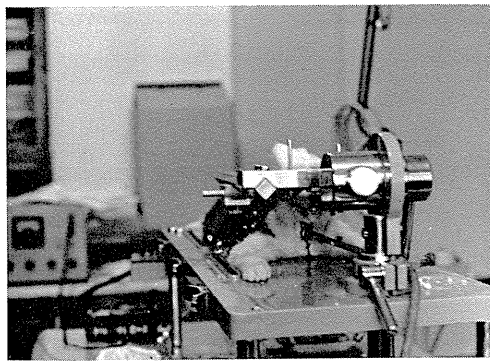
1



3



2



4

Fig. 3. The effect of α -Cl-GABA on the decerebrate rigidity (cat 2.5 kg). 1. Control. 2. 5 min after the intravenous injection of 5 mg/kg α -Cl-GABA. 3. 15 min after. 4. 30 min after.

mg/kg 腹腔内投与の philopon 2 mg/kg (i. m.) による運動増加に対する影響について検討した。α-Cl-GABA 50 mg/kg の投与により philopon による自発運動増加はほぼ半減し, 100 mg/kg の投与によっては完全に拮抗された。この場合には, 最初の15~30分の philopon による運動回数の増加の抑制が特に著明であった。以上の成績は表9に総括した。

10. 除脳硬直に対する影響

手術に成功し, 完全に除脳硬直の発現した猫3匹と家兎1匹を実験に供した。1~20mg/kg の α-Cl-GABA の静脈内注射の影響は表10に総括した。図3は α-Cl-GABA の除脳硬直抑制作用の典型的な例を示したものである。

11. Barbiturate antagonism

α-Cl-GABA を腹腔内注射し, 同時に腹腔内注射した pentobarbital による spontaneous activity (righting reflex 消失より少しく長い)

の完全消失時間 (sleeping time) の短縮を測定した。

まず pentobarbital 45 mg/kg の腹腔内注射の sleeping time は 25 mg/kg の α-Cl-GABA (i. p.) で短縮された ($p < 0.02$)。さらに 50 mg/kg (i. p.) 以上では 1%以下の危険率で有意に短縮した (表11)。

次に, 30匹マウスを3群にわけ, 各群に pentobarbital 60 mg/kg (i. p.) のみを投与した場合と α-Cl-GABA または GABA のそれぞれの量を附加した場合とを各個体について比較した。実験は隔週に行ない, 順序は群により randomize した。その成績は表12に総括した。α-Cl-GABA の 50 mg/kg は明らかに pentobarbital による sleeping time を短縮した ($p < 0.001$)。併し, GABA は大量投与しても影響を与えなかった。

図4は pentobarbital 45 mg/kg および 60

Table 11. The influence of α-chlor-GABA on pentobarbital-induced sleep in mice

Treatment and dose (mg/kg, I. P.)		Number of mice	Sleeping time (Mean ± S. D.) min
Pentobarbital	45	14	67.8 ± 19.2
Pentobarbital + α-Cl-GABA	45 25	20	52.0 ± 11.2 ($p < 0.02$)
Pentobarbital + α-Cl-GABA	45 50		
Pentobarbital + α-Cl-GABA	45 200	20	42.4 ± 6.7 ($p < 0.01$)
Pentobarbital + α-Cl-GABA	45 200		

Table 12. The influence of α-chlor-GABA and GABA on pentobarbital-induced sleep in mice

Pentobarbital 60 mg/kg	Sleeping time (min) Mean ± S. D.					
	Dose of α-chlor-GABA added (mg/kg)			Dose of GABA added (mg/kg)		
	50	100	150	200	500	800
A group	88.7 ± 28.9	61.5 ± 3.7	59.8 ± 5.3	98.0 ± 17.6		
B group	100.8 ± 23.3	73.4 ± 14.8	54.9 ± 5.3	97.0 ± 10.6		
C group	92.3 ± 27.3	51.8 ± 10.5	44.2 ± 8.6	102.0 ± 20.7		
Mean	93.9 ± 27.1	67.5 ± 12.0	55.8 ± 9.1	49.6 ± 10.1		

mg/kg 投与による sleeping time に対する α -Cl-GABA の影響をグラフに示したものである。

12. Meprobamate antagonism

Meprobamate を propyleneglycol に溶解してマウスに腹腔内注射後直ちに 1 群 5 匹の自発性運動を 30 分間 Actometer で測定した。一方, meprobamate と α -Cl-GABA を投与したマウスの 30 分間の自発性運動を測定して, 両群の測定値を比較した。

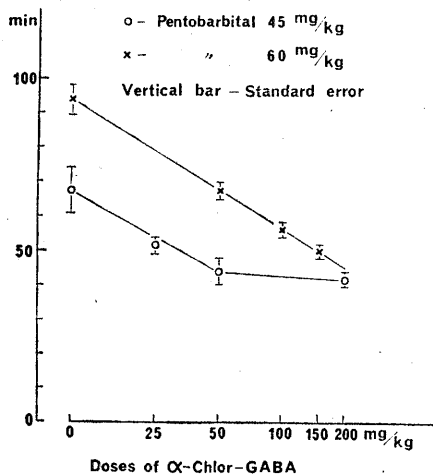


Fig. 4. Anti-hypnotic of α -chlor-GABA

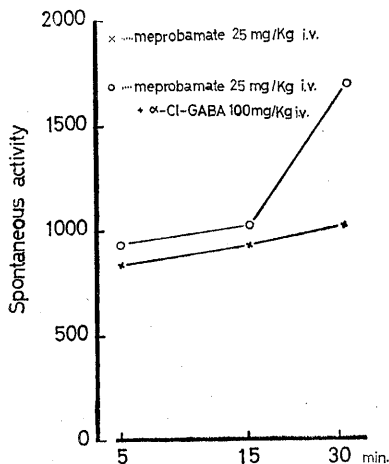


Fig. 5. Antagonism between α -Cl-GABA (100 mg/kg) and meprobamate (25 mg/kg) on the spontaneous activity of mice.

Meprobamate 50 mg/kg の投与では自発性運動は極度に抑えられ, 深い鎮静状態に陥った。このような状態に対しては α -Cl-GABA の影響は認められなかった。併し, meprobamate 25 mg/kg で適当な鎮静状態に陥る場合には, α -Cl-GABA 100 mg/kg (i. p.) の投与は軽度ながら自発性運動の回復を生じた。すなわち, meprobamate 25 mg/kg のみの投与群の自発性運動は 1046.0 ± 147.6 であったのに比し α -Cl-GABA を共に投与した群の自発性運動は 1722.7 ± 296.8 で, 両者の差は 5% 以下の危険率で有意であった。

Meprobamate 25 mg/kg の投与後の自発性運動は 5 分間に多少認められ, その後は極めて少ししか認められないが, α -Cl-GABA を共に投与した場合には 5 分間の自発性運動も多少多く, その後の自発性運動の減少傾向がゆるやかになる (図 5)。

尚, meprobamate による hypothermia に対しては α -Cl-GABA の影響は認められなかった。Meprobamate 25 mg/kg (i. p.) による直腸温の下降は $7.9 \pm 1.2^\circ\text{C}$ (サーミスタ体温計による測定) で, α -Cl-GABA 100 mg/kg (i. p.) 附加の場合は $7.1 \pm 2.5^\circ\text{C}$ であった。

13. Chlorpromazine (CP) に対する作用

CP-HCl 塩の腹腔内投与によって生ずるマウスの tranquillization は α -Cl-GABA によってさらに軽度ながら増強した。表 13 は 0.5 mg/kg CP-HCl と α -Cl-GABA 100 mg/kg を腹腔内注射した場合の協力作用を示す実験の総括で, 自発性運動は注射直後の 30 分, 1 群 5 匹の測定値で示してある。

尚, ラットを使用して CP と α -Cl-GABA の関係を観察した。ラットの場合は自発性運動は各個体について測定したが, その他の条件はマウスの場合と同様であった。CP (0.5 mg/kg i. p.) の作用はラットにおいても α -Cl-GABA 100 mg/kg (i. p.) によって明らかに増強された (表 14)。

14. Reserpine に対する作用

a. Reserpine によって生ずる ptosis に対

する影響

Reserpine 4 mg/kg をマウスに腹腔内注射して3時間後に ptosis を測定した (対照群). 一方, reserpine 4 mg/kg の腹腔内注射後2時間半に α -Cl-GABA を腹腔内注射して reserpine 注射後3時間で ptosis を測定した. その実験成績は表15に総括した. α -Cl-GABA 100 mg/kg, 200 mg/kg の投与は reserpine の作用に何等の影響も与えなかった.

b. Reserpine による tranquillization に対する影響

上述の投与方法と同様にして, reserpine 投与群と reserpine + α -Cl-GABA 投与群を作り, 1群5匹のマウスの自発性運動を15分間 (reserpine 投与後3時間目から15分間) Actometer で測定した.

Reserpine 4 mg/kg によって生ずる殆んど完全な tranquillization に対して α -Cl-GABA 100 mg/kg の投与は何等の影響をも与えなかった. また, reserpine 2 mg/kg によって生ずる tranquillization は群間の標準偏差が大で, α -Cl-GABA を共に投与した群では, それが一層大となった. すなわち, 無処置の対照群の自発

性運動は 5289.8 ± 996.9 , reserpine 投与群では 808.3 ± 367.0 , α -Cl-GABA 附加投与群では 355.0 ± 411.2 であった. t 検定により reserpine 投与群と α -Cl-GABA 附加投与群間には有意差は認められなかった.

ラット30匹を使用して同様の実験を行なった. ただし, ラットの場合は各1匹について自発性運動を測定した. 併し, この場合も reserpine 投与群, α -Cl-GABA 附加投与群では個体間の偏差が著しく大で, 両者間に有意差は認められなかった.

Table 13. The influence of α -chlor-GABA on the chlorpromazine-induced tranquillization of mice (5/dose) (Chlorpromazine HCl 0.5 mg/kg I. P.)

Treatment	No. of groups	Spontaneous activity for 30 min
Control	4	13194.8 \pm 819.0
Chlorpromazine	3	3786.3 \pm 759.5
Chlorpromazine + α -Cl-GABA I. P. (100 mg/kg)	4	2095.0 \pm 575.7*

* The difference from the chlorpromazine-treated groups is statistically significant ($p < 0.02$).

Table 14. The influence of α -chlor-GABA on the chlorpromazine-induced tranquillization of rats

Treatment and dose	No. of rats	Average spontaneous activity for 30 min.	Diff. in activity	"p"
Chlorpromazine (I. P) 0.5 mg/kg	4	5117.8 \pm 1087.3		
Chlorpromazine (I. P) 0.5 mg/kg + α -Cl-GABA (I. P) 100 mg/kg	4	2165.8 \pm 784.9	-2952.0	<0.01

Table 15. The influence of α -chlor-GABA on reserpine-induced ptosis in mice (Reserpine 4 mg/kg I. P.)

Dose (mg/kg) I. P.	Time of injection after reserpine (min)	Number of mice	Ptosis
Control	—	10	3.6
100	150	10	3.7
200	150	10	3.6

Table 16. Pharmacological characterization of α -chlor-GABA

Screening	α -Cl-GABA	Barbiturate	Anticholinergic agents	Antihistaminic agents	Meprobamate	Chlorpromazine	Reserpine
Nicotin	0	—	—	—	—	—	0
Strychnine	±	—	—	—	—	—	—
Metrazol	—	---	—	—	—	0	0
Morphine	---	—	—	—	—	—	—
Philopon or Amphetamine	---	+ or -	—	—	—	---	---
Mescaline	----	0 or +	—	----	0	—	0
Barbiturate	----	—	—	—	—	++++	++++
Meprobamate	—	—	—	—	—	—	—
Chlorpromazine	+	++++	—	—	—	—	—
Reserpine	?	++++	—	—	—	—	—

考 察

前項に記載した実験成績を表16に総括した。尚、表16には関連する物質の成績も記載した。これらの成績は主として Chen と Bohner⁷⁾⁸⁾ の報告より引用したものである。作用強度はその物質についての比較的強度を示すもので、物質間の作用強度の比較を示すものではないことに注意され度い。

この表をみると α -Cl-GABA は excitant 中の convulsants に対しては弱い拮抗作用か殆んど影響を示さないかであり、depressant 中のいわゆる hypnotics あるいは narcotics に対しては拮抗するが、tranquillizers に対しては弱い拮抗または協力作用を示すことがわかる。

Barbiturate に対する拮抗作用等から α -Cl-GABA が tranquillizer にぞくさないことは明らかであり、anticonvulsant, hypnotic, narcotic でないことも明らかである。Philopon, mescaline に拮抗することより広義の depressant にぞくするかにみえるが、barbiturate, meprobamate に拮抗するので、そう単純に規定できない。

α -Cl-GABA の薬物に対する作用中、mescaline に対する拮抗作用が最も強力であること、それ自体では何等の影響もない用量で philopon に対して明らかな拮抗作用を示すことが特徴ともいえる。これは中枢神経系内で catecholamine

類と α -Cl-GABA, さらには GABA が拮抗関係を示す可能性を示唆し、興味深い。この catecholamine との拮抗作用のゆえに、chlorpromazine との協力作用が生じ、 α -Cl-GABA 本来の tranquillization に対する抑制作用のために、この協力作用が期待より遙かに弱く発現すると考えれば、meprobamate に対する拮抗作用も理解できる。

以上の考察を経たいまとなつては α -Cl-GABA は中枢神経系が興奮ならびに抑制に偏位した場合のいずれにおいても正常準位に復帰させるように作用する regulator あるいは homeostatic substance or mechanism と理解される。一応かかる現象論的理解の上に立って、かかる一見、不可思議な現象形態をとるに至る本質的理解については今後の研究に待たねばならない。

α -Cl-GABA の上述の薬理学的作用は GABA とどの程度共通であるかという問題が重要となる。この点については、既報⁹⁾ の如く α -Cl-GABA と GABA の作用が blood-brain barrier 通過性の難易の点をのぞけば、極めてよく似ていることがわかっている。本研究においても、大量の α -Cl-GABA と GABA を投与した場合の中枢毒性がよく一致することが指摘された。また、この中枢毒性は GABA の比較的微量を側脳室内に注入した場合¹⁰⁾ ともよく一致している。尚、GABA の anti-metrazol 作用¹¹⁾

anti-barbiturate 作用¹²⁾についてはすでに報告がある。

したがって、いまのところ、 α -Cl-GABA と GABA の作用がほぼ等しいことを疑わせる成績は乏しい。併し、この問題は今後の研究においても繰り返し注意されるであろう。

総 括

α -Cl-GABA の向神経薬物としての性格を明確にするため、マウス、ラット、家兎、猫を用い、以下の如き結果を得た。

1. 急性毒性については、投与経路の如何を問わずほぼ等しく、しかも LD₅₀ は極めて大であった。中枢毒性は GABA と同様、sedation, righting reflex の消失、特異な痙攣の発現であった。

2. Anti-metrazol 作用は、マウスでは軽度ながら作用があり、家兎では trimethadione とほぼ同程度の作用が認められた。

3. マウスにおける nicotine の静脈内注射によって生ずる痙攣に対して、影響は認められなかった。

4. マウスにおいて、strychnine nitrate 1.25 mg/kg (s. c.) によって生ずる痙攣および死亡に対して何らの影響を与えなかったが、strychnine nitrate 0.56 mg/kg (s. c.) の痙攣に対しては、痙攣発現の潜時および死亡までの時間を延長せしめた。

5. Maximal electroshock seizure に対して抑制効果を示さなかった。

6. Morphine 20 mg/kg (i. m.) によって生ずる Straub-Herrman 現象に対して、明らかな抑制効果を示した。

7. Mescaline によって生ずる scratch に対して極く少量で anti-mescaline 作用を示した。

8. Exploratory activity は、100 mg/kg (i. p.) の α -Cl-GABA により影響を受けなかった。

9. 自発運動に対して著明な philopon 拮抗作用が認められた。

10. 除脳硬直に対しては、明らかな抑制効果が認められた。

11. 明らかな barbiturate antagonism を示した。

12. Meprobamate による sedation に対しては明らかな拮抗作用が認められたが、hypothermia に対しては影響は認められなかった。

13. Chlorpromazine に対しては軽度の協力作用を示した。

14. Reserpine による ptosis, tranquillization に対しては、有意の影響は示さなかった。

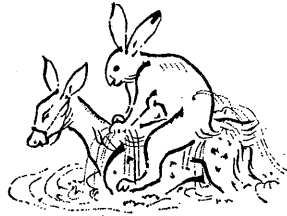
15. 以上の成績および未発表の成績を総括し、現象論的には α -Cl-GABA は神経薬理学的には中枢神経機能、特に脳機能の regulator あるいは homeostatic substance としての作用を有し、これに抗-catecholamine 作用が加味されていると結論した。

欄筆に当り、御懇篤なる御指導、御校閲を賜った高橋日出彦助教授に深く感謝致します。

文 献

- 1) Spigel, E. A. (1937) Quantitative determination of the convulsive reactivity by electric stimulation of the brain with the skull intact. *J. Lab. Clin. Med.* **22**, 1274-1276
- 2) Woodbury, L. A. and Davenport, V. D. (1952) Design and use of a new electroshock seizure apparatus and analysis of factors altering seizure threshold and pattern. *Arch. int. Pharmacodyn.* **92**, 97-107
- 3) Swinyard, E. A., Broun, W. C. and Goodman, L. S. (1952) Comparative assays of antiepileptic drugs in mice and rats. *J. Pharmacol. Exper. Therap.* **106**, 319-330
- 4) Juul, A. (1939) Über die Möglichkeit die Straub-Herrmann'sche Mäuseschwanzreaktion zum quantitativen Nachweis von Morphin bei gerichtlichchemischen Untersuchungen zu verwenden. *Arch. internat. Pharmacodyn. therap.* **62**, 69-78
- 5) Rubin, B., Malone, M. H., Waugh, M. H. and Burke, J. (1957) Bioassay of rauwolfia roots and alkaloids. *J. Pharmacol. Exper. Therap.* **120**, 125
- 6) Litchfield, J. T. and Wilcoxon, F. (1946) A simplified method of evaluating dose effect experiments. *J. Pharmacol. Exper. Therap.* **96**, 99-113
- 7) Chen, G. and Bohner, B. (1960) A study of certain CNS depressants. *Arch. int. pharmacodyn.* **75**, 1-20
- 8) Chen, G. and Bohner, B. (1961) The anti-reserpine effects of certain centrally-acting agents. *J.*

- Pharmacol. Exper. Therap. **131**, 179-184
- 9) 白石武昌・原 俊昭 (1968) γ -Aminobutyric acid (GABA) の脳機能に対する生理学的意義に関する研究 Ⅱ. α -Chloro- γ -aminobutyric acid (α -Cl-GABA) の薬理学的作用の類似性について. 日本生理誌 **30**, 109-113
- 10) Gulati, O. D. and Stanton, H. C. (1960) Some effects on the central nervous system of gamma-amino-n-butyric acid (GABA) and certain related amino acids administered systemically and intracerebrally to mice. J. Pharmacol. Exper. Therap. **129**, 178-185
- 11) Takahashi, H., Nagashima, A., Koshino, C. and Takahashi, H. (1959) Effects of γ -aminobutyric acid (GABA), γ -aminobutyryl choline (GABA-CH) and their related substances on the cortical activity. Jap. J. Physiol. **9**, 257-265
- 12) Takahashi, H., Matsuzaki, H., Kumei, K. and Takahashi, H. (1959) EEG-arousal by γ -aminobutyric acid (GABA) in the rabbit under anesthesia, cyanpoisoning or asphyxia. Jap. J. Physiol. **9**, 207-217



Abortive spike of leaf-like receptor in the frog muscle

Fumio Ito *

*Department of Physiology, School of Dentistry, Aichi-Gakuin University,
Nagoya*

Katz¹⁾ found discrete 'steps, ('pre-potential', Arvanitaki²⁾), in the foot and rising phase of the action potentials from the frog muscle spindle receptors. When the muscle is almost slack and its afferent discharge is not frequent, the prepotentials occur independently in quantal size and are not subject to continuous gradation. They are termed 'abortive spike' and known to be quite different from the end-plate potential or the local cathodic response in nerve¹⁾. Such an abortive spike, however, has not been observed for the other kinds of receptors; for example, Pacinian corpuscles³⁾⁴⁾, crustacean stretch receptors⁵⁾ and cutaneous sensory nerve ending⁶⁾. In the present study, the abortive spikes were observed for the leaf-like receptors in the frog muscle which were recognized by Ito, Toyama and Ito⁷⁾ as a kind of stretch receptors and by Paintal⁸⁾ as the pressure-pain receptor in mammals.

A single afferent nerve fiber for a leaf-like receptor was isolated in its intramuscular course of the frog sartorius muscle in the vicinity of the receptor. The receptor was identified by its functional properties during passive stretches or contractions of the muscle⁹⁾ with the observation by microscope or on conduction velocities of its afferent impulses⁷⁾. The muscle containing the isolated receptor was placed in a Ringer's pool of a perspex box, and the nerve was placed in another Ringer's pool across a liquid paraffin pool of 1 mm width. The distance

from the site of the receptor to the liquid paraffin pool was 1 mm or less. The responses of the receptor were led with a pair of calomel electrodes inserted into the pools and displayed on a dual beam oscilloscope through a high input-impedance amplifier. The muscle was stretched by 3 mm from the *in situ* length of the muscle (ca 30 mm) by means of a stretcher⁷⁾ which was driven by triangular currents of different angles, and the produced tensions of the muscle were detected by RCA 5734 at the fixed end.

Fig. 1 shows representative records from a leaf-like receptor. When the muscle was stretched at 15 mm/sec (Fig. 1A), the muscle tension (lower traces of the records) was gradually accelerated and attained the maximum of 0.5 g at the completion of the stretch, while the receptor responded with generator potential, abortive and propagated spikes (upper traces of the records). With increase of the stretch velocity (30 mm/sec in Fig. 1B to 60 mm/sec in Fig. 1D), the slope of the tension increment became steeply, and the rising phases of the generator potential became sharp. The abortive and propagated spikes did not produced until the generator potential increased beyond 0.25 mV at different velocities of the muscle stretch. The abortive spikes occurred in discrete quantal size and were sometimes superimposed with successive abortive spikes (Fig. 1B and D), or appeared as a step for the propagated spike (Fig. 1C).

The amplitude of the abortive spike decreased

* 伊藤文雄；愛知学院大学歯学部生理学教室
〔Received for publication March 4, 1968〕

with increase of the distance between the site of the receptor and the paraffin pool and disappeared when increased over 7 mm, but the propagated spike height remained unchanged. This implies that the abortive spike may

be a local response of the sensory nerve endings and if not, it does not propagate proximally beyond the branching node of the axon. The existence of abortive spikes in leaf-like receptors is interesting in relation with the histological characteristics that the sensory nerve fiber of leaf-like receptor divides into many myelinated branches in its terminals as well as in the muscle spindle (cf. 7).

A part of this work was supported by a Grant-in-Aid for Fundamental Scientific Research from the Ministry of Education.

References

- 1) Katz, B. (1950) *J. Physiol.* **111**, 248-260
- 2) Arvanitaki, A. (1939) *Arch. Int. Physiol.* **49**, 209-256
- 3) Gray, J. A. B. and Sato, M. (1953) *J. Physiol.* **122**, 610-636
- 4) Hunt, C. C. and Takeuchi, A. (1962) *J. Physiol.* **160**, 1-21
- 5) Kuffler, S. W. (1954) *J. Neurophysiol.* **17**, 558-574
- 6) Murray, R. W. (1961) *J. Physiol.* **159**, 546-570
- 7) Ito, F., Toyama, K. and Ito, R. (1964) *Jap. J. Physiol.* **14**, 12-33
- 8) Paintal, A. S. (1960) *J. Physiol.* **152**, 250-270
- 9) Ito, F. (1968) *Jap. J. Physiol.* (in the press)

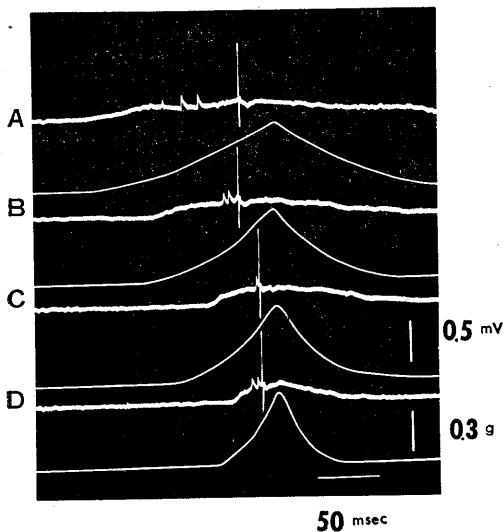


Fig. 1. Responses of an isolated leaf-like receptor (upper traces) and tension changes of the muscle (lower traces) during muscle stretches at different velocities (A-15, B-30, C-50 and D-60 mm/sec).

The active state of frog skeletal muscle determined by the isotonic quick release method under no load

Hideobu Mashima *

Department of Physiology, School of Medicine, Juntendo University, Tokyo

Two different methods have been developed to determine the active state curve of skeletal muscle; namely the isometric quick release method devised by Ritchie⁷⁾ (1954) and the isotonic quick release method described by Jewell and Wilkie⁵⁾ (1960). The active state curve determined by the isometric method represents a course of the capacity of the muscle to bear a load or to develop tension, but the curve determined by the isotonic method is a course of the capacity to shorten during contractile process. In the previous report (Mashima⁶⁾, 1967), it was suggested that the capacity to develop tension did not attain the maximum value during a twitch at 10°C. In this report, the active state curve was determined by a new isotonic method, in which the quick releases were made in two steps in order to measure the shortening velocity of the contractile element precisely even under no load, and the result was compared with that determined by the isometric method.

A small bundle less than 500 μ in diameter dissected from the semitendinosus muscle of the frog, *Rana nigromaculata*, was mounted horizontally in the Ringer bath, and the temperature of Ringer solution was maintained at 10°C by the thermoelectric regulator. One tendinous end of the muscle was penetrated by the stainless steel needle attached to the anodal pin of RCA 5734 tube, and the other end was penetrated by the tip of an isotonic lever,

which was made of light wood with a tip of stainless steel needle, 7 cm in a whole length, 400 mg in weight, and the effective weight as a load for muscle was less than 5 mg. The movement of the lever was picked up photoelectrically and displayed on the oscilloscope through an amplifier. A pair of platinum foil electrodes were placed on opposite walls of the bath and the muscle was stimulated by transverse electrical current field with the duration of 1 msec. After a stimulus, the first quick release was made by pulling a small hook from the lever with electromagnet. Then, the muscle began to shorten quickly and the lever collided with the stop, which was removed by the second quick release made by another electromagnet at the instant when the lever collided. The quick shortening of the series elastic component after the first release was less than 4 % of the muscle length. Adjusting the distance and time interval between two releases, it was possible to record the shortening curve of the contractile component after the second release even under no load at 10°C or higher temperatures. The velocity curve, which was obtained by differentiating the shortening curve electrically with the time constant of 3 msec was also displayed with another beam of the oscilloscope.

The active state curves thus obtained at the body length are shown in Fig. 1. Under no load, the active state generated by a single stimulus reached its full extent immediately after latency of 10 msec in agreement with Hill's observation³⁾ (1949) and decayed gradually

* 真島英信：順天堂大学医学部生理学第2講座
〔Received for publication March 23, 1968〕

in 200 msec at 10°C (Fig. 1, A). The falling phase of the active state curve determined by the isometric quick release method was plotted in Fig. 1 as a dotted line. Both curves were almost coincided at later than 100 msec from a stimulus. With the increase in load, the capacity to shorten was depressed and decayed sooner (Fig. 1, B, C.) Under no load the velocity obtained by a single stimulus attained the real maximum which was not increased when repetitive stimuli were applied, but under some load the velocity obtained by two stimuli was greater than that by a single stimulus, as though a delayed onset of the active state in heart muscle (Sonnenblick⁸), 1967).

Jewell and Wilkie⁵) (1960) pointed out that the active state curve determined by the isotonic method was decayed more rapidly than that by the isometric method. In the present study, however, the active state curve under no load was determined by the isotonic two releases method and it was ascertained that the tails of both curves were almost coincided. The fact that the capacity to shorten attained the maximum value immediately after the stimulus, although the capacity to develop tension did not, is explained in a light of the sliding-filament theory (Huxley⁴), 1957). Gordon et al.¹⁾²⁾ (1966) showed that maximum velocity of shortening under no load did not depend on the amount of overlap between filaments, while the maximum tension did. In this point of view, the capacity to shorten would represent the active state of an individual cross-link between filaments and the capacity to develop tension would represent the total active state, which is a product of the active state of a single cross-link and the number of

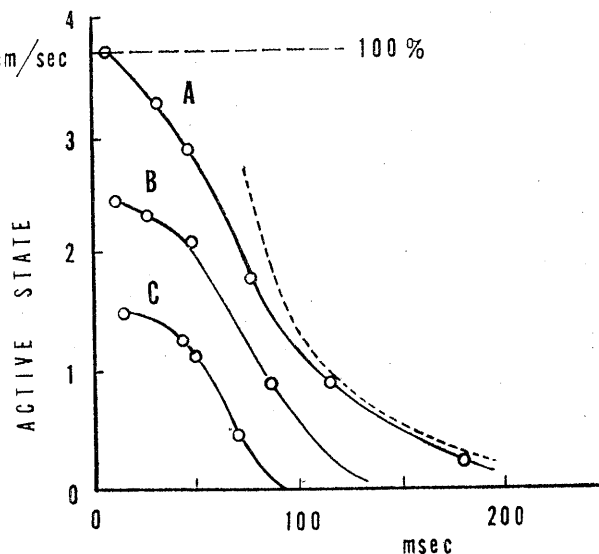


Fig. 1. The active state curves of frog skeletal muscle during a twitch determined by the isotonic two releases method. Muscle length, 13 mm; load, A: no load, B: 50 mg, C: 200 mg; 10°C. Dotted line is the active state curve determined by Ritchie's method, when the maximum tetanic tension is shown as 100% line.

activ cross-links.

The two releases method was devised and the active state curve was determined under no load at 10°C. It was concluded that the capacity to shorten attained its full extent immediately after a stimulus, and decayed gradually in 200 msec.

References

- 1) Gordon, A. M., Huxley, A. F. and Julian, F. J. (1966) *J. Physiol.* **184**, 143-169
- 2) Gordon, A. M., Huxley, A. F. and Julian, F. J. (1966) *J. Physiol.* **184**, 170-192
- 3) Hill, A. V. (1949) *Proc. Roy. Soc.* **B 136**, 399-420
- 4) Huxley, A. F. (1957) *Prog. Biophys. Biophysical Chem.* **7**, 255-318
- 5) Jewell, B. R. and Wilkie, D. R. (1960) *J. Physiol.* **152**, 30-47
- 6) Mashima, H. (1967) *J. Physiol. Soc. Japan* **29**, 708-709
- 7) Ritchie, J. M. (1954) *J. Physiol.* **126**, 155-168
- 8) Sonnenblick, E. H. (1967) *J. gen. Physiol.* **50**, 661-676

In-vitro method for the studies on penetration phenomena through intestinal membrane

Shoichi Nakano, Tsunehisa Sato and Kazuaki Fujii*

Department of Physiology, The Jikei University School of Medicine

Many studies on "in-vitro method" of intestinal absorption have been reported during the past ten years¹⁾²⁾⁵⁾⁶⁾⁷⁾.

Improving Jervis et al.'s apparatus²⁾, we devised a circulation apparatus which could automatically record the penetration phenomenon through the intestinal wall by determination of ultra-violet absorbance.

As shown in Fig. 1, A, the everted intestinal canal was tied up to Part a. The solution on the side of the intestinal serosa was circulated by a bubble lift of 95% O₂ and 5% CO₂. In the circuit a quartz flow cell was set, and the change of wave length absorbance was recorded automatically by an ultra-violet photometer, e.g. the substance of ultra-violet absorbance was added to the solution on the mucosal side (b), and when this penetrated into the intestinal wall and passed to the solution on the serosal side, the absorbance could be directly and continuously recorded for each wave length. Penetration phenomenon could be observed without any volume change of circulating solution and physical influence could be avoided by making the solutions on both sides of serosa and mucosa so isotonic that there was no osmotic effect, the passage of substances from the mucosa to the serosa occurring against a constant hydrostatic pressure of 15~20 cm H₂O. By connecting an infrared spectrophotometer to this apparatus, instead of an ultra-violet spectro-

photometer, infrared absorbance can be determined, and by connecting a rotary dispersion set, optical rotation and its dispersion can be measured. Furthermore, by connecting a multipurpose recording spectrophotometer to this apparatus, the wave length curve can be rapidly scanned. It is also possible to determine the difference of electrical potential and the change of pH between the serosal and mucosal surfaces.

On the other hand, this apparatus can be used for the chemical determination of glucose, sodium, potassium and fat by taking a certain amount of the solution. This apparatus is also useful for investigation as to the penetration of such substances of ultra-violet absorbance as protein, active polypeptides, amino acid and nucleotides, in the presence of glucose or such the mineral electrolytes as sodium and potassium. It can be also used for the analysis of interaction of carbohydrates, lipids and proteins, and studies of the influence of various metabolic inhibitors and consequently for elucidation of the penetrating mechanism in the intestinal wall.

In our experiment, by use of this apparatus, intestinal penetration of insulin as active polypeptide was observed. Insulin used for our investigation (Actorapid Novo-Insulin, pH 7.2, Pig) had 258 m μ of absorbance wave length at its maximum. At the wave length mentioned above, a linear relation between density and absorbance existed within the extent of 5~25 μ g/ml insulin. On the other hand, a vinyl tube was connected to part a of this apparatus, Ty-

* 中野昭一・佐藤恒久・藤井和明：東京慈恵会医科大学第2生理学教室

[Received for publication February 29, 1968]

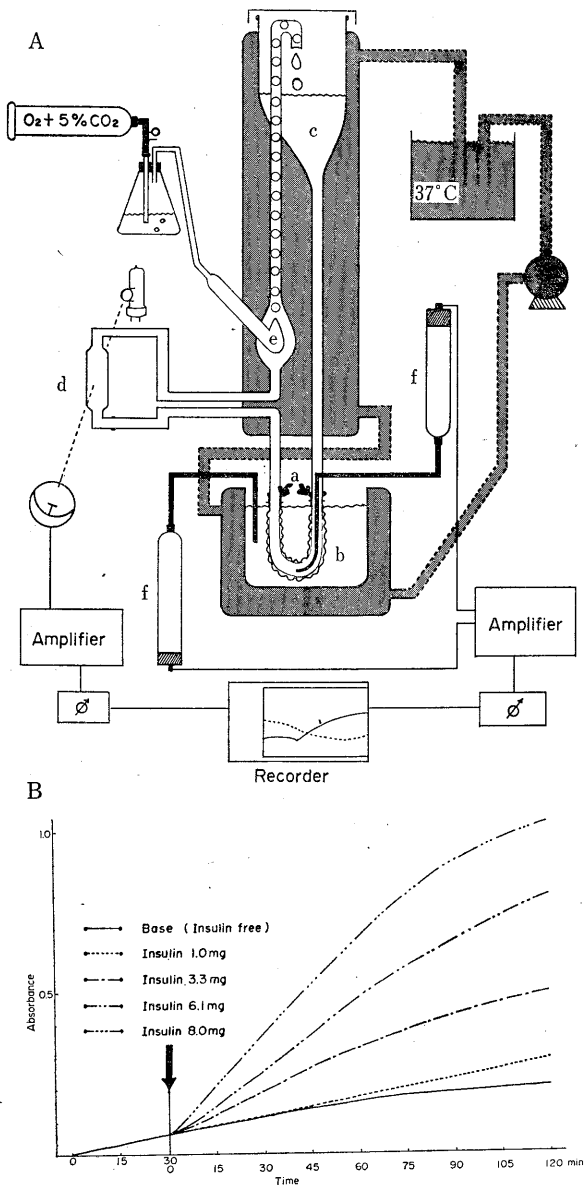


Fig. 1. A: The apparatus used for circulation of fluid through the intestine. a: The everted intestine tied up here. b: Solution on the mucosal side. c: Solution on the serosal side. d: A quartz flow cell. e: A bubble lift of gases. f: The electrodes. B: Penetration of insulin through the intestinal membrane. Ordinate: 258 $m\mu$ absorbance on the serosal side. Abscissa: Time course before and after the addition of various concentrations of insulin.

rode solution was poured into part c, and then insulin was gradually added. When insulin was diluted directly by Tyrode solution, the absorbance showed a similar tendency, namely a linear relation was found between density and absorbance. This finding suggests that a quantitative determination of insulin penetrating through the intestinal wall was possible by using this apparatus. In the same way, the everted jejunum of a rat was connected to Part a and the experiment was carried out. The summarized result of it is shown in Fig. 1, B.

By taking the solution on both sides of the serosa and the mucosa at set intervals and taking a continuous wave length of 210~350 $m\mu$, the substance of 258 $m\mu$ absorbance appeared gradually on the serosal side. The 258 $m\mu$ absorbance on the mucosal side which was produced by addition of insulin, gradually decreased. Furthermore, by using I¹³¹-insulin, radioelectrophoresis and decreasing effect of blood sugar, the penetration phenomenon through the intestinal wall was observed. From these results it is suggested that active insulin can partially penetrate through the intestinal wall, when there is a considerably high concentration of insulin in the intestinal canal³⁾⁴⁾.

References

- 1) Crane, R. K. and Wilson, T. H. (1961) *J. Appl. Physiol.* **12**, 145-146
- 2) Jervis, E. L. et al. (1956) *J. Physiol.* **134**, 675-688
- 3) Nakano, S. (1965) *Saishin-Igaku*, **20**, 2963-2970
- 4) Nakano, S. et al. (1967) *Clin. Endocrinol. (Japan)*, **15**, 411-417
- 5) Quastel, J. H. et al. (1961) *Methods in Med. Research*, **9**, 273-292
- 6) Wilson, T. H. and Wisman, G. (1953) *J. Physiol.* **121**, 45, (1954) **123**, 116-125
- 7) Wisman, G. (1953) *J. Physiol.* **120**, 63-72

〔短報〕

〔会報〕

人体基礎生理学研究所情報

第1回人体基礎生理学研究所設立準備委員会が、5月11日(土)午後1時より上野学術会議において樋口一成第7部長によって招集された。委員は次のとおり(下記、設立準備委員会委員一覧参照)。

樋口第7部長の司会の下に、この準備委員会発足までの経過が宮木高明委員より説明され、ついで準備委員長として本川弘一東北大学々長が互選された。樋口第7部長退席の後をうけて本川委員長の司会により下記のように幹事の指名、実行委員および実行委員長が選出された。

ここですでに文部省に勧告になっている基礎生物学研究所の準備委員会の進捗状況が高宮委員(代理:門司教授)より報告され、これに関連して生理学研の性格が討議された。

実行委員会には実際業務に従事する Working Group といったものが求められるにちがいないし、それ等の人々の当委員会へのオブザーバーとしての出席が条件つき(準備委員長一任)でみとめられることとなった。

生理研設立準備委員会として今後どのように設立促進を行なうかが問題となるところであるが、上記の委員会には生理学会関係以外の委員も多数居られるので、その方々にいままでの経過および設立案にもられた意図を諒解、設立促進とともに努力していただく事をおねがいがしたい。

生理学会将来計画委員会は永年の生理学会員の切実な要望を生理学研究のための理想的な施設としての研究所案に結晶させた。

それゆえに設立準備委員会にはこの研究所設立案をそのまま実現させるよう努力することが切に要望されている。生理学会々員がこれを各自の問題として建設的な意見を設立委員によせ、よりよい研究所実現に共に進んでゆきたいと思う。

(実行委員長 内菌耕二)

人体基礎生理学研究所(仮称)設立準備委員会
委員一覧 ◎印委員長, ○印実行委員

氏名	職名	選出母体
時実 利彦	東京大(医)教授	生理科学研連委
中尾 健	東京慈恵医大教授	同上
塚田 裕三	慶応大(医)教授	脳研連委
今道 友則	日本獣医畜産大教授	実験動物研連委
吉川 春寿	東京大(医)教授	生化学研連委
○山川民雄	東京大(医)教授	同上
大沢 文夫	名古屋大(理)教授	生物物理学研連委
○宮木高明	千葉大(医)教授	長期研究計画委員会
○秋田康一	東京大(理)教授	基礎生物学研究所(仮称)設立準備委員会
高宮 篤	東京大(理)教授	同上
○朝比奈一男	東邦大(医)教授	日本生理学会
井上 章	京都大(医)教授	同上
○内菌耕二	東京大(医)教授	同上
○勝木保次	東京医歯大(医)教授	日本生理学会

○高木健太郎	名古屋大(医)教授	同上
高木 貞敬	群馬大(医)教授	同上
高橋 憲	日本医科大教授	同上
○田崎京二	東北大(医)教授	同上
○間田直幹	九州大(医)教授	同上
富田 恒男	慶応大(医)教授	同上
中馬 一郎	大阪大(医)教授	同上
○名取礼二	東京慈恵医大教授	同上
福原 武	岡山大(医)教授	同上
○藤森聞一	北海道大(医)教授	同上
松田幸次郎	東京大(医)教授	同上
○真島英信	順天堂大(医)教授	同上
◎本川弘一	東北大学長	同上
○吉村寿人	京都府立医科大学長	同上
上田 英雄	東京大(医)教授	同上
卜部美代志	金沢大(医)教授	同上
樋口 一成	東京慈恵医大	第7部会
黒田嘉一郎	徳島大(医)教授	同上
鈴木 勝	日本大学歯学部	同上
○浦城二郎	広島大(医)教授	同上

本会特別会員 笹川久吾君（京都大学名誉教授；大阪医科大学教授）昭和43年5月16日心筋硬塞にて逝去されました，謹しんで哀悼の意を表します。日本生理学会から花輪を供え，京都府立医科大学吉村寿人君が本会を代表して弔辞を捧げました。

本会特別会員 山極一三君（東京医科歯科大学教授）昭和43年5月19日心筋硬塞にて逝去されました，謹しんで哀悼の意を表します。日本生理学会より花輪を供え，告別式に本会を代表して庶務幹事松田幸次郎君が参列しました。

〔編集後記〕

6号をお届けします。先日の編集会議では4号の検討をしました。欧文抄録が長すぎるのもありました。200字以内と決められていますから，その範囲内でスカッとするようにお書き下さい。原著の集りがこここのところよく，10号の分まで決めました。英文速報もお陰でよく集まり9月の分まで決めました。編集会議にでると，机の上に高くつまれた原稿の封筒をみて元気がでできます。この調子でご投稿下さい。もっとよい紙で，頁の制限も軽く，著者負担も軽くできないものかと，朝刊にはさまれてくる立派な広告，通勤電車の中の立派なポスターを見ては日生誌のことを考え，社会のアンバランスを思います。

将来計画委員会が生理学の将来を検討し，教育委員会が学生実習について検討しています。近い内に両者の合同懇談会も行なわれ，生理学のこれからについていろいろ議論されるでしょう。また人体基礎生理学研究所設立も委員が決まり発足しました。これらの議事録も本誌ののってわれわれにも知らされる筈です。明年の生理学会も評議員

会に多くの時間が割かれるようです。学会も明日の生理学について大きく動き出しています。日生誌は原著，速報を掲載するのが主な役目ですが，会員諸氏のものでありますから，いろいろ提案として御投稿下さい。

先日親しい人達と夕食を共にし生理学のいろいろな話しをしました。その中で医学の中の生理学はメディスンでなければならない。がいまの生理学は生命の全体のつながりを忘れているからメドシン（冥土シン）だ。生きていない。といわれたN教授の雑談が面白く耳に残りました。生理学は医学からのけものにされるかもわかりません。ノーベル医学生理学賞は医学生化学賞になるかもわかりません。無責任な雑談とばかりはいえないように思えました。

国際生理科学会議も近づきました。多くの方々が参会されるようです。この秋はそのお土産で本誌がいろいろと飾られるのを楽しみにしております。

暑い折柄くれぐれも御自愛の程を。

（市河三太記）

正 語 表 (30, 1~2号)

頁	行	誤	正
31	右下より8	0.125 (0.25~0.06) mg/kg	0.125 (0.06~0.25) mg/kg
34	写真版下	(rating 4 の写真は天地逆転)	
115	右上より9	Plexus choreoidea	Ploxus chorioideus
118	写真	Choreoides	Chorioideus
118	表	Plexus choreoidea	Ploxus chorioideus

比色計の価格で 分光計の性能！

340～800 $m\mu$

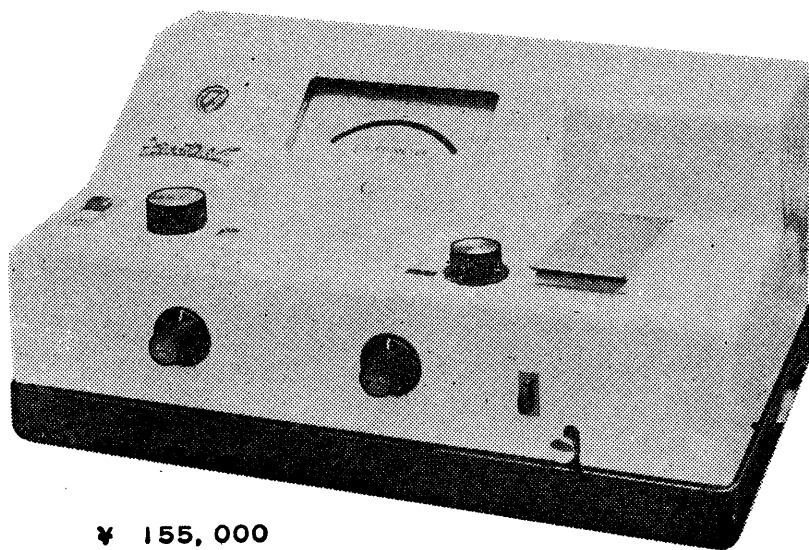
合金鑄造の匣体中に密封されたモノクロメーターはリトロ式マウンティングで重フリントプリズム使用により340～800 $m\mu$ の範囲で常に高い分解能を示します。すなわち可視域中心部で波長巾5 $m\mu$ のスペクトル純度が得られます。他器と比較してください。

電源には本器のために開発した光電式定電圧回路を採用、 $\pm 10V$ の変動に対し0.3%におさえ、周波数変動の心配もありません。

検出管には光電子増倍管を使用しています。

吸収液槽は10mm角硝子、同時に4本セット。

分光光電比色計スペクトロー5



¥ 155,000

伊藤超短波株式会社

東京都文京区白山1丁目23番15号

電話 03 (812) 1216 (代表)

営業所 大阪市住吉区菟田町11の7 電話 06 (691) 1163
営業所 名古屋市中区大池町5の2 電話 052 (251) 3049

J. Physiol. Soc. Japan Vol. 30, No. 6 (1968)

Originals

Kameo Kinoshita : Studies on mechanism of xanthin oxidase action spectro- and fluorophotometric methods369

Toshifumi Morimoto : A study on reflex mechanism controlling hypoglossal motoneuron activity376

Takashi Mori : Effects of vaginal distension upon the respiratory activities387

Kazunori Ogura : The oxidative phosphorylation of liver mitochondria from the obese-hyperglycemic mice393

Takemasa Shiraishi and Kisoji Watanabe : The physiological significance of γ -aminobutyric acid (GABA) in the brain function. III. Pharmacological characterization of α -chloro- γ -aminobutyric acid (α -Cl-GABA)399

Short communications

Fumio Ito : Abortive spike of leaf-like receptor in the frog muscle411

Hidenobu Mashima : The active state of frog skeletal muscle determined by the isotonic quick release method under no load413

Shoichi Nakano · Tsunehisa Sato and Kazuaki Fujii : In-vitro method for the studies on penetration phenomena through intestinal membrane415

編集
 兼
 行人

東京都文京区本郷七丁目三の一号
 内 東京大学医学部生理学教室
 蘭 耕 二

印刷者
 印刷所

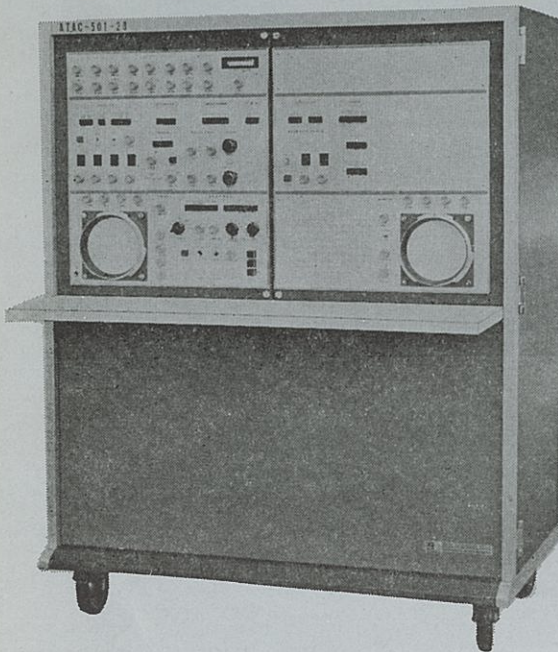
内 東京都葛飾区山王町一四ノ二四
 平 田 貢
 鶴岡印刷株式会社

発行所

東京都文京区本郷七丁目三の一号
 東京大学医学部生理学教室内
 日本生理学会

定 振替東京八六四三〇
 価 価 式 百 三 円

光電 医学のあらゆる分野に活躍する



データ処理用電子計算機

ATAC-501-20型

主なプログラム

- 加算平均
- 自己・相互相関
- 時間ヒストグラム
- 移送平均
- 振幅ヒストグラム
- データ移送
- メモスコープ
- 微積分
- プログラムプッシュボタン切換式
- On-line方式
- 出力アナログデジタル両方式



日本光電工業株式会社
 東京都新宿区西落合1-31-4 (953) 1181大代