

日本

# 生理学

雑誌

JOURNAL OF THE PHYSIOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

30巻 10号 1968

原 著

- 大橋勝彦：悪心、嘔吐時の大腸および胆嚢の運動について……………771  
堀田利夫：カエル延髄部における聴ニューロンの音応答様式について……………779  
小野三嗣・山下富士男・荻野光男：鬚および頭髪の成長に関する研究(2)  
鬚伸び率の日間変動……………784  
前田信治：“Fingerprint”法による哺乳類ヘモグロビンの比較生理学的ならびに比較  
生化学的研究Ⅱ.“Fingerprint”法によるヒト、イヌ、ウサギならびにモ  
ルモットヘモグロビンの比較……………790  
三田道雄：ヘモグロビンA<sub>2</sub>に関する研究Ⅱ.ヘモグロビンA<sub>2</sub>の酸素平衡機能……………805  
伊藤洋子・国嶋郁夫・片山吉穂・井上太郎・吉村寿人：  
ラットの気候馴化におよぼす食質の影響に関する研究……………815

速 報

- Shinji Itoh・Kiyoshi Moriya and Hachiro Shirato：Fatty acid composition of human  
subcutaneous fat in the winter……………831  
Tadao Kakegawa and Kiyoshi Yamamoto：Ouabain-insensitive active transport of amino  
acid into rat pituitary gland……………833  
Takehiko Saito and Ichiro Tanaka：Configuration of action potential of the bullfrog atrium  
driven at various cycle-length for extended period……………835  
Tokuro Fukuda and Hisashi Uzawa：Idiosyncratic hepatic reaction in canine hemorrhagic  
shock in the absence of glucocorticoid：Its prevention by endotoxin-  
conditioning……………837  
赤池紀生・甲和良夫：ラット骨格筋のイヌリン細胞間隙——生体内筋と摘出  
筋の比較……………839  
久田光彦：神経インパルス周波数の簡単な直接表示法……………841

日 本 生 理 学 史

- 山口医科大学生理学教室史……………843

短 報

- 〔紹介〕入 沢 宏：医学における生理学の教育と学会について……………851  
〔会報〕小林 丘君逝去のお知らせ……………853  
昭和44年度新評議員の推薦について……………853  
〔編集後記〕……………853  
30巻，8号正誤表……………854  
附：第46回日本生理学会総会開催の御案内（第2報）

日本生理誌  
J. Physiol. Soc. Japan

日本生理学会



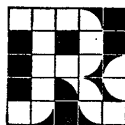
## ラット Donryu

### 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

# 第46回日本生理学会総会開催の御案内（第2報）

下記の要領により第46回日本生理学会総会を開催いたします。

## 1. 会 期 昭和44年4月1日(火), 2日(水), 3日(木)

	午 前	昼 食 時	午 後	夜
3月31日(月)			常任幹事会 (若手シンポ ジウム)	
4月1日(火)	一般口演		一般口演 評議員会	
2日(水)	一般口演	総 会	一般口演	生理学将来 計画討議
3日(木)	一般口演		一般口演	

## 2. 会 場 米子市西町86 鳥取大学医学部

### 3. 演題申込み

- 1) 講座またはこれに準ずる単位一つにつき2題以内の演題を申し込むことができます。演題数は約300題に制限いたしますので採用しないことがあり、採否の決定は当番幹事におまかせ頂きます。
- 2) 演題の申込みは演者および共同発表者のいずれも日本生理学会会員に限ります。入会申込みは、日本生理学会評議員の推薦書をつけ、44年度年会費2,000円を添えて、下記にお申込み下さい。

東京都文京区本郷七丁目3の1 (郵便番号 113)

東京大学医学部生理学教室内 日本生理学会事務所

- 3) 演題申込み書にセッション番号, その単位内での順位(採否の参考にします), 口演題目, 所属, 氏名および200字以内の抄録(欧文の術語, 氏名はタイプのこと)を記入して下さい。これは予稿集用のものです。自分の演題を下記のセッションのいずれか(第2候補があつてもよい)に分類して下さい。
  1. 分子生理 2. 細胞生理 3. 能動輸送 4. 興奮性膜 5. シナプス・終板
  6. 脊髄・脳幹 7. 間脳・小脳・大脳 8. 脳波・誘発電位 9. 視覚系 10. 聴覚系
  11. 体性感覚系 12. 味覚・嗅覚 13. 骨格筋 14. 平滑筋 15. 心筋
  16. 自律神経系 17. 血液 18. 循環 19. 腎・体液調節 20. 呼吸 21. 消化・吸収
  22. 唾液分泌 23. 内分泌 24. 睡眠・学習・行動 25. 脳代謝・脳作用物質
  26. 体温調節 27. 運動・体力・疲労 28. 環境適応
- 4) 口演抄録(B5判横書原稿用紙を用いて800字以内, 欧文の術語, 氏名はタイプのこと, 「日本生理学雑誌」用)は学会当日, 口演前にスライド受付に提出して下さい。
- 5) 口演時間は1題について12分, 討論3分の予定です。

### 4. 実験供覧の申込み 演題申込み用紙と同じ用紙を用いて下さい。

### 5. 参加申込み

所定の参加申込み書に記入送付の上, 同封振替用紙を用いて総会会費(1,000円)を払いこんで下さい。この払いこみをして頂いた方および不参加でも予稿集代(500円)を払いこんで頂いた方にのみ, 予稿集をお送りしますのでご了承下さい。予稿集は各個人宛にお送りしま

緩すると述べている。

このように実験者によって結果が異なるので、著者はイヌを用い、apomorphine で惹起された悪心、嘔吐時の大腸および胆嚢の運動変化を明らかにするため以下の実験を行った。

## II. 実験方法

実験には chloralose 80 mg/kg で麻酔した 10~15 kg のイヌ18匹を使用した。腹窓その他の実験装置は前の論文(大橋<sup>14</sup>)と同じであり省略する。嘔吐を誘発するため apomorphine 0.1~0.2 mg/kg を皮下に注射した。なお悪心、嘔吐の徴候は主として pneumogram による呼吸変化から予想したが、そのほかに唾液分泌、嚥下運動等も参考にした。

大腸および胆嚢の運動描記はゴム球法を用いたが、大腸では内容を排除した後、回盲部より各々およそ 5 cm および 20 cm の近側および遠側結腸に、また胆嚢では底部より注射器で胆汁を吸引した後、この孔を拡大しここよりゴム球を挿入した。このさいゴム球の弛緩期内圧は大腸ではおよそ 10 cm 水柱、胆嚢は同じく 12

cm 水柱とした (Fig. 1)。

なお大腸の運動変化の発生機序を明らかにする際には、副交感神経は迷走神経の他に骨盤神経を、また交感神経は腰部交感神経索 (L1~L6) の他に結腸神経および下腹神経をあわせ切断し、胆嚢の場合には副交感神経は迷走神経を、交感神経は大、小内臓神経、腰部交感神経索 (L1~L6) を切断した。

## III. 実験結果

### A. 大腸

#### 1. 悪心、嘔吐時の大腸運動の変化について

Apomorphine 0.1~0.2 mg/kg を皮下注射後、嘔吐発現までの外見上の一般経過は前の論文<sup>14</sup>に記載したのでここでは省略する。さて当該量の apomorphine にて誘発された悪心、嘔吐時の大腸運動は、1) 亢進 (Fig. 2 B), 2) 抑制 (Fig. 3 B) あるいは、3) 亢進と抑制の混合 (Fig. 4 B) のいずれかとして見られる。しかし殆んどの場合これらの効果は著者がすでに見た胃および小腸の場合<sup>14</sup>にくらべ弱く、また短時間しか続かない。しかしときには嘔吐後しばらくして亢進効果が起り、十数分続く場合がある

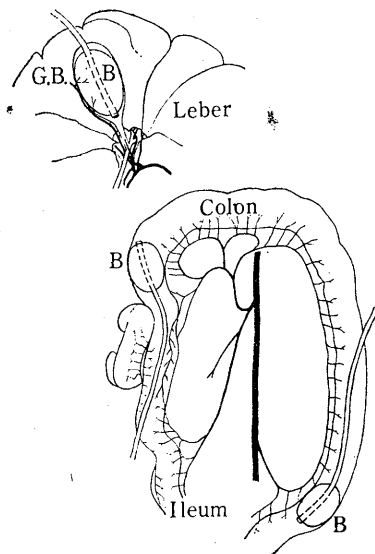


Fig. 1. The schema illustrating the methods used for recording the colonic and gallbladder's motilities. G. B. : gallbladder. B : balloon.

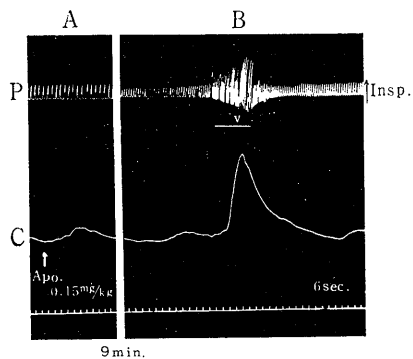


Fig. 2. The changes of the colonic motility during nausea and vomiting. Dog (12 kg). The tracings from above downwards indicate the pneumogram (P), the colonic motility (C) and time in 6 sec intervals.  $\underline{V}$ : Vomiting action. A: At the arrow apomorphine (0.15 mg/kg) was subcutaneously administered. B: Ten minutes later. The motility is increased when the vomiting occurs.

(Fig. 5 B). これらの場合いずれも亢進効果は近側結腸の方が遠側結腸よりも著明である。

## 2. 外来神経切断による効果について

以上の運動変化は胃および小腸のそれと同じく嘔吐中枢の興奮が交感神経および副交感神経を介して惹き起されると考えられる。そこで次にこれら外来神経の切断実験を行った。

### a. 迷走神経、骨盤神経切断動物における悪心、嘔吐時の大腸運動変化

迷走神経を胸腔内で、また骨盤神経を骨盤腔外で両側切断した後 apomorphine を投与し悪心、嘔吐を誘発させると、このさい抑制は神経無傷な場合にくらべ非常に顕著となる。しかしこの抑制の前後に若干亢進効果が見られる。この抑制効果も近側結腸の方が遠側結腸よりも著明である (Fig. 6 B)。

### b. 腰部交感神経索、結腸神経、下腹神経切断動物における悪心、嘔吐時の大腸運動変化

腰部交感神経索 (L1~L6)、結腸神経、下腹神経を両側切断もしくは切除した後 apomorphine を投与し、悪心、嘔吐を誘発すると、このさい亢進効果は神経が無傷な場合にくらべより顕著となる。しかしこの亢進効果の前あるいは後になお抑制効果の残存を認める。なおこのさいの亢進効果はやはり近側結腸の方が遠側結腸よりも著明である (Fig. 7 B, C)。

### c. 迷走神経切断、骨盤神経無傷動物における悪心、嘔吐時の大腸運動変化

悪心、嘔吐時の大腸運動の変化が遠側結腸より近側結腸に著明であること、および迷走神経

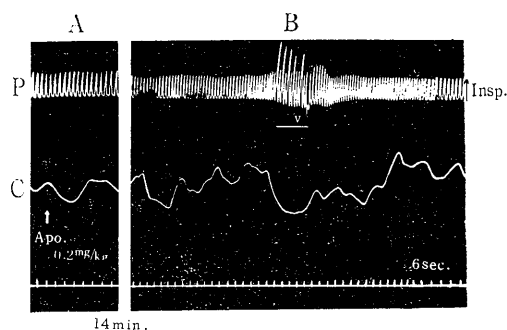


Fig. 3. The changes of the colonic motility during nausea and vomiting. The same dog as in fig. 2. As to the tracings the same explanations as in fig. 2 are applied. V: Vomiting action. A: At the arrow apomorphine (0.2 mg/kg) was subcutaneously administered. B: Fifteen minutes later. The motility is decreased when the vomiting occurs.

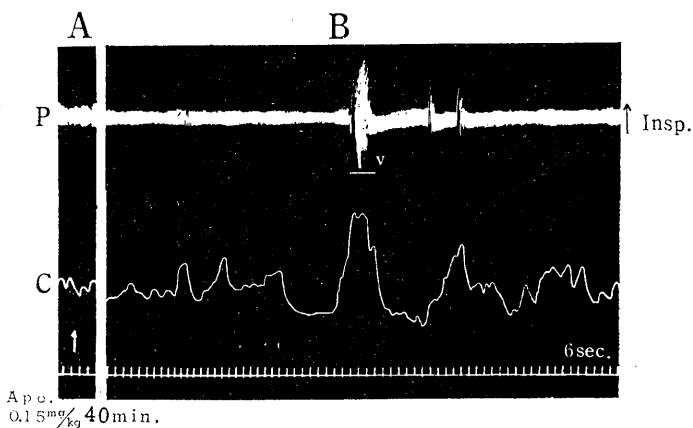


Fig. 4. The changes of the colonic motility during nausea and vomiting. Dog (12 kg). As to the tracings the same explanations as in fig. 2 are applied. V: Vomiting action. A: At the arrow apomorphine (0.15 mg/kg) was subcutaneously administered. B: Forty minutes later. The mixed responses of the excitation and inhibition are seen during nausea and vomiting.

が近側結腸のみを支配していること (Levine<sup>10</sup>, 榊田<sup>11</sup>, 大橋<sup>14</sup>, Pallin<sup>15</sup>) から悪心、嘔吐時の大腸運動の変化は主として迷走神経を介して引き起こされることが予想されるが、迷走神経の他に骨盤神経が実際この亢進効果にどの程度関与するのであろうかという疑問が生ずる。そこで著者は次に迷走神経を切断し骨盤神経を無傷とした動物において実験を行った。

さて apomorphine を投与し、悪心、嘔吐を

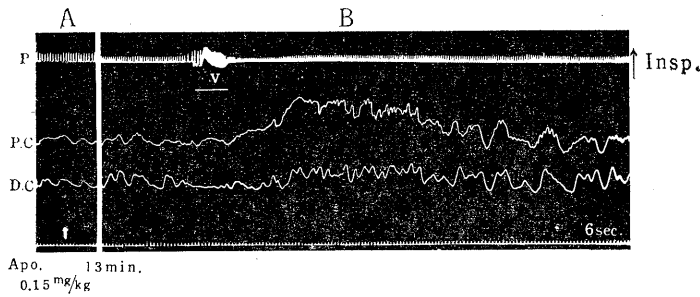


Fig. 5. The changes of the colonic motilities during nausea and vomiting. Dog (10 kg). Tracings from above downwards indicate the pneumogram (P), the movements of the proximal colon (P. C.), that of the distal colon (D. C.) and time in 6 sec intervals.  $\underline{v}$ : Vomiting action. A: At the arrow apomorphine (0.15 mg/kg) was subcutaneously administered. B: Fourteen minutes later, the excitatory effects continue for a considerable long time (about 10 minutes).

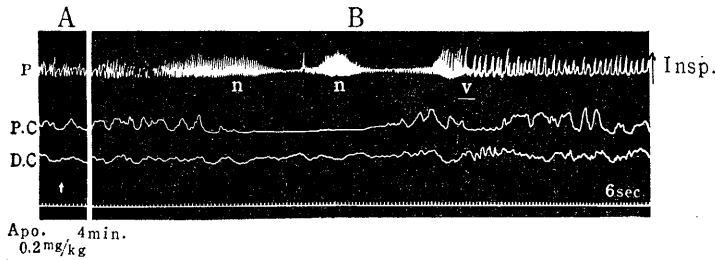


Fig. 6. The changes of the colonic motilities during nausea and vomiting. Dog (10 kg). The vagal and pelvic innervations have previously been severed. As to the tracings the same explanations as in fig. 5 are applied.  $\underline{v}$ : Vomiting action.  $\underline{n}$ : Nausea. A: At the arrow apomorphine (0.2 mg/kg) was subcutaneously administered. B: Six minutes later, the remarkable inhibitions are seen during nausea and vomiting.

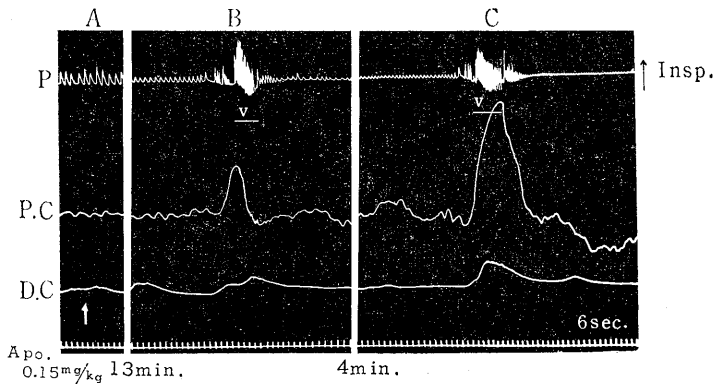


Fig. 7. The changes of colonic motilities during nausea and vomiting. Dog (12 kg). The splanchnic and lumbar sympathetic innervations have previously been severed. As to the tracings the same explanations as in fig. 5 are applied.  $\underline{v}$ : Vomiting action. A: At the arrow apomorphine (0.15 mg/kg) was subcutaneously administered. B and C: Fourteen minutes and twelve minutes later, respectively, both excitation and inhibition of colonic motilities are seen during nausea and vomiting, the former being more remarkable than the latter.

起すと嘔吐時、遠側結腸には抑制に続いてかなり著明な亢進が起るが、近側結腸ではごくわずかしめ認められない (Fig. 8 B). このことから悪心、嘔吐時の大腸の亢進効果は迷走神経のほか骨盤神経を介しても引き起こされることが明らかである。

### B. 胆嚢

#### 1. 悪心、嘔吐時の胆嚢運動について

胆嚢は律動収縮がきわめて微小であるが、apomorphine を投与し嘔吐動作が始まる直前に一過性に亢進するが、嘔吐動作が始まるとともに抑制され、嘔吐動作が終るとしばらくして元の状態に復する (Fig. 9 B).

#### 2. 外来神経切断による効果について

大腸の場合と同じく以上の運動変化の発現機序を明らかにするため、胆嚢の外来神経の切断実験を行った。

##### a. 迷走神経切断動物における悪心、嘔吐時の胆嚢運動変化

胸腔内で両側迷走神経を切断した後 apomorphine を投与し、嘔吐を誘発すると嘔吐直前の胆嚢運動の亢進はもはや見られず、嘔吐動作が始まるとともに抑制され、嘔吐動作が終るとしばらくして元の状態に復する (Fig. 10 B).

##### b. 大、小内臓神経、腰部交感神経索切断動物における悪心、嘔吐時の胆嚢運動変化

大、小内臓神経および腰部交感神経索 (L1~L6) をそれぞれ両側切断および切除した後 apomorphine を投与し、悪心、嘔吐を誘発する

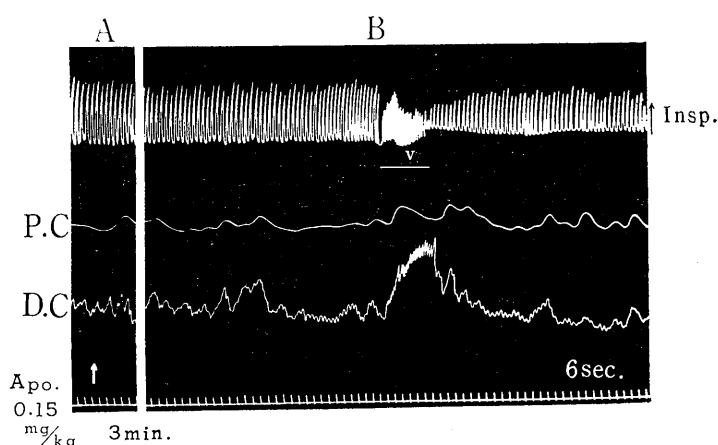


Fig. 8. The changes of the colonic motilities during nausea and vomiting. Dog (12 kg). The vagal innervations have previously been severed, while the pelvic innervations are intact. As to the tracings the same explanations as in fig. 5 are applied. V: Vomiting action. A: At the arrow apomorphine (0.15 mg/kg) was subcutaneously administered. B: Six minutes later, the excitatory response of the proximal as well as that of the distal colon are produced, the latter being more remarkable than the former.

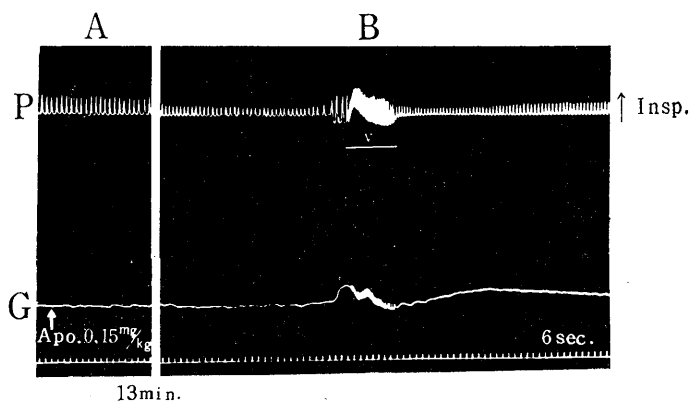


Fig. 9. The changes of the motility of gallbladder during nausea and vomiting. Dog (10 kg). The tracings from above downwards indicate the pneumogram (P), the movements of the gallbladder (G) and time in 6 sec intervals. V: Vomiting action. A: At the arrow apomorphine (0.15 mg/kg) was subcutaneously administered. B: Fourteen minutes later, the gallbladder's motility is excited just before vomiting, and inhibited during and a short time after vomiting.

と神経無傷な場合とくらべ嘔吐直前の一過性の運動亢進は顕著となるが、この亢進の前後1~2分かなり著明な抑制状態にある (Fig. 11 B, C, D).

以上から悪心、嘔吐時の胆嚢運動の亢進およ

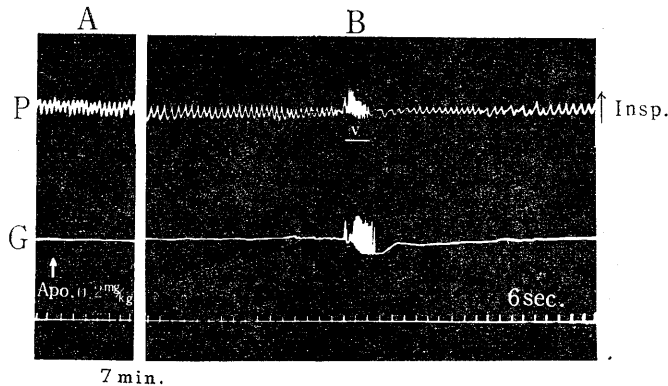


Fig. 10. The changes of the motility of gallbladder during nausea and vomiting. Dog (9 kg). The vagal innervations have previously been severed. As to the tracings the same explanations as in fig. 9 are applied. V: Vomiting action. A: At the arrow apomorphine (0.2 mg/kg) was subcutaneously administered. B: Nine minutes later, the inhibition of the gallbladder's motility are seen during and a short time after vomiting.

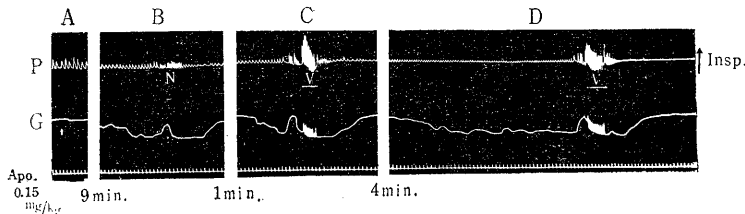


Fig. 11. The changes of the motility of gallbladder during nausea and vomiting. Dog (12 kg). The splanchnic and lumbar sympathetic innervations have previously been severed. As to the tracings the same explanations as in fig. 9 are applied. N: nausea. V: Vomiting action. A: At the arrow apomorphine (0.15 mg/kg) was subcutaneously administered. B, C and D: They indicate mixed effects of excitation and inhibition of the gallbladder's motility during nausea and vomiting, respectively.

び抑制は迷走神経のみによっても引き起されることが明らかである。なお以上の胆嚢への外来神経をすべて切断すると、もはやこのような亢進あるいは抑制効果は全く見られない。

#### IV. 論 議

著者は悪心，嘔吐時の大腸運動について，胃および小腸の場合と同じく亢進，抑制あるいはそれらの混合効果の起ることを見た。しかしこれらの運動変化は一般に胃および小腸の場合よりも弱く，かつ持続時間も短い。なお近側結腸の運動変化は遠側結腸のそれより大である。

ところでこれら大腸運動の変化は胃および小腸の場合と同じく副交感神経および交感神経を

介して引き起され，このさい迷走神経および骨盤神経は主として亢進効果を，大，小内臓神経および腰部交感神経は主として抑制効果を来すが，軽度ながら前者によっても抑制効果が，また後者によっても亢進効果が引き起された。これはすでに前論文(大橋<sup>14</sup>)で述べたごとく，悪心，嘔吐時の異常に強い中枢興奮が副交感および交感神経核にかかるため，平常の場合には見られぬ副交感神経による抑制機構および交感神経による亢進機構を発動さすためと考えられる。したがって Garry and Gillespie<sup>3</sup>) が主張するごとく，骨盤神経が大腸に対し純粋に亢進神経であり，腰部交感神経が純粋に抑制神経であるということはいえない。

さてある場合には嘔吐に遅れしばらくして亢進が起りこれが十数分続く場合がある。この場合にも亢進効果は近側結腸に著明であり、遠側結腸ではさほどではない。嘔吐に伴った下痢はこのような機序によって起る場合もあるものと考えられる。なおこれまでの研究(梶田<sup>11)</sup>、宮川<sup>12)</sup>、Schmidt<sup>16)</sup>、齋田<sup>17)</sup>)によれば、迷走神経は近側結腸を支配しそしてその部分に亢進効果をおよぼすものと考えられている。したがってこのように悪心、嘔吐時の大腸の亢進効果が遠側結腸より近側結腸に著明であることを考えれば、悪心、嘔吐時の大腸運動に対する著明な亢進効果は骨盤神経よりも大部分は迷走神経を介して大腸に達することが予想される。嘔吐時にあまり尿意を感じないこともこれを裏付けるものと思われる。しかし迷走神経を切断し骨盤神経を残しておく、以上の関係は逆転し遠側結腸の亢進効果が近側結腸のそれよりも優るようになる。このことは骨盤神経を介してもはや悪心、嘔吐時の大腸運動の亢進効果はもたらされることを証明するものである。

ところで Hatcher and Weiss<sup>4)</sup>、Koppanyi<sup>7)</sup> はイヌの第四脳室底に直接催吐剤を適用し、嘔吐のほかにはしばしば排便運動が見られ、催吐剤の化学受容体を破壊した後もこれらの薬物によって排便運動が見られることから、嘔吐中枢に近接して排便中枢が存在すると考えた。しかし著者はこのような中枢の存在を仮定する必要がなく、それは粘膜内反射(三宅<sup>13)</sup>)の発動によるものとする。すなわち上述のように悪心、嘔吐時には大腸の緊張および律動収縮がたかまり、大腸内の内圧がたかまり粘膜内反射が強化され、その結果排便が起るものと想像される。

さて嘔吐時の胆嚢の運動についても大腸と同じく報告は少ない。著者は胆嚢内にゴム球を挿入し、悪心、嘔吐時の胆嚢の運動変化を記録しその経過を観察した。すなわち胆嚢収縮は嘔吐直前に軽く、一過性に亢進するが、嘔吐が始まるとともに抑制され、嘔吐後しばらくして元の状態に戻る。単に亢進あるいは抑制だけが見ら

れるのではない。したがって Sosman<sup>18)</sup> が見たのは亢進効果だけであり、Levine<sup>10)</sup> は抑制だけを見たものと思われる。

つぎに交感神経を切除した後、すなわち迷走神経だけになった時でも胆嚢には前に述べたような亢進、抑制の混合効果が認められる。このことはすでに述べた胃および小腸、あるいはこのたびの大腸の場合と同じく、迷走神経が胆嚢に対しても運動亢進および抑制両様の機構を持っていることを示唆する。Dubois and Kistler<sup>2)</sup> による胆嚢の左迷走神経切断末梢端の感応電流刺激結果もこのことを示している。しかし交感神経を残し迷走神経を切断すると嘔吐時胆嚢は抑制されるのみで亢進効果が認められない。このことは胆嚢への交感神経を介する興奮伝導が迷走神経を介してのものにくらべ弱いためと考えられる。なお外来神経をすべて切断した後には、もはや悪心、嘔吐時の胆嚢の運動変化は認められない。

以上の結果から胆嚢の場合には悪心、嘔吐時の亢進効果は主として迷走神経を介して、また抑制効果は主として交感神経を介して引き起されるが、迷走神経を介しても引き起されるものと考えられる。ところで胆嚢運動の神経支配についてのこれまでの研究(Bainbridge<sup>1)</sup>、Kuntz<sup>8)</sup>、Westphal et al.<sup>20)</sup>)によると迷走神経および交感神経刺激がともに亢進および抑制効果を招来しうが、迷走神経が主として亢進効果を、また交感神経が主として抑制効果を来すと考えられてきた。しかし最近 Pallian and Skogland<sup>15)</sup> は電気刺激による実験から迷走神経は胆嚢に対し純粋に亢進効果を、また交感神経は純粋に抑制効果を来すと結論したが、このたびの実験結果は前者の結論に一致するものとする。

## V. 結 論

Chloralose (80 mg/kg) により麻酔したイヌで、apomorphine (0.1~0.2 mg/kg) の皮下注射によって誘発された悪心、嘔吐時の大腸および胆嚢の運動変化をゴム球法によって記録し、またその出現機序を探索した。実験結果は次のよ

うに要約される。

1. 悪心、嘔吐時、大腸運動には亢進、抑制あるいはそれらの混合効果が見られるが、一般に悪心、嘔吐時の胃、小腸運動にくらべその効果は弱い。またこれら大腸運動の変化は近側結腸の方が遠側結腸にくらべ著明である。

2. これら嘔吐時の大腸運動の変化は副交感神経および交感神経を介して引き起される。このさい迷走神経および骨盤神経は主として亢進効果を、また大、小内臓神経および腰部交感神経は主として抑制効果を来すが、軽度ではあるが副交感神経によっても抑制効果を、また交感神経によっても亢進効果を来しうる。

3. 胆嚢運動は嘔吐前に軽く亢進し、続いて嘔吐中および嘔吐後しばらく抑制の状態にある。

4. この胆嚢運動の変化も胃、小腸および大腸の場合と同じく副交感神経および交感神経を介して引き起され、主として迷走神経により亢進効果、大、小内臓神経および腰部交感神経により抑制効果を来すが、迷走神経による抑制効果も認められる。しかし胃、小腸あるいは大腸の場合と異り、大、小内臓神経、腰部交感神経による亢進効果は明らかでない。

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深甚の謝意を表し、あわせて御援助下さった中山沃助教授ならびに教室員諸氏に厚く御礼申し上げます。

#### 文 献

- 1) Bainbrige, F. A. and Dale, H. H. (1905) The contractile mechanism of the gallbladder and its extrinsic nervous control. *J. Physiol.* **33**, 138-155
- 2) Dubois, F. S. and Kistler, G. H. (1933) Concerning the mechanism of contraction of the gallbladder in the guinea pig. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **30**, 1178-1180
- 3) Garry, R. C. and Gillespie, J. C. (1955) The responses of the musculature of the colon of the rabbit to stimulation, in vitro, of the parasymp-

- pathetic and the sympathetic outflows. *J. Physiol.* **128**, 557-576
- 4) Hactcher, R. A. and Weiss, S. (1923) Studies on vomiting. *J. Pharmacol.* **22**, 139-193
- 5) 福原 武・高木鉄男・山上松義 (1954) 迷走神経刺激の腸管運動におよぼす影響 *日本生理誌* **16**, 354-367
- 6) 木村進匡 (1966) 嘔吐中枢に関する研究 *日平滑筋誌* **2**, 93-98
- 7) Koppányi, T. (1930) Studies on defecation with special reference to a medullary defecation center. *J. Lab. Clin. Med.* **16**, 225-238
- 8) Kuntz, A. (1953) *Autonomic nervous system*. Fourth Edition, 251. Lea and Febiger, Philadelphia.
- 9) Larson, L. M. and Bargen, J. A. (1933) Action of cathartics on isolated dog's colon. II. Motor activity. *Arch. Surg.* **27**, 1130-1145
- 10) Levine, G. (1931) The study of gall-bladder contractions as an aid in the Roentgen diagnosis of gall-bladder disease. *Am. J. Roentgen.* **26**, 87-91
- 11) 榊田亀次郎 (1937) 大腸の神経支配 *日本生理誌* **2**, 320-330
- 12) 宮川鉄男 (1956) 迷走および骨盤両神経刺激の回盲括約部の運動におよぼす影響 *日本生理誌* **18**, 181-192
- 13) 三宅隆雄 (1958) 大腸における腸内反射について *日本生理誌* **20**, 863-872
- 14) 大橋勝彦 (1968) 悪心、嘔吐時の胃および小腸運動について *日本生理誌* **30**, 736-750
- 15) Pallin, B. and Skogland, S. (1961) On the nervous regulation of the biliary system in the cat. *Acta Physiol. Scand.* **51**, 187-192
- 16) Schmidt, C. A. (1933) Distribution of vagus and sacral nerves to the large intestine. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* **30**, 739-740
- 17) 藪田芳澄 (1958) 大腸運動の神経支配 *日本生理誌* **20**, 32-40
- 18) Sosman, M. C., Whitaker, L. R. and Edson, P. J. (1925) Clinical and experimental cholecystography. *Am. J. Roentgen.* **14**, 495-503
- 19) Weitz, W. and Vollers, W. (1927) Beitrag zur Kenntnis des Brechmechanismus. *Z. Ges. Exp. Med.* **54**, 152-160
- 20) Westphal, K. (1923) *Muskelfunktion, Nervensystem und Pathologie der Gallenwege*, II. Experimentelle Untersuchung über die nervöse Beeinflussung der Bewegungsvorgänge der Gallenwege. *Z. Klin. Med.* **96**, 22-150

〔原著〕 カエル延髄部における聴ニューロンの音応答様式  
について 612.858.7 : 612.828 : 597.82

堀 田 利 夫 \*

**Response patterns of the auditory units in the frog's medulla oblongata**

Toshio Hotta (*Department of Physiology, Tokyo Medical and Dental University*)

Bullfrogs (*Rana catesbiana*) anesthetized with pentobarbital sodium were used for experiments. Auditory units in the nucleus magnocellularis dorsalis in the medulla oblongata were explored by micropipettes filled with 3 M KCl. The temporal discharge patterns of the auditory neurons were studied with the aid of a computer (CAT) for interspike interval histograms.

There were two types of units whose best frequency ranges were in 300~600 Hz and 700~1300 Hz. In a steady state response to a pure tone of less than 600 Hz discharges were spaced at intervals which were grouped around the integral multiples of the period of the stimulating tone. This holds for all intensities of the stimulating sound. It is suggested that a period time code is utilized to transmit to the central auditory system of the frog the information regarding frequencies of less than 600 Hz.

Sonagram of a frog's croak showed three groups of frequency ranges of which two corresponded to ranges of the best frequency in two types of the medullary auditor unit.

[*J. Physiol. Soc. Japan* (1968) 30, 779-783]

蛙の聴器および聴神経についての電気生理学的研究は近年いくつかなされてきた。Strother<sup>7)</sup> はウシガエル (*Rana catesbiana*) の otic capsule におけるマイクロフォン電位を測定し、約 1,800 Hz が最も感度が高く、音応答の上限は 3,000 ないし 4,000 Hz に達すると報告している。Axelrod<sup>1)</sup> は leopard frog (*Rana pipiens*) の聴神経より単一神経放電を記録し、二つの型の音応答を見出し、一つの型は 600~700 Hz の範囲に応じ、他の型はそれ以下の周波数に応ずるものである。Frishkopf と Goldstein<sup>2)</sup> は微小電極を用いて Dial-urethane (150 mg/kg) の麻酔下のウシガエル (*Rana catesbiana*) の聴神経の音応答をさらに詳しく研究し、最良周波数 (best frequency) に関して聴神経には二つの型があり、一つは 1,000~1,500 Hz にあり、もう一つは 700 Hz 以下にある。前者は自発放電があって他の音によって抑制を受けない。後者は音刺激のみならず振動刺激にも応じ、他の音 (300~1,000 Hz の範囲) で抑制される。聴神経

は 3,000 Hz 以上では音応答を示すものはないと報告している。

Sachs<sup>6)</sup> は green frog (*Rana clamitans*) で同様な結果を発表している。

本実験ではウシガエルの延髄におけるニューロンの音応答を研究し、聴神経のこれらの性質に類似した結果をえたと共に、刺激音周波数と音応答様式との関係および延髄聴ニューロン活動と蛙の声との関係を検討した。

実 験 方 法

Pentobarbital sodium (50 mg/kg) の腹腔内注射で麻酔されたウシガエル (*Rana catesbiana*) を用いて、頭部皮膚を切開し、骨部を取去って延髄部を露出し、固形パラフィン上に腹位に動物を固定し、3 M KCl を填めた先端約 0.5 ミクロンのガラス毛細管電極を延髄部で聴神経入口よりやや内側で、Nucleus magnocellularis dorsalis に達するようにマイクロマニプレーターで挿入した。電極抵抗は 30~50 MΩ で、カソードフォロワーを経て 2 素子オシロスコープの 1 素子に連絡し、他の 1 素子には刺激音を表示し

\* 東京医科歯科大学医学部第 1 生理学教室  
〔昭和 43 年 5 月 14 日受付〕

た。実験は空気調節付のシールドされた防音室で行なわれた。音刺激はNF回路設計ブロック製の押ボタン式発振器(10 Hz~100 k Hz)より電子スイッチ, 抵抗減衰器を介して, 音声増幅器, スピーカーシステムを働かせて純音を与えた。絶対音圧は Brüel and Kjoer Type 2107 の周波数分析器で使用周波数について測定した。本実験では 0 dB を 95 dB, SPL と決めた。スピーカーと動物との距離は 100 cm である。

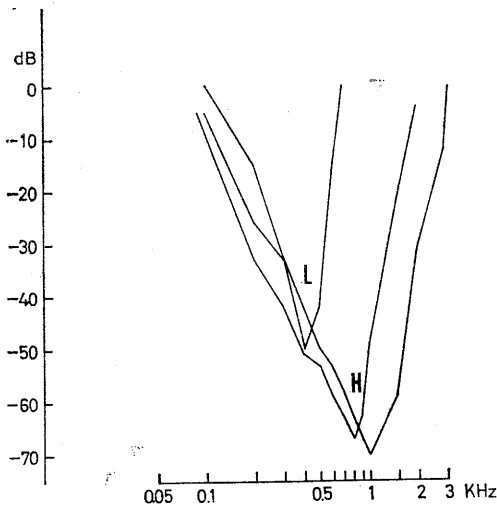


Fig. 1. Response areas for three units having best frequencies of 400, 800 and 1,000 Hz. In all figures the sound pressure level is given in 0 dB = 95 dB, SPL re 0.0002 dyne/cm<sup>2</sup>.

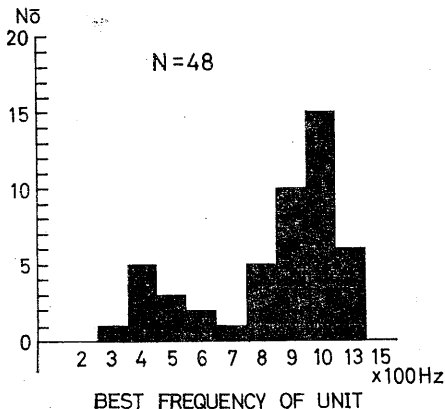


Fig. 2. Histogram showing the number of auditory units with best frequencies in indicated frequencies. N = total number of units.

神経放電間隔分布を解析するために, 振幅別器 (TMC, Model 605) によって神経パルスを標準パルスとし, 電子計算機 (CAT) に入れ, on-line で使用して, XY プロッターに直に結果を記録した。

蛙の声はコンデンサーマイクロフォン (B and K, Type 4133) と増幅器 (B and K, Type 2107, 20 Hz~40 k Hz) を介してデータレコーダー (TEAC, R-400型) に FM 録音 (0~20 k Hz) し, R-400型で再生してソナグラフ (KAY Electric Company) に狭帯域幅 (48 Hz) でソナグラフをえた。一方蛙の声は R-400型で再生したものをメモスコープ (Nippon Avionics Type 500 C) に表示し, 写真撮影した (第 8 図)。

## 実験結果

### 1. 応答野と最良周波数

48個の延髄聴ニューロンについて, その応答野 (横軸に刺激音周波数, 縦軸に音圧をとったときの応答曲線) と最良周波数 (応答周波数で音圧の最も低い周波数) および最良周波数における閾値の音圧を調べた。第 1 図には応答野の代表例を 3 個示した。図からわかるように最良周波数より高い周波数範囲における方が低い周波数範囲におけるよりも鋭く立上っている。第 2 図では 48 個の聴ニューロンの最良周波数の分布が示され, 二つの群がある。第 1 群では

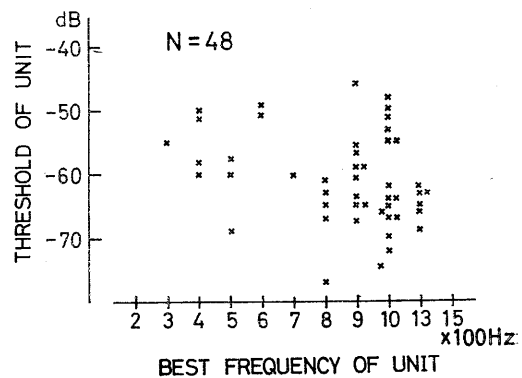


Fig. 3. Relation between the best frequencies of units and their threshold. N = total number of units.

300~600 Hz にあり (ここではL型と呼ぶことにする), 第2群では 700~1,300 Hz (H型と呼ぶことにする) がある. 95 dB, SPL の音圧の音刺激によって, L型では 100~700 Hz に, H型では 100~3,000 Hz に応答する. 第3図で最良周波数における音圧の閾値の分布を示した

が, L型の方がH型より閾値がやや高いようにみえる.

II. 刺激音周波数と音応答様式との関係  
刺激音周波数と聴ニューロンの放電様式特にその神経放電間隔との関係を電子計算機(CAT)

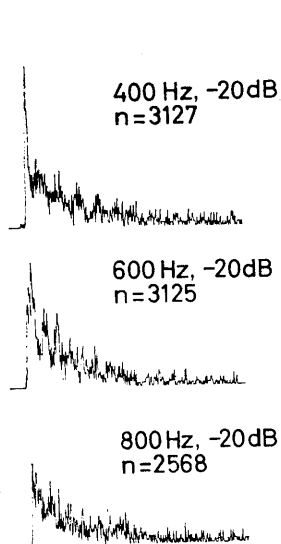


Fig. 4. Periodic distributions of interspike intervals when pure tones of different frequencies activated the neuron.  $n$  = number of interspike intervals in the sample. Tone duration: 1 sec. Abscissa: the full range is 31.25 msec. Ordinate: relative number of interspike intervals.

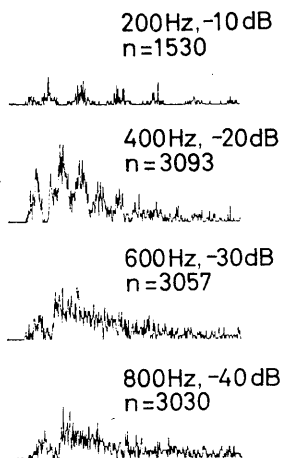


Fig. 5. Another example as shown in Fig. 4. Best frequency of the neuron: 800 Hz.

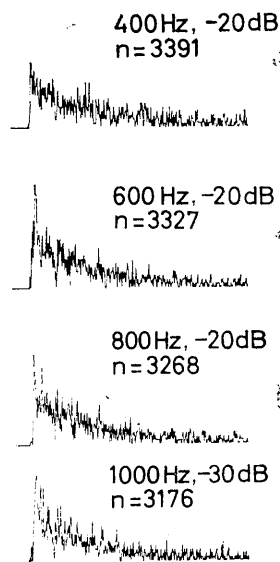


Fig. 6. Interspike interval histograms not related to stimulus period. Best frequency of the neuron: 1000 Hz. Response range at 95 dB SPL: 100~3000 Hz. Legends as in Fig. 4.

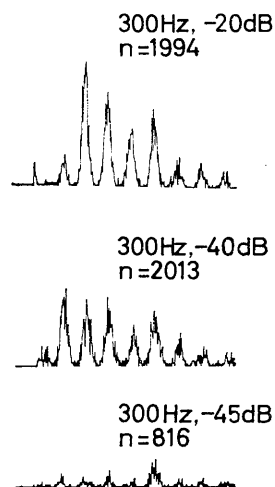


Fig. 7. Periodic interspike interval distributions at different intensities of the stimulus. Legends as in Fig. 4.

を用いて解析した結果が第4図より第7図までに示されている。第4図の例では最良周波数が1,000 Hz で 95 dB, SPL で 100~3,000 Hz で応答し、図に示されるように、400 Hz, -20 dB と 600 Hz, -20 dB の音刺激に対して刺激音の1周期の整数倍の時点に神経放電間隔が集合して、それぞれの時点のまわりに群をなしている。800 Hz, -20 dB ではもはや群をなしていない。最初の群が最も高い山をなしているのが見られる。第5図の例では、最良周波数は 800 Hz で、95 dB, SPL の音刺激によって 100~2,500 Hz で応答し、刺激音周波数の1周期の整数倍の時点での群集は 200 Hz, -10 dB と 400 Hz, -20 dB で見られ、最初の群は必ずしも最高の山になっていない。第6図の例では 400 Hz 以上の刺激音についても群集を示さないもので、比較的少数のニューロンに見られた。

次に刺激音周波数を一定にして、音圧を変えた場合の例を第7図に示した。このニューロンは 300 Hz での閾値は -49 dB であったので閾値近くまで刺激周波数の周期の整数倍での群集が見られる。

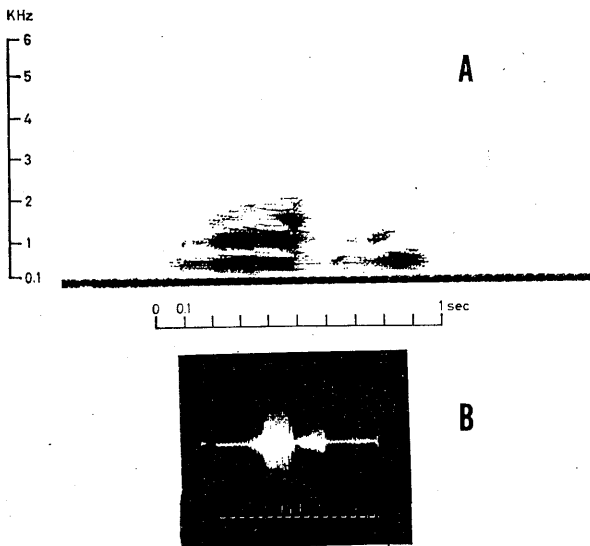


Fig. 8. Sonogram of a frog's croak. Density of the plot displays the energy within the croak as a function of time and frequency in A. The envelope of the croak is shown in B. Time: 0.1 sec.

### Ⅲ. カエルの声の分析

蛙の声を録音（実験方法の項参照）してソナグラフを製作したのが第8図である。蛙の一鳴きは約1秒で各周波数での振幅分布は図の濃淡によって示され、それが時間と共に変化する様相が見られる。第8図が示すように 200~600 Hz の群と、800~1,300 Hz の群と、1,300~2,000 Hz の群がある。3,000 Hz 以上には分布が見られない。この鳴声の周波数分布の群と前述の音応答様式の群とが対応していることが見られる。

### 考 察

本実験でえられたように、ウシガエルの延髄の Nucleus magnocellularis dorsalis での聴ニューロンの音応答にはL型とH型の二つに分類される。これは Frishkopf と Goldstein のウシガエルの聴神経の結果と全く一致している。

第4図、第5図に示された如く、音応答放電間隔が刺激音周波数の1周期の整数倍の時点（少くとも 600 Hz 以下では）に集まっていることは、蛙の場合低い周波数では忠実に周波数の情報を延髄に送っていると考えられる。

Rose et al.<sup>5)</sup> はリスザル (*Saimiri sciureus*) の聴神経で 5,000 Hz 以下で、かかる周波数周期の整数倍の時点での神経放電間隔の群集を見ているし、Moushegian et al.<sup>3)4)</sup> は猫の延髄副核 (Accessory nucleus) と上オリブ核 (Superior olivary complex) での聴ニューロンで同様の結果をえている。猿や猫ではこの程度の周波数はそれらの動物にとって低い周波数範囲に入り、本実験の結果とよく符合していると思われる。時にはこれらの動物においても延髄聴ニューロンで周波数周期と一致しない音応答が少数見られることも報告されている。

第8図に見られるように、蛙の鳴声の周波数分布と音応答様式のL型およびH型にみられるような2群の聴ニュー

ーロンの活動区分とが対応していることから、蛙の聴覚系では蛙の声を特徴的にとらえて、同種の動物の音の情報伝達を行なっていることが電気生理学的に実証されたものと思われる。

### 総 括

Pentobarbital sodium で麻酔されたウシガエルにガラス毛細管電極を延髄部に挿入して音応答を記録した。Nucleus magnocellularis dorsalis の聴ニューロンにはL型とH型の二つがあって、前者では300~600 Hz に、後者では700~1,300 Hz に最良周波数の分布があり、いずれも600 Hz 以下の周波数では刺激音周波数周期に一致した時点で神経放電間隔が群集して600 Hz 以下の周波数情報を中枢神経系に忠実に伝えると思われる。蛙の鳴声の周波数分布はこれらL型およびH型に対応して、蛙の聴覚系の情報伝達機構の解明に一つの示唆を与えるものと考えられる。

### 文 献

- 1) Axelrod, F. S. (1960) Hearing sense in the frogs. MIT Res. Lab. Electron. Quart. Progr. Rept. No. 57, 167-168
- 2) Frishkopf, L. S. and Goldstein, M. H. (1963) Responses to acoustic stimuli from single units in the eighth nerve of the bullfrogs. J. Acoust. Soc. Am. 35, 1219-1228
- 3) Moushegian, G., Rupert, A. L. and Whitcomb, M. A. (1964) Brainstem neuronal response patterns to monoaural and binaural tones. J. Neurophysiol. 27, 1174-1191
- 4) Moushegian, G., Rupert, A. L. and Langford, T. L. (1967) Stimulus coding by medial superior olive neurons. J. Neurophysiol. 30, 1239-1261
- 5) Rose, J. E., Brugge, J. F., Anderson, D. J. and Hind, J. E. (1967) Phase-locked response to low frequency tones in single auditory nerve fibers of the squirrel monkey. J. Neurophysiol. 30, 769-793
- 6) Sachs, M. B. (1964) Responses to acoustic stimuli from single units in the eighth nerve of the green frog. J. Acoust. Soc. Am. 36, 1956-1958
- 7) Strother, W. F. (1959) The electrical response of the auditory mechanism in the bull-frog (*Rana catesbiana*). J. Comp. Physiol. Psychol. 52, 157-162



〔原著〕 鬚および頭髪の成長に関する研究 612.799 : 612.65

(2) 鬚伸び率の日間変動

小野三嗣・山下富士男・荻野光男\*

**Studies on the hair growth of beard and scalp hair (2) On the diurnal variations of the rate of beard growth**

Mitsutsugu Ono, Fujio Yamashita and Mitsuo Ogino (*Department of Physiology, The Jikei University School of Medicine*)

The rate of beard growth per two hours through a whole day was measured with two Japanese, who were both between 39 and 43 years old.

The beard was shaved by an electric shaver and weighed. Weights of beard grew for 20, 22, 24, 26 and 28 hours were calculated by correcting with respect to daily change in the temperature.

Results were as follows :

1. The rate of beard growth was larger during day than during night and its seasonal variation could not be observed.

2. The time when the rate of beard growth was maximal was from 6 a. m. to 10 a. m..

3. The rate of beard growth from 6 a. m. to 10 a. m. was greater in summer and winter than in other seasons.

4. The difference of the rate of beard growth between during day and during night was largest in spring and furthermore the rate of beard growth per two hours was less irregular during day than during night.

5. The difference of the rate of beard growth between during day and during night was minimal and the rate of beard growth from 6 a. m. to 10 a. m. were minimal in autumn.

This indicates that the diurnal variation of the rate of beard growth is minimal in autumn, while the rate of beard growth is maximal through on year.

〔J. Physiol. Soc. Japan (1968) 30, 784-789〕

I. 諸 言

ひげは環境条件の変化によつて、その成長率が変化する。少くとも著者等を被検者とし、電気かみそり法によつて剃毛したものを、秤量した成績では、成長率は季節および温度変化に一定の関連を示す<sup>1)</sup>。

鬚成長率の日間変動については、かつて、Berthold (1850)<sup>2)</sup> が否定的見解を発表したが、Fuchs (1937)<sup>3)</sup> は夜間に成長率が減少することを認め、Flesch (1955)<sup>4)</sup> と同様の成績を発表し、その成因として、夜間における細胞分裂の減少をあげている。

著者等の成績<sup>1)</sup>でも、昼間の伸び量は夜間の

それに比較して著しく大きかつた。この実験では、朝の7時から夕刻の7時までの12時間を昼とし、夕刻の7時から翌朝の7時までの12時間を夜として、昼夜の伸び量を比較した。しかし、日の出、日の入時刻、昼夜の長さが季節によつて変わり、しかも、鬚の伸び率は前報<sup>1)</sup>でも指摘したように、温度因子を考慮しても、5月と10、11月には特定の変化が観察されるので、固有の季節リズムが存在するものと思われる。

このような諸点を考え合わせると、ひげ成長の日間変動も、季節による変化が見られる可能性がある。

また、昼が夜よりも余計に伸びるとしても、昼の何時が、夜の何時に比較してどの程度伸び方が著しいかということは判然としていない。

\* 東京慈恵会医科大学第1生理学教室  
〔昭和43年5月15日受付〕

少くとも著者が、抄録した文献の範囲では報告を見出すことができなかった。

そこで、1日の時刻帯毎の伸び率を計測し、その変動が季節の影響を受けるか否かを検討してみた。

## Ⅱ. 実験方法

ひげの伸び量は、電気かみそりを持って剃り取ったものを集めて秤量することによって計量した。用いたかみそりは、ナショナルフィリシェーブである。剃毛後刃を本体から取りはずして、備え付けのはけを用いて静かに清掃したものを薬包紙上に集め、torsion balance で計量した。薬包紙ごと計測したのから薬包紙をその後で計量し、その差を取って、ひげの重量とした。

電気かみそりを持って剃り取ったものの中には、ひげのほかに、表皮落屑等が含まれるので、Hamilton, Terada and Mestler<sup>5)</sup> (1958) にしたがって、fat free chloroform 70に対して、fat free ether を30の割合で混ぜた比重 1.263 の溶液に投入して、ひげとその他のものを分離し、沈澱した粗い、ひげ以外の浮遊物(表皮落屑のほか細かい毛などを含む)を、水流ポンプを利用して、吸引排除し、沈澱を desicator 中(silicagel を入れた)で24時間乾燥した。Torsion balance は 1 mg の読みが可能であった。

各時刻帯における、ひげの伸び量を決定する方法としては、26時間法および22時間法を用いた。26時間法とは、たとえば或る日の朝6時に剃毛した時、翌日は8時に剃毛するというを意味している。この場合は6時から6時までの24時間分のひげの伸びの他に、余分に6時から8時までの2時間分が加わっていることになる。したがって6時から、6時までの間に被検者が曝露された最高気温と最低気温を知り、それから前報<sup>1)</sup> にしたがって計算された1日量を算出し、これを実測された量から差引いてえた値を、6時から8時までの間に伸びた量とした。

また、22時間法の場合は、或る日8時に剃毛

した時、翌日は6時に剃毛し、計算された1日量から、この22時間中の実測量を差引いたものが、6時から8時までの間に伸びるべき量であると推算した。

被検者Aでは、大部分この26時間法(54.8%)、または22時間法(32.2%)によったものであり、1部28時間法(7.7%)、20時間法(5.3%)によった。

被検者Bでは、26時間法、22時間法がそれぞれ30.2%、22.1%であり、28時間法、20時間法によったものが、それぞれ26.1%、21.6%であった。

この目的のための実験期間は、昭和38年5月1日から41年4月30日までの3年間であった。したがって被検者Aは実験期間中年令が41才から43才となった。被検者Bの実験開始時年齢は39才、終了時年齢は41才であった。

## Ⅲ. 実験結果

被検者AおよびBの実験期間中の各月毎1日平均ひげ伸び量は表1および図1に示した。Aの1966年は1月に極小期を認めるが、他はA、Bとも2月が最低値となっている。最大値はAでは3年とも9月に最高値を示したが、Bでは9月、8月、10月と、最高値を示した月が年によって異っている。年間変量の大きさは明らかにAの方がBよりも甚しい。平均値に対する標準偏差の大きさもAは0.134であって、Bの0.096よりも、はるかに大きい。

午前6時から午後6時までを昼とし、午後6時から午前6時までを夜とし、さらにこれらを2時間毎の時刻帯に分割した時の、その時刻帯内における、ひげの伸び量を比較した。表2に示めされている各時刻帯の各欄にあげた数字は、AおよびB両被検者のそれぞれの1日の伸び量に対して、その時刻帯内に何%の伸びを示したという数値である。

冬、春、夏、秋の季節の違いによって若干の変化があり、A、B両被検者の差も認められるが、大体の傾向としては一致した。すなわち昼の方が夜間よりも伸びる量が多いという点と、

Table 1. Seasonal variation of beard growth

		Mean value of beard weight per day (mg)		
		Sub. A	Sub. B	
1963	May.	54.5	41.3	
	Jun.	54.5	42.5	
	Jul.	54.4	46.2	
	Aug.	54.5	44.7	
	Sep.	56.9	46.8	
	Oct.	54.8	41.4	
	Nov.	51.1	40.7	
	Dec.	46.3	41.7	
	1964	Jan.	42.6	39.2
		Feb.	39.7	35.8
		Mar.	40.7	36.0
		Apr.	40.5	37.5
May.		43.9	40.9	
Jun.		46.5	42.4	
Jul.		50.3	43.6	
Aug.		51.5	46.8	
Sep.		53.8	44.0	
Oct.		51.5	44.6	
Nov.		51.1	45.5	
Dec.		48.3	43.7	
1965	Jan.	42.3	42.5	
	Feb.	34.8	35.1	
	Mar.	34.9	38.1	
	Apr.	38.7	35.5	
	May.	45.5	38.1	
	Jun.	49.9	39.7	
	Jul.	48.9	40.0	

Aug.	50.3	43.2
Sep.	56.8	40.7
Oct.	55.5	46.3
Nov.	55.4	40.3
Dec.	46.7	38.0
1966 Jan.	43.5	35.1
Feb.	46.3	33.8
Mar.	48.8	35.7
Apr.	50.5	37.4
Mean	48.19	40.50
S. D.	4.46	3.90
S. E.	1.08	0.67

午前6時から8時までの2時間か、午前8時から10時までの2時間が、最も伸び量が多いという点である。

A, B両者の平均値として観察したところでは、冬および春は午前6～8時の間が最高となっている。特に春のそれは危険率5%で明かに有意であった。夏および秋は午前8～10時の間が最大であり、夏のそれは5%危険率で有意と認められた。これらの事実から春は明かに午前6～8時の間が、ひげの伸びが最も著しく、夏は午前8～10時の間が最大となっていると見ることができ、冬および秋ではこの両時刻帯に大差がないと結論づけることができる。

昼および夜の比較でも春と夏は差が大きい

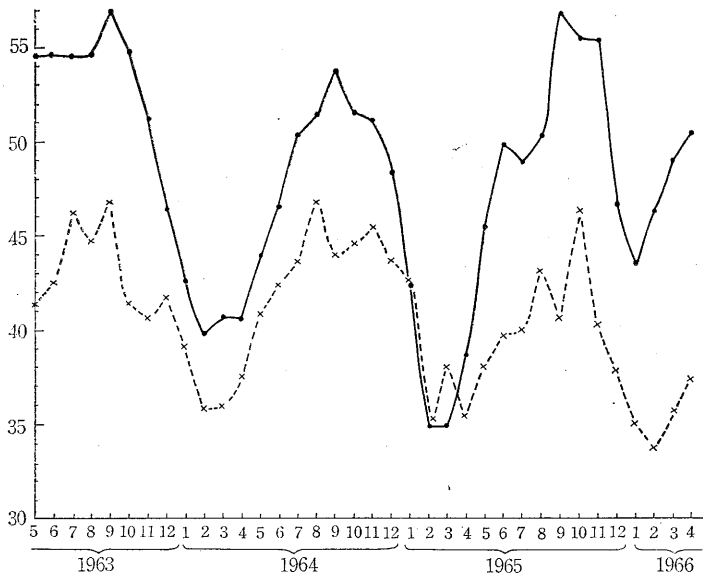


Fig. 1. Seasonal variation of beard growth.

Table 2. Seasonal variation of the beard growth rate at every 2 hours in a day

		from→to										Daylight		Night	
		A.M.			P.M.				A.M.			P.M.	A.M.	P.M.	
		6-8	8-10	10-12	0-2	2-4	4-6	6-8	8-10	10-12	0-2	2-4	4-6	6-6	6-6
Winter	A	19.9	17.4	6.9	4.9	3.7	5.0	5.3	9.3	8.4	4.2	5.1	9.9	57.8	42.2
	B	15.7	16.6	11.0	5.9	5.5	5.4	5.3	8.9	8.0	5.5	5.5	6.7	60.1	39.9
	Mean	17.8	17.0	9.0	5.4	4.6	5.2	5.3	9.1	8.2	4.8	5.3	8.3	59.0	41.0
Spring	A	18.8	12.5	5.3	7.4	13.5	4.7	13.0	8.0	4.0	4.4	3.4	4.9	62.2	37.7
	B	18.4	14.4	5.7	7.4	11.5	5.1	9.0	8.0	6.0	5.2	5.0	4.3	62.5	37.5
	Mean	18.6	13.5	5.5	7.4	12.5	4.9	11.0	8.0	5.0	4.8	4.2	4.6	62.4	37.6
Summer	A	13.7	20.0	8.4	5.4	7.3	4.9	5.9	6.1	12.5	4.5	4.3	7.0	59.7	40.3
	B	16.9	17.2	14.0	5.5	5.6	5.2	5.1	6.1	8.5	5.3	5.3	5.3	64.4	35.6
	Mean	15.3	18.6	11.2	5.3	6.5	5.1	5.5	6.1	10.5	4.9	4.8	6.2	62.0	38.0
Autumn	A	15.6	17.8	3.0	9.2	5.2	2.0	6.5	10.7	7.0	6.1	7.2	9.7	52.8	47.2
	B	12.0	12.2	8.0	8.0	7.2	7.4	7.3	8.8	7.0	7.0	7.2	7.9	54.8	45.2
	Mean	13.8	15.0	5.5	8.6	6.2	4.7	6.9	9.8	7.0	6.5	7.2	8.8	53.8	46.2
Year's Mean		16.4	16.0	7.8	6.7	7.4	5.0	7.2	8.2	7.6	5.3	5.4	7.0	59.3	40.7

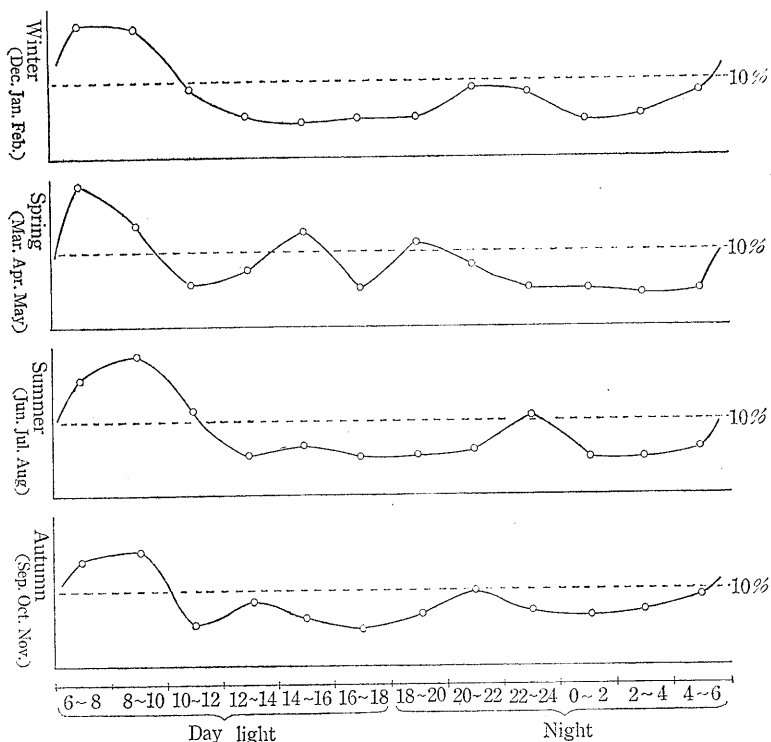


Fig. 2. Diurnal variation of beard growth rate (1).

が、これに比較すると冬と秋では差が少い。A, B両者の平均値について、春夏秋冬の各季毎2時間毎伸び率を比較図示したものが、第2図である。

また午前6~10時の間に生じる極大期に比較すれば、明かに小さく、季節によって若干の差が認められるが、夜18~24時の間にも、ややひげの伸びが増加させられる点がみとめられる。すなわち全体として2相性を示すものと考えられる。

そこで、1日のうちで最も伸び率が大きい午前6時から午前10時までの4時間のうちに1日伸び量の何%伸びるかを計算した。図3において、A, B両被検者の合計平均値を比較してある。冬季は同時刻帯の伸び率は34.8%であり1年中で最も大きい。1日中等等の伸び率を示すと仮定すれば、4時間中の伸び率は  $4/24 = 16.67\%$  であるはずであるので、この間の伸びは基準量の  $34.8/16.67 = 2.09$  倍であるといえる。しかし、冬季の昼間量は59.0%、夜間量41.0%であって、春、夏よりも、昼間の

伸び率は少い。これは昼のうちの他の時刻帯、すなわち午前10時から午後6時までの8時間の伸び率が少いことを意味している。この間の伸び率は24.2%であり、 $8/24 = 33.33\%$ の基準率に対し、0.72倍であり、1年中で最低であった。

春は昼62.4%、夜37.6%であり、昼夜の差が1年中最大である。午前6時から10時までの4時間は、32.1%であり、基準率の1.93倍にすぎず、冬および夏よりも少い。したがって当然午前10時から午後6時までの伸び率が比較的旺盛であることが知られるわけであり、この間の伸び率30.3%は基準値33.33%に対し0.91倍であり、1年中最大である。

夏は昼62.0%、夜38.0%であって、春に次いで昼間量が多い。午前6時から10時までの伸び率は33.9%で、基準率の2.04倍であり、これは冬に次いで第2位である。他の昼間時刻帯の伸び率は28.1%であり、基準値に対し0.84倍であり、春に次いでいる。

秋は昼間の伸び率53.8%、夜間の伸び率46.2%であり、1年中で最も昼夜の差が少い。午前6~10時の伸び率は28.8%で、基準率の1.73倍であり、これも他の季節との比較で最も低い値をしめしている。午前10時から午後6時までの間の伸び率は、25.0%で、基準値の0.752倍であった。

IV. 考 察

午前6時から午後6時までを昼間、午後6時から午前6時までを夜間とし、さらに2時間毎の時刻帯における、伸び率を通覧すると、春夏秋冬を通じて、常に昼間は夜間よりも伸び率が大きい。また、1日のうちで、伸び率が最大の時刻帯は、午前6時から午前10時までの4時間とみなされる。この4時間の伸

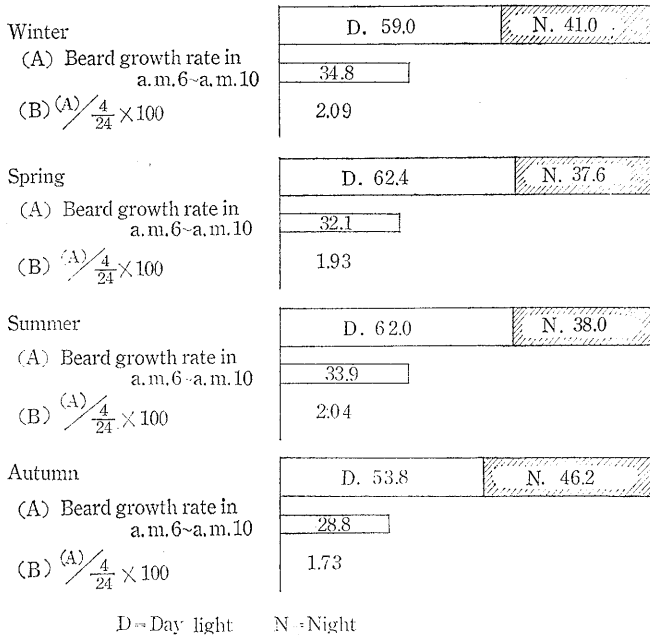


Fig. 3. Diurnal variation of beard growth rate (2).

ひ率は1日中平等な伸び率を示すものと考えた基準値に対して、最低の秋でも、1.73倍、最高の冬では2.09倍になっており、この時刻帯が、ひげの伸びに対して特別な意味をもっていることが考えられる。

ところで、ひげの伸びの日間変動と類似な傾向を示すものに、体温の日間変動がある、緒方<sup>6)7)</sup>(1963)等は、体温調節の日間変動の機構について、inner rhythm を重視すべきであるという立場に立ち、その pace maker として内耳機能の重要性を指摘している。ただし、たとえば船体動揺という、はげしい侵襲によっても体温の morning rise という現象だけは変化しないということを述べているが、体温調節の面で、指摘された inner rhythm と上記の成績との間に何等かの関連性があるようにも思われる。

緒方<sup>8)</sup>(1964)はさらに食塩の摂取が体温調節機構に対して密接な関連を有し、耐寒、耐暑性に大きな影響を与えていることを指摘し、食塩濃度判断閾値は冬に最高となり、夏期に最低になるとも述べている。すなわち体温調節に影響を持つ塩分に対する態度が極端に異っているのが、夏と冬であるということである。しかし、一方緒方<sup>9)</sup>(1967)は夏に耐暑性が高いのは、塩分の体内保有量が高いことであり、熱帯人の汗の食塩濃度が日本人よりも低いことをあげ、夏期には汗腺付近でできるだけ塩分を喪失させないような仕組みが強くなる可能性を考慮しているので、食塩摂取量とひげの関係は直に言い表わし難い。

体温の日間リズムにおける morning rise と、ひげの季節に関係がない午前6～10時の伸び率の増加と如何なる関係にあるものか、そしてこの時刻帯に基準量の2倍以上という特別な伸び率の増加がみとめられるのが夏と冬であるという事実と、皮膚における食塩保有量との間に、何等かの関係を考えてよいものかどうかについては、現在のところ立証するものは何もない。しかし、類縁現象とみなされるので、これらについては今後追究するつもりである。

## V. 摘 要

40才代の被検者2名について、1日24時間を2時間毎の時刻帯に区切り、各2時間毎のひげの伸び率を測定して、次のような結果を得た。

1. 季節、被検者の別なく夜間よりも昼間の伸び率が大きい。
2. 1日のうちで伸び率が最大なのは、午前6～10時までの間である。
3. 冬と夏は他の季節に比して、午前6～10時の伸び率が大きい。
4. 昼と夜との差が最も大きいのは春であるが、春は午前6～10時の間だけでなく、午前10時より午後6時までの伸び率も大きい。
5. 秋は昼、夜の差が最も小さいだけでなく、午前6～10時の間の伸び率も、他の季節に比較して最も少い。但し伸びの絶体量は最大である。したがって、秋は日間変動は少いが1日中よく伸びる。

摘筆するにあたり、恩師名取礼二教授の御校閲に深謝致します。

## 文 献

- 1) 小野三嗣・安部 勉(1963)鬚および頭髪の成長に関する研究 (1) リズム性と2, 3可変因子 日本生理誌 25(5), 254-261
- 2) Berthold (1850) Beobachtungen über das quantitative Verhältniss der Nagel- und Haar-bildung beim Menschen. Arch. f. Anat. u. Physiol. 156-160
- 3) Fuchs, H. (1937) Ueber die Wachstumsgeschwindigkeit der Harre. Ztschr. f. Biol. 98, 215-220
- 4) Flesch, P. (1955) Hair Growth. Physiology and Biochemistry of the skin (Edited by Rothman, S.) 601-645
- 5) Hamilton, J. B., Terada, H. and Mestler, G. E. (1958) Studies of growth throughout the life span in Japanese: II. Beard growth in relation to age, sex, heredity, and other factors. J. of Gerontology 13(3), 269-281
- 6) 緒方維弘 (1963) 体温調節を主とした環境生理 日本生理誌 25, 105
- 7) 緒方維弘・佐々木 隆(1963)遠隔地移動時の体温日間リズムの適応性経過 体力科学 13, 54
- 8) 緒方維弘(1964)筋作業の食塩味覚におよぼす影響 体力科学 14, 57
- 9) 緒方維弘(1967)適応と順化、発汗の立場から 体力科学 特集号 第17回日本医学会総会、衛連6分科会号 118

[原著] “Fingerprint” 法による哺乳類ヘモグロビンの比較生理学的  
ならびに比較生化学的研究 612:111.1

II. “Fingerprint” 法によるヒト, イヌ, ウサギならびに  
モルモットヘモグロビンの比較

前 田 信 治\*

Studies on mammalian hemoglobins by “Fingerprinting” procedure

II. Comparison of human, canine, rabbit and guinea pig  
hemoglobins

Nobuji Maeda (*The Second Department of Physiology, Nara Medical University*)

The primary structures of hemoglobins from adult human, dog, rabbit and guinea pig were compared by fingerprinting.

1. The shorter peptides show the more similarity with one another in their fingerprints.
2. The structure of the immediate surroundings of heme, especially of the “basic center”, is very similar. It is assumed that these parts of the protein structure have an important role in establishing the physiological function of hemoglobin.
3. The structures in the N and C termini are very similar with one another and it is assumed that the contacts between like subunits ( $\alpha$ - $\alpha$  or  $\beta$ - $\beta$ ) in these hemoglobins may be very similar.
4. It is assumed that the differences of the Bohr effect in various hemoglobins may be related to the structural differences in the middle region of the polypeptide chains, which is the region of contact between unlike subunits ( $\alpha$ - $\beta$ ) of hemoglobins.
5. Molecular features of these hemoglobins as revealed by fingerprinting reflect the phylogenetic relationship of these animals.

[J. Physiol. Soc. Japan (1968) 30, 790-809]

I. ま え お き

生物の形態および習性の比較研究に端を発した比較生物学は19世紀末より20世紀前半にかけてますます盛んとなり、生体を構成する化学的  
成分の比較研究へと入っていった。最近では種  
々の生命現象を蛋白質や核酸の構造と関連さ  
せ、分子レベルで検討しようとする分子生物学  
という新しい分野が開けつつある。

ヘモグロビン (Hb) は酸素と可逆的に結合す  
るという特異的な機能を有すること、殆んどす  
べての脊椎動物、ある種の無脊椎動物ならびに  
微生物といった広範囲に分布すること (Gratzer  
and Allison<sup>1)</sup>), 容易に入手できるということ、  
などのために最もよく研究されてきた蛋白質の  
一つである。構造面では、ある種の動物につら

ては Hb の結晶構造に関する比較研究がなされ  
(Kendrew and Perutz<sup>2)</sup>, Joep and O'Brien<sup>3)</sup>,  
Boardman and Partridge<sup>4)</sup>), その後 Perutz et al.  
<sup>5)</sup> の X線回折による研究でウマ Hb 分子の立体  
構造が明らかにされた。また超遠心法による分  
子量の測定の結果から、脊椎動物の Hb の分子  
量はすべて 64,000~68,000 の範囲にあることが  
Svedberg<sup>6)</sup> により証明された。各種動物 Hb の  
アミノ酸組成に関しては古くは Mäsiar et al.<sup>7)</sup>  
の研究があるが、現在ではアミノ酸分析操作の  
進歩、さらに Hb 分子を構成する 2 種のサブユ  
ニットの単離操作 (Wilson and Smith<sup>8)</sup>, Hill  
and Craig<sup>9)</sup>) によりかなり多数の動物にまで研  
究がなされた。Sanger<sup>10)</sup> の DNP 法, Edman  
<sup>11)12)</sup> により開発された  $\alpha$ -phenylthiohydantoin 法  
などの化学的手技、酵素による加水分解手技な  
どの導入により各種動物 Hb の 1 次構造はかな  
り明確なものとなってきた。

\* 奈良県立医大科学第 2 生理学教室  
[昭和43年 4 月26日受付]

以上のような研究により各種動物 Hb 間には種々の構造上の類似性ならびに相違性のあることがわかったが、一方、機能面についての1世紀にわたる諸家の研究から、この場合にも動物間で類似性ならびに相違性が明らかにされた。今回の研究では、前回の論文(前田<sup>13)</sup>)と同様に Fingerprint 法により、系統発生上位置を異にする4種の哺乳動物ヒト、イヌ、ウサギ、モルモット Hb の蛋白部分の化学構造上の差異を比較した。この研究の意図するところは、

1. 構造上の類似性ならびに相違性が Hb の機能上の類似性ならびに相違性と如何なる関連性を示すか、
2. Hb の機能特性の発現に最も本質的なかわりをもつ蛋白構造が如何なるものか、
3. 種属が異なることにより構造上に如何なる差異があらわれるのか、等の諸点を明らかにするにある。

## II. 実験材料および実験方法

### A. 溶血液の作製方法

実験材料としてはヒト (*Homo sapiens*), イヌ (*Canis familiaris*), ウサギ (*Oryctolagus cuniculus var. domesticus*), およびモルモット (*Cavia cobaya*) の血液を使用した。ヒトでは肘静脈より、イヌでは大腿静脈より、ウサギでは心臓穿刺により、モルモットでは断頭により採血した。二重蓆酸塩で凝固防止をした血液を冷却生理的食塩水で洗滌後、脱イオン水とトルエンで溶血させて Hb 溶液を作製した。

哺乳動物の中で特に上述の動物を選んだのは、動物種によっては多数の Hb 成分を有するものがあり、例えばネズミでは4ないし5個の成分を有する (Enoki et al.<sup>14</sup>) のに対してここに使用したものは単一の成分を有すること、また他に成分があつてもほとんど無視でき

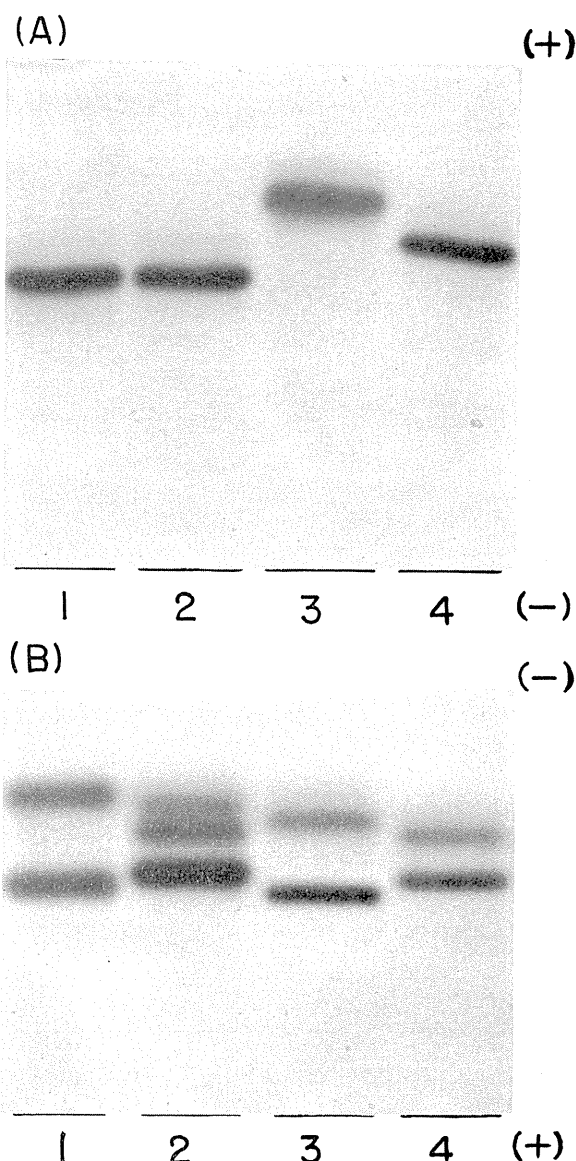


Fig. 1. Starch gel electrophoresis of various mammalian hemoglobins (A) in Tris-citrate-borate buffer system and (B) in formate buffer system (pH 1.9,  $\mu = 0.05$ ). Stained with Amido Black 10 B. 1; canine hemoglobin, 2; rabbit hemoglobin, 3; guinea pig hemoglobin, 4; human hemoglobin.

るということ、すなわち何ら分離操作を加えることなくそのまま使用できる点にある。

B. グロビンの作製、アミノエチル化の方法、トリプシンによる加水分解、Fingerprint 法および澱粉ゲル電気泳動法

以上の諸法についての詳細は前報 (前田<sup>13</sup>) に記載したとおりである。

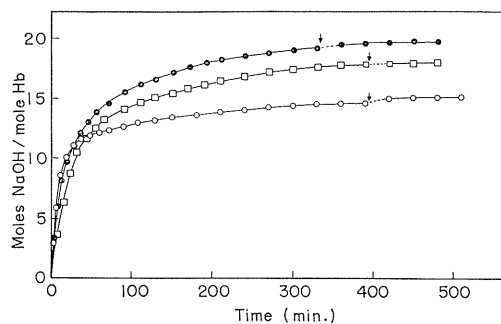


Fig. 2. Time course of the tryptic digestion of various mammalian hemoglobins. ○; human hemoglobin, ●; canine hemoglobin, □; rabbit hemoglobin. Further aliquots of trypsin solution are added at the points indicated by arrows. Mole Hb refers to the  $\alpha\beta$  unit (M. W. = 33,000).

### III. 実験結果

#### A. 各種 Hb の澱粉ゲル電気泳動

Poulik<sup>15</sup> の不連続緩衝系を使用し Smithies<sup>16</sup> の方法でヒト, イヌ, ウサギおよびモルモット Hb の澱粉ゲル電気泳動を行なった結果を Fig. 1(A) に示す. 図から明らかなようにいずれの Hb も単一の成分を有することがわかる. イヌおよびウサギ Hb が最も緩徐に陽極側に泳動され, 且つ非常によく似た泳動度を示す. モルモット Hb は最も早く陽極側に泳動され他の 3 種の Hb とは著明な差異を示し, ヒト Hb は両者の中間的な泳動度を示す.

蟻酸緩衝液 (pH 1.9) (Müller<sup>17</sup>) を使用して行なった澱粉ゲル電気泳動の結果を Fig. 1(B) に示す. ウサギ Hb を除いてはいずれにおいても

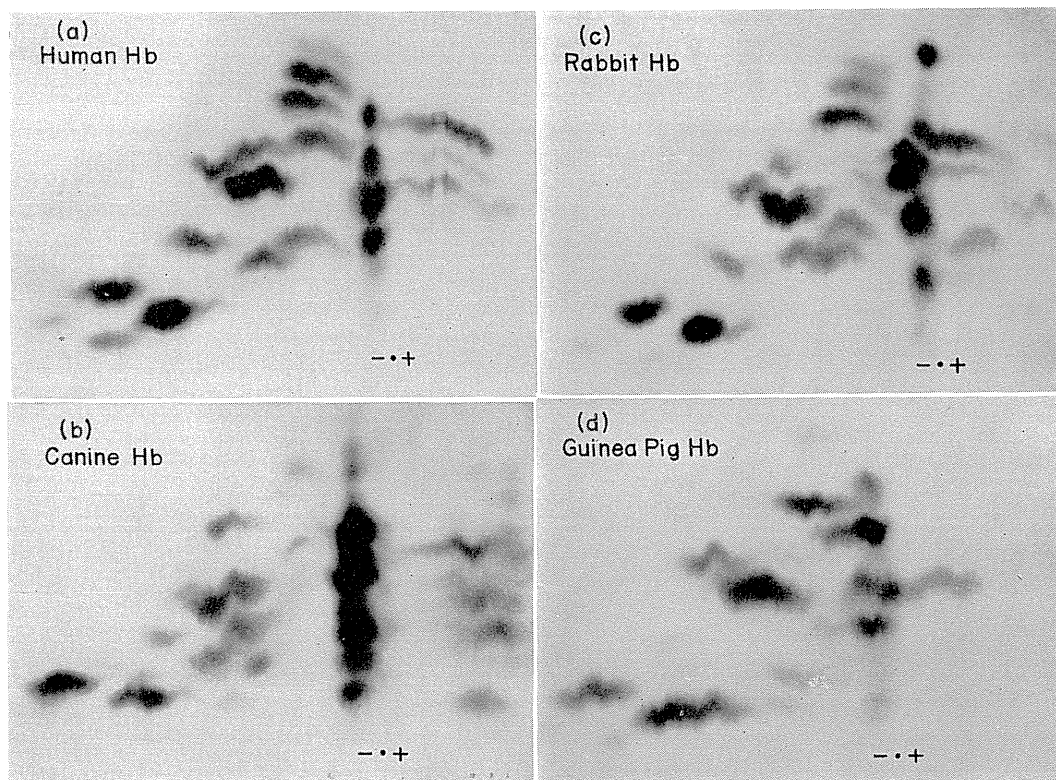


Fig. 3. Photographs of the fingerprints of (a) human, (b) canine, (c) rabbit and (d) guinea pig hemoglobins without the aminoethylation. Electrophoresis in pyridine-acetic acid-water (10 : 0.4 : 90, by vol., pH 6.5), at 50 mA for 120 min, followed by ascending chromatography with n-butanol-acetic acid-water-pyridine (15 : 3 : 12 : 10, by vol.) overnight. Ninhydrin stain.



33,000) 当り消費された NaOH のモル数はヒト Hb に関しては約15であり, Ingram<sup>21)</sup> の15~16 という値とよく一致している. 前報 (前田<sup>13)</sup>) にも述べたように, この数値はそのまま切断された peptide 結合の数をあらわすものではないが, その多少により形成される peptide の多少を比較することはある程度可能である.

消費された NaOH のモル数はイヌ Hb では約19, ウサギ Hb では17~18でありヒト Hb に比較するとかなり多いため, peptide の数もこの数値に比例し幾分多いことが予測される.

なお, AE-Hb (Aminoethylated Hb) の消化については図には示していないが, いずれの Hb においてもアルカリ消費がかなり増していることが観察された. これはアミノエチル (AE) 化操作により AE-cysteine およびいま迄感受性の低かった lysine および arginine の C 末端部が切断されるにいたったことによるものと考えら

れる (前田<sup>13)</sup>).

### C. 各種哺乳動物 Hb の可溶性 peptide pattern の比較

Ingram<sup>21)</sup> が最初 fingerprint 法を開発した頃には AE 化操作の導入もなく, ただ天然状態の蛋白を熱変性処理し, trypsin で消化を行なったにすぎない. したがって, いわゆる core 部分は沈澱し fingerprint 上には出現しない. このような熱変性処理蛋白の trypsin 消化で出現する peptide (可溶性 peptide) を AE 化蛋白のものと比較することにより core 部分の peptide の比較が可能となる. このような目的のため可溶性 peptide についての fingerprint を試みた.

Fig. 3 (a), (b), (c), (d) は各々ヒト, イヌ, ウサギおよびモルモット Hb の可溶性 peptide の fingerprint を示す. これらをトレースし, さらに特殊アミノ酸染色の結果を書き加えたものを Fig. 4 (a), (b), (c), (d) にそれぞれ示す.

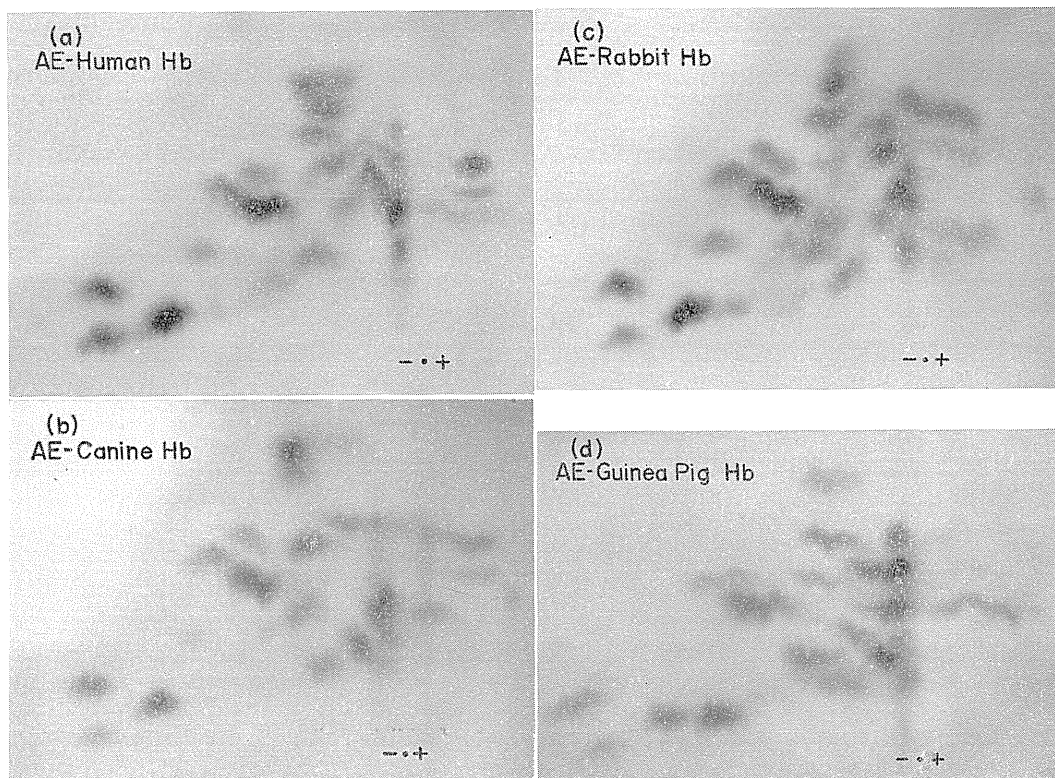


Fig. 5. Photographs of the fingerprints of (a) human, (b) canine, (c) rabbit and (d) guinea pig hemoglobins with the aminoethylation. Details are the same as in Fig. 3.

Peptide pattern 全体をみると4種のHb間にはかなりな類似性がみられる。特に塩基性領域における peptide 群では、少数の peptide を除きその類似性が著明である。酸性領域においても種の peptide にはかなりな類似性がみられる。しかし中性領域における peptide 群にはかなりな差異がみられる。

D. 各種哺乳動物 Hb (AE-Hb) の peptide pattern の比較

1. ヒト Hb における各 peptide の同定

ヒト Hb の可溶性 peptide の fingerprint 上での同定に関しては Ingram<sup>21)</sup> および Baglioni<sup>22)</sup> らの結果を参考とし前報 (前田<sup>13)</sup>) に述べた如くに行なった。Core 部分の同定についても前報 (前田<sup>13)</sup>) の如くに行なったがこれはあくまでも推定であるために各々 peptide 番号の下に線をひいて他のものと区別した。これらの結果

を Fig. 4 (a) および Fig. 6 (a) に示す。他の哺乳動物 Hb に関しては各斑点に塩基性側より任意に番号を附しヒト Hb と比較した。

2. イヌ Hb とヒト Hb の比較

AE 化イヌ Hb の fingerprint およびこれをトレースし特殊アミノ酸反応の結果を書き加えたものを Fig. 5 (b) および Fig. 6 (b) に示す。

ヒト Hb とイヌ Hb の fingerprint を比較した場合、電気泳動上の挙動、クロマト移動度および特殊アミノ酸染色の結果の点で全く同一と考えられる peptide 斑は spot 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 21, 24, 25 および 26 であり、これらはヒト Hb の  $\alpha T-8 + \beta T-8$ ,  $\alpha T-7, 8 + \beta T-7, 8$ ,  $\alpha T-7 + \beta T-7$ , artifact,  $\beta T-6$ ,  $\alpha T-10 + \beta T-12 b$ ,  $\beta T-15$ ,  $\beta T-1$ ,  $\beta T-5$ ,  $\beta T-5_{ox}$  (ox; oxidized) および  $\beta T-3$  にそれぞれ対応する。

Spot 8 は対応位置にあるヒト Hb の spot

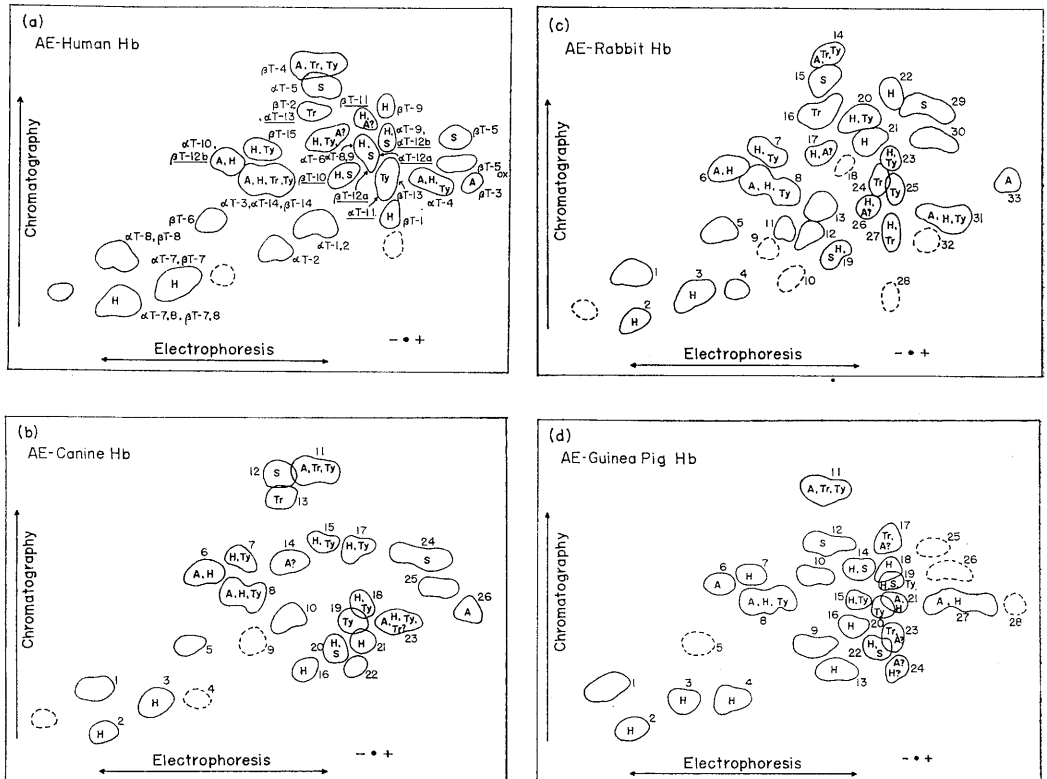


Fig. 6. Tracings of the fingerprints of (a) human, (b) canine, (c) rabbit and (d) guinea pig hemoglobins with the aminoethylation. Details are the same as in Fig. 4.

( $\alpha T-3+\alpha T-14+\beta T-14$ ) と比較すると tryptophan がみられないだけで、他の諸性質は著明な類似性を示す。ヒト Hb で tryptophan を含む peptide は  $\alpha T-3$  であるから、これに相当する spot に差があるだけで他の peptide ( $\alpha T-14, \beta T-14$ ) に相当する spot は非常によく似ているといえる。

Spot 9 および 10 はヒト Hb の  $\alpha T-2$  および  $\alpha T-1, 2$  に相当するものと考えられるがクロマト移動度はヒト Hb に比して幾分大である。また spot 12 および 13 も  $\alpha T-5$  および  $\beta T-2+\alpha T-13$  にそれぞれ相当するものと考えられるがクロマト移動度が幾分大であり且つ電気泳動度の点でもヒト Hb に比べて幾分陰極側に早く泳動されている。ただ core 部分の  $\alpha T-13$  がイヌ Hb の  $\alpha$  鎖および  $\beta$  鎖を単離した場合に spot 13 に相当した位置に出現するか否かはかなりの疑問がある。

Spot 11 はヒト Hb  $\beta T-4$  に相当するものであるが電気泳動上極わずかな差がみられる。

ヒト Hb  $\alpha T-6$  に相当する peptide として spot 15 が考えられるがクロマト移動度および電気泳動度の点でわずかつ異なっている。当該 spot の位置は  $\beta T-11$  の位置ともよく似ており、また spot 17 の形から、 $\beta T-11$  に相当する spot が spot 15 または spot 17 のいずれかに重複している可能性もある。しかし特殊アミノ酸反応で arginine が検出されない。Spot 14 および 16 (可溶性 peptide) は非常に明瞭な spot ではあるが、ヒト Hb には全くみられず、対応させることは困難である。

Spot 17 には  $\beta T-9$  に相当する peptide が重複していると考えられるがクロマト移動度がわずかに異なる他に特殊染色に差異がある。Spot 18 に対応できるヒト peptide は全くみられないが、 $\alpha T-8, 9$  および  $\alpha T-9$  のアミノ酸組成にかなりの差異を有するものかも知れない。Spot 19 は恐らく  $\beta T-13$  に対応するものでクロマト移動度および電気泳動度にわずかな差異がみられるにすぎない。 $\alpha T-11$  に相当する spot もこの近くに存在しているものと考えられるが多数の

spot が混在するため判定し難い。

Spot 20 を対応させるにあたっては一連の core 部分に由来する peptide が問題になる。特殊アミノ酸反応の結果では  $\alpha T-12 a$  または  $\beta T-10$  のいずれか、またはこれら両 peptide の重複が考えられる。さらに特殊アミノ酸として含硫アミノ酸のみを含む  $\beta T-12 a$  の重複も考えられる。しかし、上記の 3 peptide について他に対応しうる特別な spot がないこと、および fingerprint (Fig. 5 (b)) における形からこれら 3 種の peptide の重複を考えるのが最も妥当かと思われる。これらの点を明確にするには、単離したイヌ Hb の  $\alpha$  鎖および  $\beta$  鎖についての検索が必要である。ヒト  $\alpha T-12 b$  (histidine 含有 peptide) に対応した位置には spot 17 が存在し、他の同定が非常に容易であった spot との相対的な位置ともよく一致している。

Spot 23 は一見して  $\alpha T-4$  と非常によく似た挙動を示すが、特殊アミノ酸としてさらに tryptophan を含むほか、電気泳動度およびクロマト移動度がわずかながら異なっている。

### 3. ウサギ Hb とヒト Hb の比較

AE 化ウサギ Hb についての結果を Fig. 5 (c) および Fig. 6 (c) に示す。

イヌ Hb の場合と全く同じ理由によりヒト Hb と fingerprint 上全く同一と考えられるものは spot 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 14, 15, 16, 22 および 33 でありヒト Hb の  $\alpha T-8+\beta T-8, \alpha T-7, 8+\beta T-7, 8, \alpha T-7+\beta T-7, \text{artifact}, \beta T-6, \alpha T-10+\beta T-12 b, \beta T-15, \beta T-4, \alpha T-5, \beta T-2+\beta T-13, \beta T-9$  および  $\beta T-3$  にそれぞれ対応する。ただ  $\alpha T-13$  に相当する spot が spot 16 に重複しているか否かは疑わしい。一方全く同定し難く artifact または chymotrypsin (trypsin 標品に夾雑して痕跡程度にみられる) による解裂産物と考えられるものは spot 9, 10, 18, 28 および 32 であった。

Spot 8 に関しては、イヌ Hb の場合と同様に、 $\alpha T-14$  および  $\beta T-14$  には全く差がなく、 $\alpha T-3$  に相当する peptide に差があるものと考えられる。

Spot 11, 12および13はヒト Hb の  $\alpha$ T-2 および  $\alpha$ T-1,2 に対応する一連の peptide 群と考えられるが、これらのうち1個、恐らく spot 12 は別個のものと考えられる。しかし spot 12 がヒト Hb のどの peptide に相当するものかは不明である。Spot 11 および13はイヌ Hb にみられたものと非常によく似た挙動を示している。

Core 部分より出現したと考えられる peptide に spot 17, 19, 25および26がみられる。Spot 17に対応できるものはヒト Hb にはみられない。Spot 19 はイヌ Hb の spot 20 と同じような由来のもので、ヒト Hb の  $\alpha$ T-12 a,  $\beta$ T-10 および  $\beta$ T-12 a に相当する peptide と考えられる。しかし、当 peptide 斑はイヌ Hb の場合に比べて小さく且つ染色程度も弱いことから上記3種の peptide を同時に含んでいるとは考え難い。すなわちこの peptide はイヌ Hb よりもさらに著しい差異のある peptide であると考えられる。これらに関しても  $\alpha$ 鎖および  $\beta$ 鎖を単離してさらに詳しい知見をうる必要がある。Spot 25 は  $\beta$ T-13 に対応できるものであるが、ヒト Hb と異なりクロマト移動度にわずかな差がみられ、また  $\beta$ T-13 が可溶性であるのに対して spot 25 は core 部分に由来している。 $\beta$ T-13 は可溶性部分と core 部分との境界に存在しているため、ウサギ Hb では AE 化操作を受けることにより trypsin に対する感受性が高まり、その結果明瞭に出現したものと考えられる。Spot 26 はクロマト移動度にかかなりの差を示すが  $\beta$ T-11 に類似し、他の諸性質はよく似ている。

Spot 20 はヒト Hb の  $\alpha$ T-6 に対応するものと考えられる。ただ特殊アミノ酸染色の結果はよく一致しているが、電気泳動度およびクロマト移動度は少しずつ異なっている。

Spot 21 および24はウサギ Hb 特有の spot でありヒト Hb に対応できるものは全くみられない。Spot 23 は、クロマト移動度のわずかな差を除けばイヌ Hb の spot 18 とよく似ており、恐らくその由来はイヌ Hb の場合と類似のものと思われる。

Spot 27 はヒト Hb の  $\beta$ T-1 に対応するものであるが、ただ tryptophan を含んでいる点で異なっている。

なお中性領域でヒト Hb にみられた core 部分の peptide,  $\alpha$ T-11 および  $\alpha$ T-12 b, に相当する spot はみられないが、他の spot に重複しているかまたは中性領域が複雑なため判別しえなかつたものと思われる。

Spot 29 および30はヒト Hb の  $\beta$ T-5 および  $\beta$ T-5<sub>ox</sub> に対応するものと思われるが、その電気泳動度およびクロマト移動度にはかなり差異がみられる。

Spot 31 は特殊アミノ酸染色および電気泳動度の類似性から、 $\alpha$ T-4 に対応するものであるが、クロマト移動度にわずかな差がみられる。

#### 4. モルモット Hb とヒト Hb の比較

AE 化モルモット Hb についての同様の結果を Fig. 5 (d) および Fig. 6 (d) に示す。

イヌ Hb の場合と全く同じ理由により、fingerprint 上ヒト Hb と全く同一と考えられるものは spot 1, 2, 3, 5 および11でありヒト Hb の  $\alpha$ T-8+ $\beta$ T-8,  $\alpha$ T-7, 8+ $\beta$ T-7, 8,  $\alpha$ T-7+ $\beta$ T-7,  $\beta$ T-6 および  $\beta$ T-4 にそれぞれ対応する。これらヒト Hb と非常によく対応できる spot とは逆に、全く同定し難いものがモルモット Hb に特有な spot 4 の他に中性領域に多数みられる。

Spot 6 は特殊アミノ酸として arginine のみを含む peptide であり、すでに比較した他の哺乳動物 Hb と異なり、AE 化によって histidine 含有 peptide が重複してこない。ところが AE 化によってヒト Hb の  $\beta$ T-15 に相当する位置に histidine 含有 peptide が出現する。したがって spot 6 および7はヒト Hb の  $\alpha$ T-10 および  $\beta$ T-12 b にそれぞれ対応するものと考えられる。

Spot 8 はウサギ Hb およびイヌ Hb と全く同じ挙動を示し、 $\alpha$ T-14 および  $\beta$ T-14 に相当するものは互いによく似ているが  $\alpha$ T-3 に対応するものに差異があるものと思われる。

モルモット Hb では、ヒト Hb の  $\beta$ T-15,  $\alpha$ T-1, 2 および  $\alpha$ T-2 に対応しうるような spot

は全くみられない。Spot 15 は histidine と tyrosine を含んでいるが、これは  $\beta T-15$  に対応するとみるよりも  $\alpha T-6$  に対応させた方が妥当なようである。しかしその電気泳動度ならびにクロマト移動度にはかなりな差異がみられる。

Spot 12 は  $\alpha T-5$  に対応するものであるが、そのクロマト移動度はヒト Hb に比してかなり小さい。この附近に存在するはずの  $\beta T-2$  (tryptophan 含有 peptide) に対応できる spot は全くみられない。中性領域に 2 個の tryptophan 含有 spot がみられるがこのいずれかに対応するものかも知れないし、また tryptophan 自体他のアミノ酸残基に置換された結果によるものかも知れない。

Core 部分に由来し、特殊アミノ酸の全くみられない peptide として spot 9 および 10 がある。Spot 9 については全く対応できないが、spot 10 は  $\alpha T-13$  に対応するものではないかと思われる。

中性およびこれよりやや陰極側領域には非常に多数の spot が混在しておりヒト Hb との対応も非常に複雑化する。可溶性 peptide としてはヒト Hb の場合の 5 個に対して少なくとも 9 個みられる。その原因として、ヒト Hb の peptide に対応できるものの他に、(1) 塩基性領域でヒト Hb に対応できる spot が多数消失していること、(2) 各種哺乳動物 Hb の電気泳動 (Fig. 1(A)) でモルモット Hb が最も早く陽極側に泳動されること、等から塩基性または中性アミノ酸に置換がおこり陰性荷電が増したものと考えられる。このような理由により対応させることは非常に困難であるが、fingerprint 上の各種特性を参考にして強いて対応させるとすれば、spot 18, 19, 20 および 24 はヒト Hb の  $\beta T-9$ ,  $\alpha T-9$ ,  $\beta T-13$  および  $\beta T-1$  にそれぞれ対応する。

Core 部分に由来する peptide は、中性領域附近に少なくとも 2 個 (spot 13 および 22) 存在する。しかし中性附近の複雑さのため対応は非常に困難である。Spot 22 はイヌ Hb の spot 20

と非常によく類似し、ヒト Hb の  $\beta T-10$  に対応するものと考えられる。しかし  $\alpha T-12 a$  に対応させてよくない理由もない。さらにイヌ Hb の場合と同様に  $\beta T-12 a$  の重複も考えられる。また、core 部分に由来する他の histidine あるいは含硫アミノ酸を含んだ peptide の重複も考慮する必要がある。ヒト Hb で core 部分由来の peptide のうち、特殊アミノ酸として histidine のみを含むものは  $\alpha T-12 b$  および  $\beta T-12 b$  であり、後者についてはすでに対応されている。他の  $\alpha T-12 b$  に対応するものとしては spot 13 を考えなければならないが、これもやはり中性附近の他の histidine 含有 spot に重複しており、spot 13 が全く別のものと考えても差し支えない。同じ理由により、 $\beta T-10$  および  $\alpha T-12 a$  のいずれかが spot 14 または 19 のいずれかに重複している可能性もある。特殊染色陰性の  $\alpha T-11$  および arginine と histidine 陽性の  $\beta T-11$  についても同じことがいえる。以上は特殊アミノ酸を重視した対応であるが、これら特殊アミノ酸が他のアミノ酸に置換されたと考えれば、その対応はさらに複雑化する。

酸性側の spot についても、ヒト Hb と比較するとかなりな差異がみられる。Spot 25 および 26 は、それぞれ  $\beta T-5$  および  $\beta T-5_{ox}$  に対応すると考えられるが、ninhydrin による発色程度は悪く、また含硫アミノ酸もみられなかった。また電気泳動度にもかなりな差異がみられる。Spot 27 はヒト Hb の  $\alpha T-4$  と比較的よく似ているが tyrosine が検出されない。また spot 28 は  $\beta T-3$  に対応できるが arginine が検出されず恐らくモルモットでは arginine が lysine に置換されているものと推定される。

#### IV. 考 察

2 種のポリペプチド鎖が同一であるか否かについての明確な証拠をうるためには、それらのアミノ酸配列を決定、比較する以外方法がないことはいうまでもない。今回の実験に使用したいわゆる fingerprint 法は、この意味では完全な方法ではなく、類似性を暗示するに止まる。

しかしながら、これまでに種々の蛋白についてえられた結果から明らかなように、2種のポリ

ペプチド鎖の構造上の類似性あるいは相違性を簡便に推測する上で、極めて優れた方法であることは疑いない。

今回の実験では種々の哺乳動物 Hb のうち研究のあまり行なわれていないイヌ、ウサギおよびモルモットの Hb をヒト Hb と当該法により比較し、これら系統発生上位置を異にする哺乳動物 Hb が、ヒト Hb とどのような類似性および相違性を示すかを比較した。以下これらの結果を参考して、構造上の類似性、相違性と機能上の類似性、相違性との関連、Hb の機能特性の発現に最も本質的なかわりをもつ蛋白構造が如何なるものか、Hb はどのように進化してきたのか、などの点について考察してみたい。

Fig. 7 および Fig. 8 は Perutz<sup>23)</sup> にならい、Hb のアミノ酸配列をもとに、fingerprint 上の3種の特性、すなわち電気泳動上の挙動、クロマト移動度および特殊アミノ酸染色の結果から、ヒト Hb の  $\alpha$  鎖 (Fig. 7) および  $\beta$  鎖 (Fig. 8)

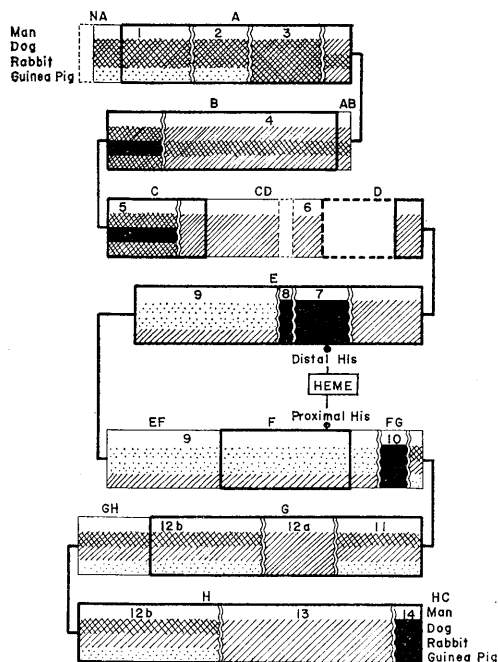


Fig. 7. Comparison of  $\alpha$  subunits of canine, rabbit and guinea pig hemoglobins with that of human hemoglobin by fingerprinting. Peptide spots on fingerprints of canine, rabbit and guinea pig hemoglobins were compared with those on fingerprint of human hemoglobin on the basis of the three criteria: (1) the electrophoretic behaviors, (2) the chromatographic behaviors and (3) the results of specific color reactions. Peptide bonds digested by trypsin were shown as described in the text. Helical and non-helical regions were segmented as described by Perutz.  $\parallel$ ; Peptide bond digested by trypsin,  $\square$  and  $\blacksquare$ ; non-helical and helical regions, respectively,  $\square$  and  $\blacksquare$ ; regions which have no amino acid sequence corresponding to  $\beta$  subunit of human hemoglobin in non-helical and helical regions, respectively.  $\blacksquare$ ; peptide, designated as "identical", behaving identically to that of the  $\alpha$  subunit of human hemoglobin by all the three criteria,  $\boxtimes$ ; peptide, designated as "highly similar", behaving identically to that of the  $\alpha$  subunit by two of the three criteria,  $\boxdot$ ; peptide, designated as "similar to some extent", behaving identically to that of the  $\alpha$  subunit by one of the three criteria,  $\boxminus$  peptide, designated as "completely different", being completely different from that of the  $\alpha$  subunit by all the three criteria.

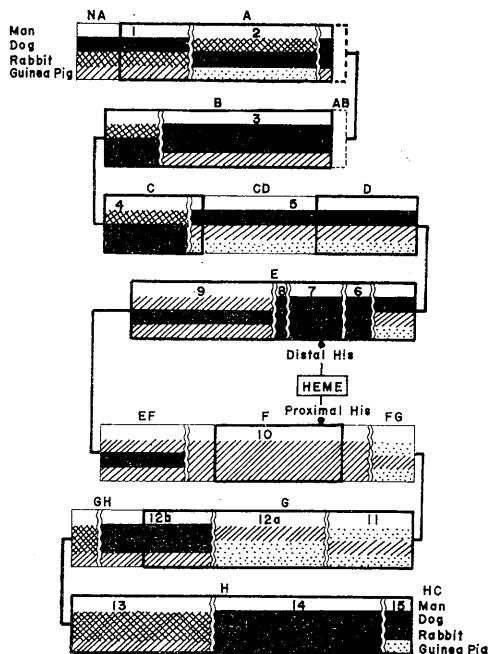


Fig. 8. Comparison of  $\beta$  subunits of canine, rabbit and guinea pig hemoglobins with that of human hemoglobin by fingerprinting. Details are the same as in Fig. 7.

と、他の3種の哺乳動物 Hb を比較した結果をまとめたものである。なお、trypsin による解裂部位は各種動物 Hb のアミノ酸配列により異なることはいうまでもないが、ここでは比較のための手段としてヒト Hb のものに一致させた。したがって、外見上異なる peptide でもアミノ酸配列を調べてみればヒト Hb と非常によく類似していることがありうる。

Fig. 7 および Fig. 8 から明らかなように peptide 鎖の長さが短かければ短かいほどその類似性は著しく、長い peptide では数個の例外を除けば概してその類似性はとぼしくなる。

類似性の特に著明な部位はいわゆる“basic center”にみられる。当部位には Hb の機能と密接なかかわりをもつ histidine (distal histidine, E 7) が含まれており、その存在はかなり下等な動物にいたるまで認められている (Braunitzer et al.<sup>24</sup>)。しかしながら、当該 histidine 周囲のアミノ酸配列に関しては下等になるにしたがって類似性はとぼしくなるとともに機能面にもかなりの変化があらわれる。例えば、ヤマ Hb の  $\beta$  鎖 (Braunitzer et al.<sup>24</sup>)、ウシ Hb の  $\alpha$  鎖 (Braunitzer et al.<sup>24</sup>)、ヒツジ Hb の  $\alpha$  鎖 (Beale et al.<sup>25</sup>)、などではヒト Hb にみられるような lysine-lysine (E 9-10) 結合はこれに対応する位置にはみられず、また、コイ Hb では  $\alpha$  鎖 (Braunitzer<sup>26</sup>) はヒト Hb と著しい類似性を示すが  $\beta$  鎖 (Braunitzer et al.<sup>24</sup>) ではかなりの相違を示す。以上のような動物種においてはなお酸素解離曲線の S 字状性も保たれ Bohr 効果も存在する (松田<sup>27</sup>) が、さらに下等なヤツメウナギ Hb (Braunitzer et al.<sup>24</sup>) および根りゅう Hb (Braunitzer et al.<sup>24</sup>) では構造上著しい相違を示すとともに機能面では酸素解離曲線は直角双曲線状となり、Bohr 効果も欠除する。このように高等ならびに比較的高等な動物における basic center のアミノ酸配列の類似性は、Hb の酸素解離曲線における S 字状性ならびに Bohr 効果の存在と何らかの関連があるものと思われる。

Distal histidine とは異なり、proximal histi-

dine (F 8) を含む peptide 間の類似性は非常にとぼしい。この大きな原因は前述のごとく peptide 鎖の長いことであろう。当該 histidine はいずれの動物 Hb にも存在するから (Perutz et al.<sup>28</sup>)、ヒト Hb の proximal histidine に対応する位置に、histidine はすべて存在し、他の部位でのアミノ酸配列にかなりな差異があるものと考えられる。

Perutz et al.<sup>28</sup> は各種動物 Hb の invariant amino acid として9個のアミノ酸を指摘している。これらのうち、立体構造上 heme の近傍に存在するアミノ酸残基は、distal および proximal histidine を除けば、threonine (C 4)、phenylalanine (CD 1)、および leucine (F 4) である。またこれら invariant amino acid の他にも立体構造上 heme 近傍にあるアミノ酸には著明な類似性があるといわれている (Perutz<sup>23</sup>)。Fingerprint 上からこれらのアミノ酸を含む peptide についてみると、著しい類似性を示すのは  $\alpha$ T-5、 $\alpha$ T-10 および  $\beta$ T-4 である。なお、variant amino acid ではあるが、heme の近傍にあるアミノ酸として valine (H 14、ただしヒト Hb の場合) がある。当該アミノ酸を含む  $\beta$ T-14 peptide にも著明な類似性がみられる。他の heme 近傍に存在するアミノ酸を含む peptide 間にはかなりの差異はあるが、fingerprint 法自体が peptide 単位の比較であり、個々のアミノ酸については特殊アミノ酸以外は不明である。したがってその類似性については議論しがたい。

Hb の構造ならびに機能を調べる上で特に重要視されているのは SH 基である。構造面でこの SH 基が問題になるのはいわゆる core 部分に由来する peptide である。Fig. 7 および Fig. 8 よりヒト Hb と他の動物 Hb を比較すると、 $\beta$  鎖のある部分ではヒト ( $\beta$ T-12 b)、イヌおよびウサギ Hb 間に著明な類似性がみられるがモルモット Hb では差異がみられる。他の core 部分についてはかなりの差異がみられる。しかし、これらを比較する上でもその peptide の長さおよび trypsin 感受性 lysine, arginine およ

び AE-cysteine の分布状態を考慮しなければならぬ。また, fingerprint 上での peptide の重複ということも比較を困難にする原因の一つとなる。

最近, Rossi-Fanelli et al.<sup>29)</sup> は種々哺乳動物 Hb の酸素平衡機能についての結果を比較し, 哺乳動物 Hb 間では酸素解離曲線の形が非常によく似ている, すなわちヘム間相互作用は非常によく似ているが, 酸素に対する親和性および Bohr 効果には差異がみられる, ことを示した。また, 哺乳動物 Hb のいわゆる reverse Bohr 効果に COOH 基が何らかの役割を演じている可能性を示唆した。Antonini et al.<sup>30)</sup> はその後ヒト Hb を carboxypeptidase B で処理することにより Bohr 効果が著しく減少するにかかわらず, 酸素解離曲線の S 字状性に变化のみられないことから  $\alpha$  鎖および  $\beta$  鎖の C 末端が Bohr 効果の機序に大きな役割を演じていると推定した。Fingerprint 上より C 末端部分の peptide を比較するとモルモット Hb の  $\beta$  鎖を除けばその類似性は著しく, さらに  $\beta$  鎖ではこれにつづく peptide 間にも著しい類似性がみられる。

Benesch et al.<sup>31)</sup> は  $\beta$  鎖のみから成る異常 Hb (Hb H) について Bohr 効果の欠損していることを見だし, Bohr 効果の発現には 2 種の異なるポリペプチド鎖 (例えば HbA では  $\alpha^A$  と  $\beta^A$ ) 間の相互作用が必須であると推論した。一般に Hb の各鎖間は主として水素結合お

よびイオン結合によつて結ばれている。同種鎖間 (例えば, Hb A では  $\alpha^A-\alpha^A$ ,  $\beta^A-\beta^A$ ) の結合に大きな役割を果している部分は N 末端部分と H-helix 部分, 特に C 末端部分, である (Perutz<sup>23)</sup>). N 末端部分は fingerprint 上かなりな相違がみられたが, N 末端アミノ酸は各種動物間で非常によく似ている (Gratzer and Allison<sup>1)</sup>). 既述の C 末端部分の類似性および N 末端の類似性から, 同種鎖間の結合は各種哺乳動物 Hb 間で非常によく似たものと推定される。他方, 異種鎖間 (例えば  $\alpha^A-\beta^A$ ) の結合に関してはポリペプチド鎖の中央部分のアミノ酸配列が大きな役割を演じている (Perutz<sup>23)</sup>). Fig. 7 および Fig. 8 から明らかのように, heme の近傍アミノ酸配列を除けばポリペプチド鎖の中央部分にはかなりな相違がみられる。したがって異種鎖間の結合 (相互作用) は各種哺乳動物 Hb 間ではかなりな差異がみられるものと推定される。異種哺乳動物 Hb 間にみられた Bohr 効果の差異 (Riggs<sup>32)</sup>) が, それらにおける異種鎖間の相互作用の差によるものとすれば, 今回行なった fingerprint の結果はこれとよく一致するものといえる。

Fig. 7 および Fig. 8 は helix 部分と non-helix 部分とを比較する意味も含めて作製したものであるが, これからではいずれに類似点が多いかまた相違点が多いか判定することは困難である。この点についてはさらに他種酵素を使用しさらに細かくペプチド鎖を消化しその結果

Table 1. Similarity of  $\alpha$  and  $\beta$  subunits of canine, rabbit and guinea pig hemoglobins to those of human adult hemoglobin as assessed by “fingerprinting” procedure

Mammals		Dog	Rabbit	Guinea pig
No. of peptides in $\alpha$ chain	identical*	4	5	4
	highly similar	6	4	2
	similar to some extent	4	5	5
	completely different	1	1	4
No. of peptides in $\beta$ chain	identical	9	10	5
	highly similar	3	2	0
	similar to some extent	3	3	6
	completely different	1	1	5

\*; Refer to the legend of Fig. 7 for the four classes of similarity.

生ずるより小さな peptide について比較検討する必要がある。

最後に Hb 分子がどのように進化してきたかについて検討を加えてみた。Hb の構造上の類似性および相違性を比較検討することにより、Hb の構造を支配する遺伝子の進化の程度および方向を知ることがある程度可能である。このような試みは Hb (Ingram<sup>33</sup>), のみならず免疫グロブリン (Hill et al.<sup>34</sup>) 神経性下垂体ホルモン (Acher et al.<sup>35</sup>) および fibrinopeptide (Doolittle and Blombäck<sup>36</sup>) にも応用されている。

今回研究したヒト Hb と他の 3 種の哺乳動物 Hb の構造上の類似性をまとめ Table 1 に示す。ヒト Hb の場合には, trypsin による peptide 結合の解裂により,  $\alpha$  鎖および  $\beta$  鎖からそれぞれ 15 個および 16 個の peptide が形成される。前述のごとく, 他の動物 Hb の場合にヒト Hb の場合と同じ部位で trypsin による解裂を受けるか否かは疑わしいが, 比較のため同じ部位で解裂されるものと仮定して fingerprint 上の 3 種の特性からその類似性を 4 区分し (Fig. 7); 各区分に相当する peptide の個数を Fig. 7 および Fig. 8 から求めた。

Table 1 から明らかなようにイヌ Hb とウサギ Hb はヒト Hb とほぼ同程度と隔たりがある。しかし, どちらかといえばイヌ Hb の方がヒト Hb に類似しており, ウサギ Hb よりもより進化した Hb であるといえる。モルモット Hb の場合にはイヌおよびウサギ Hb に比して著しい隔たりがみられ, かなり進化程度の遅れた Hb であると推定される。しかしこれだけの実験結果を系統発生的知見と対照させてこれら動物の進化程度を議論することは非常に困難である。また, これらの動物は同じ哺乳類に属するとはいえヒトは霊長目, イヌは食肉目, ウサギは兎目そしてモルモットは齧歯目に属し, それぞれ独自の進化方向をとるようになってから久しい。したがって今後各目の内部で種々動物 Hb の構造実験がなされ詳細に比較される必要がある。霊長目に関してはすでにかなり詳細

な結果が報告されその結果から有益な知見がえられている (Hill et al.<sup>37</sup>)。しかし, 他の目の動物については未だ系統発生的な研究が十分でない現状である。

Ingram<sup>33</sup>) によれば Hb 分子の祖先はミオグロビン様分子で, その構造を決定する遺伝子に順次重複 (duplication) とそれにひきつづく転位 (dislocation) が起り, 現在みられるヒト Hb の  $\alpha^A$ ,  $\gamma^F$ ,  $\beta^A$  および  $\delta^{A2}$  鎖が形成されたという。これら構成ポリペプチド鎖の進化の過程で, 多数の突然変異と自然淘汰が起ることによって種々の Hb 分子が形成されたと考えられるが, Fig. 7 および Fig. 8 からわかるように, 明らかにある部分の構造には変化がみられず著明な類似性がみられる。これらの部分は Hb の機能に欠くことのできない部分であり, たとえこの部分に突然変異が起ったとしても自然淘汰されてしまったものと推定される。生物の進化に伴って生物の有する器官の分化が起り, Hb は酸素を呼吸器官から末梢組織に運搬する役目を持たされるにいたった。Hb 分子はこの役目を果たし, かつ動物特有の生活環境に順応しながら絶えず進化してきたものと思われる。将来さらに多数の Hb の 1 次構造が解明されるにしたがって, その有する特異的な生理機能もその構造に基づいて本質的に理解されてゆくものと思われる。

## V. 総 括

ヒト, イヌ, ウサギおよびモルモット Hb の 1 次構造をいわゆる fingerprint 法により比較した。

1. 各種哺乳動物 Hb 間では peptide の長さが短かければ短かいほど類似性は著しい。
2. 立体構造上 heme 近傍のアミノ酸配列にはかなりの類似性がみられ, 特に basic center における類似性は顕著である。これらの部分は Hb の酸素運搬機能保持に大きな役割を果しているものと推定される。
3. いわゆる core 部分では  $\beta$  鎖のある部分 ( $\beta T-12 b$ ) にはかなりの類似性がみられ, この

部分で共通して存在する SH 基には機能的にかなり重要な意味があるものと思われる。他の core 部分は動物によりかなりな差異がみられる。

4. 同種サブユニット間の結びつきにかかわりのある N および C 末端部分にはかなりな類似性がみられ、種々動物間でその結びつきの状態に類似したものとと思われる。

5. 異種サブユニット間の結びつきに関係のある peptide (ポリペプチド鎖の中央部分) 間のかなりな差異は種々動物 Hb 間にみられる Bohr 効果の差異と何らかの関連性をもつものと推定される。

6. ヒト Hb との構造上の類似性からイヌ Hb は最も近縁であり、モルモット Hb は最も遠縁のものと思われる。

終りに、御指導ならびに御校閲いただきました榎泰義教授および富田晋助教授に深く感謝の意を表します。また、種々御指導ならびに御助言いただきました中馬一郎教授 (阪大第 1 生理学教室) に感謝いたします。

(本論文の 1 部は日本生理学会第 44 回総会および第 73 回奈良医学会において報告した)

#### 文 献

- 1) Gratzner, W. B. and Allison, A. C. (1960) Multiple haemoglobins. *Biol. Rev.* **35**, 459-506
- 2) Kendrew, J. C. and Perutz, M. F. (1948) A comparative X-ray study of foetal and adult sheep haemoglobins. *Proc. Roy. Soc. Acad.* **194**, 375-398
- 3) Jope, E. M. and O'Brien, J. R. P. (1949) Crystallization and solubility studies, p. 269. In haemoglobin. Barcroft Memorial Volume. London: Butterworth.
- 4) Boardman, N. K. and Partridge, S. M. (1955) Separation of neutral proteins on ion-exchange resins. *Biochem. J.* **59**, 543-552
- 5) Perutz, M. F., Rossmann, M. G., Cullis, A. F., Muirhead, H., Will, G. and North, A. C. T. (1960) Structure of haemoglobin: A three-dimensional Fourier synthesis at 5.5-Å resolution, obtained by X-ray analysis. *Nature* **185**, 416-422
- 6) Svedberg, T. (1933) Sedimentation constants, molecular weights, and isoelectric points in the respiratory proteins. *J. Biol. Chem.* **103**, 311-325
- 7) Mäsiar, P., Jurovčík, M. and Smolnický, J. (1958) A study of the resemblances and differences in the structure of haemoglobin of various animals. *Commun. IV, Intern. Congr. Biochem. (Vienna)*, (1958), p. 17
- 8) Wilson, S. and Smith, D. B. (1959) Separation of the valyl-leucyl- and valyl-glutamyl- polypeptide chains of horse globin by fractional precipitation and column chromatography. *Canad. J. Biochem.* **37**, 405-416
- 9) Hill, R. J. and Craig, L. C. (1959) Countercurrent distribution studies with adult human hemoglobin. *J. Am. Chem. Soc.* **81**, 2272-2273
- 10) Sanger, F. (1945) Free amino groups of insulin. *Biochem. J.* **39**, 507-515
- 11) Edman, P. (1950) Method for determination of the amino acid sequence in peptides. *Acta Chem. Scand.* **4**, 283-293
- 12) Edman, P. (1953) Stepwise degradation of peptides via phenylthiohydantoins. *Acta Chem. Scand.* **7**, 700-701
- 13) 前田信治 (1968) Fingerprint 法による哺乳類ヘモグロビンの比較生理学的ならびに比較生化学的研究: I. Fingerprint 法による正常成人ヘモグロビン (主成分ならびに微量成分) ならびに胎児ヘモグロビンの比較 *日本生理誌* **30**, 318-336
- 14) Enoki, Y., Tomita, S. and Sato, M. (1966) Presence of multiple hemoglobins in rats. *Jap. J. Physiol.* **16**, 702-709
- 15) Poulik, M. D. (1957) Starch gel electrophoresis in a discontinuous system of buffers. *Nature* **180**, 1477-1479
- 16) Smithies, O. (1955) Zone electrophoresis in starch-gels: Group variation in the serum proteins of normal human adults. *Biochem. J.* **61**, 629-641
- 17) Müller, C. J. (1960) Separation of the  $\alpha$ - and  $\beta$ -chains of globins by means of starch-gel electrophoresis. *Nature* **186**, 643
- 18) Diamond, J. M. and Braunitzer, G. (1962)  $\alpha$ -chain of rabbit haemoglobin. *Nature* **194**, 1287-1288
- 19) Matsuda, G., Maekawa, T., Maita, T., Maeda, K., Takei, H., Fujiwara, M., Shikaya, T. and Ichinose, M. (1962) Comparative biochemistry of hemoglobins. I. Comparison of a few properties of various hemoglobins. *Acta Med. Nagasaki.* **7**, 76-86
- 20) Müller, C. J. (1961) "Molecular evolution. A comparative study on the structure of mammalian and avian hemoglobins." The Netherlands, Van Gorcum, Assen.
- 21) Ingram, V. M. (1958) Abnormal human hemoglobins. I. The comparison of normal human and sickle-cell hemoglobins by "fingerprinting". *Biochim. I. haemophys. Acta* **28**, 539-545
- 22) Baglioni, C. (1961) An improved method for the

- fingerprinting of human hemoglobin. *Biochim. biophys. Acta* **48**, 392-396
- 23) Perutz, M. F. (1965) Structure and function of haemoglobin I. A tentative atomic model of horse oxyhaemoglobin. *J. Mol. Biol.* **13**, 646-668
- 24) Braunitzer, G., Hilse, K., Rudloff, V. and Hilschmann, N. (1964) The hemoglobins. *Adv. Protein Chem.* **19**, 1-71
- 25) Beale, D., Lehmann, H., Drury, A. and Tucker, E. M. (1966) Hemoglobins of sheep. *Nature* **209**, 1099-1102
- 26) Braunitzer, G. (1966) Phylogenetic variation in the primary structure of hemoglobins. *J. Cell. Physiol.* **61**, 1-19
- 27) 松田源治 (1963) ヘモグロビンの比較生化学とその分子進化 蛋白質核酸酵素 **8**, 132-141
- 28) Perutz, M. F., Kendrew, J. C. and Watson, H. C. (1965) Structure and function of haemoglobin. II. Some relations between polypeptide chain configuration and amino acid sequence. *J. Mol. Biol.* **13**, 669-678
- 29) Rossi-Fanelli, A., Antonini, E. and Caputo, A. (1964) Hemoglobin and myoglobin. *Adv. Protein Chem.* **19**, 73-222
- 30) Antonini, E., Wyman, J., Zito, R., Rossi-Fanelli, A. and Caputo, A. (1961) Studies on carboxypeptidase digests of human hemoglobin. *J. Biol. Chem.* **236**, PC 60-PC 63
- 31) Benesch, R. E., Ranney, H. M., Benesch, R. and Smith, G. M. (1961) The chemistry of the Bohr effect. II. Some properties of hemoglobin H. *J. Biol. Chem.* **236**, 2926-2929
- 32) Riggs, A. (1960) The nature and significance of the Bohr effect in mammalian hemoglobins. *J. Gen. Physiol.* **43**, 737-752
- 33) Ingram, V. M. (1961) Gene evolution and the haemoglobins. *Nature* **189**, 704-708
- 34) Hill, R. L., Delaney, R., Fellows, R. E. and Lebovitz, H. E. (1966) The evolutionary origins of the immunoglobulins. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **56**, 1762-1769
- 35) Acher, R., Chauvet, J., Chauvet, M. T. and Crepy, D. (1965) Caractérisation des hormones neurohypophysaires d'un poisson osseux d'eau douce, la carpe (*Cyprinus carpio*). Comparison avec les hormones des poisson osseux marins. *Comp. Biochem. Physiol.* **14**, 245-254
- 36) Doolittle, R. F. and Blombäck, B. (1964) Amino acid sequence investigations of fibrinopeptides from various mammals: evolutionary implications. *Nature* **202**, 147-152
- 37) Hill, R. L., Buettner-Janusch, J. and Buettner-Janusch, V. (1963) Evolution of hemoglobin in primates. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **50**, 885-893

[原著] ヘモグロビン A<sub>2</sub> に関する研究 612. 111. 1

II. ヘモグロビン A<sub>2</sub> の酸素平衡機能

三 田 道 雄 \*

Studies on hemoglobin A<sub>2</sub> II. Oxygenation properties

Michio Santa (Second Department of Physiology, Nara Medical University)

Hemoglobins A<sub>1</sub> and A<sub>2</sub> were isolated from normal adult hemolysates by starch block electrophoresis and DEAE-cellulose column chromatography and their oxygen equilibrium characteristics were compared.

1. Average purity of hemoglobin A<sub>2</sub> samples was around 99%. The average methemoglobin formation was about 2% when measured after the oxygen equilibrium experiments were completed.

2. Difference in the separation techniques of hemoglobin A<sub>2</sub> made no difference in the oxygen equilibria.

3. Hemoglobin A<sub>2</sub> had a slightly but distinctly higher oxygen affinity than that of hemoglobin A<sub>1</sub>. There was no difference between hemoglobins A<sub>1</sub> and A<sub>2</sub> in the Bohr effect both qualitatively and quantitatively.

4. Heme-heme interaction of hemoglobin A<sub>2</sub> was pH dependent, and the Hill's exponent  $n$  (an empirical measure of heme-heme interaction) exhibited a reversible reduction in alkaline pH.

[J. Physiol. Soc. Japan (1968) 30, 805-814]

I. ま え お き

第 I 編では Hb A<sub>1</sub> と A<sub>2</sub> の物理化学的な特性の相違について述べた<sup>1)</sup>。次いで本報では、酸素運搬という生理作用に関して両者を比較した結果について述べる。このことに関しては、すでに Thompson et al.<sup>2)</sup>, Meyering et al.<sup>3)</sup>, Eddison et al.<sup>4)</sup>, Huisman et al.<sup>5)</sup>, Rossi-Fanelli et al.<sup>6)</sup>, Huisman et al.<sup>7)</sup> らの報告があるが、一致した結果がえられていない。例えば、Eddison et al.<sup>3)</sup> は、電気泳動法により Hb A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub> を単離し、その酸素平衡機能について検討した結果、酸素親和性、Bohr 効果、ヘム間相互作用には有意な差を認めなかったが、一方、Huisman et al.<sup>7)</sup> は DEAE-セルロースをもちいるカラムクロマト法により両 Hb の単離をおこない、同様比較検討した結果、Eddison et al.<sup>3)</sup> とは二つの点で異なる結果をえている。すなわち、酸素親和性については、Hb A<sub>2</sub> の方

が大きく、ヘム間相互作用の程度を示す Hill 式<sup>8)</sup> の  $n$  値については、Hb A<sub>2</sub> では 1.4~2.0 と正常値 (2.8 前後) よりはかなり小さい値を示したという点である。このように一致した結果がえられない原因として、研究者により Hb A<sub>2</sub> の単離方法がデンブンプロック電気泳動法あるいはカラムクロマト法と異なっていること、さらに酸素平衡実験の条件が各人で異なっていること、またもちいた試料の A<sub>2</sub> の純度、あるいは Met Hb 含量等に再検討を要する点のあること等が考えられる。以上の点に鑑み、本研究では試料としてデンブンプロック電気泳動法および DEAE-セルロース・カラムクロマト法でえた Hb をもちい、これらの諸点に特に留意して Hb A<sub>1</sub> と A<sub>2</sub> の酸素平衡機能を比較検討した。

II. 実 験 方 法

A. 溶血液の作成

正常人の肘静脈から 20~30 ml 採血し、第 I 編において述べたと同様、Drabkin の方法<sup>9)</sup> に準じて溶血を作成した。

デンプンブロック電気泳動による単離に使用される溶血液は、Veronal 緩衝液 (pH 8.6,  $\mu=0.05$ ) に対して、また、カラムクロマト単離法に使用される場合には、K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 溶液 (0.005 M, pH 8.6~8.7) に対して、12時間 4°C 下で透析し、必要な場合は、使用前に15分間 0°C で高速遠沈 (10,000 r. p. m.) をおこない沈澱物をとりのぞいた。

なお、A<sub>2</sub> 分離にもちいた Hb 溶液の濃度は、電気泳動法による場合は 8%，カラムクロマト法による場合は 4~6% で、全て CO 型として使用した。したがって透析にもちいた各溶液には予め充分 CO ガスを飽和しておいた。

#### B. デンプンブロック電気泳動法による Hb A<sub>2</sub> の単離

Kunkel and Slater の方法<sup>10)</sup> に準じておこなった。詳細は、第 I 編のとおりである。

C. カラムクロマト法による Hb A<sub>2</sub> の単離  
Chernoff<sup>11)</sup>, Huisman and Dozy<sup>12)</sup> らの A<sub>2</sub> 定量方法を少し改変して A<sub>2</sub> の単離をおこなった。

イオン交換体としては DEAE-セルローズをもちい、以下述べるように 0.005 M K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 溶液 (pH 8.6~8.7) に対して充分平衡させておく (4°C)。

カラムは 4.5 cm × 45 cm のものを使用した。カラムが大きいために次のような配慮をしてイオン交換体を均一にカラムに充填した。すなわち、5 l のビーカー内に 0.005 M K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 溶液に懸濁した DEAE-セルローズを入れ、マグネチックスタラーでよく攪拌しておく、一方カラムにも 0.005 M K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 溶液を満して両者をビニール管で接続し、下端より適当な早さで K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 溶液を排出するとサイフォン原理で DEAE-セルローズ懸濁液がカラム内に導入される。このようにすると、DEAE-セルローズに任意の水圧を加えることができ、かつ、容易に DEAE-セルローズが均一に充填される。その後、4°C の氷室内にこれを入れ、カラムが充分温度平衡に到達するまで同温度の 0.005 M K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 溶液を流す。

Hb 溶液の濃度は 4~6% とし、1 回あたり

総量約 2 g の Hb 溶液 (したがって、約 40 ml) をカラムに添加することができる。展開溶出は 0.005 M K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 溶液でおこない、流速は 120 ml/hr とした。約 4 時間で A<sub>1</sub> はカラムの上端より約 30 cm 長にわたり完全に吸着し、A<sub>2</sub> は完全に分離、流出する。流出した A<sub>2</sub> 画分には、デンプンブロック電気泳動による単離の場合と同じく、非ヘム蛋白 (non-heme protein) が混在しているため、Hb の濃縮と非ヘム蛋白除去のために Amberlite XE 64 (pH 6.5, 0.05 M リン酸-Na 緩衝液で平衡させておく) のカラム (1.5 cm × 4 cm) をもちいて再クロマトをおこなう<sup>1)</sup>。この場合、非ヘム蛋白含有 A<sub>2</sub> 溶液の pH はカラムのそれ (pH 6.5) に合わせることもなくそのまま添加し、その後上記緩衝液 (pH 6.5) で充分に非ヘム蛋白を流出させる。Hb 画分 (A<sub>2</sub>) はカラム上端に吸着しているが、展開液に 0.3 M NaCl を加えるか、または展開液を変え 0.5 M K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 溶液 10 ml を加えることによって A<sub>2</sub> は一挙に流出する。したがって、A<sub>2</sub> は比較的高濃度でえられるが、必要に応じてコロジオン膜をもちいる限外濾過法によってさらに濃縮した。

一方、DEAE-セルローズに吸着した A<sub>1</sub> は、0.5 M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> で展開させると濃縮され流出してくる。流出した両 Hb 試料にはただちに CO ガスを飽和し、分離操作中一部 O<sub>2</sub> Hb になったものを CO Hb に変えておく。

#### D. 酸素平衡の測定

教室常用の分光学的方法により測定した<sup>13)</sup>。測定は、0.4% の試料について 0.1 M リン酸-K 緩衝液、温度 15.5°C でおこなった。また実験終了後の試料について、Met Hb 含量<sup>14)</sup> および pH (15.5°C) を測定した。なお、被検 Hb 溶液は CO Hb の状態で保存されているが、実験に際し、強い光を照射しながら純酸素ガスに暴露し photolysis によって CO Hb から O<sub>2</sub> Hb にかえる。なお、酸素平衡測定に際し試料 Hb が充分に脱酸素 (deoxygenate) されたか否かの確認は、555 m $\mu$  と 540 m $\mu$  の吸光度比 (1.26 以上) によった。

E. 実験結果の解析法

酸素解離曲線は%酸素飽和度 (y) を酸素分圧の対数 (log pO<sub>2</sub>) に対してプロットして示してある。このようにすれば、酸素親和性の変化は、log pO<sub>2</sub> 軸方向の曲線の平行移動によって示される。酸素親和性の程度は、50%酸素飽和時の酸素分圧 (p<sub>50</sub>)—通常はその対数, log p<sub>50</sub>—で示すことができる。

次に曲線の形は、Hill の経験式<sup>8)</sup>  $y/100 = kp^n/(1+kp^n)$  により、log y/(100-y) を log pO<sub>2</sub> に対しプロットしてえられる直線の勾配 (n 値)

により定量的に示される (y : 酸素飽和度, p : 酸素分圧, k, n : 定数). 直線を引く際、p<sub>50</sub> (すなわち、log y/(100-y)=0) 附近で最も適合するようにした。この n 値がいわゆるヘム間相互作用の程度を示すものである。

Ⅲ. 実験結果

A. Hb A<sub>2</sub> と A<sub>1</sub> の単離

Fig. 1, Fig. 2 に示すように DEAE-セルローズ・クロマト法を用いた場合にも、デンブンプロック電気泳動の場合<sup>1)</sup> と全く同様に A<sub>2</sub> の

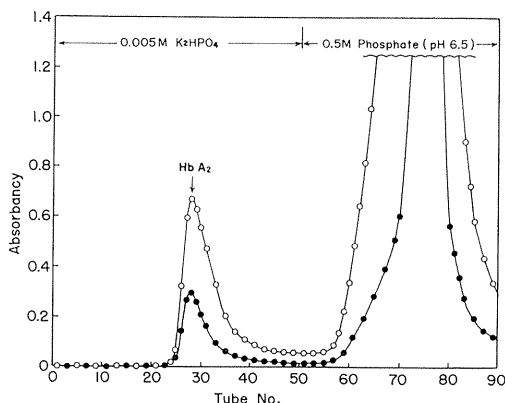


Fig. 1. Chromatography of normal adult hemolysate on DEAE-cellulose column. 50 mg of the sample in carboxy form was applied to the 2×45 cm column (4°C). Flow rate; 100 ml/hr, fraction volume; 4 ml. ●—●; absorbancy at 280 mμ, ○—○; absorbancy at 420mμ.

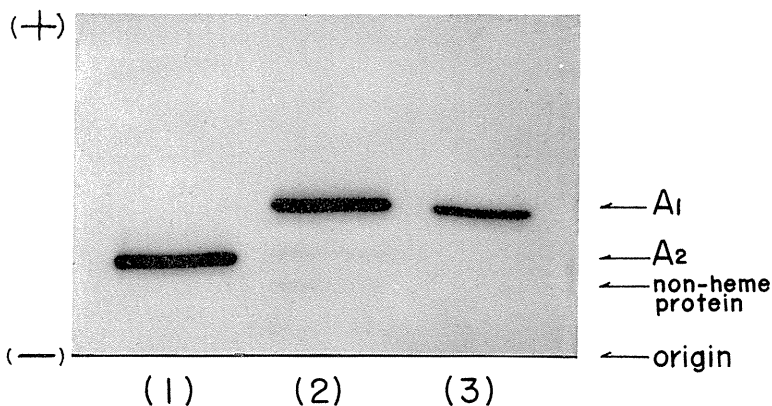


Fig. 2. Starch gel electropherogram of hemoglobin A<sub>2</sub> isolated by DEAE-cellulose chromatography from normal adult hemolysate. Tris-Citrate-Borate buffer. Amido black 10 B stain. (1) Hemoglobin A<sub>2</sub> as isolated by DEAE-cellulose chromatography. (2) Whole hemolysate. (3) Hemoglobin A<sub>1</sub> as isolated by DEAE-cellulose chromatography.

単離は完全におこなわれた。デンプンブロック電気泳動法による A<sub>2</sub> の単離時には、若干の A<sub>1</sub> の混在を認めることもある(第 I 報参照)が、これは電気泳動後、デンプンブロックの切り出し時に注意を払うことで容易に防止することができる。

単離操作中におこる両 Hb の Met 化は、材料として CO Hb をもちいること、低温かつアルカリ側 pH (泳動、カラム・クロマト法とも、pH 8.6~8.7) で単離操作をおこなうことにより非常に少量(1%以下)にとどめることができた。

### B. 酸素平衡機能

#### 1. デンプンブロック電気泳動で単離した Hb A<sub>2</sub> および A<sub>1</sub> について

Fig. 3 にデンプンブロック電気泳動で単離された A<sub>2</sub> および A<sub>1</sub> の種々 pH における酸素解離曲線を示す。図からも明らかなように、A<sub>1</sub>、A<sub>2</sub> とも典型的な S 字状の酸素解離曲線がえら

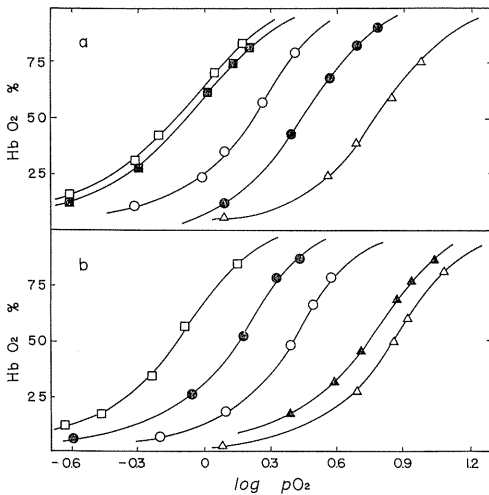


Fig. 3. Oxygen dissociation curves of hemoglobins A<sub>1</sub> and A<sub>2</sub>. Both the hemoglobins were isolated by starch block electrophoresis from normal adult hemolysates. Hemoglobin concentration; 0.4 % in 0.1 M phosphate buffer. Equilibrium temperature; 15.5°C. Upper curves: hemoglobin A<sub>2</sub>. □—□; pH 8.88, ■—■; pH 8.09, ○—○; pH 7.75, ●—●; pH 7.54, △—△; pH 5.83. Lower curves: hemoglobin A<sub>1</sub>. □—□; pH 8.55, ●—●; pH 7.91, ○—○; pH 7.75, ▲—▲; pH 5.90, △—△ pH 5.60.

れ、強いヘム間相互作用の存在することがわかる。

しかし、ここで注目すべき点は、A<sub>2</sub> の酸素解離曲線に見られるアルカリ側 pH での S 字状性の低下(ヘム間相互作用の減少)である。この点を明確にするために、Hill 式にもとづいて Fig. 4 に示すようなプロットをおこなってみた。このグラフは  $\log y/(100-y)$  を  $\log pO_2/p_{50}$  に対しプロットしたもので、このようにすると各曲線の位置の相違を消去して、それらの形のみについて相互に比較することができる<sup>15)</sup>。この場合えられる各直線の勾配が n 値であることは勿論である。A<sub>1</sub> についてみると、Fig. 4 b に示されているように  $n=2.8$  と各酸素解離曲線の S 字状性が pH の変化(pH 5.9~8.5)に関係なく一定である。いいかえると、pH の変化に関係なくヘム間相互作用の程度は一定で

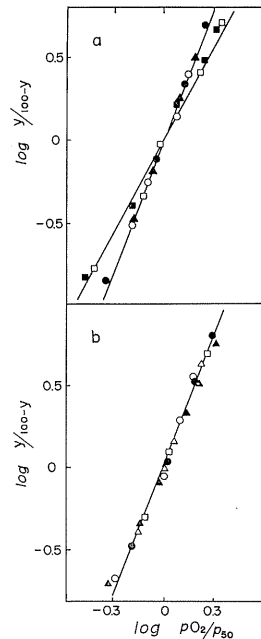


Fig. 4.  $\log y/(100-y)$  vs  $\log pO_2/p_{50}$  plot of oxygen equilibrium data as shown in Fig. 2. a: hemoglobin A<sub>2</sub>. □—□; pH 8.88, ■—■; pH 8.09, ○—○; pH 7.75, ●—●; pH 7.54, ▲—▲; pH 5.83. b: hemoglobin A<sub>1</sub>. □—□; pH 8.55, ●—●; pH 7.91, ○—○; pH 7.75, ▲—▲; pH 5.90, △—△; pH 5.60.

ある。一方、A<sub>2</sub> についてみると、Fig. 4 a に示されるように、明らかに2本の直線となり、直線の勾配 (n 値) は pH 7.5~7.8 では 2.7 であるのに対して pH 8.5~8.9 では 1.9 である。すなわち、A<sub>2</sub> については酸素解離曲線の S 字状性 (ヘム間相互作用) の pH 依存性という従来、正常人 Hb にはみられなかった新しい性質が認められた。上記の事実は Table 1 および Fig. 5 にさらに総括的に示してある。

次に酸素親和性および Bohr 効果についてみると、Fig. 3, 5 にみられるごとく、A<sub>2</sub> にも A<sub>1</sub> と同様 Bohr 効果、すなわち、酸素親和性の pH 依存性の存在することは明白であり、また定量的に比較してみても、A<sub>1</sub> では  $\Delta \log p_{50} / \Delta \text{pH} = -0.73$ , A<sub>2</sub> では  $-0.74$  となり、両者共同程度の Bohr 効果の存在することがわかる。

Table 1. Comparison of oxygen equilibria of hemoglobins A<sub>1</sub> and A<sub>2</sub> isolated from normal hemolysate by starch block electrophoresis

pH (15.5°C)	log p <sub>50</sub> *		n**		Met Hb %***	
	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>
5.60	0.86		3.0		5.0	
5.83		0.78		2.6		4.8
5.99	0.89		2.7		3.7	
6.52	0.90	0.81	2.9	2.8	2.8	2.5
6.79	0.83	0.77	2.7	2.9	2.6	2.8
7.07		0.75		2.6		2.1
7.32	0.68		2.8		2.4	
7.38	0.60	0.52	3.0	2.7	1.1	1.3
7.39		0.49		2.8		2.5
7.54	0.55	0.46	2.9	2.7	3.8	1.7
7.75	0.39	0.19	2.7	2.6	1.0	1.0
7.81		0.16		2.1		1.3
7.87		0.13		2.7		1.9
7.91	0.14		2.8		0.9	
8.01		-0.01		1.7		0.9
8.12		-0.06		2.3		1.0
8.19		-0.08		2.0		0.5
8.49		-0.11		2.0		0.7
8.55	-0.12		2.7		0.5	
8.83		-0.16		1.9		0.8
8.88	-0.21		2.7		0.6	

\* ; logarithm of oxygen tension (mmHg) at half oxygenation. \*\* ; Hill's exponent. \*\*\* ; measured after oxygen equilibrium experiment. cf. Fig. 5.

酸素親和性に関しては、pH 全域 (pH 5.60~8.88) にわたって見た場合、軽度ながら常に A<sub>2</sub> のそれが A<sub>1</sub> のそれを上まわっているかの印象をうける (Fig. 5)。この間の事情は同一 pH における A<sub>1</sub> と A<sub>2</sub> の酸素解離曲線を個々に比較

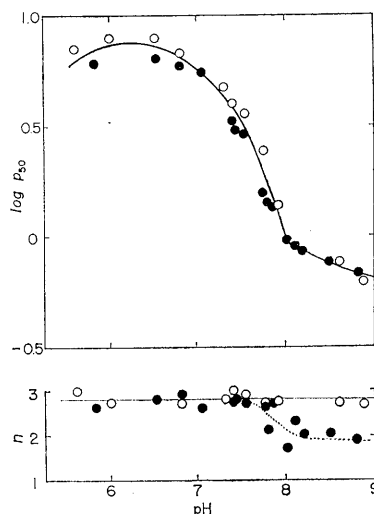


Fig. 5. Oxygen affinity (log p<sub>50</sub>) and Hill's exponent  $\bar{n}$  of hemoglobins A<sub>1</sub> and A<sub>2</sub> in relation to pH. Both the hemoglobins were isolated by starch block electrophoresis from normal adult hemolysates. Hemoglobin A<sub>1</sub> (○), hemoglobin A<sub>2</sub> (●). Hemoglobin concentration ; 0.4% in 0.1M phosphate buffer. Equilibrium temperature ; 15.5°C. p<sub>50</sub> ; oxygen tension (mmHg) at half oxygenation.

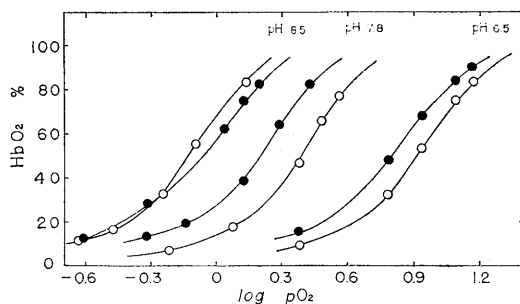


Fig. 6. Oxygen dissociation curves of hemoglobins A<sub>1</sub> and A<sub>2</sub> at three sets of comparable pH values. Hemoglobin concentration ; 0.4% in 0.1M phosphate buffer. Equilibrium temperature ; 15.5°C. ○—○ ; hemoglobin A<sub>1</sub>, ●—● ; hemoglobin A<sub>2</sub>.

した場合、さらに明らかに示すことができる。

Fig. 6 に pH 8.5 (A<sub>1</sub>: pH 8.55, A<sub>2</sub>: pH 8.49), 7.75, 6.52 における両 Hb の酸素解離曲線を示してみた。

この図によれば、pH 7.75, 6.52 において A<sub>2</sub>

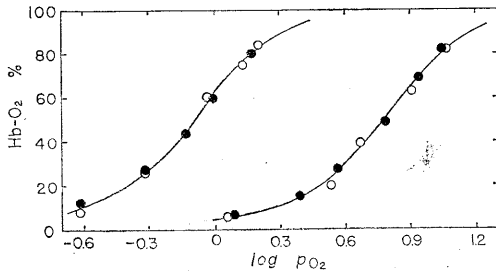


Fig. 7. Comparison of oxygen dissociation curves at two different pH of hemoglobin A<sub>2</sub> isolated by starch block electrophoresis and DEAE-cellulose chromatography. Hemoglobin concentration; 0.4% in 0.1M phosphate buffer. Equilibrium temperature; 15.5°C. Hemoglobin A<sub>2</sub> was isolated by starch block electrophoresis (○) or DEAE-cellulose chromatography (●).

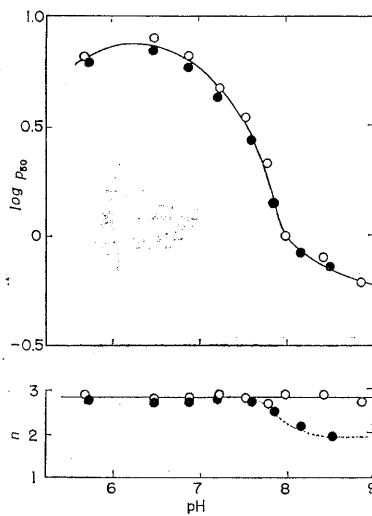


Fig. 8. Oxygen affinity ( $\log p_{50}$ ) and Hill's exponent  $n$  of hemoglobin A<sub>1</sub> and A<sub>2</sub> in relation to pH. Both the hemoglobins were isolated by DEAE-cellulose chromatography from normal adult hemolysates. Hemoglobin A<sub>1</sub> (○), hemoglobin A<sub>2</sub> (●). Hemoglobin concentration; 0.4% in 0.1M phosphate buffer. Equilibrium temperature; 15.5°C.  $p_{50}$ ; oxygen tension (mmHg) at half oxygenation.

の方が A<sub>1</sub> よりも酸素親和性が大であることは明白である。pH 8.5 において、両者の解離曲線が交叉しているが、これは A<sub>2</sub> にみられるアルカリ側でのヘム間相互作用の減少による酸素解離曲線の S 字状性の低下によるものである。

酸素親和性を検討する場合、被検 Hb 溶液中の Met Hb の含量を考慮しなければならないが、今回の実験では Met Hb 含量は多くとも 5% をこえず (実験終了後)、また Met Hb 含量は A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub> 共に同程度であったことから (Table 1), この場合 Met Hb 混在の酸素解離曲線に対する影響という問題は無視してさしつかえないと考えられる。

2. DEAE-セルローズで単離した Hb A<sub>2</sub> および A<sub>1</sub> について

Fig. 7 にデンプンブロック電気泳動法および DEAE-セルローズ・カラムクロマト法でえた A<sub>2</sub> について、同一 pH (pH 8.21 および 6.80) でえた酸素解離曲線を示す。A<sub>2</sub> 単離の方法に

Table 2. Comparison of oxygen equilibria of hemoglobins A<sub>1</sub> and A<sub>2</sub> isolated from normal hemolysate by DEAE-cellulose chromatography

pH (15.5°C)	$\log P_{50}^*$		$n^{**}$		Met Hb % <sup>***</sup>	
	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>
5.68	0.81		2.9		4.3	
5.74		0.79		2.7		4.9
6.50		0.84		2.7		2.6
6.51	0.90		2.8		3.0	
6.88		0.78		2.7		2.1
6.90	0.82		2.7		1.5	
7.23		0.63		2.8		1.1
7.25	0.67		2.9		1.2	
7.55	0.54		2.8		1.9	
7.63		0.43		2.6		2.4
7.81	0.38		2.7		2.5	
7.86		0.15		2.4		0.9
8.09	0.00		2.9		1.3	
8.17		-0.08		2.1		1.0
8.44	-0.10		2.9		0.9	
8.52		-0.14		1.9		1.0
8.88	-0.21		2.7		0.5	

\*; logarithm of oxygen tension (mmHg) at half oxygenation. \*\*; Hill's exponent. \*\*\*; measured after oxygen equilibrium experiment. cf. Fig. 8.

よってえられる曲線に差異の生じないことはこの結果から明白であるが、DEAE-セルローズ・カラムクロマト法でえた A<sub>2</sub> を用い、さらに広い pH 領域にわたって実験してえた結果を Fig. 8 および Table 2 にまとめてみた。今回の試料についての結果は、さきのデンプンブロック電気泳動法でえたもの (Fig. 5) とよく一致していることがわかる。勿論、アルカリ側での n 値低下という現象も、前回同様認められたことはいうまでもない。

### 3. アルカリ側での n 値の低下

上記のようにアルカリ側で認められた A<sub>2</sub> の n 値の低下について、この現象が pH に依存する可逆的なものであるか否かを検討するため、さらに次のような実験をおこなった。まず、A<sub>2</sub> 溶液を一旦 0.1 M リン酸-K 緩衝液 (pH 8.88) に対して12時間透析した後、被検 Hb 溶液を二つに別け、その1半はそのままの pH で実験する。他半の被検 A<sub>2</sub> 溶液は実験に必要な量に小分けし、各々を低い pH (8.55, 7.55, 7.01, 6.65) のリン酸-K 緩衝液 (0.1 M) に対して6時間再透析した後、その酸素解離曲線を作製する。その結果が Fig. 9 に示してある。これから明らかなように、今回 A<sub>2</sub> において認められたヘム間相互作用の pH 依存性は全く可逆的な現象であることがわかる。

## IV. 考 案

今回の実験の第1の目的は A<sub>2</sub> 単離操作の相違によって、その酸素平衡機能に差が出てくるか否かを明らかにすることである。Eddison et al.<sup>4)</sup> によれば、電気泳動的に A<sub>2</sub> を単離した場合 (oxy 型)、単離操作中に蛋白部分に致命的ではないにしても何らかの変化がおこり、そのためその酸素平衡機能に変化がおこるといふ。さらに、電気泳動支持体として、デンプンブロックをもちいると Met Hb の形成が多く (0.5~6%, 平均3.5%), Pevikon C-870 をもちいると分離操作中の Met 化は少ないが分離が完全でなく、単離 A<sub>2</sub> 中に平均24%の A<sub>1</sub> の混在を認めている。また、Meyering et al.<sup>3)</sup> は CM-セ

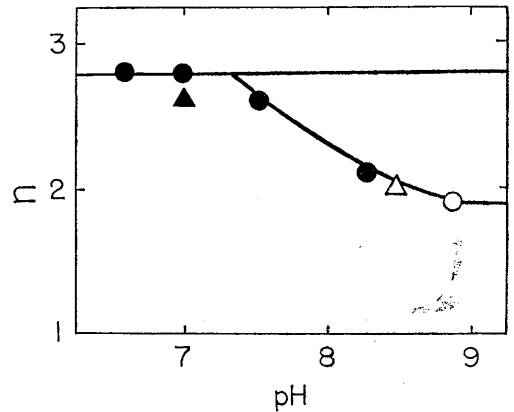


Fig. 9. Reversible pH dependency of heme-heme interaction of hemoglobin A<sub>2</sub>. Circles and triangles denote the results on the samples prepared by DEAE-cellulose chromatography and starch block electrophoresis respectively. All samples were first dialysed against 0.1M phosphate buffer of alkaline pH as shown by ○ and △ and then divided into small aliquots which were again dialysed against 0.1M phosphate buffer of various pH as shown by ● and ▲.

ルローズをもちいたカラムクロマト法で A<sub>2</sub> を単離した場合 (oxy 型) にも Met Hb の産生の多い (約20%) ことを述べている。そこで両者の単離方法でえられた A<sub>2</sub> の酸素平衡機能に関する所見をみると、Eddison et al.<sup>4)</sup> は、酸素親和性は A<sub>1</sub> と A<sub>2</sub> で同じであるとし、一方 Meyering et al.<sup>3)</sup> は A<sub>2</sub> の方が A<sub>1</sub> より大きいと報告している。ここで考慮しなければならない点は、前者の場合、被検 Hb 全体の約 1/4 にも相当する A<sub>1</sub> の混在であり、後者の場合は、多量の Met Hb の混在 (約20%) である。Darling and Roughton<sup>16)</sup> の知見によれば、Hb は一部 Met 化により酸素親和性の増大および酸素解離曲線の双曲線化 (Hill 式 n 値の低下) をきたすという。この現象は最近教室の徳井<sup>17)</sup> によってさらに広汎な検索がなされ、Met 化の程度と上記の2変化との間の定量的関係が確立された。したがって、Meyering et al.<sup>3)</sup> の実験結果に対しては、Met Hb の増加に伴う随伴現象を考慮する必要がある。同様のことが Thompson et al.<sup>2)</sup> の実験についてもいえる。すなわち、彼ら

は、O<sub>2</sub> Hb をもちい、DEAE-セルローズにより A<sub>2</sub> を単離し、CM-セルローズによって濃縮後、酸素平衡実験をおこなって、A<sub>2</sub> の方が A<sub>1</sub> よりも酸素親和性が大きいという結果をえているが、n 値が 1.4~2.0 と正常値 (2.8) よりかなり低い値になっている。Met Hb の含量については記載がないため、この点、明確な議論はできないが、実験温度が 37°C と高温であることから比較的少量の Met Hb の混在が予想され、n 値の低いことはまさにこれを裏書きするものと考えてよからう。

さらに、これらいずれの実験においても、非ヘム蛋白の混在についての配慮がなされていない。すでに明らかにしたように、単離手段として電気泳動、カラムクロマトグラフィーのいずれをもちいた場合にも、A<sub>2</sub> とほぼ等量の非ヘム蛋白の混在が認められる<sup>1)</sup>。混入非ヘム蛋白と A<sub>2</sub> との相互作用の可能性はしばらくおくとしても、当該混入蛋白は酸素解離曲線の作製にあたって、被検 Hb 溶液に著明な粘性を与え、ひいては著明な気泡発生を促し、その結果 Hb の変性および Met 化の原因となる。

以上の諸点に鑑み、今回の研究においては、1) A<sub>2</sub> 単離は低温下 CO Hb についてアルカリ側 pH でおこない、2) 混入非ヘム蛋白は A<sub>2</sub> 画分の再クロマトで除去<sup>1)</sup>、3) 酸素平衡測定は比較的低温下でおこなう、等の注意を払った。

その結果、もちいた A<sub>2</sub> 標品は泳動法、クロマト法何れの場合にも純度 99% 以上、非ヘム蛋白の混在は皆無、Met 化は酸素平衡実験終了時においても平均 2% 以下という良好な条件下に実験をおこなうことができた。このようにしてえた酸素平衡実験の結果から Fig. 5, 6, 8 に示すごとく、各 pH において A<sub>2</sub> の方が A<sub>1</sub> よりも酸素親和性の大きいことを認めた。そしてこの傾向は、A<sub>2</sub> の単離操作の差 (すなわち DEAE-セルローズ・カラムクロマト法、デンブブロック電気泳動法) によって異なることが判明した。Bohr 効果については特記すべき点はなく、単離 A<sub>1</sub> においてみられたと定性的にも定量的 (pH 7 から pH 8 の間で  $\Delta \log p_{50}$ /

$\Delta \text{pH} = -0.73$ ) にも差異のない Bohr 効果が A<sub>2</sub> の場合にも存在することがわかった。この点は Thompson et al.<sup>2)</sup> のデータともよく一致している。

ヘム間相互作用、すなわち、n 値については興味ある現象が観察された。Fig. 5, 8 に示すごとく、A<sub>1</sub> では pH 5.6 から pH 8.8 までの全範囲において、pH と関係なく平均 n=2.8 の値を取っているのに対して、A<sub>2</sub> の方は大体 pH 7.5 以上において n 値の低下する傾向 (1.9~2.0) がみられた。この結果をこれまでの諸家の結果<sup>2)3)4)5)6)7)</sup>と比較して、もっとも興味あるのは、今回 pH に依存して n 値が変化し、かつ当該変化が可逆的なものであることを見出した点にある。

ヒトならびに一般哺乳類 Hb については、酸素解離曲線の中央部分の形—換言すれば今回の実験において求められたような Hill 式の n 値は pH と関係なく不変である、というのが通説となっている。ただ、極端な高—低酸化化域での曲線の形には pH 依存性があるという報告があり<sup>18)</sup>、また古く Altschul and Hogness<sup>19)</sup> は脱イオン水に対し透析後、水酸化アルミニウム・ゲルで処理したヒト Hb について、n 値の pH 依存性 (pH=6.3' で n=2.6; pH=8.6 で n=1.3) を見出しているが、くわしい検討はなされていない。他方ある種の二等動物の Hb については、n 値が pH 変化に依存して変化することを明白に示す報告もあり<sup>20)21)</sup>、先に述べた通説が必ずしも普遍妥当なものではないと考えられる。特に今回の結果と関連して注目されるのは、Riggs and Wolbach 有機 Hg 試薬 mersalyl で処理したウマ Hb についてえた成績である<sup>22)</sup>。この場合の mersalyl は、恐らく Hb の cysteine 残基 (SH) に結合しているものと考えられる。彼らによると、当該処理 Hb の n 値は pH の増大と共に次第に減少し、中性付近で 3 前後であったものが pH 9 付近では 1 前後にまで低下するという。今回えた n 値の pH 変化に伴う推移は、程度こそ軽いが全体として彼らの場合のそれに酷似している。この事実を解釈す

るのに、Hb の正常な酸素平衡機能の発現には SH 基の健存が必須であるとの立場<sup>22)</sup>をとることも勿論可能であるが、さらに広く Hb の蛋白構造を化学的に修飾することにより、上記のような異常現象が出現したものと考えるのがむしろ妥当であると思われる。ところで、Hb A<sub>2</sub> には Hb A<sub>1</sub> に比べてかなりなアミノ酸置換があり<sup>23)</sup>、いまアミノ酸置換を以て一種の化学的修飾であると考えれば、今回観察された事実を上記のような立場から理解することができる。しかし、多年にわたる多数の研究にもかかわらず Hb におけるヘム間相互作用の物質的基礎については未だ何ら確定的な知見がえられていない現状である。

ただ、Hb の蛋白構造、なかんずく高次構造との間に密接な関係のあることは確かなように思われる。しかしながら、pH の変化に伴う如何なる蛋白構造変化が上記ヘム間相互作用の可逆的 pH 依存性の基礎をなすかについては全く不明といわねばならない。

## V. 総 括

デンプンブロック電気泳動法および DEAE-セルローズをもちいるカラムクロマト法により単離した Hb A<sub>2</sub> について、その酸素平衡機能を Hb A<sub>1</sub> のそれと比較した。

1. Hb A<sub>2</sub> の純度は平均99%以上、Met Hb 形成(実験終了後)は平均2%であった。

2. Hb A<sub>2</sub> の単離方法の違いにより、その酸素平衡機能に差異は生じない。

3. Hb A<sub>2</sub> は Hb A<sub>1</sub> に比し軽度ながら明らかに強い酸素親和性を示す。Bohr 効果については、定性的にも定量的にも Hb A<sub>1</sub> との間に何ら差異を認めない。

4. Hb A<sub>2</sub> のヘム間相互作用には、明白な pH 依存性変化を認め、かつ当該変化は全く可逆的である。

終りに御指導ならびに御校閲いただきました榎泰義教授および富田晋助教授に深く感謝の意を表します。また種々御指導いただきました中馬一郎教授(大阪大学第1生理学教室)に感謝いたします。

## 文 献

- 1) 三田道雄(1968)ヘモグロビン A<sub>2</sub> に関する研究. I. ヘモグロビン A<sub>2</sub> の物理化学的特性 日本生理誌 **30**, 337-352
- 2) Thompson, R. B., Warrington, R. L. and Warren, N. B. (1965) Physiologic differences in hemoglobin variants. *Am. J. Physiol.* **208**, 198-202
- 3) Meyering, C. A., Israels, A. L. M., Sebens, T. and Huisman, T. H. J. (1960) Studies on the heterogeneity of hemoglobin. II. The heterogeneity of different human hemoglobin types in carboxy-methyl cellulose and in Amberlite IRC-50 chromatography: Quantitative aspects. *Clin. Chim. Acta* **5**, 208-222
- 4) Eddison, G. G., Briehl, R. W. and Ranney, H. M. (1964) Oxygen equilibria of hemoglobin A<sub>2</sub> and hemoglobin Lepore. *J. Clin. Invest.* **43**, 2323-2331
- 5) Huisman, T. H. J., Dozy, A. M., Nechtman, C. and Thompson, R. B. (1962) Oxygen equilibrium of haemoglobin A and its variant haemoglobin A<sub>2</sub> (or B<sub>2</sub>). *Nature* **195**, 1109-1110
- 6) Rossi-Fanelli, A., Antonini, E., Benerecetti, A. S. and De Marco, C. (1960) Equilibrio con l'ossigeno della emoglobina umana normale A<sub>1</sub> ed A<sub>2</sub>. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.* **36**, 2025-2027
- 7) Huisman, T. H. J., Still, J. and Nechtman, C. M. (1963) The oxygen equilibria of some "slow-moving" human hemoglobin types. *Biochim. Biophys. Acta* **74**, 69-74
- 8) Hill, A. V. (1910) The possible effects of the aggregation of the molecules of haemoglobin on its dissociation curves. *J. Physiol.* **40**, 4 p
- 9) Drabkin, D. L. (1946) Spectrophotometric studies. XIV. The crystallographic and optical properties of the hemoglobin of man in comparison with those of other species. *J. Biol. Chem.* **164**, 703-723
- 10) Kunkel, H. G. and Slater, R. J. (1952) Zone electrophoresis in a starch supporting medium. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **80**, 42-44
- 11) Chernoff, A. I. (1964) A method for the quantitative determination of Hgb A<sub>2</sub>. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **119**, 557-560
- 12) Huisman, T. H. J. and Dozy, A. M. (1961) Quantitative determination of the minor hemoglobin component Hb-A<sub>2</sub> by DEAE-cellulose chromatography. *Anal. Biochem.* **3**, 400-403
- 13) 榎 泰義(1959)ヘモグロビン酸素平衡におよぼす塩類効果について 奈良医誌 **10**, 345-355
- 14) Tomita, S., Enoki, Y., Santa, M., Yoshida, H. and Yasumitsu, Y. (1968) A simple spectrophotometric method for determination of Met-hemoglobin in dilute solution. *J. Nara Med. Associ.*

- 19, 1-6
- 15) 榎 泰義 (1959) 白鼠の全血酸素解離曲線とこれにおよぼす高度低圧の影響について 日本生理誌 **21**, 1013-1024
- 16) Darling, R. C. and Roughton, F. J. W. (1942) The effect of methemoglobin on the equilibrium between oxygen and hemoglobin. *Am. J. Physiol.* **137**, 56-68
- 17) 徳井 宏 (1966) 部分酸化ヘモグロビンの酸素平衡について 日本生理誌 **28**, 629-642
- 18) Roughton, F. J. W., Otis, A. B. and Lyster, R. L. J. (1955) Determination of the individual equilibrium constants of the four intermediate reactions between oxygen and sheep hemoglobin. *Proc. Roy. Soc. B* **144**, 29-54
- 19) Altschul, A. M. and Hogness, T. R. (1939) The hemoglobin-oxygen equilibrium. *J. Biol. Chem.* **129**, 315-331
- 20) Rossi-Fanelli, A. and Antonini, E. (1960) Oxygen equilibrium of haemoglobin from *Thunnus thynnus*. *Nature* **186**, 895-896
- 21) Sullivan, B. and Riggs, A. (1967) Structure, function and evolution of Turtle hemoglobins. III. Oxygenation properties. *Comp. Biochem. Physiol.* **23**, 459-474
- 22) Riggs, A. F. and Wolbach, R. A. (1955) Sulfhydryl groups and structure of hemoglobin. *J. Gen. Physiol.* **39**, 585-605
- 23) Hill, R. J. and Kraus, A. P. (1963) Studies on the amino acid sequence of Hb A<sub>2</sub>. *Fed. Proc.* **22**, 597



〔原著〕

ラットの気候馴化におよぼす食質の影響に

関する研究\*\* 612.39 : 599.323 : 613.11

伊藤 洋子・国嶋 郁夫・片山 吉穂・  
井上 太郎・吉村 寿人\*

**Studies on effects of dietary composition on acclimation to heat and cold with rats**

Yoko Ito, Ikuo Kunishima, Yoshio Katayama, Taro Inoue and Hisato Yoshimura (*First Department of Physiology, Kyoto Prefectural University of Medicine*)

1. The resting metabolism of rats acclimated to heat is lower than that acclimated to standard temperature, while the metabolism is higher in cold acclimated ones. Effect of dietary composition upon resting metabolism is not clear except that of cold acclimated group fed fat diet which present the highest level among others.

2. The injection of vasopressin suppresses the resting  $O_2$  consumption. The suppression is the most remarkable in the fat diet group which are acclimated to cold as well as standard temperature, but not found in heat acclimated normal rats.

On the other hand, it is demonstrated in warm acclimated hypophysectomized rats, especially in fat diet group.

3. The resting metabolism of rats is enhanced by injection of adrenaline (probably by norepinephrine effect). The enhancement is more remarkable in cold acclimated rats than in the other groups. Fat diet group acclimated to cold is the most sensitive to adrenaline.

4. Release of NEFA from epididymal fat tissue in Gordon's medium incubated at  $37^\circ C$  for four hours was measured and it was found that the release is more remarkable with the tissue from cold acclimated rats than from warm acclimated.

5. These results suggest that lipid metabolism plays an important rôle in acclimation to heat and cold. Effect of vasopressin and adrenaline injection upon resting metabolism of rats acclimated to heat and cold is proved to be explicable by the possible rôle of the hormones in lipid metabolism. Thus vasopressin and adrenaline plays an important rôle in acclimation to heat and cold respectively. [J. Physiol. Soc. Japan (1968) 30, 815-830]

1. 緒 論

従来より人体における基礎代謝量は日本人においては冬高く夏低い季節変動を示すと報告されている<sup>1)2)3)4)</sup>。一方欧米人についてはこのような季節変動をみとめないとする報告が多い<sup>5)</sup>。このような日本人と欧米人との差異はおそらく冷暖房の発達によるものと考えられていた。しかしながら、最近教室の吉村(学)ら<sup>6)</sup>が行なった研究によって基礎代謝の季節変

動には気温以外に栄養状態、体格、労働条件などがかなり影響している事が判明した。すなわち日本に数年間在住し、しかも冷暖房の不完全な日本家屋に起居するカナダ人のカソリック修道士について基礎代謝を1年間にわたって測定してみると、予想に反して季節変動を示さない事が判明した。この際対照群である日本人の被検者との間には体格や摂取食質の点で大きな差異をみとめた。すなわちカナダ人の被検者の体格は日本人の被検者より大きい。またカナダ人の被検者は高脂肪食をとっており、日本人の被検者では高糖質食を摂取していた。

ここで基礎代謝の季節変動の差の原因として最も重要な要因として考えられることはその食質の差である。このことは吉村(学)らの成績に

\* 京都府立医科大学第1生理学教室  
〔昭和43年5月9日受付〕

\*\*本論文を協同研究者の一人であった故国嶋郁夫学兄(昭和40年9月1日病死)の霊前に捧げその御冥福をお祈りします。

もすでに指摘せられているが、併し未だこれに対する決定的な根拠がえられていない。そこで食質の差が気候馴化に対して如何なる影響をもつかをその安静時酸素消費量や adrenaline, vasopressin に対する反応より判定せんとした。低温馴化に際してはラットは noradrenalin に対する感受性の高がまる事が明かになっている<sup>7)</sup>。また vasopressin に対する感受性が高温馴化と低温馴化により差があるかないかは未だ研究せられた事はないが、伊藤<sup>8)9)</sup>は vasopressin が高温曝露に際してその分泌の亢進する事を明かにし、且これが O<sub>2</sub> 消費量を低下させる作用のある事を明らかにした。しかもその作用は甲状腺機能に対する拮抗作用による事を明かにしている<sup>10)</sup>。甲状腺は気候馴化に大きい役割を果す事は衆知の事であるから<sup>11)</sup>、vasopressin もこれに関与する事は推定に難くなく、少なくとも体液性状の夏期馴化に大きい役割をもつ事は吉村等<sup>11)</sup>の研究に明かである。したがってそうした高温馴化に影響をもつ可能性を考えた上で vasopressin の O<sub>2</sub> 消費低下作用を検討する事にしたのである。

## II. 実験方法

上記のように本研究の本来の目的は人体における基礎代謝量の季節変動の要因を解析するための基礎実験として行なわれたものであるが、今回の報告では実験条件の設定しやすいラットを実験材料とした。すなわちラットを使用すれば食質の極端に異った食餌で飼育したり、同一時期に高温馴化群と低温馴化群(後述)のラットについてそれぞれその代謝量が測定できる利点がある。さらに代謝量測定後にはラットからその組織を取り出してその中に含まれる脂肪組織中の遊離脂肪酸の含有量を測定しうるなどの利点もある。

実験には体重 200~300 g の Wistar 系の雄のラットを用いた。後に詳述するように食質の異った4種類の食餌(標準食, 糖質食, 蛋白質食ならびに脂肪食)を用意し、そのそれぞれの食質群には5~10匹のラットを1群として用いた(実際は各群とも10匹ずつの飼育を行なったのであるが、途中で死亡するものができたので5匹位に減じた)。一方飼育温度もそれぞれ常温

Table 1. Composition of food

Diet		Standard	Fat	Carbohydrate	Protein
Protein	{ Cal	14	10	14	50
	{ g %	19	18	15	53
Carbohydrate	{ Cal	39	10	77	39
	{ g %	53	18	81	42
Fat	{ Cal	47	80	9	11
	{ g %	28	64	4	5
Multi-vitamine 1 g/100 g food.		McCollum salt 2 g/100 g food			

Table 2. Dietary constituent

	Standard	Fat	Carbohydrate	Protein
Flour	130 g	33 g	260 g	139 g
Casein	24	22	13	114
Lard	40	81	0	0
Cod-liver oil	11	8	6	10
McCollum salt	5	3	6	6
Panvitan	0.8	0.6	1.2	1.1
Total Cal.	1005	1003	999	1002

( $20 \pm 3^\circ\text{C}$ , 室温), 低温 ( $1 \sim 5^\circ\text{C}$ ) および高温 ( $30 \pm 1^\circ\text{C}$ ) の3種類に分け, それぞれ上記の4種類の食質で飼育したものを3種の気温下にて約3週間以上飼育した。したがって都合12群の実験群ができたわけである。また3週間の飼育期間を用いたのは気温馴化のための最小期間である事が従来の研究により明かになっているからである。以下測定項目やその方法を項目別に具体的にのべる。

#### A. 投与食餌の食質ならびにラットの馴化について

各群5~10匹のラットを表1に示すような4種の食質の異った飼料, すなわち標準食, 糖質食, 蛋白質食ならびに脂肪食で飼育した。表1には二大栄養素の比率が Cal % と g % の両者で示されている。なほ vitamine は総合ビタミンを添加し, 塩分はマツカラム塩を食餌 100 g 当り 2 g 添加してビタミンや塩分の不足による栄養失調を防止した。

このような組成の食餌を調整するために用いた食品とその量を例示すると表2のとおりである。この表に示したのは 1,000 Cal の熱量に必要な食餌組成であって, 脂肪食では主にラードを使い, 蛋白質食には主としてカゼインと小麦粉を用いた。

以上のような食質の食餌 (殊に脂肪食) にはラットはすぐに慣れないが, 長くても1週間もすればよく食べるようになり, 体重も多くの場合少しずつ増加する。食餌の投与量はラット5匹あたり (普通 1 cage に5匹入れている) 100~150 g であって, 毎日新しく投与し, もし食べ残しがあればこれは除去する。また飲用水は制限することなく自由に飲ませた。

以上のような4種類の食餌でラットを飼育して一応食餌に慣れた事を確めた後にこれらを常温 ( $20 \pm 3^\circ\text{C}$ , 室温), 低温 ( $1 \sim 5^\circ\text{C}$ ) および高温 ( $30 \pm 1^\circ\text{C}$ ) の3群に分けて飼育し, その気温に馴化させた。ラットの飼育は比較的容易ではあるが, 温度の調節や換気は勿論のこと飼育室を清潔にするように注意しなければならぬ。また, 非常に大切なことは昼間には蛍光灯を点燈

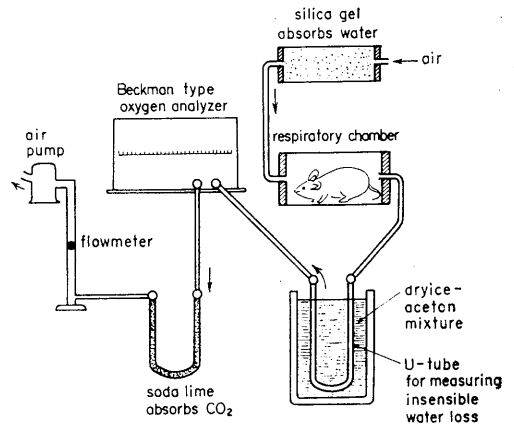


Fig. 1. Schematic representation of experimental procedure for determination of  $\text{O}_2$  consumption and  $\text{CO}_2$  output from rat.

することによってラットが紫外線不足におち入る事を防止することが必要である。ただし夜間は消燈した。

#### B. 代謝量の測定法

図1には実験に用いた代謝量測定装置の概略を示した<sup>12)</sup>。代謝量測定の原理はラットを入れた respiratory chamber (代謝測定用チャンバー) の一側から一定速度で空気 (吸気) を取り入れ, その他端からラットの呼気を含んだ空気 (便宜上呼気と呼ぶ) を取り出して, その酸素含有濃度を  $\text{O}_2$  分析計で測定して吸気と呼気の  $\text{O}_2$  の濃度の差に通気量を乗じて  $\text{O}_2$  消費量を求める。一方  $\text{CO}_2$  の産生量は呼気の  $\text{CO}_2$  を soda lime に吸収させてその重量変化を秤量して算出する。

実際の測定に際してはダグラスバッグに一定量の新鮮な空気を取り, これを小型のポンプを用いてラットの入った respiratory chamberに通気させる。ダグラスバッグを出た空気は silica gel 中をとおって乾燥されて respiratory chamber に入る。この chamber はプラスチック製の円筒 (直径 7 cm, 長さ 20 cm) で丁度ラット1匹が入る大きさである。この chamber を出た空気にはラットの呼気を含むのでその  $\text{O}_2$  % は吸気よりも低く,  $\text{CO}_2$  % は逆に高くなっていることは勿論である。なお呼気に含ま

れる水分は acetone dry-ice の混合液 ( $-50 \sim -70^{\circ}\text{C}$ ) の中に浸したU字型ガラス管の中で凍結して、呼気は乾燥状態になって oxygen analyzer (Beckman C型) に入る。この  $\text{O}_2$  分析計で呼気の  $\text{O}_2\%$  が測定され、つづいて soda-lime を入れたU字管の中で呼気の  $\text{CO}_2$  が吸収される。このようにして  $\text{O}_2$  と  $\text{CO}_2$  の分析の完了した呼気は flow meter に導かれる。この flow meter は通気量が一定に保たれているか否かを check するためのものであって、代謝量を正確に測定する際に欠く事のできないものである。この flow meter は麻酔用の flow meter の原理を利用して作製したものである。その外套はガラス製で、フロートはかるいアルミニウムでできている。その流量は予め検定しておく必要がある。著者らの用いた通気量は  $196 \pm 6 \text{ ml}$  であった。以上のようにダグラスバッグに入った空気を測定装置の system 中に通気するためには図のように小型の熱帯魚飼育用ポンプに若干の加工を加えて用いた。著者らの用いた方法では空気の動きはダグラスバッグの方から respiratory chamber や oxygen analyzer を介して小型ポンプの方へと通気されている。

通気量の調節はこの小型ポンプを駆動する電圧を適当なスライダックによって調節し、flow meter の目盛が一定になるように加減するのである。なお電源とスライダックとの間に市販の鉄共振型スタビライザーを挿入すれば小型ポンプの通気量は非常に安定する。

以上のようにして  $\text{O}_2$  消費量は  $\text{O}_2$  analyzer で測定された吸気中と呼気中との  $\text{O}_2 \text{ vol}\%$  の差に通気量 (標準状態) を乗じて求め、一方  $\text{CO}_2$  の産生量は soda lime の重量増加から算出できることはすでにのべた。実験成績の図表にはそれぞれの群の成績を平均値としてかかげた。

ラットの代謝量を測定する際に実際に注意すべき点をあげてみると次の如くである。すなわち、 $\text{O}_2$  消費測定前12時間は絶食させることは勿論であるが、水は自由に与えておく。またラットは夜間になると動きまわる習性をもってい

るから、安静時の代謝を測定するには昼間をえらび、しかも一定の人工光線下で、なるべく騒音をさけて測定しなければならない。なおわれわれの実験では安静時の代謝量を測定して各群の値を比較しようとするのであるから約1時間にわたる測定中にラットが動きまわるような場合にはその測定値は採用せずやり直すことにした。またラットが respiratory chamber に十分に馴れるように約1時間前より chamber に入れておくがよい。なお餌の投与や cage の掃除などはすべて実験者自身が行なってラットと測定者とがお互によく馴れることが実験の成否を左右することを忘れてはならない。なお以上の諸種の群の何れの代謝量を測定する場合でも測定室の温度は一定 ( $24 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ) に保って行ない、測定室の温度の変動による代謝量の変化を来す事のないようにした。

Adrenaline や vasopressin を注射してそれらが代謝にどのように影響するかを検討する場合には、あらかじめその対照実験として1% NaCl を筋注して、先にのべた代謝量測定装置によって注射後1時間にわたってその  $\text{O}_2$  消費量と  $\text{CO}_2$  産生量とを測定しておいてこれを対照実験とした。そしてそれに引続いて同じラットに  $20 \mu\text{g}/100 \text{ g}$  体重の adrenaline (塩化アドレナリン、三共製、これは市販品であって若干量の noradrenaline を含んでいる) あるいは  $40 \sim 100 \text{ mU}/100 \text{ g}$  体重の lysine-vasopressin (合成 lysine-vasopressin, スイス Sandoz 社製) を筋注し、再び1時間にわたってその代謝量を測定した。

以上の vasopressin 投与実験は高温および低温に馴化させた群について行なって比較したが、一方 adrenaline の負荷実験は高温馴化群が実験の途中で死亡したためやむなく常温馴化群と低温馴化群のみについて行なって、比較検討した。

### C. 組織の遊離脂肪酸量 (NEFA) の測定

代謝量の測定をおわったラットから麻酔下で副睾丸の白色脂肪組織を手早く剔出してその NEFA 値を求めた。それには剔出した脂肪組

織を Ringer-phosphate (pH 7.3~7.4) で血液を十分に洗い去り, その湿重量を測定した後直ちに Gordon<sup>13)</sup> の方法によつて一定条件下に incubate し, しかる後に Dole<sup>14)</sup> の方法にしたがって NEFA を定量する. ここに Gordon の incubation 法というのは, 剔出洗滌した脂肪組織を Krebs-Ringer phosphate 液 (pH 7.3~7.4) 中にて 37°C で 4 時間 incubate するのであるが, この場合に 5% の割合に bovine serum albumin (Fraction

V) を添加しておく. このようにして incubate すると組織中の NEFA (non-esterified fatty acid; free fatty acid, FFA と呼ぶ) は medium 中に遊出する. かくして medium 中に脂肪組織を投入した直後の medium 中の NEFA 値と incubation 後の medium 中の NEFA 値とを測定して net に遊離して来た NEFA 値を求める. この NEFA の定量は Dole の方法によつた. その測定法の原理は脂肪酸の酸根を NaOH で滴定する中和反応であつて, 著者らはこの NaOH としては 1/1000 N 溶液を用いることにした. なおこの滴定液を検定するために組織の NEFA 測定前後に必ず標準パルミチン酸液についてその標準滴定曲線を求めることにした. それはこの反応の end point が比較的不明瞭であるので, 標準液滴定時の end point を組織の NEFA 測定の際の目安にするためである.

なお NEFA の測定実験に際しては高温および低温に馴化させたラットの脂肪組織をとり出して incubate する際にその medium 中に adrenaline を添加して (0.1  $\mu$ g/ml medium) 実験した場合もあるが, これは脂肪の燃焼が adrenaline によってどの程度まで促進されるかを in vitro で検討したものである.

### III. 実験成績

実験成績を次の順序にしたがつてのべること

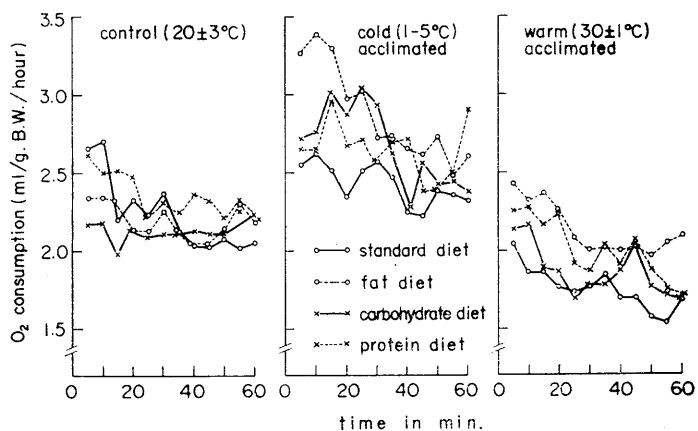


Fig. 2. The oxygen consumption of resting rats which have been acclimated to a certain temperature.

にする. その項目は,

A. 低温および高温馴化ラットの安静時  $O_2$  消費量の測定成績, B. adrenaline ならびに vasopressin 投与の  $O_2$  消費量におよぼす影響, C. ラットの脂肪組織内の遊離脂肪酸の測定値の3つである.

A. 低温および高温馴化ラットの安静時  $O_2$  消費量

すでに方法の項で述べたように  $O_2$  消費の測定に先立ってラットを respiratory chamber に約1時間入れてよく馴らしておく.  $O_2$  消費量は5分間隔で1時間にわたって測定した.

図2に示した成績は4種類の食質で飼育したラット (各食質群4~8匹) について測定した平均値である (測定時間毎に区切って各群ラットの値を平均した). なお図の成績のはじめ10~20分間はいずれの例でも  $O_2$  消費量が上昇している. これは次項でのべる adrenaline や vasopressin 投与実験のための対照とするために  $O_2$  消費測定開始時に生理的食塩水を筋注したためにラットが若干動いたための影響である.

先ず最初に常温 (20±3°C) で3~4週間飼育したラットの  $O_2$  消費量を求めた. ついでこれを低温馴化 (1~5°C) のグループと高温馴化 (30±1°C) のグループとに2大別して, それぞれ3~4週間以上寒暑に馴化させてからまた

O<sub>2</sub> 消費量の測定を行なった。

図より明らかなように常温ではその O<sub>2</sub> 消費量は平均 2.1~2.3 ml/g/hour であって, Schmidt-Nielsen 教授ら<sup>15)</sup> の値 1.94 ml (24±1°C で飼育, 測定) や井上<sup>16)</sup> の求めた値 2.0~2.2 ml (24±1°C で飼育, 測定) とよく一致している。なお常温で飼育した場合には食質による差異は殊んどみとめられず, ただ蛋白食の場合に僅かに O<sub>2</sub> 消費量が多い傾向を示している。

次に低温馴化群についてみると, 食質によって若干の差はあるが, いずれもその O<sub>2</sub> 消費量は常温飼育群よりも増加している。これは丁度人体において冬期には夏期よりもその基礎代謝量が10~15%上昇する事実とよく符合している。

次に高温馴化群では常温群に比してその O<sub>2</sub> 消費量はいずれの食質においても低下している。ただ脂肪食群は他の食質群よりもその O<sub>2</sub>

消費量の低下が軽度である。

これらの成績は単に図上よりながめた定性的な観察に過ぎないので, 図の O<sub>2</sub> 消費量の曲線において, その値がほぼ恒定した時期 (30分以後) の値を各ラット毎に平均して表3をつくった。表の control は常温飼育, cold は低温, warm は高温飼育を示し, standard, C. H., Pr, F. はそれぞれ標準食, 糖質食, 脂肪食群を示す。また S. D. は標準偏差を N は匹数を示す。表に示されたように各種の馴化気温の内での各食餌群の間には有意の差を示さない。併し食餌の種類を問わずに各馴化気温群別の平均値の差を求めると有意の差があり, 低温馴化群は他の気温群よりも最も安静 O<sub>2</sub> 消費量が高く, 高温馴化群は最も O<sub>2</sub> 消費量が低い。この点については人体実験に際して冬期に暑熱馴化実験を行なってみると基礎代謝量が下降するという大柴<sup>17)18)</sup> の成績ともよく一致している。

Table 3. Resting O<sub>2</sub> consumption of 12 groups of rats

(A) Mean value of O<sub>2</sub> consumption (ml/g. B. W./hour)

Diet	Control		Cold		Warm	
	Mean±S.D.	N	Mean±S.D.	N	Mean±S.D.	N
Standard	2.10±0.41	6	2.36±0.42	5	1.69±0.25	5
Carbohydrate	2.15±0.35	8	2.51±0.31	5	1.81±0.29	6
Protein	2.28±0.21	8	2.25±0.42	4	1.89±0.31	8
Fat	2.15±0.27	7	2.65±0.30	5	2.20±0.34	7
Mean	2.17±0.31	29	2.44±0.36	19	1.85±0.30	26
	Non significant among various dietary groups		Ditto		Ditto	

Significant difference between Control and Cold groups at 1% level.

Significant difference between Control and Warm groups at 1% level.

(B) Difference between different temperature groups which were fed one and the some kind of diet

Diet	Cold-Control	Control-Warm	Cold-Warm
Standard	0.26 ml/g/h	0.41	0.67*
Carbohydrate	0.36	0.34	0.67*
Protein	-0.03	0.39*	0.36
Fat	0.50*	0.13	0.63*

\* Significant at 1% level.

また各種食餌群の中で馴化気温別の差を求めて見ると高温群と低温群の差に有意差のあるものが多く、この差は脂肪食、標準食、糖質食共に同様であるが蛋白食群のみ有意差がない。しかし高温群と常温群の差においては蛋白食群が最も差があり、かつ統計的にも有意である。一方低温群と常温群を比較すると脂肪食群が最も差があり且統計的にも有意でもある。

以上の成績より明らかなように食質の極端に異った餌をラットに投与した場合、ラットの安静時の  $O_2$  消費量に若干の影響をおよぼすが、 $O_2$  消費量を大きく変動させる因子はやはり気温の変動である。食質の影響については強いていえば高脂肪食群は寒冷馴化に際する代謝上昇が著明である。

B. Adrenaline ならびに vasopressin 投与の  $O_2$  消費量におよぼす影響

1. Adrenaline 投与実験

あらかじめ1時間にわたって対照実験を行なっていたラットに adrenaline を  $20 \mu\text{g}/100 \text{g B. W.}$  の割合に筋注し、 $O_2$  消費量がどの程度に上昇するかを検討した。この場合の対照実験には adrenaline の代りに同量の生理的食塩水を筋注した、また adrenaline 投与実験の前にはそのラットの  $O_2$  消費量を測定し、予め測定した対照実験の  $O_2$  消費量のレベルにはほぼ等しい事をたしかめてから adrenaline を投与した。

図3には常温に馴化させたラットについて行なった adrenaline 投与実験の成績を示した。図の曲線は各食餌群のネズミの測定値を各時間

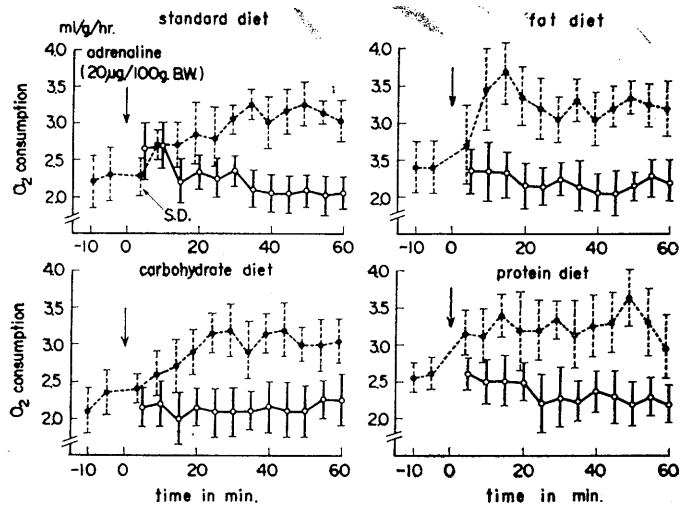


Fig. 3. Effect of adrenaline injection on the oxygen consumption of rats (Standard temperature group).

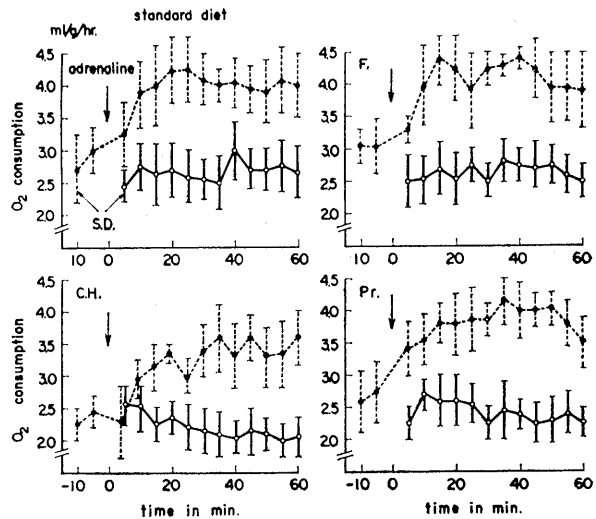


Fig. 4. Effect of adrenaline injection on the oxygen consumption of rats (Cold acclimated group).

毎に平均して求めたものであって、そのそれぞれの測定値の変動巾は標準偏差として示してある。図より明らかなように adrenaline を投与するといずれの食質群においても  $O_2$  消費量は著明に上昇し、その増加率はいずれも40%前後を示している。さらにくわしくみると、標準食群と糖質食群とでは  $O_2$  消費量の上昇は adrenaline 注射後徐々に上昇して約30分後にな

ってその最高値に達している。また脂肪食群および蛋白質食群の adrenaline に対する反応は速かであり、且つ他の食質群のそれに比して  $O_2$  消費量の上昇度がやや高い傾向がある。Adrenaline 投与の  $O_2$  消費量におよぼす影響がどの程度の時間持続するかについては測定していないが、少なくとも1時間以上はほぼその最高値を持続している事は図より明かである。

次に低温馴化群（各食質とも5匹ずつ）に上記と同様の adrenaline test を行なった成績を図4に示した。この実験に用いたラットは図2に示した低温馴化群とは別のラット群である。Adrenaline 注射によって  $O_2$  消費量が上昇することは上記の常温群の場合と同様であるが、その最高値のレベルは常温群のそれよりも高いことが特色である。つまり寒冷に馴化したラットでは adrenaline に敏感になり代謝機能亢進に adrenaline が関与していることが推論せられる。

なおこれら図3と図4の成績より明かなように adrenaline の効果は脂肪食  $\geq$  蛋白質食  $\geq$  標準食および糖質食の順に強くあらわれる事に注目したい。ことに低温馴化ラットの脂肪食群において adrenaline が  $O_2$  消費量の増加を強く起す点については次項の NEFA の成績をのべる際にもくわしくのべることにする。

以上の adrenaline 投与実験の成績をまとめ

たのが表4である。表には adrenaline 投与前の対照値と投与後の値（それぞれ反応が落ち着いてから以後の値の平均値）を示し、アドレナリン投与によって  $O_2$  消費量が対照値よりもどれ程増加したかまたその増加率はどれほどになるかをも表示した。ここに示したように常温群ではその  $O_2$  消費の増加率は何れも約40%の上昇を示している。一方低温馴化群では  $O_2$  消費量の絶対値自体も常温群のそれよりも高く、さらに  $O_2$  消費の増加率はいずれの食質においても常温群よりも高値を示し、51~63%の上昇を示している。さらに食質によって adrenaline 投与による影響はそれ程著明な差異を示さず高糖質食群がやや低い程度であった。

要するに adrenaline 投与に対する代謝亢進の反応は常温馴化群よりも低温馴化群に著明に現れ且この反応は高脂肪食群において迅速に現われる傾向があり、一方糖質食群はやや反応が弱い傾向があった。

## 2. Vasopressin 投与実験

伊藤教授ら<sup>9)</sup>は vasopressin 投与によってラットの  $O_2$  消費の低下することおよびこれは vasopressin によって脂肪の利用が抑制されるためであると推論している。

そこで著者らは各食質群のラット（3週間以上それぞれの食餌により飼いならしてある）に vasopressin を投与してその  $O_2$  消費量の低下が

Table 4. Effect of adrenaline injection on the oxygen consumption of rats fed with various kinds of diet

Diet	No. of rats	Body weight (g)	Mean $O_2$ consumption ( $O_2$ ml/g. B. W./hour)		A-C C	%
			Control (C)	Adrenaline injected (A)		
Control temperature	Standard	10	298 $\pm$ 4.8	2.20 $\pm$ 0.213	3.11 $\pm$ 0.354	0.91* (41)
	Fat	7	284 $\pm$ 9.2	2.29 $\pm$ 0.352	3.20 $\pm$ 0.597	0.91* (40)
	Carbohydrate	10	250 $\pm$ 11.8	2.11 $\pm$ 0.180	3.07 $\pm$ 0.340	0.96* (46)
	Protein	5	260 $\pm$ 10.9	2.33 $\pm$ 0.187	3.27 $\pm$ 0.537	0.94** (40)
Cold acclimatization	Standard	5	235 $\pm$ 8.7	2.65 $\pm$ 0.113	4.10 $\pm$ 0.411	1.45* (51)
	Fat	5	252 $\pm$ 11.1	2.57 $\pm$ 0.098	4.11 $\pm$ 0.347	1.54* (60)
	Carbohydrate	5	255 $\pm$ 12.6	2.20 $\pm$ 0.113	3.45 $\pm$ 0.458	1.25* (57)
	Protein	5	220 $\pm$ 29.1	2.38 $\pm$ 0.063	3.89 $\pm$ 0.366	1.51* (63)

\* Significant at 1% level. \*\*Significant at 5% level.

食質によって異なるか否かを検討した。さらに血中 ADH レベルの高いといわれる高温馴化ラットとそのレベルの低い低温馴化ラットとで exogenous に投与された vasopressin に対する O<sub>2</sub> 消費量の低下の異同を検討した。

図5には vasopressin を常温群ラットに筋注して (40 mU/100 g B. W.) O<sub>2</sub> 消費量を測定した成績をかかげた。この場合上記の adrenaline 投与実験の場合と同様に同一ラットについてあらかじめ対照実験 (食塩水注射) を行なっておく事は勿論のことである。また図の曲線は各群ラットの時間毎の平均値であるが、その標準偏差を縦線の巾にて示した。ゆえにこの縦線が相重なったり接近したものは有意差はなく、2倍以上のひらきがあって始めて有意差があるといえる。この図より明らかなように O<sub>2</sub> 消費抑制作用は脂肪食群でもっとも著明にあらわれる。しかし他の食質群でも若干は効果はあるが著明

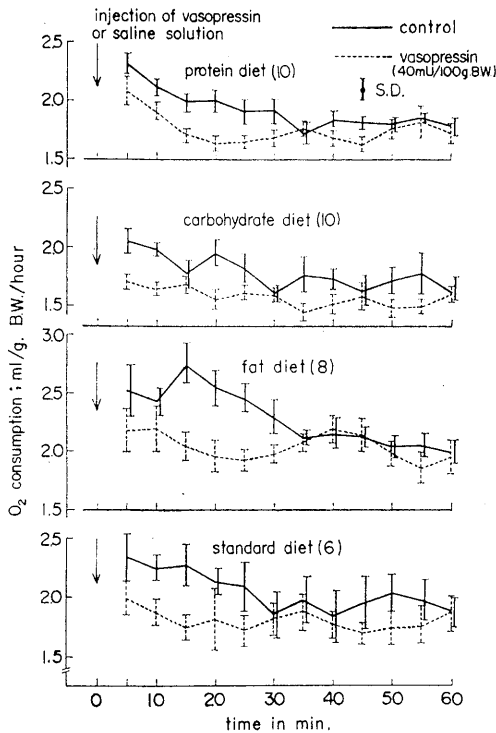


Fig. 5. Effect of lysin-vasopressin on the oxygen consumption of rats (Standard temperature group). (Number in parenthesis represents the number of rats in respective group).

ではない。

なお図より明かなように vasopressin 投与の場合には adrenaline 投与の場合とは異り、速効性ではあるが、持続性は極めて短いことに注目したい。

次に低温馴化群について上記と同様の実験を行なってみると、図6に示すようにこの場合にもやはり脂肪食群において著明な O<sub>2</sub> 消費の低下が起こる。その他の食質群では糖質群の場合に多少 O<sub>2</sub> 消費が低下する傾向を示すにすぎない。

ところが高温馴化のラットでは vasopressin の O<sub>2</sub> 消費の抑制効果が全くみとめられなかった。その理由はすでに伊藤<sup>8)</sup>によって明かにせられたように高温馴化ラットでは内因性の ADH レベルが高くなっている。したがってここへ与えた ADH (vasopressin) が作用しなかったか、あるいはこの群のラットではすでに O<sub>2</sub>

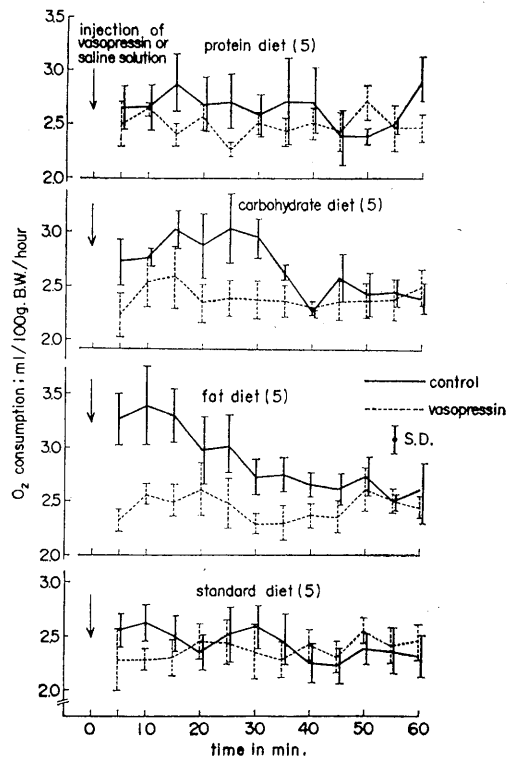


Fig. 6. Effect of vasopressin on the oxygen consumption of rats (Cold acclimated group).

消費量が十分に低下しているのでもそれ以上に  $O_2$  消費量が低下する余地がないとも考えられる。

そこでこの2つの可能性の何れが正しいかを明かにするために内因性の ADH レベルを人工的に低下させておいてから、vasopressin の投与実験を行なってみた。すなわちもし内因性 ADH レベルが高いために効果が出なかったのであれば下垂体を摘除して ADH レベルを低下させておいてから vasopressin を注射すればその効果がみとめられる筈である。そこで予め外

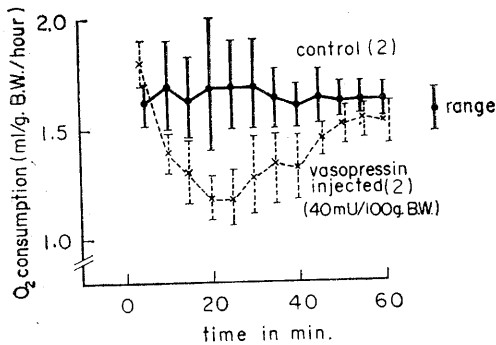


Fig. 7. Effect of vasopressin on the oxygen consumption of hypophysectomized rats (Warm acclimated, standard diet group).

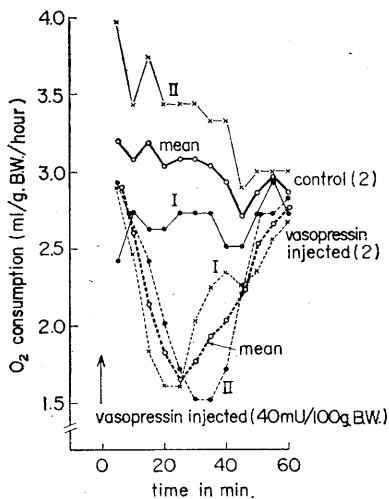


Fig. 8. Effect of vasopressin on the oxygen consumption of hypophysectomized rats (Warm acclimated, fat diet group).

聴道法によって脳下垂体を剔出したラットを多数用意し、これを上記と同様にして4種の食質で飼育し、3週間以上高温馴化を行なった。このようにして脳下垂体を剔出したラット群に vasopressin 投与実験を行なった。

その結果蛋白食群と糖質食群では対照とあまり差がないが、図7にみるように標準食群では vasopressin の  $O_2$  消費抑制効果が若干あらわれている。一方脂肪食群においては図8にみるように vasopressin 投与の影響が著明におらわれている。なおこの vasopressin の効果の持続性は先にものべたように adrenaline とは異って短いことがよく示されている。

このように予め下垂体を剔出したラットでは内因性の vasopressin の分泌が低下しているために外から投与した vasopressin がよく作用して  $O_2$  消費抑制作用が著明にあらわれたのである。しかも vasopressin の作用は脂肪食の場合に著明にあらわれているのであって、このことは常温群や低温馴化群についても共通の現象である。

なお図8において注意すべきことはこの実験では例数が僅かに2例(図8のIおよびII)であるためにさらに例数を重ねる必要もあろうが、それにしても2例ともその対照実験の  $O_2$  消費量のレベルが極めて高値を示している。すなわち他の食質群においてもまた脳下垂体を剔出しない高温馴化群においてもその  $O_2$  消費量のレベルは1.7~2.2 ml/g./h. の範囲であるにかかわらず、下垂体を剔除して脂肪食で高温に馴化させたラットにおいては2.7~3.5 ml/g./h. もの高値を示すのである。この値は低温馴化時の正常ラットの安静代謝量よりも高い。この事実は下垂体非剔出の高温馴化ラットの  $O_2$  消費量の低い原因はその ADH 分泌が高いためにこの内因性の vasopressin が常在刺激となって脂肪代謝を抑制して  $O_2$  消費をおさえていたことを示唆する。したがって下垂体剔出によってこの内因性刺激がなくなったために代謝レベルが上昇したのではないかと推論せられる。

以上の成績より明かなように内因性の vaso-

pressin のレベルの低い場合ほど投与した vasopressin の効果が著明にあらわれるのである。

伊藤ら<sup>9)19)</sup>によれば vasopressin の O<sub>2</sub> 消費抑制作用は脂肪代謝抑制作用によるものであって、この脂肪代謝抑制作用の本態はまだ充分明かでないが血漿 FFA レベルを下げる事は確かである。ゆえに高脂肪食群において vasopressin 作用が強い事は高脂肪食により脂肪が主として熱源として用いられたものに vasopressin が強く働いてその抑制が顕著に現れたものであろうと推察せられる。またそれと共にこの実験成績は vasopressin が高温馴化機転に大きい役割を果たしている事を示唆するものである。

高温馴化時の vasopressin の作用としてはその ADH 作用による体液水分増加作用が吉村等<sup>11)</sup>によって指摘せられたが、これが高温時の産熱低下を来たす事はそれ自体高温馴化に役立つ事であって馴化ホルモンとしての ADH の意義を新しく加えた事になる。

C. 脂肪組織の遊離脂肪酸について

上記の成績により低温馴化や高温馴化に際して脂肪の代謝が重要な意義をもつ事が明らかになった。また近時 Smith 教授ら<sup>20)</sup>は寒冷馴化に際しては褐色脂肪組織 (brown adipose tissue; BAT) が燃焼することによって体温調節を行なう事を指摘している。そこで著者らは BAT 以外の普通の白色脂肪組織もまたその代謝が寒暑馴化に関連するかもしれないと考え、副睾丸の白色脂肪組織についてその遊離脂肪酸 (non-esterified fatty acid; NEFA) を測定した。NEFA 測定を脂肪代謝の index としたのは脂肪組織を

一定の medium 中に incubate してその medium 中に遊出する NEFA 値を測定すれば脂肪代謝の内の脂肪組織よりの遊離脂肪酸の遊離機転がどのようになっているかをほぼ判定できるからである。

表5には寒暑に馴化したラットからとり出した副睾丸の白色脂肪組織を 37°C で4時間 incubate (方法の項で詳述した) した場合の medium 中に遊出した NEFA 値を示した。なおこの場合 incubate 直後の値を対照とし、incubate 4 時間後の値と対照値との差を net の NEFA 値として表に示してある。負の符号のついた値は incubate 後の方が対照値よりも低下した事を示している。

表より明かなように先ず高温馴化の場合には標準食および脂肪食群において NEFA 値が上昇しているが、糖質食や蛋白食群ではほとんどかわらぬかあるいは僅かに低下している。一方低温馴化群では脂肪食群で著明な高値を示し、糖質食群でもかなりの NEFA 産生をみとめ且つこれら脂肪食群と糖質食群とでは低温馴化の方が高温馴化群よりも統計的に有意の高値を示している (表5)。しかし標準食群と蛋白食群とでは incubate 値と対照値との間に差がなく、且つ低温馴化群と高温馴化群との間に差をみとめない。

次に表6には脂肪組織を incubate する medium に 0.1 μg/ml の割合に adrenaline を添加し、この場合 NEFA 値がどのように変化するかを測定した成績をかかげた。

表より明かなように、先ず脂肪食群について

Table 5. Non-esterified fatty acid production from epididymal adipose tissue of warm and cold acclimated rats (μM/1/g tissue/hr)

Diet	Warm		Cold		Difference (Cold-Warm)
	Mean±S. D	N	Mean±S. D	N	
Standard	20.0~38.4	2	5.0± 3.5	4	
Fat	12.3± 2.6	5	45.8±16.0	7	33.5*
Carbohydrate	-7.3±15.1	4	22.3±10.0	5	29.6*
Protein	-14.6~13.5	2	-0.7± 7.5	5	

\* Significant at 1% level.

みると、高温馴化群では adrenaline 添加によって NEFA の産生は統計的に有意に増加する。しかし低温馴化群では対照値 (adrenaline 非添加時) 自体が高値を示し、adrenaline を添加しても NEFA 値は上昇しない。これは恐らく低温馴化群では脂肪の代謝がすでに十分に促進しているためにそれ以上代謝が亢進する余地がないためであろう。したがって低温馴化群において殊に高脂肪食時に adrenaline によって FFA のレベルが上昇したり、 $O_2$  消費量の上昇を来たすのは主として BAT に働くためであって、白色脂肪組織に対しては伊藤<sup>19)</sup>が指摘したように少くも低温馴化動物にはもはや効力がない。ただ高温馴化群に対しては高脂肪食群について若干作用があるかに見えるが、その原因は低温馴化の場合とは別の機転が働いたものと考えられる。

次に糖質食の場合についてみると、高温馴化群では NEFA 値は脂肪食の場合とは逆に adrenaline 添加によってむしろ低下している。一方寒冷馴化群では対照値は高くしかも adrenaline 投与後に NEFA 値は若干低下している (この点については考察の項で詳しく述べる)。

以上の表5の成績より明らかなように低温馴化に際しては脂肪の代謝が重要な役割を演じている事は明かである。併し adrenaline はこの場合 FFA の遊離には働かない。また表6より明かなように高温馴化ラットの脂肪組織が *in vitro* の実験において adrenaline によく反応し

て NEFA の産生を増す事は注目に値する。

#### IV. 考 察

以上気候馴化に際する安静時  $O_2$  消費量および vasopressin の脂肪代謝抑制作用ならびに adrenaline の代謝亢進効果に対して、食餌の組成がいかなる効果をもつかをラットを用いて検討した。ここでは先ずそれらの成績を摘録した上でその成績について考察を加えてみたい。

先ず実験成績をまとめてみると次のとおりである。

1. 一般に高温馴化時にはいずれの食質群においてもラットの安静時代謝は低く、逆に低温馴化によって代謝の亢進がみとめられる。この代謝亢進の反応は脂肪食群が最も敏感である。

2. Vasopressin を投与すると  $O_2$  消費量が抑制されるが、その効果は常温群 ( $20 \pm 3^\circ C$ ) および低温に馴化 ( $1 \sim 5^\circ C$ ) した群において殊に脂肪食群に著明である。

3. この vasopressin の影響は高温馴化群では認めなかったが、この場合に予め脳下垂体を摘出しておくと、脂肪食群では著明な  $O_2$  消費抑制作用を証明することができる。なお糖質食群では若干の影響はあったが、それ程著明ではなく、また常温群では両食質群ともに若干の影響はあるが、下垂体を摘出しないものとは大差がない。

4. Adrenaline 投与の効果についてはいずれの食質群についても adrenaline 注射によって

Table 6. Effect of adrenaline on NEFA production from epididymal adipose tissue ( $\mu M/1/g$  tissue/hr)

Diet		Warm		Cold	
		Mean $\pm$ S. D	N	Mean $\pm$ S. D	N
Fat	Adrenaline	51.4 $\pm$ 9.0	4	36.0 $\pm$ 13.8	5
	None	12.3 $\pm$ 2.6	5	45.8 $\pm$ 16.0	7
	Difference	39.1*		-9.8	
Carbohydrate	Adrenaline	-28.7 $\pm$ 11.4	5	20.9 $\pm$ 7.7	3
	None	-7.3 $\pm$ 15.1	4	22.3 $\pm$ 10.0	5
	Difference	-21.4		-1.4	

\* Significant difference at 1% level.

代謝亢進をみとめた。この代謝亢進は低温馴化群において殊に脂肪食群においてもっとも顕著であり、常温群においても脂肪食群の効果が最高であった。

5. 脂肪組織（副睪丸の白色脂肪組織）の代謝を知るために *in vitro* において脂肪組織を一定の medium 中で incubate してその中に遊出する NEFA 値を測定し次のような成績をえた。

すなわち NEFA 値は一般に低温馴化群の方が高温馴化群よりも高値を示し、中でも脂肪食群が最高値を示し、これにつぐのは糖質食群である。一方高温馴化群では標準食群の NEFA 値が比較的高値を示し、脂肪食群がこれにつぐが、それほど脂肪代謝が促進しているとはいえない。

次に脂肪組織を incubate する medium に adrenaline を添加してみると、低温馴化群では NEFA 値が元々高いのでその効果は現われない。これに反し、高温馴化群の脂肪食群においては NEFA 値は著明に上昇する。しかしながら糖質食群では adrenaline 添加後むしろ NEFA 値が減少した。

以上が実験成績の大要であるが、これらについて考察を加えてみたい。

先ずラットを寒暑に馴化させた場合にその安静時の代謝レベルが昇降する事実は丁度人体における基礎代謝が冬期に高く夏期に低いという報告とよく一致している。したがって人体の基礎代謝が気温の変動以外に体格、栄養、生活条件などによっても変動するといわれるが、やはり高温または低温への適応が最も重要であり、その他の因子はこの気温因子に干渉して基礎代謝のレベルを若干左右するものと考えられる。さてこの低温または高温に馴化した場合の適応の様相を今回の実験の成果より考えて見ると本研究の成果は何れも低温馴化に際し脂肪代謝が亢進する事を示している。すなわち安静時の  $O_2$  消費の上昇が脂肪食群で高いこと、白色脂肪組織よりの NEFA の遊離の著しかったこと、adrenaline（多分その内の nor-adrenaline

作用）によって  $O_2$  消費量が亢進すること、しかもこの noradrenaline 作用は脂肪代謝に関係深いことが今日の常識であること (Moore<sup>21</sup>) 等は何れもこの考えを支持する。次に高温馴化に際して安静時代謝の低いことについては脂肪代謝の低下がその要因の一つである事は確かであろう。すなわち白色脂肪組織よりの FFA の遊離が一般に低下していること、脂肪代謝を抑制するといわれる vasopressin 作用が利いていて下垂体をとると代謝の上昇を来たすこと、これに vasopressin を与えると代謝が著しく低下する事等である。

このように本実験においては vasopressin が高温馴化に対して働いている事が示唆せられたが、これはまた低温馴化に際して脂肪代謝亢進にも一役買っているものと思われる。すなわち低温馴化ラット群に対しては投与した vasopressin がよく作用して代謝抑制効果が顕著である事はその内因性 ADH レベルが低いためと思われ、そのために脂肪代謝が亢進している事がうかがわれる。以上にのべたように寒・暑馴化に際して代謝レベルが変動する要因としては従来より指摘されていた甲状腺ホルモンの作用以外に vasopressin や次にのべる adrenaline などが関与する事実をみのがす訳にはゆかぬ。

なお Mirsky<sup>22</sup>) によれば犬を用いてこれに vasopressin や oxytocin を注射すると犬の血漿中の遊離脂肪酸 (FFA) のレベルが低下する事を報告している。しかし FFA のレベルのみで脂肪代謝全体を論じる事は危険であって、彼も指摘しているように oxytocin 注射によって血中の FFA 値は低下するが  $O_2$  消費量は減少しない事実からも血中 FFA レベルの低下が直ちに脂肪代謝の低下を意味するものではない。

Adrenaline の投与による代謝亢進作用については広く研究されており、カテコラミンの脂肪代謝におよぼす作用としては組織の貯蔵脂肪を動員してこれを NEFA の形にし (Fredrickson and Gordon Jr.<sup>23</sup>), さらにその NEFA の酸化をも促進するといわれている (Hannon et al.<sup>24</sup>) および Thompson et al.<sup>25</sup>).

冬期においては体内におけるカテコラミンの分泌が増加して脂肪代謝のレベルが上昇し、一方すでに述べたように冬期には vasopressin の代謝抑制効果が減弱するために代謝レベルが上昇するものと考えられる。また adrenaline 投与は寒暑いずれの馴化群のラットにも作用してその  $O_2$  消費量を上昇させるが低温馴化群において  $O_2$  消費亢進の効果が大きい。この事実は低温馴化群の方が adrenaline に対して感受性を増しているものと考えられる (Joy<sup>26</sup>)。

さらに寒暑両馴化群を通覧してみると、adrenaline の代謝亢進効果は脂肪食群に敏感にあらわれている。この点からも adrenaline の  $O_2$  消費上昇効果は脂肪代謝が促進された結果と推論せられる。

以上のような adrenaline の代謝亢進効果を *in vitro* で検討したのが表 5 と表 6 の成績である。この実験では副睾丸の白色脂肪組織における脂肪代謝の状態を NEFA 値を index として測定したのである。すなわち脂肪代謝が促進すればその medium 中の NEFA 値が上昇することを目安として検討を加えたのである。

前述のように脂肪組織を一定の medium 中で incubate すると medium 中の NEFA 値は高温馴化群では標準食群がもっとも高く、脂肪食群がこれにつぐ。

一方寒冷馴化群では脂肪食群が著明な高値を示し、糖質群がこれにつぐ。

次に incubation medium 中に adrenaline を添加して生体内でみられたと同様な脂肪代謝の促進が起るか否かを測定してみると、これは予想に反し脂肪食群では暑熱馴化の際には NEFA 値の上昇をみとめたが、寒冷馴化群では adrenaline の効果は全くみとめられなかった。この事実は説明が困難であるが、低温馴化群ではすでにカテコラミンなどの内分泌因子が働いてその上に adrenaline を加えてもその効果があらわれず、一方高温馴化群では脂肪代謝のレベルが低いところへ adrenaline が作用したために著明な NEFA 値の上昇が起ったものと考えられる。いずれにしても生体内でみられた

adrenaline 投与による代謝亢進効果はこれが直接に白色脂肪組織に働いて脂肪代謝を亢進するためではなく、Le Blanc et al.<sup>27</sup> の示唆するように nor-adrenaline が BAT (褐色脂肪組織) に働く事が最も大きい要因になるものである。副睾丸脂肪組織は白色脂肪であるから、その NEFA の遊出と代謝量の上昇を直接にむすびつけることは困難であろう。なお糖質食の場合には寒暑いずれの馴化群においても adrenaline によって NEFA の動員が抑制されている。これは糖質から脂肪への変換 (lipogenesis) が影響しているものと考えられる。すなわち Hausberger と Milstein<sup>28</sup>) によれば、この lipogenesis は高脂肪を投与した場合よりも 70% の糖質と 1% の脂肪を含んだ飼料で飼育した場合の方が活発に行なわれるという。一方脂肪組織を incubate する際に glucose を添加しておくことと脂肪組織から抽出される lipase の活性が上昇すると報告されている (Rizak<sup>29</sup>), Hollenberg<sup>30</sup>)。

以上の諸点より明らかなように生化学者が行なってきた *in vitro* の研究と生理学的な成績との関連についてはさらにくわしく検討を加える必要がある。

以上要するに寒冷馴化や暑熱馴化に際しては adrenaline や vasopressin などの内分泌作用が重要な役割を演ずると共に、食質の差が気候馴化に影響する事は明かなところである。そしてこの食質の差の影響を理解するためには脂肪代謝の変化が気候馴化に果たす役割を考える事により容易に理解し得る。

## V. 結 論

気候馴化に際する安静時代謝および vasopressin の代謝抑制作用ならびに adrenaline の代謝亢進効果に対して食餌の組成がいかなる影響をおよぼすかを検討し、次のような成績を得た。

1. 高温馴化 ( $30 \pm 1^\circ C$ ) ラットはいずれの食質群においても安静時の  $O_2$  消費量は低く、逆に低温馴化群 ( $1 \sim 5^\circ C$ ) では代謝のレベルが高く、明かに季節変動がみとめられた。この場合

安静代謝量の気候馴化に対して食質の差はそれ程著明ではないが、ただ低温馴化による代謝量の上昇は高脂肪食群が最も大きい。

2. Vasopressin を投与すると、その代謝抑制効果は低温馴化群と常温群とにおいていずれも脂肪食群に著明であった。

3. この vasopressin の効果は高温馴化群では認められないが、その場合に予め下垂体を摘出して vasopressin の分泌を抑制しておく、脂肪食群において著明な  $O_2$  消費の抑制効果がみとめられた。この事実は高温馴化群ではすでに血中の vasopressin レベルが高く、そのために体外から投与した vasopressin の効果があらわれなかったものと解釈すればよく理解できる。またこの場合下垂体摘出ラットの安静時代謝量が高いことは高温馴化時に血中の vasopressin が高いことが高温馴化時の代謝レベルの低下に一定の役割を果していることを示唆する。

4. Adrenaline 投与による代謝亢進の効果は低温馴化群の方が他の気温群より著明であった。殊に高脂肪食群は反応が敏感であった。

5. 白色脂肪組織の代謝を知るためにこれを一定の medium 中で incubate し、そこに遊出する NEFA 値を測定した。その結果 NEFA 値は一般に低温馴化群の方が高温馴化群よりも高値を示し、中でも脂肪食群が最高値を示した。

6. さらに脂肪組織を incubate する medium に adrenaline を添加してみると、in vivo の実験成績とは趣を異にし高温馴化の脂肪食群に NEFA 値の上昇をみるが、低温馴化群では NEFA 値が元々高く、adrenaline 添加の効果をもとめなかった。この事実は生体内における adrenaline の代謝亢進作用に際しては白色脂肪以外の組織が関与することを示す。

7. 以上の成績より明らかなようにラットの気候馴化に際しては vasopressin の代謝抑制効果と adrenaline の代謝亢進とは互に拮抗的に働きかついづれも脂肪の代謝を抑制ないしは促進することによってその効果をあらわしている。ことに vasopressin は高温馴化に際してそ

の安静時代謝を低下せしむる事に生理的な役割を果している事が示唆せられることは新知見である。

稿を終るに臨み外聴道法による脳下垂体剔除法を御教示頂いた塩野義研究所の峯下鏡雄所長に謝意を表します。

本研究は文部省科学研究費特定研究「生物圏の動態」ヒトの適応能(吉村寿人あて)の補助をうけた。記して謝意を表する。

## 文 献

- 1) 鈴木慎次郎(1952)日本人の基礎代謝に関する研究 栄養学誌 10, 2-4
- 2) 白井伊三郎(1939)基礎代謝の季節的変動と環境温度ならびに日常生活行動との関係について 体育研究 7, 129-150
- 3) 佐々木 隆(1954)基礎代謝および椅坐時代謝の季節的変動ならびにこれと気温因子との関連について 体質医学研究所報告 4, 439-452
- 4) 福田正弘(1953)人体々温調節機能の季節変動に関する研究 日本生理誌 15, 68-80, 150-157, 417-427
- 5) DuBois, E. F. (1936) Basal metabolism in health and disease. Lea and Febriger, Philadelphia : 3 rd ed.
- 6) Yoshimura, M., Yukiyoshi, K., Yoshioka, T. and Takeda, H. (1966) Climatic adaptation of basal metabolism. Fed. Proc. 25, 1169-1176
- 7) Hsiao, A. C. L. and Carlson, L. D. (1957) Role of adrenaline and noradrenaline in chemical regulation of heat production. Am. J. Physiol. 190, 243-246
- 8) Itoh, S. (1960) Physiological responses to heat. In : Essential problems in climatic physiology, pp 3-25, ed. by Yoshimura, H., Ogata, K. and Itoh, S.; Nankodo, Kyoto.
- 9) Tukada, M., Okuno, A. and Itoh, S. (1965) Influence of vasopressin on the metabolic rate in rats. Jap. J. Physiol. 15, 388-396
- 10) Arimura, A., Koseki, T., Kuroshima, A. and Itoh, S. (1965) Influence of the neurohypophysial hormone on the plasma  $PBI^{131}$  level during repeated blood collections in rats. Jap. J. Physiol. 15, 198-210
- 11) Yoshimura, H. (1960) Acclimatization to heat and cold. In : Essential problems in climatic physiology, pp 61-106; Nankodo, Kyoto.
- 12) 井上太郎(1967)比較生理学的にみた水分代謝 総合臨床 16, 388-393
- 13) Gordon, R. S. Jr. and Cherkes, A. (1958) Production of unesterified fatty acids from isolated rat

- adipose tissue incubated in vitro. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. **97**, 150-151
- 14) Dole, V. P. (1956) A relation between non-esterified fatty acids in plasma and the metabolism of glucose. J. Clin. Invest. **35**, 150-154
  - 15) Schmidt-Nielsen, B. and Schmidt-Nielsen, K. (1950) Pulmonary water loss in desert rodents. Am. J. Physiol. **162**, 31-36
  - 16) 井上太郎 (1964) 小動物の不感蒸泄量および酸素消費量の測定について 第3回日本生気象学会抄録集 pp 11-12
  - 17) 大柴 進 (1958) 基礎代謝の生理的変動に関する研究 日本生理誌 **20**, 1004-1014
  - 18) Osiba, S. (1957) The seasonal variation of basal metabolism and activity of thyroid gland in man. Jap. J. Physiol. **7**, 355-365
  - 19) Itoh, S., Tsukada, M., Okuno, A. and Yoshinari, T. (1966) Effect of vasopressin on the plasma concentration of free fatty acids in vitro oxygen consumption of tissue of the rat. Jap. J. Physiol. **16**, 23-30
  - 20) Smith, R. E. and Hoiijer, D. J. (1962) Metabolism and cellular function in cold acclimation. Physiol. Rev. **42**, 60-142
  - 21) Moore, R. E. (1963) Control of heat production in newborn mammals: role of noradrenaline and mode of action. Fed. Proc. **22**, 920-929
  - 22) Mirsky, I. A. (1963) Effect of oxytocin, vasopressin, and related peptides on plasma free fatty acids. Am. J. Physiol. **204**, 842-846
  - 23) Fredrickson, D. S. and Gordon, R. S. Jr. (1958) Transport of fatty acids. Physiol. Rev. **38**, 585-630
  - 24) Hannon, J. P. and Larson, A. M. (1962) Fatty acid metabolism during norepinephrine-induced thermogenesis in the cold-acclimatized rat. Am. J. Physiol. **203**, 1055-1061
  - 25) Steinberg, D., Nestel, P. J., Buskirk, E. R. and Thompson, R. H. (1964) Calorigenic effect of norepinephrine correlated with plasma F. F. A. turnover and oxidation. J. Clin. Invest. **43**, 167-176
  - 26) Joy, R. J. T. (1963) Responses of cold-acclimatized men to infused norepinephrine. J. Appl. Physiol. **18**, 1209-1212
  - 27) LeBlanc, J. and Mount, L. E. (1968) Effects of noradrenaline and adrenaline on oxygen consumption rate and arterial blood pressure in the newborn pig. Nature, **217**, 77-78
  - 28) Hausberger, F. X. and Milstein, S. W. (1955) Dietary effects on lipogenesis in adipose tissue. J. Biol. Chem. **214**, 483-488
  - 29) Rizack, M. A. (1961) An epinephrine-sensitive lipolytic activity in adipose tissue. J. Biol. Chem. **236**, 657-662
  - 30) Hollenberg, C. H. (1959) Effect of nutrition on activity and release of lipase from rat adipose tissue. Am. J. Physiol. **197**, 667-670

## Fatty acid composition of human subcutaneous fat in the winter

Shinji Itoh, Kiyoshi Moriya and Hachiro Shirato

*Department of Physiology, Hokkaido University School of Medicine, Sapporo*

Fatty acid composition of human depot fat has been studied by several investigators, in regard to race, sex, age and diet. Insull and Bartsch<sup>1)</sup> and Lee et al.<sup>2)</sup> reported that Negroes had significantly more stearic and palmitic acids and less palmitoleic acid than Caucasians had. Comparing the fatty acid composition of depot fat in White, Cape Coloured, and Bantu, Krut and Bronte-Stewart<sup>3)</sup> noted that myristic acid showed a progressive fall from White through Cape Coloured to Bantu, and that linoleic acid was significantly higher in the Cape Coloured than in the other groups. Although Hirsch et al.<sup>4)</sup> stated that difference in the fatty acid composition of superficial and deep adipose tissues seemed negligible, McLaren et al.<sup>5)</sup> found that leg fat of Africans contained higher amount of palmitoleic acid and lower amount of stearic acid in comparison with the values for abdominal wall fat. In Africans total saturated fatty acids were 41.6 percent for abdominal wall fat, while 37.3 percent for leg fat. Moreover, not only in African but also in Asian and European in East Africa, palmitic acid was considerably higher than the values from the temperate areas. These facts suggest temperature dependence of the fatty acid composition of human adipose tissue.

As to the fatty acid composition of human adipose tissue in relation to cold adaptation, no report has yet appeared. Since in human, particularly in females, legs are often exposed to low ambient temperatures during the winter. It is therefore of interest to analyze the fatty acid composition in subcutaneous fat, with particular reference to regional difference in saturation of fat.

Subcutaneous fat tissues were obtained in winter at the Asahikawa Railroad Hospital on occasions of surgical operations from patients not suffering from metabolic diseases. Nine

samples were fat tissues from legs and hands of the females in the year range of 15 to 48, and another 11 samples from abdominal and chest wall of both sexes.

About 100 mg of the fat was extracted with chloroform-methanol (2:1), glycerides were saponificated with 0.3 N KOH in methanol, and fatty acids converted to their methyl ester derivatives by treatment with 2% sulfuric acid in methanol. Parkin-Elmer gas chromatographic instrument (Model 811) was used for the analysis of fatty acid methyl ester mixture. Separation of the methyl esters was achieved on a 12-foot glass column packed with diethylen glycol succinate polyester in Diabase A and operated at 180°C, using nitrogen as the carrier gas at a flow rate of 30 ml per min. For recording Speedomax G was used.

As summarized in Table 1, principal fatty acid of the fat was oleic acid, followed by palmitic and linoleic acids, and then palmitoleic, stearic and myristic acids. In comparison with values from Caucasians<sup>1)2)3)4)5)6)7)8)9)</sup>, the composition of abdominal and chest wall fat indicated less amount of oleic acid and higher amount of linoleic acid. Such racial differences in fatty acid patterns were also noted by Goto and Nakamura<sup>10)</sup> who found 12.5% of linoleic acid in the abdominal wall fat of the Japanese in Tokyo area.

The most striking finding in our present study was a marked regional difference in the composition of subcutaneous fat between extremities and trunk. Saturated palmitic, stearic and myristic acids were significantly less, while unsaturated palmitoleic acid was markedly higher in percentage in the fat of extremities. Total percentages of saturated fatty acids were  $20.8 \pm 0.91$  for the fat of extremities and  $33.3 \pm 1.20$  for that of trunk. Small percentage of saturated fatty acids would make adipose tissue softer in the extremities which are often exposed to cold in the winter than in the abdominal or chest wall which are always covered

伊藤真次・森谷 潔・白土八郎：北海道大学医学部第1生理学教室

[Received for publication April 8, 1968]

Table 1. Fatty acid composition of human subcutaneous fat

Fatty acid		Proportion, %		
Common name	Short hand symbol	Extremities (9)	Trunk (11)	t-Test
Lauric	12 : 0		0.5±0.19	
Myristic	14 : 0	1.7±0.12	3.6±0.24	P<0.001
Myristoleic	14 : 1	1.2±0.11	0.4±0.14	P<0.001
Palmitic	16 : 0	17.4±0.71	23.8±0.88	P<0.001
Palmitoleic	16 : 1	15.9±1.08	6.4±0.33	P<0.001
Stearic	18 : 0	1.6±0.32	5.3±0.47	P<0.001
Oleic	18 : 1	44.1±0.93	41.9±1.01	NS
Linoleic	18 : 2	15.1±0.69	15.9±1.06	NS
Linolenic	18 : 3	2.7±0.22	2.5±0.39	NS
	20 (?)	0.1±0.13	0.3±0.18	NS
Total saturated		20.8±0.91	33.3±1.20	P<0.001

Values expressed as mean±standard error. NS : not significant.

with clothes. The finding is obviously regarded as an adaptative phenomenon of human adipose tissue to the cold.

This study was supported by a grant from the Japan Society for the Promotion of Science (M-8).

#### References

- 1) Insull, W. Jr. and Bartsch, G. E. (1967) *Am. J. Clin. Nutr.* **20**, 13
- 2) Lee, K. T., Shaper, A. G., Scott, R. F., Goodale, F. and Thomas, W. A. (1962) *Arch. Pathol.* **74**, 481
- 3) Krut, L. H. and Bronte-Stewart, B. (1964) *J. Lipid Res.* **5**, 343
- 4) Hirsch, J., Farquhar, J. W., Ahrens, E. H., Jr., Peterson, M. L. and Stoffel, W. (1960) *Am. J. Clin. Nutr.* **8**, 499
- 5) McLaren, D. S., Read, W. W. C. and Chimbe A. (1962) *Clin. Sci.* **23**, 247
- 6) Gellhorn, A. and Marks, P. A. (1961) *J. Clin. Invest.* **40**, 925
- 7) Hegsted, D. M., Jack, C. W. and Stare, F. J. (1962) *Am. J. Clin. Nutr.* **10**, 11
- 8) Sweeney, M. J., Etteldorf, J. N. Throop, L. J., Timma, D. L. and Wrenn, E. L. (1963) *J. Clin. Invest.* **42**, 1
- 9) Heffernan, A. G. A. (1964) *Am. J. Clin. Nutr.* **15**, 5
- 10) Goto, Y. and Nakamura, H. (1963) *Saishin-igaku (Japanese)* **18**, 2419

## Ouabain-insensitive active transport of amino acid into rat pituitary gland

Tadao Kakegawa and Kiyoshi Yamamoto

*Department of Physiology, Institute of Endocrinology, Gunma University, Maebashi, Japan*

It was recently demonstrated in our laboratory that thyroxine ( $T_4$ ) injected *in vivo* depresses uptake of  $\alpha$ -aminoisobutyric acid (AIB) into rat pituitary gland *in vitro*<sup>1)2)3)</sup>. On the other hand,  $T_4$  injected *in vivo* or added *in vitro* was found to depress strongly ( $Na^+ + K^+$ ) activated ATPase or so-called transport ATPase (tATPase) of the pituitary<sup>4)</sup>. This apparent parallelism was interesting and led us to investigate whether the active transport of AIB is tATPase-dependent or not, since, if this be the case, it is most likely that the inhibitory action of  $T_4$  on AIB transport into the pituitary is caused by depressing the tATPase. In this experiment, ouabain, which is known to be a specific inhibitor of pituitary tATPase<sup>4)</sup>, was used and its influence on the transport of AIB was determined.

**Methods:** Rats of Wistar strain with body weight ranging from 150 to 200 g were used. After decapitation, the pituitary gland was excised and incubated with AIB or alanine labeled with  $^{14}C$ . The method used for determining AIB uptake was the same as described before<sup>1)2)</sup>, and the rate of AIB uptake was expressed in terms of distribution ratio<sup>1)</sup>. Alanine incorporation into the anterior pituitary was measured after the method of Wool et al.<sup>1)5)6)</sup>.

**Results:** Table 1 shows that ouabain added at a concentration of  $10^{-4}M$  did not influence the rate of AIB uptake. With or without the addition of ouabain, the same value of distribution ratio of around 2.0 was obtained, the value over 1.0 showing the active transport of this amino acid into the pituitary.

Fig. 1 shows that alanine incorporation into proteins of the anterior pituitary was not depressed at all by the addition of ouabain at concentrations of  $10^{-6}$  and  $10^{-4}M$ . The concentra-

tion of  $10^{-4}M$  is the concentration of ouabain which completely inhibits tATPase activity of the anterior pituitary<sup>4)</sup>.

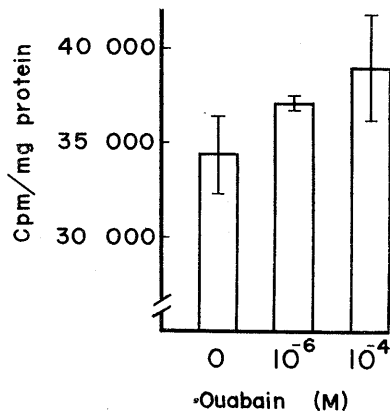
**Discussion:** Concerning the nature of active transport of amino acids into cells, there have been proposed several mechanisms<sup>7)</sup>. In many mammalian tissues such as the kidney<sup>8)</sup>, brain<sup>9)</sup>, sympathetic ganglion<sup>10)</sup>, diaphragm<sup>11)</sup>, skeletal muscle<sup>12)</sup> or intestine<sup>13)</sup>, however, tATPase appears to play more or less important role, since amino acid transport in these tissues is ouabain-sensitive, energy-dependent or ( $Na^+ + K^+$ )-activated. In contrast, in the pituitary gland, tATPase does not appear to play any role in active transport of AIB, since the present work made clear that AIB uptake is entirely insensitive to ouabain.

The present result that ouabain exerted no effect on AIB uptake by the pituitary was unexpected but interesting. In our previous studies<sup>1)2)3)4)</sup>,  $T_4$  was demonstrated to depress markedly both AIB uptake and tATPase activity of the pituitary, and it was then assumed that  $T_4$  exerts its inhibitory effect on amino acid uptake by depressing tATPase<sup>4)</sup>. But based on the present result, the assumption should be corrected as follows:  $T_4$  depresses active transport of AIB into the pituitary but this  $T_4$  action is produced through interfering certain mechanism(s) other than that mediated by tATPase.

The exact physiological significance of pituitary tATPase, which is depressed by  $T_4$  and has no relation to active transport of amino acid, is not clear at present. Since alanine incorporation into proteins of the anterior pituitary was not influenced by ouabain, the tATPase activity is of no importance in regulating pituitary protein synthesis. However, it should be assumed that the enzyme may influence the balanced distribution of  $Na^+$  and  $K^+$  in the pituitary and affect certain phases of physiolo-

Table 1. Effect of ouabain on AIB uptake in rat pituitary

	Pituitary weight (mg)	Water content ( $\mu$ l)	Cpm per		Distribution ratio
			10 $\mu$ l Tissue water	10 $\mu$ l Medium	
Control	4.9	4.0	1755	1107	1.58
	5.3	4.3	2323	1110	2.09
	4.0	3.3	2298	1090	2.11
	5.0	4.1	2190	1117	1.96
	4.3	3.5	2162	1117	1.93
Mean $\pm$ SE	4.60 $\pm$ 0.23	3.84 $\pm$ 0.20	2143 $\pm$ 100	1109 $\pm$ 39	1.93 $\pm$ 0.30
Ouabain 10 <sup>-4</sup> M	5.0	4.1	2200	1085	2.03
	5.4	4.4	2200	1069	2.06
	5.2	4.3	1831	1079	1.69
	5.9	4.8	2580	1062	2.43
	5.8	4.8	1839	1096	1.68
Mean $\pm$ SE	5.20 $\pm$ 0.16	4.48 $\pm$ 0.12	2130 $\pm$ 139	1079 $\pm$ 63	1.98 $\pm$ 0.43

Fig. 1. Effect of ouabain on alanine-<sup>14</sup>C incorporation into protein of rat anterior pituitary.

gical activity of the pituitary cells. Through this mechanism, T<sub>4</sub> may also depress certain physiological activities of the pituitary other than the protein synthesis<sup>1)3)5)</sup>.

The present experiment showed that AIB transport into the pituitary is not mediated by tATPase and that T<sub>4</sub> depression of this enzyme is not the cause of depression of AIB uptake by thyroxine. Detailed studies are under way to elucidate factors which are involved in active

transport of amino acid into the pituitary.

Authors thank Dr. Matsuzaki for his valuable help.

#### References

- 1) Tonoue, T. and Yamamoto, K. (1967) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **26**, 315
- 2) Tonoue, T. and Yamamoto, K. (1967) *Endocrinology* **81**, 101
- 3) Tonoue, T. and Yamamoto, K. (1968) *Gunma Symp. Endocrinol.* **5**, 189
- 4) Takagi, I. (1968) Submitted to this journal.
- 5) Tonoue, T. and Yamamoto, K. (1967) *Endocrinology* **81**, 1029
- 6) Wool, I. G., Castels, J. J. and Moyer, A. N. (1965) *Biochim. Biophys. Acta* **107**, 333
- 7) Csáky, T. Z. (1965) *Ann. Rev. Physiol.* **27**, 415
- 8) Fox, M., Thier, S., Rosenberg, L. and Segal, S. (1964) *Biochim. Biophys. Acta* **79**, 167
- 9) Tsukada, Y., Nagata, Y., Hirano, S. and Matsutani, T. (1963) *J. Neurochem.* **10**, 241
- 10) Yokoi, Y. (1968) *J. Physiol. Soc. Japan* **30**, 37 (in Japanese).
- 11) Kostyo, J. L. and Schmidt, J. E. (1963) *Am. J. Physiol.* **204**, 1031
- 12) Parrish, J. E. and Kipnis, D. M. (1964) *J. Clin. Invest.* **43**, 1994
- 13) Newey, H. and Smyth, D. H. (1962) *J. Physiol.* **164**, 527

## Configuration of action potential of the bullfrog atrium driven at various cycle-length for extended period

Takehiko Saito and Ichiro Tanaka

*Department of Physiology, Tokyo Women's Medical College, Shinjuku-ku, Tokyo, Japan*

It has been investigated that the mammalian cardiac action potential takes a different time-course by varying the stimulus cycle-length for an extremely extended period<sup>1)2)5)</sup>. Changes in configuration of the action potential by increasing the stimulus interval to a certain extent are as follows; plateau phase shortens, total duration prolongs, magnitude diminishes and rate of rise increases in the working muscle<sup>5)</sup>, and both plateau phase and total durations prolong in Purkinje fiber<sup>2)</sup>. On the other hand, enhancement of magnitude of the frog ventricular action potential with increase in the interval was reported by Niedergerke and Orkand<sup>3)</sup>, but changes in other parameters on the action potential were poorly described. In this experiment, it has been tried to make clear the relation between configuration of the frog atrial action potential and the stimulus cycle-length for an extended period.

Preparation used in this experiment was a strip of the bullfrog atrium of no spontaneous activity. It was immersed in Ringer's solution and was driven by repetitive current pulses at various cycle-lengths via an externally placed electrode. Transmembrane potentials of the atrial fiber were led by means of intracellular microelectrode employing suspension method<sup>5)</sup>. The potentials were recorded simultaneously with their differentiated curves which was swept at a faster speed. Composition of the solution was as follows; NaCl 112 mM, KCl 2 mM, CaCl<sub>2</sub> 1 mM, NaHCO<sub>3</sub> 1.4 mM, glucose 11 mM. The experiment was carried out at 18°C.

A family of records of the action potentials driven at various cycle-lengths and the differentiated curves of their depolarization phase

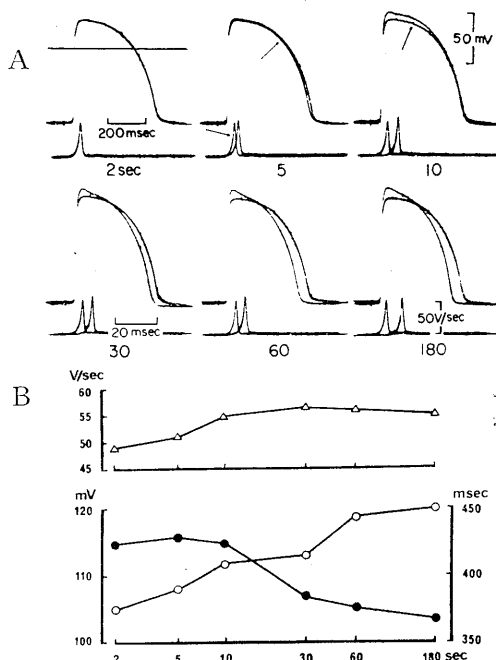


Fig. 1. A. Transmembrane action potentials of the bullfrog atrium under repetitive stimulation at various cycle-lengths (upper traces) and their differentiated curves at a faster sweep (lower traces). The action potentials show steady configuration corresponding to the particular cycle-length indicated on the bottom of each record. Each record is superimposed with that at the cycle-length of 2 sec which is marked by arrows. Calibrations in time for upper and lower traces are shown on records at 2 and 30 sec respectively. A horizontal line on record at 2 sec shows zero in the potential level.

B. Parameters of action potential plotted against the cycle-length. They were obtained from the same series of experiment with that of Fig. 1 A. Scales on the left hand ordinate; for the action potential magnitude in mV (○) and for the maximum rate of rise in V/sec (Δ) respectively. Scale on the right hand ordinate; for the action potential duration in msec at the level of 10% of the magnitude measured from the resting potential level (●). Abscissa; the stimulus cycle-length in sec on a logarithmic scale.

齋藤建彦・田中一郎：東京女子医科大学生理学教室

[Received for publication June 20, 1968]

are shown in Fig. 1 A. All the records were obtained from one and the same cell after the action potential had reached the steady configuration corresponding to the cycle-length. In this figure, records at each test cycle-length are shown as a superimposed print with that at 2 sec. Some parameters on configuration of the action potential plotted against the cycle-length are shown in Fig. 1 B. At the steady state, there were no considerable differences between thresholds on each cycle-length of more than 2 sec.

As seen in the figure, the maximum rate of rise and the magnitude became higher with increase in the cycle-length to a certain extent, which seems to be due to development of initial rapid upstroke of the action potential. As the cycle-length increases for more than 5-sec, increase in the rate of repolarization, decrease in the duration and after-hyperpolarization become prominent. At the cycle-length of less than 2 sec, values of these parameters decrease with the increasing threshold.

Thus, the magnitude and the rate of rise develop with increase in the cycle-length within a few minutes, but the plateau phase and total durations have maximum values at the cycle-length of about 5 sec and decrease

in either direction of change in the cycle-length. Relation between configuration of the action potential and the cycle-length in this preparation is different from those in the mammalian cardiac tissues<sup>1)2)5)</sup>. Even in the bullfrog the relation varies in different fiber types; i. e. in the ventricle the action potential duration prolongs as the cycle-length increase<sup>4)</sup>.

#### References

- 1) Gibbs, C. L. and Johnson, E. A. (1961) Effect of changes in frequency of stimulation upon rabbit ventricular action potential. *Circulation Res.*, **9**, 165-170
- 2) Greenspan, K., Edmands, R. E. and Fisch, C. (1967) Effects of cycle-length alteration on canine cardiac action potentials. *Am. J. Physiol.*, **212**, 1416-1420
- 3) Niedergerke, R. and Orkand, R. K. (1966) The dual effect of calcium on the action potential of the frog's heart. *J. Physiol.*, **184**, 291-311
- 4) Saito, T. and Tanaka, I. (1968) Configuration of action potential of the bullfrog ventricle driven at various stimulus intervals for extended period. *J. Physiol. Soc. Japan*, **30**, (in press)
- 5) Tanaka, I., Tosaka, T., Saito, K., Shin-mura, H. and Saito, T. (1967) Changes in the configuration of the rabbit atrial action potential after various period of rest. *Jap. J. Physiol.*, **17**, 487-504

## Idiosyncratic hepatic reaction in canine hemorrhagic shock in the absence of glucocorticoid: Its prevention by endotoxin-conditioning

Tokuro Fukuda and Hisashi Uzawa

*Department of Physiology, Chiba University School of Medicine, Chiba*

It is well known that the liver plays the most dominant role as a shock organ in canine anaphylaxis. The canine liver is characterized by an abundant mast cell population and an extreme sensitivity to histamine of its venous sphincter mechanism<sup>1</sup>). Thus anaphylactic release of hepatic histamine precipitates hepatic engorgement and an attendant splanchnic blood pooling leading to a dramatic fall of blood pressure. Recently the possibility of induction of a similar histaminic hepatic reaction by 'induced histamine' has been postulated. It was shown that the histamine forming activity which is known to be undetectable in canine tissues with the nonisotopic method of Waton<sup>2</sup>) becomes detectable after endotoxin in the liver of dogs in the absence of glucocorticoid (Fukuda<sup>3</sup>) and together with this the animal easily succumbs to shock due to hepatosplanchnic blood pooling. Thereby the histamine forming activity was also detectable in the shock serum which on transfusion to normal dogs had been known to induce pronounced hepato-splanchnic blood pooling (Fukuda et al.<sup>4</sup>). Thus the extreme susceptibility of adrenalectomized dogs maintained with DCA to endotoxin has been attributed to the induction of histamine forming activity in the liver. This could be prevented either by pretreatment with glucocorticoid or by making the animals 'tolerant' to endotoxin beforehand and the animals became resistant to endotoxin.

In case of hemorrhagic shock in adrenalectomized dogs maintained with DCA it has also been observed that the shock serum acquires the property of inducing a blood pressure fall in recipient dogs due to hepato-splanchnic blood pooling (Fukuda<sup>5</sup>). The object of the present experiments was to determine whether this is

also due to the induction of histamine forming activity in the liver in the absence of glucocorticoid during hemorrhagic hypotension. Together with this it was also examined whether a cross-resistance of 'endotoxin-tolerant' adrenalectomized dogs to hemorrhagic hypotension can be observed or not.

Adrenalectomized dogs maintained with DCA (1 mg, daily) were bled under Nembutal anesthesia (20 mg/kg, i. m.) from the femoral artery into a reservoir with a bleeding velocity of 1 ml/kg/min until the mean arterial pressure was lowered to 35 mmHg. Heparin was given both to the dog (200 u/kg, i. v.) and to the blood reservoir (2000 u). From the progress of 'take-up' of the shed blood in the reservoir (self-transfusion) during maintenance of the hypotensive level for 4 hours the severity of shock was determined.

The histamine forming activity of serum and liver homogenate was determined after Waton<sup>2</sup>) with a slight modification<sup>3</sup>). Addition of benzene to the incubation medium was omitted, since its potentiating effect was not observed. Therefore, the observed activity might be due to histidine decarboxylase<sup>6</sup>). The samples were dialyzed beforehand against physiologic saline containing antibiotics in refrigerator in order to minimize their histamine content. The optimal pH of the incubation medium was 7.4.

'Endotoxin-conditioning' was performed before adrenalectomy by giving successively increasing doses of endotoxin (*S. typhosa*, Difco: 100, 200, 500, 1000 and 1000  $\mu$ g/kg, i. v.) during the course of 10 days. One-stage bilateral adrenalectomy was performed within a few days after the last injection. Experiments were done one week later when these animals were still able to tolerate 4 times the usual LD<sub>100</sub> of endotoxin; i. e. 40  $\mu$ g/kg (refer<sup>4</sup>).

On bleeding the blood pressure of adrenalectomized dogs easily attained the hypotensive

福田篤郎・鶴沢 寿: 千葉大学医学部第2生理学教室

[Received for publication June 28, 1968]

level and the maximum bleeding volume was far less than that in intact dogs (in average 35 ml/kg in comparison with 50 ml/kg in intact dogs). Nevertheless the 'take-up' of the shed blood began earlier and the course was often terminated within 4 hours by respiratory arrest. The blood sugar level tended to fall with the progress of the 'take-up'. However, infusion of glucose solution for maintenance of blood sugar level was unable to prevent the shock. At autopsy, congestion of the liver was more marked than in the cases of intact dogs, while hemorrhagic lesions of the duodenal mucosa were less intense especially when the lethal course was short. The liver glycogen stores were almost completely depleted. As shown in Table 1, small but measurable histamine forming activities were detected in the liver and serum of shocked adrenalectomized dogs.

When adrenalectomized dogs were pretreated with glucocorticoid (Decadron: 4 mg i. v. 2 hours before), the progress of 'take-up' was markedly inhibited (Fig. 1). The liver sample and serum taken at the end of the hypotensive period showed no detectable histamine forming activity.

The induction of histamine forming activity was also prevented in 'endotoxin-tolerant' adrenalectomized dogs during the hemorrhagic

hypotension. In these cases the progress of shock was prevented together with hepatic engorgement, just as in the cases with glucocorticoid pretreatment (Fig. 1). However, the hypoglycemic tendency could not usually be reversed. The marked cross-resistance of 'endotoxin-tolerant' adrenalectomized dogs to hemorrhagic hypotension was maintained for at least a few weeks after cessation of the 'endotoxin-conditioning'.

It may be concluded that the marked hepatic engorgement and the rapid progress of 'take-up' of the shed blood during the hypotensive period in the absence of glucocorticoid might be due to the induction of histamine forming activity in liver. It was remarkable that 'endotoxin-conditioning' is effective in preventing the histamine forming activity induced not only by endotoxin but also by hemorrhagic hypotension. In cases of intact dogs in which no such activity was induced in the presence of endogenous glucocorticoid during hemorrhagic hypotension both glucocorticoid and 'endotoxin-conditioning' was ineffective in preventing the shock (Fig. 1). Thereby the well-documented hemorrhagic lesion of the intestinal mucosa was the characteristic autopsy finding and the idiosyncratic hepatic reaction was not apparent.

In passing it may be mentioned here that the reported beneficial effect of 'endotoxin-conditioning' in hemorrhagic shock in rats<sup>7)</sup> and rabbits<sup>8)</sup> could not be substantiated even after adrenalectomy. This might be due to the species difference in the lethal mechanism in hemorrhagic shock.

Table 1. Induction of histamine forming activity in hemorrhagic shock of adrenalectomized dogs

	Liver ( $\mu\text{g/g/2 hrs}$ )	Serum ( $\mu\text{g/100 ml/2 hrs}$ )
	0.08	1.20
	0.17	0.9
	0.06	1.5
	0.16	0.43
	0.08	3.6

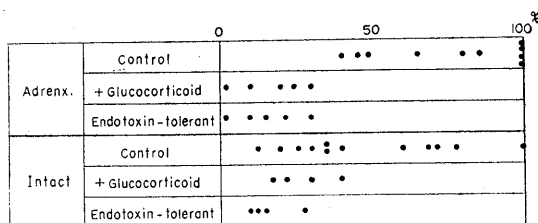


Fig. 1. Progress of 'take-up' as expressed by the percentage of the maximal bleeding volume during 4 hours' hypotensive period.

#### References

- 1) Fujita, T. (1964) Arch. Histol. Japonicum **24**, 435
- 2) Waton, N. G. (1956) Brit. J. Pharmacol. **11**, 119
- 3) Fukuda, T. (1967) Nature **214**, 107
- 4) Fukuda, T., Okada, M. and Kobayashi, T. (1964) Jap. J. Physiol. **14**, 560
- 5) Fukuda, T. (1965) Nature **205**, 392
- 6) Kahlson, G. and Rosengren, E. (1968) Physiol. Rev. **48**, 155
- 7) Zweifach, B. W. and Thomas, L. (1957) J. Exp. Med. **106**, 385
- 8) Smiddy, F. G. and Fine, J. (1957) Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **96**, 558

## ラット骨格筋のイヌリン細胞間隙——生体内筋と摘出筋の比較

### Inulin space of rat skeletal muscles——Comparing the muscles in vivo with that in vitro

赤池紀生・甲和良夫

(Norio Akaike and Yoshio Kowa)\*

田辺製薬中央検査所臨床薬理部

筋細胞内電解質量を知るには筋の細胞間隙を知ることが必要で、多くの人々は細胞間隙のみに拡散して細胞内に浸透しない多糖類のイヌリンを用いてその値を測定してきた<sup>1)2)3)4)</sup>。本実験は生体外摘出筋をイヌリンを含む Tyrode 液中に浸漬した場合、または高度濃度イヌリン溶液を静脈内に注入して生体内でのイヌリン拡散を起こさせた場合のイヌリン拡散方法の相違による細胞間隙値の差をみたもので、実験終了時に筋肉内の電解質量を定量して上記2種の測定方法の比較資料とした。

実験動物としては体重 25~570 g の雄ラット (Wistar-King 系) を使用した。摘出筋のイヌリン細胞間隙量の測定は次の方法によった。ペントバルビタール麻酔下にヒラメ筋 (SOL) と長趾伸筋 (EDL) を取り出し、1%イヌリンを含む 30~31.5°C の温度の Tyrode 液 (138 mM NaCl, 5 mM KCl, 1.8 mM CaCl<sub>2</sub>, 0.49 mM MgCl<sub>2</sub>, 3.3 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 11.9 mM NaHCO<sub>3</sub>) に浸漬した。イヌリン-Tyrode 液 (浸透圧 293 mosm) は常時 95% O<sub>2</sub>+5% CO<sub>2</sub> で飽和しておいた。両筋を一定時間イヌリン-Tyrode 液に浸漬した後取り出し、イヌリンを含まない正常 Tyrode 液で筋の外側を軽く洗い、ろ紙でふき、結合組織を切除して筋湿重量を測定した後、正常 Tyrode 液 10 ml 中に入れ、5°C で12時間放置してイヌリンを筋組織外へと拡散させた。拡散液は Schreiner 法により呈色し、光電分光光度計を用いて 490 m $\mu$  の波長で比色定量した<sup>5)</sup>。生体内筋のイヌリン細胞間隙の測定におい

ては、イヌリンの腎臓への集積をさけるためエーテル麻酔下に両腎臓を摘出除去した後、肢静脈より15%イヌリン-Tyrode 液を体重あたり 0.5 ml/100 g 相当量注入した。なお一定時間後の SOL, EDL その他の筋の摘出はペントバルビタール麻酔下で行なった。その後のイヌリン測定のための操作は摘出筋の方法と同一である。Na, K の測定、計算は Kusumoto<sup>6)</sup> にしたがった。

摘出筋の細胞間隙へイヌリンが拡散する時間経過を、イヌリン-Tyrode 液に筋を浸漬する時間を10分~2時間の間変化して測定してみると、1時間でイヌリンの拡散は飽和値に近づき、2時間で飽和した。また同一ラットよりえられる EDL と SOL とでは EDL の方が SOL よりもイヌリン細胞間隙が小であり、2時間イヌリン-Tyrode 液に浸漬した筋の細胞間隙の値は、平均して EDL が12% (31例)、SOL が15.7% (29例) で、両筋間に有意差がみられた。そして Kobayashi と Yonemura<sup>7)</sup> が報告しているようにイヌリン細胞間隙の値と筋湿重量との間に EDL, SOL とともに負の相関があった。EDL と SOL がほぼ 60 mg 以上の等しい湿重量では両筋の細胞間隙値間に差がみられないが、60 mg 以下では EDL が SOL よりもやや小さい細胞間隙を示した。しかしその差はきわめてわずかであり、筋湿重量が等しければ EDL と SOL は等しい細胞間隙の値を示すといえよう。

腎臓除去生体内筋へのイヌリンの拡散速度は非常にはやく、注入5分後にイヌリンの拡散は飽和値に達し、その値は6時間後の値と大差がなかったが、プラズマ中のイヌリン濃度は時間

\* *Clinical Pharmacology Department, Products Control Laboratory, Tanabe Seiyaku Co., Ltd.*  
〔昭和43年3月27日受付〕

Table 1. Change in muscle cation concentrations elicited from the various route of inulin administration

Method	Cases	Average electrode content in muscle (mmole/kg. w.w.)			
		SOL		EDL	
		Na	K	Na	K
Fresh muscles	10	32.3±0.5	95.9±1.1	22.7±0.5	112.5±1.4
Muscles soaked in inulin solution for 2 hours, in vitro	16	49.5±2.1 P<0.001	71.9±1.8 P<0.001	38.0±1.5 P<0.001	87.2±1.1 P<0.001
Muscles isolated at the various time (1~6 hours) after inulin in jection, in vivo	14	30.0±1.0 0.01<P<0.05	88.7±2.2 0.001<P<0.01	21.1±0.7 P>0.05	109.0±1.9 P>0.05

P indicates the value of t test, in which Na and K in both kinds of fresh muscles compared with those in muscles in vitro or in vivo, respectively. All values are expressed by the mean±S. E.

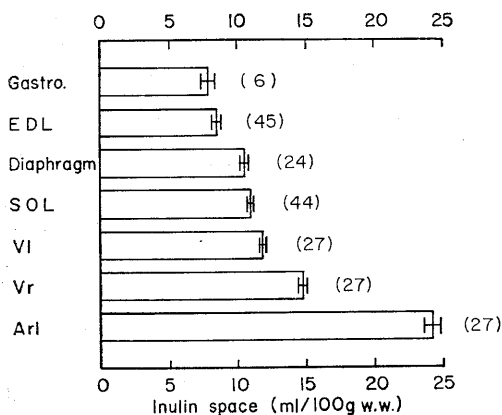


Fig. 1. Magnitude of inulin space of various skeletal muscles in the nephrectomized rats. Gastro: Gastrocnemius, EDL; Extensor digitorum longus, Diaphragm; Diaphragm, SOL; Soleus, VI; Left ventricle, Vr; Right ventricle and Arl; Left and right atrium. Numerals inside the parentheses indicate the number of muscles.

経過につれて減少した。この場合も同一ラットにおいて EDL が SOL よりも小さい細胞間隙を与えるが、両筋のそれぞれの値は摘出筋でえられた値よりも有意的に小さかった (図 1)。

本実験においてはイヌリンを生体内に注入した時の筋の細胞間隙が、生体外摘出筋の細胞間隙よりも小さいことを明かにした。ところで摘出筋でえられた細胞間隙の値は Sréter と Woo<sup>3)</sup>, Kobayashi と Yonemura<sup>7)</sup> の測定値より大きい。しかし Drahota<sup>4)</sup> の値とはほぼ等しい。筋の細胞間隙の値は筋の重量に逆比例し<sup>7)</sup>, 使

用した群のラットの大きさによって細胞間隙がことなるし、測定操作のわずかの差異によっても異なってくる。またイヌリン-Tyrode 液中に筋を 2 時間も放置することによって、筋の状態が変化し、細胞間隙の大きさが変化することも考えられる。

生体外に EDL や SOL を摘出して代用液に浸しておく筋線維は Na をとり込み、K を失う<sup>8)</sup>。本実験においてもイヌリン-Tyrode 液に 2 時間浸漬した摘出筋は、新鮮筋に比べて筋内 K 量の減少と Na 量の増大を示したが、他方生体内筋の K, Na 量は新鮮筋とほとんど同じであった (表 1)。よってイヌリン-Tyrode 液に浸した筋が新鮮筋に比べて Na を多く含み、K が少いことは、イヌリン自体の影響と考えるよりも、摘出して Tyrode 液に浸した効果と考えた方がよい。

本研究についてご指導を賜った佐藤昌康教授 (熊本大学医学部第 2 生理学教室) に感謝いたします。

#### 文 献

- 1) Rage, E. (1962) J. Gen. Physiol. **46**, 201
- 2) Barclay, J. A., Hamley, E. J. and Houghton, H. (1959) J. Physiol. **149**, 15
- 3) Sréter, F. A. and Woo, G. (1963) Am. J. Physiol. **205**, 1290
- 4) Drahota, Z. (1961) Physiol. Bohemoslov. **10**, 160
- 5) Schreiner, E. E. (1950) Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. **74**, 117
- 6) Kusumoto, R. (1964) Kumamoto Medical J. **17**, 109
- 7) Kobayashi, N. and Yonemura, K. (1967) Jap. J. Physiol. **17**, 698
- 8) Yonemura, K. (1967) Jap. J. Physiol. **17**, 708

## 神経インパルス周波数の簡単な直接表示法

### A simple method of on-line display of the instantaneous frequencies of nerve impulses

久 田 光 彦 (Mituhiko Hisada)\*

北海道大学理学部動物生理学講座

感覚神経にかぎらず、神経単位活動の解析には、第1にインパルス周波数受動の詳細をとらえることが必要になることが多い。この場合、写真記録の上で測定するか、生体用または汎用電子計算機を用いる本格的処理によるほか、いわゆる instantaneous frequency 表示方式<sup>1)2)</sup>が有り、比較的精度の高い表示が簡単な附加装置で達成される利点がある。

筆者は最近ザリガニ平衡感覚毛出力を解析する目的でこの方法を試みた結果、既存のオシロスコープ、刺激装置とごくわずかな附加装置で容易に動作するものが得られたので、ここに報告し、同様な神経単位活動弁の解析の便に供したい。

基本的には、サイラトロンを水平掃引発振に用いる型のオシロスコープ (日本光電 VC-6 等) の駆動掃引が、新しい駆動パルスの到達ごとに中断されて次の掃引に移ることを利用したものである。すなわち神経放電を整形し駆動パルスを作れば、連続した二つの放電間隔に比例した掃引長が得られることを利用している。そのブロックダイアグラムおよび動作例は図A、Bに示されている。1) まず、単位活動弁によるインパルスは通常の方法で増巾器を通じてオシロスコープ (CRO) のAチャンネル上に表示される。2) この信号をブラウン管偏向板への接続点から、適当な垂直軸出力回路<sup>3)</sup> または簡単には小容量を通じて取り出し、3) これをシュミットトリガー回路 (またはこれを組合せた波高弁別回路) に接続し、出力側で微分して動作起点に対応して 30~50 V の正パルスを得

る様にする。4) このパルスで 100~500  $\mu$ sec、約 30 V の正パルスを作るマルチバイブレーター (日本光電 MSE-3 を SYNIN 2 で駆動したもの等) を駆動し、このパルス (輝度パルス) を CRO の A, B 両チャンネルの輝度受調端子に印加し、Aチャンネルでは神経インパルスの頂部が輝度増強され、Bチャンネルには輝点のみが現われる様にする。5) この輝度パルスを更に微分して終縁に対応する鋭いパルスを作り、これで CRO 水平掃引を駆動する。この様にすると掃引は輝点が見られるとすぐに開始点に戻り、ふたたび次のインパルス到来まで掃引することになる。6) また一方 CRO 本体にある鋸歯状波出力端子とBチャンネルの直結増巾器を適当な電圧分割の後結び、Bチャンネルはこれにより垂直にも振られる様にする。7) この様な状態で一般の連続撮影と同様 CRO 水平振巾を零として撮影すれば図Bの様にAチャンネルに輝度増強された本来のインパルス、Bチャンネルにはインパルス間隔が上下位置で表わされた輝点が見られることになる。周波数の高いインパルスを対象にするときは輝点の広がりを少なくする為輝度パルスの巾は 100~200  $\mu$ sec 程度とし、駆動パルスとしては点線の様にシュミットトリガーのパルス後縁を利用した方がよい。また非常に不規則な活動の場合、Bチャンネル入力端で鋸歯状波を積分し、一種の平均周波数表示とすることもできる。この系の周波数較正は、別の標準周波数パルス発生回路を入力に接続するか、輝度パルス用マルチバイブレーターとして MSE-3 などを用いた場合は、単にこれを繰返し発振に切替えるだけで簡単に行うことができる。

また MSE-3 を用いれば全体の構成をさらに

\* Zoological Institute, Faculty of Science, Hokkaido University

〔昭和43年3月30日受付〕

きわめて簡単にすることができる。すなわちこの刺激装置を鋸歯状波トリガー動作に切替えると、この装置自体がシュミットトリガーとマルチバイブレーターの組合わされたものとなるので、CRO 側面の垂直軸端子の一方から小容量を通して信号を取出し、これを刺激装置の鋸歯状波入力端子に接続すればよい。遅延回路微調整でインパルスによる駆動レベルを決定し、輝度パルスを生ぜしめて、これにより CRO 上に輝点を作り、またこれを微分し後縁に対応するパルスで CRO 水平回路と駆動する様にす等前記の場合と同様である。

さらに、Bチャンネルにインパルス到来時に対応して輝点が表われるのを利用して、いわゆる Dot pattern 表示動作をさせるのも簡単である。すなわちインパルス到来ごとに水平回路を駆動する代りに、通常行われるように刺激による単掃引を行い、Bチャンネルの垂直入力を除いた状態で、掃引方向と直角にフィルムを送りながら刺激、掃引を繰返せば、反応様式の経時変化を容易に識別することができる記録が得られる。また輝度パルスはこれを取出して、パルスカウンターその他の附加的演算装置の入力として用いるのに最適であり、さらに種々の応用を拓げることができよう。

#### 文 献

1) Huxley, A. F. and Pascoe, J. E. (1963) Recipro-

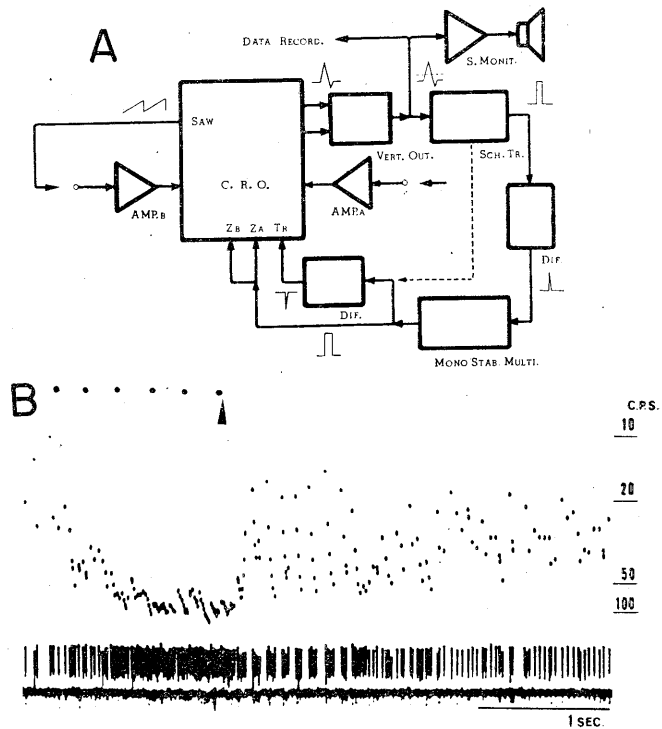


Fig. 1. A: Block diagram of the simple instantaneous frequency display system. C. R. O.: Cathode-ray oscilloscope (Nihon Kohden, VC-6), SAW: Saw-tooth output, Za, b: Z-axis inputs, Tr: External sweep trigger input, Amp. a, b: Vertical axis amplifiers, Vert. Out.: Vertical output circuit, Sch. Tr.: Schmitt trigger circuit, Dif.: Differentiation circuit, Mono-stab. Multi.: Mono-stable multivibrator (MSE-3, or MSE-20), S. Mon.: Sound monitor, Data Record.: Data recorder input. B: An example of instantaneous frequency display recording. Response pattern of the output of a statocyst hair. Head-down rotation with abrupt cessation of rotation at 220 (arrow), where the impulse frequency showed a maximum. Upper trace: Rotation. Middle: Instantaneous frequency display averaged with an integration circuit of a time constant of 50 msec. Lower: Original nerve impulses with brightness enhancement (Hisada and Sugawara, unpublished data).

cal time-interval display unit. *J. Physiol.* **167**, 40-42

2) Matthews, P. B. C. (1963) Apparatus for studying the response of muscle spindles to stretching. *J. Physiol.* **169**, 58-60

3) 中村久吾・川崎 匡・丸山直滋 (1966) 生理学用電子計算機のための spike 弁別回路 日本生理誌 **28**, 184-193

## 山 口 大 学 医 学 部 生 理 学 教 室 史

### 沿 革

昭和19年(1944)1月18日, 山口県立医学専門学校の設置が認可され, 同年4月22日, 山口県宇部市大字中宇部字下宮地1090番地に開設された。生理学教室は斎藤幸一郎教授により担当されたが, 昭和21年(1946)井上章教授が交代した,

昭和22年(1947)6月18日, 旧制度の山口県立医科大学と同予科との設置が認可され, 予科は翌年, 本科は翌々年の昭和24年(1949)4月1日より開講された。生理学は井上教授が担当したが, 教室の人員構成は従来のものであった。

昭和27年(1952)2月20日, 学制改革に伴う新制度の山口県立医科大学の設置が認可され, 同年4月1日より発足した。同時に蛋白研究所および産業医学研究所が附置され, 井上教授と川端五郎助教授とが, 所員を兼任して研究に従事した。

昭和31年(1956)4月1日生理学教室第二講座が設置され, 従来単講座であった生理学教室は, 第1講座となった。井上教授は第一講座と兼ねて第2講座も担当したが, 昭和33年(1958)8月, 川端助教授が教授に昇任して第二講座の方を担当した。昭和31年(1956)7月に生理学教室は新築されて, 山口県宇部市大字小串1144番地に移転した。

昭和33年(1958)4月, 井上教授の転出に伴ない, 千葉康則助教授が第一講座の担当代理となった。同年5月には, 山口県立医科大学大学院医学研究科の開設に伴ない, 教室の各機構はこれを兼担することとなった。昭和34年(1959)8月には, 研究室が増築されて生理学教室の面積は従来の2倍(両講座を合せて約600m<sup>2</sup>)になった。

昭和35年(1960)8月1日丹生治夫教授が新任して, 第一講座を担当した。その後, 山口県立医科大学は昭和39年(1964)より年次計画で

公立から国立に移管されることとなり, 生理学教室は同年4月1日以降, 新設された山口大学医学部に属することになった。なお, 昭和42年(1967)6月1日付の附属病院の移管を最後として計画が終り, 山口県立医科大学は昭和43年(1968)4月1日以降は廃止された。

### 斎藤幸一郎教授時代

昭和19年～昭和21年(1944～1946)

山口県立医学専門学校の開校に伴って, 斎藤幸一郎教授(現, 金沢大学教授)が任命せられ, 京都帝国大学医学部より着任して生理学教室を担当した。斎藤教授は赴任以来, 昭和21年(1946)長崎医科大学に転出するまでの間, 敗戦前後の劣悪な社会状況と, 物資ならびに人員の不足にも拘らず, 鋭意教室の創設に努力した。しかし, 教室員は非常勤の女子職員1名で, 講義・実習の時間, 場所, 資材を確保するのが手一杯の状況であった。生理学の授業は, 京都より出張して集中講義の形式で行なわれる筈であったが, 最悪の輸送状態の当時であったため出張旅行も思うに任せず, 加えて教職員不足の折柄生理学以外の授業を引受けることもあり, 集中講義といっても宇部に2, 3ヶ月滞在するのやむなきことが多かった。研究は「低酸素呼吸時の意識存続におよぼす軽筋作業の影響」(日新医学, 38巻)についてであり, 主として京大医学部で行なわれていた。

### 井上 章教授時代

昭和21年～昭和33年(1946～1958)

斎藤教授の転出に伴ない, 京都大学医学部講師兼同附属臨時医専教授の職にあった井上 章教授(現, 京都大学教授)が昭和21年(1946)4月, 生理学教室を担当した。井上教授は, 昭和13年(1938)京大卒業後正路倫之助教授の下にあって, 主として呼吸循環の生理学と生物物理化学との研究を行っていた。教授に就任はしたが, 新任地の宇部市も戦災を受けていたた

め適当な住居がなく、昭和24年(1949)までは困難な交通事情を押して、京都より出張を反復して勤務せざるをえなかった。しかも、当時の校舎は元商業学校のそれを転用した粗末な木造建築で、研究室としては殆んど使用不能のものであった。加えて人員、資材の不足は容易に改善されず、敗戦後の学制混乱の中にあって学校の存続さえ危ぶまれていた。しかし、富田雅次校長の優れた識見と、山口県当局、宇部市民、教職員および在学生の熱意にもとづいて、山口県立医学専門学校は旧制度の山口県立医科大学として存続することが認められ、昭和23年(1948)在学生の1部を予科に編入し、翌年4月より本科が開講された。

井上教授は着任後、上述のような悪条件を克服して、まず学校の存続に尽力すると共に教室の基礎の確立に努めた。すなわち学校の運営面では、運営委員の主幹となって校長を助け、日夜当局との交渉に勤め、県立医科大学設置の認可をみて、後記する研究室の新築を始めとして、校舎の増改築に大きな貢献をした。生理学教室の担当者としては、教室員の定員の充足と増員および学生の講義実習用資材の整備に奔走するほか、研究面で京大在任時よりの「汗中微量有効成分の研究」を継続、これを完成し(日本生理誌11巻)、さらに新しく組織中の蛋白、アミノ酸などについての研究発展を期していた。

昭和27年(1952)、大学が新製の山口県立医科大学に再編され、同時に産業医学研究所と蛋白質化学研究所が附置された。井上教授は両研究所の所員を兼任したが、この時点での教室員は、川端五郎助教授(産業医学研究所所員兼任、1949～)、空閑秀邦、助手～講師(1948～1955)のほか、助手として奥山静雄(1950～1952)、高橋勝三(1952～1955)、研究補助員として村上喜久子(1949～1952)、加川礼一(1950～1951)、石川進(1951～1963)、研究生として重松保彦(1952～1955)等で、それぞれ同教授の下で研究の指導を受けるか、教育研究の補佐を行なった。

前にも述べたが、井上教授の着任当時の校舎

は研究室として使用不能であった。このため同教授は医化学担当の中村正二郎教授らと計って、松本彰学長の理解と協力をえて、大学設置者である山口県当局に強く働きかけて教室の新築を求め、非常な努力の結果、昭和25年(1950)、主として機能学の研究室との名目で面積約400m<sup>2</sup>、平屋で木造モルタル造りの建物が竣工した。生理学教室の主体は新築された建物に移り、従来の所は学生実習室に転用されたが、教室の研究発展にはなお不十分で、特に医科大学全体として将来の発展を考えると更に広い面積を必要とした。そこで全学的な構想の下に基礎各教室の新築移転が計画され、昭和31年(1956)生理学教室も新装成った鉄筋3階の建物に再移転、その2階に約300m<sup>2</sup>の面積を占めた。このとき井上教授は、前回の経験をもとにして、与えられた面積の中で教室の機能が最もよく發揮できる設計を作り、大学の内外各方面と折衝して、その実現をえた。しかし同教授は、折角作り上げた教室を充分に使う期間をえず、昭和33年(1958)3月神戸医科大学へ転出した。

井上教授の在任期間中の教室員は、前記した8名のほか、千葉康則助教授(1956～1961)、永谷忠助手(1954～1959)、竹尾義長助手(1954～1957)、柴田二郎助手(1954～1960)、久野宗助手(1956～1962)で、研究補助員として加藤満寿子(1948～1951)、小玉徳重(1954～1959)、研究生として小坂肇(1955～1958)、木附一人(1955～1958)、辻岡俊明(1957～1958)であった。ほかに学内の他教室よりきて同教授の指導で研究を行なった者として荻野舜亮(1955～1958)、中村正(1956～1958)があった。

在任期間中の研究業績の主なもの、着任前に京大医学部で行なった低酸素呼吸の研究を追加したもの、高濃度の炭酸ガス吸入についての呼吸・循環生理学、あるいは労働生理学的な研究、組織蛋白についての生物物理化学的な研究および堪能な数学の知識を駆使して行なった理論生理学的な研究であった。これらの業績の大半は、教室員との共著として、または指導論文の形で教室員の自著として発表されている。

### 1. 低酸素呼吸についての研究

着任前の研究について考察を加えたものは「高度の $O_2$ 欠乏に対する人体の耐性」として山口医学会誌1巻(1949)に自著として発表、 $O_2$ 欠乏に対する耐性を意識の存続時間でみる場合、個人差があり、個人差は身長、体重、肺活量などには無関係で吸入気の $O_2$ 分圧と関係があることが示されている。

研究生の木附は、低酸素下で筋作業をする場合の肺胞空気の組成について研究し、吸入の酸素分圧と肺胞空気のガス分圧との関係を論じ、ひいては呼吸中枢による呼吸量の調節を考察して論文を完成した。研究員の中村は、この成績を参考として高濃度の酸素を吸入した場合の呼吸量、肺胞空気のガス分圧および動脈血のガス分圧について相互の関連を検討した。また助手の永谷は、前記2名の研究に協力するほか、酸素不足時の人体脊髄反射と動脈血のガス分圧との関連について実験した。

井上教授はこれらの指導論文を総括して、労働科学32巻(1956)と山口医大産研年報5巻(1957)に共著として発表、正常空気吸入時とほぼ同一の作業能力を示す吸入酸素濃度と作業強度の関係、および作業を数分位しか遂行できない条件を求め、これが動脈血の酸素分圧によって統御される呼吸・循環機能の調節、あるいは神経系の機能水準によって裏付けされると結論した。

### 2. 炭酸ガス吸入についての研究

井上教授は在任中、大学附置産業医学研究所の所員と共に、西部炭鉱保安協会の炭酸ガス専門部会委員を兼任した。元来、宇部地区の炭鉱は坑内炭酸ガスが比較的高濃度であったため、同協会から特に依頼されて現場の調査のほか、坑内炭酸ガスについての労働生理学的な研究がなされたのである。

実験を担当したのは、主として川端、永谷、竹尾、重松で、他の教職員も時間の許す限り協同実験者となった。すなわち、川端らは、高濃度(5%前後)炭酸ガス環境下で安静時、および筋作業時の呼吸・循環の諸量を測定し、血中

炭酸ガス張力と呼吸性アチドーシス、酸塩基平衡、呼吸中枢の興奮性との関係について検討した。永谷らは、同じ条件下で体温、発汗、心電図、聴力、筋の興奮性、脊髄反射などを測定し、神経筋生理学の立場から、高濃度炭酸ガス吸入の影響を検討した。これらの成績は井上教授によって纏められ、一酸化炭素の共存するとき、あるいは酸素不足が共存する条件を附加した場合についても考察されて、西部炭鉱保安協会の機関誌(安全灯)に逐次発表されたが、総括的には山口医大産研年報2巻(1954), *Jap. J. Physiol.* 5(1955)に掲載された。結論の主要なものを要約すると次のように記すことができる。(1)坑内炭酸ガスの忍限濃度は、それが単独の場合は4%であるが、酸素不足が共存するときは2%としなければならず、一酸化炭素がある場合は、この影響が優先し炭酸ガスは考慮の対象にならない。(2)精神機能に対しては、高濃度炭酸ガスの吸入により上昇した血中炭酸ガス張力のほかに、その変化の早さが一過性に影響するなどであった。

### 3. 組織蛋白についての生物物理学的な研究

高橋、重松、村上、奥山らの担当した実験で、血清蛋白の移動度、Harknessの平衡因子あるいは平衡偏倚量、門脈血および吉田肉腫に伴う腹水の蛋白像について検討されたほか、ミオシンの抽出、精製などがなされた。これは井上教授が大学附置の蛋白化学研究所の所員として行なった研究で、纏められた結果は、高橋および重松の学位論文として、生体の科学6巻(1954), 生物物理化学1巻と2巻(1954~1955)などに発表された。

### 4. 理論生理学的研究

空閑、小坂らは、山口大学工学部の臼井の協力を得て電磁流速計を試作し、犬または家兎の動脈で脈波と流量との関係について検討した。当時この型の流速計は市販されていなかったため、自作した流速計の応用可能性について、非常な苦心と熱心な討論がなされた。纏められた成績は、*Jap. J. Physiol.* 4, 5(1954, 1955), *J. Physiol.* 147(1959), 山口医学5巻と6巻(1956,

1957) に発表された。

研究員の荻野はクロールプロマジンの血液循環に対する効果 (日本生理誌, 20巻, 1958), 重松は一酸化炭素中毒時の Henderson-Haggard の中毒指数 (山口医大産研年報 3巻, 1955), 空閑らは四分表による統計的検定 (同年報 1巻, 1953) について論文を発表した。これらのほか, 井上教授の自著として, 高温高湿環境下の人体の熱平衡 (山口医大産研年報, 1巻, 1953), 労働生理学的にみた作業環境の総合的評価 (同年報 2巻, 1954) について理論的な考察がなされた。

#### 5. その他の研究

これまで記した研究業績のほかに, 井上教授の協力と助言を得て教室員が行なった研究は, 川端助教授のエネルギー代謝率の検討 (山口医大産研年報 1巻, 1953), 血色素の分光化学的研究 (山口臨床医学 2巻, 1954), 千葉助教授の条件反射の研究 (生理学会発表, 1958), 久野助手の脊髄前角細胞の興奮性についての研究などであった。また柴田助手は, 就任の前後 2 年間余り, 京都大学の 大谷卓造教授の下で神経筋の電気生理学について基礎的な指導を受けて後帰学, 井上教授の離任時は, 川端と協力して脊髄の根電位について研究していた。

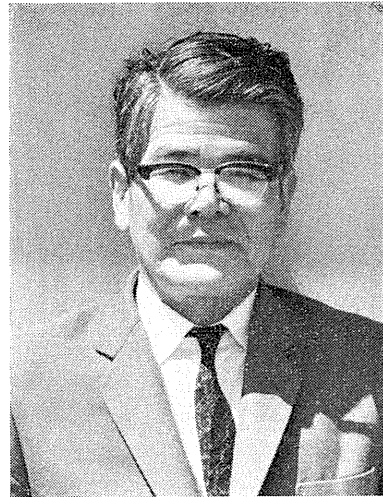
(以上, 川端五郎記す)

#### 丹生治夫教授時代

昭和35年～ (1960～)

昭和35年 (1960) 8月, 丹生治夫教授が京都大学から着任して, 第一講座を担当し, 従来より行なっていた平滑筋の生理についての研究が開始された。千葉助教授は昭和36年 (1961) 法政大学に転出した。昭和36年 (1961), 横村英一助手 (1961～1962), 続いて大川博通助手 (1961～) が着任した。

昭和36年 (1961) から昭和40年 (1965) までは平滑筋, 主として尿管を対象としての電気生理学的研究が行なわれ, 尿管の興奮性および興奮伝導 (1962), 尿管の活動性に対する薬物 (1963), Kイオン (1963), Caイオン (1963),



丹生治夫教授

1964), Naイオン (1964), 各種陰イオン (1964, 1965) 等の影響について研究が行なわれた。

この間, 影山邦夫助手 (1962～1965), 目片文夫助手 (1965～) が研究に従事した。また, 大学院学生として杉谷 誠 (1963～1964), 専修科生として村田晋作 (1964～1966), 西村 充 (1963～1964), 日下郁彦 (1964～), 松本忠美 (1965～) が子宮筋, 尿管平滑筋に関する研究に従事した。他方, 丹生教授が京都大学において共同研究者であった京都大学教養部の熊本水頼助教授, 医学部中島晃助教授らと共に, 子宮筋および血管平滑筋の電気生理学的研究も継続して進められた。さらに, 山口大学教育学部佐藤吏助教授, 山口大学教養部皆川孝志講師らと共に運動生理学に関する研究も行なわれている。

昭和39年 (1964), 国立移管に伴い山口県立医科大学は山口大学医学部となり, 学生定員も40名から60名となった。同年 (1964), 柴田二郎助教授が着任し, 心筋, 特にプルキンエ線維の電気生理学的研究を進展させ, 昭和41年 (1966) よりシカゴ大学 Department of Medicine の Dr. Hecht の下に留学した。

昭和40年 (1965) 以降は, 平滑筋の分野において, 未開拓の血管平滑筋の電気生理学的研究に主力が注がれ, 血管平滑筋に対する Kイオン, Naイオン (1966), カテコールアミン (1966),

代謝阻害剤, その他の薬物(1967, 1968)等の影響に関する研究が行なわれている。

昭和42年(1967)6月から3ヶ月間, 丹生教授は文部省在外研究員として米国, ヨーロッパにおける平滑筋の研究, 教育事情について視察した。

(以上, 丹生治夫記す)

### 生理学教室第二講座

#### 川端五郎教授時代

昭和33年～(1958～)

昭和31年(1956)4月1日より生理学第2講座が設置され, 井上章教授がこれを兼担したが, 昭和33年(1958)3月, 同教授の転出に伴って川端五郎助教授が代行, 同年8月1日付で教授に昇任し, 担当教授として発令された。

就任当時の教室員は川端のほか, 講座開設前から研究を続けていた柴田二郎助手, 竹尾義長研究生, および医化学教室と兼務の竹本茂司技術員の3名であったが, 同年(1958)11月には助教授として曾我美勝(1958～)が京都大学より着任した。柴田は昭和35年(1960)講師に昇任したが, 同年7月辞任非常勤講師となり, 竹尾は研究を終わって昭和34年(1959), 竹本は転職のため昭和36年(1961)教室を去った。

その後現在まで, 助手として村川茂堅(1959～1963), 谷国勝美(1961～), 玉野井逸朗(1961～1963), 沖充(1964～1966, 現在は講師, 解剖学教室勤務), 坂田義行(1968～), 研究補助員として宮岡史恵(1961)が教室員に加わり, 大学院学生として川崎正輝(1959～1963), 坂田洋三(1961～1965), 香月哲也(1964～1968), 望月一徳(1966～), 山田明夫(1967～), 津江満磨(1967～), 研究生として沖充(1959～1962), 岡村節夫(1962～1967), 白石逸郎(1963～1965)が研究に参加したほか, 藤本勝喜(1962～), 中村良治(1964～1965), 近藤瞳(1967～), 林義博(1967～)等も研究に従事した。

川端は昭和17年(1942)京都帝国大学を卒業, 昭和22年(1947)より母校の故・大谷卓造教授の下で大学院特別研究生として指導を受け



川端五郎教授

ていたが, 昭和24年(1949)助教授として山口県立医科大学に着任, 昭和31年(1956)第二講座の開設に伴って, 第一講座となった従来の講座を離れ, 第二講座に勤務することになった。

このとき大学の基礎部門は, 新築された鉄筋3階建に移っていたが, 講座の新設に際して別枠の予算も面積も与えられず, 教育研究面ではそれまで未開拓であった電気生理学の分野を担当するよう要望されたものの, 研究用機械, 資材は甚だ不満足な整備状態であった。しかし, 面積の方は近い将来研究室が増築される予定であったため, 第一講座の一部を借用してまずシールド室を作り, オッシログラフと手製の増幅器を使用して, 微小電極法による心筋の細胞内電位と莖脊髓の根電位とを研究課題として器械の整備を開始した。

昭和33年(1958)曾我美助教授が着任, 研究の終局目的は同じであるが, それに達する手段は教授と助教授とが必ずしも同じである必要はないとの考えで, 彼は独自に着任前からやっていた蛋白の物理化学領域の研究をすることになった。しかし, 当時の講座予算ではこの種の研究に要する多額の資金は到底賄いきれなかった。そこで同助教授は, 米国の研究資金による研究員に応募, 昭和35年(1960)8月から3ヶ年間, インディアナ州のパーデュ大学化学教室

に留学研究したが、このときの業績が高く評価され、J. F. Foster 教授の懇請により再度、昭和40年(1965)8月より2ケ年間、同教室に留学研究した。

昭和34年(1959)基礎部門の研究室が増築されて、第2講座は従来の建物で2階の半分、面積約300m<sup>2</sup>、10室を与えられた。この場所は、それまで薬理学教室と微生物学教室が設計使用していたものであったため、生理学の実験には不便で、改造するのに約半年間を要した。しかし、資金不足のため改造は不充分で、面積は広くなったものの、研究用機械器具はいうまでもなく、机・椅子類の不足までが目につく状態であった。

昭和35年(1960)前記のように丹生治夫教授が着任して第一講座を担当、生理学教室の人員配置が一応ととのった。丹生教授の主な研究課題は平滑筋の電気生理学であって、さきに第二講座が要請されて整備しつつあった分野と重複、生理学教室全体として研究が偏する恐れがあった。しかし、第二講座での機械器具の整備は甚だ不充分であり、第一講座での電気生理学の実験は、それまで殆んど行なわれていなかった。加えて講座の研究費は甚だ少ない。もし第一講座が電気生理学の分野で研究し、第二講座が別の領域に変わったとすれば、先進の他大学の生理学教室に互して両者とも後塵を拝することになり兼ねない。電気生理学の分野で両講座が協力してこそ他学に互しうると意見が一致した。これに関連して、学生の教育面での担当を他学の従来例のように、いわゆる動物性機能と植物性機能とにわけるとの可否について意見が交わされた。そして、少くとも医学生に生理学を講義する場合は、故・橋田邦彦教授の生命の全機性の考えに則して、私は植物性機能を分担しているから動物性機能はよくわからないとはいえないことを確認した。すなわち講義は、いわゆる植物性機能と動物性機能とを、両講座で2年または3年毎に交代して担当する、との原則が申し合わされた。その後昭和38年(1963)川端はヨーロッパに約3ケ月間出張し、

数個の大学または研究所で生理学の実験と学生教育を視察した。また昭和39年(1964)国立移管の年次計画にもとづき両講座とも、いち早く山口大学医学部に編入されたが、上記した研究遂行の方針と講義分担の原則は不変であった。

第二講座開設後の主な研究は、心筋または平滑筋の生理学的性質に関するもの、蛋白についての生物物理化学的な研究などで、ほかに人体のガス代謝に関するものであった。

#### 1. 心筋または平滑筋についての研究

これは主として川端の指導または協力をえてなされたもので、本学の機関誌に、これを育成する目的から発表された。研究生の竹尾は、ガマの灌流心について灌流液中のClイオンを他の陰イオンに交換したときの収縮性について検討した。またガマの摘出心、ネコの体内心について、微小電極法でえられる心筋の活動電位と針電極でえられるもの、および普通の肢誘導でえられる心電図を比較検討して、山口医学8巻(1959)に発表した。この研究は沖らによって、さらに進められ、臨床心電図のT波の成因が考察された(山口医大紀要, 7, 1960)。研究生の沖は、カエルの体内リンパ心について同様の実験と考察を行ない、若干の自律神経毒の作用機構について検討(紀要8巻と山口医学10巻, 1961)した。また研究生白石の研究に協力して、リンパ心の神経支配について電気生理学的な研究を行なった(山口医学15巻, 1966)。柴田助手は、ガマの心室筋に対するアドレナリンおよびクロールプロマゼンの作用機構を微小電極法により検討し、学位論文として紀要6巻(1959)に発表した。

大学院学生川端は、研究生沖の実験に協力するとともに、ネコの輸尿管について、その蠕動運動と活動電位との関連を検討して論文を完成(紀要10巻, 1963)、同坂田は、カエルの胃筋細胞の静止電位が部位により差のあることを証し、これに対する若干の薬剤あるいはCaイオンの影響を検して、収縮性とCaイオンの関連を論じた(紀要11巻, 1964)。このほか、イヌ幽門部活動電位と十二指腸部のそれとについて検

討した。後者の実験は、沖と白石によってさらに進められ、Kイオンによる拘縮とCaイオンの関係、あるいは興奮収縮連関などが論ぜられた(山口医学15巻, 1966)。研究生岡村は、ネズミの子宮筋に対するオキシトシンの作用機構を、細胞内電位あるいはCaイオンとの関連から検討した(同上誌)。

川端は嘗てから、平滑筋の自動収縮なり活動電位に、神経要素がどの程度、またどのように影響しているかを追求したいと思っていた。谷国、玉野井らによる発生初期の鶏胚心についての実験(紀要11巻, 1964)、および藤本のリンパ漏斗弁についての実験(山口医学15巻, 1966)は、神経要素のない標本を求めたものであったが、結論は未だしく、暫らくは派生的な実験を行なわねばならなかった。すなわち沖、川崎らのNitellaの細胞内電位についての検討(山口医学9巻, 1960; 紀要8巻, 1961)、谷国、藤本、中村らの微小電極の尖端電位、あるいは蛋白溶液中でのイオン活量についての検討(日本生理誌27巻, 1965; 紀要12巻, 1965; 山口医学15巻, 1966)は、微小電極でえられる静止電位の精度について考察したものであった。

附記：いまの山口大学医学部は昭和19年(1944)山口県立医学専門学校として宇部市に創立され、1948年に山口県立医科大学となり、1952年に新製の県立医大となり、同時に蛋白研究所および産業医学研究所が附置された。蛋白研は富田雅次博士が生化学者として山口医専の校長に就任されたことに関係するものと考えられ、産業医学研は宇部市という立地条件によるものと考えられる。山口大学医学部となったのは昭和39年(1964)のことである。

山口大学医学部は設立されてから日が浅いと思っただが、すでに1/4世紀近い歳月を経ていることを知っておどろいている。生理学教室の歴代の教授はいずれも京都大学医学部生理学教室で研究した人々である。初代の斎藤幸一郎教授(現在は金沢大学)、2代の井上章教授(現に京都大学)、現在の丹生治夫教授が第1生理学、第2生理学は一時、井上教授が兼任したが、間もなくいまの川端五郎教授が専任教授となった。

## 2. 蛋白質の物理化学的研究

曾我美は、血清アルブミン、合成ポリペプチドなどについて、特に、Helix-Coil transition および N-F isomerization 等の分子構造変化を研究した。N-F isomerization の研究中、アルブミン分子は安定性(conformational stability)のことなる分子集合よりなると仮定し(microheterogeneity model)、血清アルブミン分子の多数の物理化学的パラドックス説明、同時に予見した事実をも証明した。また、蛋白質分子の2次および3次構造についても研究した。これらの成績は、J. Biochem., **46**, **48** (1959, 1960); J. Biol. Chem., **237**, **238**, **240** (1962, 1963, 1965) に発表された。

## 3. その他

大学院学生望月は、カエルの膀胱について隔壁電位差を測定、Naイオンの能動輸送について検討、谷国らは某作業現場において、作業に伴うエネルギー代謝を調査(山口医大産研年報15巻, 1967)した。なお、昭和42年(1967)からは、IBPに関連して瀬戸内海地区住民の耐寒性と耐熱性について研究がなされた。

(以上、川端五郎記す、昭和43年<1968>6月)

蛋白研と産業医学研には設立当初から生理学の教授が兼任しており、また大学院医学研究科の生理部門の教授であって、責任は大変に重い。このようなことは、わがくに他の大学でも少くない。ヨーロッパおよびアメリカ合衆国などの大学では研究面でも教育面でも多くの生理学者がそれぞれ独自の領域に専念できる仕組みになっているのと比べて著しく異っている。

それにも拘わらず、山口大学ばかりではないがわがくにの生理学者がそれぞれ独自の研究を進めているばかりでなく教育にも近頃は多くのエナジーを注いでいる。山口大学の生理学の歴史に少しばかり記されていることを見てもおどろくばかりである。このような心意気をもってわがくにの生理学が進められている。私は日本生理学史の編集に関係しそのことを痛感するとともに先輩、同僚および後輩の人々に感謝しているひとりである。

(以上、内山孝一記す)



## 〔短報〕

## 〔紹介〕

## 医学における生理学の教育と学会について

入沢 宏 (広島大第1生理)

医学が創始されて以来、生理学が医学に占める位置は基本的に重要なものであることに疑義をいだく人は殆んどいないと思われる。しかるに、現在の医学教育における生理学の位置をたんねんに分析してみると、生理学は必ずしも、それが医学において本来しめなければならない、または務めなければならない役割をつとめていない事に気付く。生理学は自然科学として存在するから、本来、それが人類の福祉に役立つが立つまいが、あたかもアルプスの登山家がそこに山があるから登ると同様、直接応用のないものである。その結果、生理学者が真理の探求に力を入れれば入れる程分析は微に入り細をうがって、器官の立場から行われる研究法よりも細胞の立場から、またそれよりも分子の立場から学問をみなおそうとする努力が行なわれるのは当然である。いいかえれば、科学としての医学は、如何に生体が機能を果たしているかを知らうとしているが、一方、医学には技術としての一面があって、そこでは人間社会の必要性に応じて、いかに健康な人間生活を創始するか、いかにして疾病を治癒させるかに目的がしばられてくる。臨床医学は技術のみの学科かという決してそうではなく、個々の臨床医学にしても科学としての心臓病学、科学としての耳鼻科学等々が存在することは、現在世界の多くの臨床医学教室が好むと好まれざるに関係なく基礎的研究を行ない、器官生理学の大部分および部分的には分子生物学の分野にまで大きな発展をしていることをみても首肯できると思う。しかし、その結果として臨床医学者の負担は増加し治療法のように技術としての面のみでなく、科学としての専門分野の発展まで責任を負わされていることも事実である。元来、大部分の個人がなしうる思考には限界があるので、治療学を進展させる一方、同様な集中力をもって科学を進歩させることは至難の業といわねばならないだろう。丁度、物理学の世界で、多くの物理学教室が古典物理学の発展を一時そばにおいていると同様、生物学においても

分子生物学の急速な発展のために、医学部教育においてもいわゆる人体生理学または生体調節のような部門は次第に影を薄めている事は、わが国の生理学において大部分の学者の興味が極めて基礎的な研究にあって、その分野では大きな貢献をしているにも拘らず次第に医学部内の臨床医学者との間に大きな間隙を生じつつあることから伺い知ることができる。この事は、困難な人間関係が基本的にあるとしても、このままでよいものであろうか。

ここで振りかえって医学校の果す役割を考えてみると、医学校では学生に、(a)開業医として、(b)専門医師として、(c)大学に於ける臨床医として、(d)研究者として、(e)公衆衛生分野に働く人として、(f)または病院や大学などの経営運営にたずさわる人として働きうるような、医学一般の知識についての、しっかりした基礎を与えることにあると考えることができる。この事を可能とする為には、医学部の教官は創造的で自由な研究を行ない、またはよりよい治療法を考案する努力をしていると理解できる。何故ならば教官にこのような研究の自由を与えない限り、彼らは新しい知識を創造できる筈がなく、教育を介して彼等の知識を広く分布することもできないからである。

このような医学校本来の役目を考えてみると現状の医学教育はあまりにも医学の新方向に向いていないように思う、また医学教育についての議論もすくないように思う。新しい教育について最近新設された加州大学医学部 (at Davis) での試案を一つの例として紹介したい。学長の DR. L. C. Carlson は呼吸生理、体温調節の研究者としてわが国にもよく知られ、生理学会員でも永坂鉄夫氏、本田西男氏、佐々木隆氏、万木良平氏等の英才が現在または過去においてその門をたたいたと理解しているが、Davis という広大な野原の中に懐く、彼の構想は次のようなものである。

基本的な概念として、医学教育を3部分の Core Areas における。医学科1年次では core A に相当するもので4つの接近法をとる。

1. 分子生物学および細胞生物学
2. 器官生物学およびシステム生物学
3. 臨床医学の導入と紹介
4. Behavior および環境生物学

第1の分子生物学および細胞生物学では細胞の

構造と化学活動、正常および異常環境での人体細胞が主な分野であるが、微生物学およびピールス等もこの中に入る。このコースの中に、従来の解剖、組織、発生、生化、微生物、病理、薬理、生理等が入る。例えば膜を介する輸送機構は従来多くの学科で別々に行なわれていたものが、このコースの中で統一して行なわれる。生理学なども総論的なものが対象となるので時間数は大幅に減少してよいこととなる。

第2の器官およびシステム生物学では、解剖生理、生化、薬理が主となり器官又は系を主眼とした教育となる。例えば、神経系統の解剖組織、衝撃の伝導、その酵素機構、薬理学的物質によるブロック機構等はこの中で、免疫反応の生化学、脾臓、リンパ腺の解剖機能等は造血または細網リンパ系の器官系として論ずることとなる。このような方法により人体全体としての積分機構が現在よりも理解しやすくなるだろうと考えている。

第3に、臨床医学との接触をすでに1年生から始める。医学の初期に患者に接することにより、学生は病歴のとり方を知り、生きた診断学の初歩を知ることとなる。この点で、学生は解剖学の知識の必要なこともいまよりもよりよく理解する。さらに病歴をとる事により、器官生理学およびシステム生物学の必要性が理解される。例えば関連痛を訴とする患者では、神経の経過の知識が要求されることとなる。臨床医学に早期から親しむことは、学生に basic science の必要性を早くから認識させるのに役立つこととなる。

第4として behavior および environmental biology では、人間の behavior についての、神経生理学および神経薬理学を教えるもので、精神神経学を一年次に導入し、前述した患者と医師との関係を一層強調しようとする。またこのコースでは医療と社会に於ける医師の実際についての、心理的、社会的、法律的、経済的問題を論じ、その結果、学生をして医学と社会との相互作用について知らしめる。また医学における人間性についての問題も文献的に考慮することとなる。

第2年次は Core B を主体とし45週4節から成り立っている。Core B は患者→問題提起→課題という順序で教育が行なわれるため、主として、器官およびシステム生物学に主力がそそがれる。主な分野としては、

1. 生殖と成熟、2. 神経支配によって左右される面、3. 化学的変化によって左右される面、4. 造血臓器リンパ器官、5. 心臓血管、6. 呼吸、7. 泌尿器、8. 消化管、9. 皮膚科学、10. 外傷。

この各部分では病理学が主体となって話されることとなる。Core A でえられた概念は、core B で拡張されるので学生は病的状態における構造と機能について知ることとなる。Core B に示した分野についての病的状態は、先天性、栄養性、代謝性、外傷性、神経性、アレルギー性、退行変性、または中毒性等の諸原因で起こされることとなり、これに関連した話題がここで cover されることとなる。Core A で始まる診断学と問診とは core B でさらに拡張される。

第3年次 core C, core B の概念がさらに強調され、充分でなかった部分の補充が行なわれる。臨床的経験に主眼をおき、患者の入院から退院までの経過を転科をもふくめて追うこととなる。手術室で手術見学者として時間を空費するようなことはさけるようにする。

第4年次では学生のプログラムにおける最もゆう通のきく時期で、外科を将来やろうとする学生は、病院外科で elective (志願医) をとる事ができるし、解剖や生理、病理などで志願研究生となることも可能である。内科学に興味をもつ学生は、伝染病、神経病、血液学または心臓学等の志願医となればよい。どの科で志願医となるかは教師の忠告助言をかりればよい。3, 4年次は教課的には細目となっていないが、ここでは学生の興味は固定化し志願科目の時間がふえるからであるが、詳細でないのは未だ3年生が実際に存在しないためでもある。

この core 方式の中で core B の概念はクリーブランド方式と似ている。伝統的生理学の概念にしたがえば生理学総論が core A で教えることとなる、これは3節8カ月で終了する。生理学の各論はすべて core B で行なうこととなる。各論は臨床医学の前段階として教授されるので、ある時は臨床医学者が呼吸生理をまたは呼吸器の病理学を教えることがあっても何の不思議はない。このようにして、基礎医学の中に多数の臨床医学者がまたその逆が入りこんで医学部は混然とした形態をとることとなる。

読者は恐らく従来の解剖学、生理学、病理学、薬

理学等がどのような役目をもつかに難点を感じるに違いない。しかし、解剖学者の大部分は専攻としては決してマクロの解剖学または光学標本を武器とする組織学者であることではなく、彼等の多くは現在では形態学を主な方法とする機能研究者で内分泌学者であることもあるし、また筋肉の生理学者であることもある。電顕またはX線分析等によって構造そのものを研究する学者は、むしろ分子生物学をめざしていると思われる。生理学者の大部分は当然細胞の興奮性に興味をもっているが、このような研究者の多くは植物性器官生理学は職業上の必要から勉強の対象となっているのみに思われる。このような意味において、生理学が進歩をつづける学問である以上、伝統的生

理学は研究者の研究対象から消滅しつつあることを思わずには居られない。

医学を専攻または生理学を専攻している人口は日本では極めて多いと思われるが、生理学会に入会して意見の交換をしようとする人は僅か2000人に足りないといっている。恐らく、これに3倍する人口は生理学に興味をもちながら、生理学会という共通の舞台で話をせず、心臓学会、脈管学会、ME学会、脳波学会、筋学会、アレルギー学会等々の小さいサークルの中で個々の発展を期待しようとしている。この事は、日本の医学の発展から考えても、かならずしもよい事とは思えないし、生理学会々員各位の意見を伺いたいように思う所以である。(1968. 9. 20)

#### [会報]

本会評議員、小林 丘君は昭和43年8月8日脳出血にて逝去されました。謹んで哀悼の意を表します。

#### 昭和44年度の新評議員推薦について

新評議員の推薦は候補者の学歴・職歴・研究歴に推薦状を付けて、受付締切の昭和43年12月31日までに(厳守)日本生理学会宛に書留郵便でお送

り下さい。受付締切以後到着の推薦は次年度廻しとすることを選考委員会で申し合わせましたから、期日に遅れぬよう御協力下さい。

#### [編集後記]

○ この号はごらんのように原著6篇に速報6篇と内容が豊富な号となりました。それに短報も1篇、掲載することができました。速報は好評で比較的よく原稿が集まります。特に英文速報は好評のようです。

この号の英文速報は活字は9ポのままで行間を少しつめましたら刷り上がり2ページとしては少し余白がでることがわかりました。この号の英文速報のような組み方に対して強い異論がなければ、少しでも記述を豊かにする方が当然よいので

すから、今後はこの号のようにしたいと思いません。そうしますと英文速報の制限はほんの少し緩和されまして、著者名、表題、図1(または表1)の全部を含めてパイカ、ダブルスペースでタイプライター用紙約4枚半位までよいこととなります。今後はどうぞそのお積りで英文速報を御投稿下さい。

○ 短報欄には広島大学の入沢教授が「医学における生理学の教育と学会について」と題して寄稿して下さいました。生理学とは限らず学問最近の進歩発展が余りにも急速であり多岐にわたるため、それらを十分消化しとり入れた上で新しい教

育制度を確立しようとしても新制度が間に合いません新しい構想がまとまって新制度ができかかる時にはすでに学問の方の進歩が新制度より数歩も先んじているという有様です。つまり学問の進歩と制度の確立とが「いたちごっこ」をしているという感じがします。ましてや新制度の効果が現われるのにはさらに時間がかかりますからどうにもしようがありません。この問題は生理学の分野だけにあるのではなく、医学の各分野にも似たりよったりの問題があるわけであります。しかもこれらの医学領域に山積みしている問題が大なり小なり日本の政治や経済の機構と関係があるわけで、それらを切開し排膿しない限り、いくら末梢に対症療法を行なっても問題は根本的には解決しないと思います。何か抜本的、革命的な手段や方法をとらない限り、この種の問題は解決されないのではないかと思います。

○ 本誌の活字をいまの9ポから8ポにしたらどうかという御希望が会員のなかにありましたので、10月の編集委員会で検討致しました。第一に経済の点を考えてみますと、現在のように9ポならば1ページあたり約1700字入るのに対し8ポの活字を使うとすると約1900字入り、1ページあたり約200字余分に入ることになります。ところが組版代はどうかというと、9ポの場合は1ページ

あたり約1000円であるのに対し、8ポの場合は約1300円で8ポの場合の方が相当に高くつきます。

このように計算致しますと、活字を8ポにすると学会にとっても投稿者にとっても経済的負担は大きくなることはあっても決して小さくなることはないということがわかります。こう考えますとわざわざ8ポにするにはおよばないのではないかと考えざるをえないのです。そればかりでなく、活字を小さくして1篇でもたくさん論文を載せなければならぬほど現在は論文があるわけではありませんし、大きな活字の方が見易いという会員もおられるので、結局のところ、いましばらくは活字としては現在の9ポを使用してゆこうという結論になりました。

○ 今年の8月、アメリカで行なわれた国際生理学会には日本からも多数の生理学者が参加され、多くの収穫をえて帰国されたことと思います。それらの方々が本誌の短報欄にふさわしい記事をお寄せ頂けたらありがたいと存じます。

○ 10月から12月にかけては文部省の科学研究費の交付を受けた特定研究班や総合研究班などのいわゆる班協議会が多数開かれる筈であります。班の世話役の方からその班の研究の概要について御寄稿下さるようお願い致します。

(市岡正道記す)

### 正 誤 表 (30巻 8号)

頁	誤	正
689 右 追記 2	順位 1. 北海道大学, 2. 東北大学	順位 1. 東北大学, 2. 北海道大学

## 比色計の価格で 分光計の性能！

340～800 $m\mu$

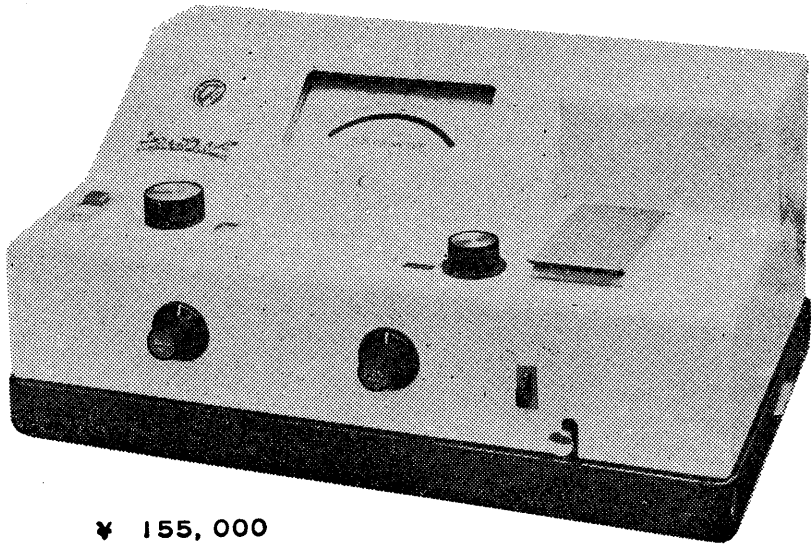
合金鑄造の匡体中に密封されたモノクロメーターはリトロ式マウンティングで重フリントプリズム使用により340～800 $m\mu$ の範囲で常に高い分解能を示します。すなわち可視域中心部で波長巾5 $m\mu$ のスペクトル純度が得られます。他器と比較してください。

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-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. 10 (1968)

Originals

Katuhiko Ohasi : On the movements of the colon and the gallbladder during nausea and vomiting .....771  
 Toshio Hotta : Response patterns of the auditory units in the frog's medulla oblongata.....779  
 Mitsutsugu Ono • Fujio Yamashita and Mitsuo Ogino : Studies on the hair growth of beard and scalp hair (2) On the diurnal variation of the rate of beard growth .....784  
 Nobuji Maeda : Studies on mammalian hemoglobins by "Fingerprinting" procedure II . Comparison of human, canine, rabbit and guinea pig hemoglobins.....790  
 Michio Santa : Studies on hemoglobin A<sub>2</sub> II . Oxygenation properties .....805  
 Yoko Ito • Ikuro Kunishima • Yoshihiko Katayama • Taro Inoue and Hisato Yoshimura : Studies on effects of dietary composition on acclimation to heat and cold with rats .....815

Short communications

Shinji Itoh • Kiyoshi Moriya and Hachiro Shirato : Fatty acid composition of human subcutaneous fat in the winter.....831  
 Tadao Kakegawa and Kiyoshi Yamamoto : Ouabain-insensitive active transport of amino acid into rat pituitary gland .....833  
 Takehiko Saito and Ichiro Tanaka : Configuration of action potential of the bullfrog atrium driven at various cycle-length for extended period.....835  
 Tokuro Fukuda and Hisashi Uzawa : Idiosyncratic hepatic reaction in canine hemorrhagic shock in the absence of glucocorticoid : Its prevention by endotoxin-conditioning .....837  
 Norio Akaike and Yoshio Kowa : Inulin space of rat skeletal muscles—Comparing the muscles in vivo with that in vitro.....839  
 Mituhiko Hisada : A simple method of on-line display of the instantaneous frequencies of nerve impulses .....841

昭和四十三年九月二十日印刷

編集兼  
 行人

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  
 内 菌 耕 二

印刷者  
 印刷所

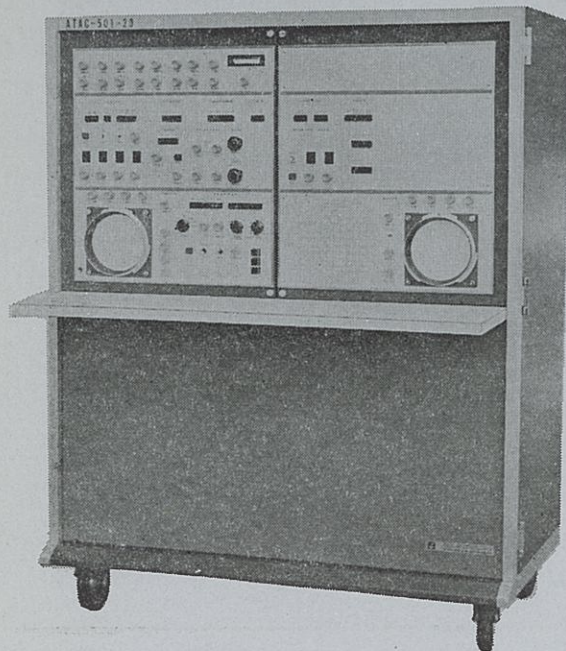
山形県鶴岡市山王町一四ノ二四  
 平 田  
 鶴岡印刷株式会社 頁

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  
 郵便番号 一三三  
 日本生理学会

振替  
 価東京八六四三〇  
 式百四三〇

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