

日本

生理学

雑誌

JOURNAL OF THE PHYSIOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

33巻

3号

1971

総説

山本 清：甲状腺生理研究の18年……………153

原著

山本 隆：銅イオンの呈味作用に関する神経生理学的研究……………169

安光 洋：胎児血の酸素平衡曲線について-2,3-diphosphoglycerate (DPG) と関連して……………179

大村 裕, 小野武年, 杉森睦之, 中村 勉：塩酸サイプロヘプタジンのラット視床下部外側野および腹内側核に対する作用……………193

短報

SHIRAKI, K., OHNAKA, M. and SHIRAI, I.: A simple and accurate apparatus for measuring the volume of large gas sample……………206

HOMMA, S. and TAMAI, Y.: Group Ia acceleration following stimulation of the ventral roots during gallamine administration……………208

HAMADA, T., TAKATA, M. and KAWAMURA, Y.: An analysis of the effects of muscle afferents on the contralateral temporal and masseteric motoneuron……………210

学会抄録 第187, 188回生理学東京談話会……………212

会報 総合研究班合同会議……………217

人体基礎生理学研究所設立 実行委員会・業務専門委員会……………219

J. J. P. 編集委員会……………221

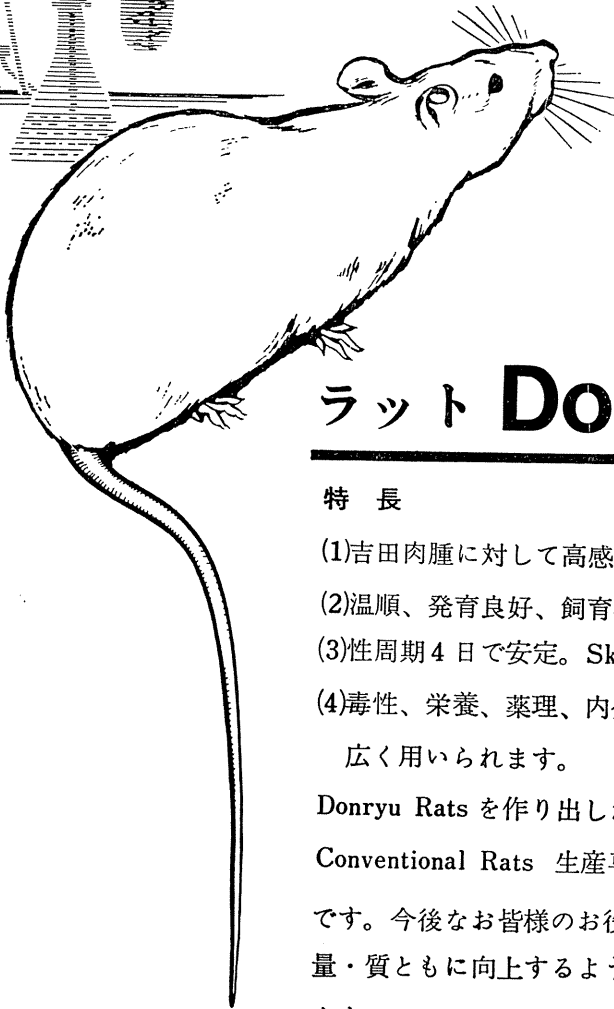
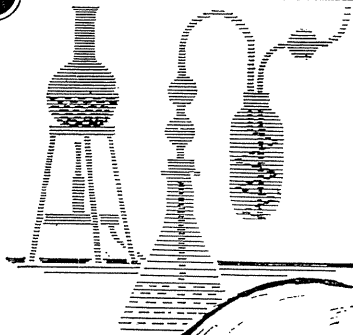
書評 情報科学 (真島英信)……………224

入門生物物理学 (本間三郎)……………225

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・6401

甲状腺生理研究の18年 612.441

山 本 清 (群馬大学内分泌研究所生理学研究室)

Eighteen years of our thyroid research. Kiyoshi YAMAMOTO

(Department of Physiology, Institute of Endocrinology, Gunma University, Maebashi)

日本生理誌から依頼された総説の主旨は、原著の多くが英文で発表される現状で、本誌に掲載されない論文を通して流れる著者の一貫した考えを、会員一般に示すことを主眼として、従来の研究をまとめるということであった。私共の原著は、内分泌学関係の専門誌、それも英文誌に出したものが大部分であったので、この機会をかりて、一般の総説とは少し体裁を異にするが、本研究部で行なわれてきた18年間の研究を中心とし、そのような研究の背景となった諸他の研究の大体についてのべることにしたい。この種の極く簡単な記述は発表したことがあるが¹⁰⁰⁾¹⁰⁵⁾、ここでは、甲状腺生理に関連した研究のうち、すでに原著として発表したものを主として、研究進展の過程をあとづけて見たい。

I. 甲状腺研究史の概略

1952年(昭27)を境として、甲状腺研究は再出発と躍進を開始した。その直接の契機は、生理的にも重要な第2の甲状腺ホルモンとして3, 5, 3'-triiodothyronine (T_3)が発見され(Gross・Pitt-Rivers, 1952; Roche たち, 1952)、甲状腺に関する新たな興味を刺激したことによるが、實際上研究の躍進を促進するのに大いに貢献したのは、新しい研究技術の開発とその一般化であった。たとえば、ヨウ素の微量定量法(Barker たち, 1951)、微量のヨウ素化合物の分離を容易にした paperchromatography³³⁾³⁵⁾などをあげることができる。これらの方法に加えて、ヨウ素の同位元素($^{131}\text{I}^-$, $^{125}\text{I}^-$ などの)利用が容易になったことが相まって、多くの進歩を急速に可能にした。このようにして、甲状腺

の研究は、1952年以前の生物学的段階から、いわば生物物理化学的段階に進み、甲状腺でのホルモン合成過程、分泌されたホルモンの代謝過程、標的器官に対するホルモンの作用機転などについて、広くかつ詳細な研究が、おどろくほどの勢いで進められるようになった。偶然にも、私共が甲状腺の研究にはじめて手をつけたのが、丁度1952年のことであった¹⁰⁵⁾。

最近の研究動向については、後に各研究についてのべる際にふれることにし、ここでは1952年以前の主な甲状腺生理学上の発見について手短かに紹介しておく。

甲状腺に関係があるといえばありそうな事柄に人類が気付いた時期は、B. C. 2000年頃までさかのぼることができるそうであるが、科学的観察が行なわれはじめたのは17世紀のことで、Wharton (1656) が、はじめて正常甲状腺について明確な記載をし、甲状腺と命名した。その後、甲状腺機能亢進症 (Parry, 1825; Graves, 1835; Basedow, 1840) と機能低下症 (Fagge, 1871) の病態が明らかにされ、また Kocher (1883) と Reverdin たち (1883) は、ヒトの甲状腺を摘除し、甲状腺の機能低下症状を確認した。

動物実験のはじまりはその翌年のことで、Schiff (1884) 以後多くの人々が甲状腺摘除を行なった。Schiff はまた、甲状腺摘除による症状が甲状腺の移植によって消退することを認め、Murray (1891) は甲状腺抽出物もまた有効であることを見た。

以上のような諸観察から、甲状腺が何か有効物質を分泌するという考えが確かになり、次の段階として有効物質の化学的研究がはじまっ

た。Baumann (1896) は、甲状腺がヨウ素を多量にふくみ、その大部分が蛋白質に結合していることを見出した。しかし、甲状腺ホルモンが分離されて thyroxine と名付けられ (Kendall, 1914), 分子式が決定され (Harington, 1926), 合成の成功を見る (Harington・Barger, 1927) までには、約30年を必要とした。その後、甲状腺研究の躍進がはじまった1952年までには、さらに25年が経過している。甲状腺の確実な記載 (Wharton, 1656) からの300年間は、現在の研究の進み方から見ると甚だ遅々としているとはいえ、臨床的観察、基礎的動物実験、および生理的有機ヨウ素化合物に関する化学的研究がたえず進められて、次代の躍進への道が切り開かれていったのである。その詳細はのべないが、甲状腺とそのホルモンに関して、基礎的な事実なり、基本的な考え方なりの大体は、すでに1952年以前にほとんど洩れなく知られていたということもできる。1952年以後の活発な研究と著しい進歩は、これらの基礎の上にはじめて成しとげられたのである。以下に、1) 甲状腺の生理機能、2) 甲状腺ホルモンの代謝、3) 甲状腺ホルモンの作用機転の3項目にわけて、私共の研究のあとをたどって見よう。

II. 甲状腺の生理機能³⁶⁾⁴¹⁾⁸²⁾⁹⁹⁾¹⁰²⁾¹⁰⁴⁾¹⁰⁶⁾

甲状腺の生理機能はホルモン合成³⁸⁾³⁹⁾⁹⁰⁾と分泌⁵¹⁾であることはいうまでもない。また、微量作用物質としてのホルモンの合成分泌が、その利用、代謝、排泄の量に応じて、微妙に調節される機転⁴⁰⁾⁴⁶⁾⁸⁵⁾⁹⁴⁾も生理学上の主要問題の一つである。

1952年まで、甲状腺ホルモンは thyroxine (T_4) のみと考えられていた。 T_4 の発見後間もなく、diiodotyrosine (DIT) が甲状腺内の第2の生理的ヨウ素化合物として発見され (Harington・Randall, 1929), これがホルモンの唯一の前駆体で、その2分子の縮合によって T_4 が生じると考えられていた。Monoiodotyrosine (MIT) が発見されたのは、ようやく1947年 (Fink・Fink) のことであり、DIT, MIT, thyronine な

どが、種々の組み合わせで縮合して、3, 5, 3'-triiodothyronine (T_3) ははじめ、ホルモン作用の弱い3, 3', 5'-triiodothyronine (T_3'), diiodothyronine (T_2), monoiodothyronine (T_1) などが生合成されることが明らかになったのは、1952年以後のことである。

こうした発見に刺激されて、甲状腺ホルモンの生合成に関する詳細な研究が進むことになったのであるが、私共が研究をはじめた1952年当時は、甲状腺の本来の機能指標すなわちホルモン合成能それ自身を機能指標として実験するには、条件が十分ととのっていなかった。私共は、どちらかといえば分析的な研究方向に興味があり、したがって *in vitro* の実験を主とする積りであったので、まず *in vitro* の機能指標として、甲状腺薄片の酸素消費を用いる研究をはじめることにした。まず、甲状腺薄片の酸素消費に対する自律神経液性伝達物質と、いくつかのホルモンの作用について研究して見た。その目標は、自律神経系や他の内分泌腺によって、甲状腺が直接支配されているかどうかを、*in vitro* の実験でためして見ることであった。Acetylcholine は 10^{-4} M 程度で著明に促進的に作用し³⁾, adrenalin, noradrenalin は作用しないこと⁴⁾が見られた。Cortisone は $3 \mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で明らかに抑制的に作用し¹²⁸⁾, また T_4 自身は $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度以上で抑制、この濃度以下ではわずかに促進を示した¹²⁷⁾。後にのべるように (p.156), 甲状腺ホルモンの合成には酸化が重要な過程である。しかし酸素消費量の増減が、甲状腺本来の機能すなわちホルモンの合成と分泌に、どれだけ密接な関係があるかということについては明らかではなかった。

甲状腺薄片の酸素消費の測定と共に、甲状腺 homogenate の酸化酵素の活性、および好氣的条件下での酸化還元電位の測定も行なった。このような酸化還元電位は、甲状腺で特に高いことが知られた^{63a)78)79)}。この電位は、物理化学でいう酸化還元電位とは本質的に異なるもので、好氣的条件下で組織 homogenate 中の電子活量

の動的平衡を示すものと考えられ^{63b)76)79)121)122)}, この電位の高いことが, 組織の酸化能の高いことを示すとすれば, ホルモン合成に必要な活発な酸化過程が甲状腺に存在することを示すものである。

同じ頃, 呼吸酵素として succinoxidase と cytochrome oxidase の活性を, 甲状腺 homogenate について研究した。これらの酵素に対する ACTH と cortisone の作用を, *in vitro* で見たのである。ACTH は副腎皮質を標的器官とする下垂体前葉ホルモンであるが, 甲状腺と副腎 succinoxidase に対して同じく抑制的に作用し, cytochrome oxidase に対しては, 甲状腺では作用を認めないのに反して, 副腎では抑制的に作用した¹²⁾。また cortisone は, 甲状腺, 副腎皮質, 下垂体前葉の succinoxidase に対していずれも抑制的に作用した²⁰⁾。

以上の諸研究は, 私共の研究開始直後の, いわば模索的な試みであり, その結果には今から考えるといろいろ問題がある。しかし, 研究者は, 頭よりまず手をはたらかせる方が必要であるという考え方¹⁰³⁾にもとづいて, とも角甲状腺機能の支配調節, 他の内分泌腺との機能協関という問題を頭において, 行なわれた諸研究であった。内分泌腺間の機能協関については, 当時すでに莫大な研究が集積していたが⁸⁵⁾, *in vivo* の研究のみでは, 多くの内分泌腺を相互にむすびつけている複雑な協関関係を解きほぐすことは困難で, 実験系としてより単純な *in vitro* の系で研究を試みる必要を感じたのであった。

また, 酸素消費の研究から進んで, 酸化酵素活性を研究対象にえらんだことは, その後の私共の研究を, ホルモンと酵素との間の相互関係⁸⁰⁾⁸¹⁾⁸³⁾⁸⁶⁾¹⁰¹⁾の究明に向ける出発点となったことに意味がある。

さらに, たとえば ACTH が甲状腺の cytochrome oxidase に対しては作用がなく, 副腎の同じ酵素に対しては抑制的に作用するという類の研究結果は, かねて考えていた組織特異性の問題とむすびつき, その後の研究に際して,

しばしばこの問題が念頭に上ることになった。それぞれの内分泌腺が, 全く性質の異なるホルモンを分泌すること, それぞれのホルモンはまた, しばしば特定の標的器官にのみ強く作用することなどは, 明らかに組織特異性の存在を示す事実であるが, その本態についてはほとんど判っていないかつし, 今も不明の点が多い。

そこで, この問題と, 酵素, あるいは補酵素, または代謝活性とを関連させて考えると, 組織の酵素構成などを調べて比較すれば, 甲状腺という組織の特異性がうかび上るかも知れない。そこで次のような一連の研究を行うことになったのである。甲状腺と副腎皮質, 髄質を比較すると, 甲状腺では succinate を, 副腎皮質では malate を酸化する活性が高く, 副腎髄質では共に低いことなどの差が認められた¹⁴⁾。この研究で, 組織の homogenate に cytochrome c を加えると, 副腎髄質の酸素消費が著しく高まる事実が見られ, これは adrenalin の酸化によるものであることがわかった。正常状態では, 髄質にふくまれる多量のアスコルビン酸によって, adrenalin の酸化が生理的に抑制されていることが, その後の研究で明らかになった¹⁶⁾。このようなビタミンの役割りについての新しい知見はその後生かされて, 甲状腺ホルモンの合成と分解の調節におけるビタミンの生理的役割りを明らかにするいとぐちになった (p.157)。

Cytochrome c 含量は, 甲状腺で低く, 副腎皮質で高く, 副腎髄質はその中間値を示す⁵³⁾。

Glutamic dehydrogenase と glutamic-oxaloacetic (aspartic- α -ketoglutaric) transaminase について広く研究して見ると, これらの酵素活性は, 肝と腎でいちじるしく高く, 内分泌腺, 殊に甲状腺で特に低いことが知られた^{19a)}。この頃から, 分光学的な方法が酵素の活性測定に応用された。さらに alanine- α -ketoglutaric transaminase と tyrosine- α -ketoglutaric transaminase の活性, および transaminase の補酵素 (pyridoxal phosphate) となるべき pyridoxal の含量は, いずれも肝と腎で高く, 甲状腺で低いこともわかつ

た¹¹³⁾。特に, tyrosine- α -ketoglutaric transaminase の活性は, 甲状腺では認められなかった。以上のような酵素に関する組織特異性のうち, たとえば tyrosine に対する transaminase が甲状腺に欠けていることは, 明らかにその機能特性と関係があると考えられる。このことによって, 甲状腺ホルモン合成の素材として重要な tyrosine が, 甲状腺でよく保存されると考えられるからである。また, 肝と腎の transaminase 活性が特に高かったことは, これらの組織で甲状腺ホルモンが transaminase によって代謝されることを, 明らかにするきっかけとなった事実として重要である。このことについては後にのべる (p.158)。

以上のような, いわば手さぐりの実験を試みているうちに, $^{131}\text{I}^-$ を利用して, 本来の甲状腺機能, すなわちホルモン合成自身を, 直接機能指標として *in vitro* の実験を実施する準備がようやくでき上った。甲状腺ホルモン合成の過程^{33a)82)90)}は, 1) ヨウ素イオン (I^-) のとり込み, 2) I^- の酸化, 3) 酸化されたヨウ素の tyrosine への結合 (ヨウ素化, iodination), 4) iodotyrosine の縮合による甲状腺ホルモンの生成, という4段階にわけられる。これらの諸過程は, 多くは酸化的反応であり, 甲状腺ホルモンの合成に組織呼吸が必要なことは, 当時すでに知られていた。しかし, oxidative phosphorylation (酸化的磷酸化) とホルモン合成の関係はなお明らかではなかった。甲状腺薄片について, oxidation, phosphorylation, iodination を同時に測定して比較して見たところ, oxidation よりも phosphorylation の方が, iodination とより密接に関係することが明らかになった^{32a)}。同じ方法を用いて, 甲状腺ホルモン合成の第1段階, すなわち I^- のとり込みと, 酸化的磷酸化の関係についても研究して見た。 I^- のとり込みは, ClO_4^- , SCN^- などの一価陰イオンによって特異的に抑制されることは, すでに知られていた (Franklin たち, 1944) が, SCN^- の作用機転については不明であった。実験の結果, SCN^- は, 甲状腺の酸化

的磷酸化を抑制し, それが I^- のとり込みの抑制と平行することが明らかにされた¹¹⁾。その後この事実は広く信じられ, SCN^- の作用機転の定説として認められている。

女性ホルモンが, *in vivo* で甲状腺機能を促進するのではないかと考えられてきたが (Garnier, 1921), 私共は *in vitro* の研究で, 甲状腺への直接作用を実証しようと考えた。Estradiol-17 β は, 10^{-5} M 以上の高濃度では酸素消費, I^- とり込み, iodination をいずれも明らかに抑制したが, 低濃度範囲では, 極めて軽度ではあるが, 促進的に作用する一定傾向が見られた²⁾。しかしこの促進作用は, 酸化的磷酸化の促進によるとは思えない結果であった。

I^- とり込みは, Na^+ , K^+ -activated ATPase (いわゆる transport ATPase=tATPase) のはたらきによることが明らかにされたので (Wolff・Maurey, 1959), 再び甲状腺機能に作用をおよぼす物質の, 甲状腺 tATPase に対する作用が検討されることになった⁶¹⁾。生理作用の強い女性ホルモン (estradiol-17 β , estrone, estriol) は, 著明にこの酵素を活性化するが, 生理作用のない estradiol-17 α には tATPase に対する作用も認められなかった。また SCN^- , および抗甲状腺剤 (thiourea, propylthiouracil など) は, 軽度ながらこの酵素を阻害することが明らかになった。すなわちこれら物質の, 甲状腺の I^- とり込みに対する作用の少なくとも一部は, tATPase に直接作用することによるのである。甲状腺刺激ホルモン (TSH) がこの酵素に対して, *in vitro* で直接作用する証拠はえられなかった⁶¹⁾。

とり込まれた I^- が利用されて iodination が行われるためには, 少なくとも組織薄片を必要とするといわれたが (Morton・Chaikoff, 1943), その後 homogenate によっても iodination が起ること (Weiss, 1953), この iodination 活性は mitochondria と microsome にあること (Taurog たち, 1955), homogenate に過酸化水素が加わると活性が高まること (Alexander, 1959), iodination が peroxidase によって触

媒されること (Hosoya, 1961) などが相ついで判って来た。このような知見を背景とした私共の一連の研究²⁹⁾⁵⁷⁾⁻⁶⁰⁾は、ヨウ素活性化酵素系ともいうべきものが、特に microsome 分画にふくまれていること、この酵素によって、遊離の tyrosine, 蛋白, 脂質などの iodination が起ること、また甲状腺に比較的多量にふくまれているアスコルビン酸が、iodination を抑制している生理的因子であることなどを明らかにした。

以上の実験では、甲状腺の組織標品に、ブドウ糖とブドウ糖酸化酵素を加えて、徐々に過酸化水素 (H_2O_2) を供給することによって iodination を起させたのであるが、実際に甲状腺で H_2O_2 を供給している代謝系については不明であった。そこで、甲状腺からヨウ素活性化酵素を抽出し、いずれも甲状腺の生理的成分である NADPH, その酸化酵素, I^- , および外からビタミン K_3 を加えた無細胞系で、特に H_2O_2 供給系を加えなくても、iodination が起ることを確かめた³⁷⁾⁴⁴⁾。甲状腺にビタミン K_3 が存在するかどうか、またはこれに代って作用するものがあるかすればそれが何か、ということが今後の問題である。

上記の研究に関連して、いわゆる抗甲状腺剤の作用機転の一つが明らかにされた。抗甲状腺剤は、iodination を特異的に抑制する物質で、広く甲状腺機能亢進症の治療に用いられているものである⁴³⁾⁴⁸⁾。従来この種の物質は、還元剤として作用して、酸化されたヨウ素を I^- に戻すことなどが、その作用機転と考えられていたが、私共の研究によれば、ヨウ素活性化酵素を直接阻害することが、その作用本態である^{60b)}。またこの阻害作用は、tyrosine から MIT, MIT から DIT への iodination に共に見られることから、これら 2 段階の iodination 過程に関与する酵素系は同一であると考えられた。植物にふくまれる天然の抗甲状腺物質も同じ機転で作用する⁵⁴⁾。

甲状腺からのホルモン分泌も生理学上重要な過程であるが私共の研究は乏しい。最近 cyclic

AMP (cAMP) が、多くのホルモンの作用を仲介する生理的物質であると推定され (Sutherland たち, 1965), 甲状腺では TSH により cAMP が増すことが知られた (Kleiner たち, 1962)。甲状腺に対する TSH と cAMP の作用はよく一致し、 I^- とり込みに対しては一時的な抑制の後に促進、 I^- の有機化の促進、アミノ酸のとり込み、thyroglobulin の合成などの促進を示す⁷⁵⁾。このことは、cAMP が TSH の作用の仲介者であり、TSH が cAMP を増すことによって作用することを示している。つづいて行われた研究では、cAMP が、TSH の甲状腺に対する最も早い作用であるホルモン分泌も促進することが明らかにされた⁶⁷⁾。

III. 甲状腺ホルモンの代謝⁸⁷⁾⁹⁰⁾¹⁰²⁾

ホルモンの代謝量は、その分泌量と平衡することによって、極めて微量で作用する血中のホルモン濃度を一定の狭い範囲に保ち、ホルモンの過不足による病態の生起を防ぐということから、生理学上も重要な問題である。甲状腺ホルモン代謝の主な経路は、脱ヨウ素分解と脱アミノ分解である。甲状腺ホルモンの脱ヨウ素分解は、thyroglobulin からヨウ素が遊離されることが知られて以来 (Brum・Grutzner, 1920), この反応が最も重要なホルモン分解過程であると考えられていたが、1952年の T_3 の発見によって、研究が一層刺激された。その後、 T_3 が T_4 よりも速効的で、作用も強いという報告が出て、従来ホルモンそのものと考えられてきた T_4 は貯蔵型にすぎないもので、このものが末梢組織で脱ヨウ素され、作用型の T_3 になって生理作用をあらわすのではないかと考えられた。そして、 T_4 の作用発現までに必ず認められる潜時は、 T_3 が組織で十分に生成されるまでに要する時間であろうとされた。しかし、研究が進むにしたがって、 T_3 の作用にも T_4 と大差のない潜時がともない、また組織内で T_4 が T_3 になることはほとんどないことが明らかにされて、 T_3 がホルモンの作用型であろうという仮説はほとんどかえりみられなくなった。

脱アミノ分解については、Roche たち (1954) が T_4 の側鎖の alanine が生体内で酢酸または焦性ブドウ酸に変ることを認めて以来、L-アミノ酸々化酵素または transaminase が、この反応に関与するであろうと想像されていた。次いで Thibault (1955) によって、 TA_4 (T_4 の側鎖が酢酸に変化したもの、すなわち tetraiodo-thyroacetic acid= TA_4) が、潜時なしに作用すると報告されたことから、 TA_4 こそ作用型ではないかと期待され、したがって脱アミノ分解の生理的意義が重要視されるようになった。この研究報告は間もなく誤りであることが判ったが、甲状腺ホルモン代謝の研究を刺激した意義は高く評価される。

MIT と DIT が、transaminase によって脱アミノされることはすでに知られていた (Tong たち, 1954)。一方私共の前の研究^{19a)113)}で、種々の transaminase の活性とその補酵素の量が、肝と腎で最も高いことがわかったが、これらの組織はまた、 T_4 を最も活発に脱アミノする組織でもある。そこで、 T_4 を脱アミノする酵素は transaminase ではないかと考えて研究を行うことになり、 T_4 transaminase の存在が明らかにされたのである⁹¹⁾¹⁰⁹⁾。その根拠は、 T_4 から TA_4 への転換は、transaminase の補酵素である pyridoxalphosphate と、アミノ基受容体としてのケト酸を加えると、いちじるしく高まること、この反応は無酸素条件下でも起こること、グルタミン酸、アスパラギン酸などのアミノ基供与体を加えて T_4 に拮抗させると、 TA_4 の生成が減ることなどの事実である。この酵素活性は腎に最も高く、肝がこれに次ぎ、他の組織では弱く、甲状腺では見られない¹⁰⁸⁾¹¹⁵⁾。細胞内では mitochondria に最も活性が高い¹⁰⁹⁾。 T_3 にも作用して TA_3 を生じる¹¹⁴⁾。したがってこの酵素は、甲状腺ホルモン transaminase と呼ぶべきである。

以上の、私共が存在を明らかにした transaminase は、その後 Nakano たち (1966) により腎の mitochondria から精製され、最も強力に作用する甲状腺ホルモン脱アミノ酵素である

ことが確認された。

上述の研究¹¹⁵⁾において、L-アミノ酸々化酵素による脱アミノ反応を見る目的で、この酵素の補酵素 (flavin mononucleotide=FMN) を、種々の組織の mitochondria に加えたところ、肝と腎で脱アミノよりむしろ脱ヨウ素が著明に起った。 T_3 についても同様の結果がえられた¹¹⁴⁾。この反応は、肝で最も高く、腎がこれに次ぎ、甲状腺をふくめて他の組織では、ほとんどあるいは全く認められない¹⁰⁸⁾¹¹⁵⁾。細胞成分中では mitochondria が最も高い活性を示した。かりに FMN-dependent deiodinase と名づけたこの酵素の至適 pH は 7.0~7.5 にあり、煮沸により不活性化され、無酸素条件下または青酸の存在下では作用しない。FMN のみでなく、riboflavin, flavin adenine dinucleotide (FAD) も補酵素として作用し、 T_4 , T_3 のみならず、 TA_4 にも作用して脱ヨウ素する¹¹⁶⁾。

上記の研究¹¹⁴⁾¹¹⁶⁾ではまた、riboflavin, FMN, FAD 自身が、単独でも脱ヨウ素を起すことが認められた。この化学的脱ヨウ素 (上記の酵素による生物学的脱ヨウ素と至適 pH が異なることから区別できる) は、照明下でのみおこる光化学的脱ヨウ素反応であり⁵²⁾、種々の色素 (eosin, fluorescein, acryflavin, phloxine, safranin) によっても触媒される⁵⁾⁶⁾。ただし、これらの色素の触媒能は、その蛍光の強さとは平行しない。

以上の研究によって、はじめて明らかにされた光化学的脱ヨウ素反応は、生体内で組織が照明されることはないことから、生理的に問題になる過程ではないが、組織標品を用いて照明下で行われてきた甲状腺ホルモン脱ヨウ素分解の研究に、重要な変更が必要であることを示した。というのは、脱ヨウ素活性は、諸組織中で肝と腎が最も強いので、これらの組織標品が、酵素源として用いられることが多いのであるが、これらの組織は riboflavin, FMN, FAD を多量にふくんでいるからである⁵⁷⁾。したがって、生物学的脱ヨウ素を区別して測定するためには、暗黒ないし微照明下で実験しないと、あやまり

を来すことになる。たとえば、すでに Tata (1960) と Lissitzky (1961) が、それぞれ脱ヨウ素酵素を組織から精製したと発表したので、脱ヨウ素酵素についての研究は行きつくところまで来たという感じを与えるが、これらの論文をよく読むと、すべて FMN を加えて照明下で実験しており、しかも FMN のみによる光化学的脱ヨウ素の対照成績が記載されていないから、FMN による光化学的脱ヨウ素を、酵素活性と誤認した疑いが強い。その後この“精製酵素”をゆずり受けた追試者は、暗黒下では少しも脱ヨウ素が起こらなかつたと報告している。

甲状腺ホルモン脱ヨウ素反応ないし酵素の性質については、現在でも明らかでない点が多い。酵素の関与しない反応であるとか、特異な酵素ではなくて、たとえば peroxidase のような他の種類の酵素の非特異的作用であるとか、いろいろと意見がわかれている。しかし、 T_4 、 T_3 、 T_2 (diiodothyronine)、 T_1 (monoiodothyronine)、 TA_4 、 TA_3 (triiodothyroacetic acid) には作用するが、MIT、DIT には作用しないなど、いろいろの点から特異な酵素ではないかと思われる¹¹⁶⁾。甲状腺には iodothyronine に対する脱ヨウ素活性が認められないのに対して、iodotyrosine (MIT、DIT) に対する脱ヨウ素活性は高い。この酵素により、thyroglobulin からホルモンが遊離する際に、同時に遊離してくる MIT、DIT が脱ヨウ素されて、生成した I^- はホルモン合成に再利用されることはよく知られた事実である。この iodotyrosine 脱ヨウ素酵素は、microsome に存在し、補酵素として NADPH を必要とし、無酸素条件下でも作用するなど、iodothyronine 脱ヨウ素酵素とはいちじるしく異なる²⁴⁾。

甲状腺ホルモンの脱ヨウ素反応は、一部の研究者によって耐熱性であると報告され、このことが、酵素の関与を疑わせる一つの根拠になっているが、私共の実験では、多くの場合非耐熱性である⁷⁾¹¹⁶⁾。まれに耐熱性と見られる場合もあるが、これは次の理由から見かけ上のものと考えられる。

アスコルビン酸の内分秘生理学上の意義については、副腎皮質のホルモン分泌に密接な関係がある事実がよく知られている。副腎髄質で adrenalin の酸化分解を防止している作用¹⁶⁾、甲状腺でホルモン合成を適度に抑える作用⁵⁹⁾⁶⁰⁾などの生理的役割りについては、私共がすでに明らかにした。アスコルビン酸の組織含量は、副腎の皮質と髄質とでびはなれて高く、次いで甲状腺、肝、腎の順に高い¹⁶⁾。脱ヨウ素という酸化的反応過程が、もし肝や腎のアスコルビン酸によって抑制されているとすれば、加熱によってアスコルビン酸が減少すると、酵素活性があらわれるはずである。この際、酵素の失活はアスコルビン酸によって防がれるのかも知れない。以上の考えによく一致する成績が、実験的に認められたので⁷⁾、次に実際に肝にふくまれている量のアスコルビン酸が、果して脱ヨウ素を抑制するかどうかについて研究してみた。結果は予想通りで、アスコルビン酸が T_4 分解の生理的抑制物質であり、肝と腎にふくまれていることによって、甲状腺ホルモンが過度の分解から保護されていることが明らかになった⁹⁷⁾。また、正常に含まれる量(ラットで肝内濃度は 10^{-3} M程度)の1/10では、かえって脱ヨウ素活性を高めることも判明した。これは酵素に対する保護作用と考えられる。

次に、カエルの変態にともなう脱ヨウ素活性の変化について実験を行ったが、この研究の背景となった事実は、一部の研究者の間に、甲状腺ホルモンが、その脱ヨウ素分解に共軛して生理作用を発揮するという考え方が行われたことであつた。この考え方と、甲状腺ホルモンは脱ヨウ素されると活性を失うという事実とを結びつけて考えると、作用の度に脱ヨウ素されてホルモン作用が消失するというのであれば、微量にしか分泌されないホルモンは、とうてい生体の要求量においつけないことになる。その他の理由もあって、私としては、こういう考え方には賛成できないのであつたが、Galton・Ingbar (1961) が、カエルの肝、腎には脱ヨウ素酵素が全くないと報告し、カエルでは甲状腺ホル

モンが基礎代謝を亢進しないことと関係づけて、上記の考えを支持した。そこで私共は、この問題をとりあげることにしたのである。実験結果は、肝、内臓、全身の単位重量当りの脱ヨウ素酵素活性は、変態終了と共に激減するが、しかし依然として認められ、組織は変態後成長するので、肝あるいは全身組織による脱ヨウ素素活性としては、大して変化しないことがわかった⁹⁶⁾。したがって、脱ヨウ素素が甲状腺ホルモンの作用に直接むすびついた過程であるという説の根拠の一つは失われたことになる。

甲状腺ホルモンの代謝には、すでにのべた脱アミノおよび脱ヨウ素素分解の問題以前に、体内分布という面がある。甲状腺から分泌されたホルモンは、まず大部分が血漿蛋白と結合する。この結合は可逆的であるが、これによってホルモンが組織または尿へ過量に移行することが防がれ、分解と排泄が適度に抑制される。極めて少量（血中濃度にして 10^{-11} M 程度）の遊離ホルモンのみが組織へ移行し、そこで作用し、また分解されるのである。

私共が甲状腺ホルモンの分布について研究をはじめたのは1963年であった⁶⁶⁾。ホルモンの組織への移行は受動的に行なわれ、遊離ホルモンの濃度に平行すると一般に考えられていたが、これに反する事実がいくつか知られていた (Escobar・Escobar, 1961; Tonoue・Matsumoto, 1961)。また、低温環境で甲状腺機能が亢進し、基礎代謝が高まること、甲状腺刺激ホルモン (TSH) の分泌増加が、甲状腺機能亢進を起す因子であることは、広く知られた事実である。そこで、甲状腺刺激ホルモンが、甲状腺を刺激すると同時に、甲状腺ホルモンの組織内への移行を促進するとすれば、寒冷環境に対する甲状腺による生体の適応に、好都合といわなければならない。実際にマウスの筋を用いて実験すると、*in vivo* でも *in vitro* でも、TSH は筋への T_4 移行を促進することが証明された⁶⁶⁾。この研究が端緒となって、以下の甲状腺ホルモンの体内分布の研究がいくつか行なわれ、また甲状腺ホルモンが一種のアミノ酸であることか

ら、アミノ酸の組織へのとり込み、およびとり込まれたアミノ酸の蛋白へのくみ込み（蛋白合成）に対するホルモン作用の研究へと進むことになったのである。

マウスに T_4 を注射すると、雄では腎、雌では肝にとり込まれる分が多いが、腎へのとり込みは雌よりも雄でいちじるしく高い¹⁰⁾。この事実に関係するのは estrogen ではなくて androgen であり、雄を去勢すれば雌の程度まで低下し、testosterone の注射によって回復する。また性未成熟の雄マウスは雌の程度であり、未成熟の雄、または雌に testosterone をあたえると、成熟雄の程度まで増加する⁶⁴⁾。このような雄マウスの特性は、androgen によって腎皮質細胞内の T_4 結合蛋白の合成が高まることによると考えられた。またその後の研究で、腎の tATPase 活性が testosterone により増大することが見出されたので¹⁾、この酵素によりアミノ酸および T_4 のとり込みが促進されることが、上記の事実、およびいわゆる androgen の向腎作用の一つの機転と考えられた。

以上の研究で、 T_4 の組織移行に影響する新しい因子として、TSH と androgen が知られたが、さらに、組織の代謝位相との関係を明らかにする目的で、甲状腺摘除ウサギに標識 T_4 を注射し、その血中からの消失速度と酸素消費量の変化を同時に調べた。その結果、 T_4 が組織にとりこまれて基礎代謝が高まると、そのためにさらに T_4 のとり込みが高まること、すなわち代謝位相も T_4 の組織内移行を支配する因子であることが明らかにされた⁷²⁾。

以上のような研究結果から、寒冷刺激による甲状腺の機能変化は、次のように考えられる。まず冷点の刺激が求心性に中枢神経系に伝えられ、視床下部の TRF (TSH 分泌促進因子) の分泌を高め、TRF により TSH の分泌が増すと、甲状腺機能、特にホルモン分泌を高めると同時に、血中ホルモンの組織移行を促進する。そうすると基礎代謝が高まり、そのことがホルモンの組織移行をさらに高める。このことによって減少する血中ホルモンは、甲状腺のホルモ

ン分泌促進によって補われるという順序である。寒冷時の甲状腺機能亢進を血中ホルモンの減少による feedback 機転で説明できると考える研究者もあるが、寒冷刺激開始後、血中ホルモン濃度は高まるのみであって、濃度低下の時期は認められないから(鈴木, 未発表), feedback 説は妥当でないと考えられる。

温血動物について甲状腺ホルモンの体内分布が研究されると同時に、オタマジャクシについても、 I^- , T_4 , T_3 の経皮吸収, 体内分布, 排泄等に関して、詳細な系統的研究が行なわれた(110)(111)。

またホルモンではないが、 I^- , MIT, DIT の体内分布と半減期を、甲状腺摘除ラットを用いて測定した²⁶⁾。MIT, DIT の血中からの消失はいちじるしく早かったので(それぞれ半減期が30分および60分), その頃の報告で、ヒトの血中に多量の iodotyrosine (MIT, DIT) らしいものがあるということ (Row たち, 1966) は、十分に疑わしいと考えられた。

Ⅳ. 甲状腺ホルモンの作用機転³⁴⁾⁽⁴⁷⁾⁽⁶⁸⁾⁽⁹⁵⁾⁽¹²⁴⁾

甲状腺ホルモンの生体に対する諸作用については、1952年以前におよそのことが判明していた。作用機転についても、多くの研究が行なわれたことはいうまでもないが、現時点から見ると、いずれも甲状腺ホルモンの作用機転を説明するものとしては、極めて不十分であった(101)。

まず1920年代から1930年代には、自律神経系の研究が盛んに行われたことに対応して、甲状腺ホルモンの作用を、主として交感神経系への作用として理解する努力が払われた。次いで、ビタミンの発見とその作用の研究の進歩に刺激されて、1930年代から1940年代にわたり、甲状腺ホルモンが、ビタミンに作用することによって作用をあらわすのではないかと考えられ、その線に沿った研究が続出した。次の1940年代から1950年代にかけて、酵素学の研究の進歩と、その研究法の一般化に応じて、酵素活性に対する甲状腺ホルモンの作用が、その作用機転であ

ろうと考えられ、しきりに研究されるようになった。この頃の研究の一般については度々綜説した⁸⁰⁾⁽⁸¹⁾⁽⁸³⁾⁽⁸⁴⁾⁽⁸⁵⁾⁽⁸⁸⁾。

当時でも、ホルモンの酵素に対する作用には二つの面が区別され、一つは酵素活性に対する作用、他は酵素合成に対する作用が考えられていた⁸⁶⁾、主として研究は酵素活性に対するホルモンの直接作用に向けられていた。私共が研究にとりかかったのは、丁度この頃であった。

はじめ酵素源として動物の種々の組織 homogenate を主として用い、甲状腺ホルモンの最も特長的な作用が基礎代謝亢進であることから、諸組織の酸素消費と呼吸酵素活性に対する作用について主として研究した。また、酵素活性への直接作用を明らかにすることを目的としたので、*in vitro* でホルモンを加えて効果を見たのであった。Succinic oxidase¹³⁾⁽⁵⁰⁾, succinic dehydrogenase³⁰⁾⁽³²⁾⁽¹⁰⁷⁾⁽¹¹⁷⁾, cytochrome oxidase¹⁸⁾などの酸化酵素に対する T_4 の作用は、いちじるしく非生理的な高濃度では常に明らかな抑制を示し、なお生理的とはいえないが、ある低濃度では軽度ながら常に促進的な影響が認められた。副腎皮質の酸素消費¹²⁶⁾、ブタ心筋から精製した aspartic-glutamic transaminase¹²⁰⁾ に対する作用も同じ傾向であった。

以上の諸研究は前にものべたように (p.155), いずれも私共の研究初期のものであり、現在の見地すなわち甲状腺ホルモンは酵素の合成に影響をあたえるという考え方からすれば、必ずしも適当な研究方向とはいえない。しかし、すでにのべたように (p.156), 酵素蛋白合成系という作用点以外にも、酵素活性に対する直接作用を明らかに示す実験もあるので、上記の諸実験の意義がいつか再認識される時もあると思う。

1951年以来、 T_4 や T_3 が、無細胞系において酸化的磷酸化を抑制することが認められ、このことが T_4 の基礎代謝亢進作用の本態と考えられたことから、一時多数の研究者の興味を中心となったことがあった。私共は、エネルギーの利用を抑制することが、生体の成長や成熟を促進する甲状腺ホルモンの生理作用の本態である

はずがないという意見であった。そこで、この考えをたしかめる目的と、組織薄片のままで酸化的磷酸化を測定する方法を開発する目的で、次のような研究を行なった。この際、なるべく低濃度の T_4 を用いることにした。その理由は、上記の諸研究で、甲状腺ホルモンの作用は2相性で、高濃度で抑制、低濃度で促進という結果がいつもえられていたからである。

マウスの肝から薄片を作り、一定時間内の酸素消費量と、ATP への ^{32}P 組み込みを測定して、 $^{32}P/O_2$ 比を求めて酸化的磷酸化の示標とすると、この比は酸化的磷酸化の特異的な抑制物質 (2, 4-dinitrophenol) により明らかに低下した。組織薄片の酸化的磷酸化を示すこの指標は、すでにのべた研究^{2)11)32a)}に利用され成果をあげた。 T_4 の作用を研究した結果は次のようであった¹⁹⁾。 $10^{-4} M$ という高濃度では、明らかに肝薄片の酸化的磷酸化を抑制するが、 $10^{-6} M$ 以下の低濃度では、むしろ促進効果が認められた。このことは、生理的微量の T_4 の作用が、酸化的磷酸化の促進であるらしいことを示したものである。現在では、 T_4 の生理作用の本態を、酸化的磷酸化の抑制にもとめる人はすでに全くないようである。この頃から、甲状腺ホルモンの生理作用の研究には、その微量を用いる必要があるという考えが一般化していった。

オタマジャクシの変態は、甲状腺ホルモン作用の観察に好適な材料であり、研究は古くから行なわれ⁹⁸⁾、私共も時に応じて研究した。1953年頃から、変態過程中的肝酵素活性の変化が研究されはじめていたが (Munro, 1953)、私共は、温血動物の酸化酵素および transaminase について研究してきたことから、変態時の尾部の吸収過程と、これら酵素および蛋白分解酵素の活性変動がどのように関係しているかを研究することにした⁹³⁾¹¹²⁾¹¹⁸⁾。自然の変態でも¹¹⁸⁾、また T_4 をあてて変態を促進した場合でも⁹³⁾、succinic dehydrogenase と glutamic dehydrogenase が、尾の吸収に先だって活性が低下しはじめるが、aspartic- α -ketoglutaric

transaminase と蛋白分解酵素は、変態中活性変化が見られなかった。このことから、変態時の尾部吸収機転は、グルタミン酸やコハク酸の酸化が抑制されるので、蛋白合成に必要なエネルギー供給が減少するためと考えられた。この研究は甲状腺ホルモンと尾の酵素についての最初の研究で、その後蛋白分解酵素およびその他の多くの水解酵素の合成が、変態時の尾で増加することが知られ、また、後にのべるように (p. 164)、尾の蛋白へのアミノ酸組みこみが、甲状腺ホルモンによって抑制されることが最近認められた。すなわち、蛋白の合成が抑制される上に、分解が促進するのである。

前にのべたように、*in vitro* の実験で見た酵素活性に対する甲状腺ホルモンの直接効果は、低濃度で促進的に作用はしても、その程度は極めてわずかで、生体の基礎代謝、その他の物質代謝、成長、変態の促進などにあらわれる、劇的に顕著な作用を、十分に説明できるものとは思われなかった。一方では、生体で甲状腺ホルモン作用があらわれるまでに必ず認められる比較的長時間の潜時は、ホルモンの直接作用としては説明できない。この潜時を説明する試みの一つとして、ホルモンの作用型 (T_3 , TA_4) を、貯蔵型 (T_4) から区別することも失敗に終わったことはすでにのべた (p.158)。なおまた、甲状腺ホルモンによる成長の促進には、必然的に蛋白合成の促進がなければならないことは当然である。

以上のような考慮から、酵素に対する甲状腺ホルモン作用の別の面、すなわち酵素蛋白 (および一般蛋白) の合成に対する作用へと研究者の目が向けられるようになった¹⁰¹⁾。すでに Lipmann・DuToit (1951) が、肝の蛋白合成が甲状腺ホルモンにより促進することを見ていたが、この実験の意義は一般の注目をひかないで終り、ようやく Sokoloff たち (1959)、次いで Tata たち (1963) が再確認し、生理的微量の甲状腺ホルモンを用いて研究が重ねられた結果、ホルモンは細胞核に作用し、RNA の合成を高め、また蛋白合成の場である ribosome 成熟を

促進することによって、酵素蛋白や一般蛋白の合成を増やすことが確実となった。したがって、潜時は、ホルモンが核に作用してから、作用蛋白の合成が増加するまでの時間と考えられるに至った。このようなことから、甲状腺ホルモンの作用は *in vitro* では認めにくく、*in vivo* でホルモンをあたえた後に *in vitro* で酵素活性を測定するという、いわゆる *in vivo-in vitro* の実験が意味ある結果をあたえることが期待されるに至った。このような観点から肝の諸酵素について研究して見たところ、たとえば microsome の NADPH-cytochrome c reductase をはじめ、多くの NADPH 酸化酵素は、甲状腺摘除により活性が低下し、 T_3 注射により回復することがわかった⁴⁹⁾。

このように、甲状腺ホルモンの作用については、蛋白合成促進の面についてのみ一般に強調された。ところが、周知のように、下垂体前葉と甲状腺の間には負の feedback 関係があり³⁶⁾⁴⁰⁾⁶⁴⁾、この場合甲状腺ホルモンは、下垂体前葉の TSH などの蛋白性ホルモンの合成を抑制することが期待された。こういう考えから、下垂体に対しては、甲状腺ホルモン作用の全く逆の面、すなわち蛋白合成抑制作用が見られるであろうという期待をもち、実験して見たところ⁶⁹⁾⁷¹⁾⁷⁴⁾、果してアミノ酸とりこみも、蛋白へのアミノ酸くみこみも、 T_4 によって著明な抑制をうけることが明らかになった。また甲状腺を摘除した動物の下垂体前葉では、逆に蛋白合成が促進した。このようなホルモン作用が、TSH をふくむ分泌顆粒について特に強くあらわれたことは、下垂体前葉機能に対する甲状腺の負の feedback 調節の生理機転をよく説明する⁷³⁾。

これらの研究で重要なことは、 T_4 の抑制作用が、注射後ほとんど潜時なしにすみやかにあらわれ、また *in vitro* でも見られたことである。下垂体前葉へ甲状腺ホルモンが作用して、すみやかに TSH の合成を抑制することは、甲状腺ホルモン過剰という異常状態をすみやかに正常化することになり、このことの生理的意義は大

きい。また、作用潜時がほとんどなく、*in vitro* でも効果があらわれるということは、ホルモンの作用点が核ではなく、細胞質であることを指示している。すなわちこの場合、甲状腺ホルモンの作用点は、蛋白合成過程のうち、いわゆる transcription の段階ではなく、translation の段階であろうと考えられる。

このように、甲状腺ホルモンの相反する両面作用が明らかになり、その作用機転も全く異なることが考えられたことから、下垂体についての興味が高まり、特に甲状腺との関連においていくつか仕事が行なわれてきた。アミノ酸くみ込みによる蛋白合成の実験で問題になるのは、もともと組織にふくまれているアミノ酸の量で、これが実験条件により変化すれば、それだけで蛋白合成速度が見かけ上変ってくる。そこで、甲状腺摘除、副腎摘除を行なったが、下垂体前葉のアミノ酸濃度には著変を見なかった²⁷⁾。

下垂体前葉の種々の酵素もまた、甲状腺ホルモンに対して特異的に反応する。下垂体前葉と肝の NADPH-cytochrome c reductase, diaphorase, glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) は、甲状腺摘除と T_4 注射によっていずれも変化するが、両組織で変化の方向が異なる。たとえば、下垂体の G6PD 活性は、甲状腺摘除によって上昇し、 T_4 注射によって低下するのに対して、肝のこの酵素は、全く逆に反応する²¹⁾。G6PD は、下垂体前葉で特に活性の高い酵素であり、この酵素の活性増加によって NADPH と ribose が増加するから、このことが甲状腺摘除による蛋白合成増加の一因ではないかと考えられる。

甲状腺摘除により、下垂体前葉の lactate dehydrogenase も増加するが、この酵素の isozyme のうち特に M 型が増加する。この際、乳酸産生は減少し、glycogen が増加する。これらの変化は、 T_4 注射後正常に戻る^{25a)}。また、ブドウ糖消費特に 5 炭糖回路による酸化は、甲状腺摘除によって促進され、 T_4 注射により抑制される²²⁾。

下垂体前葉の Na^+ , K^+ -activated ATPase

(tATPase) は、アミノ酸とり込みに直接関与しない酵素であるが⁹⁾、甲状腺摘除により活性が増し、 T_4 注射によりすみやかに抑制される⁶²⁾⁶³⁾。 T_4 をはじめ生理的な甲状腺ホルモン物質による抑制作用は脳または甲状腺自身の tATPase については認められないから、これも下垂体前葉の組織特異性の一つと考えられる。

寒冷刺激では、TRF (甲状腺刺激ホルモン分泌促進因子) と CRF (副腎皮質刺激ホルモン分泌促進因子) の視床下部からの分泌が高まり、それに刺激されて TSH, ACTH の下垂体からの分泌が増すことが知られている。しかし、下垂体前葉の全蛋白の合成は寒冷によって増さず、却って減少を見た⁷⁾。またラットの年令、体重と下垂体前葉の全蛋白合成についての研究も行なわれた⁸⁾。

以上の研究では、主として下垂体の総蛋白の合成について研究されたのであるが、下垂体前葉は少なくとも6種類の蛋白性ホルモンを合成し分泌することが知られている。これらのホルモンのうち、小動物の小さな1個の下垂体前葉から容易に分離できるのは、成長ホルモン (GH) と乳腺刺激ホルモン (prolactin) である (Lewis・Clark, 1963)。このことを可能にしたのは、acrylamide gel disc electrophoresis のすぐれた蛋白分離能である (Davis・Ornstein, 1962)。また放射性アミノ酸のこれらホルモンへのくみ込みをホルモンの合成速度の指標とし、また放射性アミノ酸をくみ込んで合成されたホルモンの、medium への出現をホルモン分泌の指標とすることができる。これらの方法を組み合わせれば、GH または prolactin の合成と分泌に対する甲状腺ホルモンなどの作用を、*in vitro* で見ることができるはずである。この実験法は確立され、その方法を用いて、GH と prolactin の合成と分泌が、ラットの年令と性によって著しく変ることが示された¹²³⁾。また、甲状腺摘除により GH の下垂体内含量が減ること、甲状腺ホルモンにより GH の合成が増すことなどが知られてきた^{60a)}。

下垂体前葉は、多くの末梢内分泌腺の機能

と、成長に関係する物質代謝の調節とははたらく重要な器官であり、その生理的活性、たとえばアミノ酸のとり込みと蛋白合成の機能は、他の一般組織に比していちじるしく高い⁷¹⁾。甲状腺ホルモンによる下垂体蛋白の合成抑制についてはすでにのべたが、両生類の変態では、やはり甲状腺ホルモンによって尾や鰓が消失するという顕著な事実があり、これも同じ機転による可能性がある。実験によれば、尾、鰓など変態に際して消失する組織の蛋白への leucine のくみ込みは、甲状腺ホルモンにより低下することが明らかにされた^{65a)}。また前述のように、肝の酵素蛋白の合成は、一般に甲状腺ホルモンにより促進されるが、よく調べてみると例外も見出される。たとえば alcohol dehydrogenase は、 T_3 注射により活性が低下する⁴⁹⁾。また、cholesterol から cholic acid が生成する際に作用する 12 α -hydroxylase もこの例外に属する²⁸⁾。

オタマジャクシのある組織の蛋白、肝のある種の酵素蛋白、下垂体前葉の一定の蛋白ホルモンの合成に対する甲状腺ホルモンの作用が、抑制的なものであり、これらの場合、ホルモンの作用点は核ではなく、細胞質であろうと考えられるので、leucine に対応する tRNA の pattern が、甲状腺ホルモンによりどのように変わるかが次に研究された⁶⁵⁾。オタマジャクシ各組織で、 T_3 は、ある tRNA の量を高め、他の tRNA の量を低める作用を示し、この点では各組織間で本質的な差を示さなかったが、各組織の tRNA の pattern が、もともと大きく異なるので、このことによって蛋白合成に対する甲状腺ホルモンの作用が、組織により、またある組織では蛋白の種類により、異なることになるのではないかと考えられた。温血動物の下垂体について、甲状腺ホルモンが蛋白合成を抑制する機転については、このような研究はいまだ見られない。

以上は、甲状腺ホルモンの蛋白合成に対する抑制作用と、その作用機転についての私共の研究である。しかし、蛋白合成特に酵素蛋白の合

成系のみが甲状腺ホルモンの作用点であると考えるのは早計であろう。確かに酵素は生体の物質変換とエネルギー変換の鍵となるものではあるが、それぞれの酵素の基質、補酵素、AMP-ADP-ATP系、あるいは反応を促進または阻害する生理的物質などの量を変化させることによっても、甲状腺ホルモンが作用する可能性を除外することはできない。たとえば、甲状腺ホルモンによる cholesterol の合成と分解の促進はよく知られていることであるが、甲状腺ホルモンは肝 mitochondria への cholesterol のとり込みを促進する²⁸⁾。このことは、mitochondria に特有の酵素に、その基質となる cholesterol を多量に供給することになり、cholesterol のその後の代謝過程に影響をあたえる。

Co. I (NAD-NADH) と Co. II (NADP-NADPH) は、生体酸化還元過程の中で、各種の脱水素酵素がはたらく際に電子を受容し、また電子供与系としては、アミノ酸、脂肪酸、steroid hormone などの合成にとって重要である。この水素伝達の役割りは、すでに甲状腺の過酸化水素生成系³⁷⁾⁴⁴⁾と肝の cholesterol 代謝系²⁸⁾⁵⁶⁾について明らかにした。また甲状腺ホルモンの、肝のAMP-ADP-ATP系に対する作用も、糖代謝に関連して重要と考えられ、研究を進めた結果、興味ある結果をえている^{63c)}。

以上、私共の研究部で行なわれた18年来の甲状腺生理研究について概説した。特に意識して甲状腺に固執したわけではないが、こうして見ると、ほとんどの研究が、直接間接に甲状腺生理に関係をもっている。たまたま最初に研究対象に選んだのが甲状腺であったことが、こうも研究の将来に永く影響を与えたことにおどろく次第である。

また、甲状腺ホルモンの作用特性から、はじめに酸素消費、呼吸酵素活性などを機能指標に選んだことが、現在まで生化学的方法特に酵素学的な研究法を、主として研究に用いる結果となった。生理学では方法は問わない。考え方、研究の進め方、重点のおき方が問題であるとい

う立場で、今後も進みたいと思っている。

当然なことながらやはり不思議に思うのは、個々の研究者が、ある時は全く独立の思考過程をへて、個有の実験をくみ立てるわけであるが、それにもかかわらず、それぞれの研究は、互に緊密な連関性をもってくるということである。特に意識して研究対象や研究方向をしぼったようなことはないにもかかわらず、このような綜説にまとめて見ると、どの研究もある一つの流れに組みこまれるような性格をもっていることが浮ばりにされてくる。

こういう研究の流れを、ある時点でまとめて見ることは、興味のあることでもあり、また案外重要なことのような気もする。この機会を与えられた日本生理誌編集関係者に感謝すると共に、綜説としては例外的な形式をとったことに対して寛容をお願いする。文献も私共の発表業績に限り、全体としてまとまった一般的記述はしなかった。その欠を補い、甲状腺生理一般についてさらに詳しく知りたい人のために、私共が過去に発表した綜説を各所にあげておいたが、それから洩れたものをここにあげておく¹⁵⁾⁴²⁾⁸⁹⁾¹¹⁹⁾¹²⁵⁾。また図表の類も一切あげなかったが、必要な方は原著を参照して頂きたい。

文 献

(綜説およびそれに類するもののみ表題をかかげ、原著の表題は省略した)

- 1) Akikusa, Y. & Yamamoto, K. (1968) *J. Physiol. Soc. Japan* **30**, 873-874
- 2) Hasegawa, K. (1959) *Endocrinol. Japon.* **6**, 21-30
- 3) 井上博夫 (1954) *内分泌* **1**, 332-341
- 4) 井上博夫 (1956) *内分泌* **3**, 135-142
- 5) Ishikawa, I. (1961) *Gunma J. Med. Sci.* **10**, 187-191
- 6) Ishikawa, I. (1962) *Gunma J. Med. Sci.* **11**, 243-247
- 7) Ishikawa, I. & Yamamoto, K. (1961) *Gunma J. Med. Sci.* **10**, 176-179
- 8) Kakegawa, T., Matsuzaki, S. & Yamamoto, K. (1968) *J. Physiol. Soc. Japan* **30**, 489-490
- 9) Kakegawa, T. & Yamamoto, K. (1968) *J. Physiol. Soc. Japan* **30**, 833-834
- 10) Kamei, T., Tonoue, T., Suzuki, M. & Yamamoto,

- K. (1965) *Endocrinology* **77**, 879-888
- 11) Kanaya, R. (1959) *Endocrinol. Japon.* **6**, 1-8
- 12) 桂 博澄 (1954) *内分泌* **1**, 73-78
- 13) Katsura, H. (1954) *Endocrinol. Japon.* **1**, 109-115
- 14) Katsura, H. (1955) *Endocrinol. Japon.* **2**, 155-162
- 15) 桂 博澄 (1956) ホルモンと TCA サイクル. *総合臨床* **5**, 85-94
- 16) Katsura, H. (1956) *Endocrinol. Japon.* **3**, 250-263
- 17) Katsura, H. (1958) *Endocrinol. Japon.* **5**, 171-176
- 18) 桂 博澄, 金谷利蔵, 杉沢雄祐 (1957) *北関東医学* **7**, 119-121
- 19) Katsura, H., Kanaya, R. & Yamamoto, K. (1958) *Endocrinol. Japon.* **5**, 103-110
- 19a) Katsura, H. & Yamamoto, K. (1958) *Endocrinol. Japon.* **5**, 171-176
- 20) 桂 博澄, 吉弘正久, 井上博夫 (1956) *内分泌* **3**, 167-170
- 21) Matsuzaki, S. (1968) *Endocrinol. Japon.* **15**, 223-228
- 22) Matsuzaki, S. (1969) *Endocrinol. Japon.* **16**, 507-515
- 23) Matsuzaki, S., Kakegawa, T. & Yamamoto, K. (1969) *Endocrinol. Japon.* **16**, 403-407
- 24) Matsuzaki, S. & Suzuki, M. (1967) *J. Biochem.* **62**, 746-755
- 25) Matsuzaki, S. & Suzuki, M. (1969) *Endocrinol. Japon.* **16**, 301-308
- 25a) Matsuzaki, S., Suzuki, M. & Matsuzawa, T. (1969) *Endocrinol. Japon.* **16**, 301-308
- 26) Matsuzaki, S., Tonoue, T. & Yamamoto, K. (1968) *Endocrinol. Japon.* **15**, 64-69
- 27) Matsuzaki, S. & Yamamoto, K. (1968) *J. Physiol. Soc. Japan* **30**, 757-758
- 28) Mitropoulos, K. A., Suzuki, M. & Myant, N. B. (1968) *FEBS Letters* **1**, 13-15
- 29) Nagashima, M. & Suzuki, M. (1966) *Gunma J. Med. Sci.* **14**, 291-304
- 30) Sugisawa, Y. (1955) *Endocrinol. Japon.* **2**, 57-64
- 31) Sugisawa, Y. (1956) *Endocrinol. Japon.* **3**, 186-190
- 32) Suzuki, M. (1954) *Endocrinol. Japon.* **1**, 159-166
- 32a) Suzuki, M. (1956) *Endocrinol. Japon.* **3**, 291-303
- 33) 鈴木光雄 (1958) 甲状腺ホルモンのペーパークロマトグラフィー. *内分泌と代謝* **1**, 40-55
- 33a) 鈴木光雄 (1958) 甲状腺ホルモンの生合成. *化学の領域* **12**, 37-43
- 34) 鈴木光雄 (1959) ホルモンの作用機序について. *生体の科学* **10**, 54-61
- 35) 鈴木光雄 (1962) 甲状腺ホルモンのペーパークロマトグラフィー. *日本臨床* **20**, 645-652
- 36) 鈴木光雄 (1963) 甲状腺の機能. *内分泌学*, **1**, 第1版, 朝倉書店, 東京, 351-388
- 37) 鈴木光雄 (1964) *日本内分泌誌* **20**, 1065-1071
- 38) 鈴木光雄 (1965) 甲状腺ヨウ素代謝と酵素. *日本臨床* **23**, 665-671
- 39) 鈴木光雄 (1965) 甲状腺ミクロゾームの性質と機能. *蛋白質, 核酸, 酵素* **10**, 396-402
- 40) 鈴木光雄 (1965) 甲状腺刺激ホルモン. *臨床薬理学大系*, **12**, 第1版, 中山書店, 東京, 191-197
- 41) 鈴木光雄 (1966) 甲状腺研究最近の進歩. *代謝* **3**, 2-10
- 42) 鈴木光雄 (1966) 甲状腺ホルモン. *臨床薬理学大系*, **12**, 第1版, 中山書店, 東京, 225-238
- 43) 鈴木光雄 (1966) 抗甲状腺剤. *臨床薬理学大系*, **12**, 第1版, 中山書店, 東京, 239-249
- 44) Suzuki, M. (1966) *Gunma Symp. Endocrinol.* **3**, 81-94
- 45) 鈴木光雄 (1967) 甲状腺におけるヨウ素代謝の諸過程について. *日本臨床代謝学会記録* **3**, 22-25
- 46) 鈴木光雄 (1969) 下垂体-甲状腺系における制禦. *医学のあゆみ* **71**, 542-548
- 47) 鈴木光雄 (1969) 甲状腺研究の進歩: 甲状腺ホルモンと作用. *日本内分泌誌* **45**, 894-898
- 48) 鈴木光雄 (1969) 抗甲状腺剤. *総合臨床* **18**, 1006-1011
- 49) Suzuki, M., Imai, K., Ito, A., Omura, T. & Sato, R. (1967) *J. Biochem.* **62**, 447-455
- 50) Suzuki, M., Inoue, H., Sugisawa, Y. & Takahashi, A. (1956) *Endocrinol. Japon.* **3**, 98-105
- 51) 鈴木光雄, 石川一郎 (1964) 甲状腺ホルモンとその分泌異常. *診療* **17**, 1605-1613
- 52) Suzuki, M., Ishikawa, I., Shimizu, S. & Yamamoto, K. (1961) *Biochim. Biophys. Acta* **51**, 403-406
- 53) 鈴木光雄, 桂 博澄, 山本 清 (1957) *生化学* **28**, 681-684
- 54) Suzuki, M. & Langer, P. (1968) *Endocrinol. Exper.* **2**, 65-73
- 55) Suzuki, M., Mitropoulos, K. A. & Myant, N. B. (1968) *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **30**, 516-521
- 56) Suzuki, M., Mitropoulos, K. A. & Myant, N. B. (1969) *Biochim. Biophys. Acta* **184**, 455-458
- 57) Suzuki, M. & Nagashima, M. (1961) *Gunma J. Med. Sci.* **10**, 160-167
- 58) Suzuki, M. & Nagashima, M. (1961) *Gunma J. Med. Sci.* **10**, 168-175
- 59) 鈴木光雄, 長島三男, 山本 清 (1961) *酵素化学シンポジウム* **15**, 185-193
- 60) Suzuki, M., Nagashima, M. & Yamamoto, K. (1961) *Gen. Comp. Endocrinol.* **1**, 103-116
- 60a) Suzuki, M. & Shibasaki, K. (1970) *Endocrinol. Exper.* **4**, 187-199

- 60b) 鈴木光雄, 湯浅 茂(1963)生化学 **35**, 630
- 61) Takagi, I. (1968) Japan. J. Physiol. **18**, 723-730
- 62) Takagi, I. & Yamamoto, K. (1968) J. Physiol. Soc. Japan **30**, 755-756
- 63) Takagi, I. & Yamamoto, K. (1969) Jap. J. Physiol. **19**, 465-476
- 63a) 高橋 淳(1956)内分泌 **3**, 34-41
- 63b) Takahashi, A. (1957) Gunma J. Med. Sci. **7**, 89-97
- 63c) Takahashi, T. & Suzuki, M. (1971) FEBS Letters **12**, 221-224
- 64) Tonoue, T. & Akikusa, Y. (1966) Gunma Symp. Endocrinol. **3**, 167-179
- 65) Tonoue, T., Eaton, J. & Frieden, E. (1969) Biochem. Biophys. Res. Commun. **37**, 81-88
- 65a) Tonoue, T. & Frieden, E. (1970) J. Biol. Chem. **245**, 2359
- 66) Tonoue, T., Suzuki, M. & Yamamoto, K. (1963) Endocrinology **72**, 345-353
- 67) Tonoue, T., Tong, W. & Stolc, V. (1970) Endocrinology **86**, 271-277
- 68) 渡植貞一郎, 山本 清(1967)甲状腺ホルモン. 代謝 **4**, 270-275
- 69) Tonoue, T. & Yamamoto, K. (1967) Biochem. Biophys. Res. Commun. **26**, 315-319
- 70) Tonoue, T. & Yamamoto, K. (1967) Endocrinology **81**, 101-104
- 71) Tonoue, T. & Yamamoto, K. (1967) Endocrinology **81**, 1029-1032
- 72) Tonoue, T. & Yamamoto, K. (1967) Japan. J. Physiol. **17**, 405-414
- 73) Tonoue, T. & Yamamoto, K. (1968) Japan. J. Physiol. **18**, 481-488
- 74) Tonoue, T. & Yamamoto, K. (1968) Gunma Symp. Endocrinol. **5**, 188-205
- 75) Wilson, B., Raghupathy, E., Tonoue, T. & Tong, W. (1968) Endocrinology **83**, 877-884
- 76) 山本 清(1954)北関東医学 **3**, 175-182
- 77) 山本 清(1954)北関東医学 **3**, 183-187
- 78) Yamamoto, K. (1954) Gunma J. Med. Sci. **3**, 155-160
- 79) Yamamoto, K. (1954) Gunma J. Med. Sci. **3**, 161-167
- 80) 山本 清(1955)ホルモン作用と酵素. 総合医学 **12**, 883-889
- 81) 山本 清(1956)ホルモン作用の酵素学的解析. 総合臨床 **5**, 29-36
- 82) 山本 清(1956)甲状腺の生理学. 総合臨床 **5**, 905-921
- 83) 山本 清(1956)甲状腺ホルモンと酵素反応. ホルモンと臨床 **4**, 28-35
- 84) 山本 清(1956)甲状腺ホルモンの作用機転. 生体の科学 **7**, 340-351
- 85) 山本 清(1956)内分泌機能の協関-甲状腺を中心として. 第1版, 協同医書社, 東京
- 86) 山本 清(1957)ホルモン作用と酵素. 第1版, 金原出版, 東京
- 87) 山本 清(1958)甲状腺ホルモン代謝研究の進歩. 総合臨床 **7**, 58-68
- 88) 山本 清(1958)甲状腺ホルモンの作用機転. ホルモンと臨床 **6**, 8-17
- 89) 山本 清(1959)甲状腺ホルモンの生理作用. ホルモンと臨床 **7**, 29-40
- 90) 山本 清(1959)甲状腺ホルモン, その生成と代謝. 生物化学最近の進歩 **5**, 114-140
- 91) Yamamoto, K. (1959) Japan. J. Physiol. **9**, 394-400
- 92) 山本 清(1960)日本内分泌誌 **36**, 455-461
- 93) Yamamoto, K. (1960) Endocrinol. Japon. **7**, 8-12
- 94) 山本 清(1962)甲状腺と他の内分泌腺の関係. 外科診療 **4**, 565-572
- 95) 山本 清(1963)甲状腺ホルモン. 内分泌学 I, 第1版, 朝倉書店, 東京, 389-433
- 96) Yamamoto, K. (1964) Gen. Comp. Endocrinol. **4**, 360-369
- 97) Yamamoto, K. (1964) Gen. Comp. Endocrinol. **4**, 380-388
- 98) 山本 清(1966)両生類の変態ホルモン. 蛋白質, 核酸, 酵素 **11**, 106-111
- 99) 山本 清(1966)甲状腺. 生理学大系, VIII, 第1版, 医学書院, 東京, 79-240
- 100) 山本 清(1967)甲状腺生理の研究をめぐって. 最新医学 **22**, 233-234
- 101) 山本 清(1967)甲状腺ホルモンの作用機転. 最新医学 **22**, 1381-1390
- 102) 山本 清(1967)甲状腺ホルモンの動態. ホルモンと臨床 **15**, 82-86
- 103) 山本 清(1967)甲状腺生理の研究をするにあたってどんな本を読んだらいいか. 生体の科学 **18**, 48-51
- 104) 山本 清(1967)甲状腺ホルモンの生合成と分泌. Medicina **4**, 573-576
- 105) 山本 清(1967)群馬大学附置内分泌研究所生理学研究部史. 日本生理誌 **29**, 501-504
- 106) 山本 清(1967)内分泌. 新生物化学, 下巻, 第1版, 医学書院, 東京, 129-209
- 107) Yamamoto, K. & Ishikawa, I. (1959) Japan. J. Physiol. **9**, 190-196
- 108) Yamamoto, K. & Ishikawa, I. (1961) Gunma J. Med. Sci. **10**, 155-159
- 109) Yamamoto, K., Ishikawa, I. & Shimizu, S. (1960) Japan. J. Physiol. **10**, 221-233
- 110) Yamamoto, K., Kanski, D., Cole, F. E. & Frieden, E. (1966) Gunma Symp. Endocrinol. **3**, 217-238
- 111) Yamamoto, K., Kanski, D. & Frieden, E. (1966) Gen. Comp. Endocrinol. **6**, 312-324
- 112) Yamamoto, K. & Kanaya, R. (1958) Endocrinol. Japon. **5**, 1-2

- 113) Yamamoto, K. & Katsura, H. (1959) *Endocrinol. Japon.* **6**, 208-214
- 114) Yamamoto, K., Shimizu, S. & Ishikawa, I. (1960) *Gunma J. Med. Sci.* **9**, 110-118
- 115) Yamamoto, K., Shimizu, S. & Ishikawa, I. (1960) *Japan. J. Physiol.* **10**, 594-601
- 116) Yamamoto, K., Shimizu, S. & Ishikawa, I. (1960) *Japan. J. Physiol.* **10**, 610-619
- 117) Yamamoto, K. & Sugisawa, Y. (1957) *Endocrinol. Japon.* **4**, 236-247
- 118) Yamamoto, K. & Suzuki, M. (1957) *Endocrinol. Japon.* **4**, 262-267
- 119) 山本 清, 鈴木光雄 (1959) 甲状腺ホルモンと副甲状腺ホルモン. 臨床生化学, II, 第1版, 朝倉書店, 東京, 1097-1132
- 120) 山本 清, 鈴木光雄, 長谷川金蔵 (1959) 内分泌と代謝 **2**, 40-41
- 121) Yamamoto, K. & Takahashi, A. (1956) *Gunma J. Med. Sci.* **6**, 273-278
- 122) Yamamoto, K. & Takahashi, A. (1957) *Gunma J. Med. Sci.* **7**, 98-108
- 123) Yamamoto, K., Taylor, L. M. & Cole, F. E. (1970) *Endocrinology* **87**, 21-26
- 124) 山本 清, 渡植貞一郎 (1967) 甲状腺ホルモン. 病気の生化学, **11A**, 第1版, 中山書店, 東京, 190-205
- 125) 山本 清, 渡植貞一郎, 吉村不二夫, 石川 博 (1970) 下垂体前葉を中心として, 機能と構造の関係をさぐる. 医学のあゆみ **72**, 573-583; 645-652; 690-703
- 126) Yoshihiro, M. (1956) *Gunma J. Med. Sci.* **5**, 37-42
- 127) 吉弘正久 (1954) 内分泌 **1**, 342-347
- 128) 吉弘正久 (1955) 内分泌 **2**, 140-142



銅イオンの呈味作用に関する神経生理学的研究 612.392.69 : 612.819.7

山 本 隆 (大阪大学歯学部口腔生理学教室)

A study of taste effectiveness of copper ion in the rat Takashi YAMAMOTO (*Department of Oral Physiology, Dental School, Osaka University*)

Taste effectiveness of copper ion was studied in rats, and responses of the chorda tympani and lingual nerve produced by application of this solution to the tongue were analysed. The results obtained are as follows.

Integrated responses of the chorda tympani to copper ion solutions above 10^{-3} M consisted of a phasic state response and a steady state response. The phasic state response was strongly suggested to be concerned with the acid and/or salt receptor sites and the steady state response was suggested as a response by binding of copper ions with the sweet and/or bitter receptor sites.

Obvious nerve discharges were induced from the chorda tympani after water rinsing of the tongue following application of high concentrations of copper ion solution (above 5×10^{-3} M). These nerve discharges lasted over 30 minutes.

Application of low concentrations of copper ion solution (below 10^{-3} M) depressed and/or enhanced the integrated responses of the whole chorda tympani to the successively applied four basic solutions.

Copper ion tends to bind with sweet and bitter receptor sites.

Copper ion solution did not display any responses to the lingual nerve.

[*J. Physiol. Soc. Japan* (1971) 33, 169-178]

key words—taste effectiveness, copper ion, chorda tympani, bitter receptor.

I. 結 言

金属性の味は一般に、アルカリ味、渋味、辛味、えぐ味、あるいはウマ味などととも基本的四味の適当な組合せや、この組合せに触痛、温度感覚などが加わってできた複合感覚として取扱われてきた¹⁾。しかし、金属性の味の生理学的機序には今日なお不明の点が多く、憶測の域を出ていない。

本研究では重金属塩溶液の味の研究の第一歩として、2価の銅イオン溶液を用い、それをラットの舌表面に与えたとき、味覚神経に生じる反応を分析し、この結果にもとづいて銅イオンが味覚受容器にいかん作用するかを考察した。

II. 実験方法

実験は、銅イオン溶液を舌に与えることによって味覚神経に誘発される反応、並びに、銅イオン溶液を先に舌に与えることにより続いて与

えた基本的四味質溶液に対する味覚神経反応がいかん影響されるかの2点について行った。

実験には、体重150g以上の雌雄ウィスター系ラット40匹を用い、ネンブタール(4mg/100g B. W.)とウレタン(15mg/100g B. W.)の混合溶液を腹腔内に注射し、麻酔下で実験を行なった。気管カニューレを用い自然呼吸を妨げないようにした。ラットを側臥位に固定後、咬筋を下顎骨附着部より剝離し、下顎骨の下顎枝を切断し、内側翼突筋および周囲組織より下顎枝を剝離、切除し、手術用双眼実体顕微鏡で観察しながら鼓索神経および舌神経を十分に露出させた。ラットの舌表面に銅イオン溶液を与えた際の鼓索神経および舌神経の電気的活動を記録したが、鼓索神経は頭蓋底に入る部分で切断し中枢との連絡を断ち、その末梢部より神経活動を記録した。また、舌神経については下歯槽神経と分れる部分で切断し、鼓索神経を含まない部分で反応を記録した。神経活動記録に際しては、舌が動くことによって生じる影響を除くため両側舌下神経を切断した。

神経の電氣的活動記録には直径 100μ の白金線電極を用い、不関電極として、銀板製不関電極を周囲組織においた。神経幹からの反応は C-R 結合 5 段増巾器、積分装置を介し、ペン書きオシログラフにより記録した。なお、反応量の算定には積分反応曲線の最高点の高さ（基線から最高点までの垂直距離）を用いた。機能的単一神経線維についての反応は上記増巾器を介し、陰極線オシロスコープで観察し、連続撮影記録装置により記録した。

口を大きくあけた状態でラットを固定し、舌を十分に露出させ、2 ml の試験液を舌表面に注ぎ、試験液が十分に舌表面に行きわたるようにした。試験液および洗滌液は、すべて、温度の影響を避けるため $20\sim 30^{\circ}\text{C}$ のものを用いた²⁾。

実験には、基本的四味質溶液として、0.1 M 食塩水、0.1 M 酒石酸溶液、1 M 蔗糖溶液、および、0.005 M 塩酸キニーネ溶液、銅イオン溶液として、 10^{-8}M 、 10^{-7}M 、 10^{-6}M 、 10^{-5}M 、 $5\times 10^{-5}\text{M}$ 、 10^{-4}M 、 $5\times 10^{-4}\text{M}$ 、 10^{-3}M 、 $5\times 10^{-3}\text{M}$ 、 10^{-2}M の硝酸銅溶液、 10^{-2}M の塩化第二銅、酢酸銅、および、硫酸銅の各水溶液を用いた。また、 10^{-3}M 以上の銅イオン溶液を舌に与えた場合、一部の銅イオンは強固に舌表面に附着し、水洗を繰り返しても除去しえなかったが、その際、舌表面に附着した銅イオンを除去するため、キレート剤として、0.05 M エチレンジアミン四酢酸四ナトリウム塩溶液 (EDTA) を舌表面に約 30 秒作用させた。

III. 実験結果

A. 銅イオン溶液に対する鼓索神経幹積分反応
硝酸銅溶液を舌に与えたとき鼓索神経幹から記録した積分反応は図 1 に示した如く 1 M 蔗糖溶液の反応に比較し極めて小さく、また 10^{-3}M 以上の濃度では、溶液を与えた直後一過性に著明な反応が生じ、直ちに一定レベルにまで下降し、そのレベルを維持した。すなわち、 10^{-3}M 以上の硝酸銅溶液を舌に与えた場合、味覚神経に生じる反応は約 3 秒持続する著明な phasic

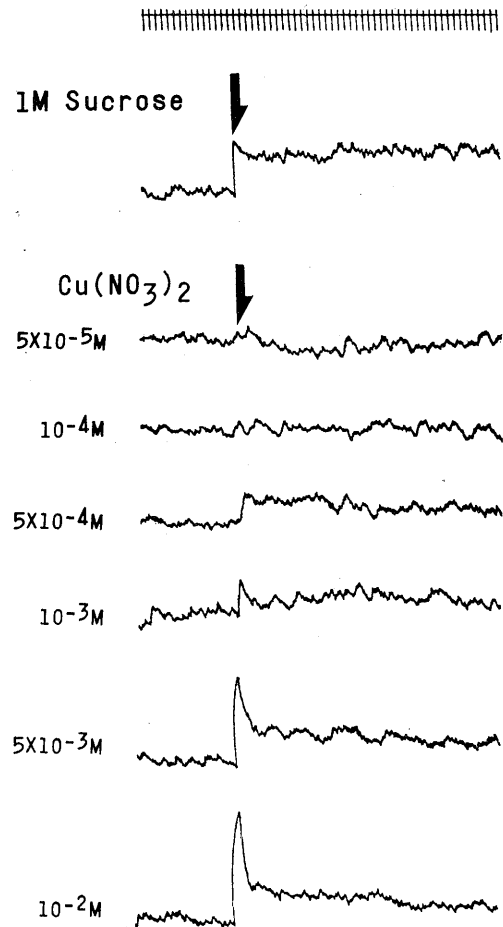


Fig. 1. Integrated responses of the whole chorda tympani to 1 M sucrose solution and various concentrations of $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ solutions. The response to $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ solution above 10^{-3}M consists of a phasic state response and a steady state response. Time in sec.

相とそれに続く steady 相の 2 相からなることが特徴である。

図 2 は硝酸銅溶液に対する反応を phasic 相の反応と steady 相の反応の二つに分けて濃度-反応曲線を作製したものである。白丸印で示した phasic 相の反応は硝酸銅溶液の濃度とともに増大するが、黒丸印で示した steady 相の反応は 10^{-3}M 以上ではほぼ飽和状態に達し、もはや濃度が増加しても反応量に著変はなく、その大きさは 1 M 蔗糖溶液の反応量とほぼ一致した。

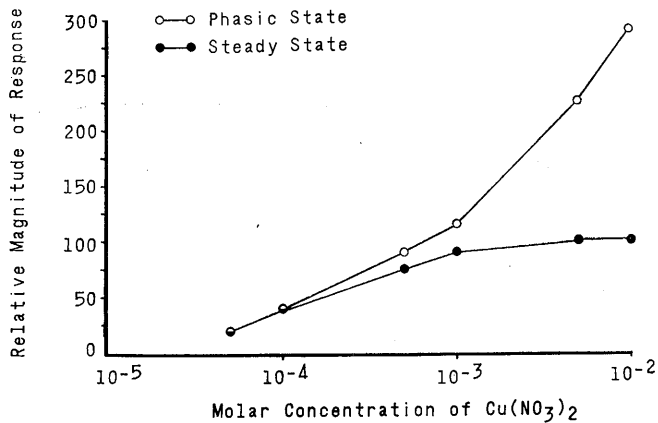


Fig. 2. Concentration-response curves of $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ solution. Open circles represent a phasic state response (the peak response) and filled circles represent a steady state response (the response at 10 second after stimulation). The magnitude of nerve response to 1 M sucrose solution is counted as 100, and relative magnitude of the response is calculated.

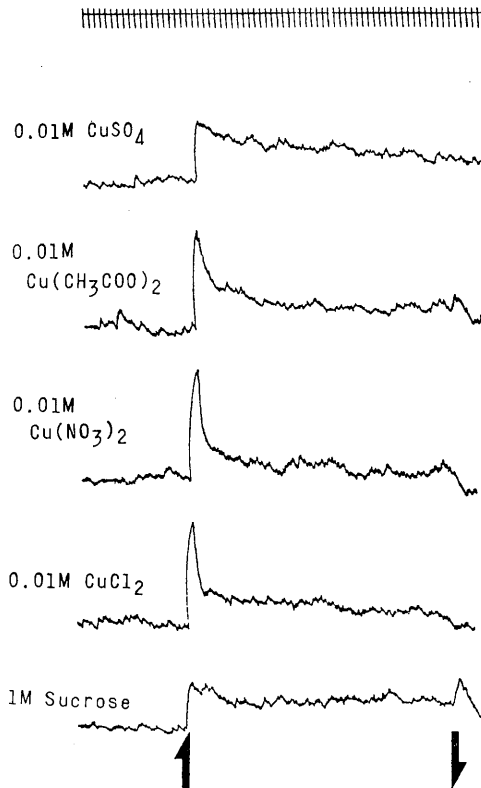


Fig. 3. Integrated responses of the whole chorda tympani to 10^{-2}M of various kinds of copper ion solutions and 1 M sucrose solution. Copper ion solutions except CuSO_4 solution consist of a phasic state response and a steady state response. The response to CuSO_4 solution lacks a phasic state response. Time in sec,

図3に示した如く、陰イオンの異なる各種銅イオン溶液について味覚神経の積分反応を比較すれば、硫酸銅溶液以外の各銅イオン溶液の反応はお互いによく類似しており、いずれも硝酸銅溶液で認めた phasic と steady の両相からなりたっている。ただし、硫酸銅溶液の場合のみは phasic 相が不明瞭で、反応の phasic 相, steady 相の両相を明確に分離できなかった。

B. 高濃度銅イオン溶液投与後の鼓索神経活動

図4に示した如く、銅イオン溶液を舌に与えた後、舌を水で洗滌すると、銅イオン溶液の濃度によって特異な反応が誘発された。すなわち、閾値濃度附近 ($5 \times 10^{-6}\text{M}$) の硝酸銅溶液の場合には、溶液を舌に与えた後、舌を水洗しても何ら反応を認めなかったが、 $5 \times 10^{-4}\text{M}$ の溶液の場合には、水洗により反応曲線の基線が著明に動揺した。さらに銅イオン溶液濃度を増し、 $5 \times 10^{-3}\text{M}$ の溶液を用いた場合には、水洗により一次的に反応は減少するが、水洗中より徐々に反応が増大しはじめ、ある一定レベルに反応曲線が維持され、この状態が長く (30分以上) 持続した。このように神経活動が増加している状況下に蒸留水で舌を洗滌すれば一過性に反応は減少するが再び元のレベルにまで徐々に上昇した。水道水で洗滌しても一過性に反応の減少がみられたが、その減少の程度は蒸留水による洗滌の場合

に比べ小さく、ときには水道水での洗滌では反応に何ら影響が出現しないこともあった。

次に、銅イオン溶液投与後の水洗操作によって誘発される味覚神経の反応増大に応じ、いかに爾後に与えた1 M蔗糖溶液の反応が変化するかを検討した。図5は一連の実験結果であって、時間的にAよりEに漸次移行している。図5 Aに示した如く、矢印で 10^{-2} M 塩化第二銅溶液を舌に投与し、横線印の期間舌を水洗することにより、鼓索神経積分反応曲線は著明に上昇経過をたどる。この反応曲線の最終レベルは図5 Bの最初の反応レベルに一致している。図5 B Cに示した如く、鼓索神経の反応レベルが高いときには、1 M蔗糖溶液を与えるとむしろ神経活動が一過性に減少した。また水洗によってほぼ同じ程度の反応減少が生じ、反応曲線はこの減少したレベルを維持した。しかし、図5 Dに示した如く、神経の活動が一定レベルになると、1 M蔗糖溶液に対しても、また、水洗によっても何ら活動には変化が生じなかった。さらに、この反応レベルが図5 Eに示した如く下降した場合にはじめて1 M蔗糖溶液に対して、コントロールと同様の反応がえられた。なお、図5 Dに示した反応レベルをコントロールのレベルにまで下げるには、0.05 M EDTAを30秒以上舌表面に作用させることが必要であった。

©. 基本的四味質溶液の反応に

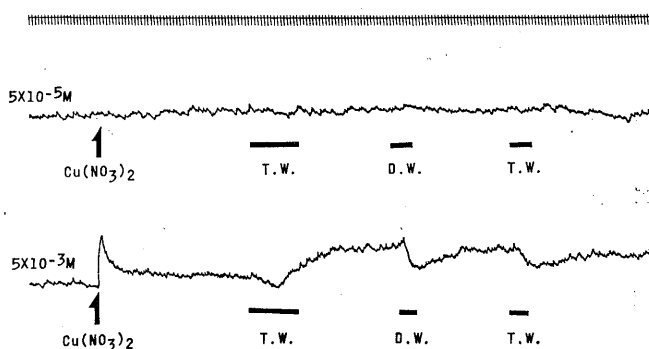


Fig. 4. Effect of water rinsing on the activity of the chorda tympani after previous application of $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ solutions. No response was observed in the case of 5×10^{-5} M $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ solution, but the obvious nerve discharges were observed after water rinsing of the tongue in the case of 5×10^{-3} M $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ solution, and a transient decrease of activity was observed by water rinsing while the nerve maintained this high activity level. T. W. : Tap water. D. W. : Distilled water. Time in sec.

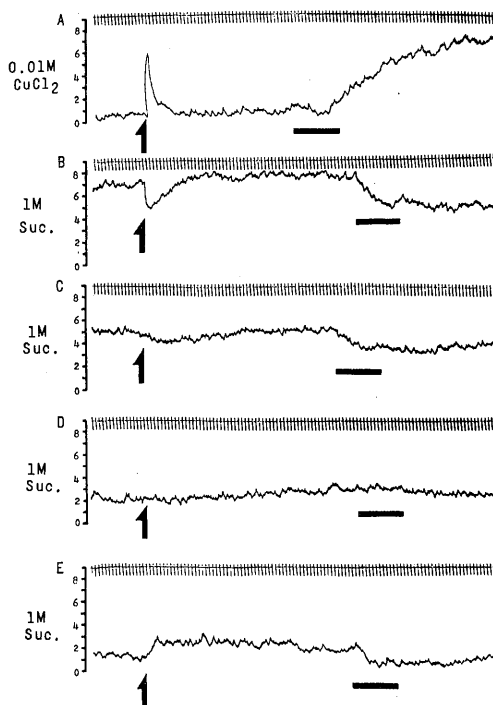


Fig. 5. Integrated responses of the chorda tympani to 1 M sucrose solution at the different activity level (A to E). The tongue was rinsed with distilled water during the period indicated by a black bar. At the high activity level (B, C), a transient decrease of activity was observed by application of 1 M sucrose solution, and at the activity level shown in D, no response was observed after application of 1 M sucrose solution, and at the lower activity level (E), normal sucrose response was observed. Time in sec.

対する低濃度銅イオン溶液の影響

前記の如く、 $10^{-3}M$ 以下の銅イオン溶液を舌に与えた後、水洗しても鼓索神経からは何ら反応が生じないにもかかわらず、その後与えた基本的四味質溶液の反応は銅イオン溶液の濃度により、促進、抑制の種々の影響を受けた。

図6は舌にあらかじめ各濃度の硝酸銅溶液を与えておくことによって、 $0.1M$ 食塩水、 $0.1M$ 酒石酸溶液に対する反応がいかに影響を受けるか示したものである。銅イオン溶液の濃度が低い場合($10^{-5}M$ 以下)には、銅イオン溶液を与えてからその影響が出現するまでの時間には差が認められたが、食塩水および酒石酸溶液共に反応の増大が、また、濃度が高い場合($10^{-4}M$ 以

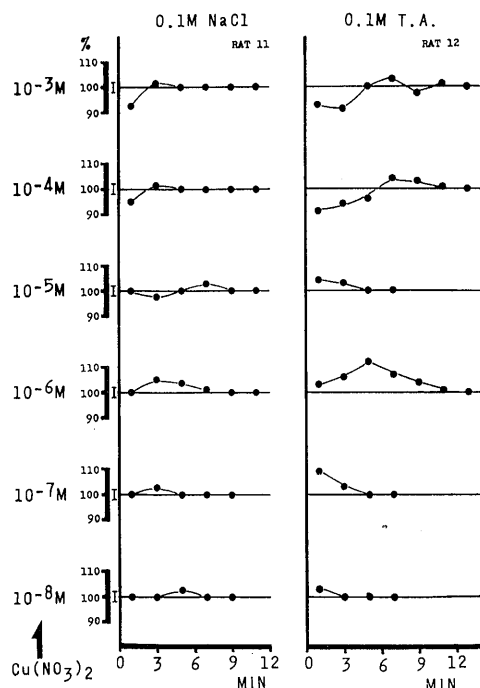


Fig. 6. Effect of various concentrations of $Cu(NO_3)_2$ solutions on responses of the chorda tympani to $0.1M$ NaCl solution and to $0.1M$ tartaric acid solution. Copper ion solutions above $10^{-5}M$ inhibited, and copper ion solutions below $10^{-6}M$ enhanced the responses to both $0.1M$ NaCl and $0.1M$ tartaric acid solutions, respectively. The magnitude of control responses to $0.1M$ NaCl solution and to $0.1M$ tartaric acid solution are counted as 100 in each case.

上)には、反応の抑制が生じた。高濃度銅イオン溶液による食塩水並びに酒石酸溶液に対する鼓索神経反応の抑制率は約10%で、コントロールの反応量にもどるまでに、食塩水の場合約3分、酒石酸溶液の場合約5分かかった。なお、各刺激の間は、舌を十分に水洗した。

また、図7に示した如く、 $1M$ 蔗糖溶液に対する鼓索神経反応も、あらかじめ舌に与えた銅イオン溶液の濃度が低濃度であるか、高濃度であるかによって、促進あるいは抑制の影響を受けた。濃度 $10^{-4}M$ の銅イオン溶液の場合には、蔗糖溶液の反応はコントロールの約70%に抑制

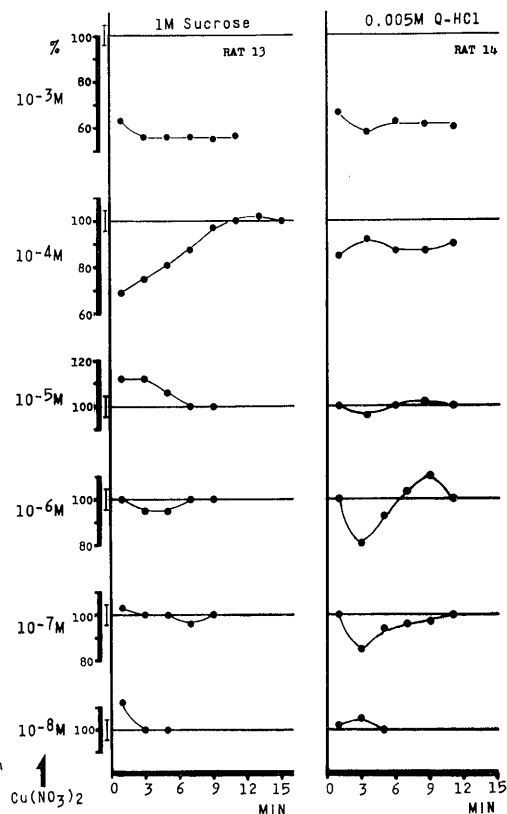


Fig. 7. Effect of various concentrations of previously applied $Cu(NO_3)_2$ solutions on responses of the chorda tympani to $1M$ sucrose solution and to $0.005M$ quinine-HCl solution. Copper ion solutions above $10^{-4}M$ strongly inhibited responses to both $1M$ sucrose and $0.005M$ quinine-HCl solutions. The magnitude of control responses to $1M$ sucrose solution and $0.005M$ quinine-HCl solution are counted as 100 in each case.

され、約10分後にコントロールの反応量にもどった。銅イオン溶液の濃度が $10^{-3}M$ の場合には、蔗糖溶液の反応は約55%に、しかも非可逆的に抑制された。キニーネ溶液の場合、銅イオン溶液による抑制効果が著明であるが、 $10^{-6}M$ ではキニーネ溶液に対する鼓索神経の反応が一過性に抑制された後、促進される現象がみられた。また、 $10^{-4}M$ の銅イオン溶液によって、キニーネ溶液の反応は約85%に、 $10^{-3}M$ では約60%にそれぞれ非可逆的に抑制された。

しかし、蔗糖溶液およびキニーネ溶液についてみられた前記の如き銅イオン溶液による非可逆的な反応抑制は、0.05 M EDTA を約30秒間舌に作用させることにより、著明に影響を受けた(図8)。すなわち、図8A, Bに示した如く、 $10^{-3}M$ の銅イオン溶液で抑制される蔗糖溶液の反応は、EDTA を作用させることにより、コントロールの反応量にもどった。この際、EDTA を舌に作用させた後、蔗糖溶液の反応が大きく促進されてからコントロールの反応量にもどる場合(図8A)と、徐々にもどる場合(図8B)、また、直接コントロールの反応量にもどる場合があった。一方、図8Cに示した如く、 $10^{-4}M$ の銅イオン溶液で抑制されるキニーネ溶液の反応はEDTA の作用によりコントロールの反応量にもどったが、 $10^{-3}M$ の銅イオン溶液で抑制されたキニーネ溶液の反応は、EDTA 処理によってもコントロールの反応量をうる状態にはもどらなかった(図8D)。なお、0.05 M EDTA は基本的な四味質溶液の反応には何ら影響をおよぼ

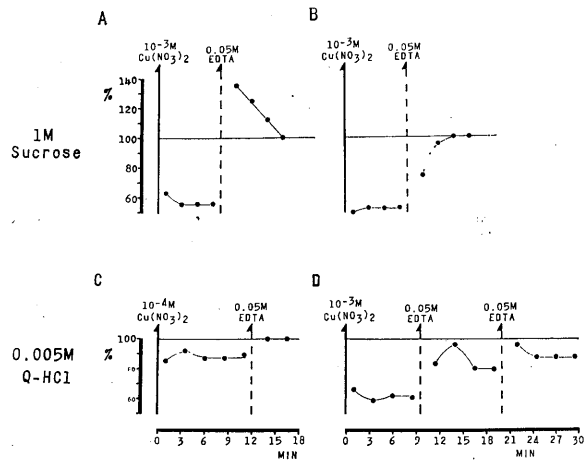


Fig. 8. Effect of 0.05 M EDTA on responses of the chorda tympani to 1 M sucrose solution (A, B) and to 0.005 M quinine-HCl solution (C, D). The time course of recovery was different from rat to rat as indicated in A and B. The response to quinine-HCl was not completely recovered when it was inhibited by $10^{-3}M$ $Cu(NO_3)_2$ solution (D).

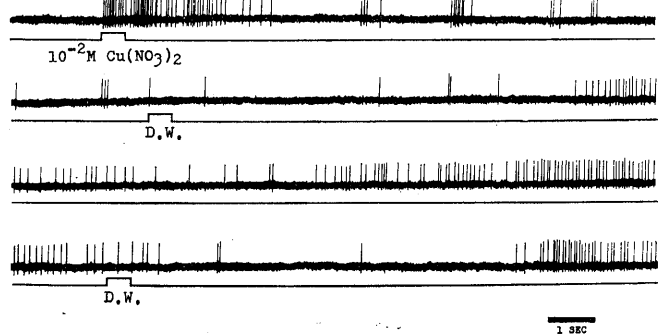


Fig. 9. Single fiber analysis of the response of the chorda tympani to $10^{-3}M$ $Cu(NO_3)_2$ solution. Obvious continuous nerve discharges were induced after water rinsing. After second trial of water rinsing, the nerve discharges disappeared for about 8 seconds. D. W.: Distilled water.

さなかった。

D. 単一鼓索神経線維についての反応記録

銅イオン溶液に対する反応を単一味覚神経線維レベルで分析した。図9は図4に示した高濃度銅イオン溶液投与後の水洗により誘発される反応を単一神経線維から記録したものである。この線維は舌に酸を与えた場合およびキニーネ溶液を与えた場合に特異的に反応を示したもの

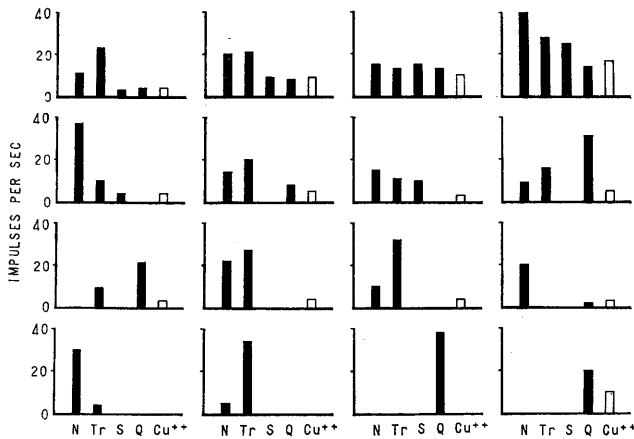


Fig. 10. Histograms summarizing frequency of responses to four basic and copper ion solutions in 16 different single fibers in the chorda tympani of rats. N: 0.1 M NaCl. Tr: 0.1 M Tartaric acid, S: 1 M Sucrose, Q: 0.005 M Quinine-HCl, Cu^{++} : 10^{-3}M $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$.

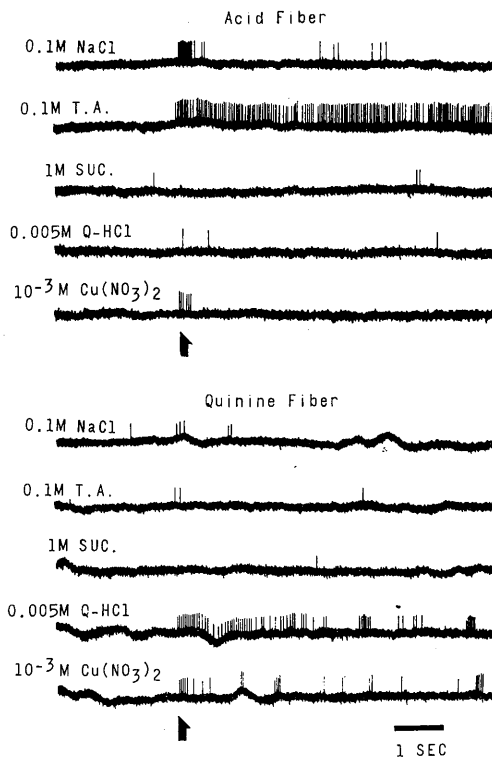


Fig. 11. Responses of two kinds of single fibers in the chorda tympani to four basic and $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ solutions. A transient response to 10^{-3}M $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ solution was observed in acid fiber. Continuous response to 10^{-3}M $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ solution was observed in quinine fiber.

である。この線維は 10^{-2}M 硝酸銅溶液にも著明に反応し、水洗より約9秒後から著明な持続性のインパルスが出現しはじめ、途中、蒸留水を舌に与えると約8秒間このインパルス発射は中断した。

図10は異なる16本の鼓索神経線維について基本的四味質溶液および硝酸銅溶液に対する反応をそれぞれ比較したものである。最下段に示した如く、塩線維、酸線維、ならびに、一部のキニーネ線維は 10^{-3}M 硝酸銅溶液に対して反応を示さなかった。しかし、他の線維は 10^{-3}M 硝酸銅溶液に一樣に反応を示した。特に図の最上段に示した四味のすべてに反応を示した非特異的な味覚神経線維からは大きな反応が記録された。なお、これら線維の 10^{-3}M 硝酸銅溶液に対する反応は、蔗糖溶液、キニーネ溶液に対する反応量より多くの場合小さかった。

図11に示した如く、蔗糖溶液およびキニーネ溶液のいづれにも反応しない鼓索神経線維は硝酸銅溶液に対して一過性の反応を示し、蔗糖溶液およびキニーネ溶液に反応する線維は硝酸銅溶液に対して持続性の反応を示す傾向が認められた。

E. 舌神経よりの反応

味覚受容器以外に口腔内の一般感覚受容器に銅イオン溶液がどのような刺激効果を示すかを明らかにするため、舌神経よりの反応を記録分析した(図12)。

図12Aに示した如く硝酸銅溶液は舌の一般感覚情報を伝える舌

神経には何の反応も生じさせなかった。また、図12 B, C, D に示した如く、舌神経中の圧、触、温度に反応する線維に対しても、 10^{-2} M 硝酸銅溶液は刺激効果を示さなかった。また、硝酸銅溶液をあらかじめ舌に与えておいても、つづいて舌に与えた、圧、触、温度刺激に対する反応は大した影響を受けなかった。

IV. 考 察

重金属塩溶液の味は、その種類により、また、同じ重金属塩溶液であってもその濃度により種々の味を呈する^{3) 4)}。したがって、重金属塩溶液の味は決してある特定の味、例えば金属味、として単一に考えることはできない。銅イオン溶液は複雑な味を呈する重金属塩溶液の典型的なものであり、ヒトにより、甘味、苦味、金属味、収斂味、あるいはそれらの混合した味など異なって感じられる⁵⁾。しかし、硝酸銅、塩化第二銅、酢酸銅および硫酸銅などの各種銅イオン溶液について、反応パターン、濃度-反応曲線さらに基本的四味質溶液の反応に対する抑制作用などが類似しているところから、銅イオン溶液の味には陰イオンよりむしろ陽イオンである2価の銅イオンが主な役割を演じていることが明らかである。

銅イオン溶液の濃度-反応曲線において、phasic 相の反応と steady 相の反応が共に独自の増加曲線を描くことから、銅イオンは味覚受容器に対して二つの異なった刺激作用をおよぼすことが考えられる。一方、単一神経線維で記録した反応を分析すれば、銅イオン溶液を舌に与えることにより、酸、塩に特異的に反応する線維は一過性反応を、糖、キニーネに反応する線維は持続性の反応を示す傾向のあることがわかった。化学的には、銅イオンは2価の陽イオンであって、しかもアミノ酸の反応基とは配

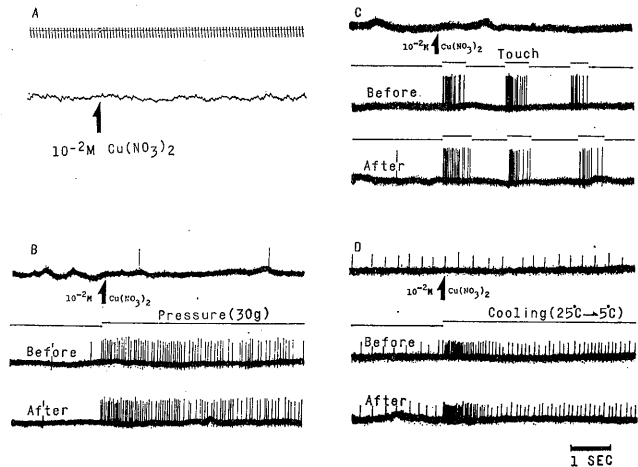


Fig. 12. Effect of 10^{-2} M $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ solution on responses of the lingual nerve. No detectable response was recognized in the integrated response of the lingual nerve to $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ solution applied to the tongue surface. Time in sec. (A). No detectable response to copper ion was recognized in the single pressure (B), touch (C) and cold (D) fibers, and their original responses were not affected by previously applied $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ solution.

位結合をすることが知られている⁶⁾。以上の点を考慮すれば、銅イオンのもつ二つの異なった刺激作用は、一方は、酸や塩のような電解質溶液としての刺激作用 (phasic 相の反応) で、他方は、糖やキニーネのように受容器膜と特異的に結合することによる刺激作用 (steady 相の反応) であろうと考えられる。

高濃度の銅イオン溶液を舌に与えた後の水洗操作に応じて著明な神経活動が記録され、これが長時間持続することや、低濃度の銅イオン溶液であっても、これを舌に与えることによってつづいて与えた基本的四味質溶液の反応が約10分間にわたって影響を受け、しかも、これらの影響はキレート剤である EDTA (0.05 M) を舌に約30秒間作用させることにより元の状態に回復したことなどから、これら銅イオンのおよぼす作用は受容器膜に銅イオンが強固に結合していることにより生じたものであることがわかる。

「味覚受容器に対して、陽イオンは刺激的に、陰イオンは抑制的に作用する」という Beidler⁷⁾

の考え方を考慮すれば、高濃度の銅イオン溶液を舌に与えた後、水洗により鼓索神経が高い神経活動を維持するのは、受容器膜に作用した陰イオンの方は水洗により容易に洗い流され、その抑制効果が減少もしくは消失するのに対し、銅イオンの一部は依然受容器膜に強く結合しているため刺激効果がより強く出現するのであろう。この高い神経活動を維持しているとき、蒸溜水または水道水を舌に与えると一過性に神経活動減少が生じることから、2~4の配位座で結合している銅イオンの一部は、水を与えたときに一次的に1, 2, ときには3つの配位座に水分子がおきかわって結合した状態になり、したがって、受容器膜とはゆるい結合状態に変化したと考えられる。つまり、受容器膜に対する銅イオンの結合数は不変でもその刺激効果が一次的に弱められるのであろう。なお、蒸溜水と水道水で神経活動の減少度に差があるのは、水道水中に溶けているイオンの作用によるものと考えられる。一方、この高い神経活動を維持している状況下で1M蔗糖溶液を与えると同じように一過性に神経活動減少をひきおこすが、その後の水洗により神経活動はこの一過性の神経活動減少度と同じレベルにまで下降することから、1M蔗糖溶液を与えたとき一次的に神経活動が減少するのは銅イオンが受容器膜から除去されたことによるのであり、その後の水洗で銅イオンにおきかわって結合していた蔗糖分子が洗い流されて神経活動の減少となってあらわれたものであろう。このことから蔗糖分子と銅イオンとは同じ受容部位に対し競合的に作用することがわかる。また、あるレベルまで神経活動が減少すると、もはや蔗糖溶液を与えても、水を与えても何ら神経活動には変化がみられなくなり、このレベルを更に下げるにはキレート剤EDTAを舌に与える必要のあることから、銅イオンの糖受容器に対する結合様式はその強さにより、強、弱の2種に大別される。強く結合している場合は受容器膜を構成しているアミノ酸とキレート結合をしている可能性もある⁷⁾、

日高⁸⁾はコイを用い、Konishi⁹⁾は官能検査により、銅イオン溶液を味受容器に作用させた後、糖の反応が大きく抑制されることを報告している。逆に、鳥越¹⁰⁾はガマを用い、むしろ糖の反応が促進されることを報告している。ラットにおいては、本実験で示した如く銅イオンを先に与えておくことと蔗糖溶液の反応は銅イオンの濃度によって促進、抑制の種々の影響を受けた。10⁻⁴Mあるいは10⁻³Mの銅イオン溶液を先に舌に与えておくことにより、つづいて与えた蔗糖溶液に対する反応が大きく抑制されたのも、前述の如く、同じ受容部位に対する競合的拮抗作用によるものであろう。他方、キニーネ溶液の反応に対する抑制作用もやはり同じ作用機序によるものと考えたい。なお、銅イオンの濃度によっては基本的四味液に対する反応が促進されたが、この場合は受容器膜に微量の銅イオンが附着することによって受容器膜のレベルで味質溶液に対する何らかの促進作用があらわれるのか、もしくは、受容細胞自体の興奮性が高められていることなどがその原因として考えられる。

銅イオンが糖、キニーネの受容部位と強固に結合するであろうことは、銅イオン溶液がヒトにより、甘味、苦味、または、その両方の味を呈することからも裏付けられる。また、10⁻²Mの銅イオン溶液を舌に与えても、あるいは、その後の水洗操作によってもラットの舌神経には何の反応も生じなかったことから、銅イオン溶液の味は、味覚神経機序を介して誘発される味覚の一種であり、口腔の一般感覚受容器が刺激される感覚ではないと考えなければならない。

鼓索神経の機能的単一神経線維より記録した反応分析から、濃度が10⁻³M以上の銅イオン溶液は、基本的四味質溶液すべてに反応した線維には、必ずしかも大きな反応を誘発させることが分った。タンニン酸水溶液の渋味について、すでに河村ら¹¹⁾が明らかにした如く、渋味をおこすには基本的四味質溶液すべてに反応する線維に反応を生じさせる必要がある。銅イオン溶液が高濃度では渋味を呈してくるという官

能検査の知見も銅イオン溶液に対する単一神経線維の反応を分析することにより予想されることである。

V. 総括

2 価の銅イオン溶液の味覚効果をラットの鼓索神経、舌神経反応記録より分析し、次の結果をえた。

1. 銅イオン溶液を舌表面に与えたとき鼓索神経より記録される積分反応パターンは phasic 相と steady 相の 2 成分より成る。Steady 相の反応は銅イオンが舌の糖、キニーネの受容部位に結合することにより、phasic 相の反応は銅イオンが酸、塩の受容部位と作用することによって生じるものである。

2. $5 \times 10^{-3}M$ 以上の高濃度銅イオン溶液では、舌表面に投与後の水洗操作に応じて著明な神経活動がえられ、これが長時間 (30分以上) 持続した。 $10^{-3}M$ 以下の低濃度銅イオン溶液の場合には、つづいて与えた基本的四味質溶液の反応に対し促進あるいは抑制の影響を与えた。

3. 銅イオンの受容器膜に対する結合状態には強、弱 2 種類あり、強い結合状態の銅イオンは舌を洗滌しても除去せしめることはできなかつたが、EDTA 処理でこの銅イオンは除去された。

4. 銅イオンは糖およびキニーネの受容部位と強く結合する。また、銅イオン溶液を舌に与えることによって鼓索神経中の基本的四味質溶液すべてに反応した線維は大きな反応を示したが、酸線維、塩線維、および、一部のキニーネ線維には反応が生じなかつた。

5. 銅イオン溶液は舌よりの一般感覚情報を

伝える舌神経には何の反応も誘発させなかつた。

本論文の要旨は第 3 回味と匂のシンポジウム (1969 年 11 月、東京) において発表した。

稿を終るに臨み、終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜った河村洋二郎教授に対し衷心より感謝の意を表し、またこの研究に対し種々御協力いただいた船越正也助教授および教室員各位に厚く御礼申しあげらる。

文 献

- 1) 河村洋二郎 (1957) 新編口腔生理学, 下巻, 永末書店, 京都. 315
- 2) Yamashita, S. & Sato, M. (1965) The effects of temperature on gustatory response of rats. *J. cell. comp. Physiol.* **66**, 1-18
- 3) 島津一夫 (1953) 味覚. 実験心理学提要, 第 3 巻. 城戸幡太郎 高木貞二監修, 岩波書店, 東京. 175-222
- 4) 岸真三男 (1958) 化学薬品便覧. 実業報知出版部, 大阪. 95-312
- 5) 鳥越弘志 (1958) 銅イオンの味覚受容器 (人の舌) に及ぼす影響. *米子医誌* **9**, 499-501
- 6) Gurd, F. R. N. & Wilcox, P. E. (1956) Complex formation between metallic cations and proteins, peptides, and amino acids. *Advances in Protein Chem.* **11**, 311-427
- 7) Beidler, L. M. (1967) Anion influences on taste receptor response. In: *Olfaction and Taste 2*, ed. T. Hayashi, Pergamon Press, New York. 509-534
- 8) 日高磐夫 (1967) 鯉の味受容器に及ぼす重金属の影響. *日本生理誌* **29**, 361
- 9) Konishi, J. (1958) On the sweet taste sensation. *Rep. Fish. Mie Univ.* **3**, 101-103
- 10) 鳥越弘志 (1958) 銅イオンの味覚受容器 (鯉の舌) に及ぼす影響. *米子医誌* **9**, 495-498
- 11) 河村洋二郎, 船越正也, 笠原泰夫, 山本 隆 (1968) タンニン酸水溶液の味覚効果に関する神経生理学的研究. *日本生理誌* **30**, 865-872

胎児血の酸素平衡曲線について — 2, 3-diphosphoglycerate (DPG) と関連して 612.127.2 : 612.646

安 光 洋 (奈良県立医科大学第二生理学教室)

Oxygenation properties of fetal blood—with special reference to 2, 3-diphosphoglycerate Yo YASUMITSU (Department of Physiology, Nara Medical College, Kashihara, Nara)

Oxygen dissociation curves of human adult and cord blood were constructed gasometrically and compared with each other in pH range from 6 to 9. In almost whole range of the pH, the cord blood showed a higher oxygen affinity than the adult blood. The former had also slightly larger Bohr effect ($\Delta \log P_{50}/\Delta \text{pH} = -0.50$) than the latter (-0.48). The peak of the Bohr effect curve in the cord blood shifted toward acid (pH 6.15) than in the adult one (pH 6.50). Both the blood showed an elevation of oxygen affinity upon their incubation *in vitro* and this change could be associated with a decrease of the intracorpuseular 2, 3-diphosphoglycerate (DPG) concentration. Upon the incubation for various lengths of time, both the blood were examined for their oxygen affinity and intracorpuseular DPG concentration. Interrelationship between both the parameters suggested that higher oxygen affinity of the cord blood might be due to a lesser susceptibility to the DPG level of the oxygen affinity in hemoglobin F, the main hemoglobin component of cord blood, than in hemoglobin A, the main component of adult blood. [J. Physiol. Soc. Japan (1971) 33, 179-192]

key words—O₂ dissociation curve, fetal blood, 2, 3-diphosphoglycerate incubation, hemoglobin.

I. ま え お き

胎児血の O₂ 親和性が成人血のそれに比して高い, という事実の見出されたのはもうかなり以前のことである²⁶⁾³⁵⁾. さらに, 少数の特殊な例外を除けば, この特性はヒトだけでなく, 一般に動物がその胎生期に共通してもつ特性の一つらしいことも, その後の研究結果から明らかにされてきた³⁾. また当該特性が, 胎内で慢性 hypoxia の状態にあると考えられる胎児にとって, O₂ 不足に対する一つの生理学的適応と考えられることも, すでに指摘されてきたところである³⁾. 一方, このような特性の成立機序については, 当初, 胎児血中ヘモグロビン (Hb) の過半を占め, 成人血中の Hb (Hb A) とはその蛋白構造を異にする胎児 Hb (Hb F) によって説明しようとする考えが強かった. しかし, 近年この考えとは相容れない実験事実が次第に多くなるにつれて, Hb 分子そのものの差よりはむしろ, 両血液における赤血球内環境因子の差

にその説明を求めようとの考えが, 次第に強くなってきた¹⁾.

このような考えと関連して特に注目されるのは, 最近 Benesch¹¹⁾, Chanutin¹⁵⁾ によって, *in situ* (赤血球内) での Hb の O₂ 親和性制御因子としてとりあげられた, 2, 3-diphosphoglyceric acid (DPG) の問題である. すでにこの線に沿った実験結果もいくつか報告されてはいるものの⁹⁾¹⁸⁾⁴⁷⁾⁴⁹⁾, なお最終的な結論を下しうる段階には至っていない.

以下, まず従来断片的であった胎児全血についての O₂ 平衡機能を, 成人全血との比較のもとに系統的に検索し, 次いで両血液間にみる O₂ 親和性の差の原因について, 特に上記 DPG との関連に留意しつつ検討した.

II. 実験材料と実験方法

A. 実験材料

1. 血液試料

胎児血としては新生児の臍帯血を用いた.

採血は分娩時, 搏動停止するまでの臍帯動脈から行なった. 成人血は肘静脈から常法の如く

採取した。両血ともヘパリン添加によって凝固を防止し、直ちに氷冷して使用まで氷室中に保存した。

2. 解置血液

新鮮血を、O₂ で充分置換しておいた栓付試験管にとり、密栓後特にこの目的に製作した回転装置にとりつけ、38°C 恒温槽中で任意時間ゆっくり回転 (20回/分) 解置した。解置期間中、時々試験管を回転装置からとり外し、内容を転倒混和した。この際、溶血の原因となるので、過度の起泡がないよう特に注意した。

B. 実験方法

1. 血液の O₂ 平衡測定

榎の方法におおむねならい、ガス分析法によって行なった²¹⁾。血液各 0.5 ml ずつを、一定 Pco₂、種々 Po₂ の Barcroft 型トノメーター (容量約 90 ml) 5 本に入れ、38°C 恒温槽内で約 15 分間回転平衡させた後、水銀と 0.9% NaCl で死腔を満した 1 ml ツベルクリン注射器に無気的にとり出す。とり出した血液は、測定まで氷水中に保存した。血液試料のガス分析は、Van Slyke-Plazin の微量検圧法 (所要血液量 0.1 ml) により⁴⁸⁾、またトノメーター内気相のガス分析は Haldane のガス分析器によって行なった。

えられた結果から、それぞれの試料の % O₂ 飽和度 (y) および平衡時の O₂ 分圧 (Po₂) を次式により算出した。

$$y = \frac{(O_2 \text{ 含量}) - (\text{物理的溶存 } O_2)_1}{(O_2 \text{ 結合能}) - (\text{物理的溶存 } O_2)_2} \times 100 \dots\dots\dots(1)$$

O₂ 含量……ある Po₂ と平衡させた血液の O₂ 含量 (Vol.—%)

(物理的溶存 O₂)₁……上記 Po₂ 下で血中に物理的に溶存する O₂ 量 (Vol.—%)

O₂ 結合能……大気圧、室温下で十分に空気と平衡させた時の血液 O₂ 含量 (Vol.—%)

(物理的溶存 O₂)₂……上記条件下に血液中に物理的に溶存する O₂ 量 (Vol.—%)

$$Po_2 = \frac{\% O_2}{100} (B - W + pp \text{ または } -np) \times \frac{te + 273}{tr + 273} \times \frac{V + S - (b - s)}{V - b} \dots\dots(2)$$

% O₂……トノメーター気相の O₂ %

B, W……ガス分析時の大気圧およびその時の室温での飽和水蒸気圧 (mmHg)

te, tr……平衡に用いた恒温槽の温度およびガス分析時の室温 (°C)

V……トノメーター容量 (ml)

S……分析のためトノメーターから Haldane 装置にとり入れたガス量 (ml)

b……ガス平衡のためトノメーターに注入した血液量 (今回は 0.5 ml)

s……平衡後ガス分析のためトノメーターからとり出した血液量 (ml)

pp, np……トノメーターから S ml のガスを Haldane 装置にとり出した際、ガス・ビュレットと水銀溜の水銀面の差から読んだトノメーター内陰圧 (np) または陽圧 (pp) (mmHg)。

以上のようにして算出した y を Po₂ (またはその対数) に対してプロットすると O₂ 平衡曲線がえられるが、データを一さらに Hill の経験式²⁷⁾

$$y/100 = Kp^n / (1 + Kp^n) \dots\dots\dots(3)$$

によって解析した。ただし、p は Po₂ を示し、K, n はそれぞれ常数で、前者は O₂ 平衡曲線の位置 (Hb の O₂ に対する親和性) を、後者は O₂ 平衡曲線の形状 (ヘム間相互作用の強さ) をそれぞれ表現する。

(3) 式から容易に、

$$\log \frac{y}{100 - y} = n \log p + \log K \dots\dots\dots(4)$$

が導かれるから、log[y/(100-y)] を log p に対してプロットした場合、直線がえられる筈で、この直線の勾配が n を与える。また y=50 のときの p を特に P₅₀ で示すと、(3) 式から次の関係がえられる。

$$K = 1/(P_{50})^n \dots\dots\dots(5)$$

したがって、P₅₀ により、血液 (Hb) の O₂ に対する親和性を表現することができる。

2. 血液 pH 測定

ガス分析終了後、なるべく $y=50$ に近い血液試料について、pH meter model HM-8 (東亜電波) —微量血液用ガラス電極 HG-5005 (東亜電波) により測定した。測定は $14\sim 16^\circ\text{C}$ の室温で行なった後、温度係数 $-0.0147/^\circ\text{C}^{43)}$ によって、ガス平衡時の温度 (38°C) での値に換算した。

3. Met Hb 含有量測定

ガス分析終了後の血液を用い、富田らの方法⁴⁶⁾をさらに改変して測定した。

すなわち、10%アンモニア 1 滴を加えた脱イオン水 10 ml に、試料血液 0.1 ml を加え転倒混和する。次いでその 5 ml を等量の 0.2 M 磷酸緩衝液 (pH 6.8) と混合した後、KCN 結晶 1 片を加えよく混和し、542 $m\mu$ での吸光度を測定する (E_1)。さらに $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 結晶 1 片を加え、よく混和溶解してから 38°C に 20 分放置し、再び 542 $m\mu$ での吸光度を読む (E_2)。

当該試料中の Met Hb 含有%は、

$$\frac{KE_2 - E_1}{KE_2 - E_2} \times 100 \dots\dots\dots(6)$$

から算出される。ただし K は定数 ($=1.319$) である。

4. Hb F 含有%測定

Jonxis らの kinetic 法³²⁾ により測定した。

5. 赤血球内有機磷酸化合物の分画、定量
Bartlett の方法⁷⁾にほぼ準拠して行なった。操作の概略を記すと、まず試料血液 (通常 10 ml 前後) を栓付大型遠沈管にとり、血漿を遠沈分離後、血球を氷冷 0.9% NaCl で 2 回洗滌する。

この場合、Lenfant たちにならって buffy coat の除去は行なわず³⁴⁾、血球画分のロスがないよう細心の注意を払う。ついで Packed Cell Volume の約倍量の 10% 3 塩化酢酸で 1 回、5% 3 塩化酢酸で 2 回抽出し、抽出上清を合する。

合した抽出上清を、倍量のエーテルと分液漏斗中で振り (4 回)、3 塩化酢酸を抽出除去する。 N_2 ガスを試料中に通気 (エーテル臭のなくな

るまで) した後、陽イオン交換樹脂 Dowex-50 $\times 8$ (H^+ 型) カラムに通し、夾雑カチオンを除去する。最後に 10% NH_4OH により、試料 pH を中性にする。このようにしてえた試料は、使用まで -20°C で凍結保存した。

有機磷酸化合物の分画には、陰イオン交換樹脂 Dowex-1 $\times 8$ (Cl^- 型) カラム (1 \times 14 cm) を用い、段階的溶出を行なった。溶出条件は、(a) 0.003 N HCl : 300 ml, (b) 0.01 N HCl : 300 ml, (c) 0.02 N HCl : 300 ml, (d) 0.1 M NH_4Cl : 300 ml, (e) 0.2 M NH_4Cl : 400 ml, (f) 0.5 M NH_4Cl : 400 ml, (g) 1 N HCl : 200 ml で、1 分画量は 20 ml とした。上記各画分の中、0.2 M NH_4Cl で溶出する画分 (e) をもって、DPG 画分とした。各画分の磷定量は、Bartlett の加熱 7 分法⁸⁾ により、P $\mu\text{moles/Packed Cell (ml)}$ として表現した。なお、全血について DPG/Hb モル比としても表わした。

III. 結 果

A. 新鮮胎児血ならびに新鮮成人血の O_2 平衡曲線について

同一条件下で、新鮮胎児血と新鮮成人血の O_2 親和性を比較してみると、明らかに前者の方が高いという結果は、Haselhorst ら²⁶⁾ および Litarczek ら³⁵⁾ 以来、いくつか報告されているが、いずれも断片的で、広い pH 範囲にわたっての系統的な検索はなされていない。そこでまず最初に、広い pH 範囲 ($5.9\sim 8.7$) にわたって、全血 O_2 平衡曲線を作製してみた。

Fig. 1 に示したのは、pH 7.60, 7.15 での両血液の曲線であって、a) は y . vs. p プロットを、b) は y . vs. $\log p$ プロットを、また Fig. 2 には $\log y/(100-y)$. vs. $\log p$ プロットをそれぞれ示している。まず曲線の位置 (O_2 親和性) についてみると、両 pH とも新生児血の曲線は成人血のそれに比し左方に位置することから、より高い O_2 親和性を有することがわかる。また、pH 変化に対応する曲線の位置 (O_2 親和性) の変化の程度を比較してみると、両者

間にほとんど差をみない (Fig. 1 b). したがって, Bohr 効果の大きさに関しては, 両者ほとんど同程度と考えてよい. Fig. 1 b からわかることであるが, pH 変化に対応して変るのは両者の場合とも位置だけであって, 曲線の形 (ヘム間相互作用の程度) には変化がみられない. Hill式によるプロットでえられる直線の勾配 (n 値) から, この間の事情を定量的にみて

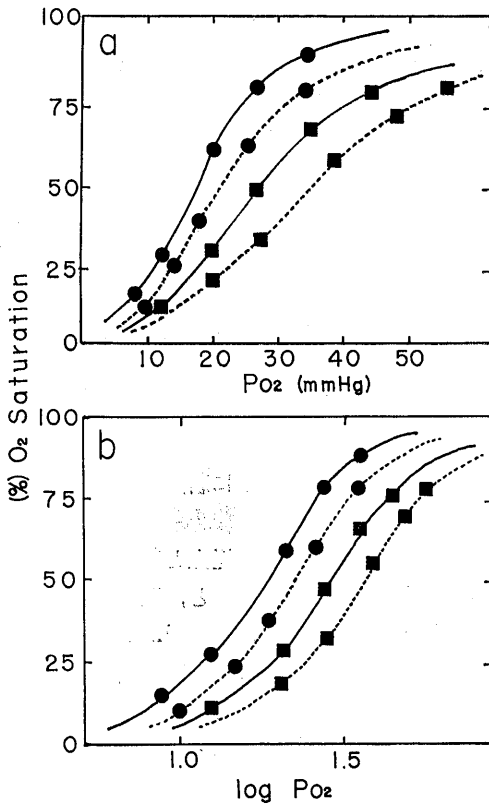


Fig. 1. Oxygen dissociation curves of human cord and adult blood at two pairs of pH's and at 38°C. a) y vs. p plot, b) y vs log p plot. (—) cord blood, (.....) adult blood, ■ pH 7.15, ● pH 7.60.

みると, n 値はいずれも 2.8~2.9 と一致した値をとる (Fig. 2).

以上, 二つの pH でえた結果を, さらに広い pH 範囲で検討した結果を, Table 1 a, b および Fig. 3 に一括して示した. これらの実験において, おおむね pH 変化は平衡 Pco₂ の変化のみによって達成しえたが, 極端に酸性ないし

アルカリ性 pH をうるためには, Pco₂ 変化に加えて, さらに乳酸あるいは重炭酸ソーダの添加が必要であった (Table 1). えられた結果は以下のように要約することができる.

1) 検討した pH のほとんど全域において (勿論, 生理的 pH 範囲も含め), 新生児血は常に成人血より高い O₂ 親和性 (低い P₅₀ 値) をもつ. ただ極端な酸性 (pH 6.3 以下) 域では, この関係が逆転して成人血の方がより高い O₂ 親和性を示す. 2) いわゆる Bohr 効果曲線 (log p₅₀ vs pH 曲線) の形は, 全体として両者よく

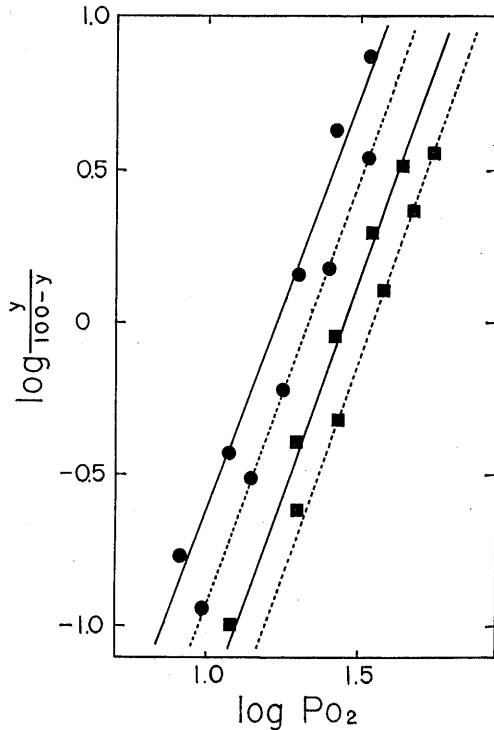


Fig. 2. Hill's plot of the oxygen dissociation curves as shown in Fig. 1. Symbols are the same as in Fig. 1.

類似しているが, 曲線のピークの位置が成人血の場合 (pH 6.50) に比し, 新生児血では pH 6.15 と明らかに酸性側に移動している. また, 生理的 pH 域でのいわゆるアルカリ性 Bohr 効果 (alkaline Bohr effect) の大きさを, $\phi = \frac{\Delta \log P_{50}}{4pH}$ (pH 6.9~7.6) によって定量的に比較

Table 1. Primary data for oxygen equilibria of human adult and cord blood at 38°C

a) Adult blood

Expt. No.	P _{CO₂} mmHg	pH	log P ₅₀ *	n**	Met Hb %	Remarks
1	41	6.00	1.763	2.7	5.0	M lactic acid added ; 0.05 ml/ml blood
2	40	6.27	1.785	2.8	0.9	// ; 0.050 //
3	43	6.40	1.792	2.8	4.2	// ; 0.045 //
4	40	6.80	1.685	2.7	1.5	// ; 0.040 //
5	40	6.89	1.676	2.8	1.4	// ; 0.030 //
6	40	7.11	1.607	2.8	2.2	// ; 0.025 //
7	45	7.16	1.555	2.8	0.7	
8	41	7.37	1.423	2.8	0~	
9	41	7.41	1.404	2.8	0~	
10	24	7.59	1.334	2.8	9.6	
11	—	8.06	1.136	2.9	0.7	
12	—	8.17	1.113	2.8	9.1	

b) Cord blood***

Expt. No.	P _{CO₂} mmHg	pH	log P ₅₀	n	Met Hb %	Remarks
1	40	5.86	1.770	2.9	3.4	M lactic acid added ; 0.07 ml/ml blood
2	40	5.91	1.795	2.8	1.3	// ; 0.07 //
3	42	6.15	1.816	2.8	5.4	// ; 0.06 //
4	40	6.43	1.752	2.8	5.0	// ; 0.05 //
5	40	6.59	1.672	2.8	1.3	// ; 0.04 //
6	40	6.89	1.574	2.7	7.6	// ; 0.03 //
7	115	6.99	1.507	2.8	3.7	
8	100	7.06	1.472	2.9	7.6	
9	78	7.15	1.451	2.8	3.7	
10	50	7.33	1.376	2.8	0.6	
11	45	7.34	1.361	2.8	0~	
12	40	7.39	1.311	2.8	4.8	
13	21	7.44	1.342	2.7	0~	
14	20	7.46	1.338	2.8	4.6	
15	17	7.50	1.311	2.9	0~	
16	4	7.54	1.285	2.8	7.9	
17	8	7.60	1.255	2.9	5.1	
18	—	7.71	1.190	2.9	3.5	
19	—	7.83	1.130	2.7	7.7	
20	—	7.97	1.089	2.8	6.9	
21	—	8.10	1.000	2.8	7.2	
22	—	8.34	0.942	2.8	2.6	
23	—	8.67	0.875	2.8	1.9	0.5 M bicarbonate added ; 0.06 ml/ml blood

* ; logarithm of the oxygen pressure at half saturation

** ; the exponent of the Hill's equation

*** ; Hb F content of the samples ranged from 80 to 96%

してみると、成人血では $\phi = -0.48$ 、新生児血では $\phi = -0.50$ となって、僅かながら後者的の方が強い Bohr 効果をもつことがわかる。なお、両者の場合とも、Bohr 効果曲線の形は Hb 溶液について報告されているものとよく類似し、酸性側では溶液の場合と同じく、明らかに逆

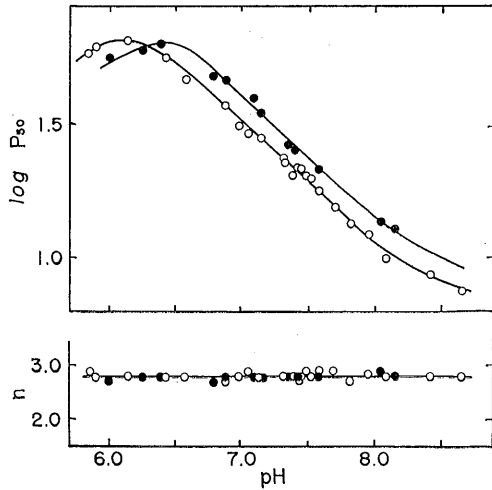


Fig. 3. Oxygen affinities ($\log P_{50}$) and heme-heme interactions (n) of human cord and adult blood in wide range of pH at 38°C. ○—○; cord blood, ●—●; adult blood.

Table 2. Summary of oxygenation properties of human adult and cord blood (38°C)

	P_{50} (pH 7.40)*	n^{**}	$\frac{\Delta \log P_{50}^{***}}{\Delta \text{pH}}$
adult	26.9 ± 1.3	2.8 ± 0.1	-0.48
cord	22.0 ± 0.2	2.8 ± 0.1	-0.50

*; means and S.D.'s of oxygen half saturation pressures (mmHg) at pH 7.4 and 38°C

**; the exponent of the Hill's equation

***; calculated between pH 6.9 and 7.6

Bohr 効果 (reverse Bohr effect) の存在が認められた。3) Hill 式の n 値は、両血とも pH とは関係なく一定の値 (2.7~2.9) を示した。

以上の結果にもとづいて、新生児血と成人血の O_2 平衡機能を総合的に比較してみると Table 2 のようになり、両者間の差は O_2 親和性につ

いてのみ著明にみられることが結論される。

B. 38°C 孵置による新生児血、成人血の O_2 平衡曲線変化

最近、赤血球内における Hb の O_2 親和性調節因子として、DPG がにわかに注目されるようになった¹²⁾。その結果、この線に沿った研究が多数報告されているが、そのほとんどは Hb 溶液についてのもので、果してこの物質が赤血球内で如何ほどのはたらきをしているかについては、なお多少の疑問がないでもない。そこでまずこの疑問について以下のような検討を行った。

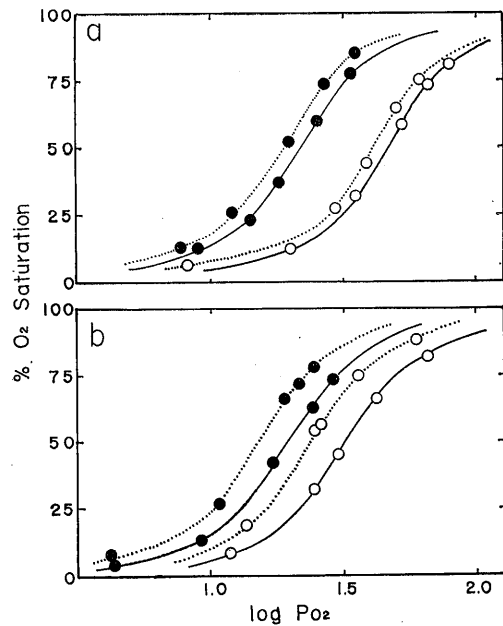


Fig. 4. A positional change in oxygen dissociation curves of human blood upon its incubation *in vitro*. Incubation; 38°C, 5.5 hr. a) Adult blood. —; fresh blood,; incubated blood. ○; pH 6.90, ●; pH 7.60. b) Cord blood. —; fresh blood,; incubated blood. ○; pH 7.00, ●; pH 7.54.

Fig. 4 a, b はそれぞれ、成人血、新生児血を 38°C で 5.5 hr. 孵置した場合、その O_2 平衡曲線におこる変化を示している。両血の場合とも、孵置によって曲線の位置に左方移動 (すなわち O_2 親和性増大) の起こることがわかるが、その程度は明らかに後者の場合の方が大で

ある。一方、曲線の形（ヘム間相互作用）、Bohr 効果の大きさには孵置によりほとんど変化のないらしいこともわかる。以上のことを、さらに多数例について確かめたのが Fig. 5 (成人血)、Fig. 6 (新生児血) であって、孵置の影響は O_2 親和性増大のみに止まることが確認される。

Zipurskyら⁵⁰⁾によれば、血液を $37^\circ C$ に孵置すると、時間経過とともに赤血球内 DPG は次第に分解消失し、かつ成人血での分解速度は新生児血でのその約 $1/6$ に過ぎないという。

一方、Benesch ら¹¹⁾、Chanutin ら¹⁵⁾以来数

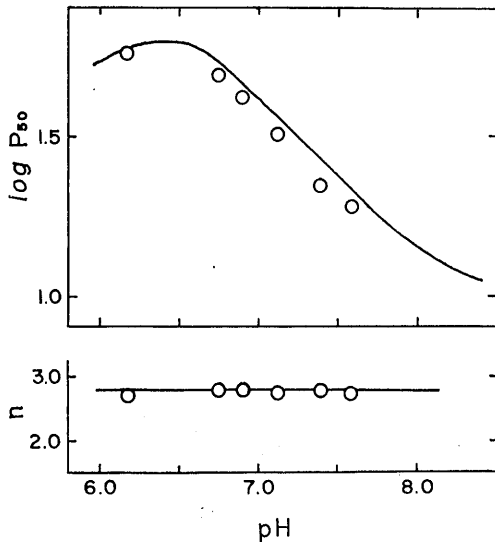


Fig. 5. Changes in oxygenation properties of human adult blood upon its incubation *in vitro*. Incubation; $38^\circ C$, 5.5 hr.. —; fresh blood (cf. Fig. 3). ○; incubated blood.

多くの実験結果から、DPG が Hb (少なくとも溶液状態での) O_2 親和性を低下させることには疑いの余地はない。

これらのことを考慮に入れて上の結果をみると、孵置による O_2 親和性増大、および同一時間孵置にもかかわらず成人血での親和性増大が軽度であるとの事実は、全て孵置による赤血球内 DPG 量低下によるものとして説明できそうに思われる。

C. 胎児血-成人血間にみる O_2 親和性の差

と赤血球内 DPG 量との関連

以上、DPG の効果が、赤血球内においても、Hb 溶液の場合同様みられるらしいことがわかった。そこでさらに、この点について定量的な検討を行なうとともに、成人血-胎児血間にみる O_2 親和性の差に、この物質が何らかの関わりをもつかどうかを調べてみた。

ここでまず考えられるのは、両血でその赤血球内 DPG 含量に差があるのではないかということである。このことについては、すでに否定的な結果が報告されているが²⁴⁾²⁵⁾⁴⁴⁾⁵⁰⁾、今回さらに再検討してみた。

Fig. 7 a は新鮮新生児血球の 3 塩化酢酸抽出

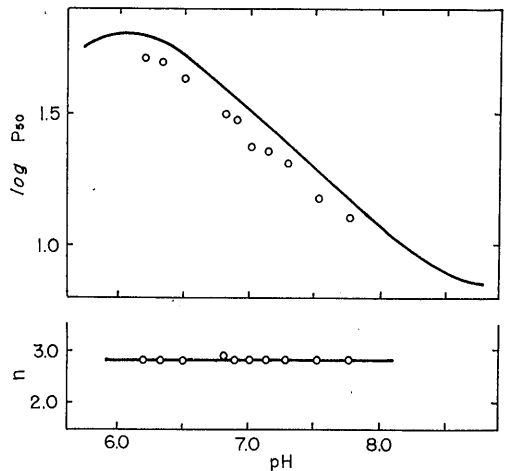


Fig. 6. Changes in oxygenation properties of human cord blood upon its incubation *in vitro*. Incubation; $38^\circ C$, 5.5 hr.. —; fresh blood (cf. Fig. 3). ○; incubated blood.

物について、Bartlett 法⁷⁾⁸⁾でえたクロマトグラムの 1 例で、DPG は画分 (e) として溶出してくる。このようにしてえた DPG 含量を、新鮮な成人血と新生児血で比較したのが Table 3 であって、先人の報告と同じく、両者間にみるべき差のないことがよくわかる。したがって、両者間にみられる O_2 親和性の差を赤血球内 DPG 含量の差によって説明することは不可能である。

ところで最近、Hb F 溶液と Hb A 溶液と

では、DPGの O_2 親和性抑制効果に対する感受性にかかなりな差のあることが報告されている^{9) 47) 49)}。そこで、このことが、赤血球内においても成り立つかどうか、換言すれば、当該感受性の差によって、新生児血-成人血間の O_2 親和

性の差が説明できるかどうか、を明らかにするため、両血液を種々時間孵置して、その場合の赤血球内DPG含量と血液 O_2 親和性(P_{50} 値)との関連をみた。Fig. 7bは、 $38^\circ C$ で20hr. 孵置した新生児血について、新鮮血の場合と同様

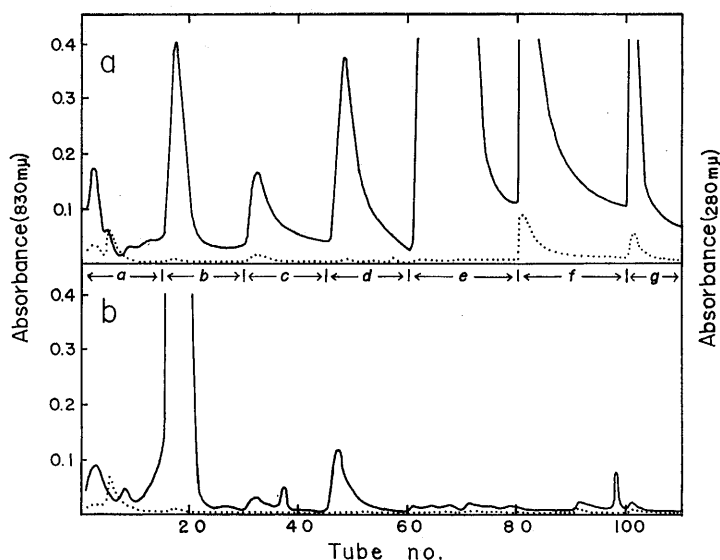


Fig. 7. Chromatographic fractionation of cord red cell phosphate compounds extracted with trichloroacetic acid. 1×14 cm column of Dowex 1×8 (Cl form), flow rate; $3 \sim 4$ ml/min, fraction volume; 20 ml. Elution with; (a) 0.003 N HCl (300 ml), (b) 0.01 N HCl (300 ml), (c) 0.02 N HCl (300 ml), (d) 0.1 M NH_4Cl (300 ml), (e) 0.2 M NH_4Cl (400 ml), (f) 0.5 M NH_4Cl (400 ml) and (g) 1 N HCl (200 ml). a) fresh red cells, b) red cells after 20 hr's incubation at $38^\circ C$.—; absorbance at $830 m\mu$ (Bartlett's P assay procedure),; absorbance at $280 m\mu$.

Table 3. Reported average values of 2, 3-diphosphoglycerate contents of human adult and cord erythrocytes

DPG content*		Methods of assay	Authors
Adult	Cord		
3.87 (4)**	3.14 (4)	paper chromatography	Greenwalt et al. (1960) ²⁴⁾
5.49 (8)	5.80 (12)	detd. as non-hydrolyzable P	Zipursky et al. (1960) ⁵⁰⁾
4.95 (6)	4.48 (12)	Dowex-1-formate column chromatography	Greenwalt et al. (1963) ²⁵⁾
3.62 (20)	4.43 (22)	an enzymatic assay	Schröter et al. (1967) ⁴⁴⁾
4.89 ± 1.04 (7)***	4.39 ± 0.67 (6)	Dewex-1-chloride column chromatography	Present author

*: μ moles/ml erythrocyte

** : figures in parentheses denote the no. of determinations

*** : \pm S. D.

にしてえたクロマトグラムであって、DPG 画分その他新鮮赤血球にみた有機リン酸塩画分の多くがほとんど完全に消失し、代りに主として無機リン酸から成る画分 (b) に著明な増大の起っていることがわかる。

Fig. 8 は成人血についての結果の 1 例を示し

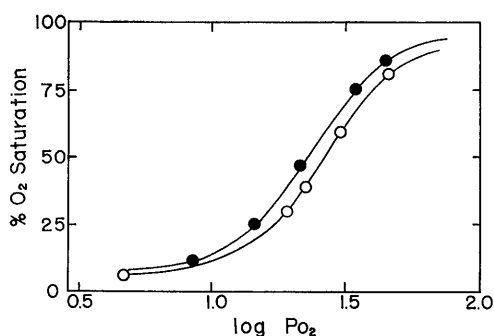


Fig. 8. Invariant shape and altered positions of oxygen dissociation curves of human adult blood of different DPG contents. pH 7.37, 38°C. ○—○; fresh blood (DPG content = 4.49 μ moles/ml erythrocytes). ●—●; incubated blood (DPG content = 2.13 μ moles/ml erythrocytes).

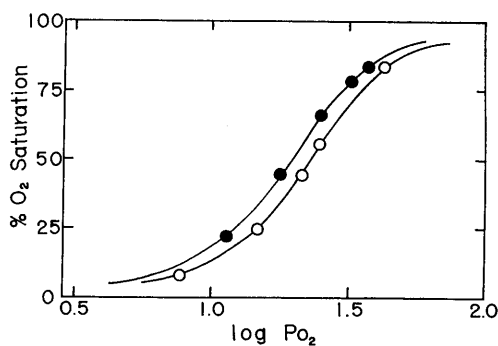


Fig. 9. Invariant shape and altered positions of oxygen dissociation curves of human cord blood of different DPG content. pH 7.35, 38°C. ○—○; fresh blood (DPG content = 4.64 μ moles/ml erythrocytes). ●—●; incubated blood (DPG content = 1.99 μ moles/ml erythrocytes).

たものである。新鮮時 DPG 含量が Packed Cell 1 ml あたり 4.49 μ moles (DPG/Hb モル比=0.93), P_{50} 値が 26.9 mmHg であったものが、孵置によって DPG 含量 2.13 μ moles (DPG/Hb モル比=0.43) とほぼ半減した場合、 P_{50} 値

は 21.8 mmHg と約 5 mmHg 低下している。ここで注目すべきことは、後者で DPG/Hb モル比が 0.5 近傍の値となるにかかわらず、同様条件下で、Hb 溶液の場合にみられた曲線の形状変化 (2 相性化)¹⁴⁾が、全く起こらないことである。

新生児血についても全く同様であって (Fig.

Table 4. Oxygen affinity (P_{50}) and 2,3-diphosphoglycerate of human adult and cord blood

Adult		Cord	
P_{50} (mmHg)	2, 3-DPG (moles/mole Hb)	P_{50} (mmHg)	2, 3-DPG (moles/mole Hb)
26.9	0.93	22.0	0.96
25.7	0.87	20.4	0.73
23.9	0.72	20.1	0.58
22.5	0.64	19.6	0.47
22.1	0.58	18.7	0.44
21.8	0.43	17.6	0.19
17.5	0.09	16.2	0.05
17.5	0.04	15.7	0.02
17.6	0.02	15.6	0~
17.0	0.02		

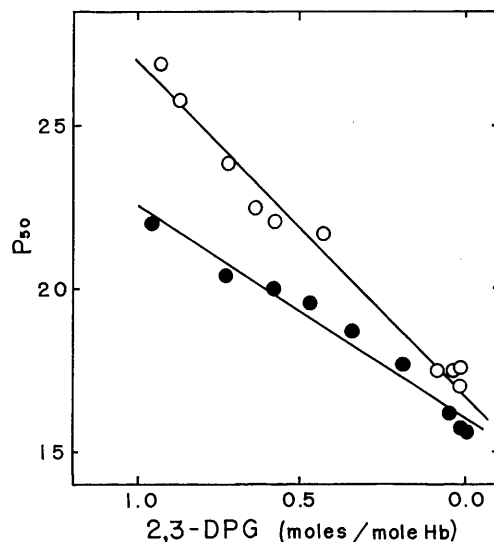


Fig. 10. Relationship between oxygen affinity (P_{50}) and red cell DPG content in human adult and cord blood. DPG contents were expressed as DPG moles/mole Hb in whole blood. ○; adult blood. ●; cord blood.

9), 解置による DPG 含量の $4.64 \mu\text{moles}$ から $1.99 \mu\text{moles}$ への低下 (DPG/Hb モル比は 0.96 から 0.44 へ低下) に伴ない, P_{50} 値は 22.0 mmHg から約 3 mmHg 低下して 18.7 mmHg となる. 曲線の形に変化の起こらないことは成人血同様であるが, DPG 低下に伴う P_{50} 値低下の程度が, 成人血に比し明らかに軽度であることが注目される. 解置時間をいろいろ変えて同様実験を行なった結果を, Fig. 10, Table 4 に一括して示した. なお, P_{50} 値は, 全て先に求めた $\phi = -0.48$ (成人血), $\phi = -0.50$ (新生児血) を用い, pH 7.40 での値に補正した. 成人血, 新生児血の場合とも, 赤血球内 DPG 濃度の低下 (DPG/Hb モル比の低下) とともに, その O_2 親和性はほぼ直線的に増大 (P_{50} 値は低下) してゆくが, その程度は成人血の方が明らかに大である. Bohr 効果の場合の係数 $\phi = \frac{\Delta \log P_{50}}{\Delta \text{pH}}$

にならって, 係数 $\delta = \frac{\Delta \log P_{50}}{\Delta [\text{DPG}/\text{Hb}]}$ を計算し

てみると, 成人血では $+0.32$, 新生児血では $+0.13$ となる. その結果, 最終的に赤球内 DPG が完全に分解消失した状態では, 当初新鮮血で両者間にみられた O_2 親和性の差 (P_{50} で 4.9 mmHg) はかなり少なくなってしまう (P_{50} で 1.4 mmHg). 逆に云うと, DPG の存在しない状態では, 両血赤血球の O_2 親和性には大差をみないが, 赤血球内 DPG 量の増大によりおこる O_2 親和性低下において, 両赤血球間に DPG 効果感受性の差があるため最終的に新鮮血では, 両者間に血球内 DPG 濃度の差がないにもかかわらず, O_2 親和性に大きな違いを生ずることになる. すでに上で触れたように, DPG/Hb モル比とは関係なく, O_2 平衡曲線の形状は常に S 字状を呈し, n 値でみた場合, 両血とも 2.8 前後と一定の値を示した.

IV. 考 察

約 40 年前, Haselhorst ら²⁶⁾ および Litarczek ら³⁵⁾ は, 新生児の血液がその母体の血液に比して, 高い O_2 親和性をもつことを初めて発表し

た. 以来, この事実は多数の研究者によって繰り返して研究され, 再確認されてきた¹⁶⁾¹⁹⁾³³⁾. またヒトについて見出されたこの事実が, ひろく他の動物においてもみられる一つの普遍的な生物現象であり, 生理学的観点よりすれば, これが胎盤を介しての母体-胎児間 O_2 移行において, 大きな意義をもつことも種々論議されてきた³⁾. しかしながら, 従来の研究は, いずれも比較的限られた条件下で行なわれた断片的なものが多かった. この点今回の成績は, 広範囲の pH にわたって, 胎児血と成人血とを全血の状態と系統的に比較したはじめてのものとする. この結果を, これまでに報告されている溶液状態でのそれと比較すると, いくつかの相違点が注目される. まず, O_2 親和性についてみると, 全血状態では pH 6.3 以上で胎児血が常に成人血より強い親和性を示したのに対し, 溶液状態ではこの pH 域で両者間に O_2 親和性の差はみられない²⁾. 一方, pH 6.3 以下で全血の場合にみられる両者間の O_2 親和性関係の逆転は, 溶液状態においてもほぼ同様に認められた. ただし, Mann ら³⁶⁾ が同じく溶液状態でえた結果によれば, pH 7.2 以上では両者間に差違をみないが, pH 7.2 以下では全血状態のみならず, 成人血溶血液がかえってより強い O_2 親和性を示すという. Bohr 効果曲線のピーク位置に関しては, 全血状態それぞれ pH 6.5 (成人血), pH 6.15 (胎児血) と明らかな相違のみられたのに反し, Mann らの成績³⁶⁾ ではその位置に差をみない (pH 6.5).

ただし, Antonini らの成績²⁾ からすると, 溶液状態においても両者間に明らかな違いがみられるようである. pH 6.9~7.6 間で求めた Bohr 効果因子 ($\phi = \Delta \log P_{50} / \Delta \text{pH}$) は, 成人血で -0.48 , 胎児血で -0.50 となって, 溶液状態でえられたものとよく一致した. 最後にヘム間相互作用の大きさ (Hill 式の n 値) について比較してみると, 胎児血, 成人血ともに, 全血~溶液状態に関係なく一致した値 (2.8~2.9) を示した. pH 6.9~7.6 範囲で今回えた P_{50} 値を, 上にえた Bohr 効果因子を用い, 血液 pH

7.40での値に補正してみると、 $26.9 \pm 1.3 \text{ mmHg}$ (成人血)、 $22.0 \pm 0.3 \text{ mmHg}$ (胎児血) となつて、それぞれ標準値 26.8 mmHg (成人血)⁶⁾、 22.1 mmHg (胎児血)¹⁰⁾ とよく一致した。

以上、胎児血と成人血間には、その O_2 親和性に関して、従来の報告のとおり生理的 pH 域のみならず、かなり広い pH 範囲で明らかな差のあることがわかつた。さて、この差が如何なる原因によるかを考えたとき、まず考えられるのは両血液のもつ Hb の違いである。出生直後の新生児についてみると、血中 Hb の平均80%は、成人血中の Hb (Hb A) とは全く構造の異なる Hb F によって占められている (残り20%は Hb A)。高等動物の Hb が全てそうであるように両 Hb とも2種のポリペプチド鎖からできた4量体構造をもち (Hb A = $\alpha_2^A \beta_2^A$, Hb F = $\alpha_2^A \gamma_2^F$)、ポリペプチド鎖の一つは同じであるが (α^A 鎖)、他の一つは互いに大きく異なる (β^A 鎖と γ^F 鎖)。すなわち、 β^A 、 γ^F 両鎖間にはアミノ酸配列上39個所で相違があるという⁴³⁾。このように構造上大差ある Hb の存在から、それぞれ胎児血-成人血間にみられる O_2 平衡機能での差を説明しようとする考え方は、まこと魅力的ではあるが、実際にえられる実験事実を照らして、かなり以前に破綻せざるをえなかつた。すなわち、すでに1936年、Hill ら²⁸⁾は全血ないし赤血球懸濁液の状態では、両血間にみられる O_2 親和性の違いが、溶血液の状態では完全に逆転して、成人血の方が胎児血よりも強い O_2 親和性を示すに至ることを見出した。この事実は、両血液での O_2 親和性の差が、それぞれのもつ Hb の違いによるよりはむしろ、各 Hb のおかれている赤血球内環境の差によるとの可能性を示唆している。同様な実験、結果、推論は、それ以外にも McCarthy³⁷⁾によって発表されている。さらにその後、Allen ら¹⁾は、胎児血溶血液と成人血溶血液を共通の外液に対し透析することにより、両者の O_2 平衡曲線が全く一致することを見出し、上記推論をさらに確実なものとした。その後行なわれた Schruaffer ら⁴⁵⁾、Prystowsky ら³⁸⁾の研究からも、よく上

の推論と一致する結果がえられた。

さて次に問題となるのは、両血での O_2 親和性に差をもたらす赤血球内環境因子の実体は何か、ということである。これまでに、このような因子としては赤血球膜因子³⁰⁾、グルタチオン²⁹⁾、炭酸脱水酵素³¹⁾、赤血球内 Base Excess およびカチオン濃度⁴⁾²²⁾⁴²⁾等があげられているが、何れも単独で決定的なものとは考え難い。

また以上の諸因子とは少し異なり、新生児、乳児期における赤血球の形態学的特性 (特に赤血球表面積、赤血球容積等) と O_2 親和性との相関を示す報告もあるが⁵⁾、両者相関の実体的意味については、不明と云わざるをえない。

ごく最近、Benesch ら¹¹⁾および Chanutin ら¹⁵⁾の研究がきっかけとなって、in situ (赤血球内)における Hb の O_2 親和性調節因子として、にわかに注目を浴びるようになった DPG は、以上の問題を考える上で重要な手がかりを与えるように思われる。例えば、Bauer ら⁹⁾の成績によると、新生児とその母体の血液間にみられる O_2 親和性の差は (pH=7.2, 37°C 下でそれぞれ $P_{50}=31.0 \text{ mmHg}$ および 24.3 mmHg)、溶血-透析により全く消失するが (共に $P_{50}=19.7 \text{ mmHg}$)、これに生理的濃度の DPG を添加することにより、ほぼ元通りに戻るという (それぞれ $P_{50}=29.4 \text{ mmHg}$ および 22.4 mmHg)。一方、少くとも生理的濃度の ATP 添加では、殆んどみるべき効果はないという。また Tyuma ら⁴⁷⁾は、Benesch らの方法¹⁴⁾で含有リン酸化合物を除いた純化 Hb A および Hb F 溶液について、DPG、ATP 添加が両 Hb の場合とも O_2 親和性の低下をもたらすこと、また低下の程度が Hb F でより軽度である、ことを報告している。以上両研究とも、DPG の O_2 親和性低下作用に対する感受性が、少くとも溶液状態での Hb F で、Hb A に比しより小さいことを示しているが、これが赤血球内にある Hb についても当てはまるかどうかの保証はない。

最近 Engel ら²⁰⁾および Papadopoulos ら¹⁷⁾によって行なわれた研究は、赤血球内無氣的解糖系のある種酵素活性に、人為的な変化を起こ

させるか、あるいは遺伝的に変化がある場合の成人全血を用い、酵素活性変化に起因するDPG濃度の増減と、当該血液の O_2 親和性との関連をみたもので、いずれも溶液での結果が、少くとも定性的には血液にも当てはまるらしいことを明らかにしている。さらにDucら¹⁸⁾は、胎児血および成人血にヨード酢酸を添加し、23°Cに12hr 孵置した場合、両者とも赤血球内DPGの低下と共に O_2 親和性の増大を示すこと、DPGの低下度が成人血でより軽度であるにかかわらず、 O_2 親和性の増大がより著明であること等を報告している。このことは、溶液状態でみられたDPG効果によって、両血液間にみられる O_2 親和性の差が説明できることを示している。ただ多少留意すべきことは、以上の実験では何れも、人為的ないし遺伝的に、その酵素活性のあるものが修飾された赤血球を用いている点である。特にEngelら²⁰⁾、Ducら¹⁸⁾の場合、酵素(phosphoglyceraldehyde dehydrogenase)阻害剤としてヨード酢酸を用いているが、ヨード酢酸は一般に蛋白SHのアルキル化試薬として古くから用いられて来たものであって、これによる化学修飾がHb分子、あるいはその他赤血球構成蛋白におよぼぬという保証はない。一方また、HbのSH修飾の結果、その O_2 平衡機能に甚大な変化(例えば O_2 親和性の増大)の生ずることは周知の事実で³⁹⁾⁴⁰⁾、この点、なお多少の疑問を残している。

今回の実験では、正常赤血球を用い、何ら試薬の添加なく孵置しただけであるから、結果は直ちに、in situでのDPG効果を明らかにしたものとして理解できる。したがって胎児血と成人血間に見る O_2 親和性の差も、両者のもつHbのDPG感受性の差による所が大であると考えられる。ただし、これだけが唯一の原因であるか否かは、現時点では結論することができない。DPG効果の機序については、なお不明と云わざるをえないが、その効果発現に、DPGとHbとの特異的、可逆的な結合が前提条件となることは確かなようである¹³⁾¹⁴⁾²³⁾。この意味から、HbAに比し、HbFのDPGに対する

結合親和性が低いという実験事実⁴⁹⁾はまことに興味深い、結論はなお今後の探究に待たねばならない。

DPG/Hbモル比<1の場合、溶液でみられた2相性 O_2 平衡曲線¹⁴⁾が、同様条件下の全血ではみられない事実、および溶液状態ではDPGのないとき、HbAがかえってHbFより強い O_2 親和性を示すのに、全血ではそうでなかったこと、等は、DPG以外の環境要因(例えば赤血球内電解質濃度、pH等)の差によるものであろうが、その実体については現在さらに検討中である。

V. 要 約

胎児血と成人血間にみられる O_2 運搬機能の差について、種々検討した。

1. pH6.3よりアルカリ域では、胎児血が常に成人血より高い O_2 親和性をもつ。それより酸性側では、この関係が逆転する。胎児血でpH6.15付近にある、Bohr効果曲線のピーク位置は成人血では6.50へと移動した。アルカリ性Bohr効果の大きさは、成人血で $\Delta \log P_{50}/\Delta pH = -0.48$ 、胎児血で -0.50 と大差ない(pH6.9~7.6)。逆Bohr効果は、両血液とも明らかに認められた。pH7.40に補正した P_{50} 値は、成人血の 26.9 ± 1.3 mmHgに対し、胎児血では 22.0 ± 0.3 mmHgであった。またヘム間相互作用の程度は、pHと関係なく、両血液で一致した値($n=2.8 \pm 0.1$)を示した。

2. 以上全血についての結果を、溶液状態でのそれと比較した。

3. 38°C 孵置により、成人血、胎児血共にその O_2 親和性が上昇する。しかし、Bohr効果の程度、ヘム間相互作用の程度には変化がみられない。

4. 種々時間、38°Cに孵置した両血液について、赤血球内2,3-diphosphoglycerate (DPG)濃度および O_2 親和性を測定した。孵置による O_2 親和性上昇と、DPG濃度低下との間には、平行関係が認められた。DPG濃度低下に伴う O_2 親和性増大の程度は、胎児血の場合に比

し、成人血でより著明にみられた。

5. 新鮮な成人血、胎児血での DPG 含量 (Packed Cell 1 ml あたり) は 4.89 ± 1.04 μ moles, 4.39 ± 0.67 μ moles とみるべき差を示さない。

6. 以上の結果から、成人血-胎児血間にみられる O_2 親和性の差は、後者が前者に比し、DPG による O_2 親和性低下作用に対して低い感受性をもつことによると推論した。

(本論文の概要は日本生理学会第47回総会において報告した。)

文 献

- 1) Allen, D. W., Wyman, J., Jr. & Smith, C. A. (1953) The oxygen equilibrium of fetal and adult human hemoglobin. *J. biol. Chem.* **203**, 81-87
- 2) Antonini, E., Wyman, J., Brunori, M., Fronticelli, C., Bucci, E., Reichlin, M. & Rossi-Fanelli, A. (1964) The oxygen Bohr effect of human fetal hemoglobin. *Arch. Biochem. Biophys.* **108**, 569-572
- 3) Barcroft, J. (1946) Researches on prenatal life. XTV. The oxygen dissociation curve. Blackwell, Oxford, 156-177
- 4) Barcroft, J. & Roberts, F. (1909) The dissociation curve of blood. *J. Physiol.* **39**, 118-142
- 5) Bartels, H. (1959) Sauerstoffbindungskurve, fetales Hämoglobin u. Erythrocytenmorphologie bei Frühgeborenen u. Säuglingen. *Klin. Wschr.* **37**, 664-665
- 6) Bartels, H., Betke, K., Hilpert, P., Niemyer, G. u. Riegel, K. (1961) Die sogenannte Standard- O_2 -Dissoziationskurve des gesunden erwachsenen Menschen. *Pflügers Arch.* **272**, 372-383
- 7) Bartlett, G. R. (1959) Human red cell glycolytic intermediates. *J. biol. Chem.* **234**, 449-458
- 8) Bartlett, G. R. (1959) Phosphorus assay in column chromatography. *J. biol. Chem.* **234**, 466-468
- 9) Bauer, Ch., Ludwig, I. & Ludwig, M. (1968) Different effects of 2,3-diphosphoglycerate and adenosine triphosphate on oxygen affinity of adult and fetal human hemoglobin. *Life Sci.* **7**, 1339-1343
- 10) Beer, R., Doll, E. u. Wenner, J. (1957) Die Verschiebung des Sauerstoff-Dissoziationskurve des Blutes von Säuglingen während der ersten Lebensmonate. *Pflügers Arch.* **265**, 526-540
- 11) Benesch, R. & Benesch, R. E. (1967) The effect of organic phosphates from the human erythrocyte on the allosteric properties of hemoglobin. *Biochem. biophys. Res. Comm.* **26**, 162-167
- 12) Benesch, R. & Benesch, R. E. (1969) Intracellular organic phosphates as regulators of oxygen release by haemoglobin. *Nature* **221**, 618-622
- 13) Benesch, R., Benesch, R. E. & Enoki, Y. (1968) The interaction of hemoglobin and its subunits with 2,3-diphosphoglycerate. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.* **61**, 1102-1106
- 14) Benesch, R., Benesch, R. E. & Yu, C. I. (1968) Reciprocal binding of oxygen and diphosphoglycerate by human hemoglobin. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.* **59**, 526-532
- 15) Chanutin, A. & Curnish, R. R. (1967) Effect of organic and inorganic phosphates on the oxygen equilibrium of human erythrocytes. *Arch. Biochem. Biophys.* **121**, 96-102
- 16) Darling, R. C., Smith, C. A., Asmussen, E. & Cohen, F. M. (1941) Some properties of human fetal and maternal blood. *J. Clin. Invest.* **20**, 739-747
- 17) Delivoria-Papadopoulos, M., Oski, F. A. & Gottlieb, A. J. (1969) Oxygen-hemoglobin dissociation curves: Effect of inherited enzyme defects of the red cell. *Science* **165**, 601-602
- 18) Duc, G. & Engel, K. (1969) Effect of 2,3-DPG concentration on hemoglobin-oxygen affinity of whole blood. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* **24**, 405-412
- 19) Eastman, N. J., Geiling, E. M. K. & de Lawder, A. M. (1933) Foetal blood studies. IV. *Bull. Johns Hopkins Hosp.* **53**, 246-254
- 20) Engel, K. & Duc, G. (1968) Effect of iodoacetate and fluoride on the position of the haemoglobin oxygen dissociation curve of human whole blood. *Nature* **219**, 936-938
- 21) 榎 泰義 (1959) 白鼠の全血酸素解離曲線とこれに及ぼす高度低圧 α 影響について. *日本生理誌* **21**, 1013-1024
- 22) 榎 泰義 (1959) ヘモグロビン酸素平衡に及ぼす塩類効果について. *奈良医誌* **10**, 345-355
- 23) Garby, L., Gerber, G. & de Verdier, C. -H. (1969) Binding of 2,3-diphosphoglycerate and adenosine triphosphate to human hemoglobin. *Europ. J. Biochem.* **10**, 110-115
- 24) Greenwalt, T. J. & Ayers, V. E. (1960) Phosphate partition in the erythrocytes of normal newborn infants and infants with erythroblastosis fetalis. II. Quantitative paper chromatography. *Blood* **15**, 698-705
- 25) Greenwalt, T. J., Morell, S. A. & Ayers, V. E. (1963) Phosphate partition in the erythrocytes of normal newborn infants and infants with erythroblastosis fetalis. IV. Ion exchange chromatography. *Blood* **22**, 589-599

- 26) Haselhorst, G. u. Stromberger, K. (1931) Über den Gasgehalt des Nabelschnurblutes vor u. nach der Geburt des Kindes u. über den Gasaustausch in der Plazenta. *Z. Geburtsh. Gynäk.* **100**, 48-70
- 27) Hill, A. V. (1910) The possible effects of the aggregation of the molecules of haemoglobin on its dissociation curves. *J. Physiol.* **40**, IV.
- 28) Hill, R. & Wolvekamp, H. P. (1936) The oxygen dissociation curve of haemoglobin in dilute solution. *Proc. Roy. Soc. (London)* **B 120**, 484-495
- 29) Horejsi, J. (1967) Effect of reduced glutathione on the dissociation curve of hemoglobin. *Haematologia* **1**, 35-44
- 30) Horejsi, J. & Komarkova, A. (1959) The effect of factors contained in the membranes of red blood cells on the shape of the dissociation curve of hemoglobin. *Clin. Chim. Acta* **4**, 391-392
- 31) Horejsi, J. & Komarkova, A. (1960) The influence of some factors of the red blood cells on the oxygen binding capacity of haemoglobin. *Clin. Chim. Acta* **5**, 392-395
- 32) Jonxis, J. H. P. & Visser, H. K. A. (1956) Determination of low percentages of fetal hemoglobin in blood of normal children. *Am. J. Dis. Child.* **92**, 588-591
- 33) Leibson, R. G., Likhnitzky, I. & Sax, M. G. (1936) Oxygen transport of the foetal and maternal blood during pregnancy. *J. Physiol.* **87**, 97-112
- 34) Lenfant, C., Torrance, J., English, E., Finch, C. A., Reynafarje, C., Ramos, J. & Faura, J. (1968) Effect of altitude on oxygen binding by hemoglobin and on organic phosphate levels. *J. Clin. Invest.* **47**, 2652-2656
- 35) Litarczek, C., Sloboziano, H., Aubert, H. et Cosmulesco, I. (1930) Sur l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène, exprimée par la constante de dissociation de l'oxyhémoglobine, chez les nouveau-nés. *Compt. rend. Soc. Biol. (Paris)* **104**, 710-711
- 36) Mann, L. I. & Romney, S. L. (1968) The Bohr effect of fetal hemoglobin. *Am. J. Obst. & Gynec.* **101**, 520-528
- 37) McCarthy, E. F. (1943) The oxygen affinity of human maternal and foetal haemoglobin. *J. Physiol.* **102**, 55-61
- 38) Prystowsky, H., Hellegers, A., Cotter, J. & Bruns, P. (1959) Fetal blood studies. VII. On the relationship between the position of the oxygen dissociation curve of human fetal blood and adult-fetal hemoglobin. *Am. J. Obst. Gynec.* **77**, 585-588
- 39) Riggs, A. (1952) Sulfhydryl groups and the interaction between the hemes in hemoglobin. *J. Gen. Physiol.* **36**, 1-16
- 40) Riggs, A. & Wolbach, R. A. (1956) Sulfhydryl groups and the structure of hemoglobin. *J. Gen. Physiol.* **39**, 585-605
- 41) Rosenthal, T. B. (1948) The effect of temperature on the pH of blood and plasma in vitro. *J. Biol. Chem.* **173**, 25-30
- 42) Rooth, G., Sommerkamp, H. & Bartels, H. (1962) The influence of base excess and cation concentration in the red cells on the position of the oxygen dissociation curve. *Clin. Sci.* **23**, 1-4
- 43) Schroeder, W. A., Shelton, J. R., Shelton, J. B., Cormick, J. & Jones, R. T. (1963) The amino-acid sequence of the γ chain of human fetal hemoglobin. *Biochemistry* **2**, 992-1008
- 44) Schröter, W. u. Winter, P. (1967) Der 2,3-Diphosphoglyceratstoffwechsel in den Erythrocyten Neugeborener u. Erwachsener. *Klin. Wschr.* **45**, 255-261
- 45) Schruaffer, J. J. P., Heller, C. T., Battaglia, F. C. & Hellegers, A. E. (1962) Independence of whole blood and haemoglobin solution oxygen dissociation curves from haemoglobin type. *Nature* **196**, 550-553
- 46) Tomita, S., Enoki, Y., Santa, M., Yoshida, H., & Yasumitsu, Y. (1968) A simple spectrophotometric method for determination of met-hemoglobin in dilute solution. *J. Nara Med. Assoc.* **19**, 1-6
- 47) Tyuma, I. & Shimizu, K. (1969) Different response to organic phosphates of human fetal and adult hemoglobins. *Arch. Biochem. Biophys.* **129**, 404-405
- 48) Van Slyke, D. D. & Plazin, J. (1961) Micromanometric analyses. Williams & Wilkins, Baltimore.
- 49) de Verdier, C. H. & Garby, L. (1969) Low-binding of 2,3-diphosphoglycerate to hemoglobin. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* **23**, 149-151
- 50) Zipursky, A., LaRue, T. & Israels, L. G. (1960) The in vitro metabolism of erythrocytes from newborn infants. *Can. J. Biochem. Physiol.* **38**, 727-738

塩酸サイプロヘプタジンのラット視床下部外側野および
腹内側核に対する作用 612.826.4 : 612.014.469

大 村 裕, 小 野 武 年, 杉 森 睦 之,
中 村 勉 (金沢大学医学部第二生理学教室)

Effects of cyproheptadine on the rat lateral and ventromedial hypothalamus Yutaka OOMURA, Taketoshi ONO, Mutsuyuki SUGIMORI, and Tsutomu NAKAMURA (*Department of Physiology, Faculty of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa*)

In order to clarify the physiological actions of cyproheptadine hydrochloride (Cyp) which is known clinically to stimulate the appetite and a sequent increase in body weight, acute and chronic experiments were carried out. In acute experiment, changes in single neuronal activity in the lateral area (LH) and ventromedial nucleus (VMH) in the rat hypothalamus by electrosmotic applications of Cyp and glucose or electrophoretic applications of Na and Cl were studied by means of multibarreled electrodes.

1. The amount of Cyp released at different charge magnitudes (current×time) transmitted across the pipette filled with ¹⁴C-Cyp solution was significantly larger at negative (inward current) than at positive (outward current) and the relationship was lineal; 3.5×10^{-12} mole/l/10⁻⁶ coul.

2. About 60% of the VMH neurons were reduced in firing frequency by Cyp. Most of them were increased in the frequency by glucose instead. The least effective amount of Cyp was 6.4×10^{-3} mole/l.

3. About 70% of the LH neurons were increased in the frequency by Cyp. However, most of them were inhibited by glucose.

4. The above neurons had a specific Cyp or glucose sensitive membrane, since the effect began with a characteristic long latency and ceased with a long lasting time and the applications of Na or Cl were not effective, indicating not the osmosensitive neuron.

5. The activity of the Cyp sensitive neurons was modulated by single stimulations of either the basolateral amygdaloid nucleus or the stria terminalis. The stimulation facilitated the VMH neurons and inhibited the LH ones.

6. Thalamic neurons were never influenced by Cyp, glucose, Na or Cl.

7. It was concluded that the glucosensitive VMH neurons which participate in the satiety mechanism and are supported by the facilitatory input from the amygdala are inhibited by Cyp, while the glucosensitive LH neurons which participate in the feeding mechanism and are modulated by the inhibitory input from the amygdala are facilitated by Cyp.

8. In chronic experiments, young rats (35 days after birth) significantly increased in the amount of food intake and body weight by Cyp (0.5~1.5 mg/kg/day) compared with the control group. Thus, it was also concluded that Cyp brought about an acceleration of the neuronal activity in the LH. [J. Physiol. Soc. Japan (1971) 33, 193-205]

key words—single unit discharges, lateral hypothalamic area, effect of cyproheptadine, ventromedial hypothalamic nucleus, glucosensitive neuron.

抗セロトニンおよび抗ヒスタミン作用を持つ薬物として知られている塩酸サイプロヘプタジン cyproheptadine (ペリアクチン, Cyp) が臨床的に食欲亢進を起し、摂食量、体重および身長を増加をきたすことが報告されている

(Lavenstein ら¹⁾, Naranjo²⁾, Drash ら³⁾, Idelshon⁴⁾, Kofman たち⁵⁾, Puentes たち⁶⁾, Pototschnig と Serafini⁷⁾). この機序は明らかでないが、視床下部領域が関与しているのではないかと考えられている (Pototschnig と Serafini⁷⁾).

Chakrabarty ら⁸⁾は慢性電極を植込んだネコ

についてCypの作用をしらべた。すなわちCypを毎日静注すると食欲と体重の増加とともに視床下部摂食中枢(LH)脳波の振幅と頻度の増加が起こることを認めた。この脳波上の変化は動脈血糖値差、 Δ グルコースの減少すなわち、グルコース利用の減少と一致していると結論した。

われわれはさきに、ラット視床下部のLHと飽満中枢(VMH)においてグルコース感受性ニューロンの存在を証明した(Oomuraら⁹⁾)。そして現在一般に信じられている摂食調節のグルコース定常説(Marshallら¹⁰⁾, MayerおよびMarshall¹¹⁾)に最も有力な証拠を与えた。本実験においてCypの中核機序を明確にするため、われわれはCypがLHおよびVMHニューロンにどのように作用するか、とくにグルコース感受性ニューロンに対する影響はどうかということを知るために、直接Cypを単一ニューロンに投与して実験を行なった。そしてLHおよびVMHにおいてCyp感受性ニューロンが見つかったがそれらは大部分がグルコース感受性ニューロンであることが判明し、Cypの食欲増進作用に明確な根拠を与えることができた。また、扁桃核基底核の外側部(外側主核(AL)と分界条(ST)は摂食機能に密接に関係している(Oomuraら²⁵⁾, 小野²²⁾, Oomuraら²³⁾)が、Cyp感受性ニューロンに対する扁桃核の作用も同時に観察した。さらに、体重および行動上へのCypの作用も観察した。あきらかに幼弱ラットにおいて、摂食量の増大と体重増加をきたしたが、同時に視床下部性の活動亢進状態を示す行動様式を観察することができた。

I. 方 法

A. 急性実験

9匹の体重180~200gのWister BR 46系ラットを用いた。エーテル軽麻酔下(足蹠に痛み刺激を与えると逃避反射を起こす程度)で脳波上に中等度振幅徐波が観察される程度で実験を行なった。頭部を脳定位固定装置に固定後、頭蓋骨を歯科用ドリルで約0.8×0.5cm開頭

し、硬膜を注意深く切開して脳表面を露出した。脳表面の乾燥や脳搏動を防ぐため、開頭部を含む頭蓋骨露出面全体にRinger寒天を2~3mmの厚さでおおった。動物の直腸温は約37°Cに維持した。

微小電極: 5連ガラス微小電極は5本のガラス毛細管(内径, 0.4mmのPyrex tube)をたばねて高温で接着させた後、微小電極作製器(高橋式あるいは成茂式)を用いて作製した(Tasakiら¹²⁾, 大村ら¹³⁾)。つぎに田崎の法(Tasakiら⁴⁾)によりこれら5連ガラス微小電極に蒸溜水をつめ、最後に31ゲージ皮下針を用いてその蒸溜水を吸引した後、種々の薬液を置換した。中心の記録用電極には4M/l NaClを、周囲の4本の電極には次の薬物をつめた; 14.6mM/l cyproheptadine hydrochloride (Cyp), pH 5.5~6, 0.2M/l NaCl, 2M/l monosodium-l-glutamate (NaOHで調節しpH 8)および0.4mM/lのNaClを含む0.4Mグルコース溶液。電極は使用前30~100時間前に作製し、2~4°Cの氷室に保存した。電極先端は1μ以内で、中心の電極抵抗はdcで20~100MΩ, また周囲の薬物放出用電極のそれは10MΩ以上のものを用いた。

記録と刺激: 5連ガラス微小電極と同心双極刺激電極は、KönigとKlippel¹⁵⁾の脳地図にしたがってそれぞれ目的の部位に刺入した。前者の部位はVMH(A, 4.62; L, 0.50; H, -2.4~-3.2)およびLH(A, 4.62; L, 1.50; H, -2.0~-3.4)で単位ニューロン活動を記録した。また対照として視床内ニューロン(Thalamus ventralis, VMHあるいはLHの約2mm背側)の活動を記録した。刺激電極はAL(A, 4.11; L, 3.80; H, -3.30)とALからLHへの抑制経路としてのST(A, 4.38; L, 3.50; H, +0.70)へそれぞれ刺入した。中心の記録用電極はFein¹⁶⁾の回路を改良した通電できる前置増幅器に接続した。誘導した単一ニューロンの細胞外活動電位は、増幅後ブラウン管オシロスコープで観察すると同時にデータレコーダーで磁気テープに収録した。記録時の増幅器総合時定数は3

msec とした。データ処理においてはパルスカウンター (大村ら¹³⁾) を用いたり, フィルムに直接撮影して, 単位放電の増減を確かめた。

周囲の4本につめた薬物中, Na, Cl および glutamate は+あるいは-の電流を電極に流して電気泳動的に単一ニューロンに微小投与した。Cyp およびグルコースは前者ではおもに-, 後者では+の電流を電極にそれぞれ流して電気浸透圧的に投与した (図1)。薬物放出用電極に与える電流は定電流装置から供給した (大山ら¹⁷⁾)。

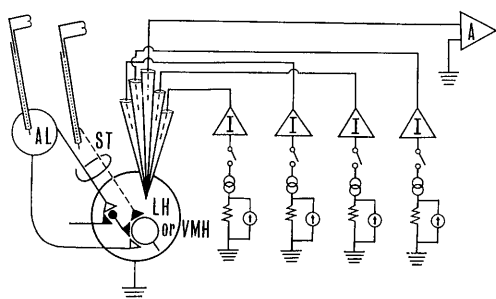


Fig. 1. Schematic representation of the experimental procedure. Single unit discharges in the LH, VMH or thalamus are recorded by the central pipette of the five barreled electrode. By the current passed through other 4 pipettes which contain cyproheptadine (Cyp) NaCl, glucose or Na glutamate solutions respectively. Cyp, or glucose is applied to the neuron by electrosmosis and Na, Cl or glutamate is by electrophoresis. Bipolar stimulating electrodes are located in basolateral amygdaloid nucleus (AL) and stria terminalis (ST). I: a device which can supply a constant current even though the electrode resistance changes during a current passing. Arrow in the circle: monitoring of applied currents.

この定電流装置を用いることにより, 電流を流しているあいだ電極抵抗が変化してもそれを補償して, つねに一定の電流を流すことができる。薬物の効果と与えた電流そのものの効果の判定には Curtis と Koizumi¹⁸⁾, Oomura ら¹⁹⁾ および大村ら¹³⁾の criteria にしたがった。

電氣的刺激を行なうために矩形波発生装置から 0.1 msec 持続の矩形波を同心双極電極に内針が外筒に対してマイナスになるようにして与えた。この電極はその外筒が25ゲージ (外径0.4

mm) の絶縁ステンレススチールで, 内針は直径 0.1 mm のステンレススチールエナメル線である。外筒の内針の先端はそれぞれ 0.2 mm と 0.15 mm 絶縁をはがし, 両者の中心間距離は 0.2 mm である。

サイプロヘプタジンの電気浸透圧的放出: 実験にさきだち, 電気浸透圧的に放出される Cyp 量と与える電流量との関係を知るため ¹⁴C-cyproheptadine (¹⁴C-Cyp, Merck Sharp and Dohme Research Lab., Division of Merck and Co., Inc., Rahway, N. J., U. S. A.) を用いた。15 mg/198 μ c の ¹⁴C-Cyp を 2 ml の蒸留水にとかした。この 0.5 ml に塩酸を 1 対 1 の割合に加えた。すなわち ¹⁴C-Cyp は塩酸塩でないで cyproheptadine hydrochloride の分子中に含まれる割合と同じ割合になるようにした。この液をつめたガラス微小電極先端を 15 mM/l NaCl 液に入れ (直径 2.5 cm aluminium plancette) 電極と液の間に電流を流し ¹⁴C-Cyp を放出させた。Plancette 中の NaCl 液を乾燥させた後, windowless gass flow counter で ¹⁴C 量を計測した。¹⁴C-Cyp 放出量の算出は前もって同じ原液から求めた標準曲線をもとに行なった。

電極刺入部位の解剖学的部位確認: 実験終了後刺激電極刺入部位には同じ双極電極の内針と接地側との間に 5 mA で 15 sec 間直流通電を行ない, 電極直下に空胞を発生させる。記録電極の部位にはそれと同位置に正確に刺激電極を刺入して同様の通電を行なった。断頭して 10% 中性ホルマリンリンガー液で固定し, 厚さ 20~30 μ の連続凍結切片を作製し, ニッスル染色をして, 各電極の刺入部位の確認を行なった (Oomura ら¹⁹⁾)。

B. 摂食量および体重の測定

急性実験と同様のラット 16 匹について Cyp 投与後の摂食量, 体重増加, および行動におよぼす影響について観察した。このうち 10 匹は生後 35 日の体重 100 \pm 5 g のものを用い, あと 6 匹は生後 60 日の体重 170~200 g であった。

室内温度は 20 \pm 3°C, 湿度は 50 \pm 10% にたも

った。ラットは1匹ずつ 20 cm×15 cm×15 cm の金網製箱に分離し、毎日朝夕摂食量と体重の測定を行なった。Cypの含有シロップは10日間、0.5~1.5 mg/kg (体重)/日 になるように飲料水にまぜて経口投与した。そして Cyp 投与群と正常群の比較を行なった。

II. 結 果

A. 急性実験

1. Cypの電気浸透圧的放出

電極に定常電流を流すことによって放出された¹⁴C-Cyp量は、電気量が非常に大であれば電

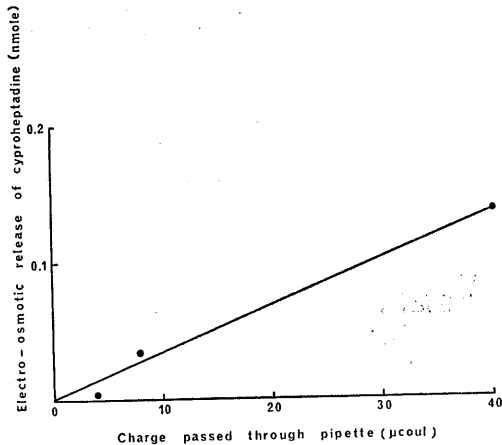


Fig. 2. Electroosmotic release of Cyp. Lineal relationship between the amount (n^m mole) of ¹⁴C-Cyp released out of the Cyp pipette at different negative charges (μ coul) applied to the pipette; in this case 3.5×10^{-12} mole/ 10^{-6} coul.

極内が負つまり内向き、および正つまり外向きいずれの方向の通電でも background 以上の有意の増加がみられた。しかし一般に内向き電流の方が放出にたいして有効に作用するので、実験ではおもに内向き電流を使用した。図2は典型的な1例であるが、横軸に電気量(μ coul)を、縦軸に Cyp 量 (n Mole) を示している。これから、 3.5×10^{-12} M/μ coulが求められ、さらに transport number は $(M/\text{coul}) \times 96500 = 0.33$ M/coul となった。グルコースの場合には、内向き外向きいずれの方向の通電でも、グルコースの放出は可能であったが、外向きの方がより有

効であった(大村ら¹³⁾, Oomuraら⁹⁾). 大村ら¹³⁾によるとグルコースは平均 5×10^{-12} M/μ coul であり、transport number は 0.53であった。Transport number のちがいについて Cyp は分子量がグルコースの約2倍であることを考えれば説明できるようである。電極によっては Cyp の放出されないこともあったが、その理由は明らかでない。電気浸透圧的に単一ニューロンに直接投与した Cyp やグルコース、あるいは電気泳動的に投与した Na, Cl あるいは glutamate の効果は、単位放電の頻度の増減により統計学的に有意の差があるかどうかで判定

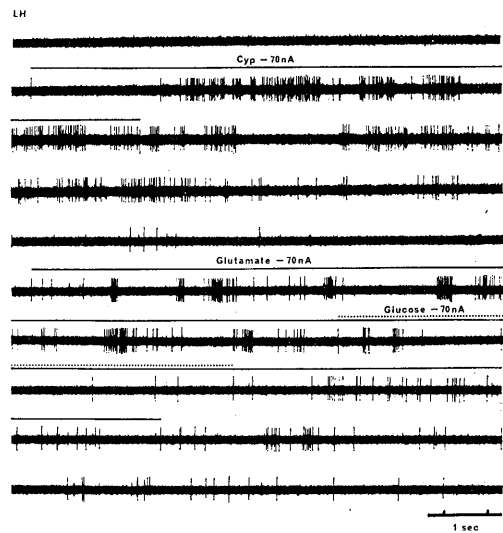


Fig. 3. LH neuron. Effects of Cyp and glucose. Continuous recording from upper to lower. Upper records: Before Cyp application, no spontaneous discharges. Cyp was applied at -70 nA (during the length of upper bar), the unit discharges increased in frequency with a latency of 3 sec. The after effect continued for about 19 sec. Middle records: Spontaneous discharges were so few that glutamate, nonspecific stimulant, was applied at -70 nA. During the increase in frequency by glutamate glucose was applied at -70 nA (dotted line). Glucose reduced discharge frequency with a latency of about 1.9 sec. Lower records: By the glucose current off the discharge returned to the rate caused by glutamate with an after effect of glucose for about 2 sec. By glutamate current off the spontaneous discharges returned to the original rate.

した。

2. LH ニューロンについて

組織学的に確認された LH 部位の15個のニューロンから自発単位放電を記録し、その全例に Cyp を投与した。そのうち10個のニューロンに放電の増加がみられ、5個のニューロンには無効であった。しかし放電の減少がくるものは1個も見出すことはできなかった(表1)。

グルコースの直接微小投与によって放電頻度の減少をきたすグルコース受容ニューロンと、浸透圧上昇に反応して放電頻度の増加をきたす浸透圧受容ニューロンがあり、前者は摂食に、後者は飲水に関与すると考えられる(Oomura ら⁹⁾。

したがって Cyp, グルコース, Na および Cl の刺激に対する反応の相互関連性を追究した。図3に示すように、ほとんど自発単位放電のみられていないニューロンに、Cyp 電極から -70 nA で Cyp を投与すると、約3 sec の潜時で単位放電に著明な増加をきたし、Cyp 投与中止後約19 sec の後効果を残している(記録上段)。視床下部ニューロンで潜時の長いことは、電極先端とニューロン膜との距離にもよるが、それよりもニューロンを薄いグリヤ層で何重にも取囲むラメラ構造による(Yamamoto と Oomura²¹⁾)と考えられる。つぎに Cyp 効果が消失したとき glutamate 電極から -70 nA で glutamate を与えた(記録中段)。Glutamate はニューロンにたいし非特異的促進作用をもつので(Oomura ら¹⁹⁾)放電増加が起こっている。この作用中にグルコース電極から -70 nA でグルコースを投与すると約1.9 sec の潜時で逆に放電の減少が起こっている(記録下段)。グルコース投与を中止すると約2 sec の後効果を残して、glutamate による放電頻度増加があらわれている。Glutamate 投与を中止すると約20 sec の経過で自発放電がほとんどみられない最初の状態に回復している(図4の一

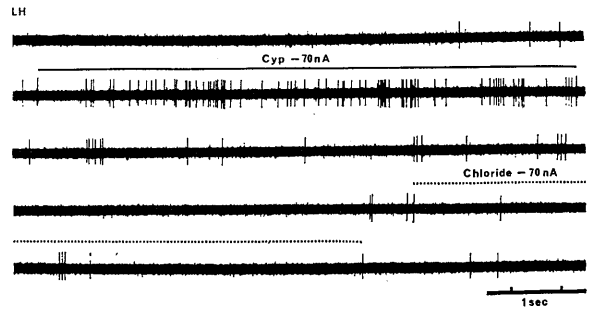


Fig. 4. LH neuron, continuous record from Fig. 3. To examine a current effect, Cl was applied at -70 nA (dotted line) after the application of Cyp at the same current intensity (continuous line). The latter increased discharge rate but not the former.

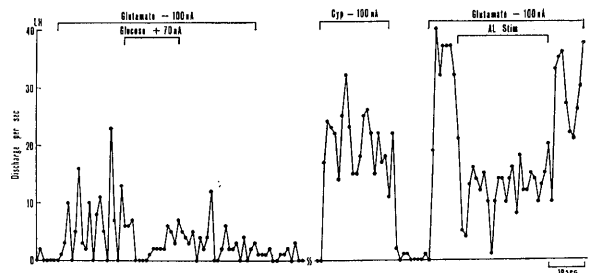


Fig. 5. Effects of Cyp and a repetitive stimulation (0.8 Hz, for 26 sec) of the AL on a glucose sensitive LH neuron. Left: Unit discharges increased nonspecifically by glutamate (-100 nA continuous line). Discharge rate was $6.5 \pm 6.4\text{ Hz}$. The increase in frequency was inhibited by glucose ($+70\text{ nA}$), $3.5 \pm 3.2\text{ Hz}$. The after effect of glucose continued for a considerable period. Middle: After complete recovery in discharge rate to the original level, Cyp was applied (-100 nA). With a latency of 1 sec discharge rate remarkably increased. After effect of Cyp lasted for about 2 sec after Cyp off. Right: During facilitation of discharge due to glutamate (-100 nA) ($33.4 \pm 6.7\text{ Hz}$, for first 7 sec), AL stimulation reduced the discharge rate to $12.2 \pm 4.4\text{ Hz}$. After cease of AL stimulation the frequency returned to $27.8 \pm 0.5\text{ Hz}$.

番上の記録)。まず、Cyp およびグルコースの効果がこれら薬物の直接的作用によるものであって、内向き電流の効果とか放出薬物によるニューロン膜周囲の浸透圧上昇によるものでないことを示すために、図3と同一ニューロンで図4の実験を行なった。すなわち Cyp を -70 nA で作用させると、やはり同様に約1 sec の潜時で放電頻度が著明に増加し、投与を中止しても

約11 sec 間は軽度の後効果を残している。これが電流そのものの効果でないことは潜時が長いことから言える。NaCl 電極から -70 nA を通電したのが下の記録であるが、放電増加は全然見られない。また Cl によるニューロン膜周囲の浸透圧上昇によっても変化をきたしていない。図5には、別のニューロンで放電頻度曲線(横軸:時間, 縦軸:1 sec ごとのインパルス数)からこれら薬物効果を示している。図左に示すように自発放電が非常に低いのでまず glutamate (-100 nA) で増加させている最中にグルコース ($+70$ nA) を作用させることによって、その間頻度の減少をきたしている。Glutamate を作用させている18 sec 間の頻度は 6.5 ± 6.4 Hz (平均と標準偏差), グルコース作用中 17 sec 間の頻度は 3.5 ± 3.2 Hz である。グルコース効果

Table 1. Number and type of responses of VMH, LH and thalamus neurons to cyproheptadine, glucose, Na, Cl and glutamate applications and to repetitive stimulations of basolateral amygdaloid and stria terminalis. \uparrow , discharge rate increased; \downarrow , discharge rate decreased; no, no effect.

Cyproheptadine	Glucose		Sodium		Chloride		Git.		AL		ST	
	\uparrow	\downarrow no	\uparrow	\downarrow no	\uparrow	\downarrow no	\uparrow	\downarrow no	\uparrow	\downarrow no	\uparrow	\downarrow no
LH (15)	10	0	3	3	3	3	3	1	2	2		
	no	5	2									
VMH (10)	1	1	4	2	4	1	3	3	5	2	2	1
	no	3							2		2	
Thalamus (12)	0											
	no	12	6		6	3	3	2				

は投与中止後も相当長く続いている。つぎに, glutamate 投与前の頻度 $0 \sim 1$ Hz に回復した後 Cyp (-100 nA) を投与すると, 約1 sec の潜時で著明な放電頻度の増加をきたし, その20 sec 間の頻度は 19.2 ± 6.8 Hz である。投与中止により約2 sec の後効果の後回復している。

AL および ST 刺激効果: LH ニューロンは, AL から抑制性の入力を受けているが, その抑制は後シナプス性のものであり ST を経由している(小野²², Oomura ら²³)。Cyp で活動を促進されるニューロンが AL あるいは ST の刺激により抑制されるかどうかを検討した。

図5の右に示すように Cyp 投与後, 対照の頻度に回復したニューロンについて, glutamate (-100 nA) で放電頻度を上昇させておき, AL を8 V で0.8Hzの反復刺激した。これはglutamate による放電頻度の増加に抑制の効果を示した。すなわち AL 刺激開始前7 sec 間の glutamate による放電頻度は 33.4 ± 6.7 Hz であるが, AL 刺激中の26 sec 間 12.2 ± 4.4 Hz と減少している。AL 刺激中止により, また glutamate による放電頻度の増加が起これり, glutamate 投与中の10 sec 間放電頻度は 27.8 ± 8.5 Hz となっている。ただ単発 AL 刺激によって LH ニューロンに対し, 短い10 msec 以内の EPSP とそれに続く約100 msec の IPSP が起こるので(小野²², Oomura ら²³)このような連続した刺激では放電頻度曲線ではある程度 AL の抑制効果がかくれるわけである。Cyp で促進されたニューロンについて2例に AL の反復刺激を, また別の2例に ST の反復刺激(0.8 Hz, 5 V)を行なったがいずれも抑制効果を示した(表1)。

総括: LH ニューロンに対する種々の効果をまとめたものを第1表に示している。組織学的に確実な15ニューロン中 Cyp でニューロン活動の促進された10個のうち, 6ニューロンについてグルコースの効果をみると, 3例が抑制され3例は無効果であった。また Cyp の無効であった5ニューロン中2例にグルコースで活動の促進されるものがあつたが, この例は Na の効果をみていないので浸透圧上昇に応じたのかどうかその性質について明らかにすることはできない。Cyp の促進効果が非特異的な浸透圧の影響によるものでないことは, Cyp で効果のあつたニューロン3例につき Na あるいは Cl の投与によって無影響であることから明瞭である。また Cyp が有効であつたニューロンはすべて AL および ST の刺激で抑制されている。これらのことから Cyp 感受性ニューロンは, LH の摂食機構に関与する principal ニューロンであると考えられる。

3. VMH ニューロンについて

VMHでは10個のニューロン中Cyp投与によって6個に著明な放電抑制が観察された。のこり3個にはなんら変化を認めなかったが、1例は逆に頻度の増加をみた(表1)。この1例はCl投与でも同様の増加をみたことから、おそらく他の効果も考えなければならぬだろう。図6に示すように、Cyp投与前約20 Hzの自発放電を示していたニューロンについてCyp電極に+50 nAを約11 sec間流してCypを与えたが、なんらの変化も起こっていない。しかし-50 nAでCypを与えると約300 msecの潜時で完全に自発放電が抑制されている。Cyp投与を中止すると潜時と同程度の約300 msecの後効果を残して投与前の頻度に回復している(上段記録)。この回復後ふたたびCypを-30 nAで投与すると、わずかに潜時が長くなるだけで-50 nAでのCyp投与の場合とまったく同様に自発放電を抑制している(中段の記録)。同様に-20 nAでも潜時は明確に決定しにくい約500 msecで自発放電の抑制が起こっている(下段の記録)。さらに直流電流を-15 nAにしてCypを与えると、今度は潜時は約5 secとなり著明な延長がみられ、また完全な自発放電の抑制を起すことができなかった(最下段の記録)。また後効果も前述の投与例に比して短かった。このようなCyp投与による自発放電の著明な減少効果は、通電した電流そのものの影響でもなく、薬物の非特異的なニューロン周囲の浸透圧上昇によるものでもない。これらについては次の実験からも明白である。別のニューロンではあるが図7に示すように約2 Hzの自発放電を示している場合に、-15 nAでCypを作用させると潜時は明確ではないが、放電頻度が減少しさらにすすんで完全に抑制されるまで約5 secかかっている(上段の記録)。ここで逆向きの電流+15 nAでCypを作用させると、無効果であった。

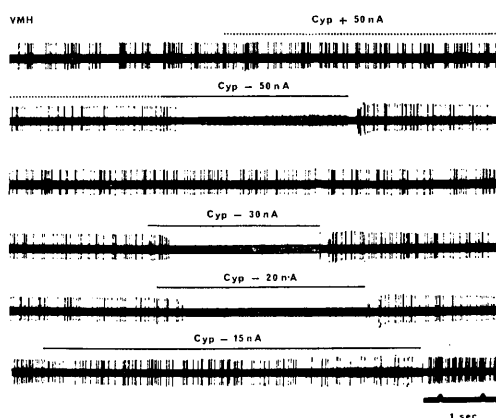


Fig. 6. Cyp effect on a VMH neuron, continuous recording from upper to lower. Upper records: Spontaneous unit discharges did not change in frequency by Cyp application at +50 nA (dotted line) but disappeared by -50 nA (continuous line). Middle and lower records: Effect of Cyp at -30, -20 and -15 nA. -15 nA affected slightly on the spontaneous discharges with a prolonged latency of about 5 sec.

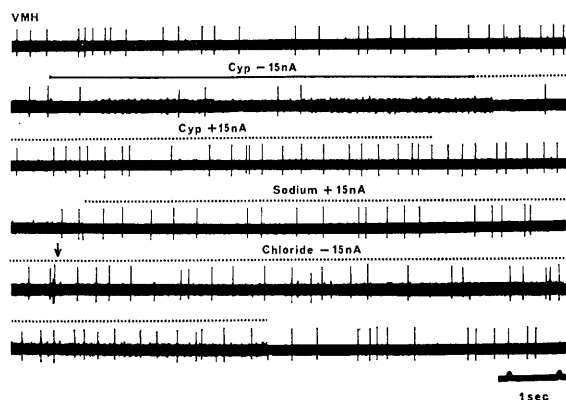


Fig. 7. VMH neuron. Cyp reduced spontaneous discharges at -15 nA but not +15 nA. Na (+15 nA) and Cl (-15 nA) have no effect, indicating the specific Cyp effect and neither current nor osmotic effect.

さらに、NaClの電極に正、つまり外向き通電をしてNaを+15 nAで作用させても、あるいはつづいて-15 nAを流してClを投与しても無効果であった。

CypのVMHニューロンに対する抑制効果は図8の放電頻度曲線(横軸:時間,縦軸:1 sec毎のインパルス数)からも明らかである。これは同一ニューロンについてCypを+50 nAと

-50 nA, +30 nA と -30 nA, +20 nA と -20 nA および +15 nA と -15 nA と順次通電電流を弱くして連続的に作用させ、その閾値の電流量およびそのときの潜時も同時に求めたものである。このニューロンでも正の、つまり外向き通電は効果がなく、負、つまり内向き通電で Cyp による抑制効果が著明にみられている。-50 nA から -20 nA までは潜時がわずかながら順次長くなり、後効果は逆に短くなっているが、-15 nA では完全な抑制がみられないし、潜時も他の場合が 1 sec 以内なのに約 5 sec にもなっている。まず +50 nA で無効のときの 11 sec

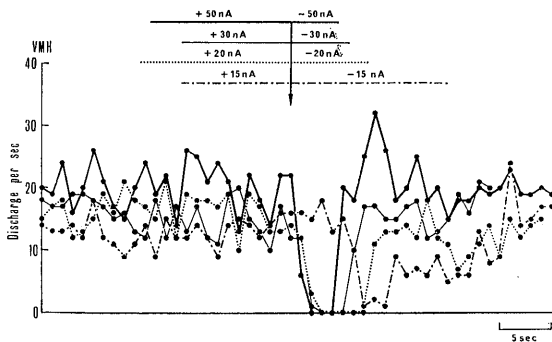


Fig. 8. VMH neuron. Cyp was effective by applications of negative currents. +50 and -50 nA, thick continuous line; +30 and -30 nA, thin continuous line; +20 and -20 nA, dotted line; +15 and -15 nA (broken line). At the arrow applied current was switched from positive to negative. The length of the lines indicate the duration of the applied currents. At -15 nA, the discharge rate reduced to 8.9 ± 5.6 from 12.6 ± 2.4 Hz.

間の放電頻度は 20.2 ± 3.5 Hz である。-50 nA で放電は完全に抑制されその投与中止後 21 sec 間には 20.6 ± 3.7 Hz と回復している。+30 nA ではその前後がそれぞれ 16.4 ± 2.3 Hz であり、-30 nA で自発放電は完全に抑制されて、中止後 15.4 ± 5.1 Hz に回復している。+20 nA の場合は 16.4 ± 2.8 Hz が -20 nA でやはり完全に抑制されたのち、中止で 12.4 ± 2.6 Hz に回復している。+15 nA では 12.6 ± 2.4 Hz であり、-15 nA によって平均 8.9 ± 5.6 Hz に減少したが、中止後 12.9 ± 5.7 Hz に回復している。この一連の投与実験で次第に放電頻度が減少している

が、おそらくこれは Cyp のニューロン周囲への蓄積による効果ではないかと考えられる。

Cyp 投与の VMH ニューロン抑制の閾値電流量は約 -15 nA で、潜時は約 5 sec である。記録されているインパルスの振幅はつねに約 1 mV 以上であるから、多連微小電極とニューロンとの距離は大きく見積っても $10 \mu\text{m}$ である。Cyp の 38°C における拡散恒数は分子量から Curtis ら²⁴⁾にしたがって計算して $0.64 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{sec}$ がえられる。Transport number は図 2 で述べたように 0.33 M/coul である。これらの値をもとにして Curtis ら²⁴⁾の方法によりニューロン膜表面での閾値濃度を計算すると、表 2 に示すように $6.4 \times 10^{-3} \text{ M/l}$ となる。

図 9 は同一ニューロンで Cyp, グルコース, Cl, および AL 刺激の効果を観察したものである。すなわち対照の 11 sec 間 5.6 ± 0.8 Hz の自発放電が Cyp 電極から -70 nA で Cyp を投与すると、図 6, 7 および 8 に示したほど著明ではないが、その 17 sec 間に 2.8 ± 1.6 Hz と有意に減少した(左)。投与中止後 7 sec 以上のあいだ軽度の後効果を残すようで、Cyp 投与中止後 12 sec 間の頻度は 4.1 ± 1.5 Hz であった。

このような放電頻度の低いときに AL を 8 V, 0.8 Hz で反復刺激するとその間軽度の促進作用がみられ、頻度は 4.9 ± 1.9 Hz と上昇している。これは VMH ニューロンの背景の興奮性上昇を示すものと思われる。AL 刺激中に、電極から +70 nA でグルコースを与えると約 2 sec の潜時で急激な放電頻度の増加をきたしている(図 9 中, 左)。すなわち、グルコース投与中 8 sec 間頻度は 28.5 ± 22.3 Hz となった。グルコース投与中止で約 1 sec の後効果を残して 5.6 ± 1.8 Hz に回復している。さらに AL 刺激を中止すると放電頻度は AL 刺激前の頻度に近くなり、その後 9 sec 間の頻度は 3.2 ± 1.5 Hz と有意に低下した。ここで 2~3 分後ふたたびグルコースだけを +70

nA で投与すると、投与前 10 sec 間頻度 5.1 ± 1.9 Hz から、投与中 5 sec 間の頻度 15.2 ± 11.4 Hz と上昇した (中, 右). グルコース投与中止により約 1 sec の後効果を残してもとの頻度に回復している. 同一電流量でのグルコース効果の差は AL による背景的促進作用がかさなりあっているためであろう. Cl 投与は無効果である.

AL および ST の刺激効果: VMH ニューロンは AL からおもに単シナプス性の促進効果をうけており, その経過は ventral amygdalohypothalamic tract を介していることはあきらかである (Oomura ら²⁵19), 山本²⁶), Dreifuss ら²⁷). また促進性後シナプス電位につづく抑制性電位があることも (Murphy と Renaud²⁸), さらに ST を介しての多シナプス性の促進経路があることも判明している (Oomura ら未発表). 図 9 すでに示したように, Cyp およびグルコースの効果を示すニューロンは AL の反復刺激によっても促進されている.

表 1 に示すように Cyp で抑制された 6 ニューロン中 5 ニューロンについて AL の反復刺激を試みたが全例において活動促進の効果がえられている. また 6 ニューロン中 3 個について ST 刺激を行ったが, 2 例に活動促進がみられ 1 例に抑制が見られた. Cyp 無効の 3 例のうち 2 例について AL および ST の刺激を行なったが, いずれも促進されている. これらのことは AL 刺激による促進性の入力は VMH の Cyp 感受性ニューロンにも行なっていることを示すものである.

総括: 表 1 に示すように, 組織学的検索で確実な 10 VMH ニューロンについて, Cyp はそのうち 6 個にニューロン活動を抑制している. これら抑制ニューロン全部についてグルコースを投与したが, そのうち 4 ニューロンがグルコース受容ニューロンであった, これらニューロ

Table 2. Threshold concentration of cyproheptadine on the VMH neuron

$$C = \frac{8.25 \times 10^{-6} ni}{2Dr} \operatorname{erfc} \frac{r \times 10^{-4}}{2\sqrt{Dt}}$$

C: Concentration	M/L
i: Current intensity	-15×10^{-9} A
t: Duration	5 sec
r: Distance between pipette tip and cell membrane	10 μ
n: Transport number	0.33 M/coul
D: Diffusion coefficient	0.64×10^{-5} cm ² /sec
Z: Valency	1
C: 6.4×10^{-3} M/L	

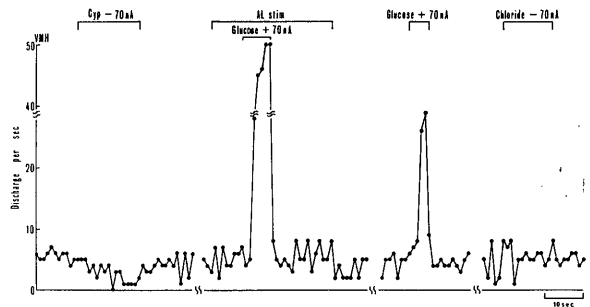


Fig. 9. Effect of Cyp and a repetitive stimulation of the AL on a glucose sensitive VMH neuron. Most left: Cyp reduced the rate of spontaneous discharges with a latency of about 3 sec. Before, 5.6 ± 0.8 Hz. During the application 2.8 ± 1.6 Hz. After the current off 4.1 ± 1.5 Hz, the after effect lasted for several sec. Middle left; repetitive stimulation of the AL (8 V, 0.8 Hz) brought a slight facilitation, 4.9 ± 1.9 Hz. During stimulation a glucose application at +70 nA increased the discharge rate remarkably with a latency of about 2 sec. After cessation of the AL stimulation, 3.2 ± 1.5 Hz. Middle right: Glucose alone at +70 nA. Less increase in discharge rate was probably due to no background facilitation by the AL stimulation. Right: No effect of a Cl application (-70 nA), indicating neither current nor osmotic effect by Cyp and glucose.

ンは Na や Cl 等に反応しない. しかし, 非特異的促進作用を存する glutamate には応じて放電頻度上昇が起こっている. また, AL 刺激にも応じている. これらのことは Cyp 感受性ニューロンは VMH の飽満機能に関与する principal なニューロンであると考えられる. Cyp で促進されるニューロンが 1 個見出されたが, これはグルコースや Cl にも応じているの

で、浸透圧にも応じた非特異ニューロンではないかと考えられる。

4. Thalamus ニューロンについて

LH および VMH ニューロンの場合と同様に、thalamus ニューロンについて Cyp を投与したところ -100 nA 以上通電しても12個中全部になんらの効果も観察されなかった。

図10に示すニューロンは、LH の中心から約 2 mm 背方の thalamus からの記録である。約 2 Hz の自発単位放電を示しているが、LH と VMH で著明な効果のえられたと同じ電極を用いて Cyp を -70 nA 作用させた。しかし無効果である(上段の記録)。つづいて NaCl 電

極に同一電気量の -70 nA を通電して Cl を作用させたり(中段の記録)、さらにまたグルコース電極から $+70$ nA および -70 nA (記録なし)でグルコースを作用させても放電頻度は無変化である(下段の記録)。

表1に総括しているように Cyp に無反応な thalamus ニューロンは、グルコース、Na および Cl にも無反応である。非特異的促進効果をもつ glutamate はここでも5例中3例に促進的に作用している。これらのことは、Na, Cl およびグルコースが VMH および LH 以外の中枢部位には作用しないということ(Oomura ら⁹⁾)とよく一致している。

B. 慢性実験

1. 摂食量と体重

生後35日で体重が 100 ± 3 g のラットについて、Cyp 含有シロップ1日 $0.5 \sim 1.5$ mg/kg (体重)を10日間投与すると、図11右に示すように摂食量は Cyp 投与の日から Cyp ラット群が対照群より有意の差で $2 \sim 9$ g 多く、飲水量も増加している。体重(左)も Cyp 群において投与開始後約1週間目から Cyp 群に著明な増加を示している。

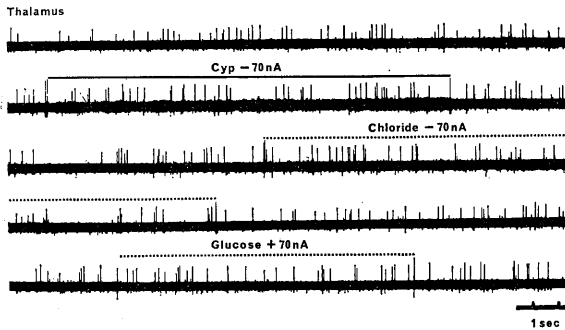


Fig. 10. No effect of Cyp, glucose and Cl on the thalamic neuron. Continuous recording from upper to lower. Cyp at -70 nA (continuous line), Cl at -70 nA (dotted line) and glucose at $+70$ nA (dotted line) are applied successively.

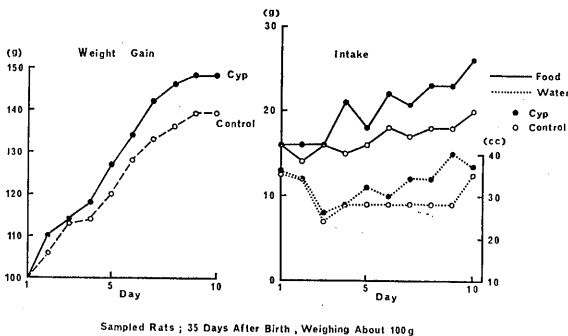


Fig. 11. Increases in food and water intake (right) and body weight (left) of a rat (100 g, age 35 days) by Cyp-syrup (mixed in water) (0.5 mg/kg body weight/day) (filled circles). Control rat (open circles).

Ⅲ. 考 察

臨床的に Cyp が食欲亢進を起し、結果的に体重および身長増加をもたらすことが認められて以来、その作用機序についての明白な説明がえられなかった。本実験でもラットに摂食および飲水の増加を起ししたがって体重増加を起させることができた。本研究で摂食調節に関与する視床下部の LH および VMH ニューロンに直接 Cyp を作用させ、その作用機序を明らかにすることができた。視床下部摂食調節に関し飽満中枢として作用する VMH と摂食中枢として作用する LH は、一方の活動が上昇すれば他方が抑制されるという相反的な関係にあることはよく知られている(Oomura ら

29)30)). また、摂食調節にかんする糖定常説 (Marshall ら¹⁰⁾, Mayer と Marshall¹¹⁾, すなわち、VMH ニューロンはグルコース受容ニューロンとして働いており、摂食による血中グルコース濃度上昇 (動静脈グルコース濃度差 (Δ -グルコース) の大) に応じて活動上昇をきたして LHニューロンの活動を抑制し摂食行動をおさえるのであろう。また、血中グルコース濃度の低下 (Δ -グルコースの減少) によって VMHニューロンの活動低下が起こり、LH 活動が上昇し餌をとるのであろうという。この説が提出されて以来それを支持する多くの発表がある。

Oomura ら⁹⁾はグルコースを直接単一ニューロンに作用させることにより、VMH と LH 両方にグルコース受容ニューロンの存在を証明した。すなわち、VMH にはニューロン周囲膜のグルコース濃度上昇の程度に応じて活動を段階的に上昇させるニューロンと、一方 LH には逆にグルコースによって活動低下をきたすニューロンがある。これらのことからグルコース受容ニューロンとこれが構成するニューロン回路網が LH と VMH にそれぞれあり、それら回路網の活動によって摂食と飽満の行動が発生すると考えられる。これらの観点から Cyp の作用を研究すべきであると考えられる。

Chakrabarty ら⁸⁾はネコで Cyp を静注して、VMH 脳波は変化ないが、LH 脳波上でその活動上昇の起こることを認めた。同時に Δ -グルコースの減少を認めた。すなわち、利用すべきグルコース濃度の低下のために LH ニューロンの活動上昇がきたのではないかと考えた。この実験から Cyp が血中グルコース濃度に二次的に作用していると考えられるが、Bergen³¹⁾によると Cyp は血中グルコース濃度に無関係であるという。

本実験において、LH の principal ニューロンと考えられるグルコース受容ニューロンに Cyp が直接作用して活動上昇をきたすこと、また一方 VMH の principal ニューロンと考えられるグルコース受容ニューロンには Cyp が直接作用してその活動を抑制することが判明し

た。これらのことは、Cyp の食欲および摂食亢進作用を十分に説明できるものである。

VMH ニューロンへ Cyp の作用する閾値濃度は 6.4×10^{-3} M/l である。同様の計算で VMH ニューロンへグルコースの作用する閾値濃度は 2×10^{-3} M/l であり (Oomura ら⁹⁾, 大村ら¹³⁾), アセチルコリンでは 4.3×10^{-4} M/l (大村ら¹³⁾) であった。グルコースの場合ラットの血糖値が平均 3.6×10^{-3} M/l であることから、大体グルコース濃度の血糖値程度の変化が LH あるいは VMH のニューロン周囲に起これば、特有の活動がはじまると考えられる。これに比し Cyp や ACh 等の薬物効果はそれと大体同一濃度で効果を發揮しているわけである。

AL および ST の刺激により、VMH ニューロンは活動促進が、LH ニューロンは抑制が起こるがそれぞれ促進性後シナップス電位 (Oomura ら²⁵⁾, 山本²⁶⁾) および抑制性後シナップス電位 (小野²²⁾, Oomura ら²³⁾) によることは明らかである。Cyp 感受性ニューロンも、AL の刺激により VMH では促進の、LH では抑制の作用をうけていることが判明した。このことはまた、Cyp 感受性ニューロンが VMH および LH でそれぞれ principal ニューロンとしての作用をもっていることを示すものであろう。

慢性実験において、Cyp が幼少ラットで摂食量増加と体重増加をきたすことは急性実験での結果にとって都合のよいことである。

ラットの両側性 VMH 破壊によっても周知のように、摂食量の増加と体重増加がくるが、これと Cyp 群の摂食量および体重増加との間にどのような差があるかを予備実験において検討してみた。9匹のラットで VMH を両側性に破壊した体重約 170 g 成熟ラットでは、対照よりも飲水および摂食量が著明に増加しているが飲水量の方がより著明であった。体重の増加も VMH 破壊において著明であった。この VMH ラットの摂食量および体重の増加はすでによく知られているように、VMH の摂食にたいする飽満機能の欠除によるものである。また VMH

ラットで刺激に対する反応行動をみると hyperactivity ではあるが (Grossman³²), 一般活動性を open field test でみると hypoactivity である。しかし Cyp ラットの行動はつぎで述べるように hyperactivity として考えなければならないものであり VMH 破壊動物とは異なっている。

摂食量増加をきたす投与量の Cyp を与え open field test で情動性を測定してみると hyperactivity の状態であるが、情動の安定性あるいは抗不安作用 anxiolytic effect を示している。行動面ですなわち情動上の安定性を示すのに hyperactivity であることは LH の機能亢進を示す一指標であると考えられる。われわれのネコでの単位放電記録の慢性実験における結果から、LH ニューロン活動は、睡眠、覚醒等の意識の水準のレベルと正比例の関係にある (Oomura³⁰) ことが判明している。このことから Cyp により LH ニューロンの活動上昇がくれば意識の水準も高く、したがって hyperactivity も起こるのではなからうか。

IV. 要 約

臨床的に食欲亢進をきたすと考えられている塩酸サイプロヘプタジンの作用機序を急性および慢性実験でしらべた。

急性実験では、軽エーテル麻酔下でラット視床下部外側野 (摂食中枢, LH), 腹内側核 (飽満中枢, VMH) および視床 (Th) のニューロンについて、塩酸サイプロヘプタジン (Cyp), グルコース, NaCl および glutamate の効果をしらべた。多連微小電極の1本から単一ニューロンの放電活動を記録しながらこれに電気泳動的あるいは電気浸透圧的に他の電極から薬物を微小投与した。またそれら薬物に感受性を有するニューロンに対する扁桃核基底核の外側部(AL) および分界条 (ST) 刺激の影響も観察した。

1. ¹⁴C-Cyp の電気浸透圧的放出は、内向き電流が有効で、与えた電気量と Cyp 放出量は直線的で大体 $3.5 \times 10^{-12} \text{ M/l/}10^{-6} \text{ coul}$ であった。

2. VMH ニューロンは約60%が Cyp で抑制された。これらの大部分は逆にグルコースで活動が促進された。またニューロンに対する最小有効濃度は $6.4 \times 10^{-3} \text{ M/l}$ であった。

3. LH ニューロンは約70%が Cyp によって活動が促進された。これらの半分のニューロンはグルコースで抑制された。

4. これら Cyp 感受性ニューロンは Na あるいは Cl の投与によって反応を示さないで、浸透圧上昇とか電流的作用ではなく、ニューロン膜にたいする Cyp の特異的作用である。

5. Cyp 感受性ニューロンは、AL および ST の刺激によって、VMH では促進を、LH では抑制された。

6. Th ニューロンは、Cyp およびグルコースに反応しなかった。

7. 以上のことから、飽満に関与し AL から促進的な入力で助けられている VMH のグルコース感受性ニューロンと、摂食に関与し AL から抑制的な入力をうける LH のグルコース感受性ニューロンは、特異的に Cyp 感受性をもつこと、そして Cyp は VMH では抑制的、LH では促進的に作用することが証明された。

8. 慢性実験で、生後35日体重約 100 g のラットに Cyp 0.5~1.5 mg/kg/day を飲料水とともに経口投与して摂食量および体重に著明な増加をきたした。

9. 慢性実験からも Cyp は LH ニューロンに作用して食欲亢進状態を示したと結論できる。

10. 本研究の一部は文部省科学研究費による。

文 献

- 1) Lavenstein, A. F., Dacanay, E. P., Lasagna, L. & van Metre, T. E. (1962) Effect of cyproheptadine on asthmatic children. *J. Am. Med. Ass.* **180**, 912-916
- 2) Naranjo, P. (1962) Antiserotonin-antihistamine agents in allergic diseases—clinical evaluation of cyproheptadine. *Allergie und Asthma* **8**, 248-254
- 3) Drash, A., Elliott, J., Langs, H., Lavenstein, A.

- F. & Cooke, R. E. (1966) The effect of cyproheptadine on carbohydrate metabolism. *Clin. Pharm. Therap.* **7**, 340-346
- 4) Idelshon, F. (1967) Experience with cyproheptadine hydrochloride as a nonhormonal anabolic. Its effect on the body weight of pediatric patients. *Orient. Med.* **785**, 824-826
 - 5) Kofman, I., Katz, R., Masanti, J. G., Mora, A. & Muchnik, J. (1968) Cyproheptadine hydrochloride: 1st part-effect on weight and height increase in children. *Orient. Med.* **202**, 272-276
 - 6) Puentes, J., Ojeda, O. A. & de Moreno, H. M. T. (1968) Our experience with cyproheptadine as an appetite stimulant. *Orient. Med.* **815**, 671-675
 - 7) Pototschnig, C. & Serafini, L. (1968) Clinical observation on the antianorectic activity of cyproheptadine. *Minerva Pediat.* **82**, 1008-1012
 - 8) Chakrabarty, A. S., Pillai, R. V., Anand, B. K. & Singh, B. (1967) Effect of cyproheptadine on the electrical activity of the hypothalamic feeding centres. *Brain Res.* **6**, 561-569
 - 9) Oomura, Y., Ono, T., Ooyama, H. & Wayner, M. J. (1969) Glucose and osmosensitive neurones of the rat hypothalamus. *Nature* **222**, 282-284
 - 10) Marshall, N. B., Barnett, R. J. & Mayer, J. (1955) Hypothalamic lesions in gold thioglucose injected mice. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **90**, 240
 - 11) Mayer, J. & Marshall, N. B. (1956) Specificity of gold thioglucose for ventromedial hypothalamic lesions and hyperphagia. *Nature* **178**, 1399
 - 12) Tasaki, K., Tsukahara, Y., Ito, S., Wayner, M. J. & Yu, W. Y. (1968) A simple, direct and rapid method for filling microelectrodes. *Physiol. Behav.* **3**, 1009-1010
 - 13) 大村 裕, 大山 浩, 小野武年, 神本正憲, 米田邦雄 (1969) 中枢ニューロンの薬理学的性質研究法. *医学のあゆみ* **70**, 314-322
 - 14) Tasaki, I., Polley, E. H. & Orrego, F. (1953) Action potentials from individual elements in cat geniculate and striate cortex. *J. Neurophysiol.* **17**, 454-474
 - 15) König, J. F. R. & Klippel, R. A. (1963) The rat brain. A stereotaxic atlas of the forebrain and lower parts of the brain stem. Williams and Wilkins, Baltimore.
 - 16) Fein, H. (1966) Passing current through recording glass micropipette electrodes. *IEE Transactions on Bio-Medical Engineering.* **BME-13**, 211-212
 - 17) 大山 浩, 大村 裕, 米田邦雄 (1970) 実験標本接地型定電流刺激装置. *日本生理誌* **32**, 40
 - 18) Curtis, D. R. & Koizumi, K. (1961) Chemical transmitter substances in brain stem of cat. *J. Neurophysiol.* **24**, 80-90
 - 19) Oomura, Y., Ooyama, H., Yamamoto, T., Ono, T. & Kobayashi, N. (1969) Behavior of hypothalamic unit activity during electrophoretic application of drugs. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **157**, 642-665
 - 20) Hall, C. S. (1934) Emotional behavior in the rat: I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. *J. Comp. Physiol. Psychol.* **18**, 385-403
 - 21) Yamamoto, T. & Oomura, Y. (1970) 未発表
 - 22) 小野武年 (1969) 摂食中枢の抑制機構について. *十全医会誌* **77**, 447-458
 - 23) Oomura, Y., Ono, T. & Ooyama, H. (1970) Inhibitory mechanism of the amygdala on the lateral hypothalamic area in rats. *Nature* **228**, 1108-1110
 - 24) Curtis, D. R., Perrin, D. D. & Watkins, J. C. (1960) The excitation of spinal neurones by the iontophoretic application of agents which chelate calcium. *J. Neurochem.* **6**, 1-20
 - 25) Oomura, Y., Ooyama, H., Yamamoto, T., Naka, F., Kobayashi, N. & Ono, T. (1967) Neuronal mechanism of feeding. In *Structure and Function of the Limbic System*, Progr. Brain Res. vol. **27**, 1-33, Adey, W. R. and Tokizane, T. edited, Elsevier, Amsterdam.
 - 26) 山本鉄郎 (1967) ラット扁桃核と視床下部腹内側核ならびに外側野の関係について. *十全医会誌* **75**, 1-13
 - 27) Dreifuss, J. J., Murphy, J. T. & Gloor, P. (1968) Contrasting effects of two identified amygdaloid efferent pathways on single hypothalamic neurones. *J. Neurophysiol.* **31**, 237-248
 - 28) Murphy, J. T. & Renaud, L. P. (1969) Mechanisms of inhibition in the ventromedial nucleus of the hypothalamus. *J. Neurophysiol.* **32**, 85-102
 - 29) Oomura, Y., Ooyama, H., Yamamoto, T. & Naka, F. (1967) Reciprocal relationship of the lateral and ventromedial hypothalamus in the regulation of food intake. *Physiol. Behav.* **2**, 97-115
 - 30) Oomura, Y., Ooyama, H., Naka, F., Yamamoto, T., Ono, T. & Kobayashi, N. (1969) Some stochastic patterns of single unit discharges in the cat hypothalamus under chronic conditions. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **157**, 666-689
 - 31) Bergen, S. S. Jr. (1964) Appetite stimulating properties of cyproheptadine. *Am. J. Dis. Child.* **108**, 270-273
 - 32) Grossman, S. P. (1966) The VMH: A center for affective reactions, satiety or both? *Physiol. Behav.* **1**, 1-10

A simple and accurate apparatus for measuring the volume of large gas sample

Keizo SHIRAKI, Masaharu OHNAKA, and Isaburo SHIRAI*

Department of Nutrition, School of Medicine, Tokushima University, Tokushima, Japan

The volume of gas collected in a Douglas bag is usually measured by expelling the gas through a gasmeter at a constant flow rate, by applying a steady pressure by hand. When the bag is nearly empty, it is layed on the ground and rolled up tightly from the bottom to expell the gas completely (1). The danger in this procedure is that the gas may not be expelled completely and that if not, the amount remaining is not the same in each test. Thus, suppose that 0.5 liter of gas is left in the bag, as is frequently the case with an unskillful technician, the V_{O_2} or V_{CO_2} will differ by 0.5

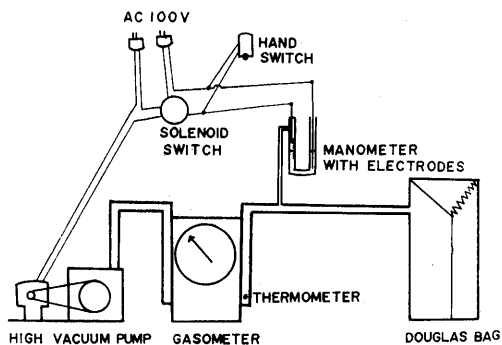


Fig. 1. Apparatus for measuring gas volume from a Douglas bag.

to 1.0% from the true value, depending on whether the sample was taken during exercise (50~100 l/min) or rest (60~100 l/10 min). Moreover this method is troublesome and time consuming to do by hand. Thus even though a series of gas samples can be collected in a relatively short period, for measuring the changes of energy cost during exercise, measurement of gas volume in the Douglas bag may be delayed and

even be inaccurate because of this volumetric estimation.

Accordingly we developed a more rapid and accurate method, using a simple and automatic apparatus to measure the volume of gas in a Douglas bag. Diagrams of the apparatus, consisting of a gasmeter (wet type, Shinagawa Seisakusho Co., Tokyo, Japan), a high vacuum pump (for pumping ca. 20 liters of gas per min.), and a water manometer are shown in Fig. 1 and 2. Two copper electrodes are inserted into the

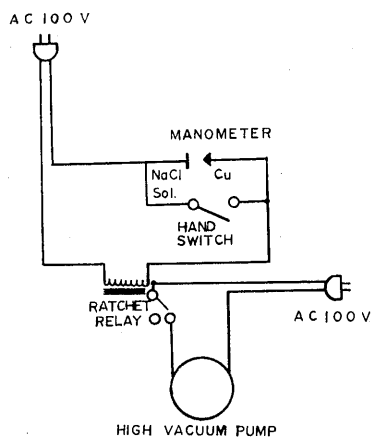


Fig. 2. Schematic diagram.

manometer which contains 1 M NaCl solution as an electric conductor. Mercury may be used in place of NaCl solution but the latter is a sufficiently good conductor for the purpose and is more sensitive to changes in gas pressure. A solenoid switch (Ratchet relay, Type MR 2, Tateishi Electronic Co., Kyoto, Japan) is placed between the power supply (A. C. 100 volts) and the vacuum pump, and this automatically switches off the vacuum pump when the gas has been evacuated from the Douglas bag. The NaCl solution in the manometer is

* 白木啓三, 大中政治, 白井伊三郎: 徳島大学
医学部栄養学教室

[Received for publication June 20, 1970]

Table 1. Comparison of the results of the two methods

	No. of experiment	Difference from true value (liters) mean \pm S. D.	Negative pressure at the end of measurement (mm H ₂ O) mean \pm S. D.
This apparatus	12	-0.08 \pm 0.16	83.2 \pm 1.9
Manual technique	12	-0.11 \pm 0.19	111.8 \pm 13.6

adjusted so that it touches the electrode at a pressure of -80 mm H₂O. When this copper-NaCl circuit in the manometer is connected to a system by a negative pressure produced by the vacuum pump at the end of measurement, the relay acts to keep the vacuum pump turned off until the next bag has been connected to the apparatus. The hand switch is used to start the next measurement. A well trained technician could roll the bag up to give a pressure of -80 to -100 mm H₂O. Using this apparatus the negative pressure in the bag and the amount of gas remaining in the bag, if any, are constant. This means that a series of bags are subjected to constant conditions during the estimation, and that after the measurements the bag is ready to be used for collecting the next gas sample. Moreover the pressure and flow rate through the gas meter are constant so that the volumetric measurement is very accurate, since the gas meter can be calibrated under the

same conditions.

In order to make the calibration of the volumetric accuracy of this apparatus, certain volumes of gas (50 to 52 liters) were transferred from a calibrated respirometer to the Douglas bag, and then volumes of the gas in the bag were measured through the apparatus. All measurements were made in the strictly temperature controlled room (24°C). The comparison of the results obtained both by this apparatus and by the ordinary manual method is shown in Table 1, which demonstrates that the error of measurement and the variation of the negative at the end of measurement by this apparatus are considerably less than those by the manual method.

Reference

- 1) Consolazio, C. F., Johnson, R. E. & Pecora, L. J. (1963) *Physiological Measurements of Metabolic Function in Man*. New York, McGraw-Hill Book Co., 16-21

key words—Douglas bag, gas volume, volumetric estimation, constant pressure, constant flow rate.

Group Ia acceleration following stimulation of the ventral roots during gallamine administration

Saburo HOMMA* and Yasuhiko TAMAI**

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

** *Department of Physiology, Wakayama Medical College, Wakayama*

Many authors have investigated afferent discharges from the primary ending accelerated during stimulation of γ efferent fibers. Leksell (1945) reported selective stimulation of the γ efferent fibers by blocking most of the large motor nerves by mechanical pressure or by polarizing of constant current for the nerve trunk and suggested efferent innervation of the intrafusal fibers in the muscle spindle. Hunt and Kuffler (1951) stimulated functionally single γ efferent fiber isolated at the distal cut end of the ventral root and succeeded in increasing discharge rate of the relevant dorsal root afferents. Henatsch and Schulte (1958) reported that Flaxedil (Gallamine) and some other endplate blocking agents caused full paralysis of extrafusal motor endplates even during some presence of intrafusal neuromuscular innervation in the frog. Granit, Homma and Matthews (1959) referred briefly to the same phenomenon in cats. Takano (1964) also investigated some intrafusal muscle activities during and after Flaxedil administration.

The dorsal rootlets of L7 were separated until functionally isolated single filaments originating from the primary ending of gastrocnemius were obtained. Distal cut ends of the L7-S1 ventral roots were stimulated by ten times muscle contraction threshold. Each upper trace of Fig. 1 shows Ia discharges from gastrocnemius primary endings and each lower one isometric contraction curve of the gastrocnemius. Before Flaxedil injection, as seen in the uppermost records, pause and eventual acceleration of

Ia discharges were obtained during tetanic contraction elicited by ventral root stimulation. After Flaxedil, the muscle tension decreased rapidly and became zero at 1.5 minute and afferent discharges showed still a short pause caused by weak extrafusal muscle contraction. But the pause completely disappeared at 2 minute and only slight increase of afferent discharges was observed during ventral roots stimulation. The discharge pattern changed thereafter as the further blocking action of Flaxedil developed. The higher frequency discharge which appeared at the early phase of the stimulation disappeared at 6 minute. However, the lower frequency discharge which showed sustained activity decreased progressively until complete disappearance at 11 minute. After that time, any effects of the ventral roots stimulation could not be observed. Recovery can be seen by the short pause between spontaneous Ia discharges at 18 minute and, afterwards, by the slight contraction with considerably long pause at 42 minute. At 105 minute, the contraction almost recovered but there was still no effects of the ventral roots stimulation on the Ia discharge acceleration.

It has been suggested that the Ia discharge reflects contractile properties of two different kinds of intrafusal muscle fibers (nuclear bag fiber and nuclear chain fiber) because of the anatomical difference in the neural innervation. Boyd (1962) suggested that nuclear bag fibers would be of the fast property, while the nuclear chain fibers being of slow one. Takano (1964) also reported that the blocking effect of Flaxedil occurred earlier on tibialis anterior (fast muscle) than soleus (slow muscle). From these observations, it is assumed that the

* 本間三郎：千葉大学医学部生理学教室

**玉井靖彦：和歌山県立医科大学生理学教室

[Received for publication July 14, 1970]

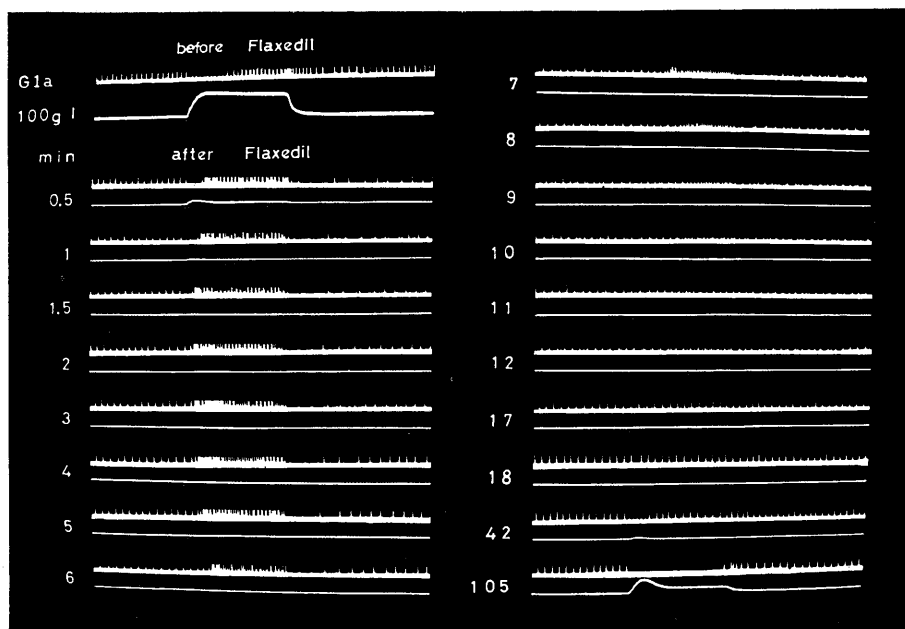


Fig. 1. Upper trace: Ia discharges before and after Flaxedil injection (4 mg/kg); Lower trace: isometric contraction curves of gastrocnemius extended 4 mm from the initial length of 10 gwt resting tension. Dotted line (0.5 sec): duration of the ventral roots stimulation (50 Hz rectangular pulses).

two kinds of the intrafusal muscle fibers are influenced differently by Flaxedil injection as in the case of the extrafusal muscle. On the other hand, Crowe and Matthews (1964) indicated that most of their results would be explained if contraction in the nuclear bag fibers were slower in comparison to that of the nuclear chain fibers. Anyhow, Jansen and Matthews (1961) reported roughly two different types of efferent fibers which produced two components, dynamic and static. Later, Barker (1966) and Boyd et al. (1966) suggested that these intrafusal fibers, the nuclear bag and the nuclear chain fibers, had different kinds of endplates and networks respectively. These observations described above can be also explained by the different effects of Flaxedil of the two kinds of endings of the intrafusal muscle fiber. The higher frequency discharge which appeared at early phase of ventral root stimulation and vanished

early as seen in Fig. 1, is initiated by the contraction of nuclear bag fiber and the lower frequency discharge which appeared at later phase sustained for the longer period and vanished later, is initiated by the contraction of nuclear chain fiber.

References

- 1) Barker, D. (1966) Nobel Symposium 1, Muscular Afferent and Motor Control, 51-58
- 2) Boyd, I. A. (1962) Phil. Trans., B, **245**, 81-136
- 3) Crowe, A. & Matthews, P. B. C. (1964) J. Physiol., **174**, 132-151
- 4) Granit, R., Homma, S. & Matthews, P. B. C. (1959) Acta physiol. scand., **46**, 185-193
- 5) Henatsch, H. D. & Schulte, F. J. (1958) Arch. Exp. Path. Pharmac., **234**, 247-263
- 6) Hunt, C. C. & Kuffler, S. W. (1951) J. Physiol., **113**, 283-297
- 7) Jansen, J. K. & Matthews, P. B. C. (1961) J. Physiol., **159**, 20-22
- 8) Leksell, L. (1945) Acta physiol. scand., **10**, Suppl. **31**, 1-84
- 9) Takano, K. (1964) J. Chiba Med. Soc., **40**, 330-337

key words—group Ia, gamma efferent, gallamine, nuclear bag fiber, nuclear chain fiber,

An analysis of the effects of muscle afferents on the contralateral temporal and masseteric motoneuron

Taizo HAMADA, Mitsuru TAKATA and Yojiro KAWAMURA*

Department of Oral Physiology, Dental School, Osaka University, Osaka, Japan

Masticatory muscles do function bilaterally, more or less, during chewing. More delicate functional interrelations in right and left muscles may exist in mandibular muscles than in the limb muscles. Regarding relationships between right and left masticatory muscles, Kawamura et al. (1960)¹⁾ reported that discharges of the right trigeminal motor nucleus induced by stretch of the right masseter were inhibited by stretch of the left masseter, and vice versa. Dale Smith et al. (1967)²⁾ reported a bilateral projection of a mandibular muscle afferents into the trigeminal mesencephalic nuclei. However, detailed neurophysiologic mechanisms which control and co-ordinate activities of the right and left mandibular muscles are almost unknown. The present report deals mostly with the effects of muscle afferents on the contralateral temporal and masseteric motoneuron.

Decerebrated and decerebellated cats immobilized by flaxedil were used. A test stimulus was applied to the left trigeminal mesencephalic nucleus, and the antidromic-evoked potential conducting along muscle afferents and the orthodromic-evoked potential via the trigeminal motoneurons were recorded from the ipsilateral temporal or masseteric nerve³⁾⁴⁾.

When the low-voltage conditioning stimulus (6 V, 0.1 ms) was applied to the contralateral temporal nerve prior to the test stimulus, the amplitude of orthodromic-evoked potential of the temporal nerve induced by the test stimulus to mesencephalic trigeminal nucleus was altered depending on the interval between conditioning and test

stimuli. In the masseteric nerve, the same experimental steps as mentioned in the temporal nerve were employed. The magnitude of the monosynaptic response was decreased when the interval of stimuli was within 50 ms, as shown in Fig. 1 (A 1, A 2), and the maximal depression (A 1) of the temporal monosynaptic reflex appeared when it was within the range of 10~20 ms. In the case of masseteric nerve stimulation, the maximal depression (A 2) of the masseteric monosynaptic reflex was obtained between 20~30 ms.

After intravenous injection of strychnine (0.1mg/kg), the above mentioned depression (A 1, A 2) of the monosynaptic response disappeared, but showed a biphasic change of facilitation (B 1, B 2) followed by depression (C 1, C 2). In the strychnized cat, the maximal facilitation (B 1) was obtained when interval between conditioning and test stimuli was within the range of 20~30 ms, and the depression (C 1) followed lasting for 200 ms or more in the temporal nerve. On the other hand, the peak of facilitation (B 2) was obtained in the masseteric nerve, when the interval of stimuli was in the range of 30~40 ms. In both temporal and masseteric nerves, it was noted that the time to the maximal depression (A 1, A 2) was 10 ms earlier than that of the facilitation (B 1, B 2). Moreover, the effect of stimulus to the contralateral temporal afferents on the temporal motoneuron was more powerful than the effect of stimulus to the contralateral masseteric afferents on the masseteric motoneuron.

Kidokoro et al. (1968)⁵⁾ and Kawamura et al. (1969)⁶⁾ reported that the masseteric motoneuron was inhibited by electrical stimulation of the lingual nerve, and they also mentioned that there are two different

* 浜田泰三, 高田 充, 河村洋二郎: 大阪大学
歯学部口腔生理学教室

[Received for publication September 19, 1970]

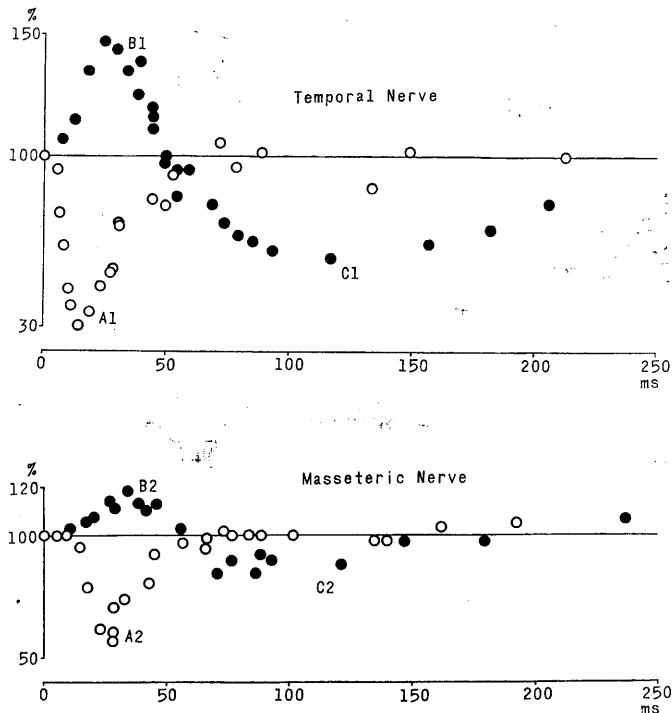


Fig. 1. Effects of stimulation of contralateral temporal nerve on the temporal monosynaptic reflex (upper) and effects of stimulation of contralateral masseteric nerve on the masseteric monosynaptic reflex (lower) before (○) and after (●) administration of strychnine (0.1 mg/kg i. v.). abscissa; interval between conditioning and test stimuli, ordinate; percentage facilitation or depression of the monosynaptic reflex.

phases of inhibition, that is the early and late stages. The same effects were obtained on the reflex activity of the temporal or masseteric motoneuron when either ipsilateral or contralateral lingual nerve was stimulated. In both cases, inhibitions of the early and late stages appeared. We assume that the late inhibition corresponds to the late depression after strychnine injection as mentioned above (C 1, C 2). The depression after strychnine (C 1, C 2) may be due to the release from the inhibition to the inhibitory reflex pathway.

key words—jaw muscles, trigeminal motoneuron, contralateral facilitation and depression.

References

- 1) Kawamura, Y., Funakoshi, M. & Takata, M. (1960) *Jap. J. Physiol.* **10**, 585-593
- 2) R. Dale Smith, Heront Q. Marcarian & William T. Niemer (1967) *J. Comp. Neurol.* **131**, 79-92
- 3) Hugelin, A. & Bonvallet, M. (1956) *C. R. Soc. Biol.* **150**, 2067-2071
- 4) Hamada, T. (1970) *Jap. J. Oral Biol.* **12**, 289-290 (in Japanese)
- 5) Kidokoro, Y., Kubota, K., Shuto, S. & Sumino, R. (1968) *J. Neurophysiol.* **31**, 695-708
- 6) Kawamura, Y., Takata, M. & Miyoshi, K. (1969) *J. Osaka Univ. Dent. Sch.* **9**, 139-147

第187回生理学東京談話会

日時 昭和45年3月27日(金) PM.1:30~5:00
 場所 東邦大学医学部第一臨床講堂
 幹事 朝比奈一男, 平野修助

1. 局所収縮の伝播よりみた興奮収縮連関過程

杉 晴夫 (東大, 医, 生理)

実験液中に垂直につるしたザリガニ単一筋線維を transverse D. C. field によって刺激すると, 刺激時間が短い筋線維は cathodal side を内側にして弓型にそり返るが, 刺激時間の延長とともに筋線維各部が一様に短縮するようになる。これはまず cathodal side におこった収縮が時間と共に anodal side へ伝播するためと考えられる。この考えは等尺性条件下で筋線維を D. C. field の極性をかえて連続刺激したさいの張力の加重からも支持される。

収縮の transverse 方向への伝播をさらに詳しく調べるため, 筋線維表面にあてがったガラス細管に通流して形質膜を局部的に脱分極させる local activation 法 (Huxley & Taylor, 1958) により局所収縮の伝播を顕微鏡下に観察した。中程度の脱分極による収縮はよく知られているように段階的であるが, 適当な反復刺激により著しい加重を示し, 時間と共に横紋にそって内部へ伝播してゆく。脱分極値をさらに増してゆくと全く別種の局所収縮がおこるようになる。この収縮はまず刺激部位におこるが内部へは伝播せず筋線維表層を横紋にそって輪状に伝播する。伝播速度は室温で 1~数 cm/sec であることが測定された。この結果は筋線維内の transverse tubule に何等かの伝播性的変化がおこることを示唆する。カエルの筋線維について同様な実験をくり返したところ定性的に同じ結果がえられた。

カエル筋線維を linearly rising current で刺激し電流勾配と収縮閾値の関係をみると, 正常 Ringer 液中で閾値は電流勾配の広い範囲にわたり一定であるが, 低 Ca 液中では著しい accommodation を示す。この低 Ca 液の効果は少量の caffeine により抑制されるので, ここでみられる accommodation は形質膜の脱分極と小胞体からの Ca 放出の中間過程におこる現象と考えられる。

2. 骨格筋の Active State

真島英信 (順天堂大, 医, 第二生理)

筋の力学モデルとして最も単純なものは収縮要素, 直列弾性要素, 並列弾性要素の三要素からなるものであるが, 滑走説を考慮して収縮要素を考えると, 少なくとも滑走力 $F(t)$ と滑走速度 v に対する粘性抵抗力 $B(v)$ とが必要である。この $F(t)$ が実は active state と呼ばれていたものである。いま等尺性張力の経過を $P(t)$ とすると

$$P(t) = F(t) - B(v)$$

が成り立つ。 $v=0$ のとき $B(v)=0$ であり, このとき $P=F$ と考えてよい。Ritchie (1954) はこの理を用いて張力曲線の頂の $v=0$ の点を求めることにより active state の経過を求めた。Ritchie の方法で種々の強縮刺激に対する active state を求めてみると, 単一刺激と 2 刺激以上とではその持続時間に大きな差があり, 単一刺激では active state は最大値に達していないと考えられる。

さらに刺激直後の $F(t)$ を求めるためには $B(v)$ を求めなければならない。これは $P=f(v)$ (負荷・速度関係) から v に対応する力 $f(v)$ を求めることができ, $P_0=f(v)$ としてえられる。ここに P_0 は最大張力である。ところで滑走速度 v は直列弾性要素 (SEC) の伸張される速度にほかならないから, SEC の伸びを $x(t)$ とすれば $v=dx/dt$ である。そして $x(t)$ は $P-x$ 関係 (SEC の負荷・伸展関係) が与えられていれば, 観察された張力 $P(t)$ から直ちに求めることができる。

そこで SEC の $P-x$ 関係を種々の方法で求めると, 最大張力に対する伸びが筋長の約 3% であり, ほぼ直線に近い関係となることがわかった。この関係を用いて active state の全経過を描くことができた。また Ebashi & Endo (1968) のえた筋内 pCa と張力との関係を用いて, active state に対応する筋内 pCa の変化を推定できた。

3. 'Glycerol effect' and 'after-glycerol effect' (T-disruption) in muscle cell

藤野和宏, 太田 勲 (札幌医大, 第一生理)

カエル骨格筋においてわれわれが見出した

'glycerol effect' は2種の現象から成り立つ (Nature: 192, 1159 (1961)). 一つは狭義の 'glycerol effect' であり, それは約 400 mM の glycerol を加えた Ringer (すなわち1種の hypertonic な液) にカエル sartorius を浸すと, twitch 能が一旦著しく減少する(ここまではよく知られて居る)が, 時間が経つと, action potential や重量の認めるべきあるいは有意義な変化を伴わずに回復する, というものである. もう一つは, 本標題にある 'after-glycerol effect' であり, これは, 'glycerol effect' (狭義) の状態にある筋を normal Ringer 中にうつすと, 始め twitch 能が証明されるがやがて完全に消失してしう, というものである. この状態にある筋は caffeine-contracture をおこすが, K-contracture をおこさない.

以上の現象の導入の発端は, glycerol 処理筋の中には, ATP の存在する条件下に小さいながらも確かに, しかも可成り低い電流 (leak 電流程度) の電気刺激に応ずるものがあるという事実であった. この事は電気現象を化学現象に変換する系(すなわち synapse ともいうべき系を筋細胞が持ち, この系の性質は glycerol の影響について形質膜と若干異なる, ということを示すように思われた. さらに, その導入の発端の第2は biochemical あるいは biophysical な知見が glycerol あるいは non-electrolyte と膜 (T-system, SR を含む) との関係を観察することの必然性を示唆して居た事に基づく.

Urea が 'glycerol effect' (狭義) ようの効果をもつ事はすでに知られて居るが, われわれは urea がさらに 'after-glycerol effect' と同じ様相の効果を持つ事をカエル骨格筋で新たに見出した. つまり, 'glycerol effect' (広義, すなわち T-disruption (下述) を含む) は non-electrolyte のある性格のものに共通な現象であるという事になる.

最近, Eisenberg らは 'after-glycerol effect' の状態にあるカエル骨格筋を詳細に検討し, この状態において T-system が破壊している (T-disrupted muscle) ことを証明した (Science: 158, 1700 (1969)). Urea による場合についてのこれまでえられた電顕像 (fiber 周辺部以外が主として含まれた) は T-disruption を示して居ないが, さらに周辺部の検討, 電気生理学的観察が必要と考える.

'Glycerol effect' (広義) はカエル骨格筋以外に甲殻類骨格筋であられ, カエル心筋 (狭義のみ) カエル平滑筋 (胃) ではあられない. すなわち, この effect の発現は T-system と関係がある. 尚, Hodgkin 教授の質問に対して, T-disruption の機転についての一試案, すなわち 'penetrate した non-electrolyte の transient な急激な滲透圧効果による変形破壊' を述べた.

4. Ca^{++} イオンによる筋小胞体からの Ca 遊離 遠藤 実 (東大, 医, 薬理)

Adrian, Chandler & Hodgkin (1969) は脱分極による収縮系活性化物質 (Ca) 遊離の機構には regenerative な性質があることを示した. われわれも名取の線維を用いた実験で, 小胞体からの Ca 遊離機構には regenerative な性質があり, その一つの原因として Ca^{++} イオンがさらに小胞体からの Ca 遊離を起こすことを見出した.

カエル骨格筋単一筋線維から 4 mM Mg ATP, 4 mM GEDTA を含む K-Ringer 液中でその筋鞘の一部を除き名取の線維をうる. 収縮は 4°C で等尺性に行なわせ, 東芝 5734 A で張力を記録した. 小胞体からの Ca 遊離はその結果起こる収縮反応から間接的に推定した. Ca 遊離を起こさせた後線維を適当な濃度の Ca^{++} を含む液で処理して再び小胞体に Ca をとりこませ, 次の Ca 遊離実験を行なうことができる.

名取の線維に 50 μM GEDTA 存在下で 0.2 mM カフェインを作用させると, Ca 遊離による収縮が一過性に起こり, 数分~約20分の間隔でそれが自発的に反復する. このときの張力の大きさは線維の大部分が同時に収縮状態に入ることを示している. このことから同期した Ca 遊離が起こる何らかの機構の存在を考えた.

Ca を十分小胞体にとりこませた名取の線維にカフェイン 2 mM 存在下に Ca^{++} を 10^{-8}M から 10^{-6}M (2 mM GEDTA Ca^{++} 緩衝液使用) に上げると Ca 遊離による一過性収縮が起こる. この処理のあと小胞体に残った Ca 量を高濃度のカフェインで遊離させて調べると, 10^{-6}M 処理のあとの方が残った Ca 量が少く, 確かにこの処理で Ca 遊離が起こったことが確認できる. カフェイン 5 mM 存在下では 10^{-7}M の Ca^{++} (4~8 mM GEDTA 緩衝液) で Ca 遊離が起こる. こ

の Ca の効果は薬物の存在しないときにも見ることができ、遊離 Mg^{++} イオンは Ca 遊離を抑制し、同じ Ca 遊離を起こすのにより高濃度の Ca

が必要となる。以上の Ca に作用によって、Ca 遊離機構の regenerative な性質を説明することができる。

第 188 回 生理学東京談話会

日 時 昭和45年6月6日(土)
場 所 群馬大学医学部四階講義室
幹 事 松本政雄, 高木貞敬

1. ラット膵臓 Tyrode 液灌流標本による secretin, pancreozymin および acetylcholine の amylase 分泌作用の検定

菅野富夫, 斎藤篤志, 斎藤俊之, 尾崎 毅 (北大, 獣医, 生理)

第47回日本生理学会総会において、われわれ(菅野, 斎藤篤志)はラット膵臓灌流標本(37°C 保温)を用いて膵臓外分泌腺細胞の細胞内電位を記録した結果を報告した。Pancreozymin (Pz), secretin (Sc) および ACh はいずれも過分極効果をあらわし、さらに微分干渉顕微鏡像と電顕像によって Pz のみが明瞭な分泌作用をもつであろうと推定した。

今回は電位記録と同条件で流出液中の amylase (Am) を定量して電位変化と分泌との関連を調べた。ラット膵管からの膵液の流出は極めて少量(0.5 ml/hr 程度)なので、膵臓と十二指腸とを切り離した部分の細血管からの流出液と膵液との混合流出液を採取し、その中の Am 量を Smith & Roe 法によって定量した。動脈側からの灌流圧 120 mmHg で 5% Dextran B 加 Tyrode 液灌流時の混合流出液量は 3 ml/10 min で標本や灌流時間による変動は約20%以内にとどまった。Am 量は常に 0.5~3 U/min の範囲で不規則な変動を示すが、Pz (Boots) 5 U/ml 注入後には対照値 3.63 ± 0.4 U/min (9 個の標本平均 \pm S. E.) が 11.41 ± 1.1 U/min に増大した ($P < 0.001$)。Pz の Am 分泌効果は 0.5~1.0 U/ml の濃度でも認められた。Sc (Boots) も Am 分泌作用を有するがこれはその中に混在する Pz (約 1/4 量) の作用によるもので Sc そのものは Am 分泌作用をもたないことは精製 Sc (Eisai) では 0.5~5 U/ml の投与後全く Am 分泌効果をあらわさなかったことから推論された。ACh 10^{-5} M + eserine 10^{-4} M も分泌効果

をあらわさなかった。このように外分泌腺細胞の過分極効果と Am 分泌効果とは平行しないという結論をえた。

ラット膵臓灌流標本は Pz の Am 分泌作用定量にも安定で感度の高い標本である。

2. 視床下部ニューロンのエストロゲン反応性における特異性について

八木欽治 (横浜市大, 医, 第一生理)

ネズミの視床下部の内側視索前核の部分 (POM と POSC), 前視床下部核 (NAH), 弓状核 (ARC) にエストロゲン静注により自発放電頻度を変化させるニューロンが存在する (八木 1968, 1969)。これらの反応の特異性に関する二つの問題点について報告する。

観察された反応が比較的少数のエストロゲンに対する特異的ニューロンの反応なのかどうかを確めるために、上記諸核の2個のユニットについて自発放電を同時に記録しつつエストロゲンを静注した。22組のユニットのうち17組のユニットは互いに異なる反応を示した。すなわち POSC, POM でそれぞれ5および7ユニット, NAH, ARC でそれぞれ11ユニットについてこのような結果がえられた。POSC (1組), POM (2組), ARC (1組) については同一核内の2ユニットで互いに異なる反応がみられた。残りの5組は2ユニットとも同方向の反応を示した。

すでに報告した反応がエストロゲンに対する特異的な反応であるかどうかを確めるために、まず糖質コルチコイド (cortison acetate, 万有製薬), ひき続いて estradiol-17 β をいずれも 5 μ g 静注したときの同一ユニットの自発放電頻度を調べた。調べたユニット数 (分母) および糖質コルチコイドに反応しないがエストロゲンに対して反応

したユニット数 (分子) はそれぞれ POSC で 4/5, NAH で 1/4, ARC で 1/3 であった. 糖質コルチコイドに反応し, エストロゲンに反応しないユニット数は NAH で 1/4, ARC で 2/3 であった. いずれのステロイドにも反応しないユニットは全部で 3 ユニットあったが, 両方のステロイドに反応するユニットはなかった.

以上の事実からネズミの視床下部にはエストロゲン反応性の特異的ニウロンが存在し, その反応はエストロゲンに特異的であることが明らかである. またすでに報告したエストロゲンに対する反応はこのようなニウロンのものであることが示唆される.

3. 肝胆系における線溶系の研究—胆汁酵素 Bilokinase の遊離機構について

大柴 進 (日大, 医, 第二生理)

演者は, 人および動物 (ウシ, イヌ, ウサギ) の胆嚢胆汁中に plasminogen を活性化する因子を発見し (1964)¹⁾, 次いでイヌおよびウサギの胆嚢胆汁よりこの活性化因子を抽出して, 若干の酵素学的性質を明らかにして bilokinase と命名した (1969)²⁾.

今回は胆汁瘻 (bile fistula) を作ったハムスターならびにハムスターの抽出肝臓灌流標本を用いて, 胆汁分泌速度と bilokinase 活性との相関を追求し, sodium taurocholate 投与が bilokinase の胆汁中への出現を増大させる事実を観察したので, bilokinase の胆汁中遊離機構について若干の考察を加えた.

1. Bile fistula を持ったハムスターでは sodium taurocholate の投与によって, 胆汁分泌量は約 50% 増加 ($P < 0.05$) し, 胆汁中の bilokinase 活性はこれと平行して約 50% 増加した ($P < 0.01$). したがって bilokinase の output は明らかに増大した.

2. 抽出肝臓灌流標本を用いた実験では, sodium taurocholate の投与によって同じように胆汁分泌量の増加 ($P < 0.01$) および bilokinase 活性の上昇 ($P < 0.01$) が見られた. T. C 投与後の胆汁中の総胆汁酸濃度は, 投与前に比し著明な増加 ($P < 0.01$) が見られた.

3. 抽出肝臓灌流標本の胆汁分泌量, bilokinase 活性, 総胆汁酸濃度に対する secretin 投与の影響を調べた結果は, sodium taurocholate の投与と

同じように分泌量の亢進 ($P < 0.05$) が認められた. しかし, B. K 活性および総胆汁酸濃度には変化は見られず, control の成績と同じであった.

4. 以上の成績より, bilokinase の胆汁中への出現は, sodium taurocholate に依って増強される事が明らかである. この現象は, 胆汁分泌亢進に伴う washout effect とは見做されない. Sodium taurocholate は vasoactive effect を持たないので, bilokinase の遊離機構に関しては循環血流の関与はないものと思われる.

- 1) 大柴 進 (1964) 第 3 回 プラスミン研究会, Med. Digest. 73C, 1
- 2) Oshiba, S., Hata, S. & Okamoto, S. (1969) Jap. J. Physiol. 19, 212

4. 側線器の化学受容について 第 2 報

勝木保次, 橋本 享, 小野田法彦 (東京医歯大, 医, 第一生理)

哺乳類内耳の内リンパ液中 K^+ 濃度だけがなぜ特別に高いのかいままって不明であるがこの疑問を解決せんと, 1969年勝木等はサメを中心とした魚類側線器の研究途上, 本来 mechanosensitive といわれている側線器の中に, 1 価の陽イオンに敏感なものがあり, その receptor は K^+ の存在によって機械的刺激に対する感度が増加することを発見した. われわれはさらにコイ, アナゴ, 南アツメカエル (*Xenopus*) を用いて実験を行なった所, サメと同様な結果をえた. すなわち, コイ, アナゴは 1 価の陽イオンにより刺激される. Konishi, Zotterman のコイ口腔内味覚器の結果と比較すると, われわれの結果は極めて低濃度の塩に対して応答があり, 中には, 人の味覚器では到底知覚しえない 1/800 M KCl にも応ずるものが存在する. そしてその反応は 2 価の陽イオンおよび, tetrodotoxin によって抑えられることを再確認した. *Xenopus* においても 1 価の陽イオンに対しては魚類同様の結果をえたが, 2 価の陽イオンについては, 魚類と全く様子が異っていた. すなわち, 1 価の陽イオンの作用を抑える現象は見当らず, むしろ 2 価の陽イオンそれ自身が刺激となって応答を示す現象が見られた. また tetrodotoxin はそれらのイオンによって引き起された応答を抑えないようで, このことは興味深いことである.

さらに *xenopus* は味物質の中の Na-glutamate

では極めて低濃度でも応答を示し, liverextract に対しても, impulse が徐々に増して saturate する。これは水槽に餌の liver を投げ入れた時 xenopus はしばらくすると興奮したように泳ぎ廻り餌を探し当てる行動を説明するのに都合が良い。

魚類および xenopus の側線器は external taste と呼ぶにふさわしく, この external taste によって外界の変化を検索し, その変化に十分対応できるように行動すると共に, 体内の諸器官へ情報を送り, その動物が死に到らないように, 内部環境の恒常性を保つのに役立っていると思われる。この問題はさらに実験を進めている。

5. エイの側線器, Lorenzini's ampulla における receptor および generator potential

小原昭作 (金沢大, 医, 第二生理), Bennett, M. V. L. (Albert Einstein Coll. Med.)

軟骨魚の Lorenzini's ampulla は皮フに開口する長い管とその末端の ampulla およびこの部を支配する神経よりなる特殊の感覚器である。種々の刺激に応ずることが知られているが, 本研究ではこのうち, その電気受容性についてその機構を調べた。実験には切り出した材料を用いその管部に 2~3 コのガラス電極を刺し管部に通電して ampulla の反応を見た。神経からの同時記録には別のガラス電極を用いた。

陰極性通電により ampulla には陰性電気緊張電位に重なって 2 種類の反応が記録される。このうち receptor spike は数百 μV から数 mV のレベルで all-or-none にあらわれる陰性の活動電位様の反応で, 振巾は 20~30 mV に達しその半持続時間は約 50 msec である。Receptor oscillation は特定の閾値なくあらわれ, 刺激電流を増加すると連続的に振巾を増す 20~30/sec の振動性電位である。これらは共に ampulla でもっとも大きく管部へ遠ざかるにしたがって小さくなる。また同時に ampulla での抵抗の減少と起電力の変化を伴なう。したがってこれらの反応は共に受容細胞の mass response と考えられる。時にこれらに重なって 100 μV 以下の 2 相性のスパイクが記録され, 神経の活動電位を容量性に拾ったものと思われる。

支配神経から ampulla に近い所で細胞内誘導を

すると 50~60mV の逆行性スパイクが記録され, 順方向性刺激では約 10 mV の経過の長い generator potential とそれに重なって順方向性スパイクがあらわれる。Generator potential の潜時は 6~9 msec で, その経過中は逆行性スパイクの振巾が著明に減少し, 抵抗の減少が伴なう。

以上のデータから電気受容性の機構について考察する。

6. 交配形式と条件反射との関係の一知見

伊藤秀三郎 (早稲田大, 体育)

血族結婚 (近親結婚) とは, 直系血族および三親等内の傍系血族との婚姻であり, この婚姻はどんな社会でも嚴重に禁止され, 禁忌 (タブー) とされている。それは, 血族結婚による遺伝的弊害を昔から知っていた為という生理学的解釈と, 幼児から一緒に育った男女間では, 性の欲求を感じなくなるという心理学的解釈と, いろいろあるが大半は前者の原因によると思われる。

血族結婚による遺伝的弊害がおこるならば, 機能面においてもなんらかの弊害が生じるのではないかと思ひ, 血族結婚とそれ以外の結婚とについての差を動物実験で試みた。動物が対象なので, ヒトの場合の血族結婚を兄妹交配, それ以外の結婚を雑交配として取扱った。

実験動物は体重 20~30 g 程度のハツカネズミで, 兄妹交配 10 匹と雑交配 10 匹とである。

尚動物は性別を考慮した飼育籠の中に 1 室 1 匹ずつ入れ, 水, 餌 (オリエンタル酵母工業株式会社製固形飼料) を充分に与え飼育した。

実験装置は横 80 cm, 縦 12 cm, 高さ 27 cm および脚 18 cm のもので, 横を二等分し各室の床は銅線を 1 cm 間隔でならべた電気格子で中央の障壁を境に左右別個に通電できるように作った。

普通, 右の室に動物を入れ, 刺激を与え左の室に逃げ込むようにする。

条件刺激 (2.5 W 電灯点灯), 無条件刺激 (電気ショック 50 および 25 V 商用交流) を与えるが, 逃げ込むことで後者からまぬかれるようになってくる。

かくて, 著者は条件反射が成立し難いことと, 消去が早いことから, 機能面において, 兄妹交配による動物の方が劣るのではないかと思考した。

[会報]

総合研究班合同会議の報告

東京医科歯科大, 医, 第一生理
勝木保次

かねて予告のあった文部省科学研究総合研究班の合同会議は次のプログラムのとおり, 12月初旬, 東京虎の門国立教育会館で開催された.

合同会議に参加した班は7, 報告された演題数も74に達し, 3日間に渉り, 会場は満員の盛況で, 会議開催の目的は充分達せられたと感じられた. 今回の会議の成功により, 引続きこの種の会合の開催については, さらに学会時討論を重ねる事になった.

総合研究班合同会議プログラム

会期: 昭和45年12月5日(土),

6日(日), 7日(月)

場所: 虎の門教育会館

大会議室(6階)

中会議室(6階)

第一会議室(5階)

12月5日(土) 中会議室

「神経細胞の分泌機構とその調節機序の研究」

代表者 内園耕二

「神経内分泌調節機構の統合的研究」

代表者 八木欽治

9:00~12:00

1. 昆虫の卵休眠支配に関する内分泌系をめぐる諸問題 農林省蚕糸試験場 小林勝利

2. 昆虫の脳ホルモン-前脳腺系-電顕的研究 京都府立医大 石崎 宏

3. 腎尿管における有機酸・有機塩基分泌のNa依存性 東北大 星 猛

4. 分泌モデルとしての膵臓外分泌: Ca依存性の二相性成分 北大 菅野富夫

5. 嗅上皮支持細胞の分泌と電気発生 日大 岡野真臣, 群馬大 高木貞敬

6. 神経分泌細胞の興奮発生と二価イオン 東京医大 岩崎静子, 佐藤侑子

13:00~18:00

7. モノアミンニューロンに関する2, 3の知

見 京大 佐野 豊

8. 正中隆起部および後葉に含まれている暗調力粒の直径分布による分類 早大 石居 進

9. カテコラミンの細胞内分布-褐色細胞腫, 脳および副腎髄質の比較 東大 山田律嗣

10. 正中隆起の上皮細胞の機能 東大 小林英司

11. 各種下垂体ホルモン分泌機能における中枢調節の相互関係

東大 小林拓郎, 水野正彦, 水口弘司

12. 下垂体前葉機能に関する視床下部の神経機能について 横浜市大 八木欽治, 佐脇敬子

13. 神経分泌線維末端におけるテトラカイン効果 順天堂大 石田絢子

14. ラット下垂体後葉における神経分泌物放出機序に関する電子顕微鏡的研究

群馬大 黒住一昌

15. バソプレシン分泌調節に関する研究-出血, 脱水および高張食塩水投与に対する視床下部下垂体後葉系の反応

東大 吉田 尚, 村勢敏郎

12月5日(土) 第一会議室

「神経性アナログ生体情報処理機構」

代表者 佐藤謙助

10:05・12:05

1. ヒトの脳波の α 波の振幅と周波数について 長崎大, 医, 生理 深田高一, 佐藤謙助

2. α 波と誘発電位の周期的振幅変動の型とその発生機序について 長崎大, 教養 三村圭一

3. アナログ生体情報処理活動過程における生体情報量について 長崎大, 医, 生理 佐藤謙助

13:30~16:50

4. 閃光刺激による大脳緩電位変動と誘発電位 弘前大, 医, 生理 尾崎俊行

5. 演題未定 東大, 医, 精神 斎藤陽一

6. 演題未定 相田誠一

7. 片麻痺における体性感覚誘発電位について

九大, 医, 神経内科 三好正堂, Hans

Lüders, 黒岩義五郎

8. 演題未定 稲永和豊

12月6日(日)大会議室

「吸収・分泌における能動輸送の細胞機序」

代表者 星 猛

9:00~12:00

1. イヌ足底部における汗電解質濃度

東北大, 歯, 生理 青木 健

2. 大腸菌における糖透過機構

東大, 薬, 微生物 安楽泰宏

3. 食用蛙大腸における Na イオンの吸収に及ぼす ADH の影響 愛知県心身障害センター,

京都府医大, 生理 井上太郎

4. カエルの胃粘膜の塩酸分泌阻害剤の作用機構 京都府医大, 放研 今村 昭

5. 神経線維のイオンポンプ作用と酸素消費の関係 昭和大, 医, 生理 斎藤 望

6. 膜電位データ処理による透過係数および相互作用係数の絶対値の決定

京大, 医, 生理 品川嘉也

13:30~17:00

7. 腎尿管のイオン輸送について: ラッテ肥太腎の形態と機能 日大, 医, 内科 杉野信博

8. ネコおよびウサギ顎下腺の分泌電位について: ①分泌電位の解析, ②機能的血管, 拡散とカリクレイン(有機物質)分泌の検討

東北大, 医, 応用生理 西山明德

9. 小腸粘膜細胞より分離した膜面分とビタミン B₁₂ の結合について

徳島大, 医, 栄養 萩平 博

10. 鉄の吸収機構について, 特に鉄欠乏, 鉄負荷状態に於ける鉄吸収正常状態との比較

九大, 医, 内科 原 泰寛

11. 尿酸性化に対する腎髄質細胞内 pH の役割

岐阜大, 医, 生理 藤本 守

12. 膀胱膜電位形成における Na, K イオンの役割 東北大, 医, 生理 山岸俊一

13. 腎ネフロンにおける蛋白質の転送について

東大, 医, 薬理 酒井文徳

14. 小腸上皮細胞における糖輸送系と多糖類水解酵素の関係 東北大, 医, 生理 星 猛

12月6日(日)中会議室

「皮膚, 深部, 化学感覚など研究の遅れた感

覚領域の神経生理学的研究」

代表者 高木貞敬

9:00~17:00

1. 三叉神経運動ニューロンにたいする咬筋からの求心性インパルスの両側性効果

東大, 医, 生理 中村嘉男, 森 俊一

2. 顎関節感覚に関する研究

阪大, 歯, 生理 河村洋二郎, 阿部勝也

3. 骨格筋のⅡ発射について

千葉大, 医, 生理 本間三郎

4. 脊髄後角における皮膚感覚の増巾機構

東京医歯大, 歯, 生理 工藤典雄,

田中勲作, 本郷利憲

5. 皮膚温度刺激にたいする脳幹ユニット応答

名大, 医, 生理 中山昭雄

6. 痛覚発現と血管性因子の関与(予報)

東大, 医, 麻酔 山村秀夫, 清原道夫

7. 温度変化に対する膝関節内受容器の応答特性

鳥取大, 医, 生理 山田 守

8. Algesic agents によって誘発された内臓神経の電気的変動 群馬大, 医, 生理 後藤鹿島,

須田 宏, 尾方正矩

9. ラットにおける膈刺激による脳電気活動の変動について

横浜市大, 医, 生理 川上正澄, 久保勝知

10. 視床下部ニューロンの化学受容について

金沢大, 医, 生理 大村 裕

11. 種々の化学受容器の神経生理学的研究——グルマエビ歩脚の化学受容器について

東京教育大, 理, 動物 藍 尚礼,

竹井 誠, 渋谷達明

12. ラット舌咽神経の味感受性——とくにサッカリン味応答について

熊本大, 医, 生理 小川 尚, 佐藤昌康

13. 側線器有毛細胞の機械刺激受容における K⁺ の役割 東京医歯大, 医, 生理 勝木保次,

橋本 亨, 小野田法彦

14. 下等動物眼点の機能について

北大, 理, 動物 玉重三男

15. ミツバチの嗅反応

九大, 理, 生物 立田栄光, 桑原万寿太郎

16. 嗅覚の第1次中枢経路について

群馬大, 医, 生理 高木貞敬, 菅原 清,

牧野総太郎, 梅沢久男, 大嶋由利子

12月7日(月) 大会議室

「神経系における encoding および decoding
の機構」 代表者 大村 裕

9:00~17:00

1. マウス顎下腺における神経終末の発生
東大, 医, 解剖 養老孟司, 中井準之助
2. ゴンズイの Larenzini 器官におけるシナプスの微細構造
九大, 医, 解剖 山元寅男, 西原英徳
3. 視床下部ニューロンのシナプス機構について
東大, 医, 第二生理 内菌耕二
4. 嗅上皮の電気発生-電気生理学的・電子顕微鏡的研究
群馬大, 医, 生理 高木貞敬
日大, 農獣医, 解剖 岡野真臣
5. 両棲類の側線器における化学受容について
東京医歯大, 医, 第一生理 勝木保次,
橋本 亨, 柳沢慧二, 小野田法彦
6. 光受容器電位に対するカルシウムイオンの効果
東京女子医大, 第二生理 菊地鎌二
7. 無 Cl 溶液中におけるザリガニ神経筋接合部のシナプス活動
東京医歯大, 医, 薬理 弘中哲治,
大塚正徳
8. PT cell における IPSP について
京大, 医, 生理 荒木辰之助
9. 前庭系の coding 過程におけるリズム形成
東大, 医, 脳研生理部門 島津 浩
10. 脳幹網様体の単位活動に対する視覚遮断の効果
阪大, 医, 高次神経研 岩間吉也
11. 各部に分布する交感神経活動の特異性
広島大, 医, 第一生理 二宮石雄,
入沢 宏

12. 内臓神経肝臓枝の遠心性衝撃と肝臓からのブドー糖遊離との関係について

新潟大, 医, 第一生理 新島 旭,
福田昭子

13. 味の encoding 機構

熊本大, 医, 第二生理 佐藤昌康,
小川 尚, 野間昭典

14. 視床下部グルコース受容ニューロンの特性
金沢大, 医, 第二生理 大村 裕

12月7日(月) 中会議室

「視覚の生体内情報処理」

代表者 御手洗玄洋

9:25~12:00

1. 軟体動物の網膜の微細構造
東北大, 医, 解剖 山本敏行, 外崎 昭,
堅岡誠喜
 2. フナ網膜外網状層の微細構造
金沢大, 医, 解剖 本陣良平, 田中左知子
 3. ヒトの網膜中心窩の微細構造
東大, 医, 解剖 山田英智
- 13:00~16:30
4. 軟体動物網膜の受容器電位とスパイク電位
東北大, 医, 生理 田崎京二, 塚原保夫,
保谷忠良, 玉井 信
 5. コイ網膜 S 電位の色光感曲線
名大環医研 御手洗玄洋, 高木貞治,
室賀辰夫, 渡辺郁緒
 6. コイ網膜の S 電位レベルにおける情報処理について
東京女子医大, 生理 渡辺宏助,
橋本葉子, 須田行雄, 片桐康雄, 柴田三重
 7. 網膜における情報処理
慶大, 医, 生理 富田恒男

人体基礎生理学研究 所 設 立

第17回実行委員会・第23回業務専門委員会議事録

日 時: 昭和45年8月21日午後2時~22日正午

場 所: 大学セミナー・ハウス 中央セミナー室

出席者: 朝比奈, 勝木各実行委員

岩崎, 岡田, 北里, 竹中, 竹宮, 秩父, 塚原, 坪田

橋本, 本田, 松崎(鈴木代理), 村田, 八木, 山岸,

亘各業務専門委員

議 事: 司会 竹中委員

I. 報告

1. 生物科学総合化 W.G. 会議報告

第2回 7月3日13時半～17時

於学会会館分館 出席者 勝木、塚原、村田、亘

第3回 7月30日13時～18時 於日本学会会議

出席者

2. 総合研究B「ライフサイエンスにおける人体基礎生理学の位置づけと将来の在り方の研究」
科学研究費補助金交付決定報告

II. 協議事項

1. 仮運営委員会の設置

以下のような仮運営委員会を緊急に設置する事を決定した。

a) 仮運営委員会は設立案運営委員会規定(運営に関する第一次案 43. 9. 22 添付資料参照)にしたがう。

b) 但し、構成「所長」を「所長予定者」、「本研究評議会より選出されたもの」を「設立準備委員会より選出されたもの」、「生理学会評議会より選出されたもの」を「生理学会より選出されたもの」とする。

任期は2年、重任を妨げない。

c) 業務

1) 研究所発足時のプロジェクト決定

2) 人事の決定

d) 関連分野4名の選出。関連学会* から各1名の候補の推薦をうけ、準備委員会が4名を決定する。

* 所長予定者選出を依頼した関連22学会とする。

以上の仮運営委員会の設置に関する業務専門委員会および実行委員会案を準備委員会に提案する。

2. 上記の仮運営委員会が早急に設置され、11

月頃には業務が開始されることが望ましい。

3. プロジェクト研究の課題に関して討論した。

4. 生物科学総合化W.G.に対する、生物科学の総合研究所の望ましい運営形態についての亘私案が紹介された。

運営に関する第1次案 (43. 9. 22) 抜萃

(略)

6. 運営

A. 所長

(略)

B. 運営委員会

1. 構成 運営委員会は、i) 所長、ii) 生理科学研連より選出されたもの、iii) 関連分野より選出されたもの、iv) 生理学会評議会より選出されたもの、v) 本研究所評議会より選出されたものにより構成される。

(注) 内規:

a. 構成員の人数は、所長1、生理科学研連4、関連分野4、生理学会評議会4、本研究所評議会12とする。

b) 任期は4年とし、重任は許さない。2年毎に半数を改選する。

2. 業務 研究所の管理、運営に関する重要事項を審議決定する最高議決機関とする。

(注)

a. 重要事項に関しては専門委員会を設けることができる。

b. 所長、教授の人事決定、プロジェクトの決定、予算案の最終決定などがその主要業務である。

C. 所内の会議

(略)

人体基礎生理学研究 所 設 立

第18回実行委員会・第24回業務専門委員会議事録

日 時：昭和45年11月21日(土) 午後2時～6時

場 所：東京医科歯科大学医学部5階 ゼミナール室

出席者：秋田、田崎、内藤、井上、名取、勝木各実行委員

菅野(義)、本田、秩父、磯本、竹中、山岸、高垣、

竹宮、河田、亘、岩崎、八木、塚原、村田各業務専門委員

門委員

議事

1. 報告

1. 第4回生物科学総合化 W.G. 報告

8月31日 学術会議 出席 勝木, 亘, 村田
従来, 此の W.G. で進めてきた生物系研究所の総合化案は尚各種の問題点を持ち, 早急に推進することが困難との結論に達し, これまで討議してきた形での総合化の討議は一応今回で打ち切り, 将来さらに基本的な立場で討議しなおす可能性を残して W.G. を解散した旨の報告があった。

2. 高エネルギー研究所のいわゆる文部省案の説明

東理大, 小谷教授より上記の案の概略の説明があり, さらに学術会議, 長期計画委員会「直轄共同利用研究所の体制に関する打合わせについ

て」(10月7日 学術会議 出席 勝木, 村田, 竹宮) の会合における本案件に関する討議の概略が報告された。また本案の骨子となった遺伝研の実情等が話題となった。

(偶然, 会場校に来合わせられ, 突然お願い申し上げたにも拘らず, 御多忙の中を時間をさいて下さいました小谷学長に感謝の意を表します。)

II. 協議

仮運営委員会設立の件

前回第17回実行委員会, 第23回業務専門委員会(8月21日)において決定した研究所発足時のプロジェクトおよび人事の決定を任務とする仮運営委員会設置案について再審議し, さらに今後の活動方針について討議した。

J. J. P. 編集委員会開催について

編集委員 各位
幹事 各位

昭和45年11月24日

J. J. P. 編集委員長 吉村 寿人

拝啓 向寒の折, ますます御清祥のこととおよろこび申し上げます。

さて, 去る10月17日の第2回編集委員会にて別紙議事録(案)のとおり, 原稿審査についてのルールを検討もほぼ完了し, すでに実施に移りつつありますが下記により次回編集委員会を開催いたしたく存じます。御多用中のところを, まことに恐縮ではございますが, なにとぞ御出席くださいますよう, お願い申し上げます。

記

日時: 昭和45年12月12日(土) 午後1時30分～

5時(委員会 1時30分～4時, あと食事)

会場: 東京大学出版会 会議室(3階, 第1会議室)

- 議題: 1. 前回議事録の確認
2. 原稿審査について
3. Vol. 21の予算について
4. 表紙の改訂について
5. その他

なお, 準備の都合もございまして, 御出欠を10日までにお知らせください。

第2回 J. J. P. 編集委員会議事録(案)

日時: 昭和45年10月17日 午後4時～7時

会場: 東京大学出版会館会議室

出席者: 吉村寿人, 藤森聞一, 勝木保次, 井上 章,
内齒耕二 東大出版会(山田, 野溝)

1. 前回議事録の確認について

第1回 J. J. P. 編集委員会議事録を原案どおり確認した。

2. 編集委員会の運営について

a. 原稿審査の方法について, 前回にひきつづき討議し提出されたスキームのうち, 編集委員

の審査報告は編集委員長宛とし、著者への意見書は編集委員長が作成して編集部より連絡することに改めた。

b) 各種文書のフォーマットについて検討し、決定した。

3. 原稿受付、購読方法のきりかえについて、表紙裏に掲載する editorial note の案が吉村委員長より提出され、決定した。

4. 投稿規定の案が吉村委員長より提出され、字句上若干の修正を残して決定した。字句上の修正については吉村委員長に一任した。

5. 表紙の改訂については基本となるパターン

[書 評]

杉田元宜, 岡山誠司著

情 報 科 学

(基礎物理学シリーズ 3) 朝倉書店, 東京, 昭和45年 (B5版, 269頁, 1,300円)

情報理論の最近の成果は目を見はらせるものがあるが、情報とは何かということになるとなかなか定義することはむずかしい。実は私も生理学用語委員の一人として情報という語の短い解説を書くことを依頼されたのであるが、20語以内という制限ではどういい廻してみても、漢和字典に出ているくらいのことしかいえないことがわかった。本書は最近の情報理論の概要を解説した入門書であるが、本書の目的は11章にわたって解説されている広汎な内容をもつ情報科学を抽象して、結局のところ情報という概念は物理学ではどのようなものであるかを明確にしたいということにある。

著者によれば「情報とは“システム内の相互作用の一形態”として、その系内で伝達され、現実にある作用を示し、それによりその系の“システム特性を表わす”ようなものである」という。ここにシステムというのは部分が集まったものであるが、部分の相互作用により、部分だけでは出てこない特性（すなわちシステム特性）を示すものであり、相互作用の一形態とは、可能性のある場において何らかの応答をもたらす間接的な相互作用のことをいう。可能性の場というとうわかりにく

を選び、次回委員会に具体案を提出することにした。

6. その他

覚書について、次の3点を確認した。

a. 東大出版会のもつ著作権は Vol. 21 以降であること。

b. バックナンバーについては、覚書の事項とは別に、東大出版会の収支が赤字の場合は、その補填にまわしてもさしつかえないこと。

c. Vol. 21, No.1 は生理学会にて発行し、購読料の1/6を生理学会に返すこと。

7. 次回は12月12日（土）午後1時半より

順天堂大学医学部第二生理

真 島 英 信

いが、これは

$\text{flux} = (\text{絞り因子}) \times (\text{強度因子})$

と考えた flux がゼロでないことを意味している。絞り因子とは電気の絶縁や止め金のようなもので、この因子がゼロだと可能性はあっても実現されないことになる。

このように見てくると、情報の伝達という意味で通信工学や情報工学の分野が開けるとともに、最も複雑なシステムとしての生物に対して、情報科学が適用されるのは必然の勢であることがよくわかる。以上の立場から、本書はまず、不可逆過程と変化するパラメーターの理論、連続系の数理、電算機などについて述べ、次いで、システム特性、生体と情報、サイバネティクスなどを解説している。そして最後にそれらをまとめる形で、情報の発生、変換、処理、放出などをいくつかの実例を挙げて解説している。その実例は物理学的、化学的な問題に留まらず、生物学的あるいは生理学的な現象にも広くおよんでおり、著者の博識に驚ろかされる。

最後にブラックボックスという考え方に対する著者の見解を紹介しよう。これは出力が等価な

ら、それを出す実体は何であってもよいとして、その実体をブラックボックスの中へ入れてしまう考え方のことで、サイバネティックスの本質にも通じるし、シミュレーションの本質にも通じる考え方である。もちろんこのようなブラックボックスを考えることは一つの逃避であるともいえる。とくに生理学者の中には生理学で実体をつきつめていかなければ進歩はないのだと考える人も多い。しかし著者は出力の方から見て、等価変換をしながら実体に近づくことも有利であると考えている。むしろいきなり本物に直撃弾を与えるよう

な形で接近をはかるよりは、等価変換を繰り返す方がより着実であるとしている。

私も神経のインパルスを情報と呼ぶことには大きな抵抗を感じているものであるが、生体が非常に複雑であって、現在のところブラックボックスと考えざるをえない面のあることも認めざるをえない。そういう生き物を扱っている生理学者としては、最近の情報科学の進歩を理解するために、本書のような秀れた入門書を読むことが必要なのではないだろうか。

上田五雨, 別府芳雄著

入門生物物理学

現代医療社, 東京 (1970, 143頁 800円)

千葉大学医学部, 第一生理

本 間 三 郎

実験的な生理学から、今日では生物物理学的に生理学を考えるすなわち問題を処理するために数理的基礎が必要になってきたとする。本書の目次をみると総論と各論にわかれ、総論には拡散、浸透圧、Donnan の膜平衡といったことがらが、ごく簡単に説明されている。情報理論や生体情報の処理についても述べてあり、各項の終りに練習問題がついている。楽しみながら問題点を勉強でき

るようになっている。各論の方は脳波、視力、聴覚、シナプスの興奮と抑制、筋電図、心室勾配、局所血流量、高所順応などの数理的取扱いが述べられている。魅力的な項目が一杯ならべられている。実験生理学の立場をとる人も、できれば数理的に処理したいと望んでいるので、そういった人に対しても本書はその手掛りを与えてくれる。

日本生理学会会費のお払込みをお願いします

昭和46年度会費 3,000円

昭和46年度会費未納の方は何卒お払込み頂きたくお願い致します。

前年度会費(昭和45年度 3,000円)未納の方は至急お払込み下さい。

なお教室、研究所ではまとめてお払込み頂くと幸いと存じます。

お払込みは必ず振替または現金書留でお願いします(普通郵便に現金または小為替等の同封は紛失の例があります)。

振替用紙は32巻12号, 33巻1・2号に挿入してあります。

日本生理学会事務局

〔編集後記〕

特集号“生物リズム”は幸いにご好評をえており、今後もこのような特集をやるようにというご注文が多数よせられていることは心強い限りです。

ところでこの特集号は、会員のみならず一般研究者や学生をも対象として編集されましたので、なるべく多数の会員外読者にも販売したいと考えております。すでに総会にてお願いしましたし、各教室主任の方々には一講座あたり約10人位の読者を紹介して頂きたい旨お願いいたしましたが、この欄を借りて重ねてよろしくお願い申し上げます。

販売方法については、いろいろな方から書店に委託せよとか、予約を募集せよとか、臨床方面にPRせよとか、ほとんどありとあらゆるご意見を頂き、編集委員会でも逐一検討いたしました。し

かし結局のところ一番効果的なのは会員一人が、一人の会員外読者に紹介するという、マンツーマン方式であるとの結論に達しました。たとえば書店を通じて販売したらよからうとは誰も考えるところですが、最近店頭にはあまりにいろいろな本がならんでいるので、店頭で選んで本を買うということは非常に少なくなっているということです。また取次店にしても一冊1,000円程度の本では、マージンが100円に満たず、交通費にもならないということで、いろいろな本屋へ持っていかれてくれません。ダイレクトメールも有効性は3%以下が常識だそうですし、新聞広告などはそれ自体が高価についてしまって、販売の意味がなくなってしまう。というわけで結局会員の方のお力を借りるほかないということになった次第です。何分ご賢察お願いします。

以下にご紹介下さる方の便宜のため、要領を掲げます。

日本生理学会編「生物リズム」

B5版、160頁、1,200円、〒75円

日本生理学会会員の紹介による注文の場合、特価1,000円(送料共)——現金書留または振替にて、紹介会員の氏名を添えてご注文下さい。

注文先は

東京都文京区本駒込 2-28-21
東洋文庫内

日本生理学会

(振替 東京 86430)

(電話 東京 945-2840)

すでに内容をご存知の通りですので、学内の研究者や学生諸君を、多数ご紹介下さいますようお願いいたします。

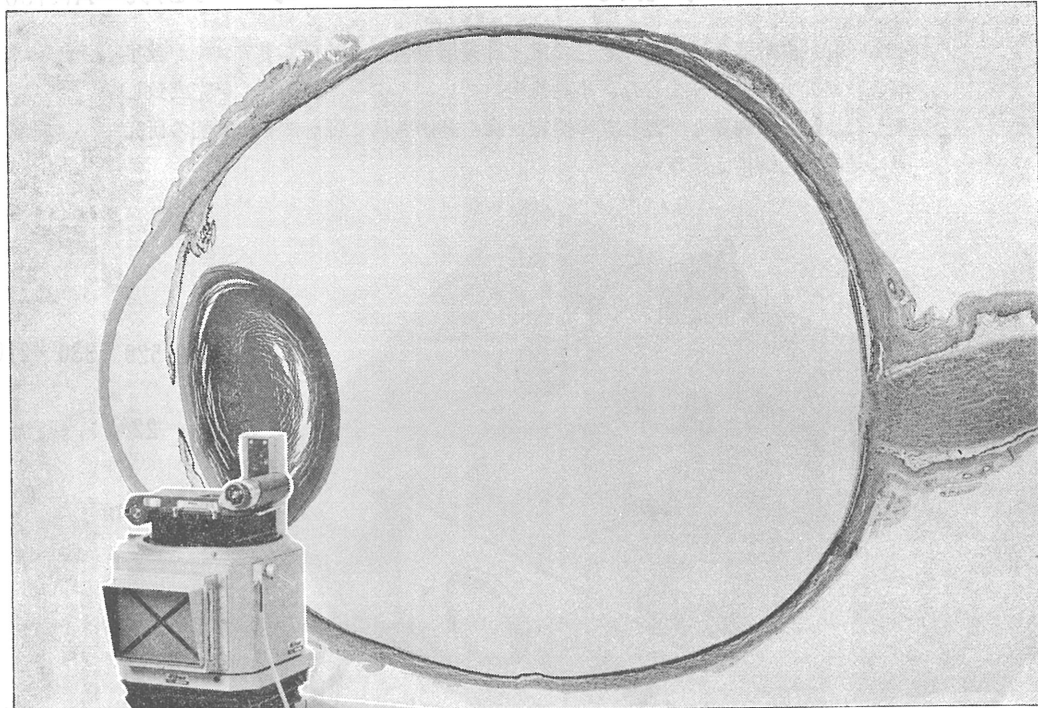
なお“生物リズム”の主要内容を印刷したチラシも用意してございますので、必要ならば学会にご一報下さればお送りいたします。(真島英信)

編 集 委 員

真島英信(幹事)	市岡正道	菊地鎌二
高垣玄吉郎	戸塚武彦	鳥居鎮夫
島山一平	望月政司(北海道)	星 猛(東北)
新島旭(関東)	東 健彦(中部)	品川嘉也(近畿)
入沢 宏(中・四国)	栗山 熙(九州)	

人類の未来を開く **Nikon** は幸福産業です。

大型マクロ写真装置の最高峰＝マルチフォト



低倍率でも高倍率でも、類のないシャープさで広視野の拡大撮影を可能にしたマルチフォトはニコンが技術を結集して開発した世界最高級機です。撮影光学系、照明系（透過、反射）機械の精密技術が完全に協力しあって生まれる性能の確かさが、高度な研究を正確に能率よく成果へ導きます。一般産業から医学、金属学、地質学、鉱物学…豊富なアクセサリーによるマルチフォトの多様性が広範な分野で発揮されます。詳しいカタログをご請求下さい。

Nikon MULTI-PHOT

Nikon 顕微鏡特約店

(株)いわしや森田器械店	札幌市北8条西5の1	TEL 011(741)1848・3231
株式会社 三啓	東京都文京区湯島3-20-12(ツナシマビル)	TEL 03(834)7331
株式会社 小沢製作所	名古屋市中区錦3-9-22	TEL 052(951)5331
株式会社 コーガク	大阪市北区梅田7-3(梅田ビル5階)	TEL 06(345)6031・2256
株式会社 猪原商会	広島市国泰寺町2-3-3	TEL 0822(41)2703
株式会社 大熊商会	福岡市大学前1丁目	TEL 092(65)4831

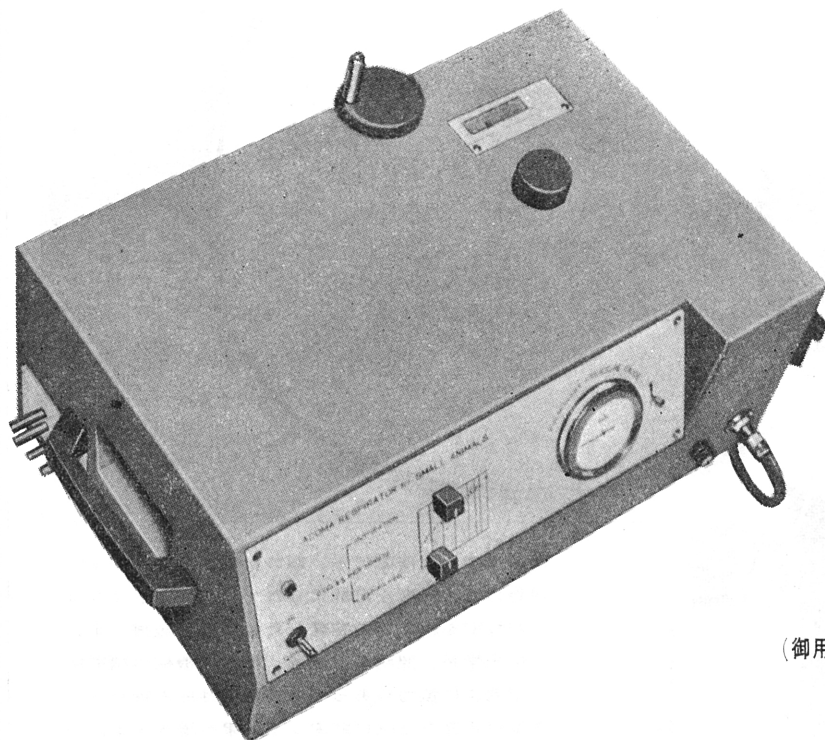
Nikon 日本光学工業株式会社 機器営業部＝100東京都千代田区丸の内1-2-1 東京海上ビルTEL(214)3861 大阪営業所＝542大阪市南区安堂寺橋通2-26 大阪写真会館TEL(262)3271 ●カタログ送呈ノ誌名と品名をご明記ください。

小動物よりうさぎ、猫までのレスピレーター完成 アコマ AR100

血圧計、麻酔器のメーカーとして広く御愛用を願って居りますアコマが数年
前より研究致して居りました、小動物用レスピレーター(AR100) を完成致し
ました。従来の製品と一変し其の機能が高く評価されて居ります。貴院の研究
室に是非一台御備え下さい

大きさ 520×330×210cm

重量 22kg



(御用命は全国有名医理化器械店へ)

レスピレーター (アコマAR100) 特長

- (1) 呼吸相比が自由にえられる (1 : 3 - 3 : 1)
- (2) 1回換気量が10cc-100ccと広いので小動物よりうさぎ、猫迄使用出来ます。
- (3) 換気量を変えても腔腔は全く変わりません。
- (4) 呼吸回数は10~60回まで連続可変です。
- (5) 電動式のため経済的です。AC100v 35w
- (6) 麻酔器に連動できます。

注 犬用は別にAR. 300 (20~300cc) を御使用下さい

ACOMA

アコマ医科工業株式会社

東京都文京区本郷2-14-14 TEL03(811) 4151

スエーデン
モナーク **エルゴメーター**

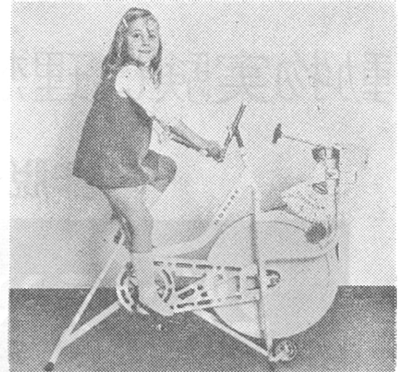
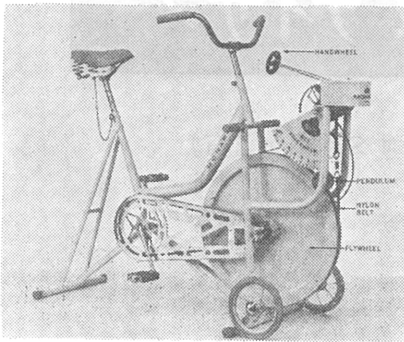
“新製品”

小児用(4才~12才)

“精度，耐久力共に抜群です
納入実績が証明します”

- Åstrand, Döbeln 両博士の指導製作
- 負荷エネルギーをKPMで求め生体変化の測定
- トレーニング用にも威力を発揮

(大幅値下げ断行)



日本総代理店

旭光物産株式会社

東京都千代田区神田司町2の2の11
電話 東京(251) 6167. 医学器械部

(トレッドミル
ガス分析装置
酸素消費量計)

E-672A エルマ超微量炎光光度計 UF-1型

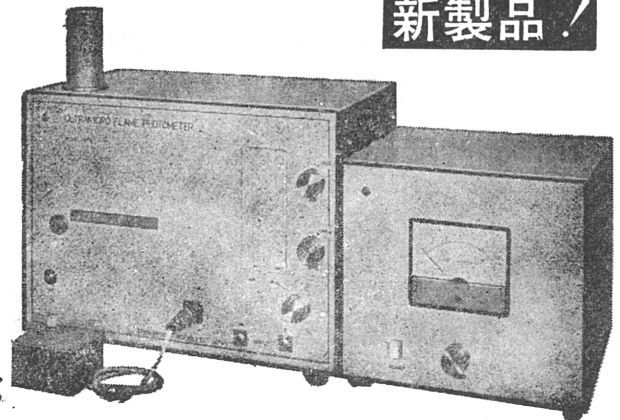
驚異的な微量のNaとKを
定量するエルマ超微量炎光光度計

本器は東大生理学部の御指導のもとに完成されたものです

本器の特長

1. 超微量の測定
 - Na $1\text{mEq}/\text{L} \times 10^{-3}$
 - K $1\text{mEq}/\text{L} \times 10^{-3}$
2. 稀釈操作不要
3. Na, K 同時測定
4. 再現性 $\pm 2\%$ 以内

新製品!



エルマ光学株式会社

東京都千代田区神田鍛冶町2-4
TEL (256) 0911 (代)

動物実験に理想的な非動性が得られる

非脱分極性筋弛緩剤

2% ガラミン注射液“テイサン”

(1 ml中20 mgのガラミントリエチオダイドを含有)

〔特長〕

1. 理想的な筋弛緩が得られ、持続性あり、完全に可逆性。
2. 循環系に対して副作用が少ない、一過性に脈搏数の増加と血圧の軽度上昇をみるのみ。
3. 非常に安定で経年変化が少い。
4. 拮抗剤により拮抗される。

〔包装〕 20ml (400mg)バイアル
5ml (100mg)10管

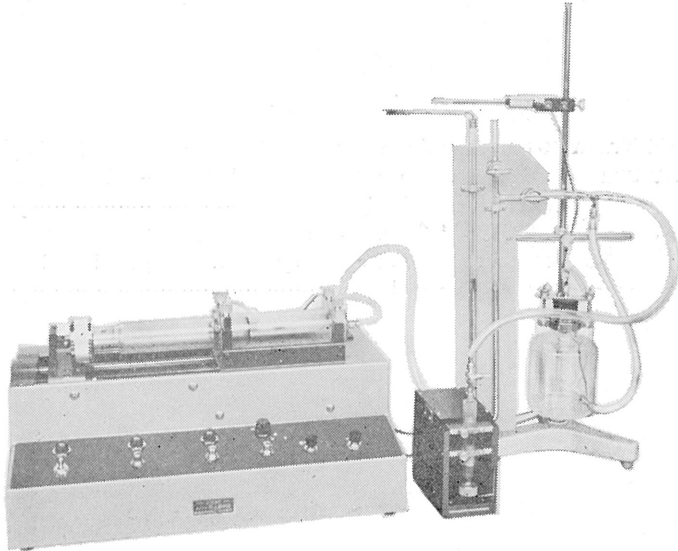
販売
長瀬産業株式会社

製造
帝国化学産業株式会社
大阪市西区北堀江上通1-10(大阪中央ビル)

HAFFNER法

鎮痛効果測定装置

実中研 医学研究所 御指導



本装置は機械的刺激によるマウスの仮性疼痛反応閾値上昇から薬物の鎮痛効果を測定する装置であります。

尾部に加わる圧力はモーターにより加圧されマンメーターにより記録されますので常に一定の加圧速度が得られ、かつ反応閾値を記録紙上で求めることが出来ます。

モンキーチェヤ

実験動物中央研究所
医学研究所 御指導

- 本装置チェヤに依るモンキーの体重は 3 kg ~ 6 kg 迄使用可能です。
- 汚物を取出す引出しが下部後方に付いています。
- ステンレス製 上部はアクリル盤

特別附属品

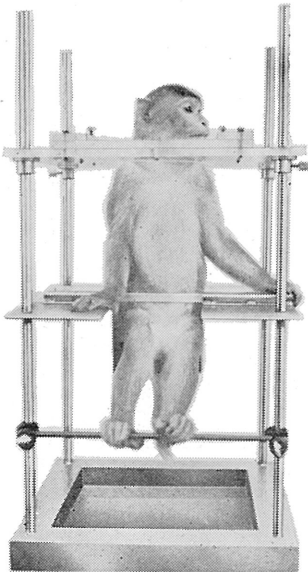
- チェヤ固定盤 600×600×21mm (木製)

特別附属品

- 移動用固定盤 600×600×21mm キャスター 4ヶ付 別途附属註文に応じます。

使用目的

- (1) 薬物の投与
- (2) 採血及採尿
- (3) 生体電気現象の誘導
- (4) 其の他無麻酔下で処置を加へる場合



KANO

株式会社 野上器械店

郵便番号113 東京都文京区本郷3丁目44~6 TEL(03)813-4811(代)

J. Physiol. Soc. Japan Vol. 33, No. 3 (1971)

Review

Kiyoshi YAMAMOTO : Eighteen years of our thyroid research153

Originals

Takashi YAMAMOTO : A study of taste effectiveness of copper ion in the rat.....169

Yo YASUMITSU : Oxygenation properties of fetal blood—with special reference
 to 2,3-diphosphoglycerate179

Yutaka OOMURA, Taketoshi ONO, Mutsuyuki SUGIMORI and Tsutomu NAKA-
 MURA : Effects of cyproheptadine on the rat lateral and ventro-
 medial hypothalamus193

Short communications

Keizo SHIRAKI, Masaharu OHNAKA and Isaburo SHIRAI : A simple and accurate
 apparatus for measuring the volume of large gas sample.....206

Saburo HOMMA and Yasuhiko TAMAI : Group Ia acceleration following stimulation
 of the ventral roots during gallamine administration208

Taizo HAMADA, Mitsuru TAKATA and Yojiro KAWAMURA : An analysis of the
 effects of muscle afferents on the contralateral temporal and
 masseteric motoneuron.....210

昭和四十六年二月二十日印刷

編集
 集人

真島英信

印刷者
 印刷所

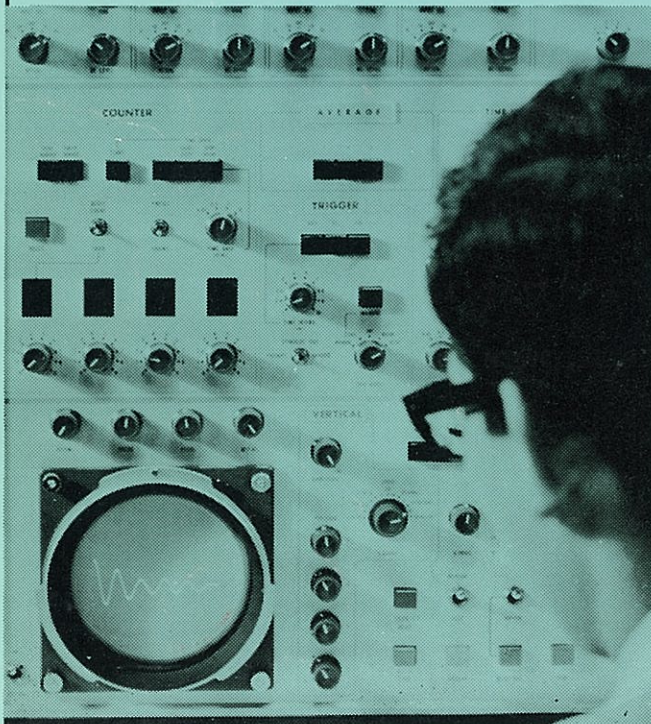
山形県鶴岡市山王町一四の二四
 平田眞
 鶴岡印刷株式会社

発行所

千一三
 東京都文京区本駒込二二八一二
 日本生理学会

電話
 禁九四
 価東八五
 京八六一
 参四三
 百四三
 円〇〇

生体と情報処理技術をON-LINEで結ぶ



ア タ ッ ク
ATAC



データ処理用電子計算機
 ATAC-501-20

医学の研究に、臨床にぜひ
 1台——
 使いやすく、プログラムの
 種類が豊富です。

*カタログ、使用例集お送りし
 ます。

日本光電工業株式会社

東京都新宿区西落合1-31-4 〒161
 ☎ 03 (953) 1181 大代表